

引用:秦旭,杨萍,马浩然,等. 海洋自絮凝菌在处理含盐污水中的应用研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2026,39(1): 139-147.

Citation: QIN Xu, YANG Ping, MA Haoran, TIAN Haoran, TIAN Guifen, FAN Xiangyu, HUANG Zhaosong. The application of marine self-flocculating bacteria in the treatment of saline wastewater[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2026, 39(1): 139-147.

文章编号 1672-6634(2026)01-0139-09

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2025040012

海洋自絮凝菌在处理含盐污水中的应用研究

秦旭,杨萍,马浩然,田灏冉,田桂芬,樊祥宇,黄兆松

(济南大学 生物科学与技术学院,山东 济南 250022)

摘要 通过微生物分离纯化技术从海洋底泥中成功筛选一株具有高效絮凝能力的菌株 Y25。经革兰氏染色及 16S rRNA 序列分析鉴定,确定该菌株为革兰氏阳性菌,属于类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*),与 *Paenibacillus chitinolyticus* 相似度最高。通过单因素实验系统考察温度、pH、溶解氧及盐度等环境参数对菌株生长特性的影响,并评估其在高盐废水处理中的潜在应用价值。实验结果表明:在达到 24 h 培养周期时,菌株 Y25 的絮凝活性达到峰值,其最适培养条件为盐度 3% (w/v)、温度 30 ℃、pH 7 及转速 200 r/min;在模拟含盐污水体系中,该菌对化学需氧量(COD)、总磷(TP)和氨氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)的去除率分别可达 89.1%、76.7%和 88.6%。证明了自絮凝菌株在含盐污水处理方面的应用价值。

关键词 自絮凝菌;*Paenibacillus chitinolyticus* Y25;含盐污水;单因素优化;污水处理

中图分类号 X703;X172

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



The application of Marine self-flocculating bacteria in the treatment of saline wastewater

QIN Xu, YANG Ping, Ma Haoran, TIAN Haoran, TIAN Guifen,
FAN Xiangyu, HUANG Zhaosong

(School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, China)

Abstract The microbial isolation and purification technique was used to successfully screen a strain Y25 with high flocculation activity from marine mud, which was identified as a Gram-positive bacterium belonging to the genus *Paenibacillus*, with the highest degree of similarity to *Paenibacillus chitinolyticus*, by Gram staining and 16S rRNA sequence analysis. The effects of environmental parameters such as temperature, pH, dissolved oxygen and salinity on the growth characteristics of the strains were investigated by a one-factor experimental system, and their potential application value in the treatment of high-salt wastewater was evaluated. The experimental results showed that the flocculation activity of strain Y25 peaked at 26 h of incubation cycle, and its optimal culture conditions were 3% salinity (w/v), 30 ℃, pH

收稿日期:2025-04-16

基金项目:东营市科技创新重大专项项目(2023ZDZX01)资助

通信作者:黄兆松,男,汉族,博士,副教授,研究方向:资源与环境微生物、污水生物处理及资源化,E-mail:bio_huangzs@ujn.edu.cn;樊祥宇,男,汉族,博士,副教授,研究方向:环境病毒组,E-mail:fxysnd@126.com.

7.0, and 200 r/min; in the simulated saline wastewater system, the removal of chemical oxygen demand (COD), total phosphorus (TP), and ammonia nitrogen ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) by this strain could be up to 89.1%, 76.7%, and 88.6%, respectively. The self-flocculating strains proved to be valuable for the application in the treatment of saline wastewater.

Keywords autoflocculating bacteria; *Paenibacillus chitinolyticus* Y25; salt-laden sewage; one-factor optimization; sewage treatment

0 引言

深海及海洋底泥作为重要的生物资源库,其蕴含的微生物群落具有独特的生态学价值^[1]。这类微生物长期生存于独特极端环境(如低温/高温、高压、黑暗及寡营养等严苛条件),形成了显著区别于陆地微生物的生理特性^[2]。通过长期进化选择压力,深海微生物已发展出复杂的适应性分子机制,该机制不仅维持其生存竞争力,更诱导出独特的初/次级代谢途径。因此相较于表层海水及陆地微生物,深海微生物表现出更高丰度的功能性基因簇,其酶系与次级代谢产物的三维结构多样性指数显著高于表层微生物,此类生物分子展现出显著功能优势:催化效率、热稳定性及底物谱宽等特性指标均优于常规微生物酶系^[3-4]。并且,当面对各种有毒有害污染物时,深海极端微生物展现出了不同的转化和降解能力。与陆地及其他海洋区域的微生物相比,它们能够更加高效、更加独特地处理这些污染物^[5]。这种能力不仅在理论上具有重要的生态学意义,而且在实际应用中也展现出了巨大的潜力,例如在环境污染治理、生物修复以及新型环保材料开发等多个领域,都可能成为解决当前难题的关键突破口,为人类应对日益严峻的环境挑战提供新的思路和方法。

