

土壤 N_2O 吸收和消耗机制及研究进展

冯 洁, 张克强, 陈 思, 王 风*

(农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘 要: N_2O 排放对全球的气候变化和氮素循环有着重要影响。土壤是 N_2O 最重要的排放源, 近年发现土壤在排放 N_2O 的同时存在明显的负排放现象即 N_2O 吸收和消耗现象。通过回顾 N_2O 负排放现象的提出, 分析土壤 N_2O 负排放的物理途径、化学途径和生物学途径, 认为生物途径是 N_2O 负排放的主导途径, 重点讨论了硝化反硝化微生物反应机理和影响反应过程的环境条件, 论述了调控生物活性的土壤氧气/水分含量、土壤碳/氮含量、土壤 pH 值等因子。但由于消耗 N_2O 的生物群落的产生较为复杂, 提出了土壤 N_2O 负排放的重点研究方向和方法, 为控制土壤温室气体的排放和揭示碳氮循环机制研究提供理论依据。

关键词: 土壤; N_2O ; 负排放; 还原酶

中图分类号: S153.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)11-2084-06 **doi:** 10.11654/jaes.2014.11.002

Mechanism of N_2O Uptake and Consumption by Soil. A Review

FENG Jie, ZHANG Ke-qiang, CHEN Si, WANG Feng*

(Institute of Agro-environmental Protection, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: Nitrous oxide (N_2O) emission plays an important role in global climate change and nitrogen cycle. Soil is the main source of N_2O emission and also acts as N_2O negative emission, namely N_2O absorption and consumption. This paper reviewed soil N_2O consumption, and analyzed the physical, chemical and biological pathways of N_2O consumption. The biological pathway of N_2O consumption was proposed as the dominant path. The microbial mechanisms of the nitrification and denitrification processes and the environmental factors influencing the activity of microorganisms in these processes, such as the ratio of soil oxygen to water, C/N, pH, etc., were emphatically discussed. Due to complicated biological communities generating and consuming N_2O , research directions and methods of N_2O uptake and consumption are also suggested.

Keywords: soil; N_2O ; consumption; reductase

N_2O 是主要的温室气体之一, 其在大气中存留时间长, 可参与光化学反应, 并且可以在平流层催化臭氧消耗^[1]。大气 N_2O 浓度从工业化前 $270 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$, 增加到 2011 年的 $324 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[2], 每年以 0.2%~0.3% 的速率增长。浓度虽然仅为 CO_2 的 1/1000, 但 N_2O 单分子辐射增温潜势却是 CO_2 的 296 倍。联合国环境规划署于 2013 年 11 月 21 日发布的《削减一氧化二氮排放保护臭氧层和缓解气候变化》报告强调, N_2O 温室效应的危害程度排名第三, 如不采取任何行动, 到 2050 年其平均浓度将增加 83%, 届时将成为 21 世纪破坏性

最大的臭氧消耗物质。

农业生产是 N_2O 排放的主要来源。在自然条件下, 土壤和海洋是 N_2O 的源和汇, 大气中 90% 的 N_2O 来自于地表生物源, 其中约 70% 来自土壤^[3]。土壤 N_2O 负排放是指大气中的 N_2O 通过被动扩散和对流方式进入土体、或通过反硝化作用还原为 N_2 、或同化成 NH_3 的 N_2O 消耗过程^[4]。在当前全球变暖的压力下, 虽然土壤 N_2O 负排放的研究开始得到重视, 但对其影响因子以及产生机制还没有全面的系统阐述。本文以土壤 N_2O 的负排放现象及影响因子作为核心, 对国内外关于土壤 N_2O 的吸收和固定、微生物消耗和转化等方面进行论述, 将大气-土壤环境系统中 N_2O 的吸收-排放-转化有机结合, 为深化土壤 N_2O 的消耗途径、作用机制的研究和尝试土壤 N_2O 负排放实践措施, 进而控制和缓解温室效应提供指导。

