

## 间作对分蘖洋葱与番茄根际土壤磷转化强度 及磷细菌群落结构的影响

吴瑕<sup>1,2</sup>, 杨凤军<sup>1</sup>, 张文慧<sup>1</sup>, 靳亚忠<sup>1</sup>, 高凤<sup>1</sup>, 吴凤芝<sup>2\*</sup>

(1 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆 163319; 2 东北农业大学园艺学院, 黑龙江哈尔滨 151103)

**摘要:**【目的】间作分蘖洋葱能缓解番茄连作障碍, 提高番茄养分吸收。本试验主要研究间作后分蘖洋葱和番茄根际土壤中磷细菌群落结构及活性的变化, 以揭示该间作体系磷细菌改善作物磷营养的生物学机制。【方法】盆栽试验选用茄科连作 8 年的设施土壤, 番茄品种为‘东农 708’, 分蘖洋葱品种为‘五常红旗社’。设番茄单作、分蘖洋葱单作、分蘖洋葱与番茄间作及无苗对照等 4 个处理。在定植 23 d、30 d 和 37 d 取样, 测定植株干重及磷浓度。同时用抖根法取番茄和分蘖洋葱根际土, 测定土壤中磷细菌数量及磷细菌的转化强度。采用 PCR-DGGE 方法测定磷细菌的群落结构。【结果】1) 间作后, 番茄地上和地下干重增加, 分蘖洋葱地上和地下干重减少, 在 37 d 差异达到显著水平。2) 间作后, 番茄根际土壤中无机磷和有机磷细菌的数量增加, 在 23 d 和 37 d 差异达到显著水平; 分蘖洋葱根际土壤中无机磷细菌数量在 23 d 时显著降低, 有机磷细菌数量在间作 37 d 时显著升高。间作期间分蘖洋葱和番茄根际土壤中无机磷和有机磷细菌的数量均显著高于无苗对照。间作 23 d 时, 番茄根际土壤中无机磷和有机磷细菌的转化强度均显著升高, 分蘖洋葱根际土壤中无机磷和有机磷细菌的转化强度均显著降低; 而间作 37 d 时, 分蘖洋葱根际土壤中无机磷和有机磷细菌的转化强度均显著升高, 且间作期间番茄和分蘖洋葱根际土壤中无机磷和有机磷细菌的转化强度均显著高于无苗对照。3) 间作 37 d 番茄和分蘖洋葱根际土壤 pH 显著升高, EC 值显著降低, 且各处理土壤 pH 均高于无苗对照, 土壤 EC 值均低于无苗对照。间作 30 d 时番茄根际土壤中速效磷含量显著升高, 间作 37 d 时显著低于单作。间作期间分蘖洋葱根际土壤速效磷含量变化不显著, 番茄根际土壤速效磷含量均低于无苗对照, 而分蘖洋葱均高于无苗对照。间作后番茄植株磷浓度和磷吸收量显著高于单作处理, 分蘖洋葱植株磷浓度显著高于单作处理, 而磷吸收量显著低于单作处理。4) 间作后番茄根际土壤中无机磷细菌的条带数、香农多样性指数和均匀度指数显著高于其单作处理, 而间作分蘖洋葱显著低于其单作处理。间作后番茄根际土壤中有机磷细菌的条带数、香农多样性指数和均匀度指数前期显著高于单作番茄, 后期显著低于单作。而间作分蘖洋葱与对应单作比较差异不显著。【结论】间作分蘖洋葱通过改变番茄根际土壤中磷细菌数量和群落结构, 提高了磷细菌的转化强度, 增加了番茄根际土壤中速效磷含量, 促进植株磷浓度和磷吸收量增加, 改善了番茄磷营养。

**关键词:** 分蘖洋葱; 间作; 番茄; 磷细菌; 群落结构

## Effects of intercropping on phosphorus transformability and phosphobacteria community structure in the rhizosphere of tomato and potato onion

WU Xia<sup>1,2</sup>, YANG Feng-jun<sup>1</sup>, ZHANG Wen-hui<sup>1</sup>, JIN Ya-zhong<sup>1</sup>, GAO Feng<sup>1</sup>, WU Feng-zhi<sup>2\*</sup>

(1 College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2 College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 151103, China)

**Abstract:** 【Objectives】 Intercropping with potato onion can alleviate the soil sickness of tomato and thus enhance tomato plant nutrient uptake. In this study, effects of intercropping with potato onion on the activity and

收稿日期: 2018-08-06 接受日期: 2018-10-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31801905, 31672200); 哈尔滨科技局创新人才项目 (2014RFXXJ004); 黑龙江八一农垦大学校内培育课题 (XZR2017-01); 大庆市指导性科技计划项目 (zd-2016-099)。

联系方式: 吴瑕 Tel: 0459-6819184, E-mail: wuxiaxia\_2005@163.com

\* 通信作者 吴凤芝 Tel: 0451-55190278, E-mail: fzwu2006@aliyun.com

structure of phosphobacteria (P-bacteria) in the rhizosphere of tomato were studied to reveal the improvement of plant nutrition affected by P-bacteria in intercropping system. **【 Methods 】** The soil used in the pot experiment was collected from a greenhouse in which solanaceae crops had been cultivated continuously for 8 years. The tomato cultivar of ‘Dongnong708’ and potato onion cultivar of ‘Wuchanghongqishe’ were used in this study. The experiment included four treatments: tomato and potato onion intercropping, tomato monoculture, potato onion monoculture, and no crop control. The dry weight and phosphorus concentration in the plant were measured at the 23rd, 30th and 37th days after transplanting. The rhizosphere soil was obtained by brushing off the tomato and potato onion roots, which was used to analyze the transformation intensity and abundance of P-bacteria community. The PCR-DGGE method was used to determine the structure of P-bacteria community.

**【 Results 】** 1) Compared with monocropping, the shoot and root dry weights of tomato plants under intercropping were increased, while those of potato onion were decreased, and the changes reached significant levels at the 37th day. 2) Both the number of inorganic phosphorus ( $P_i$ ) and organophosphorus ( $P_o$ ) bacteria in the rhizosphere of intercropping system were significantly higher than those in no crop control during the whole culture period. In the rhizosphere of intercropping tomato, the number of  $P_i$  and  $P_o$  bacteria were increased, and the increments all reached significant levels at the 23rd and 37th days. In the rhizosphere of intercropped potato onion, the number of  $P_i$  bacteria was decreased and the decrement reached significant level at the 23rd day, while the number of  $P_o$  bacteria kept increased and the increase reached significant level at the 37th day. At the 23rd day of intercropping, both the transformation intensity of  $P_i$  and  $P_o$  bacteria increased significantly in the rhizosphere of tomato, while those were on the contrary in the rhizosphere of potato onion. At the 37th day, the transformation intensity of  $P_i$  and  $P_o$  bacteria in rhizosphere of potato onion were increased significantly. 3) Intercropping significantly increased pH but decreased EC of tomato and potato onion rhizosphere soils, and soil pH of the three treatments was higher than that of no crop control. The available P content of intercropped tomato rhizosphere was significantly higher than that in the monocropping at the 30rd day, while significantly reduced soil available P content at the 37th day. There was no significant difference in available P content in rhizosphere of potato onion between monocropping and intercropping systems during all the sampling time. However, soil available P content of tomato rhizosphere was lower, while this soil nutrient content of potato onion was higher than that in no crop control. Intercropping significantly increased plant P concentration and uptake of tomato, but only distinctly increased plant P concentration of potato onion. The number of bands, Shannon index and evenness index of  $P_i$  bacteria in rhizosphere of intercropped tomato were significantly higher than those in monocropping system, but those of intercropped potato onion were significantly lower than in monocropping system. The number of bands, Shannon diversity index and evenness index of  $P_o$  bacteria in rhizosphere of intercropped tomato were significantly higher than those in monocropping system at the early stage and significantly lower than those in monocropping at the later stage. There was no significant difference for potato onion between monocropping and intercropping systems. **【 Conclusions 】** Intercropping will change the number and structure of P-bacteria community in the rhizosphere of tomato, improve the transformation intensity of P-bacteria, and increase soil available phosphorus content and plant P concentration and uptake of tomato and thus improve plant phosphorus nutrition.

