

一株养殖水体中亚硝酸盐去除菌的鉴定及其去除条件

王会聪^{1△} 曹海鹏^{1△} 何珊² 杨先乐^{1*}

(1. 上海海洋大学 国家水生动物病原库 上海 201306)

(2. 上海师范大学 教育学院 上海 200234)

摘要:【目的】从养殖污泥中分离筛选优良亚硝酸盐去除菌, 并对其去除条件进行研究。

【方法】从养殖污泥中分离亚硝酸盐去除菌, 进一步通过测定比较分离菌株对亚硝酸盐的去除率, 筛选优良的亚硝酸盐去除菌, 通过 API ID32GN 细菌鉴定系统以及 16S rDNA 序列分析法对其进行鉴定, 并采用单因子法研究其去除亚硝酸盐的条件。【结果】从养殖污泥中分离筛选了一株优良的亚硝酸盐去除菌 AQ-3, 其对 50 mg/L 亚硝酸盐的去除率高达 99.47%。菌株 AQ-3 被鉴定为鲍曼氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*) (GenBank 登录号: JF751054.1), 其 16S rDNA 序列与基因库中不动杆菌属菌株的 16S rDNA 序列有 99%–100% 的同源性, 而且与鲍曼氏不动杆菌 KF714 株(GenBank 登录号: AB109775)的亲缘关系最近。菌株 AQ-3 去除亚硝酸盐的最适初始 pH 范围为 7–9, 最佳碳源为乙酸钠和丁二酸钠, 而且随着初始菌浓度的不断增大, 菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率显著升高; 随着亚硝酸盐浓度的不断增大, 菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率逐渐降低。【结论】在丰富亚硝酸盐去除菌种质资源的同时, 为该菌在养殖水体中的实际应用提供了理论基础。

关键词: 亚硝酸盐, 鲍曼氏不动杆菌, 鉴定, 去除条件

Identification and removal condition of a nitrite removing bacterium from aquaculture sediment

WANG Hui-Cong^{1△} CAO Hai-Peng^{1△} HE Shan² YANG Xian-Le^{1*}

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2011AA10A216); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(No. CARS-46); 上海海洋大学科教奖励基金

*通讯作者: Tel: 86-21-61900453; 信箱: xlyang@shou.edu.cn

△ 共同第一作者

收稿日期: 2011-08-16; 接受日期: 2011-09-28

- (1. National Collection Center for Aquatic Pathogens, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)
(2. College of Education, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: [Objective] The aim of the present study was to isolate and screen potential nitrite removal bacteria, and examined the nitrite removal conditions. **[Methods]** Nitrite removal bacteria were first isolated from the aquaculture sediment, and the potential nitrite removal isolate was further screened through the nitrite removal rate comparison, identified using API ID32GN bacterial identification system and 16S rDNA sequence analysis, and its nitrite removal conditions were studied using single factor method. **[Results]** A potential nitrite removal bacterium AQ-3 was isolated and screened from the aquaculture sediment, its removal rate to 50 mg/L nitrite was 99.47%. Strain AQ-3 was identified as *Acinetobacter baumannii* (GenBank accession number: JF751054.1). Its 16S rDNA sequence had homology of 99%–100% with those of *Acinetobacter* sp. strains submitted to GenBank, and showed the most close relative to *Acinetobacter baumannii* strain KF714 (GenBank accession number: AB109775). The optimum initial pH range for the nitrite removal of strain AQ-3 was from 7 to 9, and the optimum carbon sources for its nitrite removal were sodium acetate and sodium succinate. In addition, the nitrite removal rates of strain AQ-3 were gradually rising with the increase of its initial bacterial concentrations, and the nitrite removal rates were gradually reduced with the increase of nitrite content. **[Conclusion]** The present study enriched the resources of nitrite removal bacteria and provide scientific basis to the practical use of strain AQ-3 in aquaculture.

