



专论与综述

水生生态系统中金属依赖型甲烷厌氧氧化过程的研究进展

姜怡如¹ 高峥^{1,2} 李明聪^{*1,2}

1 山东农业大学生命科学学院 山东 泰安 271000

2 山东农业大学作物生物学国家重点实验室 山东 泰安 271000

摘要: 甲烷是一种比 CO₂ 更活跃的温室气体, 微生物驱动的甲烷厌氧氧化(anaerobic oxidation of methane, AOM)过程对于降低全球甲烷的排放有着重要意义。参与 AOM 反应的最终电子受体主要分为三类, 即硫酸盐、亚硝酸盐/硝酸盐以及以 Fe(III)、Mn(IV)等为代表的金属离子。可溶性金属物质和不溶性金属矿物都可以被用作 AOM 的电子受体, 这大大提高了参与金属依赖型甲烷厌氧氧化(metal-dependent anaerobic oxidation of methane, Metal-AOM)微生物的生态价值。目前研究聚焦在功能菌群、生态分布等方面。部分甲烷厌氧氧化古菌(anaerobic methanotrophic archaea, ANME)具有直接或间接参与 Metal-AOM 过程的能力。但由于功能菌群纯化富集和分离具有一定难度, 有关其生理生化和生态学等特征的研究受到限制。同时, 随着 Metal-AOM 被发现存在于不同水生生境中, 其在污染治理领域的应用也被广泛讨论, 但是河口生境尚缺乏深入研究。本文从 Metal-AOM 的发现入手, 阐述了参与该过程的主要微生物及其在水域环境下的生态分布, 并介绍了 Metal-AOM 的反应机制和在实际应用中的机遇与挑战。最后, 根据现有研究结果, 提出对功能菌群、机制及环保应用的研究展望, 包括微生物分离纯化和影响因素、菌群代谢活性和作用机制的解析以及新型生产工艺的设计和发展应用, 以期今后的环境污染治理和工业应用提供借鉴意义。

关键词: 水域环境, 甲烷厌氧氧化, 甲烷厌氧氧化古菌, 金属离子电子受体, 生态分布

Metal-dependent anaerobic oxidation of methane in aquatic ecosystems: a review

JIANG Yi-Ru¹ GAO Zheng^{1,2} LI Ming-Cong^{*1,2}

1 College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271000, China

2 State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271000, China

Abstract: Methane is a more active greenhouse gas than CO₂, and the process of methane anaerobic oxidation (AOM) driven by microorganisms is of great significance in reducing global methane emissions.

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (U1906223, 42007208); Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2018MD001); China Ocean Mineral Resources Research and Development Association Project (DY135-B2-17)

***Corresponding author:** Tel: 86-538-8249697; E-mail: lmc@sdau.edu.cn

Received: 25-07-2020; **Accepted:** 24-09-2020; **Published online:** 27-09-2020

基金项目: 国家自然科学基金(U1906223, 42007208); 山东省自然科学基金(ZR2018MD001); 中国大洋矿产资源研究开发协会项目(DY135-B2-17)

***通信作者:** Tel: 0538-8249697; E-mail: lmc@sdau.edu.cn

收稿日期: 2020-07-25; **接受日期:** 2020-09-24; **网络首发日期:** 2020-09-27

The final electron acceptors involved in AOM reaction are mainly divided into three categories: sulfate, nitrite/nitrate, and metal ions represented by Fe(III), Mn(IV), etc. Both soluble metal substances and insoluble metal minerals can be used as electron acceptors for AOM, which greatly enhances the ecological value of microorganisms participating in metal-dependent anaerobic oxidation of methane (Metal-AOM). The current research focuses on functional flora, ecological distribution, etc. Some anaerobic methanotrophic archaea (ANME) have the ability to participate in Metal-AOM process directly or indirectly. However, due to the difficulty in purification, enrichment and isolation of functional microorganisms, the study on their physiological, biochemical and ecological characteristics has been limited. Meanwhile, with the discovery of Metal-AOM in different aquatic habitats, its application in the field of pollution control has been widely discussed; but there is a lack of in-depth research of estuarine habitats. Based on the discovery of Metal-AOM, the main microorganisms involved in the process and their ecological distribution in the aquatic environment were described, and the reaction mechanism of Metal-AOM and its opportunities and challenges in practical application were introduced. Finally, based on the existing research results, this paper puts forward the research prospects of functional microflora, mechanisms and environmental applications, including the isolation and purification of microorganisms, the analysis of their metabolic activity and mechanism of action, as well as the design, development and application of new production techniques, in order to provide reference for environmental pollution control and industrial applications in the future.

Keywords: Aquatic environment, Anaerobic oxidation of methane, Anaerobic methanotrophic archaea (ANME), Metal ion electron acceptor, Ecological distribution

2018年4月2日, Feldman等通过对地球大气的综合观测, 首次直接证明了甲烷是重要的温室气体之一^[1]。虽然甲烷对温室效应的贡献不如CO₂, 但是就单个分子而言, 甲烷对全球变暖的影响是二氧化碳的20–30倍^[2–3]。全球产生的甲烷有约50%以上在进入大气之前被微生物氧化为CO₂^[4], 参与氧化削减甲烷的过程主要由好氧和厌氧甲烷菌负责; 好氧甲烷氧化菌可在分子氧存在的情况下, 将甲烷氧化成甲醇并最终生成二氧化碳, 厌氧甲烷氧化过程则是在无氧条件下将甲烷氧化成二氧化碳, 参与这类反应的微生物以厌氧甲烷氧化菌(anaerobic methanotrophs)为主, 这个过程称为甲烷厌氧氧化(anaerobic oxidation of methane, AOM)过程^[5]。AOM可有效控制甲烷从厌氧环境向大气排放, 在全球甲烷削减中发挥着重要作用。自然环境中甲烷的厌氧氧化最先在海底沉积物中发现, 研究发现海底产生的甲烷在接触到氧气前便被消耗了, 因此推测在海底的沉积物中存在厌氧氧化甲烷的微生物^[6]。甲烷的厌氧氧化可以消耗海洋沉积物中

产生的约90%的甲烷, 有效地控制了甲烷从海洋中排出进入大气^[7–9]。微生物的甲烷厌氧氧化普遍存在于海洋沉积物、冷泉、热液口、湖泊以及人类活动的水稻田、垃圾填埋场等环境^[10], 通过消耗各种环境产生的甲烷来调节甲烷对大气的输入, 在甲烷调节中发挥着重要作用。

