

# 一株异养硝化细菌的脱氮特性及其初步应用

李烜桢, 吴胜发, 华桂芬, 陈金媛<sup>①</sup> (浙江工业大学生物与环境学院, 浙江 杭州 310032)

**摘要:** 氮素超标是导致水体富营养化的重要原因之一, 生物除氮是去除水体中氮元素的有效途径。从垃圾填埋场土壤中分离得到菌株 WS-2, 经 16S rDNA 鉴定为土壤杆菌 (*Agrobacterium* sp.)。该菌可在 42 h 内去除 95.8% 的铵态氮, 氮气、硝态氮和细胞内氮为主要产物, 分别占初始氮量的 42.4%、23.8% 和 19.4%。同时, 该菌可在 84 h 内去除 80.5% 的硝态氮和 97.1% 的亚硝态氮, 其中生成的氮气和细胞内氮分别占初始氮量的 50.2%~51.0% 和 17.0%~17.8%。由此可见, 菌株 WS-2 的优势在于不仅可以同步进行硝化和反硝化过程, 而且还具有较高的氮气生成率和较低的细胞内氮积累量。进一步将该菌用于处理富营养化水体, 发现将菌体固定于聚氨酯载体材料并辅以曝气措施, 其对 COD<sub>Cr</sub>、总氮、铵态氮和总磷的去除率分别可达 84.3%、71.3%、94.7% 和 55.6%, 表明该菌具有修复富营养化水体的潜力。

**关键词:** 土壤杆菌; 异养硝化; 好氧反硝化; 生物除氮

**中图分类号:** X173 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4831(2014)03-0352-06

**Denitrifying Characteristic of a Heterotrophic Nitrifying Strain of Bacteria and Its Preliminary Application.** LI Xu-zhen, WU Sheng-fa, HUA Gui-fen, CHEN Jin-yuan (College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

**Abstract:** High nitrogen concentration is one of the important causes of water eutrophication. Biological nitrogen removal is an effective way to remove nitrogen from water. A strain of bacteria, coded as WS-2, was isolated from landfill soil and identified as *Agrobacterium* sp. based on 16S rDNA gene sequencing. The strain could remove 95.8% of the ammonia in the water within 42 h, producing mainly N<sub>2</sub>, nitrate and intracellular nitrogen, which accounted for 42.4%, 23.8% and 19.4% of the initial nitrogen, respectively. Meanwhile the bacteria could remove 80.5% of the nitrate and 97.1% of the nitrite in the water within 84 h, producing N<sub>2</sub> and intracellular nitrogen, which accounted for 50.2%–51.0% and 17.0%–17.8% of the initial nitrogen, respectively. It is, therefore, obvious that Strain SW-2 bacteria are capable of performing simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification, and during the processes, they turn most ammonia, nitrate and nitrite into gaseous nitrogen and little into intracellular nitrogen. Further experiments of using the bacteria to treat eutrophied water reveal that the bacteria, fixed on polyurethane foams and then subjected to aeration, are capable of removing 84.3%, 71.3%, 94.7%, and 55.6%, respectively of COD<sub>Cr</sub>, total nitrogen, ammonia and total phosphorus, which demonstrates that its strain of bacteria has a high application potential in remedying eutrophied water bodies.

**Key words:** *Agrobacterium* sp.; heterotrophic nitrification; aerobic denitrification; biological nitrogen removal

传统的生物脱氮分别采用硝化细菌和反硝化细菌进行硝化和反硝化过程,但是这 2 个过程需要不同的反应条件,因此无法实现空间和时间上的统一。近年来发现,一些异养硝化细菌如粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*) 和假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 等不仅具有异养硝化能力,还具有好氧反硝化能力,且可以同步进行 2 种反应<sup>[1-5]</sup>。此外,与自养硝化细菌相比,异养硝化细菌对培养条件的要求比较宽松,生长速率快,容易在自然状态下成为优势菌。因此,异养硝化细菌在水体生物除氮领域具有广阔的应用前景。

