

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2024.05.009

左婷, 孙其荣, 陈婧涵, 等. 福建省典型杉木人工林根际土壤氧化亚氮还原菌丰度特征. 土壤, 2024, 56(5): 992–998.

福建省典型杉木人工林根际土壤氧化亚氮还原菌丰度特征^①

左婷¹, 孙其荣¹, 陈婧涵¹, 罗培傑¹, 吴黄垒¹, 郑勇², 林永新², 叶桂萍^{1,3*}

(1 闽江学院地理与海洋学院, 福州 350108; 2 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007; 3 自然资源部东南生态脆弱区监测修复工程技术创新中心, 福州 350001)

摘要: 为揭示福建省典型杉木人工林根际土壤中氧化亚氮(N₂O)还原菌的丰度及其关键环境驱动因子, 选取 3 个典型林场的杉木人工林为对象, 利用实时荧光定量 PCR 测定了根际土壤 N₂O 还原菌功能基因 *nosZ I* 和 *nosZ II* 丰度。结果表明: 3 个典型杉木人工林根际土壤的 *nosZ I* 基因丰度均显著高于 *nosZ II*, 表明 *nosZ I* 在酸性杉木人工林根际土壤中占主导, 这可能与 *nosZ II* 型 N₂O 还原菌对低 pH 比较敏感有关; 3 个林场中, 武夷山国家森林公园的杉木人工林根际土壤 *nosZ I* 基因丰度为 2.53×10^7 copies/g, 显著高于三明国家野外科学观测研究站(9.27×10^6 copies/g)和上杭白砂国有林场(8.90×10^6 copies/g), 但 3 个林场之间的 *nosZ II* 丰度差异不显著; 随机森林分析表明, 土壤 pH 是调控 N₂O 还原菌 *nosZ I* 和 *nosZ II* 丰度的关键环境因子。综上所述, 福建省不同区域典型杉木人工林根际土壤 *nosZ I* 基因丰度存在差异, 土壤 pH 是最主要的调控因子。

关键词: 森林土壤; 根际土壤; *nosZ I*; *nosZ II*

中图分类号: S154.36 文献标志码: A

Gene Abundance of N₂O Reducers in Rhizosphere Soils of Typical Chinese Fir Plantations from Fujian Province

ZUO Ting¹, SUN Qirong¹, CHEN Jinghan¹, LUO Peijie¹, WU Huanglei¹, ZHENG Yong², LIN Yongxin², YE Guiping^{1,3*}

(1 College of Geography and Oceanography, Minjiang University, Fuzhou 350108, China; 2 School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; 3 Technology Innovation Center for Monitoring and Restoration Engineering of Ecological Fragile Zone in Southeast China, Ministry of Natural Resources, Fuzhou 350001, China)

Abstract: In order to reveal the abundance of N₂O reducers and their critical driving factors in the rhizosphere soils of typical Chinese fir plantation from Fujian Province, rhizosphere soil samples under Chinese fir plantation from three typical forest farms in Fujian Province were collected. The abundance of functional genes of soil N₂O reducers, namely *nosZ I* and *nosZ II*, were determined using real-time quantitative PCR. Results showed that the abundance of *nosZ I* gene was significantly higher than that of *nosZ II* in the rhizosphere soils of Chinese fir plantation in all the three typical forest farms, which suggested that *nosZ I*-type N₂O reducers dominate in the acidic rhizosphere soils of Chinese fir plantation, possibly due to the fact that the *nosZ II*-type N₂O reducers are more sensitive to low pH conditions. Among the three forest farms, the abundance of *nosZ I* gene was 2.53×10^7 copies/g in Wuyishan National Park, and significantly higher than 9.27×10^6 copies/g in Sanming Forest Ecosystem National Observation and Research Station and 8.90×10^6 copies/g in Shanghang Baisha Stated-owned Forest Farm. However, there was not significant difference in *nosZ II* abundance among the three forest farms. Random forest analysis showed that soil pH was the key environmental factor regulating the abundance of *nosZ I* and *nosZ II*. In conclusion, the abundance of *nosZ I* gene varies substantially in the rhizosphere soils of Chinese fir plantation from three typical forest farms in different regions of Fujian Province, while soil pH is the most important driving factor.

