

文章编号: 1674-7054(2019)01-0041-06

1 株耐多种重金属菌株的分离鉴定

刘士尧, 刘珮熠, 徐羽丰, 龙云飘, 牛晓磊, 李春霞, 陈银华, 陶 均

(海南大学 热带农林学院/海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228)

摘 要: 采集海南昌江矿区的土壤样品, 通过分离与纯化, 筛选出4株对金属铜(CuSO_4)具有较高耐受力的菌株。其中, 菌株Cu-6还对铅($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Pb}$)和镉(CdCl_2)具有较高的耐受力。Cu-6属于阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*), 其最适生长条件是: 温度34℃, pH6.0, 0.5% NaCl。菌株重金属耐受能力检测结果表明, 菌株Cu-6能在 $800\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}^{2+}$, $1700\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Pb}^{2+}$ 和 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cd}^{2+}$ 的LB液体培养基中生长。3种离子同时存在时, 菌株Cu-6仍能较好生长, 显示出该菌株对环境有较强适应能力, 可能对土壤重金属的污染具有修复潜力。

关键词: 重金属污染; 耐受细菌; 阴沟肠杆菌

中图分类号: S 667.9

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswnb.2019.01.007

海南昌江石碌铁矿是大型的露天铁矿床^[1], 形成于大型火山沉积、变质等过程, 富含多种重金属^[2-3]。昌江县属于典型的热带季风气候区, 终年高温, 旱雨季明显, 植被繁茂, 然而石碌铁矿尾矿场却地表裸露, 植被稀少, 这反映出其土壤中重金属环境复杂。这样特殊的地质环境与气候特性相结合给极端微生物制造了得天独厚的生长环境, 也会孕育出一批具有特殊功能的微生物群落。重金属污染是中国乃至世界各国快速发展中都会遇到的环境问题^[4-5]。重金属污染多为多种重金属复合型污染, 而非单一化学元素污染, 其污染主要来自采矿、冶炼、化工等行业不合理排放, 以及农药化肥的不合理使用。Friesl W等研究表明, 在工业矿区和污灌区的重金属污染主要以Cu、Cd、Pb等元素为主, 在废旧电池处理工厂, Pb、Cu、Zn等重金属元素也严重超标^[6-7]。土壤中的多种元素以及其他化合物复合污染形势已经日趋严峻, 其间复杂的相互作用也增加了环境修复的难度。目前, 土壤重金属修复主要通过物理方法、化学方法和生物方法, 但上述方法仅针对单一元素的土壤污染修复进行研究, 而针对多种元素复合型污染的相关研究较少^[8]。研究重金属复合污染的土壤修复技术是未来的发展趋势和方向。笔者在海南石碌矿区的土壤样品中发现了1株对多种重金属具有耐受力的菌株, 并对其进行分离鉴定, 旨在为土壤重金属污染修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 土壤 本实验所用土壤采集于海南昌江石碌矿区(北纬19°14′, 东经109°4′)表层5~10 cm的土壤, 采取5份样品, 土壤样品装于无菌土壤样品瓶中, 取部分土壤进行实验, 其余样品贮存在4℃的冰箱中备份待用。根据文献记载, 此处土壤中Cu、As、Fe超过同类土壤环境质量标准^[9]。

1.2 试剂 本实验PCR试剂购自南京诺唯赞生物科技有限公司, 测序服务来自华大基因(广州)公司, 其他化学试剂购自广州化学试剂公司和Sigma-Aldrich。

1.3 培养基 Luria-Bertani (LB) 培养基: 10 g 胰蛋白胨, 10 g 氯化钠, 5 g 酵母提取物, 蒸馏水定容至1 L, pH7.0~7.2。筛选培养基: LB培养基+各种不同浓度的金属离子。

1.4 菌株的筛选与分离 取土样5 g装入含有45 mL无菌水的离心管中, 充分混匀后 $1867\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离

收稿日期: 2018-10-09

修回日期: 2018-11-12

基金项目: 海南大学大学生创新创业基金(hdcxycxm201705); 海南省自然科学基金(20163049, 20163050)