**Key words:** potato onion; intercropping; tomato; phosphobacteria; community structure

土壤磷素循环是以微生物活动为中心, 这一过程取决于解磷微生物特别是磷细菌的种群结构和数量以及磷酸酶的活性<sup>[1]</sup>。磷细菌可以提高农作物对土壤磷的利用率和有效性<sup>[2]</sup>, 它们活化土壤磷的机制主要通过分泌质子、有机酸及各种酶来螯合、溶解、

降解难溶磷来提高土壤中磷的有效性<sup>[3]</sup>。土壤中存在两类磷细菌, 一种是有机磷细菌, 它们将有机磷分解, 释放出无机磷, 而有机磷只有在微生物的作用下转变成无机磷形态才能被植物吸收利用<sup>[4]</sup>。另一种是无机磷细菌, 其作用是在代谢过程中产生各种有

机酸,从而使难溶性的磷酸钙转变成易溶性的,即转变成植物能够吸收利用的有效磷,其分泌的多糖物质,可以使土壤团粒的构造改善,增加土壤的优良物理特性<sup>[5]</sup>。土壤微生物对土壤肥力、有效磷含量有重要影响<sup>[6]</sup>,不同土地利用方式以及不同耕作措施对土壤微生物的影响也很大,通过间套作来调整微生物群落结构,充分发挥有益微生物的作用<sup>[7]</sup>。磷细菌的作用和效果受许多因素影响<sup>[4]</sup>。研究证实,根际接种假单胞菌能够提高土壤中磷的有效性<sup>[8]</sup>,因此,研究根际土壤中解磷微生物的数量及群落结构变化对了解根际磷营养具有重要意义。

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是我国设施栽培面积较大的果菜之一,在蔬菜生产中占有十分重要的地位<sup>[9]</sup>。设施栽培中为追求高产所投入的磷肥量不断增加,但磷肥利用率却很低,施入土壤中的磷只有 10%~25% 被当季作物吸收利用,其余大部分则被土壤固定<sup>[10]</sup>。因此,研究如何提高设施番茄磷肥利用率已成为当今研究的热点问题。分蘖洋葱 (*Allium cepa* var. *aggregatum* Don.) 是我国北方常见的一年生葱蒜类蔬菜,其鳞茎中含有的挥发性硫化物具有特殊辛辣味<sup>[11]</sup>,对土壤有杀菌消毒作用,在栽培中采用分蘖洋葱间作已被人们所接受<sup>[12-13]</sup>。研究证实,间作分蘖洋葱可显著改善土壤微生物群落结构,减轻黄瓜霜霉病、白粉病等病害的发生,提高产量<sup>[14]</sup>。同时发现,间作分蘖洋葱能有效减少番茄病害发生,促进植株生长,提高产量 5%~8%<sup>[15]</sup>,且显著提高了番茄根际土壤磷酸酶活性和解磷微生物的功能基因数量及多样性,改善了磷营养<sup>[16]</sup>,但其生物学机制尚不明确。因此,本试验以茄科连作 8 年以上的设施土壤为基质,研究分蘖洋葱/番茄间作系统植株根际土壤中无机磷细菌和有机磷细菌数量及群落结构的变化状况,旨在分析间作分蘖洋葱改善番茄磷营养的生物学机制,为间作栽培模式的推广奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

试验于 2014 年 3 月至 12 月在东北农业大学园艺系大棚和实验室进行。

供试番茄品种为月光 (东农 708),由东北农业大学番茄育种课题组提供。

供试分蘖洋葱品种为五常红旗社,由黑龙江省五常市红旗社村提供。

供试土壤为茄科连作 8 年以上的设施土壤,土壤基本理化性质如下: pH 6.61(水:土 = 5:1)、

EC 为 1.5 mS/cm(水:土 = 5:1)、有机质 25.2 g/kg、全氮 1.58 g/kg、碱解氮 91.0 mg/kg、速效磷 243.43 mg/kg、速效钾 323.30 mg/kg。

### 1.2 试验设计

盆栽试验采用单因素随机区组设计,共设番茄单作、分蘖洋葱单作、分蘖洋葱与番茄间作及无苗对照等 4 个处理,试验用高 25 cm、直径 18 cm 的塑料盆,取连作土按照每盆施加硫酸钾型复合肥(养分含量  $\geq 45\%$ , N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O 为 12:18:15)7 g,将土拌匀过筛装盆,每盆栽土 2.5 kg,试验区边缘设保护行。选择成熟度好、大小均匀一致、无病虫害的分蘖洋葱的鳞茎与五叶期番茄一同栽于盆中。单作番茄处理每盆栽种 1 株番茄幼苗,单作分蘖洋葱每盆栽种 4 株鳞茎,间作处理每盆栽种 1 株番茄环绕半周距番茄 5 cm 栽种 4 株鳞茎。试验期间不喷施任何药剂,人工定期除草,定量浇水保证盆栽不受干旱胁迫。

### 1.3 取样时期及取土方法

在番茄定植后 23 d (初花期)、30 d (盛花期) 和 37 d (初果期) 采取抖根法<sup>[17]</sup>取植株根际土壤,间作栽培的分蘖洋葱和番茄分别取根际土,每小区随机取 8 盆混合作为一个重复,三次重复,土壤过 20 目筛,一部分保存于 4℃ 冰箱中用于测定土壤中磷细菌数量及转化强度;一部分保存于 -80℃ 冰箱中用于土壤磷细菌群落结构 PCR-DGGE 分析。另一部分土样自然风干后测定土壤速效磷含量、土壤 pH 和 EC 值等指标。

### 1.4 测定方法

植株在 37 d 取样,经烘干粉碎,采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮后测定植株全磷含量,全磷含量用钼锑抗比色法测定<sup>[18]</sup>,磷吸收量为全株含磷量与全株干重的乘积<sup>[19]</sup>。土壤速效磷含量采用 0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> (pH 8.5) 浸提,钼锑抗比色法测定<sup>[20]</sup>;土壤 pH 和 EC 用去离子水(水:土 = 5:1)浸提,pH 计和电导率仪测定<sup>[21]</sup>;参考 Liu 等<sup>[22]</sup>的方法,采用无机磷培养基(磷酸三钙)筛选所得菌落为具有溶磷潜力的无机磷细菌,采用有机磷培养基(卵磷脂)筛选所得菌落为具有解磷潜力的有机磷细菌。制备土壤稀释液及微生物的培养与计数均参考袁虹霞等<sup>[23]</sup>的方法。土壤中无机磷细菌和有机磷细菌分离和鉴定时每个处理有 3 个土壤样本,每一个土壤样本涂 6 个平板,每个处理共 18 平板,将 18 个平板上所有菌落一起转移到 LB 液体培养基培养 3 天,细菌总基因组 DNA 提取和纯化<sup>[24]</sup>,

然后用 338 f-GC/518 r 进行 PCR 扩增<sup>[25]</sup>, 50  $\mu\text{L}$  PCR 反应体系包括: 2  $\mu\text{L}$  DNA 模板; 5  $\mu\text{L}$  10  $\times$  Buffer; 3.5  $\mu\text{L}$   $\text{Mg}^{2+}$ ; 2  $\mu\text{L}$  dNTP; 引物各 1  $\mu\text{L}$ ; 1  $\mu\text{L}$  Taq 酶; 34.5  $\mu\text{L}$  去离子水。PCR 反应条件为: 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  退火 40 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 35 个循环, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增片段为 230 bp 左右。采用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶, 变性剂浓度依次递增浓度是 40% 到 75%, 待凝后每个孔上样 PCR 样品为 20  $\mu\text{L}$ 。使用 D-code System 电泳仪 (Bio-Rad Lab, LA, USA), 电压 75 V, 温度 60  $^{\circ}\text{C}$ , 电泳 9~12 h 结束, 将胶取下置于 1 : 3300 (v/v) GelRed(Biotium, USA) 中染色 25 min。用 AlphaImager HP-1.2.0.1 凝胶成像系统照相<sup>[16]</sup>。磷转化强度的测定参考许光辉等<sup>[26]</sup>的方法, 无机磷溶解率和有机磷矿化率分别在含有无机磷 (磷酸三钙) 和有机磷 (卵磷脂) 的蒙吉娜培养基中, 接种土壤混悬液, 30  $^{\circ}\text{C}$  培养 21 d, 经解磷微生物作用释放的速效磷量用钼蓝比色法测定。根据释放的速效磷量占全磷量的百分数表示磷的转化强度, 将所得数值求反正弦函数后作图<sup>[27]</sup>。

