

内蒙古大克泊碱湖氮移除及其影响因素

刘佳敏, 孙小溪, 蒋宏忱

(中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室, 湖北 武汉 430078)

摘要: 为了研究碱湖 N_2O 释放速率及其对盐度与 pH 的响应, 选取内蒙古大克泊碱湖的五个沉积物样点, 采用 ^{15}N 同位素标记模拟实验, 研究反硝化和厌氧氨氧化的速率、相对比例和气体产生情况, 揭示高盐和高 pH 对碱湖氮移除的影响。发现大克泊湖潜在氮移除速率为 $0 \sim 16.06 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 潜在反硝化速率为 $0 \sim 12.62 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 潜在厌氧氨氧化速率为 $0 \sim 9.81 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$; 当盐度 $34.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 pH 10.22 时, 厌氧氨氧化对氮移除贡献较大, 达到 43.18% ~ 71.79%。反硝化过程气体产物以 N_2 为主, 几乎无 N_2O 气体释出。另外, 该区域潜在氮移除速率与 pH 呈正相关关系, 与 TOC 、 NO_3^- 、 HCO_3^- 呈负相关关系; 未发现氮移除速率与盐度之间的相关关系。因此, 在研究的碱湖中, 氮移除过程中主要为 N_2 排放, 而 N_2O 低于检测水平; 氮移除过程的影响因素复杂且不限于最主要的环境变量(盐度与 pH)。这些结果为研究湖泊 N_2O 排放提供了数据基础。

关键词: 氮移除; 速率; 盐度; pH; 同位素

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1008-858X(2021)04-0060-14

湖泊氮循环是全球氮循环重要的组成部分^[1-2]。在湖泊生态中, 氮移除主要通过三种方式: 随湖泊中生物的打捞而转移、以 $\text{N}_2/\text{N}_2\text{O}$ 等气体形式释出以及沉积至沉积物中被固定^[3]。通过氮移除, 可以达到修复或缓解湖泊等水体富营养化等环境问题, 因而湖泊生态中的氮移除途径开始引发广泛关注^[4-5]。

湖泊氮移除机制主要包括沉淀、生物吸收、沉积物反硝化和厌氧氨氧化^[6-8]。其中反硝化和厌氧氨氧化过程可通过释放出气体达成永久氮移除^[9-10]。反硝化作用被广泛认为是浅水湖泊的主要氮移除过程^[11], 该过程利用硝酸盐或亚硝酸盐作为末端电子受体, 逐步将氮氧化物还原成 N_2 , 同时会释放少量的 N_2O 气体^[4, 12]。厌氧氨氧化是另一关键氮移除过程, 该氮移除过程比反硝化更加高效, 且气体产物仅有 N_2 ^[13-15]。已有研究表明, 氧气、温度、电导率、盐度、pH 值等环境因子皆会影响氮移除过程^[10, 16]。反硝化反应一般发生在中等盐度($\sim 15 \text{ g/L}$), 当盐度达到 20 g/L

时, 反应开始受抑制^[17]; 盐度为 $\sim 9.1 \text{ g/L}$ 时, 近 50% 的厌氧氨氧化反应效能被抑制^[18]; 硝酸盐还原的最佳 pH 在 6.0 ~ 9.0 之间^[19], 在 pH 值为 11 时, 反硝化受到抑制^[20-21]; 厌氧氨氧化反应的最适 pH 值为 7.5 ~ 8.0^[22]。前人对高盐度和高 pH 环境下的氮移除反应都有不少报道^[17, 23-25], 但高盐度与高 pH 两个因素叠加如何影响氮移除过程, 我们仍知之甚少。

碱湖作为一种特殊的盐湖, 同时具有稳定的高 pH 和高浓度盐, 属于双重极端生态系统。碱湖广泛存在于干旱环境中, 湖水中的碳酸盐会随着高蒸发速率变得更加集中, 导致形成天然碳酸盐/碳酸氢盐缓冲系统, 使 pH 可以达到 11 甚至更高, 盐浓度不断升高直至饱和^[26]。在内蒙古地区碱湖广泛分布, 这些湖泊具有不同的盐度^[27-28]。本研究从内蒙古高原大克泊碱湖中选取五个不同盐度/pH 的样点, 采用 ^{15}N 标记实验, 模拟研究盐碱湖氮移除过程中的 N_2O 释放速率及其对高盐、高 pH 条件的响应。

收稿日期: 2020-11-17; 修回日期: 2020-12-09

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划重点项目(91751206)

作者简介: 刘佳敏(1995-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向极端环境地质微生物学。

通信作者: 蒋宏忱(1977-), 男, 博士, 教授, 主要从事盐湖微生物学研究工作。Email: jiangh@cug.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

内蒙古高原富含碱湖资源^[27],整体属于高原型地貌。此区域有降水量少而不匀、风大、寒暑变化剧烈的特点。本文选取内蒙古高原大克泊湖中五个盐度呈梯度且拥有不同 pH 的样点作为研究对象,按照采样顺序将其编号为 HL1、HL2、HL3、HL4、HL5。

1.2 样品采集

采样时间为 2019 年 7 月中旬。野外使用 GPS 仪(eTrex,美国)定位湖泊地理坐标;使用 SX 711 型便携式 pH 计测试湖水 pH 值;湖水可溶性无机碳(DIC, Dissolved Inorganic Carbon)样品的采集使用经马弗炉灼烧(450 °C, 5 h)去除有机物的 0.7 μm 玻璃纤维滤膜(Whatman, 英国)过滤 50 mL 至同样经过马弗炉灼烧的棕色玻璃瓶,加氯化汞,于干冰箱中保存,运送回室内后置于 4 °C 冰箱保存至后续实验。五个样点均采集近岸(距离岸边约 10 m)的表层湖水(0 ~ 10 cm)和表层沉积物(0 ~ 10 cm)。水样装于无菌塑料桶密封。沉积物样品使用无菌铲子采集,装于无菌自封袋中除去空气密封保存,回到室内后立即置于 4 °C 冰箱保存。

1.3 室内地化指标测试

孔隙水阴阳离子(其中包括孔隙水 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 Br^-)浓度使用 Dionex DX-600 型离子色谱(Thermo Fisher Scientific Inc, 美国)测试;沉积物中总有机碳(TOC, Total Organic Carbon)含量使用 N/C 2100S analyzer 仪器(Aanalytik Jena, 美国)测试,TOC 测试之前需将沉积物用 1 N HCl 进行酸化处理,保证沉积物中的碳酸盐被去除,随后用去离子水多次冲洗去除氯离子,再将 pH 调至中性,于 65 °C 下烘干并研磨为粉末。DIC 使用硫酸滴定的双指示剂(酚酞—甲基橙)中和法测试。湖水 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+ 、总磷(TP, Total Phosphorus)、总 Fe 等值使用分光光度法测试。

1.4 氮同位素标记实验

1) 预培养实验

将每份表层沉积物 40 mL 分装入 500 mL 蓝盖瓶,加入 280 mL 过滤灭菌的原位湖水,制成 1:7 的泥浆混合物,过 100 目已灭菌的筛子滤去砂石和草根使泥浆更加均匀。随后氮气曝气约 30 min,直至泥浆达到无氧状态。使用无菌注射器将混匀的泥浆分装至 12 mL 气密小管(Exetainers, Labco),立即密封,每个样点共分装 24 小瓶。随后所有的样品置于暗处原位温度下预培养 24 ~ 48 h(根据不同样点本底 NO_3^- 消耗情况决定),以消耗尽本底 NO_3^- 。

2) 同位素标记实验

各样点的 24 根小管分别标为 a、b 及 c 三组。a 组 12 根,分为 t0、t1、t2、t3 四个实验时间点(t0 为起始时间,t1、t2、t3 分别为培养后 0.5 h、1 h 和 2 h),每组每个实验时间点设置 3 个技术重复,a 组用于计算潜在速率;b 组和 c 组各 6 根,只取 t0 和 t3 两个实验时间点,同样设置 3 组技术重复,用于验证厌氧氨氧化反应是否发生。于 t0 时间点在 a、b、c 三组小管中分别加入含 ^{15}N 的示踪剂,其中 a 组和 b 组分别加入 $^{15}\text{NO}_3^-$ (Sigma Aldrich, 98 % ^{15}N at%) 和 $^{15}\text{NH}_4^+$ (Sigma Aldrich, 98 % ^{15}N at%),使其在泥浆中的浓度均达到 $100 \mu\text{mol L}^{-1}$;c 组同时加入 $^{15}\text{NH}_4^+$ 和 $^{14}\text{NO}_3^-$,使各自浓度均为 $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ 。添加示踪剂后,立即摇匀泥浆开始时间序列培养。