Keywords: Nitrite, *Acinetobacter baumannii*, Identification, Removal characteristics

近年来,随着我国集约化水产养殖的快速发展,池塘老化、放养密度过高、投饲残饵过多等诸多因素引起养殖水体中亚硝酸盐普遍超标,严重抑制了水产养殖产量的增长和水产贸易的发展。据报道,亚硝酸盐超标能够使水产养殖动物抗病力降低,已经成为诱发水产养殖动物爆发性疾病的重要因素^[1]。当水中亚硝酸盐浓度积累到 0.1 mg/L 后,亚硝酸盐便会通过鳃和体表进入水产养殖动物的血液,进而与血液中的携氧蛋白结合使之失去携氧能力而导致水产养殖动物产生摄食量下降、呼吸困难、鳃损伤、浮头等病症^[2]。因此,如何控制水体中亚硝酸盐污染无疑成为集约化水产养殖成功的关键措施之一。目前,养殖管理中去除亚硝酸盐的主要方法有物理法、化学法和生物法,其中生物法以其更有效、价格更低廉等优点深受广大养殖户的青睐^[3]。许多研究表明,假单

胞菌(*Pseudomonas* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、乳杆菌(*Lactobacillus* sp.)、片球菌(*Pediococcus* sp.)、肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)等细菌对亚硝酸盐均表现出良好的去除效果^[4-9],但关于养殖水体中具有去除亚硝酸盐活性的不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)的专门研究却鲜有报道。本实验从养殖污泥中分离筛选了一株对亚硝酸盐具有良好去除效果的菌株 AQ-3,对其进行了生理生化鉴定和 16S rDNA 系统发育分析,并对其去除亚硝酸盐的条件进行了初步研究,旨在丰富亚硝酸盐去除菌种质资源的同时,为该菌在养殖水体中的实际应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

养殖污泥,采集于上海青浦现代农业园区;

普通营养琼脂培养基, 购于国药集团(上海)化学试剂有限公司; 溴百里酚蓝(BTB)培养基(g/L)^[10]: 天冬酰胺酸 1.00, KNO₃ 1.00, KH₂PO₄ 1.00, FeCl₂·6H₂O 0.05, CaCl₂·2H₂O 0.20, MgSO₄·7H₂O 1.00, BTB 1.00, 琼脂 20.00, pH 7.0, 蒸馏水; 亚硝酸盐去除测定培养基(g/L)^[11]: 丁二酸钠 4.72, NaNO₂ 0.05, KH₂PO₄ 1.50, MgSO₄·7H₂O 1.00, Na₂HPO₄ 0.42, pH 7.0, 蒸馏水。以上培养基均在 1×10⁵ Pa 灭菌 20 min, 4 °C 保存备用。

1.2 亚硝酸盐去除菌的分离、纯化及筛选

参照熊焰等^[5]的方法。将 10 g 污泥样品溶于 100 mL 无菌生理盐水中, 于 30 °C 条件下温育过夜后采用稀释涂布平板法于 BTB 培养基平板上进行亚硝酸盐去除菌的分离与纯化, 然后挑取分离菌株的单个菌落用生理盐水制成终浓度为 5.0×10⁸ CFU/mL 的菌悬液, 以 2%接种量接种于亚硝酸盐去除测定培养基中, 同时以空白硝酸盐去除测定培养基作为对照, 于 30 °C、150 r/min 条件下摇床振荡培养 48 h 后参照邵晴等^[12]的方法采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定各实验组中的亚硝酸盐含量(N_E)和空白对照组中的亚硝酸盐含量(N_C), 根据以下公式计算各分离菌株对亚硝酸盐的去除率(R), 并对亚硝酸盐去除能力最强的菌株进行鉴定。

$$R = \frac{N_C - N_E}{N_C} \times 100\%$$

1.3 亚硝酸盐去除菌的鉴定

1.3.1 生理生化鉴定: 参照宋增福等^[13]的方法, 用 API ID32GN 细菌鉴定系统对分离菌株进行生理生化鉴定; 同时将分离菌株进行革兰氏染色, 并进行扫描电镜观察。

1.3.2 分子鉴定: 以分离菌株的基因组 DNA 为模板, 对其 16S rDNA 进行 PCR 扩增, 其中正向引物为 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 反向引物为 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGAC

