

养殖废水中异养硝化细菌的分离 筛选和鉴定

刘芳芳^{1,2}, 周德平², 吴淑杭^{1,2}, 张 明¹, 褚长彬², 范洁群², 姜震方²

(1.华东师范大学环境科学系, 上海 200063; 2.上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201106)

摘 要:为了获得脱氮功能强的异养硝化菌株用于养殖废水的脱氮处理,通过富集、分离和纯化等步骤,并结合格利斯试剂检验菌株硝化能力的方法,从某养猪场污水处理池污泥中分离筛选了4株具异养硝化功能的菌株,分别标号为79、84、L116、L117,通过16S rDNA序列分析和美国全自动微生物分析仪Biolog鉴定,4株菌均为粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*),并验证了这4株菌的硝化能力。结果表明,当液体培养基初始氨氮浓度为 $90\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右时,在振荡培养48 h内,菌株79、84、L116、L117培养基中氨氮和总氮均快速下降,氨氮去除率分别达到44.4%、47.9%、61.3%和56.4%,总氮(除菌)去除率达到39.9%、38.5%、43.4%和40.7%。

关键词:养猪场废水;异养硝化细菌;分离;脱氮能力;粪产碱杆菌

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)11-2232-06

Isolation and Identification of Heterotrophic Nitrifiers from Cultivation Wastewater

LIU Fang-fang^{1,2}, ZHOU De-ping², WU Shu-hang^{1,2}, ZHANG Ming¹, CHU Chang-bin², FAN Jie-qun², JIANG Zhen-fang²

(1.Department of Environment Science, East China Normal University, Shanghai 200063, China; 2.Institute of Eco-Environmental Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: The biological nitrogen removal is widely applied in the wastewater treatment, and it is more economic in all nitrogen removal methods. The traditional biological nitrogen removal method is mainly dedicated to the research of autotrophic nitrobacteria. Compared to the autotrophic nitrobacteria, heterotrophic nitrification bacteria are able to utilize organic carbon sources and inorganic carbon sources. What's more, they have absolute superiority in adaptive capacity and can widely exist in the environment. In order to get the heterotrophic nitrification bacteria which can remove nitrogen in cultivation wastewater, four strains of heterotrophic nitrifiers from the sewage of an hogger in Congming (Shanghai) through the procedure of enriching, separating, purifying and identifying their nitrification capacity by the principle of when nitrite meets Eglise reagent, it will become red. The four strains were given the labels of 79, 84, L116 and L117. The 16S rDNA sequence analysis and the United States automatic microbial analyzer Biolog were used to identify the strains. The result showed that the four strains were *Alcaligenes faecalis*. The result of experiment showed that when the initial ammonia-nitrogen concentration reached $90\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the nitrogen removal rates of 79, 84, L116 and L117 within 48 h were 44.4%, 47.9%, 61.3% and 56.4% respectively and the removal rates of total nitrogen were 39.9%, 38.5%, 43.4% and 40.7%, respectively. Furthermore, there existed nitrite in the process of denitrification.

Keywords: piggery wastewater; heterotrophic nitrifier; isolation; denitrification capacity; *Alcaligenes faecalis*

随着集约化养猪规模和范围越来越大,其产生的废水处理问题日益突出。养猪场废水有着有机物浓度高、悬浮物多、氨氮含量大、臭味大等特点^[1]。根据GB18596—2001 畜禽养殖业污染物排放标准规定,集约化畜禽养殖业排放污水氨氮浓度最高允许日均不超过 $80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通常情况下,养猪废水中氨氮浓度能达到每升几百甚至几千毫克,实现废水中高浓度氨氮

达标排放,一直是养猪废水处理的难题;即便废水达到 $80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的排放标准,直接进入水体也会污染环境,因此研究深度氨氮处理技术十分必要。

一直以来,硝化-反硝化模式是处理氮污染废水的主要路线^[2],硝化过程中主要是硝化细菌在起作用,硝化细菌中大多数是无机化能自养菌,它们具有生长速度缓慢、生物量小等特点^[3]。相对于自养硝化细菌而言,虽然异养细菌的分解效率较低,但是它们在环境中的数量以及生长速率上往往远大于自养菌,因此在某些环境之中,异养硝化作用的贡献可以与自养菌相当,甚至超出自养菌。关于异养硝化作用,虽然目前仍有很多机理未得到解释,对一些现象的解释也不尽圆

