



长江口外低氧区及其邻近海域表层沉积物反硝化微生物多样性和分布特征

王鹏¹, 吴莹¹, 刘素美^{2,3}, 王晓娜¹, 戴金龙¹, 叶祁^{1*}

¹ 华东师范大学河口海岸学国家重点实验室, 上海 200241

² 中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100

³ 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266237

摘要:【目的】微生物参与的反硝化是河口区氮损失的主要途径。【方法】本研究采用 Illumina MiSeq 测序方法, 研究了长江口外低氧区及其邻近海域表层沉积物中 *nirS* 型和 *nirK* 型反硝化微生物群落的多样性和分布特征。【结果】样品共检测到 346 个 *nirS* Operational Taxonomic Units 和 267 个 *nirK* Operational Taxonomic Units, 根据采样地的环境特征及 *nirS* 型和 *nirK* 型反硝化微生物群落聚类分析结果将所有 Operational Taxonomic Units 划分为低氧区、南部区域及外部深水区, 其中外部深水区的样品 *nirS* 功能基因的多样性最高。各实验样地优势 Operational Taxonomic Units 在系统进化关系上可分为多个不同的簇。此次发现的所有优势 Operational Taxonomic Units 均属于未被培养的菌群, 其中部分 Operational Taxonomic Units 还是首次被发现。此外还发现 *nirS* 功能基因对低氧区的环境适应性更好。【结论】我们的研究表明广泛存在的反硝化微生物在河口沉积物的氮循环中发挥重要作用。

关键词: 长江口, 低氧区, *nirS*, *nirK*

河口区氮循环主要包括固氮、硝化、反硝化、厌氧氨氧化及硝酸盐异化还原成铵(Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)等过程^[1]。这些循环主要是由微生物推动的, 反硝化作为氮循环的途径之一是河口氮损失的主要途径。反硝化过程既可以用于支持某些微生物的呼吸^[2-3], 也

可缓解河口富营养化程度, 因此研究微生物参与的反硝化对河口环境具有重要意义^[4-5]。微生物体内编码与反硝化作用相关的关键酶的基因称之为功能基因^[6]。反硝化作用最常见的功能基因是编码异化亚硝酸盐还原酶的基因 *nirS* (编码细胞色素-cd1 酶)和 *nirK* (编码含铜酶), 它是将 NO_2^- 催化转

基金项目: 国家自然科学基金(41530960); 上海市自然科学基金(18ZR1410600)

*通信作者。Tel: +86-21-54836003; E-mail: qye@sklec.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2020-12-24; 修回日期: 2021-03-12; 网络出版日期: 2021-03-26

化为气态产物的第一步,即亚硝酸盐(NO_2^-)转化为一氧化氮(NO)。这两种基因有不同的进化史,但执行着相同的功能^[7],这两种功能基因是区分反硝化和其他硝酸盐还原过程的关键步骤^[8]。对功能基因的检测可以帮助我们更直观、深入地了解参与生物地球化学循环的微生物的群落结构及其影响因素。

长江是世界第三长河,每年流经河口地区向东海输送大量的氮营养盐^[9]。近几十年来,随着长江流域人口激增和工农业的迅猛发展,由渔业、农业生产、工业和生活废水排污等人文活动造成水生态系统中的氮污染已成为了长江口及邻近海域严重的环境问题^[10]。2000–2017年,长江口淡水端溶解无机氮(Dissolved inorganic nitrogen, DIN)浓度在 110–143 $\mu\text{mol/L}$ ($125 \pm 11 \mu\text{mol/L}$)波动;溶解无机磷(Dissolved inorganic phosphorus, DIP)浓度在 1.09–1.75 $\mu\text{mol/L}$ 变化,近 10 年波动较小^[11], N/P 值已高达 100, 含氮营养盐已显著过量。比如每年春夏季,过量的营养盐导致长江口地区的富营养化,进而引起藻华和低氧的发生^[12–13]。由微生物介导的氮清除过程是目前近海氮循环的研究热点,在以往对长江口反硝化微生物的研究中,*nirS* 功能基因在沉积物和水体中的群落结构、分布和其环境影响因素已被报道^[14–15]。基于长江口到东海海域反硝化 *nosZ* 功能基因的菌群组成和分布分析,通过 qPCR 对反硝化和厌氧氨氧化微生物丰度进行比较,发现反硝化是河口地区的主要氮清除过程,随着营养盐和有机物浓度的降低,厌氧氨氧化在开阔海洋海域更为重要^[16]。

水体中溶解氧(Dissolved oxygen, DO)对海洋生态系统非常重要^[17]。溶解氧值低于 2 mg/L 的水体通常称为低氧水体^[18]。目前长江口已成为世界

低氧海域的一个典型区域,而富营养化是引起长江口外低氧事件频发的重要原因^[19]。自 20 世纪 50 年代以来,一系列研究记录了长江口低氧现象的发生^[12,20–23],低氧区的位置每年存在差异^[24]。长江口外低氧区中心位于 123°E 31°N 附近,近年来有北移的趋势^[12]。2013 年夏季在长江口外发现 3 个低氧亚区,部分区域是新观测到的^[23]。微生物对溶解氧的消耗在低氧和缺氧的发展形成中起着重要作用,比如,应用 Illumina MiSeq 测序平台对 2013 年 8 月正在发生低氧的长江口外低氧区和邻近海域表层沉积物 16S rRNA V4–V5 高可变区高通量测序,发现在严重层化的区域中,好氧拟杆菌和浮霉菌降解有机物并消耗大量氧气的过程是造成低氧区的原因之一^[23]。

在低氧条件下,以硝酸盐为电子受体的反硝化过程是沉积物的重要氮去除途径^[3,25]。目前对长江口外低氧区和邻近海域微生物生态研究主要集中在细菌和古菌多样性分析^[23,26–27],但是缺乏针对反硝化微生物菌群结构和分布特征的研究。为此,本研究选取长江口夏季的低氧区及其邻近海域的表层沉积物样品,对其中的反硝化功能基因 *nirS* 和 *nirK* 进行高通量测序,探究:(1)两种功能基因的群落结构差异,(2)两种功能基因群落分布特征。研究结果将丰富对长江口外低氧区 *nirS* 和 *nirK* 功能基因的多样性及其分布特征的认识。

1 材料和方法

1.1 样品采集、前处理及保存

2013 年 8 月,在 R/V 东方红 2 号上使用箱式采泥器采集了 7 个站位的表层沉积物(0–3 cm)进行反硝化功能基因的测序分析,沉积物样品在船上以 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度冷冻保存,并使用冰盒运输至

实验室, 在实验室以 -80°C 的温度冷冻保存直至提取 DNA。底层海水样品由 Niskin 采样器采集, 底层水中溶解有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)样品在采集后立即用 $0.45\ \mu\text{m}$ 的尼龙滤头过滤、底层水 NO_3^- 样品在采集后立即用 $0.4\ \mu\text{m}$ 的聚碳酸酯膜过滤, 均放置在 -20°C 冷冻保存直至分析。

