

微生物在湿地氮循环系统的效应分析

阮晓红, 张 瑛, 黄林楠, 敖 静

(河海大学环境科学与工程学院, 江苏 南京 210098)

摘要 :从湿地植物根区微环境研究出发,分析了湿地系统氮循环中微生物效应及其湿地植物为微生物生长提供的微生态系统功能。指出在湿地系统氮循环中的微生物过程(包括亚硝化、硝化、反硝化和异化作用等)是氮降解的主要过程,植物对营养物质的直接去除所占比例很小,但植物的生理特性从不同途径影响不同氮化合物的微生物转化。厌氧氨氧化过程是一种氮素转化的新途径,能同时将两种氮污染物(氨氮和亚硝酸氮)转化成气态氮,从而高效地减缓氮污染问题。好氧/厌氧界面在湿地植物根区微环境中的广泛存在及有关研究成果,说明了湿地氮循环系统中厌氧氨氧化过程存在的可能性。

关键词 :湿地植物;根区;微环境;氮循环;厌氧氨氧化

中图分类号 :P343.4;X172

文献标识码 :A

文章编号 :1004-693X(2004)06-0001-07

湿地是地球表层重要的生态系统,自然湿地有“改善”相邻水体水质的能力^[1],湿地系统可以通过养分循环,即微生物反硝化、生物量吸收以及沉积等作用,有效地减少水体中氮浓度^[2]。总体上说,湿地系统中的营养物质氮主要由微生物的作用而去除^[3,4],微生物在湿地系统中的物质和能量循环起着重要的作用,当然植物也是必不可少的,它们为微生物的生长提供良好的微生态环境,为好氧型微生物提供足够的氧气,同时也吸收一部分营养物质(主要是无机氮),但植物的吸收对氮的脱除作用微小^[5]。

氮循环是一个复杂的系统,生物圈中绝大部分氮以氮气的形式在大气中存在,氮气通过生物和非生物作用固定后被生物体所利用。固定生成的氨氮被同化成有机氮或转化成硝酸氮,硝酸氮又通过反硝化作用转化成氮气或一氧化二氮。气态氮的生成促使氮从生态系统中减少,增加大气圈中的氮气。不同的氮循环过程需要不同的条件,条件的不同又导致不同的氮转化反应空间分布的不同^[6]。植物、微生物和介质在氮循环中所起的作用对氮污染的优化控制十分重要。

氮的硝化和反硝化过程被认为是湿地及其他生态系统中氮降解的主要过程^[7~9],但最近厌氧氨氧化过程的提出^[10]及其在黑海^[11]、其他淡水水体和沼泽^[12,13]中的发现给传统的氮循环理论增加了新的内容。厌氧氨氧化过程是指氨氮在厌氧条件下以亚硝酸氮为电子受体直接反应生成氮气的过程。微

生物学家和环境学家对这一过程的生物学特性、生态学特性以及污水处理厂的应用等进行了大量的研究^[14~18]。Kuypers 等^[11]提出了厌氧氨氧化菌(*anammox* 菌)在黑海氮循环中的作用,但对于 *anammox* 菌在淡水生态系统尤其是湿地系统氮循环中的作用还缺少研究。Stottmeister 等^[3]提出厌氧氨氧化在湿地中的生物过程,以及如何在实验室模拟这一过程并进行理论研究是将来的研究方向。Tanner 等^[19]也提出了类似的推断,也就是厌氧氨氧化过程可能是湿地系统中除硝化、反硝化等以外的另一种氮循环途径。由于 *anammox* 菌在天然环境中的存在性^[12,13]及湿地根区适宜其生存的微环境的存在,*anammox* 菌也有可能存在于湿地环境中存在。本文将从湿地植物根区微环境的分析出发,进一步探讨湿地氮循环及微生物的作用。

1 湿地植物根区微环境

1.1 湿地根区的好氧/厌氧界面

微生物在湿地系统营养物氮的去除中起着主要作用,Lin 等^[20]通过收割实验,分析表明湿地系统中,只有 4%~11%的氮是通过植物吸收去除的,而绝大部分氮(89%~96%)是由反硝化作用去除的。Stottmeister 等^[3]也发现在人工湿地中,营养物质的转化和矿化作用主要是由微生物而不是植物引起的。

能够使众多微生物生存并发挥作用的当属植物根区微环境的建立,植物根区微环境为微生物的生

存和繁殖提供良好的场所^[21]。Kemp 等^[22]研究表明,由于植物的存在而形成的根区微生态环境对于底泥中发生的硝化和反硝化作用是非常重要的。

植物根区微环境,各组分可能发生的相互关系以及溶解氧的变化如图 1 和图 2 所示。这里是由植物、微生物、土壤和污染物氮之间相互影响引起的物理化学和生物过程的活性区域。

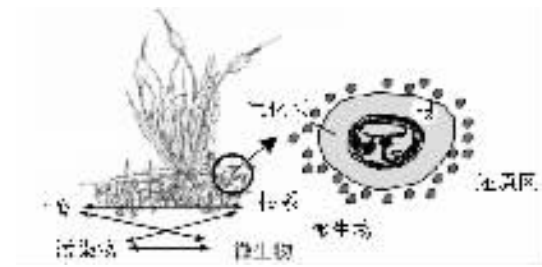


图 1 湿地植物根区微环境^[2]

