

罗天相, 卢以鑫. 蚯蚓对 N_2O 排放的影响及途径研究进展[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 50–53.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.18.009

蚯蚓对 N_2O 排放的影响及途径研究进展

罗天相, 卢以鑫

(宜春学院生命科学与资源环境学院, 江西宜春 336000)

摘要:土壤生态系统与温室气体排放关系密切。蚯蚓参与调控土壤的能量流动和物质循环过程, 对土壤温室气体如 N_2O 的产生与排放产生重要影响。蚯蚓影响 N_2O 排放的关键酶基因, 特别是反硝化过程中的 *Nir* 与 *Nos* 基因比, 调控土壤硝化和反硝化作用进程, 影响土壤 N_2O 排放。蚯蚓促进土壤氮素分解矿化过程, 与氮素可利用性密切相关, 显著影响了 N_2O 的产生和排放。秸秆残体还田处理是一种常见的农田管理方式, 有助于培肥土壤。但不同 C/N 的秸秆、秸秆施加方式(混施、表施)在接种不同生态型蚯蚓后, 对土壤 N_2O 排放量的影响差异很大。蚯蚓在取食、活动包括死亡后, 都可能直接释放出 N_2O , 尽管直接排放的 N_2O 量在田间的比例相对较低, 但这在微系统中仍然不容忽视。

关键词:蚯蚓; N_2O ; 排放途径; 关键酶基因; 秸秆残体还田; 源汇; 研究进展

中图分类号: S154.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)18-0050-04

蚯蚓是一种大型的土壤动物, 分布广泛, 是生态系统中重要的功能类群。作为 N_2O 生成与排放的生态系统活动式“热点”^[1], 蚯蚓是陆地温室气体(特别是 N_2O)排放的重要生物源。据估计, 蚯蚓源所排放的 N_2O 约为 3×10^8 kg/年^[2]。农田生态系统中, 蚯蚓的种群密度会随着农田管理措施的改善而显著增加, 所以蚯蚓对土壤 N_2O 排放的增量效应在未来可能持续增长^[3]。Borken 等的研究表明, 蚯蚓促进了土壤 N_2O 的排放^[4-5], 但由于蚯蚓生态型各异及农田秸秆施加方式不同等诸多原因, 相关观点尚未达成一致。表施植物残体土壤

的蚯蚓促进土壤 N_2O 排放量增加, 但是秸秆混施后接种蚯蚓却未增加 N_2O 排放^[6]。

一般认为, 蚯蚓肠道、穴际土壤及其排泄物构成的蚓粪圈是蚯蚓成为 N_2O 排放源的重要原因。在蚯蚓排泄物中, 可溶性有机氮和铵态氮($NH_4^+ - N$)具有较高的含量; 蚓粪圈内的土壤硝化和反硝化菌数量多、酶活性高, 蚯蚓在土壤含氮物质的破碎、矿化过程中有促进效应。蚯蚓肠道是一个特殊的微环境, 具有丰富的微生物组成和群落, 好氧与兼性微生物种类丰富, 蚯蚓的混合活动和肠道厌氧的微域环境, 使新鲜蚓粪和穴际土壤的反硝化作用加强^[4], 促进土壤 N_2O 排放。蚯蚓还能吞食由氮分子形成的细菌排放出 N_2O ^[1]。蚯蚓的取食和掘穴活动使土壤表层疏松, 土壤孔隙度增加, 反硝化过程的中间产物在土壤孔隙间传导, 避免反硝化作用产生的 N_2O 还原为 N_2 ^[7]。随着全球氮沉降及农田氮肥施用量的增加, 蚯蚓对农

收稿日期: 2018-05-27

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31460150); 宜春学院地方发展中心研究项目(编号: 2015DF031)。

作者简介: 罗天相(1973—), 男, 江西南昌人, 博士, 教授, 主要从事土壤生态学与环境生态学研究。E-mail: ltxls@139.com。

[37] 权月伟, 李继军, 唐光雷, 等. 河北省低酚棉育种研究进展及应用前景[C]//2015 全国棉花青年学术研讨会论文集. 新疆石河子: 中国棉花杂志社, 2015.

[38] 喻树迅, 原日红, 余学科, 等. 低酚棉中棉所 20 遗传特性与丰产性机理的研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(5): 16–22.

