

## 河流沉积物氮循环主要微生物的生态特征

鲍林林<sup>1</sup> 陈永娟<sup>1</sup> 王晓燕<sup>1,2\*</sup>

(1. 首都师范大学 资源环境与旅游学院 北京 100048)

(2. 首都师范大学 首都圈水环境研究中心 北京 100048)

**摘要:** 微生物驱动的氮循环过程是全球生物地球化学循环的重要组成部分, 由于人类活动的影响, 氮循环负荷加剧, 氮素的生态平衡和微生物的功能特征也相应地受到干扰。河流生态系统是陆地与海洋联系的纽带, 因人类活动过量活性氮的输入导致水体富营养化, 明显影响着河流的生态功能以及河口沿岸海洋生态系统的平衡。富含微生物的沉积物对氮素的转化和去除起着至关重要的作用。本文主要介绍河流沉积物氮循环主要功能微生物, 包括氨氧化细菌、氨氧化古菌、亚硝酸盐氧化菌、反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌的群落特征和生态功能, 总结氮相关营养盐、溶氧和季节变化等环境因子, 以及河道控制管理措施和污水处理厂扰动等条件下氮循环过程主要功能类群的生态特征和响应关系。指出还需深入全面地研究河流沉积物生态系统氮循环过程的驱动机制和微生物的贡献效率, 加强城市河流沉积物微生物功能作用的研究及河道生物修复技术的开发。

**关键词:** 沉积物, 功能微生物, 氮循环, 群落特征

## Ecological characteristics of nitrogen cycling microbes in river sediments

BAO Lin-Lin<sup>1</sup> CHEN Yong-Juan<sup>1</sup> WANG Xiao-Yan<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Resources, Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

(2. Research Center of Aquatic Environment in the Capital Region, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Nitrogen is one of the most important substances on global biogeochemical processes which are driven by microorganisms. Due to anthropogenic disturbance in recent years, the nitrogen flux has increased and therefore disturbed the balance of nitrogen cycle and the community characteristics of functional microbes. Excessive activated nitrogen discharged into water body has lead to eutrophication which impairs the ecological function of river and coastal zone adjacent to estuary. The nitrogen transformation and removal by microorganism plays a vital role in improving river ecosystem, which is connecting link between terrestrial and marine ecosystems. This review focuses on ecological functions and community patterns of ammonia-oxidizing prokaryotes, nitrite-oxidizing bacteria, denitrifying bacteria and anaerobic ammonia oxidation bacteria in river sediment. Characteristics of community

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41271495); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目(No. 20121108110006)

\*通讯作者: Tel: 86-10-68903968; 信箱: cnuwxy@sohu.com

收稿日期: 2014-08-27; 接受日期: 2014-11-02; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-11-04

response to different environmental factors (e.g. ammonia, nitrate, dissolved oxygen, salinity and seasonal change), river management practices and effluent from wastewater treatment plant are reviewed. Further approach to a better understanding on ecological function of nitrogen cycling microbes in river ecosystem are suggested, including contribution of microbes to nitrogen cycle in urban rivers and development of bioremediation technology.

**Keywords:** Sediment, Functional microbes, Nitrogen cycle, Community characteristic

沉积物是水环境中各种元素的最终归属——“汇”，水体中营养物质通过各种途径进入沉积物并最终被固定，由于天然水体物理化学生物条件的动态变化，固定下来的营养物质容易转化和释放，而使沉积物成为潜在的污染“源”(内源)。因其特殊的生境条件(上覆水的覆盖)，沉积物中含有丰富的微生物资源，对沉积物-水界面的物质循环起到了良好的推动作用，微生物的功能特征能够反映和改善环境的生态特征，从而有助于规模性环境问题发生的解释和预防<sup>[1]</sup>，反之，过量营养物质导致的富营养化、水华和赤潮等水质问题也会影响沉积物中微生物的群落特征和功能<sup>[2]</sup>。

氮是生物体结构组成和生化过程进行的重要物质基础，氮在生物地球化学循环中的迁移转化(即氮循环)，及其与相应功能微生物的相互作用决定了氮对生态环境的影响。随着厌氧氨氧化细菌(Anaerobic ammonia oxidation, Anammox)<sup>[3-4]</sup>和氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)<sup>[5]</sup>的相继发现和深入研究，人们对全球氮循环的认识不断深入。氮循环是受人类活动干扰后(氮的过量活化，使自然界原有的固氮、脱氮失去平衡)对人类生产生活影响作用最大(水体富营养化、温室气体排放等)的生物地球化学循环之一。氮循环功能微生物广泛存在于土壤、地表水和沉积物中，是调节环境固氮、脱氮平衡的关键，其对污染物质的迁移转化和生态平衡的协调具有重要意义<sup>[6]</sup>。

氮素污染是诱发河流水质问题的关键因子，过量氮素对河流生态系统的破坏直接关系到下游水体的生态平衡，沉积物对污染物质的源汇效应逐渐成为河流水体氮素污染防控的关键，而河流沉积物中氮循环微生物的功能作用对河流的氮素污染治

理和生态修复具有重要意义。沉积物中微生物的活性和氧化还原条件决定了过量氮素的有效转化和输出<sup>[7]</sup>，微生物对氮素的迁移转化和去除效率随着河道水文动态、经济自然环境条件的变化而各有差异。本文重点介绍了河流沉积物中氮循环主要功能微生物生态特征的研究进展，总结了国内外学者以分子生物技术为主要手段进行相关研究的主要成果，以全面了解河流沉积物氮循环微生物的生态特征及其与环境因子响应关系，并提出了今后研究和应用需关注的重点。

## 1 河流沉积物中主要氮循环微生物类群

河流沉积物氮循环主要包括硝化过程、反硝化过程和厌氧氨氧化过程(图 1)，整个系统在微生物的驱动下有效运转。人为活动日渐成为河流过量氮素输入的主要来源，沉积物中污染物质的源汇效应对微生物的氮循环具有积极作用。硝化过程的第一步氨氧化作用是氮循环的关键限速步骤，是全球氮循环的中心环节，主要的功能微生物为氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)<sup>[8-9]</sup>，亚硝酸盐氧化过程主要由亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-oxidizing bacteria, NOB)驱动，NOB 和氨氧化微生物的协同作用保证了硝化过程的有效进行。反硝化作用和厌氧氨氧化作用是重要的脱氮过程，决定了环境中过量活性氮释放，也关系到温室气体 N<sub>2</sub>O 的产生效率，分别由反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌所驱动<sup>[10]</sup>。微生物对氮素的转化和去除是河流生态系统平衡的关键，氮循环功能微生物的群落特征、功能作用及其与环境因子的响应关系对全球生态系统的物质循环具有重要作用。

