

一株约氏不动杆菌对氨氮的低温去除特性研究

李明堂, 王玉军, 赵淑杰, 王章霞, 赵兰坡^{*}

(吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118)

摘要:采用批实验方法研究了一株耐冷约氏不动杆菌DBP-3在低温和低碳氮比条件下对氨氮的去除特性。结果表明, 将菌株DBP-3接种于乙酸钠和氨氮分别为唯一碳源和氮源的基础培养基中, 10℃和碳氮比为6时培养60 h后, 培养液的OD₆₀₀可达0.658, 氨氮的去除率达到89.7%, 总有机碳的浓度下降95%, 硝态氮和亚硝态氮的累积浓度分别为12.5、6.8 mg·L⁻¹, 并且在整个培养过程中都出现了先增加后下降的趋势。菌株DBP-3能大量消耗乙酸盐进行生长和氧化氨氮, 其次为琥珀酸和柠檬酸, 对葡萄糖的利用程度非常低, 并且几乎不能利用蔗糖。碳氮比低于8时, 随碳氮比的增加, 氨氮的去除率逐渐增加, 碳氮比为4和6时, 增加氨氮的初始浓度可明显提高其去除率, 在氨氮浓度为200 mg·L⁻¹时, 碳氮比4和6的培养体系中氨氮的去除率可分别达到58.12%和83.38%。溶解氧水平对菌株DBP-3的氨氮去除能力具有一定的影响, 当溶解氧水平为3.1 mg·L⁻¹和4.2 mg·L⁻¹时, 菌株对氨氮的去除率仍然可分别达到28.42%和50.36%。在10℃和碳氮比为6时, 氨氮的浓度从5增加至80 mg·L⁻¹, 培养体系中氨氮的浓度均可降低88%以上。以上研究结果可为菌株DBP-3应用于低温和低碳氮比富营养化水体的生物脱氮处理研究提供理论依据。

关键词:约氏不动杆菌; 异养硝化; 碳源; 碳氮比

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)10-2055-06 doi:10.11654/jaes.2013.10.022

Characteristics of NH₄⁺-N Removal by *Acinetobacter johnsonii* at Low Temperature

LI Ming-tang, WANG Yu-jun, ZHAO Shu-jie, WANG Zhang-xia, ZHAO Lan-po^{*}

(College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Under the conditions of low temperature and C/N ratio, the removal of NH₄⁺-N by a psychrotolerant *Acinetobacter johnsonii* DBP-3 through the batch testing experiment. Results showed that OD₆₀₀ values of cultural media was 0.658 and the removal rate of NH₄⁺-N and the concentrations of nitrate and nitrite were 89.7%, 12.5, 6.8 mg·L⁻¹, respectively after 60 h of cultivation under conditions of 10℃ and C/N ratio 6 when sodium acetate and NH₄⁺-N were used as the sole carbon and nitrogen sources, respectively. In addition, during the cultivation, the concentration of nitrate and nitrite slowly increased followed a decreasing trend. Strain DBP-3 used acetate as carbon and energy source substantially to grow and remove NH₄⁺-N, followed by citrate and succinate, but the using degree of glucose by strain DBP-3 was very low and it could not utilize sucrose. The removal rate of NH₄⁺-N increased with the increasing of C/N ratio when the C/N ratio was lower than 8. The increased concentration of NH₄⁺-N significantly enhanced the removal rate of NH₄⁺-N with C/N ratios of 4 and 6. The removal rates of NH₄⁺-N were 58.12% and 83.38% in cultural media with C/N ratios of 4 and 6, respectively, when the initial concentration of NH₄⁺-N was 200 mg·L⁻¹. The dissolved oxygen level in the cultural media affected the removal of NH₄⁺-N, but the removal rate of NH₄⁺-N by strain DBP-3 could still be 28.42% and 50.36% with the shaking speed of 0 and 40 r·min⁻¹, respectively. The average NH₄⁺-N removal rate in the cultural media by strain DBP-3 was higher than 88% when the initial concentration of ammonium ranged from 5 to 80 mg·L⁻¹ under conditions of 10℃ and C/N ratio 6. These data may be helpful to support the use of strain DBP-3 in the nitrogen removal of eutrophic water bodies with low temperatures and C/N ratio.

