

# 降氨除臭芽孢杆菌的筛选鉴定及其氮素迁移过程

申彦晶 饶力群 任杰\*

(湖南农业大学 生物科学技术学院 湖南 长沙 410128)

**摘要:**【目的】分离和鉴定一株高效降氨除臭芽孢杆菌, 并研究其氮素迁移过程。【方法】采用自行设计的筛选平台, 根据菌落形态、生理生化特征及 16S rRNA 基因序列的系统进化树分析进行菌株鉴定; 在好氧和厌氧条件下, 以  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  为唯一氮源, 通过检测  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和产生的气体浓度, 明确菌株在降氨过程中氮素的迁移过程及特点。【结果】筛选出一株高效降氨除臭芽孢杆菌, 经生化与分子鉴定为凝结芽孢杆菌; 其在好氧条件下将  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  降解为  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 降解率为 98%; 同时少量  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  经好氧反硝化作用还原为  $\text{N}_2$ ; 在厌氧条件下进行了硝化作用, 但  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  降解率仅为 23.7%, 且反硝化过程不明显。【结论】筛选得到的高效降氨除臭凝结芽孢杆菌在好氧和厌氧条件下皆具有异养硝化作用, 但厌氧条件下反硝化作用不显著, 好氧反硝化作用产生的含氮气体为氮气, 其在农业和环保领域具有巨大的产业化潜力。

**关键词:** 凝结芽孢杆菌, 氮素迁移, 降氨, 除臭, 异养硝化-反硝化

## Identification and nitrogen migration of an ammonia-oxidizing and deodorizing *Bacillus*

SHEN Yan-Jing RAO Li-Qun REN Jie\*

(College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agriculture University, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** [Objective] To get a deodorizing bacillus of high efficient ammonia degradation, and to investigate the process of the nitrogen migration of the strain. [Methods] An ammonia-oxidizing strain was screened in a self-designed screening platform. Colonial morphology, physio-biochemical tests and 16S rRNA gene sequence analysis were adopted to determine the phylogenetic position of the isolated strain. The nitrogen migration characteristics and process of the strain that cultured by  $\text{NH}_4\text{Cl}$  as the sole nitrogen source were investigated by using the chemical detection of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  and gases under aerobic and anaerobic conditions. [Results] A high efficient ammonia-oxidizing and deodorizing strain that has the characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification was screened and identified as *Bacillus coagulans*. Under aerobic and anaerobic conditions, the  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  oxidizing rate of the strain RJCC-03 could reach 98% and 23.7%, respectively. A small amount of  $\text{N}_2$ , not nitrogen oxides gases, was generated during the experiment process, under aerobic conditions. [Conclusion] These results proved *Bacillus coagulans* had great potential application in the

基金项目: 湖南省科学技术厅科技计划一般项目(No. 2013SK5023); 湖南农业大学青年基金项目(No. 12QN10); 湖南农业大学横向项目(No. 14430101000918)

\*通讯作者: ✉: renjiescut2001@163.com

收稿日期: 2014-10-15; 接受日期: 2015-03-23; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-03-27

agricultural and environmental protection.

**Keywords:** *Bacillus coagulans*, Nitrogen migration, Ammonia-oxidizing, Deodorization, Heterotrophic nitrification and denitrification

随着我国畜牧养殖业的高速发展, 臭气污染问题日益严重<sup>[1-2]</sup>。畜牧养殖过程中产生的臭气主要包括氨气、硫化氢、三甲胺和不饱和短链脂肪酸等, 其中氨气的浓度最高。传统处理氨气的方法中, 生物法因具有适用范围广、运行费用低、维护管理方便、无二次污染等特点, 成为解决高浓度氨气的有效途径之一<sup>[3]</sup>。一般认为, 生物法经由硝化和反硝化过程达到降氨的目的, 而硝化作用主要由自养型硝化细菌完成。近年来研究表明, 部分异养型微生物也能进行硝化作用, 如假单胞菌属、芽孢杆菌属、副球菌属和产碱杆菌属等<sup>[4-7]</sup>。该类微生物具有生长迅速、营养要求低、适应能力强等优点, 尤其是芽孢杆菌具备的优良环境抗逆性, 使其成为生物降氨除臭领域研究的热点。因此, 异养型降氨除臭微生物, 尤其芽孢杆菌的研究对降氨除臭微生物的生产和应用具有重要的理论价值和实践意义。

