

DOI: 10.3969/j.issn.1004-6933.2014.04.003

典型河口区硝态氮短程还原成铵的活性氮 累积途径研究进展

蒋 然, 李召旭

(珠江水利委员会珠江水利科学研究院, 广东 广州 510006)

摘要: 为了揭示水体特有的, 具生物活性的氮素积累而造成水生态恶化的内因, 对河口区氮循环的非传统生物转化途径, 即硝态氮异化还原成铵 (DNRA) 的活性氮累积途径进行综合分析。河口环境特征与相应的微生物生态学研究表明: 相对高温高盐的滨岸带系统里夏季富营养化严重, 生物活性氮素通量高; 在浅水河口的 DNRA 是氮转化客观存在的“链节”(相应地成为反硝化的汇)。高盐环境下的沉积物有充足的碳源, 具备 DNRA 菌糖代谢发酵的条件, 从而可能具备与反硝化过程竞争的环境条件。认为应结合河口特征如气候、盐度、微生物种类等对 DNRA 的关联机制展开深入细致的研究, 为我国河口地区的氮素总量控制管理及富营养化水平评价提供生物学基础。

关键词: 活性氮; 硝态氮异化还原成铵; 河口地区; 咸潮; 氮素总量控制

中图分类号: X171.1

文献标志码: A

文章编号: 1004-6933(2014)04-0010-04

Active nitrogen accumulation mechanism in typical estuarine regions based on dissimilatory nitrate reduction to ammonium

JIANG Ran, LI Zhaoxu

(Zhujiang Hydraulic Research Institute, Pearl River Water Resources Commission, Guangzhou, 510006)

Abstract: In order to explore the internal causes of aquatic ecological deterioration by biological active nitrogen accumulation, which specifically occurs in water bodies, we comprehensively analyze the non-traditional biological conversion paths of nitrogen cycling, i. e., the paths of active nitrogen accumulation based on dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA), in estuarine regions. Studies of estuarine environmental characteristics and microbial ecology show that there exist severe eutrophication and large fluxes of biological active nitrogen in the summer in the riparian zone, with relatively high temperature and salinity. DNRA in a shallow estuary is the chain unit for the occurrence of nitrogen conversion. The sediments in a high-salinity environment have sufficient carbon sources and can meet the requirements of DNRA carbohydrate metabolism fermentation. Thus, they may satisfy the conditions for competing with the denitrification process. We suggest that future studies should be focused on relationships between estuarine climate, salinity, microbe species, and DNRA. This study provides a biological basis for total nitrogen control and eutrophic status evaluation in estuarine regions of China.

Key words: active nitrogen; nitrate dissimilatory reduction to ammonium; estuarine region; salt tide; total nitrogen control

氮是组成生物有机体的主要元素, 被称之为“营养元素”或“生源要素”。在水体中能被浮游生物直接利用的是溶解态无机氮化合物(也称为生物

活性氮), 主要以硝酸根、亚硝酸根和铵离子的形式存在。氮是评价和预测富营养化程度的主要指标和依据之一。然而, 由于水体循环过程中受到大量人

为输入氮素的影响,已在许多河口海岸产生了诸如赤潮暴发、底层水溶解氧锐减以及温室气体排放等重大环境问题。

1 河口区水体活性氮转化途径与氮素污染

河口是河流系统与海洋系统间的交接过渡地带,流动场受到径流动力和海洋动力相互作用的影响,咸潮上溯是入注海洋河流的河口中最主要潮汐动力过程之一。河口区咸潮频发,不仅直接影响生态供水安全,而且通过复杂的物化和生化作用改变了正常的营养盐浓度与分布,最终对生态环境产生了间接的累积影响。沉积物既是氮素营养盐的源和汇,也是以氮生化反应为主的微生物富集的场所。在地表水体氮循环的建立以及平衡中,微生物起着主导作用。氮在沉积物-水界面间的迁移转化是一个复杂的生物化学过程,在通常情况下硝化和反硝化是界面的主要迁移方式。生物活性氮通过微生物反硝化和厌氧氨氧化作用生成具生物惰性的氮气,从而可减轻其对水体中的污染;而由于硝态氮异化还原成铵(dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA, 也称为短程成铵)的作用,使硝态氮转化为铵而滞留在水体中,从而导致了水生态的恶化。

