

郭丽芸, 时 飞, 杨柳燕, 等. 好氧反硝化菌处理低浓度含氮污水[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 523–526, 575.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.150

好氧反硝化菌处理低浓度含氮污水

郭丽芸^{1,2}, 时 飞², 杨柳燕², 周国勤¹, 茆建强¹

(1. 南京市水产科学研究所/江苏省水域生态环境微生物修复技术研究中心, 江苏南京 210029;

2. 南京大学环境学院/污染控制与资源化研究国家重点实验室, 江苏南京 210023)

摘要:目前好氧反硝化菌生物脱氮的研究还处于试验阶段, 且主要集中在对高浓度含氮废水的处理方面, 对低浓度含氮污水很难做到深度处理。为解决这一问题, 从富营养化的太湖表层水体中筛选 3 株好氧反硝化菌, 经生理生化性能测定及分子生物学方法鉴定, 分别为施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)、不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)、布鲁氏菌(*Brucella* sp.), 株系分别命名为 T1、N2、ADB-7。当碳氮比为 9、pH 值为 7~9、温度为 30℃、摇床转速为 180 r/min 时, 菌株 ADB-7 的好氧反硝化效率最高。随后研究菌株 T1、N2、ADB-7 对人工生活污水及富营养化湖泊水样的氮素脱除情况。结果表明: 24 h 内菌株 ADB-7 对人工生活污水中硝态氮、氨态氮的去除率分别达 54.32%、83.36%; 菌株 T1、N2 对富营养化湖泊水样硝态氮、氨态氮脱除效果较好, 终浓度分别低于 1.0、0.2 mg/L。由结果可知, 菌株 ADB-7 短期脱氮效果好, 而菌株 T1、N2 脱氮效果持久, 可将 3 种菌制作混合微生物菌剂, 用于环境水体氮素的脱除。

关键词:好氧反硝化; 人工生活污水; 富营养化湖泊; 脱氮; 微生物菌剂

中图分类号: S132; X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0523-04

近年来, 随着社会经济的快速发展, 工业废水及生活污水排放量日益增大, 湖泊水质环境受到不同程度的污染, 富营养化状况严重^[1-2]。水体中的氨态氮、硝态氮都是严重的环境问题, 其中氨态氮对鱼类和其他水生生物具有很强的毒性^[3], 硝态氮能够破坏水生生物的免疫系统^[4]。20 多年来, 我国科研工作者在湖泊富营养化的治理控制及氮素去除技术方面做了深入而广泛的研究, 认为利用硝化-反硝化脱氮是最行之有效、无 2 次污染的技术^[5]。

传统理念认为, 反硝化作用是在无氧或厌氧条件下进行的。20 世纪 80 年代中后期, 首个好氧反硝化菌株的发现开启了人们研究好氧状态下脱氮作用的新领域^[3]。好氧反硝化菌由于具备异养硝化-好氧反硝化能力, 使得硝化、反硝化得以在同一个反应器中进行, 且操作简便、运行成本低; 同时, 反硝化过程释放的碱可以补偿硝化过程中释放的酸, 维持了体系酸碱度稳定, 受到广大研究者的青睐^[6-7]。国内外的专家学者也陆续从自然环境如池塘、底泥、活性污泥等生境中分离出具有好氧反硝化作用的菌株, 如 *Alcaligenes*^[8]、*Pseudomonas*^[9-10]、*Bacillus*^[11]、*Paracoccus*、*Rhodococcus*^[12] 等。

目前国内对于好氧反硝化菌进行生物脱氮的研究基本处于试验的探索阶段^[13-14], 分离得到的好氧反硝化菌菌株多用于对高浓度含氮废水进行脱氮处理^[15], 处理后往往还有一定浓度的氮素残留, 很难做到深度处理。因此, 针对低氮浓度污水进行深度脱氮的研究成为水污染控制工程领域的热点。本研究从富营养化的太湖水体中筛选出好氧条件下能有效脱氮