本研究从规模化奶牛养殖舍采集样品, 采用自行设计的降氨脱硫除臭菌筛选平台(脱硫部分另文发表), 通过形态学、生理生化指标、16S rRNA 分子鉴定等技术手段获得一株高效降  $\text{NH}_3$  的芽孢杆菌。同时研究了筛选菌株作用于  $\text{NH}_3$  溶于水后的氮素迁移过程及特点, 以期为我国规模化畜禽养殖过程中  $\text{NH}_3$  的控制, 乃至臭气的去除提供理论依据和数据借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品:** 实验所用样品采集于规模化奶牛养殖舍中的新鲜粪便。

**1.1.2 培养基:** (1) 活化培养基(MRS)<sup>[8]</sup>。

(2) 分离培养基: 活化培养基中加 2% 的琼脂,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min。

(3) 氮素迁移培养基(g/L):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1, 葡萄糖 1,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2。pH 7.0,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min。

**1.1.3 主要试剂:** DNA 提取试剂盒, 天根生物工程有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 降氨除臭芽孢杆菌的分离:** 称取收集、拌匀的新鲜粪便 10 g 放入装有玻璃珠的 250 mL 无菌水中, 于  $80^\circ\text{C}$ 、150 r/min 水浴 20–30 min。再经 10 倍梯度稀释后涂布于分离培养基平板上, 于  $37^\circ\text{C}$  培养 24–48 h, 挑选形态不同的优势菌落重复进行分离纯化, 直至得到若干单一纯菌。

**1.2.2 降氨除臭芽孢杆菌的筛选:** 将筛选得到的纯菌接种至活化培养基中,  $37^\circ\text{C}$ 、150 r/min 培养 24 h。取 18 mL 活化好的菌液, 于 6 000 r/min 离心 10 min 后去上清液, 用无菌水洗净入 2 L 烧杯中, 并用无菌的 1.5% 葡萄糖溶液调整体积至 18 mL。再加入 1 000 mg/L 的氨水 2 mL 混合均匀, 快速放入装有 20 mL 吸收液的 50 mL 烧杯中, 3 层不透气塑料薄膜覆盖并透明胶封口于  $37^\circ\text{C}$  培养。12 h 后用纳氏试剂比色法检测吸收液中氨浓度。空白组不加菌液。最后计算氨气降解率, 氨气降解率=(空白组吸收液中氨浓度-实验组吸收液中氨浓度)/空白组吸收液中氨浓度 $\times 100\%$ 。

**1.2.3 形态学观察及生理生化鉴定:** 采用平板涂布法,  $37^\circ\text{C}$  培养 24 h 后用光学显微镜观察菌落和菌体形态。生理生化鉴定方法参照《伯杰氏细菌鉴定手册》<sup>[9]</sup>和《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[10]</sup>进行。

**1.2.4 分子生物学鉴定:** 16S rRNA 基因引物为细菌通用引物, 分别是 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGG CTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGAC TT-3')。PCR 反应体系为:  $10 \times \text{Buffer}$  5  $\mu\text{L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  (25 mol/L) 3  $\mu\text{L}$ , dNTPs (5 mmol/L) 1  $\mu\text{L}$ , *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , 27F 和 1492R 引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 1  $\mu\text{L}$ , 模板 DNA 1  $\mu\text{L}$  (以加 1  $\mu\text{L}$  双蒸水为空白对照), 补 ddH<sub>2</sub>O 至 50  $\mu\text{L}$ 。扩增条件为:

95 °C 5 min; 95 °C 1 min, 52 °C 2 min, 72 °C 3 min, 30 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。扩增产物送上海生工生物工程有限公司进行测序, 将所测序列与 GenBank 中的 16S rRNA 基因序列进行 BLAST 分析比对。于 MEGA 5.0 软件上采用邻位相接法 (Neighbor-Joining), 构建系统进化树以对芽孢杆菌进行初步鉴定, 用于检验支持率的重复抽样次数 (Bootstrap) 为 1 000 次。

