

辽河口湿地：物硝化细菌及硝化作用研究

白洁^{1,2}, 陈春涛¹, 赵阳国^{1,2*}, 田伟君^{1,2}, 董晓¹, 尹宁宁¹

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100)

摘要:2009 年 6 月和 8 月, 采用现场培养和实验室模拟培养相结合的方法对辽河口湿地表层沉积物硝化细菌数量、硝化速率及影响因素进行了研究. 结果表明, 辽河口湿地表层沉积物氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 数量 6 月在 $0.54 \times 10^4 \sim 5.69 \times 10^4$ 个 $\cdot g^{-1}$ 之间, 平均值为 $(2.21 \pm 2.32) \times 10^4$ 个 $\cdot g^{-1}$, 8 月在 $1.90 \times 10^4 \sim 7.90 \times 10^4$ 个 $\cdot g^{-1}$ 之间, 平均值为 $(3.61 \pm 2.87) \times 10^4$ 个 $\cdot g^{-1}$; 沉积物潜在硝化速率 6 月在 $9.72 \sim 16.45$ $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ 之间, 平均值为 (12.54 ± 3.14) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$, 8 月在 $14.66 \sim 24.62$ $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ 之间, 平均值为 (18.71 ± 4.21) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$; 净硝化作用速率 6 月 (S1 站) 为 0.41 $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$, 8 月在 $0.20 \sim 0.53$ $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ 之间, 平均值为 (0.35 ± 0.16) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$. 潜在硝化速率显著高于净硝化速率, AOB 数量、净硝化作用速率和潜在硝化作用速率均表现为 8 月高于 6 月, 芦苇根际效应对硝化作用有促进作用. 通过 SPSS 13.0 软件统计分析, 表明影响辽河口湿地表层沉积物硝化作用的主要环境因子有上覆水 NH_4^+ -N 浓度和沉积物 pH、有机质、总氮 (TN)、总磷 (TP)、 NH_4^+ -N 含量以及 AOB 数量 ($p < 0.05$), 其中上覆水 NH_4^+ -N 浓度和沉积物总磷 (TP)、 NH_4^+ -N 含量对硝化作用影响较大, 是辽河口湿地硝化作用影响的关键因素. 根据研究结果估算辽河口湿地沉积物硝化作用每天可以将 1.14×10^5 kg 的 NH_4^+ -N 转化为 NO_3^- -N, 对河口湿地氮的循环具有重要意义.

关键词: 辽河口湿地; 沉积物; 硝化作用; 氨氧化细菌 (AOB); 影响因素

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)12-3011-07

Studies on Nitrobacteria and Nitrification in Liaohe Estuary Wetland Sediments

BAI Jie^{1,2}, CHEN Chun-tao¹, ZHAO Yang-guo^{1,2}, TIAN Wei-jun^{1,2}, DONG Xiao¹, YIN Ning-ning¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, Ministry of Education, Qingdao 266100, China)

Abstract: Nitrobacteria, nitrification and its impact factors were discussed based on the method of on-site incubation and laboratory simulation in Liaohe estuary wetland sediments in June and August 2009, respectively. The results showed that the number of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) ranged from 0.54×10^4 to 5.69×10^4 cells $\cdot g^{-1}$ with an average of $(2.21 \pm 2.32) \times 10^4$ cells $\cdot g^{-1}$ in June and ranged from 1.90×10^4 to 7.90×10^4 cells $\cdot g^{-1}$ with an average of $(3.61 \pm 2.87) \times 10^4$ cells $\cdot g^{-1}$ in August. The potential nitrification rates ranged from 9.72 to 16.45 $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ with an average of (12.54 ± 3.14) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ in June and ranged from 14.66 to 24.62 $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ with an average of (18.71 ± 4.21) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ in August. The net nitrification rates were 0.41 $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ in June and ranged from 0.20 to 0.53 $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ with an average of (0.35 ± 0.16) $mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$ in August. The potential nitrification rates were apparently higher than the net nitrification rates. The AOB abundance and nitrification rates were all higher in August than in June. Ammonia concentration in the overlying water, pH, organic matter, total nitrogen content, total phosphorus content, ammonia nitrogen content and the number of AOB in sediments were the main environmental impact factors on nitrification by SPSS 13.0 statistical analysis ($p < 0.05$), and it also showed ammonia concentration in the overlying water, total phosphorus content and ammonia nitrogen content in sediments were key impact factors on nitrification by partial correlation analysis. The flux of transformed ammonium into nitrate by nitrification process was 1.14×10^5 kg per day, suggesting that nitrification was important on nitrogen cycle in Liaohe estuary wetland sediments.

