

王宁宁,薛冬梅,王义东,等.自然生态系统中厌氧氨氧化和反硝化耦合反应研究进展[J].环境科学研究,2018,31(4):616-627.

WANG Ningning, XUE Dongmei, WANG Yidong, et al. A review of anammox-denitrification coupling process in a natural ecosystem [J]. Research of Environmental Sciences, 2018, 31(4): 616-627.

自然生态系统中厌氧氨氧化和反硝化耦合反应研究进展

王宁宁¹, 薛冬梅^{1*}, 王义东¹, 王中良^{1,2}

1.天津师范大学,天津市水资源与水环境重点实验室,天津 300387

2.中国科学院地球化学研究所,环境地球化学国家重点实验室,贵州 贵阳 550002

摘要: 厌氧氨氧化和反硝化反应是氮循环系统的两个关键环节,它们对平衡整个生态系统氮的收支、改善水体氮的污染、减少温室气体的排放均具有重要意义。在阐述厌氧氨氧化和反硝化生物反应及微生物学机理的基础上,着重综述了二者在水生和陆地两个生态系统中的耦合反应:①探讨了厌氧氨氧化和反硝化反应在不同环境背景下发生的介质及 N_2 的产生速率和贡献比率,发现水生生态系统中厌氧氨氧化对 N_2 产生的贡献率相对陆地生态系统占有较大比重。②分析了调控厌氧氨氧化和反硝化反应的细菌群落和功能基因,反应系统占主导的微生物种类随环境发生变化,其中厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia* 作为主导细菌出现频率较高。③二者耦合过程中的影响因素包括环境因素与底物因素。其中,环境因素中厌氧氨氧化与反硝化耦合的最适 pH 为 6.7~8.3,且溶解氧含量过高时也会对耦合反应产生抑制作用;在底物环境中,有机物含量或 C/N 过高会促进反硝化作用,但同时也会抑制厌氧氨氧化的发生。建议以后能够加大对于厌氧氨氧化和反硝化耦合反应全球尺度的研究,特别是对于陆地生态系统,还应加深对厌氧氨氧化反应速率与反硝化反应速率之间关系的理论与应用研究;同时,在实际应用中,需要在确定厌氧氨氧化菌和反硝化菌最佳生长基础上,建立耦合体系理论预测数学模型,量化两类功能性微生物的耦合效果。

关键词: 厌氧氨氧化; 反硝化; 耦合; 水生生态系统; 陆生生态系统

中图分类号: X21; S181

文章编号: 1001-6929(2018)04-0616-12

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2018.02.01

A Review of Anammox-Denitrification Coupling Process in a Natural Ecosystem

WANG Ningning¹, XUE Dongmei^{1*}, WANG Yidong¹, WANG Zhongliang^{1,2}

1.Tianjin Key Laboratory of Water Resources and Environment, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

2.State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China

Abstract: The coupling process of anaerobic ammonia oxidation (anammox) and denitrification plays an important role in natural ecosystems. As a part of the nitrogen cycle, denitrification and anaerobic ammonia oxidation are critical for balance of nitrogen budget, nitrogen pollution improvement and greenhouse gas reduction. The review focuses on the key issues revolved in the coupling process of anammox and denitrification in both aquatic and terrestrial ecosystems, including (1) Reaction medium, rate and the contribution of N_2 in different environmental conditions and the interrelationship. It is found that the contribution of anaerobic ammonia oxidation to N_2 production in aquatic ecosystem is greater than that in terrestrial ecosystem. (2) Bacterial community and functional genes of anammox and denitrification that may alter their dominant roles in the changing environment, and *Candidatus brocadia* having its highest frequency of occurrence. (3) The influencing factors in the coupling process, in which the optimum pH of coupling of anammox and denitrification is 6.7-8.3 in environmental factors, and the coupling reaction will be inhibited when the content of dissolved oxygen is too high. In substrate environment, a great organic content or C/N can promote denitrification, while it inhibits anammox. More attention should be paid to the global scale of the coupling reaction of anammox and denitrification, especially in the terrestrial ecosystems, which is relatively limited to

收稿日期: 2017-07-31 修订日期: 2018-02-06

作者简介: 王宁宁(1993-),女,山东临沂人, wangningning1211@163.com.

* 责任作者 薛冬梅(1981-),女,山东济阳人,副研究员,博士,主要从事人类活动对地表水体以及近海河口等污染机理以及未来发展趋势研究, xuedongmeixdm@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(No.41203001); 天津市高等学校“创新团队培养计划”(No.TD12-5037); 天津市自然科学基金项目(No.15JCYBJC49200)

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.41203001); ‘Innovation team training Plan’ in Tianjin University, China (No.TD12-5037); Natural Science Foundation Project of Tianjin, China (No.15JCYBJC49200)

be studied at present. It should also deepen the response to the theoretical and practical study on relationships between the rates of anammox and denitrification. Moreover, in practice, on the basis of determining the optimum growth of anammox bacteria and denitrifying bacteria, and determining the optimum growth of anaerobic ammonia-oxidizing bacteria and denitrifying bacteria, a mathematical model of coupling system theory should be established to quantify the coupling effect of two kinds of functional microorganisms.

Keywords: anammox; denitrification; coupling; aquatic ecosystem; terrestrial ecosystem

随着无机氮污染现象日趋严重,氮的去除亦引起研究者的广泛关注,而如何快速且有效地去除氮成为了国内外研究的热点问题之一.自然界中能够有效去除无机氮产生 N_2 过程主要以反硝化作用和厌氧氨氧化为主.反硝化作用一般是指反硝化细菌在厌氧或缺氧的环境下,氧化有机物作为能量来源,以 NO_3^- 或 NO_2^- 为无氧呼吸的电子受体而实现无机氮去除的过程^[1].它是氮的生物地球化学循环中的一个关键环节,对生态系统中氮含量的平衡起着决定性的作用^[2].厌氧氨氧化是指在厌氧或缺氧条件下,厌氧氨氧化菌以 NO_2^- 为电子受体,直接将 NH_4^+ 氧化成 N_2 的过程,是氮循环过程的一个重要发现,且该过程被预测为一个比好氧氨氧化在热力学上更利于发生的过程^[3].该过程在自然环境中的发现与证实是氮循环研究的又一重要突破,打破了人们传统的认识,使经典的氮循环收支平衡被重新定义^[4].并且随着厌氧氨氧化细菌分子标记物和同位素示踪方法的开发,证实了厌氧氨氧化细菌在自然界广泛分布并在氮循环中起着重要作用^[5].

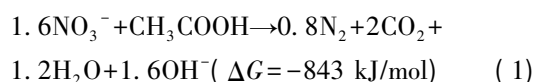
当反硝化反应中 NO_3^- 生成 NO_2^- 和 NO_2^- 生成 N_2O 这两步反应中有潜在的 NO_2^- 累积^[6],且反硝化菌不与厌氧氨氧化菌竞争 NO_2^- 时,厌氧氨氧化和反硝化作用即可发生耦合.系统中 NO_2^- 的累积与反硝化碳源、pH及反硝化菌种有关^[7].厌氧氨氧化反应一般以无机碳为碳源,有机物存在会导致厌氧氨氧化过程的抑制甚至功能菌的失活^[8].随着反硝化菌消耗有机物缓解对厌氧氨氧化菌的抑制^[9-10],同时厌氧氨氧化反应生成的 NO_3^- 为反硝化菌补充了反应底物,厌氧氨氧化菌能够与反硝化菌存在于同一环境中,可形成较好的共存系统.

厌氧氨氧化和反硝化耦合反应的发现对于建立完整的、新的氮循环过程具有重要意义.微生物功能基因的多路径耦合有助于实现完全的脱氮.因此,厌氧氨氧化与反硝化耦合可在一定程度上提高自然系统中氮的去除效率,对于自然系统中氮收支做出巨大贡献,同时也为解决固定氮源的污染以及温室效应等环境问题提供了新的思路.

1 厌氧氨氧化与反硝化耦合反应机理

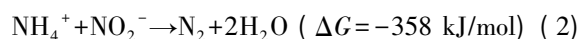
1.1 化学计量学理论

反硝化反应是指反硝化细菌在厌氧或缺氧条件下,以 NO_3^- 或 NO_2^- 为电子受体,释放出 N_2 的过程.绝大部分反硝化细菌是厌氧异养菌,以有机物为碳源和能量,进行无氧呼吸^[11],反应式^[11]为

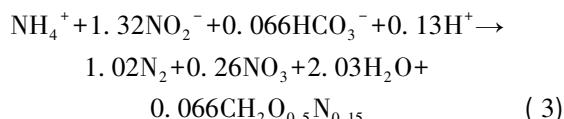


上述反应中,反硝化反应利用 NO_3^- 或 NO_2^- 生成 OH^- ,因此反应中会使得系统中pH升高.