目前人们对异养硝化菌的研究,多集中于废水生物脱氮,而对河道或湖泊等水体富营养化的修复

研究则较少。笔者从垃圾填埋场土壤中分离得到 1 株异养硝化菌 WS-2,发现该菌具有同步异养硝化和好氧反硝化能力,进一步研究了该菌株对铵态氮、硝态氮和亚硝态氮的硝化和反硝化特性,并且将该菌投加到富营养化水体中,初步研究了其对铵态氮、总氮、COD<sub>Cr</sub> 和总磷等的去除能力,为将来的工程应用奠定基础。

收稿日期: 2013-10-18

基金项目: 国家自然科学基金(21177114)

① 通信作者 E-mail: cjl128@zjut.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 培养基

硝化培养基(HNM)成分为 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $5.62\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁二酸钠和50 mL 维氏盐溶液,并调节pH值至7.2。反硝化培养基(DM)和亚硝酸盐反硝化培养基(NDM)分别用 $0.77\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KNO}_3$ 和 $0.52\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaNO}_2$ 替代HNM中的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。其中,NDM中的 $\text{NaNO}_2$ 需要在灭菌后加入。

维氏盐溶液成分为 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、 $0.05\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{FeSO}_4$ 、 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaCl}$ 、 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $0.05\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MnSO}_4$ 。

培养基均在 $121\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下灭菌20 min,而NDM须先灭菌再加入 $\text{NaNO}_2$ 。待灭完菌后向装有250 mL培养基的1 L血清瓶中通入纯氧密封接菌。

### 1.2 菌株形态观察

将纯化的菌种接种于HNM平板, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养2 d,观察菌落形态。取适量菌体,革兰染色后于高倍显微镜下观察菌体形态。

### 1.3 16S rDNA的PCR扩增和序列测定

采用EZ-10 Spin Column Genomic DNA Isolation Kit试剂盒(中国上海)提取细菌DNA。以DNA为模板扩增16S rDNA,正向引物为F27(GTTT-GATCCTGGCTCAG),反向引物为R1492(TACG-GYTACCTTGTTACGACTT)。PCR反应体系( $50\text{ }\mu\text{L}$ ): $10\times\text{PCR}$ 缓冲液 $5\text{ }\mu\text{L}$ , $\text{MgCl}_2$ ( $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $4\text{ }\mu\text{L}$ ,dNTP $2\text{ }\mu\text{L}$ ,引物F27和R1492各 $1\text{ }\mu\text{L}$ ,模板DNA $1\text{ }\mu\text{L}$ ,Taq酶( $166.7\text{ }\mu\text{kat}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) $0.5\text{ }\mu\text{L}$ ,重蒸水 $35.5\text{ }\mu\text{L}$ 。PCR程序: $94\text{ }^\circ\text{C}$  2 min; $94\text{ }^\circ\text{C}$  1 min, $56\text{ }^\circ\text{C}$  1 min, $72\text{ }^\circ\text{C}$  2 min;第2步循环29次; $72\text{ }^\circ\text{C}$  10 min; $60\text{ }^\circ\text{C}$  10 min。PCR产物的纯化和测序由大连宝生物有限公司完成。

### 1.4 生物脱氮试验

参照文献[6]的方法进行脱氮试验。取2 mL菌悬浮液分别接种到100 mL HNM、DM和NDM中培养5 d( $28\text{ }^\circ\text{C}$ , $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ),然后取菌悬浮液5 mL离心5 min( $8000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,离心半径为20 cm, $4\text{ }^\circ\text{C}$ ),得到菌体,接种到含有250 mL培养基的具塞三角瓶中,并向瓶中吹入 $\text{O}_2$ 与 $\text{He}$ 混合气体(体积比为95:5)约1 min以替代上部空气。然后将瓶子密封后进行培养( $28\text{ }^\circ\text{C}$ , $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ),定期从瓶中取液体和气体样品进行分析,每次取样后重新充入混合气体,密封后继续培养。以添加等量灭活菌体处理作为对照,每个处理设3个重复。

