

高寒区豌豆燕麦不同比例混播对土壤固碳细菌多样性及群落结构的影响

桑多成¹, 马文字¹, 鲍根生², 周连玉^{1,3*}

1 青海师范大学 生命科学学院, 青海 西宁

2 青海大学 畜牧兽医科学院, 青海 西宁

3 高原科学与可持续发展研究院, 青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海 西宁

桑多成, 马文字, 鲍根生, 周连玉. 高寒区豌豆燕麦不同比例混播对土壤固碳细菌多样性及群落结构的影响[J]. 微生物学报, 2026, 66(8): 3851-3869.

SANG Duocheng, MA Wenyu, BAO Gensheng, ZHOU Lianyu. Pea-oat mixed cropping improves the diversity and community structure of soil carbon-fixing bacteria in an alpine region[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(8): 3851-3869.

摘要:【目的】探究青海省高寒地区不同豆禾混播比例对土壤养分、酶活性及固碳微生物群落的影响。【方法】在青海省高寒地区设置豌豆单播(Q0)、燕麦单播(T0), 以及3种豆禾混播比例(QT1、QT2、QT3)共5个处理, 测定土壤酶活性、理化指标, 并基于 *cbbL* 基因高通量测序分析固碳细菌群落结构、多样性及其与环境因子的关系。【结果】豆禾混播处理较单播显著提升了土壤酶活性及养分含量, 其中以豌豆:燕麦=2:1 (QT3)处理效果最为突出。该处理下土壤蔗糖酶、纤维素酶、蛋白酶等多类酶活性均最高, 有机碳、全氮、铵态氮等养分含量也显著增加。QT3处理显著提高了土壤固碳细菌群落 α 多样性(Chao1 与 Shannon 指数均最高), 并富集了蓝细菌等功能类群。环境因子分析表明, 土壤铵态氮、全氮与有机碳是驱动固碳细菌群落变化的主要因素。微生物共现网络分析显示, 混播(尤其是 QT3)显著增强了网络的复杂性、连接紧密程度和模块化程度, 表明其微生物群落具有更高的结构稳定性与功能协作潜力。【结论】豆禾混播通过增强土壤酶活性、提升养分有效性及优化固碳微生物群落结构与功能网络, 显著改善了高寒地区土壤生态功能, 为提升土壤碳汇潜力与农业可持续发展提供了有效途径。

关键词: 豆禾混播; 高寒地区; 土壤养分; 土壤酶活性; 固碳微生物

资助项目: 青海省重点研发与转化计划(2024-NK-135)

This work was supported by the Qinghai Provincial Key Research and Transformation Program (2024-NK-135).

*Corresponding author. E-mail: zly7604@163.com

Received: 2026-01-29; Accepted: 2026-04-07; Published online: 2026-05-12

Pea-oat mixed cropping improves the diversity and community structure of soil carbon-fixing bacteria in an alpine region

SANG Duocheng¹, MA Wenyu¹, BAO Gensheng², ZHOU Lianyu^{1,3*}

1 School of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai, China

2 Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University, Xining, Qinghai, China

3 Qinghai Provincial Key Laboratory of Medicinal Animal and Plant Resources on the Qinghai-Xizang Plateau, Academy of Plateau Science and Sustainability, Xining, Qinghai, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of pea-oat mixed cropping at different ratios on soil nutrients, enzyme activities, and carbon-fixing microbial communities in the alpine region of Qinghai Province. [Methods] This study designed five treatments: monoculture of oat (T0), monoculture of pea (Q0), and pea-oat mixed cropping at three ratios (QT1, QT2, and QT3). Soil enzyme activities and physicochemical indicators were measured, and the community structure, diversity, and relationships with environmental factors of carbon-fixing bacteria were analyzed based on high-throughput sequencing data of *cbbL*. [Results] Compared with monoculture, mixed cropping significantly enhanced soil enzyme activities and nutrient content, with QT3 (the pea:oat ratio of 2:1) showing the most pronounced effects. Under QT3, the activities of sucrase, cellulase, protease, and other enzymes were the highest, and the content of soil organic carbon, total nitrogen, ammonium nitrogen, and other nutrients was also significantly increased. Mixed cropping optimized the community structure of soil carbon-fixing bacteria. Specifically, QT3 significantly increased the alpha diversity (with the highest Chao1 and Shannon indices) and enriched functional groups such as *Cyanobacteria*. Environmental factor analysis indicated that soil ammonium nitrogen, total nitrogen, and organic carbon were the main drivers of changes in the carbon-fixing bacterial community. Furthermore, microbial co-occurrence network analysis revealed that mixed cropping, especially QT3, significantly enhanced network complexity, connectivity, and modularity, which indicated higher structural stability and functional collaboration potential of the microbial community. [Conclusion] Pea-oat mixed cropping, particularly at a ratio of 2:1, significantly improved soil ecological functions in alpine regions by enhancing soil enzyme activities, increasing nutrient availability, and optimizing the structure and functional network of carbon-fixing microbial communities. This provides an effective approach for enhancing soil carbon sequestration potential and promoting sustainable agricultural development.

Keywords: pea-oat mixed cropping; alpine region; soil nutrient; soil enzyme activity; carbon-fixing microorganism

豆禾混播是饲草生产中应用较为广泛的重要种植模式。豆科与禾本科饲草因生态位存在差异，混播后可更高效地利用光照、水分、养分等资源，从而增加饲草产量，提高土壤质量，

增强生态系统的稳定性^[1]。大量研究发现，不同豆科与禾本科饲草品种、混播比例、混播方式(混播、间播)、混播密度、播种行距等因素均会对混播饲草产量和营养品质产生影响^[2-6]。与此

同时, 豆禾混播可调整土壤碳、氮、磷等营养成分^[1,7-10], 而这些组分的变化又与参与物质循环的微生物生物量及种类息息相关^[11-12]。

面对大气二氧化碳持续增加及其对全球气候的负面影响, 开发并利用自然界的生物固碳能力已成为缓解温室效应的关键策略^[13-14]。固碳微生物因其固碳途径多样、适应性强、分布广泛等特点而受到研究者的广泛关注, 已成为生态学与微生物学交叉领域的研究热点。目前, 已知微生物固碳途径主要包括 7 种: (1) 卡尔文-本森-巴沙姆循环(Calvin-Benson-Bassham, CBB)循环, 主要存在于光合自养和化能自养细菌中, 可将 CO₂ 固定为糖类, 是最常见且高效的固碳途径; (2) 逆三羧酸循环(reductive tricarboxylic acid cycle, rTCA), 常见于厌氧细菌, 利用还原力逆转 TCA 循环固定 CO₂; (3) Wood-Ljungdahl 途径(还原乙酰辅酶 A 途径), 存在于乙酰生成细菌和古菌中, 可在厌氧条件下将 CO₂ 还原为乙酰-CoA; (4) 3-羟基丙酸双环(3-hydroxypropionate bicycle, 3-HP bicycle), 存在于某些绿藻和细菌中, 通过双环机制固定 CO₂; (5) 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle, 3-HP/4-HB), 常见于古菌中, 可产生琥珀酰-CoA 等中间产物; (6) 二羧酸/4-羟基丁酸循环(dicarboxylate/4-hydroxybutyrate cycle, DC/4-HB), 与 3-HP/4-HB 类似, 但起始于二羧酸; (7) 还原甘氨酸途径, 近年发现于某些细菌中, 通过甘氨酸还原固定 CO₂。上述途径反映了微生物在不同环境中的适应策略, 其中 CBB 循环因其广泛分布和高效性而备受关注^[15-19]。自养细菌以光能或无机物作为能源, 通过特定代谢途径将 CO₂ 转化为有机物^[15]。在多种固碳途径中, CBB 循环存在于多种光合自养和化能自养细菌中, 是固碳效率最高的途径之一。该循环的关键酶为核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RubisCO)^[16-19], 具有 I 型和 II 型 2 种主要形式。

其中, I 型 RubisCO 主要存在于细菌和部分古菌中, 其大亚基由 *cbbL* 基因编码, 由于该基因序列高度保守(不同物种间相似度高, 便于 PCR 扩增和序列比对)、功能明确(专编码 RubisCO 大亚基, 与 CBB 循环直接相关)且在环境样本中特异性强(可区分自养和异养微生物), *cbbL* 基因已成为识别环境中自养固碳细菌的重要分子标记。相较于其他标记基因(如 *cbbM* 用于 II 型 RubisCO), *cbbL* 更适合分析 I 型 RubisCO 主导的固碳微生物多样性, 因为其覆盖了土壤中大多数自养细菌群落^[20-21]。农业土壤在全球碳捕获与封存中扮演着关键角色, 尤其在半干旱和高寒地区^[22]。土壤固碳菌多样性及群落结构与土壤性质、环境条件及农业管理措施密切相关^[23-28]。近年来, 基于 *cbbL* 基因的研究进展显著, 尤其在土壤生态系统领域。高通量测序技术的应用使研究者能够大规模解析 *cbbL* 携带微生物的多样性、群落结构及其对环境因子的响应。2020–2025 年间的研究显示: 氮沉降^[29]、降水变化^[30]、冻融循环^[31-32]、生物炭施用^[33-34]和永久冻土退化^[35-36]等因素可显著调控 *cbbL* 细菌的丰度、多样性和群落组成; 在高寒湿地、草原、农田和泥炭地中, *cbbL* 群落常以假单胞菌门(*Pseudomonadota*)和放线菌门(*Actinomycetota*)为主导, 关键属包括红长命菌属(*Rubrivivax*)、亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)、中生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)等; 此外, *cbbL* 丰度与土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)、全氮(total nitrogen, TN)、pH 和酶活性密切相关, 且在某些生态系统中表现出与碳汇潜力的正相关。土壤固碳菌种类在水稻连作、水稻/油菜轮作、油菜/玉米轮作等种植土壤中存在较大差异^[37]。最近, Bai 等^[38]通过玉米单作、玉米-大豆轮作并结合施肥的试验表明, 玉米-大豆轮作可富集参与碳氮循环的细菌类群, 包括德沃斯氏菌属(*Devosia*)、硝化杆菌属(*Nitrobacter*)、生丝微菌目(*Hyphomicrobiales*)和 *Nitrosospira*; Li 等^[39]的玉米-大豆轮作试验中, 玉米-大豆间作主要

富集了链霉菌属(*Streptomyces*)、红色杆形菌属(*Rubrobacter*)、*Nordella*、小石球菌属(*Lapillicoccus*)等。不同作物体系土壤自养微生物群落组分的差异可能源于根系分泌物、根茬等种类的不同。比较不同种植模式对土壤理化性质及固碳菌群的影响有利于优化农田种植模式,实现农业可持续发展。

