

# 锰氧化菌 *Bacillus* sp. MK3-1 的 Mn(II) 氧化特性和除锰能力研究

刘颜军 周静晓 王革娇\*

(华中农业大学生命科学技术学院/农业微生物学国家重点实验室 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 锰氧化微生物能够将可溶的Mn(II)氧化为不溶的锰氧化物沉淀,因此在生物除锰研究上具有重要的应用价值。本研究从锰污染土壤中分离到一株锰氧化菌*Bacillus* sp. MK3-1,该菌对MnCl<sub>2</sub>有较高抗性,其最低抑制浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)为20 mmol/L。实验表明该菌在培养基中Mn(II)的去除率高达96%,同时将其制成固体包埋菌剂应用于含0.15 mmol/L的MnCl<sub>2</sub>水溶液实验,结果表明其仍然具有稳定的除锰能力,去除率为87.12%,使溶液的终锰浓度符合国家排放标准。扫描电子显微镜观察和能谱分析实验表明,实验产生的锰氧化物均匀地分布在*Bacillus* sp. MK3-1的细胞表面,细胞表面含锰量为19.60% (W/W)。用简并引物扩增目前被认为催化锰氧化的多铜氧化酶基因*mnxG*,获得了903 bp的基因片段,其基因产物与已报道的多铜氧化酶具有86%的同源性。

**关键词:** 锰氧化细菌,芽胞杆菌,锰氧化,锰去除,包埋,扫描电子显微镜

## Mn(II) Oxidation and Removal by a Manganese-oxidizing Bacterium *Bacillus* sp. MK3-1

LIU Yan-Jun ZHOU Jing-Xiao WANG Ge-Jiao\*

(State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

**Abstract:** Manganese-oxidizing microorganisms are able to oxidize soluble Mn(II) into insoluble Mn oxides. Such microorganisms are very useful in treatment of Mn-contaminated water. In this research, a Mn(II)-oxidizing bacterium *Bacillus* sp. MK3-1 was isolated from Mn-contaminated soil. This bacterium has high MnCl<sub>2</sub> resistance with a MIC of 20 mmol/L. The results showed that it is able to oxidize and remove more than 96% of Mn(II) in the culture medium. The immobilized solid-embedding *Bacillus* sp. MK3-1 can removed 87.12% of manganese contaminated water. The final concentration of MnCl<sub>2</sub> after the treatment reached the national discharge standard level. Scan electron microscope observation showed that the produced Mn oxides located on the cell surfaces of *Bacillus* sp. MK3-1. Energy dispersive spectrometer analysis indicated that the content of manganese of cell surfaces of *Bacillus* sp. MK3-1 was 19.60% (W/W). At last we amplified a 903 bp multicopper oxidase gene *mnxG* encoding the putative Mn(II)-oxidizing protein.

The product of *mnxG* showed 86% identity to the reported multicopper oxidase.

**Keywords:** Manganese-oxidizing bacteria, *Bacillus*, Mn(II)-oxidation, Mn removal, Embedding, Scan electron microscope

锰在地壳金属含量中排第 15 位, 是机体必需微量元素之一, 但过量摄入会对机体造成危害。我国生活饮用水卫生标准规定锰含量不超过 0.1 mg/L, 国家最低排放标准为 2 mg/L。而作为饮用水主要来源的地下水中常含有过量的锰, 主要以 Mn( ) 形式存在。长期饮用锰含量过高的水对人体健康不利<sup>[1]</sup>。因此对锰污染水资源进行净化是非常必要的。目前锰的治理常采用生物除锰法, 其机理是借助锰氧化菌先把 Mn( ) 氧化成不溶的锰氧化物沉淀, 经过滤得以去除。它以高效率、低成本和较强的专一性而被广泛应用。

锰氧化菌在环境中分布十分广泛, 普遍存在于海水、淡水、土壤和各种沉积物中<sup>[2]</sup>。目前初步认为微生物氧化锰主要是多铜氧化酶(MOCS)的催化作用。MOCS是一个结构功能各异的蛋白质家族, 以铜离子作为辅因子, 能够氧化多种有机、无机底物。*MnxG*, 是多铜氧化酶家族成员之一, 介导锰氧化, 该基因是芽胞杆菌属锰氧化菌的一个很好的分子标志。很多学者已证明 *mnxG* 在芽胞杆菌属中有着与 16S rDNA 一样的进化意义<sup>[3]</sup>。

