

# 好氧反硝化菌 *P. chengduensis* ZPQ2 的 筛选及其反硝化条件优化\*

潘玉瑾 刘芳 孟爽 赵鑫 王军 胡筱敏

(东北大学资源与土木工程学院,沈阳 110819)

**摘要:** 使用极限稀释和显色培养的筛选方法,从 SBR 好氧反硝化反应器的活性污泥中筛选到 1 株高效好氧反硝化细菌,编号为 ZPQ2。经生理生化分析和 16S rDNA 基因鉴定,该菌株属于假单胞菌属,与 2014 年确立的新菌种 *Pseudomonas chengduensis* 的模式菌 MBR 的亲缘性 99.1%,命名为 *P. chengduensis* ZPQ2 (KT001069)。通过优化实验获得其最佳好氧反硝化条件为:培养温度 35 ℃,初始 pH 为 11,柠檬酸钠为唯一碳源,C/N 为 11:1,盐度为 2%,经 48 h 培养,菌株 ZPQ2 对  $\text{NO}_3^-$ -N 和 COD 去除率分别达到 93.4% 和 98.1%。菌株 ZPQ2 也具有异养硝化能力,以  $\text{NaNO}_2$  或  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  为唯一氮源时,48h 的  $\text{NO}_2^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率分别为 28.64% 和 73.32%。

**关键词:** 好氧反硝化; 菌株分离鉴定; 成都假单胞菌; 异养硝化; 反硝化条件

DOI: 10.13205/j.hjgc.201601009

## ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF AN AEROBIC DENITRIFYING-HETEROTROPHIC BACTERIUM

PAN Yu-jin, LIU Fang, MENG Shuang, ZHAO Xin, WANG Jun, HU Xiao-min

(College of Resources and Civil Engineering, Northeastern University, Shenyang 110819, China)

**Abstract:** By using limiting dilution and the chromogenic medium screening methods, an efficient aerobic denitrification strain was isolated from the activated sludge from an aerobic denitrification SBR, and named ZPQ2. Based on the biochemical identification and analysis of the 16S rDNA gene sequence, strain ZPQ2 was primarily identified as *Pseudomonas chengduensis* ZPQ2. Its function of aerobic denitrification was evaluated through single-factor experiment, and strain ZPQ2 showed the highest removal rate of  $\text{NO}_3^-$ -N and COD at 93.4% and 98.1% in 48 hours, with the condition as follows: pH of 11, sodium nitrate as sole carbon, C/N ratio of 11 and salinity of 2%. In addition, strain ZPQ2 could remove ammonia nitrogen by heterotrophic nitrification. Taking  $\text{NaNO}_2$  or  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  as the sole nitrogen source, the removal rate of  $\text{NO}_2^-$ -N and  $\text{NH}_4^+$ -N in 48 h was 28.64% and 73.32%, respectively.

**Keywords:** aerobic denitrification; isolation and identification; *Pseudomonas chengduensis*; aerobic denitrification

### 0 引 言

生物脱氮是污水脱除氮素污染的有效技术之一,传统生物脱氮工艺包括硝化与反硝化两个过程,有机氮转化为氨氮后,氨氮由自养的硝化细菌在好氧条件下转化为硝态氮,然后再在缺氧条件下通过异养的反硝化细菌将硝态氮还原为气态的氮。由于各类功能菌属对营养条件和溶解氧的要求迥异,造成了传统脱

氮工艺存在反应池体积庞大、能耗高等不足。

随着生物脱氮技术的研究不断深入,近年来发现同步硝化反硝化(SND)是一种经济高效的脱氮手段,与传统的生物脱氮工艺相比具有明显优势<sup>[1-2]</sup>,可在同一反应系统的相同条件下实现硝化和反硝化过程,简化操作难度,大幅降低投资和运行成本。同步硝化反硝化(SND)工艺可以通过创造厌氧微环境,或者向反应系统中投加能够共存于同一条件的硝化与反硝化菌来实现。异养硝化菌<sup>[3]</sup>、好氧反硝化菌<sup>[4]</sup>等新菌种的发现使 SND 现象有了生物学解释,也使在同

