

具重金属抗性产酸菌的分离及生物学特性研究

邓新辉^{1*}, 彭扶风², 陈韵声¹, 何权运¹, 孔乐群¹, 李贝贝¹, 张霞¹

1. 湖南工业大学生命科学与化学学院, 湖南 株洲 412007; 2. 长沙市雅礼中学, 湖南 长沙 410007

摘要: 铅锌冶炼厂周边区域遭受复合重金属的严重污染, 目前单一重金属污染土壤的修复技术比较成熟, 而针对复合重金属严重污染土壤的治理技术有待进一步研发。本研究采集铅锌冶炼厂附近重金属污染土壤, 试图从土壤中分离出具重金属抗性的产酸菌, 并应用于浸出修复复合重金属重污染土壤。通过野外取样调查、分子生物学鉴定和显微镜观察等分析测试手段, 从铅锌冶炼厂附近土壤中成功分离出一株具强重金属抗性的产酸菌, 经鉴定为黑曲霉 (*Aspergillus niger*), 命名为 F2。对其重金属抗性和浸出修复能力进行研究, 结果表明: 黑曲霉 F2 对 Pb、Zn、Cd 和 Cu 的最大耐受质量浓度分别为 8 500、6 000、2 200 和 2 500 mg·L⁻¹。在高浓度重金属的胁迫下, 培养前期菌株处于驯化阶段, 不生长或生长很慢, 培养后期生长速度加快。将黑曲霉接种到 50 mL 培养液中培养 7 d, 培养液的 pH 值从 7.00 降至 2.40, 将 2.5 g 灭菌土壤加入 50 mL 培养液中, 接种 1 mL 菌液, 置于恒温振荡培养箱中 (温度 28 °C、转速 120 r·min⁻¹) 培养 15 d, Pb、Zn、Cd 和 Cu 的浸出百分率分别为 46.79%、52.01%、29.40% 和 75.70%, 对 4 种重金属的总浸出率达 59.54%。由此可见, 黑曲霉不但具有很强的重金属耐受性, 还具有较大的浸出修复重金属污染土壤的潜力, 具备一定的研究价值。

关键词: 黑曲霉; 重金属抗性; 土壤; 浸出修复

DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2016.10.019

中图分类号: X172

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2016) 10-1727-06

引用格式: 邓新辉, 彭扶风, 陈韵声, 何权运, 孔乐群, 李贝贝, 张霞. 2016. 具重金属抗性产酸菌的分离及生物学特性研究[J]. 生态环境学报, 25(10): 1727-1732.

DENG Xinhui, PENG Fufeng, CHEN Yunsheng, HE Quanyun, KONG Lequn, LI Beibei, ZHANG Xia. 2016. Study on isolating of the strain having the ability of heavy metal resistance and producing organic acid [J]. Ecology and Environmental Sciences, 25(10): 1727-1732.

目前, 重金属污染土壤问题已受到国内外专家学者的密切关注, 尤其冶炼行业给土壤带来的重金属污染不容忽视。邓新辉等 (邓新辉等, 2015; Deng et al., 2012a) 的研究表明了某铅锌冶炼厂废渣堆场及附近区域土壤遭受到 Pb、Zn、Cd 和 Cu 等复合重金属的严重污染。刘勇等 (2015, 2014) 以关中西部某铅锌冶炼厂区内土壤及周围农田为研究对象, 结果表明厂区内土壤已受到 Pb、Zn、Cu、As、Cd 和 Hg 的严重污染, 厂区周围农田存在重金属潜在生态危害, 其中 Cd 和 Hg 的污染水平为重度污染, Pb 的污染水平为中度污染。徐玉霞等 (2014a, 2014b) 的研究发现关中西部某铅锌冶炼厂周围耕地中 Pb、Zn、Cu、Cd、Cr、Hg、As 和 Ni 的平均含量均高于陕西省土壤元素背景值, 铅锌冶炼厂周围耕地土壤已达到中重度污染程度, 其中重金属 Pb、Hg 和 Zn 污染尤其严重。由此可见, 冶炼厂区内

