

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
54 (12) :1500 – 1506; 4 December 2014  
ISSN 0001 – 6209; CN 11 – 1995/Q  
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.12.013

## 高效铁氧化鞘细菌的筛选与鉴定

郑虹, 张文森, 张晓榕, 吴晓梅, 詹兴代, 邓加聪\*

福建师范大学福清分校, 海洋与生化工程学院, 福建 福清 350300

**摘要:** 【目的】铁氧化酶是氧化铁锰鞘细菌类在污水处理中最重要的酶, 筛选铁氧化酶高产菌株, 研究酶学特性及研究该菌株对水中铁、锰的吸附性能。【方法】利用尿素培养基富集、CGY 平板从 3 份不同水样中分离产铁氧化酶菌株; 富集培养铁氧化酶产生菌; 摇瓶复筛铁氧化酶产量较高的菌株, 通过菌落形态、镜检、生理生化试验和 16S rRNA 基因序列遗传分析对目的菌株进行鉴定。【结果】分离筛选到一株高产铁氧化酶的菌株 S9, 被鉴定为鞘细菌球衣菌属浮游球衣菌 (*Sphaerotilus natans*); 该菌株对铁锰具有较强的吸附性, 当吸附时间为 4h 时, 菌株对水中铁的吸附量为 29.02mg/g, 吸附率为 66.77%; 当吸附时间为 6h 时, 菌株对锰的吸附量为 34.49mg/g, 吸附率为 70.68%; 该菌株产铁氧化酶的最适温度和 pH 分别为 30℃ 和 7.5,  $Mg^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$  离子对铁氧化酶活性有一定的激活作用,  $Cu^{2+}$  对铁氧化酶影响不大, 而  $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  对铁氧化酶具有很强的抑制作用,  $Pb^{2+}$ 、 $Ag^+$  对铁氧化酶活性有一定的抑制作用。【结论】浮游球衣菌 S9 是一株具有较高铁氧化性的菌株, 在治理污水和给排水工程中的应用具有潜在的应用价值。

**关键词:** 鞘细菌, 铁氧化酶, 筛选, 鉴定

**中图分类号:** X172      **文章编号:** 0001-6209 (2014) 12-1500-07

鞘细菌是活性污泥中的主要菌群, 对于污水中的有机物和毒物有很强的降解作用, 它可将溶解态的铁和锰转化为不溶态的高价铁锰氧化物, 去除水质中的高铁高锰, 从而达到水质净化的目的<sup>[1-3]</sup>。利用氧化铁锰鞘细菌净化水质, 简便、经济、有效, 而且不易造成二次污染<sup>[4]</sup>。此外, 氧化铁锰鞘细菌还可用于生产生物可降解材料 PHB、富集重金属和环境监测等<sup>[5-9]</sup>。由于鞘细菌分离纯化的困难, 所以对于它们的分类一直困扰着人们, 大部分学者仅从其形态、生理、生态分布等方面来对它进行分类<sup>[10-12]</sup>, 随着 16S rRNA 基因的序列分析方法的广泛运用, 人们开始从系统发育和进化的角度来探讨

和认识鞘细菌的分类及种、属间的亲缘关系<sup>[13-15]</sup>。

氧化铁锰鞘细菌处理污水的最重要酶是铁、锰氧化酶系, 而铁锰氧化酶酶活的高低以该酶对铁锰的氧化率来表示<sup>[16]</sup>。国内外学者对铁氧化酶进行了一系列的研究, 但由于该酶含量较低, 且容易失活, 给该酶的分离纯化带来一定的难度<sup>[17-18]</sup>。

本研究就具有较高铁氧化性鞘细菌的分离筛选、形态特征、生理生化特征、分类学鉴定、对铁、锰的吸附性能及酶学特性进行了初步研究, 为今后该菌株及铁氧化酶的进一步研究奠定了一定的理论基础。