在丰富的海洋微生物资源中,自絮凝菌凭借其独特的胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)分泌能力形成微生物絮体^[6],在污染吸附、生物成矿及环境适应性调控中展现出优秀的潜力。相较于淡水生境的自絮凝菌,海洋菌株的耐盐性与高压适应性使其在近海污染治理、深海原位修复等领域更具应用前景。尽管已有研究对自絮凝菌的生理特性(如 EPS 成分与絮凝动力学)进行了初步解析^[7-8],多数成果集中于陆源菌株,海洋菌群的功能多样性与生境互作机制仍存在显著空白。例如,海洋高盐环境下 EPS 的合成通路是否受渗透压调控尚未阐明,且现有应用场景以实验室模拟废水处理为主,缺乏对实际海洋环境污染(如石油烃、微塑料)的适应性验证^[9]。此外,传统分离方法难以高效筛选兼具高絮凝活性与环境抗逆性的菌株资源,制约了技术转化效率。

海水养殖废水中含有大量氨氮、COD 和悬浮物等有害物质,若未经处理或处理不当便进行排放,会引发水体富营养化,对海洋生态系统造成严重破坏。传统生物方法存在菌种驯化周期长、处理效果差等不足,难以满足实际需求^[10]。因此,寻找一种耐盐性能强、处理效果好的工业微生物成为当务之急。自絮凝菌由于表现出的优秀特性得到了研究人员的广泛关注。目前,自絮凝菌大多是从土壤、河流、活性污泥、海洋底泥等环境中筛选出来的^[11-12],这些菌株在特定环境下展现出一定的自絮凝能力。然而,关于自絮凝菌在污水处理中应用的报道相对较少,其潜力尚未得到充分挖掘。因此,筛选高效絮凝菌、减少微生物絮凝剂的用量^[13-14],并将具有自絮凝特性的高效降解菌广泛应用于污水处理,成为相关领域的研究重点。

本研究通过微生物分离纯化技术从海洋底泥中分离筛选获得一株自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25,通过测定 16S rRNA 序列进行菌种鉴定,研究自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 的最佳培养条件以及对含盐污水的去除效率,为自絮凝菌在含盐污水的处理及水体生态修复中的应用奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 样品来源及处理

本实验所用污泥取自南海深海 460 m 处海洋底泥,准确称取海洋底泥样品 10 g 于 250 mL 锥形瓶中,加入 45 mL 无菌水和玻璃珠,将其置于振荡器上充分震荡均匀。

1.2 培养基

LB 液体培养基化学组成配方如表 1 所示。LB 固体培养基则

表 1 LB 培养基配方

Tab. 1 LB medium recipe

组成	浓度 / ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
酵母粉	5
蛋白胨	10
NaCl	10

为以上配方加 2.5% 琼脂粉。

合成含盐污水的化学组成配方如表 2 所示,具体含盐污水的特征如表 3 所示。盐度以 NaCl 调节至 3% (w/v)。所述培养基均以温度 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min。

表 2 含盐污水的组成

Tab. 2 Composition of saline wastewater

组成	浓度 (mg/L)	组成	浓度 / (mg · L ⁻¹)
无水葡萄糖	800	NH ₄ Cl	500
无水乙酸钠	500	KH ₂ PO ₄	123

表 3 含盐污水的特征

Tab. 3 Characteristics of saline wastewater

特征	浓度	特征	浓度
COD (mg/L)	1 300	NH ₄ ⁺ - N (mg/L)	130
Salinity (%)	3	TP (mg/L)	28

1.3 菌种分离纯化

污泥样品中取 5 g 污泥,加 45 mL 生理盐水,加入玻璃珠后进行充分混匀,获得前处理污泥样品液。污泥前处理液获得后按照 10 倍梯度进行依次稀释,获得稀释后的污泥样品稀释液,取用浓度分别为 10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵ 的污泥样品稀释液,从稀释液中吸取 100 μL 利用稀释涂布平板法涂布到固体 LB 平板上,将完成涂布的平板转移到 30 °C 培养箱倒置培养。培养结束后,依据菌落形态学差异(包括大小、边缘特征、隆起度及色素沉着等),使用接种环挑取典型单菌落^[15]。采用“三区划线法”^[16]于 LB 琼脂平板进行连续传代培养(传代间隔 24 h),直至获得形态均一的单一菌落。

1.4 高效自絮凝菌的筛选及鉴定

将经分离纯化的各菌株依次接种于含 100 mL LB 液体培养基的锥形瓶中,在 30 °C、200 r/min 条件下进行恒温振荡培养 48 h。培养完成后,将菌悬液转移至无菌实验台静置 10 min,通过目视法观察絮凝体形成情况。经过筛选,获得 1 株具有稳定絮凝特性的菌株,编号为 Y25。取培养得到的菌液进行平板划线,得到单菌落,并进行形态学鉴定和革兰氏染色观察^[17]。之后,取 1 mL 菌液进行金属浴破碎菌体使 DNA 释放到外界,进行 PCR 操作,PCR 反应选择通用引物^[18](27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')、1492R(5'-TAGGGTTACCTTGTTACGACTT-3')),PCR 扩增程序为:94 °C、5 min 进行预变性,预变性后 30 个循环(94 °C、30 s,58 °C、30 s,72 °C、1 min 45 s),72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。扩增产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳验证后,委托北京擎科生物科技有限公司(中国北京)进行双向测序。测序结果通过 NCBI 数据库 BLAST 工具与 GenBank 核酸数据库进行同源性比对,根据比对结果通过 MEGA 11 软件以邻接法构建系统发育进化树。