[39] 祝水金, 蒋玉蓉, Reddy N, 等. 陆地棉子叶色素腺体延缓形成种质系的育成及其遗传研究[J]. 科学通报, 2004, 49(19): 1987–1992.

[40] 陈莹, 赵军胜, 高明伟, 等. 腺体标记棉花杂交种鲁棉研 39 号指纹图谱构建[C]//中国棉花学会 2014 年年会论文集. 呼和浩特: 中国棉花杂志社, 2014.

[41] 翟雷霞, 米换房, 李继军, 等. 抗虫低酚棉品种邯无 216 的选育及栽培技术要点[J]. 中国棉花, 2016, 43(7): 33–34.

[42] 刘芳, 谭忠宁, 比买热木·阿不都艾海提. 47 个低酚棉品种资源性状观察与分析[J]. 中国棉花, 2015, 42(7): 15–17.

[43] 李函利, 王省芬, 王国宁, 等. 低酚棉种质资源耐盐性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(6): 1099–1105.

[44] 刘慧, 季灵艳, 赵天伦, 等. 陆地棉色素腺体与不同棉酚旋光体

含量之间的相关性研究[J]. 棉花学报, 2017, 29(5): 437–446.

[45] 张金发, 孙济中, 刘金兰. 棉花窄卷苞叶基因对产量品质的影响[J]. 作物学报, 1993, 19(4): 315–320.

[46] 张金发, 孙济中, 刘金兰. 窄卷苞叶基因对棉花光合性能的影响[J]. 华中农业大学学报, 1993, 12(4): 328–332.

[47] 张金发, 孙济中, 刘金兰. 窄卷苞叶基因对棉花早熟性的影响[J]. 华中农业大学学报, 1991, 10(4): 321–326.

[48] 李俊兰, 崔淑芳, 韩择林. 棉花新类型——观赏棉花[J]. 中国棉花, 2003, 30(9): 29–51.

[49] 狄佳春, 殷剑美, 陈旭升, 等. 陆地棉亚红株突变体光合特性初步研究[J]. 江苏农业科学, 2006(2): 33–34.

[50] 万艳霞, 马峙英, 王国印, 等. 红叶棉花的产量杂种优势研究初探[J]. 棉花学报, 2010, 22(2): 186–188.

[51] 陈旭升, 狄佳春, 赵亮. 具有亚红叶标记的抗虫彩色杂交棉选育[J]. 江西农业学报, 2015, 27(4): 1–3.

[52] 刘英新, 王学德, 倪密, 等. 四个带有标记性状的棉花 CMS 恢复系的主要农艺与光合生理特性[J]. 棉花学报, 2010, 22(5): 448–453.

田生态系统反硝化作用产生影响,硝化和反硝化过程的中间产物增多,气态氮的逸失亦会增加。

尽管当前蚯蚓与 N_2O 的排放是研究热点,但对于蚯蚓影响 N_2O 排放的影响结论并不一致,相关机制分析上亦未达成一致意见。为充分了解蚯蚓在土壤生态系统中的功能地位,明确蚯蚓影响 N_2O 排放的可能途径,本文根据文献综述了蚯蚓影响土壤温室气体排放的途径及相关机制。

1 对硝化、反硝化微生物基因的影响

微生物数量及活性受蚯蚓不同生态型、土壤理化性质和土壤有机质分异多种因素影响^[8]。蚯蚓可通过 2 种机制影响土壤中的微生物:分解、矿化及掘穴过程中改变土壤生境,从而间接刺激蚯蚓圈中微生物活性,改变微生物群落位置;直接取食活体微生物,经由蚯蚓肠道的微环境,使排泄物及蚓粪中的微生物群落较原土发生改变。

