

## 氨氧化古菌的生态学研究进展

贾仲君<sup>1</sup>, 翁佳华<sup>1,2</sup>, 林先贵<sup>3</sup>, Ralf Conrad<sup>4</sup>

[<sup>1</sup> 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008]

[<sup>2</sup> 南京农业大学园艺学院, 南京 210095]

[<sup>3</sup> 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008]

[<sup>4</sup> Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch-Strasse, D-35043, Marburg, Germany]

**摘要:**上百年来细菌一直被认为是地球氨氧化过程的主要驱动者,2005年海洋中分离到迄今唯一的非极端环境泉古菌,发现其氧化氨态氮获得能源生长,是氨氧化古菌。氨氧化古菌和细菌对地球氨氧化过程的相对贡献率,是目前全球氮循环研究最重要的微生物生态学问题之一。已有的证据表明古菌在海洋氨氧化过程中发挥了重要作用,细菌则是土壤氨氧化过程的主要驱动者。本文重点探讨了原位自然环境下氨氧化古菌的生态学研究进展。

**关键词:** 泉古菌(Crenarchaeota); 氨氧化古菌; 氨氧化; *amoA* 基因; 微生物生态

**中图分类号:** X172      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2010) 04-0431-07

氨态氮( $\text{NH}_3$ )首先被氧化为亚硝酸( $\text{NO}_2^-$ ),进一步氧化为硝态氮( $\text{NO}_3^-$ )后,完成硝化过程。因此氨氧化细菌和亚硝酸细菌统称为硝化细菌。由于亚硝酸极不稳定,易被氧化为硝酸,氨氧化成为硝化过程的关键限制反应,氨氧化微生物是硝化过程的主要驱动者。本文中硝化微生物特指氨氧化微生物。硝化细菌研究历史长达上百年来,尽管其生长缓慢且丰度较低,却被认为是地球氨氧化过程的主要驱动者。然而,20世纪90年代以来,分子生态学研究发现地球环境中存在大量泉古菌(Crenarchaeota)<sup>[1]</sup>,占海洋微生物总量最多可达39%<sup>[2]</sup>,占土壤微生物总量最高可达12%<sup>[3]</sup>。环境基因组学研究发现泉古菌含有氨氧化关键功能基因(*amoA*),具有氨氧化的可能<sup>[4-5]</sup>;纯培养研究则清楚证实了泉古菌的氨氧化潜力<sup>[6-8]</sup>。最近的研究表明海洋氨氧化古菌具有极低的 $K_m$ 值(0.133  $\mu\text{mol/L}$ ),与海洋原位氨氧化动力学规律基本吻合,暗示了泉古菌在海洋氨氧

化中发挥了重要作用<sup>[9]</sup>。采用稳定性同位素原位示踪农田土壤氨氧化微生物核酸DNA,我们的研究发现细菌是土壤硝化过程的主要驱动者<sup>[10]</sup>。复杂自然环境下硝化古菌的生理代谢规律及其生态功能仍须进一步研究。

### 1 氨氧化古菌的发现

硝化细菌的实验室纯培养<sup>[11]</sup>和自然环境下的原位研究<sup>[12]</sup>都清楚表明硝化过程依赖于氨单加氧酶。氨单加氧酶的AmoA亚基(ammonia monooxygenase subunit A, AmoA)编码基因*amoA*被认为是硝化过程的核心<sup>[11]</sup>。2004年,海洋环境基因组学首次发现泉古菌拥有和硝化细菌非常类似的*amoA*基因<sup>[4]</sup>。2005年土壤环境基因组学进一步发现泉古菌拥有*amoA*基因,同时从土壤分离到*amoA*基因的转录产物,表明硝化古菌可能驱动土壤氨氧化过程<sup>[5]</sup>。同年,Konneke等<sup>[8]</sup>分离到迄今唯一的非极

**基金项目:**国家自然科学基金(40971153);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-YW-BR-06, KZCX2-YW-408)

**作者简介:**贾仲君(1974-),男,山西霍州人,博士,研究员,主要从事分子微生物生态研究。Tel: +86-25-86881311; Fax: +86-25-86881000; E-mail: jia@issas.ac.cn

**收稿日期:**2009-10-02; **修回日期:**2009-12-28

端环境海洋硝化古菌纯菌株 *Nitrosopumilus maritimus*, 令人信服地证明了泉古菌自养无机化能生长的生理代谢特点。硝化古菌随即成为全球氮循环微生物机理研究的前沿领域之一。