TT-3'。PCR 的扩增条件为: 94 °C 3 min; 94 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 1 min, 共 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物的纯化与测序由上海生物工程技术有限公司完成。将测得序列用 DNAMAN 软件编辑后, 在美国国立生物技术信息中心(NCBI)中利用 BLASTn 软件与 GenBank 基因库中已知的 16S rDNA 序列进行同源性比较, 选取同源性较高的序列并利用软件 BioEdit 7.0 和 MEGA 4.0 进行多重比较后通过邻接法构建系统发育树。

1.4 不同因素对亚硝酸盐去除效果的影响

1.4.1 pH 对去除亚硝酸盐效果的影响: 将终浓度为 5.0×10⁸ CFU/mL 的分离菌株菌悬液以 2%接种量接种于初始 pH 分别为 5、6、7、8、9、10、11 的亚硝酸盐去除测定培养基中, 然后于 30 °C、150 r/min [$\rho(\text{DO})=5 \text{ mg/L}$ ^[14]]条件下摇床振荡培养 48 h 后测定分离菌株对亚硝酸盐的去除率。

1.4.2 初始菌浓度对去除亚硝酸盐效果的影响: 将终浓度分别为 5.0×10⁴、5.0×10⁵、5.0×10⁶、5.0×10⁷、5.0×10⁸ CFU/mL 的分离菌株菌悬液以 2%接种量接种于亚硝酸盐去除测定培养基中, 然后于 30 °C、150 r/min [$\rho(\text{DO})=5 \text{ mg/L}$ ^[14]]条件下摇床振荡培养 48 h 后测定分离菌株对亚硝酸盐的去除率。

1.4.3 碳源种类对去除亚硝酸盐效果的影响: 分别以相同含碳量的酒石酸锑钾、乙酸钠、蔗糖、葡萄糖、柠檬酸钠代替亚硝酸盐去除测定培养基中的丁二酸钠, 然后将终浓度为 5.0×10⁸ CFU/mL 的分离菌株菌悬液以 2%接种量接种于含不同碳源的亚硝酸盐去除测定培养基中, 并于 30 °C、150 r/min [$\rho(\text{DO})=5 \text{ mg/L}$ ^[14]]条件下摇床振荡培养 48 h 后测定分离菌株对亚硝酸盐的去除率。

1.4.4 亚硝酸盐氮浓度对去除亚硝酸盐效果的影响: 将终浓度为 5.0×10⁸ CFU/mL 的分离菌株

菌悬液以 2% 接种量接种于亚硝酸盐氮浓度分别为 10、20、40、80、160、320 mg/L 的亚硝酸盐去除测定培养基中,然后于 30 °C、150 r/min [$\rho(\text{DO})=5 \text{ mg/L}^{[14]}$]条件下摇床振荡培养 48 h 后测定分离菌株对亚硝酸盐的去除率。

2 实验结果

2.1 菌株的分离与鉴定

从养殖污泥中分离了 18 株亚硝酸盐去除菌,通过进一步测定比较其对亚硝酸盐的去除率,最终筛选出一株对亚硝酸盐具有良好去除效果的菌株,暂命名为 AQ-3,其在终浓度为 $1.0 \times 10^7 \text{ CFU/mL}$ 时对 50 mg/L 亚硝酸盐的去除率为 99.47%。菌株 AQ-3 革兰氏染色阴性,呈球杆状(图 1),在 BTB 培养基上形成的菌落特征为:圆形,蓝色,中央隆起,边缘整齐。API ID32GN 细菌鉴定系统对菌株 AQ-3 的生理生化鉴定结果表明(表 1),菌株 AQ-3 为鲍曼氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*),鉴定结果的可信度为 99.4%。此外,通过对菌株 AQ-3 的 16S rDNA 进行 PCR 扩增,获得了 1 400 bp 大小的片段,其在 GenBank 上的登录号为 JF751054.1。通过 NCBI 网站中的 BLASTn 软件对菌株 AQ-3 的 16S rDNA 序列与基因库中已知菌株的 16S rDNA 序列进行了同源性比较,结果表明菌株 AQ-3 的 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中不动杆菌属菌株的 16S rDNA 序列有 99%–100% 的同源性,通过邻接法构建的基于菌株 AQ-3 16S rDNA 序列的系统发育树结果(图 2)进一步可以看出,菌株 AQ-3 与鲍曼氏不动杆菌 KF714 株(GenBank 登录号:AB109775)的亲缘关系最近。结合传统的生理生化鉴定以及 16S rDNA 序列系统发育分析的结果,判定菌株 AQ-3 为鲍曼氏不动杆菌

