

硫代硫酸盐氧化菌 TX 的分离、鉴定 及其生物学特性

林栋青 张彦科 顾向阳*

(南京农业大学生命科学学院 农业部农业环境微生物工程重点开放实验室 江苏 南京 210095)

摘要: 从聚硫橡胶废水处理系统中分离到一株硫代硫酸盐氧化细菌 TX。根据其形态学特征、生理特征和 16S rRNA 基因序列相似性分析, 将该菌株初步鉴定为盐生硫杆菌属(*Halothiobacillus* sp.) (GenBank 登录号为 EU871645)。该菌株能利用硫代硫酸盐、单质硫、连四硫酸盐、硫化物或亚硫酸盐为唯一能源进行自养生长, 不能利用葡萄糖、蔗糖、果糖、乳糖、麦芽糖或酵母粉进行异养生长, 为专性化能无机自养型硫杆菌。在以硫代硫酸钠为唯一能源的培养基中其最适生长温度为 30°C~35°C, 最适起始 pH 值为 3.0~5.0。在矿物盐培养基中, 硫代硫酸盐最终被氧化成硫酸, 造成培养基 pH 持续下降。在摇瓶分批培养和硫胶废水处理过程中均检测到连四硫酸盐的积累, 表明该菌株主要通过连四硫酸盐途径或“S4I”途径进行硫代硫酸盐的生物氧化。

关键词: 聚硫橡胶, 废水处理, 盐生硫杆菌属, 硫代硫酸盐, 生物氧化, “S4I”途径

Isolation, Identification and Characterization of Thiosulfate-oxidizing Bacterium TX

LIN Dong-Qing ZHANG Yan-Ke GU Xiang-Yang*

(Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: A thiosulfate-oxidizing bacterium TX was isolated from polysulfide wastewater treatment system. It was preliminarily identified as *Halothiobacillus* sp. according to its morphological, physiological properties and similarity analysis of 16S rRNA gene sequence (GenBank accession No. EU871645). This bacterium was an obligate chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacterium since it could utilize thiosulfate, elemental sulfur, tetrathionate, sulfide or sulfite as sole energy source but did not show growth on the medium with glucose, sucrose, fructose, lactose, mannose or yeast extract as sole carbon source. The optimal growth condition for thiosulfate oxidation was 30°C~35°C and pH 3.0~5.0 respectively. Significant reduction in medium pH from 4.0 to 1.2 was observed due to oxidation of thiosulfate to sulfate during the batch culture incubation period. During the course of thiosulfate oxidation accumulation of tetrathionate was observed either in synthetic medium or in the mixed liquor from aeration tank of the polysulfide wastewater treatment system. This indicates that the “S4 intermediate (S4I)” pathway was responsible for thiosulfate

基金项目: 国家自然科学基金(No. 50778089)

* 通讯作者: Tel: 86-25-84396348; Fax: 86-25-84396434; E-mail: gxy@njau.edu.cn

收稿日期: 2009-04-22; 接受日期: 2009-07-09

oxidation in this bacterium.

Keywords: Polysulfide rubber, Wastewater treatment, *Halothiobacillus*, Thiosulfate, Biooxidation, S4I pathway

液态聚硫橡胶是一种重要的特种合成橡胶品种, 由于其具有耐油、耐溶剂、耐老化的特性, 并且气密性、水密性、低温屈挠性优异, 因而在航空、航天、建筑、水利、船舶、机械和石油化工等行业都得到广泛应用^[1,2]。工业上液态聚硫橡胶以二氯乙基缩甲醛与多硫化钠缩聚生成, 在生产过程中产生大量工艺废水, 其主要成分为 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、 NaCl 、 Na_2SO_4 及少量的乙酸和环硫醚类化合物^[3,4]。硫胶废水是一种含有多种无机盐组分的含硫废水, 化学需氧量高, 直接排放必然造成严重的环境污染。

目前含硫废水的处理方法主要有化学氧化和生物氧化, 其中化学氧化法已广泛应用于各种含硫废水的处理, 但运行成本较高, 因此开发经济有效的生物氧化工艺越来越受到国内外重视^[5,6]。生物氧化法用于含 H_2S 废水处理已有众多文献报道^[6-11], 研究表明参与硫化物生物氧化的微生物有光能自养型和化能自养型硫杆菌两类, 一般来说化能自养型硫杆菌具有更高的氧化效率^[8]。国内外关于含 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 废水生物处理的文献较少^[4,12,13]。最近本课题组将生物氧化法成功应用于硫胶废水处理工程, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 氧化率达 100%, 出水水质达国家三级排放标准。本研究目的是在分离硫代硫酸盐氧化菌的基础上, 进一步研究其生物学特性和氧化作用的条件, 以期对硫胶废水生物处理工程的运行提供技术依据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 基础盐溶液与培养基