Key words: Forest soil; Rhizosphere soil; *nosZ I*; *nosZ II*

①基金项目: 国家自然科学基金项目(31971447)、福建省自然资源科技创新项目(KY-090000-04-2022-012)和闽江学院引进人才预研项目(MJY20012)资助。

* 通讯作者(gppe2019@163.com)

作者简介: 左婷(2003—), 女, 福建福州人, 本科生, 主要研究方向为土壤氮循环微生物。E-mail: 2858179821@qq.com

氧化亚氮(N_2O)是重要的温室气体,其百年尺度上的增温潜势是二氧化碳(CO_2)的 298 倍,是造成全球变暖和臭氧层破坏的重要因素^[1]。其中,硝化作用、反硝化作用对于全球 N_2O 排放的贡献占 70% 左右^[2]。反硝化过程主要由土壤中各类氮转化微生物介导,将硝酸盐(NO_3^-)依次还原为亚硝酸盐(NO_2^-)、一氧化氮(NO)、 N_2O ,最终还原为氮气(N_2)的生物化学过程。 N_2O 还原酶将 N_2O 还原成 N_2 是自然界氮循环过程中已知的唯一去除 N_2O 的生物路径。 N_2O 还原酶主要由 *nosZ* 基因编码^[3],包括早期发现的 *nosZ I* 和近年来新发现的 *nosZ II*^[4],二者在土壤中的相对重要性一直备受争议。

大量研究表明,土壤反硝化过程主要受温度、水分和通气状况等因素影响^[5-6]。福建省地处湿润亚热带地区,年均温一般在 20 °C 左右,降水充沛,雨量集中。亚热带地区较高的土壤含水量通过调控土壤孔隙度、氧气利用率和土壤微生物活性等,影响微生物反硝化过程^[7],是反硝化过程发生的热点区域^[8]。Müller 等^[9]发现,不同海拔的热带和亚热带森林土壤 N_2O 排放主要来源于反硝化。亚热带森林土壤是反硝化过程发生的重要场所。研究表明,全球陆地排放 N_2O 的 38% 来自森林土壤^[10],其中热带和亚热带森林是最主要的排放源^[11],且人工林的 N_2O 排放量高于天然林^[12]。亚热带森林土壤根系发达,植物根系可以为反硝化微生物提供有机碳源,是影响森林土壤 N_2O 排放的重要因子。因此,研究亚热带森林根际土壤 N_2O 还原菌丰度对于森林土壤 N_2O 减排具有重要意义。

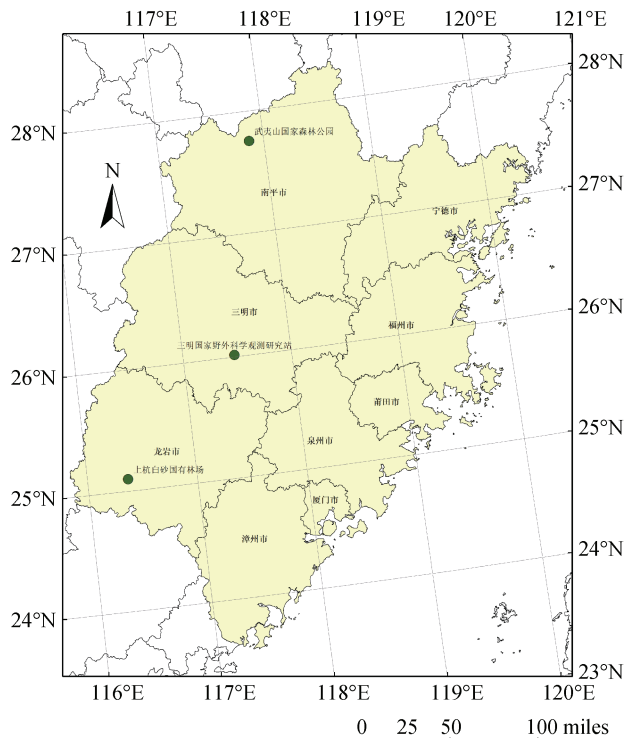
杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是我国南方人工林的代表性树种,分布广、面积大。根际是植物-土壤相互作用的“热点”,根际微域会受到植物根系及其分泌物的影响,可能使得根际的土壤性质有别于非根际,进而导致两个部位的土壤微生物群落存在差异^[13]。因此,杉木人工林根际土壤性质的差异会使微生物群落存在不同,从而对根际 N_2O 还原菌丰度造成影响。迄今,森林土壤 N_2O 还原菌的研究大多只关注 *nosZ I*,对 *nosZ II* 的研究非常有限。Jones 等^[14]研究发现,与传统认为的 *nosZ I* 型 N_2O 还原菌相比,*nosZ II* 型 N_2O 还原菌可能在土壤 N_2O 还原中扮演更重要的角色。然而,*nosZ II* 比 *nosZ I* 对土壤 pH 变化更加敏感,*nosZ II* 受 pH 降低的影响可能更大。因此,在酸性的亚热带森林土壤中,*nosZ I* 型 N_2O 还原菌基因丰度可能高于 *nosZ II* 型。然而,这一假设仍需进一步研究和验证。

