

DOI: 10.11766/trxb202203090101

金科, 魏志军, 马小芳, 李承霖, 单军, 颜晓元. 环境因子对水稻土硝酸根异化还原过程速率和分配的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60 (4): 1035–1046.

JIN Ke, WEI Zhijun, MA Xiaofang, LI Chenglin, SHAN Jun, YAN Xiaoyuan. Effects of Environmental Factors on Rate and Partitioning of Dissimilatory Nitrate Reduction Processes in Paddy Soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60 (4): 1035–1046.

环境因子对水稻土硝酸根异化还原过程速率和分配的影响*

金科^{1, 2, 3}, 魏志军^{1, 2, 3}, 马小芳^{1, 4}, 李承霖^{1, 2, 3}, 单军^{1, 3†},
颜晓元^{1, 3}

(1. 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 中国科学院常熟农业生态实验站, 江苏常熟 215555; 4. 南京大学环境学院, 南京 210023)

摘要: 以五常、常熟和雅安水稻土为研究对象, 通过室内泥浆培养, 利用基于膜进样质谱仪(Membrane Inlet Mass Spectrometer, MIMS)的¹⁵N示踪技术, 探究了温度、pH、NO₃⁻浓度、C/N、Fe²⁺和S²⁻浓度对三种水稻土反硝化和硝酸根异化还原成铵(Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)速率及二者占硝酸根还原过程相对贡献的影响。结果表明, 在所研究的稻田土壤中, 反硝化是NO₃⁻异化还原过程的主导途径, 占比87.97%~91.73%, 而DNRA仅占8.27%~12.03%。反硝化和DNRA速率随温度升高均呈指数增长, 且DNRA占NO₃⁻异化还原的比例(R_{DNRA})也随温度升高呈增长趋势。反硝化和DNRA速率分别在pH为7或者8.5时最高, 相对于碱性环境(4.92%~14.67%), 酸性环境中 R_{DNRA} (6.24%~15.56%)更高。反硝化和DNRA速率与NO₃⁻浓度之间关系符合米氏方程, 且反硝化的最大速率(V_{max})和米氏常数(K_m)均大于DNRA。与未加碳源对照组相比, C/N为2.5时, 反硝化速率显著提高了22%~35%; C/N大于2.5时, DNRA速率显著提高了74%~199%。三种土壤中, Fe²⁺添加和S²⁻添加处理中呈现出类似的趋势, 均在低浓度电子供体(即Fe²⁺和S²⁻浓度分别为300~500 μmol·L⁻¹和50~62.5 μmol·L⁻¹)时呈现出最高的反硝化速率, 而DNRA速率达到峰值则需要更高浓度的电子供体(即Fe²⁺和S²⁻浓度分别为800~1 000 μmol·L⁻¹和100~125 μmol·L⁻¹)。综上可知, 环境因子可显著影响NO₃⁻异化还原过程的速率及分配, 其中高温、高C/N、高浓度Fe²⁺和S²⁻有利于更多的NO₃⁻分配给DNRA过程, 而高浓度NO₃⁻会提高NO₃⁻向反硝化过程的分配。上述研究结果深化了对水稻土NO₃⁻异化还原过程分配的认识, 对于探寻潜在农学措施提高DNRA过程的分配比例, 进而提高土壤中氮素的固持和提高稻田氮肥利用率具有重要的科学意义。

关键词: 水稻土; 反硝化; 硝酸根异化还原成铵; ¹⁵N同位素示踪; 膜进样质谱仪

中图分类号: S19 文献标志码: A

* 国家自然科学基金项目(U20A20113、42177303)和国家重点研发计划课题(2021YFD1700802)共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. U20A20113, 42177303), and the National Key Research and Development Program of China (No. 2021YFD1700802)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: shanjun@issas.ac.cn

作者简介: 金科(1996—), 男, 安徽芜湖人, 硕士, 主要从事农田氮素循环关键过程的研究。E-mail: jinke@issas.ac.cn

收稿日期: 2022-03-09; 收到修改稿日期: 2022-06-07; 网络首发日期(www.cnki.net): 2022-08-26

Effects of Environmental Factors on Rate and Partitioning of Dissimilatory Nitrate Reduction Processes in Paddy Soils

JIN Ke^{1,2,3}, WEI Zhijun^{1,2,3}, MA Xiaofang^{1,4}, LI Chenglin^{1,2,3}, SHAN Jun^{1,3†}, YAN Xiaoyuan^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Changshu Agro-ecological Experimental Station, Chinese Academy of Sciences, Changshu, Jiangsu 215555, China; 4. School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: 【Objective】 Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) are the two competing nitrate reduction pathways that remove the available nitrate, both of which are affected by inter-related environmental factors. Understanding how environmental factors regulate nitrate partitioning in these two competing processes is of great significance for the optimization of nitrogen management in paddy fields. 【Method】 Using ¹⁵N-tracing technique in combination with membrane inlet mass spectrometer (MIMS), a series of laboratory incubation experiments were performed to investigate the effects of different environmental factors including temperature (5, 15, 20, 25, and 35 °C), pH (5, 6, 7, 8.5, and 9.5), NO₃⁻ concentration (50, 100, 150, 200, and 300 μmol·L⁻¹), C/N (0, 2.5, 5, 12, and 30), Fe²⁺ (0, 300, 500, 800, and 1 000 μmol·L⁻¹), and S²⁻ (0, 50, 62.5, 100, and 125 μmol·L⁻¹) on denitrification and DNRA rates and their partitioning in nitrate reduction in three paddy soils (Wuchang, WC; Changshu, CS; Ya'an, YA). 【Result】 Denitrification was the predominant pathway (87.97%–91.73%), whereas DNRA only contributed to 8.27%–12.03% of the total dissimilatory nitrate reduction in all treatments. Denitrification and DNRA rates increased exponentially with increasing temperature, as well as the DNRA/(Denitrification + DNRA) ratio (R_{DNRA}). The highest denitrification and DNRA rates occurred at the pH of 7 and 8.5, respectively, and R_{DNRA} was higher in an acidic environment (6.24%–15.56%) than under an alkaline environment (4.92%–14.67%). The response of denitrification and DNRA rates to nitrate concentrations fitted well with the Michaelis-Menten relationship, in which the V_{max} and K_m of denitrification were larger than those of DNRA. In the three paddy soils, compared with the treatment without glucose addition, denitrification rates were significantly increased by 22%–35% at the C/N ratio of 2.5. Following the C/N ratio increased to > 2.5, DNRA rates were enhanced by 74%–199%. In terms of Fe²⁺ and S²⁻ addition treatments, denitrification rates were the highest in the low levels of electron donors (300–500 μmol·L⁻¹ Fe²⁺ and 50–62.5 μmol·L⁻¹ S²⁻), whereas more electron donors (800–1 000 μmol·L⁻¹ Fe²⁺ and 100–125 μmol·L⁻¹ S²⁻) were required when DNRA reached the peak rates. 【Conclusion】 By exerting different effects on rates of denitrification and DNRA, temperature, pH, NO₃⁻, C/N ratio, Fe²⁺, and S²⁻ concentration significantly changed the partitioning between denitrification and DNRA. Specifically, relatively high temperature, C/N, Fe²⁺, and S²⁻ concentration favored nitrate partitioning to DNRA, while denitrification dominated the nitrate reduction process in environments with a relatively high NO₃⁻ concentration. Collectively, our results provide comprehensive information in terms of regulation of environmental factors on nitrate partitioning between DNRA and denitrification in paddy soils. This deepens our understanding of nitrate reduction processes and provides a scientific basis for increasing nitrogen use efficiency by favoring the nitrate partitioning to DNRA in rice fields.

