

鸡粪好氧堆肥氨氧化霉菌的筛选及氮转化能力的研究

王立群, 喻其林, 黄明媛

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要:为明确鸡粪好氧堆肥过程氨氧化霉菌的存在情况及其氮转化能力,以鸡粪好氧堆肥中分离的 10 株霉菌为对象,采用氨氧化霉菌培养基筛选氨氧化菌株;对所选菌株进行生长量及氮转化指标的测定及相关分析,以明确菌体生长与氨氧化作用的关系;对确定的高效氨氧化菌株进行氮转化能力测定,并做回归堆肥的效果验证.结果表明,所试菌株均能氧化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 生成亚硝态氮和硝态氮,证明在鸡粪好氧堆肥过程中存在氨氧化霉菌,且提示该环境的霉菌可能具有 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的氨氧化能力;氨氧化霉菌生成的亚硝态氮和硝态氮总量、菌体干重、菌体凯氏氮量间均存在着显著的正相关;确定的 2 株高效氨氧化菌株 M25-22 (*Penicillium* sp.) 与 M40-4 (*Aspergillus* sp.) 在培养基中培养 144 h 后,均能使 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 降低 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上,生成亚硝态氮和硝态氮总量约在 $1.1 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;2 株菌回归堆肥后,均能使堆肥体系中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量明显降低,硝态氮及总氮含量明显增加,这对减少堆肥过程氮素损失具有实际意义.

关键词:好氧堆肥;氮转化;氨氧化;氮素损失;青霉;曲霉

中图分类号:X705 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)11-2763-05

Screening and Nitrogen Transformation Activity of Ammonia-Oxidizing Molds During Aerobic Chicken Manure Composting

WANG Li-qun, YU Qi-lin, HUANG Ming-yuan

(College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract:In order to explicit the existence and nitrogen transformation activity of ammonia-oxidizing molds during aerobic chicken manure composting, the medium of ammonia-oxidizing molds was used to screen them, and correlation analysis between mycelium biomass and nitrogen transformation indexes was conducted, then high-effective ammonia-oxidizing strains were determined and added into aerobic compost. The results show that all tested strains are able to oxidize ammonium nitrogen to nitrite nitrogen and nitrate nitrogen, indicating that there are plenty of ammonia-oxidizing molds during aerobic chicken manure composting. Significantly positive correlations are detected between total contents of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen, mycelium biomass and mycelium Kjeldahl nitrogen. When cultured in the medium of ammonia-oxidizing molds for 144 hours, two high-effective ammonia-oxidizing strains, named M25-22 (*Penicillium* sp.) and M40-4 (*Aspergillus* sp.), produce nitrate nitrogen by $1.1 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $1.5 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, and decrease ammonium nitrogen by approximately $0.3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Compared with the control treatment, the composting treatment with microbial agent M25-22 or M40-4 has lower ammonium nitrogen content, and higher contents of nitrate nitrogen and total nitrogen, indicating that they are of practical significance in reducing nitrogen loss during aerobic composting.

Key words:aerobic compost; nitrogen transformation; ammonium oxidation; nitrogen loss; *Penicillium*; *Aspergillus*

异养氨氧化是指异养微生物中的细菌或霉菌等将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 或其他负三价氮氧化为亚硝态氮或硝态氮的过程,具体包括异养亚硝化、异养硝化 2 个步骤^[1].异养氨氧化作用作为氮素循环的重要环节,对高有机物、高氮环境中的氮素转化具有重要意义^[2].实践中,鸡粪等固体废弃物的好氧堆肥即属这样体系,其中的氨挥发导致了氮素的严重损失^[3,4],因而影响堆肥肥效.若能强化该体系中的异养氨氧化,即 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为亚硝态氮和硝态氮的作用,则有遏制氮素挥发、保持肥效的意义^[5,6].迄今,有关异养氨氧化细菌的存在、生境及氨氧化特性等已见报道^[7~10],并有针对鸡粪好氧堆肥体系氧化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、降低氮素损失的研究,其结果显现有效,但

不够理想^[5,6].因此,本研究欲从好氧堆肥体系中微生物的另一重要类群——霉菌是如何参与其中氮转化、尤其是怎样发挥异养氨氧化作用的角度进行探索,以明确它们在此生境中的存在、作用特性及其效果,以期有效遏制堆肥体系的氨挥发提供依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株

10 株霉菌,东北农业大学微生物实验室保存.