一年生禾谷类草本植物燕麦(*Avena sativa*)隶属禾本科燕麦属(*Avena*),具有产量较高、品质优良、耐寒、耐旱、耐盐碱、喜氮肥等特性,可种植于各山区高原寒冷地带,兼具粮用、饲用及生态价值。豌豆(*Pisum sativum*)隶属豆科,为粮、菜、饲兼用型植物,具有固氮、喜冷凉、耐寒力强、耐贫瘠、营养价值高等特点,但生长中后期易倒伏,产量和品质明显下降。燕麦与豌豆混播后可分别充分利用土壤表层和深层的水分与养分,豌豆通过结瘤固氮为自身及燕麦提供氮素,减少施肥,缓解燕麦单播造成的土壤板结;而燕麦能有效防止豌豆倒伏,这种营养需求与物理支撑的互补性使二者具有更高的生物量和营养品质^[40-41]。Luo 等^[42]在青海湟中、门源、贵南 3 个生态区域设计了燕麦与饲料豌豆、普通苜蓿和蚕豆的混播试验,发现燕麦与饲料豌豆混播可增加牧草产量,提高土壤有机碳含量及蔗糖酶、亚硝酸还原酶和脲酶活性;混播模式下土壤 Chao1 和 Shannon 指数均高于燕麦单播,优势属假单胞菌属(*Pseudomonas*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、硝化螺菌属(*Nitrospira*)和硝化球菌属(*Nitrococcus*)的占比也高于燕麦单播。然而,混播种植模式对土壤固碳细菌群落组分的影响研究仍不充分。鉴于此,本研究以饲用豌豆和燕麦为材料,在青海省泽库县宁秀镇设置单播及不同比例混播处理,分析土壤成分、酶活性及固碳细菌群落多样性,明确不同比例混播条件下土壤固碳细菌群落特征,并揭示其与土壤环境因子的关系,以期高寒半干旱地

区农业可持续发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况与试验材料

试验地位于青海省泽库县宁秀镇(35°21'N, 100°84'E, 海拔 3 320 m),属高原大陆性气候,年均温-1.5 °C,仅有冷热两季,无绝对无霜期。年均降水量 595 mm,主要集中在 6-8 月,占全年降雨量的 70% 左右。土壤类型以高山草甸土为主。

供试燕麦为‘青海甜燕麦’,饲用豌豆为‘青建 1 号’,均由青海大学畜牧兽医科学院草原所提供。

1.2 试验设计

试验设 5 个处理:豆科饲草单播(Q0)、燕麦饲草单播(T0)及 3 个豆禾混播处理(QT1, 豌豆:燕麦=1:1; QT2, 豌豆:燕麦=1:2; QT3, 豌豆:燕麦=2:1)。每个处理 3 次重复,小区面积 15 m² (3 m×5 m),各小区间设定 2 m 保护行,共 15 个小区。2024 年 7 月进行田间播种,播种前人工均匀撒施肥料,其中尿素、磷酸二铵施用量分别为 150 kg/hm² 和 90 kg/hm²。种植点无灌溉条件,豌豆全生育期不进行灌溉。试验于 2024 年 7 月播种,至 2024 年 10 月中旬(燕麦乳熟期、豌豆鼓粒期)统一收获,全生育期约 90-100 d。豌豆分枝期和开花期人工除草 2 次。

1.3 指标测定及方法

1.3.1 试验样品采集

采用不锈钢土钻在各小区取 5 个样点的土壤(0-20 cm),充分混匀后分为 3 份:一份于-80 °C 保存,用于 Illumina 高通量测序;一份于阴凉处风干,用于土壤理化性质测定;一份于-20 °C 保存,用于土壤酶活性测定。

1.3.2 土壤环境因子

参考鲍士旦等主编的《土壤农化分析》^[43]测定土壤 pH、全磷(total phosphorus, TP)、全

氮 (TN)、有机碳 (SOC)、铵态氮 (ammonium nitrogen, $\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮 (nitrate nitrogen, $\text{NO}_3^-\text{-N}$) 等土壤理化因子, 参考关松荫等主编的《土壤酶及其研究法》^[44]测定土壤蔗糖酶 (invertase, INV)、纤维素酶 (cellulase, CEL)、蛋白酶 (protease, PRO)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 活性; 采用 PNPG 培养-比色法^[45]测定 β -葡萄糖苷酶 (β -glucosidase, BGL) 活性。

1.3.3 PCR 扩增

采用 Mag Beads Fast DNA Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals 公司) 提取总 DNA。对抽提完成的 DNA 进行 0.8% 琼脂糖凝胶电泳以判断分子大小, 并利用 Nanodrop NC2000 进行定量。使用固碳细菌标准扩增引物 F (5'-GACTTCACC AAAGACGACGA-3') 和 R (5'-TCGAACTTGATT TCTTTCCA-3') 扩增 *cbbL* 基因^[46]。PCR 反应体系: 5×Reaction Buffer 5 μL , 5×HighGC Buffer 5 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL , 上、下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , Q5 DNA Polymerase 0.25 μL , DNA 模板 2 μL , ddH₂O 8.75 μL 。PCR 循环条件: 98 °C 预变性 30 s; 98 °C 变性 15 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 27 个循环; 72 °C 终延伸 5 min。使用琼脂糖凝胶 DNA Recovery Kit (MP Biomedicals LLC 公司) 对目标条带进行回收纯化, 纯化后的 PCR 产物用于 MiSeq 高通量测序。

1.3.4 高通量测序

PCR 产物纯化后送至上海百趣生物医学科技有限公司, 利用 Illumina MiSeq 平台对群落 DNA 片段进行 PE300 配对测序。用 cutadapt 软件切除序列中的引物片段, 丢弃不匹配引物的序列, 使用 Vsearch 的 fastq_mergepairs 模块进行拼接。拼接完成后, 利用 fastq_filter 模块进行质量控制, 再用 derep_fulllength 模块去除重复序列。随后, 通过 cluster_size 模块以 98% 相似度对序列进行聚类, 嵌合体由 uchime_denovo 模

块去除, 并使用 Perl 脚本进行过滤, 获得高质量序列。最后, 利用 cluster_size 模块以 97% 相似度对高质量序列进行聚类, 输出代表性序列和操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), 并基于 NT 数据库进行物种注释。

1.3.5 数据处理

在 R 软件 (v4.5.1) 环境中, 采用 MicrobiotaProcess 包的 get_alpha_index() 函数计算微生物群落 α 多样性指数 (包括物种丰富度指标 ACE 与 Chao1 指数、多样性指标 Simpson 与 Shannon 指数), 并应用 get_pcoa() 函数进行主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 以评估样本间 β 多样性。对于土壤理化性质、土壤酶活性及微生物 α 多样性指数等定量数据, 采用 stats 包的 aov() 函数进行单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA), 当处理效应显著 ($P < 0.05$) 时, 进一步使用 agricolae 包的 duncan.test() 函数进行邓肯多重范围检验 (Duncan's multiple range test), 以不同小写字母标注组间差异显著性, 同时采用 Wilcoxon 秩和检验评估分类单元丰度的组间差异。利用 linkET 包的 mantel_test() 函数计算理化因子间及其与微生物群落的相关性 (含统计显著性检验), 结合 qcorrplot 包构建关联网络热图, 并应用 pheatmap 包绘制环境因子与属水平优势菌群的相关热图; 采用 UpSetR 包的 upset() 函数生成 OTU 分布直方图; 所有可视化均基于 ggplot2 包实现以确保数据呈现的准确性与图形质量。

2 结果与分析

2.1 混播处理土壤养分变化

由表 1 可知, 各处理间土壤养分指标存在显著差异 ($P < 0.05$)。混播处理下土壤全氮 (2.24–2.30 g/kg) 和铵态氮 (7.78–10.77 g/kg) 含量较单播处理显著提高 22.56%–42.69% 和 8.51%–36.79%。QT3 处理下土壤有机碳、全氮、铵态氮含量均显著高于其他处理, 分别较其他

处理提高 16.60%–24.82%、12.38%–42.69% 和 4.68%–36.79%。土壤 pH 值范围为 7.64–8.85, 表明试验地为弱碱性土壤。

2.2 混播处理土壤酶活性变化

土壤酶活性分析表明(表 2), 混播处理(QT1、QT2、QT3)整体显著高于单播处理(Q0、T0) ($P<0.05$)。具体而言, 混播处理下土壤蔗糖酶 [39.59–49.44 mg/(g·24 h)]、多酚氧化酶 [1.50–2.90 mg/(g·2 h)] 和 β -葡萄糖苷酶活性显著高于单播处理, 分别提高 10.94%–22.87%、46.01%–87.27% 和 7.35%–27.90%。其中, QT3 处理的纤维素酶 [0.18–0.26 mg/(g·72 h)]、蛋白酶 [0.83–1.10 mg/(g·24 h)]、多酚氧化酶 [1.50–2.90 mg/(g·2 h)] 和 β -葡萄糖苷酶 [0.20–0.27 mg/(g·h)] 4 种酶活性均表现最佳, 显著高于其他处理, 分别提高 15.22%–33.51%、8.62%–25.60%、12.29%–87.27% 和 7.60%–27.90%。综上所述, 混播处理土壤酶活性显著高于单播处理, 且以 QT3 处理表现最优。

2.3 混播处理土壤固碳细菌群落多样性和丰度分析

2.3.1 α 多样性指数组间差异分析

α 多样性表征特定区域或生态系统内的生物多样性水平, 是综合评价微生物群落物种丰富度与均匀度的核心指标。由表 3 可知, 所有样本的测序覆盖率(coverage)均高于 0.98, 表明测序深度已充分覆盖样本的微生物组成, 测序结果可真实反映群落结构特征。在丰富度指标方面, Chao1 指数与 Observed_species 指数分析结果一致: 不同混播比例处理组与单播处理组间均呈显著差异($P<0.05$), 其中 QT3 和 T0 处理组的群落丰富度显著高于其余处理组。

2.3.2 土壤固碳细菌群落的 OTU 聚类分析

基于 OTU 分类结果绘制 Venn 图, 由图 1A 可知, 混播和单播处理土壤固碳细菌共有 OTU 数为 1 407 个; QT1、QT2、QT3 特有的 OTU 数分别为 1 933、2 579、1 593, 约占总 OTU 数的 10.98%、14.65%、9.05%; T0 和 Q0 处理特

表1 不同比例混播下土壤养分

Table 1 Soil physical and chemical properties under different pea and oat ratios

Treatment	Organic carbon/ (g/kg)	Total phosphorus/ (g/kg)	Total nitrogen/ (g/kg)	Ammonium nitrogen/(g/kg)	Nitrate nitrogen/ (mg/kg)	pH
Q0	19.36±0.16c	4.45±0.03b	2.30±0.18c	8.50±0.04d	20.17±0.44b	7.89±0.15c
T0	20.52±0.21b	4.54±0.05ab	2.35±0.16c	7.82±0.04e	20.67±0.19b	8.36±0.07b
QT1	20.72±0.39b	4.62±0.14ab	2.92±0.07b	10.22±0.04b	21.19±0.60b	8.78±0.06a
QT2	20.73±0.32b	4.60±0.23ab	2.88±0.06b	9.22±0.06c	22.36±0.76a	7.71±0.10d
QT3	24.17±0.39a	4.75±0.06a	3.28±0.12a	10.69±0.07a	23.46±0.85a	8.19±0.07b

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at the 0.05 level ($P<0.05$). The same below.