甲烷厌氧氧化根据最终电子受体的不同可分为3类: 第1类是以硫酸盐作为最终电子受体, 被称为硫酸盐还原型甲烷厌氧氧化(sulphate-reduction-dependent anaerobic methane oxidation, SAMO); 第2类是以硝酸盐或亚硝酸盐作为最终电子受体, 被称为氮依赖型甲烷厌氧氧化(nitrite-dependent anaerobic methane oxidation, N-DAMO); 第3类是Fe³⁺、Mn⁴⁺、Cr⁵⁺、MnO₄⁻等金属离子为电子受体的金属依赖型甲烷厌氧氧化(Metal-AOM)^[11]。

SAMO是最早发现的AOM类型, 由甲烷厌氧氧化古菌(anaerobic methanotrophic archaea, ANME)和硫酸盐还原细菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)

共同完成。SAMO 的发现使人们对于甲烷氧化过程的认知不再局限于甲烷好氧化^[6]。在富含硫酸盐的海洋环境中,产甲烷菌可利用海洋沉积物中的有机质产生大量的甲烷,随后甲烷耦合环境中的大部分硫酸盐被还原,即进行 SAMO 过程^[12]。目前在 AOM 是否会影响硫酸盐还原产生的硫化物总产量的问题上,研究结论存在较大争议^[13-17]。N-DAMO 是近年来发现的耦合微生物与氮碳循环的生物过程,多发生于淡水生态环境;然而在 2015 年, Yan 等首次揭示了温带河口生态系统中 N-DAMO 细菌的多样性和分布特征,通过对其 16S rRNA 基因和 *pmoA* 基因的系统发育分析,发现该类细菌的多样性高于许多其他生态系统,这使人们对 N-DAMO 多样性及分布环境有了新的认识^[18]。

Metal-AOM 发现较晚,多存在于海洋、淡水和一些特殊的环境,如石油污染的水层、海洋沉积物岩心的深层产甲烷带中。其环境意义不仅在于减少温室效应,而且在调节铁、锰等元素沉积和污染治理上也发挥着重要作用。本文介绍金属依赖型甲烷厌氧氧化的发现以及参与该过程的主要微生物。在此基础上,进一步阐述金属依赖型甲烷厌氧氧化微生物在水域环境下的生态分布,探讨 Metal-AOM 的实际应用及其在节能减排上的价值。

1 金属依赖型甲烷厌氧氧化的发现

AOM 通常发生在沉积物的甲烷-硫酸盐交汇区域(sulfate-methane transition zones, SMTZ), SMTZ 代表了扩散受限的海洋沉积物深部的氧化还原交界区域,常被检测到具有较高的 AOM 活性^[19]。Metal-AOM 是指以金属离子为电子受体的甲烷厌氧氧化过程,如 Fe^{3+} 、 Mn^{4+} 、 Cr^{4+} 等^[11]。相对于 SAMO 和 N-DAMO,其具有调节金属元素的沉积以及降解环境污染物等独特的环境价值。

早在 1980 年, Zehnder 等就推测 AOM 可能与铁、锰有关^[20]。2008 年, Caldwell 等计算了各种环境相关氧化剂对甲烷氧化的吉布斯自由能,提出一些微生物或共生菌群除了将硫酸盐和硝酸盐作

为 AOM 的电子受体外,也将铁和锰作为 AOM 的潜在电子受体^[2]。此外, AOM 被发现与海洋沉积物、海岸沉积物和湖泊沉积物中的锰或铁的削减过程相耦合^[21-24]。

研究发现,在一些样品中存在某些物质可将原本耦合的 AOM 过程与硫酸盐还原反应(sulfate reduction, SR)过程进行解耦,例如, AOM 与 SR 解耦的环境中通常存在丰富的含金属矿物,这些可能是驱动 AOM 的硫酸盐的重要替代品^[25-27]。AOM 与 SR 解耦也成为 AOM 与其他氧化物(如氧化金属)还原反应耦合的一个重要指标。

2009 年, Beal 等研究富含锰矿和铁矿的鳊鱼河流域(eel river basin, ERB)时发现 Fe^{3+} 和 Mn^{4+} 能够作为 AOM 过程的电子受体,首次证明自然环境中存在 Metal-AOM 过程^[21]。虽然 AOM 与 MnO_2 或 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 耦合后的还原速率低于 AOM-SR,但由于 Metal-AOM 过程中产生的能量要比在 SAMO 过程中产生的能量多得多(表 1),这使得在 ERB 沉积物中参与 Metal-AOM 的微生物获得能量的速度要更快(2-10 倍),这也激励了研究人员进一步探索这些潜在的过程。

近年来, Fe-AOM 被认为普遍存在于富铁海洋沉积物的甲烷带中^[22,28-32]。2013 年 Norði 等在研究一个富含铁的淡水湖的 AOM 过程中发现:当硫酸盐浓度低于 $3 \mu\text{mol/L}$ 时, AOM 速率呈上升趋势,这表明了 AOM 很有可能与结晶性更强的 Fe(III)氧化物还原相耦合^[33]。2015 年, Egger 等在实验室对沿海沉积物进行原位培养,发现原位微生物群落能够将甲烷氧化与氧化铁的还原联系起来,沿海一

表 1 AOM 过程中产生的 ΔG 对比

Table 1 ΔG comparison during AOM process

AOM	公式 Formula	ΔG
SAMO	$\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	$-34 \text{ kJ/mol}^{[2]}$
Metal-AOM	$\text{CH}_4 + 4\text{MnO}_2 + 7\text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^- + 4\text{Mn}^{2+} + 5\text{H}_2\text{O}$	$-556 \text{ kJ/mol}^{[21]}$
	$\text{CH}_4 + 8\text{Fe}(\text{OH})_3 + 15\text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^- + 8\text{Fe}^{2+} + 21\text{H}_2\text{O}$	$-270.3 \text{ kJ/mol}^{[21]}$

