

一株异养硝化细菌的分离鉴定和脱氮特性研究

王洁^{1,2}, 蓝江林², 刘波^{2*}

(1.福建农林大学, 福州 350002; 2.福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003)

摘要:筛选对高浓度 $\text{NH}_3\text{-N}$ 养殖废水具有高效硝化能力的菌株, 研究其硝化性能。通过比较几种已报道的筛选方法和不同生境中异养硝化细菌筛选效果, 确定了以乙酰胺为唯一碳源和氮源, 从高氨氮生境中可以筛选到高效的异养硝化细菌; 进一步通过富集培养分离, 从沼气池出水口中分离到一株异养硝化细菌, 并根据部分长度的 16S rDNA 序列进行了系统发育分析。该菌株具有高效异养硝化功能, 在初始氨氮浓度为 $104 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的异养氨化培养基中培养 12 h 后, 氨氮和总氮去除率分别达 81.7% 和 53.7%, 最终氨氮和总氮去除率可达 90.1% 和 61.3%, 且培养液中无明显的硝酸盐氮和亚硝酸盐氮累积。16S rDNA 的序列分析鉴定, 该菌株与 *Paracoccus denitrificans* 具有 99% 相似性, 结合生理生化分析认定该菌株是一株脱氮副球菌, 命名为 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899。筛选出的菌株 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 对氨氮具有高效的去除率, 显示了良好的应用前景。

关键词: 异养硝化细菌; 分离; 脱氮副球菌; 脱氮能力

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)04-0805-06 doi:10.11654/jaes.2013.04.022

Isolation and Denitrification Characteristics of a Heterotrophic Nitrification Bacterium

WANG Jie^{1,2}, LAN Jiang-lin², LIU Bo^{2*}

(1. Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Agricultural Bioresource Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

Abstract: The present paper dealt with isolation and denitrification characteristics of a heterotrophic nitrification bacterium, which isolated from the high $\text{NH}_3\text{-N}$ swine wastewater. Based on the screening methods published by some scientists, a isolating method in the study was put forward to used an acetamide as a sole carbon and nitrogen source to screen a heterotrophic nitrifying bacterium from the swine wastewater. An efficient heterotrophic nitrification bacterium was isolated and identified with 16S rDNA sequence. The phylogenetic analysis of the strain was performed based on the 16S rDNA sequence. The efficiency of heterotrophic nitrification was detected for the strain. The strain FJAT-14899 was identified to be *Paracoccus denitrificans* with the aid of 16S rDNA sequencing. The removal rates for the total concentrations of nitrogen and $\text{NH}_4\text{-N}$ were 81.7% and 53.7% in 12 h cultural time. The final removal rates of the total nitrogen and $\text{NH}_4\text{-N}$ were 90.1% and 61.3% after 24 h culturing without accumulations of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen. *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 had a higher removal rate of $\text{NH}_4\text{-N}$ with promissing application in water treatment.

Keywords: heterotrophic nitrification bacterium; isolation; *Paracoccus denitrificans*.; denitrification capacity

规模化生猪养殖业迅猛发展, 养殖废水成为主要农业污染源之一^[1]。养猪场废水主要来自猪粪便、猪尿及猪圈冲洗水, 污水中富含氮磷、有机物、高悬浮物, 是

一种高浓度有机废水, 如果处理不恰当, 会造成水环境严重污染。在治理方面存在负荷大、难处理和不够彻底等问题^[2], 如经过过滤处理的养猪废水中平均氨氮含量和凯氏氮含量分别为 $(229\pm33.9) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(2736\pm3.9) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 远不能达到控制水体富营养化的要求^[3]。

目前对这类废水的处理主要包括: 物化、生化和自然生态等治理技术, 其中生物脱氮工艺简单, 对环境负荷小, 脱氮更彻底^[4]。目前生物脱氮技术有自养硝化和异养硝化两种。传统的自养硝化作用速率低、硝

收稿日期: 2012-09-18

基金项目: 国家科技支撑计划: 东南地区农牧废弃物多级循环利用技术集成与示范(2012BAD14B15); 国际合作专项: 规模化生猪养殖污染微生物治理关键技术的联合研发(2012DFA31120)