Key words: Liaohe estuary wetland; sediments; nitrification; ammonia-oxidizing bacteria (AOB); impact factors

硝化作用 (nitrification) 是指在硝化细菌 (nitrobacteria) 作用下把氨 (或铵) 转化为硝酸盐的过程, 在湿地氮素生物地球化学循环中具有重要意义^[1]. 硝化细菌是硝化作用发生的功能微生物, 一般分为氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 和亚硝酸盐氧化细菌 (nitrite-oxidizing bacteria, NOB) 两类微生物类群, AOB 和 NOB 有自养和异养之分, 在不同的环境条件下它们所占的比率不同^[2], 其中 AOB 主导的氨氧化作用被认为是硝

化作用的限制性步骤, 因此对硝化作用的研究往往针对 AOB 和氨氧化作用进行^[3].

硝化作用对河口湿地生态环境的影响很大, 一方面能够减轻环境中 NH_4^+ -N 的毒性, 另一方面生成

收稿日期: 2010-01-15; 修订日期: 2010-03-17

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2008ZX07208-009); 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2006CB400602)

作者简介: 白洁 (1962 ~), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为微生物生态与环境作用, E-mail: baijie@ouc.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: yg.zhao@yahoo.com.cn

的硝酸盐或通过反硝化作用形成 N_2 而造成 N 素的流失^[4],或流入海洋污染海水,或渗入到地下造成地下水的污染^[5];同时,较高的硝化作用速率也会导致土壤酸化、缓冲能力降低和释放温室气体 N_2O 等环境效应^[6,7],因此对河口湿地硝化作用的研究具有重要价值. 由于硝化细菌种群差异和环境条件(如上覆水温盐、溶解氧、沉积物理化性质和植被情况等)的不同,沉积物的硝化速率通常变化很大^[3,8]. 不同环境条件下硝化作用的差异将对环境产生不同的影响,因而受到国内外学者越来越多的关注^[7-9].

辽河口湿地是我国四大河口湿地之一,有着重要的湿地生态功能^[10],主要范围位于目前的辽宁省双台子河口国家级自然保护区,是以芦苇沼泽和潮间带滩涂为主的自然湿地. 辽河口湿地不仅对河口区生物多样性的保护具有重要的生态意义,而且大面积的湿地同时具有明显的水质净化功能,对保证湿地生态用水水质和减少污染物入海通量具有不可忽视的作用^[11]. 目前国内外对硝化作用的研究主要集中在海洋、农田、森林等生态系统中^[3,12,13],对河口湿地生态系统中硝化作用的研究则相对较少,已有研究报道了黄河口湿地和美国 Savannah 河口盐沼湿地 AOB 数量和硝化速率的研究^[8,9],但对辽河口湿地硝化作用的研究尚未见报道. 本研究采用现场培养与实验室培养相结合的方法研究了辽河口湿地硝化细菌、硝化速率的分布特征及影响因素,成果可为北方河口湿地硝化作用的环境效应及氮循环机制研究提供重要参考.

1 材料与方法

1.1 站位布设及样品采集

于 2009 年 6 月和 8 月,在辽河口湿地(121°30′~122°00′E,40°45′~41°10′N)共设 4 个站位,详见表 1. 采集无扰动表层沉积物于培养柱中,同时采集底层水体,用 0.22 μm 滤膜过滤,立即缓慢注入培养柱中,用于净硝化速率测定的现场培养. 另采集部分表层沉积物(0~5 cm)用于潜在硝化速率、AOB 数量和其它环境因子的测定. 所有采样器械、容器和培养装置均经无菌处理. 除现场培养外,其它水样、沉积物样品采集后均低温保存立即带回实验室进行相关指标测定或模拟培养实验.

1.2 现场培养和实验室模拟培养

1.2.1 净硝化速率测定的现场培养

净硝化速率测定采用改进的抑制剂法^[12],用烯

表 1 辽河口湿地采样站位

Table 1 Distribution of sampling sites in Liaohe estuary wetlands			
站位	经度	纬度	植被特征
S1	121°47′29.5″	41°09′34.3″	芦苇长势良好
S2	121°36′22.4″	40°52′11.6″	几乎无芦苇生长
S3	121°36′18.0″	40°57′54.9″	有少量芦苇斑块生长
S4	121°36′09.9″	40°51′53.8″	有大量芦苇斑块生长

丙基硫脲(allylthiourea, ATU)作为氨氧化作用的抑制剂. 培养实验设 ATU 抑制实验组和非 ATU 抑制对照组,抑制剂 ATU 现场添加(终浓度为 10 $mg \cdot L^{-1}$ ^[14]),在现场环境条件下培养,每次培养进行 4 h. 在实验开始和结束时,分别采集培养柱内水样,用 0.22 μm 滤膜过滤于预先处理的聚乙烯瓶中,冷冻保存带回实验室测定样品中的 NH_4^+-N 浓度,培养结束时测量培养水柱高度. 每次均做 3 个平行实验. 根据对照组和实验组中 NH_4^+-N 浓度变化计算净硝化作用速率,计算方法如下^[15]:

$$v_n = \frac{V_t(c_0 - c_t)}{1\,000At}$$

式中, v_n : 培养柱中沉积物的硝化反应速率 [$mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$]; V_t : 培养柱内上覆水的体积(L); c_0, c_t : 分别为培养实验开始 0 时刻和 t 时刻培养水体中的 NH_4^+-N 浓度 ($\mu mol \cdot L^{-1}$); A : 培养柱横截面积(m^2); t : 培养时间(h).