通过自然的硝化和反硝化过程可减少生物活性氮的存在,这是维持河口区生态平衡的重要途径。然而目前在河口区,尤其是经济发达、人为干扰严重的河口区,在外源氮素急剧增加的情况下,加上河口区特有的潮汐循环,受咸淡水交替、出露淹没交替、泥沙冲淤交替等海陆交互作用的影响,直接受陆域外源干扰的潮滩沉积物氮素转化途径在复杂的环境因子作用下出现多种氮素转化方式并存,在咸潮上溯时可能出现通过 DNRA 途径导致活性氮积累。

2 河口氮循环中 DNRA 过程的存在

迄今为止,人们对区域氮循环这一复杂的生物和地球物理化学过程的研究主要有各种自养或异养微生物为媒介的生物固氮、有机氮矿化、硝化以及反硝化等几个方面^[14]。关于在河口地区硝态氮循环形成的研究所得出的主要结论是:①反硝化是减少入海氮通量及富营养化水环境中氮素去除的最好手段^[3-4];②河口地区通常可清除 10%~60% 的氮负荷(全球范围内河口地区总氮负荷中约有一半通过反硝化作用去除^[4])。然而,由于还有其他形式的氮循环途径存在^[12,5],用现有海洋氮循环通量模型的计算结果始终无法达到氮平衡的范围^[6]。由此可见,还有一些在氮循环中影响显著的途径被忽

略了。虽然人们早在 20 世纪 80 年代末期就已通过试验证明了在氮循环中有 DNRA 过程的存在^[7],但对于这个过程在生态系统中硝态氮转化与归趋中的重要性只是在近年才开始得到认识^[8]。结合近年来一些新发现的氮转化形式,Santoro^[1]在 2010 年提出了在河口区的沉积物咸淡水交汇区氮素转化途径(图 1),比较全面地描述了氮素的来龙去脉。现有的研究表明^[8-11]:DNRA 过程主要存在于海洋系统(包括海底、河口和盐碱地沉积物),也会存在于土壤和淡水体系;不同生态微环境下均存在硝态氮通过 DNRA 途径生成铵的现象,其占初始硝态氮的 10%~90%^[8]。很显然, DNRA 占硝态氮总量的比率与具体地理和环境因素密切相关,如:在波兰富营养化水库底泥上覆水中通过 DNRA 过程减少的硝态氮约占 10%,且水温和碳/氮比的升高均有助于形成 DNRA 过程^[9]。

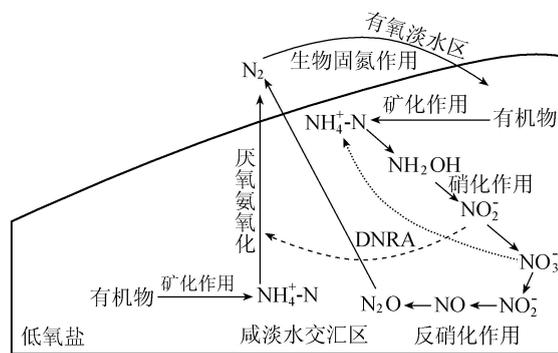


图 1 河口区沉积物水土界面咸淡水交汇区氮素可能的转化途径^[1]