作者简介: 王洁(1988—), 女, 硕士研究生, 主要从事应用微生物研究。

* 通信作者: 刘波 E-mail: liubo@faas.com

化过程和反硝化因子的复杂,运作非常困难。近年来,具有异养硝化作用和需氧反硝化作用的功能细菌被作为生物脱氮系统中潜在的微生物群而得到广泛的关注和研究。异养硝化细菌生长速率快、细胞产量高、需溶解氧浓度高等特点,是现代生物脱氮技术研究热点^[5-6]。异养硝化细菌研究起步较晚,受现实环境复杂因素的影响其应用存在许多问题,工艺流程仍在进一步研究中,需要开展大量的研究,才能尽早实现其在工业上的应用。另一方面,异养硝化细菌的脱氮机制仍不清楚,需进一步研究以完善自然界氮循环途径。

本研究以猪场养殖废水为主要分离源,旨在筛选对高浓度 $\text{NH}_3\text{-N}$ 养殖废水具有高效硝化能力的菌株,研究其硝化性能,为工程应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

供试样品信息见表 1。

1.1.2 培养基

根据报道,分别采取 4 种筛选方案研究异养硝化细菌筛选效果,培养基配方见表 2。方案一以牛肉膏蛋白胨培养基(#0)对样品进行富集,以选择性培养基 1#

(即异养氨化培养基)进行分离纯化^[7];方案二以 NH_4Cl 为氮源,乙酸钠为碳源(1#)进行富集分离^[8];方案三以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源,柠檬酸钠为碳源(2#)进行富集分离^[9];方案四以乙酰胺为碳源和氮源(3#)进行富集分离^[10]。比较其筛选结果,选择一种合适的异养硝化细菌筛选方法。以合适的方法对上述 4 种不同生境样品中的异养硝化细菌进行筛选,比较不同生境异养硝化细菌筛选效果。

1.2 菌种分离和筛选

在 1000 mL 的锥形瓶中加入 180 mL 选择性培养基,接入 20 mL 新鲜样品至培养基中,30 ℃、170 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 富集培养 3 d 后,重复富集 1 次。取富集培养的各样品 1 mL,用稀释梯度法依次稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、…… 10^{-7} 梯度,从各样品 10^{-3} 梯度开始分别取 0.1 mL 的菌液,分别均匀涂布 A、B、C 培养基平板上,于生化培养箱 30 ℃培养,72 h 后,挑取单菌落,于相应的培养基平板上纯化培养。将纯化后的所有菌株分别接种于异养氨化培养基中,170 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30 ℃条件下培养,每隔一段时间检测其硝化活性,选择脱氮效果最好的一株作为试验菌株。

1.3 菌种鉴定

对分离到的菌株进行 16S rDNA 鉴定,引物BSF8/20:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';BSR1541/20:5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'。PCR 体系为 50 μL ,其中包括:5 μL 10 $\times$ 缓冲液,2 μL dNTP,正反引物各 1 μL ,Taq 酶 0.5 μL ,DNA 模板 1 μL ,39.5 μL 无菌去离子水。扩增程序:94 ℃,预变性 2 min;94 ℃变性 60 s,56 ℃退火 60 s,72 ℃延伸 2 min,进行 29 个循环;最后 72 ℃ 10 min。结果分析:DNA 序列同源性分

表 1 样品信息

Tabel 1 Sample information

样品编号	采样时间	采样地点
1	2011-09-18	福建农林大学污水沟
2	2011-10-04	福州市冶山内河河水
3	2011-10-19	福建省龙海市养猪场沼气池
4	2011-11-02	福州万宇农牧养猪场排污口污水

表 2 培养基配方(1000 mL)

Tabel 2 Medium components(1000 mL)

牛肉膏蛋白胨培养基 #0		选择性培养基 1#		选择性培养基 2#		选择性培养基 3#	
牛肉浸膏	3 g	NH_4Cl	0.382 g	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.382 g	乙酰胺	2.0 g
蛋白胨	5 g	乙酸钠	2 g	柠檬酸钠	4.902 g	NaOH	1.6 g
葡萄糖	10 g	$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g	$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g	$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
琼脂	15 g	K_2HPO_4	0.2 g	K_2HPO_4	0.2 g	K_2HPO_4	8.2 g
pH	7.2	NaCl	0.12 g	NaCl	0.12 g	KCl	0.5 g
		$\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.01 g	$\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.01 g	$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
		FeSO_4	0.01 g	FeSO_4	0.01 g	$\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
		琼脂	15 g	琼脂	15 g	$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
		pH	7.2	pH	6.0	$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.5 mg
						琼脂	15 g
						pH	7.0

