

德兴铜矿地区土壤微生物的分布特征研究

杨诗琴 郝瑞霞[†] 吴沅 姜源

造山带与地壳演化教育部重点实验室, 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871;

[†] 通信作者, E-mail: rxhao@pku.edu.cn

摘要 为了研究长期采矿对矿区环境微生物的影响, 以江西德兴铜矿周围环境土壤为研究对象, 利用微生物培养法、核酸序列分析法、透射电镜等手段, 分析和研究德兴铜矿地区土壤微生物的分布特征, 并探讨表层土壤微生物与重金属的空间依存关系。研究表明, 在实验室条件下, 大坞河-沽口河岸和祝家村土壤中可培养微生物共有 13 种, 大坞河-沽口河岸和祝家村土壤中的细菌在种类和分布层位上具有一定的相似性; 但在真菌方面, 大坞河-沽口河岸和祝家村土壤之间相似性不明显。大坞河-沽口河岸与祝家村土壤剖面中微生物的分布与重金属元素含量具有一定的相关性, 但并非为简单的线性关系, 还受到多种环境因素的影响。

关键词 土壤; 微生物; 重金属元素; 分布

中图分类号 X172

Characteristics of Distribution of Soil Microorganisms in Dexing Copper Ore Deposit

YANG Shiqin, HAO Ruixia[†], WU Feng, JIANG Yuan

The Key Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution (MOE), School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871; [†] Corresponding author, E-mail: rxhao@pku.edu.cn

Abstract To study the effect of long-term mining on the microbes in the environment, the soil sampled from Dexing copper ore deposit and its surrounding environment was chosen to be the object of this study. The distribution characteristics of microorganisms in soil were analyzed, and the spatial dependence of between microorganisms and heavy metal elements in surface soil was discussed by using microbial culture method, nucleic acid sequence analysis method and transmission electron microscopy. The experimental results showed that 13 kinds of microbes were isolated from the soil samples in Dawuhe-Gukou riverbank and Zhujiacun. The bacteria isolated from the soil samples in Dawuhe-Gukou riverbank and Zhujiacun had a certain similarity in type and distribution layer; however, to fungi, the similarity between Dawuhe-Gukou riverbank and Zhujiacun was not obvious. The microbial distribution and heavy metal element content in the soil profile had a certain relationship, but not to a simple linear relation, also influenced by various environmental factors.

Key words soil; microorganism; heavy metal element; distribution

德兴铜矿是中国最大的露天开采矿区, 开采历史悠久, 对周边环境产生一定的影响, 也为研究特殊环境下的微生物分布特征提供了素材。大坞河源头低品位矿石堆浸场产生的酸性废水, 使河流上游受到严重污染, 中下游水质有所改善, 离河岸越远的土壤受污染河水的影响越小^[1]。微生物群落的分

布受元素地球化学性质的影响, 且无法简化控制微生物群落结构的多种因素^[2]。淋滤作用会导致部分细菌菌群的突变^[3]。目前从德兴铜矿区筛选出的一些菌种对矿石具有淋滤或氧化作用, 如 *Acidiphilium* sp. PJH^[4], *Leptospirillum ferriphilum* YTW315^[5], *Acidiphilium cryptum* DX1-1 和 *Acidithiobacillus*

ferrooxidans GF^[6]。但有关德兴铜矿区周围土壤微生物的分布以及与重金属元素的相关性还未见报道。本文就德兴铜矿及其周围环境土壤的微生物分布特征展开研究,并结合重金属元素的分布特点,分析和探讨土壤纵向剖面微生物的分布与重金属元素的空间依存关系。

1 材料与方法

1.1 土壤样品

土壤样品分别采自江西上饶德兴铜矿区的祝家村(ZJC)和大坞河-沽口(DWH-GK)。祝家村和大坞河-沽口位于大坞河流域,距矿区较近,受矿区排出的酸性废水影响。利用土样采集器分别在每一个采样点采集 3~4 个土柱。由于各个地段的土壤湿度、疏松程度各不相同,因此采集的土壤深度有所差异,在 41~45 cm 之间。采集后的土柱用塑料膜包好、密封、避光保存,使其保持原有状态,并放入 4℃ 冷藏箱,迅速带回实验室,转入 4℃ 冰柜中保存备用。

从各采样点的土柱 0, 10, 20, 30, 40 cm 深度处各取约 5 g 土壤样品,分别装入纸袋,在烘箱中干燥后,去除其中植物碎片、砾石等物质,用玛瑙研钵磨细,过 200 目尼龙网筛,装入样品袋备用。

1.2 土壤样品的微生物纯培养

1.2.1 材料与仪器

LB 培养基:蛋白胨 10 g, 酵母粉 5 g, NaCl 10 g, 葡萄糖 3 g, 去离子水 1 L, pH 7.0。

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 2.5 g, 蛋白胨 5 g, NaCl 5 g, 葡萄糖 3 g, NaNO₃ 0.5 g, MgSO₄·7H₂O 0.01 g, NH₄Cl 1 g, KH₂PO₄ 2.7 g, K₂HPO₄ 2.7 g, 去离子水 1 L, pH 7.0。

