

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第10期

Vol.37 No.10

**2016**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

北京地区空气重污染下雾凇和偏东风对 PM<sub>2.5</sub> 清除作用 ..... 孙兆彬, 廖晓农, 王占山, 李梓铭, 赵秀娟, 花丛 (3679)

降雨对不同粒径气溶胶粒子碰撞清除能力 ..... 董群, 赵普生, 陈一娜 (3686)

北京冬季雾霾频发期 VOCs 源解析及健康风险评价 ..... 刘丹, 解强, 张鑫, 王海林, 闫志勇, 杨宏伟, 郝郑平 (3693)

浙江省制鞋行业挥发性有机物污染特征及其排放系数 ..... 徐志荣, 姚轶, 蔡卫丹, 李嫣, 许明珠, 王浙明 (3702)

2014 年 APEC 期间北京市 PM<sub>10</sub> 和 PM<sub>2.5</sub> 氧化性损伤能力研究 ..... 郭茜, 邵龙义, 王文华, 侯聪, 赵承美, 幸娇萍, 马施民 (3708)

武汉市洪山区夏季 PM<sub>2.5</sub> 浓度、水溶性离子与 PAHs 成分特征及来源分析 ..... 孙焰, 祁士华, 张莉, 邢新丽, 杨丹, 胡天鹏, 翟程凯 (3714)

基于快速聚类方法分析常州市区 PM<sub>2.5</sub> 的统计特性 ..... 王振, 余益军, 徐圃青, 李艳萍, 夏京, 殷磊 (3723)

PM<sub>2.5</sub> 在线水溶性离子与滤膜采集-实验室检测的比对分析 ..... 杨懂艳, 刘保献, 石爱军, 张大伟, 丁萌萌, 周健楠, 富佳明, 景宽 (3730)

树木模拟燃烧排放烟尘中水溶性离子的组成 ..... 刘刚, 黄柯, 李久海, 徐慧 (3737)

轻型汽油车排放颗粒物数浓度和粒径分布特征 ..... 樊筱筱, 蒋靖坤, 张强, 李振华, 何立强, 吴焯, 胡京南, 郝吉明 (3743)

基于台架测试的我国船用柴油机废气排放因子 ..... 邢辉, 段树林, 黄连忠, 韩志涛, 刘勤安 (3750)

西安城区地表灰尘中邻苯二甲酸酯分布、来源及人群暴露 ..... 张文娟, 王利军, 王丽, 史兴民, 卢新卫 (3758)

生活垃圾焚烧厂垃圾的汞含量与汞排放特征研究 ..... 段振亚, 苏海涛, 王凤阳, 李智坚, 李韶璞, 王书肖 (3766)

三峡库区消落带土壤中硫酸盐还原菌对汞甲基化作用的影响 ..... 陈瑞, 陈华, 王定勇, 向玉萍, 申鸿 (3774)

城市化进程对地下河中溶解态正构烷烃来源的影响 ..... 廖昱, 孙玉川, 沈立成, 梁作兵, 王尊波 (3781)

基于 PMF 模型的长江流域水体中多环芳烃来源解析及生态风险评价 ..... 王成龙, 邹欣庆, 赵一飞, 李宝杰 (3789)

贡嘎山地区地表水化学特征及水环境质量评价 ..... 何晓丽, 吴艳宏, 周俊, 邴海健 (3798)

多元数理统计法研究太子河本溪城市段水体 DOM 紫外光谱特征 ..... 钱锋, 吴婕贻, 于会彬, 宋永会, 张美, 孔令昊, 何孟常 (3806)

地下水中溶解性有机物的垂直分布特征及成因 ..... 何小松, 张慧, 黄彩红, 李敏, 高如泰, 李丹, 席北斗 (3813)

昆明市不同功能区排水管道沉积物性质 ..... 常海东, 金鹏康, 付博文, 李雪兵, 贾锐珂 (3821)

滇池水生植物分布对沉积物间隙水磷浓度的影响 ..... 丁帅, 王圣瑞, 张蕊, 肖焱波, 焦立新, 李乐, 王忠诚, 尹诗诗 (3828)

紫色母岩覆盖层控制底泥磷释放的效果及机制 ..... 黄雪娇, 石纹豪, 倪九派, 李振轮 (3835)

排水循环灌溉下稻田磷素时空分布特征 ..... 焦平金, 许迪, 朱建强, 于颖多 (3842)

快速高效去除微囊藻的 GO/QPEI 复合纳米材料 ..... 李洁, 肖琳 (3850)

一体式生物净化-沉淀池对微污染水体污染物的强化去除性能 ..... 王文东, 刘荟, 马翠, 韩雨, 常妮妮 (3858)

生物粉末活性炭-超滤组合工艺对微污染水源水中臭味物质的去除效能及其微生物特性 ..... 宣雍祺, 周丽, 邓慧萍, 蔡宙, 李大鹏, 刘刚 (3864)

聚硅酸对不同形态铝沉积行为的影响 ..... 赵园园, 张玥, 李素英, 石宝友, 李贵伟, 孙改清 (3870)

典型南方水源氨基酸浓度变化与去除 ..... 刘伟, 蔡广强, 卢小艳, 刘丽君, 张金松, 刘嘉祺, 曲莹 (3877)

O<sub>3</sub>/UV 降解含氮杂环化合物喹啉 ..... 陈傲蕾, 常凤民, 汪翠萍, 徐恒, 吴静, 左剑恶, 王凯军 (3884)

蒽醌-2-磺酸钠促进 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 脱色产氢机制与产能分析 ..... 胡金梅, 虞磊, 黄天寅 (3891)

2-丁烯醛生产废水中溶解性有机物的分级解析 ..... 孙秀梅, 宋广清, 席宏波, 周岳溪, 牛远方 (3899)

不同缺氧段硝酸盐氮浓度条件下连续流单污泥污水处理系统 PHA、TP 代谢 ..... 王晓玲, 员东丹, 白莉, 李紫棋, 余勇, 秦旭东, 张晓旭, 赵可 (3906)

长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌分布特征研究 ..... 付璐璐, 甄毓, 贺惠, 张玉, 米铁柱 (3914)

焦化废水活性污泥细菌菌群结构分析 ..... 蒙小俊, 李海波, 曹宏斌, 盛宇星 (3923)

黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究 ..... 刘洋, 黄懿梅, 曾全超 (3931)

苯酚对活性污泥活性及微型动物群落结构的影响 ..... 胡小兵, 饶强, 唐素兰, 姜晶, 谢瑞桃, 郝文静, 钟梅英 (3939)

城市生活污水和生活垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染的比较研究 ..... 黄福义, 李虎, 安新丽, 欧阳纬莹, 苏建强 (3949)

菌株 *Desulfovibrio* sp. CMX 的 DNRA 性能和影响因素 ..... 谢柄柯, 张玉, 王晓伟, 孙超越, 周集体 (3955)

生活污水灌溉对麦秸还田稻田氨挥发排放的影响 ..... 徐珊珊, 侯朋福, 范立慧, 薛利红, 杨林章, 王绍华, 李刚华 (3963)

模拟氮沉降对重庆缙云山马尾松林土壤呼吸和酶活性的季节性影响 ..... 曾清苹, 何丙辉, 李源, 夏力文, 杨龙龙, 邓雪梅, 李川 (3971)

生物炭添加和灌溉对温室番茄地土壤反硝化损失的影响 ..... 张文娟, 余冬立, Gamareldawla H. D. Agbna, 夏永秋 (3979)

土壤质地对自养固碳微生物及其同化碳的影响 ..... 王群艳, 吴小红, 祝贞科, 袁红朝, 隋方功, 葛体达, 吴金水 (3987)

土壤-作物系统中重金属元素吸收、迁移和积累过程模拟 ..... 施亚星, 吴绍华, 周生路, 王春辉, 陈浩 (3996)

组配改良剂对稻田系统 Pb、Cd 和 As 生物有效性的协同调控 ..... 王英杰, 邹佳玲, 杨文强, 周航, 廖柏寒 (4004)

几种有机物料对设施菜田土壤 Cd、Pb 生物有效性的影响 ..... 周贵宇, 姜慧敏, 杨俊诚, 张建峰, 张水勤, 梁雷 (4011)

蒙脱石对有机物料施入土壤磷形态和有效性的影响 ..... 宋贤威, 赵秀兰, 张进忠, 胡梦坤, 徐艳昭, 王明禹 (4020)

不同镉浓度及 pH 条件下纳米沸石对土壤镉形态及大白菜镉吸收的影响 ..... 秦余丽, 熊仕娟, 徐卫红, 赵婉伊, 王卫中, 陈永勤, 迟芬琳, 陈序根, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (4030)

黑麦草和牵牛花对铬耐受能力和积累效果的指标表征研究 ..... 董冰冰, 陈友媛, 惠红霞, 陆维佳, 杨秀卿, 刘逸凡 (4044)

挥发性甲基硅氧烷的体外代谢行为 ..... 黎敏丹, 郑国贸, 万伟, 胡建英 (4054)

中药渣与城市污泥好氧共堆肥的效能 ..... 宿程远, 郑鹏, 阮祁华, 覃菁菁, 卢宇翔, 李俊兵 (4062)