注:液体培养基不添加琼脂。

析在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 采用 Blast 软件检索。

1.4 菌株异养硝化活性测定

以 1% 接种量将菌株接种于 200 mL 新鲜异养氨化培养基中 30 ℃、170 r·min⁻¹ 培养 1 d, 每隔 4 h 检测氨氮浓度(NH₄⁺-N)、亚硝酸盐氮浓度(NO₂⁻-N)、硝酸盐氮浓度(NO₃⁻-N)以及总氮(TN)浓度。氨氮采用纳氏分光光度法; 硝酸盐氮采用酚二磺酸分光光度法; 亚硝酸盐氮采用 N-(1-萘胺)-乙二胺光度法; 总氮采用过硫酸钾紫外分光光度法^[11]。

2 结果与分析

2.1 异养硝化细菌菌株分离和筛选

用 4 种不同筛选方法对同一样品中异养硝化细菌进行富集分离, 分别得到异养硝化细菌 2、2、3 株和 5 株, 以乙酰胺为唯一碳源和氮源筛选得到的菌株最多(图 1)。以此方法对 4 种不同来源样品进行富集筛选, 分别得到异养硝化细菌 5、4、10 株和 5 株, 从氨氮含量较高的生境中筛选到的异养硝化细菌更多, 硝化活性更高。试验中发现, 传统的以格里斯试剂初步判断硝化活性的方法并不可靠, 这与以往报道的某些异养硝化细菌同时具有硝化-反硝化功能而不能累积亚硝酸盐氮的结果一致^[12-13]。可以按 1.4 中方法直接鉴

定硝化活性。

经富集和分离得到异养硝化细菌 24 株, 经初步硝化活性鉴定, 确定其中一株为供试菌株, 编号 FJAT-14899。菌株菌落形态如图 2 所示, 该菌株菌落颜色为乳白色, 菌落呈圆形, 表面湿润, 边缘整齐, 不透明。

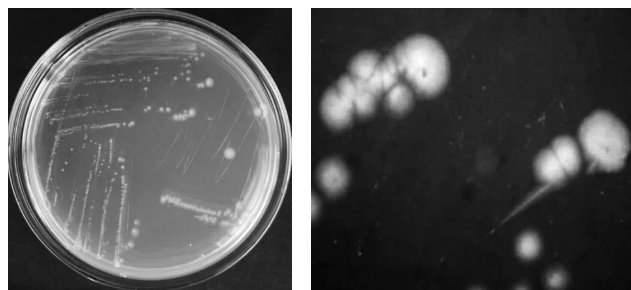


图 2 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 菌落形态

Figure 2 The colonial morphology of *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899

2.2 脱氮副球菌 FJAT-14899 的鉴定

菌株经 PCR 扩增、16S rDNA 测序, 将所测菌株的序列通过 Blast 检索与 Genbank 中的核酸序列进行同源性比对, 利用 MEGA 软件, 以 Neighbor-Joining 法绘制 16S rDNA 系统发育树如图 3 所示。经 16S rDNA 测序及同源性比较, FJAT-14899 与多株 *Paracoccus denitrificans* 的相似性达 99%, 可基本确定分离到的菌株 FJAT-14899 为 *Paracoccus denitrificans*。因而认为 FJAT-14899 可能是一株异养硝化反硝化细菌^[14]。

2.3 脱氮副球菌 FJAT-14899 生长过程氨氮变化

在以 NH₄Cl 为唯一氮源、乙酸钠为唯一碳源的异养氨化培养液中培养生长时, 菌株 FJAT-14899 的 NH₄⁺-N 含量变化如图 4。可以看出氨氮浓度变化与菌株生长一致, 底物氨氮浓度约 104 mg·L⁻¹, 培养 4 h 时菌株生长进入对数期, 氨氮浓度开始明显下降, 至 12 h 时氨氮浓度下降至 19 mg·L⁻¹, 氨氮去除率达 81.7%, 此时培养液中菌含量也达到最大; 随后氨氮下降缓慢, 经 24 h 培养, 最终 NH₄⁺-N 浓度下降至 10.24 mg·L⁻¹, 氨氮去除率达 90.1%。说明 FJAT-14899 可以有效利用环境中的氨氮, 在短时间内大量去除氨氮。

