

沼泽红假单胞菌对亚硒酸盐还原脱毒的研究

李子超 肖娜 李昀锴 王丽娜 虞英杰 徐明芳*

(暨南大学生物工程系 广东 广州 510632)

摘要: 主要研究沼泽红假单胞菌对亚硒酸盐还原脱毒作用及其脱毒机理。通过单因子实验、正交试验, 对影响亚硒酸盐还原脱毒的因素进行研究, 得到沼泽红假单胞菌还原亚硒酸盐的最佳条件为: 亚硒酸钠添加量是 25 mg/L, 培养的第 5 天接种, 接种量为 15% (W/W)。在该条件下, 对亚硒酸钠去除率可达 98.2%。研究发现, 亚硒酸盐还原酶主要存在于细胞质, 分子量约为 182 kD, 由 4 个亚基组成。通过透射电子显微镜观察, 菌体表面出现粒径在 5 nm–200 nm 之间的高电子密度颗粒, 初步表明亚硒酸盐在沼泽红假单胞菌体内被还原成单质硒。

关键词: 沼泽红假单胞菌, 亚硒酸盐, 还原脱毒, 正交优化, 还原酶

The reduction and detoxification to selenite by *Rhodopseudomonas palustris*

LI Zi-Chao XIAO Na LI Yun-Kai WANG Li-Na YU Ying-Jie XU Ming-Fang*

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

Abstract: The reduction and detoxification mechanism of sodium selenite by *Rhodopseudomonas palustris* were studied in this paper. Effect of factors on the reduction and detoxification of sodium selenite based on a single-factor test and orthogonal experiment were investigated. Results showed that selenite removal rate by the reduction and detoxification of *Rhodopseudomonas palustris* were achieved at 98.2% under optimal conditions with concentration of sodium selenite at 25 mg/L, 15% of inoculums amount (W/W) and cultivation for 5 days. The researches indicated that selenite reductase with the molecular weight of 182 kD was composed of four subunits polymers and distributed in cytoplasm. Reducing selenite into selenium particles with diameter in 5 nm–200 nm during reduction and detoxification of *Rhodopseudomonas palustris* were also primarily identified by transmission electron micrograph.

Keywords: *Rhodopseudomonas palustris*, Selenite, Reduction and detoxification, Orthogonal experiment, Reductase

农业灌溉、矿业开采和工业污水排放等人类活动向环境中排放大量的硒,造成硒污染。炼油废水中硒浓度通常为 170–4 900 $\mu\text{g/L}$,煤矿开采废水中硒浓度为 3–330 $\mu\text{g/L}$,金矿开采废水中硒浓度为 200–33 000 $\mu\text{g/L}$,天然富硒地区的排灌水中硒浓度高达 300 $\mu\text{g/L}$ 。这些环境中的硒含量远高于国家《污水综合排放标准》(GB8978 1996)中所规定的总硒浓度 $<0.1 \text{ mg/L}$ 的一级排放标准^[1]。

硒的毒性和生物利用性主要取决于它的状态。硒酸盐(SeO_4^{2-})和亚硒酸盐(SeO_3^{2-})均是水溶性的,高浓度时对生物具有毒性。单质硒不溶于水,通常被认为无生物利用性^[2]。

生物除硒的报道多数集中于对农业和工业废水的处理,目的是减少甚至完全除去地表或地下水中的硒^[3]。生物除硒的原理主要是利用微生物的同化还原、异化还原和生物群落甲基化等^[4]。生物除硒法主要是用土壤和底泥作为接种体,来自这 2 种接种体的细菌多数都能将硒酸盐或亚硒酸盐中的硒还原。但是,产甲烷厌氧污泥除硒的机理至今尚未有研究。部分光合细菌对亚硒酸盐有较强的耐受性,并能将溶液中的亚硒酸盐还原,所产生的红色单质硒溶解度较小且毒性较低,利用该性质可以进行硒污染的治理。

本研究从实验室保藏光合细菌中筛选出对亚硒酸钠有较强耐受性和还原能力的菌株,证实具有产生红色单质硒的能力。本研究的目的是通过单因素、 $L_9(3^3)$ 正交试验对该菌株还原亚硒酸盐培养条件进行优化,对亚硝酸盐还原酶进行研究,并对亚硒酸盐还原脱毒机理进行探讨。

