

厌氧氨氧化细菌物种组成 对环境因子响应的研究进展^{*}

富冰冰, 刘吉文, 高铭鸿, 张晓华^{*}

(中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘 要:分析海洋水体及沉积物中厌氧氨氧化细菌所处的环境条件,比较海洋与淡水环境中其物种组成的差异,总结了其物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性对环境因子的响应规律。认为厌氧氨氧化细菌物种组成受多种环境因子的影响。其中,盐度为影响其物种组成的最显著因素,如 *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia* 及 *Candidatus Scalindua* 分别适应淡水、寡盐和海水环境;同一地区,其物种组成在不同季节表现出明显差异,夏季的多样性高于冬季的;根据陆源厌氧氨氧化细菌多样性及海洋沉积物中浮霉菌门多样性随深度增加而减小的趋势,推断海洋沉积物中厌氧氨氧化细菌多样性与深度成反比。厌氧氨氧化细菌丰度、厌氧氨氧化活性与温度、 NO_2^- 及 NO_3^- 浓度之间成正相关;丰度与季节的关系,在不同地区的研究结果存在差异。未来厌氧氨氧化细菌研究工作重点应在其对氧浓度的耐受范围、海洋中厌氧氨氧化细菌多样性随深度的变化规律、导致其物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性季节性差异的具体环境因子。

关键词:厌氧氨氧化细菌;物种组成;丰度;厌氧氨氧化活性;环境适应性

中图分类号: Q938.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-6647(2014)03-0427-08

1 厌氧氨氧化细菌概述

厌氧氨氧化细菌在海洋低氧水体及沉积物、深海热液喷口、深海火山灰以及北极海冰等多种低氧或厌氧海洋环境中广泛存在。厌氧氨氧化过程对海洋氮气的形成有 24%~67% 的贡献率^[1],在海洋氮循环中发挥重要作用。另外,由于碳循环和氮循环密不可分,推测厌氧氨氧化过程同时影响大气中 CO_2 的含量^[2]。厌氧氨氧化细菌通过氧化 NH_4^+ 还原 NO_2^- 生成 N_2 ,可有效降低环境中氮盐的含量,在污水及富营养化水体的处理中,发挥重要作用。

厌氧氨氧化细菌属于浮霉菌门,具有由厌氧氨氧化体、核糖细胞质、外室细胞质组成的特殊细胞结构,针对其的研究正在深入。2014-01, Teeseling 等首次描述了 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 细胞最外层为蛋白质亚基晶体排列组成的蛋白质层,进一步完善了厌氧氨氧化细菌的细胞模型^[3]。目前,厌氧氨氧化细菌共包括 5 个属 13 个种(表 1),其中 *Candidatus Scalindua* 属的 *Candidatus Scalindua sorokinii* 为首次在自然环境中发现的厌氧氨氧化细菌种类,发现于黑海厌氧底层水中^[4]。*Candidatus Scalindua zhenhei* I、*Candidatus Scalindua zhenhei* II 及 *Candidatus Scalindua zhenhei* III 为 2011 年命名的 3 个新种,发现于南海表层沉积物中^[5]。

^{*} 收稿日期:2014-03-27

资助项目:国家自然科学基金项目——南太平洋环流区洋底沉积物及海水的微生物群落演化及功能活性研究(41276141)