**1.2.5 氮素迁移试验:** (1) 好氧条件下氮素迁移试验:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  为唯一氮源, 葡萄糖为唯一碳源, 将筛选获得的 RJCC-03 菌种挑取 2 环接种于 100 mL 氮素迁移培养基中, 37 °C、150 r/min 振荡培养 24 h 进行活化。再取 5% 的活化液, 6 000 r/min 冷冻离心 10 min, 取沉淀用无菌水重悬, 如此反复 2-3 次后接种于 100 mL 灭菌的氮素迁移培养基中, 37 °C、150 r/min 摇床培养 24 h。每隔 4 h 取样, 检测  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和氮气, 并记录。

(2) 厌氧条件下氮素迁移试验: 本实验使用的菌悬液与 1.2.5 (1) 中的获取方法相同, 最后将其接种于 100 mL 灭菌的氮素迁移培养基中, 抽真空通入氩气密封, 保持严格厌氧状态, 37 °C 静置培养 24 h。每隔 4 h 取样, 检测  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和氮气, 并记录。

**1.2.6 分析方法:**  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和总氮(TN)分别采用纳氏试剂比色法、格利斯试剂分光光度法、紫外分光光度法和碱性过硫酸钾法进行检测。氮气及氮氧化物气体采用气相色谱仪检测<sup>[5]</sup>, 具体条件是: 氮气作载气, 进样口温度 200 °C, 柱流量 5 mL/min, 分流比为 4:1, 柱箱温 40 °C, TCD 检测器温度 200 °C, 电流 40 mA。产生气体采用 HP PLOT 5 A 分子筛毛细管色谱柱将  $\text{N}_2$  和其他氮氧化物分离, 收集的气体再经岛津气相色谱 (GC-2010) 检测定性。

## 2 结果与分析

### 2.1 高效降氨除臭菌株的分离筛选

分离获得的不同芽孢杆菌氨气降解率如表 1

所示。

本实验在原有筛选平台的基础上进行了改进和完善<sup>[11]</sup>。包括发酵液进行了冷冻离心、洗涤、重悬步骤, 这样排除了发酵菌液中复杂培养基组分或代谢物对氨气降解的影响; 体系中葡萄糖的添加避免了测试菌在测试过程中因营养不足死亡而对氨气降解产生影响。以上改进措施使得本试验结果的可靠性和准确性进一步提高。

由表 1 可知, RJCC-03 在 12 h 内对氨气的降解率最高, 达到了 89%。故选择 RJCC-03 作为后续试验的研究对象。

### 2.2 菌株 RJCC-03 的镜检照片及菌落形态

菌株 RJCC-03 在油镜中呈杆状, 单个或成对排列, 芽孢端生。在分离培养基上生长良好, 菌落圆形而呈白色, 表面呈现火山口型而不透明。具体菌落形态如图 1 所示。

### 2.3 菌株 RJCC-03 的生理生化鉴定

菌株 RJCC-03 的生理生化测试结果如表 2 所示。综合形态学结果, 与《伯杰氏细菌鉴定手册》中关于芽孢杆菌属的描述对照, 初步鉴定菌株 RJCC-03 属于芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。

### 2.4 菌株 RJCC-03 的分子鉴定及系统发育研究

菌株 RJCC-03 的 16S rRNA 基因扩增片段长度为 1 421 bp, GenBank 登录号为 KJ466151.1。

表 1 不同芽孢杆菌的氨气降解率  
Table 1 The ammonia degradation rate of *Bacillus*

分离菌 Isolated strains	氨气降解率 The ammonia degradation rate (%)
RJCC-01	56
RJCC-02	32
RJCC-03	89
RJCC-04	85
RJCC-05	42
RJCC-06	78
RJCC-07	79



图1 菌株 RJCC-03 的菌落形态

Figure 1 The colony morphology of strain RJCC-03

NCBI BLAST 分析发现其与数据库中 *Bacillus coagulans* 的相似性最高, 达到 99%。系统进化发育分析也表明, 其与 *Bacillus coagulans* 聚为一簇, 而与 *Bacillus* 属中的其他菌分开(图 2)。结合 RJCC-03 形态学结果、生理生化指标分析, 可以初步确定菌株 RJCC-03 为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)。