2.4 脱氮副球菌 FJAT-14899 生长过程总氮变化

从图 5 可以看出菌株 FJAT-14899 的 TN 含量变化与 NH₄⁺-N 含量变化一致, 经过 12 h 培养 TN 浓度迅速下降, 12 h 时 TN 下降了 58.17 mg·L⁻¹, 总氮去除率达 53.7%。12 h 后 TN 浓度下降缓慢, 经 24 h 培养, 最终 TN 浓度下降至 41.90 mg·L⁻¹, 总氮去除率达

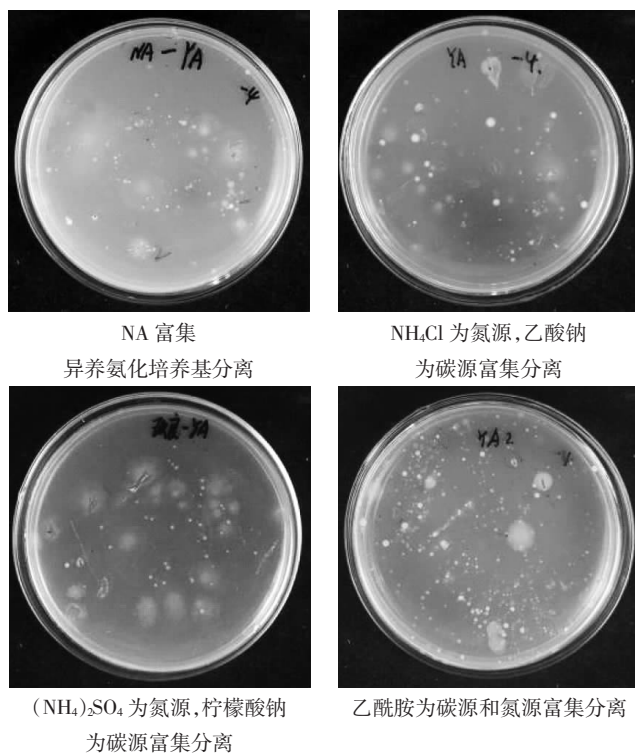


图 1 4 种分离方法比较

Figure 1 Compared of four screen methods

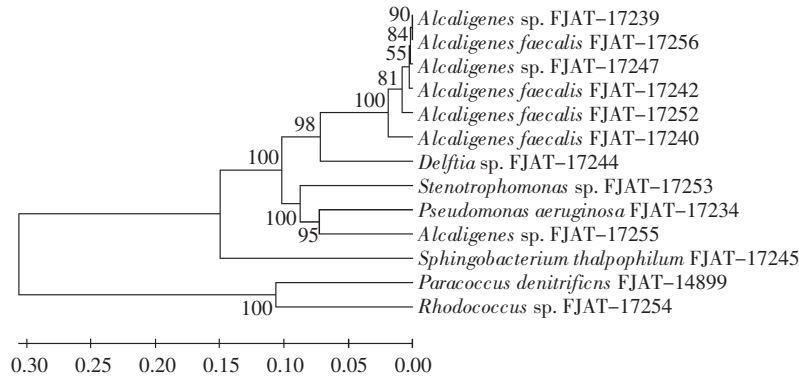


图 3 基于 16S rDNA 序列同源性的菌株 FJAT-14899 的系统发育树

Figure 3 Unrooted phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequence of strain FJAT-14899

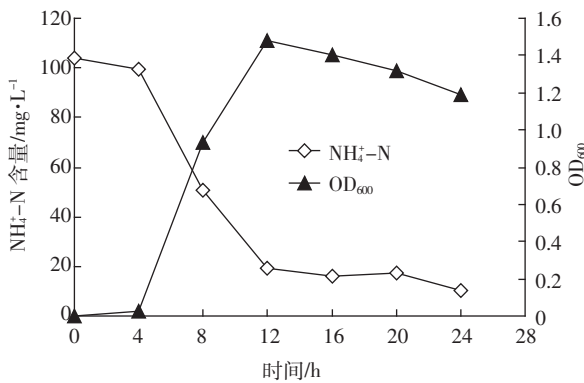


图 4 异养氨化培养基中氨氮的变化

Figure 4 Changes of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration in the Heterotrophic nitrification medium

