

稳定同位素质谱技术在生态系统氮素循环中的应用

袁红朝¹, 葛体达¹, 陈晓娟^{1,2}, 张丽萍¹, 王久荣¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南 长沙 410125; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:自然界中,氮的放射性同位素半衰期短,因此¹⁵N是唯一适用的天然示踪物。采用¹⁵N稀释或者富集技术,通过检测不同形态¹⁵N的丰度,能够较真实地了解陆地生态系统中氮素的固定、矿化、硝化和反硝化等过程。本工作简述了陆地生态系统中氮素循环的各个过程及¹⁵N同位素分馏机制,简要介绍了稳定氮同位素的测定方法,系统论述了稳定氮同位素技术在生物固氮及土壤氮素转化过程中的研究现状,并在此基础上预测了该方法在国内氮素循环研究中的应用前景。

关键词:稳定同位素质谱;氮同位素;氮循环;生态系统;同位素分馏

中图分类号:O 657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2015)01-0091-06

doi:10.7538/zpxb.youxian.2014.0045

Application of Stable Isotope Mass Spectrometry in the Ecology of Nitrogen Cycle

YUAN Hong-zhao¹, GE Ti-da¹, CHEN Xiao-juan^{1,2}, ZHANG Li-ping¹, WANG Jiu-rong¹

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region,

Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In nature, radioactive isotope of nitrogen has a very short half-life, so ¹⁵N which is the only suitable natural tracer for ecological nitrogen cycle. Detecting the stable nitrogen isotope natural abundance or using the stable nitrogen isotope-labeled tracer, contributes to our understanding of nitrogen fixation, organic nitrogen mineralization, nitrification and denitrification processes in terrestrial ecosystems. In this paper, the nitrogen cycling processes in ecosystems and the related ¹⁵N isotopic fractionation during every processes were introduced. The theory and methods about the stable nitrogen isotope analysis and its application in the research of nitrogen cycling in recent years were reviewed. Finally, comprehensive summations of the problem existing in current research and in conjunction with the prospects of the future research on nitrogen cycling were proposed.

Key words: stable isotope ratio mass spectrometry; nitrogen isotope; nitrogen cycles; ecosystems; isotopic fractionation

收稿日期:2014-01-13;修回日期:2014-05-08

基金项目:国家自然科学基金(41301275,41271279);中国科学院仪器功能开发项目(Y323018010)资助

作者简介:袁红朝(1981—),女(汉族),湖南邵阳人,助理研究员,从事生态学研究。E-mail: mailxz@163.com

通信作者:王久荣(1966—),女(汉族),湖北襄樊人,教授级高级工程师,从事分析化学研究。E-mail: jrwang@isa.ac.cn

网络出版时间:2014-08-20;网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7538/zpxb.youxian.2014.0045.html

如何减缓大气“温室效应”是全球环境问题中最重要且亟待解决的问题之一^[1-2]。陆地生态系统中的氮循环与大气中温室气体浓度的变化有着密切关系,其中植物和土壤的氮固定和积累能有效降低温室气体浓度^[3-4]。因此,科学地认识陆地生态系统中土壤-植物的氮动态变化过程和调控机制,充分了解生态系统中氮的周转方式、时间和程度,对于提高陆地生态系统的氮固定能力有着重要意义。

稳定同位素与其他技术相比,其优点在于可以无干扰地对生态和环境科学问题进行量化研究。稳定氮同位素技术是研究陆地生态系统中氮循环最科学有效的方法之一^[5-8]。例如,通过在原位添加富含¹⁵N的 NH_4^+ 或 NO_3^- ,测定土壤中¹⁵N和¹⁴N,就能够量化每种微生物的转化量。本工作将从陆地生态系统的氮素循环各个过程中的¹⁵N同位素分馏机制、稳定氮同位素测定的基本原理与方法及其在陆地生态系统氮素转化过程中的研究进展及应用前景等方面展开论述。