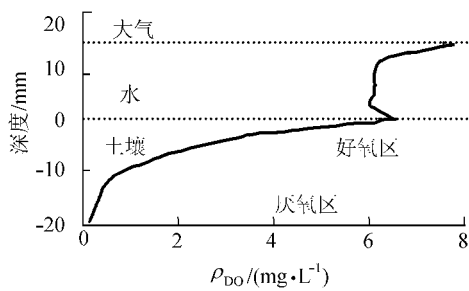


图 2 根区好氧/厌氧界面溶解氧变化

严格地说,根区(rhizosphere)又分为内(植物根内部)外(植物根周围环境)两个部分^[3],这两个部分的交界面是根面^[23]。如果要研究污染物在湿地中的净化效果,那么就有必要进一步研究不同植物根区环境中特定微生物的群落特征,以及在湿地沉积物中微生物产生的化合物和颗粒污染物是如何相互作用的^[3]。

在根区微环境中,好氧/厌氧界面又是其中起作用的主要方面,所以对于根区微环境的研究又归结为对好氧/厌氧界面的研究。所有的水生生态系统都存在着好氧/厌氧界面,这一界面一般在底泥内部形成,这是因为水生植物根系的复氧作用将氧气一直输送到植物的根部,也就是植物生长的介质——底泥中。植物在这一过程中充当了生物泵的作用,在植物内部,氧气通常在通气组织中得到扩散,从而将植物叶片和根系联系在一起,而在根细胞及其周围孔隙水中,氧气的扩散系数迅速下降,形成了根区强烈的氧梯度^[24],也就是根区好氧/厌氧界面的来源。好氧区为参与有机物降解的异氧菌和氨氧化的硝化菌提供氧气^[21],从而促进好氧矿化过程和硝化过程^[25],厌氧区为异氧反硝化提供可能性,好氧和厌氧条件的共同存在促使大量的微生物在这一区域生存,Cappenberg 等^[26]研究表明底泥表面的微生物

数量比上层水体一般要多 3 个数量级,从而促进营养物质的转化。

厌氧氨氧化过程存在的前提条件是氨氮、亚硝酸氮的同时存在,以及缺氧的环境。湿地中广泛存在的这种好氧/厌氧界面的建立也是厌氧氨氧化过程在自然湿地中存在的一个前提。好氧的环境可以促使好氧氨氧化菌将一部分氨氮氧化,氧量的限制又会使氨氮的氧化停留在亚硝酸氮阶段,从而为厌氧氨氧化提供电子受体,最终得到氮气。但这只是理论判断,这一过程是否存在还有待进一步研究。

1.2 根区微环境的影响因素

湿地植物根区微环境对污染物的去除起着重要的作用,同时也受各种条件的影响。影响湿地根区微生态环境的因素可以从以下几个方面考虑:

a. 植物生长的介质^[3]。土壤的组成和物理性质,包括颗粒分布、孔隙率、不均匀系数、渗透系数等会影响系统水流的水力条件,从而对微生态环境造成影响。同时,土壤是植物生长和微生物膜的主要介质。

b. 植物根系的生长。植物根系的生长会影响土壤的水力条件^[27]。一方面,植物根系和微生物的生长产生的生物量会对土壤孔隙造成一定的堵塞现象,而另一方面死亡根系的微生物分解会形成二级土壤孔隙^[3]。

c. 植物的种类。不同植物输氧效率不同,譬如通气植物的输氧效率一般高于其他植物,输氧效率高,就易形成好氧/厌氧界面。此外,微生物的硝化活性也受植物的影响,因为植物吸收了氨氮,而硝化细菌对氨氮的摄取能力比不上植物。Paul L. E. Bodelier 等^[28]研究表明植物对反硝化作用有促进作用。

d. 除植物以外,其他因素(如水层的扩散作用)所产生的氧气也会对植物根区微环境中的氧量产生影响。其他物理化学性质(如氧化还原电位(ORP)、pH 值、电导等)也会对这一区域产生影响,如当 ORP 降低说明还原区的作用增强,反之说明氧化区的作用增强。

2 湿地氮循环

2.1 氮循环

如今,提高氮的去除率是湿地研究的主要目的所在,因此湿地氮循环当属研究之重。湿地系统中氮以不同的形式存在,受农业污染的湿地中氮主要以硝酸氮的形式存在,湿地受废水污染或畜牧、养殖污水污染的时候,氮主要是以氨氮形式存在。氨氮能够黏附于带负电的颗粒(如黏土)沉淀下来,或者被植物吸收。亚硝酸氮是有毒的氮化合物,但由于

