

DOI: 10.5846/stxb202008192162

范峰华, 郑荣波, 刘爽, 郭雪莲. 二氧化钛纳米颗粒对沼泽土壤反硝化和 N_2O 排放的影响. 生态学报, 2021, 41(16): 6525-6532.

Fan F H, Zheng R B, Liu S, Guo X L. Effects of TiO_2 nanoparticles on the denitrification and N_2O emissions of marsh soil. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(16): 6525-6532.

二氧化钛纳米颗粒对沼泽土壤反硝化和 N_2O 排放的影响

范峰华^{1,2}, 郑荣波^{3,*}, 刘爽^{1,2}, 郭雪莲^{1,2}

1 西南林业大学湿地学院, 昆明 650224

2 国家高原湿地研究中心, 昆明 650224

3 西南林业大学化学工程学院, 昆明 650224

摘要:近年来, 二氧化钛纳米颗粒(TiO_2 NPs)环境释放量不断增加, 并通过多种途径进入湿地生态系统, 不可避免地影响到湿地生态系统环境和功能。然而, 关于 TiO_2 NPs 对沼泽土壤反硝化作用和氧化亚氮(N_2O)排放的影响机制尚不明确。选择典型沼泽土壤, 通过室内培养实验研究土壤理化性质、反硝化酶活性、反硝化速率(DNR)和 N_2O 排放对不同剂量 TiO_2 NPs 0 mg/kg (CK)、10 mg/kg (A10)、100 mg/kg (A100)、1000 mg/kg (A1000)输入的响应, 探讨 TiO_2 NPs 输入对沼泽土壤反硝化作用和 N_2O 排放影响的内在机制。结果表明: 不同剂量 TiO_2 NPs 处理显著降低了土壤 pH ($P<0.05$), A10 处理显著降低土壤总有机碳(TOC)含量($P<0.01$), A1000 处理显著降低硝态氮(NO_3^- -N)和亚硝态氮(NO_2^- -N)含量($P<0.05$)。 TiO_2 NPs 处理抑制硝酸盐还原酶(NAR)活性, 促进一氧化氮还原酶(NOR)和氧化亚氮还原酶(NOS)活性($P<0.01$), A1000 处理先促进后抑制了亚硝酸盐还原酶(NIR)活性($P<0.05$)。不同剂量 TiO_2 NPs 处理抑制了土壤 DNR, 促进了 N_2O 排放, TiO_2 NPs 处理通过抑制 NIR 活性, 降低土壤 DNR, 同时通过促进 NOR 活性, 提高 N_2O 排放。综上, TiO_2 NPs 输入通过影响反硝化还原酶活性改变沼泽土壤反硝化过程, 导致沼泽土壤 N_2O 排放增加, 改变湿地氮的源、汇功能, 影响全球气候变化。为 TiO_2 NPs 输入的湿地环境风险评估研究提供理论基础。

关键词: 二氧化钛纳米颗粒; 反硝化作用; N_2O 排放; 酶活性; 沼泽

Effects of TiO_2 nanoparticles on the denitrification and N_2O emissions of marsh soil

FAN Fenghua^{1,2}, ZHENG Rongbo^{3,*}, LIU Shuang^{1,2}, GUO Xuelian^{1,2}

1 Wetland College of Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

2 National Plateau Wetland Research Center, Kunming 650224, China

3 College of Chemical Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: In recent years, with the rapid development of nanotechnology, the increasing production and application of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) will lead to their release and accumulation in the environment. Owing to that the wetland is located in a relatively lower water catchment environment, TiO_2 NPs may enter the wetland ecosystem through multiple pathways, once it enters the wetland ecosystem, it will affect environment and the function of wetland ecosystem and change the process of soil nitrogen transformation inevitably. However, little is known about the effects and mechanism of TiO_2 NPs input on the denitrification and nitrous oxide (N_2O) emissions of marsh soil. In this study, in order to explore

基金项目: 云南省基础研究计划项目重点项目 (202001AS070041); 国家自然科学基金 (41563008); 云南省高原湿地科学创新团队项目 (2012HC007)

收稿日期: 2020-08-19; 网络出版日期: 2021-05-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhengrbzy@hotmail.com