### 1.5 模拟河道装置及相关方法

试验在长方形玻璃容器(长 $\times$ 宽 $\times$ 高为 $1.7\text{ m}\times 0.3\text{ m}\times 0.35\text{ m}$ )中进行,供试水体采自杭州某富营养化河道,供试水量为100 L,加菌量为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。供试水体水质指标如下: $\rho$ (总氮)为 $21.82\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $\rho$ (总磷)为 $0.77\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $\rho$ ( $\text{COD}_{\text{Cr}}$ )为 $93.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $\rho$ (铵态氮)为 $7.63\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $\rho$ (溶解氧)为 $0.38\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $\rho$ ( $\text{BOD}_5$ )为 $24.51\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。试验设3个处理:(1)单纯曝气;(2)曝气且投加菌株WS-2;(3)曝气且投加固定化菌株WS-2。每隔1 d取样分析水体铵态氮、总氮、 $\text{COD}_{\text{Cr}}$ 和总磷含量。载体材料为聚氨酯泡沫,其物理参数如下:孔隙尺寸为 $300\sim 500\text{ }\mu\text{m}$ ,孔隙度为90%~98%,相对密度为0.20~0.95,比表面积为 $2.0\times 10^4\text{ m}^2\cdot\text{m}^{-3}$ ,使用寿命为10 a。菌体固定化方法参见文献[7],挂膜后估算每个载体生物膜质量,并保证处理(3)总投菌量大约为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 1.6 分析方法

亚硝态氮含量测定采用盐酸萘乙二胺分光光度法;铵态氮含量测定采用纳氏分光光度法;羟胺含量测定根据Fear和Burrell的方法[8];氮气含量测定采用气相色谱法;总磷含量测定采用钼酸铵分光光度法;总氮含量测定采用过硫酸钾分光光度法;通过实验得出细胞内氮含量与 $600\text{ nm}$ 波长条件下的光密度( $D_{600}$ )的关系,细胞内氮含量最终由 $12.8\times D_{600}$ 计算得到[6]; $\text{COD}_{\text{Cr}}$ 含量测定采用重铬酸钾法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株的形态观察和分子鉴定

根据文献[5]的方法分离得到1株异养硝化菌WS-2,通过形态观察发现菌株WS-2菌落形态边缘规整,直径约为1~4 mm,菌落呈乳白色,表面光滑,革兰染色阴性。经电镜观察菌株细胞呈棒状,大小为 $(0.8\sim 1.2)\text{ }\mu\text{m}\times(1.5\sim 2.0)\text{ }\mu\text{m}$ 。提取该菌DNA,经PCR扩增、16S rDNA测序,然后通过BLAST检索并与GeneBank数据库中序列进行比对,发现该菌基因序列与土壤杆菌(*Agrobacterium* sp.)相似度达100%(图1),表明该菌属于土壤杆菌属。

### 2.2 菌株对铵态氮的硝化特性

将菌株WS-2接种到HNM中, $D_{600}$ 在前30 h迅速升高到1.74,然后进入稳定期(图2)。铵态氮含量在42 h内迅速下降到 $4.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,去除率达到95.8%,之后趋于稳定;在84 h时,铵态氮去除率

达到 94.5% (图 2), 表明菌株可以铵态氮作为氮源 生长并进行硝化作用。

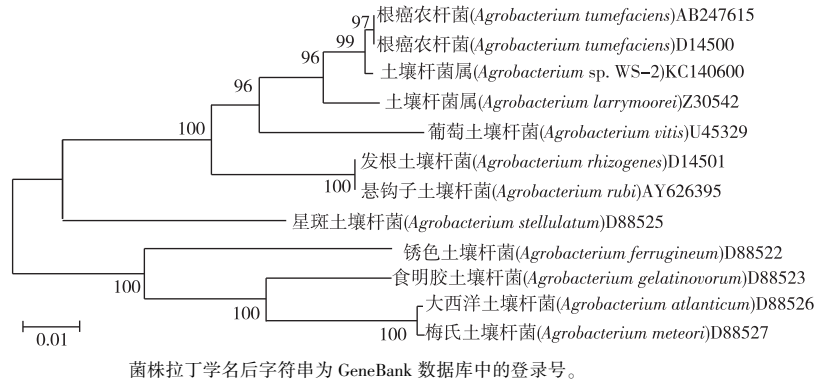


图 1 菌株 WS-2 的 16S rDNA 分子发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of Strain WS-2 based on 16S rDNA sequencing

