

DOI: 10.20103/j.stxb.202505291341

舒琪,张旭东,刘欣森,姚增旺,吴海龙,高升华.不同碳源协同施肥重构茶园土壤氮循环路径并驱动 N_2O 排放差异.生态学报,2026,46(10): - .
Shu Q, Zhang X D, Liu X M, Yao Z W, Wu H L, Gao S H. Co-application of different carbon sources reshapes nitrogen cycling pathways and drives N_2O emission differences in tea plantation soil. Acta Ecologica Sinica, 2026, 46(10): - .

不同碳源协同施肥重构茶园土壤氮循环路径并驱动 N_2O 排放差异

舒琪¹, 张旭东¹, 刘欣森¹, 姚增旺², 吴海龙¹, 高升华^{1,*}

1 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091

2 山东农业大学林学院, 泰安 271018

摘要: 氧化亚氮(N_2O)是重要的温室气体和臭氧层消耗物,在高投入农业生态系统中具有高排放风险。茶园作为典型的高投入农业生态系统,由于长期大量施氮及土壤酸性强, N_2O 排放系数普遍高于一般农田,已成为全球农田 N_2O 排放的“热点”类型。然而,不同类型碳源协同施肥对 N_2O 排放路径的重构机制仍不明确,限制了茶园减排策略的科学设计。为此,在安徽庐江典型丘陵茶园设置 4 种施肥处理:不施肥(CK)、单施复合肥(FF)、复合肥与有机饼肥(易降解有机碳)混施(FO)以及复合肥与生物质炭(难降解有机碳)混施(FB),采用随机区组设计进行田间试验,系统评估了碳源类型对 N_2O 排放过程与微生物机制的调控作用。结果表明,FO 处理后第 30 天显著的 N_2O 通量峰值,其变化趋势与土壤微生物量碳(MBC)高度同步,而微生物量氮(MBN)峰值则滞后,在 60 天出现。这反映出高活性有机碳源输入导致微生物优先利用碳源进行异化代谢,后期转向氮同化。相比之下,FB 处理在整个试验期内显著抑制了 N_2O 排放,较 FO 处理减排幅度达 88.79%,且 MBC 与 MBN 无明显波动,表明微生物代谢响应较弱。功能基因与网络结构分析显示,FO 处理主要通过激活 *narG* (硝酸盐还原酶 α 亚基, *nitrate reductase alpha subunit*)、*norB* (一氧化氮还原酶, *nitric oxide reductase*) 等反硝化中间阶段基因,加速硝态氮、亚硝态氮还原形成 N_2O ,而 FB 处理则上调 *hao* (羟胺氧化还原酶, *hydroxylamine oxidoreductase*)、*amoA* (氨单加氧酶 α 亚基, *ammonia monoxygenase alpha subunit*)、*amoB* (氨单加氧酶 β 亚基, *ammonia monoxygenase beta subunit*)、*nr1A* (氮形成细胞色素 c 亚硝酸盐还原酶, *ammonia-forming cytochrome c nitrite reductase*) 表达,促进硝化和异化还原过程,同时 *norB* 表达受抑,有效截断 N_2O 生成路径。最小二乘路径模型进一步表明,FB 处理并未显著提升 N_2O 还原相关基因 *nosZ* (氧化亚氮还原酶, *nitrous oxide reductase*) 表达,而是通过增强异化还原过程和氮素同化过程,从源头减少 N_2O 前体,体现出以“过程规避”替代“末端还原”的减排机制。本研究明确提出 FB 处理的 N_2O 减排优势主要来源于功能路径的重构而非 N_2O 还原为 N_2 的补偿机制,为理解不同碳源施用对氮循环调控路径的差异提供了新的理论依据。研究结果对于茶园碳氮耦合施肥优化和构建绿色低碳排放施肥模式具有重要的指导意义,也为其他高氮农业生态系统提供了参考路径。

关键词: 茶园;碳源类型; N_2O 排放;氮循环功能基因

Co-application of different carbon sources reshapes nitrogen cycling pathways and drives N_2O emission differences in tea plantation soil

SHU Qi¹, ZHANG Xudong¹, LIU Xinmiao¹, YAO Zengwang², WU Hailong¹, GAO Shenghua^{1,*}

1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 College of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China

Abstract: Nitrous oxide (N_2O) is a potent greenhouse gas and ozone-depleting substance, with a high emission risk in

基金项目:十四五国家重点研发计划项目(2022YFF130300203)

收稿日期:2025-05-29; 网络出版日期:2026-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gaosh@caf.ac.cn

intensive agricultural systems. As a typical high-input agroecosystem, tea plantations are characterized by long-term excessive nitrogen application and strong soil acidity, resulting in N_2O emission factors significantly higher than those of conventional croplands, making them a global “hotspot” of agricultural N_2O emissions. However, the regulatory mechanism by which different types of carbon sources reshape N_2O emission pathways remains unclear, limiting the scientific design of mitigation strategies in tea plantations. In this study, a randomized block field experiment was conducted in a typical hilly tea plantation in Lujiang, Anhui, with four fertilization treatments: no fertilizer (CK), application of chemical fertilizer alone (FF), mixed application of chemical fertilizer and rapeseed cake (easily decomposable carbon source, FO), and mixed application of chemical fertilizer and biochar (recalcitrant carbon source, FB). The effects of carbon source type on N_2O emission dynamics and microbial mechanisms were systematically evaluated. The results showed that FO treatment induced a significant N_2O emission peak on day 30 after fertilization, which was highly synchronized with the peak of microbial biomass carbon (MBC), while the peak of microbial biomass nitrogen (MBN) was delayed to day 60. This pattern indicates that the input of highly labile organic carbon led microbes to preferentially utilize carbon sources for dissimilatory metabolism in the early stage, followed by a shift towards nitrogen assimilation in the later stage. In contrast, FB treatment significantly suppressed N_2O emissions throughout the experiment, with an 88.79% reduction compared to FO, and no significant fluctuation in MBC or MBN, indicating a weaker microbial metabolic response. Functional gene and network analyses showed that FO treatment mainly activated intermediate denitrification genes such as *narG* (nitrate reductase alpha subunit) and *norB* (nitric oxide reductase), promoting the reduction of NO_3^- -N and NO_2^- -N to N_2O . In contrast, FB treatment upregulated genes such as *hao* (hydroxylamine oxidoreductase), *amoA* (ammonia monooxygenase alpha subunit), *amoB* (ammonia monooxygenase beta subunit), and *nrfA* (ammonia-forming cytochrome c nitrite reductase), enhancing nitrification and DNRA (dissimilatory nitrate reduction to ammonium), while *norB* expression was suppressed, effectively blocking the formation of N_2O . Partial least squares path modeling further revealed that FB treatment did not significantly enhance *nosZ* (nitrous oxide reductase) expression (involved in N_2O reduction), but rather reduced N_2O precursors by strengthening DNRA and microbial nitrogen assimilation, indicating a mitigation strategy based on “process avoidance” rather than “terminal reduction”. This study clearly demonstrates that the mitigation advantage of FB lies in the restructuring of nitrogen cycling pathways rather than compensatory N_2O -to- N_2 reduction, providing novel theoretical insights into carbon-nitrogen interactions in soil nitrogen regulation. The findings offer important guidance for optimizing carbon-nitrogen coupled fertilization strategies in tea plantations and contribute a reference framework for other high-nitrogen agroecosystems.

Key Words: tea plantation; carbon source type; N_2O emission; nitrogen cycling functional genes

氧化亚氮(N_2O)是一种强效的温室气体,其100年尺度的全球增温潜势约为二氧化碳的300倍^[1]。 N_2O 在工业前时期以来的辐射强迫增量中约占6%,并且已成为当前世纪最主要的破坏平流层臭氧的物质^[2]。全球人为 N_2O 排放量近年来快速增长,1970年至2018年间年排放量累积增加了约64%,其中农业活动贡献了约78%的增量,氮肥的大量施用是这一增长的主因^[3]。茶园是一类典型的高投入农业生态系统,土壤单位面积的 N_2O 排放强度远高于一般农田土壤,有研究发现茶园每年产生的 N_2O 可达14.4—32.7 kg/hm²,约为相邻农田的2.67倍^[4]。因此,茶园土壤已被公认为农业领域 N_2O 排放的“热点”来源之一^[5]。据测算,在茶园推广气候友好型管理措施即可降低全球茶园 N_2O 排放量的约三分之一^[6]。因此,在温室气体减排与农业可持续发展的背景下,深入研究茶园 N_2O 排放机理及其调控策略具有重要意义。

土壤 N_2O 的产生主要源于微生物介导的硝化作用和反硝化作用两个过程^[7]。在好氧条件下,自养和异养微生物通过硝化作用将铵态氮氧化为硝态氮,同时副产少量 N_2O ;而在缺氧环境中,反硝化微生物利用有机碳作为电子供体,将硝酸盐逐步还原为一氧化氮(NO)、 N_2O 直至氮气(N_2)^[8]。反硝化过程产生 N_2O 的速率受到

多种因素影响,其中硝酸盐浓度和可利用有机碳水平是关键限制因子^[9]。充足的可降解碳源能促进反硝化代谢,显著提高N₂O的生成速率^[10]。然而在土壤酸性较强时,反硝化途径中的最后一步(N₂O还原为N₂)会受到抑制,导致N₂O作为中间产物积累并大量逸出^[11]。这在典型酸性土壤(如茶园土壤)中尤为突出^[12]。长期定位研究也表明,相比反硝化等途径,硝化作用对土壤N₂O排放的相对贡献较小,在高投入农田生态系统中硝化源的N₂O占比常低于总量的10%^[13]。施肥是触发土壤N₂O排放瞬时高峰的主要诱因之一,施加氮肥后数日内土壤微生物对氮源的迅速代谢可导致N₂O通量陡增^[14]。综上,茶园土壤N₂O排放受微生物氮循环过程强烈驱动,大量氮肥投入结合茶园土壤偏酸、碳供给变化等特点,使其N₂O排放呈现出瞬时高峰和持续高水平并存的特征。