(*Acinetobacter baumannii*)。

2.2 pH 对去除亚硝酸盐效果的影响

图 3 实验结果表明,菌株 AQ-3 去除亚硝酸盐的最适初始 pH 范围为 7–9。当初始 pH 范围为 5–7 时,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率随着 pH 的升高而增加;当初始 pH 范围为 7–9 时,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率没有显著变化($P>0.05$),其对亚硝酸盐的去除率仍保持在 99% 以上。然而,当初始 pH 范围为 9–11 时,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率随着 pH 的升高而显著降低($P<0.05$)。

2.3 初始菌浓度对去除亚硝酸盐效果的影响

如图 4 所示,实验结果表明,随着初始菌浓度的不断增大,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率显著升高。具体表现在:当初始菌浓度对数值范围为 4.7–6.7 时,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率范围仅为 54.83%–78.76%;当初始菌浓度对数值范围为 7.7–8.7 时,菌株 AQ-3 对亚硝酸盐的去除率均高于 91%,表现出良好的去除亚硝酸盐效果。

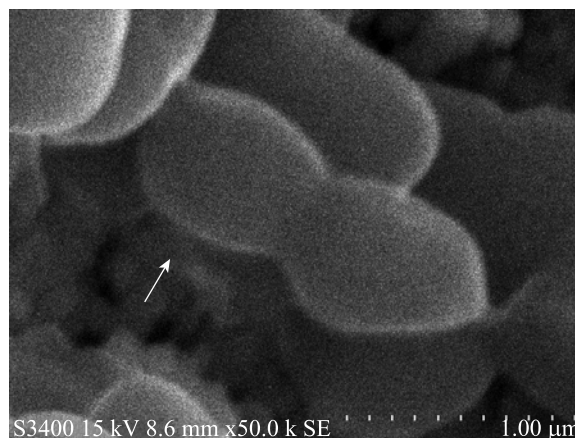


图 1 扫描电镜下菌株 AQ-3 的形态

Fig. 1 The morphological character of strain AQ-3 under scanning electron microscope

表 1 API ID32GN 细菌鉴定系统鉴定的菌株 AQ-3 的生理生化特征					
Table 1 Physiological and biological characteristics of strain AQ-3 by API ID32GN bacterial identification system					
鉴定项目	结果	鉴定项目	结果	鉴定项目	结果
Identification item	Result	Identification item	Result	Identification item	Result
鼠李糖 Rhamnose	-	麦芽糖 Maltose	-	DL-乳酸盐 DL-Lactate	+
甘露醇 Mannite	-	D-山梨醇 D-Sorbitol	-	柠檬酸盐 Citrate	-
N-乙酰葡萄糖胺	-	衣康糖 Itaconic sugar	-	L-丙氨酸 L-Alanine	+
N-acetylglucosamine	-	L-阿拉伯糖 L-Arabinose	+	组氨酸 Histidine	+
D-葡萄糖 D-Glucose	+	辛二酸盐 Suberate	+	5'-酮基葡萄糖酸盐 5'-Ketogluconate	-
D-核糖 D-Ribose	+	丙二酸盐 Malonate	-	2'-酮基葡萄糖酸盐 2'-Ketogluconate	-
水杨素 Salicin	-	癩酸盐 Caprate	+	3-羟基苯甲酸盐 3-Hydroxybenzoate	-
肌醇 Inositol	-	乙酸盐 Acetate	+	4-羟基苯甲酸盐 4-Hydroxybenzoate	-
D-密二糖 D-Melibiose	-	戊酸盐 Valerate	+	L-丝氨酸 L-Serine	+
蔗糖 Sucrose	-	糖原 Glycogen	-	L-脯氨酸 L-Proline	+
L-岩藻糖 L-Fucose	-	3-羟基丁酸盐 3-Hydroxybutyrate	+		
丙酸盐 Propionate	+				

