

杨丕珍, 纪程, 董彩霞, 李诗锦, 丁子豪, 徐聪, 宁运旺, 梁栋, 张永春, 汪吉东. 生物质炭和有机肥对土壤 N_2O 排放的遗留效应[J]. 土壤学报, 2026,

YANG Pizhen, JI Cheng, DONG Caixia, LI Shijin, DING Zihao, XU Cong, NING Yunwang, LIANG Dong, ZHANG Yongchun, WANG Jidong. Legacy Effects of Biochar and Organic Fertilizer Application on Soil N_2O Emissions[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

生物质炭和有机肥对土壤 N_2O 排放的遗留效应*

杨丕珍^{1, 2}, 纪程^{1, 2}, 董彩霞¹, 李诗锦^{2, 3}, 丁子豪², 徐聪^{1, 2, 3}, 宁运旺², 梁栋², 张永春^{1, 2, 3}, 汪吉东^{1, 2, 3†}

(1. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 211800; 2. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 南京 210014; 3. 江苏大学环境与安全工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要: 氧化亚氮 (N_2O) 作为一种温室气体, 其增温潜势是二氧化碳 (CO_2) 的 296 倍, 微生物驱动的反硝化和反硝化作用是产生 N_2O 的重要过程。目前已有大量有关生物质炭和有机肥混施的研究, 但相关效应的监测和研究年限较短, 尤其是生物质炭对土壤 N_2O 排放的遗留效应尚不明晰, 其与有机肥的混施效应仍需进一步研究。本研究以长期 (7 年) 施用生物质炭和有机肥的土壤样品为对象, 包含四个处理: (1) 对照 (施用尿素, F); (2) 一次性基施生物质炭 (FB); (3) 常年施用有机肥 (OF); (4) 常年施用有机肥+一次性基施生物质炭 (OFB)。施用有机肥的处理为有机肥氮替代尿素的 25%。开展培养试验分析不同处理土壤 N_2O 排放规律和氮循环功能基因丰度以及不同微生物过程对 N_2O 排放的相对贡献。结果表明, 与 F 相比, FB、OF 及 OFB 分别显著降低了土壤 N_2O 累积排放量的 49.4%、38.4% 和 59.3%。生物质炭显著降低了真菌对 N_2O 排放相对贡献率 (Fungal denitrification contribution, FDC) 的 11.4%, 提高了细菌贡献率 (Bacterial denitrification contribution, BDC) 的 5.8%。有机肥降低了氨氧化细菌相对贡献率的 15.3% 而增加了 BDC 的 12.1%, 二者配施能够显著降低 FDC 的 9.7% 而增加 BDC 的 15.7%。结构方程模型结果表明: 生物质炭通过降低 FDC, 提高 BDC, 以及降低亚硝酸盐还原基因与 N_2O 还原基因丰度的比值 ($\text{nirS}+\text{nirK}$)/ nosZ 来减少土壤 N_2O 排放; 有机肥通过显著提高 BDC 以及降低 ($\text{nirS}+\text{nirK}$)/ nosZ 比值减少 N_2O 排放。上述结果表明, 施用生物质炭和有机肥在减少农业土壤 N_2O 排放方面具有持续潜力。本文揭示了二者调控 N_2O 排放相关的微生物过程, 为深入分析生物质炭和有机肥施用对土壤微生物过程的遗留效应提供了科学依据, 为优化以减少农田土壤 N_2O 排放为目标的施肥措施提供了科学指导。

关键词: 生物质炭; 有机肥; 遗留效应; 硝化作用; 反硝化作用; 氧化亚氮

中图分类号: S153 文献标志码: A

Legacy Effects of Biochar and Organic Fertilizer Application on Soil N_2O Emissions

YANG Pizhen^{1, 2}, JI Cheng^{1, 2}, DONG Caixia¹, LI Shijin^{2, 3}, DING Zihao², XU Cong^{1, 2, 3}, NING Yunwang², LIANG Dong², ZHANG Yongchun^{1, 2, 3}, WANG Jidong^{1, 2, 3†}

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agriculture University, Nanjing 211800, China; 2. Institute of Agricultural

*国家自然科学基金项目(42577335, 42377338)和江苏省碳达峰碳中和科技创新专项资金项目(BE2022304)共同资助 Supported by the Natural Science Foundation of China (Nos. 42577335 and 42377338) and the Carbon Peak and Neutrality Special Funding for Science and Technology Innovation Project of Jiangsu Province, China (No. BE2022304)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: jdwang66@163.com

作者简介: 杨丕珍 (2001—), 男, 山西晋城人, 硕士研究生, 研究方向为农业资源利用与新型肥料。E-mail: 18066035935@163.com

收稿日期: 2025-07-01; 收到修改稿日期: 2025-11-20; 网络首发日期 (www.cnki.net):

Abstract: 【Objective】 Nitrous oxide (N_2O) is a potent greenhouse gas with a global warming potential 296 times that of carbon dioxide (CO_2). Microbial-driven nitrification and denitrification are major processes contributing to N_2O production. While numerous studies have explored the combined effects of biochar and organic fertilizer, most have been short-term, and the legacy effects of aged biochar on soil N_2O emissions remain poorly understood. The interactive effects of its combined application with organic fertilizers necessitate further investigation. 【Method】 Soil samples were obtained from a seven-year field experiment comprising four distinct treatments: (1) control (urea application, F); (2) one-time basal application of biochar (FB); (3) annual application of organic fertilizer (OF); and (4) combined annual application of organic fertilizer and one-time basal biochar (OFB). In the organic fertilizer treatments, 25% of the urea nitrogen was substituted with organic fertilizer nitrogen. A laboratory incubation experiment was conducted to measure cumulative N_2O emissions, quantify the abundances of key functional genes (including *nirS*, *nirK*, and *nosZ*), and partition the relative contributions of fungal and bacterial pathways to N_2O emissions. 【Result】 The result showed that compared to the control, cumulative N_2O emissions were significantly reduced by 49.4% in the biochar treatment (FB), 38.4% in the organic fertilizer treatment (OF), and 59.3% in the combined treatment (OFB). Biochar significantly decreased the fungal contribution to N_2O emissions (FDC) by 11.4% and increased the bacterial contribution (BDC) by 5.8%. Organic fertilizer reduced the contribution of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) by 15.3% but increased the bacterial contribution by 12.1%. The combined application of biochar and organic fertilizer decreased the fungal contribution by 9.7% and increased the bacterial contribution by 15.7%. Structural equation modeling (SEM) indicated that biochar directly reduced FDC and enhanced BDC, organic fertilizers significantly enhance BDC and reduce (*nirS+nirK*)/*nosZ*, thereby decreasing N_2O emissions. 【Conclusion】 These results demonstrate the sustained potential of biochar and organic fertilizer amendments in reducing greenhouse gas emissions from agricultural soils and provide mechanistic insights into how these amendments regulate microbial processes governing N_2O production. This research outcome provides scientific support for in-depth analysis of the legacy effects of biochar and organic fertilizer application on soil and their microbiological mechanisms offering scientific guidance for optimizing fertilization practices to achieve the goal of reducing N_2O emissions from farmland soils.

