

氨氧化古菌及其对氮循环贡献的研究进展

刘正辉^{1,2} 李德豪^{1,2*}

(1. 广东石油化工学院 环境与生物工程学院 广东 茂名 525000)

(2. 广东高校石油化工污染控制与清洁生产工程技术开发中心 广东 茂名 525000)

摘要: 硝化作用先将氨氮氧化为亚硝酸盐氮并进一步氧化为硝酸盐氮,这一过程是氮进行全球生物化学循环的重要环节。随着氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)基因组序列中氨单加氧酶编码基因(*amoA*)的发现以及 AOA 在实验室条件下的成功培养(包括分离纯化和富集培养),基于分子生物学的研究表明 AOA 在各种环境广泛存在,且多数生境中它的数量远远超过氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)。AOA 相对于 AOB 在氮循环中的贡献也引起了多方面的论证和争论。本文就氨氧化古菌的生态分布、系统进化、生境存在丰度及参与硝化作用等进行综述,指出不同生境 AOA 的活性及其对氮循环的重要性仍需做进一步的研究。

关键词: 氨氧化古菌, 硝化作用, 氮循环, 氨单加氧酶基因, 数量丰度, 贡献

Ammonia-oxidizing archaea and their contribution to global nitrogen cycling: a review

LIU Zheng-Hui^{1,2} LI De-Hao^{1,2*}

(1. School of Environment & Bioengineering, Guangdong University of Petrochemical Technology, Maoming, Guangdong 525000, China)

(2. Technology Development Center for Petrochemical Pollution Control and Cleaner Production of Guangdong Universities, Maoming, Guangdong 525000, China)

Abstract: Nitrification (oxidation of ammonia to nitrate via nitrite) plays a crucial role in the global nitrogen cycling. Along with the discovery of ammonia monooxygenase coding gene (*amoA*) sequences in archaea and the successful cultivation (isolation and enrichment) of ammonia-oxidizing archaea (AOA), it has been found that AOA was more abundant than AOB in most environments. And the contribution of AOA vs AOB to the nitrogen cycling is still under debate. In this mini-review, the ecological distribution, evolution, abundance and potential function involved the microbial nitrification were summarized based on the current knowledge. Furthermore, the perspective insights were discussed for the future research.

Keywords: Ammonia-oxidizing archaea, Nitrification, Nitrogen cycling, *amoA*, Abundance, Contribution

基金项目: 广东省自然科学基金项目(No. S2013040015162); 广东省中国科学院全面战略合作项目(No. 2012B090400003)

*通讯作者: Tel: 86-668-2923218; ✉: dehlee@163.com

收稿日期: 2014-07-29; 接受日期: 2014-09-10; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-09-16

氮是生命体核酸与蛋白质必不可少的组成元素。氮素的生物地球化学循环(氮循环)对生命的存在和持续有关键作用,本质上是微生物驱动的氮素转化、利用及循环的过程,包括氮的固定、硝化作用、反硝化作用和氨化作用。其中硝化作用,即将氨氧化为亚硝态氮、进而氧化为硝态氮的过程,是氮循环的核心环节。氨氧化被认为是硝化作用的第一个限速步骤,主要是由变形菌纲中的 β -变形杆菌亚门或 γ -变形杆菌亚门^[1-2]所进行的专性能自养过程,本质上由氨单加氧酶(AMO)催化完成的微生物生化反应。

近年来,随着分子生物学技术的快速发展,科学家们通过对海洋、土壤等环境的研究发现,一类古菌(即氨氧化古菌, Ammonia-oxidizing archaea, AOA)也具有编码 AMO 的基因^[3-4],且广泛分布于包括海洋、湖泊和土壤等在内的多种环境中^[5],意味着这类古菌可能也有进行氨氧化的能力,参与环境氮循环的硝化作用环节。氨氧化古菌已经成为地理学、生物学、生态学和环境科学等交叉领域的研究热点^[6-7]。本文对氨氧化细菌和氨氧化古菌的生态分布、系统进化、存在丰度及表达活性,以及对氮循环的贡献进行综述,着重于自氨氧化古菌的发现以来近十年的研究进展。

1 氨氧化古菌的发现及检测方法

19世纪末,科学家发现硝化反应由微生物参与完成^[8],也通过分离培养的方法获得了自养型的原核微生物。长期以来,所有可培养的好氧自养型氨氧化菌都是 β -变形杆菌亚门或 γ -变形杆菌亚门^[1-2],以致人们认为所有的自养型氨氧化菌都是细菌。2004年,Venter等用鸟枪法对马尾藻海(Sargasso Sea)的微生物宏基因组进行测序和分析后发现,奇古菌中存在氨单加氧酶的编码基因 *amoA* 序列^[3];2005年,Treusch等对土壤奇古菌基因组分析时,在一个43 kb的宏基因组片段中也发现了奇古菌的氨单加氧酶编码基因 *amoA*^[4]。Könneke等在热带海洋水族馆鱼缸里成功分离到一株奇古菌 *Nitrosopumilus*

maritimus SCM1,该菌株可以以氨作为唯一能源进行自养生长^[9],人类第一次获得了可培养的、具有氨氧化能力的古菌菌株。Francis设计了特异性的引物、应用PCR扩增检测的方法,发现AOA广泛存在于海洋的透光层、低氧区水柱、海岸/入海口底部和海底沉积物等区域,提示在非极端环境的海洋中AOA可能在氮的循环中起着重要的作用。此后,古菌的氨氧化功能引起了全世界氮循环研究者的高度关注与讨论,且氨氧化古菌已经成为微生物生态学研究的一个模式微生物之一。