厌氧氨氧化反应是厌氧氨氧化菌在厌氧条件下,利用 NO_2^- 为电子受体,将 NH_4^+ 直接转变成 N_2 排入大气中的过程^[12-13],反应式^[14]为



上述反应中 $\Delta G < 0$,说明该反应能够自发进行,厌氧氨氧化的总反应是一个产能反应,能够维持厌氧氨氧化菌的生长所需.总反应式^[15]:



从式(3)可以看出,厌氧氨氧化反应是以无机碳(CO_2)为碳源,反应中并不需要有机碳源,并会产生一定量的 NO_3^- ,由于反应中转化1 mol NH_4^+ ,需要消耗0.13 mol的 H^+ ,同样也会引起pH的升高.Mathava等^[16]通过对 ^{15}N 示踪发现,厌氧氨氧化产生的 N_2 中一个氮原子来源于 NO_2^- ,另一个来源于 NH_4^+ .

从厌氧氨氧化和反硝化的反应方程式来看,反硝化反应会消耗有机物并产生 CO_2 ,这为厌氧氨氧化反应消除了有机碳源的抑制作用,并提供了反应所需的无机碳源,并且反硝化反应在电子供体不足时,反应会将 NO_3^- 还原成 NO_2^- ,这就为厌氧氨氧化提供了反应所需的反应物 NO_2^- ^[16].从另一方面看,厌氧氨氧化反应生成的 NO_3^- 为反硝化反应提供了反应所需的反应物 NO_3^- .因此,二者的共存可以在一定程度上互补,以实现二者的耦合.已有不少研究^[17-21]发现,厌氧氨氧化菌与反硝化菌可以在同一系统内共存并协同脱氮除碳.但目前厌氧氨氧化与反硝化耦合后的计量学方程式尚鲜见报道.

另外,从式(1)(2)可以看出,反硝化和厌氧氨氧化反应过程会促使反应系统中的pH升高,进而可能会抑制微生物种群的活性,且二者反应过程中都有 NO_2^- 的消耗,因此对于反应底物的竞争也成为二者共存的限制因素.从反应的吉布斯自由能来看,当有机物存在时,由于反硝化反应具有更低的自由能,因此反硝化菌要比厌氧氨氧化菌更容易利用 NO_2^- .

1.2 微生物学机理

目前已明确命名的厌氧氨氧化菌共有5个属9个种.反硝化菌的种类很多,大约有50多个属,130多个种^[22].从表1可以看出,厌氧氨氧化菌与反硝化菌适宜的生长环境类似,生理特征相近.因此就这两类功能菌的生理特性而言,反硝化与厌氧氨氧化的耦合可实现.

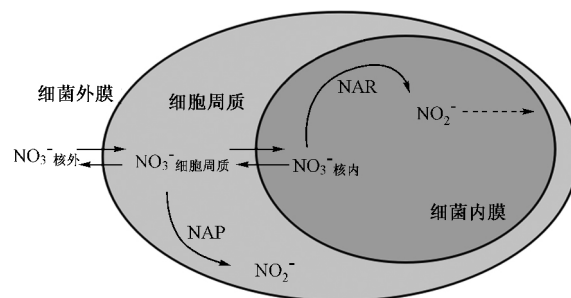
表1 厌氧氨氧化与主要的反硝化菌种类、生理特征及生存环境比较

Table 1 Comparison of physiological characteristics and survival environment of anammox and denitrifying bacteria

项目	厌氧氨氧化菌	反硝化菌
营养类型	自养菌 ^[23]	大部分是异养菌 ^[24]
呼吸方式	无氧呼吸	无氧呼吸 ^[25]
最佳生长pH范围	6.7~8.3 ^[26]	6~9 ^[16]
最佳生长温度范围/°C	20~43 ^[26]	20~35 ^[16]
反硝化菌种类	化布罗卡地菌(<i>Candidatus brocadia anammoxidans</i>) 待定荧光布罗卡地菌(<i>Candidatus brocadia fulgida</i>) 待定斯图加特库氏菌(<i>Candidatus kuenenia stuttgartiensis</i>) 待定布罗达氏阶梯烷菌(<i>Candidatus scalindua brodae</i>) 待定韦格氏阶梯烷菌(<i>Candidatus scalindua wagneri</i>) 待定亚洲杰特氏菌(<i>Candidatus jettienia asiatica</i>) 待定丙酸厌氧氨氧化球菌(<i>Candidatus anammoxoglobus propionicus</i>) 待定硫酸盐厌氧氨氧化球菌(<i>Candidatus anammoxoglobus sulfate</i>) 待定黑海阶梯烷菌(<i>Candidatus scalindua sorokinii</i>)	假单胞菌属(<i>Pseudomonaceae</i>) 产碱杆菌属(<i>Alcaligenes</i>) 芽孢菌属(<i>Bacillus</i>) 产碱菌属(<i>Alcaligenes</i>) 副球菌属(<i>Paracoccus</i>) 克雷伯菌属(<i>Klebsiella</i>) 苍白杆菌属(<i>Ochr. obactrum</i>) 动胶菌属(<i>Zoogloea</i>) 假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)

反硝化菌的反硝化过程如图1所示, NO_3^- 核外(外部的 NO_3^-)可以通过细菌外膜的孔隙进入周质,也可反向从周质扩散到外部. NO_3^- 细胞周质(周质内的 NO_3^-)可以通过主动运输进入细胞核内部, NO_3^- 核内(细胞核内的 NO_3^-)可被膜结合硝酸盐还原酶(NAR)催化还原为 NO_2^- . NO_3^- 核内也可逆向流回细胞周质.细胞内还原的 NO_2^- 通过主动运输从细胞核内部进入周质,并被亚硝酸盐还原酶(NiR)进一步还原(图中未显示).在好氧生长过程中,甚至在反硝化细菌厌氧生长过程中, NO_3^- 细胞周质也可以被周质硝酸盐还原酶(NAP)还原生成 NO_2^- .

1997年Vande Graaf等^[28]通过¹⁵N同位素标记技术研究厌氧氨氧化的可能代谢途径发现, NO_2^- 作为反应的电子受体,并被还原为 NH_2OH (羟胺),作为电子供体的 NH_4^+ 可以与 NH_2OH 发生反应生成 N_2 (见图2).在联胺水解酶(HH)的作用下, NH_3 和 NH_2OH 发生反应形成 N_2H_4 (联胺). N_2H_4 被联胺氧化酶(HZO)氧化生成 N_2 ,并产生4个质子和4个电子.在亚硝酸盐还原酶的作用下,上一步产生的4个电子和来自核糖体的5个质子联合把 NO_2^- 还原为 NH_2OH .厌氧氨氧化过程形成一跨膜的质子梯度,由



注: NAR 为膜结合硝酸盐还原酶; NAP 为周质硝酸盐还原酶.

图1 反硝化细菌细胞内 NO_3^- 代谢示意^[27]

Fig. 1 A diagram of nitrate metabolism in a denitrifying cell

质子梯度形成的化学势能和电势能驱动质子通过结合在厌氧氨氧化单体(anammoxosome)膜上的ATP合酶(三磷酸腺苷酶,图中未显示)产生ATP.如图1所示,当反硝化细菌发生反应产生 NO_2^- 并不与厌氧氨氧化发生竞争时,耦合反应就会发生.

目前,关于厌氧氨氧化和反硝化的耦合反应的微生物学机理存在两种观点:①厌氧氨氧化与反硝化反应在不同的微生物体内进行;且在一定条件下,这两种反应相互影响,相互促进,达到二者的耦合^[30].如HAN等^[30]

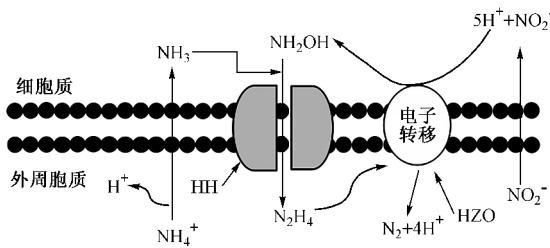
图2 氨氧化过程的原理演示^[29]

Fig. 2 Schematic demonstration anammox by the planctomycetales

在发生厌氧氨氧化与反硝化耦合反应区域发现了两种主要菌属,厌氧氨氧化菌属——*C. kueningenia*,反硝化菌属——*Andthauera achromobacter* sp. 和 *Thauera*.