内及附近区域土壤已遭受复合重金属的严重污染。

治理重金属污染土壤问题已成为国内外专家学者的研究焦点, 目前治理单一重金属污染土壤的技术比较成熟, 而对复合重金属污染土壤的治理技术还有待研究发展 (曹心德等, 2011)。采用微生物技术治理重金属污染土壤的前提是必须有重金属抗性菌, 多数菌株只对某一种或某两种重金属具有抗性, 而同时对 4 种或 4 种以上重金属具有抗性的菌株目前报道尚少。微生物浸出修复法是指利用自然界中微生物的直接作用或其代谢产物的间接作用, 产生氧化、还原、络合、吸附或溶解作用, 将固相中的某些不溶性成分 (如重金属、硫及其它金属) 分离浸提出来的一种技术, 该技术的原理源自于微生物湿法冶金 (周顺桂等, 2002), 也适应于复合重金属污染土壤的治理 (Deng et al., 2012b)。用于浸出修复重金属污染土壤的菌种有自养型和

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51474102); 湖南省自然科学基金项目 (2015JJ3059); 湖南省大学生创新项目

作者简介: 邓新辉 (1974 年生), 女, 博士研究生, 主要从事重金属污染土壤研究。E-mail: xhdeng2007@126.com

*通信作者

收稿日期: 2016-05-26

异养型两种, 自养型菌种主要有氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌 (Liu et al., 2008; Shi et al., 2004); 异养型菌种主要是一些异养真菌, 如 *Aspergillus nige*, *Penicillium simplicissimum* 和 *Penicillium chrysogenum* 能通过代谢产生大量小分子有机酸, 这些有机酸可以溶解、螯合土壤中的重金属, 达到提取土壤中重金属的目的, 是一种有效的微生物浸提土壤重金属的方法 (Sabra et al., 2012; Amiri et al., 2011)。

本研究试图从冶炼厂附近复合重金属污染土壤中分离具产酸特性的重金属抗性菌株, 旨在寻找对多种重金属具有一定抗性的菌种, 通过其新陈代谢产生的有机酸来提取土壤中的重金属, 以期为一项采用微生物浸出修复复合重金属污染土壤的技术提供菌种资源和理论基础。

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集

在湖南某冶炼厂附近 1000 m 以内采集表层 (0~20 cm) 土壤, 混合均匀, 一部分保存于冰箱用于具重金属抗性产酸菌的分离; 另一部分去掉杂质, 晒干, 磨碎, 过 20 目筛, 置于恒温干燥箱中干燥 24 h 至恒重, 装进密封袋保存于干燥塔内备用, 部分送武汉楚江环保科技有限公司采用原子吸收法测量其重金属含量, 得出 Pb、Zn、Cd 和 Cu 在土壤中的质量分数分别为 486、 6.75×10^3 、319 和 $486 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 培养基

用于菌种筛选的固体培养基为 LB 培养基。液体培养基的主要成分为: 葡萄糖 90 g, 硝酸钠 3 g, 磷酸氢二钾 1 g, 硫酸镁 0.5 g, 氯化钾 0.5 g, 硫酸亚铁 0.01 g, 蒸馏水 1000 mL。所有试剂均购于生工生物工程 (上海) 股份有限公司。

1.3 具重金属抗性产酸菌的分离筛选

称取 10 g 土壤样品于 150 mL 已灭菌的锥形瓶中, 加入 10 mL 灭菌培养基, 于 30 °C 培养箱中培养 4 d, 4 d 后取 1 mL 泥浆于装有 9 mL 灭菌水的试管中, 充分摇匀, 得到稀释 10 倍的土壤悬液, 记为 10^{-1} ; 从 10^{-1} 管里取 1 mL 放入另一支装有 9 mL 灭菌水的试管中, 摇匀, 记为 10^{-2} ; 依次稀释, 将土壤泥浆样品稀释成 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 和 10^{-6} 。用移液枪从 10^{-4} 、 10^{-5} 和 10^{-6} 稀释液中分别取 0.1 mL 接种于含重金属的 LB 固体培养基上 (重金属的质量浓度为: Pb $1500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Cd $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Cu $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 Zn $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 轻轻转动平板, 将菌液用三角棒涂布于培养基上, 将平板倒置于 30 °C 培养箱中培养 5 d, 观察菌落的形态, 采用常规平

