



玉米与大豆种间互作对根际细菌群落结构及多样性的影响

林伟伟, 李娜, 陈丽珊, 吴则焰, 林文雄, 沈荔花

Effects of interspecific maize and soybean interactions on the community structure and diversity of rhizospheric bacteria

LIN Weiwei, LI Na, CHEN Lishan, WU Zeyan, LIN Wenxiong, and SHEN Lihua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12357/cjea.20210222>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

聚乙烯微塑料对玉米根际土壤微生物群落结构的影响

Effects of polyethylene microplastics on the microbial community structure of maize rhizosphere soil

中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(6): 970–978

设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响

Effect of facility management regimes on soil bacterial diversity and community structure

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(11): 1615–1625

稻虾共作对稻田土壤*nirK*反硝化微生物群落结构和多样性的影响

Effects of integrated rice–crayfish farming system on community structure and diversity of *nirK* denitrification microbe in paddy soils

中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(9): 1324–1332

马铃薯||玉米间作对土壤细菌多样性的影响

Effects of potato intercropped with maize on soil bacterial diversity

中国生态农业学报(中英文). 2020, 28(11): 1715–1725

秸秆还田与施肥方式对稻麦轮作土壤细菌和真菌群落结构与多样性的影响

Effects of straw returning and fertilization on soil bacterial and fungal community structures and diversities in rice–wheat rotation soil

中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(3): 531–539

盐碱胁迫对黄瓜嫁接苗根际土壤细菌和真菌群落结构及丰度的影响

Effects of saline–alkali stress on structure and abundance of bacteria/fungi community in rhizosphere soil of grafted cucumber seedlings

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(11): 1626–1635



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

DOI: 10.12357/cjea.20210222

林伟伟, 李娜, 陈丽珊, 吴则焰, 林文雄, 沈荔花. 玉米与大豆种间互作对根际细菌群落结构及多样性的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2022, 30(1): 26-37

LIN W W, LI N, CHEN L S, WU Z Y, LIN W X, SHEN L H. Effects of interspecific maize and soybean interactions on the community structure and diversity of rhizospheric bacteria[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2022, 30(1): 26-37

玉米与大豆种间互作对根际细菌群落结构及多样性的影响*

林伟伟¹, 李娜¹, 陈丽珊², 吴则焰¹, 林文雄^{1**}, 沈荔花^{1**}

(1. 福建农林大学生命科学学院 福州 350002; 2. 福建农业职业技术学院 福州 350303)

摘要: 研究玉米||大豆种间互作对根际微生物群落结构的影响及其与产量的关系, 对于深入理解特定作物间套作模式的产量效应具有重要理论与实际意义。本研究应用随机机组试验设计方法, 在玉米与大豆以最佳间作比例(2:3)条件下, 采用无隔(无隔离)、网隔(尼龙网分隔)、全隔(塑料薄膜分隔)3种种间根系间隔处理, 并以两作物的单作为对照, 借助 BIOLOG 和 T-RFLP 技术对不同处理下间作玉米与大豆的根际微生物多样性进行分析, 探究不同种间互作对微生物结构和功能的影响及其与复合作物群体产量的关系。结果表明, 玉米||大豆间作下, 无隔、网隔和全隔的根际土壤阻断处理的土地当量比分别为 1.39、1.13 和 0.98, 同一间作模式下种间根系互作加强, 土地当量比随之提高。进一步分析表明, 无论是间作玉米还是间作大豆, 其根际土壤微生物多样性和均匀度指数均随根系互作加强而明显提高。AWCD 分析根际微生物生理种群差异的结果显示, 在玉米与大豆间作体系中, 无隔和网隔处理的根际微生物对底物碳源利用能力分别占据第 1 和第 2 位; 全隔和单作下, 根际微生物对底物的利用能力相应降低; 而加强种间根系互作(即从网隔到无隔), 大豆根际微生物对 6 大类碳源底物中酚类碳源和羧酸类碳源利用能力有所下降, 对胺类碳源、聚合物类碳源、氨基酸类碳源和碳水化合物底物的利用能力分别提高 181.01%、32.6%、37.84% 和 78.28%; 而玉米根际微生物对酚类碳源、聚合物类碳源和氨基酸类利用能力有所下降外, 对羧酸类碳源、碳水化合物类碳源和胺类碳源等底物利用能力分别提高 46.26%、6.54% 和 15.84%。T-RFLP 分析结果发现, 与全隔处理比较, 无隔处理的大豆根际红球菌属和喜盐芽孢杆菌属等优势菌群丰度明显增多。而玉米根际微生物中也发现相似生理功能红球菌属和芽孢杆菌属等有益优势菌群的丰度增多现象, 最终导致间作作物地上部产量和土地当量比提高。

关键词: 大豆||玉米间作; 种间根系互作; 根际微生物; 细菌; 群落结构; 多样性; 土地当量比

中图分类号: S344.2

开放科学码(资源服务)标识码(OSID):



Effects of interspecific maize and soybean interactions on the community structure and diversity of rhizospheric bacteria*

LIN Weiwei¹, LI Na¹, CHEN Lishan², WU Zeyan¹, LIN Wenxiong^{1**}, SHEN Lihua^{1**}

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian Vocational College of Agriculture, Fuzhou 350303, China)

* 国家自然科学基金项目(31271670, 31070447, 31070403, 30471028)资助

** 通信作者: 林文雄, 主要研究方向为农业生态学, E-mail: lwxf@fafu.edu.cn; 沈荔花, 主要研究方向为农业生态学, E-mail: slh1213chenry@163.com

林伟伟, 研究方向为农业生态学。E-mail: linweiwei884477@163.com

收稿日期: 2021-04-14 接受日期: 2021-08-18

* This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31271670, 31070447, 31070403, 30471028).

** Corresponding authors: LIN Wenxiong, E-mail: lwxf@fafu.edu.cn; SHEN Lihua, E-mail: slh1213chenry@163.com
Received Apr. 14, 2021; accepted Aug. 18, 2021

Abstract: Studies on the effects of the interspecific interactions of maize||soybean intercropping on the rhizosphere microbial community structure and their relationship with crop yield are of theoretical and practical significance for elucidating the yield effects of interspecific crops in intercropping systems. The aim of this study was to explore the changes in microbial community structure in the rhizospheres of soybean and maize planted under an intercropping system (soybean||maize) with a 2 : 3 line ratio and a randomized design pattern with three types of partitions between two crop roots. The intercropping partitions were a mesh barrier (MB, with exchange of root exudates without roots interaction) or a polythene film barrier (PB, without exchange of root exudates and roots interaction) to separate the maize roots from soybean roots or no barriers (NB) between the roots. An independent monoculture (M) was set up as a control. BIOLOG and terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) assays were used to investigate the microbial community diversity in the maize||soybean rhizospheres. The results showed that the land equivalent ratios (LERs) under NB, MB, and PB conditions were 1.39, 1.13, and 0.98, respectively, at a plant row ratio of maize||soybean of 2 : 3. These findings suggest that the LER increases with increased interspecific root interactions from PB to NB under the same intercropping pattern. Further analysis revealed that the microbial diversity and evenness indexes in the rhizosphere of both intercropped maize and soybean similarly increased with the increase in interspecific root interactions from PB to NB. Average well color development (AWCD) analysis showed that the rhizospheric microbial communities under NB and MB conditions had the strongest overall ability to utilize carbon sources as substrates, whereas those under PB and M conditions had a lower ability in this regard. The enhancement of interspecific root interactions increased the ability of rhizospheric microbes of intercropped soybean to utilize amines, polymers, amino acids, and carbohydrates (four types of carbon-source substrates) by 181.01%, 32.6%, 37.84%, and 78.28%, respectively. However, the capability of microbes in the intercropped soybean rhizosphere for utilizing two other carbon sources (phenols and carboxylic acids) decreased. Moreover, the ability of the microorganisms in the intercropped maize rhizosphere to utilize carboxylic acids, carbohydrates, and amines increased by 46.26%, 6.54%, and 15.84%, respectively, whereas their ability to utilize phenols, polymers, and amino acids decreased. T-RFLP analysis revealed a significant increase in the abundance of dominant bacteria, such as *Rhodococcus* (Actinomycetes) and *Halobacillus* (Firmicutes), in the rhizosphere of intercropped soybean under NB compared with that under PB; whereas the abundance of beneficial dominant bacteria, such as *Rhodococcus* (Actinomycetes) and *Bacillus* (Spirochetes), markedly increased in the rhizosphere of intercropped maize under NB conditions compared with that under PB conditions. As a result, the crop yield and LER increased under intercropping conditions.