\* 国家水体污染控制与治理科技重大专项课题(2013ZX07202-010); 水平绿色行动——辽宁环境科研教育“123 工程”(CEPF2013-423-2-6)。

收稿日期:2015-07-05

一反应器中同步完成硝化和反硝化成为可能。

本研究某 SBR 反应器活性污泥中分离获得了高效好氧反硝化菌株,并对其好氧反硝化条件进行优化,为其后续应用提供数据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 接种物来源

活性污泥取自实验室某运行良好的 SBR 好氧反硝化反应器,该反应器进水以琥珀酸钠为碳源,硝酸钾为氮源,初始 COD 600 mg/L,硝酸盐氮 80 mg/L,溶解氧 3.5 mg/L,对 COD、 $\text{NO}_3^-$ -N、TN 的去除率分别为 95%、80%、68%。

### 1.2 培养基

溴百里酚蓝初筛培养基 (BTB)<sup>[5]</sup>: 琥珀酸钠 8.5 g/L,  $\text{KNO}_3$  1 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g/L,  $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/L,  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 g/L, 琼脂 20 g/L, BTB (0.1 g BTB 溶于 10 mL 乙醇) 1 mL/L, 用 1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 7.0 ~ 7.3, 121 °C 下灭菌 20 min。

富集培养基: 琥珀酸钠 8.5 g/L,  $\text{KNO}_3$  1 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g/L,  $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.05 g/L,  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 g/L, 121 °C 灭菌 20 min。

反硝化培养基 (DM)<sup>[6]</sup>: 琥珀酸钠 2.8 g/L,  $\text{KNO}_3$  0.72 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 g/L, 调节初始 pH 值 7.0, 121 °C 灭菌 20 min。

### 1.3 菌株的筛选与脱氮性能测定

#### 1.3.1 菌株的筛选

取好氧反硝化活性污泥,加入玻璃珠振荡匀浆处理,上清液稀释至适宜浓度(初始浓度的  $10^{-4}$  ~  $10^{-5}$ ),取 100  $\mu\text{L}$  均匀涂布于 BTB 培养基表面,35 °C 下恒温培养 2 d 后,培养基上出现的蓝色晕圈的单菌落即为初筛的好氧反硝化菌株。挑取长势旺盛的单菌落在 DM 固体培养基划线培养,进行菌株纯化,重复 3 轮。

#### 1.3.2 好氧反硝化性能的测定

将分离纯化的单菌落接种至有 150 mL DM 液体培养基的锥形瓶中,在 35 °C 下以 160 r/min 摇瓶培养,分别在 24 h 和 48 h 时取 10 mL 培养液,9 000 r/min 下离心,测定上清液中  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N 和 COD 的浓度,通过分析  $\text{NO}_3^-$ -N 和 COD 的去除效率,考察菌株的好氧反硝化性能。

#### 1.4 培养液分析方法

硝态氮采用酚二磺酸紫外分光光度法测定;亚硝

态氮采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法测定;COD 采用快速消解分光光度法测定;氨氮采用纳氏试剂分光光度法测定;总磷采用钼酸铵分光光度法测定<sup>[7]</sup>。

### 1.5 菌种鉴定分析

菌体形态和运动能力使用光学 (UB102I) 和原子力电子显微镜观察 (美国维易科公司 BioScope Catalyst);革兰氏染色使用 30 °C 培养 24 h 的菌体进行检测,方法使用标准方法<sup>[8]</sup>;其他生理生化鉴定参照之前研究进行<sup>[9-11]</sup>。16SrDNA 序列测定及同源性分析,使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (北京索莱宝有限公司) 抽提基因组 DNA;PCR 扩增使用 16SrDNA 基因通用引物 BSF8/27 (5'-AGAGTTTGATCCTGG-CTCAG-3') 和 BSR1525/1541 (5'-AAGGAGGTGATC-CAGCC-3'), 扩增条件依照之前研究方法<sup>[12]</sup>。扩增产物送华大基因公司进行测序,测序结果使用 BLAST\_W 与 GenBank 数据库中序列进行比对,使用 MEGA4.1 构建与相关菌种的系统发育关系。

