

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 21720061152268

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

珠江口淇澳岛海岸带沉积物样品参与甲烷  
循环和氮循环相关微生物的群落结构及其  
它们与环境相互关系的研究

Study of microbial community structure involved in  
methane and nitrogen cycles and relationship between  
microbes and environment along sediment core from Qi'ao  
Island of Pearl River Estuary

作者姓名: 郑燕平

指导教师: 肖湘 研究员

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2009 年 4 月 日

论文答辩时间: 2009 年 月 日

学位授予日期: 2009 年 月 日

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2009 年 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

# 目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
前言.....	1
1 珠江口概况 <sup>[1]</sup> .....	1
2 微生物多样性与环境相互关系研究.....	3
3 海洋微生物.....	5
3.1 海洋微生物研究进展.....	5
3.2 微生物在海洋生物地化循环中的作用.....	8
4 微生物分子生态学研究的主要方法.....	12
4.1 环境样品中核酸的直接抽提.....	13
4.2 基于 PCR 技术的研究方法分析微生物群落结构.....	13
4.3 微生物定量技术.....	16
4.4 生物标志化合物和同位素示踪法.....	17
4.5 宏基因组工程.....	18
4.6 环境基因组芯片.....	19
5 本论文的思路, 目的和意义.....	19
第一部分: 珠江口淇澳岛海岸带沉积物甲烷代谢及硫酸盐还原相关微生物群落分析及与环境的相互关系研究.....	21
1 材料与方法.....	22
1.1 材料.....	22
1.2 基本方法.....	25
2 结果与讨论.....	31
2.1 珠江口淇澳岛海岸带沉积物甲烷, 硫酸盐含量垂直分布情况.....	31
2.2 珠江口淇澳岛海岸带沉积物甲烷产生与甲烷氧化相关微生物多样性和垂直分布情况.....	32
2.3 基于 <i>mcrA</i> 对珠江口淇澳岛海岸带沉积物甲烷产生菌多样性的分析.....	37
2.4 珠江口淇澳岛海岸带沉积物硫酸盐还原菌多样性和分布情况.....	40
2.5 Q-PCR 检测 <i>mcrA</i> 和 <i>dsrAB</i> 基因在珠江口淇澳岛海岸带沉积物不同深度的含量.....	43

2.6 甲烷产生菌富集培养.....	44
<b>3 小结 .....</b>	<b>47</b>
3.1 珠江口淇澳岛海岸带沉积物甲烷产生与甲烷氧化，硫酸盐还原相关微生物群落结构分析及其它它们与环境相互关系的探讨.....	47
3.2 微生物多样性分析方法探讨.....	49
<b>第二部分：珠江口淇澳岛海岸带沉积物氨氧化微生物群落分析及与环境的相互关系研究 .....</b>	<b>51</b>
<b>1 材料与方法 .....</b>	<b>52</b>
1.1 材料.....	52
1.2 基本方法.....	56
<b>2 结果与分析 .....</b>	<b>59</b>
2.1 珠江口淇澳岛海岸带沉积物的化学参数测定结果.....	59
2.2 珠江口淇澳岛海岸带沉积物的古菌和细菌 <i>amoA</i> 定量与多样性分析.....	60
<b>3 讨论 .....</b>	<b>67</b>
<b>总结与展望 .....</b>	<b>70</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>71</b>
<b>附录.....</b>	<b>79</b>
<b>致谢.....</b>	<b>80</b>

