

反硝化技术对模拟养殖池塘修复的研究

尹艳娥, 沈新强, 晁 敏, 全为民, 王云龙

(农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要:浙江奉化市池塘的底泥经过反复培养、驯化,从中筛选、分离出反硝化细菌,在模拟实验条件下,研究其对不同浓度的硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的去除情况,讨论反硝化菌种的生长情况。结果表明,在初始浓度为 $1, 25, 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸盐氮和亚硝酸盐氮模拟池塘中,随着实验的进行,对污染物的去除效果逐渐提高。其中在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度组中,3 d 内硝酸盐氮和亚硝酸盐氮去除率就分别达到了95.8%和90.2%;在 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度组中,第6 d 硝酸盐氮和亚硝酸盐的去除率分别为93.8%和87.8%;在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度组中,第6 d 硝酸盐氮和亚硝酸盐的去除率分别为89.7%和78.7%。此外,反硝化菌对硝酸盐氮的去除效果略优于亚硝酸盐氮,而且硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的浓度越低,对其去除效果越好,达到稳定状态的时间越短。在模拟池塘中,菌种的生长情况与硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的浓度呈负相关,即污染物的浓度越高反硝化菌的生长情况越差。对反硝化菌的生态影响因子研究表明,其反硝化最适宜的 pH 值为6~7,温度为25~35 °C;而且在同一 pH 值和温度条件下,硝酸盐氮和亚硝酸盐氮浓度越低,反硝化菌对其去除效果越好。

关键词:反硝化菌; 模拟养殖池塘; 生物修复; 硝酸盐氮; 亚硝酸盐氮

中图分类号:X524 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)08-1727-06

Investigation on Remediation of Simulant Aquaculture Pond by Denitrification Technology

YIN Yan-e, SHEN Xin-qiang, CHAO Min, QUAN Wei-min, WANG Yun-long

(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fishery, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China)

Abstract: Denitrifying bacteria was screened from repeatedly cultivating sediment of aquaculture pond in Fenghua, Zhejiang Province. The function of denitrifying bacteria was analyzed according to the quality indexes, such as removal efficiency of nitrate nitrogen(NO_3^- -N), nitrite nitrogen(NO_2^- -N) and growth of bacteria in the simulated condition. The results indicated that the denitrifying bacteria could rapidly improve the water environment and increased the removal efficiency of NO_3^- -N and NO_2^- -N. When the initial concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were respectively 1, 25 and $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in the simulated pond, removal efficiency of pollutants gradually increased with increasing time. In three days, the removal efficiency of NO_3^- -N and NO_2^- -N reached 95.8% and 90.2% when the initial concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. On the sixth day, 93.8% and 87.8% of NO_3^- -N and NO_2^- -N were removed by denitrifying bacteria when the initial concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Approximately 89.7% and 78.7% were removed when the initial concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. And the removal efficiency and steady efficiency increased with decreasing concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N. And the correlation between the concentration of NO_3^- -N, NO_2^- -N and the numbers of denitrifying bacteria was researched. The concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were higher, the numbers of denitrifying bacteria were less. The factors affecting denitrifying bacteria were also discussed. The results indicated that the most suitable pH value and temperature for denitrification were 6~7 and 25~35 °C, respectively. And in the same condition for pH value and temperature, the concentration of NO_3^- -N and NO_2^- -N were higher, the removal efficiency were better.

Keywords: denitrifying bacteria; simulated aquaculture pond; bioremediation; nitrate nitrogen; nitrite nitrogen

随着对虾养殖、贝类养殖及浅海网箱养殖先后兴起,我国目前海水养殖总产量已居世界首位。由于养

收稿日期:2008-12-31

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)资助项目(2007T01)

作者简介:尹艳娥(1978—),女,辽宁抚顺人,博士,助理研究员,主要从事化学分析和环境科学研究。E-mail:yinyane@126.com

殖方式以投饵为主,残饵、粪便等沉积在养殖池塘底或近海滩涂,对养殖池塘水体和周围水域造成严重破坏^[1]。周劲风等^[2]依据营养物质平衡计算得出的氮、磷平衡可知,饵料中氮、磷除小部分供给养殖鱼类的生长外,大部分都以各种形式进入环境,造成浪费和污染。水体中氮含量大幅升高,严重时导致养殖生态系