在环境微生物学研究中, 锰氧化菌和锰氧化菌的固定化具有很大的应用前景。目前在国外, 生物锰氧化的研究主要集中在高效锰氧化菌的筛选、生理生化研究以及简单的分子机理研究上。而在国内主要集中在锰氧化去除的条件以及应用方面的研究, 对锰氧化菌的分离和锰氧化机理研究相对较少。本文旨在研究锰氧化菌的氧化机理和氧化能力, 一方面让我们更好地了解、认识、利用锰氧化菌, 使其为我们服务, 另一方面, 为锰污染的治理提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集与分析

土样于 2007 年 6 月下旬采集于天津市西青区玛钢厂锰原料仓库。样品为表层至 10 cm 深度的土壤, 土样过 2 mm 孔径筛子。分别测定土样 pH 值<sup>[4]</sup>、湿度<sup>[5]</sup>和锰含量<sup>[6]</sup>。

### 1.2 锰氧化菌的分离、鉴定及其系统进化分析

取 100 g 的土样用 MnCl<sub>2</sub> 将锰终浓度调至 989.55

mg/kg, 于 28°C 静置培养 1 周。取 10 g 富集后的土样装入含有 90 mL 无菌生理盐水的三角瓶中, 置 28°C 摇床中振荡 30 min, 梯度稀释后涂布平板。用含 20 mmol/L HEPES(pH 7.5)和 0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub>的 K 培养基<sup>[7]</sup>, 28°C 温箱培养 1 周。菌落表面若成棕褐色, 且经盐酸羟胺处理后菌落颜色消失。表明该菌是锰氧化菌, 将菌株经多次划线得到单菌落。

对分离的锰氧化菌进行 16S rDNA 进化分析, PCR 引物为 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>[8]</sup>。PCR 反应程序为: 94°C 5 min; 94°C 1 min, 49°C 1 min, 72°C 2 min, 35 个循环; 72°C 10 min。PCR 产物纯化后送交北京三博远志公司测序。

测序得到的 16S rDNA 序列通过 Blastn 程序与 GenBank 文库中已有序列进行比对 (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast), 用 Clustal W 软件进行同源性分析, 再用 MEGA 3.1 (http://www.megasoftware.net) 构建系统发育树。

### 1.3 锰氧化菌锰抗性及生理生化分析

用含不同浓度 MnCl<sub>2</sub> 的 K 培养基对锰氧化菌的最低抑制浓度(MIC)进行测定。MnCl<sub>2</sub> 浓度为 0~30.0 mmol/L, 每 0.5 mmol/L 一个梯度, 分别接种后于 28°C、150 r/min 摇床培养, 72 h 后用分光光度法测定细胞密度(*OD*<sub>600</sub>)。生理生化实验方法参照文献<sup>[9]</sup>。

### 1.4 锰氧化菌除锰能力测定

准备 MnCl<sub>2</sub> 浓度分别为 0 和 0.15 mmol/L 的 K 培养基各 3 瓶, 接种后 28°C、150 r/min 摇床培养。样品处理步骤如下: 每隔 24 h 取 10 mL 菌液, 12000 r/min 离心 10 min, 上清液用 0.2 μm 的滤膜过滤, 滤液中的 Mn(II) 为培养基中剩余的锰; 离心后菌体用 40 mmol/L 的 CuCl<sub>2</sub> 处理 10 h 以上, 待 Cu<sup>2+</sup> 彻底置换菌液中吸附的 Mn<sup>2+</sup> 后, 定容到 10 mL, 12000 r/min 离心 10 min, 将上清用 0.2 μm 的滤膜过滤, 该滤液中的 Mn(II) 为被吸附的锰; 离心后沉淀用 20 mmol/L 的盐酸羟胺处理 10 h 以上, 盐酸羟胺将锰氧化物中的锰还原成 Mn<sup>2+</sup>, 定容到 10 mL 后 12000 r/min 离心 10 min, 将上清用 0.2 μm 的滤膜过滤, 此时滤液中的 Mn( ) 是锰氧化物中的锰; 原子吸收