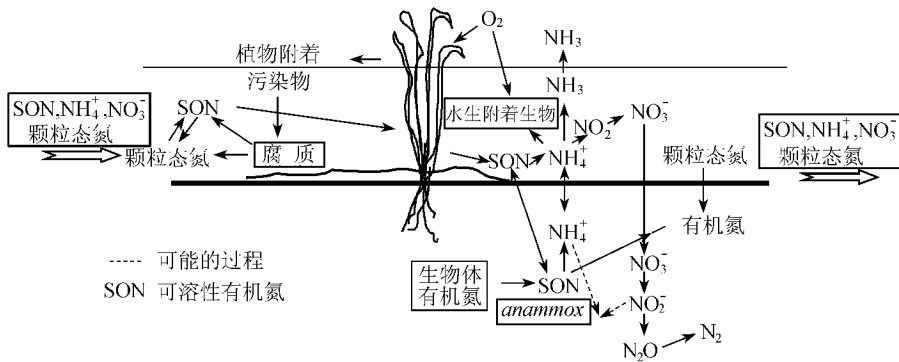


图3 湿地氮循环

它的不稳定性,湿地中亚硝酸氮的浓度并不是很高。总氮和无机氮(NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+)之间差值是颗粒氮和溶解态有机氮(腐质酸和棕黄酸、氨基酸等^[29],其中颗粒氮可能是活的或死亡的有机物质,如藻类和植物)。在沼泽湿地中,溶解态的氮是重要的氮循环产物^[30]。

湿地系统中,植物吸收的是矿化无机氮(主要是氨氮和硝酸氮),绝大部分微生物也参与着不同形态无机氮的转化。图3给出了湿地中氮循环的主要路径,其中植物、微生物和土壤参与的内部循环是主要的氮循环过程^[31]。

由于在整个氮循环中,有机氮通过氨化作用转化成无机氮后,一系列的反应都与无机氮的转化有关,而且微生物和植物在氮循环中利用的主要是无机态的氮,所以这里只讨论无机氮。无机氮主要包括氨氮(NH_4^+)、联氨(N_2H_4)、羟氨(NH_2OH)、氮气(N_2)、一氧化二氮(N_2O)、一氧化氮(NO)、二氧化氮(NO_2)以及亚硝酸氮(NO_2^-)和硝酸氮(NO_3^-)。这些氮化合物在氮循环中可能发生的转化关系见表1^[32]。无机氮化合物的新陈代谢在湿地植物根区微生物生理作用中起着许多重要的作用。

从湿地氮污染物去除的角度出发,微生物引起的硝化和反硝化作用是将污染物氮从湿地系统中去除的主要途径,湿地氮循环中硝化和反硝化过程将进入湿地的绝大部分氮转化,一般可将氮去除70%~90%^[33]。在好氧基质中,有机氮通过氨化作用转化成氨氮,而氨氮可以被植物和微生物利用,或被带负电的颗粒(如黏土)吸附,或扩散到表面好氧区。当氨氮扩散到好氧区的时候,被亚硝酸单胞菌利用将其氧化成亚硝酸氮,硝化杆菌又将亚硝酸氮氧化成硝酸氮。当硝酸氮扩散到厌氧区时,植物或微生物的异化作用或厌氧细菌将硝酸氮还原成气态氮。湿地中氧化区和还原区交替出现的现象满足了氮循环的需要并使反硝化速率最大化^[34]。

近来,一些研究者提出了一些关于氮循环的突

表1 氮循环中的酶及其催化的反应

反应名称	酶	反应式	Gibbs 自由能变化 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	发生位置
亚硝化	氨单氧化酶	$\text{NH}_4^+ + \text{O}_2 + \text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$	-140.6	横跨膜
	羟氨氧化还原酶	$\text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} = \text{NO}_2^- + 5\text{H}^+ + 4\text{e}^-$	22.5	外周胞质
硝化	亚硝酸氧化还原酶	$\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} = \text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	83.3	细胞膜
厌氧氨氧化	联氨水解酶	$\text{NH}_4^+ + \text{NH}_2\text{OH} = \text{N}_2\text{H}_4 + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	-46.1	周质
	联氨氧化还原酶	$\text{N}_2\text{H}_4 = \text{N}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$	-288.1	有待研究
	羟氨氧化还原酶	$\text{NO}_2^- + 4\text{e}^- + 5\text{H}^+ = \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$	-22.5	有待研究
	硝酸还原酶	$\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ = \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	-82.9	细胞膜
反硝化和异化作用	亚硝酸还原酶	$\text{NO}_2^- + \text{e}^- + 2\text{H}^+ = \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$	-32.9	周质
	NO还原酶	$2\text{NO} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ = \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$	-226.4	周质
	N_2O 还原酶	$\text{N}_2\text{O} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ = \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$	-261.8	周质
	亚硝酸异化还原酶	$\text{NO}_2^- + 6\text{e}^- + 8\text{H}^+ = \text{NH}_4^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	-436.0	有待研究

破性理论^[35~38]。硝化反应不仅可由自养菌完成,某些异养菌也可以进行硝化作用;反硝化不只在厌氧条件下进行,某些细菌也可在好氧条件下进行反硝化,而且,许多好氧反硝化菌同时也是异养硝化菌(如 *Thiosphaera pantotropha*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas stutzeri* 等),并能把氨氮氧化成亚硝酸盐后直接进行反硝化反应。