统失衡、紊乱乃至完全崩溃^[3-4]。通过沉淀、过滤和生物净化,能有效去除养殖水体中的氨氮,使水质得到一定程度的改善。但由于不具备反硝化功能,常造成系统中硝酸盐的大量积累。硝酸盐会转化为亚硝酸盐,使毒性增强。养殖生产中往往靠大量换水来降低硝酸盐浓度,这样不但造成了水资源和能源的巨大浪费,而且富含硝酸盐的养殖污水直接排放,加剧了对环境的污染。因此,去除水中过量的硝酸盐和亚硝酸盐,对提高养殖水生动物成活率和生长率以及保护环境等具有重要意义。

生物修复是利用微生物、植物或其他生物自身的功能消除污染物或改变污染物的存在形态而降低其毒性,使退化的或破坏了的生态系统得以恢复或重建。对于海洋污染的生物修复,尤其是海水养殖区环境的生物修复,目前多尝试应用微生物技术。水中的异养微生物靠分解有机物作为碳源和能源而生活。有机物质可在微生物特别是细菌产生的各种酶的作用下,经过好氧或厌氧过程,发生一系列化学反应,被逐步降解,最后转化成无机元素(矿化)而被植物吸收利用。由于生物修复具有无二次污染、治理面积大等特点,成为20世纪环境科技发展最快的高新技术领域之一^[5]。李秋芬等^[6]和辛福言等^[7]曾从虾池底泥中分离、筛选出多株虾池有机物的有效降解菌,并在模拟条件下,发现虾池环境生物修复作用菌能明显改善虾池环境,降低有机物的含量。王彦波等^[8]采用高活性生物修复菌制剂,对养殖中后期的南美白对虾池塘进行了改善水体质量的试验,改善了养殖水体的富营养化状态。Lekang等^[9]研究了一种生物膜处理法,生物膜能大量吸附小颗粒物质,有效去除氮磷含量。Paniagua等^[10]采用玻璃纤维固定化细菌处理对虾养殖废水,对氨氮和亚硝氮的去效果显著。本研究采取实验模拟生态环境,确定海水养殖池塘反硝化细菌的筛选和分离方法,研究其对不同浓度的硝酸盐氮和亚硝酸盐氮的去除效果,同时研究反硝化菌在处理过程中的生长情况。

1 材料与方法

1.1 养殖池塘水质情况

养殖池塘位于浙江省奉化市,其养殖池塘的基本水质情况如表1所示。

1.2 反硝化菌的筛选与分离

将采集到的该池塘新鲜底泥样品称取1g,放入到装有反硝化菌培养基的玻璃瓶中,在发酵管上端滴

表1 养殖池塘主要水质参数

Table 1 Main parameters of aquaculture pond

项目	温度/℃	盐度/%	pH	NO ₂ -N/ mg·L ⁻¹	NO ₃ -N/ mg·L ⁻¹	NH ₃ -N/ mg·L ⁻¹	PO ₄ ³⁻ / mg·L ⁻¹	COD _{Mn} / mg·L ⁻¹
浓度	10.9	12.8	8.20	0.190	0.805	0.075	0.081	6.33

入2mL 20% KOH溶液用以吸收培养过程中产生的CO₂,并迅速密封,置于30℃恒温培养箱中培养。待培养7d后,取1mL培养液接种于新鲜反硝化菌培养基中,经过4次反复培养后得到的即为实验所用的反硝化菌培养液。

反硝化菌培养基:2.0 g·L⁻¹ KNO₃、0.03 g·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O、0.5 g·L⁻¹ K₂HPO₄、20.0 g·L⁻¹ 酒石酸钾钠、5.0 g·L⁻¹ NaCl。