Key words: Paddy soil; Denitrification; DNRA; ¹⁵N-tracing technique; MIMS

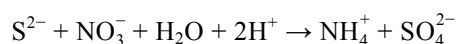
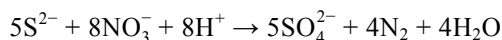
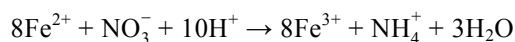
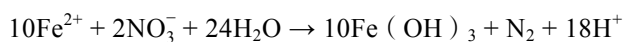
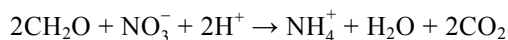
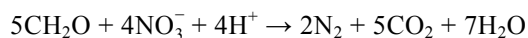
反硝化和硝酸根异化还原成铵 (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA) 是氮素生物地球化学循环中两种重要的厌氧氮转化过程^[1-2]。其中反硝化是将硝酸根 (NO₃⁻) 或亚硝酸根 (NO₂⁻) 逐步还原为一氧化氮 (NO)、氧化亚氮 (N₂O) 和氮

气 (N₂) 的过程, 而 DNRA 则是将 NO₃⁻ 还原为铵根 (NH₄⁺) 的过程。水稻田长期淹水所形成的厌氧环境为上述两种过程提供了适宜的环境。对于稻田生态系统而言, 反硝化和 DNRA 所产生的环境效应截然相反^[3]。反硝化是稻田土壤氮素损失的最主要途径,

不仅降低氮肥利用率和土壤肥力，还会增加温室气体 N_2O 的排放，而 DNRA 通过将易淋溶的 NO_3^- 转化为更有利于土壤固持的 NH_4^+ 可以保氮，是农学上所希望看到的^[4-5]。因此，明确稻田土壤 NO_3^- 还原过程速率及其在反硝化和 DNRA 之间分配，对于探寻潜在农学调控措施提高稻田土壤保氮和减少硝态氮还原导致的负面环境效应具有重要意义。

过去有关稻田土壤 NO_3^- 还原过程的研究多侧重于反硝化，对 DNRA 过程的关注相对较少^[6]。由于 DNRA 过程需要消耗更多的能量，只有在大量易氧化态有机物和强还原条件下才能进行，因此，以往研究通常认为厌氧条件下反硝化较 DNRA 更易发生^[7-8]。但是近期很多研究表明，DNRA 过程的发生对环境条件的要求可能并不像过去认为的那样严格，在微厌氧的河口湿地生态系统中，DNRA 较反硝化更具竞争力^[9]。近期研究显示，稻田土壤 DNRA 过程的发生速率介于 $0.03 \sim 5.01 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，对稻田土壤 NO_3^- 还原过程的贡献最高可达 17.6%^[10]，因此 DNRA 过程不容忽视。

由于 NO_3^- 是反硝化和 DNRA 的共同底物，同一体系中二者对 NO_3^- 的竞争不可避免。此外反硝化和 DNRA 均为异养微生物介导的酶促还原反应，温度和 pH 可通过影响 NO_3^- 还原微生物和酶活性进而影响这两个过程^[11]。有机碳、 Fe^{2+} 和 S^{2-} 等可作为电子供体为反硝化和 DNRA 提供电子，不同电子供体的具体反应式^[12-13]如下：



理论上，还原等量的 NO_3^- ，DNRA 过程传递的电子数高于反硝化过程，因此， NO_3^- 供应有限和电子供体充足（也即高 OC/NO_3^- ）状况下，更利于 DNRA 过程^[14]。但也有研究指出，DNRA 过程速率与 OC/NO_3^- 相关性不大，电子供体尤其是活性有机碳的

含量才是控制 DNRA 过程的主要因子^[15-16]。河口湿地和海洋环境中有关 NO_3^- 还原在反硝化和 DNRA 之间分配的研究已有很多^[17-20]。如 Wang 等^[20]对芦苇根际沉积物 NO_3^- 异化还原过程的研究发现，反硝化和 DNRA 对 NO_3^- 还原的贡献分别为 32.0%~91.8% 和 4.4%~67.5%，DNRA 所占比例甚至与反硝化相当。Deng 等^[17]发现，长江河口沉积物中 DNRA 占 NO_3^- 还原过程的比重最高可达 45%。Rahman 等^[18-19]发现，相较于反硝化，城市湿地沉积物体系中 DNRA 的速率对温度、有机碳、 NO_3^- 和 Fe^{2+} 等环境因子变化响应更敏感，其中在添加有机碳和 Fe^{2+} 的处理中，DNRA 速率的增幅要显著高于反硝化速率，即 NO_3^- 还原过程更倾向于 DNRA 发生。通过相关性分析发现，稻田土壤反硝化速率与 NO_3^- 、有机碳和 *nosZ* clade I 功能基因丰度显著正相关，而 DNRA 速率与土壤 C/N、温度、pH、 Fe^{2+} 和 S^{2-} 浓度显著正相关^[6, 10, 21]。然而目前有关环境因子对水稻土 NO_3^- 还原过程在反硝化和 DNRA 之间分配的研究还相对较少，环境因子对 NO_3^- 的异化还原途径的调控作用仍不清楚。

基于此，本研究以五常、常熟和雅安水稻土为研究对象，利用 ^{15}N 同位素示踪技术和膜进样质谱仪，研究温度、pH、 NO_3^- 浓度、C/N、 Fe^{2+} 和 S^{2-} 浓度对反硝化速率、DNRA 速率及二者在 NO_3^- 还原过程中相对贡献的影响，以期明确环境因子对 NO_3^- 异化还原过程速率和分配的调控作用，为提高稻田氮肥利用率及合理制定农田土壤氮素管理措施提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试稻田土样分别采集于黑龙江五常（ $45^{\circ}18'N, 126^{\circ}48'E$ ）、江苏常熟（ $31^{\circ}55'N, 120^{\circ}70'E$ ）和四川雅安（ $30^{\circ}10'N, 102^{\circ}55'E$ ）。用土钻采集稻田表层 0~20 cm 土壤，置于装有冰袋的保温箱中并尽快带回实验室。新鲜土样在通风阴凉处略风干后过 10 目筛混匀分成两份，一份自然风干，用于土壤基本理化性质测定（表 1）；另一份置于 4 °C 冰箱短暂保存，随后用于室内培养测定反硝化和 DNRA 速率。

表 1 三种水稻土的基本理化性质

Table 1 Basic physicochemical properties of the three tested paddy soils

采样点 Sample site	pH	全氮 TN/ (g·kg ⁻¹)	有机碳 SOC/ (g·kg ⁻¹)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg·kg ⁻¹)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg·kg ⁻¹)	黏粒含量 Clay/ %	粉粒含量 Silt/ %	砂粒含量 Sand/ %
黑龙江五常 Wuchang, Heilongjiang	8.05 ± 0.02a	2.03 ± 0.21a	48.09 ± 2.73a	20.3 ± 0.43b	7.78 ± 0.22a	31.0	60.2	8.8
江苏常熟 Changshu, Jiangsu	6.82 ± 0.02c	1.54 ± 0.10b	32.56 ± 0.96b	22.6 ± 0.58a	4.00 ± 0.42b	32.0	58.0	10.0
四川雅安 Ya'an, Sichuan	7.41 ± 0.01b	2.32 ± 0.48a	33.4 ± 3.34b	14.3 ± 1.24c	3.13 ± 0.12c	52.3	42.3	5.4

注：同列不同小写字母代表三种水稻土间差异显著， $P < 0.05$ 。Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$) among different paddy soil sampling sites.