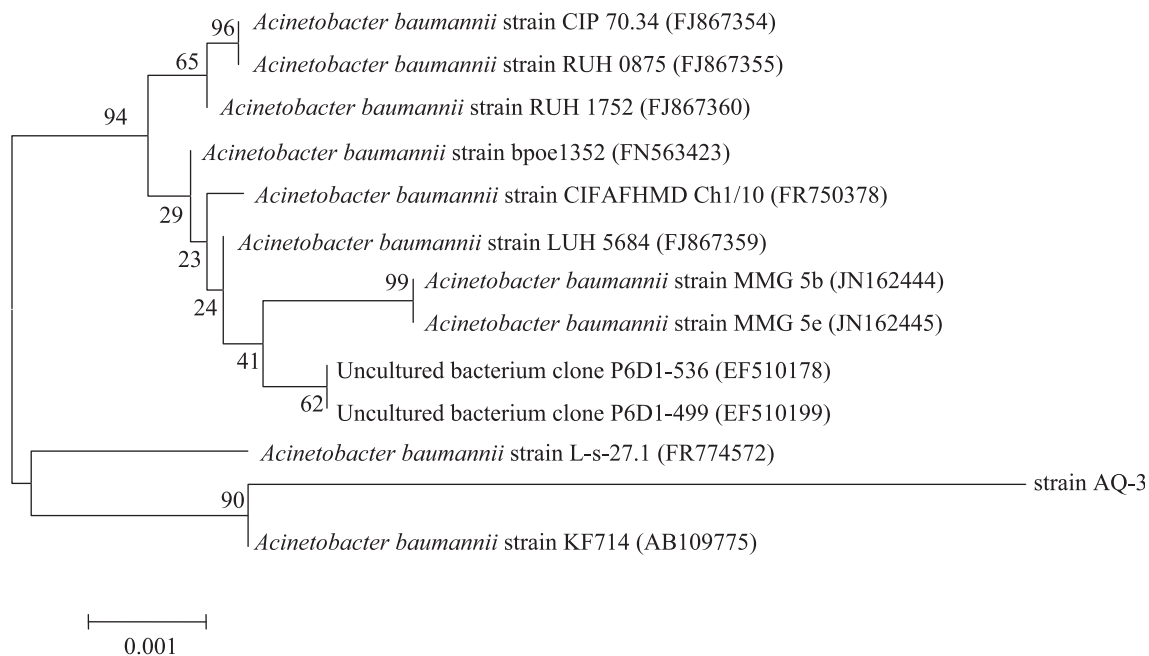


图 2 通过邻接法构建的基于菌株 AQ-3 及相关菌株 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 2 The phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of strain AQ-3 and other related strains, constructed by neighbor-joining method

注: 括号中的序号代表菌株的 GenBank 登录号; 分支点上的数字代表计算 1 000 次聚类到一起的几率; 标尺刻度代表 0.1% 的序列差异.

Note: The sequence number in the bracket means the GenBank accession number of the strain. The number at the node means the percentage of occurrence in 1 000 boot-straped trees. The scale bar means 0.1% sequence difference.

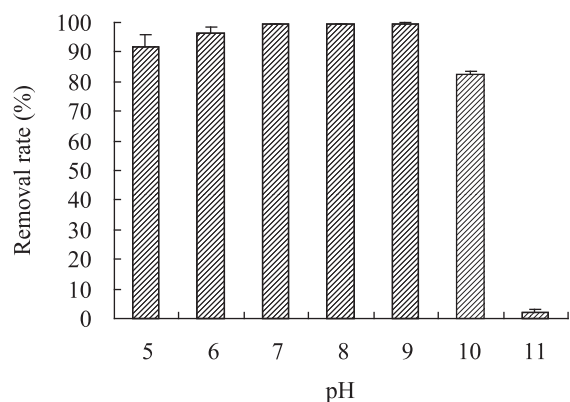


图3 pH对菌株AQ-3去除亚硝酸盐效果的影响
Fig. 3 Influence of pH on the nitrite removal effect of strain AQ-3

