

研究报告



4种理化因子对菌株 XH1 硝化效果的影响

胡晓娟 文国樑 田雅洁 黄小帅 徐煜 许云娜 李卓佳 曹煜成*

中国水产科学研究院南海水产研究所 广东省渔业生态环境重点实验室 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室 广东 广州 510300

摘要:【背景】基于硝化菌群的富集培养技术可高效稳定地去除养殖水体中的有害氮素,而当前在水产养殖领域有关硝化菌群定向培育及硝化功能菌株的研究较少。【目的】研究不同盐度、pH、温度、通气量条件下硝化菌群分离菌株 XH1 的生长及其对氨氮和亚硝氮的去除效果。【方法】设置不同梯度的盐度、pH、温度、通气量条件,通过计数菌量、测定氨氮及亚硝氮的浓度变化,比较不同条件下菌株 XH1 的生长及其对氨氮和亚硝氮的影响。【结果】菌株 XH1 可在盐度 5‰–35‰、pH 6.0–9.0、温度 15–45 °C 和通气量 0.5–1 V/(V·min)的条件下生长良好,菌量最高可达 2.34×10^9 cells/mL; 在盐度 5‰–35‰、pH 6.0–9.0、温度 15–30 °C、通气量 0.5 V/(V·min)的条件下,对氨氮的去除效果显著($P < 0.05$),在第 1–3 天对培养液中氨氮的最高去除率可达 86%–97%,但培养液中的氨氮浓度先降后升;对亚硝氮的最高去除率达 68%。【结论】菌株 XH1 对盐度、pH、温度等主要环境因子具有良好的适应性,其对水体氨氮的去除效果良好,可作为中低盐度养殖池塘水体氨氮防控菌剂产品研发的备选菌株。

关键词: 硫氧化柠檬胞菌, 硝化, 氨氮, 理化因子

Effects of four physical and chemical factors on the nitrification activity of strain XH1

HU Xiao-Juan WEN Guo-Liang TIAN Ya-Jie HUANG Xiao-Shuai XU Yu
XU Yun-Na LI Zhuo-Jia CAO Yu-Cheng*

Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, Guangdong 510300, China

Abstract: [Background] The enrichment and culture technology based on the nitrifying bacterial

Foundation items: Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2017HY-ZD0501); Program of China Agriculture Research System (CARS-48); Special Funds for Fishery Harbour Construction and Fishery Development of Guangdong Province (A201701B06); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, South China Sea Fisheries Research Institute, CAFS (2017YB07); Guangdong Special Fund for Economic Development (for Modern Fisheries Development) (SDYY-2018-02)

*Corresponding author: E-mail: cyc_715@163.com

Received: 16-07-2018; Accepted: 04-09-2018; Published online: 15-09-2018

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费(2017HY-ZD0501); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-48); 广东省渔港建设和渔业发展专项(A201701B06); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2017YB07); 广东省促进经济发展专项资金(现代渔业发展用途)(SDYY-2018-02)

*通信作者: E-mail: cyc_715@163.com

收稿日期: 2018-07-16; 接受日期: 2018-09-04; 网络首发日期: 2018-09-15

community show the efficiency and stability in removing ammonia nitrogen, nitrite nitrogen and other harmful nitrogen from the aquaculture water. However, only a few studies are available on nitrifying functional strains for the targeted cultivation of nitrifying bacterial community in aquaculture. **[Objective]** To study the effects of salinity, pH, temperature and ventilation on the growth and nitrification activity of strain XH1 isolated from nitrifying bacterial community. **[Methods]** Different gradients of salinity, pH, temperature and ventilation were assayed. The growth of strain XH1 and the corresponding removal effect on ammonia and nitrite nitrogen were analyzed by counting the number of bacteria and measuring the concentrations of ammonia and nitrite nitrogen, respectively. **[Results]** Strain XH1 could grow well under the conditions of salinity 5‰–35‰, pH 6.0–9.0, temperature 15–45 °C and ventilation 0.5–1 V/(V·min). The maximum content of bacteria reached the level of 2.34×10^9 cells/mL. Under the condition of salinity 5‰–35‰, pH 6.0–9.0, temperature 15–30 °C, and ventilation capacity 0.5 V/(V·min), the removal efficiency of ammonia nitrogen was significant ($P < 0.05$). The highest removal rate of ammonia nitrogen in the culture solution could reach 86%–97% on 1–3 d, but then the concentration of ammonia nitrogen increased slightly in the following days. In addition, the highest removal rate of nitrite nitrogen was up to 68%. **[Conclusion]** The strain XH1 had a good adaptability to major environmental factors such as salinity, pH, and temperature. With the excellent removal ability on ammonia nitrogen, strain XH1 could be used as an alternative strain for the agents' research on harmful nitrogen prevention and control in medium-low-salinity aquaculture ponds.