the effects and its mechanism of TiO_2NPs input on soil denitrification and N_2O emissions, marsh soils were collected from typical field and an indoor cultivated experiment with different addition of TiO_2NPs was conducted, exposure experiments were conducted to investigate the effects of TiO_2NPs (0 mg/kg (CK), 10 mg/kg (A10), 100 mg/kg (A100), 250 mg/kg (A250), and 1000 mg/kg (A1000)) on soil physical and chemical properties, denitrifying enzyme activity, denitrification rate and N_2O emissions of marsh soil. The results showed that (1) all the addition of TiO_2NPs significantly reduced soil pH ($P<0.05$), the treatments of A10 significantly reduced the content of soil total organic carbon (TOC) ($P<0.01$), the treatments of A1000 significantly reduced the content of soil nitrate nitrogen (NO_3^--N) and nitrite nitrogen (NO_2^--N) ($P<0.05$). (2) The addition of TiO_2NPs inhibited the activity of nitrate reductase (NAR) and promoted the activity of nitric oxide (NOR) and nitrous oxide (NOS) ($P<0.01$), the treatments of A1000 promoted the activity of nitrite reductase (NIR) in initial stage of inhibition, then the trend was opposite ($P<0.05$), but with the extension of the culture time, the inhibitory effect of TiO_2NPs gradually weakened. (3) The addition of TiO_2NPs significantly inhibited denitrification rate (DNR) and promoted N_2O emissions. (4) DNR was positively correlated with the activity of NIR ($P<0.01$), N_2O was positively correlated with the activity of NOR ($P<0.01$). The addition of TiO_2NPs reduced the DNR of marsh soil by inhibiting the activity of NIR, addition of TiO_2NPs improved the N_2O emissions of marsh soil by promoting the activity of NIR. Overall, addition of TiO_2NPs interfered the denitrification process of marsh soil by affecting denitrification reductase activity, resulting in increased N_2O emissions, thus the function of nitrogen source or sink in wetland and global climate will be changed. This study provides a theoretical basis for the assessment of environmental risks of TiO_2NPs input in wetland.

Key Words: titanium dioxide nanoparticles; denitrification; N_2O emissions; enzyme activity; marsh

氮素是许多生物体生长的关键营养元素,也是湿地土壤重要养分^[1]。氮循环是影响湿地生态系统生产力和可持续性的重要营养循环^[2]。反硝化作用是由许多厌氧或低氧条件下微生物参与的将 NO_3^--N 连续还原为 NO_2^--N 、一氧化氮(NO)、 N_2O 和氮气(N_2)的过程^[3-4],其作为氮循环重要组成部分,由 NAR、NIR、NOR 和 NOS 催化的生物还原反应组成^[5]。反硝化过程中排放的 N_2O 气体是重要温室气体之一^[6],其全球变暖潜力是二氧化碳的 300 倍^[7],所以研究湿地土壤反硝化过程,对全球气候变化研究具有重要意义^[8]。

随着纳米技术的快速发展, TiO_2NPs 被广泛应用于催化剂、废水处理和化妆品等方面^[9],这将不可避免地导致其在环境中释放和积累^[10]。由于湿地处于地势较低的汇水环境, TiO_2NPs 随水流迁移进入湿地,并在湿地土壤中积累。在我国长江、黄河、珠江等流域的沉积物中均检测到 TiO_2NPs ^[11]。 TiO_2NPs 在湿地土壤中累积,不仅造成一系列潜在的生态和健康风险问题^[12],同时也会影响土壤微生物和酶活性,从而改变氮循环过程^[13]。Li 等^[14]研究表明,在好氧条件下,25 mg/L TiO_2NPs 处理会抑制反硝化假单胞菌属,而 50 mg/L TiO_2NPs 处理则促进反硝化假单胞菌属。Yang 等^[15]研究表明,长期暴露于 TiO_2NPs ,会降低氮代谢途径和糖酵解代谢过程中功能基因和酶编码基因的相对丰度,导致反硝化速率降低。石清清等^[16]研究发现,0.5 g/kg TiO_2NPs 处理抑制硝酸盐还原酶活性,影响了 NO_3^--N 还原为 NO_2^--N 的过程。目前 TiO_2NPs 的生物毒理学研究受到广泛关注,而关于 TiO_2NPs 输入对湿地土壤氮转化过程的影响研究鲜见报道。因此,本文选择高原典型沼泽土壤,研究 TiO_2NPs 对沼泽土壤理化性质、反硝化酶活性、DNR 和 N_2O 排放的影响,探讨 TiO_2NPs 对沼泽土壤反硝化作用和 N_2O 排放的影响及内在机制,以期对 TiO_2NPs 输入的湿地环境风险评估研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 TiO_2NPs 材料及预处理

本研究选取的 TiO_2NPs 为锐钛矿(Anatase),纯度为 99.8%,粒径为 10—25 nm,亲水,购于阿拉丁试剂官

网。为了防止聚集,将配好溶液放置超声波(200V,50 kHz)超声 30 min。

1.2 土壤样品采样与预处理

2017 年 7 月,在纳帕海国际重要湿地内(99°37'10.6"—99°40'20.0"E,27°48'55.6"—27°54'28.0"N)内选择典型沼泽土壤。用直径 5 cm 的土钻随机采集 0—10 cm 的土壤,剔除土壤中可见的石块和动植物残体后,装进自封袋,带回实验室经风干、均质化、研磨后过 2 mm 筛,用于室内培养实验。

