

文章编号: 1671-4229(2023)04-0001-07

# 一种新型 N<sub>2</sub>O 还原菌的多样性和生态功能

洪义国, 周嘉贤, 屈志明, 吴佳鹏

(广州大学 大湾区环境研究院/珠三角水质安全与保护教育部重点实验室, 广东 广州 510006)

**摘要:** N<sub>2</sub>O 的排放量呈现逐年增加的趋势, 有关 N<sub>2</sub>O 生物地球化学循环过程的研究受到越来越多的关注。文章综述了 NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原菌的基因组学、生理学和生态学的进展, 探讨了其对减少 N<sub>2</sub>O 排放的重要性。综合近年来这一领域的研究表明, 这种新型 N<sub>2</sub>O 还原菌属于非反硝化菌的进化群体, 在进化上与 NosZ- I 型 N<sub>2</sub>O 还原菌具有显著的差异; NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原菌广泛分布于多种不同的生态环境中, 具有较高的多样性; 与传统反硝化菌相比, 其 N<sub>2</sub>O 还原酶具有显著不同的特征和更强的 N<sub>2</sub>O 还原潜力, 表明其对减少 N<sub>2</sub>O 的释放发挥了重要生态功能。

**关键词:** N<sub>2</sub>O 还原菌; 多样性; 生态功能

**中图分类号:** X 172 **文献标志码:** A

## Diversity and ecological functions of novel N<sub>2</sub>O reducing bacteria

HONG Yi-guo, ZHOU Jia-xian, QU Zhi-ming, WU Jia-peng

(Institute of Environmental Research at Greater Bay Area/Key Laboratory for Water Quality and Conservation of the Pearl River Delta, Ministry of Education, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** Due to the increase in N<sub>2</sub>O emissions, research on N<sub>2</sub>O has been paid more and more attention. This article reviews the advances in genomics, physiology, and ecology of N<sub>2</sub>O reducing bacteria in recent years, and discussed the importance of these novel microorganisms for reducing N<sub>2</sub>O emissions. Recent advances in this field has shown that this novel N<sub>2</sub>O reducing bacteria belongs to the evolutionary group of non-denitrifying bacteria, and has significant phylogenetic differences compared to NosZ- I type N<sub>2</sub>O reducing bacteria. Furthermore, NosZ- II type N<sub>2</sub>O reducing bacteria are widely distributed in various ecological environments and exhibit high diversity. The N<sub>2</sub>O reductase has significantly different characteristics to the traditional denitrifying bacteria and stronger N<sub>2</sub>O reduction potential, indicating its important ecological contribution to controlling the release of N<sub>2</sub>O from ecosystems to the atmosphere.

**Key words:** N<sub>2</sub>O reducing bacteria; diversity; ecological function

N<sub>2</sub>O 是一种重要的温室气体, 在百年尺度上其温室效应潜能大约是 CO<sub>2</sub> 的 300 倍, 也是造成平流层臭氧消耗的主要物质<sup>[1-2]</sup>。在生物圈中, N<sub>2</sub>O 的生物地球化学循环过程主要依靠微生物的代谢过程来驱动。已知由多种微生物代谢途径可以释放 N<sub>2</sub>O, 包括氨氧化过程 (ammonia oxidation)、反硝化过程 (denitrification) 以及硝

化微生物的反硝化过程 (nitrifer-denitrification)。然而, 生物圈中已知只有一种 N<sub>2</sub>O 还原途径, 即微生物 N<sub>2</sub>O 还原酶 (NosZ) 催化 N<sub>2</sub>O 还原为 N<sub>2</sub> (图 1)。NosZ 的活性是生物圈 N<sub>2</sub>O 释放的一个重要屏障, 保障了大气 N<sub>2</sub>O 的浓度处于低水平, 这对控制 N<sub>2</sub>O 的释放以及防止臭氧层被破坏都是至关重要的。因此, 具有 N<sub>2</sub>O 还原能力的

收稿日期: 2023-06-01; 修回日期: 2023-06-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (42276130, 91851111); 广东省自然科学基金重点资助项目 (2019B1515120066)

作者简介: 洪义国 (1974—), 教授, 博士生导师。E-mail: yghong@gzhu.edu.cn

引文格式: 洪义国, 周嘉贤, 屈志明, 等. 一种新型 N<sub>2</sub>O 还原菌的多样性和生态功能[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2023, 22(4): 1-7.

