

泉州西湖沉积物中硝化细菌的分布及其作用

陈国元* 黄晓鸣

(厦门理工学院 水资源环境研究所 福建 厦门 361005)

摘要: 比较研究泉州西湖沉积物中氨氧化细菌(AOB)和亚硝酸盐氧化细菌(NO₂⁻)的分布及氨氧化潜力和亚硝酸盐(NO₂⁻)氧化潜力。结果表明: 西湖沉积物中存在高浓度的有机质(OM)、总氮(TN)和氨氮。AOB生物量为 1.1×10^6 – 6.4×10^6 个/g干土, 显著高于NOB生物量 4.2×10^5 – 7.4×10^5 个/g干土(配对 *t*-检验, $P<0.05$)。对于NOB, 硝化杆菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)同时存在于西湖沉积物中, 以 *Nitrobacter* 为优势种群。AOB和NOB生物量的差异一定程度上导致西湖沉积物中氨氧化潜力显著高于NO₂⁻氧化潜力(配对 *t*-检验, $P<0.05$), NO₂⁻氧化过程成为硝化作用的限制步骤。另外, 西湖沉积物中存在的较高浓度氨氮, 一方面促进了AOB的生长和活性, 导致较高速率的氨氧化过程, 另一方面却对亚硝酸盐氧化过程产生选择性抑制, 这也是导致NO₂⁻氧化潜力较低的主要原因之一。

关键词: 泉州西湖, 沉积物, 硝化细菌, 硝化作用, 氨氮

Distribution and role of nitrifying bacteria in the sediments of Xihu Lake in Quanzhou

CHEN Guo-Yuan* HUANG Xiao-Ming

(Water Resources and Environmental Institute, Xiamen University of Technology, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: The distribution of ammonia oxidizing bacteria (AOB) and nitrite oxidizing bacteria (NOB) and the potentials of ammonia and nitrite (NO₂⁻) oxidation were studied in the sediments of Xihu Lake in Quanzhou. The high concentrations of organic matter (OM), total nitrogen (TN) and ammonia existed in the sediments of Xihu Lake. The number of AOB were 1.1×10^6 – 6.4×10^6 cells per g of dry sediment which were higher than 4.2×10^5 – 7.4×10^5 cells per g of dry sediment of NOB (Paired *t*-test, $P<0.05$). With regard to NOB, the two genera of *Nitrobacter* and *Nitrospira* coexisted in the sediments of Xihu Lake, and *Nitrobacter* were the dominant NOB. The difference of AOB and NOB number resulted to some extent in that ammonia oxidation potentials were significantly higher than NO₂⁻ oxidation potentials (Paired *t*-test, $P<0.05$), indicating that NO₂⁻ oxidation was the rate-limiting step in nitrification. In addition, the high ammonia concentrations in sediment of Xihu Lake which accelerated ammonia oxi-

基金项目: 厦门理工学院引进高层次人才科研启动项目(No. YKJ09022R)

* 通讯作者: Tel: 86-592-6291253; 信箱: cgy1117@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-05-17; 接受日期: 2011-07-26

ation but selectively inhibited NO_2^- oxidation, also lead to low NO_2^- oxidation potentials.

Keywords: Xihu Lake in Quanzhou, Sediment, Nitrifying bacteria, Nitrification, Ammonia

沉积物-水界面上的反硝化是湖泊生态系统中去除氮素的主要生物途径, 在削减富营养化湖泊氮负荷上起着重要作用。而硝化作用把有机氮的矿化和反硝化过程连接起来, 是反硝化微生物底物- NO_3^- 的一种主要内源, 同时又是降低沉积物中大量氨氮的主要生物途径, 是水生生态系统中氮循环的一个非常重要的环节^[1]。硝化作用包括 2 个步骤: 氨氮在氨氧化细菌(AOB)的作用下被氧化成 NO_2^- ; 然后 NO_2^- 在亚硝酸盐氧化细菌(NO_B)的作用下被氧化成 NO_3^- 。湖泊生态系统中, 表层沉积物是发生硝化作用的主要地方^[2]。与反硝化相比, 目前关于湖泊沉积物中硝化细菌分布及硝化作用的研究还非常薄弱, 对于硝化作用的 2 个过程—氨氧化和亚硝酸盐氧化的系统研究较少^[3]。同时, 氨氮是 AOB 的底物, 较高浓度的氨氮会促进氨氧化过程, 却会对亚硝酸盐氧化过程产生抑制^[4]。而目前我国许多富营养化湖泊, 尤其是重污染区域, 氨氮浓度较高^[5-6]。但是, 关于氨氮浓度对湖泊沉积物中硝化细菌分布和硝化作用影响的研究还缺乏, 因此不能深入理解富营养化湖泊生态系统中氮的生物地球化学循环。