作者简介: 刘士尧(1993-), 男, 海南大学热带农林学院2016级硕士研究生, E-mail: hllishiyao@163.com

通信作者: 陶均(1976-), 男, 副研究员, 博士, 研究方向: 微生物与环境互作机制, E-mail: taoj@hainu.edu.cn

心 2 min, 取上清并稀释制成 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 悬液备用。

配制不同铜离子 (Cu^{2+}) 质量浓度 (10 , 50 , 100 , 250 , 500 , $1\ 400$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 LB 固体培养基, 并用高压蒸汽锅灭菌。取质量分数为 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 的土壤悬液各 $100\ \mu\text{L}$ 涂布在含铜离子浓度不同的培养基上, 每种浓度 3 个重复, $28\ ^\circ\text{C}$ 培养箱培养 1~5 d。观察培养基上细菌的生长状况, 筛选出菌株的最大耐受范围。

挑取在最高质量浓度 Cu^{2+} 培养基上生长的单菌落, 再按平板划线法进行培养, 观察长出菌落是否单一且一致, 如果不满足条件, 则继续平板划线法培养直至菌落形态单一、一致。

将筛选到的菌株置于含 Cu^{2+} 质量浓度分别为 100 , 200 , 300 , 400 , 500 , 600 , 700 , 800 , 900 , $1\ 000$, $1\ 200$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的液体培养基中进行再次筛选, 检测得到菌株在液体环境中的最大耐受程度及最适合的生长环境。

1.5 菌株的鉴定

1.5.1 形态学鉴定 将通过筛选获得的菌株划线于 LB 固体培养基上得到单菌落, 观察菌落大小、颜色、形状、凸起、透明度等, 并进行革兰氏染色, 观察染色的阴阳性和菌体形态。根据以上表型对比分析菌株类型。

1.5.2 分子生物学鉴定 利用细菌 16S rRNA 基因进行鉴定, 利用其通用引物 (F: $5'$ -AGAGTTTGATCCT-GGCTCAG- $3'$ 和 R: $5'$ -GGTACCTTGTTACGACTT- $3'$) 进行 PCR 扩增测序。将检测无误的纯化片段送华大基因 (广州) 公司进行测序, 通过 NCBI 中的 BLAST 方法进行分析, 并与 NCBI 里 9 株其他细菌的 16S rDNA 序列进行比对, 应用 MEGA6.06 软件利用最大似然法构建系统发育树。

1.6 菌株的最适生长条件的测定

1.6.1 菌株的最适 pH 将菌株以体积分数为 1% 的量分别接种于不同 pH 值 (pH 为 5.5 , 6.0 , 6.5 , 7.0 , 7.5) 的液体培养基 ($5\ \text{mL}$) 中, 3 次重复, $180\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, $28\ ^\circ\text{C}$ 条件下振荡培养 24 h 后测定光密度值 OD_{600} 。

1.6.2 菌株的最适温度 将菌株以体积分数为 1% 的量分别接种于多个 $10\ \text{mL}$ 培养基中, 分别放置于 24 , 26 , 28 , 30 , 32 , 34 , $36\ ^\circ\text{C}$ 进行培养, 每个温度 3 个重复, $180\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, pH6.0 条件下进行振荡培养 24 h 后测定光密度值 OD_{600} 。

1.6.3 菌株的最适渗透压 将菌株以体积分数为 1% 的量分别接种于 NaCl 不同终质量分数 (0 , 0.5% , 1% , 1.5% , 2% , 3%) 的液体培养基进行培养, 每个终质量分数为 3 个重复, $180\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, $34\ ^\circ\text{C}$, pH6.0 条件下进行振荡培养 24 h 后测定光密度值 OD_{600} 。

1.7 菌株对 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 耐受性的影响 配制含 Pb^{2+} 质量浓度分别为 100 , 300 , 500 , 700 , 900 , $1\ 100$, $1\ 300$, $1\ 500$, $1\ 700$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cd^{2+} 质量浓度分别为 50 , 100 , 150 , 200 , 250 , 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的液体培养基, 接种并培养菌株 24 h 后测定 OD_{600} 值。得到浓度后将 3 种金属以组合的方式加入到液体培养基中 (① Cu, Pb; ② Cu, Cd; ③ Pb, Cd; ④ Cu, Pb, Cd), 接种并培养菌株 24 h 后测定 OD_{600} 值。

