

海洋环境中的厌氧氨氧化细菌与厌氧氨氧化作用

姚鹏^{1,2}, 于志刚^{1,2*}

(1. 中国海洋大学 教育部海洋化学理论与工程技术重点实验室, 山东 青岛 266100; 2. 中国海洋大学 海洋有机地球化学研究所, 山东 青岛 266100)

摘要: 厌氧氨氧化是细菌在厌氧条件下将氨氮氧化成氮气的过程, 主要应用在污水处理反应器中, 最近几年发现在海洋环境中也广泛存在, 并在海洋氮循环过程中发挥了重要作用, 代表了海洋中一个巨大的氮汇, 对碳循环和全球气候变化也有重要影响。梯烷膜脂结构独特, 是厌氧氨氧化细菌的化学标志物, 具有化学分类与古海洋学应用潜力。厌氧氨氧化作用及厌氧氨氧化细菌已成为海洋生物地球化学、微生物学、有机地球化学等研究领域的热点。

关键词: 细菌; 厌氧氨氧化; 氮循环; 16S rRNA; 梯烷膜脂

中图分类号: P734; P735

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2011)04-0001-08

1 引言

厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation (anammox))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^[1](图 1)。Broda^[2]首先从理论上预测了该过程的存在, 后来在污水处理反应器中得到实证和广泛应用^[3-4], 最近几年使用同位素标记、基因序列、生物标志物分析等多种技术手段发现厌氧氨氧化在海洋和淡水环境中也普遍存在, 并且可能是海洋中无机氮更重要的汇, 代表了厌氧系统中氮丢失的一个重要过程^[5-10]。

16S rRNA 基因序列分析表明能够进行厌氧氨氧化的是一类厌氧细菌, 属于浮霉菌门(*Planctomycetales*)细菌的一个深度分支, 而浮霉菌被认为是细菌域最早的分支之一, 因此厌氧氨氧化细菌很可能也影响了过去的海洋生物地球化学循环过程^[11]。另外, 由于具有“细胞器”和缺少肽聚糖等特性, 浮霉菌成为研究细菌和真核细胞之间进化关系的模式微生物, 因此研究厌氧氨氧化细菌的系统进化也有助于了解生命起源和地球系统演化过

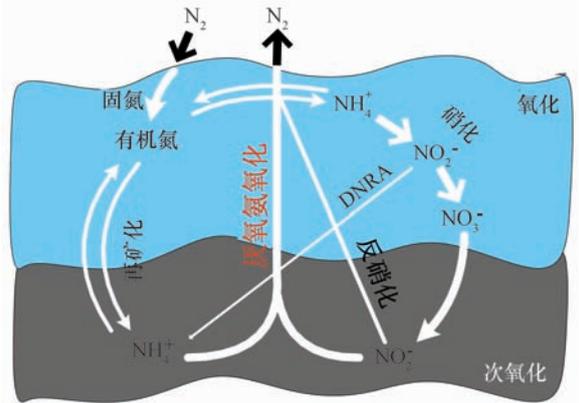


图 1 海洋环境中氮循环概念图(重绘自 Rattray 等^[12])
DNRA 表示硝酸盐/亚硝酸盐异化还原为铵

程^[11, 13-15]。

和其他浮霉菌一样, 厌氧氨氧化细菌也具有细胞内膜结构^[16], 其中进行厌氧氨氧化的囊称作厌氧氨氧化体(anammoxosome)^[17], 厌氧氨氧化体的膜是一层厚厚的致密结构, 其膜脂由形似楼梯一样排列的 3~5 个线性连接的环丁烷构成的“梯烷(lad-

收稿日期: 2010-01-29; 修订日期: 2011-04-21。

基金项目: 国家自然科学基金重大国际(地区)合作研究项目(长江口及邻近海域底边界层生物地球化学过程研究)(40920164004)资助项目。

作者简介: 姚鹏(1977—), 男, 山东省菏泽市人, 讲师, 硕士, 主要从事海洋有机生物地球化学研究。E-mail: yaopeng@ouc.edu.cn

* 通信作者: 于志刚, 教授, 博士, 主要从事海洋化学和海洋环境科学研究。E-mail: zhigangyu@ouc.edu.cn

derane)”核心脂(图 2)和不同的极性头基组成,这种特殊的结构能够保护厌氧氨氧化细菌在氨氧化过程中不受反应中间体的毒害^[17-18]。不同的厌氧氨氧化细菌具有不同的梯烷膜脂结构,因此对于厌氧氨氧化细菌而言,梯烷膜脂具有一定的化学分类潜

