

# 黑土根际土壤有机碳及结构对长期施肥的响应

陈磊<sup>1,2</sup>, 郝小雨<sup>1</sup>, 马星竹<sup>1</sup>, 周宝库<sup>1</sup>, 王爽<sup>1</sup>, 魏丹<sup>3</sup>, 周磊<sup>4</sup>, 刘荣乐<sup>5</sup>,  
汪洪<sup>2\*</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院土壤肥料与资源环境研究所, 哈尔滨 150086; 2. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所/耕地培育技术国家工程实验室/农业农村部植物营养与肥料重点实验室, 北京 100081; 3. 北京农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100097; 4. 黑龙江省科学院, 哈尔滨 150001; 5. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191)

**摘要:** 由于人类农业措施的干扰, 氮肥和畜禽粪污大量输入到黑土中, 对土壤有机碳库产生了较大负面影响。根际有机碳在调控土壤碳循环和养分转化中发挥着重要的作用。探明根际有机碳对不同养分的生态响应, 可为不同施肥处理下黑土农田生态系统碳固持和农田可持续利用提供理论依据。该研究以黑土长期定位试验为基础, 采集长期不施肥(CK)、常量氮(N)、二倍量氮(N2)、常量有机肥(M)、二倍量有机肥(M2)、常量有机肥+常量氮(MN)、二倍量有机肥+二倍量氮(M2N2) 7 个处理下大豆根际土壤, 分析了根际有机碳和活性有机碳特征, 同时利用固态核磁共振技术分析其光谱特征。结果表明, N、M2、MN 和 M2N2 处理的根际土壤有机碳含量显著高于非根际水平, 且以 MN 和 M2N2 处理的根际效应最显著, 分别比非根际增加了 18.3%和 26.7%。分析核磁共振光谱显示, 与非根际土壤相比, 根际土壤具有较高的烷氧基碳比例和较低芳香碳比例, 表明根际效应能够改变土壤有机碳结构比例。与不施肥处理相比, 大部分施肥处理提升了黑土根际有机碳含量, 其中以氮肥马粪配施和二倍量马粪(M2N2)处理提升幅度最高。由核磁共振图谱可知, M2 和 M2N2 处理均增加根际土壤难降解成分烷基碳比例、芳香基碳比例、烷基碳与烷氧基碳比值、芳香碳与总碳比值, 而 MN 处理仅增加烷基碳比例、烷氧基碳比例以及烷基碳与烷氧基碳比值。二倍量氮肥(N2)处理降低烷基碳比例、芳香碳比例和烷氧基碳比例, 根际土壤难降解成分降低, 不利于土壤固碳, 同时证明固态<sup>13</sup>C-核磁共振技术结合半定量分析能够准确地分析不同有机碳结构组分变化, 深刻认识根际土壤有机碳的稳定机制。

**关键词:** 氮; 有机碳; 有机肥; 核磁共振; 大豆根际; 黑土

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.08.009

中图分类号: S153

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2022)-08-0072-07

陈磊, 郝小雨, 马星竹, 等. 黑土根际土壤有机碳及结构对长期施肥的响应[J]. 农业工程学报, 2022, 38(8): 72-78.

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.08.009 <http://www.tcsae.org>

Chen Lei, Hao Xiaoyu, Ma Xingzhu, et al. Changes of soil organic carbon and its structure in rhizosphere of black soil under long-term fertilization[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(8): 72-78. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.08.009 <http://www.tcsae.org>

## 0 引言

为了满足人们对于农产品的需求, 农田化肥的投入呈不断上升趋势, 尤其是氮肥, 中国氮肥施用量已从 1980 年的 934.2 万 t 增加到 2020 年的 1 833.9 万 t<sup>[1]</sup>, 这些氮肥的投入虽然推动了粮食产量的增长, 但也极大地改变了农田生态系统氮素循环。因碳氮循环是所有元素循环中联系最紧密的, 在农田土壤中投入氮肥将影响土壤有机碳周转<sup>[2]</sup>。在研究有机碳周转中, 由于活性有机碳含量对施肥、灌溉、耕作方式等的变化非常敏感, 故经常用活性有机碳含量来评价农田耕地质量和农田管理措施的效果<sup>[3]</sup>。根际土壤是植物-土壤生态系统进行物质和能量交

换的一个活跃微域<sup>[4]</sup>。因植物根系脱落物及其分泌物持续累积, 根际土壤的物理结构、化学性质以及生物因素等均不同于非根际土壤<sup>[5]</sup>。研究显示, 根际有机碳的变化强烈影响土壤团粒结构、养分供应甚至作物产量<sup>[6-7]</sup>。施肥影响植物生长并改变根系脱落物及其分泌物的数量和组成, 这直接改变农田生态系统有机碳储量和稳定机制。Sun 等<sup>[8]</sup>的研究表明, 与不施氮肥相比, 冬小麦从拔节期到生育期末氮肥处理的根际激发效应程度显著增高了 25%, 有机碳多分解了 0.26 g/kg (以 C 计, 下同)。

黑龙江省黑土面积 4.82 万 km<sup>2</sup>, 占中国东北黑土总耕地面积的 74.77%, 是最大的国家商品粮基地, 拥有丰富的畜禽粪污、农业秸秆等资源。近年来, 黑龙江省大力实施种植业与畜牧业“主辅换位”战略, 农业产业结构调整不断深入, 大力推进现代化畜牧业发展, 数据显示 2015 年黑龙江省畜禽粪污总量 1.13 亿 t, 且畜禽粪污量呈持续上升趋势<sup>[9]</sup>。2017 年省政府印发了<sup>[10]</sup>《关于黑龙江省畜禽养殖废弃物资源化利用工作方案的通知》, 规定到 2020 年全省畜禽粪污综合利用率达到 75%以上。畜禽养殖废弃物已成为黑龙江地区未来农田生态系统大量输入的一种资源。

收稿日期: 2021-10-01 修订日期: 2022-01-13

基金项目: 科技部科技基础资源调查专项(2021FY100406); 黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z20093)

