

水库贫营养好氧反硝化 细菌分离及其对水体微生物群落影响

黄廷林, 刘婷婷, 张海涵, 杨 霄, 郭 琳

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055)

摘 要:经过贫营养好氧反硝化选择性培养基的初步筛选,从水源水库沉积物中分离得到 234 株贫营养好氧反硝化细菌,并对其脱氮特性和高效菌株对水体功能微生物种群的调控机制进行探索.结果表明,8 株贫营养好氧反硝化细菌在 48 h 内脱氮率达 80%以上.经过 16 s rDNA 序列分析,确定分子遗传种属为不动杆菌属、链霉菌属、嗜甲基菌属、根瘤菌、假单胞菌、鞘氨醇单胞菌和溶杆菌属等.巢式 PCR-DGGE 结果表明接种高效贫营养好氧反硝化细菌 HF3 对原水水体功能微生物(细菌、真菌、放线菌和硫酸盐还原菌)种群结构多样性影响不显著,对原水微生物生态种群影响微弱.

关键词:水库;沉积物;好氧反硝化细菌;微生物群落;巢式 PCR-DGGE

中图分类号:X703

文献标志码:A

文章编号:1006-7930(2012)06-0876-07

近年来我国水源水污染日趋严重,其中湖泊水库的富营养化问题较为突出^[1-2].含有 N、P 等营养物质的生活用水等废水排入水体,会导致浮游植物异常增殖导致水生生态系统结构功能异化^[3-4],也就是富营养化问题的根本所在.目前,大中型城市已将水库湖泊等地表水作为供水水源,然而水源水富营养化问题严重影响了城市饮用水的水质安全.因此解决水源的水质微污染问题成为供水领域今后研究的重要课题,而控制氮源污染是解决微污染水体问题的重要环节^[5].

生物脱氮作为一种水处理中高效经济的方法,已日趋普遍使用.传统生物脱氮是在厌氧或缺氧条件下以 NO_2^- 、 NO_3^- 作为电子受体进行反硝化过程,然而近几年来学者们不断地发现好氧条件下发生总氮损失^[6-8].国内外有不少关于好氧反硝化菌的研究,目前已报道有假单胞菌属、嗜麦芽寡养单胞菌、凝结芽孢杆菌、螯台球菌、赤红红球菌属等^[9-12].虽然相关研究已很普遍,但大都针对富营养化池塘、工业废水、人工湿地、活性污泥^[13-15]等氮源丰富的环境.有关水源水库沉积物中贫营养好氧反硝化细菌的分离、鉴定及其高效菌株对原水水体微生物种群多样性的影响研究却鲜见报道.因此,本研究以西安市和山东某水源水库沉积物为对象,驯化分离沉积物中贫营养好氧反硝化菌株,并进行 16S rDNA 测序分析,明确其遗传发育地位,为贫营养好氧反硝化细菌研究提供理论支撑.

目前,贫营养好氧反硝化细菌在水源水体脱氮工程中的功效已逐步显现,而随之而来的菌剂的生态安全性评价也就成为生物菌剂应用的重要研究课题.分子生物学的发展为外源菌剂生态安全性研究提供了一种新途径,如广泛运用于检测环境微生物群落动态变化研究的巢式 PCR-DGGE 技术^[16-18].本文在前期研究基础上,通过投加菌剂和空白对照实验,探讨了高效脱氮菌株对原水水体细菌、真菌、放线菌和硫酸盐还原菌种群结构的影响,可为贫营养好氧反硝化细菌在微污染水源水质原位改善工程中的应用提供科学依据.

收稿日期:2012-10-16 **修改稿日期:**2012-11-18

基金项目:国家科技支撑计划课题(2012BAC04B02);国家自然科学基金重点项目(50830303);陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTCG03-07)

作者简介:黄廷林(1962-),男,山东人,博士,教授,主要从事水资源保护与微污染控制方面的研究.