1.5 环境因素对自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长的影响测定

微生物生长繁殖及代谢产物积累所需生理条件存在显著差异^[19]。外界环境参数波动可引发微生物形态结构、生理活性及增殖特性等方面的表型变化^[20]。当环境应力超过微生物耐受阈值时,将引发群体消亡现象。针对自絮凝菌这一特殊类群,其菌体增殖动态通过生物量质量浓度的变化表征,基于干燥菌体制备技术,通过测定单位培养液干细胞质量浓度(DCW)进行定量评估^[21]。为系统解析环境因子对自絮凝菌生长的调控机制,本研究采用单因素实验设计^[22],依次调控培养体系的盐度(1%~9% (w/v) NaCl)、温度(20~40 °C)、初始 pH(5~9)及溶解氧(140~220 r/min)等关键参数,通过动态监测 DCW 构建生长动力学曲线,进而确定菌株的最优培养条件组合。

1.5.1 温度对 Y25 生长的影响测定。筛选获得的海洋自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 °C、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液。种子液按 10% (v/v)接种量将菌悬液转接至新鲜 LB 培养基,实现初始生物量标准化。培养体系分别置于梯度温度(20、25、30、35、40 °C)的恒温振荡器中,维

持 200 r/min 振荡速度为溶氧控制参数。自接种起始(0 h)后,每 6 h 取样一次,连续监测 48 h,共获取 9 个时间节点样本。取样后立即于 4 ℃条件下以 10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,弃上清后,将沉淀物经去离子水洗涤三次后,置于 105 ℃烘箱中干燥至恒重。使用微量分析天平(精度 0.1 mg)测定菌体干重并记录数据。通过细胞干重变化曲线确定最佳温度条件。所有实验均设置三个平行实验。

1.5.2 pH 对 Y25 生长的影响测定。将筛选到的海洋自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 ℃、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液。实验组配置 100 mL LB 液体培养基,使用 5 M NaOH 与 1 mol/L HCl 调节初始 pH 值梯度至 5、6、7、8 和 9。将混匀后的种子液以 10% (v/v)接种量转接至各 pH 梯度培养基。培养过程全程维持 30 ℃、200 r/min 振荡培养。自接种起始(0 h)后,每 6 h 取样一次,连续监测 48 h,共获取 9 个时间节点样本。取样后立即于 4 ℃条件下以 10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,参照 1.5.1 的方法,通过细胞干重变化曲线确定最佳 pH 条件。

1.5.3 盐度对 Y25 生长的影响测定。筛选获得的海洋自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 ℃、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液。实验组设置时,向灭菌处理的 100 mL LB 液体培养基中分别添加 NaCl 配制梯度盐度:1%、3%、5%、7%和 9% (w/v)。按 10% (v/v)接种量接入各盐度梯度培养基,即每 100 mL 培养基接种 10 mL 种子悬液。培养体系全程维持 30 ℃、200 r/min 振荡培养条件。自接种起始(0 h)后,每 6 h 取样一次,连续监测 48 h,共获取 9 个时间节点样本。取样后立即于 4 ℃条件下以 10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,参照 1.5.1 的方法,通过细胞干重变化曲线确定最佳盐度条件。

1.5.4 溶解氧对 Y25 生长的影响测定。将筛选获得的海洋自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 ℃、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液。充分混匀菌悬液后,按 10% (v/v)接种量将种子液转接至新鲜 LB 液体培养基中。将接种后的培养体系分别置于转速为 140、160、180、200、220 r/min 的振荡培养箱中,控制培养温度为 30 ℃。自接种起始(0 h)后,每 6 h 取样一次,连续监测 48 h,共获取 9 个时间节点样本。取样后立即于 4 ℃条件下以 10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,参照 1.5.1 的方法,通过细胞干重变化曲线确定最佳溶解氧条件。

1.5.5 最优条件下菌株 Y25 生物量的变化。筛选获得的海洋自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 ℃、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液。充分混匀菌悬液后,按 10% (v/v)接种量将种子液转接至新鲜 LB 液体培养基中。将接种后的培养体系置于 200 r/min 的振荡培养箱中,控制培养温度为 30 ℃,培养基盐度 3% (w/v),pH 为 7。自接种起始(0 h)后,每 6 h 取样一次,连续监测 48 h,共获取 9 个时间节点样本。取样后立即于 4 ℃条件下以 10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,参照 1.5.1 的方法,通过细胞干重变化曲线确定最佳培养条件下菌株的生长情况。

