

DOI: 10.11766/trxb202310280440

CSTR: 32215.14.trxb202310280440

代洪伟, 丁艳宏, 高晓东, 李昌见, 任敏, 宋小林, 赵西宁. 溶解性有机碳溶液灌溉和苜蓿间作消减黄土区苹果园深层土壤硝酸盐的研究[J]. 土壤学报, 2025, 62(1): 201–213.

DAI Hongwei, DING Yanhong, GAO Xiaodong, LI Changjian, REN Min, SONG Xiaolin, ZHAO Xining. Study on the Reduction of Nitrate in Deep Soil of Apple Orchard in Loess Area by Irrigation of Dissolved Organic Carbon Solution and Intercropping of Alfalfa[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025, 62(1): 201–213.

## 溶解性有机碳溶液灌溉和苜蓿间作消减黄土区苹果园深层土壤硝酸盐的研究\*

代洪伟<sup>1, 2</sup>, 丁艳宏<sup>1, 2</sup>, 高晓东<sup>1, 3</sup>, 李昌见<sup>1, 3</sup>, 任敏<sup>1, 2</sup>, 宋小林<sup>4</sup>,  
赵西宁<sup>1, 3†</sup>

(1. 西北农林科技大学旱区农业水土工程教育部重点实验室, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学水利与建筑工程学院, 陕西杨凌 712100; 3. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西杨凌 712100; 4. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**近年来, 黄土区苹果园由于氮肥使用不当, 导致土壤中硝酸盐的大量累积, 将严重威胁土壤生态安全。溶解性有机碳 (Dissolved organic carbon, DOC) 输入和深根系豆科作物间作是消减苹果园深层土壤硝酸盐的潜在可行途径, 但其效果与影响因素研究目前较薄弱。为此, 本研究在渭北黄土区苹果园中设置了灌溉 DOC 溶液 (D)、苜蓿间作 (M)、灌溉 DOC 溶液+苜蓿间作 (D+M)、以及对照 (CK) 四个处理, 测定 0~600 cm 土层硝酸盐、DOC、土壤有机碳 (Soil organic carbon, SOC)、含水率及反硝化微生物丰度等指标。研究表明: D 和 D+M 处理下, 0~400 cm 土壤剖面硝酸盐消减比例达到 50% 左右, 但单一的 M 处理消减效果不明显; D 处理消耗的 DOC 与硝酸盐之间的 C、N 质量消耗比例约为 5:1, D+M 处理的 C、N 质量消耗比例约为 4.35:1; D 和 D+M 处理均增加了 0~600 cm 土层 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 反硝化基因拷贝数, 并提高了 DOC、SOC 和反硝化微生物对硝酸盐消减的贡献率。总体而言, D+M 处理消减硝酸盐效果最好, 可作为黄土区果园深层土壤硝酸盐治理的可行措施。

**关键词:** 黄土高原; 溶解性有机碳; 硝态氮; 反硝化功能基因; 苜蓿

**中图分类号:** S661.1; S153.6 **文献标志码:** A

## Study on the Reduction of Nitrate in Deep Soil of Apple Orchard in Loess Area by Irrigation of Dissolved Organic Carbon Solution and Intercropping of Alfalfa

DAI Hongwei<sup>1, 2</sup>, DING Yanhong<sup>1, 2</sup>, GAO Xiaodong<sup>1, 3</sup>, LI Changjian<sup>1, 3</sup>, REN Min<sup>1, 2</sup>, SONG Xiaolin<sup>4</sup>, ZHAO Xining<sup>1, 3†</sup>

(1. Ministry of Education Key Laboratory of Agricultural Soil and Water Engineering in Arid and Semiarid Areas, Northwest A&F University,

\* 国家重点研发计划项目 (2021YFD1900700) 和国家自然科学基金项目 (42125705) 资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No.2021YFD1900700) and the National Natural Science Foundation of China (No. 42125705)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zxn@nwsuaf.edu.cn

作者简介: 代洪伟 (1998—), 男, 河北承德人, 硕士研究生, 主要从事农业水土资源高效利用研究。E-mail: 2435925896@qq.com

收稿日期: 2023-10-28; 收到修改稿日期: 2024-01-21; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2024-09-26

Yangling, Shanxi 712100, China; 2. College of Water Resources and Architectural Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shanxi 712100, China; 3. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling, Shanxi 712100, China; 4. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shanxi 712100, China)

**Abstract:** 【 Objective 】 In recent years, due to improper use of nitrogen fertilizer, a large accumulation of nitrate in the soil has seriously threatened the soil ecological security of the apple orchard in the loess area. The input of dissolved organic carbon (Dissolved organic carbon, DOC) and intercropping with deep-rooted leguminous crops may be a potentially feasible way to reduce nitrate in the deep soil of the apple orchard. However, research on the feasibility of this approach its effectiveness and influencing factors is currently weak. 【 Method 】 Therefore, this study set up four treatments in the apple orchard in the northern loess area of Wei River: DOC solution irrigation (D), alfalfa intercropping (M), DOC solution irrigation + alfalfa intercropping (D+M), and control (CK). Various indicators such as nitrate nitrogen, DOC, soil organic carbon (Soil organic carbon, SOC), moisture content, and denitrifying microbial abundance in the 0-600 cm soil layers were measured. 【 Result 】 The study found that under the D and D+M treatments, the reduction rate of nitrate nitrogen in the 0-400 cm soil profile reached around 50%, but the effect of the single M treatment was not significant. The carbon-to-nitrogen consumption ratio between consumed DOC and nitrate was about 5: 1 in the D treatment, and about 4.35: 1 in the D+M treatment. Both the D and D+M treatments increased the copy numbers of *nirS*, *nirK*, and *nosZ* denitrification genes in the 0-600 cm soil layers, and enhanced the contribution of DOC, SOC, and denitrifying microbes to nitrate reduction. 【 Conclusion 】 Overall, the D+M treatment showed the best nitrate reduction effect and can be considered a feasible measure for controlling deep soil nitrate in orchards in the loess area.

**Key words:** The Loess Plateau; Dissolved organic carbon; Nitrate nitrogen; Denitrification function gene; Alfalfa

在退耕还林工程实施二十多年里,黄土高原地区大量农田转变为果园,苹果种植面积得到了极大提升<sup>[1]</sup>。然而,为了提高苹果产量,大量氮肥被投入使用,黄土高原苹果园年均施氮量从 2000 年的 350 kg·hm<sup>-2</sup> (以 N 计,下同),持续增加至 2014 年的 1 032 kg·hm<sup>-2</sup><sup>[2]</sup>,远高于该地区推荐的氮素施用水平 (360~480 kg·hm<sup>-2</sup>)<sup>[3]</sup>。这也导致黄土高原苹果园土壤剖面中硝酸盐累积量达到了 7 250~8 050 kg·hm<sup>-2</sup><sup>[4]</sup>。刘小勇等<sup>[5]</sup>对黄土高原甘肃陇东地区 15、20、22 年树龄苹果园研究发现,0~120 cm 土壤剖面硝酸盐累积量分别为 448、563、770 kg·hm<sup>-2</sup>。陈翠霞等<sup>[6]</sup>对新老果区代表的洛川和礼泉进行研究发现,老果园硝态氮累积量 (5 226 kg·hm<sup>-2</sup>) 几乎是新果园 (2 724 kg·hm<sup>-2</sup>) 的 2 倍。这将给黄土高原土壤生态环境带来极大威胁<sup>[7]</sup>。因此,亟需寻求合理的方式消减深层土壤硝酸盐并减弱硝酸盐淋溶潜力,这对于保障黄土高原土壤健康与经济绿色可持续发展具有重大意义。

已有研究表明<sup>[8]</sup>,增加土壤溶解性有机碳 (Dissolved organic carbon, DOC) 浓度,可以提高反硝化作用,从而减少硝酸盐的累积。常用的方法包括秸秆还田、施肥等,这些方法可以增加土壤中