收稿日期:2009-12-12;修订日期:2010-04-13

基金项目:国家自然科学基金项目(30371054)

作者简介:王立群(1956~),男,硕士,教授,主要研究方向为应用微生物学,E-mail:wangliqun2@163.com

分离自鸡粪好氧堆肥^[1]度段,菌株编号及属别为:M25-1,木霉属(*Trichodema*);M30-8,轮枝孢属(*Verticillium*);M25-22、M35-12、M40-3和M45-1,青霉属(*Penicillium*);M35-1、M40-4、M45-2和M50-2,曲霉属(*Aspergillus*)^[11].其中的“M”表示霉菌,“M”与“-”间数字表示分离温度.

1.1.2 培养基

(1) 氨氧化霉菌培养基^[12] 蔗糖 1.0 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, K_2HPO_4 0.1 g, KCl 0.05 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g, NaCl 0.1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.000 1 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.000 1 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000 1 g, 蒸馏水 100 mL, 调 pH 6.8, $0.7 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 灭菌待用. 该培养基中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量为 106.1 mg.

(2) 菌种活化培养基 PDA 培养基.

(3) 菌剂制备培养基 蛋白胨 0.2g, 蔗糖 1g, K_2HPO_4 0.1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001 g, 秸秆 20 g, CaSO_4 0.05 g, 蒸馏水 100 mL, pH 自然, $0.7 \text{ kg}/\text{cm}^2$ 灭菌待用.

(4) 堆肥物料 鸡粪:取自哈尔滨市幸福乡种鸡厂,含水量 75.2%,干物质中有机质 61.7%、总氮 4.25%、C/N8.2. 调理剂:玉米秸秆,取自哈尔滨市香坊农场玉米种植基地,含水量 10.9%,干物质中有机质 76.2%、总氮 1.02%、C/N 42.4. 堆肥物料:鸡粪、调理剂、水按 1:1.5:2 的比例均匀混合,其 C/N 25:1~30:1,水分含量 65%.

1.2 实验方法

1.2.1 氨氧化霉菌的筛选及高效菌株的确认

菌株接种于 100 mL 氨氧化霉菌培养基,分别以分离温度、130 r/min 摇床培养 5 d,测定其中亚硝态氮、硝态氮含量. 亚硝态氮含量采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺分光光度法^[13];硝态氮含量采用镉柱还原法^[14]. 培养基中积累亚硝态氮和(或)硝态氮的菌株定为氨氧化菌株;其中亚硝态氮和硝态氮总含量高于平均值,且与其他菌株在统计学上表现差异显著的定为本研究的高效氨氧化菌株.

1.2.2 氨氧化菌株氮转化指标、菌体生长量测定及相关分析

在上述测定的同时,采用纳氏试剂分光光度法^[9]测定培养基中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量. 异养氨氧化菌株之菌悬液用滤纸过滤,所得菌体蒸馏水洗涤,85℃ 干燥箱烘至恒重,即菌体干重,以此作为菌体生长量的指标. 恒重后菌体做凯氏定氮,方法为蒸馏-纳氏试剂分光光度法^[13]. 凯氏定氮同时,测定蒸馏后蒸

馏瓶内混合液、即菌体亚硝态氮和硝态氮总含量,方法同 1.2.1 节. 所试菌株生成亚硝态氮和硝态氮总含量为培养基与菌体亚硝态氮和硝态氮总含量之和. 计算 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化率:

$$\text{NH}_4^+ - \text{N} \text{ 转化率} (\%) = (\text{初始 } \text{NH}_4^+ - \text{N} - \text{剩余 } \text{NH}_4^+ - \text{N}) \times 100 / \text{初始 } \text{NH}_4^+ - \text{N}$$

上述实验均设空白对照和 3 次重复.

利用 SAS 9.0 软件,对培养基中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、菌体干重、菌体凯氏氮量及各菌株生成亚硝态氮和硝态氮总量进行相关性分析.