收稿日期:2010-04-07

基金项目:国家高技术(863 计划)专题项目(2007AA06Z344);上海市重大科技攻关项目(08dz1900400)

作者简介:刘芳芳(1984—),主要从事环境微生物学等领域的研究。

E-mail:gtxdh_gg@163.com

通讯作者:吴淑杭 E-mail:wushuhang88@163.com

满,但异养硝化作用的重要性日益受到关注。目前,关于异养硝化细菌分离已有所报道,如 *Delftia tsu-ruhatensis*^[4]、*Diaphorobacter* sp.^[5]、*Acinetobacter* sp.YY5^[6]、*Rhodococcus* sp.^[7]和假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia* sp.H9)等^[8],但还未见针对养殖废水氨氮处理的异养硝化细菌报道。

本研究以养猪场污水处理池污泥为主要分离源,通过富集、分离和纯化等步骤,并结合格利斯试剂检验菌株硝化能力的方法,对养猪场污水源异养硝化细菌进行了分离筛选;利用传统和分子相结合的方法,分析了菌株的形态、生理生化特性,进行了鉴定;同时对分离菌株的异养硝化性能进行了效果验证试验,旨在为养殖废水氨氮处理的实际应用提供有效菌源和技术方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本实验分离到的菌株来自上海崇明警备区富民养猪场污水处理池中的污泥。

选择性培养基^[9]: NH_4Cl $0.382 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 乙酸钠 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NaCl $0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, FeSO_4 $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.0~7.2。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的富集、分离和筛选

取 300 mL 污泥接入装有 200 mL 富集培养基的连续培养装置中,滴加富集培养基富集培养 60 d。采用稀释涂布平板分离法,挑取典型性菌落 123 个,重复分离纯化两次。将获得的菌株接种于液态选择性培养基中,25℃、150 r·min⁻¹ 振荡培养,同时每日用格利斯试剂跟踪检测亚硝酸盐的积累情况(用空白做对照),对于用格利斯试剂检测显色比较早、红色比较深的菌株重点关注,按照此原则挑取了 10 株菌株。测定这 10 株菌的 OD₆₀₀ 值,从中挑选出 4 株生长比较快、亚硝酸盐积累多的菌株继续进行下一步的研究。

1.2.2 菌株生长趋势和脱氮效果验证

从固体平板上挑取一接种环的菌苔转入到液态培养基里,25℃、150 r·min⁻¹ 振荡培养 48 h 后,按 5% 的接种量转接到装有 400 mL 液态新鲜选择性培养基的 500 mL 锥形瓶中,25℃、180 r·min⁻¹ 振荡培养。培养期间每隔 2~6 h 取液态样品测定菌体生长吸光度(OD₆₀₀),总的培养时间为 150 h。

以乙酸钠为唯一碳源、氯化铵为唯一氮源,在测

定生长曲线的培养条件下,每隔 24 h 测定样品中的氨氮和总氮,以验证菌株的脱氮能力。其中测定总氮时,样品经过离心机 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液。连续测定 1 周。

1.2.3 菌株形态学特征

将纯化后的菌株转接至固体培养基上,培养 3 d,用德国 Leica M123 高端立体显微镜拍摄各菌落形态。挑取新鲜菌苔于载玻片上,革兰氏染色^[10]后,经透射电镜拍摄各菌体形态。

1.2.4 16S rDNA 的 PCR 扩增和测序

用试剂盒提取各菌株的 DNA,并进行 PCR 扩增。引物为细菌通用引物 8F-1392r, 序列:8F (5' to 3'): ACGGGCGGTGTGTAC; 1392r (5' to 3'): GTTTGATC-CTGGCTCAG。PCR 反应体系为 30 μL。其中包括 10× buffer 3 μL, MgCl_2 1.8 μL, dNTP 3 μL, 以及正反向引物各 0.6 μL, Taq 聚合酶 0.15 μL 和灭过菌的去离子水 18.85 μL, DNA 1 μL。各成分均匀混合后进行如下程序的反应:95℃预变性 10 min, 之后进行 35 个循环,94℃变性 10 min,55℃复性 1 min,72℃延伸 2 min,最后进行 72℃10 min 的延伸。PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶上电泳。测序由上海桑尼生物科技有限公司完成,测序用引物为 8F-1392r。

