

玉米/覆盖作物间作对土壤养分及微生物群落的影响

吕晓宁¹, 隋雨婷², 穆 朋³, 张 鹏³, 张 锋^{3,4}, 李向楠^{3,4}

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130102; 2. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130102;

3. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130102; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 为了研究土壤养分变化规律, 基于玉米与豆科、非豆科、豆科-非豆科覆盖作物间作试验, 探讨玉米/覆盖作物间作对农田土壤养分及根际微生物群落结构特征的影响, 探寻实现农业资源优化的合理种植方式。结果表明, 非豆科覆盖作物与玉米间作使土壤耕作层全氮含量显著提高 15.20%, 所有覆盖作物间作处理的土壤速效养分含量以及全磷含量与玉米单作相比显著提升。与玉米单作相比, 覆盖作物与玉米间作种植模式提高变形菌门、厚壁菌门的相对丰度, 豆科覆盖作物与玉米间作处理提升最多。相较于玉米单作, 豆科-非豆科覆盖作物与玉米间作对于子囊菌门和被孢霉门的相对丰度提高最多, 分别为 15.25% 和 60.34%, 土壤中优势菌门表现出维持土壤养分循环平衡的作用。覆盖作物与玉米间作可直接或间接调节微生物缓解土壤酸化, 提高速效养分含量, 从而提高土壤肥力, 同时招募有益菌来维持土壤微环境的稳定。

关键词: 玉米; 覆盖作物; 间作; 土壤养分; 微生物群落结构

中图分类号: S513.047

文献标识码: A

Influences of Maize/Cover Crop Intercropping on Soil Nutrients and Microbial Communities

LÜ Xiao-ning¹, SUI Yu-ting², MU Peng³, ZHANG Peng³, ZHANG Feng^{3,4}, LI Xiang-nan^{3,4}

(1. College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130102;

2. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130102;

3. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102;

4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: This study investigated the effects of intercropping between maize and cover crops on soil nutrients and rhizosphere microbial community structure in black soil areas and explored scientific tillage measures to optimize the agricultural resources. Based on an experiment of intercropping between maize and leguminous, non-leguminous, and leguminous – non-leguminous cover crops, it was demonstrated that intercropping non-leguminous cover crops with maize considerably enhanced the soil total nitrogen by 15.20%. In contrast to maize monoculture, intercropping with all cover crops significantly enhanced the concentrations of soil available nutrients and total phosphorus. Intercropping with cover crops increased the relative abundance of Proteobacteria and Firmicutes as compared to maize monoculture. The most significant enhancement was observed under intercropping maize and leguminous cover crops. Intercropping with legume–nonlegume cover crops increased the relative abundance of Ascomycetes and Mortierellomycota, by 15.25% and 60.34%, respectively, as compared to maize monoculture. The relatively high abundance of dominant bacteria may help to maintain the balance of soil nutrients. Intercropping with cover crops can control microorganisms directly or indirectly to reduce soil acidity, increase the amount of available nutrients, and enhancing soil fertility. At the same time, intercropping with cover crops can recruit bacteria to preserve the stability of the soil microenvironment and lessen agricultural non-point source pollution.

Key words: Maize; Cover crop; Intercropping; Soil nutrient; Microbial community structure

录用日期: 2023-12-06

基金项目: 吉林省国际合作项目(20210402036GH)、中国科学院战略性先导科技专项(XDA28020401)

作者简介: 吕晓宁(1997-), 女, 河北乐亭人, 硕士, 农业资源与环境研究方向。E-mail: lvxiaoning1115@163.com

李向楠为本文通信作者。E-mail: lixiangnan@iga.ac.cn

玉米是中国三大粮食作物之一,东北平原是中国玉米的主产区^[1],种植面积约占全国的1/3左右^[2]。由于其长期连作,导致土壤酸化、养分衰退以及微生物多样性下降等问题^[3-4]。覆盖作物一般指除目标作物外被人为种植的草本植物,用作覆盖裸露地面,其可以控制杂草、有效提升土壤养分含量,改善土壤理化性质,并为土壤微生物的生长繁殖提供良好环境^[5-6]。按照生物学特性覆盖作物可以分为豆科覆盖作物如苜蓿、田菁、毛叶苕子、草木樨等,以及非豆科覆盖作物如荞麦、一年生黑麦草、大麦、燕麦等。豆科覆盖作物可以起到结瘤固氮的效果,如紫花苜蓿与玉米间作时提高了土壤碱解氮含量^[7];非豆科覆盖作物能够提高根系数量,增加根系分泌物,促进有益菌定植,调节土壤微环境,如种植一年生黑麦草和冬季黑麦与燕麦混合覆盖作物显著增加了土壤微生物的生物量^[8]。

根际微生物能够调节土壤养分循环,控制病虫害和病原体,促进植物生长。近年来,覆盖作物对土壤理化性质和微生物群落的影响受到广泛关注。覆盖作物产生的凋落物和根系分泌物能够影响土壤微生物群落组成^[9],同时不同种类的覆盖作物能够迅速影响土壤根际微生物群落的聚集。研究表明,紫花苜蓿作为覆盖作物时可增加土壤变形菌门和厚壁菌门的丰度^[10],大麦作为覆盖作物时能提高根际土壤的变形菌门、放线菌门和酸杆菌门比例^[11]。

研究发现,豆科覆盖作物与非豆科覆盖作物混合播种不仅发挥豆科覆盖作物固氮功能,同时还可以使非豆科覆盖作物有效清除土壤残留的氮、磷

等^[12]。目前,我国各地农业条件差异较大,且覆盖作物的种植模式较为单一,对于覆盖作物与玉米间作的研究大多集中于玉米与单一覆盖作物品种间作,对多个覆盖作物品种同时与玉米间作是否可改善土壤理化性质以及微生物群落结构的研究相对偏少^[13]。因此,本研究以玉米为主要研究对象,通过设置不同覆盖作物与其间作的耕作模式,研究其对土壤养分以及土壤微生物群落多样性、结构、功能等影响,为实现农业资源优化提供理论依据,研究土壤养分变化规律,探寻实现农业资源优化的科学种植模式。

1 材料与方法

1.1 试验地概况及试验设计

试验于中国科学院公主岭野外试验基地开展,该试验基地位于吉林省长春市公主岭陶家屯镇,属于寒温带半湿润季风大陆性气候,年平均降水量为600 mm,年平均气温5.9℃,盛行西南风。试验地长期进行玉米耕作,土壤类型为黑土,试验开展前土壤耕作层的基础肥力指标,pH值6.63,速效钾184.53 mg/kg,有效磷35.13 mg/kg。

