

以亚硝氮为唯一氮源生长的海洋紫色硫细菌去除无机三态氮

蒋鹏 赵春贵* 贾雅琼 杨素萍*

(华侨大学 生物工程与技术系 福建 厦门 361021)

摘要:【目的】揭示以亚硝氮为唯一氮源生长的海洋紫色硫细菌去除水体中无机三态氮的特征和规律。【方法】在光照厌氧环境下,以乙酸盐为唯一有机物,在分别以氨氮、亚硝态氮、硝态氮为唯一氮源和三氮共存的模拟水体中,采用 Nessler's 试剂分光光度法、N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法和紫外分光光度法分别测定水体中氨氮、亚硝态氮和硝态氮的含量,比浊法测定菌体生物量。【结果】随着时间的延长,海洋紫色硫细菌 *Marichromatium gracile* YL28 分别在氨氮、亚硝态氮和硝态氮为唯一氮源的水体中对三氮的去除量增加,生物量增大,水体 pH 升高,并逐渐趋于平衡;YL28 对氨氮的最大去除量和最大耐受浓度分别为 9.64 mmol/L 和 36.64 mmol/L,当氨氮浓度低于 3.21 mmol/L 时,去除率可达 97.61%以上;与氨氮相比,以亚硝态氮和硝态氮为唯一氮源,菌体的生长速率、生物量和水体最终 pH 较低,但对亚硝态氮和硝态氮的去除速率和去除量仍然很高,当亚硝态氮和硝态氮浓度分别达 13.50 mmol/L 和 22.90 mmol/L 时,YL28 仍能够完全去除。在三氮共存的水体中,YL28 也能良好的去除无机三态氮,对亚硝态氮和硝态氮去除能力更强。【结论】在模拟水体中,海洋紫色硫细菌 YL28 能够分别以氨氮、亚硝态氮和硝态氮为唯一氮源生长,具有良好的耐受和去除无机三态氮的能力,尤其对亚硝态氮具有良好的去除能力。本研究为进一步开发高效脱氮,尤其是去除亚硝态氮的不产氧光合细菌水质调节剂奠定了基础,也为微生物制剂的合理应用提供参考。

关键词:紫色硫细菌,氨氮,硝态氮,亚硝态氮

Inorganic nitrogen removal by a marine purple sulfur bacterium capable of growth on nitrite as sole nitrogen source

JIANG Peng ZHAO Chun-Gui* JIA Ya-Qiong YANG Su-Ping*

(Department of Bioengineering and Biotechnology, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: [Objective] To clarify the removal of ammonium, nitrate and nitrite by a marine purple sulfur bacterium capable of growing on nitrite as sole nitrogen source. [Methods] Ammonium, nitrate and nitrite concentration in simulated wastewater were determined using the Nessler's reagent spectrophotometry, N-(1-naphthyl)-1,2-diaminoethane dihydrochloride spectrophotometry, UV

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31070054, 31270106); 福建省自然科学基金项目(No. 2012J01136); 福建省教育厅科技项目(No. JB11275)

*通讯作者: Tel: 86-592-6166178

✉: 赵春贵: chungui@hqu.edu.cn; 杨素萍: yangsuping@hqu.edu.cn

收稿日期: 2013-07-05; 接受日期: 2013-08-29; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-09-02

spectrophotometry, respectively. **[Results]** The removal of ammonium, nitrate and nitrite as well as bacterial biomass and pH increased with time, and then tended to equilibrium. Strain YL28 exhibited effective ammonium removal ability, with a maximal removal and tolerance of 9.64 mmol/L and 36.64 mmol/L, respectively. The removal rate exceeded 97.61% when the concentration of ammonium was less than 3.21 mmol/L. Compared to ammonium, the cell growth rate, biomass and pH of wastewater enhanced slowly while using nitrate and nitrite as sole nitrogen source. However, the removal of nitrate and nitrite were higher than that of ammonium. Nitrate and nitrite in wastewater could be completely removed when their concentrations were up to 13.50 mmol/L and 22.90 mmol/L, respectively. When the three inorganic nitrogen existed simultaneously in wastewater, ammonium, nitrate and nitrite could be removed by strain YL28, the removal of nitrate and nitrite was higher than that of ammonium. **[Conclusion]** Strain YL28 would be a promising candidate for bioremediation of polluted aquaculture wastewater, especially for nitrite-polluted marine culture wastewater.