### 1.1 AOA 和 AOB

氨氮在功能微生物的作用下，经氨单加氧酶(Ammonia monooxygenase, *amo*)的催化进一步转化

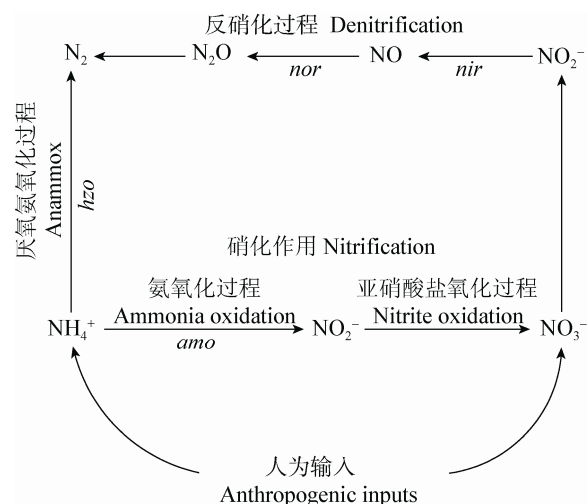


图1 河流沉积物氮循环主要过程及功能微生物

Figure 1 Nitrogen cycle driven by microorganisms in river sediment

为亚硝酸盐( $\text{NO}_2^-$ ),由此启动生物氮循环,因此,硝化过程的氨氧化作用是全球氮循环的关键限速步骤<sup>[11]</sup>。具有氨单加氧酶基因的变形菌纲的氨氧化细菌(Amonia-oxidizing bacteria, AOB)一直被认为是这一过程的主要功能微生物,直到海洋泉古菌中 *amo* 基因的发现<sup>[12]</sup>,以及第一株氨氧化古菌 *Nitrosopumilus maritimus* 的分离培养<sup>[5]</sup>,氨氧化古菌(AOA)在海洋、土壤等环境中的作用逐渐凸显,成为氨氧化过程的重要参与者。利用氨单加氧酶  $\alpha$  亚基基因(*amoA*)作为分子标记,进行环境中 AOB 和 AOA 多样性、丰度和群落结构等的研究,氨氧化过程的生物驱动机制也得到了进一步的认识。

AOA 的生态特征具有一定的环境来源性,基于 *amoA* 基因序列的系统发育分析研究表明,河流生态系统中的 AOA 明显不同于土壤和海洋环境的类群<sup>[7,13]</sup>。淡水及其沉积物中的 *amoA* 基因主要从属于 *Nitrosotalea* 和 *Nitrosoarchaeum* 类群,而海洋和土壤的类群则分别属于 *Nitrosopumilus* 和 *Nitrososphaera*<sup>[13]</sup>。同样广泛分布于各类环境的 AOB 则主要包括  $\beta$ -变形菌纲的 *Nitrosomonas* 和 *Nitrospira*,以及仅在海洋和盐湖中发现的  $\gamma$ -变形菌纲的 *Nitrosococcus*<sup>[7,14]</sup>。在大多数海洋和土壤等

环境中 AOA 的群落特征和功能作用居主导地位, AOA 的 *amoA* 基因丰度远高于 AOB<sup>[15]</sup>,且淡水中 AOA 比 AOB 更适于厌氧、低 pH 条件和低  $\text{NH}_4^+$  浓度的生境<sup>[16-17]</sup>。但是,在红树林沉积物<sup>[14]</sup>、河流沉积物<sup>[18]</sup>、岸边湿地<sup>[19]</sup>以及耕作土壤<sup>[20]</sup>等环境中 AOB 的群落丰度似乎更具优势。

河流生态系统复杂多变,受人类活动影响剧烈,在水体和沉积物两个主要的亚环境中, AOA 和 AOB 的群落特征也存在差异。研究表明,达到饮用水标准的东江,其水体中的 AOA 丰度是 AOB 的 2-4 倍,而其沉积物中 AOB 的丰度却高于 AOA,表明淡水环境中 AOA 比 AOB 更适合于低  $\text{NH}_4^+$  环境,沉积物较高的营养物质更有利于 AOB 生长<sup>[18]</sup>。王超等<sup>[21]</sup>对子牙河氨氧化微生物分布特征的研究发现,  $\text{NH}_4^+$  富集的表层沉积物中 AOB 的丰度是 AOA 的 8.51 倍,且 AOB 在硝化过程中作用更大。  $\text{NH}_4^+$  污染严重的北运河中,沉积物 AOB 的丰度也显著高于 AOA,细菌 *amoA* 基因拷贝数是古菌的 2-11 倍<sup>[22]</sup>。已有的研究常把 AOB 在河流沉积物中的群落特征,与亚硝酸盐氧化过程相结合,进行硝化活性和环境因子响应的研究<sup>[23-26]</sup>。随着淡水生态系统中古菌研究的逐渐深入, AOA 在河流沉积物中的分布特征和对硝化过程的贡献作用,及其与 AOB 的群落功能差异还有待进一步研究。

## 1.2 亚硝酸盐氧化菌

氨氧化作用和亚硝酸盐氧化作用共同构成了硝化过程,亚硝酸盐氧化作用是将氨氧化作用的产物  $\text{NO}_2^-$  进一步氧化为  $\text{NO}_3^-$  的过程,主要由亚硝酸盐氧化菌(Nitrite-oxidizing bacteria, NOB)所驱动。NOB 类群在海洋和陆地生态系统中具有明显分异,4 个主要类群中  $\gamma$  和  $\delta$  变形菌纲的 *Nitrococcus* 和 *Nitrospina* 主要来自海洋环境,而  $\alpha$  变形菌纲的 *Nitrobacter* 和独特门类的 *Nitrospira* 则主要来源于土壤和淡水,及污水处理厂等环境<sup>[24,27]</sup>。NOB 在河流沉积物中广泛分布,与氨氧化微生物相互作用,促进硝化进程和氮的有效转化。以 *Nitrobacter* 为优势

