

异养硝化在水产养殖中的应用

王李宝, 万夕和, 沈辉 (1. 江苏省海洋水产研究所, 江苏南通226007; 2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏南京210097)

摘要 比较了异养硝化作用与传统自养硝化作用, 结果表明: 异养硝化作用不仅客观存在, 而且某些特殊的异养细菌能同步进行异养硝化和好氧反硝化, 在养殖水体水质改善方面具有广泛的应用前景。

关键词 自养硝化; 异养硝化; 好氧反硝化; 水产养殖

中图分类号 S917.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)22-5879-03

Heterotrophic Nitrification and its Application in Aquaculture

WANG Li-bao et al (Institute of Marine Fisheries, Nantong, Jiangsu 226007)

Abstract Compared with the traditional autotrophic nitrification, heterotrophic nitrification is the process objectively, and some special kinds of heterotrophic bacteria can carry out heterotrophic nitrification and aerobic denitrification simultaneously, providing important application value to the improvement of aquaculture water quality.

Key words Autotrophic nitrification; Heterotrophic nitrification; Aerobic denitrification; Aquaculture

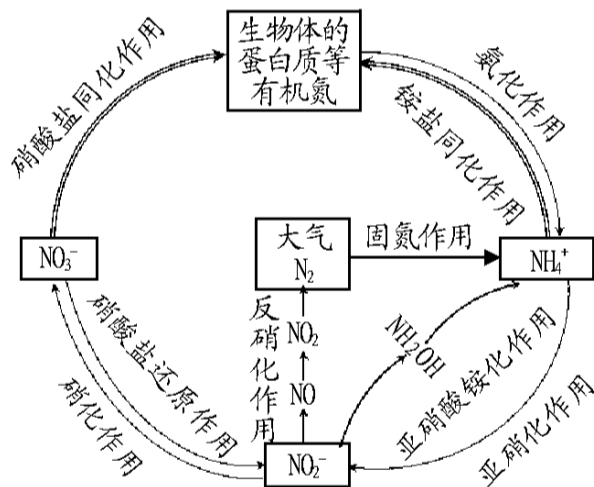
我国水产养殖业近年来取得了举世瞩目的成就。2005年, 中国水产养殖产量已达3 400万t, 超过全球水产养殖产量的2/3, 较10年前增长超过2.5倍。但水产养殖业仍以静水、不排污的池塘养殖为主, 且大部分为高密度、单一品种养殖模式。这切断了自然生态体系的食物链循环, 养殖对象的残余饵料、排泄物、死亡残体等大量有机物失去了被其他生物利用的机会。这些有机物在微生物的作用下, 其中的蛋白质及核酸会慢慢分解, 产生大量氨等含氮有害物质, 造成养殖对象的急性中毒^[1-2]。尤其是氨在亚硝化细菌和光合细菌作用下转化成亚硝酸盐, 亚硝酸盐进一步与胺类物质结合, 形成具有强致癌作用的亚硝胺。亚硝酸盐的长期蓄积会直接导致鱼、虾等养殖对象抗病力的降低, 引起各种病原菌的侵袭, 通常被视作是鱼、虾的致病根源^[3]。亚硝酸盐经硝化细菌作用转变成硝酸盐, 被植物吸收利用而进入氮素循环。所以, 硝化细菌是参与养殖水环境同周边环境氮素物质交换的重要承担者。

以光合细菌(Photosynthetic bacteria)、硝化细菌(Nitrifiers)、乳酸菌^[4](*Lactobacillus* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)为主的益生菌制剂便应运而生, 并以其高效、安全、无污染、低成本等优势逐渐受到人们的重视, 成为水产养殖水体改良、疾病控制的生态养殖模式研究的热点^[5-9]。水产养殖正在形成生物防治为主, 以物理疗法和化学为辅的系统养殖工程^[10]。