2 结果与分析

2.1 耐 Cu^{2+} 菌株的筛选 土壤悬浮液经过 $1\ 400\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 平板培养分析后, 挑取 6 个差别明显、个体较大的单菌落 (菌株命名为: Cu-1, Cu-2, Cu-3, Cu-4, Cu-5, Cu-6) 进行金属浓度梯度培养, 每个梯度 3 个重复, 筛选耐 Cu^{2+} 能力最强的菌株。

表 1 6 株菌株在不同铜离子浓度下的生长情况

Tab. 1 The growth of six isolated strains under different concentrations of Cu^{2+}

菌株 Strain	$800\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			$900\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			$1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			$1\ 200\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Cu-1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cu-2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cu-3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cu-4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cu-5	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cu-6	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注: 生长良好: + + + 生长一般: + 不生长: —

Notes: Normal growth: + + +; weak growth: +; none: —

从表 1 可知 ,有 4 株菌株能在含 $800\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{2+}$ 的液体培养基中生长。由于 Cu-6 菌株稳定性最好 ,故本次研究主要讨论菌株 Cu-6。

本实验筛选出的菌株是从矿区土壤中直接分离得到的 ,菌株并未经过高浓度重金属离子的驯化 ,表明菌株是天然耐 Cu^{2+} 菌株 ,长期在 Cu^{2+} 含量高的土壤中生存 ,对 Cu^{2+} 毒性有较高耐受能力。经传代实验 (5 次转接) 验证其 Cu^{2+} 耐受性具有遗传稳定性 ,这种特性利于将其应用于实际土壤修复中。

2.2 菌株鉴定 从图 1 可见 ,Cu-6 菌落呈淡黄色 ,表面光滑 ,圆形 ,不透明 ,边缘整齐。从图 2 可见 ,革兰氏染色呈阴性 ,为短粗杆菌。

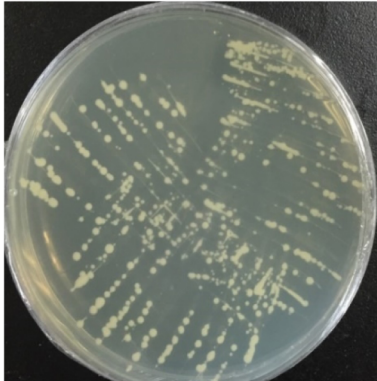


图 1 菌株 Cu-6 在 LB 培养基上划线的生长
Fig. 1 Morphology of Cu-6 on LB plate

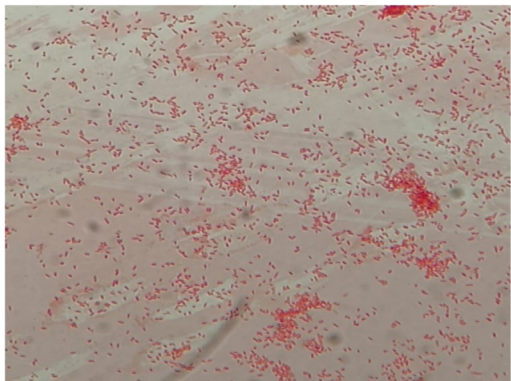


图 2 革兰氏染色结果
Fig. 2 Gram staining of Cu-6 cells

16S rDNA 为原核生物所共有 ,其功能同源且最古老 ,既含有保守序列又含有可变序列 ,分子大小适合操作 ,它的序列变化与进化距离相对应。为得到可靠的种属鉴定结果 ,对该菌株进行 16S rDNA 序列鉴定 ,以菌株 Cu-6 的 DNA 为模板 ,通过 PCR 扩增得到长度约为 1 500 bp 的片段(图 3)。