板划线法分离纯化。再用无菌接种针挑取不同形态的菌落, 接种于察氏液体培养基中, 置于 30 °C 恒温振荡培养箱中培养, 自第 2 天开始用灭菌酸度计测量培养基 pH 值, 找出能降低培养基 pH 值的菌株, 置于 4 °C 冰箱中保存备用。以上所用介质均在 121 °C 下灭菌 30 min。

1.4 菌株的重金属抗性研究

用直径为 0.9 cm 的圆形接种环于平板菌落上沾取孢子接种到含不同重金属浓度的固体培养基表面, 每天用直尺测量菌落直径, 记录数据, 通过计算菌落直径的变化来衡量菌株对重金属的抗性。添加单一重金属的培养时间为 7~8 d, 添加复合重金属的培养时间为 12 d。重金属在培养基中的质量浓度设置如下: Cu 分别为 1800、2000 和 2500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Zn 分别为 4000、5000、6000 和 7000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Pb 分别为 6000、7000 和 8000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Cd 分别为 1800、2000、2200 和 2400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.5 菌株产酸性能研究

用移液枪吸取无菌水于平板菌落上, 荡洗平板表面孢子, 再将孢子悬液接种于液体培养基中, 自培养的第 2 天开始用灭菌酸度计测量培养基 pH 值, 直至培养基 pH 值不再降低。

1.6 菌株形态学和基因鉴定

1.6.1 光学显微镜观察

用吸管吸取 1 滴菌株培养液于载玻片中央, 盖上盖玻片, 置于显微镜下观察。

1.6.2 分子鉴定

将菌种接于察氏培养基平板上培养 5 d, 送长沙爱科博生物科技有限公司测定 18s rDNA、ITS4 和 ITS5 序列, 鉴定菌种。采用优化的 CTAB 法提取基因组 DNA, 以提取到的基因组 DNA 为模板, 以 ITS4/ITS5 为引物 (ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; ITS5: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAA GG-3'); 扩增 ITS 区序列, 以 NS1/NS8 为引物 (ZJ-NS1: GTAGTCATATGCTTGTCTC; ZJ-NS8: TCCGCAGGTTCACCTACGGA); 扩增 18s DNA 区序列, 扩增产物做 PCR 并纯化、测序, 然后以 GenBank 数据库作为参考对测序结果进行 BLAST 分析。

1.7 菌株对重金属的浸出修复能力研究

取上述察氏液体培养基 49 mL 装入 250 mL 锥形瓶中, 接种 1 mL 菌株孢子液, 于电子天平上称重, 记下重量, 置于恒温振荡培养箱中培养 7 d 后添加 2.5 g 污染土壤, 放回恒温振荡培养箱, 7 d 后再次取出, 先恒重, 再过滤。由于水分蒸发而失去的重量用无菌水补充, 取滤液, 采用 ICP-AES 测定滤液中重金属含量。重金属浸出率 (%) 等于

浸出后滤液中重金属质量 (mg) 除以浸出前重金属质量 (mg) 再乘以 100%，浸出前重金属的质量以 2.5 g 土壤计算，故得出 2.5 g 土壤中 Pb、Zn、Cd 和 Cu 的质量分别为 0.001 2、16.875、0.797 5 和 0.001 2 mg。