1.2 实验处理

采用 ¹⁵N 示踪与膜进样质谱仪 (Membrane Inlet Mass Spectrometer, MIMS) 测定水稻土反硝化和 DNRA 速率^[10]。具体操作流程如下：称取 1.5 g 过筛鲜土与纯水按质量比 1 : 7 混合成泥浆，曝氨气 0.5 h 后在厌氧氨环境中将泥浆分装入 12 mL Labco 顶空瓶中，拧紧瓶盖并保证瓶中没有气泡，置于竖直旋转培养箱内室温避光预培养 7 d (消耗体系中背景的 NO₃⁻和 O₂)。预培养结束加入 K¹⁵NO₃ (¹⁵N 丰度 99.3%) 进行标记，使得体系中 ¹⁵N 浓度在 100 μmol·L⁻¹ (该值依据田面水和土壤背景 NO₃⁻浓度而设定)。在 1、3、6 h 时间点取样并用微量进样针加入 200 μL 7 mol·L⁻¹ ZnCl₂ 溶液 (ZnCl₂ 通过破坏细菌细胞膜而起到灭菌作用) 终止反应。

温度梯度设置为 5、15、20、25 和 35 °C，预培养结束后，在相应温度下继续培养 6 h 后加入 K¹⁵NO₃ 标记继续在该温度下培养；通过添加稀硫酸和氢氧化钠溶液将体系中 pH 调节为 5、6、7、8.5 和 9.5 的目标范围，待体系 pH 稳定后进行预培养；NO₃⁻浓度梯度设为 50、100、150、200 和 300 μmol·L⁻¹；通过添加葡萄糖调节体系中碳氮比 (以质量计) 梯度为 control、2.5、5、12 和 30；在厌氧箱中添加硫酸亚铁溶液调节体系中亚铁浓度为 0、300、500、800 和 1 000 μmol·L⁻¹ (其中 500 和 800 μmol·L⁻¹ 分别对应反硝化和 DNRA 反应化学式中最优化学计量比值设定)；在厌氧箱中添加硫化钠溶液调节体系中硫离子浓度为 0、50、62.5、100 和 125 μmol·L⁻¹ (其

中 62.5 和 100 μmol·L⁻¹ 分别对应反硝化和 DNRA 反应化学式中最优化学计量比值设定)。每个处理设置 7 个重复，其中测定反硝化速率每组为 3 个重复，测定 DNRA 速率每组为 4 个重复。值得指出的是，利用基于 MIMS 的 ¹⁵N 同位素配对技术，在反硝化速率测定组中，同时分析了厌氧氨氧化过程 (anaerobic ammonium oxidation, anammox) 的速率，发现三种水稻土中 anammox 速率的占比始终小于硝酸根还原过程的 0.05%，近似可以忽略，故在本文中未对 anammox 过程进行讨论和涉及。

1.3 反硝化和 DNRA 过程潜势测定

培养结束后的样品以 2 000 r·min⁻¹ 的转速离心 5 min 后，通过 MIMS 测定上清液中的 ³⁰N₂ 信号强度。反硝化速率的计算公式^[10]如下：

$$D_{29} = \frac{2P_{30} \times (1 - F_n)}{F_n}$$

$$D_{30} = P_{30}$$

$$D_{\text{total}} = D_{29} + 2 \times D_{30}$$

$$S_{\text{反硝化}} = \frac{\text{slope}_{D_{\text{total}}} \times V}{W}$$

式中， D_{29} 和 D_{30} 分别为反硝化产生的 ²⁸N₂ 和 ²⁹N₂ 的量，μmol·L⁻¹； P_{29} 和 P_{30} 分别为 MIMS 测得的系统中 ²⁹N₂ 和 ³⁰N₂ 的量，μmol·L⁻¹； D_{total} 为样品中反硝化产生的 ¹⁵N 量，μmol·L⁻¹； F_n 为加入的 NO₃⁻ 中 ¹⁵NO₃⁻ 的比例； $S_{\text{反硝化}}$ 表示反硝化速率，nmol·g⁻¹·h⁻¹； $\text{slope}_{D_{\text{total}}}$ 为 N₂ 浓度与培养时间回归得到的斜率，表

示反硝化速率, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; V 表示顶空瓶容积, mL; W 表示干土质量, g。

另一批样品则倒入 100 mL 广口瓶中进行充氮 0.5 h, 置换出样品中反硝化过程产生的 $^{28}\text{N}_2$ 、 $^{29}\text{N}_2$ 和 $^{30}\text{N}_2$ 后, 重新分装到干净的 12 mL 顶空瓶中, 用微量进样针加入 200 μL 次溴酸钠碘溶液(将液溴与 $16\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液以 1 : 5 体积比缓慢混合, 混合过程需要持续搅拌并保持溶液温度在 $5\text{ }^\circ\text{C}$ 以下, 混合后的溶液于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱静置一周后取出, 取上清液与 0.2% 的 KI 溶液等体积混合), 充分摇匀使得样品完全氧化。用离心机以 $2\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速离心 5 min 后, 利用 MIMS 测定上清液中 ^{15}N ($^{29}\text{N}_2 + 2 \times ^{30}\text{N}_2$) 信号强度。

DNRA 速率计算需要先绘制标准曲线: 制备 0、0.5、2、4、8、10、20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液分装于 12 mL 顶空瓶中, 用微量进样针往顶空瓶中加入 200 μL 次溴酸钠碘溶液将 $^{15}\text{NH}_4^+$ 氧化为 N_2 ($^{29}\text{N}_2$ 和 $^{30}\text{N}_2$), 利用 MIMS 测定溶液中 ^{15}N 信号强度, 得到 ^{15}N 信号强度与 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度之间的对应曲线, 每个浓度设置三个重复。DNRA 速率的计算公式如下:

$$S_{\text{DNRA}} = \frac{\text{slope}_{[^{15}\text{NH}_4^+]} \times V}{W}$$

式中, S_{DNRA} 表示 DNRA 速率, $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; $\text{slope}_{[^{15}\text{NH}_4^+]}$ 为 $^{15}\text{NH}_4^+$ 浓度与培养时间回归得到的斜率, 表示产 NH_4^+ 速率, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; V 表示顶空瓶

容积, mL; W 表示干土重, g。

DNRA 占 NO_3^- 异化还原的比例计算公式为:

$$R_{\text{DNRA}} = \frac{S_{\text{DNRA}}}{S_{\text{反硝化}} + S_{\text{DNRA}}} \times 100$$

