

ICS 13.080.01

CCS B10

T/SSSC

中国土壤学会团体标准

T/SSSC 033—2026

## 黑土区旱地土壤健康评价方法

Soil health assessment method for upland soils in the Black soil zone

2026-07-01 发布

2026-07-01 实施

中国土壤学会 发布

# 目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	2
4 土壤健康评价流程	2
5 田间调查与样本采集	3
5.1 样点布设与田间调查	3
5.2 土壤样品采集	3
5.3 样品前处理与保存	3
6 土壤健康评价备选指标确定	4
7. 指标测定	4
7.1 土壤物理指标	4
7.2 土壤化学指标	4
7.3 土壤生物指标	5
8. 最小数据集指标筛选	6
8.1 主成分分析	6
8.2 综合载荷计算	6
8.3 相关性分析	7
8.4 黑土区旱地土壤健康最小数据集	7
9 土壤健康指数计算	7
9.1 指标赋分	7
9.1.1 评分函数类型确定	7
9.1.2 评分函数建立	8
9.2 土壤健康指数计算	9
9.3 土壤健康等级划分	9
9.4 土壤健康评价报告	10
附录 A 土壤质地的测定	11
附录 B 脲酶活性的测定	13
附录 C 固氮酶活性的测定	14
附录 D 反硝化酶活性的测定	15
附录 E 细菌、真菌及原生动物的 $\alpha$ -多样性指数(Shannon index, Chao1 richness)与 $\beta$ -多样性(即NMDS1值)的测定与计算	16
参考文献	18

# 前言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院生态环境研究中心提出。

本文件由中国土壤学会归口。

本文件起草单位：中国科学院生态环境研究中心、中国科学院东北地理与农业生态研究所、中国科学院南京土壤研究所。

本文件主要起草人：张丽梅、贾仲君、田春杰、张佳宝、韩丽丽、宋晓桐、乔敏、陈卫平、刘四义、黄斯韵、张雅博、丁龙君、朱永官。

# 黑土区旱地土壤健康评价方法

## 1 范围

本文件描述了黑土区旱地土壤健康评价流程、田间调查与样本采集、土壤健康评价备选指标确定及应用、指标测定、最小数据集指标筛选、土壤健康指数计算等内容。

本文件适用于黑土区旱地土壤健康评价，也可为其他区域土壤健康评价提供参考。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 32720 土壤微生物呼吸的实验室测定方法

GB/T 39228 土壤微生物生物量的测定 熏蒸提取法

GB/T 41223 土壤质量 硝化作用潜势的测定和硝化作用的抑制 氧化铵快速试验

GB/T 42487 土壤质量 土壤硝态氮、亚硝态氮和铵态氮的测定 氯化钾溶液浸提手工分析法

HJ 166 土壤环境监测技术规范

HJ 613 土壤 干物质和水分的测定 重量法

HJ 704 土壤 有效磷的测定 碳酸氢钠浸提-钼锑抗分光光度法

HJ 802 土壤 电导率的测定 电极法

HJ 889 土壤 阳离子交换量的测定 三氯化六氨合钴浸提-分光光度法

HJ 962 土壤 pH值的测定 电位法

HJ 974 土壤和沉积物 11种元素的测定 碱熔-电感耦合等离子体发射光谱法

NY/T 296 土壤全量钙、镁、钠的测定

NY/T 889 土壤速效钾和缓效钾含量的测定

NY/T 1121.4 土壤检测 第 4 部分：土壤容重的测定

NY/T 1121.22 土壤检测 第 22 部分：土壤田间持水量的测定-环刀法

T/NAIA 012 土壤磷酸酶活性的测定 磷酸苯二钠比色法

T/NAIA 0280 土壤中全磷、全钾及氟化物的测定 氢氧化钠熔融法

T/JAASS 144 土壤微生物胞外酶活性测定 荧光法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1 黑土 Black soil

本标准中的黑土泛指我国东北黑土区分布的以黑色或暗黑色腐殖质表土层为特征、富含有机碳的土壤，即包括在该区域分布的典型黑土和其他土壤类型（黑钙土、草甸土、暗棕壤、棕壤、褐土、潮土、栗钙土、白浆土、冲积土、沼泽土和泥炭土等，不包括盐碱土和风沙土）。