Keywords: *Citricella thiooxidans*, Nitrification, Ammonia nitrogen, Physical and chemical factors

氨氮和亚硝氮易在集约化养殖模式的水体环境中大量积累^[1], 致使水质恶化, 严重危害水产养殖动物的健康生长^[2-3], 对水产养殖生产具有极大的负面影响^[4]。有效调控水体中氨氮和亚硝氮等有害氮素的含量是养殖水处理的关键环节^[5], 也是当前水产养殖技术的主要研究热点之一。其中, 利用硝化微生物去除水产养殖水体中的有害氮素是当前该领域最具前景的处理技术之一^[6-7]。

硝化微生物可根据营养方式的不同分为自养硝化微生物和异养硝化微生物^[8]。自养硝化微生物在实验室条件下展现出优良的硝化效果, 但由于其存在生长繁殖缓慢、对生存环境要求高、不易在水中定殖、难以获得纯培养物和保种等问题^[9], 导致它们被应用于水产养殖生产后并未起到较好的硝化效果。而异养硝化微生物因其种类繁多, 它们的硝化效果和硝化机理难以探究与归纳, 尚处于研究阶段^[10-11]。王光玉等^[12]提出, 可基于硝化菌群的富集培养技术构建适用于水产养殖的生物脱氮系统, 从而高效稳定地去除养殖水体中的有害氮素。当前, 在水产养殖领域有关硝化菌群定向培育及硝化功能菌株的研究较少。

本研究团队前期从对虾集约化养殖中后期(50 d)的水体环境中, 通过富集驯化获得了具有高效去除氨氮和亚硝氮能力的硝化菌群。然而, 由于硝化菌群的富集驯化过程耗时较长; 且随着硝化菌群富集液转接次数的增加, 某些批次的硝化菌群硝化功能逐渐减弱甚至丧失; 而当硝化菌群富集液转接量较少时, 发现其对氨氮的去除功能减弱, 甚至丧失, 但对亚硝氮的去除功能影响较小。因此, 为了缩短硝化菌群的起效时间、强化和稳定其硝化效果, 本研究选取了从硝化菌群中分离筛选的菌株 XH1, 开展其在不同盐度、pH、温度、通气量条件下的生长及对氨氮和亚硝氮的去除效果研究, 以期了解 4 种因子对菌株 XH1 的生长及硝化效果的影响, 确定其适宜生长并有较好硝化效果的条件, 为养殖水体去除有害氮素的实际应用提供有效菌源和技术方法。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

菌株 XH1 由中国水产科学研究院南海水产研究所提供, 该菌株从对虾集约化养殖中后期(50 d)

水体中富集驯化获得, 其原著水体环境的盐度为 23%–25%, pH 7.3–8.5, 温度 28–30 °C。经鉴定该菌株为硫氧化柠檬胞菌(*Citricella thiooxidans*), 已于中国典型培养物保藏中心进行菌种保藏, 保藏编号为 CCTCCM 2017436。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

光合细菌改良液体培养基^[13-14], 光合细菌改良固体培养基: 在液体培养基的基础上添加琼脂粉 20.00 g/L; 菌株活化种子液: 在光合细菌改良液体培养基的基础上将氯化铵的添加量改为 0.068 g/L; 分析培养液: 在光合细菌改良液体培养基的基础上额外添加亚硝酸钠 0.13 g/L, 同时将氯化铵的添加量改为 0.068 g/L, 使该培养液初始氨氮和亚硝氮浓度分别约为 24.00 mg/L 和 20.00 mg/L。

酵母膏、琼脂粉购于广东环凯微生物科技有限公司; 谷氨酸购于广州健阳生物科技有限公司; 盐酸萘乙二胺购于阿拉丁试剂(上海)有限公司; 其余试剂购于广州化学试剂厂。

光学显微镜购自奥林巴斯(中国)有限公司; 微生物液体发酵系统购自赛多利斯科学仪器有限公司; 紫外-可见分光光度计购自上海欣茂仪器有限公司; 超净工作台购自艺思高科技有限公司; 超滤装置(隔膜真空泵)购自天津市津腾实验设备有限公司。

1.3 不同因子对菌株 XH1 生长及其硝化效果的影响

将保存的菌株 XH1 于光合细菌固体培养基平板上活化, 于实验开始前挑取单菌落, 接入种子液中。设不同梯度的盐度、pH、温度、通气量实验组, 各实验组初始接菌量均为 10^7 cells/mL, 每组设 3 个平行。依照 GB 17378.4-2007 方法, 分别测定实验过程中氨氮和亚硝氮的浓度变化。用血球计数板在光学显微镜下计数, 检测菌株 XH1 的菌量变化。

1.3.1 盐度

添加菌株 XH1 的实验组盐度设置为 5%、15%、25%、35%、45%, 对照组(盐度 25%)不添

加菌株 XH1。接菌后放入摇床, pH 为 6.0, 30 °C、200 r/min 振荡至实验结束, 每天调节培养液 pH 值, 使其保持在 6.0 左右。于第 0、1、2、3、4、5、9 天进行取样检测其氨氮、亚硝氮含量, 同时测定菌量。

1.3.2 pH

添加菌株 XH1 的实验组 pH 设置为 4.5、6.0、7.5、9.0、10.5, 对照组(pH 6.0)不添加菌株 XH1。接菌后放入摇床, 盐度为 15%, 30 °C、200 r/min 振荡至实验结束, 每天测定培养液 pH 值并进行调节, 使各实验组 pH 值维持于初始水平。取样时间和测定指标同 1.3.1。

1.3.3 温度

添加菌株 XH1 的实验组温度设置为 5、15、25、30、35、45 °C, 对照组(温度 30 °C)不添加菌株 XH1。接菌后放入摇床, 盐度和 pH 分别设为 15%和 7.5, 200 r/min 振荡至实验结束。取样时间和测定指标同 1.3.1。

1.3.4 通气量

以 2 L 发酵罐实验系统为测试平台, 将通气量设为高、低两组[1 V/(V·min)和 0.5 V/(V·min)], 实验前矫正发酵罐溶氧电极和 pH 电极, 该实验系统可自动记录发酵罐中溶氧量的变化, 并自动调节罐内培养液的温度和 pH 值。实验过程中的 pH 值设置为 7.5、盐度 15%、温度 30 °C, 转速为 200 r/min, 在第 0、1、2、3、4、5 天进行取样, 测定指标同 1.3.1。

