

# 绿肥间作与氮肥减施对砂姜黑土微生物的影响

李培培,黄柯铭,申凤敏,仝昊天,田志强,韩燕来

(河南农业大学 资源与环境学院,河南 郑州 450002)

**摘要:**为了探索砂姜黑土区夏玉米生产中适宜的减氮增效策略,研究氮肥减施措施下夏玉米与豆科绿肥间作对玉米产量、干物质积累及土壤微生物的影响,为选择合适的绿肥品种、改善土壤微生态环境及氮肥减施下保障夏玉米持续高产稳产提供理论支撑。在豫南砂姜黑土区进行间作试验,设置6个处理:不施肥(CK)、常规施肥(100% N)、氮肥减施30%(70% N)、氮肥减施30%+拉巴豆(70% N+LA)、氮肥减施30%+花豇豆(70% N+J)、氮肥减施30%+毛绿豆(70% N+LV),分析玉米籽粒产量、总干物质质量和土壤微生物量碳含量、氮含量,并用末端限制性片段长度多态性技术(T-RFLP)分析土壤细菌群落结构。结果表明,减氮配合3种绿肥间作,玉米籽粒产量并未减少,与70% N处理相比,70% N+LA和70% N+J处理显著提高地上总干物质质量( $P < 0.05$ );70% N+LA和70% N+J处理土壤微生物量碳含量均显著高于100% N和70% N( $P < 0.05$ );与100% N处理相比,绿肥间作处理70% N+LA和70% N+J降低土壤细菌 Shannon 指数,其中 *Hae* III 酶切条件下的70% N+LA和 *Msp* I 酶切条件下的70% N+J处理降低显著( $P < 0.05$ );主成分分析表明,与常规施肥相比,处理70% N+LA和70% N+J的土壤细菌群落结构都发生了明显改变。

**关键词:**绿肥间作;减氮;砂姜黑土;微生物量;细菌群落

中图分类号:S143.1;S551 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2020)04-0145-08

doi:10.7668/hbxb.20190912



## Effects of Intercropping Green Manure and Nitrogen Reduction on Microbial Community of Lime Concretion Black Soil

LI Peipei, HUANG Keming, SHEN Fengmin, TONG Haotian, TIAN Zhiqiang, HAN Yanlai

(College of Resource and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to explore the suitable techniques for reducing nitrogen input, increase efficiency improvement and improve soil microecology for summer maize production in lime concretion black soil, the effects of intercropping green manures on maize yield, dry matter accumulation, soil microbial biomass and microbial community of lime concretion black soil was examined under reduced nitrogen fertilizer input. A field experiment including 6 treatments: No fertilizer control (CK), normal nitrogen fertilizer (100% N), 30% nitrogen reduced (70% N), 30% nitrogen reduced plus *Dolichos lablab* intercropping (70% N + LA), 30% nitrogen reduced plus *Vigna unguiculata* intercropping (70% N + J) and 30% nitrogen reduced plus *Vigna radiata* intercropping (70% N + LV) was carried out in the South of Henan Province, a lime concretion black soil region. The maize grain yield, total dry matter mass and soil microbial biomass carbon and nitrogen content were analyzed. The dynamics of soil bacterial community structure was evaluated by Terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis. The results showed that nitrogen reduction plus 3 green manure can't significantly decreased maize grain yield above ground, and 70% N + LA and 70% N + J treatments significantly increased total dry matter mass compared to 70% N treatment. Significantly higher microbial carbon contents were observed in the 70% N + LA and 70% N + J treatments than that in the 100% N and 70% N treatments ( $P < 0.05$ ). Compared with 100% N treatment, nitrogen reduction plus green manure (70% N + LA and 70% N + J) decreased soil Shannon index, and significant decreases were de-

收稿日期:2020-05-25

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0301103;2018YFD02000606)

作者简介:李培培(1982-),女,河南开封人,副教授,博士,主要从事土壤培肥与微生物生态研究。

通讯作者:韩燕来(1967-),女,河南驻马店人,教授,博士,主要从事土壤养分循环研究。

tected in 70% N + LA treatment and 70% N + J treatments under restriction endonuclease of *Hae* III and *Msp* I, respectively. The principal component analysis indicated that 70% N + LA and 70% N + J treatments had higher similarity on bacterial community structure.

**Key words:** Green manure intercropping; Nitrogen reduction; Lime concretion black soil; Microbial biomass; Bacterial community

砂姜黑土区是黄淮海平原南部主要的小麦玉米生产基地,该地区自然条件优越,光热资源丰富。近年来,在种植业“化肥零增长”的大背景下,我国化肥的大量施用得到了一定程度的遏制,种植业化肥施用量在 2016 年首次实现了零增长,化肥减量工作取得重要进展<sup>[1]</sup>。研究表明,在砂姜黑土区,长期单纯减施氮肥具有一定的减产风险<sup>[2]</sup>,需要配套相应的氮肥减施增效技术,当前对不同农业生态区适宜的减氮增效及优化施肥方案尚不完善,将不利于现代化农业的可持续性发展。