**基金项目:** 福建师范大学福清分校省级重点学科建设基金 (20110346); 福建省大学生创新创业训练项目基金 (SCX-2013026)

\* 通信作者。Tel: +86-591-85254164; E-mail: 75447136@qq.com

**作者简介:** 郑虹 (1981 -), 女, 福建省福清人, 硕士, 实验师, 主要从事微生物菌株筛选及发酵。E-mail: zhh148@163.com

**收稿日期:** 2014-07-27; **修回日期:** 2014-09-18

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 水样:** 三明大田污水处理厂的活性污泥混合液 1 份; 龙岩连城矿区工业污水 1 份; 三明尤溪生活污水 1 份。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** 生工 SK8255 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒、*Taq* DNA 聚合酶、琼脂糖、DNA Marker、正向引物 16S-F: 5'-CAGAGTTTGATCCTGGCT-3'、反向引物 16S-R: 5'-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'等试剂购自生工生物工程(上海)有限公司。PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司); FA2204B 型电子分析天平(上海越平科学仪器有限公司); LDZX-40B1 型立式自动电热压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); TGL-M 型台式冷冻离心机(上海湘仪离心机有限公司); SPX-150B-Z 型生化培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); THZ-25 大容量恒温振荡器(太仓市华美生化仪器厂); 7200 型分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]。

**1.1.3 培养基:** 尿素培养基、CGY 培养基、Stoke 培养基、复筛培养基及 Winogradsky 培养基等培养基参照参考文献 [5-6] 的配方进行配制。

### 1.2 鞘细菌的富集培养及分离纯化

吸取各水样 0.5 mL 于装有 4.5 mL 尿素培养基的试管中, 摇匀, 28℃ 静置培养, 每 24 h 对光检查, 挑取疑是鞘细菌的絮状物移入新鲜富集培养基中, 反复富集数次(3-5 次); 经过多次富集培养后, 划线于 Stoke 琼脂平板培养基, 28℃ 培养 24 h, 多次重新划线后, 挑取纯单菌落接种于 CGY 试管斜面。

### 1.3 高效氧化铁鞘细菌的初筛

将分离纯化得到的鞘细菌接到铁锰平板培养基中, 于 28℃ 下进行培养, 每隔 12h 观察培养基产生红褐色沉淀的程度, 选择产生沉淀时间短, 且沉淀程度好的的菌株进行复筛。

### 1.4 高效氧化铁鞘细菌的复筛

将初筛得到的菌株进行活化后, 用无菌水制成浓度为  $10^7$  个/mL 的菌悬液, 以 2% 接种量接入装有铁锰营养液的三角瓶中, 于 30℃ 150 r/min 震荡培养 3 d, 测定发酵液的铁氧化酶活性。

### 1.5 菌株 S9 的培养特征及生理生化特征实验

将试管保存的菌株接种于 2 种不同培养基

(CGY 培养基、Stoke 培养基), 30℃ 培养 3 d, 观察并记录菌株培养特征。

根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[19]</sup> 和《伯杰氏细菌鉴定手册》对菌株生理生化进行鉴定。

### 1.6 菌株 S9 的 16S rRNA 基因序列的测定与分析

**1.6.1 菌株 S9 基因组的提取:** 按照试剂盒说明书提取菌株基因组 DNA。

**1.6.2 16S rRNA 基因的扩增与分析:** 采用细菌通用引物进行扩增, PCR 反应条件为: 98℃ 3 min; 98℃ 25 s, 55℃ 25 s, 72℃ 1 min, 循环 30 次; 延伸 10 min。扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。

16S rRNA 基因测序委托上海生工公司完成。测序序列与 NCBI 网站 GenBank 中的已知序列进行 Blast。采用 MAGE 4.0 软件中 Bootstrap Test of Phylogeny 的 N-J 算法(Bootstrap 的设定值为 1000)构建系统进化树, 进行系统发育的分析。

### 1.7 菌株 S9 对水中 $Fe^{3+}$ 、 $Mn^{2+}$ 离子的吸附实验

4℃ 冰箱保存的斜面, 接种于新鲜的 CGY 斜面培养基, 30℃ 恒温箱活化培养 2 d, 用接种环挑取一环接入尿素培养基中 30℃ 培养 2 d, 按 2% 接种量(2 mL) 接种于装有 20 mL 水样(金属离子浓度均为 10 mg/L, 鞘细菌浓度约 0.2 mg/mL) 的 150 mL 三角瓶中, 30℃ 200 r/min 振荡吸附, 每隔 1 h 测定水体中  $Fe^{3+}$ 、 $Mn^{2+}$  等重金属离子的含量。每个处理进行 3 个平行。