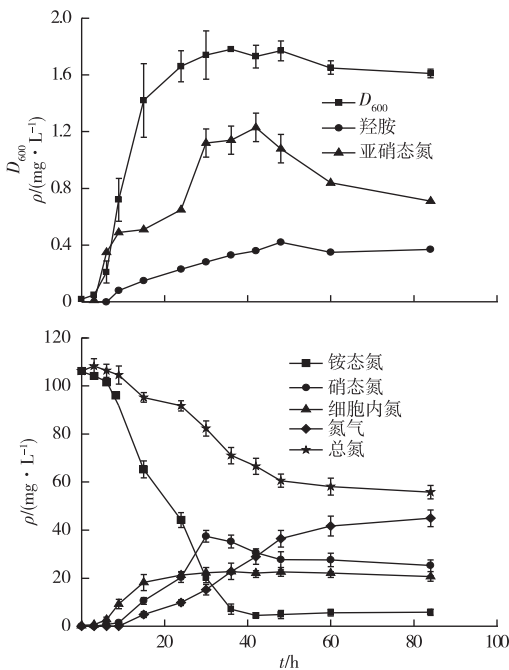


图 2 菌株 WS-2 对铵态氮的硝化特性

Fig. 2 Nitrification of ammonia by Strain WS-2

经产物分析发现, 菌株 WS-2 主要将铵态氮转化为氮气(N<sub>2</sub>)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)和细胞内氮以及少量羟胺(NH<sub>2</sub>OH)和亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)(图 2)。菌株 WS-2 在培养 9 h 时开始产氮气, 在 84 h 时达到最大值(44.9 mg · L<sup>-1</sup>), 占初始氮量的 42.4%。气态氮的生成标志着氮元素从水体被脱去, 从而实现彻底脱氮, 因此是评价脱氮微生物优劣的重要指标。笔者研究中, 菌株 WS-2 比已报道的其他菌株如醋酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*) HNR (40.2%)<sup>[8]</sup>, 芽孢杆菌(*Bacillus strains*) (33%)<sup>[9]</sup> 和粪产碱杆菌(28.9%)<sup>[10]</sup> 具有更高的氮气生成率, 表

明该菌株在水体脱氮中更具有优势。硝态氮从培养初始开始生成, 30 h 时含量达到最大值(37.4 mg · L<sup>-1</sup>), 随后缓慢下降, 84 h 时含量降低到 25.2 mg · L<sup>-1</sup>, 占初始氮量的 23.8%。这种先上升后下降的现象可能是由于菌株先进行硝化作用形成硝态氮, 然后进行反硝化作用, 将硝态氮转化为其他形态所致, 这说明菌株具有同步硝化和反硝化能力。细胞内氮含量在培养 36 h 时达到 22.8 mg · L<sup>-1</sup>, 占初始氮量的 21.5%, 之后略有下降, 在培养末期含量为 20.6 mg · L<sup>-1</sup>, 占初始氮量的 19.4%, 较已经报道的一些菌株低, 如粪产碱杆菌 No. 4 (50%)<sup>[11]</sup>, 醋酸钙不动杆菌 HNR (51%)<sup>[8]</sup> 和土壤杆菌 LAD9 (40.8%)<sup>[12]</sup>。细胞内氮会随着微生物细胞的分解重新释放到水体中, 造成二次污染, 因此细胞内氮的积累不利于生物脱氮。菌株 WS-2 具有细胞内氮低积累的特点, 因此有助于在水体生物脱氮中的应用。