#### 3.2 土壤健康 Soil health

土壤健康是指土壤作为一个动态生命系统持续维持植物、动物和人类生命活动功能的能力。

本标准中土壤健康评价主要针对现有土地利用和管理背景下，由土壤固有的物理、化学和生物等属性所体现的土壤健康状况。

### 4 土壤健康评价流程

土壤健康评价流程包括以下 4 个环节：（1）土样采集，根据评价区域面积，确定田间取样布点方案，样点布设兼顾代表性和经济可行性，采用统一方法，在同一时间段完成样品采集与保存；（2）指标筛选，采样统一方法测定土壤物理、化学和生物学指标，获取备选指标数据集。参考康奈尔土壤健康评价体系（Comprehensive Assessment of Soil Health, CASH），采用主成分分析结合综合载荷值和相关性分析，筛选建立最小数据集；（3）指标赋分与整合，采用累积概率分布函数，对指标测定值进行标准化并赋分，进一步计算各指标得分均值，得到土壤健康指数；（4）验证与优化：

综合专家意见与用户对评价结果的满意度和意见反馈，对最小数据集指标选取及评分函数进行修订，并对土壤健康指数进行迭代计算与优化。流程图如下：

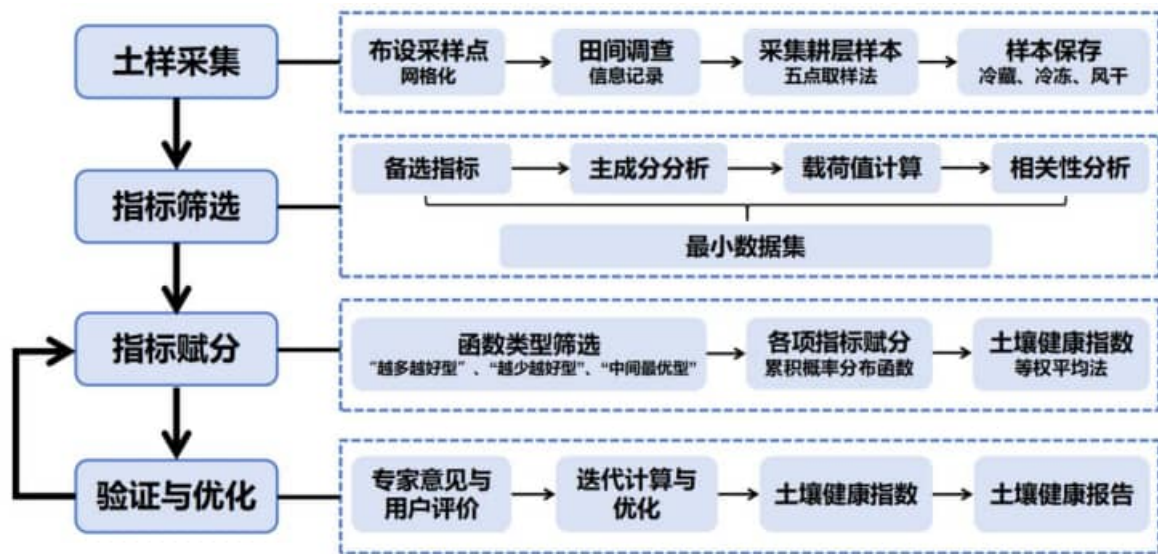


图 1 黑土区旱地土壤健康评价流程

## 5 田间调查与样本采集

### 5.1 样点布设与田间调查

采取网格化布点，网格尽量覆盖不同乡镇，每个网格根据作物类型分布选取 6-9 个样点，每个样点间相距 3-5 km 左右，保证每种作物类型有 4 个以上田块重复。记录样点地理信息（包括经纬度、海拔、坡度等）、土壤类型、作物类型、长势、病害情况等，并向当地农户了解施肥和耕作管理、种植历史等信息。

### 5.2 土壤样品采集

土壤样品采集于作物旺盛生长期（8 月中旬）。采用五点采样法，于作物行内两株作物之间采集土壤样本，取样深度为 20cm。对于土壤采集的技术细节，可参考 HJ 166 的规定执行。

### 5.3 样品前处理与保存

样品经去除可见根系和石砾、过 2 mm 筛后，分装为三份：一份（约 500 g）于 4℃ 冷藏，供土壤生物学和生物化学性质测定；一份（约 100 g）于 -80℃ 或 -20℃ 冰箱保存（如在 -20℃ 下保存，建议相关分析在 6 个月内完成），用于 DNA 提取和微生物多样性分析；其余部分（约 200 g）进行

风干保存，用于理化性质测定。

## 6 土壤健康评价备选指标确定与应用

本标准确定土壤健康评价备选指标共 45 项（表 1）。

表 1 黑土区旱地土壤健康评价备选指标

指标属性	具体指标
物理	容重、田间持水量、质地（粘粒、粉粒、砂粒含量）
化学	电导率、酸碱度、总碳、有机碳、总氮、有机碳氮比、可溶性有机氮、可溶性有机碳、铵态氮、硝态氮、阳离子交换量、微量元素含量（铁、镁、钙、钠、锰）、总磷、总钾、有效磷、速效钾
生物	微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物生物量碳氮比、土壤基础呼吸速率、呼吸熵、土壤酶活性（ $\beta$ -葡萄糖苷酶活性、磷酸单质酶活性、脲酶活性、固氮酶活性）、硝化潜势、反硝化潜势、细菌、真菌及原生生物群落的 $\alpha$ -多样性指数（Shannon、Chao1）、 $\beta$ -多样性（NMDS1）