Keywords: *Acinetobacter johnsonii*; heterotrophic nitrification; carbon source; C/N ratio

收稿日期:2013-03-03

基金项目:国家自然科学基金(31071862 和 51109089);吉林省科技发展计划项目(20100141)

作者简介:李明堂(1976—),男,山东荣成人,博士,副教授,主要从事环境污染生物修复方面的研究。E-mail:limtdoc2008@163.com

*通信作者:赵兰坡 E-mail:zhaolanpo12@163.com

微生物的硝化和反硝化作用是氮循环的两个主要过程,对环境中氮元素的转化和去除具有重要意义。传统上认为硝化过程主要是自养菌在好氧条件下对氨的缓慢氧化过程,反硝化过程则是异养菌在厌氧条件下对硝酸根离子的还原过程,因此这两个过程是相互独立的。但越来越多的研究表明,在天然环境中和常规的污水处理过程中还存在能够将硝化和反硝化过程进行耦合的微生物,即在好氧条件下不仅能够进行异养氨氧化过程,而且还可将全部或部分的氨氧化产物通过反硝化过程转化为气态产物,目前报道的这类微生物主要包括 *Pseudomonas stutzeri*, *Alcaligenes faecallis*, *Providencia rettgeri* YL, *Paracoccus denitrificans* 等^[1-6]。

我国北方,尤其是东北地区开放水体的低温期较长,植物对水体中营养盐的吸收和去除能力有限,大量的营养盐积累后往往成为水华暴发的内源负荷,使得水体富营养化问题变得越来越突出^[7]。由于耐冷菌能够在植物无法生长的低温水体中进行生长和物质代谢活动,能转化和去除低温期富营养化水体中氮的微生物在富营养化水体的治理中可扮演重要角色。农业面源污染或生活污水排放产生的富氮水体中往往同时含有氨根和硝酸根离子,并且低温时水体中的溶解氧水平较高,因此可能会有能够同时进行硝化和反硝化过程的微生物,从而对水体中氨氮或硝态氮的去除发挥积极作用。基于上述分析,我们通过低温定向驯化培养技术,从低温期的富营养化水体中分离出了多株具有反硝化能力的耐冷菌,其中菌株 DBP-3 对环境因子的适应能力较强,对氮磷具有较强的去除能力^[8-9],并且在以氨氮为唯一氮源的条件下能够进行异养氨氧化过程。本文在低温基础培养条件下,研究了不同的碳源、碳氮比、营养程度、溶解氧水平以及不同氨根离子浓度对菌株生长或氨氮去除的影响特性,以为该菌株在富营养化水体治理和生活污水处理中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用菌株

菌株 DBP-3 为本课题组通过低温定向驯化培养技术从富营养化水体中分离出的一株耐冷菌,16S rRNA 序列分析表明该菌株属于不动杆菌属,与约氏不动杆菌的亲源关系最近,Genbank 的登录号为 JN314436,中国普通微生物菌种保藏管理中心的保藏号为 CGMCC 4753。

1.2 培养体系

液体培养基:NaAc 1.6 g, KH₂PO₄ 0.1 g, NaH₂PO₄ 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.1 g, NaCl 0.2 g, (NH₄)₂SO₄ 0.37 g, CaCl₂·2H₂O 0.025 g, 微量元素溶液 1.0 mL, 蒸馏水 1000 mL, pH=7.2。

微量元素溶液:EDTA 10.0 g, ZnSO₄ 1.2 g, CaCl₂ 1.5 g, MnCl₂·4H₂O 1.0 g, FeSO₄·7H₂O 2.0 g, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1.0 g, CuSO₄·5H₂O 1.0 g, CoCl₂·6H₂O 1.0 g, 蒸馏水 1000 mL, pH=7.2。

