

# Identification and Denitrification Characteristics of an Isolated Aerobic Denitrifier

Ke Shao, Jianeng Qu, Hanmei Deng, Guangxu Yan

State Key Laboratory of Heavy Oil Processing, Beijing Key Laboratory of Oil & Gas Pollution Control, China University of Petroleum (Beijing), Beijing  
Email: miask@foxmail.com

Received: Jan. 3<sup>rd</sup>, 2017; accepted: Jan. 17<sup>th</sup>, 2017; published: Jan. 20<sup>th</sup>, 2017

---

## Abstract

This study aimed at the isolation of an aerobic denitrifier with high nitrogen removal ability from caprolactam sewage and its denitrifying characteristics. An aerobic denitrifier with the best denitrifying performance was isolated from the sample by BTB medium preliminary screening and nitrate degradation analysis. We used morphological and physiological characteristics as well as its 16S rDNA sequences to identify the strain. Effects of culture conditions, such as carbon sources, C/N ratio, temperature and initial pH, were evaluated regarding denitrifying capacity under aerobic condition. The highly effective strain B-5 was identified as *Pseudomonas* sp. Studies of degradation characteristics showed that the most efficient nitrate removal rate for B-5 occurred at C/N = 15 when sodium succinate or sodium acetate was supplemented as the carbon source. The optimum temperature for B-5 was 30°C - 35°C and optimum pH ranged from 6 to 7.

## Keywords

Aerobic Denitrifier, Isolation and Identification, Denitrifying Capacity

---

# 一株好氧反硝化菌的筛选鉴定及其脱氮特性研究

邵可, 屈佳能, 邓寒梅, 阎光绪

中国石油大学(北京), 北京市油气污染防治重点实验室重质油国家重点实验室, 北京  
Email: miask@foxmail.com

收稿日期: 2017年1月3日; 录用日期: 2017年1月17日; 发布日期: 2017年1月20日

## 摘要

本研究从巴陵石化己内酰胺污水中分离高效好氧反硝化菌，并对菌株的反硝化特性进行研究。通过BTB培养基初筛及菌株硝酸盐的降解实验，从样品中分离得到一株脱氮性能最好的好氧反硝化菌，结合其生理生化特性和16S rDNA测序结果，对菌株进行鉴定。研究不同碳源、C/N、温度及pH对其反硝化能力的影响。筛选得到高效好氧反硝化菌B-5，经鉴定属于假单胞菌属(*Pseudomonas sp.*)。降解特性研究表明，当碳源为琥珀酸钠或乙酸钠，C/N为15:1，温度为30℃~35℃，pH为6~7时，菌株B-5的降解性能最佳。

## 关键词

好氧反硝化菌，分离与鉴定，反硝化能力

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

随着我国经济的迅速发展，生活污水、工农业废水、水产养殖废水的不当排放等人为因素严重破坏了自然界的氮素循环，造成了氮素的累积，对自然环境及人类生存健康造成极大的危害。水体中的氮元素以硝态氮、亚硝态氮、氨氮和有机氮的形式存在，现有的物化脱氮工艺包括电渗析法、反渗透法、离子交换法、折点加氯法和化学沉淀法等[1]，但由于物化脱氮工艺的成本较高、效率较低且容易造成二次污染，现在较少应用于废水的脱氮。而生物脱氮工艺由于具有低成本、高效率、无二次污染等特点，已作为主体工艺被广泛应用[2]。传统生物脱氮技术认为硝化作用和反硝化作用是两个完全独立的主体：好氧条件下，氨氮经自养硝化菌转变为硝酸盐和亚硝酸盐，再在厌氧条件下通过反硝化作用还原成氮气[3]。直到1984年Robertson和Kuenen首次分离出好氧反硝化菌株[4]，之后越来越多的学者开始关注好氧反硝化菌的研究，并且从各种环境中都分离出了好氧反硝化细菌如土壤中、活性污泥中、地塘里等[5] [6]。与传统的厌氧反硝化菌相比，好氧反硝化菌能够在有氧气时进行反硝化，实现了硝化和反硝化在时间和空间上的统一；硝化过程生成的硝酸盐、亚硝酸盐可以直接被反硝化过程利用，防止了它们对反硝化过程的抑制；而反硝化过程产生的碱可中和硝化过程产生的酸，维持了系统的酸碱平衡[7]；一些好氧反硝化菌本身还可以进行硝化作用，独立的将水体中的氨氮除去[8] [9] [10]。