1 材料与方法

1.1 光合细菌菌种及培养基

由实验室保存的光合细菌中分离得到一株沼泽红假单胞菌菌株^[5–6]。

培养基(g/L): $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2、 NH_4Cl 1、 NaHCO_3 5、 NaHPO_4 0.5、 NaCl 2、酵母膏 2,乙醇 2 mL。

1.2 主要试剂与仪器设备

试剂: 2 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.04 mol/L MgSO_4 ,

50 mol/L 对二氮已环, 10 mmol/L NADPH 脂鲤盐, NaCl , NaSeO_3 , Bradford 试剂(北京赛驰), 酵母膏(广州环凯生物), 0.2%考马斯亮蓝染色液(考马斯亮蓝 R250 2 g, 甲醇 454 mL, 冰醋酸 92 mL, 定容至 1 L), 脱色液(含 10%冰醋酸–25%乙醇的水溶液), 5% β -巯基乙醇(V/V), 交联葡聚糖 G-100, 苯丙琼脂糖 S200 (购于广州健阳生物)。

蛋白分子标记: 过氧化氢酶(250 kD), 醛缩酶(150 kD), 清蛋白(66 kD), 兔磷酸化酶 B (97.4 kD), 牛血清白蛋白(66.2 kD)。

仪器: 离子色谱分析仪(ICS200, 美国戴安公司), 高压灭菌锅, 冷冻离心机(TLL C, 北京四环科学仪器厂有限公司), 光照培养箱(PYX 250G B, 广东韶关科力实验仪器有限公司), 超声细胞破碎仪(Xinyi IID, 宁波新艺超声设备有限公司), 紫外可见分光光度计(CANY UV-765, 上海精密仪器有限公司), 透射电子显微镜(PHILIPS TECNAI-10, 荷兰飞利浦)等。

1.3 光合细菌内硒含量测定

ICP-AES(电感耦合等离子体)法测定。样品前处理^[7–8]: 取 15 mL 加硒光合细菌培养液于 HClO_4 : HNO_3 为 1:4 的混合酸溶液中完全硝化, 电热板加热 90 min, 控制温度低于 130 $^\circ\text{C}$, 防止 SeO_3^{2-} 挥发。硝化后的样品用去离子水稀释到 25 mL 容量瓶中定容, 测定 SeO_3^{2-} 的浓度。

1.4 不同培养条件对光合细菌还原亚硒酸盐的影响

1.4.1 亚硒酸钠浓度对光合细菌还原亚硒酸盐的影响: 分别配制培养基里亚硒酸盐含量为 25、50 和 100 mg/L 的液体培养基, 菌种接种量为 15%, 装液量 200 mL, 30 $^\circ\text{C}$ 光照培养, 在培养的第 7 天测定 SeO_3^{2-} 的浓度。

1.4.2 培养时间对光合细菌还原亚硒酸盐的影响: 按亚硒酸钠加量 50 mg/L、接种量 15%、装液量 200 mL、30 $^\circ\text{C}$ 光照的培养条件, 分别在培养的第 3 天、第 5 天、第 7 天测定 SeO_3^{2-} 浓度。

1.4.3 菌种接种量对光合细菌还原亚硒酸盐的影响: 在亚硒酸钠含量为 100 mg/L, 装液量为 200 mL 的培养基中分别按 5%、10%和 15%的菌种量接种(质

量比), 30 °C 光照培养, 在培养的第 5 天测定 SeO_3^{2-} 浓度。

1.5 光合细菌还原亚硒酸盐正交试验

为确定亚硒酸盐浓度、培养时间和菌种接种量对沼泽红假单胞菌还原亚硒酸盐效果的影响, 选取亚硒酸盐、菌种接种量和培养时间 3 个因素的 3 个水平, 利用 $L_9(3^3)$ 正交试验表进行正交试验, 因素及水平选择见表 1^[9], 数据采用 DPS 软件进行分析和统计。

1.6 除硒率的测定

除硒率 $=(A-B)/A \times 100\%$ 。式中 A 为光合细菌培养基中亚硒酸钠初始浓度, mg/L; B 为培养基中的剩余亚硒酸钠浓度, mg/L。