在样本量较大的情况下，首先选择约 15%的代表性样品进行 45 项指标的分析测定，通过主成分分析、相关分析并结合文献资料整理，初步筛选出了 32 项指标（表 1 中加黑指标）。在此基础上，扩大样本量，对约 50%的样品进行 32 项指标的分析测定，进一步通过主成分分析和相关分析等，结合专家咨询决策，最终筛选出最小数据集指标用于土壤健康评价。

## 7. 指标测定

### 7.1 土壤物理指标

土壤物理指标包括容重、田间持水量、土壤质地（粘粒、粉粒与砂粒含量），共 3 项。容重测定按 NY/T 1121.4 的规定执行，田间持水量测定按 NY/T 1121.22 的规定执行，土壤质地测定按附录 A 的规定执行（本标准中涉及指标已有测定标准的，执行现行标准；尚无测定标准的，其测定方法详见附录，下同）。

### 7.2 土壤化学指标

土壤化学指标包括电导率、酸碱度、总碳、有机碳、总氮、有机碳/总氮比、铵态氮、硝态氮、

阳离子交换量、铁、镁、钙、钠、锰元素含量、总磷、总钾、有效磷、速效钾，共 20 项。电导率按 HJ 802 的规定执行，土壤酸碱度测定按 HJ 962 的规定执行，有机碳含量按《土壤中有机碳的测定 燃烧法》（征求意见稿）的规定执行，土壤总碳、总氮含量按《土壤中总碳和有机质的测定 元素分析仪法》（征求意见稿）的规定执行。有机碳/总氮比按公式（1）计算。

$$\text{SOC/N} = \frac{\text{SOC}}{\text{TN}} \quad (1)$$

式中：

SOC/N——有机碳/总氮比，单位为克每千克（g kg<sup>-1</sup>）；

TN——总氮含量，单位为克每千克（g kg<sup>-1</sup>）。

土壤铵态氮、硝态氮含量测定按 GB/T 42487 的规定执行，阳离子交换量按 HJ 889 的规定执行，铁、镁、钙、锰元素含量按 HJ 974 的规定执行，钠含量按 NY/T 296 的规定执行，总磷与总钾含量按 T/NAIA 0280 的规定执行，有效磷含量按 HJ 704 的规定执行，速效钾含量按 NY/T 889 的规定执行。

### 7.3 土壤生物指标

土壤生物指标包括微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物生物量碳氮比、土壤基础呼吸速率、呼吸熵、β-葡萄糖苷酶活性、磷酸单酯酶活性、脲酶活性、固氮酶活性、反硝化酶活性、硝化潜势、细菌、真菌及原生生物的α-多样性指数（Shannon、Chao1）和β-多样性（NMDS1）共 20 项。

β-葡萄糖苷酶活性测定按 T/JAASS 144 的规定执行，磷酸单质酶活性测定按 T/NAIA 012，脲酶活性测定按附录 B 的规定执行，固氮酶活性的测定按附录 C 的规定执行，反硝化酶活性的测定按附录 D 的规定执行，硝化潜势按 GB/T 41223 的规定执行。

细菌、真菌及原生生物的α-多样性指数（Shannon、Chao1）和β-多样性（NMDS1）测定按附录 E 的规定执行。

土壤微生物生物量碳（MBC）、微生物生物量氮（MBN）测定按 GB/T 39228 的规定执行，土壤基础呼吸速率（SBR）按 GB/T 32720 的规定执行。微生物生物量碳氮比按公式（2）计算，呼吸

熵 ( $q_{CO_2}$ ) 按公式 (3) 计算。

$$MBC/MBN = \frac{MBC}{MBN} \quad (2)$$

式中:

MBC/MBN——土壤微生物生物量碳氮比;

MBC——土壤微生物生物量碳含量, 单位为毫克每千克 ( $mg\ kg^{-1}$ );

MBN——土壤微生物生物量氮含量, 单位为毫克每千克 ( $mg\ kg^{-1}$ )。

$$q_{CO_2} = SBR/MBC \quad (3)$$

式中:

$q_{CO_2}$ ——呼吸熵, 单位为微克每毫克每小时 ( $\mu g\ mg^{-1}\ h^{-1}$ )