1.2 样品数据获取

温度和盐度等数据使用 CTD (Sea-Bird® 11plus, Sea-Bird Electronics, Bellevue, WS, USA) 获取; DO 数据由溶氧仪测得, 并使用 Winkler 的方法进行校正; 实验室使用 TOC 分析仪 (Shimadzu® TOC-L CPH, Japan) 测量 DOC 样品; 称取 5 g 左右未研磨沉积物进行粒度分析, 通过激光粒度仪 (LS-100Q) 测试得到数据, NO_3^- 样品采用德国 Seal Analytical 生产的 AH_A3 型连续流动分析仪测定, 使用 Cd-Cu 还原法和重氮偶氮法, $550\ \text{nm}$ 波长测定^[28]。

1.3 沉积物总 DNA 提取、PCR 和 Illumina MiSeq 测序

使用 MoBio PowerSoil® (MOBIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) 试剂盒, 每个样品称取 0.5–1.0 g 沉积物, 按说明书提取沉积物总 DNA, 用 NanoDrop ND2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) 分光光度法测定其浓度和纯度, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量于 -80°C 冷冻保存。样品总 DNA 由上海美吉生物公司应用 Illumina MiSeq 测序仪对 *nirS* 和 *nirK* 基因进行测序, 采用引物 cd3aF (5'-GTS AACGTS AAGGARACSGG-3') 和 R3cd (5'-GASTT CGGRTGSGTCTTGA-3') 对 *nirS* 基因进行扩增^[29], 采用引物 *nirK*1aCu (5'-ATCATGGTSCGTGCCGCG-

3') 和 *nirK*3Cu (5'-GCCTCGATCAG(A/G)TTGTG GTT-3') 对 *nirK* 基因进行扩增^[30]。20 μL 的反应体系包含: 使用 ABI GeneAmp® 9700 PCR System 一式三份进行 PCR 扩增, 总体积为 20 μL PCR 反应混合物, 其中包含 5×FastPfu 缓冲液(4 μL)、2.5 mmol/L dNTPs (2 μL)、5 $\mu\text{mol/L}$ 正向引物 (0.8 μL)、5 $\mu\text{mol/L}$ 反向引物 (0.8 μL)、FastPfu 聚合酶 (0.4 μL)、BSA (0.2 μL)、模板 DNA (2 μL)、灭菌超纯水 (9.8 μL); 10×缓冲液 (2 μL)、2.5 mmol/L dNTPs (2 μL)、5 $\mu\text{mol/L}$ 正向引物 (0.8 μL)、5 $\mu\text{mol/L}$ 反向引物 (0.8 μL)、rTaq 聚合酶 (0.2 μL)、BSA (0.2 μL)、模板 DNA (10 ng)、灭菌超纯水 (14 μL)。在 95°C 下进行 3 min 的热循环 (*nirS* 和 *nirK*), 在 95°C 下进行 40 个循环, 持续 0.5 min, 在 55°C 下进行 0.5 min, 在 72°C 下进行 1 min, 最后延伸到 72°C 下进行 10 min 通过凝胶电泳和纯化鉴定所有 PCR 产物^[31]。

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接: 设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口前端位置截去该碱基后端所有序列, 之后再去除质控后长度低于 50 bp 的序列; 根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接, 拼接时 overlap 之间的最大错配率为 0.2, 长度需大于 10 bp。去除无法拼接的序列。根据序列首尾两端的 barcode 和引物将序列拆分至每个样本, barcode 需精确匹配, 引物允许 2 个碱基的错配, 去除存在模糊碱基的序列。使用 UPARSE 软件 (version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 88% 的相似度对序列进行 Operational Taxonomic Units (OTU) 聚类^[31], 并在聚类的过程中去除单序列和嵌合体, 使用 FunGene Pipeline (<http://fungene.cme.msu.edu/FunGenePipeline/>) 对

每条序列进行物种分类注释^[32], 比对 *fgr/nirS* 和 *fgr/nirK* 数据库, 设置比对阈值为 70%。

1.4 数据分析

利用美吉生物云平台分析样品的 Alpha 多样性指数, 包括 Chao、Ace、Shannon 和 Coverage (www.majorbio.com)。使用 QIIME 软件生成加权的 UniFrac 距离进行层次聚类分析, 并使用 R 语言进行绘图。选取样品中主要的 OTU 序列作为代表序列, 将其与 NCBI 数据库中的同源氨基酸序列进行对比, 将相似性最高的已知同源氨基酸序列选取为参考序列, 导入 MEGAX 软件以邻接法绘制进化树。使用 OriginPro 2019b 绘制主要 OTU 相对丰度 heatmap 图。使用 SPSS Statistics 17.0 分析 *nirS* 和 *nirK* 主要 OTU 与 DO 和 DOC 之间的相关性。

1.5 数据提交

基因序列提交至 NCBI GenBank 数据库, 序列号为: PRJNA660324。

2 结果和分析

2.1 沉积物理化性质

根据采样站位水深、底层水的溶氧值、温度、盐度、DOC、硝酸盐浓度和沉积物粒径等理化性质以及其经纬度将样地分为 3 个区域。(1) 低氧区 (Hypoxic area): 位于长江口外, 包括 H_A2、H_A3、H_A5 三个站位, 其底层水的溶解氧值介于 1.3–1.5 mg/L。此区域水深较浅、温度较高、受冲淡水影响, 盐度较低, DOC 浓度较高, 另外低氧区的沉积物平均粒径相对较大; (2) 南部区域 (Southern area): 位于低氧区南部, 包括 S_C3 和 S_E2 两个站位, 其溶解氧值分别为 3.4 mg/L 和 4.7 mg/L, 沉积物平均粒径很小。南部区域主要受台湾暖流

影响, 越靠近冲淡水区域, DO 及温度与低氧区越接近; (3) 外部深水区 (Deep water area): 位于低氧区和南部区域东侧, 靠近外海, 包括 D_A8 和 D_C10 两个站位, 其溶解氧值最高, 分别为 4.7 mg/L 和 4.8 mg/L, 水深均大于 100 m。7 个研究的站位的硝酸盐浓度介于 10.1 至 17.6 $\mu\text{mol/L}$ 之间 (表 1)。