在添加示踪剂后,马上于 a、b、c 三组各自标有 t0 的小管中加入 0.1 mL 饱和 HgCl_2 溶液杀死微生物,即终止培养。剩余小管置于暗处原位温度下培养,分别培养 0.5 h、1 h 和 2 h 后取出其中三根小管终止培养,作为 t1、t2 和 t3 时刻。三个实验组终止培养后的样品在暗处倒置保存,待上机测定各样品中 N_2 和 N_2O 的浓度与丰度。

1.5 同位素质谱测试

样品培养结束后的 $^{29}\text{N}_2$ 、 $^{30}\text{N}_2$ 、 $^{45}\text{N}_2\text{O}$ 和 $^{46}\text{N}_2\text{O}$ 利用同位素比值质谱仪(Thermo Finnigan Delta-plus Advantage IRMS)测定,该仪器进样前端同时配有 N_2 和 N_2O 富集装置、Gas-Bench II 和气相

色谱柱,仪器能同时测定样品中的 N_2 和 N_2O 。

样品中 $^{28}N_2$ 、 $^{29}N_2$ 、 $^{30}N_2$ 、 $^{44}N_2O$ 、 $^{45}N_2O$ 和 $^{46}N_2O$ 的量根据标准曲线计算得出。前端进样系统搭配有标准气体定量环,通过更换不同体积的定量环即可得到不同绝对量的 N_2 和 N_2O 。混合标准气体中 N_2 和 N_2O 的浓度分别为 $10\ 054 \times 10^{-6}$ 和 $1\ 026 \times 10^{-6}$,根据定量环体积可以计算出在理想状态下五种定量环中 $^{28}N_2$ 、 $^{29}N_2$ 、 $^{30}N_2$ 、 $^{44}N_2O$ 、 $^{45}N_2O$ 和 $^{46}N_2O$ 的绝对量,根据绝对量和质谱测定的峰面积即可做出标准曲线。

1.6 数据分析

1) 潜在氮移除速率计算

沉积物潜在反硝化和厌氧氨氧化速率根据同位素配对方法计算^[29],其中 b、c 组的计算结果用于验证厌氧氨氧化是否发生,a 组结果为反硝化和厌氧氨氧化的潜在速率。

考虑预培养及实验过程的不完全反应,此实验组样品培养结束后会同时存在 $^{15}NO_x^-$ 、 $^{14}NH_4^+$ 和可能残余的部分 $^{14}NO_x^-$,故培养后的可能产物有 $^{28}N_2$ 、 $^{29}N_2$ 、 $^{30}N_2$ 、 $^{44}N_2O$ 、 $^{45}N_2O$ 和 $^{46}N_2O$ 。其中假设反硝化过程通过随机同位素配对产生 N_2 和 N_2O ^[30],厌氧氨氧化过程分别利用 NO_x^- 和 NH_4^+ 中的氮原子产生 N_2 ^[31]。因此,反硝化会产生 $^{28}N_2$ 、 $^{29}N_2$ 、 $^{30}N_2$ 、 $^{44}N_2O$ 、 $^{45}N_2O$ 和 $^{46}N_2O$,而厌氧氨氧化只产生 $^{28}N_2$ 和 $^{29}N_2$ 。根据 $^{29}N_2$ 、 $^{30}N_2$ 、 $^{45}N_2O$ 和 $^{46}N_2O$ 的产生速率有下列公式(D_{total} 和 A_{total} 分别表示沉积物中潜在反硝化速率和潜在厌氧氨氧化速率; D_m 和 A_m 分别表示由反硝化和厌氧氨氧化过程产生的分子量为 m 的气体产生速率; P_m 表示培养样品中分子量为 m 的气体产生速率,其中 $D_{30}=P_{30}$, $D_{44}=P_{44}$, $D_{45}=P_{45}$, $D_{46}=P_{46}$; r_{14} 是培养样品中 $^{14}NO_x^-$ 和 $^{15}NO_x^-$ 的比值)。

$$2 \times (D_{28} + D_{29} + D_{44} + D_{30} + D_{45} + D_{46}) = D_{total} \quad (\text{eq. 1})$$

$$D_{28} = r_{14}^2 \times D_{30} \quad (\text{eq. 2})$$

$$D_{29} = 2 \times r_{14} \times D_{30} \quad (\text{eq. 3})$$

$$D_{44} = r_{14}^2 \times D_{46} \quad (\text{eq. 4})$$

$$A_{total} = 2 \times (A_{28} + A_{29}) \quad (\text{eq. 5})$$

$$A_{28} = r_{14} \times A_{29} \quad (\text{eq. 6})$$

$$A_{29} = P_{29} - D_{29} \quad (\text{eq. 7})$$

$$r_{14} = (1 - F_N)/F_N \quad (\text{eq. 8})$$

F_N 是培养样品 NO_x^- 中 ^{15}N 占比,通过下式计算得出($[^{15}NO_x^-]$ 为添加的示踪剂浓度, $[^{14}NO_x^-]$ 为预培养后测定的样品中残余浓度,0.98 为示踪剂中 ^{15}N 原子百分比)。

$$F_N = ([^{15}NO_x^-] \times 0.98) / ([^{15}NO_x^-] + [^{14}NO_x^-]) \quad (\text{eq. 9})$$

通过上述公式计算出培养样品中潜在反硝化速率(D_{total})、潜在厌氧氨氧化(A_{total})、反硝化过程产生的潜在 N_2 速率($D - N_2$)、潜在 N_2O 速率($D - N_2O$)以及潜在 N_2O 速率在反硝化过程产物中的占比($D - N_2O\%$)。

$$D_{total} = 2 \times \{ P_{30} \times F_N^{-2} [+ (1 - F_N)/F_N] 2 \times P_{46} + P_{45} + P_{46} \} \quad (\text{eq. 10})$$

$$A_{total} = 2 \times F_N^{-1} \times [P_{29} + 2 \times (1 - F_N^{-1}) \times P_{30}] \quad (\text{eq. 11})$$

$$[D - N_2O] = 2 \times \{ [(1 - F_N)/F_N] 2 \times P_{46} + P_{45} + P_{46} \} \quad (\text{eq. 12})$$

$$[D - N_2] = D_{total} - [D - N_2O] \quad (\text{eq. 13})$$

$$[D - N_2O\%] = 100 \times [D - N_2O] / D_{total} \quad (\text{eq. 14})$$

随后计算出沉积物中总的潜在氮移除速率(R_{total})及厌氧氨氧化速率在总氮移除速率中的占比(r_a)。

$$R_{total} = D_{total} + A_{total} \quad (\text{eq. 15})$$

$$r_a = 100 \times A_{total} / R_{total} \quad (\text{eq. 16})$$

2) 相关性分析

使用 R 语言“Hmisc”包作环境因子对氮移除及其具体途径的相关性热图,随后使用 Excel 2019、ORIGIN 2021 等软件分析重要环境因子和潜在氮移除速率、潜在反硝化速率、潜在厌氧氨氧化速率的相关关系。

2 结果分析

2.1 研究区理化性质

采样点基本地球化学参数见表 1,五个样点湖水的盐度范围为 $34.00\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 372.00\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 范围为 $8.17 \sim 10.40$ 。五个样点 pH 由低到高依次为 8.17 (HL1)、 9.22 (HL3)、 9.51 (HL2)、 10.22 (HL5) 和 10.40 (HL4);盐度从低到

高依次为 34.00 g · L⁻¹ (HL5)、110.00 g · L⁻¹ (HL2)、154.00 g · L⁻¹ (HL1)、202.00 g · L⁻¹ (HL3)和 372.00 g · L⁻¹ (HL4)。沉积物 TOC 含量 HL1 (2.05%)、HL3 (2.59%)、HL4 (1.87%)、HL5 (1.34%) 较高,HL2 (0.12%) 偏低。五个样点 TP 值均偏低。HL4 处水体 TIC 值最高,达到