Keywords: Soybean||maize intercropping; Interspecific root interaction; Rhizosphere microorganisms; Bacteria; Community structure; Diversity; Land equivalent ratio

全球人口迅速增长给粮食生产带来巨大压力的同时,也给环境生态和农业持续发展带来严重的影响^[1]。作物多样化的种植体系,例如作物间套作,是发展可持续农业的可行性策略,也是南方多熟种植制的主要技术手段。与单作处理比较,豆科(Leguminosae)与禾本科(Gramineae)作物合理间套作,彼此对营养吸收和产量表现均有明显的互惠作用。因此,在传统农业实践中,特别是我国南方各省,人们常利用这一技术来发展多熟种植制,以提高作物复种指数,达到增加产量的目的。张福锁院士团队研究指出,在全球层面上,间套作设计及管理有两种不同的模式,即以粮食作物与玉米(*Zea mays*)间作和以禾谷类作物与豆科植物混作或条播间作模式^[2]。前者在我国广泛推广应用,该模式共生期短、肥料投入相对高,增产效应大;后者则在欧洲广泛应用,其共生期长、肥料投入较低,增产效应高。当前中国应用的 100 多种间作组合中,70% 的组合都有豆科作物的参与^[3-4]。豆科禾本科间作体系作为一种可持续发展的种植模式不仅引起了许多国家的关注^[5],而且豆科禾本科作为世界上重要的粮食作物对于保障全球粮食安全具

有重要意义^[3]。豆科禾本科间作体系被广泛应用的原因在于豆科作物由于自身的固氮作用,能够有效固定空气中的氮,在与禾本科作物间作时,其所固定氮素的一部分可以通过各种途径转移并被禾本科作物所利用,从而提高氮素的利用效率^[6-9]。另一方面,豆科与禾本科作物间作使得地上部以及地下部的时间、空间生态位分离^[9],从而能够更好地利用光、热、水分等资源,同时挖掘土壤中不同层次的养分资源,达到显著提高产量的优势。根际是养分、水分和有害物质进入作物系统,参与食物链物质循环的必经之门户,因此它是植物-土壤-微生物相互作用的重要界面,已成为近年来人们关注的重点领域。

前人对禾本科与豆科作物间套作体系增产机制的研究多集中于补偿效应,即从资源利用生态位分化和种间互惠方面解释增产效应,如玉米||蚕豆(*Vicia faba*)的间作中,玉米根系生长深度高于蚕豆,而蚕豆根系深度更浅,所以它们存在生态位互补效应。从中不难看出,这是基于作物间套作的土地当量比研究增产效果的。但土地当量比,因该常数具有无量纲特性,所以很难直观地反映间套作比单作在单

位面积上的产量优势^[10]。近年来,研究认为,种间互惠现象在作物间作中更多体现为养分资源利用有效性。比如玉米与蚕豆合理间作,其中豆科作物蚕豆的根系能分泌化感活性物质,如一些小分子有机酸和质子等,活化土壤中难溶性磷元素,提高禾本科作物玉米对土壤中磷元素的吸收能力^[11-12]。选择和补偿效应的贡献在不同间作体系间存在差异,在矿物质营养的获取上,玉米||蚕豆主要依赖于补偿效应,而玉米||鹰嘴豆(*Cicer arietinum*) 在磷获取上既有选择效应,也有补偿效应^[13]。可见,种植制度可有效调节作物间的生态互惠关系。

近年来研究认为,豆科禾本科间作作为不同作物种类组合而成的复合群体,对根际微生物数量、生物量及种群结构和多样性有很大影响^[3]。沈雪峰等^[14]在对甘蔗(*Saccharum officinarum*)||花生(*Arachis hypogaea*) 间作系统的研究得出,间作与单作相比能够显著提高花生和甘蔗根际土壤细菌及真菌的数量。章家恩等^[15]研究表明,间作能显著提高玉米和花生根区的土壤细菌数量,但土壤真菌及放线菌数量只在间作玉米根区得到显著提高。宋亚娜等^[16]在对小麦(*Triticum aestivum*)||蚕豆间作体系的研究中发现,根际细菌群落多样性在小麦和蚕豆生长进入花期时得到显著提高。陈平等^[17]研究结果发现,玉米与大豆(*Glycine max*) 套作具有养分资源高效利用、增强土壤肥力和综合高效的特点,该团队研究还认为,增强这两种作物的种间根系互作能有效地促进耗氧性作物玉米根系向水平生长发展,这不仅有利于增强间作作物玉米对水分和养分的利用潜力,又能改善玉米地上部的生长发育,进而实现增产目的;然而,增强这两种作物的种间根系互作,会引起共生期大豆根系在水平方向上分布减少,也不利其后期的恢复性生长,最终导致叶面积指数(LAI)下降和净光合作用降低,分枝数、分枝荚数减少而减产;但玉米与大豆间作对根际微生物多样性的影响研究还不深入。国内外已有不少研究表明,根际土壤微生物对植物生长发育起到极其重要的作用,因而被称之为植物第二基因组。根际土壤中庞大的微生物群落彼此形成生命共同体,深刻影响着共生生物的生长发育过程。这是由于根际微生物组能够直接与植物形成共生、寄生或腐生关系,或者通过促进土壤有机质分解和养分转化,参与土壤中生物地球化学过程和生物养分小循环,进而影响植物对营养养分的吸收和生命过程。同时,植物对根系微生物具有选择性,微生物群落的变化也能够影响宿主植物及其共生生物,导致不同的土壤反馈效应^[18-19]。因此,充分理解土壤

微生物对间(混)作体系种间互作和多样性-生产力关系的调节机制,对于优化作物系统结构、提高复合作物群体产量和光温等资源利用效率、发展绿色高质量农业具有重要意义。

Biolog ECO 生态板技术是利用四唑紫在获得电子后颜色变化的特征来监控和评价微生物对特定底物的代谢能力。由于土壤中的微生物通过呼吸作用,氧化其所吸收的底物以获得能量,该过程中所产生的电子则易于被四唑紫吸收,从而指示微生物利用底物的过程和程度。然而,由于可培养的土壤微生物不到 1%,因而采用这种方法有一定的局限性。应用分子生物学方法可以克服上述方法的不足。末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)是一种描述性的指纹图谱技术,基于不同小亚基 rRNA 基因序列类型之间的末端限制性片段长度多态性。该技术可以从分子水平全面地分析包括细菌和真菌在内的土壤微生物群落种类和功能,可实现土壤微生物的原位测定,同时具有操作简便、高通量以及重复性好等优点。前人研究认为连作会导致土壤微生物种类从营养丰富型的细菌性菌群向营养贫乏型的真菌性菌群转变,禾本科与豆科作物间套种的根际土壤微生物变化方向则相反,即以营养丰富型的细菌菌群为主^[20-21]。然而玉米与大豆间作互惠的机制是什么,尽管前人已从营养生理学角度作了深入研究^[11],但这种种间互作的根际微生物特性还有待进一步研究与揭示。据此,本研究通过局部控制方法,设置无隔、网隔、全隔和对照(单作)处理,由此产生地下部不同的种间根系互作环境,并借助 BIOLOG 和 T-RFLP 等技术方法,深入研究玉米||大豆种间互作对根际细菌微生物群落结构的影响及其与产量的关系,以期为深入理解特定作物间套作模式的产量效应和根际微生态特性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地与供试材料

试验地位于福建省莆田市大洋乡瑞云村(25°43'E, 119°5'N, 海拔 328 m)福建农林大学生命科学学院实习基地。供试土壤类型为棕红壤,土壤肥力良好。其中, pH 6.48, 速效氮 123.68 mg·kg⁻¹、速效磷 25.06 mg·kg⁻¹、速效钾 80.09 mg·kg⁻¹。