Key words: Biochar; Organic fertilizer; Legacy effects; Nitrification; Denitrification; N_2O

氧化亚氮 (N_2O) 作为温室气体, 其增温潜势是二氧化碳 (CO_2) 的 296 倍^[1], 农田生态系统是重要的 N_2O 排放源, 占全球人为 N_2O 排放的 52%^[2], 由微生物介导的土壤硝化与反硝化作用是 N_2O 的重要来源。

自养硝化过程包括两步: 第一步氨氧化过程是自养硝化过程的限速步骤, 在氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 两种微生物的参与下由 *amoA* 基因编码的氨单加氧酶催化 NH_3 转化为 NO_2^- , 并释放副产物 N_2O 和 NO ; 第二步由亚硝酸盐氧化细菌释放亚硝酸盐氧化酶将 NO_2^- 氧化为 NO_3^- 。反硝化作用中, 第一步由 *narG* 或 *napA* 基因编码的硝酸盐还原酶催化生成 NO_2^- ; 第二步由 *nirK* 或 *nirS* 基因编码的两种完全不同的亚硝酸盐还原酶催化生成 NO ; 第三步由 *cnorB* 或 *qnorB* 基因编码的 NO 还原酶催化生成 N_2O ; 最后一步由 *nosZ* 基因编码的 N_2O 还原酶催化 N_2O 还原为 N_2 ^[3]。细菌携带亚硝酸盐还原基因 (如 *nirK* 和 *nirS*), 长期以来被视为反硝化作用的主导者, 但真菌在土壤反硝化和 N_2O 排放过程中的重要性也不容忽视。由于多数真菌缺乏编码 N_2O 还原酶的 *nosZ* 基因, 其异养反硝化过程的终产物通常停留在 N_2O ^[4], 因此, 适宜条件下真菌的富集会 导致 N_2O 增排^[5]。上述相关微生物数量或基因丰度的改变显著影响土壤 N_2O 排放。

生物炭作为一种碳含量丰富、比表面积大、疏松多孔、吸附能力强的土壤改良剂^[6], 因其可通过改变土壤 pH 影响氨氧化微生物的群落动态, 以及吸附土壤无机氮而减少 N_2O 排放的底物供应,

具有 N_2O 减排潜力^[7]。目前的研究多聚焦生物质炭施用下氮循环功能微生物数量的改变,但功能微生物的生态位分化及其功能表达对生物质炭的响应较少被关注^[8]。研究表明,与 AOB 相比,AOA 更适应低 pH 环境,通常能够主导酸性土壤的氨氧化过程。生物质炭施用后 AOB 基因丰度显著增加,而 AOA 基因丰度显著降低,可能的原因是施用生物质炭提高了土壤 pH^[9]。但在此条件下,AOA 和 AOB 对土壤原位硝化活性的相对贡献及其是否会随生物质炭施用时间改变尚不清楚。

生物质炭施用后经历物理、化学和生物作用会发生老化,改变其原有带电基团、含氧官能团以及酸碱性等理化性质,进而影响微生物群落和 N_2O 排放^[10]。生物质炭老化过程也可能改变其对氨氧化微生物群落的影响。研究表明,新鲜生物质炭可显著降低稻季土壤 AOB 基因丰度而抑制 N_2O 排放^[11]。然而,田间老化五年的生物质炭会显著提高稻季土壤 AOA 基因丰度和 $(nirS+nirK)/nosZ$ 比值,对 N_2O 的减排效果次于新鲜生物质炭^[12]。与之相反,也有研究指出,老化一年的生物质炭反而能够增强其对 N_2O 的减排效果,生物质炭施用后可与土壤矿物质形成有机-矿物复合物,并吸附氮肥中的养分抑制微生物的利用,因而老化生物质炭可进一步提高减排效应^[13]。上述研究结果表明,生物质炭施用所产生的遗留效应可能随生物质炭的老化进程而动态改变。已有短期与中期老化的研究成果存在一定差异,其减排效应可能出现反转,有必要探究生物质炭的长期遗留效应。因此,本研究以生物质炭施用后 7 年的田间土壤为研究对象,探究生物质炭对土壤 N_2O 排放的遗留效应。

生物质炭与适宜的有机物料配施是提高土壤肥力的有效措施^[14]。生物质炭是惰性碳材料,有利于土壤有机碳固定和封存^[15]。有机肥富含养分,但易分解造成流失^[16]。生物质炭与有机肥混合施用可能有益于养分保留,缓慢释放,提高利用率。此外,二者混施可能影响土壤碳库稳定性及氮素转化过程,从而改变 N_2O 排放。施用有机肥可能是减少农田土壤 N_2O 排放的潜在措施,但目前有机肥对土壤 N_2O 排放影响的结果(增排或减排)尚存在争议^[17],二者混施对 N_2O 排放的影响可能呈现协同或拮抗效应。Zheng 等^[18]的研究指出,生物质炭与有机肥联合施用能够促进植物氮吸收并提高土壤 pH、促进 N_2O 还原,从而降低 N_2O 排放,表现为协同效应。陈晨等^[19]的研究表明,生物质炭通过提高 *nosZ* 基因丰度减排 N_2O ,而与有机肥联合施用后 *nosZ* 基因丰度显著降低,导致减排效应减弱,呈现拮抗效应。由此可知,生物质炭与有机肥混施的作用机制尚不明确,需进一步探究二者混施对土壤 N_2O 排放的遗留效应。本文依托长期施用生物质炭和有机肥的田间试验(7 年),通过开展培养试验,探究:(1)不同处理土壤的 N_2O 排放规律;(2)硝化和反硝化过程对 N_2O 排放的相对贡献;(3)硝化和反硝化过程功能基因丰度。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与土壤样品采集

试验地位于江苏省溧阳市南渡镇(31°29'17"N, 119°19'57"E)。该地区年平均气温和降水量分别为 16.1 °C 和 1 096 mm。土壤类型为水耕熟渗人为土,土壤基本理化性质为: pH 5.7, 有机碳 19.5 g·kg⁻¹, 全氮 1.36 g·kg⁻¹, 有效磷 18.6 mg·kg⁻¹, 速效钾 124 mg·kg⁻¹。试验始于 2016 年 5 月,设置 4 个处理,分别为:(1)对照, F; (2)一次性基施生物质炭, FB; (3)常年施用有机肥, OF; (4)常年施用有机肥+一次性基施生物质炭, OFB。具体的肥料施用量见表 1。每个小区面积为 5 m×6 m=30 m², 每个处理 3 个重复,共计 12 个小区。供试生物质炭由樟树厌氧高温(450 °C~550 °C)热解所得,由巩义市北斗机械科技有限公司生产,基本理化性质为: pH 9.43, 总碳 685 g·kg⁻¹, 总氮 4.61 g·kg⁻¹, 总磷 13.2 g·kg⁻¹ 和总钾 24.1 g·kg⁻¹。生物质炭仅在 2016 年 5 月一次性施入土壤,先覆盖于土壤表面再混匀,施用量为 30 t·hm⁻²。

表 1 各处理施肥信息

Table 1 Fertilization details for each treatment

处理	施肥用量
Treatment	Fertilizer application rate
F	尿素 (总施氮量为 270 kg·hm ⁻²)
FB	尿素 (总施氮量为 270 kg·hm ⁻²) + 生物质炭 (30 t·hm ⁻²)
OF	75%尿素+25%有机肥 (总施氮量为 270 kg·hm ⁻²)
OFB	75%尿素+25%有机肥 (总施氮量为 270 kg·hm ⁻²) + 生物质炭 (30 t·hm ⁻²)

注: F: 施用尿素; FB: 一次性基施生物质炭; OF: 常年施用有机肥; OFB: 常年施用有机肥+一次性基施生物质炭。下同。Note: F: urea application; FB: one-time basal application of biochar; OF: annual application of organic fertilizer; OFB: annual application of organic fertilizer in combination with a single basal biochar. The same below.

本试验所用有机肥为猪粪与秸秆堆肥产品, N、P₂O₅ 和 K₂O 含量分别为 20.3、42.1 和 23.4 g·kg⁻¹, 有机质大于 350 g·kg⁻¹。从 2016 年开始, 每年以基肥的形式施用一次。试验期间每年 5—11 月种植一季水稻, 其余时间休耕。水稻移栽后保持 5~10 cm 水层, 分蘖末期排水晒田。幼穗分化初期复水, 并保持 3~5 cm 浅水层至抽穗灌浆期。灌浆后期停止灌水, 田间自然落干直至成熟收获, 秸秆离田处理。杂草处理为人工除草并少量喷施封闭除草剂, 其他田间管理措施与当地常规管理一致。

供试土样采集于 2023 年 5 月, 即生物质炭施用后第 7 年。耕层土壤 (0~20 cm) 按照“S”布点法采集 (每个小区 5 份), 按照处理分别混匀后风干, 土样过 2 mm 筛, 除去可见根系及有机残留物后用于测定土壤理化性质以及开展培养试验。

1.2 培养试验方案

将 80 g 四种处理风干后的土样分别装入 250 mL 培养瓶, 用去离子水调节土壤水分至 50%最大持水量 (WHC), 并于 25 °C 下培养一周 (黑暗条件)。正式培养时, 每个处理设置三次重复, 统一施用尿素 200 mg·kg⁻¹ (以 N 计, 下同)。用去离子水调节土壤水分至 80%WHC。所有培养瓶采用完全随机区组排列, 于 25 °C 恒温黑暗环境培养 21 d。每隔两天通过称重法补充损失水分。

