

缺氧土壤中硝态氮还原菌的生理生化特征*

殷士学 沈其荣[†]

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要 综述国内外有关硝态氮还原菌生理生化方面的研究进展, 包括同化还原、硝酸异化还原成铵、呼吸反硝化和非呼吸性反硝化, 侧重于电子传递系统。

关键词 硝态氮还原菌, 电子传递链, 反硝化

中图分类号 S154.3

氧气不足环境(如淹水土壤)中的硝态氮主要在微生物参与下还原。由于所参与的微生物的多样性和复杂性, 还原途径和还原产物亦具有多样性和复杂性。过去我国有关硝态氮还原的微生物研究主要集中在该功能群的数量、区系组成及其活性, 对硝态氮还原的微生物生理生化的研究则相对欠缺, 因而限制了从更深层次上认识土壤中硝态氮还原规律。本文综述国内外有关硝态氮还原菌生理生化方面的研究成果, 侧重于电子传递系统, 希望对有关的研究能起到抛砖引玉的作用。依照微生物生理过程的不同, 硝态氮还原可区分为如下几个不同途径: (1) 同化还原; (2) 硝酸异化还原成铵; (3) 呼吸性反硝化; (4) 非呼吸性反硝化。依次综述如下。

1 硝酸同化还原

硝酸同化还原是耗能过程。高等植物、许多真菌和细菌都能同化还原硝态氮, 且还原过程非常相似。真菌 *Neurospora crassa* 的硝酸同化还原的过程如图 1 所示^[1]。细菌的同化硝酸还原酶为溶解性胞浆酶, 不含细胞色素 *b*。由于该酶在分离纯化时极不稳定, 加上细菌的 NO_3^- 同化其意义在生物界远没有真核生物那么重要, 所以至今对其组分、结构和电子传递途径仍不了解。同化亚硝酸还原酶组分包括 FAD、非血红素 Fe-S 中心和类血红素(Sirohaem)辅基, 电子供体是 NADPH。类血红素的结构是八巯基同菌绿素^[2], 专门催化 6 电子还原反应(如 $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_3$ 、 $\text{SO}_3^{2-} \rightarrow \text{S}^{2-}$), 因此是该酶的特征性组分。

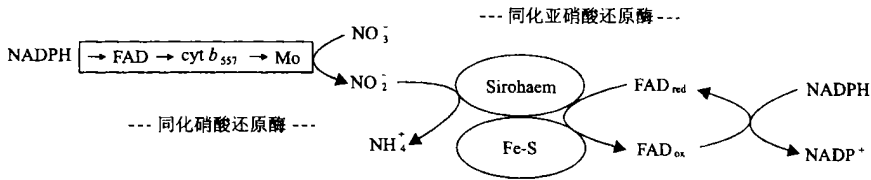


图 1 硝酸同化还原示意图

Fig 1 Assimilatory nitrate reduction

硝酸同化还原的目的是利用 NO_3^- 合成细胞物质, 因此还原速度和还原的量主要决定于细胞生长速度和细胞产量, 细胞生长滞后期没有净同化, 整个还原过程没有 NO_2^- 积累, 也不会有 NH_4^+ 泌出。这是硝酸同化还原和异化还原之间的最主要区别。

* 国家自然科学基金(49971051、30170029)和国家自然科学基金重点项目(39830220)资助

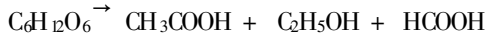
† 通讯作者

收稿日期: 2001- 06- 25; 收到修改稿日期: 2002- 02- 27

硝酸同化还原对 NH_4^+ 极为敏感, 土壤 NH_4^+-N 浓度在 0.1 mg kg^{-1} 时 1 min 之内就可以抑制 60% 的同化还原, 10 mg kg^{-1} 时 5 min 后可抑制 80%。天门冬氨酸的抑制能力与 NH_4^+-N 相似, 其余氨基酸则较弱^[3]。淹水土壤中通常含有较丰富的 NH_4^+-N 和有机氮, 所以从生态层面上看硝酸同化还原在土壤中不大可能占主导地位。