试验于2021年4月底开始,在当地玉米生长季开展多种覆盖作物与玉米间作试验。试验采用完全随机裂区设计,设置4种不同种植模式,包括玉米单作(Mon)、玉米/豆科覆盖作物间作(IL)、玉米/非豆科覆盖作物间作(INL)、玉米/豆科-非豆科覆盖作物间作(ILNL)。每个处理覆盖作物播种量如表1所示,每个种植模式设4个重复,共16个小区,每个小区

表1 不同处理的播种量
Table 1 Seeding rates for different treatments

处 理 Treatment	覆盖作物种类 Species of cover crop	播种量 Seeding rate
Mon	-	-
IL	毛叶苕子 (<i>Vicia villosa</i> Roth.)、草木犀 (<i>Melilotus officinalis</i> L.)、苜蓿 (<i>Medicago Sativa</i> Linn)、田菁 (<i>Sesbania cannabina</i> (Retz.) Poir.)	毛叶苕子(2.27 g/m ²)、草木犀(1.20 g/m ²)、苜蓿(1.47 g/m ²)、田菁(2.00 g/m ²)
INL	黑麦草 (<i>Lolium perenne</i> L.)、大麦 (<i>Hordeum vulgare</i> L.)、荞麦 (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.)、燕麦 (<i>Avena sativa</i> L.)	黑麦草(2.00 g/m ²)、大麦(2.27 g/m ²)、荞麦(3.47 g/m ²)、燕麦(3.47 g/m ²)
ILNL	毛叶苕子、草木犀、苜蓿、田菁、黑麦草、大麦、荞麦、燕麦	毛叶苕子(1.20 g/m ²)、草木犀(0.67 g/m ²)、苜蓿(0.80 g/m ²)、田菁(1.07 g/m ²)、黑麦草(1.07 g/m ²)、大麦(1.20 g/m ²)、荞麦(1.73 g/m ²)、燕麦(1.73 g/m ²)

注: Mon表示玉米单作; IL表示玉米/豆科覆盖作物间作; INL表示玉米/非豆科覆盖作物间作; ILNL表示玉米/豆科-非豆科覆盖作物间作。
Note: Mon represents maize monoculture; IL stands for maize/leguminous cover crop intercropping; INL signifies maize/non-leguminous cover crop intercropping; ILNL denotes maize/leguminous-non-leguminous cover crop intercropping.

面积为 5 m×6 m, 小区之间设置保护行。玉米采用宽窄行种植, 宽行行距为 65 cm, 窄行行距为 45 cm, 覆盖作物于玉米行间播种。玉米采用行播, 每个小区种植 6 行, 株距 65 cm, 种植密度为 6.5 万株/hm²; 覆盖作物采用撒播。全生育期不进行人工灌溉, 依靠自然降雨。播种前一次性施入底肥, 氮(N)、磷(P)、钾(K)使用量分别为 208、36、137 kg/hm²。

1.2 样品采集及指标测定

在 2022 年玉米成熟期采集土壤样品, 采用 5 点取样法分别采集各小区 0~20 cm 土层的土壤, 并均匀混合后风干, 进行土壤理化性质测定。在玉米成熟期使用无菌取样瓶采集耕作层玉米根部表面 2 mm 的土壤, 用装有冰袋的保温箱运送回实验室并存放在 -80 ℃ 冰箱, 进行细菌和真菌高通量测序。玉米于成熟期考察每个小区的有效穗数, 根据均重法同时对玉米穗部性状(穗行数、行粒数、百粒重)进行考察, 并在收获时测定产量。

土壤理化性质采用常规农化分析方法测定, 采用玻璃电极法测定土壤 pH 值, 土壤全氮含量使用凯氏定氮仪测定, 全磷和全钾含量采用硫酸-高氯酸消煮后分别用钼锑抗比色法和火焰光度计法测定, 土壤有效磷以及土壤速效钾含量分别采用钼锑抗比色法和 NH₄OAc 浸提后火焰光度法测定。

土壤细菌和真菌群落结构进行高通量测序。使用微生物基因组 DNA 提取试剂盒提取根际土壤微生物基因组 DNA (0.5 g)。采用 NanoDrop ND-2000 分光光度计和琼脂糖凝胶电泳分别检测提取 DNA 的数量和质量。采用正向引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和反向引物 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌 16S V3-V4 区进行 PCR 扩增, 同时使用正向引物 ITS5F(5'-GTGC-CAGCMGCCGCGGTAA3')和反向引物 ITS2R(5'-CC-GTCAATTCCTTTGAGTTT-3')对真菌 ITS V1 区进行定位。PCR 扩增组分为反应缓冲液 5 μL (5x)、气相色谱缓冲液 5 μL (5x)、Fast pfu DNA 聚合酶 0.25 μL (5 U/μL)、dNTPs 2 μL (2.5 mmol/L)、正向引物和反向引物各 1 μL (10 μmol/L)、DNA 模板 1 μL、ddH₂O 9.75 μL。

微生物基因组 DNA 的 PCR 反应采用以下程序进行: 98℃ 变性 5 min, 52℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 72℃ 再延伸 5 min。PCR 产物从 2% 琼脂糖凝胶中提取, 使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒进一步纯化, Tris-HCl 缓冲液进行洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测。使用 QuantiFluor™-ST 对细菌和真菌进行定量。使用 illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego,

USA) 按照 Majorbio Bio- Pharm Technology Co. Ltd (Shanghai, China) 的标准操作规程进行配对端测序 (2×300)。

1.3 数据处理与分析

原始测序序列通过 Trimmomatic 软件进行质控, 之后使用 FLASH 软件 (<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/index.shtml>) 进行拼接。使用 UPARSE (version 7.1) 对 OTU 进行聚类, 相似性截断率为 97%。各基因序列的分类分别采用 RDP Classifier 贝叶斯算法 (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 结合 Silva 和 UNITE 细菌和真菌参考基因数据库进行分析。之后从细菌和细菌 OTU 表中去除与叶绿体和线粒体相关的 OTU。

利用 Microsoft Excel 2021 软件处理数据, 相关性分析采用 SPSS 26.0 软件进行, 绘图使用 Graph-Pad Prism 9 软件, 采用单因素 (oneway ANOVA) 和 Duncan 法对不同处理间差异进行方差分析和多重比较 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

研究发现, 相较于 Mon 处理, ILNL 处理土壤 pH 值显著提高, INL 处理显著降低 ($P < 0.05$); 与 Mon 处理相比, IL、INL 和 ILNL 处理分别使土壤速效磷含量显著提高 71.32%、149.03% 和 32.44% ($P < 0.05$), 速效钾含量显著提高 27.28%、14.45% 和 32.34% ($P < 0.05$)。与 Mon 处理相比, IL、INL 和 ILNL 处理分别使土壤全磷含量显著提高 46.48%、19.72% 和 15.49% ($P < 0.05$), 土壤全钾含量显著降低 5.58%、10.78% 和 1.80% ($P < 0.05$); INL 处理使全氮含量显著提高 15.20% ($P < 0.05$), IL 和 ILNL 处理对其无显著影响 (表 2)。