本研究选取福建省 3 个典型的杉木人工林根际土壤为研究对象,采用实时荧光 PCR 测定土壤 N_2O 还原菌功能基因 *nosZ I* 和 *nosZ II* 丰度,研究福建省典型杉木人工林根际土壤中 N_2O 还原菌的丰度特征及其环境驱动因子,可为杉木林土壤的 N_2O 减排提供理论依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究样地位于福建省三明国家野外科学观测研究站(26°09'47.36"N, 117°28'14.98"E)、武夷山国家森林公园(27°45'39.49"N, 117°51'11.22"E)和上杭白砂国有林场(25°5'41.39"N, 116°22'27.21"E)(图 1),后文简称为三明、武夷山和白砂。3 个长期试验样地均属于亚热带季风气候,年平均气温分别为 20.1、19.1 和 19.8 °C,年平均降水量分别为 1 378、1 551 和 1 600 mm,植被类型以杉木人工林为主。3 个样地地形均以丘陵和山地为主,土壤类型主要为酸性的红壤和黄红壤,森林覆盖率分别为 78.88%、96.72% 和 95.3%。



(该图基于国家测绘地理信息局标准地图服务网站下载的审图号为GS(2019)1822号的标准地图制作,底图无修改)

图 1 研究区域位置

Fig. 1 Location of study sites

1.2 土壤样品采集

土壤样品采集于 2022 年夏季。在样地坡面较均一的地段分别选取 4 块 20 m × 20 m 样地,利用抖落

法采集 0~20 cm 杉木人工林根际土壤样品, 每个林场采集获得 12 份(3 份 × 4 点)土壤样品, 3 个林场总计 36 份根际土壤样品。所有样品均置于无菌密封袋, 保存于冷藏箱, 尽快转移至实验室。将新鲜的土壤样品去除肉眼可见的根系及石头等细小杂质残留物, 过 2 mm 筛后, 充分混匀。将过筛的土壤样品分成 2 份, 一部分保存于 -80 °C 冰箱用于 DNA 提取和微生物学分析; 一部分室温风干, 用于测定土壤基本理化性质。

1.3 土壤理化性质测定

土壤理化性质的测定主要参考鲁如坤^[15]的方法。pH: 取 5 g 风干土样, 加入 25 mL 无 CO₂ 去离子水, 置于磁力搅拌器上搅拌 10 min, 静置 30 min 后, 用 pH 计(FE20-FiveEasy™ pH, Mettler Toledo, German)测定。全碳(TC)和全氮(TN): 土壤自然风干后, 使用球磨仪磨碎, 过 100 目筛后用碳氮元素分析仪(VarioEL III, Germany)测定。有效磷(AP): 取 5 g 风干土样, 加入 50 mL 0.05 mol/L 盐酸和 0.025 mol/L 硫酸混合液, 振荡、过滤, 钼蓝比色法测定。土壤速效钾(AK): 取 5 g 风干土样, 加入 50 mL 1 mol/L 醋酸铵溶液, 振荡、过滤, 火焰光度计(FP640, INASA, China)测定。土壤可溶性有机碳(DOC): 取 10 g(烘干重计)新鲜土样, 加入 50 mL 去离子水, 25 °C 恒温振荡 30 min, 然后在 10 000 r/min 下离心 10 min, 上清液过 0.45 μm 聚醚砜滤膜(Whatman, Clifton, NJ, USA), 用岛津碳氮分析仪(TOC Vcph, Shimadzu, Kyoto, Japan)测定。铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N): 称取相当于 10 g 干土的新鲜土样, 加入 100 mL 2 mol/L 的 KCl 溶液浸提, 流动分析仪(Skalar⁺ Analytical, Breda, The Netherlands)测定。将风干土和鲜土在 105 °C 烘至恒重, 得到土壤含水率(WC)。