的碳源,刺激微生物消耗硝酸盐,这也进一步说明了 DOC 是影响土壤中反硝化作用的关键因素之一<sup>[9]</sup>。此外,研究还发现,灌溉玉米秸秆制备的 DOC 溶液,可以有效消减 0~200 cm 土层累积的硝态氮<sup>[10]</sup>。这主要是因为玉米秸秆分解产生的 DOC 会提高反硝化微生物功能基因 *narG*、*nirS* 和 *nosZ* 的相对丰度,确保反硝化反应的进行<sup>[11]</sup>。然而,黄土高原包气带深,且深层土壤干燥化严重,导致大量的硝态氮储存在 0~600 cm 的土层当中<sup>[12]</sup>。此外,DOC 易被浅层土壤中的微生物消耗利用,很难入渗到深层土壤并发挥作用。因此,对于包气带深厚的黄土高原而言,灌溉 DOC 溶液能否入渗到深层土壤,并提高深层土壤反硝化微生物活性,达到消减深层累积硝态氮的效果,且各影响因素对硝酸盐消减的贡献如何? 还需进一步研究。

此外,种植深根系豆科作物也可能是一种抑制硝态氮累积的有效途径。研究发现,马铃薯间作可以减少土壤溶解性有机氮含量,降低土壤中氨氧化古菌 (Ammonia oxidizing archaea, AOA)、氨氧化细菌 (Ammonia oxidizing bacteria, AOB) 的细菌丰度<sup>[13]</sup>。玉米花生间作系统可以促进根系间的氮素转移,减少盈余氮素向深层累积,有利于玉米生长<sup>[14]</sup>。

也有研究表明种植苜蓿可以降低土壤氮素损失并提升反硝化细菌丰度<sup>[15]</sup>，尤其在果园间作苜蓿，这样不仅可以提高浅层氮素水平促进果树生长，而且可以显著减少深层硝态氮的累积<sup>[16]</sup>。除此之外，也有研究发现深根系苜蓿与浅根系辣椒间作，一方面深根系的苜蓿吸收了深层土壤中的硝酸盐，减弱了硝酸盐的淋溶潜力，另一方面促进了经济作物的生长，提高了产量<sup>[17]</sup>。这足以说明，深根系苜蓿对土壤中硝态氮的消减起到了促进作用。但关于将外加碳源与间作豆科作物两者结合起来去探讨土壤硝态氮消减的协同机制鲜有报道。

玉米秸秆作为一种可再生农业资源，内部蕴含着丰富的碳源<sup>[18]</sup>，且黄土高原具有丰富的玉米秸秆资源，如果能将玉米秸秆制备为 DOC 溶液灌入土壤中，既可以有效减少农业资源的浪费，也可以改善土壤环境，降低硝酸盐的累积。如果在此基础上间作苜蓿，可能会更有效地降低土壤硝态氮的含量。因此，本研究通过布设引流装置，将 DOC 溶液灌入引流装置，避免其在土壤浅层被大量消耗。并通过间作苜蓿的方式提高反硝化微生物的活性，达到消减深层累积硝态氮的目的，以期改善黄土高原土壤

质量，保障该地区苹果产业绿色可持续发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

DOC 溶液制备原料为玉米秸秆，将玉米秸秆剪成小段，烘干后放入粉碎机内粉碎，过 2 mm 网筛，将过筛好的秸秆粉放入发酵桶内，放入微生物菌剂（芽孢杆菌、放线菌、酵母菌、丝状真菌，有效活菌数为 0.5 亿·g<sup>-1</sup>）与去离子水，将两者混合后不断搅拌直至秸秆粉完全被水浸润。微生物菌剂、秸秆粉及水的比例为 1 : 12 : 180，发酵桶盖为单通气阀桶盖，以防发酵气体顶开桶盖导致发酵液溢出，密封发酵 3~4 个月，每周搅拌一次，并采集发酵液水样，当发酵液中 DOC 浓度达到 4 019 mg·L<sup>-1</sup>（以 C 计）时用于试验灌溉。发酵液中硝酸盐、溶解性有机氮和铵态氮浓度分别为 31.7、40.1 和 3.4 mg·L<sup>-1</sup>，远低于当地土壤剖面 12 000 kg·hm<sup>-2</sup> 的硝酸盐累积量，因此引入的硝酸盐含量可忽略不计，具体数据如表 1 所示。

表 1 溶解性有机碳灌溉液成分

Table 1 Irrigation fluid composition of dissolved organic carbon (DOC)

酸碱度 pH	硝酸盐 Nitrate/ (mg·L <sup>-1</sup> , 以 N 计)	溶解性有机氮 DON/ (mg·L <sup>-1</sup> , 以 N 计)	铵态氮 Ammonium N/ (mg·L <sup>-1</sup> , 以 N 计)	溶解性有机碳 DOC/ (mg·L <sup>-1</sup> , 以 C 计)	碳、氮质量消耗比 C/N 比
7.6±0.4	31.7±1.6	40.1±1.8	3.4±0.2	4018.8±15.7	126.1±3.3

### 1.2 试验设计

本试验于 2022 年 5 月至 2023 年 7 月在陕西省咸阳市长武县黄土高原农业生态实验站附近果园（35°14'N, 107°41'E）进行。该地区近五年来降雨主要集中在 7—10 月份，极端降雨情况尤为突出，这导致大量硝态氮随水分渗入深层土壤并大量累积，故选此地作为研究区。所选果园树龄为 23 龄，试验区域为 9 m×16 m 的长方形区域，区域内共有 12 棵果树作为研究对象。试验设置 4 个处理 3 组重复，分别为未处理果地（CK）、灌溉 DOC 溶液果地（D）、苜蓿间作果地（M）、苜蓿间作并灌溉 DOC 溶液果地（D+M）处理。苜蓿于 2022 年 5 月 22 日种植，

且采用条播种植方式，条播间距为 40 cm，9 月 3 日在株间布设引流装置并灌溉 DOC 溶液，引流装置选用直径 20 cm，长 1 m 规格的灌水筒，管身开 1 cm 小孔，将其竖向埋入 100 cm 土层中，引流装置示意图见图 1。

### 1.3 样品采集

于 2022 年 9 月、11 月和 2023 年 3 月在果树株间进行土钻取样，以 CK 处理为例，CK-9、CK-11、CK-3 分别代表 2022 年 9 月、11 月和 2023 年 3 月采样情况。在距引流装置同方向的 30（D30、D+M30）和 50 cm（D50、D+M50）处土钻取样以研究径向入渗运移情况，CK 与 M 处理的采样位置距离引流装

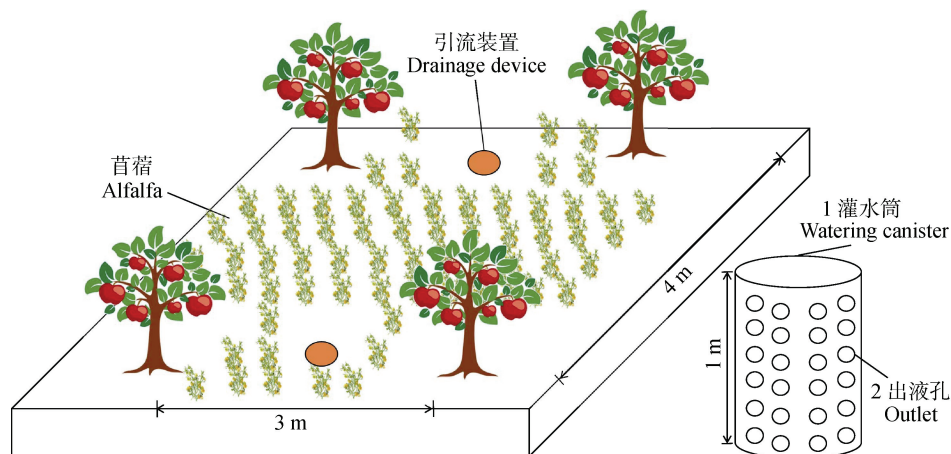


图1 试验布置示意图(左)及引流装置示意图(右)  
Fig. 1 Experimental layout diagram (left) and drainage device diagram (right)