力^[9, 19]。研究还表明,梯烷膜脂的结构和温度有一定关系^[20],基于此而建立的指标可以用来判断沉积物中的厌氧氨氧化细菌是来自上层温暖水体还是在较冷的表层沉积物中现场生产,并有可能用来重建古海水表面温度^[12]。

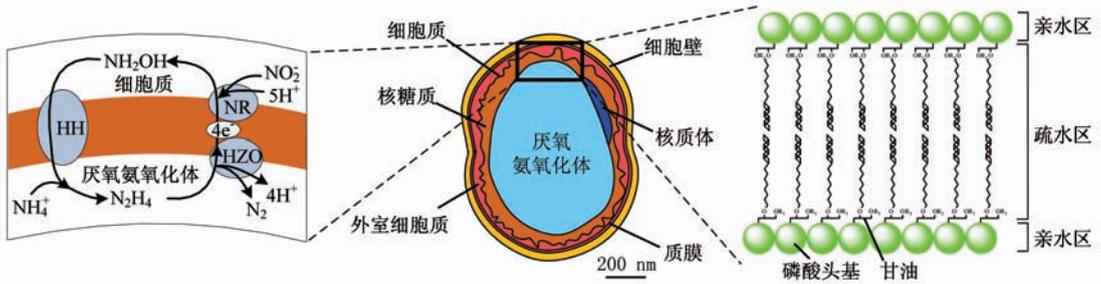


图 2 厌氧氨氧化反应机理、厌氧氨氧化细菌和细胞膜脂结构示意图(重绘自 Sinninghe Damsté 等^[18]和 Rattray 等^[12])
HZO 代表胍氧化酶, HH 代表胍水解酶, NR 代表亚硝酸还原酶

厌氧氨氧化作用及厌氧氨氧化细菌已成为海洋生物地球化学、微生物学、有机地球化学等研究领域的热点,本文从氮循环、分子生态学和化学生物标志物三个方面介绍海洋环境中厌氧氨氧化的研究进展。

2 厌氧氨氧化与氮循环

在厌氧氨氧化过程发现之前,反硝化作用曾被认为是去除海洋环境中的氮的最重要的过程^[21],例如,在低氧区发生的全球氮去除的汇(30%~50%)被主要归为反硝化^[22]。反硝化作用是指细菌在缺氧环境中利用硝酸盐或亚硝酸盐作为氧化剂来氧化有机物间接生成氮气的过程,而厌氧氨氧化则是在缺氧或低氧条件下将氨直接氧化成氮气^[5]。自然海区的厌氧氨氧化作用长期以来没有被人们所认识,它的发现完善了对海洋氮循环过程的认识,初步解释了全球氮通量计算中氮不平衡这一困惑研究者多年的疑问^[23]。厌氧氨氧化细菌能够影响无机碳的固定^[24],因此可以推测厌氧氨氧化会影响大气中的 CO₂ 浓度,从而对全球气候变化产生重要影响^[25]。

海洋环境中厌氧氨氧化活动的证据最早是在波罗的海的大陆架沉积物中发现的, Thamdrup 和 Dalsgaard^[26]利用同位素标记研究表明高达 67% 的氮气生成和厌氧氨氧化作用相关。在哥斯达黎加 Golfo Dulce 的缺氧水柱中厌氧氨氧化对氮气生成

的贡献为 19%~35%^[27],甚至在北极海冰中也有 19% 的贡献^[28]。通过 16S rRNA 基因序列遗传分析, Kuypers 等^[5]发现从世界上最大的缺氧盆地——黑海——水柱中的次氧化区域富集得到的细菌和进行厌氧氨氧化的浮霉菌成员有相关性,一系列的分析结果,包括营养盐剖面、荧光标记 RNA 探针、¹⁵N 示踪和梯烷膜脂的分布都表明从缺氧深层水体向上扩散的氨被厌氧氨氧化细菌在氧化层以下定量地消耗了^[5]。此后,关于海洋环境中厌氧氨氧化的研究报道开始涌现,如在英国的泰晤士河口、智利北部缺氧水体、秘鲁氧极小区等^[8, 29-30]。最近在安哥拉本吉拉上升流系统中的低氧区也检测到了厌氧氨氧化,表明厌氧氨氧化不仅发生在缺氧环境,而且在溶解氧浓度较低的海域也存在^[6],并推测在纳米比亚海岸的低氧水体中厌氧氨氧化也是氮的一个重要的汇^[31],而在阿拉伯海低氧区,氮的流失的重要贡献也被确认为来自于厌氧氨氧化细菌^[32]。