1.4 土壤总 DNA 提取和实时荧光定量 PCR

称取 0.5 g(以烘干重计)土壤样品, 使用 FastDNA™ SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA)试剂盒, 依照说明书的操作步骤提取土壤总 DNA。提取的 DNA 利用 NanoDrop 分光光度计(ND-2000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)于 260 nm 波长处测定浓度。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的质量和完整性, 之后置于 -80 °C 冰箱保存备用。

采用实时荧光定量 PCR, 利用 CFX96 定量 PCR 仪(Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)测定 N₂O 还原菌 *nosZ I* 和 *nosZ II* 基因拷贝数。荧光定量 PCR 的引物序列、反应体系、反应条件和标准曲

线制作参照宛颂等^[16]所述方法进行。每个样品和标准曲线模板各重复 3 次, 并设置 3 个空白对照, 根据标准曲线计算基因拷贝数。同时, 将样品 DNA 模板进行梯度稀释, 评估 PCR 扩增过程是否受到抑制。根据标准曲线计算 *nosZ I* 和 *nosZ II* 基因的丰度, 通过琼脂糖凝胶电泳检测扩增后的产物是否存在非特异性扩增, 并观察溶解曲线出峰情况。

1.5 数据处理与分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析, 利用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较 3 个样地的土壤基本理化性质差异, 不同处理之间的差异显著性利用最小显著差法(LSD)($P < 0.05$) 进行分析。利用 Pearson 相关性分析研究土壤反硝化功能基因丰度与理化性质之间的关系。利用 Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 不同区域杉木人工林土壤理化性质

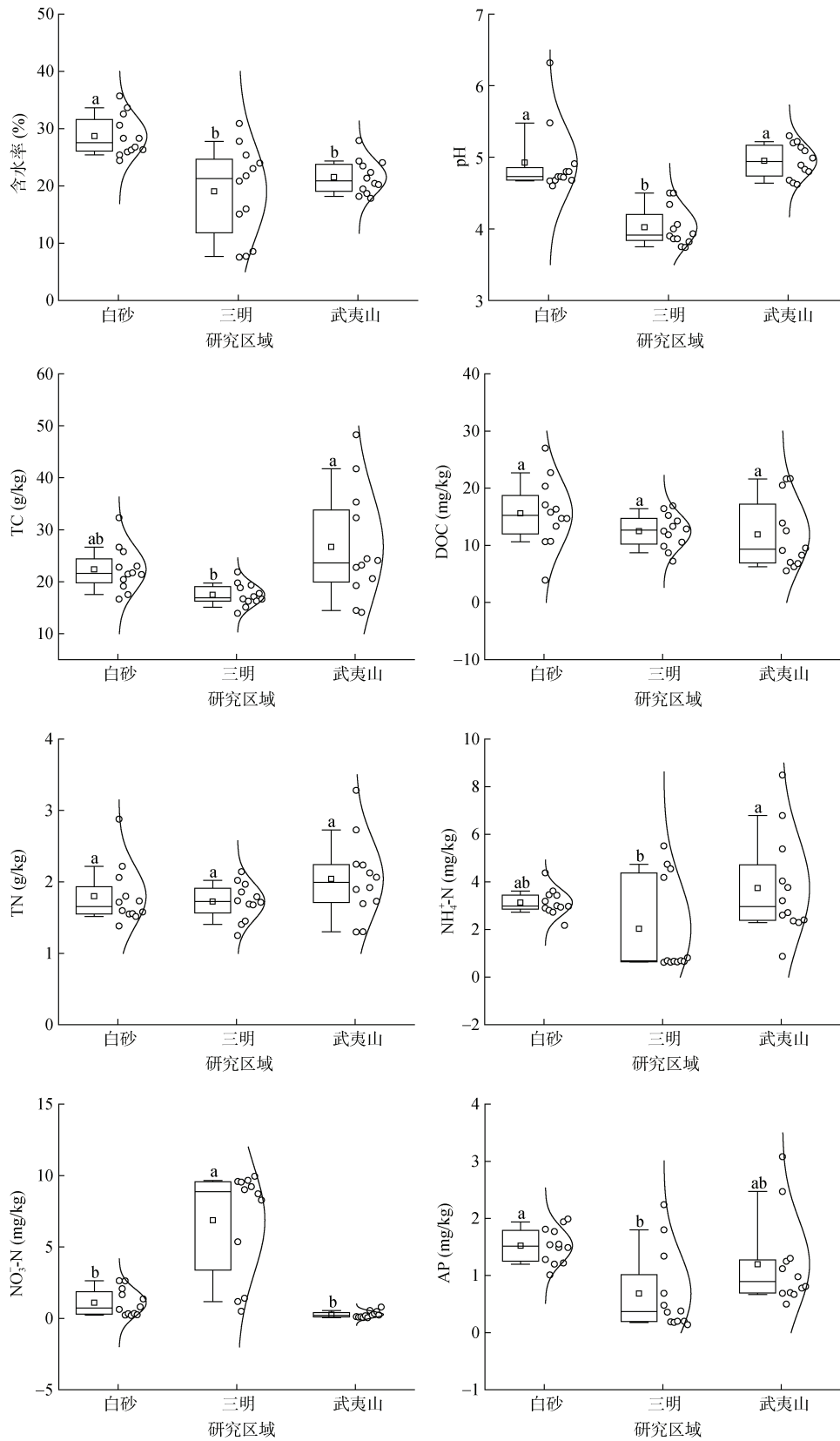
不同研究区域杉木人工林土壤理化性质如图 2 所示。三明土壤 pH 为 4.02, 与三明相比, 白砂和武夷山的 pH 升高, 分别为 4.93 和 4.95。同样, 3 个研究区域的 TC、NH₄⁺-N 和 AP 含量均表现为白砂和武夷山高于三明。此外, 白砂的土壤含水率为 29%, 显著高于三明(19%)和武夷山(22%), 而三明和武夷山之间无显著性差异。三明的 NO₃⁻-N 含量为 6.87 mg/kg, 显著高于白砂(1.10 mg/kg)和武夷山(0.27 mg/kg)。3 个研究区域的 DOC 和 TN 含量均无显著差异。