菌悬液:将保存于斜面的菌株挑取一环,接种于上述液体培养基中培养 48 h,然后在 4 ℃ 和 8×10³ r·min⁻¹ 下离心 5 min, 取 0.34 g 湿菌体细胞再悬浮于 100 mL 无菌水中, 制备成菌悬液, 使用时接种量为 2%(体积比)。

基本培养条件:将 196 mL 的液体培养基加入到 500 mL 的三角瓶中,再加入 4 mL 的菌悬液,用无菌膜封口,在 10 ℃ 和 120 r·min⁻¹ 下振荡培养。

1.3 菌株在基础培养基中的生长和对氨氮的去除特性

按照 2% 的体积比接种到液体培养基中进行培养,在培养后的 12、24、36、48、60 h 后采集培养液,分别测定 OD₆₀₀ 以及氨氮、硝态氮、亚硝态氮和总有机碳的浓度。

1.4 碳源对菌株 DBP-3 生长和氨去除的影响

按照理论加入碳量相同的原则,分别向培养基中加入乙酸钠、柠檬酸钠、琥珀酸钠、葡萄糖和蔗糖作为唯一碳源,其添加量分别为 1.6、1.7、1.6、1.2、1.1、1.2 g·L⁻¹, 碳含量的理论值约为 470 mg·L⁻¹。在培养后的第 48 h 采集培养液,分别测定 OD₆₀₀、氨氮和总有机碳的浓度。

1.5 碳氮比和营养程度对菌株 DBP-3 去除氨氮的影响

将培养基中氨氮的浓度固定为 78 mg·L⁻¹, 改变乙酸钠的添加量,使得碳氮比分别为 4、6、8 和 10,以此为低营养培养。同理,再将培养基中氨氮的浓度固定为 200 mg·L⁻¹, 改变乙酸钠的添加量,使得碳氮比也分别为 4、6、8 和 10,以此为高营养培养。分别在培养后的第 48 h 采集培养液,测定氨氮的浓度。

1.6 振荡速度对菌株 DBP-3 去除氨氮的影响

分别在静止和振荡速度为 40、80、120、150 r·min⁻¹ 下进行培养,48 h 后采集培养液,测定氨氮的浓度,计算出氨氮的去除率。静止和振荡速度为 40、80、120、150 r·min⁻¹ 时,培养体系中的溶解氧水平平均为 3.1、4.2、6.3、7.2、7.4 mg·L⁻¹。

1.7 菌株 DBP-3 对不同浓度氨氮的去除特征

将碳氮比固定为 6,同时改变乙酸钠和氨根离子

的浓度,使得氨氮的浓度分别为5、10、20、40、80 mg·L⁻¹,在培养后的12、24、36、48、60 h后采集培养液,分别测定氨氮的浓度。

所有实验的每种处理都重复3次,结果表示为平均值±标准差。

用下式计算氨氮的去除率:

$$R = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%$$

式中: R 为氨氮的去除率; C 为培养后采样测得的氨氮浓度; C_0 为培养液中氨氮的初始浓度。

1.8 分析测定

采集一定体积的培养液,过0.45 μm滤膜后,分别利用《水和废水监测分析方法》中的纳氏试剂分光光度法、酚二磺酸分光光度法和N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定氨氮、硝态氮和亚硝态氮的浓度^[10],采用高温催化氧化法测定培养体系中总有机碳的浓度,所用仪器为总有机碳分析仪(SHIMADZU TOC-VCPh)。通过测定培养液在600 nm处的吸光度来表征菌体细胞的生长状况^[4]。利用溶解氧分析仪(上海雷磁仪器厂,JPSJ-605F)测定培养液中的溶解氧水平。