调控土壤碳供给是影响N₂O排放的重要途径^[15]。外源碳输入常会引发“激发效应”,其方向和强度取决于微生物的底物代谢偏好和养分获取策略^[16-17]。易降解碳源(例如有机饼肥等)与难降解碳源(例如生物质炭)对土壤N₂O的影响机制存在显著差异。易分解的有机质可快速被微生物利用,往往显著增强反硝化作用强度,但如果环境条件限制了反硝化的完全进行(如缺乏足够时间或适宜pH以将N₂O还原为N₂),则会导致N₂O中间产物的大量积累^[18]。在茶园土壤中单独施用菜籽饼肥显著提高了N₂O通量,其累积排放量比单施化学氮肥高出近一个数量级^[19]。相比之下,难降解碳源如生物质炭相对稳定,直接被微生物利用的程度有限,却能通过改良土壤理化环境和微生物生态来影响N₂O产生与还原过程^[20]。添加生物质炭通常可有效降低土壤N₂O排放,其机制包括提高土壤pH、增加通气 and 保水空间,以及富集携带 *nosZ* 功能基因的微生物,从而促进反硝化向N₂完全还原^[21]。总的来看,易降解有机碳倾向于加速N₂O的产生而难以促进其还原,反之,生物质炭等难降解有机碳投放则更有利于N₂O的后续还原和排放减控^[22]。这种差异背后的理论基础在于二者对微生物过程的调控侧重不同,前者主要影响反硝化速率,后者更多影响反硝化产物的去向和微生物群落功能结构^[23]。然而,目前关于不同类型碳源调控茶园N₂O排放的机制尚缺乏系统研究,特别是缺少对易降解与难降解碳源作用差异的深入比较^[24]。这方面的研究缺乏限制了我们对茶园温室气体排放调控的全面认知。

基于上述背景,本研究在安徽庐江长冲试验茶园采用随机区组设计进行施肥试验,设置4种施肥处理,即CK(不施肥)、FF(单施复合肥)、FO(复合肥和有机饼肥混施)和FB(复合肥和生物质炭混施),以期回答以下科学问题:(1)不同碳源混施用如何影响土壤N₂O释放,相对单施复合肥能否减排;(2)不同碳源混施如何影响土壤碳氮循环过程,进而调控N₂O释放。本研究将在茶园土壤中对研究添加易降解有机饼肥与难降解生物质炭后的N₂O排放特征和微生物学机制,以期阐明其作用机理并为茶园温室气体减排提供科学依据。

1 研究区概况与研究方法

1.1 研究区概况

研究区域位于中国安徽省合肥市长冲试验茶园(117°8'52"E,31°18'53"N)。试验地属于亚热带季风气候,四季分明。年平均气温为15.8℃,年平均降水量为1188 mm,大部分降雨在5—7月。土壤类型为黄棕壤^[25]。田间杂草主要为阿拉伯婆婆纳(*Veronica persica*)、小蓬草(*Erigeron canadensis*)、球序卷耳(*Cerastium glomeratum*)、紫堇(*Corydalis edulis*)、鸭茅(*Dactylis glomerata*)、野胡萝卜(*Daucus carota*)、狗尾巴草(*Setaria viridis*)、牛鞭草(*Hemarthria sibirica*)等。

1.2 研究方法

1.2.1 试验小区布设

在研究区域选取均匀且管理模式相同的茶园,茶树品种为“黄金芽”,茶龄为6年。于2024年3—9月进行了施肥处理。采用4种施肥方式:CK,不施肥;FF,施用复合肥;FO,混合施用复合肥和有机饼肥;FB,混合施用复合肥和生物质炭。以随机区组设计,设计20个小区,每个小区5 m × 5 m,每种施肥方式4个重复。施肥时间和次数综合考虑当地施肥模式和试验需求,仅2024年3月施肥一次,在距茶树根部约10 cm挖约15 cm深的沟施肥,将肥料均匀施入沟中,然后覆土。依据试验需求,以有机碳含量选取有机饼肥和生物质炭,

有机饼肥为菜籽饼肥,生物质炭以玉米秸秆为主要原料。复合肥养分含量为氮:磷:钾=22:8:15;有机饼肥养分含量为有机碳 35.49%,氮 7.02%,磷 3.01%,钾 1.60%;生物质炭养分含量为有机碳 42.21%,氮 8.34%,磷 2.31%,钾 16.12%。综合考虑每种肥料的适宜添加量和各处理养分添加量,对每个处理复合肥和其他肥料配比进行适当调整,施肥处理以每年 300 kg N/hm²计算(混施中复合肥为每年 210 kg N/hm²,其余肥料按 90 kg N/hm²换算),则 FF 处理复合肥以每年 300 kg N/hm²计算;FO 处理复合肥以每年 210 kg N/hm²计算,有机饼肥以每年 1282 kg/hm²计算;FB 处理复合肥以每年 210 kg N/hm²计算,生物质炭以每年 1079 kg/hm²计算;每个处理中磷和钾添加量使用磷肥(P₂O₅)和钾肥(K₂O)配平。各处理具体养分添加量见表 1。

表 1 各处理养分添加量

Table 1 Nutrient inputs by treatment

处理 Treatment	肥料类型 Fertilizer type	有机碳输入量 Organic carbon input/ (kg/hm ²)	氮输入量 Nitrogen input/ (kg/hm ²)	磷输入量 Phosphorus input/ (kg/hm ²)	钾输入量 Potassium input/ (kg/hm ²)	备注 Notes
CK	—	—	—	115.04	317.14	各处理磷钾输入量按照 CK(各处理磷钾输入量最大值)使用 P ₂ O ₅ 和 K ₂ O 添加至与 CK 相同
FB	复合肥	—	210	76.36	143.18	
	生物质炭	455	90	24.93	173.96	
FF	复合肥	—	300	109.09	204.55	
FO	复合肥	—	210	76.36	143.18	
	有机饼肥	455	90	38.59	20.51	

CK:不施肥 No fertilization;FF:施用复合肥 Application of chemical fertilizer;FO:混合施用复合肥和有机饼肥 Mixed application of chemical fertilizer and rapeseed cake;FB:混合施用复合肥和生物质炭 Mixed application of chemical fertilizer and biochar

1.2.2 土壤样品采集与理化性质测定

于施肥前一天(以第 0 天计)和施肥后第 7、15、30、60、90、120、150 天和第 180 天使用土钻取 0—20 cm 土层样品。每个小区随机取样 5 个土芯并混合成一个复合样本。样本经 2 mm 土筛过滤后分为三部分:一部分于 4℃ 保存,1 周内分析土壤酶活性;一部分于室温保存,用于土壤理化性质测定;一部分于 -80℃ 保存,用于 DNA 提取,进行宏基因组分析。采集土壤理化性质样品、土壤酶活样品和土壤微生物样品各 180 个,共计 540 个。

土壤有机碳(SOC)含量通过总有机碳分析仪(Shimadzu, TOC-LCPH, 日本)测定。颗粒有机碳(Particulate Organic Carbon; POC)与矿物结合有机碳(Mineral-associated Organic Carbon; MAOC)含量通过重铬酸钾加热法测定。铵态氮(Ammonium Nitrogen, NH₄⁺-N)含量根据靛酚蓝比色法,硝态氮(Nitrate Nitrogen, NO₃⁻-N)含量根据紫外分光光度法(UV Spectrophotometry),亚硝态氮(Nitrite Nitrogen, NO₂⁻-N)含量根据重氮化-偶氮比色法,通过紫外可见分光光度计(UV-1800PC, 上海美普达仪器有限公司)测定。土壤微生物量碳(MBC)和氮(MBN)采用氯仿熏蒸法测定。将土壤样品与去离子水按 1:2.5(土壤:溶液,重量比)的比例混合,使用酸度计测定 pH 值。

1.2.3 土壤 N₂O 气体样品采集与测定

N₂O 气体样品采集时间与土壤样品采集时间相对应。于土壤样品采集时间的上午 8:00—11:00 使用静态气体采集箱采集温室气体样品。每个小区随机布置 3 个静态气体采集箱,在静态气体采集箱关闭后 0、10、20、30 min 时采集气体样品,同时记录箱内温度。气体样品于 4℃ 保存,使用气相色谱仪(Agilent Technologies, Agilent 7890A, 美国)在 24 h 内检测 N₂O 气体浓度,仪器检测 N₂O 气体浓度范围为 163—9412 nmol/mol。共计气体样品 2160 个。

土壤氧化亚氮(N₂O)气体通量计算公式为^[26]:

$$F = \rho \times \frac{V}{A} \times \frac{P}{P_0} \times \frac{T_0}{T} \times \frac{\Delta C}{\Delta t}$$

式中, F 为气体通量(N₂O, mg m⁻² h⁻¹); ρ 为标准状态下气体密度(N₂O, 1.96 kg/m³); V 为静态气体采集箱气室

体积; A 为静态气体采集箱箱体覆盖底面积; P 为采集时大气压(Pa); P_0 为标准大气压; T 为采集时平均温度; T_0 为标准状态下绝对温度; $\Delta C/\Delta t$ 为气体随时间变化率。