本研究着重对好氧硝化菌的反硝化特性和生理生化特性进行了研究，从巴陵石化己内酰胺污水中分离筛选好氧反硝化菌，得到一株高效菌B-5，再对其最佳反硝化培养体系条件(碳源、C/N、温度及pH)进行优化，目的在于使该菌株最大程度地发挥其好氧反硝化潜力。由于好氧反硝化理论突破了传统的反硝化理论，是一种新的微生物学现象。只有通过对好氧反硝化菌的深入研究，才能够对好氧反硝化技术进行更有意义的理论和技术指导，充分发挥这一新型生物脱氮技术的优势。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 样品来源

巴陵石化的己内酰胺污水。

### 2.1.2. 培养基

1) R<sub>2</sub>A 培养基: 0.5 gL<sup>-1</sup> yeast extract; 0.3 gL<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0.5 gL<sup>-1</sup> peptone-D; 0.5 gL<sup>-1</sup> casamino acid; 0.5 gL<sup>-1</sup> D-glucose; 0.5 gL<sup>-1</sup> starch soluble; 0.05 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 0.3 gL<sup>-1</sup> C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>。R<sub>2</sub>A 固体培养基需要加 15 g 琼脂。将 pH 调到 7 左右。

2) 反硝化细菌培养基(DM): 7.9 gL<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 1.5 gL<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.3 gL<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.5 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 5.062 gL<sup>-1</sup> sodium succinate; 1.5 gL<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub> 和 2 mL 微量元素溶液。将 pH 调到 7 左右。微量元素溶液的配方为: 50 gL<sup>-1</sup> EDTA; 2.2 gL<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>; 5.5 gL<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>; 5.1 gL<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O; 1.1 gL<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O; 5.0 gL<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 1.6 gL<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O; 1.6 gL<sup>-1</sup> CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O。

3) 溴百里酚蓝选择性培养基 BTB: 1 gL<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>; 0.2 gL<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>; 1 gL<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.5 gL<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O; 1 gL<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; 8.6 gL<sup>-1</sup> sodium succinate; 21 gL<sup>-1</sup> agarose; 1 mL 溴百里酚蓝。将 pH 调到 7 左右。

## 2.2. 好氧反硝化菌的富集与分离

将 10 mL 的样品加入到装有 250 mL 反硝化培养基的三角瓶中(已灭菌), 用透气膜密封住瓶口, 将三角瓶放在 30℃、160 r/min 的摇床中培养两天, 对好氧反硝化菌进行富集培养。将最终得到的细菌悬液按 10<sup>2</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup> 梯度稀释[11], 涂到 BTB 固体培养基上。将平板放在恒温培养箱(30℃)培养几天后, 找出 BTB 培养基变蓝的平板, 用无菌接种环分别挑取形态不同的菌落到新的 BTB 培养基平板上划线, 如此反复直到出现单一的纯菌落。最后将分离纯化后的单菌落接种到 R<sub>2</sub>A 固体培养基上, 在恒温培养箱里培养 2 天后于 4℃ 保存。

## 2.3. 好氧反硝化菌的反硝化性能测定

挑取不同的单菌落分别接种到装有 50 mL 的 DM 培养基的 150 mL 三角瓶中(已灭菌), 将三角瓶在好氧条件下于 30℃、160 r/min 的摇床中培养一天, 再从中取 2 mL 菌液接种到新的装有 100 mL 的 DM 培养基的 250 mL 三角瓶中, 在同样条件下再培养一天, 最后将菌液离心取上清液测量其中的氨氮、硝态氮、亚硝态氮、总氮和化学需氧量。通过计算各菌株的氨氮、硝态氮、总氮的去除率以及亚硝态氮的累积量确定反硝化性能最佳的菌株以进行后续的研究。