2.2 不同区域杉木人工林土壤 *nosZ I* 和 *nosZ II* 基因丰度

从图 3 可以看出, 白砂、三明和武夷山中 *nosZ I* 基因丰度为 $2.85 \times 10^6 \sim 5.41 \times 10^7$ copies/g, 而 *nosZ II* 基因丰度为 $1.97 \times 10^5 \sim 7.41 \times 10^6$ copies/g。其中, 武夷山的 *nosZ I* 基因丰度平均值为 2.53×10^7 copies/g, 显著高于白砂(8.90×10^6 copies/g)和三明(9.27×10^6 copies/g); 但不同研究区域 *nosZ II* 的基因丰度均无显著差异。此外, 3 个区域的 *nosZ I* 基因丰度均显著高于 *nosZ II*。

2.3 杉木人工林土壤 *nosZ I* 和 *nosZ II* 基因丰度与理化性质的关系

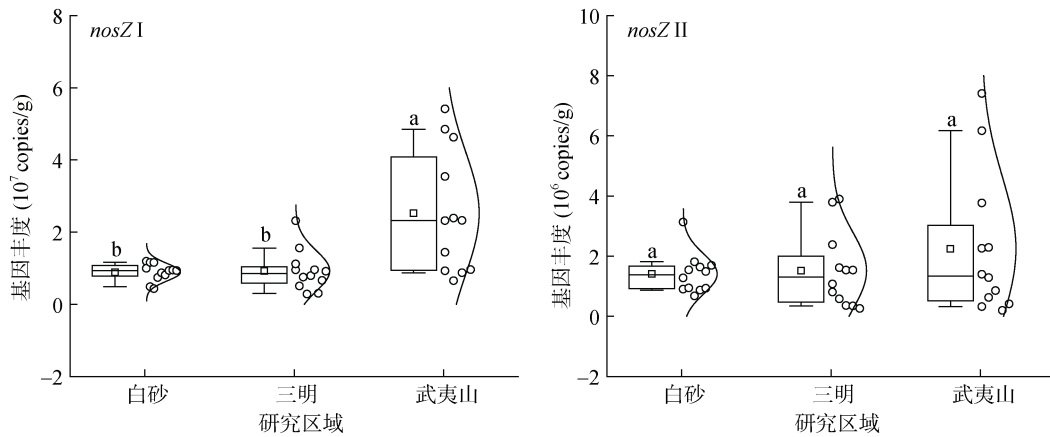
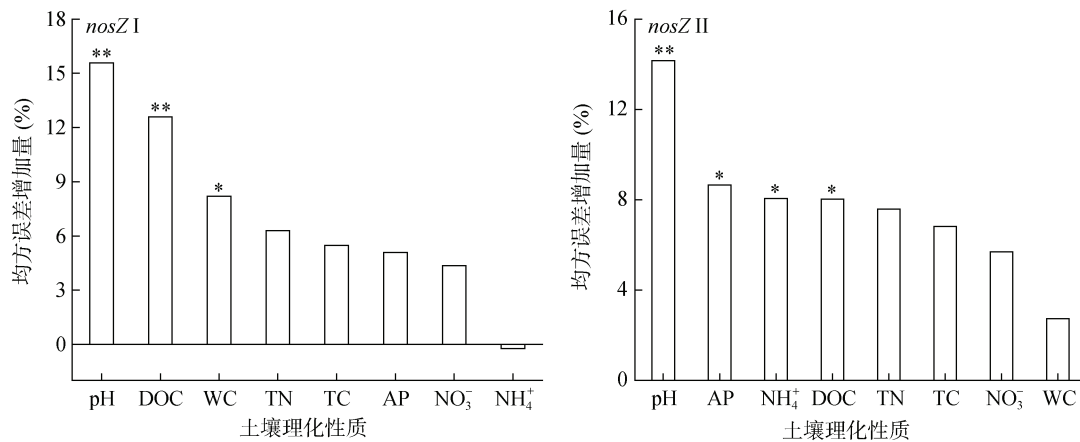
从图 4 可以看出, 土壤 pH 和 DOC 是 *nosZ I* 基因丰度的主要影响因素, 而含水率对 *nosZ I* 基因丰度也有显著影响。同样, 影响 *nosZ II* 基因丰度的最关键环境因子是土壤 pH, 而 AP、NH₄⁺-N 和 DOC 对 *nosZ II* 基因丰度也有显著影响。相关性分析(表 1)表明, *nosZ I* 基因丰度与土壤 pH 呈显著正相关, 但与



(白砂：龙岩市上杭白砂国有林场；三明：三明市森林生态系统与全球变化研究站；武夷山：南平市武夷山国家森林公园。箱式图中的横线表示中位数，小正方形表示平均值，其底部和顶部分别代表下四分位数和上四分位数，而箱式图上方和下方延伸的线与点表示异常值。图中小写字母不同表示区域间差异显著($P < 0.05$)。下同)

图 2 研究区域土壤基本理化性质

Fig. 2 Soil physicochemical properties in study sites

图 3 N_2O 还原菌功能基因丰度Fig. 3 Abundance of functional genes of N_2O reducers

