

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.06.018

范祎玮, 信秀丽, 钟新月, 等. 玉米豆科覆盖作物间作对潮土酶活性和真菌群落特征的影响. 土壤, 2021, 53(6): 1236–1243.

玉米豆科覆盖作物间作对潮土酶活性和真菌群落特征的影响^①

范祎玮^{1,2}, 信秀丽², 钟新月², 杨 娇^{2,3}, 朱安宁^{2,3*}, 邹洪涛^{1*}

(1 沈阳农业大学土地与环境学院, 沈阳 110866; 2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 封丘农业生态实验站, 南京 210008; 3 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 黄淮海地区土地复种指数高, 不具备休闲条件, 致使土壤养分消耗严重, 土壤微生物群落多样性下降。为改善土壤状况, 本研究基于两年的玉米豆科覆盖作物(紫花苜蓿、大豆、花生)间作试验, 探讨玉米豆科覆盖作物间作对土壤养分、酶活性以及真菌群落特征的影响, 同时分析黄淮海平原潮土区玉米豆科覆盖作物间作的可行性。结果表明: 间作条件下土壤碱解氮含量提高, 土壤有机质含量无明显变化, 玉米紫花苜蓿间作处理和玉米花生间作处理土壤有效磷含量表现上升趋势。所有间作处理土壤脲酶活性都高于单作玉米处理, 间作花生处理和间作大豆处理的酸性磷酸酶活性较单作玉米处理分别增加了 30.53% 和 18.70%; 间作紫花苜蓿处理土壤碱性蛋白酶活性和蔗糖酶活性对比单作玉米处理有显著提高。间作紫花苜蓿处理和间作大豆处理对土壤优势菌门子囊菌门和被孢霉门的相对丰度有积极作用, 其中间作紫花苜蓿处理子囊菌门的相对丰度提高了 11.88%, 间作大豆处理被孢霉门相对丰度增幅达 45.39%, 优势菌门丰度的提升有助于补充土壤氮源和碳源。玉米豆科覆盖作物间作可以补充土壤养分, 改善土壤微生物群落结构, 提高土壤酶活性, 可能成为提高黄淮海平原潮土地区土壤质量、维持土壤稳定性的有效措施。

关键词: 间作; 豆科覆盖作物; 土壤养分; 土壤酶; 真菌群落结构

中图分类号: S158.3 文献标志码: A

Effects of Intercropping of Maize and Legume Cover Crops on Enzyme Activities and Fungal Community Characteristics in Fluvo-Aquic Soil

FAN Yiwei^{1,2}, XIN Xiuli², ZHONG Xinyue², YANG Jiao^{2,3}, ZHU Anning^{2,3*}, ZOU Hongtao^{1*}

(1 College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2 Fengqiu Agro-Ecological Experimental Station, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The multiple cropping index of the land in the Huang-huai-hai area is high, and there are no leisure conditions, resulting in serious consumption of soil nutrients and a decline in the diversity of soil microbial communities. In order to improve soil conditions, based on a two-year maize-legume cover crops (alfalfa, soybean, peanut) intercropping experiment, this study is to explore the effects of maize legume cover crops intercropping on soil nutrients, soil enzyme activities and fungal community characteristics, and to analyze the feasibility of intercropping maize and legume cover crops in the fluvo-aquic soil area of Huang-huai-hai Plain. The results showed that soil available nitrogen increased and soil organic matter did not change significantly under intercropping conditions, soil available phosphorus of maize-alfalfa intercropping treatment and maize-peanut intercropping treatment showed an upward trend. Soil urease activities of all intercropping treatments were higher than that of monocropping treatment. Acid phosphatase activities of intercropping peanut treatment and intercropping soybean treatment increased by 30.53% and 18.70% respectively compared with monocropping; the activities of soil alkaline protease and sucrose of intercropping alfalfa treatment enzyme activity were significantly improved compared with single crop maize. Intercropping alfalfa treatment and intercropping soybean treatment had positive effects on the relative abundance of soil dominant phylum Ascomycota and Mortierella. Among them, intercropping alfalfa treatment increased the relative abundance of Ascomycota by 11.88%, while intercropping soybean treatment increased the relative abundance of Mortierella by 45.39%. The increase in the

①基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0200601、2016YFD0300809) 和国家自然科学基金项目(41877023)资助。

* 通讯作者(anzhu@issas.ac.cn; hongtaozou208@126.com)

作者简介: 范祎玮(1997—), 女, 黑龙江海伦人, 硕士研究生, 主要从事土壤改良方面的研究工作。E-mail: yiweifan@126.com

abundance of the dominant bacteria phyla can help supplement soil nitrogen and carbon sources. Intercropping of maize and legume cover crops can supplement soil nutrients, improve soil microbial community structure, and increase soil enzyme activities, thus, it may be an effective measure to improve soil quality and maintain soil stability in the Huang-huai-hai Plain.

