

Acidithiobacillus ferrooxidans 菌株的分离及阴离子对其亚铁氧化活性的影响

吴学玲, 蒋莹, 邱冠周, 刘新星, 翁文筠

(中南大学 资源加工与生物工程学院, 长沙 410083)

摘要: 采用连续稀释法分别从江西德兴铜矿、湖北大冶铜矿和广西大厂这 3 处酸性矿坑水样品中分离得到三株嗜酸性短杆状细菌, 其形态及生理特征与嗜酸性氧化亚铁硫杆菌相似, 16S rRNA 系统学分析进一步证实这种细菌属于硫杆菌属的嗜酸性氧化亚铁硫杆菌。研究表明: 阴离子对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌的 Fe^{2+} 氧化能力具有一定影响, 其影响顺序由大到小依次为: $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$; 不同菌株对阴离子的耐受能力存在明显的差异。

关键词: 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌; SO_4^{2-} ; Cl^- ; NO_3^-

中图分类号: Q 939.97

文献标识码: A

Isolation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* strains and effect of anions on their ferrous ions oxidation capacities

WU Xue-ling, JIANG Ying, QIU Guan-zhou, LIU Xin-xing, WENG Wen-yun

(School of Resources Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: By successive diluting method three *acidithiobacillus* strains were isolated from the samples of acid mine drainage taken from Dexing Copper Mine in Jiangxi province, Daye Copper Mine in Hubei province and Dachang Copper Mine in Guangxi province. The three *Acidithiobacillus* strains are similar to *Acidithiobacillus ferrooxidans* in shapes and biological characters. 16S rRNA gene sequence analysis further confirms that the three bacteria strains are *Acidithiobacillus ferrooxidans*. The results show that anions obviously impact the oxidation capacity of ferrous ions of these bacteria with an effect order as: $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$. And their tolerances to anions are obviously different from each other.

Key words: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; SO_4^{2-} ; Cl^- ; NO_3^-

自 1947 年 Temple 和 Colmer 发现氧化亚铁硫杆菌以来, 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, 以前叫氧化亚铁硫杆菌^[1], 简称 A. *ferrooxidans* 菌) 已经成为工业生物浸出各种有价金属的主要菌种之一, 广泛应用在煤炭脱硫、工业废气、石油废气的处理和生活污水净化等领域^[2-3]。研究人员对其生理生化性质, 分子遗传性能及能量代谢机制等各方面都展开深入的研究^[1-3]。但是, 从自然界分离得到的嗜酸性氧化亚铁硫杆菌往往存在对亚铁氧化活性低、对重金属离子敏感等缺点, 因而限制了其应用。

目前, 研究各种离子对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌的活性的影响主要集中在 3 类金属离子上^[4], 即: 1) 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌生长所需的营养离子, 如 Fe^{2+} 和 Mg^{2+} 等^[5-6]; 2) 对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌浸出硫化矿起抑制作用的重金属离子, 如 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Co^{2+} 等^[7-8]; 3) 对氧化亚铁硫杆菌浸出硫化矿起催化作用的重金属离子, 如 Ag^+ 和 Hg^{2+} 等^[9-10]。然而研究人员在研究这些金属阳离子对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌活性的影响时, 往往忽略了阴离子的影响。

本文作者采用连续稀释法从江西德兴铜矿和湖北

基金项目: 国家自然科学基金创新群体研究基金资助项目(50321402); 中南大学研究生教育创新工程基金资助项目(040113)

收稿日期: 2007-05-07; 修订日期: 2007-07-06

通讯作者: 邱冠周, 教授, 博士; 电话: 0731-8836944; E-mail: xueling0714@yahoo.com.cn

大冶铜矿、广西大厂这 3 处酸性矿坑水样品中分离得到三株菌并对其进行鉴定,研究了这三株菌对重金属离子的耐受能力及不同锌盐中阴离子对细菌的影响,了解各种因素对浸矿细菌氧化性能的影响,为获得浸矿细菌的最优生长条件提供依据。

1 实验

1.1 菌种来源和分离纯化

实验样品分别来自江西德兴、湖北大冶和广西大厂的酸性矿坑水。

样品富集和纯化采用改进的 9 K 培养基^[11-12],其成分组成如下(g/L): (NH₄)₂SO₄ 3.0, KCl 0.1, K₂HPO₄ 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.5, Ca(NO₃)₂ 0.01, FeSO₄·7H₂O 22.4, 蒸馏水 1 000 mL, pH 2.0~2.5。