## 2.4. 好氧反硝化菌的鉴定

### 2.4.1. 生理生化鉴定

参照《伯杰细菌鉴定手册》[12]和《常见细菌系统鉴定手册》[13]对筛选出的菌株做进一步鉴定, 包括革兰氏染色、运动性观察、葡萄糖发酵实验、氧化酶实验、过氧化氢酶实验、甲基红实验、硝酸盐还原实验、柠檬酸盐利用实验、V-P 实验、H<sub>2</sub>S 产生实验。

### 2.4.2. 16S rDNA 序列同源性分析

使用 Omega Bio-TEK 公司的细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 按照说明书提取 DNA。将提取的菌株 DNA 作为 PCR 模板进行扩增, PCR 引物选用 27F (AGAGTTTGATCATGGCTCAG)和 1492R (TACGGTTA CCTTGTTACGACTT) [14]。将所测序列提交到 GenBank 并使用 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)进行对比, 再用 Neighbor-Joining 方法在 MEGA7.0 软件中构建系统发育树, 确定菌株的属。

## 2.5. 菌株生长曲线的测定

为了解菌株的生长情况, 按 2% 的接种量将处于对数生长期的菌株接种到液体培养基中, 调整摇床转速为 160 r/min, 温度 30℃, 振荡培养。通过定时测量培养过程菌液的 OD<sub>600</sub> 值的变化, 绘制菌株的生长

曲线，掌握其生长规律。

## 2.6. 环境因素对细菌脱氮性能的影响

### 2.6.1. 碳源对脱氮效果的影响

为探求不同碳源对菌株好氧反硝化作用的影响，以 DM 液体培养基为基础，以硝酸钾为唯一氮源，分别以琥珀酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠、蔗糖为碳源，初始 C/N 为 15，初始 pH 值为 7，温度为 30℃，转速为 160 r/min 的条件下恒温振荡培养 24 h，测定培养液中硝态氮和亚硝态氮的浓度，确定菌株利用不同碳源进行好氧反硝化作用的情况。

### 2.6.2. 不同 C/N 对脱氮效果的影响

为探求不同 C/N 对菌株好氧反硝化作用的影响，以 DM 液体培养基为基础，以琥珀酸钠为碳源，硝酸钾为唯一氮源，初始 C/N 分别设为 6、9、12、15、20，初始 pH 值为 7，温度为 30℃，转速为 160 r/min 的条件下恒温振荡培养 24 h，测定培养液中硝态氮和亚硝态氮的浓度，确定菌株利用不同初始 C/N 进行好氧反硝化作用的情况。

### 2.6.3. 不同温度对脱氮效果的影响

为探求不同温度对菌株好氧反硝化作用的影响，以 DM 液体培养基为基础，以琥珀酸钠为碳源，硝酸钾为唯一氮源，初始 C/N 为 15，初始 pH 值为 7，温度分别为 20℃、25℃、30℃、35℃、40℃，转速为 160 r/min 的条件下恒温振荡培养 24 h，测定培养液中硝态氮和亚硝态氮的浓度，确定菌株在不同温度的条件下进行好氧反硝化作用的情况。

### 2.6.4. 不同 pH 对脱氮效果的影响

为探求不同 pH 值对菌株好氧反硝化作用的影响，以 DM 液体培养基为基础，以琥珀酸钠为碳源，硝酸钾为唯一氮源，初始 C/N 为 15，初始 pH 值分别为 5、6、7、8、9，温度为 30℃，转速为 160 r/min 的条件下恒温振荡培养 24 h，测定培养液中硝态氮和亚硝态氮的浓度，确定菌株在不同初始 pH 值的条件下进行好氧反硝化作用的情况。

## 3. 结果与讨论

### 3.1. 好氧反硝化菌的分离

经过分离纯化后，得到了 5 株形态各异的好氧反硝化菌，详见表 1。

### 3.2. 细菌好氧反硝化性能的测定

测定离心后的菌液中的氨氮、硝态氮、亚硝态氮和总氮，去除率如图 1 所示。结果表明 B-3、B-10 和 B-21 对氨氮的去除率很高，具有很好的硝化性能，但反硝化性能欠佳；B-5 和 B-26 的硝化和反硝化性能较好，其中 B-5 的硝态氮去除率可以达到 90% 以上，且可以独立完成硝化和反硝化过程，具有较强的脱氮能力，因此对 B-5 进行进一步的研究。