### 1.6 菌株脱氮性能测定

#### 1.6.1 菌株好氧反硝化效果

活化种子液按照 5% 接种于 100 mL DM 液体培养基中,35 °C 下以 160 r/min 摇床培养,在培养第 24 h 和 48 h 检测  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NH}_4^+$ -N 和 COD 浓度。

#### 1.6.2 菌株利用亚硝酸盐氮和氨氮能力

活化种子液分别按照 5% 比例接种于 100 mL 以亚硝酸钠、硫酸铵为唯一氮源,琥珀酸钠为唯一碳源的液体培养基中,35 °C、160 r/min 摇床培养,培养 24 h 和 48 h 分别检测  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NH}_4^+$ -N 和 COD 浓度。

#### 1.6.3 反硝化条件优化

初始反应条件如下:温度 35 °C,初始悬浮液总氮含量 100 mg/L,pH = 7,C/N = 10,摇床转速 160 r/min。将菌株在不同条件下进行连续培养,测定菌液  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N 以及 COD 的终浓度,对各影响因子进行逐个优化。

碳源:保持  $\rho(\text{COD}) = 1\ 000$  mg/L,将淀粉、醋酸钠、琥珀酸钠、柠檬酸钠、葡萄糖分别作为反硝化液体培养基的碳源。

C/N:改变 COD,将反硝化液体培养基的 C/N 分别调节至 5、7、9、11、13、15。

pH:用 1 mol/L 的 NaOH 或 HCl 溶液将反硝化液体培养基的初始 pH 分别调节至 3、5、7、9、11、13。

盐度:通过添加 NaCl 将反硝化液体培养基的盐度分别调节至 0%、1%、2%、3%、4%、5%。

## 2 结果与讨论

### 2.1 高效好氧反硝化菌的筛选

使用极限稀释的方法,从好氧反硝化活性污泥样品中分离获得 9 株 24 h 内硝酸盐去除率达到 70% 以上的好氧反硝化菌,其中编号为 ZPQ2 的细菌对  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的去除率可达 80% 以上。

### 2.2 菌株 ZPQ2 的鉴定

菌株 ZPQ2 在普通培养基上生长呈现半透明的米白色菌落,菌落边缘不规则,表面有皱褶,湿润。显微镜观察发现,单个细胞呈短杆状,极生鞭毛,可运动;革兰氏染色呈阴性,大小为  $0.9 \mu\text{m} \times (1.6 \sim 1.8) \mu\text{m}$ ,原子力显微镜照片见图 1。

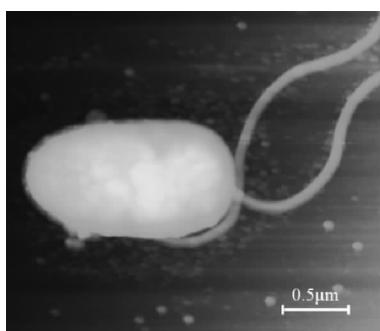


图 1 菌株 ZPQ2 的原子力显微镜照片  
Fig. 1 Atomic force micrograph of strain ZPQ2

16SrDNA 基因分析结果显示:菌株 ZPQ2 与 *Pseudomonas chengduensis* 亲缘性最近,与模式菌株 *P. chengduensis* MBR<sup>T</sup> 的相似度达到 99.1%,系统发育进化树如图 2 所示。

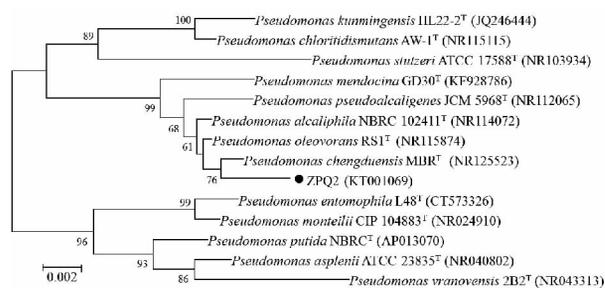


图 2 菌株 ZPQ2 的系统发育进化关系  
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain ZPQ2

