

玉米与不同覆盖作物长期轮作对黑土有机碳积累及其在不同团聚体中分布的影响^①

宋世豪^{1,2}, 李丹丹², 刘梦璇^{1,2}, 潘多锋³, 陈金林^{1*}, 赵炳梓^{2,4*}

(1 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037; 2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135; 3 黑龙江省农业科学院草业研究所, 哈尔滨 150086; 4 中国科学院大学南京学院, 南京 211135)

摘要: 本研究以位于哈尔滨典型黑土的 5 年田间长期试验为研究平台, 比较了玉米单作(CK)、黄花草木樨-玉米轮作(F1)和绛三叶-玉米轮作(F2)对土壤有机碳及其在不同粒级团聚体中分布的影响, 并从细菌、真菌、丛枝菌根真菌组成变化角度挖掘其微生物机制。结果表明, F1 和 F2 处理提升土壤有机碳效应类似, 平均显著提升约 28.9%, F1 处理的土壤有机碳提升主要通过招募 Glomerales、Glomeromycota 和 Glomeromycetes 等球囊菌门物种驱动有机碳固存于 >2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级团聚体所致, 该两粒级团聚体碳占土壤总有机碳的 63.6% 以上。而 F2 处理的土壤有机碳提升主要通过招募 Glomerales, 驱动有机碳固存于 0.25 ~ 2 mm 粒级团聚体; 同时通过抑制 Glomeromycota, 增加 <0.053 mm 粒级碳固存; 该两粒级团聚体碳占土壤总有机碳的 62.5% 以上。上述各粒级碳固存的增加均通过同时增加团聚体质量占比及团聚体有机碳含量来实现, 从而导致 F1 比 F2 处理土壤具有更强的结构稳定性, 主要表现为 F1 比 F2 处理土壤具有更高的团聚体平均重量直径和几何平均直径。研究结果揭示了丛枝菌根真菌在覆盖作物/主作物轮作系统中提升土壤有机碳的重要性, 并表明不同覆盖作物提升土壤有机碳的微生物机制不同。

关键词: 覆盖作物; 团聚体; 有机碳; 共现网络

中图分类号: S551.6 **文献标志码:** A

Effect of Long-term Rotation of Maize with Different Cover Crops on Accumulation of Organic Carbon in Black Soil and Its Distribution in Different Size Aggregates

SONG Shihao^{1,2}, LI Dandan², LIU Mengxuan^{1,2}, PAN Duofeng³, CHEN Jinlin^{1*}, ZHAO Bingzi^{2,4*}

(1 Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 3 Institute of Forage and Grassland Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 4 University of Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Nanjing 211135, China)

Abstract: In this study, a 5-year field long-term experiment was conducted on typical black soil to compare the effects of maize monoculture (CK), sweet clover (*Melilotus officinalis* L.)-maize rotation (F1), and crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.)-maize rotation (F2) on soil organic carbon (SOC) (0–20 cm) and its distribution across different size aggregates, and the microbial mechanisms were also explored behind these effects were by analyzing alterations in the composition of bacteria, fungi, and arbuscular mycorrhizal fungi. The results showed that SOC enhancement effects of F1 and F2 were similar, with an average significant increase of approximately 28.9%. SOC enhancement under F1 was primarily driven by the recruitment of Glomerales, Glomeromycota and Glomeromycetes, which contributed to SOC sequestration in >2 mm and 0.25–2 mm aggregates, accounting for over 63.6% of total SOC. Conversely, SOC enhancement under F2 was mainly achieved by recruiting Glomerales to drive SOC sequestration in 0.25–2 mm aggregates, while inhibiting Glomeromycota to enhance carbon sequestration of <0.053 mm aggregates, which constituted more than 62.5% of total SOC. The increase in carbon sequestration in each size aggregates mentioned above was achieved by simultaneously increasing the proportion of aggregate mass and organic carbon content of

①基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA28010302)、国家重点研发计划项目(2022YFD1500303)和国家现代农业产业技术体系建设项目(CARS-03)资助。

* 通信作者(jlchen@njfu.edu.cn; bzhao@issas.ac.cn)

作者简介: 宋世豪(1999—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事土壤结构及微生物研究。E-mail: 1501865456@qq.com

aggregates, leading to stronger soil structural stability under F1 compared to F2, which was primarily manifested by the higher MWD and GMD of F1 compared to F2. The results revealed the significance of arbuscular mycorrhizal fungi in enhancing SOC within crop rotation systems involving cover crops, and indicated that different cover crops employ distinct microbial mechanisms to increase SOC.

Key words: Cover crops; Aggregate; Soil organic carbon; Co-occurrence network

覆盖作物是指主要作物在生长期或收获后,在时间上或空间上能够填充土壤裸露间隙的作物^[1-2]。目前,已有大量研究指出,覆盖作物能通过向土壤直接输入有机碳源、促进土壤团聚体形成以及招募本土有益微生物等方式促进土壤有机碳的固存^[3-8]。其中,豆科覆盖作物因其具有更高的微生物碳利用效率,在提升土壤有机碳含量效果上优于非豆科类覆盖作物^[3, 9-12]。如 Hu 等^[9]研究表明,豆科覆盖作物种植下土壤微生物生物量碳和轻组分有机碳的效应量分别提升 37% 和 29%,分别高于非豆科覆盖作物 0.42 倍和 5.47 倍。

土壤团聚体作为土壤结构的重要组成部分,其粒径分布及稳定性对土壤肥力有着重要影响^[13-14]。覆盖作物可以通过改变土壤团聚体粒径组成改善土壤结构,提高土壤肥力^[15-16],且不同覆盖作物类型对土壤团聚体不同粒级的占比影响不同。已有研究报道,覆盖作物-主作物轮作有利于土壤大团聚体的形成^[17],例如,多毛紫云英与玉米轮作可以提高 0.25 ~ 2 mm 大团聚体的占比^[18],其能显著增加水稳性团聚体的平均质量直径,从而提高土壤团聚体的稳定性^[19-20];也有研究认为,覆盖作物可以通过增加微团聚体进一步保护与矿物结合的碳来提高土壤有机碳固存^[21-22],比如,黑燕麦与玉米轮作可以显著提高 <0.25 mm 团聚体的占比^[23]。

覆盖作物与玉米轮作能改变土壤细菌、真菌和丛枝菌根真菌等微生物的群落组成^[15],这可能是由于覆盖作物残渣分解和根系分泌物为微生物生长提供了充足的养分来源^[24-25]。已有不少研究报道,玉米与毛叶苕子轮作可以显著提高微生物数量^[26];小麦-豇豆轮作能显著提高作物根际丛枝菌根真菌的数量^[27],而丛枝菌根真菌菌丝体产生的球囊霉素相关蛋白等已被报道有利于促进土壤团聚体的形成^[28]。

我国东北地区是世界三大黑土带之一。近年来,由于土地高强度利用、耕作方式不当以及土壤侵蚀加剧等因素,东北黑土地正面临黑土层变薄、有机质含量下降等问题^[29]。种植覆盖作物是一种提高土壤有机碳的有效措施,但其固碳机制尚需深入研究。本研究以我国东北典型黑土区的 5 年长期田间试验为平

台,探究不同覆盖作物品种与玉米轮作对土壤有机碳及其在不同粒级团聚体中分布的影响,并基于高通量测序分析细菌、真菌和丛枝菌根真菌群落组成的变化,从而明确不同粒级团聚体碳固存对土壤有机碳的贡献,并甄别与不同粒级团聚体碳固存有关的特定微生物物种。

