

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第31卷 第6期 Vol.31 No.6 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 6 期 2011 年 3 月 (半月刊)

目 次

臭氧胁迫对水稻生长以及 C、N、S 元素分配的影响	郑飞翔,王效科,侯培强,等 (1479)
高含氮稻田深层土壤的氨氧化古菌和厌氧氨氧化菌共存及对氮循环的影响	王 雨,祝贵兵,王朝旭,等 (1487)
气候年际变率对全球植被平均分布的影响	邵 璞,曾晓东 (1494)
模拟升温 and 放牧对高寒草甸土壤有机碳氮组分和微生物生物量的影响	王 蓓,孙 庚,罗 鹏,等 (1506)
广州城区生态安全岛典型植物群落结构及物种多样性	莫 丹,管东生,黄康有,等 (1515)
中亚热带湿地松人工林生长过程	马泽清,刘琪璟,王辉民,等 (1525)
潜流人工湿地中植物对氮磷净化的影响	刘树元,阎百兴,王莉霞 (1538)
模拟氮沉降对两种竹林不同凋落物组分分解过程养分释放的影响	涂利华,胡庭兴,张 健,等 (1547)
苔藓植物对贵州丹寨汞矿区汞污染的生态监测	刘荣相,王智慧,张朝晖 (1558)
三峡库区泥、沙沉降对低位狗牙根种群的影响	李 强,丁武泉,朱启红,等 (1567)
上海崇明东滩互花米草种子产量及其萌发对温度的响应	祝振昌,张利权,肖德荣 (1574)
栲-木荷林凋落叶混合分解对土壤有机碳的影响	张晓鹏,潘开文,王进闯,等 (1582)
荒漠化对毛乌素沙地土壤呼吸及生态系统碳固持的影响	丁金枝,来利明,赵学春,等 (1594)
黄土丘陵沟壑区小流域土壤有机碳空间分布及其影响因素	孙文义,郭胜利 (1604)
种间互作和施氮对蚕豆/玉米间作生态系统地上部和地下部生长的影响	李玉英,胡汉升,程 序,等 (1617)
测墒补灌对冬小麦氮素积累与转运及籽粒产量的影响	韩占江,于振文,王 东,等 (1631)
植被生化组分光谱模型抗土壤背景的能力	孙 林,程丽娟 (1641)
北方两省农牧交错带沙棘根围 AM 真菌与球囊霉素空间分布	贺学礼,陈 程,何 博 (1653)
基于水源涵养的流域适宜森林覆盖率研究——以平通河流域(平武段)为例	朱志芳,龚固堂,陈俊华,等 (1662)
黑龙江大兴安岭呼中林区火烧点格局分析及影响因素	刘志华,杨 健,贺红士,等 (1669)
大兴安岭小尺度草甸火燃烧效率	王明玉,舒立福,宋光辉,等 (1678)
长江口中华鲟自然保护区底层鱼类的群落结构特征	张 涛,庄 平,章龙珍,等 (1687)
骨顶鸡等游禽对不同的人为干扰的行为响应	张微微,马建章,李金波 (1695)
光周期对白头鹇体重、器官重量和能量代谢的影响	倪小英,林 琳,周菲菲,等 (1703)
应用稳定同位素技术分析华北部分地区第三代棉铃虫虫源性质	叶乐夫,付 雪,谢宝瑜,等 (1714)
西花蓟马对蔬菜寄主的选择性	袁成明,郅军锐,曹 宇,等 (1720)
基于 Cyt b 基因序列分析的松毛虫种群遗传结构研究	高宝嘉,张学卫,周国娜,等 (1727)
沼液的定价方法及其应用效果	张昌爱,刘 英,曹 曼,等 (1735)
垃圾堆肥基质对不同草坪植物生态及质量特征的影响	赵树兰,廉 菲,多立安 (1742)
五氯酚在稻田中的降解动态及生物有效性	王诗生,李德鹏 (1749)
专论与综述	
景观遗传学:概念与方法	薛亚东,李 丽,吴巩胜,等 (1756)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 284 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 31 * 2011-03



封面图说:美丽优雅的新疆夏尔西里森林草地原始景观。夏尔西里国家级自然保护区建立在新疆博乐北部山区无人干扰的中哈边境上,图中雪地云杉为当地的优势树种。

彩图提供:国家林业局陈建伟教授 E-mail: cites.chenjw@163.com

高含氮稻田深层土壤的氨氧化古菌和厌氧氨氧化菌共存及对氮循环的影响

王 雨^{1,4}, 祝贵兵^{1,*}, 王朝旭^{1,4}, 范改娜^{1,2}, 冯晓娟^{1,3}, 王衫允^{1,2}, 尹澄清¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心 环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 2. 北京科技大学, 北京 100083;