1.2.2 潜在硝化速率测定的实验室模拟培养

潜在硝化作用速率(potential nitrification rate, PNR)采用液体培养法^[9,15],取过滤后的现场水样 1 000 mL 置于培养瓶中,再加入浓度为 10 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 NH_4Cl 溶液 30 mL 和 6 $mmol \cdot L^{-1}$ 的 KH_2PO_4 溶液 10 mL,混匀后将现场采集的表层沉积物样 50.0 g 置于其中,充分混合,以无菌方式分别移取上述混合液 100 mL,分别加入 6 个 250 mL 的无菌锥形瓶中,其中 3 瓶为实验组,另 3 瓶为空白对照组. 在实验组中分别加入 1 mL 浓度为 2 $g \cdot L^{-1}$ 的 ATU 作为氨氧化过程抑制剂,空白对照组不做任何处理. 将所有锥形瓶置于 25℃ 的震荡培养箱中暗培养 24 h,分别在 0、6、12、18、24 h 取培养水样,经 0.22 μm 滤膜过滤后置于预先处理的聚乙烯管中,测定样品中的 NH_4^+-N 含量. 根据对照组和实验组中 NH_4^+-N 浓度变化计算潜在硝化反应速率,计算方法如下^[15]:

$$v_p = \frac{\rho h V(k_1 - k_0)}{1\,000W}$$

式中, v_p : 潜在硝化反应速率 [$mmol \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$];

ρ :沉积物的体积密度($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$); h :沉积物取样深度(m); V :培养液体积(L); k_1 、 k_0 :实验组和对照组样品中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度随时间的变化量 $[\mu\text{mol}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}]$; W :沉积物的重量(kg).

1.3 样品测定

营养盐浓度测定采用 BRAN-LUEBBE 连续流动自动分析仪进行,其中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度测定采用盐酸萘乙二胺法, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度测定采用 Cu-Cd 还原法, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度测定采用靛酚蓝法^[15];AOB 计数采用 MPN-Griess 法^[16].

1.4 统计学分析

统计分析采用 SPSS 13.0 for windows 软件进行;采用 2 个变量相关分析 (bivariate correlation analysis)对 AOB 数量和硝化作用速率与各环境因素进行相关分析;采用偏相关分析 (partial correlation analysis)对主要的影响因素与硝化作用速率进行相关分析.

2 结果与分析

2.1 辽河口湿地沉积物 AOB 数量

辽河口湿地表层沉积物 6 月和 8 月的 AOB 数量分布见图 1. 由图 1 可以看出,研究区域 AOB 数量 6 月在 $0.54\times10^4\sim5.69\times10^4$ 个 $\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,平均 $(2.21\pm2.32)\times10^4$ 个 $\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数为 105%;8 月在 $1.90\times10^4\sim7.90\times10^4$ 个 $\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,平均 $(3.61\pm2.87)\times10^4$ 个 $\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数为 79%. 可见 6 月和 8 月沉积物 AOB 数量的变异系数都很高,且 6 月高于 8 月. 沉积物 AOB 数量高度的空间变异主要与沉积物环境条件和植被有关;AOB 数量 8 月明显高于 6 月,可能与辽河口湿地 8 月较高的环境温度(见表 2)更有利于 AOB 的生长和繁殖有关.

由图 1 可见,辽河口湿地表层沉积物中 AOB 数

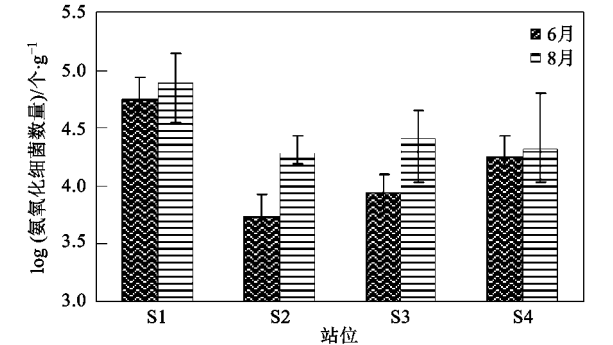


图 1 湿地沉积物 AOB 数量分布
Fig.1 Distribution of AOB abundance in wetland sediments

表 2 辽河口湿地各采样站位的主要环境因子
Table 2 Environmental parameters of sampling sites in Liaohe estuary wetlands