作者简介: 陈磊, 博士, 助理研究员, 研究方向为土壤有机碳及根际生物学过程。Email: chengz5251@163.com

\*通信作者: 汪洪, 博士, 研究员, 研究方向为土壤植物中、微量营养元素。Email: wanghong01@caas.cn

在这样的背景下, 理解黑土长期畜禽有机肥处理下土壤有机碳变化特征显得尤为重要, 是实现黑土可持续耕种及土壤肥力提升的关键。目前国内固体核磁共振技术已广泛应用于施肥、免耕、轮作、秸秆还田等农业生产措施对土壤有机碳组成和结构的研究, 少数研究从根际土壤有机碳结构变化角度入手, 直接证明植物光合碳对土壤有机碳周转的影响<sup>[11-12]</sup>, 但是目前却很少有研究将长期定位试验黑土根际土壤有机碳变化与核磁共振结合在一起。因此, 本研究以东北平原黑土肥料长期定位试验为基础, 以轮作体系下大豆为研究对象, 分析长期不同氮肥、马粪和氮肥马粪配施下根际土壤有机碳、活性有机碳以及有机碳组分结构的变化规律, 探讨不同施肥处理对根际土壤有机碳稳定机制的影响, 以期评价不同施肥处理对土壤有机碳固存和耕地质量的影响提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 长期定位试验概况

长期定位试验区始建于 1979 年, 现位于哈尔滨市道外区民主镇。该区域地势平坦, 海拔 151 m, 属松花江二级阶地, 成土母质为洪积黄土状黏土, 黑土层厚度为 50 cm。属中温带大陆性季风气候, 冬季寒冷干燥, 夏季炎热多雨, 年均气温 3.5 °C, 昼夜温差较大, 年均无霜期 135 d, 年均降雨量 533 mm。2010 年 12 月在冻土条件下对原黑土长期肥料定位试验进行搬迁, 黑土搬迁深度为 1.1 m, 新址为哈尔滨市道外区民主镇黑龙江现代农业示范区 (126°51' E, 45°50' N)。初始耕层 (0~20 cm) 土壤有机碳 15.5 g/kg、全氮 1.47 g/kg、全磷 1.07 g/kg、全钾 25.16 g/kg、有效氮 151 mg/kg、速效磷 51 mg/kg、速效钾 200 mg/kg、pH 值 7.2。1979 年定位试验种植小麦, 采用小麦-大豆-玉米轮作制, 每年一季, 设置 24 个施肥处理, 每个处理 3 次重复, 试验小区 36 m<sup>2</sup> (4 m×9 m), 各小区用砖和水泥隔开, 随机排列, 无灌溉设施。

### 1.2 本文试验设计

试验选择长期定位试验中不施肥 (CK)、常量氮 (N)、二倍量氮 (N2)、常量有机肥 (M)、二倍量有机肥 (M2)、常量有机肥+常量氮 (MN)、二倍量有机肥+二倍量氮 (M2N2) 7 个处理。所施用化肥为尿素 (含 N 46%, 质量分数, 下同)、重过磷酸钙 (含 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 46%)、磷酸二铵 (含 N 18%、含 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 46%) 和硫酸钾 (含 K<sub>2</sub>O 50%), 化肥均为秋收后施用。有机肥为发酵后纯马粪, 按氮量计 75 kg/hm<sup>2</sup>, 施用前进行养分和含水率测定, 每轮作周期施一次, 于玉米季收获后秋施。所用马粪养分含量为多年测定平均值, 分别为 N 0.58%、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0.65%、K<sub>2</sub>O 0.90%。常量氮磷钾肥料水平, 在轮作周期的小麦季和玉米季为 N 150 kg/hm<sup>2</sup>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 75 kg/hm<sup>2</sup> 和 K<sub>2</sub>O 75 kg/hm<sup>2</sup>, 大豆季为 N 75 kg/hm<sup>2</sup>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 150 kg/hm<sup>2</sup> 和 K<sub>2</sub>O 75 kg/hm<sup>2</sup>。

在 2015 年秋季玉米收获之后施用纯马粪, 2016 年和 2017 年分别种植小麦和大豆。

### 1.3 样品采集与测定

选择 2017 年夏季大豆开花结荚期进行田间的根际和非根际土壤样品取样, 此时大豆处于生殖生长期, 根际

效应最为强烈。在各处理小区随机选 10 株植株, 收获地上部, 挖取整个根系带回实验室后, 轻揉土壤将松散土壤抖掉去除, 采用毛刷收集附着在根系表面的土壤为根际土壤, 对应选取行间土壤为非根际土壤。过 2 mm 筛混匀样品, 用镊子去除根系、植物残体以及其他杂质, 土壤样品装入聚乙烯塑料袋中。土样自然风干用于土壤基础理化性状、有机碳结构测定。

1) 土壤有机碳测定, 采用重铬酸钾外加热法测定土壤有机碳含量。

2) 活性有机碳测定, 采用高锰酸钾溶液氧化-比色法。33 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 下测定值为高活性有机碳含量, 33 和 167 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 下测定值的差值为中活性有机碳含量, 167 和 333 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 下测定值的差值为低活性有机碳, 333 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 下测定值为活性有机碳含量, 低、中、高活性碳比例是指分别占根际 (非根际) 土壤总有机碳的比例。

### 3) 核磁共振测定土壤碳结构

本试验土壤样品使用 Bruker Avance 400 固体核磁共振仪器。通过 <sup>13</sup>C CP/TOSS 技术来辨别有机质特定的官能团。本试验中采用的是 4 mm 双共振魔角旋转 (Magic Angle Spinning, MAS) 探头, <sup>13</sup>C 的频率为 100 MHz, <sup>13</sup>C CP/TOSS 试验转速为 5 kHz, 延迟 0.8 s, <sup>1</sup>H 90° 脉宽 4 μs, 交叉极化接触时间为 1 ms。在检测之前, 应用四脉冲总旋转边带抑制和双脉冲相位调制解耦优化分辨率。本研究中所有核磁共振图谱中每一官能团在全谱中所占比例均是通过积分来获取, 其中甲氧基积分后所占比例需再除以 0.65, 用以校正因偶极去相时所引起信号的损失。波谱被分为 7 个化学位移区域<sup>[13-15]</sup>, 见表 1, 总碳化学位移在 0~160×10<sup>-6</sup> 之间, 其中烷氧基碳化学位移在 45×10<sup>-6</sup>~110×10<sup>-6</sup> 之间, 而芳香碳在 110×10<sup>-6</sup>~160×10<sup>-6</sup> 之间。烷基碳与烷氧基碳的比值、芳香碳与总碳的比值可以表征土壤有机质的分解程度和有机质质量<sup>[13-16]</sup>, 脂肪碳与芳香碳的比值和疏水性碳与亲水性碳的比值分别用于表示土壤有机碳的脂化度及疏水性, 其中脂肪碳/芳香碳=(烷基碳+甲氧基碳+碳水化合物类碳+双氧烷基碳)/(芳香碳+酚芳基碳), 疏水性碳/亲水性碳=(烷基碳+芳香碳+酚芳基碳)/(甲氧基碳+碳水化合物类碳+双氧烷基碳+羰基碳)<sup>[17]</sup>。