粮肥间作是适合砂姜黑土地区复种指数提高条件下培肥土壤的土地利用方式<sup>[3]</sup>。绿肥与作物间作能有效改善土壤理化性状,增加作物的产量<sup>[4-6]</sup>,应用潜力巨大。北方普遍实施的间作模式是玉米和豆科作物间作,间作形成的作物复合群体可增加对阳光的截取与吸收,减少光能的浪费;同时,绿肥间作套种还可产生互补作用,但套种时不同作物之间也常存在着对阳光、水分和养分的激烈竞争。尽管前人针对不同生态区粮肥间作的增益效果有大量报道<sup>[4-8]</sup>,但在减氮措施下,不同的豆科绿肥与玉米间作的效果尚缺乏充分的研究。本研究在氮肥减施的条件下,筛选传统豆科绿肥:当地品种花豇豆(*Vigna unguiculata*)、毛绿豆(*Vigna radiata*)和引进牧草拉巴豆(*Dolichos lablab*, 高产牧草),对其与玉米间作的作物产量,地上干物质收获量进行比较研究。砂姜黑土区推广粮肥间作模式,减氮增效,实现作物稳产、减氮和培肥土壤具有重要意义。

土壤微生物在土壤养分周转及肥力形成过程中扮演重要角色,其数量、多样性及群落结构是土壤肥力评价的主要指标之一<sup>[9]</sup>。绿肥间作能显著提高土壤养分利用效率<sup>[6,8]</sup>和土壤微生物量,影响微生物群落结构和土壤酶活性<sup>[10]</sup>。而减氮降低土壤氮素养分输入,长期减氮将影响土壤氮素营养的积累,进而减少土壤微生物数量和酶活性<sup>[11]</sup>。减氮措施下,夏玉米生产中增加绿肥间作对土壤微生物的影响如何也是本研究重点探讨的问题,为此,在光热资源较丰富的砂姜黑土区对 3 种豆科绿肥与玉米间作产生的土壤微生物生态效应进行研究,旨在深入探讨绿肥间作对土壤微生物量碳、氮及微生物特征的

影响,为砂姜黑土区减氮增效、土壤培肥和农田可持续利用模式提供研究基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验地概况

试验点设在河南省驻马店市西平县师灵镇白庙村,位于河南省南部,大陆性季风型湿润气候,四季分明,年平均气温 14.8 °C,年平均降雨量 852 mm。农田土壤为典型砂姜黑土,试验田经多年培肥地力均匀,冬小麦-夏玉米轮作是该地区长期的种植制度,供试土壤 pH 值 6.22,有机质含量 10.81 g/kg,全氮含量 1.26 g/kg,有效磷含量 14.91 mg/kg,速效钾含量 171.6 mg/kg。

### 1.2 试验设计与样品采集

试验于 2018 年 6-10 月的玉米季进行,共设置 6 个处理,分别为不施肥(CK)、常规施肥(100% N)、氮肥减施 30%(70% N)、氮肥减施 30% + 拉巴豆(*Dolichos lablab*)(70% N + LA)、氮肥减施 30% + 花豇豆(*Vigna unguiculata*)(70% N + J)、氮肥减施 30% + 毛绿豆(*Vigna radiata*)(70% N + LV)。每个处理 3 次重复,完全随机排列,小区面积 20 m<sup>2</sup>,共 18 个小区,周围设有 1 m 的保护行。玉米种植模式为宽窄行种植,宽 90 cm、窄 48 cm,宽行内播种绿肥。玉米和豆科绿肥的播种期为 2018 年 6 月 7 日,玉米定植日期为 2018 年 6 月 18 日,收获日期为 9 月 29 日。其中,100% N 处理施肥量为 N 210 kg/hm<sup>2</sup>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 和 K<sub>2</sub>O 均为 90 kg/hm<sup>2</sup>,分别于 2018 年 7 月 5 日、7 月 29 日开沟施入苗肥,追施尿素,追肥在玉米窄行内进行,比例为 6:4,70% N 处理主要在追肥时期减施。试验田块的其他水肥、植保等田间管理措施均按照当地高产夏玉米生产技术规程进行。

土样的采集:采用 S 形取样法采取 0~20 cm 耕层土壤样品,每小区随机采集 5 钻土样装于无菌自封袋中作待测样品,密封保存带回实验室进行后期处理,土壤采集在玉米收获前 7 d 进行。

植株样品采集:在玉米收获期每个小区随机取 8 株完整玉米植株,从地上茎基部切断,地上部烘干称质量,计算干物质质量;随机选择 2 行玉米采集果穗,干燥后脱粒称质量计算籽粒产量。绿肥地上部植株收获

2 行,称质量后记录,准确称取 1.0 kg 带回实验室测定含水量,折算单位面积的绿肥干物质质量。

### 1.3 土壤样品分析方法

1.3.1 土壤样品的采集 采集新鲜土壤样品保存在 4 ℃ 条件下,14 d 内进行微生物量的测定。微生物量碳、氮含量的测定采用氯仿熏蒸浸提法:土壤经氯仿熏蒸,杀死微生物,致使细胞破解后可溶性的碳氮浸提出来,通过计算熏蒸前后浸提液中碳、氮的增量,表征土壤微生物量碳、氮含量<sup>[12]</sup>。

1.3.2 土壤微生物总 DNA 的提取 采用 MoBio PowerSoil Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA, USA) 的试剂盒提取,操作步骤按试剂盒上的说明进行。用核酸检测仪检测含量和纯度后于 -20 ℃ 保存待用,使用时 DNA 稀释到 10 ng/μL 用于后续 PCR 扩增。

1.3.3 末端限制性片段长度多态性分析 (T-RFLP) PCR 扩增:采用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') 扩增细菌 16S rDNA 片段,其中正向引物 5' 端用 6-FAM 进行荧光标记。扩增体系 (25 μL):12.5 μL 2 × Taq Master Mix,2 μL DNA 模板,上下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 补足至 25 μL。PCR 运行程序:细菌为 94 ℃ 30 s 预变性;94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min 30 s,共 26 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。获取的 PCR 产物用 1% 的琼脂糖电泳检测片段大小和单一性,冷冻避光保存用于后续酶切分析。