②厌氧氨氧化菌与反硝化菌具有代谢多样性,同一种菌能同时表现出反硝化能力和厌氧氨氧化能力,两个反应可在同一种微生物体内进行,并在一定条件下实现耦合^[31-32]。如反硝化细菌 *Pseudomonas mendocina* 具有很强的反硝化活性,但在厌氧条件下,发现其具有厌氧氨氧化能力,它能同时转化 NH_4^+ 与 NO_3^- ,最大硝酸盐转化速率和最大氨氮转化速率分别为 6.373 和 3.344 $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$,消耗的 NH_4^+ 和 NO_3^- 之比为 1:1.91^[31]。Kartal 等^[32] 在已有研究的基础上发现了具有反硝化能力的厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia fulgida*,它能以 NO_2^- 或 NO_3^- 为电子受体氧化甲酸、丙酸、单甲胺和二甲胺等有机物;另一种名为 *Candidatus anammoxoglobus propionics* 的厌氧氨氧化菌可以竞争过其他厌氧氨氧化菌和异养反硝化菌,能在 NO_2^- 、 NH_4^+ 和 NO_3^- 共存的条件下将丙酸氧化^[33]。

2 自然系统中厌氧氨氧化与反硝化耦合反应

2.1 生态系统中耦合反应的反应速率与贡献率

由于不同的环境背景,厌氧氨氧化与反硝化耦合反应的反应速率也不尽相同。国内外学者对此进行了大量的研究,研究区域分布广泛,研究对象主要针对海洋、湖泊、河流的沉积物、低氧水域以及农田土壤和森林土壤等。使用的研究方法主要是¹⁵N 同位素标记、示踪、配对等技术,主要研究结果见表 2。

厌氧氨氧化与反硝化耦合反应中,当反硝化反应发生第一步反应产生 NO_2^- ,并不与厌氧氨氧化产生竞争时,耦合反应才会发生。Dalsgaard 等^[34] 使用¹⁵N 标记技术,证实了水中 NH_4^+ 的缺乏是由于厌氧氨氧化和反硝化耦合作用的结果,并且反硝化作用提供了厌氧氨氧化反应所需的 NO_2^- 。在耦合反应过程中厌氧氨氧化具有重要的作用,但在不同环境背景下,其对于氮气产生的贡献比率已被证明是不同的。从表 2 可

见,在水生生态系统中厌氧氨氧化对氮气产生的贡献率为 0~90%;而在陆地生态系统中则是 0~18.4%。这说明在陆地生态系统厌氧氨氧化与反硝化耦合系统中反硝化反应占主导作用。XI 等^[35] 的研究也证实了这一点,在土壤剖面中厌氧氨氧化和反硝化结合的潜在 N_2 生产率在 $(0.01 \pm 0.01) \sim (1.2 \pm 0.18) \text{ nmol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 之间,占总 N_2 产生量的 0.5%~14.4%。其中反硝化作用是 N_2 生产的主要途径,占总 N_2 产生量的 85.6%~99.5%。在水生生态系统中不同的环境介质对 N_2 产生的贡献比率不同。如海洋沉积物中为 1.3%~67%,低氧水域中为 19%~73%,河流沉积物中为 2%~77%,湖泊中为 10.4%~45%,红树林土壤中为 10.4%~45%,湿地沉积物中为 0~67.6%,地下水中为 18%~90%。而对于陆地生态系统,国内厌氧氨氧化作用对于 N_2 贡献率为 0~35%,而国外的厌氧氨氧化作用对于 N_2 贡献率低于国内地区,为 3.1%~17%。这可能是由于在国内地区研究环境中 NO_3^- 浓度大于或等于 NH_4^+ 的浓度。XI 等^[35] 测得我国森林土壤中 NO_3^- 含量为 1.7~25.5 mg/kg , NH_4^+ 含量为 2.5~9.8 mg/kg 。而在国外研究显示,环境中 NH_4^+ 含量远大于 NO_3^- 含量,如 Waki 等^[74] 测得日本稻田土壤其 NO_3^- 含量为 0.26~47.4 mg/kg , NH_4^+ 含量为 8.6~181 mg/kg ;Naehrer 等^[36] 研究表明,厌氧氨氧化反应速率与 NO_2^- 含量呈显著正相关, NO_2^- 作为厌氧氨氧化的限制因素,可由反硝化作用还原 NO_3^- 产生,因此国内研究显示厌氧氨氧化作用对于 N_2 贡献率高于国外相关研究结果。从世界范围角度出发,发现对于耦合反应的研究主要集中在欧洲地区及中国区域,少数在北美洲及大洋洲,而在非洲地区和南美洲研究极少。

反硝化反应速率与厌氧氨氧化反应速率具有显著的正相关关系。王朝旭^[37] 研究湿地土壤时发现, NO_2^- 作为湿地氮循环主要过程厌氧氨氧化作用与反硝化作用的中间纽带,其含量与厌氧氨氧化反应速率和反硝化反应速率均呈正相关关系 ($P < 0.01$)。Lansdown 等^[38] 则发现,反硝化反应速率的改变会使厌氧氨氧化对 N_2 产生量的贡献率也随之改变。ZHAO 等^[39] 运用¹⁵N 同位素标记技术,进一步证实了 Lansdown 等^[38] 的研究结论,即厌氧氨氧化反应速率和反硝化反应速率之间存在着正相关关系。从表 2 也可以看出,耦合反应中反硝化的反应速率均高于厌氧氨氧化的反应速率,且相对于水生生态系统,陆地生态系统中的反应速率要低得多,由此也可得知,水生生态系统更适合耦合反应的进行。

表 2 生态系统中厌氧氨氧化与反硝化耦合反应的反应速率以及对 N₂ 产生的贡献率Table 2 The rate of reaction of the anammox and denitrification coupling reaction and the ratio of contribution to N₂ in ecosystem

研究区域	研究对象	产生 N ₂ 贡献率/%	反应速率	测量方法	数据来源
北大西洋	沉积物岩芯	33(T)	0.11~2.51 mmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	r-IPT 技术	文献[26]
斯卡格拉克海峡 奥胡斯海湾	海洋沉积物	24 和 67(An) 2(An)	—	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[40]
哥斯达黎加	低氧水域	19~35(An)	79~266 mmol/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 42~61 mmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[34]
波罗的海	近海沉积区	10(春) (An) 15(冬) (An)	10~30 μmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	r-IPT 技术	文献[41]
汉普郡的阿文流域	河床地质 低渗透的黏土层	58(An) 7(An)	—	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[38]
中国武汉	富营养湖泊	10.4(An)	(1 173±680) μmol/(m ² ·d) (Dn) (137±77) μmol/(m ² ·d) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[39]
法国阿卡雄湾	湖泊砂质沉积物	14~45(An)	(136. 7±105. 1) ~ (725. 8±26. 8) mmol/(L·d) (Dn) (14. 8±3. 6) ~ (238. 1±156. 8) mmol/(L·d) (An)	微生物的活性测定 和分子生物学方法	文献[42]
印度曼多维和恰波拉河	热带红树林沉积物	67(An)	(224. 51±6. 63) nmol/(g·h) (Dn 以 N ₂ 计) (101. 15±87. 73) nmol/(g·h) (An 以 N ₂ 计)	营养分析方法	文献[43]
中国东南部	红树林沉积物	9~42(An)	14. 85~46. 24 μmol/(m ² ·h) (An; 夏) 0. 93~10. 71 μmol/(m ² ·h) (An; 秋) 1. 45~4. 77 μmol/(m ² ·h) (An; 冬)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[44]
尼亚湾	河口海岸沉积物	18~26(An)	10~63 μmol/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 43~297 μmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[45]
水生系统 太湖梅梁湾	水土界面	11~14(An)	(46. 36±13. 26) ~ (16. 34±22. 74) μmol/(m ² ·h) (Dn) (7. 50±2. 21) ~ (2. 05±2. 90) μmol/(m ² ·h) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[46]
凯尔特海	海底沉积物	6~9(T)	0. 003~0. 636 mmol / (m ² ·d) (Dn) 0~0. 034 mmol / (m ² ·d) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[47]
台湾亚热带地区	湿地沉积物	0~0. 76(An)	1. 26~4. 14 mg/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 0. 01~0. 16 mg/(m ² ·d) (An 以 N 计)	同位素配对技术	文献[48]
阿拉伯海和北太平洋东部	低氧水域	73(An)	—	分析氮的化学计量 和相关的碳转化率	文献[49]
英国泰晤士河口	沉积物岩芯	59(An)	6. 08 μmol/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 3. 8~11 μmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[50]
阿拉伯海	低氧水域	—	0. 77±0. 11 nmol/(L·d) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[51]
圣劳伦斯河口	河水沉积物	33(An)	6. 6±1. 2×10 ⁻⁴ μmol/(cm ³ ·h) (Dn) 1. 32±0. 14×10 ⁻³ μmol/(cm ³ ·h) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[52]
英国科恩河口	河水沉积物	30(An)	157±15 μmol / (m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[53]
罗得岛沿海	沉积物	1. 3(An)	2. 5~112 nmol/(h·mL) (Dn 以 N 计) 0~8. 7 nmol / (h·mL) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[54]
瑞典 Gullmar 峡湾	海洋沉积物	23~47(An)	13. 8~21. 3 nmol/(g·h) (Dn 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[55]
挪威斯瓦尔巴德岛	北极峡湾沉积物	5~23(An)	34~294 μmol/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 10~26 μmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[56]
北海南部	沿海沉积物	10~20(An)	1~21 μmol/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 0. 2~5. 7 μmol/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素配对技术	文献[57]
英国梅德韦河口	河口沉积物	2~37(An)	—	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[58]
葡萄牙西北部 Cávado 河口	河口沉积物	17~77(An)	1. 1~10. 8 nmol/(cm ³ ·h) (Dn) 0~3. 3 nmol / (cm ³ ·h) (An)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[59]