1 材料与方法

1.1 长期试验设计

田间试验始于 2018 年 4 月,试验地点为黑龙江省哈尔滨市道外区民主乡光明村(45°50'N, 126°51'E),试验开始前该试验点常年进行玉米(*Zea mays* L.)连作。该地区位于松嫩平原中南部,属于寒温带季风气候,年平均气温 5.4 °C,≥10 °C 有效积温 2 700 °C 以上,年平均光照 2 641 ~ 2 732 h,年平均降水 533 mm,年平均蒸发 1 315 mm。土壤类型为发育自洪积黄土状黏土的黑土。试验开始前的土壤基本性质为 pH 7.22,有机碳含量 17.21 g/kg,全氮 1.47 g/kg。

试验设置 3 个处理:玉米单作(CK)、黄花草木樨(*Melilotus officinalis* (L.) Pall.)-玉米轮作(F1)、绛三叶(*Trifolium incarnatum* L.)-玉米轮作(F2)。除 CK 处理外,其他两个处理均为第一年种植覆盖作物、第二年种植玉米进行轮作。作物均种植在垄上且两垄间距统一为 65 cm,每条垄上玉米株距为 20 cm。草木樨种植密度为 37.5 kg/hm²,绛三叶种植密度为 75 kg/hm²。每个处理设置 3 个重复,共有 9 个小区。小区随机分布,每个小区面积为 16.25 m²(3.25 m×5 m)。每年作物收获后,其秸秆均利用粉碎机粉碎后还田。玉米季施肥采用当地常规施肥水平,N、P₂O₅、K₂O 施用量分别为 150、75、75 kg/hm²,氮肥 40% 作基肥、60% 在生育期两次追肥(拔节期和孕穗期),磷、钾肥全部作基肥。覆盖作物生长季不施肥。

1.2 样品采集与测定

于 2022 年 7 月覆盖作物生物量最高时采集土壤样品,采用直径 10 cm 的土钻按“S”形采集 0 ~ 20 cm 土样 5 份,混匀后剔除杂质并均分成三等份,一部分风干用于土壤基本性质测定,一部分保存于 -80 °C 用于提取土壤 DNA 并测定土壤微生物群落组成,剩

余部分保存于 -20°C 用于测定土壤可溶性有机碳/氮 (DOC/DON)。同时采集各小区 0~20 cm 原状土壤样品测定土壤团聚体组成。

土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)采用重铬酸钾氧化法和凯氏定氮法测定^[30], DOC、DON 采用 Jones 和 Willett^[31]的方法测定。

1.3 团聚体分级方法

土壤团聚体分级采用湿筛法^[32], 具体操作为: 将一套孔径分别为 2.0、0.25、0.053 mm 的筛子自上而下小心置入团聚体分析仪, 使水面没过套筛; 称取 50 g 风干的原状土, 平铺在 2 mm 筛子上, 并浸泡 10 min。设置团聚体分析仪振幅为 3 cm, 振频为 30 次/min, 时间为 5 min, 最终筛得 >2、0.25~2、0.053~0.25、<0.053 mm 4 种不同粒级的土壤团聚体样品。进一步对筛得样品进行烘干称重以计算每级粒径团聚体的质量占比, 同时测定不同粒径团聚体中有机碳的含量。

1.4 土壤 DNA 提取与高通量测序

称取 0.5 g 鲜土, 使用 Fast DNA Spin Kit for Soil(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, 美国)试剂盒, 依据说明书步骤从鲜土中提取 DNA^[33]。提取的 DNA 纯度和浓度用 NanoDrop ND-1000 分光光度计(ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, 美国)进行检测。使用特异性引物 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')/907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTT-3')、ITS5F(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')/ITS1R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')和 AMV4.5NF(5'-AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG-3')/A MDGR(5'-CCCAACTATCCCTATTAATCAT-3')分别对细菌、真菌和丛枝菌根真菌进行 PCR 扩增。PCR 扩增物利用 Vazyme VAHTSTM DNA Clean Beads (Vazyme, 中国)进行纯化, 利用 PicoGreen dsDNA Assay Kit(Invitrogen, Carlsbad, CA, 美国)试剂盒进行定量。纯化后的产物等摩尔质量混合后使用 Illumina MiSeq 平台的 MiSeq Reagent Kit v3 测序仪进行测序(委托上海派森诺生物科技股份有限公司测定)。

高通量测序所得序列在 QIIME2 软件中采用以下步骤进行分析: 使用 demux 对原始序列数据进行样本拆分, 然后使用 cutadapt (Martin, 2011)切除引物序列, 使用 VSEARCH(Rognes, 2016)插件对数据进行去噪、拼接, 用 UCHISE 算法去除嵌合体, 得到优质序列后使用 UNOISE 算法(cluster_unoise) (minsize=8)进行聚类, 得到各样本特征序列(绝对序列变体, ASV)。最后基于 Sliva、UNITE 和 MaarjAM

分类学数据库分别对细菌、真菌和丛枝菌根真菌 ASV 进行注释。

1.5 数据处理与分析

通过 SPSS 软件, 采用单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 多重比较分析不同处理间指标差异。使用 R4.2.2 软件的 vegan 包进行主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA); 使用置换多元方差分析(Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)判断不同处理间土壤细菌和真菌群落组成的差异。

筛选占总序列 0.1% 以上的 ASVs, 利用 R 语言 psych 软件包计算细菌、真菌和丛枝菌根真菌物种之间的 Spearman 相关性矩阵, 以 $P<0.05$ 为显著性水平、相关系数 $|r|>0.7$, 构建共现网络。利用 Gephi 实现网络可视化, 并进行模块化分析。

不同粒径团聚体有机碳占全土总有机碳比例(团聚体碳占比)、团聚体质量占比、平均质量直径(MWD)、几何平均直径(GMD)计算公式如下^[34]:

$$\text{团聚体质量占比(\%)} = \frac{M_i}{M_t} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{团聚体碳占比(\%)} = \frac{C_i \times M_i}{C_t \times M_t} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{MWD} = \sum \frac{X_i \times M_i}{M_t} \quad (3)$$

$$\text{GMD} = \exp \left[\sum_{i=1}^n W_i \times \ln X_i \right] \quad (4)$$

上述公式中: M_i 为每级团聚体的质量(g), M_t 为土壤总质量(g), C_i 为每级团聚体中有机碳含量(g/kg), C_t 为全土有机碳含量(g/kg), X_i 为每级团聚体的平均直径(mm), W_i 为每级团聚体的质量占土壤总质量的比例。

2 结果

2.1 土壤总有机碳氮和可溶性有机碳氮

与常规种植(CK)相比, 长期轮作(F1、F2)处理均显著提升了土壤总有机碳和全氮含量($P<0.05$, 表 1), 而两个轮作处理之间无显著差异, 其中土壤总有机碳提升约 28.9%, 全氮提升约 42.4%。两个轮作处理对土壤可溶性有机碳含量无显著影响, 但 F1 处理显著增加可溶性有机氮含量, 与 CK 相比增幅约 70%。