的菌株, 并在实验室条件下应用该菌株对人工生活污水及富营养化湖泊水体进行模拟脱氮, 以期对富营养化湖泊脱氮的实际应用提供生物材料和理论依据。

1 材料与方法

1.1 培养基及试剂

富集培养基: 100 mmol/L NaNO₃, 2.84 g/L 琥珀酸钠, 0.27 g/L (NH₄)₂SO₄, 1.36 g/L KH₂PO₄, 0.19 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 1 mL/L 微量元素母液^[16], 用去离子水补至相应体积, 调节 pH 值至 7.2, 于 121℃ 灭菌 20 min。

反硝化培养基: 6.77 g/L 柠檬酸三钠, 2.0 g/L KNO₃, 0.2 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 1.0 g/L KH₂PO₄, 2 mL/L 微量元素母液, 用去离子水补至相应体积, 调节 pH 值至 7.0~7.5, 于 121℃ 灭菌 20 min。

溴百里酚蓝(Bromothymol Blue, BTB)琼脂平板: 20 g/L 琼脂, 1 g/L KH₂PO₄, 1 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 0.5 g/L FeCl₂ · 6H₂O, 8.5 g/L 琥珀酸钠, 1 mL/L BTB(1% 溶于乙醇), 用去离子水补至相应体积, 0.15 g/L CaCl₂ 调节 pH 值至 7.0~7.3, 于 121℃ 灭菌 20 min。

半固体 BTB 培养基: 含 10 g/L 琼脂, 其余成分同 BTB 琼脂平板。

人工生活废水: 取校园生活污水, 适当添加不同量的葡萄糖、KNO₃、NH₄Cl 以及微量元素母液^[16] 后作为试验用水。

1.2 好氧反硝化菌的分离

分别于江苏省无锡市太湖梅梁湾、贡湖湾及湖心等水域取表层水样 100 mL, 加入 250 mL 三角烧瓶中, 在磁力恒温搅拌下, 周期性加入少量(0.5 mL/h)富集培养基, 于 30℃ 富集培养 24 h 后取 1 mL, 分别稀释至 10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸、10⁻⁹ 浓度梯度, 再分别涂布 BTB 平板。由于反硝化是产碱过程, 可使酸碱指示剂 BTB 变蓝, 因此待

收稿日期: 2015-07-23

基金项目: 江苏省水产三新工程(编号: D2014-1); 国家重大水环境专项(编号: 2012ZX07101-006)。

作者简介: 郭丽芸(1981—), 女, 山东沂水人, 博士, 助理研究员, 研究方向为环境微生物与资源利用。E-mail: lyguo801@163.com。

长出单菌落后,挑取边界清晰、形态差异明显的蓝色单菌落,穿刺接种至半固体 BTB 培养基,选取培养基顶部颜色变蓝且培养基中有气泡产生(反硝化产物 N_2 、NO 或 N_2O)或培养基发生破裂的菌株为好氧反硝化阳性菌株。挑选好氧反硝化速率最高的 3 株菌,分别命名为 T1、N2、ADB-7。

1.3 菌株的形态学观察

对菌株 T1、N2、ADB-7 进行革兰氏染色,用光学显微镜及扫描电镜观察细胞形态,观察菌株是否形成菌膜、菌环,是否有运动性等,并观察菌落形态。

1.4 菌株的分子生物学鉴定

以菌株 T1、N2、ADB-7 的基因组 DNA 为模板,采用细菌通用引物 27F(5'-AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG-3')、1492R(5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')扩增 16S rDNA 序列。反应条件:94 ℃ 5 min;94 ℃ 50 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 90 s,共 30 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 产物经纯化后由生工生物工程(上海)股份有限公司测序,测序结果通过 GenBank BLAST 进行比对,并用 MEGA 4^[17] 软件构建系统进化树。

1.5 菌株生长曲线的测定

取培养 16 h 的菌悬液于 8 000 r/min 离心 2 min,用灭菌水洗 2 次后进行接种。250 mL 三角瓶装 100 mL 反硝化培养基,以 1% 接种量于 30 ℃、180 r/min 恒温振荡培养,每 2 h 取样,测定菌体生物量($D_{600\text{ nm}}$),绘制生长曲线。