表2 不同比例混播下土壤酶活性

Table 2 Soil enzyme activities under different pea and oat ratios

Treatment	Sucrase/ [mg/(g·24 h)]	Cellulase/ [mg/(g·72 h)]	Protease/ [mg/(g·24 h)]	Peroxidase/ [mg/(g·2 h)]	Polyphenol oxidase/ [mg/(g·2 h)]	β -glucosidase/ [μ g/(g·h)]
Q0	43.63±1.88b	0.21±0.02bc	0.91±0.05c	0.49±0.04d	1.67±0.03d	0.21±0.01d
T0	39.89±0.40c	0.19±0.01d	0.85±0.02c	0.70±0.03bc	1.53±0.03e	0.20±0.01e
QT1	48.79±0.62a	0.20±0.02b	0.86±0.05c	0.79±0.07ab	2.44±0.03c	0.24±0.01b
QT2	49.01±0.12a	0.22±0.02c	0.99±0.03b	0.64±0.04c	2.56±0.03b	0.23±0.01c
QT3	48.40±0.54a	0.25±0.01a	1.07±0.03a	0.88±0.07a	2.87±0.03a	0.26±0.01a

表3 不同比例混播下土壤固碳细菌群落 α 多样性

Table 3 Alpha diversity of soil carbon-fixing bacterial communities under different pea and oat ratios

Treatment	Abundance index		Diversity index		Coverage/%
	Chao1	Observed_species	Simpson	Shannon	
Q0	5 662.24±120.15b	3 083.07±149.50b	7.37±0.33b	0.93±0.02b	0.997±0.001
T0	6 652.83±317.32a	3 546.70±144.72a	7.56±0.12ab	0.95±0.01b	0.998±0.002
QT1	5 468.29±277.66b	2 966.00±152.61b	8.05±0.22a	0.98±0.01a	0.990±0.001
QT2	5 028.42±501.10b	2 734.73±222.20b	7.72±0.30ab	0.96±0.03ab	0.998±0.001
QT3	6 328.33±462.76a	3 464.93±226.76a	8.08±0.23a	0.97±0.01a	0.989±0.004

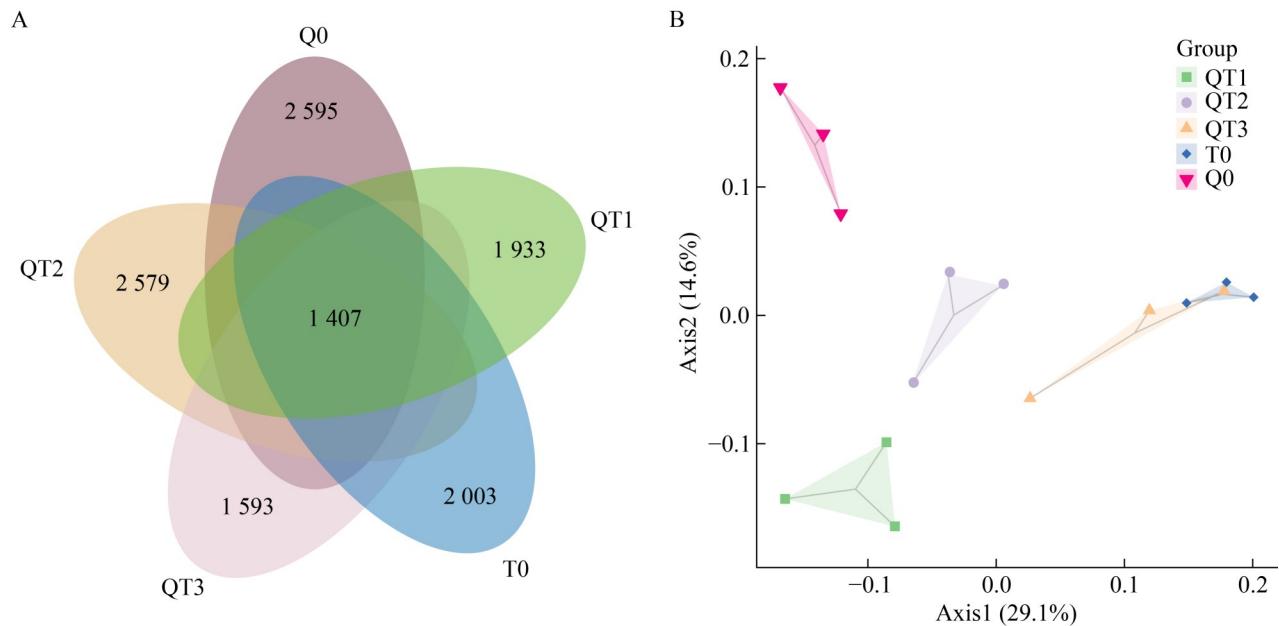


图1 不同比例混播土壤固碳细菌群落组成与结构差异

Figure 1 Differences in the composition and structure of soil carbon-fixing bacterial communities under different planting patterns. A: Venn diagram showing shared and unique OTUs; B: Principal coordinates analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distances.

有的 OTU 数分别为 2 595 和 2 003 个, 约占总 OTU 数的 14.74%、11.38%。相较于单播, 混播处理(QT1、QT2、QT3)的特有 OTU 比例较低(9.05%–14.65%), 而单播处理(T0、Q0)的特有 OTU 比例更高(11.38%–14.74%)。

2.3.3 土壤固碳细菌 β 多样性分析

为分析混播和单播土壤中固碳细菌的 β 多样性, 在 OTU 水平上采用 Bray-Curtis 算法进行 PCoA 分析。PCoA 结果反映了各处理间固碳细菌群落的差异, 其中 Axis1 和 Axis2 为最主要的

2 个特征值, 分别可解释固碳细菌群落变异的 29.1% 和 14.6% (图 1B)。从 PCoA 结果来看, 单播豌豆(Q0)与单播燕麦(T0)在第一轴(Axis 1)上呈现出极为明显的空间分离, 表明两种作物对土壤微生物群落的塑造具有截然不同的选择性。随着豌豆与燕麦混播比例的改变(QT1、QT2、QT3), 混播组的群落结构表现出独特的分布特征。其中, 2:1 混播组(QT3)在空间分布上更趋近于单播燕麦(T0), 而 1:2 混播组(QT2)则介于单播组之间。

2.3.4 土壤固碳细菌物种组成

在门水平上(图 2A), 所有 OTU 归属于 9 门 10 纲 49 属。混播与单播处理下, 土壤固碳细菌群落均以假单胞菌门 (*Pseudomonadota*, 78.94%–83.58%) 和放线菌门 (*Actinomycetota*, 12.00%–17.07%) 为核心菌门, 二者相对丰度合计占 90%–95% 以上, 门水平群落结构高度稳定。其余各门丰度极低, 不同处理间仅观察到 *Pseudomonadota* 与 *Actinomycetota* 比例的轻微波动。

在纲水平上(图 2B), 主要类群包括 β -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*, 30.20%–36.38%)、 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*, 26.76%–35.84%)、放线菌纲 (*Actinomycetes*, 12.58%–17.32%)、 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*, 4.12%–13.21%) 和蓝藻纲 (*Cyanophyceae*, 0.02%–0.14%)。其中, *Alphaproteobacteria* 与 *Betaproteobacteria* 始终保持共优势地位; *Gammaproteobacteria* 在 Q0 处理中的相对丰度显著高于其他处理; *Alphaproteobacteria* 则在 QT3 处理中的相对丰度显著高于其他混播处理(QT1、QT2)和豌豆单播(Q0)。

在属水平上(图 2C), 优势菌属包括 *Mesorhizobium* (15.58%–25.22%)、贪噬菌属 (*Variovorax*, 13.61%–18.40%)、诺卡氏菌属 (*Nocardia*, 5.95%–9.12%)、*Rubrivivax* (5.89%–8.26%) 和甲基养菌属 (*Methylibium*, 3.89%–4.95%)。*Mesorhizobium* 在混播处理中的丰度为 16.28%–20.39%, 而在 T0 处理中显著升至 25.22%, 成为绝对优势菌属。硫柄杆菌属 (*Sulfuricaulis*) 在混播处理中丰度较低 (1.00%–4.37%), 在 Q0 处理中则大幅增至 11.10%, 跃居第 3 大优势菌属。在混播处理中, *Mesorhizobium* 丰度依次递增: QT1 (16.28%)、QT2 (17.66%)、QT3 (20.39%); *Variovorax* 则呈相反趋势, 依次递减: QT1 (18.40%)、QT2 (17.67%)、QT3 (14.41%)。此外, QT3 处理中 *Rubrivivax* 与 *Methylibium* 的相对丰度均显著高

于其他处理。

2.4 混播处理固碳细菌群落差异显著性分析

LEfSe 分析(LDA>3, $P<0.05$)显示, 混播和单播处理土壤固碳细菌标志物种存在显著差异(图 3)。QT1 处理显著富集的细菌类群主要隶属于 *Pseudomonadota* 中的 β -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*), 尤其是硝化单胞菌目 (*Nitrosomonadales*) 及其下的硝化单胞菌科 (*Nitrosomonadaceae*) 和亚硝化螺菌属 (*Nitrospirillum*)。此外, α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*) 中的生丝微菌目 (*Hyphomicrobiales*) 也有多个类群富集, 包括硝化杆菌科 (*Nitrobacteraceae*)、固氮螺菌科 (*Azospirillaceae*)、固氮螺菌属 (*Azospirillum*) 及中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*)。

QT3 处理中显著富集的类群最为多样。蓝细菌门 (*Cyanobacteriota*) 及其下的 *Cyanophyceae*、聚球藻目 (*Synechococcales*)、*Prochlorococcaceae* 和 *Cyanobium* 是该处理显著的富集类群。此外, *Pseudomonadota* 的多个类群也显著富集, 包括 β -变形菌纲中的伯克霍尔德氏菌目 (*Burkholderiales*) 及其下的 *Sphaerotilaceae* 和 *Rubrivivax*; α -变形菌纲中的醋杆菌科 (*Acetobacteraceae*)、斯塔普氏菌科 (*Stappiaceae*)、斯塔普氏菌属 (*Stappia*) 以及红螺菌目 (*Rhodospirillales*) 下的玫瑰色巨大菌属 (*Rhodovastum*)。 γ -变形菌纲中的甲基球菌属 (*Methylococcus*) 也是 QT3 处理的标志性类群。

T0 处理显著富集的类群主要集中于 *Pseudomonadota*。其中, γ -变形菌纲的黄单胞菌目 (*Xanthomonadales*) 及其下的罗河杆菌科 (*Rhodanobacteraceae*) 和 *Dokdonella* 属最为显著。此外, α -变形菌纲的生丝微菌目 (*Hyphomicrobiales*) 以及放线菌门 (*Actinomycetota*) 的假诺卡氏菌目 (*Pseudonocardiales*)、假诺卡氏菌科 (*Pseudonocardiaceae*) 和假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*) 也是该处理的重要富集类群。 β -变形菌纲中的红环菌目 (*Rhodocyclales*)、红环

