

异养硝化-好氧反硝化菌株 X3 的环境适应性

李秋芬 孙雪梅 张 艳 刘淮德

(农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 测定了不同环境因子,包括温度、盐度、pH、碳源、C:N 等的变化对菌株的生长和脱氮能力的影响以及该菌株对不同抗生素的敏感性。结果表明,该菌株最适生长条件为温度 28℃、盐度 30、pH 8.5、乙酸钠为碳源、碳氮比 10:1;在盐度 20~80、温度 25~37℃、pH 7.5~9.5、碳源为葡萄糖或乙酸钠、碳氮比 5:1~15:1 环境条件下均能良好生长,脱氮效率均可达到 80% 以上;在盐度为 150 的培养液中仍能生长。药敏试验结果表明,该菌株仅对诺氟沙星、氧氟沙星和多粘霉素 B 敏感,对其余 27 种常用抗生素具有抗药性。研究结果说明,该菌株对海水养殖环境适应性良好,在海水养殖水质处理方面具有巨大的应用潜力。

关键词 异养硝化-好氧反硝化 盐单胞菌 生物脱氮 环境适应性 海水养殖环境
中图分类号 Q938 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2013)03-0120-06

Environmental adaptability of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria strain X3

LI Qiu-fen SUN Xue-mei ZHANG Yan LIU Huai-de

(Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture,
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT For the application of a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria strain X3 in mariculture, the effects of several environmental factors, including temperature, salinity, pH, C:N ratio, and carbon source on the growth and nitrogen removing ability of strain X3 were examined in the laboratory conditions, and its sensitivity to different antibiotics was also explored. The results showed that, the optimal condition for strain X3 to grow and remove nitrogen were 28℃, salinity of 30, pH 8.5, using sodium acetate as the carbon source and at a C:N ratio of 10:1. This strain grew well and kept over 80% nitrogen removal rate at 25~37℃, 20~80 salinity, pH 7.5~9.5 with a C:N ratio range of 5:1~15:1 and sodium acetate or glucose as the carbon source. Especially, this strain was able to grow in the medium with salinity of 150. The result of sensitivity to antibiotics indicated that strain X3 was only sensitive to norfloxacin, ofloxacin and polymyxin B, while resistant to the other 27 antibiotics. Therefore, it can be concluded that strain X3 has excellent adaptability to the environment of mariculture and huge application potential in mariculture water purification.

KEY WORDS Heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying *Halomonas* sp.

海洋公益性行业科研专项经费项目(200805069)和国家自然科学基金课题(31170113)资助

收稿日期:2012-08-11;接受日期:2012-10-16

作者简介:李秋芬(1969-),女,博士,研究员,主要从事渔业环境微生物学和微生物生态学。E-mail:liqf@ysfri.ac.cn,

Tel:(0532)85836341-809

Bio-nitrogen removal Environmental adaptability Maricultural environment

随着海区渔业资源逐年枯竭,近海的渔获量越来越少(金显仕等 2005),海水养殖业得以迅猛发展。但同时水体污染的问题也日益严重,过高浓度的氨氮和亚硝酸氮等无机氮的积累,不仅会对养殖生物产生强烈的毒害作用,引起其窒息、死亡等(王志敏等 2006),而且养殖废水对近岸环境也造成了极大的威胁,严重时会引起赤潮。通过开发能净化养殖环境的有益菌制剂产品来解决上述问题,已成为目前研究的热点。由于海水盐度高,会引起脱氮菌种的脱氢酶活性降低、细胞质壁分离、生长代谢受抑制等现象(Shapovalova *et al.* 2008),从而使一般淡水环境中分离出的常规脱氮菌株的脱氮效率降低,而且,海水养殖的特点决定了在养殖的同时制造严格厌氧条件比较困难。因此,筛选出能适应高盐有氧环境,又能同时消除有机物、氨氮和亚硝酸氮的高效菌株,才是净化海水养殖废水的关键。