2 结果与讨论

2.1 菌株DBP-3在基础培养基中的生长和对氨氮的去除

在碳氮比为6,乙酸钠和氨氮分别为唯一碳源和氮源的基础培养基中接种菌株DBP-3,10 ℃培养60 h,菌体细胞的生长和氨氮去除特征如图1所示。从图1a可以看出,菌体细胞进入新的培养体系后又呈现出适应期、快速生长期和稳定期等阶段,培养液中总有机碳的浓度变化也相应地表现出了缓慢下降、快速下降和再缓慢下降等特点。培养液中氨氮及其氧化产物的浓度变化情况如图1b所示,可以看出氨氮浓度随时间的降低趋势与菌体细胞的生长趋势基本一致,在对数生长期随着菌体细胞的快速生长,氨氮的浓度快速下降,中间代谢产物硝酸根和亚硝酸根离子的浓度也快速增加,但进入稳定期后氧化产物的浓度开始逐渐降低。培养60 h,培养体系中氨氮的去除率达到了89.7%,硝态氮和亚硝态氮的累积浓度分别为12.5、6.8 mg·L⁻¹。有机物为微生物的生长和物质代谢过程提供碳源和能源,从图1a中可以看出菌株在快速生长阶段伴随着碳源的快速消耗和氨氮的快速去除,菌株细胞数量增长进入稳定期后总有机碳和氨氮的浓度分别为28.4、8.5 mg·L⁻¹。在低碳氮比条件下,

碳源的不足可能制约了菌株对氨氮的去除。

在污水处理领域,微生物的同步异养氨氧化和好氧反硝化现象已经引起了人们的广泛关注,并对其生长和氮代谢特征进行了研究,这些研究表明在不同的研究目的和不同驯化培养方式下分离出来的各微生物在对生长环境的适应和氮代谢能力方面存在较大差异^[2,4,6],因此发现特定环境中具有特定功能的微生物具有重要的意义。菌株DBP-3是利用同时含有氨根和硝酸根离子的培养基从低温期富营养化水体中分离的一株约氏不动杆菌,其在比较接近天然水体环境的低碳氮比和低温条件下的生长和代谢氮的能力虽然低于其他微生物在高碳氮比和适宜温度下的生长和代谢氮的能力,但在低温期较长的北方,尤其是东北地区,耐低温微生物在有效降低富营养化水体中氮的积累效应方面,仍具有不可替代的作用。

2.2 碳源对菌株DBP-3生长和氨氮去除率的影响

在氨氮为唯一氮源和碳氮比为6的培养基中,不同的唯一碳源对菌株生长和氨氧化的影响如图2所示。菌体细胞优先利用乙酸盐进行生长和氧化氨氮,其次为琥珀酸和柠檬酸,对葡萄糖的利用程度非常

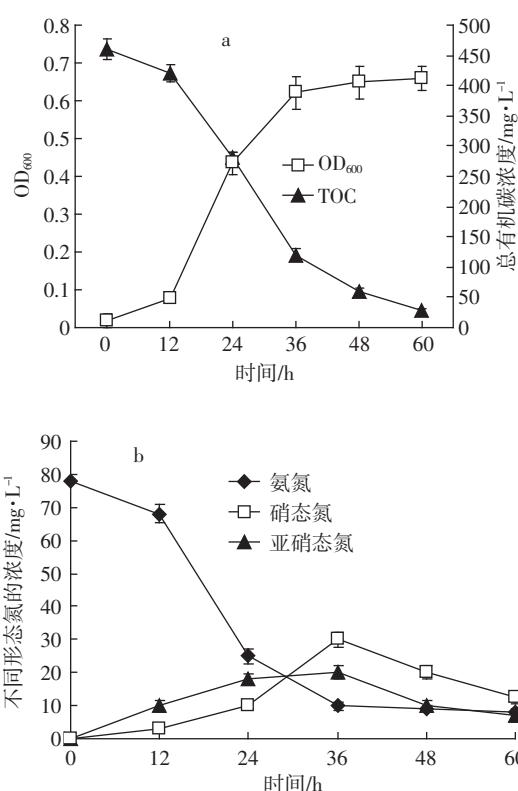


图1 菌株DBP-3的生长及对氨氮和有机碳的去除

Figure 1 Growth of strain DBP-3 (a) and removal of total organic carbon (a) and NH₄⁺-N (b)

