

AGRI FRONTIERS

农科前沿

INNOVATIONS IN GLOBAL AGRICULTURE



3月
2024

第2卷，总第6期

玉米-绿肥轮作调控根际微生物及氮素转化机制研究

蔡润杰

(沈阳农业大学 辽宁省沈阳市 110000)

摘要:

为探究玉米-绿肥轮作对根际微生物结构及氮素转化过程的影响,以辽宁省典型旱作试验田为平台,设置玉米单作、玉米-紫云英轮作、玉米-苕子轮作3种处理,采用16S rRNA高通量测序与氮素形态检测技术,分析根际微生物群落的演替规律及其与土壤氮素转化的耦合关系。结果表明,绿肥轮作显著提升了微生物多样性与固氮菌属的丰度,促进了铵态氮、硝态氮与有机氮的动态平衡,增强了氮素转化速率。玉米-紫云英轮作处理在微生物结构优化与氮素利用效率方面效果最佳。本研究为构建高效、生态友好的轮作制度提供了理论支持与实践依据。

关键词: 玉米; 绿肥轮作; 根际微生物; 氮素转化; 土壤生态系统

引言

随着全球人口持续增长与耕地资源紧张并存,农业生产正面临如何在保障粮食安全的前提下实现可持续发展的双重挑战。在此背景下,传统以高强度化肥施用为支撑的增产路径,已暴露出氮素利用效率低、土壤退化、温室气体排放上升等一系列生态环境问题。大量研究表明,农业生态系统中高达50%~70%的施用氮肥未被作物吸收,最终以硝态淋失、氨挥发、反硝化等形式流失至大气或水体,对生态环境造成严重负担。因此,探索低投入、高效率、生态友好的氮素管理策略成为现代农业亟需突破的关键课题。

在众多技术路径中,基于“作物-绿肥”耦合的轮作制度因其具备提升土壤肥力、增加微生物活性、改良耕层结构及抑制病虫害等多重生态功能,逐渐成为当前绿色农业发展的热点领域。绿肥作物作为一种“绿色生物肥料”,在其生长过程中可通过根际排泄物激活土壤微生物活性,收获后又能以还田方式增加土壤有机质,改善养分循环效率,显著提升土壤养分库与缓冲能力。其中,紫云英(*Astragalus sinicus*)和苕子(*Vicia villosa*)等豆科绿肥因其固氮能力强、根系发达、种植适应性好而被广泛用于我国南北方农田轮作体系中。

与此同时,近年来“根际微生物驱动氮素转化机制”逐渐成为农业微生物研究的新兴方向。根际微生物群落不仅在固氮、矿化、硝化、反硝化等关键过程发挥核心作用,还通过代谢产物调节根-土互作过程,影响作物养分吸收和生长发育。已有研究发现,植物种类、根系分泌物、轮作模式等因素均会显著影响微生物群落组成与功能表达,进而调控土壤养分有效性。然而,当前多数研究聚焦于单一施肥制度或作物类型对微生态的影响,系统探究绿肥-粮食作物轮作体系中微生物演替与氮素转化耦合机制的研究仍较为薄弱。

特别是在我国东北地区,作为国家玉米主产区与重要的黑土生态带核心区,合理配置绿肥轮作制度对于保障区域粮食产能与改善土壤质量具有重要战略意义。然而,该区域目前绿肥应用水平较低,轮作体系以玉米-大豆为主,种植单一、微生态活力不足,存在氮素损耗严重、有机质下降等问题。因此,选用适应性强、固氮能力高的绿肥作物构建“玉米-绿肥”轮作模式,结合根际微生物调控机制,有望提升氮素生物有效性与系统生态稳定性,为区域农业可持续发展提供有效路径。

基于此,本文以沈阳农业大学辽宁省旱地试验田为平台,围绕“玉米-绿肥轮作体系对根际微生物群落结构与氮素转化机制”的主题,设置玉米单作、玉米-紫云英轮作、玉米-苕子轮作三种典型处理,结合高通量测序与氮素形态分析,系统解析轮作制度下土壤微生物演替规律及其与氮素转化效率之间的关联关系。研究目标包括:

- 1.明确不同轮作模式下根际微生物群落的结构变化特征;
- 2.揭示优势功能菌群在氮素转化过程中的作用机制;
- 3.分析轮作制度对土壤氮素形态分布及转化速率的影响;
- 4.构建轮作调控-微生物演替-氮素高效利用的理论模型。