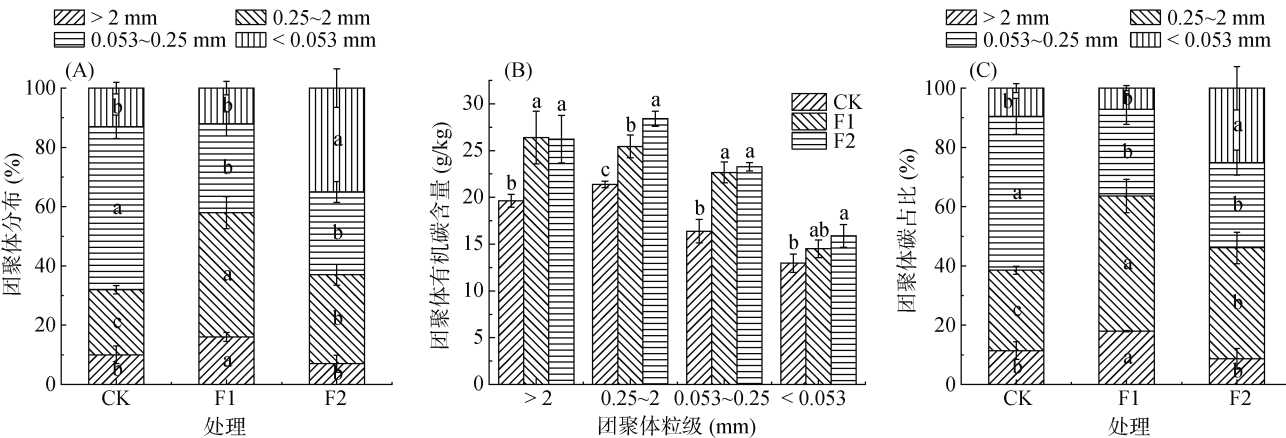
2.2 土壤各粒级团聚体的分布和有机碳含量及团聚体碳占比

比较玉米与不同覆盖作物长期轮作对团聚体分布的影响发现(图 1A), 与 CK 相比, F1 处理显著增

表 1 玉米与不同覆盖作物长期轮作对土壤总有机碳氮和可溶性有机碳氮含量的影响
Table 1 Effects of long-term maize rotation with different cover crops on soil total organic carbon, organic nitrogen, dissolved organic carbon, and dissolved organic nitrogen

土壤性质	CK	F1	F2
SOC (g/kg)	16.43 ± 0.87 b	21.19 ± 0.39 a	21.18 ± 0.99 a
TN (g/kg)	1.18 ± 0.05 b	1.66 ± 0.11 a	1.70 ± 0.14 a
DOC (mg/kg)	4.09 ± 0.31 a	3.92 ± 0.03 a	5.55 ± 1.63 a
DON (mg/kg)	1.94 ± 0.14 b	3.30 ± 0.41 a	2.71 ± 0.92 ab

注：同行数据小写字母不同表示处理间差异显著($P<0.05$)。



(柱状图上的误差线为标准误，不同小写字母表示相同粒径不同处理间的差异显著($P<0.05$)，下图同)

图 1 玉米与不同覆盖作物长期轮作对团聚体各粒径质量比例(A)、有机碳含量(B)、团聚体碳占比(C)的影响
Fig.1 Effects of long-term maize rotation with different cover crops on aggregate mass proportion (A), organic carbon content (B), and aggregate carbon proportion (C) in each size aggregates

加了>2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒径大团聚体质量占比，分别增加 58.6% 和 91.5%；同时显著降低了 0.053 ~ 0.25 mm 粒径质量占比，降幅约 45.2%，对<0.053 mm 的粉黏粒占比无显著影响。而 F2 处理主要表现为 0.25 ~ 2 mm 粒径大团聚体和<0.053 mm 粉黏粒质量占比的显著增加，增幅分别为 34.4% 和 176%；同时 0.053 ~ 0.25 mm 粒径团聚体质量占比显著降低约 49.7%，而>2 mm 粒径团聚体质量占比影响不显著。

与 CK 相比，F1 和 F2 处理的 >2 mm、0.25 ~ 2 mm 及 0.053 ~ 0.25 mm 3 个粒径团聚体中有机碳的含量均有显著提升，提升幅度为 18.9% ~ 40.5%，而<0.053 mm 粒径的有机碳含量仅 F2 处理较 CK 处理显著提升约 22.5%(图 1B)。不同粒径团聚体碳占比结果显示(图 1C)，与 CK 相比，F1 处理 >2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒径的碳占比均显著升高，分别由 CK 处理的 11.4% 和 27.1% 提升至 18.0% 和 45.6%，0.053 ~ 0.25 mm 粒径碳占比显著降低，<0.053 mm 粒径碳占比与 CK 无显著差异；对 F2 处理，0.25 ~ 2 mm 和<0.053 mm 粒径碳占比均显著提升，分别由 CK 处理的 27.1% 和 9.5% 提升至 37.4% 和 25.1%，而 0.053 ~

0.25 mm 粒径碳占比则显著低于 CK，>2 mm 粒径碳占比与 CK 无显著差异。由此可知，尽管 F1 和 F2 处理的土壤总有机碳含量相近并显著高于 CK(表 1)，但它们的显著增加来自不同粒径团聚体碳的贡献，其中 F1 处理主要来自 >2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒径碳占比的增加；而 F2 处理主要来自 0.25 ~ 2 mm 和<0.053 mm 粒径碳占比的增加，上述粒径团聚体碳占比的增加主要源自团聚体质量占比和团聚体有机碳含量共同显著增加所致(图 1)。

团聚体平均重量直径(MWD)和几何平均直径(GMD)在不同处理间的变化趋势基本一致(图 2)，与 CK 相比，F1 处理 MWD 和 GMD 显著增加，增幅分别为 57.7% 和 31.8%，而 F2 处理的 MWD 和 GMD 均与 CK 无显著差异。

2.3 土壤微生物群落组成

对各处理的细菌、真菌和丛枝菌根真菌群落组成进行 PCoA 分析(图 3)，同时进行置换多元方差分析(PERMANOVA，表 2)，结果表明，3 个处理的细菌、真菌和丛枝菌根真菌群落均两两差异显著($P<0.05$)。

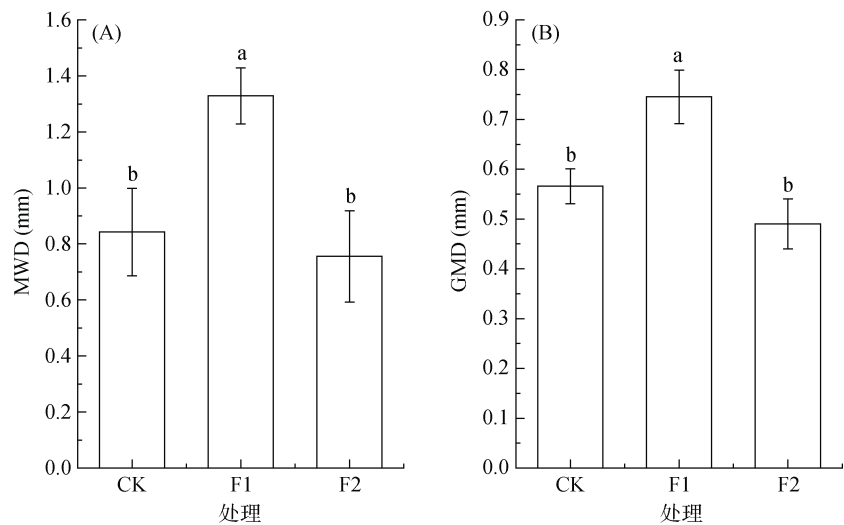


图 2 玉米与不同覆盖作物长期轮作对土壤团聚体平均重量直径(MWD)和几何平均直径(GMD)的影响
Fig.2 Effects of long-term maize rotation with different cover crops on mean weight diameter (MWD) and geometric mean diameter (GMD) of soil aggregates