本试验主要运用基于 16S rRNA 基因的聚合酶链式反应(PCR)技术与倍比稀释法(MPN)相结合的 MPN-PCR 法研究泉州西湖表层沉积物中 AOB 和 NO_B的分布及氨氧化和亚硝酸盐氧化潜力, 旨在探讨富营养化湖泊沉积物中硝化细菌的适应机制及其作用, 为揭示富营养化湖泊生态系统氮的生物地球化学循环规律提供理论指导意义。

1 区域概况与方法

1.1 研究湖泊概况

西湖(24°55′29.34″–24°56′1.42″N, 118°34′51.55″–118°35′31.56″E)位于泉州市区西北部清源山南麓, 是泉州市区最大的湖泊, 占地面积约 100 hm^2 , 其中水域面积 82.28 hm^2 , 深 2–3 m, 东西长约 1 100 m, 南北宽约 970 m, 周围有北峰工业区、宝龙花园和居民住宅区。近年来, 随着周边工业废水和生活污水

的排放, 西湖水体中营养盐含量急剧增加, 水体呈现严重的富营养化。其中, 水体总氮(TN)浓度为 2.135–6.987 mg/L, 平均含量为 3.929 mg/L; 氨氮浓度为 1.072–3.399 mg/L, 平均含量为 2.182 mg/L; NO_3^- 浓度为 0.631–2.429 mg/L, 平均含量为 1.236 mg/L; NO_2^- 浓度为 0.018–0.160 mg/L, 平均含量为 0.059 mg/L^[7]。

1.2 表层沉积物采集及参数测定

于 2009 年 10 月在西湖用柱状采泥器采集表层沉积物(0–3 cm), 同时采集上覆水样, 采样点设置如图 1 所示。用便携式测定仪现场测定温度(T)和 pH。样品密封冰冻后, 于 3–4 h 内运回实验室供后续处理与分析。沉积物经离心(4 000 r/min, 20 min)获得间隙水, 过 0.45 μm 孔径的滤膜, 取滤液测定 NO_3^- 、 NO_2^- 和 NH_4^+ 的浓度, NH_3 浓度根据 Barnabe 公式^[8]计算。离心后的沉积物经风干、磨细并过孔径 0.15 mm 筛后, 用烧失量法测定有机质(OM)含量, 用半微量凯氏法测定总氮(TN)含量^[9]。

1.3 AOB 和 NO_B 生物量的测定

1.3.1 DNA 的提取和纯化: 称取 50 g 沉积物鲜样, 加入 100 mL 的 DNA 提取缓冲液和 5 mg 蛋白酶 K, 37 °C、180 r/min 振荡 30 min, 加入 10 mL 的 20% SDS; 65 °C 水浴 90 min, 6 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清, 离