在表1中提到的厌氧氨氧化也是当前研究的热点。据 Devol^[39]估计,在海洋氮气的产量中厌氧氨氧化过程产生的氮气能够占到30%~50%, Ward^[40]也指出,厌氧氨氧化过程产生的氮气最大能占到总氮气产量的29%,而且当富含氮的有机质被降解或者从厌氧氨氧化区域以外带入足够的氨氮的时候,这个比例还可能再提高。这都说明湿地系统中同样可能存在的厌氧氨氧化过程将对湿地的氮循环起到举足轻重的作用。从图4中可以清楚地看出厌氧氨

氧化过程(带箭头黑色实线)的地位。

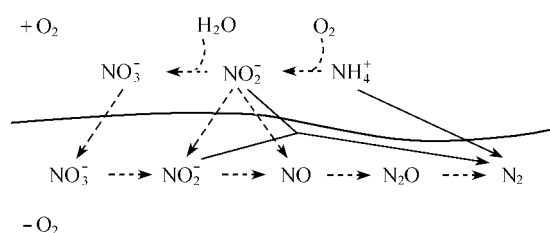


图4 简化的好氧/厌氧界面氮循环^[39]

2.2 微生物在氮循环中的作用

氮的微生物新陈代谢在地球氮循环中起着重要作用,当然在湿地的局部氮循环中也是极其重要的。在根区微环境中,从化合态氮到气态氮从而去除氮污染物质的转化主要通过硝化/反硝化起作用^[41]。

硝化作用的反应过程为: $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ 。氨氮向亚硝酸氮的转化由亚硝酸单胞菌属(*Nitrosomonas*)、亚硝酸球菌属(*Nitrosococcus*)及亚硝酸螺菌属(*Nitrospira*)等起作用,但其中在湿地和其他生态系统中亚硝酸螺菌属比亚硝酸单胞菌属更普遍^[41~45]。亚硝酸氮向硝酸氮的转化主要通过硝化杆菌属(*Nitrobacter*)、硝化球菌属(*Nitrococcus*)起作用,它们都是好氧菌,适宜在中性和偏碱性的环境中生长,是化能自由菌,不需要有机营养。

反硝化作用硝酸氮被还原为氨或气态氮。大多数细菌、放线菌和真菌都能利用硝酸氮为营养,在硝酸还原酶的作用下(表1)将硝酸还原为氨,进而合成氨基酸、蛋白质和其他含氮有机物。硝酸氮向气态氮的转化主要通过反硝化菌在厌氧条件下进行。反硝化细菌主要有施式假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)、脱氮假单胞菌(*Ps. Denitrificans*)、荧光假单胞菌(*Ps. Fluorescens*)、色杆菌属的紫色杆菌(*Chromobacterium violaceum*)、脱氮色杆菌(*Chrom. denitrificans*)等。

这些微生物活动是完成氮循环的主要机理所在,其中硝化反应中化能自氧硝化菌从氨氮向亚硝酸氮氧化的过程中得到能量^[46],反硝化将硝酸氮转化为氧化二氮或氮气,使细菌在缺氧条件下获取能量^[47]。同时,在缺氧条件下,硝酸氮还原为氨氮的异化作用能够消除过剩的还原能力^[48],产生用于同化作用的氨氮,或者促进微生物的厌氧生长。

此外,湿地植物根区微环境中可能存在的厌氧氨氧化作用将会对湿地氮循环产生何种影响还有待研究,但对于厌氧氨氧化反应和具有这一特性的 *anammox* 细菌已经有了很多研究。

2.3 植物在氮循环中的作用

虽然在湿地以及其他生态系统中,植物对营养物质的直接去除所占的比例很小,但是如前所述,植

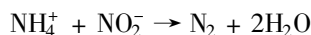
物是整个系统中必不可少的一部分,植物会从不同途径影响不同氮化合物的微生物转化:①植物根系的呼吸作用导致氧气的消耗,从而形成厌氧微环境,促进反硝化的进行;②微生物的生长离不开各种营养物质,根系的分泌物为微生物的生长提供碳源^[49~51];③植物与微生物竞争硝酸氮^[52,53],起到一定的氮去除的作用,尽管比例不高;④湿地植物能够从大气中输送不同的气体(氧气、气态氮)到土壤,反之亦然^[9,54~57],促进氮循环过程的完成;⑤植物对水分的吸收改变土壤通风状态,从而影响气体和溶解态营养物质的扩散^[58]。

3 氮循环系统中的厌氧氨氧化过程

3.1 厌氧氨氧化的生物化学反应机理

Kluyver 和 Donker^[59]首次提出了好氧氨氧化过程的生物化学描述,Mulder 等^[60,61]首次通过实验证实了厌氧氨氧化过程的微生物学特性,即亚硝酸盐是最佳的电子受体,羟胺和联氨是重要的中间产物,Schalk 等^[17]根据¹⁵N 示踪剂研究的结果也证实了这一点。

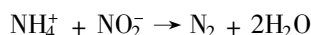
厌氧氨氧化反应方程式为



这一过程事实上是方程^[62]