1.2.3 高效氨氧化菌株氮转化能力测定

高效氨氧化菌株分别接种于氨氧化霉菌培养基,分离温度、130 r/min 摇床培养,每 24 h 取样,测定生成亚硝态氮和硝态氮总量及培养基中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,方法同上.

1.2.4 高效氨氧化菌株回归堆肥的效果验证

高效氨氧化菌株于菌种活化培养基活化后,接种于菌剂制备培养基,菌株分离温度恒温培养,待长满孢子后用于接种. 按堆肥物料重量的 3% 接种菌剂制备培养物进行回归堆肥的效果验证.

实验分菌剂和对照 2 组,每一菌剂组分别接种 $\cong$ 效氨氧化菌株培养物,对照组接种菌剂制备培养基,混匀、装聚乙烯塑料袋. 每袋装料密度一致,装量 300 g,5 次重复,均呈蓬松状态,袋袋相靠摆放,敞口置保温、保湿并含氧的容器中,自然发酵. 每日定时取样测定 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、硝态氮及总氮含量. 其中: $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 采用碱解扩散法^[15];硝态氮测定方法同 1.2.1 节;总氮即凯氏氮、亚硝态氮和硝态氮之和,采用 1.2.2 节中的方法.

2 结果与分析

2.1 氨氧化霉菌的筛选及高效菌株的确认

由图 1 可见,10 株霉菌都能产生不同量的亚硝态氮和硝态氮,说明在鸡粪好氧堆肥中存在氨氧化霉菌. 其中的 M25-22 和 M40-4 菌所在培养基中亚硝态氮和硝态氮总量均明显高于其他菌株,分别达到 0.109 mg 和 0.139 mg. 经方差分析表明差异极显著. 因此,确认为高效氨氧化霉菌株. 由于受试菌株均具氨氧化作用,故提示此类环境中的霉菌可能具有 NH_4^+ 的氨氧化能力,因此,有待于进一步研究.

2.2 氨氧化菌株氮转化指标、菌体生长量测定及相关分析

10 株氨氧化菌株氮转化指标及菌体生长量测定及相关分析结果分别见表 1 及见表 2.

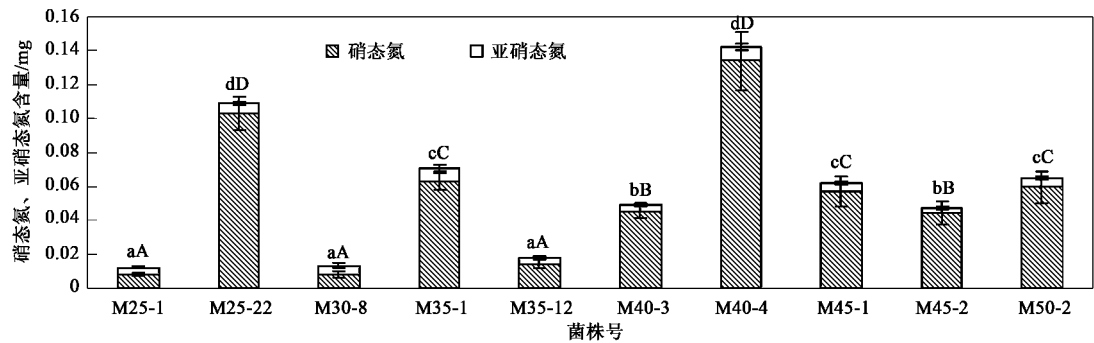


图 1 各氨氧化霉菌生成亚硝态氮和硝态氮含量

Fig. 1 Contents of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen produced by ammonia-oxidizing molds

表 1 100 mL 培养基中氨氧化霉菌氮转化指标及菌体生长量

Table 1 Values of nitrogen transformation indexes and mycelium weight of ammonia-oxidizing molds in 100mL culture

