

Cr(VI) 抗性菌株的筛选及其 Cr(VI) 去除特性研究

吴淼^{1,2}, 汤岳琴¹, 于萍¹, 周元祥², 吴晓磊¹

(1. 北京大学工学院 能源与资源工程系, 北京 100871; 2. 合肥工业大学 资源与环境工程学院, 安徽 合肥 231009)

摘要: 采用微生物分离纯化方法, 从制革厂含铬污泥中筛选分离 Cr(VI) 抗性菌株, 并研究菌株对 Cr(VI) 的去除能力。共分离得到对 50 mg/L Cr(VI) 去除率大于 50% 的菌株 20 株, 16S rRNA 基因测序结果表明这些细菌主要属于 *Acinetobacter*、*Microbacterium*、*Leucobacter*、*Ochrobactrum* 和 *Brachymonas* 属。对其中 7 株细菌, 考察了菌株生长期、pH 值和 Cr(VI) 浓度对菌株去除 Cr(VI) 效果的影响, 结果表明, 细胞在有较高代谢活性的条件下具较高的 Cr(VI) 去除能力, pH 值对菌株去除 Cr(VI) 的能力具有显著影响, 在 50 mg/L Cr(VI), pH 值为 7~8 的条件下, *Microbacterium* 属 16 号和 21 号菌株在 36 h 时对 Cr(VI) 的去除率达 80%~95%。高浓度的 Cr(VI) 抑制菌株对 Cr(VI) 的去除能力, 其中 21 号菌株在 110 mg/L 的 Cr(VI) 浓度下去除效果最佳, Cr(VI) 去除率达 80%。

关键词: 铬污染; 铬抗性菌株; Cr(VI) 去除细菌; 微生物分离

中图分类号: Q93-331; X172

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2009)06-0520-07

Isolation and characterization of bacteria with chromium (VI) removal capacity from chromium-contaminated tannery sludge

WU Miao^{1,2}, TANG Yue-qin¹, YU Ping¹, ZHOU Yuan-xiang² and WU Xiao-lei

(1. Department of Energy and Resource Engineering, College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China;

2. School of Resources and Environment, Hefei University of Technology, Hefei 231009, China)

Abstract: Bacteria strains with Cr(VI) tolerant capacity were isolated from chromium-contaminated tannery sludge and the Cr(VI) removal characteristics of these isolates were studied. Twenty strains with the Cr(VI) removal efficiency greater than 50% under the condition of 50 mg/L Cr(VI) were obtained. These strains were closely related to species in the genera *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Leucobacter*, *Ochrobactrum* and *Brachymonas* by their 16S rRNA gene sequences. The effects of growth phase, pH and Cr(VI) concentration on the Cr(VI) reducing capacity for seven isolates were investigated. Cells with high activity showed higher Cr(VI) removal efficiency. pH affected the Cr(VI) removal capacity of these strains remarkably. The Cr(VI) removal efficiencies of strain No. 16 and No. 21, closely related to the species in the genus *Microbacterium*, were over 80% at the pH of 7~8 under the condition of 50 mg/L of Cr(VI). High concentration of Cr(VI) repressed the Cr(VI) removal capacity. However, strain No.21 showed a removal efficiency of about 80% when the initial Cr(VI) concentration was 110 mg/L.

Key words: chromium pollution; Cr(VI) resistant bacteria; Cr(VI) removal bacteria; microorganism isolation

铬主要以 Cr(III) 和 Cr(VI) 两种价态存在, 其中 Cr(VI) 比 Cr(III) 溶解性好, 迁移能力强, 生物毒性强, 会导致鼻炎、支气管炎、肺炎甚至癌症等疾病 (Stasicka and Kotas, 1999)。铬被广泛应用于制革、冶金和印染等工业过程, 2005 年环保年鉴

统计数据显示, 仅皮革行业每年排放的含铬废水就高达 1.8 亿吨, 因此铬污染的治理日益受到世界各国的重视。目前, 铬污染治理主要采用物化法, 包括沉淀法、还原沉淀法、吸附法、膜过滤以及电解法等 (Camargo et al., 2003), 但存在处理成

收稿日期: 2009-08-31; 修订日期: 2009-10-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2007CB815601)

作者简介: 吴淼 (1984-), 男, 汉族, 硕士研究生, 主要从事污染治理研究; 通讯作者: 吴晓磊, 教授, E-mail: xiaolei_wu@pku.edu.cn