1.6 不同条件对菌株 ADB-7 好氧反硝化能力的影响

以菌株 ADB-7 为代表菌株,采用 250 mL 三角瓶作为反应容器,在恒温摇床条件下分别测定不同 pH 值、温度、碳氮比(C/N)和溶解氧条件下菌株对反硝化培养基氮素的脱除效果。为控制溶解氧的不同,pH 值分别取 5、7、9,温度分别设为 20、30、37 ℃,搅拌器转速分别设为 100、120、180 r/min。分别在碳氮比为 3、6、9 时,测定菌株反硝化作用的强度。

1.7 菌株低浓度氮素去除试验

配制人工生活污水,使硝态氮、氨态氮浓度各为 25 ~ 30 mg/L。试验装置如图 1 所示,反应器容积为 5 L,试验在室温下进行。取培养 16 h 的菌悬液 1 000 mL,按上述方法离心后加入水样中,进水后启动搅拌装置进行有氧反应 23 h,静止沉降 1 h 后排水,取样并测定硝态氮、氨态氮的含量。

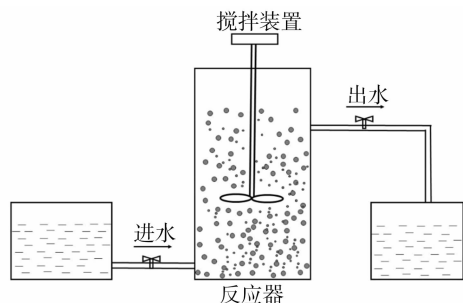


图1 试验装置示意

1.8 富营养化湖水氮素去除试验

将取自江苏省无锡市太湖梅梁湾水样过滤、去除杂质后,加入到上述反应器中。每隔 1 个反应周期(23 h 反应 + 1 h 沉降)取样,测定各形态氮的含量。

1.9 检测方法

水样经 0.45 μm 滤膜过滤后进行硝态氮、氨态氮含量的

测定,硝态氮采用紫外分光光度法测定;氨态氮采用纳氏试剂光度法测定。

2 结果与分析

2.1 好氧反硝化菌的分离

经过富集培养、BTB 平板涂布共获取 48 株具有好氧反硝化能力的菌株。经半固体 BTB 穿刺培养复筛后选取如图 2 中间试管的,培养基顶部变蓝(产碱)且有气泡产生(产气)的菌株为阳性菌株^[18],其中菌株 T1、N2、ADB-7 在较短时间内具有较强的反硝化作用。