1.2.4 土壤酶活性测定

测定的土壤酶包括 β -1,4-葡萄糖苷酶(β -1,4-glucosidase, BG), β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(β -1,4-N-acetylglucosaminidase, NAG)和亮氨酸氨基肽酶(Leucine Aminopeptidase, LAP),根据荧光法进行测定^[27]。取约1 g鲜土,加入50 mL 50 mmol/L醋酸钠缓冲液,涡旋振荡约30 s制成土壤匀浆,然后将200 μ L土壤匀浆和50 μ L底物分装到黑色微孔板中,NAG培养2 h,BG和LAP培养4 h。用激发波长360 nm,发射波长460 nm测定荧光值。

1.2.5 土壤宏基因组分析

利用Mag-Bind[®] Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, 美国)试剂盒进行样品DNA抽提。完成DNA抽提后,检测DNA浓度和纯度,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性。将DNA片段化后,筛选约400bp的片段,使用NEXTFLEX[®] Rapid DNA-Seq (Bioo Scientific, 美国)建库。使用Illumina NovaSeq (Illumina, 美国)测序平台进行宏基因组测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。使用fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0)对reads 3'端和5'端的adapter序列进行质量剪切,去除剪切后长度小于50 bp、平均碱基质量值低于20以及含N碱基的reads,保留高质量的pair-end reads和single-end reads,使用软件MEGAHIT (<https://github.com/voutcn/megahit>, version 1.1.2)对优化序列进行拼接组装。在拼接结果中筛选大于等于300 bp的contigs作为最终的组装结果。使用MetaGene (<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp>)对拼接结果中的contigs进行ORFs预测。选择核酸长度大于等于100bp的基因,并将其翻译为氨基酸序列。用CD-HIT (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit>, version 4.6.1)对所有样品预测出来的基因序列进行聚类(参数为:90% identity, 90% coverage),每类取最长的基因作为代表序列,构建非冗余基因集^[28]。

使用SOAPaligner软件 (<http://soap.genomics.org.cn>, version 2.21)分别将每个样品的高质量reads与非冗余基因集进行比对(95% identity),统计基因在对应样品中的丰度信息。物种分类学注释:使用Diamond (<http://www.diamondsearch.org/index.php>, version 0.8.35)将非冗余基因集的氨基酸序列与NR数据库进行比对(BLASTP比对参数设置期望值e-value为1e-5),并通过NR库对应的分类学信息数据库获得物种注释,然后使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度^[29]。KEGG功能注释:使用Diamond将非冗余基因集的氨基酸序列与KEGG数据库进行比对(BLASTP比对参数设置期望值e-value为1e-5),获得其对应的KEGG功能^[30]。

1.3 数据分析

使用Excel 2021与R 4.3.3进行数据整理与分析。利用ANOVA(Analysis of Variance)比较土壤理化性质与N₂O通量在每个时间点各处理平均值是否存在显著差异。使用主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA),基于Bray-Curtis距离算法,分析各处理后微生物氮循环功能差异。基于样品的物种和功能相对丰度,进行物种丰度与功能丰度之间的关联分析,找出特定功能的物种贡献度。基于Bray-Curtis距离算法,采用Spearman相关性,使用Mantel test网络热图土壤理化性质和微生物氮循环功能的关系。使用网络分析,采用Spearman相关性,具体分析土壤理化性质与微生物氮循环功能基因关系,仅展示|r|大于0.5且相关关系显著的网络关系。使用最小二乘路径模型(Partial Least Squares Path Modeling; PLS-PM)对比易降解碳源与难降解碳源混施对N₂O的调控减排机制。

2 结果与分析

2.1 施肥对土壤理化性质和N₂O通量的影响

由图1可知,碳源添加并未引起各处理土壤碳组分间差异。土壤有机碳(SOC)在四个处理中均呈先降后升的波动曲线。0—30天内FO与FB的SOC均高于CK与FF,但各时间点差异不显著,60 d以后各处理趋

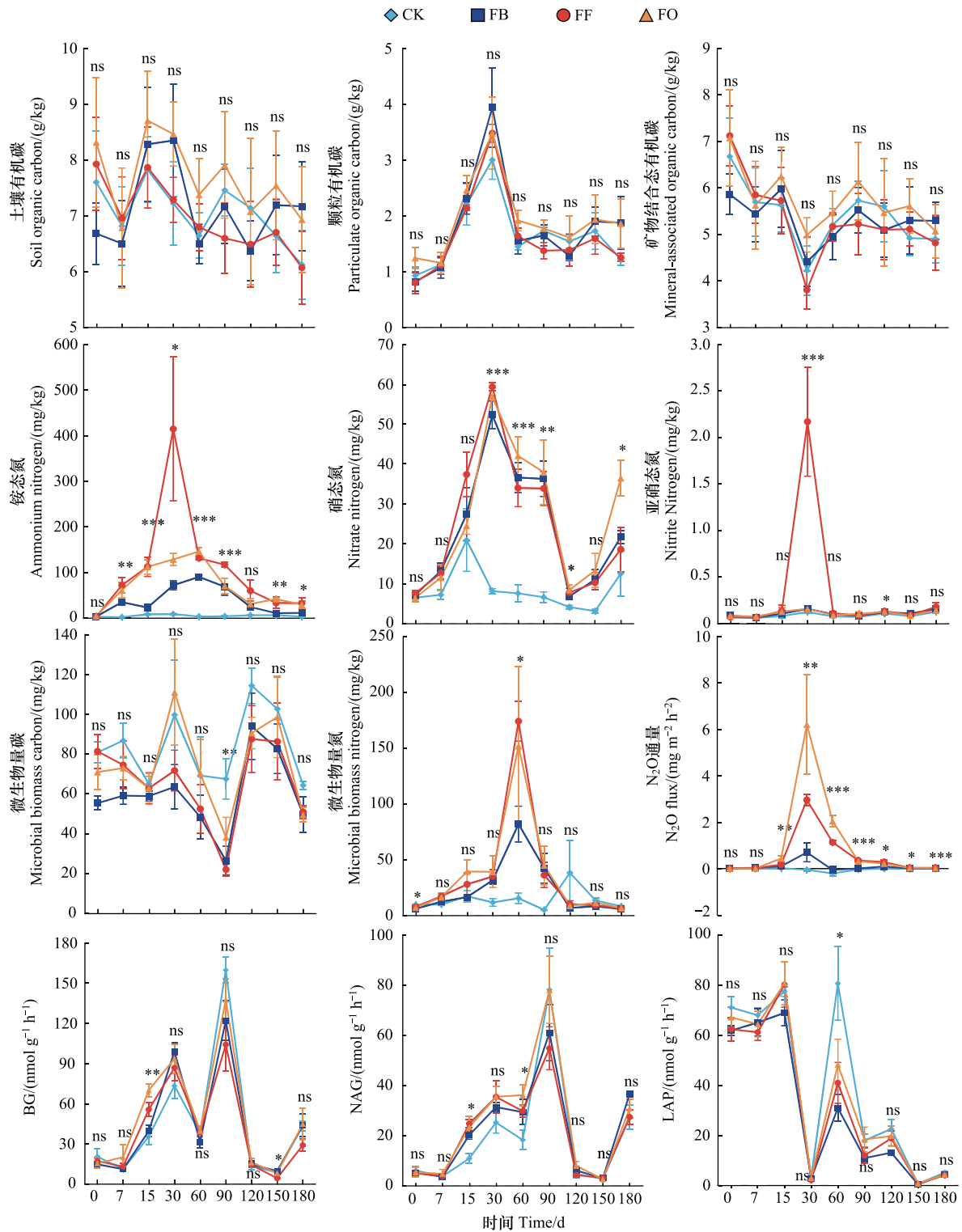


图1 土壤理化性质与 N_2O 通量时间动态变化

Fig.1 Temporal dynamics of soil physicochemical properties and N_2O Fluxes

图中的误差线代表标准误差;“ns”代表组间无显著差异,“*”代表 $0.01 < P < 0.05$,“**”代表 $0.001 < P < 0.01$,“***”代表 $P < 0.001$;BG; β -1,4-葡萄糖苷酶 β -1,4-glucosidase;NAG; β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 β -1,4-N-acetylglucosaminidase;LAP;亮氨酸氨基肽酶 Leucine Aminopeptidase;CK:不施肥 No fertilization;FF:施用复合肥 Application of chemical fertilizer;FO:混合施用复合肥和有机饼肥 Mixed application of chemical fertilizer and rapeseed cake;FB:混合施用复合肥和生物炭 Mixed application of chemical fertilizer and biochar

于收敛。颗粒有机碳(POC)对施肥响应敏感,7—30 d 时各处理迅速达到峰值,随时间推移快速回落并在 60 d 后维持于(1.61±0.50) g/kg。矿物结合态有机碳(MAOC)与 POC 相反,在 30 天时各处理均达到最低值,而后随时间增加并趋于稳定。

NH₄⁺-N 变化剧烈。FF 在 30 d 出现极端高峰,显著高于其他处理,随后迅速跌回。FO 与 FB 峰值出现在 60 d,CK 始终维持低位。各处理 NO₃⁻-N 在 30 d 达到峰值,之后随时间下降,60 d 以后各处理无显著差异。NO₂⁻-N 仅 FF 于 30 d 出现显著峰值((2.17±1.17) mg/kg),其余时间点各处理均无差异。综合三种酶活性可见,不同施肥处理对三种酶活性的影响有限,表现为短期内的个别差异,而整体波动趋势大体一致,说明酶活性主要受时间效应驱动,施肥措施仅在特定时期对酶活性产生一定调节作用。

