

DOI: 10.19741/j.issn.1673-4831.2021.0313

王翰琨, 吴永波, 刘俊萍, 等. 生物炭对土壤氮循环及其功能微生物的影响研究进展[J]. 生态与农村环境学报, 2022, 38(6): 689-701.

WANG Han-kun, WU Yong-bo, LIU Jun-ping, et al. A Review of Research Advances in the Effects of Biochar on Soil Nitrogen Cycling and Its Functional Microorganisms[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2022, 38(6): 689-701.

生物炭对土壤氮循环及其功能微生物的影响研究进展

王翰琨^{1a,1b}, 吴永波^{1a,1b}, 刘俊萍^{1c}, 薛建辉^{1a,2[Ⓛ]} [1. 南京林业大学 a. 南方现代林业协同创新中心, b. 生物与环境学院, c. 林学院, 江苏 南京 210037; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 生物炭是生物质材料在部分或完全无氧条件下,经热裂解形成的高度芳香化的难溶固体。施用生物炭可改变土壤理化性质,强烈影响土壤微生物的栖息环境,影响土壤固氮微生物、硝化微生物和反硝化微生物的群落结构及活性,进而影响土壤氮循环的主要过程(固氮、硝化、反硝化等)。该研究综述了施用生物炭对土壤氮循环主要过程及微生物功能基因的影响,结果表明,施用生物炭改善了土壤的透气性,提高了土壤 pH 值,增加了土壤碳和养分的有效性,可使土壤固氮量提高 15%~227%,土壤硝化速率提高 28%~200%,但土壤氨挥发累积量减少 20%~73%,土壤 N₂O 排放累积量减少 11%~78%。此外,生物炭的施用提高了 *nifH*、*amoA* 的基因丰度,进而促进土壤的固氮作用和硝化作用。生物炭的施用还提高了土壤 *nosZ* 等基因的丰度以及 N₂O 还原酶的活性,有利于土壤反硝化作用(N₂O 最终转化为 N₂),抑制 N₂O 的排放,且这种效应随着生物炭施用量的增加而增强。此外,生物炭对土壤氮循环及其功能微生物的影响取决于生物炭原料和试验条件,不同调控基因对土壤氮循环过程的贡献不一。生物炭介导下,土壤 pH 值增大,养分有效性增强,氨氧化细菌(AOB)对土壤硝化作用的贡献可能比氨氧化古菌(AOA)更大。且与其他调控基因(*narG*、*nirS*、*nirK*)相比,*nosZ* 基因对于土壤反硝化作用似乎更为重要。因此,仍需深入研究施用生物炭对土壤微生物氮循环功能基因的影响,尤其是不同功能基因对氮循环过程的贡献大小及其影响因素,进而深化对土壤微生物氮循环功能基因的认识。

关键词: 生物炭; 土壤氮循环; 土壤微生物; 功能基因

中图分类号: S156.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4831(2022)06-0689-13

A Review of Research Advances in the Effects of Biochar on Soil Nitrogen Cycling and Its Functional Microorganisms. WANG Han-kun^{1a,1b}, WU Yong-bo^{1a,1b}, LIU Jun-ping^{1c}, XUE Jian-hui^{1a,2[Ⓛ]} (1. a. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, b. College of Biology and the Environment, c. College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Biochar is a kind of highly aromatized insoluble solid matter produced by pyrolysis of biomass materials under partially or completely anaerobic conditions. Biochar application can change soil physical and chemical properties, strongly affect the habitat of soil microorganisms, influence the community structure and activity of microbes for soil nitrogen fixation, nitrification and denitrification, and thus affect the main processes of soil nitrogen cycle (nitrogen fixation, nitrification, denitrification, etc.). This paper reviews the published literaturerelated to the effects of biochar application on the main processes of soil nitrogen cycle and their microbial functional genes. The analysis results indicate that biochar application improves soil permeability, raises soil pH value and the effectiveness of soil carbon and nutrients, and significantly increases soil N fixation by 15%–227%, soil nitrification rate by 28%–200% respectively. But it reduces 20%–73% of the total soil ammonia volatilization accumulation and 11%–78% of the soil N₂O emission accumulation. In addition, biochar application increased the gene abundance of *nifH* and *amoA* and then promotes nitrogen fixation and nitrification in the soil. The biochar application also increases the gene abundance such as *nosZ* and the activity of N₂O reductase fittable for the denitrification of soil (final conversion of N₂O to N₂) and suppressed N₂O emissions. And this effect will become

收稿日期: 2021-05-17

基金项目: 国家重点研发计划重点专项(2016YFC0502605)

① 通信作者 E-mail: jhxue@njfu.edu.cn

stronger with the increase of biochar application rate. Furthermore, impact of biochar application on the soil nitrogen cycling and its functional microorganisms depend on the types of biochar raw materials and production conditions. Different kind of regulatory genes have different contributions to the soil nitrogen cycling. Under the action of biochar, the soil pH value and nutrient availability increases, and AOB may contribute more to soil nitrification than AOA. Compared with other regulatory genes (*narG*, *nirS*, *nirK*), the gene *nosZ* seems to be more important for the soil denitrification. Therefore, it is necessary to further explore the effects of the biochar application on microbial functional genes for soil nitrogen cycling, especially the specific contribution of different kinds of functional genes to the nitrogen cycling process and factors influencing them in order to deepen the identification of them.

Key words: biochar; soil Nitrogen cycling; soil microorganisms; functional genes

生物炭是指一类在完全或部分无氧的情况下,通过热解炭化而产生的高度芳香化的难溶固体材料^[1]。生物炭通常呈碱性^[2],具有较多的大孔隙、较高的比表面积^[3]、多样的表面官能团^[4]以及大量的不稳定有机质和营养物质^[5]。生物炭可以作为土壤改良剂施用到土壤中,从而改变土壤理化性质,包括阳离子交换量、酸碱度、土壤持水能力、容重、碳和养分含量等^[6-7],受到了众多学者的关注^[8-9]。

土壤氮循环是陆地生态系统元素循环的重要组成部分,其主要过程包括生物固氮、氨化作用、氨挥发、硝化作用、硝态氮淋溶和反硝化作用等^[10],有些过程如生物固氮、硝化作用和反硝化作用等由特定的微生物功能基因所调控(图 1)。近年来,学者

们开展了大量有关土壤氮循环及其功能微生物对施用生物炭的响应研究。结果表明,生物炭通过改变土壤理化性质,为固氮菌、硝化菌和反硝化菌的生长和繁殖提供良好的微环境^[11],最终影响土壤固氮作用^[12]、硝化作用^[13]和反硝化作用^[14]。但由于不同研究采用的生物炭原料、裂解温度、试验条件以及土壤类型等不同,其研究结果存在差异,且对土壤氮循环及其功能微生物的主要影响因素尚无定论。为此,笔者通过综述近年来国内外有关施用生物炭对土壤氮循环及其功能微生物影响的研究文献,了解该领域相关研究的进展和发展趋势,为探讨生物炭的合理使用以及生物炭调控土壤氮循环的过程与机制提供参考依据。

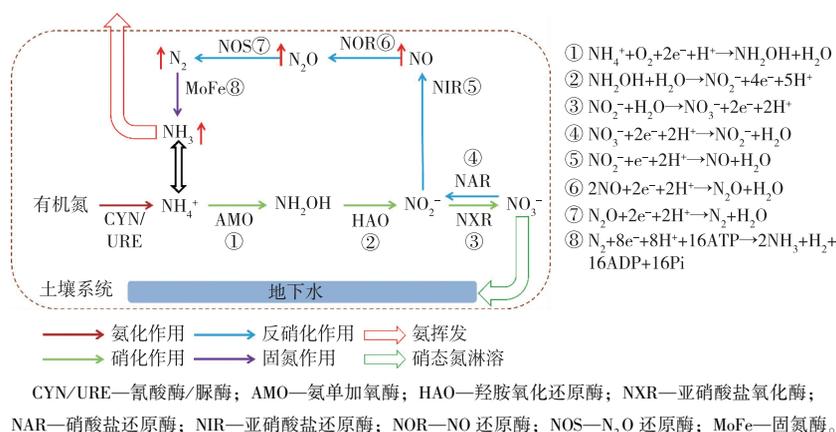


图 1 土壤氮循环主要过程

Fig. 1 Main processes of soil nitrogen cycle

1 生物炭对土壤生物固氮作用及其功能微生物的影响

生物固氮是通过微生物将大气中的氮气(N₂)转化为氨(NH₃)(图 1),这些微生物也被称为固氮微生物。固氮微生物含有编码固氮酶的基因(包括 *nifH*、*nifK*、*nifD* 等),其中 *nifH* 基因最为保守,常被

选为研究固氮微生物群落结构的标记基因^[15]。固氮微生物主要分布在 7 个门共 60 多个属中^[16],包括变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、绿菌门(Chlorobi)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes)、广古菌门(Euryarchaeota)。依据固氮微生物的生活和固氮方式可分为共生固氮菌^[17](如根瘤菌属(*Rhizobi-*

um)、弗兰克氏菌属(*Frankia*)等)、自生固氮菌(如固氮菌属(*Azotobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、念珠蓝细菌属(*Nostoc*)、红螺菌属(*Rhodospirillum*)等)、联合固氮^[18](如假单胞菌属(*Pseudomonas*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)等)。