收稿日期: 2014-04-15

基金项目: 国家自然科学基金(41001043, 41371481); 天津市自然科学基金(13JCQNJC08400)

作者简介: 冯 洁 (1990—), 女, 河北人, 硕士生, 从事农业环境研究。
E-mail: 526789323@qq.com

* 通信作者: 王 风 E-mail: wangfeng_530@163.com

1 N₂O 负排放现象

国内外关于 N₂O 负排放现象的部分重要报道见表 1。Cohen^[5]较早提出 N₂O 负排放现象,在 1978 年观测到北太平洋东部热带地区海水中氧气浓度接近零时反硝化作用占优势,导致水体微生物对 N₂O 的消耗。Chapuis-Lardy 等^[6]于 2007 年明确指出当土壤 N₂O 还原量超过 N₂O 产生量时就表现出土壤 N₂O 负排放。随后,土壤 N₂O 负排放现象和产生条件受到越来越多的关注,Goldberg^[7]提出在淹水或厌氧的环境条件可以产生土壤 N₂O 负排放,并且在较为干旱或好氧的条件下也可能发生土壤 N₂O 负排放^[7]。Wu 等^[4]发现当土壤氮素含量较低时反硝化细菌可以利用 N₂O 代替 NO₃⁻作为电子受体被还原为 N₂。Majeed 等^[8]观测到木食性白蚁通过肠道中的反硝化细菌也可以吸收大气中的 N₂O。Schlesinger^[9]监测土壤 N₂O 平均吸收潜力为 4 μg·m⁻²·h⁻¹,并且在含水率较高的泥炭地、湿地等土壤生态系统中 N₂O 的吸收达到最大。Majumdar 等^[10]报道了稻田 N₂O 的吸收量范围为 0.13~1914 μg·m⁻²·h⁻¹。Audet 等^[11]发现在农业流域的沿河湿地 N₂O 的排放量为 -44~122 mg·m⁻²·h⁻¹,出现了湿地对 N₂O 的吸收。本文对土壤 N₂O 负排放过程的物理、化学和生物学作用条件和途径进行综合分析。

2 土壤 N₂O 负排放的途径及其影响因素

2.1 物理途径

作为一个整体系统,土壤与外界环境间存在物质的交换和能量的流动。土壤气体的扩散能力改变会影响土壤对 N₂O 的消耗。如在大气压和土壤含水率发生变化的时候导致大气 N₂O 通过物理扩散作用进入到土壤孔隙,出现土壤 N₂O 负排放。此外,土壤水或溶液对 N₂O 具有一定的溶解度,如在 25 ℃和 101.3 kPa 条件下水中溶解度是 5.9 mL·L⁻¹,因此在土壤水

或溶液含量变化时可以导致溶解的 N₂O 含量发生改变。稻田监测结果表明田面水中含有一定浓度的 N₂O,并可以应用顶部空间法测定 N₂O 溶解量^[8]。

2.2 化学途径

pH 值较低的酸性土壤可以通过化学反硝化过程产生 N₂O,该过程在有机物(如胺)和金属离子(Fe²⁺和 Cu²⁺)的参与下,在 NH₄⁺氧化为 NO₂⁻或 NO₃⁻自身的氧化过程中,如 NH₂OH 的分解均会产生氮氧化合物,分解产物通常是 NO,也有部分 N₂O 和 N₂^[13]。从热力学的角度来说,Fe²⁺可在酸性条件将 NO₂⁻还原为 N₂ 和 N₂O 等^[14],而 Cu²⁺不仅能够加快反应速率,还会影响产物生成量。当 Fe²⁺/NO₂⁻为 8 时,Cu²⁺浓度从 1 mg·L⁻¹ 增加至 10 mg·L⁻¹,N₂O 的生成量保持稳定而 N₂ 的产生量增加,说明 Cu²⁺能催化 N₂O 进一步被还原为 N₂^[15]。由此推断在此过程中,土壤中原有的 N₂O 也有可能参与还原反应形成 N₂^[16]。