1.4 数据分析

采用软件 SPSS 20.0 对实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 使用 Duncan 检验方法, 显著水平设为 $P < 0.05$ 。

氨氮去除率=(氨氮初始浓度-培养后氨氮浓度)/氨氮初始浓度 $\times 100\%$;

亚硝氮去除率=(亚硝氮初始浓度-培养后亚硝氮浓度)/亚硝氮初始浓度 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 盐度对菌株 XH1 生长及其硝化效果的影响
如图 1A 所示, 盐度对菌株 XH1 的生长有一

定的影响,盐度越高,进入对数生长期和达到稳定生长期的时间越晚。盐度 5‰组和 15‰组在第 1 天的菌量即达到 10^9 cells/mL,盐度 25‰组、35‰组和 45‰组分别在第 2 天、第 4 天和第 9 天达到 10^9 cells/mL,最高为 1.42×10^9 cells/mL。

实验过程中对照组氨氮浓度无明显变化 ($P>0.05$),盐度 5‰、15‰、25‰、35‰组的氨氮浓度分别在第 1、2、3、4 天降至最低,最高氨氮去除率分别达到 96.2%、92.2%、86.8%、86.8%,均显著优于盐度 45‰组 ($P<0.01$)。于第 9 天,盐度 5‰–35‰组的氨氮浓度又回升至约 10.46–18.51 mg/L,其中盐度 5‰组和 15‰组的氨氮浓度最低且二者间无显著差异 ($P>0.05$) (图 1B)。在 9 d 的监测过程中各实验组和对照组培养液中的亚硝氮浓度均无显著变化 ($P>0.05$) (图 1C)。

2.2 pH 对菌株 XH1 生长及其硝化效果的影响

当 pH 6.0–9.0 时,于第 1 天内菌株 XH1 的菌量可从 10^7 cells/mL 增长至 10^9 cells/mL;当初始 pH 为 4.5 或 10.5 时其菌量始终无显著变化(图 2A)。

实验过程中对照组、pH 4.5 和 pH 10.5 组的氨氮浓度始终无明显变化 ($P>0.05$); pH 6.0–9.0 组的氨氮浓度均于第 1 天大幅降低至约 0.79 mg/L,组间无显著差异 ($P>0.05$),最高氨氮去除率分别为 96.7%、97.0%、96.7%。但随后 pH 6.0–9.0 组的氨氮浓度呈现回升的趋势,于第 9 天,回升至 15.16–22.93 mg/L,其中 pH 7.5 组的氨氮浓度最低(图 2B)。就亚硝氮的浓度变化而言,对照组和各实验组均未呈现明显下降趋势,实验过程中在 12.91–20.03 mg/L 的范围内小幅波动(图 2C)。

2.3 温度对菌株 XH1 生长及其硝化效果的影响

温度为 5 °C 时菌株 XH1 的菌量始终无显著变化,温度为 15–45 °C 时其菌量于 1–2 d 内从 10^7 cells/mL 增长至 10^9 cells/mL,并一直维持在该数量水平(图 3A)。

温度 5、45 °C 组和对照组的氨氮浓度无明显变化 ($P>0.05$),温度 30 °C 组氨氮浓度在第 1 天时降至最低,其氨氮去除率为 97.0%,温度 15、25、

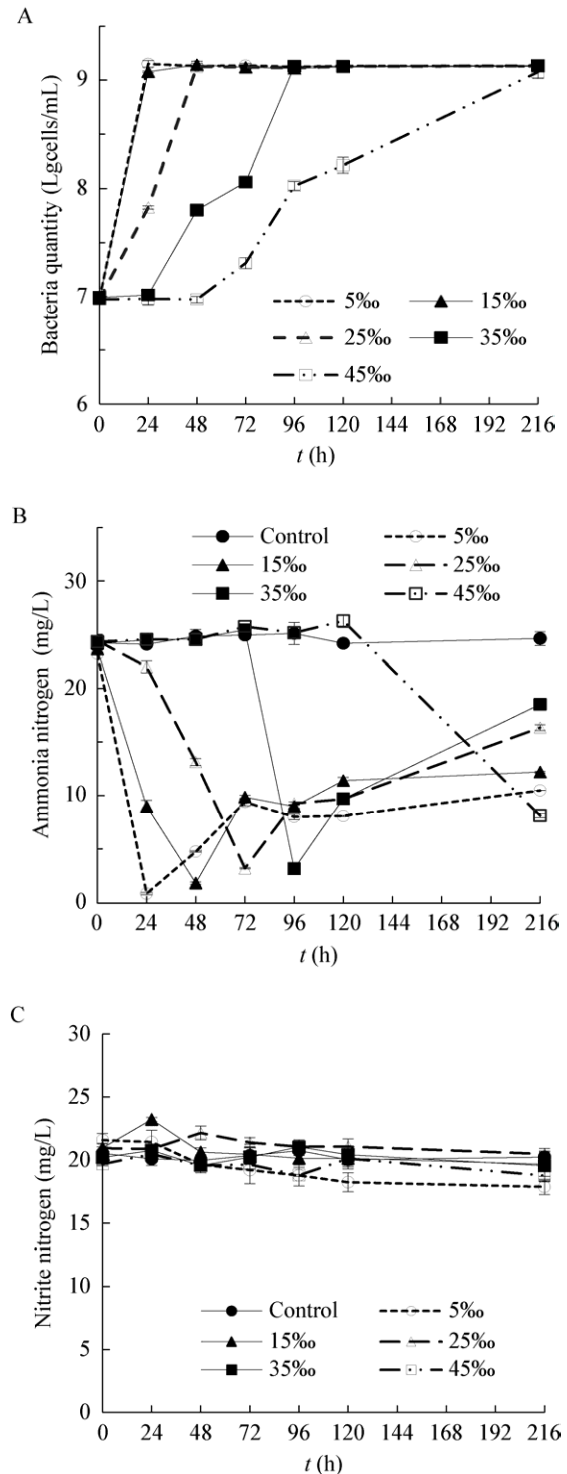


图 1 不同盐度条件下菌株 XH1 的菌量(A)、培养液中氨氮(B)、亚硝氮(C)的含量变化

Figure 1 Changes of strain XH1 amount (A), ammonia nitrogen (B) and nitrite nitrogen (C) concentrations in medium under different salinities

