

好氧氨氧化菌的种群生态学研究进展

郝永俊 ,吴松维 ,吴伟祥* ,陈英旭

(浙江大学环境与资源学院 杭州 310029)

摘要 好氧氨氧化菌是一类能够在好氧条件下将 NH_4^+ 转化为 NO_2^- 的化能无机自养型细菌 ,其活动将直接或间接影响土壤养分循环、水体富营养化、温室气体 (N_2O) 和生态系统的功能。现代分子生物学技术的发展促进了人们对好氧氨氧化菌种群生态学的研究。介绍了近年来基于 16S rRNA 和氨单加氧酶 *amoA* 基因序列分析的好氧氨氧化菌的系统发育研究 ,比较了两种基因序列分析在好氧氨氧化菌遗传多样性研究中存在的差异 ,概述了环境条件诸如铵浓度、酸度、氧的可利用性、温度、盐度等对好氧氨氧化菌种类、数量及其种群生态分布的影响 ,阐述了氨氧化菌对铵、氧饥饿的响应特征及其在酸性环境中的生存机制 ,并对今后好氧氨氧化菌的应用生态学研究及其主要方向进行了展望。

关键词 好氧氨氧化菌 ;系统发育 ;生态分布 ;环境条件

文章编号 :1000-0933 (2007) 04-1573-10 中图分类号 :Q938.1+1 ,Q939 文献标识码 :A

Research progress on the microbial ecology of aerobic ammonia-oxidizing bacteria

HAO Yong-Jun ,WU Song-Wei ,WU Wei-Xiang* ,CHEN Ying-Xu

College of Environmental and Resource Science ,Zhejiang University ,Hangzhou 310029 ,China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (4) 1573 ~ 1582.

Abstract : Ammonia oxidation by autotrophic ammonia-oxidizing bacteria (AOB) is a key process in agricultural soils , wastewater treatment and natural ecosystems and plays an important role in the global nitrogen cycle. With the advent of cultivation-independent molecular biotechnologies , significant research progress has been made in understanding the ecology , phylogeny and distribution of AOB. These bacteria are widely distributed in nature and are found in soils , sand dunes , biofilms , fluidized bed reactors , lakes , wastewater , and seawater. The 16S rRNA gene is the chief phylogenetic marker that has been used for elucidating AOB evolution. Recent studies have demonstrated that there is a high consistency between phylogenetic trees based on the 16S rRNA gene and those based on ammonia monooxygenase gene (*amoA*) sequences. The *amoA* gene codes for a functional protein that is involved directly in ammonia oxidation and , therefore , a considerably higher number of differences in *amoA* gene sequences derived from different AOB are expected. Thus , using *amoA* as a marker is expected to increase the resolving power in the study of AOB diversity in the environment as compared to 16S rRNA-based markers. Recent studies have also revealed that the distribution of AOB is affected by different environmental conditions. Ammonium availability , acidity , dissolved oxygen , temperature , and salinity have all been shown to selectively affect , to some extent , the number of AOB species and the abundance of AOB in various environments. The ability of certain AOB to grow at continuously low ammonium and oxygen concentrations and to become active again

基金项目 国家 863 资助项目 (2005AA644010 2006AA06Z327) 浙江省教育厅高校重大科技攻关资助项目 (2005001)

收稿日期 2006-09-22 ; 修订日期 2007-01-31

作者简介 郝永俊 (1975 ~) , 男 , 山西洪洞人 , 博士生 , 主要从事环境生物技术研究. E-mail : yongjunhao@sina.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail : weixiang@zju.edu.cn

Foundation item : This work was financially supported by National 863 Project (No. 2005AA644010 2006AA06Z327) and Colleges and Universities Key Project on Science and Technology of Zhejiang Education Bureau (No. 2005001)

Received date 2006-09-22 ; **Accepted date** 2007-01-31

Biography : HAO Yong-Jun , Ph. D. candidate , mainly engaged in environmental biotechnology. E-mail : yongjunhao@sina.com

after longer periods of starvation allows these bacteria to better exploit irregular pulses of ammonium and oxygen in the environment and thus persist for longer periods of time. Ureolysis provides a mechanism for nitrification by AOB in acid soils. When urea enters the cells by diffusion , intracellular urea hydrolysis and ammonia oxidation occur independently of extracellular pH in the range 4 to 7.5 , thus allowing them to overcome a major constraint to their activity at low pH. Here we describe our perspectives for the future research of AOB in applied ecology and environmental protection.

Key Words : aerobic ammonia-oxidizing bacteria ; phylogeny ; ecological distribution ; environmental condition

好氧氨氧化菌 (Aerobic Ammonia-Oxidizing Bacteria , 缩写为 AOB) 是一类能够在好氧条件下将氨氧化为亚硝酸盐的化能无机自养型细菌。由于好氧氨氧化菌催化的亚硝化过程为硝化作用的限速步骤 , 因而在自然界氮素地球化学循环过程中起着重要的作用。氨氧化菌种类、数量及其种群生态分布的变化 , 将直接或间接影响土壤养分循环、水体富营养化、温室气体 (N₂O) 和生态系统的功能。因此 , 近年来好氧氨氧化菌的生态学研究受到特别关注。本文就好氧氨氧化菌的种类与系统发育及其生态分布的影响因素等作一简要回顾。

1 好氧氨氧化菌的种类及系统发育

好氧氨氧化菌生长缓慢 , 采用传统的细菌分离培养分析检测法研究 AOB 相当费时、繁琐 , 而且由于实验室培养方法的选择性 , 许多在自然界存在的细菌尚未通过实验室培养获得 , 难以完全涵盖实际环境中的好氧氨氧化菌微生物多样性。基于 16S rDNA 和功能基因序列的环境微生物分子生态学技术在一定程度上克服了传统培养方法的缺陷 , 提高了人们对好氧氨氧化菌种类、数量及其生态分布的认识 , 为好氧氨氧化菌的系统发育研究开辟了新途径。