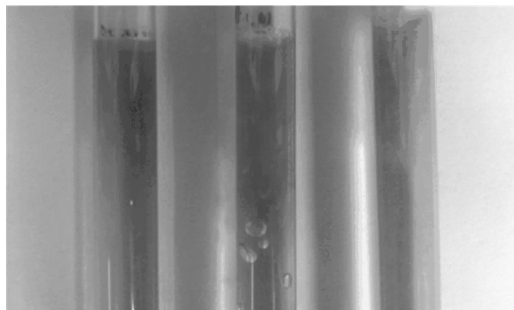


图2 半固体 BTB 穿刺培养复筛好氧反硝化菌结果

2.2 好氧反硝化菌的的形态学观察

由图 3 可知,3 个菌株均为无芽孢、无鞭毛的杆状细菌,为革兰氏阳性;菌落呈乳白色或鹅黄色、不透明圆形。其他细胞形态和菌落形态具体指标见表 1。

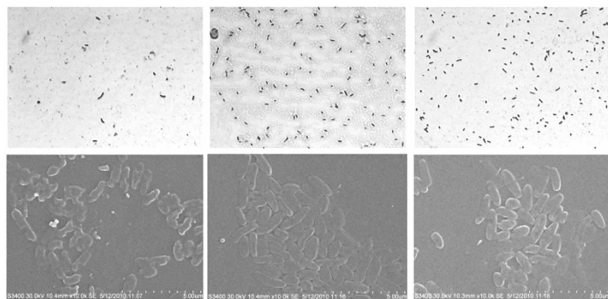


图3 菌株 T1、N2、ADB-7 的革兰氏染色及扫描电镜结果

2.3 菌株的分子生物学鉴定

菌株 T1、N2、ADB-7 的总 DNA 经 PCR 扩增后得到 16S rDNA 序列(GenBank 登录号分别为 HQ634260、KC782856、KC782857)。序列经在线 BLAST,与 GenBank 中的施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)(登录号 AB096261)、不动杆菌(*Acinetobacter* sp.) 2C48(登录号 JN228306)、布鲁氏菌(*Brucella* sp.) DMA(登录号 DQ513323) 16S rDNA 序列有 99% ~ 100% 相似性。由图 4 可知,3 株菌分别为 *Pseudomonas stutzeri* strain T1、*Acinetobacter* sp. strain N2、*Brucella* sp. strain ADB-7。

2.4 菌株的生长曲线

如图 5 所示,菌株 N2、ADB-7 生长曲线差异不大,0 ~ 6 h 一直处于生长平缓期,该菌株对于此培养基需要较长的适应时间;在 6 ~ 24 h 处于菌株的对数生长期,此时菌株数量明显增加;26 ~ 30 h,菌株处于生长稳定期,能够达到稳定地生长;此后培养基的营养成分耗尽,菌体进入衰亡期。菌株 T1 的生物量较同时期的菌株 N2、ADB-7 高,且培养 4 h 后菌株即进入对数生长期,菌体量增长迅速,18 h 左右达到平稳期,24 h

表 1 菌株 T1、N2、ADB-7 的菌落形态及菌体生理生化与形态特征

菌株	菌落形态						菌体生理生化与形态特征					
	颜色	大小	形状	边缘	透明度	有无褶皱	是否易挑起	革兰氏染色结果	形状	大小	鞭毛染色结果	荚膜染色结果
T1	乳白	较小	圆形	规则	不透明	-	+	G ⁺	杆状	(0.5~0.8) μm × (1.2~1.7) μm	-	-
N2	鹅黄	较大	圆形	不规则	不透明	+	+	G ⁺	杆状	(0.5~0.8) μm × (1.0~2.4) μm	-	-
ADB-7	鹅黄	较大	圆形	不规则	不透明	+	-	G ⁺	杆状	(0.5~0.6) μm × (1.0~2.0) μm	-	-