作者简介:富冰冰(1988-),女,满族,吉林柳河人,硕士研究生,主要从事海洋微生物学方面研究. E-mail: mufashabing@126.com

^{*} 通讯作者,张晓华(1965-),女,博士,教授,主要从事海洋微生物学方面研究. E-mail: xhzhang@ouc.edu.cn

表 1 厌氧氨氧化细菌种属

Table 1 The genera and species of anammox bacteria

厌氧氨氧化细菌属名	厌氧氨氧化细菌种名	文献
<i>Candidatus</i> Kuenenia	<i>Candidatus</i> Kuenenia stuttgartiensis	6
<i>Candidatus</i> Jettenia	<i>Candidatus</i> Jettenia asiatica	7
<i>Candidatus</i> Brocadia	<i>Candidatus</i> Brocadia anammoxidans	8
	<i>Candidatus</i> Brocadia flugiada	9
<i>Candidatus</i> Anammoxoglobus	<i>Candidatus</i> Anammoxoglobus propionicus	10
<i>Candidatus</i> Scalindua	<i>Candidatus</i> Scalindua arabica	11
	<i>Candidatus</i> Scalindua sorokinii	4
	<i>Candidatus</i> Scalindua brodae	12
	<i>Candidatus</i> Scalindua wagneri	12
	<i>Candidatus</i> Scalindua sinooilfield	13
	<i>Candidatus</i> Scalindua zhenhei I	5
	<i>Candidatus</i> Scalindua zhenhei II	5
	<i>Candidatus</i> Scalindua zhenhei III	5

厌氧氨氧化细菌在海洋及多种生态环境中广泛存在,其物种组成、丰度、厌氧氨氧化活性以及三者对环境因子响应的研究,有助于全面认识厌氧氨氧化过程在海洋氮循环中发挥的作用。了解厌氧氨氧化细菌类群对不同环境因子的适应性,为其在污水处理等方面的实际应用提供了理论基础。现已发现厌氧氨氧化细菌物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性受多种环境因子的影响。在不同环境中,发挥显著影响作用的环境因子不同;对于同一环境因子,不同研究者发现的结果存在差异。目前,对于厌氧氨氧化细菌在海洋及其它生态环境中的存在现状及其物种组成、丰度、活性与环境因子之间的关系缺乏系统的归纳总结及分析比较。

2 海洋厌氧氨氧化细菌环境适应性研究的技术基础

海洋中绝大多数微生物难以利用传统微生物培养方法进行纯培养,分子生物学技术的发展为更好地认识海洋微生物提供了基础。基因组学及生物信息学等分子生物学技术由于具有无需纯化培养、直接从环境中提取 DNA 等优点,避免了培养过程中细菌多样性严重损失的弊端,广泛应用于海洋微生物种群结构、丰度等方面的研究。目前,厌氧氨氧化细菌物种组成及丰度等方面的分子生物学技术主要包括针对 16S rRNA, *hzo*, *nirS*, *hzs* 和细胞色素 C 等基因的克隆文库构建^[14-16]、新兴的第二代高通量测序以及宏基因组分析技术^[12]、荧光定量 PCR^[17]及荧光原位杂交技术^[4]等。扩增各基因所用的特异性 PCR 引物及特异性荧光定量 PCR 引物分别见表 2 和表 3。

表 2 扩增厌氧氨氧化细菌各基因的常用 PCR 引物

Table 2 PCR primers for amplification of anammox bacterial genes

目的基因	正向引物名称	序列 (5'-3')	反向引物名称	序列 (5'-3')	文献
Scalindua-16S rRNA	Broad 541F	GAGCACGTAGGTGGGTTTGT	Broad 1260R	GGATTCGCTTCACCTCTCGG	17
Anammox-16S rRNA	Pla46F	GGATTAGGCATGCAAGTC	1307R	CGACAAGGAATTCGCTAC	18
	Amx 368F	TTCGCAATGCCCGAAAGG	Amx 820R	AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC	18
<i>hzo</i>	<i>hzo</i> F1	TGTGCATGGTCAATTGAAAG	<i>hzo</i> R1	CAACCTCTTCWGCAGGTGCATG	19
	<i>hzo</i> AB1F	GAAGCNAAGGCNGTAGAAATTATCAC	<i>hzo</i> AB1R	CTCTTCNGCAGGTGCATGATG	14
	<i>hzo</i> AB4F	TTGARTGTGCATGGTCTAWTGAAAG	<i>hzo</i> AB4R	GCTGACCTGACCARTCAGG	14
	Ana- <i>hzo</i> 1F	TGTGCATGGTCAATTGAAAG	Ana- <i>hzo</i> 2R	ACCTCTTCWGCAGGTGCAT	19
<i>hzsA</i>	<i>hzsA</i> _382F	GGYGGDTGYCAGATATGGG	<i>hzsA</i> _2390R	ATRTTRTCCCAATGYGCHCC	15
	<i>hzsA</i> _526F	TAYTTTGAAGGDDGACTGG	<i>hzsA</i> _1857R	AAABGGYGAATCATARTGGC	15
Scalindua- <i>nirS</i>	Scnir372F	TGTAGCCAGCATGTAGCGT	Scnir845R	TCAAGCCAGACCCATTTGCT	16
Anammox- <i>nirS</i>	cd3aF	GTSAACGTSAAGGARACSGG	R3cd	GASTTCGGRTGSGTCTTGA	16