置 30 cm。样品采集深度为 600 cm，间隔为 20 cm，每个处理三次重复。

#### 1.4 测定项目与方法

(1) 土壤理化指标测定。

土壤水分使用烘干法测定。SOC 含量采用重铬酸钾氧化法测定。土壤硝态氮 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) 和铵态氮 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 采用  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl 溶液按水土比 10:1 进行提取，震荡后用  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤上清液，上清液用连续流动分析仪 (型号: AA3, 德国, SEAL 公司) 测定。土壤 DOC 按水土比 5:1 混合，震荡后采用  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤上清液，用 TOC 分析仪 (型号: TOC-L, 日本, 岛津公司) 测定。

(2) 土壤反硝化功能基因的测定。

DNA 微生物的提取: 称取土壤样品 0.5 g, 采用 MP Bio Fast DNA Spin Kit for Soil (美国) 试剂盒, 按照说明书提取土壤总 DNA, 并使用 Nanodrop 2000 紫外-可见分光光度计 (Thermo Scientific, USA) 对 DNA 的纯度和浓度进行检验, 将提取的土壤 DNA 保存在  $-80^\circ\text{C}$  的冰箱中。

目标片段 PCR 的扩增:  $95^\circ\text{C}$  预变性 2 min 后,  $95^\circ\text{C}$  变性 20s,  $57^\circ\text{C}$  退火 30s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 30s, 循环 25 次;  $72^\circ\text{C}$  最终延伸 5 min。2% 琼脂糖电泳检测, 并使用 DNA 凝胶回收试剂盒 (美国, Axygen 公司) 回收 PCR 产物。将 PCR 扩增回收产物进行荧光定量, 荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit, 定量仪器为 Microplate reader (BioTek, FLx800)。

Illumina MiSeq 测序: 采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库, 然后利用 Illumina MiSeq 平台 (上海阿趣生物科技有限公司) 对 16S 引物进行测序分析, 测定 *amoA*、*nirS*、*nirK*、*nosZ* 的基因丰度。高通量序列通过质控后获得优化序列, 将剩余的优化序列在 UPARSE 平台将相似度为 97% 的 OTU (运算分类单元) 进行数据分类, 得到每个 OTU 对应的微生物信息, 以完成对微生物的多样性分析。

#### 1.5 数据处理与分析

0~600 cm 土壤剖面中硝酸盐储量 ( $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , 以 N 计) 和 DOC 的储量 ( $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , 以 C 计) 计算公式如下:

$$\text{RSN} = \frac{BD \times d \times N}{10} \quad (1)$$

$$\text{RSC} = \frac{BD \times d \times C}{10} \quad (2)$$

式中, RSN、RSC 分别代表土壤硝酸盐和 DOC 储量, BD 为土壤容重 ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ),  $d$  为土层厚度 (cm),  $N$  为土壤硝酸盐含量 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  $C$  为土壤溶解性有机碳含量 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 10 为转换系数。

采用方差分解确定环境因子对硝酸盐消减的贡献率, 在使用回归之前, 使用共线性诊断对变量进行共线性检验, 通过主成分分析选取主要贡献成分。其中多元回归及解释方程如下:

$$Y_i = aX_{1i} + bX_{2i} + cX_{3i} \dots \quad (3)$$

$$\eta = \frac{|a|}{|a| + |b| + |c| + \dots} \quad (4)$$

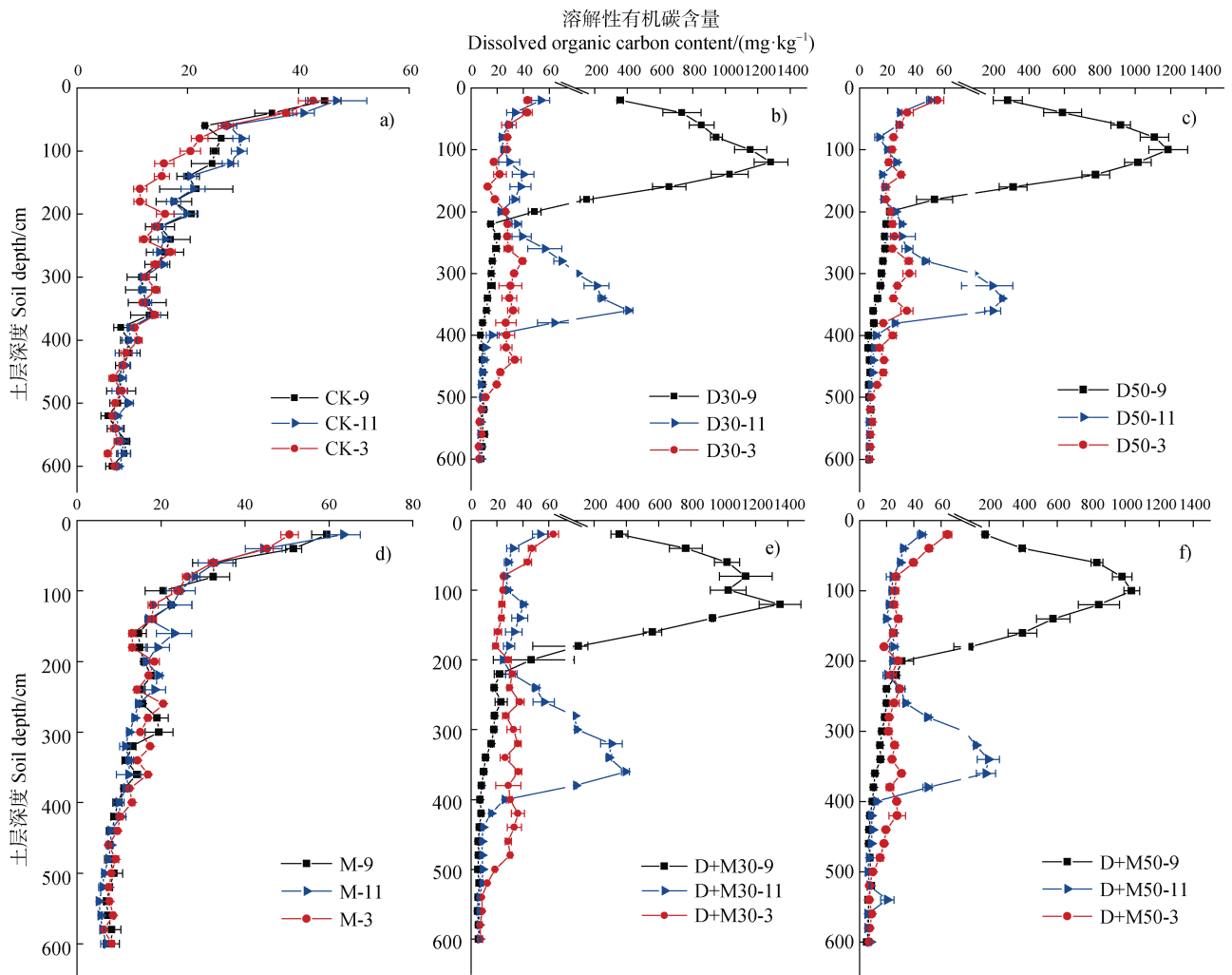
式中,  $Y_i$  为硝酸盐消减潜势,  $X_{1i}$ 、 $X_{2i}$  和  $X_{3i}$  为影响因子,  $a$ 、 $b$  和  $c$  为回归系数,  $\eta$  为影响因子对硝酸盐消减的贡献率。

本研究对所有试验数据均采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析处理。所有数据均通过了正态分布检验。采用 Excel 2023、Origin 2021 软件对试验结果图表进行绘制。