1.3 模拟养殖池塘生物修复方法

自制的玻璃缸6组,每组3个模拟池塘,两个为处理池塘,另一个为参比池塘。在第1至第3组的3个模拟池塘中用盐度为12.8‰的人工海水分别配制浓度为1、25和50 mg·L⁻¹的硝酸盐氮(NO₃-N);在第4至第6组的3个模拟池塘中用盐度为12.8‰人工海水分别配制浓度为1、25和50 mg·L⁻¹的亚硝酸盐氮(NO₂-N)。在每个处理池塘中加入乙醇作为外加碳源,使C/N达到5.0~6.0,然后再加入15mL反硝化菌培养液,参比池塘不加反硝化菌培养液。各个模拟池塘随即排列在实验室窗台上,在窗口的自然光和自然温度条件下进行实验。

1.4 分析方法

硝酸盐采用锌-镉还原法,亚硝酸盐采用萘乙二胺分光光度法^[11]。

微生物的生长测定:比浊法测定细菌悬液浓度,样品直接或稀释不同倍数后在722型分光光度计检测波长680 nm的浊度,来表示微生物的生长^[12-13]。浊度与吸光值呈正线性关系,浊度越高,吸光值也就越大^[14]。因此,本文直接采用波长为680 nm下的吸光值来表示微生物的生长情况(注:在680 nm波长下测定,天然水中存在淡黄色、淡绿色无干扰)。

硝酸盐和亚硝酸盐氮去除率=(原始浓度-处理后浓度)/原始浓度×100%

2 结果与讨论

2.1 硝酸盐和亚硝酸盐的去除情况

在含有1、25、50 mg·L⁻¹的NO₃-N和NO₂-N的处理池塘中分别采用反硝化菌进行修复,并与参比池塘进行对比,NO₃-N和NO₂-N的去除情况如图

1~图3所示。生物反硝化是指在厌氧条件下,污水中硝态氮 NO_3^- -N 和亚硝态氮 NO_2^- -N 被微生物还原为 N_2 的过程^[15]:

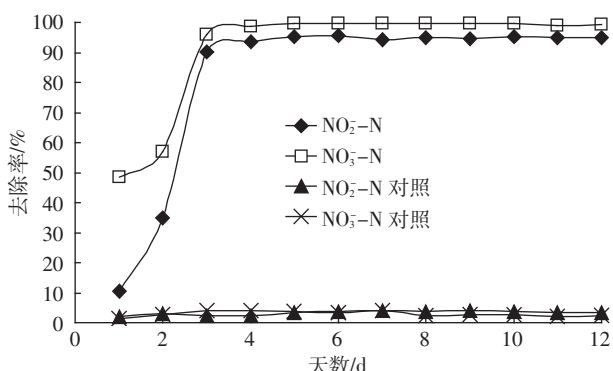


图1 反硝化菌去除 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸盐和亚硝酸盐氮的效果比较

Figure 1 Comparison of removal efficiency for $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate-N and nitrite-N by denitrifying bacteria

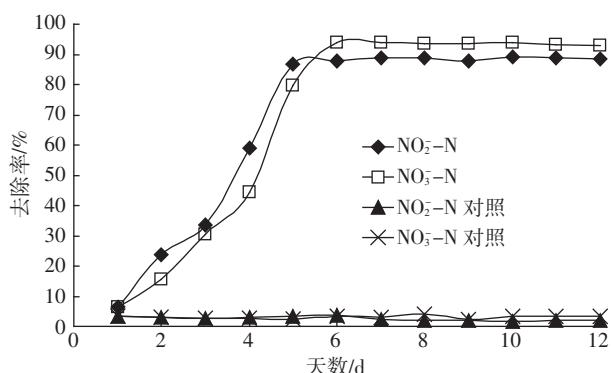


图2 反硝化菌去除 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸盐和亚硝酸盐氮的效果比较

Figure 2 Comparison of removal efficiency for $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate-N and nitrite-N by denitrifying bacteria

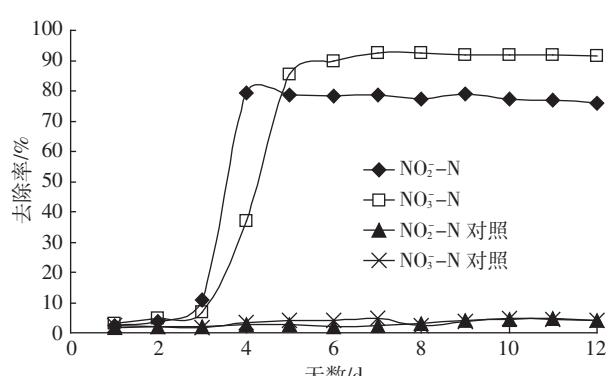


图3 反硝化菌去除 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸盐和亚硝酸盐氮的效果比较

Figure 3 Comparison of removal efficiency for $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate-N and nitrite-N by denitrifying bacteria