式中, R_{DNRA} 表示 DNRA 占 NO_3^- 异化还原的比例, %。

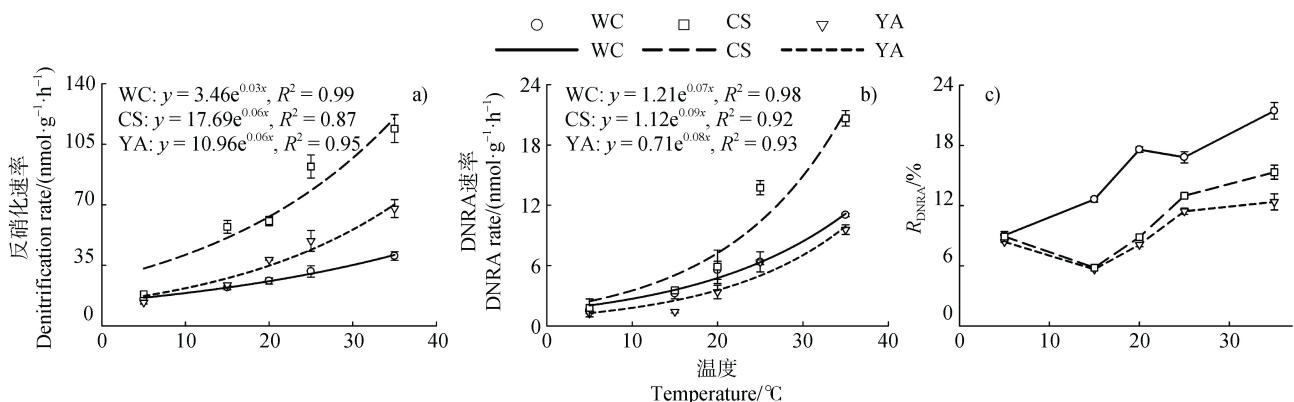
1.4 数据处理

本研究中, 反硝化和 DNRA 速率均为三个重复的算术平均值。不同实验处理间的差异, 使用 IBM SPSS 21.0 统计软件进行单因素方差分析进行检验 (Duncan 检验, 显著性水平为 $P < 0.05$)。采用 Sigma Plot 14.0 软件的回归函数分别对温度影响实验和 NO_3^- 影响实验进行指数拟合和米氏方程曲线拟合。利用 Origin 2021 和 Sigma Plot 14.0 软件进行制图。

2 结 果

2.1 不同温度和 pH 下水稻土 NO_3^- 异化还原过程速率及分配

在 5、15、20、25 和 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 处理下, 五常、常熟和雅安水稻土的反硝化速率分别为 $15.42\sim 40.39$ 、 $18.36\sim 114.07$ 和 $13.59\sim 67.84\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; DNRA 速率分别为 $1.53\sim 11.03$ 、 $1.79\sim 20.65$ 和 $1.24\sim 9.57\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 1)。三种水稻土反硝化和 DNRA 速率对温度变化响应趋势基本相似, 均随着



注: WC: 五常; CS: 常熟; YA: 雅安。下同。Note: In the legend, WC, CS and YA represent Wuchang, Changshu and Ya'an paddy soils, respectively. Similarly hereafter for WC, CS, and YA in the following figures.

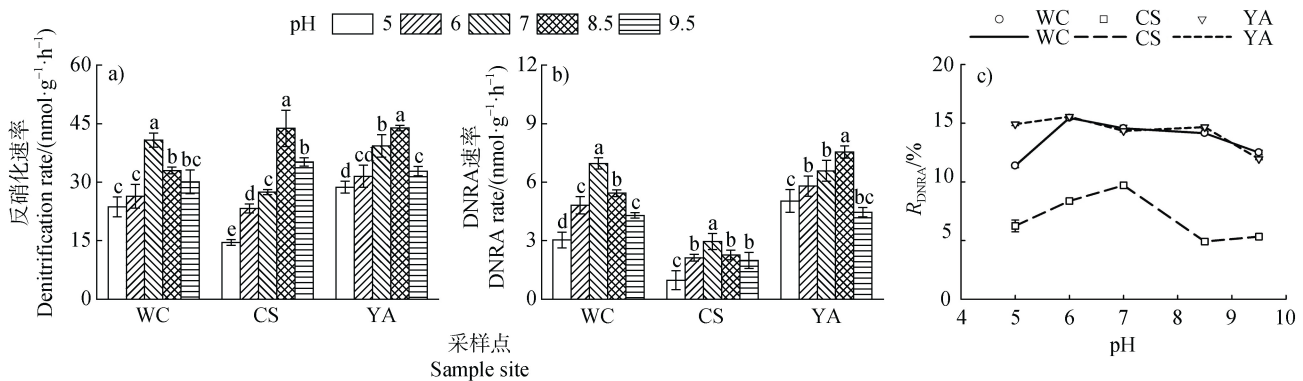
图 1 温度对三种水稻土反硝化、DNRA 速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 1 Effects of temperature on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils

温度的升高呈指数上升 ($P < 0.05$), 五常、常熟和雅安水稻土反硝化速率拟合函数分别为 $y = 13.46e^{0.03x}$ ($R^2 = 0.99$)、 $y = 17.69e^{0.06x}$ ($R^2 = 0.89$) 和 $y = 10.96e^{0.06x}$ ($R^2 = 0.97$), DNRA 速率拟合函数分别为 $y = 1.21e^{0.07x}$ ($R^2 = 0.97$)、 $y = 1.12e^{0.09x}$ ($R^2 = 0.96$) 和 $y = 0.71e^{0.08x}$ ($R^2 = 0.90$)。通过计算得出五常、常熟和雅安反硝化速率的 Q_{10} (即温度每升高 10 °C 反应速率增加的倍数) 分别为 1.38、1.99 和 1.73; 三种水稻土 DNRA 速率的 Q_{10} 分别为 1.93、2.45 和 2.38。其中, 同一土壤中, 反硝化的 Q_{10} 小于 DNRA 的 Q_{10} 。在 35 °C 处理中, 五常、常熟和雅安水稻土 R_{DNRA} 最高分别为 21.45%、15.33% 和 12.37% (图 1c)。

通过土壤 pH 的调节发现, 三种水稻土反硝化

和 DNRA 速率均随着 pH 升高呈现先升高后下降的趋势。不同土壤反硝化和 DNRA 的最适 pH 略有不同, 五常水稻土反硝化和 DNRA 以及常熟水稻土 DNRA 最适 pH 为 7, 而常熟水稻土反硝化以及雅安水稻土反硝化和 DNRA 最适 pH 为 8.5。五常、常熟和雅安水稻土反硝化速率分别为 23.65~40.82、14.53~43.81 和 28.72~43.89 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; DNRA 速率分别为 3.03~6.96、0.97~2.95 和 4.46~7.55 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 2), 相对于酸性环境, 三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率在碱性环境中更高。五常、常熟和雅安水稻土的 R_{DNRA} 分别为 11.37%~15.45%、4.91%~9.71% 和 11.95%~15.56% (图 2c), 总体而言相对于碱性环境, 酸性环境下 DNRA 在 NO_3^- 异化还原的占比更高。



注: 不同小写字母代表不同 pH 处理之间差异显著, $P < 0.05$ 。Note: In each soil, different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) among different pH treatments.