12.51%,其中 CO₃²⁻ 浓度为 98 640.00 mg · L⁻¹, HCO₃⁻ 浓度为 26 474.00 mg · L⁻¹;其次是 HL3 和 HL1;较低的是 HL2 和 HL5。水体 NO₃⁻ 浓度、NO₂⁻ 浓度、NH₄⁺ 浓度、Fe 浓度及沉积物孔隙水中主要阴阳离子浓度均见表 1。

表 1 内蒙古大克泊湖采样点沉积物和水体的地球化学参数

Table 1 Geochemical parameters of sediments and waters collected from Habor Lake, Inner Mongolia

参数	HL1	HL2	HL3	HL4	HL5
湖 水					
位置(N/E)	39°24'58"/ 108°40'49"	39°29'08"/ 108°40'50"	39°25'18"/ 108°40'51"	39°25'16"/ 108°40'54"	39°11'25"/ 108°59'54"
盐度/(g · L ⁻¹)	154.00	110.00	202.00	372.00	34.00
pH	8.17	9.51	9.22	10.40	10.22
温度/℃	25.20	27.30	31.20	28.40	26.30
TIC/%	7.60	4.33	8.06	12.51	2.87
CO ₃ ²⁻ /(mg · L ⁻¹)	7 500.00	16 380.00	34 560.00	98 640.00	9 210.00
HCO ₃ ⁻ /(mg · L ⁻¹)	68 503.00	26 962.00	45 994.00	26 474.00	19 471.20
NO ₃ ⁻ /(mg · L ⁻¹)	1.83	1.52	2.40	1.45	1.55
NO ₂ ⁻ /(μg L ⁻¹)	0.00	0.00	0.00	0.83	0.21
NH ₄ ⁺ /(mg L ⁻¹)	0.23	0.23	0.21	2.06	1.65
TP/(mg · L ⁻¹)	8.90	3.87	0.76	0.09	3.77
Fe/(mg · L ⁻¹)	0.07	0.04	0.14	0.02	0.04
沉积物					
TOC/%	2.05	0.12	2.59	1.87	1.34
Na ⁺ /(mg · kg ⁻¹)	83 947.60	57 702.68	85 357.88	151 251.58	30 839.29
K ⁺ /(mg · kg ⁻¹)	11 127.79	6 805.02	8 458.83	9 997.52	939.17
Mg ²⁺ /(mg kg ⁻¹)	500.22	140.26	16.86	34.99	0.00
Cl ⁻ /(mg · kg ⁻¹)	86 496.98	62 266.70	78 068.44	152 418.49	17 582.52
SO ₄ ²⁻ /(mg · kg ⁻¹)	28 024.41	15 269.50	22 678.53	45 492.20	9 021.87
Br ⁻ /(mg · kg ⁻¹)	196.26	152.26	160.78	561.94	0.00

Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻、Br⁻为孔隙水离子浓度

2.2 研究区潜在氮移除速率

研究区潜在氮移除速率结果见表 2。潜在氮移除速率在样点 HL2(盐度为 110.00 g · L⁻¹, pH

为 9.51)处最大,其中 HL2-2 为 13.85 n mol N mL⁻¹h⁻¹,HL2-3 为 16.06 n mol N mL⁻¹h⁻¹;在样点 HL4(盐度为 372.00 g · L⁻¹, pH 为 10.40)和HL5(盐度为 34.00 g · L⁻¹, pH 为 10.22)中,

表 2 大克泊湖沉积物潜在氮移除速率、潜在反硝化速率、潜在厌氧氨氧化速率、潜在 N₂ 产生速率、潜在 N₂O 产生速率及厌氧氨氧化相对氮移除速率的贡献,N₂O 在反硝化气体产物中的占比

Table 2 Potential nitrogen removal rate,potential denitrification rate,potential anaerobic ammonia oxidation rate,potential N₂ production rate,potential N₂O production rate and relative nitrogen removal rate of anaerobic ammonia oxidation,N₂O% of denitrification gas products in Habor Lake sediments

样 点	氮移除速率 /(n mol N mL ⁻¹ h ⁻¹)	反硝化速率 /(n mol N mL ⁻¹ h ⁻¹)	厌氧氨氧化速率 /(n mol N mL ⁻¹ h ⁻¹)	厌氧氨氧化 相对贡献 /%	N ₂ 生成速率 /(n mol N mL ⁻¹ h ⁻¹)	N ₂ O 生成速率 /(n mol N mL ⁻¹ h ⁻¹)	N ₂ O 反硝化 产物占比 /%
HL1-1	0.30	0.30	0.00	0.00	0.00	0.30	100.00
HL1-2	0.00	0.00	0.00	/	0.00	0.00	/
HL1-3	2.52	0.00	2.52	100.00	2.52	0.00	/
HL2-1	样品缺失						
HL2-2	13.85	8.06	5.79	41.82	13.85	0.00	0.00
HL2-3	16.06	6.25	9.81	61.07	16.06	0.00	0.00
HL3-1	1.84	1.35	0.49	26.55	1.84	0.00	0.00
HL3-2	3.68	3.45	0.23	6.24	3.68	0.00	0.00
HL3-3	3.98	3.38	0.59	14.92	3.98	0.00	0.00
HL4-1	9.59	6.81	2.78	28.99	9.59	0.00	0.00
HL4-2	6.80	5.77	1.02	15.05	6.80	0.00	0.00
HL4-3	14.83	12.62	2.22	14.94	14.73	0.10	0.78
HL5-1	11.78	3.69	8.09	68.66	11.78	0.00	0.00
HL5-2	8.28	4.71	3.58	43.18	8.28	0.00	0.00
HL5-3	11.88	3.35	8.53	71.79	11.88	0.00	0.00

潜在氮移除速率其次;在样点 HL3 (盐度为 202.00 g · L⁻¹,pH 为 10.22) 及 HL1 (盐度为 154.00 g · L⁻¹,pH 为 8.17) 中,潜在氮移除速率最低。

模拟结果显示,厌氧氨氧化反应和反硝化反

应共同存在于该区域的氮移除过程中,它们的相对贡献在不同样点处存在差异。其中,反硝化反应的气体产物以 N₂为主,只有微量 N₂O 气体被检测到(在 HL1-1 和 HL4-3 处出现)。

表 3 验证组²⁹N 产生速率
Table 3 ²⁹N generation rate of validation group

验证组	HL1	HL2	HL3	HL4	HL5
b 组(¹⁵ NH ₄ ⁺)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
c 组(¹⁵ NH ₄ ⁺ + ¹⁴ NO ₃ ⁻)	0.00	0.32	0.00	0.01	1.55

表中单位均为 n mol N mL⁻¹h⁻¹

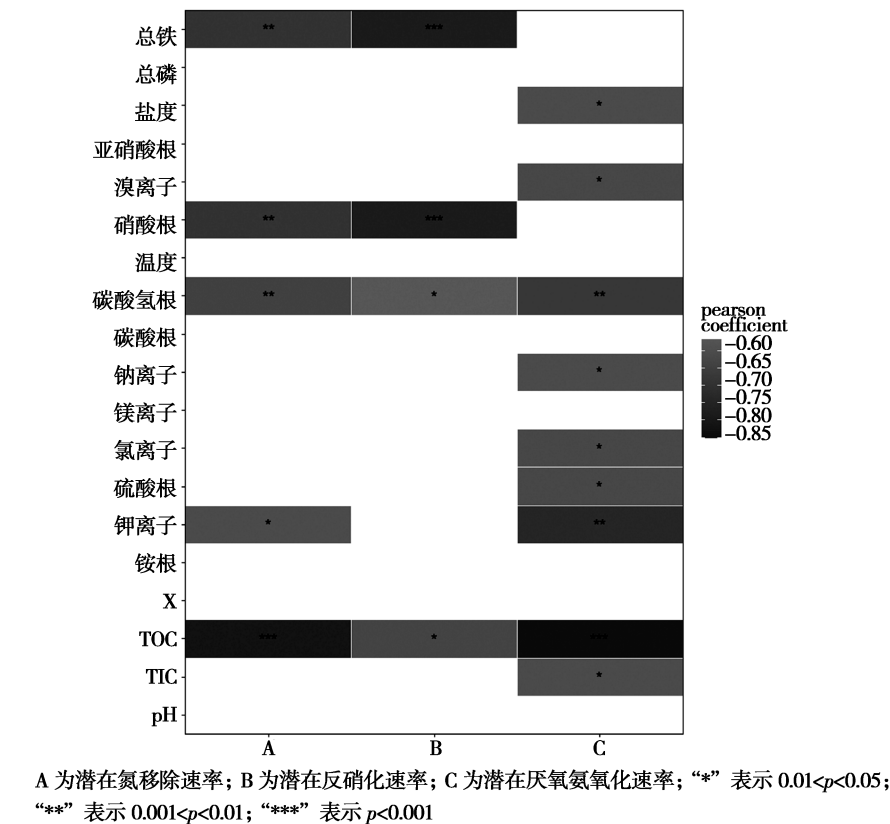


图 1 环境因子对潜在氮移除速率、潜在反硝化速率和潜在厌氧氨氧化速率的相关性

Fig. 1 Relative importance of environmental factors to potential nitrogen removal rate, potential denitrification rate and potential anammox rate