菌株号	培养基中亚硝态氮和硝态氮 — /mg	培养基中 NH ₄ ⁺ -N 量 /mg	菌体干重 /mg	菌体凯氏 氮量/mg	菌体内亚硝态氮和硝态氮总 量 × 10 ⁻³ /mg	菌体亚硝态氮和硝态氮量占生成 — 质量分数/%	NH ₄ ⁺ -N 转化率/%
M25-1	0.011 ± 0.002	99.5 ± 1.9	86.3 ± 2.5	6.19 ± 0.07	0.072 ± 0.005	0.63	6.22
M25-22	0.109 ± 0.011	78.6 ± 2.5	292.7 ± 6.7	25.71 ± 0.29	0.439 ± 0.021	0.40	25.92
M30-8	0.012 ± 0.004	93.5 ± 1.6	181.1 ± 5.4	12.10 ± 0.15	0.091 ± 0.006	0.79	11.88
M35-1	0.071 ± 0.007	97.7 ± 1.4	167.2 ± 5.9	7.91 ± 0.10	0.337 ± 0.019	0.47	7.92
M35-12	0.018 ± 0.003	94.8 ± 2.1	115.8 ± 3.7	10.87 ± 0.23	0.061 ± 0.005	0.33	10.65
M40-3	0.049 ± 0.004	84.2 ± 0.9	317.0 ± 2.1	20.94 ± 0.18	0.352 ± 0.027	0.71	20.64
M40-4	0.139 ± 0.019	75.9 ± 1.7	326.3 ± 3.0	29.55 ± 0.34	0.640 ± 0.041	0.46	28.46
M45-1	0.062 ± 0.010	82.9 ± 0.8	306.8 ± 4.8	22.71 ± 0.22	0.352 ± 0.017	0.56	21.87
M45-2	0.047 ± 0.008	81.5 ± 1.2	297.5 ± 3.2	23.92 ± 0.49	0.325 ± 0.014	0.68	23.19
M50-2	0.065 ± 0.011	76.3 ± 2.0	351.4 ± 4.5	28.84 ± 0.26	0.491 ± 0.039	0.75	28.09

表 2 氨氧化霉菌氮转化指标及菌体干重的相关分析¹⁾

Table 2 Correlation analysis between nitrogen transformation indexes and dry mycelium yield of ammonia-oxidizing molds

	菌株生成亚硝态氮和硝态氮总量	培养基中 NH ₄ ⁺ -N 量	菌体干重	菌体凯氏氮量
菌株生成亚硝态氮和硝态氮总量	1.000 00			
培养基中 NH ₄ ⁺ -N 量	-0.708 17 *	1.000 00		
菌体干重	0.646 58 *	-0.945 97 **	1.000 00	
菌体凯氏氮量	0.702 98 *	-0.999 25 **	0.947 10 **	1.000 00

1) * 表示 0.05 显著水平, ** 表示 0.01 显著水平

由表 1 可知,各氨氧化菌株于氨氧化霉菌培养基中生成的亚硝态氮和硝态氮总量在 0.011 ~ 0.139 mg 之间. NH₄⁺-N 量在 99.5 ~ 75.9 mg 之间,与初始 NH₄⁺-N 量 106.1 mg 相比, NH₄⁺-N 量降低了 6.5 ~ 30.1 mg. 可见 NH₄⁺-N 减少量明显高于亚硝态氮和硝态氮生成量,原因是大量 NH₄⁺-N 被菌体同化,仅有少量因氨氧化生成了亚硝态氮和硝态氮. 从表 1 中 NH₄⁺-N 转化率看,菌株 M25-22、M40-4 和 M50-2 的 NH₄⁺-N 转化率均高于 25%,与其他菌株比具有较强的氮转化能力. 表 1 数据显示,菌体内亚硝态氮和硝态氮总量在 0.061 × 10⁻³ ~ 0.640 × 10⁻³

mg 范围内,占菌株生成亚硝态氮和硝态氮总量的 0.33% ~ 0.79%,说明氨氧化霉菌生成的亚硝态氮和硝态氮主要蓄积于培养基,即环境中.

由表 2 可知,所试各氨氧化菌株生成亚硝态氮和硝态氮总量与菌体干重、菌体凯氏氮量之间分别呈现显著的正相关,而这些指标又与培养基中 NH₄⁺-N 量呈显著的负相关. 这是因为菌体的大量繁殖,合成了大量的有机氮,即凯氏氮的主要组成部分;大量的菌体又使得氨氧化作用更为高效,故消耗了大量的 NH₄⁺-N. 反之亦然.