与自养硝化菌相比,异养硝化菌具有生长快、效率高、可耐受低溶解氧(DO)浓度和酸性环境,喜欢较高的C/N比的优点,好氧反硝化作用可在污水处理过程中避免好氧区和厌氧区隔开分别进行的麻烦。鉴于上述优点,目前国内外对异养硝化-好氧反硝化菌的研究非常热门,在生活 and 工业污水处理中的应用有较多报道(郭艳丽 2009),而在水产养殖中可以应用的脱氮菌株相对较少,主要有芽胞杆菌(熊 焰等 2010)和光合细菌(陈 慧等 2011)等。目前发现的这些菌株大都只研究了其单一硝化或反硝化的功能,如张培玉等(2009)曾报道的一株耐盐的同步硝化反硝菌株 GYL。本实验室从宁波象山港浅海网箱养殖区富营养沉积环境中筛选到了中度耐盐异养硝化-好氧反硝化菌株 X3(孙雪梅等 2012),本研究将从实际应用角度出发,报道该菌株对不同环境条件的适应性及对不同抗生素的敏感性,以期为该菌在海水养殖水质净化方面的推广应用提供理论和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 菌株

本研究于 2011 年 6~9 月在中国水产科学研究院黄海水产研究所完成。实验用菌株 X3 于 2008 年分离自宁波象山港网箱鱼类养殖区富营养沉积环境富集、筛选到的一组可以高效降解有机物、氨氮和亚硝酸氮等的原生态复合净化菌群(李洪鹏等 2009),由黄海水产研究所海洋渔业环境与修复实验室保存。

1.2 培养基

培养基和降解测试液的配方参照李洪鹏等(2009),并有所改进。分离和生长培养基为 NH_4Cl 0.5 g, MgSO_4 0.1 g, NaH_2PO_4 0.2 g, K_2HPO_4 0.5 g, CaCO_3 1 g, FeSO_4 0.1 g, 葡萄糖 1 g, KNO_2 1 g, 酵母浸出膏 0.03 g, Fe_3PO_4 0.1 g, 沉积物海水浸出液 1 000 ml, pH 7.8。其中沉积物海水浸出液配制方法为取海水养殖区底泥 50g,加 1L 海水震荡混匀 20min,再沉淀后,取上清液。菌落观察培养基采用 Zobell 氏 2216E 海水培养基,加入 2% 琼脂粉。

氨氮降解测试液的配方: 160.5 mg NH_4Cl , 0.5 g 葡萄糖, 沉积物海水浸出液 1 000 ml, pH 8.5。

1.3 不同环境因子对生长和脱氮性能的影响实验

该实验测试的单因子选择温度、pH、C : N、盐度、碳源 5 项进行测试,每组两个平行。实验前在生长培养基中预培养,指数生长期的菌液用于接种,接种量 2%(即取 8ml 指数生长期菌株 X3,离心取上清,将沉淀加入盛有 400 ml 生长培养基的锥形瓶中),培养基按照降解测试液的配方配置,除特定单因子单独设定外,其他实验条件为温度 25℃、盐度 30、pH 8.5、以葡萄糖为碳源、C : N 比 10 : 1、转速 60r/min,各实验组单因子设定情况如下: 1)温度: 4、8、16、28、37、41℃; 2)盐度: 0、10、20、30、50、80、130、150、170; 3)pH 值: 5.5、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5; 4)碳源: 葡萄糖、蔗糖、乙酸钠和乳糖; 5)C : N 比为: 1 : 10、1 : 1、5 : 1、10 : 1、15 : 1、20 : 1、25 : 1。

将上述实验组在培养 3、6、8d 后分别定时测量 OD_{600} 值,确定该菌株的最佳生长条件和环境适应范围,同时定量取样,离心后取上清液分别测定氨氮、亚硝酸氮、硝酸氮 3 种形态氮的含量,计算总无机氮(TIN, total inorganic nitrogen)的去除率,确定菌株保持较高脱氮能力的环境条件范围。

1.4 无机氮及 pH 分析方法

参照《海洋监测规范》(GB17378.4-2007),氨氮的测定采用次溴酸盐氧化法;亚硝酸氮的测定采用盐酸萘乙二胺分光光度法;硝酸氮的测定采用锌-隔还原法。菌体生长量采用吸光度法,用可见分光光度计于 600 nm 处测量吸光度值(OD_{600});pH 值用 pH 计测定。