微生物在应对  $N_2O$  减排和缓解气候变化方面具有重要价值,有关微生物  $N_2O$  还原过程受到科学界的广泛关注<sup>[1, 3-4]</sup>。由于近年来测序技术的进步,已知微生物基因组数量在不断增加,基因组分析表明具有  $N_2O$  还原潜能的微生物比之前报道的具有更高的多样性,而

且发现了一种新型(NosZ- II 型)  $N_2O$  还原菌,其与传统认识的  $N_2O$  还原菌种类(NosZ- I 型)具有显著不同的亲缘关系,形成一个独立的进化群体<sup>[5]</sup>,该群体在应对  $N_2O$  减排和缓解气候变化方面有重要价值,受到广泛关注。

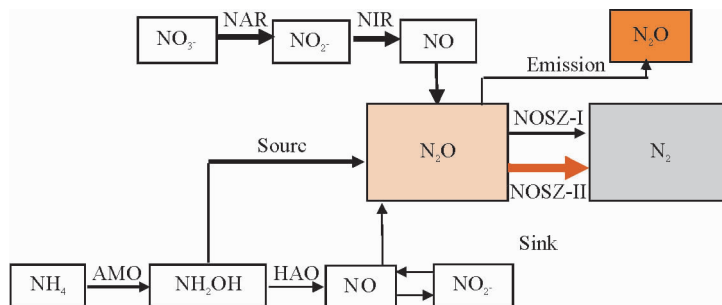


图 1 微生物介导的  $N_2O$  的源汇过程途径

Fig. 1 The pathways of  $N_2O$  source and sink driven by microorganisms

注:图中硝化和反硝化过程是  $N_2O$  释放的主要来源;NosZ- I 和 NosZ- II 介导的  $N_2O$  还原是  $N_2O$  汇的唯一途径。

## 1 $N_2O$ 还原菌 - 生态系统 $N_2O$ 释放的“守门员”

$N_2O$  的生物地球化学循环过程主要是由微生物的代谢驱动的,包括  $N_2O$  的产生(源)和还原(汇)两个方面(图 1)。完全反硝化( $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2$ )、不完全反硝化( $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O$ )、硝酸盐异化还原为铵(DNRA)( $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$ )以及硝化过程( $NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$ )都有助于  $N_2O$  的释放<sup>[6-8]</sup>。大部分的  $N_2O$  排放主要是由于反硝化和氨氧化(硝化过程的第一步)过程产生的。反硝化作用通常包括将  $N_2O$  还原为  $N_2$ ,但反硝化菌并不总是执行完全反硝化,从而形成  $N_2O$  作为最终产物,要么是因为它们缺乏将  $N_2O$  还原为  $N_2$  的基因,要么是因为环境因素抑制了这种反应<sup>[9-11]</sup>。反硝化的真菌都是  $N_2O$  还原缺陷型<sup>[12-14]</sup>。氨氧化是一种利用中间体  $NH_2OH$  将  $NH_3$  氧化为  $NO_2^-$  的产能好氧过程。而  $NH_2OH$  的非生物氧化可以产生  $N_2O$ <sup>[15]</sup>,已经表明, $NH_3$  氧化与  $NO_2^-$  还原(硝化微生物的反硝化作用)的耦合是氨氧化微生物  $N_2O$  排放的主要途径<sup>[16]</sup>。最近的研究表明,氨氧化古菌(Ammonia-Oxidizing Archaea, AOA)通过  $NH_2OH$  和  $NO$  的自发杂交反应形成  $N_2O$ ,但产生的  $N_2O$  量可能比氨氧化细菌的要少<sup>[17-19]</sup>。

尽管存在多种微生物驱动的  $N_2O$  源,但生物圈中已知只有一种  $N_2O$  还原的途径,即微生物  $N_2O$  还原酶(NosZ)催化  $N_2O$  还原为  $N_2$ 。长期以来, $N_2O$  源的问题受到人们更多的关注,但却忽视了对  $N_2O$  汇的研究,因

此,一直以来人们对于  $N_2O$  的还原过程缺乏深入理解。传统上认为,NosZ 存在于完全反硝化作用(将  $NO_3^-$  还原为  $N_2$  的途径)的细菌或者古菌的细胞中<sup>[8, 20]</sup>,是反硝化作用中的一个组成模块。早期报道的 *Wolinella succinogenes* 和 *Campylobacter fetus* 菌能够以  $N_2O$  作为唯一的电子受体进行生长<sup>[21-22]</sup>,但缺乏完全的反硝化能力,引发了人们的思考:自然界中是否存在其他种类的  $N_2O$  还原酶控制  $N_2O$  的还原?最近基于宏基因组学的技术,发现 NosZ 蛋白质具有两个不同的系统发育进化群体,即进化分枝 I (NosZ- I) 和进化分枝 II (NosZ- II),其中 NosZ- I 就是传统意义上的  $N_2O$  还原酶,而 NosZ- II 是一种与 NosZ- I 具有显著差异的新型  $N_2O$  还原酶。与 NosZ- I 相比较,在环境中 NosZ- II 具有显著高的多样性和丰度值,而且大部分的 NosZ- II 型  $N_2O$  还原菌是非反硝化微生物,只消耗但不产生  $N_2O$ ,是  $N_2O$  汇的重要途径<sup>[10, 23]</sup>。具有 NosZ- II 型  $N_2O$  还原能力的微生物在应对  $N_2O$  减排和缓解气候变化方面有重要价值,受到广泛关注<sup>[1, 4, 5]</sup>。