0.2 MPBS: NaH₂PO₄·2H₂O 1.217 g, Na₂HPO₄·12H₂O 4.37 g, 去离子水 100 mL, pH 7.0。

固定液: 50 mL PBS (0.2 mol/L pH 7.0) 中加入 1 g 多聚甲醛, 于 60℃ 水浴 1 小时溶解, 冷却后加入 25% 戊二醛水溶液 10 mL, 加水至 100 mL。

HZQ-F100 振荡培养箱(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司); 电子天平(余姚纪铭称重校验设备有限公司); LRH-150 生化培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司)。

1.2.2 土壤微生物分离纯化

将前处理过的 0~40 cm DWH-GK 土壤样品取 5 g 加入到 200 mL LB 液体培养基中, 在 30℃, 150 rpm 条件下震荡培养 2~3 天, 见明显微生物生长后,

用平板划线法接种到相同培养基的培养皿中, 在 30℃ 下培养。反复纯化, 最后挑出单一菌落在液体培养基中富集培养并测出基因序列。对 ZJC 土壤同样做此处理, 但接入 200 mL 牛肉膏蛋白胨液体培养基中。

1.2.3 扫描电镜观察微生物形态

菌液样品制样 配制足量 0.2 mol/L PBS, 取部分稀释成 0.1 mol/L PBS。用 EP 管收集培养了 2~3 天的菌液, 4000 rpm 离心 5 分钟。用 0.1 mol/L PBS 颠倒混匀重悬细胞 5 分钟后, 以 3000 rpm 离心 5 分钟去除上清液, 重复 2 次。弃上清液后, 加入固定液, 温和混匀。室温下固定 0.5~4 小时。然后, 用 PBS 清洗 2~3 次, 进行乙醇梯度脱水, 每步以 3000 rpm 离心 5 分钟。完成后进行乙酸异戊酯置换, 同样每步需以 3000 rpm 离心 5 分钟。将离心浓缩后的菌液滴在硅片上, 用合适尺寸的普通定性滤纸包好, 放入临界点干燥器样品室, 进行 CO₂ 临界点干燥。取出后用变色硅胶保存, 确保干燥。

固体培养样品制备 选择固体平板中长得好的湿润菌落, 取其中生长适中的部分用无菌刀片切下, 放置在贴好石墨胶带的样品台上。

1.3 土壤微量元素的测定

1.3.1 样品预处理

准确称取待测土壤样品 25 mg 于洗净的 Teflon 溶样罐中, 用移液器缓慢加入 1.5 mL 浓 HNO₃ 和 1.5 mL 浓 HF, 盖上罐盖在电热板上 70℃ 恒温过夜, 使样品慢慢与酸反应。第二天启盖, 在电热板恒温 150℃ 条件下加热至湿盐状。

取下溶样罐, 其内加 1.5 mL HF 和 1.5 mL 的 1:1 HNO₃, 加盖, 放入不锈钢套内, 旋紧钢套。将高压溶样罐放烘箱内, 在 180℃ 恒温条件下保温 72 小时, 随时观察烘箱状态。冷却到室温后取出溶样罐, 开盖, 在 150℃ 左右的恒温电热板上蒸发, 冒白烟, 至样品溶液呈湿盐状。

在溶样罐内加入 3 mL 的 1:1 HNO₃, 加盖放入不锈钢套内, 再次放入烘箱内, 于 150℃ 恒温条件下加热过夜。冷却到室温后取出, 再在恒温电热板上加热蒸发呈湿盐状(150℃)。在溶样罐内加入 1 mL 的 1:1 HNO₃, 充分摇匀, 在电热板上加热片刻, 使其盐类溶解, 此时应呈清液状。

将溶液转入 50 mL 比色管内, 并多次用 1% 的 HNO₃ 溶液(含 10 ng/mL)冲洗溶样罐, 以确保样品溶液完全转移, 最后再用 1% HNO₃ (含 10 ng/mL)

冲洗到刻度,充分摇匀。摇匀后立即转移到小塑料瓶中待测。

1.3.2 分析方法

用 ICP-MS 分析土壤的微量元素,标液使用国家标准样品 GSS-7。用 Excel 处理数据。

2 结果与讨论

2.1 土壤中的可培养微生物

从大坞河-沽口河岸和祝家村土壤样品分离和纯化出多种微生物菌株。根据在培养皿中的生长形态和颜色不同,微生物菌株被分为 13 组。在大坞河-沽口河岸土壤剖面中,40 cm 层位有一种真菌;在祝家村土壤剖面中,20 cm 层位分布有两种真菌,30 cm 层位出现 3 种真菌。细菌则在整个剖面都有分布。

对从大坞河-沽口河岸土壤样品分离的微生物菌株进行测序分析,结果表明,大坞河-沽口河岸土壤中共有 5 种细菌,分别是球形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa* PAO1)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)。真菌有座囊菌纲煤炱目 *Davidiellaceae* 科。