1.5 药敏实验

在生长培养基平板上涂布适量的 X3 新鲜菌液,每个平板上等距放置 3 个药敏片,共 30 种常用抗生素药敏片(杭州微生物科技有限公司生产)。28℃ 恒温培养箱中培养 48h 后,测量并记录抑菌圈大小,根据公司提供的标准,判断该菌株对抗生素的敏感性。

2 结果

2.1 菌株生长及异养硝化能力的影响因子实验

2.1.1 温度对菌株生长及 TIN 去除效果影响实验

从图 1 可看出,菌株 X3 在 4℃ 下菌体浓度很低,说明生长十分缓慢;随着培养温度升高,同一时间,菌体浓度逐渐升高,在 25~37℃ 范围内均生长良好,28℃ 条件下,生长最好,在温度达到 41℃ 时菌株生长基本停止,将其在 44℃ 高温下放置 24h 后,重新划线,28℃ 培养 2d 后发现仍能存活,说明菌株可以耐 44℃ 高温;菌株在 4℃ 条件下,脱氮效率也很低,随着温度的升高,脱氮效率也相应提高。在 8℃ 和 16℃ 条件下菌株的脱氮效率均低于 51%,在 25℃ 条件下培养 8d 后菌株的脱氮效率达到 83.41%,在 28℃ 和 37℃ 条件下菌株脱氮效率分别达到 92.28% 和 91.23%,说明菌株在 25~37℃ 范围内,均能保持良好脱氮效率,最适脱氮条件为 28℃。

2.1.2 盐度对菌株生长及 TIN 去除效果影响实验

由图 2 可看出,该菌株在不含 NaCl 和 NaCl 浓度低于 1% 的培养基中不生长,在盐度 20~50 的条件下,生长良好,而在盐度为 170 的培养基中不能生长,在盐度为 150 的培养基中仍能生长,但生长速度很慢,说明该菌株生长需要一定盐度,且具有较强的耐盐性,最佳生长盐度为 30。该菌株在盐度 20~50 之间的均有较高的脱氮效率,均达到 80% 以上,同样在盐度为 30 时,脱氮效率最高。

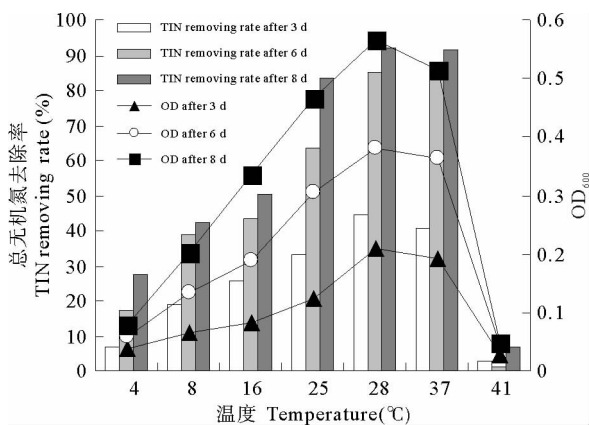


图 1 温度对菌株 X3 生长和脱氮的影响
Fig.1 Effect of temperature on growth and nitrogen removal of strain X3

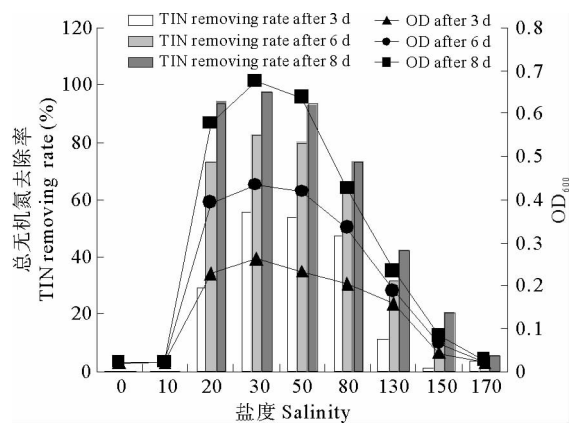


图 2 盐度对菌株 X3 生长和脱氮的影响
Fig.2 Effect of salinity on growth and nitrogen removal of strain X3