### 3.3. B-5 的生理生化鉴定结果

菌株 B-5 的生理生化特性如表 2 所示。

### 3.4. B-5 的 16S rDNA 鉴定

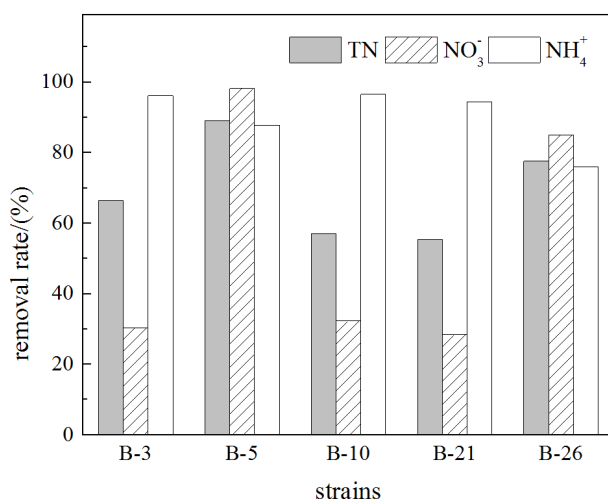
将菌株 B-5 的 16S rDNA 序列与 GenBank 中存储的基因序列进行对比分析，菌株 B-5 与已报道的

**Table 1.** The isolated aerobic denitrifiers**表 1.** 分离纯化得到的好氧反硝化菌

菌株	颜色	形状	表明光滑程度	透明度
B-3	乳白	边缘丝状	粗糙	透明
B-5	浅黄	不规则形状	粗糙	不透明
B-10	浅黄	圆形	粗糙	不透明
B-21	乳白	圆形	光滑	不透明
B-26	乳白	圆形	光滑	半透明

**Table 2.** Physiological and biochemical characteristics of B-5**表 2.** 细菌 B-5 的生理生化特性

革兰氏染色	运动性	葡萄糖发酵	氧化酶试验	过氧化氢酶试验
-	+	+	-	+
甲基红试验	硝酸盐还原试验	V-P 试验	柠檬酸盐利用试验	H <sub>2</sub> S 产生试验
-	+	-	+	+

**Figure 1.** Removal rates of TN, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> of each strain**图 1.** 各菌株的总氮、硝氮及氨氮的去除率

*Pseudomonas citronellolis* strain L8 的相似性为 99%，结合生理生化鉴定结果，确定该菌株为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)。找出相似性高的细菌做同源性对比，构建系统发育树，如图 2 所示。

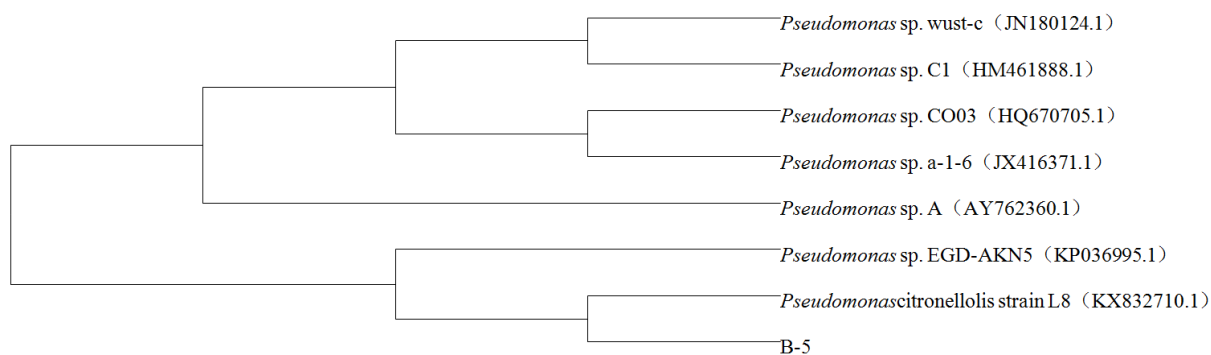
### 3.5. B-5 的生长曲线

以培养时间为横坐标，以细菌在不同培养时间条件下的菌液 OD<sub>600</sub> 值为纵坐标，绘制 B-5 的生长曲线，如图 3 所示，前 9 h 为菌株的生长停滞期；9~24 h 为菌株的对数生长期；24 h~30 h 为菌株的生长稳定期；30 h 之后为菌株生长进入衰减期。