1.1 影响 N_2O 排放的关键酶基因

在自然环境中的氮元素循环过程中,微生物的硝化作用和反硝化作用是土壤 N_2O 的主要来源,在低氧或兼气的生态系统中,反硝化作用是主要过程。反硝化过程中的催化酶包括亚硝酸盐还原酶(Nir)、硝酸盐还原酶(Nar)、氧化亚氮还原酶(Nos)及 NO 还原酶(Nor)。这些酶又由特异的功能基因编码。Nir 又分为细胞色素酶及可溶性含铜酶,由 *nir S* 及 *nir K* 基因分别进行编码,*nir* 能催化反硝化过程中最关键的一步反应,限制反硝化作用中的反应速度^[9],将亚硝酸盐转化为 N_2O 的前体——NO,所以成为反硝化过程中最重要的功能基因^[10]。Nos 基因丰度在土壤氮素代谢及 N_2O 排放中亦具有重要功能,它降低了土壤 N_2O/N_2 转化率,与反硝化过程形成的最终产物关系密切,不过 Nos 编码基因缺乏并不会明显影响 N_2O 的产生量^[11]。

1.2 反硝化作用酶类基因与 N_2O 排放

蚯蚓肠道产生的 N_2O 与肠道内的反硝化细菌密切相关^[12],反硝化菌在厌氧的肠道环境中具有较高活性^[13],*Nir* 基因促进 N_2O 排放,可称为“源”,*Nos* 基因减少了环境中 N_2O 向大气的排放,成为 N_2O 的“汇”。正是因为蚯蚓肠道及蚓触圈内具有的这些功能性酶类基因,能实现 N_2O 产生与抑制的动态平衡。蚯蚓的接种能使土壤 *nir K* 基因拷贝数^[14]、*nir S* 基因含量^[15]以及 *nar G* 基因拷贝数^[16]得以提高,在原地条件下,蚯蚓是 N_2O 的主要排放源^[17]。同时,蚯蚓肠道内存在的氧化亚氮还原酶包括非典型的 NosZ II 型及典型的 NosZ I 型^[12],这也是抑制 N_2O 排放的重要原因,蚓触圈内的 *nos Z* 基因丰度与 N_2O 排放量负相关。*nir* 与 *nos* 基因比与 N_2O 排放密切相关^[12],接种内层种黄颈透钙蚓(*Pontosclex corethrurus*)后,蚯蚓排泄的蚓粪 *nir K* 和 *nos Z* 基因的相对丰度较对照土壤均显著增加,但或许是由于 *nir* 与 *nos* 基因比未发生大的改变,中观尺度下,蚯蚓并没有显著促进气态产物的生成^[18]。

1.3 硝化作用微生物基因

虽然硝化作用并非 N_2O 排放的最主要来源,但是在氨氧化过程中,其中间产物会发生化学分解而释放出 N_2O ^[19]。氨氧化古菌(AOA)具有很强的硝化能力,无论在好氧条件下还是在厌氧条件下的丰度均较高,在生态系统氮素转化和调控

氨氧化反应的过程中具有重要作用。AOA 基因组序列中 *amo A* 即氨单加氧酶基是调控反应的关键酶,保守性强,在研究 AOA 或 AOB 的分子标记时常被使用^[20]。研究表明,接种蚯蚓能提高土壤中 *amo A* 基因拷贝数。蚯蚓能促进土壤微生物量的增加,蚓触圈中的土壤及含有充足养分的蚓粪均有利于细菌繁殖扩散。接种蚯蚓使土壤生态系统中 *amo A* 基因丰度逐渐增加并趋于稳定,*nir* 基因丰度则可能逐渐降低^[14]。蚯蚓取食及活动使农田生态系统微生物的硝化和反硝化作用加强,土壤 N_2O 的排放量增加^[21]。

2 对氮分解矿化过程的影响

土壤氮素来源包括施用外源氮肥、施加秸秆残体和大气氮素的沉降等多种途径。土壤氮素转化过程包括有机态氮和无机态氮在生态系统中的硝化和反硝化、分解矿化等过程,高达 53% 的大气 N_2O 来源在氮素转化过程中产生并排放到大气中^[22]。氮素的分解矿化过程与可利用性氮及 N_2O 排放关系密切。蚯蚓通过生理代谢及体壁分泌特殊黏液、直接排泄有效态氮丰富的蚓粪、蚓体死亡分解作用^[12]影响土壤氮素矿化过程;同时,蚓触圈中丰富的营养元素加快了土壤微生物的扩散并提高了它们的活性,微生物使土壤氮素的周转和分解速率得以加快。