MBC 对碳源供给表现出双峰(30 d 与 120 d)。MBN 与 NH₄⁺-N 变化类似,但峰值出现在 60 天。N₂O 排放 在 0—15 d 均处基线,30 d 出现单一强峰,FO 最高,FF 次之,FB 较低,CK 近于零,30—90 天迅速降低并趋于稳定。

以上结果表明,易降解碳源(FO)触发了“NH₄⁺-N-MBN-N₂O”联动高峰,30 d 时土壤 NH₄⁺-N、MBN 与 N₂O 同步达到极值,暗示快速矿化与微生物同化驱动的反硝化前置过程是瞬时排放主因。复合肥单施(FF)刺激硝化-反硝化耦合,30 d NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 高峰与 N₂O 次高峰表明硝化产物向下游形态转化滞后。难降解碳源(FB)在整个周期内抑制 NH₄⁺-N 积累与 N₂O 峰值,相对 FO 降幅 88.79%,表明难降解碳源通过缓释氮、调节微生物代谢峰、增强 N₂O 还原潜力发挥减排作用。

2.2 施肥对微生物氮循环功能基因的影响

由图 2 可知,基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 前两轴累计解释 62.17% 的变异,其中第一主坐标(Principal Coordinate 1, PCo1)、第二主坐标(Principal Coordinate 2, PCo2)分别占 47.57% 和 14.60%。CK 样点主要分布在 PCo1 负半轴,95% 置信椭圆面积最小,表明在不施肥条件下氮循环功能结构较为稳定且离散度低。FF 整体位于 PCo1 正向,并向 PCo2 负向伸展,椭圆面积最大,显示化肥单施显著重塑了功能基因组成且组内差异度最高。FO 与 FB 分布于 PCo1 近 0 左右并局部重叠,二者相较 CK 明显右移但又未达 FF 的极端,表明混施有机饼肥或生物质炭可在一定程度上缓冲化肥对功能基因结构的偏移。以上结果说明,施肥方式是驱动茶园微生物氮循环功能差异的首要因素,其中化肥单施造成的偏移最为显著,而碳源共施具有一定“缓冲”效应。

图 3 以门水平的堆积柱状图展示了在四个处理

(CK、FF、FO、FB)下微生物群落对九类关键氮循环功能基因的相对贡献。对 *amoA* (氨单加氧酶 α 亚基, *ammonia monooxygenase alpha subunit*) 和 *amoB* (氨单加氧酶 β 亚基, *ammonia monooxygenase beta subunit*) 有主要贡献的为变形菌门和亚硝化球菌门(Nitrososphaerota)。对 *hao* (羟胺氧化还原酶, *hydroxylamine oxidoreductase*) 有主要贡献的为变形菌门(Pseudomonadota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)和 Candidatus_Latescibacteria。对 *nrfA* (氨形成细胞色素 c 亚硝酸盐还原酶, *ammonia-forming cytochrome c nitrite reductase*) 有主要贡献的为变形菌门、酸杆菌门、粘球菌门(Myxococcota)、Candidatus_Latescibacteria 和浮霉菌门(Planctomycetota)。对 *narG* (硝酸盐还原酶 α 亚基, *nitrate reductase alpha subunit*) 有主要贡献的为变形菌门和放线菌门(Actinomycetota)。对 *nirS* (亚硝酸盐还原酶, *cytochrome cd1-containing nitrite reductase*) 有主要贡献的为变形菌门和硝化螺旋菌门(Nitrospirota)。对 *nirK* (亚硝酸盐还原酶, *copper-containing nitrite reductase*)

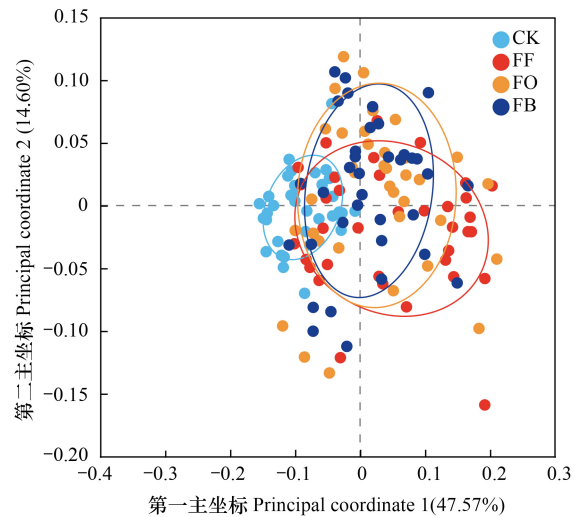


图 2 微生物氮循环功能 PCoA 分析

Fig.2 PCoA of microbial nitrogen cycling functions

有主要贡献的为变形菌门、亚硝化球菌门和放线菌门。对 *norB* (一氧化氮还原酶, *nitric oxide reductase*) 有主要贡献的为变形菌门和酸杆菌门。对 *nosZ* (氧化亚氮还原酶, *nitrous oxide reductase*) 有主要贡献的为变形菌门、硝化螺旋菌门、拟杆菌门 (Bacteroidota) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadota)。施肥处理明显富集变形菌门在 *nirK*、*norB*、*nosZ*、*hao*、*amoA* 和 *amoB* 中的相对贡献, 并且 FF>FO>FB。以上结果说明, 微生物硝化-反硝化功能分工被碳源性质重塑。

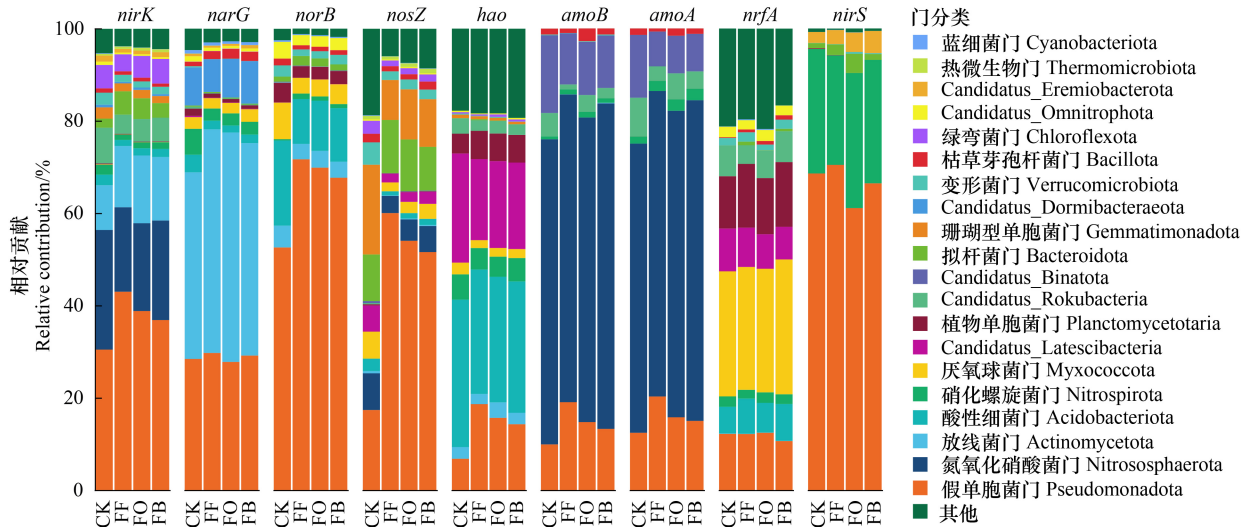


图3 微生物群落对氮循环功能基因相对贡献

Fig.3 Relative contribution of microbial communities to nitrogen cycling functional genes

nirK: 亚硝酸盐还原酶 (copper-containing nitrite reductase); *narG*: 硝酸盐还原酶 α 亚基 (nitrate reductase alpha subunit); *norB*: 一氧化氮还原酶 (*nitric oxide reductase*); *nosZ*: 氧化亚氮还原酶 (*nitrous oxide reductase*); *hao*: 羟胺氧化还原酶 (*hydroxylamine oxidoreductase*); *amoB*: 氨单加氧酶 β 亚基 (*ammonia monoxygenase beta subunit*); *amoA*: 氨单加氧酶 α 亚基 (*ammonia monoxygenase alpha subunit*); *nrfA*: 氨形成细胞色素 c 亚硝酸盐还原酶 (*ammonia-forming cytochrome c nitrite reductase*); *nirS*: 亚硝酸盐还原酶 (*cytochrome cd1-containing nitrite reductase*)

2.3 微生物氮循环功能基因对土壤理化性质的影响

各处理 (CK、FF、FO、FB) 下微生物氮循环功能与土壤理化性质之间的相关网络, 如图 4 所示。CK 节点与 pH、SOC、POC、MAOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、BG、NAG 和 $\text{BG}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 强正相关, 表明在无外源投入条件下碳氮-酶-微生物系统具有良好稳态。FO (易降解碳源混施) 节点与 pH、SOC、POC、 $\text{BG}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 强正相关, 表明易降解碳显著激活微生物酶系并驱动氮转化。FF (复合肥单施) 节点与 MAOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、NAG、C/N 和 $\text{BG}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 强正相关, 表明硝化-反硝化耦合对氮酶活性有反馈抑制。FB (难降解碳源混施) 节点与 pH、SOC、POC、MAOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、NAG、LAP 和 $\text{BG}/(\text{NAG}+\text{LAP})$ 强正相关, 表明难降解碳输入削弱了反硝化强度, 进而降低 N_2O 排放。