2.2 *nirS* 和 *nirK* 多样性指数分析

七个沉积物样本测序, 按最小样本序列数抽平后共获得了 72289 条 *nirS* 有效序列, 平均每个样本 10327 条; 74284 条 *nirK* 有效序列, 平均每个样本 10612 条。在 88% 相似度下共获得 346 条 *nirS* OTU 及 267 条 *nirK* OTU。其中 H_A2 有 *nirS* OTU 98 个, *nirK* OTU 79 个; H_A3 有 *nirS* OTU 88 个, *nirK* OTU 60 个; H_A5 有 *nirS* OTU 112 个, *nirK* OTU 64 个; S_C3 有 *nirS* OTU 116 个, *nirK* OTU 78 个; S_E2 有 *nirS* OTU 150 个, *nirK* OTU 126 个; D_A8 有 *nirS* OTU 199 个, *nirK* OTU 96 个; D_C10 有 *nirS* OTU 202 个, *nirK* OTU 79 个。*nirS* 基因在低氧区域的 H_A2、H_A3、H_A5 站位上, Chao 指数和 ACE 指数 (用于估算样本群落中所含 OTU 数目的指数, 两指数越高均代表丰富度越高) 在 3 个区域中最低; 外部深水区的 D_A8 和 D_C10 则相反, Chao 指数和 ACE 指数最高, Shannon 指数 (用于估算群落多样性的指数, Shannon 值越大, 说明群落多样性越高) 也最高。*nirK* 基因在低氧区域 H_A3、H_A5 和 *nirS* 具有相似的趋势, 但二者整体上也有区别, *nirS* 基因 Chao 指数和 ACE 指数最高的站位为 D_A8 和 D_C10, 即外部深水区; *nirK* 基因 Chao 指数和 ACE 指数最高的站位为 S_C3 和 S_E2, 即南部区域。这说明同为反硝化功能基因, 但各自也存在生态位的不同分布 (表 2)。

表 1. 采样站位的经纬度及理化性质

Table 1. Longitudes, latitudes and physicochemical characteristics of sampling stations

Sample ID	GPS Location (E/N)	Depth/m	DO/(mg/L)	T/°C	S/PSU	Mean grain size/ μm	DOC/ $(\mu\text{mol/L})$	$\text{NO}_3^-/(\mu\text{mol/L})$
H_A2	122.64 31.66	32.0	1.5	21.0	33.4	159.1	49.0	16.8
H_A3	122.98 31.69	35.0	1.3	21.7	33.2	197.4	62.0	16.8
H_A5	124.25 31.94	38.0	1.4	21.3	31.8	104.8	82.0	13.0
S_C3	122.82 30.59	38.0	3.4	19.4	34.4	18.7	56.0	10.1
S_E2	122.09 28.05	58.0	4.7	17.7	34.4	13.2	51.0	12.0
D_A8	127.02 32.40	118.0	4.7	15.4	34.5	319.2	52.0	13.6
D_C10	126.84 28.31	215.0	4.8	12.2	34.4	81.1	40.0	17.6

DO: dissolved oxygen; S: salinity; DOC: dissolved organic carbon; NO_3^- : nitrate.

表 2. *nirS* 和 *nirK* 基因多样性指数Table 2. Diversity indices of *nirS* gene and *nirK* gene

Sample ID	Diversity indices of <i>nirS</i> gene					Diversity indices of <i>nirK</i> gene				
	Observed OTUs	Coverage/%	Chao	ACE	Shannon	Observed OTUs	Coverage/%	Chao	ACE	Shannon
H_A2	98	99.9	114.0	118.1	2.6	79	99.8	115.6	112.1	2.0
H_A3	88	99.9	136.5	120.6	2.6	60	99.9	68.7	69.5	1.4
H_A5	112	99.8	133.1	131.4	3.1	64	99.9	75.6	79.5	1.4
S_C3	116	99.9	142.0	149.2	2.6	78	99.9	122.1	111.8	1.8
S_E2	150	99.8	183.6	184.5	3.1	126	99.9	132.2	134.1	2.8
D_A8	199	99.9	208.5	208.0	4.2	96	99.9	98.2	99.6	2.5
D_C10	202	99.8	219.8	221.5	3.9	79	99.9	84.6	83.6	2.5

2.3 *nirS* 和 *nirK* 的聚类分析

通过聚类分析结果可以看出, *nirS* 功能基因

有明显的 3 个大分支分别对应低氧区、南部区域及外部深水区, *nirK* 功能基因整体可分为两大支,

在低氧区和外部深水区具有较好的区分度, 南部区域较为接近低氧区但也可区分(图 1)。样品的 OTU 分布与样地划分有较好的一致性。

2.4 *nirS* 和 *nirK* 的群落结构及其相对丰度

由于对所有 OTU 分析不易发现其主要特征,

而其优势 OTU 受到的干扰则较小, 因此对其主要 OTU 相对丰度(每个站位相对丰度处于前三位的 OTU, *nirS* 平均覆盖范围超过 55%, *nirK* 平均覆盖范围超过 80%)进行分析更能体现该区域的分布特征(图 2)。由图 2 可以看出, *nirS* 功能基因相对

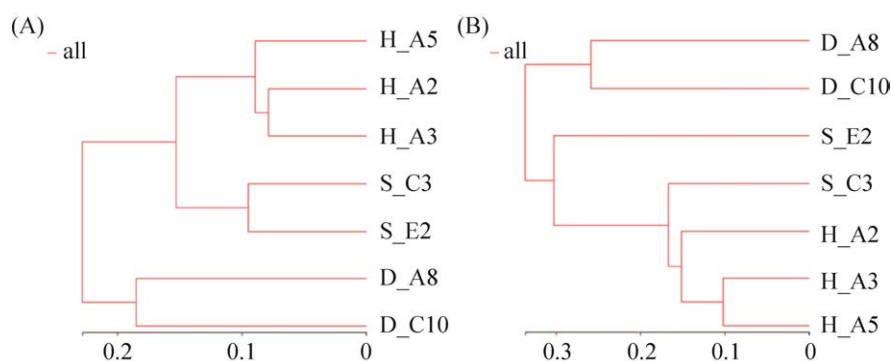


图 1. *nirS* 和 *nirK* 功能基因聚类分析图

Figure 1. Hierarchical clustering trees of *nirS* and *nirK* on the OTU level. A: hierarchical clustering tree of *nirS*; B: hierarchical clustering tree of *nirK*.