表 3 扩增厌氧氨氧化细菌各基因的常用荧光定量 PCR 引物
Table 3 Real time-PCR primers for amplification of anammox bacterial genes

目的基因	正向引物名称	序列(5'-3')	反向引物名称	序列(5'-3')	文献
Anammox 16S rRNA	AMX-808-F	ARCYGTAAACGATGGGCACTAA	AMX-1040-R	CAGCCATGCAACACCTGTRATA	20
hzo	hzoF1	TGTGCATGGTCAATTGAAAG	hzoR1	CAACCTCTTCWGCAGGTGCATG	19
	HZOF5	AGTATGGGTATGTCHAATG	HZOR5	CATCWGTCCATACCAAA	16
hzsA	hzsA_1597F	WTYGGKTATCARTATGTAG	hzsA_1857R	AAABGGYGAATCATARTGGC	15

3 海洋厌氧氨氧化细菌的环境适应性

厌氧氨氧化细菌在海洋及其他生态系统中广泛分布,但种类上却存在明显差异,如海洋环境中存在的厌氧氨氧化细菌属于 *Candidatus Scalindua*,而在废水处理厂活性淤泥或淡水环境中的厌氧氨氧化细菌多属于 *Candidatus Brocadia*。环境因素是引起以上差异的主要原因。了解厌氧氨氧化细菌物种组成及分布与环境因子之间的关系,将为厌氧氨氧化细菌作为生物指示物用以评估环境特点及环境中氮污染程度这一科学构想提供理论基础。

3.1 盐 度

2003 年 Jetten 等报道了 *Candidatus Scalindua* 对盐度有极高的耐受力^[21],随后的研究结果有力地证实了这一发现。在南太平洋东部的秘鲁上升流^[20]、日本海^[22]以及巴伦支海、黑海等 11 个不同海区(盐度为 17~35)^[23]均发现厌氧氨氧化细菌的存在,且只属于 *Candidatus Scalindua*。而 *Candidatus Brocadia* 被报道适于生活在淡水环境中^[21]。2012 年,王善雨等人在盐度为 0.09~0.18 的珠江口沉积物中观察到 *Candidatus Brocadia* 在淡水环境中占优势(占厌氧氨氧化细菌的 53.6%)^[24]。2013 年侯立军等在盐度为 0 的 2 个长江口沉积物样品中观察到厌氧氨氧化细菌全部属于 *Candidatus Brocadia*^[25]。另外,在盐度为 1.0~18.0 的长江口沉积物样品中观察到 *Candidatus Kuenenia* 的存在^[25],表明 *Candidatus Kuenenia* 对寡盐(0.5~5)及中盐(5~18)环境有一定的适应性^[18],虽然 Kartal 等曾推断 *Candidatus Kuenenia* 是适于生活在淡水环境中的类群^[26]。在凯普菲尔河口^[18]及长江口^[25]沉积物中观察到厌氧氨氧化细菌优势类群随盐度的升高从 *Candidatus Brocadia* 转变为 *Candidatus Scalindua*,这一分布模式清楚地展现了 *Candidatus Brocadia*、*Candidatus Kuenenia* 及 *Candidatus Scalindua* 对盐度变化的不同响应。相关性分析表明盐度是导致上述河口区厌氧氨氧化细菌物种组成差异分布的最主要因素^[18,25]。目前,厌氧氨氧化细菌物种组成与盐度之间关系的研究已较为明确,*Candidatus Brocadia*、*Candidatus Kuenenia* 及 *Candidatus Scalindua* 分别适应淡水、寡盐、海水环境的特性,有力地证实盐度是导致厌氧氨氧化细菌物种组成及分布差异的重要环境因子。