表 1 土壤 <sup>13</sup>C NMR CP/TOSS 分析波谱中化学位移及其对应成分

Table 1 Chemical shift and its corresponding components in the <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance CP/TOSS spectra of soil

化学位移 Chemical shift ×10 <sup>-6</sup>	对应官能团 (大分子化合物) Functional groups of chemical shift regions (Macromolecular compound)	官能团符号 Symbol of functional group	文献参考 References
0~<45	烷基碳 (脂肪类)	Alkyl C	[14-15]
45~<60	甲氧基碳 (木质素和氨基酸)	Methoxyl C	[13-15]
60~<94	碳水化合物类碳 (纤维素、半纤维素和木质素)	Carbohydrate C	[13-15]
94~<110	双氧烷基碳 (纤维素和半纤维素)	Di-O-alkyl C	[14-15]
110~<142	芳香基碳 (单宁和木质素)	Aryl C	[13-15]
142~<160	O-芳香基碳 (多酚、单宁和木质素)	O-Aryl C	[14-15]
160~220	羰基碳 (酰胺、羧酸和酯类化合物)	Carbonyl C	[14-15]

## 1.4 数据统计分析

统计分析利用 WPS 2016 软件对试验数据进行处理和作图, 采用 SPSS 19 软件对数据进行方差分析, 不同处理之间数据多重比较采用 Duncan 新复极差法检验 ( $\alpha=0.05$ )。

## 2 结果与分析

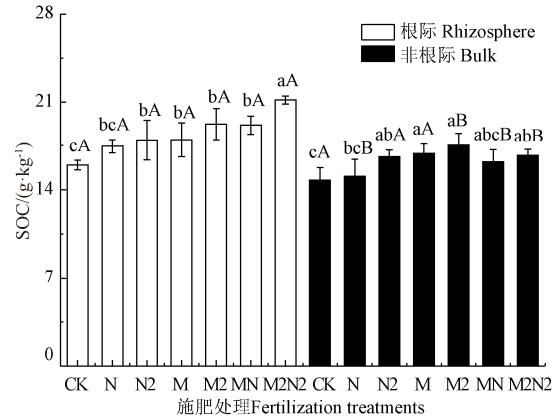
### 2.1 施肥对根际有机碳的影响

由图 1 可知, 在根际土壤, 除 N 处理外, 与 CK 理相比, 施肥处理显著提升土壤有机碳含量 ( $P<0.05$ ), 其中 M2N2 处理和 M2 处理增加根际土壤有机碳达到 20.1%~32.7%。M2N2 处理的有机碳含量显著高于其他施肥处理, 与二倍量 (N2 和 M2) 处理相比, M2N2 处理分别显著增加有机碳 3.21 和 1.93 g/kg。施肥 (N、N2、M、M2 和 MN) 处理间有机碳含量差异不显著 ( $P>0.05$ )。在非根际土壤中施肥处理对有机碳的影响与根际土壤变化相似, 但以 M2 处理最高。与 CK 和 N 处理相比, M 和 M2 处理显著增加有机碳含量 ( $P<0.05$ )。这显示不同肥料的施用对根际和非根际土壤有机碳含量影响存在差异。N、M2、MN 和 M2N2 处理的根际土壤有机碳含量显著高于非根际水平, 且以 MN 和 M2N2 处理的根际效应最显著, 分别比非根际增加了 18.3%和 26.7%, 表明马粪氮肥配施处理对根际土壤有机碳提升显著。与不施肥处理相比, 氮肥配施马粪处理 (M2N2) 和高量马粪处理 (M2) 显著增加根际土壤有机碳达到 20.1%~32.7%。

### 2.2 施肥对活性有机碳的影响

土壤活性有机碳含量对土壤有机碳周转有重要影响, 占总有机碳含量的 42.43%~57.94%。从表 2 可知,

各施肥处理对土壤活性有机碳含量有影响, 与单施马粪 (M) 处理相比, M2N2 处理增加根际活性有机碳含量显著, 达到 9.89 g/kg。在非根际土壤中, 相比于 M 处理下活性有机碳含量, CK、N、N2 和 MN 处理增加显著。仅 M2N2 处理下的根际土壤活性有机碳含量显著高于非根际土壤, 其他处理下差异未达到显著水平 (表 2)。



注: CK, 不施肥; N, 常量氮; N2, 二倍量氮; M, 常量有机肥, M2, 二倍量有机肥; MN, 常量有机肥+常量氮; M2N2, 二倍量有机肥+二倍量氮。不同小写字母表示根际土壤或非根际土壤中施肥处理之间差异显著 ( $P<0.05$ ), 不同大写字母表示同一施肥处理下根际与非根际土壤之间差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同。

Note: CK, no fertilization; N, nitrogen fertilizer; N2, two times of nitrogen fertilizer; M, horse manure; M2, two times of horse manure; MN, horse manure plus nitrogen fertilizer; M2N2, two times of horse manure plus nitrogen fertilizer. Different lowercase letters indicate significant difference among treatments in rhizosphere or bulk soils at the 0.05 level, and different capital letters indicate significant difference between rhizosphere and bulk soils under the same fertilization treatment at the 0.05 level. The same below.