酶切:PCR 产物纯化后,分别用限制性内切酶 *Hae* III 和 *Msp* I 对纯化后的 1 500 bp 左右的细菌 PCR 产物进行酶切,酶切体系均为 25 μL。反应条件:1 μL 内切酶,2 μL 10 × Buffer,10 μL PCR 产物, dd H<sub>2</sub>O 补齐至 25 μL,将体系混匀后,37 ℃ 消化 4 h,然后,在 95 ℃ 条件下水浴 15 min,使限制性内切酶失活,终止酶切反应。酶切产物片段在

ABI3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) 上进行测定。

### 1.4 数据分析

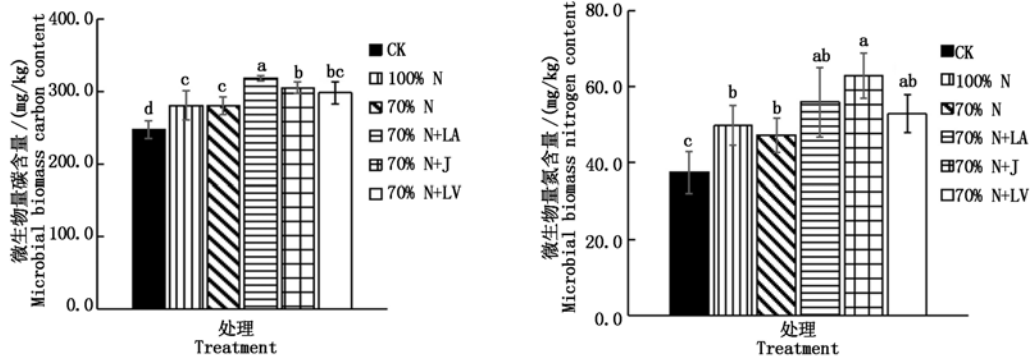
所得试验数据采用 Microsoft Excel 2016 软件进行作表、作图,不同处理之间的差异显著性用单因素方差分析进行计算。FRFs 片段相对的丰度使用 GeneMarkerV2.2 (ABI, USA) 软件进行处理,分析电泳图谱中各峰的片段长度和峰面积,每个样品中低于最高峰高值 2% 的峰从后续分析中剔除,片段长度差异小于等于 1 bp 的 2 个峰作为 1 个峰进行分析。依据图谱中 T-RFs 的数目及其相对丰度进多样性指数 (Shannon 指数、Pielou 均匀度和 Simpson 指数) 的计算,计算方法参考文献<sup>[13]</sup> 进行。所有统计分析使用 SPSS 19.0 软件 (IBM Co, Armonk, NY, USA) 实现,  $P < 0.05$  被认为具有显著性差异。使用 R 语言中的 vegan 数据包对基于不同 T-RFs 相对丰度的细菌群落结构的关系进行主成分分析 (PCA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 绿肥间作和减氮处理对土壤微生物量碳、氮含量的影响

各处理土壤微生物量碳含量在 247.3 ~ 318.5 mg/kg (图 1),绿肥间作减氮处理高于 CK 和 100% N 处理,其中,70% N + LA 处理最高,70% N + J 处理次之,二者显著高于 100% N 处理,而 70% N + LV 处理的微生物量碳含量与 100% N 处理之间无显著差异。减氮措施分别配合拉巴豆和豇豆间作均能有效提高砂姜黑土微生物量碳含量。

微生物量氮含量以 70% N + J 处理最高,为 62.9 mg/kg,显著高于 100% N 处理 (49.8 mg/kg) 和 70% N 处理 (47.3 mg/kg),70% N + LA、70% N + LV 处理微生物量氮含量分别为 56.8、52.7 mg/kg,与上述两处理无显著差异。



不同小写字母表示不同处理间差异显著性 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ( $P < 0.05$ ).

图 1 绿肥间作与减氮处理对土壤微生物量碳、氮含量的影响

Fig. 1 Effects of green manure intercropping and nitrogen reduction on soil microbial biomass carbon and nitrogen content

## 2.2 绿肥间作和减氮处理对玉米、绿肥产量和地上部干物质积累量的影响

与 100% N 处理相比,绿肥间作和减氮处理没有显著提高或降低玉米籽粒产量(表 1),其中,100% N 和 70% N + J 处理产量最高,分别达到 7 918.1,7 905.3 kg/hm<sup>2</sup>,相应的其玉米地上部干物质质量也最高,分别为 17 927.6,16 978.9 kg/hm<sup>2</sup>,二者无显著差异,与 70% N + LV 处理无显著差异,其中,100% N 处理玉米地上部干物质质量显著高于 70% N + LA。拉巴豆的生物量较大,尤其在后期使玉米田间郁闭,和玉米争夺光热资源严重,而豇豆生

物量相对较小、毛绿豆最小,对玉米光热的竞争较小,因此,70% N + LA 处理较 100% N 处理玉米地上部干物质质量显著降低。

70% N + LA 处理绿肥干物质质量最高达到 3 293.3 kg/hm<sup>2</sup>,其次是 70% N + J 处理,绿肥干物质质量为 1 427.4 kg/hm<sup>2</sup>,70% N + LV 绿肥干物质质量最小,为 1 003.8 kg/hm<sup>2</sup>,3 个处理之间差异显著。尽管玉米地上部干物质质量 100% N 处理最高,但是总干物质质量以 70% N + LA、70% N + J 处理最高,显著高于 70% N 处理,与 100% N 处理无显著差异。