## 2.5 菌株 RJCC-03 的氮素迁移试验

**2.5.1 好氧条件下氮素迁移过程和特点:** 在好氧条件下, 以  $\text{NH}_4\text{Cl}$  作为唯一碳源, 考察菌株 RJCC-03 的氮素迁移过程和特点, 其结果如图 3 所示。

表 2 菌株 RJCC-03 生理生化特征  
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of isolated strain

特性 Characteristics	结果 Results
革兰氏染色 Gram stain	+
运动性 Moveability	+
37 °C 生长 37 °C growth	+
厌氧生长 Anaerobic growth	+
氧化酶 Oxidase	+
过氧化氢酶 Catalase	+
甲基红 Methyl red	+
V-P 测定 V-P test	+
淀粉水解 Amylolysis	-
吲哚产生 Produce of Indole	-
明胶液化 Gelatinase	-

注: +: 阳性; -: 阴性。

Note: +: Positive; -: Negative.

由图 3 可知, 菌株 RJCC-03 对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的快速降解伴随着硝酸盐的大量积累, 24 h 后  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的降解率达到 98.7%。而整个好氧硝化过程中, 中间产物  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  只在 12 h (即菌体对数生长期中期) 出现极少量积累(0.06 mg/L), 24 h 后未能检出。相同的现象出现在枯草芽孢杆菌好氧硝化过程<sup>[12]</sup>, 及其与地衣芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌的混合好氧硝化-

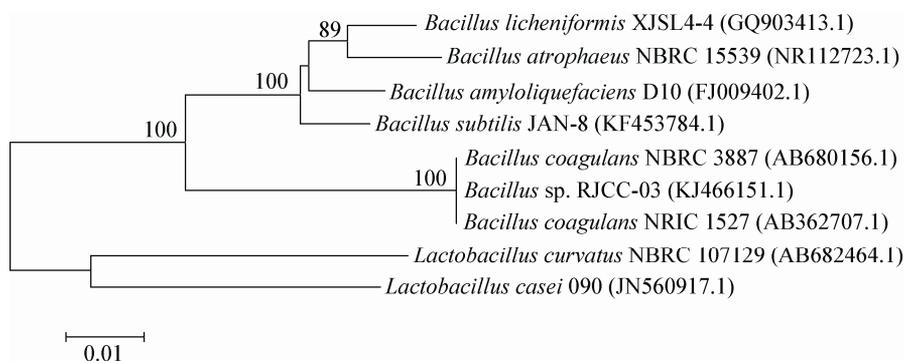


图 2 菌株 RJCC-03 与比对菌株基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strain RJCC-03 and the references

注: 括号中的序号代表序列在 GenBank 中的序列号; 节点上的数字表示 Bootstrap 值; 刻度 0.01 表示序列偏差值。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resampled data sets. Bar 0.01 represent sequence divergence.

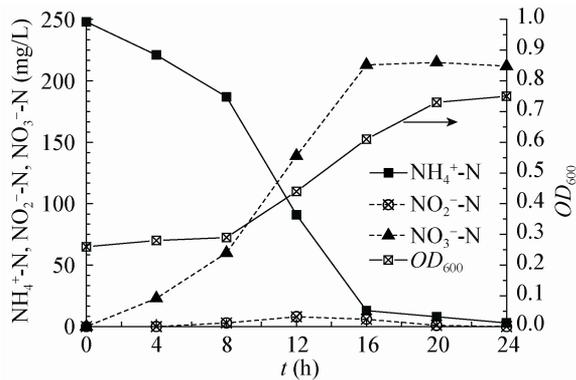


图3 菌株 RJCC-03 好氧条件下  $\text{NH}_4^+$ -N 的氧化作用 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  为唯一碳源)

Figure 3  $\text{NH}_4^+$ -N oxidation of strain RJCC-03 using  $\text{NH}_4\text{Cl}$  as the sole nitrogen source under the aerobic conditions

反硝化过程中<sup>[13]</sup>。由此可见,菌株 RJCC-03 能够在以葡萄糖为唯一碳源条件下高效降解  $\text{NH}_4^+$ -N。根据 Wehrfritz 等<sup>[14]</sup>的异养消化代谢理论,菌株 RJCC-03 具有异养硝化作用。