带的海水富营养化导致沉积物中 SMTZ 向上迁移, 新建立的 SMTZ 下面可还原铁的产甲烷沉积物为 Fe-AOM 过程创造了新的地球化学条件^[22]。很多研究表明, 海洋沉积物孔隙水中溶铁浓度升高是铁持续还原的标志, 硫酸盐浓度低、活性氧化铁埋藏量高且有甲烷存在, 都被认为是 Fe-AOM 可发生的地球化学标志^[22,28-32]。Aromokye 等(2019)以海洋沉积物为实验对象, 通过地球化学分析、放射性同位素等多种方法, 再次有力地论证了 Fe-AOM 的发生^[34]。大陆架和边缘沉积物中, Fe-AOM 的发现, 可能对铁和碳的生物地球化学循环以及对能量有限的深层沉积生物圈中微生物生命具有重要意义。

2 参与金属依赖型甲烷厌氧氧化的主要微生物

甲烷厌氧氧化古菌(ANME)是广为人知的参与 AOM 的微生物。由于甲烷在全球碳循环中的重要性, 40 年来, ANME 已经引起了科学界的广泛关注。ANME 广泛分布于海洋栖息地, 包括冷渗漏系统(甲烷水合物的气体泄漏)^[35-36]、热液喷口^[37]以及富含甲烷的海洋冷泉有机质沉积物。根据系统发育分析(图 1), ANME 属于广古菌门, 概而论之, 可分为三类: ANME-1、ANME-2 和 ANME-3。ANME-1 与 *Methanosarcinales* 和 *Methanomicrobiales* 具有相对较远的亲缘关系; ANME-2^[19]被分为 4 个

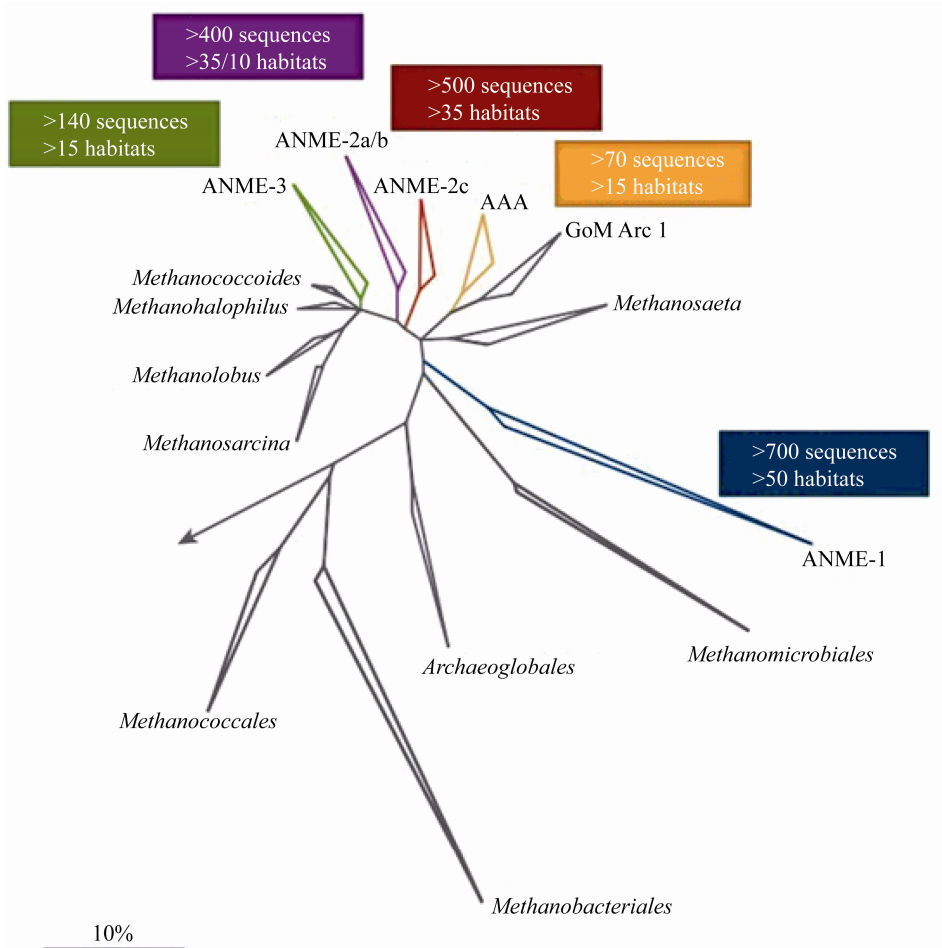


图 1 甲烷代谢相关古菌进化图谱(16S rRNA 基因的进化树)^[19]

Figure 1 Phylogenetic trees of archaea associated with methane metabolism (the phylogenetic tree of 16S rRNA gene)^[19]

支系, 即 ANME-2a、ANME-2b、ANME-2c 和 ANME-2d (近来 ANME-2d 被划分到一个新的类群 *Methanoperedenaceae*)^[38]; ANME-3 与拟甲烷球菌属 (*Methanococoides*) 关系密切, 通常会和硫酸盐还原菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB) 形成贝壳状细胞团, 但是细胞团中的 SRB 数量相对较少^[39] (图 1)。

先前的各种研究表明, ANME-1、ANME-3、ANME-2a、ANME-2c、ANME-2d、*Candidatus Methanoperedens ferrireducens*、*Methanosarcina activorans*、产甲烷菌古生菌和产甲烷营养细菌直接或间接参与了 Fe-AOM 过程^[21,23,34,40-44]。

Liang 等(2019)发现, 海洋沉积物中, 无论是 ANME-1 还是拟甲烷球菌属/ANME-3 与伴随细菌, 都可参与 Metal-AOM, 但目前尚未分离出具有代表性的 Fe-AOM 微生物; 而在淡水系统中, 发现能够执行 Metal-AOM 的主要微生物是 ANME-2d^[45]。

与其他 ANME 不同的是, 部分 ANME-2 无论是否与伴随的其他细菌形成细胞团, 都能发生金属

离子耦合 AOM 的还原反应^[40-41,46-47]。因此, ANME-2 (表 2) 可被认为是介导 Metal-AOM 过程的主要微生物。

ANME-2 往往与 SRB 以外壳型或者混合型共生体存在^[19]。ANME-2 各演化支系间的进化距离相距较远, 特别是 ANME-2d 也被称为 GoM ArcI^[49], 该亚类成员与其他成员的同源性较远, 已被划分至新类群, 不具备直接氧化甲烷的能力, 也不与 SRB 组成共生菌群^[50]。ANME-2d 作为一种甲烷营养菌, 其多功能性主要体现于其在不同的环境条件下能够使用不同的氧化物作为最终电子受体^[41]。在 N-DAMO 的富集培养实验中, 发现 ANME-2d 和伴随细菌可分别作用于 Fe^{3+} ^[41]、 Mn^{4+} ^[41]、 Cr^{4+} ^[47] 受体参与 Metal-AOM 过程。