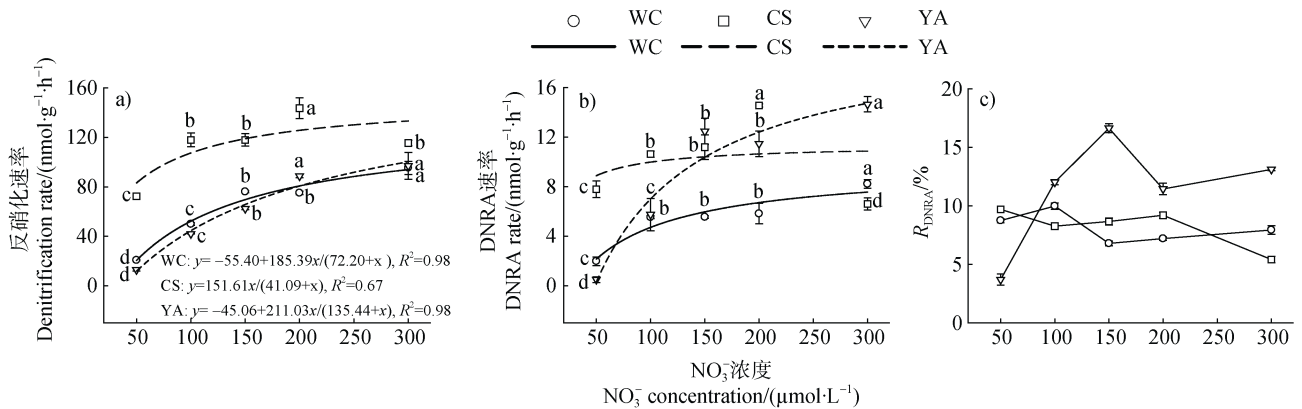
图 2 pH 对三种水稻土反硝化、DNRA 速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 2 Effects of pH on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils

2.2 不同 NO_3^- 浓度和 C/N 下水稻土 NO_3^- 异化还原过程速率及分配

在体系 NO_3^- 为 50、100、150、200 和 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 中, 五常、常熟和雅安水稻土的反硝化速率分别为 20.70~95.43、72.51~143.72 和 12.95~97.07 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; DNRA 速率分别为 1.98~8.23、6.62~14.57 和 0.50~14.66 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 3)。三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率对 NO_3^- 浓度变化的响应趋势基本相似, 均可与 NO_3^- 浓度拟合为米氏方程。五常、常熟和雅安水稻土的反硝化速率拟合函数分别为 $y = -55.40 + 185.39x / (72.20 + x)$ ($R^2 = 0.98$)、 $y = 151.61x / (41.09 + x)$ ($R^2 = 0.67$) 和 $y = -45.06 +$

$211.03x / (135.44 + x)$ ($R^2 = 0.98$), DNRA 速率拟合函数分别为 $y = -5.91 + 15.57x / (46.56 + x)$ ($R^2 = 0.89$)、 $y = 11.40x / (14.05 + x)$ ($R^2 = 0.78$) 和 $y = -19.53 + 40.11x / (51.14 + x)$ ($R^2 = 0.98$)。五常、常熟和雅安水稻土反硝化最大反应速率 (V_{\max}) 分别为 129.99、151.61 和 165.97 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; DNRA 的 V_{\max} 分别为 9.66、11.40 和 20.58 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 三种水稻土反硝化的 V_{\max} 均大于 DNRA 的 V_{\max} 。反硝化米氏常数 (K_m) 分别为 72.20、41.09 和 135.44 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; DNRA 的 K_m 分别为 46.56、14.05 和 51.14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 三种水稻土反硝化的 K_m 大于 DNRA 的 K_m 。五常、常熟和雅安水稻土的 R_{DNRA} 分别为 6.79%~9.99%、



注：不同小写字母代表不同 NO_3^- 浓度处理之间差异显著， $P < 0.05$ 。Note: In each soil, different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) among different NO_3^- concentration treatments.

图 3 NO_3^- 浓度对三种水稻土反硝化、DNRA 速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 3 Effects of NO_3^- concentration on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils

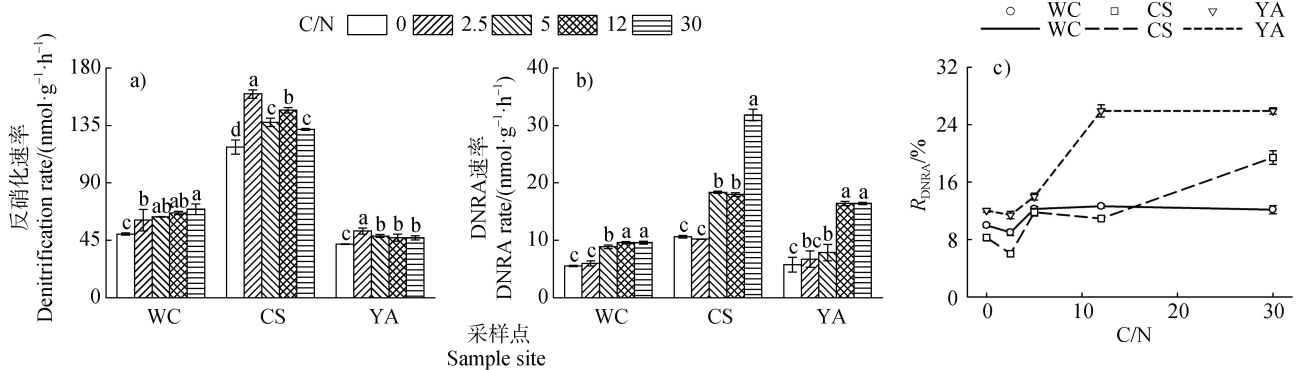
5.41%~9.71%和 3.70%~16.64% (图 3c), 在中低 NO_3^- 浓度 (即 $50\sim 150 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时, R_{DNRA} 最高, 随着 NO_3^- 浓度增加 R_{DNRA} 逐渐降低。

在添加葡萄糖调节体系 C/N 为 0、2.5、5、12 和 30 处理中, 五常、常熟和雅安水稻土的反硝化速率分别为 $49.91\sim 69.33$ 、 $118.00\sim 159.65$ 和 $42.07\sim 52.21 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; DNRA 速率分别为 $5.53\sim 9.61$ 、 $10.63\sim 31.80$ 和 $5.75\sim 16.42 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (图 4)。添加葡萄糖后显著提高了三种水稻土反硝化和 DNRA 速率, 其中反硝化速率在低 C/N 的体系中显著提高而 DNRA 速率高 C/N 的体系中显著提高。当在 C/N 为 2.5 时, 五常、常熟和雅安水稻土的反硝化速率

分别提高了 21.89%、35.30%和 24.12%; 而 $\text{C/N} > 2.5$ 时, DNRA 速率分别最高提高了 73.69%、198.98% 和 185.55%。进一步计算 DNRA 占比发现, 五常、常熟和雅安水稻土的 R_{DNRA} 分别为 8.98%~12.63%、6.01%~19.43%和 11.40%~25.91%, 且总体上, R_{DNRA} 随着 C/N 的升高呈现上升趋势, 表明高 C/N 更有利提高 DNRA 占 NO_3^- 异化还原的比例(图 4c)。

2.3 不同 Fe^{2+} 和 S^{2-} 浓度下水稻土 NO_3^- 异化还原速率及分配

在添加 FeSO_4 调节体系 Fe^{2+} 浓度为 0、300、500、800 和 $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理中, Fe^{2+} 浓度的升高显著提高了三种水稻土反硝化和 DNRA 速率, 其中五常、



注：不同小写字母代表不同 C/N 处理之间差异显著， $P < 0.05$ 。Note: In each soil, different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) among different C/N treatments.