## Contents

<b>Chinese abstract.....</b>	<b>I</b>
<b>English abstract.....</b>	<b>III</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1 Overview of Pearl Estuary.....</b>	<b>1</b>
<b>2 The research on relationship between microbial diversity and environment.....</b>	<b>3</b>
<b>3 Marine microbes .....</b>	<b>5</b>
3.1 The development of marine microbiology.....	5
3.2 The role of microbes in the marine biogeochemistry cycle.....	8
<b>4 The main approaches of microbial molecular ecology.....</b>	<b>12</b>
4.1 Extraction of nucleic acid from environmental sample .....	13
4.2 PCR amplification-based microbial community analysis .....	13
4.3 Quantification methods.....	16
4.4 Biomarker and isotope tracer technique .....	17
4.5 Metagenomic.....	18
4.6 Environmental genomic chip .....	19
<b>5 The idea, goal and significance of this research.....</b>	<b>19</b>
<b>Chapter I: Study on the community structure of methanogen and sulfate-reducing microbes and relationship between microbes and environment in the sediment from Qi'ao Island.....</b>	<b>21</b>
<b>1 Material and methods.....</b>	<b>22</b>
1.1 Material.....	22
1.2 Main methods.....	25
<b>2 Results and discussion .....</b>	<b>31</b>
2.1 The vertical distribution of sulfate and methane along Qi'ao island sediment core .....	31

2.2 Diversity and vertical distribution of methanogen and methotroph along Qi'ao island sediment core.....	32
2.3 The diversity of methanogen in Pearl River sediment (based on <i>mcrA</i> ).37	
2.4 The diversity and distribution of sulfate-reducing bacteria in Pearl River sediment .....	40
2.5 Quantification of <i>mcrA</i> and <i>dsrAB</i> gene by Q-PCR methods.....	43
2.6 Enrichment and cultivation of methanogen .....	44
<b>3 Summary.....</b>	<b>47</b>
3.1 Study on the community structure of methanogen and sulfate-reducing microbes and relationship between microbes and environment in the sediment core from Qi'ao Island .....	47
3.2 Discussion about different methods on microbial diversity .....	49
<b>Chapter 2 Community structure of ammonia-oxidizing microbes and relationship between microbes and environment in the sediment core from Qi'ao Island. . . . .</b>	<b>51</b>
<b>1 material and method.....</b>	<b>52</b>
1.1 material .....	52
1.2 main method.....	56
<b>2 results and discussion .....</b>	<b>59</b>
2.1 biogeochemical characteristics of the sediment samples.....	59
2.2 The abundance and diversity of archaeal and bacterial <i>amoA</i> gene .....	60
<b>3 discussion .....</b>	<b>67</b>
<b>Summary and prospect .....</b>	<b>70</b>
<b>References.....</b>	<b>71</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>79</b>
<b>Acknowledgement.....</b>	<b>80</b>

## 摘要

淇澳岛位于珠江口伶仃洋,是珠江出海口的第一道大门,珠江口淇澳岛附近水域位于陆海交汇处,沉积物富含有机质,为微生物提供了充足的碳氮源。本文对采集自珠江口淇澳岛海岸带沉积物样品进行了分子生态学调查及微生物培养,研究了样品中参与碳循环,氮循环及硫循环过程中微生物的多样性及群落结构并对它们与环境的关系进行了分析。

对采集自珠江口淇澳岛海岸带沉积物样品,通过构建环境样品的甲烷产生及甲烷氧化相关微生物 16SrRNA 克隆文库,16SrRNA 序列测定、系统发育分析以及采用 T-RFLP 分析的方法,调查了珠江口淇澳岛海岸带沉积物参与甲烷循环的微生物群落结构及垂直分布情况。沉积物样品中甲烷产生及甲烷氧化相关微生物主要有三大类: *Methanosarcinales*/ANME, *Methanomicrobiales* 和 *Methanosaeta*, 其中 *Methanosarcinales*/ANME 类群的克隆子占优势为 42%, *Methanomicrobiales* 类群的为 32%, *Methanosaeta* 类群克隆子所占比例为 19%。甲烷产生及甲烷氧化相关微生物 16SrRNA 克隆文库和甲基辅酶 M 还原酶 (*mcrA*) 克隆文库的多样性分析均暗示了 ANME-2 类群在低甲烷渗漏珠江口淇澳岛海岸带沉积物厌氧甲烷氧化中的重要作用;该沉积物甲烷产生菌主要是利用  $\text{CO}_2/\text{H}_2$ 。T-RFLP 的分析结果表明,随着深度的变化,菌群结构发生了变化:上层沉积物  $\text{CO}_2/\text{H}_2$  利用型的甲烷产生菌占优势,中层醋酸利用型的甲烷产生菌占优势,下层甲基利用型的甲烷产生菌和参与厌氧甲烷氧化菌占优势。