测序得到 Cu-6 菌株的 16S rDNA 长度 1 441 bp。通常 ,如果 2 个分类单位间的 16S rDNA 序列同源性大于 97.5% ,则认为属于同 1 个分类单位。将菌株 Cu-6 的 16S rDNA 基因部分序列与其他细菌的相应序列进行比对(表 2) ,同时运用 MEGA 构建 Cu-6 菌株的系统发育树(图 4)。结果显示 ,菌株 Cu-6 属于阴沟肠杆菌属 ,通过 BLAST 和伯杰鉴定法确定待测菌株 Cu-6 属于阴沟肠杆菌属(*Enterobacter cloacae*)

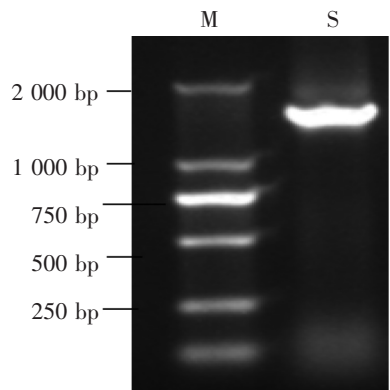


图 3 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物
Fig. 3 PCR products of 16s rDNA analyzed by gel electrophoresis
M: Marker DL2000 plus; S: PCR products

表 2 16S rDNA blast 结果
Tab. 2 The blast results of Cu-6 16S rDNA against NCBI nucleic acids database

菌株 Strain	同源菌株 Homogenous strain	同源性 Homology	登录号 Accession Number	鉴定结果 Result
Cu-6	<i>Enterobacter cloacae</i> strain T137	99%	KC764978.1	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain PCX2	99%	KU936831.1	
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain344	99%	JQ435862.1	
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain EC7	99%	KJ210328.1	

2.3 菌株的最适生长条件

2.3.1 菌株最适 pH 从图 5 - A 可知 ,菌株 Cu-6 在 pH6.0 时生长状态好 ,表明 pH6.0 为其生长最佳 pH。重金属离子在酸性条件下可溶 ,当溶液偏向中性及碱性时会形成沉淀 ,不利于对污染土壤的治理。海南土壤环境是偏酸性的 ,菌株生长的最佳 pH 值也是酸性的 ,与其生长环境一致 ,有可能用于修复海南重金属污染的土壤。

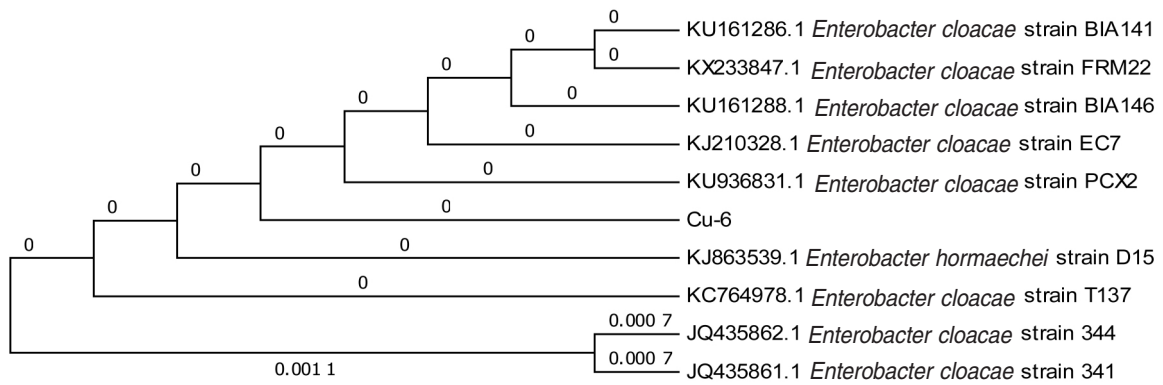


图4 Cu-6 菌株系统发育树

Fig. 4 The phylogenetic tree of Cu-6 and other *Enterobacter* strains

2.3.2 菌株最适温度 从图5-B可知,菌株Cu-6在34℃生长较好,更高温度(36℃)也能生长,说明其具有一定的耐热性。

2.3.3 菌株最适渗透压 从图5-C可知,菌株在NaCl终质量分数小于1.5%的培养基中生长状态良好,当NaCl质量分数增加到2%,3%时,细菌仍能生长,说明该菌株具有较强的盐耐受能力,能在离子强度较高的环境中生存,具有很好的渗透压调节能力。