图 1 长期不同施肥处理对黑土根际和非根际土壤有机碳影响  
Fig.1 Effects of long-term different fertilization treatments on Soil Organic Carbon (SOC) in rhizosphere and bulk soil

表 2 长期不同施肥处理对黑土根际和非根际土壤活性有机碳的影响

Table 2 Effects of long-term different fertilization treatments on labile organic carbon in rhizosphere and bulk soil

土壤 Soils	处理 Treatments	活性有机碳 Labile organic carbon		低活性有机碳 Low labile organic carbon		中活性有机碳 Middle labile organic carbon		高活性有机碳 High labile organic carbon	
		值 Value/(g·kg <sup>-1</sup> )	占比 Proportion/%	值 Value/(g·kg <sup>-1</sup> )	占比 Proportion/%	值 Value/(g·kg <sup>-1</sup> )	占比 Proportion/%	值 Value/(g·kg <sup>-1</sup> )	占比 Proportion/%
根际 Rhizosphere	CK	8.33abA	52.26aB	3.94aA	24.66aA	3.84aA	24.10aA	0.56aA	3.50aB
	N	8.40abA	48.14abB	4.22aA	24.16aB	3.64aA	20.89bA	0.54aB	3.08bB
	N2	8.45abA	45.81bcB	4.20aA	22.69aA	3.72aA	20.18bA	0.54aA	2.94bB
	M	8.11bA	42.85cB	3.91aA	20.66aA	3.68aA	19.44bA	0.52aA	2.75bcB
	M2	8.61abA	48.12abA	4.55aA	25.45aA	3.50aA	19.60bA	0.55aA	3.08bA
	MN	8.29abA	43.17cB	3.85aA	20.06aA	3.89aA	20.22bA	0.55aB	2.88bcB
	M2N2	9.98aA	42.43cB	4.56aA	21.54aA	3.75aA	17.70bA	0.52aB	2.47cB
非根际 Bulk	CK	8.47abA	57.65aA	4.18abA	28.46abA	3.70aA	25.20aA	0.59aA	4.00abA
	N	8.68aA	57.94aA	4.49aA	29.95aA	3.57abA	23.82abA	0.62aA	4.17aA
	N2	8.56abA	51.51bA	4.33abA	26.01bcA	3.65abA	21.96bcA	0.59aA	3.53bcA
	M	8.16cA	49.51bA	3.88bA	23.54cA	3.69aA	22.40abcA	0.59aA	3.57bcA
	M2	8.27bcA	49.73bA	4.22abA	25.37bcA	3.47abA	20.91bcA	0.58aA	3.46cA
	MN	8.57abA	48.97bA	4.39aA	25.01bcA	3.58abA	20.50cA	0.61aA	3.46cA
	M2N2	8.26bcB	49.45bA	4.25abA	25.48bcA	3.41bA	20.41cA	0.59aA	3.56bcA

由表 2 可知, 相比于 CK 处理, 施肥处理下根际土壤中活性有机碳占总有机碳比值变化是降低趋势。在非根际土壤中, CK 处理的活性有机碳占总有机碳比值显著高于其他施肥处理 (N 和 M 处理除外), N2、M、M2、MN 和 M2N2 处理间活性有机碳占总有机碳比值差异不

显著。活性有机碳主要以低活性和中活性有机碳为主, 占活性有机碳为 92.3%~94.8%。长期不同施肥对根际土壤低、中、高活性有机碳含量影响不显著。与 CK 相比, 施肥处理显著降低根际土壤中、高活性有机碳占总有机碳比值, 尤其是 M2N2 处理的高活性有机碳占总有机碳

比值显著低于 N、N2、M2 处理。

表 2 表明，非根际土壤，M、M2、M2N2 处理相比于 N 处理显著降低活性有机碳含量，相比于活性有机碳含量最低的 M 处理，N、N2、MN 处理显著增加活性有机碳含量。与其他施肥处理相比，CK 和 N 处理明显提升活性有机碳占总有机碳比值。在施肥处理中，N 和 MN 处理的非根际土壤低活性有机碳含量最高，且显著大于 M 处理。在低活性有机碳占总有机碳比值中，N 处理显著高于其他施肥处理（CK 除外）。与 M2N2 处理相比，N 处理显著增加非根际土壤中活性有机碳含量。N2、M2、MN、M2N2 处理相比于 CK 处理显著降低非根际土壤中活性有机碳/总有机碳比值。

2.3 施肥对土壤碳结构的影响

从图 2 可知，长期施肥下根际与非根际土壤有机碳 NMR 谱图形状相似，但是主要吸收峰相对强度不同，这表明不同肥料的施用对有机碳组分影响存在差异性。土壤 NMR 图谱官能团相对含量分析结果如表 3 所示，在根际土壤中，与 CK 处理相比，施肥处理增加烷基碳、烷基碳与烷氧基碳比值和疏水性碳与亲水性碳比值，以 N、M 和 M2 处理最高；M 处理降低双氧烷基碳、芳香基碳和羰基碳；M2 处理降低双氧烷基碳和羰基碳。与 M 处理相比，M2 处理降低碳水化合物类碳、脂肪碳/芳香碳比值。与 N 处理相比，增加有机肥后 MN 处理升高甲氧基碳、碳水化合物类碳和脂肪碳/芳香碳，降低烷基碳、芳香基碳、烷基碳/烷氧基碳、芳香碳/总碳和疏水性碳/亲水性碳。相比于 N2 处理，M2N2 处理增加烷基碳、甲氧基碳、芳香基碳、O-芳香基碳、烷基碳/烷氧基碳、疏水性碳/亲水性碳，降低碳水化合物类碳、羰基碳、脂肪碳/芳香碳（表 3）。相比于 CK 处理，N 处理升高根际土壤烷基碳、碳水化合物类碳、芳香基碳，降低甲氧基碳、双氧烷基碳、O-芳香基碳和羰基碳；N2 处理增加烷基碳、双氧烷基碳、O-芳香基碳、羰基碳、烷基碳/烷氧基碳、芳香碳/总碳和疏水性碳/亲水性碳。