### 3.6. 环境因素对细菌脱氮性能的影响

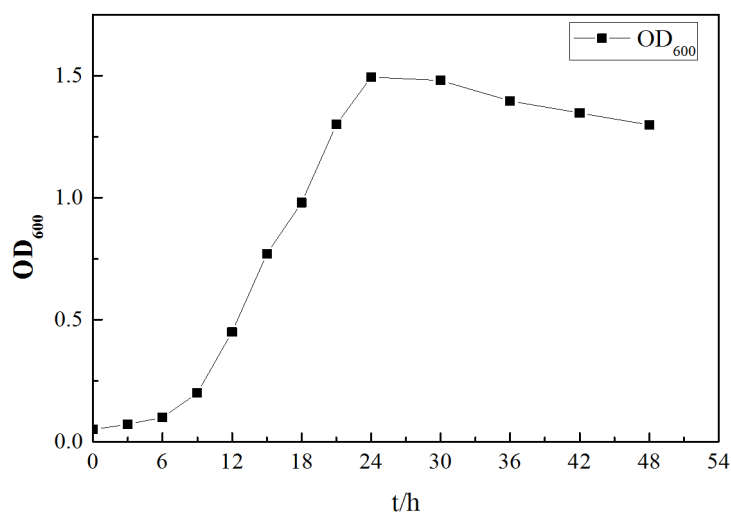
#### 3.6.1. 碳源对脱氮效果的影响

测定结果如图 4 所示，分析可知，菌株 B-5 对琥珀酸钠和乙酸钠的利用效果都很好，以琥珀酸钠或



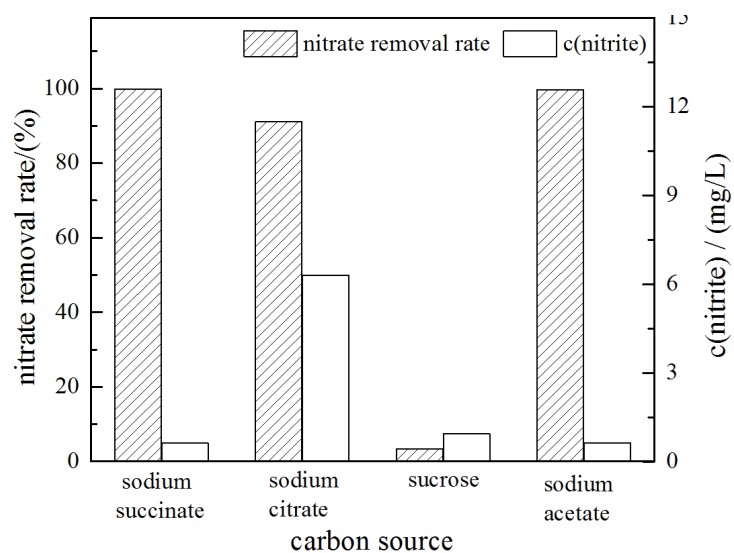
**Figure 2.** The phylogenetic tree of strain B-5

**图 2.** 菌株 B-5 的系统进化发育树



**Figure 3.** The growth curve of strain B-5

**图 3.** 菌株 B-5 的生长曲线



**Figure 4.** Effects of carbon sources on  $\text{NO}_3^-$  removal rate and  $\text{NO}_2^-$  production

**图 4.** 碳源对硝态氮去除率和亚硝态氮的产生量的影响

乙酸钠作为唯一碳源时, 硝态氮去除率达到 99% 以上, 且亚硝态氮没有累积; 以柠檬酸钠作为唯一碳源时, 效果也较好, 硝态氮的去除率为 91.1%, 但如图所示, 24 h 后亚硝态氮有一定累积, Richardson 等的研究发现, 周质硝酸盐还原酶活性很大程度上取决于碳源[15]; 而以蔗糖作为唯一碳源时, 硝态氮的去除率只有 3.3%, 这与安健等[16]的研究结果 YX-6 菌对乙酸钠和琥珀酸钠这类小分子碳源的利用率相对高于葡萄糖、蔗糖等大分子碳源的利用相一致。不同好氧反硝化菌对不同碳源的利用不尽相同, 菌株 B-5 反硝化的最佳碳源是琥珀酸钠或乙酸钠。