水中  $Mn^{2+}$  含量的测定采用甲醛肟分光光度法<sup>[20]</sup>。

水中  $Fe^{3+}$  含量的测定采用邻菲罗啉分光光度法<sup>[21]</sup>。

吸附量的计算:  $Q = (C_0 - C) \times V / m$

吸附率的计算:  $E = [(C_0 - C) / C_0] \times 100\%$

式中:  $Q$  (mg/g) 表示吸附量,  $C_0$ 、 $C$  (mg/L) 分别表示  $Mn^{2+}$  或  $Fe^{3+}$  的初始质量浓度和吸附后的残余质量浓度,  $m$  (g) 表示吸附剂(鞘细菌 0.2 mg/mL) 的用量,  $V$  (L) 表示吸附溶液的体积(20 mL)。

### 1.8 菌株铁氧化酶的测定

铁氧化酶活性是以该酶对亚铁离子的氧化率来表示, 氧化率越高表明酶活越高。其酶活测定方法采用邻啡啉法<sup>[21-22]</sup>。

相对酶活 (%) = (平均氧化率 / 最高平均氧化率) × 100%

$$\text{氧化率}(\%) = [1 - (OD_{\text{样品}} / OD_{\text{空白}})] \times 100\%$$

$OD_{\text{空白}}$  为未接种的培养液;每个样品进行 3 个重复。

### 1.9 菌株产铁氧化酶的酶学特性研究

发酵液  $6347 \times g$   $4^{\circ}C$  离心 5 min, 收集上清液, 备用。

**1.9.1 温度对铁氧化酶酶活的影响:**取 5 mL 上清液在不同温度 (20、25、30、35、40、45、 $50^{\circ}C$ ) 下保温 30 min, 测定处理液的酶活。

**1.9.2 pH 对铁氧化酶酶活的影响:**取 5 mL 上清液在不同 pH (6、6.5、7、7.5、8.0、8.5) 的缓冲体系中保持 30 min, 测定处理液的酶活。

**1.9.3 金属离子对铁氧化酶酶活的影响:**取 5 mL 上清液添加不同金属离子溶液 ( $MnCl_2$ 、 $MgCl_2$ 、 $NaCl$ 、 $KCl$ 、 $ZnCl_2$ 、 $PbNO_3$ 、 $AgNO_3$ 、 $CuCl_2$ ), 使金属离子终浓度达到 5 mmol/L。在室温下放置 30 min, 测定处理液的酶活。

## 2 结果和分析

### 2.1 富集与分离纯化

通过尿素培养基静态富集培养、CGY 培养基及 Stoke 培养基平板稀释涂布分离及平板划线分离, 成功从 3 份来自不同水样中分离出 20 株鞘细菌。这些菌株均分离自污水处理厂的活性污泥中, 而在工业污水及生活污水的水样中未分离到鞘细菌, 表明鞘细菌主要分布在活性污泥中。

### 2.2 高效氧化铁鞘细菌的分离筛选

将分离得到的 20 株菌接种于 Winogradsky 培养基, 由于 Winogradsky 培养基中含有柠檬酸铁铵, 铁氧化鞘细菌能将  $Fe^{2+}$  氧化生成红褐色的  $Fe(OH)_3$  沉淀。根据出现沉淀的程度、时间及颜色变化情况来定性判断菌株铁氧化能力的高低, 筛选出 S1、S3、S5、S6、S7、S8、S9 共 7 株菌。

### 2.3 高效氧化铁鞘细菌的复筛

将初筛得到的 7 株鞘细菌接种于复筛培养基,  $30^{\circ}C$   $150 r/min$  振荡培养 3 d, 测定发酵液的铁氧化能力。结果显示 (图 1), 菌株对二价铁离子氧化率的大小表示菌株产铁氧化酶的活力高低, 不同鞘细菌所产的铁氧化酶有一定的差别, 各菌株产铁氧化酶的差异如下:  $S9 > S1 > S7 > S3 > S6 > S8 > S5$ , 其中菌株 S9 的氧化率可达 68.15%。以铁氧化率最