1.3 气体采集与计算

气体采集频率为: 正式培养前 5 天每天一次, 第 6 天至第 21 天每隔 3~5 天一次。每次采样前通空气 5 min, 之后密封培养瓶, 采集密封前后 0~2 h 瓶内气体。利用气相色谱仪 (Agilent 7890A, 安捷伦, 美国) 测定气体中 N₂O 浓度。N₂O 排放通量公式为:

$$F = (\rho \times V/W) \times (\Delta C/\Delta t) \times [273/(273+T)] \quad (1)$$

式中, F 为 N₂O 排放通量, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; ρ 为标准状态下 N₂O 的密度, $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$; V 为锥形瓶的容积, m^3 ; W 为土壤干物质质量, kg ; $\Delta C/\Delta t$ 为密封两小时前后 N₂O 浓度的变化, 10^{-9} h^{-1} ; T 为温度, °C。计算结果代表采样当日 N₂O 平均排放量。培养期内 N₂O 排放总量通过相邻采样日的排放通量按顺序累积计算。

1.4 土壤理化性质分析

土壤 pH 测定时的土水质量比为 1: 5, 使用复合玻璃电极仪 (PHS-3C mv/pH detector, 上海) 测定。使用硫酸-重铬酸钾氧化法测定土壤有机碳 (SOC)。使用 TOC 分析仪 (TOC Vcph, Shimadzu, Kyoto, 日本) 测定土壤可溶性有机碳 (DOC) 含量。使用双波长紫外分光光度法测定土壤硝态氮 (NO₃⁻-N) 含量, 使用靛酚蓝方法测定铵态氮 (NH₄⁺-N) 含量。使用凯氏定氮法测定土壤全氮 (TN) 含量; 使用氢氧化钠熔融—钼锑抗比色法测定土壤全磷 (TP) 含量。使用钼锑抗比色法测定有效磷 (AP) 含量, 使用火焰光度计法测定速效钾 (AK) 含量。

1.5 氨氧化细菌和氨氧化古菌产 N₂O 相对贡献测定

利用特异性抑制剂区分氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 对 N₂O 排放的相对贡献。0.1% (v/v) 的乙炔 (Acetylene) 和 0.03% (v/v) 的 1-辛炔 (1-Octyne) 分别能特异性抑制 AOB 和 AOA

驱动的总氨氧化过程和 AOB 主导的氨氧化过程^[20]。以 2023 年 5 月采集的四种处理大田土壤为对象,开展抑制剂试验:(1)无抑制剂添加(空气组);(2)乙炔(乙炔组);(3)1-辛炔(辛炔组)。称取 10 g 土壤样品(按风干土计)于 120 mL 玻璃瓶中,加入硫酸铵 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 溶液 2 mL,添加去离子水调节土壤水分至 60% WHC。用橡胶塞密封后,立即用注射器将乙炔或 1-辛炔注入土壤样品。25 °C 恒温黑暗条件下培养 22 h 后,采集瓶中气体,测定 N_2O 浓度。AOB 和 AOA 驱动 N_2O 排放过程可按下面的公式计算:

AOB 驱动的 N_2O 排放量 = N_2O 排放量(空气组) - N_2O 排放量(辛炔组) (2)

AOA 驱动的 N_2O 排放量 = N_2O 排放量(辛炔组) - N_2O 排放量(乙炔组) (3)

其他 N_2O 排放量 = N_2O 排放量(乙炔组) (4)

理想条件下,根据 AOB 和 AOA 驱动的 N_2O 产生与未添加抑制剂组 N_2O 产生的比值,计算 AOB 和 AOA 对 N_2O 产生的相对贡献。

1.6 真菌和细菌产 N_2O 相对贡献测定

结合选择性抑制剂与底物诱导呼吸法,量化真菌和细菌对大田土壤样品 N_2O 排放的相对贡献率。加入不同浓度的放线菌酮和链霉素分别抑制真菌和细菌呼吸,为避免高浓度的抑制剂对真菌或细菌造成非靶向抑制,通过预试验确定供试土壤中抑制剂的最低浓度分别为 $10.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $6.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。预试验处理为:(1)不添加抑制剂;(2)系列浓度的放线菌酮;(3)系列浓度的链霉素;(4)不同浓度组合的两种抑制剂。在培养时间 4、12、20 和 32 h 利用气相色谱仪测定瓶中 CO_2 浓度,计算抑制剂添加比值(Inhibitor additivity ratio, IAR),当抑制剂添加比值接近 1 时,该方法有效。

$$\text{IAR} = [(A-B)+(A-C)]/(A-D) \quad (5)$$

式中, A 为未添加任何抑制剂的 CO_2 浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; B 为添加放线菌酮后 CO_2 浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; C 为添加链霉素后 CO_2 浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; D 为添加放线菌酮和链霉素后 CO_2 浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [21]。

正式试验时,称取 5 g 土壤样品置于 20 mL 玻璃瓶,加入 2 mL 抑制剂或超纯水,处理为:(1)无抑制剂;(2) $6.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的链霉素;(3) $10.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的放线菌酮;(4) $6.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的链霉素和 $10.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的放线菌酮。于 25 °C 黑暗条件中预培养 24 h。随后加入 2 mL 包含 $5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 葡萄糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)和 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 硝酸钾(KNO_3)的混合溶液,密封培养瓶后注入高浓度乙炔(10%, v/v),于 25 °C 下培养 3 h(黑暗条件),采集瓶内气体测定 N_2O 浓度。真菌和细菌的 N_2O 排放量分别通过对照和放线菌酮处理培养瓶之间的 N_2O 产量差值以及对照与链霉素处理培养瓶之间的 N_2O 产量差值计算。二者对 N_2O 排放的相对贡献为各微生物源 N_2O 产生速率与无抑制剂处理产生速率之比。

1.7 功能基因定量分析

以大田试验土壤作为供试样品,首先按照土壤 DNA 提取试剂盒说明书进行土壤样品中 DNA 的提取(DNeasy PowerSoil Kit, 德国),每个处理土壤重复三次。利用微量分光光度计(Thermo Scientific, 美国)测定 DNA 样品的浓度和纯度。利用 ABI StepOne Plus Real-Time PCR System 扩增仪(Applied BIO systems, 美国),针对与 N_2O 排放相关的功能基因,对 DNA 样品进行定量分析,包括 AOA-*amoA*、AOB-*amoA*、*nirK*、*nirS* 和 *nosZ*。扩增反应采用 ABI StepOne Plus Real-Time PCR 系统(Applied Biosystems, 美国)进行,每个 qPCR 反应体系包含以下组分: $10 \mu\text{L}$ TB Green® Premix Ex Taq、 $0.4 \mu\text{L}$ 参比染料(ROX)、 $0.4 \mu\text{L}$ 正向引物、 $0.4 \mu\text{L}$ 反向引物、 $6.8 \mu\text{L}$ 无菌水和 $2 \mu\text{L}$ 模板 DNA,总体积为 $20 \mu\text{L}$ 。同时,设置无模板 DNA 的阴性对照及熔解曲线分析确认扩增的特异性。

1.8 数据分析

相关数据依据烘干土质量计算,并以平均值加减标准误差(Mean $\pm$ SE)表示,重复数 $n = 3$ 。使用 SPSS 20.0 软件处理与分析。所有图表制作使用 Excel 2007 和 Origin 2021。结构方程模型(SEM)分析使用 AMOS Graphics 24 软件。在构建结构方程模型之前,所有变量经标准化处理,并进行正态分布检验。首先,采用 JMP 10.0 软件中的偏最小二乘法筛选出具有较高相对重要性、可解释 N_2O 排放的自变量。通过设定变量重要性指数(VIP)的截断值为 1.0 来区分显著与非显著变量。显著变量用于下一步结构方程模型的构建。最后,采用最大似然估计法对 SEM 模型的拟合度进行验证。SEM

的拟合优度指数参考范围为：卡方与自由度之比 (χ^2/DF) 和赤池信息量准则 (AIC) 越小越好，比较拟合指数 (CFI) 大于 0.9，近似误差均方根 (RMSEA) 小于 0.05。