### 3.6.2. 不同 C/N 对脱氮效果的影响

测定结果如图 5 所示, 分析可知, 随着 C/N 逐渐升高, 硝态氮去除率也随之升高, 当 C/N 为 15 时, 硝态氮去除率达到最大, 为 99.72%; 亚硝态氮的累积量随 C/N 的升高而逐渐降低, 因为反硝化是一个消耗碳源的过程, 碳源不足会造成反硝化的不完全; C/N 为 20 时, 硝态氮的去除率稍有下降, 说明此时碳源已达到饱和, 过高的碳源会抑制菌的活性。由图可知, 当 C/N 为 15 时, 硝态氮的去除率和亚硝态氮的累积达到最佳状态, 确定菌株 B-5 反硝化的最佳 C/N 为 15。对比其他已经报道的好氧反硝化菌[17], 菌株 B-5 的最佳 C/N 较大, 相较于 C/N 需求量小的菌株, 该菌更适合高 COD 工农业废水的处理。

### 3.6.3. 不同温度对脱氮效果的影响

测定结果如图 6 所示, 分析可知, 菌株 B-5 对硝态氮的去除率一开始随着温度的升高而逐渐升高, 到 30℃ 时去除率达到最高, 为 99.72%; 35℃ 和 40℃ 时略有减少。菌株在 30℃~35℃ 的环境下的脱氮性能较好, 反硝化的最佳温度为 30℃。国内外的报道也显示出了相似的结果: *Alcaligenes faecalis* NO.4 的最佳生长温度范围为 30℃~37℃ [8], ES-SDK-3 的最佳生长温度范围为 30℃~35℃ [18]。

### 3.6.4. 不同 pH 对脱氮效果的影响

测定结果如图 7 所示, 分析可知, 菌株 B-5 对 pH 有较宽的适应范围。当 pH 为 7 时, 菌株 B-5 对硝态氮的去除率达到最大值 99.72%; 在偏酸的环境下, B-5 对硝态氮的去除率也较好, 因为反硝化是一个产碱的过程, 可以中和偏酸的环境; 在偏碱的环境下, 菌株对硝态氮的去除率也较好, 但是亚硝态氮有累积, 这有可能是 pH 偏高会抑制菌体的生长和亚硝酸盐还原酶的活性。其他的报道在此方面也有类似的结果: 异养硝化-好氧反硝化菌 YL 的最佳 pH 为 7 [19], ES-SDK-3 菌的最佳 pH 范围为 5~9 [18]。此类菌的最佳 pH 范围在弱酸、中性和弱碱的范围内, 不适宜在极端 pH 环境下生长。菌株 B-5 脱氮的最适 pH 为 6~7。

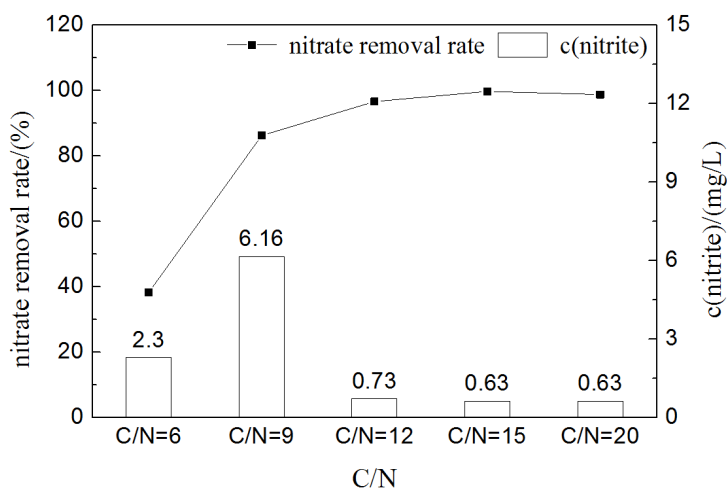


Figure 5. Effects of C/N on  $\text{NO}_3^-$  removal rate and  $\text{NO}_2^-$  production