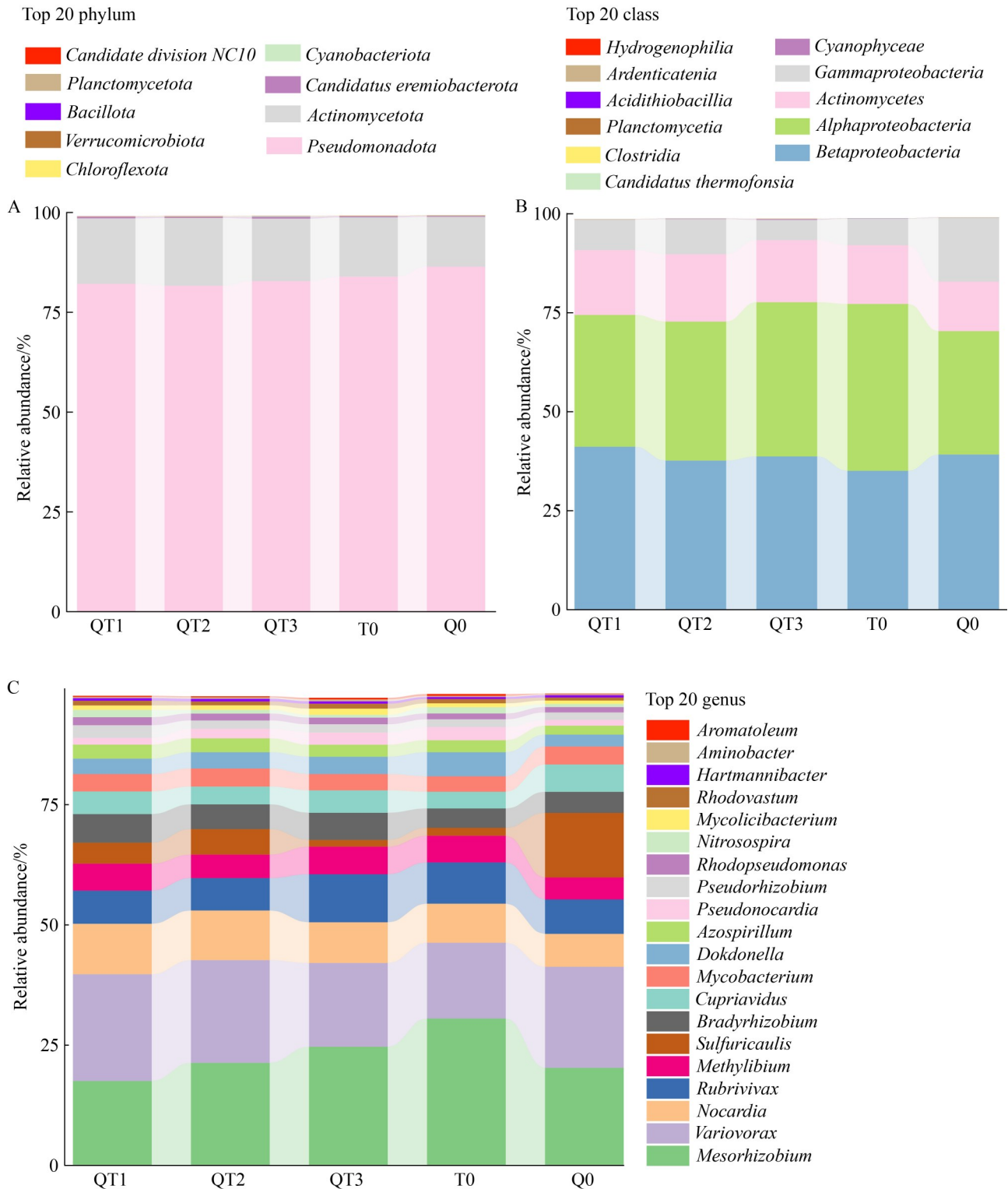


图2 不同比例混播土壤固碳细菌群落组成(不同分类水平)

Figure 2 Taxonomic composition of soil carbon-fixing bacterial communities under different planting patterns at multiple taxonomic levels. A: Phylum level; B: Class level; C: Genus level.

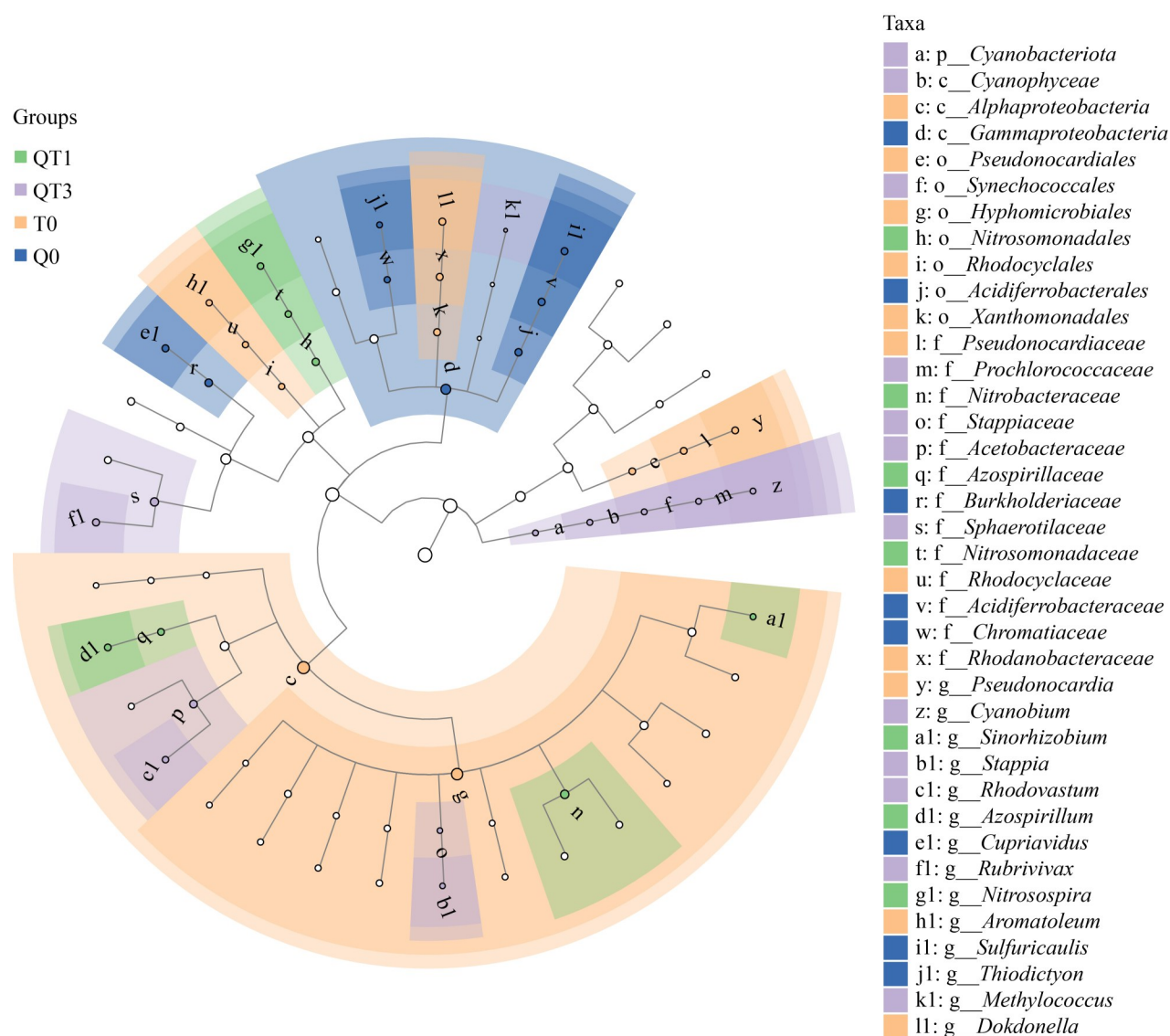


图3 不同比例混播土壤固碳细菌LEfSe分析

Figure 3 LefSe analysis of soil carbon-fixing bacteria under different pea and oat ratios.

菌科 (*Rhodocyclaceae*) 和芳香烃降解菌属 (*Aromatoleum*) 同样为 T0 处理所特有。Q0 处理显著富集的种类以 γ -变形菌纲为核心。其中最突出的是嗜酸铁氧化杆菌目 (*Acidiferrobacterales*) 及其下的嗜酸铁氧化杆菌科 (*Acidiferrobacteraceae*) 和硫柄杆菌属 (*Sulfuricaulis*)。此外, 着色菌科 (*Chromatiaceae*) 及其下的网硫菌属 (*Thiodictyon*) 也是该处理的显著特征。 β -变形菌纲中的伯克霍尔德氏菌科 (*Burkholderiaceae*) 和贪铜菌属

(*Cupriavidus*) 同样在 Q0 处理中特异性富集。

2.5 混播处理土壤环境因子与固碳微生物群落的关系

冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 结果表明 (图 4A), RDA1 和 RDA2 分别解释了 49.10% 和 35.83% 的变异, 所选取的 6 种环境因子 (TP、TN、SOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 pH) 共同解释了细菌群落总变异的 84.93%。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 SOC 是驱动研究区域土壤细菌群落结构变化的

关键环境因子。三者在 RDA1 轴上具有较高的正向载荷, 表明其对细菌群落分布格局的形成起主导作用。 β -变形菌纲的分布与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TN 呈显著正相关; 放线菌纲的分布则与 SOC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度密切相关; α -变形菌纲与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 SOC 呈正相关关系; γ -变形菌纲的分布模式与多数氮素因子相反, 呈负相关关系。pH 值在 RDA2 轴上表现出负向影响, 表明其也是影响细菌群落结构, 尤其是 γ -变形菌纲分布的重要调节因子。

通过对微生物群落与环境因子及酶活性的相关性分析(图 4B), 将其大致分为两大响应类群: 第一类为与碳氮代谢酶和养分呈显著正相关的‘促生/分解型’菌属, 主要包括 *Nocardia* 和 *Bradyrhizobium*。*Nocardia* 与转化酶(INV)、多酚氧化酶(PPO)、 β -葡萄糖苷酶(BGL)、总氮(TN)及铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)均达到了显著或极显著的正相关水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$); *Bradyrhizobium* 同样与 INV、PPO、BGL、总磷(TP)、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)表现出显著或极显著的正相关

关系($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。此外, *Sulfuricaulis* 和 *Variovorax* 也表现出正相关趋势, 均与 pH 和过氧化物酶(POD)达极显著和显著正相关($P<0.01$ 和 $P<0.05$)。第二类为与酶活性或部分理化指标呈显著负相关的类群主要包括 *Mesorhizobium*、*Rubrivivax*、*Dokdonella* 和 *Cupriavidus*。其中, *Mesorhizobium* 和 *Rubrivivax* 与 POD 酶活及 pH 均呈现极显著的负相关关系($P<0.01$); *Dokdonella* 与 pH 呈显著负相关($P<0.05$); 而 *Cupriavidus* 仅与纤维素酶(CEL)活性达极显著负相关($P<0.01$)。