1 陆地生态系统氮素循环过程及氮同位素分馏

氮素在陆地生态系统中的循环,大致可人为划分为3个过程:氮素的输入(主要是生物固氮);氮素在生态系统中的转化(主要包括分解、矿化和硝化作用,以及在食物网中的转化);氮素的输出(主要是反硝化和气体挥发),其过程示于图1。微生物是氮循环的驱动泵,而由微生物介导的氮素循环诸过程,包括生物固氮,硝化和反硝化作用等均可能使氮素发生同位素分馏^[9-11]。生物固氮是氮素由气态 N_2 向生态系统输入的主要途径之一^[12],生物固氮过程中的氮同位素分馏很小,同位素分馏因子值与大气 N_2 的同位素效应(0‰)极为相近,这也是生物固氮 $\delta^{15}\text{N}$ 值与大气 $\delta^{15}\text{N}$ 值相近的原因^[13]。在微生物参与的矿化和硝化过程中,氮同位素分馏较为显著。一般来说,矿化和硝化产物的¹⁵N丰度相对于矿化、硝化前的反应底物均有不同程度的贫化作用^[9]。植物对 NO_3^- 、 NH_4^+ 等无机盐的吸收和同化过程也有较大的同位素分馏效应,被吸收、同化后的氮素¹⁵N丰度比吸收同化前产生了富集作用^[14]。在食物网中,食物被捕食后,在同化过程中也会发生同位素分馏,一

般的,捕食动物相对于食物均发生¹⁵N富集现象^[11,15]。氨挥发和反硝化作用是氮素的主要损失途径^[12],氨挥发过程中的同位素分馏通常产生¹⁵N贫化的 NH_3 和¹⁵N富集的 NH_4^+ 库,而反硝化作用也能够产生¹⁵N贫化的气体 N_2O 和 N_2 ,同时使剩余的 NO_3^- 库富集¹⁵N^[16-17]。

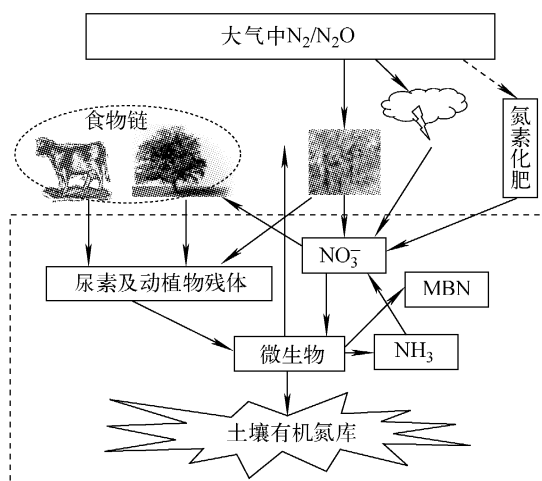


图1 陆地生态系统中氮循环过程

Fig. 1 Nitrogen cycling process in terrestrial ecosystems

2 稳定氮同位素比率的测定方法

稳定同位素的测定大致分3个步骤:1)样品的采集、制备和前处理;2)将样品转化成具有所测元素的纯气体;3)用质谱仪测定同位素比率。近年来,随着稳定同位素质谱技术的飞速发展,样品进行前处理后,可使用商业化的同位素质谱联用装置完成后续的气体转化和测定步骤。如,借助于元素分析仪-同位素质谱(EA-IRMS),多用途气体制备及导入装置-同位素质谱(GasBench II-IRMS)及痕量气体预浓缩装置-同位素质谱(PreCon-IRMS)联用仪可以测定多种形态(如固体、液体和气体)样品中稳定氮同位素比值。

2.1 固体样品中稳定氮同位素比值分析

1) 样品前处理:固体样品包括植物、土壤、动物组织和排泄物等。在进行同位素质谱分析之前,首先将样品在 $60\sim 70\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱中干燥 $24\sim 48\text{ h}$ (植物样品需提前杀青),烘干的样品用研钵、球磨机或磨碎机粉碎,为了保证样品的均匀,粉碎后过60目筛。