## 2 新型 $N_2O$ 还原菌的系统进化

*nosZ- II* 基因与 *nosZ- I* 基因在系统发育、基因簇(NGC)的结构组成、蛋白的转移途径都具有显著的差异。 $N_2O$  还原微生物在分类学上具有广泛分布的特征,大约 12% 的已测序微生物的基因组中发现存在 *nosZ* 基因<sup>[10]</sup>。系统发育分析表明,*nosZ* 基因的多样化主要是基因纵向进化和水平转移的综合结果<sup>[24]</sup>。NosZ- I 进

化分枝几乎全部由  $\alpha$ -、 $\beta$  和  $\gamma$ -变形菌组成。根据进化距离分析,嗜盐的广古菌门 (Euryarchaeota)、盐盒菌属 (*Haloarcula*) 和盐碱单胞菌属 (*Natronomonas*) 的 *nosZ* 基因也归入 NosZ- I 进化分支,形成了一个与变形杆菌 *nosZ* 基因相近但独立的进化簇(图 2)。信号肽分析表明, NosZ- I 型蛋白是通过双精氨酸 (Tat) 途径进行转运,蛋白质首先在细胞质中折叠,然后通过细胞膜转运到细胞周质空间<sup>[23]</sup>。NosZ- I 型的微生物的 *nos* 基因簇包括 *nosZ* 基因、与蛋白质组装相关的 DFYL 基因以及可能的铜转运基因<sup>[25]</sup>。*nosR* 编码是一种膜结合的 Fe-S 黄素蛋白,可能参与向 NosZ 蛋白的电子传递过程。与反硝化相关的其他功能基因的共现性分析表明, NosZ- I 型微生物更可能是完全反硝化菌,因为 83% 的 NosZ- I 型菌的基因组中也具有 *nirS* 或 *nirK* 基因(分别编码两种不同的亚硝酸盐还原酶)。与 NosZ- I 型微生物相比, 51% 的 NosZ- II 型微生物都是非反硝化的 N<sub>2</sub>O 还原菌<sup>[7, 10]</sup>。环境中的一些 *nosZ*- II 基因与非反硝化菌的基因组的相

关序列相匹配,例如厌氧粘杆菌属 (*Anaeromyxobacter*)、双杆菌属 (*Dyadobacter*)、*Gemmatimonas*、*Ignavibacterium*、*Melioribacter* 和 *Pedobacter* 菌(图 2)。有趣的是,几乎所有 NosZ- II 型蛋白都是通过 Sec 途径进行转运,这种转移途径将新合成的多肽链转运到细胞周质中,然后发生折叠和辅因子的结合<sup>[23]</sup>,但目前尚不清楚这两个进化分枝之间的转移途径的差异是否与其功能的差异相关联。总的来说,基因簇的组成和结构的不同,表明了 NosZ- I 型和 NosZ- II 微生物之间的明显差异,但还需要进一步的生物化学和生理学研究来确定这些基因簇排列和转移通路的不同与生理功能差异的关系,从而可能进一步解释两个进化分枝之间的态位分化。基于两种不同 N<sub>2</sub>O 还原菌的系统进化特征,目前主要采用 *nosZ* 功能基因进行 PCR 扩增和宏基因组分析的方法对其进行鉴别和分类,本研究实验室正在建立标准化的分析方法。