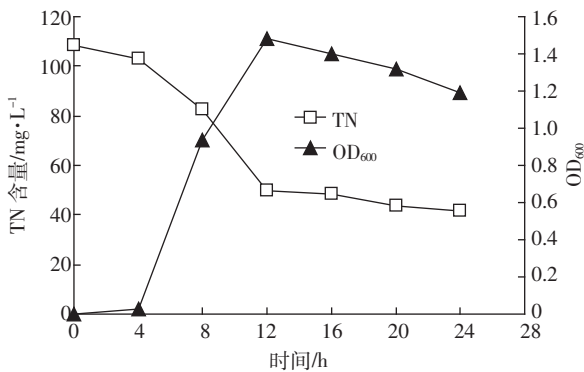


图 5 异养氨化培养基中总氮的变化

Figure 5 Changes of total nitrogen concentration in the Heterotrophic nitrification medium

的检测过程中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量基本无大幅度变化,在 4~12 h 培养液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 含量迅速下降,而 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 没有大量积累,证明菌株具有一定的反硝化能力。而以往对脱氮副球菌的报道也多见于其反硝化功能的研究,可以直接将 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 转化为 N_2 ^[15]。Lesley A 就报道了 *Thiosphaera pantotropha*(即现脱氮副球菌)同时具有硝化-反硝化功能,与亚硝酸盐氮不能在培养液中累积的报道一致^[12]。

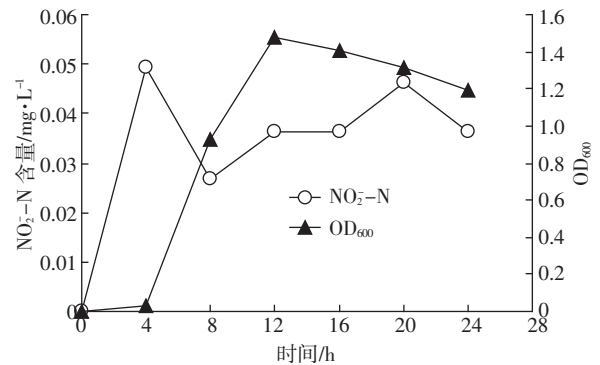


图 6 异养氨化培养基中亚硝酸盐氮的变化

Figure 6 Changes of $\text{NO}_2^-\text{-N}$ concentration in the Heterotrophic nitrification medium

3 讨论

目前关于脱氮副球菌作为异养硝化细菌的报道并不多见,关于其脱氮研究多集中在其好氧反硝化功能上^[12,15-16]。本研究说明了脱氮副球菌具有异养硝化-反硝化功能,与文献报道一致。最早观察到好氧反硝化现象的 Robertson L A 在 1988 年就报道了一株有好氧反硝化功能的 *Thiosphaera pantotropha*(后更名为 *Paracoccus denitrificans*)^[12]。随着对异养硝化细菌研究的深入,越来越多的异养硝化细菌被报道同时具有异

61.3%。0~4 h 为菌株的生长迟缓期,4~12 h 菌株快速增殖使 TN 浓度快速下降,后期由于碳源和氮源的大量消耗,TN 浓度下降缓慢。

2.5 脱氮副球菌 FJAT-14899 生长过程亚硝酸盐氮变化

菌株 FJAT-14899 硝化过程中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 变化过程见图 6,在 4 h 时 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量达到 $0.049 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,在其后

养硝化-好氧反硝化功能,如辛玉峰等2011年报道的一株异养硝化反硝化细菌 *Acinetobacter* sp. YF14,不仅能有效地去除污水中的氮,且无亚硝酸盐和硝酸盐的累积。试验证明 FJAT-14899 具有相似的功能,有良好的应用前景^[14]。

对该菌株的脱氮活性进行鉴定,发现该菌株不仅脱氮效果明显,且脱氮时间大大缩短。刘芳芳等报道的 *Alcaligenes* sp. L116 经 48 h 氨氮和总氮降解率分别达 61.29%和 43.37%^[17]。王宏宇等分离到的异养硝化细菌 *Pseudomonas* sp. ZW2 和 *Alcaligenes faecali* ZW5 经 60 h 培养氨氮去除率分别达 43.90%和 48.52%^[18]。因而可以认定 FJAT-14899 是一株高效脱氮菌。辛玉峰等发现的 *Acinetobacter* sp. YF14 虽然氨氮去除率可以达到 92%,但该菌株所需的硝化时间长达 3 d^[14]。 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 不仅氨氮去除率高,且其硝化时间仅需 12 h。