3.2 温 度

厌氧氨氧化细菌存在于一个广阔的温度范围。−2.5℃的北极海冰(固态)^[27]是目前发现厌氧氨氧化细菌的最低温度环境,厌氧氨氧化细菌的细胞数约为 1.1×10⁶个/mL 海冰。表面流体温度为 100℃的深海热液喷口^[28]是目前发现厌氧氨氧化细菌的最高温度环境,发现的厌氧氨氧化细菌属于 *Candidatus Scalindua* 和 *Candidatus Kuenenia*。此外,在 8~27℃的切萨皮克海湾^[29]等多种适宜温度的海洋环境中均观察到厌氧氨氧化细菌的存在,但都属于 *Candidatus Scalindua*。厌氧氨氧化细菌对温度的广泛适应性在淡水及陆源环境中同样被证实,24~65℃的温泉^[30]、55~75℃的石油储油池^[13]、3.2~34℃的长江口^[25]均观察到厌氧氨氧化细菌的存在。相关性分析表明,温度影响长江口厌氧氨氧化细菌丰度及活性,温度较高时丰度及活性较高。厌氧氨氧化细菌对温度的广泛适应性已证实,但其群落组成在不同温度的海洋环境中均以 *Candidatus Scalindua* 占绝对优势。厌氧氨氧化细菌对温度的极限耐受范围;温度是否影响海洋厌氧氨氧化细菌

群落组成;海洋厌氧氨氧化细菌丰度、活性与温度之间的关系,需在今后深入研究。

3.3 溶解氧

厌氧氨氧化细菌是一种专性厌氧菌^[31]。迄今为止,对厌氧氨氧化细菌的研究几乎全部集中于低氧或厌氧环境。2014-03, Daigger 等研究表明厌氧氨氧化过程须有少量氧(1.71 mg O₂/mg 氮转化为氮气)的参与^[32]。另外,在未达到低氧标准(<3 mg/L)的秘鲁海水体中通过基因扩增及类脂分析技术,检测到厌氧氨氧化细菌的存在^[20]。厌氧氨氧化细菌存在于有氧水体中这一现象,有 2 种可能原因:1)表明厌氧氨氧化细菌对氧气有一定的耐受力,厌氧氨氧化过程在氧浓度略高的环境中仍存在;2)观察到的厌氧氨氧化细菌为受到氧气抑制作用处于休眠状态的细胞,氧气仍然是厌氧氨氧化过程的重要限制因素。由于基因扩增和类脂分析技术不能区分细胞的活性状态和休眠状态,因而目前无法断定氧气对厌氧氨氧化过程的具体影响。厌氧氨氧化细菌对氧气的耐受范围及氧气对其的具体影响会成为今后一段时期研究的一个热点和重点。

3.4 氮 盐

厌氧氨氧化细菌为化能自养菌,以 NO₂⁻ 为电子受体、NH₄⁺ 为电子供体,因此环境中氮盐的含量影响厌氧氨氧化过程。2005 年 Meyer 等对红树林沉积物^[33]及 2010 年党宏月等对胶州湾沉积物^[17]的研究均发现随 NO₂⁻ 浓度上升,厌氧氨氧化速率及厌氧氨氧化细菌丰度呈现上升趋势,证实海洋厌氧氨氧化细菌丰度及活性与 NO₂⁻ 浓度之间存在明显的正相关性。这种正相关性同样存在于泰晤士河口^[34]、长江口^[25]等淡水环境中。这些研究表明,NO₂⁻ 浓度为氮盐组分中显著影响厌氧氨氧化细菌丰度及活性的因素,NO₃⁻ 浓度的影响较弱。然而,与之不同的是,2008 年 Rich 等发现切萨皮克海湾沉积物中 NO₃⁻ 浓度是氮盐组分中显著影响厌氧氨氧化细菌丰度及厌氧氨氧化活性的因素,NO₃⁻ 浓度与厌氧氨氧化细菌丰度及活性之间呈正相关性^[29]。未发现 NO₂⁻ 浓度的显著影响。目前尚未发现 NH₄⁺ 浓度对厌氧氨氧化过程的显著影响。综上所述,厌氧氨氧化细菌的丰度及活性与 NO₂⁻ 或 NO₃⁻ 浓度之间具有正相关性,但氮盐浓度对厌氧氨氧化细菌群落组成的具体影响,仍需进一步研究。