菌种的分离纯化采用液体稀释分离法^[13]。取 42 支试管分 3 组编号,每支试管中加入 9 K 培养基 9 mL,分别接种来自 3 个矿区的矿坑水样本 1 mL 于 1 号管,摇匀后从 1 号管取 1 mL 菌液到对应的 2 号管中,摇匀后取 1 mL 菌液到对应的 3 号管,如此依次到对应的 13 号管。14 号管中加入 1 mL 无菌水。所有试管置于温度为 30 ℃、转速为 160 r/min 的恒温振荡器中培养 12 d。从已变色的接种浓度最低的试管中取 1 mL 菌液作为原始菌液,再次稀释、培养。如此稀释培养 6 次得到纯化细菌。

1.2 菌种对亚铁及硫的氧化活性研究

配制 9 K 培养基^[12],调节 pH=2.0,置于 30 ℃, 160 r/min 的摇床中培养,通过溶液颜色变化情况来判断菌种氧化亚铁的活性。另外配置 9 K 培养基,用 1.0 g/L 升华硫代替 9 K 培养基中的硫酸亚铁,调节 pH=2.0,置于 30 ℃, 160 r/min 的摇床中培养,通过测定培养液 pH 值的变化来判断细菌氧化硫的情况。

1.3 纯化菌株的 16SrDNA 鉴定

将菌种扩大培养后收集菌体,提取细菌 DNA,通过 16S rDNA PCR 后,纯化 PCR 产物,委托北京三博远志生物技术有限责任公司完成序列测定。

1.4 不同金属盐对细菌 Fe²⁺氧化活性的影响

在 250 mL 容量的锥形瓶中加入 95 mL 灭菌的 9 K 培养基,菌液接种量为 5%,接种菌液浓度为 1×10⁸/mL。每种盐按照表 1 中浓度配比分别加入不同的锥形瓶中,分别以不接菌的正常 9 K 培养基作为空

表 1 锌离子浓度配比

Table 1 Concentration gradient of zinc ions(g/L)

ZnSO ₄	ZnCl ₂	Zn(NO ₃) ₂
0	0	0
12	3	1.5
24	6	3
48	24	6

白对照。

锥形瓶置于 30 ℃, 160 r/min 条件下振荡培养,定期取出 0.1 mL 培养液,用重铬酸钾滴定法测定培养液中 Fe²⁺的含量变化^[14]。

通过测定培养液中 Fe²⁺氧化率,研究上述锌盐中金属离子及不同阴离子对细菌亚铁氧化能力的影响。实验过程中取样减少的培养液用 9 K 基本盐溶液补充,蒸发的水分用灭菌蒸馏水补充。

2 实验结果

2.1 菌种富集及分离纯化

从江西德兴、湖北大冶和广西大厂这 3 处的矿坑水中稀释分离获得的 3 株纯化菌株分别命名为: DX、DY 和 DC。

2.2 实验菌株对亚铁和硫的氧化

实验中所用培养基为 9 K 培养基, pH=2.0, 温度为 30 ℃, 摇床转速为 160 r/min, 接种量为 5%, 接种菌液浓度为 1×10⁸/mL。在相同条件下, 培养液颜色变成桔红色的先后顺序依次是 DC、DY 和 DX。从菌液颜色的变化可以看出, 3 株菌均能氧化 Fe²⁺生成 Fe³⁺, 其氧化能力 DC 菌的活性最高, DX 菌的活性相对较低。

配制 9 K 培养基, 用 1.0 g/L 升华硫代替 9 K 培养基中的硫酸亚铁, 调节 pH=2.0, 置于 30 ℃, 160 r/min 的摇床中培养, 通过测定培养液 pH 值的变化来判断细菌氧化硫的情况。在相同培养条件下, 3 株菌的 pH 值均有所降低。培养 11 d 后, DX、DY 和 DC 的 pH 值分别下降到 1.47、1.71 和 1.51, 说明这 3 株菌均能氧化硫, 其氧化硫能力由大到小的顺序为: DX>DC>DY。