传统意义上的硝化作用指自养硝化(Autotrophic nitrification)。虽然自养硝化菌在水体氮循环中起到非常重要的作用(图1), 但自养硝化细菌分离困难、代时长等特点在一定程度上阻碍了硝化细菌作为纯微生物制剂在水产养殖领域的推广应用。随着在一些特殊生境中真菌、放线菌、异养细菌等异养菌完成从铵氧化到硝酸盐这一现象的发现^[11], 异养硝化(Heterotrophic nitrification)理论被部分学者提出, 并逐渐得到验证^[12-14]。该理论的提出为异养硝化细菌在水产养殖领域水质环境改善中的推广应用奠定了良好的理论基础。

1 自养硝化作用

硝化作用是由2类特殊微生物分2个不同阶段完成的。这2种类型的微生物具有独特的化能自养氮素代谢方式, 即氨→亚硝酸, 由氨氧化细菌(*Ammonia-oxidizing bacteria*)完成; 亚硝酸→硝酸, 由亚硝酸盐氧化细菌(*Nitrite-oxidizing bacteria*)完成。19世纪末, Wnogradsky创立了自然界中化能自养型硝化作用理论, 确立了以 *Nitrosomonas*(亚硝化单胞菌属)和 *Nitrobacter*(硝化杆菌属)为代表的自养硝化细菌是整个自然界硝化作用的主要参与者的重要论断。该论断得到了Lees等大批学者的支持^[15]。



注: 单线表示为微生物特有的过程; 双线表示为微生物和植物共有的过程。

图1 自然界中的氮素循环

长期以来有关硝化作用的研究几乎均是针对 *Nitrosomonas* 和 *Nitrobacter* 等代表菌株的研究^[16](表1)。自养型硝化细菌为专性好氧菌, 将 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 和 CO_2 等无机物作为碳源, 从 NH_4^+ 或 NO_2^- 的氧化反应中获得能量, 其基本特征是生长速率低, 这是由氨氮和亚硝酸盐氧化过程的产能率低所致。

2 异养硝化作用

早在19世纪末和20世纪初, 异养硝化作用就在土壤硝化过程中被发现^[17]。近几十年来, 研究者相继从不同类型的土壤^[11, 18-20]、污泥^[21-22]、湖水^[23]、深海火山口^[24]等处发现并分离出多种具有硝化活性的异养微生物(包括细菌、放线菌和真菌), 间接证明了一些反硝化微生物能够进行硝化作用, 生成 NO_2^- 或 NO_3^- ^[25]。虽然硝化作用的研究已历经百年, 但有关异养硝化的研究报道相对较少, 其直接原因就是

基金项目 江苏省社会发展科技计划(面上)项目(BS2006029)。

作者简介 王李宝(1978-), 男, 江苏南通人, 硕士, 助理研究员, 从事海洋微生物的研究。

收稿日期 2006-07-13

方法学上的欠缺。目前原位土壤异养硝化作用的存在及重要性的证明更多依赖于间接途径:最大可能数法^[26]、射线照射刺激活性^[27]和硝化抑制剂鉴别^[28]等。抑制剂鉴别法是区分土壤硝化作用自养型和异养型的最主要手段^[18,29]。研究手段相对滞后致使很多试验结果相互矛盾。如,一些报道认为自养硝化作用在酸性森林土壤中占主导作用^[30-31],与多数酸性森林土壤中的硝化作用报道^[12-14]相左。

异养硝化作用常被用来解释自养硝化微生物不能生长或未能检测到土壤中实际发生的硝化作用。故许多研究者将酸性土壤的硝化作用首先归功于异养硝化微生物,自养硝化细菌仅控制农业土壤中的硝化作用^[32-33]。至此,异养硝化作用的客观存在性得到了大多数学者的认同。传统的“硝化作用”定义具有很大的局限性,从广义上讲,“硝化作用”是微生物将任何还原态的氮氧化为氧化态氮的过程^[34]。