2.3 高效氨氧化霉菌的氮转化能力

M25-22、M40-4 这 2 株高效氨氧化霉菌的氮转

化能力分别见图 2、图 3。从中可见,M25-22、M40-4 所在培养基中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量均呈持续的降低走势,具体为:0~24 h 微降,24~72 h 速降,72 h 后缓降,120 h 后趋稳,并基本维持在 $0.3\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。该量变反映了这 2 株菌的生长阶段性:0~24 h,利用的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量少,说明菌体生长量小,处于迟滞期;24~72 h,吸收的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量大,说明菌体呈几何级数生长量大,处于对数生长期;72 h 以后,吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量下降,说明菌体生长速率下降,进入稳定期。

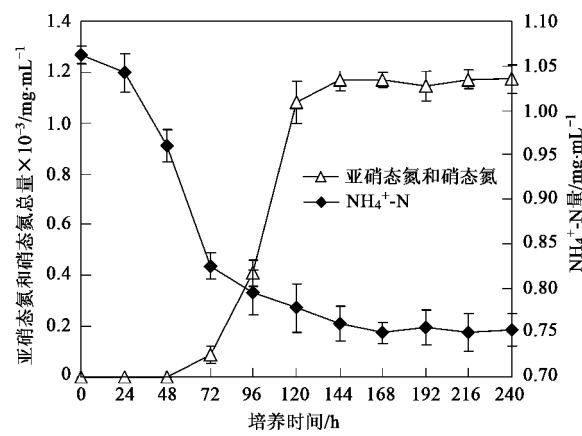


图 2 M25-22 氮转化能力
Fig. 2 Nitrogen transformation activity of strain M25-22

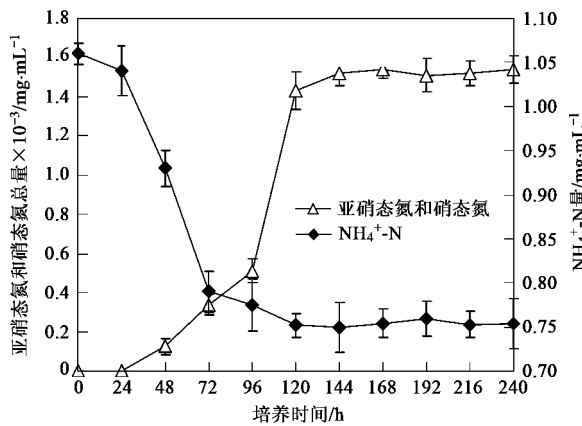


图 3 M40-4 氮转化能力
Fig. 3 Nitrogen transformation activity of strain M40-4

由图 2、图 3 还可知,2 株菌生成亚硝态氮和硝态氮总量的趋势亦相似,即初始为 0;24~48 h 微量增加;72~96 h 后剧增;120 h 后增幅渐缓,144 h 后分别维持在 $1.1 \times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5 \times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 左右。可以看出,2 株菌亚硝态氮和硝态氮 — 都是在 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量呈缓降的 72 h 后,即菌体进入稳定期才迅速增加,说明它们的氨氧化作用属于次级代谢,这与 Robertson^[16] 的研究相符。

2.4 高效氨氧化霉菌回归堆肥效果验证

2.4.1 对堆肥过程 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量变化的影响

在好氧堆肥过程中,存在多种氮转化作用,主要包括氨化、铵盐同化、氨氧化及好氧反硝化作用等。当氨化作用占优势时,堆肥体系的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量偏高,有机氮含量偏低;当铵盐同化及氨氧化作用占优势时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量偏低,有机氮、硝态氮含量偏高。由图 4 可知,堆肥过程所试各组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的变化为:0~3 d 迅速增加,3~12 d 呈降低-略升高-降低趋势,12 d 后近于平稳。菌剂组 M25-22 和 M40-4 与对照组相比, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量自 2 d 开始至堆肥结束一直表现较低,最终仅为对照组的 70%。分析原因是菌剂组中氨化作用相对较弱,而铵盐同化及氨氧化作用较强,使得其中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 偏低。