2.2 土壤微生物多样性

由表 3 可知, 相较于 Mon 处理, INL 处理的根际土壤细菌的 ACE 指数显著提高了 7.26% ($P < 0.05$), Shannon 指数显著提高 1.86% ($P < 0.05$); IL 和 INL 处理对两项指标无显著影响。与 Mon 处理相比, INL、ILNL 处理的根际土壤真菌的 ACE 指数和 Shannon 指数之间无显著差异。

主成分分析 (PCA) 进一步表明, Mon、IL、INL、ILNL 处理之间细菌和真菌群落存在显著差异 (图 1)。韦恩分析显示, Mon、IL、INL、ILNL 处理中细菌分别有 4 522、4 502、4 773、4 523 个, 其中, Mon、IL、INL、ILNL 处理分别特有 OTU 数目为 103、70、259、85 个, 4 个处理的相同 OTU 占 58.66%。另外发现, Mon、IL、INL、ILNL 处理真菌分别有 1 653、1 546、1 772、

1 638 个,其中,Mon、IL、INL 以及 ILNL 处理分别特 菌共同 OTU 仅占 25.33%。
有 OTU 数目为 272、243、400、244 个,四者之间的真

表2 不同覆盖作物与玉米间作对土壤 pH 值和养分含量的影响
Table 2 Effects of maize-cover crops intercropping on soil pH and nutrients

处 理 Treatment	pH 值 pH value	速效磷(mg/kg) Available phosphorus	速效钾(mg/kg) Available potassium	全磷(mg/kg) Total phosphorus	全氮(mg/kg) Total nitrogen	全钾(mg/kg) Total potassium
Mon	7.42±0.02 b	28.45±0.78 d	216.42±0.68 d	0.71±0.01 d	1.71±0.06 b	21.16±0.08 a
IL	7.39±0.03 b	48.74±0.24 b	275.46±0.92 b	1.04±0.02 a	1.77±0.07 b	19.98±0.08 c
INL	6.86±0.05 c	70.85±0.05 a	247.69±0.66 c	0.85±0.01 b	1.97±0.02 a	18.88±0.05 d
ILNL	7.51±0.03 a	37.68±0.06 c	286.42±1.21 a	0.82±0.01 c	1.74±0.05 b	20.78±0.07 b

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下表同。
Note: Significant variations between treatments are denoted by different lowercase letters in the same column(P<0.05). The same below.

表3 各处理土壤样品微生物多样性指数
Table 3 Microbial diversity index of soil samples under each treatment

处 理 Treatment	细 菌 Bacterial		真 菌 Fungal	
	ACE 指数	Shannon 指数	ACE 指数	Shannon 指数
Mon	3874.09±127.90 b	6.46±0.09 b	870.06±82.50 ab	4.49±0.23 a
IL	3886.99±113.02 b	6.54±0.03 ab	860.35±69.77 b	4.28±0.04 a
INL	4155.26±34.58 a	6.58±0.04 a	971.90±41.17 a	4.30±0.32 a
ILNL	3922.93±96.33 b	6.51±0.05 ab	900.15±30.93 ab	4.38±0.13 a

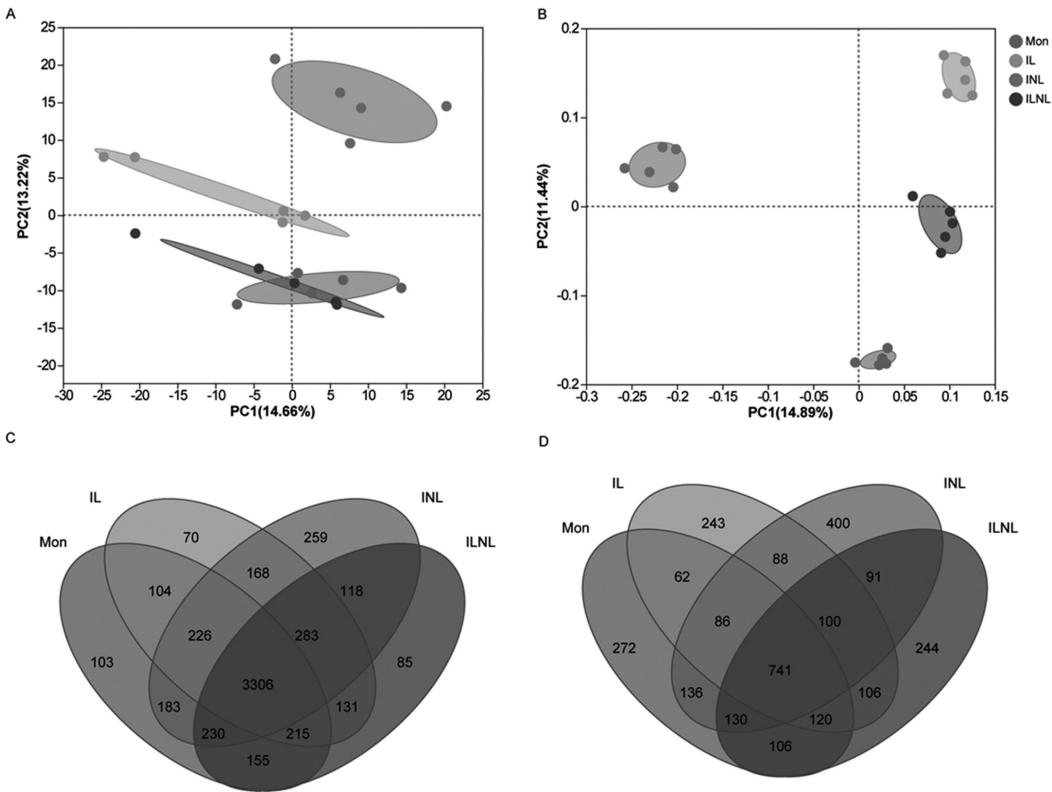


图1 不同覆盖作物与玉米间作处理细菌(A)、真菌(B)群落属水平主成分分析以及土壤细菌(C)、真菌(D)群落 Venn 图
Fig.1 Level principal component analysis of bacterial(A) and fungal(B) communities in intercropping between different cover crops and maize and Venn diagram of soil bacterial(C) and fungal(D) communities

