

# 乌梁素海湖泊湿地过渡带氨氧化细菌群落\*

李靖宇<sup>1,2</sup> 杜瑞芳<sup>1,2</sup> 武琳慧<sup>1,2,3</sup> 于景丽<sup>1,2,3</sup> 许继飞<sup>2,3</sup> 赵吉<sup>2,3,4\*\*</sup>

(<sup>1</sup>内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021; <sup>2</sup>内蒙古大学环境与资源学院, 呼和浩特 010021; <sup>3</sup>内蒙古自治区环境污染控制与废物资源化重点实验室, 呼和浩特 010021; <sup>4</sup>中美生态、能源及可持续性科学研究中心, 呼和浩特 010021)

**摘要** 探究乌梁素海富营养化湖泊湿地演化过程中, 不同植物群落下土壤氨氧化细菌群落的组成、丰度、亲缘关系以及多样性变化, 结合湿地理化因子探讨基质条件对氨氧化细菌群落结构的影响。提取沉积物和土壤总 DNA, 对氨氧化细菌群落的 *amoA* 基因构建克隆文库, 并进行测序, 分析湿地沉积物与土壤过渡带 4 个样点中氨氧化细菌群落结构的组成、丰度、亲缘关系以及多样性指标; 分析基质条件变化对氨氧化细菌群落结构的影响。富营养化湖泊湿地水陆过渡带的芦苇沼泽沉积物、碱蓬盐碱化土壤和白刺荒漠化土壤中, 氨氧化细菌群落结构组成相似性逐渐降低; 优势种群发生明显变化, 氨氧化细菌从与 *Nitrosomonas*-like 序列相似为主要优势类群向与 *Nitrospira*-like 序列相似为主要优势类群转变, 群落结构空间异质性成因主要由总氮和水溶盐总量这两个基质因子所主导, 相关系数  $r$  为 0.943; 多样性指数分析表明, 芦苇沼泽沉积物和白刺荒漠化土壤适合多样的氨氧化细菌生长。氨氧化细菌多样性与优势种群在湿地水陆过渡带发生明显变化, 氨氧化细菌群落结构主要驱动因子为总氮和水溶盐总量的组合。

**关键词** 乌梁素海湿地; 富营养化湖泊; 氨氧化细菌; 空间异质性; 基质条件

**中图分类号** S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2014)7-1902-09

**Community structure of soil ammonia-oxidizing bacteria along the transitional zone of inland Wuliangsu Hai Lake.** LI Jing-yu<sup>1,2</sup>, DU Rui-fang<sup>1,2</sup>, WU Lin-hui<sup>1,2,3</sup>, YU Jing-li<sup>1,2,3</sup>, XU Ji-fei<sup>2,3</sup>, ZHAO Ji<sup>2,3,4\*\*</sup> (<sup>1</sup>College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; <sup>2</sup>College of Environment & Resources, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; <sup>3</sup>Inner Mongolia Key Laboratory of Environmental Pollution Control & Waste Resource Reuse, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China; <sup>4</sup>Sino-US Center for Conservation, Energy and Sustainability Science in Inner Mongolia, Hohhot 010021, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(7): 1902–1910.

**Abstract:** The aim of this study is to investigate soil ammonia-oxidizing bacterial community composition, abundance, phylogenetic relationship and diversity under different plant communities formed in the evolution process of eutrophic inland lake Wuliangsu Hai, and to discuss the impacts of soil physicochemical factors on ammonia-oxidizing bacterial community structure. The total DNA was extracted and a clone library was constructed based on *amoA* gene in order to analyze ammonia-oxidizing bacterial community composition, abundance, phylogenetic relationship and diversity index. Soil substrate conditions were analyzed to assess their effects on ammonia-oxidizing bacterial community composition. The similarity of ammonia-oxidizing bacterial community composition gradually decreased from eutrophic lake sediments to desertification soil. The dominant species significantly changed from the *Nitrosomonas*-like group to the *Nitrospira*-like group. Correlation analysis indicated that the combination of total nitrogen and total water soluble salt had the most significant effect on the ammonia-oxidizing bacterial community structure, and the correlation coefficient was 0.943. The diversity index showed that reed swamp and *Nitraria*

\* 国家自然科学基金项目(31160129)、国家重点基础研究计划前期研究项目(2009CB125909)和国家科技支撑计划项目(2011BAC02B03)资助。

\*\* 通讯作者 E-mail: ndzj@imu.edu.cn

收稿日期: 2013-10-30 接受日期: 2014-03-15

*tangutorum* desert soil were more suitable for diverse ammonia-oxidizing bacteria to grow. Ammonia-oxidizing bacterial diversity and dominant species changed significantly in the transition zone between wetland sediment and desert soil. Total nitrogen and total water soluble salt are the major environmental factors influencing spatial heterogeneity of ammonia-oxidizing bacterial community composition.

**Key words:** Wuliangsu Hai wetland; eutrophic lake; ammonia-oxidizing bacteria; spatial heterogeneity; substrate condition.