注：“+”表示阳性；“-”表示阴性。

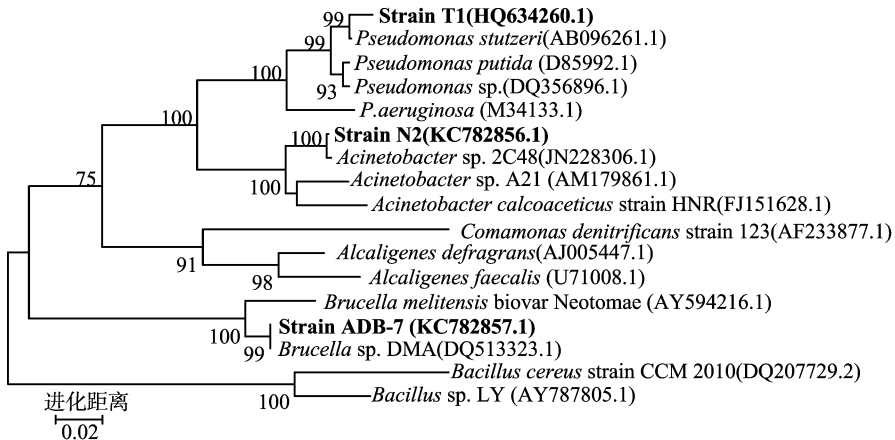


图4 NJ法构建的 16S rDNA 系统进化树

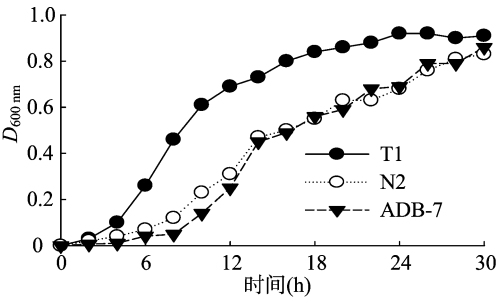


图5 菌株 T1、N2 和 ADB-7 的生长曲线

后营养成分耗尽,菌体大量死亡。

2.5 不同条件对好氧反硝化效率的影响

由于菌株 ADB-7 前期脱氮效率较高,因此测定不同条件对该菌株反硝化作用的影响试验。由图 6-a 可见,碳氮比对菌株的好氧反硝化效率具有较大影响,碳氮比越高,好氧反硝化效率越高,这是由于该菌株为异养微生物,需要外界环境为其提供有机物以维持菌体自身生长和代谢^[7];当碳氮比为 9 时,菌体脱氮效果良好。酸碱度也是影响好氧反硝化菌进行反硝化作用的 1 个重要影响因素^[7]。由图 6-b 可见,在中性(pH 值=7)、碱性(pH 值=9)环境下,菌株 ADB-7 的反硝化作用明显强于酸性条件。此外,温度对菌株的好氧反硝化作用也有明显影响,温度高于 30℃时,菌株的好氧反硝化作用明显增强,详见图 6-c。但是,由于 30、37℃条件下二者效果相差不大,且考虑到环境中的实际温度除夏季外很少达到 37℃,因此本研究将 30℃定为最适温度,用于后续的研究。由图 6-d 可见,通过控制摇床转速来控制反应器的溶解氧含量,结果发现在摇床转速为 180 r/min 时,菌株反硝化速率较高,说明该菌株为好氧反硝化菌株,其反硝化作用酶系不受氧气抑制。

2.6 人工生活废水的氮素去除效果

由表 2 可见,有氧反应 24 h 后,水体的氮素浓度均有明显下降,菌株对于硝态氮的去除率为 35%~54%,而对于氨态氮的去除率则更高,达到 61%~83%,这是因为微生物会优先利用氨态氮而非其他形态氮素构建生物量^[19-20]。乔楠等通过研究好氧反硝化菌菌株 H1 对硝态氮、氨态氮的利用情况认为,在碳源充足的情况下,菌株优先利用氨态氮,而对硝态氮的利用不显著或明显滞后^[21]。因此,菌株 ADB-7 对硝态氮的去除效率仍有提高空间,菌株 ADB-7 对硝态氮、氨态氮的去除效率均较其他 2 种菌株高。

2.7 富营养化湖泊水样模拟脱氮试验

由图 7 可见,菌株对水体的硝氮确实存在还原作用。在前 60 h,菌株 ADB-7 去除硝态氮、氨态氮的效率均高于菌株 T1、N2,说明菌株 ADB-7 具有快速脱氮的效果,这与人工生活废水的氮素去除试验结果(24 h 内)一致;同时可见,菌株 ADB-7 对于硝态氮的利用率较高,而对于氨态氮的利用率较低,说明菌株 ADB-7 用于构建生物量的氮素并不多^[19-20],因此其生物量的增加并没有菌株 T1、N2 幅度大(图 5)。在 60 h 后,菌株 T1、N2 的脱氮效果明显增强,且强于菌株 ADB-7,硝态氮、氨态氮的终浓度维持在较低水平,分别低于 1.0、0.2 mg/L。因此,菌株 ADB-7 快速脱氮效果较好,而菌株 T1、N2 的脱氮持久性较好,可考虑将三者按照不同比例做成高效脱氮菌剂,用于环境水体的脱氮处理。

3 结论

从自然水体中分离纯化得到 3 株好氧反硝化菌菌株,经鉴定后分别命名为 *Pseudomonas stutzeri* strain T1、*Acinetobacter* sp. strain N2、*Brucella* sp. strain ADB-7。通过单一因素控制法,得出菌株 ADB-7 在中性偏碱(pH 值为 7~9)、较高温度