2 结果与讨论

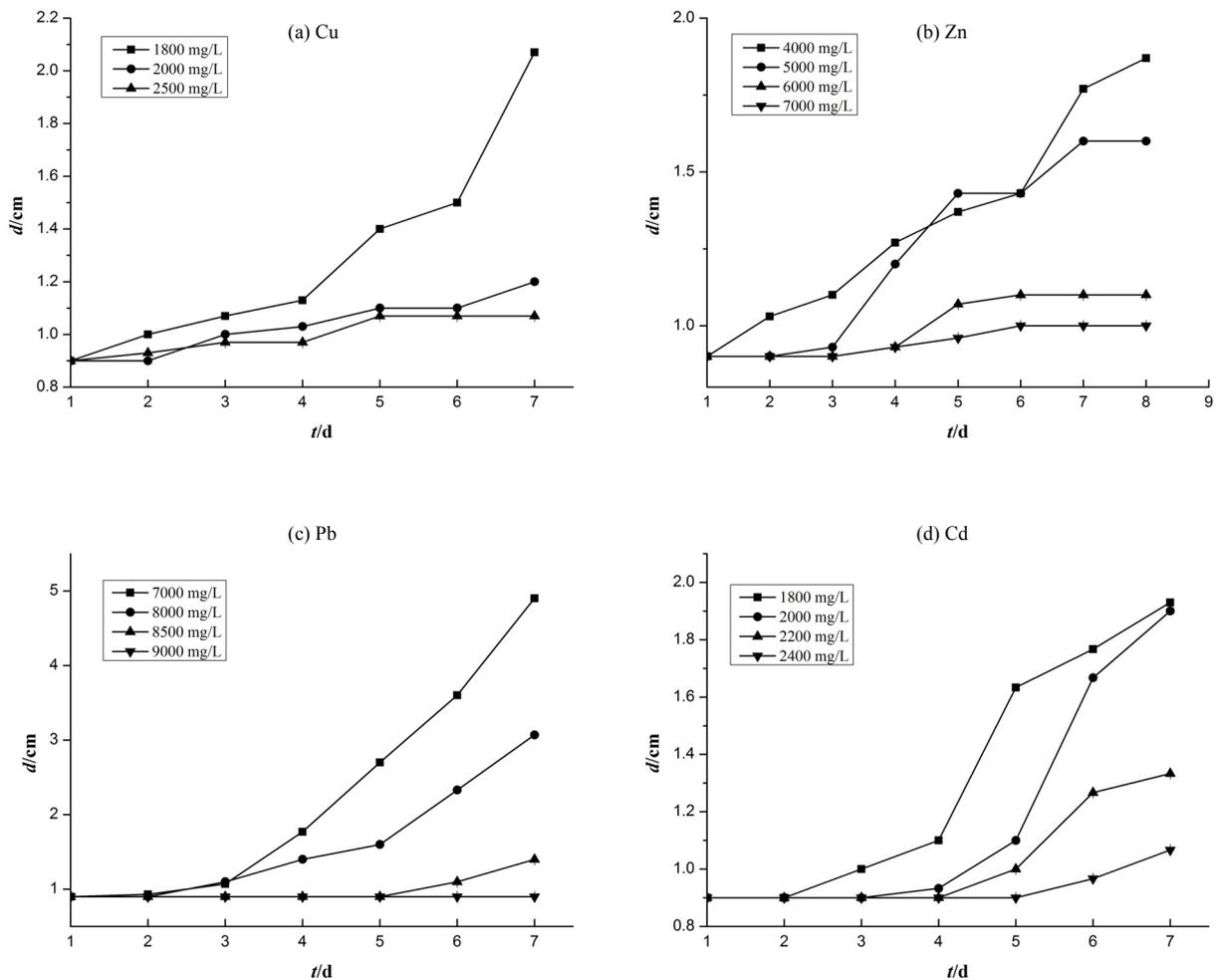
2.1 菌株对重金属的抗性

如图 1a 所示为菌株接种在不同 Cu 质量浓度培养基上的生长情况，第 1 天接种的菌落直径均为 0.90 cm。当 Cu 质量浓度为 1 800 mg·L⁻¹ 时，菌株培养 7 d 后，菌落直径达 2.07 cm，7 d 增长了 1.17 cm；而 Cu 质量浓度分别为 2 000 和 2 500 mg·L⁻¹ 时，培养 7 d 后，菌落直径分别只有 1.20 和 1.07 cm，分别只增长了 0.30 和 0.17 cm。因此，当 Cu 质量浓度为 1 800 mg·L⁻¹ 时，菌株的生长明显快于 Cu 质量浓度为 2 000 和 2 500 mg·L⁻¹，尤其当 Cu 质量浓度为 2 500 mg·L⁻¹ 时，菌株的生长接近停滞，故菌株