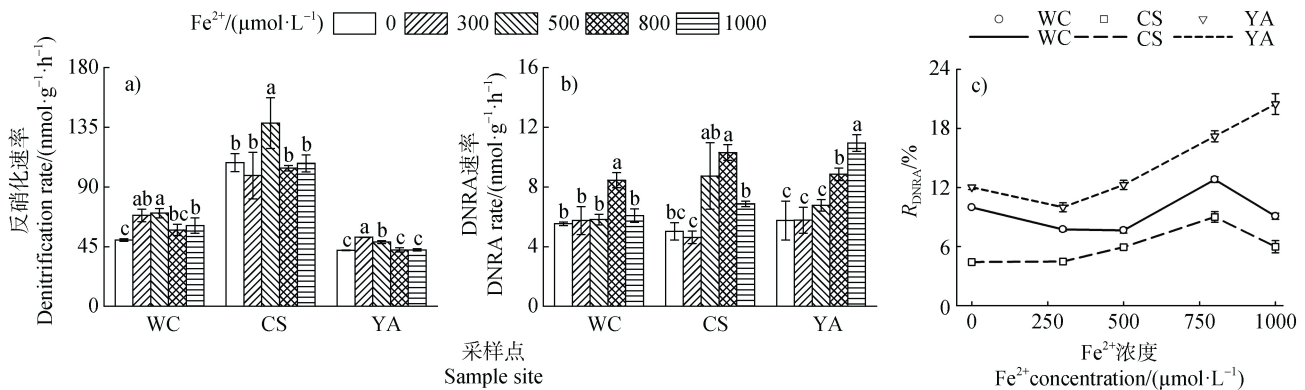
图 4 C/N 对三种水稻土反硝化、DNRA 速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 4 Effects of C/N on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils

常熟和雅安水稻土反硝化速率分别最高提高了40.69%、27.43%和23.63%；DNRA速率分别最高提高了52.92%、105.14%和90.27%（图5），表明相对于反硝化而言，DNRA反应对 Fe^{2+} 浓度变化响应更敏感。在 Fe^{2+} 浓度为 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，雅安水稻土的反硝化速率最高为 $52.01 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，而五常和常熟水稻土的反硝化速率在 Fe^{2+} 浓度为 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高分别为70.22和 $138.13 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，五常和常熟水稻土的DNRA速率在 Fe^{2+} 浓度为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高分别为8.46和 $10.31 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，且 R_{DNRA} 分别为12.81%和9.01%，雅安水稻土的DNRA速率在 Fe^{2+} 浓度为 $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最高，为

$10.95 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，且 R_{DNRA} 最高，为20.48%。高浓度的 Fe^{2+} 对水稻土反硝化和DNRA速率存在抑制作用，且对不同水稻土的影响存在差异。

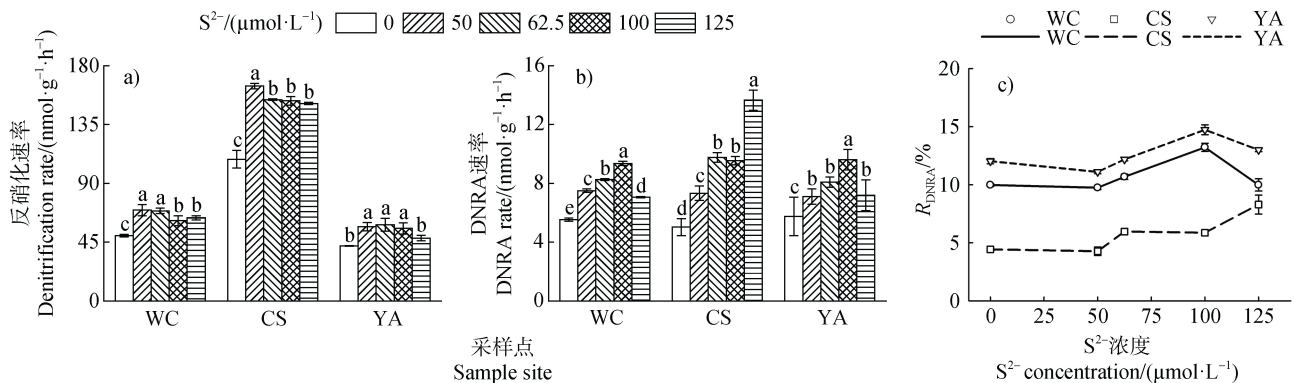
添加外源 S^{2-} 后显著提高了五常、常熟和雅安水稻土反硝化和DNRA速率，但对两个过程的促进存在差异， S^{2-} 浓度为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，五常和常熟水稻土的反硝化速率最高分别为69.47和 $164.40 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ； S^{2-} 浓度为 $62.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，雅安水稻土的反硝化速率最高为 $58.28 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，随着 S^{2-} 浓度升高，三种水稻土反硝化速率被显著抑制（图6）。在 S^{2-} 浓度为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，五常和雅安水稻土的DNRA速率最高分别为9.34和 $9.60 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，且 R_{DNRA} 最高分别



注：不同小写字母代表不同 Fe^{2+} 浓度处理之间差异显著， $P < 0.05$ 。Note: In each soil, different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) among different Fe^{2+} concentration treatments.

图5 Fe^{2+} 浓度对三种水稻土反硝化、DNRA速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 5 Effects of Fe^{2+} concentration on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils



注：不同小写字母代表不同 S^{2-} 浓度处理之间差异显著， $P < 0.05$ 。Note: In each soil, different lowercase letters above bars indicate significant differences ($P < 0.05$) among different S^{2-} concentration treatments.

图6 S^{2-} 浓度对三种水稻土反硝化、DNRA速率和 R_{DNRA} 的影响

Fig. 6 Effects of S^{2-} concentration on denitrification rate, DNRA rate and R_{DNRA} of three paddy soils

为 13.22% 和 14.74%，而 S^{2-} 浓度为 $125 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，常熟水稻土的 DNRA 速率最高为 $13.65 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ，且 R_{DNRA} 最高为 8.29%。

3 讨 论

3.1 温度和 pH 对水稻土 NO_3^- 异化还原的影响

前人研究表明温度升高可以显著促进反硝化和 DNRA 速率^[18, 22]。本研究表明供试三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率均随着温度升高呈指数型增长 (图 1)。通过对反硝化和 DNRA 温度敏感性的计算，发现反硝化和 DNRA 的 Q_{10} 分别在 1.38~1.99 和 1.93~2.45 之间，该范围与 Rahman 等^[18]研究人工城市湿地报道的反硝化 Q_{10} (1.3~2.4) 和 DNRA 的 Q_{10} (1.2~3.4) 一致。值得指出的是，不同土壤中反硝化和 DNRA 速率对温度升高响应的差异可能与其初始理化性质差异有关 (表 1)。其中，同一土壤中反硝化的 Q_{10} 小于 DNRA 的 Q_{10} 且 R_{DNRA} 随温度升高呈增长趋势，说明 DNRA 对环境温度变化的响应较反硝化更为敏感，这可能与温度升高更有利于硝酸根氨化细菌的生长有关。此外，Lai 等^[23]发现 N_2O 会在温度较高的情况下大量积累，反硝化生成的最终产物 (N_2) 受到抑制，因此，反硝化速率增幅下降既可能与 DNRA 对底物 NO_3^- 的竞争有关，也可能与生成 N_2O 有关。