水性碳/亲水性碳。N2 处理比 N 处理增加了双氧烷基碳、O-芳香基碳、羰基碳。

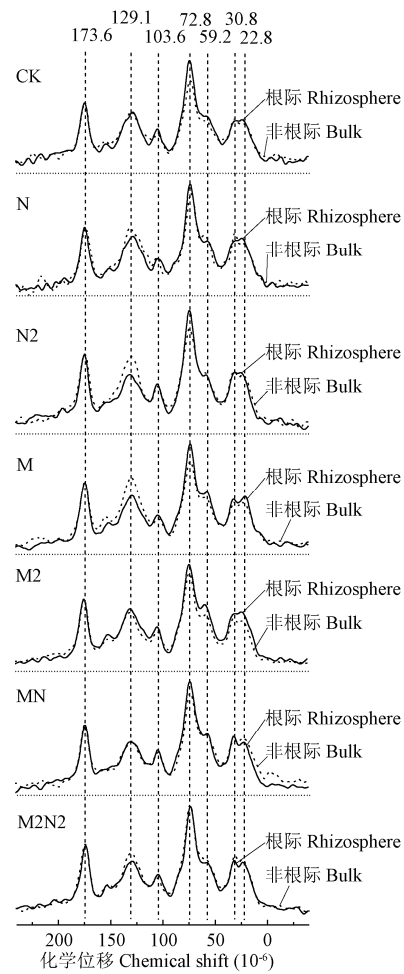


图 2 长期不同施肥下黑土根际与非根际土壤的 <sup>13</sup>C-NMR 谱图

Fig.2 <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance of rhizosphere and bulk soil under long-term different fertilization treatments

表 3 长期不同施肥下黑土根际与非根际土壤不同官能团相对含量

Table 3		Relative contents of different functional groups in rhizosphere and bulk soil under long-term different fertilization treatments													
土壤 Soils	处理 Treatments	不同官能团相对含量 The relative content of different functional groups/%										Alk C/ O-alk C	Aro C/ Tot C	Ali C/ Aro C	Hb C/ Hi C
		Alk C	Met C	Cad C	Di-O-alk C	O-alk C	Ary C	O-Ary C	Aro C	Car C					
根际 Rhizosphere	CK	18.15	8.86	27.96	6.03	42.85	17.53	4.59	22.12	16.89	0.42	0.34	2.76	0.67	
	N	21.10	8.73	28.03	5.66	42.42	18.23	4.53	22.76	13.72	0.50	0.35	2.79	0.78	
	N2	18.46	7.76	27.64	6.35	41.75	16.58	5.64	22.22	17.56	0.44	0.35	2.71	0.69	
	M	20.41	9.09	27.11	5.85	42.05	17.22	5.50	22.72	14.82	0.49	0.35	2.75	0.76	
	M2	20.70	8.64	25.84	6.01	40.49	17.59	6.14	23.73	15.08	0.51	0.37	2.58	0.80	
	MN	19.20	8.92	28.58	6.39	43.89	16.23	5.42	21.65	15.26	0.44	0.33	2.91	0.69	
	M2N2	19.04	8.00	27.41	6.37	41.78	16.97	5.99	22.96	16.21	0.46	0.35	2.65	0.72	
非根际 Bulk	CK	19.54	8.30	25.32	5.52	39.14	19.54	5.88	25.42	15.92	0.50	0.39	2.31	0.82	
	N	20.14	7.98	25.73	5.06	38.77	20.77	5.33	26.10	14.97	0.52	0.40	2.26	0.86	
	N2	18.23	7.59	24.79	5.91	38.29	19.79	6.21	26.00	17.49	0.48	0.40	2.17	0.79	
	M	18.24	8.02	23.53	5.14	36.69	22.33	6.94	29.27	15.79	0.50	0.44	1.88	0.91	
	M2	20.10	7.15	26.06	5.69	38.90	17.61	6.09	23.70	17.30	0.52	0.38	2.49	0.78	
	MN	22.56	10.16	27.09	6.31	43.56	16.39	4.40	20.79	13.09	0.52	0.32	3.18	0.77	
	M2N2	19.32	8.37	26.52	5.78	40.67	17.99	5.89	23.88	16.13	0.48	0.37	2.51	0.76	

注：Alk C, 烷基碳；Met C, 甲氧基碳；Cad C, 碳水化合物类碳；Di-O-alk C, 双氧烷基碳；O-alk C, 甲氧基碳+碳水化合物类碳+双氧烷基碳；Ary C, 芳香基碳；O-Ary C, O-芳香基碳；Aro C, 芳香基碳+O-芳香基碳；Car C, 羰基碳；Alk C/O-alk C, 烷基碳与烷氧基碳比值；Aro C/Tot C, 芳香碳与总碳比值；Ali C/Aro C, 脂肪碳与芳香碳比值；Hb C/Hi C, 疏水性碳与亲水性碳比值。  
 Note: Alk C: Alkyl C; Met C: Methoxyl C; Cad C: Carbohydrate C; Di-O-alk C: Di-O-alkyl C; O-alk C: O-alkyl C; Ary C: Aryl C; O-Ary C: O-Aryl C; Aro C: Aromatic C; Car C: Carbonyl C; Alk C/O-alk C: Alkyl C/O-alkyl C; Aro C/Tot C: Aromatic C/Total C; Ali C/Aro C: Aliphatic C/Aromatic C; Hb C/Hi C: Hydrophobic C/Hydrophilic C.

表 3 还表明, 与 CK 处理的非根际土壤相比, 根际土壤增加甲氧基碳、碳水化合物类碳、双氧烷基碳、O-芳香基碳、羧基碳、脂肪碳/芳香碳, 而降低其他官能团相对含量及烷基碳/烷氧基碳、芳香碳/总碳和疏水性碳/亲水性碳。与根际土壤中 CK 处理相比, 单纯施用 N、N2、M、M2 处理能够增加根际土壤有机碳中烷基碳相对含量, 其中 N 和 M 处理还能降低根际土壤羧基碳, M2 处理增加根际土壤 O-芳香基碳、烷基碳/烷氧基碳、疏水性碳/亲水性碳比值及降低根际土壤碳水化合物类碳、烷氧基碳和羧基碳; 而 MN 处理增加根际土壤甲氧基碳、脂肪碳/芳香碳及增加 O-芳香碳、芳香碳/总碳, M2N2 处理降低根际土壤甲氧基碳、增加 O-芳香碳。