菌株 RJCC-03 在好氧硝化过程中, TN 浓度由 253 mg N/L 降至 241 mg N/L (图中未标明), TN 的减量为 12 mg N/L。由于 TN 的减少主要是由微生物在好氧反硝化过程中产生的气体逃逸所致<sup>[15]</sup>, 将气体经气相色谱收集检测, 无氮氧化物气体, 故判断 TN 的减少是生成了  $\text{N}_2$ 。尽管有文献报道, 反硝化作用终产物  $\text{N}_2$  是经由中间产物 NO 或  $\text{N}_2\text{O}$  生成<sup>[16]</sup>, 但在本过程中只检出了  $\text{N}_2$ , 其生成量约 0.2 mmol/L。此现象与同为芽孢杆菌属的枯草芽孢杆菌反硝化现象相似<sup>[5]</sup>, 而该枯草芽孢杆菌在好氧反硝化过程中通过菌体中存在的周质硝酸盐还原酶作用, 以  $\text{NO}_3^-$ -N 和氧气作为电子受体进行协同呼吸, 且该酶的表达和激活不受氧分子的抑制<sup>[17]</sup>。依此判断, 菌株 RJCC-03 体内可能存在周质硝酸盐还原酶, 在好氧条件下,  $\text{NH}_3$  溶于水生成  $\text{NH}_4^+$ -N 经硝化作用产生  $\text{NO}_3^-$ -N, 随后少量  $\text{NO}_3^-$ -N 还原为  $\text{NO}_2^-$ -N, 并在周质硝酸盐还原酶的作用下以 N 作为电子受体, 经好氧反硝化过程还原为  $\text{N}_2$ 。

此外, 反应过程中  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度由 248 mg/L

降至  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度的 212 mg/L, N 损失 36 mg/L, 扣除生成  $\text{N}_2$  所需的 12 mg/L 的 N, 则剩余 24 mg/L 的 N 主要通过微生物同化作用形成细胞结构。按照一般细菌的 N 含量为 12.5% 计算, 形成的凝结芽孢杆菌的干菌体重约为 0.192 g/L, 若菌体 90% 是水, 则形成的凝结芽孢杆菌湿重为 1.92 g/L (约 2‰ 的湿菌体量)。由图 3 可知, 体系中菌体的  $OD_{600}$  由 0.25 增至 0.75 左右 (增量约为 0.5), 增加量不大, 可见, 该凝结芽孢杆菌具有较强的降解氨氮的能力。

综上所述, 凝结芽孢杆菌 RJCC-03 具有同步异养硝化-好氧反硝化现象, 且硝化能力较高, 这就很好地解释了凝结芽孢杆菌 RJCC-03 高效降氨除臭原因。该菌尚未见相关文献报道, 因此具有较高的研究和应用价值。

**2.5.2 厌氧条件下氮素迁移试验:** 在厌氧条件下, 以  $\text{NH}_4\text{Cl}$  作为唯一碳源, 考察菌株 RJCC-03 的氮素迁移过程和特点, 其结果如图 4 所示。

由图 4 可见, 菌株 RJCC-03 在厌氧条件下对  $\text{NH}_4^+$ -N 的降解速度远小于好氧条件, 16 h 后降解速度趋于平稳, 此时  $\text{NH}_4^+$ -N 降解率仅为 23.7% (好氧条件下降解速率为 98.7%)。期间  $\text{NO}_2^-$ -N 未出现明显积累, 因此该菌可广泛应用于水产养殖领域, 避免在调节水体的同时积累有害物质亚硝酸盐。

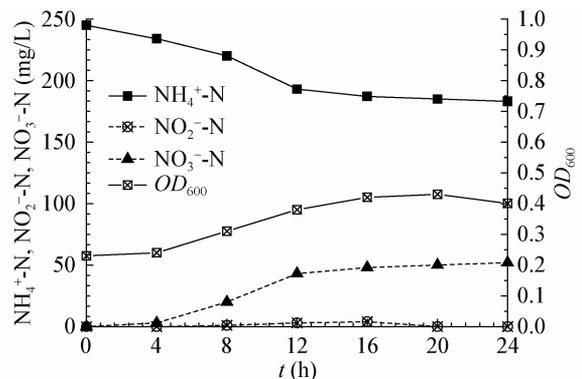


图4 菌株 RJCC-03 厌氧条件下  $\text{NH}_4^+$ -N 的氧化情况 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  为唯一碳源)