低,并且几乎不能利用蔗糖,在菌体细胞进行生长和氧化氨氮的过程中伴随着培养液中总有机碳数量的同步变化,即碳源的大量消耗能够促进菌株的生长和氨氮的去除。Joo 等^[2]的研究表明,菌株 *Alcaligenes faecalis* No.4 能利用乙酸、柠檬酸,不能利用蔗糖、甲醇和葡萄糖进行异养氨氧化,但 Taylor 等^[4]从膜生物反应器中分离出一株高效的氨氧化细菌 *Providencia rettgeri* YL,该菌能够利用葡萄糖为碳源和能源进行异养氨氧化。Zhang 等^[5]以琥珀酸钠为唯一碳源和能源,从养猪场废水处理系统中分离出一株能够进行异养氨氧化的细菌 *Pseudomonas stutzeri* YZN-001。因此

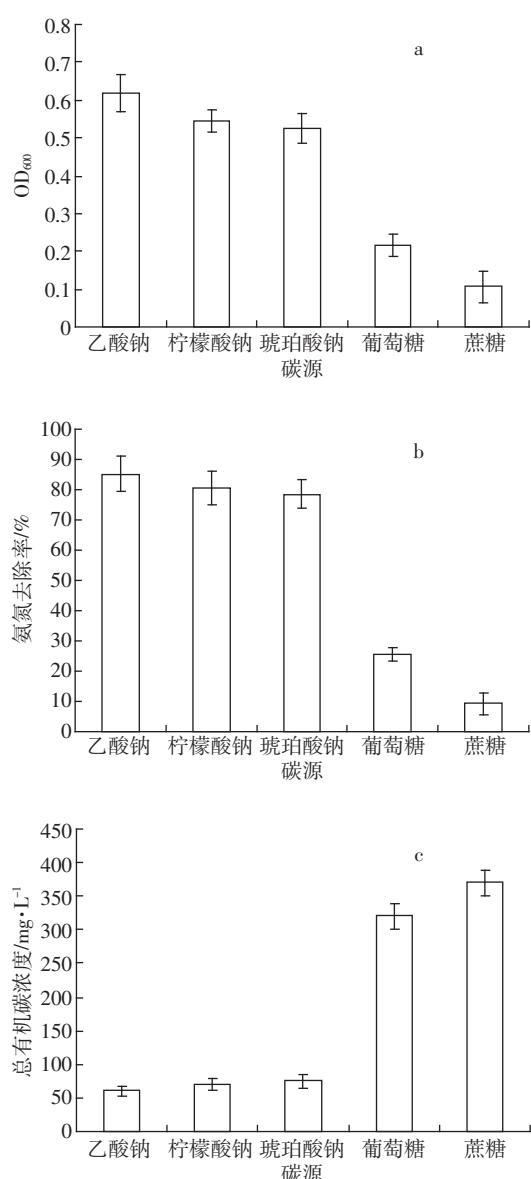


图2 碳源对菌株 DBP-3 生长、氨氮去除和有机碳的影响
Figure 2 Effect of carbon source on growth of strain DBP-3 (a) and removal of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ (b) and total organic carbon (c)

从碳源的利用上看,菌株 DBP-3 可能是一株能够进行异养氨氧化的细菌。同时应该注意,对该菌进行理论研究和实际应用时,应该考虑到碳源对菌株氧化氨氮的影响,即在实际应用中如果需要补充碳源,应该选择容易被菌株利用的碳源。