1.7 细胞提取液的准备

在加硒培养基中培养的菌种经过 5 000 r/min 离心 20 min 后收集菌体, 去离子水洗涤, 悬浮在 15 mL 消散缓冲液中(50 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L PMSF, pH 7.5)。悬浮物在 0 °C 下超声波破碎 15 min, 离心 20 min 后弃沉淀, 65%–85% 硫酸铵对悬浮物(细胞提取液) 进行盐析。

悬浮物里的蛋白质用饱和硫酸铵分馏, 一些蛋白质被沉淀, 并通过 65% 硫酸铵溶液去除。通过添加 85% 的硫酸铵沉淀剩余蛋白质, 包括亚硒酸盐还原酶。85% 硫酸铵离心过滤后, 用 Tris-HCl 缓冲液溶解沉淀, 并在 4 °C 下于相同缓冲液中透析 12 h, 每 3 小时换一次透析缓冲液。

1.8 亚硒酸盐还原酶的提纯

苯基琼脂糖凝胶柱: 用 Tris-HCl 缓冲液平衡, 0–2 mol/L 硫酸铵梯度洗脱, 流速 3.5 mL/min, 收集各洗脱峰。得到的蛋白质片段随后用交联葡聚糖柱

(200 cm \times 1 cm) 层析; pH 7.0 的 50 mmol/L Tris 缓冲液平衡, 流速 0.75 mL/min, 收集洗脱峰。

交联葡聚糖 G-100 凝胶过滤柱(1 cm \times 150 cm)测定还原酶的分子量, 用 Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L, pH 7.5)平衡。

1.9 亚硒酸盐还原酶的细胞定位

原生质体悬浮细胞的培养基(g/L): MgSO_4 2.2, K_3PO_4 8.32, 酵素 0.4, 乙醇 10 mL, 0.04 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.0)定容。

取 100 mL 原生质体悬浮液, 13 000 r/min 离心分离 5 min, 收集原生质体, 添加 0.04 mol/L 磷酸钾、0.002 mol/L 硫酸镁和脱氧核糖核酸酶使其溶解。

1.10 酶活性实验和蛋白质测定

酶活性由分光光度计测定, 按 Guillaume 等^[10]。测定硝酸盐还原酶的方法, 用 NADPH 或者 NADH 氧化。

用于测定亚硒酸盐还原酶活性的反应混合剂包括: 430 μL 对二氮己环缓冲液 (50 mol/mL, pH 6.0), 7 μL NADPH (10 mmol/L), 70 μL 亚硒酸钠 (100 mmol/L) 及 7 μL 纯酶。1 个单位的酶活力被定义为, 每分钟催化 1 μmol 底物生成产物的酶量。蛋白质浓度用 Bradford 试剂测定, 以牛血清蛋白作为标准。

1.11 SDS-PAGE 电泳

按 Laemmli 的改良方法^[11]进行 SDS-PAGE 电泳, 5% 丙烯酰胺作为堆积凝胶, 12% 丙烯酰胺作为分离凝胶。凝胶用考马斯亮蓝染色液染色 1 h, 脱色液脱色过夜, 按 Hochstrasse 等描述的方法操作^[12]。

表 1 沼泽红假单胞菌还原亚硒酸钠优化 $L_9(3^3)$ 正交试验因素水平表

Table 1 Variables and ranges of reduction and detoxification of sodium selenite by *Rhodopseudomonas palustris* in the orthogonal experiment table

菌株 Strain	因素 Factors			
	水平 Level	亚硒酸钠添加量 Concentration of selenite (mg/L)	细菌接种量 Inoculum amount (%)	培养时间 Cultivation time (d)
沼泽红假单胞菌 <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	1	25	5	3
	2	50	10	5
	3	100	15	7

1.12 透射电子显微镜(TEM)分析样品制备

(1) 固定: 沼泽红假单胞菌, 以15%的接种量接入 100 mg/L 亚硒酸钠浓度的 RCVBN 培养基, 于 30 °C 光照条件下培养, 第 5 天将发酵液 10 000 r/min 离心 10 min 后收集菌体, 用 2.5%磷酸缓冲液戊二醛固定液固定在 1.5 mL 离心管中, 4 °C 保存。