目前绝大多数硝化古菌研究集中在生物地理学分布规律。硝化古菌关键功能基因 *amoA* 广泛存在于海洋<sup>[13-14]</sup>和陆地环境<sup>[15]</sup>, 如海水<sup>[14]</sup>、土壤<sup>[16]</sup>、河口沉积物<sup>[17]</sup>、珊瑚<sup>[18]</sup>、海绵<sup>[19]</sup>、废水生物反应器<sup>[20]</sup>、陆地温泉<sup>[21]</sup>等。根据 *amoA* 基因序列变异及其所栖息的生态环境, 硝化古菌可分为3大类: 海洋环境硝化古菌群落、土壤环境硝化古菌群落、嗜高温环境硝化古菌群落<sup>[15]</sup>。泉古菌 16S rRNA 序列分析也得到类似结果, 如海洋环境的古菌序列主要属于 Group I. 1a, 而土壤来源的序列大多聚类于 Group I. 1b<sup>[22]</sup>, 表明硝化古菌 *amoA* 和 16S rRNA 基因作为分子标靶的生物地理学分布规律较为一致。此外, 也有研究认为常温泉古菌 Group I. 1c 与耐高温泉古菌 pSL12-like 的 16S rRNA 序列具有一定的亲缘关系<sup>[23-24]</sup>, 然而目前尚无报道表明 Group I. 1c 泉古菌含有 *amoA* 基因, 无法在功能基因水平推测其与嗜高温古菌的遗传进化关系。

自然环境中硝化古菌关键功能基因 *amoA* 的数量通常高于细菌, 已知的最大差别达 8,000 倍<sup>[25]</sup>。Leininger 等<sup>[16]</sup>首次报道了细菌和古菌关键功能基因 *amoA* 的相对丰度, 发现土壤中硝化古菌可能是细菌的 3000 倍之多。最近的研究也表明农田土壤硝化古菌 *amoA* 基因约为细菌 *amoA* 数量的几十到上千倍<sup>[10]</sup>。海洋生态系统中硝化古菌 *amoA* 丰度通常远高于细菌 *amoA*<sup>[13,23]</sup>。然而, 也有报道表明微好氧条件下海湾底泥中硝化细菌 *amoA* 数量高于古菌 *amoA*<sup>[26]</sup>。基于 16S rRNA 的研究则表明, 土壤环境中泉古菌占全部原核生物总量的 1% - 5%<sup>[22,27]</sup>。最近的研究则进一步表明土壤泉古菌丰度具有极大的变异性, 例如, 农田土壤泉古菌占全部原核生物总量最高达 12%, 而森林土壤仅为 0.009%<sup>[3]</sup>; 在海洋环境中, 泉古菌占全部浮游原核生物总量最高可达 39%<sup>[2]</sup>。值得注意的是, 相当一部分的海洋泉古菌可能并不含有功能基因 *amoA*<sup>[28]</sup>。至今未有报道表明极端环境泉古菌纯菌株含有氨氧化过程关键功能基因 *amoA*<sup>[29]</sup>。

## 2 环境条件对氨氧化古菌的可能影响

长期的地球进化而产生的生态位分异, 可能是环境条件影响硝化古菌生物地理学分布规律的主要

原因<sup>[30]</sup>。大量研究表明 pH 强烈影响硝化细菌的生理代谢规律<sup>[31]</sup>, 硝化古菌似乎也表现出了类似的特点。随着农田土壤硝化能力不断增加, 土壤 pH 显著降低, 硝化古菌功能基因 *amoA* 数量明显下降, 表明 pH 可能是影响硝化古菌种群数量的重要因子<sup>[10]</sup>。我国不同 pH 土壤中硝化古菌 *amoA* 数量与 pH 也具有较好的负相关, 如 pH 8.3 - 8.7 的碱性土壤<sup>[32]</sup>和 pH 3.7 - 6.0<sup>[33]</sup>的酸性土壤。此外, 利用泉古菌的特异脂类作为分子标记物, 对全球范围内 58 种土壤和 54 种温泉样品的分析表明泉古菌的丰度与 pH 具有较好的负相关<sup>[34-35]</sup>。然而, 最近也有研究表明硝化古菌 *amoA* 基因数量随着土壤 pH 的增加而升高<sup>[36]</sup>, 或者没有显著变化<sup>[37]</sup>。同时, 也有研究显示 21 种不同温泉的 pH 与硝化古菌 *amoA* 基因数量并没有显著的线性关系<sup>[21]</sup>。