氨是河、湖湿地等环境中较为普遍的污染物,氨的转化主要依赖于硝化过程(Bai *et al.*, 2012)。硝化过程包括两步反应:氨氧化和亚硝酸盐氧化。其中氨氧化被认为是硝化过程中的限速步骤,在硝化过程中起着重要的作用。湿地生态系统中,土壤微生物介导的硝化、反硝化以及产甲烷过程可以调节生态系统的功能,这些系统中物质循环受到水文条件以及营养状况波动的强烈影响。目前,关于湿地生物地球化学循环的研究多数关注反硝化、产甲烷速率,关注微生物群落或这些生境中的特定功能类群的研究较少(MGutknecht *et al.*, 2006)。

乌梁素海是内蒙古高原西部干旱区最典型的浅水草型湖泊,补给水源主要是河套灌区的农田退水,其次是工业废水和生活污水,每年排入湖中的总氮为 1088.59 t,总磷为 65.75 t,出湖总氮约 759.9 t,总磷约 37.8 t,每年留在湖中参与积累储备的总氮约 328.7 t,总磷约 28.0 t,这些超负荷积累的营养物已使乌梁素海有序的生态结构严重退化,极大地加速了湖泊富营养化和沼泽化进程(孙惠民等,2006a;赵胜男等,2013)。大量含氮化合物输入湖泊或沼泽湿地中,表面沉积物是硝化过程的重要场所,其具有较高的氨氧化细菌(AOB)丰度和活性(Satoh *et al.*, 2007)。本文以乌梁素海沉积物及其土壤过渡带为研究对象,通过构建克隆文库描述了 AOB 的群落结构,并结合理化性质探讨了 AOB 群落结构空间异质性的成因。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域与样品采集

乌梁素海(40°47'N—41°03'N, 108°43'E—108°57'E)系黄河改道后形成的牛轭湖,是内蒙古高原西部干旱区最典型的浅水草型湖泊,也是全球范围内荒漠半荒漠地区极为少见的具有生物多样性和环境保护等多功能的大型草型湖泊,为地球上同一纬度最大的自然湿地。湖区位于内蒙古自治区巴彦淖尔市乌拉特前旗境内,现有水域面积 333.48 km<sup>2</sup>。

农田退水是该湖最主要的补给水源,受河套灌区农田退水的影响,近 10 年来乌梁素海富营养化进程加剧(孙惠民等,2006b)。乌梁素海已成为以大型水生植物过量生长为表征的重度富营养化草型湖泊,目前腐烂水草正以每年 9~13 mm 的速度在湖底堆积,成为世界上沼泽化速度最快的湖泊之一,正向芦苇沼泽→碱蓬盐化草甸→白刺荒漠方向演化(孙惠民等,2006a)。

沉积物(土壤)样品的采集按照以上演化梯度进行取样:A 样品(40°57'511"N, 108°56'352"E)取自于乌梁素海主湖区芦苇(*Phragmites australis*)生长区;B 样品(40°56'861"N, 108°56'692"E)取自于芦苇沼泽区;C 样品(40°56'863"N, 108°56'682"E)取自于碱蓬(*Suaeda glauca*)盐化草甸区;D 样品(40°56'863"N, 108°56'682"E)取自于白刺(*Nitraria tangutorum*)荒漠区。采用 S 型五点取样法,取样深度为 0~10 cm。将湿地土样保鲜带回实验室冷藏保存,用于分子生物学研究,土壤理化性质数据由本实验室测定分析(表 1)。

### 1.2 湿地沉积物与土壤总 DNA 提取

依据玻璃珠-氯化钙-SDS 法(Li *et al.*, 2011),对土壤样品进行总 DNA 提取。

### 1.3 *amoA* 基因片段巢式 PCR 扩增

反应体系:dNTP(2.5 mmol·L<sup>-1</sup>) 4.0 μL、上游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>) 1.0 μL、下游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>) 1.0 μL、10×buffer(Promrga) 5.0 μL、Taq(5 U·μL<sup>-1</sup>)0.4 μL、模板 2 μL、加 ddH<sub>2</sub>O 到 50 μL。引物

表 1 采样点沉积物和土壤的基本理化性质

Table 1 Properties of soil and sediment sample used in this study

样品	有机碳 (g·kg <sup>-1</sup> )	总氮 (g·kg <sup>-1</sup> )	总磷 (g·kg <sup>-1</sup> )	铵态氮 (mg·kg <sup>-1</sup> )	水溶盐总量 (g·kg <sup>-1</sup> )	pH
A	11.82	1.07	0.78	3.39	9.11	8.04
B	7.99	0.69	0.57	1.95	7.11	8.61
C	3.73	0.32	0.47	0.91	13.65	9.25
D	12.93	1.33	0.66	1.34	20.46	8.69

对 A189(GGN GAC TGG GAC TTC TGG) 与 amoA-2R(CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC)用于第一轮 PCR 中,引物对 amoA-1F(GGG GTT TCT ACT GGT GGT)与 amoA-2R 用于第二轮 PCR 中。

反应条件:第 1 轮:94 °C 5 min,94 °C 40 s,55 °C 40 s,72 °C 40 s,30 个循环,72 °C 10 min。第 2 轮:94 °C 5 min,94 °C 20 s,55 °C 20 s,72 °C 20 s,30 个循环,72 °C 10 min。