Keywords: Purple sulfur bacterium, Ammonium, Nitrite, Nitrate

随着集约化和高密度水产养殖的快速发展,养殖水体的富营养化、微生态失衡、有毒有害物质不能及时转化和去除等问题日趋严重,不仅破坏了水体的生态平衡,严重地制约了养殖业的发展,也严重影响到人类健康^[1]。如何尽快恢复高密度养殖水体的微生态平衡,及时有效地去除水体中氨氮和亚硝氮等有害物质是解决这一问题的关键。研究已经表明:利用微生物制剂等微生物修复技术净化养殖水体和控制养殖疾病具有独特的优势,已广泛应用于水产养殖业,并发挥了重要作用^[2-4]。目前应用于水产养殖微生物制剂的微生物种类主要包括不产氧光合细菌(Anoxygenic phototrophic bacteria, APB)、荧光假单胞菌、芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌、硝化细菌、反硝化细菌、蛭弧菌等。由于 APB 代谢方式灵活多样,能够在有光或黑暗、有氧或无氧环境中,可转化利用水体中异养微生物代谢产生的有机物(酸、醇)、H₂S 及氨等合成细胞自身物质,降低水体的化学需氧量^[5],净化水质,还可抑制病原菌生长,增强养殖动物的抗病能力,作为饵料,甚至还具有反硝化作用^[6-8],去除水体中的亚硝态氮,显示出良好的应用价值。

优良菌种(株)是产品高效、稳定发挥作用的基础。虽已有多种类型的 APB 被利用开发,但深入挖掘针对性强、适用范围广的新型高效水体修复剂的菌种资源一直备受关注^[9]。目前应用于养殖水体的 APB 主要包括 *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides*、

Rhodospirillum rubrum、*Rhodopseudomonas (Rps.) palustris*、*Rubrivivax gelatinosa*、*Phaeospirillum fulvum*、*Rba. capsulata* 等^[2]。微生物脱氮特性依菌种(株)而异,对无机三态氮的代谢能力以及对环境的适应能力也不同,如 *Rba. sphaeroides* P₄^[8]能在氨氮存在时利用硝态氮,*Rhodopseudomonas* sp. wps 的反硝化作用和去除亚硝态氮也需要氨氮存在^[7],*Rhodobacter* sp. S 能够去除亚硝氮^[10],*Rps. palustris* PS1 则不能^[11]。铵盐是 APB 生长的良好氮源,有些菌株如 *Rhodospirillum rubrum* S1 能以硝酸盐为唯一氮源生长^[12],但生长速率很低,能以亚硝酸盐为唯一氮源生长的 APB 鲜有报道^[13]。2007 年 Benjamin 等^[14]在 *Science* 杂志上报道了一株紫色硫细菌 *Thiocapsa (Tca.) roseopersicina* (98% identical),在氨氮存在时,该菌株在厌氧条件下能以亚硝氮作为电子供体将亚硝氮转化为硝氮,进一步研究揭示出 *Thiocapsa* sp. KS1 具有亚硝酸盐厌氧氧化作用^[15]。这一研究成果为紫色硫细菌用于水质净化脱氮功能的研究提供了有力的理论依据。本课题组于福建泉州洛阳桥红树林环境中分离获得一株耐盐的紫色硫细菌 YL28,鉴定为 *Marichromatium gracile*,该菌株生长快、适应性强^[16]。在脱氮研究过程中,我们发现该菌株能够以硝酸盐和亚硝酸盐为唯一氮源生长,而且对亚硝态氮具有良好的去除能力。鉴于此,本文在光照厌氧条件下,以乙酸盐为唯一有机物,分别配制了不同污染程

度的氨氮、亚硝氮和硝氮,以及三氮共存模拟污染水体,系统研究了 YL28 菌株对无机三态氮(氨氮、亚硝氮和硝氮)的去除特性和规律,为进一步开发高效脱氮,尤其是脱除亚硝氮的 APB 水质调节剂奠定了基础,也为微生物制剂的合理应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株:海洋着色菌(*Marichromatium gracile*) YL28 菌株,16S rRNA 基因 GenBank 登录号为 JF719917,本实验室分离鉴定^[16]。

1.1.2 主要仪器和试剂:UV-3200PCS 紫外可见分光光度计,MAPADA;5417R 台式高速离心机,Eppendorf;DELTA 320 pH 计,METTLER-TOLED;氯化铵、亚硝酸钠和硝酸钾为国产优级纯试剂;氯化汞、氢氧化钾、酒石酸钾钠、盐酸萘乙二胺、磷酸氢二钾等,均为国产分析纯试剂。

1.2 方 法

1.2.1 培养基及菌种的制备:采用改良的 Pfennig 紫色硫细菌培养基^[17],以 24.3 mmol/L 无水乙酸钠为碳源,含 3% NaCl,0.75 mmol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 取代 1.5 mmol/L $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$,pH 约 7.0。5% (体积比)接种量,接种后用无菌培养基充满培养瓶,于 $28\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 、3 000 lx 光照厌氧培养 5 d。

1.2.2 溶液的配制:精确称量,用无氨水定容,配制氯化铵、亚硝酸钠和硝酸钾溶液,其浓度均为 30.0 g/L。

1.2.3 模拟污染水体样品的制备:在灭菌的无氮培养基中,分别添加氯化铵、亚硝酸钠和硝酸钾溶液,即为氯化铵-乙酸钠、亚硝酸钠-乙酸钠、硝酸钾-乙酸钠和无机三态氮-乙酸钠模拟污染水体,pH 约 7.0。