由图1可以看出,随着实验的进行, $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除率呈上升趋势,在第3 d后去除率均在90%以上,达到稳定状态。这是因为 NO_3^- -N 在反硝化菌的作用下发生了反硝化过程。反硝化过程中 NO_2^- 和 NO_3^- 的转化,是通过反硝化细菌的同化作用(合成代谢)和异化作用(分解代谢)完成的。异化作用是 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 被还原转化为 N_2 ,这是反硝化反应的主要过程,异化作用是以 NO_3^- 作为电子接收体,在能量代谢中提供氮,以有机物作为电子供给体,使 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 转化为 N_2 ,异化作用去除的氮一般占总去除量的70%~75%^[16]。本实验中不同浓度的 NO_3^- -N 模拟池塘均是以 NO_3^- 在能量代谢中提供氮,作为电子接收体,以有机物作为电子供给体,使 NO_3^- -N 转化为 N_2 。

反硝化菌对 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 的去除效果优于 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- -N,第3 d去除率就达到了95.8%,在第5 d以后其去除率稳定在99.8%左右,在整个实验过程中去除效果均优于 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- -N。图2显示, $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的模拟池塘中,第6 d对 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除率分别达到了93.8%和87.8%,基本达到稳定。虽然实验初期(1~4 d) NO_2^- -N 的去除效果优于 NO_3^- -N,但实验后期基本达到稳定时, NO_3^- -N 的去除效果优于 NO_2^- -N 的。图3显示, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的模拟池塘中,第6 d对 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除率分别达到了89.7%和78.7%,基本达到稳定。在实验初期(1~4 d) NO_2^- -N 的去除效果优于 NO_3^- -N,但在实验后期基本达到稳定时, NO_3^- -N 的去除效果优于 NO_2^- -N。

由图1~图3对比可知, $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率> $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率> $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率,随着污染物 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 浓度的提高,对其去除效果逐渐降低。而且, $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的模拟养殖池塘在第4 d达到稳定状态, 25 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的模拟养殖池塘在第5~7 d才达到稳定状态。说明达到稳定状态的时间与浓度呈负相关,即 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的浓度越低,去除效果达到稳定状态的时间越短。

2.2 反硝化菌的生长情况

采用 $\lambda=680 \text{ nm}$ 吸光值表示反硝化菌的生长情况,以蒸馏水作对照。不同浓度的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 模拟池塘中反硝化菌生长情况如图4~图6所示。

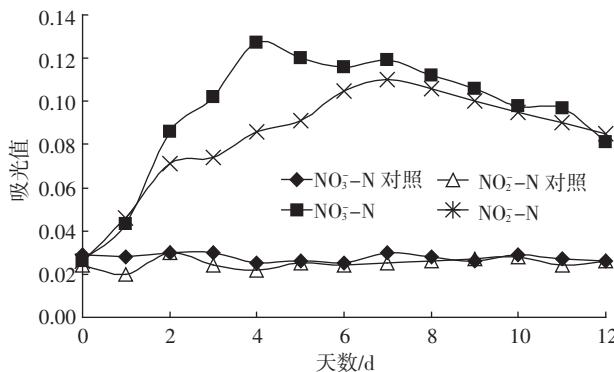


图4 模拟实验中第1组和第4组反硝化菌的生长情况

Figure 4 Growth of denitrifying bacteria in the first and the fourth simulated experiment