在 2015 年 3 月 31 日播种前,以复合肥为基肥,施肥量占总施用量(300 kg·hm⁻²)的 50%,其余用作追肥,于玉米拔节期之前一次性施用。复合肥中三要素含量 N、P、K 均为 15%(即三者比例为 1:1:1)。

试验期间,在玉米拔节期、大豆分枝期和玉米、大豆的花期分别进行定量灌溉和人工除草。

供试玉米品种为广泛推广的‘花糯 66’杂交玉米品种;大豆品种为当地常用丰产品种‘闽豆 1711’,株型直立,抗病性好。

1.2 间作比例和分隔试验设计

最佳作物间作比例的确定:2014 年 8 月进行田间试验。玉米和大豆株行比参考刘朝茂等^[22]分别设置为 2:2、2:3 和 2:4,每小区条播玉米两条带,大豆为 2、3、4 条带,其中大豆株行距为 35 cm×35 cm,玉米为 30 cm×30 cm,玉米和大豆的行间距为 35 cm。每组试验处理重复 3 次,进行大豆||玉米最优株行筛选。结果认为玉米与大豆间作以 2:3 株行比下产量最高,其土地当量比 (LER) 最大。据此本试验采用这一间作的最佳行比 2:3。

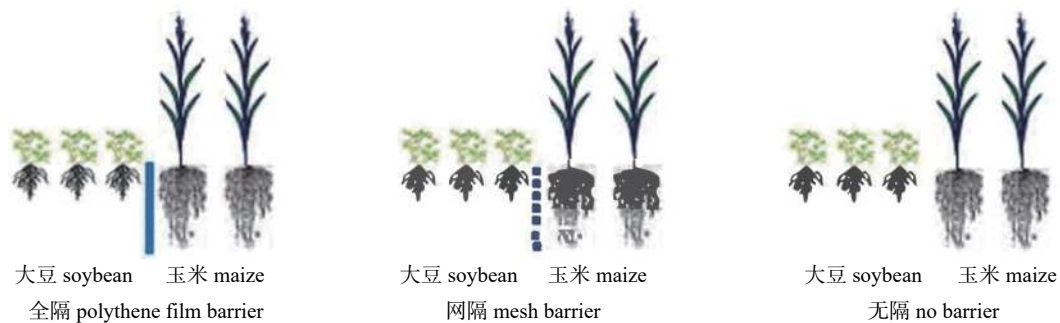


图 1 大豆和玉米间作不同分隔处理模式图

Fig. 1 Intercropped patterns of soybean and maize under different separating treatments

1.3 样品采集

于 2015 年采用五点取样法采集田间土壤样本,每处理取样 3 次。在玉米和大豆分别进入成熟期和鼓粒期时,采用铲子收集玉米和大豆表层 0~5 cm 的土壤,然后用铲子挖出玉米和大豆根部,采集紧贴在根表面的根际土。各处理随机选 2 个间作带,各取带内 3 株作物。收集的土壤样品过 2 mm 筛以去除石头、植物残体和杂物等后,立即放入 -80 °C 超低温冰箱保存,用于后期的试验;另外一部分用于土壤化学性质测定。

1.4 土壤有效养分测定

对处理土壤样本进行土壤氮、磷、钾有效养分含量的测定,测定方法均参照关松荫^[23]的方法。

1.5 间作作物产量测定

在大豆和玉米收获前 3 d (2015 年 7 月 31 日) 取样测产,采集每个小区的全部玉米穗并人工脱粒,分别装好袋子并标记,烘干称重,计算单位面积产量。同样随机收割每个小区大豆,分别装好袋子和标记,烘干称重,计算单位面积产量。

玉米||大豆根系分隔试验设计:试验于 2015 年 3 月进行。采用单因素完全随机设计,试验重复 3 次。试验地共设 15 个种植小区,每个小区 10 m²。玉米||大豆相邻株间分别采用塑料隔膜使种间根系全部隔离 (简称“全隔”, polythene film barrier, PB; 使根系、根系分泌物以及根际微生物无法通过)、300 目尼龙网隔离 (简称网隔, mesh barrier, MB; 保证种间根系不会互穿,但种间根系分泌物可以相互交流) 和未隔离 (简称无隔, no barrier, NB; 种间根系可以互穿) 3 种处理 (图 1)。在 2015 年 3 月 31 日大豆和玉米同时播种,其中单作玉米株行距为 35 cm×35 cm,大豆为 30 cm×35 cm,每穴留 1 棵秧苗。为计算土地当量比,分别以单作玉米 (monoculture maize, MM) 和单作大豆 (monoculture soybean, MS) 为对照,种植密度和水肥管理与上述保持一致。

土地当量比 (land equivalent ratio, LER) 计算如下:

$$LER = Y_{im}/Y_m + Y_{is}/Y_s \quad (1)$$

式中: Y_{im} 、 Y_{is} 分别为间作玉米和大豆的经济产量, Y_m 和 Y_s 分别是为单作玉米和大豆的经济产量。LER>1 为间作优势, LER<1 为间作劣势^[24]。

1.6 根际土壤细菌群落测定

1.6.1 BIOLOG ECO 微平板测定法

取上述待测不同处理的大豆和玉米根际土壤样本,采用 BIOLOG ECO 微平板法进行试验操作:称取 5 g 新鲜根际土置于灭菌后的三角瓶中,加入 100 mL 0.15 mol·L⁻¹ NaCl 无菌溶液,封口, 120 r·min⁻¹ 恒温振荡器中震荡 30 min,冰浴,静置 5 min。取上清液 5 mL 于灭菌的 100 mL 三角瓶中,加入 45 mL 上述无菌水,重复稀释 3 次,制得 1:1000 的提取液,用于 ELSIA 反应。将 BIOLOG ECO 平板预热到 25 °C,用移液器取 150 μL 提取液于各个孔中, 28 °C 恒温培养,在 0 d、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d 和 7 d 用 ELISA 反应平板读数器读取 590 nm 的吸光值^[25]。

1.6.2 T-RFLP 测定法

土样 DNA 提取: 取上述同一处理的土样提取土样 DNA, 提取方法参照 Bioflux 公司生产的土壤 DNA 试剂盒说明书步骤进行, 并保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

PCR 扩增: 引物序列为 27F-FAM (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3'), 其中 27F 的 5'端以荧光染料 FAM 标记。试验使用 PCR 扩增仪, 使用的反应体系为 50 μL 体系: 1.0 μL 1492R, 1.0 μL 27F, 1.0 μL 模板 DNA, 1.0 μL DMSO, 1.0 μL BSA, 25 μL 2 \times Taq Mix, 20 μL ddH₂O。扩增条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.6 min, 35 个循环; 第一步 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 最后一步结束于 72 $^{\circ}\text{C}$, 继保温 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。之后 PCR 产物进行切胶回收, 并采用 1.5% 的琼脂糖凝胶进行检测, 按照美国 Omega Bio-Tek 公司生产说明书的胶回收试剂盒的方法步骤进行回收。

PCR 产物酶切: 纯化回收的 16s rRNA 片段采用 4 种限制性内切酶 (Msp I、Hae III、Afa I、Alu I) [这 4 种酶购于宝生物工程(大连)公司] 进行 4 酶切, Msp I 或 Afa I 的酶切体系 (20 μL) 为: 10 μL 目的片段 (0.6~0.8 μg), 2 μL 10 \times T buffer, 2 μL 0.1% BSA (TAKARABIO, Otsu, Japan), 1 μL Msp I 或 Afa I (10U), 5 μL ddH₂O。Hae III 或 Alu I 的酶切体系 (20 μL) 为: 10 μL 目的片段 (0.6~0.8 μg), 2 μL 10 \times L buffer, 1 μL Msp I 或 Afa I (10 U), 7 μL ddH₂O。放于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中进行酶切 4~5 h, 同时在酶切过程中注意避光。由北京诺禾公司测序。

1.7 数据分析

土壤细菌群落 ELISA 反应采用 BIOLOG 平板每孔颜色平均变化率 (average well color development, AWCD) 表示, 并参照植物生态学方法^[26-28] 计算 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数, 以比较不同样品的土壤微生物群落结构相似性。数据

整理采用 Excel 2010, 采用 DPS 7.05 软件进行单因素方差分析, 多重比较用 LSD 法 ($P<0.05$), 主成分分析 (PCA) 采用 SPSS 19.0 软件进行。