月份	站位	温度/℃	盐度	沉积物含水率/%	沉积物NH ₄ ⁺ -N/mg·kg ⁻¹
6 月	S1	22.3	2.3	44.78	12.91
	S2	23.3	5.1	33.47	7.83
	S3	27.1	4.1	37.57	8.82
	S4	22.4	8.7	33.72	6.02
	标准偏差	2.3	2.7	5.28	2.92
	变异系数/%	10	53	14	33
8 月	S1	28.8	3.1	51.05	15.98
	S2	31.7	7.6	19.20	8.31
	S3	34.8	11.0	40.63	10.26
	S4	31.3	12.6	31.26	10.69
	标准偏差	2.5	4.2	13.56	3.28
	变异系数/%	8	49	38	29

量水平分布特征 6 月为 $S1>S4>S3>S2$,8 月为 $S1>S3>S4>S2$,且 S1 站位的 AOB 数量明显高于其它站位.这种不同站位之间的分布差异主要与沉积物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量(见表 2)和植被状况(见表 1)等影响 AOB 的生长和活性有关. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为 AOB 生长的营养物质直接影响着其生长,而芦苇的根际效应导致沉积物中氧气含量增高、根际分泌物增加,也促进了 AOB 的生长.

2.2 辽河口湿地沉积物的硝化速率

2.2.1 辽河口湿地沉积物的潜在硝化速率

辽河口湿地表层沉积物潜在硝化速率分布特征见图 2. 由图可见,其潜在硝化速率 6 月在 $9.72\sim16.45$ $\text{mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ 之间,平均 (12.54 ± 3.14) $\text{mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$,变异系数为 25%;8 月在 $14.66\sim24.62$ $\text{mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$ 之间,平均 (18.71 ± 4.21) $\text{mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$,变异系数为 22%. 可见辽河口湿地 6 月和 8 月潜在硝化速率的空间变异程度相近,

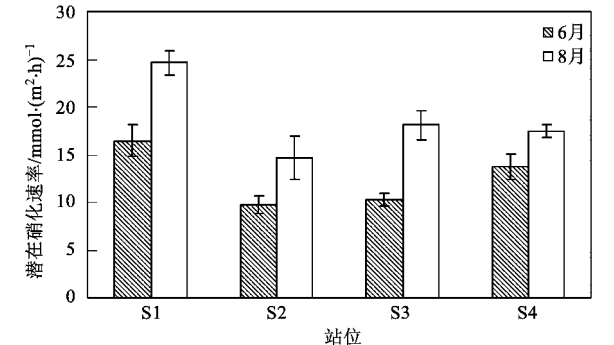


图 2 辽河口湿地沉积物潜在硝化作用速率
Fig.2 Potential nitrification rates in Liaohe estuary wetland sediments

且都相对较低;辽河口湿地表层沉积物潜在硝化速率8月明显高于6月,水平分布特征6月为S1>S4>S3>S2,8月为S1>S3>S4>S2.6月和8月芦苇生长旺盛的S1站潜在硝化速率均明显高于其它站位,主要与不同站位环境状况的差异有关;S1站位芦苇植株密度较大,沉积物含水率和NH₄⁺-N含量较其它站位高,这种环境条件更有利于硝化细菌的生长,从而促进硝化作用的进行,而S2、S3、S4站地处植被生长较差或无植被湿地区域,盐渍化较重,NH₄⁺-N等营养物质含量相对较低(见表2),表明芦苇生长良好的湿地沉积物更适合硝化作用的发生,这可能与芦苇等湿地植物的根际效应对NH₄⁺-N及氧气的输送作用,促进了硝化作用的发生^[17,18]有关.

2.2.2 辽河口湿地沉积物的净硝化速率

辽河口湿地沉积物的净硝化作用速率研究只在6月的S1站和8月的S1、S2和S3站进行,分布特征见图3.由图3可见,辽河口湿地净硝化速率6月(S1站)为0.41 mmol·(m²·h)⁻¹;8月净硝化速率范围在0.20~0.53 mmol·(m²·h)⁻¹之间,平均值为(0.35±0.16) mmol·(m²·h)⁻¹,变异系数为47%,空间变化较大.8月水平分布特征为S1>S3>S2,这可能与8月S1站的沉积物含水率、芦苇植株密度和NH₄⁺-N含量都明显高于S2和S3站有关,上述这些

环境条件都有利于硝化作用的发生.由图3还可以看出,在S1站位,其净硝化速率8月高于6月,这是因为S1站位8月的气温、沉积物含水率和NH₄⁺-N含量都明显高于6月,这些条件都适合硝化细菌的生长.