1.6 菌株对含盐污水处理能力的研究

为探究自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 在含盐污水中的处理效果,将筛选得到的自絮凝菌 Y25 接种于 100 mL LB 液体培养基中,于 30 ℃、200 r/min 条件下恒温振荡培养 24 h,制备种子液充分混匀菌悬液后,以 10% (v/v)的接种量接种于模拟含盐废水体系。模拟废水的 COD 均由乙酸钠和葡萄糖提供,初始 COD 为 1300 mg/L, NH_4^+-N 由 NH_4Cl 提供,初始 NH_4^+-N 浓度为 130 mg/L,而 TP 则由 KH_2PO_4 提供初始 TP 浓度为 28 mg/L,废水基础成分如表 1.3 所述,NaCl 浓度设置 30 g/L,废水总体积为 100 mL。控制反应条件为温度 30 ℃、初始 pH 为 7、溶解氧浓度以转速控制为 200 r/min。在 48 h 的培养周期内每 6 h 取样检测水质指标,包括化 COD、 NH_4^+-N 及 TP,通过三项检测指标的变化对自絮凝菌 Y25 的含盐污水处理能力进行考察^[23]。

1.7 分析方法

据标准方法(中国国家环境保护总局,2002b),通过定期检测进水和出水中 NH_4^+-N 、TP 及 COD 浓度,系统评估菌株对含盐污水处理效能。采用紫外分光光度计在 550 nm 处检测细菌悬浮液的浊度以计算絮凝效率^[24],以干重法判断菌株生物量变化。分别采用纳氏试剂分光光度法^[25]测定 NH_4^+-N 、钼锑分光光度法^[26]测定 TP 和重铬酸钾滴定法^[27]测定 COD。数据分析和图表构建使用 Origin v. 2024 进行。

2 结果与讨论

2.1 自絮凝菌 Y25 的鉴定

2.1.1 形态学鉴定。将筛选得到的自絮凝菌 Y25 通过平板划线接种于 LB 固体培养基上,在 30 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h,对自絮凝菌 Y25 进行形态学鉴定,其结果见表 4。将经过划线得到的单菌落接种到 100 mL 新鲜的 LB 培养基中,过夜培养后静置观察菌株絮凝能力,其絮凝效果如图 1 所示,其絮凝率可达 82.3%。将分离得到的单菌落进行革兰氏染色观察,并将染色结果与阳性对照蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, G+)、阴性对照大肠杆菌(*Escherichia coli*, G-)进行对比,结果如图 2 所示,结果表明菌株 Y25 呈现蓝紫色,为革兰氏阳性菌。

表 4 絮凝菌形态学鉴定结果

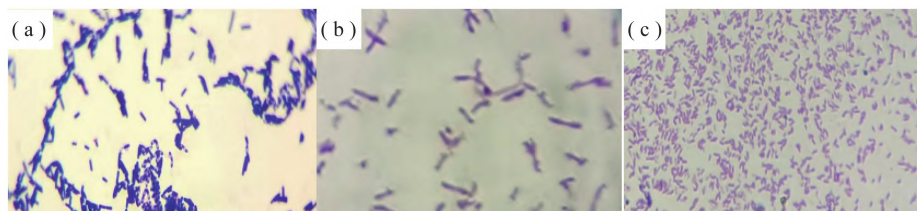
Tab. 4 Results of morphological identification of flocculating bacteria

序号	鉴定项目	鉴定结果
1	菌落形态	圆形、光滑、黏稠、凸起
2	菌落颜色	淡黄色
3	个体形态	杆状
4	革兰氏染色	+



图 1 菌株 Y25 絮凝效果图

Fig. 1 Flocculation effect of strain Y25



注:(a) 蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus*, G+;(b) 自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25;(c) 大肠杆菌 *Escherichia coli*, G-。

图 2 革兰氏染色结果图

Fig. 2 The results of Gram stain

2.1.2 16S rRNA 基因序列的测定分析。采用通用引物对菌株 Y25 的 16S rRNA 基因序列进行 PCR 扩增,扩增得到的基因序列以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳法进行验证,结果如图 3 所示,电泳结果显示菌株基因片段被成功扩增,序列长度约 1 500 bp,将 PCR 原液进行测序后获得基因序列结果,将结果通过 NCBI 的 BLAST 工具进行序列比对。将测序结果以邻接法构建系统发育进化树,如图 4 所示。结果表明,菌株 Y25 与 *Paenibacillus chitinolyticus* 的亲缘关系较近(99.7% 相似),系类芽孢杆菌属,将该菌株命名为 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25。

2.2 环境因素对自絮凝菌 Y25 生长的影响

2.2.1 温度对 Y25 生长的影响。温度对自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长的影响结果如图 5 所示。在较低温度(如 20 ℃)时,各培养时间段的菌体干重最低,且增长速度缓慢。原因是低温导致代谢速率降低,延长了菌体的延滞



注:(a) DL2000 DNA Marker;(b) 絮凝菌 Y25 的 16S rRNA 片段。

图 3 絮凝菌 Y25 的 16S rRNA 琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 3 16S rRNA agarose gel electrophoresis results of flocculating bacteria Y25

期,较晚进入对数生长期。25 ℃的菌体干重略高于 20 ℃,但明显低于 30 ℃,说明其逐渐接近最适生长温度。在 35 ℃和 40 ℃时,菌体干重均低于 30 ℃,原因是高温可能导致酶变性、细胞膜结构破坏等抑制了菌体生长。该自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 在较低温和较高温环境下,均受环境胁迫影响较大,其中 30 ℃时菌体干重较高,故认为 30 ℃为其最适生长温度。