## 2 结果

### 2.1 土壤 DOC 及有机碳分布规律

灌溉 DOC 溶液后, 溶液在土壤中进行垂向迁移和径向运移, 由图 2 可知不同处理间土壤中的 DOC 含量分布存在显著差异。在 0~600 cm 土层中, CK 和 M 处理随时间变化并无显著变化, 土壤中 DOC 含量表现为浅层高, 深层低, 而 D 和 D+M 处理在灌溉 DOC 溶液 1d 后 0~200 cm 土壤剖面的 DOC 含量显著提升 ( $P < 0.05$ ), 在灌溉 DOC 溶液



注: 图中标注 9、11、3 分别代表 2022 年 9 月、11 月及 2023 年 3 月采样。标注 30、50 分别代表距离引流装置 30、50 cm 处进行采样。其中 CK 为对照 (不处理果园), D 为 DOC 灌溉果园, M 为苜蓿间作果园, D+M 为灌溉 DOC 溶液且苜蓿间作果园。下同。Note: Figures labeled 9, 11, and 3 represent sampling in September, November, and March 2022 and 2023, respectively. Labels 30 and 50 represent sampling at 30 and 50 cm from the diversion device, respectively. Where CK is the control (no treated orchard), D is the DOC irrigated orchard, M is the alfalfa intercropping orchard, and D+M is the irrigated DOC and alfalfa intercropping orchard. The same below.

图 2 不同处理下 0~600 cm 土壤剖面 DOC 分布情况

Fig. 2 Distribution of dissolved organic carbon content in 0~600 cm soil profiles under different treatments

两个月后, 300~400 cm 深层土壤 DOC 含量上升。灌溉 DOC 溶液六个月后, 400~500 cm 深层土壤 DOC 含量显著提升 ( $P < 0.05$ )。D 与 D+M 处理的采样数据表明距引流装置 30 cm 处采样的 DOC 浓度大于距引流装置 50 cm 处采样的 DOC 浓度。

灌溉 DOC 溶液 6 个月后测定 SOC 含量(图 3), 各处理土壤剖面中 SOC 含量由大到小分别为 D+M ( $121.36 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) > D ( $120.51 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) > M ( $98.57 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) > CK ( $96.88 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 在 M、D 和 D+M 处理下的 SOC 含量较 CK 处理分别提升了 1.7%、24.4%和 25.3%。

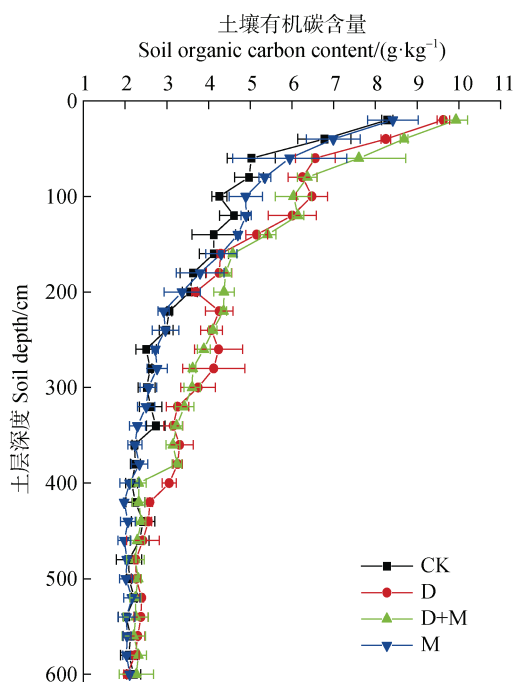


图 3 0~600 cm 土壤剖面 SOC 分布情况

Fig. 3 Distribution of SOC in 0~600 cm soil profiles

## 2.2 土壤硝酸盐分布规律及消减能力

土壤硝酸盐含量总体上呈现浅层低, 深层高的特点。与 CK 和 M 处理相比, 灌溉 DOC 溶液后两个月内 D 与 D+M 处理小区内 0~400 cm 土层的硝酸盐含量均显著下降, 在距引流装置 30 cm 和 50 cm 处的硝酸盐消减能力并不相同, 靠近引流装置的位置消减能力较好且入渗能力更强。在 2023 年 3 月采样发现 D 处理小区可以达到的消减深度为 400 cm, 可以消减 0~400 cm 土层中约 50% 的硝酸盐累积, D+M 处理的消减能力相对更强, 但 M 处理的消减效果却不显著, 因此后续有关 M 处理各指标对硝酸

盐消减关系不做探讨。

## 2.3 土壤硝化、反硝化细菌的分布规律

对 0~600 cm 的土壤样品进行 DNA 提取, 分析样品中的 *nirS*、*nirK*、*nosZ*、*amoA* 的基因拷贝数(表 3), 随着 DOC 溶液浇入, 在土壤深层也发现了大量的反硝化基因表达。与 CK 相比, D、D+M 处理均增加了 0~600 cm 土层的 *nirS*、*nirK*、*nosZ* 的基因拷贝数 ( $P < 0.05$ )。D+M 处理的 *nirK* 基因和 *nosZ* 基因的拷贝数在 0~400 cm 土层中要明显高于 D 处理的基因拷贝数 ( $P < 0.05$ ), D+M 处理的 *nirS* 基因拷贝数在 0~600 cm 均高于 D 处理基因拷贝数 ( $P < 0.05$ )。amoA 基因拷贝数随土壤深度增加, 其拷贝数也明显增加, 但没有明显的规律性。

## 2.4 影响土壤硝态氮含量变化的因素及其消减潜力

在 0~600 cm 土层范围, 对不同处理下土壤  $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DOC、土壤水分含量 (SWC)、SOC 及反硝化功能基因拷贝数进行相关性分析(表 4), 不同处理下土壤硝态氮与土壤含水率 (SWC)、土壤 DOC 含量和 SOC 含量之间均呈现显著 ( $P < 0.05$ ) 负相关性。在 CK 处理下土壤  $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DOC、SWC、SOC 含量与反硝化功能基因拷贝数无显著相关性。在 D 与 D+M 处理下土壤硝态氮含量均与 *nirS*、*nirK* 基因拷贝数呈现显著 ( $P < 0.05$ ) 负相关性。

对土壤 DOC 与硝态氮含量的变化进行分析(表 5), 研究发现 DOC 含量的提升与硝酸盐的减少存在一定的消耗比例关系。结果显示, 仅灌溉 DOC 处理 C、N 质量消耗比例约为 5 : 1, 而 D+M 处理 C、N 质量消耗比例较 D 处理更低, 为 4.35 : 1 左右。

分析了不同处理下各影响因素对硝酸盐消减的贡献率(图 5), 结果表明与 CK 处理相比, D 和 D+M 处理的 DOC 因子解释量分别提升了 7.4% 和 6.1%, 反硝化微生物活性因子解释量分别提升了 8% 和 14.7%, D 处理中 SWC 对硝酸盐消减的贡献提升了 8.3%, 而 D+M 处理减少了 2.9%。