T-RFLP 分析的原始数据采用 Gene Marker V1.2 软件 (Soft Genetics LLC, PA, USA) 进行图谱分析。每个 T-RF 的丰度百分比 (P_i) 按照以下公式计算:

$$P_i = n/N \times 100 \quad (2)$$

式中: n 表示每个可分辨的 T-RF 片段的峰面积, N 表示所有 T-RF 片段峰面积总和。Shannon-Wiener 指数 (H)、Simpson 指数 (J) 及 McIntosh 指数 (E) 采用 SPSS 20 软件进行计算, 计算公式如下:

$$H = \sum (P_i \times \log P_i) \quad (3)$$

$$J = 1 - \sum P_i^2 \quad (4)$$

$$E = H/\log S \quad (5)$$

式中: P_i 代表每个 T-RF 片段的相对丰度, S 代表可分辨的 T-RF 片段总数。分析采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。

数据库比对分析使用 T-RFLP Phylogenetic Assignment Tool (PAT) 进行细菌限制性片段 (T-RFs) 的比库分析。

2 结果与分析

2.1 玉米和大豆在不同种间根系互作下的产量表现

由表 1 可见, 全隔、网隔和无隔处理下玉米的籽粒产量随根间互作的增强而提高, 其中无隔处理比单作对照显著提高 61.02% ($P<0.05$)。玉米的百粒重与其籽粒产量表现一致, 各处理均高于单作, 无隔和网隔处理下百粒重比单作百粒重提高 21.88% 和 19.48% ($P<0.05$)。

就大豆产量而言, 较单作大豆, 无隔和网隔处理的大豆籽粒产量显著提高 39.15% 和 46.25% ($P<0.05$),

表 1 种间根系分隔处理对间作玉米和大豆籽粒产量、百粒重和土地当量比的影响

Table 1 Effects of partition patterns of interspecific roots on grain yield, hundred-grain weight and land equivalent ratio of intercropped soybean and maize

处理 Treatment	籽粒产量 Grain yield ($\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)		百粒重 Hundred-grain weight (g)		土地当量比 Land equivalent ratio (LER)
	玉米 Maize	大豆 Soybean	玉米 Maize	大豆 Soybean	
无隔 No barrier	3231.29 \pm 168.71a	887.62 \pm 60.97ab	32.98 \pm 1.32a	16.67 \pm 0.45ab	1.39 \pm 0.16a
网隔 Mesh barrier	2324.26 \pm 123.76ab	932.91 \pm 92.48a	32.33 \pm 1.88a	17.34 \pm 0.73a	1.13 \pm 0.11b
全隔 Polythene film barrier	2021.92 \pm 114.62b	717.04 \pm 81.27bc	28.73 \pm 1.34b	16.46 \pm 0.90b	0.98 \pm 0.03c
单作 Monoculture	2006.80 \pm 325.26b	637.88 \pm 22.90c	27.06 \pm 0.39b	15.79 \pm 0.69b	

同列不同字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著。The values within the same column followed by different letters are significantly different at $P<0.05$ level.

而全隔处理则差异不显著; 大豆百粒重的表现与籽粒产量趋势类似, 具体为: 网隔>无隔>全隔>单作, 其中网隔比单作显著增加 9.82% ($P<0.05$), 其他处理之间差异不显著。

就 LER 而言, 无隔处理的 LER 为 1.39, 显著高于其他两个处理 ($P<0.05$), 说明无隔处理与其他处理相比, 土地资源利用效率最高, 因而产量表现也最高。网隔处理的资源利用效率次之, 其 LER 为 1.13。全隔处理最小, 为 0.98, 说明其资源利用效率不及单作处理。可见, 不同根系互作处理对复合群体地上部产量有明显影响, 表现在无隔处理的土地当量比最高, 因而其复合群体产量也最高, 网隔处理 (即不完全隔离处理) 产量居中, 而全隔处理 (即全隔) 的最低, 说明种间根系互作强度增强对作物间作产量具有明

显促进作用, 这可能与根系互作强度不同导致根系微生物组成差异有关。

2.2 不同种间根系互作下玉米和大豆的根际土壤细菌群落变化

在玉米与大豆间作体系中, 每隔 24 h 测定 1 次 AWCD 值, 得到其随时间变化的动态图 (图 2), 随着培养时间的延长, 微生物对碳源的利用量增加, 24~120 h 不同碳源被利用的变化方式明显不同。图 2 显示, 玉米和大豆的根际微生物群落均为无隔处理对底物碳源的利用能力高于其他处理, 网隔次之, 全隔和单作较为接近。可见, 无隔和网隔处理下, 根际土壤微生物群落对碳源底物利用总能力最强, 全隔和单作处理最弱。这说明越强的种间根系互作, 微生物群落结构组成也越复杂, 其代谢能力也越强。

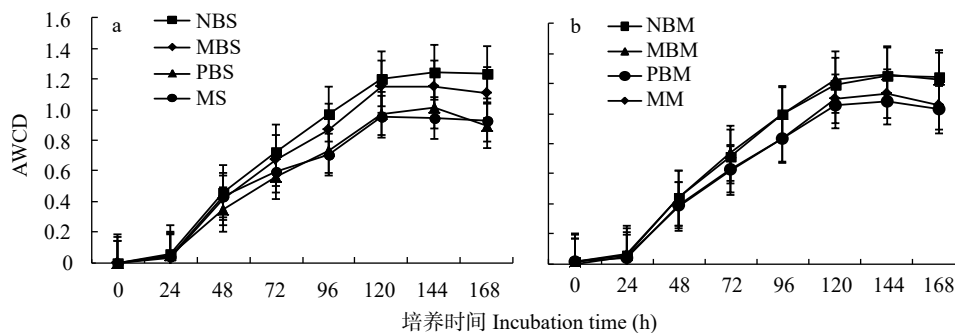


图 2 不同种间根系分隔处理下间作大豆 (a) 和玉米 (b) 根际土壤微生物平均颜色变化率 (AWCD) 随培养时间的变化
Fig. 2 Changes of average well color development (AWCD) of microorganisms in rhizosphere soil of soybean (a) and maize (b) with incubation time under different partition patterns of interspecific roots of intercropped maize and soybean

NBS: 无隔大豆; MBS: 网隔大豆; PBS: 全隔大豆; MS: 单作大豆; NBM: 无隔玉米; MBM: 网隔玉米; PBM: 全隔玉米; MM: 单作玉米。NBS: no barrier for intercropped soybean; MBS: mesh barrier for intercropped soybean; PBS: polythene film barrier for intercropped soybean; MS: monoculture soybean; NBM: no barrier for intercropped maize; MBM: mesh barrier for intercropped maize; PBM: polythene film for intercropped maize; MM: monoculture maize

2.3 不同种间根系互作下间作玉米、大豆的根际土壤微生物对碳源底物的利用强度

表 2 显示, 大豆根际土壤微生物对 6 大类碳源底物利用能力最强的为酚类和羧酸类, 对碳水化合物类利用能力最弱; 而玉米根际微生物对酚类和羧酸类 (无隔和网隔) 或酚类和聚合物类 (全隔和单作) 利用能力最强, 对碳水化合物类利用最弱。对酚类利用能力最强、对碳水化合物类利用能力最弱是两种作物的共同特点。同时, 随着种间根系互作的增强, 大豆根际土壤微生物对上述 6 大类碳源利用能力除了酚类和羧酸类有所下降或下降不明显外, 对胺类、聚合物类、氨基酸类和碳水化合物类等 4 大类碳源底物利用分别平均提高 181.01%、32.6%、37.84% 和 78.28%。而玉米根际微生物, 除了对酚类、聚合物类和氨基酸类利用水平有所下降外, 对羧酸类、碳水化合物类和胺类的碳源底物利用分别平均增加