采用硫酸盐还原菌特异的异化型亚硫酸盐还原酶 (dissimilatory sulfite reductase, *dsr*) 保守基因检测硫酸盐还原微生物群落结构,结果没有发现与 ANME 类群相偶联的 *Desulfosarcina*, *Desulfococcus* 和 *Desulfobulbus* 序列。我们推测该沉积物中厌氧甲烷氧化作用并非是已知的甲烷氧化微生物和硫酸盐还原菌相偶联作用的结果。*Desulfobacteraceae* 和 *Syntrophaceae* 这两个类群的克隆子只存在于 SMTZ,分别占 SMTZ 克隆子的 16.3%和 26.5%,并且占了沉积物总克隆子数的 42.8%,我们推测 *deltaproteobacterial* 类群的微生物在珠江口地区厌氧甲烷氧化及有机物降解中起着重要作用。

采用 Q-PCR 方法对 *mcrA* 和 *dsrA* 基因的定量结果显示它们的变化趋势与沉积物柱的地化参数-硫酸盐和甲烷浓度变化特征是相关的。



基于氨氧化酶功能的基因，我们采用实时定量 PCR，克隆和测序等分子生物学手段调查了珠江口淇澳岛海岸带两个位点沉积物氨氧化菌的数量和组成。定量结果表明珠江口淇澳岛海岸带沉积物中氨氧化古菌在数量上占优势，这为氨氧化古菌在河口沉积物的数量在氨氧化微生物中占据优势提供了另一个证据。对于 7 号位点我们在分子水平上进行了组成分析，氨氧化细菌主要是亚硝化单胞菌属占主导，在表层和下层氨氧化古菌显示了相似的丰度但菌群结构明显不同。来自于表层 (0-4cm) 的序列中 52.2% 属于“water column/sediment”簇，47.8% 属于 soil/sediment”簇，而来自于下层 (16-30cm) 的序列大部分 (93.3%) 属于 soil/sediment”簇，只有 6.7% 属于“water column/sediment”簇。这些氨氧化微生物序列与来自于河口区的序列有着较高的相似性暗示了尽管存在着地理差异，但相似的河口环境可能有着相似的氨氧化微生物类群。而无氧区 *amoA* 的大量存在暗示了这些古菌可能在珠江口厌氧环境下发挥了其他重要作用。

参与碳循环，氮循环及硫循环的相关微生物文库的分析结果表明，这些克隆子序列多数与富含颗粒，厌氧环境相关，与多环芳烃，长链烷烃等有机物的降解有关，从一侧面反映了该地区环境污染现状。

除了对样品进行相关微生物的多样性分析，我们还通过富集甲烷产生菌试图得到微生物纯培养以进一步阐释它们与珠江口这一特殊环境的相互关系。

综上，本文对珠江口淇澳岛海岸带沉积物进行了微生物生态多样性研究及传统微生物培养，从生物学的角度探讨了微生物在珠江口地区碳氮硫的生物地球化学循环中的重要作用，弥补了目前对珠江口地区仅局限于地球化学方面的调查的不足，丰富了低甲烷渗漏区甲烷产生与氧化相关微生物及河口区氨氧化微生物的群落结构及丰度的认识。

关键词：珠江口淇澳岛，微生物多样性，富集培养，碳，氮，硫循环

## Abstract

Qi'ao Island, located in the Lingdingyang of Pearl River, is the first outlet of Pearl River freshwater flow to the South China Sea. The water surrounding Qi'ao Island connects the river and open sea. The sediment here are rich in organic matters, which provide abundant carbon and nitrogen sources for microbes. The sediment cores were investigated by molecular ecology approaches and methanogen were enriched. The diversity of microbes which involved in methane, nitrogen and sulfate metabolism and the relationship between microbes and environment were analyzed.