基础盐溶液 (g/L): NaCl 1.0, NH_4Cl 0.25, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25, K_2HPO_4 0.25, pH 4.0。液体培养基: 基础盐溶液加入 8.4 g/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 过滤除菌。固体培养基: 液体培养基加 2% 琼脂, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 过滤除菌, 临用前加入)。种子培养基: 基础盐溶液加入 1% 硫粉, 0.04×10^5 Pa 灭菌 30 min。

1.2 硫胶废水处理系统中优势硫杆菌的分离

菌种分离自江苏某外资企业废水处理系统。该企业采用生物氧化工艺处理硫胶废水, 在废水处理过程中硫代硫酸盐氧化产生大量硫酸导致曝气池混

合液持续酸化, 需要消耗大量 NaOH 维持混合液 pH 值稳定。为了便于 pH 调节以维持系统稳定运行, 生化池分隔为 3 个曝气池串联运行, 每个曝气池分别进行 pH 调节控制。从稳定运行 6 个月的生化池中采取混合液装入无菌采样瓶中, 经常规系列稀释后, 取 0.1 mL 稀释液涂布于固体培养基上, 于 30°C 恒温培养, 待菌落长出以后, 挑取单菌落, 反复划线纯化后, 保存于固体斜面。

1.3 菌株活化与种子液的制备

将斜面菌种接种于盛有 100 mL 种子培养基的三角瓶中, 置 30°C、170 r/min 摇床培养, 待培养基 pH 下降到 1.0 左右, 按 10%(V/V) 接种量转接到新鲜的种子培养基中继续活化 3 次, 将活化的菌液于 1500 r/min 低速离心 5 min 沉淀未氧化的硫粒, 菌液部分转入无菌离心管中, 6000 r/min 离心 10 min 沉淀菌体, 倾去上清液, 用等体积无菌水重新悬浮, 同样条件下离心洗涤 2 次, 最后用等体积 pH 中性基础盐溶液悬浮备用。

1.4 菌种形态观察

吸取少量活化的菌液制成水装片, 通过相差显微镜直接观察细胞的游动性。细菌革兰氏染色反应按照标准方法进行^[14]。通过扫描电镜观察细菌的细胞形态并测定细胞大小, 细胞的长度和宽度以 10 个细胞的平均值表示^[15]。

1.5 菌株生理特征测定

能源或电子供体的利用通过摇瓶实验确定。在 250 mL 三角瓶中加入 100 mL 基础盐溶液和相应能源物质, 然后按 10%(V/V) 接种量接入种子液, 于 30°C、170 r/min 摇床培养 7 d, 观察菌株生长情况, 并同未接种液体培养液比较。供试的无机电子供体包括硫代硫酸钠(3 g/L)、连四硫酸钠(3 g/L)、硫化钠(1 g/L)、亚硫酸钠(1 g/L)、硫粉(10 g/L)和七水合硫酸亚铁(10 g/L); 有机电子供体包括葡萄糖(1 g/L)、蔗糖(1 g/L)、果糖(1 g/L)、麦芽糖(1 g/L)、乳糖(1 g/L)和酵母粉(1 g/L)。

1.6 16S rRNA 基因扩增与序列分析

用无菌牙签从平板上挑取少量幼嫩菌体直接进行 16S rDNA 扩增, PCR 扩增正向引物为

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3', 反向引物为 5'-GGGCGGWTGTACAAGGC-3'^[16]。扩增体系组成为: 无菌水 34 μL , 10 \times PCR buffer 5 μL , 10 \times dNTPs 5 μL , 引物各 2 μL , *Taq* DNA 聚合酶 2 μL 。扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 52 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 20 min。扩增产物送上海英俊生物技术有限公司测序, 测定所得序列提交到 GenBank, 采用 Mega 3.1 软件同数据库中已有的 16S rDNA 序列进行相似性比较, 并构建系统发育树。