氨氧化古菌的检测方法主要分为两大类:一类是依赖于培养的技术,如平板分离培养、富集培养等。目前通过这些技术,已经分离到了氨氧化细菌和氨氧化古菌。然而绝大多数的环境微生物在实验室条件下是不可培养的^[10],且氨氧化细菌生长缓慢,通过这种方法分离纯化相当困难,并不能获得全部的氨氧化菌株。相比而言,氨氧化细菌的研究开展由来已久,目前获得的菌株要比氨氧化古菌的要多。在氨氧化古菌的培养方面,目前分离到的纯菌株有 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1^[9]和 *Nitrosocaldus yellowstonii*^[11];富集到的培养物有 *Candidatus Nitrososphaera gargensis*^[12]、培养物 SJ^[13]、*Candidatus Nitrosoarchaeum limnia* SFB1^[14]、*Candidatus Nitrosotalea devanaterre*^[15]、*Candidatus Nitrosoarchaeum limnia* BG20^[16]、*Candidatus Nitrosopumilus salaria* BD31^[17]、*Candidatus Nitrosopumilus koreensis* AR1和 *Nitrosopumilus sediminis* AR2^[18]。

另一类是不依赖于培养的分子微生物技术。其中基于非多聚酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)的方法有荧光原位杂交(Fluorescence *in situ* hybridization, FISH)^[19]、甘油二烷基甘油四醚脂技术(GDGT)、稳定性同位素技术(Stable isotope probing, SIP)等;而基于PCR的方法有基因克隆建库、反转录PCR(Reverse transcription PCR, RT-PCR)、定量PCR(Quantitative PCR)等。

目前,关于氨氧化细菌和古菌的生态学研究多

数都通过这些基于 PCR 的分子生物学方法来开展, 所采用的引物是 16S rRNA 基因或功能基因 *amoA* 基因的两侧序列。通过对环境样品的氨单加氧酶编码基因进行 PCR 检测时, AOA 相对于 AOB 容易检测到, 而 AOB 的 *amoA* 基因可能没有检测信号。例如, Briones 等在水稻根际^[20]、Beman 等在珊瑚^[21]、Siboni 等在珊瑚礁^[22]、Zhang 等在氨氧化菌富集培养物中^[23]和 Park 等在表面水层样品中^[24]均可扩增到古菌 *amoA* 基因, 但并未扩增到细菌 *amoA* 基因。不过也有检测到 AOB 而检测不到 AOA 的例子, 如 Park 等在废水处理厂反应器中^[25]以及 van der Wielen 等在饮用水系统的部分样品^[26]里未能成功扩增到古菌的 *amoA* 基因。扩增不成功的原因可能由于它不存在于某些样品中, 或存在的数量低于 PCR 检测的最低限度, 或者目前的引物并不适于扩增这些环境中的氨氧化酶编码基因。

最近, 稳定性同位素原位示踪微生物核酸 DNA/RNA 技术也应用于氨氧化古菌的研究, 如 Wuchter 等使用 ¹³C 稳定性同位素培养北海水样品发现泉古菌的特异脂类同化了 ¹³C, 揭示了海洋泉古菌营自营养型生活^[27]; Jia 等采用 ¹³CO₂ 培养土壤样品时发现氨氧化细菌的 *amoA* 基因被标记了, 而古菌的没有被标记, 此结果表明氨氧化古菌可能没有参与土壤硝化过程, 或者参与程度非常少以致未能被检测出来^[28]。

此外, 通过放射自显影杂交技术发现海洋泉古菌可以利用有机物如氨基酸进行异养生长^[29-30]。二次离子质谱分析技术(Nanometer-scale secondary ion mass spectrometry)可以直接观测微生物细胞对营养元素利用过程^[31], 极有可能应用于研究原位氨氧化古菌的代谢途径^[32]。

2 氨氧化古菌的生境分布及系统发育

氨氧化细菌广泛存在于陆地生态系统、水生生态系统(海洋和淡水)、工程生态系统如生物反应器等。相应地, 氨氧化古菌在全球具有很广的生态位, 在陆地环境中的分布非常广泛, 在农业土壤^[33]、温

带森林土壤^[34]、半干旱森林土壤^[35]、稻田土壤^[36]、牧草土壤、淡水植物 *Littorella uniflora* 根系土壤^[37]以及高原永久冻结带^[38]等陆地生态系统中都检测到 AOA。在水生生态系统中的各个区域都有 AOA 的分布, 包括海洋透光层^[39-41]和深海缺氧层^[42-45]、深海沉积物^[24,43]、珊瑚和暗礁^[21]、江河口^[46-47]、地下河入海口^[48]、淡水及沉积物^[47,49-50], 以及南北两极的海水^[51]。在工程系统中也发现有 AOA 的存在, 如 Park 等工程系统废水生物反应器^[25]、Zhang 等在污水处理厂的活性污泥里^[52]、Wells 等在活性污泥生物反应器 15%的样品中^[53]、Gao 等在污水处理厂中都检测到 AOA^[54-55]。