研究表明,一些厌氧氨氧化细菌(比如 *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"*)还具有将硝酸盐或亚硝酸盐异化还原为铵(dissimilatory nitrate/nitrite reduction to ammonium, DNRA)的能力(见图 1),能在 NH₄⁺ 浓度为 10 mmol/dm³ 的条件下将 NO₃⁻ 还原至 NH₄⁺^[33]。DNRA 过程为厌氧氨氧化过程提供了底物氨氮,目前已经在安哥拉本吉拉的上升流中得到了证实^[33]。由于 DNRA-anammox 组合过程和反硝化过程的效果相同,很难用传统的

同位素标记法来区分, 还需借助其他的示踪技术或基因标记来研究^[25]。另外, 除了细菌的厌氧氨氧化外, 最近在海洋环境中发现一些古菌(*Crenarchaeota*)也具有氧化氨的能力(ammonia oxidation archaea, AOA)^[34], 但两者之间是共生关系还是竞争关系目前还不清楚。

在世界上不同的水体和沉积环境中, 氮循环的过程, 特别是反硝化、厌氧氨氧化等不同的氮去除过程在其中所起的作用具有很大差异。参与反硝化、厌氧氨氧化等氮循环过程的细菌种类也是不同的, 它们面对环境变化(比如溶解氧水平、有机碳的供应等)的响应也就不同。因此, 有必要对世界上不同水体和沉积环境在不同理化条件下的氮循环过程进行新的研究, 将诸多新发现的过程考虑进去, 这不但有助于深入了解氮循环过程, 而且对研究诸如有机碳在再矿化过程中其他元素的循环过程也有益处。对于厌氧氨氧化在我国海洋环境中氮循环过程的作用和贡献的研究目前还未见报道, 亟需开展相关研究。

3 厌氧氨氧化细菌的分子生态学

厌氧氨氧化细菌属于浮霉菌的一个深度分支, 目前仅在 *Candidatus Anammoxoglobus*, *Candidatus "Brocadia"*, *Candidatus "Jettenia"*, *Candidatus "Kuenenia"* 和 *Candidatus "Scalindua"* 五个属中发现有限的细菌种类具有厌氧氨氧化能力, 具有较低的种类多样性^[14]。基于系统发育和基因组分析的结果表明厌氧氨氧化细菌具有共同的祖先, 属于单一进化群体^[15]。

虽然目前发现的所有的厌氧氨氧化细菌种类都具有相似的生理、代谢特性和超微结构, 但是不同厌氧氨氧化细菌种类却具有较大的进化差异^[1](图3), 比如来自环境和污水处理反应器中的厌氧氨氧化细菌平均只有 85% 的 16S rRNA 基因序列相似而且它们的分布随生境及生态位不同表现出明显的差异^[35]。*Candidatus Scalindua* 主要发现于海洋环境, 如黑海次氧化水柱^[5]、纳米比亚上升流系统^[36]、智利和秘鲁氧极小区^[8, 30] 和南海深海沉积物^[37]。近来应用新设计的引物进行 PCR 分析, 在多个淡水湖(如坦桑尼亚 Tanganyika 湖^[38] 和德国 Rasmnitzer 湖^[39]) 均发现类似 *Scalindua* 的 16S rRNA 基因存在, 甚至在永冻层土壤中也发现类似基因^[35]; *Brocadia* 和 *Kuenenia* 则主要发现于废水处理反应器中^[1], 但是在海洋和淡水环境中也有发

现, 比如在我国新沂河沉积物中就检测到和已知的 *Candidatus "Brocadia anammoxidans"* 关系密切的 16S rRNA 基因序列^[40]; 最近发现的新成员 *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* 存在于包含氨和亚硝酸盐的丙酸盐矿物培养基的培养物中^[15]。上述结果表明厌氧氨氧化过程可能广泛存在于几乎任何含氮与低氧的生态系统中^[34]。

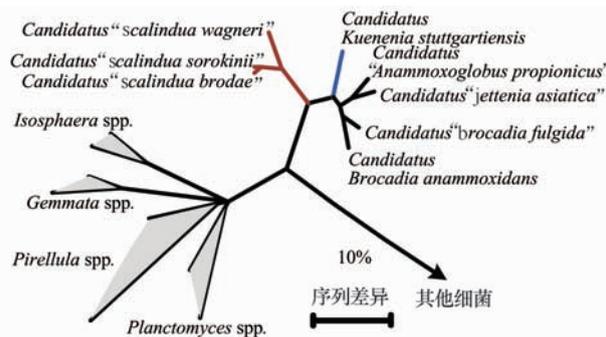


图3 基于 16S rRNA 基因序列的厌氧氨氧化细菌系统进化树(重绘自 Kuenen^[1])