高菌株 S9 的酶活为 100%, 其余菌株酶活跟其比值表示各菌株的相对酶活, 菌株 S9、S1、S7 的相对酶活均达到 80% 以上, 以相对酶活为 100% 的 S9 进行以下实验。

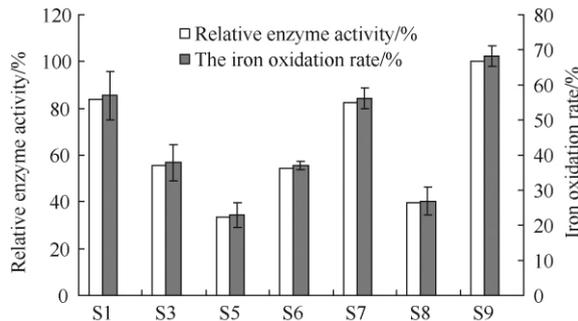


图 1. 不同菌株铁氧化率的比较

Figure 1. Comparison of oxidation rate of different strains.

### 2.4 菌株 S9 的初步鉴定

**2.4.1 菌株 S9 的培养特征:**菌株 S9 在 CGY 固体培养基上培养 2 d, 形成直径约 4 mm、表面湿润、淡黄色圆形突起边缘整齐光滑的菌落, 4 - 5d 后, 菌落隆起明显增大, 菌苔厚实; 在 Stoke 琼脂培养基上形成直径约 1.5 mm, 白色粗糙, 边缘不规则伴有卷曲的丝状伸出, 扁平, 中央较厚, 无光泽, 具有菌膜的半透明菌落; 在 CGY 液体培养基和 Stoke 液体培养基中, 均会在液体表面形成白色絮状团块。

**2.4.2 菌株 S9 菌体形态特征:**对菌株 S9 进行镜检, 发现该菌株的菌体呈典型的丝状体结构, 许多细胞共同生长在一个管状鞘内, 且呈丝状排列, 单个细胞为杆状, 两端钝圆, 无芽孢, 革兰氏染色为阴性, 不分支或者有假分支, 具有鞭毛; 苏丹黑染色显示该菌株菌体内含有大量的 PHB 颗粒。

**2.4.3 菌株 S9 的部分生理生化实验:**菌株 S9 对柠檬酸盐利用、酒石酸盐利用、丙二酸利用为阳性, 说明该菌株能利用柠檬酸盐、酒石酸盐和丙二酸盐; 能水解淀粉及微弱的明胶液化能力; 甲基红反应为阳性, V-P 测定为阴性反应; 能产生过氧化氢酶、硝酸盐还原酶; 能产生硫化氢; 吲哚反应呈阴性; 糖、醇类发酵为阳性, 闭管中不产气泡, 说明菌株为葡萄糖发酵型, 能分解糖、醇类产生有机酸不产气。

综合菌株 S9 的菌落形态、菌体形态及生理生化实验结果, 特别是菌株多个细胞在同一管鞘内生长, 对明胶具有微弱的液化能力, 革兰氏染色阴性, 及对过氧化氢和硝酸盐等具有明显的反应, 与文献已报

道的球衣菌的形态基本一致<sup>[2,19]</sup>,因此初步鉴定该菌株为鞘细菌球衣菌属。

## 2.5 菌株 S9 的遗传进化树分析

以菌株 S9 基因组 DNA 为模板进行菌株 16S rRNA PCR 扩增,经电泳得知该扩增产物大小约为 1413bp 的基因序列。

扩增得到的 16S rRNA 基因序列进行全长测序后,与 NCBI 网站的核酸数据库进行在线比对,结果

显示该菌株的序列与球衣菌属 (*Sphaerotilus*) 的多菌株具有 99% 以上的同源性。随机抽取若干个序列进行系统进化树的构建。结果显示(图 2),菌株 S9 与球衣菌属 (*Sphaerotilus*) 聚为一类,且与登录号 EU747337、FJ871054 等菌株 16S rRNA 序列的同源性达到 99%。因此,在细菌系统发育分类学上,将该菌株鉴定为浮游球衣菌,命名为浮游球衣菌 S9 (*Sphaerotilus natans* S9)。