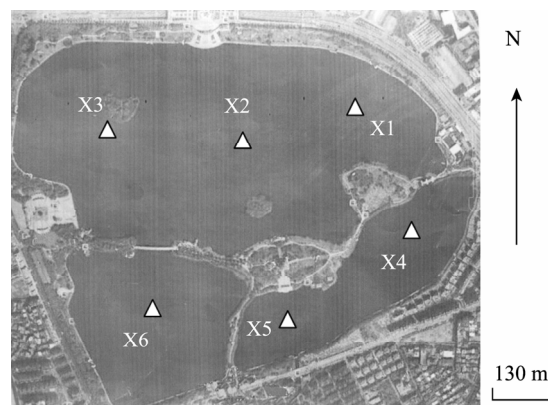


图 1 西湖采样点分布图

Fig. 1 Map of Lake Xihu, showing the location of sampling sites

心后的土壤沉淀再次提取,除 65 °C 水浴改为 10 min 外,其余步骤同上。将两次所得上清转移至含有 0.5 倍体积的 30%聚乙二醇/氯化钠(1.6 mol/L)的离心管中,室温放置 2 h, 10 000 × g 离心 20 min, 沉淀重悬于 20 mL TE (pH 8.00)。加入 7.5 mol/L 乙酸钾至终浓度 0.5 mol/L, 冰浴 5 min, 4 °C、16 000 × g 离心 30 min, 取上清, 用酚/氯仿(1:1, V/V)、氯仿/异戊醇(24:1, V/V)进行抽提, 加入 0.6 倍体积异丙醇, 室温沉淀 2 h, 16 000 × g 离心 30 min, 沉淀重悬于 1 mL TE。

1.3.2 AOB 生物量的测定: 对提取的 DNA 用无菌水进行梯度(1:10)稀释, 分别作为模板进行氨单加氧酶基因(*amoA*)的 PCR 扩增。引物为 *amoA*-1F 和 *amoA*-2R^[10], 扩增片段长度为 491 bp。扩增体系为: 10 × *Taq* buffer 5 μL, 25 mol/L MgCl₂ 3 μL, 2 mmol/L dNTP 5 μL, 4 g/L BSA 1.2 μL, DNA 模板 1 μL, 20 μmol/L *amoA*-1F 0.7 μL, 20 μmol/L *amoA*-2R 0.7 μL, 5 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μL, H₂O 32.9 μL。扩增程序为: 95 °C 5 min; 80 °C 停止, 加入 *Taq* DNA polymerase; 94 °C 60 s, 60 °C 90 s, 72 °C 90 s, 48 个循环; 72 °C 10 min。取 PCR 扩增产物 10 μL 于 2% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色后通过全自动电泳凝胶成像分析系统观察各个稀释度有无扩增条带。将次最高稀释倍数的模板作为梯度(1:10)稀释的起点(5 个重复, 稀释 4 次, 共 20 个稀释物), 组成一个矩阵, 直至不能扩增出目的条带。记下各稀释度有扩增条带的重复数, 根据 Taylor 的计数表^[11]计算 *amoA* 基因的总拷贝数。单个 AOB 细胞中 *amoA* 基因的拷贝数一般为 2–3 个, 平均 2.5 个^[12], 据此换算出 AOB 的生物量。

1.3.3 NOB 生物量的测定: 淡水生态系统中的 NOB 主要是硝化菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)^[13], 通过分别扩增 16S rRNA 基因对 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 进行生物量的测定, 被扩增的 16S rRNA 基因的总拷贝数即为 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 的生物量。过程分别如下:

(1) *Nitrobacter* 生物量的测定: 对提取的 DNA 用无菌水进行梯度(1:10)稀释, 分别作为模板进行 16S rRNA 基因的 PCR 扩增, 引物为 FGPS 1269' 和 FGPS 872^[14], 扩增片段长度为 397 bp, 扩增体系为: 10 × *Taq* buffer 5 μL, 25 mmol/L MgCl₂ 3 μL,

2 mmol/L dNTP 5 μL, DNA 模板 1 μL, 20 μmol/L FGPS1269' 稀释 1000 倍后加入 1.25 μL, 第一步反应完成后再加入原液 1.25 μL, 20 μmol/L FGPS 872 加样方法同上, 5 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μL, H₂O 33 μL。扩增程序为: 95 °C 3 min; 95 °C 45 s, 50 °C 30 s, 72 °C 1 min, 72 °C 3 min, 10 个循环; 再加入 20 μmol/L 引物 1.25 μL, 重复上述步骤, 即: 95 °C 45 s, 50 °C 30 s, 72 °C 1 min, 72 °C 5 min, 60 个循环; 12 °C 恒温。后期计数过程如上所示。