46.26%、6.54% 和 15.84%。这一结果再次说明大豆和玉米种间根系相互增强对其根际土壤微生物利用碳源效果明显不同。

2.4 不同种间根系互作下间作玉米、大豆的根际土壤微生物群落主成分分析

分析结果如图 3 所示, 与土壤微生物碳源利用功能多样性相关的有主成分 1 (PC1)、主成分 2 (PC2), 两者分别解释了方差变量的 27.88% 和 26.06%。进一步分析结果显示, 5 种根系互作处理的根际土壤微生物菌群组成得到很好的分离。在 PC1 上无隔、网隔和全隔处理的间作大豆和单作大豆之间的根际微生物菌群组成有明显差异, 分别位于不同的区间 (象限), 其中无隔和网隔处理的大豆根际微生物聚虽然分布在不同的区间内, 但相对距离较近; 而全隔和单作处理的大豆根际微生物组成相近, 聚集距离最短; 可见, 网隔和无隔处理的大豆根际微生物差异相对

表 2 不同种间根系分隔处理下间作玉米与大豆的根际微生物对碳源底物的利用能力

Table 2 Utilization ability to carbon substrates of rhizosphere microbes under different partition patterns of interspecific roots of intercropped maize and soybean

作物 Crop	处理 Treatment	羧酸类 Carboxylic acids	多聚物类 Polymers	糖类 Carbohydrates	酚酸类 Phenolics	氨基酸类 Amino acids	胺类 Amines
大豆 Soybean	无隔 No barrier	0.957±0.017a	0.675±0.018b	0.517±0.011a	1.027±0.017a	0.652±0.021a	0.933±0.006a
	网隔 Mesh barrier	0.825±0.007b	0.745±0.016a	0.514±0.015a	0.784±0.003b	0.687±0.003a	0.558±0.008b
	全隔 Polythene film barrier	0.969±0.017a	0.509±0.013c	0.290±0.009b	1.074±0.003a	0.473±0.026b	0.332±0.010c
	单作 Monoculture	0.915±0.027a	0.489±0.010c	0.234±0.012c	1.037±0.025ab	0.512±0.000b	0.346±0.008c
玉米 Maize	无隔 No barrier	0.939±0.006a	0.741±0.002c	0.505±0.002a	0.994±0.005b	0.650±0.011a	0.563±0.006b
	网隔 Mesh barrier	0.841±0.001b	0.773±0.006a	0.469±0.004b	0.829±0.013c	0.472±0.006b	0.820±0.005a
	全隔 Polythene film barrier	0.642±0.006c	0.752±0.001bc	0.474±0.004b	1.091±0.052ab	0.649±0.018a	0.486±0.021c
	单作 Monoculture	0.658±0.006c	0.764±0.006ab	0.431±0.002c	1.126±0.059a	0.497±0.011b	0.511±0.006c

同列同一作物不同字母表示不同处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著。The values with the same column of the same crop followed by different letters are significantly different at $P<0.05$ level.

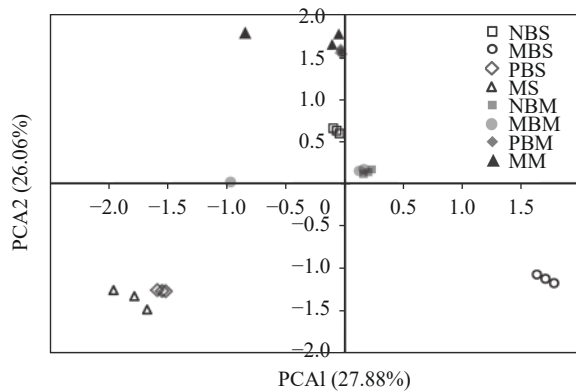


图 3 不同种间根系分隔处理下间作大豆和玉米根际微生物碳源利用特征的主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis of carbon utilization profiles of microbes in rhizosphere soil under different partition patterns of interspecific roots of intercropped maize and soybean

NBS: 无隔大豆; MBS: 网隔大豆; PBS: 全隔大豆; MS: 单作大豆; NBM: 无隔玉米; MBM: 网隔玉米; PBM: 全隔玉米; MM: 单作玉米。NBS: no barrier for intercropped soybean; MBS: mesh barrier for intercropped soybean; PBS: polythene film barrier for intercropped soybean; MS: monoculture soybean; NBM: no barrier for intercropped maize; MBM: mesh barrier for intercropped maize; PBM: polythene film barrier for intercropped maize; MM: monoculture maize.

较小, 聚在相近区域, 可归为一类; 而全隔与单作处理的大豆根际微生物组成较近, 分布距离相近, 归为另一类。进一步从玉米根际微生物组成看, 无隔、网隔、全隔和单作玉米根际微生物组成分离程度及其表现趋势与大豆相似。其中无隔与网隔处理根际微生物组成多数相叠近, 归成一类, 而全隔与单作玉米根际微生物组成也相近, 可归为另一类。网隔与全隔根际微生物组成存在一个逐渐差异的过渡类型。

网隔对无隔处理来说, 其根际微生物组成是个渐进变化的过程, 并向无隔处理贴近的过渡; 后者(全隔处理)则向单作处理贴近。可见, 随着根系互作强度增强对根际微生物的组成与功能的影响变得更加明显。

2.5 不同种间根系互作下间作玉米、大豆的根际土壤微生物多样性

表 3 结果显示, 间作大豆根际微生物的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均表现出无隔最高, 网隔次之, 全隔和单作最低的趋势, 且全隔与单作之间无显著差异; 而 McIntosh 指数无隔与网隔间差异显著 ($P<0.05$)。间作玉米根际微生物的 Shannon-Wiener 指数和 Simpson 指数也表现出与大豆处理下相同的趋势; McIntosh 指数多数情况下, 无隔处理最优, 网隔处理次之, 全隔和单作最低。可见, 种间根系互作增强其根际土壤微生物种类多样性和丰富度。

2.6 不同种间根系互作对间作玉米、大豆根际土壤细菌群落结构的影响

应用 T-RFLP 分析结果如表 4 可知, 大豆与玉米根际细菌群落 Shannon-Wiener 指数和 McIntosh 指数在无隔处理下均显著高于全隔处理 ($P<0.05$), 且与网隔处理间无显著差异; Simpson 指数在这 3 种处理间差异不显著。该结果与上述 AWCD 分析结果相一致。

进一步运用 Phylogenetic Assignment Tool (PAT) 对细菌类群进行比库分析, 结果显示: 除了未分类细菌外, 变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的细菌种类在 6 种根际土壤中都是最丰富

表 3 不同种间根系互作对间作作物根际土壤微生物多样性指数的影响

Table 3 Effects of different partition patterns of interspecific roots on soil microbial diversity indexes of intercropped maize and soybean

作物 Crop	处理 Treatment	Shannon-Wiener指数 Shannon-Wiener index	Simpson指数 Simpson index	McIntosh指数 McIntosh index
大豆 Soybean	无隔 No barrier	3.09±0.01a	0.95±0.01a	5.12±0.02a
	网隔 Mesh barrier	3.07±0.01a	0.95±0.00a	4.83±0.03b
	全隔 Polythene film barrier	3.02±0.01b	0.94±0.00b	4.26±0.05c
	单作 Monoculture	3.02±0.01b	0.94±0.00b	4.35±0.00c
玉米 Maize	无隔 No barrier	3.12±0.01a	0.95±0.00a	4.89±0.01a
	网隔 Mesh barrier	3.10±0.04a	0.95±0.01a	4.63±0.00c
	全隔 Polythene film barrier	3.00±0.06b	0.94±0.00b	4.67±0.00b
	单作 Monoculture	2.99±0.01b	0.94±0.00b	4.61±0.02c

同列同一作物不同字母表示不同处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
The values within the same column of the same crop followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$ level.

表 4 不同种间根系互作对间作玉米与大豆根际土壤细菌微生物多样性和均匀度指数的影响

Table 4 Effect of different partition patterns of interspecific roots on diversity indexes of soil bacteria community of intercropped system of maize and soybean

作物 Crop	处理 Treatment	Shannon-Wiener指数 Shannon-Wiener index	Simpson指数 Simpson index	McIntosh指数 McIntosh index
大豆 Soybean	无隔 No barrier	2.24±0.075a	0.99±0.01a	0.65±0.01a
	网隔 Mesh barrier	2.22±0.041a	0.98±0.05a	0.62±0.01a
	全隔 Polythene film barrier	1.78±0.14b	0.98±0.01a	0.61±0.01b
玉米 Maize	无隔 No barrier	1.96±0.02a	0.98±0.07a	0.60±0.01a
	网隔 Mesh barrier	1.86±0.06ab	0.98±0.01a	0.58±0.01ab
	全隔 Polythene film barrier	1.76±0.02b	0.97±0.02a	0.54±0.01b

同列同一作物不同字母表示不同处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。
The values within the same column of the same crop followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$ level.