蚯蚓的排泄物中可溶性有机氮和 $NH_4^+ - N$ 含量较高,硝化及反硝化作用加强,从而提高了土壤中有效氮的组成,同时加快了有机质的分解速率。新鲜的蚓粪含有较高量的微生物,其中存在的氮多以 $NH_4^+ - N$ 的形式存在,硝态氮($NO_3^- - N$)含量相对较少,随着蚓粪在蚓触圈中微生物的协同作用下,蚓粪中的氮组分发生改变, $NH_4^+ - N$ 的含量下降,而 $NO_3^- - N$ 的含量上升。蚓粪增强了土壤氮的硝化作用,促进 $NH_4^+ - N$ 向 $NO_3^- - N$ 的转化^[23], $NO_3^- - N$ 含量提高会增加 N_2O/N_2 的值^[6],土壤中更多的氮素转化成 N_2O 并逸失。蚯蚓通过取食、掘穴等形成蚯蚓穴道,这些土壤中的蚓道构造复杂,增大了蚓触圈范围,可能影响到土壤氮素的矿化。蚓穴便于气体交换和水分流动,蚯蚓穴壁土壤中富含 $NO_3^- - N$ 和活性炭,蚯蚓 1~2 mm 的穴际土壤中含有较高的硝化和反硝化菌基因丰度,接种蚯蚓加快了土壤含氮有机物的分解和矿化,增加了土壤生态系统中 N_2O 的排放量^[4]。

配施秸秆的情况下,蚯蚓取食和生活并不会过度消耗土壤中的碳、氮元素,农田生态系统中的碳、氮总体保持平衡^[5]。研究普遍认为,接种蚯蚓提高了农田土壤矿质氮和 $NO_3^- - N$ 的含量^[24]。秸秆混施或表施时,接种蚯蚓均能显著改变土壤 $NO_3^- - N$ 和 $NH_4^+ - N$ 的含量,并促进土壤氮的矿化。蚯蚓还可以促进家畜排泄物中氮素的矿化,引入蚯蚓等粪食性动物后氮矿化速度可以提高约 38%,蚯蚓是起主导作用的动物类群^[25]。接种蚯蚓使土壤生态系统微生物量氮库扩大,加速了有机氮的矿化。

田间调查发现,庭院菜地耕作层中蚯蚓种群的平均密度为 272 条/ m^2 ,蚯蚓的生物量约为 68.04 g/ m^2 ^[26],低于草地生态系统 161 g/ m^2 鲜质量蚯蚓生物量^[27]。蚯蚓体内的水分含量约为 84%,蚯蚓干组织中 N 含量约为 11%。据估算,田间蚯蚓死亡后约可以贡献氮 0.7 g/ m^2 ^[12],尽管这远低于田间氮

肥施用或植物残体氮源输入量,但微系统中这是一个不容忽视的氮源。

蚯蚓可以保持土壤生态系统中氮素的平衡。当生态系统中氮素含量较高时,蚯蚓使土壤反硝化作用加强,含氮气体(如 N_2 、 NO_x 等)在这个过程中从生态系统中逸散^[28]。蚯蚓与农田土壤碳氮循环关系密切,但在氮素矿化过程中,蚯蚓影响 N_2O 排放的相关途径、作用机制仍不确定^[6]。

3 蚯蚓与施加秸秆的交互作用

秸秆还田是一种重要的农田管理措施,有助于土壤肥力的提升。由于易被分解和矿化成土壤可利用态氮源,秸秆残体的施用会增加土壤生态系统 N_2O 的排放量。全球农业活动每年约可以提供 40 亿 t 的植物残体,由这些秸秆导致的 N_2O 排放量估计每年可达 0.4 TgN,联合国政府间气候变化专门委员会(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)估计农田秸秆施用后的氮释放量约为植物残体 N 的 1.25%。通过增加土壤有益微生物活性和营养元素的可利用性,秸秆还田使土壤肥力提升,稳定了农田生态系统中的有机质含量。农田秸秆在土壤中的分解、破碎及矿化过程复杂,可能与作物秸秆种类、表施或混施方式、土壤含氮量及相关理化性状有关。施加秸秆对农田生态系统 N_2O 代谢的影响结论不一,但普遍认为作物残体可矿化氮量及其 C/N 的值是关键性要素^[29]。反硝化过程是施用作物残体后土壤 N_2O 排放的主要来源^[12,30]。