表 1 不同处理的玉米、绿肥产量及地上部干物质质量

Tab.1 Maize and green manure yield and dry matter mass above ground under different treatments kg/hm<sup>2</sup>

处理 Treatment	玉米籽粒产量 Maize grain yield	玉米地上部干物质质量 Maize dry matter mass above ground	绿肥干物质质量 Green manure dry matter mass	总干物质质量 Total dry matter mass
CK	7 421.2 ± 182.5b	14 783.9 ± 1 223c	0	14 783.9 ± 1 223c
100% N	7 918.1 ± 223.7a	17 927.6 ± 1 424a	0	17 927.6 ± 1 424ab
70% N	7 534.1 ± 354.5a	16 618.4 ± 1 558ab	0	16 618.4 ± 1 558b
70% N + LA	7 645.8 ± 432.7a	15 243.6 ± 1 458b	3 293.3 ± 439.2a	18 536.9 ± 1 897a
70% N + J	7 905.3 ± 225.3a	16 978.9 ± 1 429ab	1 427.4 ± 160.5b	18 406.3 ± 1 589a
70% N + LV	7 632.2 ± 244.2a	16 393.8 ± 792ab	1 003.8 ± 153.6c	17 397.6 ± 945ab

注:同列不同小写字母分别表示不同处理间差异显著(P < 0.05)。表 2 同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate the difference between different treatments (P < 0.05). The same as Tab. 2.

## 2.3 细菌群落结构的 T-RFLP 分析

选择代表性处理 CK、100% N 和 2 个绿肥间作处理(70% N + LA 和 70% N + J),对其土壤样品 DNA 中的细菌 16S rDNA 扩增基因片段进行 *Msp* I、*Hae* III 的酶切分析,分别获得 31,33 个特异的 RFs 片段,分别挑出 10 个优势片段对其 T-RFLP 结果进行分析,见图 2。*Msp* I 酶切获得的 10 个优势 T-RFs 片段长度分别为 69,137,148,400,423,433,436,483,486,491 bp,在各个处理中都能检测到,各处理相对丰度存在差别,其中优势片段 69 bp 占到总片段的 8.6% ~ 17.2%,优势片段 400 bp 占比 3.6% ~

9.2%,2 个片段在处理 70% N + LA 和 70% N + J 比例均增加,而 483 bp 在处理 70% N + LA 和 70% N + J 中比例均下降。*Hae* III 酶切获得的 10 个优势片段,包括 60,69,131,194,213,216,218,227,260,291 bp,在 70% N + LA 和 70% N + J 处理中,没有检测到 260 bp,而在 CK 和 100% N 处理中,260 bp 相对丰度在 5.5% ~ 6.8%。69,291 bp 在各处理相对丰度分别在 14.1% ~ 30.6% 和 11.6% ~ 30.4%,其中 70% N + LA 和 70% N + J 处理的相对丰度比 CK 和 100% N 处理均增加。216 bp 的相对丰度在 7.9% ~ 22.3%,绿肥间作处理的相对丰度均明显降低。

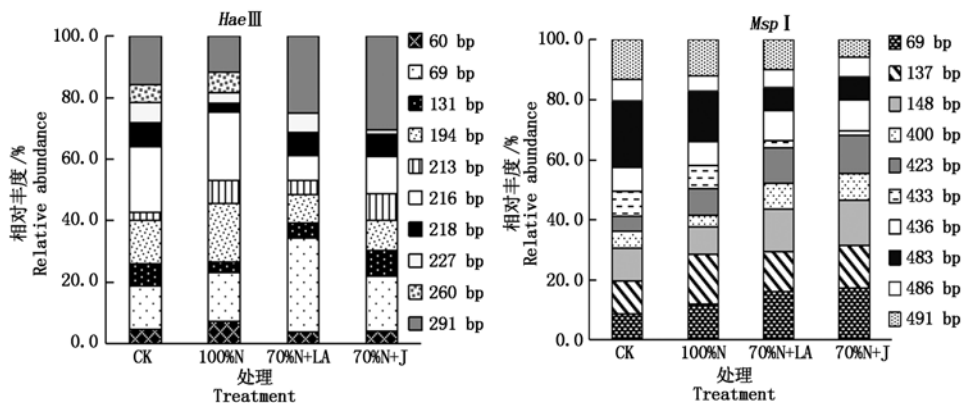


图 2 基于 *Hae* III 和 *Msp* I 酶切的细菌 T-RFs 相对丰度

Fig.2 Relative abundance of bacterial T-RFs based on restriction endonuclease of *Hae* III and *Msp* I

## 2.4 基于酶切的细菌群落结构多样性分析

不同处理砂姜黑土中基于细菌 T-RFs 片段的 Shannon 指数、Pielou 均匀度指数和 Simpson 指数见表 2。2 种酶切 70% N + LA 和 70% N + J 处理均降低了细菌 Shannon 指数和 Pielou 均匀度指数,说明减氮间作绿肥处理 Shannon 多样性指数和 Pielou 均

匀度指数均呈现下降趋势。Simpson 指数在用 *Hae* III 酶切条件下,与其他处理相比,70% N + LA、70% N + J 处理是增加的,其中,70% N + LA 处理显著增加,用 *Msp* I 酶切处理下,70% N + LA、70% N + J 处理的 Simpson 指数是降低的,显著低于 100% N 处理。