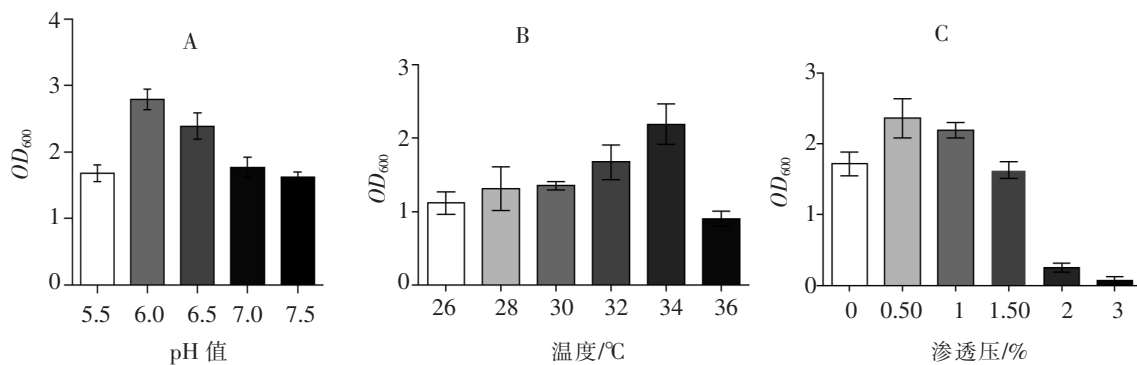
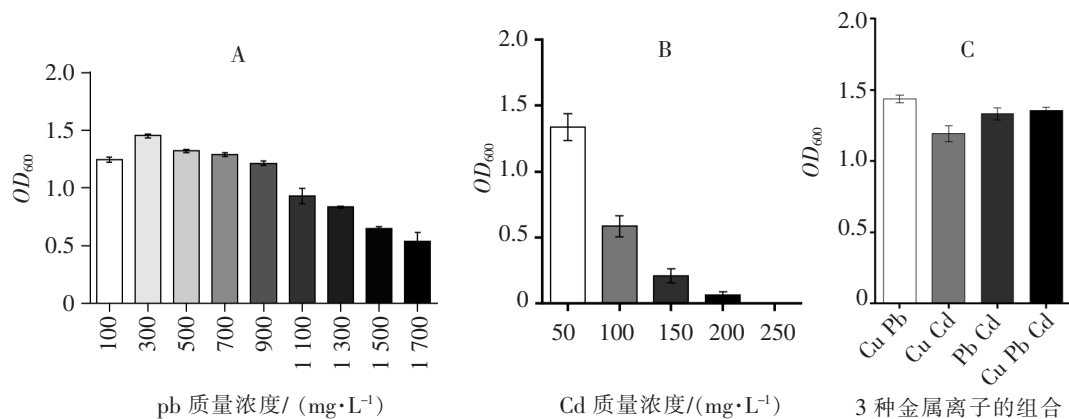
图5 不同pH(A)、温度(B)、渗透压(C)条件下培养后溶液的 OD_{600} 平均值

Fig.5 Effects of different conditions of pH (A), temperature (B) and osmotic pressure (C) on Cu-6 growth

2.4 Pb, Cd 及其与 Cu 混合溶液对菌株生长的影响 从图6-A可知,菌株在含 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ 的培养基中生长最好,进一步提高 Pb^{2+} 质量浓度时,对菌株生长没有较大影响,即使在含 $1700 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ 的培养基中也能生长,表明筛选出的菌株具有较强铅耐受性。

图6 Cu-6 菌株在 Pb^{2+} , Cd^{2+} 及3种金属离子混合液中的生长情况Fig. 6 The growth of Cu-6 under different concentrations of Pb^{2+} , Cd^{2+} , or mixture of three metal ions

菌株在含 Cd^{2+} $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基中生长良好(图6-B),说明筛选出的菌株具有较强镉耐性,进一步提高 Cd^{2+} 质量浓度至 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细菌仍然能够生长,再提高 Cd^{2+} 质量浓度将显著抑制菌株生长。