(2) 脱水: 包埋: 0.1 mol/L 磷酸缓冲液冲洗 3 次; 1% OsO₄ 冲洗 10 min; 0.1 mol/L 磷酸缓冲液冲洗 3 次; 50%乙醇冲洗 10 min; 70%乙醇冲洗 15 min; 90%乙醇冲洗 15 min; 90%丙酮: 90%乙醇(1:1)冲洗 15 min; 90%丙酮冲洗 15 min; 100%丙酮冲洗 3 次, 每次 15 min; 100%丙酮: 包埋剂(1:1)浸泡 10 min; 纯包埋剂浸泡 2 h, 放入胶囊浸透(烤箱 40 °C); 60 °C 聚合 24-48 h。

(3) 观察: 选取放大倍数分别为 3 700、6 200、8 900 和 15 000 倍的透射电镜观察菌体形态特征, 扫描图片。

2 结果与分析

2.1 亚硒酸钠浓度对光合细菌除硒率的影响

在沼泽红假单胞菌培养液中, SeO₃²⁻ 浓度有显著降低, 且在菌液培养过程中瓶内出现红色沉淀物质, 推断是细菌还原生成的单质硒沉淀。其中, 沼泽红假单胞菌的除硒效果在亚硒酸钠添加量为 25 mg/L 时达到最高值 95.4% (图 1), 说明沼泽红假单胞菌对较低浓度的亚硒酸钠去除效果更好。

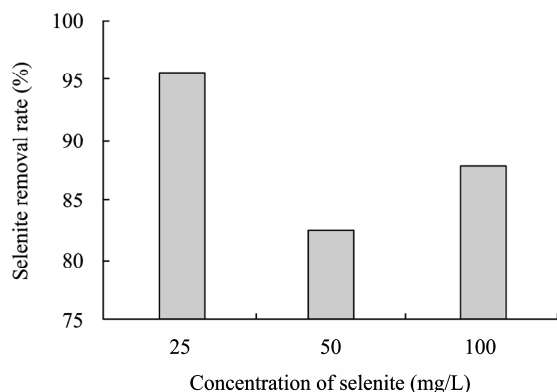


图 1 亚硒酸钠添加量对沼泽红假单胞菌除硒率的影响
Fig. 1 Effect of selenite concentrations on the removal rate of SeO₃²⁻ by the *Rhodopseudomonas palustris*

2.2 培养时间对沼泽红假单胞菌除硒率的影响

在沼泽红假单胞菌培养液中, 随着培养时间的变化, 沼泽红假单胞菌除硒率也存在明显的不同。在培养的第 5 天, 对亚硒酸盐的去除率达到最大值 98.1% (图 2)。

2.3 菌种接种量对光合细菌除硒率的影响

在菌种接种量不同的条件下, 沼泽红假单胞菌对亚硒酸盐的去除率也存在明显的差异, 以菌种接种量为 5%时除硒率最高, 达到 98.2% (图 3)。

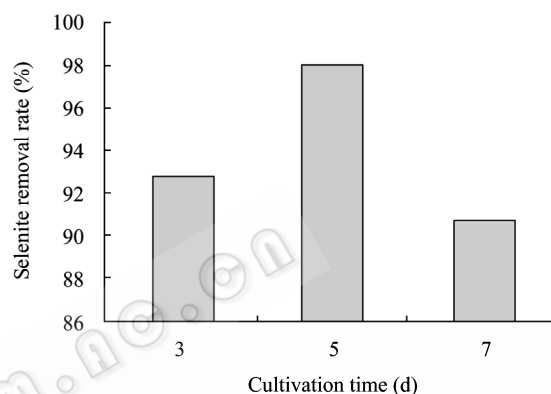


图 2 培养时间对沼泽红假单胞菌除硒率的影响
Fig. 2 Effect of cultivation time on the removal rate of selenite by the *Rhodopseudomonas palustris*

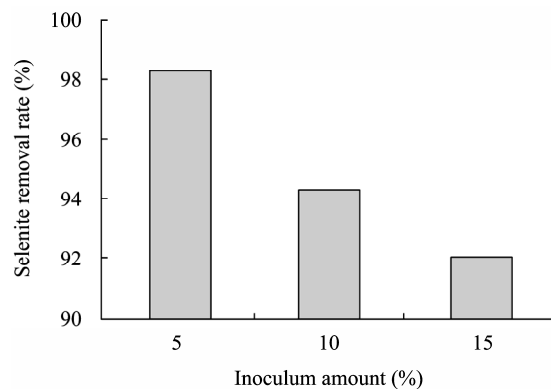


图 3 细菌接种量对沼泽红假单胞菌除硒率的影响
Fig. 3 Effect of inoculums on the removal rate of selenite by the *Rhodopseudomonas palustris*