目前已有明确的证据表明高浓度铵态氮抑制嗜温硝化古菌同化 CO<sub>2</sub> 的能力<sup>[7]</sup>, 暗示高浓度铵态氮可能抑制其氨氧化能力。温度是影响硝化细菌的关键因子<sup>[31,38]</sup>, 并可能是影响硝化古菌的重要环境条件。通过设置不同温度培养条件 (10°C - 30°C), Tourna 等<sup>[39]</sup>发现泉古菌 16S rRNA 和硝化古菌 *amoA* 基因的分子指纹图谱似乎发生了一定程度的变化。基于泉古菌特异脂类的研究表明: 尽管不同土壤剖面温度可能具有一定的差异, 但泉古菌的特异脂类总量通常变异较小, 说明泉古菌种群数量可能受温度影响较小<sup>[16,40]</sup>。此外, 海洋中存在的常温泉古菌特异脂类<sup>[41]</sup>也存在于高温温泉<sup>[34,42]</sup>, 表明至少某些泉古菌可能对温度具有较强的耐受性。氧气也可能对硝化古菌产生较大的影响。例如, 和非根际土壤相比, 稻田根际土壤通常具有较高的氧化还原电势, 研究发现根际土壤硝化古菌 *amoA* 基因数量显著高于非根际土壤, 而硝化细菌 *amoA* 基因数量在根际土壤和非根际土壤中似乎没有变化, 硝化古菌与硝化细菌的 *amoA* 基因比值范围在 1.2 - 69.3 内波动<sup>[43]</sup>。此外, 盐碱度、植物类型等等都可能对硝化古菌产生一定的影响<sup>[25-26]</sup>。未来研究需要更多关注的是影响硝化古菌地理分布规律的环境阈值, 如影响泉古菌的 pH 临界值。在此基础上, 耦合分析各种环境条件对硝化古菌地理学分布规律的综合作用, 将更加准确地揭示硝化古菌在自然环境中的生理代谢规律及其生态环境功能。

## 3 复杂环境中氨氧化古菌的可能代谢类型

地球环境中硝化古菌 *amoA* 基因的大量存在并

不意味着该基因一定在环境中发挥作用并驱动氨氧化过程<sup>[10,44]</sup>。因此,原位条件下硝化古菌的生理代谢特点是目前的研究重点和难点。尽管硝化古菌 *amoA* 基因数量远高于细菌,我们的研究表明细菌是农田土壤氨氧化过程的主要作用者<sup>[10]</sup>。旱地土壤的硝化活性通常随着土壤深度的增加而显著减低,与土壤剖面硝化细菌数量变化规律一致,而土壤硝化古菌丰度则几乎保持不变,导致 30-70 cm 深层土壤中古菌和细菌的数量相差达 3000 倍之多<sup>[16]</sup>。这一现象表明:细菌可能是导致表层土壤和深层土壤氨氧化动力学差异的主要因子。以此为出发点,在外源铵态氮刺激下,我们发现 40-50 cm 剖面土壤氨氧化活性与硝化细菌的组成和数量变化具有较好的相关性,与土壤硝化古菌群落结构变化似乎没有关联;表层 0-20 cm 土壤氨氧化过程的微生物生态学也得到类似结果<sup>[10]</sup>。采用先进的“稳定性同位素核酸探针”技术,我们进一步验证了这一结果。已知的硝化古菌和细菌同化无机碳自养生长,据此,采用<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> 培养土壤样品,发现硝化细菌而不是古菌的关键功能基因 *amoA* 被<sup>13</sup>C 所标记,表明自养生长的硝化古菌可能没有参与土壤硝化过程,或者仅仅同化了极少量的<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>,未能获得足够量的标记 DNA 并被分离。此外,在乙炔存在条件下,硝化细菌 *amoA* 基因被失活,土壤氨氧化过程被阻断,硝化细菌基因组 DNA 无法被<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> 所标记,从另外一个角度佐证了细菌在氨氧化过程中的主导作用<sup>[10]</sup>。针对中国科学院河南封丘农田生态系统国家野外科学观测站的农田土壤,我们成功获得了类似结果。此外,我们未发表的数据也表明河流生物膜硝化细菌同化了大量<sup>13</sup>C-NaHCO<sub>3</sub>,是氨氧化过程的主要作用者。最近,污染土壤和草地土壤研究也发现氨氧化过程与硝化细菌的群落演替规律具有高度的线性耦合关系<sup>[45-46]</sup>。这些研究表明:在高氮投入的生态系统,细菌是氨氧化过程的主要驱动者,古菌的生态学功能仍待进一步探索<sup>[10]</sup>。