菌种的 NOB 的数量达到细菌总数的 80%以上时,  $\text{NO}_2^-$  转化率接近 100%<sup>[28]</sup>, NOB 群落丰度受制于氧亲和力和更高的 AOB 时, 硝化效率也明显受到抑制<sup>[26]</sup>, 而且其菌群在水层中的多样性高于沉积物<sup>[29]</sup>。以 16S rRNA 基因为分子标记的研究表明, 在一般性河流[营养物质较低, 如 Niida River (日本)<sup>[25]</sup>和小型低地流<sup>[23]</sup>]沉积物中, NOB 的群落丰度高于 AOB, 群落组成以 *Nitrospira* 类群为主, 对河流生态系统的硝化作用具有重要作用。随着 AOA 在各种环境中的广泛分布, AOA、AOB 和 NOB 在河流沉积物中的合作、竞争关系, 及其对硝化速率的影响值得深入探讨。

### 1.3 反硝化细菌

反硝化作用是反硝化细菌以  $\text{NO}_3^-$  为最终电子受体进行无氧呼吸, 将  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  转化为  $\text{N}_2\text{O}$  或  $\text{N}_2$  的还原过程, 主要由异养兼性厌氧的反硝化细菌在缺氧条件下完成<sup>[30]</sup>。反硝化过程是在硝酸盐还原酶(编码基因主要为 *narG* 和 *napA*)、亚硝酸盐还原酶(*nirS* 和 *nirK*)、NO 还原酶(*norB*)和  $\text{N}_2\text{O}$  还原酶(*nosZ*)四种酶的连续催化下进行的<sup>[31]</sup>, 其中亚硝酸盐还原酶是反应的关键酶, *nirS* 基因具有分子大小相似且形态结构相对保守的优点, 常被作为反硝化细菌分子标记的编码基因<sup>[32]</sup>。反硝化细菌在各种环境均有分布, 主要包括 *Pseudomonas*、*Paracoccus*、*Rhizobium* 和 *Achromobacter* 等类群<sup>[31]</sup>。

反硝化细菌是河流沉积物中脱氮的主要微生物, 沉积物-水界面动态变化特殊的生境有利于反硝化细菌呈现较高的群落多样性和丰富度, 并与 AOB 合作有效地去除过量氮素<sup>[33]</sup>。反硝化作用在全球氮循环过程中的脱氮效率, 常用分子标记结合稳定同位素示踪的方法进行定量研究<sup>[34-36]</sup>, 如利用  $\text{N}^{15}$  标记  $\text{NO}_3^-$  进行微生物异化效率的研究, 结果表明河流生态系统中反硝化作用对  $\text{NO}_3^-$  的转化率最高可达到 96.16%<sup>[35]</sup>。此外, 反硝化作用产生的温室气体  $\text{N}_2\text{O}$  虽然是该过程的中间产物, 但其显著的释放速率关系到全球气候环境变化<sup>[37-38]</sup>。可见, 利用分子标记和同位素示踪, 不仅能够量化氮循环的效率,

还能有效评估河流沉积物反硝化过程对  $\text{N}_2$  和  $\text{N}_2\text{O}$  排放的贡献作用。

### 1.4 厌氧氨氧化细菌

在厌氧条件下,  $\text{NH}_4^+$  与  $\text{NO}_2^-$  作为厌氧氨氧化细菌(Anammox)的营养基质, 厌氧氨氧化作用即是以  $\text{NH}_4^+$  作为电子供体直接将  $\text{NO}_2^-$  反硝化为  $\text{N}_2$  的过程<sup>[30]</sup>。16S rRNA 基因分子生物学方法鉴定出 Anammox 的菌群属于分支很深的浮霉菌门, 包括 *Candidatus brocadia*、*Candidatus kuenenia* 和 *Candidatus scalindua* 属<sup>[39]</sup>, 功能基因 *hzo* (Hydrazine-oxidoreductase, 肼氧化还原酶)也常被作为鉴定 Anammox 功能特征的分子标记。研究表明, Anammox 广泛存在于高氮负荷而且氧浓度有限的废水处理系统及海洋沉积物中, 而且具有可观的脱氮作用, 如在海洋沉积物中约有 24%–67%氮损失是由 Anammox 造成的<sup>[40]</sup>。在河流生态系统中 Anammox 的功能特征也逐渐受到关注, 太湖流域沉积物中 Anammox 的除氮效率可以达到 10.7%<sup>[41]</sup>, Colne Estuary (英国)沉积物中厌氧氨氧化作用产生的  $\text{N}_2$  占全部氮损失的 30%<sup>[42]</sup>, 可见河流沉积物 Anammox 的脱氮作用也十分显著。反硝化过程第一步受到抑制时, 厌氧氨氧化活性也随之降低<sup>[43]</sup>, 两个脱氮过程的共同作用对环境中的过量氮素的去除具有重要作用。稳定同位素标记也成为研究环境中反硝化作用与厌氧氨氧化作用脱氮( $\text{N}_2$ )相对贡献率的常用方法, 而河流沉积物中两种微生物总的除氮效率和相对贡献作用的定量分析还有待深入。同样是对氨氮进行氧化, 厌氧氨氧化过程和氨氧化过程却适宜于不同的氧条件, 过程机制也截然不同, 探讨这两个过程对氨氮转化的贡献效率和相互作用具有重要意义, 也是河流沉积物氮循环需要关注的重点。

## 2 影响河流沉积物氮循环微生物的主要因素

### 2.1 环境因子的作用

**2.1.1 氮素:** 作为氮循环的直接参与者, 氮素水平的高低直接影响氮循环功能微生物的群落特征和

功能作用<sup>[44-45]</sup>。 $\text{NH}_4^+$ 是影响氨氧化微生物的主要因子,由于淡水中 AOA 比 AOB 更适于厌氧、低  $\text{NH}_4^+$  的生境<sup>[16-17]</sup>,东江水体  $\text{NH}_4^+$  浓度低, AOA 的丰度明显高出 AOB 2-3 个数量级<sup>[16]</sup>,而在  $\text{NH}_4^+$  等营养物质含量较高的沉积物中 AOB 的丰度则高于 AOA<sup>[18]</sup>。东江沉积物中 Anammox 群落丰度与  $\text{NO}_2^-$  含量存在显著的正相关关系,  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和碳氮比是影响 Anammox 群落结构的主要环境因子<sup>[46]</sup>; Sáenz 等<sup>[47]</sup>的研究表明 Anammox 群落在河流沉积物  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  含量都很充足的区域分布更为广泛,由此看来,沉积物中  $\text{NH}_4^+$  和硝态氮的可利用性是影响 Anammox 群落特征的关键因子。此外, Hu 等<sup>[48]</sup>研究钱塘江沉积物 Anammox 群落特征时发现,总有机氮与 Anammox 丰度呈正相关关系,而有机碳对其群落分布和多样性也具有显著的影响作用,碳素(碳源)作为另一种重要的营养物质也是制约微生物群落特征的重要因子,沉积物碳循环等其他物质循环对氮循环功能微生物的影响也值得进一步探索。