1 材料与方法

1.1 样品采集

以西安市 A、B 水源水库和山东某水库沉积物作为实验材料,运用彼得森采样器采集表层沉积物(0~30 cm),迅速放入无菌自封袋中,标记后放入 8℃ 小冰盒,48 h 之内运回实验室,待用。

1.2 培养基

选择性反硝化培养基配方:NaAc 0.1 g/L,NaNO₃ 0.036 g/L,K₂HPO₄ 0.02 g/L,MgCl₂ 0.01 g/L,CaCl₂ 0.01 g/L,pH 7.0~7.5。

BM 培养基配方:NaAc 0.1 g/L,NaNO₃ 0.036 g/L,K₂HPO₄ 0.02 g/L,MgCl₂ 0.01 g/L,CaCl₂ 0.01 g/L,pH 7~7.5,琼脂 20 g/L。

FW 培养基:同选择性反硝化培养基。

DM 培养基^[19]:Na₂HPO₄·7H₂O 5.0 g/L,KH₂PO₄ 1.5 g/L,NH₄Cl 0.3 g/L,MgSO₄·7H₂O 0.1 g/L,丁二酸钠 4.7 g/L,微量元素溶液 2 mL/L,KNO₃ 1 g/L。

BTB(溴甲基酚蓝)培养基:在 DM 培养基的基础上添加 1 mL BTB(1% 溶解于酒精)和 2.5% 琼脂,蒸馏水溶解并调节 pH 7.0~7.5。

1.3 富集与驯化

富集装置及运行条件:取适量底泥样品加入新鲜反硝化富集培养基中,贫营养好氧反硝化菌富集装置为 250 mL 玻璃锥形瓶,瓶口用棉塞塞紧,在 25℃ 水浴振荡培养箱中培养,每天以 120 r/min 振荡 4 h,保证在好氧环境下培养。按此配方作为初始浓度加入富集装置,此后每天使其营养物质的浓度降低 10%,到第 10 d 各营养物质浓度为初始值的 10%,随后维持恒定浓度。

1.4 分离与初筛

将驯化培养 8 周的菌液稀释不同倍数,于 10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 和 10⁻⁴ 梯度下采用涂布法在 BM 培养基上培养,30℃ 条件下恒温培养 3~5 d,选出具有代表性的菌落 BM 培养基上划线纯化 3 次,确保为纯菌落。挑取纯菌落于 BTB 培养基上进行划线培养,待 1~3 d 长出新菌落,根据培养基颜色初步判断其反硝化特性。分别将纯化好的菌种接种于 FW 培养基中,在 30℃ 空气振荡培养箱中活化,待 OD₆₀₀ 达到 0.2 以上,以 10% 的接种量接种于新鲜培养基中,每隔 12 h 测定其接种前后硝酸盐氮变化值,得到优势微生物。

1.5 好氧反硝化细菌 PCR 扩增

16S rDNA 片段的 PCR 扩增所用引物为:27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',1492R:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。所用引物由美国英杰 Invitrogen(上海)公司合成。

PCR 反应体系(50 μl):2×Taq Mastermix 25.0 μl,正向引物 27F(10 μM)1.0 μl,反向引物 1492R(10 μM)1.0 μl,ddH₂O 22 μl,模板 DNA 1.0 μl。其中 2×Taq Master mix(北京天根生化科技有限公司)产品组成为:0.1 U Taq Polymerase/μl,500 μM dNTP each,20 mM Tris-HCl(pH 8.3),100 mM KCl,3 mM MgCl₂、其他稳定剂与增强剂。

PCR 反应条件:①95℃ 预变性 5 min;②94℃ 变性 1 min,55℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 2 min;③第二步循环 32 步;④72℃ 最终延伸 10 min,4℃ 保存。PCR 扩增产物的检测:PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,在 100 V 电压下电泳 60 min 后用 GelRed 染色 10 min,在凝胶成像系统(Gel Doc™ XR + 型凝胶成像系统,Bio-rad,USA)紫外照射下成像拍照,检查有无条带和非特异性扩增,本实验中的目标条带约 1 500 bp,电泳所用 DNA Marker 为 DL2000(北京天根生化科技有限公司)。