网络分析结果显示 (图 5), 在自然基线下 (CK), 网络无负相关, 呈现“ $\text{POC}/\text{SOC}-\text{NH}_4^+\text{-N}-\text{norB}/\text{nosZ}$ ”单极正向团簇, 反映自然茶园以碳-铵耦合驱动的“完全反硝化”稳态。复合肥单施 (FF) 网络中导致硝化-反硝化耦合强化, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 *hao* 双负链通向 *nosZ*, 说明复合肥导致硝化活跃, 却抑制 N_2O 还原酶表达, 易形成 N_2O 积累; C/N 正向驱动 *norB* 与 *nosZ*, 说明碳/氮比例升高促进反硝化。易降解有机碳混施 (FO) 中, 通过调节 pH 影响 *hao*、*nrfA* 和 *norB* 表达, 结合 *narG* 影响 LAP 活性, 导致硝化-反硝化稳态趋向反硝化, 形成 N_2O 释放; 易降解有机碳混施 (FB) 中, 生物质炭碱化效应提升 *nirS*、*hao*、*amoA*、*amoB* 和 *nrfA* 表达, 同时抑制 *norB*, 降低 N_2O 形成。

2.4 不同碳源混施对 N_2O 通量的影响

结合以上结果, 利用最小二乘路径模型 (PLS-PM) 分析易降解碳源和难降解碳源混施对 N_2O 释放的机制 (图 6)。有机饼肥中和短时酸抑, 促进 *norB*/*hao*/*nrfA* 表达, 协同 *narG*/*amoA* 增强 LAP 活性, LAP 活化后迅速

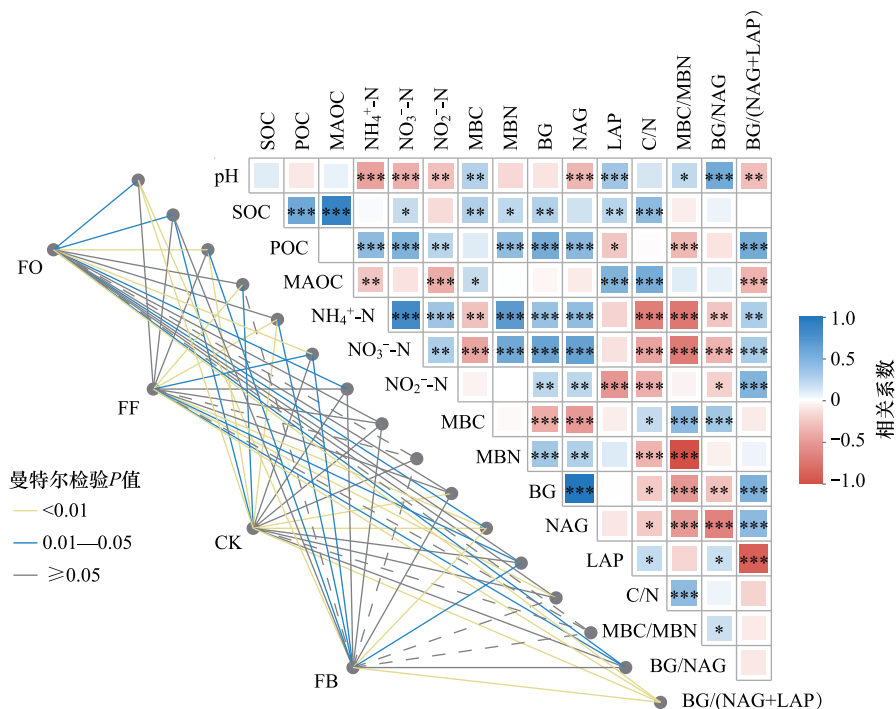


图4 施肥处理后微生物氮循环功能与土壤理化性质 Mantel-test 分析

Fig.4 Mantel-test analysis of microbial nitrogen cycling functions and soil physicochemical properties after fertilization treatments

“*”代表 $0.01 < P < 0.05$, “**”代表 $0.001 < P < 0.01$, “***”代表 $P < 0.001$; 实线代表曼特检验正相关, 虚线代表曼特检验负相关; SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; POC: 颗粒有机碳 Particulate organic carbon; MAOC: 矿物结合有机碳 Mineral-associated organic carbon; NH₄⁺-N: 铵态氮 Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; NO₂⁻-N: 亚硝态氮 Nitrite nitrogen; MBC: 微生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物量氮 Microbial biomass nitrogen; C/N: 碳氮比 Carbon to nitrogen ratio; MBC/MBN: 微生物量碳与微生物量氮的比值; BG/NAG: β-1,4-葡萄糖苷酶与 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的比值; BG/(NAG+LAP): β-1,4-葡萄糖苷酶与 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶之和的比值

消耗 NO₃⁻-N 与 NO₂⁻-N, 促进 N₂O 释放。生物质炭提升 pH 但抑制 *norB*, 间接抑制 BG 活性; pH 提升促进 *hao/nrfA/nirS/amoA/amoB* 表达, 从而抑制 NAG 活性, 同时促进 LAP 活性, 而 *narG* 的表达抑制 LAP 活性; 这些功能基因综合影响 BG、NAG 和 LAP 活性, 调节 NH₄⁺-N 与 NO₃⁻-N, 进而促进 N₂O 释放。

3 讨论

3.1 不同碳源协同施肥下茶园土壤 N₂O 排放机制

本研究结果表明, 不同施肥处理对土壤 N₂O 排放产生显著差异 (图 1), 尤其是添加不同类型碳源的处理。与不施肥对照 (CK) 相比, 单施化肥处理 (FF) 增加了土壤 N₂O 排放, 这主要归因于施入氮肥提供了充足的 NH₄⁺-N 底物, 经硝化作用产生 N₂O。施入易分解碳源的处理 (FO) 进一步显著提高了 N₂O 排放通量, 说明外源快速降解有机碳激发了强烈的微生物呼吸, 构建缺氧环境, 促进反硝化作用旺盛, 产生大量 N₂O^[31]。大量有机碳的投入促进了微生物对硝态氮的利用, 作为电子受体的硝酸盐被快速反硝化, 这解释了施肥后初期 (约 30 d) 微生物量碳 (MBC) 和 N₂O 排放通量同步达到峰值 (图 1)^[32]。在这一阶段, 微生物更倾向于将氮用于能量代谢途径而非同化进胞, 因而将硝态氮还原并以 N₂O 形式逸出, 而不是立即大量吸收氮构建生物量^[33]。与此同时, 微生物量氮 (MBN) 的峰值显著滞后于 MBC, 大约在施肥后 60 d 才出现 (图 1)。初期大量可矿化氮并未同步转化为微生物生物量中的氮, 可能因为在高碳条件下微生物优先矿化土壤氮或将氮用于反硝化代谢, 导致 MBN 一度维持较低水平^[34]。随着有机碳资源在中后期被消耗殆尽, 微生物对氮的同化需求上升, 此时