表1 已报道的化能自养型硝化细菌

氧化阶段	属名	种名
氨氧化细菌	亚硝化单胞菌属	欧洲亚硝化单胞菌
		寡食亚硝化单胞菌
		耐冷亚硝化单胞菌
		海洋亚硝化单胞菌
	亚硝化螺菌属	白里亚硝化螺菌
	亚硝化叶菌属	多形亚硝化叶菌
	亚硝化弧菌属	纤细亚硝化弧菌
	亚硝化球菌属	海洋亚硝化球菌
		嗜盐亚硝化球菌
	亚硝酸盐氧化细菌	硝化杆菌属
维氏硝化杆菌		
汉堡硝化杆菌		
硝化螺菌属		海洋硝化螺菌
		硝化刺菌属
硝化球菌属	活动硝化球菌	

注:亚硝化叶菌属已被重新划分,定名为多形亚硝化螺菌(*Nitrosospora multiformis*);亚硝化弧菌属已被重新划分,定名为纤细亚硝化螺菌(*Nitrosospora tenuis*)。

异养硝化菌中,真菌被认为是数量最大、效率最高的异养硝化菌,如黄曲霉(*Aspergillus flavus*)^[35]、青霉菌(*Penicillium* sp.)^[17]、轮枝菌(*Verticillium* sp.)^[36]、柱孢犁头霉(*Absidia cylindrospora*)^[11];此外,某些放线菌^[17]、细菌在自然界或实验室的纯培养中也被确定为具有硝化能力的异养微生物。异养硝化细菌中报道的有反硝化假单胞菌(*Pseudomonas denitrificans*)^[25]、铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)^[25]、荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)^[25]、产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.)^[37]、节杆菌(*Athrobacter* sp.)^[23]、粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)^[38-39]以及一些新发现的菌种(或属)^[26]。一些研究以N同位素示踪异养硝化的过程,发现异养菌并不氧化 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,但是能将有机氮直接氧化为硝酸盐,而跨过有机氮分解为氨氮、再氧化为亚硝酸盐2步;而另有实验室培养结果^[11]表明,异养硝化产生的 NO_3^- 来源于氨氮,可能跨过氨氮氧化为亚硝酸盐这一步,如图2所示。

3 硝化菌株的分离和筛选

3.1 自养硝化细菌的分离和筛选 实验室条件下,硝化细菌的分离手段繁琐,分离较为困难,致使有关硝化细菌的细

菌学和生物化学研究工作进展缓慢。其首要原因是,硝化细菌代时长,平均在10 h以上,伴生的异养细菌生长迅速,超过硝化细菌。而一般细菌代时约几十分钟,繁殖速度快。另外,硝化细菌具有生长在固体表面的习性,即使在液体培养基上,它们也往往附着在不溶性固体颗粒或器壁表面上,粘连在一起,给分离工作带来不便^[40]。

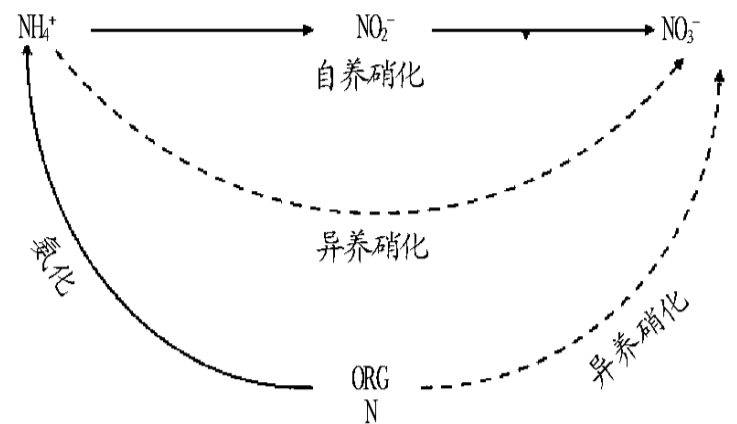


图2 自养硝化与异养硝化的比较

自养硝化细菌纯菌株分离的预处理,研究者多采用加富培养^[41]或MPN法进行预培养^[16]。该前处理耗时较长,一般至少3周,且易受到异养细菌的污染,后期分离纯化困难。经多次移植富集培养后的稀释液或最高稀释度的MPN阳性试管中培养液直接涂布于固体培养基平板(以精制琼脂或硅胶为凝固剂)进行分离。固体平板上的菌落一般很小(2 mm左右),需经显微操作才能得到纯培养菌株,并需检查纯度。