2.3 菌种鉴定

将分离得到的菌株制样进行微观形貌观察, 其形貌如图 1 所示。由图可知: 这 3 株菌都呈短杆状,

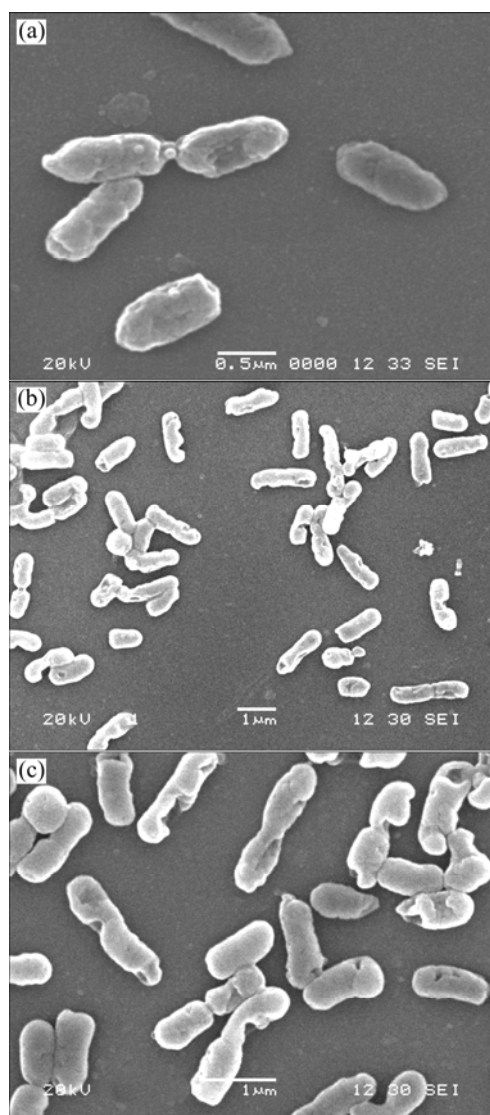


图 1 菌株的 SEM 照片

Fig.1 SEM photographs of strains: (a) DC strain; (b) DX strain; (c) DY strain

长度约为 1.0~1.5 μm , 宽度约为 0.4~0.5 μm , 单个或多个连成链状, 与嗜酸氧化亚铁硫杆菌的形态相同^[13]。

采用这 3 株菌的 16S rDNA 序列数据在 GenBank 核酸序列数据库中进行同源序列搜索 (BLAST search), 比较供试菌株与已知嗜酸氧化亚铁硫杆菌属其它菌株相应序列的相似程度^[15]。结果表明, DX 与 *Acidithiobacillus ferrooxidans* strain ATCC23270 的 16S rDNA 的同源性为 99%, DY 与 *Acidithiobacillus ferrooxidans* strain YN 的 16S rDNA 的同源性为 98%, DC 与 *Acidithiobacillus ferrooxidans* strain TF-49 的 16S rDNA 的同源性为 99%。结合分离菌株的生理生化特性和 16S rDNA 序列比对分析结果, 可以确定该 3 株菌均

为嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*, 简称 *A. ferrooxidans* 菌)。

2.4 *A. ferrooxidans* 菌在不同阴离子锌盐条件下的生长活性

2.4.1 *A. ferrooxidans* DX 菌在不同阴离子锌盐条件下的生长活性

不同浓度的硫酸锌、氯化锌和硝酸锌对 DX *A. ferrooxidans* 菌氧化 Fe^{2+} 活性的影响分别见图 2、3 和 4。由图 2 可见, 当硫酸锌浓度小于 12 g/L 时, SO_4^{2-} 对细菌氧化 Fe^{2+} 的能力基本无影响, 细菌在 41 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当硫酸锌浓度范围为 12~48 g/L 时细菌对 Fe^{2+} 氧化能力受到抑制, 硫酸锌浓度为

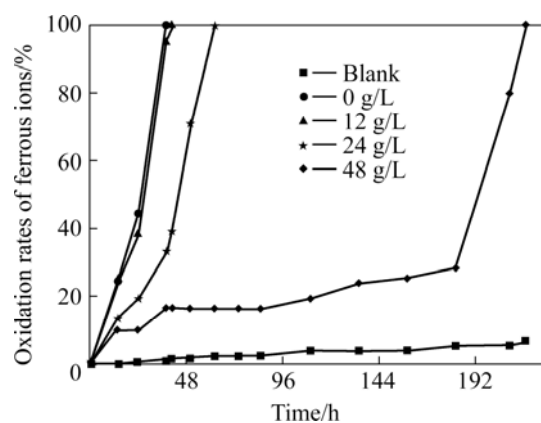


图 2 *A. ferrooxidans* DX 菌作用下含不同浓度硫酸锌 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.2 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc sulfate by *A. ferrooxidans* strain DX