基于 16S rRNA 基因序列同源性的系统发育分析表明 , 环境中的好氧氨氧化菌主要属于 β-和 γ-Proteobacteria 两个亚纲^[1]。其中 γ-Proteobacteria 亚纲好氧氨氧化菌适合在海洋环境生长 , 主要是 *Nitrosococci* 属 , 该属由 3 种已被公认的亲缘关系密切的 *Nitrosococcus* 种组成^[2] , 包括 *Nitrosococcus oceanus* 和 *Nitrosococcus halophilus*。β-Proteobacteria 亚纲的好氧氨氧化菌可以分为两个类群 , 即 *Nitrosomonas* (含 *Nitrosococcus mobilis*) 和 *Nitrospira* (含 *Nitrosolobus* 和 *Nitrosovibrio*) 两个属 , 一般适合在淡水环境中生长。进一步的分子类型分析表明 β-Proteobacteria 亚纲至少可以分为 7 个 cluster (*Nitrospira* 组 1—4 ; *Nitrosomonas* 组 5—7) (图 1)。对陆地生态系统中的优势种群 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira* 分析表明 , 它们由 9 个不同的 cluster 组成 (如图 2 所示)。尽管 16S rDNA 基因序列分析促进了好氧氨氧化菌分类学的发展 , 但是近年来许多研究表明 , 不同 AOB 的 16S rDNA 序列之间存在高度相似性 , 基于 16S rDNA 序列的亲缘关系分析的灵敏度和特异性均在一定局限性^[4]。

氨单加氧酶是氨氧化菌所特有的一种胞内酶 , 由 *amoA*、*amoB* 和 *amoC* 3 个亚基组成 , 其中 *amoA* 的基因产物含有该酶的活性位点 , 可催化铵氧化成羟胺^[6] , 为该类微生物提供能量。因此 , 通过对氨单加氧酶 *amoA* 基因序列分析 , 可以反映出环境中 AOB 的种类、数量和活性。根据编码 *amoA* 的基因序列同源性分析 , 可以将好氧氨氧化菌分为 cluster 1、2、3a、3b、4、9、10、11、和 12 (如图 3 所示) , 其中 cluster 2、3、4 与 Stephen 定义的基于 16S rRNA 基因序列同源性分析结果基本相同 , 尽管 cluster 2 和 4 不能被清晰地分开。*amoA* cluster 1 与 Purkhold 定义的新 16S rDNA cluster 4 相应 , cluster 10 和 11 的代表性培养物分别是 *Nitrospira* sp. 菌株 24C 和菌株 A16 , 二者均为新组 , cluster 12 与 16S rDNA *Nitrospira* cluster 3 相应 , *amoA* cluster 9 由于没有代表性培养物 , 故未能与 16S rDNA 基因序列分析相对应^[7,8]。因此 , 以 16S rDNA 和 *amoA* 基因分别作为分子标记 , 所得到的氨氧化菌进化关系相似但不完全相同。与许多功能基因不同的是 , *amoA* 基因在氨氧化菌中的水平转移微乎其微或没有 , 这就为 *amoA* 和 16S rRNA 编码基因提供了一个平行的系统发育结构 , 基于这些基因序列同源性分析可以简化对微生物进化史的推断^[9]。随着 *amoA* 基因序列数据库的不断完善 , 必将进一步推动好氧氨氧化菌系统发育的研究 , 促进环境样品中 AOB 生物多样性的分析和新物种的鉴定。

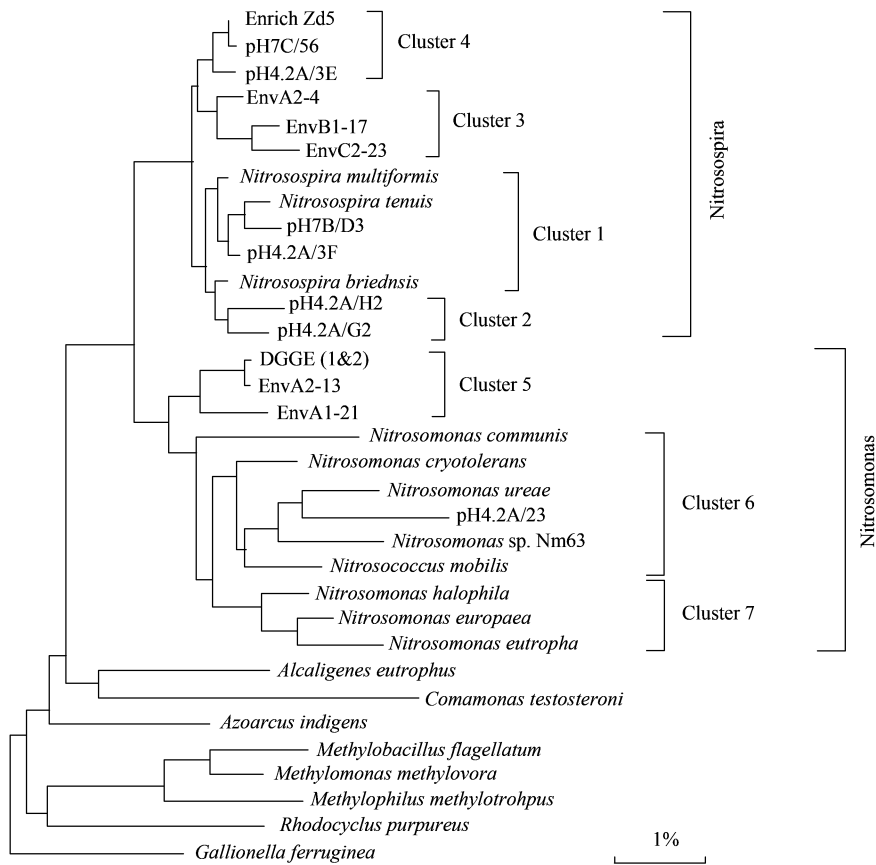


图 1 基于 16S rDNA 序列的氨氧化菌系统发育树 [5]