2.3 土壤微生物群落组成

2.3.1 细菌群落门水平分布

各处理在门水平上的细菌群落特征如图2所示。所有处理中放线菌门(Actinobacteriota)丰度最高(30.85%~32.57%),其他优势门分别是变形菌门(Proteobacteria)17.24%~21.02%、绿弯菌门(Chloroflexi)12.48%~17.16%、酸杆菌门(Acidobacteriota)13.44%~15.14%、厚壁菌门(Firmicutes)3.72%~5.26%、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)3.25%~3.71%、粘球菌门(Myxococcota)2.67%~3.63%、拟杆菌门(Bacteroidota)1.94%~2.23%、甲烷氧化菌门(Methyloirabiolota)1.62%~2.74%。与Mon处理相比,其他覆盖作物与玉米间作种植模式对变形菌门以及厚壁菌门相对丰度的提高存在积极影响。具体而言,变形菌门相对丰度分别提高了21.93%(IL)、7.83%(INL)、8.82%(ILNL),厚壁菌门的相对丰度分别提高41.40%(IL)、24.46%(INL)、16.67%(ILNL)。不同种植模式对酸杆菌门、粘球菌门以及甲烷氧化菌门的相对丰度影响不同。与Mon处理相比,IL和INL处理降低了酸杆菌门的相对丰度,ILNL处理增加6.77%;与Mon处理相比,ILNL处理降低了粘球菌门

的相对丰度,IL和INL处理分别增加20.60%和10.63%;ILNL处理的甲烷氧化菌门与Mon处理相比相对丰度下降,IL和INL处理提高37.04%和69.14%。与Mon处理相比,IL、INL、ILNL处理的放线菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门的相对丰度均降低。

2.3.2 真菌群落门水平分布

各处理在门水平上的真菌群落特征,所有处理中子囊菌门(Ascomycota)丰度最高(59.55%~69.44%),其他优势门分别是担子菌门(Basidiomycota)12.59%~26.07%、被孢霉门(Mortierellomycota)6.64%~11.40%、壶菌门(Chytridiomycota)0.87%~1.95%。与Mon处理相比,部分覆盖作物与玉米间作种植模式提高了子囊菌门、被孢霉门的相对丰度,子囊菌门的相对丰度分别提高了13.21%(IL)、15.25%(ILNL);被孢霉门的相对丰度分别提高了22.36%(IL)、60.34%(ILNL)。不同种植模式对担子菌门的相对丰度影响不同,与Mon处理相比,IL和ILNL处理降低担子菌门的相对丰度,INL处理增加33.42%。与Mon处理相比,IL、INL、ILNL处理的壶菌门的相对丰度均降低。

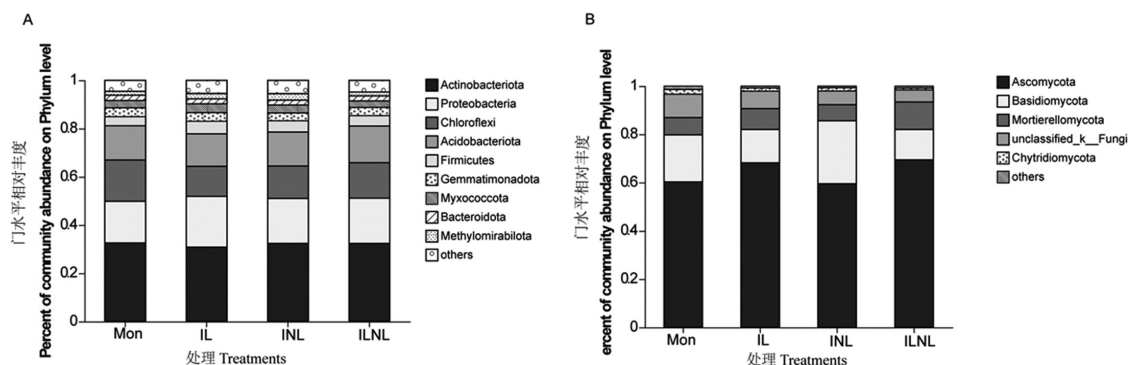


图2 不同覆盖作物与玉米间作处理门水平土壤细菌(A)、真菌(B)群落物种组成的影响

Fig.2 Effects of species composition of soil bacteria(A) and fungi(B) in intercropping between different cover crops and maize

2.4 土壤微生物功能预测

2.4.1 细菌群落功能预测

不同处理间细菌群落功能的差异通过人工构建的数据库 FAPROTAX 推断(图3),共获得59项功能分组。进一步通过单因素方差分析,筛选出5项存在显著差异的功能,包括固氮作用(Nitrogen fixation)、尿素分解(Ureolysis)、化能异养(Chemoheterotrophy)、发酵(Fermentation)、需氧化能异养(Aerobic chemoheterotrophy)。其中,ILNL处理在化能异养、需氧化能异养、发酵功能中最高,较Mon处理高2.06%、3.22%、5.36%;INL处理在尿素分解和固氮功能上最高,比Mon处理高25.63%和45.63%。

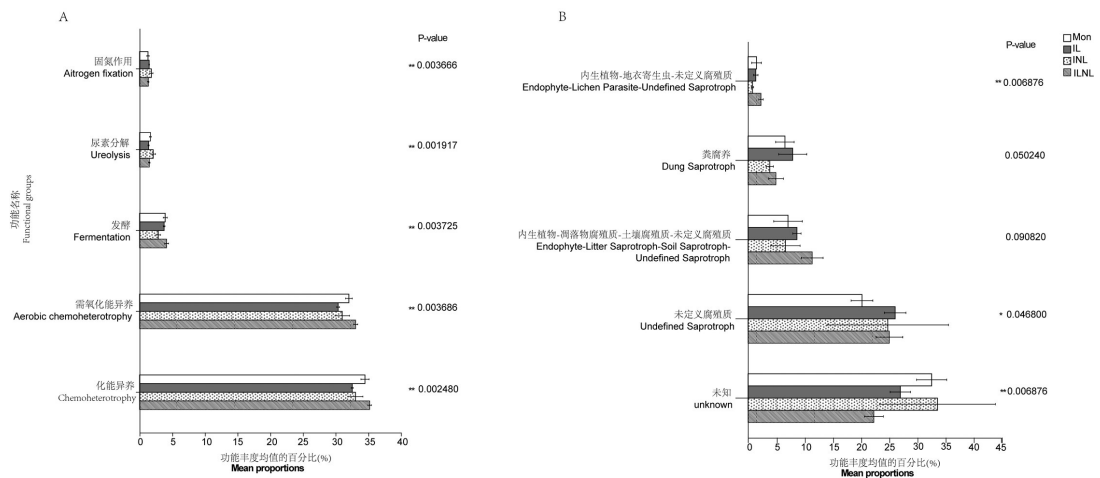
2.4.2 真菌群落 FUNGuild 基因功能预测

多种不同覆盖作物与玉米间作处理对真菌功能类群的丰度有不同影响。FUNGuild分析表明,IL处理在未定义腐养和粪腐养功能的相对丰度最高,较Mon处理高29.14%和21.18%;INL处理在内生植物-凋落物腐殖质-土壤腐殖质-未定义腐养及粪腐养-内生植物-未定义腐养功能的相对丰度最高,较Mon处理高60.43%及20.71%。