在系统发育与进化方面, 通过 16S rRNA 基因的系统发育, Brochier-Armanet 等将中温泉古菌(主要包括 AOA)从泉古菌中独立开来作为一个新的门 Thaumarchaeota^[56], 国内张丽梅等建议意译称为奇古菌^[57]。现在古菌主要有 3 个门, 分别是: 广古菌门 Euryarchaeota、泉古菌门 Crenarchaeota 和奇古菌门 Thaumarchaeota。进一步的研究揭示了 AOA 主要有两个聚类: 奇古菌 Group I.1a 分支和奇古菌 Group I.1b 分支^[58]。其中, 奇古菌 Group I.1a 分支包括了海洋、大多数水体以及沉积物来源的 AOA; 奇古菌 Group I.1b 分支涵盖了土壤及其他陆地生态系统来源的 AOA(图 1)^[59]。而 Weidler 等通过 *amoA* 基因的系统发育表明, 来源于热泉的 AOA 独立成一个分支, 不同于来源海洋和土壤的 AOA 分支^[60]。Cao 等收集了来源于全球海洋、海洋底泥、淡水、土壤等生境的 6 200 条古菌 *amoA* 基因的序列进行系统发育分析, 发现来源于海洋的分支明显与其他来源的区分开来^[61]。

3 氨氧化微生物的数量丰度

基于微生物分子生态学的研究发现, 地球环境中存在大量泉古菌(Crenarchaeota)^[62], 在海洋中约占微型浮游生物数量的 20%, 在土壤中约占原核生物量的 5%^[63]。自然环境条件下每个 AOA 细胞持有一个拷贝 *amoA* 基因^[40], 而每个 AOB 持有约 2 个

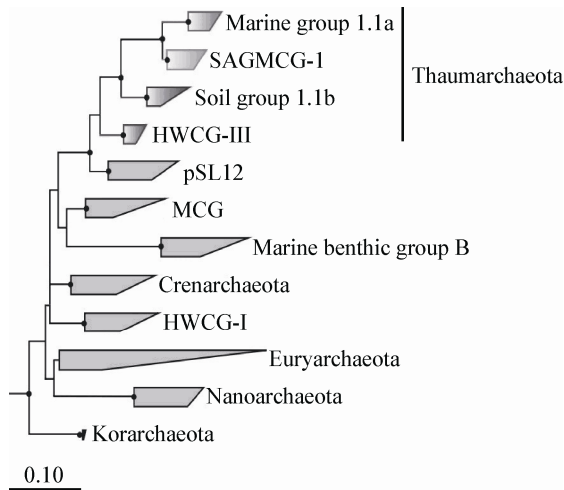


图1 基于奇古菌 16S rRNA 基因的系统发育^[59]

Figure 1 Phylogeny of Thaumarchaeota based on archaeal 16S rRNA gene sequences^[59]

注: 系统发育树上所有节点中黑点表示 Bootstrap values 大于 80%, 标尺表示每个核苷酸位点的替换率为 0.10. SAGMCG-1: 南非金矿泉古菌类群 I; pSL12: 热泉古菌; HWCG-I: 热泉古菌类群 I; HWCG-III: 热泉古菌类群 III; MCG: Miscellaneous crenarchaeotic group; Thaumarchaeota: 奇古菌门; Crenarchaeota: 泉古菌门; Euryarchaeota: 广古菌门; Korarchaeota: 初古菌门; Nanoarchaeota: 微古菌门.

Note: Nodes on phylogenetic tree supported by bootstrap values greater than 80% are indicated with black dot; The scale bar represents 0.10 changes per sequence position. SAGMCG-1: South African gold mine crenarchaeotic group I; pSL12: Hot spring crenarchaea; HWCG-I: Hot water crenarchaeotic group I; HWCG-III: Hot water crenarchaeotic group III; MCG: Miscellaneous crenarchaeotic group.

拷贝 *amoA* 基因^[64], 通过关键功能基因 *amoA* 的定量 PCR 分析可以推测特定生态环境中氨氧化微生物的分布丰度信息。

在水生生态系统中古菌 *amoA* 的基因数量比细菌的要高。Wuchter 等在北海及北大西洋的研究显示古菌 *amoA* 的拷贝数量是细菌的 10–1 000 倍^[39]; Mincer 等在 Monterey 海湾和北太平洋发现古菌 *amoA* 的拷贝数量是细菌的几个数量级^[40]; Caffrey 等发现在多数河口地方古菌 *amoA* 拷贝数要比细菌的高约 80 倍^[47]; 研究者也发现在淡水河湖等生境中 AOA 数量远高于 AOB^[49,65-66]。但也存在情形相反的例子, 如 Caffrey 等在 Weeks 海湾河口^[47]、Santoro 等在地下河入海口^[48]、Jiang 等在中国青海