### 1.5 数据处理及分析

原始数据的整理采用 Microsoft Excel (Office 2003) 软件, 数据处理采用 SAS 9.1.3 软件, 方差分析使用 ANOVA 过程 (Duncan's 新复极差法,  $P < 0.05$ )。采用 Quantityone 4.5 软件对 DGGE 指纹图谱进行数字化、标准化分析, 采用 Canoco for Windows 4.5 software 进行主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 间作对番茄和分蘖洋葱地上及地下部干重的影响

间作 23 d, 番茄地上部分的干重显著高于单作, 而根干重差异不显著。间作 37 d 时番茄植株地上部分和根干重均显著高于单作 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。间作 30 d 前, 分蘖洋葱地上部分的干重显著低于单作, 根干重差异不显著。间作 37 d 时, 分蘖洋葱植株地上部分和根干重均显著低于对应单作 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

### 2.2 间作对番茄和分蘖洋葱根际土壤磷细菌数量及转化强度的影响

随着植株生长期延长, 番茄、分蘖洋葱根际及无苗对照土壤中无机磷细菌数量均呈现先下降再上升的趋势。间作番茄根际土壤无机磷细菌数量高于单作和无苗对照, 且定植 23 d 和 37 d, 均达显著水平 ( $P < 0.05$ )。对分蘖洋葱而言, 定植 23 d 时间作分蘖洋葱根际土壤中无机磷细菌数量显著低于单作, 而间作后期单作和间作无显著差异, 但二者均显著高于无苗对照 ( $P < 0.05$ ) (图 2 -A)。随着植株生长期延长, 番茄根际土壤中有机磷细菌数量均呈现先缓慢下降后显著上升的趋势, 而分蘖洋葱和无苗对照的土壤中有机磷细菌数量呈现缓慢上升的趋势。间作番茄根际土壤有机磷细菌数量高于对应单作和无苗对照, 且在 23 d 和 37 d 时均达显著水平 ( $P < 0.05$ )。对分蘖洋葱而言, 定植 23 d 和 30 d, 间作分蘖洋葱根际土壤有机磷细菌数量与单作比, 无显著差异。定植 37 d, 间作分蘖洋葱根际土壤有机磷细菌数量显著高于单作, 且二者均显著高于无苗对照

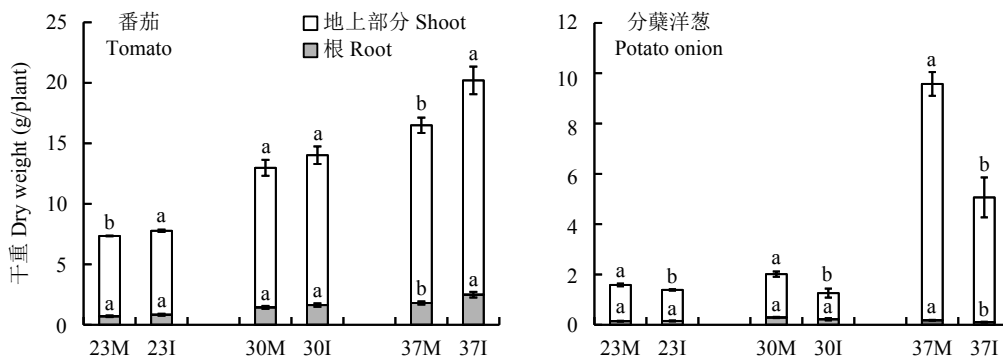


图 1 间作对番茄和分蘖洋葱地上和地下部干重的影响

Fig. 1 Effects of intercropping on the shoot and root dry weight of tomato and potato onion

[注 (Note): 23、30 和 37 表示幼苗定植后天数 23, 30 and 30 represent the day after transplanting; M—单作 Monoculture; I—间作 Intercropping; 柱上不同字母表示同一取样时期不同处理间在 0.05 水平差异显著 Different letters above the bars mean significant difference between monocropping and intercropping system in the same sampling time at the 0.05 level.]

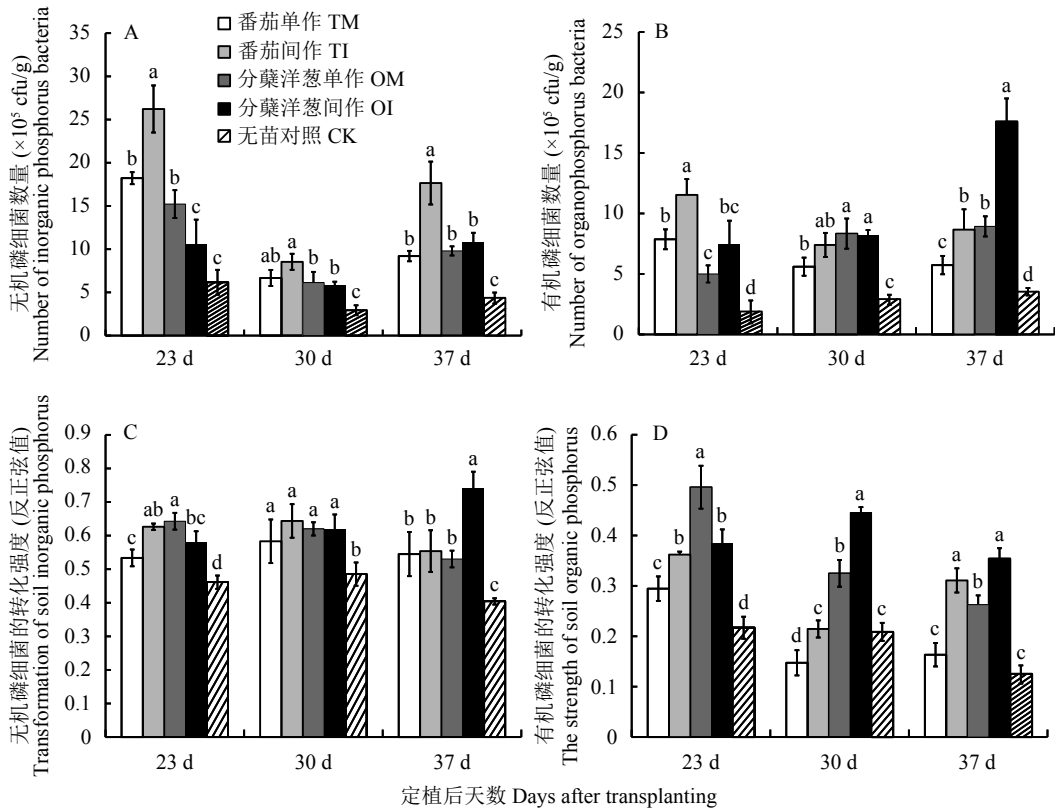


图 2 间作对番茄和分蘖洋葱根际土壤无机磷和有机磷数量及转化强度的影响

Fig. 2 Effects of intercropping on the number and transformation intensity of soil inorganic phosphorus and organophosphorus in the rhizosphere of tomato and potato onion

[注 (Note): TM—Tomato monoculture; TI—Tomato intercropping; OM—Potato onion monoculture; OI—Potato onion intercropping; CK—No crop control. 柱上不同字母表示同一取样时期不同处理间在 0.05 水平差异显著 Different letters above the bars mean significant difference among different treatments in the same sampling time at the 0.05 level.]