通过系统发育进化关系和生理生化鉴定分析发现,菌株 ZPQ2 属于 *P. chengduensis*<sup>[16]</sup>,是该菌种的一个新菌株,并将其命名为 *Pseudomonas chengduensis* ZPQ2。

### 2.3 菌株 ZPQ2 对于硝态氮、亚硝态氮和氨氮的利用情况

分别以  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NaNO}_2$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  为氮源,研究初始氮浓度为 100 mg/L 时,菌株 ZPQ2 对于 3 种形态氮的去除情况,见表 1。

表 1 菌株 ZPQ2 对于硝酸盐氮、亚硝酸盐氮和氨氮的去除情况

培养时间	$\text{NaNO}_3$ 氮源		$\text{NaNO}_2$ 氮源		$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 氮源	
	$\text{NO}_3^- - \text{N}$	COD	$\text{NO}_2^- - \text{N}$	COD	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$	COD
24 h	81.05%	88.24%	26.04%	37.83%	42.08%	48.02%
48 h	91.44%	98.19%	28.64%	40.31%	73.32%	76.60%

以  $\text{NaNO}_3$  为唯一氮源时,菌株 ZPQ2 在 48h 对  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和 COD 的去除率分别达到 91.44% 和 78.19%,说明菌株 ZPQ2 具有较好的好氧反硝化能力;以  $\text{NaNO}_2$  为唯一氮源时,菌株 ZPQ2 在 48 h 的  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  和 COD 去除率分别达到 28.64% 和 40.31%,说明菌株 ZPQ2 利用亚硝酸盐氮进行好氧反硝化的能力较差,原因可能是菌株 ZPQ2 对亚硝酸盐氮积累的耐受性较差,高含量的亚硝酸盐对菌株 ZPQ2 产生了毒害;另外,以  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  作为唯一氮源时,菌株 48 h 的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和 COD 去除率分别达到 73.32% 和 76.60%,表明菌株 ZPQ2 不仅具有很好的好氧反硝化能力,还具有一定的异养硝化能力。

### 2.4 菌株 ZPQ2 的好氧反硝化条件研究

#### 2.4.1 碳源对菌株 ZPQ2 反硝化能力的影响

由图 3 可知:5 种碳源中,菌株 ZPQ2 最适宜以柠檬酸钠作为唯一碳源进行好氧反硝化脱氮,对葡萄糖和乙酸钠的利用能力较差,尤其是在以乙酸钠作为唯一碳源的培养基中,菌株 ZPQ2 生长情况极差,且对氮的去除率大幅降低。以柠檬酸钠作为唯一碳源时,菌株 ZPQ2 的脱氮效率最高,48 h 去除率为 91.75%;以琥珀酸钠为碳源时脱氮效率稍低;在以葡萄糖和乙酸钠作为碳源时,菌株的脱氮性能大幅下降,对  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的去除率分别比以柠檬酸钠为碳源时降低了 33.72% 和 58.07%。

碳源在很大程度上影响着硝酸盐还原酶的活性<sup>[14]</sup>。结合菌株 ZPQ2 在不同碳源条件下对  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  去除情况分析,碳源作为好氧反硝化过程中的电子供体和能源物质,对微生物的反硝化过程有着非常重要的影响;在反应体系中,根据微生物组成投加适宜的碳源可有效提升脱氮系统好氧反硝化效率。