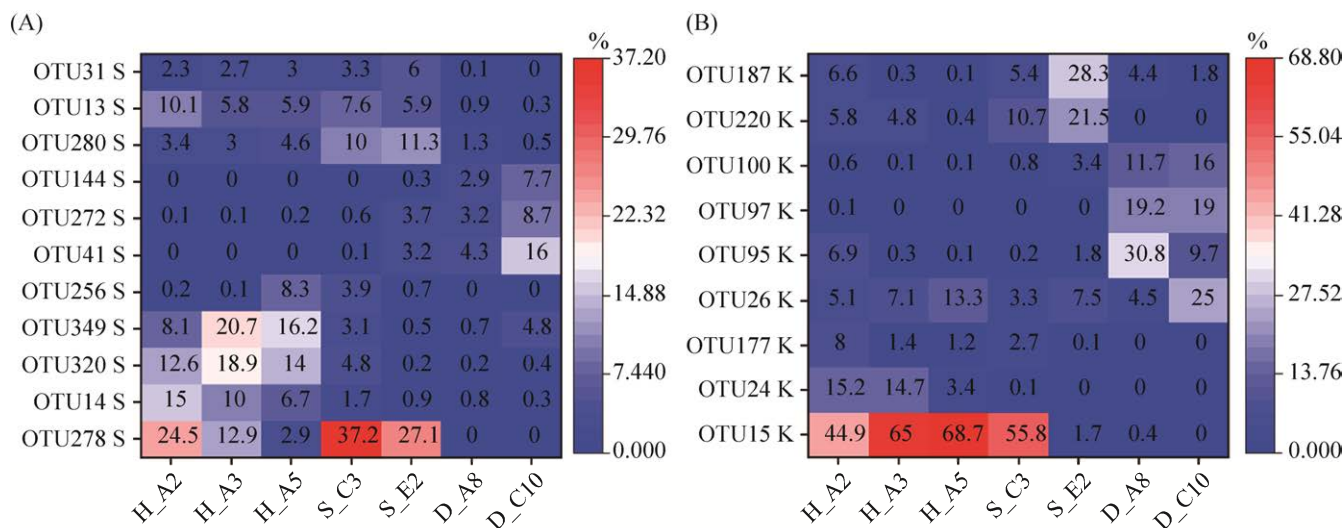


图 2. *nirS* 和 *nirK* 功能基因主要 OTU 比例

Figure 2. Proportions of *nirS* and *nirK* main OTUs. A: proportion of *nirS* main OTUs; B: proportion of *nirK* main OTUs.

丰度在 3 个区域均有着明显不同,外部深水区优势 OTU 相对丰度最低,区域内部则较为相似;*nirK* 功能基因在 S_C3 站位与低氧区域较为相似,这一点在图 1 中也能体现出来,低氧区域(H_A2、H_A3、H_A5)与外部深水区(D_A8、D_C10)区别较大。*nirS* 功能基因主要 OTU 相对丰度比 *nirK* 要低,OTU 分布更为分散,在低氧区优势更明显。

在区域水平上,中国长江口低氧区和外部深水区表层沉积物中优势 OTU 差别很大(图 2),OTU144 S (2.9%–7.7%)、OTU41 S (4.3%–16.0%)、OTU100 K (11.7%–16%)、OTU97 K (19.0%–19.2%)在外部深水区相对丰度较高,而在低氧区很少甚至没有;OTU349 S (8.1%–20.7%)、OTU320 S (12.6%–18.9%)、OTU14 S (6.7%–15.0%)、OTU24 K (3.4%–15.2%)、OTU15 K (44.9%–68.7%)在低氧区相对丰度较高,而在外部深水区很少甚至没有。

基于两种功能基因的主要 OTU 编码氨基酸序列的系统发育分析,发现 *nirS* 型 OTU272 S 和 OTU31 S 及 *nirK* 型 OTU95 K 与 NCBI 数据库中已知序列的同源性较低,其相似度均小于 88%,这 3 个为本研究新检测到的反硝化细菌。根据其进化关系,*nirS* 整体可分为 2 个簇,Cluster S1: Cluster S1A 包含低氧区和南部区域主要 OTU (相对丰度在该区域处于前三或所有区域中相对丰度最高)、Cluster S1B 为外部深水区主要 OTU、Cluster S1C 为外部深水区主要 OTU、Cluster S1D 包含低氧区和南部区域主要 OTU; Cluster S2: Cluster S2A 为低氧区主要 OTU、Cluster S2B 包含低氧区和南部区域主要 OTU。*nirK* 整体可分为 3

个簇,Cluster K1: Cluster K1A 为外部深水区主要 OTU、Cluster K1B 为低氧区主要 OTU; Cluster K2: Cluster K2A 为外部深水区主要 OTU、Cluster K2B 包含低氧区和南部区域主要 OTU; Cluster K3: Cluster K3 包含低氧区、南部区域和外部深水区主要 OTU (图 2 和图 3)。

在本研究区域,除新发现的 OTU 外,优势 OTU 所代表的 *nirS* 和 *nirK* 功能基因氨基酸序列相似性为 97%–100%,全部来自于细菌,样品分布广泛,在中国长江口、黄海、黄河口、象山、闽江和南海等区域及墨西哥湾和美国旧金山湾,该类功能基因 OTU 均有发现;在不同样品类型(如水样,OTU15 K)中也有发现(表 3)。

2.5 氮、碳循环功能耦合

氮循环与碳循环之间往往存在耦合关系,部分执行反硝化功能的微生物可以进行自养^[36]。为此分析了 *nirS* 和 *nirK* 优势 OTU 与 DO 和 DOC 之间的相关性,探究本研究区域内反硝化与碳循环之间的功能耦合(表 4)。两种功能基因基本反映出一个相同的趋势,即 OTU 与 DO 的相关性和 OTU 与 DOC 的相关性相反。比如 *nirS* OTU14 S、OTU320 S、OTU349 S 和 *nirK* OTU15 K、OTU24 K 与 DO 值呈显著负相关,与 DOC 含量呈正相关,暗示其可能具有自养功能。其中 *nirS* OTU349 S 是低氧区站位最优势的菌群,在 H_A3 和 H_A5 站位分别达到了 20.7%和 16.2%; *nirK* OTU15 K 是低氧区站位最优势的菌群,在 H_A2、H_A3 和 H_A5 站位分别达到了 44.9%、65.0%和 68.7%,说明在低氧区沉积物中微生物的反硝化可能是新有机物的重要来源。