我国研究者对海洋环境中的厌氧氨氧化细菌的研究主要集中于南海。李涛等^[41] 利用 16S rDNA 序列分析了南海南部陆坡表层沉积物细菌和古菌多样性, 并发现了 1 条与厌氧氨氧化细菌有较远的亲缘关系的序列, 但是在西沙海槽表层沉积物中检测到的序列则和文献^[42] 报道的浮霉菌序列有很高的同源性。Shu 等^[37] 对南海一深海沉积物柱状样的浮霉菌的多样性进行了较为系统的分析, 并分离得到两条厌氧氨氧化细菌 16S rRNA 序列, 它们与已知的 *Candidatus "Scalindua brodae"*, *Candidatus "Scalindua sorokinii"* 和 *Candidatus "Scalindua wagneri"* 序列的相似性均在 90% 以上。洪义国等^[43] 从香港米浦湿地自然保护区以及南海深海海底取样, 研究了其厌氧氨氧化细菌多样性和分布的广泛性, 发现在米浦以及南海生态系统中主要为 *Scalindua* 属细菌。

目前能用于厌氧氨氧化细菌研究的只有 16S rRNA 基因, 仍没有确定可行的用于分析环境中厌氧氨氧化菌的功能基因, 主要原因在于厌氧氨氧化细菌生长非常缓慢, 每两个星期才分裂 1 次, 所以难以获得其纯培养菌株^[11]。以 16S rRNA 基因为靶序列的荧光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 是对现场厌氧氨氧化细菌进行定性和定量检测的常用工具, 但是不同的探针的特

异性和适用性不一,仍然需要在探针设计上深入研究^[44]。Strous 等^[7]利用环境基因组学的方法,对非纯培养菌株 *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"* 进行了全基因组测序分析,这是厌氧氨氧化细菌研究的里程碑。厌氧氨氧化细菌全基因组的测定,进一步明确了浮霉菌之间的系统进化关系,并且鉴定了一些和厌氧氨氧化过程相关的功能基因,如与胍代谢相关的功能基因胍水解酶(hydrazine hydrogenase, HH)及胍脱氢酶(hydrazine dehydrogenase, HD) 基因等^[7]。最近从 *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"* 中部分纯化得到一个具有将亚硝酸盐快速还原为氨的高活性钙依赖性细胞色素 c 蛋白酶(与 DNRA 过程相关),而且基本确定了该酶的候选基因^[33]。胍氧化酶(hydrazine-oxidizing enzyme, HZO)是厌氧氨氧化反应的关键酶之一,这种酶及其潜在基因已经在一些类似的微生物体内得到了鉴定^[45],编码梯烷膜脂生物合成的基因最近也得到了鉴定^[46]。今后的工作应聚焦于明确这些功能基因与厌氧氨氧化作用的关系,研究其对环境变化的响应,一旦这些功能基因与厌氧氨氧化作用的关系被

确定,将大大提高分析环境中厌氧氨氧化细菌的针对性和准确性,有助于深入了解这些细菌在生物地球化学过程中的作用及其生态重要性^[25, 43, 47-48]。另外,厌氧氨氧化已经成为废水处理的有效方法,具有效率高、成本低的优点,并且得到了广泛应用。从自然环境中分离纯化具有高效厌氧氨氧化能力的菌种,不但对厌氧氨氧化细菌的微生物学研究(如细胞的内部结构及各部分功能分析、功能基因分析等)具有重要意义,而且在废水处理中也有实际的应用价值。

4 厌氧氨氧化细菌的化学生物标志物

厌氧氨氧化细菌细胞中的厌氧氨氧化体由 1 层异常厚的、不透水的细菌膜包裹,该膜由具有独特结构的梯烷膜脂(ladderane lipids)构成,其核心由多达 5 个的线性连接环丁烷组成^[18](图 4)。这些梯烷膜脂形成了 1 个紧密的、防止扩散的屏障,阻止厌氧氨氧化反应中间体外泄,从而保持厌氧氨氧化代谢期间的电化学质子浓度梯度,起到充分利用化学能及保护细胞的其余部分不受 N_2H_4 毒害的作用^[17]。