固氮微生物群落结构和固氮酶活性受到多种环境因素的影响,主要包括氧气、微量元素铁和钼、养分有效性等。其中,前两者是影响固氮微生物的核心因素,铁和钼是合成固氮酶的必需元素。固氮酶的蛋白质对氧气浓度极为敏感,其一旦暴露在空气中,极易发生不可逆转的失活^[19],因此绝大多数固氮微生物是在厌氧或低氧的条件下进行固氮作用。

1.1 施用生物炭对土壤固氮作用的影响

生物炭添加到土壤后,通常会增强其生物固氮

能力。施用生物炭对不同地区土壤生物固氮的影响见表1。AZEEM等^[20]通过同位素示踪技术研究生物炭对土壤共生固氮的影响,结果表明,施用生物炭提高了根瘤的生物固氮速率,且土壤固氮能力随施用量的增加而增强。有研究认为,生物炭施用会增强豆科植物的固氮能力^[21-22]。NISHIO等^[23]发现,在苜蓿发育早期添加生物炭后,其固氮能力提高15%,结瘤发育最大时的生物固氮能力可提高227%。孟颖等^[12]通过盆栽试验结合土壤培养法,发现增大2种生物炭的施用量(0~60 g·kg⁻¹),土壤自生固氮能力均显著增强。此外,生物炭对土壤固氮作用的影响因制备原料的不同而存在差异。相较于水稻秸秆生物炭,玉米秸秆生物炭对土壤固氮能力的促进作用更强^[12]。

表1 施用生物炭对不同地区土壤生物固氮的影响

Table 1 Effects of biochar application on the soil biological nitrogen fixation in different areas

地点	土壤类型	试验方法	生物炭条件			生物固氮			文献
			原料	裂解温度/℃	施用量	类型	固氮速率	固氮菌 <i>nifH</i> 基因丰度	
黑龙江哈尔滨	中性土	盆栽	玉米秆	400	20、40、60 g·kg ⁻¹	自生固氮	+	+	[12]
黑龙江哈尔滨	中性土	盆栽	水稻秆	400	20、40、60 g·kg ⁻¹	自生固氮	+	+	[12]
巴基斯坦	碱性土	野外观测	甘蔗渣	350	5、10 t·hm ⁻²	共生固氮	+		[20]
德国	中性土	盆栽	啤酒残渣	220	5%、10%	共生固氮	+		[21]
哥伦比亚	酸性土	盆栽	原木	350	30、60、90 g·kg ⁻¹	共生固氮	+		[22]
日本	酸性土	盆栽	鸡粪	500	50、100 g·hm ⁻²	共生固氮	+		[24]
美国	碱性土	室内培养	柳枝稷	350	1%、2%、10%	自生固氮		+	[25]
澳大利亚	酸性土	盆栽	桉树	650~750	2.5%、5%、10%	自生固氮		+	[26]
北京昌平	碱性土	野外观测	稻壳	450	50 t·hm ⁻²	自生固氮	0	0	[27]
北京昌平	碱性土	野外观测	玉米籽壳	450	50 t·hm ⁻²	自生固氮	0	0	[27]

“+”表示促进作用;“-”表示抑制作用;“0”表示无影响。

1.2 施用生物炭对土壤固氮微生物的影响

生物炭可以改善土壤理化特性,提高共生固氮菌和自生固氮菌的数量^[12,22,24]。越来越多的研究表明,生物炭的添加改变了土壤固氮微生物的数量和多样性。DUCEY等^[25]通过室内培养试验发现,施用柳枝稷生物炭后,土壤 *nifH* 基因的拷贝数显著升高,且升高幅度随着施用量的增加而增大,在施用量 w 为 10% 时,基因丰度可增大 3 倍。与此同时,施用生物炭后,相比于对照土壤,土壤 *nifH* 基因的相对丰度也显著升高,表明施用生物炭增大了土壤中固氮微生物的多样性。ABUJABHAH等^[26]研究表明,土壤固氮菌(包括根瘤菌属和固氮螺菌属等)相对丰度与桉树生物炭的施用量呈正相关。尽管多数研究表明,施用生物炭可提高土壤的 *nifH* 基因丰度,提高固氮微生物的总生物量,但这种影响依赖于生物炭的裂解温度、试验类型和覆盖植物

等^[28]。低温裂解(400℃)的生物炭更有利于土壤 *nifH* 基因丰度的增加,增幅可达 88%;相较于野外试验条件,室内培养条件下土壤 *nifH* 基因丰度对生物炭的正响应更明显。Meta 分析发现,试验条件显著影响土壤 *nifH* 基因丰度对生物炭的响应,室内培养试验中添加生物炭提高了 *nifH* 基因的丰度,盆栽试验中添加生物炭却降低了 *nifH* 基因的丰度,且由于盆栽试验栽种的植物可形成根瘤,土壤中存在许多共生固氮菌。可见,添加生物炭可能促进自生固氮菌的生长,但抑制共生固氮菌的生长,这种现象的内在机理还不清楚^[28]。值得注意的是,XIAO等^[28]的研究并未考虑到试验类型不同可能带来的差异,盆栽条件下土壤 *nifH* 基因丰度的降低是由于生物炭还是植物的作用,这点还不明确。因此在控制试验类型的条件下,进一步探究生物炭对土壤自生固氮和共生固氮的影响及其内在机制是必要的。

1.3 生物炭影响土壤固氮微生物的机制

1.3.1 铁、钼等元素的有效性

铁、钼元素是固氮酶 Mo-Fe 蛋白的一种成分^[29],其有效性的高低直接影响固氮酶活性以及生物固氮,因此铁、钼可能是生物炭影响土壤固氮作用的关键因素。RONDON 等^[22]研究验证了这一假设,结果表明,钼的有效性随着生物炭的添加而增加,但铁的有效性在生物炭添加前后未发生改变。此外,PEREZ 等^[30]研究认为,土壤中碳有效性的高低也是影响固氮微生物群落丰度和活性的重要因素。生物炭施用可为土壤固氮微生物提供可利用碳源,从而促进固氮微生物的生长。一些研究表明,土壤固氮菌群落丰度以及固氮酶活性与土壤碳含量存在显著正相关性^[22,25-26],土壤 SOC、DOC 含量的升高是生物炭促进生物固氮的原因之一。

1.3.2 氧含量

生物炭具有较高的比表面积和孔隙率,能够有效吸收和保留水分,进而提高土壤含水率^[3],而含水率的增大有利于形成厌氧环境,提高固氮酶活性,进而增强土壤的生物固氮能力^[20]。此外,生物炭施用后土壤容重降低,土壤中增加的孔隙空间有利于根瘤的形成。

2 生物炭对土壤氨挥发的影响

通过固氮、氨化、水解等过程产生的铵态氮

(NH_4^+)除了被植物吸收外,一部分通过硝化作用转化为 NO_3^- ,一部分以氨的形式挥发到大气中(图1),只有少部分保留在土壤中。可见,氨挥发是土壤气态氮损失的重要途径之一,氨挥发不仅降低了氮利用率,还会对水、大气和土壤环境造成严重污染^[31-32]。铵态氮在土壤生物系统内的转化是一个包括多种反应的复杂动力学过程^[33],其中与氨挥发直接相关的化学平衡包括: NH_4^+ (代换性) \Leftrightarrow NH_4^+ (液相) \Leftrightarrow NH_3 (液相) \Leftrightarrow NH_3 (气相) \Leftrightarrow NH_3 (大气)。对土壤而言,土壤溶液是液相,土壤表层空气是气相,氨挥发发生在土壤表面。

土壤氨挥发的主要环境因素是土壤 pH 值和黏粒含量,土壤 pH 值升高对氨挥发有促进作用^[34]。这是因为 pH 值决定了氨挥发的化学平衡,pH 值升高(碱性环境下)有利于铵态氮向氨的转化。与土壤 pH 值相反,土壤黏粒对氨挥发有抑制作用。FAN 等^[35]研究表明,黏粒含量较高的土壤氨挥发显著小于黏粒含量较低的土壤,一是由于黏粒对 NH_4^+ 具有较强的吸附作用,可抑制其向 NH_3 的转化;二是由于较高含量的黏粒能显著降低土壤的通透性,不利于氨气扩散到大气中。

2.1 施用生物炭对土壤氨挥发的影响

许多研究显示,生物炭对土壤氨挥发具有抑制作用(表2)。

表2 施用生物炭对不同地区土壤氨挥发的影响

Table 2 Effects of biochar application on the soil ammonia volatilization in different areas

地点	土壤类型	试验方法	生物炭条件			氨挥发	文献
			原料	裂解温度/℃	施用量		
澳大利亚	酸性土	室内培养	绿色废物	450	1%、5%、10%、20%	-	[36]
澳大利亚	碱性土	室内培养	家禽垃圾	450	5%	-	[38]
澳大利亚	酸性土	室内培养	家禽垃圾	450	5%	-	[38]
澳大利亚	碱性土	室内培养	坚果壳	450	5%	-	[38]
澳大利亚	酸性土	室内培养	坚果壳	450	5%	-	[38]
浙江杭州	酸性土	野外观测	水稻秸秆	500	2.8、22.5 t · hm ⁻²	-	[39]
江苏宜兴	酸性土	野外观测	水稻秸秆	500	0.5%、3%	+	[40]
江苏宜兴	酸性土	野外观测	水稻秸秆	700	0.5%、3%	+	[40]
河南新乡	碱性土	盆栽	黑炭	500	2.25 t · hm ⁻²	0	[41]
河南新乡	碱性土	盆栽	黑炭	500	22.5 t · hm ⁻²	+	[41]