2.3 生物途径及其影响因素

生物学途径是造成土壤 N₂O 负排放的最主要原因,有别于物理途径对 N₂O 暂存和溶解,与化学途径相同均是对土壤中的 N₂O 的消耗,只是生物途径对 N₂O 的消耗通常比化学途径要强烈。生物途径消耗土壤 N₂O 有两条途径:一是 N₂O 通过土壤反硝化过程还原为 N₂;二是 N₂O 通过同化作用还原为 NH₄⁺。Yamazaki 等^[17]发现 *Azotobacter vinelandii* 通过同化作用可以将 N₂O 还原为 NH₄⁺,同位素试验研究证明土壤中存在少量 N₂O 转化为 NH₄⁺的过程^[18],但目前对第二种途径缺乏研究和试验依据。在反硝化过程中主要存在以下 3 种途径:

(1)反硝化细菌的厌氧反硝化作用(Denitrification),在厌氧或淹水环境下土壤反硝化细菌将 NO₃⁻、NO₂⁻、NO、N₂O 依次还原,在该过程中 N₂O 可被消耗。

(2)好氧异养硝化细菌的反硝化作用(Aerobic denitrification by heterotrophic nitrifiers),在好氧条件下土壤中某些异养硝化细菌(如 *Pseudomonas denitri-*

表 1 国内外 N₂O 负排放现象相关报道

Table 1 References for N₂O consumption

作者 Author	年份 Published year	期刊 Publication name	监测地点 Experimental area	文献来源 Reference
Cohen 等	1978	<i>Deep Sea Research</i>	北太平洋东部沿岸	[5]
Chapuis-Lardy 等	2007	<i>Global Change Biology</i>	—	[6]
Goldberg 等	2009	<i>Soil Biology & Biochemistry</i>	德国东部挪威森林	[7]
Majeed 等	2012	<i>European Journal of Soil Biology</i>	食木性白蚁肠道	[8]
Wu 等	2013	<i>Soil Biology & Biochemistry</i>	中国华北平原	[4]
Audet 等	2014	<i>Soil Biology & Biochemistry</i>	丹麦沿河湿地	[11]

ficans)既可以发生硝化作用也可以发生反硝化作用,可将 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 、 N_2 依次还原,该过程中 N_2O 被消耗。

(3)硝化细菌反硝化作用(Nitrifier denitrification),将无机 NH_4^+ 、 NH_2OH 进行铵氧化作用生成 NO_2^- ,之后将 NO_2^- 依次还原为 NO 、 N_2O 、 N_2 ,在该过程中 N_2O 被消耗,这个过程也叫短程反硝化过程,同时由 N_2O 转化成 N_2 的过程只能由自养亚硝化单胞菌(*Autotrophic nitrifier-Nitrosomonas* sp.)完成。

上述3种形式的生物学途径间相互联系又互相影响,共同作用于土壤氮素的转化(图1)。这3种生物途径均是由不同功能的微生物群落进行的反硝化作用,无论厌氧反硝化、好氧反硝化、以及硝化细菌反硝化过程都产生相关的还原酶系统。例如,厌氧反硝化过程会产生 NO_3^- 还原酶(*Nar*)、 NO_2^- 还原酶(*Nir*)、 NO 还原酶(*Nor*)、 N_2O 还原酶(*Nos*),这4种酶在厌氧条件下依次被连续诱导^[19-24],将 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 和 N_2O 作为呼吸作用末端电子受体还原成 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 和 N_2 ^[25],在该过程中 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 等中间产物都可能产生并被消耗。有些反硝化过程 N_2O 并没有表现出被消耗可能因为部分反硝化微生物不具备进一步还原 N_2O 的能力,或者土壤条件抑制了反硝化最后步骤的完成。一般而言,土壤中含有的*Nar*、*Nir*和*Nor*基因比较多,而*Nos*基因含量较低。表现为多数反硝化微生物能够将氮素还原成 N_2O ,而仅有少部分微生物能够将 N_2O 继续还原成 N_2 。更为复杂的是一些反硝化细菌群落虽已经编码合成*Nos*基因,但 N_2O 并没有被还原,而其他群落没有检测到*Nos*基因却可以消耗 N_2O ^[25]。