(*、**分别表示在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 水平影响显著)

图 4 N_2O 还原菌与土壤理化性质的随机森林分析Fig. 4 Random forest analysis of N_2O reducer abundance and soil physicochemical properties

表 1 土壤 N_2O 还原菌功能基因丰度与土壤理化性质之间的相关性
Table 1 Correlation of abundance of N_2O reducers and soil physicochemical properties

基因	含水率	pH	TC	DOC	TN	NH_4^+-N	$NO_3^- -N$	AP
<i>nosZ I</i>	-0.083	0.348*	0.038	-0.423*	0.120	-0.033	-0.219	0.082
<i>nosZ II</i>	-0.045	0.219	-0.132	-0.282	0.007	-0.255	0.027	0.180

注：*、** 分别表示相关性达 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 显著水平。

DOC 呈显著负相关，而 *nosZ II* 基因丰度与土壤基本理化性质均无显著相关关系。

3 讨论

土壤理化性质是影响反硝化微生物功能基因丰度的重要因素，例如，土壤含水率、pH、TC 含量等均可显著影响反硝化微生物功能基因丰度^[17]。本研究发现，三明杉木人工林土壤的 pH 要显著低于武夷山和白砂，这可能是由于地形和气候等因素不同所导致。再者，三明的 $NO_3^- -N$ 含量显著高于武夷山和白砂，表明三明杉木人工林土壤可能有着更强的硝化作

用，强烈的硝化作用会促进 H^+ 的释放，从而加快土壤的酸化，使其 pH 降低^[18]。此外，有机碳的功能团可以整合 Al^{3+} 和 H^+ ^[19]，从而减缓土壤的酸化过程，但三明的土壤有机碳含量低于武夷山和白砂，这也可能是其 pH 低的另外一个重要因素。