本高和二次污染等问题。而利用微生物进行铬污染治理,处理成本会大幅度降低,同时不会导致二次污染。特别是传统物化法无法进行处理的铬污染环境,如低浓度铬污染的去,微生物处理具有显著优势(Sullia, 2005)。从环境中获得对Cr(VI)有高效去除和富集能力的微生物菌株是实施Cr(VI)污染生物修复的关键。铬污染环境是获取高效菌种的良好来源,目前已有报道的具有Cr(VI)去除和富集能力的菌种有 *Arthrobacter* 属(Megharaj *et al.*, 2003)、*Bacillus* 属(Megharaj *et al.*, 2003; Srinath *et al.*, 2002; Viti *et al.*, 2003)、*Microbacterium* 属(Pattanapitpaisal *et al.*, 2001)、*Pseudomonas* 属(Mclean and Beveridge, 2001; Aravindhan *et al.*, 2007)、*Ochrobacterium* 属(Pan *et al.*, 2008)、*Corynebacterium* 属(Viti *et al.*, 2003)和 *Cellulomonas* 属(Viti *et al.*, 2003)等。但是微生物对铬的去除和富集能力与微生物所处的环境密切相关,在系统分类上一致的微生物对铬的去除和富集能力不一定相似,通过长期驯化可以使一些原本不具有去除和富集铬能力的菌株获得对铬的去除和富集能力。

制革厂是主要的铬污染排放企业,同时也是获得铬污染治理菌株的理想地点。本研究以制革厂的含铬污泥作为分离对象,获取对Cr(VI)有抗性且去除能力的菌株,通过16S rRNA基因序列确定它们的系统分类。针对代表菌株,考察了细胞生长期、环境pH值和Cr(VI)浓度对菌株去除Cr(VI)能力的影响,为微生物治理铬污染环境提供良好的微生物资源。

1 材料与方法

1.1 环境样品

江苏江阴兆丰制革厂含铬污泥。

1.2 实验方法

1.2.1 微生物的分离纯化和筛选

使用已灭菌的1×PBS缓冲液(10 mM NaH₂PO₄, 10 mM Na₂HPO₄, 0.13 M NaCl)浸泡含铬污泥,取浸出液20 mL转移至50 mL已灭菌的三角瓶中,30℃、135 r/min振荡处理24 h,用灭菌水将处理液稀释不同倍数后,分别涂布在含有100 mg/L Cr(VI)的LB(蛋白胨10 g/L,酵母膏5 g/L,NaCl 10 g/L,葡萄糖0.1 g/L,琼脂2.0 g/L,pH 7.0)平板上,30℃恒温培养,观察微生物菌落生长情况。从菌落数目合适的平板,挑取单菌落转移至新鲜LB平板上培养,划线纯化后考察各菌株去除Cr(VI)的能力。使用LB液体培养基将待测菌株培养24 h后,以10%的接种量转接至含Cr(VI)50 mg/L的液体培养基中,30℃、135 r/min培养24 h后,取菌液在10 000 r/min条件下离心10 min,测定上清液中残留的Cr(VI)浓度,筛选对Cr(VI)去除率高的菌株。 $Cr(VI)$ 去除率(%) = $(C_0 - C_e) / C_0 \times 100\%$,其中C₀为未接种微生物的空白对照样品的Cr(VI)质量浓度(mg/L),C_e为离心去除菌体后的上清液中残留的Cr(VI)质量浓度(mg/L)。

1.2.2 Cr(VI)质量浓度测定

采用二苯碳酰二肼分光光度法(Clesceri *et al.*, 1998)测定Cr(VI)质量浓度。

1.2.3 菌体浓度测定

收集1 mL菌液于1.5 mL离心管中,4℃、10 000 r/min条件下离心10 min,去除上清液用于测定残余Cr(VI)浓度,加1 mL超纯水将菌体充分悬浮,在600 nm波长处测定吸光度(OD₆₀₀)。

1.2.4 微生物系统分类

采用硅藻土吸附法提取菌体染色体DNA(Carter and Milton, 1993)利用细菌通用引物8F和1492R进行16S rRNA基因的PCR扩增。温度程序为95℃预加热5 min,然后在94℃变性1 min,53℃退火1 min,72℃延伸100 s,重复30个循环。PCR产物直接用于碱基序列测定。利用NCBI的BLAST进行碱基序列比对,确定各分离菌株的系统分类地位。

1.2.5 微生物所处生长期对Cr(VI)去除效果的影响

使用LB液体培养基对菌株培养24 h后,取10 mL菌液在10 000 r/min条件下离心10 min,收集菌体。用灭菌的生理盐水洗涤菌体两次后,加8 mL 1×PBS缓冲液振荡悬浮菌体,取1 mL测定菌悬液的OD₆₀₀。用1×PBS缓冲液调节各菌株细胞悬浮液,使所有待测菌株的悬浮液具有相同的OD₆₀₀。在下列3种培养条件下,考察微生物菌株对Cr(VI)的去除能力:

(1)充足营养供给,细胞完成整个生长过程:将菌悬液300 μL接种到3 mL含Cr(VI)50 mg/L的LB培养基中;

(2)稳定期,无营养供给:在3 mL菌悬液中加入200 μL PBS,再加入终浓度为50 mg/L的Cr(VI);

