

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

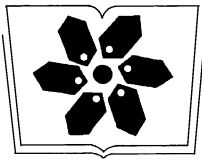
Acta Ecologica Sinica



第32卷 第18期 Vol.32 No.18 **2012**

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 32 卷 第 18 期

2012 年 9 月 (半月刊)

目 次

亚热带典型树种对模拟酸雨胁迫的高光谱响应.....	时启龙,江 洪,陈 健,等 (5621)
珠江三角洲地面风场的特征及其城市群风道的构建.....	孙 武,王义明,王越雷,等 (5630)
粤北山地常绿阔叶林自然干扰后冠层结构与林下光照动态.....	区余端,苏志尧 (5637)
四种猎物对南方小花蝽生长发育和繁殖的影响.....	张昌容,鄧军锐,莫利锋 (5646)
普洱季风常绿阔叶林次生演替中木本植物幼苗更新特征.....	李帅锋,刘万德,苏建荣,等 (5653)
喀斯特常绿落叶阔叶混交林物种多度与丰富度空间分布的尺度效应.....	张忠华,胡 刚,祝介东,等 (5663)
格氏栲天然林土壤养分空间异质性.....	苏松锦,刘金福,何中声,等 (5673)
种植香根草对铜尾矿废弃地基质化学和生物学性质的影响.....	徐德聪,詹 婧,陈 政,等 (5683)
灌溉对三种荒漠植物蒸腾耗水特性的影响.....	单立山,李 毅,张希明,等 (5692)
真盐生植物盐角草对不同氮形态的响应.....	聂玲玲,冯娟娟,吕素莲,等 (5703)
鹿泉沟自然保护区寒温性针叶林演替优势种格局动态分析.....	张钦弟,毕润成,张金屯,等 (5713)
不同水肥条件下 AM 真菌对丹参幼苗生长和营养成分的影响.....	贺学礼,马 丽,孟静静,等 (5721)
垄沟覆膜栽培冬小麦田的土壤呼吸.....	上官宇先,师日鹏,韩 坤,等 (5729)
不同方式处理牛粪对大豆生长和品质的影响.....	郭立月,刘雪梅,战丽杰,等 (5738)
基于大气沉降与径流的乌鲁木齐河源区氮素收支模拟.....	王圣杰,张明军,王飞腾,等 (5747)
基于能值理论的循环复合农业生态系统发展评价——以福建省福清星源循环农业产业示范基地为例.....	钟珍梅,翁伯琦,黄勤楼,等 (5755)
低温暴露和恢复对棘胸蛙雌性亚成体生存力及能量物质消耗的影响.....	凌 云,邵 晨,颜志刚,等 (5763)
暗期干扰对棉铃虫两个不同地理种群滞育抑制作用的比较.....	陈元生,涂小云,陈 超,等 (5770)
水土流失治理措施对小流域土壤有机碳和全氮的影响.....	张彦军,郭胜利,南雅芳,等 (5777)
不同管理主体对泸沽湖流域生态系统影响的比较分析.....	董仁才,苟亚青,李思远,等 (5786)
连江鱼类群落多样性及其与环境因子的关系.....	李 捷,李新辉,贾晓平,等 (5795)
溶氧水平对鲫鱼代谢模式的影响.....	张 伟,曹振东,付世建 (5806)
象山港人工鱼礁区的网采浮游植物群落组成及其与环境因子的关系.....	江志兵,陈全震,寿 鹿,等 (5813)
填海造地导致海湾生态系统服务损失的能值评估——以套子湾为例.....	李睿倩,孟范平 (5825)
城市滨水景观的视觉环境质量评价——以合肥市为例.....	姚玉敏,朱晓东,徐迎碧,等 (5836)
专论与综述	
生态基因组学研究进展.....	施永彬,李钧敏,金则新 (5846)
海洋酸化生态学研究进展.....	汪思茹,殷克东,蔡卫君,等 (5859)
纺锤水蚤摄食生态学研究进展.....	胡思敏,刘 胜,李 涛,等 (5870)
河口生态系统氨氧化菌生态学研究进展.....	张秋芳,徐继荣,苏建强,等 (5878)
嗜中性微好氧铁氧化菌研究进展.....	林超峰,龚 骏 (5889)
典型低纬度海区(南海、孟加拉湾)初级生产力比较.....	刘华雪,宋星宇,黄洪辉,等 (5900)
植物叶片最大羧化速率及其对环境因子响应的研究进展.....	张彦敏,周广胜 (5907)
中国大陆鸟类栖息地选择研究十年.....	蒋爱伍,周 放,覃 玥,等 (5918)
研究简报	
孵化温度对赤链蛇胚胎代谢和幼体行为的影响.....	孙文佳,俞 霄,曹梦洁,等 (5924)
不同培肥茶园土壤微生物量碳氮及相关参数的变化与敏感性分析.....	王利民,邱珊莲,林新坚,等 (5930)
施肥对两种莧菜吸收积累镉的影响.....	李凝玉,李志安,庄 萍,等 (5937)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 322 * zh * P * ¥70.00 * 1510 * 36 * 2012-09



封面图说: 冬天低空飞翔的丹顶鹤——丹顶鹤是鹤类中的一种,因头顶有“红肉冠”而得名。是东亚地区特有的鸟种,因体态优雅、颜色分明,在这一地区的文化中具有吉祥、忠贞、长寿的象征,是传说中的仙鹤,国家一级保护动物。丹顶鹤具备鹤类的特征,即三长——嘴长、颈长、腿长。成鸟除颈部和飞羽后端为黑色外,全身洁白,头顶皮肤裸露,呈鲜红色。丹顶鹤每年要在繁殖地和越冬地之间进行迁徙,只有在日本北海道等地是留鸟,不进行迁徙,这可能与冬季当地人有组织地投喂食物,食物来源充足有关。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201108181213

张秋芳, 徐继荣, 苏建强, 杨小茹, 朱永官. 河口生态系统氨氧化菌生态学研究进展. 生态学报, 2012, 32(18): 5878-5888.

Zhang Q F, Xu J R, Su J Q, Yang X R, Zhu Y G. Research progress on ammonia-oxidizing microorganisms in estuarine ecosystem. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(18): 5878-5888.

河口生态系统氨氧化菌生态学研究进展

张秋芳^{1,2}, 徐继荣², 苏建强¹, 杨小茹¹, 朱永官^{1,*}

(1. 中国科学院城市环境研究所城市环境与健康研究中心重点实验室, 厦门 361021;

2. 宁波大学建筑工程与环境学院, 宁波 315211)

摘要:由 *amoA* 基因编码的氨单加氧酶 (AMO) 所调控的氨氧化作用, 是硝化作用的限速步骤和中心环节, 而含有 *amoA* 基因的氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 多样性与环境因子关系密切, 对缓解河口生态系统因人类活动造成的富营养化等环境问题具有特别重要的意义。水、陆和海交汇形成高度变异的具环境因子梯度的河口生态系统, 是研究 AOA 和 AOB 生态学的天然实验室。河口 AOA 与 AOB 的群落组成、丰富度特征和生物有效性, 与河口主要环境因子盐度、富营养化程度、植被、温度、碳、氮、硫、铁等, 尤其是对盐度和富营养化有着较为强烈的响应。AOA 和 AOB 多样性变化规律及其与河口特有的环境因子之间的相关性, 应当是今后我国河口氨氧化菌研究的方向和重点。包括: (1) 建立有效的氨氧化菌活性评价方法; (2) 研究 AOA 的同化作用方式; (3) 依据氨氧化菌分类和组成对河口环境变化的适应进化机制, 建议可作为指示河口环境质量变化的生物标记; (4) 将传统的分离培养方法与现代分子生物学研究方法相结合, 筛选我国河口高效的氨氧化菌, 并将其应用于生产。