3. 兰州交通大学, 兰州 730070; 4. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:随着海洋生态系统中的厌氧氨氧化反应和氨氧化古菌的发现,自然生态系统的氮循环过程被重新认识,但是目前尚无在陆地深层的相关报道。结合同位素示踪与分子生物学技术探索了稻田深层土壤中 anammox 与 AOA 的存在及特性。结果表明,在沼渣处理废水浇灌的高含氮稻田深层土壤中,anammox 与 AOA 共存。通过构建克隆文库发现,此土壤中厌氧氨氧化菌的生物多样性相对较低,35 个克隆序列只分为 4 个独立操作单元(OTU),代表序列与 Genbank 数据库中已探明的厌氧氨氧化菌 *Candidatus* ‘Kuenenia stuttgartiensis’ 的同源性超过 95%;对氨氧化古菌的分析发现,20 个克隆子共得到 5 个 OTU,其与基因库中土壤/沉积物进化分支关系最近,序列的同源性部分超过 98%。同位素示踪的初步结果表明,anammox 产生的氮气占此土壤总氮气生成量的 24.1%—29.8%。AOA 与 anammox 的共存为 anammox 反应的广泛存在与发生提供了新思路。

关键词:稻田湿地;厌氧氨氧化;氨氧化古菌;深层土壤;氮循环

Coexistence, biodiversity and roles of ammonia-oxidizing archaea and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in deep soil layer of high nitrogen loaded paddy field

WANG Yu^{1,4}, ZHU Guibing^{1,*}, WANG Chaoxu^{1,4}, FAN Gaina^{1,2}, FENG Xiaojuan^{1,3}, WANG Shanyun², YIN Chengqing¹

1 State Key Laboratory of Environmental Aquatic Quality, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China

3 Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China

4 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria and ammonia oxidation archaea (AOA) play a very important role in nitrogen cycle in soil as well as in the marine ecosystems. These excellent discoveries have renewed the vision on nitrogen cycle. Anammox uses nitrite as an electron acceptor to convert ammonium into dinitrogen gas. The nitrite is delivered by AOA, since they convert ammonia into nitrite. To further explore this view, the coexistence of anammox bacteria and AOA were also studied in deep soil and paddyfield wetland using molecular and isotopic tracing tools. For the detection of anammox bacteria, primer combination AMX 368F and AMX 820R was used, whereas for AOA the archaeal primer set for *amoA* gene was used. Four different anammox bacteria and five different AOA were detected in the deep soil layer of high nitrogen loaded paddyfield. Further analysis showed that the biodiversity of anammox bacteria was low, 35 sequences of anammox bacteria were assigned to 4 Operational Taxonomic Units (OTUs), three of them close related to the known anammox species derived from marine and wastewater treatment plant except the OTU4, which clustered with

基金项目:国家自然科学基金项目(20877086); 国家 973 项目(2009CB421103); 国家科技重大专项(2008ZX07421-001)

收稿日期:2010-06-01; **修订日期:**2011-01-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gbzhu@rcees.ac.cn

Candidatus ‘*Kuenenia stuttgartiensis*’ with a high similarities up to 95%. 20 sequences of AOA were assigned into 5 OTUs, and the similarities with the closest relatives in GenBank were mostly higher than 98%. 4 of the OTUs belonged to the water/sediment lineage and another one OTU was close to the soil/sediment lineage. This character of AOA diversity was also corresponded to the nature properties of wetland soil which fall in between soil and freshwater environment. The isotopic tracing experimental results showed that the ratio of N_2 production by anammox to total (anammox + denitrification) ranged from 24.1 to 29.8 percent. This is the first report which investigates the anammox process in deep soil layer of paddyfield wetland by both molecular and isotopic tracing tools. AOA probably play an important role in ammonia oxidizing because its wider ecologic niche than other ammonia oxidizing microorganisms. Whether nitrification was driven by bacteria or archaea is still in debate so far. However, in this study, an anaerobic and ammonia affluent environment which is not fond of ammonia oxidizing bacteria was provided. The strong anammox activity implied that the nitrite which was oxidized by AOA should be one of an important sources supplies for anammox process. In consideration of the nitrite supplied by denitrification, therefore, how much it plays in the nitrite supply for anammox process by AOA? We are looking forward to the appearance of a more powerful experimental tools. Anyway, it provided a new idea of the widespread of anammox process with the prove of the coexistence of anammox and AOA in this special environment.

Key Words: paddy field wetland; anaerobic ammonium oxidation; ammonia oxidation archaea; deep soil layer; nitrogen cycle

随着氮循环过程中新型反应机制和微生物的发现,人们重新认识了氮循环过程。氮迁移转化的传统认识是:氨氮通常由氨氧化细菌(AOB)在氨单加氧酶(*amoA*)的催化条件下,氧化为亚硝酸盐,由此开始生物氮循环。最新的研究发现,氨的氧化反应还可以由氨氧化古菌(AOA)在古菌氨单加氧酶(*amoA*)的催化条件下进行^[1]。而且发现氨的氧化不仅在有氧条件下进行,还可以在厌氧氨氧化菌的作用下,在厌氧/缺氧的条件下被亚硝酸盐氧化,定义为厌氧氨氧化(anammox)^[2]。