法测定各滤液中锰含量。

### 1.5 包埋菌剂除锰能力测定

包埋菌剂除锰能力测定操作步骤: 1) 麸皮预处理: 麸皮烘干后按与水 1:1(W/V)混合, 灭菌; 2) 菌体按 10%接种量接到麸皮中(即 10 g 干麸皮接 1 mL, 1 OD 的菌液), 28°C 静置培养 24 h, 50°C 低温干燥得到固体菌剂; 3) 用聚丙烯(PP)无纺布制成 10 cm × 20 cm 的长方形包埋袋, 按实际需要装入固体菌剂, 制成包埋菌剂; 4) 包埋菌剂置 20 cm × 25 cm × 30 cm 规格的玻璃缸中, 缸内为 10 L、0.15 mmol/L 的 MnCl<sub>2</sub> 水溶液, 实验在 28°C 恒温室中进行; 5) 每隔 24 h 取 1 次水样, 测定锰含量、pH 和菌含量。

### 1.6 扫描电子显微镜观察和能谱分析

准备两瓶 MnCl<sub>2</sub> 浓度分别为 0 mmol/L 和 0.15 mmol/L 的 K 培养基, 接种后 28°C、150 r/min 摇床培养 4 d, 培养液离心收集菌体。菌体在进行电镜扫描分析前要经过预处理, 其步骤为: 1) 清洗, pH 7.2 磷酸盐缓冲液; 2) 固定, 2.5%戊二醛 4°C 固定 24 h; 3) 脱水, 乙醇系列(30%-50%-70%-85%-95%-100%)逐级脱水, 每级 2 次, 每次 15 min; 4) 中间液代换, 醋酸异戊酯: 乙醇为 1:1 的混合液浸泡 10 min 后再用醋酸异戊酯浸泡 10 min, 适当摇动; 5) 干燥, 真空冷冻干燥机干燥过夜; 6) 离子溅射仪镀膜。处理后的菌体用 JSM-6390/LV 扫描电子显微镜进行电镜观察和能谱分析(参数为 20 kV, 电子束流 1 nA)。

### 1.7 锰氧化菌多铜氧化酶基因 *mnxG* 的扩增

提取细菌总 DNA, 方法参照文献[10], 以总 DNA 为模板进行 PCR 扩增。MnxG 的扩增引物为: mnxGIF (5'-ACGCATGTCTTTCACACTATCATGTTCA T-3') 和 mnxGIR (5'-AAATAAGTGGTCATGGAAGAACCATGC-3')[11], PCR 反应程序为: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 53°C 30 s, 60°C 1 min, 30 个循环。PCR 产物纯化后与 pGEM-T 载体(Promega, USA)连接, 电转化 *E. coli* DH5α, 恢复培养后涂布含 100 μg/mL Amp, 50 μg/mL X-Gal 和 100 μg/mL IPTG 的 LB 平板, 37°C 培养 16 h。挑选阳性克隆送交北京三博远志公司测序。多铜氧化酶基因 *mnxG* 系统发育树的构建方法与 16S rDNA 的一致。

## 2 结果

### 2.1 锰氧化菌 MK3-1 的分离、鉴定及锰抗性

实验测定土样锰含量相对较高, 为 0.89 g/kg,

湿度为 30.23%, pH 为 7.19。通过富集从土样中分离到一株锰氧化菌 MK3-1, 该菌在不含 MnCl<sub>2</sub> 的 K 固体培养基上, 菌落成圆形, 乳白色, 凸起, 表面湿润, 边缘不整齐。在含 0.15 mmol/L 的 MnCl<sub>2</sub> K 培养基上, 菌落表面为棕褐色, 棕褐色为菌体生成的锰氧化物的颜色。见图 1。

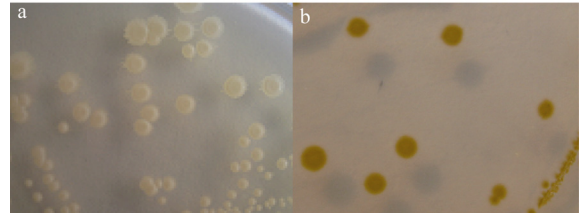


图 1 MK3-1 的菌落形态

Fig. 1 The colony morphology of strain MK3-1:

注: a: 在 K 培养基上; b: 在含 0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub> 的 K 培养基上。

Note: a: On K medium; b: On K medium containing 0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub>.

