

长江口邻近海域夏季沉积物硝化细菌与硝化作用

李佳霖, 白洁*, 高会旺, 王晓东, 盛蕾蕾

(中国海洋大学环境科学与工程学院, 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100)

摘要: 2006年6月在长江口邻近海域选择了8个站位, 分别采用荧光原位杂交(FISH)法和乙炔抑制法进行现场模拟培养, 研究了硝化细菌数量与硝化反应速率分布规律及其环境效应。结果表明, 该海域表层沉积物中的硝化细菌数量(以湿重计)在 $1.87 \times 10^5 \sim 3.53 \times 10^5$ 个/g之间, 并表现出一定的耐盐性。硝化速率范围为 $101.3 \sim 514.3 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 其分布有明显的自近岸向外海逐渐降低的趋势, 在长江冲淡水和杭州湾口附近海域形成2个高值域。在高盐度海区硝化细菌数量对硝化速率的影响率高达87.7%, 是影响硝化反应速率的主要因素。硝化作用每天在该海域转化的无机氮通量为 4.68×10^5 kg, 消耗的DO通量为 6.07×10^4 mol, 表明硝化作用是影响长江口邻近海域夏初DIN形态分布和底层DO分布的主要因素之一。

关键词: 沉积物; 硝化反应速率; 硝化细菌; 环境影响因子; 长江口

中图分类号: X131.2; X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3203-06

Nitrifying Bacteria and Nitrification in Sediment at the Adjacent Sea Area of Yangtze River Estuary in Summer

LI Jia-lin, BAI Jie, GAO Hui-wang, WANG Xiao-dong, SHENG Lei-lei

(Key Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: The influence factors and environmental effects of nitrification process were discussed based on the measurements of nitrifier quantities and nitrification rates at eight sites off Yangtze River Estuary in June 2006. Using FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) method, the nitrifying bacteria were counted as 1.87×10^5 - 3.53×10^5 cells/g wet weight and exhibited salt tolerance to some extent. The nitrification rates, measured by acetylene inhibition technique, ranged from 101.3 to $514.3 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ and had a decreased gradient from nearshore to offshore sediment with two high value regions located at the mouth of Yangtze River and Hangzhou Bay respectively. The nitrifier quantity was a main factor to effect nitrification rates at high-salinity sea area, with an influence ratio of 87.7%. Fluxes of transformed nitrogen and consumed oxygen by nitrification process were 4.68×10^5 kg and 6.07×10^4 mol per day respectively, suggesting that nitrification would be an important factor for the distribution of DIN species and DO at bottom water in early summer.

Key words: sediment; nitrification rate; nitrifying bacteria; environmental influencing factors; Yangtze River Estuary

硝化过程是氮生物地化循环中的关键反应步骤。它可以将环境中的铵盐经亚硝酸盐氧化为硝酸盐, 从而影响环境中溶解态无机氮(dissolved inorganic nitrogen, DIN)的形态分布, 衔接氮的矿化和去除^[1,2]。在许多自然生态系统中硝化作用为反硝化作用提供反应底物, 增加了环境对无机氮的自净能力^[3]。已有的研究发现硝化和反硝化作用间存在较高的耦合性, 如在Patuxen河口的研究显示春季硝化作用产生的硝酸盐99%以上能够通过反硝化作用生成N₂O^[4]。硝化作用还会消耗水体中大量的溶解氧, 导致大陆架海区低氧区的形成^[5]。因此, 对硝化作用速率及其影响因素和变化趋势的研究日益得到关注^[6]。

硝化作用主要发生在水-固界面, 对河流和湖泊的研究表明其在沉积相中的速率明显高于水相^[7]。目前测定硝化反应速率的方法主要是抑制法和同位素示踪法, 从各海区测定的数据来看, 2种方法测定

的结果基本一致, 但速率的分布规律存在明显的地区差异性^[8]。国内对沉积物硝化反应速率的研究主要集中于河流和河口的潮滩带, 关于海洋硝化作用的研究还鲜见报道^[9~11]。

硝化细菌是能够产生硝化作用的功能微生物种群, 分为氨氧化细菌和亚硝酸盐氧化细菌, 其中氨氧化细菌控制的氨氧化为亚硝酸盐的步骤被认为是硝化反应的限速步骤, 其数量和活性对硝化过程的意义更为重要, 因此对硝化细菌的研究往往针对氨氧化细菌进行^[3]。随着分子生物学技术在环境微生物领域的应用, 根据氨单加氧酶基因的特异性, 可以通过FISH技术对氨氧化细菌进行计数, 进而研究硝化