SBR——土壤基础呼吸速率, 单位为微克每千克每小时 ( $\mu g\ kg^{-1}\ h^{-1}$ );

MBC——土壤微生物生物量碳, 单位为毫克每千克 ( $mg\ kg^{-1}$ )。

## 8. 最小数据集指标筛选

### 8.1 主成分分析

对上述指标数据做主成分分析, 提取特征值  $\geq 1$  的主成分。统计各指标在每个主成分上的载荷, 选出载荷绝对值  $\geq 0.5$  的指标, 纳入后续分析。

### 8.2 综合载荷计算

计算各指标在所有主成分上的综合载荷 (公式 (4)), 以表征指标在主成分多维空间中的信息贡献度。综合载荷值越大, 表明该指标的信息量越全面。据此, 选取综合载荷值最大的前 10% 的指标, 构建最小数据集。

$$N_{ik} = \sqrt{\sum_{i=1}^k (U_{ik}^2 \lambda_k)} \quad (4)$$

式中:

$N_{ik}$ ——第  $i$  个变量在特征值  $\geq 1$  的前  $k$  个主成分上的综合载荷值;

$U_{ik}$ ——第  $i$  个变量在第  $k$  个主成分上的载荷;

$\Delta k$ ——第  $k$  个主成分的特征值。

### 8.3 相关性分析

分析综合载荷前 10% 指标间的相关性，并剔除与综合载荷值最大值指标相关度大于 0.6 的指标，最终从各主成分中确定一组非冗余核心指标，构成最小数据集。

### 8.4 土壤健康评价最小数据集

经过上述分析，确定 11 项指标纳入土壤健康评价最小数据集。

表 2 黑土区旱地土壤健康评价最小数据集指标

属性	具体指标
物理	容重
	田间持水量
	粘粒含量
	砂粒含量
化学	电导率
	酸碱度
	有机碳
	有效磷
生物	微生物生物量碳
	土壤基础呼吸速率
	呼吸熵

## 9 土壤健康指数计算

### 9.1 指标赋分

#### 9.1.1 评分函数类型确定

参考康奈尔土壤健康评价体系（CASH）、相关文献并结合专家意见，确定每个指标的函数类型，即“越多越好型”、“越少越好型”或“中间最优型”（图 2）。

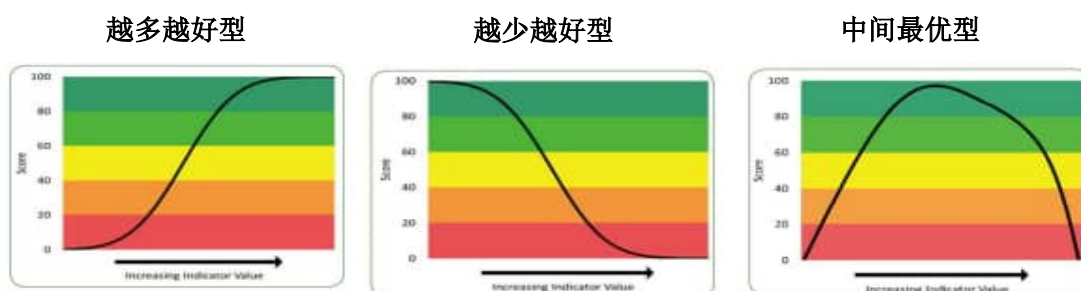


图 2 黑土区旱地土壤健康评价最小数据集指标评分函数类型

表 3 黑土区旱地土壤健康评价最小数据集指标评分函数分类

土壤健康指标	评分函数类型	公式
<b>物理指标</b>		
容重	中间最优型	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ ), $x <$ 阈值; 得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )], $x >$ 阈值
田间持水量	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ )
粘粒含量	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ ) ( $x <$ 65%); 得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )] ( $x >$ 65%)
砂粒含量	越少越好	得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )]
<b>化学指标</b>		
电导率	中间最优型	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ ) ( $x <$ 200 us·cm <sup>-1</sup> ); 得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )] ( $x >$ 200 us·cm <sup>-1</sup> )
酸碱度	中间最优型	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ ), $x <$ 阈值; 得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )], $x >$ 阈值
有机碳	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ )
有效磷	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ )
<b>生物指标</b>		
微生物生物量碳	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ )
土壤基础呼吸速率	越多越好	得分 = 100* CND( $\mu, \sigma$ )
呼吸熵	越少越好	得分 = 100* [1-CND( $\mu, \sigma$ )]