(2) *Nitrospira* 生物量的测定: 对提取的 DNA 用无菌水进行梯度(1:10)稀释, 分别作为模板进行 16S rRNA 基因的 PCR 扩增, 引物为 NSR 1113f 和 NSR 1264r^[14], 扩增片段长度为 151 bp。扩增体系为: 10 × *Taq* buffer 5 μL, 25 mmol/L MgCl₂ 3 μL, 2 mmol/L dNTP 5 μL, DNA 模板 1 μL, 20 μmol/L NSR 1113f 0.5 μL, 20 μmol/L NSR 1264r 0.5 μL, 5 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μL, H₂O 34.5 μL。扩增程序为: 95 °C 10 min; 94 °C 30 s, 65 °C 30 s, 72 °C 30 s, 60 个循环; 72 °C 15 min; 12 °C 恒温。后期计数过程如上所示。

1.4 沉积物氨氧化和亚硝酸盐氧化潜力的测定

取 12.5 g 新鲜沉积物于 250 mL 锥形烧瓶中, 加入 100 mL 经 0.2 μm 玻璃纤维滤膜过滤得上覆水样^[15], 分别加入亚硝酸盐氧化抑制剂 NaClO₃ (最终浓度为 1.06 g/L) 和氨氧化抑制剂丙烯基硫脲(ATU)(最终浓度为 10 mg/L)^[16], 所有锥形瓶用无菌透气封口膜封口, 放入培养箱, 实际沉积物温度下于黑暗中培养 24 h, 根据培养前后 NO₂⁻含量的差值分别计算氨氧化潜力和亚硝酸盐氧化潜力^[15]。

1.5 数据处理与统计

运用 SPSS10.0 软件及 Sigmaplot10.0 软件对数据进行统计分析和计算。

2 结果

2.1 西湖沉积物的基本参数

如表 1 所示, 西湖沉积物 pH 为 7.2–7.7; 间隙水中 NH₄⁺ 和 NH₃ 浓度较高, 分别为 15.883–26.847 mg/L 和 0.119–0.635 mg/L; 间隙水中 NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 浓度较低, 分别为 0.396–0.507 mg/L 和 0.018–0.036 mg/L; 总氮和有机质含量分别为 4.01–6.73 和 55.16–80.12 g/kg。

表 1 西湖各采样点的基本参数
Table 1 Basic parameters in the sampling sites of Xihu Lake

采样点 Sampling sites	pH	间隙水中 NH ₄ ⁺ -N NH ₄ ⁺ -N in interstitial water (mg/L)	间隙水中 NH ₃ NH ₃ in interstitial water (mg/L)	间隙水中 NO ₂ ⁻ -N NO ₂ ⁻ -N in interstitial water (mg/L)	间隙水中 NO ₃ ⁻ -N NO ₃ ⁻ -N in interstitial water (mg/L)	总氮 TN (g/kg)	有机质 OM (g/kg)
X1	7.5	16.964±1.115	0.250±0.013	0.024±0.005	0.432±0.028	4.27±0.192	65.38±2.104
X2	7.4	12.528±0.912	0.149±0.009	0.018±0.002	0.481±0.021	4.01±0.174	55.16±2.173
X3	7.2	15.883±0.847	0.119±0.009	0.027±0.001	0.507±0.036	4.58±0.152	61.49±1.185
X4	7.7	26.847±1.038	0.635±0.011	0.036±0.004	0.396±0.019	6.73±0.193	80.12±1.938
X5	7.5	24.583±0.098	0.358±0.010	0.032±0.003	0.422±0.026	6.52±0.182	74.41±1.714
X6	7.3	18.982±0.073	0.177±0.008	0.029±0.001	0.458±0.031	4.76±0.121	58.83±0.962

2.2 西湖沉积物中硝化细菌的 MPN-PCR 计数

如表 2 所示, 西湖沉积物中 AOB 生物量为 1.1×10^6 – 6.4×10^6 个/g 干土; *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 生物量分别为 2.9×10^5 – 6.1×10^5 和 8.0×10^4 – 2.7×10^5 个/g 干土, *Nitrobacter* 的生物量比 *Nitrospira* 多 2–8 倍。同时, AOB 生物量比 NOB (*Nitrobacter* + *Nitrospira*) 生物量多 2–9 倍。