表 2 不同处理土壤细菌多样性指数

Tab.2 Diversity indexes of bacterial communities under different treatments

处理 Treatments	Shannon 指数 Shannon index		Pielou 均匀度指数 Pielou index		Simpson 指数 Simpson index	
	<i>Hae</i> III	<i>Msp</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Msp</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Msp</i> I
CK	2.89 ± 0.25a	3.10 ± 0.16a	0.63 ± 0.05a	0.67 ± 0.04a	0.88 ± 0.02b	0.89 ± 0.02ab
100% N	2.79 ± 0.40a	3.13 ± 0.14a	0.61 ± 0.08a	0.68 ± 0.03a	0.89 ± 0.02b	0.92 ± 0.01a
70% N + LA	2.17 ± 0.28b	3.05 ± 0.15ab	0.47 ± 0.06b	0.66 ± 0.03a	0.91 ± 0.006a	0.88 ± 0.01b
70% N + J	2.60 ± 0.22ab	2.99 ± 0.02b	0.56 ± 0.04a	0.64 ± 0.01a	0.90 ± 0.02ab	0.87 ± 0.00b

## 2.5 细菌群落主成分分析

不同处理间微生物群落结构组成有很大差别。通过主成分分析(图 3)发现,基于 *Hae* III 酶切的 RFs 分析前 2 个主成分的解释度达到了 84.1%,其中第一主成分和第二主成分的解释度分别为 53.9% 和 30.2%。70% N + LA 和 70% N + J 处理的样品与

CK 和 100% N 分开,表现较大的群落组成差异,70% N + LA 和 70% N + J 处理间相似度高;基于 *Msp* I 酶切的 T-RFs 分析,第一主成分和第二主成分的贡献值分别为 42.8% 和 31.2%,累计解释量达到 74.0%,70% N + LA 和 70% N + J 处理相似度高,与 100% N 和 CK 分开。

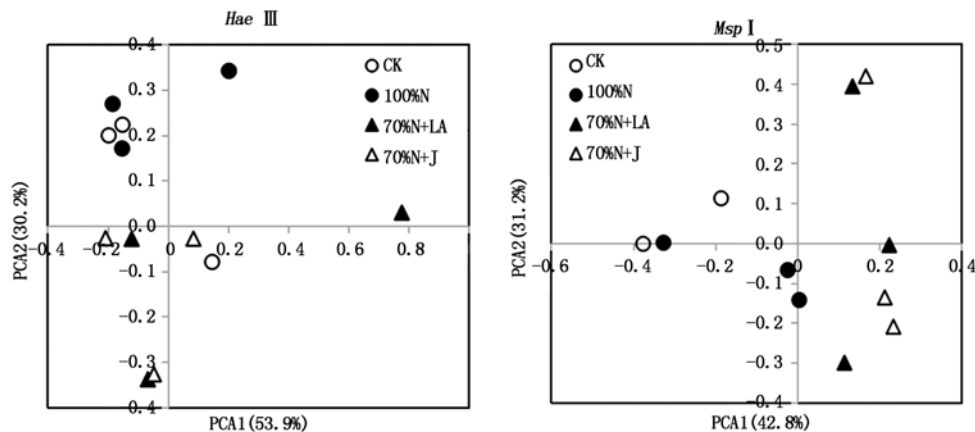


图 3 不同处理土壤细菌群落结构的主成分分析

Fig.3 The principal component analysis of soil bacterial community structure under different treatments

## 3 结论与讨论

豆科与禾本科间作体系具有间种优势,二者的相互作用在间作产量优势中起重要作用<sup>[12]</sup>。绿肥与化肥能显著改善土壤理化性质、提高作物产量<sup>[5,14-16]</sup>,本研究结果与前人研究类似,70% N + LA、70% N + J 处理显著提高了土壤微生物量碳、氮的含量。在玉米生产上,与豆科绿肥间作取得较好的经济效益,在河西绿洲灌区进行玉米种植时,间作收获籽粒为主的针叶豌豆能减少 10% 的化学氮肥用量<sup>[4]</sup>。以玉米和紫花苜蓿间作系统的研究表明,减氮均不同程度地造成了玉米减产,但随着间作时间的延长,减氮所造成的减产幅度逐渐降低,到试验

第 3 年单位面积纯收益均高于对照<sup>[5]</sup>。本研究中,70% N 条件下的 4 个处理玉米减产并不显著,本研究选用的 70% N + LA、70% N + J 和 70% N + LV 处理没有显著降低玉米籽粒产量,前 2 种绿肥间作取得了较高的地上部总干物质质量,能增加经济效益。拉巴豆是一种国外引种的高产量豆科牧草,其与青贮玉米间作或混播显著提高地上干草产量<sup>[17]</sup>,但对于收获籽粒为主的玉米间作,因其后期生物量过大,造成田间郁闭,虫害严重,玉米籽粒产量较低。本研究中,玉米间作的绿肥品种毛绿豆因其生物量过小,地上干物质积累不够,对比来看,3 种豆科绿肥以花豇豆最佳。