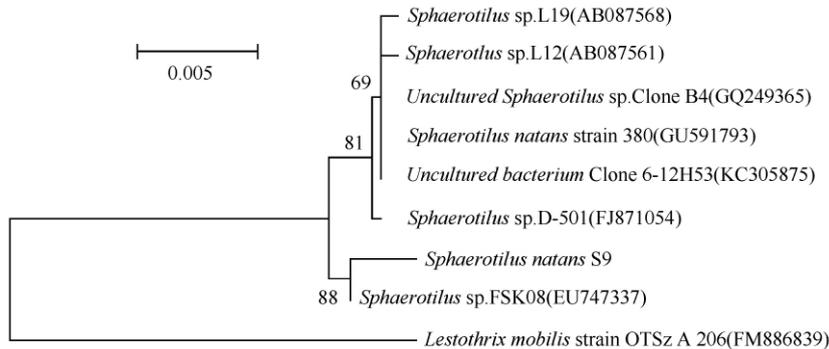


图 2. 菌株 S9 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Figure 2. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of the strain S9. Numbers in parentheses represent the sequences, accession number in GenBank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 0.5% sequence divergence.

## 2.6 鞘细菌在污水治理中的应用

将活化后的菌株 S9 分别接种于含有  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  水中(金属浓度均为 10 mg/L), 30°C 200 r/min 振荡,每隔 1h 取样测定水体中  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  等金属离子的含量,分别计算吸附量和吸附率,结果如图 3 显示。由图 3-A 可见,菌株 S9 对水中铁的吸附随吸附时间的延长呈增长趋势。当吸附时间为 1-4 h 时,菌株对铁的吸附增长很快,吸附时间 4 h 后,菌株对铁的吸附增长缓慢,当吸附时间为 4h 时,菌株对铁的吸附量为 29.02 mg/g,吸附率为 66.77%。由图 3-B 可见,菌株 S9 对水中锰的吸附随吸附时间的延长呈增长趋势。当吸附时间为 1-6h 时,菌株对铁的吸附增长很快,吸附时间 6 h 后,菌株对铁的吸附增长缓慢,当吸附时间为 6 h 时,菌株对铁的吸附量为 34.49 mg/g,吸附率为 70.68%。

氧化铁锰鞘细菌对铁、锰的吸附作用绝大多数归功于细胞外包裹着的鞘,这些鞘主要是由蛋白质、类脂和多糖等有机化合物组成,而鞘的外围附有粘液,因此可沉淀吸附水中的  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 。

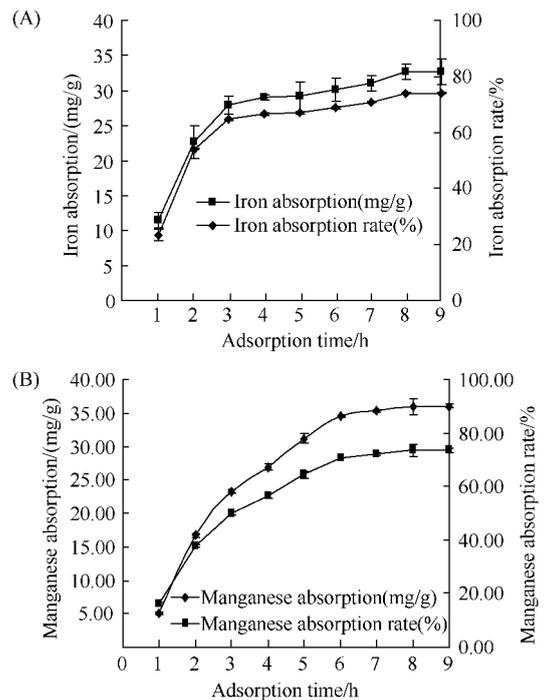


图 3. 菌株 S9 对铁 (A) 和锰 (B) 的吸附

Figure 3. The strain S9 adsorption on iron (A) and on manganese (B).