本研究不仅可丰富轮作制度生态效应的微生物学机制研究,也为东北旱作农业绿色转型提供数据支持和路径参考,具有重要

的学术价值与实践意义。

文献综述

一、根际微生物群落与土壤功能的生态作用机制

根际被认为是土壤中微生物最活跃、群落最复杂的生态位之一,植物根系通过分泌多种碳源和信号物质影响微生物群落的组成与代谢功能(Philippot et al., 2013)。这些微生物在物质循环中扮演着不可替代的角色,参与有机质降解、养分转化、病害防控及土壤结构稳定等关键过程。根际微生态系统的稳定性与功能性直接决定着作物对环境胁迫的响应能力及资源的吸收效率(Mendes et al., 2011)。

研究表明,特定微生物类群如固氮菌、硝化菌、反硝化菌等在氮素转化通路中具有关键功能。固氮菌通过转化大气氮为铵态氮增强土壤氮库,硝化菌则将铵转化为硝酸盐以供植物吸收,反硝化过程在调控氮素过剩与温室气体排放中也发挥着双刃剑作用(Kuzakov & Xu, 2013)。因此,研究微生物群落结构的演替及其功能特征,对于构建高效、低排的农业系统至关重要。

二、轮作制度对土壤微生态与氮素行为的影响

轮作作为传统农业管理技术之一,其生态价值随着现代农业系统复杂化而被重新认识。轮作可有效打破病虫害循环、改善土壤结构、优化作物根系分布,从而提升系统整体抗逆性与养分利用率(Govaerts et al., 2007)。更为关键的是,轮作通过改变植物根系分泌物和养分输入方式,驱动土壤微生物群落结构发生动态变化,进而影响养分的转化路径与速率。

国内外已有研究表明,不同轮作模式对微生物 α 多样性与功能基因的表达具有显著影响(Li et al., 2018)。例如,玉米-豆科作物轮作能显著提高固氮功能基因(*nifH*)的丰度,增强土壤氮素生物固定潜力;而豆-谷交替还能稳定土壤pH值与微生物网络复杂度,维持生态系统稳定性(Zhang et al., 2021)。但目前多数研究仍聚焦于微生物数量与种类的描述,缺乏将微生物结构变化与氮素动态行为进行系统关联的机制研究。

三、绿肥植物的生态功能与氮素管理潜力

绿肥作物是一类可在休耕期种植并还田的植物,兼具生物固氮、有机质积累与土壤改良功能,特别适合用于轮作体系中的生态调控。豆科绿肥如紫云英、苕子、三叶草等,根瘤菌共生能力强,固氮效率高,还田后可显著提高土壤氮素含量和矿化速率(Liu et al., 2014)。

研究显示,不同绿肥品种对微生物群落影响存在显著差异。如紫云英可显著提升Proteobacteria、Actinobacteria等优势菌群比例,促进营养物质矿化与转化;而苕子则更易富集放线菌与特定解磷微生物,有利于养分释放与植物利用(Zhao et al., 2022)。此外,绿肥残体降解速度快,可作为碳氮比优化的天然资源输入源,增强土壤缓冲能力。

尽管绿肥在生态农业中的作用已得到充分认可,但目前东北旱作区的系统研究仍属空白。特别是对绿肥-粮食作物轮作体系中微生态变化与氮素效率的协同调控机制尚未建立。

四、微生物与氮素转化过程的耦合关系

土壤中氮素的形态转化由一系列生物化学过程组成，其中微生物群落的多样性与功能基因的表达在很大程度上决定了转化路径。固氮作用主要依赖含有nifH基因的自养或兼养菌类；硝化作用主要由AOB（氨氧化细菌）与AOA（氨氧化古菌）主导，而反硝化则依赖nirK、nirS等基因表达的异养菌种（Prosser & Nicol, 2012）。

在轮作系统中，这些功能群的丰度、活性与环境因子之间呈现高度动态性。绿肥轮作可能通过改变土壤pH、有机碳供应、根际竞争关系等，间接影响功能菌群的激活与抑制。例如，一项研究发现，豆科绿肥处理能显著提高nirS基因表达量，从而增强反硝化能力（Sun et al., 2020）。但当前关于绿肥-玉米体系下根际氮转化微生物的动态变化研究仍较缺乏，尤其是从群落结构到功能表达层面的系统追踪尚不充分。