### 9.1.2 评分函数建立

获取每个指标全部测定数据的高斯分布参数（平均值和标准差），根据上述确定的评分函数类型（即“越多越好型”、“越少越好型”、“中间最优型”），得到各指标的累积概率分布函数（Cumulative Normal Distribution, CND）（公式（5）），观测值对应的概率值（p）乘以 100 即为无量纲赋值。

$$p=f(x, \mu, \sigma)=\frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}}\int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx \quad (5)$$

式中：

p（介于 0 到 1）——观测变量值 x 落在区间内（ $+\infty, -\infty$ ）某一位置的概率值；

$\mu$ ——指标平均值；

$\sigma$ ——为指标标准差。

## 9.2 土壤健康指数计算

采用等权重计算土壤健康指数（Soil health index, SHI），即各指标得分均值为土壤健康指数。

即采用公式（6）

$$\text{Soil health index} = \frac{\sum(\text{Score}_{BD} + \text{Score}_{WHC} + \text{Score}_{Clay} + \text{Score}_{Sand} + \text{Score}_{EC} + \text{Score}_{pH} + \text{Score}_{SOC} + \text{Score}_{AP} + \text{Score}_{MBC} + \text{Score}_{Resp} + \text{Score}_{qCO2})}{11} \quad (6)$$

式中：

Soil health index——土壤健康指数；

Score<sub>BD</sub>——土壤容重得分；

Score<sub>WHC</sub>——土壤田间持水量得分；

Score<sub>Clay</sub>——土壤黏粒含量得分；

Score<sub>Sand</sub>——土壤砂粒含量得分；

Score<sub>EC</sub>——土壤电导率得分；

Score<sub>pH</sub>——土壤酸碱度得分；

Score<sub>SOC</sub>——土壤有机碳含量得分；

Score<sub>AP</sub>——土壤有效磷含量得分；

Score<sub>MBC</sub>——土壤微生物生物量碳得分；

Score<sub>Resp</sub>——土壤基础呼吸速率得分；

Score<sub>qCO<sub>2</sub></sub>——土壤呼吸熵得分。

邀请专家和农户对土壤健康评价的初步结果进行评议，根据其反馈意见，对最小数据集指标选取、评分函数等进行优化、验证及修订。

## 9.3 土壤健康等级划分

根据全部样本的土壤健康指数分布情况，对土壤综合健康状况给予定性评级（等级从低到高分

别为：五级、四级、三级、二级、一级）。

表 4 土壤健康等级划分表

土壤健康指数	0-20	20-40	40-60	60-80	80-100
等级	五级	四级	三级	二级	一级
健康程度	不健康	亚健康	中等健康	良好	优

#### 9.4 土壤健康卡

土壤健康卡包含各土壤健康评价最小数据集指标的测量值和赋分值，以及土壤健康综合指数和等级，以便于农田管理者使用。具体说来，包含以下 3 部分内容：

(1) 土壤背景信息栏：包括样品编号、采样日期、地点、经纬度、海拔、地形、土壤类型、作物类型、耕作方式、排水状况、作物长势等信息；

(2) 土壤健康指标栏：包括土壤健康指标的名称、测定值、赋分值，及其对应的土壤受限功能；

(3) 土壤健康状况综合评价栏：包括土壤健康指数和等级。

土壤健康卡示例如下。

表 5 土壤健康卡示例

土壤健康卡 1				
编号：CC21W002	土壤健康指标	测量值	赋分值 (百分制)	土壤受限功能
地点：双辽市王奔镇	物理指标			
	容重 ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	1.09	78	
经纬度：123.671629, 43.403961	田间持水量 (%)	44.01	76	
	粘粒含量 (%)	7.93	63	
海拔：107 m	砂粒含量 (%)	10.57	75	
	化学指标			
坡度： $<2^\circ$	电导率 ( $\mu\text{m}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	146.70	88	
	酸碱度	7.69	81	
土壤类型：草甸土	有机碳 ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	20.67	48	
	有效磷 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	131.95	100	
作物：玉米	生物指标			
	微生物生物量碳	689.49	100	