2.1.3 pH 对菌株生长及 TIN 去除效果影响实验

从图 3 可看出,菌株在 pH 值为 5.5 和 10.5 时基本不生长,脱氮效率接近于 0,pH 值 6.5 时,培养 8d 后菌株的脱氮率仅为 40%,而 pH 值为 7.5、8.5、9.5 时,菌株的生长速率和脱氮效率均较高,TIN 去除率在 90% 以上,分别为 94.03%、98.45%、97.87%,菌体 OD₆₀₀ 为 0.55、0.73、0.74,可见在 pH 值为 7.5~9.5 范围内菌株的生长和脱氮率都很高,最佳 pH 条件为 8.5。

2.1.4 不同碳源对菌株生长及 TIN 去除效果影响实验

从图 4 可以看出,在 3d 时含乙酸钠的培养基中菌体浓度最高,其次是乳糖,葡萄糖和蔗糖组最低,OD₆₀₀ 分别为 0.49、0.36、0.24 和 0.23,8d 时各实验组中的菌体浓度差异不大,分别为 0.71、0.65、0.73、0.61,由此可以看出菌株对乙酸钠的吸收最快,后期在葡萄糖中生长最好。

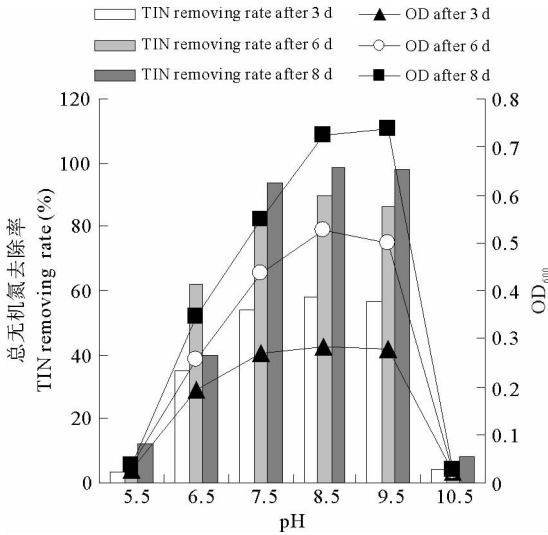


图 3 初始 pH 值对菌株 X3 生长和脱氮的影响
Fig. 3 Effect of pH on growth and nitrogen removal of strain X3

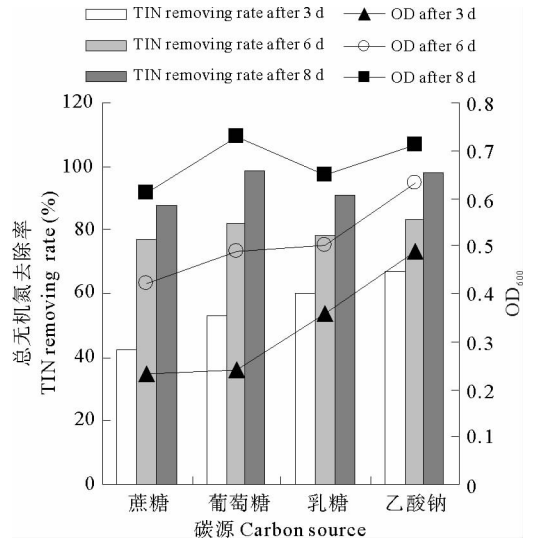


图 4 碳源对菌株 X3 生长和脱氮的影响
Fig. 4 Effect of carbon resources on growth and nitrogen removal of strain X3

从脱氮效率上看,菌株在乙酸钠中的脱氮效率最快,在 3d 时 TIN 去除率已经达到 66.81%,而此时蔗糖的脱氮效率为 42.74%,葡萄糖为 52.91%,乳糖为 59.97%;8d 后,在蔗糖、葡萄糖、乳糖、乙酸钠为碳源条件下的菌株脱氮效率分别为 87.74%、98.69%、90.82%、97.89%。由此可以看出,在培养 3d 时乙酸钠的脱氮效率最高,其次是乳糖、葡萄糖、蔗糖;而在作用 8d 时葡萄糖和乙酸钠的脱氮效率均较好,二者差异不大,其次为乳糖和蔗糖。