1.3 培养实验

称取 100 g 干土于 500 mL 具塞玻璃三角瓶中,先用灭菌超纯水调节土壤含水量至田间持水量的 40%,盖上橡皮塞,放入恒温培养箱 25 °C 下黑暗、活化培养 5 d。活化培养结束后,将不同剂量 TiO_2NPs 溶液(CK、A10、A100、A1000)分别均匀加入三角瓶中,为了防止 TiO_2NPs 溶液聚集,添加 TiO_2NPs 溶液过程中不断用磁力搅拌器搅拌,最后,调节土壤含水量至田间持水量的 70%。将处理好的样品放入 25 °C 恒温培养箱中黑暗、避光培养。实验设置 3 个平行,共 36 个样品。用差重法定期补充水分。根据 TiO_2NPs 的慢性毒性,分别在培养第 7、14、35 天进行破坏性取样,土壤样品部分保存于 4 °C 冰箱,用于测定铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、反硝化酶活性、 N_2O 通量和 DNR;另一部分风干保存于自封袋,用于测定土壤 pH 值、总氮(TN)、TOC。

1.4 样品测定

土壤 pH 值采用 pH 计(STARTER 300)测定;土壤 TOC 含量采用总有机碳分析仪(德国元素 Vario)测定;土壤 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量, NAR 和 NIR 活性,使用连续流动分析仪(SKALAR San++, Sklar Co, Netherlands)测定;土壤 NOR 和 NOS 活性使用一氧化氮酶联免疫分析试剂盒和氧化亚氮还原酶酶联免疫分析试剂盒测定; N_2O 通量使用超痕量 $\text{N}_2\text{O}/\text{CO}$ 分析仪($\text{N}_2\text{O}/\text{CO}$ LOS GATOS RESEARCH)测定,DNR 采用乙炔抑制法测定^[17]。(本实验所用仪器均属于西南林业大学大型仪器共享平台)

2 数据统计

实验数据运用 SPSS 25 软件统计分析,采用单因素方差分析不同剂量 TiO_2NPs 处理对沼泽土壤理化性质、反硝化酶活性、DNR 和 N_2O 排放的影响($P<0.05$)。采用 Pearson 分析 TiO_2NPs 处理下沼泽湿地土壤理化性质、反硝化酶活性和 DNR、 N_2O 排放相关关系。使用 Amos 24 构建 TiO_2NPs 处理对 DNR 和 N_2O 排放影响的结构方程模型。图件制作采用 Origin 2018 软件。

3 结果与分析

3.1 TiO_2NPs 对沼泽土壤理化性质的影响

TiO_2NPs 对沼泽土壤理化性质影响详见表 1,培养 7 d,A1000 处理 pH、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著降低($P<0.05$)。A10 处理 TOC 含量显著降低($P<0.01$)。培养 14 d,不同剂量 TiO_2NPs 处理 pH 均显著降低($P<0.01$),A100 处理 TN 含量降低;培养 35 d,A10 和 A100 处理 TOC 含量显著降低($P<0.01$),A1000 处理 pH、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量显著降低($P<0.05$)。

随着培养时间的延长,A10 和 A100 处理 pH 先降低后增加($P<0.01$);A1000 处理 TN 先增加后降低($P<0.05$);A10 处理 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量持续降低($P<0.01$);A10 和 A100 处理 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著增加($P<0.01$);CK、A100 和 A1000 处理 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著降低($P<0.01$)。

3.2 TiO_2NPs 对沼泽土壤反硝化酶活性的影响

TiO_2NPs 对沼泽土壤反硝化酶活性影响详见图 1,培养 14 d,A1000 处理 NIR 活性显著降低($P<0.05$);培养 35 d,A10 和 A1000 处理 NAR 活性显著降低($P<0.01$)。培养 7 d,A1000 处理 NIR 活性显著增加($P<0.05$);培养 14 d,A1000 处理 NIR 活性显著降低($P<0.01$)。在整个培养周期, TiO_2NPs 处理 NOR 活性均显著增加($P<0.01$)。除 14 d A100 处理外, TiO_2NPs 处理 NOS 活性均显著增加($P<0.01$)。

表 1 TiO₂NPs 处理对沼泽土壤理化性质影响

Table 1 The effect of TiO₂NPs addition on physicochemical properties of marsh soil