通过近全长 16S rRNA 基因鉴定, MK3-1 与 *Bacillus* sp. PL-26(AF326369) 有 98% 的同源性, 该菌有锰氧化特性。以 16S rDNA 序列为基础构建系统发育树, 如图 2, 参考序列来自 9 株锰氧化菌。通过形态, 生理生化(见表 1)和 16S rRNA 基因等鉴定, 该菌被命名为 *Bacillus* sp. MK3-1, 在 GenBank 上注册为 FJ389509。通过锰抗性培养实验, 测得 MK3-1 的 MIC 为 20 mmol/L, 具有较高的锰抗性。

### 2.2 *Bacillus* sp. MK3-1 除锰能力

图 3 显示了 *Bacillus* sp. MK3-1 在培养基中的除锰能力。该菌锰氧化在第 1 天就开始, 67.53%±2.04% 的锰在第 4 天被去除, 其中 50.51%±1.67% 生成了锰氧化物。在第 7 天时, 除锰量达到最大值, 去除了培养基中 96.80%±2.64% 的锰, 其中 77.56%±2.64% 是锰氧化物, 培养基中锰的终浓度为 0.48 mg/L±0.02 mg/L, 已符合国家排放标准。而空白实验中, 培养基中锰含量没有明显变化, 说明该实验锰氧化是微生物作用的结果。

图 4 中可以看出 *Bacillus* sp. MK3-1 用含麸皮的 PP 无纺布包埋制成的包埋菌剂, 在 0.15 mmol/L 的 MnCl<sub>2</sub> 水溶液中除锰能力依然稳定, 且除锰速度随着细菌量的增加而加快。在第 4 天去除量达到峰值, 84.80%±0.31% 的锰被去除。使水溶液的锰终浓度为 0.87 mg/L±0.02 mg/L, 已符合国家一级排放标准。

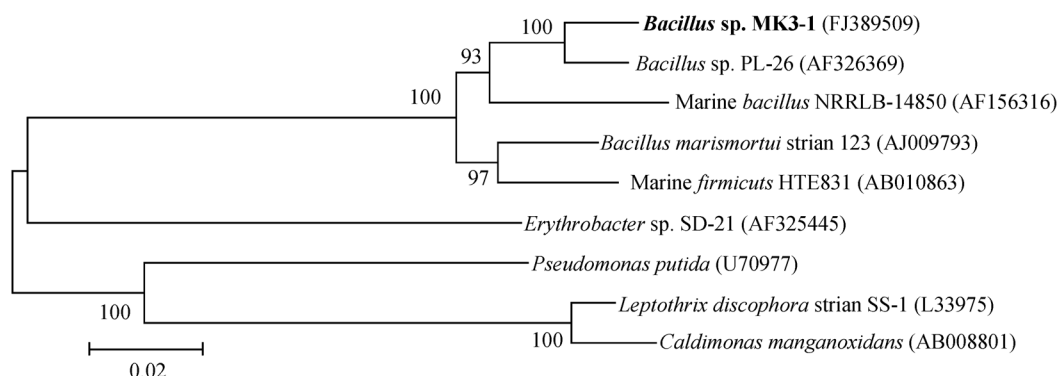


图 2 菌株 *Bacillus sp.* MK3-1 16S rDNA 系统发育树 (括号内为序列 GenBank 登录号)

Fig. 2 16S rDNA phylogenetic tree of *Bacillus sp.* MK3-1 (Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank)

注: 分支旁的数字为 bootstrap 1000 次的置信度(%); 标尺表示 2% 的核苷酸序列差异。

Note: Numbers near the branches are bootstrap probability values (%) with 1000 replicates; Scale bar represents 2% difference in nucleotide sequences.

表 1 菌株 MK3-1 的生理生化特性  
Table 1 Biophysical and biochemical characteristics of strain MK3-1