Figure 4  $\text{NH}_4^+$ -N oxidation of strain RJCC-03 using  $\text{NH}_4\text{Cl}$  as the sole nitrogen source under anaerobic conditions

24 h 后, 反应体系中未检测到含氮气体成分。虽有文献报道, 枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌<sup>[13]</sup>, 以及自养型的亚硝酸单胞菌<sup>[18]</sup>, 在低溶氧或厌氧条件下会发生反硝化作用, 从而产生氮气或氮氧化物气体。但菌株 RJCC-03 在厌氧条件下未出现该现象, 分析原因可能是, 细菌体内存在周质硝酸盐还原酶, 其表达与碳源的消耗有很大的关系, 消耗的越多, 其酶活性越大, 反硝化作用越强<sup>[19]</sup>。由图 4 中  $OD_{600}$  的变化情况可以看出, 凝结芽孢杆菌在厌氧环境中的生长极差,  $OD_{600}$  增量只有约 0.1 (好氧条件  $OD_{600}$  的增量约 0.5), 因此碳源的消耗少, 周质硝酸盐还原酶酶活低, 这就很好地解释了凝结芽孢杆菌在厌氧环境下反硝化作用不明显甚至不发生, 从而体系中未检出氮气或氮氧化物气体。

此外, 凝结芽孢杆菌是兼性好氧菌, 在厌氧环境下缓慢生长的同时产生乳酸, 反硝化过程中产生的碱性物质被乳酸中和后, 可使体系 pH 由初始 8.0 降至 5.5 左右(图中未标明)。根据细菌生长和反硝化酶活性的最适 pH 是中性或微碱性的特点<sup>[20-21]</sup>, 体系的酸性环境抑制了  $NH_4^+-N$  的硝化和反硝化过程中的相关酶活性, 这也是凝结芽孢杆菌在厌氧环境下硝化作用弱、反硝化作用不明显甚至不发生的主要原因之一。

可见筛选得到的凝结芽孢杆菌在厌氧条件下硝化作用较弱, 未见明显的反硝化作用。

### 3 结论

(1) 从规模化奶牛养殖舍中筛选获得一株高效降氨除臭凝结芽孢杆菌 RJCC-03 (*Bacillus coagulans*), 其降解氨主要通过硝化-反硝化过程进行。

(2) 凝结芽孢杆菌 RJCC-03 在好氧条件下, 经过异养硝化-好氧反硝化过程将  $NH_4^+-N$  高效氧化为硝酸盐或氮气, 24 h 降解率为 98.7%。

(3) 凝结芽孢杆菌 RJCC-03 在厌氧条件下, 经异养硝化过程将  $NH_4^+-N$  氧化为硝酸盐, 24 h 降解率为 23.7%, 但未见明显的反硝化作用。