(3)稳定期,微量营养供给:在3 mL菌悬液中加入200 μL 5倍稀释的LB培养基,再加入终浓度为50 mg/L Cr(VI),每组设3个平行样,在30℃培养24 h后,测定最终菌体浓度和上清液中残留的Cr(VI)的含量。

1.2.6 pH值对菌株去除Cr(VI)的影响

使用LB培养基对菌株进行前培养24 h后,调整各菌株菌体浓度一致后以5%的接种量接入含50 mg/L Cr(VI),pH值分别为4、5、6、7和8的20 mL LB培养基中,每组设3个平行样,振荡培养48 h,每12 h取样1 mL,测定菌体浓度和上清液中残留的Cr(VI)浓度。

1.2.7 Cr(VI)浓度对微生物去除Cr(VI)能力的影响

使用LB培养基对菌株进行前培养24 h后,调整各菌株菌体浓度一致后以5%的接种量接入pH值为7,含Cr(VI)分别为25、50、80和110 mg/L的20 mL LB培养基中,每组设3个平行样,振荡培养48 h,每12 h取样1 mL,测定菌体浓度和上清液中残留的Cr(VI)浓度。 $Cr(VI)$ 去除量(mg/L) = $C_0 - C_e$ 。

2 结果与讨论

2.1 分离菌株的系统分类

从皮革厂铬污染污泥中分离获得具有Cr(VI)去除能力

的菌株 37 株,其中 20 株在初始 $Cr(VI)$ 浓度为 50 mg/L 的条件下对 $Cr(VI)$ 的去除率大于 50%。通过 16S rRNA 基因序列比对,对此 20 株菌株进行了系统分类鉴定,结果表明它们分别属于 5 个属,其中 5 株为 *Acinetobacter* 属,9 株为 *Microbacterium* 属(表 1)。大部分相似菌株有去除重金属和有机污染物等的相关报道(表 1)。尽管有关相似菌株 *Acineto-*

bacter grimontii 和 *Acinetobacter towneri* 的报道很少,但是有大量报道表明 *Acinetobacter* 属的其他一些菌株具有降解难降解有机污染物如烃类、色素类的功能(Mukred *et al.*, 2008; Kim and Jeon, 2009; Khalid *et al.*, 2009; Zhao and Wong, 2009)。以上结果表明此次分离获得的菌株不仅在铬污染治理方面,在复合污染治理方面也将可能具有良好的应用潜力。

表 1 从制革厂污泥中分离获得的菌株的系统分类

Table 1 Classification of strains isolated from tannery sludge

菌株编号	相似菌株	相似率	相关报道
3, 11, 18	<i>Acinetobacter grimontii</i> (AM410706)	98%	
36, 23	<i>Acinetobacter towneri</i> (AF509823)	97%	
6	<i>Brachymonas denitrificans</i> (D14320)	99%	除磷(Ivanov <i>et al.</i> , 2005; Shi and Lee, 2007)
12, 33	<i>Ochrobactrum anthropi</i> (AM490611)	100%	去除汞、镍、锌、锰、铅、铬、镉、铜,降解石油(Kesserü <i>et al.</i> , 2002; Abou-Shanab <i>et al.</i> , 2007; Pan <i>et al.</i> , 2008)
7, 8, 9, 16, 27, 34, 28	<i>Microbacterium paraoxydans</i> (AJ491806)	99%	降解原油(Schippers <i>et al.</i> , 2005)
21, 35	<i>Microbacterium esteraromaticum</i> (Y17231)	99%	富集亚砷酸盐和降解多环芳烃(Chen and Shao, 2009; Gauthier <i>et al.</i> , 2003)
30, 31, 32	<i>Leucobacter aridicollis</i> (AJ746337)	98%~100%	分离自制革含铬废水(Morais <i>et al.</i> , 2004)

2.2 微生物所处生长期对 $Cr(VI)$ 去除的影响

考察菌株在不同生长阶段对 $Cr(VI)$ 的去除效果,对于实际废水处理中菌株培养方式的选择具有指导意义。如图 1 所示,笔者分别从 7 类菌中挑选出代表菌株,考察了 3 种条件(A:充足营养供给,细胞完成整个生长过程;B:稳定期,无营养供给;C:稳定期,微量营养供给)下菌株去除 $Cr(VI)$ 的情况。

从图 1 中可以看出,对大部分菌株而言,在有充足营养条件下经历整个对数生长期的细胞(A 条件)和有微量营养供给维持在稳定期的细胞(C 条件)相比,具有较高的 $Cr(VI)$ 去除能力(图 1 A 和 C),而有微量营养供给维持在稳定期的细胞(C 条件)和无营养供给的稳定期的细胞(B 条件)相比,又具有相对较高的 $Cr(VI)$ 去除能力(图 1 C 和 B)。以上结果表明,此次分离获得的大部分菌株只有在生长过程中或者具有