Fig. 1 Neighbor-joining tree of β -AOB based on analysis of 16S rDNA sequences

尽管如此,基于 *amoA* 基因序列分析亦会造成一些遗漏^[10],但与 16S rRNA 基因序列分析相比, *amoA* 基因序列在好氧氨氧化菌遗传多样性分析方面有两大优点,一是 *amoA* 编码氨氧化过程中直接涉及到的蛋白酶,因此遗传差异更能反映硝化过程中的功能差异;二是 *amoA* 基因序列差异程度预计超过 16S rRNA 基因序列,可能对自然群体遗传差异的分辨力更高。Purkhold 等人对 *Nitrosomonad* 属可培养细菌的研究表明, *amoA* 基因比 16S rRNA 基因表现出更高的核苷酸变异率,在 *N. communis* cluster 内, 16S rRNA 基因序列的最大核苷酸差异约为 5%,而 *amoA* 基因序列的最大差异可达 19%,因此以 *amoA* 基因序列为分子标记可分辨出更多氨氧化细菌的种群。

2 好氧氨氧化细菌的生态分布及其环境影响因素

2.1 好氧氨氧化细菌的生态分布

有关好氧氨氧化菌的生态学研究源于 *Nitrosomonas europaea*,而好氧氨氧化菌广泛分布于各种自然环境中。*Nitrosospira* 普遍存在于贫营养、富营养以及其他各类水体中。海洋沉积物中存在与典型 *Nitrosospira* spp. 纯培养物截然不同的 *Nitrosospira*-like 菌。Phillips 等人发现附着在地中海西北部悬浮颗粒物上的氨氧化菌主要为 *Nitrosomonas eutropha*,而自由生活的细菌聚合体基因序列主要是 *Nitrosospira* cluster1^[12]。Ward 和 Voytek 等在南 California Bight 海域和永久冰封的南极咸水湖中检测到了 *Nitrosococcus oceanus*^[13]。Mullan 等发现,蒙特里海湾的氨氧化菌以 *Nitrosospira*-like 为优势。而在饮用水氯胺消毒系统中,以 *Nitrosomonas*-related AOB 为优势^[14]。Hoshino 等人^[15]应用原位 PCR 方法,在硝化反应器生物膜近表面检测到好氧氨氧化菌。

此外,好氧氨氧化菌的分布受特定环境因素,如氨可利用性、氧可利用性、温度以及酸度等的影响。研究表明,农田和森林土壤中的好氧氨氧化菌以 *Nitrosospira* 组 2、3、和 4 为主,富氮土壤中往往以 *Nitrosospira*



图2 基于16S rDNA的β好氧氨氧化菌系统发育分类^[2]
Fig. 2 Schematic 16S rRNA-based phylogenetic classification of the β-AOB

cluster 1 或 3 以及 *Nitrosomonas* spp. 为主, 低氮未改良土壤, 如针叶林土壤中则以 *Nitrosospira* 组 4 为典型优势菌, 而酸性土壤中以 *Nitrosospira* cluster 2 为主^[16]。Ibekwe 等人^[17]发现农牧废水湿地处理系统中氨氧化菌以 *Nitrosospira*-like 为主, 而在畜类粪便和冲洗水中以 *Nitrosomonas*-like 为主。Laverman 等人^[18]研究表明, 酸性铵饱和和森林土壤中的好氧氨氧化菌以 *Nitrosospira* cluster 2 为主, 并与耐酸性的 *Nitrosospira* sp. AHB1 菌株有密切的亲缘关系。Oved 等^[19]发现, 经城市污水灌溉的土壤中氨氧化菌组成以 *Nitrosomonas*-like 为主, 而以等铵含量的施肥水灌溉的土壤以 *Nitrosospira*-like 为主。Ce'bron 等^[20]发现在 Seine River 的排污口下方和下游淡水河口两处, 与 *N. oligotrophia* 和 *N. urea* 相关的克隆分别占氨氧化菌总量的 81%、60%, 而与 *N. europaea* 和 *Nitrosospira*-like 相关的克隆较少。Dionisi 等人^[21]研究发现, 城市污水处理系统中的氨氧化菌占细菌总量的 0.0033% ± 0.0022%。Gieseke 等人^[22]发现在生物膜表层 100 μm 内 AOB 以 *N. europaea* 和 *N. oligotrophia* 为主, 少数为 *N. communis*, 而 *Nitrosospira*-related 仅偶尔存在^[23, 24]。Wagner 等人^[25]发现在高浓度铵工业废水处理系统中 AOB 以 *Nitrosococcus mobilis* 为主。但 Hiorns 等人最早发现在城市污泥中普遍存在 *Nitrosospira*-related^[26], 该菌还是微量曝气污水处理系统中氧化氨的主要承担者^[27]。

2.2 好氧氨氧化菌生态分布的环境影响因素

2.2.1 铵浓度对氨氧化菌的影响

铵浓度是决定氨氧化菌种群结构的主要因素之一。一般在富铵水环境, 如废水处理系统中, *Nitrosomonas europaea* 和 *Nitrosomonas* cluster 7 较为常见, 在富铵新鲜土壤中 *Nitrosospira* cluster 3 菌较多, 低铵老年土中 *Nitrosospira* cluster 2 和 4 较多, 而施肥农田土壤中以 *Nitrosomonas* 居多^[28]。在草场未施肥土壤中氨氧化菌多样性较丰富。Okano 等^[29]研究发现, 在硫酸铵施入量为 7.5 mmol/L 的土壤中, 氨氧化菌丰度由 4 × 10⁶ 个/g