研究表明,绿肥间作能显著影响土壤微生物数

量和群落结构<sup>[15,18-19]</sup>,间作之所以能提高作物产量和土壤微生物群落功能的关系密切<sup>[15]</sup>。本研究中,减氮条件下豆科绿肥拉巴豆或豇豆和玉米间作产生的互作效应均使土壤微生物量碳增加,但在一定程度降低了 Shannon 指数和 Pielou 均匀度指数。有研究者认为,豆科作物会向根际产生和分泌大量有机酸类物质,提高难溶营养物质的溶解度<sup>[20]</sup>,进而影响微生物量和群落<sup>[21]</sup>,豆科绿肥间作或混播还能有效改善土壤的通气状况,也是造成微生物群落结构变化的原因之一<sup>[22-23]</sup>。因此,间作有降低土壤细菌丰富度和多样性指数的趋势<sup>[23-24]</sup>。有学者认为,小麦和蚕豆间作与小麦单作相比,土壤细菌多样性并无显著的降低或增加<sup>[25]</sup>,另有其他研究认为,间作对土壤微生物多样性指数是增加的<sup>[26-27]</sup>,可见间套作对于土壤微生物多样性变化的研究结果并不一致。采土方式、套种间距和间作套种植物的差异可能是产生不同结论的原因。根系分泌物对根际微生物群落结构具有选择塑造作用,不同植物的根际某些微生物群落适应性强,具有独特性与代表性,此外,研究者还普遍认为,根际土壤中微生物量远高于非根际土壤,但根际土壤微生物的多样性一般小于非根际土壤<sup>[28-29]</sup>。本研究间作绿肥处理之所以降低了细菌群落 Shannon 指数,可能和采土方式和采样时期有一定关系,本研究在植物生育后期采耕层样品,根系在耕层土壤分布发达,玉米行间套种豆科植株增加了耕层土壤根系的分布数量和密度,对细菌群落的选择作用较大。本研究仅基于一季大田试验,在未来的研究中将继续进行大田试验,通过对玉米或豆科绿肥的根际和非根际的土壤区分,采样高通量测序等现代分子生物学技术深入认识不同区域微生物结构与功能。

综上,70% N + LA、70% N + J 处理与 70% N 相比,能显著提高总干物质质量,对玉米籽粒产量无减产影响,能显著提高砂姜黑土微生物量碳含量,70% N + LA 和 70% N + J 处理土壤微生物量碳含量均显著高于 100% N 和 70% N;与 100% N 处理相比,70% N + LA 和 70% N + J 处理减小 Shannon 指数,影响细菌群落结构,其中 *Hae* III 酶切条件下的 70% N + LA 和 *Msp* I 酶切条件下的 70% N + J 处理降低显著。

因此,在华北小麦、玉米轮作体系的该类型土壤上,绿肥与夏玉米间作是有效的减氮增效推荐措施,综合生长状况和土壤生态效益最佳的间作绿肥品种为花豇豆。但本研究仅关注微生物群落变化,缺乏对特定微生物种群的认识,在进一步的研究中需要增加间作试验年限,深入挖掘相关功能微生物。

### 参考文献:

- [1] 徐洋,杨帆,张卫峰,孟远夺,姜义. 2014-2016 年我国种植业化肥施用状况及问题[J]. 植物营养与肥料学报,2019,25(1):11-21. doi: 10.11674/zwyf.18073.  
Xu Y, Yang F, Zhang W F, Meng Y D, Jiang Y. Status and problems of chemical fertilizer application in crop plantations of China from 2014 to 2016 [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(1): 11-21.
- [2] 孙克刚,杨焕焕,张琨,和爱玲,杜君. 夏玉米作物上一次性施用控施肥料节肥增效技术研究[J]. 河南科学,2017,35(6):914-917. doi:10.3969/j.issn.1004-3918.2017.06.014.  
Sun K G, Yang H H, Zhang K, He A L, Dun J. Study on single basal fertilization of controlled release urea in summer maize [J]. *Henan Science*, 2017, 35(6): 914-917.
- [3] 陈清硕. 砂姜黑土地区粮肥间作中绿肥的肥效及其作用[J]. 土壤通报,1980(5):30-31. doi:10.19336/j.cnki.trtb.1980.05.012.  
Chen Q S. The effect and function of green manure in intercropping of grain and fertilizer in Shajiang Black Soil Area [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1980(5): 30-31.
- [4] 卢秉林,包兴国,张久东,杨新强,杨文玉,李全福,曹卫东. 间作绿肥饲草与减施氮肥对河西绿洲灌区玉米产量和土壤肥力的影响[J]. 干旱地区农业研究,2015,33(2):170-175. doi: 10.16302/j.cnki.1000-7601.2015.02.028.  
Lu B L, Bao X G, Zhang J D, Yang X Q, Yang W Y, Li Q F, Cao W D. Effects of intercropping green manure forages and nitrogen-reduction on corn yield and soil fertility in Hexi Oasis Irrigation [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2015, 33(2): 170-175.
- [5] 刘忠宽,曹卫东,秦文利,智健飞,刘振宇. 玉米-紫花苜蓿间作模式与效应研究[J]. 草业学报,2009,18(6):158-163. doi: 10.3321/j.issn:1004-5759.2009.06.021.  
Liu Z K, Cao W D, Qin W L, Zhi J F, Liu Z Y. A study on the pattern and effect of *Zea mays* intercropping with *Medicago sativa* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2009, 18(6): 158-163.
- [6] Miyazawa K, Murakami T, Takeda M, Murayama T. Intercropping green manure crops: Effects on rooting patterns [J]. *Plant and Soil*, 2010, 331(1-2): 231-239. doi: 10.1007/s11104-009-0248-y.
- [7] 张久东,包兴国,曹卫东,车宗贤,胡志桥,卢秉林. 间作绿肥作物对玉米产量和土壤肥力的影响[J]. 中国土壤与肥料,2013(4):43-47. doi:10.11838/sfsc.20130410.  
Zhang J D, Bao X G, Cao W D, Che Z X, Hu Z Q, Lu B L. Effect of intercropping green manure crops on maize yield and soil fertility [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2013(4): 43-47.
- [8] 李隆,李晓林,张福锁. 小麦大豆间作条件下作物养分吸收利用对间作优势的贡献[J]. 植物营养与肥料学报,2000,6(2):140-146. doi:10.3321/j.issn:1008-505X.2000.02.003.  
Li L, Li X L, Zhang F S. Uptake and utilization of nitrogen, phosphorus and potassium as related to yield advantage in wheat/soybean intercropping [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2000, 6(2): 140-146.