相对于复杂的土壤环境,已有证据表明硝化古菌是海洋氨氧化过程的重要驱动者。纯培养的研究表明<sup>[9]</sup>,*N. maritimus* 硝化古菌具有极高的底物亲和力,最低的底物利用浓度为 10 nmol/L, $K_m$  值仅为 0.133  $\mu\text{mol/L}$ ,远低于已知最低的硝化细菌  $K_m$  值(1.9-4.2  $\mu\text{mol/L}$ ),其氨氧化动力学规律与原位海洋硝化过程较为吻合<sup>[9]</sup>。例如,古菌可氧化 1.7  $\mu\text{mol/L}$  初始浓度的外源铵态氮,对氧气的消耗也符合化学计量学规律,而 0.2  $\mu\text{mol/L}$  的外源铵态

氮却没有显著促进硝化细菌活性。海洋铵态氮含量约为 0.03-1.0  $\mu\text{mol/L}$ ,沿海水体中铵态氮浓度在 0.03-100  $\mu\text{mol/L}$  之间波动,同时,海洋光合生物和浮游生物对铵态氮的同化能力也远低于海洋古菌,表明古菌对氨态氮的氧化具有较高的竞争优势,在原位海洋氨氧化过程中发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。由于目前尚没有纯菌株或富集物的报道,土壤硝化古菌的氨氧化动力学特点仍不清楚。未来土壤硝化古菌的分离具有极重要的科学意义。

已有的纯菌和富集物研究表明硝化古菌自养生长<sup>[6-8]</sup>。环境基因组学分析表明海绵体的共生硝化古菌含有 3-羟基丙酸代谢途径的完整基因,具备自养生长的遗传基础<sup>[47]</sup>,与原位环境的观测结果一致。例如,<sup>14</sup>C 放射性同位素研究表明海洋古菌可能利用无机碳自养生长<sup>[48]</sup>。另一个令人信服的证据则来自于稳定同位素<sup>13</sup>C-NaHCO<sub>3</sub> 培养北海表层水的微宇宙试验,研究发现泉古菌的特异脂类同化了大量<sup>13</sup>C,揭示了海洋环境泉古菌的自养代谢途径<sup>[49]</sup>。然而,微生物在纯培养理想条件下的生理代谢特点与原位自然环境可能相距甚远,放射自显影杂交技术研究发现海洋泉古菌同化利用氨基酸异养生长<sup>[28,50]</sup>。也有研究表明在太平洋 670 m 深度的海水中,大约 83% 古菌固定无机碳自养生长,17% 的海洋古菌可能利用有机质异养生长<sup>[51]</sup>。最近,环境基因组学揭示了海洋硝化古菌拥有三羧酸循环途径的关键基因,具备异养生长的遗传基础<sup>[47]</sup>。土壤有机质含量通常远远高于海洋和湖泊水生环境,因此,土壤硝化古菌异养代谢的可能性更高,然而,目前没有令人信服的证据支持这一假设<sup>[10]</sup>。

## 4 氨氧化古菌研究展望

复杂自然环境中硝化古菌的生态学功能是未来研究的重点,先进的技术手段则是研究关键。已往的硝化过程微生物机理研究主要依赖于定性的线性耦合,即硝化强度变化趋势与硝化微生物群落组成和数量变化之间的相关性分析,不能将原位环境硝化过程及其微生物驱动者直接相联系<sup>[52]</sup>。随着分析手段的不断发展,稳定性同位素原位示踪环境微生物核酸 DNA/RNA 技术将极大推动我们对硝化古菌生态功能的理解<sup>[53]</sup>。近年来高分辨率的二次离子质谱分析技术(Nanometer-scale Secondary Ion Mass Spectrometry)能直接观测微生物细胞对碳氮营养元素的同化利用过程,极可能是未来原位研究硝化古菌代谢途径的最有力工具之一<sup>[54-55]</sup>。