## 3 讨论

### 3.1 土壤硝酸盐消减效应

土壤中过量的硝酸盐含量不仅会影响植物的生长, 污染水体, 而且对人类健康造成不利影响, 因此减少土壤中硝酸盐的累积, 对维护土壤生态环境

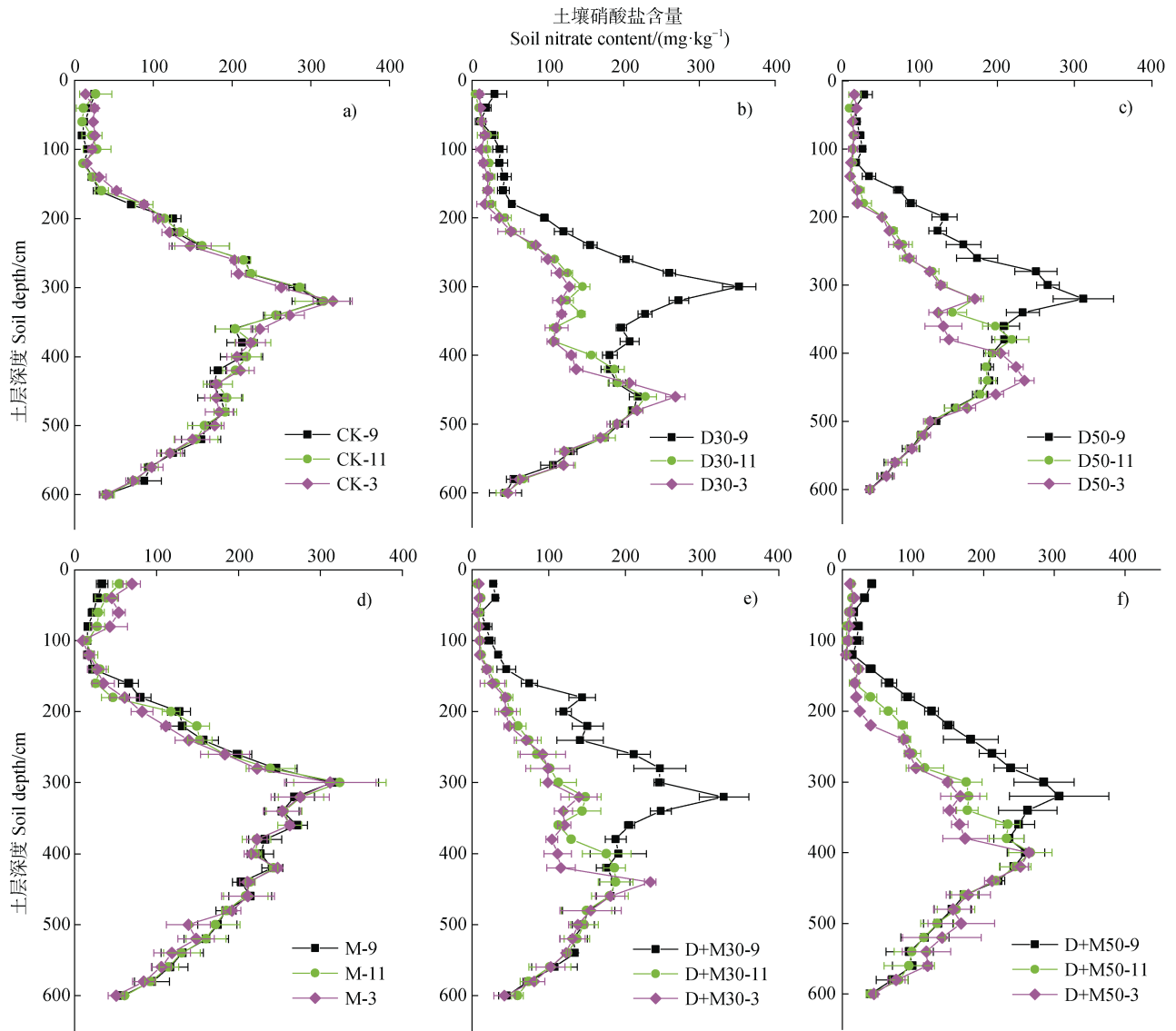


图 4 不同处理下 0~600 cm 土壤剖面硝酸盐分布情况

Fig. 4 Distribution of nitrate in 0~600 cm soil profiles under different treatments

表 2 0~400 cm 土层硝酸盐消减情况

Table 2 Nitrate reduction in 0~400 cm soil layer

处理 Treatment	采样时间 Time after irrigation/ ( yyyy-mm )		消减比例 Reduction ratio/%
	2022-09	2023-03	
	CK	8.08±0.32b	
D30	8.71±0.05a	4.34±0.07b	50
D+M30	9.02±0.02a	4.13±0.15b	54
D50	7.54±0.01b	3.81±0.05b	49
D+M50	8.19±0.02b	4.04±0.07b	51
M	8.62±0.02b	8.35±0.13a	—

健康至关重要。有研究表明，提高土壤有机碳含量可以有效减少土壤中硝酸盐的累积<sup>[19]</sup>。其次，还有研究表明苜蓿种植可以提高 60 cm 以上土层的硝态氮含量，显著降低深层土壤硝态氮含量，进而有效阻滞土壤硝态氮向深层淋溶的风险<sup>[20]</sup>。本研究中发现 D 与 D+M 处理均表现出了较好的硝酸盐消减能力，消减比例达到了 50% 左右。这也意味着，灌溉 DOC 溶液或灌溉 DOC 溶液且苜蓿间作，均在减少土壤硝酸盐累积方面起到了显著作用，这也与前人研究结果一致。灌溉 DOC 溶液以后可以显著提升土壤有机碳含量，土壤有机碳含量与硝态氮含量呈显著负相关性，因此硝态氮含量会随着外源 DOC 含量

表 3 0~600 cm 土层硝化、反硝化细菌基因拷贝数

Table 3 Gene copy number of nitrifying and denitrifying bacteria in 0~600 cm soil profiles

处理 Treatment	土层深度 Depth /m	<i>amoA</i> 基因拷贝数/ (copies·g <sup>-1</sup> × 10 <sup>4</sup> )	<i>nirK</i> 基因拷贝数/ (copies·g <sup>-1</sup> × 10 <sup>4</sup> )	<i>nirS</i> 基因拷贝数/ (copies·g <sup>-1</sup> × 10 <sup>4</sup> )	<i>nosZ</i> 基因拷贝数/ (copies·g <sup>-1</sup> × 10 <sup>4</sup> )
CK	0~1	4.43±0.32d	5.29±0.82a	6.42±1.22a	5.95±0.91a
	1~2	10.1±0.72b	3.34±0.35c	6.10±0.60a	5.90±0.34a
	2~3	20.32±1.43a	3.71±0.67b	6.33±1.01a	5.44±0.43a
	3~4	8.09±0.58c	4.37±0.70b	6.34±0.37a	3.94±0.62b
	4~5	20.12±1.43a	4.09±0.69b	5.78±0.61a	4.40±0.21b
	5~6	11.89±0.85b	4.10±0.64b	5.54±0.78a	5.63±0.40a
D	0~1	3.43±0.25c	4.24±0.92b	12.14±0.40a	6.00±1.37c
	1~2	3.67±0.26c	4.33±0.80ab	9.54±0.67b	6.60±0.69bc
	2~3	13.27±0.94b	4.46±0.62ab	9.54±1.70b	6.22±0.19c
	3~4	11.98±0.84b	4.55±0.32ab	8.48±0.72b	5.38±0.26d
	4~5	17.88±1.27a	4.85±0.35a	7.68±0.56c	7.28±0.72b
	5~6	19.46±1.37a	4.05±0.64b	11.63±0.99a	11.04±0.79a
D+M	0~1	4.42±0.31b	7.29±0.99a	8.13±1.85a	8.61±0.61a
	1~2	4.19±0.30b	6.24±1.28b	7.81±1.39a	6.73±0.46b
	2~3	4.10±0.29b	5.99±2.08b	6.78±1.81b	8.98±1.22a
	3~4	14.03±1.00a	5.68±2.10b	6.57±0.48b	6.70±1.01b
	4~5	5.70±0.41b	5.11±0.57c	5.66±0.26c	6.12±1.19b
	5~6	14.04±1.01a	5.87±1.18b	6.88±0.89b	6.49±0.46b

表 4 不同处理下 NO<sub>3</sub>-N、DOC、SWC、SOC 及反硝化微生物间的相关性Table 4 Correlation among NO<sub>3</sub>-N, DOC, SWC, SOC and denitrification microorganisms under different treatments