2.1.5 不同碳氮比对菌株生长及 TIN 去除效果影响实验

从图 5 可看出,菌株在 C : N 比为 1 : 10 时 OD₆₀₀ 值很低,菌株基本不生长,说明菌株的生长对碳源有一定的依赖性,在 C : N 为 5 : 1~30 : 1 的条件下,菌体浓度 OD₆₀₀ 分别为 0.66、0.65、0.63、0.62、0.61、0.60,TIN 去除率分别为 97.98%、98.49%、94.85%、91.62%、89.55%、89.35%,高于 15 : 1 时脱氮率和生长浓度反而开始有所下降。由此可以看出,在 C : N 为 5 : 1~15 : 1 范围内生长和脱氮效率均较高,生长最佳 C : N 为 5 : 1,脱氮最佳 C : N 为 10 : 1。

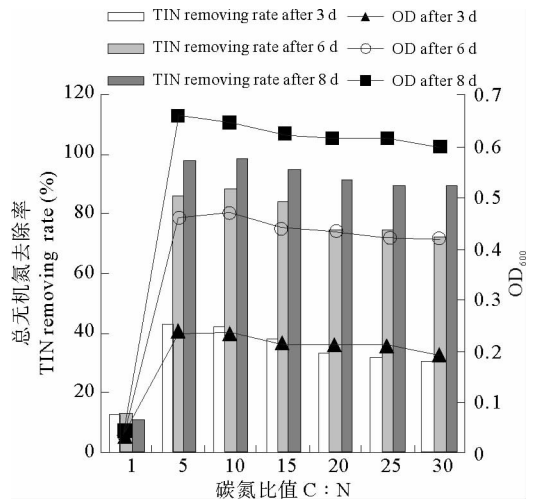


图 5 碳氮比对菌株 X3 生长和脱氮的影响
Fig. 5 Effect of C/N ratio on growth and nitrogen removal of strain X3

2.2 药敏实验

通过观察不同抗生素抑菌圈的大小,发现该菌株 X3 对诺氟沙星、氧氟沙星、多粘霉素 B 敏感,对卡那霉素、庆大霉素、四环素等具有耐药性,而对红霉素、氯霉素和新霉素为中介。详细结果见表 1。

表 1 菌株 X3 药敏实验结果
Table 1 Antibiotics sensitivity test of strain X3

抗生素 Antibiotics	含量 Amount ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	敏感性 Sensitivity	抗生素 Antibiotics	含量 Amount ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	敏感性 Sensitivity
诺氟沙星 Norfloxacin	10	S	庆大霉素 Gentamycin	10	R
青霉素 Penicillin	10IU/disc	R	卡那霉素 Kanamycin	30	R
氨苄青霉素 Ampicillin	10	R	多粘霉素 Polymyxin B	300U/disc	S
氧氟沙星 Ofloxacin	5	S	新霉素 Neomycin	30	I
先锋必素 Cefoperazone Sodium	75	R	苯唑青霉素 Proctaphlin Sodium	1	R
氯霉素 Chloromycetin	30	I	四环素 Tetracycline	30	R
丙氟哌酸 Ciprofloxacin	5	R	强力霉素 Doxycycline	30	R
红霉素 Erythromycin	15	R	克林霉素 Clindamycin	2	R
麦迪霉素 Medemycin	30	R	菌必治 Ceftriaxone Sodium	30	R
丁胺卡那霉素 Amikacin	30	R	复达欣 Ceftazidime	30	R
羧苄青霉素 Carbenicillin	100	R	万古霉素 Vancomycin	30	R
美满霉素 Minocycline	30	R	氧哌嗪青霉素 Piperacillin	100	R
头孢呋辛 Cefuroxime	30	R	先锋霉素 VI Cefaloridne VI	30	R
先锋霉素 IV Cefaloridne IV	30	R	先锋霉素 V Cefaloridne V	30	R
痢特灵 Furazolidone	300	R	复方新诺明 Paediatric Compound Sulfamethoxazole Tablets	1.25/23.75	R