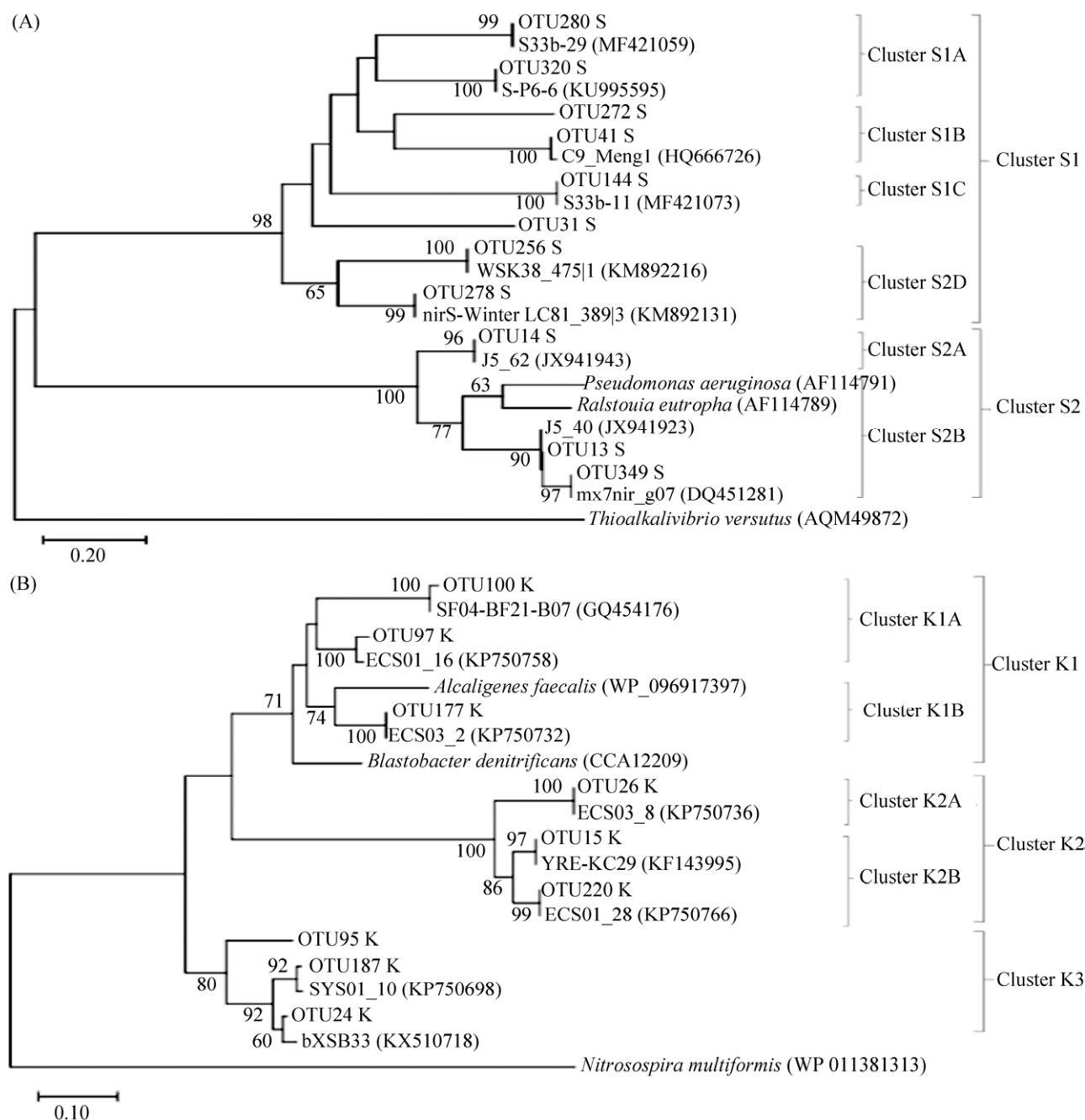


图 3. *nirS* 和 *nirK* 功能基因编码的氨基酸序列系统发育树

Figure 3. Neighbor-joining phylogenetic trees constructed by amino acid sequences translated from the *nirS* and *Ralstonia eutropha nirK* genes. A: neighbor-joining phylogenetic tree constructed by amino acid sequences translated from the *nirS* gene; B: neighbor-joining phylogenetic tree constructed by amino acid sequences translated from the *nirK* gene. Phylogenetic trees showing the phylogenetic relationships of the deduced *nirS* and *nirK* protein sequences translated from the clone sequences of the *nirS* and *nirK* genes obtained in this study and their closely related sequences from the GenBank database; the numbers following OTUs represent different OTUs; GenBank accession numbers are shown in the brackets; the scale bar indicates the expected number of change per homologous position; bootstrap values of (1000 replicates) >50% are shown; the *SoxB* amino acid sequence from *Thioalkalivibrio versutus* was used as outgroup for *nirS*; the *nirK* amino acid sequence from *Nitrosospora multiformis* was used as outgroup for *nirK*.

表 3. *nirS* 和 *nirK* 功能基因主要 OTU 和其在 NCBI 比对到的最近序列列表Table 3. The main OTUs and their closest relatives retrieved from NCBI GenBank of *nirS* and *nirK* genes

OTU ID	Closest relative	Accession number	Identity/%	Sample source	Taxonomy	Reference
<i>nirS</i>	S33b-29	MF421059	100.0	Changjiang Estuary, China	D-bacteria	NCBI
OTU280 S						
OTU320 S	S-P6-6	KU995595	100.0	Coastal Wetlands, China	D-bacteria	[33]
OTU41 S	<i>nirS</i> -704-C9_Meng1	HQ666726	100.0	South China Sea, China	D-bacteria	NCBI
OTU144 S	S33b-11	MF421073	100.0	Changjiang Estuary, China	D-bacteria	NCBI
OTU256 S	<i>nirS</i> -Summer WSK38_475 1	KM892216	100.0	Changjiang Estuary, China	P-proteobacteria	[15]
OTU278 S	<i>nirS</i> -Winter LC81_389 3	KM892131	100.0	Changjiang Estuary, China	D-bacteria	[15]
OTU14 S	J5_62	JX941943	100.0	Minjiang, China	D-bacteria	NCBI
OTU13 S	J5_40	JX941923	100.0	Minjiang, China	P-proteobacteria	NCBI
OTU349 S	mx7nir_g07	DQ451281	100.0	Gulf of Mexico	C-betaproteobacteria	[25]
<i>nirK</i>						
OTU100 K	SF04-BF21-B07	GQ454176	98.0	San Francisco Bay, USA	D-bacteria	[34]
OTU97 K	ECS01_16	KP750758	98.0	Huanghai Sea and Donghai Sea, China	P-proteobacteria	NCBI
OTU177 K	ECS03_2	KP750732	100.0	Huanghai Sea and Donghai Sea, China	P-proteobacteria	NCBI
OTU26 K	ECS03_8	KP750736	100.0	Huanghai Sea and Donghai Sea, China	P-proteobacteria	NCBI
OTU15 K	YRE-KC29	KF143995	100.0	Yellow River Estuary, China	D-bacteria	[35]
OTU220 K	ECS01_28	KP750766	100.0	Huanghai Sea and Donghai Sea, China	D-bacteria	NCBI
OTU187 K	SYS01_10	KP750698	99.0	Huanghai Sea and Donghai Sea, China	D-bacteria	NCBI
OTU24 K	bXSB33	KX510718	97.0	Xiangshan Landfill, China	D-bacteria	NCBI

These OTUs were selected within the top three abundant reads from a single sample and/or from multiple samples. D: domain; P: phylum; C: class.

表 4. *nirS* 和 *nirK* 主要 OTU 与 DO 和 DOC 之间的相关性Table 4. The correlations of dominant OTUs for *nirS* and *nirK* genes with DOC and DO concentrations

OTU ID	<i>nirS</i> Pearson correlation		OTU ID	<i>nirK</i> Pearson correlation	
	DO/(mg/L)	DOC/(μmol/L)		DO/(mg/L)	DOC/(μmol/L)
OTU278 S	-0.09	-0.12	OTU15 K	-0.90**	0.73
OTU14 S	-0.88**	0.25	OTU24 K	-0.81*	0.12
OTU320 S	-0.97**	0.61	OTU177 K	-0.59	-0.07
OTU349 S	-0.85*	0.64	OTU26 K	0.24	-0.17
OTU13 S	-0.67	0.29	OTU95 K	0.50	-0.39
OTU256 S	-0.39	0.85*	OTU97 K	0.66	-0.53
OTU41 S	0.66	-0.62	OTU100 K	0.76*	-0.63
OTU272 S	0.79*	-0.65	OTU220 K	0.24	-0.16
OTU144 S	0.62	-0.59	OTU187 K	0.45	-0.28
OTU280 S	0.12	0.15			
OTU31 S	-0.15	0.31			

*: significant difference; $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