2) EA-IRMS 测定样品的氮同位素比值:称量前处理后的样品,通过固体自动进样器送入元素分析仪,样品中含氮物质依次经过元素分析仪的氧化炉和还原炉反应生成 N_2 ,生成的 N_2 通过 Conflo IV 接口进入质谱仪 (IRMS-MAT253),得到 $^{15}N/^{14}N$ 比值。EA-IRMS 稳定氮同位素分析示意图示于图 2。

2.2 液体样品中稳定氮同位素比值分析

1) 样品的前处理:液体样品包括土壤 NH_4^+ 、 NO_3^- 和动物尿液等,在同位素质谱分析前,样品需进行分离转化、冷冻干燥等前处理步骤。其中,土壤 NH_4^+ 和 NO_3^- 样品用 1 mol/L KCl 按 1:4 的土液比浸提土壤获得。通常土壤提取液中的 NH_4^+ 被 MgO 蒸馏或扩散成 NH_3 ,再浓缩成铵盐,对于硝酸盐应加入戴氏合金还原剂,在碱性蒸馏条件下将提取液中的硝酸盐还原成铵盐。而亚硝酸盐中的 ^{15}N 含量通常由含 NO_2^- 的测定值与被氨基磺酸去除 NO_2^- 之后的差值得到。这些方法既费时,又易受大气氮的污染而产生同位素稀释作用,以及引起样品间的交叉污染。曹亚澄等^[19]用

化学方法分别将土壤中微量的铵、硝酸盐和亚硝酸盐转化为 N_2O 气体,然后用带自动预浓缩装置的同位素比值质谱仪测定 N_2O 中的 ^{15}N 丰度。动物尿液经过酸化浓缩、干燥成固体粉末后,可直接通过 EA-IRMS 联用仪测定其氮同位素比值。

2) PreCon-IRMS 联用测定 N_2O 中氮同位素比值:PreCon-IRMS 稳定氮同位素分析示意图示于图 3。 N_2O 气体通过液氮冷阱预浓缩后进入质谱仪 (IRMS-MAT253),得到 $^{15}N/^{14}N$ 比值,具体操作可参考文献[20]。 N_2O 中的 ^{15}N 丰度测量值完全符合铵、硝酸盐和亚硝酸盐的 ^{15}N 参考值。该方法快速、简便、准确,不易受空气氮的污染。

2.3 气体样品中稳定氮同位素比值分析

1) 样品的前处理:气体样品包括空气和培养气体。用已抽真空的顶空样品瓶采集 100~150 mL 空气中的 N_2O ,如果样品中 CO_2 浓度过高,需先用气密性注射器加注一定量(约 200 μ L)的 10 mol/L 氢氧化钠,以去除大部分的 CO_2 气体,降低其对 N_2O 测定的影响。

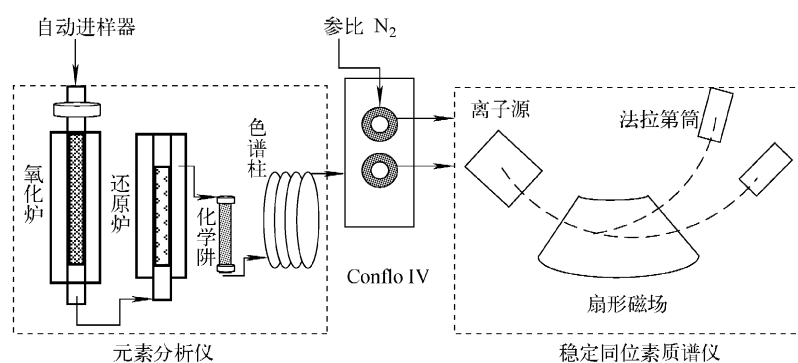


图 2 EA-IRMS 稳定氮同位素分析示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the stable nitrogen isotope analysis by EA-IRMS