3.2 异养硝化细菌的分离和筛选 1949年,Quastel和Scheldfield以丙酮酸脲作为选择性培养基,采用连续灌注土柱的方法分离获得具有产生 NO_2^- (不经过氨化)的异养菌株。有关异养硝化细菌的分离方法主要是富集稀释分离法和普通的平板分离法。

富集稀释分离法根据具体富集方式可以分为土柱渗滤加富培养和土壤悬液加富培养。以无机铵盐为氮源、不同有机物为碳源或以有机氮化合物为惟一碳氮源,进行选择培养,经数次移植富集后,以同一培养基进行平板直接分离、确认活性。常用的培养基质有丙酮酸脲^[20,42-43]、乙酰胺^[21,44]、丙氨酸^[11,18]及其他有机物如脲、吡^[45]等。

平板分离法以通用的营养琼脂培养基平板或葡萄糖—牛肉浸汁—蛋白胨琼脂平板直接对新鲜土壤悬液进行分离。1959年Eylar和Schmidt采用葡萄糖—牛肉浸汁—蛋白胨琼脂平板对12种具有强氧化能力的土壤和10种具有不同物理化学性质的土壤进行异养硝化微生物的调查^[19]。Papen等采用牛肉膏蛋白胨琼脂平板直接分离获得一些具有硝化活性的异养菌株^[26]。

国内有关异养硝化细菌的分离和纯化方法已申请专利^[46]。该方法通过营养琼脂平板分离和格利斯试剂显色等步骤可从环境中分离、鉴定和纯化大量异养硝化微生物,且重复性好,分离的菌株代表性强,能再现土壤或分离样本的微生物原位状况^[47]。该专利方法摒弃了原有分离自养硝化细菌的思维定势,极大地简化了分离手段,缩短了分离周期。异养硝化细菌分离手段的革新是硝化作用研究领域的一大突破,同时为硝化作用的深入研究铺平了道路。

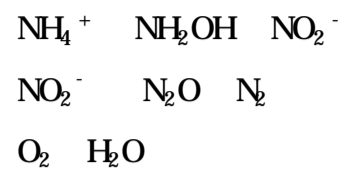
4 异养硝化细菌在养殖水体水质改善中的应用

4.1 作用机理 自养硝化细菌的推广使用之所以受到限

制,原因是多方面的,既有其自身的因素^[48],即生长缓慢,耐有机负荷低等;又有其外在因素,即纯菌株分离和保存手段落后^[40]。而异养硝化细菌则克服了自养硝化细菌的不利因素,其在水产养殖领域的应用思路也源于其在污水脱氮领域应用的启发。现代污水脱氮技术中,同时硝化反硝化(Simultaneous nitrification denitrification,简称SND)^[49]技术是运用得比较广泛和成熟的技术之一。该工艺是指硝化与反硝化反应同时在同一反应器中完成。

传统理论认为硝化与反硝化过程完全是对立的2个生化过程。但研究发现一些特殊的细菌可以同时进行异养硝化和反硝化^[25]。异养硝化细菌行使反硝化功能,使得在同一生境中连续或同时进行异养硝化和反硝化作用成为了可能。Robertson等从污水处理厂反硝化单元分离出的泛养硫球菌(*Thiosphaera pantotropha*)^[50],该菌可以进行好氧反硝化,同时又为异养硝化细菌。Robertson等人研究表明,泛养硫球菌是一种可以将由氨氮转化的亚硝酸盐还原为氮气的异养