续表 2

研究区域	研究对象	产生 N ₂ 贡献率/%	反应速率	测量方法	数据来源	
水生系统	南太平洋	30(An)	2.2~5.4 nmol/(L·d) (Dn 以 N 计) 2.8~227 nmol/(L·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[60]	
	德国图林根	83(An)	0.7 nmol/(L·d) (Dn 以 N ₂ 计) 3.5~4.7 nmol/(L·d) (An 以 N ₂ 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[61]	
	美国科德角	39~90(An)	1.0~662 nmol/(L·d) (Dn 以 N 计) 9.1~458 nmol/(L·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[62]	
	Zorra, Elmira, and Southland Dog Park	被污染的地下水	18~36(An)	319~751 nmol/(L·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[63]
	长江河口	海潮涨落的湿地	12~14(An)	3.06~11.21 nmol/(g·h) (Dn 以 N 计) 0.43~1.58 nmol/(g·h) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[64]
	法国塞纳河沿岸地带	沉积物	3(An)	(186±50)~(263±88) nmol/(g·d) (Dn 以 N ₂ 计) (7±1)~(16±5) nmol/(g·d) (An 以 N ₂ 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[36]
	中国长江河口	沉积物	6.6~12.9(An)	12.04~67.13 nmol/(g·h) (Dn 以 N 计) 0.94~6.61 nmol/(g·h) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[65]
	中国北京	湿地土壤	33(An)	24 nmol/(g·h) (Dn 以 N 计) 18 nmol/(g·h) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记技术	文献[66]
	中国天津	湿地	37.5~67.6(An)	0.214~0.675 g/(m ² ·d) (An 以 N 计) 0.187~0.408 g/(m ² ·d) (Dn 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[67]
	陆地系统	中国南方	旱地土壤	0~35(T) 65~100(Dn)	8.6~43.6 nmol/(g·d) (Dn 以 N 计) 0~0.55 nmol/(g·d) (T 以 N 计)	¹⁵ N 同位素标记和 ¹⁵ N 同位素配对技术
中国东南部		菜地土壤	1.4~18.4(An)	1.1~17.5 nmol/(g·d) (An 以 N ₂ 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[69]
中国嘉兴		稻田土壤	3.1~8.1(An)	18.2~38.9 nmol/(g·d) (Dn 以 N 计) 0.78~1.60 nmol/(g·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[70]
中国天津滨海、中国台湾桃园、中国广东雷州		稻田土壤	0.4~12.2(An)	5.33~7.56 nmol/(g·h) (Dn 以 N 计) 0.02~0.77nmol/(g·h) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[71]
中国东北部		温带森林土壤	0.5~14.4(An) 85.6~99.5(Dn)	4.118~42.121 nmol/(g·d) (Dn 以 N ₂ 计) 2.796~147.711 nmol/(g·d) (T 以 N ₂ 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[35]
澳大利亚新南威尔士		稻田土壤	17(An) 83(Dn)	0.58 g/(m ² ·d) (Dn 以 N 计) 0.11 g/(m ² ·d) (An 以 N 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[72]
美国		农田土壤	—	4.118~42.121 nmol/(g·d) (Dn) 2.796~147.711 nmol/(g·d) (An)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[73]
日本		稻田土壤	3.1(An)	50.3 nmol/(dm·h) (An)	¹⁵ N 同位素配对技术	文献[74]
法国		沿岸土壤	8(An)	(200±20)~(13±2) nmol/(g·d) (Dn 以 N ₂ 计) 14(±1)~<1 nmol/(g·d) (An 以 N ₂ 计)	¹⁵ N 同位素示踪技术	文献[36]

注: T 是指厌氧氨氧化与反硝化总量; An 是指厌氧氨氧化反应量; Dn 是指反硝化反应量; —表示无数据。

2.2 耦合反应的主导微生物

厌氧氨氧化菌与反硝化菌能够共存于同一反应系统中并形成一定的协同作用,从而实现厌氧氨氧化与反硝化的耦合作用。但由于在不同的环境背景下,占主导地位的微生物也是不相同的。对于微生物的研究普遍采用的研究方法主要为 qPCR 检测,少数采用分子测定方法。

从表 3 可以看出,水生生态系统中耦合反应主导微生物种类较为复杂,在海洋沉积物检测到的微生物主要

为反硝化细菌 *nirK* 基因和厌氧氨氧化菌 *Candidatus scalindua* 等。在河流沉积物中检测到的微生物主要为厌氧氨氧化菌 16S rRNA 基因、厌氧氨氧化菌属 *Planctomycetes*、*Candidatus kueneia*、*Candidatus brocadia*、*Candidatus scalindua sorokinii* 和 *Candidatus scalindua wagneri* 以及反硝化菌属 *Andthauera achromobacter* sp. 和 *Thauera*。在湖泊中检测到的微生物主要为厌氧氨氧化菌 *Candidatus scalindua sorokinii*、*Candidatus brocadia*, 以及反硝化菌的 β 变形菌。在湿地沉积物中检测到的微

表 3 生态系统中厌氧氨氧化与反硝化耦合过程中主导微生物
Table 3 The dominant microbe of anammox and denitrification coupling process in ecosystem

研究区域	研究对象	主导微生物	测量方法	数据来源	
法国阿卡雄湾	湖泊砂质沉积物	反硝化菌 β 变形菌	微生物活性测定与分子生物学	文献[42]	
汉普郡的埃文流域	河床地质	厌氧氨氧化菌 16S rRNA 基因	分子测定	文献[38]	
中国太湖地区	河流沉积物	厌氧氨氧化菌属 <i>C. kuenenia</i>	定量 PCR 检测	文献[30]	
		反硝化菌属 <i>Andthauera achromobacter</i> sp. 和 <i>Thauera</i>			
德国 Rassnitzer 湖	低氧水体	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus scalindua sorokinii/brodae</i>	定量 PCR 检测	文献[75]	
中国南海浅水湾	海水沉积物	反硝化细菌 <i>nirK</i> 基因	定量 PCR 检测	文献[76]	
佛罗里达	湿地	反硝化菌 <i>nirS</i> 和 <i>nirK</i> 基因	定量 PCR 检测	文献[77]	
德国海尼希临界勘探区	碳酸盐岩含水层	厌氧氨氧化菌 <i>Cand. brocadia fulgida</i>	定量 PCR 检测	文献[61]	
英国科恩河口	河水沉积物	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus scalindua sorokinii</i> 和 <i>Candidatus scalindua wagneri</i>	RT-Q-PCR 检测	文献[53]	
瑞典 Gullmar 峡湾	海洋沉积物	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus scalindua</i>	定量 PCR 检测	文献[55]	
葡萄牙西北部 Cávado 河口	河口沉积物	厌氧氨氧化菌 <i>Planctomycetes</i>	定量 PCR 检测	文献[59]	
武汉东湖、南湖及藕塘	湖泊沉积物	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i>	PCR 检测	文献[78]	
Zorra, Elmira, and Southland Dog Park	被污染的地下水	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i>	定量 PCR 检测	文献[63]	
中国长江河口	海潮涨落的湿地	厌氧氨氧化菌 <i>Scalindua</i> 和 <i>Kuenenia</i>	定量 PCR 检测	文献[64]	
中国长江河口	沉积物	厌氧氨氧化菌 <i>Scalindua</i> , <i>Brocadia</i> , <i>Kuenenia</i>	16S rRNA 基因的系统发育分析	文献[65]	
中国北京	湿地土壤	厌氧氨氧化菌 <i>Jettenia</i> , <i>Brocadia</i> 和 <i>Anammoxoglobus</i>	16S rRNA 基因的系统发育分析	文献[66]	
美国	农田土壤	反硝化细菌(<i>nosZ</i>) 基因	定量 PCR 检测	文献[73]	
中国东南部	菜地土壤	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i>	16S rRNA 基因测序	文献[69]	
陆地系统	美国哥伦布的俄亥俄	土壤	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i> , <i>Candidatus scalindua</i> 和 <i>Candidatus kuenenia</i>	定量 PCR 检测	文献[79]
	中国嘉兴	稻田土壤	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i> 和 <i>kuenenia</i>	16S rDNA 序列分析	文献[70]
	中国天津	含水层的土壤核心	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i>	定量 PCR 检测	文献[67]
	日本水户市	稻田土壤	厌氧氨氧化菌 <i>Candidatus brocadia</i> 和 <i>Ca. jettenia</i>	定量 PCR 检测	文献[74]