氨氧化古菌和厌氧氨氧化反应的发现是近十年环境科学领域的重大突破^[3],使人们重新认识氨氧化过程这一氮循环中的限速步骤,也改变了人们对全球氮循环通量的认识。目前已探明,海洋生态系统中 24%—67% 的氮气由厌氧氨氧化反应完成^[4]。但是目前关于氨氧化古菌和厌氧氨氧化反应的研究多限于海洋生态系统中,在大陆表层,还很少报道。作者前期研究在河流表层沉积物中发现了厌氧氨氧化菌与氨氧化古菌^[5],但是目前尚无湿地深层土壤中的相关报道。

本研究选择浙江省嘉兴市的稻田湿地为研究地点,通过¹⁵N 同位素示踪证实 anammox 的发生与过程效应,通过 PCR 扩增、测序并建立克隆文库,揭示稻田湿地深层土壤中厌氧氨氧化菌和氨氧化古菌的共存和生物多样性。

1 材料与方法

1.1 样品来源

嘉兴地处长江三角洲,年平均温度为 16℃。样品采集稻田的深层土壤(-100cm),多点采样后均匀混合置于无菌塑料袋中,放在冰盒中带回实验室,一部分 4℃ 保存用于同位素示踪试验,一部分保存在-80℃ 超低温冰箱中直至 DNA 提取。

1.2 样品理化指标分析

该稻田湿地用畜禽废水经发酵后的沼渣浇灌。对浇灌废水及湿地土壤的相关理化指标进行了测定。水样指标测定根据国际标准^[6],土壤相关指标依照《土壤农化分析》中方法^[7],其中氨氮和硝氮用浓度为 2mol/L 的 KCl 溶液浸提 2h,抽滤后用连续流动分析仪测定(SAN plus, Skalar Analytical B. V. the Netherlands),相关结果见表 1。

表 1 稻田湿地土壤与水样的相关理化指标

Table 1 The chemical characteristics of water and soils

土壤	TOM /(g/kg)	NH ₄ ⁺ /(mg/kg)	NO _x ⁻ /(mg/kg)	TKN /(g/kg)	TP /(g/kg)
	26.2	341.7	150.9	5.6	1.9
水样	pH	NH ₄ ⁺ /(mg/L)	NO ₃ ⁻ /(mg/L)	TN /(mg/L)	TP /(mg/L)
	8.6	784.9	49.8	1290.6	338.4

1.3 同位素示踪试验

采用文献 8 的实验方法。将一定质量的预处理土壤放入 12.6 mL 柱状玻璃瓶 (Labco, UK) 中,同时加入一颗玻璃珠以利于反应时摇匀,然后注入 6 mL 无氧水。将其转入厌氧培养箱 (YQX-II, 上海新苗医疗器械制造有限公司) 中,在无氧状态下旋紧瓶塞 (附有 5 mm 厚丁基橡胶隔膜),然后通 He 气以排出残存的氧气,使其形成无氧环境。注入一定浓度¹⁵N 丰度为 99.29% 的 NaNO₃ 或¹⁵N 丰度为 98.2% 的 (¹⁵NH₄)₂SO₄,使瓶中硝酸盐终浓度为 33 μmol/L。共 3 个处理:①仅加¹⁵NH₄⁺,证明样品经厌氧过夜保存,其中硝酸盐消耗殆尽;②加¹⁵NH₄⁺ 和¹⁴NO₃⁻,证明厌氧氨氧化反应的存在;③仅加¹⁵NO₃⁻。每个样品做 3 个平行样和 1 个空白样 (不加同位素)。移出厌氧培养箱,在空气浴振荡器中 25 ℃ 反应 24 h 后,注入 100mL 50 g/100 mL 的 ZnCl₂ 以终止反应。取样时,剧烈摇动反应瓶 1 min,然后在摆动式离心机 (Beckman, Germany) 上以 1600 ×g 转速,25 ℃ 离心 10 min。用 2.5 mL 气密性微量进样器 (安捷伦) 抽取 2 mL He 气注入样品瓶中,往复抽动 5 次,然后抽取 2 mL 样品瓶顶部气体注入提前充满饱和食盐水的 6.6 mL 样品瓶中,样品瓶倒置以备测试。Area 28 (²⁸N₂ 对应的峰面积),Area 29 (²⁹N₂ 对应的峰面积) 及 Area 30 (³⁰N₂ 对应的峰面积) 在气相色谱-同位素比值质谱仪 (Gasbench-MAT253) 上测定。通过③处理中得出的 Area 28,Area 29 及 Area 30,根据下列公式^[8] 计算厌氧氨氧化产生氮气的比例 (*Ra*%) :

$$D_{\text{total}} = P_{30} \times F_N^{-2}$$

$$A_{\text{total}} = F_N^{-1} \times [P_{29} + 2 \times (1 - F_N^{-1}) \times P_{30}]$$

$$Ra\% = \frac{A_{\text{total}}}{A_{\text{total}} + D_{\text{total}}} \times 100\%$$