《环境科学》征订启事 (3827) 《环境科学》征稿简则 (4053) 信息 (3736, 3930, 4043)

# 长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌分布特征研究

付璐璐<sup>1,2,3</sup>, 甄毓<sup>2,3,4</sup>, 贺惠<sup>1,2,3</sup>, 张玉<sup>2,3,4</sup>, 米铁柱<sup>2,3,4\*</sup>

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003; 2. 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266071; 4. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100)

**摘要:** 海洋生态系统氮素循环对维持海洋生态收支平衡具有重要意义, 由厌氧氨氧化细菌 (anaerobic ammonia-oxidizing bacteria, ANAMMOX Bacteria) 推动的厌氧氨氧化过程是海洋氮素移除的重要途径. 本研究采用荧光定量 PCR (qPCR) 技术, 并结合环境理化因子, 分析了 2011 年夏季长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌的种群丰度分布特征. 结果表明, 厌氧氨氧化细菌的种群丰度在长江口邻近海域的空间分布与环境因子密切相关, 总有机碳含量、盐度、铵盐浓度对长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌的种群丰度具有重要调控作用. 厌氧氨氧化细菌的丰度分布与总有机碳含量呈显著正相关关系 ( $P < 0.01, r = 0.69$ ), 同时又随亚硝酸盐浓度、溶解氧浓度的升高而降低, 而盐度对厌氧氨氧化细菌丰度分布的影响较为复杂.

**关键词:** 沉积物; 厌氧氨氧化细菌; amx-16S rDNA; 环境因子; 丰度分布

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)10-3914-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.2016.10.033

## Distribution Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Bacteria in Sediments from the Adjacent Seas of Yangtze Estuary

FU Lu-lu<sup>1,2,3</sup>, ZHEN Yu<sup>2,3,4</sup>, HE Hui<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Yu<sup>2,3,4</sup>, MI Tie-zhu<sup>2,3,4\*</sup>

(1. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Qingdao 266100, China; 3. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China; 4. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

**Abstract:** Marine nitrogen cycle is of great significance to maintain the marine ecological balance. Anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX) process driven by anaerobic ammonia-oxidizing bacteria is an important way of promoting the marine nitrogen removal. In this study, quantitative PCR (qPCR), combining with environmental factors analysis, were used to study the distribution of ANAMMOX bacteria in the sediments from Yangtze River Estuary and its adjacent waters in summer, 2011. The results showed that the spatial abundance distribution of ANAMMOX bacteria was closely related to environmental factors. Total organic carbon, salinity, and concentration of ammonium played vital roles in regulating ANAMMOX bacteria abundances in this area. The abundance distribution of ANAMMOX bacteria was significantly positively correlated with total organic carbon content ( $P < 0.01, r = 0.69$ ), reducing along with the increasing concentration of nitrite and DO, while the influence from salinity was complicated.

**Key words:** sediments; ANAMMOX bacteria; amx-16S rDNA; environmental factors; abundance distribution

长期以来,人们一直认为反硝化作用是化合氮转化为氮气的唯一途径,该过程可将硝态氮( $\text{NO}_3^-$ )通过一系列中间产物还原为氮气. 1992年, Gist Brocades公司的 Arnold Mulder在计算反硝化过程中的氮平衡时,发现其中存在80%~90%的氮损失不能用传统认为的反硝化过程来解释,他推断这可能是一种新的厌氧脱氮反应,并将这一转化过程命名为“anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX”<sup>[1]</sup>. 1995年,荷兰科学家 Van de Graaf等<sup>[2]</sup>在污水处理厂采用同位素标记法证明了厌氧氨氧化过程是生物过程. 该过程以亚硝态氮( $\text{NO}_2^-$ -N)为电子受体直接将铵态氮( $\text{NH}_4^+$ -N)氧化为氮气( $\text{N}_2$ ). 作为一种新型的生物脱氮途径,自发现之日起,厌氧氨氧化过程(ANAMMOX)就受到了特别关

注,有学者已在海洋、河口、湖泊、河流沉积物以及污水处理厂污泥等<sup>[3-7]</sup>环境中对ANAMMOX进行了大量研究.

2002年, Thamdrup等<sup>[5]</sup>将近海沉积物中的ANAMMOX与反硝化过程进行比较并首次进行了量化. 2003年, Kuypers等<sup>[8]</sup>在世界上最大的缺氧海盆——黑海低氧区中首次发现了厌氧氨氧化细菌(anaerobic ammonia-oxidizing bacteria, ANAMMOX

收稿日期: 2016-04-06; 修订日期: 2016-05-24

基金项目: 国家自然科学基金创新研究群体项目(41521064); 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室、青岛海洋科学与技术国家实验室海洋生态与环境科学开放基金项目(KLMEES201601)

作者简介: 付璐璐(1989~),女,博士研究生,主要研究方向为海洋微生物分子生态学, E-mail: flyflew1989@163.com

\* 通讯联系人, E-mail: mitiezhu@ouc.edu.cn

Bacteria), 并将其与海洋无机氮的移除联系起来. 2005 年, 他们又在纳米比亚海岸的本格拉上升流中发现, ANAMMOX 在固定氮的释放过程中起主导作用<sup>[9]</sup>. 而 Ward 等<sup>[10]</sup> 则认为在其他海域, 反硝化起了主导作用. 针对到底是 ANAMMOX 还是反硝化过程在海洋氮损失中占主导地位的争议, Babbin 等<sup>[11]</sup> 详细研究了海洋中两大氮素移除途径 ANAMMOX 与反硝化过程的平衡关系, 发现在全球范围内, ANAMMOX 贡献了 28% 的海洋氮素移除. 由此可见, ANAMMOX 在海洋氮循环中发挥了极为重要的作用.

有研究表明, 几乎在所有的含氮低氧环境中 (包括海洋低氧区水域、近海与河口沉积物) 都能发现 ANAMMOX<sup>[12~14]</sup>. 作为 ANAMMOX 的主要驱动者, 厌氧氨氧化细菌一直是人们关注的焦点. 厌氧氨氧化细菌属于浮霉菌门 (Planctomycetes), 目前发现有 5 个属存在厌氧氨氧化细菌, 分别是 *Candidatus Brocadia*、*Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Scalindua*、*Candidatus ANAMMOXoglobus* 和 *Candidatus Jettenia*, 其中 *Candidatus Scalindua* 是海洋环境中最常见的厌氧氨氧化细菌<sup>[15]</sup>. 由于至今未能成功分离得到纯菌株, 因此对厌氧氨氧化细菌的研究主要以分子生物学技术为手段. 近年来, 随着分子生物学技术的不断发展, 对厌氧氨氧化细菌的研究已取得大量成果. 有研究者通过构建克隆文库、定量基因拷贝量分析厌氧氨氧化细菌的群落组成、分布及其丰度.

厌氧氨氧化细菌广泛分布于海洋低氧水体与沉积物、缺氧海湾盆地<sup>[12]</sup>、北极海冰<sup>[16]</sup>、深海热液喷口<sup>[17]</sup> 等多种海洋低氧环境中. 2003 年, Kuypers 等<sup>[8]</sup> 在黑海缺氧海盆的研究发现, ANAMMOX 细菌的分布不仅仅局限在海盆中心的缺氧区域, 其周边水动力条件较强的低氧区域中也有发现. 2004 年, Rysgaard 等<sup>[16]</sup> 发现厌氧氨氧化细菌可以在北极海冰中生存. 2007 年, Amano 等<sup>[18]</sup> 在日本沿海海岸沉积物中检测到厌氧氨氧化细菌的存在. 同年, Hamersley 等<sup>[19]</sup> 在秘鲁低氧区水体中检测到厌氧氨氧化细菌的存在. 2009 年, Penton 等<sup>[13]</sup> 甚至在大西洋中脊深海热液喷口周围环境中发现了厌氧氨氧化细菌. 其活性、群落组成、丰度也因为受各种环境理化因子的影响, 在不同海域存在一定的差异性<sup>[12]</sup>. 盐度是影响厌氧氨氧化细菌物种组成差异分布的最主要因素, 厌氧氨氧化细菌不同属对盐度的耐受不同, *Candidatus Brocadia*、*Candidatus*

*Kuenenia*、*Candidatus Scalindua* 分别适应淡水、寡盐、海水环境的特征, 因而不同盐度环境的优势种群也不同<sup>[20,21]</sup>. 而厌氧氨氧化细菌的丰度、活性在有明显温度差异的夏、冬两季也表现出明显不同, 在长江口潮滩沉积物中, 夏季厌氧氨氧化细菌的丰度高于冬季的<sup>[21]</sup>.