### 2.3 菌株对硝态氮和亚硝态氮的好氧反硝化特性

当将菌株 WS-2 接种到 DM(以硝态氮为唯一氮源)中时, 硝态氮含量迅速下降, 在培养结束时降低到 20.7 mg · L<sup>-1</sup>, 去除率达 80.5%(图 3), 表明该菌株可以硝态氮为唯一氮源生长并进行好氧反硝化作用。对转化产物分析发现, 菌株主要将硝态氮转化为氮气和细胞内氮, 以及少量羟胺和亚硝态氮(图 3)。培养 6 h 时氮气开始生成, 之后含量迅速上升, 培养 84 h 时达到 54.1 mg · L<sup>-1</sup>, 占初始氮量的 51.0%。在培养 15 h 内细胞内氮含量迅速上升, 达到 18.2 mg · L<sup>-1</sup>, 然后其含量趋于稳定。培养末期细胞内氮含量为 18.8 mg · L<sup>-1</sup>, 占初始氮量的 17.8%。在培养 9 和 6 h 时分别检测到羟胺和亚硝态氮, 但含量很少, 只占初始氮量的 0.3% 和 1.2%。

亚硝酸盐对水体动物具有毒性,亚硝酸盐的过量积累有可能引起水质恶化,破坏水体生态系统,因此降低水体中亚硝酸盐含量是提高水质的必要步骤。当将菌株 WS-2 接种到 NDM(以亚硝态氮为唯一氮源)中时,在培养 24 h 内亚硝态氮含量迅速下降,随后趋于稳定,培养结束时亚硝态氮含量降低到  $3.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,去除率达到 97.1%(图 4),表明菌株可以亚硝态氮为唯一氮源生长并进行好氧反硝化作用。对转化产物分析发现,菌株主要将亚硝态氮转化为氮气、硝态氮、细胞内氮以及极少量羟胺(图 4)。在培养 6 h 时氮气开始生成,然后含量迅速上升到培养结束时的  $58.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,占初始氮量的 50.2%。在培养 9 h 时硝态氮含量迅速上升到最大值( $61.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),然后缓慢下降,至培养结束时达到  $26.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,占初始氮量的 24.7%。在培养 24 h 内细胞内氮含量较快地上升到  $18.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,然后趋于稳定,培养结束时为  $18.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,占初始氮量的 17.0%。由此可见,当以硝态氮为氮源时,菌株 WS-2 同样具有较高的氮气生成率和较低的细胞内氮的积累。

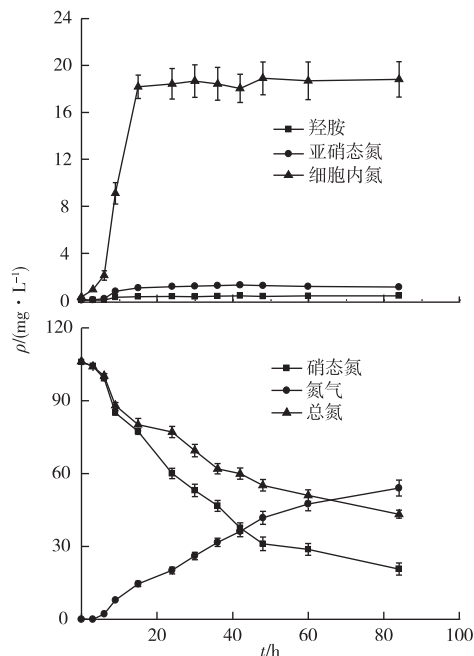


图3 菌株 WS-2 对硝态氮的好氧反硝化

Fig.3 Denitrification of nitrate by Strain WS-2 under aerobic conditions

传统反硝化理论认为,生物反硝化过程只有在厌氧条件下才能进行,氧气的存在会对反硝化过程起到抑制作用,这主要是因为氧会与硝酸盐竞争电子供体,或阻碍硝酸盐向膜内硝酸盐还原酶的传