关键词: 氨氧化细菌; 氨氧化古菌; 环境因子; 河口生态系统

Research progress on ammonia-oxidizing microorganisms in estuarine ecosystem

ZHANG Qiufang^{1,2}, XU Jirong², SU Jianqiang¹, YANG Xiaoru¹, ZHU Yongguan^{1,*}

1 Key Laboratory of Urban Environment and Health Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China

2 Faculty of Architectural Civil Engineering and Environment, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: With the development of urbanization and the highly intensified agriculture in the world, the massive anthropogenic loading of particular nitrogen compounds into rivers, and the environmental quality of many estuarine ecosystems in China are deteriorating through eutrophication. Ammonia oxidation, which is regulated by ammonia monooxygenase (AMO), is the critical and rate-limiting step in the nitrification. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and ammonia-oxidizing archaea (AOA) containing AMO encoded by the *amoA* gene can be impacted by environmental factors. Transformation and removal of the land-accumulated nitrogen in estuarine ecosystems could significantly reduce eutrophication. The steep physico-chemical gradients in estuary linking freshwater, terrestrial and marine systems serve as an important natural laboratory for studying ammonia-oxidizing microorganisms. Previous studies have reviewed the characteristics of AOA and AOB composition, their abundance, and nitrification levels in the estuarine ecosystems, as well as their responses to environmental factors. There are strong correlations between the ammonia oxidizers' diversity and environmental parameters, e. g. salinity, eutrophication, vegetation, temperature, carbon, nitrogen, sulphur and iron in estuarine ecosystems, especially in salinity and eutrophication. Future directions and work of ammonia oxidizers with estuary ecosystems in China should be focused on as follows: (1) set up effective assessment method of

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX2-YW-Q02-04); 浙江省公益性技术应用研究计划项目 (2012C23065); 浙江省自然科学基金项目 (Y5110331); 宁波市自然科学基金项目 (2011A610085); 宁波市科技局社会发展项目 (2011C50050)

收稿日期: 2011-08-18; 修订日期: 2011-11-15

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

nitrification induced by ammonia-oxidizers; (2) elucidate which kind of assimilation style, heterotrophic, autotrophic or mixotrophic is characteristic of AOA; (3) confirm that ammonia-oxidizer compositions could be used as biological indicators to indicate the environmental quality in estuaries; (4) cultivate and identify the most biologically effective ammonia-oxidizers from estuaries by combining traditional cultivation methods with modern molecular biotechnology techniques, and finally apply them to practical production.

Key Words: ammonia-oxidizing bacteria (AOB); ammonia-oxidizing archaea (AOA); environmental factor; estuarine ecosystem.

氮素是生命组成的重要元素,同时也是水体富营养化、温室效应和臭氧层破坏等环境问题的决定因素之一。自然界中,氮素循环的整个过程,皆由微生物所驱动^[1,2]。其中,硝化作用是将氨转化为硝酸盐($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$)的生化过程,而由氨氧化菌驱动的氨氧化作用($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH}$)是硝化作用的第一步,也是全球氮循环的中心环节;由功能基因 *amoA* 编码的氨单加氧酶(AMO),在氨氧化作用中起催化作用,是氮循环的限速因子^[3-4]。越来越多的研究表明,氨氧化古菌(AOA)同氨氧化细菌(AOB)一样,可能也在硝化作用中起着重要作用,甚至认为 AOA 可能在氨氧化过程中占优势^[3,5-7]。

作为水、陆和海交汇处的河口,是性质差异较大的淡水和盐水的混合区域,尤其是河口的潮汐涨落,形成了随时空变化而高度变异的能量与环境因子(如:盐度、氮、pH、氧气、硫化物和有机物等)梯度,调节着整个河口生态系统平衡,同时伴随着河口微生物群落多样性的相应转变^[8-11]。其中,氮素作为河口生态环境的主要生源要素之一,是输入河口的营养盐的主要组成成分。由促氮循环微生物所驱动生物地球化学过程(图1),对于缓解由于过度施肥用药和工业污染排放而使无机氮过度输入与累积引起的水体富营养化具有重要意义。河口与滨海沉积物中的硝化作用与反硝化作用耦合^[12-14],可以去除全球约 30% 固定氮^[15]和 50% 外来可溶性无机氮^[16]。近年来,我国每年消耗近 2000 万吨氮肥,因不合理使用引发大量氮肥的流失已导致滨海地区富营养化日趋严重^[17-18]。

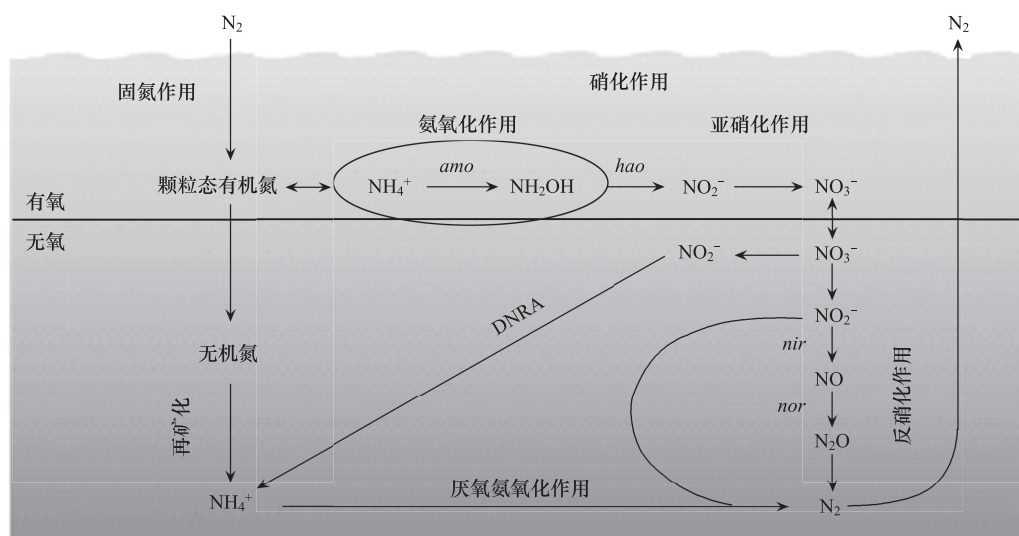


图1 海洋环境中微生物驱动下的氮循环过程^[1-2]

Fig. 1 Nitrogen cycle driven by microorganisms in marine environment^[1-2]

已有研究表明,河口生态系统中 AOA 和 AOB 的多样性、分布及其活性,受盐度、碳、氮、氧、硫、温度和有机质等诸多环境因子的影响^[19-21],所特有的急剧变化的环境因子梯度,对研究氮循环具有特别重要的意义,是研究 AOA 与 AOB 生态学的天然理想实验室^[20]。本文就国内外已有的相关研究进行介绍,提出进一步研

究的方向与目标。

1 河口 AOA 和 AOB 群落组成

河口地区理化性状在时空上具有高度异质性,尤其是海水特有的潮汐波动伴随着一系列环境因子的变化,要求微生物必须具有很强的可塑性来应对不断急剧变化的环境,这对研究不同生态位的氨氧化菌多样性具有重要意义。从已获得的 AOB 菌株中的 16S rRNA 基因和 *amoA* 基因的比较表明,两者在进化关系上具有相似性^[22-25]。但不同环境来源的 AOB-*amoA* 基因的变异性和特异性,高于存在于保守区域的 16S rRNA 基因^[23,26],更能直接反映氨氧化过程的功能差异^[26],也为引物设计提供了合适的靶标基因^[22,27],是 AOB 有效的分子标记^[28]。对 AOA 的 16S rRNA 和 *amoA* 基因的研究,也表明两者具有相似性^[5,29-30]。因此,AOA 和 AOB 多样性可以通过用氨单加氧酶 α 亚基基因序列来进行表征,这两组完全不同的 *amoA* 基因的引物,已经发表^[1,6,23,28],并被成功地应用于各种生态环境研究。

1.1 β -AOB 群落组成

1.1.1 河口生态系统 AOB 分类

基于 16S rRNA 基因序列同源性系统发育分析表明,AOB 分别属于 β -和 γ -Proteobacteria 两个亚纲^[23,31-32]。 γ -Proteobacteria(γ -AOB)亚纲氨氧化菌,适合海洋环境生长,在河口和盐沼中几乎不存在^[11,26,33-34](仅在对蒙特利海湾的研究^[35]中见报道)。 β -AOB 主要由亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas*)和亚硝化螺菌(*Nitrospira*)两个属组成^[36],两者皆含有不同的种群。而河口生态系统中的氨氧化细菌皆属于 β -AOB^[20]。基于 *amoA* 基因序列同源性分析,也可以将 AOB 分成不同类别,通过对功能基因 *amoA* 特异序列的分析,可以反映出相应环境中 AOB 的种类、数量和活性^[26]。