“+”表示促进作用;“-”表示抑制作用;“0”表示无影响。

CHEN 等^[36]通过室内培养试验发现,生物炭的添加显著减少了土壤氨挥发,且随着施用量的提高(0~20%),土壤氨气的减排量增加。许云翔^[37]通过观测稻秆生物炭对太湖流域稻麦轮作农田土壤氨挥发的影响,发现稻秆生物炭可显著降低土壤氨挥发累积量,但随着施用量的增大(0~22.5%),土

壤氨挥发累积量呈先下降后上升的趋势,而最大施用量下的氨挥发累积量仍显著小于对照。因此,中量生物炭的添加既可缓解土壤氨挥发,又可节约经济成本。此外,不同原料制备的生物炭对土壤氨挥发的影响存在差异。MANDAL 等^[38]研究显示,2种生物炭(垃圾和坚果壳)均显著减缓2种土壤类型

(酸性土和碱性土)的氨挥发,且前者对土壤氨挥发的减缓效果更明显。钟婷^[39]也认为,秸秆生物炭能显著控制稻田土壤的氨挥发,可减缓20%以上的稻田土壤氨累积挥发。也有一些研究报道了生物炭对土壤氨挥发的促进作用^[40-42]。SHA等^[43]认为,在不同的土壤、生物炭和试验条件下,生物炭对土壤氨挥发的影响存在很大差异。一般而言,生物炭的施用能减缓土壤氨挥发,但生物炭添加到酸性土壤中可能会刺激土壤的氨挥发^[42]。

2.2 生物炭影响土壤氨挥发的机制

2.2.1 生物炭的吸附

生物炭因其孔隙结构发达、比表面积巨大等特性,往往具有较强的吸附能力。HALE等^[44]研究显示,可可豆壳生物炭和玉米芯生物炭均对氨气和铵态氮有较强的吸附能力。刘玮晶等^[45]通过室内模拟试验发现,生物炭添加后,能显著提高土壤对铵态氮和硝态氮的吸附量,表明生物炭在提高土壤对无机态氮的吸附能力方面具有显著的效果。生物炭对土壤铵态氮的吸附可抑制其向氨气的转化,同时生物炭吸附氨气可削弱其扩散到大气中。

2.2.2 土壤 pH 值

pH 值是影响土壤氨挥发的重要因素之一。多数生物炭由于自身 pH 值较高,施用到土壤后会在一定程度上提高土壤 pH 值,进而打破土壤环境的化学平衡,从而促进土壤氨挥发,特别是酸性土壤^[40]。CHEN等^[36]认为,生物炭通过 pH 值影响土壤氨挥发依赖于土壤本底酸碱度的高低,具体表现为:当土壤为酸性时,施用生物炭往往能显著提高土壤 pH 值(“石灰效应”),从而促进土壤氨挥发;当土壤为中性或微碱性时,施用生物炭降低土壤氨挥发;当土壤为碱性时,施用生物炭不会显著影响土壤氨挥发,此时土壤的铵态氮多数已经通过氨挥发流失到大气中。因此,适量施用木炭等孔隙较大或 pH 值较低的生物炭,更有利于减缓土壤的氨挥发^[43]。

3 生物炭对土壤硝化作用及其功能微生物的影响

硝化作用的过程一般分为2步,均在有氧条件下完成,首先是将铵态氮氧化为亚硝态氮,然后将亚硝态氮氧化为硝态氮(图1),这两步也被称为氨氧化和亚硝酸盐氧化。氨氧化过程主要是由氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)完成,其含有调控氨单加氧酶(AMO)合成的 *amoA* 基因。根据16S rRNA 测序结果,AOB 主要属于 β 变形菌纲的亚硝

基单胞菌科(Nitrosomonadaceae)和 γ 变形菌纲的着色菌科(Chromatiaceae),包括亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)、亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、亚硝化球菌属(*Nitrosococcus*)等^[46]。而目前发现的 AOA 均属于奇古菌门,但 AOA 还存在许多未知菌种,对于 AOA 的认知还处于起步阶段。亚硝酸盐氧化过程主要由亚硝酸盐氧化细菌(NO₂-OB)完成。NO₂-OB 主要分布在4个属^[47],包括硝化球菌属(*Nitrococcus*)、硝化螺菌属(*Nitrospira*)、硝化杆菌属(*Nitrobacter*)、硝化刺菌属(*Nitrospina*)。

氧含量和 pH 值是影响硝化微生物群落组成的关键环境因素。土壤 pH 值能显著影响土壤硝化作用,是影响氨氧化微生物群落结构的最重要因素之一^[48]。氧气是氨氧化反应的基质,由于 AOA 对氧气的半饱和常数比 AOB 低^[49],因此氧气浓度的高低会对氨氧化微生物的生态位分异造成影响。

3.1 施用生物炭对土壤硝化作用的影响

目前生物炭对土壤硝化作用的影响主要是根据土壤硝化速率确定,一些研究也根据土壤中硝酸盐的变化量来评估^[50]。从表3可知,野外条件和室内培养条件下的试验结果均表明,生物炭施用对各地区的土壤硝化作用主要起促进作用。PROMMER等^[13]在欧洲温带地区可耕土壤进行野外观测试验发现,施用生物炭后土壤硝化速率加快了3倍多,表明生物炭的施用促进了土壤硝化作用。同样地,SONG等^[51]在黄河三角洲的盆栽试验发现,生物炭的施用促进了该地区的土壤硝化速率。生物炭的理化性质因制备工艺(裂解温度和原料)存在差异,故施用后对土壤硝化作用的影响也可能不尽相同。PEREIRA等^[52]在美国地中海地区的研究结果表明,杉木在较高温条件下制备的生物炭更能促进土壤硝化作用。由于低温制备的生物炭易含有多环芳烃等毒性化合物,可能会抑制生物炭改良土壤中的硝化作用^[53-54]。不同原料所制备的生物炭的理化性质不同,施用后对土壤硝化速率的影响可能会截然相反^[13,55]。生物炭的施用量也是学者关注的问题之一^[51]。一般而言,土壤硝化速率随着施用量的增多,呈先增大后减小的变化趋势,因此生物炭的施用量不宜过多。此外,生物炭对土壤硝化作用的影响还强烈依赖于土壤类型。根据“石灰效应”理论,生物炭对酸性土壤硝化作用的影响更为强烈^[56-57]。

3.2 施用生物炭对土壤硝化微生物的影响

PROMMER等^[13]研究表明,土壤氨氧化微生物群落丰度随着生物炭的施用而增加,生物炭处理的

土壤 AOA 和 AOB 含量均显著高于对照。CHEN 等^[63]通过室内培养试验也发现了一致的结果,即小麦秸秆生物炭的施用可显著提高土壤 AOA 和 AOB 的基因拷贝数。此外,LUO 等^[58]研究发现,施用生物炭显著增加了亚硝态氮氧化菌(NO₂-N)的丰度,改变了 NO₂-N 的群落组成,但不影响 NO₂-N 的 α 多样性。可见,生物炭对土壤硝化菌具有积极影响。SONG 等^[51]通过研究不同施用量的生物炭对土壤硝化菌群落的影响,发现高施用量处理下的土壤 AOA 和 AOB 基因丰度反而小于低施用量处理,且基因丰度与硝化速率的变化趋势相似。LIU 等^[59]研究表明,随着生物炭施用量的增加(0~4%),土壤中 AOB 和 NO₂-N 的相对丰度降低,且 *amoA* 基因的拷贝数减小;但随着施用量的增加(施用量为 8%时),*amoA* 基因的拷贝数又有所增大。而 ABUJABHAH 等^[26]却认为,生物炭施用量的增加使黑黏土(black clay loam)中硝化菌丰度提高,尤其是 NO₂-N 的丰度。因此,生

物炭的施用量对土壤硝化菌有显著影响,确定合适的施用量对改善土壤硝化作用有着重要意义。不同原料制备的生物炭对土壤硝化微生物的影响存在差异。与小麦秸秆生物炭相反,花生壳生物炭的施用降低了土壤 AOB 的基因丰度^[50,63],这可能是由于花生壳生物炭中含有一些毒性化合物,抑制了硝化细菌数量的增长。另一项研究也显示,不同生物炭对土壤 AOB 的基因丰度有着不同程度的抑制作用^[52]。但一些研究却发现,由于生物炭对抑制性化合物的吸附以及木炭的“石灰效应”,向森林土壤中添加野火木炭有利于 AOB 丰度的增加^[57]。LUO 等^[58]研究也显示,在生物炭+石灰石处理的样品中,硝化螺旋菌 *Nitrospira* (*nxB*, NO₂-N) 的丰度增加,这与潜在的亚硝酸盐氧化活性(PNO)、pH 值和速效钾含量显著相关。此外,一些研究也认为,解释生物炭促进土壤硝化微生物生长的主要理论之一是“石灰效应”^[57,64]。