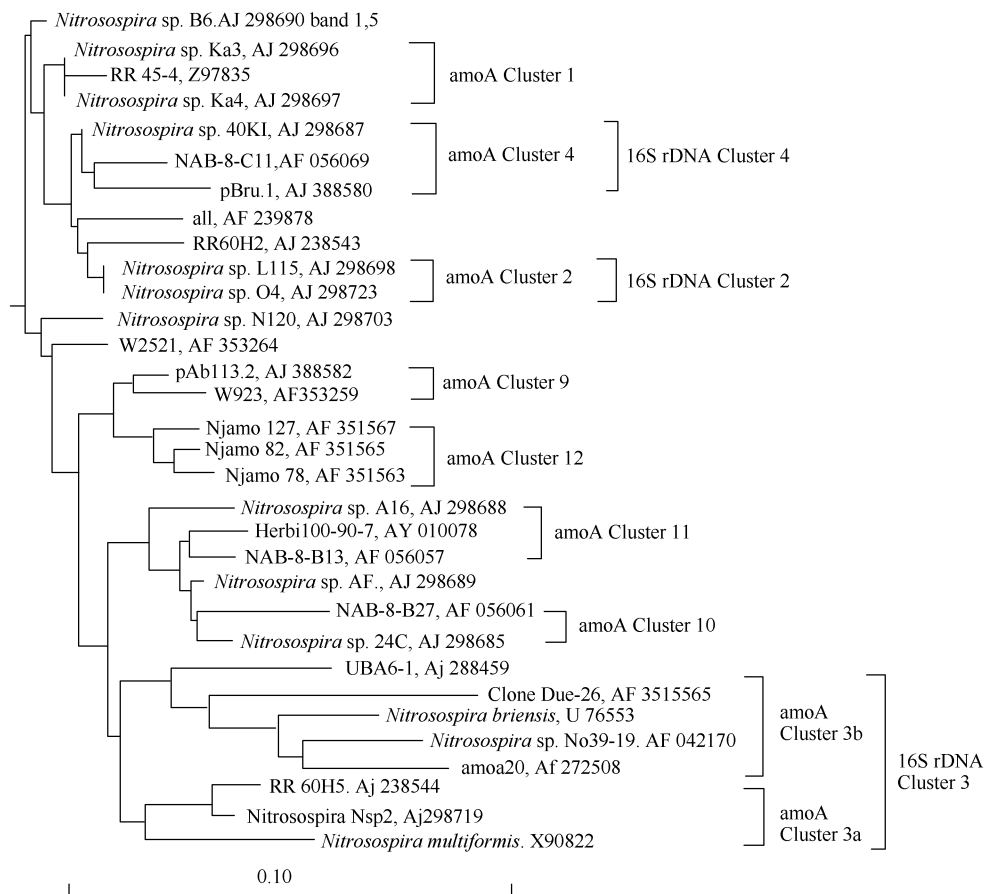


图3 基于 *amoA* 基因序列的好氧氨氧化菌系统发育树^[1]
Fig.3 Neighbor-joining tree of β -AOB based on analysis of *AmoA* sequences

干土增加到 66×10^6 个/g 干土,比施肥量为 1.5 mmol/L 时高出近 1 倍,常年施肥土壤中的氨氧化菌丰度显著高于未施肥土壤,并存在长期效应。Hermansson 等人^[30]也发现在施肥沙性土壤中,氨氧化菌丰度为 6.2×10^7 个/g 土,是未施肥土壤中的 3 倍。Jordan 等人^[31]发现,不同氮负荷土壤中氨氧化菌的组成和丰度较为相似,均存在 *Nitrosospira* cluster 2、3、和 4,而富氮土壤的硝化速率较高。Avrahami 等^[32]对不同含铵量的土壤培养 4 周后,进行硝化活性、DGGE 指纹图谱和克隆测序分析发现,除硝化活性与铵浓度呈正相关外,不同样品间的 DGGE 指纹基本相同,所得序列大多属于 *Nitrosospira* cluster 3 和 4,因此土壤中铵浓度的提高仅强化了硝化作用,而对氨氧化菌的组成影响不大。然而,Burrell^[33]等人对具硝化作用的淡水氨氧化菌富集培养物的研究发现,*Nitrosomonas marina*、*Nitrosospira* cluster、*Nitrosomonas europaea*、*Nitrosococcus mobilis* 等 4 种好氧氨氧化菌分别存在于不同铵浓度的样品中,研究还发现,在与其他菌含量相当的情况下,*Nitrosomonas marina*-like 的氨氧化效率最高。

低铵浓度下的生长活力和铵饥饿后对铵恢复的响应能力,是氨氧化菌生态位分化的重要因子。Verhagen 等人研究发现,尽管 *N. europaea* 对铵的竞争力较异养菌 *Arthrobacter globiformis* 和 *Thiosphaera pantotropha* 为弱^[34],但是该菌能在长期铵饥饿后迅速恢复活性^[35]。Johnstone 等人研究表明,*Nitrosomonas cryotolerans* 能在饥饿环境中维持一定的细胞密度和细胞组成,在加入铵后能够迅速启动氨的氧化过程^[36]。Bollmann 等人^[37]研究发现,在铵限制性浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时,G5-7 菌对铵的竞争能力高于 *N. europaea*,然而在停止供应铵的 1 ~ 10 周后加入新鲜铵,*N. europaea* 能够立即恢复其氨氧化活性,并在 48 ~ 96h 内将新鲜铵全部转化,而 G5-7 菌恢复活性所需时间与其受饥饿的时间呈相关关系。由此推断,G5-7 菌具有适应长期低铵浓度环境的能力,

而 *N. europaea* 则具有较强的抗击环境中铵浓度变化的能力。

2.2.2 酸度对氨氧化菌的影响

酸度是影响氨氧化菌种群结构的重要因素之一,对氨氧化菌具有一定的选择性。Kowalchuk 等人^[38]发现,酸性和碱性土壤中的 AOB 具有不同的 DNA 序列。酸性土壤中 *Nitrosospira cluster 2* 的相对丰度较高^[39,40],而 Carnol 等人^[41]则发现在高氮负荷酸性褐色土壤中 AOB 以 *Nitrosomonas europaea* 为主。但也有研究发现,在酸性森林土壤中撒石灰后, AOB 以 *Nitrosospira cluster 2* 和 4 为主,与土壤酸度无关^[42]。氨氧化菌适宜生长的酸度范围为 pH 7.0~8.5,一般在 pH 值小于 6.5 的环境中不易生长。然而, klemedtsson 等人在 pH 3.7 的土壤中分离到好氧氨氧化菌^[43],袁飞^[44]和张丽娜^[45]等发现,红壤低 pH 条件对氨氧化菌种群有选择性。尽管如此,研究发现酸性土壤中分离的氨氧化菌的氨氧化能力存在显著差异。Bruns 等发现,不同氨氧化菌的相对丰度随着土壤酸度而变化,但是在与原土壤相同的酸度条件下分离纯化的培养物却没有铵氧化能力^[46]。而 Hayatsu 等人从施肥酸性茶树土壤中分离到的氨氧化菌却能够在酸性矿物培养基上生长^[47]。