图 5. C/N 对硝态氮去除率和亚硝态氮的产生量的影响

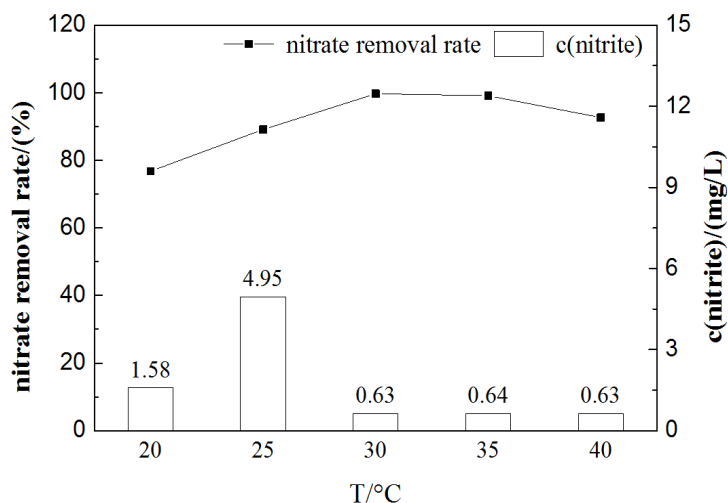


Figure 6. Effects of temperature on  $\text{NO}_3^-$  removal rate and  $\text{NO}_2^-$  production

图 6. C/N 对硝态氮去除率和亚硝态氮的产生量的影响

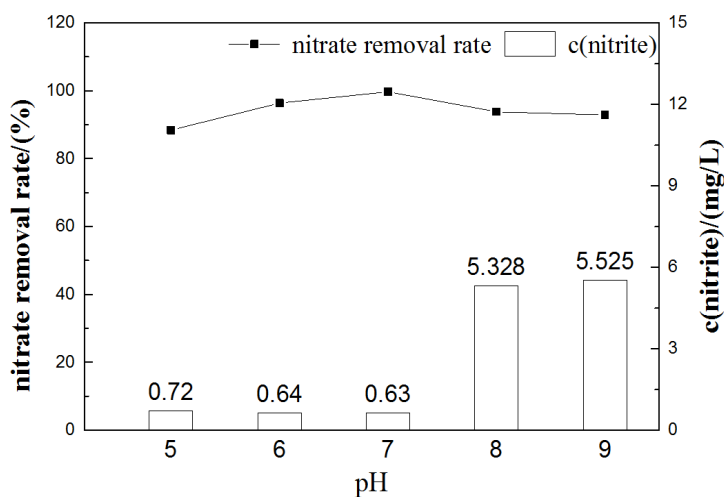


Figure 7. Effects of pH on  $\text{NO}_3^-$  removal rate and  $\text{NO}_2^-$  production

图 7. pH 对硝态氮去除率和亚硝态氮的产生量的影响

#### 4. 结论

从巴陵石化的己内酰胺污水中分离得到 5 株具有较好脱氮性能的菌株, 分别为 B-3、B-5、B-10、B-21、B-26。考察这 5 株菌分别对氨氮、硝态氮、亚硝态氮的降解效果, 确定 B-5 具有很好的硝化和反硝化性能。

对菌株 B-5 进行鉴定, 经形态观察和生理生化反应特征结果初步鉴定其属于假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.), 后结合 16SrDNA 序列分析, 可确定菌株 B-5 为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。

菌株 B-5 的降解特性实验结果表明, 其最佳碳源为琥珀酸钠或乙酸钠; 最佳碳氮比为 15:1; 最佳温度为 30°C~35°C; 最佳 pH 为 6~7。由此可知环境因子对菌株的生长繁殖和硝酸盐的好氧反硝化反应影响重大。绘制的生长曲线表明, 24 h 达到最大  $\text{OD}_{600}$  值 1.494。前 9 h 为菌株的生长停滞期; 9 h~24 h 为菌株的对数生长期; 24 h~30 h 为菌株的生长稳定期; 30 h 之后菌株生长进入衰减期。该菌株生长速度很快, 具有很好的脱氮性能, 具有广阔的应用前景。