1.6 高效贫营养反硝化细菌对原水水体微生物种群多样性的影响

为了反映高效贫营养反硝化细菌对原水水体功能微生物种群多样性的调控机制,实验用水为西安某水库水源水,装置为 5 L 棕色瓶,分别投加实验室原有高效好氧反硝化菌剂 HF3^[20] 和设置空白对照,探究短期(14 d)和中期(42 d)水体细菌、真菌、放线菌和硫酸盐还原菌群落变化。水体细菌、真菌、

放线菌、硫酸盐还原菌 PCR 扩增引物及条件如表 1 所示.

功能微生物群落变化采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析技术进行,变性剂浓度为 30%~70%.待胶凝固后,将胶板放入电泳槽中,用 50 μl 微量进样器快速上样 45 μlPCR 样品,接通电源,130 V 电泳 10 min, 70 V 电泳 13 h,电泳液温度 58 °C. 电泳完毕,将胶条取下,放入 GelRed 染色 20 min,在凝胶成像系统成像拍照获取图像.

表 1 本研究中细菌、真菌、放线菌、硫酸盐还原菌 PCR 扩增引物及条件

Tab. 1 Primers and procedure of bacteria, fungus, actinomycetes and sulfate reducing bacteria used in this study

Microbial species	Primer sets	PCR procedure
Bacteria	fD1, rP1	94℃3 min;(94℃1 min, 54℃1 min, 72℃90 s)×30 cycles ;72℃7 min
	534r, 341F-GC	94℃3 min;(94℃30 s, 55℃30 s, 72℃30 s)×30 cycles;72℃5 min
Fungus	ITS4, ITS1-F	94℃5 min;(94℃30 s, 55℃30 s, 72℃30 s)×35 cycles;72℃5 min
	ITS2, ITS1F-GC	94℃5 min;(94℃30 s, 55℃30 s, 72℃30 s)×35 cycles;72℃5 min
Actinomycetes	F243, R513-GC	94℃5 min;(94℃60 s, 59℃30 s, 72℃60 s)×30 cycles;72℃10 min
Sulfate reducing bacteria	DSR4R, DSRP2060F-GC	94℃4 min;(94℃60 s, 59℃60 s, 72℃60 s)×35 cycles;72℃10 min

2 结果与讨论

2.1 分离与初筛

经过富集培养、分离纯化共得到 234 株贫营养好氧反硝化细菌. 其中,脱氮率达 40%以上的贫营养好氧反硝化菌共有 126 株,其中 48 h 内脱氮率达 80%以上的有 8 株菌,对部分菌株进行分子生物学鉴定(表 2).

2.2 菌株 16S rDNA 序列测定

上述好氧反硝化菌株进行 16S rDNA 序列测序,将测序结果用 BLAST 软件与 GeneBank 中已登录的 16S rDNA 序列进行同源性比较. 经过同源性比较,分离纯化得到的好氧反硝化细菌主要有不动杆菌属、青枯菌属、醇单胞菌属、根瘤菌属、嗜链霉菌属、溶杆菌属和假单胞菌属等(表 2). 其中,根瘤菌作为固氮微生物首次发现具有反硝化特性.

表 2 贫营养好氧反硝化细菌分离鉴定和脱氮特性

Tab. 2 Isolation and identification of oligotrophic aerobic denitrifying bacteria and its denitrification characteristics

Numbers of isolation	Species of isolates	Place	Similarity/%	Denitrification rate/%
1	<i>Acinetobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	50
2	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	99	48
3	<i>Ralstoniasp.</i>	Xi'an A Reservoir	99	54
4	<i>Acinetobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	54
5	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	99	42
6	Uncultured bacterium clone	Xi'an A Reservoir	100	73
7	<i>Streptomyces</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	49
8	<i>Acinetobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	81
9	<i>Rhizobium</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	52
10	<i>Sphingomonas</i> sp.	Xi'an A Reservoir	99	47
11	<i>Acinetobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	62
12	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	100	72
13	<i>Sphingomonas</i> sp.	Xi'an A Reservoir	99	46
14	<i>Methylophilus</i> sp.	Xi'an A Reservoir	99	65
15	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	100	67
16	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	100	58