1.7 分离菌株对硫代硫酸盐氧化条件测定

1.7.1 温度对分离菌株氧化硫代硫酸盐的影响: 取 5 组 250 mL 三角瓶, 加入 90 mL 液体培养基, 然后接入 10 mL 种子液, 分别置于 20 $^{\circ}\text{C}$ 、25 $^{\circ}\text{C}$ 、30 $^{\circ}\text{C}$ 、35 $^{\circ}\text{C}$ 和 40 $^{\circ}\text{C}$ 摇床培养, 转速均为 170 r/min, 定期取样测定培养基中硫代硫酸盐浓度及 pH 变化。

1.7.2 初始 pH 对分离菌株氧化硫代硫酸盐的影响: 将 7 组基础盐溶液的初始 pH 分别调至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0, 加入 8.4 g/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (过滤除菌), 接入 10%(V/V) 种子液, 于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 r/min 摇床培养, 定期取样测定培养基中硫代硫酸盐浓度及 pH 变化。

1.7.3 盐分对分离菌株氧化硫代硫酸盐的影响: 在 5 组液体培养基中加入适量 NaCl, 使其终浓度分别为 5 g/L、15 g/L、30 g/L、45 g/L 和 60 g/L, 以未添加 NaCl 的液体培养基为对照, 接入 10%(V/V) 种子液, 于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 r/min 摇床培养, 定期取样测定培养基中硫代硫酸盐浓度及 pH 变化。

1.8 硫代硫酸盐氧化过程中中间代谢物分析

在盛有 90 mL 液体培养基的三角瓶中, 接入 10 mL 种子液, 置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 r/min 摇床培养。在培养过程中每 8 h 取样 1 次, 分析培养基中硫代硫酸盐及各种中间代谢物的浓度, 其中硫代硫酸盐浓度采用碘量法测定^[17], 硫酸根浓度采用铬酸钡光度法测定^[18], 连四硫酸根浓度采用硫酸联苯胺法测定^[19], 单质硫采用分光光度法测定^[20]。

2 结果与分析

2.1 硫胶废水处理系统中优势硫杆菌的分离及其形态特征

硫胶废水处理的相关报道极少, 目前仅杨庆林研究了生物氧化法处理硫胶废水的可行性^[4], 但对其接种的菌种未有进一步研究。本研究平板计数结果显示, 硫胶废水处理曝气池混合液中硫代硫酸盐

氧化菌的总数达 6.1×10^7 CFU/mL, 从涂布平板上观察, 形成的菌落形态一致, 均为白色圆形菌落。随机挑出 10 个单菌落, 接入矿物盐硫代硫酸盐培养液中培养, 发现均具备氧化硫代硫酸盐并导致培养基酸化的能力, 表现出无色硫杆菌的典型特征^[21]。由于各菌株在菌落形态、细胞形态和生理功能上无明显差异, 可以判定上述分离菌株为同一菌属。上述结果说明硫胶废水处理系统中微生物种群结构十分单一。究其原因可能同进水水质成份和反应器的运行条件有关: 硫胶废水中的污染物主要是无机物硫代硫酸钠, 而有机质引起的 COD 仅占总 COD 的 10% 左右; 此外, 生物氧化引起的酸性环境 (pH 3~4) 也造成了选择压力。由此可见, 相对单一的菌群结构是单一底物和酸性环境下长期驯化的结果。

由于硫胶废水处理系统中细菌种类单一, 故随机挑出一株作为优势菌并记为 TX。菌株 TX 是革兰氏阴性短杆状细菌, 不产芽胞, 不游动, 菌体大小为 $(1.1 \pm 0.2) \mu\text{m} \times (0.4 \pm 0.1) \mu\text{m}$, 见图 1。菌落呈圆形, 直径约 1 mm, 中部突起。在固体培养基上初期菌落为乳白色, 随着培养时间的延长逐渐转变成浅黄色, 且平板上有明显的硫磺气味, 说明菌株 TX 在氧化硫代硫酸盐的过程中有元素硫的积累。

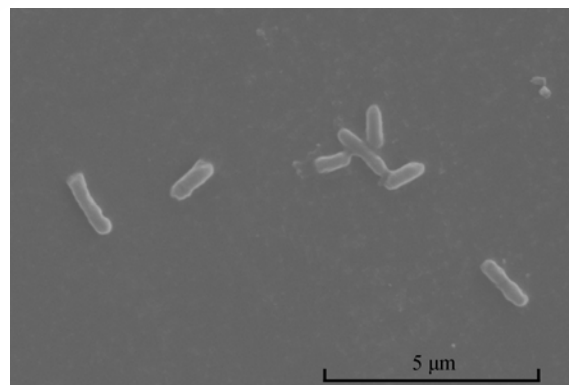


图 1 菌株 TX 的细胞形态

Fig. 1 Cellular morphology of strain TX

2.2 菌株 TX 对能源的利用情况

实验结果表明菌株 TX 可以利用硫代硫酸钠、连四硫酸钠、单质硫、硫化钠和亚硫酸钠等还原态硫化物为唯一能源生长, 但不能利用硫酸亚铁进行自养生长, 也不能利用葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖和酵母粉等有机物为唯一能源进行异养生长, 说明该菌株为化能无机自养型硫杆菌。