表 3 施用生物炭对不同地区土壤硝化的影响

Table 3 Effects of biochar application on the soil nitrification in different areas

地点	土壤类型	试验方法	生物炭条件			土壤硝化			文献
			原料	裂解温度/℃	施用量	硝化速率	<i>amosA</i> (AOA)	<i>amosA</i> (AOB)	
奥地利	碱性土	野外观测	硬木	500	72 t · hm ⁻²	+	+	+	[13]
澳大利亚	酸性土	盆栽	桉树	650~750	2.5%、5%、10%			+	[26]
山东东营	碱性土	盆栽	棉花秆	650	5%、10%、20%	+	+	+	[51]
美国	中性土	盆栽	杉木	410	10 t · hm ⁻²	0	-	-	[52]
美国	中性土	盆栽	杉木	510	10 t · hm ⁻²	+		0	[52]
美国	中性土	盆栽	松树	550	10 t · hm ⁻²	+		0	[52]
美国	中性土	盆栽	软木	600~700	10 t · hm ⁻²	0	-	-	[52]
美国	中性土	盆栽	核桃壳	900	10 t · hm ⁻²	+		+	[52]
广西百色	石灰性土	室内培养	甘蔗渣	500	1%、3%	-			[55]
湖北黄石	酸性土	盆栽	水稻秸秆		10 t · hm ⁻²	0		+	[58]
上海闵行	中性土	室内培养	水稻秸秆	350、500	1%、2%、4%、8%			-	[59]
上海闵行	中性土	室内培养	牛粪	350、500	1%、2%、4%、8%			-	[59]
安徽马鞍山	酸性土	盆栽	水稻秸秆	500	5%	+	+	0	[60]
江苏宜兴	酸性土	室内培养	水稻秸秆	500	2.25 t · hm ⁻²	+	0	0	[61]
江苏宜兴	酸性土	室内培养	水稻秸秆	500	11.3、22.5 t · hm ⁻²	+	-	+	[61]
贵阳贵州	中性土	室内培养	茅台酒糟	550	0.5%、1%、2%、4%		-	+	[62]

“+”表示促进作用;“-”表示抑制作用;“0”表示无影响。AOA、AOB 和 NO₂-N 分别为氨氧化古菌、氨氧化细菌和亚硝酸盐氧化细菌。

生物炭处理的土壤中硝化微生物含量升高,但不同群体(AOA、AOB 以及 NO₂-N)对硝化过程的相对重要性和贡献是不同的。XU 等^[60]的盆栽试验表明,稻草生物炭的施用提高了氨氧化微生物的活性,且古生菌可能比细菌对生物炭增强硝化作用的贡献更大,因为生物炭显著增加了古生菌 *amoA* 丰度的表达,而不是细菌 *amoA*。但 DUCEY 等^[25]通过 6 个月的培养试验,观察到生物炭存在时土壤细菌 *amoA* 丰度更高。ZHANG 等^[65]也认为,AOB 对硝化

作用的贡献可能更大。SONG 等^[51]认为,尽管在生物炭处理的土壤中 AOB 比 AOA 更丰富,但后者与硝化速率有更强的相关性,AOA 是土壤硝化过程的重要参与者。一项近来的研究结果显示,生物炭的短期施用增强了 AOB 中 *amoA* 的基因拷贝,AOB 在新鲜生物炭影响土壤硝化作用的过程中发挥了关键作用,解释了生物炭处理下硝化作用变化的 6.1%;但在长期生物炭施用下,古生菌在土壤中的氨氧化原核生物中占主导地位,对土壤硝化作用更

为重要^[61]。到目前为止, AOA 和 AOB 作为硝化作用第 1 步的调控者被广泛研究, 驱动土壤硝化第 2 步的 NOB 的作用却被忽视, 亚硝酸盐氧化为硝酸盐是生物地球化学氮循环的一个重要过程^[47]。一项研究表明, 不同硝化菌(AOA、AOB、NOB)对茅台酒糟生物炭的响应存在差异, 茅台酒糟生物炭显著降低了土壤 AOA 和 NOB 的相对丰度, 但显著提高了 AOB 的相对丰度; NOB 是影响土壤氮含量的主要因素, 而不是 AOA 和 AOB, 茅台酒糟生物炭通过降低亚硝酸盐氧化作用来改变氨氧化作用, 从而影响黄土氮养分的有效性, 施用量 4% 处理提高了氮肥保留率, 降低了黄土氮浸出损失的风险^[62]。

3.3 生物炭影响土壤硝化微生物的机制

3.3.1 土壤 pH 值

土壤 pH 值是影响硝化微生物的关键因素之一, 与土壤硝化作用的变化密切相关。鲍俊丹等^[66]通过室内培养试验发现, 土壤最大硝化速率与土壤 pH 值呈显著正相关关系, 且酸性土壤不利于硝化菌的生长, 其最佳 pH 值为 6.6~8.0。生物炭自身为碱性, 施加到土壤中将显著提高土壤 pH 值, 有利于土壤硝化菌的生长。XU 等^[60]研究表明, 施用生物炭引起的土壤 pH 值变化是土壤微生物群落变化的主要解释因子, 占总变化的 56.5%。土壤硝化微生物(如 AOB 和 NOB)与土壤 pH 值之间存在显著相关性^[58,67]。施用生物炭对土壤硝化菌丰度的影响受限于土壤类型, 在酸性土壤中, 施用生物炭对硝化菌丰度的促进效果更为显著^[28,68]。此外, 土壤 pH 值是 AOA 和 AOB 发生生态位分化的重要原因。许多研究报道了生物炭施用后, 土壤 AOB 的基因丰度大于 AOA^[25,51,65]。这是由于 AOA 在酸性环境中更为活跃, 而碱性或中性环境更有利于 AOB 的生长^[69-70]。以上研究表明, 土壤 pH 值是生物炭施用背景下影响土壤硝化作用的重要驱动因素。

3.3.2 氧含量

经生物炭处理的土壤硝化速率的增加可能归因于土壤氧气状态的改变, 包括氧气含量和土壤水分的相关变化, 因为硝化作用依赖于土壤氧气的可利用性。土壤中空气和水的平衡对硝化作用至关重要, 硝化作用在 60% 的饱和孔隙度处达到峰值^[71], 而生物炭的施加显著改变了土壤的水分状况^[72]。PROMMER 等^[13]研究证明, 生物炭存在大量可定植的孔隙, 在这些孔隙中, AOA 和 AOB 有足够的氧气和可用铵。目前, 生物炭施用背景下, 土壤含氧量与土壤硝化作用及其功能微生物的关系还鲜见报道, 有待进一步开展相关研究。

4 生物炭对土壤反硝化作用及其功能微生物的影响

反硝化作用被认为是土壤中 NO_3^- 在厌氧条件下, 通过一系列反硝化微生物的作用, 渐次还原成 NO_2^- 、 NO 、 N_2O 、 N_2 的生物学过程^[16](图 1), 这 4 步过程需要的还原酶依次为: (1) *nar* 基因编码的硝酸盐还原酶; (2) *nir* 基因编码的亚硝酸盐还原酶; (3) *nor* 基因编码的一氧化氮还原酶; (4) *nos* 基因编码的氧化亚氮还原酶。反硝化微生物广泛分布于细菌、真菌和古生菌中, 包括假单胞菌科 (*Pseudomonaceae*)、芽孢杆菌科 (*Bacillaceae*)、盐杆菌科 (*Halobacteriaceae*)、根瘤菌科 (*Rhizobiaceae*)、红螺菌科 (*Rhodospirillaceae*)、噬纤维菌科 (*Cytophagaceae*) 等。

反硝化作用受土壤含氧量、pH 值、碳有效性等多种环境因子的影响。反硝化作用是一个厌氧过程, 氧气的存在能够抑制硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶的合成, 进而不利于整个反硝化作用的进行。此外, 土壤含氧量不同也会导致反硝化气体产物组成的差异, 低含氧量的环境有利于氧化亚氮向氮气的还原^[73]。土壤 pH 值是影响反硝化作用的重要因素之一, 酸性环境下反硝化速率慢。大多数反硝化作用是通过异养微生物进行的, 因此高度依赖于碳源。且碳源分解的同时产生 CO_2 , 有利于低氧环境的形成^[74]。

4.1 施用生物炭对土壤反硝化作用的影响

越来越多的研究表明, 施用生物炭可缓解土壤 N_2O 的排放(表 4)。ZHANG 等^[75]研究认为, 对我国中部平原石灰性土壤施用小麦秸秆生物炭后, N_2O 排放量减少 10.7%~41.8%, 且随着施用量(0~40 $\text{t} \cdot \text{hm}^{-2}$) 的增加, 排放量降幅增大。FUNGO 等^[76]将桉木生物炭与土壤混合并培养 20 d 后发现, 施用 2% 生物炭可使土壤 N_2O 排放量减少 52%~78%, 将生物炭施用量从 2% 提高到 4%, 土壤 N_2O 累积排放量进一步减少, 但无显著差异。SONG 等^[77]通过 24 个月的田间试验研究施用生物炭对亚热带人工林土壤 N_2O 排放的影响, 结果表明, 施用竹叶生物炭显著降低土壤 N_2O 排放量, 且降低速率与生物炭施用量呈正相关。KHAN 等^[78]和 BEAU-LIEU 等^[79]研究也表明, 生物炭施用量的提高有利于其缓解土壤 N_2O 的排放。BRASSARD 等^[80]对 76 种生物炭的特性进行汇编和比较后发现, 氮含量较低、C/N 比高的生物炭更适合用于缓解土壤 N_2O 的