2.4 正交试验优化光合细菌还原亚硒酸盐的条件

通过正交试验, 对沼泽红假单胞菌对亚硒酸盐还原脱毒作用的条件进行优化。研究发现, 沼泽红假单胞菌还原亚硒酸盐影响因子的显著性依次为: 亚硒酸钠添加量>培养时间>细菌接种量。沼泽红假

表 2 沼泽红假单胞菌还原亚硒酸盐培养条件的正交试验
Table 2 Reduction and detoxification of Selenite by *Rhodopseudomonas palustris* in the orthogonal experiment of culture conditions

序号 No.	亚硒酸钠添加量 Concentration of selenite (mg/L)	细菌接种量 Inoculum amount (%)	培养时间 Cultivation time (d)	亚硒酸钠含量 Concentration of selenite (mg/L)
1	25	5	3	0.602
2	25	10	5	0.340
3	25	15	7	0.508
4	50	5	3	0.670
5	50	10	5	1.097
6	50	15	7	0.692
7	100	5	3	6.509
8	100	10	5	4.801
9	100	15	7	0.816
K1	0.483	2.594	2.032	
K2	0.820	2.079	0.609	
K3	4.042	0.672	2.705	
R	3.559	1.922	2.096	

单胞菌还原亚硒酸盐的最优条件为: 25 mg/L 亚硒酸钠, 培养 5 d, 15%细菌接种量(表 2)。

沼泽红假单胞菌在正交试验优化的条件下, 对亚硒酸钠的还原脱毒效果进行实验验证。结果表明, 在最优还原脱毒条件下, 除硒率在培养第 5 天左右达到最大值 98.2% (图 4)。

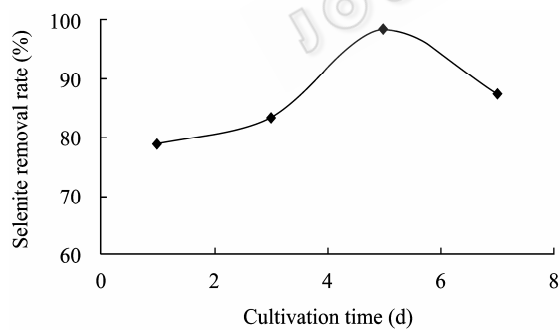


图 4 优化条件下沼泽红假单胞菌对亚硒酸盐的除硒率
Fig. 4 Removal rate of selenite by the *Rhodopseudomonas palustris* under optimal conditions

2.5 酶活性定位

对培养基菌悬液、细胞壁、原生质体、原生质体溶菌液中的亚硒酸盐还原酶活性进行研究, 发现原生质体中的亚硒酸盐还原酶活性最高, 表明亚硒酸盐还原酶大量存在于原生质体中(表 3)。

表 3 酶活性的定位
Table 3 Localization of enzymatic activities

组分 Components	酶活 Enzyme activity (U/mL)
培养基菌悬液 Suspension medium	0.026
细胞壁 Cell wall	0.004
原生质体 Protoplasts	0.016
原生质体溶菌液 Protoplast lysate	0.620

结果证明, 亚硒酸盐还原酶是细胞质酶, 同时在培养基菌悬液中检测到低水平的酶活。

在 NADPH 氧化作用下, 沼泽红假单胞菌的粗提物催化亚硒酸钠还原成单质硒。沼泽红假单胞菌体内的亚硒酸盐还原酶能从大约 17 倍的细胞浓缩物中提纯分离。还原酶通过苯基琼脂糖凝胶层析分离提纯。

2.6 亚硒酸盐还原酶分子量测定

细胞抽提物悬浮液首先在饱和(NH₄)₂SO₄ 溶液中沉淀浓缩。通过(NH₄)₂SO₄ 沉淀的蛋白溶液装入苯基琼脂糖凝胶柱。饱和(NH₄)₂SO₄ 浓度为 0.7 mol/mL 时, 亚硒酸盐还原酶在第 4 个出峰处被洗脱(图 5)。亚硒酸盐还原酶在醛缩酶(150 kD)和过氧化氢酶(250 kD)之间被洗脱。通过计算, 分子量约为 182 kD。