作物秸秆氮素转化为含氮气体(特别是 N_2O)的比例关系较难确定。接种蚯蚓破碎、分解作物秸秆,加快秸秆混入土壤的速度。蚯蚓取食、代谢导致植物残体中的氮加速转化,并形成易被植物和土壤微生物利用的矿质氮。蚯蚓肠道特殊环境下纤维素酶等微生物活性较高,难分解的纤维素等物质在蚯蚓肠道内被消化、分解并转化为易吸收利用的有机物,最终以蚓粪的形式排出,微生物能较好地利用蚓粪中的代谢产物^[31],高木质素、高 C/N 和多酚含量的作物秸秆腐解速度得以加快^[29]。蚯蚓接种后,低 C/N 植物残体(如菜饼)的 N_2O 排放系数提高,而高 C/N 植物残体(如玉米秆和水稻秸秆)的 N_2O 排放系数随之降低^[32]。

通过矿化作用,植物残体约可以释放氮 150 kg/hm²,不同耕作系统下,植物残体的管理措施差异如表施或混施、全量或半量等都可能影响到土壤 N_2O 排放。植物残体不同的施加方式可能使蚯蚓的生态功能发生改变,在残体表施时蚯蚓增加了 N_2O 的排放,残体混施蚯蚓的促排效应减弱。蚯蚓通过取食和掘穴等生理活动,能够使植物残体在土壤耕作层中得以混匀,残体中的氮素等营养元素能得到更好地利用。而植物残体混施类似于农田管理中的耕耘活动,使蚯蚓上食下居生态功能减弱,植物残体混施对 N_2O 排放的影响在试验后期具有局限性^[5-6]。蚯蚓接入的土壤 $NH_4^+ - N$ 含量基本保持不变, $NO_3^- - N$ 含量显著增多。且表施秸秆接入蚯蚓的处理组比混施秸秆接入蚯蚓处理组 $NO_3^- - N$ 含量增加更显著。通过分析试验得出, N_2O 的排放量与土壤 $NO_3^- - N$ 含量具有相关性,蚯蚓加速了秸秆的分解,使反硝化作用加强并增加土壤 N_2O 的排放量。

蚯蚓有 3 种生态型,取食习性各异,蚯蚓的种类组成、秸

秆自身的性质和组成成分相互作用并影响秸秆的分解、矿化过程,但秸秆及蚯蚓相互作用下对 N_2O 排放的影响及途径仍不明确^[6]。

4 蚯蚓直接生成 N_2O

深栖型蚯蚓长流蚓(*Aporrectodea longa*)通过间接影响土壤结构、排泄蚓粪等,显著影响土壤 N_2O 排放的范围和动态变化^[6]。同时,蚯蚓肠道厌氧的微域环境在消化降解有机物和硝酸根离子后,也可以直接排放 N_2O ^[2]。基于试验模拟及检索蚯蚓肠道和非根际土壤中的系统树功能基因^[13,33],其丰富的反硝化功能菌可能显著促进了 N_2O 排放。

尽管蚯蚓直接生成排放的 N_2O 量并不高^[3-4],但蚯蚓肠道特殊的微域中需氧微生物和兼性微生物种群丰富,粉正蚓(*Lumbricus rubellus*)及 *Octolasion lacteum* 肠道厌氧环境下添加 NO_3^- 后,显著促进土壤生态系统中 N_2O 排放^[34]。草地中观生态系统中,蚯蚓直接排放的温室气体如 N_2O 和 CO_2 并没有显著增加土壤温室气体的总排放量^[6],尽管单个新鲜蚯蚓长流蚓和粉正蚓的 N_2O 排放量在 2.5 ~ 25.0 ng/(h · g)之间^[1-6],蚯蚓在农田生态系统中直接排放的温室气体仍显著低于其间接排放的 N_2O 通量,所占比例在全球生态系统中很低,直接排放并非主要途径。蚯蚓通过取食土壤微生物、作物秸秆等合成为自身有机体,分解、排泄的代谢产物含氮量高,有助于农田土壤物质循环,其代谢产物的形式包括如蚓粪、排泄物、体壁分泌的黏液蛋白,甚至是死亡蚯蚓有机体等。微系统中,蚯蚓的生物量相对较高,死亡有机体腐解过程中除未分解部分外,其释放的 N 约有 25% 是 $NO_3^- - N$ 、45% 是 $NH_4^+ - N$ 及少量可溶性有机氮^[25],所以蚯蚓的繁殖及死亡分解过程中可能贡献部分氮源,并以气态的形式逸失。微系统试验中,蚯蚓对 N_2O 排放的影响不容忽视。