研究者通过对不同海域厌氧氨氧化细菌进行培养, 发现 ANAMMOX 对不同海域 N<sub>2</sub> 形成的贡献率在 0~79% 之间<sup>[22]</sup>. 国内研究则发现长江口附近潮滩<sup>[21]</sup>、东海近海海域<sup>[23,24]</sup> 沉积物中的厌氧氨氧化细菌群落组成在不同区域具有一定的差异性, 受环境理化因子变动、人类活动等影响较大. 本研究以长江口邻近海域表层沉积物样品建立利用 16S rDNA 定量厌氧氨氧化细菌的方法, 分析厌氧氨氧化细菌丰度与环境理化因子之间的关系, 推测影响其丰度变化的环境理化因子. 同时本研究针对长江口邻近海域沉积物的分析, 验证了厌氧氨氧化细菌在研究海域的存在, 也丰富了中国东黄海近海海域对厌氧氨氧化细菌丰度与环境因子之间耦合关系的数据, 旨在为后期研究厌氧氨氧化细菌丰度的季节性差异以及对环境理化因子变化的反应程度提供依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

2011 年 7 月 29 日~8 月 4 日在长江口邻近海域 (122°E~123.5°E, 28°N~32°N) 20 个站位, 其水深范围是 10~72 m, 采集表层 0~1 cm 沉积物的样品 (图 1). 沉积物样品放置在无菌封口袋中, 立即

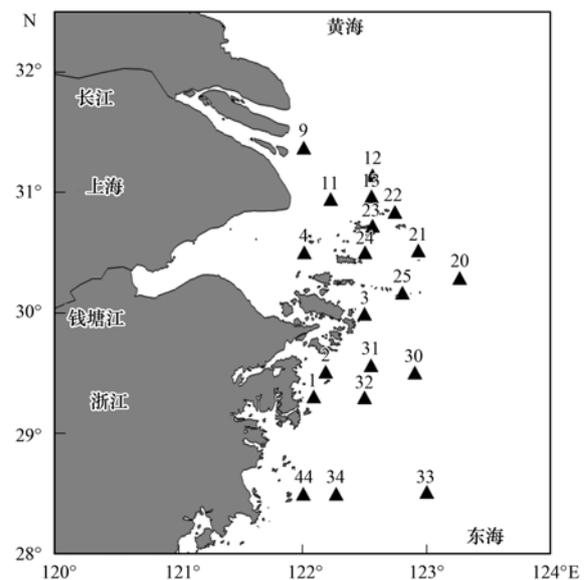


图 1 长江口邻近海域采样站位示意

Fig. 1 Sampling sites in adjacent waters of Yangtze Estuary

置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存.

## 1.2 环境因子测定

利用 CTD 多参数温盐深仪对各个站位底层水的温度、盐度、溶解氧浓度等理化参数进行现场测定, 底层水的营养盐  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{NO}_2^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度于实验室内采用德国 Bran-Lubbe 公司的 Quattro 营养盐自动分析仪测定, 沉积物中的总有机碳使用 Carlo Erba NA-1500 元素分析

仪测定.

## 1.3 DNA 提取与引物特异性验证

沉积物自然解冻完全混合均匀后, 用 Power Soil DNA Isolation Kit (MoBio, 美国) 提取沉积物 DNA, 溶于  $100\ \mu\text{L}$  缓冲液并于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存. 用下列引物(表 1) 分别扩增细菌 16S rDNA (bac-16S rDNA)、厌氧氨氧化细菌 16S rDNA (amx-16S rDNA) 基因片段, 并进行回收纯化.

表 1 荧光定量 PCR 引物与反应程序<sup>1)</sup>

Table 1 Real-time fluorescence quantitative PCR primers and amplification procedures

引物名称	序列(5'-3')	扩增片段	PCR 反应程序
341F <sup>[25,26]</sup>	CCT ACG GGA GGC AGC AG	bac-16S rDNA	50 $^{\circ}\text{C}$ UNG 酶激活 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ , 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ , 45 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ , 1 min, 40 个循环
518R <sup>[25,26]</sup>	ATT ACC GCG GCT GCT GG	bac-16S rDNA	
Amx368F <sup>[27]</sup>	TTC GCA ATG CCC GAA AGG	amx-16S rDNA	50 $^{\circ}\text{C}$ UNG 酶激活 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ , 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ , 45 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ , 1 min, 40 个循环
Amx820R <sup>[27]</sup>	AAA ACC CCT CTA CTT AGT GCC C	amx-16S rDNA	

1) 16S rDNA、amx-16S rDNA 这 2 个基因均采用两步法, 分别进行 qPCR 实验

## 1.4 质粒标准品的制备

将纯化的 DNA 与 pMD 18-T 载体连接后, 转化到 *Escherichia coli* Trans 5 $\alpha$  感受态细胞中, 通过蓝白筛选得到含有目的基因的阳性克隆, 质粒提取纯化试剂盒(康为, 北京) 制备质粒, 用引物 M13F (-47F)/M13R (-48R) 进行 PCR 反应, 检验阳性克隆后测序(华大基因研究中心, 北京).

用 Picodrop 超微量紫外分光光度计(Picodrop, UK) 测得重组质粒的浓度, 计算 bac-16S rDNA、amx-16S rDNA 重组质粒的拷贝浓度. 将得到的质粒 10 倍梯度稀释, 用于建立定量 PCR 体系的质粒标准曲线.

## 1.5 标准曲线的制备与样品测定

将所得质粒标准品进行梯度稀释, 以此为模板使用 FastStart Universal SYBR Green Master (ROX) 试剂盒(Roche, Germany) 进行荧光定量 PCR (qPCR) 反应(ABI7500, USA), 并在反应体系中加入  $0.2\ \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  牛血清蛋白. 用引物 341F/518R 和 Amx368F/Amx820R 分别定量 bac-16S rDNA 和 amx-16S rDNA 的拷贝数, 反应体系为: 沉积物 DNA  $1\ \mu\text{L}$ , 引物各  $0.5\ \mu\text{L}$ , ROX  $12.5\ \mu\text{L}$ , BSA  $0.5\ \mu\text{L}$ , 反应程序如表 1. 每个质粒标准品浓度做 3 个平行样, 同时添加阴性对照. qPCR 扩增完毕之后进行熔解曲线分析, 以确定实验中的每个样品都是特异性扩增. 最后以质粒拷贝数常用对数值为横坐标, 以 qPCR 反应中相应的平均 Ct 值为纵坐标, 绘制标准

曲线. 取  $2\ \mu\text{L}$  样品 DNA 按上述条件进行 qPCR 反应, 每个样品 3 个平行样, 实验体系中同时包括阳性、阴性对照. 通过标准曲线换算样品中 bac-16S rDNA 和 amx-16S rDNA 这 2 个基因的拷贝数.

## 1.6 环境因子与厌氧氨氧化细菌的关系分析

使用 Canoco for Windows 4.5 软件对厌氧氨氧化细菌种群丰度和环境数据进行冗余分析(RDA) 作图, 将各个理化因子标准化处理再分析与厌氧氨氧化细菌丰度之间的关系; 采用皮尔森(Pearson) 相关系数法对总细菌数量与厌氧氨氧化细菌数量、环境因子与厌氧氨氧化细菌数量之间的相关性进行相关性分析, 并进行显著性检验, 对总细菌数量及厌氧氨氧化细菌数量的分布采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)、双变量相关性检验进行分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 环境因子分析

本航次各站位底层水的理化参数如表 2 所示. 在所考察海域, 温度在  $18.05\sim 27.24^{\circ}\text{C}$  之间, 盐度在  $15.65\%\sim 34.49\%$  之间, 溶解氧的范围为  $1.11\sim 4.04\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 铵盐的浓度范围为  $0.92\sim 6.20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 亚硝酸盐的浓度范围为  $0.03\sim 1.48\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 硝酸盐的浓度范围为  $3.31\sim 187.01\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 有机碳在  $0.21\%\sim 0.85\%$  之间. 长江口邻近海域盐度较低, 铵盐、亚硝酸盐、硝酸盐的浓度较高, 该海域受长江入海淡水影响显著.

表 2 长江口邻近海域各站位底层水与沉积物的理化参数<sup>1)</sup>

Table 2 Physiochemical parameters of bottom water and sediments in adjacent waters of Yangtze Estuary

站位	水深 /m	温度 /°C	盐度 /PSU	溶解氧 /mg·L <sup>-1</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /μmol·L <sup>-1</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /μmol·L <sup>-1</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /μmol·L <sup>-1</sup>	总有机碳 /%
1	10	—	—	—	1.00	0.88	7.03	0.51
2	11	—	—	—	0.99	1.18	17.15	0.57
3	33	22.2	32.67	3.39	2.22	0.34	9.19	0.48
4	11	27.2	25.83	4.04	4.52	0.18	24.43	0.51
9	11	—	15.65	3.49	1.53	0.37	187.00	0.21
11	11	25.8	21.91	3.50	2.92	0.26	49.89	0.44
12	27	19.6	32.24	1.11	2.96	0.49	14.87	0.66
13	16	22.0	29.76	2.37	0.92	0.16	9.01	0.62
20	57	19.0	34.48	3.04	1.12	0.17	11.42	0.32
21	49	18.9	34.49	2.40	—	—	—	0.61
22	27	21.7	32.05	2.90	—	—	—	0.60
23	16	23.6	29.21	3.24	1.56	0.41	22.60	0.45
24	27	21.4	32.78	2.76	1.38	0.64	13.75	0.53
25	33	20.2	33.80	2.69	—	—	—	0.61
30	57	18.1	34.47	2.97	1.61	0.28	4.65	0.51
31	33	17.9	34.43	2.01	1.55	0.35	13.07	0.77
32	41	18.4	27.96	1.93	1.05	0.19	4.69	0.68
33	72	18.0	34.47	3.44	2.71	0.03	3.31	0.78
34	51	18.2	34.46	3.41	6.20	0.00	0.00	0.85
44	22	20.5	34.34	2.52	1.28	1.48	7.76	0.64

1) “—”表示未测得相关数据

## 2.2 测序结果分析

将含有插入目的基因 amx-16S rDNA 片段的质粒进行 PCR 扩增,经电泳检验确认后送测序公司(华大基因,北京)测序,并将测序所得序列在 GenBank 进行比对,所得序列与数据库中的厌氧氨氧化细菌 16S rDNA 基因序列相似度均达到 99% 以上,登录号为 KU217904、KU217970、KU218091、KU218164、KUKU218198、KU218363、KM925257、JX243468,证实所得质粒标准品中含有的片段为 amx-16S DNA 序列,其片段长度为 477 bp.