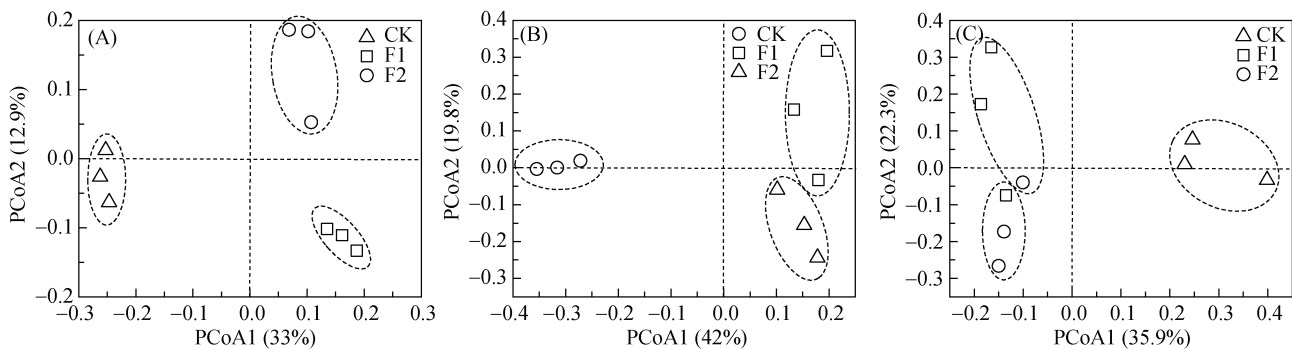


图 3 玉米与不同覆盖作物长期轮作下土壤细菌(A)、真菌(B)、丛枝菌根真菌群落(C)主坐标分析(PCoA)
Fig.3 Principal coordinate analysis (PCoA) of soil bacterial (A), fungal (B) and arbuscular mycorrhizal fungal (C) communities under long-term maize rotation with different cover crops

表 2 置换多元方差分析明确不同处理之间微生物群落差异显著性

Table 2 Difference significances of microbial community compositions between different treatments based on PERMANOVA analysis

微生物	处理	R ²	P
细菌	F1 vs. CK	0.471 5	0.039*
	F2 vs. CK	0.561 6	0.026*
	F1 vs. F2	0.319 9	0.032*
真菌	F1 vs. CK	0.338 8	0.038*
	F2 vs. CK	0.490 6	0.039*
	F1 vs. F2	0.366 5	0.019*
丛枝菌根真菌	F1 vs. CK	0.488 4	0.022*
	F2 vs. CK	0.579 9	0.025*
	F1 vs. F2	0.496 7	0.034*

注：R²表示不同处理对组间差异的解释度；P表示显著性，*表示达P<0.05显著水平。

利用 Simper 分析明确不同处理细菌、真菌和丛

枝菌根真菌群落差异的主导物种(表 3)。结果发现，3 个处理细菌群落之间的差异主要由芽球菌属 (*Blastococcus* sp.)、吡啉单胞菌科(Pyrinomonadaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、盖勒氏菌目(Gaiellales)和棒状杆菌属(*Rokubacteriales* sp.)主导，其中 *Blastococcus* sp.、Pyrinomonadaceae 和 Gaiellales 在 F1 和 F2 处理中的相对丰度均显著高于 CK，Micrococcaceae 的相对丰度表现为 CK>F2>F1，*Rokubacteriales* sp.相对丰度表现为 F1>F2；真菌群落变化主要由淡紫拟青霉属(*Purpureocillium* sp.)、巨枝膝梗孢属(*Gonytrichum* sp.)、*Retroconis* sp.、木霉属(*Trichoderma* sp.)和节菱孢霉菌属(*Arthrinium* sp.)主导，其中 *Purpureocillium* sp.、*Gonytrichum* sp.和 *Retroconis* sp 的相对丰度在各处理间呈 CK>F1≈F2 的变化规律，*Trichoderma* sp.的相对丰度表现为 F1>CK，*Arthrinium* sp.的相对丰度表现为 F2>F1；此外，丛枝菌根真菌群落变化主要由类球囊霉属

(*Paraglomus* sp.)、球囊霉属(*Glomus* sp.)、球囊菌门(Glomeromycota)、球囊霉目(Glomerales)和球囊菌纲(Glomeromycetes)主导,其中 *Paraglomus* sp.的相对丰度大小为 F2>CK>F1, *Glomus* sp.的相对丰度大小为 CK>F1 ≥ F2, 而 Glomeromycota、Glomerales 和 Glomeromycetes 的相对丰度都表现为 F1>F2≥CK。

表 3 基于 Simper 分析明确不同处理之间细菌、真菌、丛枝菌根真菌群落差异的前 5 个最为关键主导微生物
Table 3 Top five most influential species for differences in bacterial, fungal, and AMF communities among different treatments based on Simper analysis

处理	细菌群落组成				真菌群落组成				丛枝菌根真菌群落组成			
	物种名称	组 A	组 B	显著性	物种名称	组 A	组 B	显著性	物种名称	组 A	组 B	显著性
F1 (组 A) vs. CK (组 B)	Micrococcaceae	92.75	220.75	P<0.05	unidentified fungi	508.25	3 264.25	P<0.05	<i>Paraglomus</i> sp.	1 038.00	3 034.50	P<0.05
	<i>Blastococcus</i> sp.	235.75	174.75	P<0.05	<i>Trichoderma</i> sp.	2 081.00	0	P<0.05	<i>Glomus</i> sp.	132.25	191.25	P<0.05
	Pyrinomonadaceae	124.25	67.50	P<0.05	<i>Gonytrichum</i> sp.	12.75	1 661.75	P<0.05	Glomeromycetes	549.25	72.00	P<0.05
	Gaiellales1	123.25	71.75	P<0.05	<i>Purpureocillium</i> sp.	36.75	602.25	P<0.05	Glomeromycota	1 063.00	418.75	P<0.05
	Gaiellales2	115.00	71.00	P<0.05	<i>Retroconis</i> sp.	0	556.25	P<0.05	Glomerales	1 434.75	910.75	P<0.05
F2 (组 A) vs. CK (组 B)	<i>Blastococcus</i> sp.	295.25	174.75	P<0.05	unidentified fungi	5 404.25	3 264.25	P<0.05	<i>Paraglomus</i> sp.	4 411.25	3 034.50	P<0.05
	Pyrinomonadaceae	134.25	67.50	P<0.05	<i>Gonytrichum</i> sp.	45.50	1 661.75	P<0.05	Glomeromycota	564.75	418.75	P>0.05
	unclassified bacteria	31.25	87.00	P<0.05	unidentified fungi	1 524.50	153.75	P<0.05	Glomerales	1 097.50	910.75	P>0.05
	Gaiellales1	125.25	71.75	P<0.05	<i>Purpureocillium</i> sp.	6.75	602.25	P<0.05	<i>Glomus</i> sp.	94.00	191.25	P<0.05
	Gaiellales2	118.25	71.00	P<0.05	<i>Retroconis</i> sp.	0	556.25	P<0.05	Glomeromycetes	109.75	72.00	P>0.05
F1 (组 A) vs. F2 (组 B)	Micrococcaceae	92.75	187.75	P<0.05	<i>Purpureocillium</i> sp.	36.75	6.75	P>0.05	<i>Paraglomus</i> sp.	1 038.00	4 411.25	P<0.05
	<i>Blastococcus</i> sp.	235.75	295.25	P<0.05	<i>Gonytrichum</i> sp.	12.75	45.50	P>0.05	Glomeromycota	1 063.00	564.75	P<0.05
	Pyrinomonadaceae	40.50	12.00	P<0.05	<i>Retroconis</i> sp.	0	0	P>0.05	<i>Glomus</i> sp.	132.25	94.00	P>0.05
	<i>Rokubacteriales</i> sp.	31.50	3.50	P<0.05	unidentified fungi	310.00	0	P<0.05	Glomeromycetes	549.25	109.75	P<0.05
	Gemmatimonadaceae	11.75	38.00	P<0.05	<i>Arthrinium</i> sp.	30.75	317.00	P<0.05	Glomerales	1 434.75	1 097.50	P<0.05