排放。CAYUELA 等^[81]也报道了相似的结果:生物炭的 C/N 比 < 10 时,促进土壤 N₂O 的排放;C/N 比为 10~30 时,N₂O 的排放会发生显著改变;C/N 比 > 30 时,N₂O 排放减少。但总体而言,施用生物炭减少了土壤中 54% 的 N₂O 排放。并且,生物炭对 N₂O 排放的影响也会由于生物炭原料、热解条件不同产生显著差异。如施用木炭、有机垃圾生物炭会减少 N₂O 的排放,而施用污泥炭则会促进 N₂O 的排放;裂解温度越高,N₂O 排放量降幅越大^[81]。

AMELOOT 等^[82]也报道了相似的结果,控制环境、施用量和土壤相同条件下,施用 350 °C 制备的猪粪和柳木生物炭使 N₂O 排放分别减少 19% 和 36%,而 700 °C 制备的猪粪和柳木生物炭使 N₂O 排放分别减少 60% 和 67%。另一项研究结果却显示,尽管施用生物炭减少了 30.92% 的土壤 N₂O 排放,但这种影响受到生物炭原料、施用量和土壤特性(质地、pH 值)的干扰^[83]。

表 4 施用生物炭对不同地区土壤反硝化的影响

Table 4 Effects of biochar application on the soil denitrification in different areas

地点	土壤类型	试验方法	生物炭条件			土壤反硝化					文献
			原料	裂解温度/°C	施用量	N ₂ O 排放量	<i>narG</i>	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZ</i>	
北京昌平	碱性土	野外观测	稻壳	450	50 t · hm ⁻²	+		0	0	0	[27]
北京昌平	碱性土	野外观测	玉米籽壳	450	50 t · hm ⁻²	+		0	0	0	[27]
上海闵行	中性土	室内培养	稻草秸秆	350,500	1%、2%、4%	-			-		[59]
上海闵行	中性土	室内培养	稻草秸秆	350,500	8%	0		0			[59]
上海闵行	中性土	室内培养	牛粪	350,500	1%、2%、4%	-			-		[59]
上海闵行	中性土	室内培养	牛粪	350,500	8%	0		0			[59]
安徽马鞍山	酸性土	盆栽	稻草秸秆	500	5%	-		0	0	+	[60]
江苏宜兴	酸性土	室内培养	稻草秸秆	500	2.25、11.3 t · hm ⁻²	-	0	+	+	+	[61]
江苏宜兴	酸性土	室内培养	稻草秸秆	500	22.5 t · hm ⁻²	-	+	+	+	+	[61]
新疆石河子	碱性土	室内培养	小麦秆	400	24 t · hm ⁻²	-		+	-	+	[63]
河南商丘	碱性土	野外观测	小麦秆	350~550	20、40 t · hm ⁻²	-					[75]
肯尼亚	酸性土	室内培养	桉树	550	2%、4%	-					[76]
比利时	酸性土	室内培养	猪粪	350,700	10 t · hm ⁻²	-					[82]
比利时	酸性土	室内培养	柳木	350,700	10 t · hm ⁻²	-					[82]
山东滨州	碱性土	盆栽	棉秸秆	800	1%	-		-	-	+	[84]

“+”表示促进作用;“-”表示抑制作用;“0”表示无影响。

相比于单独施用生物炭,生物炭与肥料的联合施用对土壤反硝化作用的影响截然不同。WEI 等^[85]对生物炭与施肥(氮肥)共同影响土壤氮损失的研究表明,当施氮肥量小于 60 kg · hm⁻²时,生物炭的施用使农田土壤 N₂O 排放量降低 8.23%;当施氮肥量大于 60 kg · hm⁻²时,施用生物炭使土壤 N₂O 排放量增加 18%~26%。CHEN 等^[86]研究表明,施肥(尿素)土壤中加入稻壳生物炭,将导致 N₂O 排放量高于单独施肥土壤,增加 49%。这可能是由于生物炭中的活性碳促进了土壤碳对微生物氮的矿化,从而导致 N₂O 排放增加。LIN 等^[87]通过室内培养试验研究了生物炭与尿素对土壤 N₂O 排放的影响,结果表明,培养 45 d 后,4%生物炭与尿素处理下的土壤 N₂O 累计排放量为 17.89 mg · kg⁻¹,是单独施肥处理的 3.56 倍。

4.2 施用生物炭对土壤反硝化微生物的影响

反硝化作用是氧化亚氮排放的重要途径,受微生物功能基因的调控^[16]。NO₃⁻还原为 NO₂⁻主要由

narG 和 *napA* 基因调控。一项研究表明,生物炭的施用使土壤 *narG* 基因丰度平均提高 13.7%^[28]。HE 等^[61]研究也表明,施用生物炭显著提高了 *narG* 基因的拷贝数。但缺乏施用生物炭如何影响 *napA* 基因表达的相关研究。*nirK* 和 *nirS* 是调控 NO₂⁻还原为 NO 的关键基因,且被视为测量土壤反硝化作用的标记基因^[88]。研究表明,生物炭的施用显著增加了 *nirS*、*nirK*、*nosZ* 基因的拷贝数^[61]以及基因的丰度^[11,28]。SHI 等^[84]研究显示,施用生物炭显著降低了 *nirS* 和 *nirK* 基因的拷贝数,却显著增加了 *nosZ* 基因的拷贝数。这可能是不同试验中采用的覆盖植物类型、生物炭性质等存在差异所致^[27,59-60]。

尽管施用生物炭后土壤 N₂O 排放受到抑制,但 *nirS*、*nirK* 以及 *nosZ* 等基因的总和不能用于指示 N₂O 的排放,因为每个基因参与反硝化作用的步骤不同,对反硝化作用的贡献也存在差异。一些研究发现,*nirK* 与 *nirS* 丰度比值与 N₂O 排放量之间存在显著正相关关系,且含有 *nirK* 和 *nirS* 基因的反硝化

菌缺乏减少 N_2O 浓度的遗传能力^[89],因此它们被认为是反硝化过程中 N_2O 排放的主要贡献者^[84]。尽管多数研究结果显示,生物炭促进了土壤反硝化微生物功能基因的拷贝,但生物炭的施用最终减缓了土壤 N_2O 的排放,生物炭的施用减小了 *nirS* + *nirK*/*nosZ* 比值^[67,88],表明 *nosZ* 丰度的增长与土壤 N_2O 排放减少更为相关。此外,XIAO 等^[28]的研究结果显示,*nosZ* 基因丰度与 N_2O 排放量之间存在负相关关系。XU 等^[60]通过盆栽试验发现,生物炭增加了 *nosZ* 基因的拷贝数,而对 *nirK* 和 *nirS* 的基因丰度没有显著影响,表明生物炭增强的 *nosZ* 基因转录可能是土壤 N_2O 排放减少的主要原因。VAN ZWIETEN 等^[90]也认为,土壤 N_2O 排放减少主要是由于 *nosZ* 基因丰度对生物炭的响应所致。生物炭通过促进 N_2O 还原微生物的活性增强和生长,进而影响 N_2O 的最终排放,这个观点被越来越多的学者认同^[14,63,91-92]。

4.3 生物炭影响土壤反硝化微生物的机制

4.3.1 土壤氧含量

土壤反硝化作用是在厌氧或者低氧的条件下进行的^[93],因此土壤氧气含量是控制反硝化速率的重要因素^[94]。HARTER 等^[14,91]认为,由于生物炭含有较高的孔隙率,施加到土壤后能有效改善土壤的透气性,可降低参与反硝化过程的微生物活性,进而抑制土壤反硝化作用。YANAI 等^[95]也报道了相似的结果,在土壤含水量达 78% 的黏土中添加 10% 的生物炭,可使 N_2O 排放量减少 89%。研究人员认为,这种减少是由于生物炭表面可能吸收了水分,从而改善了土壤透气性,抑制了 N_2O 的排放。LÉVESQUE 等^[96]通过 338 d 的培养试验,研究了施用 5% 木炭对黏土温室气体排放的影响,结果表明,生物炭的施用显著降低了土壤 N_2O 的排放。相比于高孔隙的生物炭,低孔隙的生物炭施用后,土壤 N_2O 的排放量更多。此外,生物炭可形成对氧气高度敏感的 N_2O 还原酶所需的局部厌氧微场所^[97],有利于 N_2O 向 N_2 的转化。

4.3.2 土壤 pH 值

除土壤氧含量外,土壤 pH 值也是影响土壤反硝化作用的重要因素。ŠIMEK 等^[98]认为,当土壤 pH 值高于 7 时,更有利于土壤反硝化作用的最后一步,此时 N_2 作为反硝化作用的产物,比 N_2O 更重要。多数研究结果表明,由于生物炭的“石灰效应”,其对土壤 pH 值的增大有助于 N_2O 还原酶活性的提高,促进反硝化作用的完全反应(转化为 N_2)^[90,99]。