2.3 西湖沉积物中氨氧化和亚硝酸盐氧化潜力

如表 3 所示, 西湖沉积物中氨氧化潜力(以 N 计)为 12.85–20.73 mg/(kg·d), 显著高于亚硝酸盐氧化潜力(以 N 计) 8.15–14.17 mg/(kg·d) (配对 *t*-检验, $P < 0.05$), 其比值为 1.53 ± 0.093 。

3 讨论

西湖沉积物中存在高生物量的 AOB, AOB 生物量是 NOB 生物量的 2–9 倍。NOB 中, *Nitrospira* 和 *Nitrobacter* 同时存在于西湖沉积物中, 但 *Nitrobacter* 是优势种群。西湖沉积物中硝化细菌种群结构的差异是由湖泊生态系统中环境因子的差异和不同种属硝化细菌自身的生理特性造成的。

硝化作用在许多生态系统中一般受到可利用性氨氮浓度的限制^[17]。较高浓度的氨氮会导致 AOB 大量增长。西湖沉积物中存在较高浓度氨氮和高生物量的 AOB 证实了这一点。相关分析也表明, 西湖

表 2 各采样点沉积物中硝化细菌的生物量
Table 2 Nitrifying bacteria biomass in sediment of all sampling sites

采样点 Sampling sites	AOB (个/g 干土, $\times 10^6$) (cells/g dry sediment, $\times 10^6$)	<i>Nitrobacter</i> (个/g 干土, $\times 10^5$) (cells/g dry sediment, $\times 10^5$)	<i>Nitrospira</i> (个/g 干土, $\times 10^5$) (cells/g dry sediment, $\times 10^5$)	NOB (<i>Nitrobacter</i> + <i>Nitrospira</i>) (个/g 干土, $\times 10^5$) (cells/g dry sediment, $\times 10^5$)
X1	3.7±1.03	4.7±1.08	2.7±1.52	7.4
X2	1.1±0.37	2.9±0.96	1.3±0.97	4.2
X3	2.7±0.74	3.2±1.22	2.5±1.39	5.7
X4	6.4±1.61	6.1±1.94	0.8±0.74	6.9
X5	5.2±1.48	5.4±1.72	1.1±1.06	6.5
X6	2.4±0.73	3.8±0.98	1.7±1.31	5.5

表 3 西湖沉积物中氨氧化和亚硝酸盐氧化潜力
Table 3 Ammonia and nitrite oxidation potentials in sediment of Xihu Lake

潜力 Potentials	X1	X2	X3	X4	X5	X6
氨氧化潜力 Ammonia oxidation potentials [mg/(kg·d)]	16.81±1.37	12.85±1.08	14.36±1.04	20.73±1.69	18.82±1.84	14.29±1.28
亚硝酸盐氧化潜力 Nitrite oxidation potentials [mg/(kg·d)]	10.97±1.22	8.15±0.98	8.92±0.83	14.17±1.13	13.53±1.06	8.73±0.86

沉积物间隙水中 NH_4^+ 和 NH_3 浓度与 AOB 生物量显著正相关(表 4)。同时, 沉积物 OM、TN 与 AOB 生物量也显著正相关, 这主要是因为: 首先, 有机氮矿化与 OM 含量显著正相关^[18], 因此高含量 OM 可以导致高速率的氮的矿化, 产生大量氨氮; 另外, OM 增加使沉积物耗氧速率增加, 导致沉积物缺氧状态的形成^[19]。而范成新和 Aizaki^[20]通过研究好氧和厌氧条件对日本霞浦湖沉积物-水界面氮交换的影响发现, 厌氧条件下, 沉积物氨氮的释放速率是好氧条件下的 2-8 倍。因此, 沉积物中 OM 越多越能导致间隙水中高浓度氨氮的形成。