在自然生态系统中，反硝化和 DNRA 过程可发生的 pH 范围分别为 6~8 和 5~9^[22-25]。本研究中反硝化和 DNRA 过程在 pH 为 5~9.5 的水稻土中均可发生，三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率均随 pH 升高呈现先显著上升后显著下降的趋势，最适 pH 为中性或者弱碱性 (图 2)。此外，相对于碱性环境，三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率在酸性环境下降幅更大。与本研究结果类似，Xue 等^[26]的研究也发现 NO_3^- 的消耗速率在中性环境中最高，在酸性和碱性环境中均较低。Kim 等^[27]在纯菌培养系统中研究发现在 pH 为 6 时会抑制主导 *nosZ* 基因 (编码氧化亚氮还原酶) 的表达，从而导致反硝化不完全以及体系中 N_2O 的累积，而当 pH > 8 时，*nrfA* (编码亚硝酸根还原酶) 功能基因表达量显著升高。

3.2 NO_3^- 浓度和 C/N 对水稻土 NO_3^- 异化还原的影响

在 NO_3^- 浓度为 $50\sim 300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的范围内，三种水稻土的反硝化和 DNRA 速率对 NO_3^- 浓度的响应均符合米氏动力学方程，且反硝化速率对高浓度 NO_3^- 更敏感 (图 3)。Strohm 等^[28]研究也发现在电子供体相对受限的体系中，反硝化可以还原更多的 NO_3^- ，这主要是由于将每摩尔 NO_3^- 还原成 N_2 较还原成 NH_4^+ 所需的自由能更低。Pandey 等^[4]对比施用氮肥和未施氮肥的稻田土壤反硝化和 DNRA 速率差异，发现施氮肥土壤的高浓度 NO_3^- 会通过降低编码亚硝酸根还原酶的 *nrfA* 基因丰度抑制 DNRA 过程，从而导致反硝化在 NO_3^- 还原中占优势。这种高浓度 NO_3^- 的抑制作用与本研究随着 NO_3^- 浓度升高 R_{DNRA} 呈现下降趋势一致 (图 3c)。此外，本研究结果显示，常熟水稻土反硝化速率 (即 $^{29}\text{N}_2$ 和 $^{30}\text{N}_2$ 产生速率) 在 NO_3^- 浓度为 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时被显著抑制 (图 3a)，与 Blackmer 和 Bremner^[29]发现当 NO_3^- 浓度大于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时，反硝化产物以 N_2O 为主，抑制了反硝化最终产物 N_2 的产生的结果相同。

本研究发现，通过添加葡萄糖提高体系 C/N 后，反硝化和 DNRA 速率均随着 C/N 的增加而显著提高。相对于 control 处理，低碳氮比 (C/N = 2.5) 显著增加反硝化速率，而对 DNRA 速率增加并不显著；而当 C/N 提高至 5 后，伴随着 DNRA 速率的显著提高， R_{DNRA} 呈现增长趋势，这表明高 C/N 更有利于 DNRA 过程的发生。Rahman 等^[19]对湿地的研究也发现有机碳的升高会显著提高反硝化和 DNRA 速率且对 DNRA 的促进更显著。纯菌实验显示，还原等量的 NO_3^- ，DNRA 过程所能提供的细胞生物量是反硝化过程的两倍^[28]，因而在碳源充足的环境中更有利于提高 NO_3^- 异化还原向 DNRA 分配的比例。

3.3 Fe^{2+} 浓度和 S^{2-} 浓度对水稻土 NO_3^- 异化还原的影响

本研究结果显示，外源 Fe^{2+} 的添加均显著提高了反硝化和 DNRA 速率，这进一步证实了 Fe^{2+} 氧化与 NO_3^- 异化还原在水稻土中存在着耦合作用^[30]。 Fe^{2+} 浓度较低 ($300\sim 500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时，反硝化速率最高，而 DNRA 速率达到峰值所需要的 Fe^{2+} 浓度更高 ($800\sim 1\ 000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)， Fe^{2+} 对反硝化和 DNRA

促进的最佳浓度与其作为电子供体参与反硝化和 DNRA 过程的化学计量比接近^[31]。 R_{DNRA} 的峰值出现在 Fe^{2+} 浓度为 $800\sim 1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理中也佐证了该推断。Cojean 等^[31]对湖泊沉积物的研究也发现,当体系 Fe^{2+} 浓度低于 $258\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时会促进反硝化速率,当 Fe^{2+} 浓度高于 $258\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时反硝化速率被显著抑制,而 DNRA 速率则显著增加。此外,反硝化速率在 Fe^{2+} 浓度高于 $500\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时会受到显著抑制,当 Fe^{2+} 浓度为 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时五常和常熟水稻土 DNRA 速率也显著下降。该抑制作用主要是由于添加高浓度的 Fe^{2+} 后,体系内易形成铁氧化物并包覆在微生物细胞表面限制底物吸收并造成细胞损坏,进而抑制微生物代谢活性^[32]。

纯菌试验表明, S^{2-} 添加可有效促进反硝化和 DNRA 过程^[31],本研究也发现添加外源 S^{2-} 显著提高了稻田土壤反硝化和 DNRA 速率,进一步说明 S^{2-} 可以通过为 NO_3^- 异化还原过程提供电子供体,从而促进反硝化和 DNRA 过程速率。在对长江口沉积物研究中也发现,速率与 S^{2-} 浓度显著相关^[17]。Yin 等^[33]对污水处理厂污泥培养发现,当体系 $\text{S}^{2-}/\text{NO}_3^-$ 为 $0.27\sim 1.08$ 时有利于发生反硝化过程,而当体系 $\text{S}^{2-}/\text{NO}_3^-$ 为 1.6 时, DNRA 对 NO_3^- 还原的贡献达到 76.3% 。本研究发现,在低 S^{2-} 浓度(即 $50\sim 62.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时反硝化速率最高,随着 S^{2-} 浓度增加, DNRA 速率才达到峰值,与上述结果类似。Li 等^[34]对湖泊沉积物体系研究发现添加 S^{2-} 显著促进了 N_2O 排放,从而抑制了反硝化过程最终产物 N_2 的产生。此外,本研究还发现在 S^{2-} 浓度为 $125\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,显著抑制了五常和雅安水稻土的 DNRA 速率,说明高浓度 S^{2-} 也会抑制 DNRA 微生物的活性。Murphy 等^[35]对盐沼地沉积物的研究发现 S^{2-} 浓度为 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反硝化和 DNRA 速率均被显著抑制,其中对反硝化的抑制尤为明显。造成这种现象的可能原因是在厌氧环境中,高浓度 S^{2-} 会与游离的 Fe^{2+} 形成 FeS 沉淀,导致体系中电子供体浓度降低,从而抑制了 NO_3^- 异化还原过程。

4 结 论

在所研究的三种水稻土中,反硝化过程主导了 NO_3^- 异化还原过程,其贡献可达 $87.97\%\sim 91.73\%$,

DNRA 仅占 $8.27\%\sim 12.03\%$ 。环境因子显著改变了 NO_3^- 还原过程的速率及其在反硝化和 DNRA 之间的分配。随着温度升高,三种水稻土反硝化和 DNRA 速率均呈指数增长,高温更有利于提高 DNRA 在 NO_3^- 还原过程中的分配比例;反硝化和 DNRA 速率的最适 pH 均为中性或弱碱性;提高 NO_3^- 浓度有利于提高 NO_3^- 向反硝化过程的分配;提高 C/N、 Fe^{2+} 和 S^{2-} 浓度有利于提高 NO_3^- 向 DNRA 过程的分配。本研究加深了对稻田土壤 NO_3^- 异化还原过程的认识,对未来探寻潜在农学措施提高 DNRA 过程速率和占比,进而提高稻田氮素固持和氮肥利用率具有理论指导意义。