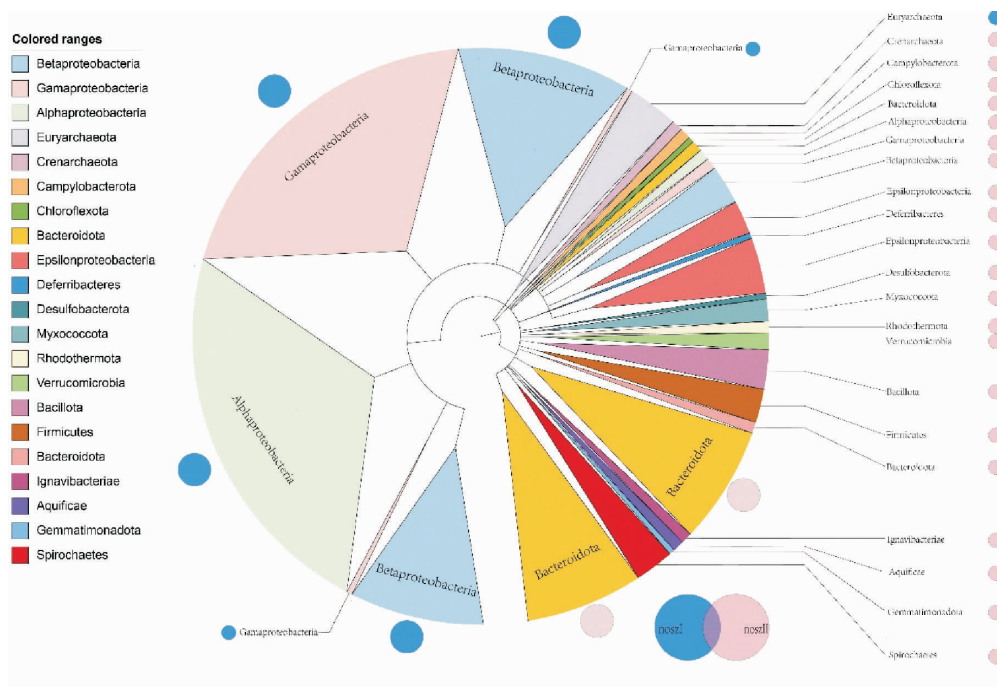


图 2 两种 N<sub>2</sub>O 还原菌的系统进化和群落结构特征

Fig. 2 Phylogenetic evolution and community structures of two kinds of N<sub>2</sub>O reducing bacteria

### 3 新型 N<sub>2</sub>O 还原菌具有更强的 N<sub>2</sub>O 还原潜力

与 NosZ- I 型 N<sub>2</sub>O 还原菌相比, NosZ- II 型还原菌具有更强的生理功能。从生理代谢来看,微生物 N<sub>2</sub>O 的还原本质上是呼吸产能过程,即以 N<sub>2</sub>O 为电子受体支持细

胞产能。美国罗德岛大学的科学家最近对 5 种以 N<sub>2</sub>O 为唯一电子受体维持生长的细菌的比较分析表明, NosZ- II 型的细菌比 NosZ- I 型的细菌表现出较低的底物半饱和常数(K<sub>s</sub>)。每还原 1 mol N<sub>2</sub>O, NosZ- II 型还原菌的生物量就增加 50% ~ 80%, 与 NosZ- I 型菌相比, NosZ- II 菌的 N<sub>2</sub>O 呼吸链具有更高效能量转化效率<sup>[26]</sup>。NosZ- II 型菌的高效 N<sub>2</sub>O 还原特征得到日本学

者的进一步证实<sup>[27]</sup>,他们从废水处理反应器中成功富集和分离出高亲和力的 NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原菌,表现出较高的 N<sub>2</sub>O 还原率 ( $V_{\max}$ :  $4.23 \times 10^{-3} \sim 1.80 \times 10^{-2}$  pmol/h/细胞)和较低的 N<sub>2</sub>O 半饱和系数 ( $K_m$ :  $1.55 \sim 2.10 \mu\text{M}$ )。来自日本北海道大学的学者进一步分析了 *Thauera linalooletins* 47LolT 菌株的 *nosZ- I* 和 *nosZ- II* 基因对外界条件变化响应的差异表达情况,发现在没有 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的情况下 *nosZ- II* 的表达显著上调,而 *nosZ- I* 的表达没有显著变化,推测 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 抑制了 *nosZ- II* 的表达,表明环境中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 存在可能会抑制 NosZ- II 介导的 N<sub>2</sub>O 还原<sup>[28]</sup>。但是在一个基于生物反应器的研究中,却得到了相反的结论:在所有条件下, NosZ- I 型反硝化菌都比非反硝化 N<sub>2</sub>O 还原菌更具优势,当允许较低的生长速率时, NosZ- II 分支的丰度增加,但 NosZ- I 型对 N<sub>2</sub>O 具有较高的亲和力<sup>[29]</sup>。此外,环境条件也会强烈地影响 N<sub>2</sub>O 还原酶(N<sub>2</sub>OR)的活性,最新研究表明 pH 值较低会影响 N<sub>2</sub>OR- I 转录后的加工过程<sup>[30]</sup>,但对 N<sub>2</sub>OR- II 的影响还没有涉及。因此,对于两种类型的 N<sub>2</sub>O 还原菌的生理特征的阐明还需要更广泛的研究,以阐释其不同生理特征与生态位以及生态功能之间的关联性。