3.5 深度和 pH

尚未见有关海洋中厌氧氨氧化细菌随水体或沉积物深度变化的研究报道。但是,2008 年舒青龙等通过对南海不同深度沉积物中与厌氧氨氧化细菌相关的浮霉菌门细菌的研究发现,浮霉菌门细菌多样性随深度增加而减少,且其存在的极限深度为 5 m^[35]。在水稻土壤中观察到厌氧氨氧化细菌多样性随深度增加而减少的明显趋势。表层水稻土壤包括 *Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Jettenia* 和 *Candidatus Anammoxoglobus* 三个属,随深度的增加多样性降低,深层(表层下方 1 m 处)水稻土壤中只发现 *Candidatus Brocadia* 的存在^[36]。该研究同时也发现了厌氧氨氧化细菌丰度存在垂直差异,16S rRNA 基因丰度最高处为表层土壤下方 40~50 cm 处,为 1.1×10^7 16S rRNA 基因 copies/g^[36]。海洋厌氧氨氧化细菌多样性是否同陆源研究结果相同,有关海洋环境中厌氧氨氧化细菌多样性、丰度随深度的变化趋势以及其对深度的极限适应范围需进一步研究。目前发现厌氧氨氧化细菌的海洋或淡水环境都有较适 pH(6~8.9),研究环境并未包括显著酸性或碱性条件。因此,厌氧氨氧化细菌对 pH 的耐受范围,是下一步深入研究的方向。

3.6 季 节

厌氧氨氧化细菌物种组成、丰度及活性在冬、夏两季表现出明显差异。季节差异性研究目前多集中于淡、海水混合的河口环境,海洋环境中相关研究应在日后加强。

2011 年李蒙等人在香港米埔湿地自然保护区河口沉积物中观察到,夏季厌氧氨氧化细菌包括 *Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Scalindua* 和 *Candidatus Anammoxoglobus* 三个属,而在冬季则只包括 *Candidatus Scalindua* 和 *Candidatus Anammoxoglobus* 两个属。*Candidatus Kuenenia* 只存在于夏季该地区沉积

物中。他们推断人类活动和陆源输入是引起上述厌氧氨氧化细菌物种组成季节差异的主要原因。夏季周边河流的输入,引入了丰富的营养盐以及适应寡盐水环境的 *Candidatus Kuenenia*^[36]。与此相似,在珠江口沉积物中也观察到厌氧氨氧化细菌物种组成的季节差异。但不同的是物种组成从夏季到冬季由 *Candidatus Jettenia*、*Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia* 转变为 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia*^[24]。这些研究表明,厌氧氨氧化细菌夏季的多样性高于冬季的,但具体物种组成的改变在不同地区存在差异。

厌氧氨氧化细菌丰度、活性在冬、夏两季也表现出明显不同。在香港米浦湿地沉积物中夏季厌氧氨氧化细菌丰度高于冬季的^[37]。然而,在珠江口沉积物中却发现了相反的变化趋势,厌氧氨氧化细菌的丰度在冬季较高,为 $(1.4 \sim 20) \times 10^8$ *hzs* 基因 copies/g,在夏季仅为 $(1.3 \sim 12) \times 10^6$ *hzs* 基因 copies/g^[24]。同时,厌氧氨氧化细菌活性在冬季明显高于夏季的,且已证实丰度与活性之间无明显关系^[24]。

季节影响包括温度、人为输入、水体流动速度等多种环境因素。现已证实,河口地区冬、夏两季相比,厌氧氨氧化细菌多样性在夏季较高;活性在冬季较高,但具体的影响因素目前尚不明确。海洋环境具有受人为干扰小、营养盐含量相对稳定等特点,在分析季节性差异与环境因子相关性方面具有优势。海洋中厌氧氨氧化细菌物种组成、丰度及活性的季节变化;导致季节差异性的具体环境原因,可作为今后海洋厌氧氨氧化细菌研究的重点。