( $P < 0.05$ )(图 2-B)。

随着植株生长期延长, 番茄及无苗对照土壤中无机磷细菌的转化强度均呈现先上升再下降的趋势。而间作分蘖洋葱呈现缓慢上升的趋势, 单作的分蘖洋葱呈现缓慢下降的趋势。定植 23 d, 间作番茄根际土壤无机磷细菌转化强度高于单作番茄和无苗对照, 定植 30 d 和 37 d, 间作番茄根际土壤无机磷细菌转化强度与单作无显著差异。对分蘖洋葱而言, 定植 30 d, 间作分蘖洋葱根际土壤无机磷细菌转化强度与单作比, 无显著差异。定植 23 d 时显著低于对应单作, 而定植 37 d 时显著高于对应单作, 且所有处理均显著高于无苗对照 ( $P < 0.05$ )(图 2-C)。番茄根际土壤中有有机磷细菌转化强度呈现先下降再上升的趋势, 而分蘖洋葱和无苗对照均呈现下降趋势。间作番茄根际土壤有机磷细菌转化强度均显著高于单作。对分蘖洋葱而言, 定植 23 d, 间作分蘖洋葱根际土壤有机磷细菌转化强度显著低于单作。定植 30 d 和 37 d, 间作分蘖洋葱根际土壤有机磷细

菌转化强度显著高于单作, 且所有处理均显著高于无苗对照 ( $P < 0.05$ )(图 2-D)。

### 2.3 间作对番茄和分蘖洋葱根际土壤 pH、EC 值、有效磷含量和植株磷吸收量的影响

在间作期间, 番茄和分蘖洋葱根际土壤中 pH 整体均呈现升高趋势。间作前期, 番茄根际土壤中 pH 低于单作, 间作 30 d 时差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ ), 间作 37 d 后番茄根际土壤 pH 显著高于单作, 整个生长期, 番茄根际土壤 pH 均高于无苗对照。对分蘖洋葱而言, 间作 37 d, 分蘖洋葱根际土壤 pH 显著高于单作, 间作前期两处理差异不显著 (图 3-A)。在间作期间, 番茄和分蘖洋葱根际土壤中 EC 值整体均呈现降低趋势。间作前期, 番茄和分蘖洋葱根际土壤 EC 值均高于对应单作, 且在 30 d 时差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ ), 间作 37 d 后番茄和分蘖洋葱根际土壤中 EC 值均显著低于对应单作, 且除分蘖洋葱单作外其他处理土壤中 EC 值均低于无苗对照 (图 3-B)。定植 23 d 和 30 d, 间作番茄根际土壤中

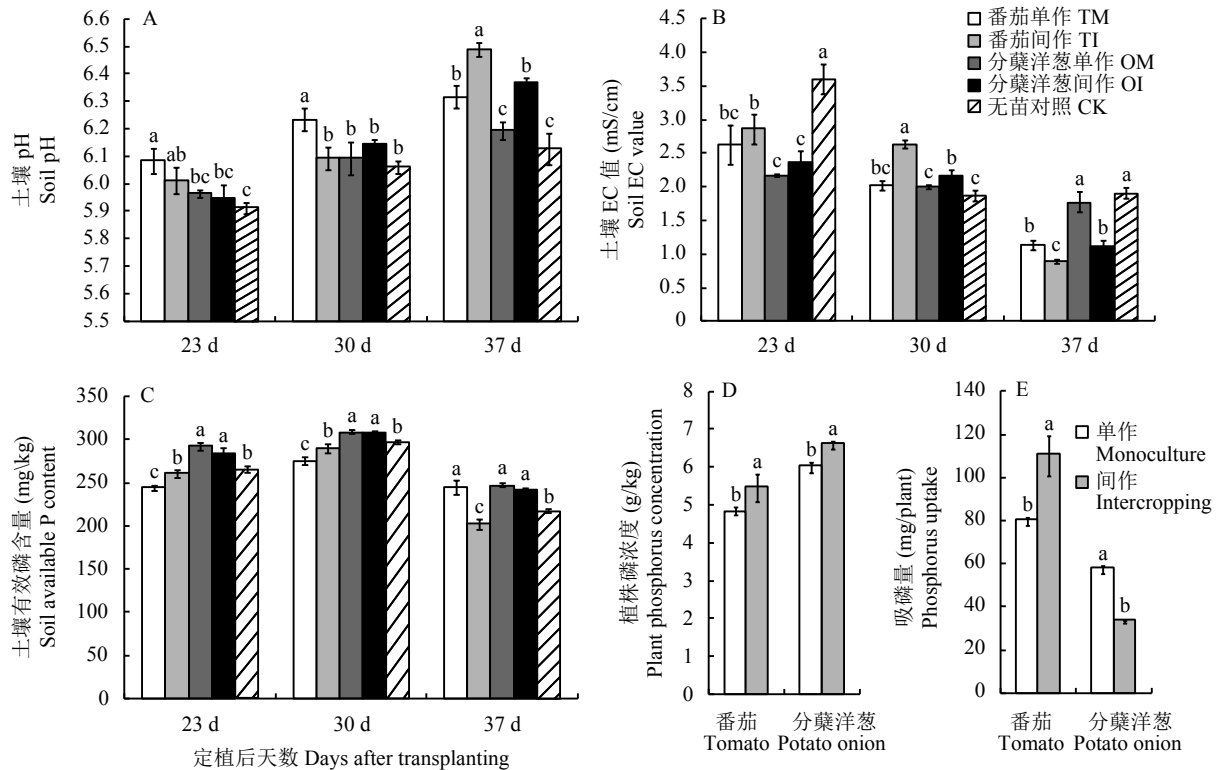


图3 间作对番茄和分蘖洋葱根际土壤 pH、EC 值、速效磷和植株磷吸收量的影响

Fig. 3 Effects of intercropping on soil pH, EC, available phosphorus content and plant P content in the rhizosphere of tomato and potato onion

[注 (Note): TM—Tomato monoculture; TI—Tomato intercropping; OM—Potato onion monoculture; OI—Potato onion intercropping; CK—No crop control. 柱上不同字母表示同一取样时期不同处理间在 0.05 水平差异显著 Different letters above the bars mean significant difference among different treatments in the same sampling time at the 0.05 level.]

有效磷含量显著高于单作 ( $P < 0.05$ ), 定植 37 d 后间作番茄根际土壤中有效磷含量显著低于单作 ( $P < 0.05$ )。在间作期间, 分蘖洋葱根际土壤中速效磷含量与单作比无显著差异。且随间作时间延长, 番茄和分蘖洋葱根际土壤中速效磷含量呈现先增后降的变化趋势, 番茄根际土壤中速效磷含量均低于无苗对照, 而分蘖洋葱均高于无苗对照 (图 3-C)。定植 37 d, 间作番茄和分蘖洋葱植株磷含量均显著高于单作 (图 3-D), 间作番茄植株吸磷量显著高于单作, 间作分蘖洋葱磷吸收量显著低于单作 (图 3-E)。

#### 2.4 间作对土壤无机磷细菌群落结构的影响

图 4-A、B 显示了分蘖洋葱和番茄间作 23 d 根际土壤中无机磷细菌群落结构的变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 33.4% 和 21.2% 的无机磷细菌群落结构的变化。各处理土壤无机磷细菌群落结构在分布上存在着不同, 单作和间作的分蘖洋葱及间作的番茄 3 个处理在 PC1 轴上的投影较为接近, 而与 CK 和单作番茄处理相距较远, 说明定植 23 d 时, 间作是影响无机磷细菌群落变化的主要因素,

且间作对番茄无机磷细菌的群落结构影响较大, 而对分蘖洋葱的影响相对较小; 番茄和分蘖洋葱植物种类对无机磷细菌群落结构也有一定的影响。多样性分析结果显示, 间作 23 d, 间作番茄条带数显著高于单作 ( $P < 0.05$ ), 香农多样性指数和均匀度指数与单作无显著差异。间作分蘖洋葱条带数和香农多样性指数显著低于单作 ( $P < 0.05$ ), 均匀度指数与单作无显著差异 (表 1)。