3 DNRA 过程在河口地区氮循环中的地位

DNRA 过程对于河口海岸营养盐输送的氮通量增加有着重要影响,它在一些亚热带河口水体富营养化的趋向和特征较为显著。如美国的 Texas 和 Florida、澳州的 Flamouth 等,在水体富营养化过程中普遍存在铵氮积累,而且从氮素内循环生成的铵氮(非外源铵氮)占其总量的 10%~50%^[1,10-13]。如果仅用如图 1 所示的单向硝化-反硝化途径无法合理解释为什么在外源氮素输入量增加时,反硝化率下降而铵氮增加,与此同时具生物活性的氮通量增多。An 等人^[10]曾在美国德克萨斯州的 Laguna Madre 海湾用原状土芯法分析了通过 DNRA 作用产生的铵氮比重,发现有 15%~75% 转化为 $^{15}NH_4^+$ 的形式,5%~29% 转化为 $^{29+30}N_2$ ^[11],其试验证实了在浅水河口的 DNRA 过程是氮转化客观存在的“链节”(相应地成为反硝化的汇)。他们^[10-13]对亚热带浅水 Florida 海湾的研究表明^[10-13]:在这个相对高温高盐的滨岸带系统里夏季富营养化严重,生物活性氮素

通量高、河口富营养化加剧。这些研究成果从不同角度说明了在亚热带河口区环境中外源硝态氮输入量增加时, DNRA 过程在氮循环中的地位和作用显著。

在我国,涉及河口区关于 DNRA 途径在河口的氮素污染机理的研究几乎是空白。然而可从一些研究中间接地推测在珠江河口也存在着进行 DNRA 过程的微生物群落,并在硝酸盐还原中占有一定的位置。如:徐继荣等^[14]对珠江口入海河段水样和沉积物硝化与反硝化速率的研究中发现,硝态氮的还原速率远大于反硝化速率,表明硝态氮生化转化途径中的硝化-反硝化耦合反应不是唯一的主要途径。韦宗敏等^[15]研究了微生物好氧反硝化机理(与传统的好氧硝化/厌氧反硝化相悖),在利用珠江某河段的沉积物筛选好氧反硝化菌种过程中发现了能在碳源充足的情况下进行 DNRA 的微生物群落,其转化率可达 30%。由此断定,在珠江河口区也存在着较为显著的 DNRA 作用。

4 河口区特征环境因子对 DNRA 过程中功能微生物的影响

在河口区,潮汐周期内的咸淡水的交互作用显著,水体盐度是河口滨岸环境变化极为剧烈的环境因子之一。普遍认为盐度对微生物的反硝化具有抑制作用^[1,10-13],但也有研究表明盐度对此无负影响^[1]。但基本的共识是:随着盐分升高,硫酸盐逐渐下降,随之增多的低价态硫化物更易于成为 DNRA 的电子供体,从而有利于铵氮通过生物转化内循环在河口水体中积累^[5,11-12]。Laverman 等^[16]是少数在 DNRA 过程中研究微生物群落对水动力响应机制方面的学者,他们在咸-淡水交汇区的沉积物水土体系氮循环模拟试验中,观察到随着盐度升高, DNRA 过程中的反应速率比在淡水环境中高 35 nmol/(cm³·h),并由此推断:咸潮入侵对河口微生物群落会产生显著影响。Giblin 等^[17]对 Parker 河口沉积物的呼吸量,沉积物-水界面的营养通量、反硝化和 DNRA 过程中的反应速率进行了长达 13 a 的监测,结果表明,沉积物水土界面营养通量以氨为主要形式,氨通量与盐度有较高相关性, DNRA 过程中的季节变化模式与盐度时间尺度变化一致。随着潮汐周期变化的其他环境因子还有氧化还原电位(ORP)、水温、pH 值、水中的磷酸盐、硫酸盐、各形态的可溶性无机氮(DIN)等,但国内对河口环境因子影响 DNRA 过程的研究报道较少,国外研究发现 DNRA 过程易发生在 ORP 低、水温高的环境里^[5,12]。