对 Cu 的最大耐受质量浓度为 2 500 mg·L⁻¹。

图 1b 所示为菌株接种在不同 Zn 质量浓度培养基上的生长情况。从第 2 天开始，接种在 Zn 质量浓度为 4 000 mg·L⁻¹ 的培养基上的菌株生长了，直径从 0.90 cm 增大至 1.03 cm，其余浓度处理均未生长；培养基中 Zn 的质量浓度分别为 4 000 和 5 000 mg·L⁻¹ 时，至培养的第 3 天，菌株的菌落直径分别增大至 1.10 cm 和 0.93 cm；当 Zn 质量浓度为 6 000 和 7 000 mg·L⁻¹ 时，菌株从第 4 天开始有缓慢生长，菌落直径均增大至 0.93 cm，其中质量浓度为 6 000 mg·L⁻¹ 的菌株继续缓慢生长，至第 7 天时菌落直径增大至 1.10 cm，而此时 Zn 质量浓度为 7 000 mg·L⁻¹ 的菌落直径增大至 1.00 cm。由此可见，当 Zn 的质量浓度为 6 000 mg·L⁻¹ 时，菌株出现缓慢生长，当 Zn 的质量浓度为 7 000 mg·L⁻¹，菌株生长基本停滞，故菌株对 Zn 的最大耐受质量浓度为 6 000 mg·L⁻¹。

菌株对 Pb 的抗性如图 1c 所示，当 Pb 质量浓



n=3

图 1 菌株对重金属 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的抗性图

Fig. 1 The resistance strain of Cu, Zn, Pb and Cd

度为 $7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 菌株从第 2 天开始缓慢生长, 至第 3 天菌落直径从 0.90 cm 增大至 1.07 cm , 第 4 天开始菌株快速生长, 菌落直径增大至 1.77 cm , 直到第 7 天增大至 4.90 cm ; Pb 质量浓度分别为 8000 和 $7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时菌株的生长趋势一致, 但前者速度明显减慢; Pb 质量浓度为 $8500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时菌株从第 5 天才开始生长, 至第 7 天时菌落直径达 1.40 cm ; 而 Pb 质量浓度为 $9000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时菌株几乎不生长。因此, 菌株对 Pb 的最大耐受质量浓度为 $8500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

菌株对 Cd 的抗性见图 1d, 当 Cd 质量浓度为 $1800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 菌株的生长基本不受 Cd 的影响, 从培养的第 2 天开始, 菌株呈直线生长; 当 Cd 质量浓度为 $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 从第 4 天才开始生长, 至第 7 天时菌落直径由 0.90 cm 增至 1.90 cm ; 当 Cd 质量浓度为 $2200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 从第 4 天才开始缓慢生长, 至第 7 天时菌落直径才由 0.90 cm 增至 1.30 cm ; 当 Cd 质量浓度为 $2400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 菌株基本不生长, 至第 7 天时菌落直径只有 1.07 cm , 故菌株能耐受的最大 Cd 质量浓度为 $2200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 菌株培养液 pH 值的变化

采用 pH 值为 7.0 的培养液培养菌株 (图 2), 培养的第 3 天, 培养液 pH 值降至 3.39, 以后每天逐步降低, 直至第 8 天时降至 2.40。培养基 pH 值的降低是由于在培养过程中, 菌株代谢产生了小分子有机酸 (Deng et al., 2013)。至于菌株在代谢过程中产生了哪些有机酸及其他产物, 有待进一步通过液相色谱、质谱等分析测试手段研究 (Ren et al., 2009)。