#### 2.4.2 碳氮比对菌株 ZPQ2 反硝化能力的影响

实验选择柠檬酸钠为唯一碳源,硝酸钾为唯一氮

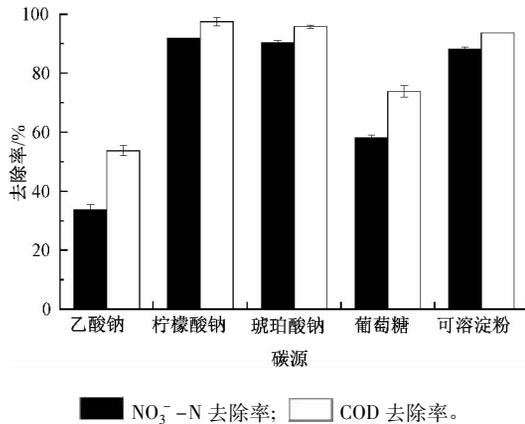


图3 碳源对菌株 ZPQ2 反硝化的影响

Fig. 3 Influence of carbon source on aerobic denitrification of strain ZPQ2

源,调整碳氮比对菌株的反硝化能力进行研究,结果见图4。C/N 较低(5:1)时,菌株能够生长,但速率较低,生物量也不高,导致其反硝化效率偏低,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的去除率仅为 35.65%。此时碳源供应不足,微生物生长受到抑制,无法发挥其反硝化能力。随着 C/N 的增加,菌株 ZPQ2 的反硝化能力明显提高,对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的去除效率也有明显提升;当 C/N 为 11:1 时,48 h 的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 COD 去除率分别达到最大值,为 91.69% 和 97.44%。

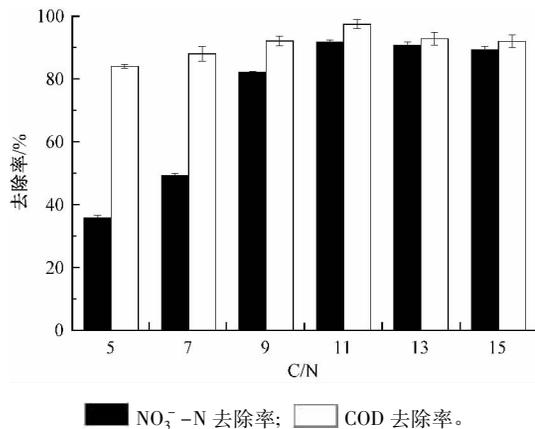


图4 C/N 对菌株 ZPQ2 反硝化的影响

Fig. 4 Influence of C/N on aerobic denitrification of strain ZPQ2

当提供的碳源已经能够满足菌体生长和代谢的需求后, C/N 不再成为菌株好氧反硝化进程中的限制性因素,菌株的好氧反硝化效率的增长进入了平台期,多余中间产物的产生会对好氧反硝化进程产生抑制作用,所以继续增加 C/N 还会引起 COD 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除的抑制现象。

菌株 ZPQ2 好氧反硝化最适宜 C/N 为 11,与文献中已经报道的一些好氧反硝化菌进行比较(表 2 所

示),菌株 ZPQ2 对于碳源的需求量相对较少,如后续成功应用,可以减少城市污水处理厂的外加碳源投加量,这将有效降低处理成本。

表 2 已报道的好氧反硝化菌的最适 C/N  
Table 2 The reported optimum C/N for aerobic denitrifying bacteria

菌株	最适 C/N	参考文献
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> YL	10	[5]
<i>Pseudomonas chengduensis</i> ZPQ2	11	
<i>Pseudomonas</i> sp. ADN-42	12	[6]
<i>Acinetobacter pittii</i> A14	12	[17]
<i>Brevibacillus borstelensis</i> XF3	12	[18]
<i>Pseudomonas mendocina</i> AD6	15	[19]
<i>Pseudomonas</i> sp. 2-8	15	[20]
<i>Bacillus licheniformis</i> JH8	16	[21]