收稿日期: 2008-12-19; 修订日期: 2009-04-02

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2006CB400602, 2002CB412400)

作者简介: 李佳霖(1980 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为海洋环境微生物, E-mail: selenajulian@163.com

* 通讯联系人, E-mail: baijie@ouc.edu.cn

作用的功能微生物菌群对环境因子变化的响应及对硝化过程的调控作用^[12]。

长江口海域受人类活动影响很大,富营养化日趋严重, NO_3^- 含量在 20 世纪 80 年代初就高达 $65 \mu\text{mol/L}$, 比 1963 年高约 4 倍^[13]。近年来每年都有面积达数千 km^2 的原甲藻赤潮发生, 这与长江氮的输入密切相关^[14]。此外, 对长江口外海域的研究发现夏季存在较大范围的缺氧区, 推测其成因与富营养化状态下生源要素的生物地化循环过程密切相关^[14, 15]。

为探讨长江口海域硝化细菌与硝化作用的分布、影响因子和环境效应, 本研究选取该海域缺氧区形成前的夏初 6 月, 设立 8 个采样点, 通过测定硝化细菌数量和硝化反应速率, 分析影响硝化过程的主要环境因子, 并估算硝化作用产生的氮形态转化通量及对溶解氧(dissolved oxygen, DO)的消耗量, 以期为氮循环及水体富营养化机制的研究提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 站位布设与采样时间

2006 年 6 月 12~24 日, 随东方红 2 号科学考察船在长江口邻近海域共设 8 个站位进行现场调查和模拟培养(图 1)。8 个站位形成交叉的 2 个断面, 其中 S1、S3、S6、S7 和 S8 为沿海岸线断面, S2、S3、S4 和 S5 为垂直海岸线的盐度梯度断面。S3 和 S8 站位于 1999 年 8 月调查航次根据溶解氧参数测绘出的长江口夏季 2 个底层缺氧区的中心^[16]。

1.2 样品采集与处理

使用 Sea-Bird II 型采水器(Sea-bird Electronics, 美国)采集底层海水, 部分样品经 $0.45 \mu\text{m}$ 醋酸纤维膜过滤后装入预先处理过的聚乙烯瓶, 低温保存带回实验室用于营养盐含量的测定, 其余水样经 $0.22 \mu\text{m}$ (Whatman)核孔膜过滤, 用于测定沉积物硝化速率的现场模拟培养。

沉积物样品用箱式沉积物采泥器采集, 用于硝化速率测定的现场培养。同时无菌操作采集沉积物样品用于硝化细菌数量的测定。

1.3 硝化细菌数量的测定

采用经优化的荧光原位杂交(FISH)法检测沉积物中的硝化细菌数量。采集的微生物样品用超声波振荡仪振荡 2 min 后离心(4 000 r/min, 15 min), 取上清液, 按 1:1 加入 4% 多聚甲醛固定, 保存于 4℃ 冰箱中带回实验室。取上述样品 $10 \mu\text{L}$ 涂于已包埋明

胶的载玻片上, 37°C 热固定 2 h, 依次用 50%、80%、98% 乙醇下洗脱 3 min。硝化细菌的探针采用 NIT3 ($5'-\text{CCT CTG CTC CAT GCT CCG-3'}$), 5' 末端用 FITC 标记^[17]。杂交和杂交后洗脱反应根据文献[18]所述方法进行。镜检采用 Leica DMLA 型全自动荧光显微镜, 实验过程中设置阴性对照组, 每个样品在相同实验条件下测定 5 个平行样。