由此形成酸度对氨氧化菌生长机理的两种解释:(1)与其他异养菌的存在有关,在自然环境中许多非硝化菌都具有脲酶活性,通过其它异养菌分解尿素释放氨提高微环境的 pH 值,并向氨氧化菌提供基质^[48]。(2)氨氧化菌具有水解尿素的能力,通过水解尿素不仅产生还原底物氨,而且改变了周围环境的酸度^[49]。这种生态选择特性来自脲酶,从酸性土壤中分离到的尿素水解型氨氧化菌通常以尿素作为氮源,因此能够在较高酸度下生长。Burton 等人^[50]

以尿素水解型氨氧化菌 *Nitrosospira* sp. NPAV 为供试菌,在研究酸性土壤中自养硝化作用的机理时发现,当以氨为唯一氮源, pH<7 时,该菌不能生长,也无亚硝酸盐产生,而以尿素作为唯一氮源时,该菌却能在 pH 4~7.5 条件下生长;当尿素水解结束而培养基中仍有相当浓度的铵存在时,该菌的生长也立即停止。由此推测,尿素通过扩散作用进入细胞,胞内尿素水解和氨的氧化不受胞外酸度的影响,当胞外 pH 小于 7 时,从胞内扩散出的氨不能提供细菌细胞的生长。

2.2.3 氧气对氨氧化菌的影响

氧的可利用性会影响 AOB 的分布^[51]。底栖藻类以及土壤植被通过光合作用释放氧气为 AOB 提供好氧环境,受氧气扩散深度的限制, AOB 的分布仅限于水体沉积物表层几个毫米内的光照区^[52,53],而在稻田土壤表层 3~5mm 以及根际区, AOB 的丰度通常达到峰值^[54]。在污水处理系统中, AOB 分布与氧气穿透深度密切相关^[55]。Cole 等人^[56]研究发现,在微孔膜曝气生物膜截面沿着 DO 浓度梯度存在微生物种群差异, AOB 主要分布于曝气膜外表面附近的富氧生物膜内。Jang 等人^[57]发现, AOB 分布在好氧颗粒污泥外层 300μm 内的含氧区,而在颗粒污泥的中心缺氧区基本检测不到。

研究发现,DO 浓度对活性污泥中的 AOB 具有选择性,而不是提高 AOB 的适应能力,尽管低浓度 DO (0.24~0.12 mg/L)和高浓度 DO (8.5 mg/L)均支持 *N. europaea*,但两种条件下选择的 AOB 却对同一 DO 浓度作出了不同的响应,并且在系统发育上是可区分的,说明 DO 对 AOB 系统发育的影响未能达到 lineage 水平^[58]。Briones 等人^[59]认为,氧可利用性可能是造成不同类型水稻根际土壤中 AOB 组成与数量差异的主要因素。PAUL 等人^[60]发现,湖泊沉积物中 AOB 的氧亲和力为 5~15μmol/L,显著低于好氧沙丘中 AOB 的氧亲和力。好氧环境(沙丘、白垩草场和石灰草场)中的 AOB 经厌氧培养后,其氨氧化能力几乎完全丧失,而湖泊沉积物中的 AOB 在氧气中暴露 1h 便可恢复到起始的氨氧化活性。厌氧期间能够保持氨氧化能力,并且能够对氧气快速响应,有助于 AOB 适应环境中的氧波动。

在低浓度 DO 环境当中, AOB 对氧的竞争力大大低于异养菌。Laanbroek 等人^[61]发现,异养菌对氧的竞争力是 *Nitrosomonas europaea* 的 57 倍。然而在水处理当中,却可利用 AOB 氧饱和系数 (0.99 mg/L)低于 NOB 氧饱和系数 (1.4 mg/L)这一特点,通过控制 DO 浓度 (<2 mg/L)抑制 NOB,提高 AOB 的数量和活性,实现短程硝化^[62]。

2.2.4 温度对氨氧化菌的影响

温度是影响氨氧化细菌种群分布的另一重要因素。Mahli 等^[63]发现,热带、温带及北纬土壤中氨氧化菌

的最适生长温度分别是 35℃、30℃、20℃。Stark 等人^[64]认为,土壤中不同氨氧化菌种群的最适温度受某一时期的温度影响大于年均温度的影响,种群的最适温度在橡树下为 31.8℃,而在露天环境为 35.9℃。Avrahami 等人^[65]发现,温度对氨氧化菌种群结构的影响极其显著,在酸性 (pH 5.0 ~ 5.8) 土壤中当温度高于 30℃ 时,以 *Nitrosospira amoA1* 占优势,在 25℃ 时以 *Nitrosospira amoA4* 为主,在 30℃ 时以 *Nitrosospira amoA3a*、*amoA3b*、和 *amoA9* 占优势;在碱性 (pH 7.9) 土壤中,随温度变化的氨氧化菌仅有 *Nitrosospira amoA3a*, *Nitrosospira amoA9* 仅在高温低肥土壤中出现。

近年来,有关低温条件下的氨氧化菌研究也取得较大进展。Jones 等人^[66]从 Alaskan 海水中分离到能在 -5℃ 下生长的 *Nitrosomonas cryotolerans*, Voytek 等也从南极永久封冻湖检测到了 β -Proteobacterial 氨氧化菌^[67]。因此,尽管温度对特定的好氧氨氧化菌种类分布具有一定的选择性,但氨氧化菌对温度的适应范围相对较广。Katarina 等人^[68]研究发现,在 22℃ 和 12℃ 时均能够在饮用水氯胺消毒系统中形成 AOB 生物膜,但是剩余氯胺对 AOB 的抑制作用在低温 (12℃) 下比在较高温度 (22℃) 下要强;当温度由 12℃ 降至 6℃ 时,对已经建立的 AOB 种群基本没有影响。