图 4-C、D 显示了分蘖洋葱和番茄间作 30 d 根际土壤中无机磷细菌群落结构的变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 30.4% 和 23.1% 的无机磷细菌群落结构变化。各处理土壤无机磷细菌群落在分布上存在着不同, 间作分蘖洋葱和间作番茄 2 个处理在 PC1 轴上的投影较为接近, 单作分蘖洋葱和单作番茄 2 个处理在 PC2 轴上的投影较为接近, 而与无苗对照处理 (CK) 相距较远, 说明间作是影响无机磷细菌群落结构变化的主要因素, 且间作对番茄无机磷细菌的群落结构影响较大, 而对分蘖洋葱的影响较小; 番茄和分蘖洋葱不同植物种类对无机磷细菌

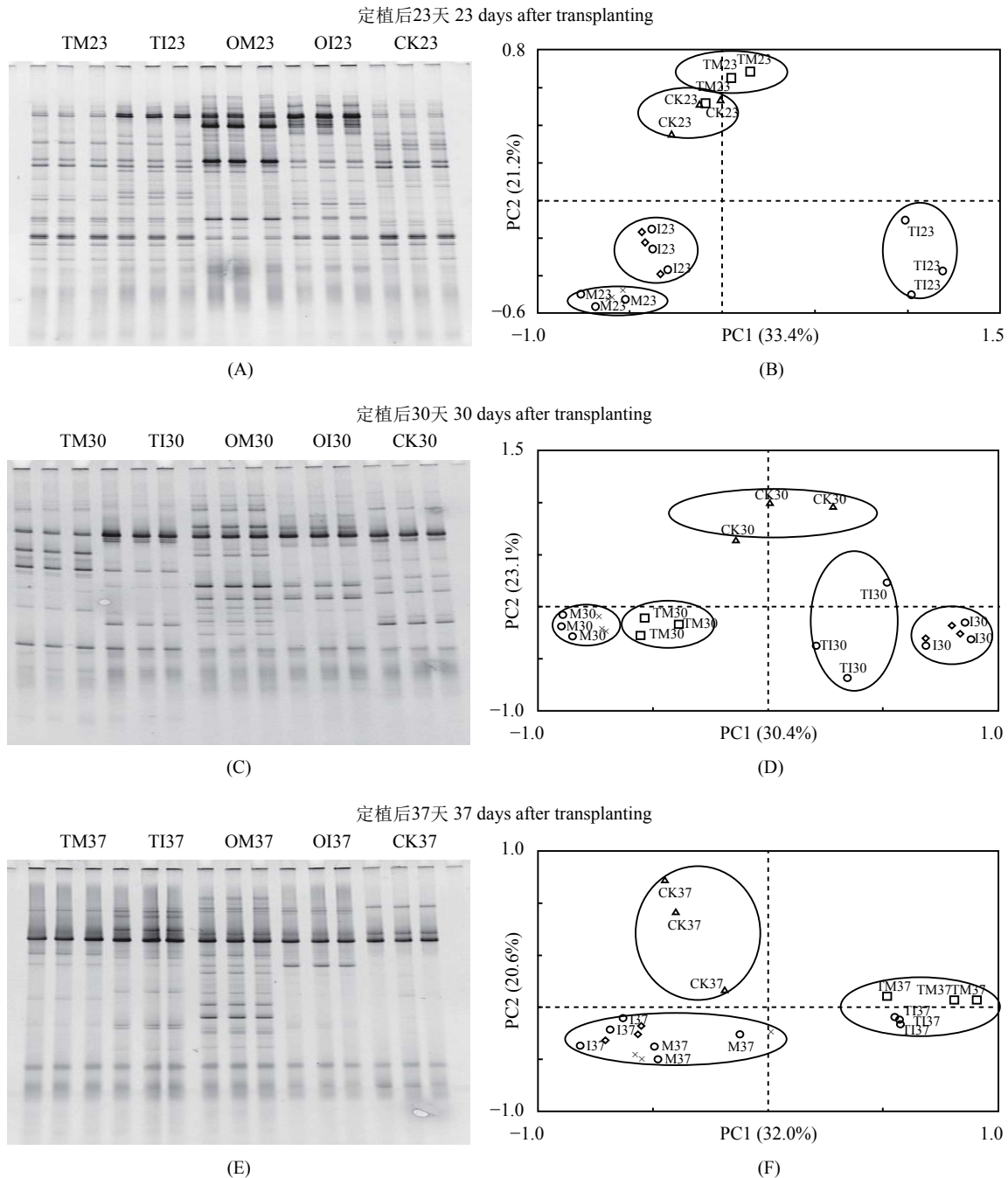


图 4 定植后 23、30、37 天番茄和分蘖洋葱根际土无机磷细菌 DGGE 电泳图及主成分分析

Fig. 4 PCR-DGGE profile and PCA analysis of inorganic phosphorus bacteria in the rhizosphere of tomato and potato onion at the 23rd, 30th and 37th days after transplanting

[注 (Note) : TM—番茄单作 Tomato monoculture; TI—番茄间作 Tomato intercropping; OM—分蘖洋葱单作 Potato onion monoculture; OI—间作分蘖洋葱 Potato onion intercropping; CK—无苗对照 No crop control; M—单作 Monoculture; I—间作 Intercropping.]

菌群落结构也有一定的影响。多样性分析结果显示, 定植 30 d 后间作番茄条带数、香农多样性指数和均匀度指数与相应单作无显著差异, 而间作分蘖洋葱香农多样性指数、均匀度指数和条带数均显著低于相应单作 (表 1)。

图 4-E、F 显示分蘖洋葱和番茄间作 37 d 根际土

壤中无机磷细菌群落结构的变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 32.0% 和 20.6% 的无机磷细菌群落变化。各处理土壤无机磷细菌群落在分布上存在着不同, 单作番茄和间作番茄 2 个处理在 PC1 轴上的投影较为接近, 单作分蘖洋葱和间作分蘖洋葱 2 个处理在 PC2 轴上的投影较为接近, 而与无苗对

表 1 土壤中无机磷细菌条带数、香农多样性指数和均匀度指数

Table 1 Band number, Shannon diversity and evenness indices of DGGE map of inorganic phosphorus bacteria in the rhizosphere soil of tomato and potato onion

定植后天数 Days after transplanting	处理 Treatment	条带数 ( <i>S</i> ) Band number	香农多样性指数 <i>H</i>	均匀度指数 <i>E</i>
23 d	番茄单作 TM	22.67 ± 1.25 c	2.88 ± 0.67 c	0.78 ± 0.02 b
	番茄间作 TI	26.67 ± 1.25 b	2.92 ± 0.05 c	0.79 ± 0.01 b
	分蘖洋葱单作 OM	29.67 ± 1.25 a	3.19 ± 0.03 a	0.86 ± 0.01 a
	分蘖洋葱间作 OI	27.00 ± 0.00 b	3.07 ± 0.01 b	0.83 ± 0.01 a
	无苗对照 CK	18.67 ± 0.47 d	2.66 ± 0.07 e	0.72 ± 0.02 c
30 d	番茄单作 TM	17.00 ± 0.82 bc	2.61 ± 0.05 b	0.75 ± 0.01 b
	番茄间作 TI	17.67 ± 0.47 b	2.49 ± 0.03 bc	0.72 ± 0.01 bc
	分蘖洋葱单作 OM	21.67 ± 0.47 a	2.84 ± 0.10 a	0.82 ± 0.03 a
	分蘖洋葱间作 OI	16.00 ± 0.82 c	2.43 ± 0.04 c	0.70 ± 0.01 c
	无苗对照 CK	11.33 ± 0.47 bc	2.09 ± 0.06 d	0.61 ± 0.01 d
37 d	番茄单作 TM	12.67 ± 0.47 c	2.21 ± 0.09 c	0.67 ± 0.03 c
	番茄间作 TI	16.00 ± 0.82 b	2.45 ± 0.03 b	0.74 ± 0.01 b
	分蘖洋葱单作 OM	24.00 ± 0.00 a	2.99 ± 0.01 a	0.91 ± 0.01 a
	分蘖洋葱间作 OI	12.33 ± 0.47 c	2.18 ± 0.06 c	0.66 ± 0.02 c
	无苗对照 CK	8.00 ± 0.00 d	1.47 ± 0.17 d	0.44 ± 0.05 d

注 (Note): TM—Tomato monoculture; TI—Tomato intercropping; OM—Potato onion monoculture; OI—Potato onion intercropping; CK—No crop control; *H*—Shannon diversity index; *E*—Evenness index. 数值后不同字母表示同一取样时期不同处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters mean significant difference among treatments in the same sampling time at the 0.05 level.