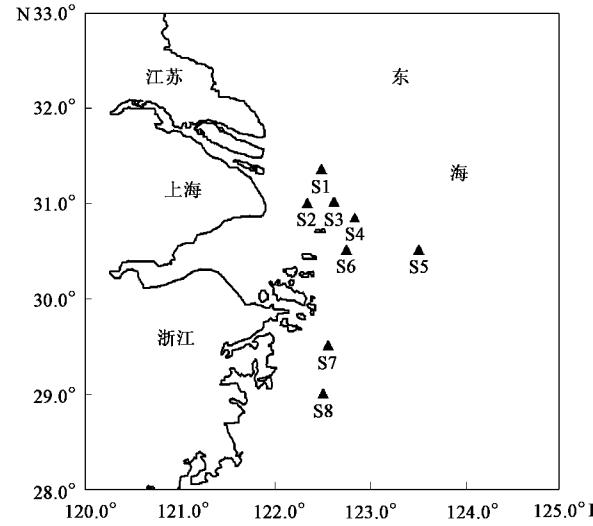


图 1 研究海域及采样点分布

Fig. 1 Study area and sampling sites

1.4 现场培养

本研究采用改进的乙炔抑制法(acetylene inhibition technique, AIT)^[9, 19]测定沉积物中的硝化反应速率。

采集表层 10 cm 沉积物样品立即无扰动置于培养管中, 在沉积物表面缓慢注入现场采集、过滤的底层海水, 在各采样点水温下进行现场培养。培养实验设乙炔抑制实验组和非乙炔抑制对照组, 实验组用乙炔饱和海水, 同时进行平行实验。为保证溶解氧和营养盐的均匀分布, 用恒流泵实现培养管内的水体循环。每次培养进行 4 h。在实验开始和结束时, 分别采集培养管中的水样经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤于预先处理的聚乙烯瓶中, 用于 NH_4^+ 、 NO_2^- 和 NO_3^- 浓度的测定。每次均采集 3 个平行样。

1.5 样品测定

1.5.1 无机氮营养盐浓度的测定

无机氮营养盐浓度用 BRAN-LUEBBE 连续流动自动分析仪Ⅲ(SEAL Analytical GmbH, Norderstedt, 德国)进行测定^[20, 21]。 NH_4^+ 、 NO_2^- 和 NO_3^- 分别采用次氯酸钠氧化靛酚蓝法、盐酸萘乙二胺络合显色法和铜镉柱还原后盐酸萘乙二胺络合显色法^[22, 23]。

1.5.2 其它环境因子的测定

各个站位底层海水的温度、盐度等物理参数由 Sea-Bird II 的 CTD 采集获得。

1.6 硝化反应速率与硝化活性的计算

硝化速率根据乙炔抑制实验组和对照组中 NH_4^+ 积累量的差异值计算^[24]:

$$v = \frac{V_t \sum (c_t - c_0)}{At}$$

式中, v 为培养沉积物的硝化速率 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$]; V_t 为培养管内上覆水的总体积(L); A 为培养管横截面积(m^2); c_0 、 c_t 分别为培养实验开始和培养 t 时刻时水中 NH_4^+ 的浓度($\mu\text{mol/L}$); t 为培养时间(h). 各站位硝化作用速率取 3 个平行实验的平均值。

硝化细菌活性是单个硝化细菌所产生的硝化反应速率, 可以通过反硝化速率与表层沉积物中反硝化细菌数量的比值计算得出^[25]:

$$I = \frac{10^{-1} v}{\rho BH}$$

式中, I 为硝化细菌活性 [$\times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{个} \cdot \text{h})$]; v 是培养沉积物的硝化速率 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$]; ρ 是沉积物的体积密度, 本研究中取其数值为 2.68 g/cm^3 ^[26]; B 为测定站位的细菌数量(10^5 个/g); H 为培养的沉积物高度, 本研究模拟培养实验中加入的沉积物高度是 0.1 m.

1.7 统计学分析与绘图

统计分析采用 SPSS 13.0 for windows 软件(SPSS Inc., 美国)软件进行, 采样点分布图及硝化速率和溶解氧消耗时间的水平分布图借助 Surfer8.0 软件(Golden Software Inc., 美国)绘制。

2 结果与讨论

2.1 硝化细菌数量的分布特征

长江口邻近海域夏季研究区域内各采样站位的水深、底层水体温度和盐度、表层沉积物中的硝化细菌数量见表 1. 可以看出, 长江口海域每克(湿重)表层沉积物中的硝化细菌数量范围是 $(1.87 \pm 0.19 \sim 3.53 \pm 0.34) \times 10^5 \text{ 个/g}$, 平均值为 $2.60 \times 10^5 \text{ 个/g}$, 在盐度梯度断面上分布呈 $S2 > S3 > S4 > S5$, 自近岸向离岸逐渐减少。在沿海岸的断面上, 长江入海口的 S3 和杭州湾出口附近 S8 的硝化细菌数量略高于中间海区的其它站位; 所有的 8 个采样点中最低值位于远离海岸的 S5 站, 最大值出现在位于长江口中盐度混合区的 S2 站, 但与其它站位的差异无显著性 ($p > 0.05$), 表明高盐度对硝化细菌生长不存在明显