处理 Treatment	数据来源 Data sources	NO <sub>3</sub> -N	SOC	DOC	SWC	<i>nirS</i>	<i>nirK</i>	<i>nosZ</i>
CK	NO <sub>3</sub> -N	1						
	SOC	-0.653**	1					
	DOC	-0.448*	0.929**	1				
	SWC	-0.829**	-0.638**	-0.428*	1			
	<i>nirS</i>	0.241	0.574	0.72	0.08	1		
	<i>nirK</i>	-0.45	0.37	0.375	-0.532	0.101	1	
	<i>nosZ</i>	-0.598	0.708	0.546	-0.412	0.432	-0.03	1
D	NO <sub>3</sub> -N	1						
	SOC	-0.701**	1					
	DOC	-0.132	0.586**	1				
	SWC	-0.516**	-0.447*	0.298	1			
	<i>nirS</i>	-0.866*	0.531	-0.036	-0.302	1		



续表

处理 Treatment	数据来源 Data sources	NO <sub>3</sub> -N	SOC	DOC	SWC	nirS	nirK	nosZ
D	nirK	-0.906*	-0.24	0.182	0.475	-0.875*	1	
	nosZ	-0.198	-0.539	-0.835*	-0.517	0.387	-0.525	1
	NO <sub>3</sub> -N	1						
	SOC	-0.767**	1					
D+M	DOC	-0.139	0.629**	1				
	SWC	-0.462*	-0.347	-0.05	1			
	nirS	-0.912*	0.857*	0.227	-0.34	1		
	nirK	-0.867*	0.923**	0.208	-0.108	0.930**	1	
	nosZ	-0.328	0.669	0.512	0.642	0.483	0.661	1

注：\*\*：P&lt;0.01；\*：P&lt;0.05。

表 5 不同处理下 0~600 cm 土层硝酸盐储量和 DOC 储量的变化

Table 5 Changes in nitrate storage and DOC storage in the 0-600 cm soil layer after different treatments

处理 Treatment	储量 Stocks	采样时间 Sampling time / ( yyyy-mm )			碳、氮质量消耗比 C/N
		2022-09	2022-11	2023-03	
CK	DOC	1.47±0.09c	1.56±0.08c	1.34±0.07e	—
	硝酸盐 Nitrate	12.54±0.45a	12.76±0.31a	12.72±0.1a	
D30	DOC	23.50±0.05a	5.18±0.39a	2.28±0.04b	5 : 1
	硝酸盐 Nitrate	12.91±0.03a	9.20±0.20c	8.79±0.04b	
D50	DOC	20.44±0.38b	3.82±0.40b	2.05±0.03c	5 : 1
	硝酸盐 Nitrate	11.85±0.02a	8.71±0.05b	8.13±0.02b	
D+M30	DOC	23.79±0.61a	5.81±0.06a	2.62±0.08a	4.35 : 1
	硝酸盐 Nitrate	12.68±0.22a	8.51±0.18c	7.87±0.09c	
D+M50	DOC	17.71±0.40b	3.58±0.26b	2.26±0.04b	4.35 : 1
	硝酸盐 Nitrate	13.27±0.31a	10.15±0.38b	9.65±0.19b	
M	DOC	1.61±0.04c	1.58±0.02c	1.59±0.05d	—
	硝酸盐 Nitrate	13.43±0.21a	13.51±0.24a	13.46±0.37a	

注：显示的数据为平均值±标准差，同列不同小写字母表示同一采样时间不同处理间的差异。C、N 消耗比例=(C1-C3)/(N1-N3)，C1、C3、N1 和 N3 分别表示消耗的 DOC 与硝态氮在 2022 年 9 月和 2023 年 3 月的储量。Note: Data shown are mean ± standard deviation, different lower case letters in the same column indicate differences between treatments at the same sampling time. C, N consumption ratio = (C1-C3)/(N1-N3), with C1, C3, N1, and N3 denote the amount of DOC consumed versus the amount of nitrate nitrogen stored in September 2022 versus March 2023, respectively.

的增加而减少。这主要是因为土壤有机碳可以有效抑制土壤氨氧化过程及反硝化作用，延缓土壤氮循环的周转，进而减少土壤中硝酸盐的累积<sup>[21]</sup>。其次，在灌溉 DOC 溶液过程中带入了大量的水分，且土壤水分含量与硝酸盐含量呈显著 ( $P < 0.05$ )

负相关性，因而土壤水分的提升也使硝酸盐含量减少。这可能是因为灌溉 DOC 溶液过程中，大量的水分导致土壤呈现出厌氧环境。此时，土壤中 DOC 不仅会为反硝化过程提供更多的电子，而且为反硝化微生物提供了充足的碳源，进一步促

进反硝化反应发生<sup>[22]</sup>，从而消减了硝酸盐累积。此外，有研究表明<sup>[10]</sup>向土壤中加入 DOC 会减少浅层土壤硝态氮含量，但对深层土壤硝酸盐含量无影响，这可能是因为 DOC 极易被微生物利用或者吸附在土壤颗粒间，导致 DOC 很难运移至深层土壤<sup>[23]</sup>。而本试验发现在灌溉 DOC 溶液后会显著减少深层（200~400 cm）土壤中的硝态氮含量。一方面由于引流装置会有效避免 DOC 在浅层土壤中

被大量消耗；另一方面大量灌溉 DOC 溶液有利于其入渗至深层土壤，进而达到消减硝酸盐的目的。通过进一步测量土壤中反硝化基因拷贝数，发现灌溉 DOC 溶液处理的深层土层较 CK 处理有更多的反硝化功能基因表达，因此本研究中反硝化微生物活性可能是影响硝酸盐含量变化的直接因素，而入渗至深层的 DOC 溶液足以为反硝化微生物提供底物，保障其活性。

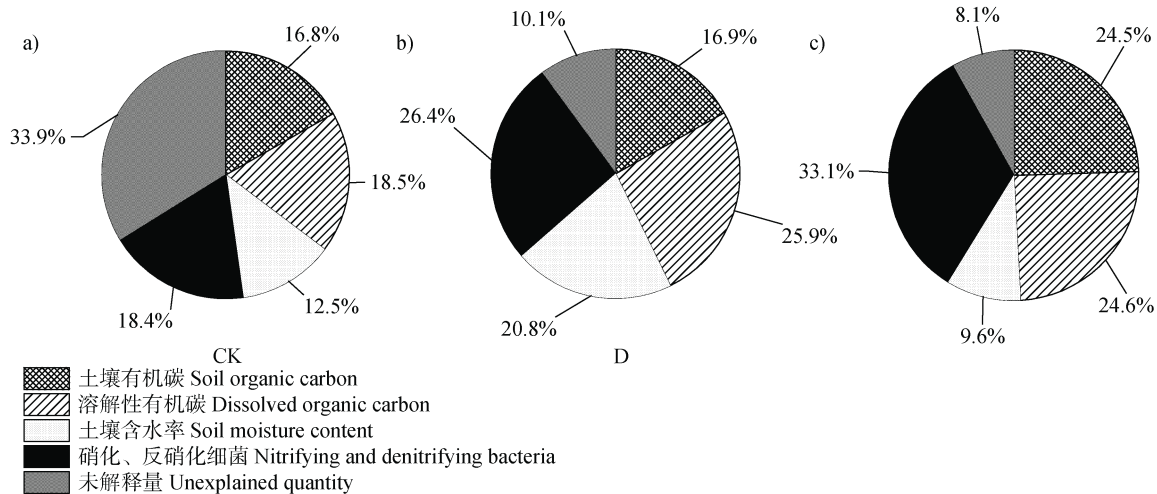


图 5 不同处理间各影响因素对硝酸盐消减的贡献率

Fig. 5 The contribution rate of various factors to nitrate reduction in different treatments