5 结论与讨论

蚯蚓影响 N_2O 排放的微生物和关键酶,特别是反硝化过程中的 *Nir* 与 *Nos* 基因比,调控土壤硝化和反硝化作用进程,影响土壤 N_2O 排放。蚯蚓促进土壤氮素分解矿化过程,与氮素可利用性密切相关,显著影响了 N_2O 产生和排放。植物残体的还田有助于土壤肥力的恢复,是常见的农田管理措施。但考虑到蚯蚓具有 3 种不同的生态型,其取食特点和生活习性各异,配施不同 C/N 的植物残体、改变残体的施加方式,都可能使蚯蚓对土壤 N_2O 排放造成不同的影响。

尽管研究证实了接种蚯蚓对土壤 N_2O 排放的影响,但有关蚯蚓影响的途径及机制分析的文章仍较欠缺。蚯蚓可能是土壤 N_2O 排放的活动式排放“热点”,在机制研究中,应充分利用分子生物学手段,明确接种蚯蚓后土壤硝化、反硝化过程中的关键功能菌和酶类的基因多样性变化;充分利用同位素技术,进行¹³C 和¹⁵N 示踪研究,明确在农田中施肥、配施秸秆的管理措施应用后,蚯蚓对不同 C/N 植物残体分解及氮素矿化作用与 N_2O 排放量之间的关系,为深入理解蚯蚓在生态系统中的功能和地位提供技术支持。

参考文献:

[1] Karsten G R, Drake H L. Denitrifying bacteria in the earthworm

- gastrointestinal tract and in vivo emission of nitrous oxide (N_2O) by earthworms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63 (5): 1878 – 1882.
- [2] Drake H L, Horn M A. Earthworms as a transient heaven for terrestrial denitrifying microbes: a review [J]. Engineering in Life Sciences, 2006, 6(3): 261 – 265.
- [3] Lubbers I M, van Groenigen K J, Fonte S J, et al. Greenhouse – gas emissions from soils increased by earthworms [J]. Nature Climate Change, 2013, 3(3): 187 – 194.
- [4] Borken W, Gründel S, Beese F. Potential contribution of *Lumbricus terrestris* L. to carbon dioxide, methane and nitrous oxide fluxes from a forest soil [J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 32 (2): 142 – 148.
- [5] 罗天相, 胡 锋, 李辉信. 施加秸秆和蚯蚓活动对麦田 N_2O 排放的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(23): 7545 – 7552.
- [6] Rizhiya E, Bertora C, van Vliet P C, et al. Earthworm activity as a determinant for N_2O emission from crop residue [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(8): 2058 – 2069.
- [7] Parkin T B, Berry E C. Microbial nitrogen transformations in earthworm burrows [J]. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31(13): 1765 – 1771.
- [8] 曹 佳, 王 冲, 皇 彦, 等. 蚯蚓对土壤微生物及生物肥力的影响研究进展[J]. 应用生态学报, 2015, 26(5): 1579 – 1586.
- [9] Braker G, Zhou J, Wu L, et al. Nitrite reductase genes (*nir K* and *nir S*) as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria in pacific northwest marine sediment communities [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 2096 – 2104.
- [10] 王海涛, 郑天凌, 杨小茹. 土壤反硝化的分子生态学研究进展及其影响因素[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(10): 1915 – 1924.
- [11] Philippot L, Andert J, Jones C M, et al. Importance of denitrifiers lacking the genes encoding the nitrous oxide reductase for N_2O emissions from soil [J]. Global Change Biology, 2011, 17 (3): 1497 – 1504.
- [12] Kong X W, Duan Y F, Schramm A, et al. Mitigating N_2O emissions from clover residues by 3, 4 – dimethylpyrazole phosphate (DMPP) without adverse effects on the earthworm *Lumbricus terrestris* [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 104: 95 – 107.
- [13] Horn M A, Drake H L, Schramm A. Nitrous oxide reductase genes (*nos Z*) of denitrifying microbial populations in soil and the earthworm gut are phylogenetically similar [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1019 – 1026.
- [14] 程苗苗. *Bt* 玉米秸秆还田和赤子爱胜蚓对土壤温室气体排放的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [15] Wu Y P, Shaaban M, Zhao J S, et al. Effect of the earthworm gut – stimulated denitrifiers on soil nitrous oxide emissions [J]. European Journal of Soil Biology, 2015, 70: 104 – 110.
- [16] Wang Z Y, Peng S X, Sun Y, et al. How gut – stimulated denitrifiers influence soil N_2O emission without earthworm activity [J]. European Journal of Soil Biology, 2016, 76: 70 – 73.
- [17] Horn M A, Mertel R, Gehre M, et al. *In vivo* emission of dinitrogen by earthworms via denitrifying bacteria in the gut [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1013 – 1018.
- [18] Chapuis – Lardy L, Brauman A, Bernard L, et al. Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on the microbial structure and activity related to CO_2 and N_2O fluxes from a tropical soil (Madagascar) [J]. Applied Soil Ecology, 2010, 45(3): 201 – 208.
- [19] Wraage N, van Groenigen J W, Oenema O, et al. A novel dual – isotope labelling method for distinguishing between soil sources of N_2O [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2005, 19 (22): 3298 – 3306.
- [20] 胡安谊, 焦念志. 氢氧化古菌——环境微生物生态学研究的一个前沿热点[J]. 自然科学进展, 2009, 19(4): 370 – 379.
- [21] Giannopoulos G, Pulleman M M, van Groenigen J W. Interactions between residue placement and earthworm ecological strategy affect aggregate turnover and N_2O dynamics in agricultural soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(4): 618 – 625.
- [22] Denman K L, Brasseur G P, Chidthaisong A, et al. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry [C]// Climate Change 2007: The Physical Science Basis; Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: Cambridge University Press, 2007: 501 – 568.
- [23] Lim S L, Wu T Y, Lim P N, et al. The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(6): 1143 – 1156.
- [24] Edwards C A, Bohlen P J. Biology and ecology of earthworms [M]. London: Chapman and Hall, 1996: 426.
- [25] 罗天相. 土壤动物活动对农田温室气体 (CO_2 、 N_2O) 排放的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [26] 张 宁, 廖 燕, 孙福来, 等. 不同土地利用方式下的蚯蚓种群特征及其与土壤生物肥力的关系 [J]. 土壤学报, 2012, 49(2): 364 – 372.
- [27] Holmstrup M, Lamande M, Torp S B, et al. Associations between soil texture, soil water characteristics and earthworm populations in grassland [J]. Acta Agriculturae Scandinavica Section B (Soil and Plant Science), 2011, 61(7): 583 – 592.
- [28] 徐国良, 莫江明, 周国逸, 等. 土壤动物与 N 素循环及对 N 沉降的响应 [J]. 生态学报, 2003, 23(11): 2453 – 2463.
- [29] Chen Y X, Zhang Y F, Zhang Q G, et al. Earthworms modify microbial community structure and accelerate maize stover decomposition during vermicomposting [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2015, 22 (21): 17161 – 17170.
- [30] Li X X, Sørensen P, Olesen J E, et al. Evidence for denitrification as main source of N_2O emission from residue – amended soil [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 92: 153 – 160.
- [31] Ravindran B, Contreras – Ramos S M, Sekaran G. Changes in earthworm gut associated enzymes and microbial diversity on the treatment of fermented tannery waste using epigeic earthworm *Eudrilus eugeniae* [J]. Ecological Engineering, 2015, 74: 394 – 401.
- [32] 王争妍, 雷紫烟, 叶志雄, 等. 蚯蚓作用下不同 C/N 秸秆还田对土壤 CO_2 及 N_2O 排放的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36 (9): 1908 – 1915.
- [33] Wüst P K, Horn M A, Henderson G, et al. Gut – associated denitrification and *in vivo* emission of nitrous oxide by the earthworm families megascolecidae and lumbricidae in New Zealand [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (11): 3430 – 3436.
- [34] 韩兴国, 王智平. 土壤生物多样性与微量气体 (CO_2 、 CH_4 、 N_2O) 代谢 [J]. 生物多样性, 2003, 11(4): 322 – 332.