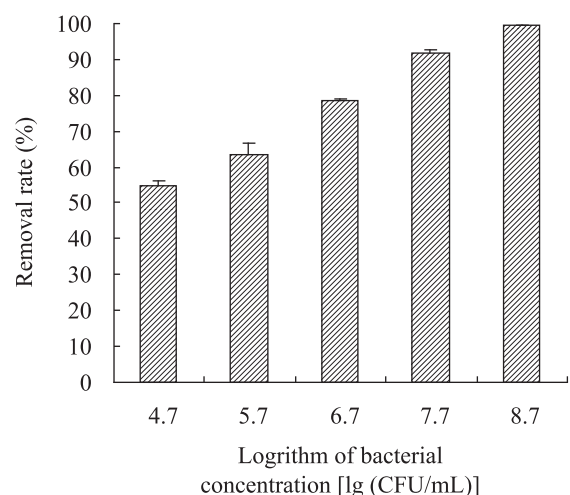


图4 菌浓度对菌株AQ-3去除亚硝酸盐效果的影响
Fig. 4 Influence of bacterial concentrations on the nitrite removal effect of strain AQ-3

2.4 碳源种类对去除亚硝酸盐效果的影响

图5实验结果表明, 菌株AQ-3去除亚硝酸盐的最佳碳源为乙酸钠和丁二酸钠。具体表现在: 当以乙酸钠、丁二酸钠作为唯一碳源时, 菌株AQ-3对亚硝酸盐的去除率均达到了99%以上; 而当以酒石酸锑钾、蔗糖、葡萄糖、柠檬酸钠作为唯一碳源时, 菌株AQ-3对亚硝酸盐的去除率分别仅为2.81%、5.42%、22.50%和4.52%。

2.5 亚硝酸盐氮浓度对去除亚硝酸盐效果的影响

如图6所示, 实验结果表明, 随着亚硝酸盐氮

浓度的不断增大, 菌株AQ-3对亚硝酸盐的去除率逐渐降低, 当亚硝酸盐氮浓度为1-10 mg/L时, 菌株AQ-3对亚硝酸盐的去除率接近100%。当亚硝酸盐氮浓度范围为20-320 mg/L时, 菌株AQ-3对亚硝酸盐的去除率范围仅为3.55%-32.14%, 其对亚硝酸盐的去除率分别仅为亚硝酸盐氮浓度为10 mg/L时的3.57%-32.31% ($P < 0.05$)。

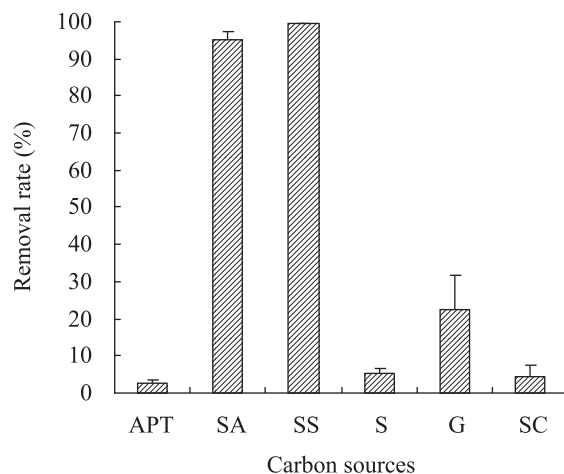


图5 碳源种类对菌株AQ-3去除亚硝酸盐效果的影响
Fig. 5 Influence of carbon sources on the nitrite removal effect of strain AQ-3

注: APT: 酒石酸锑钾; SA: 乙酸钠; SS: 丁二酸钠; S: 蔗糖; G: 葡萄糖; SC: 柠檬酸钠。

Note: APT: Antimony potassium tartrate; SA: Sodium acetate; SS: Sodium succinate; S: Sucrose; G: Glucose; SC: Sodium citrate.

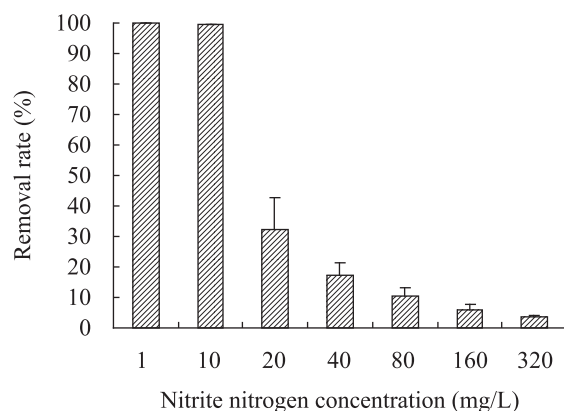


图6 亚硝酸盐氮浓度对菌株AQ-3去除亚硝酸盐效果的影响
Fig. 6 Influence of nitrite nitrogen concentration on the nitrite removal effect of strain AQ-3