古菌和细菌对硝化过程的相对贡献率,是目前硝化古菌生态学研究的最重要问题。明确认知原位条件下硝化古菌的生理代谢规律是回答这一问题的核心;采用硝化抑制剂调控氨氧化动力学过程,耦合利用先进的原位研究手段,是阐释这一问题的重要途径<sup>[10]</sup>;产生这一问题的主要原因则是:(1)尽管硝化古菌数量巨大,分布广泛,已知的纯菌株 *N. maritimus* 却生长缓慢,其单位细胞氧化氨态氮能力远低于硝化细菌,根据已发表的数据估算,相差最大可达 1000 倍之多<sup>[10]</sup>;(2)硝化细菌的氨单氧化酶包括 AmoA, AmoB 和 AmoC 共 3 个亚基。已知的海洋硝化古菌含有这一套完整的基因操纵子,然而,土壤硝化古菌迄今未能检测到完整的 AmoC 亚基<sup>[56]</sup>。同时,迄今没有土壤硝化古菌的纯培养菌株或者土壤硝化古菌为主体的富集物报道,以验证土壤硝化古菌的氨氧化能力<sup>[57]</sup>;(3)硝化古菌获取能源的方式与硝化细菌可能完全不同。例如环境基因组学分析表明 *Cenarchaeum symbiosum* 通过氨氧化获得生长所需能源的关键酶——羟胺氧化还原酶缺失<sup>[58]</sup>。最近,*N. maritimus* 全基因组分析也证实了这一点。

深刻理解原位条件下硝化古菌的生态学功能具有重要科学意义。目前已有嗜温硝化古菌报道<sup>[6]</sup>,表明古菌氨氧化可能是地球早期高温低氧条件下生命活动的重要过程,是常温环境中微生物氨氧化过程的初始形式<sup>[59]</sup>。古菌也被发现在地球其它重要生态过程中发挥重要作用,如厌氧甲烷氧化<sup>[60]</sup>。因此,以硝化微生物为模式,系统阐释古菌对环境条件的适应机制及其原位新陈代谢类型,评估复杂环境中古菌和细菌对氨氧化过程的贡献率,将能准确定位细菌和古菌的生态功能,具有重要的生物进化和生态环境意义,同时也可能为地球其它重要生态过程的微生物机理研究提供一定的借鉴。

## 参考文献

- [ 1 ] Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 1992, 356(6365):148-149.
- [ 2 ] Karner MB, DeLong EF, Karl DM. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 409(6819):507-510.
- [ 3 ] Roesch LF, Fulthorpe RR, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2007, 1(4):283-290.
- [ 4 ] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, 304(5667):66-74.
- [ 5 ] Treusch AH, Leininger S, Kletzin A, et al. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(12):1985-1995.
- [ 6 ] de la Torre JR, Walker CB, Ingalls AE, et al. Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing crenarchaeol. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(3):810-818.
- [ 7 ] Hatzenpichler R, Lebedeva EV, Spieck E, et al. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(6):2134-2139.
- [ 8 ] Konneke M, Bernhard AE, de la Torre JR, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 2005, 437(7058):543-546.
- [ 9 ] Martens-Habbena W, Berube PM, Urakawa H, et al. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature*, 2009, 461(7266):976-979.
- [ 10 ] Jia ZJ, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(7):2931-2941.
- [ 11 ] Hyman MR, Arp DJ. <sup>14</sup>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>- and <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-labeling studies of the *de novo* synthesis of polypeptides by *Nitrosomonas europaea* during recovery from acetylene and light inactivation of ammonia monooxygenase. *Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(3):1534-1545.
- [ 12 ] Berg P, Klemetsson L, Rosswall T. Inhibitory effect of low partial pressures of acetylene on nitrification. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(3):301-303.
- [ 13 ] Francis CA, Beman JM, Kuypers MM. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2007, 1(1):19-27.
- [ 14 ] Francis CA, Roberts KJ, Beman JM, et al. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(41):14683-14688.
- [ 15 ] Prosser JI, Nicol GW. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):2931-2941.