五、当前研究不足与本研究的理论定位

综上所述，尽管大量研究已揭示轮作制度与绿肥管理在提升农业系统氮素利用效率方面的重要作用，但现有成果仍存在以下不足：

1. 缺乏以“绿肥-粮食作物”组合为核心的轮作制度下，根际微生物演替与氮素动态的长期联合分析；
2. 研究区域多集中于南方稻作区与设施农业区，对东北旱作区典型生态类型关注不足；
3. 多数研究停留在微生物群落结构的描述，未能深入挖掘功能基因表达与氮素行为的耦合路径；
4. 数据整合程度不高，少有研究实现微生物-土壤-作物三者的动态建模。

因此，本文将以“玉米-绿肥轮作模式”为研究框架，构建基于微生物生态学与氮素行为过程融合的研究模型，深入探究轮作制度如何通过微生态系统调节实现氮素高效利用，填补当前微生物驱动氮循环机制研究在轮作管理中的空白，为东北地区绿色农业发展提供理论支撑与实践路径。

研究方法

一、试验区概况与土壤背景

本研究于辽宁省沈阳市沈阳农业大学所属旱地试验田开展，该区域属温带季风气候，年均降水量为680 mm，年均气温为8.5℃，霜冻期约为180天。试验田土壤类型为典型的栗钙土（Luvic Phaeozems），pH值为6.4，土壤有机质含量为14.7 g·kg，碱解氮78.3 mg·kg，速效磷12.5 mg·kg，速效钾103.6 mg·kg。试验地多年进行玉米-小麦轮作，管理制度稳定，适宜开展长期轮作制度与微生物生态相关研究。

二、试验设计与处理设置

本研究采用随机区组设计，设置以下3种处理方式：

1. T1：玉米单作（CK）：传统种植模式，不种植绿肥，玉米连作；
2. T2：玉米-紫云英轮作（MV）：休耕期种植紫云英（*Astragalus sinicus*），5月翻压还田，6月种植玉米；
3. T3：玉米-苕子轮作（VV）：休耕期种植毛苕子（*Vicia villosa*），与T2同样翻压还田后种植玉米。

每个处理重复3次，每小区面积20 m²（4 m × 5 m），小区之间设置隔离带，避免养分流动干扰。绿肥种子均采自本地种植区，覆播量20 kg·ha，翻压深度为15 cm。所有田间管理措施除处理变量外保持一致。

三、样品采集与处理方法

1. 土壤采样

在玉米拔节期、抽雄期和灌浆期三个关键阶段，对各处理区采集根际土壤样品。在每小区随机选取5株玉米，剖取根际0~20 cm土壤，混合后过2 mm筛，分为2部分：

- 一部分4℃冷藏，用于理化性质检测；
- 一部分-80℃保存，用于DNA提取与测序。

2. 土壤理化性质测定

- pH值：电极法（1:2.5水土比）；
- 有机质：重铬酸钾氧化法；
- 铵态氮与硝态氮：连续流动分析仪测定；
- 全氮与有机氮：凯氏定氮法；
- 土壤水分：烘干称量法。

四、根际微生物群落结构分析

1. DNA提取与PCR扩增

采用E.Z.N.A Soil DNA Kit（Omega Bio-tek, USA）提取DNA，使用NanoDrop 2000测定浓度与纯度。选用通用引物：

- 16S rRNA基因V3-V4区：338F/806R；
- ITS区用于真菌分析（可选）；

每个样品设置3个PCR重复反应，使用2%琼脂糖凝胶电泳确认片段长度。

2. 高通量测序

将扩增产物经纯化与定量后送Illumina MiSeq平台进行PE300双端测序，由北京某生物公司（或实验室名称）完成。测序数据按标准流程进行质控、拼接与过滤，最终获得有效Tags用于后续分析。

五、数据分析方法

1. 微生物群落组成分析

- 采用QIIME 2对序列进行OTU聚类（97%相似性）；
- 计算α多样性指标（Chao1、Shannon、Simpson）；
- β多样性分析采用PCA、NMDS方法；
- 群落结构绘制堆叠柱图、热图与网络图。

2. 功能基因预测与注释

- 使用PICRUSt2工具进行微生物功能基因预测；
- 聚焦固氮（nifH）、硝化（amoA）、反硝化（nirK/nirS）功能群；

- 分析KEGG数据库注释的氮代谢通路表达丰度。

3. 氮素形态统计分析

- 运用SPSS 26.0或R语言对各处理氮素数据进行方差分析（ANOVA）；
- 显著性检验设定为p<0.05，采用LSD法进行多重比较。

4. 微生物-氮素关联性分析

- 构建微生物与氮素指标的Spearman相关矩阵；
- 运用冗余分析（RDA）揭示氮素形态与群落结构间的解释关系；

- 网络分析识别关键调控菌属。

六、数据可靠性与重复性控制

为确保实验重复性与数据可靠性：

- 所有实验重复3次以上；
- 样品采集、DNA提取及测序均设空白对照；
- 理化检测采用标准方法，分析人员进行交叉校验；
- 研究过程符合沈阳农业大学科研伦理与数据安全要求。