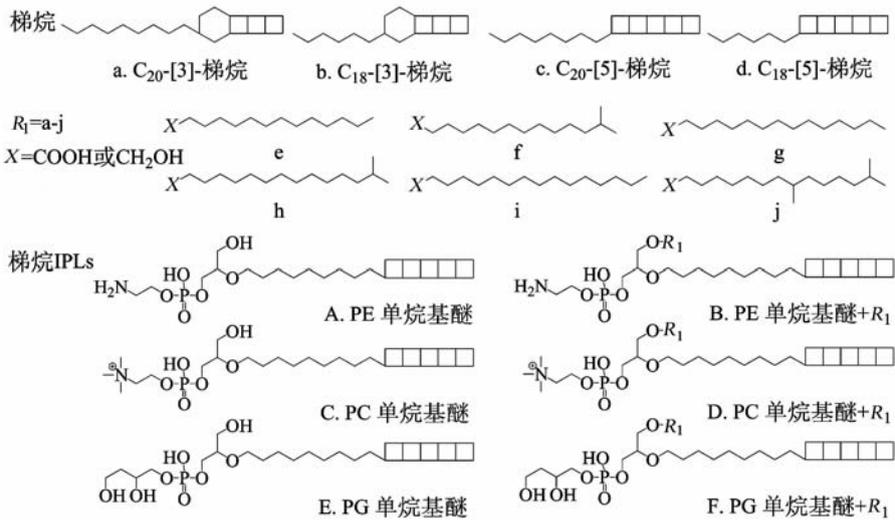


图 4 厌氧氨氧化细菌完整梯烷膜脂结构类型举例

(重绘自 Boumann 等^[19]和 Rattray 等^[9])

梯烷膜脂分子具有独一无二的化学结构,还具有独特的同位素特征(明显的¹³C 亏损)^[24],因此其不但在厌氧氨氧化生化反应过程中发挥了重要作用,而且是研究厌氧氨氧化细菌活动的化学生物标志物。研究还表明,梯烷膜脂的结构组成与厌氧氨氧化细菌所经历的环境条件密切相关,这些分子可

能包含了大量的现在和过去厌氧氨氧化活动和海洋环境的信息^[10]。

对厌氧氨氧化细菌梯烷膜脂的研究最初主要着眼于其核心脂组成,即梯烷的结构^[49],并成功地作为厌氧氨氧化细菌的生物标志物应用在黑海次氧化水柱^[5]、纳米比亚和秘鲁氧极小区^[6, 8]及阿拉伯

海^[32]。近年来随着高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用方法的应用,分析完整的极性膜脂(intact polar membrane lipids, IPLs)成为可能^[50],越来越多的研究聚焦于完整的梯烷膜脂分析^[9-10, 19, 51-52]。研究表明,完整的梯烷膜脂具有丰富的多样性,并具有一定的化学分类潜力。梯烷膜脂核心是具有环丁烷结构的梯烷,一般通过醚键和甘油的 sn-2 位相连,甘油的 sn-3 位连接不同的极性头基,以磷酸基为主,主要包括磷酸胆碱(phosphocholine, PC)、磷酸乙醇胺(phosphoethanolamine, PE)和磷酸甘油(phosphoglycerol, PG)^[9, 19](见图4)。梯烷膜脂结构的多样性在于甘油的 sn-1 位所连接的烃基,这个烃基可以是另一个梯烷结构,也可以是直链或甲基支链的烷烃等,烃基可以通过醚键或酯键与甘油连接(见图4)。Ratray 等^[19]的研究表明,不同的厌氧氨氧化细菌所包含的主要梯烷膜脂结构也不同,而且对于同一种细菌,当培养条件如温度等发生变化时,膜脂结构也相应地发生变化。在厌氧氨氧化细菌 *Candidatus* “*K. stuttgartiensis*”中, Ratray 等^[19]只检测到了很少量的非梯烷膜脂,推测除了厌氧氨氧化体外,该细菌其他细胞膜脂也由梯烷膜脂组成,这和其他三个属的厌氧氨氧化细菌不同。对这些完整梯烷膜脂结构的分析有助于分析它们在不同的厌氧氨氧化细菌种类中的组成和功能,为研究影响其分布的因素提供基础。完整极性膜脂在细胞死亡后能迅速分解,即丢掉极性头基,只保留核心脂部分,因而被认为是活的微生物的化学标志物,能够反映现存微生物群落结构和生物量^[53-54]。Jaeschke 等^[10]率先研究了完整梯烷膜脂对海洋沉积物中厌氧氨氧化的指示作用,并和梯烷核心脂的结果进行了比较。他们发现在沉积物中完整梯烷膜脂普遍要比梯烷核心脂的含量低 1~2 个数量级,但是无论是完整梯烷膜脂还是梯烷核心脂,都和同位素标记实验的结果相一致,都能指示沉积物中的厌氧氨氧化活动变化情况。在爱尔兰海(水深 50~100 m),现存的厌氧氨氧化细菌主要集中在沉积物上层 2 cm 左右,然后随着深度迅速下降。在凯尔特海(水深 500~2 000 m),厌氧氨氧化细菌的活动深度超过 2 cm,而且沉积物中梯烷膜脂的丰度随着水深的增加也在增加,显示深层水体沉积物中厌氧氨氧化作用要强于浅层水体^[10]。厌氧氨氧化细菌完整梯烷膜脂分析在更大范围的海洋环境中的应用将有可能直接提供环境中现存的厌氧氨氧化细菌种类组