#### 1.4 amoA 基因扩增产物的纯化与克隆测序

PCR 产物回收纯化使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(AxyPrep biosciences,杭州),具体步骤见生产商提供的说明书,主要包括:1)在紫外灯下获得电泳后含有 PCR 产物的琼脂糖凝胶,切碎置于 1.5 mL 离心管中。称凝胶重量,根据重量加入相当体积的溶解凝胶液(100 mg=100  $\mu$ L);2)加 3 倍凝胶体积的 DE-A 溶液,混合均匀后于 70 °C 加热,间断混合,直至凝胶块完全熔化;3)加 0.5 倍 DE-A 体积的 DE-B 溶液,混和均匀;4)将混合液转移至 DNA 制备管(置于 2 mL 离心管中),12000  $\times$ g 离心 1 min,弃滤液;5)加 0.5 mL W1 溶液,12000  $\times$ g 离心 1 min,弃滤液;6)加 0.7 mL W2 溶液,12000  $\times$ g 离心 1 min,弃滤液。以同样方法再用 0.7 mL W2 溶液洗涤一次;7)将制备管置于离心管中,12000  $\times$ g 离心 1 min;8)将制备管置于另一洁净的 1.5 mL 离心管中,在制备膜正中央加 20  $\mu$ L 预热至 60 °C 的洗脱液,室温静置 3 min;9)12000  $\times$ g 离心 1 min 洗脱 DNA,4 °C 保存待用。PCR 产物与 pEASY-T1 克隆载体连接详细步骤见生产商(TransGen Biotech Co., Ltd,北京)提供的说明书,主要包括在 PCR 管中依次加入纯化 PCR 产物 3  $\mu$ L、pEASY-T1 克隆 vector 1  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 1  $\mu$ L,并轻轻混合,室温反应 5 min,反应结束后,将离心管置于冰上。转化到 pEASY-T1 感受态细胞中(TransGen Biotech Co., Ltd,北京)。选择阳性克隆送上海英骏生物技术有限公司测序。

#### 1.5 数据分析

测序获得的 AOB amoA 基因序列通过 CLC Sequence Viewer 5 (www.clebio.com)删除载体序列,用 BioEdit 软件中的 DNADIST 程序生成距离矩阵文件,将生成的距离矩阵文件用 DOTUR 软件进行 OTU(operational taxonomic unit,可分类操作单元)的分析(Schloss *et al.*, 2005),具有 98% 序列相似性的序列定义为一个 OTU(Konneke *et al.*, 2005),在每个 OTU 中选取 1 个代表性的克隆序列通过 mega-

BLAST 选择 NCBI 数据库中最相近的参考序列,然后用 Clustal X 软件进行排列对齐。最后用 MEGA 软件进行 N-J 系统发育树的构建,Bootstrap 值 1000,选择 Kimura 2 参数模型。通过 DOTUR 软件计算每一个克隆文库的 Richness、ACE、Chao1、Shannon、1/Simpson 以及 Coverage 等反映克隆文库的指标信息。使用在线程序 UniFrac (<http://bmf.colorado.edu/unifrac/>)通过亲缘关系信息来比较不同样点之间的氨氧化细菌群落结构,计算 UniFrac 和 P 值,二者都是反映 2 个环境样品在 AOB 群落结构上是否存在显著差异的统计学指标,最后通过 UniFrac 距离矩阵对含有 AOB 亲缘关系的不同样品进行聚类分析,最后通过 PCA 分析直观地表示出各样品之间在不同维度上的差异。使用 R 语言中的 BioEnv 程序筛选了影响氨氧化细菌群落结构的最佳环境因子子集。然后,使用 R 语言中的 Mantel-Carlo 检验对各环境因子与氨氧化细菌群落的相关关系做了检验。