本研究发现，尽管不同地区的 *nosZ I* 和 *nosZ II* 丰度存在显著差异，但武夷山、三明和白砂 3 个研究区域的 *nosZ I* 基因丰度均显著高于 *nosZ II*，表明 *nosZ I* 型 NO_2^- 还原菌可能在酸性的杉木人工林土壤中占主导。该结果与宛颂等^[16]和段春健等^[20]在酸性旱地农田红壤的发现一致。与之相反，Jones 等^[14]发

现, 在农田土壤中, *nosZ* II 基因丰度高于 *nosZ* I, 且 *nosZ* II 基因丰度和多样性显著影响土壤 N₂O 还原能力。Assémien 等^[21]在西非的农田土壤中也同样发现, *nosZ* II 基因丰度远高于 *nosZ* I。段春健等^[20]认为, *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因丰度主要受 pH 控制, 提高土壤 pH 会降低强酸对 *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因表达的抑制作用, 有利于 N₂O 还原菌生长, 导致 *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因丰度上升。本研究也发现, pH 是影响 *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因丰度最主要的环境因子(图 4), 进一步验证了这一观点。本研究的土壤类型主要为杉木人工林下的酸性红壤和黄红壤^[22], 即使是 pH 最高的武夷山研究区土壤也仅有 4.95, 因此, 供试土壤可能都不利于 *nosZ* I 和 *nosZ* II 型 N₂O 还原菌生长。然而, 邓米林等^[23]在模拟氮沉降的森林土壤研究中发现, *nosZ* II 比 *nosZ* I 对低 pH 更敏感, 酸性土壤更不利于 *nosZ* II 型 N₂O 还原菌生长, 这可能是武夷山、三明和白砂 3 个地区 *nosZ* I 基因丰度均显著高于 *nosZ* II 的重要因素。

不同区域的 *nosZ* I 基因丰度存在显著性差异, 而 *nosZ* II 基因丰度则没有显著性差异, 这可能是由于 *nosZ* II 基因丰度较低所致, 但具体原因仍有待进一步探究。武夷山的 *nosZ* I 基因丰度显著高于三明和白砂, 其原因可能是, 武夷山的 NH₄⁺ 高于白砂和三明, 土壤 NH₄⁺ 是氨氧化主要底物^[24], 氨氧化产生的中间产物可能为 *nosZ* I 型 N₂O 还原菌提供部分氮源。此外, Beven 等^[25]发现调控反硝化作用的关键因子是土壤 pH, *nosZ* I 基因丰度与土壤 pH 呈显著正相关。武夷山土壤 pH 为 4.95, 显著高于三明(4.02), 虽然白砂的土壤 pH 达到 4.93, 但其水分含量显著高于武夷山, 过多的水分含量不利于根系呼吸和分泌有机物质, 从而不利于杉木人工林根际土壤 *nosZ* I 型 N₂O 还原菌生长。Van Kessel 等^[26]研究表明, *nosZ* 功能基因丰度与根际土的 TC 含量呈显著正相关, 而武夷山的 TC 含量也要高于三明和白砂, 这可能是影响武夷山的 *nosZ* I 基因丰度的另外一个重要因素。由于 *nosZ* I 型 N₂O 还原菌可能是亚热带森林土壤 N₂O 还原的关键微生物^[27], 武夷山的 *nosZ* I 基因丰度显著高于三明和白砂可能使其具有较高的 N₂O 还原能力。

4 结论

1) 在杉木人工林根际土壤中, *nosZ* I 型 N₂O 还原菌基因丰度高于 *nosZ* II 型, 表明 *nosZ* I 型 N₂O 还原菌在杉木人工林土壤中占主导。

2) 不同区域杉木林根际土壤的 *nosZ* I 基因丰度存在显著差异, 武夷山的 *nosZ* I 基因丰度显著高于三明和白砂。

3) 土壤 pH 是调控 *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因丰度变化的关键环境因子。

参考文献:

- [1] Ravishankara A R, Daniel J S, Portmann R W. Nitrous oxide (N₂O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century[J]. *Science*, 2009, 326(5949): 123–125.
- [2] Conrad R. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO)[J]. *Microbiological Reviews*, 1996, 60(4): 609–640.
- [3] Nogales B, Timmis K N, Nedwell D B, et al. Detection and diversity of expressed denitrification genes in estuarine sediments after reverse transcription-PCR amplification from mRNA[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(10): 5017–5025.
- [4] Sanford R A, Wagner D D, Wu Q Z, et al. Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(48): 19709–19714.
- [5] Heinen M. Simplified denitrification models: Overview and properties[J]. *Geoderma*, 2006, 133(3/4): 444–463.
- [6] 冯蒙蒙, 林永新, 樊剑波, 等. 温度和氮添加对旱地红壤反硝化功能基因丰度的影响[J]. *土壤*, 2023, 55(3): 562–568.
- [7] 郑翔, 刘琦, 曹敏敏, 等. 森林土壤氧化亚氮排放对氮输入的响应研究进展[J]. *土壤学报*, 2022, 59(5): 1190–1203.
- [8] Zheng X, Liu Q, Ji X F, et al. How do natural soil NH₄⁺, NO₃⁻ and N₂O interact in response to nitrogen input in different climatic zones? A global meta-analysis[J]. *European Journal of Soil Science*, 2021, 72(5): 2231–2245.
- [9] Müller A K, Matson A L, Corre M D, et al. Soil N₂O fluxes along an elevation gradient of tropical montane forests under experimental nitrogen and phosphorus addition[J]. *Frontiers in Earth Science*, 2015, 3: 66.
- [10] Bouwman A F, Van der Hoek K W, Olivier J G J. Uncertainties in the global source distribution of nitrous oxide[J]. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 1995, 100(D2): 2785–2800.
- [11] Kesik M, Ambus P, Baritz R, et al. Inventories of N₂O and NO emissions from European forest soils[J]. *Biogeosciences*, 2005, 2(4): 353–375.
- [12] Konda R, Ohta S, Ishizuka S, et al. Spatial structures of N₂O, CO₂, and CH₄ fluxes from *Acacia mangium* plantation soils during a relatively dry season in Indonesia[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(12): 3021–3030.
- [13] 刘钊, 魏天兴, 朱清科, 等. 黄土丘陵沟壑区典型林地土壤微生物、酶活性和养分特征[J]. *土壤*, 2016, 48(4): 705–713.

- [14] Jones C M, Spor A, Brennan F P, et al. Recently identified microbial guild mediates soil N₂O sink capacity[J]. *Nature Climate Change*, 2014, 4: 801–805.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000.
- [16] 宛颂, 段春健, 樊剑波, 等. 旱地红壤反硝化功能基因丰度对长期施肥的响应[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(11): 3729–3736.
- [17] 徐军山, 苏雪, 贾志鹏, 等. 增温对结皮土壤系统氮转化速率及微生物生物量碳氮与酶活性的影响[J]. *土壤学报*, 2021, 58(3): 788–797.
- [18] Zhu W X, Carreiro M M. Chemoautotrophic nitrification in acidic forest soils along an urban-to-rural transect[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(8): 1091–1100.
- [19] Ma J Y, Cao C Y, Zheng C L, et al. Effect of long-term application of chemical fertilizers and organic manure on soil organic carbon and bulk density[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2010, 6: 38–42.
- [20] 段春健, 宛颂, 叶桂萍, 等. 长期缺素施肥及石灰石膏施用对江西鹰潭红壤反硝化微生物功能基因丰度的影响[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(6): 2209–2216.
- [21] Assémien F L, Cantarel A A M, Florio A, et al. Different groups of nitrite-reducers and N₂O-reducers have distinct ecological niches and functional roles in West African cultivated soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 129: 39–47.
- [22] 陈春林, 周国英, 闫法领, 等. 南方杉木人工林土壤健康评价研究[J]. *土壤通报*, 2012, 43(6): 1318–1324.
- [23] 邓米林, 冯蒙蒙, 刘小飞, 等. 模拟氮沉降降低亚热带米楮天然林土壤氧化亚氮排放潜势[J]. *应用生态学报*, 2022, 33(10): 2705–2710.
- [24] Zhu T B, Zeng S M, Qin H L, et al. Low nitrate retention capacity in calcareous soil under woodland in the Karst region of southwestern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 97: 99–101.
- [25] Beven K J, Kirkby M J. A physically based, variable contributing area model of basin hydrology[J]. *Hydrological Sciences Bulletin*, 1979, 24(1): 43–69.
- [26] Van Kessel J S, Reeves J B. On-farm quick tests for estimating nitrogen in dairy manure[J]. *Journal of Dairy Science*, 2000, 83(8): 1837–1844.
- [27] Shan J, Sanford R A, Chee-Sanford J, et al. Beyond denitrification: The role of microbial diversity in controlling nitrous oxide reduction and soil nitrous oxide emissions[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(12): 2669–2683.