2 硝酸异化还原成铵

与同化过程不同, 硝态氮异化还原是以产能为目的的。异养细菌有两种产能途径: 基质水平磷酸化和呼吸磷酸化, 两者均以糖酵解 (EMP) 为起点。糖酵解途径将 1 分子葡萄糖分解成 2 分子丙酮酸, 同时产生 2 分子 ATP 和 2 分子 NADH。ATP 消耗于细胞生长和活性的维持; NADH 必须被氧化掉, 否则糖酵解不能继续进行。发酵是 NADH 再氧化途径之一。发酵将 NADH 中的电子转移给葡萄糖降解的某些中间产物, 该过程不伴有 ATP 形成, NADH 中的能量被保存在部分发酵产物中。如果有外源电子受体 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 存在, 因其氧化还原电位较高, 发酵性细菌将优先利用 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 作为电子受体氧化 NADH, 该过程仍然不伴有 ATP 形成, NADH 中的能量被保存在 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 的还原产物中, 发酵途径依然不变, 此时还原产物往往是 NH_4^+ , $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 充当发酵性电子受体的作用。这就是 DNRA (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium) 过程。以 *Klebsiella* 为例: 没有 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 存在时, EMP 途径产出的 NADH 主要消耗于乙醇的形成, 发酵主产物是醋酸、乙醇和甲酸 (分子比大约是 1:1:1)^[4]:



但有 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 存在时, 几乎不产生乙醇, 同时 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 被还原成铵, 反应式如下:



显然原本可以在乙醇形成中被氧化的 NADH 这时被 NO_2^- 所氧化, 表明 DNRA 与 NADH 再氧化直接相耦联。直接耦联的好处是显然的: $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 被还原成铵时要接受 8~6 个电子, 是 NADH 的高效氧化剂, 特别有利于基质丰富条件下发酵产能。事实上, 与 DNRA 相耦联的可以是任何其它由基质脱氢酶产生的氢载体 (光合过程除外), 只要这些氢载体的再氧化没有呼吸链参与就都视为发酵。

DNRA 细菌包括专性厌氧菌、兼厌氧菌、微嗜氧菌和好氧菌^[5]。专性厌氧菌 *Desulfotribrio desulfuricans* 的 DNRA 过程如图 2A 所示。乳酸 (或 H_2) 在乳酸脱氢酶 (LDH) (或氢化酶 Hy) 的作用下将乳酸脱掉的氢直接交给亚硝酸还原酶 (Nir), 此处氢载体是什么尚不知晓^[6]。最简单的呼吸链由脱氢酶-泛醌-还原酶构成^[7], 上述电子转移中没有泛醌的参与, 所以不是呼吸过程, 只是一步还原反应而已。Nir 的辅基是六细胞色素 *c* 复合体 (Hexhaem *c*), 催化 6 个电子还原反应。该菌没有 NO_3^- 还原酶, NO_2^- 由外源提供。电子从乳酸和 H_2 传递到 Nir 分别通过 2 个和 1 个质子转移位点, 指示有基质水平磷酸化过程^[8]。

兼厌氧菌尤其是 *Enterobacteriaceae* 的 DNRA 功能比较普遍, *Escherichia coli* (图 2B) 在厌氧条件下将 NADH 中的电子通过泛醌 Q 传递给硝酸还原酶 (硝酸呼吸过程), 或者直接交给 NO_2^- 还原酶 (Hexhaem *c*), 将 NO_2^- 还原成 NH_4^+ 。硝酸呼吸与 DNRA 共用同一段呼吸链, 都经过 2 个质子转移位点, 表明硝酸呼吸和 DNRA 产生同样多的能量; 提供 NO_3^- 和 NO_2^- 细胞生长量无明显差别 (殷士学, 待刊资料)。如果电子供体不足, DNRA 相对于硝酸呼吸来说显得无意义, 因为此时无需高效电子受体, 此时往往有 NO_2^- 积累。*Escherichia coli* 还含有另外一种以类血红素 (Sirohaem) 为辅基的亚硝酸还原酶, 该酶是可溶性胞浆酶, 与前述的同化亚硝酸还原酶极为相似, 其还原产物也是 NH_4^+ , 但由不同的基因控制。事实上 *E. coli* 共有至少 3 种硝酸还原酶和 2 种亚硝酸还原酶, 它们之间相互配合起不同作用, 例如图 2 中的硝酸还原酶与溶解性亚硝酸还原酶 (含 Sirohaem) 配合, 主要作用是解除细胞质中 NO_2^- 的毒害^[9]。