的。但是, 在不同土壤样品中每个微生物类群的种类百分比存在明显差异。

图 4 的结果所示, 在大豆根际土壤中变形菌门在全隔、网隔和无隔处理中所占比例依次降低, 分别为 41.18%、32.76% 和 31.34%; 放线菌门在无隔、网隔和全隔处理中所占比例依次减少, 分别为 27.40%、

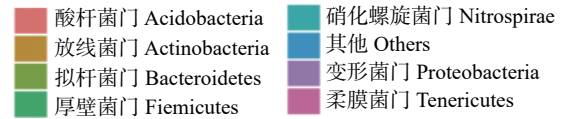


图 4 种间相互作用对间作大豆与玉米根际土壤微生物群落结构的影响

Fig. 4 Effect of interspecific interaction on microbial community structure in of rhizosphere soil of intercropped soybean and maize

NBS: 无隔大豆; MBS: 网隔大豆; PBS: 全隔大豆; NBM: 无隔玉米; MBM: 网隔玉米; PBM: 全隔玉米。NBS: no barrier for intercropped soybean; MBS: mesh barrier for intercropped soybean; PBS: polythene film barrier for intercropped soybean; NBM: no barrier for intercropped maize; MBM: mesh barrier for intercropped maize; PBM: polythene film barrier for intercropped maize.

21.49% 和 13.24%; 厚壁菌门在 3 种处理中的变化趋势与放线菌门表现相似, 比例依次降低, 分别为 18.43%、17.29% 和 15.69%; 拟杆菌门则全隔处理所占比例最高, 为 10.62%, 无隔和网隔处理所占比例依次减少, 但两者差异不大 (5.82% 和 5.04%)。在玉米根际土壤中变形菌门表现为全隔、网隔和无隔处理所占比例依次降低, 分别为 47.61%、38.70% 和 37.26%; 放线菌门则在无隔、全隔和网隔处理中所占比例依次减少, 三者分别为 18.34%、17.54% 和 12.07%; 厚壁菌门也在无隔和网隔处理中所占比例均大于全隔处理 (三者所占比例分别为 19.92%、19.65% 和 11.62%); 拟杆菌门则在无隔、网隔和全隔处理所占比例无明显差异, 三者所占比例分别为 7.28%、7.28% 和 7.29%。由此可见, 随着间作作物根系互作强度的减弱 (即从无隔处理向全隔处理变化), 大豆根际土壤微生物中的放线菌门和厚壁菌门所占比例均明显减少, 而变形菌门所占比例明显增加。但玉米根际土壤微生物在无隔、网隔和全隔处理中除了拟杆菌门无显著差异外, 其他变化趋势与大豆表现趋势一致。

2.7 不同种间根系互作下间作玉米、大豆根际优势细菌菌群分析

不同处理中最丰富的是变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门细菌(图 4)。进一步分析其群落优势种菌群变化, 结果发现(表 5), 大豆根际细菌群落中变形菌门的伯克氏菌属(*Burkholderia*)、脱硫杆菌属(*Desulfobacter*)和奈瑟菌属(*Neisseria*)是优势菌群, 后两个属全隔处理均显著高于无隔处理($P<0.05$), 且网隔处理显著大于无隔处理($P<0.05$)。放线菌门的优势种群为棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、红球菌属(*Rhodococcus*)和动孢囊菌属(*Kineosporia*), 这 3 种优势菌群在不同处理中均为无隔处理>网隔处理>全隔处理, 其中无隔处理与全隔处理差异达显著水平($P<0.05$), 红球菌属和动孢囊菌属在无隔和网隔处理之间具有显著差异($P<0.05$)。厚壁菌门的喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)在无隔、网隔和全隔 3 种处理的变化中呈现依次减少的趋势, 其中无隔处理与网隔处理之间无显著差异, 但二者与全隔处理之间差异显著。拟杆菌门中噬胞菌属(*Cytophaga*)的变化趋势与喜盐芽孢杆菌属的依次减少变化趋势相同。可见, 随着种间根系互作的加强, 大豆根际土壤中厚壁菌门的喜盐芽孢杆菌属, 放线菌门的棒状杆菌属、红球菌属和动孢囊菌属和拟杆菌门

的噬胞菌属优势菌群丰度明显增多, 除伯克氏菌属外, 其他菌群反之(表 5)。

玉米根际土壤细菌群落中, 变形菌门的优势种群为无色菌属(*Achromobacter*)、伯克氏菌、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、艾肯氏菌属(*Eikenella*)和脱硫杆菌属(表 5), 其中除脱硫杆菌属外, 全隔处理均显著高于无隔处理($P<0.05$), 伯克氏菌属和假单胞菌属全隔处理显著高于无隔、网隔处理($P<0.05$); 脱硫杆菌属表现为无隔和网隔处理均显著高于全隔处理($P<0.05$)。放线菌门的优势种群为红球菌属和动孢囊菌属, 均表现为无隔处理>网隔处理>全隔处理, 其中无隔和网隔处理之间无显著差异, 无隔处理显著高于全隔处理($P<0.05$)。厚壁菌门的杆菌属(*Bacilli*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)均呈现无隔、网隔均大于全隔处理, 其中杆菌属在无隔与网隔处理之间差异达显著水平($P<0.05$), 芽孢杆菌属在无隔与网隔处理之间无显著性差异, 而网隔与全隔之间的差异显著($P<0.05$)。螺旋体门(Spirochaetes)中螺旋体属(*Spirnhaetales*)和拟杆菌门中噬胞菌属(*Cytophagaceae*)的变化趋势分别与杆菌属、芽孢杆菌属在无隔、网隔和全隔处理之间的变化趋势相同。由此可见, 与全隔处理相比, 无隔和网隔处理下玉米根际土壤微生物中变形菌门的脱硫杆菌属、放线菌门的动孢囊

表 5 不同种间根系互作对间作大豆和玉米根际土壤细菌群落的影响
Table 5 Effect of interspecific interaction on bacterial community in rhizosphere soil of soybean and maize

作物 Crop	相对丰度 Relative abundance (%)			片段大小 Fragment size (bp)				门 Phylum	属 Genus
	NB	MB	PB	Msp I	Hae III	Afa I	Alu I		
大豆 Soybean	0.92a	0.77b	1.01a	489	199	119	225	变形菌门 Proteobacteria	伯克氏菌属 <i>Burkholderia</i>
	1.12c	1.40b	1.63a	164	205	243	218	变形菌门 Proteobacteria	脱硫杆菌属 <i>Desulfobacter</i>
	3.19b	4.40a	4.48a	88	206	126	240	变形菌门 Proteobacteria	奈瑟菌属 <i>Neisseria</i>
	2.67a	2.35a	1.73b	163	67	80	223	放线菌门 Actinobacteria	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>
	5.48a	4.84b	3.87c	139	67	78	232	放线菌门 Actinobacteria	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>
	5.61a	4.84b	4.82b	141	208	453	234	放线菌门 Actinobacteria	动孢囊菌属 <i>Kineosporia</i>
	2.46a	2.37a	2.01b	148	246	471	92	厚壁菌门 Firmicutes	喜盐芽孢杆菌属 <i>Halobacillus</i>
	1.96a	1.83a	0.91b	91	284	140	239	拟杆菌门 Bacteroidetes	噬胞菌属 <i>Cytophaga</i>
	0.55b	0.65ab	0.68a	487	197	562	152	变形菌门 Proteobacteria	无色菌属 <i>Achromobacter</i>
玉米 Maize	2.46b	2.46b	3.26a	488	198	427	153	变形菌门 Proteobacteria	伯克氏菌 <i>Burkholderia</i>
	3.42b	3.22b	7.96a	492	39	72	236	变形菌门 Proteobacteria	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>
	2.37b	2.92ab	3.40a	89	207	127	241	变形菌门 Proteobacteria	艾肯氏菌属 <i>Eikenella</i>
	6.56a	7.56a	4.58b	164	207	246	221	变形菌门 Proteobacteria	脱硫杆菌属 <i>Desulfobacter</i>
	0.71a	0.59ab	0.46b	162	228	455	71	放线菌门 Actinobacteria	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>
	1.78a	1.48ab	1.24b	159	224	449	217	放线菌门 Actinobacteria	动孢囊菌属 <i>Kineosporia</i>
	2.48a	1.45b	1.11b	122	152	467	229	厚壁菌门 Firmicutes	杆菌属 <i>Bacilli</i>
	1.37a	1.42a	0.85b	161	248	503	230	厚壁菌门 Firmicutes	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>
	2.11a	1.70ab	1.53b	87	207	177	169	螺旋体门 Spirochaetes	螺旋体属 <i>Spirnhaetales</i>
	1.82a	2.00a	0.91b	91	284	140	239	拟杆菌门 Bacteroidetes	噬胞菌属 <i>Cytophagaceae</i>

NB: 无隔; MB: 网隔; PB: 全隔。同行不同字母表示 $P<0.05$ 水平差异显著。NB: no barrier; MB: mesh barrier; PB: polythene film barrier. The values in the same row followed by different letters are significantly different at $P<0.05$ level.