	天数 Time/d	pH	总有机碳 Total organic carbon/(g/kg)	总氮 Total nitrogen/ (g/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen/ (mg/kg)	亚硝态氮 Nitrite nitrogen/ (mg/kg)
CK	7	7.47±0.04Aa	83.10±1.29Aa	5.93±0.04Aa	57.04±3.68Aab	9.81±2.57Aa	0.75±0.09Aa
	14	7.40±0.05Aa	82.91±4.93Aa	5.26±0.08ABa	48.96±3.37Aa	1.05±0.08Ab	0.55±0.10Aa
	35	7.43±0.04ABa	87.23±0.67Aa	4.13±0.01Aa	82.66±4.56Ab	2.91±0.84Ab	0.52±0.05Aa
A10	7	7.44±0.03ABa	67.16±2.30Ba	5.48±0.28Aa	52.91±2.48ABa	16.33±3.68Aa	0.72±0.04Aa
	14	7.28±0.02Bb	72.98±5.97Aa	5.06±0.25ABa	57.06±3.36Aa	1.03±0.17Aa	0.54±0.02Ab
	35	7.48±0.06Aa	75.01±2.99Ba	5.08±0.23Aa	78.40±2.51Ab	2.69±0.17Aa	0.33±0.08ABc
A100	7	7.41±0.04ABa	82.12±1.35Aa	5.47±0.05Aa	54.75±3.05Aa	11.41±0.95Aa	0.66±0.08Aa
	14	7.31±0.05Bb	81.70±2.28Aa	4.47±0.36Ba	39.84±4.12Aa	1.11±0.26Ab	0.43±0.03Aa
	35	7.42±0.02ABa	84.00±1.42Bb	4.14±0.27Aa	75.45±1.45ABb	2.22±0.19Ab	0.49±0.05Aa
A1000	7	7.39±0.06Ba	81.52±9.99Aa	4.57±0.15Ab	40.36±5.83Ba	7.04±1.24Aa	0.51±0.11Aa
	14	7.28±0.02Ba	80.61±2.46Aa	5.81±0.16Aa	45.83±1.55Aa	1.23±0.06Ab	0.47±0.06Aa
	35	7.35±0.03Ba	87.05±5.03Aa	3.50±0.17Ac	52.49±4.13Ba	2.98±1.07Ab	0.26±0.03Ba

表中数据为平均值±标准差(n=3),同一列中,大写字母代表不同浓度处理之间差异显著,小写字母代表培养时间之间差异显著(P<0.05);其中,不同剂量 CK;0 mg/kg;A10;10 mg/kg;A100;100 mg/kg;A1000;1000 mg/kg

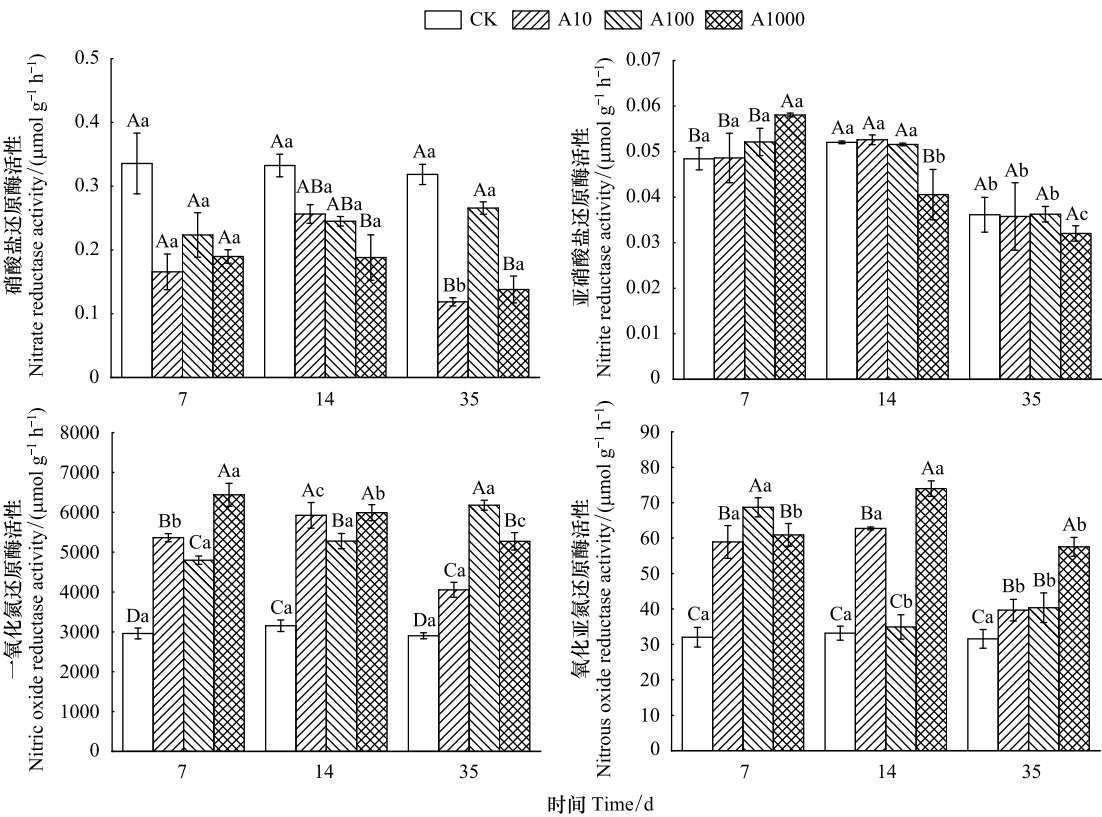


图 1 TiO₂NPs 处理对沼泽土壤 NAR 活性、NIR 活性、NOR 活性和 NOS 活性的影响

Fig.1 The effect of TiO₂NPs addition on Nitrate reductase activity, Nitrite reductase activity, Nitric oxide reductase activity and Nitrous oxide reductase of marsh soil