## 2.7 菌株 S9 产铁氧化酶的酶学特性

**2.7.1 温度对铁氧化酶活力的影响:**结果显示(图4),菌株 S9 产铁氧化酶的活性随着温度的升高呈先增后降的趋势,温度对铁氧化酶活性影响较大,其最适活性温度为 30℃,当铁氧化酶在温度 30℃ 下保温 30 min 后,其氧化率仍可达 53.62%。

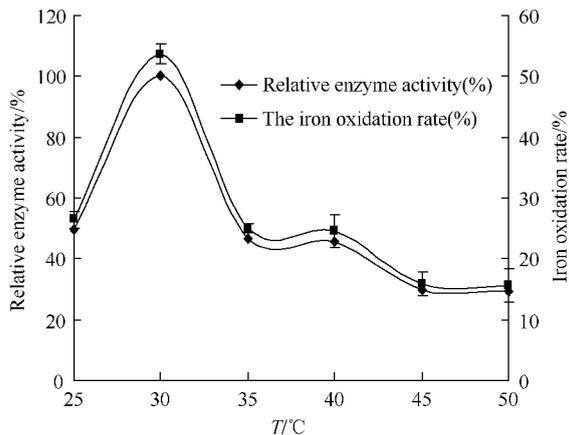


图 4. 温度对菌株 S9 铁氧化酶的影响

Figure 4. Effect of temperature on ferr-oxidase of strain S9.

**2.7.2 pH 对铁氧化酶活力的影响:**结果显示(图5),菌株 S9 的铁氧化酶的活性随 pH 的升高呈先升后降的趋势,铁氧化酶的稳定 pH 范围为 7-8,铁氧化酶在 pH 7.5 下放置 30 min 后,其氧化率仍可达 65.26%。

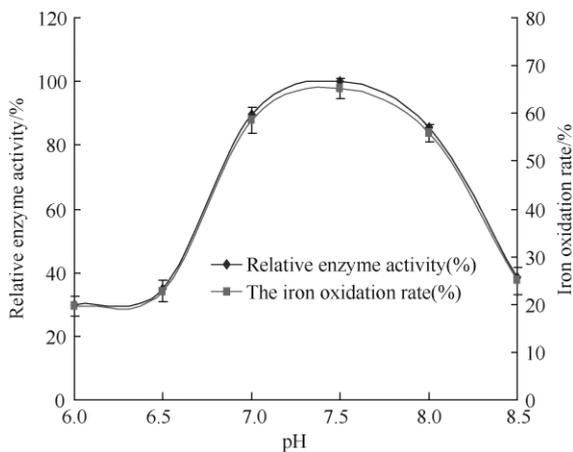


图 5. pH 对菌株 S9 铁氧化酶的影响

Figure 5. Effect of pH on ferr-oxidase of strain S9.

**2.7.3 金属离子对菌株产铁氧化酶活力的影响:**结果显示(图6),不同金属离子对菌株产铁氧化酶的活性影响各不相同,Mg<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>离子对铁氧化酶活性有一定的激活作用,Cu<sup>2+</sup>对铁氧化酶影响不

大,而 Mn<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对铁氧化酶具有很强的抑制作用,Pb<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup>对铁氧化酶活性有一定的抑制作用。

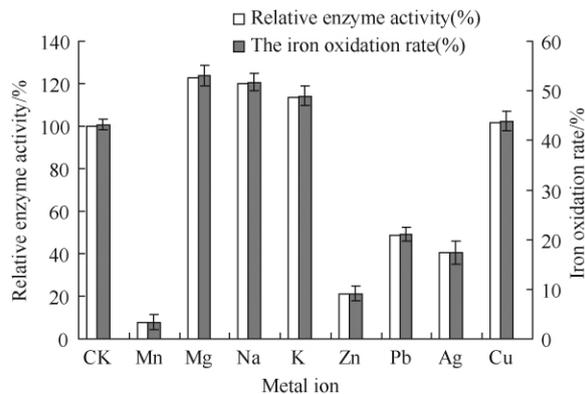


图 6. 金属离子对菌株 S9 铁氧化酶的影响

Figure 6. Effect of metal ions on ferr-oxidase of strain S9.