而较高浓度氨氮却会对 NOB 产生一定程度的抑制。 NH_3 对 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 的抑制阈值分别为 0.1-1.0 mg/L^[21]和 0.04-0.08 mg/L^[22], 主要是通过竞争性抑制 NOB 细胞膜上的氧化氮还原酶(NOR)活性而对亚硝酸盐氧化过程产生影响^[23]。西湖沉积物间隙水中的 NH_3 浓度为 0.119-0.635 mg/L, 已达到对 *Nitrospira* 的抑制浓度, 导致西湖沉积物中 *Nitrospira* 生物量较少。相关分析表明, 西湖沉积物间隙水中 NH_4^+ 和 NH_3 浓度与 *Nitrobacter* 生物量显著正相关, 而与 *Nitrospira* 生物量无显著相关关系(表 4), 说明西湖沉积物间隙水中较高浓度 NH_3 还未对 *Nitrobacter* 种群产生明显抑制, 却通过促进 AOB 的活性而间接促进了 *Nitrobacter* 种群的生长; 另外也说明, *Nitrospira* 虽然受到较高 NH_3 浓

度抑制, 但同时还受到其它一些环境条件的影响, 如底物- NO_2^- 浓度等。对于 NOB 来说, *Nitrospira* 属于 K-选择物种, 生长缓慢, 但是具有高底物亲和力, 可以在含低浓度 NO_2^- 和低溶氧的环境中大量存在。相反, *Nitrobacter* 属于 r-选择物种, 生长速度快, 但是底物亲和力低, 只能在底物和溶氧浓度较高的环境中大量存在^[24]。*Nitrospira* 的底物亲和力比 *Nitrobacter* 高 1 倍多^[24]。但是, 在 NO_2^- 浓度较低的西湖沉积物中, *Nitrobacter* 是优势种群。相关分析也表明, 西湖沉积物间隙水中 NO_2^- 浓度与 *Nitrobacter* 生物量显著正相关(表 4)。已有研究报道指出, *Nitrobacter* 在 NO_2^- 浓度较低的赛纳河中也大量存在, 这可能是因为 *Nitrobacter* 主要是黏附在固体颗粒和沉积物表面生活^[25], 保证了 *Nitrobacter* 能在底物缺乏的环境中存在。此外, 生理学试验研究证明 *Nitrobacter* 能够异养生长, 而 *Nitrospira* 只能自养生长^[26]。因此, 在有机质含量较高的西湖沉积物中, *Nitrobacter* 具有竞争优势。西湖沉积物中有机质含量与 *Nitrobacter* 生物量显著正相关(表 4)证实了这一点。有机质的存在有助于大多数 *Nitrobacter* 进行兼性营养或异养生长, 但是不同菌株之间利用有机质作为能量的效率有显著差异^[27]。因此不同的 *Nitrobacter* 菌株具有不同的利用有机质的能力, 导致它们能在各种环境中共存^[28]。

表 4 沉积物中硝化细菌生物量与环境参数之间的相关关系
Table 4 Correlations among nitrifying bacteria biomass and parameters in sediment

参数 Parameters	AOB	<i>Nitrobacter</i>	<i>Nitrospira</i>	NOB (<i>Nitrobacter</i> + <i>Nitrospira</i>)
间隙水中 NH_4^+ -N NH_4^+ -N in interstitial water	0.940 **	0.925 **	-0.588	0.626
间隙水中 NH_3 NH_3 in interstitial water	0.911 **	0.919 **	-0.635	0.588
间隙水中 NO_3^- -N NO_3^- -N in interstitialwater	-0.849*	-0.951 **	0.513	-0.704
间隙水中 NO_2^- -N NO_2^- -N in interstitialwater	0.869*	0.802*	-0.431	0.595
总氮 TN	0.905 **	0.862*	-0.689	0.488
有机质 OM	0.994 **	0.958 **	-0.478	0.736*