泥浆培养实验 a 组(添加 $^{15}\text{NO}_3^-$ 培养)实验显示,五个样点均有厌氧氨氧化过程存在,厌氧氨氧化速率大小为 $\text{HL5} > \text{HL2} > \text{HL4} > \text{HL3} > \text{HL1}$ (表 2)。泥浆培养实验 b 组(添加 $^{15}\text{NH}_4^+$ 培养)和 c 组(添加 $^{15}\text{NH}_4^+ + ^{14}\text{NO}_3^-$ 培养)实验通过 $^{29}\text{N}_2$ 的产率差异来验证厌氧氨氧化的发生。理论上,预培养后的 b 组样品缺乏底物 $^{14}\text{NO}_3^-$,添加 $^{15}\text{NH}_4^+$ 培养后不会产生 $^{29}\text{N}_2$;而 c 组样品引入 $100\ \mu\text{mol L}^{-1}$ 底物 $^{14}\text{NO}_3^-$,假设存在厌氧氨氧化过程,c 组样品培养后 $^{29}\text{N}_2$ 会显著增加。表 3 为各样点 3 个技术重复计算平均后得出的 b 组和 c 组 ^{29}N 产率,可以看出,b 组样品均无 ^{29}N 产生,而 c 组的 HL2、HL4、HL5 样品中 ^{29}N 产率明显。

2.3 研究区环境因子与潜在氮移除速率的关系

1)研究区理化因子与潜在氮移除速率的相关性

环境因子相对重要性结果显示(图 1),TOC 与潜在氮移除速率显著相关($p < 0.001$)(与潜在

反硝化速率和潜在厌氧氨氧化速率均相关); HCO_3^- 与潜在氮移除速率显著相关($p < 0.01$)(与潜在反硝化速率和潜在厌氧氨氧化速率均相关); NO_3^- 与潜在氮移除速率显著相关($p < 0.01$)(仅与潜在反硝化速率相关);Fe 与潜在氮移除速率显著相关($p < 0.01$)(仅与潜在反硝化速率显著相关); K^+ 与潜在氮移除速率显著相关($p < 0.5$)(仅与潜在厌氧氨氧化速率相关)。因此,分别就 TOC、 K^+ 、 HCO_3^- 、 NO_3^- 、Fe 等环境因子对潜在氮移除速率、潜在反硝化速率和潜在厌氧氨氧化速率的影响作一详细描述。

2)TOC、 NO_3^- 、 HCO_3^- 及 Fe 与潜在氮移除速率的关系

TOC、 NO_3^- 、 HCO_3^- 及 Fe 与潜在氮移除速率皆呈负相关关系($R_{\text{TOC}}^2 = 0.59, p < 0.001$; $R_{\text{NO}_3^-}^2 = 0.49, p < 0.01$; $R_{\text{HCO}_3^-}^2 = 0.70, p < 0.01$; $R_{\text{Fe}}^2 = 0.38, p < 0.01$)(图 2 ~ 图 5)。其中 TOC、 NO_3^- 、 HCO_3^- 和氮移除有着明显的线性关系。

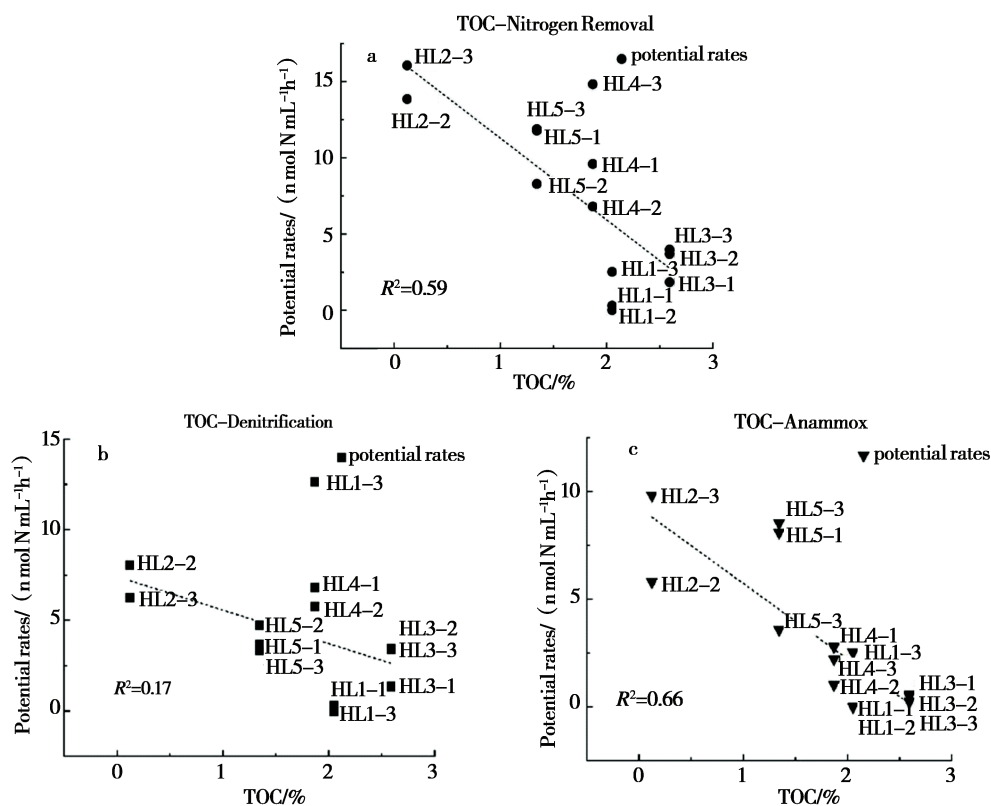


图 2 TOC 与潜在氮去除速率(a)、潜在反硝化速率(b)及潜在厌氧氨氧化速率(c)的相关性
Fig. 2 Correlations between TOC and potential nitrogen removal rate(a), potential denitrification rate (b) and potential anaerobic ammonia oxidation rate(c)

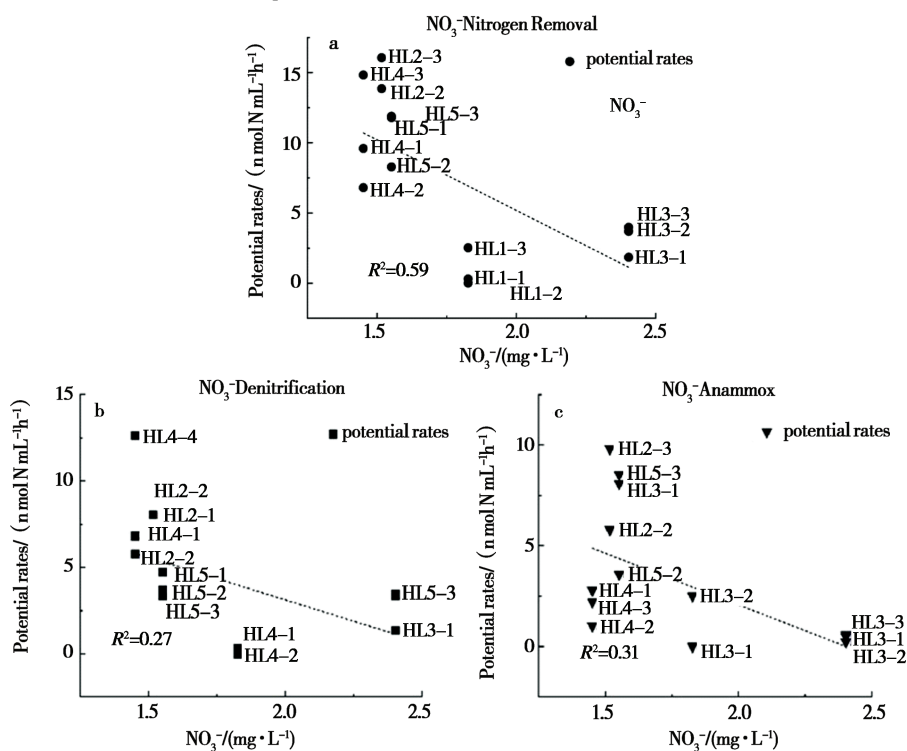


图 3 NO_3^- 与潜在氮去除速率(a)、潜在反硝化速率(b)及潜在厌氧氨氧化速率(c)的相关性
Fig. 3 Correlations between NO_3^- and potential nitrogen removal rate(a), potential denitrification rate (b) and potential anaerobic ammonia oxidation rate(c)