2.4 细菌-真菌-丛枝菌根真菌共现网络及其与团聚体碳占比之间关系

通过 Spearman 相关关系构建 3 个处理的细菌、真菌和丛枝菌根真菌共现网络(图 4)。网络共包含 286 个节点和 709 个边, 59.8% 为正相关关系, 40.2% 为负相关关系, 网络共甄别出 4 个主要模块(图 4A)。

分析各模块不同处理间相对丰度变化发现(图 4B), 模块 1 主要表现为覆盖作物与玉米轮作显著降低其丰度, 其中相对丰度 CK>F1>F2; 模块 2 和模块 3 中, 覆盖作物与玉米轮作会显著提高丰度, 表现为 F1>F2>CK; 模块 4 中, 覆盖作物与玉米轮作会显著降低丰度, 主要表现为 CK>F2>F1。

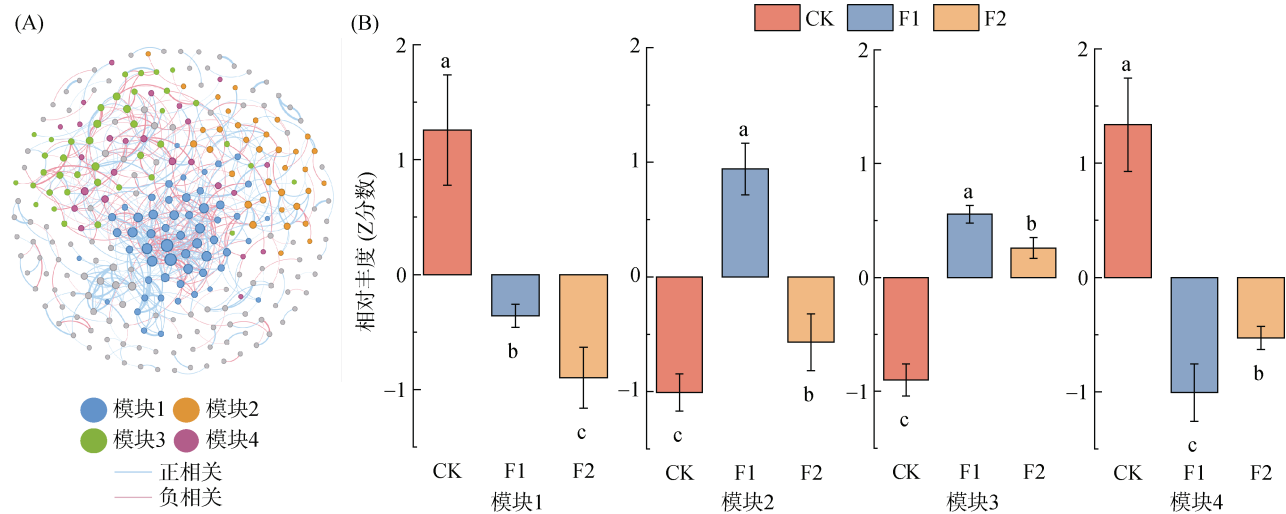


图 4 细菌-真菌-丛枝菌根真菌共现网络(A)及各模块相对丰度(B)
Fig.4 Co-occurrence network of soil bacterial, fungal and AMF (A), and relative abundance of four modules (B)

各粒级团聚体碳占比与网络模块之间的相关性分析发现(表 4), >2 mm 粒级碳占比主要与模块 2 相对丰度呈显著正相关; 0.25 ~ 2 mm 粒级碳占比与模块 2 相对丰度呈显著正相关, 与模块 1 和 4 呈显著负相关; 0.053 ~ 0.25 mm 粒级碳占比与模块 1 和 4 相对丰度呈显著正相关; <0.053 mm 粒级碳占比与模块 1 相对丰度呈显著负相关。因此, 模块 1、2、4 被认为是决定团聚体碳占比的关键模块。

分析各关键模块内主导不同处理间相对丰度差异的微生物物种发现(图 5), 模块 1 中不同处理间相对丰度差异主要与 *Glomeromycota*、*Blastococcus* sp.、*Purpureocillium* sp.和 *Retroconis* sp.等物种丰度变化有关; 模块 2 不同处理间相对丰度差异主要与 *Glomerales*、*Glomeromycota*、*Paraglomus* sp.、*Glomeromycetes* 和假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus* sp.)

等物种丰度变化有关; 模块 4 不同处理间相对丰度差异主要与青霉菌属(*Penicillium* sp.)、*Glomerales*、*Glomus* sp.和粪盘菌属(*Ascobolus* sp.)等物种丰度变化有关。上述 11 个(包括 1 个细菌、5 个真菌、5 个丛枝菌根真菌)物种被认为是决定团聚体碳占比的关键物种。

表 4 各粒级团聚体碳占比与不同模块的相关性分析
Table 4 Correlation analysis between SOC proportions of four size aggregates and relative abundance of different modules

粒径(mm)	模块 1		模块 2		模块 3		模块 4	
	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P
>2	0.11	0.16	0.79	0.01**	0.18	0.10	0.03	0.42
0.25 ~ 2	-0.69	0.01**	0.54	0.01**	0.24	0.09	-0.30	0.04*
0.053 ~ 0.25	0.64	0.01**	0.05	0.23	0.14	0.41	0.29	0.04*
<0.053	-0.25	0.05*	0.09	0.34	0.08	0.74	0.04	0.47

注: *, **分别表示相关性达 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 显著水平。

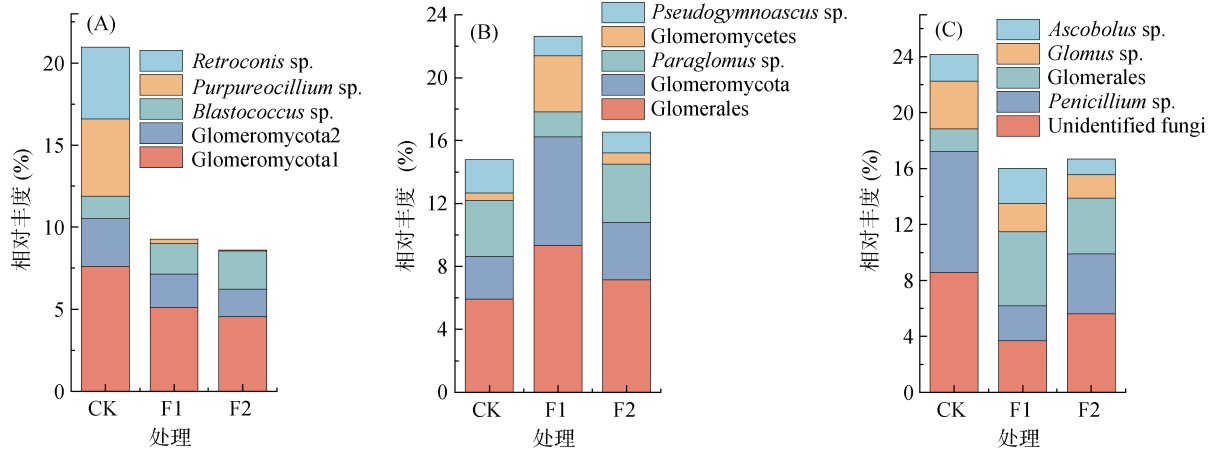


图 5 模块 1(A)、模块 2(B)和模块 4(C)中主导处理间差异的微生物物种
Fig.5 Dominant genera in module 1 (A), 2 (B) and 4 (C)