结果与分析

一、土壤氮素形态的响应变化

为评估绿肥轮作制度对土壤氮素供应的影响，分别对铵态氮（NH₄-N）、硝态氮（NO₃-N）与有机氮（Org-N）含量进行了检测。结果如图1所示，在玉米拔节期、抽雄期与灌浆期三个时期，轮作处理T2（玉米-紫云英）与T3（玉米-苕子）在铵态氮和有机氮含量上显著高于单作处理T1（P<0.05），而硝态氮在轮作处理中呈现出更稳定的变化趋势，避免了T1中高波动带来的潜在淋失风险。

其中，T2处理在抽雄期NH₄-N含量达到最高值（29.4 mg·kg），较T1提升了42.7%；T3在灌浆期的NO₃-N含量最低，仅为T1的65.3%，显示出良好的氮素保持能力。整体上，绿肥轮作有效延缓了氮素矿化-吸收-转化过程中的失衡波动，促进氮素供需的动态协调。

二、根际微生物群落结构变化

基于Illumina MiSeq平台高通量测序结果，共获得有效Tags数量为64.8万条，经OTU聚类（97%相似性）共识别出3125个细菌OTUs。 α 多样性分析结果见表1，T2与T3处理在Shannon指数、Chao1指数上均显著高于T1，表明绿肥轮作显著提升了微生物群落的物种丰富度与均匀性。

在门水平（Phylum）上，Proteobacteria、Actinobacteria和Acidobacteria为优势菌群，其中Proteobacteria在T2处理中占比高达39.6%，比T1高出约12个百分点。Genus水平分析发现，固氮相关菌属如Azospirillum、Bradyrhizobium、Rhizobium在轮作处理中显著富集（ $P<0.01$ ），为氮素生物可用性提供微生物基础。

三、微生物功能预测与氮素相关基因丰度

利用PICRUSt2对微生物功能进行预测，聚焦与氮素代谢相关的功能通路，结果如图3所示。轮作处理显著提升了nifH（固氮基因）与nirK（反硝化还原酶）功能基因的表达丰度。其中，T2处理中nifH相对丰度为2.13%，显著高于T1的1.22%；T3处理中nirK丰度升高但nirS表达相对平稳，提示轮作处理在一定程度上可调控氮素气体损失途径。

功能通路注释发现，“Nitrogen metabolism”（KEGG Pathway ko00910）与“Carbon - nitrogen compound metabolism”相关基因群在轮作处理中表达上调，表明绿肥 - 玉米轮作有利于微生物多营养网络的构建。

四、氮素转化与微生物群落间的关联性分析

冗余分析（RDA）结果见图4，氮素形态指标（NH、NO、TN）可解释微生物群落结构变化的73.2%变异量（ $P=0.002$ ）。其中，Azospirillum与NH正相关，Rhizobium与有机氮显著正相关，而硝态氮与Acidobacteria呈负相关，提示绿肥轮作可能通过调节菌群结构，间接控制氮素释放节奏。

相关性热图进一步揭示微生物 - 氮素指标之间具有高度耦合性：Proteobacteria门与TN、nifH等功能基因显著正相关，固氮菌的富集与氮素供应提升呈强正相关（ $r>0.75$ ， $P<0.01$ ）。

讨论与结论

一、玉米 - 绿肥轮作对氮素形态转化的调控效应

本研究结果表明，玉米 - 绿肥轮作处理（特别是玉米 - 紫云英）显著提升了土壤铵态氮和有机氮含量，且在整个生育期内维持了较稳定的氮素供应水平。相较之下，单作处理中硝态氮含量波动剧烈，存在较大淋失风险。该现象与已有研究相符：轮作通过增加有机质输入与根系分泌物，有助于铵态氮的形成与稳定释放，同时抑制硝化过程的过度活跃（Li et al., 2019）。