## 2.3 标准曲线的绘制及沉积物中厌氧氨氧化细菌的定量

经过 qPCR 实验分析可知,熔解曲线[图 2(a)]仅在解链温度处有一个显著的峰值,没有引物二聚体、其他非特异性扩增.对含有目的基因片段(bac-16S rDNA 和 amx-16S rDNA)的质粒进行 qPCR 反应,获得定量标准曲线[图 2(b)和表 3].

表 3 bac-16S rDNA 和 amx-16S rDNA 基因的标准曲线方程<sup>1)</sup>

Table 3 Standard curve equations of bac-16S rDNA and amx-16S rDNA genes

基因片段	标准曲线方程	R <sup>2</sup>
bac-16S rDNA	$y = -2.83x + 38.55$	0.992
amx-16S rDNA	$y = -3.31x + 37.42$	0.997

1)  $x$  为含有目的基因片段的质粒拷贝浓度的常用对数值, $y$  为质粒标准品拷贝浓度的 Ct 值

通过 qPCR 定量采样站位表层沉积物中的 bac-16S rDNA、amx-16S rDNA 拷贝数. bac-16S rDNA 拷贝数为  $9.25 \times 10^9 \sim 1.96 \times 10^{11}$  copies·g<sup>-1</sup> (鲜重), amx-16S rDNA 拷贝数为  $6.73 \times 10^5 \sim 3.81 \times 10^7$  copies·g<sup>-1</sup> (鲜重). 厌氧氨氧化细菌 16S rDNA 拷贝数远远小于细菌 16S rDNA 拷贝数,仅占  $0.26 \times 10^{-4} \sim 5.2 \times 10^{-4}$ ,由该比例可知,与总微生物量相比,厌氧氨氧化细菌生物量很小[图 3(a)].

## 2.4 厌氧氨氧化细菌与细菌总量之间的关系

将定量 bac-16S rDNA 与 amx-16S rDNA 所得结果对数处理后用单样本 K-S 检验验证了总细菌和厌氧氨氧化细菌丰度数值的正态性,结果表明总细菌 ( $P = 0.588 > 0.05$ ) 和厌氧氨氧化细菌 ( $P = 0.958 > 0.05$ ) 在本研究海域丰度的分布具有空间异质性.用双变量相关性检验验证了总细菌与厌氧氨氧化细菌丰度分布的相关性,结果表明 amx-16S rDNA 与 bac-16S rDNA 拷贝数对数值具有相关关系 ( $P < 0.05, r = 0.51$ ),厌氧氨氧化细菌在研究区域的分布趋势与总微生物的分布趋势相同.用 One-Way ANOVA 检验总细菌与厌氧氨氧化细菌的数量分布,结果表明总细菌和厌氧氨氧化细菌在本研究海域的丰度分布趋势是一致的 ( $P = 0.104 > 0.05$ ).在所考察区域,厌氧氨氧化细菌的分布趋势表现为长江口外及近岸区域较低而南部海域较高[图 3(b)],

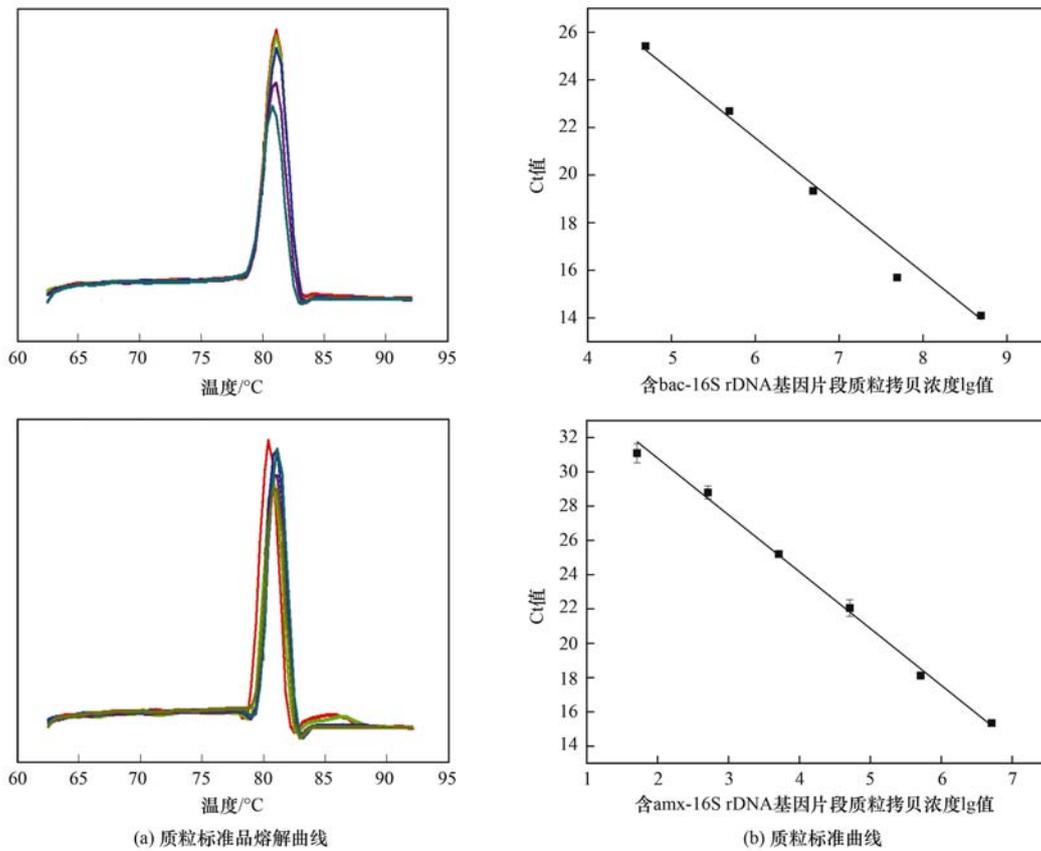


图 2 含有 bac-16S rDNA、amx-16S rDNA 基因的质粒标准品溶解曲线和质粒标准曲线图

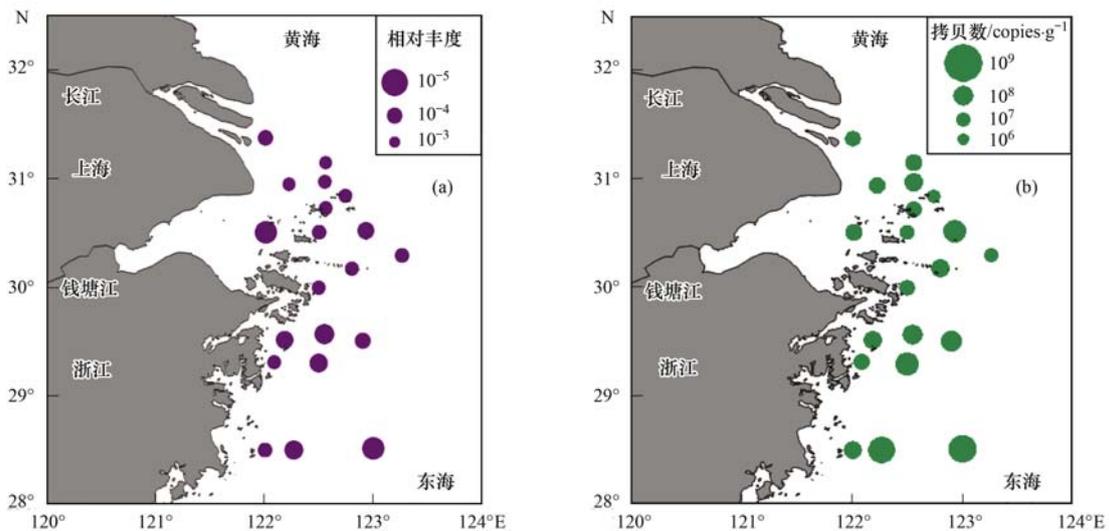
Fig. 2 Melting curves and standard curves for plasmid reference containing bac-16S rDNA and amx-16S rDNA genes

与研究海域站位的深度显著相关 ( $P < 0.05, r = 0.49$ ). 厌氧氨氧化细菌与细菌总生物量在考察海域的特殊区域的丰度分布不完全一致(如 4 号站, 位于杭州湾), 细菌总生物量较小, 而厌氧氨氧化细

菌的生物量较大.