The community structure and depth distribution of microorganisms which involved in methane cycle in Pearl River Estuary sediment were analyzed by methanogen 16S rRNA clone library constructing, sequencing and T-RFLP approaches. The library was dominated by sequences related to *Methanosarcinales*/ANME groups (42%) followed by *Methanomicrobiales* (32%), *Methanosaeta* (19%). The analysis of methanogen 16S rRNA and *mcrA* clone libraries implied that ANME-2a was responsible for methane oxidation in the non-seep Pearl River estuarine sediment and the sediment was dominated by the CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> utilizing methanogens. T-RFLP results reflected that there were clear changes in populations with depth. In top layers, CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> utilizing *Methanomicrobiales* group was predominant; in middle layers, the acetate utilizing *Methanosaeta* group was predominant; in bottom layers, the *Methanosarcinales*/ANME group was predominant. Based on *dsrAB* genes, we investigated the composition of sulfate-reducing microorganisms in Pearl River Estuary. *Desulfosarcina*, *Desulfococcus* and *Desulfobulbus* sequences that associated with ANME were not detected in this survey. We suggested that AOM was conducted by ANME associating with some unknown sulfate-reducing bacteria (SRB). Syntrophaceae and Desulfobacteraceae were only detected in SMTZ, occupying by 16.3% and 26.5%, respectively. They occupied 42.8% of total clones. It is likely that deltaproteobacterial species play an important part in anaerobic oxidation of methane and mineralization of organic matters in the Pearl River Estuary.

We used Q-PCR to quantify the abundance of the *mcrA* and *dsrA* genes. The resulting depth profiles were correlated with those of porewater sulfate and methane.

Using *amoA* genes as a functional marker, we investigated the abundance and composition of ammonia-oxidizing organisms in Pearl River Estuary by using quantitative polymerase chain reaction, cloning and sequencing approaches. The quantification results showed that ammonia-oxidizing archaea were more abundant than ammonia-oxidizing bacteria, which may represent an evidence for numerical dominance of AOA in estuarine sediments, as well. In site 7, bacterial *amoA* library was dominated by *Nitrosomonas*-like sequences types. AOA diversity analysis of the top and bottom layers showed significant variation in community composition. The sequences from top layer (0-4 cm) fell into two groups: 52.2% of clones fell into the "water column/sediment" cluster and 47.8% of clones fell into the "soil/sediment" cluster while most of sequences (93.3%) from bottom layer (16-30 cm) mainly fell into "soil/sediment" group and only two clones (6.7%) fell into "water column/sediment" group. The high sequence similarity to estuaries indicated that similar AOA communities might exist in similar estuaries environment, despite the geographical distance. The numerical dominance of *amoA* in anaerobic zone implied that some specific roles these archaea took part in.

The diversity of microbes which involved in methane, ammonia and sulfate metabolism showed that these sequences were closely related to environmental clones from rich-particles, anaerobic environments and clones involved in mineralization of organic matters. These results reflected that Zhujiang estuary was likely polluted in aspect of microbial ecology.

We also tried to enrich methanogen to look into the relationship between microbes and Pearl River Estuary environment.

In brief, the molecular ecology investigation and methanogen enrichment from the sediment samples of Qi'ao Island (Pearl River Estuary), southern China, uncovered the microbes' important roles in C, N, S cycles in this area from the biological aspect. These study filled up the deficiency on Pearl River Estuary researches, which were only limited to geochemistry. It is also a supplement to the knowledge of the

composition and abundance of microbes what involve in methangogenesis and methane oxidation in non-seep environment and ammonia oxidation in estuarine.