的抑制作用。长江口邻近海域的水动力条件复杂, 盐度的变化范围较大, 水环境的广盐度性导致硝化细菌为耐盐品种^[27]。

表 1 研究海域的硝化细菌数量

站位	水深/m	温度/ $^{\circ}\text{C}$	盐度/%	硝化细菌数量 $\times 10^5/\text{个} \cdot \text{g}^{-1}$
S1	23.3	18.74	33.31	2.53 ± 0.22
S2	9.8	22.89	16.96	3.53 ± 0.34
S3	19.9	20.46	30.06	3.33 ± 0.38
S4	24.3	20.18	31.72	2.50 ± 0.44
S5	60.5	20.39	33.91	1.87 ± 0.19
S6	40.0	20.47	33.89	2.12 ± 0.20
S7	40.0	18.21	34.18	2.24 ± 0.46
S8	50.0	18.92	34.42	2.66 ± 0.23

2.2 硝化作用速率及其分布特征

长江口研究区域的硝化反应速率范围为 $(101.3 \pm 14.2) \sim (514.3 \pm 34.1) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 水平分布见图 2. 根据一维方差分析得到的统计结果, S2 站的硝化速率明显高于其它站位, 与其它站位间存在高度显著性差异 ($p < 0.01$); 在其它 7 个站位中, 硝化速率的极大值出现在位于长江口夏季高纬度缺氧区中心的 S3 站, 为最低值 S5 站的 1.7 倍, 而位于另一个缺氧区中心的 S8 站硝化速率则与其余 5 个站位的数值相当, 表明硝化过程在 2 个缺氧区形成过程中的贡献有所不同, 高纬度缺氧区中硝化作用消耗海水中的溶解氧更多, 对缺氧区形成影响更大。在盐度梯度递增断面上, 各站位硝化反应速率变化趋势为 $S3 > S4 > S5$, 具有自近海向远岸逐渐降低的趋势。长江口海域的硝化反应速率与日本 Odawa 湾和英国 Kingoodie 湾的基本一致, 这 2 个海域的结果分别为 $113.1 \sim 125.0$

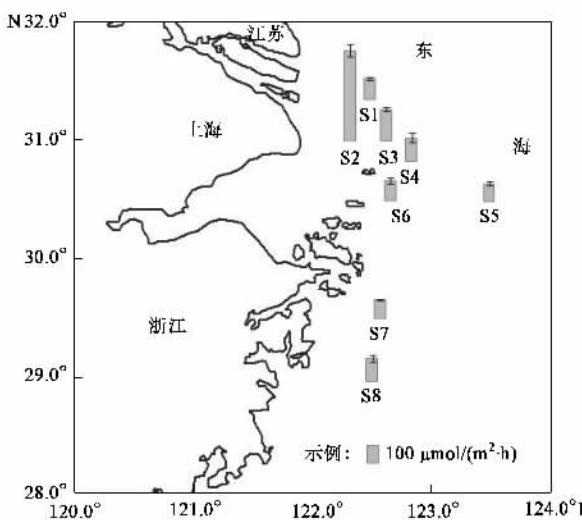


图 2 研究海域硝化反应速率水平分布

Fig. 2 Distribution of nitrification rates

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 和 $59.5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ ^[8].

2.3 硝化作用速率的主要影响因子

硝化作用是通过硝化细菌合成代谢过程完成的,环境因子对硝化细菌数量和活性的控制以及代谢过程中外界条件的变化都可能造成反应速率的差异,已有的研究表明,DIN浓度、DO、pH、盐度和有机碳含量都是影响硝化反应速率的主要环境因子^[28].