### 2.5 不同环境因子对厌氧氨氧化细菌数量的影响

采用 Canoco for Windows 4.5 软件对厌氧氨氧化细菌种群丰度和环境数据进行分析(图 4). 种群



(a) 厌氧氨氧化细菌 (amx-16S rDNA) 占总细菌 (16S rDNA) 的相对丰度; (b) 厌氧氨氧化细菌 16S rDNA

图 3 厌氧氨氧化细菌 (amx-16S rDNA) 占总细菌 (16S rDNA) 的相对丰度、厌氧氨氧化细菌 16S rDNA 拷贝数在长江口邻近海域沉积物中分布

Fig. 3 Horizontal distribution of sedimentary ratio of ANAMMOX bacteria to total bacteria and ANAMMOX bacteria 16S rDNA copies in adjacent waters of Yangtze Estuary

丰度与环境因子前两个排序轴的相关系数分别为 0.388 和 0.028。第一排序轴与总有机碳含量 (TOC)、盐度、溶解氧、铵盐浓度呈正相关,与硝酸盐、亚硝酸盐浓度呈负相关;第二排序轴与铵盐/亚硝酸盐浓度比呈正相关,与温度、盐度、溶解氧呈负相关。因此,总有机碳含量、盐度、溶解氧及铵盐/亚硝酸盐浓度比例等环境理化因子在决定厌氧氨氧化细菌丰度分布上具有重要作用。其中,铵盐浓度、总有机碳含量对厌氧氨氧化细菌的丰度影响较大。

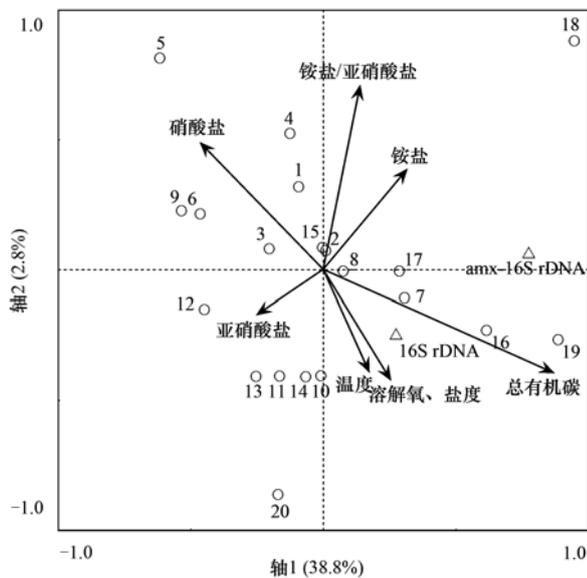


图4 各理化因子与厌氧氨氧化细菌种群丰度的 RDA 分析

Fig. 4 RDA ordination plot for the relationship between environmental parameters and ANAMMOX bacteria abundance

厌氧氨氧化细菌丰度在本研究区域的分布具有空间异质性,其丰度随盐度值、总有机碳上升而升高,随溶解氧含量、亚硝酸盐浓度上升呈现下降趋势,其中 33、34 号站溶解氧浓度较高,厌氧氨氧化细菌的丰度也较高。

### 3 讨论

在低氧环境中,由厌氧氨氧化细菌驱动的厌氧氨氧化过程对维持氮素收支平衡具有重要意义。本研究通过 amx-16S rDNA 对长江口邻近海域表层沉积物中厌氧氨氧化细菌进行研究,结果表明在采样海域的表层沉积物中存在厌氧氨氧化细菌。16S rDNA 是研究微生物分类的常用基因,由于厌氧氨氧化细菌的丰度太低,很难通过 16S rDNA 通用引物研究厌氧氨氧化细菌,因此针对厌氧氨氧化细菌 16S rDNA 的研究就显得尤为必要。Schmid 等<sup>[27]</sup>整

合研究了一系列厌氧氨氧化细菌 16S rDNA 的特异性引物,发现通过引物 Amx368F/Amx820R 进行 PCR 实验所得序列均为厌氧氨氧化细菌 16S rDNA。2013 年,在长江口附近潮滩沉积物的研究中,通过 amx-16S rDNA 对厌氧氨氧化细菌进行了多样性、丰度等方面的实验与分析,结果表明厌氧氨氧化细菌在长江口附近的潮滩生态系统中广泛存在,且具有较高多样性<sup>[21]</sup>。

通过 amx-16S rDNA 定量本研究海域的厌氧氨氧化细菌数量结果与珠江口 ( $4.22 \times 10^5 \sim 2.55 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[28]</sup>、凯普菲尔河口 ( $1.3 \times 10^5 \sim 8.4 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[20]</sup>、长江口潮滩 ( $2.63 \times 10^6 \sim 1.56 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[21]</sup> 的实验结果相似。厌氧氨氧化细菌在细菌微生物总量中所占的比例很低[图 3(a)],本研究所得厌氧氨氧化细菌与总微生物生物量之比高于 Fu 等<sup>[28]</sup> 在珠江口 ( $0.02 \times 10^{-4}$ )、Dang 等<sup>[29]</sup> 在胶州湾 ( $0.047 \times 10^{-4} \sim 0.21 \times 10^{-4}$ ) 的研究。推测原因可能与厌氧氨氧化细菌生活、繁殖所需的厌氧环境及其自身生长周期有关。厌氧氨氧化细菌的生长繁殖对环境要求较为苛刻,其对氧气极度敏感,当  $\text{O}_2$  的质量分数达到 0.5% (约  $5.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 时,对其生长有抑制作用,且厌氧氨氧化细菌的生长周期较长,约 14 d<sup>[30]</sup>。本研究区域溶解氧浓度在  $1.11 \sim 4.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,溶解氧浓度较低,理论上不会对厌氧氨氧化细菌的生长产生抑制作用。厌氧氨氧化细菌在河口生态系统中广泛存在,其分布与丰度受人为活动和环境理化因子影响较为显著,包括盐度、温度、溶解氧、亚硝态氮以及硝态氮等<sup>[31-34]</sup>。本研究海域地处长江口区域,生态系统循环代谢机制复杂,厌氧氨氧化细菌的生长繁殖及其丰度与各种环境理化因子密切相关。环境因子通过影响厌氧氨氧化细菌的种群结构、多样性组成、地理分布等特征,使其丰度在不同区域存在差异。

有研究认为盐度是影响河口生态系统中厌氧氨氧化细菌群落结构的重要因子。不同属的厌氧氨氧化细菌对盐度的耐受性不同,盐度使厌氧氨氧化细菌形成区域差异分布,进而影响该区域厌氧氨氧化细菌的丰度。在本研究海域,厌氧氨氧化细菌的丰度与盐度并非显著相关,厌氧氨氧化细菌丰度的分布与之前在凯普菲尔河口<sup>[20]</sup>及长江口附近潮滩<sup>[21]</sup>沉积物中的研究结果相似,与 Hu 等<sup>[23]</sup>对东海椒江口的实验结果不同。在凯普菲尔河口<sup>[20]</sup>、长江口附近潮滩<sup>[21]</sup>沉积物中观察到厌氧氨氧化细菌的优势类群随盐度的升高从 *Candidatus Brocadia* 过渡为

*Candidatus Scalindua*, 这种分布模式说明了不同属的厌氧氨氧化细菌对盐度的响应、耐受能力不同. Dale 等<sup>[20]</sup>在凯普菲尔河口的研究表明, 盐度值不同, 厌氧氨氧化细菌的优势种不同. 在东海椒江口海域潮下带沉积物中, 厌氧氨氧化细菌以 *Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Scalindua* 的种类为主, 其丰度与盐度呈负相关. 推测原因可能为不同属的厌氧氨氧化细菌对盐度的耐受性不同. 对于河口小范围区域, 受淡水输入的影响, 总体盐度较低, 主要分布为 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia* 的种类<sup>[21]</sup>, 随着河海混合加强, 盐度上升不利于其种群生长, 因而表现为厌氧氨氧化细菌丰度随盐度上升呈现下降趋势; 而对于河口外的海湾、陆架等较大的研究区域, *Candidatus Scalindua* 是其主要种群<sup>[20]</sup>, 对高盐度有较强的耐受能力, 盐度较高更适合其生长繁殖, 丰度较高.