对从祝家村土壤分离的微生物菌株做 PCR 分析,结果表明,祝家村土壤中有 6 种细菌,分别是球形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa* PAO1)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、假蕈状芽孢杆菌(*Bacillus pseudomycooides*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)和溶血葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*)。真菌有尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)、橘青霉(*Penicillium citrinum*)和一种内生真菌。

2.2 微生物的基本特征

解淀粉芽孢杆菌:革兰氏阳性,杆状,短粗,呈椭圆形,两端钝圆;可形成内生芽孢,芽孢囊不膨大,中生到次端生,近圆柱状,单个长度在 1~2 μm 之间(图 1(a))。平板培养呈白色或淡黄色不透明菌落,表面粗糙微隆,湿润,边缘不规则,无色素生成(图 2(a))。

蜡状芽孢杆菌:革兰氏阳性,杆状,大小为 (1.0~1.3) $\mu\text{m} \times$ (3.0~5.0) μm ,末端方,成短或长链,

有运动性;芽孢圆形或柱形,中生或近中生,1.0~1.5 μm ,孢囊无明显膨大,无荚膜(图 1(b))。平板培养菌落较大,呈圆形或近圆形,白色似蜡,表面粗糙扁平,不规则不透明,无色素,边缘呈扩展状(图 2(b))。

球形赖氨酸芽孢杆菌:长杆状,革兰氏阳性,末端圆,有运动性,长度 2~6 μm ,多数长 3~4 μm ,宽 1 μm ,一端明显膨大,还可观察到芽孢产出(图 1(c))。平板培养菌落为浅黄色,圆形或椭圆形,不透明,表面光滑,微隆起,边缘齐整(图 2(c))。

假蕈状芽孢杆菌:短杆状,两端圆,椭圆状,近球形,个体较小,长约 1~2 μm (图 1(d)),芽孢中生,多成对或链状。平板培养菌落较小,点状,浅黄色到黄色,不透明,表面光滑,微隆起,边缘齐整,中心略凹陷(图 2(d))。

棘孢木霉菌:菌丝密集(图 1(e)),层厚适中,呈平整毡状,初期白色,后期产生分生孢子,呈黄色或黄绿色(图 2(e));孢子梗对生生长,主分枝树状,孢子梗长 6.5~12.5 μm ,中间宽 3~4.5 μm ,基部宽 2~3.5 μm ,瓶梗短,基部细,中间膨大,底部瓶梗较长,节间较短,分生孢子球形,亚球形或卵形,表面粗糙,3.2~5 $\mu\text{m} \times$ 2.5~4 μm 。

尖孢镰刀菌:菌丝层厚适中,白色棉絮状或绒毡状(图 2(f));菌丝致密饱满,细长少分枝,节间较长,分生孢子小(图 1(f))。

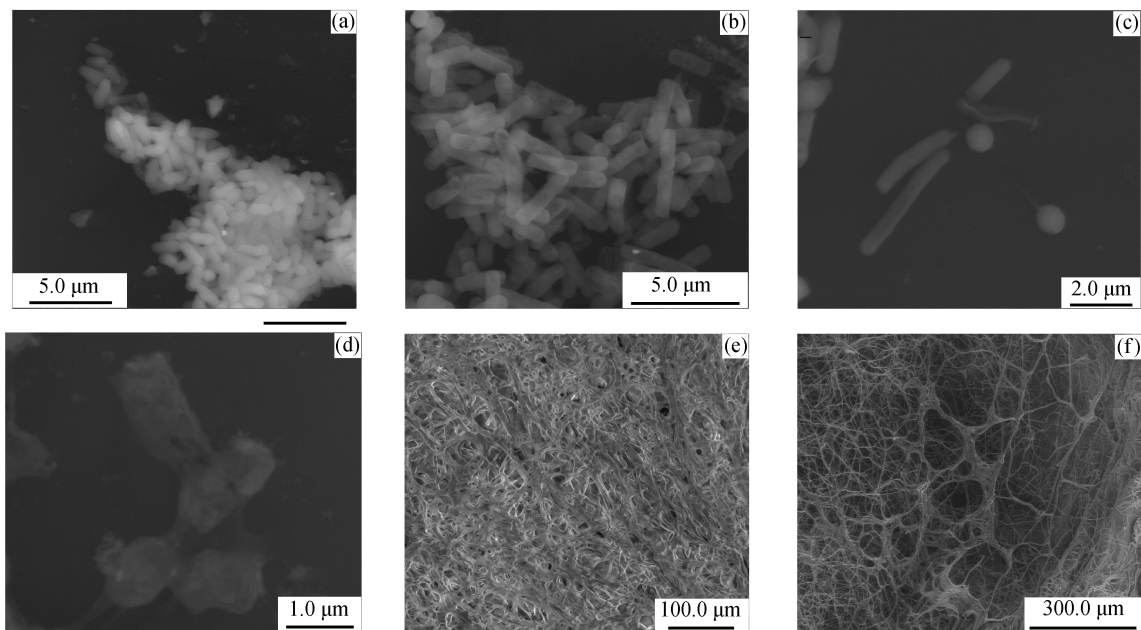
2.3 构建系统发育树

将测定的 DNA 序列用 Blast 软件与 Genbank 中已知序列进行同源性比对,并利用 Clustal X 及 Mega 5.0 对菌株进行发育分析,绘制系统发育树(图 3 和 4)。