生物主要为厌氧氨氧化菌 *Candidatus scalindua* 和 *kuenenia-jettenia brocadia* 及 *Anammoxoglobus*, 以及反硝化菌的 *nirS* 和 *nirK* 基因. 在碳酸盐含水层以及地下水中检测到的微生物主要为厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia*. 而相对于水生生态系统的复杂, 陆地生态系统的主导微生物较为统一. 检测到的微生物主要为厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia*, 少数研究还监测到 *Candidatus kuenenia* 和 *jettenia*. 对于厌氧氨氧化与反硝化耦合过程中主导微生物的研究在水

生生态系统中研究对象范围较广泛, 水体、沉积物、湿地等均有研究, 而在陆地生态系统中研究对象较为局限, 主要针对农田土壤. 在厌氧氨氧化与反硝化耦合反应中, 厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia* 作为主导细菌出现频率最高.

2.3 影响因素

2.3.1 环境因素

环境因素主要包括温度、pH、DO 等. 温度依赖性是影响生物除氮体系运行的一个重要因素^[80].

CHENG 等^[81]研究城市河流时发现,在大多数采样点中反硝化的速率夏季高于冬季,而厌氧氨氧化的速率冬季大于夏季。Rysgaard 等^[82]测得北极海洋厌氧氨氧化活性的最佳温度是 12 °C,而反硝化细菌的最适温度是 24 °C。ZHAO 等^[39]在研究湖泊的厌氧氨氧化过程中发现,当温度高(20~33 °C)时更有利于厌氧氨氧化和反硝化耦合反应的进行,当温度低于 20 °C 和超过 33 °C 时,氮去除率将会下降。原因在于温度影响厌氧氨氧化菌和反硝化菌的活性主要通过影响微生物,其主要途径有两种,一是影响酶催化反应的速率,二是影响基质扩散到细胞的速率^[83]。

pH 是影响厌氧氨氧化与反硝化耦合反应的一个重要因素。厌氧氨氧化菌生长适宜的 pH 范围为 6.7~8.3^[24],反硝化菌生长适宜 pH 为 6~9^[16],从理论上讲, pH 为 6.7~8.3 是厌氧氨氧化与反硝化耦合反应适宜的 pH 范围。LIU 等^[84]研究发现厌氧氨氧化与反硝化耦合作用的最适温度为 25 °C,最适 pH 为 7.8。田文婷等^[85]研究指出,厌氧氨氧化菌最适 pH 范围在 7.0~8.5,而反硝化菌最适 pH 范围在 7.0~8.0,其最佳 pH 为 7.5;但当 pH >8.5 时反硝化菌受到强烈抑制。

在有氧环境下,厌氧氨氧化菌和反硝化菌的活性会被严重抑制,当溶解氧含量过高时,氧将会与硝酸盐竞争电子供体,并抑制硝酸盐还原酶的合成及其活性。厌氧氨氧化与反硝化耦合反应的溶解氧要控制在 0.5 mg/L 以下^[16]。Kalvelage 等^[60]通过养分测量发现,在海洋中 30%~50% 的 TN 损失量发生在氧含量最小的区域。Mathava 等^[16]指出, DO 控制在 0.5 mg/L 以下时,厌氧氨氧化与反硝化耦合反应才会发生。这说明在有氧环境下,厌氧氨氧化菌和反硝化菌的活性会被抑制,TAO 等^[86]在湿地处理系统中也发现类似现象。ZHOU 等^[87]在永久淹水的休耕稻田中研究发现反硝化反应的活性会随水稻土深度的增加而降低;厌氧氨氧化活性呈现出相似的趋势,但活性下降幅度更大。这说明 O₂ 减少会使得厌氧氨氧化和反硝化反应速率降低。此外,当 NO₃⁻ 还原为 NO₂⁻ 受到抑制时, NO₂⁻ 的浓度降低,厌氧氨氧化的活性呈指数下降。

2.3.2 底物因素

影响厌氧氨氧化与反硝化耦合反应效率的底物因素主要包括有机物含量和 C/N 等。厌氧氨氧化菌是自养菌,而反硝化菌是异养菌,因此反硝化菌要比厌氧氨氧化菌更易生长。有机物对厌氧氨氧化与反硝化耦合反应的影响包括两方面,一是作为反硝化反应的底物;二是作为厌氧氨氧化反应的抑制物^[88]。刘

常敬等^[89]研究发现,不同有机物对厌氧氨氧化耦合异养反硝化的影响:苯甲酸钠<邻苯二酚<间苯二酚<丙酸钠<乙酸钠。TANG 等^[90]发现,在有机碳浓度为 700 mg/L 时,厌氧氨氧化活性几乎消失,且氮氮平均去除率也会降至 3%。Trimmer 等^[50]研究发现,有机碳的浓度会引起厌氧氨氧化 N₂ 产生量的变化和 N₂ 产生途径的变化,并且随着碳氮总产量迅速增加,厌氧氨氧化反应会减弱。CHEN 等^[91]对红树林沉积物进行研究,表明在红树林沉积物中,高浓度的多溴联苯醚污染会显著影响反硝化和厌氧氨氧化反应,在厌氧土壤中,多溴联苯醚对反硝化作用的刺激作用更为显著,导致土壤 NO₃⁻ 浓度降低,这就会限制厌氧氨氧化底物的利用率,抑制厌氧氨氧化菌的生长。WANG 等^[92]发现在红树林沉积物中,添加醋酸或落叶时,反硝化细菌会增加,而厌氧氨氧化细菌受到抑制,这表明有机物会影响厌氧氨氧化反应。万莉等^[93]发现,在有机碳源充足的条件下,反硝化反应逐渐增强,对 TN 去除率的贡献率不断上升,anammox 对 TN 去除率的贡献率不断下降。

厌氧氨氧化菌属化能自养菌,对有机碳源没有需求,而通常认为缺乏有机碳源很难进行有效的反硝化^[94]。在 C/N 过高的情况下, NO₂⁻ 会与碳源发生反硝化反应,从而掠夺了厌氧氨氧化反应的电子受体(NO₂⁻),导致厌氧氨氧化反应受到抑制,并破坏厌氧氨氧化菌和反硝化菌间形成的稳定生态系统。因此, C/N 是影响厌氧氨氧化与反硝化耦合反应更为重要的因素^[16,95]。Akunna 等^[96]利用葡萄糖为底物研究了 C/N 的重要性,试验结果表明,当 C/N>53 时, NO₂⁻ 反硝化为 NH₄⁺,并产甲烷;当 C/N 在 9~53 之间时,主要发生了甲烷化和完全反硝化;当 C/N<9 时,主要发生反硝化。Murray 等^[97]研究发现,当 C/N 过高时,厌氧氨氧化的活性会受到严重影响。JIN 等^[98]研究发现,当 C/N 保持在 0.6 左右时,反硝化反应比厌氧氨氧化反应更强烈。