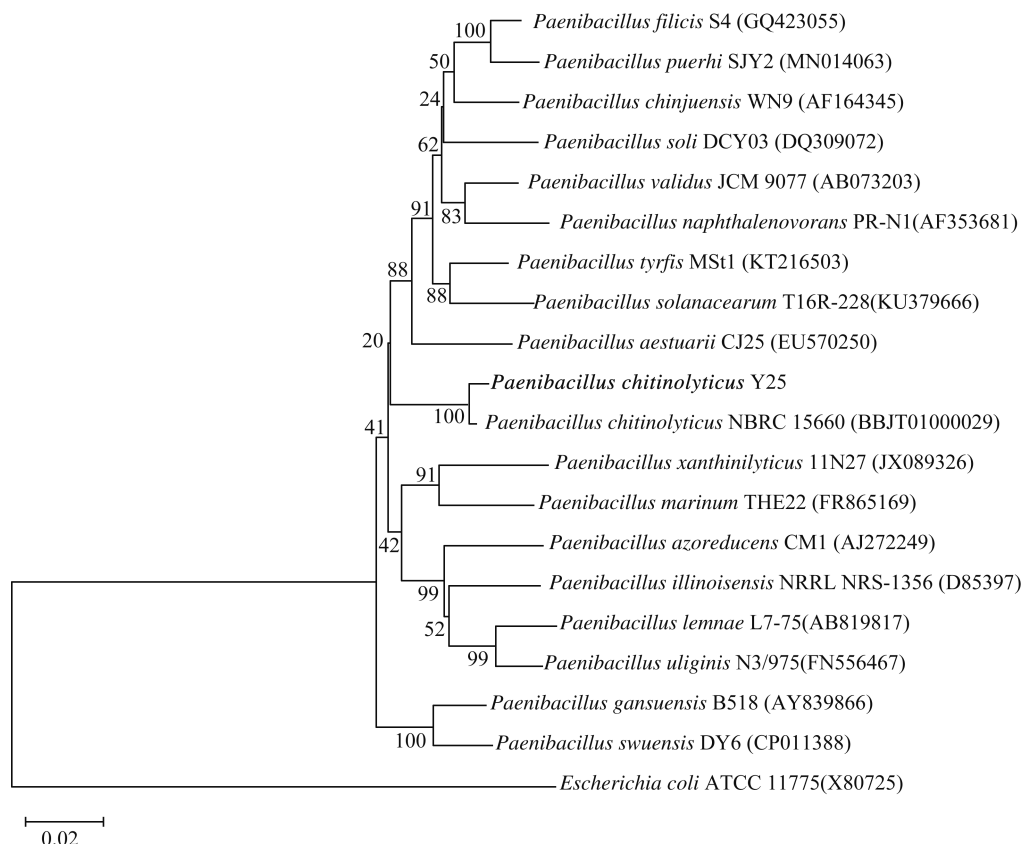


图 4 菌株 Y25 的系统发育进化树

Fig. 4 The phylogenetic tree of strain Y25

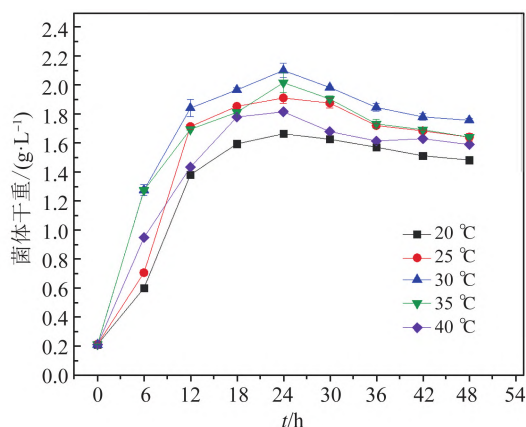


图 5 温度对菌株 Y25 生长的影响

Fig. 5 The effect of temperature on the growth of strain Y25

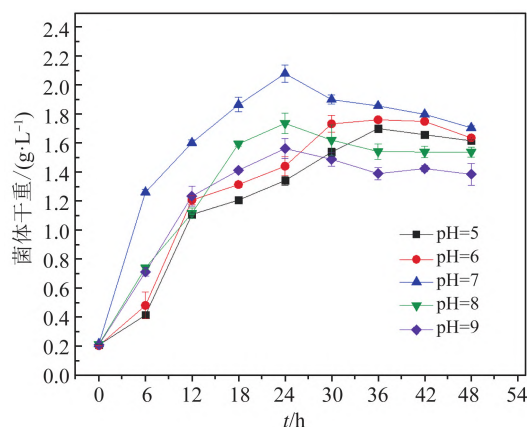


图 6 pH 对菌株 Y25 生长的影响

Fig. 6 The effect of pH on the growth of strain Y25

2.2.2 pH 对 Y25 生长的影响。pH 对自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长的影响结果如图 6 所示。在 pH 为 5 和 6 时,菌体生长缓慢,偏酸性环境,可能对菌体生长有一定抑制作用,导致其生长速度较慢。但菌体仍能适应并逐渐生长,显示菌体具有一定的耐酸性,或者培养基中的营养成分在该 pH 值下能被有效利用。在 pH 为 8 和 9 时,菌体生长也较慢,碱性环境可能影响了菌体细胞膜的通透性或某些酶的活性,从而限制了菌体的生长。pH 为 7 时菌体干重在 24 h 达到 2.1 g/L 左右,在所有 pH 条件下最高,因此