这些研究都表明厌氧氨氧化细菌的物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性受多种环境因子的影响。其物种组成因不同类群对盐度耐受程度的不同,在淡水和海水环境中呈现明显差异;多样性随深度的增加而减小;物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性也在不同季节表现出明显差异;丰度、厌氧氨氧化活性与温度、 NO_2^- 及 NO_3^- 浓度之间成正相关性。然而, NO_2^- 浓度、 NO_3^- 浓度、温度、溶解氧以及季节变化所包含的各种因素对厌氧氨氧化细菌物种组成的具体影响;厌氧氨氧化细菌对温度、深度、溶氧量及 pH 的耐受范围;氧浓度对厌氧氨氧化细菌细胞活性的影响等问题,目前尚无结论,仍需进一步研究。

4 海洋厌氧氨氧化细菌环境适应性研究展望

4.1 对环境因子响应研究的深入

作为海洋氮循环研究的新问题及热点问题,环境因子对厌氧氨氧化细菌物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性的影响现已在多个海区、多种环境中被证实并具有一定规律。但仍有相关研究需进一步深入,我们认为以下方面可以作为今后海洋厌氧氨氧化细菌环境响应研究的重点:1)海洋中厌氧氨氧化细菌多样性随深度的变化规律——多样性是否随深度增加呈现递减趋势或呈现先增后减的趋势;2)导致厌氧氨氧化细菌物种组成、丰度及厌氧氨氧化活性季节性差异的具体环境因子——是否不同季节氮素等营养盐人为排放导致的环境污染是其中最主要的影响因素;3)氧浓度对厌氧氨氧化细菌细胞活性及厌氧氨氧化过程的抑制作用——较高的氧浓度是否会导致厌氧氨氧化细菌细胞处于休眠状态;4)厌氧氨氧化细菌对温度、深度、溶氧量及 pH 的最高和最低耐受值。此外,目前海洋厌氧氨氧化细菌的研究多集中在近海区域,缺乏远海及深海环境中厌氧氨氧化细菌的研究数据,大大限制了对海洋中厌氧氨氧化过程的准确评估,今后应加强对深海及远海厌氧氨氧化细菌的研究。

4.2 扩增引物的改进

分子生物学技术作为目前研究厌氧氨氧化细菌的主要生物学手段,同样广泛应用于海洋厌氧氨氧化细菌的研究中。但现有的某些技术在检测厌氧氨氧化细菌方面不能达到理想效果。如目前有多种引物可用于扩增厌氧氨氧化细菌 16S rRNA 基因序列,但扩增效果并不理想。扩增产物除了厌氧氨氧化细菌相关序列之外,还包括非厌氧氨氧化细菌序列,如 γ -变形菌门^[38]、疣微菌门^[19]等。李蒙等曾报导在用 Brod541F/

Brod1260R 引物对扩增厌氧氨氧化细菌 16S rRNA 基因时,还会同时扩增出隶属于霍乱弧菌、生丝微菌、产左聚糖微杆菌的基因序列^[19]。另外,16S rRNA 基因和 *hzo* 功能基因在分析结果上也存在一些差异:对于同一样品,16S rRNA 基因进化分析会发现 *Candidatus* Brocadia 而未发现 *Candidatus* Anammoxoglobus,相反,*hzo* 功能基因的进化分析常常发现 *Candidatus* Anammoxoglobus 却不能发现 *Candidatus* Brocadia^[13]。以上结果可能是由于引物的特异性和覆盖度不同所引起的,因此,为了更好地了解厌氧氨氧化细菌的多样性,应该加强对更为有效的扩增引物的设计。

参考文献(References):