2.3 不同碳氮比和营养程度下菌株 DBP-3 对氨氮的去除特性

碳氮比是能够直接影响微生物生长繁殖和代谢产物积累的重要因子,微生物对碳氮比的适应能力对基于微生物代谢活动的生物修复系统的运行效率具有重要意义。菌株 DBP-3 是通过驯化培养从低碳氮比和营养程度的富营养化水体中分离并获得的一株能够进行异养氨氧化的细菌,因此研究了低、中和高碳氮比以及不同营养程度下,菌株 DBP-3 对氨氮的低温去除能力,结果如图3所示。可以看出,在两种营养水平下,当碳氮比从 4 增加到 8,菌株 DBP-3 对氨氮的去除率都随着碳氮比的增加而明显增加,但碳氮比从 8 增加至 10 时,氨氮的去除率并没有明显增加。在低营养和低碳氮比时,菌株仍然保持了一定的氨氧化去除能力,如低营养时,碳氮比为 4 和 6 时,氨氮的去除率分别为 33.54% 和 60.47%。同时还可以看出,碳氮比为 4 和 6 时高营养条件下氨氮的去除率明显大于低营养条件下氨氮的去除率,但当碳氮比达到 8 和 10 时营养程度对菌株氧化去除氨氮的能力不产生明显影响,这表明菌株 DBP-3 利用乙酸钠和氨氮进行生长和氮代谢时需要较高浓度的有机碳^[11]。

从实验室运行的膜生物反应器中分离的 *Providencia rettgeri* YL 进行异养氨氧化的最佳碳氮比为 10^[4],菌株 *Alcaligenes faecalis* No. 4 在人工合成废水中氧化氨根离子的适宜碳氮比也为 10^[2], Kim 等^[12]从粪尿

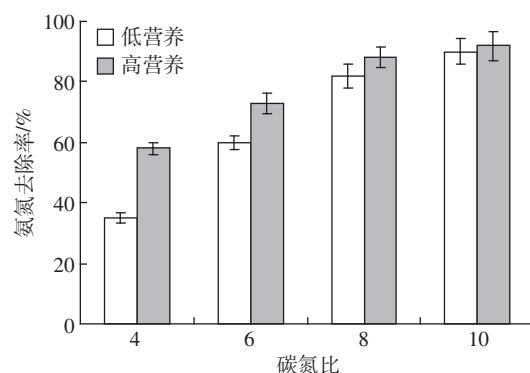


图3 碳氮比和营养程度对菌株 DBP-3 去除氨氮的影响
Figure 3 Effect of C/N ratio and nutritive level on $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ removal by strain DBP-3

处理系统中分离出的 *Bacillus* 属菌株在碳氮比为 8 时对氨氮的去除能力最大。相比之下,菌株 DBP-3 对低碳氮比和低营养条件具有较强的适应能力,并且还可通过增加营养程度,在一定程度上补偿低碳氮比对菌株氧化氨氮能力的不利影响,因此菌株 DBP-3 在富营养化水体修复和生活污水处理领域具有一定的应用潜力。

2.4 溶解氧水平对菌株 DBP-3 去除氨氮的影响

溶解氧是微生物进行好氧氨氧化过程的重要电子受体,对微生物生长和氨氧化效率具有重要的影响。研究表明,进行振荡培养时的振荡速度对培养体系中的溶解氧水平具有重要影响,随着振荡速度的增加,培养液中的溶解氧水平逐渐增加^[13]。本文研究了菌株 DBP-3 在振荡速度为 0、40、80、120、150 r·min⁻¹ 时,即溶解氧水平分别为 3.1、4.2、6.3、7.2、7.4 mg·L⁻¹ 时对氨氮的去除能力,结果如图 4 所示。可以看出,溶解氧水平从 3.1 mg·L⁻¹ 增加至 7.2 mg·L⁻¹ 时,随着振荡速度的增加,培养体系中氨氮的去除率逐渐增加,但溶解氧水平从 7.2 mg·L⁻¹ 增加至 7.4 mg·L⁻¹ 时,氨氮的去除率无明显增加。这表明在一定的水平范围内,溶解氧对菌株的氨氧化能力具有很大的影响,但当溶解氧达到一定程度时,溶解氧不再是菌株进行氨氧化作用的影响因子。同时还可以看出,在溶解氧水平为 3.1 和 4.2 mg·L⁻¹ 时,氨氮的去除率仍然可分别达到 28.42% 和 50.36%。这表明,菌株 DBP-3 对溶解氧水平具有较宽的适应能力,可能与该菌株来源于天然水体有关,也预示着将菌株 DBP-3 还原于自然环境后,溶解氧对菌体细胞的生长和氨氧化作用的限制程度会较其他从人工设施中获得的菌株要低,因此可能会成为用于富营养化水体修复的优势菌种。