2.5 土壤养分和优势菌门相对丰度的相关性

2.5.1 土壤养分和细菌优势菌门相对丰度的相关性

选取细菌门水平上丰度前10的物种,采用Spearman相关性系数与土壤养分进行相关性分析



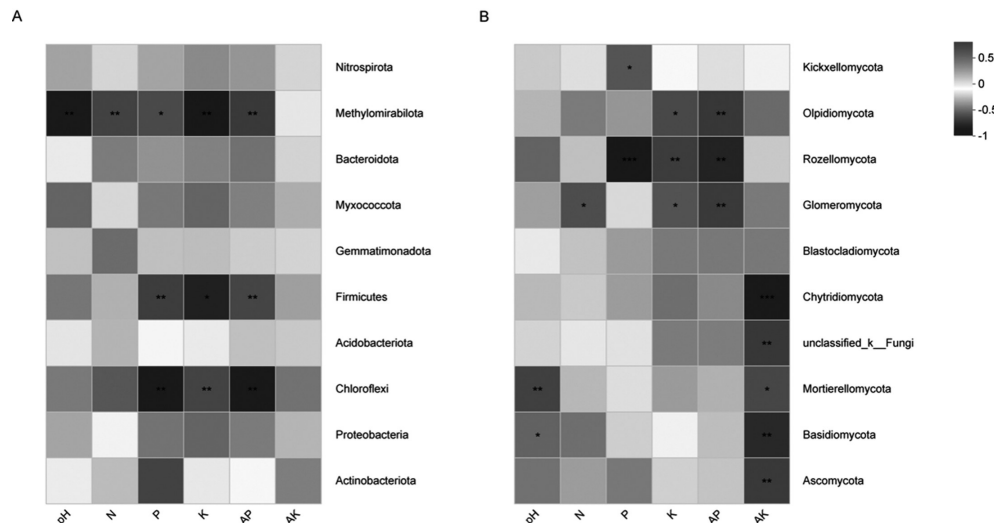
注:(A)Functional groups 为功能名称; Mean proportions(%)为功能丰度均值的百分比; P -value 为假阳性概率值,是统计学中常用的判定值, P -value<0.05 表明差异显著;(B)X轴为 Guild 在不同的分组或样本中的丰度比例; Y轴为不同的分组或样本。
Note: (A) Functional groups are functional names; Mean proportions(%) is the percentage of mean functional abundance; P -value is the false positive probability value, which is commonly used in statistics. P value < 0.05 indicates a significant difference. (B) The Y-axis lists the various groups or samples, while the X-axis shows the abundance ratio of Guilds in each group or sample.

图3 细菌群落 FAPROTAX 功能预测组间差异(A)以及真菌群落 FUNGuild 功能预测(B)

Fig.3 Prediction of the functional composition in the microbial community according to FAPROTAX database(A) and variations in composition of fungal functional groups inferred by FUNGuild(B)

(图 4),结果表明,土壤 pH 值与甲烷氧化菌门显著负相关,而土壤氮含量与其显著正相关($P<0.05$)。土壤磷含量与绿弯菌门呈显著负相关,与厚壁菌门、甲烷氧化菌门显著正相关;土壤钾含量与绿弯菌门存在显著正相关,与厚壁菌门、甲烷氧化菌存在显著负相

关($P<0.05$)。土壤速效磷含量与绿弯菌门显著负相关,与厚壁菌门、甲烷氧化菌门显著正相关($P<0.05$)。
2.5.2 土壤养分和真菌优势菌门相对丰度的相关性
对于土壤养分和真菌门水平上丰度前 10 的物种采用 Spearman 相关系数进行相关性分析,结果显



注: X轴和 Y轴分别为环境因子和不同物种,计算 Spearman 相关性系数和显著性 P 值,相关性系数在图中用不同颜色显示(黑色代表正相关、白色代表负相关); P 值用星号显示; “*”代表 $P<0.05$; “**”代表 $P<0.01$; “***”代表 $P<0.001$ 。
Note: Environmental factors and various species are represented by the X- and Y-axes, respectively. The significant P -value and Spearman correlation coefficient were computed. The correlation coefficient is depicted in the graphic using different colors(red for positive correlation, blue for negative correlation), and P -value is shown with asterisk. * means $P<0.05$, ** means $P<0.01$, *** means $P<0.001$.

图4 细菌(A)和真菌(B)门水平与环境因子之间的相关性热图

Fig.4 Heat maps of bacterial correlations(A) and fungal(B) phylum levels and environmental factors

示,土壤pH值与担子菌门呈显著负相关,与被孢霉门呈显著正相关;土壤氮含量与球囊菌门显著负相关,钾含量与其呈显著正相关,土壤钾含量与罗兹菌门、油壶菌门呈显著正相关;土壤磷含量与罗兹菌门呈显著负相关,与梳霉门呈显著正相关($P<0.05$)。土壤中速效磷含量与球囊菌门、罗兹菌门和油壶菌门显著正相关,土壤速效钾含量与子囊菌门、被孢霉门显著正相关,与担子菌门、壶菌门显著负相关($P<0.05$)。

2.6 不同种植模式下的玉米产量

由表4可知,覆盖作物种植模式下,玉米总产量均高于玉米单作种植模式,具体表现为豆科-非豆科覆盖作物与玉米间作和非豆科覆盖作物与玉米间作种植模式下的产量显著高于玉米单作,分别较玉米单作提高48.96%和22.47%($P<0.05$)。相较于玉米单作,INL处理的穗粒数和百粒重显著提高16.00%和27.27%,同时ILNL处理百粒重显著提高42.46%($P<0.05$)。

表4 不同种植模式下的玉米产量
Table 4 Maize yield under different planting patterns

处 理 Treatment	有效穗数(穗) Effective number of ears	穗粒数(粒) Grains per spike	百粒重(g) 100 grain weight	产量(kg/hm ²) Yield
Mon	47 995.20 a	603.60 b	28.12 b	7 037.72 c
IL	45 328.80 b	644.00 ab	29.82 b	7 489.53 bc
INL	39 996.00 c	700.16 a	35.79 a	8 619.08 b
ILNL	47 995.20 a	620.64 ab	40.06 a	10 183.24 a