1.2.5 Biolog 微生物全自动分析

鉴于之前分子方法鉴定的结果,挑取 L116 和 L117 两株菌用 Biolog 法进行鉴定确认。取纯化的菌株转接到 LB 新鲜固体平板上,30℃培养 24 h,用接种棒刮取适量菌苔至系统专用接种液 IF-A 中,制成均匀菌液,调整浊度大小至 90%~98%(接种前的接种液浊度为 100%),用排枪吸取均匀菌液至 96 孔 GEN III 鉴定平板上,每孔 100 μL,盖上鉴定板盖,置于恒温培养箱 30℃培养,在此期间,于培养 19 h 和 30 h 时,均在读数仪读取结果,按可能性大小给出 10 个接近的种属名称。

1.3 试验测定项目与方法

氨氮:纳氏试剂分光光度法;总氮:过硫酸钾氧化-紫外分光光度法。

2 结果与分析

2.1 菌株的生长曲线

如图 1 所示,4 株菌株都经历了对数期和稳定期。其中菌株 79 和 84 经过 26 h 培养,菌体浓度达到最大值,OD₆₀₀ 最大值分别为 0.357 和 0.419;而菌株 L116 和 L117 分别经过 24 h 和 30 h 的培养达到生长

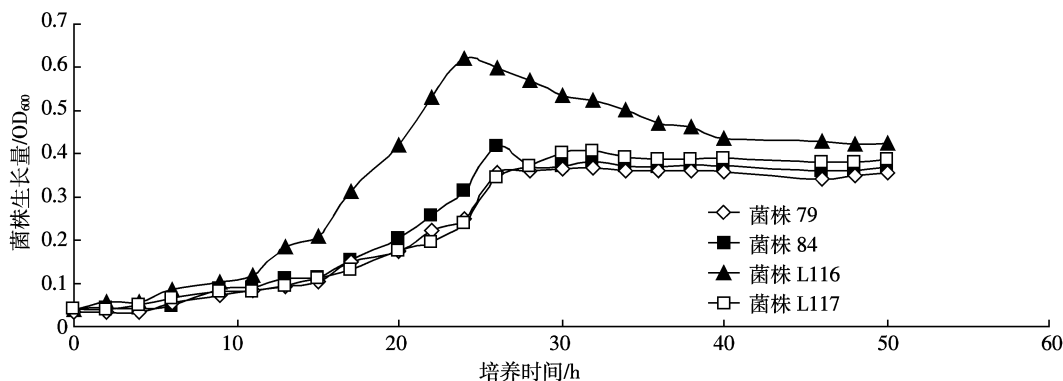


图 1 菌株 79、84、L116、L117 生长曲线
Figure 1 Growth curve of 79, 84, L116, L117

最高峰,OD₆₀₀ 最大值分别为 0.620 和 0.403。可见,在保证初期接种量一致的情况下,菌株 L116 的启动最快,生长量也最多。

2.2 脱氮效果

如图 2 所示,培养后氨氮和总氮浓度均有不同程度的下降,且具有相似的趋势:即培养 48 h 内,氨氮和总氮的降解迅速,48 h 后降解速度趋缓。菌株 79、84、L116、L117 培养 48 h,培养基中氨氮浓度分别下降了 37.94、42.88、56.01、51.38 mg·L⁻¹,总氮含量分别下降了 35.64、35.40、42.74、40.82 mg·L⁻¹。菌株 79、84、

L116 和 L117 均能氧化氨并积累亚硝酸盐,说明 4 株菌均具有硝化能力,即培养基中部分氨氮的去除是通过细菌的硝化作用完成的。但是亚硝酸盐的积累不仅可以抑制硝酸菌的活性,当亚硝酸盐浓度过高时同样也会影响亚硝酸菌和反硝化菌的生长和生物活性,并且亚硝酸盐对亚硝酸菌的抑制是不可逆的^[1]。所以,很可能是亚硝酸盐的积累影响了氨的转化率,从而使得菌株在培养 48 h 后,氨氮和总氮降解趋缓。当然,氮的转化途径还有待于进一步的研究,这些将是我们下一步工作的研究方向。