NAR: 硝酸盐还原酶 Nitrate reductase; NIR: 亚硝酸盐还原酶 Nitrite reductase; NOR: 一氧化氮还原酶 Nitric oxide reductase; NOS: 氧化亚氮还原酶 Nitrous oxide reductase; CK; 0 mg/kg; A10; 10 mg/kg; A100; 100 mg/kg; A1000; 1000 mg/kg

随着培养时间的延长,A10 处理 NAR 活性降低。不同剂量 TiO₂NP_s 处理的 NIR 活性总体呈下降趋势 ($P<0.01$)。A10 和 A1000 处理 NOR 活性呈下降趋势 ($P<0.01$)。A10 和 A1000 处理 NOS 活性先增加后降低,A100 处理 NOS 活性降低 ($P<0.01$)。

3.3 TiO₂NP_s 对沼泽土壤 DNR 和 N₂O 通量的影响

TiO₂NP_s 对沼泽土壤 DNR 和 N₂O 通量的变化的影响详见图 2。培养 14 d,A1000 处理 DNR 显著降低 ($P<0.05$);培养 35 d,A100 处理 DNR 显著降低 ($P<0.01$)。培养 7 d,A10 和 A1000 处理 N₂O 通量显著提高 ($P<0.01$);培养 35 d,A100 和 A1000 处理 N₂O 通量显著提高 ($P<0.01$)。随着培养时间的延长,A100 处理 DNR 先增加后降低 ($P<0.05$)。A100 处理 N₂O 通量不断增加 ($P<0.01$)。

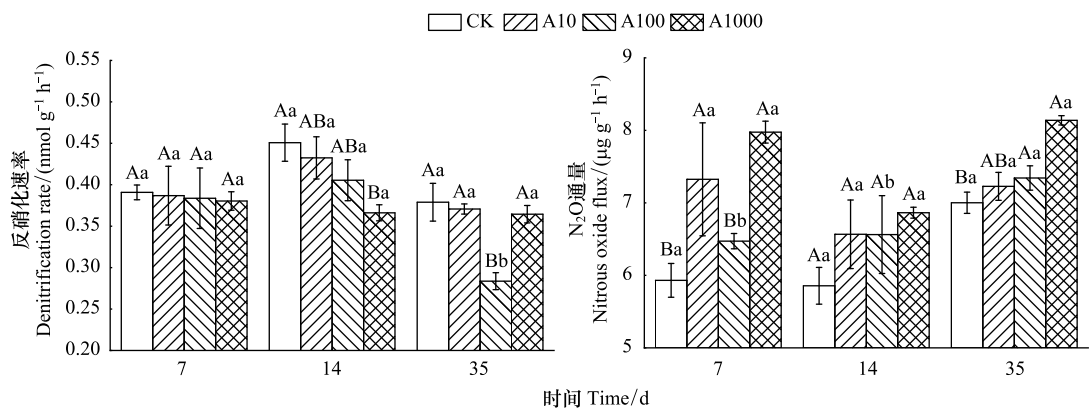


图 2 TiO₂NP_s 处理对沼泽土壤 DNR 和 N₂O 通量的影响

Fig.2 The effect of TiO₂NP_s addition on DNR and N₂O flux of marsh soil

3.4 TiO₂NP_s 处理下沼泽土壤反硝化作用与土壤环境的关系

沼泽土壤 DNR 与 NIR 活性呈显著正相关 ($P<0.01$);N₂O 排放与 NOR 活性呈显著正相关 ($P<0.01$),与 TN、NO₂⁻-N 含量 ($P<0.01$) 和 NAR 活性 ($P<0.05$) 呈显著负相关 (表 2)。

结构方程分析表明,TiO₂NP_s 处理下土壤环境与反硝化作用之间存在联系,NIR 活性、TN、NO₂⁻-N 含量和 NOR 活性对 DNR 有显著的直接影响;TN、NOR 活性和 NIR 活性对 N₂O 的排放有显著的直接影响 (图 3)。

表 2 TiO₂NP_s 处理下沼泽土壤反硝化作用和 N₂O 排放与土壤环境的关系

Table 2 The relationships between nitrogen denitrification, N ₂ O emissions and environmental factors of marsh soil with TiO ₂ NP _s addition					
指标 Index	反硝化速率 Denitrification rate	N ₂ O 通量 Nitrous oxide flux	指标 Index	反硝化速率 Denitrification rate	N ₂ O 通量 Nitrous oxide flux
pH	-0.16	-0.01	亚硝态氮 Nitrite nitrogen	0.00	-0.47 **
总有机碳 Total organic carbon	0.18	-0.13	硝酸盐还原酶 Nitrate reductase	0.26	-0.40 *
总氮 Total nitrogen	0.31	-0.43 **	亚硝酸盐还原酶 Nitrite reductase	0.43 **	-0.32
铵态氮 Ammonium nitrogen	0.15	-0.10	一氧化氮还原酶 Nitric oxide reductase	-0.27	0.44 **
硝态氮 Nitrate nitrogen	0.30	0.05	氧化亚氮还原酶 Nitrous oxide reductase	-0.01	0.24