注:R 表示耐药,S 表示不耐药,I 表示介于耐药和不耐药之间

3 讨论

从 20 世纪 90 年代起,研究者们相继展开了对盐单胞菌的深入研究,研究发现盐单胞菌(Halomonas)是一类耐盐性很强的细菌,对温度和氧气的适应性也很强,其异养硝化和反硝化特性使其在污水处理和生态修复领域有着广阔的应用前景(朱凤玲等 2011)。然而到目前为止,大多数研究者都集中在对其独特的耐盐特性和渗透调节方式上的研究(洪青等 2006),对于其硝化反硝化性能关注的比较少。最早在 1996 年,Berendes 等(1996)发现一株嗜碱耐盐菌 *Halomonas desiderata*,并通过实验证实该菌株可以将硝酸氮反硝化成 N_2 释放出来完成反硝化功能,Melanie 在 1999 年也发现了一株中度嗜盐菌 *Halomonas campisalis* sp. nov,它可以在有氧条件下利用硝酸氮和亚硝酸氮,之后越来越多的研究者发现了一些具有反硝化性能的盐单胞菌属菌株(Wang et al. 2007)。随着人们对同步硝化反硝化现象的深入研究,越来越多的异养硝化-反硝化菌被研究者们发现,主要存在于产碱菌属(Joo et al. 2005)、芽胞杆菌属(Kim et al. 2005)等,在盐单胞菌属中发现的还很少。张培玉等(2009)在盐单胞菌属中首先发现了一株具备异养硝化-好氧反硝化能力的细菌,但仅对其反硝化性能进行了详尽的研究,本研究在单独测试菌株 X3 异养硝化和好氧反硝化能力的基础上,测定了其同时进行硝化和反硝化的能力,发现该菌株具有较强的同时进行异养硝化-好氧反硝化的能力,独立完成脱氮全过程,有可能把无机氮以气体的形式,从水体中完全去除,这对净化养殖用水和消除养殖废水对外界环境的污染更具有意义。

一株有益菌能否在生产实践中广泛应用,除了要求该菌具有高性能,还必须具备较宽泛的环境适应性,因此作者对菌株 X3 在不同环境条件下(碳源、温度、pH、C:N、盐度)的生长和脱氮性能进行了测试,发现该菌株对温度、pH 和盐度的适应范围都很宽泛,而且脱氮对环境条件的要求与生长是一致的,生长越好,脱氮效率也越高,在温度 25~37 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7.5~9.5、盐度 20~50、C:N 比为 5:1~15:1 的条件范围内,均能良好生长,脱氮效率也均可以达到 80% 以上。抗生素实验证明菌株对多种抗生素不敏感,只对诺氟沙星、氧氟沙

星、多粘霉素 B 敏感,菌株的这些特性都为其今后在海水养殖生产实践中的应用提供了良好的条件。

实验还发现,菌株 X3 可以对高温的耐受能力很强,在 44℃ 环境中放置 48h 后,重新划线仍能存活,Quilaguaman 等(2004)发现的 *Halomonas boliviensis* Strain 也可以耐受 44℃ 高温。菌株的最适脱氮 pH 范围为 7.5~9.5,这一范围与张培玉等(2009)发现的 *Halomonas* sp. GYL 菌株一致。菌株对盐度有一定的依赖性,这与 Keye 等(2000)发现的 *Halomonas neptunia* 在无盐条件下不生长的特性一致;最高耐受盐度为 15%,比已报道的盐单胞菌 GYL 菌株的最高可在 10% 中生长的盐度更高。

Mevel 等(2000)指出,碳源不仅影响着异养硝化菌的生长,也影响着它的硝化活性,碳源的类型对异养硝化活性起着十分关键的作用,本研究发现,菌株 X3 对不同碳源的利用效率不同。菌株对乙酸钠的吸收最快,但最终葡萄糖与之相当,高于对乳糖和蔗糖的利用率,这可能与前者分子量较小有关。因此,在大规模发酵培养时,用乙酸钠作为碳源更利于菌体的生长。研究还发现,不同 C:N 比对菌株的生长和脱氮效率也有很大的影响,生长和脱氮效率随着 C:N 比的升高呈现先升后降的趋势,生长最佳 C:N 为 5:1,脱氮最佳 C:N 为 10:1。Joo 等(2005)也发现,当 C:N 高于 10:1 时,菌株的异养硝化能力反而开始下降。Chiu 等(2007)曾指出,SBR(Sequencing batch reactor)反应器中的 C:N 比不同导致硝化和反硝化的速率不同,同步硝化反硝化的效率也有很大差异,在合适的 C:N 比条件下,可以维持无机氮的含量在较低水平。因此,该菌株大规模培养时,培养基 C:N 可选为 5:1。通过环境条件实验,还发现该菌株的最佳生长温度、pH 和盐度分别为 28℃、8.5 和 30,这些为今后该菌的培养条件的确定和大规模发酵生产工艺的建立提供了科学依据。