本研究中,主要测定和分析的可能对硝化速率产生影响的环境因子包括温度、盐度、DO、DIN和硝化细菌数量.测定的主要参数结果显示,此时长江口夏季底层缺氧区(指 DO < 2 mg/L的海域)还未形成,但是 DO 的分布趋势与夏季的结果基本一致^[15]; S2 站盐度明显低于其它站位,而紧邻的 S3 底层海水的盐度达到 30.06,这说明 S3 站底层海水受长江冲淡水的影响较小,与上层海水的交换作用不明显,这是导致缺氧区形成的主要物理环境因素.研究海域内底层海水的 DIN 浓度在杭州湾和长江口入海口出现 DIN 的相对高值区,沿长江入海口向外海由于海水的稀释作用呈明显的递减趋势(S2 > S3 > S4 > S5).研究海域内 NH_4^+ 、 NO_2^- 和 NO_3^- 的浓度范围分别为 $3.606 \sim 26.302 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.080 \sim 0.239 \mu\text{mol/L}$ 和 $1.903 \sim 10.958 \mu\text{mol/L}$,平均值分别为 11.362 、 0.158 和 $4.483 \mu\text{mol/L}$

根据所研究海域 S2 站比其它站位硝化反应速率显著偏高的结果,考虑到该站位所在海区的环境条件与其它站位海区有明显不同,因此对研究海域硝化速率影响因子的分析只采用其它 7 个站位的数据.统计分析结果表明,硝化反应速率与硝化细菌数量、盐度和 DO 的关系达到显著相关的水平(r^2 分别为 0.947 、 -0.756 和 -0.823 , $p < 0.05$).为研究三者对硝化反应速率的影响程度,通过使用多元回归模型进行分析,只有硝化细菌数量进入了回归模型,影响率为 87.7%,两者的线性回归关系见图 3,表明确硝化细菌数量是长江口邻近海域硝化速率的主要影响因子,该结果与 Bernhard 在英国 Plum 岛南部 MA 海湾和 Dollhopf 在盐沼地的研究结论一致^[1,29].但是有些研究也得到了相反的结果,其原因可能有三:一是目前用分子生物学方法对硝化细菌进行计数是对硝化细菌中某一菌群进行的,例如本研究所采用的探针主要测定的是 β -Proteobacteria 属氨氧化细菌,当其优势性不明显时就不能代表硝化功能菌群的数量;二是硝化细菌数量在不同站位间的群落多样性差异较大且对硝化反应速率起决定性影响时,其数量和反应速率间的相关性就会降低,三是环境中古

菌(archaea)进行代谢产生的厌氧氨氧化过程是铵盐转化的主要途径时,铵盐的转化率与硝化细菌数量的相关性也会降低^[30].氨氮的含量对硝化速率的影响作用不大,表明该海域的氨氮浓度较高,已经不是硝化细菌生长代谢的限制性因子.

尽管统计学分析的结果显示,盐度并不是硝化速率的影响因子,但处于中盐度海区的 S2 站硝化速率出现显著的高值(见图 3,S2 点明显高于其它站位),而 Magalhães 等^[31]对葡萄牙杜罗河口的研究也发现硝化速率随盐度增加在中盐度环境中出现最大值,Macfarlane 等^[32]对海洋可培养的硝化细菌纯化菌株 *Nitrosomonas* 单因子研究中也阐述了当盐度 > 20 时硝化细菌产生的硝化速率会明显降低的结论.这说明当盐度变化范围较小时,对硝化速率的影响作用不明显,但当盐度变化幅度较大时,盐度的升高可能会使硝化速率明显减慢.