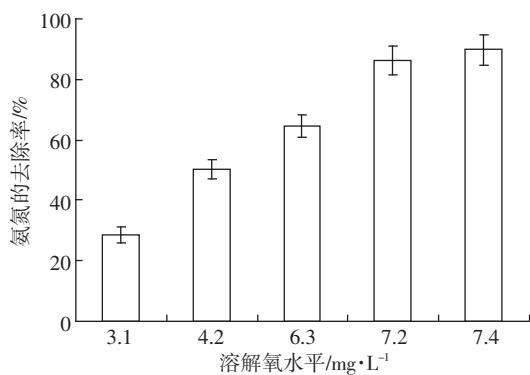


图 4 溶解氧水平对菌株 DBP-3 去除氨氮的影响

Figure 4 Effect of dissolved oxygen level on NH_4^+ -N removal by strain DBP-3

2.5 不同初始浓度下培养体系中氨氮浓度的变化特征

碳氮比为 6, 氨氮的浓度分别为 5、10、20、40、80 mg·L⁻¹ 时, 培养体系中氨氮浓度的变化规律如图 5 所示。结果表明, 在设定的浓度范围内, 菌株 DBP-3 对氨氮的去除能力都比较强, 培养周期内氨氮浓度都降低了 88%以上。氨氮的浓度为 5、10 mg·L⁻¹ 时, 培养 36 h 后氨氮浓度可降低 90%以上。在对数期, 即从培养的第 12 h 到 24 h, 氨氮的初始浓度从 20 mg·L⁻¹ 增加至 80 mg·L⁻¹ 时, 培养体系中氨氮浓度的降低速率随氨氮初始浓度的增加而逐渐增加。一些研究表明, 在高的碳氮比和适宜的培养温度下, 异养氨氧化细菌能够彻底消除氨氮^[4], 但在本研究的整个实验浓度范围内, 菌体细胞对氨氮的去除率都未能达到 100%, 并且随着初始浓度的增加, 氨氮的最终去除率稍有下降, 这可能与低培养温度和碳氮比以及培养基的组成有关。

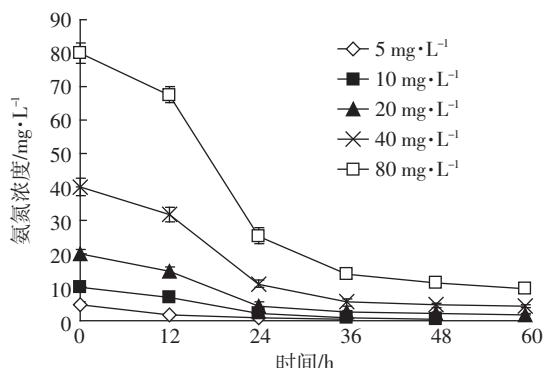


图 5 不同初始浓度下培养体系中氨氮浓度的变化

Figure 5 Change of NH_4^+ -N concentration in cultural fluid at different initial concentration