2.3 菌株 TX 的 16S rRNA 基因序列分析与菌种鉴定

将 TX 菌体直接加入 PCR 扩增体系, 以细菌 16S rRNA 基因通用引物进行 PCR 扩增并进行测序。测序后在 GenBank 中登录(登录号为 EU871645), 与 GenBank 中其他菌株的 16S rDNA 进行同源性比较, 并以 16S rDNA 序列同源性为基础构建系统发育树(图 2), 结果显示, 菌株 TX 与那不勒斯盐生硫杆菌的模式种 *Halothiobacillus neapolitanus* (AF173169) 的相

似度为 98.6%。目前普遍接受的聚类标准, 当一个分离菌株同参考菌株 16S rDNA 同源性大于 97% 时, 可归为相同的属, 因此根据上述 16S rDNA 序列同源性比对结果, 结合其形态特征和生理生化特征, 将菌株 TX 初步鉴定为盐生硫杆菌属(*Halothiobacillus* sp.)。迄今为止, 盐生硫杆菌属内公认的种仅有 4 个, 主要分离自酸性矿水、含盐环境、深海热液或含硫化物废水处理系统^[22,23]。本研究首次从硫胶废水处理系统中分离到该属细菌, 为该属增添了新的菌株。

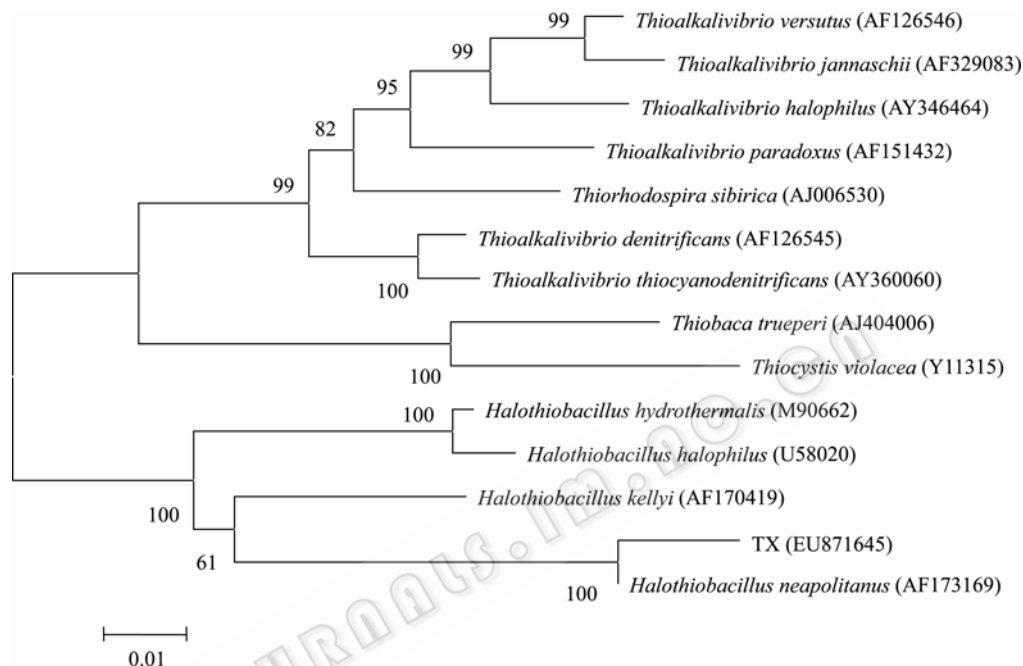


图 2 菌株 TX 基于 16S rRNA 基因序列同源性构建的系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain TX based on the 16S rRNA gene homology