#### 2.4.3 初始 pH 对菌株 ZPQ2 反硝化能力的影响

初始 pH 为 3 时,菌株 ZPQ2 的生长受到抑制,因而对 COD 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的去除率极低;随着初始 pH 的升高,抑制解除,菌株 ZPQ2 对 COD 和硝酸盐氮的去除能力也逐步提升。当初始 pH > 5 时,增幅明显,并在初始 pH 为 11 时达到最高去除效率,对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 COD 的去除率分别为 90.29% 和 98.34%。实验结果表明:偏碱性条件(pH > 7)更适宜菌株 ZPQ2 的生长和好氧反硝化的实现,但是过高的 pH 值(pH > 11)也会对其生长产生抑制,同时抑制细菌的好氧反硝化作用。

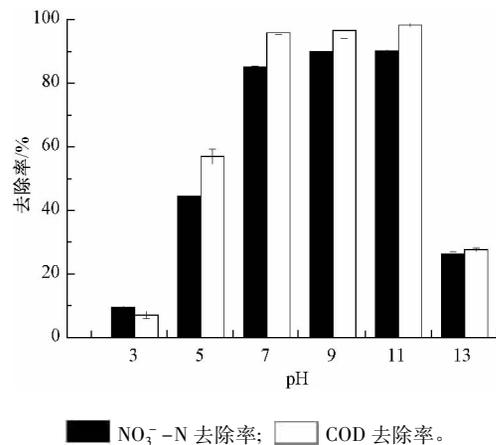


图5 初始 pH 对菌株 ZPQ2 反硝化的影响

Fig. 5 The effect of initial pH on aerobic denitrification by strain ZPQ2

许多好氧反硝化菌能够在中性或者弱碱性环境中进行好氧反硝化反应脱除硝态氮,如表 3 所示。菌株 ZPQ2 最适宜的好氧反硝化初始 pH 为 11,具有更明显的嗜碱性,其对酸碱的耐受范围(pH 3 ~ 13)远大于文献中已有报道的好氧反硝化菌,显示出其对于

酸性碱性环境,尤其是碱性环境的适应能力。

表 3 已报道的好氧反硝化菌的最适 pH

菌株	最适 pH	参考文献
<i>Alcaligenes denitrificans</i> YS	6.0	[23]
<i>Chelatococcus daeguensis</i> TAD1	7	[24]
<i>Acinetobacter pittii</i> A14	7	[17]
<i>Alcaligenes faecalis</i> No. 4	7.0	[24]
<i>Thiosphaera pantotropha</i>	8.0	[25]
<i>Pseudomonas</i> sp. 2-8	7.5	[20]
<i>Pseudomonas</i> sp. GL19	8.0	[26]
<i>Acinetobacter</i> sp. C-4	8.5	[27]
<i>Pseudomonas stutzeri</i> B13	9	[28]
<i>Pseudomonas stutzeri</i> BMEN1	9.0	[29]
<i>Pseudomonas chengduensis</i> ZPQ2	11.0	

#### 2.4.4 盐度对菌株 ZPQ2 反硝化能力的影响

菌株 ZPQ2 的最佳盐度是 2%, 48 h 时的  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和 COD 去除率分别为 93.4% 和 98.1%, 菌株 ZPQ2 具有轻度嗜盐性, 相对于不投加氯化钠的情况, 投加适量的氯化钠能在一定程度上提升菌株的好氧反硝化能力。但当盐度高于 4% 时, 会极大地抑制菌株的好氧反硝化能力。这与之前的研究结论是相似的, 大多数好氧反硝化菌对于盐度都具有一定的耐受能力, 而且适度高盐度可以增加细菌活性, 在含盐污水脱氮处理方面有一定的应用前景<sup>[30]</sup>; 但是过高的盐度引起的高渗透压会抑止微生物体内酶的活性及其代谢能力, 进而导致对硝氮去除效率的下降; 更严重的情况会造成细胞脱水和质壁分离的情况, 引起菌体的死亡<sup>[31]</sup>。