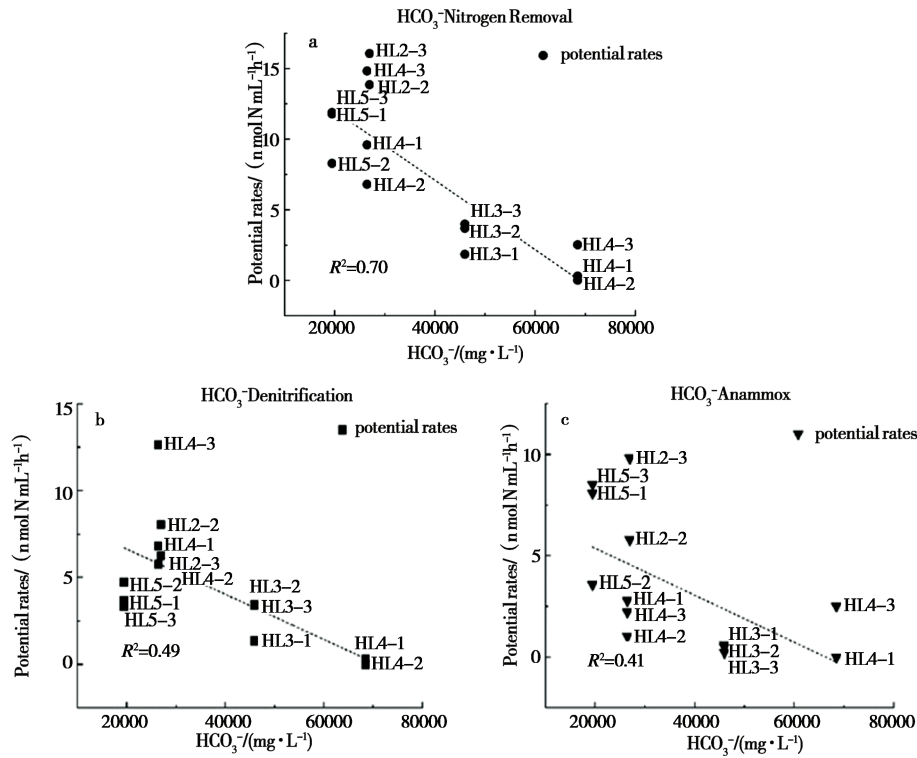


图4 HCO_3^- 与潜在氮移除速率(a)、潜在反硝化速率(b)及潜在厌氧氨氧化速率(c)的相关性

Fig. 4 Correlations between HCO_3^- and potential nitrogen removal rate(a), potential denitrification rate (b) and potential anaerobic ammonia oxidation rate(c)

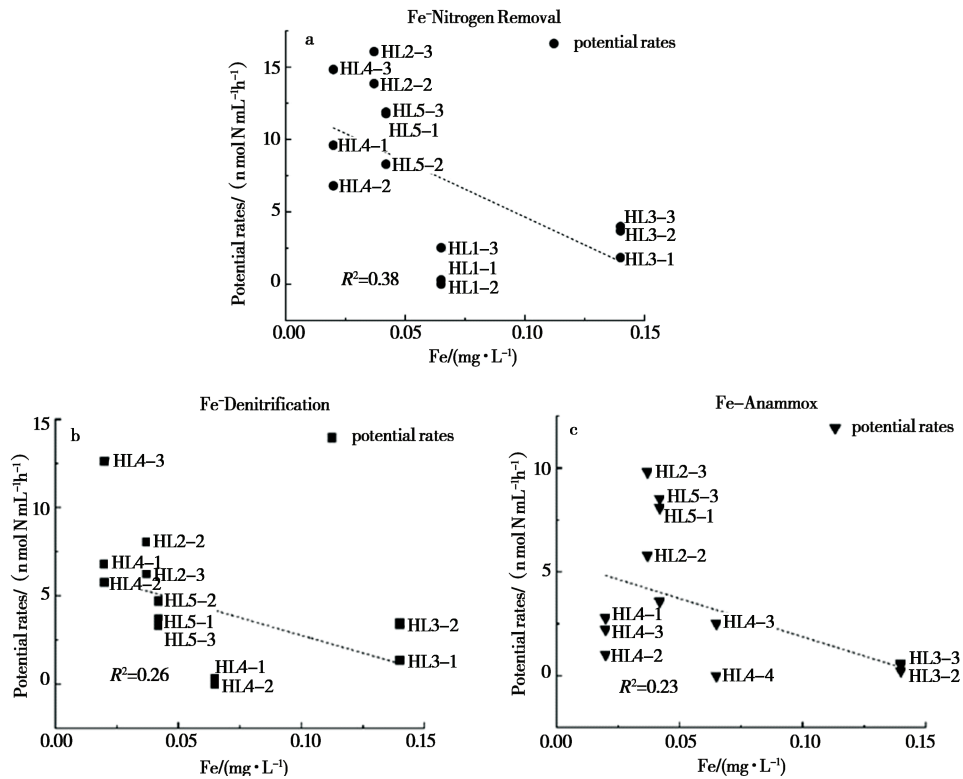


图5 Fe与(a)潜在氮移除速率、(b)潜在反硝化速率及(c)潜在厌氧氨氧化速率的关系

Fig. 5 The relationship between Fe and (a) potential nitrogen removal rate, (b) potential denitrification rate and (c) potential anaerobic ammonia oxidation rate

3 讨 论

3.1 潜在氮移除速率及厌氧氨氧化相对贡献

本研究使用 ^{15}N 标记技术,同时检测了反硝化和厌氧氨氧化两种氮移除过程的潜在速率和相对贡献。检测发现大克泊湖潜在反硝化速率为 $0 \sim 12.62 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$,潜在厌氧氨氧化速率为 $0 \sim 9.81 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。这一结果高于其它极端环境。前人研究显示,在极端环境(如高/低温水域、酸/碱性环境、富营养条件)下,厌氧氨氧化潜在速率为 $0.02 \sim 6.24 \text{ n mol N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ^[32]。本研究的速率结果也高于前人对水生态环境实际速率的统计值(反硝化速率范围为 $0.04 \sim 0.23 \text{ n mol N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 、厌氧氨氧化速率为 $0 \sim 0.04 \text{ n mol N g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)^[33-36]。

本研究在五个研究样点处均同时检测到反硝化和厌氧氨氧化过程。厌氧氨氧化过程不会产生 N_2O ,其氮移除方式比反硝化对环境更加友好。除 HL1(盐度为 $154.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 8.17)样点中只存在一种氮移除过程外,其它样点处的厌氧氨氧化贡献达到 6.24% ~ 71.79%,厌氧氨氧化是这一环境中重要的氮移除过程。近年来关于厌氧氨氧化的研究主要在海洋^[37-38]、河口^[39-40]、河流^[41]、湖泊^[35,42-43]等内陆水环境中进行,其中厌氧氨氧化在内陆水体中氮移除过程中的贡献不容小觑。本研究的结果扩展了对于内陆盐碱湖泊氮移除过程的认识。

pH 对厌氧氨氧化反应的抑制作用可能不及盐度。大克泊湖同时拥有高盐和高 pH,而本研究五个样点中 HL5 处(该样点处盐度仅为 $34.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 10.22)的厌氧氨氧化贡献较大,达到 43.18% ~ 71.79%。前人研究显示,厌氧氨氧化过程可发生在 pH 3.9 ~ 8.9 的环境中^[32]。前人通过 Meta 分析显示厌氧氨氧化发生的最佳 pH 值在 6.5 ~ 8.3 之间^[22];通过水稻土研究发现厌氧氨氧化适宜 pH 为 4.8 ~ 10.1^[44]。在本研究中,厌氧氨氧化可发生的 pH 范围为 8.17 ~ 10.40。这一结果扩大了厌氧氨氧化可以存在的碱性范围,为其存在于高碱性环境提供了地化证据。