从前期采用微生物生态学研究与氮转化(DNRA、硝化和反硝化等)相关功能微生物种类、丰度与河口区的营养盐梯度分布关系,以及用反转录定量聚合酶链式反应等分子生物技术(功能酶基因 *nrfA*, *narG*, *napA*, *nirS* 等)鉴定及指示功能微生物变化的报道中^[8,17],所得到的关于 DNRA 功能微生物生态学研究的初步认识是:DNRA 是通过厌氧或兼性厌氧微生物群落(假单胞菌属、固氮螺菌属和产气单胞菌属)来实现这一过程;其可能的转化途径有两种:一是发酵型微生物在代谢过程中,从有机物分解中转移过多的电子流到硝态氮;二是通过硫化物的电子流供给驱动。

硝态氮异化还原主要限于细菌,根据其终产物不同可区分成两类:一类是以气态氮化物(N₂O+N₂)为主导产物,称为反硝化;另一类以 NH₄⁺为主导产物,称为短程成铵(DNRA)^[3]。两种异化还原过程表面上是终产物不同,而实际上是生理和代谢过程的不同。因为厌氧呼吸是产能的,细菌为了生存当然优先利用产能更多的呼吸途径,因此反硝化过程更有普遍性。既然 DNRA 过程不产能,那么 DNRA 菌在与反硝化菌的竞争中为什么有存在的可能性?有研究者提出细菌从 DNRA 过程中可能得到如下益处^[7]:形成的铵氮可供细胞物质合成,氧化核苷酸(NADH);提高环境 pH 值;去除发酵过程形成的有害物质;能使细菌利用一些非发酵性基质进行厌氧生长。这些益处说明了 DNRA 菌为什么是目前所知的状态,但还不能完全解释其生态优势。关于这些问题,还需要从遗传学角度进一步研究相关调控机理,如呼吸和发酵之间的调控、好氧呼吸和厌氧呼吸两者的呼吸链组分合成调控、亚硝酸还原酶合成的基因调控等方面研究。从 DNRA 生态学已有的研究成果得知,该细菌适于在高 pH 值环境下生长,且对碳源种类要求较低,因此高盐环境下的沉积物有充足的碳源,具备 DNRA 菌糖代谢发酵的条件,从而可能具备与反硝化过程竞争的环境条件^[3,4,7]。

5 未来研究进展

综上所述,微生物的功能特征与环境因子相关,即使是同一种属的微生物常见种在不同区域环境中也表现出不同特征。地处氮富营养化的亚热带河口区的 DNRA 作用显著,并与特定的区域和地理环境有密切关系,而上述的 DNRA 功能微生物仅限于国外的河口氮素生物转化研究。鉴于 DNRA 过程对于珠江河口水体生态平衡的意义重大以及国内对该方向的研究甚少,因此有必要结合如气候、盐度、微

生物种类等具有区域特征的要素对 DNRA 的关联机制展开深入细致的研究,如,对于咸潮入侵后水生生态系统氮通量的变化、赤潮水华等水污染危机暴发的预测等,为我国河口地区的水资源保护和生态治理提供科学依据。

参考文献:

[1] SANTORO A E. Microbial nitrogen cycling at the saltwater-freshwater interface [J]. *Hydrogeology Journal*, 2010, 18: 187-202.

[2] GALLOWAY J N, TOENSEND A R, ERISMAN J W, et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions [J]. *Science*, 2008, 320: 889-897.

[3] JETTEN M S M. The microbial nitrogen cycle [J]. *Environ Microbiol*, 2008, 10: 2903-2909.

[4] HERBERT R A. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1999, 23: 563-590.

[5] SEITZINGER S P. Nitrogen cycle out of reach [J]. *Nature*, 2008, 452: 162-163.

[6] CODISPOTI L A, BRANDES J A, CHRISTENSEN J P, et al. The oceanic fixed nitrogen and nitrous oxide budgets: moving targets as we enter the anthropocene? [J]. *Scientia Marina*, 2001, 65 (S2): 85-105.

[7] TIEDJE J M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium [M]. New York: John Wiley and Sons, 1988: 210-212.

[8] BURGIN A J, HAMILTON S K. Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? a review of nitrate removal pathways [J]. *Rev Ecol Soc Am*, 2007, 5 (2): 89-96.