1.1.2 河口 β -AOB 群落组成与环境因子的相关性分析

在河口生态系统中,盐度、温度、pH 值、净初级生产力和有机负荷量等是调控 AOB 群落组成的重要因子,AOB 群落组成在分布上的相似性和变异性,是环境因子共同作用的结果。

其中,盐度是指示的河口生态系统具不同生态位特征的最重要环境因子之一,盐度的差异会使得 AOB 群落组成结构产生相应的变化。Freitag 等^[37]应用 PCR-DGGE 分析表明,从海洋到淡水区域所采集到的苏格兰 Ythan 河口不同区域沉积物中的 AOB 群落组成呈明显差异,来自受海洋环境影响最大的区域以 *Nitrospira*-like 序列为主,介于海洋与淡水之间的含盐区域以与 *Nitrosomonas* sp. Nm143 相关序列类型为主,淡水区域则主要分布着 *Nitrosomonas marina/oligotropha*-like 相关的序列。在 Chesapeake 海湾^[33,38]和 Plum Island Sound 河口^[39]的研究也得到类似的结果。在 Schelde 河口^[40-41]中,来自淡水和含盐环境的 AOB-*amoA* 的基因序列皆以 *Nitrosomonas*-like 序列为主,但淡水区域中主要包含了 *Nitrosomonas ureae* 和 *Nitrosomonas oligotropha* 分类,而含盐环境主要包含了 *Nitrosomonas marina* 和 *Nitrosomonas aestuarii* 分类。在墨西哥 Bahía del Tóbari 河口的研究中,只获得 *Nitrosomonas*-like 序列,并未发现有 *Nitrospira*-like 序列^[42]。但来自旧金山海湾北部河口低盐度区的 AOB-*amoA* 的基因序列,属于 *Nitrospira*-like 序列^[43]。在这些河口的生态系统相关研究中,皆认为盐度是影响 AOB 组成的重要因素,但由于生态系统的复杂性使得其对不同区域的影响又有所差异。

富营养化程度也影响着河口生态系统中 AOB 群落组成。Wankel 等^[21]在 Elkhorn Slough 河口发现,低养分高硝化作用区域以 *Nitrospira*-like 序列为主,而高养分低硝化速率区域则以 *Nitrosomonas*-like 的序列为主。Dang 等^[44]对胶州湾研究表明,AOB 群落结构与亚硝态氮和砂含量关系密切,且污染物会明显地改变 AOB 群落组成和含量,建议将 *Nitrosomonas oligotropha* 作为监测滨海地区环境污染程度的生物标记。从珠江口到南海的沉积物研究表明,重度污染区的 β -AOB 群落多样性低并存在着优势菌群,而无污染地带为高多样性但没有占优势 β -AOB 菌群^[45]。在东京湾发现,有机质对调控 AOB 组成比盐度更重要^[46];在旧金山海湾,AOB 组成与 C/N 比值和镍含量关系密切^[43]。

温度对 AOB 组成的影响已多见报道。Westerschelde 河口的 β -AOB 多样性随温度降低而减少^[30]。但植被类型对 AOB 组成并没有太大影响^[47]。另外,由于自养氨氧化作用必需有 NH_3 、 O_2 和 CO_2 的存在,并在氨

氧化菌间存在激烈竞争,因此,AOB 群落组成还与基质组成^[48-49]和溶解氧分布^[50-51]等密切相关。

1.2 AOA 群落组成

1.2.1 氨氧化古菌的发现

在 20 世纪 70 年代后期,古菌主要在热水、酸性热温泉和缺氧等极端环境中被发现。直到 20 世纪 90 年代初,DeLong^[52]和 Fuhrman 等^[53]分别发表了来自温带海洋的意外发现——Group I 中温泉古菌(Crenarchaeota),其细胞数量达 10^{28} ,大约占海洋全部浮游原核生物的 20%^[54];Bintrim 等^[55]和 MacGregor 等^[56]分别在土壤和淡水沉积物中发现了与 Group I Crenarchaeota 关系密切的海洋古菌 Group I,并将来自海洋的序列聚类于 Group 1.1a,来源于陆地的序列聚于 Group 1.1b^[20,57]。Venter 等^[58]发现了来自 Sargasso 海基因组中与 AOB-*amoA* 基因具同源性的古菌。此后不久,Treusch 等^[7]也报道了来自土壤 Fosmid 文库中的来自古菌的 *amoA* 基因,从而推断 AOA 的存在。这两个研究为 Group I Crenarchaeota 具氧化氨的作用提供了证据,但必需进一步证实古菌的潜在硝化作用。幸运的是,Könneke 等^[6]在海水水族馆中分离获得了一株属于 Group I.1a 的常温型泉古菌(mesophilic crenarchaea)菌株并命名为 *Nitrosopumilus maritimus*;通过对其以重碳酸盐为唯一碳源和应用化学计量方法计算从铵到亚硝酸转化量,证实了 AOA 的氨氧化作用^[7]。但最近也有研究认为,AOA 属于一个新的古菌门类 Thaumarchaeota^[59]。

1.2.2 河口 AOA 类型与环境因子相关性

盐度、温度、亚硝酸盐和净初级产量等因子,对 AOA 群落结构具有重要影响^[30]。在环境因子影响下,AOA 群落可以经自然选择形成不同的生态种群。河口沉积物中,AOA-*amoA* 基因序列可聚类为沉积物、水体和土壤/沉积物几类群^[60],且绝大多数来自河口沉积物的 AOA-*amoA* 基因序列是属于水体/沉积物^[20],但也有研究从滨海沉积物^[61]中获得了属于土壤/沉积物类的序列。来源于不同环境的 AOA-*amoA* 基因间存在明显差异,Hallam 等^[62]发现从太平洋中部、蒙特利海湾和南极半岛的水体浅层(0—130m)和深层(500—4000m)获得的基因存在不同生态类型;Mincer 等^[63]也报道了类似结果,并认为这种差异可能是对光抑制的反映,但没有在 *N. maritimus* 发现光抑制现象。

AOA 群落组成在河口生态系统中存在着明显的空间分布差异。在墨西哥 Bahía del Tóbari 河口,河口内部区域与入海口处附近的 AOA 群落组成不同,分别属于泉古菌 Group 1.1a 和 Group 1.1b,而介于两区域之间则交叉重叠分布着两个大类的 AOA 群落^[42]。对来自旧金山海湾的 AOA 序列进行系统发育分析发现,低盐度区域的序列可以聚成一独特的大类^[43],因此提出了低盐浓度种系类型的设想,但现在所获得的 AOA 序列量还不足以证明。溶解氧也是影响 AOA 组成的重要因素^[64],使得 AOA/ β -AOB 值产生变化的同时,也对 AOA 系统发育类型具有选择性^[61,65]。AOA 群落组成也与温度密切相关^[43],且其多样性随温度的降低而下降^[66]。植被类型会对 AOA 群落组成产生影响,互花米草的入侵也会提高沉积物中 AOA 群落多样性^[47]。Fitzroy 河口,AOA 群落组成因河口空间而变化,并与 C/N 密切相关,并发现了可能是由于地表径流导致河口沉积物中也存在陆地生态系统的 AOA 群落^[67]。可见,河口湿地与陆地生态系统间存在着密切联系。

2 河口 AOA 和 AOB 含量及其与环境因子相关性

2.1 AOA 和 AOB 的含量和分布

AOA 和 AOB 含量,在不同河口的研究结果都不太一致。应用定量 PCR 方法测定结果表明,每克干沉积物中 AOA-*amoA* 基因拷贝数从 10^4 到 10^9 ^[34,43,64]不等。在现有菌株 *N. maritimus* 中,AOA 基因组中只含有 1 个拷贝的 *amoA* 基因^[34]。AOA 含量的变化范围,可能反映了不同地点间的特异性差异,但由于应用不同引物进行定量 PCR 测定的值是可变的,所以它可能存在方法学上的缺陷。目前为止,至少有 9 种不同引物和/或引物组合^[23],可用于 AOA 定量分析,引物不同会使得因其特异性不同而影响到测定的 AOA 绝对拷贝数。然而,在同一系统中,应用相同引物和反应参数分析 AOA,其含量变化有时会超过 4 个数量级^[34],因此河口 AOA 含量差异不可能仅仅是由于方法学差异造成的^[20]。