#### 4 新型 N<sub>2</sub>O 还原菌的生态分布和功能

NosZ- II 型进化分枝的高丰度,加上它们在高多样性,表明其在控制生态系统 N<sub>2</sub>O 的净排放过程中发挥重要作用。目前,全球科学家对此做了广泛的研究,但主要集中在陆地环境,特别是农业土壤、湿地和活性污泥等方面。瑞典农业大学 Sara Hallin 团队对 18 个门的 652 个微生物基因组进行了比较分析,发现反硝化相关的功能基因的共现模式(co-occurrence pattern)在不同的分类群中并不是随机分布的。与 *nirK* 相比,*nosZ* 基因与 *nirS* 共现频率明显更高,*nirS* 几乎总是与 *nor* 共现。而 30% 的 *nosZ* 生物既不具有 *nir* 基因也缺乏 *nor*,这表明 *nos* 在减少 N<sub>2</sub>O 方面具有潜在的重要作用。其中,*nosZ- I* 占 7%,而 *nosZ- II* 占 39%,表现出明显的基因组组成的差异<sup>[10]</sup>。通过生态位偏好相似性的分析,发现两种类型 N<sub>2</sub>O 还原微生物之间存在生态位分化甚至竞争性的相互作用<sup>[31]</sup>。土壤结构成分以及养分状况,例如,氮、碳、有机质或 C:N 比例等,都可能增加 NosZ- I 型进化分枝群落数量,但没有表现出有利于 NosZ- II 型进化分枝群落规模的特定因素<sup>[31]</sup>。因此,先前的研究只是间接获得了与环境相关的潜在驱动因素,而生物驱动因素或生物之间的相互作用关系可能被忽略。有趣的

是,两种类型的微生物在根-土壤界面占据了不同的生态位。无论土壤类型如何, NosZ- II 型进化分枝在土壤中都较多;而 NosZ- I 型进化分枝与作物根系密切相关<sup>[32-33]</sup>。其他研究也得到相似的结论,白桦树根际中 NosZ- I 型进化分枝和 NosZ- II 型进化分枝的丰度比值比松散土壤中的更高<sup>[34]</sup>。这两项研究都表明,与松散土壤相比,根际反硝化途径的 N<sub>2</sub>O 产生和消耗是密切相关的过程, NosZ- I 型进化分枝和 NosZ- II 型进化分枝的生态位分化与氧气可用性、富营养化水平、pH、C:N 比、种植系统和农业土壤中的生物碳添加有关。总体来看,基于反硝化的 N<sub>2</sub>O 的转化过程在生物体中更趋于一种模块化(Modular pattern)的特征,其产生和消耗可能分布在同一种菌体中,也可能分布在不同种菌体中。通过不同生态位分化的微生物功能群之间的协作,完成 N<sub>2</sub>O 的源汇过程。但是,目前对于这种模块化的 N<sub>2</sub>O 源汇的种群生态学发生机制还是不够清晰,需要从生态系统的角度进行深入探索。

以瑞典农业大学 Sara Hallin 为首席科学家的研究团队进行了开创性的工作,证明了土壤作为 N<sub>2</sub>O 汇的能力主要是由 NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原微生物类群的丰度和多样性结构决定的,而且介导了土壤因子的影响,鉴定了一些高频出现的 N<sub>2</sub>O 还原菌群,可以作为不同土壤 N<sub>2</sub>O 汇的重要指示<sup>[31, 35]</sup>。定量 PCR 结果表明,土壤中 NosZ- II 型进化分枝比 NosZ- I 型进化分枝具有明显的数量优势,比率为  $1.5 \sim 10^{[23, 36]}$ 。宏基因组学的研究进一步支持了在一些陆地生境中 NosZ- II 型进化分枝的优势地位<sup>[37-38]</sup>。在盐沼环境,基于宏基因组分析得到的 NosZ- II 型进化分枝的多样性是 NosZ- I 型进化分枝的 3 倍多<sup>[38]</sup>。在湿地、北方湖泊和富营养化的泻湖中, NosZ- I 型进化分枝的数量只比 NosZ- II 型进化分枝的数量略高,但在人工湿地和生物反应器中, NosZ- I 型进化分枝比 NosZ- II 型进化分枝的数量高 1 000 倍<sup>[39]</sup>。相比之下, NosZ- II 型进化分枝与土壤 N<sub>2</sub>O 还原有更强的相关性。中国科学院生态环境中心的祝贵兵团队的研究表明,与非根际土壤相比,根际土壤具有较高的 N<sub>2</sub>O 生成潜力, N<sub>2</sub>O 的释放潜力与 NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原菌的多样性和丰度均呈负相关<sup>[32]</sup>。总体而言,具有广泛生态分布的 N<sub>2</sub>O 还原菌是陆地 N<sub>2</sub>O 消耗的重要贡献者,在控制陆地 N<sub>2</sub>O 的释放中发挥了“守门员”的作用。

相比陆地生态系统,对海洋 NosZ- II 型 N<sub>2</sub>O 还原菌的研究还较少。基于基因数据库的分析表明,海洋 NosZ 数据库主要由 NosZ- II 型基因组成,主要分布在低氧区域,具有高 N<sub>2</sub>O 亲和力而且缺乏完全反硝化的基因<sup>[40]</sup>。普林斯顿大学地球科学系的 Bess Ward 实验室对高纬度