2.6 混播处理土壤固碳细菌群落共现网络分析

为探究单播和混播 2 组固碳细菌群落的结构特征, 本研究选择相对丰度大于 0.01% 的固碳细菌物种进行共现网络分析(图 5)。由固碳细菌共现网络的拓扑参数可知(表 4), 与单播处理相比, 混播处理显著改善了土壤微生物共现网络的结构属性。混播体系在节点数、边数和平均加权度等关键指标上均优于单播处理, 表明混播使固碳细菌间相互作用增强, 网络复杂性

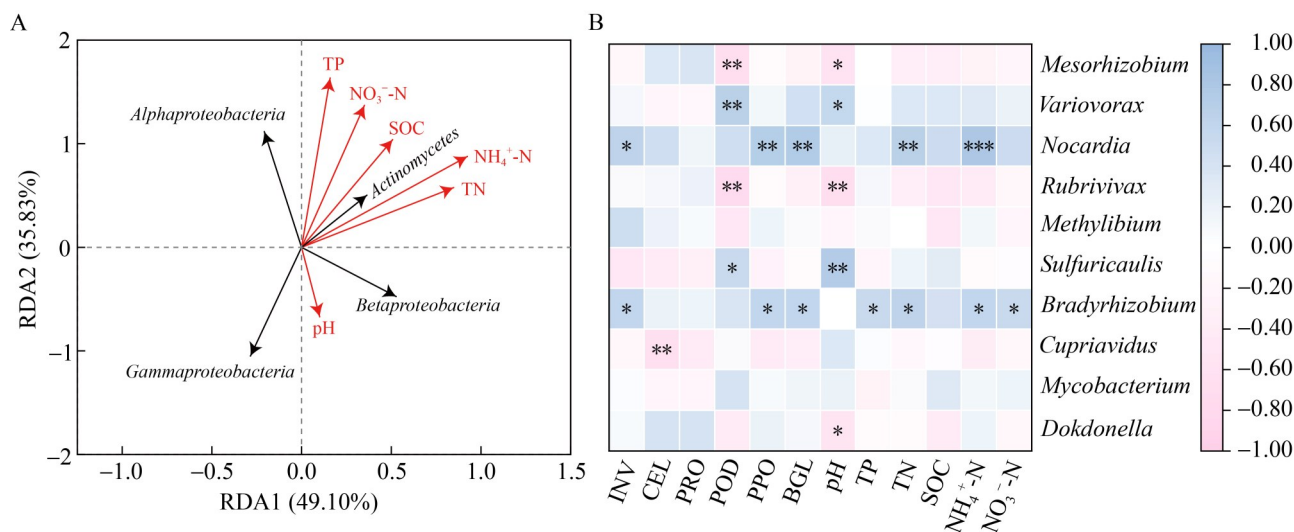


图4 土壤理化因子对固碳细菌群落的驱动作用

Figure 4 Effects of soil physicochemical factors on soil carbon-fixing bacterial communities. A: Redundancy analysis (RDA); B: Correlation heatmap between dominant genera and environmental factors. * indicates significant difference ($0.01<P\leq 0.05$); ** indicates extremely significant difference ($0.001<P\leq 0.01$); *** indicates highly significant difference ($P\leq 0.001$).

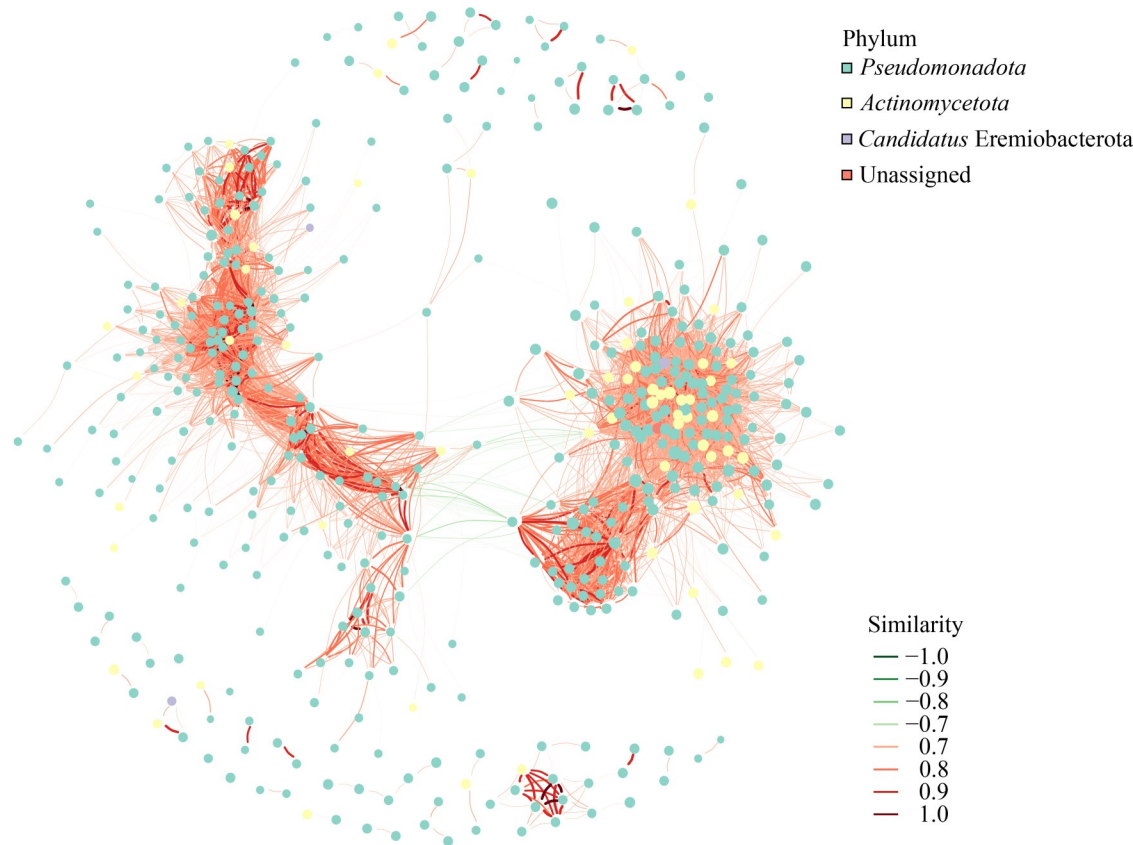


图5 不同比例混播土壤固碳细菌共现网络
Figure 5 Co-occurrence network of carbon-fixing bacteria under different pea and oat ratios.

表4 拓扑网络参数

Table 4 Topology network parameters

Features	Sole seeding		Seed mixture		
	T0	Q0	QT1	QT2	QT3
Nodes number	407	408	415	422	425
Edges number	6 327	6 299	6 580	6 850	7 216
Average degree	48.15	48.03	52.18	55.32	62.44
Network diameter	5.85	5.68	5.92	5.98	6.52
Graph density	0.077	0.076	0.081	0.084	0.089
Average clustering coefficient	0.617	0.618	0.635	0.648	0.682
Modularity	0.513	0.511	0.532	0.551	0.587
Connecting components	24	24	22	20	18
Average path length	3.00	3.00	2.95	2.91	2.87

和连接强度得到提升。同时，混播处理的模块化程度和聚类系数更高，反映出更清晰的模块化结构和更紧密的物种关联。QT3 处理在所有

混播处理中表现最为优异，其节点数和边数最高，平均加权度最大，表明该处理下微生物间相互作用最为活跃。此外，QT3 具有最高的平

均聚类系数和模块化系数, 显示其模块内连接最为紧密, 网络结构最为清晰。同时, QT3 的连接部件数最少, 平均路径长度最短, 说明网络整合程度最高, 信息传递效率最优。

豆禾混播栽培能够有效优化土壤微生物共现网络结构, 其中 QT3 处理效果最为显著, 构建的微生物网络具有复杂度高、连接紧密、模块结构清晰和信息传递高效等特点, 对增强土壤生态系统的稳定性和功能具有重要意义。

采用 Mantel 检验分析土壤有机碳(SOC)、总氮(TN)与网络拓扑参数(包括节点、边、度等 9 项指标)之间的相关性, 结果如图 6 所示。SOC 与网络拓扑结构显著相关, SOC 与固碳细菌网络的边数($r=0.26$, $P=0.03$)及连接部件数量($r=0.24$, $P=0.027$)均呈显著正相关。这表明, 随着土壤 SOC 含量的升高, 固碳细菌网络中的相互作用(连接数)趋于增加, 同时整个网络可能分

化成更多独立的子群落。TN 与网络拓扑结构无显著关联, TN 与所有检测的网络拓扑参数之间均未发现统计学上的显著相关性, 说明在本研究的种植体系中 TN 含量并非影响固碳细菌网络整体拓扑特征的主要限制因子。

网络拓扑参数内部存在紧密的协同关系。图 6 热图展示了各网络拓扑参数间的 Spearman 相关性。网络的边数与连接部件数呈极显著强负相关($r=-0.92$), 而与平均加权重度呈极显著强正相关($r=0.82$), 表明网络参数内部具有高度关联性, 同时也揭示了固碳细菌网络作为复杂生态系统, 其内部结构属性相互制约、协同变化。

3 讨论

3.1 豆禾混播对高寒土壤理化性质与酶活性的影响

本研究表明, 与燕麦(T0)和豌豆(Q0)单播相

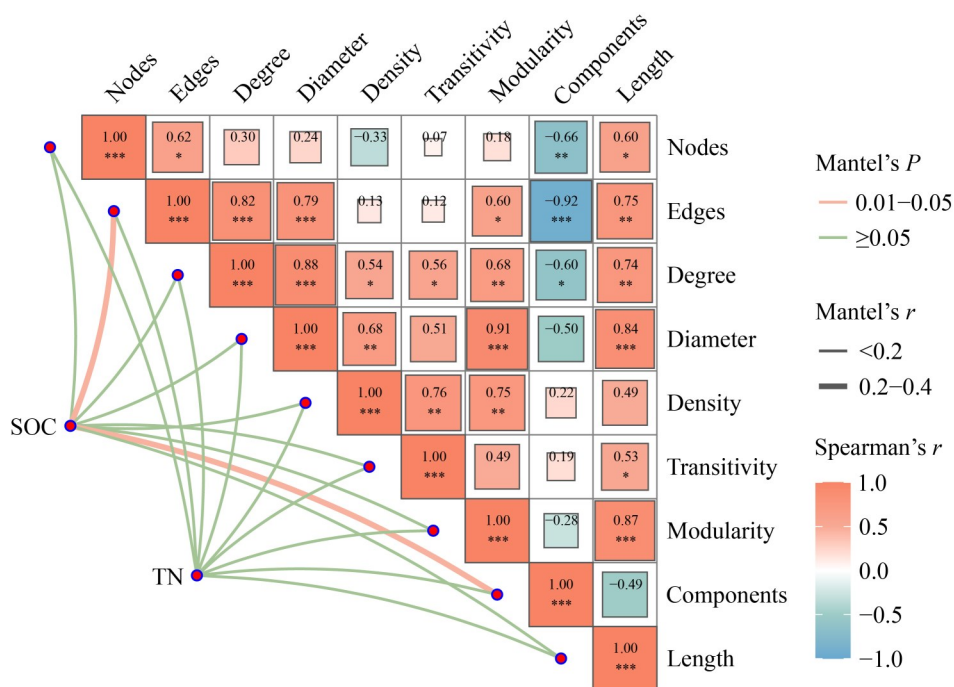


图6 土壤关键理化性质与网络拓扑参数Mantel检验分析

Figure 6 Mantel test analysis of key soil physicochemical properties and network topology parameters. * indicates significant difference ($0.01 < P \leq 0.05$); ** indicates extremely significant difference ($0.001 < P \leq 0.01$); *** indicates highly significant difference ($P \leq 0.001$).