PEREIRA 等^[52]也认为,生物炭的添加显著增加了土壤 pH 值,有利于 N_2O 还原微生物的生长。添加生物炭将显著提高土壤 pH 值,改善土壤酸环境和相关的反硝化功能基因,从而减弱土壤 N_2O 的排放,土壤 pH 值和 N_2O 排放量呈显著负相关。

4.3.3 氮和碳底物的可用性

有效态氮尤其是硝态氮,是反硝化过程进行的基本底物。CASE 等^[100]研究表明,生物炭的施用降低了沙壤土中 N_2O 的排放量,其主要原因是固氮量(NH_4^+ 、 NO_3^- 等)的增加而不是土壤 pH 值的升高。SONG 等^[77]也报道了相似的研究结果,施用生物炭降低了土壤反硝化速率,减少了 N_2O 的排放,且 N_2O 的排放与土壤含水量无显著相关性,与土壤铵态氮、硝态氮、可溶性有机氮含量呈显著正相关。生物炭的吸附作用可增强土壤固氮作用,降低反硝化作用底物的可利用性,从而抑制反硝化作用的进行。CHEN 等^[86]研究也表明,碳和氮的可利用性对土壤反硝化过程具有重要作用。反硝化是一个电子消耗和异养过程,土壤有机物为硝态氮的还原提供电子,为反硝化菌的生长和活性提供有机底物。生物炭施用后,土壤 DOC 含量和电导率等显著提高,可为微生物提供足够的有机碳源和营养物质,增强反硝化菌的活性^[61]。

5 展望

施用生物炭对改善土壤氮循环具有重要作用。生物炭的添加有利于土壤 pH 值的升高,较适用于酸性土壤 pH 值的调节。同时,生物炭通常具有较高的比表面积和孔隙度,使其能有效地吸附和保留养分、水分等,为微生物的生长提供较好的环境条件,有利于提高土壤微生物活性。大量研究结果表明,施用生物炭有利于改善土壤理化性质,增强固氮菌、硝化菌和反硝化菌的活性,提高 *nifH*、*amoA*、*nirK*、*nirS*、*nosZ* 等基因的丰度,这对促进土壤固氮、氮矿化、减缓 NH_3 和 N_2O 排放发挥了重要作用。近 10 a 来,有关生物炭对土壤氮循环的作用过程及机理研究取得了较大进展,尤其在阐明微生物功能基因的影响机理方面有所突破,但在许多领域仍有待进一步研究。

(1) 由于生物炭在土壤中的存在时间长,因此它对土壤氮循环的作用过程是一个长期过程。目前许多研究的试验周期较短,且大多为盆栽试验,与田间原位试验的土壤环境存在较大差异,可能造成对生物炭影响土壤氮循环的评估出现偏差。因此,应开展长期的定位监测和研究,以准确评估施

用生物炭对土壤氮循环的长期作用过程。

(2)目前,施用生物炭对氮循环功能微生物的影响研究较为有限,且多数研究关注施用生物炭对微生物群落丰度的影响,缺乏其对微生物群落组成、活性和关键种的影响等方面的研究。未来应加强相关研究,以综合分析功能微生物对施用生物炭的响应。

(3)目前,虽然有关生物炭影响氮循环功能基因的机理研究已取得一定进展,但有关不同基因对土壤氮循环主要生态过程的贡献大小还存在不确定性,如 AOA 和 AOB 对硝化作用的贡献, *nirK*、*nirS*、*nosZ* 等基因对反硝化作用的贡献,都有待深入研究。采用稳定同位素技术等手段可以更为精确地识别生物炭施用对土壤氮循环功能微生物变化的作用,有待未来开展进一步研究。

参考文献:

- [1] TITIRICI M M, THOMAS A, YU S, *et al.* A Direct Synthesis of Mesoporous Carbons with Bicontinuous Pore Morphology from Crude-Plant Material by Hydrothermal Carbonization [J]. *Chemistry of Materials*, 2007, 19(17): 4205-4212.
- [2] STEWART C E, ZHENG J, BOTTE J, *et al.* Co-Generated Fast Pyrolysis Biochar Mitigates Green-House Gas Emissions and Increases Carbon Sequestration in Temperate Soils [J]. *Global Change Biology Bioenergy*, 2013, 5(2): 153-164.
- [3] MUKHERJEE A, ZIMMERMAN A R, HARRIS W. Surface Chemistry Variations Among a Series of Laboratory-Produced Biochars [J]. *Geoderma*, 2011, 163(3): 247-255.
- [4] GUL S, WHALEN J K, THOMAS B W, *et al.* Physico-Chemical Properties and Microbial Responses in Biochar-Amended Soils: Mechanisms and Future Directions [J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2015, 206: 46-59.
- [5] KEILUWEIT M, NICO P S, JOHNSON M G, *et al.* Dynamic Molecular Structure of Plant Biomass-Derived Black Carbon (Biochar) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(4): 1247-1253.
- [6] WALTERS R D, WHITE J G. Biochar In Situ Decreased Bulk Density and Improved Soil-Water Relations and Indicators in Southeastern US Coastal Plain Ultisols [J]. *Soil Science*, 2018, 183(3): 99-111.
- [7] CYBULAK M, SOKOŁOWSKA Z, BOGUTA P. The Influence of Biochar on the Content of Carbon and the Chemical Transformations of Fallow and Grassland Humic Acids [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 1-14.
- [8] GLASER B, PARR M, BRAUN C, *et al.* Biochar Is Carbon Negative [J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2(1): 2.
- [9] YANG H, HUANG X, THOMPSON J R. Biochar: Pros Must Outweigh Cons [J]. *Nature*, 2015, 518(7540): 483.
- [10] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展 [J]. *生态学报*, 2009, 29(1): 406-415. [HE Ji-zheng, ZHANG Li-mei. Advances in Ammonia-Oxidizing Microorganisms and Global Nitrogen Cycle [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(1): 406-415.]
- [11] YAN S, NIU Z, YAN H, *et al.* Biochar Application Significantly Affects the N Pool and Microbial Community Structure in Purple and Paddy Soils [J]. *PeerJ*, 2019, 7: 7576.
- [12] 孟颖, 王宏燕, 于崧, 等. 生物黑炭对玉米苗期根际土壤氮素形态及相关微生物的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2014, 22(3): 270-276. [MENG Ying, WANG Hong-yan, YU Song, *et al.* Effect of Biochar on Nitrogen Forms and Related Microorganisms of Rhizosphere Soil of Seedling Maize [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2014, 22(3): 270-276.]
- [13] PROMMER J, WANKE W, HOFHANSL F, *et al.* Biochar Decelerates Soil Organic Nitrogen Cycling but Stimulates Soil Nitrification in a Temperate Arable Field Trial [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): 86388.
- [14] HARTER J, KRAUSE H M, SCHUETTLER S, *et al.* Linking N₂O Emissions from Biochar-Amended Soil to the Structure and Function of the N-Cycling Microbial Community [J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 660-674.
- [15] MIRZA B S, BOHANNAN B J M, NUSSLEIN K, *et al.* Response of Free-Living Nitrogen-Fixing Microorganisms to Land Use Change in the Amazon Rainforest [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(1): 281-288.
- [16] KUYPERS M, MARCHANT H K, KARTAL B. The Microbial Nitrogen-Cycling Network [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263-276.
- [17] ALQUÉRES S M C, OLIVEIRA J H M, NOGUEIRA E M, *et al.* Antioxidant Pathways Are Up-Regulated during Biological Nitrogen Fixation to Prevent ROS-Induced Nitrogenase Inhibition in *Glucanacetobacter Diazotrophicus* [J]. *Archives of Microbiology*, 2010, 192(10): 835-841.
- [18] BLACK M, MOOLHUIJZEN P, CHAPMAN B, *et al.* The Genetics of Symbiotic Nitrogen Fixation: Comparative Genomics of 14 Rhizobia Strains by Resolution of Protein Clusters [J]. *Genes*, 2012, 3(1): 138-166.
- [19] PAYNE W J. Influence of Acetylene on Microbial and Enzymatic Assays [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1984, 3(2): 117-133.
- [20] AZEEM M, HAYAT R, HUSSAIN Q, *et al.* Biochar Improves Soil Quality and N₂-Fixation and Reduces Net Ecosystem CO₂ Exchange in a Dryland Legume-Cereal Cropping System [J]. *Soil and Tillage Research*, 2019, 186: 172-182.
- [21] GEORGE C, WAGNER M, KÜCKE M, *et al.* Divergent Consequences of Hydrochar in the Plant-Soil System: Arbuscular Mycorrhiza, Nodulation, Plant Growth and Soil Aggregation Effects [J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 59: 68-72.
- [22] RONDON M A, RONDON M A, LEHMANN J, *et al.* Biological Nitrogen Fixation by Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Increases with Biochar Additions [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, 43(6): 699-708.
- [23] NISHIO M, OKANO S. Stimulation of the Growth of Alfalfa and Infection of Mycorrhizal Fungi by the Application of Charcoal [J]. *Bulletin of National Research Institute*, 1991, 45: 61-71.