厌氧氨氧化细菌是一种专性厌氧菌<sup>[35]</sup>, 迄今为止科学家们对厌氧氨氧化细菌的研究几乎全部集中于低氧或者厌氧环境中. 本研究海域厌氧氨氧化细菌丰度与溶解氧的分布趋势[图 5(b)]与 Fu 等<sup>[28]</sup>在珠江口的研究结果相同, 珠江口的溶解氧浓度为  $0.22 \sim 7.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 表现为厌氧氨氧化细菌丰度随溶解氧含量上升呈现下降趋势. 在低氧、厌氧条件下, 反硝化细菌与厌氧氨氧化细菌存在对底物的协同关系, 反硝化细菌可将硝酸盐还原成亚硝酸盐, 为厌氧氨氧化细菌提供必要的反应底物. 同时两者也存在对底物和竞争关系, 反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌都以亚硝酸盐作为反应底物. 当  $\text{COD}/\text{NO}_2^- \text{-N}$  比值较低时, 以厌氧氨氧化方式去除氮的过程不会有显著的影响<sup>[36]</sup>; 当  $\text{COD}/\text{NO}_2^- \text{-N}$  比值较高时, 亚硝酸盐将会被反硝化菌所利用, 从而抑制厌氧氨氧化细菌<sup>[37]</sup>. 在缺氧、厌氧环境下, 厌氧氨氧化细菌有较高的环境竞争力, 从而导致其丰度随溶解氧变化而变化的趋势. 其中 33、34 号站溶解氧浓度较高, 厌氧氨氧化细菌的丰度也较高, 推测可能的原因是在 33、34 号站位于东海南部, 盐度较高、总有机碳含量较高为厌氧氨氧化细菌提供了良好的繁殖与生长条件. 2014 年, Daigger<sup>[38]</sup>在研究海洋中碳氧对氮素移除过程贡献时发现, 厌氧氨氧化过程需要少量氧气的参与,  $1 \text{ mg}$  铵态氮转化为氮气需要  $1.71 \text{ mg}$  氧气的参与. 而厌氧氨氧化细菌在溶解氧浓度稍高的环境中存在可能的原因是, 厌氧氨氧化细菌对略高的溶解氧浓度有一定的耐受作用, 或者在氧浓度稍高的环境中, 厌氧氨氧化细菌处于休眠状态, 当溶

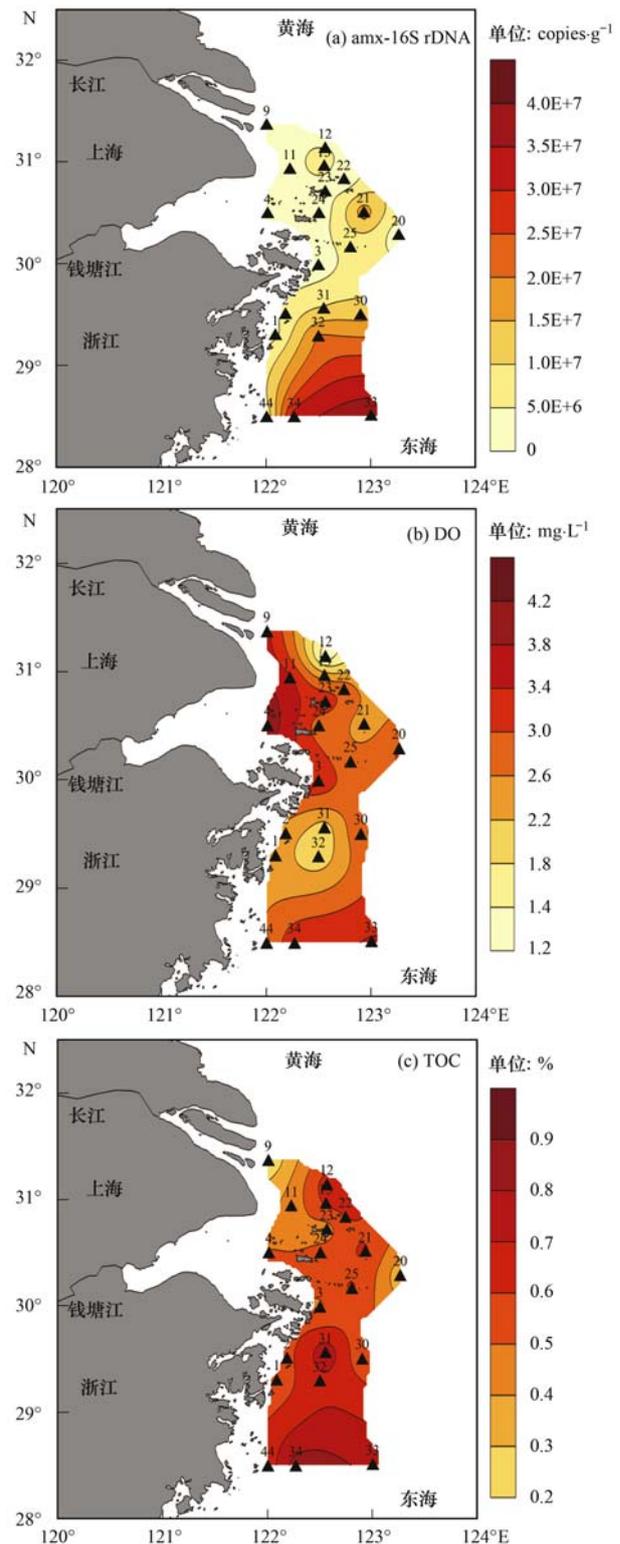


图 5 厌氧氨氧化细菌 amx-16S rDNA、溶解氧、总有机碳含量在长江口邻近海域分布趋势

Fig. 5 Horizontal distribution of sedimentary proportion of amx-16S rDNA of ANAMMOX Bacteria, DO, TOC in adjacent waters of Yangtze Estuary

解氧浓度降低重新恢复活性<sup>[12]</sup>. 本研究以沉积物样品的 DNA 为研究对象表征该海域沉积物中所含

有的厌氧氨氧化细菌的丰度, 所得结果并非都是处于活性状态的厌氧氨氧化细菌, 因此, 溶解氧对厌氧氨氧化细菌活性的影响还需要后续从 RNA、酶活性等方面进行深入研究。

相关性分析显示, 沉积物中厌氧氨氧化细菌的丰度与总有机碳含量具有显著正相关关系 ( $P < 0.01, r = 0.69$ ), 这与之前 Li 等<sup>[39]</sup>的研究结果类似。在长江口外、杭州湾外的邻近海域, 总有机碳总体含量虽然较低, 但在从河口向外延伸的过程中逐渐升高, 且南部海域总有机碳含量明显高于北部[图 5(c)]; 而厌氧氨氧化细菌的丰度分布与有机碳含量的变化趋势相符[图 5(a)], Hu 等<sup>[23]</sup>在椒江河口邻近海域、张东声等<sup>[24]</sup>在舟山群岛海域对厌氧氨氧化细菌的研究也有类似结果。有机质作为反应物参与氨化反应促进铵盐的形成<sup>[39]</sup>, 高的有机碳总量促进亚硝酸盐的积累<sup>[12]</sup>。亚硝酸盐在厌氧氨氧化细菌介导的厌氧氨氧化生物过程中作为电子受体, 其浓度的升高有利于促进厌氧条件下的氨氧化作用<sup>[40]</sup>, 有机碳的存在会促进 ANAMMOX 反应物的产生, 为厌氧氨氧化细菌提供反应物, 有利于厌氧氨氧化细菌生物量的增多, 高总有机碳含量为厌氧氨氧化细菌丰度的增加创造了有利条件。因此, 沉积物中有机碳总量是河口生态系统中影响厌氧氨氧化细菌丰度的重要环境因子<sup>[21]</sup>。

亚硝酸盐的浓度是厌氧氨氧化细菌丰度的控制型理化因子<sup>[21]</sup>, 厌氧氨氧化细菌的丰度与亚硝酸盐的积累量有关。亚硝酸盐作为参与厌氧氨氧化反应的底物影响环境中厌氧氨氧化细菌的生物量, 厌氧氨氧化细菌的丰度随亚硝酸盐浓度的升高而降低, Dang 等<sup>[29]</sup>在胶州湾海域中亚硝酸盐浓度对厌氧氨氧化细菌丰度影响的研究也有类似结果。本研究中硝酸盐的浓度与厌氧氨氧化细菌 amx-16S rDNA 的拷贝浓度的相关性较低, 说明硝酸盐并非是影响 ANAMMOX 过程的关键理化因子, 这与之前 Rich 等<sup>[32]</sup>的研究结果不同, 推测可能由于样品采集量较低或者采样环境中存在其他与 ANAMMOX 耦合或抑制的过程, 硝酸盐对厌氧氨氧化细菌丰度的影响需进一步结合反硝化过程综合研究。

#### 4 结论

本研究利用实时荧光定量 PCR 技术, 得到了东海近海代表区域表层沉积物中 amx-16S rDNA 的拷贝数, 初步了解厌氧氨氧化细菌在长江口邻近海域的空间分布情况; 同时通过厌氧氨氧化细菌 amx-

16S rDNA 与细菌 bac-16S rDNA 拷贝数的对比, 可知厌氧氨氧化细菌在总细菌生物量中所占比例偏低。把各站位的 amx-16S rDNA 的拷贝数作为表征厌氧氨氧化细菌生物量的指标, 结合环境理化因子分析可知, 盐度、总有机碳含量、亚硝酸盐等理化因素是影响厌氧氨氧化细菌丰度的重要因子。本研究为长江口邻近海域厌氧氨氧化细菌的研究提供了基础信息, 也为进一步研究与反硝化作用的耦合关系指明了方向。