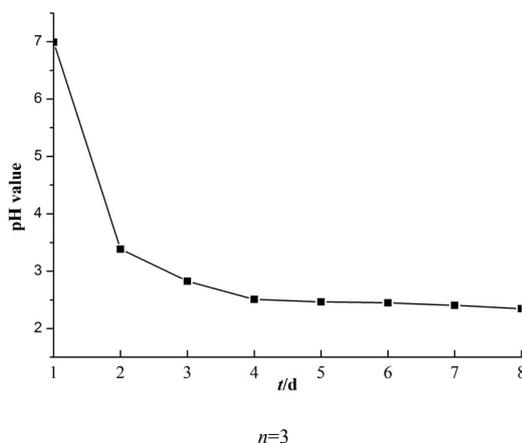


图2 菌株培养液 pH 值图

Fig. 2 Medium pH value of the strain

2.3 具重金属抗性产酸菌的分离鉴定

从图 3 可看出, 菌丝呈黑褐色、发达, 多分枝,

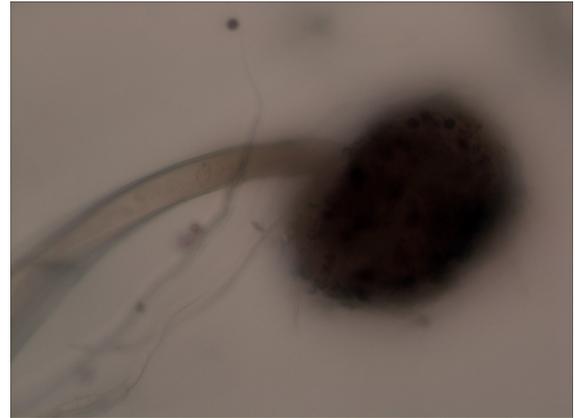


图3 黑曲霉菌丝及孢子形态($\times 40$)

Fig. 3 Mycelium and spore morphology of *Aspergillus niger* F2

分生孢子球形, 呈黑色, 菌落表面粗糙, 结合分子生物学鉴定和系统发育树 (图 4), 该具重金属抗性产酸菌为黑曲霉, 拉丁名为 *Aspergillus niger*, 命名为 F2。

2.4 黑曲霉对重金属的浸出效率

黑曲霉 F2 对污染土壤中重金属 Pb、Zn、Cd 和 Cu 的浸出效率如图 5 所示, 其中 Pb 的浸出百分率为 46.79%, Zn 的浸出百分率为 52.01%、Cd 的浸出百分率为 29.40%, Cu 的浸出百分率为 75.70%, 换算得出 50 mL 液体培养基中能浸出 10.52 mg 重金属, 即 4 种重金属的总浸出率达 59.54%。根据已有文献报道, 在相同条件下 (温度、培养基和恒温振荡培养箱转速相同), 黑曲霉 F2 对土壤中重金属的总浸出率与产黄青霉相当 (Ahmad et al., 2011), 证明该菌株具有很高的应用价值, 因此, 有必要深入研究黑曲霉 F2 产酸的培养基组分及代谢条件, 进一步提高黑曲霉对重金属的浸出率, 了解其代谢途径, 研究其浸出机理, 发展一项黑曲霉 F2 浸出修复重金属污染土壤的技术。

3 结论

(1) 黑曲霉具有很强的重金属耐受性, 在含高浓度重金属的培养过程中, 培养前期菌株处于接受重金属的驯化阶段, 不生长或生长很慢, 培养后期生长速度加快。黑曲霉对 Pb、Zn、Cd 和 Cu 的最大耐受浓度分别为 8500 、 6000 、 2200 和 $2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

(2) 黑曲霉对重金属污染土壤的浸出修复潜力大, 能将 50 mL 液体培养基的 pH 值从 7.0 降至 2.40, 对 Pb、Zn、Cd 和 Cu 的浸出百分率分别为 46.79%、52.01%、29.40% 和 75.70%, 对 4 种重金属的总浸出率达 59.54%。