在分离得到的这些菌种中,解淀粉芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、球形赖氨酸芽孢杆菌、假蕈状芽孢杆菌、棘孢木霉和尖孢镰刀菌的基因序列已上传到 Genbank,并获得序列号 KJ188737-KJ188742。

2.4 土壤重金属元素的分布特征

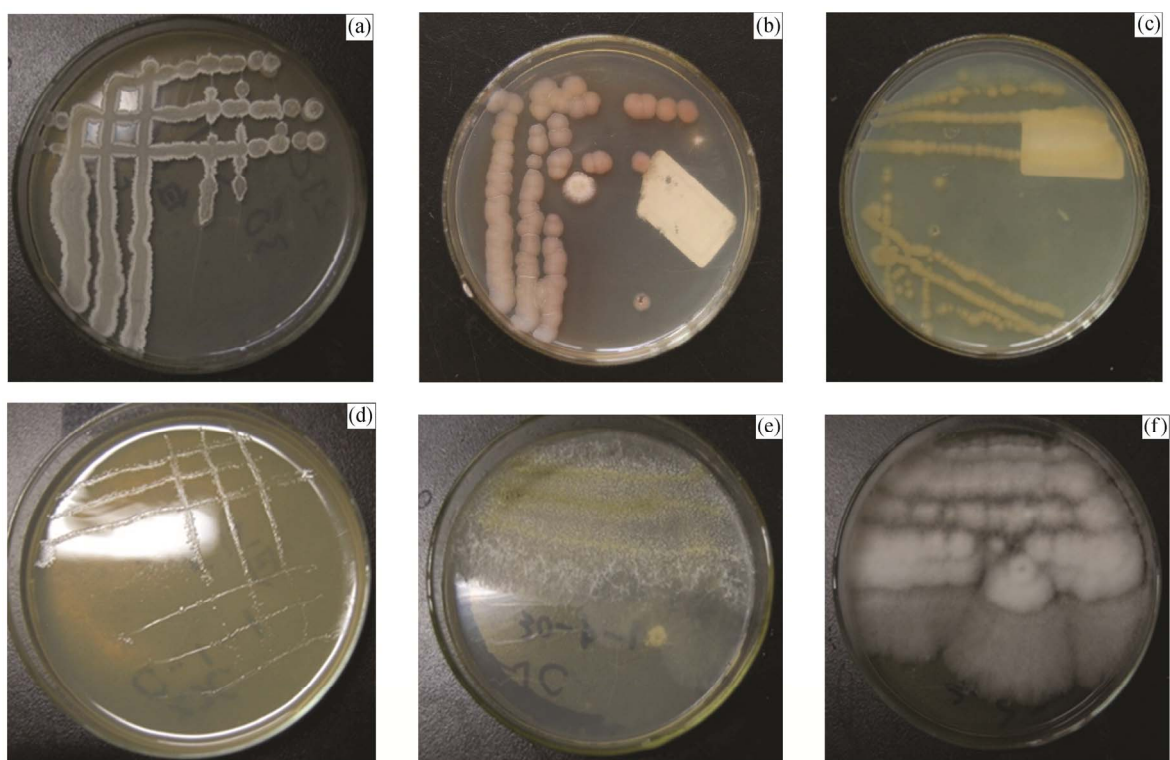
对大坞河-沽口河岸和祝家村的土壤样品分别进行重金属元素分析。分析结果表明:在大坞河-沽口河岸土壤中(图 5),V 的含量随土壤深度的增加变化不大;Mn 的含量在深度 0~20 cm 的下降幅度不大,在 30 cm 有所增加;表层 Co 的含量较高,且在 10~40 cm,Co 含量随深度的增加而增加;Ni 含量从 0~20 cm 逐渐升高,在 20 cm 处升高的幅度最大,但紧接着在 30 cm 含量突降;Cu 的含量相对较高,