菌属和红球菌属、厚壁菌门的芽孢杆菌属和杆菌属、螺旋体门的螺旋体属和拟杆菌门的噬细胞菌属优势菌群丰度明显增多, 其他相应减少。

3 讨论和结论

本研究结果表明, 玉米与大豆以 2:3 行比间作时, 以无隔处理的土地当量比最大, 网隔处理其次, 全隔处理最小, 说明种间根系互作增加对复合作物群体产量有明显的正效应, 这与种间根系互作影响根际微生物组成有关。运用 BIOLOG 和 T-RFLP 技术分析结果表明, 随着玉米与大豆种间根系从完全隔离向网隔和无隔处理变化, 即种间根系互作增强, 其根际微生物多样性和均匀度指数均显著提高。AWCD 分析结果发现, 根际土壤细菌微生物利用 6 大类碳源底物的共同特点是, 对酚类碳源和羧酸类碳源利用能力最强。同时, 随着种间根系互作的增强, 大豆根际土壤细菌微生物对酚类碳源和羧酸类碳源利用能力有所下降或下降不明显, 而对胺类、聚合物类、氨基酸类和碳水化合物类等 4 大类碳源底物利用能力均明显提高。玉米根际细菌群落, 除了对酚类碳源、聚合物类碳源和氨基酸类碳源利用能力有所下降外, 对羧酸类、碳水化合物类和胺类的碳源底物利用能力明显增加。究其原因可能是由于种间根系互作导致释放的根系分泌物组成浓度不同, 并由此引发根际微生物功能类群变异所致^[29,13]。

前人研究发现, 玉米根系释放出比大豆根系更多的酚酸类化感物质, 在单作玉米和间作玉米的根分泌物中均能检测到 5 种酚酸, 分别是阿魏酸、对香豆酸、肉桂酸、水杨酸和没食子酸, 而在单作大豆根系分泌物中只检测到没食子酸, 同时发现玉米||大豆间作能显著提高上述 5 种酚酸, 特别是肉桂酸化感物质的含量^[30-31]。前人研究证明间作玉米可促进大豆对红冠腐病的抗病性。同时发现大豆与玉米的根系互作, 可抑制病原菌的生长繁殖, 并能有效提高寄主植物 *PR* 基因的表达和相应酶的活性。已有试验证明肉桂酸是抑制该间作物黑腐病菌的主要化感物质, 因而认为大豆与玉米间作是一种可持续防治土传病害的有效手段, 应在农业管理实践中加以推广应用^[32]。

本研究还发现在玉米和大豆根系互作体系中, 变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门都是最丰富的优势菌群。随着种间根系互作的增强, 大豆根际中棒状杆菌属、红球菌属、动孢囊菌属、喜盐芽孢杆菌属和噬细胞菌属等优势菌群丰度明显增多,

除伯克氏菌属外, 其他菌群反之。与全隔处理相比, 无隔和网隔处理下玉米根际土壤微生物中变形菌门的脱硫杆菌属、放线菌门的动孢囊菌属和红球菌属、厚壁菌门的芽孢杆菌属和杆菌属、螺旋体门的螺旋体属和拟杆菌门的噬细胞菌属优势菌群丰度明显增多, 其他相应减少。从植物营养生理角度, 间作系统中玉米和豆科植物分泌的有机酸和黄酮类物质有助于对土壤磷的活化和作物固氮, 并提高氮营养供给的营养互补效果^[3-4]。我们以往研究表明作物根系分泌物对根际土壤有差异促抑作用, 进而塑造出与之相适应的根际特异细菌生理功能类群^[18-19,33]。上述这些根际差异细菌微生物, 如芽孢杆菌属和红球菌属等是一类很重要的根际促生菌, 在土壤养分循环和病菌拮抗中起到重要的调控作用^[19,34]。马瑞霞等^[35]和 Li 等^[36]也研究报道了芽孢杆菌等特异根际微生物的酶促活性与互作植物根系分泌的化感物质及其浓度有关, 进而影响作物的产量与质量。

总之, 本研究认为, 玉米与大豆种间根系互作能显著影响根际土壤细菌群落结构与功能。随着种间根系互作强度的增强, 即种间根系从完全隔离(全隔处理)到不完全隔离(网隔处理)再到自由开放(无隔处理)变化, 根际微生物多样性和均匀度依次提高, 其生理功能类型也存在明显差异, 对碳源利用总能力不断增强, 共同特点是对酚类碳源利用能力均排名第一。同时, 随着种间根系互作的增强, 其中大豆根际土壤微生物对酚类碳源和羧酸类碳源的利用能力有所下降或下降不明显, 对其余 4 大类碳源利用能力均提高。而玉米根际土壤微生物则表现为, 除了对酚类碳源、聚合物类碳源和氨基酸类碳源底物利用能力有所下降外, 对其余 3 大类碳源利用能力显著增强。进一步分析发现, 随着种间根系互作增强, 大豆根际土壤中棒状杆菌属、红球菌属、动孢囊菌属、喜盐芽孢杆菌属和噬细胞菌属等优势菌群丰度明显增多, 除伯克氏菌属外, 其他菌群反之。与全隔处理相比, 无隔和网隔处理下玉米根际土壤微生物中变形菌门的脱硫杆菌属、放线菌门的动孢囊菌属和红球菌属、厚壁菌门的芽孢杆菌属和杆菌属、螺旋体门的螺旋体属和拟杆菌门的噬细胞菌属优势菌群丰度明显增多, 其他相应减少。可见在作物间套作体系中, 种间根系及其与微生物存在明显的互作效应, 并影响根际的微生物生理类群结构与功能, 最终影响作物的籽粒产量, 导致土地当量比的差异, 这是复合作物群体产生不同产量效应的重要根际微生物生态学基础。