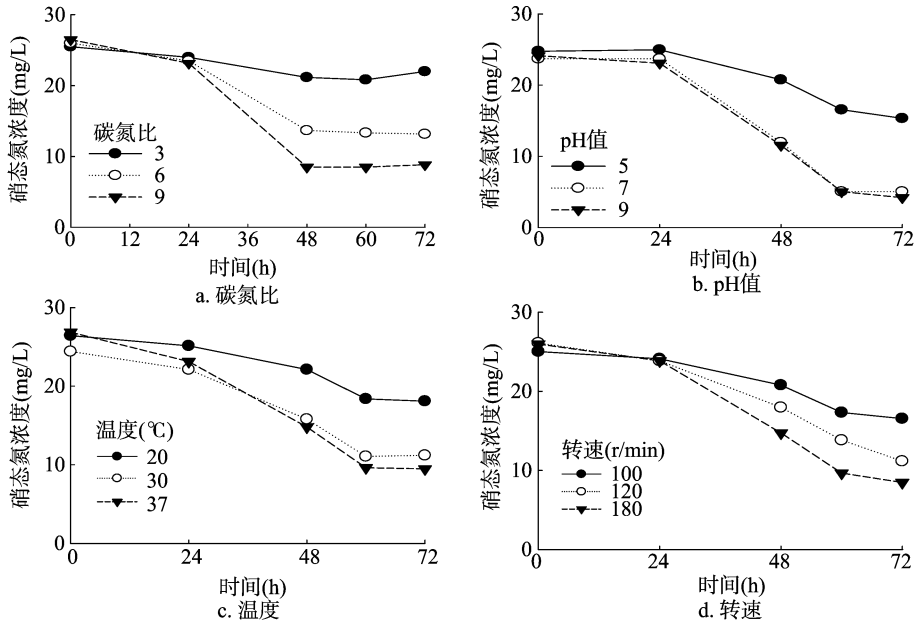


图6 不同碳氮比、pH值、温度和转速对好氧反硝化效率的影响

表 2 好氧反硝化菌株处理低浓度含氮污水的氮去除效率

菌株	硝态氮			氨态氮		
	初始浓度 (mg/L)	终浓度 (mg/L)	去除率 (%)	初始浓度 (mg/L)	终浓度 (mg/L)	去除率 (%)
T1	28.60	15.96	44.19	25.45	6.39	74.90
N2	25.28	16.28	35.40	26.73	10.29	61.50
ADB-7	25.91	11.83	54.32	29.03	4.83	83.36

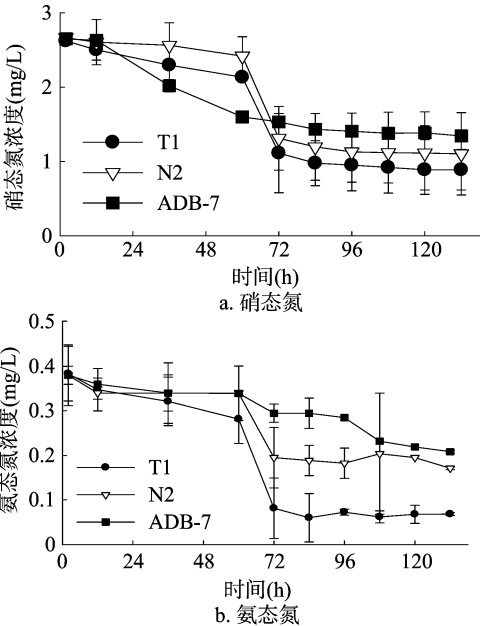


图7 富营养化湖泊水样模拟脱氮情况

(30 ℃)、碳源充足(碳氮比为9)和一定的溶氧量(摇床转速180 r/min)条件下,菌株的氮还原能力达到最优。3株菌均可在好氧条件下对人工生活污水和富营养化湖泊水样进行硝态氮和氨态氮的脱除。菌株 ADB-7 具有快速脱氮的特点,而菌株 T1、N2 则可持久脱氮。可将3个菌株混合制作微生物制剂,用于富营养化湖泊的氮素控制。

参考文献:

[1] 秦伯强. 长江中下游湖泊富营养化发生机制与控制对策[J]. 中国科学院院刊,2007,22(6):503-505.