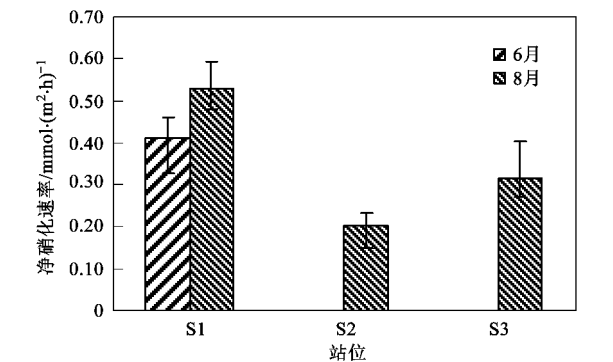


图3 辽河口湿地沉积物净硝化速率
Fig.3 Net nitrification rates in Liaohe estuary wetland sediments

2.3 沉积物 AOB 数量与环境因子的关系

沉积物 AOB 数量与沉积物环境因素的相关分析结果见表3,可以看出 AOB 数量与沉积物 pH 和 NH₄⁺-N 含量呈高度显著性相关关系($p < 0.01$),与沉积物含水率和总氮含量呈显著性相关关系($p < 0.05$).表明研究区域 AOB 的生长主要受沉积物 pH 值、NH₄⁺-N 和总氮含量的影响.

表3 沉积物 AOB 数量与环境因子的相关关系¹⁾
Table 3 Correlation coefficient between AOB abundance and environment factors

环境因子	含水率	pH	有机质	总氮(TN)	总磷(TP)	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N
相关系数 <i>r</i>	0.725 *	-0.894 **	0.628	0.880 *	0.515	0.907 **	0.435

1) * * 表示高度显著性相关($p < 0.01$); * 表示显著性相关($p < 0.05$); $n = 8$,下同

2.4 硝化速率与环境因子的关系

运用 SPSS 13.0 软件中的 2 个变量相关分析对辽河口湿地潜在硝化作用速率与主要的环境因子进行相关性分析,结果见表4.由表可见,潜在硝化作用速率与上覆水NH₄⁺-N含量、沉积物 pH 值、总磷(TP)含量和 AOB 数量呈高度显著性相关关系($p < 0.01$),与沉积物有机质、总氮(TN)和NH₄⁺-N含量呈显著性相关关系($p < 0.05$),与上覆水温度、DO、NO₂⁻-N含量和沉积物含水率也有一定相关性,但不显著($p > 0.05$).

为确定辽河口湿地各个环境因子对硝化作用的影响程度,对硝化作用与几个主要环境因子之间的关系进行偏相关分析(见表5),结果表明,上覆水

表4 潜在硝化速率与环境因子间的相关关系
Table 4 Correlation coefficients between PNR and environment factors at study area

环境因子	相关系数 <i>r</i>	环境因子	相关系数 <i>r</i>
(上覆水)		(沉积物)	
温度	0.412	含水率	0.539
盐度	-0.033	pH	-0.896 **
pH	-0.383	有机质	0.813 *
DO	0.478	可溶性盐分	0.297
NH ₄ ⁺ -N	0.895 **	TN	0.813 *
NO ₂ ⁻ -N	0.633	TP	0.840 **
NO ₃ ⁻ -N	-0.173	NH ₄ ⁺ -N	0.823 *
PO ₄ ³⁻ -P	-0.440	NO ₃ ⁻ -N	0.189
		AOB	0.859 **

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量、沉积物总磷和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量对硝化作用的影响较大,是辽河口湿地沉积物中硝化作用的关键影响因素。

表 5 硝化作用影响因素的偏相关分析

Table 5 Partial correlation analysis of impact factors on nitrification

影响因素	偏相关系数	显著性水平
上覆水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	0.956	0.189
沉积物 pH	-0.126	0.920
沉积物总氮 (TN)	-0.706	0.501
沉积物总磷 (TP)	0.949	0.205
沉积物有机质	0.509	0.660
沉积物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	0.768	0.443

3 讨论

3.1 辽河口湿地沉积物 AOB 数量的影响因素

辽河口湿地沉积物中 AOB 数量与沉积物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和总氮含量有关,主要是因为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是 AOB 生长所必需的营养物质,对硝化细菌的生长有直接的影响; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是总氮的重要组成,因此,沉积物中 AOB 与总氮含量之间的显著性相关关系主要与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的变化间接影响总氮含量有关;沉积物中不同的 pH 值会改变 AOB 生长的环境,进一步影响其细胞内的电解质平衡而影响到其活性与数量^[19],本研究沉积物 pH 值与 AOB 数量密切相关的结果可能与此有关。