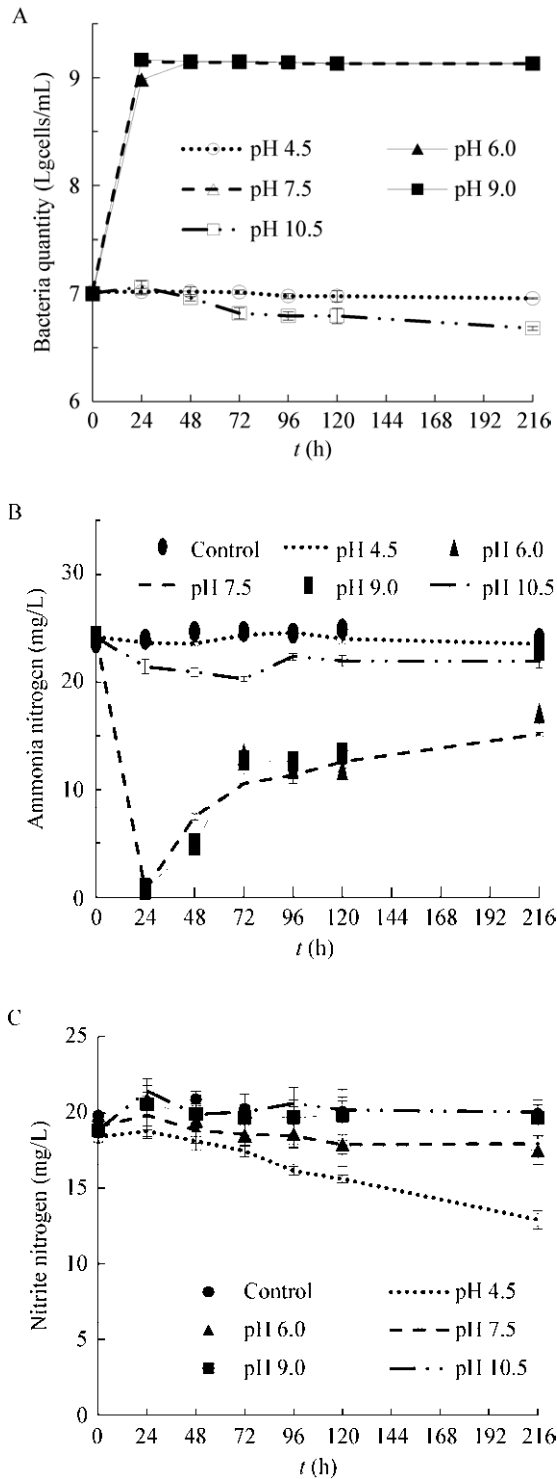


图 2 不同 pH 条件下菌株 XH1 的菌量(A)、培养液中氨氮(B)、亚硝酸盐氮(C)的含量变化
 Figure 2 Changes of strain XH1 amount (A), ammonia nitrogen (B) and nitrite nitrogen (C) concentrations in medium under different pH conditions