成和丰度的信息。

梯烷膜脂还可能在古环境重建中发挥作用。Ratray 等^[12]研究了温度对不同环境中厌氧氨氧化细菌梯烷膜脂生产的影响,发现在具有 5 个环丁烷结构的梯烷膜脂中,具有短碳链(C₁₈)的梯烷膜脂在低温下占优势,而长碳链(C₂₀)在高温下更丰富一些。基于这一关系, Ratray 等^[12]定义了一个 NL₅ 指标(index of ladderane lipids with 5 cyclobutane rings): $NL_5 = C_{20} - [5] - \text{梯烷脂肪酸} / (C_{18} - [5] - \text{梯烷脂肪酸} + C_{20} - [5] - \text{梯烷脂肪酸})$, 将不同温度下得到的 NL₅ 指标对温度作图,发现两者之间在 0~40 °C 的范围内具有对数关系:

$$T = 1.6 \ln \left(\frac{NL_5 - 0.2}{0.9 - NL_5} \right) + 16. \quad (1)$$

NL₅ 指标可以用来判断表层沉积物中厌氧氨氧化细菌的来源,比如是来自上层温暖水体还是来自较冷的表层沉积物中现场生产的^[12]。NL₅ 指标也能用于古环境研究,比如反演古海水温度^[52],但是还需要深入地探讨。

在应用梯烷膜脂生物标志物对厌氧氨氧化细菌与厌氧氨氧化作用进行研究时,最大的问题是缺少相应的标准品,在结构的确定和定量上存在不足,使得分析方法没有得到有效推广,影响了其深入发展,从培养的厌氧氨氧化细菌中分离梯烷膜脂或合成与梯烷膜脂结构类似的化合物用于定性和定量分析是今后研究的重点和难点。

5 结语

海洋环境中的厌氧氨氧化是氮的生物地球化学循环的重要过程,尤其是低氧和缺氧环境中氮去除的重要途径,对碳循环和全球气候变化也有重要影响。虽然已经取得了一些成果,但海洋环境中的厌氧氨氧化细菌与厌氧氨氧化作用仍然是一个充满挑战、需要深入研究的方向。对世界上不同的水体、沉积环境中的厌氧氨氧化过程进行研究,将有助于我们更好地了解这一过程及其影响因素。在以前的氮循环研究中,大部分是没有考虑厌氧氨氧化作用贡献的,在今后的研究中,应将这一新的过程考虑进去,对于全面深入地了解氮循环无疑是很有必要的。采用环境基因组或宏基因组测序对海洋环境样品中的基因组进行分析,有助于厌氧氨氧化细菌功能基因的筛选,对于揭示微生物群落多样性、种群结构、进化关系及与环境之间的作用等也有重要意义。梯

烷膜脂可以用来指示过去和现在的厌氧氨氧化活动,基于梯烷膜脂的指标在古环境重建中也有一定的应用潜力,这不但有利于了解现存的厌氧氨氧化细菌生物量,对于了解厌氧氨氧化细菌及其作用对环境变化的响应(如与低氧的变化历史相结合)也有帮助。

目前已经在我国近海沉积物中发现了存在厌氧氨氧化细菌的分子生物学证据,但是对于厌氧氨氧

化在氮循环过程中的作用、厌氧氨氧化细菌的组成和丰度等还没有研究,也缺少对梯烷膜脂这一厌氧氨氧化细菌生物标志物的研究。厌氧氨氧化作用是一个难得的可以从三个不同角度,即生物地球化学、分子生物学和有机地球化学切入的课题,将不同的技术手段联合运用,既可以得到不同的信息,又可以互相佐证,值得开展深入研究。

参考文献:

- [1] KUENEN J G. Anammox bacteria: from discovery to application[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6: 320—326.
- [2] BRODA E. Two kinds of lithotrophs missing in nature [J]. *Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie*, 1977, 17: 491—493.
- [3] VAN DE GRAAF A A, MULDER A, SLIJKHUIS H, et al. Anoxic ammonium oxidation[G]. *Proceedings of the Fifth European Congress on Biotechnology*. Denmark: Munksgaard International Publisher, 1990: 388—391.
- [4] MULDER A, VAN DE GRAAF A A, ROBERTSON L A, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 16: 177—184.
- [5] 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.
- [6] KUYPERS M M M, LAVIK G, WOEBKEN D, et al. Massive nitrogen loss from the Benguela upwelling system through anaerobic ammonium oxidation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2005, 102: 6478—6483.
- [7] 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: 790—794.
- [8] HAMERSLEY R M, LAVIK G, WOEBKEN D, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52: 923—933.
- [9] RATTRAY J E, VAN DE VOSSENBERG J, HOPMANS E C, et al. Ladderane lipid distribution in four genera of anammox bacteria [J]. *Archives of Microbiology*, 2008, 190: 51—66.
- [10] JAESCHKE A, ROOKS C, TRIMMER M. Comparison of ladderane phospholipid and core lipids as indicators for anaerobic ammonium oxidation (anammox) in marine sediments[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, 73: 2077—2088.
- [11] STROUS M, FUERST J A, KRAMER E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete[J]. *Nature*, 1999, 400: 446—449.
- [12] RATTRAY J E, HOPMANS E C, SCHOUTEN S. Control and distribution of anammox bacteria and ladderane lipids[R]. Texel: Royal Netherlands Institute for Sea Research, 2007.
- [13] SCHMID M C, 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.
- [14] SCHMID M C, RISGAARD-PETERSEN N, VAN DE VOSSENBERG J, et al. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in marine environments: widespread occurrence but low diversity[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9: 1476—1484.
- [15] KARTAL B, RATTRAY J, VAN NIFTRIK L, et al. *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* gen. nov., sp. nov., a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2007, 30: 39—49.
- [16] FUERST J A. Intracellular compartmentation in planctomycetes[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 299—328.
- [17] VAN NIFTRIK L, GEERTS W J C, VAN DONSELAAR E G, et al. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: a membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria[J]. *Journal of Structural Biology*, 2008, 161: 401—410.
- [18] SINNINGHE DAMST J S, STROUS M, RIJPSTRA W I C, et al. Linearly concatenated cyclobutane lipids from a dense bacterial membrane[J]. *Nature*, 2002, 419: 708—712.
- [19] BOUMANN H A, HOPMANS E C, VAN DE LEEMPUT I, et al. Ladderane phospholipids in anammox bacteria comprise phosphocholine and phosphoethanolamine headgroups[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 258: 297—304.
- [20] BOUMANN H A, STROEVE P, LONGO M L. Biophysical properties of membrane lipids of anammox bacteria: II. Impact of temperature and bacteriohopanoids[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1788: 1452—1457.