1.2.4 无机三态氮去除体系和条件:取菌种悬液,离心收集菌体细胞,用 3% NaCl 无氨水洗涤 3 次,配成菌悬液,然后分别接种到各种模拟污染水体中。培养容器为玻璃培养瓶,总容积为 310 mL,

用无菌无氮培养基充满培养瓶后,立即取样测定氮素含量,然后密封光照厌氧培养于 $28\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 、3 000 lx,以不接种的培养基为无菌对照(CK)。充氮气取样测定氮含量、菌体生物量和 pH。

1.2.5 生物量测定:采用比浊法测定,在光程为 1 cm 的比色杯中于 UV-3200PCS 紫外可见分光光度计上测定 660 nm 处的光密度(OD_{660})。

1.2.6 pH 值测定:用 pH 计测定样品的 pH 值。

1.2.7 无机三态氮的测定和计算:无机三态氮的含量均以氮素的含量计算,重复测定 3 次。氨氮测定采用 Nessler's 试剂分光光度法^[18]。亚硝态氮测定采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法^[19]。硝态氮测定采用紫外分光光度法^[20]。按公式 $r=C_t-C_0$ 和 $R=(C_t-C_0)/C_0\times 100\%$ 分别计算无机氮的去除量(r)和去除率(R),式中 C_0 和 C_t 分别表示无机三态氮的初始浓度和测定时的浓度。

2 结果与分析

2.1 菌株 YL28 对氨氮的去除特性

菌株 YL28 处理含氯化铵的模拟水体 8 d,初始铵浓度对水中氨氮的去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和水体 pH 的影响见图 1。浓度低于 36.64 mmol/L 时,随着氨氮浓度增加,氨氮去除量逐渐增大,当浓度达 31.44 mmol/L 时,达到最大去除量 9.64 mmol/L,若氨氮浓度进一步升高,去除量则降低。然而,去除率却随初始氨氮浓度的升高而降低,当氨氮浓度为 3.21 mmol/L 时,去除率可达 97.61%,氨氮浓度在 6.77–12.49 mmol/L 间,去除率可达到 50.37%–62.55% (图 1A);氨氮浓度低于 6.77 mmol/L 时,随着氨氮浓度的升高,菌体生物量升高,当氨氮浓度高于 6.77 mmol/L 时,菌体生物量维持在 2.35–2.39 之间,但氨氮的去除量仍在增大。水体 pH 随氨氮初始浓度的升高也呈上升趋势,最终 pH 保持在 9.01–9.82 (图 1B)。结果表明:在模拟水体中,YL28 菌株对氨氮具有较高的耐受和去除能力。氨氮的起始浓度与氨氮的去除、菌体生物量和水体 pH 变化具有一定相关性:

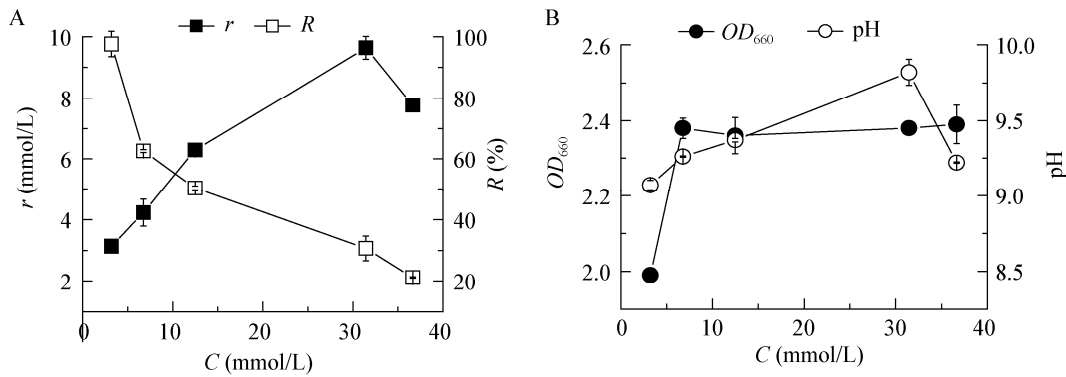


图1 氨氮初始浓度对氨氮去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和水体 pH 的影响

Figure 1 Effects of initial concentrations of ammonium-nitrogen on removal amount (r) and removal rate (R) of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, bacteria biomass (OD_{660}) and pH in simulated wastewater

氨氮浓度不高于 30 mmol/L 时, 随氨氮浓度的升高, 菌体生物量逐渐增至最大达到稳定, 但氨氮去除量仍在继续增加, 水体中氨氮残留量相应增大, 去除率则减小, 最终 pH 值呈逐渐升高。