### 参 考 文 献

- [1] Li W, Yang CJ, Liang XW, et al. Research progress on microbiology in livestock manure odor production and control[J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013, 40(8): 195-198 (in Chinese)  
李婉, 杨承剑, 梁贤威, 等. 畜禽粪便恶臭气体产生与调控的微生物学研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(8): 195-198
- [2] Xue F, Zhang B, Yao K, et al. Study on deodorization effects of different bacterial strains on pig feces[J]. Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition), 2012, 32(4): 93-96 (in Chinese)  
薛枫, 张波, 姚昆, 等. 不同菌株对猪粪的除臭效果研究[J]. 天津师范大学学报: 自然科学版, 2012, 32(4): 93-96
- [3] Thomsen TR, Kong Y, Nielsen PH. Ecophysiology of abundant denitrifying bacteria in activated sludge[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 60(3): 370-382
- [4] Yu L, Liu YJ, Wang GJ. Identification of novel denitrifying bacteria *Stenotrophomonas* sp. ZZ15 and *Oceanionas* sp. YC13 and application for removal of nitrate from industrial wastewater[J]. Biodegradation, 2009, 20(3): 391-400
- [5] Fan J, Lin WT. Isolation and identification of a denitrifying and deodorizing *Bacillus subtilis* strain with multiple nitrogen metabolism pathways[J]. Acta Scientia Circumstantiae, 2010, 30(4): 722-728 (in Chinese)  
樊杰, 林伟铁. 一株硝化脱氮除臭菌的筛选鉴定及其多途径氮代谢功能的研究[J]. 环境科学学报, 2010, 30(4): 722-728
- [6] Zhang XY, Xiao Y, Tian H, et al. Analysis of denitrifying bacteria in a long-term shell sand amended soil[J]. Microbiology China, 2014, 41(1): 35-42 (in Chinese)  
张小远, 肖瑶, 田浩, 等. 贝壳砂改良土壤中反硝化细菌的分析[J]. 微生物学通报, 2014, 41(1): 35-42
- [7] Ma WK, Bedard-Haughn A, Siciliano SD, et al. Relationship between nitrifier and denitrifier community composition and abundance in predicting nitrous oxide emissions from ephemeral wetland soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(5): 1114-1123
- [8] Wang B, Tian FW, Li JR, et al. Impact of membrane permeability in Lactic acid bacteria during freeze-drying[J]. Microbiology China, 2009, 36(5): 684-688 (in Chinese)  
王彪, 田丰伟, 励健荣, 等. 冷冻干燥对乳酸菌细胞膜通透性的影响[J]. 微生物学通报, 2009, 36(5): 684-688
- [9] Buchanan RE, Gibbons NE. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. 8th Edition. Beijing: Science Press, 1984: 744-745 (in Chinese)  
布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 第8版. 北京: 科学出版社, 1984: 744-745
- [10] Dong XZ, Cai MY. Common System and Identification of Bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001: 63 (in Chinese)  
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: 63
- [11] Xu LJ, Wang Z, Chen W, et al. Identification and ammonia

- degradation condition of strain JZ-6[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2013, 41(1): 128-130 (in Chinese)
- 许丽娟, 王震, 陈薇, 等. 除臭菌 JZ-6 的鉴定及其降氨条件[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(1): 128-130
- [12] Sakai K, Ikehata Y, Ikenaka Y, et al. Nitrite oxidation by heterotrophic bacteria under various nutritional and aerobic conditions[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(6): 613-617
- [13] Kim JK, Park KJ, Cho KS, et al. Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(17): 1897-1906
- [14] Wehrfritz JM, Reilly A, Spiro S, et al. Purification of hydroxylamine oxidase from *Thiosphaerapantotropha*, identification of electron acceptors that couple heterotrophic nitrification to aerobic denitrification[J]. FEBS Letters, 1993, 335(2): 246-250
- [15] Zhang QL, Liu Y Ai GM, Guo MA, et al. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. Bioresource Technology, 2012, 108: 35-44
- [16] Joo HS, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4[J]. Bioscience Bioengineering, 2005, 100(2): 184-191
- [17] Berks BC, Richardson DJ, 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
- [18] Shrestha NK, Hadano S, Kamachi T, et al. Dinitrogen production from ammonia by *Nitrosomonas europaea*[J]. Applied Catalysis A: General, 2002, 237(1/2): 33-39
- [19] Bell LC, Richardson DJ, Ferguson SJ. Periplasmic and membrane-bound respiratory nitrate reductases in *Thiophaeera pantotropha*. The periplasmic enzyme catalyzes the first step in aerobic denitrification[J]. FEBS Letters, 1990, 265(1/2): 85-87
- [20] Han YH, Zhang WX, Zhuang ZG, et al. Isolation and characterization of the salt-tolerant aerobic denitrifying bacterial strain A-13[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2013, 53(1): 47-58 (in Chinese)
- 韩永和, 章文贤, 庄志刚, 等. 耐盐好氧反硝化菌 A-13 菌株的分离鉴定及其反硝化特性[J]. 微生物学报, 2013, 51(1): 47-58
- [21] Gupta AB. *Thiosphaera pantotropha*: a sulphur bacterium capable of simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1997, 21(8): 589-595

## 编辑部公告

### 《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名,造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱,这大大影响了本刊在国际上的传播,也不利于对我刊引用数据的统计。经本刊编委会讨论,以及主办单位批准,本刊英文刊名自 2010 年起变更为“Microbiology China”,缩写为“Microbiol. China”,请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。