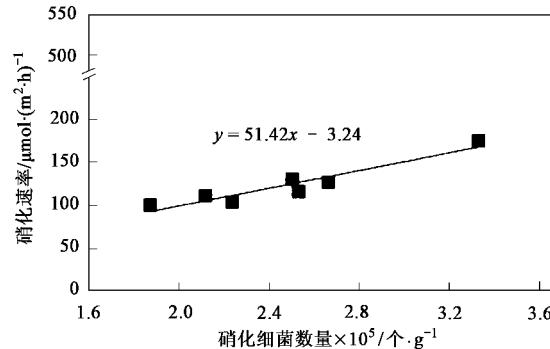


图 3 硝化速率与硝化细菌数量的关系

Fig. 3 Linear regression between nitrification rates and nitrifier quantities

2.4 硝化细菌活性及与硝化速率的关系

本研究海域的硝化细菌活性范围为 $0.171 \times 10^{-15} \sim 0.544 \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{个} \cdot \text{h})$.S2 站位的硝化细菌活性明显偏高,说明长江口海域中盐度海区所在的高 NH_4^+ ($26.30 \mu\text{mol/L}$)、高 DO (7.32 mg/L)、高浊度 (122.07 FTU) 等环境条件有利于硝化细菌的代谢活动.在高盐度海区的 7 个站位中,温度是影响硝化细菌活性的主要环境因子($p < 0.01$).实验室条件下,硝化细菌培养菌株的最适生长温度为 25°C .因此在研究海域中,温度较低($< 25^\circ\text{C}$)且环境中的活性氧未达到抑制硝化细菌活性的阈值时,细菌活性与温度表现出正相关关系,也就是说,在硝化细菌数量一定时,温度升高则硝化反应加快.

在已有的硝化细菌纯培养菌株研究中,硝化细菌活性为 $10^{-15} \sim 10 \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{个} \cdot \text{h})$ ^[29], 高于本研

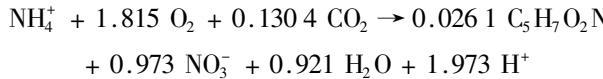
究测定的硝化细菌活性, 这可能是因为在研究海域的沉积物中有机碳含量相对较高, 异养细菌会与硝化细菌竞争环境中的 DO^[24].

2.5 硝化作用对长江口海域氮素形态分布的影响

硝化反应将铵盐转化为硝酸盐, 能够缓解水体中过量的氨对水生生物的毒性作用, 也为反硝化作用这一氮的自净过程提供所需的硝酸盐, 因此是影响无机氮循环的关键过程。本研究海域面积约 $1.09 \times 10^4 \text{ km}^2$, 根据硝化速率绘制等值线分布图, 按照各个速率值及其占整个研究海域面积的比重, 估算硝化作用每天可以将约为 $4.68 \times 10^5 \text{ kg}$ 的铵盐转化为硝酸盐, 这一数值分别相当于长江日平均输入氨和硝酸盐通量的 58.7% 和 11.7%^[13]。尽管夏季硝化速率一般偏高使实际比率可能低于上述结果, 但硝化作用对无机氮形态分布的作用效果不容忽视, 因此无论在研究长江口海域的富营养化状况以及进行相关的模拟时, 都不能简单地将长江口不同形态氮的输入量作为海区实际输入值进行评价, 而应该考虑硝化过程在氮的形态转变中所产生的作用。

2.6 硝化作用对长江口邻近海域夏季底层溶解氧分布的影响

硝化反应需要消耗水体中大量的溶解氧, 其生化反应方程式如下^[33]:



根据硝化过程中 NH_4^+ 每减少 1 mol 就会消耗 1.815 mol 的氧分子来计算, 研究海域中溶解氧的日消耗量为 $6.07 \times 10^4 \text{ mol}$ 。由测定的硝化反应速率和底层海水的溶解氧含量分布, 可估算底层海水(距底界面 1m)溶解氧在完全不补充的条件下通过硝化作用全部被消耗所需的时间, 该时间的水平分布见图 4, 可以看出底层海水 DO 消耗时间的分布自近岸向外海逐渐增加, 近岸处仅为十几天。由于 NH_4^+ 氧化形成 NO_3^- 的过程中要消耗大量溶解氧, 在河口区, 由于长江冲淡水与底层高盐水强烈的混合作用和水的良好交换条件, 底层溶解氧能得到及时补充, 不会形成缺氧区; 但是在 S3 站附近, 由于夏季台湾暖流加强, 侵入近岸, 高盐高温的海水上涌在中层形成了海水的温、盐跃层限制了水交换, 并出现了层化现象, 硝化作用与其它耗氧的生化过程消耗的溶解氧无法及时补充, 就会形成大面积的底层缺氧区。与 1999 年观测到的缺氧区位置相比较, 消耗时间最短的区域与即将形成缺氧区的位置基本重合, 由此可