代谢活性的条件下才对 $Cr(VI)$ 具有较高的去除能力, $Cr(VI)$ 的去除和菌株的代谢过程密切相关,细胞活性越高,去除 $Cr(VI)$ 的能力越强。

由图 1B 还可以看出,细胞在无营养物供给即没有代谢活性的条件下对 $Cr(VI)$ 的去除率均很低,最高只有约 12%,表明细胞对 $Cr(VI)$ 进行物理吸附的能力低,可以推测细胞在代谢旺盛期对 $Cr(VI)$ 去除主要是由于对 $Cr(VI)$ 的还原或富集,单纯的物理吸附所占比例很小。菌株 3 号的生长受到 $Cr(VI)$ 的抑制,造成 A 条件和 C 条件下的 $Cr(VI)$ 去除率没有明显的差别,而比较 C 和 B 条件下的结果可知,维持细胞代谢活性对其去除 $Cr(VI)$ 的能力非常重要。相比于其他菌株,菌株 21 号和 6 号在 A 条件和 C 条件下,对 $Cr(VI)$ 的去除效果都相对较好,在 A 条件下的去除率分别为 95% 和 85%,C

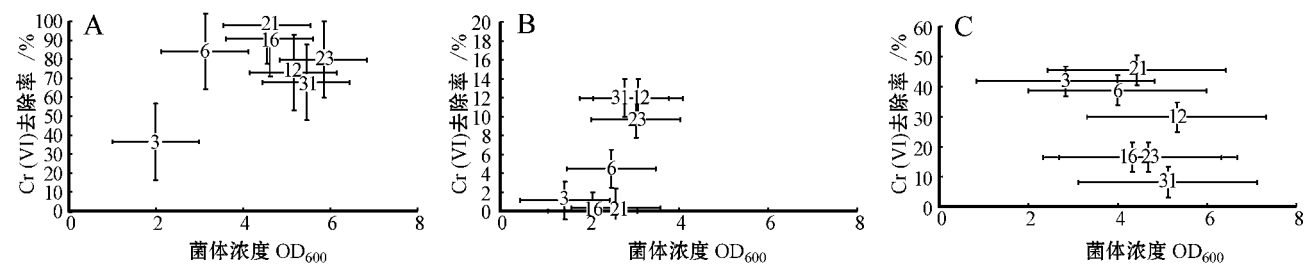


图 1 微生物所处生长期对 $Cr(VI)$ 去除的影响

Fig. 1 Effect of growth stage on $Cr(VI)$ removal efficiency

条件下分别为45%和40%。菌株16号虽然与21号菌株均属于*Microbacterium*属,但是在C条件下对Cr(VI)的去除效果不及后者优秀,去除率只有约15%。

2.3 pH值对菌株生长和去除Cr(VI)的影响

pH值是影响微生物生长繁殖的重要因子,将会影响菌株对Cr(VI)的去除。在pH值4~8的范围内考察了无Cr(VI)条件下pH值对各菌株生长的影响(图2,A系列),有Cr(VI)条件下pH值对各菌株生长的影响(图2,B系列)及对Cr(VI)去除率(图2,C系列)的影响。

如图2中A系列图可以看出,在pH=4的条件下,全部7株菌株都不能生长;pH=5的条件会对菌株6号、16号、21号和23号的生长有抑制;pH=6的条件下菌株23号和21号的生长会受到抑制,菌株21号的耐酸性较差;pH=7的条件下生长也会受到一定程度的抑制。菌株3号和23号,菌株16号和21号,分别同属于*Acinetobacter*属和*Microbacterium*属,但是它们之间的耐酸性相差较大。相比于其他菌株,菌株3号、12号和31号的耐酸性较强。在添加Cr(VI)条件下,如图2中B系列图所示,pH值对菌株生长的影响较之无Cr(VI)条件下更为明显。除菌株3号以外,其他6株菌株在pH=4和pH=5条件下都不能生长。耐酸性较差的菌株21号,在pH=6条件下也未有生长。比较A系列图和B系列图可以看出,50 mg/L的Cr(VI)对于所有菌株的生长都有不同程度的抑制,由于Cr(VI)的存在,菌株的生长速度减慢,进入对数生长期的时间延长。

尽管所有的菌株在pH=4和5条件下基本无生长,但是由图2中C系列图可以看出,在此两pH值条件下,Cr(VI)浓度有一定程度的下降,而且对于所有菌株,pH=4条件下的去除率要高于pH=5条件下的去除率。同样对于菌株21号,尽管在pH=6条件下没有生长,但是观察到Cr(VI)浓度下降,与pH=4和pH=5条件下的去除率相当。在细胞没有生长的情况下观察到Cr(VI)浓度下降,可以认为是由于接种进入的前培养液少量菌体对Cr(VI)起了作用,可能是被吸附也有可能是被还原。由于pH=4条件下的去除率总要高于pH=5条件下的去除率,同时考虑到在pH=5条件下细胞可能具有相对较高的活性,可以推测在此两pH值条件下,菌体细胞对Cr(VI)的作用主要是物理吸附,菌体细胞在此两pH值条件下具有不同的表面特征导致了吸附的差异。