3 结论与讨论

本研究通过4类种植方式,分析与多种不同覆盖作物的间作对土壤养分及土壤微生物群落的影响,发现覆盖作物间作可直接或间接调节微生物缓解土壤酸化,提高速效养分含量,从而提高土壤肥力,也揭示覆盖作物通过根系分泌物来调控土壤养分并招募有益菌来维持土壤微环境的稳定,减少植物病害,抑制杂草生长,减少农业面源污染的效果。同时研究结果为了解覆盖作物间作如何提高土壤肥力和保持农业可持续性提供了依据,也为探索更好地覆盖作物管理模式和利用效率提供了理论依据和现实意义。

不同覆盖作物与玉米间作对于养分的吸收利用情况不同。玉米间作模式的速效养分含量高于玉米单作。研究表明,覆盖作物品种、覆盖作物种植时间长短和环境因子的变化都会导致土壤养分产生差异^[14]。本研究中不同处理间养分差异较大的原因是采样位置是养分循环较为活跃的耕作层,易受到外界因素干扰,且覆盖作物长势较好根系发达,对地表土壤保水、保墒效果较好^[15]。本研究中INL处理的土壤速效磷含量显著高于玉米单作且降低了土壤pH值^[16]。物种间作可能导致根系分泌有机酸的速率在不同程度提高^[17],从而降低根际土壤pH值^[18],提高磷化合物的溶解度。本研究中INL处理提高土壤被孢霉门的相对丰度。宁琪^[19]等研究表明,被孢

霉门能够显著提高土壤速效磷含量,因此INL处理土壤速效磷含量显著提高可能受土壤真菌影响。此外,本研究还发现,ILNL处理显著提高土壤中速效钾含量^[20],说明豆科和非豆科覆盖作物混合种植模式中豆科植物与非豆科植物相互作用增加了土壤中速效养分含量。Lawson等^[21]研究也表明,与单一覆盖作物种植模式相比,多种覆盖作物混合播种的土壤具有更高的氮含量。同样,Stavi等^[22]发现,多种覆盖作物混合播种会导致土壤更高的养分含量累积。Couedel等^[23]研究结果也证明,多种覆盖作物混合种植模式比单一覆盖作物种植能够更好地捕获养分,这是由于不同覆盖作物的根系结构和养分获取策略不同,同时多种覆盖作物混合播种有助于结合不同覆盖作物物种的优势,减轻单一物种的缺点^[24]。覆盖作物处理不仅影响土壤养分含量累积,对主栽作物产量也具有积极的影响。在本研究中,非豆科覆盖作物和豆科-非豆科覆盖作物处理均显著提高玉米产量^[25],可能是非豆科以及豆科-非豆科覆盖作物处理增加有益微生物类群的丰度,土壤有益微生物直接通过影响土壤胞外酶活性及速效养分含量,进而起到提高玉米产量的效果。

长期非豆科覆盖作物间作对土壤微生物群落结构和多样性的影响在很大程度上被忽视。在本研究中,非豆科覆盖作物间作的细菌和真菌ACE指数、Shannon指数均为最高。已有研究表明,土壤微生物群落稳定性与生物多样性呈正相关关系,系统发

育多样性越高的微生物群落越稳定^[26],多种非豆科覆盖作物间作后系统发育多样性增加,说明长期间作非豆科覆盖作物稳定了微生物群落,对维持作物产量具有重要意义。

本研究发现,覆盖作物间作处理显著改变了土壤微生物群落结构的组成。根据以往研究,外界环境、宿主作用的多种因素,如土壤类型、宿主植物的种类等,都会影响微生物群落的组成^[27]。刘子涵^[28]等研究发现覆盖作物处理提高了变形菌门的丰度;在本研究同样发现,所有覆盖作物间作处理均提高根际土壤变形菌门丰度,这可能与土壤养分含量的增高有关,变形菌作为一种嗜营养菌,养分较高的环境可刺激其快速增长^[29]。通过FAPROTAX对细菌进行功能预测发现,覆盖作物间作处理提高了猛氧化功能,猛氧化功能可以使土壤当中的复杂的有机物(或腐殖质)发生反应,通过降解为低分子量的有机物,进而起到增加土壤有机养分的可利用性^[30]。厚壁菌门有很强的适应能力,能降解土壤中一些难溶化合物,并且可有效防治植物病虫害^[31]。本研究发现,覆盖作物间作种植模式提高了厚壁菌门的相对丰度^[32]。相关分析表明,土壤磷、速效磷含量与厚壁菌门呈显著正相关,这可能是厚壁菌门通过分泌有机酸、胞外多糖及具有水解作用的磷酸酶等螯合物质来活化土壤难溶性残留磷^[33]。覆盖作物可为主栽作物提供其生长所必需的营养元素磷,促进其根部器官的生长和物质分泌^[34]。说明覆盖作物与玉米间作对于土壤速效养分起到积极的影响。本研究发现,采用多种不同覆盖作物间作处理的根际细菌固氮功能均高于玉米单作,表明主栽作物玉米的生长极有可能依赖于覆盖作物根系招募的微生物组来吸收氮素,覆盖作物根际的土壤微生物组具有与玉米生长资源获取相关的潜在功能。覆盖作物可吸收土壤中的 NO_3^- 氮来固定氮,从而降低土壤中的矿质氮,使硝态氮淋失达到最小化。

本研究发现,IL以及INL处理提高了子囊菌门和被孢霉门的相对丰度。相关分析表明,子囊菌门和被孢霉门与土壤速效钾含量存在显著正相关,子囊菌门能降解土壤中可溶性有机底物^[35],减少底碳的流失^[36],同时能产生具有各种结构类型和新型结构的代谢物,如生物碱、肽、萜烯、多酮和其他代谢物进而起到调节土壤养分的效果。本研究中覆盖作物处理提升了速效钾含量,增加了生物化学可利用底物含量,从而提高了子囊菌门丰度。子囊菌门具有抵抗植物病原菌,抑制酶活性的作用,影响着植物的生长发育。本研究中,ILNL处理的子囊菌门丰度最