3 讨论

通常认为,如果物种之间的 16S rRNA 序列相似性 < 97%, 即为不同物种^[37]。由于在特定的进化压力下, 编码不同蛋白质的基因会发生变异, 97%的阈值并不完全适用于编码蛋白质的功能基因^[31]。95%相似性常用于基于建立 *nirS* 和 *nirK* 克隆库的反硝化微生物 OTU 聚类^[38], 随着第二代测序技术广泛应用于功能基因研究中, 如何在精简 OTU 数目的情况下准确保留生态信息是分析高通量数据时面临的重要挑战。Bowen 等^[31]应用赤池信息量准则, 即 Akaike information criterion (AIC) 对聚类 *nirS* 基因 OTU 不同临界值的网络结构复杂性进行评估, 发现在盐沼沉积物的 *nirS* 型反硝化微生物多样性研究中, 88%是既获得最精简 OTU 数目, 又能捕捉生态系统复杂性的最佳 OTU 聚类阈值。Lee 和 Francis^[7]分别用 88%和 95% OTU 聚类阈值, 比较了美国旧金山湾沉积物 *nirS* 型和 *nirK* 型反硝化微生物的 alpha 和 beta 多样性指数, 发现两者区别不大。更重要的是, 两种聚类阈值的分析并不影响反硝化微生物群落组成和环境因素的相关性分析结果。在本研究中, 我们选用 88% 阈值对 Miseq 高通量测序获得的 *nirS* 和 *nirK* 序列进行 OTU 聚类和后续分析。

三个区域中, 低氧区主要受冲淡水影响携带了大量有机物, 同时存在上升流带来的营养盐和富营养化导致藻华频发产生大量海源有机物, 异养微生物在利用有机物的过程中消耗大量的溶解氧, 而夏季长江口水体分层阻碍了表底层水的溶解氧的交换, 当耗氧超过补给时, 形成低氧^[12,23-24]; 南部区域主要受中国台湾暖流影响, 盐度和 DO 更高, 其与低氧区都受沿岸影响较大但又有所差别^[39]; 外部

深水区远离中国长江口, 水深最深、盐度和 DO 最高。由于三个区域受影响因素存在较大差异, 因而也对功能基因的分布产生了不同的影响。*nirS* 基因在低氧区域的 Chao 指数和 ACE 指数低于其余区域较明显, 且三站位指数接近, OTU 数目也最少, 可能适应低氧区生活的物种较少, 致使 *nirS* 基因多样性指数较低, 但优势物种更明显。外部深水区则相反, Chao 指数和 ACE 指数高, Shannon 指数也高于其他区域, 证明外部深水区域中 *nirS* 基因多样性较高。*nirK* 基因在部分站位(H_A3、H_A5 等)和 *nirS* 具有相似的趋势, 可能原因为二者同为反硝化功能基因, 受到环境影响相似, 但二者也有区别(D_A8、D_C10 等), 可能是因为两种功能基因所对应的 OTU 有各自的生态位分布。

在低氧区和非低氧区, OTU 相对丰度差别较大, 由于外部深水区 DO 含量最高, 与其他区域差别尤为显著, 结合图 2 对比, 外部深水区主要 OTU 相对丰度之和在 *nirS* 中均不足 40%, 在 D_A8 站位不足 20%, 低氧区主要 OTU 相对丰度之和接近其 2 倍, 具有很大差别; 在 *nirK* 中外部深水区主要 OTU 相对丰度之和略低于低氧区域, 可能是因为 *nirK* 在环境中分布更广泛的缘故。图 2 可以看出各区域主要 OTU 的相对丰度与所有站位主要 OTU 相对丰度分布有较大差异, 因此推断造成该差异的主要原因很可能是因为环境不同造成物种的不同, 在阿拉伯海东南部季节性缺氧区的研究中也得到了类似的结果^[3]。根据 NCBI 对比分析发现, 虽然我们采集地在中国长江口, 但在中国黄海、黄河口、象山、闽江和南海等区域及墨西哥湾、美国旧金山湾, 该类功能基因 OTU 均有发现^[15,25,33-35], 这些功能基因广泛存在于各个位置, 又有未知序列, 这对未来研究是一个机会也是挑战, 其很可

能参与了其他生物地化过程(硫氧化、碳固定等)。在图 3 的 Cluster K3 中,三个区域优势 OTU 均聚集在了一起,且有未知的新序列,它们之间的亲缘关系或值得进一步研究。

通过对 *nirS* 和 *nirK* 优势 OTU 与 DO 和 DOC 之间的相关性分析,发现低氧区沉积物反硝化微生物可能通过自养过程向底层水释放新的有机物,是除了陆源有机物和富营养化引起的初级生产产生的海源有机物外另一类重要的可利用有机物。化能自养微生物的暗碳固定可以通过现场生产的有机物质支撑食物网而不受光合作用的影响^[40]。在前期研究中发现低氧区沉积物样品中,有约 5.9% 的序列与瓦登海沉积物中未被培养的 Gamma-变形菌纲的硫氧化自养菌 16S rRNA 序列相似^[23,41],这类未被培养的 Gamma-变形菌属于新命名的 *Woeseiaceae/JTB255* 科,参与二氧化碳固定、硫氧化、不完全反硝化等代谢途径^[42],因其多样性的代谢功能使之有很强的环境适应能力,在全球沉积物中广泛存在^[43]。本研究为进一步研究低氧区未被培养的反硝化微生物在碳、氮、硫的耦合过程提供了新的证据。一般认为在 DO 含量低时会有利于反硝化,但多样性指数分析显示在非低氧区域反硝化物种更为丰富,原因可能为这两种功能基因对应的物种在氧含量低的区域与执行其他地化过程(如厌氧氨氧化、DNRA 等)的物种竞争了反应底物^[4,16,44]。此外,有研究表明,*nirK* 功能基因比 *nirS* 有更广泛的栖息地^[45-46],其系统发育分析中的地域差异不如 *nirS* 显著,也体现了其分布相比 *nirS* 更广泛,其选择性或将更强。两种功能基因在低氧区的分布均与 DO 呈现负相关,DO 对 *nirS* 功能基因负相关影响更多,在低氧区 *nirS* 功能基因优势 OTU 分布更集中,或可表明

nirS 功能基因对低氧环境适应性更好。

4 结论

反硝化微生物在中国长江口外低氧区域及其邻近海域广泛存在,其中低氧区 *nirS* 功能基因适应性更强但微生物多样性低,可能存在其他地化过程(如厌氧氨氧化、DNRA 等)的物种对反应底物的竞争。低氧区的反硝化微生物也很有可能同时执行着碳固定的功能。此项研究检测到的反硝化微生物多为未被培养的菌种,在未来的研究中,可以结合宏基因分箱和传统分离技术探究这些新型反硝化微生物在生物地球化学循环中的作用和环境效应。