Key words: Pearl River Estuary, microbial diversity, enrichment, carbon cycle , nitrogen cycle, sulfur cycle

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 前言

### 1 珠江口概况<sup>[1]</sup>

海岸带生态系统是海陆交接、过渡地带各自然要素之间以及与人类之间相互作用、相互制约所构成的物质转化和能量流动的统一整体，进入 21 世纪，快速的经济发展和城市化进程给海岸带带来了巨大的环境压力，海岸带地区成为生态环境脆弱带。在这种形势下，加强海岸带生态系统的研究，深入认识海岸带生物有机体之间的关系和海岸带生态群落的物理特征、生物化学过程、自然现象以及人类活动，实现保护海岸带生态环境和海岸带资源的可持续利用显得尤为重要。

珠江全长约 2214km，流域面积为 450000km<sup>2</sup>，处于亚热带季风区，夏季长冬季短。珠江是由西江、北江、东江及珠江三角洲诸河组成的水系，主要支流西江发源于云贵高原岩溶山地。珠江三角洲为冲积平原，总面积 26800km<sup>2</sup>，地势平坦，河汊密集，相互贯通，构成一个网状水系，把西江、北江、东江的下游纳于一体，最后在出海处形成八大口门，分别汇入伶仃洋、磨刀门和崖门。其中虎门、蕉门、洪奇门和横门进入伶仃洋，磨刀门和鸡啼门进入磨刀门，崖门和虎跳门进入黄茅海。

珠江口位于广东省海岸线的中部，气候属南亚热带季风气候类型范围约在 113°00'-114°00' E，和 22°45'-21°50' N 之间，东起香港，西至上川岛，北起珠江各分流河口，南至大濠岛和上川岛一线，总面积约 2600km<sup>2</sup>。珠江口年平均气温 22.0°C，1-2 月份是全年最低气温，平均气温 14.7°C。最高气温是 7-8 月份，平均气温 28.4°C。珠江口全年平均雨量 1975 mm，干湿季明显，6 月降雨量最大，约 385 mm；12 月份降雨量最小，约 29 mm。

珠江地处亚热带，同时由于受沿岸流和南海暖流直接影响，因此具有高温、雨量充足的特点，这也使珠江不仅成为中国第三大河流，其径流量也位居世界河流的第 13 位。珠江口多年平均出海径流总量约  $3.26 \times 10^{11} \text{ m}^3 \text{ yr}^{-1}$ ，其中经虎门、蕉门、洪奇门和横门进入伶仃洋，平均径流量  $1.79 \times 10^{11} \text{ m}^3 \text{ yr}^{-1}$ ，经磨刀门和鸡啼门进入磨刀门，平均径流为  $1.07 \times 10^{11} \text{ m}^3 \text{ yr}^{-1}$ ，经崖门和虎跳门进入黄茅海，平均径流为  $3.81 \times 10^{10} \text{ m}^3 \text{ yr}^{-1}$ 。珠江径流年际变化不大，但径流年内分配不均，其中约有 80%分布在每年 4-9 月的雨季，10 月到翌年 3 月的枯水季占 20%。由于径流的输送，珠江年输沙量达  $8 \times 10^7 \text{ t}$ ，其中约 20%沉积在河口三角洲内，80%淤

积在口门外海域。珠江河口的最大混浊带集中分布在珠江 8 个口门的浅滩。最大混浊带向海一侧，再悬浮作用占明显优势。悬浮泥沙高值中心位于河道口门，最大混浊带经常出现在横门断面至虎门之间。