湖的湖底沉积物中^[67]、Mosier 等在圣弗兰西克海湾^[68]发现细菌 *amoA* 拷贝数要略高于古菌的相应拷贝数。总体而言, 在水生生态系统中 AOA 具有类群数量优势。

土壤环境中 AOA 与 AOB 的比例也相当高, 总体高出 2–3 个数量级。Leininger 等对 12 个来源不同的土壤的研究发现, 古菌 *amoA* 基因的拷贝数与细菌 *amoA* 的比例高达 3 000 倍^[33]; Herrmann 等对淡水植物 *Littorella uniflora* 根系土壤的研究发现古菌与细菌的 *amoA* 拷贝数比例在 500–8 000 倍之间^[37]; Isobe 等在中国华南 3 个森林土壤样品中只检测到 AOA 而没有 AOB^[69]; Alves 等在北极土壤中 11 个样品中 5 个样品只能检测氨氧化古菌, 另外 4 个样品中古菌 *amoA* 基因数比细菌的高^[70]; de Gannes 等在热带土壤中检测和定量了 AOB 相对于 AOA 显得很低, 或者未能检测出 AOB^[71]。但是也有研究表明 AOB 的存在丰度高于 AOA 的例子, 如 Zhang 等在珠穆朗玛峰永久冻结带土壤中发现细菌的 *amoA* 拷贝数是古菌的 1–2 个数量级^[38]。

4 氨氧化古菌对氮循环的贡献(生态学意义)

4.1 菌株培养及功能验证

古菌具有氨氧化功能的直接证据也来源于实验室条件下环境微生物的成功培养。2005 年, Könneke 等从海洋水族馆中分离到一株中温泉古菌 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1, 属于化能自养型, 可以以 NH_4^+ 作为唯一能源, 通过将 NH_4^+ 氧化成为 NO_2^- 而获得生长^[9]; 这是人类在实验室条件下第一次获得了氨氧化古菌纯培养菌株, 该发现在“Nature”杂志上进行了报道。2008 年 de la Torre 在美国黄石国家森林公园的热泉中(74 °C)富集到的喜温泉古菌 *Nitrosocaldus yellowstoni*^[11], 也是通过氨氧化作用获取能源的自养菌, 证实了生长温度高至 74 °C 的条件下依然存在微生物的硝化作用。此外, Hatzenpichler 等对 Siberian Garga 热泉进行了长达 6 年的富集培养工作, 终于获得了氨氧化古菌 Group I.1b 类群中的 *Candidatus Nitrososphaera*

gargensis 培养物^[12]; Park 等在东海北极海洋沉积物里富集了 Group I.1a 的培养物^[13]。后来研究者在其他地方也成功富集了氨氧化古菌。至今为止, 尚未有从淡水水体生态系统中分离到氨氧化古菌的报道。

Martens-Habbena 等研究了泉古菌 *Nitrosopumilus maritimus* SCM1 的氨氧化动力学, 发现 AOA 的半饱和速率常数 K_m 与海洋原位氨氧化作用的 K_m 非常接近^[72], 且 AOA 对底物铵态氮的亲合力相当高, 进行氨氧化作用的最低铵态氮浓度比 AOB 最低生长浓度还要低 100 倍以上^[73]。因此 AOA 在与其他微生物竞争底物铵态氮时占有绝对的优势, 不难理解在氨氮浓度极低的贫营养水体中 AOA 丰度远高于 AOB。最近, Könneke 等^[74]发现可以通过羟基丙酸/羟基丁酸循环更高效地利用能源进行 CO_2 的固定, 将无机碳转化为有机碳营自养生活, 从而从生物化学的角度解释了 AOA 能够在寡营养条件下生存和繁荣的机制。

4.2 功能基因数量与氨氧化作用的耦合相关性

氨氧化微生物的功能基因 *amoA* 拷贝数的定量, 揭示了这些微生物可能在氨氧化过程中发挥着作用, 参与氮的生物地球化学循环^[33,39-40]。从线性耦合相关性来看, 在一些低氨氮浓度水体和极端环境中古菌 *amoA* 基因拷贝数与氨氧化速率存在很好的相关性, 许多研究者推测 AOA 对硝化作用的贡献可能大于 AOB。例如在加利福尼亚海湾^[41]和荷兰西斯海尔德河口^[75]等水体中, 亚硝酸盐浓度和氨氧化速率均与泉古菌 *amoA* 基因数量呈显著正相关; 佛罗里达州 9 个不同河口底层水体和沉积物中, 硝化速率与泉古菌 *amoA* 基因数量也呈正相关, 但与 AOB 的 *amoA* 数量没有显著的相关性^[47]; Wuchter 等发现北海泉古菌 *amoA* 基因数量与海水中铵态氮浓度呈显著负相关^[39]。然而有些生境中也有不存在相关性的情形, 如 Bernhard 等^[76]在麻萨诸塞州(Massachusetts)东北部的 Plum Island Sound 河口/海湾发 AOA 与潜在的硝化速率不存在相关性; Di 等^[77]在铵态氮浓度较高的草原土壤中发现, 铵态氮浓度升高对 AOA 的 *amoA* 基因拷贝数影响不大,