如表 1 所示,经过 48 h 振荡培养,菌株 79、84、L116、L117 的氨氮转化率分别达到 44.42%、47.87%、61.29%和 56.38%,总氮的去除率分别为 39.92%、38.52%、43.37%和 40.74%。此外,在纯培养的情况下,培养基内未经除菌的总氮浓度也出现了下降,分别降低了 16.70、13.62、20.76、18.18 mg·L⁻¹。说明培养基内总氮浓度的下降并非只是由于同化作用引起的,而是通过硝化-反硝化途径,也就是说,获得的菌株也具有反硝化能力。这与所报道的粪产碱杆菌^[12]同时具有异养硝化和好氧反硝化的特征一致。

2.3 各菌株的形态学特征

选择性培养基上的各菌株的菌落形态(图 3)以及透射电镜形态(图 4)如图所示。菌株 79、84 和 L117,菌落表面很湿光滑,小而突起,呈乳白色,边缘齐整有

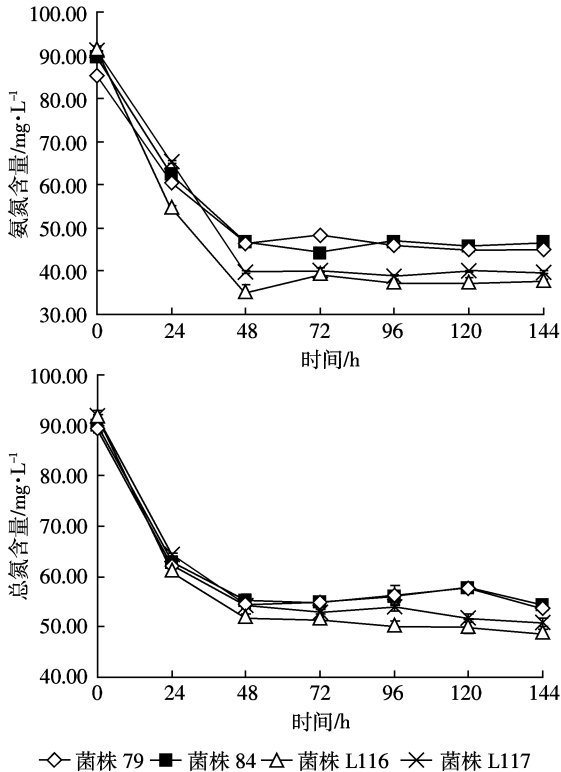
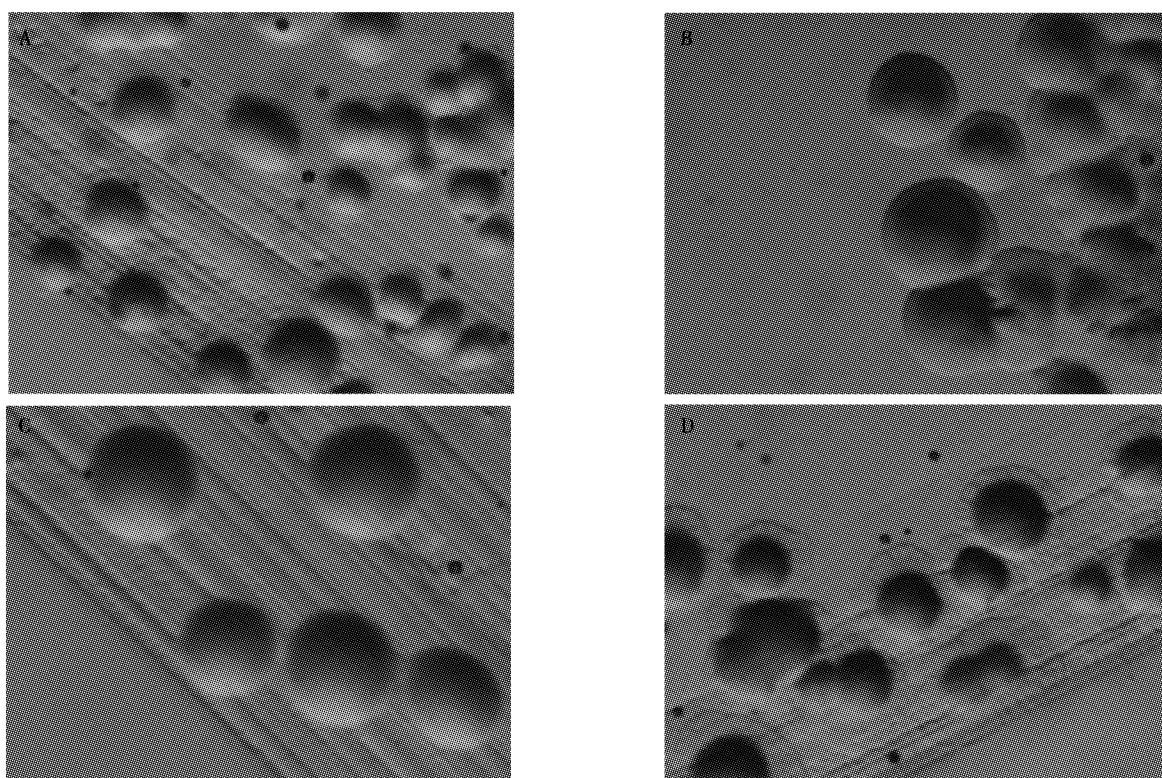