氮营养物质也同样作用于微生物过程的功能效率, Zhou 等<sup>[43]</sup>的研究表明,内陆河沉积物中  $\text{NO}_3^-$  含量增加时,厌氧氨氧化作用和反硝化作用的活性相应增强,而当反硝化过程第一步受到抑制时,因  $\text{NO}_2^-$  的产量降低导致厌氧氨氧化活性也降低。Magalhães 等<sup>[49]</sup>通过室内模拟实验发现,在砂质沉积物中添加  $\text{NO}_3^-$  和低浓度的  $\text{NH}_4^+$  能够促进反硝化进程,  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$  的释放比率也随之而增加。大量氮素输入 New River (美国)时,河口沉积物潜在的厌氧氨氧化活性最高, Anammox 对  $\text{N}_2$  排放的贡献率可达到 14.1%<sup>[50]</sup>。

**2.1.2 溶氧:** 对于耗氧的硝化过程,溶氧(DO)是保证微生物活性至关重要的因子。AOA 在低氧的环境中比 AOB 的群落丰度高<sup>[17]</sup>,而 AOB 对环境 DO 变化的敏感性比 AOA 高<sup>[21]</sup>。在低氧的河流沉积物中, AOB 的氧亲和力比 NOB 强,所以 AOB 的丰度也高于 NOB<sup>[26]</sup>; DO 降低还会导致 NOB 多样性的下

降<sup>[29]</sup>。Nakamura 等<sup>[25]</sup>通过光照条件下  $\text{NH}_4^+$  氧化速率的研究发现,因河流沉积物表层光合作用增强,  $\text{O}_2$  能够渗透到更深的层次,从而促进硝化细菌(AOB 和 NOB)的活性范围和  $\text{NH}_4^+$  的转化。河流沉积物水界面 DO 随着河流水文动态变化强烈,硝化过程微生物(如 AOB)和反硝化细菌能够表现出良好的合作关系,硝化过程在 DO 充足时为反硝化过程提供足够的  $\text{NO}_3^-$ ,使得反硝化细菌在缺氧条件下将  $\text{NO}_3^-$  以  $\text{N}_2\text{O}$  或  $\text{N}_2$  的形式释放,而有效地去除河流中过量的活性氮<sup>[33]</sup>。

**2.1.3 季节变化:** 河流季节性的水文(丰水/枯水)、气候(温度的高低)状况变化很大,已有研究表明河流浮游细菌的群落丰度和多样性随季节变化呈显著差异<sup>[51]</sup>,沉积物微生物的群落功能随之也会呈现不同特征。模拟实验发现,干湿条件的变化能呈现硝化过程和反硝化过程不同的需氧条件,有利于沉积物中对氮素的去除<sup>[52]</sup>;而当实验温度增加,沉积物反硝化活性( $\leq 35^\circ\text{C}$ )和厌氧氨氧化活性( $\leq 25^\circ\text{C}$ )随之线性增加<sup>[43]</sup>。以  $\text{N}_2\text{O}$  生产率反映的反硝化活性研究表明, Seine River (法国)沉积物秋、冬季的  $\text{NO}_3^-$  还原率(反硝化速率)高于春、夏季<sup>[38]</sup>,而 Ohio River (美国)反硝化产生的  $\text{N}_2\text{O}$  夏季最高,冬季最低<sup>[37]</sup>;以  $\text{N}_2$  排放率反映的厌氧氨氧化速率的研究表明,太湖流域沉积物在夏季和初秋的除氮效率最高,冬季最低<sup>[41]</sup>。Plum Island Sound 地下河口(美国)的沉积物中,春季 AOB 的丰度及其潜在硝化效率均高于夏末<sup>[53]</sup>,辽河不同季节的温度变化和营养盐输入水平差异,使得河口沉积物中反硝化细菌数量春季最多,夏季最低<sup>[54]</sup>。更深入的研究表明,在溶解氧高硝化活性强的夏季,反硝化作用还原的  $\text{NO}_2^-$  是厌氧氨氧化过程进行的主要  $\text{NO}_2^-$  源,而冬季硝化过程不彻底,氨氧化过程产生的  $\text{NO}_2^-$  成为厌氧氨氧化作用的主要  $\text{NO}_2^-$  源<sup>[55]</sup>。综上所述,氮循环微生物的季节变化是 DO、活性温度和营养水平等各种因子复杂作用的结果,也是氮循环各环节之间相互支配和协调的结果。

**2.1.4 其他环境因子:** pH 是影响氨氧化微生物群落特征的主要因素。已有研究表明 AOA 在低 pH 环境中具有主导作用<sup>[17]</sup>, AOB 适宜生长的 pH 的范围为 7.0–8.5, 而低 pH 条件抑制 AOB 生长<sup>[21]</sup>。如钱塘江沉积物中 AOA 的 *amoA* 基因拷贝数和 AOA 与 AOB 的丰度比均随着 pH 值的增加而降低, 表明 AOA 在低 pH 环境中占主导地位<sup>[56]</sup>, 而 Cao 等<sup>[57]</sup>在珠江口的研究表明, 其沉积物中 AOB 对 pH 的变化比 AOA 更敏感, 且 AOB 群落多样性与 pH 存在显著的相关性。

盐度是河口地区沉积物微生物特征的主要影响因素, 从河口内部到海岸大陆架盐度逐渐升高, 沉积物中硝酸和亚硝酸还原酶的功能基因拷贝数逐渐减少, 反硝化作用效率也逐渐降低<sup>[58]</sup>, 而在一定的浓度范围内, 盐度的增加能够提升沉积物中微生物的硝化速率<sup>[49]</sup>, 中盐度(6.3–24.7 PSU)条件下沉积物的潜在硝化效率最高<sup>[53]</sup>。盐度变化也会影响微生物的群落结构, 在高盐度沉积物中 AOB 大部分属于 *Nitrosospira* 类群, 低盐度和中盐度条件下 AOB 则主要与 *Nitrosospira* 和 *Nitrosomonas* 类群相关, AOB 群落多样性也随盐度的增加而降低<sup>[59]</sup>。