续表 2

Numbers of isolation	Species of isolates	Place	Similarity/%	Denitrification rate/%
17	<i>Acinetobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	100	66
18	<i>Sphingomonas</i> sp.	Xi'an A Reservoir	99	47
19	Uncultured bacterium	Xi'an A Reservoir	99	44
20	Uncultured beta proteobacterium gene	Xi'an A Reservoir	99	49
21	Uncultured <i>Lysobacter</i> sp.	Xi'an A Reservoir	99	41
22	Uncultured beta proteobacterium	Xi'an A Reservoir	100	56
23	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Xi'an A Reservoir	99	42
24	<i>Zoogloea</i> sp.	ShanDong Reservoir	100	98
25	<i>Acinetobacter</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	86
26	<i>Acinetobacter</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	84
27	<i>Acinetobacter</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	82
28	<i>Pseudomonas</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	81
29	<i>Streptomyces</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	99
30	<i>Acinetobacter</i> sp.	ShanDong Reservoir	99	100
HF3	<i>Pseudomonas</i> sp.	Xi'an B Reservoir	100	99

2.3 高效贫营养好氧反硝化细菌 HF3 对水体微生物种群多样性的影响

由图 1 分析可见,经过 30%~70%的变性梯度凝胶电泳之后,水体中微生物种群被分开,说明该变性浓度梯度适合本研究. 原水水体细菌和真菌种类较多(条带丰富)(图 1A,1B),放线菌和硫酸盐还原菌种类较少(条带少)(图 1C,1D). 微生物种群丰富度指数是表征微生物种群多样性的重要参数,广泛的应用在微生物生态领域. 由表 2 分析可见,接种高效好氧反硝化细菌 HF3 对原水水体细菌、真菌、放线菌和硫酸盐还原菌种群多样性(丰富度指数)影响不显著. 在水体接种 HF3,细菌群落多样性指数为 30,28,42 和 42. 放线菌群落多样性指数在接种第 14 d、42 d、接种和对照处理多样性指数均未发生变化,硫酸盐还原菌种类最少,且受外源菌剂影响微弱.

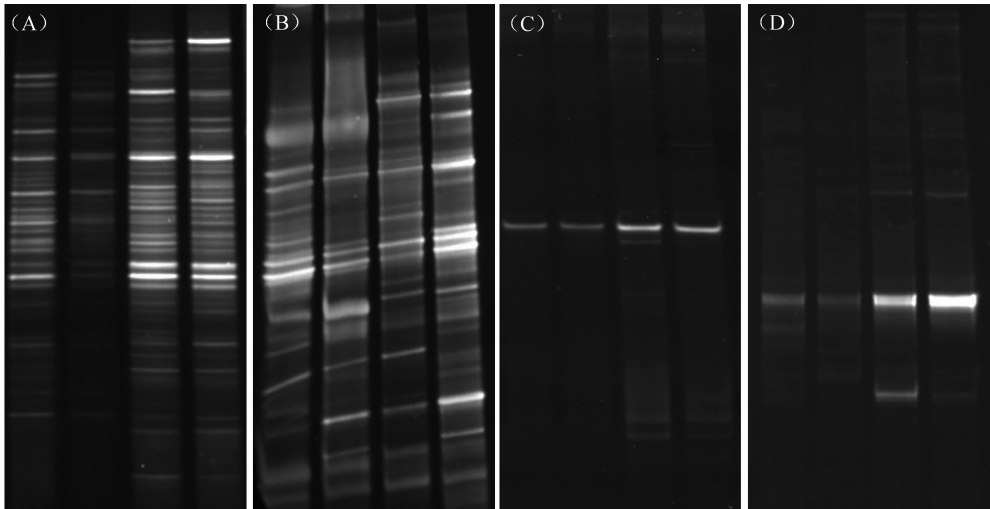


图 1 接种高效好氧反硝化细菌 HF3 对原水水体(A)细菌、(B)真菌、
(C)放线菌和(D)硫酸盐还原菌种群结构影响的 PCR-DGGE 图谱

Fig.1 Profiles of PCR-DGGE of (A) bacterial, (B) fungal, (C) actinomycetes, (D) sulfate reducing bacterial communities in raw water inoculated with effectively oligotrophic aerobic denitrifying bacterial isolate HF3