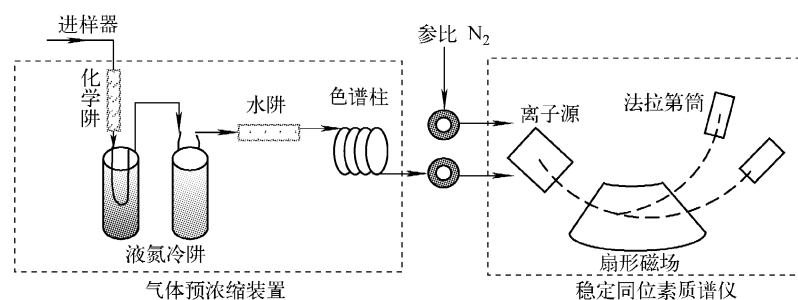


图 3 PreCon-IRMS 稳定氮同位素分析示意图

Fig. 3 Schematic diagram of the stable nitrogen isotope analysis by PreCon-IRMS

2) PreCon-IRMS 联用测定 N_2O 中氮同位素比值的具体操作与液体样品的相同。

3 稳定同位素质谱技术在陆地生态系统氮循环研究中的进展

地球表层是温室气体的源或汇,研究陆地生态系统氮的动态变化和循环特征,已成为当今生态学、生物地球化学和环境科学共同的热点^[21-22]。氮稳定同位素比值($\delta^{15}N$)分析方法在生物固氮、有机氮素的矿化程度评估、 NO_3^-/N_2O 来源探讨等领域得到了广泛应用^[23-26]。在氮素转化和输出过程中(硝化、矿化、反硝化、氨挥发以及氮淋溶等)会发生氮同位素分馏效应,其中矿化对土壤 $\delta^{15}N$ 的变化起主要作用。Kahmen 等^[21] 研究发现,土壤 $\delta^{15}N$ 值随着净氮矿化和净硝化显著增加,而与净氨化表现出不显著的负相关。而 Xu 等^[27] 研究了内蒙古半干旱草原土壤-植物 $\delta^{15}N$ 与该生态系统氮素循环转化之间的关系,通过土壤、植物 $\delta^{15}N$ 值和土壤氮矿化、硝化、反硝化和氨挥发速率的相关性比较,发现土壤 $\delta^{15}N$ 随土层深度而递增,与土壤氮矿化的速率负相关,而与氨挥发和 N_2O 的排放速率显著正相关。以上研究结果表明,表层土 $\delta^{15}N$ 值可作为评估氮淋溶和氮矿化行为的有效指标,是评定不同生态系统植物氮吸收模式和表征土壤氮循环的理想工具。另外,硝化作用和反硝化作用产生 N_2O 的反应基质不同。在硝化作用过程中, N_2O 中的 N 和 O 来自 NH_4^+ 和土壤中的 O_2 ($\delta^{18}O = 23.5\%$) 以及土壤水中的 $O^{[24-25]}$; 在反硝化作用过程中, N_2O 中的 N 和 O 来自 NO_3^- ; 因此,硝化作用和反硝化作用产生 N_2O 的过程存在氮氧同位素分馏的差异,从而导致 N_2O 同位素组成的差异^[26]。由于轻重同位素的分馏,并随着转化作用的进行,同位素比值发生规律性的变化,不同来源 NO_3^- 在同位素水平上具有不同的氮/氧同位素比值特征。所以,测定特定生态系统中 N_2O 和 NO_3^- 的氮氧同位素丰度可为研究 N_2O 的排放途径提供一种可供选择的方法。Wrage 等^[23] 通过对土壤的无机氮中氮稳定同位素自然丰度和 N_2O 的 N 和 O 的稳定同位素自然丰度的测定,替代了原生物抑制剂,并研究了不同水分条件下 4 种欧洲草原土壤 NO_3^-/N_2O 来