照 (CK) 相距较远, 说明间作是影响无机磷细菌群落变化的因素之一, 而植物种类对根际土壤无机磷细菌的菌群结构影响较大。多样性分析结果显示, 定植 37 d 后间作番茄条带数、香农多样性指数和均匀度指数均显著高于相应单作, 而间作分蘖洋葱香农多样性指数、均匀度指数和条带数均显著低于相应单作 (表 1)。

## 2.5 间作对根际土壤有机磷细菌群落结构的影响

图 5-A、B 显示了分蘖洋葱和番茄间作 23 d 根际土壤中有机磷细菌群落结构变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 24.6% 和 21.1% 的有机磷细菌群落变化。各处理土壤有机磷细菌群落在分布上存在着不同, 间作分蘖洋葱和间作番茄 2 个处理在 PC2 轴上的投影较为接近, 单作分蘖洋葱、单作番茄与无苗对照处理 (CK) 3 个处理相距均较远, 说明定植 23 d 时间作是影响有机磷细菌群落变化的主要因素之一, 而植物种类对根际土壤有机磷细菌的菌群结构也有一定的影响。多样性分析结果显示, 间作 23 d 番茄根际土壤中香农多样性指数、均匀度指数和条带数均显著高于对应单作, 而间作分蘖洋葱

均匀度指数显著高于对应单作, 其他指标差异不显著 (表 2)。

图 5-C、D 显示了分蘖洋葱和番茄间作 30 d 根际土壤中有机磷细菌群落结构变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 34.5% 和 19.8% 的有机磷细菌群落变化。各处理土壤有机磷细菌群落在分布上存在着不同, 间作分蘖洋葱和间作番茄 2 个处理在 PC2 轴上的投影较为接近, 单作分蘖洋葱、单作番茄与无苗对照 (CK) 3 个处理相距均较远, 说明定植 30 d 时间作是影响有机磷细菌群落变化的主要因素之一, 而植物种类对根际土壤有机磷细菌的菌群结构影响显著。多样性分析结果显示, 间作 30 d 番茄香农多样性指数、均匀度指数和条带数均显著低于对应单作 ( $P < 0.05$ ), 分蘖洋葱条带数显著低于对应单作, 香农多样性指数和均匀度指数与单作比差异不显著 (表 2)。

图 5-E、F 显示了分蘖洋葱和番茄间作 37 d 根际土壤中有机磷细菌群落结构变化, 图中 PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 29.2% 和 27.3% 的有机磷细菌群落变化。各处理土壤有机磷细菌群落在分布上存在



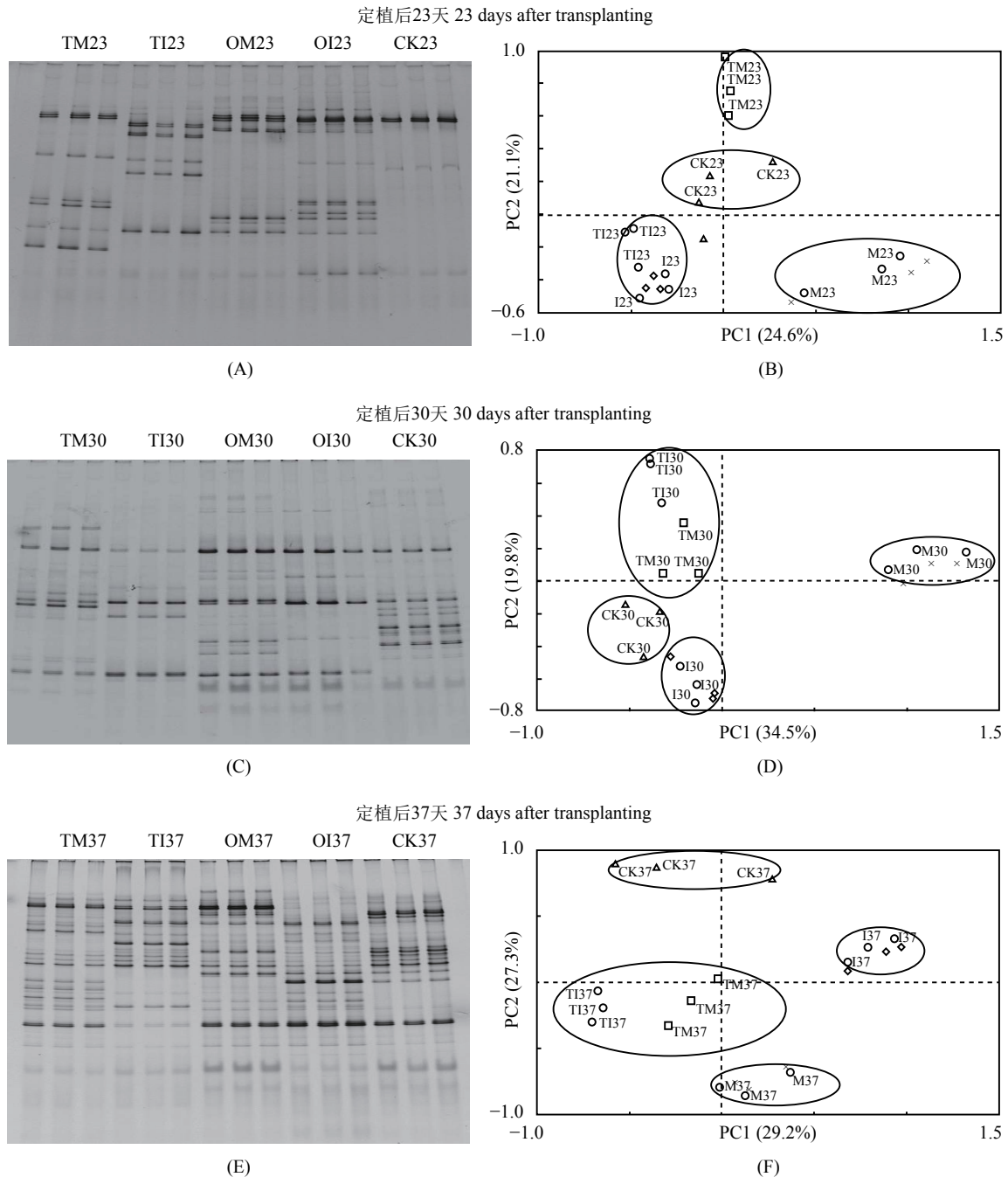


图5 定植后第 23、30、37 天番茄和分蘖洋葱根际土有机磷细菌 DGGE 电泳图及主成分分析

Fig. 5 PCR-DGGE profiles and PCA analysis of organophosphorus bacteria in the rhizosphere of tomato and potato onion at the 23rd, 30th and 37th days after transplanting

[注 (Note) : TM—番茄单作 Tomato monoculture; TI—番茄间作 Tomato intercropping; OM—分蘖洋葱单作 Potato onion monoculture; OI—间作分蘖洋葱 Potato onion intercropping; CK—无苗对照 No crop control; M—单作 Monoculture; I—间作 Intercropping.]