- [1] THAMDRUP B, DALSGAARD T, JENSEN M M, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the oxygen-deficient waters off northern Chile[J]. Limnol. Oceanogr., 2006, 51(5): 2145-2156.
- [2] HONG Y G, LI M, GU J D, et al. Bacterial anaerobic ammonia oxidation (Anammox) in the marine nitrogen cycle-A review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 49(3): 281-286. 洪义国,李猛,顾继东,等.海洋氮循环中细菌的厌氧氨氧化[J].微生物学报,2009,49(3): 281-286.
- [3] TEESELING M C F, ALMEIDA N M, KLINGL A, et al. A new addition to the cell plan of anammox bacteria: *Candidatus* Kuenenia stuttgartiensis has a protein surface layer as the outermost layer of the cell[J]. Journal of Bacteriology, 2014, 196(1): 80-89.
- [4] 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: 608-611.
- [5] HONG Y G, LI M, CAO H, et al. Residence of habitat-specific anammox bacteria in the deep-sea subsurface sediments of the South China Sea: analyses of marker gene abundance with physical chemical parameters[J]. Microbial Ecology, 2011, 62(1): 36-47.
- [6] SCHMID M, TWACHTMANN U, KLEIN M, et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2000, 23: 93-106.
- [7] QUAN Z X, RHEE S K, ZUO J E, et al. Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10: 3130-3139.
- [8] DAMSTE J S S, STROUS M, RIJPSTRA W I C, et al. Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane[J]. Nature, 2002, 419(6908): 708-712.
- [9] KARTAL B, NIFTRIK L, RATTRAY J, et al. *Candidatus* Brocadia fulgida: an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 63: 46-55.
- [10] KARTAL B, RATTRAY J, 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.
- [11] WOEIKEN D, LAM P, KUYPERS M M M, et al. A microdiversity study of anammox bacteria reveals a novel *Candidatus* Scalindua phylotype in marine oxygen minimum zones[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 3106-3119.
- [12] KLOTA M G, STEINTEIN L Y. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle[J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, 278(2): 146-156.
- [13] LI H, CHEN S, MU B Z, et al. Molecular detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria in high-temperature petroleum reservoirs[J]. Microbial Ecology, 2010, 60(4): 771-783.
- [14] HIRSCH M D, LONG Z T, SONG B. Anammox bacterial diversity in various aquatic ecosystems based on the detection of hydrazine oxidase genes (*hzoA/hzoB*) [J]. Environmental Microbiology, 2011, 61(2): 264-276.
- [15] HARRY R H, ROY M L, ALLEN T, et al. Hydrazine synthase, a unique phylomarker with which to study the presence and biodiversity of anammox bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(3): 752-758.
- [16] LI M, HONG Y G, CAO H L, et al. Community structures and distribution of anaerobic ammonium oxidizing and nirS-encoding nitrite-reducing bacteria in surface sediments of the South China Sea[J]. Microbial Ecology, 2013, 66(2): 281-296.
- [17] DANG H Y, CHEN R P, WANG L, et al. Environmental factors shape sediment anammox bacterial communities in hypernutrified Jiaozhou Bay, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76: 7036-7047.
- [18] DALE O R, TOBIAS C R, SONG B. Biogeographical distribution of diverse anaerobic ammonium oxidizing (anammox) bacteria in Cape Fear River Estuary[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(5): 1194-1207.
- [19] LI M, HONG Y G, KLOTZ M G, et al. A comparison of primer sets for detecting 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase genes of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine sediments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(2): 781-790.