河口系统中 AOB 含量也具有相当大的变异性,每克干沉积物中拷贝数的变化范围从 10^4 到 10^8 ^[34,43,64,68]。

与 AOA-*amoA* 基因不同的是,在已获得的 AOB 菌株基因组中皆含有多个拷贝的 *amoA* 基因^[23];尽管已有多对引物用于 AOB 的研究^[23],但绝大多数河口 AOB-*amoA* 基因研究常使用由 Rotthauwe 等^[28]发表的引物。使用同一引物对不同环境中功能基因进行研究所具有的缺陷,最近已被确认^[69],但与用不同引物研究不同河口间 AOA 多样性相比,AOB 研究可能更具有可比性。

2.2 AOA 和 AOB 的含量和环境因子的相关性

尽管对基于系统发育类型的可操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTUs) 分析表明,来自不同河口 AOA-*amoA* 物种丰富度皆高于 AOB-*amoA*^[20]。但对两者的 *amoA* 基因绝对含量而言,受盐度、植被、pH 值等环境因子影响,河口生态系统中的 AOA/AOB 比值则具有更大变异性。一般认为, AOA/AOB 比值随盐度的增多而降低 (图 2)。如:在旧金山海湾研究^[43]即发现,从 San Pablo 到南部高盐度地区, AOB/AOA 平均比值达 215;在北部低盐度区, AOA 含量高达 AOB 含量的 47 倍;而在上述两地过渡区域西北部地区, AOA 和 AOB 含量相当。在 Huntington 海滩和 Plum Island Sound 的研究中,也得到了类似的结果,即:随着盐度的增加两者比例普遍降低,但 AOA 含量总高于 AOB^[70]。Barn Island 滩涂中, AOA 含量也总是高于 AOB,且盐度皆与 AOA 和 AOB 呈显著负相关;狐米草覆盖的 AOA/AOB 比值总是高于互花米草, pH 值也与 AOA 含量呈负相关^[34]。但 Weeks 湾^[71]和 Elkhorn Slough 河口^[21]中, AOB 含量皆高于 AOA。

盐度常被认为是调节河口氨氧化菌群落组成和含量的关键因素,但不是唯一因素,还与许多其它因素共同起作用,例如:增加氧的有效性和降低 C/N 比,均会增加 AOA 数量^[42-43]。在 Westerschelde 河口中发现, AOA 和 AOB 的含量随盐度和温度而变化^[30]。 AOA 含量也与沉积物粘粒和铅含量有密切相关^[37]。可溶性硫化物含量与 AOA 则成负相关关系^[71]。植被对 *amoA* 基因拷贝数也会产生明显的影响, Savannah 和 Barn Island 盐沼地中,高杆互花米草下 AOB 的含量高于矮杆互花米草的沉积物^[34,72],且含量多少随不同土层和季节而异^[68,72]。 Barn Island 滩涂中,狐米草覆盖的沉积物 AOA/AOB 比值总是高于互花米草, pH 值也与 AOA 含量呈负相关^[34]。但没有发现河口生态系统中可溶性无机氮和 AOA 含量具相关性。许多研究表明,在农业土壤中添加铵肥,会导致 AOB 含量相对增加^[3,73]。在 O'Mullan 等^[35]的研究中,也没有发现 AOB 丰富度与环境因子具有相关关系。因此,在这些 AOA 和 AOB 相对含量转变的背后驱动力以及在河口与海洋系统之间可能的代谢机制,仍有待于进一步研究。

3 河口 AOA 和 AOB 的活性

研究河口生态系统中 AOA 和 AOB 的组成和含量,可能有助于人们了解其主要生态作用。但这些功能菌群的多样性是否在硝化作用等生化过程中起重要作用,尤其是介于功能基因多样性与相应酶所调控的氮转化率之间相关性的了解,是研究河口氨氧化菌多样性的关键问题。

3.1 氨氧化菌含量与硝化作用的相关性

沿着河口盐度梯度对 β -AOB 含量和硝化速率的研究表明, β -AOB 群落在功能上存在明显不同,在低盐度区域为高硝化速率和低 β -AOB 含量,可能存在有其它氨氧化菌产生硝化作用,或细胞上存在有极端不同的氨

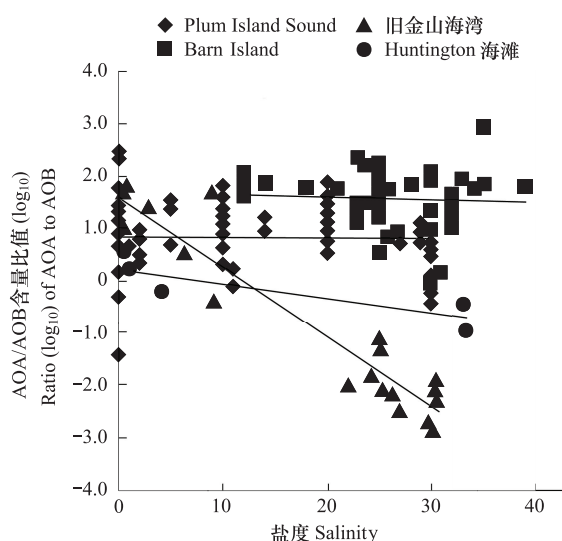


图2 来自 Plum Island Sound^[68,70]、Barn Island^[34]、旧金山海湾^[43]和 Huntington^[64]四个不同地区河口沉积物中 AOA/AOB 比值与盐度的相关性^[20]

Fig. 2 Relationship between AOA to AOB ratios and salinity from four different estuaries^[20]: Plum Island Sound^[68,70], Barn Island salt marsh^[34], San Francisco Bay^[43] and in Huntington Beach^[64]

氧化动力学机制^[68]。对澳大利亚 6 个河口的研究发现,只有 2 个地方的 AOA 含量与潜在硝化速率间具有显著正相关^[71]。而 Connecticut 盐沼地^[31]和 Plum Island Sound^[70]中,潜在硝化速率与 AOA 含量之间无相关性,且 β -AOB 含量也与潜在硝化速率无明显相关。但 Savannah^[72]和 Norsminde Fjord^[73]的沉积物中,潜在硝化速率与 AOB 含量成正相关。这可能是由于我们对硝化活性和微生物之间的相关关系理解不全面,或者是在研究方法上存在缺陷。应用碳同位素示踪与分子生物学方法相结合,发现 AOA 可能在硝化作用^[74]以及碳循环^[75]中起着重要的作用。也有研究采用类似的方法,证明了 AOB 在硝化作用中起着重要作用^[76-78]。Freitag 等^[37]应用稳定同位素探针法在苏格兰 Ythan 河口鉴定出了 *N. cryotolerans* 和 *Nitrosospira* sp. Nm143 菌株为活性硝化菌。

3.2 河口的硝化作用与环境因子相关性

理化性质随着河口环境因子呈梯度变化而影响硝化速率已被证实。环境中的潜在硝化作用与 *amoA* 基因含量和组成关系密切^[3,5-6,79-80]。研究表明,随着盐度的增加,硝化作用降低^[15,81],这可能是由于盐度在控制 NH_4^+ 吸附沉积物上起着重要作用,且随着盐度增加, NH_4^+ 溢出^[82]。同时,盐度也影响着氨氧化菌群落的组成^[41,68,83]。AOA 分布可能解释了沿着盐度梯度而变化着的硝化速率,但在中低盐浓度下,AOA 和 AOB 含量与硝化速率没有明显的相关性;高盐度区域的硝化速率急剧降低^[70]。添加 Fe^{3+} 缓解了硫化物对硝化作用的抑制,滩涂中的小型生物的扰动作用会影响沉积物的氧化还原电位等理化性质,从而影响硝化作用^[72]。不同季节的潜在硝化速率也不同,春天明显高于夏季末^[68],4 月份的显著高于 10 月份的^[34]。