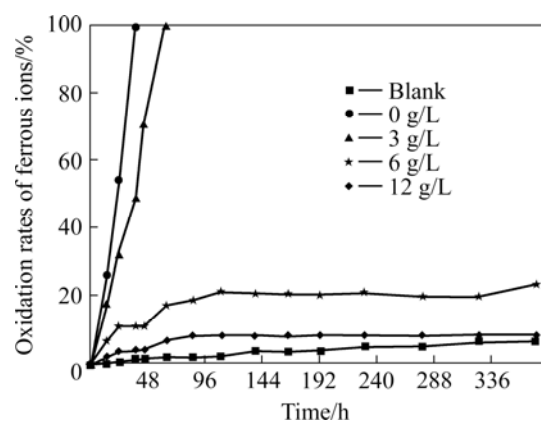


图 3 *A. ferrooxidans* DX 菌作用下含不同浓度氯化锌 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.3 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc chlorate by *A. ferrooxidans* strain DX

24 g/L 时, 在 62 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} , 而硫酸锌浓度达到 48 g/L 时, 细菌经过 158 h 的停滞期后, 迅速氧化 Fe^{2+} 。

由图 3 可知: 当氯化锌浓度小于 3 g/L 时, Cl^- 对细菌氧化 Fe^{2+} 的能力无明显影响, 细菌在 64 h 内完全氧化 9K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当氯化锌浓度大于 3 g/L 时, 细菌生长受到抑制, 对 Fe^{2+} 的氧化能力下降, 随氯化锌浓度的增加, 对 Fe^{2+} 氧化速率急剧下降, 当氯化锌浓度为 6 g/L 时, 培养 374 h 时 Fe^{2+} 氧化率仅为 23.8%。

由图 4 可知, 当硝酸锌浓度小于 3 g/L 时, 细菌对 Fe^{2+} 氧化所受影响较小, 在 97 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当硝酸锌浓度为 6 g/L 时, 细菌生长受抑制, Fe^{2+} 氧化率几乎为零。

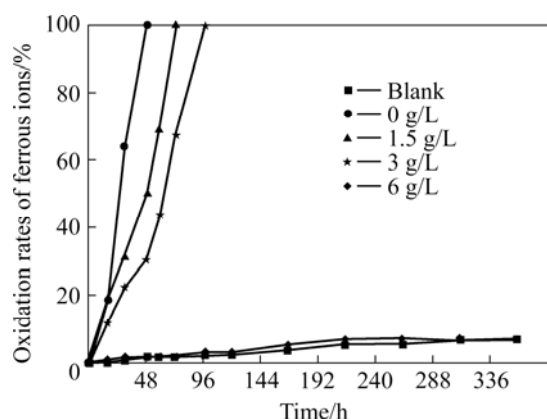


图 4 *A. ferrooxidans* DX 菌作用下含不同浓度硝酸锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.4 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc nitrate by *A. ferrooxidans* strain DX

2.4.2 *A. ferrooxidans* DY 菌在不同阴离子锌盐条件下的生长活性

不同浓度的硫酸锌、氯化锌和硝酸锌对 *A. ferrooxidans* DY 菌亚铁氧化活性的影响分别见图 5、6 和 7。由图 5 可见, 当硫酸锌浓度小于 12 g/L 时, 细菌对 Fe^{2+} 氧化基本不受影响, 在 46 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当硫酸锌浓度约为 12~48 g/L 时, Fe^{2+} 氧化速率随锌盐浓度上升而减缓, 当硫酸锌浓度为 48 g/L 时, 细菌在 134 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} 。

由图 6 可知: 在氯化锌中, 锌盐浓度小于 3 g/L 时, Cl^- 对细菌氧化 Fe^{2+} 速率影响较小, 细菌在 50 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 锌盐浓度为 6 g/L 时, 细菌生长受到抑制, Fe^{2+} 氧化没有对数期, 氧化速率缓慢, 后期几乎不再氧化 Fe^{2+} , 培养 203 h 后 Fe^{2+} 氧化率达到 67.41%; 锌盐浓度为 12 g/L 时, 细菌生

长基本完全被抑制, Fe^{2+} 氧化率几乎为零。

由图 7 可知, 当硝酸锌浓度小于 3 g/L 时, NO_3^- 对细菌氧化 Fe^{2+} 的速率影响较小, 细菌在 92 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当硝酸锌浓度为 6 g/L 时, 细菌经过 214 h 的延滞期后, 迅速氧化 Fe^{2+} , 262 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} 。