- [20] HAMERSLEY M R, LAVIK G, WOEBKEN D, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone[J]. 2007, *Limnology and Oceanography*, 52(3): 923-933.
- [21] JETTEN M S M, SLIEKERS O, KUYPERS M, et al. Anaerobic ammonium oxidation by marine and freshwater Planctomycete-like bacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 63(2): 107-114.
- [22] AMANO T, YOSHINAGE I, OKADA K, et al. Detection of anammox activity and diversity of anammox bacteria-related 16S rRNA genes in coastal marine sediments in Japan[J]. *Microbes Environ.*, 2007, 22: 232-242.
- [23] SCHMID M C, RISGAARD-PETERSEN N, VOSSBERG J, et al. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine environments: widespread occurrence but low diversity[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(6): 1476-1486.
- [24] WANG S Y, ZHU G B, PENG Y Z, et al. Anammox bacterial abundance, activity, and contribution in riparian sediments of the Pearl River Estuary[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 46(16): 8834-8842.
- [25] HOU L J, ZHENG Y L, LIU M, et al. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary[J]. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences*, 2013, 118(3): 1237-1246.
- [26] KARTAL B, KOLEVA M, ARSOV R, et al. Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater[J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 126(4): 546-553.
- [27] RYSGAARD S, GLUD R N. Anaerobic N₂ production in Arctic sea ice[J]. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(1): 86-94.
- [28] BYRNE N, STROUS M, CREPEAU V, et al. Presence and activity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria at deep-sea hydrothermal vents[J]. *ISME Journal*, 2009, 3: 117-123.
- [29] RICH J J, DALE O R, SONG B, et al. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in Chesapeake Bay sediments[J]. *Microbial Ecology*, 2008, 55(2): 311-320.
- [30] JAESCHKE A, CAMP H J M, HARHANGI H, et al. 16S rRNA gene and lipid biomarker evidence for anaerobic ammonium-oxidizing bacteria (anammox) in California and Nevada hot springs[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(3): 343-350.
- [31] JETTEN M S M, STROUS M, PAS-SCHOONEN K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, 22(5): 421-437.
- [32] DAIGGER G T. Oxygen and carbon requirements for biological nitrogen removal processes accomplishing nitrification, nitrification, and anammox[J]. *Water Environment Research*, 2014, 86: 204-209.
- [33] MEYER R L, RISGAARD-PETERSEN N, ALLEN D E. Correlation between anammox activity and microscale distribution of nitrite in a subtropical mangrove sediment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(10): 6142-6149.
- [34] TRIMMER M, NICHOLLS J C, DEFLANDRE B. Anaerobic ammonium oxidation measured in sediments along the Thames estuary, United Kingdom[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69: 6447-6454.
- [35] SHU Q L, JIAO N Z. Profiling planctomycetales diversity with reference to anammox-related bacteria in a South China Sea, deep-sea sediment[J]. *Marine Ecology*, 2008, 29(4): 413-420.
- [36] ZHU G B, WANG S Y, WANG Y, et al. Anaerobic ammonia oxidation in a fertilized paddy soil[J]. *ISME Journal*, 2011, 5: 1905-1912.
- [37] LI M, CAO H L, HONG Y G, et al. Seasonal dynamics of anammox bacteria in estuarial sediment of the MaiPo Nature Reserve revealed by analyzing the 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase (*hzo*) genes[J]. *Microbes Environ.*, 2011, 26: 15-22.
- [38] GALAN A, MOLINA V, THAMDRUP B, et al. Anammox bacteria and the anaerobic oxidation of ammonium in the oxygen minimum zone off northern Chile[J]. *Deep-Sea Research II*, 2009, 56(16): 1021-1031.

Progress in Study on Response of Anammox Bacterial Species Composition to Environmental Factors

FU Bing-bing, LIU Ji-wen, GAO Ming-hong, ZHANG Xiao-hua

(College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The responsive regularity of anammox bacterial species composition, abundance and anammox activity to environmental factors was summarized by analyzing the environmental conditions where anammox bacteria exist and comparing the difference of anammox bacterial species composition in seawater and freshwater environments. It was considered that anammox bacterial species composition was influenced by various environmental factors. Thereinto, salinity was the most significant environmental factor contributed to the species composition of anammox bacteria. For example, *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia* and *Candidatus Scalindua* adapt to freshwater, oligohaline and seawater environments, respectively. Anammox bacterial species composition of the same area shows an obvious difference with seasonal variation, and the community of anammox bacteria in summer has higher diversity than in winter. It is deduced that anammox bacterial diversity was negatively correlated with the depth in marine sediments, based on the downward trends of anammox and Planctomycetes bacterial diversities observed in soil and marine sediments, respectively. The abundance and anammox activity of anammox bacteria have positive correlations with temperature, NO_2^- and NO_3^- . The correlation between anammox bacterial abundance and seasons exhibited different results in different study areas. The emphasis of future research work on anammox bacteria should be the tolerance range of anammox bacteria to oxygen concentrations; the correlation between anammox bacterial diversity and depth in marine sediments; the specific environmental factors leading to the difference of anammox bacterial species composition, abundance and anammox activity with seasonal variations.

Key words: anammox bacteria; community structure; abundance; anammox activity; environmental adaptability

Received: March 27, 2014