### 3 讨论

植物生长过程中, 根系分泌的糖类、有机酸及高分子化合物等物质, 以及因根尖和黏液中死细胞脱离产生的脱落物<sup>[18-19]</sup>不断在土壤根际微域累积, 造成根际土壤有机碳含量高于非根际土壤。本研究也取得了同样研究结果, 分析发现施肥处理能进一步提升根际土壤有机碳含量, 其中马粪氮肥配施 (MN 和 M2N2) 处理的根际土壤有机碳比非根际土壤增加了 18.3% 和 26.7% (图 1)。可见, 根际有机碳对不同施肥处理的响应将影响土壤有机碳固存。研究显示, 植物光合碳向地下部的分配与土壤无机氮的有效性呈负相关, 高量氮肥降低光合碳向地下部分分配的比例<sup>[20]</sup>。Sun 等<sup>[8]</sup>研究指出, 与不施氮肥相比, 氮肥 (250 kg/hm<sup>2</sup>, 以 N 计) 导致冬小麦光合碳向地下部的分配减少约 20%, 但增加了冬小麦的生物碳量, 增加了向地下部输入碳量 290 kg/hm<sup>2</sup> (以 C 计, 下同)。本研究也取得相似结果, N2 处理相比于 CK 处理显著增加了根际有机碳含量, M2N2 处理的有机碳含量显著高于 N2 和 M2 施肥处理 (图 1)。在根际土壤活性有机碳结果中, M2N2 处理与 CK 差异不显著, 且 M2N2 处理下的根际土壤活性有机碳含量显著高于非根际土壤, 其他处理下根际与非根际活性有机碳含量差异不显著 (表 2)。这与李林<sup>[21]</sup>在氮肥处理下黑土玉米根际土壤活性有机碳高于非根际土壤的结果相似。相比于 CK 处理, 施肥处理下土壤活性有机碳占比变化是降低趋势, M2N2 处理的比值较低, 显示 M2N2 处理显著提升根际总有机碳含量, 但降低活性有机碳在总有机碳中分配比例, 有利于土壤固碳。

与非根际土壤相比, 各施肥处理下根际土壤烷氧基碳比例升高而芳香碳比例降低。Huang 等<sup>[22]</sup>利用核磁共振方法分析显示黑麦草根际土壤有机碳结构的变化, 根际土壤中烷氧基碳比例高于非根际土壤, 而芳香碳比例降低, 与是否添加外源物无关。烷氧基碳主要来源于根系分泌物和根系代谢衍生物<sup>[23]</sup>, 而作物生长持续产生根系分泌物和代谢衍生物, 有利于根际土壤烷氧基碳的积累, 造成土壤环境中微生物数量激增, 使土壤中烷氧基碳 (小分子物质如脂肪酸、氨基酸和低聚糖等) 被迅速降解转化<sup>[22]</sup>, 从而增加非根际土壤中芳香碳比例。烷氧基碳升高能改善土壤物理结构, 促进土壤团聚体形成而增加土壤颗粒稳定性<sup>[24]</sup>,

且与土壤黏粒含量呈正相关<sup>[25]</sup>, 黏粒又促进团聚体的形成和稳定。而笔者前期研究也表明, 根际土壤 >0.25 mm 粒径土粒含量高于非根际土壤<sup>[26]</sup>。乔云发<sup>[27]</sup>研究黑土长期定位指出, 与非根际土壤相比, 根际过程主要增加 >2 mm 的团聚体的形成且促使微团聚体胶结形成大团聚体, 降低微生物对团聚体中碳素的降解, 起到固碳的作用。

最适宜微生物生长的土壤碳氮比为 25:1, 因 N2 处理下土壤碳素输入仅靠作物残茬和凋落物, 导致微生物依靠分解难以降解的芳香碳和烷基碳获取碳素, 造成根际 N2 处理的烷基碳和芳香碳低于其他施肥处理 (表 3), 这与 Cheng 等<sup>[28]</sup>的研究结果一致, 氮肥处理降低烷基碳和烷氧基碳, 芳香碳在铵态氮处理下增加而在硝态氮处理下降低。N 处理增加根际土壤难降解的烷基碳、芳香碳比例而降低易分解的羧基碳相对含量 (表 3)。研究证明, 细菌死后物质 (necromass) 是土壤稳定有机碳的主要来源之一<sup>[29]</sup>, 相比真菌组成来说, 细菌组成中含有更高的脂肪碳<sup>[30]</sup>, 前期研究显示相比 N2 处理, N 处理下真菌与细菌比值会明显降低<sup>[31]</sup>, 相应增加细菌及细菌死后物质有机碳结构中烷基碳比例<sup>[32]</sup>, 这与本研究 N 处理增加烷基碳一致。担子菌被认为是降解木质素的优势菌, 对土壤中碳素循环起着重要调节作用<sup>[33]</sup>, 芳香碳是木质素的最主要的官能团<sup>[34]</sup>, N2 处理比 N 处理显著增加担子菌丰度<sup>[31]</sup>, 本研究中 N2 处理的芳香碳低于 N 处理, 且难降解的烷基碳比例也降低, 这与 Finn 等<sup>[35]</sup>在牧草地上施用尿素促进难降解有机碳分解的研究结果一致, 在非根际土壤 N2 处理下烷基碳、烷基碳与烷氧基碳比值 (表 3) 以及土壤 >0.25 mm 粒径土粒含量<sup>[26]</sup>低于其他处理, 与 N 处理相比, 高量氮肥 N2 处理降低有机碳结构中难降解的烷基碳比例和芳香碳比例, 有机碳结构组成稳定性下降不利于土壤固碳。与 CK 处理相比, M 和 M2 处理增加根际土壤烷基碳、芳香基碳、烷基碳与烷氧基碳比值和芳香碳与总碳比值而降低羧基碳 (表 3), 显示有机肥处理能够增加根际土壤有机碳中难降解成分比例, 但对有机碳和团聚体稳定性提升有限。这与 Wang 等<sup>[11]</sup>在玉米大豆轮作体系下的研究结果一致, 有机肥 (施用 11 a) 显著增加土壤烷基碳、烷基碳与烷氧基碳比例。无论在根际还是非根际土壤 MN 处理均能通过增加烷基碳和烷氧基碳 (表 3), 而 M2N2 处理增加根际难降解成分烷基碳和芳香基碳以及非根际土壤烷氧基碳, 这与本文研究结果 (MN 和 M2N2 处理) 显著增加有机碳含量一致。