图 2 氨氮和总氮降解趋势
Figure 2 The degradation trends of ammonia nitrogen and total nitrogen

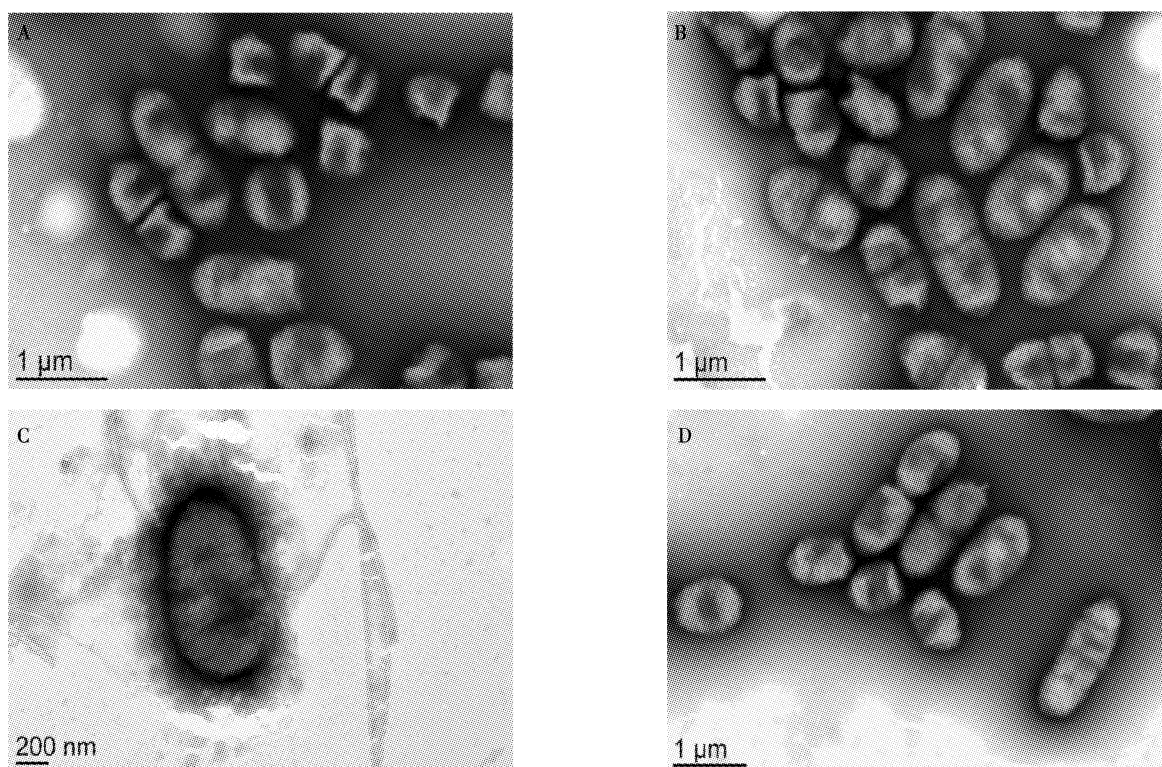
表 1 各菌株脱氮效果试验部分结果 Table 1 Some results of the strains denitrogenation abilities			
菌株编号	48 h 氨氮去除率/%	48 h 总氮去除率/%	未除菌总氮去除量/mg·L ⁻¹
菌 79	44.42±0.49	39.92±0.92	16.70±1.82
菌 84	47.87±1.17	38.52±1.50	13.62±0.00
菌 L116	62.29±1.72	43.37±0.64	20.76±1.04
菌 L117	56.38±0.40	40.74±0.36	18.18±1.84