致谢: 感谢中国海洋大学环境科学与工程学院的赵情、乔玲同学在软件使用中给予的帮助。

#### 参考文献:

- [1] Mulder A. Anoxic ammonia oxidation [P]: US: 5078884, 1992-01-07.
- [2] Van de Graaf A A, Mulder A, De Bruijn P, *et al.* Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**(4): 1246-1251.
- [3] Mulder A, Van de Graaf A A, Robertson L A, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, **16**(3): 177-183.
- [4] Trimmer M, Nicholls J C, Deflandre B. Anaerobic Ammonium Oxidation Measured in Sediments along the Thames Estuary, United Kingdom [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(11): 6447-6454.
- [5] Thamdrup B, Dalsgaard T. Production of  $N_2$  through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(3): 1312-1318.
- [6] Ward B B. Significance of anaerobic ammonium oxidation in the ocean [J]. *Trends in Microbiology*, 2003, **11**(9): 408-410.
- [7] Schubert C J, Durisch-Kaiser E, Wehrli B, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika) [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(10): 1857-1863.
- [8] Kuypers M M M, Sliemers A O, Lavik G, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation by Anammox bacteria in the Black Sea [J]. *Nature*, 2003, **422**(6932): 608-611.
- [9] Kuypers M M M, Lavik G, Woeckel D, *et al.* Massive nitrogen loss from the Benguela upwelling system through anaerobic ammonium oxidation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(18): 6478-6483.
- [10] Ward B B, Devol A H, Rich J J, *et al.* Denitrification as the dominant nitrogen loss process in the Arabian Sea [J]. *Nature*, 2009, **461**(7260): 78-81.
- [11] Babbitt A R, Keil R G, Devol A H, *et al.* Organic matter stoichiometry, flux, and oxygen control nitrogen loss in the ocean [J]. *Science*, 2014, **344**(6182): 406-408.
- [12] Kuypers M M M, Lavik G, Thamdrup B. Anaerobic ammonium oxidation in the marine environment [A]. In: Neretin L N (ed.). *Past and Present Water Column Anoxia* [M].

- Netherlands: Springer, 2006: 311-335.
- [13] Penton C R, Devol A H, Tiedje J M. Molecular evidence for the broad distribution of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater and marine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(10): 6829-6832.
- [14] Francis C A, Beman J M, Kuypers M M M. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation[J]. The ISME Journal, 2007, **1**(1): 19-27.
- [15] Sonthiphand P, Hall M W, Neufeld J D. Biogeography of anaerobic ammonia-oxidizing (anammox) bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, **5**: 399.
- [16] Rysgaard S, Glud R N. Anaerobic N<sub>2</sub> production in Arctic sea ice[J]. Limnology and Oceanography, 2004, **49**(1): 86-94.
- [17] Byrne N, Strous M, Crépeau V, et al. Presence and activity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria at deep-sea hydrothermal vents[J]. The ISME Journal, 2009, **3**(1): 117-123.
- [18] Amano T, Yoshinaga I, Okada K, et al. Detection of Anammox activity and diversity of Anammox bacteria-related 16S rRNA genes in coastal marine sediment in Japan[J]. Microbes and Environments, 2007, **22**(3): 232-242.
- [19] Hamersley M R, Lavik G, Woebken D, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone[J]. Limnology and Oceanography, 2007, **52**(3): 923-933.
- [20] Dale O R, Tobias C R, Song B. Biogeographical distribution of diverse anaerobic ammonium oxidizing (anammox) bacteria in Cape Fear River Estuary [J]. Environmental Microbiology, 2009, **11**(5): 1194-1207.
- [21] Hou L J, Zheng Y L, Liu M, et al. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary[J]. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2013, **118**(3): 1237-1246.
- [22] Devol A H. Denitrification, Anammox, and N<sub>2</sub> production in marine sediments[J]. Annual Review of Marine Science, 2015, **7**(1): 403-423.
- [23] Hu B L, Shen L D, Du P, et al. The influence of intense chemical pollution on the community composition, diversity and abundance of Anammox bacteria in the Jiaojiang Estuary (China) [J]. PLoS One, 2012, **7**(3): e33826.
- [24] 张东声, 刘镇盛, 张海峰, 等. 舟山群岛海域沉积物厌氧氨氧化细菌多样性[J]. 生态学报, 2015, **35**(19): 6250-6258.
- Zhang D S, Liu Z S, Zhang H F, et al. Diversity of anaerobic ammonium oxidizing bacteria in marine sediments from the Zhoushan Islands[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, **35**(19): 6250-6258.
- [25] Dang H Y, Luan X W, Chen R P, et al. Diversity, abundance and distribution of *amoA*-encoding archaea in deep-sea methane seep sediments of the Okhotsk Sea [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, **72**(3): 370-385.
- [26] He H, Zhen Y, Mi T Z, et al. Seasonal and spatial distribution of ammonia-oxidizing microorganism communities in surface sediments from the East China Sea [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2015, **34**(8): 83-92.
- [27] Schmid M C, Maas B, Dapena A, et al. Biomarkers for in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(4): 1677-1684.
- [28] Fu B B, Liu J W, Yang H M, et al. Shift of anammox bacterial community structure along the Pearl Estuary and the impact of environmental factors [J]. Journal of Geophysical Research: Oceans, 2015, **120**(4): 2869-2883.
- [29] Dang H Y, Chen R P, Wang L, et al. Environmental factors shape sediment Anammox bacterial communities in hypernutrified Jiaozhou Bay, China [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, **76**(21): 7036-7047.
- [30] 王静, 郝建安, 张爱君, 等. 厌氧氨氧化反应研究进展[J]. 水处理技术, 2014, **40**(3): 1-4.
- Wang J, Hao J A, Zhang A J, et al. Research progress of anaerobic ammonium oxidation [J]. Technology of Water Treatment, 2014, **40**(3): 1-4.
- [31] Schmid M C, Risgaard-Petersen N, Van De Vossenberg J, et al. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine environments: widespread occurrence but low diversity [J]. Environmental Microbiology, 2007, **9**(6): 1476-1484.
- [32] Rich J J, Dale O R, Song B, et al. Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in Chesapeake Bay sediments [J]. Microbial Ecology, 2008, **55**(2): 311-320.
- [33] Jetten M S M, Strous M, Van De Pas-Schoonen K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1999, **22**(5): 421-437.
- [34] Meyer R L, Risgaard-Petersen N, Allen D E. Correlation between Anammox activity and microscale distribution of nitrite in a subtropical mangrove sediment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(10): 6142-6149.
- [35] Li M, Hong Y G, Cao H L, et al. Mangrove trees affect the community structure and distribution of Anammox bacteria at an anthropogenic-polluted mangrove in the Pearl River Delta reflected by 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase (HZO) encoding gene analyses [J]. Ecotoxicology, 2011, **20**(8): 1780-1790.
- [36] Güven D, Dapena A, Kartal B, et al. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(2): 1066-1071.
- [37] Furukawa K, Inatomi Y, Qiao S, et al. Innovative treatment system for digester liquor using Anammox process [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(22): 5437-5443.
- [38] Daigger G T. Oxygen and carbon requirements for biological nitrogen removal processes accomplishing nitrification, nitritation, and anammox [J]. Water Environment Research, 2014, **86**(3): 204-209.
- [39] Li M, Cao H L, Hong Y G, et al. Using the variation of Anammox bacteria community structures as a bio-indicator for anthropogenic/terrestrial nitrogen inputs in the Pearl River Delta (PRD)[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, **97**(22): 9875-9883.
- [40] Lam P, Lavik G, Jensen M M, et al. Revising the nitrogen cycle in the Peruvian oxygen minimum zone [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, **106**(12): 4752-4757.