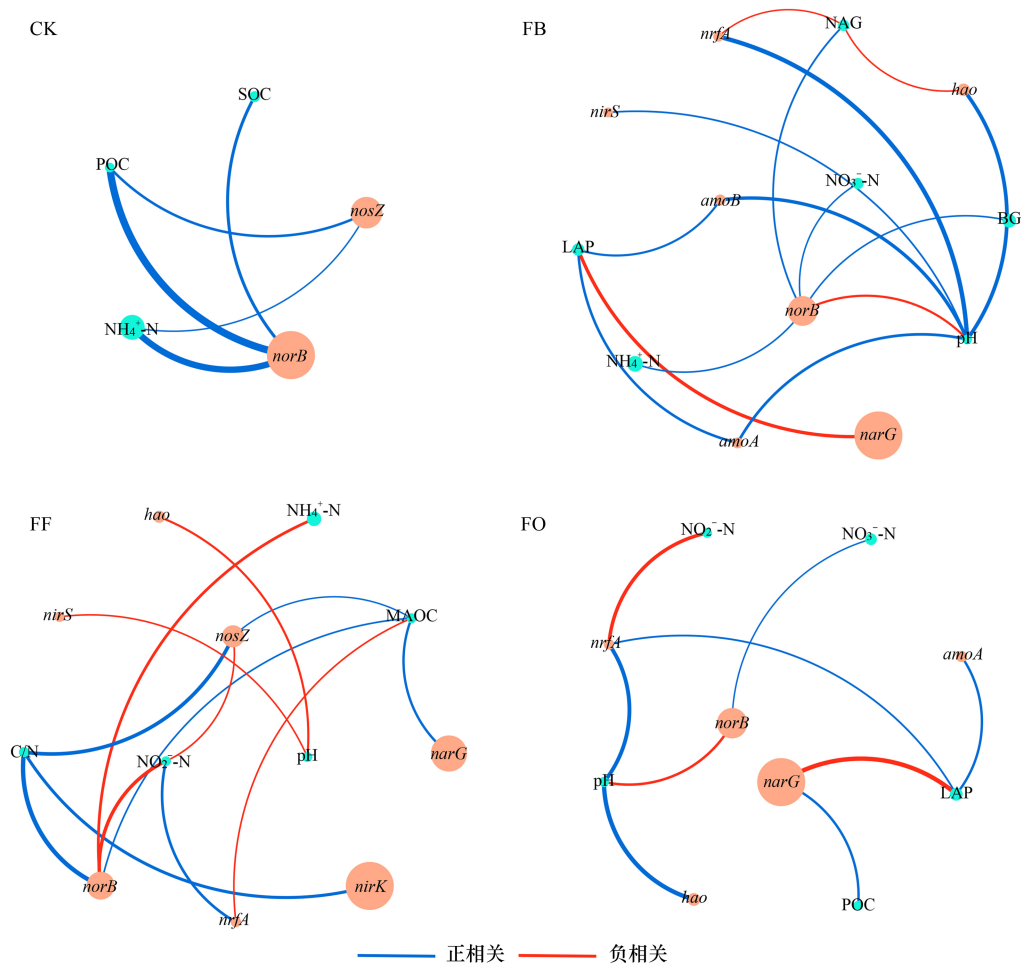


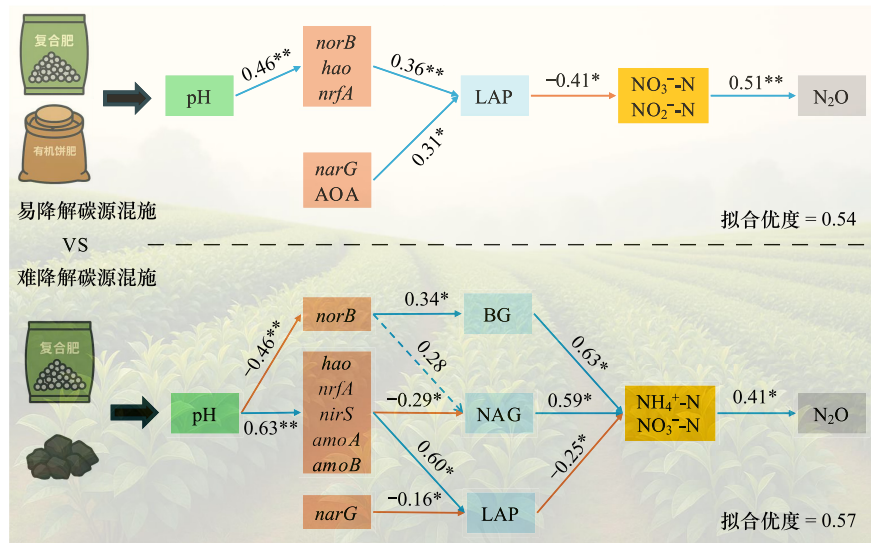
图5 微生物氮循环功能基因与土壤理化性质网络分析

Fig.5 Network analysis between microbial nitrogen cycling functional genes and soil physicochemical properties

图中节点的大小与该节点相连的边的数目相对应;图中线条粗细与 $|r|$ 相对应;仅显示 $|r|$ 大于0.5且相关关系显著的网络关系

更多的无机氮被微生物固定于生物量中,使得 MBN 在第 60 天达到峰值(图 1)。这说明 FO 处理中碳氮供给的不平衡促使微生物在早期更偏重碳源利用和异化作用(伴随 N_2O 释放),而氮同化作用相对滞后。这一碳氮资源分配策略也体现在功能途径上,高碳/氮比环境往往有利于硝酸盐经由反硝化支链的异化还原(dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)产生铵态氮(*nrfA* 基因编码的途径)而非完全反硝化^[35]。

相比之下,施入难分解碳源的处理(FB)未进一步增加 N_2O 排放,反而有降低趋势。这可能归因于 FB 处理中土壤微生物区系和代谢功能发生显著重构:微生物量碳氮未出现 FO 处理中因有机物添加而产生的短时高峰,始终维持较低水平(图 1);这一特征表明 FB 处理下土壤中碳源受限,异养反硝化微生物活性受到抑制。在 FO 处理中,大量易分解有机质促发了微生物活性高峰,增强了反硝化强度和 N_2O 中间产物的累积;相反,FB 由于缺乏快速能源供给,反硝化强度受限, N_2O 前体难以大量积累(图 3 和 5)。此外,FB 处理酶活性谱以 NAG 和 LAP 为主(图 4),表明微生物将更多精力用于分解复杂有机氮,缓慢释放铵态氮供微生物同化或硝化利用,而非像 FO 快速矿化大量氮素供反硝化消耗。这种酶学途径转变进一步降低了反硝化作用产生 N_2O 的潜力。结果上看,FB 土壤 N_2O 通量远低于 FO 处理,印证了上述机制导致的减排效果。此外,功能基因调控显示 FB 通过改变氮转化路径来阻断 N_2O 的生成。相较 FO,FB 处理中 *amoA*、*amoB* 和 *hao* 与氮组分显著相关(图 6),反映出硝化作用被激发。硝化微生物迅速将铵态氮氧化为硝态氮,一方面减少了土壤中铵的积累,避免了氨氧化菌在低氧条件下通过自养反硝化产生 N_2O ^[13];另一方面为后续反应提供了硝酸盐底物。与此同

图6 不同碳源混施对茶园 N₂O 排放机制Fig.6 Mechanisms of N₂O emissions in tea plantations under different carbon source application

“*”代表 $0.01 < P < 0.05$, “**”代表 $0.001 < P < 0.01$, “***”代表 $P < 0.001$

时,FB 促进了硝酸盐异化还原为铵的途径,*nrfA* 基因高表达表明 DNRA 过程活跃,将部分硝酸盐还原成铵态氮重新滞留于土壤,减少了反硝化过程中 N₂O 的底物供给,同时土壤 pH 升高对自养反硝化起到了抑制作用,从而整体上仍表现为 N₂O 减排效应^[36]。在反硝化微生物功能基因方面,FB 处理的 *nirS* 基因表达提高但 *norB* 显著受抑(图 5 和 6)。这意味着即使部分亚硝酸态氮经 *nirS* 还原生成了 NO,其向 N₂O 转化的关键步骤被遏制,反硝化途径被人为截短于 N₂O 生成之前。

值得强调的是,FB 的减排并非依赖于 N₂O 向 N₂ 的末端还原途径(*nosZ*)。一些研究报道了通过提高 N₂O 还原酶基因 *nosZ* 的丰度来增强 N₂O 耗减的机制。添加生物质炭可显著提高 *nirS* 和 *nosZ* 基因丰度,使 N₂/ (N₂O+N₂) 比值提高,促进 N₂O 被彻底还原为 N₂^[37];较大的比表面积生物炭也被证实可富集定殖 N₂O 还原菌,从而增加 *nosZ* 丰度并显著降低 N₂O 排放^[38]。与仅施生物质炭相比,生物质炭与复合肥配施能显著提高土壤微生物活性,加速氮素被微生物同化和转化的速率,从而更多地 将氮素导入硝化和 DNRA 等保留氮的路径而非反硝化损失^[39]。实验证据也显示,FB 处理相对于单施生物质炭显著提高了 DNRA 在硝酸盐还原总量中的分配比例,将更多硝态氮还原为铵态氮滞留于土壤, DNRA/ (DNRA+反硝化) 比值由 1.60% 升高至 13.18%,伴随 N₂O 排放量减少约 60%–98%^[36]。复合肥的施用提高了土壤中氮素的有效供给,加之生物质炭改善土壤理化性质(如提高 pH、增加孔隙度)所创造的良好环境,使微生物更倾向于通过需氧硝化途径消耗铵态氮,从而减少经反硝化产生 N₂O 的机会^[40]。同时,在碳源相对充足的条件下,高硝态氮供应意味着电子受体并不匮乏,微生物更可能选择 DNRA 路径将硝态氮还原为铵态氮以保留氮素,而非进行常规反硝化将硝酸盐还原为 N₂O/N₂^[41]。综上,FB 通过在 N₂O 产生阶段即加以限制(而非事后依赖 N₂O 还原),有效降低了土壤 N₂O 排放。这一机制不同于传统依靠 *nosZ* 促进完全反硝化的减排路径,体现了从源头控制温室气体 N₂O 释放的生态调控策略。所取得的 N₂O 通量显著降低,也证明了通过微生物代谢途径重构来减排的可行性和有效性。

尽管本研究揭示了施肥及碳源类型对 N₂O 排放的影响规律,但仍存在一些局限性需要考虑:(1) 实验周期和气体采样频率相对有限,可能未能充分捕捉土壤 N₂O 排放的瞬时高峰和季节变化;(2) 未能明确区分硝化与反硝化对 N₂O 的相对贡献,可引入稳定同位素示踪等技术手段,结合宏基因组与宏转录组解析微生物群落结构及功能,实现对土壤 N₂O 产生与消费过程的全景式认识。本研究结果对农业土壤温室气体减排具有指导意义。在施肥管理方面,应优化氮肥投入方式,减少氮素过量和同步碳源供给导致的 N₂O 排放高峰^[42]。在有机

物料还田和碳源管理方面,应根据碳源的质量和降解特性采取相应措施。对于易分解的高活性有机碳(如鲜禽畜粪肥、未腐熟秸秆等),不宜与大量速效氮肥同期施用,以防止微生物过度活跃产生 N_2O 高峰。可以采用先行腐熟堆肥或错期开释的方式,降低有机碳的降解速率和增加其稳定性,从而减少瞬时 N_2O 排放。总体来说,优化“氮肥管理+碳源调控”的耦合措施是减少农田 N_2O 排放的有效策略,包括控制氮肥用量和施用时间以匹配作物吸收、选择适宜的有机物料种类和施用时期,以及辅以土壤调理剂共同作用,最终实现茶园土壤氮循环过程的高效低排放。

3.2 生物质炭在茶园的应用效果

茶园土壤的酸化和养分失衡已成为制约茶产业可持续发展的关键问题^[43]。长期种植茶树过程中,大量使用酸性氮肥和茶树自身根系代谢均会导致土壤 pH 显著下降,许多茶园土壤的 pH 已降至 4 左右,不仅降低茶叶产量和品质,还对环境造成负面影响^[44-45]。近年来,生物质炭作为一种新型土壤调理剂在茶园中的应用受到广泛关注,但整体研究仍较为有限。