A-79, B-84, C-L116, D-L117

图3 各菌株菌落形态

Figure 3 Colony morphology of the strains



A-79, B-84, C-L116, D-L117

图4 各菌株透射电镜形态

Figure 4 Morphology of the strains by TEM

水膜,革兰氏阴性,球杆状,不产芽孢,有鞭毛;菌株 L116,表面较湿,小而突起,呈乳白色,边缘齐整,革兰氏阴性,在选择性培养基上革兰氏染色呈球杆状,在 LB 培养基上生长则更短,近似于球状,不产芽孢,有鞭毛^[13]。

2.4 16S rDNA 的 PCR 扩增和测序结果

测序结果经 NCBI Blast 检索比对后,各菌株的鉴定结果如下:菌株 79、84、L116、L117 的 16S rDNA 序列递交到 GenBank 数据库,其登录号分别是:GQ375790.1、GQ383898.1、GQ856253.1、GQ375789.1。用 Blast 程序与数据库中的细菌核酸序列进行比对:菌株 79 的 16S rDNA 序列与 *Alcaligenes faecalis* strain RHH55 (登录号:GQ375790.1) 相似性达到 99%;菌株 84 的 16S rDNA 序列与 *Alcaligenes* sp.(登录号:GQ383898.1) 相似性达到 99%;菌株 L116 的 16S rDNA 基因序列与 *Alcaligenes faecalis* (登录号:GQ856253.1) 的相似性达到 99%;菌株 L117 的 16S rDNA 序列与 *Alcaligenes faecalis* strain RHH48(登录号:GQ375789.1)相似性达到 99%。

2.5 Biolog 微生物全自动分析鉴定结果

经过美国全自动微生物分析仪 Biolog 分析鉴定, L116 和 L117 均为粪产碱杆菌,其 SIM 分别达到了 0.819 和 0.820, DIST 分别为 2.860 和 2.869。本论文对于全部的 95 个指标仅列举了两株菌株反应成阳性的指标和部分反应呈阴性的指标,其各项生理生化鉴定结果总结见表 2 所示。

3 讨论

关于异养硝化细菌代谢途径的研究一直没有停止过,异养硝化细菌种类多且可利用基质范围广泛,如铵、胺、酰胺、N-烷基羟胺、肼、氧肼酸及芳香硝基化合物等,从而使其代谢机理的研究变得相当困难,目前还没有达到一个共识^[14]。本研究说明,粪产碱菌具有异养硝化和反硝化能力,与文献报道的粪产碱菌是同时具有异养硝化和好氧反硝化能力的异养菌的结论一致^[12]。Richardson 等对这类菌进行深入研究后,提出了如图(图 5)脱氮假想途径^[15]。该假想图总结了 2 条可能脱氮途径:(1)细菌经历硝化阶段,随后进行反硝化脱氮;(2)细菌将氨氮氧化成羟胺后,由羟胺直接转化到氧化亚氮,然后再转化为氮气^[16]。异养硝化细菌中间产物可以是亚硝酸盐氮,也可为硝酸盐氮。有研究报道 *Alcaligenes faecalis* L1^[17]、*Alcaligenes faecalis* No.4^[18]以及 *Alcaligenes faecalis* strain TUD^[19]的

表 2 L116、L117 菌株生理生化指标
Table 2 Physiological and biochemical indexes of the L116 and L117 strains