* * 表示差异显著, ** 表示差异极显著

4 讨论

4.1 TiO₂NP_s 对沼泽土壤反硝化酶活性的影响分析

反硝化酶作为反硝化作用的重要驱动因素^[18],其活性的变化会直接影响反硝化过程。本研究中,TiO₂NP_s 处理降低了 NAR 活性,影响了 NO₃⁻-N 还原为 NO₂⁻-N 的过程。并且随着培养时间的延长,TiO₂NP_s 处理对 NAR 活性的抑制作用增强,这可能是 TiO₂NP_s 处理改变了微生物群落组成,导致相关微生物基因丰度降低,

从而抑制了 NAR 活性^[19]。因为 TiO_2NPs 可以产生具有很强化学活性的氧自由基和氢氧自由基^[20], 这些自由基能与有机物反应, 使其降解成二氧化碳和水, 而微生物基本由有机物构成^[21], 所以 TiO_2NPs 极易影响微生物群落组成^[9]。关于 TiO_2NPs 对微生物群落组成的影响, 有待深入研究。

本研究发现, 培养 14d, A1000 处理 NIR 活性显著降低。这是因为 TiO_2NPs 处理降低了 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量, 而且 NAR 活性也受到抑制, 导致 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 向 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 转化速率降低, 参与反应的底物减少, 从而抑制了 NIR 活性。这表明 TiO_2NPs 处理抑制 NIR 活性, 影响了 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 还原为 NO 的过程。整个培养周期中, TiO_2NPs 处理对 NAR 的抑制作用都显著高于对 NIR 的抑制作用, 说明 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 生成速率大于 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 还原速率, TiO_2NPs 处理将会降低沼泽土壤环境中氮去除能力, 导致沼泽土壤中 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累, 从而对湿地生物产生毒性效应^[22]。本研究发现, TiO_2NPs 处理显著提高了 NOR 和 NOS 活性, 这可能是由于 TiO_2NPs 处理对 NOR 和 NOS 相关菌属没有产生毒性抑制作用, 反而激发了其活性, 从而提高 NOR 和 NOS 活性。有研究表明, NAR 和 NOR 稳定地嵌入膜内, 而 NIR 和 NOS 则自由分布于膜周, 与 NAR 和 NOR 相比, NIR 和 NOS 的活性更容易受到影响^[23]。在本研究中发现 TiO_2NPs 处理对四种酶活性均产生了影响, 且 NOR 比 NOS 对 TiO_2NPs 处理更敏感, 这可能是 TiO_2NPs 对沼泽土壤微生物群落组成的影响具有选择性^[24]。

4.2 TiO_2NPs 对沼泽土壤 DNR 及 N_2O 排放的影响分析

本研究发现, TiO_2NPs 处理下 DNR 与 NIR 活性呈显著正相关。反硝化作用过程 45.5% 以亚硝酸盐为电子受体^[25], 亚硝酸盐转化为一氧化氮的过程, 是反硝化过程中重要的限速步骤^[26-27]。 TiO_2NPs 处理降低了 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量, 导致底物减少, NIR 活性降低, 抑制了亚硝酸盐向一氧化氮的转化, 从而降低土壤 DNR。说明 TiO_2NPs 处理下 NIR 活性是影响 DNR 的重要因素, 这与 Tatti 等^[28]的研究结果一致。 N_2O 是反硝化过程的中间产物, 反硝化酶活性的变化会直接影响 N_2O 的排放^[29]。本研究发现, TiO_2NPs 处理促进 N_2O 排放, NOR 活性远高于其它酶活性, 这说明 N_2O 的生产速率远远高于还原速率, N_2O 排放的增加可能直接受 NOR 活性增强的影响, TiO_2NPs 处理主要影响了 NO 还原为 N_2O 的过程。研究表明 N_2O 排放增加是由于硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶以及一氧化氮还原酶的产生速度较快, 而氧化亚氮还原酶的产生较慢, 从而导致了大量的 N_2O 产生^[30], 酶活性是影响 N_2O 排放的重要因素^[31]。微生物反硝化反应是酶介导的生化过程, 反硝化酶活性是调节生化还原的直接因素^[32], 之前相关研究也证实这种生化反应主要受酶活性控制, 而不是基因丰度^[6,23]。因此, 本研究结果证实了 TiO_2NPs 处理下 NOR 活性控制着沼泽土壤 N_2O 的排放。

5 结论

本研究采用室内培养实验, 研究了 TiO_2NPs 输入对沼泽土壤反硝化作用和 N_2O 排放的影响, 结果表明不同剂量 TiO_2NPs 处理会对沼泽土壤反硝化作用和 N_2O 排放影响。

(1) 不同剂量 TiO_2NPs 处理导致沼泽土壤 pH 显著降低 ($P < 0.05$); A10 处理 TOC 含量显著降低 ($P < 0.01$); A1000 处理 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量显著降低 ($P < 0.05$)。