2.4.3 *A. ferrooxidans* DC 菌在不同阴离子锌盐条件下的生长活性

不同浓度的硫酸锌、氯化锌和硝酸锌对 *A. ferrooxidans* DC 菌氧化 Fe^{2+} 活性的影响分别见图 8、9 和 10。由图 8 可见: 当硫酸锌浓度小于 12 g/L 时, SO_4^{2-} 对细菌氧化 Fe^{2+} 的速率影响较小, 细菌在 61 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 当硫酸锌浓度约为 12~48

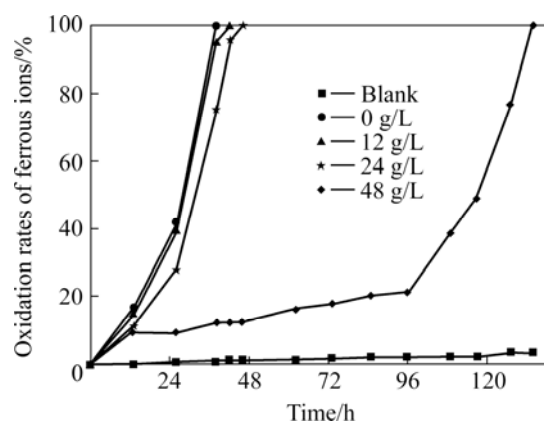


图 5 *A. ferrooxidans* DY 菌作用下含不同浓度硫酸锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.5 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc sulfate by *A. ferrooxidans* strain DY

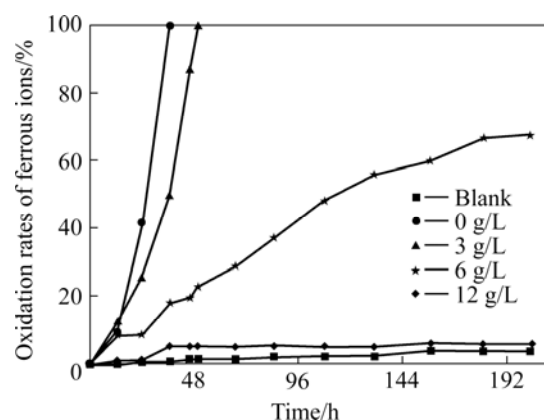


图 6 *A. ferrooxidans* DY 菌作用下含不同浓度氯化锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.6 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc chlorate by *A. ferrooxidans* strain DY

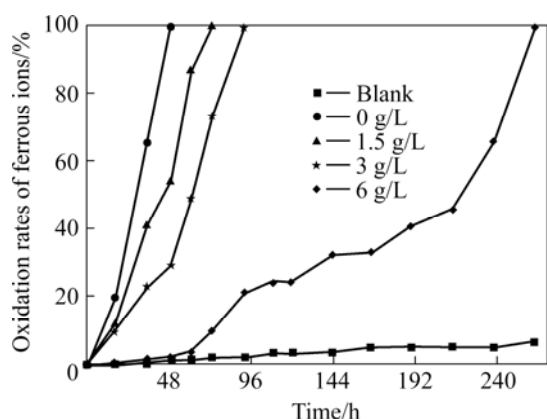


图 7 *A. ferrooxidans* DY 菌作用下含不同浓度硝酸锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.7 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc nitrate by *A. ferrooxidans* strain DY

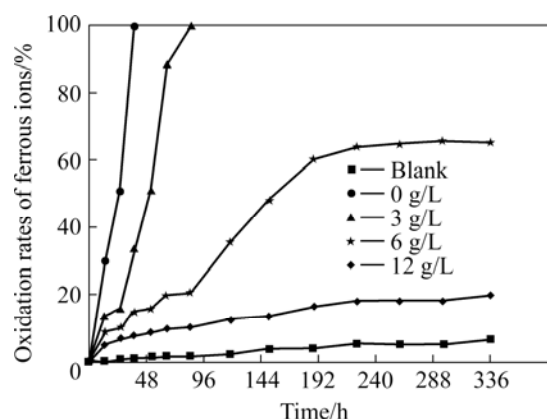


图 9 *A. ferrooxidans* DC 菌作用下含不同浓度氯化锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.9 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc chlorate by *A. ferrooxidans* strain DC