递,因而可以抑制硝化过程。而好氧反硝化过程则被认为是由于菌体中存在周质硝酸盐还原酶的缘故,因此可推断菌株 WS-2 可能含有该酶,可利用硝态氮和氧气同时作为电子受体进行协同呼吸,因而可以对硝态氮和亚硝态氮进行好氧反硝化<sup>[13]</sup>。这也意味着该菌株可以同时进行异养硝化和好氧反硝化作用。自从第 1 株具有异养硝化和好氧反硝化能力的菌株脱氮副硫球菌 (*Thiosphaera pantotropa*) 被分离后<sup>[14]</sup>,多种细菌被证明具有此类能力<sup>[15]</sup>。关于异养硝化和好氧反硝化的机理,RICHARDSON 等<sup>[16]</sup>认为有 2 条氮素代谢途径:(1)  $\text{NH}_3$  在氨单加氧酶作用下转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2\text{OH}$  在羟胺氧化酶作用下转化为  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$ ;(2)  $\text{NH}_3$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2\text{OH}$  转化为  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  转化为  $\text{NO}_3^-$  的硝化过程,  $\text{NO}_3^-$  经反硝化作用转化为  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}$  转化为  $\text{N}_2\text{O}$ ,最后转化为  $\text{N}_2$ <sup>[16]</sup>。由此可见,菌株 WS-2 至少具有第 2 种氮素代谢途径。

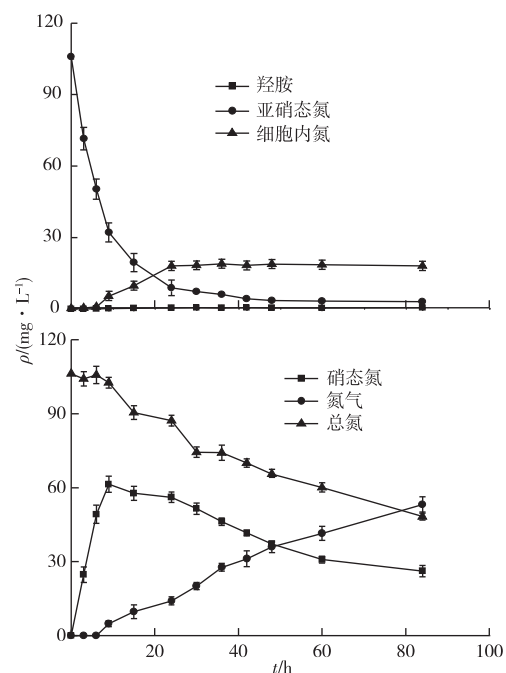


图4 菌株 WS-2 对亚硝态氮的好氧反硝化

Fig.4 Denitrification of nitrite by Strain WS-2 under aerobic conditions

## 2.4 不同处理方式对富营养化水体中污染物的去除

引起河道水体富营养化的主要污染物质为氮和磷,因此降低水体中氮和磷是治理富营养化水体的有效途径。将功能菌固定于载体材料是强化生物修复效果的一种有效措施。聚氨酯泡沫载体具有比表面积大、孔隙率高、柔韧性好和价格便宜等

特点,广泛用于废水处理中<sup>[7]</sup>,但是在污染河道治理中的应用并不多。该研究尝试采用聚氨酯泡沫作为载体材料用于河道水体富营养化修复。采用曝气(处理1)、曝气+投菌(处理2)和曝气+投固定化菌(处理3)3种方式对富营养化水体进行处理。结果表明(图5),3个处理对 COD<sub>Cr</sub>均有一定的去除效果,去除率由大到小依次为处理3、处理2和处理1,表明单纯曝气措施可以去除一定量 COD<sub>Cr</sub>,添加游离菌株和固定化菌株均可以强化 COD<sub>Cr</sub>的去除,而添加固定化菌株对 COD<sub>Cr</sub>的去除效果最佳,去除率达到 84.3%。3个处理对总氮的去除趋势相似(图5),均在 2 d 内迅速上升,然后趋于稳定,处理3对总氮去除效果稍微优于处理1和处理2,最大去除率达 71.3%。3个处理对铵态氮的去除效果也在