硝化细菌。在恒化器中培养时,只有当反硝化酶被抑制时,体系中才有亚硝酸盐的积累。因此,他们认为,在完全好氧条件下,泛养硫球菌进行以下的同步硝化和反硝化过程。



4.2 应用前景 除了前面提及的泛养硫球菌(*T. pantotropha*)、粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)^[37]也被确认为同时具有异养硝化与好氧反硝化特征的细菌。大量具有反硝化功能的异养硝化细菌被发现、分离。这为异养硝化细菌在同化、分解水体中过剩的有机质的同时,降低氨态氮和亚硝酸盐提供了一定的理论可行性。许多污水生物脱氮研究工作都涉及到异养硝化过程。与自养硝化菌相比,异养硝化菌代谢途径复杂^[50],需要的溶解氧低、能耐受酸性环境、活性高(表2)^[51-52]。这些特点无疑都拓展了异养硝化作用在养殖水体脱氮及COD去除中的应用前景。

表2 污水处理过程中自养硝化过程和异养硝化过程的比较

微生物		温度	DO ng/L	pH	C/N
自养硝化过程	自养硝化细菌	低温不宜,最佳温度为35~42	>3	7.0~8.0	BOD 很低
异养硝化过程	极特殊的异养硝化细菌/好氧反硝化细菌	可在较低温度条件下发生	0.5~2.8	6.8~7.5	COD TN:2.0~8.2

5 结论

迄今为止,国外虽然已经有了硝化细菌生产方面的专利申请,但国内有关硝化细菌在水产养殖领域的应用报道几乎都集中于自养硝化细菌。而且由于自养硝化细菌代时长、耐有机负荷低等特点,所以它在水产养殖领域的推广应用受到了极大地限制。当前自养硝化细菌用于观赏鱼养殖相对较多^[53],因其售价比较昂贵,至今还没有出现其他剂型的纯硝化细菌产品。相对于自养硝化细菌的不利因素,异养硝化细菌的广泛存在、易分离和耐高有机复合等特点都为其在净化养殖水体,有效降低铵态氮和COD含量,改善养殖环境中的碳、氮循环奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] 王金叶,李华,巩华,等.氨氮、亚硝态氮亚急性毒性对鲤红细胞膜流动性和过氧化脂质的影响[J].水产学报,2004,28(12):135-140.
- [2] 彭自然,臧维玲,高杨,等.氨和亚硝酸盐对凡纳滨对虾幼虾的毒性影响[J].上海水产大学学报,2004,13(3):274-278.
- [3] 姜令绪,潘鲁青,肖国强.氨氮对凡纳滨对虾免疫指标的影响[J].中国水产科学,2004,11(6):537-541.
- [4] SAMI N, ARTHUR O, SEPOS, et al. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus* [J]. *Aquaculture*, 2001, 198:229-236.
- [5] INDUP K, KANWALIT C, AMARPREET S. Probiotics: potential pharmaceutical application [J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2002, 15(1):1-9.
- [6] GAIESOUE F. Probiotic formaldehyde treatments of *Aeromonas hydrophila* as food for larval plaice, *Pleuronectes platessa* [J]. *Aquaculture*, 2002, 212(1-4):347-360.
- [7] SHIRAT R, VANNIPA P, SOMKIAT P, et al. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth [J]. *Aquaculture*, 1998, 167(3-4):301-313.
- [8] R DE SCHRIJVER, F OLEVER. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus* [J]. *Aquaculture*, 2000, 186(1-2):107-116.
- [9] L HUYS, P DHERT, R ROELS, et al. Search for beneficial bacterial strains for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larviculture [J]. *Aquaculture*, 2001, 193(1-2):25-37.
- [10] 泮进明.循环流水水产养殖系统接种商品硝化菌的试验研究[J].水产学报,2004,28(4):419-424.
- [11] STROO H F, KLEINT M, ALEXANDER. Heterotrophic nitrification in an acid forest soil and by an acid-tolerant fungus [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 52:1107-1111.