式中, D_{total} 为由反硝化产生的氮气 (²⁸N₂, ²⁹N₂, ³⁰N₂); A_{total} 为由厌氧氨氧化产生的氮气 (²⁸N₂, ²⁹N₂); *Ra*% 为厌氧氨氧化产生氮气的比例; P_{29} 为²⁹N₂ 的产生速率 (nmol g⁻¹ h⁻¹); P_{30} 为³⁰N₂ 的产生速率 (nmol g⁻¹ h⁻¹); F_N 为所加硝酸盐中¹⁵N 的丰度 ($F_N = 99.29\%$)。

1.4 DNA 提取与 PCR 扩增

称取约 0.25 g 的土壤样品利用 FAST 土壤 DNA 提取试剂盒提取总 DNA (Qbiogene, Carlsbad, CA)。anammox 菌的扩增采用巢式 PCR,第一步采用浮霉菌门特异引物,第二步将第一步扩增产物作为模版,采用 anammox 特异引物扩增得到最终产物,AOA 的扩增采用古菌 *amoA* 特异引物。PCR 反应详细信息见文献^[5]。

1.5 克隆文库的构建

使用 Promega Agarose Gel DNA 纯化试剂盒对 PCR 扩增产物进行切胶纯化,将 PCR 回收产物与 pGEM-Teasy 载体进行连接后,转入 JM109 感受态细胞,最后进行蓝白筛选。选取 100 个白色克隆,采用 PCR 扩增的方法鉴定阳性克隆,所用引物为载体通用引物 T7、SP6。用限制性内切酶 Hha I 和 Mbo I 分型,挑取代表菌株进行测序 (博迈德生物科技,北京),运用 CHECK_CHIMERA 程序在 RDP (Ribosomal Database Project) 在线数据库进行嵌合体检验。运用 Blast 程序将获得的序列在 GenBank 数据库中进行相似性比对。根据比对结果并参照有关文献,选取参照序列,用 Clustal_X 程序进行对齐,采用 Jukes-Cantor 参数模型计算进化距离,运用 MEGA 3.1 软件通过邻接法构建系统发育树。

2 结果与讨论

2.1 厌氧氨氧化菌与氨氧化古菌在稻田湿地中的共存

成功提取 DNA 之后,通过 PCR 扩增,得到片段长度分别约为 635bp 和 478bp 的氨氧化古菌与厌氧氨氧

化菌的扩增片段,未得到氨氧化细菌的扩增片段(图1)。

对随机挑取 96 个阳性克隆采用限制性内切酶 Hha I 和 Mbo I 分型, AOA 共得 12 个酶切类型, anammox 共得 7 个酶切类型。每个酶切类型挑取 1—5 个代表克隆子进行测序, 运用 CHECK_CHIMERA 程序在 RDP 在线数据库中对得到的序列进行嵌合体检验, 发现并无明显的嵌合体情况出现。测序结果在 GenBank 数据库中进行 Blast 比对, 通过 DOTUR 软件分别可将 20 个 AOA 序列和 35 个 anammox 序列划分为 5 个和 4 个独立操作单元(operational taxonomic unit, OTU)。样品中主要 OTU 所含克隆子数目及其相似性菌株如表 2 所示。

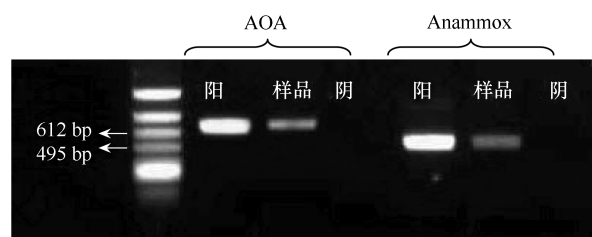


图1 氨氧化古菌与厌氧氨氧化菌电泳图

Fig. 1 PCR production electrophoresis gel profile of AOA and anammox

表2 样点克隆的 DOTUR 软件和在线 BLAST 分析结果

Table 2 Analytic results of crenarchaeal and anammox clones by DOTUR program and Blast

克隆数	OTU	相近序列	GenBank 编号	同源性/%
1	AOAOTU1	Uncultured crenarchaeote clone O5	EU099963	92
2	AOAOTU2	Uncultured crenarchaeote clone WBF050405	FJ227731	96
7	AOAOTU3	Uncultured archaeon clone PLANTC	EU852665	99
8	AOAOTU4	Uncultured ammonia-oxidizing archaeon clone	EU590219	98
2	AOAOTU5	Uncultured crenarchaeote clone S7\A-12	EU025151	98
19	ANAMMOXOTU1	Candidatus 'Kuenenia stuttgartiensis'	AF375995	95
7	ANAMMOXOTU2	Candidatus 'Kuenenia stuttgartiensis'	AF375995	95
8	ANAMMOXOTU3	Candidatus 'Kuenenia stuttgartiensis'	AF375995	95
1	ANAMMOXOTU4	Candidatus 'Kuenenia stuttgartiensis'	AF375995	97