(2) TiO_2NPs 处理抑制了 NAR 活性, 其中 A10 和 A1000 处理 NAR 活性显著降低 ($P < 0.01$); A1000 处理

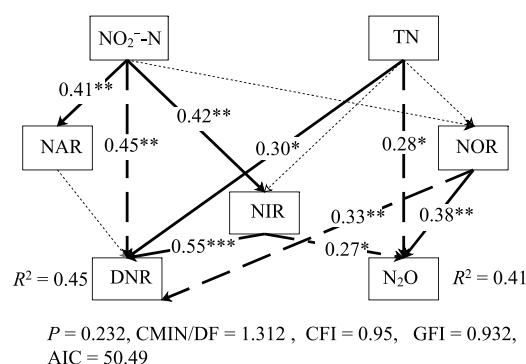


图3 TiO_2NPs 处理对沼泽土壤 DNR 和 N_2O 排放的影响机制分析

Fig.3 Analysis of the influence mechanism of TiO_2NPs addition on DNR and N_2O emissions of marsh soil

其拟合指标选取概率值 (P)、卡方自由度比 (CMIN/DF)、比较拟合指数 (CFI)、拟合度指数 (GFI) 及综合拟合指标 (AIC); 黑色粗实线代表正向影响, 黑色粗虚线代表负面影响, 灰色细虚线代表无显著影响; * 为 $P < 0.05$, ** 为 $P < 0.01$, *** 为 $P < 0.001$

抑制了 NIR 活性 ($P < 0.05$), 但随着培养时间的延长, TiO_2NPs 抑制作用减弱; 不同剂量 TiO_2NPs 处理 NOR 和 NOS 活性显著提高 ($P < 0.01$)。

(3) DNR 与 NIR 活性呈显著正相关 ($P < 0.01$), N_2O 排放与 NOR 活性呈显著正相关 ($P < 0.01$), TiO_2NPs 输入通过抑制沼泽土壤 NIR 活性降低 DNR; 通过促进沼泽土壤 NOR 活性促进 N_2O 排放。酶活性的变化影响了土壤反硝化过程, 环境因子的变化在调控沼泽生态系统功能中具有重要的作用, TiO_2NPs 在环境中的大量释放可能对水环境和区域气候构成潜在威胁。

参考文献 (References):

- [1] 张剑, 宿力, 王利平, 包雅兰, 陆静雯, 高雪莉, 陈涛, 曹建军. 植被盖度对土壤碳、氮、磷生态化学计量比的影响——以敦煌阳关湿地为例. 生态学报, 2019, 39(2): 580-589.
- [2] Van den Elzen E, Van den Berg L J L, Van der Weijden B, Fritz C, Sheppard L J, Lamers L P M. Effects of airborne ammonium and nitrate pollution strongly differ in peat bogs, but symbiotic nitrogen fixation remains unaffected. Science of the Total Environment, 2018, 610-611: 732-740.
- [3] Jiang M, Zheng X, Chen Y G. Enhancement of denitrification performance with reduction of nitrite accumulation and N_2O emission by *Shewanella oneidensis* MR-1 in microbial denitrifying process. Water Research, 2020, 169: 115242.
- [4] 陈淋鹏, 黄福杨, 张冲, 刘菲, 郎杭. 诺氟沙星对地下水中反硝化过程的影响: 反硝化酶活性的证据. 环境科学学报, 2020, 40(7): 2496-2501.
- [5] 刘杰云, 邱虎森, 王聪, 沈健林, 吴金水. 生物质炭对双季稻田土壤反硝化功能微生物的影响. 环境科学, 2019, 40(5): 2394-2403.
- [6] Chen H B, Du M Y, Wang D B, Zhou Y Y, Zeng L, Yang X. Influence of chlortetracycline as an antibiotic residue on nitrous oxide emissions from wastewater treatment. Bioresource Technology, 2020, 313: 123696.
- [7] 郭慧楠, 马丽娟, 黄志杰, 李美琪, 侯振安, 闵伟. 咸水滴灌对棉田土壤 N_2O 排放和反硝化细菌群落结构的影响. 环境科学, 2020, 41(5): 2455-2467.
- [8] 王雪, 郭雪莲, 郑荣波, 王山峰, 刘双圆, 田伟. 放牧对滇西北高原纳帕海沼泽化草甸湿地土壤氮转化的影响. 生态学报, 2018, 38(7): 2308-2314.
- [9] Kizildag N, Cenkseven S, Koca F D, Saglikler H A, Darici C. How titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles do affect soil microorganism activity? European Journal of Soil Biology, 2019, 91: 18-24.
- [10] He J Z, Wang D J, Zhou D M. Transport and retention of silver nanoparticles in soil: Effects of input concentration, particle size and surface coating. Science of the Total Environment, 2019, 648: 102-108.
- [11] 秦玉坤. 河口水环境中纳米二氧化钛与其氧缺失形态对微生物的生态毒理[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- [12] 肖君, 黄娟, 彭程, 曹冲, 闫春妮. 人工湿地土壤酶活性对纳米银颗粒的动态响应. 东南大学学报: 自然科学版, 2019, 49(1): 178-185.
- [13] 范峰华, 郑荣波, 郭雪莲, 方昕, 付倩, 刘爽. 二氧化钛纳米颗粒对湖滨沼泽土壤氮矿化的影响. 环境科学学报, 2020, 40(6): 2220-2228.
- [14] Li D P, Li B, Wang Q R, Hou N, Li C Y, Cheng X S. Toxicity of TiO_2 nanoparticle to denitrifying strain CFY1 and the impact on microbial community structures in activated sludge. Chemosphere, 2016, 144: 1334-1341.
- [15] Yang X Y, Chen Y, Guo F C, Liu X B, Su X X, He Q. Metagenomic analysis of the biotoxicity of titanium dioxide nanoparticles to microbial nitrogen transformation in constructed wetlands. Journal of Hazardous Materials, 2020, 384: 121376.
- [16] 石清清, 邓代莉, 颜椿, 蒲生彦. 纳米金属氧化物对土壤酶活性的影响研究进展. 生态毒理学报, 2018, 13(2): 47-56.
- [17] 刘晴晴, 曾从盛, 张林海, 高灯州. 氮输入条件下闽江河口沼泽土壤的反硝化速率. 湿地科学, 2016, 14(3): 361-367.
- [18] Chen Y, Su X X, Wang Y Y, Zhao S Y, He Q. Short-term responses of denitrification to chlorothalonil in riparian sediments: process, mechanism and implication. Chemical Engineering Journal, 2019, 358: 1390-1398.
- [19] Zou Y, Lin M X, Xiong W G, Wang M, Zhang J X, Wang M Z, Sun Y X. Metagenomic insights into the effect of oxytetracycline on microbial structures, functions and functional genes in sediment denitrification. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 161: 85-91.
- [20] 刘启明, 李瑶, 葛健, 焦玉佩, 刘柳清. 纳米 TiO_2 和 ZnO 颗粒对红壤理化性质的影响. 地球与环境, 2019, 47(3): 380-384.
- [21] 尹勇. 三种金属氧化物纳米材料对水稻幼苗生长及根际微生物群落结构的影响[D]. 桂林: 广西师范大学, 2019.
- [22] Quick A M, Reeder W J, Farrell T B, Tonina D, Feris K P, Benner S G. Nitrous oxide from streams and rivers: a review of primary