2.4 温度对菌株 TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响

从图 3 可以看出, 菌株 TX 氧化硫代硫酸盐的最适温度为 30°C~35°C, 此时在硫代硫酸盐生物氧化开始前存在 1 d 的延滞期, 但在随后的 1 d 内底物可被完全氧化, 超出这一温度范围, 底物完全氧化所需的时间明显延长。例如当培养温度设在 20°C 和 25°C 时, 硫代硫酸盐完全氧化所需的时间为 7 d 和 3 d, 分别比最适温度下延长 5 d 和 1 d; 40°C 时该菌株对底物只有微弱的氧化作用, 整个培养期内总氧化率不到 9%。

盐生硫杆菌属的细菌均为专性化能无机自养型微生物, 能从还原态硫化物的生物氧化中获得细胞生长所需的能量, 终产物为硫酸, 因此常常导致其

生长环境的酸化。本研究也观察到了类似的结果, 从图 3 可以看出, 随着培养时间的延长, 培养基 pH 逐渐下降, 直至稳定在 1.2 左右。酸化曲线同硫代硫酸盐浓度曲线基本一致。此外, 在摇瓶培养过程中, 还观察到了大量硫粒的生成, 使液体培养基由无色变为浑浊, 但随着培养时间的延长, 硫粒逐渐消失, 显然这是硫粒被进一步氧化成硫酸的缘故。

2.5 初始 pH 对菌株 TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响

据报道, 盐生硫杆菌属的细菌能适应较宽的 pH 范围(3.5~8.5), 但其最适起始 pH 都在中性附近(6.5~7.5)^[22]。从图 4 可以看出, 菌株 TX 可以在 pH 3~7 的培养基中生长, 接近文献报道的结果, 但其

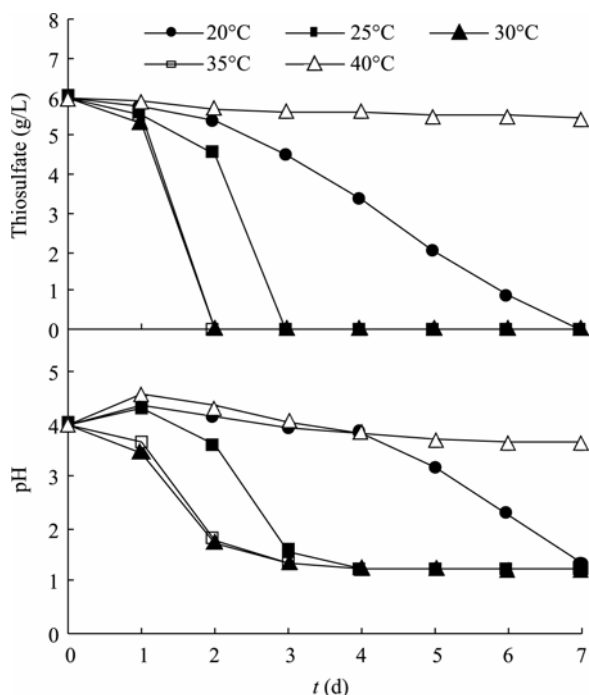


图3 培养温度对菌株TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响
Fig. 3 Effects of temperature on biooxidation of thiosulfate by strain TX

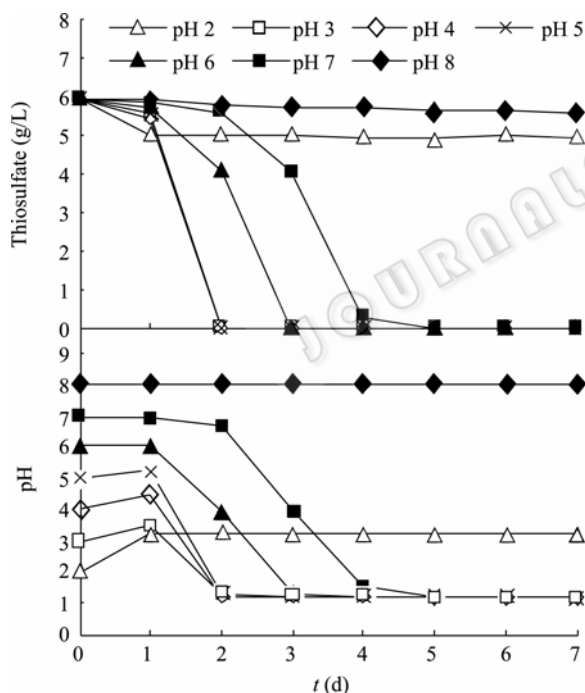


图4 起始 pH 对菌株TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响
Fig. 4 Effects of initial medium pH on biooxidation of thiosulfate by strain TX