2 结果

2.1 土壤基本理化性状

不同处理显著改变了土壤理化性质 (表 2)。与对照相比，生物质炭或有机肥均显著提高土壤 pH、有机碳 (SOC)、硝态氮 (NO_3^-)、有效磷 (AP) 及全磷 (TP) 含量。生物质炭处理显著降低土壤铵态氮 (NH_4^+) 含量，而有机肥处理显著提高土壤铵态氮 (NH_4^+) 含量。生物质炭配施有机肥 (OFB) 处理土壤 pH 为 5.66，显著高于其他处理；同时其有机碳含量为最高，相比对照提升 33.8%。不同处理土壤全氮 (TN) 含量表现为：OFB > OF > FB > F。生物质炭或 (和) 有机肥施用可提高土壤有效磷 (AP) 含量，增幅为 66.9%~81.9%。速效钾 (AK) 在 OF 处理下最高，FB 最低 ($P < 0.05$)。

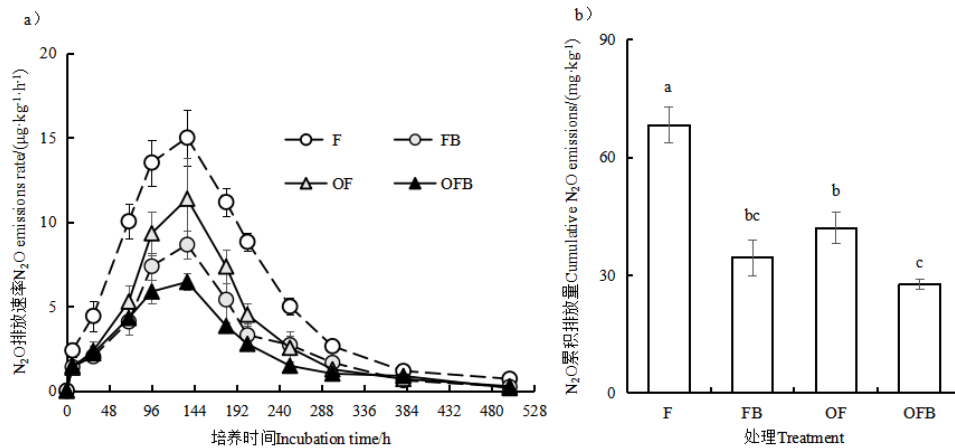
表 2 土壤理化性质
Table 2 Soil physicochemical properties

处理 Treatment	pH	SOC/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	DOC/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	NH_4^+ / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	NO_3^- / ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TN/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AP/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TP/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AK/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
F	5.35c	16.13d	81.06a	2.83b	21.77b	1.54c	8.46c	0.36b	94.50c
FB	5.44b	16.64c	75.58b	1.06c	23.99a	1.46d	15.39a	0.47a	93.00d
OF	5.45b	17.39b	71.60b	3.41a	23.64a	1.62b	14.11b	0.47a	127.0a
OFB	5.66a	21.58a	74.50b	1.03c	26.96a	1.74a	15.06ab	0.46a	112.5b

注：SOC，土壤有机碳；DOC，可溶性有机碳； NH_4^+ ，铵态氮； NO_3^- ，硝态氮；TN，全氮；AP，有效磷；TP，全磷；AK，速效钾。
同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: SOC, soil organic carbon; DOC, dissolved organic carbon; NH_4^+ -N, ammonium nitrogen; NO_3^- -N, nitrate nitrogen; TN, total nitrogen; AP, available phosphorus; TP, total phosphorus; AK, available potassium.
Different lowercase letters in the column indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.2 土壤 N_2O 排放量

第一周内，所有处理土壤的 N_2O 排放速率均达到峰值，后逐渐下降，最后趋于平稳 (图 1)。对照处理土壤 N_2O 排放峰值最高 ($14.99 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)，生物质炭与有机肥配施处理的 N_2O 排放量最低 ($6.44 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。整个培养期内，相比对照，生物质炭、有机肥及二者配施分别显著降低了土壤 N_2O 累积排放量的 49.4%、38.4%和 59.3% ($P < 0.05$)。



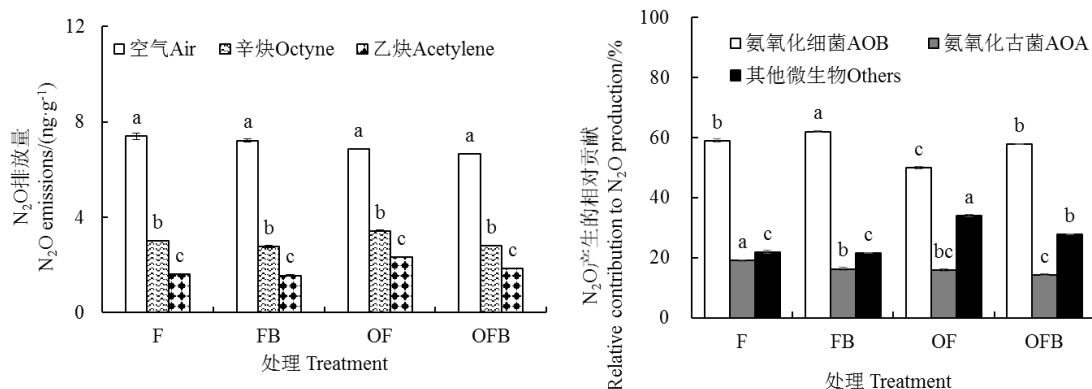
注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Different lowercase letters in the column indicate significant differences ($P < 0.05$) among treatments.

图 1 不同处理土壤的 N₂O 排放速率 (a) 和累积排放量 (b)

Fig. 1 Dynamic variations of N₂O emissions rate (a) and cumulative N₂O emissions (b) from the field soils under different treatments

2.3 氨氧化细菌和氨氧化古菌对 N₂O 产生的相对贡献

对于所有处理土壤, 添加辛炔或乙炔均能显著降低土壤 N₂O 排放量 ($P < 0.05$, 图 2)。四种处理土壤中 AOB 对 N₂O 产生的贡献率为 50.0%~62.1%, 而 AOA 的贡献率为 14.4%~19.0%。与 F 相比, FB 提高了 AOB 对 N₂O 产生贡献的 5.1%, OF 降低了 AOB 相对贡献率的 15.3%。同时, FB 和 OF 均显著降低 AOA 的相对贡献率 ($P < 0.05$)。



注: 图 2a 中不同小写字母表示相同处理不同抑制剂添加下 N₂O 排放量差异显著 ($P < 0.05$), 图 2b 中不同小写字母表示 AOB 和 AOA 不同处理间对 N₂O 排放的相对贡献差异显著 ($P < 0.05$)。Note: The different lowercase letters in Figure 2a indicate significant differences in N₂O emissions under the application of different inhibitors of the same treatment ($P < 0.05$), while those in Figure 2b indicate significant differences in the relative contributions of AOB and AOA to N₂O emissions among different treatments ($P < 0.05$).

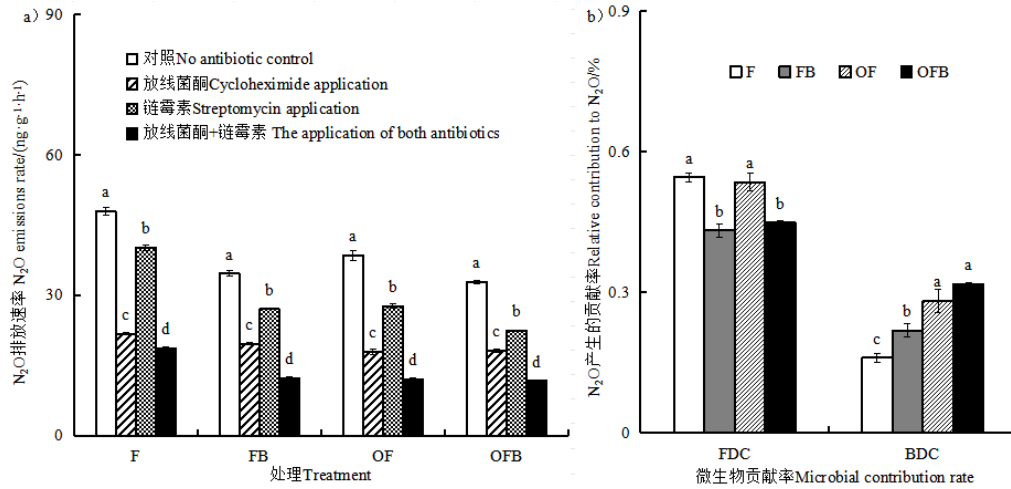
图 2 不同抑制剂添加下土壤 N₂O 排放量 (a) 和氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 对 N₂O 排放相对贡献率 (b)