#### 1.6 AmoA 基因 NCBI 登录号

161 条氨氧化细菌 amoA 基因的 NCBI 登录号为:JX861698-JX861858。

## 2 结果与分析

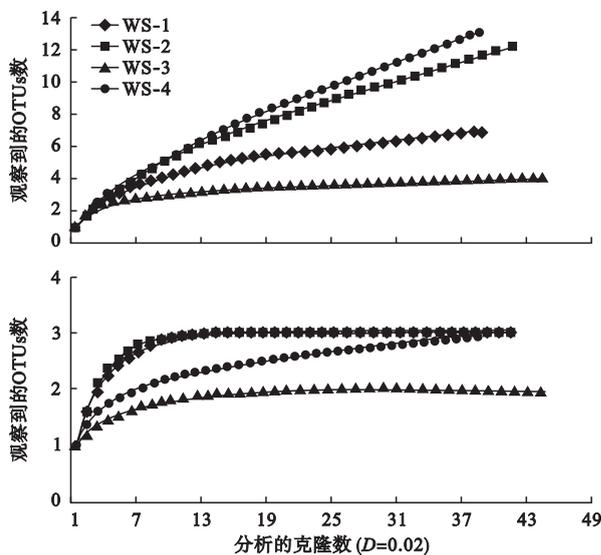
### 2.1 氨氧化细菌 amoA 基因多样性

通过克隆测序构建了富营养化湖泊沉积物、芦苇沼泽沉积物、碱蓬盐碱化土壤和白刺荒漠化土壤 4 个氨氧化细菌 amoA 基因文库,分别命名为 A、B、C 和 D,共获得 161 条有效序列,各文库分别包含了 38、41、44 和 38 条有效序列。克隆文库覆盖率显示所检测的克隆序列能够很好地反映氨氧化细菌门水平上的群落结构,4 个文库的覆盖率均为 100%;在种的水平上,除了克隆文库 C(100%),其他覆盖率均较低(42%~70%),表明本研究所获得的氨氧化细菌物种信息还不能较好地代表真实环境中氨氧化细菌的多样性(表 2)。稀缺性曲线表明,在门水平上,各文库所获得的有效序列能够代表取样的有效性,除了文库 D 外,该文库增加取样可能会得到更大的多样性;在种的水平上,稀疏性曲线分析表明,没有一个克隆文库达到或接近饱和,说明这些样品中包含着潜在的更多的氨氧化细菌(图 1)。

Shannon 和 Simpson 多样性指数表明,克隆文库 B 和 D 高于克隆文库 A 和 C,其中文库 C 的多样性最低,文库 B 的多样性最高。Richness 分析( $D =$

表 2 AOB *amoA* 基因克隆文库的丰度与多样性Table 2 Richness and diversity for *amoA* gene clone libraries of AOB

来源	克隆数	距离	覆盖度(%)	丰度	Chao1	ACE	Simpson 指数	Shannon 指数
A	38	0.02	70	7	10	6.64	3.91	1.50
		0.20	100	3	3	3	2.44	0.97
B	41	0.02	46	12	26	51.95	5.29	1.89
		0.20	100	3	3	3	2.89	1.05
C	44	0.02	100	4	4	5.11	2.56	1.05
		0.20	100	2	2	2	1.32	0.40
D	38	0.02	42	13	31	38.4	4.14	1.87
		0.20	100	3	3	4.09	1.62	0.63

图 1 AOB *amoA* 基因序列的稀疏性Fig. 1 Rarefaction curves of four samples based on AOB *amoA* gene sequence

0.02)表明,各文库的 OTUs 分别为 7、12、4 和 13 个 OTUs。在文库 A 中,OTU-A1、OTU-A2 和 OTU-A4 的相对丰度为 84.2%;在文库 B 中,OTU-B1、OTU-B2 和 OTU-B5 的相对丰度为 75.6%;在文库 C 中,OTU-C1、OTU-C2 和 OTU-C3 的相对丰度为 97.6%;在文库 D 中,OTU-D1、OTU-D5 和 OTU-D8 的相对丰度为 71.1%。氨氧化细菌克隆文库的 PCA 分析结果见图 2。第 1、2 排序轴能够很好地反映各样点氨氧化细菌群落结构的相似程度。其中样品 A 和样品 B 较为相似。聚类分析结果与 PCA 分析结果一致,样品 A 和样品 B 聚在一起,然后与样点 C 聚为一簇,与 D 的距离最远。结果表明,沿着乌梁素海湖底沉积物→芦苇沼泽→碱蓬盐化草甸→白刺荒漠演化方向,氨氧化细菌群落结构的相似度越来越低。结合多样性分析结果推断,在演化过程中芦苇沼泽沉积物和白刺荒漠化土壤适合多样的氨氧化细菌生

长,而富营养化湖泊沉积物和碱蓬群落盐碱化土壤适合少数特定的氨氧化细菌类群生长。

## 2.2 氨氧化细菌 *amoA* 基因亲缘关系

4 个样点共获得 161 条有效序列,在 98% 的相似性水平上划分 OTU,共有 36 个 OTUs。亲缘关系分析表明,这些 OTUs 分为 6 簇,其中簇 1、簇 2 和簇 3 OTUs 的序列与 *Nitrosomonas*-like 的序列相似,共有 24 个 OTUs 属于此类氨氧化细菌;簇 4、簇 5 和簇 6 OTUs 的序列与 *Nitrospira*-like 的序列相似,共有 12 个 OTUs 属于此类氨氧化细菌(图 3)。簇 1 中的 12 个 OTUs 之间的相似程度为 84%~99.8%,与可培养的 *Nitrosomonas oligotroph* (NCBI 登录号为 AJ298709)的相似程度为 74.85%~81.63%,与可培养的 *Nitrosomonas halophila* (NCBI 登录号为 AY026907)的相似程度为 72.7%~81.4%;簇 2 中的 9 个 OTUs 之间的相似程度为 60.7%~99.8%,与可培养的 *Nitrosomonas communis* (NCBI 登录号为 AF272399)的相似程度为 58.1%~80.44%,与可培养的 *Nitrosomonas nitrosa* (NCBI 登录号为 AF272404)的相似程度为 58.49%~85.52%;簇 3 中的 3 个 OTUs 之间的相似程度为 96.65%~99.6%,与可培养的 *Nitrosomonas cryotolerans* (NCBI 登录号为 AF314753)的相似程度为 77.04%~77.98%,与可培养的 *Nitrosomonas urea* (NCBI 登录号为 AJ388585)的相似程度为 80.08%~80.44%,与可培养的 *Nitrosomonas aestuarii* (NCBI 登录号为 HM345616)的相似程度为 81.4%~81.9%,与可培养的 *Nitrosomonas marina* (NCBI 登录号为 HM345622)的相似程度为 79.48%~79.56%;簇 4 中的 4 个 OTUs 形成了一个新的分支;簇 5 中的 3 个 OTUs 形成另外一个新的分支;簇 6 中的 5 个 OTUs 之间的相似程度为 91.63%~98.77%,与可培养的 *Nitrosomonas multiformis* (NCBI 登录号为 AY177933)