见, 硝化过程在长江口邻近海域缺氧区形成中可能发挥着重要作用。

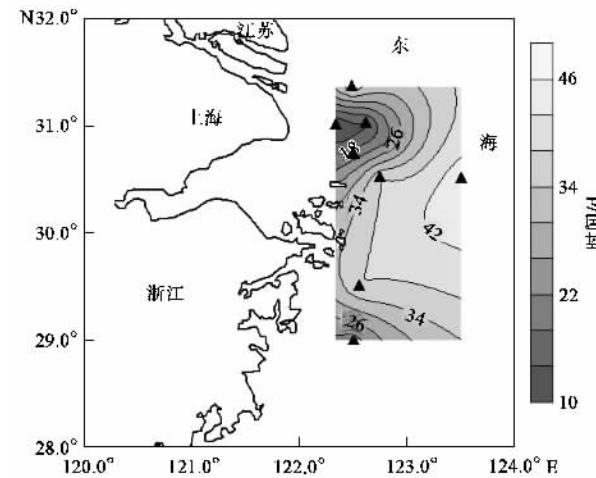


图 4 硝化作用下海区溶解氧的消耗时间

Fig. 4 Turnover time of DO by nitrification

3 结论

(1) 研究海域沉积物中硝化细菌数量以湿重计为 $(1.87 \pm 0.19) \times 10^{15} \sim (3.53 \pm 0.34) \times 10^5 \text{ 个/g}$, 中盐度海域中的硝化细菌数量并未出现明显减少, 说明硝化细菌具有耐盐性, 并且高盐度海水环境对硝化细菌的活性具有抑制作用。高盐度海区中, 温度是硝化细菌活性的主要影响因子, 两者呈显著正相关关系。

(2) 长江口海域表层沉积物的硝化反应速率范围为 $(101.3 \pm 14.2) \sim (514.3 \pm 34.1) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$, 表现出自近岸向远海逐渐减慢的趋势, 在中盐度水体中速率显著偏高。

(3) 在研究海域, 硝化反应速率在中盐度海区显著高于高盐度海区, 而在高盐度海区硝化细菌数量与硝化反应速率呈显著正相关关系, 影响率高达 87.7%, 是影响硝化反应速率的主要环境因子。

(4) 硝化作用每天在该海域转化的无机氮通量为 $4.68 \times 10^5 \text{ kg}$, 消耗的 DO 通量为 $6.07 \times 10^4 \text{ mol}$, 由此可见, 硝化作用对海域内无机氮形态的分布有重要影响, 也是影响夏季长江口底层 DO 分布的主要因素之一。

参考文献:

- [1] Bernhard A E, Tucker J, Giblin A E, et al. Functionally distinct communities of ammonia-oxidizing bacteria along an estuarine salinity gradient [J]. Environ Microbiol, 2007, 9(6): 1439-1447.
- [2] Reigstad L J, Richter A, Daims H, et al. Nitrification in terrestrial