植被也是影响硝化作用的重要因子。Dollhopf 等^[72]发现,与矮杆互花米草和无植被沉积物的硝化速率相比,覆盖高杆互花米草的硝化速率减少了一个数量级,且潜在硝化速率与反硝化速率之间呈显著正相关。Caffrey 等^[71]认为,植被覆盖的沉积物由于 O_2 和含碳量的提高使其硝化速率高于无植被覆盖的 4—20 倍。Moin 等^[34]报道了 3 种不同盐沼草之间沉积物的潜在硝化速率没有显著差异。也有研究认为,植被覆盖下沉积物硝化作用的变化,可能是因为根际分泌的氧气有助于沉积物氧化^[72,84],并刺激硝化作用^[85]。也有研究认为根系分泌的含碳化合物会提高呼吸作用和氧气的消耗^[72],而影响硝化作用。

此外,Wankel 等^[21]应用¹⁵N 同位素法对 Elkhorn Slough 河口的氮转化率进行研究,发现在较少受农业生产影响、养分含量较低的地方,硝化速率高于农业生产区域、养分含量较多的区域,但未发现 AOA 和 β -AOB 含量与硝化速率之间具有相关性。

4 问题与展望

4.1 建立有效的氨氧化菌活性的评价方法

潜在硝化速率(PNR)常作为指示氨氧化菌硝化作用的重要生理指标。通过添加铵到沉积物中,经震荡培养一段时间后测定产生的硝酸盐含量,是常用的测定 PNR 的方法,但由于震荡过程中破坏了沉积物结构,测出的 PNR 值明显高于原位测定结果,因而无法确定是添加了铵还是没有氧气限制的条件下刺激了硝化作用^[20]。因此,不准确的 PNR 和氨氧化菌的测定,可能会导致这种相关性与预期结果出现偏差^[20]。而且在试验过程中,添加 NH_4^+ 和 O_2 的培养,可能会使有些氨氧化菌活性滞后,使得 PNR 无法体现所有硝化菌的贡献。相关研究表明,氨氧化古菌 *N. maritimus* 菌株的生长与铵具有很高相关性,但 NH_4^+ 浓度(0.3—0.5 mmol/L)对其 PNR 没有抑制作用^[86]。AOB 经逆境处理后再进行培养,其潜在硝化速率会产生明显变化^[87]。另外,氮同位素稀释法也可以用于阐明土壤中氮的转化效率^[88]。

已有绝多数研究采用定量 PCR 方法测定 AOA 和 AOB 绝对含量,但这个方法在对潜在微生物群落种类测定上可能会存在偏差。因为引物设计通常是以以前所获得的 DNA 序列为目标,但由于几乎每个研究中都有新序列发现,DNA 序列库中的数据不断增加,因此引物可能无法扩增到所有的氨氧化菌^[87,89]。另外,仅仅测定 *amoA* 基因的绝对含量,并不能说明其生物活性^[76]。

4.2 AOA 究竟属于自养、异养还是混养?

对碳利用的理解仍然困扰着人们对 AOA 群落的研究,而了解其同化作用的方式是理解古菌对全球生态

系统影响的最重要内容。有研究发现,一些海洋泉古菌能够吸收有机化合物^[90]。但对 *N. maritimus* 测试表明,其生长会被少量的有机碳所抑制^[5]。Zhang 等^[74]应用稳定同位素探针(SIP)方法,也证实了农业土壤中氨氧化古菌是营自养方式生长。Pratscher 等^[75]通过 DNA-SIP、mRNA-SIP 和 CARD-FISH 方法相结合研究,发现 AOA 在氨氧化过程中起着重要作用,同时在碳同化中也表现出了多样性和动力学活性。在对海绵共生体 *Cenarchaeum symbiosum* 的基因组研究中发现,*C. symbiosum* 含有类似于编码固定碳的 3-羟基丙酸途径(指示自养同化过程)和几乎完整的三羧酸(TCA)循环(指示异养同化过程)的基因,认为其具有混养(自养和异养兼有)代谢的遗传因子^[62]。但 Agogue 等^[97]对北大西洋深海中无光照下碳的固定速率和 *amoA* 丰富度进行分析,认为泉古菌不是自养的。Pearson 等^[92]报道了在古菌上的类异戊二烯的 δ -¹⁴C 标记,与化能自养生长在透光层下是一致的。Wuchter 等^[93]应用放射性标记重碳酸盐证明了海洋泉古菌在缺乏光照下,能够把重碳酸盐吸收进入泉古菌特异脂 Crenarchaeol 中。Herndl 等^[94]在大西洋进行研究也发现,当深度增加到 3000m 时, Crenarchaeota 对重碳酸盐的吸收也随着增加。但对 AOA 是否营异养、自养,还是两者同化作用的方式同时存在等问题的回答,可能只有通过富集培养所获得的菌株才能够得到充分解释。

4.3 氨氧化菌多样性反映了河口环境因子动态变化,对河口环境质量起指示作用

河口沉积物是适合氨氧化菌生长的环境,可作为理想的天然实验室来探索 AOA 和 AOB 在不同生态位上的差异情况。环境因子对于河口沉积物中氨氧化菌群落的分布和活性起着重要的作用,氨氧化菌的分布可以用于指示环境质量的好坏,例如: *Nitrosomonas oligotropha* -like 序列主要分布在无污染区域^[37,44],建议用于作为指示环境质量的生物标记^[44]。

4.4 富集和培养我国河口丰富的 AOA 和 AOB 资源的重要性

在近 20a 时间里,微生物生态学领域常忽视了传统的菌落培养方法,而主要依靠微生物基因的分子生态学方法去研究种群和群落组成^[95-96]。然而,由于缺乏培养的菌株,对不同微生物在自然环境中的作用研究进展缓慢。分子技术应当植根于纯培养和富集培养试验。没有能够在试验室培养出微生物,很难真正理解它们的生理和代谢活性。基因的存在(甚至于表达)仅仅告诉人们可能潜在的生理代谢活性。纯培养 AOA 菌株的缺乏,就是一个很好的例子。直到拥有更多培养出来的菌株,才能确切地回答一些最迫切问题。比如,虽然 *amoA*、*amoB* 和 *amoC3* 个亚基已经在培养的古菌中被确认^[5,62],但至今在其基因组中没有可以氧化羟胺(氨氧化中间产物)的基因被鉴定^[62]。人们从 AOB 中发现的氨氧化的完整途径,推测 AOA 可能也通过不同的代谢途径氧化氨,但只有通过直接对纯培养菌株的生化和遗传特点的研究,才可能得到最好的答案。现已获得了越来越多的海洋泉古菌究竟是营异养或混养的证据^[74-75,90-91],但仍不清楚泉古菌是否能够吸收有机碳和进行硝化作用。只有经过培养收集到更多的 AOA 菌株,才会更全面地了解 AOA 分布和系统发育情况。

5 小结

河口生态系统是陆地、淡水和海洋交汇形成的特殊自然环境,它受人类活动、陆地生态系统和海洋生态系统的影响,是三者相互作用的耦合带,对形成它的各种因子作用的响应敏感,是脆弱的生态系统。而由氨氧化菌驱动的氨氧化作用对于缓解日益加剧的河口富营养化环境具有特别重要的意义。大量研究表明,河口生态系统中氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)的多样性、群落组成及其活性与河口生态系统中各种环境因子息息相关,并对急剧变化的环境因子作出相应的响应。在我国,已经对不同区域的河口开展了一些相关研究,并取得了进展,但由于我国近年来高度集约化农业和城市化的日益加剧,使得河口生态环境质量不断恶化。因此,综合应用环境生物学的多种研究方法(如:PCR-DGGE、T-RFLP、定量 PCR、转录基因组学、碳和氮同位素示踪、氮同位素稀释法、硝酸盐双向同位素、荧光原位杂交技术等)并与传统培养技术相结合,加速我国各河口生态系统 AOB 和 AOA 多样性特征及其对环境因子响应机理的系统研究,为河口地区因氮污染引起的环境问题的预测和调控提供科学依据。同时,迫切需要对各河口及滨海地区存在的氨氧化菌进行分离、纯化和培养,并将所获得的高氮转化率菌株应用于农业生产和污水处理等实际生产中去。

References:

- [1] Francis C A, Beman J M, Kuypers M M M. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *The ISME Journal*, 2007, 1(1): 19-27.
- [2] He J Z, Zhang L M. Advances in ammonia-oxidizing microorganisms and global nitrogen cycle. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 408-415.
- [3] Leininger S, Urlich T, Schlöter M, Schwark L, Qi J, Nicol G W, Prosser J I, Schuster S C, Schleper C. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, 442(7104): 806-809.
- [4] Prosser J I. Autotrophic nitrification in bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 1990, 30: 125-181.
- [5] Prosser J I, Nicol G W. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2931-2941.
- [6] 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.
- [7] Treusch A H, Leininger S, Kietzin A, Schuster S C, Klenk H P, Schleper C. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic Crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(12): 1985-1995.
- [8] del Giorgio P A, Bouvier T C. Linking the physiologic and phylogenetic successions in free-living bacterial communities along an estuarine salinity gradient. *Limnology and Oceanography*, 2002, 47(2): 471-486.
- [9] Crump B C, Hopkinson C S, Sogin M L, Hobbie J E. Microbial biogeography along an estuarine salinity gradient: combined influences of bacterial growth and residence time. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(3): 1494-1505.
- [10] Hewson I, Fuhrman J A. Richness and diversity of bacterioplankton species along an estuarine gradient in Moreton Bay, Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(6): 3425-3433.
- [11] Bernhard A E, Colbert D, McManus J, Field K G. Microbial community dynamics based on 16S rRNA gene profiles in a Pacific Northwest estuary and its tributaries. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005a, 52(1): 115-128.
- [12] Jenkins M C, Kemp W M. The coupling of nitrification and denitrification in two estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, 1984, 29(3): 609-619.
- [13] Sebilo M, Billen G, Mayer B, Billiou D, Grably M, Garnier J, Mariotti A. Assessing nitrification and denitrification in the Seine River and estuary using chemical and isotopic techniques. *Ecosystems*, 2006, 9(4): 564-577.
- [14] Xu J R, Wang Y S, Sun S. The characteristics of nitrogen fixation, ammonification, nitrification and denitrification in coastal zones. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(12): 2907-2914.
- [15] Seitzinger S P. Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: ecological and geochemical significance. *Limnology and Oceanography*, 1988, 33(4 part2): 702-724.
- [16] Seitzinger S P, Harrison J A, Böhlke J K, Bouwman A F, Lowrance R, Peterson B, Tobias C, van Drecht G. Denitrification across landscapes and waterscapes: a synthesis. *Ecological Applications*, 2006, 16(6): 2064-2090.
- [17] Glibert P M, Seitzinger S, Heil C A, Burkholder J M, Parrow M W, Codispoti L A, Kelly V. The role of eutrophication in the global proliferation of harmful algal blooms. *Oceanography*, 2005, 18(2): 198-209.
- [18] Xu J R, Wang Y S, Yin J P, Wang Q J, Zhang F Q, He L, Sun C C. Transformation of dissolved inorganic nitrogen species and nitrification and denitrification processes in the near sea section of Zhujiang River. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(5): 686-692.
- [19] Erguder T H, Boon N, Wittebolle L, Marzorati M, Verstraete W. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(5): 855-869.
- [20] Bernhard A E, Bollmann A. Estuarine nitrifiers: new players, patterns and processes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2010a, 88(1): 1-11.
- [21] Wankel S D, Mosier A C, Hansel C M, Paytan A, Francis C A. Spatial variability in nitrification rates and ammonia-oxidizing microbial communities in the agriculturally impacted Elkhorn Slough Estuary, California. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(1): 269-280.
- [22] Purkhold U, Pommerening-Röser A, Juretschko S, Schmid M C, Koops H P, Wagner M. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and *amoA* sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(12): 5368-5382.
- [23] Junier P, Molina V, Dorador C, Hadas O, Kim O S, Junier T, Witzel K P, Imhoff J F. Phylogenetic and functional marker genes to study ammonia-oxidizing microorganisms (AOM) in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(3): 425-440.
- [24] Stephen J R, McCaig A E, Smith Z, Prosser J I, Embley T M. Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to β -subgroup ammonia-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(11): 4147-4154.
- [25] Avrahami S, Conrad R. Patterns of community change among ammonia oxidizers in meadow soils upon long-term incubation at different temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(10): 6152-6164.
- [26] Hao Y J, Wu S W, Wu W X, Chen Y X. Research progress on the microbial ecology of aerobic ammonia-oxidizing bacteria. *Acta Ecologica*

- Sinica, 2007, 27(4): 1573-1582.
- [27] Nold S C, Zhou J Z, Devol A H, Tiedje J M. Pacific Northwest marine sediments contain ammonia-oxidizing bacteria in the β subdivision of the *Proteobacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10): 4532-4535.
- [28] Rotthauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker; molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [29] Nicol G W, Leininger S, Schleper C, Prosser J I. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2966-2978.
- [30] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing *archaea* and *bacteria* in sediments of the Westerschelde estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64(2): 175-186.
- [31] Woese C R, Weisburg W G, Paster B J, Hahn C M, Tanner R S, Krieg N R, Koops H P, Harms H, Stackebrandt E. The phylogeny of purple bacteria; the beta subdivision. *Systematic and Applied Microbiology*, 1984, 5: 327-336.
- [32] Woese C R, Weisburg W G, Hahn C M, Paster B J, Zablen L B, Lewis B J, Macke T J, Ludwig W, Stackebrandt E. The phylogeny of purple bacteria; the gamma subdivision. *Systematic and Applied Microbiology*, 1985, 6: 25-33.
- [33] Ward B B, Eveillard D, Kirshtein J D, Nelson J D, Voytek M A, Jackson G A. Ammonia-oxidizing bacterial community composition in estuarine and oceanic environments assessed using a functional gene microarray. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(10): 2522-2538.
- [34] Moin N S, Nelson K A, Bush A, Bernhard A E. Distribution and diversity of archaeal and bacterial ammonia oxidizers in salt marsh sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7461-7468.
- [35] O'Mullan G D, Ward B B. Relationship of temporal and spatial variabilities of ammonia-oxidizing bacteria to nitrification rates in Monterey Bay, California. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(2): 697-705.
- [36] Head I M, Hiorns W D, Embley T M, McCarthy A J, Saunders J R. The phylogeny of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as determined by analysis of 16S ribosomal RNA gene sequences. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139(Pt 6): 1147-1153.
- [37] Freitag T E, Chang L, Prosser J I. Changes in the community structure and activity of betaproteobacterial ammonia-oxidizing sediment bacteria along a freshwater-marine gradient. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(4): 684-696.
- [38] Francis C A, O'Mullan G D, Ward B B. Diversity of ammonia monooxygenase (*amoA*) genes across environmental gradients in Chesapeake Bay sediments. *Geobiology*, 2003, 1(2): 129-140.
- [39] Bernhard A E, Donn T, Giblin A E, Stahl D A. Loss of diversity of ammonia-oxidizing bacteria correlates with increasing salinity in an estuary system. *Environmental Microbiology*, 2005b, 7(9): 1289-1297.
- [40] Bollmann A, Laanbroek H J. Influence of oxygen partial pressure and salinity on the community composition of ammonia-oxidizing bacteria in the Schelde estuary. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 28(3): 239-247.
- [41] de Bie M J M, Speksnijder A G C L, Kowalchuk G A, Schuurman T, Zwart G, Stephen J R, Diekmann O E, Laanbroek H J. Shifts in the dominant populations of ammonia-oxidizing beta-subclass proteobacteria along the eutrophic Schelde estuary. *Aquatic Microbial Ecology*, 2001, 23(3): 225-236.
- [42] Beman J M, Francis C A. Diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of a hypernutrified subtropical estuary: Bahía del Tóbari, Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(12): 7767-7777.
- [43] Mosier A C, Francis C A. Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 3002-3016.
- [44] Dang H Y, Zhang X X, Sun J, Li T G, Zhang Z N, Yang G P. Diversity and spatial distribution of sediment ammonia-oxidizing crenarchaeota in response to estuarine and environmental gradients in the Changjiang Estuary and East China Sea. *Microbiology*, 2008, 154(7): 2084-2095.
- [45] Cao H L, Hong Y G, Li M, Gu J D. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing prokaryotes in sediments from the coastal Pearl River estuary to the South China Sea. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2011, 100(4): 545-556.
- [46] Urakawa H, Kurata S, Fujiwara T, Kuroiwa D, Maki H, Kawabata S, Hiwatari T, Ando H, Kawai T, Watanabe M, Kohata K. Characterization and quantification of ammonia-oxidizing bacteria in eutrophic coastal marine sediments using polyphasic molecular approaches and immunofluorescence staining. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(5): 787-803.
- [47] Zhang Q F, Peng J J, Chen Q, Li X F, Xu C Y, Yin H B, Yu S. Impacts of *Spartina alterniflora* invasion on abundance and composition of ammonia oxidizers in estuarine sediment. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, 11(6): 1020-1030.
- [48] Tourna M, Freitag T E, Nicol G W, Prosser J I. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(5): 1357-1364.
- [49] Suwa Y, Sumino T, Noto K. Phylogenetic relationships of activated sludge isolates of ammonia oxidizers with different sensitivities to ammonium sulfate. *Journal of General and Applied Microbiology*, 1997, 43(6): 373-379.
- [50] Schramm A, de Beer D, Gieseke A, Amann R. Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. *Environmental Microbiology*, 2000, 2(6): 680-686.
- [51] Gieseke A, Purkhold U, Wagner M, Amann R, Schramm A. Community structure and activity dynamics of nitrifying bacteria in a phosphate-