可以推测 pH 为 7 是菌株生长的最适 pH 值。

2.2.3 盐度对 Y25 生长的影响。盐度对自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长的影响结果如图 7 所示。盐度会改变微生物细胞内的渗透压,过高的渗透压导致细胞结构的破坏,从而影响细菌的生长。盐度为 1% 时,菌体干重随时间增长呈上升趋势,在 24 h 左右达到较高值(约 1.9 g/L),之后略有下降。盐度为 5% 时,菌体干重增长较为平稳,24 h 达到约 2.04 g/L,48 h 干重与略有下降。盐度为 3% 时,菌体干重上升较快,24 h 达到峰值(约 2.2 g/L)。盐度为 7% 时,菌体干重增长较慢,24 h 达到约 1.7 g/L,之后略有波动,整体处于较低水平。盐度为 9% 时,菌体干重上升缓慢,24 h 后开始下降,48 h 干重降至约 1.2 g/L。分析原因可能是在高盐浓度下,高渗透压使菌体失水、代谢受阻,生长明显抑制。而盐浓度较低时菌体的代谢产物可能更容易在培养基中积累,对菌体自身产生抑制作用。在 1% 盐浓度下,某些关键酶的活性可能较低,导致代谢效率下降,生长速率减缓。自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 在盐度为 3% 及 5% 时生长较好,可能的原因是 3% 的盐度更接近菌株生长的原始环境,而菌株的优秀耐盐性使其在 5% 的盐度条件下也具有较好的生长情况,但在 3% 盐度下生长状况相对更好,故认为 3% 是其最适生长盐度,菌株优秀的盐度适应能力表明其具有在高含盐废水中处理中的潜力。

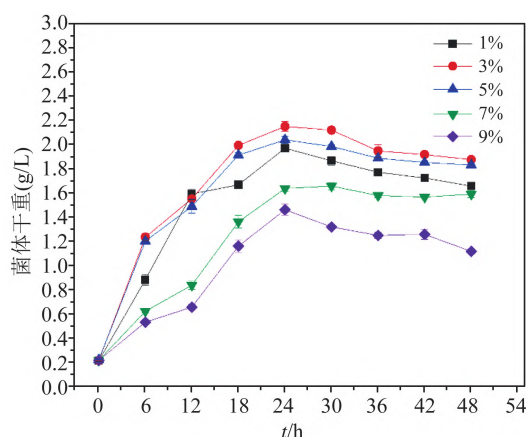


图 7 盐度对菌株 Y25 生长的影响

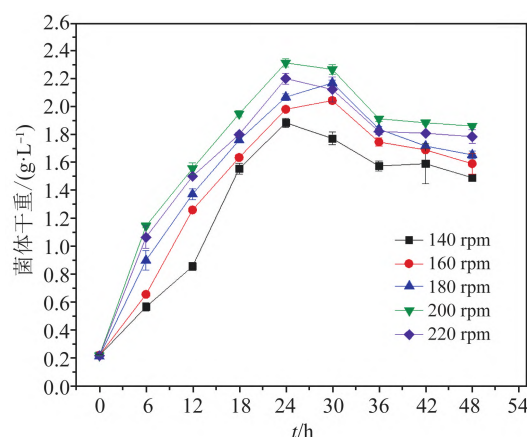


图 8 溶解氧对菌株 Y25 生长的影响

Fig. 7 The effect of salinity on the growth of strain Y25 Fig. 8 The effect of dissolved oxygen on the growth of strain Y25

2.2.4 溶解氧对 Y25 生长的影响。溶解氧对自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长的影响结果如图 8 所示。从图中可以看到,在 140 r/min 转速时,菌体干重较低,分析原因可能是搅拌不充分,导致溶解氧不足,影响菌体的有氧呼吸和代谢活动,从而限制了菌体的生长速度和最终的生物量。160 r/min 和 180 r/min 时转速适中,提供了较为充足的溶解氧。220 r/min 转速时虽然能够提供充足的溶解氧,但可能由于过高的剪切力对菌体造成一定的损伤,或者培养基中的营养物质在高转速下快速消耗,导致菌体生长速度在后期有所减缓。在 200 r/min 时能够提供充足的溶解氧,同时兼顾了菌体对氧气的需求和避免了过高的剪切力损伤,因此菌体在该条件下生长迅速,达到较高的生物量。因此可以认为转速为 200 r/min 时是最适宜菌株生长的溶解氧条件。

2.2.5 最优条件下菌株 Y25 生长情况。最适培养条件下自

絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 生长结果如图 9 所示。在最佳培养条件下,菌株在适宜的温度、pH、溶氧量条件下生长迅速,菌株 Y25 生物量较优化前有了较大提升,菌株在生物量的增速上相比优化前也得到较大提升,伴随着培养的进行,菌株进入平缓期和衰退期的时间也得到了相对延长,证明了环境因素的优化解除了外界条件对菌种生长的限制。