微嗜氧菌 *Campylobacter sputorum* 的 DNRA 过程 (图 3A) 与兼厌氧菌不同之处在于: 呼吸链延长到了细胞色素 *b*, 是一个较完整的呼吸系统, 其结构与反硝化菌的呼吸链 (图 3B) 非常相似, 但 *C. sputorum* 在细胞色素 *b* 之后没有产能位点而反硝化菌则有。目前还不知道该菌是否是通过呼吸系统将 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 还原成 NH_4^+ 的一个特例, 它是已报道的唯一的具备 DNRA 功能的微嗜氧菌。

严格好氧菌 *Bacillus* 值得特别关注。按细菌分类通典贝氏手册上的定义, *Bacillus* 都是好氧菌^[10]。但近几年的研究表明, 该属的某些种在有 NO_3^- 存在的情况下可以进行厌氧生活^[11, 12], 其中能进行

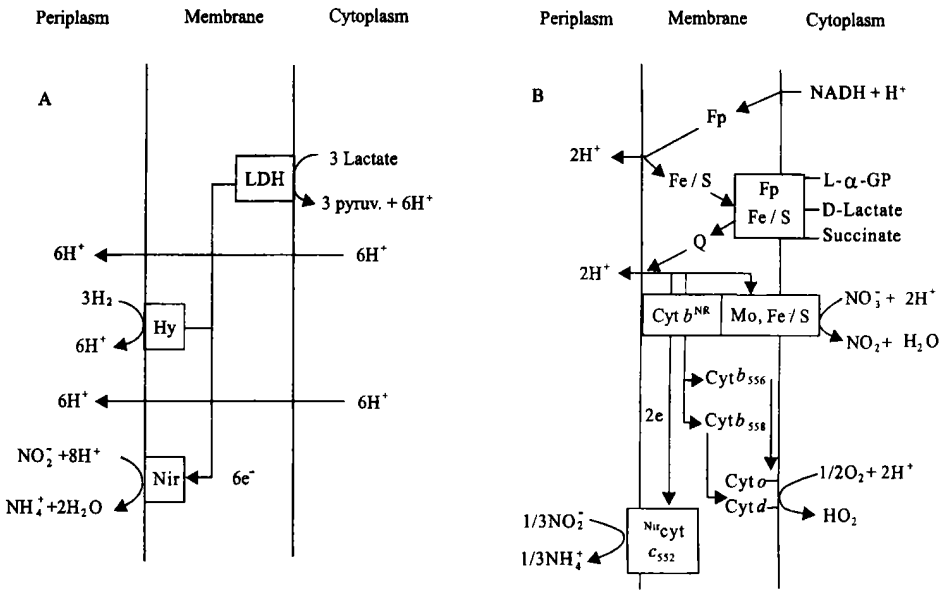


图2 细菌电子传递链(A. 专性氧菌; B. 兼厌氧菌)

Fig.2 Electron transport chain(A. *Desulfohalobium desulfurians*; B. *Escherichia coli*)