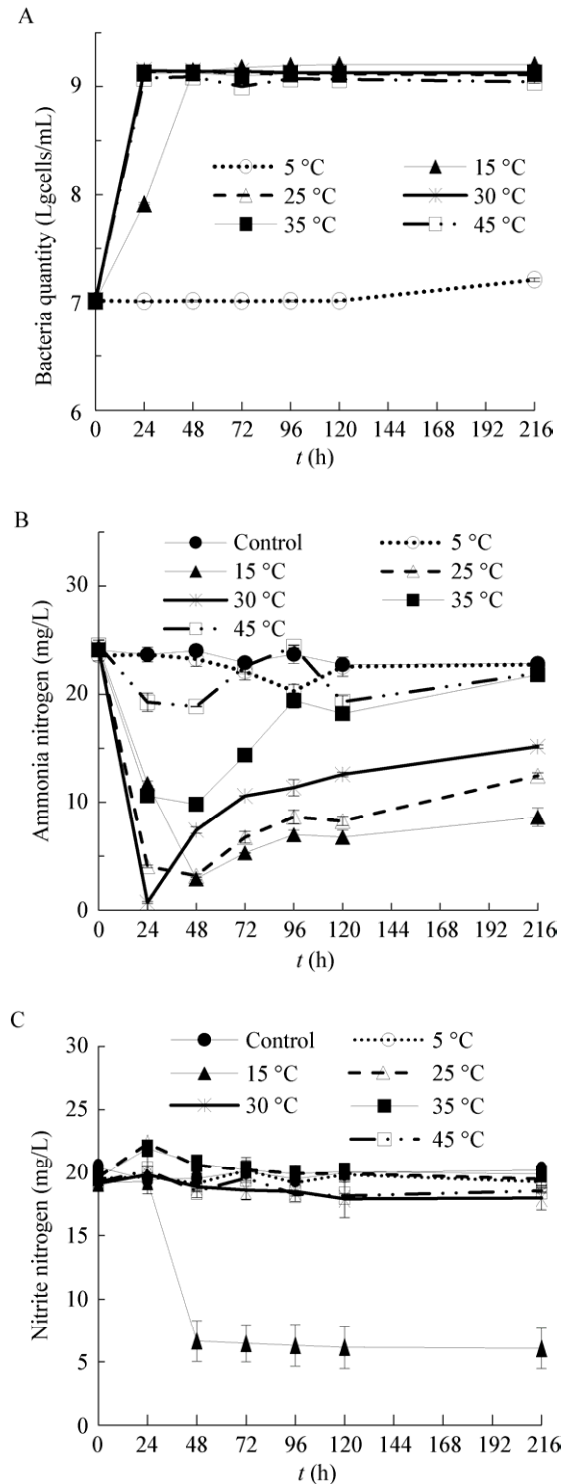


图 3 不同温度条件下菌株 XH1 的菌量(A)、培养液中氨氮(B)和亚硝酸盐氮(C)的含量变化
 Figure 3 Changes of strain XH1 amount (A), ammonia nitrogen (B) and nitrite nitrogen (C) concentrations in medium under different temperatures

35 °C 组的氨氮浓度在第 2 天时降至最低, 其氨氮去除率分别为 88.0%、86.8%、59.3%, 其后各实验组的氨氮浓度升高至约 8.62–21.80 mg/L, 其中温度为 15–30 °C 时氨氮浓度较低(图 3B)。就亚硝氮的浓度变化而言, 温度 15 °C 组亚硝氮浓度于第 2 天大幅降至 6.75 mg/L, 此后浓度稳定, 其对亚硝氮的最高去除率为 68.3%。而对照组和其余实验组亚硝氮浓度无显著变化($P>0.05$) (图 3C)。

2.4 通气量对菌株 XH1 生长及其硝化效果的影响

通气量为 1 V/(V·min)和 0.5 V/(V·min)时, 菌

株 XH1 在第 1 天内进入对数生长期, 培养液中的溶氧值分别在 15 h、7 h 时达到最低, 随后不断升高并稳定在 90.0% 左右, 其菌量最高分别可达 1.72×10^9 cells/mL、 2.34×10^9 cells/mL (图 4A、B)。菌株 XH1 在通气量为 1 V/(V·min)和 0.5 V/(V·min)时, 于第 1 天内对氨氮的去除率分别可达 91.4% 和 78.4%, 此后该两组培养液中的氨氮浓度分别逐渐回升至 17.28 mg/L 和 19.94 mg/L (图 4C)。两实验组的亚硝氮浓度于第 1 天降低, 其后分别稳定在约 7.60–7.96 mg/L、10.03–10.75 mg/L 的范围, 其对亚硝氮的最高去除率为 62.6% 和 43.7% (图 4D)。