最适起始 pH 处于酸性范围(pH 3~5), 其原因可能是长期适应酸性环境的结果。在最适 pH 范围内, 30°C 摇床培养 2 d 即可将培养基中的硫代硫酸盐完全氧

化, 当起始 pH 调至 6 和 7 时, 细菌生长的延滞期明显延长, 而硫代硫酸盐完全氧化所需的时间也分别延长至 4 d 和 6 d。当起始 pH 调至 8 时, 整个培养期内硫代硫酸盐浓度和 pH 值没有明显变化, 表明该菌株不能适应碱性的环境条件; 当起始 pH 调至 2 时, 除培养开始的 1 d 内硫代硫酸根浓度由 5.95 g/L 下降至 5 g/L 外, 随后底物浓度未见明显变化, 这个结果表明微生物生长已经受到不可逆的抑制, 而培养初期硫代硫酸盐的下降主要是由于硫代硫酸盐在酸性条件下化学降解的结果。不同起始 pH 条件下培养基 pH 值的变化同硫代硫酸盐浓度的变化基本一致, 唯一例外的是起始 pH 2 时培养基 pH 不仅没有下降反而略有上升, 随后一直维持至培养结束, 产生这一结果的原因是硫代硫酸盐在酸性条件下发生分解反应^[24], 消耗了培养基中的氢离子, 结果造成培养基 pH 不降反升的现象。从硫代硫酸盐的降解率来看, pH 2 时硫代硫酸盐的总降解率仅为 16.8%, 可见化学分解或化学转化对硫代硫酸盐降解的贡献率是很低的。硫胶废水生化处理曝气池混合液的 pH 一般控制在 3~6 之间, 由此可以推断在硫胶废水处理系统中硫代硫酸盐的降解主要是细菌生物氧化的结果。



2.6 盐分对菌株TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响

盐生硫杆菌属的一个显著特点是具有一定的耐盐性^[22], 本研究实验结果证实了这一结论。从图 5 可以看出, 当培养基中 NaCl 浓度 15 g/L 时, 盐分对硫代硫酸盐的氧化作用没有明显的影响。此时如果加上硫代硫酸盐引起的盐分, 培养基中的实际盐分含量达 23.4 g/L, 说明该菌株具有较强的耐盐性。当培养基中 NaCl 浓度升至 30 g/L~45 g/L 时产生显著的抑制作用, 细菌氧化活性低, 硫代硫酸盐降解缓慢, 具体表现为硫代硫酸盐浓度和培养基 pH 值缓慢下降, 至培养结束时硫代硫酸盐的氧化率不到 60%和 35%; 当 NaCl 浓度达 60 g/L 时, 在整个培养期内, 硫代硫酸盐的浓度没有明显变化, 说明菌株 TX 的活性已被完全抑制。硫胶废水原水总盐分含量达 34.8 g/L, 无法直接生化处理, 在实际工程运行时我们通过稀释进水调节盐分浓度, 有效避免了盐分引起的生物毒性。

2.7 菌株TX 氧化硫代硫酸盐的代谢途径分析

目前已知硫代硫酸盐的生物氧化途径有 2 条,

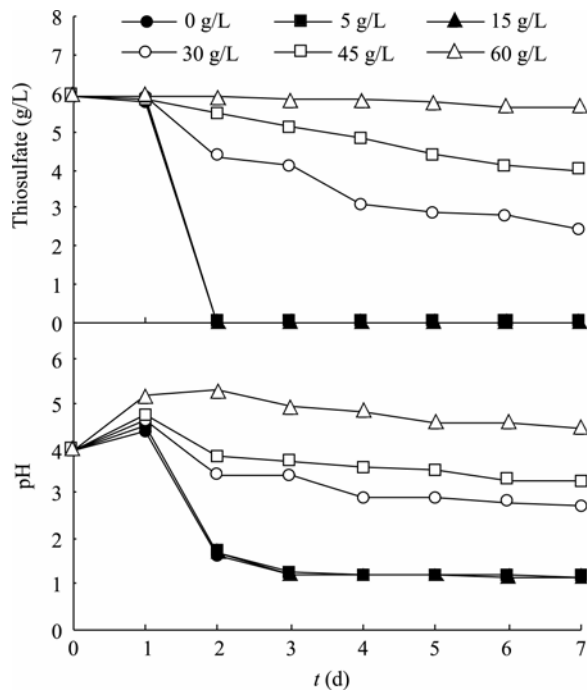


图 5 不同浓度 NaCl 对菌株 TX 硫代硫酸盐氧化作用的影响

Fig. 5 Effects of concentration of NaCl on biooxidation of thiosulfate by strain TX