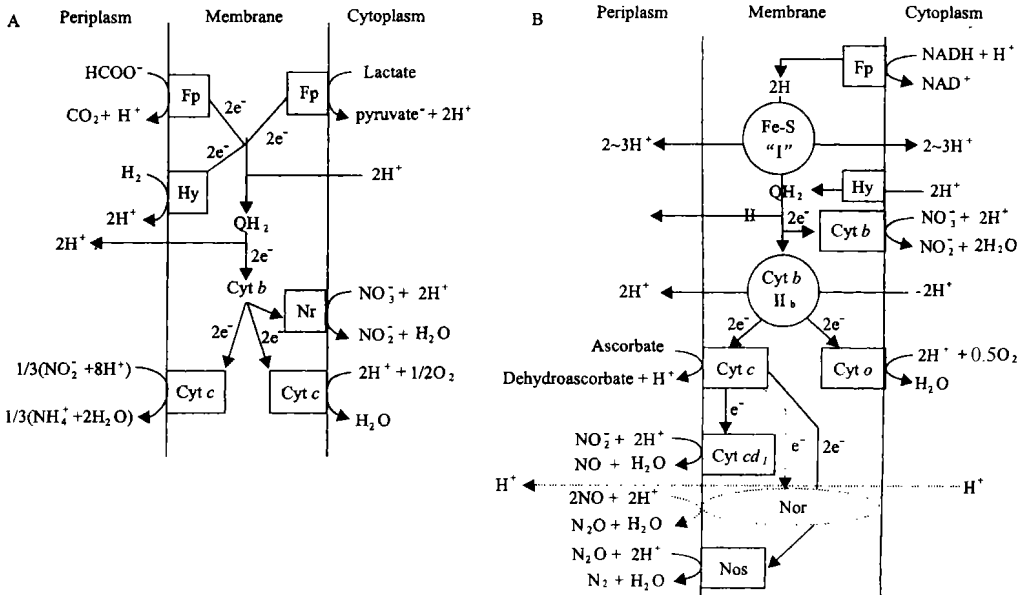


图3 细菌的电子传递链(A. 微嗜氧菌; B. 反硝化菌)

Fig.3 Electron transport chain(A. *Campylobacter sputorum*; B. *Paracoccus denitrificans*)

DNRA 过程的有 *Bacillus subtilis* [11, 13]、*Bacillus macerans* [14]、*Bacillus licheniformis* [15] 以及 *Bacillus* sp [16, 17]。有些菌已知为混合酸发酵类型 [11]，但电子传递过程尚不清楚。*Bacillus* 的另一些种被认为是反硝化菌 [18]。*Bacillus* 是普遍且常常是主导的土壤微生物区系，所以它们在土壤硝态氮还原过程中的作用值得进一步研究。

DNRA 过程一般都在电子供体充足的条件下进行的。对异养型细菌而言一般的土壤都是碳源短缺的环境, 这对 DNRA 过程较为不利, 所以如果不外加碳源一般土壤中 DNRA 只占硝态氮还原的百分之几^[19, 20], 高的也只有 12.5%^[21]。

3 呼吸性反硝化

除发酵以外, EMP 途径产生的 NADH 还可以通过呼吸链再氧化, 电子逐步传递给终端电子受体, 终端电子受体可以是 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^- / \text{NO} / \text{N}_2\text{O}$ 等一系列的氮氧化物, 还原终产物往往以 $(\text{N}_2\text{O} + \text{N}_2)$ 为主, 微生物学家将该过程描述为“伴有电子传递磷酸化、硝态氮依序还原的细菌呼吸过程”, 即呼吸反硝化或反硝化。生态学家、土壤学家、环境科学家主要关心还原终产物, 常将产出气态氮氧化物的微生物过程都叫做反硝化, 但从微生物角度来说产出 N_2O 和 N_2 的不一定都是呼吸过程, 这将在下一节讨论。