对于菌株3号、6号和12号,当pH值为6以上时,菌体浓度随时间递增,但是它们对Cr(VI)的去除率并未随菌体浓度增加而显著增加。其他菌株的菌体浓度和Cr(VI)的去除率表现出比较好的关联性,Cr(VI)去除率随着菌体浓度的升高而逐渐升高。和其他菌株相比,同属于*Microbacterium*属的菌株16号和21号在pH值为7和8的条件下对Cr(VI)去除率最高,达到90%以上,21号菌株的去除率在36 h时接近100%。

以上结果表明,不同菌株对pH值表现出不同的敏感性;pH值对菌株去除Cr(VI)的效果影响显著;在有Cr(VI)存在

的条件下,pH值的影响会加剧。因此选择合适的pH值对菌株去除Cr(VI)至关重要。

2.4 Cr(VI)浓度对菌株去除Cr(VI)的影响

Cr(VI)对微生物细胞具有毒性,对微生物的生长繁殖会造成严重影响,从而影响微生物细胞去除Cr(VI)的能力。在Cr(VI)浓度为25 mg/L到110 mg/L的范围内,考察了Cr(VI)浓度对各菌株生长(图3,A系列)和对各菌株去除Cr(VI)能力的影响(图3,B和C系列)。

如图3中A系列图可以看出,不同的菌株对Cr(VI)的耐受能力不同,菌株3号、12号和16号的生长基本不受Cr(VI)浓度的影响,可以耐受110 mg/L的Cr(VI),而Cr(VI)浓度对菌株6号的生长有明显抑制,当Cr(VI)达到80 mg/L时菌株停止生长,菌株21号、23号和31号的生长受Cr(VI)影响不明显,随着Cr(VI)浓度的增加,开始时生长速度有些缓慢,但是后期生长速度会加快,到达稳定期的时间基本不受Cr(VI)浓度的影响。

尽管菌株3号、12号和16号对Cr(VI)都具有很好的耐受性,但它们对Cr(VI)的去除能力差别很大。如图3中B和C系列图可以看出,在25 mg/L到110 mg/L Cr(VI)范围内,菌株3号对Cr(VI)的去除率和去除量都很低,菌株12号对Cr(VI)去除率随Cr(VI)浓度升高而降低,但是Cr(VI)去除量随Cr(VI)浓度升高而增加;菌株12号在Cr(VI)浓度为25 mg/L和50 mg/L的条件下,对Cr(VI)的去除率达到100%,但是当Cr(VI)浓度为80 mg/L时,去除率下降至25%,当Cr(VI)浓度增加到100 mg/L时,去除率只有10%,说明菌体对Cr(VI)的去除在50 mg/L时已经达到饱和状态。这种达到饱和的情况在菌株23号的结果中也有体现,在48 h条件下,菌株对Cr(VI)的去除量与初始Cr(VI)浓度无关。对于菌株21号和31号,Cr(VI)的去除率和去除量跟Cr(VI)浓度保持了很好的关联性,随着初始Cr(VI)浓度的升高,去除率下降,而去除量增加。菌株21号表现出最高的去除率,初始Cr(VI)浓度为110 mg/L时的去除率为80%。

以上结果表明,微生物菌株对Cr(VI)的耐受性和对Cr(VI)的去除能力之间没有相关性,对Cr(VI)的耐受性高的菌株并不一定就具有较好的去除Cr(VI)的能力。Viti等(Bopp and Ehrlich, 1988; Viti *et al.*, 2003)的研究得出其他一些属的微生物也具有Cr(VI)耐受性和还原性不相关的结论。微生物菌株对Cr(VI)的去除具有饱和性,当环境中Cr(VI)的量高于微生物能够处理的量时,去除率下降,只有在Cr(VI)的浓度相对较低时,微生物细胞才能有效地将它们全部去除。

3 结论

本研究从制革厂铬污泥中分离出具有Cr(VI)去除能力的菌株20株,分别属于*Acinetobacter*、*Microbacterium*、*Leuobacter*、*Ochrobactrum*、*Brachymonas*属,其中*Microbacterium*和*Acinetobacter*属占优势。对代表菌株,考察了不同生长期对