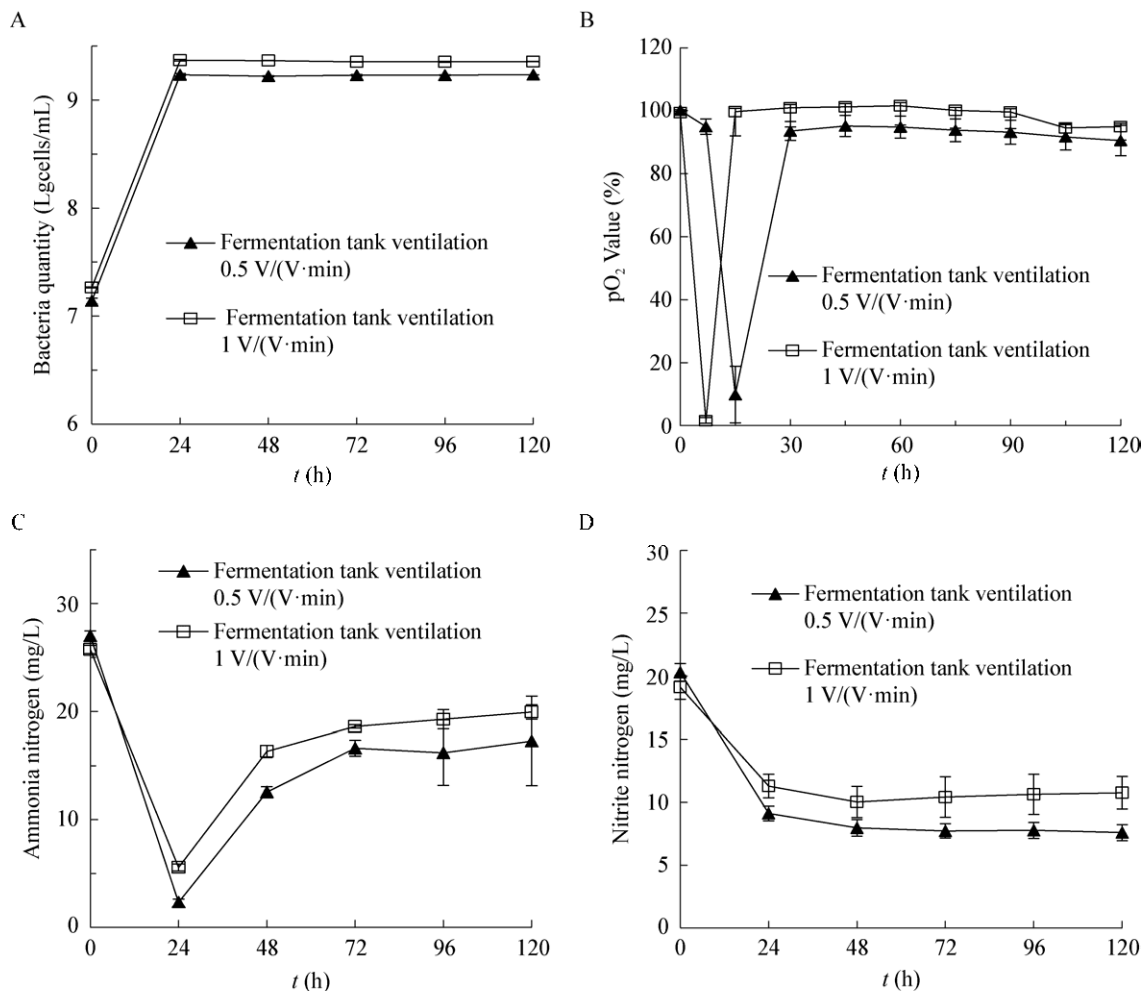


图 4 不同通气量条件下菌株 XH1 的菌量(A)和培养液中溶氧(B)、氨氮(C)、亚硝氮(D)的含量变化

Figure 4 Changes of strain XH1 amount (A), dissolved oxygen (B), ammonia nitrogen (C) and nitrite nitrogen (D) concentrations in medium under different ventilations

3 讨论与结论

菌株 XH1 为柠檬胞菌属的硫氧化柠檬胞菌, 该属由 Sorokin 等^[15]在 2005 年提出, 目前仅包含 4 种菌^[15-18]。硫氧化柠檬胞菌是该属的第一位成员, 其外形为柠檬形短杆状并成对出现, 能将硫代硫酸盐、硫化物和元素硫氧化成硫酸盐, 并利用氧化过程产生的能量进行异养生长, 可利用硝酸盐进行反硝化作用^[15]。当前对柠檬胞菌属菌株的生态功能及其产业化应用的报道相对较少, 主要集中在对其去除污染物以及酶功能的探讨方面。Iwaki 等^[19]从海水中筛得 11 种菌株, 其中柠檬胞菌属菌株是第一次被报道能够降解邻苯二甲酸酯。Suarez-Suarez 等^[20]在海岸的石油污染沙样中获得菌株 *Citricella aestuarii* 357, 发现其具有将硝酸盐还原成氨氮、将硫酸盐和硫代硫酸盐还原成 H_2S 的基因, 并在其基因组中发现了可能涉及芳香族化合物(苯甲酸盐、甲苯等)代谢的 120 多种蛋白质编码基因。然而具有氨氮去除功能的柠檬胞菌属菌株的筛选、氨氮去除效果、环境适应性及应用方面还尚未见报道。

盐度、温度、pH 和溶氧是水产养殖中的几个重要水质理化指标。结果显示, 菌株 XH1 在盐度 5‰–35‰、pH 6.0–9.0、15–45 °C 及通气量 0.5–1 V/(V·min)的条件下均生长良好, 在较低盐度(5‰–15‰)和温度(15–30 °C)下生长更优。这与 Sorokin 等^[15]报道的硫氧化柠檬胞菌可在温度 8–35 °C (最佳 25 °C)和 pH 6.5–8.5 (最佳 pH 7.8)的条件下生存有所不同, 菌株 XH1 能适应的温度和 pH 范围更广。另外, 菌株 XH1 在盐度 5‰–15‰时最高氨氮去除率约为 92%–96%, 而盐度为 25‰–45‰时最高氨氮去除率约为 66%–86%, 说明菌株 XH1 对较低盐度水体环境的氨氮去除效果更佳。而在 pH 为 6.0–9.0 以及温度为 30 °C 时, 菌株 XH1 对氨氮的最高去除率在 96% 以上, 温度为 15–25 °C 时约为 87%, 而当 pH 为 4.5 和 10.5、

温度为 5 °C 和 45 °C 时, 氨氮去除效果不明显, 温度为 35 °C 时最高氨氮去除率为 59.3%, 表明其中性偏碱的条件下有较好的氨氮去除效果, 而温度过高或过低均会弱化其氨氮去除效果。在通气量 1 V/(V·min)和 0.5 V/(V·min)的条件下, 菌株 XH1 均能良好生长, 对氨氮的最高去除率分别为 91.4% 和 78.4%, 因此在实际生产中可采用低通气量扩培菌株 XH1, 在节约资源的同时不会影响其生长和氨氮去除效果。在华南地区的水产养殖生产中适宜的水体盐度、pH、温度的覆盖区间分别为 0–38.1‰, 6.9–8.7, 15–35 °C, 在不同的养殖品种和养殖模式之间会存在一定的差异^[21]。通常具有氨氮去除功能的菌株环境适应范围为盐度 0–35‰, pH 6.0–9.0, 温度 15–40 °C, 该条件下菌株对氨氮的去除率约为 40%–98%^[22-23]。可见, 菌株 XH1 对盐度、pH、温度的适应范围与大部分水产养殖池塘水体的变化区间相吻合。

微生物将氨氮转化为多种形态氮的方式大体分为 3 种: (1) 氨氮被氧化为亚硝氮、硝氮等; (2) 氨氮被微生物同化吸收合成其生长所需含氮物质; (3) 氨氮被转化为含氮气体, 如 NO_x 、 N_2 ^[24]。刘志云等^[25]研究的粉状毕赤酵母菌(*Pichia farinosa*) NGH 主要通过同化吸收和转化为硝酸盐来去除氨氮。黄雪娇等^[26]分离筛选的一株具有氨氮去除功能的光合细菌, 在其培养过程中并未发现亚硝氮和硝氮的积累, 推测该菌株可能是通过同化作用去除氨氮。当前尚未有关于硫氧化柠檬单胞菌氨氮去除机制的报道。本研究过程中, 各实验组中菌株 XH1 菌量的增加与氨氮去除同步, 且氨氮浓度大幅下降与菌株对数生长期吻合, 同时亚硝氮的浓度没有明显变化, 推测氨氮去除过程主要发生在菌株对数生长期, 大部分氨氮被菌株同化, 用于其自身生长繁殖^[27-28]。后期氨氮的大幅回升, 一方面可能是由于培养液中营养不足, 菌株进入衰亡期, 菌体自溶释放出的氨氮比菌株去除的氨氮多^[29]; 另外可能由于培养基中的大部分氨氮被菌株同化吸收, 菌株