已有田间试验表明,生物炭还田可明显缓解茶园土壤酸化,提高土壤 pH 和有机碳含量,并改善养分有效性,促进茶树对氮、钾、镁等元素的吸收利用,提升茶叶产量和品质^[46]。同时,生物质炭作为稳定碳库具有固碳作用,并可减少土壤氮淋失及 N_2O 等温室气体排放,体现出显著的生态效益^[47]。生物质炭具有发达的孔隙结构和巨大的比表面积,是天然的吸附介质,可通过物理方式截留土壤溶液中的铵态氮^[48]。此外,生物质炭表面的酚羟基等官能团提供了静电吸附位点,将铵根离子紧紧吸附在生物质炭表面,进一步提高了土壤保氮增效作用^[49]。这说明 FB 处理后,土壤不仅碳源以稳定态为主,可供微生物利用的氮素相对较少。微生物活性的适度受抑不仅与 MBC 和 MBN 的平稳一致(图 1),也与生物质炭减少 N_2O 发生的作用机制相符(图 6)。就本研究的减排效率(88.79%)而言,这一数值在现有文献中属于较高的水平。只有少数报告如 Case 等^[50](91%减排)超过本研究的减排幅度,而多数田间试验报告的减排率集中在 20%–60% 范围内^[51-52]。影响生物炭减排效率的不一致因素包括土壤类型、生物炭原料及制备条件(秸秆炭与木炭、高温炭与低温炭等)、施用量高低以及氮肥用量和形态等。总体而言,在氮肥投入较高的农田土壤中,施用生物炭大多能够减少 N_2O 排放,只是幅度因条件而异。本研究在茶园土壤中通过“复合肥+生物炭”处理实现了 88.79%的 N_2O 减排,显著高于常规水平,表明所采用的难降解碳源配施策略在抑制 N_2O 排放方面极为有效。这一结果与易降解有机碳源处理形成鲜明对比,也暗示生物炭通过重构土壤氮循环途径来深度削减 N_2O 产生的潜力。

本研究施用的生物炭剂量为 1.08 t/hm²,相对于文献报道的大多数施用水平偏低。尽管剂量较小,少量生物炭亦能对土壤环境产生积极影响,已有研究在低于 3 t/hm²的添加量下同样观测到土壤微生物活性增强和养分状况改善^[53]。适度提高施用量往往可获得更显著的效益。例如,在酸化茶园土壤中施用约 2.6 t/hm²生物炭基肥显著提高了土壤养分含量和茶叶产量^[54],在北方农田施用 7.5 t/hm²生物炭处理的土壤微生物量碳和氮较对照提高约 50%和 58%^[55]。然而过高的生物炭用量并不能进一步提高土壤 pH、作物产量或 N_2O 减排效果,反而在长期上出现效应减弱或稳定性下降的趋势^[56]。同样地,在茶园土壤氮素动态研究中存在施用量的“阈值效应”,即生物炭超过 20–30 t/hm²后对土壤氮素滞留和供应能力的边际效益降低^[57]。综上,目前使用的 1079 kg/hm²属保守剂量,在保障经济可行和环境安全的前提下,可考虑适当提高生物炭混施量(例如 2–5 t/hm²)以进一步优化其生态效益和微生物效应。

4 结论

本研究基于茶园土壤施肥随机区组试验,系统比较了不施肥(CK)、复合肥单施(FF)、复合肥与有机饼肥混施(FO)以及复合肥与生物炭混施(FB)四种施肥方式对 N_2O 排放及土壤氮循环过程的影响。从微生物过程和功能基因层面深入揭示了茶园 N_2O 排放的过程机制,补充了当前茶园不同类型碳源协同施肥下 N_2O 生成与调控路径研究。研究表明,不同碳源性质通过调节微生物资源分配和功能基因表达,塑造了不同的 N_2O 产生机制路径,FO 处理表现出易降解有机碳激发微生物活性并驱动反硝化中间阶段的 N_2O 积累,FB 处理

表现出从源头抑制反硝化强度的减排优势;相比于传统施用易分解碳源的方式,合理利用难降解碳源如生物炭可在不显著增加微生物代谢压力的前提下,调节氮循环途径、减缓反硝化强度,进而显著降低N₂O排放。这一发现对推动茶园施肥结构优化与碳氮管理一体化具有重要的理论价值与实践意义,为构建绿色低碳型茶园管理模式提供了关键参考。尽管本研究已获得阶段性结论,但仍存在一些局限性。试验观测周期为半年,未能覆盖完整年度季节变化,N₂O排放的年际波动及长期累积效应尚需进一步跟踪验证。未来建议结合土壤宏转录组及稳定同位素示踪方法,深入解析关键氮转化路径的动态流向,明确各环节微生物类群的生态角色与相互调控机制,从而为精准调控N₂O排放及茶园氮素利用效率提供更加全面的理论支持。

参考文献(References):

- [1] Hénault C, Bourennane H, Ayzac A, Ratié C, Saby N P A, Cohan J P, Eglin T, Le Gall C. Management of soil pH promotes nitrous oxide reduction and thus mitigates soil emissions of this greenhouse gas. *Scientific Reports*, 2019, 9: 20182.
- [2] Feng R, Li Z H. Current investigations on global N₂O emissions and reductions: Prospect and outlook. *Environmental Pollution*, 2023, 338: 122664.
- [3] Tian H Q, Xu R T, Canadell J G, Thompson R L, Winiwarter W, Suntharalingam P, Davidson E A, Ciais P, Jackson R B, Janssens-Maenhout G, Prather M J, Regnier P, Pan N Q, Pan S F, Peters G P, Shi H, Tubiello F N, Zaehle S, Zhou F, Arneeth A, Battaglia G, Berthet S, Bopp L, Bouwman A F, Buitenhuis E T, Chang J F, Chipperfield M P, Dangal S R S, Dlugokencky E, Elkins J W, Eyre B D, Fu B J, Hall B, Ito A, Joos F, Krummel P B, Landolfi A, Laruelle G G, Lauerwald R, Li W, Lienert S, Maavara T, MacLeod M, Millet D B, Olin S, Patra P K, Prinn R G, Raymond P A, Ruiz D J, van der Werf G R, Vuichard N, Wang J J, Weiss R F, Wells K C, Wilson C, Yang J, Yao Y Z. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks. *Nature*, 2020, 586(7828): 248-256.
- [4] Wu Z D, Hua W, Ni K, Yang X D, Jiang F Y. Effects of long-term organic substitution on soil nitrous oxide emissions in a tea (*Camellia sinensis* L.) plantation in China. *Agronomy*, 2025, 15(2): 288.
- [5] Yu H Y, Han X, Zhang X C, Meng X T, Yue Z F, Liu X H, Zheng N G, Li Y Y, Yu Y X, Yao H Y. Fertilizer-induced N₂O and NO emissions in tea gardens and the main controlling factors: a recent three-decade data synthesis. *Science of the Total Environment*, 2023, 871: 162054.
- [6] Wang J Y, Smith P, Hergoualc'h K, Zou J W. Direct N₂O emissions from global tea plantations and mitigation potential by climate-smart practices. *Resources, Conservation and Recycling*, 2022, 185: 106501.
- [7] Wang H, Yan Z F, Ju X T, Song X T, Zhang J B, Li S L, Zhu-Barker X. Quantifying nitrous oxide production rates from nitrification and denitrification under various moisture conditions in agricultural soils: Laboratory study and literature synthesis. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1110151.
- [8] Grosz B, Well R, Dechow R, Köster J R, Khalil M I, Merl S, Rode A, Ziehmer B, Matson A, He H X. Evaluation of denitrification and decomposition from three biogeochemical models using laboratory measurements of N₂, N₂O and CO₂. *Biogeosciences*, 2021, 18(20): 5681-5697.
- [9] Weston N B, Troy C, Kearns P J, Bowen J L, Porubsky W, Hyacinthe C, Meile C, Van Cappellen P, Joye S B. Physicochemical perturbation increases nitrous oxide production from denitrification in soils and sediments. *Biogeosciences*, 2024, 21(21): 4837-4851.
- [10] Xiao Q T, Hu C, Gu X H, Zeng Q F, Liu Z J, Xiao W, Zhang M, Hu Z H, Wang W, Luo J H, Qiu Y G, Lee X H, Duan H T. Aquaculture farm largely increase indirect nitrous oxide emission factors of lake. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 341: 108212.
- [11] Bleken M A, Rittl T F. Soil pH-increase strongly mitigated N₂O emissions following ploughing of grass and clover swards in autumn: a winter field study. *Science of the Total Environment*, 2022, 828: 154059.
- [12] Wang Y, Yao Z S, Pan Z L, Wang R, Yan G X, Liu C Y, Su Y Y, Zheng X H, Butterbach-Bahl K. Tea-planted soils as global hotspots for N₂O emissions from croplands. *Environmental Research Letters*, 2020, 15(10): 104018.
- [13] Liang D, Robertson G P. Nitrification is a minor source of nitrous oxide (N₂O) in an agricultural landscape and declines with increasing management intensity. *Global Change Biology*, 2021, 27(21): 5599-5613.
- [14] Ning J, Lou S N, Guo Y R, Chang S H, Zhang C, Zhu W H, Hou F J. Appropriate N fertilizer addition mitigates N₂O emissions from forage crop fields. *Science of the Total Environment*, 2022, 829: 154628.
- [15] Stuchiner E R, von Fischer J C. Using isotope pool dilution to understand how organic carbon additions affect N₂O consumption in diverse soils. *Global Change Biology*, 2022, 28(13): 4163-4179.
- [16] Kuzyakov Y. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1363-1371.
- [17] Chen R R, Senbayram M, Blagodatsky S, Myachina O, Dittert K, Lin X G, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Soil C and N availability determine the priming effect: microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Global Change Biology*, 2014, 20(7): 2356-2367.