[9] GRUCA-ROKOSZ R, TOMASZEK J A, KOSZELNNIK P. Competitiveness of dissimilatory nitrate reduction processes in bottom sediment of Rzeszów reservoir [J]. *Environ Pro Eng*, 2009, 35 (2): 5-14.

[10] AN S, GARDNER W S. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) as a nitrogen "link", versus denitrification as a "sink" in a shallow estuary (Laguna Madre/Baffin Bay, Texas) [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2002, 237: 41-50.

[11] GARDNER W S, MC CARTHY M J, AN S, et al. Nitrogen fixation and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) support nitrogen dynamics in Texas estuaries [J]. *Limnol Oceanogr*, 2006, 51: 558-568.

[12] GARDNER W S, MC CARTHY M J. Nitrogen dynamics at the sediment-water interface in shallow, sub-tropical Florida Bay: why denitrification efficiency may decrease with increased eutrophication [J]. *Biogeochemistry*, 2009, 95: 185-198.

[13] MULHOLLAND P J, HELTON A M, POOLE G C, et al.

Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading [J]. *Nature*, 2008, 452: 202-205.

[14] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 等. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用 [J]. *环境科学学报*, 2005, 25 (5): 686-692. (XU Jirong, WANG Youshao, YIN Jianping, et al. Transformation of dissolved inorganic nitrogen species and nitrification and denitrification processes in the nearsea section of Zhujiang river [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25 (5): 686-692. (in Chinese))

[15] 韦宗敏, 黄少斌, 蒋然. 碳源对微生物硝酸盐异化还原成铵过程的影响 [J]. *工业安全与环保*, 2012, 38 (9): 4-10. (WEI Zongmin, HUANG Shaobin, JIANG Ran. Effect of carbon on dissimilatory nitrate reduction to ammonium process [J]. *Industrial Safety and Environmental Protection*, 2012, 38 (9): 4-10. (in Chinese))

[16] LAVERMAN A M, CANAVAN R W, SLOMP C P, et al. Potential nitrate removal in a coastal freshwater sediment (Haringvliet Lake, The Netherlands) and response to Salinization [J]. *Water Res*, 2007, 41: 3061-3068.

[17] GIBLIN A E, WESTON N B, BANTA G T, et al. The effects of salinity on nitrogen losses from an Oligohaline Estuarine sediment [J]. *Estuaries and Coasts*, 2010, 33: 1054-1068.

(收稿日期: 2013-09-05 编辑: 高渭文)

+++++

(上接第 9 页)

[6] 程会东, 陈鸿汉, 何江涛, 等. 北京城近郊区地下水人为影响和水-岩作用指示性指标研究 [J]. *水文地质工程地质*, 2007 (5): 37-42. (CHENG Huidong, CHEN Honghan, HE Jiangtao, et al. A study of indicators of anthropogenic influence and water-rock interaction in groundwater system in the urban region of Beijing [J]. *Hydrogeology and Engineering Geology*, 2007 (5): 37-42. (in Chinese))

[7] 杜新强, 齐素文, 廖资生, 等. 人工补给对含水层水质的影响 [J], *吉林大学学报: 地球科学版*, 2007, 37 (2): 293-297. (DU Xinqiang, QI Suwen, LIAO Zisheng, et al. Influence of artificial recharge on groundwater quality [J]. *Journal of Jilin University: Earth Science Edition*, 2007, 37 (2): 293-297. (in Chinese))

[8] 谢娟, 姜凌, 李泉. 地下水人工补给水质的研究: 以西安市回灌为例 [J]. *西安工程学院学报*, 2002, 24 (4): 67-72. (XIE Juan, JIANG Ling, LI Quan. The quality of artificially recharged groundwater-taking artificially recharged groundwater in Xi'an as an example [J]. *Journal of Xi'an Engineering University*, 2002, 24 (4): 67-72. (in Chinese))

[9] 杜涛. 南水北调入京后北京西南地区地下水水质演变的实验模拟研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2002.

(收稿日期: 2013-11-16 编辑: 徐娟)