3 讨论

目前在细菌分类鉴定方法上,通常将 16S rDNA 序列分析和 API 细菌鉴定系统两种方法相结合,以使鉴定方法更科学,鉴定结果更可靠、更准确^[15]。本实验在对菌株 AQ-3 进行分类鉴定时,结合了 API 细菌鉴定系统对菌株 AQ-3 的生理生化鉴定结果以及菌株 AQ-3 的 16S rDNA 序列分析结果,最终确定菌株 AQ-3 为鲍曼氏不动杆菌。然而,菌株 AQ-3 与陈刚等^[16]分离的鲍曼氏不动杆菌在葡萄糖等方面的生理生化特性有所不同,而且与 GenBank 中同源性较高的鲍曼氏不动杆菌菌株之间也存在一定的序列差异性,这可能与鲍曼氏不动杆菌菌株之间巨大的地理差异以及生长环境条件不同有关^[17]。

水体中微生物对亚硝酸盐的去除率与 pH、菌浓度有密切关系^[18]。例如,龚钢明等^[8]实验结果表明,乳酸菌 h2 去除亚硝酸盐的初始最适 pH 范围为 4.5–6.5,而当 pH>6.5 时,其对亚硝酸盐的去除能力明显降低;熊焰等^[5]研究表明,巨大芽孢杆菌 SZ-3 在 pH 7.0 时对亚硝酸盐的去除效果最好,而当 pH>7.0 时,其去除活性会受到抑制作用。养殖水体的 pH 一般为中性和偏碱性。因此,菌株 AQ-3 较乳酸菌 h2、巨大芽孢杆菌 SZ-3 更适宜养殖水体的 pH 环境。此外,熊焰等^[5]研究进一步指出,巨大芽孢杆菌 SZ-3 在初始菌浓度高于 1.0×10^8 CFU/mL 时对亚硝酸盐的去除率高达 93% 以上,而在初始菌浓度为 10^6 – 10^7 CFU/mL 时的去除率仅在 72%–75%;本实验结果与熊焰等^[5]的结论基本一致。

碳源是亚硝酸盐去除菌非常重要的速率限制因子,在亚硝酸盐去除过程中提供所必需的能源^[19]。因此,研究碳源对微生物去除亚硝酸盐的影响具有重要的意义。例如,李兵等^[20]研究了葡萄糖、乳糖、蔗糖、乙酸钠、碳酸氢钠等碳源对芽孢杆菌 D5 去除亚硝酸盐效果的影响,发现芽孢

杆菌 D5 在碳源为乙酸钠时的去除能力最强;李慧颖等^[21]实验结果表明,恶臭假单胞菌 A1 在丁二酸盐和乙酸盐为碳源时的去除活性最高。本实验结论与李兵等^[20]、李慧颖等^[21]的研究结果相似。

众所周知,养殖水体中亚硝酸盐的过度积累,不仅会对水生动物产生毒害作用,而且还会抑制微生物去除亚硝酸盐的活性,而目前有关亚硝酸盐对微生物去除亚硝酸盐活性影响的研究鲜见报道。本实验发现,菌株 AQ-3 在亚硝酸盐氮浓度为 1–10 mg/L 时具有较高的去除活性,而当亚硝酸盐氮浓度大于 20 mg/L 时,其对亚硝酸盐的去除率急剧降低,这与于爱茸等^[22]的研究结果相近。究其原因,可能是高浓度的亚硝酸盐对菌体相关功能酶基因的表达具有一定的影响^[14]。