Fig. 2 Effects of different inhibitor applications on soil N₂O emissions (a) and relative contribution of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and ammonia-oxidizing archaea (AOA) to N₂O emissions under different treatments (b)

2.4 真菌和细菌对 N₂O 产生的相对贡献

对于所有处理土壤, 添加真菌抑制剂——放线菌酮和细菌抑制剂——链霉素均能降低土壤 N₂O 排放速率 ($P < 0.05$, 图 3)。真菌对不同处理土壤 N₂O 排放的相对贡献率为 43.2%~54.6%, 细菌对不同处理土壤 N₂O 排放的相对贡献率为 16.1%~31.8%。施用生物质炭能够显著降低真菌的相对贡献

率, 而提高细菌的贡献率。同时, 施用有机肥能够显著增加细菌贡献率, 施用生物炭和有机肥能够显著降低真菌贡献率但显著增加细菌贡献率 ($P < 0.05$)。



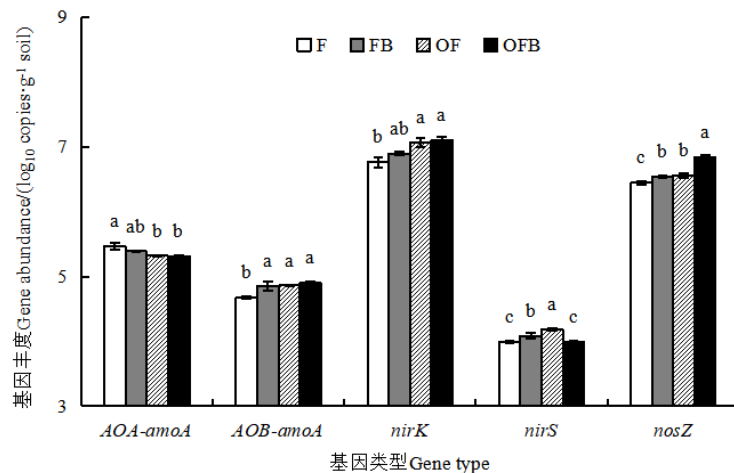
注: FDC, 真菌相对贡献率; BDC, 细菌相对贡献率。图 3a 中不同小写字母表示不同抑制剂添加下 N_2O 排放速率差异显著 ($P < 0.05$), 图 3b 中不同小写字母表示不同处理间差异显著。Note: FDC, Fungal denitrification contribution; BDC, Bacterial denitrification contribution. Different lowercase letters in Figure 3a denote significant differences ($P < 0.05$) in the N_2O emissions rate with different inhibitors, and in Figure 3b, they represent significant differences among treatments.

图 3 不同抑制剂添加下土壤 N_2O 排放速率 (a) 和真菌和细菌对不同处理土壤 N_2O 排放相对贡献 (b)

Fig. 3 Effects of different inhibitor applications on soil N_2O emissions rate (a) and relative contribution of soil fungi and bacteria to N_2O emissions under different treatments (b)

2.5 功能基因丰度

所有处理土壤中 *AOA-amoA* 和 *AOB-amoA* 基因拷贝数的变化范围分别为 $2.05 \times 10^5 \sim 2.90 \times 10^5$ 和 $4.75 \times 10^4 \sim 7.94 \times 10^4$, *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因拷贝数的变化范围分别为 $5.72 \times 10^6 \sim 1.25 \times 10^7$ 、 $9.80 \times 10^3 \sim 1.51 \times 10^4$, $2.78 \times 10^6 \sim 6.86 \times 10^6$ 。施用有机肥显著降低了 *AOA-amoA* 丰度, 而显著增加了 *AOB-amoA*、*nirK* 和 *nosZ* 的基因丰度 ($P < 0.05$)。同时, 施加生物炭显著增加了 *AOB-amoA* 和 *nosZ* 基因丰度 ($P < 0.05$, 图 4)。



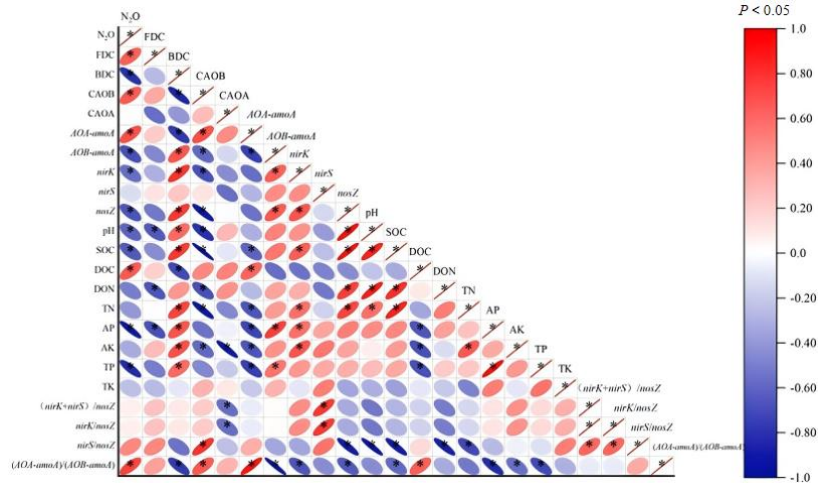
注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Different lowercase letters in the column indicate significant differences ($P < 0.05$) among treatments.

图 4 不同处理对土壤功能基因丰度的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on the abundance of soil functional genes

2.6 土壤 N₂O 排放与化学性质、功能微生物相对贡献及基因丰度的相互关系

土壤 N₂O 排放量与 DOC、真菌相对贡献率（FDC）、AOA-*amoA* 基因丰度及其相对贡献率及 AOA-*amoA*/AOB-*amoA* 丰度比呈显著的正相关关系 ($P < 0.05$, 图 5), 与 AP、TP、pH、SOC、AOB-*amoA*、*nirK* 和 *nosZ* 的基因丰度以及细菌相对贡献率呈显著的负相关关系 ($P < 0.05$)。真菌相对贡献率、AOA-*amoA* 丰度及其相对贡献率均与土壤 pH 呈显著的负相关关系。*nosZ* 的基因丰度与 pH、DON、TN 和 SOC 呈显著的正相关关系。



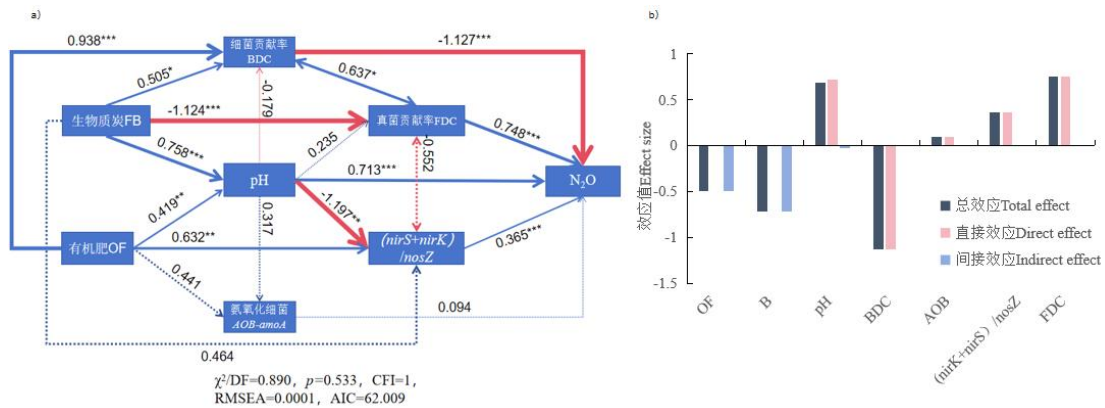
注: CAO, AOA 相对贡献率; CAO, AOB 相对贡献率。“*”表示差异显著 ($P < 0.05$)。Note: CAO, relative contribution of AOA; CAO, relative contribution of AOB. “*” indicates a significant difference ($P < 0.05$).