- [12] STRAYER R F, IINCJ. Effect of simulated acid rain on nitrification and nitrogen mineralization in forest soils [J]. *J Environ Qual*, 1981, 10:547-551.
- [13] SCHMEL J P, HRESTONE M K. Identification of heterotrophic nitrification in a sierran forest soil [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1984, 48:802-806.
- [14] KILLHAM K. Nitrification in coniferous forest soils [J]. *Plant and soil*, 1990, 128:31-44.
- [15] LEES H. The biochemistry of the nitrifying organisms - The ammonia oxidizing systems of Nitrosomonas [J]. *Biochem J*, 1952, 52:134-139.
- [16] NORTON J M. Nitrification [M] // SUMNER M E. *Handbook of soil science*. Florida, USA: CRC Press, 2000:160-75.
- [17] KILLHAM K. Heterotrophic nitrification [M] // PROSSER J I. *Nitrification*. IRL Press, 1986:117-126.
- [18] BRIERLEY E D R, WOOD M. Heterotrophic nitrification in an acid forest soil: isolation and characterization of nitrifying bacterium [J]. *Soil Bio Biochem*, 2001, 33:1403-1409.
- [19] EYLAR O R J, EL SCHMIDT. A survey of heterotrophic microorganisms from soil for ability to form nitrite and nitrate [J]. *J Gen Microbiol*, 1959, 20:473-481.
- [20] DOXTADER K, ALEXANDER M. Nitrification by heterotrophic soil microorganisms [J]. *Soil Sci Soc Amer Proc*, 1966, 30:351-355.
- [21] VERSTRAETE W, ALEXANDER M. Heterotrophic nitrification by *Athrobacter* sp [J]. *J Bacteriol*, 1972, 110:955-961.
- [22] ROBERTSON L A, KUENEN J G. *Thiosphaera pantotropha* gen nov sp nov, a facultatively aerobic, facultatively autotrophic sulphur bacterium [J]. *J Gen Microbiol*, 1983, 129:2847-2855.
- [23] WIZEL K, OVERBECK H. Heterotrophic nitrification by *Athrobacter* sp. (strain 9006) as influenced by different cultural conditions, growth state and acetate metabolism [J]. *Arch Microbiol*, 1979, 122:137-143.
- [24] MEVEL G, PREUR D. Thermophilic heterotrophic nitrifiers isolated from mid-Atlantic ridge deep-sea hydrothermal vents [J]. *Can J Microbiol*, 1998, 44:723-733.
- [25] CASI GNETTI D, HOLLOCHER T. Heterotrophic nitrification among denitrifiers [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1984, 47:620-623.