## CONTENTS

Scavenging Effect of Rime and East Wind on PM <sub>2.5</sub> Under Air Heavy Pollution in Beijing .....	SUN Zhao-bin, LIAO Xiao-nong, WANG Zhan-shan, <i>et al.</i> (3679)
Impact of Collision Removal of Rainfall on Aerosol Particles of Different Sizes .....	DONG Qun, ZHAO Pu-sheng, CHEN Yi-na (3686)
Source Apportionment and Health Risk Assessment of VOCs During the Haze Period in the Winter in Beijing .....	LIU Dan, XIE Qiang, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (3693)
Pollution Characteristics and Emission Coefficient of Volatile Organic Compounds from Shoe-making Industry in Zhejiang Province .....	XU Zhi-rong, YAO Yi, CAI Wei-dan, <i>et al.</i> (3702)
Oxidative Capacity of the PM <sub>10</sub> and PM <sub>2.5</sub> in Beijing During 2014 APEC .....	GUO Qian, SHAO Long-yi, WANG Wen-hua, <i>et al.</i> (3708)
Concentration, Water-Soluble Ionic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Composition and Sources of PM <sub>2.5</sub> During Summer in Hongshan District, Wuhan .....	SUN Yan, QI Shi-hua, ZHANG Li, <i>et al.</i> (3714)
Statistical Characteristics of Urban Changzhou PM <sub>2.5</sub> Based on <i>k</i> -means Analysis .....	WANG Zhen, YU Yi-jun, XU Pu-qing, <i>et al.</i> (3723)
Comparison Test Between On-line Monitoring of Water-soluble Ions and Filter-based Manual Methods for PM <sub>2.5</sub> .....	YANG Dong-yan, LIU Bao-xian, SHI Ai-jun, <i>et al.</i> (3730)
Chemical Composition of Water-soluble Ions in Smoke Emitted from Tree Branch Combustion .....	LIU Gang, HUANG Ke, LI Jiu-hai, <i>et al.</i> (3737)
Number Concentration and Size Distribution of Particles Emitted by Light-duty Gasoline Vehicles .....	FAN Xiao-xiao, JIANG Jing-kun, ZHANG Qiang, <i>et al.</i> (3743)
Testbed-Based Exhaust Emission Factors for Marine Diesel Engines in China .....	XING Hui, DUAN Shu-lin, HUANG Lian-zhong, <i>et al.</i> (3750)
Distribution, Source and Human Exposure of Phthalic Acid Esters (PAEs) in Surface Dust in Urban Area of Xi'an City, China .....	ZHANG Wen-juan, WANG Li-jun, WANG Li, <i>et al.</i> (3758)
Mercury Emission Characteristics and Mercury Concentrations of Municipal Solid Waste in Waste Incineration Plants .....	DUAN Zhen-ya, SU Hai-tao, WANG Feng-yang, <i>et al.</i> (3766)
Role of Sulfate-Reducing Bacteria in Mercury Methylation in Soil of the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir Area .....	CHEN Rui, CHEN Hua, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (3774)
Impact of Urbanization on the Sources of Dissolved <i>n</i> -alkane in Underground River .....	LIAO Yu, SUN Yu-chuan, SHEN Li-cheng, <i>et al.</i> (3781)
Source Apportionment and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Water from Yangtze River, China; Based on PMF Model .....	WANG Cheng-long, ZOU Xin-qing, ZHAO Yi-fei, <i>et al.</i> (3789)
Hydro-chemical Characteristics and Quality Assessment of Surface Water in Gongga Mountain Region .....	HE Xiao-li, WU Yan-hong, ZHOU Jun, <i>et al.</i> (3798)
UV-Visible Spectra Properties of DOM from Taizi River in Benxi City Section by Multivariable Analysis .....	QIAN Feng, WU Jie-yun, YU Hui-bin, <i>et al.</i> (3806)
Vertical Distribution Characteristics of Dissolved Organic Matter in Groundwater and Its Cause .....	HE Xiao-song, ZHANG Hui, HUANG Cai-hong, <i>et al.</i> (3813)
Sediment Characteristics of Sewer in Different Functional Areas of Kunming .....	CHANG Hai-dong, JIN Peng-kang, FU Bo-wen, <i>et al.</i> (3821)
Concentration of Phosphorus in Sediments Interstitial Water as Affected by Distribution of Aquatic Plants in Dianchi Lake .....	DING Shuai, WANG Sheng-rui, ZHANG Rui, <i>et al.</i> (3828)
Efficiency and Mechanism of Capping with Purple Parent Rocks to Control Phosphorus Release from Sediments .....	HUANG Xue-jiao, SHI Wen-hao, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (3835)
Temporal and Spatial Distribution of Phosphorus in Paddy Fields Under Cyclic Irrigation of Drainage Water .....	JIAO Ping-jin, XU Di, ZHU Jian-qiang, <i>et al.</i> (3842)
GO/QPEI Nanocomposite for Fast and High-capacity Removal of <i>M. Aeruginosa</i> .....	LI Jie, XIAO Lin (3850)
Enhanced Pollutant Removal Performance of an Integrated Biological Settling Tank from Micro-polluted Water Bodies .....	WANG Wen-dong, LIU Hui, MA Cui, <i>et al.</i> (3858)
Odorants Removal and Microbial Characteristics in Treatment of Micro-polluted Source Water with Biological Powdered Activated Carbon-Ultrafiltration Combined Process .....	XUAN Yong-qi, ZHOU Li, DENG Hui-ping, <i>et al.</i> (3864)
Effect of Polysilicic Acid on the Deposition Behavior of Different Aluminum Species .....	ZHAO Yuan-yuan, ZHANG Yue, LI Su-ying, <i>et al.</i> (3870)
Concentration Variation and Removal of Amino Acids in Typical Drinking Sources in the South of China .....	LIU Wei, CAI Guang-qiang, LU Xiao-yan, <i>et al.</i> (3877)
Degradation of the Nitrogenous Heterocyclic Compound Quinoline by O <sub>3</sub> /UV .....	CHEN Ao-lei, CHANG Feng-min, WANG Cui-ping, <i>et al.</i> (3884)
Impact of Anthraquinone-2-sulfonic Acid on the MO Decolorization, Hydrogen Production and Energy Creation During Anaerobic Fermentation of <i>Klebsiella oxytoca</i> GS-4-08 with Sucrose .....	HU Jin-mei, YU Lei, HUANG Tian-yin (3891)
Classification and Analysis of Dissolved Organic Matter in 2-Buternal Manufacture Wastewater .....	SUN Xiu-mei, SONG Guang-qing, XI Hong-bo, <i>et al.</i> (3899)
Concentration of Nitrate in Main Anoxic Stage and PHA, TP Metabolism for Nitrogen and Phosphorus Removal in Single Sludge System with Continuous Flow .....	WANG Xiao-ling, YUAN Dong-dan, BAI Li, <i>et al.</i> (3906)
Distribution Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Bacteria in Sediments from the Adjacent Seas of Yangtze Estuary .....	FU Lu-lu, ZHEN Yu, HE Hui, <i>et al.</i> (3914)
Bacterial Community Composition of Activated Sludge from Coking Wastewater .....	MENG Xiao-jun, LI Hai-bo, CAO Hong-bin, <i>et al.</i> (3923)
Soil Bacterial Communities Under Different Vegetation Types in the Loess Plateau .....	LIU Yang, HUANG Yi-mei, ZENG Quan-chao (3931)
Effects of Phenol on Activity and Microfauna Community Structure of Activated Sludge .....	HU Xiao-bing, RAO Qiang, TANG Su-lan, <i>et al.</i> (3939)
Comparative Investigation of Antibiotic Resistance Genes Between Wastewater and Landfill Leachate .....	HUANG Fu-yi, LI Hu, AN Xin-li, <i>et al.</i> (3949)
Performance and Influencing Factors of Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium Process by the Strain <i>Desulfonitrospira</i> sp. CMX .....	XIE Bing-ke, ZHANG Yu, WANG Xiao-wei, <i>et al.</i> (3955)
Effect of Straw Incorporation and Domestic Sewage Irrigation on Ammonia Volatilization from Paddy Fields .....	XU Shan-shan, HOU Peng-fu, FAN Li-hui, <i>et al.</i> (3963)
Seasonal Effect of Simulated Nitrogen Deposition on Soil Respiration and Soil Enzyme Activity in Masson Pine Forest in Mt. Jinyun, Chongqing, China .....	ZENG Qing-ping, HE Bing-hui, LI Yuan, <i>et al.</i> (3971)
Effects of Biochar Amendment and Irrigation on Denitrification Losses in Greenhouse Tomato Fields .....	ZHANG Wen-juan, SHE Dong-li, Gamareldawla H. D. Agbna, <i>et al.</i> (3979)
Effects of Soil Texture on Autotrophic CO <sub>2</sub> Fixation Bacterial Communities and Their CO <sub>2</sub> Assimilation Contents .....	WANG Qun-yan, WU Xiao-hong, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3987)
Simulation of the Absorption, Migration and Accumulation Process of Heavy Metal Elements in Soil-crop System .....	SHI Ya-xing, WU Shao-hua, ZHOU Sheng-lu, <i>et al.</i> (3996)
Synergetic Control of Bioavailability of Pb, Cd and As in the Rice Paddy System by Combined Amendments .....	WANG Ying-jie, ZOU Jia-ling, YANG Wen-tao, <i>et al.</i> (4004)
Effects of Different Organic Materials on Bio-availability of Cd, Pb in a Contaminated Greenhouse Soil .....	ZHOU Gui-yu, JIANG Hui-min, YANG Jun-cheng, <i>et al.</i> (4011)
Effect of Montmorillonite on Fractions and Availability of Phosphorus in Soils Applied with Organic Fertilizer .....	SONG Xian-wei, ZHAO Xiu-lan, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (4020)
Effect of Nano Zeolite on Chemical Fractions of Cd in Soil and Uptake by Chinese Cabbage at Different Soil pH and Cadmium Levels .....	QIN Yu-li, XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (4030)
Characterization of Cr Tolerance and Accumulation in <i>Lolium perenne</i> L. and <i>Pharbitis purpurea</i> (L.) Voigt .....	DONG Bing-bing, CHEN Yu-yuan, HUI Hong-xia, <i>et al.</i> (4044)
<i>In vitro</i> Metabolism of Volatile Methyl Siloxanes .....	LI Min-dan, ZHENG Guo-mao, WAN Yi, <i>et al.</i> (4054)
Efficiency of Aerobic Co-composting of Urban Sludge and Chinese Medicinal Herbal Residues .....	SU Cheng-yuan, ZHENG Peng, RUAN Qi-hua, <i>et al.</i> (4062)

# 《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军  
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明  
赵进才 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞  
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2016年10月15日 第37卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 10 Oct. 15, 2016

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301  
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行