源和转化规律。结果发现:随着培养时间的推移,土壤中 NH_4^+ 的浓度不断减小,伴随着残余 NH_4^+ 的相对 ^{15}N 富集和生成的 NO_3^- ^{15}N 贫化;而培养室中 N_2O 浓度在反硝化条件下远高于硝化条件,到培养后期,氧化亚氮浓度往往趋于平稳甚至下降,并伴有 N_2O 的氮同位素和氧同位素值的增加。上述结果说明,草原土壤 NO_3^- 主要由硝化作用产生,而 N_2O 主要来源于反硝化作用,并最终会进一步转化为氮气。

国际上, ^{15}N 标记技术已经广泛地应用于植物固氮、氮的输入、输出及总转化速率^[28-29] 的研究。通过这些研究,极大地提高了人们对生态系统氮循环规律及其影响因素的认识。 ^{15}N 标记示踪技术包括 ^{15}N 的示踪和稀释技术。关于生态系统中氮的输入、迁移和转化过程的研究大多采用 ^{15}N 示踪方法。通过在室内培养密闭条件下添加 $^{15}N_2$,可以研究和量化生物固氮向土壤氮库及对土壤氮库的贡献^[30];通过添加外源标记 $^{15}N^-$ 氮素肥料(有机和无机氮肥),可以研究植物对土壤和外源添加氮素的利用效率^[31-32],以及植物-土壤系统中总氮和有机氮的矿化率^[33-34]。但由于该方法需要添加较多底物而对结果造成影响,因此目前主要采用 ^{15}N 的同位素稀释法来研究氮素总转化速率,研究者只需添加少量底物就能够同时对多个氮素转化过程进行定量研究^[35-36]。兰婷等^[37] 采用 ^{15}N 同位素稀释方法,通过短期室内培养实验估算了不同深度土层水稻土氮的矿化、硝化和固定转化过程的总转化速率。结果表明,氮素总转化速率能比净转化速率更好地描述单个氮素的转化过程,但由于该技术忽略了外源氮的加入对氮素转化的影响、再矿化作用以及氮素转化过程中的气体损失等,研究结果与真实值之间存在一定差异。

4 展望

从目前国外的研究现状来看, ^{15}N 技术已广泛应用于陆地生态系统氮素转化过程以及归趋途径等方面,并取得了比较理想的效果^[38]。但这些研究大多是针对某一子过程或某几个环节,且对这些子过程和环节的研究多停留在规律的探讨上,缺乏对其转化机理的揭示。因此,以下

几方面的问题有待进一步的研究:1) 需从整体观和系统观角度出发,加强对陆地生态系统各个环节氮素周转规律的研究;2) 将自然丰度法与示踪技术相结合,深入研究不同生态系统氮素循环规律的差异及其主要影响因素;3) 通过稳定同位素示踪、氮素模型与分子生物学技术的结合,探讨不同生态系统氮素循环的主要驱动因子及相应的生物或微生物分子机理。

总之,稳定同位素技术已在我国自然生态系统(包括森林、草原和湿地等)和农田生态系统氮素生物地球化学过程的研究中得到了广泛应用^[29,38],并显示出强大的生命力。虽然许多研究还处于探索阶段,尚有许多关键的问题有待解决,但随着稳定同位素分析仪器自动化程度的提高和方法的不断完善,该领域将会进入一个全面发展和应用的新阶段。

参考文献:

- [1] MEINSHAUSEN M, MEINSHAUSEN N, HARE W, et al. Greenhouse-gas emission targets for limiting global warming to 2 °C[J]. *Nature*, 2009, 458:1 158-1 162.
- [2] MIDGLEY G F, BOND W J, KAPOV V, et al. Terrestrial carbon stocks and biodiversity: Key knowledge gaps and some policy implications[J]. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2010, 2:264-270.
- [3] IPCC. In *Climate change 2007: Climate change impacts, adaptation and vulnerability. Working Group II. Geneva, Switzerland (2007)* [EB/OL]. <http://www.ipcc.ch>.
- [4] 魏一鸣, 范英, 韩智勇, 等. *中国能源报告:战略与政策研究*[M]. 北京:科学出版社,2006.
- [5] PETERSON B J, FRY B. Stable isotopes in ecosystem studies[J]. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 1987, 18: 293-320.
- [6] CHAPIN III F S, MATSON P P A. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*[M]. Springer, 2011.
- [7] MICHENER R, LAJTHA K. *Stable isotopes in ecology and environmental science*[M]. Wiley, 2008.
- [8] GHOSH P, BRAND W A. Stable isotope ratio mass spectrometry in global climate change research[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2003, 228(1): 1-33.
- [9] DELWICHE C C, STEYN P L. Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions [J]. *Environmental Science & Technology*, 1970, 4(11): 929-935.
- [10] WADA E. Nitrogen isotope fractionation and its significance in biogeochemical processes occurring in marine environments[J]. *Isotope Marine Chemistry*, 1980, 1: 375-398.
- [11] ROBINSON D. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16(3): 153-162.
- [12] GALLOWAY J N, DENTENER F J, CAPONE D G, et al. Nitrogen cycles: Past, present, and future[J]. *Biogeochemistry*, 2004, 70(2): 153-226.
- [13] HANDLEY L L, RAVEN J A. The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology[J]. *Plant, Cell & Environment*, 1992, 15(9): 965-985.
- [14] UNKOVICH M. Isotope discrimination provides new insight into biological nitrogen fixation[J]. *New Phytologist*, 2013, 198(3): 643-646.
- [15] DENIRO M J, EPSTEIN S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1981, 45(3): 341-351.
- [16] TAMM C O. Introduction: Geochemical occurrence of nitrogen. Natural nitrogen cycling and anthropogenic nitrogen emissions[M]. Springer Berlin Heidelberg, 1991.
- [17] CASCIOTTI K L, BUCHWALD C, SANTORO A E, et al. Assessment of nitrogen and oxygen isotopic fractionation during nitrification and its expression in the marine environment[J]. *Methods in Enzymology*, 2011, 486: 253.
- [18] 王政, 刘卫国, 文启彬. 土壤样品中氮同位素组成的元素分析仪-同位素质谱分析方法[J]. *质谱学报*, 2005, 26(2): 71-75.
WANG Zheng, LIU Weiguo, WEN Qibin. Measurement of nitrogen isotopic composition of soil samples by element analysis-isotope mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2005, 26(2): 71-75 (in Chinese).
- [19] 曹亚澄, 钟明, 龚华, 等. N_2O 产生法测定土壤无机态氮 ^{15}N 丰度[J]. *土壤学报*, 2013, 50(1): 113-119.
CAO Yacheng, ZHONG Ming, GONG Hua, et al. Determining ^{15}N abundance in ammonium, nitrate and nitrite in soil by measuring nitrous oxide produced [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50(1): 113-119 (in Chinese).
- [20] 曹亚澄, 孙国庆, 韩勇, 等. 大气浓度下 N_2O , CH_4 和 CO_2 中氮, 碳和氧稳定同位素比值的质谱