- [9] 王慧颖, 徐明岗, 马想, 段英华. 长期施肥下我国农田土壤微生物及氨氧化菌研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2018(2): 1-12. doi:10.11838/sfsc.20180201.  
Wang H Y, Xu M G, Ma X, Duan Y H. Research advances of microorganism and ammonia oxidizing bacteria under long-term fertilization in Chinese typical cropland [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2018 (2): 1-12.
- [10] Tang X Y, Bernard L, Brauman A, Daufresne T, Deleporte P, Desclaux D, Souche G, Placella S A, Hinsinger P. Increase in microbial biomass and phosphorus availability in the rhizosphere of intercropped cereal and legumes under field conditions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75(4): 86-93. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.001.
- [11] 王兴龙, 朱敏, 杨帆, 豆攀, 张嘉莉, 马晓君, 袁继超, 孔凡磊. 配施有机肥减氮对川中丘区土壤微生物量与酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(3): 271-276. doi: 10.13870/j.cnki.stbxb.2017.03.045.  
Wang X L, Zhu M, Yang F, Dou P, Zhang J L, Ma X J, Yuan J C, Kong F L. Effects of reducing nitrogen and applying organic fertilizers on soil microbial biomass carbon and enzyme activity in the hilly area of central Sichuan Basin[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2017, 31(3): 271-276.
- [12] 林启美, 吴玉光, 刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物量碳的改进[J]. 生态学杂志, 1999, 18(2): 63-66. doi:10.13292/j.1000-4890.1999.0029.  
Lin Q M, Wu Y G, Liu H L. Modification of fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1999, 18(2): 63-66.
- [13] 尹承苗, 王功帅, 李园园, 陈学森, 吴树敬, 毛志泉. 连作苹果园土壤真菌的 T-RFLP 分析[J]. 生态学报, 2014, 34(4): 837-846. doi:10.5846/stxb201306241765.  
Yin C M, Wang G S, Li Y Y, Chen X S, Wu S J, Mao Z Q. Assessment of fungal diversity in apple replanted orchard soils by T-RFLP analysis[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(4): 837-846.
- [14] 张德, 龙会英, 金杰, 樊博, 赵秀梅, 韩学琴. 豆科与禾本科牧草间作的生长互作效应及对氮、磷养分吸收的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(10): 15-22. doi: 10.11686/cyxb2017475.  
Zhang D, Long H Y, Jin J, Fan B, Zhao X M, Han X Q. Effects of growth interaction effect of Leguminous and Gramineous pasture intercropping and absorption of nutrient and phosphorus on pasture expression [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(10): 15-22.
- [15] 万水霞, 朱宏斌, 唐杉, 郭熙盛, 王允青. 紫云英与化肥配施对安徽沿江双季稻区土壤生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(2): 387-395. doi:10.11674/zwyf.2015.0213.  
Wan S X, Zhu H B, Tang S, Guo X S, Wang Y Q. Effects of *Astragalus sinicus* manure and fertilizer combined application on biological properties of soil in Anhui double cropping rice areas along the Yangtze River [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2015, 21(2): 387-395.
- [16] Mucheru-muna M, Pypers P, Mugendi D, Kung'u J, Mugwe J, Merckx R, Vanlauwe B. A staggered maize-legume intercrop arrangement robustly increases crop yields and economic returns in the highlands of Central Kenya[J]. *Field Crops Research*, 2010, 115(2): 132-139. doi: 10.1016/j.fcr.2009.10.013.
- [17] 柳茜, 傅平, 苏茂, 刘晓波, 何春, 孙启忠. 青贮玉米与拉巴豆混播生产性能研究[J]. 草业与畜牧, 2015(5): 22-24. doi:10.3969/j.issn.1673-8403.2015.05.006.  
Liu Q, Fu P, Su M, Liu X B, He C, Sun Q Z. A study on the production performance of silage maize mixed with faba bean[J]. *Prataculture & Animal Husbandry*, 2015(5): 22-24.
- [18] 马琨, 杨桂丽, 马玲, 汪春明, 魏常慧, 代晓华, 何文寿. 间作栽培对连作马铃薯根际土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(10): 2987-2995. doi: 10.5846/stxb201412072425.  
Ma K, Yang G L, Ma L, Wang C M, Wei C H, Dai X H, He W S. Effects of intercropping on soil microbial communities after long-term potato monoculture [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(10): 2987-2995.
- [19] Wahbi S, Prin Y, Thioulouse J, Sanguin H, Baudoin E, Maghraoui T, Oufdou K, Le Roux C, Galiana A, Hafidi M, Duponnois R. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1364. doi: 10.3389/fpls.2016.01364.
- [20] 赵文杰, 张丽静, 畅倩, 张聪颖, 熊忠宽. 低磷胁迫下豆科植物有机酸分泌研究进展[J]. 草业科学, 2011, 28(6): 1207-1213.  
Zhao W J, Zhang L J, Chang Q, Zhang C Y, Xiong Z K. The research progress of organic acids metabolism in leguminous plant under phosphorus deficiency [J]. *Pratacultural Science*, 2011, 28(6): 1207-1213.
- [21] Tang X Y, Placella S A, Daydé F, Bernard L, Robin A, Jourmet E P, Justes E, Hinsinger P. Phosphorus availability and microbial community in the rhizosphere of intercropped cereal and legume along a P-fertilizer gradient [J]. *Plant and Soil*, 2016, 407(10): 119-134. doi: 10.1007/s11104-016-2949-3.
- [22] 黄国勤, 周丽华, 杨滨娟, 王淑彬, 赵其国. 红壤旱地不同复种方式养地效果[J]. 生态学报, 2014, 34(18): 5191-5199. doi:10.5846/stxb201405100947.  
Huang G Q, Zhou L H, Yang B J, Wang S B, Zhao Q G. Improving soil fertility with different multiple cropping patterns in upland red soil [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(18): 5191-5199.
- [23] 周泉, 张小短, 马淑敏, 邢毅, 陈娇, 石超, 王龙昌. 间作绿肥对油菜根际土壤碳氮及根际微生物的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(23): 7965-7971. doi:10.5846/stxb201610072007.  
Zhou Q, Zhang X D, Ma S M, Xing Y, Chen J, Shi C, Wang L C. Effects of intercropping green manure on soil carbon, nitrogen and soil microbial in rapeseed rhizosphere [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(23): 7965-7971.
- [24] 张东艳, 王军, 杨水平, 张雪, 刘京, 赵建, 何大敏, 杨红军, 莫静静, 苟剑渝, 赵新梅, 蒋卫, 丁伟, 陈大霞. 玄参与烟草间作对土壤细菌群落结构的影响[J]. 草业学报, 2017, 26(6): 120-130. doi: 10.11686/cyxb2016507.  
Zhang D Y, Wang J, Yang S P, Zhang X, Liu J, Zhao J,