环境样品的复杂性使得 Metal-AOM 微生物的发现存在不确定性。截至目前, 还未获得任何单一 ANMEs 的纯培养物^[51]。ANME-2(a、b、c、d) 具有生长缓慢、倍增时间长等特点, 其中 ANME-2d 的倍增时间一般为 2-7 个月, 难以进行纯培养物的富集和分离, 限制了 ANMEs 的生理特性研究^[40]。

表 2 ANME-2 亚类性质

Table 2 Characterization of various ANME-2 subgroups

项目 Item	ANME-2a	ANME-2b	ANME-2c	ANME-2d (GoM ArcI)
隶属科目	甲烷八叠球菌属 <i>Methanosarcinales</i>			<i>Methanoperedens</i>
Systematization				
生境	冷泉区域, 黑海, 部分淡水湿地, 垃圾填埋场等			淡水环境如湿地、土壤、稻田、湖泊、河流、污水处理厂等
Habitat	Cold spring area, black sea, part of fresh water wetlands, landfill, etc			Fresh water environment such as wetlands, soil, paddy fields, lakes, rivers, sewage treatment plants, etc
特性	球菌, 与 SRB 形成混合细胞团且覆盖有机质膜 ^[19]			不规则球菌, 直径为 1-3 μm 左右, 可以单独完成 N-DAMO ^[48]
Feature	Coccus, and SRB formed mixed cell mass and covered with organic matter membrane ^[19]			Irregular coccus, with a diameter of 1-3 μm , can complete N-DAMO alone ^[48]
具备氧化甲烷的能力	是			否
The ability to oxidize methane	Yes			No
已知可作用的金属离子受体	Fe^{3+} ^[34]	暂时没有	Fe^{3+} ^[40]	Fe^{3+} ^[41] , Mn^{4+} ^[41] , Cr^{4+} ^[47]
Metal ion receptors are known to act	Temporarily no			

3 金属依赖型甲烷厌氧氧化菌在水生系统中的生态分布

自 20 世纪 90 年代末发现 ANME 以来, 研究者们对 ANME 的分布特征进行了深入的研究^[19]。目前已知的 ANME 可以从海洋甲烷渗漏、通风口和 SMTZ 获得, 此外, 缺氧海洋水柱、湖泊水柱和沉积物、土壤和含水层也发现了 ANME 的存在^[19]。

3.1 海水生态系统中 ANME 的分布及功能

在缺氧海洋系统中微生物介导的甲烷氧化过程具有的重要全球意义, 厌氧海洋沉积物中有高达 90% 的甲烷参与元素物质循环^[52]。在 Zhang 等^[53]设计的高压连续流动培养装置的基础上, Wang 等通过对 Capt Aryutinov 泥火山沉积物样品的富集, 完成对 ANME (以 ANME-2a 为主) 代谢特征的研究, 开发模拟原位条件进行富集培养的装置设备, 帮助人们在实验室的条件下对 ANME 进行培养富集, 进一步揭示 AOM 过程和机制, 以及 ANME 的生理生态功能^[54]。

以 Fe-AOM 为例, 过去 10 年中在许多产甲烷深度海洋沉积物中观察到铁的还原, 这表明了铁和甲烷循环之间的联系。然而, 这种联系的机制性质尚未确定, 也没有在营养贫乏的浅海沉积物中进行过研究。2017 年, Egger 团队发现, 通过来自上面的富有机型海洋沉积物向下扩散的甲烷发生反应, 湖泊向海洋系统转变可能会导致贫有机型湖泊沉积物中埋藏较深的以结晶态为主的氧化铁重新活化; 同时, 氧化铁还原和甲烷氧化之间的潜在耦合可能影响深层铁循环和相关的生物地球化学过程^[30]。孔隙水甲烷和丰富的可还原铁氧化物的共生表明, 与原位生成硫化物相比, 接受相对较高的铁氧化物输入的沉积物可能有利于 Fe-AOM。在海洋和淡水环境中, ANMEs 被发现与铁结合的 AOM 有关^[40-41, 43, 55]。2019 年, Vigderovich 等首次为证实贫营养型地中海东南部大陆架的产甲烷带中存在微生物参与的铁还原反应提供了地球化学与分子证据, 表明 ANMEs 或可参与地中海沉积物的

Fe-AOM 过程^[56]。

3.2 淡水生态系统中 ANME 的分布及功能

淡水系统作为重要的温室气体排放源, 其中广泛存在的 ANMEs 在回收金属以及减缓温室效应等方面发挥重要作用。有研究报道表明 ANMEs 可以单独或者协同其他异化金属还原菌去除重金属镉、砷高价化合物^[57]。

富铁淡水沉积物中溶解的甲烷的存在, 为证明甲烷氧化和铁氧化物还原之间的潜在耦合创造了有利条件。2018 年, Martinez-Cruz 等发现 AOM 广泛存在于淡水湖沉积物中, 其中表层湖泊沉积物内氧化削减的甲烷总量占总甲烷产量的 1%, 甲烷的潜在排放量减少了 29%–34% (95% 置信区间)^[58], 这大大证实了在湖泊沉积物中 AOM 是影响甲烷释放的重要限制因素。以前的研究已经证明了金属与金属(铁、锰)、可能作为电子受体的 SO_4^{2-} 和腐殖质之间复杂的相互作用^[22, 24, 33, 59-61], 即便铁锰这两种元素的氧化态都没有被量化, 它们在 AOM 中的特殊作用无法被评估, 我们也不能排除它们在这些湖泊系统中作为 AOM 电子受体的作用。

ANME-2d 被发现广泛存在于各种淡水生境中, 包括湿地沉积物、土壤和稻田、湖泊和河流以及污水处理厂等。Weber 等在丹麦日德兰低硫高铁的 Ørn 湖中取样, 并在其淡水沉积物中检测到了 AOM 活性, 为此前 ANME-2d 主导完成了 SAMO 或(和) Fe-AOM 过程提供了实验依据^[62]。这说明 ANME-2d 古菌可存在于高价铁等离子丰富的淡水生境中, 进而证明了 ANME-2d 参与淡水系统中 Metal-AOM 过程并对于温室效应的减缓具有重要意义。