Key words: Intercropping; Legume cover crops; Soil nutrients; Soil enzymes; Fungal community structure

黄淮海地区是我国重要粮食主产区之一,该区种植制度主要为冬小麦-夏玉米一年两熟制。由于土地复种指数高^[1],不具备休耕条件,导致土壤质量提升困难,土壤生物多样性下降^[2]。覆盖作物指在主作物生长期或收获后,在时间或空间上填充空隙的作物^[3]。覆盖作物通常为一年生、二年生或多年生的草本植物,按生物学特性可分为非豆科覆盖作物和豆科覆盖作物。非豆科覆盖作物有禾本科、十字花科等作物,代表作物包括黑麦、大麦、萝卜等。豆科覆盖作物种类繁多,常见的有大豆、花生、豌豆等经济作物,也包含紫花苜蓿、三叶草、紫云英等绿肥作物。覆盖作物可以与主作物同时收获提高经济效益,还能翻压还田提高土壤质量^[4]。研究表明,豆科与非豆科作物间作在改善土壤环境方面有着不容忽视的作用^[5]。豆科作物与禾本科作物间作,可以提高根系数量、扩大根系空间分布、增加根系分泌物,活化土壤磷素,提高土壤磷利用率,满足作物营养需求;同时间作豆科作物有利于缓解单作豆科作物所产生的“氮阻遏”现象,充分发挥豆科作物结瘤固氮的生物特性^[6],提高土壤养分含量。豆科作物与玉米间作,作物对水分需求的时间生态位差异使水分利用效率最大化,又由于土壤遮荫面积扩大,减少土壤水分蒸发,进一步优化水分利用。除此以外,豆科与非豆科作物间作使作物种类多样性增加,产生化感作用控制杂草,防治病害^[7]。目前,我国有关豆科作物与非豆科作物间作种植的研究多集中于土壤养分、水分、病虫害等方面,而对间作种植是否可以改善高强度种植区域土壤微生物群落结构、提高土壤酶活性的探究相对较少。

土壤酶和土壤微生物作为农业生态系统中重要的一环,是评价土壤生物化学过程强度、判断土壤肥力的重要指标。土壤酶活性可以反映土壤理化性质,表征土壤生物活性的大小。土壤酶参与土壤碳、氮循环,在土壤有机碳及其活性组分转化过程中发挥关键作用^[8]。间作在提高土壤酶活性、活化土壤养分方面表现出积极作用。研究发现,燕麦与豆科作物间作后土壤过氧化氢酶和蔗糖酶活性显著变化^[9];豆科禾本科间作体系可以增加土壤磷酸酶活性^[10]。土壤微生物被当作地上和地下生态系统沟通的桥梁、维持土壤健康和土壤质量的枢纽。作物与土壤微生物共生互

利,微生物协助作物吸收养分,作物为微生物提供更适宜的生存环境。薄国栋等^[11]试验发现,真菌群落多样性与土壤有机质、碱解氮含量显著相关。也有试验证明^[12],土壤优势真菌相对丰度与速效钾含量显著正相关。胡国彬等^[13]研究表明,小麦蚕豆间作显著影响土壤真菌群落结构,提高了根际真菌活性。另有研究显示^[14],间作绿肥后土壤真菌群落 Shannon 指数高于单作种植。土壤酶、土壤微生物群落与土壤养分之间有着紧密联系。土壤微生物群落对土壤养分进行转化和积累^[15],土壤养分为土壤酶的生物化学反应提供底物,土壤酶进一步影响土壤微生物群落结构,三者互为支撑,共同维护土壤系统的动态平衡。

本文研究黄淮海平原潮土区玉米与豆科覆盖作物间作对土壤酶活性、真菌群落多样性的影响,旨在揭示土壤酶与土壤微生物群落在不同间作方式下的演变机制,理解土壤酶与土壤微生物群落对不同间作模式的响应与反馈,为改善黄淮海平原高种植强度地区土壤健康状况、补充土壤养分提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试区概况及试验设计

试验在河南封丘农田生态系统国家野外科学观测研究站(35°00' N, 114°24' E)进行。该站位于黄河北岸的河南省封丘县潘店镇,属半干旱、半湿润的暖温带季风气候,年平均降水量为 605 mm,年蒸发量为 1 875 mm,年平均气温为 13.9℃,≥0℃积温在 5 100℃以上,无霜期 220 d 左右。试验地块长期冬小麦-夏玉米轮作,土壤类型为砂壤质潮土,基础肥力指标为: pH 8.67,有机质含量 10.98 g/kg,有效磷含量 5.53 mg/kg,碱解氮含量 61.37 mg/kg,速效钾含量 115.65 mg/kg。

试验始于 2019 年 6 月,玉米季开展玉米与豆科覆盖作物间作试验,小麦季常规种植。试验为完全随机区组设计,在玉米季设置玉米单作(CK)、玉米/紫花苜蓿间作(MA)、玉米/花生间作(MP)、玉米/大豆间作(MS)4 种植模式,每种种植模式设置 3 组重复,共 12 个小区,每个小区面积为 3 m×5 m。采用宽窄行种植,宽行行距 80 cm,窄行行距 40 cm,豆科覆盖作物于玉米宽行间种植(图 1)。玉米品种为郑单