(a) 解淀粉芽孢杆菌; (b) 蜡状芽孢杆菌; (c) 球形赖氨酸芽孢杆菌; (d) 假草状芽孢杆菌; (e) 棘孢木霉; (f) 尖孢镰刀菌

图 1 微生物的环境扫描电子显微镜照片

Fig. 1 ESEM micrographs showing microbial morphological characteristics



(a) 解淀粉芽孢杆菌; (b) 蜡状芽孢杆菌; (c) 球形赖氨酸芽孢杆菌; (d) 假草状芽孢杆菌; (e) 棘孢木霉; (f) 尖孢镰刀菌

图 2 微生物菌落

Fig. 2 Microbial colonies isolated from soil

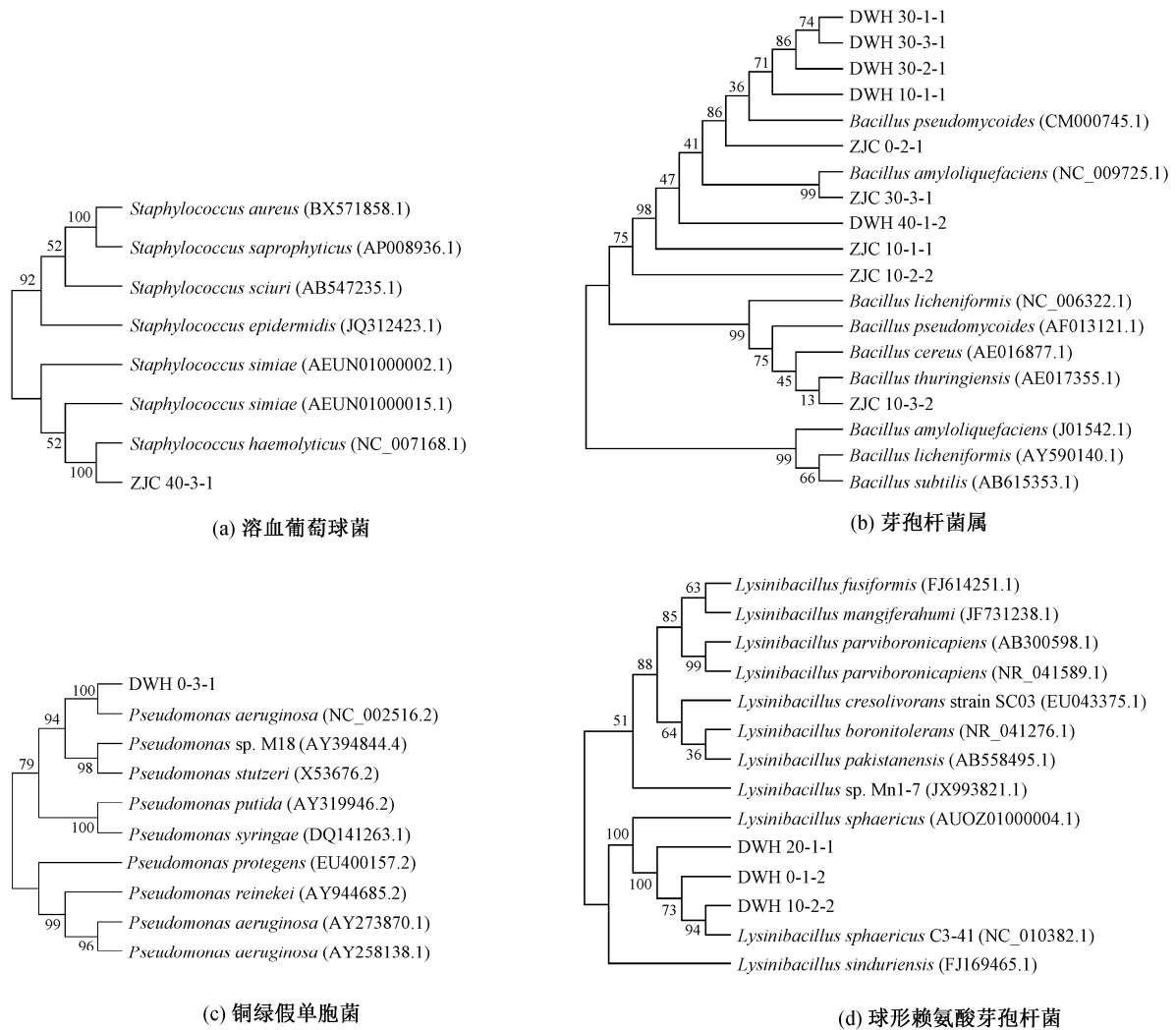


图 3 细菌的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic trees of bacteria

但变化规律不明显；除个别层位外，Pb 含量总体表现为随着深度增加而降低的趋势。

祝家村土壤中(图 6)，V 的含量从 0~10 cm 降低，而从 10~40 cm 缓慢升高；表层 Mn 的含量比较高，且在 10~40 cm，随深度增加，Mn 的含量逐渐升高；Co 的含量变化规律与大坞河-沽口河岸土壤相似，表层较高，10 cm 以下，Co 的含量随深度的增加而增加；Ni 的含量变化无明显规律性；Cu 的含量相对较高，在 20 cm 处最高；Pb 的含量变化不大，且无规律性。

2.5 微生物在土壤纵向剖面的分布特征

大坞河-沽口河岸土壤和祝家村土壤的微生物种类有一定的相似性，都存在球形赖氨酸芽孢杆菌、铜绿假单胞菌和苏云金芽孢杆菌这 3 种细菌；

但真菌方面相似性不大，没有相同的真菌出现。

在大坞河-沽口河岸土壤中(图 5)，球形赖氨酸芽孢杆菌除 30 cm 层位外均有分布；铜绿假单胞菌需要氧气，仅分布在 0 cm；苏云金芽孢杆菌在该地区对元素的耐受性好，在 0~40 cm 层位都有分布；蜡状芽孢杆菌与球形赖氨酸芽孢杆菌正好相反，只出现在 30 cm；地衣芽孢杆菌喜近水生长，只出现在 40 cm 层位，可能与当地的地下水位有关。不少研究指出，蜡状芽孢杆菌对 Cd, Pb, Cr, Cu 和 Mn 等重金属离子有积累、吸附作用，在不同的环境下还分别有氧化和还原作用^[7-13]。有研究表明，地衣芽孢杆菌为嗜热菌，有吸附重金属离子、降解水体中污染物的作用，其中 Mn 离子还可促进它生长和繁殖^[14-15]。