的简化形式,该方程可以分解成两部分,简化的厌氧氨氧化反应过程



以及被固定的 CO_2 产生的 HCO_3^- 与 NO_2^- 反应生成 NO_3^- 和生物量的过程



3.2 *anammox* 菌的生物化学特性

Candidatus Brocadia anammoxdians 是首次通过实验发现的一种 *anammox* 菌,其超微结构与 planctomycetes 有很多相似之处。与一般微生物细胞相比,这些微生物的蛋白质细胞壁不含有肽聚糖,所以对氨比西林不敏感。最近,又发现了一种新的 *anammox* 菌(*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, 其基因序列与 *B. anammoxidans* 的相似性小于 90%^[14]。现已发现的 *anammox* 菌还有 *Candidatus Scalindua sorokinii*^[11], *Candidatus Scalindua brodae* 和 *Candidatus Scalindua wagneri*^[63]。

目前,对于好氧氨氧化菌 *Nitrosomonas eutropha* 的生物化学特性的研究已很深入^[47],主要在于氨单

氧酶、羟氨氧化还原酶(HAO),这些研究是揭示 *anammox* 菌新陈代谢途径的基础。众所周知,自由态的联氨在氮的微生物新陈代谢过程中的出现是少见的^[16] 联氨可以通过 *Nitrosomonas eutropha* 的 HAO 向氮气转化。*B. anammoxidans* 细胞提取液中高的 HAO 活性表明,在厌氧氨氧化反应机理中这种酶同样是有有效的^[17]。从 *B. anammoxidans* 细胞提取液将一种新的 HAO 酶进行了纯化,该 HAO 缩氨酸碎片的氨基酸序列是十分特殊的。这种 *B. anammoxidans* 酶含有几种与 *N. eutropha* 酶类似的 c 型细胞色素。*B. anammoxidans* 酶也同样能催化联氨和羟氨的氧化。但是 *B. anammoxidans* 酶只存在于细胞质带有膜结构的区域(占细胞体积的 30% 以上)内,这种组织可能在 *B. anammoxidans* 的异化作用中起着重要的作用,所以将其命名为“*anammoxosome*”。然而 *anammoxosome* 是否含有更多转化亚硝酸氮和联氨的酶还有待进一步研究^[64]。

3.3 *anammox* 菌的生态学特性

自从研究人员从自然环境中发现厌氧氨氧化现象以来,对生态系统中具有这种特性的细菌的发现进行了大量研究。早在 1932 年就已在美国的 Mendota 湖的底泥发酵过程中发现了 N_2 的产生,但其产生的机理当时没有得到明确^[65]。在日本的 Kizakiko 湖也发现从氨氮直接产生 N_2 的现象^[12]。最近,又在淡水水体的底泥中证实了类似现象^[13]。

厌氧氨氧化现象存在的前提条件是氨氮、亚硝酸氮的同时存在,以及缺氧的环境。在自然生态系统中,亚硝酸氮可能会由于氧的限制而使硝化反应不完全导致其积累,或是由于反硝化电子供体(硫化物或有机物)的不足限制了硝酸氮的反硝化过程所致。因此,许多底泥的好氧/厌氧界面是厌氧氨氧化菌存在的最佳场所^[16]。Jorgensen 等^[66]和 Murray 等^[67]对黑海某一分层中通过微电极研究发现了氨氮和亚硝酸氮的层叠分布,表明适合 *anammox* 菌生存的环境确实存在;此后, Kuypers 等^[11]在黑海中发现了在厌氧条件下在亚硝酸盐的参与下将氨氮氧化成氮气的细菌,从缺氧的深水扩散到上部的氨氮被含氧区以下的这种厌氧氨氧化菌消耗。这是厌氧氨氧化菌第一次被认识并直接与环境中的不挥发性无机氮的去除联系在一起。

荧光原位杂交(FISH)分析和活性测试表明,在缺氧反应器中好氧和厌氧氨氧化菌均存在,但没有检测到硝化菌(*Nitrobacter* 或 *Nitrospira*)。显然,好氧硝化菌没有能力和好氧氨氧化菌竞争氧气,没有能力和厌氧氨氧化菌竞争营养物亚硝酸氮^[68, 69]。在这种条件下,厌氧和好氧氨氧化菌能形成稳定的群

落。这种好氧和厌氧氨氧化菌的协同作用不只是在污水处理厂发生^[18, 70],而且在天然好氧/厌氧界面的地位也举足轻重。最近,研究揭示了似 *Nitrosomonas* 在缺氧条件下基于 NO_2 的新陈代谢,表明两组氨氧化菌在缺氧条件下的进一步作用是可能的。从环境中发现具有这种特性的微生物与现有的 *anammox* 菌的比较将带来更多的 *anammox* 菌家族的信息,为厌氧氨氧化现象更深入的研究提供基础。也就是,在湿地微生物聚集的根区好氧/厌氧微环境中,也是有可能发生这一作用的。