比, 各混播处理均不同程度地提高了土壤有机碳、全氮、铵态氮、硝态氮等养分含量, 且豌豆:燕麦=2:1 的 QT3 处理在多数养分指标上表现最为突出。这说明, 在高寒半干旱地区合理配制豆禾混播比例有助于突破单一种植模式下土壤养分积累缓慢的瓶颈。该结果与保护性耕作和作物多样化促进土壤碳氮供给的普遍规律^[22,47]一致, 并进一步验证了豆科与禾本科间作可通过资源互补实现协同增效的理论预期^[48-49]。本研究结果显示, 该混播比例在多数土壤理化指标上表现最优, 说明其在资源利用和系统稳定性方面更具优势, 这与类似生态系统中的研究结论^[50-51]一致。Zhang 等^[52]发现, 与单播中华羊茅或草地早熟禾相比, 二者混播能显著提高土壤有机质、氨态氮、硝态氮、总磷和有效磷含量, 但对土壤 pH 和全氮无显著影响。然而, 不同禾草组合的影响可能存在差异。姜鑫等^[53]研究显示, 垂穗披碱草、中华羊茅、羊茅的两两或 3 种混播显著降低了土壤 pH 和全氮含量, 但显著提高了全磷含量。Luo 等^[42]在青海 3 个生态区域开展的试验进一步支持了混播的积极效应, 其通过燕麦与饲料豌豆、普通苜蓿和蚕豆的混播试验发现, 燕麦与饲用豌豆混播不仅提高了牧草产量, 还增加了土壤有机碳含量。

土壤酶活性作为表征土壤生物化学过程强度的敏感指标^[44,54], 在本研究中对各混播处理响应显著。与单播相比, 混播显著提升了蔗糖酶、纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶(碳循环相关酶)、蛋白酶(氮循环相关酶)以及多酚氧化酶和过氧化物酶(木质素降解相关酶)的活性, 且 QT3 (豌豆:燕麦=2:1)处理在多数酶种中活性最高。这一结果与高海拔地区豆禾混播可增强土壤酶活性和微生物活性的报道^[1,55]一致, 表明混播通过优化植物根系分泌物的组成与数量、改善凋落物质量(C/N 比), 有效激发了植物-土壤-微生物间的正反馈互作。尤其值得关注的是, QT3 处理下碳、氮循环酶系的同步激活, 可能解释了该处理土壤有机碳和氮素组分同时累积的机制, 即碳氮

水解与氧化过程的耦合增强, 而非单一的矿化加速或固持占优。这进一步说明, 在高寒半干旱区, 适宜的豆禾配比不仅是养分供给策略, 更是调控土壤生物学过程速率的关键工程参数。

3.2 混播与单播对土壤固碳细菌群落结构的影响

固碳微生物特别是携带 *cbbL* 基因的自养细菌, 是土壤碳同化和碳汇形成的重要生物基础^[19,21]。本研究基于 *cbbL* 基因高通量测序揭示了不同种植方式下固碳细菌群落结构与多样性的差异。 α 多样性分析显示, 混播处理特别是 QT3 在 Chao1 指数、Observed species、Shannon 指数和 Simpson 指数等方面均高于单播处理, 表明豆禾混播可在维持较高物种丰富度的同时提高群落均匀度和功能冗余。较高的微生物多样性通常与生态系统稳定性和抗干扰能力增强相关^[56], 本研究结果与农田和草地固碳微生物的相关报道^[23,25]一致。

β 多样性(PCoA)分析表明, 不同处理间固碳细菌群落结构分异明显, 混播与单播样本在排序空间中清晰分离, 说明种植模式是驱动固碳细菌群落构建的重要因素。在门/纲水平上, *Pseudomonadota* 和放线菌门为优势类群, 且 β -变形菌纲和放线菌纲在混播处理中相对丰度较高, 提示其对富养分、高有机质环境具有较强适应性。在属水平上, *Mesorhizobium*、*Variovorax*、*Nocardia* 等为重要类群。中生根瘤菌在豌豆单播中高度富集, 与豆科根瘤菌专性共生特征相符; 在混播处理尤其是 QT3 中该属仍保持较高丰度, 说明适宜的混播比例可以在增强系统多样性的同时维持固氮和固碳关键类群的生态位。

固碳微生物特别是携带 *cbbL* 基因的自养细菌是土壤碳同化和碳汇形成的重要生物基础。本研究 LEfSe 分析及属水平鉴定出的关键固碳微生物主要包括 *Mesorhizobium*、*Variovorax*、*Nocardia*、*Rubrivivax*、*Methylibium*、*Sulfuricaulis*、

Methylococcus 等。这些类群均为已证实的真实固碳微生物。国内外大量研究已证实, *Mesorhizobium* 作为豆科根瘤菌, 不仅具有固氮能力, 还携带 I 型 RubisCO 基因(*cbbL*), 可通过 CBB 循环进行化能自养固碳^[57-58]; 隶属于 *Pseudomonadota* 的 *Variovorax* 和 *Mesorhizobium*, 已在喀斯特湿地和农田土壤中被鉴定为 *cbbL* 优势属, 通过化能自养途径固定 CO₂^[59-60]; *Nocardia* 为放线菌门典型代表, 部分菌株携带 *cbbL* 基因, 具有自养固碳潜力; *Rubrivivax* 为光合细菌, 已在多个湿地和草原土壤中被报道为 *cbbL* 主导属, 可通过光能自养固碳^[59,61]; *Cyanobium* 和 *Methylococcus* 分别属于蓝细菌门和 γ -变形菌纲, 前者通过光合 CBB 循环固碳, 后者作为甲烷氧化菌兼具 *cbbL* 功能, 已在青藏高原湿地和河口沉积物中证实其固碳活性^[60-61]; *Sulfuricaulis* 为硫氧化细菌, 利用无机硫化合物提供能量进行化能自养固碳, 在喀斯特和农田土壤中为常见 *cbbL* 携带者^[59]。上述结果表明, 本研究识别的类群均具备真实的 *cbbL* 介导固碳能力, 而非偶然富集。

本研究中混播处理(尤其是 QT3, 豌豆:燕麦=2:1)显著改变了上述类群的丰度, 其主要原因和机理如下。(1) 根系分泌物与养分互补: 豌豆通过 *Mesorhizobium* 结瘤固氮增加土壤铵态氮和全氮, 为 *Variovorax*、*Methylobium* 等化能自养菌提供氮源和还原力, 同时豌豆根系分泌的有机酸和糖类为 *Cyanobium* 和 *Rubrivivax* 等光合/化能自养菌提供碳源和能量底物; 燕麦则通过深根系改善土壤通气和有机碳输入, 进一步促进 *Methylococcus* 的甲烷氧化-固碳耦合。(2) pH 与氧化还原微环境优化: QT3 处理下土壤 pH 适中, 有利于 *Rubrivivax* 和 *Cyanobium* 等需微碱环境的紫细菌与蓝细菌生长, 而单播 Q0 的 *Sulfuricaulis* 丰度升高则与豌豆单播导致的局部酸化及硫循环增强有关。(3) 植物-微生物正反馈: 混播的生态位互补提升了根际碳氮输入, 增强了固碳细菌的竞争优势和网络稳定性, 这

与国内外高寒/湿地研究^[38,42]一致。单播处理则因养分单一, 导致 *Sulfuricaulis* 或 *Dokdonella* 等专性硫/铁氧化菌主导细菌群落结构。综上所述, 混播特别是 QT3 比例通过优化土壤碳氮有效性和微环境重塑了固碳细菌群落结构, 不仅提高了多样性, 还富集了多途径协同固碳功能群, 为高寒地区土壤碳汇提升提供了微生物学机制。

3.3 固碳细菌与土壤环境因子的相关性及其耦合机制

本研究基于 RDA、相关性热图和 Mantel 检验分析了固碳细菌群落与土壤环境因子的关系, 结果表明土壤养分状况和理化性质是驱动固碳微生物群落构建和功能网络演变的关键因素。RDA 排序显示, 土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)和铵态氮(NH₄⁺-N)对群落变异的解释贡献最为突出, 表明这 3 类因子是影响固碳细菌群落结构的主导环境梯度; 这一结论与农田和草地自养固碳微生物研究中“氮素与有机碳为主控因子”的结果^[26-28]高度一致。

在群落分类单元层面, SOC、TN 和 NH₄⁺-N 与 β -变形菌纲和放线菌纲呈显著正相关, 而与部分 γ -变形菌纲类群呈负相关, 反映出不同固碳功能群对养分水平和 pH 条件具有差异化响应。富养分条件下 β -变形菌纲和放线菌纲的优势地位可能与其较高的代谢多样性和对根际有机碳、氮源的高效利用能力有关^[20,26]; 而 pH 升高对部分 γ -变形菌纲产生抑制作用, 则提示其更适宜在相对偏酸环境中生长, 这与一些森林和农田土壤的研究发现相吻合。在属水平上, 相关性热图进一步揭示了固碳细菌与环境因子之间的精细耦合关系。*Nocardia* 等属与 SOC、蔗糖酶和 β -葡萄糖苷酶等碳循环相关酶活性呈显著正相关, 说明其不仅可能参与有机碳降解和外源酶分泌过程, 还可能通过促进底物周转为自养固碳菌群提供稳定的无机碳源和能量基础。*Mesorhizobium* 和 *Variovorax* 与 TN、NH₄⁺-N 及脲酶活性呈正相关, *Mesorhizobium* 作为典型

的豆科共生固氮菌^[57-58]，其与氮素指标的正相关关系与本研究混播体系下生物固氮作用的增强预期一致；而 *Variovorax* 作为已知的化能自养固碳菌^[59-60]，其同样与氮素因子呈正相关，暗示混播体系中固氮过程释放的无机氮素可能为化能自养固碳提供了底物支持。二者在氮素驱动下的协同响应模式，与前人报道的豆禾混播中固氮与固碳功能群生态位互补机制^[23,25]相吻合。