参考文献

- [1] 凌歌. 一种亚硝酸盐降解新方案及其在水产养殖上的应用[J]. 渔业致富指南, 2010(12): 27–28.
- [2] 宋余凤, 杨宝圣. 亚硝酸盐在水产养殖中的危害及解决方法[J]. 科学养鱼, 2010(7): 16–16.
- [3] Ahn YH. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(8): 1709–1721.
- [4] 罗秀针, 徐长安, 唐旭, 等. 反硝化细菌的筛选及其亚硝酸盐降解特性研究[J]. 福建农业学报, 2010, 25(4): 513–516.
- [5] 熊焰, 刘力源, 罗睿, 等. 1 株亚硝酸盐降解菌的筛选、鉴定、降解条件及效果[J]. 中国水产科学, 2010, 17(6): 1264–1271.
- [6] 高海英, 王占武, 李洪涛, 等. 养殖水体耐盐高效降亚硝酸盐氮和氨氮芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. 河北农业科学, 2008, 12(11): 59–61.
- [7] 梁晓华, 杨莺莺, 李卓佳, 等. 芽孢杆菌 K1 降解亚硝酸盐的特性研究[J]. 海洋环境科学, 2008, 27(3): 228–231.
- [8] 龚钢明, 管世敏, 邵海, 等. 降解亚硝酸盐乳酸

- 菌的分离鉴定[J]. 食品工业, 2009(5): 12-13.
- [9] 王昌禄, 隋志文, 武晋海, 等. 亚硝酸盐降解菌的分离及其降解特性[J]. 中国酿造, 2008(9): 33-36.
- [10] 李平, 郑永良, 陈舒丽, 等. 一株好氧反硝化细菌的鉴定及其在废水处理中的应用[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(5): 600-603.
- [11] 安健, 宋增福, 杨先乐, 等. 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.
- [12] 邵晴, 余晓斌. 好氧反硝化细菌的筛选及反硝化特性研究[J]. 生物技术, 2008, 18(3): 63-65.
- [13] 宋增福, 肖敏, 吴静雯, 等. 一株林蛙烂嘴病原菌的分离鉴定及防治药物筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34): 16884-16885.
- [14] 安健, 宋增福, 杨先乐, 等. 好氧反硝化芽孢杆菌筛选及其反硝化特性[J]. 环境科学研究, 2010, 23(1): 100-105.
- [15] 李琳, 李瑾年, 余为一. 细菌分类鉴定方法的研究概况[J]. 安徽农业科学, 2004, 32(3): 549-551.
- [16] 陈刚, 蒋冬香. 58 株不动杆菌的分离鉴定[J]. 华夏医学, 1999, 12(3): 333-333.
- [17] 周素明, 李安兴, 马跃, 等. 养殖鱼类链球菌病原的分离鉴定及其 16S rDNA 分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(2): 68-71.
- [18] 吴伟, 胡庚东, 瞿建宏, 等. 应用短乳杆菌去除养殖水体中亚硝酸盐[J]. 生态与农村环境学报, 2007, 23(4): 37-40.
- [19] 王弘宇, 马放, 苏俊峰, 等. 不同碳源和碳氮比对一株好氧反硝化细菌脱氮性能的影响[J]. 环境科学学报, 2007, 27(6): 968-972.
- [20] 李兵, 林炜铁. 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.
- [21] 李慧颖, 黄少斌, 范利荣. 一株好氧反硝化菌的反硝化性能研究[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(8): 9-12.
- [22] 于爱茸, 李尤, 俞吉安. 一株耐氧反硝化细菌的筛选及脱氮特性研究[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(3): 77-81.

稿件书写规范

论文中计量单位的表示方法

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定, 计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体), 不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下, 希望作者参照执行。

时间: 日用 d; 小时用 h; 分钟用 min; 秒用 s 等表示。

溶液浓度: 用 mol/L, 不用 M (克分子浓度)和 N (当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度: 用 r/min, 不用 rpm。

蒸汽压力: 用 Pa 或 kPa、MPa 表示。

光密度: 用 OD (斜体)表示。

生物大分子的分子量: 蛋白质用 D 或 kD, 核酸用 bp 或 kb 表示。

图表中数值的物理量和单位: 物理量符号采用斜体, 单位用正体并用括号括起, 例如: $t(h)$ (表示时间, 单位是小时)。带数值的计量单位: 计量单位不能省略, 跟数字之间加一空格(%除外), 例如: 20 cm × 0.3 cm, 不能写成 20 × 0.3 cm; 3 °C-5 °C 不可写成 3-5 °C; 3%-6% 不可写成 3-6% 等。