2.2 稻田湿地厌氧氨氧化菌和 AOA 的系统发育分析

对稻田湿地土壤中 anammox 菌 35 个序列(可划分为 4 个 OTU)的代表序列分析发现,其间具有相对较高的相似性。同时,4 个代表序列与外源序列 anammox 菌 *Candidatus* 'Kuenenia stuttgartiensis' 同源性最高,均超过 95%。在系统发育树中,除 OTU4 与 *Candidatus* 'Kuenenia stuttgartiensis' 聚为一个分支外,其他 3 个 OTU 则与分离于海洋与污水处理系统的 anammox 菌更为相近。

所有 AOA 的 5 个 OTU 中,有 4 个与 GenBank 注册的已知序列具有较高的同源性($\geq 98\%$),其中 OTU1 同源性较低,仅有 92%。从 AOA 的系统发育树中可以看出,所有 OTU 可以划分为两大分支。OTU1—OTU4 为一个分支,从外源序列可以看出此分支主要以水与沉积物来源序列为主。OTU5 则在另外一个分支中,该分支主要以沉积物与土壤序列为主。Francis 等将 AOA 定义为水体/沉积物菌种和土壤/沉积物菌种^[9],文中所发现的 AOA 有 4 个 OTU 属于水和沉积物相菌种,有 1 个 OTU 归属于土壤/沉积物相中,也符合稻田湿地自身的环境特征,既介于土壤与淡水环境之间。

2.3 厌氧氨氧化过程效应

由同位素质谱仪得出的试验结果表明,①处理没有明显的²⁹N₂或³⁰N₂产生,说明样品经厌氧过夜保存,其中硝酸盐消耗殆尽;②处理有明显的²⁹N₂产生,而没有明显的³⁰N₂产生,说明样品中有厌氧氨氧化反应存在,同时也说明样品经厌氧过夜保存,其中硝酸盐消耗殆尽;③处理得出的空白样品和标记样品的峰面积值如表 3 所示。通过同位素示踪试验首先可以证实厌氧氨氧化反应的发生,并通过计算得厌氧氨氧化产生的氮气占有产生氮气的比例(Ra%)为 24.1%—29.8%。

表 3 同位素示踪试验结果

Table 3 Results of isotopic tracing experiments

样品	Area 28 (mVs)	Area 29 (mVs)	Area 30 (mVs)	Area All (mVs)	Area 28/Area All	Area 29/Area All
(1)	0.00057	4.14247×10^{-6}	8.2055×10^{-7}	0.000576	0.991385	0.007191
(2)	0.00049	3.62743×10^{-6}	7.1093×10^{-7}	0.000502	0.991364	0.007221
样品	Area 30/Area All	Area 29(扣除空白)	Area 30(扣除空白)	D total	A total	Ra%
(1)	0.001424	6.22585×10^{-8}	1.85858×10^{-7}	1.88526×10^{-7}	6.00266×10^{-8}	24.15
(2)	0.001415	6.95109×10^{-8}	1.57482×10^{-7}	1.59742×10^{-7}	6.77396×10^{-8}	29.77

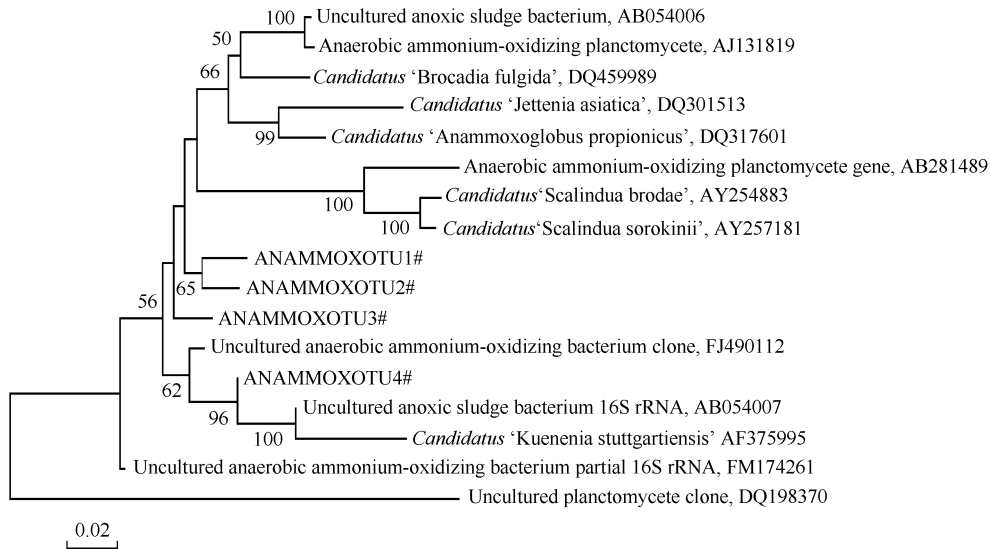


图 2 稻田湿地厌氧氨氧化菌(anammox)系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the paddy field wetland