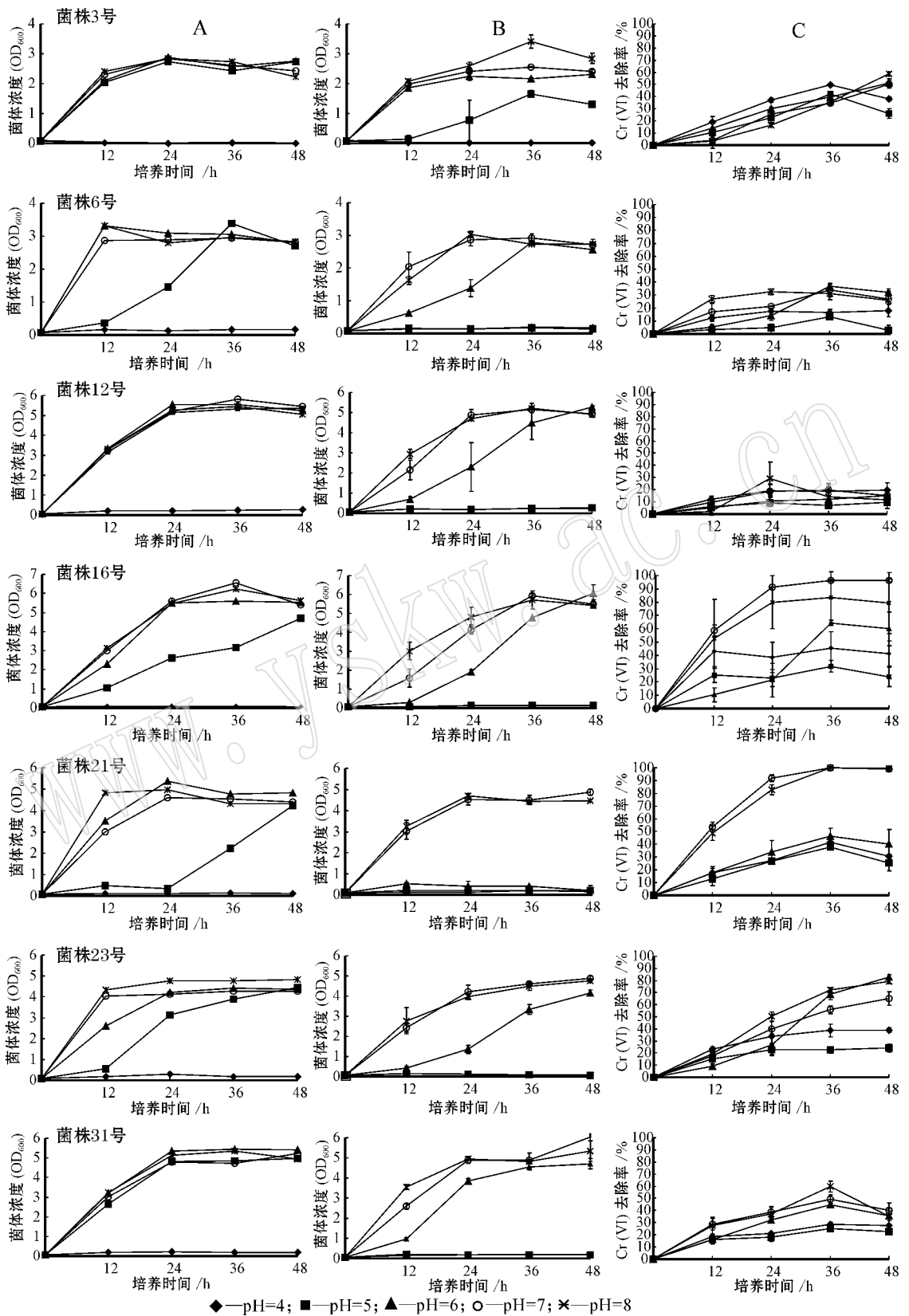


图2 pH值对代表菌株生长及Cr(VI)去除的影响

Fig. 2 Effect of pH value on growth and Cr(VI) removal efficiency of isolates

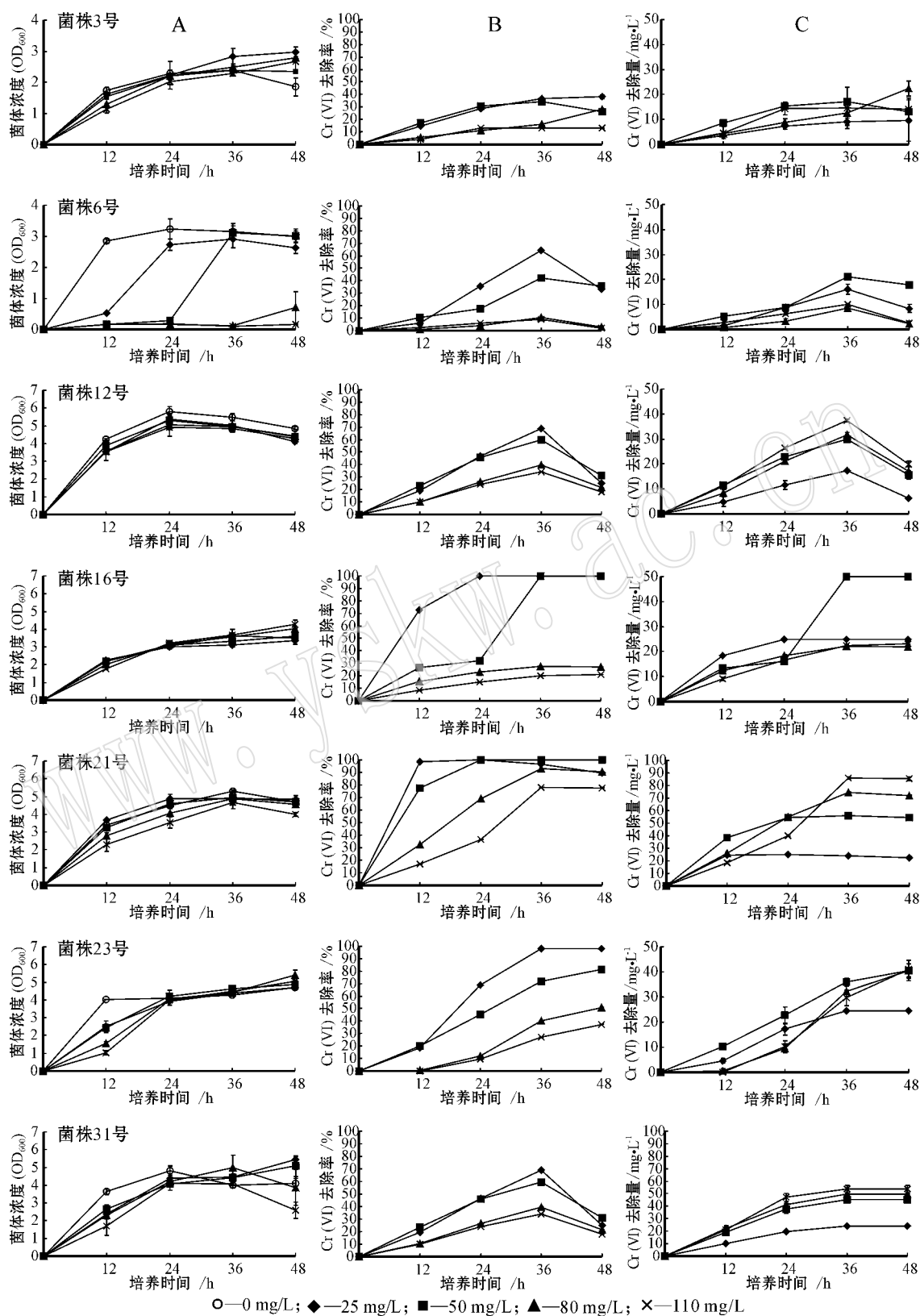


图 3 初始 Cr(VI) 浓度对代表菌株生长及 Cr(VI) 去除效果的影响

Fig 3 Effect of Cr(VI) concentration on growth and Cr(VI) removal efficiency of isolates

菌株去除 Cr(VI) 的影响, 结果表明微生物细胞需要在有旺盛代谢能力和较高活性条件下才具有较高的去除 Cr(VI) 的能力。pH 值对微生物的生长影响显著, 在有 Cr(VI) 存在条件下影响更明显, 只有在菌体生长良好的条件下微生物才具有较高的 Cr(VI) 去除率。Cr(VI) 浓度对分离菌株的生长影响不明显, 多数菌株具有较好的 Cr(VI) 耐受性, 但是耐受性和去除能力没有明显的相关性。和已报道的具有 Cr(VI) 还原能力的菌株相比(McLean and Beveridge, 2001; Megharaj *et al.*, 2003; Viti *et al.*, 2003; Srivastava and Thakur, 2007), 本研究分离获得的菌株具有较高的 Cr(VI) 还原能力, 特别是菌株 16 号和 21 号在对 Cr(VI) 具有很好耐受性的同时, 对 Cr(VI) 的去除能力也很优秀, 是比较理想的可用于 Cr(VI) 污染治理的菌株。

由于单株菌株对环境的适应能力和对 Cr(VI) 的还原能力相对有限, 今后将利用分离获得的具有不同系统分类和不同性能的菌株, 进行混合微生物去除 Cr(VI) 的研究, 为微生物治理 Cr(VI) 污染提供高效混合微生物制剂。