目前异养硝化细菌实际应用方面报道并不多见,主要为实验室小规模试验。陈赵芳等利用一株异养硝化细菌对宜兴生活污水和南京某化工厂废水氨氮去除效果进行研究,结果显示去除率分别达 89.54%(9 h)和 95.79%(36 h)^[19]。贾燕等以聚乙烯醇和海藻酸钠作为复合包埋载体,以氯化钙和硼酸溶液作为交联剂,固定巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium* TN-1,在初始氨氮浓度 88 mg·L⁻¹ 的情况下处理 1 d,氨氮去除率可达到 96.2%^[20]。由于实际污水中氨氮含量波动较大,影响因子复杂,对于异养硝化细菌的实际应用工艺仍需进行大量研究。目前对 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 的研究仍处于试验阶段,仍需要进一步研究其硝化条件,提升其脱氮功能,为其实际应用奠定基础。

4 结论

比较了不同方法、不同生境下异养硝化细菌筛选效果,结果显示以乙酰胺为唯一碳源和氮源的方法筛选效果更佳;在氨氮含量较高的生境下筛选到的异养硝化细菌数量更多效果更好。

以乙酰胺为唯一碳源和氮源从猪场沼气池污水中筛选到一株能高效脱氮的异养硝化细菌,编号 FJAT-14899。经初步形态观察和 16S rDNA 测序同源性比较,判定该菌株为 *Paracoccus denitrificans*。

对 *Paracoccus denitrificans* FJAT-14899 硝化功能进行初步研究,在氨氮初始浓度约 104 mg·L⁻¹ 的异养氨化培养基中,经过 12 h 培养 NH₄⁺-N 和 TN 分别下

降了 84.79 mg·L⁻¹ 和 58.17 mg·L⁻¹, 氨氮和总氮去除率分别达 81.7%和 53.7%,最终氨氮去除率达 90.1%,总氮去除率达 61.3%。

参考文献:

- [1] 董红梅, 王大娟. 畜禽养殖废水处理技术研究进展[J]. 现代农业科技, 2011, 13(1): 260-262.
DONG Hong-mei, WAN Da-juan. Study progress on the treatment technology of livestock wastewater[J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2011, 13(1): 260-262.
- [2] 许振成, 谢武明, 谌建宇. 养猪场废水治理技术[J]. 中国沼气, 2004, 22(2): 26-29.
XU Zhen-cheng, XIE Wu-ming, CHEN Jian-yu, et al. Progress on treatment technology of piggery waste water[J]. *China Bio-gas*, 2004, 22(2): 26-29.
- [3] Jung-Jeng Su, Kuang-Sheng. A strain of *pseudomonas* sp. isolated from piggery wastewater treatment systems with heterotrophic nitrification capability in Taiwan[J]. *Current Microbiology*, 2006, 53: 77-81.
- [4] 苏俊峰, 黄廷林, 李倩, 等. 应用于景观水体异养硝化细菌的筛选鉴定及效果研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(14): 8526-8528.
SU Jun-feng, HUANG Ting-lin, LI Qian, et al. Research on the screening and identification of heterotrophic nitrification bacteria applied in landscape water and its effect[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2011, 39(14): 8526-8528.
- [5] 张培玉, 曲洋, 杨瑞霞, 等. 耐盐异养硝化菌驯化方法及分离菌株鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(1): 121-125.
ZHANG Pei-yu, QU Yang, YANG Rui-xia, et al. Domestication of halotolerant heterotrophic nitrifying bacteria and identification of two isolated strains[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2011, 17(1): 121-125.
- [6] 苟莎, 黄钧. 异养硝化细菌脱氮特性及研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(2): 255-260.
GOU Sha, HUANG Jun. Advances in denitrification characteristics of heterotrophic nitrification bacteria[J]. *Institute of Microbiology*, 2009, 36(2): 255-260.
- [7] 马放, 苏俊峰, 杨基先. 异养硝化细菌的筛选方法: 中国, 200610010263[P]. 20061227.
MA Fang, SU Jun-feng, YANG Ji-xian. A method of screening heterotrophic nitrification bacteria: CHINA, 200610010263[P]. 20061227.
- [8] Verstraete, Alexander M. Heterotrophic nitrification by *Arthrobacter* sp. [J]. *Journal of Bacteriology*, 1972, 110(3): 955-961.
- [9] 吕永康, 殷家红, 刘玉香, 等. 一株异养硝化菌的分离鉴定及其最佳亚硝化条件[J]. 化工学报, 2011, 62(5): 1421-1427.
LÜ Yong-kang, YIN Jia-hong, LIU Yu-xiang, et al. Isolation and identification of a heterotrophic nitrifier and its optimal conditions for nitrification[J]. *CIESC Journal*, 2011, 62(5): 1421-1427.
- [10] Emiko Matsuzaka, Nobuhiko Nomura, Toshiaki Nakajima, et al. A simple screening procedure for heterotrophic nitrifying bacteria with oxygen-tolerant denitrification activity[J]. *Journal of Bioscience and Bio-engineering*, 2003, 195(4): 409-411.
- [11] 魏复盛. 水和废水监测分析方法[M]. 第4版. 北京: 中国环境科学