2 d 内迅速上升,之后趋于稳定(图5),但处理1在第4天显著降低,至试验结束时大大低于处理2(93.9%)和处理3(94.7%),这可能是因为处理后后期营养耗尽,细胞分解释放铵态氮所致,表明单纯曝气措施虽然可以去除一定量铵态氮,但其效果不稳定,投加菌株 WS-2 尤其是固定化菌株可以强化除氮效果。处理1和处理2对水体中总磷的去除效果相似,处理前期效果较好,但在后期却又恢复到最初状态(图5)。相比较而言,处理3对磷的去除效果较好,在试验期间一直增加,去除率最终达到 55.6%,很可能是由于磷被固定于载体材料上的生物膜所致。综合考虑,投放固定化菌体且辅以曝气措施用于治理富营养化水体效果较好。

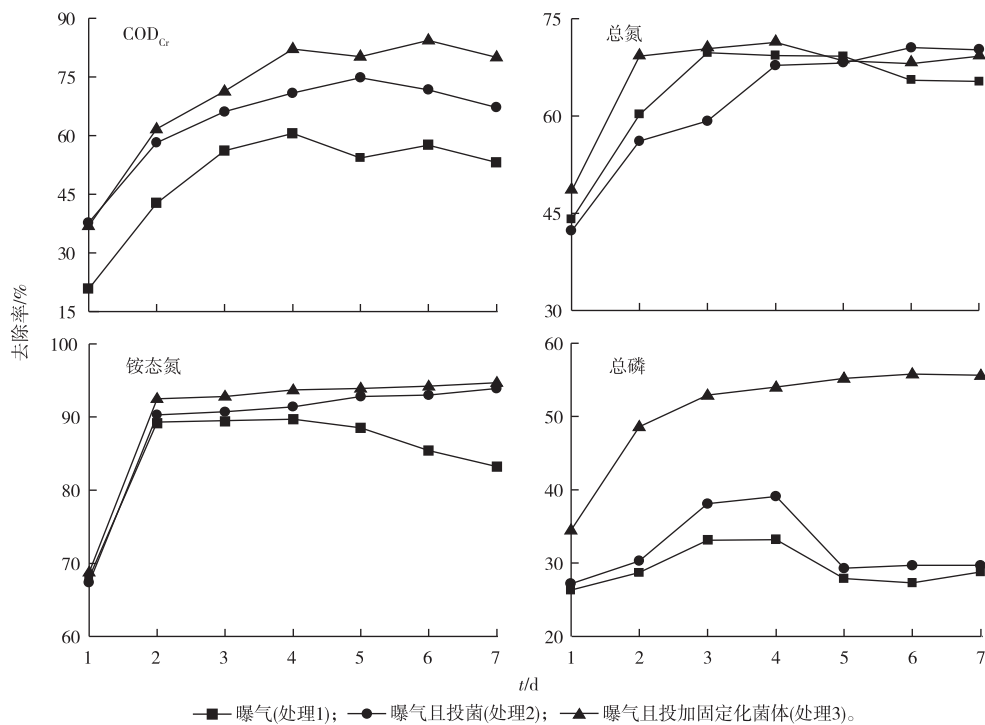


图5 不同处理方式对富营养化水体中污染物的去除效果  
Fig. 5 Efficiencies of different treatments in removing pollutants from water

### 3 结论

从垃圾填埋场土壤中分离得到菌株 WS-2,经 16S rDNA 鉴定为土壤杆菌。该菌可以对铵态氮进行异养硝化,42 h 内对铵态氮的去除率达到 95.8%,氮气、硝态氮和细胞内氮为主要产物,分别占初始氮量的 42.4%、23.8%和 19.4%。该菌也可以对硝态氮和亚硝态氮进行反硝化作用。当以硝态氮为氮源时,84 h 内可去除 80.5%的硝态氮,其