能够利用培养液中的其他氮源,并以氨氮为其代谢产物。由于只检测了氨氮和亚硝氮,未检测其他氮元素指标,并不能明确菌株 XH1 的氨氮去除机制,还有待进一步的研究予以证实。

综上所述,本研究从硝化菌群中筛选获得的土著硫酸化柠檬胞菌 XH1 对盐度、pH、温度的适应性良好。然而,虽然其能将培养液中的氨氮几乎完全去除,但之后却又逐渐大幅回升。当前已明确了实验室条件下 4 种理化因子对菌株 XH1 氨氮去除效果的影响,之后将会对该菌株的氨氮去除机制做进一步研究,明确氨氮回升的原因,以期完善人们对硫酸化柠檬胞菌的认知、为进一步研发高效稳定的硝化菌剂产品做准备。

REFERENCES

- [1] Zhang ZP. The sources of ammonia and nitrogen pollution in water and their controls—thinking of eutrophication[J]. Inner Mongolian Environmental Sciences, 2008, 20(5): 71-72 (in Chinese)
张占平. 水体中氨氮污染来源及其控制——富营养化的思考[J]. 内蒙古环境科学, 2008, 20(5): 71-72
- [2] Xiao W, Li DY, Xu Y, et al. Effects of chronic external ammonia stress on growth, immunity and metabolism of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(4): 81-87 (in Chinese)
肖炜, 李大宇, 徐杨, 等. 慢性氨氮胁迫对吉富罗非鱼幼鱼生长、免疫及代谢的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(4): 81-87
- [3] Fang JL, Wang Y, Fang WH, et al. Study on pathogenicity of WSSV to Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under ammonia stress[J]. South China Fisheries Science, 2017, 13(4): 52-58 (in Chinese)
方金龙, 王元, 房文红, 等. 氨氮胁迫下白斑综合征病毒对凡纳滨对虾的致病性[J]. 南方水产科学, 2017, 13(4): 52-58
- [4] Shen NN, Li CH, Jia XP, et al. Application of three microbiological preparations to control of water quality in industrialized shrimp culture[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(3): 20-25 (in Chinese)
沈南南, 李纯厚, 贾晓平, 等. 3 种微生物制剂调控工厂化对虾养殖水质的研究[J]. 南方水产, 2007, 3(3): 20-25
- [5] Li JY, Lin WT, Luo JF, et al. Community structure of microbes involved in nitrification and denitrification in typical shrimp-farming water[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(4): 478-488 (in Chinese)
李敬源, 林伟铁, 罗剑飞, 等. 典型对虾养殖水体中参与硝化与反硝化过程的微生物群落结构[J]. 微生物学报, 2012, 52(4): 478-488
- [6] Gou S, Huang J. Advances in denitrification characteristics of heterotrophic nitrification bacteria[J]. Microbiology China, 2009, 36(2): 255-260 (in Chinese)
苟莎, 黄钧. 异养硝化细菌脱氮特性及研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(2): 255-260
- [7] Nie HH, Zhao QF, Li CH, et al. Identification and characteristics of a strain of bacteria with highly-effective nitrite nitrogen removing[J]. Microbiology China, 2013, 40(11): 2146-2155 (in Chinese)
聂欢欢, 赵群芬, 李长红, 等. 一株高效去除亚硝酸氮细菌的分离鉴定及其脱氮特性研究[J]. 微生物学通报, 2013, 40(11): 2146-2155
- [8] Shen JQ, Fan WP, Wu SM, et al. Removal of NH₃-N by microbe without organic carbon source under oxygen limited condition[J]. Microbiology China, 2006, 33(1): 94-99 (in Chinese)
沈珈琦, 范伟平, 吴晟旻, 等. 在无有机碳源和缺氧条件下自养菌和异养菌脱氨氮作用[J]. 微生物学通报, 2006, 33(1): 94-99
- [9] Chen HG, Zhou Q. Preliminary study on physiological characteristics of nitrifying bacteria[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 1959(3): 166-170 (in Chinese)
陈华葵, 周启. 硝化细菌生理学特性的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 1959(3): 166-170
- [10] Luo GZ, Chen JJ, Yu WJ, et al. A new heterotrophic nitrifying bacteria effect of aquaculture water treatment[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(8): 4206-4212 (in Chinese)
罗国芝, 陈家捷, 于文杰, 等. 一株新型异养硝化细菌处理养殖水体的效果[J]. 环境工程学报, 2016, 10(8): 4206-4212
- [11] Yang T, Yang Y, Liu YX. Research progress and challenges of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. Microbiology China, 2017, 44(9): 2213-2222 (in Chinese)
杨婷, 杨娅, 刘玉香. 异养硝化-好氧反硝化的研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2213-2222
- [12] Wang GY, Ma F, Wei QF, et al. Study on enrichment, domestication and screening of marine nitrobacteria[J]. Marine Fisheries Research, 2008, 29(1): 76-80 (in Chinese)
王光玉, 马放, 魏琦峰, 等. 海洋硝化菌群的富集驯化和筛选的初步研究[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(1): 76-80
- [13] Yang YY, Cao YC, Li ZJ, et al. The application of *Rhodospseudomonas palustris* PS1 on purifying waste water from intensive shrimp culture[J]. Chinese Journal of Microecology, 2009, 21(1): 4-6 (in Chinese)
杨莺莺, 曹煜成, 李卓佳, 等. PS1 沼泽红假单胞菌对集约化对虾养殖废水的净化作用[J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(1): 4-6
- [14] Yang YY, Li ZJ, Jia XP, et al. Effect of biochemical characteristics and environmental factor of water purification photosynthetic bacteria PS2 on its growth[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2003, 12(4): 293-297 (in Chinese)
杨莺莺, 李卓佳, 贾晓平, 等. 水质净化作用菌光合细菌 PS2 的生物学特性及环境因子对其生长的影响[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(4): 293-297
- [15] Sorokin DY, Tourova TP, Muyzer G. *Citricella thiooxidans* gen.