- [21] WARD B B, DEVOL A H, RICH J J. Denitrification as the dominant nitrogen loss process in the Arabian Sea[J]. *Nature*, 2009, 461: 78—82.
- [22] BRANDES J A, DEVOL A H. A global marine-fixed nitrogen isotopic budget: implications for Holocene nitrogen cycling[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16: 1120, doi:10.1029/2001GB001856.
- [23] NAQVI S W A, VOSS M, MONTOYA J P. Recent advances in the biogeochemistry of nitrogen in the ocean[J]. *Biogeosciences Discussions*, 2008, 5: 1119—1137.
- [24] SCHOUTEN S, STROUS M, KUYPERS M M M, et al. Stable carbon isotopic fractionations associated with inorganic carbon fixation by anaerobic ammonium-oxidizing bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 3785—3788.
- [25] 郭建华, 彭永臻. 异养硝化、厌氧氨氧化及古菌氨氧化与新的氮循环[J]. *环境科学学报*, 2008, 28: 1489—1498.
- [26] THAMDRUP B, DALSGAARD T. Production of N_2 through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 1312—1318.
- [27] DALSGAARD T, CANFIELD D E, PETERSEN J, et al. N_2 production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica[J]. *Nature*, 2003, 422: 606—608.
- [28] RYSGAARD S, GLUD R N. Anaerobic N_2 production in arctic sea ice[J]. *Limnology & Oceanography*, 2004, 49: 86—94.
- [29] 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.
- [30] THAMDRUP B, JENSEN M M, DALSGAARD T, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the oxygen-deficient water off northern Chile[J]. *Limnology & Oceanography*, 2006, 51: 2145—2156.
- [31] WOEBKEN D, FUCHS B M, KUYPERS M M M, et al. Potential interactions of particle-associated anammox bacteria with bacterial and archaeal partners in the Namibian upwelling system[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73:4648—4657.
- [32] JAESCHKE A, HOPMANS E C, WAKEHAM S G, et al. The presence of ladderane lipids in the oxygen minimum zone of the Arabian Sea indicates nitrogen loss through anammox[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52: 780—786.
- [33] KARTAL B, KUYPERS M M M, LAVIK G, et al. 2007. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9: 635—642.
- [34] FRANCIS C A, BEMAN J M, KUYPERS M M M. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation[J]. *The ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2007, 1: 19—27.
- [35] PENTON C R, DEVOL A H, TIEDJE J M. Molecular evidence for the broad distribution of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater and marine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 6829—6832.
- [36] GAL N 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: 1021—1031.
- [37] SHU Qing-long, JIAO Nian-zhi. Different Planctomycetes diversity patterns in latitudinal surface seawater of the open sea and in sediment[J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 46: 154—159.
- [38] SCHUBERT C J, DURISCH-KAISER E, WEHRLI B, et al. Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika)[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8: 1857—1863.
- [39] HAMERSLEY M R, WOEBKEN D, BOEHRER B. Water column anammox and denitrification in a temperate permanently stratified lake (Lake Rassnitzer, Germany)[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2009, 32(8): 571—582.
- [40] ZHANG Ying, RUAN Xiao-hong, OP DEN CAMP H J M, et al. Diversity and abundance of aerobic and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater sediments of the Xinyi River (China)[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9: 2375—2382.
- [41] 李涛, 王鹏, 汪品先. 南海南部陆坡表层沉积物细菌和古菌多样性[J]. *微生物学报*, 2008, 48: 323—329.
- [42] 李涛, 王鹏, 汪品先. 南海西沙海槽表层沉积物微生物多样性[J]. *生态学报*, 2008, 28: 1166—1173.
- [43] 洪义国, 李猛, 顾继东. 海洋氮循环中细菌的厌氧氨氧化[J]. *微生物学报*, 2009, 49: 281—286.
- [44] SCHMID M, MAAS B, DAPENA A, et al. Biomarkers for in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 1677—1684.
- [45] SHIMAMURA M, NISHIYAMA T, SHIGETOMO H, et al. Isolation of a multiheme protein with features of a hydrazine-oxidizing enzyme from an anaerobic ammonium-oxidizing enrichment culture[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73: 1065—1072.
- [46] RATTRAY J E, STROUS M, OP DEN CAMP H J M, et al. A comparative genomics study of genetic products potentially encoding ladderane lipid biosynthesis[J]. *Biology Direct*, 2009, 4: 8, doi: 10.1186/1745-6150-4-8.
- [47] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29: 406—415.
- [48] 舒青龙, 焦念志, 汤坤贤. 海洋厌氧氨氧化细菌分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2009, 36: 1758—1765.
- [49] SINNINGHE DAMSTÉ J S, RIJPSTRA W I C, GEENEVAASEN J A J, et al. Structural identification of ladderane and other membrane lipids of planctomycetes capable of anaerobic ammonium oxidation (anammox)[J]. *FEBS Journal*, 2005, 272: 4270—4283.

- [50] LIPP J S, HINRICHS K U. Structural diversity and fate of intact polar lipids in marine sediments[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, 73(22): 6816—6833.
- [51] HOPMANS E C, KIENHUIS M V, RATTRAY J E, et al. Improved analysis of ladderane lipids in biomass and sediments using high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, 20: 2099—2103.
- [52] JAESCHKE A, ABBAS B, ZABEL M, Et al. Molecular evidence for anaerobic ammonium oxidizing (anammox) bacteria in continental shelf and slope sediments off northwest Africa[J]. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55: 365—376.
- [53] STURT H F, SUMMONS R E, SMITH K, et al. Intact polar membrane lipids in prokaryotes and sediments deciphered by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization multistage mass spectrometry—New biomarkers for biogeochemistry and microbial ecology[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18: 617—628.
- [54] 姚鹏, 于志刚. 海洋沉积物中现存微生物化学标志物完整极性膜脂研究进展[J]. *地球科学进展*, 2010, 25(5): 474—483.

Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria and anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment

YAO Peng^{1, 2}, YU Zhi-gang^{1, 2}

(1. *Key Laboratory of Ministry of Education for Marine Chemistry Theory and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266100, China*; 2. *Institute of Marine Organic Geochemistry, Ocean University of China, Qingdao 266100, China*)

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation (anammox) is the process of microbiological conversion of ammonium to dinitrogen gas and is mainly employed in waste water engineers. In recent years, it was found that anammox was widely distributed in the marine environments and played an important role in marine nitrogen cycle, and influenced the carbon cycle and global climate change. It has been recognized as a major pathway for the removal of fixed N from the marine ecosystem. Ladderane lipids are unique chemical biomarkers of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria, and have potential implication for chemotaxonomy and paleoceanography. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria and anaerobic ammonium oxidation have become hot-spot research fields in the marine biogeochemistry, microbiology and organic geochemistry.

Key words: bacteria; anaerobic ammonium oxidation; nitrogen cycle; 16S rRNA; ladderane lipids