河流悬浮颗粒物也能影响水体和沉积物的微生物活性和氮素的转化, 悬浮颗粒物浓度增加, 水体亚硝酸盐氧化速率增加, 硝化能力增强<sup>[60–61]</sup>, 反硝化速率也随之线性增加, 而且上覆水的扰动能够促进沉积物的反硝化活性<sup>[62]</sup>。此外, 沉积物中的重金属如 Cd、Cu 等也能够影响氮循环微生物特别是反硝化细菌的丰度、多样性和群落活性<sup>[63]</sup>。

总之, 微生物与环境因子的响应关系, 对全面了解河流沉积物氮循环功能类群的生态特征至关重要。不同区域的主要影响因素也因环境条件的不同而有所不同, 营养盐、DO、季节(温度)、pH 等均是河流沉积物氮循环主要微生物的重要影响因素。

## 2.2 河道控制管理措施的影响

河流显著的水文动态变化对微生物群落结构

和功能具有显著影响, 上游水量和水质的控制管理直接关系到下游水体(尤其是湖泊、海洋)的物质能量平衡。一般河流设有诸如水库、大坝、橡胶坝等水力控制措施, 其进行水流控制的同时对河流微生物和营养元素的分布具有重要影响<sup>[51]</sup>, 如库坝内沉积物中氮循环微生物对过量氮素的吸附、降解和去除, 能够缓解下游河段的水质状况。鲍林林等<sup>[22]</sup>在北运河的研究发现, 闸坝下游上覆水和沉积物中的氮素等营养物质的含量明显低于普通河段的含量, 沉积物中 *amoA* 基因的拷贝数也相对较高。受春季径流农业非点源高浓度  $\text{NO}_3^-$  输入的影响, Kaskaskia River (美国)下游水库库坝内沉积物中的反硝化活性比上游河道的高, 且硝化速率与  $\text{NO}_3^-$  的浓度成正比, 对河流过量  $\text{NO}_3^-$  的去除具有重要作用<sup>[64]</sup>。但是水库内相对的静水状态, 可能会导致底层 DO 过低, 而影响需氧微生物的群落特征, 如官厅水库底泥中 NOB 的多样性明显低于水层<sup>[29]</sup>。

另一方面, 河流岸边带状湿地的设置对河流水质管理具有积极作用。位于北运河沙河水库附近植被型岸边湿地, 其沉积物的营养物质含量明显低于裸露岸边带沉积物中的, 且植被型岸边湿地沉积物反硝化作用对水体营养元素具有显著的去除效果<sup>[65]</sup>。河岸带状湿地沉积物中 Anammox 的群落多样性较高, 冬、夏季能够分别利用氨氧化过程和硝酸盐还原产生的  $\text{NO}_2^-$  进行厌氧氨氧化作用, 有利于活性氮的去除<sup>[55]</sup>。河底反硝化生物反应器<sup>[66]</sup>和生物膜<sup>[34,67]</sup>的设置也能够提高河流沉积物的反硝化效率。

## 2.3 污水处理厂的干扰

污水处理厂的构建和运行对降低水环境污染具有至关重要的作用, 但其运行过程中又对环境有两个负面影响: 处理退水对流域水质的影响和脱水污泥对环境的危害<sup>[68]</sup>。污水处理厂排放的处理退水含有大量的氮、磷、有机物和微生物, 易导致水体污染负荷超标, 对河流原本的生态系统影响很大<sup>[69]</sup>。研究表明, 污水处理厂废水汇入 Hahndorf



River (澳大利亚)后, 从排放口至河流下游, 沉积物中  $\text{NH}_4^+$ 、总磷含量不断升高, *amoA* 和 *narG* 基因丰度显著增加, 微生物群落多样性受退水影响后降低, 原有优势类群如 *Sphingomonadaceae* 和 *Nitrospiraceae* 等受干扰后消失<sup>[70]</sup>。高含氮量的退水进入 Negev Desert (以色列)的河流后, 其沉积物中微生物功能不足以降解和去除过量氮素, 部分水体富营养化态势严峻<sup>[71]</sup>。污水处理退水大量有机物的输入, 对河流硝化作用具有一定抑制作用, 排放口沉积物的硝化效率和硝化细菌丰度均低于排放口上游沉积物, 从排放口顺流而下硝化活性又逐渐恢复<sup>[72]</sup>; 受造纸厂过量有机质输入的影响, AOB 丰度明显低于未受干扰河段沉积物中的丰度<sup>[73]</sup>。污水处理系统中的特有微生物经退水进入河流, 也会干扰河流生态系统原有的生物体系。北运河是北京市主要的排污河道, 其沉积物中部分氨氧化微生物与污水处理厂废水和活性污泥中发现的类群相似性很高<sup>[22]</sup>。Seine River (法国)流域上游沉积物中的 NOB 的主要种类为 *Nitrobacter*, 受污水处理厂退水的影响, 大量 *Nitrospira* 类群成为下游河道沉积物中的主要 NOB 类群<sup>[27]</sup>。Mußmann 等<sup>[74]</sup>通过接种活性污泥的试验也发现, 活性污泥中的 AOB 的 *Nitrosomonas oligotropha/ureae* 类群和 NOB 的 *Nitrospira* 分支 I 类群极易侵占河流沉积物表层生物膜的生态位成为其主要的硝化细菌。总之, 污水处理厂对河流生态系统的干扰具有很大的负面效应, 有必要通过改进污水处理工艺来降低退水带来的生态风险。

### 3 展望

综上所述, 氮循环微生物广泛活跃在河流沉积物中, 对河流生态环境的平衡、过量氮素的迁移转化发挥着积极地作用, 同时也推动着水生态系统沉积物氮循环功能微生物研究的深入发展。对比海洋和土壤等生态系统, 河流沉积物的氮循环微生物特征复杂而多变, 且人为干扰剧烈。我国江河众多, 氮素污染和水体富营养化现象普遍存在, 水质性缺