3 结论与展望

a) 在陆地生态系统中厌氧氨氧化对于 N₂ 产生的贡献率小于水生生态系统中厌氧氨氧化对于 N₂ 产生的贡献率,说明在陆地生态系统中厌氧氨氧化与反硝化耦合反应中反硝化反应占主导作用。因此需要绘制全球范围水生生态系统和陆地生态系统厌氧氨氧化和反硝化耦合反应的活动分布图,以及准确评价厌氧氨氧化和反硝化耦合反应在全球氮循环中的重要作用,对完善生态系统中氮的生物地球化学循环具有十分重要的意义。

b) 厌氧氨氧化速率和反硝化速率之间存在着一定的相互关系,但在不同环境背景下的影响机制并不明确,因此需对温度、pH、DO 和反应底物等影响因素做进一步研究,确定耦合反应能够达到最佳反应效果的环境条件。

c) 不同的环境条件下,反应系统中占主导地位微生物也会发生变化,需加深对于耦合反应机理、体系微生物的生理生化与生态学特性的研究,确定厌氧氨氧化菌和反硝化菌最佳生长条件,并建立耦合体系理论预测数学模型,量化两类功能性微生物的耦合效果。

参考文献(References):

- [1] 杨麒,李小明,曾光明,等.同步硝化反硝化机理的研究进展[J].微生物学通报,2003,30(4):88-91.
YANG Qi,LI Xiaoming,ZENG Guangming *et al.* Study progress on mechanism for simultaneous nitrification and denitrification [J]. Microbiology China,2003,30(4):88-91.
- [2] BOYERE W,HOWARTH R W,GALLOWAY J N, *et al.* Riverine nitrogen export from the continents to the coasts [J]. Global Biogeochemical Cycles,2006,20(1):1-91.
- [3] BRODA E. Two kinds of lithotrophs missing in nature [J]. Zeitschrift Fur Allgemeine Mikrobiologie,1977,17(6):491-493.
- [4] NAQVI S W A,VOSS M,MONTOYA J P. Recent advances in the biogeochemistry of nitrogen in the ocean [J]. Biogeosciences Discussions,2008,5(2):1033-1041.
- [5] SCHMID M C,MAAS B,DAPENA A, *et al.* Biomarkers for *in situ* detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria [J]. Applied & Environmental Microbiology,2005,71(4):1677-1684.
- [6] HULTH S,ALLER R C,CANFIELD D E, *et al.* Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future research challenges [J]. Marine Chemistry,2005,94(1/2/3/4):125-145.
- [7] DU Rui,PENG Yongzhen,CAO Shenbin, *et al.* Mechanisms and microbial structure of partial denitrification with high nitrite accumulation [J]. Applied Microbiology & Biotechnology,2016,100(4):2011-2022.
- [8] 杨盈盈,陈奕,李明杰,等.进水渗滤液总氮和 BOD₅/TN 对填埋场反应器反硝化和厌氧氨氧化协同脱氮的影响 [J]. 环境科学,2015,36(4):1412-1416.
YANG Yingying,CHEN Yi,LI Mingjie, *et al.* Effects of total nitrogen and BOD₅/TN on anaerobic ammonium oxidation-denitrification synergistic interaction of mature landfill leachate in aged refuse bioreactor [J]. Environmental Science,2015,36(4):1412-1416.
- [9] BI Z,TAKEKAWA M,PARK G, *et al.* Effects of the C/N ratio and bacterial populations on nitrogen removal in the simultaneous anammox and heterotrophic denitrification process: mathematic modeling and batch experiments [J]. Chemical Engineering Journal,2015,280:606-613.
- [10] 王欢,裴伟征,李旭东,等.低碳氮比猪场废水短程硝化反硝化-厌氧氨氧化脱氮 [J]. 环境科学,2009,30(3):815-821.
WANG Huan,PEI Weizheng,LI Xudong, *et al.* Removing nitrogen from low-C/N-piggery-wastewater using shortcut nitrification/denitrification-ANAMMOX [J]. Environmental Science,2009,30(3):815-821.
- [11] AHN Y H,HWANG I S,MIN K S. Anammox and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste anaerobic nitrogen removal from piggery waste [J]. Water Science & Technology,2004,49:145-153.
- [12] MULDER A. Anoxic ammonia oxidation: US Patent,5078884 [P]. 1992-01-07.
- [13] YOU J,DAS A,DOLAN E M, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal [J]. Water Research,2009,43(7):1801-1809.
- [14] STROUS M,PELLETIER E,MANGENOT S, *et al.* Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome [J]. Nature,2006,440(7085):790-794.
- [15] 赖杨岚,周少奇.厌氧氨氧化与反硝化的协同作用特性研究 [J]. 中国给水排水,2010,26(13):6-10.
LAI Yanglan,ZHOU Saoqi. Study on synergism characteristics of anammox and denitrification [J]. China Water & Wastewater,2010,26(13):6-10.
- [16] MATHAVA K,JIH G L. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal-strategies and issues [J]. Journal of Hazardous Materials,2010,178:1-9.
- [17] TAKEKAWA M,PARK G,SODA S, *et al.* Simultaneous anammox and denitrification (SAD) process in sequencing batch reactors [J]. Bioresource Technology,2014,174:159-166.
- [18] DU Rui,PENG Yongzhen,CAO Shenbin, *et al.* Advanced nitrogen removal with simultaneous anammox and denitrification in sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology,2014,162(6):316-322.
- [19] 张诗颖,吴鹏,宋吟玲,等.厌氧氨氧化与反硝化协同脱氮处理城市污水 [J]. 环境科学,2015,36(11):4174-4179.
ZHANG Shiyong,WU Peng,SONG Yinling, *et al.* Nitrogen removal using ANAMMOX and denitrification for treatment of municipal sewage [J]. Environmental Science,2015,36(11):4174-4179.
- [20] ZHANG Daijun. The integration of methanogenesis with denitrification and anaerobic ammonium oxidation in an expanded granular sludge bed reactor [J]. Journal of Environmental Sciences,2003,15(3):423-432.
- [21] WANG Jianlong,KANG Jing. The characteristics of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) by granular sludge from an EGSB reactor [J]. Process Biochemistry,2005,40(5):1973-1978.
- [22] 肖晶晶,郭萍,霍炜洁,等.反硝化微生物在污水脱氮中的应用进展 [J]. 环境科学与技术,2009,32(12):97-102.
XIAO Jingjing,GUO Ping,HUO Weijie, *et al.* Application of denitrifying microbes to wastewater denitrification [J]. Environmental Science and Technology (China),2009,32(12):97-102.
- [23] STROUS M,KUENEN J G,JETTEN M S M. Key physiology of