关于反硝化菌呼吸链的结构, *Paracoccus denitrificans* 是目前了解最多的有限的几种细菌之一(图 3B)^[22-24]。虚线表示未知或待定的内容, H^+ 泵出是形成质子动力(ATP 形成)的位点, I、II_a、II_b 是已确定的产能位点。在进行无氧呼吸和有氧呼吸时, *Paracoccus denitrificans* 共用一部分呼吸链, 分枝点是 *cyt b*, 有氧时 *cyt b* 将电子传给 *cyt o*, 无氧时将电子传给 *cyt c*, NO_3^- 还原直接由泛醌将电子传递给亚硝酸还原酶中的 *cyt b*。该菌厌氧呼吸链比上述的 *Escherichia coli* (图 2B) 和 *Campylobacter sputorum* (图 3A) 的复杂得多。从 NADH 传递两个电子给 NO_3^- 通过 2 个产能位点, 传递到 O_2 通过 3 个产能位点, 传递到 N_2 通过 4 个产能位点。实际测定结果是该菌厌氧呼吸产生的 ATP 只是好氧呼吸的 67% ~ 71%, 其差别的原因尚不清楚。一般而言, pH 为 7 时厌氧细菌从 ADP 形成 ATP 约耗能 43.9 kJmol⁻¹^[24]。根据反应热力学参数, 呼吸反硝化的每一步反应都可能伴有 ATP 产出, 但实际上(图 3)并不一定如此。

关于反硝化细菌及其酶系已有很多综述^[18, 25], 这里只提一下反硝化菌的亚硝酸还原酶(dNir)。已知有两种 dNir(表 1), 一种是含铜的(Cu-dNir), 这类反硝化菌约占土壤反硝化菌总数的 1/3; 另一种是含 e-型和 d-型细胞色素复合体(*cd*_r-dNir)的, 这类菌约占土壤反硝化菌总数的 2/3。*cd*₁ 是反硝化菌特有的组分, 有可能是控制反硝化的突破口所在。目前趋于认为 dNir 催化单电子还原反应, 将 NO_2^- 还原成 NO ^[26]。生物界单电子传递反应是稀少的。

表 1 已知含有 Cu-dNir 和 *cd*_r-dNir 的反硝化细菌^[18]

Table 1 Denitrifying bacteria containing cytochrome *cd*₁ and of Cu-containing nitrite reductase

Cyt <i>cd</i> _r dNir organisms	Cu-dNir organisms
<i>Alcaligenes faecalis</i> IAM 1015	<i>Achromobacter cycloclastes</i>
<i>Azospirillum brasilense</i> SP7	<i>Alcaligenes faecalis</i> S6
<i>Erythrobacter</i> sp. OCh 114	<i>Alcaligenes xylooxidans</i> subsp <i>xylooxidans</i>
<i>Paracoccus denitrificans</i>	<i>Bacillus halodenitrificans</i>
<i>Paracoccus halodenitrificans</i>	<i>Nitrosomonas aurpæa</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas arefaciens</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC 17591	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> f sp <i>denitrificans</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ZoBell	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>
<i>Thiobaillus denitrificans</i>	<i>Thiothraera pantotropha</i>

同时有 O_2 和 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 存在时, 绝大多数反硝化菌优先利用 O_2 , *cyt o* 活性受抑^[17, 27]; 如果从厌氧转换到好氧条件 NO_3^- 还原将很快终止, 所以在有氧条件下难以观察到反硝化的现象。由此看来反硝化功能似乎只是这些菌的一个兼职, 好氧呼吸才是本职。

反硝化菌通常以培养基中 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 是否全部消失作为基本特征加以鉴别, 对还原产物不作区分。显然这种方法较为粗糙, 可能将 DNRA 细菌也列入反硝化菌之中。依据呼吸磷酸化有无和硝态氮还原主产物, Mahen 和 Tiedje^[28] 提出了鉴别反硝化菌的三条主要指标: (1) 细胞蛋白的净增长量与基质中

$\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 量呈直线关系(有呼吸磷酸化);(2) 产自 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 的 $\text{N}_2 + \text{N}_2\text{O}$ 超过 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 总量的 80% (还原主产物);(3) 气态氮化物产出速率 $> 10 \mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ (反硝化速率)。这种方法排除了经典方法中的不确定因素,对研究土壤中参与硝态氮还原的微生物有特别意义。