3.2 N_2O 产生情况

在本实验中, N_2 是大克泊湖反硝化反应的主要产物。考虑到研究区高盐、高碱的特性,这可能是因为 pH 对反硝化产物的影响比盐度更为显著。学者们普遍认为高盐条件会导致 N_2O 气体的积累^[45],而碱性环境下反硝化的产物则以 N_2 为主^[46-47]。因为硝酸盐还原中最后一步的酶对盐度最为敏感,这往往导致高盐环境下氧化亚氮的还原反应无法进行^[48-49]。这一研究结果符合碱性环境下的规律。在土壤和沉积物研究中,pH 已经被证明是影响反硝化中 N_2O 的更重要因素^[32,51-52]。反硝化包含生物反硝化和化学反硝化。在生物反硝化中,pH 通过改变反硝化微生物群落多样性、丰度和反硝化酶活性,从而影响 N_2O 产量^[53-55]。反硝化过程中的几种酶都有着很强的耐碱能力,其中 N_2O 还原酶在 pH 值为 10.0 时也具有极强活力^[45,56]。在化学反硝化中,气体产物在中性条件下以 N_2O 为主^[57],碱性条件下则会以 N_2 为主^[46-47]。

除盐度和 pH 外,本环境中的低 NO_3^- 浓度和高碳氮比可影响反硝化的气体产物。高浓度 NO_3^- 会抑制 N_2O 还原酶活性,从而增大反硝化中的 N_2O 比率^[58-59]。作为末端电子受体,在反硝化过程中硝酸盐和 N_2O 之间存在竞争效应^[60-61]。另外,环境中的高碳氮比也会减少不完全反硝化,使得 N_2O 产量减少^[62-63]。前人研究发现,当碳氮比达到 20:1 时,会最大限度地提高净 N_2 产量,降低 N_2O 产量^[64]。本研究中的碳氮比远远大于 20:1,这也解释了反硝化产物中 N_2 占绝对优势的原因。这些都表明大克泊湖环境条件不利于 N_2O 产生,这为研究碱湖氮循环过程及其环境效应提供了数据基础。

3.3 环境因素对氮移除过程的影响

1) 盐度和 pH 对氮移除过程的影响

研究区最主要的环境变量是盐度和 pH。在大克泊湖区未发现氮移除速率与盐度存在明显相关性($p = 0.41$),意味着盐度可能不是影响该湖区氮移除过程主要因素。高盐条件会抑制氮移除微生物的活性,这是因为盐度通过渗透作用使细

胞失去自由水,同时离子的积累会造成一定的毒性^[17,25]。也有研究发现盐度升高可能会促进反硝化反应,这意味着参与氮移除的微生物可以适应一定高盐度的环境^[65]。在本研究中,pH对反硝化速率和厌氧氨氧化速率都有着促进作用(图6)。这符合中性和弱碱性沉积物的反硝化速率高于酸性沉积物的规律^[5]。一般认为,pH改变会影响反硝化细菌可利用的底物数量或反硝化酶活性^[50]。前人研究显示,硝酸盐还原的最佳pH值在6.0到9.0之间^[19,66];微生物驱动的反硝化作用可发生在pH>9的碱湖环境^[45];当pH达到11时,反硝化作用才开始受到抑制^[20-21]。此外,Shan等人发现厌氧氨氧化菌对碱性条件也有着很强的适应性^[44]。这是由于厌氧氨氧化细菌具有低渗透性膜,其限制了质子扩散,从而保护厌氧氨氧化细菌免受碱性条件的影响甚至适应碱性条件^[32]。

2) TOC、NO₃⁻和HCO₃⁻对氮移除过程的影响

在本研究统计的所有环境因子中,氮移除速率与TOC、NO₃⁻和HCO₃⁻之间的负相关性最显著(图3~图5)。TOC和NO₃⁻分别是反硝化过程中的电子供受体^[67];无机碳(如HCO₃⁻)则是的厌氧氨氧化菌(属于化能自养型微生物)的能量来源^[68]。这三个环境因素直接关系到氮移除微生物的生长,普遍认为它们均与氮移除过程存在正相关关系^[69-71],这与本研究结果不同。这些不一致的发现可能是由于现场条件复杂,地质、水文、生物和化学等多种因素相互作用。前人也曾有过TOC、NO₃⁻或HCO₃⁻与氮移除速率存在负相关性的报道。例如,TOC对反硝化作用的影响很小或表现负面^[72];有实验证明>2 mmol L⁻¹的硝态氮浓度会抑制反硝化速率^[73]。另外,NO₃⁻浓度主要影响瞬时反硝化速率^[74],本实验计算2 h内的平均反硝化速率,其间可能存在更复杂的环境影响。前人研究发现,HCO₃⁻浓度的小幅变化会对厌氧氨氧化菌造成良性刺激,而浓度大幅升高会对该类微生物造成严重冲击^[70,75]。另外,碳酸氢钠会与影响微生物代谢酶的金属发生反应,从而影响微生物的代谢活性^[76]。例如,碳酸氢钠的添加对细菌、真菌等微生物产生的抑制作用^[77]。因此,本研究中高浓度HCO₃⁻(19 471.20~68 503 mg·L⁻¹)与氮移除间的负相关关系是可以理解的。

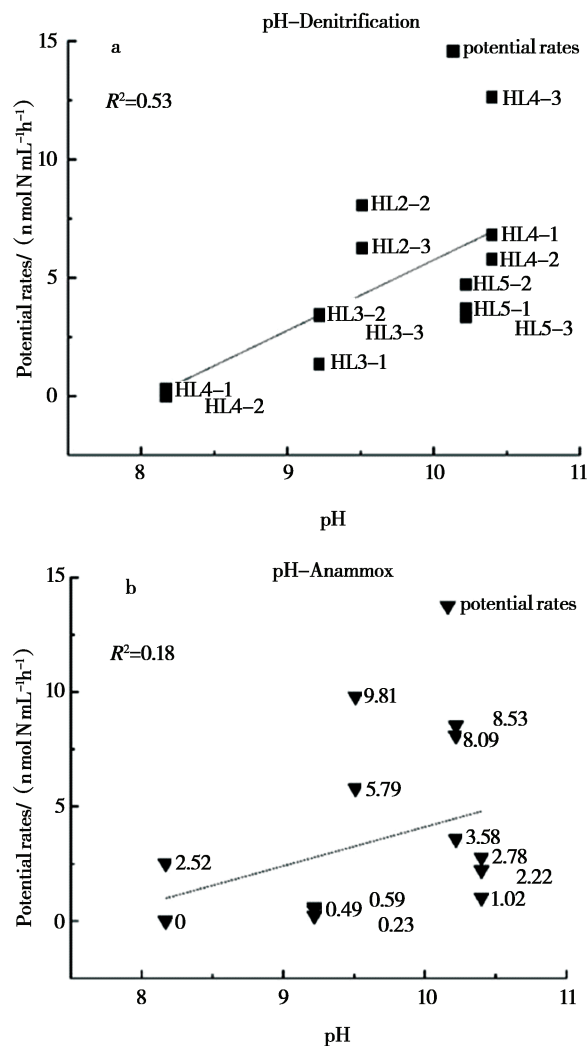


图6 pH与(a)潜在反硝化速率及(b)潜在厌氧氨氧化速率的关系

Fig. 6 The relationship between pH and (a) potential denitrification rate, (b) potential anaerobic ammonia oxidation rate