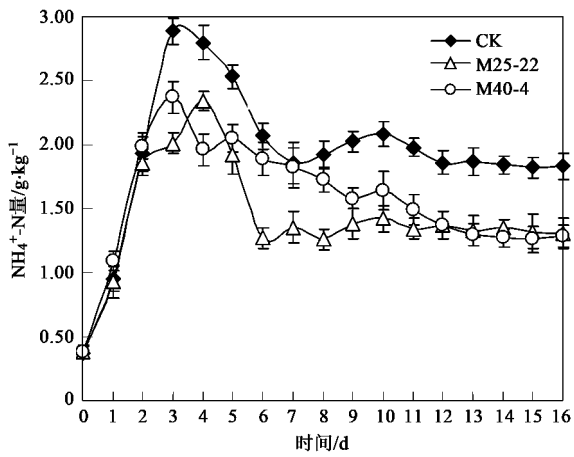


图 4 堆肥全程 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的变化
Fig. 4 Change of ammonium nitrogen content during the composting process

2.4.2 对堆肥过程硝态氮含量变化的影响

由图 5 可知,堆肥过程所试各组硝态氮含量变化总趋势均为:增加-降低-再增加-再降低,最后趋于稳定。菌剂组 M25-22 和 M40-4 硝态氮含量与对照相比始终偏高;堆肥结束时约相当于对照组的 2 倍。从变化趋势上看,1~3 d,菌剂组的硝态氮增加速率明显高于对照组快;5~8 d,在对照组硝态氮含量表现为持续降低的情况下,而菌剂组却为持续升高。分析原因是菌剂组中氨氧化作用较强,促进了堆肥体系中的有机氮及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 向硝态氮的转化。

2.4.3 对堆肥过程总氮量变化的影响

由图 6 可知,堆肥过程所试各组总氮量的表现变化趋势为:0~1 d 稍有降低,之后逐渐升高,至 13 d 后趋于稳定。菌剂组 M25-22 和 M40-4 的总氮量与对照相比始终较高;至堆肥结束时,分别比对照高

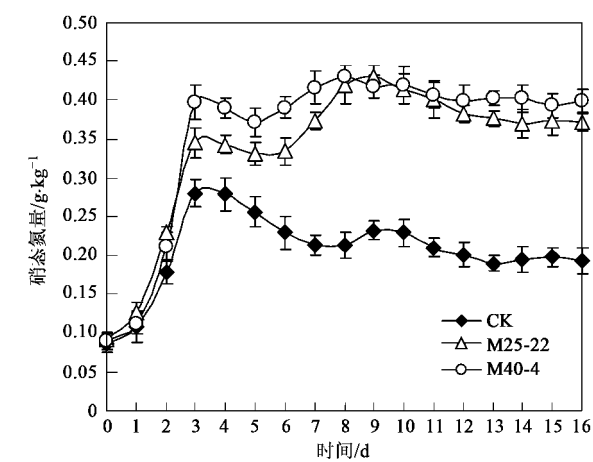


图5 堆肥全程硝态氮含量的变化
Fig.5 Change of nitrate nitrogen content during the composting process

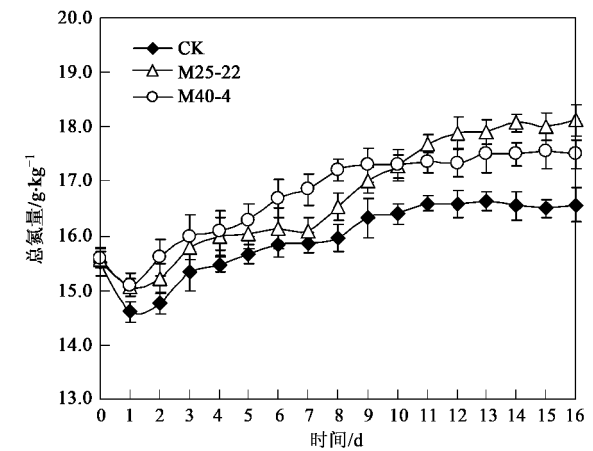


图6 堆肥全程总氮量的变化
Fig.6 Change of total nitrogen content during the composting process