<b>田间观察情况:</b> 土壤质地疏松, 作物生长旺盛。  <b>土壤健康状况:</b> 土壤各项指标优良, 无明显限制因子, 保水供肥能力强, 生物活性高。	( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )			
	土壤基础呼吸速率 ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	615.62	69	
	呼吸熵 ( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	0.89	78	
	<b>土壤健康总分</b>	—	<b>77.82</b>	<b>健康程度: 二级 (良好)</b>
<b>土壤健康卡 2</b>				
<b>编号: CC21W023</b>  <b>地点:</b> 公主岭市刘房子街道  <b>经纬度:</b> 124.858727, 43.604523  <b>海拔:</b> 160 m  <b>坡度:</b> $<2^\circ$  <b>土壤类型:</b> 黑土  <b>作物:</b> 玉米  <b>田间观察情况:</b> 土壤较紧实, 玉米长势一般。  <b>土壤健康状况:</b> 土壤化学、物理、生物性质均存在限制因子, 主要为酸胁迫、作物养分供应能力差、保水性差、生物活性低。	<b>土壤健康指标</b>	<b>测量值</b>	<b>赋分值 (百分制)</b>	<b>土壤受限功能</b>
	<b>物理指标</b>			
	容重 ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	1.43	75	
	田间持水量 (%)	28.94	30	土壤保水性差
	粘粒含量 (%)	5.1	51	
	砂粒含量 (%)	3.1	86	
	<b>化学指标</b>			
	电导率 ( $\mu\text{m}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	53.20	14	养分供应能力低
	酸碱度	5.16	11	酸胁迫
	有机碳 ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	10.88	18	有机质含量低
	有效磷 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	52.65	50	
	<b>生物指标</b>			
	微生物生物量碳 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	233.78	60	
	土壤基础呼吸速率 ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	322.21	36	土壤生物活性低
呼吸熵 ( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	1.42	72		
<b>土壤健康总分</b>	—	<b>45</b>	<b>健康程度: 三级 (中等健康)</b>	

## 附录 A 土壤质地的测定

采用激光粒度分析法对土壤质地进行测定。

称取 0.5 g 风干样品于 100 ml 小烧杯中，加入 10 ml 10% 双氧水，置于电炉上加热，加热过程中不断用水冲洗烧杯壁，防止烧开，加热至混合液变清没有细小泡沫，以除去样品中的有机质，然后加入 10 ml 10% 盐酸加热至沸腾，以除去样品中的碳酸盐。从电炉上取下小烧杯，排放整齐后注满去离子水，静置浸泡 12 h 后，将上清液小心抽取，抽至保留约 10 ml，最后加入 10 ml 分散剂（0.05M 六偏磷酸钠溶液），置于超声波振荡器 2~8 min，以形成高分散的颗粒悬浮液，通过激光粒度仪（Mastersizer 2000, Malvern, USA）分析各粒级百分含量、粒度累积曲线及平均粒径、中值粒径、标准偏差（SD）、偏度（SK）、尖度（Kg）等粒度参数，三次平行分析误差低于 2%。

粒径分级：粒径小于 2 $\mu\text{m}$  的土壤颗粒划分为粘粒；粒径介于 2 $\mu\text{m}$  与 50 $\mu\text{m}$  的土壤颗粒划分为粉粒；粒径大于 50 $\mu\text{m}$  的土壤颗粒划分为砂粒。粘粒、粉粒与砂粒含量的单位为百分比（%）。采用以下公式（A.1、A.2、A.3）对激光粒度分析法测得的土壤粘粒、砂粒和粉粒含量进行修正：

$$Clay_{revised} = 1.84 \times Clay_{measured} - 8.45 \quad (\text{A.1})$$

式中：

$Clay_{revised}$ ——修正后的粘粒含量，单位为百分比（%）；

$Clay_{measured}$ ——激光粒度分析法测得的粘粒含量，单位为百分比（%）。

$$Sand_{revised} = 1.10 \times Sand_{measured} + 2.42 \quad (\text{A.2})$$

式中：

$Sand_{revised}$ ——修正后的砂粒含量，单位为百分比（%）；

$Sand_{measured}$ ——激光粒度分析法测得的砂粒含量，单位为百分比（%）。

$$Silt_{revised} = 100 - (Clay_{revised} + Sand_{revised}) \quad (\text{A.3})$$

式中： $Silt_{revised}$ ——修正后的粉粒含量，单位为百分比（%）。

## 附录 B 脲酶活性的测定

利用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定土壤脲酶活性。

取 5 g 鲜土或 10 g 干土，置于 50 mL 三角瓶中，加入 1 mL 甲苯，混匀后静置 15 min。加 10 mL 10% 尿素液和 20 mL 柠檬酸盐缓冲液（pH 6.7），摇匀后在 37 °C 恒温箱中培养 24 h。培养结束后过滤，取 3 mL 滤液于 50 mL 容量瓶，加水至 20 mL 左右，再加 4 mL 苯酚钠溶液，混合均匀后加入 3 mL 次氯酸钠溶液，充分摇匀，放置 20 min 后定容。一小时之内将反应液在紫外分光光度计上于波长 578 nm 处进行比色测定，记录吸光度值。同时，设置氨浓度标准曲线、无土空白对照以及无基质空白对照。

脲酶活性按公式 (B.1) 计算。

$$UE = \frac{(C_{\text{样品}} - C_{\text{无土对照}} - C_{\text{无基质对照}}) \times V \times n}{m \times t} \quad (\text{B.1})$$