指标	结果		指标	结果	
	L116	L117		L116	L117
pH6	+	+	Niaproof 4	+	+
1%NaCl	+	+	万古霉素	+	+
4%NaCl	-	+	四唑紫	+	+
1%乳酸钠	+	+	四唑蓝	+	+
梭链孢酸	-	+	P-羟基-苯乙酸	+	+
D-丝氨酸	+	-	L-乳酸	+	+
醋竹桃酶素	-	+	柠檬酸	+	+
利福霉素 SV	+	+	α-酮戊二酸	-	+
二甲胺四环素	+	+	L-苹果酸	+	+
L-丙氨酸	+	+	氯化锂	+	+
L-天冬氨酸	+	+	α-羟基-D	+	+
L-谷氨酸	+	+	丙酸	+	+
L-组氨酸	-	+	醋酸	+	+
林肯霉素	+	+	噻吩单酰胺菌素	+	+
盐酸胍	+	+	丁酸钠	+	+

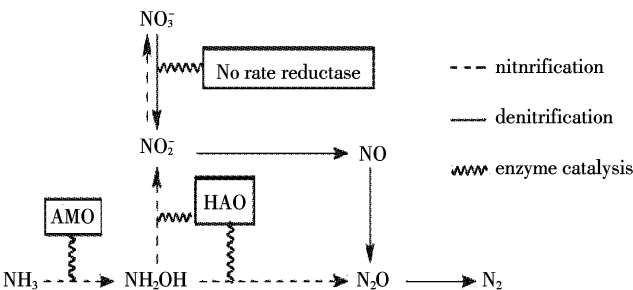


图 5 异养硝化脱氮假想途径
Figure 5 Scheme for nitrogen removal pathway during heterotrophic nitrification

积累产物均为 NO_x,羟胺。本试验以有无亚硝酸盐氮的积累为初始筛选条件,从而证实了亚硝酸盐氮是粪产碱菌的代谢积累产物。

获得脱氮功能强的异养硝化菌株,从而应用于养殖废水的脱氮处理,是本研究的最终目的。但是目前的研究还处于实验室阶段,养殖废水中有机碳源种类复杂,各种物质成分含量变化大,试验条件控制困难等,这些都为微生物高效脱氮的实际应用增加了难度。因此,如何把筛选出的异养硝化菌株应用在养殖废水的实际脱氮研究中,是下一步试验的研究方向。

4 结论

(1)从上海崇明警备区富民养猪场污水处理池的污泥中分离到 4 株菌株,编号分别为 79、84、L116、

L117, 根据其菌株形态和菌体形态, Biolog 微生物自动分析仪分析, 并经 16S rDNA 测序鉴定, 4 株菌株均为粪产碱杆菌, 是异养硝化细菌。

(2) 4 株菌株液态培养下, 经格利斯试剂检测和异养硝化试验, 说明都具有异养硝化能力, 菌株 79、84、L116、L117 经 48 h 培养, 氨氮降解率分别达到 44.42%、47.87%、61.29% 和 56.38%, 总氮(除菌)去除率分别达到 39.92%、38.52%、43.37% 和 40.74%。

(3) 本研究对各菌株的脱氮能力进行了初步探索, 而关于氮可能代谢的途径以及具有反硝化能力的内容也进行了简单介绍。

参考文献:

- [1] 赵晨红. ASBR-SBR 工艺处理养猪场废水 [J]. 重庆环境科学, 2003, 25(4): 36-38.
ZHAO Chen-hong. Anaerobic SBR-aerobic SBR for the treatment of piggery wastewater[J]. *Chongqing Environmental Science*, 2003, 25(4): 36-38.
- [2] 温东辉, 唐孝炎. 异养硝化及其在污水脱氮中的作用[J]. 环境污染与防治, 2003, 25(5): 283-285.
WEN Dong-hui, TANG Xiao-yan. Heterotrophic nitrification and its role in the nitrogen removal in wastewater treatment[J]. *Environmental Pollution and Control*, 2003, 25(5): 283-285.
- [3] 王娟. 硝化细菌的筛选及其降解特性的初步研究[D]. 四川: 西南交通大学, 2006.
WANG Juan. Study on degradation characteristics and isolation of nitrifying bacteria[D]. Sichuan: Southwest Jiaotong University, 2006.
- [4] 王欢, 汪苹, 张海波. 一株戴尔福特菌的异养硝化和好氧反硝化性能的特性[J]. 北京工商大学学报, 2008, 26(3): 1-5.
WANG Huan, WANG Ping, ZHANG Hai-bo. Characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Delftia tsuruhatensis* [J]. *Journal of Beijing Technology and Business University*, 2008, 26(3): 1-5.
- [5] Khardenavis A A, Kapley A, Purohit H J. Simultaneous nitrification and denitrification by diverse *Diaphorobacter* sp.[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 77: 403-409.
- [6] 陈赵芳, 尹立红, 浦跃朴, 等. 一株异养硝化菌的筛选及其脱氮条件[J]. 东南大学学报, 2007, 37(3): 486-490.
CHEN Zhao-fang, YIN Li-hong, PU Yue-pu, et al. Screening of a heterotrophic nitrifying bacterium strain and its optimal conditions for nitrogen removing [J]. *Journal of Southeast University*, 2007, 37(3): 486-490.
- [7] 张光亚, 陈美慈, 韩如畅, 等. 一株异养硝化细菌的分离及系统发育分析[J]. 微生物学报, 2003, 43(2): 156-160.
ZHANG Guang-ya, CHEN Mei-ci, HAN Ru-yang, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of a heterotrophic nitrifier[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2003, 43(2): 156-160.
- [8] 刘志培, 贾省芬, 俞志明, 等. 新型异养氨氧化菌的分离鉴定及氨氧化特性[J]. 环境污染与防治, 2006, 27(5): 337-340.
LIU Zhi-pei, JIA Sheng-fen, YU Zhi-ming, et al. Isolation and characteristics of a new heterotrophic ammonia-oxidizing bacterium [J]. *Environmental Pollution and Control*, 2006, 27(5): 337-340.
- [9] 苏俊峰, 马放, 魏利, 等. 异养硝化细菌处理氨氮废水及微生物群落结构分析[J]. 北京工业大学学报, 2007, 33(12): 1300-1304.
SU Jun-feng, MA Fang, WEI Li, et al. Heterotrophic nitrobacteria disposal of the wastewater of $\text{NH}_4\text{-N}$ and analysis of the diversity of microbial species[J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2007, 33(12): 1300-1304.
- [10] 史家樑, 徐亚同, 张盛章. 环境微生物学[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 1993.
- [11] 赵云霞, 赵宗升, 陈智均. 谈废水生物脱氮过程中的几个问题[J]. 山西建筑, 2004, 30(17)
ZHAO Yun-xia, ZHAO Zong-sheng, CHEN Zhi-jun. Some problems in the traditional process for nitrogen removal[J]. *Shanxi Architecture*, 2004, 30(17).
- [12] Anderson I C, Poth M, Homstead J, et al. A comparison of NO and N_2O production by the autotrophic nitrifier *Nitrosomonas europaea* and the heterotrophic nitrifier *Alcaligenes faecalis*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(11): 3525-3533.
- [13] 周德庆. 微生物学教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [14] 何霞, 吕剑, 何义亮. 异养硝化机理的研究进展[J]. 微生物学, 2006, 46(5): 844-847.
HE Xia, LV Jian, HE Yi-liang. Study progress on the mechanism of heterotrophic nitrification[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(5): 844-847.
- [15] Richardson D J, Wehrfritz J M, Keech A, et al. The diversity of redox proteins involved in bacterial heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. *Biochem Soc Trans*, 1998, 26: 401-408.
- [16] 何霞, 赵彬, 吕剑, 等. 异养硝化细菌 *Bacillus* sp. LY 脱氮性能研究[J]. 环境科学, 2007, 28(6): 1404-1408.
HE Xia, ZHAO Bin, LV Jian, et al. Nitrogen removal by *Bacillus* sp. LY with heterotrophic nitrification ability[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(6): 1404-1408.
- [17] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Improvement in ammonium removal efficiency in wastewater treatment by mixed culture of *Alcaligenes faecalis* No. 4 and L1[J]. *J Biosci Bioeng*, 2007, 103(1): 66-73.
- [18] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4[J]. *J Biosci Bioeng*, 2005, 100(2): 184-191.
- [19] Geneviève M, Daniel P. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture[J]. *Can J Microbiol*, 2000, 46: 465-473.