的大西洋有氧水体和氧气最小层(OMZ)水体进行分析,发现了 NosZ-II 型  $N_2O$  还原细菌群落的存在,表明了其在海洋水体中的潜在  $N_2O$  汇的功能<sup>[41-43]</sup>。日本北海道大学的研究人员从深海热液中分离到一株嗜热弯曲菌 HRV44T,此菌能够以  $H_2$  为电子供体还原  $N_2O$  获得能量而生长,研究结果为认识深海热液环境中的细菌  $N_2O$  呼吸代谢机制提供了重要参考<sup>[44]</sup>。但是,目前对近海生态系统中的 NosZ-II 型  $N_2O$  还原菌研究,其  $N_2O$  汇的功能和作用机制尚不明确,还需要进一步的研究以明确其在控制全球  $N_2O$  排放中发挥的功能。本研究结果表明,在珠江河口及近海海域具有显著高的 NosZ-II 型基因丰度, $N_2O$  的释放通量与 *nos/nir* 基因丰度的比

值呈现出典型负相关模式(*nos* 为  $N_2O$  氧化还原酶基因,代表  $N_2O$  汇的潜力;*nir* 为  $NO_2^-$  氧化还原酶基因,代表  $N_2O$  的产生潜力)。基于本文研究结果以及相关的国内外研究进展,得出以下结论:在河口近海环境中,两种  $N_2O$  还原菌群具有不同的生态位分化特征,并通过竞争共存模式对生态系统中  $N_2O$  的还原发挥关键控制作用,其中 NosZ-II 型的  $N_2O$  还原菌群对  $N_2O$  的还原发挥主导控制作用;溶解氧和 pH 可能是调控这两种类型  $N_2O$  还原微生物生态位分化和活性的重要环境因子,水体-沉积物的低氧-无氧界面(Suboxic-anoxic interface)以及水体的悬浮颗粒是  $N_2O$  还原活性发生的热区<sup>[45-46]</sup>(图3)。

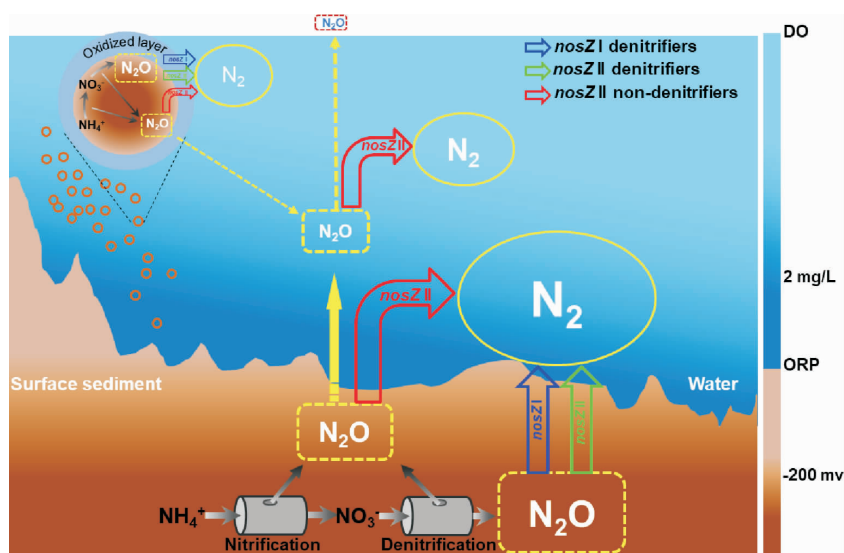


图3 河口近海两种  $N_2O$  还原菌介导的  $N_2O$  还原过程概念模式图

Fig. 3 Conceptual diagram of  $N_2O$  reduction process mediated by two kinds of  $N_2O$  reducing bacteria in the estuary and offshore  
注:反硝化型 NosZ-I 和 NosZ-II 的作用是  $N_2O$  还原的主要途径,反硝化和硝化过程释放的  $N_2O$  进一步被非反硝化型的 NosZ-II 作用而进一步消耗,最终只有很小比例的  $N_2O$  释放到大气中。

## 5 研究展望

虽然有关  $N_2O$  还原菌的研究取得了很大进展,但是由于环境条件的复杂性,有关  $N_2O$  的生物地球化学循环过程的研究还基本没有涉及,其作用机制还没有得到完全阐明。未来需要关注的问题包括:①环境中微生物  $N_2O$  还原的主要目的是什么?微生物还原  $N_2O$  可能有不同的目的,包括能量转化、解毒或去除多余电子。如果假设序列相似性等同于功能相似性,环境序列的差异能够展现这种功能差异;②进化枝 I 和 II 生物之间的生

态位差异主要是取决于两种  $N_2O$  还原酶特征差异,还是这两种群体之间其他特征差异?两类  $N_2O$  还原酶分布与分类群种类有关,从而相互关联。这需要加以梳理,以便能够在受管理的生态系统中操纵和管理  $N_2O$  还原菌;③当与能量转化结合时, $N_2O$  还原的效率与系统进化关系是否一致?这对于理解两个不同的 *nosZ* 进化分枝之间和分支内部是否存在进化和生态位分化的关联性有重要意义;④生态系统如何调控  $N_2O$  的产生速率或  $N_2O$  的还原速率,从而控制  $N_2O$  的排放?了解其生态调控机制有助于制定和改进减少  $N_2O$  排放的策略。