3.3 河口生态系统中 ANME 的分布及功能

近年来, 国内外学者对不同水生生境的 Metal-AOM 微生物进行了研究, 研究内容以海洋与淡水生态系统为主。河口环境是甲烷产生和代谢的主要场所之一, 然而甲烷的产生和氧化过程受咸

淡水交替、潮汐循环和冲淤变化等海陆相互作用的影响^[63], 复杂的环境因素使有关 Metal-AOM 微生物的研究受到了限制。

国内外学者对河口沉积物甲烷消耗的研究侧重于理化成分的测定及分析, 能证明微生物参与甲烷消减过程存在的证据微乎其微。2006年, 对珠江口沉积物的研究表明或许存在甲烷氧化菌等微生物消耗了水体中的甲烷^[64]。2017年, 对长江口沉积物的研究发现沉积物微生物丰度水平在潮滩环境的空间分布特征不同, 其中深层沉积物菌群以产甲烷菌和甲烷氧化菌为主, 而浅层则以 SRB 和铁还原菌为主, 垂直空间中分布的多功能菌群或可成为进一步证明 Metal-AOM 过程存在的地理化学证据^[63]。

4 金属依赖型甲烷厌氧氧化的反应机制

Metal-AOM 的具体机制尚不完全清楚, 有关微生物的确切特征有待进一步研究。目前根据研究所得可能的机制有 3 种^[59]:

第 1 种认为在几种微生物(如 ANME-2a、ANME-2c、ANME-2d)作用下, 金属离子直接耦合甲烷进行厌氧氧化^[24], 即将电子直接转移至可溶性金属离子、复合物或者固体金属氧化物。Segarra 等(2013)研究证明存在非晶态固体 Fe(III)和固体 Mn(IV)作为替代底物参与 AOM 过程, 与 SR 无关^[65]; Wankel 等(2015)研究了中谷喷口区热液沉积物中的 AOM, 由于这些沉积物富含 Fe(III)矿物, 特别是绿锈和一种混合的铁-铁氢氧化物^[66]。这两项研究也被看作是支持铁直接耦合 AOM 机制的证据。

第 2 种是以硫化物存在为前提形成零价硫, 以 FeS 为例的反应方程为^[33]: $\text{Fe}(\text{OH})_3 + \text{FeS} + 6\text{H}^+ \rightarrow 3\text{Fe}^{2+} + \text{S} + 6\text{H}_2\text{O}$ 。ANME 与金属还原微生物(metal reducing microorganism, MRM)合作, 为降解金属氧化物, ANME 为 MRM 提供电子来完成 Metal-AOM 过程^[59]。零价硫通过自身的歧化反应固定碳元素, 生成硫酸盐(与甲烷发生 SAMO, 氧化甲烷)和负二价硫^[28]。这种机制也意味着对甲烷

耦合铁氧化物重要还原机制的非生物过程进行排除, 为微生物途径提供最合理的解释。

第 3 种是反应体系(以 Fe^{3+} 为主)中的 Fe^{3+} 还原菌将氢气削减至低浓度, 然后通过反向产甲烷途径完成 AOM 过程^[67]。以此为机制的 Fe-AOM 过程往往建立在铁水合物等作为反应相且缺少活性有机质的海洋环境中。

5 金属依赖型甲烷厌氧氧化的实际应用

Metal-AOM 对于减少全球甲烷的排放量有重要意义。自然界中甲烷的排放包括自然排放和人为排放两种, 分别占了地球甲烷排放量的 40% 和 60%^[67]。研究表明, 如果 Fe-AOM 氧化的甲烷量能占到全球 10%, 那么甲烷排放的削减量会是现在的 2 倍^[24]。

以海洋生态系统为例, Metal-AOM 反应经常发生在 SMTZ 以下的位置, 由于人为富营养化和 SMTZ 带的向上运动, 还原区以下的位置成为已发现的金属氧化物的主要分布区域, 此处硫酸盐、硝酸盐和亚硝酸盐的含量不足, 金属离子极有可能是在该区域中唯一能参与 AOM 的电子受体^[59]。

Metal-AOM 反应参与水域环境中碳元素、硫元素、磷元素以及金属元素的循环。淡水水域污水处理过程中会导致甲烷大量排放, ANMEs 可以转化甲烷为有机碳如乙酸, 为生态系统中的异养微生物群落提供碳源^[68], 还可单独或联合其他菌群去除硫元素、磷元素和金属离子等, 而且不需要价格高昂的电子受体。Fe-AOM 过程可以降解环境中的有毒有害物质, 例如 Fe^{3+} 可以沉淀含水层中的苯等烃类物质^[69]。

此外, 由于河口湿地甲烷的产生和氧化过程受咸淡水交替、潮汐循环和冲淤变化等海陆相互作用以及人类活动对湿地碳循环的影响, AOM 过程的最终电子受体和影响因素常常改变, 参与 AOM 过程的不同菌群也会因其不确定性使研究受到限制^[70]。

在一系列 Metal-AOM 的金属离子添加实验

中,可看出金属离子添加对反应速率和微生物数量有一定的积极作用。2002年,闵航等对水田 AOM 进行研究发现, Mn^{4+} 具有提升 AOM 的能力^[71]。2018年,刘显槟对湿地土壤进行锰元素的添加,发现锰的加入将大大减少甲烷的释放量^[14]。同年, Lu 等将铁进行浓度梯度添加会使 AOM 细菌和古菌的数量显著增加,在最佳微量元素铁含量下, AOM 细菌和古菌共培养体系中铵态氮和硝态氮的去除率分别提高了 13.6 倍和 9.2 倍^[72],表明 Metal-AOM 或具有一定的除氮功能。

目前, Metal-AOM 应用及其有关环境影响因素的研究才刚起步。未来需要进一步研究 Metal-AOM 菌群纯化富集分离及工业化回收金属除碳除毒的适宜条件,减少各过程物质和能量的浪费,提高反应速率和稳定性。例如:针对目前亟待解决的含金属和有毒有害物质的废水治理问题,可利用 Metal-AOM 进行处理,将甲烷作为替代碳源,研发新型的回收金属除碳除毒工艺;通过改变反应条件、金属电子受体种类、添加物等方面,建立合适且高效的净化和生产模式,并进一步研发具体的工艺流程,提升环境生态效益和经济效益。