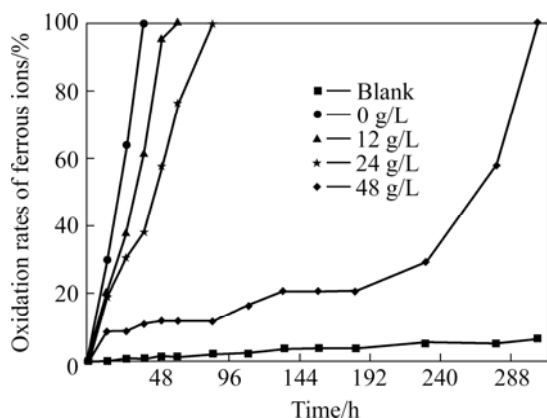


图 8 *A. ferrooxidans* DC 菌作用下含不同浓度硫酸锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.8 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc sulfate by *A. ferrooxidans* strain DC

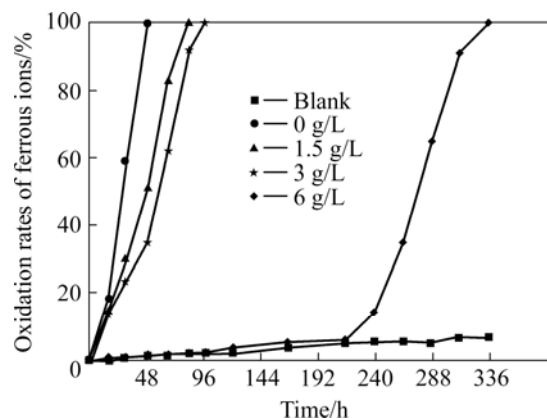


图 10 *A. ferrooxidans* DC 菌作用下含不同浓度硝酸锌的 9 K 培养基中的亚铁氧化率

Fig.10 Ferrous ions microbial oxidation rate in 9 K medium containing different concentrations of zinc nitrate by *A. ferrooxidans* strain DC

g/L 时, 亚铁氧化速率随锌盐浓度上升而减缓, 硫酸锌浓度为 24 g/L 时, 细菌在 85 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} , 而当硫酸锌浓度达到 48 g/L, 经过 278 h 延滞期后, 在 306 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} 。

由图 9 可知: 氯化锌浓度小于 3 g/L 时, Cl^- 对细菌氧化 Fe^{2+} 的影响较小, 细菌在 86 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 氯化锌浓度为 6 g/L 时, 细菌生长受到抑制, 亚铁氧化没有对数期, 亚铁氧化速率缓慢, 后期几乎不再氧化 Fe^{2+} , 培养 336 h 后 Fe^{2+} 氧化率达到 65.73%; 氯化锌浓度达到 12 g/L 时, 细菌生长基本完全抑制, Fe^{2+} 氧化率几乎为零。

从图 10 可得知, 硝酸锌浓度小于 3 g/L 时, NO_3^-

对细菌氧化 Fe^{2+} 速率影响较小, 细菌在 97 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} ; 随硝酸锌浓度的增加, 细菌氧化 Fe^{2+} 速率逐渐减小; 当硝酸锌浓度等于 6 g/L 时, 细菌经过 214 h 的延滞期后, 迅速氧化 Fe^{2+} , 在 336 h 内完全氧化 9 K 培养基中的 Fe^{2+} 。

3 结果与分析

硫酸根离子是一种常见的阴离子, 广泛存在于矿山酸性矿坑水中。氧化亚铁硫杆菌在有氧和酸性条件下, 能将亚铁氧化成高铁、元素硫氧化成硫酸, 或将

金属硫化物直接氧化成硫酸盐。硫酸根离子最初被认为是一个连接亚铁离子和细菌的配合体,进一步研究发现铁氧化中从铁硫团到铜离子的电子传递链中起作用。从图2、5和8可以看出, *A. ferrooxidans* DX、DY、DC菌都能在浓度为48 g/L的 ZnSO_4 环境中生长并氧化 Fe^{2+} 。其中, *A. ferrooxidans* DX菌完全氧化 Fe^{2+} 时间约为217 h, 停滞期约为182 h; *A. ferrooxidans* DY菌完全氧化 Fe^{2+} 时间约为134 h, 停滞期约为109 h; *A. ferrooxidans* DC菌完全氧化 Fe^{2+} 时间约为306 h, 停滞期约为230 h。由此可知, 三株菌耐受 SO_4^{2-} 能力由大到小的顺序为: DY>DX>DC。