水等环境问题日趋严峻, 将水生态系统的污染防治与沉积物微生物氮代谢相结合, 从微生物生态学的角度探索沉积物氮素的微生物降解过程, 对推动氮素污染控制和生态修复进程至关重要。

对于今后河流沉积物氮循环功能微生物生态特征的研究, 提出还需重点关注的几个方面:

(1) 氮循环功能微生物的整体认识。氮循环是多层次的循环系统, 除了硝化过程、反硝化过程和厌氧氨氧化过程, 河流沉积物环境中还应加强亚硝酸盐氨化(DNRA)、氨化作用等过程的研究。其中, DNRA 过程通过还原  $\text{NO}_2^-$  将氮素以  $\text{NH}_4^+$  的形态保留在环境中, 直接影响氮素的去除效率和氨氧化、硝化过程的微生物作用<sup>[35]</sup>, 所以, 利用分子生物学技术手段, 针对相应的 16S rRNA 基因或功能酶编码基因, 进行相应功能微生物群落特征、种类鉴别, 及其与环境因子响应关系的研究, 对进一步掌握河流生态系统的氮循环具有重要意义。

(2) 不同过程功能类群的相互作用和同一过程多种功能基因/种类的研究。以  $\text{NH}_4^+$  为电子供体  $\text{NO}_2^-$  为电子受体的厌氧氨氧化过程, 其所需的  $\text{NO}_2^-$  可以由氨氧化和反硝化两个过程提供, 涉及到不同环境条件下不同功能微生物的协作, 对氮循环的转化机制和效率也具有重要意义。同一过程往往由多种功能类群或基因所主导, 如 AOA 和 AOB 所驱动的氨氧化过程在不同条件下具有不同功能优势, 由多种还原酶作用的反硝化过程具有多种特殊的功能酶编码基因, 群落形成机制也存在差异, 它们的群落多样性、功能效率和相互关系还有待深入研究。

(3) 基于 N 同位素标记方法的过程速率和不同类群相对贡献率的研究。微生物活性是表征其在环境中功能效率的重要指标, 常以物质的转化效率来衡量, 同位素标记为量化研究微生物活性提供了可靠的方法。如  $^{15}\text{N}$  标记  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  进行反硝化作用与厌氧氨氧化作用脱氮贡献率的研究, 但是关于 AOA、AOB 的相对贡献率和其他循环过程的微生物活性相关研究还不常见。

(4) 城市河流沉积物氮循环功能作用的研究和河道生物处理技术的开发。城市人口增加和工业化发展,对城市内部水环境构成极大压力,河流普遍受到不同程度的氮污染,并导致富营养化水体和大面积缺氧区的形成,在外源污染进行有效控制的同时,河流沉积物对水体的二次污染威胁巨大。针对城市河流沉积物中氮的形态分布、迁移转化和微生物的群落功能的研究,以及积极探索和应用有效的生态修复技术,对城市河流水生态系统和城市的良好发展具有重要意义。

## 参考文献

- [1] Yue WZ, Huang XP. Advance in biogeochemistry studies on nitrogen and phosphorus in offshore sediment[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2003, 22(3): 407-414 (in Chinese)  
岳维忠, 黄小平. 近海沉积物中氮磷的生物地球化学研究进展[J]. 台湾海峡, 2003, 22(3): 407-414
- [2] Qu JH, Li BZ, Yuan HL. Methodology in studies of microbial resource in sediment[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(6): 2636-2641 (in Chinese)  
屈建航, 李宝珍, 袁红莉. 沉积物中微生物资源的研究方法及其进展[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2636-2641
- [3] Mulder A, Graaf AA, Robertson LA, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16(3): 177-184
- [4] Graaf AA, Bruijn P, Robertson LA, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor[J]. Microbiology, 1996, 142(8): 2187-2196
- [5] Könneke M, Bernhard AE, de la Torre JR. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. Nature, 2005, 437(7058): 543-546
- [6] Canfield DE, Glazer AN, Falkowski PG. The evolution and future of earth's nitrogen cycle[J]. Science, 2010, 330(6001): 192-196
- [7] Gong J, Song YJ, Zhang XL. Phylogenetic and functional diversity of nitrogen cycling microbes in coastal sediments[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 433-444 (in Chinese)  
龚俊, 宋延静, 张晓黎. 海岸带沉积物中氮循环功能微生物多样性[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 433-444
- [8] 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
- [9] Jin T, Zhang T, Yan QM. Characterization and quantification of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB) in a nitrogen-removing reactor using T-RFLP and qPCR[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87(3): 1167-1176
- [10] Zhu GB, Wang SY, Wang Y, et al. Anaerobic ammonia oxidation in a fertilized paddy soil[J]. The ISME Journal, 2011, 5(12): 1905-1912
- [11] Francis CA, Beman JM, Kuypers MMM. 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
- [12] 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
- [13] Cao HL, Auguet JC, Gu JD. Global ecological pattern of ammonia-oxidizing archaea[J]. PLoS One, 8(2): e52853
- [14] Li M, Cao HL, Hong YG, et al. Spatial distribution and abundances of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in mangrove sediments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89(4): 1243-1254
- [15] 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. 氨氧化古菌的生态学研究进展[J]. 微生物学报, 2010, 50(4): 431-437
- [16] Liu ZH, Huang SB, Sun GP, et al. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea in the Dongjiang River[J]. Microbiological Research, 2011, 166(5): 337-345
- [17] Erguder TH, Boon N, Wittebolle L, et al. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, 33(5): 855-869
- [18] Sun W, Xia C, Xu M, et al. Distribution and abundance of archaeal and bacterial ammonia oxidizers in the sediments of the Dongjiang River, a drinking water supply for Hong Kong[J]. Microbes and Environments, 2013, 28(4): 457-465
- [19] Wang XY, Wang C, Bao LL, et al. Impact of carbon source amendment on ammonia-oxidizing microorganisms in reservoir riparian soil[J]. Annals of Microbiology, 2014. DOI:10.1007/s13213-014-0979-8
- [20] Wang XY, Wang C, Bao LL, et al. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing microorganisms in reservoir sediment and adjacent soils[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(4): 1883-1892
- [21] Wang C, Shan BQ. The distribution of aerobic ammonia oxidizing microorganisms in Ziya River, Haihe Basin[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(12): 2943-2950 (in Chinese)  
王超, 单保庆. 子牙河水系水和沉积物耗氧氨氧化微生物分布特征[J]. 环境科学学报, 2012, 32(12): 2943-2950
- [22] Bao LL, Chen YJ, Wang XY. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing prokaryotes in surface sediments of Beiyun River[J]. China Environmental Science, 2015, 35(1): 179-189 (in Chinese)  
鲍林林, 陈永娟, 王晓燕. 北运河沉积物中氨氧化微生物的群落特征[J]. 中国环境科学, 2015, 35(1): 179-189
- [23] Altmann D, Stief P, Amann R, et al. *In situ* distribution and activity of nitrifying bacteria in freshwater sediment[J]. Environmental Microbiology, 2003, 5(9): 798-803
- [24] Cébron A, Berthe T, Garnier J. Nitrification and nitrifying bacteria in the lower Seine River and Estuary (France)[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(12): 7091-7100
- [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]. Environmental Science and