958, 采用穴播, 每小区种植 5 行, 株距 25 cm, 密度 66 667 株/hm²; 豆科覆盖作物采用条播, 每玉米宽行间种植 2 行。播种前施基肥尿素 80 kg/hm², 过磷酸钙 60 kg/hm², 硫酸钾 75 kg/hm²。在玉米大喇叭口期施尿素 120 kg/hm² 作为追肥。

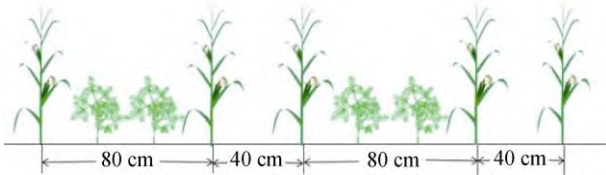


图 1 玉米豆科覆盖作物间作种植模式图

Fig. 1 Planting pattern of intercropping maize-legume cover crops

1.2 样品采集及指标测定

在 2020 年玉米成熟期采用 5 点取样法, 分别采集各小区 0~20 cm 土层的土壤均匀混合, 用装有冰袋的保温箱保存带回实验室。将采集的土样一部分经风干、过筛处理, 用于测定土壤养分和酶活性, 另一部分土样存于-80℃冰箱, 用于真菌高通量测序。

土壤养分采用常规农化分析方法测定^[16]。土壤 pH 用 pH 计测定(土水质量比 1:2.5); 土壤有机质含量利用重铬酸钾容量-外加热法测定; 土壤有效磷含量经 NaHCO₃ 浸提钼锑钒显色剂显色后比色法测定; 土壤速效钾含量经 NH₄OAc 浸提后火焰光度法测定; 土壤碱解氮含量采取碱解扩散法测定。

土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脲酶、碱性蛋白酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性用 Solarbio Science & Technology Co.(中国北京)的土壤酶试剂盒测定。酶活性单位定义: 37℃时每克土壤每天释放 1 nmol 酚为一个土壤酸性或碱性磷酸酶活力单位; 每天每克土壤中产生 1 μg NH₃-N 定义为一个土壤脲酶活力单位; 每天每克土壤中产生 1 mg 还原糖定义为一个土壤蔗糖酶活力单位; 每天每克土样中产生 1 μmol 的酪氨酸为一个土壤碱性蛋白酶活力单位; 每天每克土壤催化 1 nmol H₂O₂ 定义为一个土壤过氧化氢酶活力单位。

对土壤真菌群落结构的研究采用高通量测序技术。①DNA 提取和 PCR 扩增。根据 Fast DNA® Spin Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals, Norcross, GA, U.S.)说明书进行总 DNA 抽提, DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop 2000 进行检测, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量; 用 ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) 和 ITS2R (GCTGCGTTCCTTCATCGATGC) 引物对 ITS1~ITS2 可变区进行 PCR 扩增, 扩增程序为: 95℃ 预变性 3 min, 27 个循环(95℃

变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s), 最后 72℃ 延伸 10 min(PCR 仪: ABI GeneAmp® 9700 型)。扩增体系为 20 μl 的 FastPfu 缓冲液, 2 μl 的 2.5 mmol/L dNTPs, 0.8 μl 的引物(5 μmol/L), 0.4 μl 的 FastPfu 聚合酶; 10 ng 的 DNA 模板。②Illumina Miseq 测序。使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™-ST (Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA)标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2×300 的文库。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.3 数据处理

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接: ①设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口前端位置截去该碱基后端所有序列, 之后再去除质控后长度低于 50 bp 的序列; ②根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接, 拼接时 overlap 之间的最大错配率为 0.2, 长度需大于 10 bp, 去除无法拼接的序列; ③根据序列首尾两端的 barcode 和引物将序列拆分至每个样本, barcode 需精确匹配, 引物允许 2 个碱基的错配, 去除存在模糊碱基的序列。

使用的 UPARSE 软件, 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类, 并在聚类的过程中去除单序列和嵌合体。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学比对, 比对 Unite 8.0 数据库, 设置比对阈值为 70%。

利用 iSanger 在线平台和 Origin 8.0 进行绘图; 通过 Microsoft Excel 2019 对试验所得数据进行整理; 使用 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析及 Pearson 法进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤养分

玉米豆科覆盖作物间作对部分土壤养分含量提升表现出积极作用。各间作处理对土壤 pH、速效钾和有机质含量无显著影响, 但 MP 和 MS 处理有机质含量有升高趋势(表 1)。对比 CK 处理, 各间作处理碱解氮含量均有不同程度提高, MP 处理碱解氮含量表现最高, 增幅达 15.08%, MA 和 MS 处理分别增加 1.79% 和 4.76%。MA 处理有效磷含量与 CK 处理