图 5 土壤 N₂O 排放量与化学性质、功能微生物相对贡献及其基因丰度的相关性

Fig.5 Correlation between soil N₂O emissions and chemical properties, relative contribution of functional microorganisms and gene abundances

2.7 生物质炭和有机肥对土壤 N₂O 排放影响的结构方程模型

结构方程模型 (SEM) 分析 (图 6) 显示, 生物质炭显著降低 FDC, 显著提高 BDC, 并通过提高 pH 降低 (*nirS*+*nirK*)/*nosZ* 比值, 从而降低土壤 N₂O 排放。有机肥处理显著提高 BDC, 并通过提高土壤 pH 降低 (*nirS*+*nirK*)/*nosZ* 比值减少 N₂O 排放。



注: 图 6a 中蓝色线条表示正相关, 红色线条表示负相关; 实线表示显著, 虚线表示不显著; “*”表示相关性显著 ($P < 0.05$), “**”表示相关性极显著 ($P < 0.01$), “***”表示相关性高度显著 ($P < 0.001$)。SEM 的拟合优度指数参考范围为: 卡方与自由度之比 (χ^2/DF) 和赤池信息量准则 (AIC) 越小越好, 比较拟合指数 (CFI) 大于 0.9, 近似误差均方根 (RMSEA) 小于 0.05。Note: In Figure 6a, blue and red lines denote positive and negative correlations, respectively. Solid and dashed lines indicate statistically significant and non-significant relationships, respectively. “*” indicates significant correlation ($P < 0.05$), “**” indicates highly significant correlation ($P < 0.01$), and “***” indicates extremely significant correlation ($P < 0.001$). The model fit is evaluated against the following standards: chi-square/degree of freedom (χ^2/DF) and akaike information criterion (AIC) should be as low as possible; a high comparative fit index (CFI) should exceed 0.9;

and a low root mean square error of approximation (RMSEA) should be below 0.05.

图 6 生物质炭和有机肥对土壤 N₂O 排放影响的结构方程模型 (a) 及各因素对土壤 N₂O 排放的直接和间接效应 (b)

Fig. 6 Structural equation model describing how biochar and organic fertilizer affect soil N₂O emissions (a) and the direct and indirect effects of various factors on soil N₂O emissions (b)

3 讨论

3.1 土壤 N₂O 排放对老化生物质炭遗留效应的响应

结构方程模型 (SEM) 表明, AOB、真菌对 N₂O 排放的贡献率 (FDC)、细菌对 N₂O 排放的贡献率 (BDC) 和 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值是影响土壤 N₂O 排放的直接影响因素 (图 6)。由于多数真菌缺乏编码 N₂O 还原酶的 *nosZ* 基因, 适宜条件下真菌产 N₂O 量较高^[4]。土壤 pH 显著影响硝化和反硝化功能微生物群落多样性与丰度^[22]。本研究, 相对于细菌, 真菌在土壤 N₂O 产生过程占主导地位。施用生物质炭显著降低了真菌的贡献率 (图 3)。以往研究表明, 真菌较适应于低 pH 条件下生存, 生物质炭可能通过提高土壤 pH 而抑制真菌活性^[23]。本研究中, 碱性生物质炭 (pH = 9.43) 施用显著提高了土壤 pH (表 2), 并且真菌对 N₂O 排放的贡献率与 pH 呈现显著的负相关关系 (图 5)。另一方面, 生物质炭通过提高 pH 显著增加了 *nosZ* 基因丰度, 同时降低了 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值。此外, 生物质炭对土壤中的 NH₄⁺ 具有较强吸附能力, 根据表 2, 生物质炭处理的 NH₄⁺ 含量显著低于对照处理, 表明其可能通过吸附大量 NH₄⁺, 减少底物而抑制硝化作用, 从而降低 N₂O 排放^[24]。综上, 施用生物质炭通过降低 FDC 与 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值而减少 N₂O 产生, 并通过提高 *nosZ* 基因丰度促进 N₂O 还原, 最终实现减排。

3.2 土壤 N₂O 排放对长期施用有机肥的响应

本研究中, AOB 是土壤氨氧化过程产生 N₂O 的主要贡献者。这与人^[25]研究中酸性环境下 AOA 通常占主导作用的发现有所不同。这种差异可能与铵态氮供应率有关, 高铵态氮供应率利于 AOB 的活性, 本研究中 AOB 成为主要贡献者的原因可能是长期尿素的施用^[26]。有机肥处理下土壤 NH₄⁺ 含量显著增加, 但 AOA 和 AOB 对 N₂O 排放的相对贡献率均显著降低 (图 2), 表明有机肥可能通过抑制硝化反应活性而降低 N₂O 排放^[27]。另一方面, 有机肥处理下真菌对 N₂O 排放的相对贡献率无明显变化, 而细菌对 N₂O 排放的相对贡献率显著提高 (图 3)。田伟等^[28]的研究指出, 细菌贡献率的提高可能归因于有机肥显著提高了土壤 pH。此外, 有机肥能够显著提高 *nosZ* 基因丰度, 导致 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值下降, 促使 N₂O 转化为 N₂, 这可能是有机肥减排 N₂O 的关键。

3.3 土壤 N₂O 排放对生物质炭和有机肥混施的响应

研究表明, 当年施用生物质炭对 N₂O 排放常表现为减排作用^[9], 但其减排效应可能随时间推移增强或减弱。朱爽阁等^[12]的研究发现, 随着老化年限的增加, AOA、AOB 的基因丰度及 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值逐渐增加, 生物质炭对 N₂O 的减排能力下降。而 Wang 等^[13]指出, 老化一年的生物质炭能够与土壤矿物形成有机-矿物复合体, 同时吸附氮肥减少 N₂O 排放所需的底物供应, 因而增强了对 N₂O 的减排效果。本研究中, 生物质炭的遗留效应表现为减排作用, 其通过降低真菌对 N₂O 排放的贡献率以及促进 N₂O 还原过程而降低 N₂O 排放。综上, 未来还需开展长期定位试验, 监测不同老化阶段生物质炭理化性质和 N₂O 排放动态, 以明确生物质炭施用对 N₂O 排放的时间尺度效应及机制。

本研究中, 生物质炭与有机肥联合施用对 N₂O 排放存在协同效应。不同处理下土壤 N₂O 排放量为: F > OF > FB > OFB (图 1)。施用生物质炭和有机肥均通过提高 pH、降低 (*nirS+nirK*) /*nosZ* 比值, 最终减少 N₂O 排放 (图 6)。综合以往施用生物质炭与/或有机肥的研究发现 (表 3), 生物质炭或有机肥降低土壤 N₂O 排放的作用机制主要体现在以下三个方面: 生物质炭通过吸附作用固定铵态氮或硝态氮, 配合有机肥的缓效氮矿化, 共同调控土壤有效氮水平, 降低 N₂O 的排放^[29]; 二者可提高 SOC, 通过调节土壤 C/N 比限制硝化和反硝化作用的底物供应^[30]; 联合施用生物质炭和有机

肥能够提高 *nosZ* 基因丰度，进一步强化 N₂O 还原过程（图 4）。此外，生物质炭或有机肥对 N₂O 排放的影响的不确定性可能与以下因素有关：（1）土壤本底理化性质（如 pH、有机碳含量等）；（2）生物质炭或有机肥的性质差异，如碳氮比（C/N）等；（3）施用量及二者配比；（4）二者对土壤的遗留效应。未来研究需进一步揭示不同生产原料/制备工艺的生物质炭和有机肥混施对土壤 N₂O 排放的影响，有助于提高二者混施在土壤固碳减排方面的可行性。