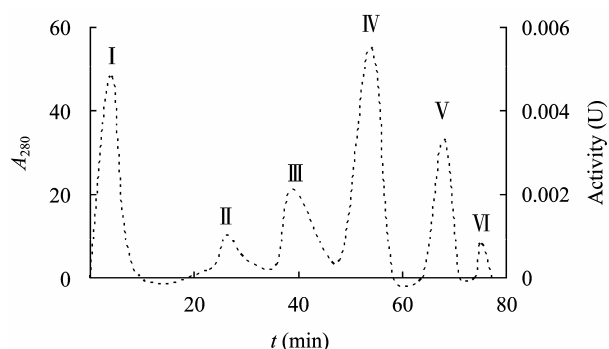


图 5 沼泽红假单胞菌体内亚硒酸盐还原酶苯基琼脂糖凝胶层析剖面图

Fig. 5 Solution profiles of selenite reductase from *Rhodospseudomonas palustris* by Phenyl Sepharose chromatography

2.7 SDS-PAGE 丙烯酰胺凝胶电泳

亚硒酸盐还原酶被裂解后的蛋白质片段, 经过 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定, 分子量分别是 70、65、50 和 25 kD (图 6)。结果表明, 亚硒酸盐还原酶在本研究的试验条件下表现出四亚基聚合物特征存在。

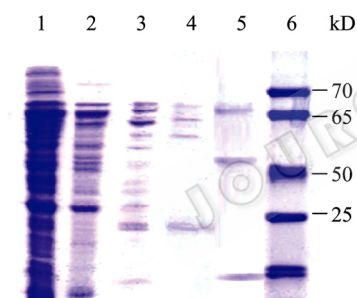


图 6 沼泽红假单胞菌亚硒酸盐还原酶提纯中各组分 SDS-PAGE 区带图

Fig. 6 Different fractions obtained from the selenate reductase of *Rhodospseudomonas palustris* by SDS-PAGE

Note: 1: Cell extract; 2: Ammonium sulfate precipitation; 3: Phenyl-Sepharose extract; 4: Sephacryl S-200 fraction; 5: Sephacryl S-100 fraction; 6: Molecular mass standard.

2.8 还原产物单质硒及其 TEM 图像研究

活化的沼泽红假单胞菌菌种按 15% 的接种量接种于含亚硒酸钠(100 mg/L)的 RCVBN 培养基中, 于 30 °C 光照条件下, 在培养的第 5 天借助光学显微镜观察, 菌体细胞形状并无明显变化, 菌体表面出现微小的黑色颗粒。

进一步通过透射电子显微镜观察, 菌体细胞形

状出现不规则现象, 细胞长度增加, 表面出现球状颗粒附着, 有些细胞表面有凹痕出现, 内部细胞器破裂(图 7)。菌体表面及周质空间中存在高电子密度颗粒, 粒径 5 nm–200 nm, 初步表明亚硒酸钠在沼泽红假单胞菌体内被还原生成了单质硒, 与文献报道一致^[13–14], 推断其为红色单质硒。

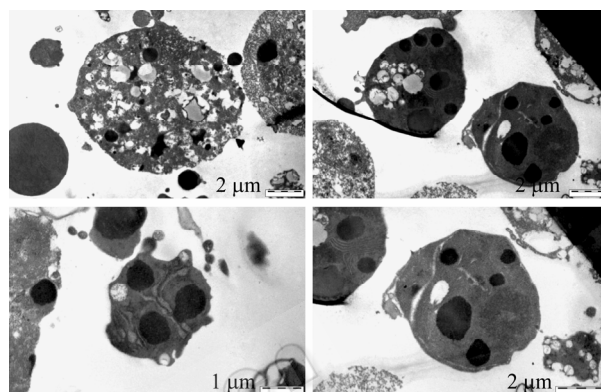
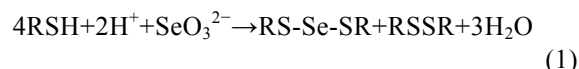


图 7 加硒培养后沼泽红假单胞菌菌体的透射电镜照片 (×3 700、×6 200、×8 900、×15 000)