- Technology, 2006, 40(5): 1532-1539
- [26] Yang XN, Lin XR, Fu SY, et al. Effect of dissolved oxygen on the vertical distribution of nitrifying bacteria in Tidal River sediment[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2013, 52(5): 91-96 (in Chinese)  
杨旭楠, 林兴锐, 符诗雨, 等. 感潮河流沉积物中溶解氧对硝化细菌垂直分布的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(5): 91-96
- [27] Cébron A, Garnier J. *Nitrobacter* and *Nitrospira* genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: detection, quantification and growth along the lower Seine River (France)[J]. Water Research, 2005, 39(20): 4979-4992
- [28] Dong YJ, Wang SY, Wang CX, et al. Enrichment and sludge characteristics analysis of nitrite oxidizing bacteria (NOB)[J]. China Environmental Science, 2013, 33(11): 1978-1983 (in Chinese)  
董怡君, 王淑莹, 汪传新, 等. 亚硝酸盐氧化菌(NOB)的富集培养与其污泥特性分析[J]. 中国环境科学, 2013, 33(11): 1978-1983
- [29] Zhang HC, Sun YJ, Chen C, et al. Diversity of nitrifying bacteria in sediment and water in Guanting Reservoir[J]. Journal of Beijing Normal University (Natural Science Edition), 2013, 49(Z1): 282-285 (in Chinese)  
张慧淳, 孙寓蛟, 陈程, 等. 官厅水库水体及底泥中硝化功能细菌的群落多样性研究[J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2013, 49(Z1): 282-285
- [30] Guo JH, Peng YZ. Heterotrophic nitrification anaerobic ammonia oxidation and archaeal ammonia oxidation in a new nitrogen cycle[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(8): 1489-1498 (in Chinese)  
郭建华, 彭勇臻. 异养硝化、厌氧氨氧化及古菌氨氧化与新的氮循环[J]. 环境科学学报, 2008, 28(8): 1489-1498
- [31] Walter GZ. Cell biology and molecular basis of denitrification [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1997, 61(4): 533-616
- [32] Song YN, Lin ZM, Lin Y. Response of denitrifying bacteria community structure and abundance to nitrogen in paddy fields[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(1): 7-21 (in Chinese)  
宋亚娜, 林智敏, 林艳. 氮肥对稻田土壤反硝化细菌群落结构和丰度的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(1): 7-21
- [33] Pei YS, Wang J, Wang ZY, et al. Characteristics of ammonia-oxidizing and denitrifying bacteria at the river-sediment interface[J]. Procedia Environmental Sciences, 2010, 2: 1988-1996
- [34] Storey RG, Williams DD, Fulthorpe RR. Nitrogen processing in the hyporheic zone of a pastoral stream[J]. Biogeochemistry, 2004, 69(3): 285-313
- [35] Washbourne IJ, Crenshaw CL, Baker MA. Dissimilatory nitrate reduction pathways in an oligotrophic freshwater ecosystem: spatial and -temporal trends[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2011, 65(1): 55-64
- [36] Wenk CB, Zopfi J, Bles J, et al. Community N and O isotope fractionation by sulfide-dependent denitrification and anammox in a stratified lacustrine water column[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014, 125(15): 551-563
- [37] Beaulieu JJ, Shuster WD, Rebolz JA. Nitrous oxide emissions from a large, impounded river: the Ohio River[J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(19): 7527-7533
- [38] Laverman AM, Garnier JA, Mounier EM. Nitrous oxide production kinetics during nitrate reduction in river sediments[J]. Water Research, 2010, 44(6): 1753-1764
- [39] Qin YJ, Zhou SF. Research progress on anaerobic ammonium-oxidation bacteria[J]. Chinese Journal of Ecology, 2007, 26(11): 1867-1872 (in Chinese)  
秦玉洁, 周少芬. 厌氧氨氧化菌的研究进展[J]. 生态学杂志, 2007, 26(11): 1867-1872
- [40] 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
- [41] Zhao YQ, Xia YQ, Kana TM, et al. Seasonal variation and controlling factors of anaerobic ammonium oxidation in freshwater river sediments in the Taihu Lake region of China[J]. Chemosphere, 2013, 93(9): 2124-2131
- [42] Dong LF, Smith CJ, Papaspyrou S, et al. Changes in benthic denitrification, nitrate ammonification, and anammox process rates and nitrate and nitrite reductase gene abundances along an estuarine nutrient gradient (the Colne Estuary, United Kingdom)[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(10): 3171-3179
- [43] Zhou S, Borjigin S, Riya S, et al. The relationship between anammox and denitrification in the sediment of an inland river[J]. Science of the Total Environment, 2014, 490: 1029-1036
- [44] Gao ZQ, Zhu L, Zhu W, et al. Diversity of denitrifying bacteria by encoding *nirS* gene from surface sediments of the Pear River Estuary[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(6): 1114-1121 (in Chinese)  
高志强, 朱玲, 朱伟, 等. 珠江口表层沉积物 *nirS* 型反硝化微生物多样性[J]. 海洋与湖泊, 2012, 43(6): 1114-1121
- [45] Abell GCJ, Ross DJ, Keane JP, et al. Nitrifying and denitrifying microbial communities and their relationship to nutrient fluxes and sediment geochemistry in the Derwent Estuary, Tasmania[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2013, 70(1): 63-75
- [46] Sun W, Xu MY, Wu WM, et al. Molecular diversity and distribution of anammox community in sediments of the Dongjiang River, a drinking water source of Hong Kong[J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 116(2): 464-476
- [47] Sáenz JP, Hopmans EC, Rogers D, et al. Distribution of anaerobic ammonia-oxidizing bacteria in a subterranean estuary[J]. Marine Chemistry, 2012, 136/137: 7-13
- [48] Hu BL, Shen LD, Zheng P, et al. Distribution and diversity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in the sediments of the Qiantang River[J]. Environmental Microbiology Reports, 2012, 4(5): 540-547
- [49] Magalhães CM, Joye SB, Moreira RM, 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 Research, 2005, 39(9): 1783-1794
- [50] Lisa JA, Song BK, Tobias CR, et al. Impacts of freshwater flushing on anammox community structure and activities in the New River Estuary, USA[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2014, 72(1): 17-31
- [51] Yu Y, Wang XY, Zhang PF. Spatial distribution of planktonic bacterial community and its relationship to water quality in Beiyun River[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(3): 337-344 (in Chinese)  
于洋, 王晓燕, 张鹏飞. 北运河水体浮游细菌群落的空间分布特征及其与水质的关系[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3):