而促使 AOB 的 *amoA* 基因拷贝数呈正相方向增加。因此, 古菌 *amoA* 基因的大量存在或相当高的丰度并不意味着该基因一定在环境中发挥作用, 我们对基因丰度数据的解读必须慎重对待^[78]。

4.3 表达活性

古菌和细菌的 *amoA* 基因可能只在特殊的环境下才可以表达, 且基因产物执行其在氨氧化过程中相应的生态功能, 因此对 *amoA* 基因的表达活性进行研究的意义相当突出。在不少水体和土壤生境中, AOA 的表达活性要高于 AOB 的表达活性, 如 Jiang 等^[67]在中国青海湖样品的反转录定量 PCR 结果表明在有氧的水体中 AOA 的表达丰度比 AOB 的略高一些, Church 等^[79]在太平洋中上层海域中发现绝大多数奇古菌的 *amoA* 基因都具有表达活性, 推测 AOA 是太平洋氮循环的积极贡献者。Lam 等^[42]利用反转录定量 PCR 比较了黑海泉古菌和 γ -AOB 的 *amoA* 基因表达差异, 通过统计分析发现泉古菌 *amoA* 的表达可以解释 74.5% 的 NO_2^- (氨氧化作用的产物) 变化。Treusch 等^[4]对土壤进行了反转录 PCR 检测到古菌 *amoA* 的 mRNA。Leininger 等^[33]对西欧和北欧的土壤进行反转录定量 PCR 分析表明古菌 *amoA* 的表达丰度高于细菌相应基因的表达。Chen 等^[36]发现在淹水稻田土壤中, AOA 的 *amoA* 基因数量以及转录水平均显著高于 AOB。Tourna 等^[80]研究发现土壤中 AOA 的 *amoA* 基因数量及其转录活性都高于 AOB 的相应部分。此外, Jung 等^[81]采用稳定性同位素技术证实了土壤硝化作用和反硝化过程中产生的 N_2O 部分来源于 AOA, 即 AOA 参与氮循环。但是也有相反的例子, 如在中国青海湖的湖底沉积物中 AOB 的表达丰度比 AOA 的稍高一点^[67]; 在高氮草原土壤中, 是 AOB 的而不是 AOA 的数量和活性随土壤铵态氮浓度的升高而增大, 与土壤硝化活性呈正相关关系^[77,82]。

有研究者为了确认氨氧化过程中是古菌还是细菌在起作用, 将硝化抑制剂如乙炔等也用于土壤氨氧化途径的阻断研究。Jia 等^[28]利用高浓度氨和乙炔抑制氨氧化途径进行实验时, 发现古菌 *amoA*

基因拷贝数虽然占优势,但在功能上氨氧化细菌是最主要的。Offre 等^[83]利用不同浓度的乙炔来抑制农业土壤微生物的氨氧化活性时, AOA 的生长受到抑制, 群落生长与硝化速率的相关性最好, 表明 AOA 而非 AOB 是氨氧化过程的参与者。Di 等^[77]发现土壤氨氧化古菌尽管在数量上与氨氧化细菌相当或占优势, 但其丰度和活性并不随氨态氮源增加而变化, 其对硝化抑制剂的反应也不敏感; 相反, 随氨态氮源增加, 氨氧化细菌数量增加 3-10 倍, 硝化活性增加 177 倍, 且对硝化抑制剂反应敏感。在土壤中 AOB 在高氨氮的生境中发挥作用, 而 AOA 则喜好低氨氮的土壤生境^[82]。Meyer 等^[84]发现土壤中的硝化作用是由氨氧化细菌而不是氨氧化古菌驱动的。

近年来 Liu 等^[49]对中国东江流域展开了氨氧化微生物的研究, 发现东江淡水水体也存在 AOA。东江 AOA 的丰度比 AOB 的要高 2-4 个数量级; 通过主成分分析(PCA)表明 AOA 的 *amoA* 基因的丰度与水体氨氮浓度存在一定的负相关性。AOA/AOB 的比率在氨氮浓度较低的水体环境中较高, 表明 AOA 比 AOB 更偏好氨氮浓度较低的生境。淡水 AOA 的发现是对揭开氨氧化古菌全球地理分布生境的补充和贡献, 同时也提示了 AOA 在东江水体氮循环中可能起着重要的作用。然而, 我们对 AOA 在淡水水体氮循环中的贡献是建立在分子生态学及环境水质分析的层面上的。在 AOA 和 AOB 的活性证明上尚未有更有力的证据, 如 *amoA* 基因转录水平的变化, 水样硝化速率和反硝化速率与 AOA 和 AOB 表达活性的关系如何等等。我们将进一步深入研究 AOA 在淡水水体氮循环中的贡献, 阐明 AOA 在淡水生态系统中的生态学意义。

5 展望

目前对于 AOA 在氮的生物地球化学循环中贡献的了解依然相当有限, 目前主要是通过分子生物学方法发现 AOA 中存在着与 AOB 参与硝化作用的关键酶氨单加氧酶编码基因 *amoA*, 而对于 AOA 氨