式中：

UE——脲酶活性，单位为毫克每克每天（ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ）； -

$C_{\text{样品}}$ ——根据样品吸光度在标准曲线求得的氨浓度，单位为毫克每毫升（ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）；

$C_{\text{无土对照}}$ ——无土壤对照的氨浓度，单位为毫克每毫升（ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）；

$C_{\text{无基质对照}}$ ——无基质对照的氨浓度，单位为毫克每毫升（ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）；

V——显色液体积，单位为毫升（ml）；

n——稀释倍数，无单位；

m——土壤干重，单位为克（g）；

t——培养时间，单位为天（d）。

## 附录 C 固氮酶活性的测定

将 10 g 鲜土置于 120 ml 灭菌的血清瓶中，向瓶中加入 4 ml 葡萄糖（1mg C/g dry soil）和苹果酸钠溶液（1mg C/ g dry soil），并补充无菌水至饱和含水量状态；用橡皮塞和铝盖密封瓶口加入 10 % 的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>（Air : C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> = 90 : 10）转换顶空气体，于 25°C 培养箱中避光培养 24 h。同时设置不加入土壤的空白瓶作为对照。利用气相色谱测定瓶内上空乙烯的浓度。

固氮酶活性按公式（C.1）计算。

$$Nif = \frac{(C - C_0) \times V \times 1000}{m \times 22.4} \quad (C.1)$$

式中：

Nif——固氮酶活性，单位为纳摩尔每克土每天（nmol·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>）；

C——样品瓶内乙烯浓度，单位为百万分比浓度（ppm）；

C<sub>0</sub>——空白瓶内乙烯浓度，单位为百万分比浓度（ppm）；

V——培养瓶内气体的有效体积，单位为毫升（ml）；

m——土壤干重，单位为克（g）；

22.4——标准状况下气体摩尔体积，单位为毫升每微摩尔（mL·μmol<sup>-1</sup>）或升每摩尔（L·mol<sup>-1</sup>）。

## 附录 D 反硝化酶活性的测定

准确称取 5 g 鲜土于玻璃血清瓶中，加入 5–10 ml 蒸馏水，充分振荡混匀，用橡皮塞和铝盖密封瓶口。向血清瓶橡皮塞上插入长针头至接近液面位置，向血清瓶内充入高纯氮气，同时在橡皮塞上插入另一根短针头以充分置换气体，整个过程持续 5 min。停止充氮气后，向瓶内充入 10 % (V/V) 的乙炔气体 (10 ml)，充分混匀，调节大气压至一个标准大气压。加入 8 ml DEA 溶液 (56 mg KNO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>, 288 mg L<sup>-1</sup> 葡萄糖-C, 和 2 mg L<sup>-1</sup> 氯霉素) 混匀，制造微弱正压，立刻抽取 20 ml 气体测定 N<sub>2</sub>O 初始浓度。将处理好的血清瓶置于 25 °C 避光培养 12 h 后再次抽取 20 ml 气体，用气相色谱法测定 N<sub>2</sub>O 气体的含量。

反硝化酶活性按公式 (D.1) 计算。

$$DEA = \frac{(C_t - C_0) \times V}{m \times t} \quad (D.1)$$

式中：

DEA——反硝化酶活性，单位为微克每千克土每小时 ( $\mu\text{g N}_2\text{O-N} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )；

C<sub>t</sub>——培养后样品瓶内 N<sub>2</sub> O-N 浓度，单位为百万分比浓度 (ppm)；

C<sub>0</sub>——培养前样品瓶内 N<sub>2</sub> O-N 浓度，单位为百万分比浓度 (ppm)；

V——培养瓶内气体的有效体积，单位为毫升 (ml)；

m——土壤干重，单位为克 (g)；

t——培养时间，单位为天 (d)；

m——土壤干重，单位为克 (g)；

t——培养时间，单位为小时 (h)。

## 附录 E 细菌、真菌及原生生物的 $\alpha$ -多样性指数 (Shannon index, Chao1 richness) 与 $\beta$ -多样性 (即 NMDS1 值) 的测定与计算

称取 0.5 g 新鲜或低温冷冻土样, 使用 DNesay PowerSoil Kit (QIAGEN GmbH, Germany) 进行土壤样品中的总 DNA 的提取。使用 Nanodrop 分光光度计 (Thermoscientific, Wilmington, DE) 进行 DNA 浓度和纯度的测定。