克隆子以 OTU 开头标识, 参照序列引自 GenBank 数据库, 括号中的数字代表提交序号, 分支节点上的数字表示每 1000 次 bootstrap 分析所支持的次数, 小于 50 的未显示。线段表示 2% 序列差异的分支长度, 下同

3 讨论

氨氧化这一氮循环中的限速步骤, 其产生的亚硝酸盐为厌氧氨氧化的发生提供了先决条件。以往认为, 这一过程主要由氨氧化细菌来完成。但是 AOA 的发现挑战了这一理论。本研究在地下 100 cm 发现 AOA, 并发现在土壤样品中, 高价态铁锰氧化物的存在 (实验样品测定 Mn^{2+} 浓度为 0.5743mg/kg , Mn^{4+} 浓度为 0.0577mg/kg , Fe^{2+} 浓度为 0.02mg/kg , Fe^{3+} 浓度为 0.21mg/kg), 从化学热力学的角度间接证明了 AOA 的活性。因为不论是由细菌还是古菌催化完成的硝化反应 ($NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$), 其吉布斯自由能 ($\Delta G_{R_{pH=7}} = -341\text{ kJ/mol}$) 远大于 $Mn(II)$ 氧化为 $Mn(IV)$ (-175 kJ/mol) 和 $Fe(II)$ 氧化为 $Fe(III)$ (-74.27 kJ/mol)。

近年来, 关于 AOA 和 AOB 在氨氧化过程中作用的研究层出不穷, 但是对于他们在氨氧化过程中的作用却说法不一^[10-11]。最近的一些研究证实, 在草场的土壤环境中, 真正起到氨氧化作用的是 AOB^[12], 但是在海洋和多数土壤环境中, AOA 起主导作用^[13-14]。AOA 相对于 AOB 更广阔的生态位使得 AOA 在一些特殊环境中相对于 AOB 具有强的竞争力^[14]。

AOA 与厌氧氨氧化的相互作用, 近年来也逐渐被认识到。目前在不同海域由 AOA 为 anammox 提供电子受体并完成厌氧氨氧化反应的研究结果相继报道^[15]。本文则首次在稻田湿地生态系统中发现 AOA 与 anammox 的共存。AOA 与 anammox 的共存非常相像于海洋中的“海洋雪”^[16]。AOA 利用分子/离子态的氧将氨氮氧化为亚硝酸盐, 并消耗氧营造厌/缺氧状态。在颗粒内部 anammox 菌在缺氧条件下, 完成 anammox 反应^[17]。在稻田湿地这一环境中, NH_4^+ 不再是限制因素, NO_2^- 的浓度成为了 anammox 反应的关键。AOA 在

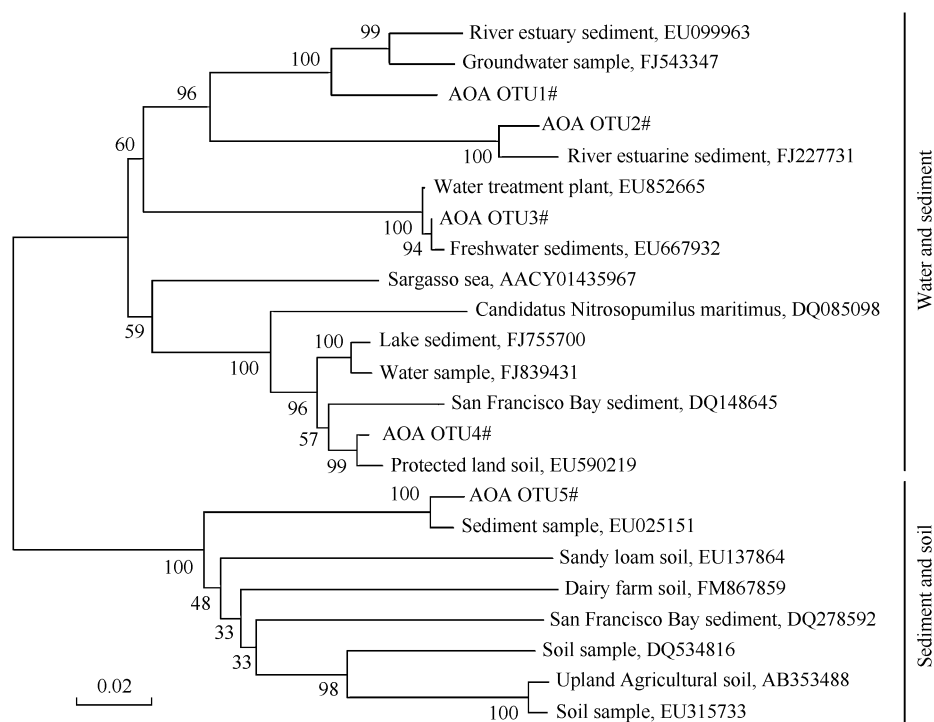


图3 稻田湿地氨氧化古菌(AOA)系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of the ammonia-oxidizing archaea (AOA) in the paddy field wetland