较高浓度的氯化物是一个已知的细胞生长和铁氧化抑制剂。它是一个细胞色素c还原酶的抑制剂。1963年有报告指出当氯化物浓度达到0.14 mol/L就会对细菌产生毒害作用。在本实验中, *A. ferrooxidans* DX、DY、DC菌在3 g/L的 ZnCl_2 中都能正常生长并氧化 Fe^{2+} , 当 ZnCl_2 浓度达到6 g/L时, 三株菌的生长受到不同程度的影响, 培养基中的 Fe^{2+} 也没有完全被氧化。当 ZnCl_2 浓度为3 g/L时, *A. ferrooxidans* DX、DY、DC菌完全氧化 Fe^{2+} 时间分别约为64、50、85 h; 当 ZnCl_2 浓度为6 g/L时, *A. ferrooxidans* DX菌培养374 h后 Fe^{2+} 氧化率为23.76%, *A. ferrooxidans* DY菌培养203 h后 Fe^{2+} 氧化率达67.41%, *A. ferrooxidans* DC菌培养336 h后亚铁氧化率为65.73%。这些数据说明, 在相同培养条件下, 三株菌耐受 Cl^- 能力为: DY>DC>DX。

较高浓度的硝酸根也是一种能抑制 *A. ferrooxidans* 菌氧化亚铁的阴离子。*A. ferrooxidans* 菌株对低浓度的硝酸盐也很敏感。增加硝酸盐浓度将完全抑制 Fe^{2+} 氧化。在3 g/L的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 环境中, *A. ferrooxidans* DX、DY和DC菌完全氧化 Fe^{2+} 时间分别约为97、92和97 h, 相差不大; 而在6 g/L的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 环境中, *A. ferrooxidans* DX菌的生长完全被抑制, Fe^{2+} 几乎不被氧化, *A. ferrooxidans* DY、DC菌能生长并将 Fe^{2+} 完全氧化, Fe^{2+} 完全被氧化时间分别为262 h和336 h, 停滞期分别为166 h和214 h。实验说明, *A. ferrooxidans* DX菌耐受硝酸锌能力较弱, *A. ferrooxidans* DC、DY菌较强。

分析3株细菌对阴离子的耐受能力发现, 3株菌对 ZnSO_4 的最大耐受浓度都可以达到48 g/L, 而对 ZnCl_2 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 的耐受浓度仅为3 g/L或6 g/L, 说明了 *A. ferrooxidans* DX、DY和DC菌对 ZnSO_4 的抗性比 ZnCl_2 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 强。在6 g/L的 ZnCl_2 环境中, 三株菌都没有正常生长, Fe^{2+} 也没有完全被氧化; 而在相同浓度的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 环境中, *A. ferrooxidans* DC、DY

菌能完全氧化 Fe^{2+} , *A. ferrooxidans* DX菌的生长完全被抑制。另外, 在3 g/L的锌盐溶液中, 加入 ZnCl_2 时 Fe^{2+} 完全氧化时间比相同情况下加入 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 的短。因此, ZnCl_2 比 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 对这3株 *A. ferrooxidans* 菌的影响相对较大。

以上结果表明, 阴离子对 *A. ferrooxidans* 菌的生长动力学有很大影响, 在 SO_4^{2-} 、 Cl^- 和 NO_3^- 这3种阴离子中, SO_4^{2-} 的影响相对较小, Cl^- 和 NO_3^- 的影响相对较大。而且不同的菌株对这3种阴离子的抗性也有差异, *A. ferrooxidans* DY菌抗3种阴离子的能力较强。

4 结论

1) 不同的阴离子对嗜酸氧化亚铁硫杆菌生长动力学有明显影响, 其影响弱到强的顺序为: $\text{SO}_4^{2-} < \text{Cl}^- < \text{NO}_3^-$ 。

2) 对 *A. ferrooxidans* DX、DY和DC这3株菌, 在9 K培养基中细菌活性由大到小的顺序为: DC>DY>DX, 其中DY菌抗 SO_4^{2-} 、 Cl^- 及 NO_3^- 离子能力相对较强, 其次为DC和DX。