2.2.5 盐度对氨氧化菌的影响

盐度影响氨氧化菌的生长和生理特性。对 25 种实验室分离的可培养氨氧化菌研究表明,这些菌对盐分均有不同要求^[69],高盐度有助于某些氨氧化菌的生长繁殖,但对另一些氨氧化菌的生长则具有抑制作用^[70]。盐度同样也影响氨氧化菌的分布,在淡水和海洋中均可检测到 β -氨氧化菌,但 γ -氨氧化菌仅在海洋环境中发现^[71]。Wagner 等人^[22]发现淡水中 AOB 主要以 *Nitrosospira* types 形式存在。Hovanec 等人^[72]采用同一方法对海水和淡水中执行硝化作用的 AOB 进行检测,结果仅检测到海水中的 AOB,而无法检测到淡水中的 AOB,这一现象说明淡水与海水中 AOB 存在生理差异。

Coci 等人^[73]考察盐度对 Scheldt 河沉积物中 AOB 种群的影响时发现,经淡水灌溉后原先的 *Nitrosomonas oligotropha* lineage 被同一 lineage 内的其它 AOB 替代;经含盐水灌溉后,表层约 1cm 内的 *Nitrosomonas oligotropha* 被 *Nitrosomonas marina* 替代,而经海水灌溉后所发生的 AOB 种群变化明显快于含盐水。因此认为,盐度是不同生境中 AOB 种群的重要选择因素之一,而盐度的变化差异还会对 AOB 种群的演替速率产生不同的影响。

3 展望

目前,对好氧氨氧化菌的研究已经涉及到诸多方面。然而,在探索氨氧化菌代谢功能与生态分布的同时,如何利用这一类特殊的微生物资源为生态环境、农业生产以及人体健康服务仍然有待科研工作者作出不懈的努力。开展以下几方面的研究尤为迫切:(1)利用现代分子生物学手段,研究污水处理系统好氧氨氧化菌与亚硝酸盐氧化菌以及其它相关菌种协作、竞争机制,阐明硝化过程微生物生态结构及其调节机制,开发高效能含氮污水短程硝化-反硝化脱氮工艺技术;(2)分离、筛选不同生态环境条件下的特殊 AOB 菌种,利用现代微生物分子技术对其进行遗传改造,强化硝化过程相关酶基因的表达及其产物的代谢活性和环境适应性,提高高浓度氨氮废水(如垃圾渗滤液)的生物处理能力;(3)开展自然环境中好氧氨氧化菌的分子生态学研究,阐明森林、草场与农田土壤环境以及河流、湖泊与海洋水体环境中氮素循环与好氧氨氧化菌分子生态之间的相互关系,研究农田土壤中 AOB 硝化活性阻断机制,开发相关技术,有效减少农田氮肥流失和水体富营养化;(4)研究 AOB 介导的 NO₂⁻ 还原形成 N₂O 的生物学机理,阐明污水处理过程中 N₂O 释放过程及其控制措施,以防止污水处理过程中温室气体 N₂O 的环境释放。

References :

[1] Koops H-P, Purkhold U, Timmermann. The lithotrophic ammonia-oxidizing bacteria. In : M. Dworkin *et al.* eds. The prokaryotes : an evolving electronic resource for the microbiological community , 3rd ed. [Online.] Springer-Verlag , New York , N. Y , 2003.

[2] Ulrike Purkhold , *et al.* Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis : implications for molecular diversity surveys. Appl. Environ. Microbiol. , 2000 , 66 : 5368 – 5382.

- [3] Xu J R , Wang Y S. The characteristics of nitrogen fixation ammonification nitrification and denitrification in coastal zones. *Acta Ecologica Sinica* , 2004 , 24 (12) : 2907 – 2914.
- [4] Aakra A , Utaker J B , *et al.* RFLP of rRNA genes and sequencing of the 16S – 23S rDNA intergenic spacer region of ammoniaoxidizing bacteria : a phylogenetic approach. *Int. J. Syst. Bacteriol.* , 1999 , 49 : 123 – 130.
- [5] Allison E. Mccaig , Carol J Phillips , *et al.* Nitrogen Cycling and Community Structure of Proteobacterial β -Subgroup Ammonia-Oxidizing Bacteria within Polluted Marine Fish Farm Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1999 , 65 (1) : 213 – 220.
- [6] Stephen J R , Chang Y J , *et al.* Effect of toxic metals on indigenous soil beta-subgroup proteobacterium ammonia oxidizer community structure and protection against toxicity by inoculated metal-resistant bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1999 , 65 : 95 – 101.
- [7] Aakra A , Utaker J B , Nes I F. Comparative phylogeny of the ammonia monooxygenase subunit A and 16S rRNA genes of ammoniaoxidizing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* , 2001 , 205 : 237 – 242.
- [8] Kowalchuk G A , Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria : a model for molecular microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* , 2001 , 55 : 485 – 529.
- [9] O'Mullan G D , Ward B B. Relationship of Temporal and Spatial Variabilities of Ammonia-Oxidizing Bacteria to Nitrification Rates in Monterey Bay , California. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2005 , 71 : 697 – 705.
- [10] Alice C. Layton , *et al.* Emergence of Competitive Dominant Ammonia-Oxidizing Bacterial Populations in a Full-Scale Industrial Wastewater Treatment Plant. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2005 , 71 : 1105 – 1108.
- [11] Sharon Avrahami and Ralf Conrad. Patterns of Community Change among Ammonia Oxidizers in Meadow Soils upon Long-Term Incubation at Different Temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2003 , 69 : 6152 – 6164.
- [12] Phillips C J , Smith Z , *et al.* Phylogenetic differences between particle-associated and planktonic ammonia-oxidizing bacteria of the β subdivision of the class Proteobacteria in the northwestern Mediterranean Sea. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1999 , 65 : 779 – 786.
- [13] Ward B B , Carlucci A F. Marine ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria : Serological diversity determined by immunofluorescence in culture and in the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1985 , 50 : 194 – 201.
- [14] Regan J M , Harrington G W , Baribeau , *et al.* Diversity of nitrifying bacteria in fullscale chloraminated distribution systems. *Water Res.* , 2003 , 37 : 197 – 205.
- [15] Tatsuhiro Hoshino. Direct Detection by In Situ PCR of the amoA Gene in Biofilm Resulting from a Nitrogen Removal Process. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2001 , 67 : 5261 – 5266.
- [16] Nicolaisen M H , Ramsing N B. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria. *J. Microbiol. Methods* , 2002 , 50 : 189 – 203.
- [17] Mark Ibekwe A , *et al.* Characterization of Microbial Communities and Composition in Constructed Dairy Wetland Wastewater Effluent. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2003 , 69 : 5060 – 5069.
- [18] Laverman A M , Speksnijder A G C L , *et al.* Spatiotemporal stability of an ammonia-oxidizing community in a nitrogen-saturated forest soil. *Microb. Ecol.* , 2001 , 42 : 35 – 45.
- [19] Tamar Oved , *et al.* Influence of Effluent Irrigation on Community Composition and Function of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2001 , 67 : 3426 – 3433.
- [20] Aurélie Cébron. Nitrification and Nitrifying Bacteria in the Lower Seine River and Estuary (France). *Appl. Environ. Microbiol.* , 2003 , 69 : 7091 – 7100.
- [21] Hebe M Dionisi , *et al.* Quantification of Nitrosomonas oligotropha-Like Ammonia-Oxidizing Bacteria and Nitrospira spp. from Full-Scale Wastewater Treatment Plants by Competitive PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2002 , 68 : 245 – 253.
- [22] Gieseke A , Purkhold U , Wagner M. Community structure and activity dynamics of nitrifying bacteria in a phosphate-removing biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2001 , 67 : 1351 – 1362.
- [23] Mobarry B K , Wagner M , *et al.* Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1996 , 62 (6) : 2156 – 2162.
- [24] Dionisi H M , Layton A C , Harms G , *et al.* Quantification of Nitrosomonas oligotropha-like ammonia-oxidizing bacteria and Nitrospira spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2002 , 68 (1) : 245 – 253.
- [25] Wagner M , Noguera D R , Juretschko S , *et al.* Combining fluorescent in situ hybridization (FISH) with cultivation and mathematical modeling to study population structure and function of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge. *Water Sci. Technol.* , 1998 , 37 (4-5) : 441 – 449.
- [26] Hiorns W D , Hastings R C , Head I M , *et al.* Amplification of 16S ribosomal RNA genes of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria demonstrates the ubiquity of nitrospiras in the environment. *Microbiology* . 1995 , 141 : 2793 – 2800.
- [27] Park H-D , Regan J M , Noguera D R. Molecular analysis of ammonia-oxidizing bacterial populations in aerated anoxic Orbal processes. *Water Sci. Technol.* , 2002 , 46 (1-2) : 273 – 280.
- [28] Kowalchuk , *et al.* Changes in the community structure of ammonia-oxidizing bacteria during secondary succession of calcareous grasslands. *Environ. Microbiol.* , 2000 , 2 : 99 – 110.