4 非呼吸性反硝化

这是指那些没有呼吸链参与、能将硝态氮还原成气态氮化物的一类微生物,它是包括 DNRA 细菌、亚硝酸积累菌、自生固氮菌、酵母、真菌、蓝细菌、好气反硝化菌等在内的、生理过程复杂的一个混合群体^[29]。对 DNRA 细菌和亚硝酸积累细菌而言,气态氮化物往往是 N_2O ,且在提供 NO_2^- 时都比提供 NO_3^- 时产出更多的 N_2O ,表明 N_2O 的产出可能与解毒有关。*Escherichia coli* 的硝酸还原酶缺失突变株不产出 N_2O ,但亚硝酸还原酶缺失突变株却产生,表明 N_2O 产出可能是硝酸还原酶作用于 NO_2^- 的结果。 N_2O 的产出速率一般只有 $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ 还原速率的 1%,细胞生长滞恒期 N_2O 的产出速率最快;无产能相伴。这些现象表明,这些菌产出 N_2O 似乎没有特别的生理功能。

另一些细菌在低氧分压条件下同样能将硝态氮还原成包括 N_2 在内的气态氮化物,文献中称之为“好气反硝化”。“好气反硝化”菌多数具有硝化功能,包括自养型 *Nitrosomonas* sp^[30]、*Nitrosomonas europaea*^[31] 和异养型 *Alcaligenes faecalis*^[32]、*Pseudomonas*^[33]、*Thiosphaera pantotropha*^[34]、*Hyphomicrobium*^[35] 等。*Thiosphaera pantotropha* 在有氧条件下确能检测到 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 还原酶活性,但反硝化速度远比厌氧条件下低^[27]。深入研究好气反硝化菌(尤其是异养型)有两方面的意义:好气反硝化是目前了解很少的一种生命现象,对它的认识至少可以补充现有的反硝化知识;好气反硝化可能导致废水处理技术的革新。好气反硝化在土壤中有吗?如果有能占多大份量?目前尚没有估计。通气土壤确能测得少量的气态氮化物产出,过去一般认为是土壤不均质性所致,是否有“好气反硝化”的贡献还不清楚。

5 现象、问题和展望

参与硝态氮还原的微生物具有惊人的多样性。已知的反硝化菌分布于 10 个原核生物科中^[36]: *Rhodospirillaceae*, *Cytophagaceae*, 生芽或具附属物细菌(Budding or appendaged bacteria), *Spirilaceae*, *Pseudomonaceae*, *Rhizobiaceae*, *Halobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, *Nitrobacteraceae*, *Bacillaceae*;只有三组尚没发现有反硝化细菌分布:专性厌氧菌、除 *Bacillus* 以外的革兰氏阳性菌以及 *Enterobacteriaceae*。如果再考虑 DNRA 过程(专性厌氧菌和 *Enterobacteriaceae* 恰恰是 DNRA 细菌的主要分布群),可以说任何一种无机氧化物都没有像 NO_3^- 这样有那么多微生物卷入其还原转化。同样是氮素,固氮微生物和硝化微生物的种群就远比硝酸还原菌种群来得简单。

土壤微生物学的基本目标是了解土壤中微生物的多样性(质量信息)和群体结构(数量信息)。现有知识还远未达到这一目标,举几个实例。(1)在参与硝态氮还原的细菌中,反硝化菌是被了解最多的类群了,但是已了解的那些菌株未必是土壤中主导类群^[36],因此这些知识能在多大程度上说明土壤中的实际情况令人怀疑。(2)土壤微生物学过去主要依赖分离培养技术来积累知识,但是现代分子生物技术研究表明土壤中“可培养”的微生物数量仅占总数的百分之几以下^[37],说明我们已知甚少。(3)土壤微生物的质量、数量信息与宏观表象往往不符。例如有两种土壤,一种 NO_3^- 的主导还原产物为 N_2O ,另一种为 N_2 ,推测前者应以将 NO_3^- 只还原到 N_2O 的细菌为主,后者应以终产物为 N_2 的细菌为主,实测结果恰恰相反^[4]。从这几个事例可以看出,我们的土壤微生物学知识还十分贫乏。