- nov., sp. nov., a novel lithoheterotrophic sulfur-oxidizing bacterium from the Black Sea[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2005, 28(8): 679-687
- [16] Lai QL, Fu YY, Wang JN, et al. *Citricella marina* sp. nov., isolated from deep-sea sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(4): 728-731
- [17] Park MS, Chung BS, Lee HJ, et al. *Citricella aestuarii* sp. nov., isolated from a tidal flat[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(11): 2595-2599
- [18] Rajasabapathy R, Mohandass C, Dastager SG, et al. *Citricella manganoxidans* sp. nov., a novel manganese oxidizing bacterium isolated from a shallow water hydrothermal vent in Espalamaca (Azores)[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2015, 108(6): 1433-1439
- [19] Iwaki H, Nishimura A, Hasegawa Y. Isolation and characterization of marine bacteria capable of utilizing phthalate[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(3): 1321-1325
- [20] Suarez-Suarez LY, Brunet-Galmes I, Piña-Villalonga JM, et al. Draft genome sequence of *Citricella aestuarii* strain 357, a member of the *Roseobacter* clade isolated without xenobiotic pressure from a petroleum-polluted beach[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(19): 5464-5465
- [21] Li ZJ, Jia XP, Yang YY, et al. *Microbiological Techniques and Healthy Farming of Prawns*[M]. Beijing: Ocean Press, 2007: 68-77 (in Chinese)
李卓佳, 贾晓平, 杨莺莺, 等. *微生物技术与对虾健康养殖*[M]. 北京: 海洋出版社, 2007: 68-77
- [22] Sun Y, Yang XQ, Qian SJ. Cloning and expression of polychlorobiphenyl/biphenyl degrading gene from *Rhodococcus pyridinovorans*[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(6): 734-737 (in Chinese)
孙艳, 杨秀清, 钱世钧. 嗜吡啉红球菌多氯联苯降解基因的克隆与表达[J]. *中国环境科学*, 2004, 24(6): 734-737
- [23] Kirkwood KM, Andersson JT, Fedorak PM, et al. Sulfur from benzothiophene and alkylbenzothiophenes supports growth of *Rhodococcus* sp. strain JVH1[J]. *Biodegradation*, 2007, 18(5): 541-549
- [24] Wang HY, Ma F, Yang K, et al. Ammonia removal by two strains of heterotrophic nitrifying bacteria[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(1): 47-52 (in Chinese)
王弘宇, 马放, 杨开, 等. 两株异养硝化细菌的氨氮去除特性[J]. *中国环境科学*, 2009, 29(1): 47-52
- [25] Liu ZY, Liu GH, Xie Q, et al. Isolation and characterization of an NH_4^+ -N degrading bacterium *Pichia farinosa* NGH for NH_3 reduction from chicken manure[J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2016, 37(3): 43-49 (in Chinese)
刘志云, 刘国华, 谢庆, 等. 粉状毕赤酵母 NGH 的氨氮降解特性及除氨效果研究[J]. *家畜生态学报*, 2016, 37(3): 43-49
- [26] Huang XJ, Yang C, Ni JP, et al. Isolation, identification and characteristics of a *Rhodospseudomonas* with high ammonia-nitrogen removal efficiency[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(6): 2276-2283 (in Chinese)
黄雪娇, 杨冲, 倪九派, 等. 1株高效去除氨氮的红假单胞菌的分离鉴定及特性[J]. *环境科学*, 2016, 37(6): 2276-2283
- [27] Chen PZ, Wang LG, Wang YC, et al. Screening and denitrification characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrifier bacteria[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(12): 3614-3618 (in Chinese)
陈咄圳, 王立刚, 王迎春, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及脱氮性能的实验研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(12): 3614-3618
- [28] Zhang PY, Qu Y, Yu DS, et al. Comparison of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification system by strain qy37 and its accelerating removal characteristic of NH_4^+ -N[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(8): 1819-1826 (in Chinese)
张培玉, 曲洋, 于德爽, 等. 菌株 qy37 的异养硝化/好氧反硝化机制比较及氨氮加速降解特性研究[J]. *环境科学*, 2010, 31(8): 1819-1826
- [29] Li YH, Chen XL, Xu XP. Isolation and identification of heterotrophic nitrification-aerobic denitrifier bacteria *Bacillus* sp. JB4[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2016(16): 23-25 (in Chinese)
李泳洪, 陈小岚, 许旭萍. 异养硝化-好氧反硝化菌 *Bacillus* sp. JB4 的分离鉴定试验[J]. *绿色科技*, 2016(16): 23-25