- 出版社, 2002:254-284.
- WEI Fu-sheng. Water and exhausted water monitoring analysis method [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:254-284.
- [12] Lesley A, Robertson, Ed W J, et al. Applied and Environmental Microbiology. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(11):2812-2818.
- [13] 王李宝, 万夕和, 陈献明, 等. 四株异养硝化细菌的鉴定及硝化性能的初步研究[J]. 水产养殖, 2009, 27(2):7-10.
- WANG Li-bao, WAN Xi-he, CHEN Xian-ming, et al. Primary study on the identification and nitrification of four heterotrophic nitrifiers from aquacultural water[J]. *Journal of Aquaculture*, 2009, 27(2):7-10.
- [14] 辛玉峰, 曲晓华, 袁梦东, 等. 一株异养硝化-反硝化不动杆菌的分离鉴定及脱氮活性[J]. 微生物学报, 2011, 51(12):1646-1654.
- XIN Yu-feng, QU Xiao-hua, YUAN Meng-dong, et al. Isolation and identification of a nitrifying and aerobic denitrifying *Acinetobacter* sp. YF14 and its denitrification activity[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(12):1646-1654.
- [15] 刘燕, 甘莉, 黄哲强, 等. 脱氮副球菌 YF1 的反硝化特性研究[J]. 水处理技术, 2010, 36(10):61-65.
- LIU Yan, GAN Li, HUANG Zhe-qiang, et al. Study on denitrification characteristics of *Paracoccus* YF1[J]. *Technology of Water Treatment*, 2010, 36(10):61-65.
- [16] 庞德红, 柳知非. 好氧反硝化脱氮机理及处理 NO_x 废气的展望[J]. 污染防治技术, 2010, 23(3):74-78.
- PANG De-hong, LIU Zhi-fei. The mechanism of aerobic denitrification and the outlook of dealing with NO_x waste gas[J]. *Pollution Control Technology*, 2010, 23(3):74-77.
- [17] 刘芳芳, 周德平, 吴淑杭, 等. 养殖废水中异养硝化细菌的分离筛选和鉴定[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11):2232-2237.
- LIU Fang-fang, ZHOU De-ping, WU Shu-hang, et al. Isolation and identification of heterotrophic nitrifiers from cultivation wastewater[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(11):2232-2237.
- [18] 王宏宇, 马放, 杨开, 等. 异养硝化细菌的氨氮去除特性[J]. 中国环境科学, 2009, 29(1):47-52.
- WANG Hong-yu, MA Fang, YANG Kai, et al. Ammonia removal by two strains of heterotrophic nitrifying bacteria[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(1):47-52.
- [19] 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(自然科学版), 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.
- [20] 贾燕, 江栋, 刘永, 等. 固定化硝化细菌去除氨氮和气相氨的试验研究[J]. 水和废水工程, 2009, 35:243-247.
- JIA Yan, JIANG Dong, LIU Yong, et al. Study on characteristic of removing ammonium nitrogen and gaseous ammonia by immobilized nitrifying bacteria[J]. *Water and Wastewater Engineering*, 2009, 35:1125-1129.