- [26] PAPER HR VONBERG. A most probable number method (MPN) for the estimation of cell numbers of heterotrophic nitrifying bacteria in soil [J]. *Hart Soil*, 1998, 199: 123- 130.
- [27] MISHAQUE, A H CORNFELD. Evidence for heterotrophic nitrification in an acid Bangladesh soil lacking autotrophic nitrifying organisms [J]. *Top Agric*, 1976, 53: 157- 160.
- [28] HYMAN MR, S S RUSSELL, ELY R L, et al. Inhibition, inactivation, and recovery of ammonia-oxidizing activity in conatabdism of trichloroethylene by *Nitrosomonas europaea* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61: 1480- 1487.
- [29] HOMMES, N G, S A RUSSEL, P J BOTTOMLEY, et al. Effects of soil on ammonia, ethylene, chloroethane, and 1, 1, 1-trichloroethane oxidation by *Nitrosomonas* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 1372- 1378.
- [30] BARRACLOUGH D, G HURI. The use of 15N pod dilution and enrichment to separate the heterotrophic and autotrophic pathways of nitrification [J]. *Soil Biochem*, 1995, 27: 17- 22.
- [31] STARK J M, S C HART. High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests [J]. *Nature*, 1997, 385: 61- 64.
- [32] BLACKMER A M, BREMNER J M, SCHMIDT E L. Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing chemotrophic microorganisms in soil [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1980, 40: 1060- 1066.
- [33] BHULYA Z H, N WALKER. Autotrophic nitrifying bacteria in acid tea soil from Bangladesh and Sri Lanka [J]. *J Appl Bacteriol*, 1997, 47: 253- 257.
- [34] ALEXANDER M. *Nitrification* [M]. // WILEY J S. *Introduction to soil microbiology*. 2nd ed. New York, 1977: 251- 271.
- [35] WHITE J P, JOHNSON G T. Aflatoxin production correlated with nitrification in *Aspergillus flavus* group species [J]. *Mycologia*, 1982, 74: 718- 723.
- [36] E LANG, G JAGNOW. Fung of a forest soil nitrifying at low pH values [J]. *Fems Microbiol Ecol*, 1986, 38: 257- 265.
- [37] D CASI GNETTI, R YANONG, R GRAMZINSKI. Substrate diversity of an active heterotrophic nitrifier, an *Acaligenes* sp [J]. *Can J Microbiol*, 1985, 31: 441- 445.
- [38] ANDERSON C, POIH M, HDMSTEAD J, et al. A comparison of NO and N₂O production by the autotrophic nitrifier *Nitrosomonas europaea* and the heterotrophic nitrifier *Acaligenes faecalis* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59: 3525- 3533.
- [39] HONDA N, HRAI M, ANOT, et al. Antifungal effect of a heterotrophic nitrifier *Acaligenes faecalis* [J]. *Biotechnology Letters*, 1998, 20(7): 703- 705.
- [40] AAKRA, UT KER J B, NES I F, et al. An evaluated improvement of the extinction dilution method for isolation of ammonia oxidizing bacteria [J]. *J Microbiol Methods*, 1999, 39: 23- 31.
- [41] HANINSON, T R, SCHMIDT E L. Examination of an acid forest soil for ammonia and nitrite oxidizing autotrophic bacteria [J]. *Can J Microbiol*, 1984, 30: 1125- 1132.
- [42] QUASTEL J, SCHOLEFIELD P. Influence of organic nitrogen compounds on nitrification in soil [J]. *Nature (London)*, 1949, 64: 1068- 1072.
- [43] QUASTEL J H, SCHOLEFIELD P G. Oxidation of pyruvic oxime by soil organisms [J]. *Nature (London)*, 1950, 166: 940- 942.
- [44] JINQUE R. Microbial interactions in heterotrophic nitrification [J]. *Can J Microbiol*, 1986, 32: 243- 247.
- [45] UMA B, SANDHYA S. Pyridine degradation and heterocyclic nitrification by *Bacillus coagulans* [J]. *Canadian J Microbiol*, 1997, 43: 595- 598.
- [46] 彭光浩, 尹瑞龄, 桂英. 分离鉴定纯化异养硝化微生物的方法 [D]. 南京: 科学院土壤研究所, 2003.
- [47] 王一明. 异养硝化细菌球形节杆菌 WR 2 的碳氮代谢研究 [D]. 南京: 科学院土壤研究所, 2002.
- [48] KRITTINGER J P, KLEINT M, NOMCK NJ, et al. Nitrification and characteristics of nitrifying microorganisms in an acid forest soil [J]. *Soil Sci Amer J*, 1985, 49: 1407- 1410.
- [49] 方苹, 范伟平, 沈珈琦, 等. 氨氮脱除的生物技术研究进展 [J]. *南京工业大学学报*, 2003, 25(5): 107- 110.
- [50] ROBERTSON L A, VAN NIEL E W, TORREMAN R A, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1988, 54(11): 2812- 2818.
- [51] 吕锡武, 李峰. 氨氮废水处理过程中的好氧反硝化研究 [J]. *给水排水*, 2000, 26(4): 17- 20.
- [52] 罗固源, 杨红薇. NEAS 系统中的好氧反硝化 [J]. *重庆环境科学*, 2001, 23(1): 43- 45.
- [53] 孟令博, 韩英, 杨雨虹. 硝化细菌对淡水水族箱水质及养殖观赏鱼影响的初步研究 [J]. *水产学杂志*, 2005, 18(1): 43- 47.