分析上述 11 个关键物种与各粒级团聚体碳占比之间的相关性发现(图 6), >2 mm 粒级碳占比与 *Glomerales*、*Glomeromycota* 和 *Glomeromycetes* 显著正相关, 与 *Paraglomus* sp. 显著负相关; 0.25 ~ 2 mm 粒级碳占比与 *Glomerales*、*Glomeromycota* 和 *Glomeromycetes* 显著正相关, 同时与 *Retroconis* sp.、*Penicillium* sp.和 *Pseudogymnoascus* sp.显著负相关; 0.053 ~ 0.25 mm 粒级碳占比与 *Retroconis* sp.、*Penicillium* sp.、*Purpureocillium* sp.、*Glomeromycota*、和 *Glomus* sp.显著正相关, 与 *Blastococcus* sp.显著负相关; <0.053 mm 粒级碳占比与 *Blastococcus* sp.显著正相关, 与 *Glomeromycota* 显著负相关。

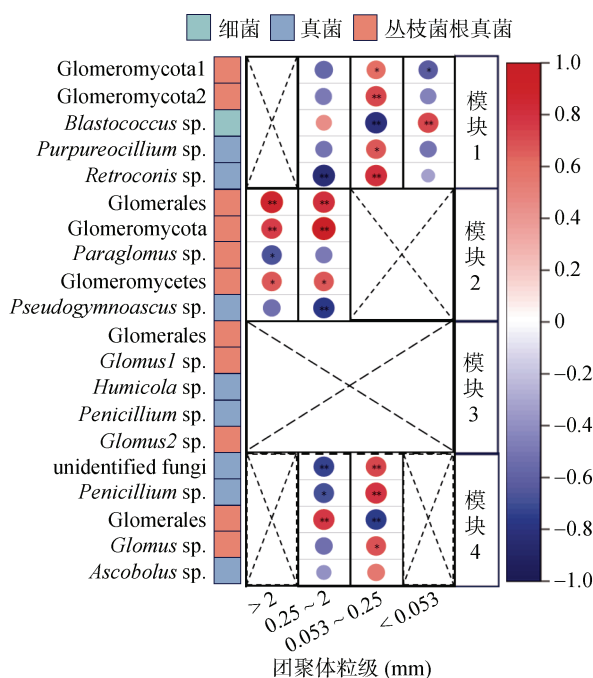
3 讨论

3.1 覆盖作物与玉米轮作对黑土理化性质的影响

本研究结果显示黄花草木樨和绛三叶与玉米轮

作均同等程度提升黑土总有机碳含量约 28.9%, 提升全氮含量约 42.4%(表 1)。Jian 等^[6]通过 Meta 统计分析全球 131 种覆盖作物引入农田生态系统的研究, 发现覆盖作物能显著提高土壤有机碳含量, 提升幅度约 15.5%。黄花草木樨和绛三叶作为两种典型的豆科植物能通过固氮功能有效提高土壤的氮素水平, 这与前人的研究结果一致^[35]。覆盖作物引入农田后对可溶性有机碳和可溶性有机氮的影响不尽相同, 有研究表明, 紫花苜蓿和大豆引入轮作体系后, 可溶性有机碳和可溶性有机氮都没有显著变化^[36], 也有研究表明可溶性有机碳受覆盖作物类型显著影响, 白三叶草可以提高土壤可溶性有机碳含量^[37], 绛三叶在生长期可以提高可溶性有机氮的浓度^[38]。

研究结果进一步表明黄花草木樨与玉米轮作(F1 处理)能显著促进 >2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 大团聚体的形成, 分别提高约 58.6% 和 91.5%, 从而团聚体平



(*、**分别表示相关性达 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 显著水平)

图6 关键物种与不同粒级团聚体碳占比之间的相关性
Fig.6 Correlations between keystone microorganism species and SOC proportions in four size aggregates

均重量直径和几何平均直径显著提高约 57.7% 和 31.8%; 而缘三叶与玉米轮作(F2 处理)虽然 0.25 ~ 2 mm 大团聚体含量也增加约 34.4%, 但团聚体变化主要表现为 0.053 ~ 0.25 mm 微团聚体占比下降约 49.7%, <0.053 mm 粉黏粒增加约 176%, 而对土壤团聚体稳定性指数的影响不显著(图 1、图 2)。这可能是由于黄花草木樨作为外源有机碳源引入农田生态系统后能激发土壤中的微生物活性, 而微生物在进行生命活动时会产生多糖充当黏合剂, 将土壤小颗粒黏结成大团聚体^[39], 并且黄花草木樨也被报道具有促进较小粒径微团聚体向较大粒径微团聚体聚集的功能, 而且随着种植时间的增加, 改土效果越显著^[40]。而缘三叶直根发达^[41], 其直根穿插能力强, 能扎入土壤深层破坏土壤结构并加剧团聚体破碎^[42], 可能导致粉黏粒增多。此外, 研究发现覆盖作物种植增加团聚体所有粒级中有机碳含量, 并在 >2 mm、0.25 ~ 2 mm 和 0.053 ~ 0.25 mm 粒径中达到显著水平, 其中 F1 处理分别提升约 34.4%、18.9% 和 38.5%, F2 处理分别提升约 33.6%、32.8% 和 42.2% (图 1)。这可能是由于作物残茬是维持农业土壤有机碳和养分的主要输入来源, 覆盖作物由于根系发达, 引入农田生态系统可以生产更多的生物量, 为土壤输入了更多的外源碳, 其被微生物分解后固存在各级团聚体中^[43]。

3.2 覆盖作物与玉米轮作对黑土细菌、真菌、丛枝菌根真菌群落的影响

覆盖作物引入玉米种植生态系统显著改变了土壤细菌、真菌和丛枝菌根真菌的群落组成, 且各微生物群落组成在不同处理之间两两差异显著(表 2、图 3), 这与 Muhammad 等人^[44]的研究结果相一致。利用 Simper 方法进一步分析影响群落变化的物种发现, 与 CK 处理相比, 覆盖作物种植处理组的细菌群落的变化主要与 Pyrinomonadaceae、Blastococcus sp.、Micrococcaceae 和 Gaiellales 丰度的提升有关(表 3)。Pyrinomonadaceae 被报道可以参与水解复杂的聚合物^[45]; Blastococcus sp. 是一种碳降解菌^[46], 其丰度升高可能是由于覆盖作物引入后提供了更多新鲜植物残体, 促进这些与碳降解功能相关的微生物快速生长繁殖。Micrococcaceae 被认为是豆科植物残体的第一批降解物^[47], 其丰度升高可能是由于覆盖作物投入改善了生长所需的养分条件所致。有研究认为苜蓿作为豆科覆盖作物能显著提高 Gaiellales 的丰度^[48], 黄花草木樨和缘三叶同为豆科覆盖作物可能会提高 Gaiellales 的丰度。对于真菌群落, F1 处理中 Trichoderma sp. 的相对丰度相对于 CK 处理显著提高(表 3), 而 F1 和 F2 处理均显著降低了 Purpureocillium sp.、Gonytrichum sp. 和 Retroconis sp. 的相对丰度。其中 Trichoderma sp. 被报道能保护植物并控制病原体种群^[49]; 有研究发现 Purpureocillium sp. 丰度会随着施氮量的增加而降低^[50], 表明豆科覆盖作物因固氮功能促进的土壤氮素水平提高可能不利于 Purpureocillium sp. 的生长。而在丛枝菌根群落中, F1 处理显著降低了 Paraglomus sp. 的相对丰度, F2 处理则显著提高了 Paraglomus sp. 的相对丰度(表 3)。作为土壤中常见的一种丛枝菌根真菌, 有关 Paraglomus sp. 丰度变化对作物种植响应的报道不尽相同。Zhang 等^[51]研究发现, 混合种植覆盖作物可以提高 Paraglomus sp. 的丰度; 而 Luo 等^[52]认为在玉米-小麦轮作中, Paraglomus sp. 的丰度会在收获期的玉米底土层上升。此外, 本研究发现 Glomerales、Glomeromycetes、Glomeromycota 的相对丰度均在覆盖作物引入后显著提升(表 3), 其中 Glomerales 目归属于 Glomeromycetes 纲, 而 Glomeromycetes 纲的物种丰度已被报道与土壤有机碳显著正相关^[53], 说明这些物种丰度的上升可能与覆盖作物向土壤输入有机碳源有关。