2.3.1 土壤微生物群落的种类

众多环境因子均会对 N_2O 消耗的生物学过程产生影响。与土壤质地、氧气含量、硝氮浓度和pH值相比,微生物群落的种类对土壤 N_2O 负排放有决定性的

作用^[26-29]。首先,不同土壤微生物群落消耗 N_2O 的能力差异巨大^[29-30],即便在相同土壤环境下合成酶的活性也不同。例如,土壤不同的氧气含量条件下微生物产生*Nar*、*Nir*和*Nor*基因的能力也不同。某些微生物可产生 N_2O 还原酶而促进土壤对 N_2O 的消耗,但沙质土壤中微生物群落则不能合成 N_2O 还原酶^[25]。Cavigelli^[30]指出农业用地中微生物群落消耗 N_2O 的能力大于演替土地^[27]。需氧型反硝化细菌*Pseudomonas stutzeri*施氏假单胞菌可实现 N_2O 还原为 N_2 的反硝化过程,但是不能将 N_2O 同化为 NH_4^+ ^[10,31]。

2.3.2 土壤氧气

氧气含量对土壤 N_2O 负排放的作用日益引起关注。Punshon等^[32]发现当海水溶解氧小于 $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时就会发生 N_2O 的消耗^[30]。Cavigelli等^[30]发现维持土壤 N_2O 还原酶活性的氧气临界含量为 $141 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,氧气体积分数相当于0.3%。Moreley等^[33]通过烧瓶的顶部空间法测得氧气临界含量为2%。Wu等^[4]发现含水量较低的土壤在烧瓶的顶部空间氧气浓度为21%时 N_2O 仍能还原成 N_2 。低氧的浓度可促进*Nar*、*Nir*、*Nor*和*Nos*酶活性提高,相比之下*Nos*酶的活性高于前3种酶,从而导致 N_2O 的消耗。但*Nos*基因的敏感性受反硝化细菌群落影响较大,好氧条件下硝化细菌虽然有可能消耗 N_2O ,但远少于厌氧条件下 N_2O 的消耗量^[31,34]。

2.3.3 土壤水分

土壤含水量受降水、灌溉和蒸散发等剧烈影响,进而对土壤微生物活性和酶活性产生影响。当土壤较干旱时, N_2O 主要通过硝化反应产生;含水量增加到田间持水量的70%时^[34],氧气浓度减少反硝化作用发生,土壤中 N_2O 积累;土壤含水量继续增加并超过饱和含水率时,形成完全厌氧环境,从而使厌氧高敏感的*Nos*基因所合成的酶活性显著增强并超过其他3种反硝化酶,有利于反硝化作用彻底进行而形成 N_2O