4 结 论

1) 研究区潜在氮移除速率高于其它极端环境,潜在氮移除速率为0~16.06 nmol N mL⁻¹ h⁻¹,潜在反硝化速率为0~12.62 nmol N mL⁻¹ h⁻¹,潜在厌氧氨氧化速率为0~9.81 nmol N mL⁻¹ h⁻¹。该环境的氮移除过程有反硝化反应和厌氧氨氧化反应同时参与。反硝化反应的主要气体产物是N₂,几乎检测不到温室气体N₂O。厌氧氨氧化的氮移除贡献不可忽视,最高可达到71.79%。

2)在具有高盐和高 pH 的双重极端环境条件下,氮移除速率与盐度之间无显著相关关系,而与 pH 呈正相关。另外,潜在氮移除速率和 TOC、 NO_3^- 、 HCO_3^- 等环境因素存在显著负相关关系。

致谢:厦门大学高树基教授、谭萼辉博士在氮同位素测试分析工作给予大力支持。

参考文献:

- [1] 孙小溪,蒋宏忱. 湖泊微生物硝化过程研究进展[J]. 微生物学报,2020,60(6):1148-1161.
- [2] 孙小溪,蒋宏忱. 湖泊微生物反硝化过程及速率研究进展[J]. 微生物学报,2020,60(6):1162-1176.
- [3] 曾巾,杨柳燕,肖琳,等. 湖泊氮素生物地球化学循环及微生物的作用[J]. 湖泊科学,2007,(4):382-389.
- [4] Finlay J C, Small G E, Sterner R W. Human influences on nitrogen removal in lakes[J]. Science, 2013, 342(6155):247-250.
- [5] Zhang L, Yao X L, Tang, C J, et al. Influence of long-term inundation and nutrient addition on denitrification in sandy wetland sediments from Poyang Lake, a large shallow subtropical lake in China[J]. Environmental Pollution, 2016, 219:440-449.
- [6] Kessler E, Jansson M. Wetlands and lakes as nitrogen traps[J]. Ambio, 1994, 5(1):123-125.
- [7] Jansson M, Leonardson L, Jonas F. Denitrification and nitrogen retention in a farmland stream in southern Sweden[J]. Ambio, 1994, 23(6):326-331.
- [8] Hallin S, Hellman M, Choudhury M I, et al. Relative importance of plant uptake and plant associated denitrification for removal of nitrogen from mine drainage in sub-arctic wetlands[J]. Water Research, 2015, 85:377-383.
- [9] Bettez N D, Groffman P M. Denitrification potential in stormwater control structures and natural riparian zones in an urban landscape[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(20):10909-10917.
- [10] Liu W, Wang Z, Zhang Q, et al. Sediment denitrification and nitrous oxide production in Chinese plateau lakes with varying watershed land uses[J]. Biogeochemistry, 2015, 123(3):379-390.
- [11] Sirivedhin T, Gray K A. Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: field and laboratory studies[J]. Ecological Engineering, 2006, 26(2):167-181.
- [12] Seitzinger S, Harrison J A, Bohlke J K, et al. Denitrification across landscapes and waterscapes: a synthesis[J]. Ecological Applications, 2006, 16(6):2064-2090.
- [13] Williams W D. What future for salinelakes[J]. Environment, 1996, 38(9):12-39.
- [14] Ward B. How nitrogen is lost[J]. Science, 2013, 341(6144):352-353.
- [15] Babbitt A R, Keil R G, Devol A H, et al. Organic matter stoichiometry, flux, and oxygen control nitrogen loss in the ocean[J]. Science, 2014, 344(6128):406-408.
- [16] Wu H P, Hao B B, Zhou Q C, et al. Contribution of various categories of environmental factors to sediment nitrogen-removal in a low C/N ratio river[J]. Ecological Engineering, 2021, 159:106121.
- [17] Marks B M, Chambers L, White J R. Effect of fluctuating salinity on potential denitrification in coastal wetland soil and sediments[J]. Soil Science Society of America Journal, 2016, 80(2):516-526.
- [18] Lin L M, Pratt S, Rattier M, et al. Individual and combined effect of salinity and nitrite on freshwater anammox bacteria (FAB)[J]. Water Research, 2020, 169:114931.
- [19] Ashok V, Hait S. Remediation of nitrate-contaminated water by solid-phase denitrification process-a review[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(11):8075-8093.
- [20] Alquier M, Kassim C, Bertron A, et al. *Halomonas desiderata* as a bacterial model to predict the possible biological nitrate reduction in concrete cells of nuclear waste disposals[J]. Environmental Management, 2014, 132:32-41.
- [21] Durban N, Sonois-Mazars V, Albina P, et al. Nitrate and nitrite reduction activity of activated sludge microcosm in a highly alkaline environment with solid cementitious material[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2020, 151:1-11.
- [22] Tomaszewski M, Cema G, Ziemińska-Buczyńska A. influence of temperature and pH on the anammox process: a review and meta-analysis[J]. Chemosphere, 2017, 182:203-214.
- [23] Lefevre I, Gratia E, Lutts S. Discrimination between the ionic and osmotic components of salt stress in relation to free polyamine level in rice (*Oryza-sativa*) [J]. Plant Science, 2001, 161(5):943-952.
- [24] Oren A. Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(8):1908-1923.
- [25] Wang R, Zheng P, Ding A Q. Effects of inorganic salts on denitrifying granular sludge: The acute toxicity and working mechanisms[J]. Bioresource Technology, 2016, 204:65-70.
- [26] Tindall B J. Prokaryotic life in the alkaline, saline, thalassic environment[J]. Halophilic Bacteria, 1988, 1:31-67.
- [27] 曹元宇. 中国化学史话[M]. 南京:江苏科学技术出版社, 1979:192.
- [28] 布赫. 内蒙古大辞典[K]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社, 1991:250.
- [29] Thamdrup B and Dalsgaard T. Production of N_2 through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(3):1312-1318.
- [30] Nielsen L P. Denitrification in sediment determined from nitro-