- removing biofilm. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(3): 1351-1362.
- [52] DeLong E F. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5685-5689.
- [53] Fuhrman J A, McCallum K, Davies A A. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356(6365): 148-149.
- [54] Karner M B, DeLong E F, Karl D M. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 409(6819): 507-510.
- [55] Bintrim S B, Donohue T J, Handelsman J, Roberts G P, Goodman R M. Molecular phylogeny of Archaea from soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(1): 277-282.
- [56] MacGregor B J, Moser D P, Alm E W, Nealson K H, Stahl D A. Crenarchaeota in Lake Michigan sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(3): 1178-1181.
- [57] Ochsenreiter T, Selezi D, Quaiser A, Bonch-Osmolovskaya L, Schleper C. Diversity and abundance of Crenarchaeota in terrestrial habitats studied by 16S RNA surveys and real time PCR. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(9): 787-797.
- [58] Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, Halpern A L, Rusch D, Eisen J A, Wu D Y, Paulsen I, Nelson K E, Nelson W, Fouts D E, Levy S, Knap A H, Lomas M W, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers Y H, Smith H O. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, 304(5667): 66-74.
- [59] Spang A, Hatzepichler R, Brochier-Armanet C, Rattei T, Tischler P, Spieck E, Streit W, Stahl D A, Wagner M, Schleper C. Distinct gene set in two different lineages of ammonia-oxidizing archaea supports the phylum Thaumarchaeota. *Trends in Microbiology*, 2010, 18(8): 331-340.
- [60] 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 of the United States of America*, 2005, 102(41): 14683-14688.
- [61] Park S J, Park B J, Rhee S K. Comparative analysis of archaeal 16S rRNA and *amoA* genes to estimate the abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in marine sediments. *Extremophiles*, 2008, 12(4): 605-615.
- [62] Hallam S J, Konstantinidis K T, Putnam N, Schleper C, Watanabe Y I, Sugahara J, Preston C, de la Torre J, Richardson P M, DeLong E F. Genomic analysis of the uncultivated marine crenarchaeote *Cenarchaeum symbiosum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(48): 18296-18301.
- [63] Mincer T J, Church M J, Taylor L T, Preston C, Karl D M, DeLong E F. Quantitative distribution of presumptive archaeal and bacterial nitrifiers in Monterey bay and the North Pacific subtropical Gyre. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(5): 1162-1175.
- [64] Santoro A E, Francis C A, De Sieyes N R, Boehm A B. Shifts in the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across physicochemical gradients in a subterranean estuary. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(4): 1068-1079.
- [65] 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 of the United States of America*, 2007, 104(17): 7104-7109.
- [66] Urakawa H, Tajima Y, Numata Y, Tsuneda S. Low temperature decreases the phylogenetic diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in aquarium biofiltration systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(3): 894-900.
- [67] Abell G C J, Revill A T, Smith C, Bissett A P, Volkman J K, Robert S S. Archaeal ammonia oxidizers and *nirS*-type denitrifiers dominate sediment nitrifying and denitrifying populations in a subtropical macrotidal estuary. *The ISME Journal*, 2010, 4(2): 286-300.
- [68] Bernhard A E, Tucker J, Giblin A E, Stahl D A. Functionally distinct communities of ammonia-oxidizing bacteria along an estuarine salinity gradient. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(6): 1439-1447.
- [69] Hornek R, Pommerening-Rüser A, Koops H P, Farnleitner A H, Kreuzinger N, Kirschner A, Mach R L. Primers containing universal bases reduce multiple *amoA* gene specific DGGE band patterns when analysing the diversity of beta-ammonia oxidizers in the environment. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 66(1): 147-155.
- [70] Bernhard A E, Landry Z C, Blevins A, de la Torre J R, Giblin A E, Stahl D A. Abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria along an estuarine salinity gradient in relation to potential nitrification rates. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010b, 76(4): 1284-1289.
- [71] Caffrey J M, Bano N, Kalanetra K, Hollibaugh J T. Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia. *The ISME Journal*, 2007, 1(7): 660-662.
- [72] Dollhopf S L, Hyun J H, Smith A C, Adams H J, O'Brien S, Kostka J E. Quantification of ammonia-oxidizing bacteria and factors controlling nitrification in salt marsh sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(1): 240-246.
- [73] Chen X P, Zhu Y G, Xia Y, Shen J P, He J Z. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? *Environmental Microbiology*, 2008, 10(8): 1978-1987.
- [74] Zhang L M, Offre P R, He J Z, Verhamme D T, Nicol G W, Prosser J I. Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(40): 17240-17245.
- [75] Pratscher J, Dumont M G, Conrad R. Ammonia oxidation coupled to CO₂ fixation by archaea and bacteria in an agricultural soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(10): 4170-4175.
- [76] Jia Z J, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, 2009,

- 11(7): 1658-1671.
- [77] Xia W W, Zhang C X, Zeng X W, Feng Y Z, Weng J H, Lin X G, Zhu J G, Xiong Z Q, Xu J, Cai Z C, Jia Z J. Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 2011, 5(7): 1226-1236.
- [78] 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.
- [79] 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 of the United States of America*, 2006, 103(33): 12317-12322.
- [80] Beman J M, Popp B N, Francis C A. Molecular and biogeochemical evidence for ammonia oxidation by marine Crenarchaeota in the Gulf of California. *The ISME Journal*, 2008, 2(4): 429-441.
- [81] Rysgaard S, Thastum P, Dalsgaard T, Christensen P B, Sloth N P. Effects of salinity on NH_4^+ adsorption capacity, nitrification, and denitrification in Danish estuarine sediments. *Estuaries and Coasts*, 1999, 22(1): 21-30.
- [82] Boynton W R, Kemp W M. Nutrient regeneration and oxygen consumption by sediments along an estuarine salinity gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 1985, 23(1): 45-55.
- [83] Bollmann A, Bär-Gilissen M J, Laanbroek H J. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(10): 4751-4757.
- [84] Mendelssohn I A, McKee K L, Patrick W H Jr. Oxygen deficiency in *Spartina alterniflora* roots: metabolic adaptation to anoxia. *Science*, 1981, 214(4519): 439-441.
- [85] An S, Joye S B. Enhancement of coupled nitrification-denitrification by benthic photosynthesis in shallow estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(1): 62-74.
- [86] Martens-Habben W, Berube P M, Urakawa H, de la Torre J R, Stahl D A. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying archaea and bacteria. *Nature*, 2009, 461(7266): 976-979.
- [87] Suzuki M T, Rappé M S, Giovannoni S J. Kinetic bias in estimates of coastal picoplankton community structure obtained by measurements of small-subunit rRNA gene PCR amplicon length heterogeneity. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(11): 4522-4529.
- [88] Hawkes C V, Wren I F, Herman D J, Firestone M K. Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecology Letters*, 2005, 8(9): 976-985.
- [89] Acinas S G, Sarma-Rupavtarm R, Klepac-Ceraj V, Polz M F. PCR-induced sequence artifacts and bias: insights from comparison of two 16S rRNA clone libraries constructed from the same sample. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8966-8969.
- [90] Ingalls A E, Shah S R, Hansman R L, Aluwihare L I, Santos G M, Druffel E R M, Pearson A. Quantifying archaeal community autotrophy in the mesopelagic ocean using natural radiocarbon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(17): 6442-6447.
- [91] Hommes N G, Sayavedra-Soto L A, Arp D J. Chemolithoorganotrophic growth of *Nitrosomonas europaea* on fructose. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(23): 6809-6814.
- [92] Pearson A, McNichol A P, Benitez-Nelson B C, Hayes J M, Eglinton T I. Origins of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment: a case study using compound-specific $\Delta^{14}\text{C}$ analysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2001, 65(18): 3123-3137.
- [93] Wuchter C, Schouten S, Boschker H T S, Damsté J S S. Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 219(2): 203-207.
- [94] Herndl G J, Reinthaler T, Teira E, van Aken H, Veth C, Pernthaler A, Pernthaler J. Contribution of *archaea* to total prokaryotic production in the deep Atlantic Ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(5): 2303-2309.
- [95] Pace N R, Stahl D A, Lane D J, Olsen G J. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *Advances in Microbial Ecology*, 1986, 9: 155.
- [96] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 1995, 59(1): 143-169.
- [97] Agogue H, Brink M, Dinasquet J, Herndl G J. Major gradients in putatively nitrifying and non-nitrifying Archaea in the deep North Atlantic. *Nature*, 2008, 456(7223): 788-792.