高,说明多种豆科-非豆科覆盖作物间作能够提高主栽作物的抗病性,对生长发育有积极影响。被孢霉门可分解土壤中糖类物质及简单多糖物质,补充土壤养分含量。通过FUNGuild预测真菌群落功能发现,IL处理的根际土壤当中的未定义腐养和粪腐养功能丰度最高,腐养真菌对外部环境的适应性更强,并且腐养真菌还参与凋落物分解等基本养分循环过程,这可能是豆科作物间作使土壤碱解氮含量提升,增加了生物化学反应可利用底物含量导致的结果^[37]。本研究中,INL处理的土壤担子菌门的相对丰度最高。相关性分析发现,担子菌门与土壤pH值、速效钾含量存在显著负相关。侯萌等研究表明,土壤养分增加会导致担子菌门群落相对丰度降低^[38],这可能是因为覆盖作物间作增加土壤中有机残体的种类和数量,增加土壤真菌可利用底物的多样性,促进不同类群真菌的生长,影响土壤真菌群落多样性,进而提高土壤中速效钾含量^[39]。担子菌门能提高土壤物质循环的腐生菌,分解动植物等有机残体^[40]。本研究中INL处理在内生植物-凋落物腐殖质-土壤腐殖质-未定义腐养以及粪腐养-内生植物-未定义腐养功能的相对丰度最高,与长期间作增加有益微生物的丰度一致^[41],可能是非豆科覆盖作物产生更高的生物量为担子菌的生存提供良好的栖息环境。

参考文献:

- [1] LIU H J, GAO Z Z, ZHANG L W, et al. Stomatal conductivity, canopy temperature and evapotranspiration of maize (*Zea mays* L.) to water stress in Northeast China[J]. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 2021, 14(2): 112-119.
- [2] 张文婧,赵 锦,崔文倩,等. 气候平均态和极端态变化对东北玉米气象产量的影响[J]. 中国农业科学, 2023, 56(10): 1859-1870.
ZHANG W J, ZHAO J, CUI W Q, et al. Effects of changing normal and extreme climate states on maize meteorological yield in northeast China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2023, 56(10): 1859-1870. (in Chinese)
- [3] 王永军,吕艳杰,刘慧涛,等. 东北春玉米高产与养分高效综合管理[J]. 中国农业科学, 2019(52): 3533-3535.
WANG Y J, LÜ Y J, LIU H T, et al. Integrated management of high-yielding and high nutrient efficient spring maize in northeast China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019(52): 3533-3535. (in Chinese)
- [4] 李少昆,赵久然,董树亭,等. 中国玉米栽培研究进展与展望[J]. 中国农业科学, 2017, 50(11): 1941-1959.
LI S K, ZHAO J R, DONG S T, et al. Advances and prospects of maize cultivation in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50 (11): 1941-1959. (in Chinese)
- [5] BUGG R L. Cover crops and control of arthropod pests of agriculture [M]. Cover Crops for Clean Water. Soil and Water, 1991.

- [6] 刘晓冰, 宋春雨, STEPHEN J, 等. 覆盖作物的生态效应[J]. 应用生态学报, 2023(3): 365–368.
LIU X B, SONG C Y, STEPHEN J, et al. Ecological effects of cover crops[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002(3): 365–368. (in Chinese)
- [7] ZHAO Y, LIU X, TONG C, et al. Effect of root interaction on nodulation and nitrogen fixation ability of alfalfa in the simulated alfalfa/triticale intercropping in pots[R]. Scientific Reports, 2020, 10.
- [8] GIOVANI S, SULC R M, et al. Integrating winter annual forages into a no-till corn silage system[J]. Agronomy Journal, 2009, 101(5): 1286–1296.
- [9] KOWALCHUK G A, BUMA D S, BOER W D, et al. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2002, 81(1–4): 509–520.
- [10] BERENDSEN R L, PIETERSE C M J, BAKKER P A H. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478–486.
- [11] BLAISE D, VELMOUROUGANE K, SANTOSH S, et al. Intercrop mulch affects soil biology and microbial diversity in rainfed transgenic *Bt* cotton hybrids[J]. Science of the Total Environment, 2021, 794: 148787.
- [12] LIEBERT J A, DITOMMASO A, RYAN M R. Rolled mixtures of barley and cereal rye for weed suppression in cover crop-based organic no-till planted soybean[J]. Weed Sci., 2017, 65: 426–439.
- [13] 蹇述莲, 李书鑫, 刘胜群, 等. 覆盖作物及其作用的研究进展[J]. 作物学报, 2022, 48(1): 1–14.
JIAN S L, LI S X, LIU S Q, et al. Research advances of cover crops and their important roles[J]. Acta Agronomica Sinica, 2022, 48(1): 1–14. (in Chinese)
- [14] 杨春霞, 赵志平, 杨丽萍, 等. 不同覆盖绿肥养分特性及其对橡胶园土壤理化性质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(2): 467–477.
YANG C X, ZHAO Z P, YANG L P, et al. Nutrient characteristics of mulch green manure and their influences on soil physical and chemical property in Yunnan rubber plantation[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2012, 18(2): 467–477. (in Chinese)
- [15] 范玮玮, 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[J]. 土壤, 2021, 53(6): 1236–1243.
FAN Y W, XIN X L, ZHONG X Y, et al. Effects of Intercropping of maize and legume cover crops on enzyme activities and fungal community characteristics in fluvo-aquic soil[J]. Soils, 2021, 53(6): 1236–1243. (in Chinese)
- [16] 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.
CHEN L, XIAO J X, ZHENG Y. Characteristics of organic acids from root exudation in maize and soybean intercropping[J]. Journal of Southwest Forestry University(Natural Sciences), 2016, 36(5): 78–83. (in Chinese)
- [17] 曹锐. 覆盖作物栽培对土壤质量的影响[J]. 水土保持应用技术, 2019(3): 10–12.
CAO R. Effect of cover crop cultivation on soil quality[J]. Technology of Soil and Water Conservation, 2019(3): 10–12. (in Chinese)
- [18] REES R M, BINGHAM I J, BADDELEY J A, et al. The role of plants and land management in sequestering soil carbon in temperate arable and grassland ecosystems[J]. Geoderma, 2005, 128(1–2): 130–154.
- [19] 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]. 土壤学报, 2022, 59(1): 206–217.
NING Q, CHEN L, LI F, et al. The effect of *Fusarium oxysporum* on soil nutrient availability and straw degradation[J]. Journal of Soil Science, 2022, 59(1): 206–217. (in Chinese)
- [20] 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.
- [21] LAWSON A, COGGER C, BARY A, et al. Influence of seeding ratio, planting date, and termination date on rye-hairy vetch cover crop mixture performance under organic management[J]. PLoS One, 2015, 10.
- [22] STAVI I, LAL R, JONES S, et al. Implications of cover crops for soil quality and geodiversity in a humid-temperate region in the midwestern USA[J]. Land Degradation & Development, 2012, 23: 322–330.
- [23] COUEDEL A, ALLETTO L, JUSTES E. Crucifer-legume cover crop mixtures provide effective sulphate catch crop and sulphur green manure services[J]. Plant Soil, 2018, 426: 61–76.
- [24] WENDLING M, BÜCHI L, AMOSSE C, et al. Influence of root and leaf traits on the uptake of nutrients in cover crops[J]. Plant Soil, 2016, 409: 419–434.
- [25] ABLIMIT R, LI W, ZHANG J, et al. Altering microbial community for improving soil properties and agricultural sustainability during a 10-year maize-green manure intercropping in Northwest China [J]. Journal of Environmental Management, 2022, 321: 115859.
- [26] XUN W B, LIU Y, LI W, et al. Specialized metabolic functions of keystone taxa sustain soil microbiome stability[J]. Microbiome, 2021, 9(1): 35.
- [27] GABRIELE B, KORNELIA S. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere[J]. Fems Microbiology Ecology, 2009, 68(1): 1–13.
- [28] 刘子涵, 黄方园, 黎景来, 等. 覆盖模式对旱作农田土壤微生物多样性及群落结构的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(7): 2750–2760.
LIU Z H, HUANG F Y, LI J L, et al. Effects of farmland mulching patterns on soil microbial diversity and community structure in dryland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(7): 2750–2760. (in Chinese)
- [29] LAUBER C L, STRICKLAND M S, BRADFORD M A, et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(9): 2407–2415.
- [30] SUNDA W G, KIEBER D J. Oxidation of humic substances by manganese oxides yields low-molecular-weight organic substrates[J]. Nature, 1994, 367(6458): 62–64.
- [31] 宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 云南和西藏四处热泉中的厚壁菌门多样性[J]. 生物技术, 2015, 25(5): 481–486, 436.