- anaerobic ammonium oxidation [J]. *Applied & Environmental Microbiology* ,1999 ,65(7) : 3248-3250.
- [24] TRIMMER M ,NICHOLLS J C. Production of nitrogen gas via anammox and denitrification in intact sediment cores along a continental shelf to slope transect in the North Atlantic [J]. *Limnology & Oceanography* 2009 ,54(2) : 577-589.
- [25] 任延丽 ,靖元孝.反硝化细菌在污水处理作用中的研究[J].*微生物学杂志* 2005(2) : 88-92.
REN Yanli ,JING Yuanxiao. The role of denitrification bacteria in wastewater treatment [J]. *Journal of Microbiology* 2005(2) : 88-92.
- [26] 郑平 ,张蕾.厌氧氨氧化菌的特性与分类[J].*浙江大学学报* ,2009 ,35(5) : 473-481
ZHENG Ping ,ZHANG Lei. Characterization and classification of anaerobic ammonium oxidation(anammox) bacteria [J]. *Journal of Zhejiang University* 2009 ,35(5) : 473-481.
- [27] GRANGER J ,SIGMAN D M ,LEHMANN M F *et al.* Nitrogen and oxygen isotope fractionation during dissimilatory nitrate reduction by denitrifying bacteria [J]. *Limnology & Oceanography* 2008 ,53(6) : 2533-2545.
- [28] VANDE GRAAF A A ,DEBRUIJ P ,ROBERTSON LA ,*et al.* Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of N-15 studies in a fluidized bed reactor [J]. *Microbiology* ,1997 ,143(7) : 2415-2421.
- [29] YE R W ,THOMAS S M. Microbial nitrogen cycles: physiology , genomics and applications [J]. *Current Opinion Microbiology* , 2001 ,4(3) : 307-312.
- [30] HAN Huayang ,LI Zhengkui. Effects of macrophyte-associated nitrogen cycling bacteria on ANAMMOX and denitrification in river sediments in the Taihu Lake region of China [J]. *Ecological Engineering* 2016 ,93: 82-90.
- [31] 陈婷婷 ,郑平 ,胡宝兰.厌氧氨氧化菌的物种多样性与生态分布 [J].*应用生态学报* 2009 ,20(5) : 1229-1235.
CHEN Tingting ,ZHENG Ping ,HU Baolan. Species diversity and ecological distribution of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* 2009 ,20(5) : 1229-1235.
- [32] KARTAL B ,VAN NIFTRIK L A ,RATTRAY J *et al.* *Candidatus* 'Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium [J]. *Fems Microbiological Ecology* 2008(63) : 46-55.
- [33] KARTAL B ,RATTRAY J ,VAN NIFTRIK L A *et al.* *Candidatus* 'Anammoxoglobus propionicus' a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. *Systematic and Applied Microbiology* 2007(30) : 39-49.
- [34] DALSGAARD T ,CANFIELD D E ,PETERSEN J ,*et al.* N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce ,Costa Rica [J]. *Nature* 2003 ,422(6932) : 606-608.
- [35] XI Dan ,BAI Ren ,ZHANG Limei *et al.* Contribution of anammox to nitrogen removal in two temperate forest soils [J]. *Applied and Environmental Microbiology* 2016 ,82(15) : 4602-4612.
- [36] NAEHER S ,HUGUET A ,ROOSE-AMSALEG C L *et al.* Molecular and geochemical constraints on anaerobic ammonium oxidation (anammox) in a riparian zone of the Seine Estuary(France) [J]. *Biogeochemistry* 2015 ,123(1/2) : 237-250.
- [37] 王朝旭.湿地中氨氧化和反硝化过程及相关功能微生物研究 [D].北京: 中国科学院大学 2012.
- [38] LANSDOWN K ,MCKEWE B A ,WHITBY C *et al.* Importance and controls of anaerobic ammonium oxidation influenced by riverbed geology [J]. *Nature Geoscience* 2016(9) : 357-360.
- [39] ZHAO Jianwei ,ZHU Duanwei ,FAN Junnan ,*et al.* Seasonal variation of anammox and denitrification in sediments of two eutrophic urban lakes [J]. *Polish Journal of Environmental Studies* , 2015(24) : 2779-2783.
- [40] THAMDRUP B ,DALSGAARD T. Production of N₂ through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology* , 2002 ,68(3) : 1312-1318.
- [41] HIETANEN S ,KUPARINEN J. Seasonal and short-term variation in denitrification and anammox at a coastal station on the Gulf of Finland , Baltic Sea [J]. *Hydrobiologia* , 2008 ,596(1) : 67-77.
- [42] FERNANDES S O ,JAVANAUD C ,MICHOTÉY V D ,*et al.* Coupling of bacterial nitrification with denitrification and anammox supports N removal in intertidal sediments(Arcachon Bay ,France) [J]. *Estuarine Coastal & Shelf Science* 2016(179) : 39-50.
- [43] FERNANDES S O ,MICHOTÉY V D ,GUASCO S ,*et al.* Denitrification prevails over anammox in tropical mangrove sediments(Goa ,India) [J]. *Marine Environmental Research* 2012 , 74: 9-19.
- [44] CAO Wenzhi ,GUAN Qingsong ,LI Ying *et al.* The contribution of denitrification and anaerobic ammonium oxidation to N₂ production in mangrove sediments in Southeast China [J]. *Journal of Soils & Sediments* 2017 ,17(6) : 1-10.
- [45] BONAGLIA S ,HYLEN A ,RATTRAY J E *et al.* The fate of fixed nitrogen in marine sediments with low organic loading: an *in situ* study [J]. *Biogeosciences* 2017 ,14(2) : 285-300.
- [46] 徐徽 ,张路 ,商景阁 ,等.太湖梅梁湾水土界面反硝化和厌氧氨氧化 [J].*湖泊科学* 2009 ,21(6) : 775-781.
XU Hui ,ZHANG Lu ,SHANG Jingge ,*et al.* Denitrification and anammox on the sediment-water interface in the Meiliang Bay of Lake Taihu [J]. *Journal of Lake Sciences* 2009 ,21(6) : 775-781.
- [47] KITIDIS V ,TAIT K ,NUNES J ,*et al.* Seasonal benthic nitrogen cycling in a temperate shelf sea: the Celtic Sea [J]. *Biogeochemistry* 2017 ,135(1/2) : 103-119.
- [48] TAN E ,HSU T C ,HUANG X ,*et al.* Nitrogen transformations and removal efficiency enhancement of a constructed wetland in subtropical Taiwan [J]. *Science of the Total Environment* ,2017 , 601/602: 1378-1388.
- [49] KOEVE ,P. KAHLER. Heterotrophic denitrification vs. autotrophic anammox-quantifying collateral effects on the oceanic carbon cycle [J]. *Biogeosciences* 2010 ,7(8) : 2327-2337.
- [50] TRIMMER M ,RISGAARD-PETERSEN N ,NICHOLLS J C *et al.* Direct measurements of anaerobic ammonium oxidation(anammox) and denitrification in intact sediment cores [J]. *Marine Ecology Progress* 2006 ,326: 37-47.
- [51] BULOW S E ,RICH J J ,NAIK H S ,*et al.* Denitrification exceeds