- biogeochemical pathways and environmental variables. *Earth-Science Reviews*, 2019, 191: 224-262.
- [23] Su X X, Chen Y, Wang Y Y, Yang X Y, He Q. Impacts of chlorothalonil on denitrification and N_2O emission in riparian sediments: microbial metabolism mechanism. *Water Research*, 2019, 148: 188-197.
- [24] Asadishad B, Chahal S, Akbari A, Cianciarelli V, Azodi M, Ghoshal S, Tufenkji N. Amendment of agricultural soil with metal nanoparticles: effects on soil enzyme activity and microbial community composition. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(4): 1908-1918.
- [25] 李卫芬, 郑佳佳, 张小平, 邓斌. 反硝化酶及其环境影响因子的研究进展. *水生生物学报*, 2014, 38(1): 166-170.
- [26] Qin H L, Xing X Y, Tang Y F, Zhu B L, Wei X M, Chen X B, Liu Y. Soil moisture and activity of nitrite- and nitrous oxide- reducing microbes enhanced nitrous oxide emissions in fallow paddy soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2020, 56(1): 53-67.
- [27] Zheng X, Su Y L, Chen Y G, Wan R, Liu R, Li M, Yin D Q. Zinc oxide nanoparticles cause inhibition of microbial denitrification by affecting transcriptional regulation and enzyme activity. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(23): 13800-13807.
- [28] Tatti E, Goyer C, Burton D L, Wertz S, Zebarth B J, Chantigny M, Filion M. Tillage management and seasonal effects on denitrifier community abundance, gene expression and structure over winter. *Microbial Ecology*, 2015, 70(3): 795-808.
- [29] Hu X B, Wang Y Y, Su X X, Chen Y. Acute response of soil denitrification and N_2O emissions to chlorothalonil: a comprehensive molecular mechanism. *Science of the Total Environment*, 2018, 636: 1408-1415.
- [30] 张文静. 水生植物对河流、湖泊氧化亚氮产生与排放的影响[D]. 上海: 上海大学, 2016.
- [31] 付倩, 郑荣波, 方昕, 郭雪莲. 增温和牦牛排泄物输入对沼泽土壤酶活性的影响. *生态学报*, 2020, 40(14): 5055-5062.
- [32] Xiong Z Q, Guo L D, Zhang Q F, Liu G H, Liu W Z. Edaphic conditions regulate denitrification directly and indirectly by altering denitrifier abundance in wetlands along the Han River, China. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(10): 5483-5491.