Note: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

硝化细菌的生物量和种群结构差异严重影响了硝化作用的进行。西湖沉积物中, NOB 的优势种群是 *Nitrobacter*。动力学试验表明, *Nitrobacter* 具有较高的 NO₂⁻氧化活性^[29]。*Nitrobacter* 的 NO₂⁻氧化活性约是 *Nitrospira* 的 9 倍^[30]。但是, AOB 生物量远高于 NOB 生物量, 一定程度上导致氨氧化潜力显著高于亚硝酸盐氧化潜力(配对 *t*-检验, $P < 0.05$)。同时, 西湖沉积物中含有大量有机质, 这些有机质的降解会迅速消耗氧气, 导致沉积物处于厌氧状态, 从而影响 NO₂⁻氧化过程。另外, 氨氮对硝化细菌的活性具有很强的调节作用^[31]。塞纳河口沉积物中添加 36 mg/L NH₄⁺, 硝化速率显著增加^[32]; 沙质沉积物中添加 360 mg/L NH₄⁺, 硝化速率增加 35%, 但是添加 3 600 mg/L NH₄⁺时, 硝化作用受到明显抑制^[33]。AOB 的底物饱和系数为 0.3 mg/L NH₃^[34]。西湖沉积物中较高浓度的 NH₃ 不仅促进 AOB 的活性, 同时会对 NOB 的活性产生抑制, 从而导致高氨氧化潜力和低亚硝酸盐氧化潜力。

虽然西湖沉积物中, 氨氧化潜力显著高于亚硝酸盐氧化潜力, 但是 NO₂⁻浓度却并不高, 说明西湖沉积物中同时存在其它消耗 NO₂⁻的生化反应, 如厌氧氨氧化和反硝化等。阮晓红等^[35]通过分子生物学技术在江苏新沂河底泥样品中发现大量厌氧氨氧化细菌。徐徽等^[36]通过同位素相关技术研究表明, 太湖梅梁湾内及湾外开敞湖区水土界面的反硝化脱氮是主要的去除氮源的过程, 梅梁湾厌氧氨氧化脱氮比例占总脱氮比例为 12%–14%, 湾外开敞湖区则占 11%。以上结果说明, 在淡水生态系统沉积物中广泛存在厌氧氨氧化和反硝化过程。因此, 西湖沉积物中可能也存在类似的过程, 导致 NO₂⁻不累积。

参 考 文 献

[1] Hall GH. Nitrification[A]//Prosser JI. Special Publication of the Society for General Microbiology[M]. Oxford: IRL Press, 1986: 127–156.

[2] Pauer JJ, Auer MT. Nitrification in the water column and sediment of a hypereutrophic lake and adjoining river system[J]. Water Research, 2000, 34(4): 1247–1254.

[3] Hu J, Li DP. Nitrite removal performance and community structure of nitrite-oxidizing and heterotrophic bacteria

suffered with organic matter[J]. Current Microbiology, 2008, 57(4): 287–293.

[4] Sinha B, Annachhatre AP. Partial nitrification-operational parameters and microorganisms involved[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2007, 6(4): 285–313.

[5] 曾海鳌, 吴敬祿. 长江中下游不同营养水平湖泊水体环境变化特征及机制[J]. 水科学进展, 2007, 18(6): 834–841.

[6] 曾巾, 杨柳燕, 肖琳, 等. 太湖不同湖区无机氮转化潜力[J]. 生态与农村环境学报, 2008, 24(1): 63–67.

[7] 陈力, 郭沛勇, 潘朝辉, 等. 福建泉州市东、西湖水体中氮的空间分布研究[J]. 中国环境监测, 2008, 24(6): 56–61.

[8] Barnabe G. Aquaculture[M]. London: Ellis Horwood, 1990.

[9] AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International[M]. 16th ed. Washington DC: AOCA, 1997.

[10] Rotthauwe JH, Witzel KP, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4704–4712.

[11] Meynell GG, Meynell E. Theory and Practice of Experimental Bacteriology[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1965.

[12] Norton JM, Alzerreca JJ, Suwa Y, et al. Diversity of ammonia monooxygenase operon in autotrophic ammonia-oxidizing bacteria[J]. Archives of Microbiology, 2002, 177(2): 139–149.

[13] Cébron A, Garnier J. *Nitrobacter* and *Nitrospira* genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: detection, quantification and growth along the lower Seine River (France)[J]. Water Research, 2005, 39(20): 4979–4992.