氨氧化过程中的作用已经被广泛证实,但鉴于亚硝酸盐还可由不完全反硝化所产生,因此,AOA在氨氧化过程中具体发挥多大作用,还期待更有力的实验手段的出现加以证明。

致谢:本研究得到了中国科学院生态环境研究中心刘俊新研究员、贺纪正研究员、王为东副研究员、龙锡恩、高敏和李栋博士的大力支持,特此致谢。

References:

- [1] Könneke M, Bernhard A E, de la Torre J R, Walker C B, Waterbury J B, Stahl D A. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 2005, 437 (7058): 543-546.
- [2] Zhu G B, Jetten M S M, Kusch P, Ettwig K F, Yin C Q. Potential roles of anaerobic ammonium and methane oxidation in the nitrogen cycle of wetland ecosystems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 86(4): 1043-1055.
- [3] Horner-Devine M C, Martiny A C. Biogeochemistry: news about nitrogen. *Science*, 2008, 320(5877): 757-758.
- [4] Thamdrup B, Dalsgaard T. Production of N_2 through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(3): 1312-1318.
- [5] Fan G N, Zhu G B, Wang Y, Wang C Y, Wang C X, Yin C Q. New functional microorganisms in nitrogen cycle restoration of river riparian ecosystems. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, (8), 1158-1163.
- [6] APHA, AWA, WPCF. In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th ed. Washington D C: American Public Health Association, 1992.
- [7] Bao S D. *Soil agrochemical analysis*. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2000.
- [8] Dalsgaard T, Thamdrup B. Factors controlling anaerobic ammonium oxidation with nitrite in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(8): 3802-3808.
- [9] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, Santoro A E, Oakley B B. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(41): 14683-14688.
- [10] He J Z, Shen J P, Zhang L M. Advance in the research of soil non-thermophilic Crenarchaeota. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(9): 5047-5055.
- [11] He J Z, Zhang L M. Advances in ammonia-oxidizing microorganisms and global nitrogen cycle. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 406-415.

- [12] Di H J, Cameron K C, Shen J P, Winefield C S, O'Callaghan M, Bowatte S, He J Z. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience*, 2009, 2(9): 621-624.
- [13] Wuchter C, Abbas B, Coolen M J L, Herfort L, van Bleijswijk J, Timmers P, Strous M, Teira E, Herndl G J, Middelburg J J, Schouten S, Damsté J S S. Archaeal nitrification in the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(33): 12317-12322
- [14] Leininger S, Urich T, Schlöter M, Schwark L, Qi J, Nicol G W, Prosser J, Schuster S C, Schleper C. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, 442(7104): 806-809.
- [15] Lam P, Jensen M M, Lavik G, McGinnis D F, Müller B, Schubert C J, Amann R, Thamdrup B, Kuypers M M M. Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(17): 7104-7109.
- [16] Shanks A L, Trent J D. Marine snow: microscale nutrient patches. *Limnology and Oceanography*, 1979, 24(5): 850-854.
- [17] Woebken D, Fuchs B M, Kuypers M M M, Amann R. Potential Interactions of particle-associated anammox bacteria with bacterial and archaeal partners in the Namibian Upwelling System. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(14): 4648-4657.

参考文献:

- [5] 范改娜, 祝贵兵, 王雨, 王衫允, 王朝旭, 尹澄清. 河流湿地氮循环修复过程中的新型功能微生物. *环境科学学报*, 2010, (8): 1558-1563.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京, 中国农业出版社, 2000.
- [10] 贺纪正, 沈菊培, 张丽梅. 土壤中温泉古菌研究进展. *生态学报*, 2009, 29(9): 5047-5055.
- [11] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展. *生态学报*, 2009, 29(1): 406-415.