3.2 辽河口湿地沉积物硝化作用的影响因素

沉积物的硝化作用过程很复杂,受到诸多环境因素的影响,如上覆水环境条件、沉积物 AOB 含量、理化性质和植被情况等^[13,20,21]。

3.2.1 AOB 对硝化作用的影响

在硝化作用过程中,AOB 是主要的参与者,其数量的多少会直接影响硝化作用速率^[8,9,22],而在不同的环境条件下,不同的 pH 值又可以通过改变 AOB 的生长环境^[23](如影响沉积物中 AOB 生长所需的游离氨的浓度^[24])影响其数量,从而影响沉积物的硝化作用速率;AOB 具有生长缓慢的生理特性,氨氧化过程又是硝化作用过程中的限制性步骤^[25],因此,环境条件的变化会直接或间接地影响 AOB 的种群结构和数量,从而影响硝化作用速率^[6,13,21]。本研究辽河口湿地沉积物潜在硝化作用速率与 AOB 数量呈高度显著性相关关系的结果与此有关。

3.2.2 营养盐对硝化作用的影响

本研究结果表明,辽河口湿地沉积物潜在硝化

作用速率与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和总氮(TN)含量高度相关,主要是因为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是硝化作用的间接底物^[24],上覆水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 又可以通过土壤孔隙进入到沉积物中而影响沉积物中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量,进一步影响硝化作用;而沉积物中的氮主要以有机氮的形式存在,在微生物作用下,沉积物中氮库中的有机氮不断地通过矿化作用将有机氮转化为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等无机氮^[26],因此总氮对硝化作用的影响主要是通过改变 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量所造成;磷元素是微生物生长所必需的另一营养元素,沉积物中磷的存在有利于 AOB 的生长,而且磷酸盐的存在也能够形成磷酸盐缓冲体系,可暂时性延缓沉积物因硝化作用造成的 pH 值下降,有利于硝化作用的发生^[27],因此辽河口湿地沉积物中磷含量的变化对硝化作用也有明显影响。

3.2.3 有机质等环境因素对硝化作用的影响

有研究表明,有机质的存在有利于某些异养硝化微生物的生长^[28],促进硝化作用的发生,本研究有机质含量与硝化速率呈显著性相关关系与此有关。水不仅是许多生物学过程所必须的重要成分,它还有传输和稀释的作用,由于硝化作用是在好氧条件下进行的,而沉积物含水率又会影响氧气和营养物质在沉积物中的传输,因此沉积物含水率对硝化作用的影响与氧气和营养物质的可获得性紧密相关。此外,有研究表明,在一定的温度和盐度范围内,硝化速率与温度、盐度呈线性相关^[8,20]。而本研究中上覆水温度和盐度与硝化速率相关性不显著,可能与不同调查站位植被等其它环境条件差异较大、而温度和盐度的变化幅度较小以及调查站位偏少有关。

3.3 与其它区域硝化速率的比较

国内外关于河口湿地潜在硝化速率的研究相对较少,有研究报道,美国 Savannah 河口盐沼湿地沉积物潜在硝化速率为 $0.051 \sim 1.486 \text{ mmol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ ^[9],英国 Colne 河口沉积物潜在硝化速率为 $3.33 \sim 8.89 \text{ mmol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$ ^[15],本研究辽河口湿地沉积物的潜在硝化速率为 $9.72 \sim 24.62 \text{ mmol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{h})^{-1}$,表明辽河口湿地沉积物的潜在硝化速率明显高于 Savannah 河口,略高于英国 Colne 河口。

国内外不同研究区域沉积物的净硝化速率见表 6。可见,辽河口湿地沉积物净硝化作用速率明显高于黄河口,但与长江口、珠江口等海域以及国外的 Ringfield Marsh 和 Newport River Estuary 湿地区域相接近。一般情况下,河口湿地区域植被丰富,较海水

含盐量低,且富含各种营养物质,对硝化细菌的生长而言,河口海域沉积物环境条件均不及河口湿地,其硝化作用强度也低于河口湿地^[15],但长江口和珠江

口由于常年气温较高,且河口水携带大量的NH₄⁺-N等营养物质^[15,29],为硝化作用提供了良好的环境,因而净硝化速率与辽河口湿地相近.

表 6 不同区域沉积物的净硝化作用速率
Table 6 Net nitrification rates of different areas

研究区域	净硝化速率/ $\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$	文献
辽河口湿地	202.61 ~ 528.31	本研究
长江口	100.3 ~ 514.3	[15]
黄河口	30.3 ~ 76.5	[15]
珠江口	320 ~ 2 430	[29]
Ringfield Marsh, Virginia, USA	370 ~ 2 160	[30]
Newport River Estuary, North Carolina, USA	0 ~ 700	[31]

3.4 硝化作用对辽河口湿地生态环境的影响

潜在硝化反应速率是向环境样品中加入足够的NH₄⁺-N和适量的磷元素后在最适温度(一般取25℃)条件下测定的硝化作用速率,通过测定潜在硝化反应速率,可以比较不同环境条件下的样品中硝化细菌将NH₄⁺-N转化为NO₃⁻-N的速率即硝化细菌的能力^[32].