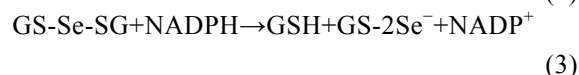
Fig. 7 Transmission electron micrograph of *Rhodospseudomonas palustris* cell grown in the presence of selenite (×3 700, ×6 200, ×8 900, ×15 000)

3 讨论

Painter 曾经发现, 谷胱甘肽中的巯基同亚硒酸盐有很高的反应活性, 能够形成 Selenotrisulfides (RS-SE-SR), 如反应 1^[15]。



细菌中, 大部分还原性的巯基以谷胱甘肽的形式存在。1971 年, Ganther 发现谷胱甘肽与亚硒酸盐反应后, 同样可以生成 RS-SE-SR, 命名 Selenodiglutathinose (GS-SE-SG)^[16]。作为底物, 包括谷胱甘肽还原酶、硫氧还蛋白还原酶、硝酸盐还原酶及硫酸盐还原酶等多种氧化还原酶都可能催化其发生氧化还原反应^[17]。生成的 GS-Se- 不稳定, 会继续与氢离子反应产生较稳定的红色单质硒。反应式如下:





其后,在对深红螺菌、球形红细菌和大肠杆菌等细菌转硒的研究中发现,当谷胱甘肽含量降低时,亚硒酸盐的还原速度也会降低,而亚硒酸盐与谷胱甘肽的反应能同时促进谷胱甘肽还原酶的产生,从而进一步证明谷胱甘肽和谷胱甘肽还原酶参与了亚硒酸盐的还原。另外,Kessi 等又对谷胱甘肽与亚硒酸盐的体外反应进行了进一步的研究,发现在谷胱甘肽还原亚硒酸盐为单质硒的过程中会产生超氧根离子(O_2^{-}),这也解释了亚硒酸盐生物毒性的成因,如反应 5:



综上所述,Kessi 等对 Ganther 等提出的谷胱甘肽参与的氧化态硒还原假设进行了改进:还原型谷胱甘肽(GSH)作为电子供体首先与亚硒酸根(SeO_3^{2-})反应(反应 5),反应的第 1 个中间产物 GS-SE-SG 可以作为谷胱甘肽还原酶或硫氧还蛋白还原酶的底物被还原(反应 3),得到 GS-SE $^{-}$,再通过歧化反应(反应 4),生成 GSH 和单质硒(Se^0)。反应中产生的 O_2^{-} 可以被细菌自身的氧化酶降解。NADPH 为 GSH 的再生提供电子^[18]。

关于细菌还原氧化态硒产生红色单质硒的机理,存在多种假说。不同细菌由于所含酶类及参与氧化还原反应物质的不同,可能存在不同的硒还原机理。光合细菌细胞内还原酶系如亚硒酸盐还原酶、硒酸盐还原酶对无机硒还原作用机理及有机硒化合物合成还有待于进一步的研究。

4 结论

本研究从实验室保藏的光合细菌中筛选得到对亚硒酸钠有较强耐受性和还原能力的菌株,证实具有产生红色单质硒的能力。通过单因素、 $\text{L}_9(3^3)$ 正交试验对该菌株还原亚硒酸盐培养条件进行优化,得到沼泽红假单胞菌还原亚硒酸盐的最佳条件为:亚硒酸钠添加量为 25 mg/L,培养的第 5 天,15%菌种接种量。在该条件下,对亚硒酸钠去除率可达到 98.2%。对亚硒酸盐还原酶的研究发现,亚硒酸盐还原酶主要存在于细胞质,分子量约为 182 kD,由 4