- gen isotope pairing[J]. FEMS Microbiology Letters, 1992, 86(4):357-362.
- [31] Mulder A, Graaf A A, Robertson L A, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16:177-184.
- [32] Zhu G B, Xia C, Shanyun W, *et al.* Occurrence, activity and contribution of anammox in some freshwater extreme environments[J]. Environmental Microbiology Reports, 2015, 7(6):961-969.
- [33] Dalsgaard T, Canfield D E, Petersen J, *et al.* N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica[J]. Nature, 2003, 422(6932):606-608.
- [34] Kuypers M M M, Lavik G, Woebken D, *et al.* Massive nitrogen loss from the Benguela upwelling system through anaerobic ammonium oxidation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(18):6478-6483.
- [35] Schubert C J, Durisch-Kaiser E, Wehrli B, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system(Lake Tanganyika)[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(10):1857-1863.
- [36] Thamdrup B, Dalsgaard T, Jensen M M, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation in the oxygen-deficient waters off northern Chile[J]. Limnology and Oceanography, 2006, 51(5):2145-2156.
- [37] Hong Y G, Yin B, Zheng T L. 2011) Diversity and abundance of anammox bacterial community in the deep ocean surface sediment from equatorial Pacific[J]. Applied and Environmental Microbiology, 89:1233-1241.
- [38] Jensen M M, Lam P, Revsbech N P, *et al.* Intensive nitrogen loss over the Omani shelf due to anammox coupled with dissimilatory nitrite reduction to ammonium[J]. ISME Journal, 2011, 5:1660-1670.
- [39] Mark T, Joanna C, Bruno D. Anaerobic ammonium oxidation measured in sediments along the Thames Estuary, United Kingdom[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(11):6447-6454.
- [40] Jeremy J R, Olivia R D, Bongkeun S, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation(anammox) in Chesapeake Bay sediments[J]. Microbial Ecology, 2008, 55(2):311-320.
- [41] Wang S, Zhu G, Peng Y, . Anammox bacterial abundance, activity, and contribution in riparian sediments of the Pearl River Estuary[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46:8834-8842.
- [42] Sako Y, Suwa Y. Distribution and diversity of anaerobic ammonium oxidation(anammox) bacteria in the sediment of a eutrophic freshwater lake, Lake Kitaura, Japan[J]. Microbes and Environments, 2011, 26:189-197.
- [43] Zhu G, Wang S, Wang W, *et al.* Hotspots of anaerobic ammonium oxidation at land-freshwater interfaces[J]. Nature Geoscience, 2013, 6:103-107.
- [44] 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.
- [45] Shapovalova A A, Khijniak T V, Tourova T P, *et al.* Heterotrophic denitrification at extremely high salt and pH by haloalkaliphilic Gammaproteobacteria from hypersaline soda lakes[J]. Extremophiles, 2008, 12(5):619-625.
- [46] Hansen H C B, Koch C B, Nancke-Krogh H, *et al.* Abiotic nitrate reduction to ammonium; Key role of green rust[J]. Environmental Science & Technology, 1996, 30(6):2053-2056.
- [47] Otley C J, Davison W, Edmunds W M, *et al.* Chemical catalysis of nitrate reduction by iron(II)[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1997, 61(9):1819-1828.
- [48] Teixeira C, Magalhaes C, Joye S B, *et al.* The role of salinity in shaping dissolved inorganic nitrogen and N₂O dynamics in estuarine sediment-water interface[J]. Marine Pollution Bulletin, 2013, 66(1-2):225-229.
- [49] Xia Y, Li Y, Li X, *et al.* Diurnal pattern in nitrous oxide emissions from a sewage-enriched river[J]. Chemosphere, 2013, 92(4):421-428.
- [50] Simek M, Cooper J. The influence of soil pH on denitrification: progress towards the understanding of this interaction over the last 50 years[J]. European Journal of Soil Science, 2002, 53(3):345-354.
- [51] Stehfest E, Bouwman L. N₂O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2006, 74(3):207-228.
- [52] Zhao J W, Zhu D W, Fan J N. Seasonal Variation of Anammox and denitrification in sediments of two Eutrophic urban lakes[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2015, 24:2779-2783.
- [53] Richardson D, Felgate H, Watmough N, *et al.* Mitigating release of the potent greenhouse gas N₂O from the nitrogen cycle-could enzymic regulation hold the key[J]. Trends in Biotechnology, 2009, 27(7):388-397.
- [54] Raut N, Dörsch P, Sitaula B K, *et al.* Soil acidification by intensified crop production in South Asia results in higher N₂O/(N₂ + N₂O) product ratios of denitrification[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 55(6):104-112.
- [55] Shaaban M, Peng Q, Lin S, *et al.* Nitrous oxide emission from two acidic soils as affected by dolomite application[J]. Soil Research, 2014, 52(8):841-848.
- [56] Sorokin D Y, Kuenen J G. Chemolithotrophic haloalkaliphiles from soda lakes[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 52(3):287-295.
- [57] Grabb K C, Buchwald C, Hansel C M, *et al.* A dual nitrite iso-

- topic investigation of chemodenitrification by mineral-associated Fe(II) and its production of nitrous oxide[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 196: 388–402.
- [58] Silvennoinen H, Liikanen A, Torssonen J, *et al.* Denitrification and nitrous oxide effluxes in boreal, eutrophic river sediments under increasing nitrate load: a laboratory microcosm study[J]. *Biogeochemistry*, 2008, 91(2–3): 105–116.
- [59] Beaulieu J J, Tank J L, Hamilton S K, *et al.* Nitrous oxide emission from denitrification in stream and river networks[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 108(1): 214–219.
- [60] Blackmer A, Bremner J. Inhibitory effect of nitrate on reduction of N_2O to N_2 by soil microorganisms[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1978, 10: 187–191.
- [61] Cho C, Sakdinan L. Mass spectrometric investigation on denitrification[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 1978, 58: 443–457.
- [62] Li Q, Li P, Zhu P, *et al.* Effects of exogenous organic carbon substrates on nitrous oxide emissions during the denitrification process of sequence batch reactors[J]. *Environmental Engineering Science*, 2008, 25(8): 1221–1228.
- [63] Zhou Y, Lim M, Harjono S, *et al.* Nitrous oxide (N_2O) emission by denitrifying phosphorus removal culture using polyhydroxyalkanoates (PHA) as carbon source[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(9): 1616–1623.
- [64] Weymann D, Geistlinger H, Well R, *et al.* Kinetics of N_2O production and reduction in nitrate-contaminated aquifer inferred from laboratory incubation experiments[J]. *Biogeosciences*, 2010, 7(6): 1953–1972.
- [65] Hu M J, Peñuelas J, Sardans J, *et al.* Denitrification rates in tidal marsh soils: The roles of soil texture, salinity and nitrogen enrichment[J]. *European Journal of Soil Science*, 2020, 72: 474–479.
- [66] Glass C, Silverstein J. Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation[J]. *Water Research*, 1998, 32(3): 831–839.
- [67] Yuan C, Zhao F, Zhao X, *et al.* Woodchips as sustained-release carbon source to enhance the nitrogen transformation of low C/N wastewater in a baffle subsurface flow constructed wetland[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 392: 124840.
- [68] Liao D X, Li X M, Yang Q, *et al.* Effect of inorganic carbon on anaerobic ammonium oxidation enriched in sequencing batch reactor[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(8): 940–944.
- [69] Zhong J. C, Fan C X, Liu G F, *et al.* Seasonal variation of potential denitrification rates of surface sediment from Meiliang Bay, Taihu Lake, China[J]. *Journal of Environmental Sciences-China*, 2010, 22(7): 961–967.
- [70] Kimura Y, Isaka K, Kazama F. Effects of inorganic carbon limitation on anaerobic ammonium oxidation (anammox) activity[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(6): 4390–4394.
- [71] Zhou S, Sun Y, Li Z, *et al.* Characteristics and driving factors of the aerobic denitrifying microbial community in Baiyangdian Lake, Xiong'an New Area[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 714.
- [72] McCrackin M L, Elser J J. Atmospheric nitrogen deposition influences denitrification and nitrous oxide production in lakes[J]. *Ecology*, 2010, 91(2): 529–539.
- [73] Senbayram M, Chenc R, Budaid A, *et al.* N_2O emission and the $N_2O/(N_2O + N_2)$ product ratio of denitrification as controlled by available carbon substrates and nitrate concentrations[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2012, 147: 412.
- [74] Saggar S, Jha N, Deslippe J, *et al.* Denitrification and $N_2O:N_2$ production in temperate grasslands: processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 465: 173–195.
- [75] Yang J C, Zhang L, Fukuzaki Y, *et al.* High-rate nitrogen removal by the anammox process with a sufficient inorganic carbon source[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(24): 9471–9478.
- [76] Strous M, Pelletier E, Mangenot S, *et al.* Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome[J]. *Nature*, 2006, 440(7085): 790–794.
- [77] Yao H J, Tian S P, Wang Y S. Sodium bicarbonate enhances biocontrol efficacy of yeasts on fungal spoilage of pears[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 93(3): 297–304.

Nitrogen Removal and Its Influencing Factors in Habor Lake, Inner Mongolia

LIU Jia-min, SUN Xiao-xi, JIANG Hong-chen

(*State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology,
China University of Geosciences (Wuhan), Wuhan, 430074, China*)

Abstract: It is of great environmental significance to study N_2O release rate and its response to high salinity and high pH in alkaline lakes. In this study, ^{15}N isotope labeling simulation experiments were employed to study the potential rate, relative ratio and gas production of denitrification and anammox in five sediment samples of Habor Lake in Inner Mongolia, and to reveal the effects of high salinity and pH on nitrogen removal in alkaline lakes. The potential removal rates of nitrogen, denitrification rates and anammox rates were $0 \sim 16.06 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0 \sim 12.62 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and $0 \sim 9.81 \text{ n mol N mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively. Anammox occurred at all sites, and accounted for 43.18% ~ 71.79% of nitrogen removal at HL5 (salinity = $34.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH = 10.22). In the denitrification process, N_2 was the main gas product, and almost no N_2O was detected. In addition, there was a positive correlation between potential nitrogen removal rate and pH, and a negative correlation between potential nitrogen removal rate and TOC, NO_3^- , HCO_3^- . No correlation was found between nitrogen removal rate and salinity. In alkaline lakes, the influencing factors of nitrogen removal process are complex and not limited to the most important environmental variables (salinity and pH); nitrogen removal process is mainly in the form of N_2 emission, while N_2O is lower than the detection level. This result provides a data base for our study on N_2O emission from lakes.

Key words: Nitrogen Removal; Rate; Salinity; pH; Isotopes