- [24] TAGOE S O, HORIUCHI T, MATSUI T. Effects of Carbonized and Dried Chicken Manures on the Growth, Yield, and N Content of Soybean [J]. *Plant and Soil*, 2008, 306: 211–220.
- [25] DUCEY T F, IPPOLITO J A, CANTRELL K B, *et al.* Addition of Activated Switchgrass Biochar to an Aridic Subsoil Increases Microbial Nitrogen Cycling Gene Abundances [J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 65: 65–72.
- [26] ABUJABHAH I S, ABUJABHAH I S, DOYLE R B, *et al.* Assessment of Bacterial Community Composition, Methanotrophic and Nitrogen-Cycling Bacteria in Three Soils with Different Biochar Application Rates [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 18 (1): 148–158.
- [27] TAN G, WANG H, XU N, *et al.* Biochar Amendment with Fertilizers Increases Peanut N Uptake, Alleviates Soil N₂O Emissions without Affecting NH₃ Volatilization in Field Experiments [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25 (9): 8817–8826.
- [28] XIAO Z, RASMANN S, YUE L, *et al.* The Effect of Biochar Amendment on N-Cycling Genes in Soils: A Meta-Analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 696: 133984.
- [29] SMITH B E. The Structure and Function of Nitrogenase: A Review of the Evidence for the Role of Molybdenum [J]. *Journal of the Less Common Metals*, 1977, 54 (2): 465–475.
- [30] PEREZ G P, YE J, WANG S, *et al.* Analysis of the Occurrence and Activity of Diazotrophic Communities in Organic and Conventional Horticultural Soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, 79: 37–48.
- [31] HAYASHI K, NISHIMURA S, YAGI K. Ammonia Volatilization from a Paddy Field Following Applications of Urea: Rice Plants Are Both an Absorber and an Emitter for Atmospheric Ammonia [J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 390 (2): 485–494.
- [32] ERISMAN J W, SCHAAP M. The Need for Ammonia Abatement with Respect to Secondary PM Reductions in Europe [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 129 (1): 159–163.
- [33] ZHUANG S Y, YIN B, ZHU Z L. Model Estimation of Volatilization of Ammonia Applied with Surface File-Forming Material [J]. *Pedosphere*, 1999, 9 (4): 299–304.
- [34] 宋勇生, 范晓晖. 稻田氨挥发研究进展 [J]. *生态环境*, 2003, 12 (2): 240–244. [SONG Yong-sheng, FAN Xiao-hui. Summary of Research on Ammonia Volatilization in Paddy Soil [J]. *Ecology and Environment*, 2003, 12 (2): 240–244.]
- [35] FAN X H, LI Y C, ALVA A K. Effects of Temperature and Soil Type on Ammonia Volatilization from Slow-Release Nitrogen Fertilizers [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2011, 42 (10): 1111–1122.
- [36] CHEN C R, PHILLIPS I R, CONDRON L M, *et al.* Impacts of Greenwaste Biochar on Ammonia Volatilisation from Bauxite Processing Residue Sand [J]. *Plant and Soil*, 2013, 367 (1): 301–312.
- [37] 许云翔. 稻秆生物炭施入对稻麦轮作农田土壤氨挥发的影响研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020. [XU Yun-xiang. Effects of Rice-Straw Biochar Application on Ammonia Volatilization from Agricultural Soil in Rice-Wheat Rotation [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2020.]
- [38] MANDAL S, THANGARAJAN R, BOLAN N S, *et al.* Biochar-Induced Concomitant Decrease in Ammonia Volatilization and Increase in Nitrogen Use Efficiency by Wheat [J]. *Chemosphere*, 2016, 142: 120–127.
- [39] 钟婷. 秸秆炭化还田对稻田土壤氨挥发的影响及其机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017. [ZHONG Ting. Influence of Biochar Application on NH₃ Volatilization from Daddy Soil [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.]
- [40] FENG Y, SUN H, XUE L, *et al.* Biochar Applied at an Appropriate Rate can Avoid Increasing NH₃ Volatilization Dramatically in Rice Paddy Soil [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 1277–1284.
- [41] 赵进, 赵旭, 王慎强, 等. 长期秸秆黑炭施加对石灰性潮土肥力、固碳及氨挥发的影响 [J]. *应用生态学报*, 2018, 29 (1): 176–184. [ZHAO Jin, ZHAO Xu, WANG Shen-qiang, *et al.* Effects of Successive Incorporation of Rice Straw Biochar into an Alkaline Soil on Soil Fertility, Carbon Sequestration and Ammonia Volatilization [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29 (1): 176–184.]
- [42] 杨帆, 李飞跃, 赵玲, 等. 生物炭对土壤氨氮转化的影响研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32 (5): 1016–1020. [YANG Fan, LI Fei-yue, ZHAO Ling, *et al.* Influence of Biochar on the Transformation of Ammonia Nitrogen in Soils [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32 (5): 1016–1020.]
- [43] SHA Z, LI Q, LÜ T, *et al.* Response of Ammonia Volatilization to Biochar Addition: A Meta-Analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 1387–1396.
- [44] HALE S E, ALLING V, MARTINSEN V, *et al.* The Sorption and Desorption of Phosphate-P, Ammonium-N and Nitrate-N in Cacao Shell and Corn Cob Biochars [J]. *Chemosphere*, 2013, 91 (11): 1612–1619.
- [45] 刘玮晶, 刘焯, 高晓荔, 等. 外源生物质炭对土壤中铵态氮素滞留效应的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31 (5): 962–968. [LIU Wei-jing, LIU Ye, GAO Xiao-li, *et al.* Effects of Biomass Charcoals on Retention of Ammonium Nitrogen in Soils [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31 (5): 962–968.]
- [46] SHEN J P, ZHANG L M, ZHU Y G, *et al.* Abundance and Composition of Ammonia-Oxidizing Bacteria and Ammonia-Oxidizing Archaea Communities of an Alkaline Sandy Loam [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10 (6): 1601–1611.
- [47] DAIMS H, LÜCKER S, WAGNER M. A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria [J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24 (9): 699–712.
- [48] HU H, ZHANG L, DAI Y, *et al.* pH-Dependent Distribution of Soil Ammonia Oxidizers Across a Large Geographical Scale as Revealed by High-Throughput Pyrosequencing [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13 (8): 1439–1449.
- [49] KIM J, JUNG M, PARK S, *et al.* Cultivation of a Highly Enriched Ammonia-Oxidizing Archaeon of Thaumarchaeotal Group I.1b from an Agricultural Soil [J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14 (6): 1528–1543.
- [50] WANG Z, ZONG H, ZHENG H, *et al.* Reduced Nitrification and Abundance of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Acidic Soil Amended with Biochar [J]. *Chemosphere*, 2015, 138: 576–583.
- [51] SONG Y, SONG Y, ZHANG X, *et al.* Biochar Addition Affected the