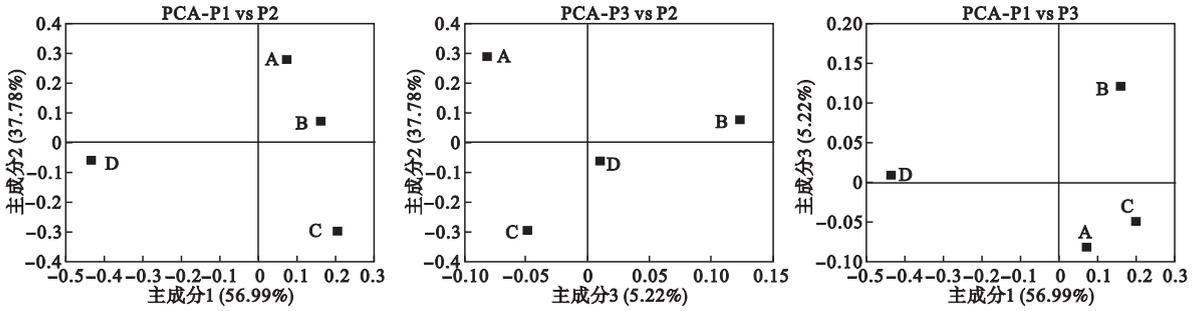


图 2 氨氧化细菌群落的 PCA 分析  
Fig. 2 PCA analysis of ammonia-oxidizing bacterial communities

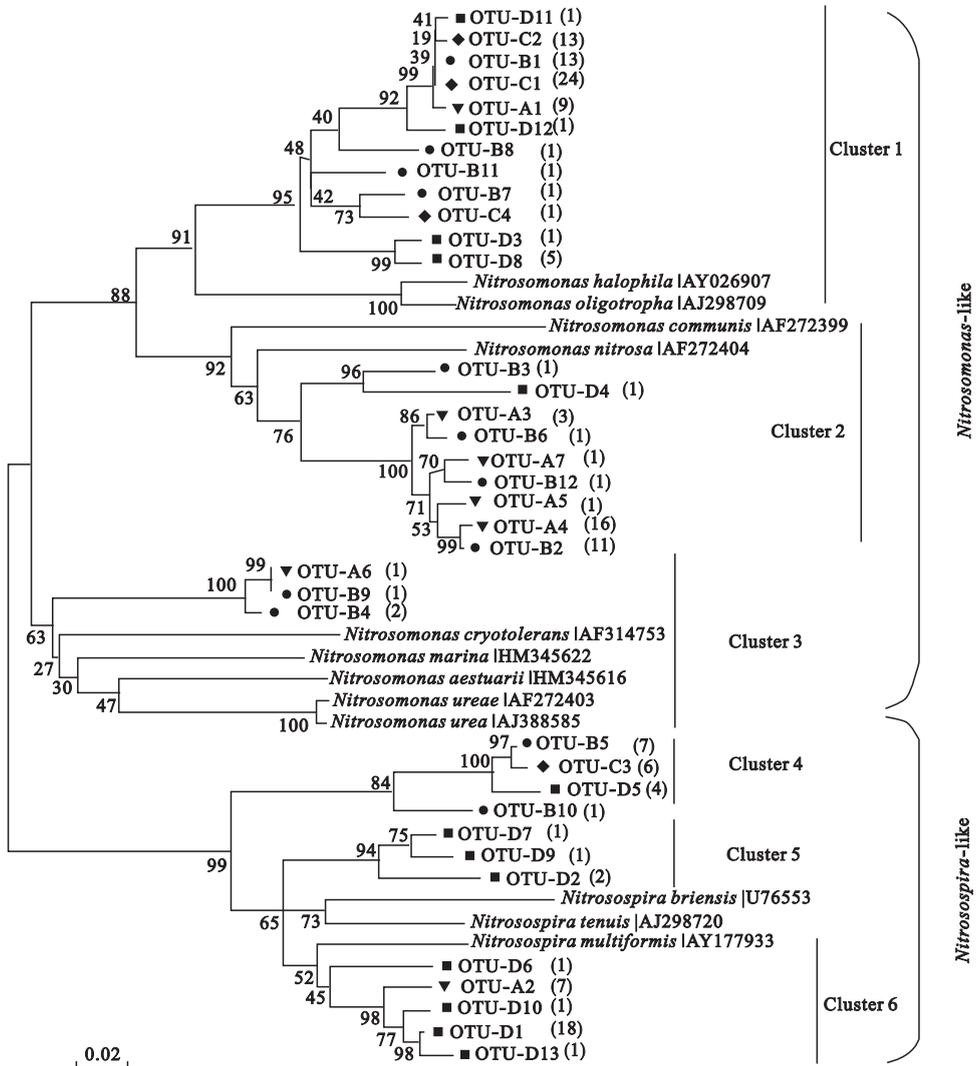


图 3 基于氨氧化细菌 *amoA* 基因序列构建的系统发育树  
Fig. 3 Phylogenetic tree based on *amoA* partial sequences conducted using MEGA version 4. 0  
括号内的数字表示每个 OTU 的克隆安息。