- [29] Yutaka Okano, Krassimira R. Hristova. Application of Real-Time PCR To Study Effects of Ammonium on Population Size of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70 :1008 – 1016.
- [30] Anna Hermansson, *et al.* Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Arable Soil by Real-Time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, 67 : 972 – 976.
- [31] Fiona L. Jordan, *et al.* Autotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria Contribute Minimally to Nitrification in a Nitrogen-Impacted Forested Ecosystem. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, 71 :197 – 206.
- [32] Sharon Avrahami, *et al.* Effect of Soil Ammonium Concentration on N₂O Release and on the Community Structure of Ammonia Oxidizers and Denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68 :5685 – 5692.
- [33] Paul C Burrell, *et al.* Identification of Bacteria Responsible for Ammonia Oxidation in Freshwater Aquaria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 67 (12) :5791 – 5800.
- [34] Verhagen F J M, Laanbroek H J, *et al.* Competition for ammonium between plant roots and nitrifying and heterotrophic bacteria and the effects of protozoan grazing. *Plant Soil*, 1995, 170 :241 – 250.
- [35] Wilhelm R, Abeliovich A, *et al.* Effect of long-term ammonia starvation on the oxidation of ammonia and hydroxylamine by *Nitrosomonas europaea*. *J. Biochem.*, 1998, 124 :811 – 815.
- [36] Johnstone B H, *et al.* Physiological effects of long-term energy-source deprivation on the survival of a marine chemolithotrophic ammonium-oxidizing bacterium. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1988, 49 :295 – 303.
- [37] Annette Bollmann, *et al.* Growth at Low Ammonium Concentrations and Starvation Response as Potential Factors Involved in Niche Differentiation among Ammonia-Oxidizing Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68 :4751 – 4757.
- [38] Kowalchuk G A, Stephen J R, *et al.* Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the β subdivision of the class Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, 63 : 1489 – 1497.
- [39] Stephen J R, Kowalchuk G A, *et al.* Analysis of b-subgroup proteobacterial ammonia oxidizer populations in soil by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and hierarchical phylogenetic probing. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64 :2958 – 2965.
- [40] Allison S M, Prosser J I. Ammonia oxidation at low pH by attached populations of nitrifying bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, 1993, 25 :935 – 941.
- [41] Carnol M, Kowalchuk G A, De Boer, W. *Nitrosomonas europaea*-like bacteria detected as the dominant b-subclass *Proteobacteria* ammonia oxidisers in reference and limed forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34 :1047 – 1050.
- [42] Jenny S K. Bäckman, Anna Hermansson, *et al.* Liming induces growth of a diverse flora of ammonia-oxidising bacteria in acid spruce forest soil as determined by SSCP and DGGE. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35 :1337 – 1347.
- [43] Klemetsson L, Jiang Q Q, *et al.* Autotrophic ammonium-oxidising bacteria in Swedish mor humus. *Soil Biol. Biochem.*, 1999, 31 :839 – 847.
- [44] Yuan F, Ran W, Hu J, Shen Q R. Ammonia oxidizing bacteria communities and their influence on the nitrification potential of Chinese soils measured by denaturing gradient gel electrophoresis. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (6) :1318 – 1324.
- [45] Zhang L N, Cao H, *et al.* RFLP analysis of AOB-specific 16s rDNA library from red soil enrichment culture. *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43 (6) :635 – 641.
- [46] Bruns M A, *et al.* Comparative diversity of ammonia oxidizer 16S rRNA gene sequences in never-tilled, tilled, and successional soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65 :2994 – 3000.
- [47] Hayatsu M, *et al.* The lowest limit of pH for nitrification in tea soil and isolation of an acidophilic ammonia oxidising bacterium. *Soil Sci. Plant Nutro.*, 1993, 39 :219 – 226.
- [48] Mobely H L T, Hausinger R P. Microbial ureases : significance, regulation, and molecular characterisation. *Microbiol. Rev.*, 1989, 53 :85 – 108.
- [49] Koops H-P, Böttcher, *et al.* Classification of eight new species of ammonia-oxidising bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 1991, 137 :1689 – 1699.
- [50] Simon A Q. Burton, *et al.* Autotrophic Ammonia Oxidation at Low pH through Urea Hydrolysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, 67 :2952 – 2957.
- [51] Schramm A, De Beer D, Gieseke A, *et al.* Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. *Environ. Microbiol.*, 2000, 2 (6) :680 – 686.
- [52] Jensen K, Sloth N P, *et al.* Estimation of nitrification and denitrification from microprofiles of oxygen and nitrate in model sediment systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, 60 :2094 – 2100.
- [53] An S M, Joye S B. Enhancement of coupled nitrification denitrification by benthic photosynthesis in shallow estuarine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 2001, 46 :62 – 74.
- [54] Lotte Bjerrum, *et al.* Enumerating ammonia-oxidizing bacteria in environmental samples using competitive PCR. *Journal of Microbiological Methods*. 2002, 51 :227 – 239.
- [55] Okabe S, Satoh H, Watanabe Y. In situ analysis of nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65 :3182 – 3191.