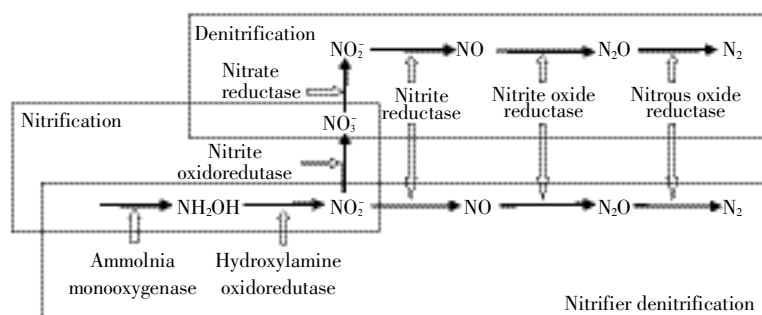


图1 土壤中氮素转化的过程

Figure 1 Schematic diagram of nitrogen transformation in soil

的消耗。同时,过高的土壤含水量也阻碍 N_2O 向大气迁移扩散,迫使土壤 N_2O 持续被还原成 N_2 ^[35]。

2.3.4 土壤含N量

氮素及其形态通过对微生物反硝化酶系统的诱导和土壤微生物群落分布而影响 N_2O 负排放。与此同时,施入氮素如硝态氮或铵态氮等本身以底物形式参与反硝化或硝化作用。硝态氮作为反硝化底物时会在一定程度上影响土壤 N_2O 还原成 N_2 的能力,反硝化细菌易将硝态氮作为电子受体,而当硝态氮含量极低, N_2O 才会替代硝氮参与到脱氮过程中^[36]。由此可见土壤中高含量的硝态氮会抑制 N_2O 还原成 N_2 , Wu等^[4]也进一步证实了该结论。Mei等证明当硝态氮作为唯一电子受体时, N_2O 的生产和消耗同时进行,但 N_2O 的产生高于消耗而呈现 N_2O 净排放;当硝态氮含量较低不能作为反硝化作用电子受体时, N_2O 将作为电子受体而出现 N_2O 的负排放^[24]。

2.3.5 土壤有机碳含量

大多数反硝化微生物都属于化能异养型^[33],以含碳化合物作为电子供体进行氧化反应,并完成自身的生殖代谢。因此,土壤中有机碳含量及其生物有效性是调控土壤微生物活性和强度的重要因子^[37-38]。当土壤氮素含量较低时,秸秆等有机质的添加提高了土壤C/N,微生物在加速繁殖的过程中造成N源的相对匮乏,使得 N_2O 替代成为微生物同化作用的氮源^[39],阻止 N_2O 以异化反硝化产物的形式脱离土体。此外,有机碳可激活土壤微生物的呼吸作用,加快氧的消耗,为 N_2O 彻底还原为 N_2 提供良好的低氧微环境^[40-42]。

2.3.6 土壤pH值

土壤pH值通过影响反硝化细菌酶的产生及活性进而影响土壤 N_2O 排放和消耗。在反硝化过程中,土壤pH值在6~8范围变化时*Nos*基因表达的酶活性不受抑制,此时反硝化作用可以连续进行,主要产物为 N_2 ;当土壤 $\text{pH}<5$ 时,*Nos*基因表达的酶活性下降^[43],主要产物为 N_2O 。土壤pH值为4~5.4时83%的反硝化产物为 N_2O ,而土壤pH值为6.9时产物主要是 N_2 ^[44]。所以国内外学者普遍认为, $\text{pH}<5.0$ 的酸性湿地是 N_2O 的主要排放源之一,而在pH较高时则出现 N_2O 的吸收现象。马放等^[45]发现一种名为*Pseudomonas chloritidismutans*的反硝化细菌, $\text{pH}>7.3$ 的最终产物为 N_2 , $\text{pH}<7.3$ 的最终产物为 N_2O ,即pH较高时*Nos*酶活性较强,推进 N_2O 还原到 N_2 。同时有研究指出,土体pH值的下降是由硝态氮对 N_2O 还原的抑制作

用所导致^[46]。此外,土壤pH值可以影响反硝化细菌基因的表达式从而影响 N_2O 的还原过程,例如,*Nos*的装配基因操纵子*Nos-RZDFYL*受pH值的影响强烈^[38];土壤pH也影响多种微生物的基因表达和生物活性,改变细菌的群落分布和组成,从而影响土壤对 N_2O 的消耗^[46-48]。