- hot springs of Iceland and Kamchatka [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2008, **64**: 167-174.
- [3] Jenkins M C, Kemp W M. The coupling of nitrification and denitrification in two estuarine sediments [J]. Limnol Oceanogr, 1984, **29**(3): 609-619.
- [4] Webster G, Embley T M, Prosser J I. Grassland management regimens reduce small-scale heterogeneity and species diversity of β -Proteobacterial ammonia oxidizer populations [J]. Appl Environ Microbial, 2002, **68**(1): 20-30.
- [5] Alvarez-Salgado X A, Gilcoto M. Inferring nitrification rates with an inverse method in a coastal upwelling system, Ría de Vigo (NW Spain) [J]. Mar Ecol-Prog Ser, 2004, **276**: 3-17.
- [6] Vitousek P M, Aber J D, Howarth R W, et al. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences [J]. Ecol Appl, 1997, **7**(3): 737-750.
- [7] 余晖, 张学青, 张曦, 等. 黄河水体颗粒物对硝化过程的影响研究 [J]. 环境科学学报, 2004, **24**(4): 601-606.
- [8] Herbert R A. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems [J]. FEMS Microbiol Rev, 1999, **23**: 563-590.
- [9] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 等. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用 [J]. 环境科学学报, 2005, **25**(5): 686-692.
- [10] 王东启, 陈振楼, 许世远, 等. 长江口崇明东滩沉积物反硝化作用研究 [J]. 中国科学(D辑), 2006, **36**(6): 544-551.
- [11] Xia X H, Yang Z F, Huang G H, et al. Nitrification in natural waters with high suspended-solid content-A study for the Yellow River [J]. Chemosphere, 2004, **57**: 1017-1029.
- [12] Okano Y, Hristova K R, Leutenegger C M, et al. Application of real-time PCR to study effect of ammonium on population size of ammonia-oxidizing bacteria in soil [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, **70**(2): 1008-1016.
- [13] 沈志良. 长江氮的输送通量 [J]. 水科学进展, 2004, **15**(6): 752-759.
- [14] Li M T, Xu K Q, Watanabe M, et al. Long-term variations in dissolved silicate, nitrogen, and phosphorus flux from the Yangtze River into the East China Sea and impacts on estuarine ecosystem [J]. Estuar Coast Shelf S, 2007, **71**: 3-12.
- [15] 李道季, 张经, 黄大吉, 等. 长江口外氧的亏损 [J]. 中国科学(D辑), 2002, **32**(8): 686-694.
- [16] Chen C C, Gong G C, Shiah F K. Hypoxia in the East China Sea: One of the largest coastal low-oxygen areas in the world [J]. Mar Environ Res, 2007, **64**: 399-408.
- [17] Peter C P. A quantitative measure of nitrifying bacterial growth [J]. Water Res, 2006, **40**: 1569-1576.
- [18] 朱琳, 尹立红, 浦跃朴, 等. 荧光原位杂交法检测环境硝化细菌实验条件优化及应用 [J]. 东南大学学报(自然科学版), 2005, **35**(2): 266-270.
- [19] Kim D H, Matsuda O, Yamamoto T. Nitrification, denitrification and nitrate rates in the sediment of Hiroshima Bay [J]. J Oceanogr, 1997, **53**: 317-324.
- [20] Bai J, Li K R, Liu D Y, et al. Seasonal variation of inorganic nutrient uptake by heterotrophic bacterioplankton in Jiaozhou Bay, North China [J]. Water Air Soil Poll: Focus, 2007, **7**(6): 673-681.
- [21] 白洁, 王晓东, 李佳霖, 等. 北黄海沉积物-水界面反硝化速率及影响因素研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2007, **37**(4): 653-656.
- [22] 刘素美, 张经, 于志刚, 等. 渤海莱州湾沉积物-水界面溶解无机氮的扩散通量 [J]. 环境科学, 1999, **20**(2): 12-16.
- [23] Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K. Methods of Seawater Analysis [M]. Florida: Verlag Chemie, 1983. 419.
- [24] Sloth N P, Nielson L P, Blackburn T H. Nitrification in sediment cores measured with acetylene inhibition [J]. Limnol Oceanogr, 1992, **37**: 1108-1112.
- [25] Nakamura Y, Satoh H, Kindaichi T, et al. Community structure, abundance and in situ activity of nitrifying bacteria in river sediments as determined by the combined use of molecular techniques and microelectrodes [J]. Environ Sci Technol, 2006, **40**: 1532-1539.
- [26] 刘敏, 侯立军, 许世远, 等. 长江口潮滩表层沉积物对 NH_4^+ -N 的吸附特征 [J]. 海洋学报, 2005, **9**(27): 60-66.
- [27] 王东启, 陈振楼, 许世远, 等. 长江口崇明东滩沉积物反硝化作用研究 [J]. 中国科学(D辑), 2006, **36**(6): 544-551.
- [28] ÓMullan G D, Ward B B. Relationship of temporal and spatial variabilities of ammonia-oxidizing bacteria to nitrification rates in Monterey Bay, California [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, **71**: 697-705.
- [29] Dollhopf S L, Hyun J H, Smith A C, et al. Quantification of ammonia-oxidizing bacteria and factors controlling nitrification in salt marsh sediment [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, **71**: 240-246.
- [30] Boyle-Yarwood S A, Bottomley P J, Myrold D D. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils under stands of red alder and Douglas fir in Oregon [J]. Environ Microbiol, 2008, **10**(11): 2956-2965.
- [31] Magalhães C M, Samantha B J, Rosa M M, 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 Res, 2005, **39**(5): 1783-1794.
- [32] Macfarlane G, Herbert R A. Effect of oxygen tension, salinity, temperature and organic matter concentration on the growth and nitrifying activity of an estuarine strain of *Nitrosomonas* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1984, **23**: 107-111.
- [33] Rittmann B E, McCarty P L. Environmental Biotechnology: Principles and Applications [M]. New York: McGraw-Hill Book Co, 2001. 408.