References

- Abou-Shanab R A, Angle J S and van Berkum P. 2007. Chromate-tolerant bacteria for enhanced metal uptake by *Eichhornia crassipes* [J]. *Int. J. Phytoremediation*, 9: 3~4.
- Aravindhan R, Sreeram K J, Rao J R, *et al.* 2007. Biological removal of carcinogenic chromium(VI) using mixed *Pseudomonas* strains [J]. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 53: 71~79.
- Bopp L H and Ehrlich H L. 1988. Chromate resistance and reduction in *Pseudomonas fluorescens* strain LB300 [J]. *Arch. Microbiol.*, 150: 426~431.
- Camargo F A O, Bento F M, Okeke BC, *et al.* 2003. Chromate reduction by chromium-resistant bacteria isolated from soils contaminated with dichromate [J]. *J. Environ. Qual.*, 32: 1 228~1 233.
- Carter M J and Milton I D. 1993. An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles [J]. *Nucleic Acids Res.*, 21: 1 044.
- Chen S and Shao Z. 2009. Isolation and diversity analysis of arsenite-resistant bacteria in communities enriched from deep-sea sediments of the South-west Indian Ocean Ridge [J]. *Extremophiles*, 13: 39~48.
- Clesceri L S, Greenberg, A E and Eaton A D. 1998. 3 500-Chromium, Part 3 000 determination of metals [A]. American Public Health Association, American Waterworks Association, Water Environment Federation, Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water [C]. 3-65~3-68.
- Gauthier E, Déziel E, Villemur R, *et al.* 2003. Initial characterization of new bacteria degrading high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons isolated from a 2-year enrichment in a two-liquid-phase culture system [J]. *J. Appl. Microbiol.*, 94: 301~311.
- Ivanov V, Stabnikov V, Zhuang W Q, *et al.* 2005. Phosphate removal from the returned liquor of municipal wastewater treatment plant using iron-reducing bacteria [J]. *J. Appl. Microbiol.*, 98: 1 152~1 161.
- Kesserü P, Kiss I, Bihari Z, *et al.* 2002. The effects of NaCl and some heavy metals on the denitrification activity of *Ochrobactrum anthropi* [J]. *J. Basic Microbiol.*, 42: 268~276.
- Khalid A, Arshad M and Crowley D E. 2009. Biodegradation potential of pure and mixed bacterial cultures for removal of 4-nitroaniline from textile dye wastewater [J]. *Water Res.*, 43: 1 110~1 116.
- Kim J M and Jeon C O. 2009. Isolation and characterization of a new benzene, toluene, and ethylbenzene degrading bacterium, *Acinetobacter* sp. B11 [J]. *Curr. Microbiol.*, 58: 70~75.
- Mclean J and Beveridge T J. 2001. Chromate reduction by a *Pseudomonad* isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 1 076~1 084.
- Megharaj M, Vudainayagam S and Naidu R. 2003. Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste [J]. *Curr. Microbiol.*, 47: 51~54.
- Mukred A M, Hamid A A, Hanzah A, *et al.* 2008. Enhancement of biodegradation of crude petroleum-oil in contaminated water by the addition of nitrogen sources [J]. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 11: 2 122~2 127.
- Moras P V, Francisco R, Branco R, *et al.* 2004. *Leucobacter chromiireducens* sp. nov. and *Leucobacter aridicollis* sp. nov., two new species isolated from a chromium contaminated environment [J]. *Syst. Appl. Microbiol.*, 27: 646~652.
- Pan D, Li B, Zheng J, *et al.* 2008. Microscopic investigations of the Cr(VI) uptake mechanism of living *Ochrobactrum anthropi* [J]. *Langmuir*, 24: 9 630~9 635.
- Pattanapitpaisal P, Brown N L and Macaskie L E. 2001. Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI)-contaminated site [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 57: 257~261.
- Schippers A, Bosecker K, Spröer C, *et al.* 2005. *Microbacterium oleivorans* sp. nov. and *Microbacterium hydrocarbonoxydans* sp. nov., novel crude-oil-degrading Gram-positive bacteria [J]. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55: 655~660.
- Shi H P and Lee C M. 2007. Phosphate removal under denitrifying conditions by *Brachymonas* sp. strain P12 and *Paracoccus denitrificans* PPI [J]. *Can. J. Microbiol.*, 53: 727~737.
- Srinath T, Verma T, Ramteke P W, *et al.* 2002. Chromium(VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria [J]. *Chemosphere*, 48: 427~435.
- Srivastava S and Thakur I S. 2007. Evaluation of biosorption potency of *Acinetobacter* sp. For removal of hexavalent chromium from tannery effluent [J]. *Biodegradation*, 18: 637~646.
- Stasicka Z and Kotas J. 1999. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation [J]. *Environ. Pollut.*, 107: 263~283.
- Sullia S B. 2005. Microbes for pollution abatement [J]. *Advanced Biotech.*, 3: 43~46.
- Viti C, Pace A and Giovannetti L. 2003. Characterization of Cr(VI)-resistant bacteria isolated from chromium-contaminated soil by tannery activity [J]. *Curr. Microbiol.*, 46: 1~5.
- Zhao Z and Wong J W. 2009. Biosurfactants from *Acinetobacter calcoaceticus* BU03 enhance the solubility and biodegradation of phenanthrene [J]. *Environ. Technol.*, 30: 291~299.