3 结论

(1) 在碳氮比为 6, 乙酸钠和氨氮分别为唯一碳源和氮源的培养基中接种菌株 DBP-3, 10 ℃培养 60 h, 菌体细胞呈现出适应期、快速生长期和稳定期等阶段, 培养液中总有机碳的浓度变化也相应地表现出缓慢下降、快速下降和再缓慢下降等特点, 培养液在 600 nm 处的吸光度最大可达 0.658。菌株 DBP-3 对氨氮具有明显的去除能力, 初始浓度为 78 mg·L⁻¹ 时, 培养 60 h 后氨氮的去除率可达到 89.7%, 中间代谢产物硝酸根和亚硝酸根离子的浓度呈现先增加后下降的趋势, 但累积浓度较低。培养 60 h 后硝态氮和亚硝态氮的累积浓度分别为 12.5、6.8 mg·L⁻¹。

(2) 菌株 DBP-3 优先利用乙酸盐进行生长和氧化氨根离子, 其次为琥珀酸和柠檬酸, 对葡萄糖的利

用程度非常低，并且几乎不能利用蔗糖。菌株DBP-3对低碳氮比具有较强的适应能力，同时增加培养液的营养程度可在一定程度上补偿低碳氮比对菌株除氮能力的影响，在氨氮浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，碳氮比4和6的培养体系中氨氮的去除率可分别达到58.12%和83.38%。

(3) 溶解氧水平能明显影响菌株DBP-3对氨氮的去除能力，但当达到一定程度时，溶解氧水平不再是菌株进行氨氧化作用的影响因子，在溶解氧水平为3.1、4.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时菌株对氨氮的去除率仍分别可达到28.42%和50.36%。氨氮的初始浓度分别为5、10、20、40、80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，菌株DBP-3均可使其浓度降低88%以上。

参考文献:

- [1] Ludwig W, Mittenhuber G, Friedrich C G. Transfer of *Thiosphaera pan-totropha* to *Paracoccus denitrificans*[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1993, 43(2): 363–367.
- [2] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes fae-calis* No. 4[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(2): 184–191.
- [3] Su J J, Yeh K S, Tseng P W. 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] Taylor S M, He Y L, Zhao B, et al. Heterotrophic ammonium removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Providencia rettgeri* YL[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21: 1336–1341.
- [5] Zhang J B, Wu P X, Hao B, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001 [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 9866–9869.
- [6] Yang X, Wang S, Zhou L. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 104: 65–72.
- [7] 黄继国, 彭祥捷, 俞 双, 等. 水体结冰期营养盐和叶绿素a的分布特征[J]. 吉林大学学报(理学版), 2008, 46(6): 1231–1236.
- HUANG Ji-guo, PENG Xiang-jie, YU Shuang, et al. Distribution characteristics of nutrient and chlorophyll a during the icebound season[J]. *Journal of Jilin University(Science Edition)*, 2008, 46(6): 1231–1236.
- [8] 李明堂, 郝琳琳, 刘梦洋, 等. 反硝化耐冷菌 *Acinetobacter johnsonii* DBP-3 的低温除磷特性研究[J]. 环境科学学报, 2012, 32(7): 1557–1562.
- LI Ming-tang, HAO Lin-lin, LIU Meng-yang, et al. Characterization of phosphate removal by the psychrotolerant denitrifying bacterium *Acinetobacter johnsonii* DBP-3 at low temperature[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2012, 32(7): 1557–1562.
- [9] 李明堂, 刘梦洋, 曹国军, 等. 耐冷菌强化去除农田径流污染水体中氮磷的模拟研究[J]. 水土保持学报, 2012, 122(5): 162–165, 170.
- LI Ming-tang, LIU Meng-yang, CAO Guo-jun, et al. Study on removal simulation of nitrogen and phosphorus in water polluted with runoff from farm land by a psychrotolerant bacterium[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, 122(5): 162–165, 170.
- [10] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 第四版. 北京: 中国环境科学出版社. 2002.
- [11] Mével G, Prieur D. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture conditions[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2000, 46: 465–473.
- [12] Kim J K, Park K J, Cho K S, et al. Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96: 1897–1906.
- [13] Qi Z, Shinji T, Shuichiro M, et al. Screening and characterization of bacteria that can utilize ammonium and nitrate ions simultaneously under controlled cultural conditions[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2007, 103(2): 185–191.