着不同, 间作分蘖洋葱和间作番茄 2 个处理在 PC2 轴上的投影较为接近, 单作分蘖洋葱、单作番茄与无苗对照 (CK) 3 个处理相距均较远, 说明定植 37 d 时间作对有机磷细菌群落变化有一定影响, 而植物种类对根际土壤有机磷细菌的菌群结构影响较大。多样性分析结果显示, 间作 37 d 番茄香农多样性指

数、均匀度指数和条带数显著低于对应单作 ( $P < 0.05$ ), 间作分蘖洋葱香农多样性指数、均匀度指数和条带数与单作无显著差异, 但高于无苗对照 (表 2)。

### 3 讨论

土壤微生物是土壤有效养分变化的敏感指标之

表 2 土壤有机磷细菌条带数、香农多样性指数和均匀度指数  
Table 2 Band numbers, Shannon diversity and evenness indices of DGGE map of organophosphorus bacteria in the rhizosphere soil of tomato and potato onion

定植后天数 Day after transplanting	处理 Treatment	条带数 ( <i>S</i> ) Band number	香农多样性指数 ( <i>H</i> ) Shannon diversity index	均匀度指数 ( <i>E</i> ) Evenness indices
23 d	番茄单作 TM	15.67 ± 0.47 b	2.35 ± 0.10 b	0.65 ± 0.03 c
	番茄间作 TI	21.00 ± 0.00 a	2.73 ± 0.04 a	0.74 ± 0.01 ab
	分蘖洋葱单作 OM	22.33 ± 1.25 a	2.59 ± 0.07 a	0.71 ± 0.02 b
	分蘖洋葱间作 OI	22.33 ± 0.47 a	2.78 ± 0.04 a	0.76 ± 0.01 a
	无苗对照 CK	9.67 ± 0.47 c	1.46 ± 0.13 c	0.40 ± 0.04 d
30 d	番茄单作 TM	26.00 ± 0.82 b	3.01 ± 0.05 a	0.76 ± 0.01 a
	番茄间作 TI	20.67 ± 1.24 c	2.61 ± 0.11 c	0.67 ± 0.03 c
	分蘖洋葱单作 OM	29.67 ± 1.24 a	2.95 ± 0.03 ab	0.74 ± 0.01 ab
	分蘖洋葱间作 OI	23.67 ± 2.49 bc	2.85 ± 0.12 ab	0.71 ± 0.03 bc
	无苗对照 CK	23.33 ± 0.47 bc	2.79 ± 0.03 b	0.72 ± 0.01 ab
37 d	番茄单作 TM	32.33 ± 0.94 a	3.27 ± 0.04 a	0.84 ± 0.01 a
	番茄间作 TI	29.33 ± 0.47 b	2.99 ± 0.14 b	0.77 ± 0.04 b
	分蘖洋葱单作 OM	33.33 ± 0.47 a	3.26 ± 0.01 a	0.83 ± 0.01 a
	分蘖洋葱间作 OI	33.00 ± 0.82 a	3.29 ± 0.02 a	0.84 ± 0.01 a
	无苗对照 CK	27.00 ± 0.82 c	2.93 ± 0.06 b	0.76 ± 0.01 b

注 (Note): TM—Tomato monoculture; TI—Tomato intercropping; OM—Potato onion monoculture; OI—Potato onion intercropping; CK—No crop control. 数值后不同字母表示同一取样时期不同处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different letters mean significant difference among treatments in the same sampling time at the 0.05 level.

一, 能对土壤生态环境变化作出应急反应<sup>[28]</sup>, 土壤微生物数量和多样性是评价土壤健康程度的重要指标<sup>[29]</sup>。土壤中积累有较高量的总磷, 然而它们大多数对植物的有效性却很低<sup>[30]</sup>。赵小蓉和林启美研究发现, 磷的转化强度反映了微生物作用于土壤中的含磷有机物和难溶无机磷化合物释放出有效磷的量, 它与土壤的供磷水平直接相关<sup>[31]</sup>。研究表明, 分蘖洋葱间作提高番茄对土壤中磷营养的吸收, 促进番茄的生长, 成为生产上高产高效栽培模式<sup>[32]</sup>, 本研究再次证实了这一观点。研究结果还显示, 分蘖洋葱和番茄间作后土壤中无机磷细菌和有机磷细菌的数量显著提高, 且在间作番茄根际土壤中磷细菌群落结构较单作发生了显著的变化 (图 4、图 5), 说明分蘖洋葱间作可能充分发挥了细菌的解磷固氮作用, 使土壤中磷有效性显著提高, 有利于番茄的生长和磷养分的吸收。

土壤磷循环与根际土壤微生物多样性是相互关联的, 土壤中水分、养分、有机质和 pH 等是影响土壤微生物多样性和群落结构变化的主要因素<sup>[33-34]</sup>。本研究结果显示, 间作 23 d 时, 分蘖洋葱间作番茄根

际土壤中无机磷细菌数量显著增加, 菌群结构显著异于单作番茄和无苗对照, 无机磷细菌在代谢过程中产生各种有机酸, 溶解无效性的磷, 转变成植物能够吸收利用的有效磷<sup>[5]</sup>, 致使间作番茄根际土壤 pH 降低, 间作番茄根际土壤中速效磷含量和 EC 值显著升高, 到 30 d 达到峰值。分析其原因, 间作可能是通过改变土壤中磷细菌数量和群落结构改善番茄根际磷营养。间作 37 d 时土壤中速效磷含量显著降低, 且间作番茄根际土壤中速效磷含量低于单作, 这可能是由于番茄快速生长增加磷的吸收量所致。间作分蘖洋葱后期, 番茄根际土壤中有机磷细菌数量增加, 有机磷细菌能够将有机磷分解, 释放出无机磷<sup>[4]</sup>, 有机磷细菌转化强度增加显著可能为间作番茄磷养分的吸收作出贡献。前期的研究显示, 这些磷细菌富含的碱性磷酸酶功能基因数量和多样性增加, 改善土壤磷营养<sup>[16]</sup>。间作分蘖洋葱后番茄根际土壤中出现的磷细菌 *Sphingobium*, 是土壤生态系统中的一种无机磷细菌<sup>[35]</sup>, 这种间作选择性富集的细菌物种可能促进植株对磷的吸收<sup>[36]</sup>, 需要在今后的研究中对这些磷细菌进行分离鉴定并作进一步功能验证。

间作栽培体系中种间促进作用和种间竞争作用同时存在<sup>[37]</sup>, 种间促进作用表现在间作后分蘖洋葱和番茄植株的磷浓度均显著高于对应单作, 种间竞争作用来自地上的光竞争和地下的养分竞争, 这种竞争使间作后分蘖洋葱干重显著低于单作。分蘖洋葱根际土壤中有机磷细菌数量及磷转化强度也显著增加, 间作分蘖洋葱植株全磷含量显著高于单作, 而吸收量显著低于单作分蘖洋葱, 可能是间作后分蘖洋葱生长被抑制导致生物量降低引起的。本研究显示, 间作提高了番茄和分蘖洋葱根际土壤的 pH, 降低了土壤 EC 值, 磷细菌的种类繁多, 对于间作后种植植物的土壤中何种磷细菌可以改善土壤环境, 促进磷吸收是改善磷吸收的关键, 从分子生物学的角度探讨解磷微生物的解磷机制将成为今后研究的热点。另外, 促进番茄磷营养的改善与植株根系形态的变化密切相关, 同时间作番茄体内磷含量显著增加, 提高番茄对土壤中磷的利用率, 而间作后番茄植株养分吸收功能基因有待于进一步深入研究。

## 4 结论

分蘖洋葱/番茄间作促进了番茄地上和地下部生物量的显著增加, 却抑制分蘖洋葱地上和地下生物量的增加。间作后番茄植株内的磷浓度和磷吸收量显著增加, 且分蘖洋葱间作提高了番茄根际土壤 pH, 降低了土壤的 EC 值。间作分蘖洋葱后番茄根际土壤中无机磷细菌和有机磷细菌的数量增加, 磷细菌的转化强度显著提高, 间作后番茄根际土壤中磷细菌的条带数、香农多样性指数和均匀度指数显著增加, 群落结构发生改变。因此, 间作分蘖洋葱通过改变番茄根际磷细菌数量和群落结构, 提高了磷细菌的转化强度, 增加了番茄根际土壤速效磷含量, 促进植株磷浓度和磷吸收量增加, 改善了番茄的磷营养。