无显著差异, MP 和 MS 处理有效磷含量较 CK 处理呈下降趋势, 降幅分别为 15.65% 和 39.96%。

2.2 土壤酶活性

由表 2 数据可知, 4 个处理间碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性无显著差异, 但土壤酸性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶和碱性蛋白酶活性表现出显著差异。与 CK 处理相比, MP 和 MS 处理酸性磷酸酶活性分别增加了 30.53% 和 18.70%。各间作处理(MA、MP、MS)脲酶活性均高于单作玉米处理(CK), 其中 MP 处理的脲酶活性较 CK 处理提高了 30.55%。MA 处理的蔗糖酶活性和碱性蛋白酶活性在 4 个处理种均表现为最高; MP 和 MS 处理的蔗糖酶活性和碱性蛋白酶活性无显

著差异。

2.3 土壤真菌群落物种组成及多样性

本研究从 4 个处理土壤中分别得到 49 105 ~ 55 386 条真菌序列(表 3)。在 97% 相似水平下, 对所有序列进行 OTU 划分, 4 个处理土壤共有真菌 OTU 数 532 个, CK、MA、MP 和 MS 处理特有 OTU 数分别为 145、144、164 和 202 个。

各处理测序覆盖度均在 99% 以上, 表示测序已基本包括所有真菌群落。菌群丰度指数(ACE 指数和 Chao 指数)、菌群多样性指数(Shannon 指数和 Simpson 指数)和菌群均匀性指数(Smithwilson 指数)在所有处理间无显著差异。

表 1 玉米豆科覆盖作物间作对土壤 pH 和养分含量的影响
Table 1 Effects of maize-legume cover crops intercropping on soil pH and nutrients

处理	pH	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	碱解氮(mg/kg)	有机质(g/kg)
CK	8.35 ± 0.07 a	6.01 ± 2.07 a	113.60 ± 14.35 a	58.80 ± 1.40 b	12.26 ± 0.90 a
MA	8.37 ± 0.04 a	6.05 ± 0.49 a	134.75 ± 17.87 a	59.85 ± 7.08 ab	13.43 ± 1.62 a
MP	8.36 ± 0.03 a	5.07 ± 0.89 ab	122.17 ± 6.33 a	67.67 ± 1.73 a	14.07 ± 0.72 a
MS	8.36 ± 0.04 a	3.61 ± 0.71 b	119.36 ± 17.11 a	61.60 ± 3.11 ab	14.27 ± 1.26 a

注: 表中数据为平均值 ± 标准差, 同列不同小写字母表示不同处理间差异显著(LSD 检验, $P < 0.05$); 下同。

表 2 玉米豆科覆盖作物间作对土壤酶活性影响(U/g)
Table 2 Effects of maize-legume cover crops intercropping on soil enzyme activities

处理	酸性磷酸酶	碱性磷酸酶	脲酶	蔗糖酶	碱性蛋白酶	过氧化氢酶
CK	6 584.89 ± 707.96 b	11450.25 ± 1490.24 a	218.65 ± 9.73 b	42.44 ± 8.60 b	0.36 ± 0.02 b	46.04 ± 4.92 a
MA	7 399.02 ± 614.52 ab	12645.44 ± 1137.80 a	246.72 ± 36.52 a	57.00 ± 6.23 a	0.49 ± 0.03 a	44.84 ± 0.63 a
MP	8 595.02 ± 873.20 a	13698.50 ± 480.91 a	285.44 ± 10.07 a	39.02 ± 3.09 b	0.35 ± 0.08 b	40.49 ± 2.02 a
MS	7 815.96 ± 462.51 ab	13462.50 ± 2189.54 a	279.66 ± 17.01 a	43.63 ± 8.53 b	0.33 ± 0.09 b	42.76 ± 4.71 a

表 3 样品测序结果及真菌 α 多样性分析
Table 3 Sequencing results of samples and fungal α diversity analysis

处理	序列	覆盖度(%)	ACE 指数	Chao 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Smithwilson 指数
CK	49 105	99.7	637.59 a	640.81 a	4.66 a	0.02 a	0.05 a
MA	51 217	99.8	663.96 a	669.43 a	4.16 a	0.04 a	0.05 a
MP	55 386	99.8	696.11 a	706.03 a	4.23 a	0.04 a	0.05 a
MS	58 047	99.9	777.93 a	784.2 a	4.53 a	0.03 a	0.05 a

2.4 土壤真菌群落组成

2.4.1 真菌群落门水平分布 真菌 ITS 高通量测序序列经过物种注释后归属于 15 个门, 43 个纲, 93 个目, 185 个科, 351 个属(图 2)。在门水平上(图 2A), 子囊菌门(Ascomycota)为所有处理中相对丰度最高(61.89% ~ 71.49%), 其他优势门分别是被孢霉门(Mortierellomycota)(15.51% ~ 22.55%)、担子菌门(Basidiomycota)(3.30% ~ 5.85%)、壶菌门(Chytridiomycota)(1.47% ~ 5.82%)和罗兹菌门(Rozellomycota)