个亚基组成。通过高倍透射电镜观察,菌体表面及周质空间中存在高电子密度的颗粒,初步证明亚硒酸钠在沼泽红假单胞菌体内被还原生成了单质硒。

参考文献

- [1] 何晓丽,付晓雪,向少能,等. 光合细菌富硒颗粒剂的研究[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2008,33(3): 105-108.
- [2] 朱建明,梁小兵,凌宏文,等. 环境中硒存在形式的研究现状[J]. 矿物岩石地球化学通报,2003,22(1): 75-81.
- [3] 金强,徐伯兴,王毓芳. 亚硒酸根的微生物转化研究[J]. 上海环境科学,1996,15(6): 22-24.
- [4] 江用彬,季宏兵,李甜甜,等. 环境硒污染的植物修复研究进展[J]. 矿物岩石地球化学通报,2007,26(1): 98-104.
- [5] 王东亮,肖敏,钱卫,等. 还原亚硒酸盐产生红色单质硒光合细菌菌株的筛选与鉴定[J]. 微生物学报,2007,47(1): 44-47.
- [6] 雷爱莹,彭敏,曾地刚,等. 高效净水沼泽红假单胞菌的分离和鉴定[J]. 广西农业科学,2005,36(1): 57-58.
- [7] 王子健,彭安. 环境样品中硒的形态分析方法研究[J]. 分析化学,1988,16(7): 644-648.
- [8] 赵少华,宇万太,张璐,等. 环境介质中硒的检测方法研究进展[J]. 干旱环境监测,2005,19(2): 106-110.
- [9] 上海市科学技术交流站. 正交试验设计法—多因素的试验方法[M]. 上海:上海人民出版社,1975: 23.
- [10] Di Gregorio S, lampis S, Vallini G. Selenite precipitation by a rhizospheric strain of *Stenotrophomonas* sp. isolated from the root system of *Astragalus bisulcatus*: a biotechnological perspective[J]. Environment International, 2005, 31(2): 233-241.
- [11] Ganther HE. Selenotrisulfides formation by the reaction of thiols with selenious acid[J]. Biochemistry, 1968, 7(8): 2898-2905.
- [12] Ike M, Takahashi K, Fujita T, et al. Selenate reduction by bacteria isolated from aquatic environment free from selenium contamination[J]. Water Res, 2000, 34(11): 3019-3025.
- [13] Stadtman TC. Biosynthesis and function of selenocysteine-containing enzymes[J]. Biol Chem, 1991, 266(25): 16257-16260.
- [14] Kessi J. Enzymic systems proposed to be involved in the dissimilatory reduction of selenite in the purple non-sulfur

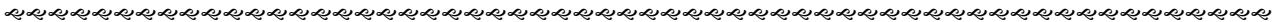
bacteria *Rhodospirillum rubrum* and *Rhodobacter capsulatus*[J]. Microbiology, 2006, 152: 731-743.

[15] Klonowska A, Heulin T, Vermeglio A. Selenite and tellurite reduction by *Shewanella oneidensis*[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(9): 5607-5609.

[16] Watts CA, Ridley H, Condie KL, et al. Selenate reduction by *Enterobacter cloacae* SLD1a-1 is catalysed by a molybdenum-dependent membrane-bound enzyme that is distinct from the membrane-bound nitrate reductase[J]. Microbiol Lett, 2003, 228(2): 273-279.

[17] Buchanan BB, Bucher JJ, Carlson DE, et al. A xanes and exafs investigation of the speciation of selenite following bacterial metabolization[J]. Inorg Chem, 1995, 34(6): 1617-1619.

[18] Tabak HH, Lens P, Van Hullebusch ED, et al. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides-1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport[J]. Rev Environ Sci Biotechnol, 2005, 4(3): 115-156.



2011 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-1)

序号	会议名称	主办单位	时间	人数	地点	联系人
1	传染病防控研讨会暨伍连德举办“万国鼠疫研究会”100周年纪念大会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	4月 2-3日	200	黑龙江 哈尔滨	杨瑞馥 ruifuyang@gmail.com
2	International Symposium on <i>Salmonella</i> and Other Enteric Bacteria: Genomics and Biology	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	5月 8-11日	200	黑龙江 哈尔滨	刘树林 slliu@ucalgary.ca
3	Inaugural conference of Bergey's International Society for Microbial Systematics	中国微生物学会	5月 19-23日	300	北京	刘梅 010-62538564
4	农业污染物的微生物转化与修复学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5-6月	80	湖北 武汉	黄巧云 qyhuang@mail.hzau.edu.cn
5	第十三届微生物学教学和科研及成果产业化研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	7月 12-15日	150	广西 南宁	冯家勋 0771-323270736
6	全国第三届海洋微生物研讨会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8月	100	山东 济南	张玉忠 13969185852
7	第十届中国全国生物毒素学术研讨会	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	8月 17-19日	200	吉林 长春	王景林 010-66948531
8	生物制品质量控制国际研讨会	中国微生物学会生物制品专业委员会	9月	200	四川 成都	徐苗 010-67095438
9	第二届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9月	400	四川 成都	刘辉 0852-8608272