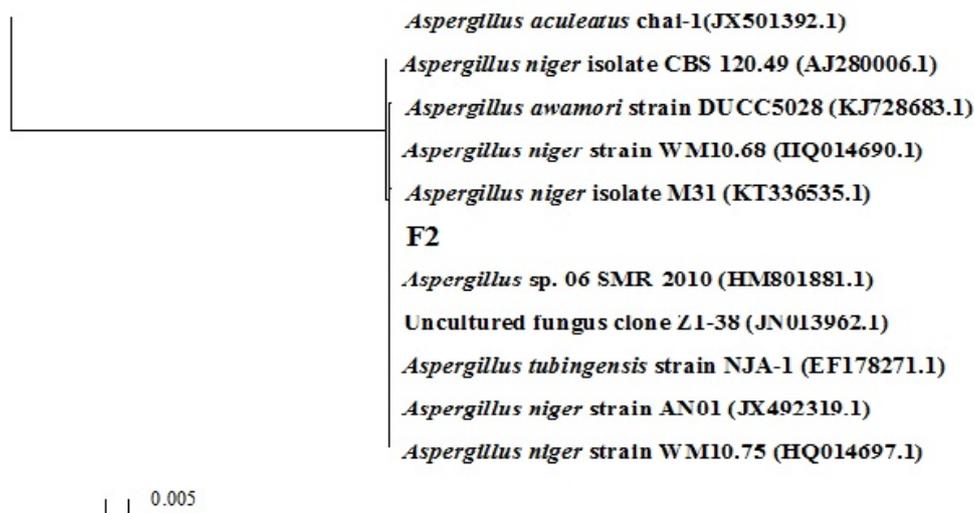


图 4 基于黑曲霉 ITS 序列的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree based on ITS sequence of *Aspergillus niger* F2

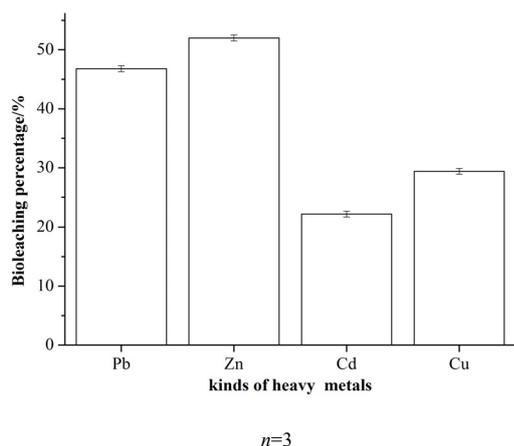


图 5 黑曲霉浸出重金属图
Fig. 5 Heavy metal bioleaching efficiency of *Aspergillus niger* F2

参考文献：

AHMAD B, BHATTI H N, ILYAS S. 2011. Bio-extraction of metal ions from laterite ore by *Penicillium chrysogenum* [J]. African Journal of Biotechnology, 10(54): 11196-11205.

AMIRI F, YAGHMAEI S, MOUSAVI S M. 2011. Bioleaching of tungsten-rich spent hydrocracking catalyst using *Penicillium simplicissimum* [J]. Bioresource Technology, 102(2): 1567-1573.

DENG X H, CHAI L Y, YANG Z H, et al. 2012a. Bioleaching of heavy metals from a contaminated soil using indigenous *Penicillium chrysogenum* strain F1 [J]. Journal of Hazardous Materials, 233-234: 25-32.

DENG X H, CHAI L Y, YANG Z H, et al. 2012b. Preliminary bioleaching of heavy metals from contaminated soil employing indigenous *Penicillium Chrysogenum* strain F1 [J]. Journal of Central South University, 19(7): 1973-1979.

DENG X H, CHAI L Y, YANG Z H, et al. 2013. Bioleaching mechanism of heavy metals in the mixture of contaminated soil and slag by using indigenous *Penicillium chrysogenum* strain F1 [J]. Journal of Hazardous Materials, 248-249: 107-114.

LIU Y G, ZHOU M, ZENG G M, et al. 2008. Bioleaching of heavy metals from mine tailings by indigenous sulfur-oxidizing bacteria: Effects of substrate concentration [J]. Bioresource Technology, 99(10): 4124-4129.

REN W X, LI P J, GENG Y, et al. 2009. Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger* [J]. Journal of Hazardous Materials, 167(1-3): 164-169.