由图 2 分析可见,主成分分析(Principle component analyses, PCA)结果表明,接种 HF3 与不接种对照水中微生物种群多样性均呈现时间动态变化,且变化显著;但是接种并未显著影响原水水体细菌、

真菌、放线菌和硫酸盐还原菌种群多样性,说明该高效贫营养好氧反硝化细菌对原水微生物群落结构影响不显著,生态安全性高。

表3 接种高效好氧反硝化细菌 HF3 对水体微生物群落丰富度指数的影响

Tab. 3 Effects of effectively oligotrophic aerobic denitrifying bacterial isolate HF3 inoculation on the species richness of raw water microbial community

Time	Treatment	Bacteria	Fungi	Actinomycetes	Sulfate reducing bacteria
14 days	(I) Inoculation	30	23	4	2
	(NI) Non-inoculation	28	24	4	2
42 days	(I) Inoculation	42	30	12	8
	(NI) Non-inoculation	42	31	12	7

3 结 论

(1)从水源水库沉积物中筛分出 234 株贫营养好氧反硝化细菌. 其中,脱氮率达 40% 以上的贫营养好氧反硝化菌共有 126 株,其中 48 h 内脱氮率达 80% 以上的有 8 株. 菌株可以以乙酸钠为碳源进行较好的生长和脱氮,以硝酸钠为氮源进行良好的好氧反硝化过程,实现了在贫营养水体环境中也能进行高效脱氮。

(2)通过分子生物学 16 s rDNA 序列分析,确定上述贫营养好氧反硝化细菌种类有不动杆菌属、链霉菌属、嗜甲基菌属、根瘤菌、假单胞菌、鞘氨醇单胞菌、溶杆菌属等,证明了水源水水库沉积物贫营养好氧反硝化细菌具有种群遗传多样性,其中根瘤菌属细菌为首次报道。

(3)PCR-DGGE 结果显示,接种高效贫营养好氧反硝化细菌对原水水体细菌、真菌、放线菌和硫酸盐还原菌种群结构多样性影响不显著,说明生态风险微弱。

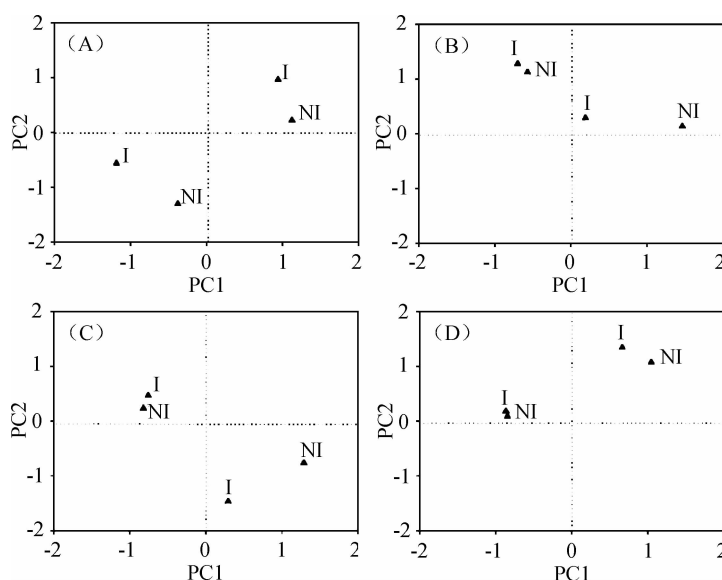


图2 接种高效好氧反硝化细菌 HF3 对原水水体
(A)细菌、(B)真菌、(C)放线菌和(D)硫酸盐
还原菌种群结构影响的主成分分析

Fig. 2 Principle component analyses (PCA) of (A) bacterial, (B) fungal, (C) actinomycetes, (D) sulfate reducing bacterial communities in the raw water inoculated with effectively oligotrophic aerobic denitrifying bacterial isolate HF3