6 展望

Metal-AOM 是指以金属离子为电子受体的甲烷厌氧氧化过程,可以削减环境中的甲烷、金属离子、环境污染物等,在元素循环和全球气候变化中起着重要作用。探明 Metal-AOM 发生机理和微生物在功能、生态和进化上的关系,有助于进一步完善缓解全球气候变暖的措施,同时能够为制定甲烷排放标准提供一定的理论基础与科学依据。本文综述了近年来有关 Metal-AOM 微生物的分类和在不同水生生态系统中的分布与功能,并探讨了 Metal-AOM 过程的反应机制及其应用情况。

从某种意义上说, Metal-AOM 的研究正处于初期阶段,存在许多值得探索的方面,如:关于 Metal-AOM 功能微生物,我们对其种群分类、个体形态、细胞化学组分、生理生化和生态学等特征

是否清楚?不同生境下, Metal-AOM 微生物与其他生物之间存在怎样的共生关系?不同环境因子会对菌群及反应速率产生怎样的影响?无法明确回答这些问题表明我们对 Metal-AOM 的了解仍是“冰山一角”。

只有更加全面地认识 Metal-AOM,才能充分利用各种 Metal-AOM 微生物使其在控制甲烷排放和缓解全球变暖中发挥积极作用。为进一步深入理解 Metal-AOM,后续应加强以下 3 个方面的研究:

(1) 探究 Metal-AOM 微生物的生理生化及生态学特征。目前还未获得任何单一 ANMEs 的纯培养物。Metal-AOM 微生物富集培养的速率、稳定性等方面的研究需要进一步深入,可以尝试通过外加生长因子、利用生物化学强化等手段,或梯度添加各种影响因子以确定更适于微生物富集的环境条件。同时,有关富集培养物中高效微生物的筛选和环境因子对 Metal-AOM 过程和机制的影响等也有待进一步研究。

(2) 利用分子生物学手段解析功能微生物代谢活性和作用机制。为了对环境中的 Metal-AOM 功能微生物进行全面分析,今后的研究需要采用一些非依赖于培养的微生物生态学研究手段,如单细胞测序、宏基因组、宏转录组和宏蛋白组技术等,以揭示其代谢活性和作用机制。

(3) 注重将 Metal-AOM 与环保工程等联合研究。Metal-AOM 的发现为新型生产工艺的设计和发展提供理论基础。以后的研究可以尝试改善工业生产方案和反应过程,通过试用不同的金属配合物催化剂体系、反应添加物、反应条件、反应器等并建立满足低成本和环境兼容性等优点的工艺模式,延长底物与菌剂或其衍生物的反应时间,增大接触面积,从而提高反应器回收重金属除碳除毒的效率。此外,微生物较慢的生长速率与反应速率是限制生产工艺实际应用的关键,缩短培养周期并针对性地优化富集条件可大幅度加快工程进度。虽然以上技术的实现具有一定的难度,

但是此类工艺研发及应用具有广阔的前景,可为下一步大规模推广提供技术支撑和实践基础。

REFERENCES

- [1] Feldman DR, Collins WD, Biraud SC, et al. Observationally derived rise in methane surface forcing mediated by water vapour trends[J]. *Nature Geoscience*, 2018, 11(4): 238-243
- [2] Caldwell SL, Laidler JR, Brewer EA, et al. Anaerobic oxidation of methane: mechanisms, bioenergetics, and the ecology of associated microorganisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(18): 6791-6799
- [3] Cicerone RJ, Oremland RS. Biogeochemical aspects of atmospheric methane[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 1988, 2(4): 299-327
- [4] Reeburgh WS. Global methane biogeochemistry[J]. *Treatise on Geochemistry*, 2007, 4: 1-32
- [5] Thauer RK. Functionalization of methane in anaerobic microorganisms[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, 49(38): 6712-6713
- [6] Martens CS, Berner RA. Methane production in the interstitial waters of sulfate-depleted marine sediments[J]. *Science*, 1974, 185(4157): 1167-1169
- [7] Boetius A, Felden J, Bienhold C. Methane oxidation rates of sediment core MEDECO2-D338-PC-18[P]. Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, 2012. DOI: 10.1594/PANGAEA.801921
- [8] Lesniewski RA, Jain S, Anantharaman K, et al. The metatranscriptome of a deep-sea hydrothermal plume is dominated by water column methanotrophs and lithotrophs[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(12): 2257-2268
- [9] Schubert CJ, Coolen MJ, Neretin LN, et al. Aerobic and anaerobic methanotrophs in the Black Sea water column[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(10): 1844-1856
- [10] Liu X, Xu TF, Wei MC, et al. Experiment on anaerobic oxidation of methane and precipitation of carbonate mediated by microbes[J]. *Journal of Central South University (Science and Technology)*, 2016, 47(5): 1473-1479 (in Chinese)
刘肖, 许天福, 魏铭聪, 等. 微生物诱导下甲烷厌氧氧化及碳酸盐矿物生成实验[J]. *中南大学学报: 自然科学版*, 2016, 47(5): 1473-1479
- [11] Wei SZ. Methanotrophs and their applications in environment treatment: a review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(8): 2309-2318 (in Chinese)
魏素珍. 甲烷氧化菌及其在环境治理中的应用[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(8): 2309-2318
- [12] Niemann H, Lösekann T, de Beer D, et al. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink[J]. *Nature*, 2006, 443(7113): 854-858
- [13] Wu ZJ, Zhou HY, Peng XT, et al. Anaerobic oxidation of methane: geochemical evidence from pore-water in coastal sediments of Qi'ao Island (Pearl River Estuary), southern China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(16): 2006-2015 (in Chinese)
吴自军, 周怀阳, 彭晓彤, 等. 甲烷厌氧氧化作用: 来自珠江口淇澳岛海岸带沉积物间隙水的地球化学证据[J]. *科学通报*, 2006, 51(17): 2052-2059
- [14] Liu XB. Research on mechanism of methane anaerobic oxidation (AOM) driven by manganese minerals in constructed wetland[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing University, 2018 (in Chinese)
刘显槟. 人工湿地中基于锰矿物驱动的甲烷厌氧氧化(AOM)及相关过程机理研究[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2018
- [15] Lu HF, Liu J, Chen F, et al. Shallow sulfate-methane interface in Northeastern South China Sea: an indicator of strong methane seepage on seafloor[J]. *Marine Geology & Quaternary Geology*, 2012, 32(1): 93-98 (in Chinese)
陆红锋, 刘坚, 陈芳, 等. 南海东北部硫酸盐还原-甲烷厌氧氧化界面——海底强烈甲烷渗溢的记录[J]. *海洋地质与第四纪地质*, 2012, 32(1): 93-98
- [16] Lepot K, Williford KH, Philippot P, et al. Extreme ¹³C-depletions and organic sulfur content argue for S-fueled anaerobic methane oxidation in 2.72 Ga old stromatolites[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2019, 244: 522-547
- [17] Tarnovetskii IY, Merkel AY, Kanapatskiy TA, et al. Decoupling between sulfate reduction and the anaerobic oxidation of methane in the shallow methane seep of the Black sea[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2018, 365(21): fny235
- [18] Yan PZ, Li MC, Wei GS, et al. Molecular fingerprint and dominant environmental factors of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in sediments from the Yellow River Estuary, China[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137996
- [19] Knittel K, Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63: 311-334
- [20] Zehnder AJB, Brock TD. Anaerobic methane oxidation: occurrence and ecology[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1980, 39(1): 194-204
- [21] Beal EJ, House CH, Orphan VJ. Manganese- and iron-dependent marine methane oxidation[J]. *Science*, 2009, 325(5937): 184-187
- [22] Egger M, Rasigraf O, Sapart CJ, et al. Iron-mediated anaerobic oxidation of methane in brackish coastal sediments[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(1): 277-283
- [23] Bar-Or I, Elvert M, Eckert W, et al. Iron-coupled anaerobic oxidation of methane performed by a mixed bacterial-archaeal community based on poorly reactive minerals[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(21): 12293-12301