## 参考文献:

[1] Richardson D, Felgate H, Watmough N, et al. Mitigating release of the potent greenhouse gas  $N_2O$  from the nitrogen cycle-

- could enzymic regulation hold the key? [J]. *Trends in Biotechnology*, 2009, 27(7): 388-397.
- [2] Stocker T F, Qin D, Plattner G-K, et al. *Climate change 2013: The physical science basis*[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2014.
- [3] Shan J, Sanford R A, Chee-Sanford J, et al. Beyond denitrification: The role of microbial diversity in controlling nitrous oxide reduction and soil nitrous oxide emissions[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(12): 2669-2683.
- [4] Thomson A J, Giannopoulos G, Pretty J, et al. Biological sources and sinks of nitrous oxide and strategies to mitigate emissions[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2012, 367(1593): 1157-1168.
- [5] Hallin S, Philippot L, Löffler F, et al. Genomics and ecology of novel N<sub>2</sub>O-reducing microorganisms[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(1): 43-55.
- [6] Harris E, Diaz-Pines E, Stoll E, et al. Denitrifying pathways dominate nitrous oxide emissions from managed grassland during drought and rewetting[J]. *Science Advances*, 2021, 7: eabb7118.
- [7] Sanford R A, Wagner D D, Wu Q Z, et al. Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(48): 19709-19714.
- [8] Zumft W G. Cell biology and molecular basis of denitrification[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 1997, 61(4): 533-616.
- [9] Firestone M K, Firestone R B, Tiedje J M. Nitrous oxide from soil denitrification: Factors controlling its biological production[J]. *Science*, 1980, 208(4445): 749-751.
- [10] Graf D R H, Jones C M, Hallin S. Intergenomic comparisons highlight modularity of the denitrification pathway and underpin the importance of community structure for N<sub>2</sub>O emissions[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114118.
- [11] Philippot L, Andert J, Jones C M, et al. Importance of denitrifiers lacking the genes encoding the nitrous oxide reductase for N<sub>2</sub>O emissions from soil[J]. *Global Change Biology*, 2011, 17: 1497-1504.
- [12] Shoun H, Fushinobu S, Jiang L, et al. Fungal denitrification and nitric oxide reductase cytochrome P450nor[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2012, 367(1593): 1186-1194.
- [13] Maeda K, Spor A, Edel-Hermann V, et al. N<sub>2</sub>O production, a widespread trait in fungi[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9697.
- [14] Higgins S A, Welsh A, Orellana L H, et al. Detection and diversity of fungal nitric oxide reductase genes (p450nor) in agricultural soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(10): 2919-2928.
- [15] Heil J, Vereecken H, Brüggemann N. A review of chemical reactions of nitrification intermediates and their role in nitrogen cycling and nitrogen trace gas formation in soil[J]. *European Journal of Soil Science*, 2016, 67(1): 23-39.
- [16] Kool D M, Dolfing J, Wrage-Mönnig N, et al. Nitrifier denitrification as a distinct and significant source of nitrous oxide from soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(1): 174-178.
- [17] Stieglmeier M, Mooshammer M, Kitzler B, et al. Aerobic nitrous oxide production through N-nitrosating hybrid formation in ammonia-oxidizing archaea[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8: 1135-1146.
- [18] Hink L, Nicol G, Prosser J. Archaea produce lower yields of N<sub>2</sub>O than bacteria during aerobic ammonia oxidation in soil [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(12): 4829-4837.
- [19] Kozłowski J A, Stieglmeier M, Schleper C, et al. Pathways and key intermediates required for obligate aerobic ammonia-dependent chemolithotrophy in bacteria and *Thaumarchaeota*[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(8): 1836-1845.
- [20] Philippot L. Denitrifying genes in bacterial and archaeal genomes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2002, 1577(3): 355-376.
- [21] Payne W, Grant M A, Shapleigh J, et al. Nitrogen oxide reduction in *Wolinella succinogenes* and *Campylobacter* species [J]. *Journal of Bacteriology*, 1982, 152(2): 915-918.
- [22] Simon J, Einsle O, Kroneck P M H, et al. The unprecedented *nos* gene cluster of *Wolinella succinogenes* encodes a novel respiratory electron transfer pathway to cytochrome *c* nitrous oxide reductase[J]. *FEBS Letters*, 2004, 569(1/2/3): 7-12.
- [23] Jones C M, Graf D R, Bru D, et al. The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: A potential nitrous oxide sink[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7: 417-426.
- [24] Jones C M, Stres B, Rosenquist M, et al. Phylogenetic analysis of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2008, 25(9): 1955-