一条称为连四硫酸盐途径(S4 intermediate pathway), 简称 S4I 途径, 存在于化能无机自养型硫杆菌中, 其特征是积累连四硫酸根和单质硫并最终氧化成硫酸; 另一条称为副球菌硫氧化途径(*Paracoccus sulfur* oxidation pathway), 简称 PSO 途径, 其特点是将硫代硫酸盐直接氧化成硫酸, 无中间代谢物积累^[25,26]。从图 6 可以看出, 菌株 TX 在氧化硫代硫酸盐的过程中先后出现连四硫酸根和少量单质硫的积累, 连四硫酸根浓度在 24 h 时达到峰值(2836 mg/L), 随后其浓度逐渐降低, 而硫酸根浓度逐渐上升, 说明连四硫酸盐被进一步氧化成硫酸盐。一般认为硫为硫代硫酸盐在酸性条件下化学分解的产物, 可以被硫细菌进一步氧化为硫酸, 这可以解释图 6 中硫逐渐消失的现象。在硫胶废水处理系统 1 号曝气池中同样检测到了连四硫酸根(386 mg/L)和少量单质硫(76 mg/L), 由此可见无论是纯培养条件下, 还是硫胶废水处理曝气池内, 菌株 TX 都是通过连四硫酸盐途径进行硫代硫酸盐的氧化代谢。

3 结论

1) 本研究在国内首次从含硫工业废水处理系统中分离到硫代硫酸盐氧化菌 TX, 经 16S rDNA 序

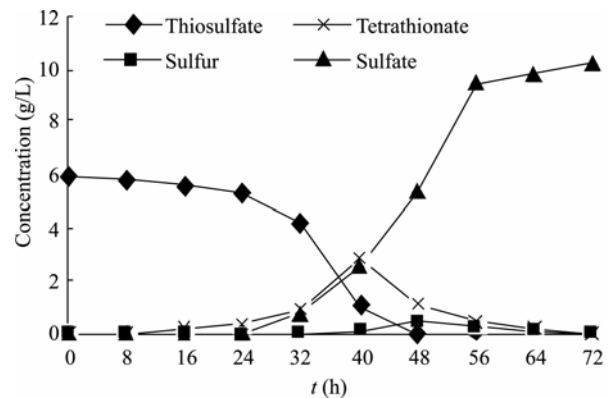


图 6 *Halothiobacillus* sp. TX 菌株氧化硫代硫酸盐过程中各种中间代谢物的动态变化

Fig. 6 Dynamic changes in the concentrations of various intermediate metabolites during the oxidation of thiosulfate by *Halothiobacillus* sp. TX

列同源性分析, 结合其形态特征和生理特征, 初步鉴定为盐生硫杆菌属(*Halothiobacillus* sp.)。

2) 在无机盐硫代硫酸盐培养基中, 菌株 TX 的最适生长温度为 30°C~35°C, 最适生长 pH 范围为 3~5, 能耐受 15 g/L 的 NaCl 盐分, 但过高的盐分产生生理抑制作用。

3) 菌株 TX 主要通过连四硫酸盐途径或“S4I”途径进行硫代硫化盐的生物氧化。

参 考 文 献

- [1] 王绍民, 朱佳虹. 国内外液态聚硫橡胶生产现状及应用进展. 化工新型材料, 2000, 28(8): 101-102.
- [2] 杨 敏, 回 颖, 张桂林. 液态聚硫橡胶在防水密封中的应用. 橡塑资源利用, 2006, 3: 30-32.
- [3] 王福坤. 聚硫橡胶的现状. 世界橡胶工业, 2000, 27(6): 47-51.
- [4] 杨庆林. 聚硫橡胶含硫废水的治理. 云南化工, 1992, 27(4): 4-6.
- [5] 姜 峰, 潘永亮, 梁 瑞, 等. 含硫废水的处理与研究进展. 兰州理工大学学报, 2003, 30(5): 68-71.
- [6] Syed MA, Henshaw PF. Effect of tube size on performance of a fixed-film tubular bioreactor for conversion of hydrogen sulfide to elemental sulfur. *Water Res*, 2003, 37(8): 1932-1938.
- [7] Lee MC, Sublette KL. Microbial treatment of sulfide laden water. *Water Res*, 1993, 27(5): 839-846.
- [8] Krishnakumar B, Majumdar S, Manilal VB, et al. Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR). *Water Res*, 2005, 39(4): 639-647.