- [24] Sivan O, Adler M, Pearson A, et al. Geochemical evidence for iron-mediated anaerobic oxidation of methane[J]. *Limnology and Oceanography*, 2011, 56(4): 1536-1544
- [25] Wankel SD, Adams MM, Johnston DT, et al. Anaerobic methane oxidation in metalliferous hydrothermal sediments: influence on carbon flux and decoupling from sulfate reduction[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(10): 2726-2740
- [26] Maignien L, Parkes RJ, Cragg B, et al. Anaerobic oxidation of methane in hypersaline cold seep sediments[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(1): 214-231
- [27] Treude T, Krause S, Maltby J, et al. Sulfate reduction and methane oxidation activity below the sulfate-methane transition zone in Alaskan Beaufort Sea continental margin sediments: implications for deep sulfur cycling[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2014, 144: 217-237
- [28] Riedinger N, Formolo MJ, Lyons TW, et al. An inorganic geochemical argument for coupled anaerobic oxidation of methane and iron reduction in marine sediments[J]. *Geobiology*, 2014, 12(2): 172-181
- [29] Egger M, Kraal P, Jilbert T, et al. Anaerobic oxidation of methane alters sediment records of sulfur, iron and phosphorus in the Black Sea[J]. *Biogeosciences*, 2016, 13(18): 5333-5355
- [30] Egger M, Hagens M, Sapart CJ, et al. Iron oxide reduction in methane-rich deep Baltic Sea sediments[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 207: 256-276
- [31] Oni O, Miyatake T, Kasten S, et al. Distinct microbial populations are tightly linked to the profile of dissolved iron in the methanic sediments of the Helgoland mud area, North Sea[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 365
- [32] Rooze J, Egger M, Tsandev I, et al. Iron-dependent anaerobic oxidation of methane in coastal surface sediments: Potential controls and impact[J]. *Limnology and Oceanography*, 2016, 61(S1): S267-S282
- [33] Norði KÀ, Thamdrup B, Schubert CJ. Anaerobic oxidation of methane in an iron-rich Danish freshwater lake sediment[J]. *Limnology and Oceanography*, 2013, 58(2): 546-554
- [34] Aromokeye DA, Kulkarni AC, Elvert M, et al. Rates and microbial players of iron-driven anaerobic oxidation of methane in methanic marine sediments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 3041
- [35] Schubert CJ, Durisch-Kaiser E, Holzner CP, et al. Methanotrophic microbial communities associated with bubble plumes above gas seeps in the Black Sea[J]. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2006, 7(4): Q04002
- [36] Roussel EG, Bonavita MAC, Querellou J, et al. Extending the sub-sea-floor biosphere[J]. *Science*, 2008, 320(5879): 1046
- [37] Inagaki F, Kuypers MMM, Tsunogai U, et al. Microbial community in a sediment-hosted CO₂ lake of the southern Okinawa Trough hydrothermal system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(38): 14164-14169
- [38] Haroon MF, Hu SH, Shi Y, et al. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage[J]. *Nature*, 2013, 500(7464): 567-570
- [39] Chen Y. Molecular metabolism study on microbial anaerobic methane oxidation and the associated biogenic minerals[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Shanghai Jiao Tong University, 2014 (in Chinese)
陈颖. 厌氧甲烷氧化微生物代谢分子机制及其潜在参与矿物形成机理的研究[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2014
- [40] Scheller S, Yu H, Chadwick GL, et al. Artificial electron acceptors decouple archaeal methane oxidation from sulfate reduction[J]. *Science*, 2016, 351(6274): 703-707
- [41] Ettwig KF, Zhu BL, Speth D, et al. Archaea catalyze iron-dependent anaerobic oxidation of methane[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(45): 12792-12796
- [42] Shen LD, Ouyang L, Zhu YZ, et al. Active pathways of anaerobic methane oxidation across contrasting riverbeds[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(3): 752-766
- [43] Cai C, Leu AO, Xie GJ, et al. A methanotrophic archaeon couples anaerobic oxidation of methane to Fe(III) reduction[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(8): 1929-1939
- [44] Yan Z, Joshi P, Gorski CA, et al. A biochemical framework for anaerobic oxidation of methane driven by Fe(III)-dependent respiration[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1642
- [45] Liang LW, Wang YZ, Sivan O, et al. Metal-dependent anaerobic methane oxidation in marine sediment: insights from marine settings and other systems[J]. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(10): 1287-1295
- [46] Fu L, Li SW, Ding ZW, et al. Iron reduction in the DAMO/*Shewanella oneidensis* MR-1 coculture system and the fate of Fe(II)[J]. *Water Research*, 2016, 88: 808-815
- [47] Lu YZ, Fu L, Ding J, et al. Cr(VI) reduction coupled with anaerobic oxidation of methane in a laboratory reactor[J]. *Water Research*, 2016, 102: 445-452
- [48] Cai ZY. Research on anaerobic methane oxidation dominated by archaea in intertidal ecosystem[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2017 (in Chinese)
蔡朝阳. 潮间带古菌介导的甲烷厌氧氧化过程研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2017
- [49] Nunoura T, Inagaki F, Delwiche ME, et al. Subseafloor microbial communities in methane hydrate-bearing sediment at two distinct locations (ODP Leg204) in the Cascadia Margin[J]. *Microbes and Environments*, 2008, 23(4): 317-325
- [50] Orphan VJ, Hinrichs KU, Ussler III W, et al. Comparative analysis of methane-oxidizing archaea and sulfate-reducing bacteria in anoxic marine sediments[J]. *Applied and*