3 研究展望

通过分析国内外学者近年来关于土壤对 N_2O 的吸收和消耗机理的研究报道发现,在一些非酸性湿地,如水淹土壤、沿海水岸、沿河湿地、水稻田地等自然土壤生态系统中常发现 N_2O 吸收和消耗,这些生态系统一般特征包括:水分含量较高、氧气含量较低、弱碱性、氮含量低等。国内外对 N_2O 负排放现象及其影响因子(如土壤含水量、温度、pH值等)已有一些报道,其中土壤 N_2O 负排放机理和排放途径作为重要的基础理论,已越来越受到关注。 N_2O 负排放主要途径有土壤对 N_2O 的物理吸附和溶解、化学反硝化和微生物的反硝化作用,通过物理途径进入到土壤的 N_2O 只是暂时保留在土壤中,并不能真正地转化和消耗,但可以作为 N_2O 参与后续生物化学反应的基础条件,该途径调控 N_2O 的吸附效率和溶解度的研究还需要加强。多种化学途径可以导致土壤 N_2O 还原,但反应过程极其复杂,易受外界因素(如 O_2 、pH)干扰,当涉及一些催化反应的时候,又需要某种特定的土壤或土壤中添加特定元素的物料才能够进行催化反应,这些机制的研究大多在试验室内进行,而土壤通过纯化学反应消耗 N_2O 的现象还需要大田实验的验证。

生物途径是导致 N_2O 消耗的最为重要的方式。虽然对影响生物的环境因子进行了较全面的研究,甚至对反硝化过程中合成的4种酶以及相应的反应机理也进行了深入探讨,提出通过调节微生物酶合成控制土壤 N_2O 的排放。但迄今为止,多数研究集中在某些特殊的地区和土壤类型上,对生物途径反应过程机理则缺少系统阐述,故在今后的研究中应综合考虑利用烧瓶顶部空间培养法、 ^{15}N 同位素标记法等试验手段,为揭示 N_2O 负排放机制和提供调控途径提供理论基础和技术支撑。 N_2O 通过同化作用转化为 NH_4^+ 或有机氮的途径同样可以使大气中的 N_2O 浓度降低,针对此方面缺少数据支撑的状况,可以通过根瘤菌或相关可能的 N_2O 转化菌的培养,补充其转化^[49]的机理和影响因素,并以此作为今后研究的一个重要方向。

参考文献:

- [1] Raiech J W, Potter C. Global patterns of carbon dioxide emissions from soil[J]. *Global Biogeochemistry Cycles*, 1995, 9(1):23–36.
- [2] 王长科, 罗新正, 张 华. 全球增温潜势和全球温变潜势对主要国家温室气体排放贡献估算的差异[J]. *气候变化研究进展*, 2013, 9(1): 49–54.
WANG Chang-ke, LUO Xin-zheng, ZHANG Hua. Differences between the shares of greenhouse gas emissions calculated with GTP and GWP for major countries[J]. *Advances in Climate Change Research*, 2013, 9(1): 49–54.
- [3] Wang F, Han X Z, Li L B, et al. How freezing and thawing processes affect black-soil aggregate stability in Northeastern China [J]. *Sciences in Cold and Arid Regions*. 2010, 2(1):67–72.
- [4] Wu D M, Dong W X, Oenema O, et al. N₂O consumption by low-nitrogen soil and its regulation by water and oxygen[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 60: 165–172.
- [5] Cohen Y, Gordon L I. Nitrous oxide in the oxygen minimum of the eastern tropical North Pacific: Evidence for its consumption during denitrification and possible mechanisms for its production[J]. *Deep Sea Research*, 1978, 25(6):509–524.
- [6] Chapuis-Lardy L, Wrage N, Metay A, et al. Soils, a sink for N₂O? A review[J]. *Global Change Biology*, 2007, 13(1):1–17.
- [7] Goldberg S D, Gebauer G. N₂O and NO fluxes between a Norway spruce forest soil and atmosphere as affected by prolonged summer drought[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41(9):1986–1995.
- [8] Majeed M Z, Miambi E, Robert A. Xylophagous termites: A potential sink for atmospheric nitrous oxide[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2012, 53: 121–125.
- [9] Schlesinger W H. An estimate of the global sink for nitrous oxide in soils [J]. *Global Change Biology*, 2013, 19:2929–2931.
- [10] Majumdar D. Biogeochemistry of N₂O uptake and consumption in submerged soils and rice fields and implications in climate change [J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2013, 43(24):2653–2684.
- [11] Audet J, Hoffmann C C, Andersen P M, et al. Nitrous oxide fluxes in undisturbed riparian wetlands located in agricultural catchments: Emission, uptake and controlling factors[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 68:291–299.
- [12] Xiong Z Q, Xing G X, Zhu Z L. Water dissolved nitrous oxide from paddy agroecosystem in China[J]. *Geoderma*, 2006, 136:524–532.
- [13] Wrage N, Velthof G L, Van Beusichem M L, et al. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(12):1723–1732.
- [14] Fanning J C. The chemical reduction of nitrate in aqueous solution[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2000, 199(1):159–179.
- [15] 吴德礼, 傅旻瑜, 马鲁铭. 生物及化学反硝化过程中 N₂O 的产生与控制[J]. *化学进展*, 2012, 24(10):2055–2061.
WU De-li, FU Min-yu, MA Lu-ming. Nitrous oxide emission and control in biological and chemical denitrification[J]. *Progress in Chemistry*, 2012, 24(10):2055–2061.
- [16] Juan A M, Malcolm Y, Pedro Á. Nitrous oxide formation in low temperature selective catalytic reduction of nitrogen oxides with V₂O₅/TiO₂ catalysts[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2007, 70(1–4):330–334.
- [17] Yamazaki T, Yoshida N, Wada E, et al. N₂O reduction by *Azotobacter vinelandii* with emphasis on kinetic nitrogen isotope effects[J]. *Plant Cell Physiol*, 1987, 28(2):263–271.
- [18] Vieten B, Conen F, Seth B, et al. The fate of N₂O consumed in soils[J]. *Biogeosciences*, 2008, 5:129–132.
- [19] Cavigelli M A, Robertson G P. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem[J]. *Ecology*, 2000, 81(5):1402–1414.
- [20] Chen D L, Chalk P M. Distribution of reduced products of ¹⁵N-labelled nitrate in anaerobic soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1995, 27(12):1539–1545.
- [21] Dendooven L, Anderson J M. Dynamics of reduction enzymes involved in the denitrification process in pasture soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26(11):1501–1506.
- [22] Letey J, Valoras N, Hadas A, et al. Effect of air-filled porosity, nitrate concentration, and time on the ratio of N₂O/N₂ evolution during denitrification[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1980, 9(2):227–231.
- [23] Smith M S, Firestone M K, Tiedje J M. Acetylene inhibition methods for short-term measurement of soil denitrification and its evaluation using ¹⁵N[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1978, 42:611–615.
- [24] Mei L J, Yang L Z, Wang D J. Nitrous oxide production and consumption in serially diluted soil suspensions as related to in situ N₂O emission in submerged soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 1057–1066.
- [25] 邹国元, 张福锁. 根际反硝化作用与 N₂O 释放[J]. *中国农业大学学报*, 2002, 7(1):77–82.
ZOU Guo-yuan, ZHANG Fu-suo. Denitrification in rhizosphere and N₂O emission[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2002, 7(1): 77–82.
- [26] Seada M N I A, Ottow J C G. Effect of increasing oxygen concentration on total denitrification and nitrous oxide release from soil by different bacteria[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1985, 1(1):31–38.
- [27] Anderson I C, Levine J S. Relative rates of nitric oxide and nitrous oxide production by nitrifiers, denitrifiers, and nitrate respirers[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(5):938–945.
- [28] Munch J C. Nitrous oxide emission from soil as determined by the composition of denitrifying microbial population[M]// Berthelin J. Diversity of environmental biogeochemistry. Amsterdam: Elsevier, 1991:309–316.
- [29] Zhu X, Burger M, Doane T A, et al. Ammonia oxidation pathways and nitrifier denitrification are significant sources of N₂O and NO under low oxygen availability[J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(16):6328–6333.
- [30] Cavigelli M A, Robertson G P. Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(3):297–310.
- [31] 方晶晶, 马传明, 刘存富. 反硝化细菌研究进展[J]. *环境科学与技术*