由图6-C可知,菌株在 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}^{2+} + 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Pb}^{2+} + 150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 的混合溶液中振荡培养 24 h 后仍能生长良好,显示出菌株在复杂金属胁迫环境中仍然有很强的生存能力,有利于细菌在复杂重金属污染土壤中生存。

3 讨论

近年来,利用生物技术进行重金属污染修复的研究取得了长足进展,尤其以微生物吸附和植物富集为主^[10-11]。而微生物吸附主要依赖于菌株吸附重金属的能力与耐受多种重金属环境的能力,其中,菌株的环境适应能力是其发挥作用的基础条件。例如,康薇等筛选出菌株 TLSB2-K (*Bacillus* sp.) 的最佳 pH 是 7,最适生长温度为 27°C ,最佳渗透压(NaCl)为 1.1%,最高耐 Cu^{2+} 质量浓度为 $700 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12];王海鸥等筛选出 1 株耐铜菌株 USTB-E (*pseudomonas* sp.) 最适生长温度为 35°C , pH6.0,渗透压(NaCl)为 0.3%,最高 Cu^{2+} 耐受质量浓度为 $560 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[13];李倩等驯化得到耐 Cd^{2+} 菌株 H6 (*Bacillus cereus*) 最大 Cd^{2+} 耐受质量浓度为 $350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[14];这些研究都是针对某一种特定的重金属,但对复杂重金属污染土壤的实际作用有限。

本实验采用常规纯培养方法从矿区土壤中分离筛选耐重金属微生物,并获得 1 株耐铜、铅、镉能力强的阴沟肠杆菌菌株 Cu-6。吴海江等筛选和分离获得了 1 株耐受 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 的阴沟肠杆菌^[15],其耐 Cd^{2+} 水平略高于菌株 Cu-6 的 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,但其菌株的复合耐受水平较弱。SETHURAMAN P. 等也发现了对铅、镉的耐受能力分别为 300 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的阴沟肠杆菌,但对铅镉的复合抗性较小^[16]。笔者筛选的 Cu-6 菌株分别能在含 $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}^{2+}$, $1700 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Pb}^{2+}$, $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 的培养基中生长,表明此未经驯化菌株对铜、铅、镉的耐受能力明显优于已发现的菌株。

国内外学者的大量研究表明,微生物对重金属的耐受机理比较复杂,主要通过其菌体表面吸附与络合效应、静电结合、离子交换型吸附、氧化还原、胞外沉淀、胞内累积效应等方式实现^[17-18]。阴沟肠杆菌的耐受机理,可能是依靠胞外沉淀方式来实现^[15],菌株 Cu-6 的耐受机理可能与之相似,但其具体耐受机理还需要进行更深入的研究。菌株 Cu-6 良好的复合重金属耐受性与良好的环境适应能力暗示其可能具有对海南土壤重金属污染修复的潜力。

参考文献:

- [1] 刘成湛,胡腊英,刘汉元,等.海南石碌铁矿成矿过程的地球化学[J].中南矿冶学院学报,1979(3):45-55.
- [2] 罗年华.从地球化学特征看海南铁矿的成因[J].地质与勘探,1978(2):23-28.
- [3] 袁奎荣,候光汉,李公时,等.海南石碌铁矿的成因和富铁矿与构造的关系[J].中南矿冶学院学报,1977(3):26-43.
- [4] HAN D, ZHANG X, TOMAR V, et al. Effects of heavy metal pollution of highway origin on soil nematode guilds in North Shenyang, China[J]. Environmental Sciences, 2009, 21(2): 193-198.
- [5] FRIESL W, FRIEDL J, PLATZER K, et al. Remediation of contaminated agricultural soils near a former Pb/Zn smelter in Austria: Batch, pot and field experiments[J]. Environmental Pollution, 2006, 144(1): 40-50.
- [6] MADEJÓN P, DOMÍNGUEZ M T, MURILLO J M. Pasture composition in a trace element-contaminated area: the particular case of Fe and Cd for grazing horses[J]. Environmental monitoring and Assess, 2012, 184(5): 2031-2043.
- [7] SASTRE J, HERNÁNDEZ E, RODRIGUEZ R, et al. Use of sorption and extraction tests to predict the dynamics of the interaction of trace elements in agricultural soils contaminated by a mine tailing accident[J]. Science of the Total Environment, 2004, 329(1/2/3): 261-281.
- [8] GUO G L, ZHOU Q X, MA L Q. Availability and assessment of fixing additives for the in situ remediation of heavy metal contaminated soils: A review[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2006, 116(1/2/3): 513-528.
- [9] 廖香俊.海南石碌铁矿矿区环境地球化学及环境治理研究[D].北京:中国地质大学,2008.
- [10] AWOFOLU R, OKONKWO J, VANDERMENWE R, et al. A new approach to chemical modification protocols of *Aspergillus niger* and sorption of lead ion by fungal species[J]. Electron J. Biotechnol, 2006, 9(4): 340-348.
- [11] BAPAT P, KUNDU S, WANGIKAR P. An optimized method for *Aspergillus niger* spore production on natural carrier sub-