氧化的独特生物化学过程还知之甚少。虽然已经在海洋(海水及沉积物)和热泉中都分离或富集到了 AOA, 但如何保持纯培养物在分离和富集过程中的连续生长依然相当困难, 目前从陆地生态系统分离或富集培养获得的 AOA 还很少。在氨氧化的生态功能方面, 有学者提出观点认为奇古菌 *amoA* 基因的高丰度与氨氧化过程并不相关, 而可能与混合营养类型相关, 这种观点可以多大程度地解释现有的氨氧化微生物分布丰度差异还需深入探讨。由于古菌在细胞大小上要比细菌小得多, 且细胞结构和代谢生理也明显区别于细菌, 会不会致使古菌在细胞水平上的表达活性与细菌的相比也有着显著的差异, 这有待进一步的研究。今后多种研究方法如纯菌培养、分子生物学、宏基因组学以及生物地球化学等的结合, 对于阐明 AOA 在氮的生物地球化学循环中的贡献将会起着重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Head IM, Hiorns WD, Embley TM, et al. The phylogeny of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as determined by analysis of 16S ribosomal-RNA gene sequences[J]. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139(Pt6): 1147-1153
- [2] Kowalchuk GA, Stephen JR. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55: 485-529
- [3] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea[J]. *Science*, 2004, 304(5667): 66-74
- [4] Treusch AH, Leininger S, Kletzin A, et al. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(12): 1985-1995
- [5] Francis CA, Roberts KJ, Beman JM, et al. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(41): 14683-14688
- [6] Hu AY, Jiao NZ. Ammonia-oxidizing archaea—a hotspot of environmental microbial ecology[J]. *Progress in Natural Science*, 2009, 19(4): 370-379 (in Chinese)
胡安谊, 焦念志. 氨氧化古菌——环境微生物生态学研究的一个前沿热点[J]. *自然科学进展*, 2009, 19(4): 370-379
- [7] He JZ, Zhang LM. Advances in ammonia-oxidizing microorganisms and global nitrogen cycle[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 406-415 (in Chinese)
贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(1): 406-415
- [8] Winogradsky S. *Recherches Sur Les Organismes de la*

- Nitrification[M]. Java: Impr. Charaire, 1890, 110: 1013-1016
- [9] Könneke M, Bernhard AE, de la Torre JR, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. Nature, 2005, 437(7058): 543-546
- [10] Sharma R, Ranjan R, Kapardar RK, et al. "Unculturable" bacterial diversity: an untapped resource[J]. Current Science, 2005, 89(1): 72-77
- [11] de la Torre JR, Walker CB, Ingalls AE, et al. Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing crenarchaeol[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(3): 810-818
- [12] Hatzenpichler R, Lebecleva EV, Spieck E, et al. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(6): 2134-2139
- [13] Park BJ, Park SJ, Yoon DN, et al. Cultivation of autotrophic ammonia-oxidizing archaea from marine sediments in co-culture with sulfur-oxidizing bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(22): 7575-7587
- [14] Blainey PC, Mosier AC, Potanina A, et al. Genome of a low-salinity ammonia-oxidizing archaeon determined by single-cell and metagenomic analysis[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16626
- [15] Lehtovirta-Morley LE, Stoecker K, Vilcinskas A, et al. Cultivation of an obligate acidophilic ammonia oxidizer from a nitrifying acid soil[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(38): 15892-15897
- [16] Mosier AC, Allen EE, Kim M, et al. Genome sequence of "Candidatus *Nitrosoarchaeum limnia*" BG20, a low-salinity ammonia-oxidizing archaeon from the San Francisco Bay estuary[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(8): 2119-2120
- [17] Mosier AC, Allen EE, Kim M, et al. Genome sequence of "Candidatus *Nitrosopumilus salaria*" BD31, an ammonia-oxidizing archaeon from the San Francisco Bay estuary[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(8): 2121-2122
- [18] Park SJ, Ghai R, Martin-Cuadrado AB, et al. Genomes of two new ammonia-oxidizing archaea enriched from deep marine sediments[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96449
- [19] Jurgens G, Glockner FO, Amann R, et al. Identification of novel Archaea in bacterioplankton of a boreal forest lake by phylogenetic analysis and fluorescent *in situ* hybridization[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 34(1): 45-56
- [20] Briones AM, Okabe S, Umemiya Y, et al. Influence of different cultivars on populations of ammonia-oxidizing bacteria in the root environment of rice[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6): 3067-3075
- [21] Beman JM, Roberts KJ, Wegley L, et al. Distribution and diversity of archaeal ammonia monooxygenase genes associated with corals[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(17): 5642-5647
- [22] Siboni N, Ben-Dov E, Sivan A, et al. Global distribution and diversity of coral-associated Archaea and their possible role in the coral holobiont nitrogen cycle[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 2979-2990
- [23] Zhang Y, Ruan XH, den Camp HJMO, et al. Diversity and abundance of aerobic and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater sediments of the Xinyi River (China)[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(9): 2375-2382
- [24] Park SJ, Park BJ, Rhee SK. Comparative analysis of archaeal 16S rRNA and amoA genes to estimate the abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in marine sediments[J]. Extremophiles, 2008, 12(4): 605-615
- [25] Park HD, Wells GF, Bae H, et al. Occurrence of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment plant bioreactors[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(8): 5643-5647
- [26] van der Wielen P, Voost S, van der Kooij D. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea in groundwater treatment and drinking water distribution systems[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(14): 4687-4695
- [27] Wuchter C, Schouten G, Boschker HTS, et al. Bicarbonate uptake by marine *Crenarchaeota*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 219(2): 203-207
- [28] Jia Z, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(7): 1658-1671
- [29] Ouverney CC, Fuhrman JA. Marine planktonic Archaea take up amino acids[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 4829-4833
- [30] Agogue H, Brink M, Dinasquet J, et al. Major gradients in putatively nitrifying and non-nitrifying Archaea in the deep North Atlantic[J]. Nature, 2008, 456(7223): 788-791
- [31] Li T, Wu TD, Mazeas L, et al. Simultaneous analysis of microbial identity and function using NanoSIMS[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(3): 580-588
- [32] Jia ZJ, Weng JH, Lin XG, et al. Microbial ecology of archaeal ammonia oxidation—a review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(4): 431-437 (in Chinese)
贾仲君, 翁佳华, 林先贵, 等. 氢氧化古菌的生态学研究进展[J]. 微生物学报, 2010, 50(4): 431-437
- [33] Leininger S, Urich T, Schlotter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. Nature, 2006, 442(7104): 806-809
- [34] Onodera Y, Nakagawa T, Takahashi R, et al. Seasonal change in vertical distribution of ammonia-oxidizing archaea and bacteria and their nitrification in temperate forest soil[J]. Microbes and Environments, 2010, 25(1): 28-35
- [35] Adair KL, Schwartz E. Evidence that ammonia-oxidizing archaea are more abundant than ammonia-oxidizing bacteria in semiarid soils of northern Arizona, USA[J]. Microbial Ecology, 2008, 56(3): 420-426
- [36] Chen XP, Zhu YG, Xia Y, et al. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil?[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(8): 1978-1987
- [37] Herrmann M, Saunders AM, Schramm A. Archaea dominate the ammonia-oxidizing community in the rhizosphere of the freshwater macrophyte *Littorella uniflora*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(10): 3279-3283
- [38] Zhang LM, Wang M, Prosser JI, et al. Altitude ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils of Mount Everest[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 70(2): 208-217
- [39] Wuchter C, Abbas B, Coolen MJL, et al. Archaeal nitrification in the ocean[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(33): 12317-12322
- [40] Mincer TJ, Church MJ, Taylor LT, et al. Quantitative distribution of presumptive archaeal and bacterial nitrifiers in Monterey Bay