(0.75% ~ 1.24%)。与 CK 处理相比, 部分间作处理提高了土壤子囊菌门、被孢霉门的相对丰度。子囊菌门的相对丰度分别提高了 11.88%(MA)和 0.42%(MS); 被孢霉门相对丰度增幅分别为 2.39%(MA)、37.65%(MP)和 45.39%(MS)。不同间作处理对担子菌门、壶菌门和罗兹菌门的丰度影响不同。MP 处理的担子菌门相对丰度对比 CK 处理表现略有下降, 而 MA 和 MS 处理的担子菌门丰度降幅达 43.59% 和 41.20%。与 CK 处理相比, MP 处理的壶菌门相对丰度提升了 23.83%, MA 和 MS 处理的壶菌门相对丰

度均呈下降趋势。MA、MP 和 MS 处理的罗兹菌门相对丰度对比 CK 处理皆呈下降趋势。

2.4.2 真菌群落纲水平分布 各处理在纲水平上获得的真菌群落特征如图 2B 所示。其中丰度 >1% 的菌纲有 6 个，分别是粪壳菌纲(Sordariomycetes, 39.53% ~ 49.90%)、被孢霉纲(Mortierellomycetes, 15.50% ~ 21.33%)、散囊菌纲(Eurotiomycetes, 6.26% ~ 11.46%)、座囊菌纲(Dothideomycetes, 6.90% ~ 12.00%)、锤舌菌纲(Leotiomyces, 1.45% ~ 3.17%)和银耳纲(Tremellomycetes, 1.16% ~ 2.46%)。

子囊菌门下微生物主要由粪壳菌纲、锤舌菌纲、散囊菌纲和座囊菌纲构成，相较于 CK 处理，MA 和 MP 处理提高了粪壳菌纲的相对丰度；所有间作处理均使座囊菌纲的相对丰度表现为下降趋势；被孢霉门下微生物主要由被孢霉纲构成，间作处理的被孢霉纲丰度均高于单作处理，提高幅度分别为 2.26%(MA)、

37.61%(MP)和 37.43%(MS)；担子菌门下微生物主要由银耳纲构成，各间作处理的银耳纲丰度均较单作处理表现出不同程度的下降。

2.5 土壤养分、酶活性和优势菌门相对丰度间的相关性

对土壤养分、酶活性和优势菌门相对丰度进行相关性分析(表 4)，结果表明，土壤酸性磷酸酶活性与碱解氮和有机质含量显著正相关。土壤脲酶活性与碱解氮含量显著正相关，与有机质含量极显著正相关。优势菌门中，子囊菌门和散囊菌纲与土壤养分显著相关，具体表现为子囊菌门与有效磷含量显著正相关，与速效钾含量显著负相关，与有机质含量极显著负相关；被孢霉纲与有效磷含量显著负相关，与有机质含量显著正相关。同时，子囊菌门与酸性磷酸酶和脲酶活性显著负相关，与碱性磷酸酶活性极显著负相关；被孢霉纲与碱性磷酸酶活性极显著正相关。

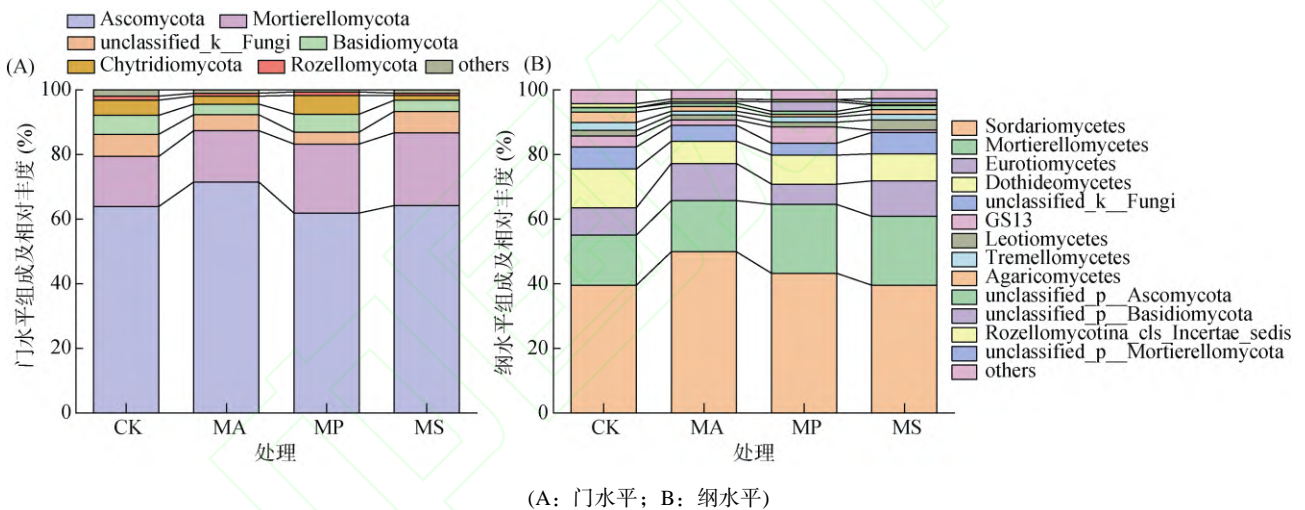


图 2 土壤真菌不同水平组成及相对丰度
Fig. 2 Compositions and relative abundances of soil fungi at different levels