### 4 结论

大部分施肥处理下根际土壤有机碳含量高于非根际, 根际效应能够增加烷氧基碳比例而降低芳香碳比例来改变土壤有机碳结构比例, 提升土壤团聚化增加有机碳的稳定性。与不施肥处理相比, 氮肥配施马粪处理 (M2N2) 和高量马粪处理 (M2) 显著增加根际土壤有机碳达到 20.1%~32.7%, 增加难降解成分烷基碳比例和芳香碳比例以及烷基碳/烷氧基碳, 调节根际土壤有机碳结构组分中难降解成分增加, 提升固碳潜力。与 M2N2 相比, 单纯高量氮肥 (N2 处理) 的烷基碳比例、芳香碳比

例和烷氧基碳比例均降低, 土壤团聚化稳定性降低, 不利于土壤固碳。研究同时证明固态  $^{13}\text{C}$ -核磁共振技术结合半定量分析可以比较全面地分析土壤有机碳结构组分的波普特征。

#### [参 考 文 献]

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2021.
- [2] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263-276.
- [3] Yan D Z, Wang D J, Yang L Z. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on labile organic matter fractions in a paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soil*, 2007, 44(1): 93-101.
- [4] Dotaniya M L, Meena V D. Rhizosphere effect on nutrient availability in soil and its uptake by plants: A review[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 2015, 85(1): 1-12.
- [5] Huo C, Luo Y, Cheng W. Rhizosphere priming effect: A meta-analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 111: 78-84.
- [6] Chowdhury S, Farrell M, Bolan N. Priming of soil organic carbon by malic acid addition is differentially affected by nutrient availability[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 158-169.
- [7] Zhu B, Gutknecht J L M, Herman D J, et al. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 76: 183-192.
- [8] Sun Z, Wu S, Zhang Y, et al. Effects of nitrogen fertilization on pot-grown wheat photosynthate partitioning within intensively farmed soil determined by  $^{13}\text{C}$  pulse-labeling[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2019, 182(6): 896-907.
- [9] 樊斌, 薛晓聪, 张乃夕. 黑龙江省畜禽粪污处理存在问题及对策研究[J]. *农业经济与管理*, 2018(6): 31-39.  
Fan Bin, Xue Xiacong, Zhang Naixi. Research on problems and countermeasures of livestock manure treatment in Heilongjiang province[J]. *Agricultural Economics and Management*. 2018(6): 31-39. (in Chinese with English abstract)
- [10] 黑龙江省人民政府办公厅. 关于黑龙江省畜禽养殖废弃物资源化利用工作方案的通知[EB/OL]. (2021-10-01) [2018-03-13] <https://www.hlj.gov.cn/n200/2018/0313/c75-10865634.html>.
- [11] Wang H Y, Nie Y, Butterly C R, et al. Fertilization alters microbial community composition and functional patterns by changing the chemical nature of soil organic carbon: A field study in a Halosol[J]. *Geoderma*, 2017, 292: 17-24.
- [12] Huo C, Luo Y, Cheng W. Rhizosphere priming effect: A meta-analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 111: 78-84.
- [13] Shrestha B, Singh B, Forte C, et al. Long-term effects of tillage, nutrient application and crop rotation on soil organic matter quality assessed by NMR spectroscopy[J]. *Soil Use and Management*, 2015, 31: 358-366.
- [14] Xu Y H, Chen Z M, Fontaine S, et al. Dominant effects of organic carbon chemistry on decomposition dynamics of crop residues in a Mollisol[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115: 221-232.
- [15] Assunção S A, Pereira M G, Rosset J S, et al. Carbon input and the structural quality of soil organic matter as a function of agricultural management in a tropical climate region of Brazil[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 658: 901-911.
- [16] Dias T, Oakley S, Alarcon-Gutierrez E, et al. N-driven changes in a plant community affect leaf-litter traits and may delay organic matter decomposition in a Mediterranean maquis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 163-171.
- [17] Zhang J J, Cao Z Y, Feng G Z, et al. Effects of integrated soil-crop system management on soil organic carbon characteristics in a Primosol in Northeast China[J]. *Pedosphere*, 2017, 27(5): 957-967.
- [18] Kuzyakov Y and Gavrichkova O. Time lag between photosynthesis and carbon dioxide efflux from soil: A review of mechanisms and controls[J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(12): 3386-3406.
- [19] Pausch J, Kuzyakov Y. Carbon input by roots into the soil: Quantification of rhizodeposition from root to ecosystem scale[J]. *Global Change Biology*, 2017, 24:1-12.
- [20] Ge T D, Liu C, Yuan H Z, et al. Tracking the photosynthesized carbon input into soil organic carbon pools in a rice soil fertilized with nitrogen[J]. *Plant Soil*, 2015, 392: 17-25.
- [21] 李林. 不同施氮水平对草甸黑土有机碳稳定性的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.  
Li Lin. Effects of Different N Level on Soil Organic Carbon Stability in Meadow Chernozemic Soil[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2014. (in Chinese with English abstract)
- [22] Huang R L, Zhang Z Y, Xiao X, et al. Structural changes of soil organic matter and the linkage to rhizosphere bacterial communities with biochar amendment in manure fertilized soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 692: 333-343.
- [23] Angst G, Kögel-Knabner I, Kirfel K, et al. Spatial distribution and chemical composition of soil organic matter fractions in rhizosphere and non-rhizosphere soil under European beech (*Fagus sylvatica* L.) [J]. *Geoderma*, 2016, 264: 179-187.
- [24] Kundu S, Bhattacharyya R, Prakash V, et al. Carbon sequestration and relationship between carbon addition and storage under rainfed soybean-wheat rotation in a sandy loam soil of the Indian Himalayas[J]. *Soil Tillage Research*, 2007, 92: 87-95.
- [25] He Y T, He X H, Xu M G, et al. Long-term fertilization increases soil organic carbon and alters its chemical composition in three wheat-maize cropping sites across central and south China[J]. *Soil and Tillage Research*, 2018, 177: 79-87.
- [26] 陈磊. 长期施肥对黑土有机碳氮库及大豆根际有机碳稳定性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.  
Chen Lei. Effects of Long-Term Fertilization on The Organic Carbon and Nitrogen Pools and Soybean Rhizosphere Organic Carbon Stability in Black Soil[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [27] 乔云发. 施肥对黑土碳氮转化过程的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.  
Qiao Yunfa. The Carbon and Nitrogen Conversion Process Affected by Fertilization in Chinese Mollisols[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012. (in Chinese with English abstract)
- [28] Cheng S, He S, Fang H, et al. Contrasting effects of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  amendments on amount and chemical