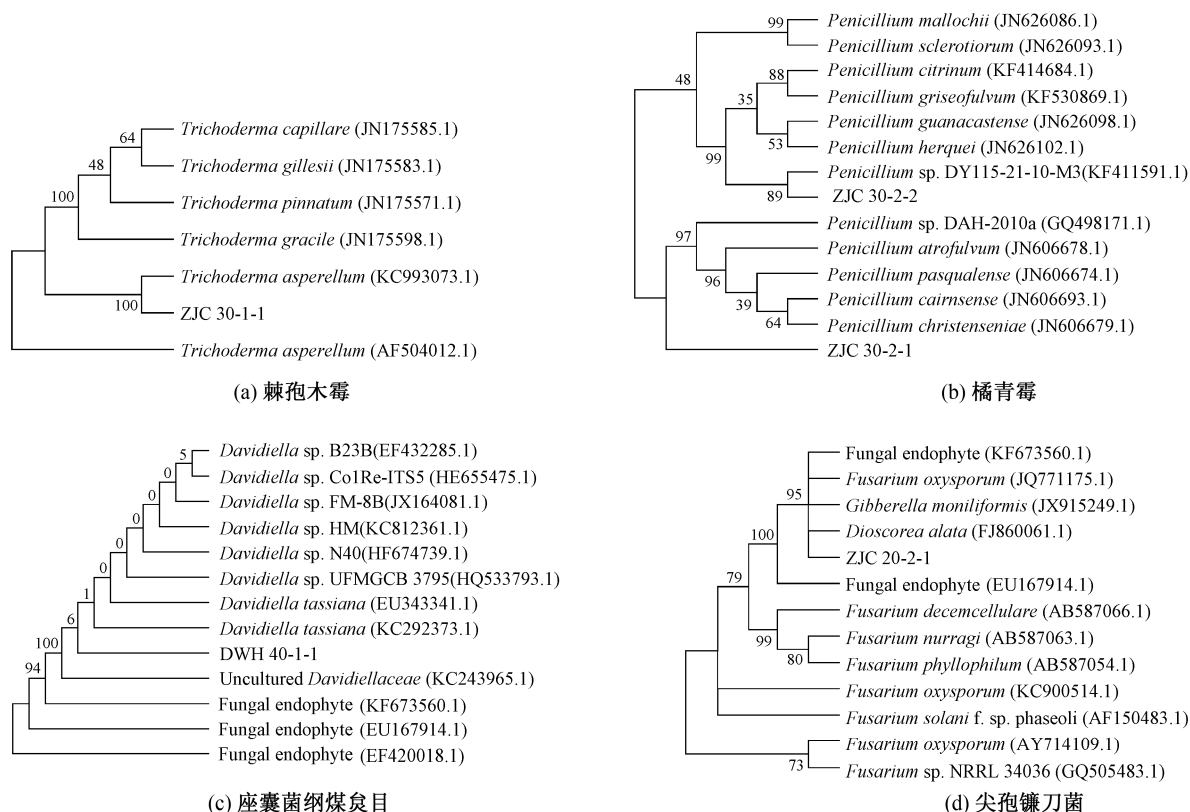


图 4 真菌的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic trees of fungi

在祝家村土壤中(图 6), 球形赖氨酸芽孢杆菌对元素的变化不敏感, 遍布整个剖面。铜绿假单胞菌和假蕈状芽孢杆菌因其生长需要氧气, 仅出现在 0 cm 层位。苏云金芽孢杆菌出现在 0, 10, 40 cm 层位。解淀粉芽孢杆菌只出现在 30 cm 层位, 解淀粉芽孢杆菌能够降解有机物, 生成 α -淀粉酶, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 会促进 α -淀粉酶的产生, 可能是因为该层位有相对较多的有机物积累^[16]。溶血葡萄球菌在 20 cm 和 40 cm 层位出现, 该菌株容易被 Cu 损伤^[17]; 40 cm 处 Cu 含量较低, 有利于生存; 20 cm 层位 Cu 含量虽高, 但可能存在有利于该菌株生长的其他因素。橘青霉出现在 20 cm 和 30 cm 层位, 该菌株可以产生一种核酸酶 P1, 金属离子 Zn^{2+} , Sn^{2+} 和 Mn^{2+} 能促进橘青霉的生长^[18]。在 20 cm 和 30 cm 层位, 重金属离子浓度相对偏低, 且 Zn^{2+} , Sn^{2+} 和 Mn^{2+} 的浓度较适宜, 有利于橘青霉的生长。尖孢镰刀菌仅出现在 20 cm 层位, 可能是受到解淀粉芽孢杆菌的抗菌性影响^[19], 无法向下扩展。棘孢木霉出现在 30 cm 层位, 该菌能够抑制多种病原真菌的生长, 并降低土壤重金属元素对植物生长的抑制作用^[20]。