[14] Dionisi HM, Layton AC, Harms G, et al. Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(1): 245–253.

[15] Féray C, Montuelle B. Chemical and microbial hypotheses explaining the effect of wastewater treatment plant discharges on the nitrifying communities in freshwater sediment[J]. Chemosphere, 2003, 50(7): 919–928.

[16] Gernaey K, Bogaert H, Vanrolleghem P, et al. A titration technique for on-line nitrification monitoring in activated sludge[J]. Water Science and Technology, 1998, 37(12): 103–110.

[17] Belser LW. Population ecology of nitrifying bacteria[J].

- Annual Review of Microbiology, 1979, 33(1): 309–333.
- [18] van Vliet PCJ, van der Stelt B, Rietberg PI, et al. Effects of organic matter content on earthworms and nitrogen mineralization in grassland soils[J]. European Journal of Soil Biology, 2007, 43(1): 222–229.
- [19] Chen SL, Ling J, Blancheton JP. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors[J]. Aquaculture Engineering, 2006, 34(3): 179–197.
- [20] 范成新, 相崎守弘. 好氧和厌氧条件对霞浦湖沉积物-水界面氮磷交换的影响[J]. 湖泊科学, 1997, 9(4): 337–342.
- [21] Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TB, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid[J]. Journal of Water Pollution Control Fed, 1976, 48(5): 835–852.
- [22] Blackburne R, Vadivelua VM, Yuan ZG, et al. Kinetic characterisation of an enriched *Nitrospira* culture with comparison to *Nitrobacter*[J]. Water Research, 2007, 41(4): 3033–3042.
- [23] Yang L, Alleman JE. Investigation of batch wise nitrite build-up by an enriched nitrification culture[J]. Water Science and Technology, 1992, 26(5/6): 997–1005.
- [24] Schramm A, de Beer D, van den Heuvel JC, et al. Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by in situ hybridization and the use of microsensors[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(8): 3690–3696.
- [25] Koops HP, Pommerening-Röser A. Distribution and eco-physiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2001, 37(1): 1–9.
- [26] Ehrich S, Behrens D, Lebedeva E, et al. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship[J]. Archives of Microbiology, 1995, 164(1): 16–23.
- [27] Bock E, Koops HP, Möller UC, et al. A new facultatively nitrite oxidizing bacterium, *Nitrobacter vulgaris* sp. nov.[J]. Archives of Microbiology, 1990, 153(2): 105–110.
- [28] Both GJ, Gerards S, Laanbroek HJ. Temporal and spatial variation in the nitrite-oxidizing bacterial community of a grassland soil[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1992, 101(2): 99–112.
- [29] Kim DJ, Kim SH. Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrification reactor systems and their kinetic characteristics[J]. Water Research, 2006, 40(5): 887–894.
- [30] Wagner M, Rath G, Koops HP, et al. *In situ* analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants[J]. Water Science and Technology, 1996, 34(1/2): 237–244.
- [31] Butturini A, Battin TJ, Sabater F. Nitrification in stream sediment biofilms: the role of ammonium concentration and DOC quality[J]. Water Research, 2000, 34(2): 629–639.
- [32] de Bie JM, Starink M, Boschker HTS, et al. Nitrification in the Schelde estuary: methodological aspects and factors influencing its activity[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(1): 99–107.
- [33] Magalhães CM, Joy SB, Moreira RM, et al. Effect of salinity and inorganic nitrogen concentrations on nitrification and denitrification rates in intertidal sediments and rocky biofilms of the Douro River estuary, Portugal[J]. Water Research, 2005, 39(9): 1783–1794.
- [34] Ciudad G, Werner A, Bornhardt C, et al. Differential kinetics of ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria: a simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(8): 1764–1772.
- [35] 阮晓红, 张瑛, Schmid MC, 等. 淡水水体底泥中厌氧氨氧化菌的原位鉴别[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1420–1423.
- [36] 徐徽, 张路, 商景阁, 等. 太湖梅梁湾水土界面反硝化和厌氧氨氧化[J]. 湖泊科学, 2009, 21(6): 775–781.