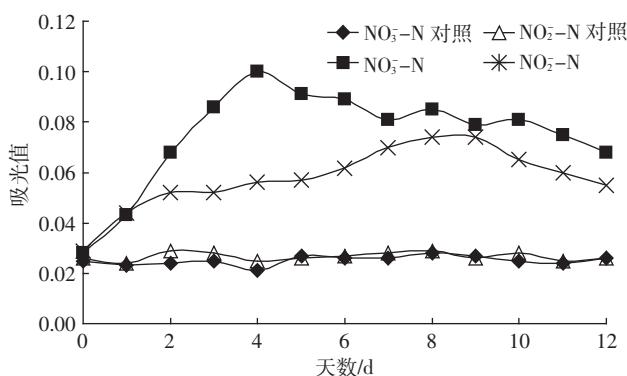


图5 模拟实验中第2组和第5组反硝化菌的生长情况

Figure 5 Growth of denitrifying bacteria in the second and the fifth simulated experiment

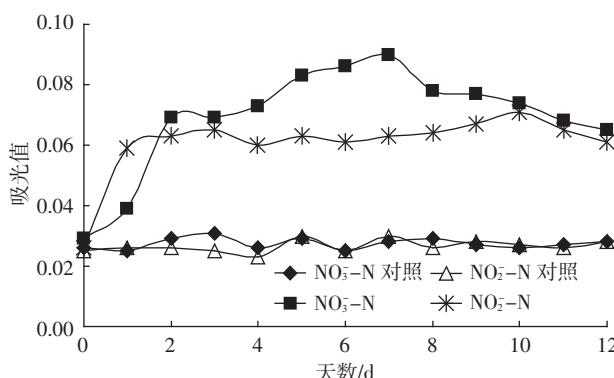


图6 模拟实验中第3组和第6组反硝化菌的生长情况

Figure 6 Growth of denitrifying bacteria in the third and the sixth simulated

由图4~图6可以看出,随着实验的进行,对照池中的吸光值基本保持一致,说明在此池中没有发生微生物的生长。在1、25、50 mg·L⁻¹的NO₃-N和NO₂-N模拟处理池塘中,实验初期吸光值均逐渐提高,但在实验后期,吸光值均有所降低,说明反硝化菌的生长

繁殖是一个动态变化的过程。在NO₃-N和NO₂-N模拟处理池塘中,NO₃-N模拟处理池塘的反硝化菌生长情况均优于NO₂-N的,而且由图1~图3可知,模拟处理池塘中NO₃-N去除效果优于NO₂-N。在相同浓度的NO₃-N和NO₂-N模拟处理池塘中,由于NO₃-N模拟处理池塘中的反硝化菌生长情况优于NO₂-N,NO₃-N的去除效果也优于NO₂-N。在3个浓度系列中,浓度最低的1 mg·L⁻¹的NO₃-N模拟处理池塘反硝化菌的生长情况最好,由此说明污染物的浓度与反硝化菌生长呈负相关,即污染物的浓度越高反硝化菌的生长情况越差。至第4 d在1和25 mg·L⁻¹的NO₃-N模拟处理池塘中反硝化菌达到最佳状态,50 mg·L⁻¹的NO₃-N模拟处理池塘在第7 d反硝化菌才达到最佳状态。说明污染物浓度过高会抑制反硝化菌的生长,延长其达到最佳状态的时间。

2.3 不同因素对反硝化菌作用的影响

2.3.1 pH值对反硝化菌作用的影响

反硝化菌的生理活动与环境的酸碱度密切相关,只有在适宜的酸碱度条件下,反硝化菌才能进行正常的生理活动。本实验研究了不同pH值条件下反硝化菌对不同浓度的NO₃-N和NO₂-N的去除情况,实验结果见表2。

表2 pH值对反硝化菌去除NO₃-N和NO₂-N的影响

Table 2 pH value effected on denitrifying bacteria removal of NO₃-N and NO₂-N

pH值	去除率/%					
	NO ₃ -N/mg·L ⁻¹			NO ₂ -N/mg·L ⁻¹		
	1	25	50	1	25	50
3	53.2	54.7	49.2	45.7	40.6	39.6
4	54.8	57.3	56.8	68.5	57.3	46.7
5	67.6	69.9	65.2	78.5	63.1	55.6
6	99.7	93.4	91.1	94.4	89.0	78.1
7	99.6	93.7	92.4	95.6	88.5	79.3
8	73.9	68.7	63.8	68.9	66.5	68.7
9	58.7	54.8	49.6	56.7	60.8	51.1
10	49.6	45.6	38.9	44.5	42.1	39.4