- and the North Pacific Subtropical Gyre[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(5): 1162-1175
- [41] Beman JM, Popp BN, Francis CA. Molecular and biogeochemical evidence for ammonia oxidation by marine *Crenarchaeota* in the Gulf of California[J]. *ISME Journal*, 2008, 2(4): 429-441
- [42] Lam P, Jensen MM, Lavik G, et al. Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(17): 7104-7109
- [43] Nakagawa T, Mori K, Kato C, et al. Distribution of cold-adapted ammonia-oxidizing microorganisms in the deep-ocean of the northeastern Japan Sea[J]. *Microbes and Environments*, 2007, 22(4): 365-372
- [44] Coolen MJL, Abbas B, van Bleijswijk J, et al. Putative ammonia-oxidizing *Crenarchaeota* in suboxic waters of the Black Sea: a basin-wide ecological study using 16S ribosomal and functional genes and membrane lipids[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(4): 1001-1016
- [45] Cao H, Hong Y, Li M, et al. Phylogenetic diversity and ecological pattern of ammonia-oxidizing archaea in the surface sediments of the Western Pacific[J]. *Microbial Ecology*, 2011, 62(4): 813-823
- [46] Beman JM, Francis CA. Diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of a hypenutriented subtropical estuary: Bahia del Tobarí, Mexico[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(12): 7767-7777
- [47] Caffrey JM, Bano N, Kalanetra K, et al. Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia[J]. *ISME Journal*, 2007, 1(7): 660-662
- [48] Santoro AE, Francis CA, de Sieyes NR, et al. Shifts in the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across physicochemical gradients in a subterranean estuary[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(4): 1068-1079
- [49] Liu Z, Huang S, Sun G, et al. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea in the Dongjiang River, China[J]. *Microbiological Research*, 2011, 166(5): 337-345
- [50] French E, Kozłowski JA, Mukherjee M, et al. Ecophysiological characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria from freshwater[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(16): 5773-5780
- [51] Kalanetra KM, Bano N, Hollibaugh JT. Ammonia-oxidizing archaea in the Arctic Ocean and Antarctic coastal waters[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(9): 2434-2445
- [52] Zhang T, Jin T, Yan Q, et al. Occurrence of ammonia-oxidizing archaea in activated sludges of a laboratory scale reactor and two wastewater treatment plants[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107(3): 970-977
- [53] Wells GF, Park HD, Yeung CH, et al. Ammonia-oxidizing communities in a highly aerated full-scale activated sludge bioreactor: betaproteobacterial dynamics and low relative abundance of *Crenarchaeota*[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(9): 2310-2328
- [54] Gao J, Luo X, Wu G, et al. Abundance and diversity based on *amoA* genes of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in ten wastewater treatment systems[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(7): 3339-3354
- [55] Gao JF, Luo X, Wu GX, et al. Quantitative analyses of the composition and abundance of ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria in eight full-scale biological wastewater treatment plants[J]. *Bioresour Technol*, 2013, 138: 285-296
- [56] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, et al. *Mesophilic crenarchaeota*: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(3): 245-252
- [57] Zhang LM, He JZ. A novel archaeal phylum: Thaumarchaeota—a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52(4): 411-421 (in Chinese)
张丽梅, 贺纪正. 一个新的古菌类群——奇古菌门 (Thaumarchaeota)[J]. *微生物学报*, 2012, 52(4): 411-421
- [58] Nicol GW, Schleper C. Ammonia-oxidising *Crenarchaeota*: important players in the nitrogen cycle?[J]. *Trends in Microbiology*, 2006, 14(5): 207-212
- [59] Stahl DA, de la Torre JR. Physiology and diversity of ammonia-oxidizing archaea[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66: 83-101
- [60] Weidler GW, Gerbl FW, Stan-Lotter H. *Crenarchaeota* and their role in the nitrogen cycle in a subsurface radioactive thermal spring in the Austrian central Alps[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(19): 5934-5942
- [61] Cao H, Auguet JC, Gu JD. Global ecological pattern of ammonia-oxidizing archaea[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e52853
- [62] Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton[J]. *Nature*, 1992, 356(6365): 148-149
- [63] Cavicchioli R, DeMaere MZ, Thomas T. Metagenomic studies reveal the critical and wide-ranging ecological importance of uncultivated archaea: the role of ammonia oxidizers[J]. *Bioessays*, 2007, 29(1): 11-14
- [64] Chain P, Lamerdin J, Larimer F, et al. Complete genome sequence of the ammonia-oxidizing bacterium and obligate chemolithoautotroph *Nitrosomonas europaea*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(9): 2759-2773
- [65] Auguet JC, Triado-Margarit X, Nomokonova N, et al. Vertical segregation and phylogenetic characterization of ammonia-oxidizing Archaea in a deep oligotrophic lake[J]. *ISME Journal*, 2012, 6(9): 1786-1797
- [66] Bollmann A, Bullerjahn GS, McKay RM. Abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in sediments of trophic end members of the Laurentian Great Lakes, Erie and Superior[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97068
- [67] Jiang HC, Dong HL, Yu BS, et al. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in Qinghai Lake, northwestern China[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2009, 26(3): 199-211
- [68] Mosier AC, Francis CA. Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 3002-3016
- [69] Isobe K, Koba K, Suwa Y, et al. High abundance of ammonia-oxidizing archaea in acidified subtropical forest soils in southern China after long-term N deposition[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 80(1): 193-203
- [70] Alves RJE, Wanek W, Zappe A, et al. Nitrification rates in Arctic