中主要产物为氮气和细胞内氮,分别占初始氮量的 51.0%和 17.8%。当以亚硝态氮为氮源时,该菌 84 h 内可去除 97.1%的亚硝态氮,氮气、硝态氮和细胞内氮为主要产物,分别占初始氮量的 50.2%、24.7%和 17.0%。上述结果表明菌株 WS-2 不仅可以同步进行异养硝化和好氧反硝化作用,而且还具有较高氮气生成率和较低的细胞内氮积累,因此在水体生物脱氮中具有优势。进一步将固定化菌株 WS-2 投加到富营养化水体并辅以曝气措施,发现其对

COD<sub>Cr</sub>、总氮、铵态氮和总磷的去除率分别达到84.3%、71.3%、94.7%和55.6%,表明该菌具有修复富营养化水体的潜力。

#### 参考文献:

- [1] MORIYAMA K, SATO K, HARADA Y, *et al.* Renovation of an Extended Aeration Plant for Simultaneous Biological Removal of Nitrogen and Phosphorus Using Oxidic-Anaerobic-Oxidic Process [J]. *Water Science and Technology*, 1990, 22(7/8): 61-68.
- [2] STEPHENSON T, BRINDLE K, JUDD S, *et al.* Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment[M]. London, UK: IWA Publishing, 2000: 213-218.
- [3] ISLAM A, CHEN D, WHITE R E. Heterotrophic and Autotrophic Nitrification in Two Acid Pasture Soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(4): 972-975.
- [4] BURTON J, CHEN C, XU Z, *et al.* Gross Nitrogen Transformations in Adjacent Native and Plantation Forests of Subtropical Australia [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(2): 426-433.
- [5] 王弘宇, 马放, 杨开, 等. 两株异养硝化菌的氨氮去除特性 [J]. *中国环境科学*, 2009, 29(1): 47-52.
- [6] ZHANG Qing-ling, LIU Ying, AI Guo-min, *et al.* The Characteristics of a Novel Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification Bacterium, *Bacillus methylotrophicus* Strain L7 [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108: 35-44.
- [7] 郭静波, 马放, 蒋侃, 等. 用于石化废水处理的聚氨酯泡沫球形载体的挂膜方法 [J]. *环境工程学报*, 2008, 2(10): 1322-1326.
- [8] ZHAO B, HE Y L, HUGHES J, *et al.* Heterotrophic Nitrogen Removal by a Newly Isolated *Acinetobacter calcoaceticus* HNR [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(14): 5194-5200.
- [9] KIM J K, PARK K J, CHO K S, *et al.* Aerobic Nitrification-Denitrification by Heterotrophic *Bacillus* Strains [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(17): 1897-1906.
- [10] ZHAO Bin, AN Qiang, HE Yi-liang, *et al.* N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> Production During Heterotrophic Nitrification by *Alcaligenes faecalis* Strain NR [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 116: 379-385.
- [11] JOO H S, HIRAI M, SHODA M. Characteristics of Ammonium Removal by Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4 [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(2): 184-191.
- [12] CHEN Q, NI J R. Ammonium Removal by *Agrobacterium* sp LAD9 Capable of Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 113(5): 619-623.
- [13] BERKS B C, RICHARDSON D J, ROBINSON C, *et al.* Purification and Characterization of the Periplasmic Nitrate Reductase From *Thiosphaera pantotropha* [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1994, 220(1): 117-124.
- [14] ROBERTSON L A, KUENEN J G, KLEIJNTJENS R. Aerobic Denitrification and Heterotrophic Nitrification by *Thiosphaera pantotropha* [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1985, 51(4): 445.
- [15] 何伟, 王薇, 王洁, 等. 一株好氧反硝化菌的分离鉴定及其混合应用特性研究 [J]. *生态与农村环境学报*, 2009, 25(2): 88-93.
- [16] RICHARDSON D J, WEHRFRITZ J M, KEECH A, *et al.* The Diversity of Redox Proteins Involved in Bacterial Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification [J]. *Biochemical Society Transactions*, 1998, 26(3): 401-408.

作者简介: 李烜楨(1981—),男,河南平顶山人,讲师,博士,主要研究方向为环境微生物。E-mail: xzli1911@gmail.com