由于实际环境中硝化反应速率的限制因子很多,因此潜在硝化速率往往会高于环境中的净硝化速率^[13].净硝化反应速率是模拟现场条件测定的硝化作用速率,它反映的是湿地沉积物中硝化细菌实际将NH₄⁺-N转化为NO₃⁻-N的速率,可以用来估算硝化作用在氮循环中的贡献^[15].辽河口湿地研究区域的面积约为8×10⁴ hm²,根据本研究测得的净硝化速率值和各站位代表区域所占比例^[33]估算,硝化作用每天可以将1.14×10⁵ kg NH₄⁺-N转化为NO₃⁻-N,相当于辽河流域NH₄⁺-N和NO₃⁻-N日入海通量的45.8%和12.1%^[34].尽管本研究调查站位较少,计算氮通量结果不够准确,但由此也可看出,硝化作用对辽河口湿地氮循环的影响不容忽视.硝化作用所产生的NO₃⁻-N,除供植物吸收外,其余部分或随水流入海洋污染水体,或经反硝化作用还原为N₂或N₂O进入大气,导致大气温室效应的增加.此外,硝化作用需要消耗沉积物中大量溶解氧,每减少1 mol NH₄⁺就会消耗1.815 mol 氧分子^[35],在硝化作用强烈的区域会造成沉积物缺氧而影响其它湿地生物的生长.因此,辽河口湿地表层沉积物硝化作用对湿地氮循环和生态环境演变具有重要意义.

4 结论

(1) 辽河口湿地沉积物 AOB 数量和硝化作用速率在不同生态环境中有很大的变异性,AOB 数量

的变异系数在 6 月和 8 月均较高,分别为 105% 和 79%,潜在硝化速率的变异系数 6 月和 8 月分别为 25% 和 22%,净硝化作用速率的变异系数 8 月为 47%;潜在硝化速率明显高于净硝化速率,芦苇根际作用对硝化作用有促进作用;辽河口湿地表层沉积物的 AOB 数量和硝化速率均表现为 8 月明显高于 6 月,这主要与不同的环境条件有关.

(2) 通过 SPSS 统计分析,影响研究区域 AOB 数量的环境因子主要有沉积物含水率、pH 值、总氮和NH₄⁺-N含量,影响硝化作用速率的环境因子主要有上覆水NH₄⁺-N、沉积物 pH 值、有机质、总氮、总磷、NH₄⁺-N含量以及 AOB 数量;其中上覆水NH₄⁺-N含量、沉积物总磷和NH₄⁺-N含量对硝化作用的影响较大,是辽河口湿地沉积物中硝化作用影响的关键因素.

(3) 根据本研究结果估算,辽河口湿地通过沉积物硝化作用每天可以将1.14×10⁵kg的NH₄⁺-N转化为NO₃⁻-N,对辽河口湿地的氮循环具有重要意义.

参考文献:

[1] Niels P R, Jacob P J, Lars P N. Nitrogen transformations in microenvironments of river beds and riparian zones [J]. Ecol Eng, 2005, **24**:447-455.

[2] Henning P, Kristie A D, Mary K F. The relative importance of autotrophic and heterotrophic nitrification in a conifer forest soil as measured by ¹⁵N tracer and pool dilution techniques [J]. Biochem, 1999, **44**:135-150.

[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] Watts, S H, Seitzinger, S P. Denitrification rates in organic and mineral soils from riparian sites: a comparison of N₂ flux and acetylene inhibition methods[J]. Soil Biol Biochem, 2000, **32** (10):1383-1392.