参考文献 (References)

- [1] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16 (5): 263—276.
- [2] Cai Z C. Effects of urea and KNO_3 on processes and products of inorganic nitrogen transformation in paddy soils I. Processes of inorganic nitrogen[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(2): 239—245. [蔡祖聪. 尿素和 KNO_3 对水稻土无机氮转化过程和产物的影响 I. 无机氮转化过程[J]. *土壤学报*, 2003, 40 (2): 239—245.]
- [3] Ishii S, Ikeda S, Minamisawa K, et al. Nitrogen cycling in rice paddy environments: Past achievements and future challenges[J]. *Microbes and Environments*, 2011, 26(4): 282—292.
- [4] Pandey A, Suter H, He J Z, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium dominates nitrate reduction in long-term low nitrogen fertilized rice paddies[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019, 131: 149—156.
- [5] Wu M, Li J F, Wei Z J, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium coupled to Fe^{2+} oxidation in paddy soils as affected by oxygen presence and carbon addition[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59 (1): 253—262. [吴敏, 李进芳, 魏志军, 等. 水稻土 Fe^{2+} 氧化耦合硝酸根异化还原成铵 (DNRA) 及其对氧气存在和碳源添加的响应[J]. *土壤学报*, 2022, 59 (1): 253—262.]
- [6] Li X F, Sardans J, Gargallo-Garriga A, et al. Nitrogen reduction processes in paddy soils across climatic gradients: Key controlling factors and environmental implications[J]. *Geoderma*, 2020, 368: 114275.
- [7] Rütting T, Boeckx P, Müller C, et al. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle[J]. *Biogeosciences*, 2011, 8 (7): 1779—1791.

- [8] Yin S X, Chen D, Chen L M, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium and responsible microorganisms in two Chinese and Australian paddy soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34 (8): 1131—1137.
- [9] Zhao B J, Li X S, Wang Y, et al. Dissimilatory nitrate reduction and functional genes in two subtropical rivers, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28 (48): 68155—68173.
- [10] Shan J, Zhao X, Sheng R, et al. Dissimilatory nitrate reduction processes in typical Chinese paddy soils: Rates, relative contributions, and influencing factors[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50 (18): 9972—9980.
- [11] Simon J. Enzymology and bioenergetics of respiratory nitrite ammonification[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2002, 26 (3): 285—309.
- [12] Pang Y M, Wang J L. Various electron donors for biological nitrate removal: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 794: 148699.
- [13] Robertson E K, Thamdrup B. The fate of nitrogen is linked to iron (II) availability in a freshwater lake sediment[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 205: 84—99.
- [14] Tiedje J M, Sextstone A J, Myrold D D, et al. Denitrification: ecological niches, competition and survival[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1982, 48 (6): 569—583.
- [15] Sotta E D, Corre M D, Veldkamp E. Differing N status and N retention processes of soils under old-growth lowland forest in Eastern Amazonia, Caxiuanã, Brazil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40 (3): 740—750.
- [16] Schmidt C S, Richardson D J, Baggs E M. Constraining the conditions conducive to dissimilatory nitrate reduction to ammonium in temperate arable soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43 (7): 1607—1611.
- [17] Deng F Y, Hou L J, Liu M, et al. Dissimilatory nitrate reduction processes and associated contribution to nitrogen removal in sediments of the Yangtze Estuary[J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2015, 120 (8): 1521—1531.
- [18] Rahman M, Grace M R, Roberts K L, et al. Effect of temperature and drying-rewetting of sediments on the partitioning between denitrification and DNRA in constructed urban stormwater wetlands[J]. *Ecological Engineering*, 2019, 140: 105586.
- [19] Rahman M M, Roberts K L, Grace M R, et al. Role of organic carbon, nitrate and ferrous iron on the partitioning between denitrification and DNRA in constructed stormwater urban wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 666: 608—617.
- [20] Wang S Y, Pi Y X, Jiang Y Y, et al. Nitrate reduction in the reed rhizosphere of a riparian zone: From functional genes to activity and contribution[J]. *Environmental Research*, 2020, 180: 108867.
- [21] Cheng Y, Elrys A S, Merwad A R M, et al. Global patterns and drivers of soil dissimilatory nitrate reduction to ammonium[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56 (6): 3791—3800.
- [22] Shan J, Yang P P, Shang X X, et al. Anaerobic ammonium oxidation and denitrification in a paddy soil as affected by temperature, pH, organic carbon, and substrates[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54 (3): 341—348.
- [23] Lai T V, Ryder M H, Rathjen J R, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium increased with rising temperature[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2021, 57 (3): 363—372.
- [24] Brin L D, Giblin A E, Rich J J. Effects of experimental warming and carbon addition on nitrate reduction and respiration in coastal sediments[J]. *Biogeochemistry*, 2015, 125 (1): 81—95.
- [25] Yang S, Wu S J, Cai Y J, et al. The synergetic and competitive mechanism and the dominant factors of dissimilatory nitrate reduction processes: A review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36 (5): 1224—1232. [杨杉, 吴胜军, 蔡延江, 等. 硝态氮异化还原机制及其主导因素研究进展[J]. *生态学报*, 2016, 36 (5): 1224—1232.]
- [26] Xue D M, Yu H, Fang Y T, et al. ¹⁵N-tracer approach to assess nitrogen cycling processes: Nitrate reduction, anammox and denitrification in different pH cropland soils[J]. *Catena*, 2020, 193: 104611.
- [27] Kim H, Park D, Yoon S. pH control enables simultaneous enhancement of nitrogen retention and N₂O reduction in *Shewanella loihica* strain PV-4[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1820.
- [28] Strohm T O, Griffin B, Zumft W G, et al. Growth yields in bacterial denitrification and nitrate ammonification[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (5): 1420—1424.
- [29] Blackmer A M, Bremner J M. Inhibitory effect of nitrate on reduction of N₂O to N₂ by soil microorganisms[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1978, 10 (3): 187—191.
- [30] Li J F, Chai Y C, Chen S T, et al. Measurement of denitrification, Anammox, DNRA rates, and net N₂ flux in paddy soil using a membrane inlet mass spectrometer[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38 (7): 1541—1549. [李进芳, 柴延超, 陈顺涛, 等. 利用膜进样质谱仪测定水稻土几种厌氧氮转化速率[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38 (7): 1541—1549.]
- [31] Cojean A N Y, Lehmann M F, Robertson E K, et al. Controls of H₂S, Fe²⁺, and Mn²⁺ on microbial NO₃⁻-Reducing processes in sediments of an eutrophic lake[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1158.
- [32] Klueglein N, Zeitvogel F, Stierhof Y D, et al. Potential role of nitrite for abiotic Fe (II) oxidation and cell

- encrustation during nitrate reduction by denitrifying bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80 (3): 1051—1061.
- [33] Yin Z X, Xie L, Zhou Q. Effects of sulfide on the integration of denitrification with anaerobic digestion[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 120 (4): 426—431.
- [34] Li S J, Pang Y M, Ji G D. Increase of N₂O production during nitrate reduction after long-term sulfide addition in lake sediment microcosms[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 291: 118231.
- [35] Murphy A E, Bulseco A N, Ackerman R, et al. Sulphide addition favours respiratory ammonification (DNRA) over complete denitrification and alters the active microbial community in salt marsh sediments[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22 (6): 2124—2139.

(责任编辑: 卢 萍)