参考文献 References

- [1] 王弘宇, 马放, 苏俊峰, 等. 好氧反硝化菌株的鉴定及其反硝化特性研究[J]. 环境科学, 2007, 28(7): 1548-1552. WANG Hong-yu, MA Fang, SU Jun-feng, et al. Identification and characterization of a bacterial strain C3 capable of aerobic denitrification[J]. Environmental Science, 2007, 28(7): 1548-1552.
- [2] MOUZUR Alam Imteaz, TAKASHI Asaeda, DAVID A Lockington. Modeling the effects of inflow parameters on lake water quality, Environmental Modeling and Assessment[M]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003, 8: 63-70.
- [3] 何文杰, 李伟光, 张晓建, 等. 安全饮用水保障技术[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2006. HE Wen-jie, LI Wei-guang, ZHANG Xiao-jian, et al. Novel Technology for Drinking Water Safety[M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2006.
- [4] 张丽彬, 王启山. 富营养化水体中浮游动物对藻类的控制作用[J]. 生态环境学报, 2009, 18(1): 64-67. ZHANG Li-bin, WANG Qi-shan. Controlling of phytoplankton by zooplankton in eutrophic waters[J]. Ecology and

- Environmental Sciences, 2009, 18(1): 64-67.
- [5] 潘碌亭. 中国微污染水源水处理技术研究现状与进展[J]. 工业水处理, 2006, 26(6): 6-10
PAN Lu-ting. Progress of treatment technology of water from micro-polluted water sources in China[J]. Industrial Water Treatment, 2006, 26(6): 6-10.
- [6] FABBRIC inom, PETTAB L D. Rinking water denitrification in membrane bioreactor/membrane contactor systems [J]. Desalination, 2007, 210(1-3): 163-174.
- [7] 魏巍, 黄廷林, 苏俊峰, 等. 贫营养生物膜系统脱氮效果及影响因素实验研究[J]. 环境工程学报, 2010, 10(4): 2179-2183.
WEI Wei, HUANG Ting-lin, SU Jun-feng, et al. Experimental study on effectiveness and influencing factors of biological denitrification via oligotrophic biofilm system [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2010, 10(4): 2179-2183.
- [8] LIANG Zhu, WEI Ding. Isolation of aerobic denitrifiers and characterization for their potential application in the bioremediation of oligotrophic ecosystem[J]. Bioresource Technology, 2012, 108: 1-7.
- [9] LIANG Shu-cheng, ZHAO Min, LU Lei, et al. Isolation and characteristic of an aerobic denitrifier with high nitrogen removal efficiency[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 52(10): 10648-10656.
- [10] YANG Xin-ping, WANG Shi-mei, ZHOU Li-xiang. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6 [J]. Bioresource Technology, 2012, 104: 65-72.
- [11] ELI Otterholt, COLIN Charnock. Identification and phylogeny of the small eukaryote population of raw and drinking waters[J]. Water Research, 2011, 45: 2027-2038.
- [12] WAN Chun-li, YANG Xue. Aerobic denitrification by novel isolated strain using NO_2^- -N as nitrogen source[J]. Bioresource Technology, 2011, 102: 7244-7248.
- [13] 琳娜, 郭楚玲, 柯林, 等. 富营养化池塘中好氧反硝化菌的分布及脱氮研究[J]. 中国科技论文在线, 2010, 5(5): 369-376.
LIN Na, GUO Chu-ling, KE Lin, et al. Denitrification of aerobic denitrifying bacteria isolated from a eutrophicated pond[J]. Science paper Online, 2010, 5(5): 369-376.
- [14] 罗固源, 汤丽娟, 徐晓敏, 等. 好氧反硝化菌筛选及强化 OGO 反应器脱氮的研究[J]. 中国给水排水, 2010, 26(1): 16-19.