- [5] Dise N B, Write R F. Nitrogen leaching from European forests in relation to nitrogen deposition [J]. *Forest Ecol Manag*, 1995, **71**:153-161.
- [6] Abielovich A. Transformations of ammonia and the environmental impact of nitrifying bacteria [J]. *Biodegradation*, 1992, **3**:255-264.
- [7] Ryuhei I, Yanhua W, Tomoko Y, *et al.* Seasonal effect on N_2O formation in nitrification in constructed wetlands [J]. *Chemosphere*, 2008, **73**:1071-1077.
- [8] 吕艳华. 黄河三角洲湿地硝化细菌生态特征及硝化作用研究 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2007.
- [9] Dollhopf S L, Hyun J H, Smith A C, *et al.* Quantification of ammonia-oxidizing bacteria and factors controlling nitrification in salt marsh sediments [J]. *Appl Environ Microb*, 2005, **71**(1): 240-246.
- [10] 王丽荣,赵焕庭. 中国河口湿地的一般特点 [J]. *海洋通报*, 2000, **19**(5):47-54.
- [11] 刘红玉,吕宪国,刘振乾,等. 辽河三角洲湿地资源与区域持续发展 [J]. *地理科学*, 2000, **20**(6):545-551.
- [12] 徐继荣,王友绍,殷建平,等. 大亚湾海域沉积物中的硝化和反硝化作用 [J]. *海洋与湖沼*, 2007, **38**(3):206-211.
- [13] Agna S K, Nico M S, Henk W V. Potential nitrification and factors influencing nitrification in pine forest and agricultural soils in Central Java, Indonesia [J]. *Pedobiologia*, 2002, **46**(6): 573-594.
- [14] Grahame H. Measurement of nitrification rates in lake sediments: Comparison of the nitrification inhibitors nitrapyryn and allylthiourea [J]. *Microb Ecol*, 1984, **10**:25-36.
- [15] 李佳霖. 典型河口区的硝化与反硝化过程 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2009.
- [16] Smorzewski W T, Schmidt E L. Numbers, activities, and diversity of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria in a freshwater, eutrophic lake sediment [J]. *Can J Microbiol*, 1991, **37**(11): 828-833.
- [17] 张虎成,俞穆清,田卫,等. 人工湿地生态系统中氮的净化机理及其影响因素研究进展 [J]. *干旱区资源与环境*, 2004, **18**(4):163-168.
- [18] Martin J F, Reddy K R. Interaction and spatial distribution of wetland nitrogen processes [J]. *Ecol Model*, 1997, **105**(1):1-21.
- [19] De Boer W, Kowalchuk G A. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms [J]. *Soil Biol Biochem*, 2001, **33**: 853-866.
- [20] Lutz B, Ralf K, Klaus B B. Temperature and moisture effects on nitrification rates in tropical rain-forest soils [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 2002, **66**(3):824-844.
- [21] 刘义,陈劲松,刘庆,等. 土壤硝化和反硝化作用及影响因素研究进展 [J]. *四川林业科技*, 2006, **27**(2):36-41.
- [22] 李奕林,张亚丽,胡江,等. 淹水条件下水稻与梗稻苗期根际土壤硝化作用的时空变异 [J]. *生态学报*, 2006, **26**(5): 1641-1647.
- [23] Boer W, Tietema A, Klein Gunnewiek P J A, *et al.* The chemolithotrophic ammonium-oxidizing community in a nitrogen saturated acid forest soil in relation to pH-dependent nitrifying activities [J]. *Soil Biol Biochem*, 1992, **24**:229-234.
- [24] 陈旭良,郑平,金仁村,等. pH 和碱度对生物硝化影响的探讨 [J]. *浙江大学学报*, 2005, **31**(6):755-759.
- [25] Oved T, Shaviv A, Goldrath T, *et al.* Influence of effluent irrigation on community composition and function of ammonia-oxidizing bacteria in soil [J]. *Appl Environ Microb*, 2001, **67**(8):3426-3433.
- [26] 周才平,欧阳华. 温度和湿度对暖温带落叶阔叶林土壤氮矿化的影响 [J]. *植物生态学报*, 2001, **25**(2):204-209.
- [27] 代惠萍,顾斌,屈继旗,等. 氨态氮和水溶性磷酸盐配比对土壤硝化作用的影响 [J]. *西北农业学报*, 2009, **18**(5):189-193.
- [28] 何霞,吕剑,何义亮,等. 异养硝化机理的研究进展 [J]. *微生物学报*, 2006, **46**(5):844-847.
- [29] 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.
- [30] Tobias C R, Anderson I C, Canuel E A, *et al.* Nitrogen cycling through a fringing marsh-aquifer ecotone [J]. *Mar Ecol-prog Ser*, 2001, **210**: 25-39.
- [31] Thompson S P, Paeri H W, Go M C. Seasonal patterns of nitrification and denitrification in a natural and a restored salt marsh [J]. *Estuaries*, 1995, **18**(2):399-408.
- [32] Vogeler, I, Vachey, A, Deurer M, *et al.* Impact of plants on the microbial activity in soils with high and low levels of copper [J]. *Eur J Soil Biol*, 2008, **44**(1): 92-100.
- [33] 罗宏宇,黄方,张养贞. 辽河三角洲沼泽湿地时空变化及其生态效应 [J]. *东北师范大学学报自然科学版*, 2003, **35**(2): 100-105.
- [34] 夏斌. 2005 年夏季环渤海 16 条主要河流的污染状况及入海通量 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2009.
- [35] Rittmann B E, McCarty P L. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications* [M]. New York: McGraw-Hill Book Co, 2001. 408.