YL28 在处理污染程度不同的氨氮水体过程中, 水体中氨氮的去除率、菌体生物量和 pH 随时间变化如图 2 所示。随着时间的延长, 水体氨氮浓度降低, 菌体生物量和 pH 逐渐升高。2 d 内菌体生长缓慢, 2–4 d 菌体增长迅速, 水体氨氮含量快速下降, pH 快速升高, 6 d 后菌体生长速率、氨氮去除速率和 pH 升高幅度减缓并趋于稳定。初始氨氮浓度达 36.64 mmol/L 时, 生物量的增殖和水体 pH 变化未受到明显抑制。结果表明, YL28 对高浓度氨氮具有较好的去除能力和耐受能力, 在处理氨氮的过程中, 菌体的增殖速率与水体氨氮去除量呈正相关, 同时水体中 pH 升高。

2.2 菌株 YL28 对亚硝氮的去除特性

YL28 菌株处理含亚硝氮模拟水体 5 d, 亚硝氮初始浓度对水中亚硝氮的去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和 pH 的影响如图 3 所示。在低浓度(0.71–6.55 mmol/L)范围内, 随亚硝氮浓度的增加, 菌体生物量维持在 0.622–0.675, 未见明显增加, 随亚硝氮浓度的进一步增加, 菌体生物量开始降低, 菌体生长受到明显抑制, 当达到 20.37 mmol/L 时, 菌体细胞呈现负生长。当水体中

亚硝氮浓度低于 13.50 mmol/L 时, 去除率可达 100%, 水体 pH 也逐渐升高; 当浓度达 20.37 mmol/L 时, 亚硝氮的去除率下降到 19.65%, 水体 pH 也明显降低。结果表明, 在模拟水体中, YL28 能够利用亚硝氮维持生长, 但随着亚硝氮浓度的升高, 菌体生长受到抑制。YL28 对亚硝氮有较高的耐受能力和去除能力, 能够耐受高达 13.50 mmol/L 亚硝氮, 并将之完全去除。

YL28 在处理污染程度不同的亚硝氮水体过程中, 亚硝氮的去除率、菌体生物量和 pH 随时间变化如图 4 所示。随着处理时间的延长, 亚硝氮的去除率逐渐升高, 菌体生物量和水体 pH 逐渐升高并趋于稳定。随着亚硝氮初始浓度的增加, 亚硝氮的去除速率、菌体的生长速率和 pH 升高的幅度降低。当亚硝氮浓度为 20.37 mmol/L 时, 菌体呈现负增长, 但对亚硝氮仍具有一定的去除能力, 使水体 pH 升高, 但升高的幅度较低。结果表明: YL28 菌株具有利用和转化亚硝氮能力。

2.3 菌株 YL28 对硝氮的去除特性

用 YL28 菌株处理含硝氮污染模拟水体 6 d, 硝氮初始浓度对水体中硝氮的去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和 pH 的影响见图 5。硝氮初始浓度低于 22.90 mmol/L 时, 随着浓度的增加, 去除量增大, 水体 pH 升高, 硝氮能被完全去除。低浓度(≤ 4.46 mmol/L)时, 随初始浓度的增加, 菌

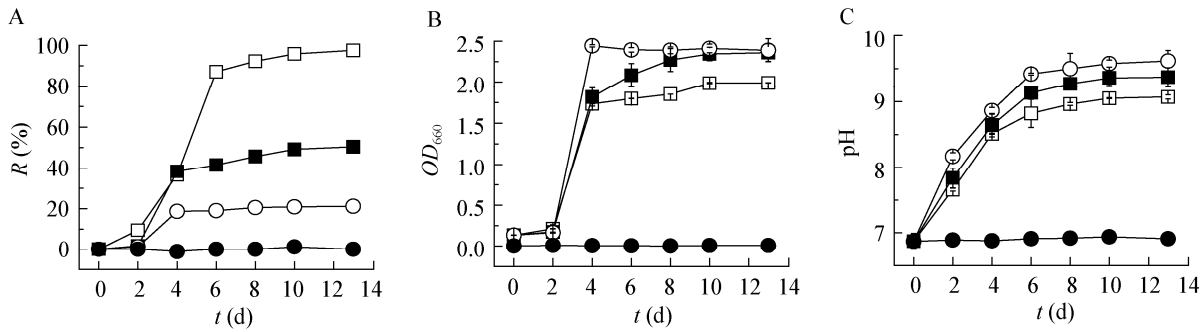


图2 模拟污染水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率(A)、菌体生物量(B)及水体 pH (C)随时间变化曲线

Figure 2 Change of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal rate (A), bacteria growth (B) and pH (C) in the simulated water with increasing time

注：初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度 C (mmol/L). \square : 3.21 ; \blacksquare : 12.49 ; \circ : 36.64 ; \bullet : CK 4.87.