- 337-344
- [52] Zhang Y, Yan BX. Research on influence of ditch sediments purifying nitrogen from water under drying and wetting conditions[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2011, 25(3): 113-116 (in Chinese)  
张燕, 阎百兴. 干湿条件对沟渠沉积物净化水体氮素的影响研究[J]. 水土保持学报, 2011, 25(3): 113-116
- [53] Bernhard AE, Tucher J, Giblin AE, et al. Functionally distinct communities of ammonia-oxidizing bacteria along an estuarine salinity gradient[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(6): 1439-1447
- [54] Fan JF, Chen JY, Chen LG, et al. Research on denitrifying bacteria quantification and diversity in Liaohe Estuary sediments[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2011, 33(3): 94-102 (in Chinese)  
樊景风, 陈佳莹, 陈立广, 等. 辽河口沉积物反硝化细菌数量及多样性的研究[J]. 海洋学报, 2011, 33(3): 94-102
- [55] Wang SY, Zhu GB, Peng YZ, et al. Anammox bacterial abundance, activity, and contribution in riparian sediments of the Pearl River Estuary[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(16): 8834-8842
- [56] Liu S, Shen LD, Lou LP, et al. Spatial distribution and factors shaping the niche segregation of ammonia-oxidizing microorganisms in the Qiantang River, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(13): 4065-4071
- [57] Cao HL, Hong YG, Li M, et al. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing prokaryotes in sediments from the coastal Pearl River estuary to the South China Sea[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2011, 100(4): 545-556
- [58] Smith CJ, Nedwell DB, Dong LF, et al. Diversity and abundance of nitrate reductase genes (*narG* and *napA*), nitrite reductase genes (*nirS* and *nrfA*), and their transcripts in estuarine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(11): 3612-3622
- [59] Bernhard AE, Donn T, Giblin AE, et al. Loss of diversity of ammonia-oxidizing bacteria correlates with increasing salinity in an estuary system[J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(9): 1289-1297
- [60] Dang HY, Luan XW, Chen RP, 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
- [61] Xia XH, Yang ZF, Huang GH, et al. Nitrification in natural waters with high suspended-solid content—a study for the Yellow River[J]. Chemosphere, 2004, 57(8): 1017-1029
- [62] Liu T, Xia XH, Liu SD, et al. Acceleration of denitrification in turbid rivers due to denitrification occurring on suspended sediment in oxic waters[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(9): 4053-4061
- [63] Zhang XL, Agogue H, Dupuy C, et al. Relative abundance of ammonia oxidizers, denitrifiers, and anammox bacteria in sediments of hyper-nutriented estuarine tidal flats and in relation to environmental conditions[J]. Clean-Soil Air Water, 2013, 41(6): 1-9
- [64] Wall LG, Tank JL, Royer TV, et al. Spatial and temporal variability in sediment denitrification within an agriculturally influenced reservoir[J]. Biogeochemistry, 2005, 76(1): 85-111
- [65] Wang CX, Zhu GB, Wang Y, et al. The purification function of riparian wetlands on the eutrophicated river[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(1): 51-56 (in Chinese)  
王朝旭, 祝贵兵, 王雨, 等. 岸边带湿地对富营养化河流的净化作用研究[J]. 环境科学学报, 2012, 32(1): 51-56
- [66] Elgood Z, Robertson WD, Schiff SL, et al. Nitrate removal and greenhouse gas production in a stream-bed denitrifying bioreactor[J]. Ecological Engineering, 2010, 36(11): 1575-1580
- [67] Boulêtreau S, Salvo E, Lyautey E, et al. Temperature dependence of denitrification in phototrophic river biofilms[J]. Science of the Total Environment, 2012, 416: 323-328
- [68] Li M, Zhang XH, Li YW, et al. Environmental impacts of sewage treatment system based on emergy analysis[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(2): 488-496 (in Chinese)  
李敏, 张小洪, 李远伟, 等. 基于能值的污水处理系统环境影响分析[J]. 应用生态学报, 2013, 24(2): 488-496
- [69] Daniel MHB, Montebelo AA, Bernardes MC, et al. Effects of urban sewage on dissolved oxygen, dissolved inorganic and organic carbon, and electrical conductivity of small streams along a gradient of urbanization in the Piracicaba River basin[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2002, 136(1/4): 189-206
- [70] Wakelin SA, Colloff MJ, Kookana RS. Effect of wastewater treatment plant effluent on microbial function and community structure in the sediment of a freshwater stream with variable seasonal flow[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(9): 2659-2668
- [71] Angel R, Asaf L, Ronen Z, et al. Nitrogen transformations and diversity of ammonia-oxidizing bacteria in a desert ephemeral stream receiving untreated wastewater[J]. Microbial Ecology, 2010, 59(1): 46-58
- [72] Montuelle B, Balandras B, Volat B, et al. Effect of wastewater treatment plant discharges on the functional nitrifying communities in river sediments[J]. Aquatic Ecosystem Health & Management, 2003, 6(4): 381-390
- [73] Abell GCJ, Ross DJ, Keane J, et al. Niche differentiation of ammonia-oxidising archaea (AOA) and bacteria (AOB) in response to paper and pulp mill effluent[J]. Microbiology of Aquatic Systems, 2014, 67(4): 758-768
- [74] Mußmann M, Ribot M, von Schiller D, et al. Colonization of freshwater biofilms by nitrifying bacteria from activated sludge[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 85(1): 104-115