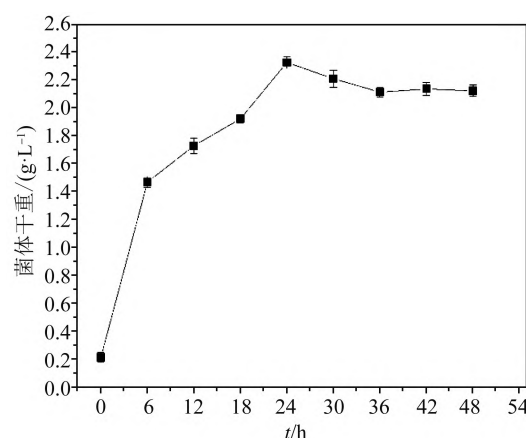
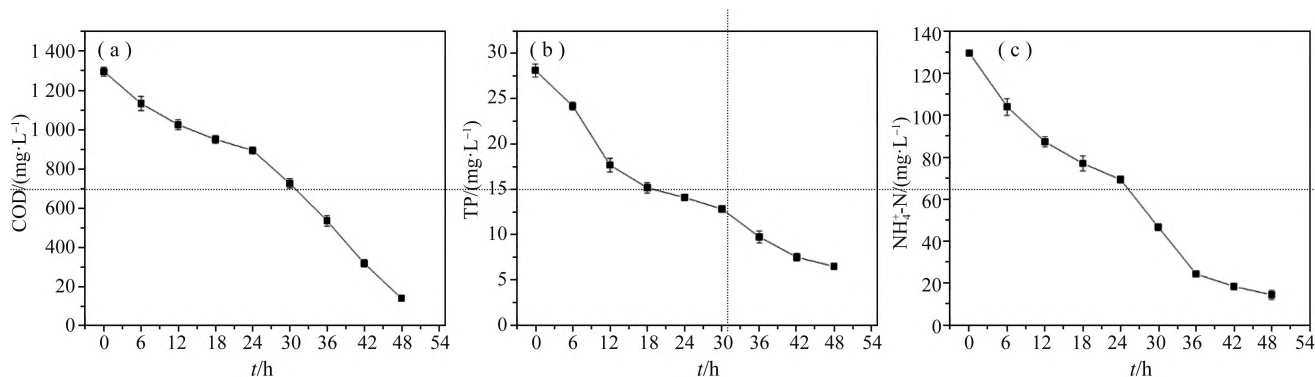


图 9 最优条件下菌株 Y25 生物量的变化

Fig. 9 Biomass changes of strain Y25 under optimal conditions

2.3 自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 对含盐污水的处理效果

自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 对含盐污水中的处理效果如图 10 所示。在整个反应体系运行期间,菌株 Y25 在体系中维持着优秀的絮凝能力,通过实时检测水质情况,发现菌株对于 COD、TP 和 NH_4^+-N 均展现出了良好的降解效能,在经历短时间的环境适应后,均能快速的对检测指标实现高效快速降解,耐盐自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 对含盐污水中具体处理能力表现为 COD 的去除率为 89.1%,对 TP 的去除率为 76.7%,对 NH_4^+-N 的去除率为 88.6%。



注:(a) COD 去除效果;(b) TP 去除效果;(c) NH_4^+-N 去除效果。

图 10 自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 对含盐污水的去除效果

Fig. 10 The removal effect of the flocculating bacterium *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 in treating saline wastewater

3 结论与展望

经分类学鉴定,实验筛选获得的自絮凝菌 Y25 为革兰氏阳性杆菌。16S rRNA 基因序列分析表明,该菌株与 *Paenibacillus chitinolyticus* 同源性达 99.7%。基于邻接法构建的系统发育树显示,Y25 菌株聚类于类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)进化分支,故将其命名为 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25。通过单因素优化确定其最佳培养条件为:盐度 3% (w/v)、温度 30 °C、初始 pH 为 7、振荡转速 200 r/min。在此条件下处理模拟含盐废水(初始 COD 1300 mg/L、TP 28 mg/L、 NH_4^+-N 130 mg/L)48 h 后,COD、TP 和 NH_4^+-N 的去除率分别为 89.1%、76.7%和 88.6%。该结果为自絮凝菌在高盐废水处理及受损水体生态修复中的应用提供了理论依据^[28]。

海洋自絮凝菌 *Paenibacillus chitinolyticus* Y25 凭借其耐盐特性与高效污染物同步去除能力,在环境工程与生物制造领域展现出多重应用价值。在高盐废水处理方面,其可直接处理海水养殖(盐度 3~5%)、海产品加工等废水,减少淡水稀释需求。在生态修复中,菌株通过形成稳定生物絮体,同步吸附重金属与营养盐,抑制水体富营养化^[29]。未来可通过废水资源化策略、CRISPR-Cas9 介导的基因编辑及菌-微藻耦合系统等技术创新推动工程化应用。该菌株有望在近海污染治理、蓝色碳汇等领域发挥作用。