Note: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ initial concentration C (mmol/L). \square : 3.21 ; \blacksquare : 12.49 ; \circ : 36.64 ; \bullet : CK 4.87.

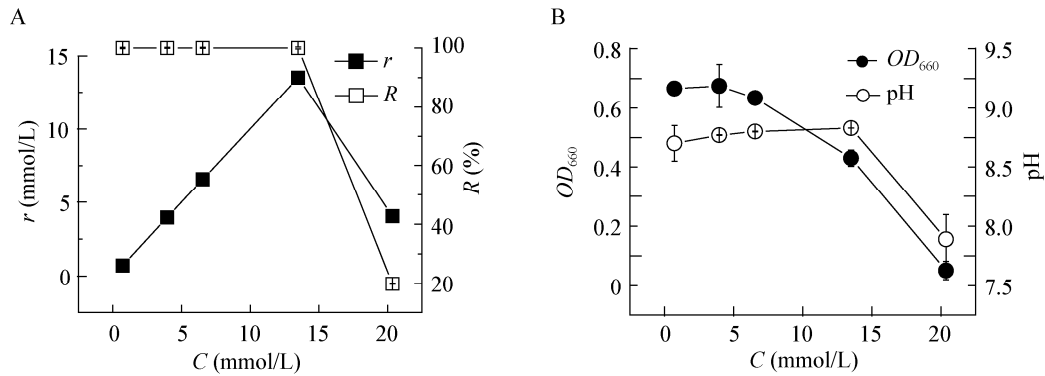


图3 亚硝氮初始浓度对亚硝氮去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和 pH 的影响

Figure 3 Effects of initial concentrations of nitrite-nitrogen on removal amount (r) and removal rate (R) of $\text{NO}_2^-\text{-N}$, bacterial biomass (OD_{660}) and pH in stimulated water

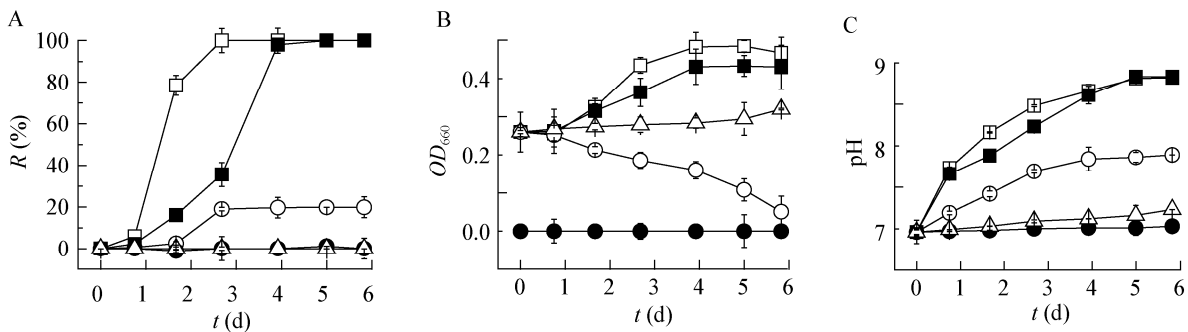


图4 模拟污染水体中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率(A)、菌体生物量(B)及水体 pH (C)随时间变化曲线

Figure 4 Change of removal rate of $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (A), cell growth (B) and pH (C) in the simulated water with increased time

注：初始 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度 C (mmol/L). \triangle : 0 ; \square : 9.37 ; \blacksquare : 13.50 ; \circ : 20.37 ; \bullet : CK 4.27.

Note: $\text{NO}_2^-\text{-N}$ initial concentration C (mmol/L). \triangle : 0 ; \square : 9.37 ; \blacksquare : 13.50 ; \circ : 20.37 ; \bullet : CK 4.27.

体生物量升高; 硝氮浓度的进一步增加, 菌体生物量逐渐降低。结果表明, 在模拟水体中, YL28 菌株对硝氮具有良好的去除能力, 在高浓度硝氮水体中, 硝氮浓度的升高与菌体生长呈负相关, 与水体 pH 升高呈正相关。

YL28 在处理污染程度不同的硝氮水体过程中, 硝氮去除率、菌体生物量和 pH 随时间的变化过程见图 6。随着处理时间的延长, 硝氮去除率、菌体生物量和水体 pH 逐渐升高, 并趋于稳定。在选择的浓度范围内, 随着硝氮初始浓度的增加, 硝氮的去除速率、菌体生长的速率和 pH 升高速率呈降低的趋势, 经 3-4 d 的处理, 硝氮能被完全去除。