REFERENCES

- [1] Kelly D P, Wood A P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen.nov., *Halothiobacillus* gen.nov. and *Thermithiobacillus* gen.nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50: 511-516.
- [2] 耿冰, 郑宇, 邸进申. 氧化亚铁硫杆菌的生物学特性研究进展[J]. 生物技术, 2004, 14(2): 71-74.
GENG Bing, ZHENG Yu, DI Jin-shen. The biological characteristics of *Thiobacillus ferrooxidans* progress[J]. Biotechnology, 2004, 14(2): 71-74.
- [3] 邓恩建, 杨朝晖, 曾光明, 徐峥勇. 氧化亚铁硫杆菌的研究概况[J]. 黄金科学技术, 2005, 13(5): 8-12.
DENG En-jian, YANG Zhao-hui, ZENG Guang-ming, XU Zheng-yong. General situation in *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Gold science and Technology, 2005, 13(5): 8-12.
- [4] 刘清, 徐伟昌, 张宇. 重金属离子对氧化亚铁硫杆菌活性的影响[J]. 铀矿冶, 2004, 23(3): 155-157.
LIU Qing, XU Wei-chang, ZHANG Yu. Effect of heavy metal ions the activity of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Uranium Mining and Metallurgy, 2004, 23(3): 155-157.
- [5] 何良菊, 李秀艳, 周建民, 魏德洲. Fe^{2+} 、 NH_4^+ 对氧化亚铁硫杆菌氧化黄铁矿的影响[J]. 黄金学报, 1999, 1(4): 278-280.
HE Liang-ju, LI Xiu-yan, ZHOU Jian-ming, WEI De-zhou. The

- effects of Fe^{2+} , NH_4^+ on the oxidation of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Gold Journal, 1999, 1(4): 278–280.
- [6] 李洪枚, 柯家骏. Mg^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌生长活性的影响[J]. 中国有色金属学报, 2000, 4(10): 576–578.
- LI Hong-mei, KE Jia-jun. Effect of Mg^{2+} on the growth and activity of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metal, 2000, 4(10): 576–578.
- [7] 李洪枚, 柯家骏. Cu^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌生长活性的影响[J]. 黄金, 2000, 21(6): 27–29.
- LI Hong-mei, KE Jia-jun. Effect of Cu^{2+} on the growth and activity of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Gold, 2000, 21(6): 27–29.
- [8] 李洪枚, 柯家骏. Ni^{2+} 和 Co^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌活性的影响[J]. 有色金属, 2000, 52(1): 49–54.
- LI Hong-mei, KE Jia-jun. Effect of Ni^{2+} and Co^{2+} on activity of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Nonferrous Metals, 2000, 52(1): 49–54.
- [9] 汪模辉, 谭龙华, 王 俊, 缪 辉, 陈昌荣. 金属离子在细菌浸取金属硫化矿中的催化作用[J]. 应用化学, 1997, 14(5): 55–58.
- WANG Mo-hui, TANG Long-hua, WANG Jun, MIAO Hui, CHENG Chang-rong. Catalysis of metal ions in bacterial leaching of metal sulphide minerals[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 1997, 14(5): 55–58.
- [10] 胡岳华, 张在海, 邱冠周, 王淀佐. Ag^+ 在细菌浸出中的催化作用研究[J]. 矿冶工程, 2001, 21(1): 24–28.
- HU Yue-hua, ZHANG Zai-hai, QIU Guan-zhou, WANG Dian-zuo. Catalytic effect of Ag^+ on bacterial leaching—A study[J]. Mining and Metallurgical Engineering, 2001, 21(1): 24–28.
- [11] Das A, Modak J M, Natarajan K A. Studies on multi-metal ion tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Minerals Engineering, 1997, 10(7): 743–749.
- [12] WU Xue-ling, DING Jian-nan, GAO Jian, LIU Xin-xing, QIU Guan-zhou. Isolation and identification of metal-resistant iron-oxidizing bacteria[J]. Minerals & Metallurgical Processing, 2007, 24(1): 57–60.
- [13] 胡岳华, 康自珍. 氧化亚铁硫杆菌的细菌学描述[J]. 湿法冶金, 1996(4): 36–39.
- HU Yue-hua, KANG Zi-zhen. The bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* description[J]. Hydrometallurgy, 1996(4): 36–39.
- [14] 张在海. 铜硫化矿生物浸出高效菌种选育及浸出机理[D]. 长沙: 中南大学, 2002.
- ZHANG Zai-hai. The screening and breeding of high effective bacteria for bioleaching of copper sulfide minerals and its leaching mechanism[D]. Changsha: Central South University, 2002.
- [15] Stephen F A, Engene V K. Iterated profile searches with PSI-BLAST—a tool for discovery in protein databases[J]. Trends in Biochemical Science, 1998, 23(11): 444–447.

(编辑 龙怀中)