参考文献

- [1] Zhao BJ, Wang X, Zhang J, Tan X, He R, Zhou Q, Shi H, Zhang QF. Influence factors of potential nitrification rates and functional genes abundance in the Jinshui River and the Qihe River of the Hanjiang River Basin. *Environmental Science*, 2020, 41(12): 208–216. (in Chinese)
赵彬洁, 王旭, 张健, 谭香, 何睿, 周全, 史航, 张全发. 汉江流域金水河与淇河潜在硝化速率及硝化功能基因的影响因子. *环境科学*, 2020, 41(12): 208–216.
- [2] Lipsewiers YA, Vasquez-Cardenas D, Seitaj D, Schauer R, Hidalgo-Martinez S, Sinninghe DJS, Meysman FJR, Villanueva L, Boschker HTS. Impact of seasonal hypoxia on activity and community structure of chemolithoautotrophic bacteria in a coastal sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(10): 03517–16.
- [3] Gomes J, Khandeparker R, Bandekar M, Meena RM, Ramaiah N. Quantitative analyses of denitrifying bacterial diversity from a seasonally hypoxic monsoon governed tropical coastal region. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2018, 156: 34–43.
- [4] Reyes C, Schneider D, Lipka M, Thürmer A, Böttcher ME,

- Friedrich MW. Nitrogen metabolism genes from temperate marine sediments. *Marine Biotechnology*, 2017, 19(2): 175–190.
- [5] Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263–276.
- [6] Zhang BY, Yu K. Application of microbial gene databases in the annotation of nitrogen cycle functional genes. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 3021–3038. (in Chinese)
张博雅, 余珂. 微生物基因数据库在氮循环功能基因注释中的应用. *微生物学通报*, 2020, 47(9): 3021–3038.
- [7] Lee JA, Francis CA. Spatiotemporal characterization of San Francisco Bay denitrifying communities: a comparison of *nirK* and *nirS* diversity and abundance. *Microbial Ecology*, 2017, 73(2): 271–284.
- [8] Yang YD, Hu YG, Wang ZM, Zeng ZH. Variations of the *nirS*-, *nirK*-, and *nosZ*-denitrifying bacterial communities in a northern Chinese soil as affected by different long-term irrigation regimes. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(14): 14057–14067.
- [9] Zhu JR, Wang JH, Shen HT, Wu H. Observation and analysis of the diluted water and red tide in the sea off the Changjiang River mouth in middle and late June 2003. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(3): 240–247.
- [10] Zhang J, Xiao T, Huang DJ, Liu SM, Fang JG. Eutrophication and hypoxia and their impacts on the ecosystem of the Changjiang Estuary and adjacent coastal environment. *Journal of Marine Systems*, 2016, 154: 1–4.
- [11] 张海霞. 2017 年长江口及邻近海域的营养盐——分布、调控及富营养化生态效应趋势评估. 山东大学博士学位论文, 2020.
- [12] Zhu ZY, Zhang J, Wu Y, Zhang YY, Lin J, Liu SM. Hypoxia off the Changjiang (Yangtze River) Estuary: Oxygen depletion and organic matter decomposition. *Marine Chemistry*, 2011, 125(1-4): 108–116.
- [13] Li HM, Tang HJ, Shi XY, Zhang CS, Wang XL. Increased nutrient loads from the Changjiang (Yangtze) River have led to increased harmful algal blooms. *Harmful Algae*, 2014, 39: 92–101.
- [14] Zhang Y, Xie X, Jiao N, Hsiao SSY, Kao SJ. Diversity and distribution of *amoA*-type nitrifying and *nirS*-type denitrifying microbial communities in the Yangtze River estuary. *Biogeosciences*, 2014, 11(8): 2131–2145.
- [15] Zheng YL, Hou LJ, Liu M, Gao J, Yin GY, Li XF, Deng FY, Lin XB, Jiang XF, Chen F, Zong HB, Zhou JL. Diversity, abundance, and distribution of *nirS*-harboring denitrifiers in intertidal sediments of the Yangtze Estuary. *Microbial Ecology*, 2015, 70(1): 30–40.
- [16] Wang J, Kan JJ, Qian G, Chen JF, Xia ZQ, Zhang XD, Liu HJ, Sun J. Denitrification and anammox: Understanding nitrogen loss from Yangtze Estuary to the east China sea (ECS). *Environmental Pollution*, 2019, 252: 1659–1670.
- [17] Breitburg D, Levin LA, Oschlies A, Grégoire M, Chavez FP, Conley DJ, Garçon V, Gilbert D, Gutiérrez D, Isensee K, Jacinto GS, Limburg KE, Montes I, Naqvi S, Pitcher GC, Rabalais NN, Roman MR, Rose KA, Seibel BA, Telszewski M, Yasuhara M, Zhang J. Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science*, 2018, 359(6371): eaam7240.
- [18] Vaquer-Sunyer R, Duarte CM. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(40): 15452–15457.
- [19] Wang HJ, Dai MH, Liu JW, Kao SJ, Zhang C, Cai WJ, Wang GZ, Qian W, Zhao MX, Sun ZY. Eutrophication-driven hypoxia in the East China Sea off the Changjiang Estuary. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(5): 2255–2263.
- [20] Gu HK. The Maximum Value of Dissolved Oxygen in its Vertical Distribution in Yellow Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 1980, 2(2): 70–79.
- [21] Li DJ, Zhang J, Huang DJ, Wu Y, Liang J. Oxygen depletion off the Changjiang (Yangtze River) estuary. *Science in China Series D: Earth Sciences*, 2002, 45(12): 1137–1146.
- [22] Wei H, He YC, Li QJ, Liu ZY, Wang HT. Summer hypoxia adjacent to the Changjiang Estuary. *Journal of Marine Systems*, 2007, 67(3-4): 292–303.
- [23] Ye Q, Wu Y, Zhu ZY, Wang XN, Li ZQ, Zhang J. Bacterial diversity in the surface sediments of the hypoxic zone near the Changjiang Estuary and in the East China Sea. *MicrobiologyOpen*, 2016, 5(2): 323–339.
- [24] Zhu ZY, Wu H, Liu SM, Wu Y, Huang DJ, Zhang J, Zhang GS.. Hypoxia off the Changjiang (Yangtze River) estuary and in the adjacent East China Sea: Quantitative approaches to estimating the tidal impact and nutrient regeneration. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 125(1-2): 103–114.
- [25] Childs CR, Rabalais NN, Turner RE, Proctor LM. Sediment denitrification in the Gulf of Mexico zone of hypoxia. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 240: 285–290.
- [26] Liu M, Xiao T, Wu Y, Zhou F, Zhang WC. Temporal distribution of the archaeal community in the Changjiang Estuary hypoxia area and the adjacent East China Sea as determined by denaturing gradient gel electrophoresis and