4 小 结

目前已有在湿地中发现厌氧氨氧化过程及厌氧氨氧化细菌存在的报道^[16],但是还没有系统的有关厌氧氨氧化过程在湿地氮循环中所起作用的研究,这一过程的深入研究,对于更好地利用自然湿地这座天然的氮沉积槽去除污染物氮具有深远的意义。分子微生物技术(如荧光原位杂交(FISH)、多聚酶链式反应(PCR)、DNA 克隆和测序等)及同位素标记技术^[71]将是更深入的认识湿地根区微环境中不同微生物的存在性及其对湿地氮循环作用的可靠技术手段。

参考文献:

- [1] Delaune R D, Smith C J, Sarafyan M N. Nitrogen cycling in a freshwater marsh of *Panicum Hemitomon* on the deltaic plain of the Mississippi River[J]. *Journal of Ecology*, 1986, 74: 249 ~ 256.
- [2] Jansson M, Andersson R, Berggren H, et al. Wetlands and lakes as nitrogen traps[J]. *Ambio*, 1994, 23: 320 ~ 325.
- [3] Stottmeister U, Wießner A, Kuschik P, et al. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment[J]. *Biotechnology Advances* 2003.
- [4] Lei Yang, Chang Hui-ting, Lo Huang Mong-na. Nutrient removal in gravel-and soil-based wetland microcosms with and without vegetation[J]. *Ecological Engineering*, 2001, 18: 91 ~ 105.
- [5] Thable T S. Einbau und Abbau von Stickstoffverbindungen aus Abwasser in der Wurzelraumanlage Othfresen [D]. Gesamthochschule Kassel :Universität Hessen, 1984.
- [6] Mancinelli R L. The nature of nitrogen :an overview[J]. *Life Support Biosph Sci*, 1996, 3(1 ~ 2): 17 ~ 24.
- [7] Ingersoll T L, Baker L A. Nitrate removal in wetland microcosms[J]. *Water Research*, 1998, 32(3): 677 ~ 684.
- [8] Xue Y, Kovacic D A, David M B, et al. In situ measurements of denitrification in constructed wetlands[J]. *J Environ Qual*, 1999, 28(1): 263 ~ 269.
- [9] Reddy K R, Patrick W H, Lindau C W. Nitrification-denitrifica-