此外，有研究表明种植苜蓿也可以达到消减深层土壤硝态氮的效果<sup>[24]</sup>。本研究在灌溉 DOC 溶液的基础上，又种植了苜蓿，将两种措施有效结合后发现，D+M 处理消减硝酸盐能力较 D 处理更强，消减比例提升到 51% 以上，同时 D+M 处理的 C、N 质量消耗比例也要更低。这意味着 D+M 处理可以通过消耗较少的碳源来消减硝酸盐的累积。这主要是因为苜蓿根系较长，对于深层土壤有机质有一定的调节作用，而 DOC 溶液的加入对苜蓿生长起到了促进作用<sup>[25]</sup>。此外，由于 DOC 是苜蓿结瘤的主要养分因子，当 DOC 含量提升，将导致土壤中碳、氮质量消耗比例升高，进而显著提升总根瘤重和总根瘤数，在显著促进苜蓿生长的同时，也会刺激苜蓿根部产生更多的根瘤菌，为反硝化微生物发挥活性营造良好环境<sup>[26]</sup>。

其次由于苜蓿根系发达，长期种植一方面会减弱淋溶潜力，另一方面苜蓿根系可以利用深层土壤盈余氮素<sup>[19]</sup>。总体而言，通过引流装置灌溉 DOC 溶液，可以达到消减土壤深层硝酸盐的目的，但将

灌溉 DOC 溶液和种植苜蓿有效结合以后，可以在消耗较少碳源的基础上，更好地达到消减硝酸盐累积的效果。

### 3.2 不同影响因素对硝酸盐消减效应的贡献

土壤硝酸盐消减是一个复杂的过程，会受到多种因素的影响。有研究表明土壤水分、DOC、SOC 和反硝化微生物活性的提高均有助于硝酸盐的消减<sup>[27-28]</sup>。在本研究中，发现灌溉 DOC 溶液会显著提升 DOC、SOC 与硝化、反硝化微生物活性对硝酸盐消减的贡献率，解释了 66% 以上的硝酸盐变化潜势，其中反硝化微生物活性是第一解释因子（26.4%），与硝酸盐含量变化呈显著负相关性（ $P < 0.05$ ）。一方面 DOC 与 SOC 会为微生物活动提供充足的养分与电子供体，使硝酸盐转化为  $N_2O$  和  $N_2$ ，导致氮损失。另一方面有机碳含量增加会提高土壤肥力，减弱硝酸盐淋溶潜力<sup>[29]</sup>。种植苜蓿以后，由于苜蓿根系的作用，会影响土壤微生物的生存环境<sup>[30]</sup>。一般而言，在有充足底物条件下，适宜的土壤环境也是微生物发挥活性的关键要素<sup>[31]</sup>。本研究中，D+M 处

理硝化、反硝化微生物因素对消减硝酸盐的贡献较 CK 和 D 处理分别提高了 15%和 7%，解释了 33.1%的硝酸盐变化潜势，这可能是因为灌溉大量 DOC 溶液导致苜蓿根系释放的分泌物随水分入渗至深层，进而改善土壤环境，促使反硝化微生物更好地发挥活性，从而消减土层中累积的硝酸盐。这与孙鹏洲等人<sup>[32]</sup>发现苜蓿地会提高 *nirS* 基因拷贝数的研究一致。植物根系生物量增加会减弱硝酸盐累积；苜蓿生长会释放根系分泌物调节土壤环境，有利于减弱硝酸盐潜力。一般而言，反硝化的发生需要合适的厌氧环境，因此本研究中，单独种植苜蓿并未明显消减硝酸盐，在充足的外部碳源和水分加入后硝酸盐才得以消除，但值得思考的是本研究中 D+M 处理土壤水分含量对硝酸盐消减的贡献率仅为 9.6%，而反硝化微生物和充足碳源对硝酸盐消减的贡献达到 82.2%，这主要是由于种植苜蓿以后会消耗土壤中的水分，当土壤水分不足，碳源充足，且有一定氧气的介入后，反硝化能力会减弱，硝酸盐的同化作用可能占据主导位置，这时有可能发生同化作用，进而导致土壤中硝态氮含量的降低<sup>[33]</sup>。总体而言，DOC 对硝酸盐消减的贡献率 D 和 D+M 处理较 CK 分别提高了 7.4%和 6.1%的，反硝化微生物活性对硝酸盐消减的贡献率提高了 8%和 14.7%的，降低了 20%以上的未解释变量贡献率，为探究硝酸盐消减影响因素提供了理论依据，但反硝化过程和硝酸盐同化之间的关系还有待进一步量化。

## 4 结 论

D 和 D+M 处理可以显著增加土壤中 DOC 和 SOC 含量并消减 0~400 cm 土层中 50%以上的硝酸盐累积；但 M 处理消减土壤硝酸盐效果不显著。研究表明 D+M 处理较 D 处理有着更低的 C、N 质量消耗比例。D 和 D+M 处理均提升了 *nirS*、*nirK*、*nosZ* 基因拷贝数，D 处理可以更好地激发深层反硝化潜力，D+M 处理可以在消耗较少碳源的情况下，降低更多硝酸盐的累积，这对调控深层硝酸盐含量起到了积极作用。较 CK 处理而言，D 和 D+M 处理的 DOC 因子对硝酸盐消减贡献率分别提升了 7.4%和 6.1%，反硝化微生物活性因子对硝酸盐消减的贡献率分别提升了 8%和 14.7%，未解释变量对硝酸盐消

减的贡献率降低了 20%以上，这为黄土高原深层土壤硝酸盐治理提供了理论依据。

## 参考文献 (References)

- [ 1 ] Liu Z J, Ma P Y, Zhai B N, et al. Soil moisture decline and residual nitrate accumulation after converting cropland to apple orchard in a semiarid region: Evidence from the Loess Plateau[J]. *Catena*, 2019, 181: 104080.
- [ 2 ] Zhao S X, Zhang W F, Jiang Y M, et al. Factors leading to excessive nitrogen fertilization on apple in the Loess Plateau[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23 ( 2 ): 484—491. [赵帅翔, 张卫峰, 姜远茂, 等. 黄土高原苹果过量施氮因素分析[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23 ( 2 ): 484—491.]
- [ 3 ] Peng X X, Guo Z, Zhang Y J, et al. Simulation of long-term yield and soil water consumption in apple orchards on the Loess Plateau, China, in response to fertilization[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 ( 1 ): 5444.
- [ 4 ] Zhao Z Y, Zheng W, Ma Y T, et al. Responses of soil water, nitrate and yield of apple orchard to integrated soil management in Loess Plateau, China[J]. *Agricultural Water Management*, 2020, 240: 106325.
- [ 5 ] Liu X Y, Dong T, Zhang K, et al. Distribution and accumulation of mineral nitrogen in apple orchard soils in dry plateau of eastern Gansu Province[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21 ( 3 ): 796—800. [刘小勇, 董铁, 张坤, 等. 甘肃陇东旱塬不同树龄苹果园矿质氮的分布和积累特征[J]. *应用生态学报*, 2010, 21 ( 3 ): 796—800.]
- [ 6 ] Chen C X, Liu Z J, Chen Z J, et al. Evaluating the situation of fertilization and soil fertility in new and old apple orchards of the Loess Plateau[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2018, 49 ( 5 ): 1144—1149. [陈翠霞, 刘占军, 陈竹君, 等. 黄土高原新老苹果产区施肥现状及土壤肥力状况评价[J]. *土壤通报*, 2018, 49 ( 5 ): 1144—1149.]
- [ 7 ] Chen D K, Luo H, Lü J R, et al. Mineral nitrogen accumulation and its spatial distribution in soils in dense planting dwarf rootstock apple orchard on the Weibei dry plateau, Northwest China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33 ( 1 ): 97—103. [陈东凯, 骆汉, 吕佼容, 等. 渭北旱塬矮砧密植苹果园土壤矿质氮积累与空间分布特征[J]. *应用生态学报*, 2022, 33 ( 1 ): 97—103.]
- [ 8 ] Wang Q X, Chen X J, Yu M, et al. Research progress on effects of straw returning on nitrogen cycling microbes and functional genes in paddy soil[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2019, 31 ( 2 ): 333—342. [王青霞, 陈喜靖, 喻曼, 等. 秸秆还田对稻田氮循环微生物及功能基因影响研究进展[J]. *浙江农业学报*, 2019, 31 ( 2 ):