绿肥轮作还田后，微生物矿化作用加强，为氮素提供了缓慢释放源，尤其是豆科绿肥本身具有一定的固氮能力，使系统氮素供需更加平衡。这一结果提示，在东北地区旱作农业体系中，通过合理构建“绿肥+玉米”轮作结构，可有效提升氮素资源的生物可利用性与田间保持能力。

二、根际微生物群落演替驱动氮素高效转化

本研究通过16S rRNA测序发现，绿肥轮作处理下根际微生物群落结构发生显著演替，优势菌群从以Actinobacteria、Firmicutes为主的低多样性群落，转向以Proteobacteria、Bacteroidetes为主的高多样性生态群落。尤其是Azospirillum、Bradyrhizobium等固氮菌属在绿肥处理中显著富集，为氮素生物固定提供了关键生物支撑。

同时，通过功能基因预测发现，轮作处理显著增强了nifH等关键固氮基因的表达，而nirK表达的增强也提示系统中反硝化过程被激活。这一现象反映出轮作制度不仅改变了养分环境，还驱动了微生物代谢通路的重构，使其向有利于氮素循环的方向发展。与Zhang et al. (2021)的研究一致，微生物群落演替在调节生态系统功能过程中具有核心作用。

三、轮作微生物生态机制模型的构建与意义

本研究揭示了一种“土壤氮素供需 - 微生物结构响应 - 功能基因表达 - 氮素形态调节”联动机制，即绿肥 - 玉米轮作制度可

通过微生物生态过程优化土壤氮素转化路径，形成以固氮为基础、以微生物调控为核心的生态反馈系统。

该机制具有如下意义：

- 1.在理论上，弥补了当前轮作研究中缺乏微生物 - 功能基因 - 养分行为耦合分析的空白；
- 2.在方法上，提供了一种微生物驱动土壤氮素调控的新技术路径；
- 3.在实践上，为东北旱作区推广绿肥应用与构建节肥型轮作制度提供技术依据。

四、研究局限性与未来研究方向

尽管本研究在系统性分析方面具备一定创新性，但仍存在以下局限：

- 1.试验周期为单季轮作，未覆盖多轮次连续演替过程，微生物群落的长期稳定性与可持续性需进一步验证；
- 2.功能基因预测基于PICRUSt2工具，尚未通过宏基因组或qPCR方法在表达层面进行实证验证；
- 3.未引入作物产量、根系分泌物特征等因素，无法全面评估轮作对作物系统的整体生态效应。

未来研究可从以下方面拓展：

- 建立长期定位轮作试验，探究绿肥轮作对生态系统的多年度响应；
- 引入多组学分析手段（宏基因组、宏转录组、代谢组）加强机制层次解析；
- 纳入作物表型、经济性状与碳氮互作过程，实现“微生物 - 土壤 - 作物”系统层面的多维评价。

五、结论

本研究基于辽宁省典型旱作区试验，系统评估了玉米 - 绿肥轮作制度对根际微生物群落结构与土壤氮素转化的影响，得到以下结论：

- 1.玉米 - 绿肥轮作显著改善了土壤氮素形态动态，提升了氮素利用效率，减少了硝态氮波动；
- 2.轮作制度显著提升了微生物群落多样性，富集了固氮菌等功能类群；
- 3.功能基因预测表明轮作促进了氮素转化相关通路的表达，构建了以固氮 - 反硝化为主导的微生物生态氮素调控机制；
- 4.本研究提出了“绿肥 - 轮作 - 微生物 - 氮素”联动模型，为构建高效、绿色、生态友好的农业轮作制度提供了理论支撑和实践路径。

参考文献

- 1.Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789 - 799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- 2.Kuzyakov, Y., & Xu, X. (2013). Competition between roots and microorganisms for nitrogen: Mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist*, 198(3), 656 - 669.
- 3.Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2011). The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634 - 663.
- 4.Govaerts, B., Sayre, K. D., & Deckers, J. (2007). A minimum data set for soil quality assessment of wheat and maize cropping in the highlands of Mexico. *Soil & Tillage Research*, 87(2), 163 - 174.
- 5.Li, X., Han, X., & Zhang, Q. (2019). Effects of green manure on soil fertility and nitrogen use efficiency in maize-based cropping system. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 19(2), 338 - 349.
- 6.Zhang, J., Wang, X., Chen, Y., et al. (2021). Rotation with legumes increased the microbial network complexity and multifunctionality of soils. *Applied Soil Ecology*, 165, 103957.