的相似程度为 88.58% ~ 90.86%。

文库 A 的优势物种 OTU-A1、文库 B 的优势物种 OTU-B1 和文库 C 的优势物种 OTU-C1、OTU-C2

聚为 1 簇, 与 *Nitrosomonas*-like 的序列相似; 文库 D 的优势物种与其他 3 个文库的优势物种明显不同, 主要聚集在与 *Nitrospira*-like 序列相似的簇中。



*al.*, 2008; Tourna *et al.*, 2008)。催化氨氧化为亚硝酸盐主要是由 Crenarchaeota 中的 Group 1. 1a 和 Group 1. 1b 完成的, 现在已知 Group 1. 1a 和 Group 1. 1b 是一个独立的进化分支, 被称为 Thaumarchaeota (Bouskill *et al.*, 2012)。在海洋环境中, AOA 通常是优势类群, 在氨氧化过程中起主要作用, 大约负责了 70% 的氨氧化过程 (Lam *et al.*, 2007)。一些研究表明, AOA 是陆地生态系统主要的氨氧化菌 (Wuchter *et al.*, 2006; Tourna *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010), 而另一些研究结果则表明, AOB 是主要的氨氧化菌 (Di *et al.*, 2009; Jia & Conrad, 2009)。最近对 *Nitrosopumilus maritimus* 的生理学实验表明, AOA 相对于 AOB 拥有较高的基质亲和力 (Martens-Habbena *et al.*, 2009), 这个特征使 AOA 在营养贫瘠的环境中胜过 AOB, 以至 AOA 在基质浓度比较低的海洋环境中占优势 (Wuchter *et al.*, 2006)。对氨亲和力的差异可能导致 AOB 与 AOA 生长速率不同, 进而产生生境分异 (Verhamme *et al.*, 2011)。不同生境的研究表明, AOB 存在空间异质性, 主要与不同的因子有关, 包括盐度、温度、营养物质、植物组成、土壤水分和 pH (Lage *et al.*, 2010)。田间试验表明, pH 和氮的可利用性直接影响 AOB 的组成或丰度 (Webster *et al.*, 2002; Backman *et al.*, 2003)。如实验室微宇宙试验中, 温度、土壤水分和氨的浓度共同作用来改变 AOB 的组成 (Avrahami & Bohannan, 2009)。在田间试验中, 硝酸盐和 CO<sub>2</sub> 的积累改变了加利福尼亚草原土壤中 AOB 组成和丰度, 这些影响主要依赖于温度和降雨 (Horz *et al.*, 2000)。土壤 pH 主要影响基质的化学形式、浓度以及可利用性, 也影响细胞的生长和活性。在低 pH 条件下, 氨氧化菌的生长和活性降低, 通常可被接受的解释是由于 pH 降低导致氮的可利用性降低, 通过离子化形成铵根离子, 降低了氮的扩散, 增加了铵根离子转运时能量的需求 (Nicol *et al.*, 2008)。

### 3.2 氨氧化细菌空间异质性成因

农田退水、工业废水和生活污水排入乌梁素海已经造成富营养化加剧 (孙惠民等, 2006a)。含氮化合物的不断积累造成乌梁素海氮的生物地球化学循环的改变, 也深刻地影响着参与这些过程的重要功能微生物类群的结构、丰度以及多样性。理解不同微生物如何去适应环境以及环境是如何选择不同微生物仍然是微生物生态学关注的核心问题 (Ke &