- [16] Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, 442(7104): 806-809.
- [17] Beman JM, Francis CA. Diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of a hypernutrified subtropical estuary; Bahia del Tobari, Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(12): 7767-7777.
- [18] Beman JM, Roberts KJ, Wegley L, et al. Distribution and diversity of archaeal ammonia monooxygenase genes associated with corals. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(17): 5642-5647.
- [19] Steger D, Ettinger-Epstein P, Whalan S, et al. Diversity and mode of transmission of ammonia-oxidizing archaea in marine sponges. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(4): 1087-1094.
- [20] Park HD, Wells GF, Bae H, et al. Occurrence of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment plant bioreactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(8): 5643-5647.
- [21] Zhang CL, Ye Q, Huang Z, et al. Global occurrence of archaeal *amoA* genes in terrestrial hot springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(20): 6417-6426.
- [22] Schleper C, Jurgens G, Jonuscheit M. Genomic studies of uncultivated archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(6): 479-488.
- [23] Mincer TJ, Church MJ, Taylor LT, et al. Quantitative distribution of presumptive archaeal and bacterial nitrifiers in Monterey Bay and the North Pacific Subtropical Gyre. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(5): 1162-1175.
- [24] Dawson S, Delong E, Pace N. Phylogenetic and ecological perspectives on uncultured Crenarchaeota and Korarchaeota// Dworkin M, et al. ed. *The Prokaryotes*. Germany: Springer, 2006, 281-289.
- [25] Herrmann M, Saunders AM, Schramm A. Archaea dominate the ammonia-oxidizing community in the rhizosphere of the freshwater macrophyte *Littorella uniflora*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(10): 3279-3283.
- [26] Santoro AE, Francis CA, de Sieyes NR, et al. Shifts in the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across physicochemical gradients in a subterranean estuary. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(4): 1068-1079.
- [27] Ochsenreiter T, Selezi D, Quaiser A, et al. Diversity and abundance of Crenarchaeota in terrestrial habitats studied by 16S RNA surveys and real time PCR. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(9): 787-797.
- [28] Agogue H, Brink M, Dinasquet J, et al. Major gradients in putatively nitrifying and non-nitrifying Archaea in the deep North Atlantic. *Nature*, 2008, 456(7223): 788-791.
- [29] Burggraf S, Huber H, Stetter KO. Reclassification of the crenarchaeal orders and families in accordance with 16S rRNA sequence data. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1997, 47(3): 657-660.
- [30] Erguder TH, Boon N, Wittebolle L, et al. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(5): 855-869.
- [31] Koops HP, Purkhold U, Pommerening-Roser A, et al. The Lithoautotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria. In Dworkin M, et al. ed. *The Prokaryotes*. Germany: Springer, 2006, 778-811.
- [32] Shen JP, Zhang LM, Zhu YG, et al. Abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea communities of an alkaline sandy loam. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(6): 1601-1611.
- [33] He JZ, Shen JP, Zhang LM, et al. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2364-2374.
- [34] Pearson A, Pi Y, Zhao W, et al. Factors controlling the distribution of archaeal tetraethers in terrestrial hot springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(11): 3523-3532.
- [35] Weijers JWH, Schouten S, Spaargaren OC, et al. Occurrence and distribution of tetraether membrane lipids in soils: Implications for the use of the TEX86 proxy and the BIT index. *Organic Geochemistry*, 2006, 37(12): 1680-1693.
- [36] Nicol GW, Leininger S, Schleper C, et al. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2966-2978.
- [37] Adair K, Schwartz E. Evidence that ammonia-oxidizing archaea are more abundant than ammonia-oxidizing bacteria in semiarid soils of northern Arizona, USA. *Microbial Ecology*, 2008, 56(3): 420-426.
- [38] Avrahami S, Bohannan BJM. Response of *Nitrosospira* sp. strain AF-Like ammonia oxidizers to changes in temperature, soil moisture content, and fertilizer concentration. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(4): 1166-1173.
- [39] Tournu M, Freitag TE, Nicol GW, et al. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea

- and bacteria in soil microcosms. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(5):1357-1364.
- [40] Weijers JWH, Schouten S, Linden M, et al. Water table related variations in the abundance of intact archaeal membrane lipids in a Swedish peat bog. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 239(1):51-56.
- [41] Damste JS, Schouten S, Hopmans EC, et al. Crenarchaeol: the characteristic core glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether membrane lipid of cosmopolitan pelagic crenarchaeota. *Journal of Lipid Research*, 2002, 43(10):1641-1651.
- [42] Pearson A, Huang Z, Ingalls AE, et al. Nonmarine crenarchaeol in Nevada hot springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(9):5229-5237.
- [43] Chen XP, Zhu YG, Xia Y, et al. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? *Environmental Microbiology*, 2008, 10(8):1978-1987.
- [44] de Souza N. Sequence is not everything. *Nature Methods*, 2009, 6(5):320-321.
- [45] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, et al. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience*, 2009, 2(9):621-624.
- [46] Mertens J, Broos K, Wakelin SA, et al. Bacteria, not archaea, restore nitrification in a zinc-contaminated soil. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2009, 3(8):916-923.
- [47] Hallam SJ, Mincer TJ, Schleper C, et al. Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine Crenarchaeota. *PLoS Biology*, 2006, 4(4):e95.
- [48] Pearson A, McNichol AP, Benitez-Nelson BC, et al. Origins of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment: a case study using compound-specific  $\Delta^{14}C$  analysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2001, 65(18):3123-3137.
- [49] Wuchter C, Schouten S, Boschker HT, et al. Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 219(2):203-207.
- [50] Ouverney CC, Fuhrman JA. Marine planktonic archaea take up amino acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(11):4829-4833.
- [51] Ingalls AE, Shah SR, Hansman RL, et al. Quantifying archaeal community autotrophy in the mesopelagic ocean using natural radiocarbon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(17):6442-6447.
- [52] Mao Y, Bakken LR, Zhao L, et al. Functional robustness and gene pools of a wastewater nitrification reactor: comparison of dispersed and intact biofilms when stressed by low oxygen and low pH. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66(1):167-180.
- [53] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法. 北京:高等教育出版社, 2010:294-321.
- [54] Finzi-Hart JA, Pett-Ridge J, Weber PK, et al. Fixation and fate of C and N in the cyanobacterium *Trichodesmium* using nanometer-scale secondary ion mass spectrometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(15):6345-6350.
- [55] Li T, Wu TD, Mazeas L, et al. Simultaneous analysis of microbial identity and function using NanoSIMS. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(3):580-588.
- [56] Urich T, Lanzen A, Qi J, et al. Simultaneous assessment of soil microbial community structure and function through analysis of the meta-transcriptome. *PLoS ONE*, 2008, 3(6):e2527.
- [57] Simon HM, Jahn CE, Bergerud LT, et al. Cultivation of Mesophilic Soil Crenarchaeotes in Enrichment Cultures from Plant Roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(8):4751-4760.
- [58] Hallam SJ, Konstantinidis KT, Putnam N, et al. Genomic analysis of the uncultivated marine crenarchaeote Cenarchaeum symbiosum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(48):18296-18301.
- [59] Barns SM, Delwiche CF, Palmer JD, et al. Perspectives on archaeal diversity, thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(17):9188-9193.
- [60] Raghoebarsing AA, Pol A, van de Pas-Schoonen KT, et al. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature*, 2006, 440(7086):918-921.

# Microbial ecology of archaeal ammonia oxidation—A review

Zhongjun Jia<sup>1\*</sup>, Jiahua Weng<sup>1,2</sup>, Xiangui Lin<sup>3</sup>, Ralf Conrad<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(<sup>2</sup>Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(<sup>3</sup>State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(<sup>4</sup>Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Karl-von-Frisch-Strasse, D-35043, Marburg, Germany)

**Abstract:** *Bacteria* have long been considered as the key driver of ammonia oxidation on earth. This concept has been challenged recently by the discovery of chemolithoautotrophic isolate of ammonia-oxidizing archaeon in marine. The relative contribution of bacteria and archaea to ammonia oxidation is essential for our understanding of global nitrogen cycle. Recent study suggested a key role of archaeal ammonia oxidation in the marine nitrogen cycle. Our work however revealed the predominance of bacterial ammonia oxidation in agricultural soil. From the biogeochemical perspective, here we summarized the discovery, progress and prospect of archaeal ammonia oxidation. Of great interest in the future would be to elucidate the metabolisms of ammonia-oxidizing archaeon in natural environment and the underlying mechanism that leads to the physiological divergence of ammonia oxidizers.

**Keywords:** Crenarchaeote; archaeal nitrifier; ammonia oxidation; *amoA* gene; microbial ecology

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (40971153) and the Knowledge Innovation Programs of the Chinese Academy of Sciences (KZCX2-YW-BR-06 and KZCX2-YW-408)

\* Corresponding author. Tel: +86-25-86881311; Fax: +86-25-86881000; E-mail: jia@issas.ac.cn

Received: 2 October 2009/ Revised: 28 December 2009

## 1953年创刊以来所有文章全文上网

从2008年1月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页(<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>)浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2010年4月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊3年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊6年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008	月刊	48	1 - 12
2009	月刊	49	1 - 12
2010	月刊	50	4