FU Gu-yuan, TANG Li-juan, XU Xiao-min, et al. Screening of Aerobic Denitrifying Bacteria and Enhancement of Nitrogen Removal in OGO Reactor[J]. China Water & Wastewater, 2010, 26(1): 16-19.
- [15] 李卫芬, 傅罗琴, 邓斌, 等. 1株好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性研究[J]. 环境科学, 2011, 32(8): 2403-2408.
LI Wei-fen, FU Luo-qin, DENG Bin, et al. Identification and Denitrification Characteristics of an Aerobic Denitrifier[J]. Environmental Science, 2011, 32(8): 2403-2408.
- [16] 满鹏, 齐鸿雁. 利用 PCR-DGGE 分析未开发油气田地表微生物群落结构[J]. 环境科学, 2012, 33(1): 305-313.
MAN Peng, QI Hong-yan. Microbial Community Structure Analysis of Unexploited Oil and Gas Fields by PCR-DGGE[J]. Environmental Science, 2012, 33(1): 305-313.
- [17] 王弘宇, 马放, 苏俊峰, 等. 含硝氮废水的好氧反硝化处理及其系统微生物群落动态分析[J]. 环境科学, 2007, 28(12): 2856-2860.
WANG Hong-yu, MA Fang, SU Jun-feng, et al. Aerobic Denitrification of Nitrate Wastewater and Changes of Microbial Community Structure in a Bio-ceramic Reactor[J]. Environmental Science, 2007, 28(12): 2856-2860.
- [18] 邢薇, 左剑恶, 林甲, 等. 20℃ EGSB 反应器中颗粒污泥的微生物种群结构分析[J]. 环境科学, 2008, 29(9): 2558-2563.
XING Wei, ZUO Jian-e, LIN Jia, et al. Microbial Community in Granules from an EGSB Reactor Operated at 20℃ [J]. Environmental Science, 2008, 29(9): 2558-2563.
- [19] CHEN Pei-zhen, LI Ji, WANG Ying-chun, et al. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by bacterium *Rhodococcus* sp. CPZ24[J]. Bioresource Technology, 2012, 116: 266-270.

- [20] 黄廷林, 苏俊峰, 李倩. 好氧反硝化菌株的筛选培养及其反硝化性能研究[J]. 西安建筑科技大学学报, 2009, 41(5): 704-707.

HUANG Ting-lin, SU Jun-feng, LI Qian. Isolation, identification and denitrifying characteristics of aerobic denitrifying bacteria[J]. J. Xi'an Univ. of Arch. & Tech. : Natural Science Edition, 2009, 41(5): 704-707.

Isolation of oligotrophic aerobic denitrifying bacteria and its effects on the water microbial communities

HUANG Ting-lin, LIU Ting-ting, ZHANG Hai-han, YANG Xiao, GUO Lin

(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University
of Architecture & Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: Based on a preliminary screening, 234 oligotrophic aerobic denitrifying bacterial strains grown on oligotrophic aerobic denitrifying selective medium were isolated from the drinking water reservoir sediments. Meanwhile, the denitrification characteristics and its regulation mechanism on the water microbial communities were explored. The results showed that denitrification rates of eight oligotrophic denitrifying bacteria were more than 80% within 48h. *Acinetobacter*, *Streptomyces*, *Methylophilus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas* were identified using 16 s rDNA sequences. Nested PCR-DGGE results revealed that highly oligotrophic denitrifying bacteria HF3 inoculation have no significant impact on the raw water functional microbial communities (bacteria, fungi, actinomycetes and sulfate-reducing bacteria) structure diversity. Therefore, its effect on the raw water microbial ecological population is weak.

Key words: reservoir; sediment; aerobic denitrifying bacteria; microbial community; nested PCR-DGGE