- characteristics of different density organic matter fractions in a boreal forest soil[J]. *Geoderma*, 2017, 293: 1-9.
- [29] Ma T, Zhu S S, Wang Z H, et al. Divergent accumulation of microbial necromass and plant lignin components in grassland soils[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3480.
- [30] Six J, Frey S D, Thiet R K, et al. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70: 555.
- [31] Zhou J, Jiang X, Zhou B K, et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95: 135-143.
- [32] Li Y, Nie C, Liu Y H, et al. Soil microbial community composition closely associates with specific enzyme activities and soil carbon chemistry in a long-term nitrogen fertilized grassland[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 654: 264-274.
- [33] Paungfoo-Lonhienne C, Yeoh Y K, Kasinadhuni N R P, et al. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1):8678-8678.
- [34] Cusack D F, Silver W L, Torn M S, et al. Changes in microbial community characteristics and soil organicmatter with nitrogen additions in two tropical forests[J]. *Ecology*, 2011, 92: 621-632.
- [35] Finn D, Page K, Catton K, et al. Effect of added nitrogen on plant litter decomposition depends on initial soil carbon and nitrogen stoichiometry[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91: 160-168.

## Changes of soil organic carbon and its structure in rhizosphere of black soil under long-term fertilization

Chen Lei<sup>1,2</sup>, Hao Xiaoyu<sup>1</sup>, Ma Xingzhu<sup>1</sup>, Zhou Baoku<sup>1</sup>, Wang Shuang<sup>1</sup>, Wei Dan<sup>3</sup>, Zhou Lei<sup>4</sup>, Liu Rongle<sup>5</sup>, Wang Hong<sup>2\*</sup>

(1. *Institute of Soil and Fertilizer and Environment Resources, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China*; 2. *Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Laboratory for Improving Quality of Arable Land/Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Ministry of Agriculture and Affairs, Beijing 100081, China*; 3. *Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forest, Beijing 100097, China*; 4. *Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150001, China*; 5. *Agro-Environmental Protection Institute of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China*)

**Abstract:** A large amount of nitrogen fertilizer and manure can be input into the arable land of black soil in agricultural production, thus resulting in a serious negative impact on the soil's organic carbon pool. Nearly 40% of plant primary products are transferred to the soil as substantial rhizodeposits. There is also an important carbon source for the soil microorganism surrounding the root of the plant. The rhizosphere soil can be often the zone of the highest soil microbial activity, further regulating the soil carbon cycle and nutrient transformation in terrestrial ecosystems. Therefore, it is necessary to clarify the responses of soil organic carbon content and structure to the intensification of nitrogen fertilizer and manure. In this study, a 38-year (1979-2017) long-term fertilization experiment of wheat-soybean-maize rotation was conducted at Harbin County, Heilongjiang Province, China. The rhizosphere soil of soybean was collected from nine treatments, including no fertilization (CK), nitrogen fertilizer (N), two times of nitrogen fertilizer (N<sub>2</sub>), horse manure (M), two times of horse manure (M<sub>2</sub>), horse manure plus nitrogen fertilizer (MN), and two times of horse manure plus nitrogen fertilizer (M<sub>2</sub>N<sub>2</sub>). Each treatment was performed on the 36 m<sup>2</sup> (4 m×9 m) plot area. The soil organic carbon and labile organic carbon were also characterized in the 0-20 cm profile soil. A carbon-13 (<sup>13</sup>C) nuclear magnetic resonance (<sup>13</sup>C-NMR) spectroscopy was used to analyze the spectral pattern of the organic carbon in the rhizosphere soil. The results showed that the organic carbon content of rhizosphere soil was higher than that in the bulk soil for most treatments. About 18.3% and 26.7% of exogenous organic carbon contents were supplemented in the MN and M<sub>2</sub>N<sub>2</sub> treatments, respectively. The <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy showed that there were a higher proportion of O-alkyl C and the lower proportion of aromatic C than those in the bulk soil, indicating that the soil organic carbon structures were changed by the rhizosphere effect. Furthermore, the organic carbon content of rhizosphere soil increased significantly by fertilization, especially the highest organic carbon content under M<sub>2</sub>N<sub>2</sub> treatments, compared with the CK. The organic carbon contents increased by 3.21 and 1.93 g/kg in the 0-20 cm profile soil of M<sub>2</sub>N<sub>2</sub> treatments, respectively, compared with the N<sub>2</sub> and M<sub>2</sub>. There was also an increased proportion of alkyl C, aromatic C, the ratios of alkyl C to O-alkyl C, and the ratios of aromatic C to total C in rhizosphere soil under the M<sub>2</sub> and M<sub>2</sub>N<sub>2</sub> treatments. There was an increase in the proportion of alkyl C, O-alkyl C, and the ratios of alkyl C to O-alkyl C under the MN treatment, where the formation of aggregates was promoted for the stability of soil particle structure. Nevertheless, there was a decrease in the proportion of alkyl C, aromatic C, and O-alkyl C in the rhizosphere soil under the N<sub>2</sub> treatment, particularly for the less stability of aggregates, which did not benefit the soil carbon sequestration. Correspondingly, the MN/M<sub>2</sub>N<sub>2</sub> treatment can be widely expected to significantly promote the organic carbon content of rhizosphere soil, the alkyl C, the ratios of alkyl C to O-alkyl C in the rhizosphere soil, and the O-alkyl C in the bulk soil, particularly for the formation of aggregates and the stability of soil particle structure in the bulk soil. Anyway, the mixed application of horse manure and nitrogen fertilizer can greatly contribute to enhancing the soil's organic carbon retention. The excessive application of nitrogen fertilizer (N<sub>2</sub>) can reduce the alkyl C, aromatic C in the rhizosphere soil, and the O-alkyl C in the bulk soil, leading to a threat to the environment from the less stability of aggregates once after the autumn harvest. At the same time, the <sup>13</sup>C-NMR spectrum combined with the semi-quantitative analysis can be widely used to comprehensively characterize the structures of functional groups, and further better understand the stability mechanism of organic carbon in the rhizosphere soil.

**Keywords:** nitrogen; organic carbon; manure; <sup>13</sup>C-NMR; soybean rhizosphere; black soil