(下转第 103 页)

- [25] LIU W, LIU Y, LIU G, et al. Estimation of maize straw production and appropriate straw return rate in China[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2022, 328: 107865.
- [26] 刘熙明,王滢渺,田洪涛,等. 秸秆还田方式与施氮量对秸秆腐解及玉米氮素利用的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2023, 28(10): 15–26.
- LIU X M, WANG Y M, TIAN H T, et al. Effects of straw returning methods and nitrogen application rates on straw decomposition and nitrogen utilization of maize[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(10): 15–26. (in Chinese)
- [27] 李 荣,勉有明,侯贤清,等. 施氮对还田秸秆腐解及养分释放、土壤肥力与玉米产量的影响[J]. *作物学报*, 2023, 49(7): 2012–2022.
- LI R, MIAN Y M, HOU X Q, et al. Effects of nitrogen application on straw decomposition and nutrient release, soil fertility and maize yield[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(7): 2012–2022. (in Chinese)
- [28] 姜春霞,刘化涛,张 伟,等. 减量施氮对鲜食玉米产量、氮素利用及土壤硝态氮含量的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2022(12): 61–67.
- JIANG C X, LIU H T, ZHANG W, et al. Effects of reduced nitrogen application on fresh maize yield, nitrogen utilization and soil nitrate nitrogen content[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2022(12): 61–67. (in Chinese)
- [29] 丰智松,曹寒冰,付浩然,等. 我国东北地区春玉米科学施肥评价[J]. *中国土壤与肥料*, 2022(3): 52–60.
- FENG Z S, CAO H B, FU H R, et al. Evaluation of scientific fertilization of spring maize in Northeast China[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2022(3): 52–60. (in Chinese)
- [30] 刘 见,宁东峰,秦安振,等. 氮肥减量后移对喷灌玉米产量和水氮利用效率的影响[J]. *灌溉排水学报*, 2020, 39(3): 42–49.
- LIU J, NING D F, QIN A Z, et al. Effects of postponing nitrogen fertilizer reduction on maize yield and water and nitrogen use efficiency under sprinkler irrigation[J]. *Journal of Irrigation and Drainage*, 2020, 39(3): 42–49. (in Chinese)
- [31] 徐 峰,钟 文,胡 昕,等. 不同品种缓控释肥对玉米产量性状·养分吸收及籽粒品质的影响[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(24): 172–174.
- XU F, ZHONG W, HU X, et al. Effect of different varieties of slow and controlled release fertilisers on maize yield traits–nutrient uptake and kernel quality[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(24): 172–174. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)

(上接第92页)

- SONG Z Q, WANG L, LIU X H, et al. Diversities of firmicutes in four hot springs in Yunnan and Tibet[J]. *Biotechnology*, 2015, 25(5): 481–486, 436. (in Chinese)
- [32] 许小虎,车宗贤,赵 旭,等. 长期施用绿肥对小麦玉米间作土壤微生物的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2023, 41(1): 33–44.
- XU X H, CHE Z X, ZHAO X, et al. Effects of long-term application of green manure on soil microorganisms in wheat maize intercropping[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2023, 41(1): 33–44. (in Chinese)
- [33] 雷吉琳,李乃荟,陈 硕,等. 芽孢杆菌活化土壤残留磷的机制及影响因素[J]. *磷肥与复肥*, 2022, 37(2): 16–22.
- LEI J L, LI N H, CHEN S, Strategies and influence factors in activating soil legacy phosphorus by *Bacillus* spp.[J]. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2022, 37(2): 16–22. (in Chinese)
- [34] SHI Y, DELGADO-BAQUERIZO M, LI Y, et al. Abundance of kinless hubs within soil microbial networks are associated with high functional potential in agricultural ecosystems[J]. *Environment International*, 2020(142): 105869.
- [35] 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]. *土壤学报*, 2022, 59(1): 206–217.
- NING Q, CHEN L, LI F, et al. Effects of *Mortierella* on nutrient availability and straw decomposition in soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(1): 206–217. (in Chinese)
- [36] OFITI N O. E, ZOSSO C U, et al. Warming promotes loss of subsoil carbon through accelerated degradation of plant-derived organic matter[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2021, 156: 108185.
- [37] BODDY L, HISCOX J. Fungal ecology: principles and mechanisms of colonization and competition by saprotrophic fungi[J]. *Microbiology Spectrum*, 2016, 4(6): 1–13.
- [38] 陈建英,罗超越,邱慧珍,等. 不同施氮量对半干旱区还田玉米秸秆腐解及养分释放特征的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2020, 38(1): 101–106.
- CHEN J Y, LUO C Y, QIU H Z, et al. Effects of application of different nitrogen levels on decomposition characteristics and nutrient release of returning straw[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2020, 38(1): 101–106. (in Chinese)
- [39] CHEN C, CHEN H Y H, CHEN X, et al. Meta-analysis shows positive effects of plant diversity on microbial biomass and respiration[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1332.
- [40] 南丽丽,谭杰辉,郭全恩. 黄土高原半干旱区轮作休耕模式对土壤真菌的影响[J]. *生态学报*, 2020, 40(23): 8582–8592.
- NAN L L, TAN J H, GUO Q E. Effects of fallow rotation modes on soil fungal communities in semi-arid area of the Loess Plateau, Northwest China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(23): 8582–8592. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)