- tion at the plant root-sediment interface in wetlands[J]. Limnology and Oceanography ,1989 ,34 :1004 ~ 1013.
- [10] Van de Graaf A A ,Mulder A ,Slijkhuys H ,et al. Anoxic ammonium oxidation[A]. Proceedings of 5th European Congress on Biotechnology[C]. Denmark :University of Copenhagen , 1990 ,1 :388 ~ 391.
- [11] Kuypers M M M ,Sliekers A O ,Lavik G ,et al. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea[J]. Nature ,2003 ,422 (10) :608 ~ 611.
- [12] Koyama T. Formal discussion of paper III-10. Discussion of paper by Richard[A]. Pearson E A. Advances in Water Pollution Research[C]. Tokyo :Pergamon Press ,1965 .3 :234 ~ 242.
- [13] Van Luijn F ,Boers P C M ,Lijklema L. Anoxic N₂ fluxes from freshwater sediments in the absence of oxidized nitrogen compound[J]. Water Research ,1998 ,32 :407 ~ 409.
- [14] Schmid M ,Twachtmann U ,Klein M ,et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Syst Appl Microbiol , 2000 ,23 :93 ~ 106.
- [15] Van de Graaf A A ,De Bruijn P ,Robertson L A ,et al. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of N-15 studies in a fluidized bed reactor[J]. Microbiology (UK) ,1997 ,143 :2415 ~ 2421.
- [16] Jetten M S M ,Strous M ,van de Pas-Schoonen K T ,et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. FEMS Microbiol Reviews ,1999 ,22 :421 ~ 437.
- [17] Schalk J ,Devries S ,Kuenen J G ,et al. A novel hydroxylamine oxidoreductase involved in the anammox process[J]. Biochemistry ,2000 ,39 :5405 ~ 5412.
- [18] Jetten M S M ,Wagner M ,Fuerst J ,et al. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (' anammox ') process[J]. Current Opinion in Biotechnology ,2001 ,12 :283 ~ 288.
- [19] Tanner C C ,Kadlec R H ,Gibbs M M ,et al. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands——influence of wastewater characteristics[J]. Ecological Engineering , 2002 ,18 :499 ~ 520.
- [20] Lin Ying-feng ,Jing Shuh-ren ,Wang Tze-wen ,et al. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands[J]. Environmental Pollution ,2002 ,119 :413 ~ 420.
- [21] Brix H. Wastewater treatment in constructed wetlands :system design ,removal processes and treatment performance[A]. In : Moshiri G A. Constructed Wetlands for Water Quality Improvement[C]. Boca Raton ,FL :Lewis Publishers ,1993 .9 ~ 22.
- [22] Kemp W M ,Sampou P ,Cairey J ,et al. Ammonium recycling versus denitrification in Chesapeake Bay sediments[J]. Limnol Oceanogr ,1990 ,35 :1545 ~ 1563.
- [23] Elliott L F ,Gilmour C M ,Lynch J M ,et al. Bacterial colonization of plant roots[A]. In :Todd R L ,Giddens J E. Microbial-Plant Interactions[C]. Madison :Soil Science Society of America ,1984 .1 ~ 16.
- [24] Brune A ,Frenzel P ,Cypionka H. Life at the oxic-anoxic interface :microbial activities and adaptation[J]. FEMS Microbiology Ecology ,2000 ,24 :691 ~ 710.
- [25] Risgaard-Petersen N ,Jensen K. Nitrification and denitrification in the rhizosphere of the aquatic macrophyte *Lobelia dortmanna* L.[J]. Limnol Oceanogr ,1997 ,42 :529 ~ 537.
- [26] Cappenberg T E. Quantification of aerobic and anaerobic carbon mineralization at the sediment-water interface[J]. Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol ,1988 ,31 :307 ~ 317.
- [27] Cooper P F ,Boon A G. The use of Phragmites for wastewater treatment by the root zone method :The UK approach[A]. In : Reddy K R ,Smith W H. Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery[C]. Orlando ,Florida :Magnolia Publishing ,1987 .153 ~ 174.
- [28] Bodelier P L E ,Duyts H ,Blom C W P M ,et al. Interactions between nitrifying and denitrifying bacteria in gnotobiotic microcosms planted with the emergent macrophyte *Glyceria maxima* [J]. FEMS Microbiology Ecology ,1998 ,25 :63 ~ 78.
- [29] Kadlec R H ,Knight R L. Treatment wetlands[M]. New York :Lewis publishers ,1996.
- [30] Stepanauskas R ,Leonardson L ,Tranvik L J. Bioavailability of wetland-derived DON to freshwater and marine bacterioplankton[J]. Limnol Oceanogr ,1999 ,44 :1477 ~ 1485.
- [31] Porporato A ,Odorico P D ,Laio F ,et al. Hydrologic controls on soil carbon and nitrogen cycles : I Modeling scheme[J]. Advances in Water Resources ,2003 ,26 :45 ~ 58.
- [32] Strous . M. Microbiology of anacrobic ammonium oxidation [M]. Delft :Delft university ,2000.
- [33] Gilliam J W. Riparian Wetlands and Water Quality[J]. Journal of Environmental Quality ,1994 ,23 :896 ~ 900.
- [34] Johnston C A. Sediment and Nutrient Retention by Freshwater Wetlands :Effects on Surface Water Quality[J]. Critical Reviews in Environmental Control ,1991 ,21(5 ,6) :491 ~ 565.
- [35] 汪慧贞 ,吴俊奇 ,高志明 . 半硝化-厌氧氨氧化脱氮新工艺[J]. 环境工程 ,2001 ,19(5) :7 ~ 9.
- [36] 施永生 . 亚硝酸盐型生物脱氮技术[J]. 给水排水 ,2000 , 26(11) :21 ~ 23.
- [37] 雒怀庆 ,胡勇有 . 废水半脱氮硝化新工艺[J]. 环境科学与技术 ,2003 ,26(2) :54 ~ 56.
- [38] 郑平 . 厌氧氨氧化技术的研究[D]. 浙江 :浙江大学 , 1999.
- [39] Devol A H. Solution to a marine mystery[J]. Nature ,2003 , 422 :575 ~ 576.
- [40] Ward B B. Significance of anaerobic ammonium oxidation in the ocean[J]. TRENDS in Microbiology ,2003 ,11(9) :408 ~ 410.
- [41] Haleem D A E ,von Wintzingerode F ,Moter A ,et al. Phylogenetic analysis of rhizosphere-associated β -subclass proteobacte-