[2] Lunau M, Voss M, Erickson M, et al. Excess nitrate loads to coastal waters reduces nitrate removal efficiency; mechanism and implications for coastal eutrophication[J]. Environmental Microbiology, 2013, 15(5):1492-1504.

[3] Šiljeg M, Foglar L, Kukucka M. The ground water ammonium sorption onto Croatian and Serbian clinoptilolite[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 178(1/2/3):572-577.

[4] Grguric G, Wetmore S S, Fournier R W. Biological denitrification in a closed seawater system[J]. Chemosphere, 2000, 40(5):549-555.

[5] Zhu L, Ding W, Feng L J, et al. Characteristics of an aerobic denitrifier that utilizes ammonium and nitrate simultaneously under the oligotrophic niche[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2012, 19(8):3185-3191.

[6] 杨基先, 高珊珊, 马放, 等. 一株好氧反硝化细菌的分离鉴定及反硝化能力[J]. 环境科学学报, 2008, 28(7):1302-1307.

[7] Zhang Q L, Liu Y, Ai G M, et al. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. Bioresource Technology, 2012, 108:35-44.

[8] 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.

[9] Diep C N, Cam P M, Vung N H, et al. Isolation of *pseudomonas stutzeri* in wastewater of catfish fish-ponds in the Mekong delta and its application for wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(16):3787-3791.

[10] Su J J, Liu B Y, Liu C Y. Comparison of aerobic denitrification under high Oxygen atmosphere by *Thiosphaera pantotropa* ATCC 35512 and *Pseudomonas stutzeri* SU2 newly isolated from the activated sludge of a piggery wastewater treatment system[J]. Journal of Applied Microbiology, 2001, 90(3):457-462.

考核经济增长速度与经济总量,也要考核经济增长所付出的资源环境代价。

具体到增减挂钩中考核,可继续依据挂钩周转指标对建新地块面积、整理复垦耕地面积进行考核,还应增加对增减挂钩规划的科学性、整理复垦耕地的质量、农民权益保障程度、城乡用地结构和布局优化情况进行考核。

3.4 完善增减挂钩中地方政府行为约束机制

首先,完善增减挂钩程序,减少地方政府的自由裁量权。为此,需要细化专项调查、增减挂钩规划编制、安置区建设、拆迁补偿、整理复垦、挂钩指标出让等增减挂钩各个环节的具体步骤,并明确各个步骤的要求。同时,增减挂钩整个过程信息都应及时向社会公开,以接受社会的监督。其次,完善地方政府行为的监督机制。不仅需要继续发挥上级国土部门的监督作用,更重要的是建立农民监督渠道,保障农民的知情权、参与权及监督权,充分发挥农民对地方政府行为的监督作用。监督重点包括地方政府有无强迫农民参与挂钩、挂钩指标费用有没有及时足额支付、安置居住点的配套设施有没有及时高质量建设完成、有没有突破挂钩规模等。再次,健全责任追究机制。归纳增减挂钩中违法违规行为的种类,明确各种违法违规行为所受到的惩罚,这种惩罚不仅包括对集体的惩罚,也应包括对相关责任人的惩罚,以增加违法违规行为的成本。

参考文献:

- [1] 易小燕,陈印军,肖碧林,等. 城乡建设用地增减挂钩运行中出现的主要问题与建议[J]. 中国农业资源与区划,2011(1):10-13,23.
- [2] 王权典,吴次芳. 城乡统筹视阈中建设用地增减挂钩“土地新政”之法治检讨[J]. 社会科学战线,2013(5):183-192.
- [3] 韩梅,桂徐雄. 城乡建设用地增减挂钩政策的观察与思考[J]. 当代经济研究,2013(8):44-48.
- [4] 李海梅. 城乡建设用地增减挂钩政策实施的异化风险及预防[J]. 中州学刊,2013(1):39-42.
- [5] 张飞,孔伟. 城乡建设用地增减挂钩政策异化背后的地方政府行为机理[J]. 国土资源科技管理,2015,32(1):45-50.
- [6] 王振波,方创琳,王婧. 城乡建设用地增减挂钩政策观察与思考[J]. 中国人口·资源与环境,2012(1):96-102.
- [7] 任平,周介铭. 城乡建设用地“增减挂钩”制度评价与研究展望[J]. 中国农学通报,2013,29(5):97-102.
- [8] 李元珍. 央地关系视阈下的软政策执行——基于成都市L区土地增减挂钩试点政策的实践分析[J]. 公共管理学报,2013,10(3):14-21.
- [9] 谭明智. 严控与激励并存:土地增减挂钩的政策脉络及地方实施[J]. 中国社会科学,2014(7):125-142.
- [10] 吴长青,张再生,蔡为民. 城乡建设用地增减挂钩区农户满意度的IPA分析——以天津市华明镇为例[J]. 东北大学学报:社会科学版,2012,15(2):175-181.
- [11] 周铁刚,郭青霞,任玉鹏,等. 基于增减挂钩的山西省河津市农户搬迁意愿影响因素研究[J]. 山西农业大学学报:自然科学版,2013,33(3):244-249.
- [12] 杨伟,谢德体,庄伟,等. 增减挂钩项目中的农户应答及其影响因素研究——以重庆市九龙坡区为例[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2014,39(1):74-80.
- [13] 肖轶,尹珂. 农户参与城乡建设用地增减挂钩的意愿研究——基于重庆市江津区的380户农户调查数据[J]. 中国农学通报,2015,31(7):267-271.
- [14] 陈美球,马文娜. 城乡建设用地增减挂钩中农民利益保障对策研究——基于江西省《“增减挂钩”试点农民利益保障》专题调研[J]. 中国土地科学,2012(10):9-14.
- [15] 谭林丽,刘锐. 城乡建设用地增减挂钩:政策性质及实践逻辑[J]. 南京农业大学学报:社会科学版,2014,14(5):76-83.
- [16] 严苏桐. 城乡建设用地增减挂钩政策利弊分析[J]. 人民论坛,2014(26):150-152.
- [17] 汪晖,王兰兰,陶然. 土地发展权转移与交易的中国地方试验——背景、模式、挑战与突破[J]. 城市规划,2011,35(7):9-13,19.
- [18] 刘守英,周飞舟,邵挺. 土地制度改革与转变发展方式[M]. 北京:中国发展出版社,2012.
- [11] 李兵,林伟铁. 1株好氧反硝化芽孢杆菌的脱氮特性研究[J]. 水生态学杂志,2009,2(3):48-52.
- [12] 郭丽芸,时飞,杨柳燕. 反硝化菌功能基因及其分子生态学研究进展[J]. 微生物学通报,2011,38(4):583-590.
- [13] 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.
- [14] 于大禹,张琳颖,高波. 异养硝化-好氧反硝化菌异养硝化性能的影响因素[J]. 化工进展,2012,31(12):2797-2800.
- [15] 何先富,高秀花,候祥宁. 高浓度氨氮废水好氧反硝化反应的基本条件[J]. 油气田环境保护,2012,22(1):21-25.
- [16] 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.
- [17] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8):1596-1599.
- [18] Bonin P, Tamburini C, Michotey V. Determination of the bacterial processes which are sources of nitrous oxide production in marine samples[J]. Water Research, 2002, 36(3):722-732.
- [19] Guo L, Chen Q, Fang F, et al. Application potential of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier for nitrate and ammonium removal of eutrophic lake water[J]. Bioresource Technology, 2013, 142(4):45-51.
- [20] Kim M, Jeong S Y, Yoon S J, et al. Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N ratios[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(5):498-502.
- [21] 乔楠,刘文超,张贺,等. 一株好氧反硝化菌的异养硝化及脱氮性能[J]. 化工进展,2010,29(4):767-771.

(上接第526页)