- Environmental Microbiology, 2001, 67(4): 1922-1934
- [51] Zhou JY, Liu DX, He CQ, et al. Molecular detection of diversity of anaerobic methanotroph in soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(11): 3491-3503 (in Chinese)
周京勇, 刘冬秀, 何池全, 等. 土壤中甲烷厌氧氧化菌多样性的分子检测[J]. 生态学报, 2015, 35(11): 3491-3503
- [52] Reeburgh WS, Whalen SC, Alperin MJ. The role of methylotrophy in the global methane budget[A]//Murrell JC, Kelly DP. Microbial Growth on C₁ Compounds[M]. Kluwer: American Publishers, 1993: 1-14
- [53] Zhang Y, Henriot JP, Bursens J, et al. Stimulation of *in vitro* anaerobic oxidation of methane rate in a continuous high-pressure bioreactor[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(9): 3132-3138
- [54] Wang FP, Zhang Y, Chen Y, et al. Methanotrophic archaea possessing diverging methane-oxidizing and electron-transporting pathways[J]. The ISME Journal, 2014, 8(5): 1069-1078
- [55] McGlynn SE, Chadwick GL, Kempes CP, et al. Single cell activity reveals direct electron transfer in methanotrophic consortia[J]. Nature, 2015, 526(7574): 531-535
- [56] Vigderovich H, Liang L, Herut B, et al. Evidence for microbial iron reduction in the methanic sediments of the oligotrophic southeastern Mediterranean continental shelf[J]. Biogeosciences, 2019, 16(16): 3165-3181
- [57] Zhai J, Li YY, He MD, et al. Review on the research progress of archaeal anaerobic methanotrophs in freshwater system[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(5): 1009-1020 (in Chinese)
翟俊, 李媛媛, 何孟狄, 等. 淡水系统中甲烷厌氧氧化古菌的研究进展[J]. 环境工程学报, 2019, 13(5): 1009-1020
- [58] Martinez-Cruz K, Sepulveda-Jauregui A, Casper P, et al. Ubiquitous and significant anaerobic oxidation of methane in freshwater lake sediments[J]. Water Research, 2018, 144: 332-340
- [59] He ZF, Zhang QY, Feng YD, et al. Microbiological and environmental significance of metal-dependent anaerobic oxidation of methane[J]. Science of the Total Environment, 2018, 610-611: 759-768
- [60] Smemo KA, Yavitt JB. Evidence for anaerobic CH₄ oxidation in freshwater peatlands[J]. Geomicrobiology Journal, 2007, 24(7/8): 583-597
- [61] Valenzuela EI, Prieto-Davó A, López-Lozano NE, et al. Anaerobic methane oxidation driven by microbial reduction of natural organic matter in a tropical wetland[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(11): e00645-17
- [62] Weber HS, Habicht KS, Thamdrup B. Anaerobic methanotrophic archaea of the ANME-2d cluster are active in a low-sulfate, iron-rich freshwater sediment[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 619
- [63] Li XF. Anaerobic methane oxidation and associated influencing mechanisms in the sediments of Yangtze Estuary[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of East China Normal University, 2017 (in Chinese)
李金业. 长江口沉积物甲烷厌氧氧化过程及其影响机理[D]. 上海: 华东师范大学博士学位论文, 2017
- [64] Wu ZJ. Anaerobic oxidation of methane in sediments from the Pearl River estuary to South China sea[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of Institute of the Graduate School, Chinese Academy of Sciences (Guangzhou Institute of Geochemistry), 2006 (in Chinese)
吴自军. 沉积物甲烷厌氧氧化——从珠江河口至南海[D]. 广州: 中国科学院研究生院(广州地球化学研究所)博士学位论文, 2006
- [65] Segarra KEA, Comerford C, Slaughter J, et al. Impact of electron acceptor availability on the anaerobic oxidation of methane in coastal freshwater and brackish wetland sediments[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2013, 115: 15-30
- [66] Wankel SD, Buchwald C, Ziebis W, et al. Nitrogen cycling in the deep sedimentary biosphere: nitrate isotopes in porewaters underlying the oligotrophic North Atlantic[J]. Biogeosciences, 2015, 12(24): 7483-7502
- [67] Karakurt I, Aydin G, Aydin K. Sources and mitigation of methane emissions by sectors: a critical review[J]. Renewable Energy, 2012, 39(1): 40-48
- [68] Yang SS, Lv YX, Liu XP, et al. Genomic and enzymatic evidence of acetogenesis by anaerobic methanotrophic archaea[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 3941
- [69] Amos RT, Bekins BA, Cozzarelli IM, et al. Evidence for iron-mediated anaerobic methane oxidation in a crude oil-contaminated aquifer[J]. Geobiology, 2012, 10(6): 506-517
- [70] Li JY, Chen QF, Yin ZC, et al. A review of researches on anaerobic oxidation of methane (AOM) in Wetlands[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57(6). DOI: 10.11766/trxb201910290500 (in Chinese)
李金业, 陈庆锋, 尹志超, 等. 湿地甲烷厌氧氧化机制研究进展[J]. 土壤学报, 2020, 57(6). DOI: 10.11766/trxb201910290500
- [71] Min H, Tan YL, Wu WX, et al. Isolation, purification and characterization of an anaerobic methane oxidizer[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2002, 28(6): 619-624 (in Chinese)
闵航, 谭玉龙, 吴伟祥, 等. 一个厌氧甲烷氧化菌菌株的分离、纯化和特征研究[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2002, 28(6): 619-624
- [72] Lu YZ, Fu L, Li N, et al. The content of trace element iron is a key factor for competition between anaerobic ammonium oxidation and methane-dependent denitrification processes[J]. Chemosphere, 2018, 198: 370-376