- 术, 2010, 33(6E):206–210.
- FANG Jing-jing, MA Chuan-ming, LIU Cun-fu. Research progress on denitrifying bacteria[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 33(6E):206–210.
- [32] Punshon S, Moore R M. Nitrous oxide production and consumption in a eutrophic coastal embayment[J]. *Marine Chemistry*, 2004, 91(1–4):37–51.
- [33] Morley N, Baggs E M. Carbon and oxygen controls on N₂O and N₂ production during nitrate reduction[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(10):1864–1871.
- [34] Zumft W G, Kroneck P M H. Respiratory transformation of nitrous oxide(N₂O) to dinitrogen by bacteria and archaea[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2006, 52:107–227.
- [35] 孙英杰, 吴昊, 王亚楠. 硝化反硝化过程中N₂O释放影响因素[J]. 生态环境学报, 2011, 20(2):384–388.
- SUN Ying-jie, WU Hao, WANG Ya-nan. The influence factors on N₂O emissions from nitrification and denitrification reaction[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(2):384–388.
- [36] Zehnder A J B. Biology of anaerobic microorganisms [M]. New York: Wiley, 1988:66.
- [37] 李成芳, 寇志奎, 张植盛, 等. 秸秆还田对免耕稻田温室气体排放及土壤有机碳固定的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11):2362–2367.
- LI Cheng-fang, KOU Zhi-kui, ZHANG Zhi-sheng, et al. Effects of rape residue mulch on greenhouse gas emissions and carbon sequestration from no-tillage rice field[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11):2362–2367.
- [38] 万云帆, 李玉娥, 高竹青, 等. 田间管理对华北平原冬小麦产量土壤碳及温室气体排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(12):2495–2500.
- WAN Yun-fan, LI Yu-e, GAO Zhu-qing, et al. Field managements affect yield, soil carbon, and greenhouse gases emission of winter wheat in North China Plain[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(12):2495–2500.
- [39] 史奕, 黄国宏. 土壤中反硝化酶活性变化与 N₂O 排放的关系[J]. 应用生态学报, 1999, 10(3):329–331.
- SHI Yi, HUANG Guo-hong. Relationship between soil denitrifying enzyme activities and N₂O emission[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(3):329–331.
- [40] Mørkved P T, Dörsch P, Bakken L R. The N₂O product ratio of nitrification and its dependence on long-term changes in soil pH[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(8):2048–2057.
- [41] Burford J R, Bremner J M. Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1975, 7(6):389–394.
- [42] Sánchez-Martín L, Vallejo A, Dick J, et al. The influence of soluble carbon and fertilizer nitrogen on nitric oxide and nitrous oxide emissions from two contrasting agricultural soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(1):142–151.
- [43] Saleh-Lakha S, Shannon K E. Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in pseudomonas mandelii[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(12):3903–3911.
- [44] 刘杏认, 董云社, 齐玉春. 土壤 N₂O 排放研究进展[J]. 地理科学进展, 2005, 24(6):50–57.
- LIU Xing-ren, DONG Yun-she, QI Yu-chun. Research progresses in nitrous oxide emission from soil[J]. *Progress in Geography*, 2005, 24(6):50–57.
- [45] 马放, 周丹丹, 王宏宇, 等. 一株好氧反硝化细菌生理生态特征的研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2006, 38(4):575–577.
- MA Fang, ZHOU Dan-dan, WANG Hong-yu, et al. Characteristics of psammophytes of an aerobic denitrifier[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2006, 38(4):575–577.
- [46] 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.
- [47] Cuhel J, Simek M, Laughlin R J. Insights into the effect of soil pH on N₂O and N₂ emissions and denitrifier community size and activity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(6):1870–1878.
- [48] Itakura M, Tabata K, Eda S. Generation of *Bradyrhizobium japonicum* mutants with increased N₂O reductase activity by selection after introduction of a mutated *dnaQ* gene[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(23):7258–7264.
- [49] Hoch G E, Schneider K C, Burris R H. Hydrogen evolution and exchange, and conversion of N₂O to N₂ by soybean root nodules[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1960, 37(2):273–279.