CONTENTS

Influences of elevated ozone on growth and C, N, S allocations of rice	ZHENG Feixiang, WANG Xiaoke, HOU Peiqiang, et al (1479)
Coexistence, biodiversity and roles of ammonia-oxidizing archaea and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in deep soil layer of high nitrogen loaded paddy field	WANG Yu, ZHU Guibing, WANG Chaoyu, et al (1487)
The impact of interannual climate variability on the mean global vegetation distribution	SHAO Pu, ZENG Xiaodong (1494)
Labile and recalcitrant carbon and nitrogen pools of an alpine meadow soil from the eastern Qinghai-Tibetan Plateau subjected to experimental warming and grazing	WANG Bei, SUN Geng, LUO Peng, et al (1506)
The structure and species diversity of plant communities in ecological safety islands of urban Guangzhou	MO Dan, GUAN Dongsheng, HUANG Kangyou, et al (1515)
The growth pattern of <i>Pinus elliottii</i> Plantation in central subtropical China	MA Zeqing, LIU Qijing, WANG Huimin, et al (1525)
The effect of two wetland plants on nitrogen and phosphorus removal from the simulated paddy field runoff in two small-scale Subsurface Flow Constructed Wetlands	LIU Shuyuan, YAN Baixing, WANG Lixia (1538)
Effect of simulated nitrogen deposition on nutrient release in decomposition of several litter fractions of two bamboo species	TU Lihua, HU Tingxing, ZHANG Jian, et al (1547)
Ecological monitoring of bryophytes for mercury pollution in Danzhai Mercury Mine Area, Guizhou Province, China	LIU Rongxiang, WANG Zhihui, ZHANG Zhaohui (1558)
Influence of silt deposition and sand deposition on <i>Cynodon dactylon</i> population in low-water-level-fluctuating zone of the Three Gorges Reservoir	LI Qiang, DING Wuquan, ZHU Qihong, et al (1567)
Seed production of <i>Spartina alterniflora</i> and its response of germination to temperature at Chongming Dongtan, Shanghai	ZHU Zhenchang, ZHANG Liquan, XIAO Derong (1574)
Effects of decomposition of mixed leaf litters of the <i>Castanopsis platyacantha</i> - <i>Schima sinensis</i> forest on soil organic carbon	ZHANG Xiaopeng, PAN Kaiwen, WANG Jinchuang, et al (1582)
Effects of desertification on soil respiration and ecosystem carbon fixation in Mu Us sandy land	DING Jinzhi, LAI Liming, ZHAO Xuechun, et al (1594)
The spatial distribution of soil organic carbon and its influencing factors in hilly region of the Loess Plateau	SUN Wenyi, GUO Shengli (1604)
Effects of interspecific interactions and nitrogen fertilization rates on above- and below- growth in faba bean/mazie intercropping system	LI Yuying, HU Hansheng, CHENG Xu, et al (1617)
Effects of supplemental irrigation based on measured soil moisture on nitrogen accumulation, distribution and grain yield in winter wheat	HAN Zhanjiang, YU Zhenwen, WANG Dong, et al (1631)
Anti-soil background capacity with vegetation biochemical component spectral model	SUN Lin, CHENG Lijuan (1641)
Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin of <i>Hippophae rhamnoides</i> L in farming-pastoral zone from the two northern provinces of China	HE Xueli, CHEN Cheng, HE Bo (1653)
Study on optimum forest coverage for water conservation: a case study in Pingtonghe watershed (Pingwu section)	ZHU Zhifang, GONG Gutang, CHEN Junhua, et al (1662)
Spatial point analysis of fire occurrence and its influence factor in Huzhong forest area of the Great Xing'an Mountains in Heilongjiang Province, China	LIU Zhihua, YANG Jian, HE Hongshi, et al (1669)
Combustion efficiency of small-scale meadow fire in Daxinganling Mountains	WANG Mingyu, SHU Lifu, SONG Guanghui, et al (1678)
Community structure of demersal fish in Nature Reserve of <i>Acipenser sinensis</i> in Yangtze River estuary	ZHANG Tao, ZHUANG Ping, ZHANG Longzhen, et al (1687)
Behavioral responses of the Common Coots (<i>Fulica atra</i>) and other swimming birds to human disturbances	ZHANG Weiwei, MA Jianzhang, LI Jinbo (1695)
Effects of photoperiod on body mass, organ masses and energy metabolism in Chinese bulbul (<i>Pycnonotus sinensis</i>)	NI Xiaoying, LIN Lin, ZHOU Feifei, et al (1703)
Larval host types for the 3 rd <i>Helicoverpa armigera</i> in Bt cotton field from North China determined by $\delta^{13}\text{C}$	YE Lefu, FU Xue, XIE Baoyu, et al (1714)
Selectivity of <i>Frankliniella occidentalis</i> to vegetable hosts	YUAN Chengming, ZHI Junrui, CAO Yu, et al (1720)
Genetic structure of <i>Pine caterpillars</i> (<i>Dendrolimus</i>) populations based on the analysis of Cyt b gene sequences	GAO Baojia, ZHANG Xuwei, ZHOU Guona, et al (1727)
Pricing method and application effects of biogas slurry	ZHANG Changai, LIU Ying, CAO Man, WANG Yanqin, et al (1735)
Effects of compost from municipal solid waste on ecological characteristics and the quality of different turfgrass cultivars	ZHAO Shulan, LIAN Fei, DUO Li'an (1742)
Degradation kinetics and bioavailability of pentachlorophenol in paddy soil-rice plant ecosystem	WANG Shisheng, LI Depeng (1749)
Review and Monograph	
Concepts and techniques of landscape genetics	XUE Yadong, LI Li, WU Gongsheng, ZHOU Yue (1756)

2009 年度生物学科总被引频次和影响力因子前 10 名期刊*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响力因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响力因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任: 孔红梅

执行编辑: 刘天星 段 靖

生态学报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 6 期 (2011 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 6 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许可证	京海工商广字第 8013 号		