Mantel 检验结果表明，SOC、TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等关键环境因子与微生物共现网络的多个拓扑指标之间存在显著相关性。随着 SOC 和 TN 含量的提高，网络的节点数、边数和模块化系数呈增加趋势，而连接部件数和平均路径长度逐渐降低，表明土壤碳氮水平越高，固碳微生物网络越复杂、连通性越好、信息传递路径越短，整体结构更加紧凑高效。这一结果与“土壤养分提升促进微生物共现网络复杂化和稳定化”的观点一致^[56]，也进一步证实了本研究中 QT3 处理在 SOC 和 TN 水平较高的同时，其共现网络复杂度和模块化程度最高、连接部件数最低的特征。

总而言之，豆禾混播通过提高 SOC 和矿质氮含量、改善 pH 和酶活性等土壤环境因子增强了固碳微生物与环境因子间的正向耦合：一方面，养分提升促进了固碳关键类群的多样性和丰度；另一方面，这些微生物又通过参与碳氮循环和酶促反应加速有机碳积累和氮素周转，形成“植物-土壤-微生物-环境因子”之间的正反馈环路。

本研究表明，豆禾混播特别是豌豆:燕麦=2:1 的 QT3 处理，不仅显著改善了高寒土壤理化性质和酶活性，还通过改变 SOC、TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等关键环境因子重塑了固碳细菌群落结构和共现网络特征，使微生物网络呈现高复杂度、高连通性和高模块化的稳定结构。这表明，在高寒半干旱地区推广适宜的豆禾混播模式有望在提高饲草产量和品质的同时，增强土壤碳汇能

力和生态系统稳定性，对区域农业可持续发展具有重要实践价值^[1,42]。

本研究周期相对有限，对混播制度下土壤碳库和固碳微生物群落的长期演变仍缺乏连续证据；同时，基于 *cbbL* 基因的扩增子测序主要反映群落结构和潜在功能，对实际固碳速率和关键代谢通路尚缺乏直接量化。

4 结论

豆禾混播通过优化土壤微环境、提升酶活性与养分有效性显著改善了高寒地区土壤生态功能，其中豌豆:燕麦=2:1 比例(QT3)效果最为突出。该模式不仅增强了固碳细菌群落多样性并富集了关键功能类群，还构建了复杂度更高、连接更紧密、模块化更强的微生物共现网络，表明固碳细菌群落具备更高的结构稳定性和功能协作潜力。环境因子分析进一步证实，土壤有机碳、全氮和铵态氮是驱动固碳细菌群落变化及网络优化的核心因素。这揭示了豆科固氮与禾本科根系的协同作用可有效提升土壤碳汇潜力，为高寒半干旱区饲草生产与农业可持续发展提供了科学依据。然而，本研究周期较短，未能开展长期动态监测，也未直接量化实际固碳速率，存在一定局限性。未来研究应聚焦多年连续观测，结合宏基因组与稳定同位素示踪技术验证固碳功能，并拓展至不同高寒生态区，以进一步深化混播模式在土壤碳循环中的应用机制。

作者贡献声明

桑多成：实验操作、撰写文章、数据分析和图表制作；马文字：实验操作、数据分析；鲍根生：田间试验设计，植物种植与管理；周连玉：获取基金、项目管理和文章审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 王辛有, 曹文侠, 师尚礼, 王小军, 陈新栋, 白洁, 李文. 基于生态位理论的豆禾混播草地群落稳定性利用管理研究[J]. 草地学报, 2022, 30(2): 456-463.
Wang XY, Cao WX, Shi SL, Wang XJ, Chen XD, Bai J, Li W. Study on the stability utilization and management of legume-grass mixtures community based on niche theory[J]. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(2): 456-463 (in Chinese).
- [2] 吕亮雨, 施建军, 蔡宗程, 刘青青, 苗金花, 赵筱妍, 王玥, 保善存. 高海拔地区禾豆混播对土壤理化性质及饲草生长的影响[J]. 西北农业学报, 2025, 34(5): 817-825.
Lü LY, Shi JJ, Cai ZC, Liu QQ, Miao JH, Zhao XY, Wang Y, Bao SC. Effects of mixed sowing of 'baiyan No. 7' and leguminous forages on forage yield and soil physical and physicochemical properties in a high-altitude region[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2025, 34(5): 817-825 (in Chinese).
- [3] Bélanger G, Castonguay Y, Lajeunesse J. Benefits of mixing timothy with alfalfa for forage yield, nutritive value, and weed suppression in northern environments[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2014, 94(1): 51-60.
- [4] 张永亮, 王建丽, 胡自治. 杂花苜蓿与无芒雀麦混播群落种间竞争及稳定性[J]. 草地学报, 2007, 15(1): 43-49.
Zhang YL, Wang JL, Hu ZZ. Interspecific competition and community stability of variegated Alfalfa+Awless brome mixture[J]. Acta Agrestia Sinica, 2007, 15(1): 43-49 (in Chinese).
- [5] 郭常英, 王伟, 彭丹, 蒲小剑, 傅云洁, 王龙然, 徐成体. 播种方式和行距对高寒地区燕麦/饲用豌豆草地土壤理化特性的影响[J]. 草业科学, 2023, 40(3): 654-664.
Guo CY, Wang W, Peng D, Pu XJ, Fu YJ, Wang LR, Xu CT. Effect of sowing method and row spacing on soil physicochemical properties of oat/forage pea grassland in Alpine regions[J]. Pratacultural Science, 2023, 40(3): 654-664 (in Chinese).
- [6] Nyfeler D, Huguenin-Elie O, Suter M, Frossard E, Lüscher A. Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2011, 140(1/2): 155-163.
- [7] Li Q, Yu PJ, Li GD, Zhou DW. Grass-legume ratio can change soil carbon and nitrogen storage in a temperate steppe grassland[J]. Soil and Tillage Research, 2016, 157: 23-31.
- [8] 张家洋, 蔺芳, 詹乃才, 任敏. 紫花苜蓿与无芒雀麦不同栽培模式下土壤团聚体形态结构、组成及有机碳特征[J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(6): 1077-1086.
Zhang JY, Lin F, Zhan NC, Ren M. Morphological structure, composition, and organic carbon characteristics of soil agglomerations for alfalfa and ryegrass planting patterns[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2019, 36(6): 1077-1086 (in Chinese).
- [9] 窦梓懿, 黎松松, 田新春, 张晶, 郑伟, 祁军, 陈雪, 王宁欣. 不同混播比例对箭筈豌豆+燕麦混播草地土壤氮素替代潜力的影响[J]. 草业科学, 2022, 39(11): 2424-2433.
Dou ZY, Li SS, Tian XC, Zhang J, Zheng W, Qi J, Chen X, Wang NX. Effects of different mixed sowing ratios on soil nitrogen substitution potential in mixed-sowing grassland with *Vicia sativa*+*Avena sativa*[J]. Pratacultural Science, 2022, 39(11): 2424-2433 (in Chinese).
- [10] 独双双, 祁娟, 李霞, 路欣, 贾燕伟, 赛宁刚. 苜蓿与老芒麦混播对牧草产量及土壤养分的影响[J]. 中国草地学报, 2024, 46(2): 74-82.
Du SS, Qi J, Li X, Lu X, Jia YW, Sai NG. Effect of alfalfa and *Elymus sibiricus* mixture on forage yield and soil nutrients[J]. Chinese Journal of Grassland, 2024, 46(2): 74-82 (in Chinese).
- [11] Zhao J, Zeng ZX, He XY, Chen HS, Wang KL. Effects of monoculture and mixed culture of grass and legume forage species on soil microbial community structure under different levels of nitrogen fertilization[J]. European Journal of Soil Biology, 2015, 68: 61-68.
- [12] Chen MM, Chen BD, Marschner P. Plant growth and soil microbial community structure of legumes and grasses grown in monoculture or mixture[J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, 20(10): 1231-1237.
- [13] Mistry AN, Ganta U, Chakrabarty J, Dutta S. A review on biological systems for CO₂ sequestration: organisms and their pathways[J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2019, 38(1): 127-136.
- [14] Jiang P, Xiao LQ, Wan X, Yu T, Liu YF, Liu MX. Research progress on microbial carbon sequestration in soil: a review[J]. Eurasian Soil Science, 2022, 55(10): 1395-1404.
- [15] Satlewal A, Agrawal R, Bhagia S, Sangoro J, Ragauskas AJ. Natural deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass pretreatment: recent developments, challenges and novel opportunities[J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(8): 2032-2050.
- [16] Hügler M, Sievert SM. Beyond the Calvin cycle: autotrophic carbon fixation in the ocean[J]. Annual Review of Marine Science, 2011, 3: 261-289.
- [17] Berg IA. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(6): 1925-1936.
- [18] Jeoung JH, Goetzl S, Hennig SE, Fessler J, Wörmann C, Dendra J, Dobbek H. The extended reductive acetyl-CoA pathway: ATPases in metal cluster maturation and reductive activation[J]. Biological Chemistry, 2014, 395(5): 545-558.
- [19] Thauer RK. A fifth pathway of carbon fixation[J]. Science, 2007, 318(5857): 1732-1733.
- [20] Tolli J, King GM. Diversity and structure of bacterial chemolithotrophic communities in pine forest and agroecosystem soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(12): 8411-8418.
- [21] Lynn TM, Ge TD, Yuan HZ, Wei XM, Wu XH, Xiao KQ, Kumaresan D, Yu SS, Wu JS, Whiteley AS. Soil carbon-fixation rates and associated bacterial diversity and abundance in three natural ecosystems[J]. Microbial Ecology, 2017, 73(3): 645-657.
- [22] 徐英德. 基于保护性农业的土壤固碳过程研究进展[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2022, 30(4): 658-670.
Xu YD. Conservation agriculture-mediated soil carbon