SABRA N, DUBOURGUIER H C, HAMIEH T. 2012. Fungal leaching of heavy metals from sediments dredged from the Deûle Canal, France [J]. Advances in Chemical Engineering and Science, 2: 1-8.

SHI S Y, FANG Z H. 2004. Bioleaching of marmatite flotation concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. Hydrometallurgy, 75(1-4): 1-10.

曹心德, 魏晓欣, 代革联, 等. 2011. 土壤重金属复合污染及其化学钝化修复技术研究进展[J]. 环境工程学报, 5(7): 1441-1453.

邓新辉, 柴立元, 杨志辉, 等. 2015. 铅锌冶炼废渣堆场土壤重金属污染特征研究[J]. 生态环境学报, 24(9): 1534-1539.

刘勇, 王成军, 冯涛, 等. 2014. 重金属在铅锌冶炼厂内的空间分布及污染评价[J]. 西北大学学报(自然科学版), 44(1): 133-140.

刘勇, 王成军, 刘华, 等. 2015. 铅锌冶炼厂周边重金属的空间分布及生态风险评价[J]. 环境工程学报, 9(1): 477-484.

徐玉霞, 薛雷, 汪庆华, 等. 2014b. 关中西部某铅锌冶炼区周边土壤重

- 金属污染特征与生态风险评价[J]. 环境保护科学, 40(2): 110-126. 251-256.
- 徐玉霞, 薛雷, 汪志华, 等. 2014a. 关中西部某铅锌冶炼区周边耕地土壤重金属污染特征及评价[J]. 干旱地区农业研究, 32 (2): 周顺桂, 周立祥, 黄焕忠. 2002. 生物淋滤技术在去除污泥中重金属的应用[J]. 生态学报, 22(1): 125-133.

Study on Isolating of the Strain Having the Ability of Heavy Metal Resistance and Producing Organic Acid

DENG Xinhui^{1*}, PENG Fufeng², CHEN Yunsheng¹, HE Quanyun¹, KONG Lequn¹,
LI Beibei¹, ZHANG Xia¹

1. College of Life Sciences and Chemistry of Hunan University of Technology, Zhuzhou 412007, China;

2. Yali High School, Changsha 410007, China

Abstract: The soil in the surrounding area of Pb/Zn smeltery was contaminated by heavy metals such as Pb, Zn, Cd and Cu et al. The remediation technology for single heavy metal contaminated soil is already mature, but it needs further development for the seriously heavy metals compound contaminated soil. In the paper, the soil was collected in the surrounding area of Pb/Zn smeltery, and the microbiology having not only the ability of heavy metal resistance but also the ability of producing acid would be selected and isolated in order to being used to remedy the contaminated soil. Through field sampling and surveying, molecular biological identification, microscopic examination, a strain was selected from the soil samples which was indentified as *Aspergillus niger* and named as F2, the ability of heavy metal resistant and bioleaching remediation was studied in the paper. The results show: The largest concentration of resistance to Pb, Zn, Cd and Cu of *Aspergillus niger* F2 is 8 500, 6 000, 2 200 and 2 500 mg·L⁻¹, the largest concentration of resistance to the compound of Pb, Zn, Cd and Cu is 105, 2 400, 2 200 and 2 400 mg·L⁻¹. The growth of *Aspergillus niger* F2 on LB medium containing high concentrations of heavy metals was faster in the later stage than in the early stage. The pH value of liquid medium was degraded from 7.00 to 2.40 in 7 days. 2.5 g sterilized soil was added into 49 mL liquid medium, 1 mL spore suspension liquid was inoculated, then put in 28 °C and 120 r·min⁻¹ orbital shaker incubator, after 15 days, the bioleaching efficiency of Pb, Zn, Cd and Cu was 46.79%, 52.01%, 29.40% and 75.70% respectively, the total bioleaching efficiency of Pb, Zn, Cd and Cu was 59.54%. Thus *Aspergillus niger* F2 has large ability of heavy metal resistance and good applied value of bioleaching remediation on heavy metal contaminated soil.

Key words: *Aspergillus niger*; heavy metal resistance; soil bioleaching