由表2可知,反硝化菌的作用受pH值影响较大,当pH值在6~7之间其对NO₃-N和NO₂-N去除率最大,分别达到90%和75%以上,即此pH值区间是反硝化菌的最适宜pH值范围;当pH值高于8或者低于6时,反硝化速率均大为下降,NO₃-N和NO₂-N最低去除率分别降至50%和40%左右。可见,pH值能直接影响反硝化酶的活性,氢离子的浓度只

有在微生物酶的适应范围,才能使微生物的活性达到最佳状态。从表 2 还可以看出,不同浓度的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在不同的 pH 值条件下其去除率也不同。在同一 pH 值条件下,随着 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 浓度的升高,去除率呈下降趋势。在 3 个浓度系列中,1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率是最佳的,50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率是最差的,在不同的 pH 值条件下其差别略有不同,而且对 NO_2^- -N 的影响略高于 NO_3^- -N。由此说明, NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的浓度过高,对反硝化菌具有一定的抑制作用。

2.3.2 温度对反硝化菌作用的影响

温度对微生物的影响很重要,温度适宜能促进、强化微生物的生理活动,温度不适宜则减弱甚至破坏微生物的生理活动,本实验设置了 5、15、25、35、45 ℃共 4 个不同的温度条件,反硝化菌对不同浓度的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除情况如表 3 所示。

表 3 温度对反硝化菌去除 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的影响

Table 3 Temperature effected on denitrifying bacteria removal of NO_3^- -N and NO_2^- -N

温度/℃	去除率/%					
	NO_3^- -N/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			NO_2^- -N/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		
	1	25	50	1	25	50
5	23.2	20.7	19.2	25.7	21.3	18.6
15	56.6	54.3	51.8	58.3	51.0	45.3
25	99.0	93.9	92.2	95.5	88.6	79.1
35	99.5	93.1	93.4	94.7	88.4	78.3
45	50.0	45.6	44.4	45.6	43.8	42.9

由表 3 可以看出,温度对反硝化菌去除 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 具有一定的影响,低于 5 ℃时,反硝化菌对 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除率很低,仅有 20% 左右;随着温度的升高,去除率逐渐提高,温度为 25 ℃时,1、25、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 去除率分别为 99.0%、93.9%、92.9%,1、25、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- -N 去除率分别为 95.5%、88.6%、79.1%;温度为 35 ℃时反硝化菌对 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的去除率与 25 ℃基本相同;当温度升高到 45 ℃时,去除率降至 45% 左右。因此,在 25~35 ℃的温度范围内,反硝化菌具有很高的脱氮效率。可见,此温度范围内有利于反硝化菌的生长和存活,能够有效地发挥反硝化菌的反硝化能力。另外,在同一温度下,反硝化菌对不同浓度的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除率不同,浓度越高,反硝化菌对其去除率越低,即反硝化菌的去除效果与 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 浓度成反比。

3 结论

(1) 反硝化菌能有效地去除水体中不同浓度的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N,去除效果稳定,最佳去除率分别达到了 90% 和 75% 以上。去除效果与 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 浓度成反比,即污染物浓度越高,去除效果越低。

(2) 反硝化菌的生长情况与污染物浓度呈负相关,在浓度为 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 模拟养殖池塘中,反硝化菌生长情况最佳。

(3) 反硝化菌对 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在 pH 为 6~7,温度为 25~35 ℃时去除效果最佳。另外,在同一 pH 值和温度条件下, NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 浓度越低,反硝化菌对其去除效果越好,1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 去除效果最佳。

参考文献:

- [1] 苗卫卫,江敏.我国水产养殖对环境的影响及其可持续发展[J].农业环境科学学报,2007,26(增刊):319~323.
MIAO Wei-wei, JIANG Min. Environmental impacts and sustainable development of aquaculture in China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(suppl):319~323.
- [2] 周劲风,温琰茂.珠江三角洲基塘水产养殖对水环境的影响[J].中山大学学报(自然科学版),2004,43(5):103~106.
ZHOU Jin-feng, WEN Yan-mao. Effects of fishery aquaculture on water environment in the Zhujiang River Delta[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2004, 43(5):103~106.
- [3] 余端兰,聂湘平,魏泰莉,等.分子氨和亚硝酸盐对鱼类的危害及其对策[J].中国水产科学,1999,6(3):73~77.
YU hui-lan, NIE Xiang-ping, WEI Tai-li, et al. Toxicity of molecular ammonia & nitrite to fishes and the control measures[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1999, 6(3):73~77.
- [4] 梁玉波,吴之庆,张喜昌,等.有机污染提高双壳贝类对弧菌易感性的研究[J].中国水产科学,1999,6(4):72~75.
LIANG Yu-bo, WU Zhi-qing, ZHANG Xi-chang, et al. A study on organic pollution enhancing susceptibility of bivalve to vibrio[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1999, 6(4):72~75.
- [5] 林力,杨惠芳.生物整治技术进展[J].环境科学,1997,18(3):67~71.
LIN Li, YANG Hui-fang. Progresses of bioremediation studies and applications[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 1997, 18(3): 67~71.
- [6] 李秋芬,曲克明,辛福言,等.虾池环境生物修复作用菌的分离与筛选[J].应用与环境生物学报,2001,7(3):28~285.
LI Qiu-fen, QU Ke-ming, XIN Fu-yan, et al. Isolation and selection of functional bacteria for bioremediation of shrimp culture environment[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2001, 7(3): 28~285.
- [7] 辛福言,李秋芬,邹玉霞,等.虾池环境生物修复作用菌的模拟应用[J].应用与环境生物学报,2002,8(1):75~77.

- XIN Fu-yan, LI Qiu-fen, ZOU Yu-xia, et al. Simulated application of functional bacteria in bioremediation of shrimp culture environment[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2002, 8(1): 75-77.
- [8] 王彦波, 许梓荣, 郭笔龙. 高活性生物修复菌制剂改善虾池水质的研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2005, 31(2): 199-202.
- WANG Yan-bo, XU Zi-rong, GUO Bi-long. Study on improving the water quality of shrimp (*Penaeus vannamei*) ponds using high activity bioremediation probiotics[J]. *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci)*, 2005, 31(2): 199-202.
- [9] Odd-Ivar Lekang, Anne Marie Bomo, Ingfrid Svendsen. Biological lamella sedimentation used for wastewater treatment[J]. *Aquacultural Engineering*, 2001, 24(2): 115-127.
- [10] Paniagua-Michel J, Garcia O. Ex-situ bioremediation of shrimp culture effluent using constructed microbial mats[J]. *Aquacultural Engineering*, 2003, 28(3-4): 131-139.
- [11] GB 17378. 4—2007. 中华人民共和国国家标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- GB 17378. 4—2007. National standards of the people's republic of China[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [12] 周群英, 高廷耀. 环境工程微生物学(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 122.
- ZHOU Qun-ying, GAO Ting-yao. *Environmental microbiology* (2nd edition)[M]. Beijing: Higher Education Press, 1999: 122.
- [13] 闫海, 林毅雄, 孙建新. 海水微生物菌群去除铵氮和亚硝酸氮研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 11(4): 44-47.
- YAN Hai, LIN Yi-xiong, SUN Jian-xin. Removal of ammonium and nitrite by bacterial population in seawater[J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2003, 11(4): 44-47.
- [14] 陈英文, 范俊, 夏明芳, 等. 一体式膜—活性污泥工艺处理高浓度农药废水[J]. 南京工业大学学报, 2003, 25(2): 23-26.
- CHEN Ying-wen, FAN Jun, XIA Ming-fang, et al. Study on the treatment of high-concentration pesticide waste water with integrated membrane-activated sludge combined technique[J]. *Journal of Nanjing University of Technology*, 2003, 25(2): 23-26.
- [15] 秦麟源. 废水生物处理[M]. 上海: 同济大学出版社, 1989: 308-309.
- QIN Lin-yuan. *Biological treatment of wastewater*[M]. Shanghai: Tongji University Press, 1989: 308-309.
- [16] 张兰英, 刘娜, 孙立波, 等. 现代环境微生物技术[M]. 北京: 清华大学出版社, 2005: 245-248.
- ZHANG Lan-ying, LIU Na, SUN Li-bo, et al. *Modern technology of environment microorganism*[M]. Beijing: Qinghua University Press, 2005: 245-248.