珠江河口各种自然资源丰富，为区域经济发展提供了良好的资源环境。区域水网密布，航运发达；滩涂资源丰富，310m 水深以下的浅滩面积 760km<sup>2</sup>，可作为深水口岸开发利用的岸线总长 100km 以上；河口多样化的地貌及水环境条件为生物提供了多样化栖息地；河口栖息着国家一级保护动物白鳍豚；近岸海域是虾贝类的主要生产基地。河口湿地资源十分丰富，类型多样，是我国近海及海岸湿地类型最丰富、面积最大的地区，湿地面积约 18641.01km<sup>2</sup>，国家规定属于近海与海岸湿地的 12 种湿地类型在此均有分布，其中的红树林沼泽地是国家级保护区，面积 18.99 km<sup>2</sup>。红树林具有极发达的根系及良好的泌盐功能，非常适合海滩涂的绿化。它能调节海洋气候，净化海水，减弱、阻挡风浪对海岸的冲击，是沿海的一道绿色屏障，并能为各类禽鸟和水生动物提供良好的生长和栖息环境。

珠江三角洲是世界上开发程度最高的区域之一，周围分布有香港、澳门、深圳、珠海等人口密集的城市。极高的人口密度，快速的工业化、城市化对周围环境造成了显著的水污染。有机污染物来源既有工业废水，也有生活污水。除点源污染之外，珠江流域农业面源污染和水土流失也增加了水中有机污染物浓度，每逢汛期，投放于农田果木的化肥农药被雨水冲入江河，河水的有机污染往往比枯季还要严重<sup>[2]</sup>。2004 年，由农业生产排出的化肥、农药污染物入海量为 2481800t，重金属 8655t，无机氮 65637t，石油类 5985t，导致伶仃洋绝大部分海水的综合污染指数达“严重污染级”水平。珠江口范围在 21.5-23°N，112.5-114.5°E 之间的水域已经呈现严重的富营养化，氮盐（包括 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>），磷酸盐，硅酸盐含量分别为 60-100 mM，0.5-1.0μM，100-150μM。海上交通运输、港口业的发展，船舶骤增，随之而来的船舶污染问题，船舶的意外碰撞，溢油事故发生的风险越来越大。陆海排污日益加剧，对珠江口海域造成较大的环境压力，致使珠江口海域环境质量逐年退化，水质营养盐和有机污染呈快速上升趋势。20 世纪 90 年代以前珠江口水质以重金属污染为主，而进入 90 年代后珠江口水质基本以营养盐污染为主。水质综合污染指数从 90 年代初的 0.90 上升至 2002 年的 1.53；水质污染等级由四类跃升到劣四类。国家海洋局南海环境监测中心 2003 年-2005 年进行

的珠江污染物入海通量监测结果表明,排入珠江口海域的主要污染物为 COD 和无机氮,其次是磷和石油类。海水质量大都为四类或劣四类,沉积物则普遍受到铅、锡、砷和铜的污染。由于珠江口海域富含大量氮、磷物质,造成海水富营养化,直接刺激鞭毛藻类和鞭毛原生类赤潮生物过度繁殖,遇上合适的水温等条件,造成了赤潮灾害的频发,导致局部水域生态系统受到破坏。环境质量的不断恶化也使不少珍稀濒危野生动植物生存受到严重威胁,如国家一类重点保护野生动物中华白海豚,现在已变得十分稀少;珠江三角洲沿岸的红树林面积逐年锐减,红树林滩涂面积仅存原有的 1/4,而且红树林的外貌和结构都变得简单,有些珍贵树种消失了,防潮护岸的功能也大为减弱,众多的湿地生态系统遭到人为破坏,生产力大幅下降。珠江口已成为生态脆弱带和赤潮多发敏感区,经济鱼、虾、蟹、贝类栖息、繁衍的场所锐减,珍稀动植物生存环境受到制约。

## 2 微生物多样性与环境相互关系研究

微生物是生态系统的重要组成部分,对生态系统的稳定和各元素循环等有重要的意义。各种环境因子,如土壤条件、温度、盐度、氧重金属胁迫、氨氮浓度等的变化都直接影响着环境中微生物的种群量、群落结构及其活性,从而影响着环境中元素循环。