试验项目 Test items	结果 Results	试验项目 Test items	结果 Results	试验项目 Test items	结果 Results
麦芽糖 Maltose	+	阿拉伯糖 Pectinose	-	L-酪氨酸 L-tyrosine	+
D-半乳糖 D-galactopyranoside	+	棉籽糖 Raffinose	+	L-精氨酸 L-arginine	-
山梨糖 Sorbose	-	丙三醇 Glycerol	+	亚硝酸钠 Sodium nitrite	-
蔗糖 Sucrose	+	肌醇 Inositol	-	硝酸钾 Potassium nitrate	+
D-果糖 D-fructose	+	甲醇 Methanol	-	氯化铵 Ammonium chloride	+
鼠李糖 Rhamnose	+	甘露醇 Mannitol	+	V.P.测定 V-P test	-
海藻糖 Trehalose	-	乙醇 Ethanol	+	甲基红试验 Methyl red	+
D <sub>(+)</sub> -木糖 D-xylose	-	山梨醇 Sorbitol	+	淀粉水解 Starch hydrolysis	-
葡萄糖 Glucose	+	葡萄糖酸 Gluconate	-	明胶液化 Gelatin liquefaction	+
乳糖 Lactose	+	肌酸 Creatine	-	产氨试验 Ammonia producing test	-
松三糖 Melezitose	+	柠檬酸 Citric acid	-	硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
树胶醛糖 Arabinose	+	甘氨酸 Glycine	-	马尿酸 Hippuric acid	-

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应。

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

### 2.3 *Bacillus sp.* MK3-1 的电镜分析及能谱扫描

对 *Bacillus sp.* MK3-1 正常生长细胞和发生锰氧化后细胞的表面形态进行扫描电镜观察。从图 5 的电镜照片可以清楚观察到细胞表面的明显变化。图 5 中 a 为 *Bacillus sp.* MK3-1 在 0 mmol/L 的  $MnCl_2 \cdot K$  培养基中的细胞扫描电镜图: 细胞椭圆形, 长约 1.94  $\mu m$ , 宽约 1.29  $\mu m$ 。图 5 中 b 为锰氧化后的细胞扫描电镜图, *Bacillus sp.* MK3-1 生成的锰氧化物无固定形态, 较均匀的吸附在细胞表面, 成近蜂窝状。通过能谱分析测得细胞表面锰的含量为 19.60%±

2.97% (W/W)。

### 2.4 多铜氧化酶基因的扩增

用 *mnxG* 的简并引物扩增出一段 903 bp 的基因, 在 GenBank 上注册为 FJ389508, 与 Francis<sup>[11]</sup> 等人报道的 *Bacillus sp.* GB02-16 的 *MnxG* 有 86% 的氨基酸同源性。以 *mnxG* 序列同源性为基础, 构建 9 株锰氧化芽胞杆菌属内系统发育树, 见图 6。因锰氧化芽胞杆菌中的 *MnxG* 与 16S rDNA 有相似的进化意义, 所以该图反映了 *Bacillus sp.* MK3-1 在芽胞杆菌中更细致的进化地位, 特别是与锰氧化芽胞杆菌的亲缘关系。

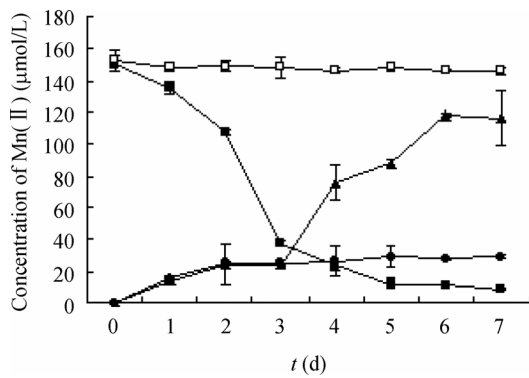


图3 *Bacillus* sp. MK3-1 在 K 培养基中对 Mn(II)的氧化/去除曲线

Fig. 3 Mn(II) oxidation and removal curve of *Bacillus* sp. MK3-1 in K medium

注: —■—: 培养基中剩余的Mn( )含量; —●—: 培养基中被吸附的Mn(II)含量; —▲—: 锰氧化物中的Mn( )含量; —□—: 空白(未接菌的 0.15 mmol/L的MnCl<sub>2</sub> K培养基).

Note: —■—: Remained MnCl<sub>2</sub> in the K medium; —●—: Adsorption of MnCl<sub>2</sub> in the K medium; —▲—: Manganese oxides of Mn(II); —□—: Blank (K medium containing 0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub> without bacterial inoculation).