- 测定[J]. 土壤学报, 2008, 45(2): 249-258.
- CAO Yacheng, SUN Guoqing, HAN Yong, et al. Determination of nitrogen, carbon and oxygen stable isotope ratios in N_2O , CH_4 , and CO_2 at natural abundance levels by mass spectrometer [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(2): 249-258(in Chinese).
- [21] KAHMEN A, WANEK W, BUCHMANN N. Foliar $\delta^{15}N$ values characterize soil N cycling and reflect nitrate or ammonium preference of plants along a temperate grassland gradient[J]. *Oecologia*, 2008, 156(4): 861-870.
- [22] NADELHOFFER K J, FRY B. Nitrogen isotope studies in forest ecosystems[J]. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, 1994, 316.
- [23] WRAGE N, LAUF J, del PRADO A, et al. Distinguishing sources of N_2O in European grasslands by stable isotope analysis[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18(11): 1 201-1 207.
- [24] RITTENBERG D, KESTON A S, ROSEBURY F, et al. Studies in protein metabolism: II. The determination of nitrogen isotopes in organic compounds[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1939, 127(1): 291-299.
- [25] BAI S H, SUN F, XU Z, et al. Appraisal of ^{15}N enrichment and ^{15}N natural abundance methods for estimating N_2 fixation by understorey *Acacia leiocalyx* and *A. disparimma* in a native forest of subtropical Australia[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(5): 653-662.
- [26] FORRESTER D I, BAUHUS J, COWIE A L, et al. Mixed-species plantations of *Eucalyptus* with nitrogen-fixing trees: A review[J]. *Forest Ecology and Management*, 2006, 233(2): 211-230.
- [27] XU Y, HE J, CHENG W, et al. Natural ^{15}N abundance in soils and plants in relation to N cycling in a rangeland in Inner Mongolia[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2010, 3(3): 201-207.
- [28] FRY B. *Stable isotope ecology*[M]. Springer, 2006.
- [29] 蔡德陵, 张淑芳, 张经. 天然存在的碳, 氮稳定同位素在生态系统研究中的应用[J]. *质谱学报*, 2003, 24(3): 434-440.
- CAI Deling, ZHANG Shufang, ZHANG Jing. Ecosystem dynamics studies as traced by natural carbon and nitrogen stable isotopes[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2003, 24(3): 434-440(in Chinese).
- [30] KOHLS S J, van KESSEL C, BAKER D D, et al. Assessment of N_2 fixation and N cycling by *Dryas* along a chronosequence within the forelands of the athabasca glacier, Canada[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(5): 623-632.
- [31] 彭佩钦, 仇少君, 侯红波, 等. ^{15}N 交叉标记有机与无机肥料氮的转化与残留[J]. *生态学报*, 2011, 31(3): 858-865.
- PENG Peiqin, QIU Shaojun, HOU Hongbo, et al. Nitrogen transformation and its residue in pot experiments amended with organic and inorganic ^{15}N cross labeled fertilizers[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(3): 858-865(in Chinese).
- [32] LEE ROBERTS T, NORMON R J, FULFORD A, et al. Assimilation of N labeled fertilizer injected at various depths by delayed-flood rice[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2013, 77(6): 2 039-2 044.
- [33] HOEKSTRA N J, LALOR S T J, RICHARDS K G, et al. The fate of slurry-N fractions in herbage and soil during two growing seasons following application[J]. *Plant and Soil*, 2011, 342(1/2): 83-96.
- [34] CHALK P M, MAGALHÃES A M T, INÁCIO C T. Towards an understanding of the dynamics of compost N in the soil-plant-atmosphere system using ^{15}N tracer[J]. *Plant and Soil*, 2013, 362(1/2): 373-388.
- [35] LUXHØI J, NIELSEN N E, JENSEN L S. Effect of soil heterogeneity on gross nitrogen mineralization measured by ^{15}N -pool dilution techniques[J]. *Plant and Soil*, 2004, 262(1/2): 263-275.
- [36] DAVIDSON E A, HART S C, SHANKS C A, et al. Measuring gross nitrogen mineralization, and nitrification by ^{15}N isotopic pool dilution in intact soil cores[J]. *Journal of Soil Science*, 1991, 42(3): 335-349.
- [37] 兰婷, 韩勇, 唐昊冶. 采用 ^{15}N 同位素稀释法研究不同层次土壤氮素总转化速率[J]. *土壤*, 2011, 43(2): 153-160.
- LAN Ting, HAN Yong, TANG Haozhi, et al. Gross nitrogen transformation rates of a paddy soil in different layers by using ^{15}N isotopic dilution method[J]. *Soils*, 2011, 43(2): 153-160(in Chinese).
- [38] 汪庆兵, 张建锋, 陈光才. 基于 ^{15}N 示踪技术的植物-土壤系统氮循环研究进展[J]. *热带亚热带植物学报*, 2013, 21(5): 479-488.
- WANG Qingbing, ZHANG Jianfeng, CHEN Guangcai. Review of nitrogen cycle in plant-soil system based on application of ^{15}N tracer technique[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2013, 21(5): 479-488(in Chinese).