参考文献 References

- [1] 林文雄, 陈婷. 中国农业的生态化转型与发展生态农业新视野[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(2): 169–176
LIN W X, CHEN T. Transition of agricultural systems to ecologicalization and new vision of modern eco-agriculture development in China[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2019, 27(2): 169–176
- [2] LI C J, HOFFLAND E, KUYPER T W, et al. Syndromes of production in intercropping impact yield gains[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(6): 653–660
- [3] 姜圆圆, 郑毅, 汤利, 等. 豆科禾本科作物间作的根际生物过程研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2016, 33(5): 407–415
JIANG Y Y, ZHENG Y, TANG L, et al. Rhizosphere biological processes of legume/cereal intercropping systems: a review[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2016, 33(5): 407–415
- [4] ZHANG F S, LI L. Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency[J]. *Plant & Soil*, 2003, 248(1/2): 305–312
- [5] PARK S E, BENJAMIN L R, WATKINSON A R. Comparing biological productivity in cropping systems: a competition approach[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2002, 39(3): 416–426
- [6] HAUGGAARD-NIELSEN H, GOODING M, AMBUS P, et al. Pea-barley intercropping for efficient symbiotic N₂-fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems[J]. *Field Crops Research*, 2009, 113(1): 64–71
- [7] LI C J, LI Y Y, YU C B, et al. Crop nitrogen use and soil mineral nitrogen accumulation under different crop combinations and patterns of strip intercropping in northwest China[J]. *Plant and Soil*, 2011, 342(1/2): 221–231
- [8] 肖靖秀, 汤利, 郑毅, 等. 大麦/蚕豆间作条件下供氮水平对作物产量和大麦氮吸收累积的影响[J]. *麦类作物学报*, 2011, 31(3): 499–503
XIAO J X, TANG L, ZHENG Y, et al. Effects of N level on yield of crops, N absorption and accumulation of barley in barley and *Faba bean* intercropping system[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2011, 31(3): 499–503
- [9] 王恭祎, 段碧华, 石书兵. 作物间作[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2013
WANG G Y, DUAN B H, SHI S B. *Crops Intercropping*[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2013
- [10] 李玉英, 胡汉升, 程序, 等. 种间互作和施氮对蚕豆/玉米间作生态系统地上部和地下部生长的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(6): 1617–1630
LI Y Y, HU H S, CHENG X, et al. Effects of interspecific interactions and nitrogen fertilization rates on above- and below-ground in *Faba bean*/maize intercropping system[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(6): 1617–1630
- [11] LI L, LI S M, SUN J H, et al. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils[J]. *PNAS*, 2007, 104(27): 11192–11196
- [12] LI L, SUN J H, ZHANG F S, et al. Root distribution and interactions between intercropped species[J]. *Oecologia*, 2006, 147(2): 280–290
- [13] LI X F, WANG C B, ZHANG W P, et al. The role of complementarity and selection effects in P acquisition of intercropping systems[J]. *Plant and Soil*, 2018, 422(1/2): 479–493
- [14] 沈雪峰, 方越, 董朝霞, 等. 甘蔗/花生间作对土壤微生物和土壤酶活性的影响[J]. *作物杂志*, 2014(5): 55–58
SHEN X F, FANG Y, DONG Z X, et al. Effects of sugarcane / peanut intercropping on soil microbes and soil enzyme activities[J]. *Crops*, 2014(5): 55–58
- [15] 章家恩, 高爱霞, 徐华勤, 等. 玉米/花生间作对土壤微生物和土壤养分状况的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(7): 1597–1602
ZHANG J E, GAO A X, XU H Q, et al. Effects of maize/peanut intercropping on rhizosphere soil microbes and nutrient contents[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(7): 1597–1602
- [16] 宋亚娜, MARSCHNER Petra, 张福锁, 等. 小麦/蚕豆, 玉米/蚕豆和小麦/玉米间作对根际细菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2006, 26(7): 2268–2274
SONG Y N, MARSCHNER P, ZHANG F S, et al. Effect of intercropping on bacterial community composition in rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(7): 2268–2274
- [17] 陈平, 杜青, 庞婷, 等. 根系互作强度对玉米/大豆套作系统下作物根系分布及地上部生长的影响[J]. *四川农业大学学报*, 2018, 36(1): 28–37
CHEN P, DU Q, PANG T, et al. Effects of root interaction intensity on crop roots distribution above-ground growth in a maize/soybean relay intercropping system[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2018, 36(1): 28–37
- [18] WANG J Y, WU L K, TANTAI H P, et al. Properties of bacterial community in the rhizosphere soils of *Achyranthes bidentata* tolerant to consecutive monoculture[J]. *Plant Growth Regulation*, 2019, 89(2): 167–178
- [19] WU L K, YANG B, LI M L, et al. Modification of rhizosphere bacterial community structure and functional potentials to control *Pseudostellaria heterophylla* replant disease[J]. *Plant Disease*, 2020, 104(1): 25–34
- [20] 吴林坤, 陈军, 杨波, 等. 地黄连作对叶际细菌群落结构及多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(10): 3509–3517
WU L K, CHEN J, YANG B, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* consecutive monoculture on the community structure and diversity of phyllosphere bacteria[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(10): 3509–3517
- [21] LI Q S, WU L K, CHEN J, et al. Biochemical and microbial properties of rhizospheres under maize/peanut intercropping[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(1): 101–110
- [22] 刘朝茂, 李成云. 玉米与大豆、马铃薯间作对玉米叶片衰老、产量及病害控制的影响[J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(6): 75–78

- LIU C M, LI C Y. Effects of maize intercropping with soybean or potato on leaf senescence, yield and disease control[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(6): 75-78
- [23] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1989
- GUAN S Y. Soil Enzyme and its Research Method[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989
- [24] 刘广才, 李隆, 黄高宝, 等. 大麦/玉米间作优势及地上部和地下部因素的相对贡献研究[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(9): 1787-1795
- LIU G C, LI L, HUANG G B, et al. Intercropping advantage and contribution of above-ground and below-ground interactions in the barley-maize intercropping[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(9): 1787-1795
- [25] 陈胜男, 谷洁, 付青霞, 等. 接种自生固氮菌对玉米根际土壤酶活性和细菌群落功能多样性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(2): 444-450
- CHEN S N, GU J, FU Q X, et al. Effects of inoculating *Azotobacter* on soil enzyme activities and bacterial community functional diversity in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.)[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, 18(2): 444-450
- [26] 高阳, 段爱旺, 刘祖贵, 等. 玉米和大豆条带间作模式下的光环境特性[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(6): 1248-1254
- GAO Y, DUAN A W, LIU Z G, et al. Light environment characteristics in maize-soybean strip intercropping system[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(6): 1248-1254
- [27] 冷志杰, 贝丽霞, 徐中儒, 等. 不同熟期大豆、玉米间作的产量产值数学模型的建立[J]. *吉林农业大学学报*, 1998, 20(1): 16-19
- LENG Z J, BEI L X, XU Z R, et al. The mathematical models of yield and output value of intercrop corn and soybean[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 1998, 20(1): 16-19
- [28] 宋日, 牟瑛, 王玉兰, 等. 玉米、大豆间作对两种作物根系形态特征的影响[J]. *东北师大学报: 自然科学版*, 2002, 34(3): 83-86
- SONG R, MU Y, WANG Y L, et al. Effects of intercropping of maize and soybean on the morphological character of roots[J]. *Journal of Northeast Normal University: Natural Science Edition*, 2002, 34(3): 83-86
- [29] 李鑫, 张会慧, 岳冰冰, 等. 桑树-大豆间作对盐碱土碳代谢微生物多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(7): 1825-1831
- LI X, ZHANG H H, YUE B B, et al. Effects of mulberry-soybean intercropping on carbon-metabolic microbial diversity in saline-alkaline soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(7): 1825-1831
- [30] GAO X, WU M, XU R N, et al. Root interactions in a maize/soybean intercropping system control soybean soil-borne disease, red crown rot[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e95031
- [31] LI L, TANG C X, RENGEL Z, et al. Chickpea facilitates phosphorus uptake by intercropped wheat from an organic phosphorus source[J]. *Plant and Soil*, 2003, 248(1/2): 297-303
- [32] EL DESSOUGI H, ZU DREELE A, CLAASSEN N. Growth and phosphorus uptake of maize cultivated alone, in mixed culture with other crops or after incorporation of their residues[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2003, 166(2): 254-261
- [33] 王建花, 陈婷, 林文雄. 植物化感作用类型及其在农业中的应用[J]. *中国生态农业学报*, 2013, 21(10): 1173-1183
- WANG J H, CHEN T, LIN W X. Plant allelopathy types and their application in agriculture[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(10): 1173-1183
- [34] CHEN J, WU L K, XIAO Z G, et al. Assessment of the diversity of *Pseudomonas* spp. and *Fusarium* spp. in *Radix pseudostellariae* rhizosphere under monoculture by combining DGGE and quantitative PCR[J]. *Front in Microbiol*, 2017, 8: 1748
- [35] 马瑞霞, 冯怡, 李莹. 化感物质对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)在厌氧条件下的生长及反硝化作用的影响[J]. *生态学报*, 2000, 20(3): 452-457
- MA R X, FENG Y, LI X. Effects of allelochemicals on growth of *Bacillus subtilis* and its denitrification under anaerobic condition[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(3): 452-457
- [36] LI Y Z, XU L N, LETUMA P, et al. Metabolite profiling of rhizosphere soil of different allelopathic potential rice accessions[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 265