- [9] Vaiopoulou E, Melidis P, Aivasidis A. Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. *Water Res*, 2005, **39**(17): 4101–4109.
- [10] 姚传忠, 张克强, 季 民, 等. 排硫硫杆菌生物强化处理含硫废水. 中国给水排水, 2004, **20**(2): 57–59.
- [11] 张克强, 黄文星, 季 民, 等. 含硫化物废水生物处理过程中单质硫的形成特性. 农业环境科学学报, 2006, **25**(2): 522–526.
- [12] Pethkar AV, Paknikar KM. Thiosulfate biodegradation/silver biosorption process for the treatment of photo-film processing wastewater. *Process Biochem*, 2003, **38**(6): 855–860.
- [13] Lin BL, Hosomi M, Murakami A. Effects of high salinity and constitute organic compounds on treatment of photo-processing waste by a sulfur-oxidizing bacteria/granular activated carbon sludge system. *Water Res*, 2002, **36**(4): 1076–1083.
- [14] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, pp.353–356.
- [15] Mahmood Q, Hu B, Cai J, *et al.* Isolation of *Ochrobacterium* sp. QZ2 from sulfide and sulfite treatment system. *J Hazard Mater*, 2009, **165**(1-3): 558–565.
- [16] Julia RM, Takuichi S, Andrew JW. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**(2): 795–799.
- [17] 舒红英. 脱硫液中硫代硫酸钠的测定. 江西冶金, 2002, **22**(3): 38–39.
- [18] 国家环保总局. 水和废水检测分析方法. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002, pp.164–165.
- [19] Skeman. 细菌属的鉴定指导. 北京: 北京科学出版社, 1978, pp.317–319.
- [20] 李军幸, 张克强, 季 民, 等. 分光光度法测定微生物处理含硫化物废水中的单质硫含量. 农业环境科学学报, 2006, **25**(1): 261–265.
- [21] Wood AP, Kelly DP. Isolation and characterization of *Thiobacillus halophilus* sp. nov., a sulphur-oxidizing autotrophic eubacterium from a Western Australian hypersaline lake. *Arch Microbiol*, 1991, **156**(4): 277–280.
- [22] Sievert SM, Heidorn T, Kuever J. *Halothiobacillus kellyi* sp. nov., a mesophilic, obligately chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from a shallow-water hydrothermal vent in the Argean Sea, and emended description of the genus *Halothiobacillus*. *Int J Syst Evol Micro*, 2000, **50**(3): 1229–1237.
- [23] Wood AP, Woodall CA, Kelly DP. *Halothiobacillus neapolitanus* strain OSWA isolated from “The Old Sulphur Well” at Harrogate (Yorshire, England). *Syst Appl Microbiol*, 2005, **28**(8): 746–748.
- [24] 沈 镭, 张再利, 贾晓珊. 氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌对硫代硫酸钠的代谢机理研究. 环境科学学报, 2006, **26**(12): 2000–2007.
- [25] Anandham R, Indiragandhi P, Madhaiyan M, *et al.* Chemolithoautotrophic oxidation of thiosulfate and phylogenetic distribution of sulfur oxidation gene (*soxB*) in rhizobacteria isolated from crop plants. *Res Microbiol*, 2008, **159**(9-10): 579–589.
- [26] Kelly DP, Shergill JK, Lu WP, *et al.* Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1997, **71**(1-2): 95–107.

稿件书写规范

论文中计量单位的表示方法

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定, 计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体), 不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下, 希望作者参照执行。

时间: 日用 d; 小时用 h; 分钟用 min; 秒用 s 等表示。

溶液浓度: 用 mol/L, 不用 M (克分子浓度)和 N(当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度: 用 r/min, 不用 rpm。

蒸汽压力: 用 Pa 或 kPa、MPa 表示。

光密度: 用 OD(斜体)表示。

生物大分子的分子量: 蛋白质用 D 或 kD, 核酸用 bp 或 kb 表示。

图表中数值的物理量和单位: 物理量符号采用斜体, 单位用正体并用括号括起, 例如: $t(h)$ (表示时间, 单位是小时)。带数值的计量单位: 计量单位不能省略, 跟数字之间加一空格(和%除外), 例如: 20 cm × 0.3 cm, 不能写成 20 × 0.3 cm; 3 ~5 不可写成 3~5 ; 3%~6%不可写成 3~6%等。