解决这些问题是相当困难的。一方面要引入现代生物技术研究手段,设法了解那些“不可培养”微生物的种类、数量、功能;另一方面要利用现有的技术手段深入认识那些“可培养”微生物的生命规律,后者在许多实验室的现有条件下都能做到。比较研究硝态氮还原菌的不同功能群的生理生化,无疑将在十分贫乏的知识库中添加一些内容。

参考文献

- Garrett R H, Nason A. Involvement of a *b*-type cytochrome in the assimilatory nitrate reductase of *Neurospora crassa*. Proc Natl. Acad. Sci., 1967, 58: 1 603~ 1 610
- Scott A I, Irv in A J, Siegel L M, et al. Sirohydrochlorin, prosthetic group of sulfite and nitrate reductases and its role in the

- biosynthesis of vitamin B₁₂. J. Am. Chem. Soc., 1978, 100: 7 987~ 7 994
3. Rice C W, Tiedje J M. Regulations of nitrate assimilation by ammonium in soils and in isolated soil microorganisms. Soil Biol. Biochem., 1989, 21: 579~ 602
 4. Cheney D A, Hartmann C, Henault E Topp, *et al.* Diversity of denitrifying microflora and ability to reduce N₂O in two soils. Biol. Fertil. Soils, 1998, 28: 19~ 26
 5. Tiedje J M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: Zehrder A J B. ed. Biology of Anaerobic Microorganisms. New York, USA: John Wiley & Sons, 1988. 179~ 244
 6. Gottschalk G. Bacterial fermentation. In: Gottschalk G. ed. Bacterial Metabolism. New York, USA: Springer-Verlag, 1979. 167~ 224
 7. Stewart V. Nitrate respiration in relation to facultative metabolism in *Enterobacteria*. Microbiol. Rev., 1988, 52: 190~ 232
 8. Steenkamp D J, Peck H D. Proton translocation associated with nitrite respiration in *Desulfovibrio desulfuricans*. J. Biol. Chem., 1981, 256: 5 450~ 5 458
 9. Cole J A, Brown C M. Nitrite reduction to ammonia by fermentative bacteria: A short circuit in the biological nitrogen cycle. FEMS Microbiol. Lett., 1980, 7: 65~ 72
 10. Holt J G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore, USA: Williams and Wilkins Co., 1984~ 1989
 11. Nakano M M, Zuber P. Anaerobic growth of a "strict aerobe" (*Bacillus subtilis*). Ann. Rev. Microbiol., 1998, 52: 165~ 190
 12. Priest F G. Systematics and ecology of *Bacillus*. In: Sonenshein A L, Hoch J A, Losick R. eds. *Bacillus subtilis* and Other Gram-positive Bacteria: Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics. Washington D C, USA. Am. Soc. Microbiol. 1993. 3~ 16
 13. Hoffmann T, Frankeberg N, Marino M, *et al.* Ammonification in *Bacillus subtilis* utilizing dissimilatory nitrite reductase is dependent on resDE. J. Bacteriol., 1998, 180: 186~ 189
 14. Schirawski J, Uden G. Anaerobic respiration of *Bacillus maerens* with fumarate, TMAO, nitrate and nitrite and regulation of the pathways by oxygen and nitrate. Arch. Microbiol., 1995, 163: 148~ 154
 15. Shariati P, Mitchell W J, Boyd A, *et al.* Anaerobic metabolism in *Bacillus licheniformis* NCIB 6346. Microbiology, 1995, 141: 1 117~ 1 124
 16. 李振高, 潘映华, 伍期途, 等. 太湖地区水稻土优势反硝化细菌的数量组成与酶活性. 土壤学报, 1989, 26(1): 79~ 86
 17. Smith M S, Zimmernan K. Nitrous oxide production by nondenitrifying soil nitrate reducers. Soil Sci. Soc. Am. J., 1981, 45: 865~ 871
 18. Zumft W. The denitrifying prokaryotes. In: Balows A, Truper H G, Dworkin M, *et al.* eds. The Prokaryotes. Second ed. N. Y. Germany: Springer, Berlin Heidelberg, 1992. 554~ 582
 19. Buresh R J, Patrick W H. Nitrate reduction to ammonium in anaerobic soils. Soil Sci. Soc. Am. J., 1978, 42: 913~ 918
 20. Fazzolari E B, Nicolardot B, Gemon J C. Simultaneous effects of increasing levels of glucose and oxygen partial pressures on denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in repacked soil cores. Eur. J. Soil Biol., 1998, 34(1): 47~ 52
 21. Yin S X, Chen D L, Edis R. Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in submerged soils and by *Bacillus* sp. isolated from soil. FAO/IAEA International Symposium on Nuclear Techniques in Integrated Plant Nutrient, Water and Soil Management, 16~ 20 October 2000, Vienna, Austria
 22. Knowles R. Denitrification. Microbiol. Rev., 1982, 46: 43~ 70
 23. Tiedje J M, Sextstone A J, Myrold D D, *et al.* Denitrification: Ecological niches, competition and survival. Antonie van Leeuwenhoek, 1982, 48: 569~ 583
 24. Thauer R K, Jungemann K, Decker K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. Bacteriol. Rev., 1977, 41: 100~ 180
 25. 李良谟. 反硝化作用. 见: 朱兆良, 文启孝主编. 中国土壤氮素. 南京: 江苏科学技术出版社, 1992. 145~ 170
 26. Ye R W, Averill B A, Tiedje J M. Denitrification: Production and consumption of nitric oxide. Appl. Environ. Microbiol., 1994, 60: 1 054~ 1 058
 27. Moir J W, Richardson D J, Ferguson S J. The expression of redox proteins of denitrification in *Thiosphaera pantotropha* grown