表 4 土壤养分、酶活性及优势菌门相对丰度间的相关性
Table 4 Correlations among nutrients, enzyme activities and dominant phyla in soils

	pH	有效磷	速效钾	碱解氮	有机质	酸性磷酸酶	碱性磷酸酶	脲酶	蔗糖酶	碱性蛋白酶	过氧化氢酶
酸性磷酸酶	-0.28	-0.39	0.46	0.62*	0.66*	1					
碱性磷酸酶	-0.58*	-0.67*	0.40	0.62*	0.89**	0.63*	1				
脲酶	-0.29	-0.37	0.50	0.66*	0.82**	0.62*	0.72**	1			
蔗糖酶	-0.09	-0.02	0.63*	-0.32	0.05	0.10	0.11	-0.05	1		
碱性蛋白酶	-0.09	0.42	0.73**	-0.19	0.01	0.17	-0.06	0.02	0.81**	1	
过氧化氢酶	-0.28	-0.07	0.28	-0.49	-0.19	-0.24	0.04	-0.38	0.60*	0.44	1
子囊菌门	0.55	0.63*	-0.61*	-0.50	-0.72**	-0.60*	-0.82**	-0.70*	-0.26	-0.13	-0.19
担子菌门	-0.24	-0.36	0.20	0.26	0.20	0.34	0.30	0.25	-0.09	-0.01	-0.02
壶菌门	-0.11	-0.12	0.07	0.29	0.02	0.01	0.09	0.26	-0.26	-0.34	0.41
被孢霉门	-0.27	-0.63*	-0.07	0.43	0.65*	0.47	0.73**	0.49	-0.20	-0.31	-0.25
罗兹菌门	-0.42	-0.14	0.20	0.09	0.08	0.17	0.20	-0.11	0.03	0.17	0.12

注：*和**分别表示显著相关(P<0.05)和极显著相关(P<0.01)。

3 讨论

3.1 玉米豆科覆盖作物间作对土壤养分的影响

本研究中,玉米与豆科覆盖作物间作对土壤 pH 无显著影响,但前人研究大多表明间作对作物根际土壤 pH 有降低作用^[17-19]。本试验土壤为种植区域土壤,并非根际土壤,这可能是导致各处理土壤 pH 无显著差异的原因。陈利等^[20]研究表明,物种间作后,在根际效应作用下,根系分泌有机酸的速率和种类表现出不同程度提高,因而降低根际土壤 pH、提高磷化合物的溶解度,同时根系分泌物与金属元素形成螯合物,释放难溶性的磷,这可能是 MA 处理较 CK 处理土壤有效磷含量提高的原因。大豆是喜磷作物,在间作体系中对土壤磷素有较强的竞争能力^[21],导致 MS 处理土壤有效磷含量显著下降。有研究证明,谷物与豆科间作时,谷物通常会获得更高比例的土壤氮素供给,而豆科作物通过固定空气中的 N₂ 补充土壤中的氮^[22]。此外,豆科作物与其他作物间作情况下,对土壤氮的吸收竞争引起作物根际土壤氮含量的下降,氮含量与豆科作物的结瘤能力呈负相关^[23]。当玉米与紫花苜蓿或大豆间作时,后者根区氮素被玉米吸收,刺激紫花苜蓿或大豆根系结瘤数量增加,进而提高土壤碱解氮含量。本研究中,间作处理土壤的速效养分含量整体上大于或等于单作处理,这些都是豆科与禾本科作物根际相互作用的结果^[24]。

3.2 玉米豆科覆盖作物间作对土壤酶活性的影响

土壤酶参与农业生态系统循环,在作物生长发育过程中扮演着重要角色^[25]。对比单作玉米,玉米豆科覆盖作物间作后土壤酸性磷酸酶活性显著提高,这与张萌萌等^[26]对桑树/苜蓿间作研究的结果一致,即间作可以提高土壤酸性磷酸酶的活性。间作种植体系中作物对磷素表现出强烈的竞争,使土壤中有效磷含量下降,进而影响土壤酸性磷酸酶活性^[27],这可能是间作导致土壤酸性磷酸酶变化的原因。土壤脲酶参与尿素的转化水解,使其转化为植物可吸收形态的氮。本研究间作处理的土壤脲酶活性高于单作玉米处理的土壤脲酶活性,这与 Fu 等^[28]在四川进行的玉米大豆间作试验结果相同。张成君等^[29]对土壤酶活性与土壤化学性质关系探究试验表明,土壤脲酶活性受土壤氮和有机质含量影响,随着土壤氮含量的增加,土壤脲酶活性进一步上升。土壤碱性蛋白酶是土壤中氨基酸、蛋白质及其他含蛋白质氮有机化合物转化的重要媒介,碱性蛋白酶的水解产物也是植物的氮源之一。土壤蔗糖酶在增加土壤易溶性营养物质过程中作

用显著。试验中玉米苜蓿间作处理的蔗糖酶活性和碱性蛋白酶活性均高于其他处理,可能是由于紫花苜蓿在耕层处根系数量庞大^[30],相较于花生和大豆根系可以分泌更多的蔗糖酶和蛋白酶所致。