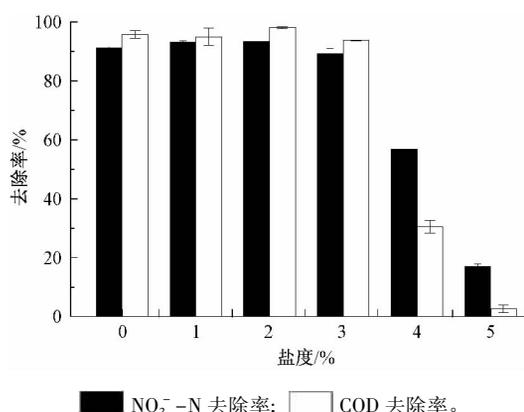


图 6 盐度对菌株 ZPQ2 反硝化的影响

Fig. 6 The effect of salinity on aerobic denitrification of strain ZPQ2

### 3 结 论

从实验室 SBR 好氧反硝化反应器中筛选获得 1 株高效好氧反硝化菌, 通过生理生化鉴定和 16S rDNA 序列分析, 鉴定该菌株为成都假单胞菌 (*Pseudomonas chengduensis*) 的新菌株, 并命名为

*Pseudomonas chengduensis* ZPQ2。

在以硝酸盐为唯一氮源, 柠檬酸钠为唯一碳源的培养基中, 菌株 ZPQ2 长势良好, 表现出了较强的好氧反硝化能力; 在以亚硝酸钠为唯一氮源时, 其好氧反硝化能力极弱且生长缓慢; 在以硫酸铵为唯一氮源时, 表现出一定的异养硝化能力。通过条件优化实验获得 *P. chengduensis* ZPQ2 去除硝酸盐氮的最佳条件为: 碳源为柠檬酸钠, 初始 pH 为 11、C/N 为 11:1, 盐度为 2%。在此条件下, 菌株 ZPQ2 对  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和 COD 去除率可以达到 93.4% 和 98.1%。

*P. chengduensis* 是 2014 年被确立的一个新的菌种, 针对该菌种的研究十分有限, 此前的研究者对成都假单胞菌的硝酸盐还原作用<sup>[32]</sup> 以及对于金属非金属离子的去除作用<sup>[33-34]</sup> 进行了一些研究, 针对该菌种细菌的好氧反硝化及异养硝化研究还未见报道。因此, 针对 *Pseudomonas chengduensis* 开展相关的脱氮研究工作具有重要意义。

#### 参考文献

- [1] Zhao B, He Y L, Huang J, et al. Heterotrophic nitrogen removal by *Providencia rettgeri* strain YL [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2010, 37(6): 609-616.
- [2] Khardenavis A A, Kapley A, Purohit H J. Simultaneous nitrification and denitrification by diverse *Diaphorobacter* sp. [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 77(2): 403-409.
- [3] Thauer R K, Jungermann K, Decker K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria [J]. *Bacteriological Reviews*, 1977, 41(1): 100.
- [4] Robertson L A, Kuenen J G. Aerobic denitrification: A controversy revived [J]. *Archives of Microbiology*, 1984, 139(4): 351-354.
- [5] Takayan N, Maris ABCS, Yasushi S, et al. Aerobic denitrification bacteria that produce low levels of nitrous oxide [J]. *Apply and Environ Microbiol*, 2003, 69(6): 3152-3157.
- [6] 翟倩, 汪萍, 王欢. 活性污泥中好氧反硝化菌的富集筛选及鉴别 [J]. *环境科学与技术*, 2007, 3(21): 11-13.
- [7] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [8] 王国惠. 环境工程微生物学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 291-297.
- [9] 左薇. 一株好氧反硝化菌的筛选鉴定及其脱氮特性分析 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2006.
- [10] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [11] 布坎南 R E, 吉本斯 N E, 伯杰氏细菌鉴定手册 [M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰氏细菌鉴定手册》翻译组, 译. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 274-312.