结果表明, YL28 能够快速有效地去除水体硝氮, 但高浓度硝氮对菌体的生长具有一定的抑制作用。硝氮完全去除后, 菌体生物量和 pH 亦趋于稳定。

2.4 菌株 YL28 对无机三态氮共存的去除特性

在无机三态氮共存的污染模拟水体中, 无机三态氮的去除率(R)、菌体生物量和水体 pH 的变化如图 7 所示。随着菌体的生长, 水体中硝氮和亚硝氮去除率持续增高, 2 d 内即可完全去除, 4 d 时氨氮去除率达到最大(73%), 菌体生长约 6 d 进入平衡期, 水体 pH 也不再升高, 最终 pH 约为 9.4。结果表明, 在无机三态氮共存的水体中, 当亚硝氮浓度高达 4.0 mmol/L 时, YL28 仍能够良好生长, 并去

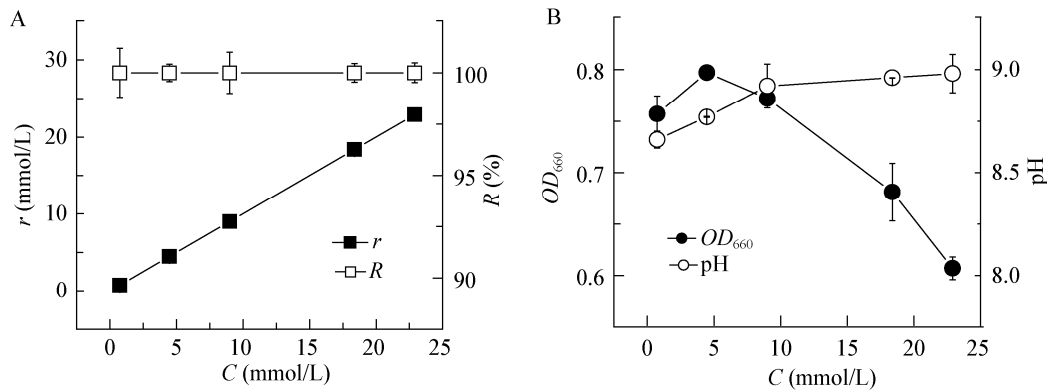


图 5 硝氮起始浓度对硝氮去除量(r)、去除率(R)、菌体生物量(OD_{660})和 pH 的影响

Figure 5 Effects of initial concentrations of nitrate-nitrogen on removal amount (r) and removal rate (R) of NO_3^- -N, bacteria biomass (OD_{660}) and pH in simulated water

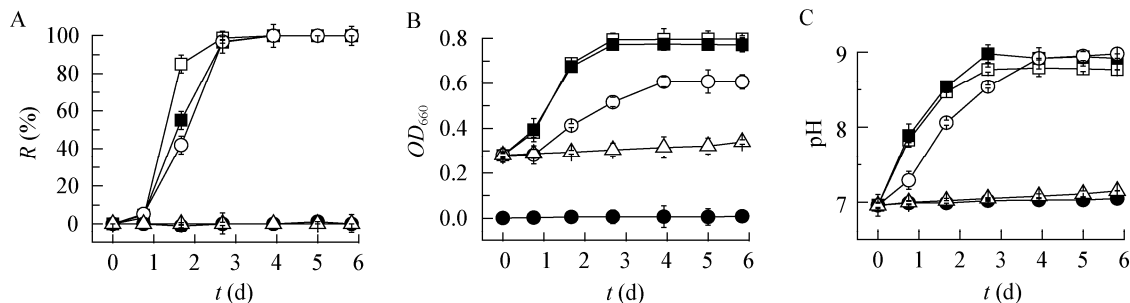


图 6 模拟污染水体中 NO_3^- -N 的去除率(A)、菌体生物量(B)及水体 pH (C)随时间变化曲线

Figure 6 Change of removal rate of NO_3^- -N (A), cell growth (B) and pH (C) in the simulated water with increased time

注: 初始 NO_3^- -N 浓度 C (mmol/L). \triangle : 0; \square : 4.46; \blacksquare : 9.00; \circ : 22.90; \bullet : CK 5.06.

Note: NO_3^- -N initial concentration C (mmol/L). \triangle : 0; \square : 4.46; \blacksquare : 9.00; \circ : 22.90; \bullet : CK 5.06.

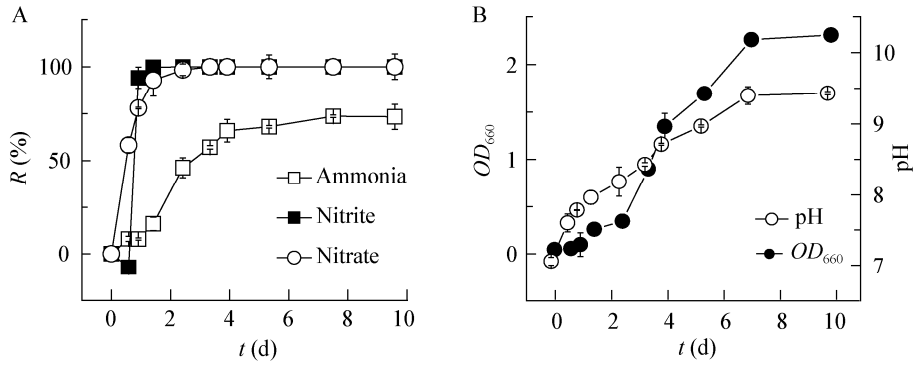


图7 模拟污染水体中无机三态氮的去除率(A)、菌体生物量和 pH (B)随时间变化曲线
Figure 7 Change of removal rate of inorganic nitrogen (A), cell growth and pH (B) in simulated water with increasing time