- 1966.
- [25] Zumft W G, Kroneck P M H. Respiratory transformation of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) to dinitrogen by bacteria and archaea[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2006, 52: 107-227.
- [26] Yoon S, Nissen S, Park D, et al. Nitrous oxide reduction kinetics distinguish bacteria harboring clade I nosZ from those harboring clade II NosZ[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(13): 3793-3800.
- [27] Suenaga T, Hori T, Riya S, et al. Enrichment, isolation, and characterization of high-affinity N<sub>2</sub>O-reducing bacteria in a gas-permeable membrane reactor[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(20): 12101-12112.
- [28] Semedo M, Wittorf L, Hallin S, et al. Differential expression of clade I and II N<sub>2</sub>O reductase genes in denitrifying *Thauera linaloolentis* 47LolT under different nitrogen conditions [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2021, 367(24): fnaa205.
- [29] Conthe M, Wittorf L, Kuenen J G, et al. Growth yield and selection of nosZ clade II -types in a continuous enrichment culture of N<sub>2</sub>O respiring bacteria[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2018, 10(3): 239-244.
- [30] Frostegård A, Vick S H W, Lim N Y N, et al. Linking meta-omics to the kinetics of denitrification intermediates reveals pH-dependent causes of N<sub>2</sub>O emissions and nitrite accumulation in soil[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16: 26-37.
- [31] Jones C M, Spor A, Brennan F P, et al. Recently identified microbial guild mediates soil N<sub>2</sub>O sink capacity[J]. *Nature Climate Change*, 2014, 4: 801-805.
- [32] Zhao S Y, Zhou J M, Yuan D D, et al. NirS-type N<sub>2</sub>O-producers and nosZ II -type N<sub>2</sub>O-reducers determine the N<sub>2</sub>O emission potential in farmland rhizosphere soils[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(1): 461-471.
- [33] Zhao S Y, Wang Q, Zhou J M, et al. Linking abundance and community of microbial N<sub>2</sub>O-producers and N<sub>2</sub>O-reducers with enzymatic N<sub>2</sub>O production potential in a riparian zone[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 1090-1099.
- [34] Truu M, Ostonen I, Preem J-K, et al. Elevated air humidity changes soil bacterial community structure in the silver birch stand[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 557.
- [35] Domeignoz Horta L A, Putz M, Spor A, et al. Non-denitrifying nitrous oxide-reducing bacteria-An effective N<sub>2</sub>O sink in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 376-379.
- [36] Graf D R H, Zhao M, Jones C M, et al. Soil type overrides plant effect on genetic and enzymatic N<sub>2</sub>O production potential in arable soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 100: 125-128.
- [37] Orellana L, Rodríguez-R L, Higgins S, et al. Detecting nitrous oxide reductase (NosZ) genes in soil metagenomes: Method development and implications for the nitrogen cycle[J]. *mBio*, 2014, 5(3): e01193-14. doi:10.1128/mBio.01193-14.
- [38] Samad M S, Biswas A, Bakken L R, et al. Phylogenetic and functional potential links pH and N<sub>2</sub>O emissions in pasture soils[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35990.
- [39] Paranychianakis N V, Tsiknia M, Kalogerakis N. Pathways regulating the removal of nitrogen in planted and unplanted sub-surface flow constructed wetlands[J]. *Water Research*, 2016, 102: 321-329.
- [40] Bertagnoli A D, Konstantinidis K T, Stewart F J. Non-denitrifier nitrous oxide reductases dominate marine biomes[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2020, 12(6): 681-692.
- [41] Rees A P, Brown I J, Jayakumar A, et al. Biological nitrous oxide consumption in oxygenated waters of the high latitude Atlantic Ocean[J]. *Communications Earth & Environment*, 2021, 2(1): 1-8.
- [42] Sun X, Jayakumar A, Tracey J C, et al. Microbial N<sub>2</sub>O consumption in and above marine N<sub>2</sub>O production hotspots[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15: 1434-1444.
- [43] Sun X, Jayakumar A, Ward B B. Community composition of nitrous oxide consuming bacteria in the oxygen minimum zone of the Eastern Tropical South Pacific[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1183.
- [44] Fukushi M, Mino S, Tanaka H, et al. Biogeochemical implications of N<sub>2</sub>O-reducing thermophilic *Campylobacteria* in deep-sea vent fields, and the description of *Nitratiruptor labii* sp. nov.[J]. *iScience*, 2020, 23(9): 101462.
- [45] Xiang H, Hong Y, Wu J, et al. Ecological distribution and diversity of key functional genes for denitrification in surface sediments of the northern South China Sea: Implications for potential N<sub>2</sub>O emissions[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 912402.
- [46] Xiang H, Hong Y G, Wu J P, et al. NosZ- II -type N<sub>2</sub>O-reducing bacteria play dominant roles in determining the release potential of N<sub>2</sub>O from sediments in the Pearl River Estuary, China[J]. *Environmental Pollution*, 2023, 329: 121732.