参 考 文 献

- [1] 赵昌会,叶德赞,魏文铃. 深海微生物的研究进展[J]. 微生物学通报, 2006, 33(3): 142-146.
- [2] ZHANG C W, PENG Y Y, LIU X Y, et al. Deep-sea microbial genetic resources: new frontiers for bioprospecting[J]. Trends in Microbiology, 2024, 32(4): 321-324.
- [3] 郑天凌,田蕴,苏建强,等. 海洋微生物研究的回顾与展望[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(S2): 150-157.
- [4] KENNEDY J, FLEMER B, JACKSON S A, et al. Marine metagenomics: new tools for the study and exploitation of marine microbial metabolism[J]. Marine Drugs, 2010, 8(3): 608-628.
- [5] 王淋. 深海多环芳烃降解菌 *Cycloclasticus* sp. P1 的降解机制研究与深海热液区沉积物 PAHs 降解菌的多样性分析[D]. 厦门: 厦门大学, 2013.
- [6] DAVEY M E. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 847-867.
- [7] WANG Y X, JIANG L, SHANG H G, et al. Treatment of azo dye wastewater by the self-flocculating marine bacterium *Aliiglaciecola*

- lipolytica*[J]. Environmental Technology & Innovation, 2020, 19: 100810.
- [8] 李畅, 平文祥, 葛菁萍, 等. 微藻与其他微生物共培养的研究进展及应用[J]. 生物工程学报, 2022, 38(2): 518-530.
- [9] ZHAO L T, SHE Z L, JIN C J, et al. Characteristics of extracellular polymeric substances from sludge and biofilm in a simultaneous nitrification and denitrification system under high salinity stress[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2016, 39(9): 1375-1389.
- [10] 武晓畅, 郑靖凡, 李日强, 等. 微生物絮凝剂产生菌的鉴定及絮凝特性研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2019, 42(2): 435-442.
- [11] 吴丽红, 邵楠, 韩红玉, 等. 一株高效微生物絮凝菌的筛选与鉴定[J]. 东北林业大学学报, 2022, 50(8): 122-124.
- [12] 李潭, 赵弘毅, 王静, 等. 一株絮凝剂产生菌的筛选鉴定和培养条件优化[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2015, 40(5): 1305-1313.
- [13] SALEHIZADEH H, YAN N. Recent advances in extracellular biopolymer flocculants[J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(8): 1506-1522.
- [14] YANG M Y, HAN F, TIAN J, et al. Screening of a microbial flocculant producing silicate bacteria MT5-2 and its flocculating activity[J]. Advanced Materials Research, 2012, 599: 3-8.
- [15] 王明鹏, 廉曷斐, 姜丽敏, 等. 微生物燃料电池技术在环境修复中的研究进展[J]. 曲阜师范大学学报(自然科学版), 2023, 49(4): 113-119.
- [16] 冯健玲, 姚晓华, 韦秉兴, 等. 稻草秸秆纤维素分解菌的分离筛选[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(3): 477-480.
- [17] 高星爱, 杨超, 闫海洋, 等. 分离、筛选絮凝剂产生菌 *Bacillus sp.* CX15 及絮凝条件优化研究[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2023, 55(2): 150-156.
- [18] WEISBURG W G, BARNS S M, PELLETIER D A, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study[J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(2): 697-703.
- [19] 贾楠, 岳彩旭, 吕雪茹, 等. 一株 3,5,6-三氯-2-吡啶酚降解菌 *Delftia sp.* DFT 的分离鉴定及降解途径研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2024, 37(2): 89-100.
- [20] CHEN X J, LI S Y, CONG X, et al. Optimization of *Bacillus cereus* fermentation process for selenium enrichment as organic selenium source[J]. Frontiers in Nutrition, 2020, 7: 543873.
- [21] 侯颖, 李毅昊, 李海阳, 等. 红薯酸浆中淀粉絮凝菌的筛选、絮凝条件优化与絮凝成分分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(10): 172-180.
- [22] 何腾霞, 尹梦圆, 江龙, 等. 微生物异化硝酸盐还原产铵的环境驱动因子及其强化技术研究进展[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2025, 42(2): 11-26.
- [23] 王晶, 韩继磊, 李宁, 等. 微生物氮同化回收废水中氮的研究进展[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2025, 38(5): 792-803.
- [24] RICE E W, BRIDGEWATER L, ASSOCIATION APH. Standard methods for the examination of water and wastewater[S]. American Public Health Association, 2012.
- [25] 罗舒君. 几种水质氨氮测定方法的比较[J]. 科技资讯, 2022, 20(3): 50-52.
- [26] 陈静. 环境监测水质中总磷测定标准方法研究[J]. 清洗世界, 2022, 38(2): 123-125.
- [27] ZHOU G Z, WANG X T, ZHAO H Y, et al. Isolation of two salt-tolerant strains from activated sludge and its COD degradation characteristics from saline organic wastewater[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 18421.
- [28] HUANG Z S, WANG Y F, JIANG L, et al. Mechanism and performance of a self-flocculating marine bacterium in saline wastewater treatment[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 334: 732-740.
- [29] 韩明眸, 郭娜, 董耀华, 等. 微生物絮凝剂的研究现状与发展趋势[J]. 中国酿造, 2021, 40(11): 7-14.

(责任编辑:刘庆松)