参 考 文 献

- 朱凤玲,曲凌云,洪旭光,赖其良,张进兴,孙修勤. 2011. 盐单胞菌属一新种的分离与鉴定. 海洋科学进展, 29(2): 221-228
- 孙雪梅,李秋芬,张艳,刘淮德,赵俊,曲克明. 2012. 一株海水异养硝化-好氧反硝化菌系统发育及脱氮特性. 微生物学报, 52(6): 557-565
- 李洪鹏,李秋芬,张艳,李筠. 2009. 浅海养殖环境复合生态净化菌群的筛选及其净化功能研究. 渔业科学进展, 30(2): 46-53
- 张培玉,郭艳丽,于德爽,成广勇. 2009. 一株轻度嗜盐反硝化细菌的分离鉴定和反硝化特性初探. 微生物学通报, 36(4): 581-586
- 陈慧,张德民,王龙刚,潘志崇. 2011. 一株反硝化光合细菌的生物学特性及系统发育分析. 微生物学报, 51(2): 249-255
- 金显仕,赵宪勇,孟田湘,崔毅主编. 2005. 黄、渤海生物资源与栖息环境. 北京:科学出版社, 383
- 洪青,徐剑宏,王云端,武俊,张晓舟,李顺鹏. 2006. 中度嗜盐菌 *Halomonas* sp. BY5-1 耐盐相关 DNA 片段的克隆. 应用与环境生物学报, 12(3): 375-378
- 郭艳丽. 2009. 三株轻度嗜盐反硝化菌的分离鉴定和讲解特性初探. 见:青岛大学硕士学位论文
- 熊焰,刘力源,罗睿,朱欢. 2010. 1 株亚硝酸盐降解菌的筛选、鉴定、降解条件及效果. 中国水产科学, 17(6): 1264-1270
- Berendes F, Goitschanlk G, Heine-Dobbernack E and 2 others. 1996. *Halomonas desiderata* sp. nov., a new alkaliphilic, halotolerant and denitrifying bacterium isolated from a municipal sewage works. Systematic and Applied Microbiology 19(2): 158-167
- Castignetti D, Gunner HB. 1980. Sequential nitrification by an *Alcaligenes* sp. and *Nitrobacter agilis*. Canadian Journal of Microbiology 26(9): 1114-1119
- Chiu YC, Leeb LL, Chang CN, Chao AC. 2007. Control of carbon and ammonium ratio for simultaneous nitrification and denitrification in a sequencing batch bioreactor. International Biodeterioration & Biodegradation 59(1): 1-7
- Joo SH, Hirai M, Shoda M. 2005. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4. Journal of Bioscience and Bioengineering 100(2): 184-191
- Keye JZ, Baross JA. 2000. High incidence of halotolerant bacteria in Pacific hydrothermal-vent and pelagic environments. FEMS Microbiology Ecology 32(3): 249-260
- Kim JK, Park KJ, Cho KS and 3 others. 2005. Aerobic nitrification denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains. Bioresource Technology 96(17): 1897-1906
- Mevel G, Prieur D. 2000. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture conditions. Canadian Journal of Microbiology 46(5): 465-473
- Mormile MR, Romine MF, Teresa GM and 3 others. 1999. *Halomonas campisalis* sp. nov., a denitrifying, moderately haloalkaliphilic bacterium. Systematic and Applied Microbiology 22(4): 551-558
- Quillaguaman J, Hatti-Kaul R, Mattiasson B and 2 others. 2004. *Halomonas boliviensis* sp. Nov., an alkalitolerant, moderate halophile isolated from soil around a Bolivian hypersaline lake. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54(3): 721-725
- Shapovalova AA, Khijiak TV, Tourova TP and 2 others. 2008. Heterotrophic denitrification at extremely high salt and pH by haloalkaliphilic gamma proteobacteria from hypersaline soda lakes. Extremophiles 12(5): 619-625
- Wang YN, Cai H, Chi CQ and 4 others. 2007. *Halomonas shengliensis* sp. nov., a moderately halophilic, denitrifying, crude-oil-utilizing bacterium. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57(6): 1222-1226