同一层位所分离的真菌种类少, 可能与棘孢木霉有一定的关系。内生真菌分布在 30 cm 层位。

大坞河-沽口河岸土壤的微量元素分析结果表明, 大多数金属离子的含量从 20 cm 层位开始下降, 可能与蜡状芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌的生长繁殖有关。其中, 蜡状芽孢杆菌可能在一定程度上减少了 Cu 和 Pb 在该层位的含量, 与 Cu 和 Pb 相反, Mn 的含量上升, 或有其他因素干扰。

在祝家村土壤中, Cu 元素影响和抑制溶血葡萄球菌的生长和代谢。 Zn^{2+} , Sn^{2+} 和 Mn^{2+} 控制橘青霉的生长。解淀粉芽孢杆菌抑制尖孢镰刀菌的生长, 棘孢木霉抑制同层位的其他真菌的生长, 与重金属元素的分布关系尚不明确。

3 结论

本文以江西德兴铜矿及其周围环境土壤为研究对象, 分析和研究了土壤微生物的分布特征, 探讨土壤表层微生物与重金属的空间依存关系, 得出以下结论。

1) 从大坞河-沽口河岸和祝家村土壤中分离出

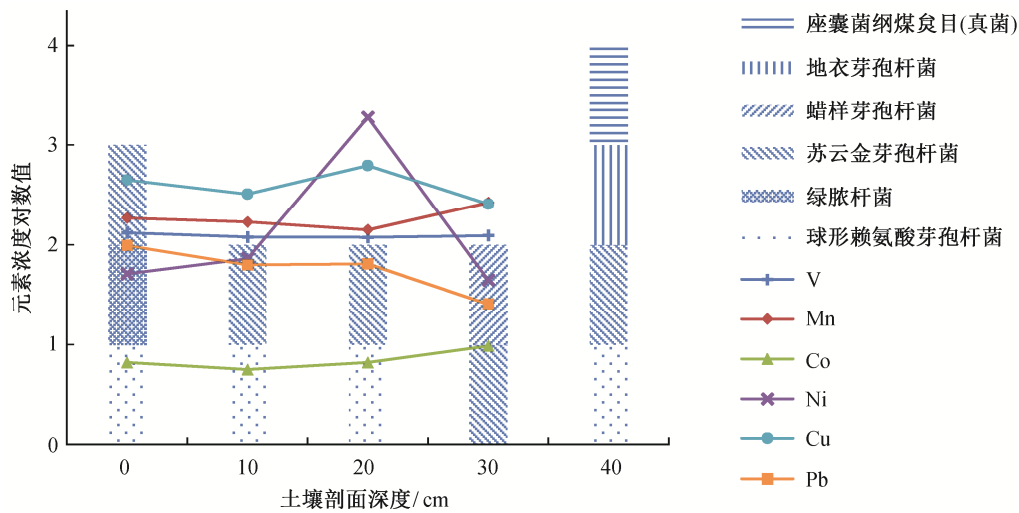


图 5 大坞河-沽口河岸土壤重金属元素和微生物分布

Fig. 5 Distribution of heavy metal elements and microorganisms of soil from Dawuhe-Gukou riverbank

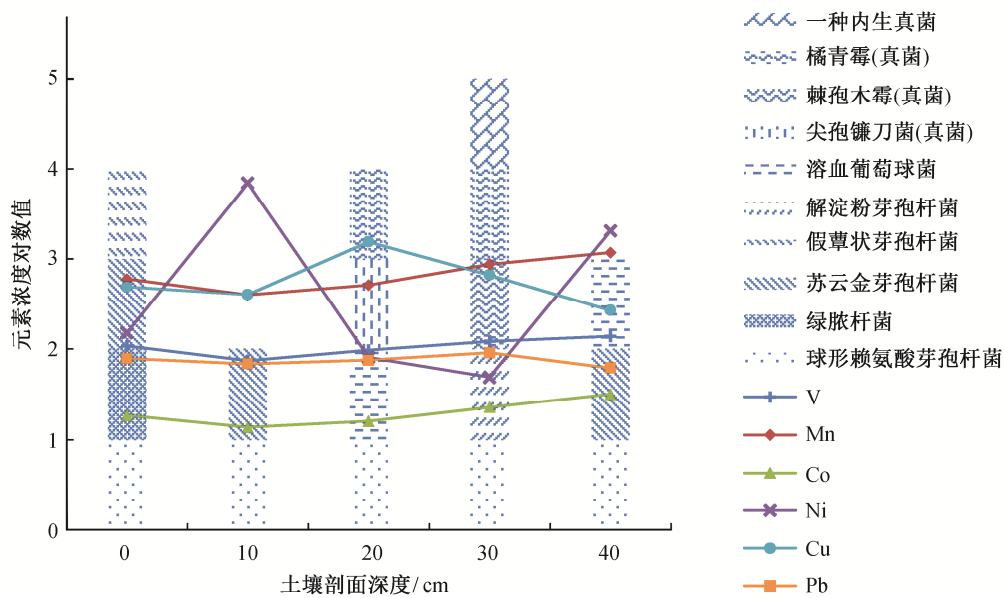


图 6 祝家村土壤重金属元素和微生物分布

Fig. 6 Distribution of heavy metal elements and microorganisms of soil from Zhujiacun