- multivariate analysis. *Canadian Journal of Microbiology*, 2011, 57(6): 504–513.
- [27] Liu M, Xiao T, Wu Y, Zhou F, Huang HQ, Bao SX, Zhang WC. Temporal distribution of bacterial community structure in the Changjiang Estuary hypoxia area and the adjacent East China Sea. *Environmental Research Letters*, 2012, 7(2): 25001.
- [28] Huang J, Liu SM. Research of pore water nutrients diffusion fluxes in the Yangtze River Estuary adjacent waters. *Periodical of Ocean University of China*, 2016, 46(10): 73–81. (in Chinese) 黄金, 刘素美. 长江口邻近海域间隙水营养盐扩散通量的探究. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2016, 46(10): 73–81.
- [29] Throbäck IN, Enwall K, Jarvis Å, Hallin S. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(3): 401–417.
- [30] Camargo Valero MA, Read LF, Mara DD, Newton RJ, Curtis TP. Nitrification-denitrification in waste stabilisation ponds: a mechanism for permanent nitrogen removal in maturation ponds. *Water Science and Technology*, 2010, 61(5): 1137–1146.
- [31] Bowen JL, Byrnes JEK, Weisman D, Colaneri C. Functional gene pyrosequencing and network analysis: an approach to examine the response of denitrifying bacteria to increased nitrogen supply in salt marsh sediments. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 342.
- [32] Fish JA, Chai BL, Wang Q, Sun YN, Brown CT, Tiedje JM, Cole JR. FunGene: the functional gene pipeline and repository. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 291.
- [33] Gao J, Hou LJ, Zheng YL, Liu M, Yin GY, Li XF, Lin XB, Yu CD, Wang R, Jiang XF, Sun XR. *nirS*-Encoding denitrifier community composition, distribution, and abundance along the coastal wetlands of China. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(19): 8573–8582.
- [34] Mosier AC, Francis CA. Denitrifier abundance and activity across the San Francisco Bay estuary. *Environmental Microbiology Reports*, 2010, 2(5): 667–676.
- [35] Li J, Wei GS, Wang NX, Gao Z. Diversity and distribution of *nirK*-harboring denitrifying bacteria in the water column in the Yellow River estuary. *Microbes and Environments*, 2014, 29(1): 107–110.
- [36] Suter EA, Pachiadaki MG, Montes E, Edgecomb VP, Scranton MI, Taylor CD, Taylor GT. Diverse nitrogen cycling pathways across a marine oxygen gradient indicate nitrogen loss coupled to chemoautotrophic activity. *Environmental Microbiology*, 2020, <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15187>.
- [37] Gevers D, Cohan FM, Lawrence JG, Spratt BG, Coenye T, Feil EJ, Stackebrandt E, Peer YVd, Vandamme P, Thompson FL, Swings J. Opinion: Re-evaluating prokaryotic species. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 733–739.
- [38] Santoro AE, Boehm AB, Francis CA. Denitrifier community composition along a nitrate and salinity gradient in a coastal aquifer. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 2102–2109.
- [39] Wang JF, Si GC, Yu F. Progress in studies of the characteristics and mechanisms of variations in the Taiwan Warm Current. *Marine Sciences*, 2020, 44(5): 141–148. (in Chinese) 王建丰, 司广成, 于非. 台湾暖流变化特征及机制研究进展. *海洋科学*, 2020, 44(5): 141–148.
- [40] Vasquez-Cardenas D, Meysman FJ, Boschker HT. A Cross - System Comparison of Dark Carbon Fixation in Coastal Sediments. *Global Biogeochemical Cycles*, 2020, 34(2): e2019GB006298.
- [41] Lenk S, Arnds J, Zerjatke K, Musat N, Amann R, Musmann M. Novel groups of Gammaproteobacteria catalyse sulfur oxidation and carbon fixation in a coastal, intertidal sediment. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(3): 758–774.
- [42] Du ZJ, Wang ZJ, Zhao JX, Chen GJ. *Woeseia oceani* gen. nov., sp. nov., a chemoheterotrophic member of the order *Chromatiales*, and proposal of *Woeseiaceae* fam. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(1): 107–112.
- [43] Mußmann M, Pjevac P, Krüger K, Dykstra S. Genomic repertoire of the *Woeseiaceae*/JTB255, cosmopolitan and abundant core members of microbial communities in marine sediments. *The ISME Journal*, 2017, 11(5): 1276–1281.
- [44] Wang YM, Lin ZY, He L, Huang W, Zhou J, He Q. Simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process for nitrogen and refractory organic compounds removal from mature landfill leachate: Performance and metagenome-based microbial ecology. *Bioresource Technology*, 2019, 294: 122166.
- [45] Yuan Q, Liu P, Lu Y. Differential responses of *nirK* - and *nirS* - carrying bacteria to denitrifying conditions in the anoxic rice field soil. *Environmental Microbiology Reports*, 2012, 4(1): 113–122.
- [46] Helen D, Kim H, Tytgat B, Anne W. Highly diverse *nirK* genes comprise two major clades that harbour ammonium-producing denitrifiers. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 1–13.

Diversity and distribution of denitrifying microorganisms in the surface sediments of the hypoxic zone near the Changjiang Estuary and its offshore

Peng Wang¹, Ying Wu¹, Sumei Liu^{2,3}, Xiaona Wang¹, Jinlong Dai¹, Qi Ye^{1*}

¹ State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research, East China Normal University, Shanghai 200241, China

² The Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong Province, China

³ Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, Shandong Province, China

Abstract: [Objective] Microbial denitrification is the essential process to transform nitrate into nitrogen gas in estuarine environment. [Methods] In the present study, we investigated the diversity and distribution of the *nirS*-type and *nirK*-type denitrifying microbial communities in the surface sediments of the hypoxic zone near the Changjiang Estuary and in the East China Sea by Illumina MiSeq sequencing approach. [Results] A total of 346 *nirS*-type and 267 *nirK*-type Operational Taxonomic Units were detected. Environmental characteristics of sampling site and cluster analysis of *nirS* and *nirK* divided all Operational Taxonomic Units into hypoxic, southern and deep-water groups, and the samples from the deep-water group had the highest diversity of *nirS* functional genes. Furthermore, the dominant Operational Taxonomic Units phylogenetically formed several clusters, representing by Operational Taxonomic Units from distinct groups. All the dominant Operational Taxonomic Units were uncultured and some of them were first retrieved. Likewise, *nirS* gene was more adaptable to the hypoxic condition. [Conclusion] Our results indicate that widespread denitrifying microorganisms play a critical role in nitrogen cycle in the estuarine sediments.

Keywords: Changjiang Estuary, hypoxic zone, *nirS*, *nirK*

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41530960) and by the Natural Science Foundation of Shanghai (18ZR1410600)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54836003; E-mail: qye@sklec.ecnu.edu.cn

Received: 24 December 2020; Revised: 12 March 2021; Published online: 26 March 2021

叶祁, 2007 年 12 月获得美国佐治亚大学海洋学系博士学位, 于 2011 年 12 月加入华东师范大学河口海岸学国家重点实验室。长期从事河口和沿海海洋生物地球化学循环微生物过程的研究。在 *Frontiers in Microbiology*、*Applied and Environmental Microbiology*、*Environmental Microbiology*、*Marine Pollution Bulletin*、*Chemical Geology*、*PLoS Pathogens*、*The EMBO Journal* 和 *Chemosphere* 等专业期刊上发表论文近 20 篇。