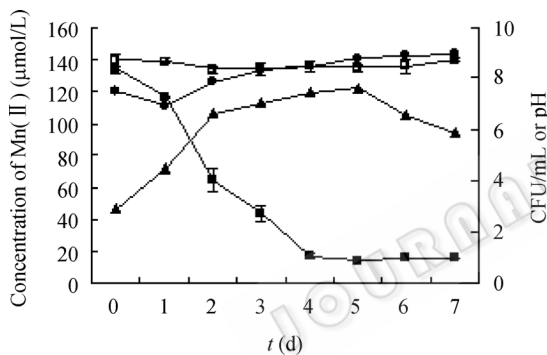


图4 制成包埋菌剂的*Bacillus* sp. MK3-1在 0.15 mmol/L的MnCl<sub>2</sub>水溶液中Mn(II)的氧化/去除曲线

Fig. 4 Oxidation and removal curve of the immobilized solid-embedding *Bacillus* sp. MK3-1 in manganese containing water

注: —▲—: MK3-1的菌体浓度; —■—: 0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub>水溶液中剩余的Mn(II)的浓度; —●—: pH; —□—: 空白(未接菌的 0.15 mmol/L的MnCl<sub>2</sub>水溶液).

Note: —▲—: Concentration of MK3-1; —■—: Remained MnCl<sub>2</sub> in manganese containing water; —●—: pH; —□—: Blank (0.15 mmol/L MnCl<sub>2</sub> solution without bacterial inoculation).

### 3 讨论

本研究对一株锰氧化菌从分离、鉴定、锰氧化特性、分子机理研究、固定化到实际应用等进行了系统性研究。经过含锰 K 培养基筛选分离到锰氧化菌 *Bacillus* sp. MK3-1, 该菌对锰的抗性很高, 能将

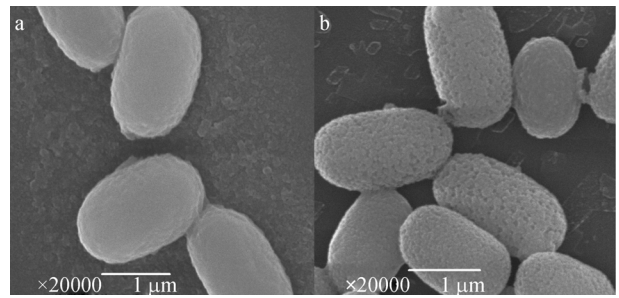


图5 扫描电镜照片

Fig. 5 Scanning electron microscope images of cells of *Bacillus* sp. MK3-1

注 a: *Bacillus* sp. MK3-1 细胞; b: 吸附着生物锰氧化物的 *Bacillus* sp. MK3-1 细胞.

Note: a: Cells of *Bacillus* sp. MK3-1; b: Cells of MK3-1 with the surrounded biogenic Mn oxides locating on the cell surfaces.

Mn( )氧化成锰氧化物。MK3-1 高效稳定的锰氧化能力使其在污水处理上具有较高的应用价值, 希望通过该研究对锰污染环境的治理和修复起到实际作用。

本实验把菌体包埋在含麸皮的 PP 无纺布袋中, 制成包埋菌剂。固定的菌体锰氧化能力稳定, 能有效去除水溶液中锰, 使其终浓度符合国家锰排放标准。这表明包埋后的菌体锰氧化能力稳定。此外, 该方法不仅有效地固定菌体, 并且固体菌剂中麸皮残余有机质可以使菌体在投入水体后仍能增殖, 因而这种包埋法可以节省菌剂使用量。研究中选用的 PP 无纺布, 取材容易, 成本低, 制作简单, 因此这种包埋技术可能将得到很好的推广。

很多研究表明芽胞杆菌锰氧化是芽胞表面多铜氧化酶催化的<sup>[12]</sup>。本实验分离的锰氧化菌MK3-1 经 16S rRNA基因等鉴定为芽胞杆菌, 实验检测生成的锰氧化物分布在细菌表面且含量较高, 推测该菌锰氧化物的产生和运输机理很可能与已报道的不同。

目前生物锰氧化研究之所以成为环境治理的研究热点, 是因为在去除环境中锰污染的同时, 生成的生物锰氧化物对其他重金属(如Zn、Ni、Cu、Co、Cd、Cr等)具有很强吸附、置换和沉淀作用, 甚至还可以将毒性强的As( )氧化成毒性弱的As(V)后吸附去除[因为As( )不带电荷, As(V)带负电]<sup>[13]</sup>。因此, 生物锰氧化在水、土壤重金属污染的治理和修复中具有很高的应用价值。本研究分离的锰氧化菌 MK3-1 具有潜在的去其它重金属的能力。