- strates [J]. Biotechnol Prog, 2003, 19(6): 1683–1688.
- [12] 康薇, 罗闻真, 瞿颖, 等. 一株耐铜细菌 TLSB_2-K 的鉴定及其铜吸附能力 [J]. 湖北理工学院学报, 2015, 31(2): 12–15.
- [13] 王海鸥, 钟广蓉, 王立曼, 等. 一株耐铜细菌的鉴定及富集特性的研究 [J]. 环境工程学报, 2011, 5(10): 2380–2384.
- [14] 李倩, 张平, 廖柏寒, 等. 一株耐 Cd 菌株的分离、鉴定及基本特性 [J/OL]. 微生物学报: 2017 (DOI: 10. 13343/j. cnki. wsxb. 20170632) [2018–10–08]. <http://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-WSXB20180404001.htm>.
- [15] 吴海江, 冯侠, 郭红光, 等. 耐 Cd 细菌的筛选及富集作用研究 [J]. 江西农业学报, 2011, 23(11): 175–177, 183.
- [16] SETHURAMAN P, KUMAR M D. Bio-sorption kinetics of Cu (II) ions removal from aqueous solution using bacteria [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2011, 14(5): 327–335.
- [17] KUERKE MAJEWSKAM M. *In vitro* remobilization of Cd immobilized by fungal biomass [J]. Geoderma, 2004, 122(2/3/4): 235–246.
- [18] MANASI, RAJESH V, KUMAR A S K, et al. Biosorption of cadmium using a novel bacterium isolated from an electronic industry effluent [J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 235(1): 176–185.

Isolation and Identification of a Multiple Resistant Bacterium to Heavy Metals

NIU Shiyao, LIU Peiyi, XU Yufeng, LONG Yunpiao,
NIU Xiaolei, LI Chunxia, CHEN Yinhua, TAO Jun

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University; Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Heavy metals could affect the development of plants and microbial communities in soil. They can be transported into plants and animals by the food chain and may cause human diseases. In this context soil samples were collected in Changjiang mining area of Hainan Province, China, from which four copper-resistant strains were isolated. These strains were cultured in the LB medium containing different concentrations of heavy metals, and found to be resistant to copper. Moreover, the strain Cu-6 was observed to be resistant to plumbum (Pb) and cadmium (Cd) as well. Cu-6 was identified as *Enterobacter cloacae*, and had an optimal growth in the conditions of 34 °C, pH6.0 and 0.5% NaCl. Cu-6 showed a good growth in the liquid LB medium containing 800 mg · L⁻¹ CuSO₄ · 5H₂O, 1 700 mg · L⁻¹ C₄H₆O₄Pb · 3H₂O, 150 mg · L⁻¹ CdCl₂ · 2.5H₂O, or even mixture of these three metal ions, indicating that this strain should have a strong adaptation to the complex soil environment, and have a potential of soil improvement from the soil contaminated by heavy metals.

Keywords: Heavy metal pollution; tolerant bacterium; *Enterobacter cloacae*

(责任编辑: 潘学峰)