- sequestration: a review[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30(4): 658-670 (in Chinese).
- [23] 陈晓娟, 吴小红, 简燕, 袁红朝, 周萍, 葛体达, 童成立, 邹冬生, 吴金水. 农田土壤自养微生物碳同化潜力及其功能基因数量、关键酶活性分析[J]. *环境科学*, 2014, 35(3): 1144-1150.
- Chen XJ, Wu XH, Jian Y, Yuan HZ, Zhou P, Ge TD, Tong CL, Zou DS, Wu JS. Carbon dioxide assimilation potential, functional gene amount and RubisCO activity of autotrophic microorganisms in agricultural soils[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(3): 1144-1150 (in Chinese).
- [24] 王蕊, 吴宪, 李刚, 修伟明, 王丽丽, 张贵龙. 林地转型耕地对东北丘陵区白浆土 *cbbL* 细菌群落丰度和结构的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(12): 5561-5569.
- Wang R, Wu X, Li G, Xiu WM, Wang LL, Zhang GL. Effects of conversion of forest to arable land on the abundance and structure of the *cbbL*-harboring bacterial community in albic soil of the hilly region of Northeast China[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(12): 5561-5569 (in Chinese).
- [25] 邹雪峰, 何翔, 李铭刚, 包玲凤, 王雪丽, 张庆, 施竹凤, 倪明, 杨济达, 杨明英, 朱红业, 杨佩文. 稻油轮作农田土壤碳氮微生物群落多样性特征[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(10): 27-35.
- Zou XF, He X, Li MG, Bao LF, Wang XL, Zhang Q, Shi ZF, Ni M, Yang JD, Yang MY, Zhu HY, Yang PW. Diversity of carbon and nitrogen microbial communities in soil of rice-rape rotation farmland[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(10): 27-35 (in Chinese).
- [26] 王群艳, 吴小红, 祝贞科, 袁红朝, 隋方功, 葛体达, 吴金水. 土壤质地对自养固碳微生物及其同化碳的影响[J]. *环境科学*, 2016, 37(10): 3987-3995.
- Wang QY, Wu XH, Zhu ZK, Yuan HZ, Sui FG, Ge TD, Wu JS. Effects of soil texture on autotrophic CO₂ fixation bacterial communities and their CO₂ assimilation contents[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(10): 3987-3995 (in Chinese).
- [27] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 童成立, 葛体达, 魏文学, 吴金水. 长期施肥对稻田土壤固碳功能菌群落结构和数量的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(1): 183-189.
- Yuan HZ, Qin HL, Liu SL, Tong CL, Ge TD, Wei WX, Wu JS. Abundance and composition of CO₂ fixing bacteria in relation to long-term fertilization of paddy soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(1): 183-189 (in Chinese).
- [28] 高静, Said Muhammmad, 岳琳艳, 何永涛, 斯确多吉, 张宪州, 孔维栋. 藏北高原草甸土壤固碳微生物群落特征随海拔和季节的变化[J]. *生态学报*, 2018, 38(11): 3816-3824.
- Gao J, Muhammmad S, Yue LY, He YT, Si Q, Zhang XZ, Kong WD. Changes in CO₂-fixing microbial community characteristics with elevation and season in Alpine meadow soils on the northern Xizang Plateau[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(11): 3816-3824 (in Chinese).
- [29] Qin J, Li M, Zhang HF, Liu HM, Zhao JN, Yang DL. Nitrogen deposition reduces the diversity and abundance of *cbbL* gene-containing CO₂-fixing microorganisms in the soil of the *Stipa baicalensis* steppe[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 570908.
- [30] Zhang N, Wang SY, Zhou SJ, Qi DS, Ma J, Chen KL. Response of community characteristics and assembly mechanisms of *cbbL*-carrier carbon-fixing microorganisms to precipitation changes in Alpine lakeshore wetland[J]. *Agriculture*, 2025, 15(4): 379.
- [31] Zhang YQ, Hou RJ, Fu Q, Li TX, Li M, Dong SQ, Shi GX. Soil environment, carbon and nitrogen cycle functional genes in response to freeze-thaw cycles and biochar[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2024, 444: 141345.
- [32] He L, Wen YJ, Zhang ZP, Song XM. Effect of freeze-thaw cycle on carbon fixation by soil microbes[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2026, 41: 104713.
- [33] Yang XC, Hou RJ, Fu Q, Li TX, Wang JW, Su ZB, Shen WZ, Zhou WQ, Wang YJ. Effect of freeze-thaw cycles and biochar coupling on the soil water-soil environment, nitrogen adsorption and N₂O emissions in seasonally frozen regions[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 893: 164845.
- [34] Wu HY, Zang SY, Wang HX, Guo DF. Impact of biochar on carbon sequestration in permafrost region of Northeast China[J]. *Carbon Balance and Management*, 2025, 20: 44.
- [35] Song YY, Wang XW, Feng HH, Luo SY, Qi J, Ren JS, Feng YS, Mei WK, Fu FC, Zhao YT, Song CC. Soil CO₂-fixation by *cbbL*-harboring microorganisms in different types of permafrost peatlands[J]. *Applied Soil Ecology*, 2026, 217: 106639.
- [36] Fan XY, Wu XD, Ma D, Wu TH, Liu GM, Xu HY, Zou DF, Hu GJ, Liu YD, Wei XH, Yan XC, Liu YX, Yang SZ, Abakumov E. Land cover types and depth regulate carbon and nitrogen cycle functional genes in permafrost regions on the Qinghai-Xizang Plateau[J]. *Plant and Soil*, 2025, 514(1): 1507-1525.
- [37] Wu XH, Ge TD, Wang W, Yuan HZ, Wegner CE, Zhu ZK, Whiteley AS, Wu JS. Cropping systems modulate the rate and magnitude of soil microbial autotrophic CO₂ fixation in soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 379.
- [38] Bai SN, Fan MH, Wu M, Sui XL, Song YB, Jiang YL, Meng HS, Liu YL, Wang XY, Hao XJ, Li Y, Hong JP, Zhang J. Crop rotation and organic fertilizer maintains diversity and activity of *cbbL*-carrying CO₂-fixing bacteria in reclaimed coal mining soils[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2025, 126: 103759.
- [39] Li Y, Shi CQ, Wei D, Gu XJ, Wang YF, Sun L, Cai SS, Hu Y, Jin L, Wang W. Soybean continuous cropping affects yield by changing soil chemical properties and microbial community richness[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1083736.
- [40] 赵保文, 詹圆, 方嘉琪, 周青平, 汪辉. 混播比例对燕麦与箭筈豌豆生产性能的影响[J]. *中国草地学报*, 2024, 46(3): 81-90.
- Zhao BW, Zhan Y, Fang JQ, Zhou QP, Wang H. Mixing ratios effects on production performance and quality in oat and common vetch intercropping systems[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, 46(3): 81-90 (in Chinese).

- [41] 杨鹏年, 杜文华, 田新会. 甘南高寒牧区加拿大饲用燕麦与豌豆的混播效果研究[J]. 中国草地学报, 2022, 44(3): 39-48.
Yang PN, Du WH, Tian XH. Study on the mixed effect of Canadian forage oats and peas in Gannan Alpine pasture area[J]. Chinese Journal of Grassland, 2022, 44(3): 39-48 (in Chinese).
- [42] Luo F, Liu WH, Mi WB, Ma X, Liu KQ, Ju ZL, Li W. Legume-grass mixtures increase forage yield by improving soil quality in different ecological regions of the Qinghai-Xizang Plateau[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1280771.
- [43] 鲍士旦. 土壤化学分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-107.
Bao SD. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30-107 (in Chinese).
- [44] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [45] 熊剑. 一种土壤 β -葡萄糖苷酶活性的测定方法: CN115216518.A[P]. 2022-08-19.
- [46] Campbell BJ, Cary SC. Abundance of reverse tricarboxylic acid cycle genes in free-living microorganisms at deep-sea hydrothermal vents[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(10): 6282-6289.
- [47] Connell RK, James TY, Blesh J. A legume-grass cover crop builds mineral-associated organic matter across variable agricultural soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2025, 203: 109726.
- [48] 刘颖, 张佳蕾, 李新国, 张正, 万书波. 豆科作物氮素高效利用机制研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(3): 476-482.
Liu Y, Zhang JL, Li XG, Zhang Z, Wan SB. Research progress on nitrogen efficient utilization mechanism of leguminous crops[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(3): 476-482 (in Chinese).
- [49] 张晓娜, 陈平, 杜青, 周颖, 任建锐, 金福, 杨文钰, 雍太文. 玉米/大豆、玉米/花生间作对作物氮素吸收及结瘤固氮的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(8): 1183-1194.
Zhang XN, Chen P, Du Q, Zhou Y, Ren JR, Jin F, Yang WY, Yong TW. Effects of maize/soybean and maize/peanut intercropping systems on crops nitrogen uptake and nodulation nitrogen fixation[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2019, 27(8): 1183-1194 (in Chinese).
- [50] 郭常英. 播种方式对燕麦/饲用豌豆农艺性状及土壤理化性质的影响[D]. 西宁: 青海大学, 2023.
Guo CY. Effect of sowing method on agronomic traits and soil physicochemical properties of oats/forage peas[D]. Xining: Qinghai University, 2023 (in Chinese).
- [51] 王玮. 燕麦与箭筈豌豆混播下燕麦性状表型和土壤养分及微生物群落结构的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
Wang W. The phenotype of *Avena sativa* traits, nutrients and microbe community structure of soil under mixed sowing of *Avena sativa* and *Vicia sativa*[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [52] Zhang XF, Zhang CP, Liu YZ, Huo L, Yang ZZ, Tong YS, Zhang X, Yu ZH, Yang XX, Cao Q, Dong QM. Effects of planting patterns on physicochemical properties, metabolites and microbial community structure of rhizosphere soil in perennial cultivated grassland[J]. Scientific Reports, 2025, 15: 12047.
- [53] 姜鑫, 牛克昌. 青藏高原禾草混播对土壤微生物多样性的影响[J]. 植物生态学报, 2021, 45(5): 539-551.
Jiang X, Niu KC. Effects of grass mixed-sowing on soil microbial diversity on the Qingzang (Xizang) Plateau[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2021, 45(5): 539-551 (in Chinese).
- [54] Peng XQ, Wang W. Stoichiometry of soil extracellular enzyme activity along a climatic transect in temperate grasslands of Northern China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 98: 74-84.
- [55] 赛吉日呼. 牧草不同种植方式对土壤酶活性和土壤微生物量及多样性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2019.
Saiji Rihu. Effects of different planting methods on soil enzyme activities and soil microbial biomass and diversity[D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2019 (in Chinese).
- [56] Pedrinho A, Mendes LW, de Araujo Pereira AP, Araujo ASF, Vaishnav A, Karpouzas DG, Singh BK. Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems[J]. Plant and Soil, 2024, 500(1/2): 325-349.
- [57] Shan LG, Julihaiti A, Wang WH, Lu D, Hu Y, Zhao BL, He YK, Meng XK, Yang HL. Artificial grassland establishment alters soil organic carbon fractions and *cbbL*-type carbon-sequestering microbial communities[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1726039.
- [58] Liao QH, Lu C, Yuan F, Fan QY, Chen HY, Yang L, Qiu PH, Feng ZY, Wang CL, Zou XQ. Soil carbon-fixing bacterial communities respond to plant community change in coastal salt marsh wetlands[J]. Applied Soil Ecology, 2023, 189: 104918.
- [59] Wang XY, Li W, Xiao YT, Cheng AQ, Shen TM, Zhu M, Yu LJ. Abundance and diversity of carbon-fixing bacterial communities in karst wetland soil ecosystems[J]. Catena, 2021, 204: 105418.
- [60] Zhang N, Yang ZW, Qi DS, Li L, Chen KL, Fu L, Sun JQ. Regulatory mechanisms of simulated precipitation on *cbbL* carbon-fixing microbial communities in the Alpine source wetland[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1592315.
- [61] Liu Q, Yang WQ, Kou JC, Li QY, Zhang YC, Li XL, Zhang J, Hao ZT, Chi L, Ning YZ. Ecosystem carbon storage and carbon metabolizing microorganisms in three types of grasslands on the Qinghai-Xizang Plateau[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1627840.