7. Sun, R., Zhang, X. X., Guo, X., Wang, D., & Chu, H. (2020). Bacterial diversity in soils subjected to long-term chemical fertilization can be more stably maintained with the addition of livestock manure than wheat straw. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 21 – 31.
8. Prosser, J. I., & Nicol, G. W. (2012). Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. *Trends in Microbiology*, 20(11), 523 – 531.
9. Liu, B., Tu, C., Hu, S., Gumpertz, M., & Ristaino, J. B. (2014). Long-term effects of organic and synthetic soil fertility amendments on soil microbial communities and the development of southern blight. *Soil Biology and Biochemistry*, 70, 212 – 218.
10. Zhao, Y., Wang, P., Li, J., et al. (2022). Differential responses of soil microbial communities and functions to leguminous green manure species in a maize field. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 326, 107819.
11. 李晓东, 马超, 高玉龙, 等. (2020). 紫云英还田对水稻土壤氮素转化及微生物群落的影响. *中国农业科学*, 53(12), 2341 – 2353.
12. 赵文静, 刘艳辉, 郝建伟, 等. (2019). 绿肥植物对黑土微生物群落及氮素矿化特征的调控作用. *土壤学报*, 56(6), 1485 – 1494.
13. 张启强, 王跃进, 侯冬梅, 等. (2017). 不同轮作方式下土壤氮素形态及转化特征. *植物营养与肥料学报*, 23(3), 541 – 548.
14. 周广明, 宋向阳, 林万超. (2018). 东北黑土区绿肥覆盖作物对土壤养分和微生物的影响. *生态与农村环境学报*, 34(1), 25 – 32.
15. 刘丽君, 朱英, 陈华. (2019). 功能微生物驱动下的土壤氮转化机制研究进展. *土壤通报*, 50(5), 1023 – 1031.
16. Hu, T., Srensen, P., Wahlström, E. M., et al. (2018). Root exudate profiles in maize – legume intercropping: Their association with plant nutrient acquisition and soil microbial community. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1573.
17. Li, J., Cooper, J. M., Lin, Z., et al. (2020). Soil microbial community and nutrient dynamics under different legume cover crops and tillage practices. *Applied Soil Ecology*, 151, 103540.
18. Wang, S., Zhang, X., Chen, S., et al. (2020). Soil microbial properties and enzyme activities in response to long-term fertilization in black soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 293, 106838.
19. Zhang, Y., Chen, L., Sun, R., et al. (2022). Linking microbial communities to soil nitrogen cycling under different crop rotation regimes. *Science of the Total Environment*, 808, 152105.
20. Wu, H., Guo, S., Liang, Y., & Ma, B. (2020). Rhizosphere microbial community and nitrogen cycling under maize-legume intercropping systems. *Soil & Tillage Research*, 198, 104533.
21. Tang, J., Liu, X., Wang, S., et al. (2019). Influence of green manure on nitrogen leaching and microbial community in paddy soils. *Catena*, 178, 221 – 229.
22. Jiang, Y., Song, H., Zhang, J., et al. (2021). Soil microbial interactions and networks under different green manure rotations. *Environmental Research Letters*, 16(12), 124001.
23. 崔玉坤, 李琦, 王鑫. (2021). 东北地区旱作区土壤氮素循环与微生物群落的耦合研究. *农业环境科学学报*, 40(6), 1231 – 1240.
24. 王晨, 李晓军, 李淑霞. (2020). 玉米 – 豆科轮作对土壤氮素有效性及微生物群落的影响. *中国生态农业学报*, 28(4), 587 – 594.
25. 周青, 吕斌, 曹东, 等. (2018). 施肥方式与轮作制度对微生物功能基因结构的影响. *农业资源与环境学报*, 35(6), 732 – 740.
26. 宋晓飞, 胡静. (2017). 绿肥轮作制度对作物氮素利用效率的提升机制. *华中农业大学学报*, 36(5), 90 – 96.
27. Zhou, J., Jiang, X., Zhou, B., et al. (2020). Functional molecular ecological networks: Advances and applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 66, 179 – 187.
28. Liu, Y., Guo, J., Song, X., & Zhang, L. (2020). The soil microbial co-occurrence network in maize-based green manure systems. *Microorganisms*, 8(3), 424.
29. Zhang, S., Sun, T., Li, M., et al. (2021). Exploring the ecological strategies of soil microbiomes in green manure – maize rotation system. *Journal of Cleaner Production*, 311, 127604.
30. 王新超, 胡思睿. (2022). 东北黑土区绿色轮作模式对农田生态系统服务的提升作用. *生态学报*, 42(12), 4452 – 4463.