9.4%和5.6%。分析可能原因有三:一是菌剂组中铵盐同化与氨氧化作用较强,促使易挥发的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 向不易挥发的有机氮和硝态氮转化,减少了因氨挥发所致的氮素损失;二是菌剂组中氨化及反硝化作用较弱,即减少了 NH_3 、 NO 、 N_2O 及 N_2 等挥发性气态氮生成所致的氮素损失;三是菌剂组中微生物活跃的分解代谢加速了堆肥环境各类有机质的矿化,致使干物质大量消耗,堆肥物料量减少,结果使堆肥物料中单位质量总氮含量相对增加。

3 结论

(1) 所试 10 株分离自鸡粪好氧堆肥的霉菌均能氧化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 生成亚硝态氮和硝态氮,即鸡粪好氧堆肥体系中存在氨氧化霉菌,且提示该环境的霉菌可能具有 NH_4^+ 的氨氧化能力。

(2) 所试氨氧化菌株的菌体生长量与氨氧化能力呈显著的正相关;生成的亚硝态氮和硝态氮主要蓄积于培养基,即环境中。

(3) 2 株高效氨氧化霉菌 M25-22、M40-4 在所试培养基中培养 144 h 后,能使 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量降低 $0.3\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上,亚硝态氮和硝态氮生成量约在 $1.1\times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5\times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;它们分属青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)。

(4) 用 M25-22、M40-4 这 2 株菌分别回归堆肥后,堆肥体系中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量均明显降低,硝态氮含量及总氮含量均明显增加,因此 2 株菌对减少堆肥过程氮素损失具有实际意义。

参考文献:

[1] Marshall K C, Alexander M. Nitrification by *Aspergillus flavus* [J]. J Bacteriol, 1962, **83**: 572-578.

[2] 郭建华,彭永臻. 异养硝化、厌氧氨氧化及古菌氨氧化与新的氮循环[J]. 环境科学学报, 2008, **28**(8): 1489-1498.

[3] Delaune P B, Moore P A, Daniel T C, et al. Effect of chemical and microbial amendments on ammonia volatilization from composting poultry litter [J]. J Environ Qual, 2004, **33**(2): 728-735.

[4] Michael R, Shlomit M, Arkady K, et al. Organic matter and nitrogen conservation in manure compost for organic agriculture [J]. Compost Sci Util, 2004, **12**(1): 6-11.

[5] 王立群,曹立群,肖维伟. 鸡粪好氧发酵氮转化与相应细菌数量变化规律的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2008, (5): 61-65.

[6] 曹喜涛. 畜禽粪便堆制过程中氮素损失及接种异养亚硝化细菌的研究[D]. 南京:南京农业大学, 2004.

[7] Papen H, Vonberg R. A most probable number method for the estimation of cell numbers of heterotrophic nitrifying bacteria in soil [J]. Plant Soil, 1998, **199**: 123-130.

[8] Dooxtader K G, Alexander M. Nitrification by heterotrophic soil microorganisms [J]. Soil Sci Soc Amer Proc, 1966, **30**: 351-355.

[9] Ahmad N, Xu H Y, Chen L P, et al. Enhanced biological nutrient removal by the alliance of a heterotrophic nitrifying strain with a nitrogen removing ecosystem [J]. J Environ Sci China, 2008, **20**(2): 216-223.

[10] Joo H S, Hiraia M, Shoda M. Piggery wastewater treatment using *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. Water Res, 2006, **40**(16): 3029-3036.

[11] 吴永英,王广旭,顾文杰,等. 鸡粪好氧堆肥中霉菌的筛选及降解特性[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2008, **40**(7): 1116-1120.

[12] Hatcher H J, Schmidt E L. Nitrification of Aspartate by *Aspergillus flavus* [J]. App Environ Microbiol, 1971, **21**(2): 181-186.

[13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京:中国环境科学出版社, 2002. 268-285.

[14] 中国标准出版社第一编辑室. 中国食品工业标准汇编——乳制品和婴幼儿食品卷[M]. 北京:中国标准出版社, 2003. 355-361.

[15] 史瑞和,薄士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:农业出版社, 1982.

[16] Robertson A L. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha* [J]. Appl Environ Microbiol, 1988, **54**(11): 2812-2818.