- soils are associated with functionally distinct populations of ammonia-oxidizing archaea[J]. ISME Journal, 2013, 7(8): 1620-1631
- [71] de Gannes V, Eudoxie G, Hickey WJ. Impacts of edaphic factors on communities of ammonia-oxidizing archaea, ammonia-oxidizing bacteria and nitrification in tropical soils[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89568
- [72] Martens-Habbena W, Berube PM, Urakawa H, et al. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria[J]. Nature, 2009, 461(7266): 976-979
- [73] Bollmann A, Bar-Gilissen MJ, Laanbroek HJ. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(10): 4751-4757
- [74] Könneke M, Schubert DM, Brown PC, et al. Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(22): 8239-8244
- [75] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in sediments of the Westerschelde estuary[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 64(2): 175-186
- [76] Bernhard AE, Landry ZC, Blevins A, et al. Abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria along an estuarine salinity gradient in relation to potential nitrification rates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(4): 1285-1289
- [77] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, et al. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils[J]. Nature Geoscience, 2009, 2(9): 621-624
- [78] Prosser JI, Nicol GW. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 2931-2941
- [79] Church MJ, Wai B, Karl DM, et al. Abundances of crenarchaeal amoA genes and transcripts in the Pacific Ocean[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(3): 679-688
- [80] Tourna M, Freitag TE, Nicol GW, et al. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(5): 1357-1364
- [81] Jung MY, Well R, Min D, et al. Isotopic signatures of N₂O produced by ammonia-oxidizing archaea from soils[J]. ISME Journal, 2014, 8(5): 1115-1125
- [82] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, et al. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 386-394
- [83] Offre P, Prosser JI, Nicol GW. Growth of ammonia-oxidizing archaea in soil microcosms is inhibited by acetylene[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 70(1): 99-108
- [84] Meyer A, Focks A, Radl V, et al. Influence of land use intensity on the diversity of ammonia oxidizing bacteria and archaea in soils from grassland ecosystems[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(1): 161-166

编辑部公告

《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名，造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱，这大大影响了本刊在国际上的传播，也不利于对我刊引用数据的统计。经本刊编委会讨论，以及主办单位批准，本刊英文刊名自2010年起变更为“Microbiology China”，缩写为“Microbiol. China”，请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。