- Dynamics of Ammonia Oxidizers and Nitrification in Microcosms of a Coastal Alkaline Soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(2):321-332.
- [52] PEREIRA E I P, SUDDICK E C, MANSOUR I, *et al.* Biochar Alters Nitrogen Transformations but has Minimal Effects on Nitrous Oxide Emissions in an Organically Managed Lettuce Mesocosm [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(5):573-582.
- [53] WANG Z, ZHENG H, LUO Y, *et al.* Characterization and Influence of Biochars on Nitrous Oxide Emission from Agricultural Soil[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 174:289-296.
- [54] CLOUGH T J, BERTRAM J E, RAY J L, *et al.* Unweathered Wood Biochar Impact on Nitrous Oxide Emissions from a Bovine-Urine-Amended Pasture Soil [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2010, 74(3):852-860.
- [55] 赖倩倩, 杨霖, 秦兴华, 等. 蔗渣生物质炭对喀斯特农田石灰性土壤氮转化过程的短期影响[J]. *中国岩溶*, 2019, 38(3):450-457. [LAI Qian-qian, YANG Lin, QIN Xing-hua, *et al.* Study on Short-Term Effects of Sugarcane Biochar on Nitrogen Transformation in Calcareous Soils in Karst Farmland[J]. *Carsologica Sinica*, 2019, 38(3):450-457.]
- [56] NELISSEN V, RÜTTING T, HUYGENS D, *et al.* Maize Biochars Accelerate Short-Term Soil Nitrogen Dynamics in a Loamy Sand Soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 55:20-27.
- [57] BALL P N, MACKENZIE M D, DELUCA T H, *et al.* Wildfire and Charcoal Enhance Nitrification and Ammonium-Oxidizing Bacterial Abundance in Dry Montane Forest Soils [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2010, 39(4):1243-1253.
- [58] LUO X, WANG A, HOU C, *et al.* The Limited Effects of Carbonaceous Material Amendments on Nitrite-Oxidizing Bacteria in an Alfisol [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 734:139398.
- [59] LIU L, SHEN G, SUN M, *et al.* Effect of Biochar on Nitrous Oxide Emission and Its Potential Mechanisms [J]. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 2014, 64(8):894-902.
- [60] XU H, WANG X, LI H, *et al.* Biochar Impacts Soil Microbial Community Composition and Nitrogen Cycling in an Acidic Soil Planted with Rape [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(16):9391-9399.
- [61] HE 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.
- [62] ZHANG M, LIU Y, WEI Q, *et al.* Biochar Enhances the Retention Capacity of Nitrogen Fertilizer and Affects the Diversity of Nitrifying Functional Microbial Communities in Karst Soil of Southwest China [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 226:112819.
- [63] CHEN H, YIN C, FAN X, *et al.* Reduction of N₂O Emission by Biochar and/or 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) Is Closely Linked to Soil Ammonia Oxidizing Bacteria and *nosZ*-N₂O Reducer Populations [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 694:133658.
- [64] SAHRAWAT K L. Factors Affecting Nitrification in Soils [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2008, 39(9):1436-1446.
- [65] ZHANG H, SUN H, ZHOU S, *et al.* Effect of Straw and Straw Biochar on the Community Structure and Diversity of Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in Rice-wheat Rotation Ecosystems [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):9367-9678.
- [66] 鲍俊丹, 石美, 张妹婷, 等. 中国典型土壤硝化作用与土壤性质的关系 [J]. *中国农业科学*, 2011, 44(7):1390-1398. [BAO Jun-dan, SHI Mei, ZHANG Mei-ting, *et al.* Nitrification of Main Soils in China and Its Relationship with Soil Properties [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(7):1390-1398.]
- [67] YU M, MENG J, YU L, *et al.* Changes in Nitrogen Related Functional Genes along Soil pH, C and Nutrient Gradients in the Rhizosphere [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650:626-632.
- [68] TEUTSCHEROVA N, VAZQUEZ E, MASAGUER A, *et al.* Comparison of Lime- and Biochar-Mediated pH Changes in Nitrification and Ammonia Oxidizers in Degraded Acid Soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(7):811-821.
- [69] ZHENG L, ZHAO X, ZHU G, *et al.* Occurrence and Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria from the Surface to Below the Water Table, in Deep Soil, and Their Contributions to Nitrification [J]. *Microbiology Open*, 2017, 6(4):488-496.
- [70] 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.
- [71] LINN D M, DORAN J W. Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1984, 48(6):1267-1272.
- [72] BUSSCHER W J, NOVAK J M, EVANS D E, *et al.* Influence of Pecan Biochar on Physical Properties of a Norfolk Loamy Sand [J]. *Soil Science*, 2010, 175(1):10-14.
- [73] 崔培媛. 施肥、硝化抑制剂和温度对农田土壤 N₂O 释放的影响及其微生物驱动机制 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016. [CUI Pei-yuan. The Effect of Fertilization, Nitrification Inhibitor and Temperature on N₂O Emissions in Cropland Soils and Its Associated Microbes [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.]
- [74] 杜颀林. 大气 CO₂ 浓度升高对农田土壤硝化和反硝化作用的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021. [DU Yi-lin. Effect of Elevated Carbon Dioxide Concentration on Nitrification and Denitrification in Agricultural Soil [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021.]
- [75] ZHANG A, LIU Y, PAN G, *et al.* Effect of Biochar Amendment on Maize Yield and Greenhouse Gas Emissions from a Soil Organic Carbon Poor Calcareous Loamy Soil from Central China Plain [J]. *Plant and Soil*, 2012, 351(1):263-275.
- [76] FUNGO B, CHEN Z, BUTTERBACH-BAHL K, *et al.* Nitrogen Turnover and N₂O/N₂ Ratio of Three Contrasting Tropical Soils Amended with Biochar [J]. *Geoderma*, 2019, 348:12-20.
- [77] SONG Y, LI Y, CAI Y, *et al.* Biochar Decreases Soil N₂O Emissions in Moso Bamboo Plantations through Decreasing Labile N Concentrations, N-Cycling Enzyme Activities and Nitrification/Denitrification Rates [J]. *Geoderma*, 2019, 348:135-145.

- [78] KHAN S, CHAO C, WAQAS M, *et al.* Sewage Sludge Biochar Influence upon Rice (*Oryza sativa* L.) Yield, Metal Bioaccumulation and Greenhouse Gas Emissions from Acidic Paddy Soil [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(15): 8624–8632.
- [79] BEAULIEU J J, TANK J L, HAMILTON S K, *et al.* Nitrous Oxide Emission from Denitrification in Stream and River Networks [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(1): 214–219.
- [80] BRASSARD P, GODBOUT S, RAGHAVAN V. Soil Biochar Amendment as a Climate Change Mitigation Tool: Key Parameters and Mechanisms Involved [J]. Journal of Environmental Management, 2016, 181: 484–497.
- [81] 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.
- [82] AMELOOT N, MAENHOUT P, DE NEVE S, *et al.* Biochar-Induced N₂O Emission Reductions after Field Incorporation in a Loam Soil [J]. Geoderma, 2016, 267: 10–16.
- [83] HE Y, ZHOU X, JIANG L, *et al.* Effects of Biochar Application on Soil Greenhouse Gas Fluxes: A Meta-Analysis [J]. Global Change Biology Bioenergy, 2017, 9(4): 743–755.
- [84] SHI Y, LIU X, ZHANG Q. Effects of Combined Biochar and Organic Fertilizer on Nitrous Oxide Fluxes and the Related Nitrifier and Denitrifier Communities in a Saline-Alkali Soil [J]. Science of the Total Environment, 2019, 686: 199–211.
- [85] WEI W, YANG H, FAN M, *et al.* Biochar Effects on Crop Yields and Nitrogen Loss Depending on Fertilization [J]. Science of the Total Environment, 2020, 702: 134423.
- [86] CHEN J, KIM H, YOO G. Effects of Biochar Addition on CO₂ and N₂O Emissions following Fertilizer Application to a Cultivated Grassland Soil [J]. PLoS One, 2015, 10(5): 126841.
- [87] LIN Y, DING W, LIU D, *et al.* Wheat Straw-Derived Biochar Amendment Stimulated N₂O Emissions from Rice Paddy Soils by Regulating the *amoA* Genes of Ammonia-Oxidizing Bacteria [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 113: 89–98.
- [88] BRAKER G, ZHOU J, WU L, *et al.* Nitrite Reductase Genes (*nirK* and *nirS*) as Functional Markers to Investigate Diversity of Denitrifying Bacteria in Pacific Northwest Marine Sediment Communities [J]. Applied Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 2096–2104.
- [89] PHILIPPOT L, ANDERT J, JONES C M, *et al.* Importance of Denitrifiers Lacking the Genes Encoding the Nitrous Oxide Reductase for N₂O Emissions from Soil [J]. Global Change Biology, 2011, 17(3): 1497–1504.
- [90] VAN ZWIETEN L, SINGH B P, KIMBER S W L, *et al.* An Incubation Study Investigating the Mechanisms that Impact N₂O Flux from Soil Following Biochar Application [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2014, 191: 53–62.
- [91] HARTER J, WEIGOLD P, EL-HADIDI M, *et al.* Soil Biochar Amendment Shapes the Composition of N₂O-Reducing Microbial Communities [J]. Science of the Total Environment, 2016, 562: 379–390.
- [92] TORRALBO F, MENÉNDEZ S, BARRENA I, *et al.* Dimethyl Pyrazol-Based Nitrification Inhibitors Effect on Nitrifying and Denitrifying Bacteria to Mitigate N₂O Emission [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 13810–13821.
- [93] FRANCIS C A, BEMAN J M, KUYPERS M M M. New Processes and Players in the Nitrogen Cycle: The Microbial Ecology of Anaerobic and Archaeal Ammonia Oxidation [J]. The ISME Journal, 2007, 1(1): 19–27.
- [94] BUTTERBACH-BAHL K, BAGGS E M, DANNENMANN M, *et al.* Nitrous Oxide Emissions from Soils: How Well Do We Understand the Processes and Their Controls? [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2013, 368(1621): 20130122–20130136.
- [95] YANAI Y, TOYOTA K, OKAZAKI M. Effects of Charcoal Addition on N₂O Emissions from Soil Resulting from Rewetting Air-Dried Soil in Short-Term Laboratory Experiments [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2007, 53(2): 181–188.
- [96] LÉVESQUE V, ROCHETTE P, HOGUE R, *et al.* Greenhouse Gas Emissions and Soil Bacterial Community as Affected by Biochar Amendments after Periodic Mineral Fertilizer Applications [J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56(7): 907–925.
- [97] JUNGKUNST H F, FREIBAUER A, NEUFELDT H, *et al.* Nitrous Oxide Emissions from Agricultural Land Use in Germany: A Synthesis of Available Annual Field Data [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2006, 169(3): 341–351.
- [98] ŠIMEK M, JIŠOVÁ L, HOPKINS D W. What Is the So-Called Optimum pH for Denitrification in Soil? [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9): 1227–1234.
- [99] WU F, WU F, JIA Z, *et al.* Contrasting Effects of Wheat Straw and Its Biochar on Greenhouse Gas Emissions and Enzyme Activities in a Chernozemic Soil [J]. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(5): 555–565.
- [100] CASE S D C, MCNAMARA N P, REAY D S, *et al.* The Effect of Biochar Addition on N₂O and CO₂ Emissions from a Sandy Loam Soil: The Role of Soil Aeration [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 51: 125–134.

作者简介: 王翰琨(1994—),男,江西丰城人,主要从事土壤生态修复研究。E-mail: whk940523@163.com

(责任编辑: 许素)