[56] Alina C Cole , *et al.* Stratification of Activity and Bacterial Community Structure in Biofilms Grown on Membranes Transferring Oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* ,2004 ,70 :1982 –1989.

[57] Am Jang , Young-Han Yoon , In S Kim. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor. *Journal of Biotechnology* , 2003 ,105 :71 –82.

[58] Hee-Deung Park , *et al.* Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge. *Water Research.* 2004 ,38 :3275 –3286.

[59] Aurelio M Briones , *et al.* Influence of Different Cultivars on Populations of Ammonia-Oxidizing Bacteria in the Root Environment of Rice. *Appl. Environ. Microbiol.* ,2002 ,68 (6) :3067 –3075.

[60] Paul L E Bodelier , Jacobus A. Libochant , *et al.* Dynamics of Nitrification and Denitrification in Root-Oxygenated Sediments and Adaptation of Ammonia-Oxidizing Bacteria to Low Oxygen or Anoxic Habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* ,1996 ,62 (11) :4100 –4107.

[61] Laanbroek H J , Bodelier P L E , *et al.* Oxygen consumption kinetics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter hamburgensis* grown in mixed continuous cultures at different oxygen concentrations. *Arch. Microbiol.* ,1994 ,161 :156 –162.

[62] Ciudad G , Werner A , Bornhardt C. Differential kinetics of ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria :A simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification. *Process Biochemistry* ,2006 ,41 :1764 –1772.

[63] Mahli S S , McGill W B. Nitrification in three Alberta soils :effect of temperature , moisture and substrate concentrations. *Soil Biol. Biochem.* , 1982 ,14 :393 –399.

[64] Stark J M , Firestone M K. Kinetic characteristics of ammonium-oxidizer communities in a California oak woodland-annual grassland. *Soil Biol. Biochem.* ,1996 ,28 :1307 –1317.

[65] Yutaka Okano , Krassimira R. Hristova. Application of Real-Time PCR To Study Effects of Ammonium on Population Size of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* ,2004 ,70 :1008 –1016.

[66] Jones R D , Morita R Y , Koops H-P , *et al.* A new marine ammonium-oxidizing bacterium , *Nitrosomonas cryotolerans* sp. *Can. J. Microbiol.* , 1988 ,34 :1122 –1128.

[67] Voytek M A , Ward B B. Detection of ammonium-oxidizing bacteria of the beta-subclass of the class Proteobacteria in aquatic samples with the PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* ,1995 ,61 :1444 –1450.

[68] Katarina D M Pintar , *et al.* Effect of temperature and disinfection strategies on ammonia-oxidizing bacteria in a bench-scale drinking water distribution system. *Water Research* ,2003 ,37 :1805 –1817.

[69] Koops H-P , Pommerening-Rüser A. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiol. Ecol.* , 2001 ,37 :1 –9.

[70] Finstein M S , *et al.* Relationships of autotrophic ammonium-oxidizing bacteria to marine salts. *Water Res.* ,1972 ,6 :31 –40.

[71] Voytek M A , *et al.* The abundance of ammonium-oxidizing bacteria in Lake Bonney , Antarctica , determined by immunofluorescence ,PCR and in situ hybridization. In J. C. Priscu ed. *Ecosystem dynamics in a polar desert : the McMurdo Dry Valleys , Antarctica* , vol. 72. American Geophysical Union , Washington D C ,1998. 217 –228.

[72] Hovanec T A , DeLong E F. Comparative analysis of nitrifying bacteria associated with freshwater and marine aquaria. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1996 ,62 :2888 –2896.

[73] Manuela Coci , *et al.* Effect of salinity on temporal and spatial dynamics of ammonia-oxidising bacteria from intertidal freshwater sediment. *FEMS Microbiology Ecology* ,2005 ,53 :359 –368.

参考文献：

[3] 徐继荣,王友绍,孙松. 海岸带地区的固氮、氨化、硝化与反硝化特征. *生态学报* ,2004 ,24 (12) :2907 ~2914.

[41] 袁飞,冉炜,胡江,沈其荣. 变性梯度凝胶电泳法研究我国不同土壤氨氧化细菌群落组成及活性. *生态学报* ,2005 ,25 (6) :1318 ~1324.

[42] 张丽娜,曹慧. 红壤荒草地氨氧化细菌富集液 16S rDNA 文库的 RFLP 分析. *土壤学报* ,2006 ,43 (6) :635 ~641.