- He D M, Yang H J, Mo J J, Gou J Y, Zhao X M, Jiang W, Ding W, Chen D X. Influence of *Scrophularia ningpoensis*-tobacco intercropping on bacterial community structure in soil[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(6): 120 - 130.
- [25] Granzow S, Kaiser K, Wemheuer B, Pfeiffer B, Daniel R, Vidal S, Wemheuer F. The effects of cropping regimes on fungal and bacterial communities of wheat and faba bean in a greenhouse pot experiment differ between plant species and compartment[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 5(8): 902. doi:10.3389/fmicb.2017.00902.
- [26] 许建晶, 罗珠珠, 陈英. 坡耕地土壤微生物功能多样性对间作体系的响应[J]. *草业科学*, 2019, 36(2): 314 - 323.
- Xu J J, Luo Z Z, Chen Y. Response of soil microbial functional diversity to an intercropping system on slope land in the Loess Plateau[J]. *Pratacultural Science*, 2019, 36(2): 314 - 323.
- [27] 秦立金, 徐峰, 刘永胜, 王学敏, 李全, 云兴福. 黄瓜与西芹间作土壤细菌多样性及其对黄瓜枯萎病发生的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2018, 26(8): 1180 - 1189. doi:10.13930/j.cnki.cjca.180097.
- Qin L J, Xu F, Liu Y S, Wang X M, Li Q, Yun X F. Analysis of soil bacterial diversity under cucumber-celery intercropping and its influence on cucumber *Fusarium* wilt[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2018, 26(8): 1180 - 1189.
- [28] Fan K K, Weisenhorn P, Gilbert J A, Chu H Y. Wheat rhizosphere harbors a less complex and more stable microbial co-occurrence pattern than bulk soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125(7): 251 - 260. doi:10.1016/j.soilbio.2018.07.022.
- [29] Fan K K, Cardona C, Li Y T, Shi Y, Xiang X J, Shen C C, Wang H F, Jack G A, Chu H Y. Rhizosphere-associated bacterial network structure and spatial distribution differ significantly from bulk soil in wheat crop fields[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 113(6): 275 - 284. doi:10.1016/j.soilbio.2017.06.020.

## 《华北农学报》2020 年征订启事

《华北农学报》1962 年创刊,由河北、北京、天津、河南、山西、内蒙古六省市农科院、农学会联合主办,为全国首家跨省、市、区多单位联办的农业学术刊物。本刊立足华北,面向全国和全世界。栏目设置为作物遗传育种·种质资源·生物技术、耕作栽培·生理生化、资源环境·植物保护、畜牧·兽医,主要刊载农业基础学科的创新性研究论文、专论、综述、研究简报等,旨在报道农业学术动态,推进农业科技进步。服务对象为农业高等院校师生和农业科研机构研究人员。

《华北农学报》为中国科学引文数据库核心期刊(CSCD 核心库)、中文核心期刊、中国科技核心期刊、RCCSE 中国核心学术期刊和中国农业核心期刊,多次荣获国家级及省级奖励,2011、2017 年两次入选“中国精品科技期刊”,为我国有影响力的农业学术刊物。

《华北农学报》国内外公开发刊,国内统一刊号:CN13-1101/S,国际刊号 ISSN 1000-7091。双月刊,双月 28 日出版,国际标准大 16 开本,240 页,每期定价 12 元,全年 72.00 元。邮发代号:18-10,国外发行代号:5918。全国各地邮局均可订阅。可随时汇款到编辑部订阅,请注明刊名、份数、姓名、地址、邮编及电话。

**欢迎订阅、欢迎投稿。**

通信地址:石家庄市和平西路 598 号《华北农学报》编辑部

邮编:050051

电话:0311-87652166

E-mail:hbnxb@163.com

网址:http://www.hbnxb.net/



《华北农学报》官网



微信公众号