## 3 结论

铁氧化酶是鞘细菌在污水处理中的主要酶系,本研究从水样中分离筛选得到一株具有较高铁氧化酶活性的菌株 S9,对该菌株进行了分类学鉴定,确定该菌株属于鞘细菌属的浮游球衣菌(*Sphaerotilus natans*);该菌株对铁、锰具有较强的吸附性;同时研究发现该菌株所产铁氧化酶的最适温度和 pH 分别为 30℃ 和 7.5, Mg<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>离子对铁氧化酶活性有一定的激活作用, Cu<sup>2+</sup>对铁氧化酶影响不大,而 Mn<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对铁氧化酶具有很强的抑制作用, Pb<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup>对铁氧化酶活性有一定的抑制作用。对菌株 S9 的鉴定及研究菌株对铁、锰的吸附性,对菌株今后在治理污水和给排水工程中的应用奠定了一定的基础,而对菌株产铁氧化酶的酶学特性研究为该酶的分离纯化及应用具有一定的指导意义。

## 参考文献

- [1] Quan G, Wu C. Study on effects of treating domestic wastewater by Sheathed Bacteria. *Liaoning Chemical Industry*, 2009, 38(5): 311-314. (in Chinese)  
全桂静,吴财富.鞘细菌处理生活污水效果的研究. *辽宁化工*, 2009, 38(5): 311-314.
- [2] Weng S, Ke J, Qi B, Xu Y, Shi J. A study of the *Sphaerotilus Natans*-isolation, identification and culture preservation of the *S. Natans*. *Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences)*, 1980, (3): 77-85. (in Chinese)  
翁酥颖,柯嘉康,戚蓓静,徐亚同,史家梁.球衣细菌

- (*Sphaerotilus*) 的研究——球衣细菌的纯种分离、鉴定和保存. 上海师范大学学报(自然科学版), 1980 (3): 77-85.
- [3] Kampfer P. Some chemotaxonomic and physiological properties of the genus *Sphaerotilus*. *Systematic and Applied Microbiology*, 1998, 21 (2): 245-250.
- [4] Beolchini F, Pagnanelli F, Toro L, Veglio F. Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: equilibrium study and dynamic modeling in membrane reactor. *Water Research*, 2006, 40 (1): 144-152.
- [5] 余晨兴, 许旭萍, 李惠珍. 鞘细菌生态学及其在环保上的应用. 福建轻纺, 2003, 175 (12): 6-7.
- [6] Chen J, Xu X, She C, Li H. Isolation, identification and screening of *Sheathed bacteria* synthesizing poly-hydroxybutyric acid (PHB). *Industrial Microbiology*, 2003, 33 (4): 23-27. (in Chinese)  
陈接锋, 许旭萍, 余晨兴, 李惠珍. 合成聚  $\beta$  羟基丁酸 (PHB) 鞘细菌的分离、鉴定与筛选. 工业微生物, 2003, 33 (4): 23-27.
- [7] Choi J, Kotay SM, Goel R. Bacteriophage-based biocontrol of biological sludge bulking in wastewater. *Bioengineered Bugs*, 2011, 2 (4): 214-217.
- [8] She C, Li H, Xu X. General situation in Fe-Mn oxidized *Sheathed bacteria* research. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2000, 1 (4): 13-17. (in Chinese)  
余晨兴, 李惠珍, 许旭萍. 氧化铁锰鞘细菌研究. 环境污染治理与设备, 2000, 1 (4): 13-17.
- [9] Liu F, Xu X, Shen X. Mechanism of  $Ag^+$  biosorption by *Sphaerotilus natans*. *Environmental Chemistry*, 2011, 30 (7): 1259-1265. (in Chinese)  
刘峰, 许旭萍, 沈雪贤. 球衣菌 (*Sphaerotilus natans*) 吸附  $Ag^+$  的影响因素及其机理. 环境化学, 2011, 30 (7): 1259-1265.
- [10] Takeda M, Makita H, Ohno K, Nakahara Y, Koizumi J. Structural analysis of the sheath of a *Sheathed bacterium*, *Lwptothrix cholodnii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2005, 37 (1-2): 92-98.
- [11] Jassby D, Xiao Y, Schuler AJ. Biomass density and filament length synergistically affect activated sludge settling: Systematic quantification and modeling. *Water Research*, 2014, 48 (1): 457-465.
- [12] Takahashi R, Hattori A, Inoue T, Ogiwara K, Suzuki M, Yoneyama H. Isolation of *Sphaerotilus natans-Lysing* microorganism from activated sludge. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1990, 69 (3): 143-147.
- [13] Zhu S, Qi Z. Application of bacterial 16S rDNA amplification and sequencing in the classification and identification of bacteria. *Journal of Microbes and Infections*, 2013, 8 (2): 104-109. (in Chinese)  
朱诗应, 戚中田. 16S rDNA 扩增及测序在细菌鉴定与分类中的应用. 微生物与感染, 2013, 8 (2): 104-109.
- [14] Gridneva E, Chernousova E, Dubinia G, Vladimir A, Kuever J, Detkova E, Grabovich M. Taxonomic investigation of representatives of the genus *Sphaerotilus*: descriptions of *Sphaerotilus montanus* sp. nov., *Sphaerotilus hippie* sp. nov., and an emended description of the genus *Sphaerotilus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61 (4): 916-925.
- [15] Chernousova EY, Akimov VN, Gridneva EV, Dubinina GA, Grabovich MY. Biodiversity and monitoring of colorless filamentous bacteria in sulfide aquatic systems of North Caucasus region. *Mikrobiologiya*, 2010, 79 (5): 682-687.
- [16] She C, Xu X, Lin Y, Xie H, Li H. Study on the biochemical mechanism of  $Fe^{2+}$  oxidized *Sheathed Bacteria* FC9901. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2002, 3 (9): 35-37. (in Chinese)  
余晨兴, 许旭萍, 林跃鑫, 谢华玲, 李惠珍. 鞘细菌 FC9901 氧化铁生化机制的研究. 环境污染治理技术与设备, 2002, 3 (9): 35-37.
- [17] Bossis F, Palese LL. Molecular dynamics in cytochrome c-oxidase mossbauer spectra deconvolution. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 404 (17): 438-442.
- [18] Takai M, Kamimura K, Sugio T. A new iron oxidase from a moderately thermophilic iron oxidizing bacterium strain TI-1. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268 (6): 1653-1658.
- [19] 东秀株, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 349-398.
- [20] 水质锰的测定 甲醛脲分光光度法 (试行). 北京: 中国环境科学出版社出版, HJ/T344-2007 年 5 月.
- [21] 国家环境保护总局, 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法. 第四版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 368-370.
- [22] 水和废水标准检验法. 宋仁元, 张亚杰, 等译. 第十五版. 北京: 中国建筑工业出版社, 1985.