- anammox as a nitrogen loss pathway in the Arabian Sea oxygen minimum zone [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 2010 57(3): 384-393.
- [52] CROWE S A ,CANFIELD D E ,MUCCI A ,*et al.* Anammox , denitrification and fixed-nitrogen removal in sediments from the Lower St. Lawrence Estuary [J]. *Biogeosciences Discussions* 2012 8 (11) : 9503-9534.
- [53] DONG L F ,SMITH C J ,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.
- [54] BRIN L D ,GIBLIN A E ,RICH J J. Environmental controls of anammox and denitrification in southern New England estuarine and shelf sediments [J]. *Limnology & Oceanography* 2014 59(3) : 851-860.
- [55] BRANDSMA J ,VAN d V J ,RISGAARD-PETERSEN N ,*et al.* A multi-proxy study of anaerobic ammonium oxidation in marine sediments of the Gullmar Fjord, Sweden [J]. *Environmental Microbiology Reports* 2011 3(3) : 360-366.
- [56] GIHRING T M ,LAVIK G ,KUYPERS M M M ,*et al.* Direct determination of nitrogen cycling rates and pathways in Arctic fjord sediments(Svalbard ,Norway) [J]. *Limnology & Oceanography* , 2010 55(2) : 740-752.
- [57] NEUBACHER E C ,PARKER R E ,TRIMMER M. Short-term hypoxia alters the balance of the nitrogen cycle in coastal sediments [J]. *Limnology & Oceanography* 2011 56(2) : 651-665.
- [58] ROOKS C ,SCHMID M C ,MEHSANA W ,*et al.* The depth-specific significance and relative abundance of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in estuarine sediments(Medway Estuary ,UK) [J]. *Fems Microbiology Ecology* 2012 80(1) : 19-29.
- [59] TEIXEIRA C ,MAGALHAES C ,JOYE S B ,*et al.* Potential rates and environmental controls of anaerobic ammonium oxidation in estuarine sediments [J]. *Aquatic Microbial Ecology* 2012 66(1) : 23-32.
- [60] KALVELAGE T ,LAVIK G ,LAM P ,*et al.* Nitrogen cycling driven by organic matter export in the South Pacific oxygen minimum zone [J]. *Nature Geoscience* 2013 6(3) : 228-234.
- [61] KUMAR ,SWATANTAR ,HERRMANN ,*et al.* Nitrogen loss from pristine carbonate-rock aquifers of the Hainich Critical Zone Exploratory(Germany) is primarily driven by chemolithoautotrophic anammox processes [J]. *Frontiers in Microbiology* 2017 8: 1951.
- [62] SMITH R L ,BOHLKE J K ,SONG B ,*et al.* Role of anaerobic ammonium oxidation (anammox) in nitrogen removal from a freshwater aquifer [J]. *Environmental Science & Technology* 2015 , 49(20) : 12169.
- [63] MOORE T A ,XING Y ,LAZENBY B ,*et al.* Prevalence of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in contaminated groundwater [J]. *Environmental Science & Technology* 2011 45(17) : 7217-7225.
- [64] ZHENG Yanling , HOU Lijun , LIU Min , *et al.* Community composition and activity of anaerobic ammonium oxidation bacteria in the rhizosphere of salt-marsh grass *Spartina alterniflora* [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology* ,2016 ,100 (18) : 8203-8212.
- [65] HOU Lijun ZHENG Yanling LIU Min *et al.* Anaerobic ammonium oxidation(anammox) bacterial diversity ,abundance ,and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary [J]. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences* 2014 118(3) : 1237-1246.
- [66] ZHU Guibing ,WANG Shanyun ,FENG Xiaojuan ,*et al.* Anammox bacterial abundance ,biodiversity and activity in a constructed wetland [J]. *Environmental Science & Technology* 2011 45(23) : 9951-9958.
- [67] WANG S ,RADNY D ,HUANG S ,*et al.* Nitrogen loss by anaerobic ammonium oxidation in unconfined aquifer soils [J]. *Nature Scientific Reports* 2017 doi: 10.1038/srep40173.
- [68] ZHU Feifei ,FANG Yunting ,ZHANG Limei ,*et al.* Soil pH controls N₂O and N₂ emissions from upland agricultural soils across China [J]. *Proceedings of the 2016 International Nitrogen Initiative Conference* 2016 ,12: 1-6.
- [69] SHEN Lidong ,WU Hongsheng ,LIU Xu ,*et al.* Vertical distribution and activity of anaerobic ammonium-oxidising bacteria in a vegetable field [J]. *Geoderma* 2017 288: 56-63.
- [70] PAN Fuxia ,CHAPMAN S J ,LI Yaying ,*et al.* Straw amendment to paddy soil stimulates denitrification but biochar amendment promotes anaerobic ammonia oxidation [J]. *Journal of Soils & Sediments* 2017(4) : 1-10.
- [71] BAI Ren ,XI Dan ,HE Jingzheng ,*et al.* Activity ,abundance and community structure of anammox bacteria along depth profiles in three different paddy soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry* , 2015 91: 212-221.
- [72] PANDEY A ,SUTER H ,HE J ,*et al.* Dissimilatory nitrate reduction to ammonium ,denitrification and anaerobic ammonium oxidation in paddy soil [J]. *Proceedings of the 2016 International Nitrogen Initiative Conference* 2016 ,12: 1-4.
- [73] LONG A ,HEITMAN J ,TOBIAS C ,*et al.* Co-occurring anammox , denitrification , and codenitrification in agricultural soils [J]. *Applied and Environmental Microbiology* 2013 79(1) : 168-176.
- [74] WAKI M ,YASUDA T ,SUZUKI K ,*et al.* Distribution of anammox bacteria in a free-water-surface constructed wetland with wild rice (*Zizania latifolia*) [J]. *Ecological Engineering* 2015 81: 165-172.
- [75] HAMERSLEY M R ,WOEBKEN D ,BOEHRER B ,*et al.* Water column anammox and denitrification in a temperate permanently stratified lake (Lake Rassnitzer ,Germany) [J]. *Systematic & Applied Microbiology* 2009 32(8) : 571-582.
- [76] YU Tiantian ,LI Meng ,NIU Mingyang ,*et al.* Difference of nitrogen-cycling microbes between shallow bay and deep-sea sediments in the South China Sea [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology* , 2017(2) : 1-13.
- [77] KIM H ,OGRAM A ,BAE H S. Nitrification , anammox and denitrification along a nutrient gradient in the Florida Everglades [J]. *Wetlands* 2017 37(2) : 391-399.
- [78] 张钰.湖泊沉积物微生物多样性和厌氧氨氧化菌鉴别研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 78-79.

- [79] LIGI T, TRUU M, OOPKAUP K, *et al.* The genetic potential of N_2 emission via denitrification and ANAMMOX from the soils and sediments of a created riverine treatment wetland complex [J]. *Ecological Engineering* 2015 80: 181-190.
- [80] ISAKA K, DATE Y, KIMURA Y, *et al.* Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures [J]. *Fems Microbiology Letters* 2008 282(1): 32-38.
- [81] CHENG Lv, LI Xiaofei, LIN Xiaobao, *et al.* Dissimilatory nitrate reduction processes in sediments of urban river networks: spatiotemporal variations and environmental implications [J]. *Environmental Pollution* 2016 219: 545-554.
- [82] RYAGAARD S, GLUD R N, PETERSEN N R, *et al.* Denitrification and anammox activity in Arctic marine sediments [J]. *Limnology & Oceanography* 2004 49(5): 1493-1502.
- [83] LESLIE C, GRADY C L, LIM H C, *et al.* 废水生物处理: 2版, 改编和扩充 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [84] LIU C, LI Z, ZHENG Z, *et al.* Nitrogen removal performance and sludge characteristics of anammox coupling heterotrophic denitrification [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014 8(8): 3137-3142.
- [85] 田文婷, 李军, 王立军, 等. 碳氮比及 pH 对厌氧氨氧化与反硝化耦合的影响 [J]. *水处理技术* 2010 36(9): 45-48.
- [86] TAO Wengdong, WANG Jing. Effects of vegetation, limestone and aeration on nitrification, anammox and denitrification in wetland treatment systems [J]. *Ecological Engineering* 2009 35(5): 836-842.
- [87] ZHOU Sheng, BORJIGIN S, RIYA S, *et al.* Denitrification-dependent anammox activity in a permanently flooded fallow ravine paddy field [J]. *Ecological Engineering* 2016 95: 452-456.
- [88] 李芸, 李军, 陈刚, 等. 晚期垃圾渗滤液厌氧氨氧化脱氮性能及其污泥特性 [J]. *环境科学研究* 2016 29(3): 411-418.
LI Yun, LI Jun, CHEN Gang, *et al.* Nitrogen removal performance and characteristics of granular sludge in ANAMMOX reactor fed with mature landfill leachate [J]. *Research of Environmental Sciences* 2016 29(3): 411-418.
- [89] 刘常敬, 李泽兵, 郑照明, 等. 不同有机物对厌氧氨氧化耦合反硝化的影响 [J]. *中国环境科学* 2015 35(1): 87-94.
LIU Changjing, LI Zebing, ZHENG Zhaoming, *et al.* Effect of different organic matters on anammox coupling denitrifying [J]. *China Environmental Science* 2015 35(1): 87-94.
- [90] TANG Chongjian, ZHENG Ping, WANG Caihua, *et al.* Suppression of anaerobic ammonium oxidizers under high organic content in high-rate anammox UASB reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2010 101(6): 1762-1768.
- [91] CHEN Juan, ZHOU Haichao, PAN Ying, *et al.* Effects of polybrominated diphenyl ethers and plant species on nitrification, denitrification and anammox in mangrove soils [J]. *Science of the Total Environment* 2016 553: 60-70.
- [92] WANG Yongfei, LI Xiaoyan, GU Jidong. Differential responses of ammonia/ammonium-oxidizing microorganisms in mangrove sediment to amendment of acetate and leaf litter [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2014 98(7): 3165-3180.
- [93] 万莉, 邹义龙, 弓晓峰, 等. 电增强零价铁强化厌氧氨氧化处理高氮养猪废水 [J]. *环境科学研究* 2015 28(8): 1302-1310.
WAN Li, ZOU Yilong, GONG Xiaofeng, *et al.* Electrical field and zero-valent iron-enhanced anaerobic ammonium oxidation for the treatment of high-nitrogen swine wastewater [J]. *Research of Environmental Sciences* 2015 28(8): 1302-1310.
- [94] 吴莉娜, 徐莹莹, 史泉, 等. 短程硝化-厌氧氨氧化组合工艺深度处理垃圾渗滤液 [J]. *环境科学研究* 2016 29(4): 587-593.
WU Lina, XU Yingying, SHI Xiao, *et al.* Advanced treatment of landfill leachate by combined process of partial nitrification and anaerobic ammonium oxidation [J]. *Research of Environmental Sciences* 2016 29(4): 587-593.
- [95] DONG X, TOLLNER E W. Evaluation of anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure [J]. *Bioresource Technology* 2003 86(2): 139-145.
- [96] AKUNNA J C, BIZEAU C, MOLETTA R. Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NOX ratio [J]. *Environmental Technology* 1992 13(9): 825-836.
- [97] MURRAY R E, PARSONS L L, SMITH M S. Aerobic and anaerobic growth of rifampin-resistant denitrifying bacteria in soil [J]. *Applied and Environmental Microbiology* 1990 56(2): 323-328.
- [98] JIN Rencun, HU Baolan, ZHENG Ping, *et al.* Quantitative comparison of stability of ANAMMOX process in different reactor configurations [J]. *Bioresource Technology* 2008 99(6): 1603-1609.

(责任编辑: 张蕊)