表 3 生物质炭和有机肥对土壤 N₂O 排放的调控作用及主要机制

Table 3 Regulatory effects of biochar and organic fertilizer on soil N ₂ O emissions and underlying mechanisms				
施肥类型	作物类型	N ₂ O 排放	原因	参考文献
Fertilization type	Crop type	N ₂ O emissions	Explanation	Reference
生物质炭 Biochar	蔬菜; 小麦	降低	提高 pH, 提高 N ₂ O 还原酶活性	[19]
	茶树; 辣椒;	降低	提高 <i>nosZ</i> 和固氮基因丰度, 降低 (<i>nirK</i> + <i>nirS</i>) / <i>nosZ</i> 比值	[31][32]
	蔬菜			
	玉米; 蔬菜	降低	高 C/N 比的生物质炭抑制土壤硝化和反硝化作用	[27][33][34]
	/	降低	生物质炭大量吸附 NO ₃ ⁻ , 使得 N ₂ O 产生底物减少	
	蔬菜	增加	与生物质炭对土壤碳氮矿化过程产生的影响有关	[32]
	茶树	增加	pH 降低, 增加真菌 <i>nirK</i> 基因丰度, 提高含水量促进硝化和反硝化作用	[9]
有机肥 Organic fertilizer	玉米; 蔬菜	降低	高 C/N 比, 导致有机肥的可分解性较低, 抑制硝化作用	[35]
	茶树	降低	有机肥施用的土壤 pH 提升, 提高 N ₂ O 还原酶活性	[36]
	橘树; 玉米;	增加	有机氮矿化过程产生大量的无机氮, 刺激了硝化与反硝化作用	[37]
	茶树			
	茶树	增加	有机肥显著提高了 AOB/16S 的比值	[38]
	蔬菜	无影响	<i>nirK</i> 、 <i>nirS</i> 及 <i>nosZ</i> 型反硝化微生物丰度均增加	[19]
生物质炭和有机肥 Biochar and organic fertilizer	蔬菜	降低	显著增加 <i>nosZ</i> 基因丰度, 促进 N ₂ O 还原为 N ₂	[19][34]
	蔬菜	降低	显著降低土壤矿质氮含量和电导率	[35]

3.4 研究局限性

本文通过培养试验，揭示了生物质炭与有机肥协同减排的微生物机制。但文中培养试验水分条件为 80% WHC 的静态培养，无法模拟田间土壤干湿交替对 N₂O 排放的激发效应。稻田干湿交替显著增加 N₂O 排放^[39]，而干湿交替和生物质炭施用存在交互效应，可能会减弱干湿交替对 N₂O 增排影响^[40]。研究表明，老化两年的生物质炭可显著降低稻田 N₂O 排放，且相比两年前减排效果增强^[41]。但其他研究发现施用生物质炭对土壤 N₂O 排放无显著影响，甚至会增加 N₂O 排放^{[42][43]}。这可能与水稻品种、田间管理措施、生物质炭种类及施用量等因素有关。因此，未来需开展原位干湿交替控制试验，以验证遗留效应的田间效果。同时，生物质炭处理下氮肥施用显著影响 N₂O 排放，未来也应加入不施氮肥的处理，能够更好地评价生物质炭对土壤 N₂O 排放的遗留效应。

4 结 论

生物质炭显著降低真菌对 N_2O 排放的相对贡献率, 有机肥则显著提升细菌对 N_2O 排放的相对贡献率, 二者均通过提高土壤 pH 而降低 (*nirS+nirK*)/*nosZ* 比值。生物质炭和有机肥混合施用所产生的遗留效应表现在: 协同调控土壤 pH 而影响氨氧化微生物的硝化活性, 并改变反硝化功能基因的丰度, 最终减少土壤 N_2O 排放。本研究结果为深入剖析施用生物质炭与有机肥对土壤的遗留效应及其微生物学机制提供了科学支撑, 对优化施肥模式以达成农田土壤 N_2O 减排目标具有重要指导价值。

参考文献 (References)

- [1] IPCC. Climate Change 2021: The physical science basis[R]. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>. 2021. [2025-5-1].
- [2] Tian H Q, Xu R T, Canadell J G, et al. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks[J]. *Nature*, 2020, 586(7828): 248-256.
- [3] Shen W S, Xiong R N, Zhang H H, et al. Research progress on microbial-mediated mitigation of nitrous oxide emissions from agricultural soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(2): 332-344. [申卫收, 熊若男, 张欢欢, 等. 微生物介导的农业土壤氧化亚氮减排研究进展[J]. *土壤学报*, 2023, 60(2): 332-344.]
- [4] Chen Q R, Han F Y, Lyu M K, et al. Distinct responses of fungal and bacterial denitrification genes to seasonal changes, nitrogen deposition and precipitation reduction in subtropical forest soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2025, 213: 106322.
- [5] Maeda K, Spor A, Edel-Hermann V, et al. N_2O production, a widespread trait in fungi[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9697.
- [6] Nelissen V, Saha B K, Ruyschaert G, et al. Effect of different biochar and fertilizer types on N_2O and NO emissions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 244-255.
- [7] Xia L L, Ti C P, Zhu C W, et al. Mitigation strategies of greenhouse gas emissions from crop production in China and the pathways to agricultural carbon neutrality[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(5): 1277-1288. [夏龙龙, 逯超普, 朱春梧, 等. 中国粮食生产的温室气体减排策略以及碳中和实现路径[J]. *土壤学报*, 2023, 60(5): 1277-1288.]
- [8] Hink L, Gubry-Rangin C, Nicol G W, et al. The consequences of niche and physiological differentiation of archaeal and bacterial ammonia oxidisers for nitrous oxide emissions[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(4): 1084-1093.
- [9] Guo S M, Wu J, Han Z Q, et al. The legacy effect of biochar application on soil nitrous oxide emissions[J]. *GCB Bioenergy*, 2023, 15(4): 478-493.
- [10] Zhou Y C, Wu L L, Li D Y, et al. Review on the long-term and short-term effects of biochar addition on soil greenhouse gas emissions[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(8): 4742-4750. [周咏春, 吴柳林, 李丹阳, 等. 生物炭添加对土壤温室气体排放影响的长短期效应研究进展[J]. *环境科学*, 2023, 44(8): 4742-4750.]
- [11] Dong C, Chen Z Y, Xie Y X, et al. Effects of successive biochar addition to soil on nitrogen functional microorganisms and nitrous oxide emission[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(19): 4024-4034. [董成, 陈智勇, 谢迎新, 等. 生物炭连续施用对农田土壤氮转化微生物及 N_2O 排放的影响[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(19): 4024-4034.]
- [12] Zhu S G, Zhang Q Q, Xu X T, et al. Mechanisms of diminishing capacity for mitigating nitrous oxide emissions by field-aged biochar in the rice-wheat rotation ecosystem[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(3): 716-725. [朱爽阁, 张前前, 徐昕彤, 等. 田间老化生物炭减缓稻麦轮作系统土壤 N_2O 排放能力降低的机理[J]. *土壤学报*, 2023, 60(3): 716-725.]
- [13] Wang L, Gao C C, Yang K, et al. Effects of biochar aging in the soil on its mechanical property and performance for soil CO_2 and N_2O emissions[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 782: 146824.
- [14] Song X Y, Yue X, Kong X P, et al. Effects of application of organic material on composition and structural characteristics of humic substances in saline soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(2): 414-424. [宋祥云, 岳鑫, 孔祥平, 等. 有机物料对盐土腐殖物质组成和结构特征的影响[J]. *土壤学报*, 2020, 57(2): 414-424.]