## 参考文献 (References)

- [1] 江惠霞. 高效硝化、反硝化菌的筛选及性能研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江农林大学, 2012.
- [2] 王耀龙, 魏云霞, 李晓丽, 贾小宁, 李彦锋. 废水脱氮技术研究进展[J]. 环境工程, 2010(S1): 119-123.
- [3] 张自杰. 排水工程[M]. 第3版. 北京: 中国建筑工业出版社, 2000.
- [4] Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. (1984) Aerobic Denitrification—Old Wine in New Bottles? *Antonie Van Leeuwenhoek*, **50**, 525-544. <https://doi.org/10.1007/BF02386224>
- [5] Krul, J.M. (1976) Dissimilatory Nitrate and Nitrite Reduction under Aerobic Conditions by an Aerobically and Anaerobically Grown *Alcaligenes*, sp. and by Activated Sludge. *Journal of Applied Bacteriology*, **40**, 245-260. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1976.tb04172.x>
- [6] Marshall, R.O., Dishburger, H.J., Macvicar, R. and Hallmark, G.D. (1953) Studies on the Effect of Aeration on Nitrate Reduction by *Pseudomonas* Species Using N15. *Journal of Bacteriology*, **66**, 254-258.
- [7] 李平, 张山, 刘德立. 细菌好氧反硝化研究进展[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(1): 60-64.
- [8] Joo, H.S., Hirai, M. and Shoda, M. (2005) Characteristics of Ammonium Removal by Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification by *Alcaligenes faecalis*, No. 4. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, **100**, 184-191. <https://doi.org/10.1263/jbb.100.184>
- [9] Padhi, S.K., Tripathy, S., Sen, R., Mahapatra, A.S. and Mohanty, S. (2013) Characterisation of Heterotrophic Nitrifying and Aerobic Denitrifying *Klebsiella pneumoniae*, CF-S9 Strain for Bioremediation of Wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **78**, 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.01.001>
- [10] Zhang, J., Wu, P., Hao, B. and Yu, Z. (2011) Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification by the Bacterium *Pseudomonas stutzeri*, YZN-001. *Bioresourcetechnology*, **102**, 9866-9869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.118>
- [11] 陈茂霞. 异养硝化——好氧反硝化菌的筛选及其特性研究[D]: [硕士学位论文]. 成都: 成都理工大学, 2012.
- [12] Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 第8版. 北京: 科学出版社, 1984.
- [13] 东秀珠, 蔡妙应. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 128-132.
- [14] Suzuki, M.T. and Giovannoni, S.J. (1996) Bias Caused by Template Annealing in the Amplification of Mixtures of 16S rRNA Genes by PCR. *Applied & Environmental Microbiology*, **62**, 625-630.
- [15] Richardson, D.J. and Ferguson, S.J. (1992) The Influence of Carbon Substrate on the Activity of the Periplasmic Nitrate Reductase in Aerobically Grown *Thiosphaera pantotropha*. *Archives of Microbiology*, **157**, 535-537.
- [16] 安健, 宋增福, 杨先乐, 胡鲲, 路怀灯, 余林荣. 好氧反硝化细菌 YX-6 特性及鉴定分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 561-569.
- [17] 张小玲, 张霞. 好氧反硝化菌 *Bacillus* sp. H2 脱氮特性研究[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(10): 53-57.
- [18] 曾庆梅, 司文攻, 李志强, 靳靖, 吴聪, 魏春燕, 黄博英. 一株高效异养硝化菌的选育, 鉴定及其硝化条件[J]. 微生物学报, 2010, 50(6): 803-810.
- [19] Zhao, B., He, Y.L., Huang, J., Taylor, S. and Hughes, J. (2010) Heterotrophic Nitrogen Removal by *Providencia rettgeri* Strain YL. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **37**, 609-616. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0708-7>

**期刊投稿者将享受如下服务：**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[wpt@hanspub.org](mailto:wpt@hanspub.org)