# Isolation and identification of bacteria with ferro-oxidase activity

Hong Zheng, Wensen Zhang, Xiaorong Zhang, Xiaomei Wu, Xingdai Zhan, Jiacong Deng\*

School of Ocean and Biochemical Engineering, Fuqing Branch of Fujian Normal University, Fuqing 350300, Fujian Province, China

**Abstract:** [Objective] We screened and isolated Ferro-oxidase producing bacteria, for adsorbing iron and manganese. [Methods] The strains producing Ferro-oxidase were isolated from three samples of water. Ferro-oxidase producing strains were screened in shake flask culture, and identified according to morphological features, physiological and biochemical analysis as well as 16S rRNA gene sequence analysis. [Results] We isolated a bacterium S9. The strain was identified as *Sphaerotilus natans*. This strain had strongest adsorption on iron and manganese among the strains we identified, with 29.02mg/g iron adsorption amount in water, and 66.77% adsorption rate for 4 hours' adsorption. When the adsorption time is 6 h, the adsorption amount of manganese was 34.49mg/g, and the adsorption rate was 70.68%. The optimum temperature and pH value of Ferro-oxidase were 30°C and 7.5, respectively.  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  could activate Ferro-oxidase, whereas  $Cu^{2+}$  had little impact. While  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  could strongly inhibit Ferro-Oxidase,  $Pb^{2+}$ ,  $Ag^+$  had only modest inhibitory effect. [Conclusion] Strain S9 had a high Ferro-oxidase activity, and has application potential in sewage treatment.

**Keywords:** sheathed bacteria, Ferro-oxidase, screening, sewage treatment

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Fujian Normal University, Fuqing Provincial Key Disciplines Construction Fund (20110346) and by the Fujian Province College Students' Innovative Training Project Fund (SCX - 2013026)

\* Corresponding author. Tel: +86-591-85254164; E-mail: 75447136@qq.com

Received: 27 July 2014/ Revised: 18 September 2014