3.3 不同覆盖作物提升土壤总有机碳的微生物机制

本研究结果表明, F1 处理土壤总有机碳的显著

增加主要来自>2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级碳占比的增加(图 1), 它们主要与 Glomerales、Glomeromycota、Glomeromycetes 中未分类的物种显著正相关(图 6), 并且它们是决定不同处理间丛枝菌根真菌群落差异的主要物种, 其均在 F1 处理中显著富集(表 3), 表明 F1 处理土壤总有机碳的显著增加主要通过招募该 3 个物种来实现; 另外, >2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级碳占比的增加主要源自团聚体质量占比和团聚体有机碳含量共同显著增加所致(图 1), 进一步说明 F1 处理土壤总有机碳的显著增加主要通过招募 Glomerales、Glomeromycota、Glomeromycetes 增加>2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级大团聚体形成及增加其中碳固存来实现。Glomerales(目水平)和 Glomeromycetes(纲水平)都属于 Glomeromycota 菌门。已有大量研究表明 Glomeromycota 的诸多物种能在促进土壤大团聚体形成、助力土壤固碳和提高团聚体稳定性上发挥至关重要的作用, 这可能是由于: ①作为丛枝菌根真菌, Glomeromycota 的菌丝能影响碳的稳定性^[54-55], 其能黏结土壤中细小的颗粒形成团聚体^[56]; ② Glomeromycota 能分泌球囊霉素相关土壤蛋白, 该蛋白在促进大团聚体形成上发挥着极为重要的作用。因此, 本文认为 F1 处理下 Glomeromycota 门物种丰度上升, 可能会通过分泌球囊霉素等土壤蛋白提高大团聚体的占比, 增加碳的稳定性, 也可能通过菌丝连接等物理作用, 提高了>2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级有机碳含量, 最终提高了土壤总有机碳。

而 F2 处理土壤总有机碳的显著增加主要来自 0.25 ~ 2 mm 和 <0.053 mm 粒级碳占比的增加(图 1), 其中 0.25 ~ 2 mm 粒级碳占比主要与 Glomerales 正相关, <0.053 mm 粒级碳占比与 Glomeromycota 显著负相关(图 6); 而在 F2 处理中只有 Glomerales 富集, Glomeromycota 丰度则降低, Glomeromycetes 丰度与 CK 无显著差异(表 3、图 5)。这表明 F2 处理土壤总有机碳的显著增加可能是通过招募 Glomerales 和抑制 Glomeromycota 来实现。Glomerales 和 Glomeromycota 都能促进团聚体形成以及有机碳的增加^[54-56], 而 Glomeromycota 丰度的降低可能会减弱促进土壤颗粒黏结成团的效果, 进而导致部分土壤团聚体更容易破碎形成粉黏粒, 使<0.053 mm 粒级质量占比增加, 最终表现出该粒级团聚体碳占比提高。上述结果表明不同覆盖作物与玉米轮作提升黑土有机碳主要通过刺激特定丛枝菌根真菌物种驱动不同粒级团聚体形成并增加其中碳固存所致。

4 结论

通过我国东北典型黑土 5 年的田间试验发现黄花草木樨或绛三叶与玉米轮作均可以同等程度显著提升土壤总有机碳含量。黄花草木樨与玉米轮作激发土壤 Glomerales、Glomeromycota 和 Glomeromycetes 等丛枝菌根真菌物种的生长繁殖, 它们共同驱动>2 mm 和 0.25 ~ 2 mm 粒级大团聚体形成并增加其中碳含量促进土壤有机碳的固存。而绛三叶与玉米轮作提升 Glomerales 的丰度, 其驱动 0.25 ~ 2 mm 粒级大团聚体形成并增加其中有机碳的富集促进土壤总有机碳含量的增加; 同时抑制 Glomeromycota 物种的生长, 导致团聚体的破碎和<0.053 mm 粉黏粒占比的增加。相比绛三叶, 黄花草木樨与玉米轮作可以显著提高土壤团聚体的稳定性, 使有机碳在大团聚体中稳定固存以提升土壤总有机碳含量。本研究结果为黑土培肥选择适宜的覆盖作物品种提供了一定理论基础。

参考文献:

- [1] Bugg R L, McGourty G, Sarrantonio M, et al. Comparison of 32 cover crops in an organic vineyard on the north coast of California[J]. *Biological Agriculture & Horticulture*, 1996, 13(1): 63-81.
- [2] 隋鑫, 霍海南, 鲍雪莲, 等. 覆盖作物的种植现状及其对下茬作物生长和土壤环境影响的研究进展[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(8): 2666-2674.
- [3] Zhang Z L, Kaye J P, Bradley B A, et al. Cover crop functional types differentially alter the content and composition of soil organic carbon in particulate and mineral-associated fractions[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(19): 5831-5848.
- [4] Bai X X, Huang Y W, Ren W, et al. Responses of soil carbon sequestration to climate-smart agriculture practices: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2019, 25(8): 2591-2606.
- [5] Crystal-Ornelas R, Thapa R, Tully K L. Soil organic carbon is affected by organic amendments, conservation tillage, and cover cropping in organic farming systems: A meta-analysis[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 312: 107356.
- [6] Jian J S, Du X, Reiter M S, et al. A meta-analysis of global cropland soil carbon changes due to cover cropping[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 143: 107735.
- [7] McClelland S C, Paustian K, Schipanski M E. Management of cover crops in temperate climates influences soil organic carbon stocks: A meta-analysis[J]. *Ecological Applications*, 2021, 31(3): e02278.
- [8] Vendig I, Guzman A, De La Cerda G, et al. Quantifying direct yield benefits of soil carbon increases from cover cropping[J]. *Nature Sustainability*, 2023, 6(9): 1125-1134.