参考文献:

- [2] 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.
- [14] 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.
- [18] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 王清吉, 张凤琴, 何磊, 孙翠慈. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用. *环境科学学报*, 2005, 25(5): 686-692.
- [26] 郝永俊, 吴松维, 吴伟祥, 陈英旭. 好氧氨氧化菌的种群生态学研究进展. *生态学报*, 2007, 27(4): 1573-1582.

CONTENTS

Hyperspectral characteristics of typical subtropical trees at different levels of simulated acid rain	SHI Qilong, JIANG Hong, CHEN Jian, et al (5621)
Wind fields and the development of wind corridors in the urban metropolis of the Pearl River Delta	SUN Wu, WANG Yiming, WANG Yuelei, et al (5630)
Dynamics of canopy structure and understory light in montane evergreen broadleaved forest following a natural disturbance in North Guangdong	OU Yudian, SU Zhiyao (5637)
The influence of 4 species of preys on the development and fecundity of <i>Orius similis</i> Zheng	ZHANG Changrong, ZHI Junrui, MO Lifeng (5646)
Woody seedling regeneration in secondary succession of monsoon broad-leaved evergreen forest in Puer, Yunnan, Southwest China	LI Shuaifeng, LIU Wande, SU Jianrong, et al (5653)
Scale-dependent spatial variation of species abundance and richness in two mixed evergreen-deciduous broad-leaved karst forests, Southwest China	ZHANG Zhonghua, HU Gang, ZHU Jiedong, et al (5663)
The spatial heterogeneity of soil nutrients in a mid-subtropical <i>Castanopsis kawakamii</i> natural forest	SU Songjin, LIU Jinfu, HE Zhongsheng, et al (5673)
Effects of <i>Vetiveria zizanioides</i> L. growth on chemical and biological properties of copper mine tailing wastelands	XU Decong, ZHAN Jing, CHEN Zheng, et al (5683)
Effects of different irrigation regimes on characteristics of transpiring water-consumption of three desert species	SHAN Lishan, LI Yi, ZHANG Ximing, et al (5692)
The response of euhalophyte <i>Salicornia europaea</i> L. to different nitrogen forms	NIE Lingling, FENG Juanjuan, LÜ Sulian, et al (5703)
Dynamic analysis on spatial pattern of dominant tree species of cold-temperate coniferous forest in the succession process in the Pangquangou Nature Reserve	ZHANG Qindi, BI Runcheng, ZHANG Jintun, et al (5713)
Effects of AM fungi on the growth and nutrients of <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge. under different soil water and fertilizer conditions	HE Xueli, MA Li, MENG Jingjing, et al (5721)
The dynamics of soil respiration in a winter wheat field with plastic mulched-ridges and unmulched furrows	SHANGGUAN Yuxian, SHI Ripeng, HAN Kun, et al (5729)
Cattle dung composted by different methods had different effects on the growth and quality of soybean	GUO Liyue, LIU XueMei, ZHAN Lijie, et al (5738)
Nitrogen budget modelling at the headwaters of Urumqi River Based on the atmospheric deposition and runoff	WANG Shengjie, ZHANG Mingjun, WANG Feiteng, et al (5747)
Evaluating the ecosystem sustainability of circular agriculture based on the energy theory: a case study of the Xingyuan circular agriculture demonstration site in Fuqing City, Fujian	ZHONG Zhenmei, WENG Boqi, HUANG Qinlou, et al (5755)
Effects of cold exposure and recovery on viability and energy consumption in the sub-adult female giant spiny frogs (<i>Paa spinosa</i>)	LING Yun, SHAO Chen, XIE Zhigang, et al (5763)
A comparison of night-interruption on diapause-averting among two populations of the cotton bollworm, <i>Helicoverpa armigera</i>	CHEN Yuansheng, TU Xiaoyun, CHEN Chao, et al (5770)
Effects of soil erosion control measures on soil organic carbon and total nitrogen in a small watershed	ZHANG Yanjun, GUO Shengli, NAN Yafang, et al (5777)
Comparative analysis of Lugu Lake watershed ecosystem function under different management authorities	DONG Rencai, GOU Yaqing, LI Siyuan, et al (5786)
Relationship between fish community diversity and environmental factors in the Lianjiang River, Guangdong, China	LI Jie, LI Xinhui, JIA Xiaoping, et al (5795)
Effect of dissolved oxygen level on metabolic mode in juvenile crucian carp	ZHANG Wei, CAO Zhendong, FU Shijian (5806)
Community composition of net-phytoplankton and its relationship with the environmental factors at artificial reef area in Xiangshan Bay	JIANG Zhibing, CHEN Quanzhen, SHOU Lu, et al (5813)
Emergency appraisal on the loss of ecosystem service caused by marine reclamation: a case study in the Taozi Bay	LI Ruiqian, MENG Fanping (5825)
Assessing the visual quality of urban waterfront landscapes: the case of Hefei, China	YAO Yumin, ZHU Xiaodong, XU Yingbi, et al (5836)
Review and Monograph	
Advances in ecological genomics	SHI Yongbin, LI Junmin, JIN Zexin (5846)
Advances in studies of ecological effects of ocean acidification	WANG Siru, YIN Kedong, CAI Weijun, et al (5859)
Advances in feeding ecology of <i>Acartia</i>	HU Simin, LIU Sheng, LI Tao, et al (5870)
Research progress on ammonia-oxidizing microorganisms in estuarine ecosystem	ZHANG Qiufang, XU Jirong, SU Jianqiang, et al (5878)
Recent progress in research on neutrophilic, microaerophilic iron(II)-oxidizing bacteria	LIN Chaofeng, GONG Jun (5889)
A comparison study on primary production in typical low-latitude seas (South China Sea and Bay of Bengal)	LIU Huaxue, SONG Xingyu, HUANG Honghui, et al (5900)
Advances in leaf maximum carboxylation rate and its response to environmental factors	ZHANG Yanmin, ZHOU Guangsheng (5907)
10-years of bird habitat selection studies in mainland China: a review	JIANG Aiwu, ZHOU Fang, QIN Yue, et al (5918)
Scientific Note	
The effects of incubation temperature on embryonic metabolism and hatchling behavior in the Red-banded Snake, <i>Dinodon rufonotatum</i>	SUN Wenjia, YU Xiao, CAO Mengjie, et al (5924)
Sensitivity analysis and dynamics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and related parameters in red-yellow soil of tea garden with different fertilization practices	WANG Limin, QIU Shanlian, LIN Xinjian, et al (5930)
Effect of fertilizers on Cd uptake of two edible amaranthus herbs	LI Ningyu, LI Zhian, ZHUANG Ping, et al (5937)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

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 32 卷 第 18 期 (2012 年 9 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 18 (September, 2012)

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:1000717	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		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元