可培养微生物 13 种, 其中从大坞河沽口河岸土壤中分离出 5 种细菌和 1 种真菌, 从祝家村土壤中分离出 6 种细菌和 4 种真菌。

2) 大坞河-沽口河岸和祝家村土壤中的细菌在种类和分布层位上具有一定的相似性, 有 3 种细菌在两处都存在。但在真菌方面, 大坞河-沽口河岸和祝家村土壤之间相似性不明显, 祝家村土壤可培养的真菌种类比较多。

3) 土壤剖面微生物的分布与重金属元素含量并

非简单的线性关系, 还受到多种环境因素的影响。

参考文献

- [1] 初娜, 赵元艺, 张光弟, 等. 江西省德兴铜矿矿区重金属元素的环境效应, 地质学报, 2008, 82(4): 562-576
- [2] Yin H, Cao L, Qiu G, et al. Molecular diversity of 16S rRNA and gyrB genes in copper mines. Archives of Microbiology, 2008, 189(2): 101-110

- [3] Xie X, Yuan X, Liu N, et al. Bioleaching of arsenic-rich gold concentrates by bacterial flora before and after mutation. *BioMed Research International*, 2013, 339: 9
- [4] Peng J H, Zhang R Y, Zhang Q, et al. Screening and characterization of *Acidiphilium* sp. PJH and its role in bioleaching. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2008, 18(6): 1443–1449
- [5] Zhang R Y, Xia J L, Peng J H, et al. A new strain *Leptospirillum ferriphilum* YTW315 for bioleaching of metal sulfides ores. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2010, 20(1): 135–141
- [6] Xu A L, Xia J L, Zhang S, et al. Bioleaching of chalcopyrite by UV-induced mutagenized *Acidiphilium cryptum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2010, 20(2): 315–321
- [7] Cerrato J M, Falkinham III J O, Dietrich A M, et al. Manganese-oxidizing and-reducing microorganisms isolated from biofilms in chlorinated drinking water systems. *Water Research*, 2010, 44(13): 3935–3945
- [8] Huang F, Guo C L, Lu G N, et al. Bioaccumulation characterization of cadmium by growing *Bacillus cereus* RC-1 and its mechanism. *Chemosphere*, 2014, 109: 134–142
- [9] Çolak F, Atar N, Yazıcıoğlu D, et al. Biosorption of lead from aqueous solutions by *Bacillus* strains possessing heavy-metal resistance. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 173(2): 422–428
- [10] Chen Z, Huang Z, Cheng Y, et al. Cr(VI) uptake mechanism of *Bacillus cereus*. *Chemosphere*, 2012, 87(3): 211–216
- [11] Dong G, Wang Y, Gong L, et al. Formation of soluble Cr(III) end-products and nanoparticles during Cr(VI) reduction by *Bacillus cereus* strain XMCr-6. *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 70: 166–172
- [12] Murugavelh S, Mohanty K. Isolation, identification and characterization of Cr(VI) reducing *Bacillus cereus* from chromium contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 230: 1–9
- [13] Pan J, Liu R, Tang H. Surface reaction of *Bacillus cereus* biomass and its biosorption for lead and copper ions. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19(4): 403–408
- [14] 杨革, 陈坚, 曲音波, 等. 碳源和 Mn^{2+} 对地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis* WBL-3 生产聚 γ -谷氨酸的影响. *化工学报*, 2002, 53(3): 317–320
- [15] 张菊, 李金敏, 张志焱, 等. 地衣芽孢杆菌的研究进展. *中国饲料*, 2012(17): 9–11
- [16] Sudha. Effect of different concentrations of metal ions on alpha amylase production by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Research in Biotechnology*, 2012, 3(4): 67–71
- [17] Santo C E, Quaranta D, Grass G. Antimicrobial metallic copper surfaces kill *Staphylococcus haemolyticus* via membrane damage. *Microbiologyopen*, 2012, 1(1): 46–52
- [18] 梁剑光, 黄鹏, 徐正军. 桔青霉发酵法生产核酸酶 P₁ 工艺条件及影响因素研究. *中国酿造*, 2007, 26(11): 27–30
- [19] 权春善, 王军华, 徐洪涛, 等. 一株抗真菌解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定及其发酵条件的初步研究. *微生物学报*, 2006, 46(1): 7–12
- [20] 戚玮真. 生防木霉菌对植物的解盐促生作用及其机制的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2012