- [18] Lin S S, Hernandez-Ramirez G. Nitrogen turnover and N₂O production in incubated soils after receiving field applications of liquid manure and nitrification inhibitors. *Canadian Journal of Soil Science*, 2021, 101(2): 290-304.
- [19] Yu J L, Lin S, Shaaban M, Ju W L, Fang L C. Nitrous oxide emissions from tea garden soil following the addition of urea and rapeseed cake. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(9): 3330-3339.
- [20] Zhong L, Wang P, Gu Z B, Song Y F, Cai X X, Yu G Q, Xu X L, Kuzyakov Y. Biochar reduces N₂O emission from fertilized cropland soils: a meta-analysis. *Carbon Research*, 2025, 4(1): 31.
- [21] Aamer M, Shaaban M, Hassan M U, Huang G Q, Liu Y, Tang H Y, Rasul F, Ma Q Y, Li Z L, Rasheed A, Zhang P. Biochar mitigates the N₂O emissions from acidic soil by increasing the *nosZ* and *nirK* gene abundance and soil pH. *Journal of Environmental Management*, 2020, 255: 109891.
- [22] Lin J T, Xu Z Y, Xue Y H, Sun R H, Yang R G, Cao X X, Li H, Shao Q, Lou Y H, Wang H, Yang Q G, Pan H, Zhuge Y P. N₂O emissions from soils under short-term straw return in a wheat-corn rotation system are associated with changes in the abundance of functional microbes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 341: 108217.
- [23] Wang C, Amon B, Schulz K, Mehdi B. Factors that influence nitrous oxide emissions from agricultural soils as well as their representation in simulation models: a review. *Agronomy*, 2021, 11(4): 770.
- [24] 韩星, 于海洋, 郑宁国, 葛超荣, 姚槐应. 茶园氧化亚氮排放研究进展. *应用生态学报*, 2023, 34(3): 805-814.
- [25] Shu Q, Gao S H, Liu X M, Yao Z W, Wu H L, Qi L H, Zhang X D. Soil enzyme activities and microbial carbon pump promote carbon storage by influencing bacterial communities under nitrogen-rich conditions in tea plantation. *Agriculture*, 2025, 15(3): 238.
- [26] 王旭. 采伐剩余物处理对杉木人工林土壤性质与温室气体通量的影响[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2022.
- [27] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(7): 1387-1397.
- [28] 马锐骛, 吴辉, 王志瑞, 戴冠华, 于大炮, 姜勇, 李慧. 长白山林线过渡带树岛土壤微生物群落结构和生态功能. *生态学报*, 2021, 41(24): 9847-9856.
- [29] 刘超. 厌氧消化氨抑制的生物学新机制、毒性削减及氨深度去除[D]. 上海: 同济大学, 2022.
- [30] 贾文慧. 苯甲酸对土壤反硝化过程与氧化亚氮排放的影响研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2022.
- [31] 胡天怡, 车佳玥, 胡煜杰, 陈琦琦, 张冬明, 雷菲, 曾建华, 汤水荣, 伍延正, 孟磊. 秸秆还田和添加生物炭对热带地区稻菜轮作体系中淹水后土壤温室气体排放的影响. *环境科学*, 2024, 45(3): 1692-1701.
- [32] 宋康, 邓闵, 森巴提·叶尔肯, 王昱人, 李露. 河湖氧化亚氮(N₂O)温室气体的微生物还原作用研究进展. *环境科学研究*, 2024, 37(5): 929-938.
- [33] Häfner F, Ruser R, Claß-Mahler I, Möller K. Field application of organic fertilizers triggers N₂O emissions from the soil N pool as indicated by ¹⁵N-labeled digestates. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, 4: 614349.
- [34] 杜子银, 蔡延江, 张斌, 洪江涛, 王小丹. 牲畜排泄物返还对草地土壤氮转化和氧化亚氮(N₂O)排放的影响研究进展. *生态学报*, 2022, 42(1): 45-57.
- [35] Sun Y H, De Vos P, Willems A. Influence of nitrate and nitrite concentration on N₂O production *via* dissimilatory nitrate/nitrite reduction to ammonium in *Bacillus paralicheniformis* LMG 6934. *MicrobiologyOpen*, 2018, 7(4): e00592.
- [36] Wei Z J, Senbayram M, Zhao X, Li C L, Jin K, Wu M, Rahman M M, Shan J, Yan X Y. Biochar amendment alters the partitioning of nitrate reduction by significantly enhancing DNRA in a paddy field. *Biochar*, 2022, 4(1): 44.
- [37] 贺超卉, 董文旭, 胡春胜, 李佳珍. 生物质炭对土壤 N₂O 消耗的影响及其微生物影响机理. *中国生态农业学报: 中英文*, 2019, 27(9): 1301-1308.
- [38] Liao J Y, Hu A, Zhao Z W, Liu X R, Jiang C, Zhang Z H. Biochar with large specific surface area recruits N₂O-reducing microbes and mitigate N₂O emission. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 156: 108212.
- [39] Yang W J, Zhang L Y, Wang Z, Zhang J S, Li P Y, Su L L. Effects of biochar and nitrogen fertilizer on microbial communities, CO₂ emissions, and organic carbon content in soil. *Scientific Reports*, 2025, 15: 9789.
- [40] Ding J N, Yu S P. Impact of biochar on nitrogen-cycling functional genes: a comparative study in mollisol and alkaline soils. *Life*, 2024, 14(12): 1631.
- [41] Saghafi A, Pold G, Jones C M, Hallin S. Phyloecology of nitrate ammonifiers and their importance relative to denitrifiers in global terrestrial biomes. *Nature Communications*, 2023, 14: 8249.
- [42] Hiis E G, Vick S H W, Molstad L, Røsdal K, Jonassen K R, Winiwarter W, Bakken L R. Unlocking bacterial potential to reduce farmland N₂O emissions. *Nature*, 2024, 630(8016): 421-428.
- [43] 钱莲文, 余甜甜, 梁旭军, 王义祥, 陈永山. 茶园土壤酸化改良中生物炭应用 5a 后的稳定性研究. *生态环境学报*, 2022, 31(7):

1442-1447.

- [44] Yang Z Y, Ren Z T, Zhu X Z, Yang W Y, Ye Z Q, Tian L M, Ma J W. Biochar-based fertilizer increases soil nutrients and enhances tea quality: a metabolomics-based analysis. *Frontiers in Plant Science*, 2025, 16: 1552759.
- [45] Wang D, Liu B J, Li F, Wang Z H, Hou J F, Cao R, Zheng Y Q, Yang W Q. Status and influential factors of soil nutrients and acidification in Chinese tea plantations: a meta-analysis. *Soil*, 2025, 11(1): 175-191.
- [46] 王义祥, 黄家庆, 叶菁, 李艳春, 林怡, 刘岑薇. 生物炭对酸化茶园土壤性状和细菌群落结构的影响. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(11): 1967-1977.
- [47] 常云妮, 吴志丹, 江福英, 陈玉真, 孙君, 王峰. 生物炭对茶树生长及茶叶品质与茶园土壤环境影响的研究进展. *茶叶学报*, 2024, 65(5): 12-20.
- [48] 吕宏虹, 宫艳艳, 唐景春, 黄耀, 高凯. 生物炭及其复合材料的制备与应用研究进展. *农业环境科学学报*, 2015, 34(8): 1429-1440.
- [49] 赵泽州, 王晓玲, 李鸿博, 任树鹏, 陈静, 王琳玲. 生物质炭基肥缓释性能及对土壤改良的研究进展. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(5): 886-897.
- [50] Case S D C, McNamara N P, Reay D S, Stott A W, Grant H K, Whitaker J. Biochar suppresses N₂O emissions while maintaining N availability in a sandy loam soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 81: 178-185.
- [51] 潘凤娥, 胡俊鹏, 索龙, 王小淇, 季雅岚, 孟磊. 添加玉米秸秆及其生物质炭对砖红壤 N₂O 排放的影响. *农业环境科学学报*, 2016, 35(2): 396-402.
- [52] Cayuela M L, van Zwieten L, Singh B P, Jeffery S, Roig A, Sánchez-Monedero M A. Biochar's role in mitigating soil nitrous oxide emissions: a review and meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 191: 5-16.
- [53] 胡云飞, 李荣林, 杨亦扬. 生物炭对茶园土壤 CO₂ 和 N₂O 排放量及微生物特性的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(7): 1954-1960.
- [54] 李昌娟, 杨文浩, 周碧青, 张毅, 林祎, 邢世和. 生物炭基肥对酸化茶园土壤养分及茶叶产质量的影响. *土壤通报*, 2021, 52(2): 387-397.
- [55] 宋大利, 习向银, 黄绍敏, 张水清, 袁秀梅, 黄伏森, 刘阳, 王秀斌. 秸秆生物炭配施氮肥对潮土土壤碳氮含量及作物产量的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(2): 369-379.
- [56] 陈宗海, 石梦玄, 刘一戈, 李博, 卢瑛. 不同用量生物质炭降低华南集约化菜地土壤 N₂O 排放和提高氮肥利用率的效应. *植物营养与肥料学报*, 2024, 30(6): 1053-1063.
- [57] Zhang B W, Liu C W, Li Q, Ye J, Lin Y, Wang Y X, Burton D L. Evaluating the effect of biochar rate and combination with fertilizer on the dynamics of soil nitrogen supply in tea plantation. *Scientific Reports*, 2025, 15: 3135.