- rial ammonia oxidizers in a municipal wastewater treatment plant based on rhizoremediation technology[J]. Letters in Applied Microbiology 2000 ,31 :34 ~ 38.
- [42] Hiorns W D ,Hastings R C ,Head I M ,et al. Amplification of 16S ribosomal RNA genes of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria demonstrates the ubiquity of nitrosospira in the environment[J]. Microbiology ,1995 ,141 :2793 ~ 2800.
- [43] Stephen J R ,McCaig A E ,Smith Z ,et al. Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to beta-subgroup ammonia-oxidizing bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology ,1996 ,62 :4147 ~ 4154.
- [44] Kowalchuk G A ,Stephen J R ,de Boer W ,et al. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the β -subdivision of the class Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments[J]. Applied and Environmental Microbiology ,1997 ,63 :1489 ~ 1497.
- [45] Ceccherini M T ,Castaldini M ,Piovaneli C ,et al. Effects of swine manure fertilization on autotrophic ammonia oxidizing bacteria in soil[J]. Applied Soil Ecology ,1998 ,7 :149 ~ 157.
- [46] Hooper A B ,Vannelli T ,Bergmann D J ,et al. Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria[J]. Antonie Van Leeuwenhoek ,1997 ,71 :59 ~ 67.
- [47] Zumft W G. Cell biology and molecular basis of denitrification [J]. Microbiol Mol Biol Rev ,1997 ,61 :533 ~ 616.
- [48] Zehnder A J B. Biology of Anaerobic Microorganisms[M]. New York :Wiley ,1988.179 ~ 244.
- [49] Weisner S E B ,Eriksson P G ,Graneili W ,et al. Influence of Macrophytes on nitrate removal in wetland[J]. Ambio ,1994 ,23 :363 ~ 366.
- [50] Karjalainen H ,Stefansdottir G ,Tuominen L ,et al. Do submersed plants enhance microbial activity in sediment ?[J]. Aquatic Botany 2001 ,69 :1 ~ 13.
- [51] Richert M ,Saarnio S ,Juutinen S ,et al. Distribution of assimilated carbon in the system *Phragmites australis*-waterlogged peat soil after carbon-14 pulse labeling[J]. Biology and Fertility of Soils 2000 ,32 :1 ~ 7.
- [52] Kaye J P ,Hart S C. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms[J]. Trends in Ecology and Evolution ,1997 ,12 :139 ~ 143.
- [53] Jingguo W ,Bakken L. Competition for nitrogen during decomposition of plant residues in soil :Effect of spatial placement of N-rich and N-poor plant residues[J]. Soil Biology and Biochemistry ,1997 ,29 :153 ~ 162.
- [54] Mosier A R ,Mohanty S R ,Bhadrachalam A ,et al. Evolution of dinitrogen and nitrous oxide from the soil to the atmosphere through rice plant[J]. Biology and Fertility of Soils ,1990 ,9 :61 ~ 67.
- [55] Bedford B L ,Bouldin D R ,Beliveau B D. Net oxygen and carbon-dioxide balances in solution bathing roots of wetland plants [J]. Journal of Ecology ,1991 ,79 :943 ~ 959.
- [56] Engelaar W M H G ,Symens J C ,Laanbroeck H J ,et al. Preservation of nitrifying capacity and nitrate availability in waterlogged soils by radial oxygen loss from roots of wetland plants[J]. Biology and Fertility of Soils ,1995 ,20 :243 ~ 248.
- [57] Arth I ,Frenzel P ,Conrad R. Denitrification coupled to nitrification in the rhizosphere of rice[J]. Soil Biology and Biochemistry ,1998 ,30 :509 ~ 515.
- [58] Granli T ,Boeckman O C. Nitrous oxide from agriculture[J]. Norwegian Journal of Agricultural Science ,1994 ,12 :7 ~ 128.
- [59] Kluyver A J ,Donker H J. Die Einhiel in der Biochemi[J]. Chem Zelleu Gewebe ,1926 ,13 :134 ~ 190.
- [60] Mulder A ,van de Graaf A A ,Robertson L A ,et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. FEMS Microbiol Ecol ,1995 ,16 :177 ~ 183.
- [61] Mulder A. Anoxic Ammonium Oxidation[P]. United States : US patent 427849(5078884) ,1992.
- [62] Schmidt I ,Sliemers O ,Schmid M ,et al. Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria-competitors or natural partners ? [J]. FEMS Microbiology Ecology 2002 ,39 :175 ~ 181.
- [63] Schmid M ,Walsh K ,Webb R ,et al. Candidatus " Scalindua brodae " , sp. nov. , Candidatus " Scalindua wagneri " , sp. nov. , two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. System Appl Microbiol 2003 ,26 :529 ~ 538.
- [64] Jetten M S M ,Schmid M ,Schmidt I ,et al. Improved nitrogen removal by application of new nitrogen-cycle bacteria[J]. Environmental Science & Bio/Technology 2002 ,1 :51 ~ 63.
- [65] Allgeier R J ,Peterson W H ,Judy C ,et al. The anaerobic fermentation of lake deposits[J]. Int Rev Hydrobiol ,1932 ,26 :444 ~ 471.
- [66] Jorgensen B B ,Fossing H ,Wirsén C O ,et al. Sulfide oxidation in the anoxic Black Sea chemocline[J]. Deep Sea Res ,1991 ,38 :S1083-S1103.
- [67] Murry J W ,Jannash H W ,Honjo S ,et al. Unexpected changes in the oxic/anoxic interface in the Black Sea[J]. Nature ,1989 ,338 :411 ~ 413.
- [68] Helder M N ,de Vries E G. Estuarine nitrite maxima and nitrifying bacteria (Ems-Dollard estuary) [J]. Neth J Sea Res ,1983 ,17 :1 ~ 18.
- [69] Hanaki K ,Wantawin C ,Ogaki S. Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor[J]. Water Res ,1990 ,24 :297 ~ 302.
- [70] Helmer C ,Tromm C ,Hippen A ,et al. Single stage biological nitrogen removal by nitrification and anaerobic ammonium oxidation in biofilm systems[J]. Water Sci Technol 2001 ,43 :311 ~ 320.
- [71] Trimmer M ,Nicholls J C ,Deflandre B. Anaerobic ammonium oxidation measured in sediments along the Thames estuary , United Kingdom[J]. Appl Environ Microbiol ,2003 ,69(11) :6447 ~ 6454.

(收稿日期 2004-07-20 编辑 舒 建)