## 参 考 文 献:

- [ 1 ] Krey T, Vassilev N, Baum C, *et al.* Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 55: 124–130.
- [ 2 ] Pérez E, Sulbarn M, Ball M M, *et al.* Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the southeastern Venezuelan region[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 2905–2914.
- [ 3 ] 吴鹏飞, 张冬明, 郝丽虹, 等. 解磷微生物研究现状及展望[J]. *中国农业科技导报*, 2008, 10(3): 40–46.  
Wu P F, Zhang D M, Hao L H, *et al.* Status-quo and prospects of phosphate-solubilizing microorganisms[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2008, 10(3): 40–46.
- [ 4 ] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. *土壤肥料*, 2001, (3): 7–11.  
Zhao X R, Lin Q M. A review of phosphate-dissolving microorganisms[J]. *Soil and Fertilizer*, 2001, (3): 7–11.
- [ 5 ] 边武英, 何振立, 黄昌勇. 高效解磷菌对矿物专性吸附磷的转化及生物有效性的影响[J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2000, 26(4): 18–20.  
Bian W Y, He Z L, Huang C Y. Increasing transformation and bioavailability of specifically sorbed P by P-efficient microorganisms (PEM)[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2000, 26(4): 18–20.
- [ 6 ] 杨林章, 孙波. 中国农田生态系统养分循环和平衡及其管理[M]. 北京: 科学出版社, 2008.  
Yang L Z, Sun B. China's farmland ecosystem nutrient cycling and balance and its management [M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [ 7 ] 尹睿, 张华勇, 黄锦法, 等. 保护地菜田与稻麦轮作田土壤微生物学特征的比较[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(1): 57–62.  
Yin R, Zhang H Y, Huang J F, *et al.* Comparison of microbiological properties between soils of rice-wheat rotation and vegetable cultivation[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(1): 57–62.
- [ 8 ] Nassal D, Spohn M, Eltlbany N, *et al.* Effects of phosphorus-mobilizing bacteria on tomato growth and soil microbial activity[J]. *Plant and Soil*, 2018, 427(1–2): 17–37.
- [ 9 ] 郝永娟, 刘春艳, 王勇, 等. 设施蔬菜连作障碍的研究现状及综合调控[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(8): 396–398.  
Hao Y J, Liu C Y, Wang Y, *et al.* Present condition of research and integrated control on replant disease in greenhouse vegetable[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(8): 396–398.
- [ 10 ] 杨玉爱. 我国有机肥料研究及展望[J]. *土壤学报*, 1996, 25(4): 414–422.  
Yang Y A. Perspectives of organic fertilizer research in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 25(4): 414–422.
- [ 11 ] 巴红梅, 赵研. 洋葱的营养保健功能和产品开发[J]. *农产品资源*, 2008, (2): 39–41.  
Ba H M, Zhao Y. Health-care function and exploitation of onion[J]. *Agricultural Product Resources*, 2008, (2): 39–41.
- [ 12 ] Li Q, Wu F, Yang Y, *et al.* Effects of rotation and interplanting on soil bacterial communities and cucumber yield[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica (Section B—Soil and Plant Science)*, 2009, 59(5): 431–439.
- [ 13 ] 吴凤芝, 王澍, 杨阳. 轮套作对黄瓜根际土壤细菌种群的影响[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(12): 2717–2722.  
Wu F Z, Wang S, Yang Y. Effects of rotation and interplanting on bacteria communities in rhizosphere soil of cucumber[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(12): 2717–2722.
- [ 14 ] Zhou X, Yu G, Wu F. Effects of intercropping cucumber with onion or garlic on soil enzyme activities, microbial communities and cucumber yield[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(5): 279–287.
- [ 15 ] 吴凤芝, 潘凯, 刘守伟. 设施土壤修复及连作障碍克服技术[J]. *中*

- 国蔬菜, 2013, (13): 39.
- Wu F Z, Pan K, Liu S W. Restoration of soil and the technology of continuous cropping obstacle to overcome[J]. *China Vegetables*, 2013, (13): 39.
- [16] Wu X, Wu F, Zhou X, *et al.* Effects of intercropping with potato onion on the growth of tomato and rhizosphere alkaline phosphatase genes diversity[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 846–859.
- [17] Wang G, Xu Y, Jin J, *et al.* Effect of soil type and soybean genotype on fungal community in soybean rhizosphere during reproductive growth stages[J]. *Plant and Soil*, 2009, 317: 135–144.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000, 301–320. Bao S D. Soil agro-chemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000, 301–320.
- [19] Betencourt E, Duputel M, Colomb B, *et al.* Intercro intercropping promotes the ability of durum wheat and chickpea to increase rhizosphere phosphorus availability in a low P soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 46: 181–190.
- [20] 程乐明, 陈良, 刘建雷, 等. 碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定土壤有效磷的注意事项[J]. *现代农业科技*, 2009, (3): 205. Cheng L M, Chen L, Liu J L, *et al.* Bicarbonate of soda leaching - molybdenum antimony resistance colorimetric method to determine the matters needing attention of available P in soil[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2009, (3): 205.
- [21] 农业部农药检定所. 农药田间药效试验准则[M]. 北京: 中国标准出版社, 1998. 45–51. The Ministry of Agriculture Pesticide Deteting Institute. Pesticide field efficacy test criteria [M]. Beijing: China Standard Press, 1998, 45–51.
- [22] Liu H, Wu X Q, Ren J H, *et al.* Isolation and identification of phosphobacteria in poplar rhizosphere from different regions of China[J]. *Pedosphere*, 2011, 21(1): 90–97.
- [23] 袁虹霞, 房卫平. 棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响[J]. *植物病理学报*, 2002, 32(2): 127–131. Yuan H X, Fang W P. The root exudates of cotton cultivars with the different resistance and their effects on *Verticillium dahliae*[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2002, 32(2): 127–131.
- [24] Sambrock J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual[M]. New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [25] Muyzer G, De Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rDNA[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 695–700.
- [26] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986. 246–248. Xu G H, Zheng H Y. Soil microbial analysis method manual [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986. 246–248.
- [27] Hameeda B, Harini G, Rupela O, *et al.* Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna[J]. *Microbiological Research*, 2008, 163: 234–242.
- [28] Ge T, Chen X, Yuan H, *et al.* Microbial biomass, activity, and community structure in horticultural soils under conventional and organic management strategies[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 58: 122–128.
- [29] Sotomayor-Ramírez D, Espinoza Y, Acosta-Martínez V. Land use effects on microbial biomass C,  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -glucosaminidase activities, and availability, storage, and age of organic C in soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2009, 45: 487–497.
- [30] 邵宗臣, 赵美芝. 土壤中积累态磷活化动力学的研究— I . 有机质的影响[J]. *土壤学报*, 2002, 39(3): 318–325. Shao Z C, Zhao M Z. Activation kinetics of accumulative phosphorus in soils. — I . The effects of organic matter[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(3): 318–325.
- [31] 赵小蓉, 林启美. 细菌解磷能力测定方法的研究[J]. *微生物学通报*, 2001, 28(1): 1–4. Zhao X R, Lin Q M. The methods for quantifying capacity of bacteria in dissolving P compounds[J]. *Microbiology*, 2001, 28(1): 1–4.
- [32] 吴瑕, 吴凤芝, 周新刚. 伴生分蘖洋葱对番茄矿质养分吸收及灰霉病发生的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(3): 734–742. Wu X, Wu F Z, Zhou X G. Effect of intercropping with tillered onion on mineral nutrient uptake and gray mold disease occurrence of tomato[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, 21(3): 734–742.
- [33] 焦晓光, 高崇升, 隋跃宇, 等. 不同有机质含量农田土壤微生物生态特征[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(18): 3759–3767. Jiao X G, Gao C S, Sui Y Y, *et al.* Research on soil microbial ecology under different soil organic matter levels in farmland[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(18): 3759–3767.
- [34] Van der Putten W H. Impacts of soil microbial communities on exotic plant invasions[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2010, 25: 512–519.
- [35] Ulrich K, Ulrich A, Ewald D. Diversity of endophytic bacterial communities in poplar grown under field conditions[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 63: 169–180.
- [36] He Y, Ding N, Shi J, *et al.* Profiling of microbial PLFAs: implications for interspecific interactions due to intercropping which increase phosphorus uptake in phosphorus limited acidic soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 625–634.
- [37] 郑晓媛, 赵莉, 许楠, 等. 桑树大豆间作地上部和地下部的种间作用研究[J]. *土壤*, 2011, 43(3): 493–497. Zheng X Y, Zhao L, Xu N, *et al.* Interspecific interaction of below-ground and above-ground indices in mulberry-soybean intercropping system[J]. *Soils*, 2011, 43(3): 493–497.