3.3 玉米豆科覆盖作物间作对土壤真菌微生物群落的影响

本研究发现,间作处理的土壤真菌分布特征为子囊菌门(Ascomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)和罗兹菌门(Rozellomycota)等5个门类,所占比例为91.28%~95.65%。燕红梅等^[31]对不同植物根际真菌群落的研究表明,玉米和大豆根际中主要优势真菌除上述5种菌门外,还包括接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)和芽枝菌门(Blastocladiomycota),但在本试验高通量测序结果中并未发现接合菌门等其他菌门。杨泽良等^[32]研究表明,作物根际土壤微生物多样性指数显著高于非根际土壤微生物多样性指数,本研究中试验土壤为非根际土壤,这可能是优势菌门种类较少的原因。本试验结果显示,玉米紫花苜蓿间作和玉米大豆间作均可以提高被孢霉门和子囊菌门的相对丰度。在河北省张家口进行的试验也发现,玉米大豆间作模式增加了子囊菌门的相对丰度^[33]。作物种类差异对土壤微生物群落组成有很大的影响^[34],玉米与豆科作物间作构成复合群体,引起微生物群落的转变。玉米辣椒的间作试验发现,间作通过减少作物病害从而抑制座囊菌纲(Dothideomycetes)等病原菌^[35],这可能是间作导致座囊菌纲相对丰度下降的原因。被孢霉科(Mortierellaceae)作为衡量土壤有机质和养分丰富度的标志,可以分解土壤中糖类物质及简单多糖物质,补充土壤有机质和养分含量^[36];子囊菌门能够降解土壤中可溶性有机底物。本研究中,间作紫花苜蓿和间作大豆均使土壤碱解氮和有机质含量提升,增加了生物化学反应可利用底物含量,从而提高了子囊菌门、被孢霉门和被孢霉纲的相对丰度。此外,Han 等^[37]研究证明,大豆根瘤与根际微生物群落存在明显共生关系,两者交互影响,提高了优势菌门的相对丰度。本研究间作处理的担子菌门相对丰度均表现出下降趋势。Lian 等^[38]进行的甘蔗大豆间作对土壤微生物群落结构影响的盆栽试验表明,大豆甘蔗间作情况下,土壤担子菌门的相对丰度降低。担子菌门既包括可分解木质纤维素的真菌,也包括一些有害真菌,可使作物产生病害。本试验中间作处理的有机质含量总体呈上升趋势,而研究表明^[39],随着土壤中有机质

含量的增加,担子菌门的相对丰度表现为下降趋势,这可能是间作种植使担子菌门相对丰度下降的原因。

4 结论

经过两年的玉米与豆科覆盖作物间作,潮土土壤养分含量、酶活性、微生物群落多样性发生了显著的变化。其中,玉米间作紫花苜蓿、间作花生增加了土壤碱解氮含量;所有间作处理对土壤酸性磷酸酶和脲酶活性都有积极作用;间作紫花苜蓿对土壤碱性磷酸酶和蔗糖酶活性产生显著影响;间作紫花苜蓿和间作大豆可以提高优势菌门子囊菌门、被孢霉门的相对丰度。

参考文献:

- [1] 胡志全,褚庆全,吴永常. 黄淮海区耕作制度演变特征及发展对策研究[J]. 中国农业科技导报, 2002, 4(6): 23-27.
- [2] Gaba S, Lescourret F, Boudsocq S, et al. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: From concepts to design[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(2): 607-623.
- [3] Bugg R L. Cover crops and control of arthropod pests of agriculture[J]. *Cover Crops for Clean Water*, 1991: 157-163.
- [4] 赵蕊,王怡针,苏港,等. 绿肥还田对农田土壤理化性质和肥料利用率的影响研究进展[J]. 天津农学院学报, 2020, 27(1): 92-97.
- [5] 张德,龙会英,金杰,等. 豆科与禾本科牧草间作的生长互作效应及对氮、磷养分吸收的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(10): 15-22.
- [6] 李隆. 间套作强化农田生态系统服务功能的研究进展与应用展望[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 403-415.
- [7] Rodriguez C, Carlsson G, Englund J E, et al. Grain legume-cereal intercropping enhances the use of soil-derived and biologically fixed nitrogen in temperate agroecosystems. A meta-analysis[J]. *European Journal of Agronomy*, 2020, 118: 126077.
- [8] 边雪廉,赵文磊,岳中辉,等. 土壤酶在农业生态系统碳、氮循环中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(4): 171-178.
- [9] 乔月静,郭来春,葛军勇,等. 燕麦与豆科作物间作对土壤酶活和微生物量的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2020, 55(3): 54-61.
- [10] Sekaran U, Loya J R, Abagandura G O, et al. Intercropping of Kura clover (*Trifolium ambiguum* M. Bieb) with prairie cordgrass (*Spartina pectinata* link.) enhanced soil biochemical activities and microbial community structure[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 147: 103427.
- [11] 薄国栋,申国明,张继光,等. 秸秆还田对植烟土壤养分及真菌群落多样性的影响[J]. 土壤通报, 2016, 47(1): 137-142.
- [12] 张瑞平,苟小梅,张毅,等. 生物有机肥与化肥配施对植烟土壤养分和真菌群落特征的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(8): 85-92.
- [13] 胡国彬,董坤,董艳,等. 小麦与蚕豆间作对根际真菌代谢功能多样性的影响[J]. 土壤学报, 2015, 52(4): 926-933.
- [14] 张晓岗,刘萍,马琨,等. 间作栽培对宁夏南部山区马铃薯根际土壤真菌菌群结构的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29(12): 1875-1882.
- [15] 杨玉海,蒋平安,翟军,等. 干旱区绿洲苜蓿地土壤微生物特性及其影响因子[J]. 水土保持学报, 2008, 22(6): 153-157.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [17] 赵雅姣,刘晓静,吴勇,等. 豆禾牧草间作根际土壤养分、酶活性及微生物群落特征[J]. 中国沙漠, 2020, 40(3): 219-228.
- [18] Yang X Q, Wang Y, Sun L Y, et al. Impact of maize-mushroom intercropping on the soil bacterial community composition in northeast China[J]. *Agronomy*, 2020, 10(10): 1526.
- [19] 秦昌鲜,彭崇,郭强,等. 甘蔗花生间作对红壤有效磷、pH 值的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(11): 137-140.
- [20] 陈利,肖靖秀,郑毅. 间作玉米大豆根系分泌物中有机酸的变化特征[J]. 西南林业大学学报, 2016, 36(5): 78-83.
- [21] 肖霞,毛璐,宋春,等. 玉米/大豆套作体系作物磷素吸收利用[J]. 四川农业大学学报, 2015, 33(2): 119-125.
- [22] Jensen E S, Carlsson G, Hauggaard-Nielsen H. Intercropping of grain legumes and cereals improves the use of soil N resources and reduces the requirement for synthetic fertilizer N: A global-scale analysis[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2020, 40(1): 1-9.
- [23] Zhao Y J, Liu X J, Tong C C, et al. Effect of root interaction on nodulation and nitrogen fixation ability of alfalfa in the simulated alfalfa/*Triticale* intercropping in pots[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 4269.
- [24] Latati M, Bargaz A, Belarbi B, et al. The intercropping common bean with maize improves the rhizobial efficiency, resource use and grain yield under low phosphorus availability[J]. *European Journal of Agronomy*, 2016, 72: 80-90.
- [25] 张咏梅,周国逸,吴宁. 土壤酶学的研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(1): 83-90.
- [26] 张萌萌,敖红,李鑫,等. 桑树/苜蓿间作对根际土壤酶活性和微生物群落多样性的影响[J]. 草地学报, 2015, 23(2): 302-309.
- [27] 黄宇,张海伟,徐芳森. 植物酸性磷酸酶的研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2008, 27(1): 148-154.
- [28] Fu Z D, Zhou L, Chen P, et al. Effects of maize-soybean relay intercropping on crop nutrient uptake and soil bacterial community[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2019, 18(9): 2006-2018.

- [29] 张成君, 师尚礼, 康文娟, 等. 不同轮作模式土壤酶活性特征及与化学性质的关系[J]. 中国草地学报, 2020, 42(5): 92–102.
- [30] 张建全, 张吉宇, 王彦荣, 等. 黄土高原4种豆科牧草生产性能及根系发育特征[J]. 草地学报, 2013, 21(5): 965–970.
- [31] 燕红梅, 张欣钰, 檀文君, 等. 5种植物根际真菌群落结构与多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 364–369.
- [32] 杨泽良, 李萍芳, 薛涛, 等. 玉米根际土壤微生物群落结构及多样性季节变化特征[J]. 西南农业学报, 2020, 33(5): 1001–1010.
- [33] 瓮巧云, 黄新军, 许翰林, 等. 玉米/大豆间作模式对青贮玉米产量、品质及土壤营养、根际微生物的影响[J]. 核农学报, 2021, 35(2): 462–470.
- [34] 王明亮, 刘惠芬, 王丽丽, 等. 不同覆盖作物模式对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2020, 37(3): 332–339.
- [35] 董宇飞, 吕相漳, 张自坤, 等. 不同栽培模式对辣椒根际连作土壤微生物区系和酶活性的影响[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(9): 1485–1492.
- [36] 宁琪, 陈林, 李芳, 等. 被孢霉对土壤养分有效性和秸秆降解的影响[J/OL]. 土壤学报: DOI:10.11766/trxb202006020213.(2020-09-07)[2021-03-23].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20200904.1556.002.html>.
- [37] Han Q, Ma Q, Chen Y, et al. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(8): 1915–1928.
- [38] Lian T X, Mu Y H, Jin J, et al. Impact of intercropping on the coupling between soil microbial community structure, activity, and nutrient-use efficiencies[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6412.
- [39] 侯萌, 陈一民, 焦晓光, 等. 两种气候条件下不同有机质含量农田黑土真菌群落结构特征[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2822–2832.