利用 Illumina 公司的 NovaSeq PE250 平台, 采用 16S rRNA 基因 V3-V4 区的特异性引物 515FmodF (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 与 806RmodR (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') 对细菌群落进行 PCR 扩增 (Caporaso et al., 2011); 采用真菌 ITS 区特异性引物 fITS7 (5'-GTGARTCATCGAATCTTTG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 对真菌群落进行 PCR 扩增 (Ihrmark et al., 2012); 采用 18S rRNA V4 区微型真核生物通用引物 TAReuk454FWD1F (5'-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3') 和 TAReukREV3R (5'-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3') 对原生生物群落进行 PCR 扩增 (Stoeck et al., 2010)。

在 QIIME 1.9.0 软件平台使用 USEARCH (Edgar, 2010) 对原始序列进行处理。首先将引物序列及低质量 (Q score < 30) 序列的末端进行裁剪后进行合并, 并去除合并后错误值大于 0.5 的序列。采用 UNIOSE3 方法去除序列中的嵌合体, 按照序列相似度 100% 进行降噪以形成“零半径 OTUs” (Zero-radius OTUs, ZOTUs) (Edgar, 2016)。基于各样本的测序深度以及稀释曲线结果确定抽平序列数, 产生的 ZOTU 表进行下游分析。使用 alpha\_diversity.py 脚本计算 $\alpha$ -多样性, 获得细菌、真菌和原生生物的 Shannon 多样性指数和 Chao1 丰富度指数。采用公式 (E.3) 计算土壤微生物群落的 Bray - Curtis 距离矩阵, 基于该矩阵进行非度量多维尺度排序 (NMDS), 提取第一轴坐标值 (NMDS1) 作为微生物群落的 $\beta$ -多样性指数。

香农多样性指数按公式 (E.1) 计算。

$$\text{Shannon index} = - \sum_{i=1}^S p_i \ln(p_i) \quad (\text{E.1})$$

式中：

Shannon index——香农多样性指数；

$p_i$ ——第  $i$  个分类单元的相对丰度，即第  $i$  个分类单元的序列数占该样品总序列数的比例；

$S$ ——该样品中观测到的分类单元总数。

Chao1 丰富度指数按公式 (E.2) 计算。

$$\text{Chao1 richness} = S_{\text{obs}} + \frac{F_1 \times (F_1 - 1)}{2(F_2 + 1)} \quad (\text{E.2})$$

式中：

Chao1 richness——丰富度指数；

$S_{\text{obs}}$ ——物种总数；

$F_1$ ——丰度为 1 的物种数量；

$F_2$ ——丰度为 2 的物种数量。

Bray - Curtis 群落相异性指数按公式 (E.3) 计算。

$$BC_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^S |x_{ik} - x_{jk}|}{\sum_{k=1}^S (x_{ik} + x_{jk})} \quad (\text{E.3})$$

式中：

$BC_{ij}$ ——样品  $i$  和样品  $j$  之间的 Bray - Curtis 相异性；

$x_{ik}$ ——第  $k$  个微生物类群在样品  $i$  中的相对丰度或标准化丰度；

$x_{jk}$ ——第  $k$  个微生物类群在样品  $j$  中的相对丰度或标准化丰度；

$S$ ——样品中检测到的微生物类群总数。

## 参考文献

- [1] FAO. Global status of black soils[M/OL] FAO, 2022.
- [2] LEHMANN J, BOSSIO D A, KÖGEL-KNABNER I, et al. The concept and future prospects of soil health[J/OL]. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2020, 1(10): 544-553. DOI:10.1038/s43017-020-0080-8.
- [3] FINE A K, VAN ES H M, SCHINDELBECK R R. Statistics, Scoring Functions, and Regional Analysis of a Comprehensive Soil Health Database[J/OL]. *Soil Science Society of America Journal*, 2017, 81(3): 589-601.
- [4] MOEBIUS-CLUNE B N, MOEBIUS-CLUNE B K, GUGINO O J, et al. Comprehensive Assessment of Soil Health - The Cornell Framework Manual[M/OL]// Edition 3.0. New York: Cornell University, 2016.
- [5] 吴焕焕, 吕家珑, 段英华等. 激光衍射法测定中国典型土壤颗粒分布的模型建立与验证[J/OL]. *中国农业科学*, 2013, 46(20): 4293-4300.
- [6] CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J/OL]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108: 4516-4522.
- [7] IHRMARK K, BÖDEKER I T M, CRUZ-MARTINEZ K, et al. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities[J/OL]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 82(3): 666-677.
- [8] STOECK T, BASS D, NEBEL M, et al. Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water[J]. 2010, 19: 21-31.
- [8] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J/OL]. *Bioinformatics* (Oxford, England), 2010, 26(19): 2460-2461.
- [9] EDGAR R C. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing[A/OL]. *bioRxiv*, 2016: 081257.
-