- [12] 赵鑫. 乙醇型发酵群落分析及产乙醇杆菌功能基因表达研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.
- [13] Tao Y, Zhou Y, He X, et al. *Pseudomonas chengduensis* sp. nov., isolated from landfill leachate. [J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2013, 64( Pt 1): 95-100.
- [14] 马放, 王弘宇, 周丹丹. 好氧反硝化生物脱氮机理分析及研究进展 [J]. *工业用水与废水*, 2005, 36( 2): 11-14, 59.
- [15] 梁贤, 任勇翔, 杨垒, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 YL 的脱氮特性 [J]. *环境科学*, 2015, 36( 5): 1749-1756.
- [16] 刘天琪, 金若菲, 周集体, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 ADN-42 的脱氮特性 [J]. *环境工程学报*, 2015, 9( 2): 989-996.
- [17] 黄廷林, 张丽娜, 张海涵, 等. 一株贫营养异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及脱氮特性 [J]. *生态环境学报*, 2015, 24( 1): 113-120.
- [18] 郝敏娜, 杨云龙. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性 [J]. *环境工程学报*, 2014, 8( 7): 3058-3062.
- [19] 杨新萍, 钟磊, 周立祥. 有机碳源及 DO 对好氧反硝化细菌 AD6 脱氮性能的影响 [J]. *环境科学*, 2010, 31( 6): 1633-1639.
- [20] 高喜燕, 刘鹰, 郑海燕, 等. 一株海洋好氧反硝化细菌的鉴定及其好氧反硝化特性 [C] // 中国生态学会微生物生态专业委员会年会暨国际研讨会, 2010.
- [21] 赵惊鸿, 黄少斌. 一株耐高温好氧反硝化菌的筛选及特性研究 [J]. *环境科学与技术*, 2015, 38( 1): 6-10, 67.
- [22] 郝红红, 陈浚, 程鳌, 等. 一株好氧反硝化菌的筛选鉴定及固定化研究 [J]. *环境科学学报*, 2013, 33( 11): 3017-3024.
- [23] 张苗, 黄少斌, 肖先念. C/N 和 pH 值对高温好氧反硝化菌产  $N_2O$  的影响研究 [J]. *环境工程学报*, 2012, 6( 1): 275-279.
- [24] 方海洋, 王智, 李建华, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌粪产碱杆菌的脱氮特性 [J]. *环境工程学报*, 2015, 9( 2): 983-988.
- [25] A B Gupta. *Thiosphaera pantotropha* a sulphur bacterium capable of simultaneous aerobic denitrification and aerobic denitrification [J]. *Enzyme and Microbale Technology*, 1997, 21( 8): 589-595.
- [26] 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 等. 1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性 [J]. *环境科学*, 2014, 35( 6): 2341-2348.
- [27] 杨小龙, 李文明, 陈燕, 等. 一株好氧反硝化菌的分离鉴定及其除氮特性 [J]. *微生物学报*, 2011, 51( 8): 1062-1070.
- [28] 王莹, 周巧红, 梁威, 等. 人工湿地高效好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29( 6): 1193-1198.
- [29] 郭岩, 周雪媚, 杨茂华, 等. 高效嗜碱好氧反硝化细菌的筛选及其脱硝特性 [J]. *过程工程学报*, 2013, 13( 4): 687-692.
- [30] 郭艳丽, 张培玉, 于德爽, 等. 一株轻度嗜盐反硝化菌的分离鉴定及特性 [J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16( 3): 394-398.
- [31] Galinski E A. Osmoadaptation in bacteria. [J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1995, 37( 37): 272-328.
- [32] Su W, Zhang L, Li D, et al. Dissimilatory nitrate reduction by *Pseudomonas alcaliphila* with an electrode as the sole electron donor. [J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2012, 109( 11): 2904-2910.
- [33] Zhang T, Cui C, Chen S, et al. The direct electrocatalysis of *Escherichia coli* through electroactivated excretion in microbial fuel cell [J]. *Electrochemistry Communications*, 2008, 10( 2): 293-297.
- [34] Zhan G, Li D, Zhang L. Aerobic bioreduction of nickel( II) to elemental nickel with concomitant biomineralization [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2012, 96( 1): 273-281.

第一作者: 潘玉瑾(1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事水污染生物处理研究。panyj1005@163.com

通信作者: 赵鑫, 男, 副教授, 主要从事水污染控制与环境微生物研究。zhaoxin@mail.neu.edu.cn