Lu, 2011)。本文采用克隆文库技术, 构建了乌梁素海沉积物及其土壤过渡带等 4 个文库, 共获得有效序列 161 条, 描述了氨氧化细菌的群落结构组成以及在向着芦苇沼泽→碱蓬盐化草甸→白刺荒漠演化方向上的 AOB 群落结构的异同。在这个湖泊陆向演化方向上, 水分在逐渐减少, 植被类型明显不同, 从乌梁素海主湖区的沉积物 (主要植被芦苇) 到荒漠化土壤 (主要植被白刺), AOB 的群落结构也存在明显差异, 优势物种主要由 *Nitrosomonas*-like 相似物种向着 *Nitrosospira*-like 相似的物种在演化, 161 条序列主要分布在 *Nitrosomonas oligotropha* (Cluster 1)、*Nitrosomonas communis* (Cluster 2)、*Nitrosomonas cryotolerans* (Cluster 3) 和 *Nitrosospira* 等 4 个 AOB 的进化分支中。乌梁素海主湖区沉积物 AOB 群落主要分布在 *Nitrosomonas communis* (Cluster 2) 进化分支中, 而荒漠化土壤中 AOB 群落主要分布于 *Nitrosospira* 进化分支中。环境因子对 AOB 群落结构的影响分析表明, AOB 群落结构随着演化梯度发生明显变化的主要驱动力是总氮和水溶盐总量这两个环境因子综合作用的结果。有研究表明, 盐度是 AOB 群落生境分异的一个重要驱动因子 (Coci *et al.*, 2005), 伴随着盐度梯度 AOB 的丰度和群落组成存在明显的不同, 这种不同体现在群落功能的差异上, 硝化速率通常在中等盐度条件下最高, 在较高或较低的盐度条件下, 硝化速率受到抑制 (Bernhard *et al.*, 2007)。在 AOB 的进化分支中, *Nitrosomonas oligotropha* (Cluster 1) 与 *Nitrosomonas halophila* 聚为一类, 且 bootstrap 值为 100, 说明这一进化分支中的 AOB 是潜在的嗜盐类群, 有可能是高盐环境中对氨氧化细菌的一种选择结果。微生物在湿地生物地球化学循环中起着重要的作用, 能对环境扰动做出快速响应, 可作为潜在的湿地评估与管理的微生物学指标。例如, AOA/AOB 的比值可以作为湿地营养状况的一个微生物学指标 (Sims *et al.*, 2013)。其他研究表明, *Nitrosomonas oligotropha* 进化分支有可能成为潜在的指示环境污染的生物学指标 (Dang *et al.*, 2010)。因此, 通过调查富营养化湖泊中氨氧化细菌的群落结构组成有助于为湿地环境的健康评价和功能分析提供基础数据。

## 4 结论

富营养化湖泊湿地水陆过渡带的芦苇沼泽沉积物、碱蓬盐碱化土壤和白刺荒漠化土壤中, 氨氧化细

菌群落结构组成相似性逐渐降低; 优势种群发生明显变化, 氨氧化细菌从与 *Nitrosomonas*-like 序列相似为主要优势类群向与 *Nitrospira*-like 序列相似为主要优势类群转变。氨氧化细菌多样性与优势种群在湿地水陆过渡带发生明显变化的主要驱动因子为总氮和水溶盐总量。

#### 参考文献

- 孙惠民, 何江, 高兴东, 等. 2006a. 乌梁素海沉积物中全磷的分布特征. *沉积学报*, **24**(4): 579–584.
- 孙惠民, 何江, 吕昌伟, 等. 2006b. 乌梁素海氮污染及其空间分布格局. *地理研究*, **25**(6): 1003–1012.
- 赵胜男, 李畅游, 史小红, 等. 2013. 乌梁素海沉积物重金属生物活性及环境污染评估. *生态环境学报*, **22**(3): 481–489.
- Avrahami S, Bohannon B. 2009. N<sub>2</sub>O emission rates in a California meadow soil are influenced by fertilizer level, soil moisture and the community structure of ammonia-oxidizing bacteria. *Global Change Biology*, **15**: 643–655.
- Backman JSK, Hermansson A, Tebbe CC, et al. 2003. Liming induces growth of a diverse flora of ammonia-oxidizing bacteria in acid spruce forest soil as determined by SSCP and DGGE. *Soil Biology and Biochemistry*, **35**: 1337–1347.
- Bai YH, Sun QH, Wen DH, et al. 2012. Abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in industrial and domestic wastewater treatment systems. *FEMS Microbiology Ecology*, **80**: 323–330.
- Beman JM, Popp BN, Francis CA. 2008. Molecular and biogeochemical evidence for ammonia oxidation by marine Crenarchaeota in the Gulf of California. *ISME Journal*, **2**: 429–441.
- Bernhard AE, Tucker J, Giblin AE, et al. 2007. Functionally distinct communities of ammonia-oxidizing bacteria along an estuarine salinity gradient. *Environmental Microbiology*, **9**: 1439–1447.
- Bouskill NJ, Eveillard D, Chien D, et al. 2012. Environmental factors determining ammonia-oxidizing organism distribution and diversity in marine environments. *Environmental Microbiology*, **14**: 714–729.
- Coci M, Riechmann D, Bodelier PLE, et al. 2005. Effect of salinity on temporal and spatial dynamics of ammonia-oxidizing bacteria from intertidal freshwater sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, **53**: 359–368.
- Dang H, Li J, Chen R, et al. 2010. Diversity, abundance, and spatial distribution of sediment ammonia-oxidizing betaproteobacteria in response to environmental gradients and coastal eutrophication in Jiaozhou Bay, China. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**: 4691–4702.
- Di HJ, Cameron KC, Shen JP, et al. 2009. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen rich grassland soils. *Nature Geoscience*, **2**: 621–624.
- Francis CA, Roberts KJ, Beman JM, et al. 2005. Ubiquity and

- diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**: 14683–14688.
- Grommen R, Dauw L, Verstraete W. 2005. Elevated salinity selects for a less diverse ammonia-oxidizing population in aquarium biofilters. *FEMS Microbiology Ecology*, **52**: 1–11.
- Hatzenpichler R, Lebedeva EV, Spieck E, et al. 2008. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**: 2134–2139.
- Horz HP, Rothauwe JH, Lukow T, et al. 2000. Identification of major subgroups of ammonia-oxidizing bacteria in environmental samples by T-RFLP analysis of amoA PCR products. *Journal of Microbiological Methods*, **39**: 197–204.
- Jia ZJ, Conrad R. 2009. Bacteria rather than archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, **11**: 1658–1671.
- Ke XB, Lu YH. 2012. Adaptation of ammonia-oxidizing microorganisms to environment shift of paddy field soil. *FEMS Microbiology Ecology*, **80**: 87–97.
- Konneke M, Bernhard AE, De la Torre JR, et al. 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, **437**: 543–546.
- Koops HP, Bottcher B, Moller UC, et al. 1990. Description of a new species of *Nitrosococcus*. *Archives of Microbiology*, **154**: 244–248.
- Koops HP, Moller UC. 1992. The lithotrophic ammoniaoxidizing bacteria// Balows A, Truper HG, Dworkin M, eds. *The Prokaryotes*. New York: Springer; 2625–2637.
- Koops HP, Pommering-Roser A. 2001. Distribution and eco-physiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology*, **37**: 1–9.
- Kowalchuk GA, Stephen JR. 2001. Ammonia-oxidizing bacteria; A model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology*, **55**: 485–529.
- Laanbroek HJ, Speksnijder AGCL. 2008. Niche separation of ammonia-oxidizing bacteria across a tidal freshwater marsh. *Environmental Microbiology*, **10**: 3017–3025.
- Lage MD, Reed HE, Weihe C, et al. 2010. Nitrogen and phosphorus enrichment alter the composition of ammonia-oxidizing bacteria in salt marsh sediments. *ISME Journal*, **4**: 933–944.
- Lam P, Jensen MM, Lavik G, et al. 2007. Linking crenarchaeal and bacterial nitrification to anammox in the Black Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**: 7104–7109.
- Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. 2006. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, **442**: 806–809.
- Li J Y, Li B, Zhou Y, et al. 2011. A rapid DNA extraction method for PCR amplification from wetland soils. *Letters in Applied Microbiology*, **52**: 626–633.

- Limpiyakorn T, Kurisu F, Sakamoto Y, *et al.* 2007. Effects of ammonium and nitrite on communities and populations of ammonia-oxidizing bacteria in laboratory-scale continuous-flow reactors. *FEMS Microbiology Ecology*, **60**: 501–512.
- Limpiyakorn T, Shinohara Y, Kurisu F, *et al.* 2005. Communities of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of various sewage treatment plants in Tokyo. *FEMS Microbiology Ecology*, **54**: 205–217.
- Martens-Habbena W, Berube P, Urakawa H, *et al.* 2009. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying archaea and bacteria. *Nature*, **461**: 976–979.
- MGutknecht JL, Goodman RM, Balsler TC. 2006. Linking soil process and microbial ecology in freshwater wetland ecosystems. *Plant and Soil*, **289**: 17–34.
- Nicol GW, Leininger S, Schleper C, *et al.* 2008. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environmental Microbiology*, **10**: 2966–2978.
- Park HD, Wells GF, Bae H, *et al.* 2006. Occurrence of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment plant bioreactors. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 5643–5647.
- Purkhold U, Wagner M, Timmermann G, *et al.* 2003. 16S rRNA and amoA-based phylogeny of 12 novel betaproteobacterial ammonia-oxidizing isolates: Extension of the dataset and proposal of a new lineage within the nitrosomonads. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **53**: 1485–1494.
- Santoro AE, Francis CA, De Sieyes NR, *et al.* 2008. Shifts in the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across physicochemical gradients in a subterranean estuary. *Environmental Microbiology*, **10**: 1068–1079.
- Satoh H, Nakamura Y, Okabe S. 2007. Influences of infaunal burrows on the community structure and activity of ammonia-oxidizing bacteria in intertidal sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**: 1341–1348.
- Schloss PD, Handelsman J. 2005. Introducing DOTUR, a computer program for defining operational taxonomic units and estimating species richness. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**: 1501–1506.
- Sims A, Zhang Y, Gajaraj S, *et al.* 2013. Toward the development of microbial indicators for wetland assessment. *Water Research*, **47**: 1711–1725.
- Tourna M, Freitag TE, Nicol GW, *et al.* 2008. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environmental Microbiology*, **10**: 1357–1364.
- Verhamme DT, Prosser JI, Nicol GW. 2011. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms. *ISME Journal*, **5**: 1067–1071.
- Ward BB, O' Mullan GD. 2002. Worldwide distribution of *Nitrosococcus oceanus*, a marine ammonia-oxidizing gamma-proteobacterium, detected by PCR and sequencing of 16S rRNA and amoA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**: 4153–4157.
- Webster G, Embley TM, Prosser JI. 2002. Grassland management regimens reduce small-scale heterogeneity and species diversity of beta-proteobacterial ammonia oxidizer populations. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**: 20–30.
- Wuchter C, Abbas B, Coolen MJL, *et al.* 2006. Archaeal nitrification in the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 12317–12322.
- You J, Das A, Dolan EM, *et al.* 2009. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. *Water Research*, **43**: 1801–1809.
- Zhang LM, Offre PR, He JZ, *et al.* 2010. Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**: 17240–17245.

---

作者简介 李靖宇,男,1986年生,博士研究生,主要研究方向为环境微生物学。E-mail: lijingyu1986@126.com  
责任编辑 魏中青

---