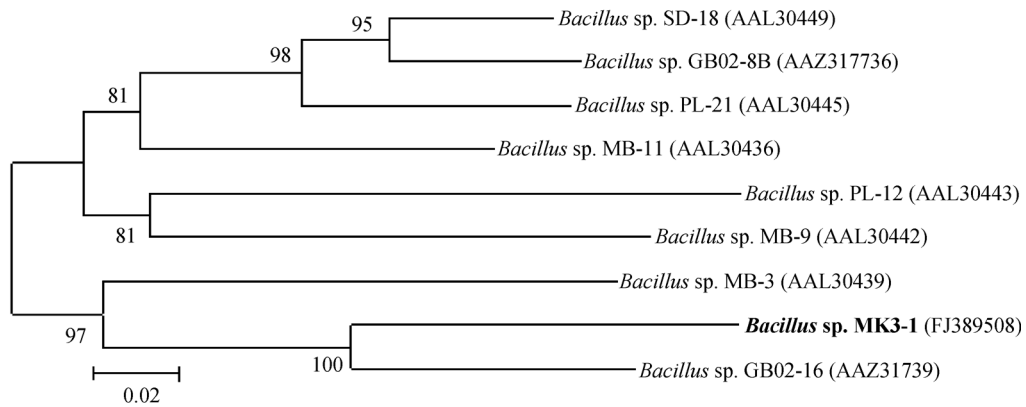


图6 菌株 *Bacillus* sp. MK3-1 MnxG 系统发育树(括号内为序列 GenBank 登录号)  
Fig. 6 MnxG phylogenetic tree of *Bacillus* sp. MK3-1 (Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank)

注:分支旁的数字为 bootstrap 1000 次的置信度(%);标尺表示 2%的核苷酸序列差异。

Note: Numbers near the branches are bootstrap probability values (%) with 1000 replicates; Scale bar represents 2% difference in nucleotide sequence.

## 参考文献

- [1] 叶伟. 环境中锰污染对居民健康的影响. 环境与健康杂志, 1989, 6(4): 43-46.
- [2] Tebo BM, Johnson HA, McCarthy JK, et al. Geomicrobiology of manganese( ) oxidation. *Trends Microbiol*, 2005, 13(9): 421-428.
- [3] Francis CA, Tebo BM. *CumA* multicopper oxidase genes from diverse Mn( )-oxidizing and non-Mn(II)-oxidizing *Pseudomonas* strains. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(9): 4272-4278.
- [4] 李强, 赵秀兰, 胡彩荣. ISO10390: 2005 土壤质量 pH 的测定. 污染防治技术, 2006, 1: 53-55.
- [5] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000, pp.122-241.
- [6] 杨艳芳, 刘凤枝, 蔡彦明. 土壤样品的王水回流消解重金属测定方法的研究. 监测分析, 2005, 4(2): 44-45.
- [7] van Waasbergen LG, Hoch JA, Tebo BM. Genetic analysis of the marine manganese-oxidizing *Bacillus* sp. strain SG-1: protoplast transformation, Tn917 mutagenesis, and identification of chromosomal loci involved in manganese oxidation. *J Bacteriol*, 1993, 175(23): 7594-7603.
- [8] 何敏艳, 邹正中, 蔡林, 等. 连云港台北和盐城三圩盐田土壤嗜盐菌多样性研究. 微生物学通报, 35(5): 737-742.
- [9] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验. 北京: 科学出版社, 1999, pp.141-158.
- [10] Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [11] Francis CA, Tebo BM. Enzymatic manganese( ) oxidation by metabolically dormant spores of diverse *Bacillus* species. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(2): 874-880.
- [12] Rosson RA, Neelson KH. Manganese binding and oxidation by spores of a marine *Bacillus*. *J Bacteriol*, 1982, 151(2): 1027-1034.
- [13] Tebo BM, Bargar JR, Clement BG, et al. Biogenic manganese oxides: properties and mechanisms of formation. *Annu Rev Earth Planet Sci*, 2004, 32: 287-328.

## 栏目介绍

### 显微世界

“显微世界”栏目将刊出一些精美清晰的显微照片,带您走进显微镜下的微生物世界,希望在阅读期刊相关科学新进展的同时,给您带来一种愉悦的科学艺术视觉享受。同时欢迎广大作者、读者朋友积极为我们推荐或提供高质量、高清晰的显微照片(提供者保证该图片无任何知识产权问题)。