- [15] Zhang Y, Liu X, Jiao R F, et al. Effects of combined biochar and organic matter on soil fertility and maize growth[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(9): 1287-1297. [张影, 刘星, 焦瑞峰, 等. 生物质炭与有机物料配施的土壤培肥效果及对玉米生长的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(9): 1287-1297.]
- [16] Zhao S X, Yu X L, Li Z Z, et al. Effects of biochar pyrolyzed at varying temperatures on soil organic carbon and its components: Influence on the soil active organic carbon[J]. Environmental Science, 2017, 38(2): 769-782. [赵世翔, 于小玲, 李忠徽, 等. 不同温度制备的生物质炭对土壤有机碳及其组分的影响: 对土壤腐殖物质组成及性质的影响[J]. 环境科学, 2017, 38(2): 769-782.]
- [17] Zhao N, Wang X L, He J, et al. Effects of replacing chemical nitrogen fertilizer with organic fertilizer on active organic carbon fractions, enzyme activities, and crop yield in yellow soil[J]. Environmental Science, 2024, 45(7): 4196-4205. [赵娜, 王小利, 何进, 等. 有机肥替代化学氮肥对黄壤活性有机碳组分、酶活性及作物产量的影响[J]. 环境科学, 2024, 45(7): 4196-4205.]
- [18] Zheng Y Y, Abbott L K, Bolan N, et al. Biochar interacted with organic compounds from digestate in controlling N_2O emissions[J]. Journal of Environmental Management, 2025, 385: 125591.
- [19] Chen C, Xu X, Bi Z C, et al. Effects of biochar and organic manure on N_2O emissions and the functional gene abundance of nitrification and denitrification microbes under intensive vegetable production[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, 37(5): 1912-1920. [陈晨, 许欣, 毕智超, 等. 生物炭和有机肥对菜地土壤 N_2O 排放及硝化、反硝化微生物功能基因丰度的影响[J]. 环境科学学报, 2017, 37(5): 1912-1920.]
- [20] Zhang X, Duan P P, Wu Z, et al. Aged biochar stimulated ammonia-oxidizing Archaea and bacteria-derived N_2O and NO production in an acidic vegetable soil[J]. Science of the Total Environment, 2019, 687: 433-440.
- [21] Ji C, Han Z Q, Zheng F W, et al. Biochar reduced soil nitrous oxide emissions through suppressing fungal denitrification and affecting fungal community assembly in a subtropical tea plantation[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2022, 326: 107784.
- [22] Liu J Y, Qiu H S, Wang C, et al. Influence of biochar amendment on soil denitrifying microorganisms in double rice cropping system[J]. Environmental Science, 2019, 40(5): 2394-2403. [刘杰云, 邱虎森, 王聪, 等. 生物质炭对双季稻田土壤反硝化功能微生物的影响[J]. 环境科学, 2019, 40(5): 2394-2403.]
- [23] Liu X X, Jin B J, Zhang M, et al. Effects of biochar dosage on soil fertilization, bacterial community structure and function, and crop biomass in newly cultivated land[J]. Soils, 2025, 57(1): 76-85. [刘晓霞, 金秉洁, 张敏, 等. 生物质炭用量对新垦耕地土壤肥力、细菌群落结构和功能以及作物生物量的影响[J]. 土壤, 2025, 57(1): 76-85.]
- [24] He L L, Shan J, Zhao X, et al. Variable responses of nitrification and denitrification in a paddy soil to long-term biochar amendment and short-term biochar addition[J]. Chemosphere, 2019, 234: 558-567.
- [25] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, et al. Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils[J]. The ISME Journal, 2012, 6(5): 1032-1045.
- [26] Prosser J I, Hink L, Gubry-Rangin C, et al. Nitrous oxide production by ammonia oxidizers: Physiological diversity, niche differentiation and potential mitigation strategies[J]. Global Change Biology, 2020, 26(1): 103-118.
- [27] Hei Z W, Peng Y T, Hao S L, et al. Full substitution of chemical fertilizer by organic manure decreases soil N_2O emissions driven by ammonia oxidizers and gross nitrogen transformations[J]. Global Change Biology, 2023, 29(24): 7117-7130.
- [28] Tian W, Cheng Z L, Zhou Q, et al. Potential and mechanisms of bio-organic fertilizer in reducing N_2O emission from vegetable soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2025, 42(2): 369-379. [田伟, 程梓伦, 周琪, 等. 生物有机肥减少菜地土壤 N_2O 排放的潜力与机制[J]. 农业资源与环境学报, 2025, 42(2): 369-379.]
- [29] Li Y, Wang Y, Xiong Z Y, et al. Effect of manure with biomass carbon on forms of nutrients and nitrogen in rhizosphere / non-rhizosphere soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(2): 495-505. [李越, 王颖, 熊子怡, 等. 有机肥配施生物质炭对根际/非根际土壤氮赋存形态的影响[J]. 土壤学报, 2024, 61(2): 495-505.]
- [30] Lu C N, Xu Z M, Fei B Y, et al. Effects of combined application of biochar and organic fertilizer on soil properties, enzyme activity and bacterial community structure[J]. Soils, 2025, 57(2): 333-341. [鲁晨妮, 徐再萌, 费冰雁, 等. 生物质炭配施有机肥对设施土壤理化性质、酶活性和细菌群落结构的影响[J]. 土壤, 2025, 57(2): 333-341.]

- [31] Han Z Q. Effects of manure and biochar application on soil nitrogen-oxide ($\text{N}_2\text{O}+\text{NO}$) emissions in tea plantations[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022. [韩召强. 有机肥和生物质炭施用对茶园土壤氮氧化物 ($\text{N}_2\text{O}+\text{NO}$) 排放影响的观测研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2022.]
- [32] Jiang X Y. Effects of combined application of biochar and organic fertilizers on vegetable production and N_2O emissions[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021. [蒋雪洋. 生物质炭和有机肥配施对蔬菜生产和 N_2O 排放的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2021.]
- [33] Tang G R, Zhou X, Tian C, et al. Effects of organic and inorganic nitrogen fertilizer on soil carbon dioxide and methane emissions of lettuce[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2019, 51(4): 641-647. [汤桂容, 周旋, 田昌, 等. 有机无机氮肥配施对莴苣土壤 N_2O 排放的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019, 51(4): 641-647.]
- [34] Cayuela M L, van Zwieten L, Singh B P, et al. Biochar's role in mitigating soil nitrous oxide emissions: A review and meta-analysis [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 191: 5-16.
- [35] Sun Z R. Effects of organic and bio-organic fertilizers on nitrous oxide (N_2O) and nitric oxide (NO) emissions from greenhouse vegetable fields[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020. [孙志荣. 有机肥和生物有机肥施用对大棚菜地氧化亚氮和一氧化氮排放的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.]
- [36] Liu G Y, He A L, Du J, et al. Effect of organic fertilizer replacing chemical fertilizer on nitrous oxide emission from wheat-maize rotation system in lime concretion black soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(16): 3156-3167. [刘高远, 和爱玲, 杜君, 等. 有机肥替代化肥对砂姜黑土区小麦-玉米轮作系统 N_2O 排放的影响[J]. 中国农业科学, 2023, 56(16): 3156-3167.]
- [37] Zhang P F. Characteristics of nitrous oxide emissions from citrus orchard soil under different fertilization treatments[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020. [张鹏飞. 不同施肥处理下橘园土壤氧化亚氮排放特征[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.]
- [38] Liu Y, Liu W L, Zhu B. Effect of fertilization regime on soil N_2O emission from upland field under wheat-maize rotation system[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2016, 53(3): 735-745. [刘韵, 柳文丽, 朱波. 施肥方式对冬小麦—夏玉米轮作土壤 N_2O 排放的影响[J]. 土壤学报, 2016, 53(3): 735-745.]
- [39] Zhao C, Qiu R, Zhang T, et al. Effects of alternate wetting and drying irrigation on methane and nitrous oxide emissions from rice fields: A meta-analysis[J]. *Globe Chang Biology*, 2024, 30(12): e17581.
- [40] Liu C, Chi D C, Zhang F, et al. Effects of rice straw biochar on CH_4 and N_2O emissions in alternate wetting and drying paddy fields [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2023, 39(14): 232-242. [刘畅, 迟道才, 张丰, 等. 稻草生物炭对干湿交替稻田 CH_4 和 N_2O 排放的影响[J]. 农业工程学报, 2023, 39(14): 232-242.]
- [41] Hu Y J, Tang R J, Hu T Y, et al. Effects of biochar application two years later on N_2O and CH_4 emissions from rice-vegetable rotation in a tropical region of China[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(2): 929-939. [胡煜杰, 唐瑞杰, 胡天怡, 等. 生物炭施用两年后对热带地区稻菜轮作土壤 N_2O 和 CH_4 排放的影响[J]. 环境科学, 2024, 45(2): 929-939.]
- [42] Duan P P, Fan C H, Zhang Q Q, et al. Overdose fertilization induced ammonia-oxidizing archaea producing nitrous oxide in intensive vegetable fields[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650: 1787-1794.
- [43] Wang Z J, Wang H H, Li J Q, et al. Effects of coconut chaff biochar amendment on methane and nitrous oxide emissions from paddy fields in hot areas[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(8): 3931-3942. [王紫君, 王鸿浩, 李金秋, 等. 椰糠生物炭对热区双季稻田 N_2O 和 CH_4 排放的影响[J]. 环境科学, 2021, 42(8): 3931-3942.]

(责任编辑: 陈荣府)