- 333—342.]
- [ 9 ] Li X X, Sørensen P, Olesen J E, et al. Evidence for denitrification as main source of  $N_2O$  emission from residue-amended soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 92: 153—160.
- [ 10 ] Senbayram M, Well R, Bol R, et al. Interaction of straw amendment and soil  $NO_3^-$  content controls fungal denitrification and denitrification product stoichiometry in a sandy soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 204—212.
- [ 11 ] Cai J L, Liu J, Wang N K, et al. Research progress on comprehensive utilization of agricultural straw[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49 ( 9 ): 11—14. [才金玲, 刘洁, 王乃可, 等. 农作物秸秆综合利用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49 ( 9 ): 11—14.]
- [ 12 ] Ren K, Pan X D, Liang J P, et al. Sources and fate of nitrate in groundwater in a typical Karst Basin: Insights from carbon, nitrogen, and oxygen isotopes[J]. *Environmental Science*, 2021, 42 ( 5 ): 2268—2275.
- [ 13 ] Zhao W, Yi W B, Wang D, et al. Effects of intercropping on soil nitrification and nitrogen supply in potato field[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31 ( 12 ): 4171—4179. [赵薇, 伊文博, 王顶, 等. 间作对马铃薯种植土壤硝化作用和硝态氮供应的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31 ( 12 ): 4171—4179.]
- [ 14 ] Zhang X N, Chen P, Du Q, et al. Effects of maize/soybean and maize/peanut intercropping systems on crops nitrogen uptake and nodulation nitrogen fixation[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2019, 27 ( 8 ): 1183—1194. [张晓娜, 陈平, 杜青, 等. 玉米/大豆、玉米/花生间作对作物氮素吸收及结瘤固氮的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2019, 27 ( 8 ): 1183—1194.]
- [ 15 ] Qin S P, Hu C S, Clough T J, et al. Irrigation of DOC-rich liquid promotes potential denitrification rate and decreases  $N_2O/(N_2O+N_2)$  product ratio in a 0—2 m soil profile[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 106: 1—8.
- [ 16 ] Long Y P, Ma Y W, Wan J Q, et al. Denitrification efficiency, microbial communities and metabolic mechanisms of corn cob hydrolysate as denitrifying carbon source[J]. *Environmental Research*, 2023, 221: 115315.
- [ 17 ] Ding Y, Huang X, Li Y, et al. Nitrate leaching losses mitigated with intercropping of deep-rooted and shallow-rooted plants[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21 ( 1 ): 364—375.
- [ 18 ] Zhu X Q, Fu W H, Kong X J, et al. Nitrate accumulation in the soil profile is the main fate of surplus nitrogen after land-use change from cereal cultivation to apple orchards on the Loess Plateau[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 319: 107574.
- [ 19 ] Ma L, Gao W, Luan H A, et al. Effects of partial substitution of chemical fertilizer with manure and/or straw on the abundance of functional genes related to soil N-cycling[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27 ( 10 ): 1767—1778. [马龙, 高伟, 栾好安, 等. 有机肥/秸秆替代化肥模式对设施菜田土壤氮循环功能基因丰度的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27 ( 10 ): 1767—1778.]
- [ 20 ] Wang Z, Wang Z Y, Han Q F, et al. Soil carbon and nitrogen variation characteristics of alfalfa grassland in Loess Plateau Area[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2013, 21 ( 6 ): 1073—1079. [王振, 王子煜, 韩清芳, 等. 黄土高原苜蓿草地土壤碳、氮变化特征研究[J]. *草地学报*, 2013, 21 ( 6 ): 1073—1079.]
- [ 21 ] Chen H Q, Ma H X, Zhang Q, et al. Long-term fertilization reduces nitrifying and denitrifying functional gene abundance and slows down the nitrogen recycle in paddy soils[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2023, 29 ( 9 ): 1630—1642. [陈会巧, 马慧霞, 张桥, 等. 长期培肥降低稻田土壤硝化和反硝化细菌功能基因丰度并减缓氮素周转[J]. *植物营养与肥料学报*, 2023, 29 ( 9 ): 1630—1642.]
- [ 22 ] Xie Z H, Yu Z H, Li Y S, et al. Linking rhizospheric diazotrophs to the stimulation of soybean  $N_2$  fixation in a Mollisol amended with maize straw[J]. *Plant and Soil*, 2021, 463 ( 1 ): 279—289.
- [ 23 ] Dong W X, Hu C S, Chen S Y, et al. Tillage and residue management effects on soil carbon and  $CO_2$  emission in a wheat-corn double-cropping system[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2009, 83 ( 1 ): 27—37.
- [ 24 ] [24] Zhao Y A, Lu G X, Jin X, et al. Correlation and role of alfalfa plant below-ground habitats in alpine regions with plant traits and soil properties[J]. *Grassland and Turf*, 2023, 43 ( 6 ): 155—161. [赵阳安, 芦光新, 金鑫, 等. 高寒地区紫花苜蓿根系吸收资源空间与土壤性质的相关性研究[J]. *草原与草坪*, 2023, 43 ( 6 ): 155—161.]
- [ 25 ] Li J, Pan P, Wang C T, et al. Root dynamics of artificial grassland for swards of differing ages in the ‘Three-River Source’ region[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30 ( 3 ): 28—40. [李洁, 潘攀, 王长庭, 等. 三江源区不同建植年限人工草地根系动态特征[J]. *草业学报*, 2021, 30 ( 3 ): 28—40.]
- [ 26 ] Zhu R F. Nodulation-promoting mechanism of decomposed cow manure on alfalfa (*Medicago Sativa* L.) [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023. [朱瑞芬. 腐熟牛粪对紫花苜蓿结瘤促生机制研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.]

- [ 27 ] Gu J X, Guo Y J, Zhang L J, et al. Soil N<sub>2</sub>O emissions from orchards: Current status and challenges[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39 ( 4 ): 726—731. [顾江新, 郭艳杰, 张丽娟, 等. 果树种植土壤 N<sub>2</sub>O 排放研究: 认识与挑战[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39 ( 4 ): 726—731.]
- [ 28 ] Peterson M E, Curtin D, Thomas S, et al. Denitrification in vadose zone material amended with dissolved organic matter from topsoil and subsoil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 61: 96—104.
- [ 29 ] Li F R, Liu J L, Ren W, et al. Land-use change alters patterns of soil biodiversity in arid lands of northwestern China[J]. *Plant and Soil*, 2018, 428 ( 1 ): 371—388.
- [ 30 ] Jiao S Y, Li J R, Li Y Q, et al. Variation of soil organic carbon and physical properties in relation to land uses in the Yellow River Delta, China[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10 ( 1 ): 20317.
- [ 31 ] Szukics U, Abell G C J, Hödl V, et al. Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72 ( 3 ): 395—406.
- [ 32 ] Sun P Z, Luo Z Z, Li L L, et al. Effects of *Medicago sativa* cultivation on soil denitrifying bacterial community in the Loess Plateau[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2023, 31 ( 1 ): 67—78. [孙鹏洲, 罗珠珠, 李玲玲, 等. 黄土高原紫花苜蓿种植对土壤反硝化细菌群落的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2023, 31 ( 1 ): 67—78.]
- [ 33 ] Cheng Y, Huang R, Yu Y F, et al. Role of microbial assimilation of soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in reducing soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54 ( 6 ): 1326—1331. [程谊, 黄蓉, 余云飞, 等. 应重视硝态氮同化过程在降低土壤硝酸盐浓度中的作用[J]. *土壤学报*, 2017, 54 ( 6 ): 1326—1331.]

( 责任编辑: 檀满枝 )