注: 初始无机三态氮浓度 C (mmol/L). \square : Ammonium 6.53; \blacksquare : Nitrite 4.00; \circ : Nitrate 4.08.

Note: Initial inorganic nitrogen concentration C (mmol/L). \square : Ammonium 6.53; \blacksquare : Nitrite 4.00; \circ : Nitrate 4.08.

除水体中的无机三态氮, 生物量很低时即可完全去除水体高浓度的亚硝氮和硝氮, 表现出对硝氮和亚硝氮具有更高的去除能力。

3 讨论

目前已有多种 APB 菌株应用于水产养殖中, 但因使用的菌株、环境因素(光强、pH、温度)以及底物的不同, 去除无机三态氮的能力也有所差异。文献报道, 在低氮氮浓度的实际水体和模拟水体中, 氮氮去除率很高, 达 95%以上^[21-22], 但氮氮浓度较高时, 去除率则较低, 如氮氮浓度达 18 mg/L 时, 去除率为 38.9%^[23]。不同的 APB 菌株, 当初始氮氮浓度不同时, 去除率也不同, 这使得难以比较不同菌株的脱氮潜力。YL28 菌株在氮氮低于 3.21 mmol/L 时, 去除率可达 97%以上, 氮氮达 12.49 mmol/L 时, 去除率可达 50%以上, 氮氮高达 36.64 mmol/L 时, 尽管去除率较低, 也能达到 20%以上, 但菌体生长良好, 显示 YL28 对氮氮具有良好的耐受能力和去除能力。

硝氮对养殖生物的毒性很低, 但高浓度硝氮 (50 mg/L), 导致水体富营养化。已有研究表明: *Rba. sphaeroide* P₄^[8]具有反硝化作用, 但不能以硝氮为唯一氮源生长, *Rps. palustris* wps^[7]既有反硝化作用, 也能以硝氮为唯一氮源生长, 但尚未报道

以亚硝氮为唯一氮源生长的 APB 菌株。本研究表明: YL28 菌株能够以硝氮和亚硝氮为唯一氮源生长, 当硝氮和亚硝氮分别高达 22.90 mmol/L 和 13.50 mmol/L, 能将其完全清除。亚硝氮是硝化过程和反硝化过程的中间产物, 对水产养殖生物具有重要的危害^[24], 很多菌株在氮氮存在条件下对亚硝氮具有去除作用, 例如, *Rba. sp. S*^[10]、*Rba. capsulata*^[23]和 *Rps. palustris* HZ-5^[25]对 5 mmol/L、6 mg/L 和 1.038 4 mg/L 亚硝氮的去除率分别可达 80%、94.8%和 97.79%。迄今为止, 鲜有能以亚硝氮为唯一氮源生长的 APB 菌株^[13], Benjamin 等^[14]为避免亚硝氮对细胞生长的毒性, 采用少量多次添加亚硝氮方法培养紫色硫细菌 *Tca. roseopersicina* KS, 并证明了该菌株可以亚硝氮为电子供体转化生成硝氮。YL28 菌株对亚硝氮具有较高耐受性和转化利用能力, 在亚硝氮浓度高达 20.37 mmol/L 时, 虽然该菌株没有生长, 但水体中的亚硝氮却仍然在降低。对于这一现象, 文献^[11]认为, 除了菌株差异外, 环境中亚硝氮的降低, 不是由于 APB 的作用, 也许是因为环境中无机三氮的平衡体系受到影响, 以致于氮元素存在形式发生了动态变化。我们研究表明, 在无菌对照体系中, 厌氧环境中的氮氮、硝氮和亚硝氮的浓度无明显变化, 这说明厌

氧环境体系中亚硝氮的降低是由于 APB 菌株作用的结果。除此之外, YL28 在三氮共存的模拟污染水体中也能良好地利用和去除三氮, 当体系中高达 4.0 mmol/L 亚硝氮时, 菌体能够良好生长, 而且优先、高效地去除体系中的硝态氮和亚硝态氮。