- with oxygen, nitrate, and nitrous oxide as electron acceptors. *Arch. Microbiol.*, 1995, 164:43~ 49
28. Mahne I, Tiedje J M. Criteria and methodology for identifying respiratory denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, 61(3):1 110~ 1 115
 29. Cole J A. Nitrate reduction to ammonia by enteric bacteria: Redundancy, or a strategy for survival during oxygen starvation. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1996, 136: 1~ 11
 30. Poth M. Dinitrogen production from nitrite by a *Nitrosomonas* isolate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 52: 957~ 959
 31. Zart D, Bock E. High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas eutropha* grown in a fermentator with complete biomass retention in the presence of gaseous NO₂ or NO. *Arch. Microbiol.*, 1998, 169: 282~ 286
 32. Nishio T, Yoshikura T, Mishima H, *et al.* Conditions for nitrification and denitrification by an immobilized heterotrophic nitrifying bacterium *Alcaligenes faecalis* OKK17. *J. Ferment. Bioengin.*, 1998, 86: 351~ 356
 33. Jetten M S M, Der Bruijn P, Kuenen G. Hydroxylamine metabolism in *Pseudomonas* PB16: Involvement of novel hydroxylamine oxidoreductase. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1997, 71: 69~ 74
 34. Gupta A B. *Thiosphaera pantotropha*: A sulphur bacterium capable of simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. *Enzyme and Microbial Technol.*, 1997, 21:589~ 595
 35. Meiberg J B M, Buinenberg P M, Harder W. Effect of dissolved oxygen tension on the metabolism of methylated amines in *Hyphomicrobium* X in the absence and presence of nitrate: Evidence for aerobic denitrification. *J. Gen. Microbiol.*, 1980, 120: 453~ 463
 36. Gamble T N, Betlach M R, Tiedje J M. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1977, 33(4): 926~ 939
 37. Van Elsas J D, Trevors J T, Wellington E M H. *Modern Soil Microbiology*. NY, USA: Marcel Dekker, Inc., 1997

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF NITRATE REDUCERS IN ANAEROBIC SOILS

Yin Shi-xue Shen Qi-rong

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Summary

This paper presents an overview of currently available literature on the physiology and biochemistry of nitrate reducing microorganisms in anaerobic soils, with emphasis on electron transport chains in assimilatory reduction, dissimilatory nitrate reduction to ammonium, respiratory denitrification and non-respiratory denitrification.

Key words Nitrate reducers, Electron transport chain, Denitrification