- [9] Hu Q J, Thomas B W, Powlson D, et al. Soil organic carbon fractions in response to soil, environmental and agronomic factors under cover cropping systems: A global meta-analysis[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 355: 108591.
- [10] Ladoni M, Basir A, Robertson P G, et al. Scaling-up: Cover crops differentially influence soil carbon in agricultural fields with diverse topography[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 225: 93–103.
- [11] Jia B, Jia L, Zhang Y M, et al. Leguminous *Caragana korshinskii* evidently enhances microbial necromass carbon accumulation in dryland soils[J]. *Catena*, 2022, 215: 106342.
- [12] Kallenbach C M, Grandy A S, Frey S D, et al. Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91: 279–290.
- [13] Pang J W, Wang Y H, Wang B F, et al. Biochar application increases maize yield under film mulching due to higher soil organic content and soil aggregate stability in a semi-arid area[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23(4): 1718–1732.
- [14] Cooper J, Greenberg I, Ludwig B, et al. Effect of biochar and compost on soil properties and organic matter in aggregate size fractions under field conditions[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2020, 295: 106882.
- [15] Hontoria C, García-González I, Quemada M, et al. The cover crop determines the AMF community composition in soil and in roots of maize after a ten-year continuous crop rotation[J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 660: 913–922.
- [16] García-González I, Quemada M, Gabriel J L, et al. Legacy of eight-year cover cropping on mycorrhizae, soil, and plants[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2018, 181(6): 818–826.
- [17] Ali W, Hussain S, Chen J Z, et al. Cover crop root-derived organic carbon influences aggregate stability through soil internal forces in a clayey red soil[J]. *Geoderma*, 2023, 429: 116271.
- [18] Bansal S, Yin X H, Sykes V, et al. Soil aggregate-associated organic carbon and nitrogen response to long-term no-till crop rotation, cover crop, and manure application[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2021, 85(6): 2169–2184.
- [19] Xiao L, Yao K H, Li P, et al. Increased soil aggregate stability is strongly correlated with root and soil properties along a gradient of secondary succession on the Loess Plateau[J]. *Ecological Engineering*, 2020, 143: 105671.
- [20] Vannoppen W, De Baets S, Keeble J, et al. How do root and soil characteristics affect the erosion-reducing potential of plant species?[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 109: 186–195.
- [21] Zhu S Q, Sainju U M, Zhang S H, et al. Cover cropping promotes soil carbon sequestration by enhancing microaggregate-protected and mineral-associated carbon[J]. *Science of The Total Environment*, 2024, 908: 168330.
- [22] Veloso M G, Cecagno D, Bayer C. Legume cover crops under no-tillage favor organomineral association in microaggregates and soil C accumulation[J]. *Soil and Tillage Research*, 2019, 190: 139–146.
- [23] Conceição P C, Dieckow J, Bayer C. Combined role of no-tillage and cropping systems in soil carbon stocks and stabilization[J]. *Soil and Tillage Research*, 2013, 129: 40–47.
- [24] Zheng W, Zhao Z Y, Gong Q L, et al. Effects of cover crop in an apple orchard on microbial community composition, networks, and potential genes involved with degradation of crop residues in soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(6): 743–759.
- [25] Zheng W, Zhao Z Y, Gong Q L, et al. Responses of fungal–bacterial community and network to organic inputs vary among different spatial habitats in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125: 54–63.
- [26] 赵秋, 高贤彪, 宁晓光, 等. 华北地区春玉米–冬绿肥轮作对碳、氮蓄积和土壤养分以及微生物的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2013, 19(4): 1005–1011.
- [27] Somenahally A, DuPont J I, Brady J, et al. Microbial communities in soil profile are more responsive to legacy effects of wheat-cover crop rotations than tillage systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 123: 126–135.
- [28] Zhang J, Ekblad A, Sigurdsson B D, et al. The influence of soil warming on organic carbon sequestration of arbuscular mycorrhizal fungi in a sub-Arctic grassland[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 147: 107826.
- [29] 邹文秀, 韩晓增, 陆欣春, 等. 肥沃耕层构建对东北黑土区旱地土壤肥力和玉米产量的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(12): 4134–4146.
- [30] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000.
- [31] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 991–999.
- [32] 苗淑杰, 周连仁, 乔云发, 等. 长期施肥对黑土有机碳矿化和团聚体碳分布的影响[J]. *土壤学报*, 2009, 46(6): 1068–1075.
- [33] 郭伟, 周云鹏, 陈美淇, 等. 长期不同氮肥施用量对潮土团聚体分布和真菌群落组成的影响[J]. *土壤学报*, 2024, 61(3): 824–835.
- [34] 高会议, 郭胜利, 刘文兆, 等. 不同施肥处理对黑垆土各粒级团聚体中有机碳含量分布的影响[J]. *土壤学报*, 2010, 47(5): 931–938.
- [35] Li X F, Wang Z G, Bao X G, et al. Long-term increased grain yield and soil fertility from intercropping[J]. *Nature Sustainability*, 2021, 4(11): 943–950.

- [36] Strickland M S, Thomason W E, Avera B, et al. Short-term effects of cover crops on soil microbial characteristics and biogeochemical processes across actively managed farms[J]. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, 2019, 2(1): 180064.
- [37] Li X F, Tan A, Chen K, et al. Effect of cover crop type and application rate on soil nitrogen mineralization and availability in organic rice production[J]. *Sustainability*, 2021, 13(5): 2866.
- [38] Curtright A J, Renner K A, Tiemann L K. Availability of dissolved organic carbon drives differences in microbial nitrogen-cycling processes between two sites with cover crops interseeded into corn[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2024, 88(1): 56–70.
- [39] Song X, Yuan Z Q, Fang C, et al. The formation of humic acid and micro-aggregates facilitated long-time soil organic carbon sequestration after *Medicago sativa* L. introduction on abandoned farmlands[J]. *Geoderma*, 2024, 445: 116889.
- [40] 汤洁, 李月芬, 林年丰, 等. 应用生物技术改良退化土壤的效果——以黄花草木樨改良盐碱化土壤为例[J]. *生态环境*, 2004, 13(1): 51–53, 60.
- [41] Aloush R H. Morphological and anatomical characterization of the species *Trifolium incarnatum* L. cultivated in Iraq[J]. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 2023, 55(4): 1284–1293.
- [42] Ghimire B, Ghimire R, VanLeeuwen D, et al. Cover crop residue amount and quality effects on soil organic carbon mineralization[J]. *Sustainability*, 2017, 9(12): 2316.
- [43] Muhammad I, Wang J, Sainju U M, et al. Cover cropping enhances soil microbial biomass and affects microbial community structure: A meta-analysis[J]. *Geoderma*, 2021, 381: 114696.
- [44] Pereira N S, Soares I, de Miranda F R. Decomposition and nutrient release of leguminous green manure species in the Jaguaribe-Apodi region, Ceará, Brazil[J]. *Ciência Rural*, 2016, 46(6): 970–975.
- [45] Liu Z X, Gu H D, Liang A Z, et al. Conservation tillage regulates soil bacterial community assemblies, network structures and ecological functions in black soils[J]. *Plant and Soil*, 2022, 472: 207–223.
- [46] Ortiz-Cornejo N L, Romero-Salas E A, Navarro-Noya Y E, et al. Incorporation of bean plant residue in soil with different agricultural practices and its effect on the soil bacteria[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 119: 417–427.
- [47] Yang Z, Xu Y X, Li H, et al. Difference of bacterial community structure in the meadow, maize, and continuous cropped alfalfa in Northeast China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 794848.
- [48] Dedysh S N, Ivanova A A, Begmatov S A, et al. Acidobacteria in fens: Phylogenetic diversity and genome analysis of the key representatives[J]. *Microbiology*, 2022, 91(6): 662–670.
- [49] Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti E L, et al. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(1): 1–10.
- [50] Chen M Q, Xu J S, Li Z Q, et al. Long-term nitrogen fertilization-induced enhancements of acid hydrolyzable nitrogen are mainly regulated by the most vital microbial taxa of keystone species and enzyme activities[J]. *Science of The Total Environment*, 2023, 874: 162463.
- [51] Zhang S Y, Luo P Y, Yang J F, et al. Responses of arbuscular mycorrhizal fungi diversity and community to 41-year rotation fertilization in brown soil region of Northeast China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 742651.
- [52] Luo X, Shi S M, Liu Y N, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal communities of topsoil and subsoil of an annual maize-wheat rotation after 15-years of differential mineral and organic fertilization[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 315: 107442.
- [53] Yang H B, Xiao Q, Huang Y P, et al. Long-term manuring facilitates glomalin-related soil proteins accumulation by chemical composition shifts and macro-aggregation formation[J]. *Soil and Tillage Research*, 2024, 235: 105904.
- [54] Rillig M C. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes[J]. *Ecology Letters*, 2004, 7(8): 740–754.
- [55] Kohler A, Kuo A L, Nagy L G, et al. Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(4): 410–415.
- [56] Moitinho M R, Fernandes C, Truber P V, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation in a no-tillage system with crop rotation[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2020, 183(4): 482–491.