综上所述, 本文阐明了在光照厌氧条件下, 以乙酸盐为唯一有机物的模拟水体中, YL28 菌株脱除无机三态氮、菌体生长和水体 pH 变化的规律: YL28 分别以氨氮、亚硝氮和硝氮为唯一氮源生长, 能良好地去除无机三态氮, 水体 pH 升高; 高浓度亚硝氮和硝氮对 YL28 菌株的生长具有抑制作用, 与氨氮相比, 菌体的生长速率和生物量明显较低, 但对硝氮和亚硝氮的去除速率和去除量则更高; 三氮共存时, 菌体能够良好地生长, 优先、高效地去除体系中的亚硝态氮和硝态氮。表明 YL28 对氨氮、硝氮和亚硝氮均存在良好的去除潜力和耐受能力, 关于该菌株对无机三态氮的脱除机制有待于进一步的深入研究。本文为进一步研究、开发和应用微生物水体净化制剂, 尤其是针对海洋养殖水体高浓度亚硝氮的去除提供理论参考。

参 考 文 献

- [1] Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production[J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1/4): 1-14.
- [2] Qi Z, Zhang XH, Boon N, et al. Probiotics in aquaculture of China—current state, problems and prospect[J]. *Aquaculture*, 2009, 290(1/2): 15-21.
- [3] Zhou Q, Li K, Jun X, et al. Role and functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(16): 3780-3786.
- [4] 赫荣乔. 环境修复成为我国微生物研究的热点领域[J]. *微生物学通报*, 2012, 39(1): 1.
- [5] Lu H, Zhang G, Dai X, et al. Photosynthetic bacteria treatment of synthetic soybean wastewater: direct degradation of macromolecules[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(19): 7672-7674.
- [6] Zumft WG. Cell biology and molecular basis of denitrification[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61(4): 533-616.
- [7] 陈慧, 张德民, 王龙刚, 等. 一株反硝化光合细菌的生物学特性及系统发育分析[J]. *微生物学报*, 2011, 51(2): 249-255.
- [8] 俞吉安, 张承康, 陈峰. 光合细菌 P4 株的反硝化作用[J]. *上海交通大学学报*, 2000, 34(11): 1579-1582.
- [9] Iribarren D, Dagá P, Moreira MT, et al. Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture[J]. *Aquaculture International*, 2012, 20(4): 779-789.
- [10] 刘双江, 孙燕, 岑运华, 等. 采用光合细菌控制水体中亚硝酸盐的研究[J]. *环境科学*, 1995, 16(6): 21-23.
- [11] 杨莹莹, 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]. *中国微生物学杂志*, 2009, 21(1): 4-6.
- [12] Katoh T. Nitrate reductase in photosynthetic bacterium, *Rhodospirillum rubrum*. Purification and properties of nitrate reductase in nitrate-adapted cells[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1963, 4(1): 13-28.
- [13] Madigan MT, Jung DO. An overview of purple bacteria: systematics, physiology and habitats[A]//The Purple Phototrophic Bacteria[M]. Netherlands: Springer, 2008: 1-15.
- [14] Griffin BM, Schott J, Schink B. Nitrite, an electron donor for anoxygenic photosynthesis[J]. *Science*, 2007, 316(5833): 1870.
- [15] Schott J, Griffin BM, Schink B. Anaerobic phototrophic nitrite oxidation by *Thiocapsa* sp. strain KS1 and *Rhodospseudomonas* sp. strain LQ17[J]. *Microbiology*, 2010, 156(8): 2428-2437.
- [16] 赵江艳, 傅英楠, 赵春贵, 等. 一株高含玫红品的红树林海洋紫色硫细菌分离鉴定及特性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(10): 1318-1325.
- [17] Pfennig N, Trüper H. The prokaryotes[M]. Edition 2. New York: Springer, 1992: 3203-3205.
- [18] 张庆军. 纳氏试剂光度法测定水和废水中氨氮关键问题的研究[J]. *环境工程*, 2009, 27(1): 85-88.
- [19] Mahmood Q, Zheng P, Hayat Y, et al. Effects of nitrite to sulfide ratios on the performance of anoxic sulfide oxidizing reactor[J]. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2009, 34(1): 45.
- [20] 魏复盛, 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 266.
- [21] 丁爱中, 陈繁忠, 雷剑泉, 等. 光合细菌调控水产养殖业水质的研究[J]. *农业环境保护*, 2000, 19(6): 339-341.
- [22] 王芳, 李筠, 盛军, 等. 一株光合细菌菌株 RPD-1 的生物学特性及其在菲律宾蛤仔育苗中的应用[J]. *海洋科学*, 2010(007): 1-7.
- [23] 邱宏端, 石贤爱, 郭养浩, 等. 耐盐和降高 NH_4^+ , NO_2^- 红螺菌科细菌的选育及应用[J]. *水产学报*, 1999, 23(S1): 92-96.
- [24] Jensen FB. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 1996, 34(2): 95-104.
- [25] 刘芳, 王敏, 杨慧, 等. 净化养殖水体紫色非硫光合细菌的筛选与鉴定[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28(8): 91-95.