### 土壤条件

土壤酸碱度对微生物数量影响显著,真菌在酸性土壤中多,细菌和放线菌在中性或碱性土壤中数量较多;研究发现,长期施用农肥的土壤表现较高的酶活性、微生物生物量和微生物活性<sup>[3]</sup>。有机肥,如家畜粪便、堆肥、活性污泥都能够提高微生物的活性<sup>[4,5]</sup>,提高 AOB 的多样性和氨氧化势<sup>[6]</sup>,施用堆肥的土壤中 AOB 数量比施用无机肥的土壤高两倍<sup>[7]</sup>;不同农药对土壤微生物的影响不同,可能对土壤微生物产生不同程度的抑制作用,也可能使土壤微生物多样性和生物量减少,还可能使土壤微生物群落结构和功能发生改变;不同的土地利用方式和耕作措施同样影响了土壤微生物数量与肥力。从多样性指数来看,粮作旱地>菜地>果园>荒地>水稻田>鱼塘底泥<sup>[8]</sup>。有研究报道:人参与紫穗槐轮作,土壤真菌、放线菌及细菌均有变化,而细菌种群类型变化最明显,随着轮作年限的增加,氨化细菌和硝化细菌的数量比对照高几倍,固氮菌的数量亦有所增加<sup>[9]</sup>。

### 温度

有研究认为温度可能直接或间接地影响 AOB 的群落结构,间接的影响是温

度通过对土壤中铵浓度、pH 和土壤湿度等的影响来影响 AOB 的群落结构。Avrahami 等认为,在保证土壤湿度、铵浓度和 pH 相对稳定的情况下,温度对 AOB 的直接影响表现为在中等温度(15-25℃)下其硝化活性最高<sup>[10]</sup>。Sundberg 等<sup>[7]</sup>应用 RCR-DGGE 研究发现,随着温度的升高,*amoA* 的指纹多样性与培养初期有所不同。一些条带随着温度的增加而增加,另一些则减少甚至消失。但是大部分的变化都发生在 *Nitrosospira* 的各个不同的类群之间。然而,随着由夏季到冬季温度的逐步降低,硝化势并没有明显降低,推测土壤中的硝化细菌群落能够适应温度的变化并且在低温下仍能够保持较高活性,即微生物对气候的代谢调节不受渐变的温度的影响<sup>[11]</sup>。

### 重金属

有研究测试了重金属污染对土壤微生物群落结构的影响,结果显示尾矿区微生物群落结构发生了相应变化,微生物群落代谢剖面及群落丰富度、多样性指数均显著低于非矿区土壤,表明尾矿区重金属污染引起了土壤微生物群落功能多样性的下降,减少了能利用有关碳源底物的微生物数量,降低了微生物对单一碳源底物的利用能力,最终导致土壤微生物群落功能结构多样性发生变化<sup>[12]</sup>。

### 盐度、氧及氨氮浓度

多数研究报道盐度对于湖泊底泥中 AOB 的群落结构和硝化势有显著的影响,高盐度环境下, AOB 的多样性明显减少,但是其数量明显增加<sup>[13, 14]</sup>。

对生物脱氮系统的研究结果指出 OLAND 生物脱氮系统中, AOB 随溶解氧的降低表现出了不同的种群变化规律, AOB 种群多样性受溶解氧的影响较大,在亚硝酸盐积累稳定时期的 AOB 优势种群与早期溶解氧受限制时不同,在氧受限制时 *Nitrosomonas* 是主要优势种属<sup>[15]</sup>。

Otawa 等对 13 个动物废水处理厂的 AOB 和全细菌的分析结果表明原水氨氮浓度低时 *N.ureae oligotropha marina* 类群是优势种群,原水氨氮浓度高时 *N.europaea eutropha* 类群是优势种群<sup>[16]</sup>。Lydmark 等人对污水处理系统中环境条件对硝化种群的影响机制的初步研究与 Ottawa 等人得到结论是比较一致的,结果表明氨氮是最重要的结构因素,氨氮的浓度与硝化微生物细胞有着紧密的联系<sup>[17]</sup>。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库