

大豆玉米间作提高红壤团聚体中真菌群落结构和多样性

杨继芬, 李永梅, 李春培, 芦 美, 赵吉霞*

(云南农业大学资源与环境学院, 云南昆明 650201)

摘要:【目的】研究间作条件下不同粒径团聚体中真菌群落结构和多样性变化,从微生物学角度探究间作优势的机理。【方法】长期定位试验位于云南农业大学试验基地,始于2013年。供试玉米品种为乔单6号,大豆品种为滇豆7号,共设置4个处理:大豆玉米间作(MD)、玉米单作(MM)、大豆单作(DD)、裸地(CK)。在2021年8月玉米抽雄期,采集0–20 cm土壤样品,利用湿筛法筛分出2~1 mm、1~0.25 mm、<0.25 mm 3个粒径团聚体,测定各粒径团聚体含量和平均质量直径(MWD),分析各粒径团聚体中有机碳、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾的含量。采用高通量测序法,测定3个粒径团聚体中的真菌群落结构特征。【结果】与CK、DD、MM处理相比,MD处理显著提高了2~1 mm团聚体的含量及MWD,显著提高了2~1 mm团聚体中有机碳含量及1~0.25 mm、<0.25 mm团聚体中碱解氮含量。MD处理提高了2~1 mm和1~0.25 mm团聚体中真菌群落的Chao1指数和OTU数。在2~1 mm和1~0.25 mm团聚体中,MD处理的担子菌门(Basidiomycota)相对丰度较DD分别提高了85.7%和133.3%,较MM处理分别提高了194.1%和69.7%;壶菌门(Chytridiomycota)相对丰度较MM处理分别提高了20.0%和333.3%。MD处理2~1 mm、1~0.25 mm和<0.25 mm团聚体中毛壳菌属(*Chaetomium*)相对丰度较MM处理分别提高了68.7%、80.0%和53.2%;2~1 mm团聚体中被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度较MM处理分别增加了60.0%和72.4%。PCoA分析显示,真菌群落结构不同粒径间、处理间均存在显著差异($P<0.01$)。RDA分析显示土壤有机碳、碱解氮、全氮与 α 多样性指数显著相关,热图表明团聚体中的担子菌门与土壤全氮、碱解氮、有机碳显著相关。【结论】土壤有机碳、碱解氮、全氮是改变真菌群落结构和多样性的主要驱动因子。与单作相比,大豆玉米间作促进了大团聚体的形成和稳定,显著提高大团聚体中有机碳含量和微小团聚体中的碱解氮含量,增加了大粒径团聚体中优势菌的相对丰度及多样性。因此,间作模式改变了团聚体的粒径分布,同时伴随着土壤真菌群落和多样性的改变,有利于改善土壤微环境,提升土壤质量,保持土壤健康。

关键词: 间作; 团聚体稳定性; 团聚体平均质量直径(MWD); 真菌群落结构; 真菌多样性; 驱动因子

Soybean-corn intercropping increases fungal community structure and diversity in red soil aggregates

YANG Ji-fen, LI Yong-mei, LI Chun-pei, LU Mei, ZHAO Ji-xia*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: 【Objectives】 We studied the fungal community structure and diversity in different soil aggregate particle sizes under intercropping conditions. We aimed to understand the beneficial effect of intercropping from the perspective of microbial properties. 【Methods】 The long-term positioning experiment started in 2013 and was located at the experimental base of Yunnan Agricultural University. The maize and soybean test cultivars were Qiaodan 6 and Diandou 7. The cropping pattern treatments were soybean and maize intercropping (MD), maize monoculture (MM), soybean monoculture (DD), and fallow (CK). At the maize tasselling stage in 2021, 0–20 cm soil samples were collected, and the wet sieving method was used to screen the soil aggregates into 2–1 mm, 1–0.25 mm, and <0.25 mm particle size groups. The percentage of each aggregate group in the total soil

收稿日期: 2022-10-07 接受日期: 2022-12-31

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFD1901500, 2022YFD1901501); 云南省科技重大专项子课题(2019ZG00902-08); 国家自然科学基金青年基金项目(42007002); 国家自然科学基金地区科学基金(41661063)。

联系方式: 杨继芬 E-mail: 2023894007@qq.com; * 通信作者 赵吉霞 E-mail: zhaojixia@163.com

aggregate and their mean weight diameter (MWD) were determined. The organic carbon, total N, and available N, P, and K were analyzed in each group. The fungal community structure was analyzed using Illumina MiSeq Next Generation sequencing. 【 **Results** 】 MD ($P<0.05$) increased the percentage and MWD in 2–1 mm aggregates, the organic carbon content in 2–1 mm aggregates, and alkali-hydrolyzed N in 1–0.25 mm and <0.25 mm aggregate. All the DD, MM, and MD treatments increased the Chao1 index and OTU number in 2–1 mm and 1–0.25 mm aggregates than CK. The relative abundance of Basidiomycota in 2–1 mm and 1–0.25 mm aggregates in MD was 85.7% and 133.3% higher than in DD, and 194.1% and 69.7% higher than in MM, respectively. The relevant abundance of Chytridiomycota in MD was 20.0% and 333.3% higher than in MM, *Chaetomium* in 2–1 mm, 1–0.25 mm, and <0.25 mm aggregates in MD was 68.7%, 80.0%, and 53.2% higher than in MM, respectively. MD had 60.0% and 72.4% higher relative abundance of Mortierellomycota and *Mortierella* than MM in 2–1 mm aggregate. PCoA analysis showed that the fungal community significantly differed among particle sizes and planting modes. RDA showed that soil organic carbon, available N, total N, and α -diversity index were significantly correlated. The heatmap analysis showed that basidiomycetes were ($P<0.05$) correlated with soil total N, alkali-hydrolyzed N, and organic carbon. 【 **Conclusions** 】 Soil organic carbon, total N and alkali-hydrolyzed N are the main drivers of variation in the structure and diversity of the fungal community. Compared with monoculture, intercropping promoted the formation and stability of macroaggregates. It also increased soil organic carbon, available N, dominant fungi and diversity of macroaggregates. Thus, soybean-corn intercropping pattern changes the distribution of aggregates, along with changes in soil fungal community and diversity, which is conducive to improving soil microenvironment, quality, and health.

Key words: intercropping; aggregate stability; mean weight diameter of aggregates (MWD); fungal community structure; diversity; driving factors

土壤团聚体是有机-无机复合胶体反复聚合形成的土壤结构的基本组成部分^[1], 直接影响着土壤的水、肥、气、热, 调节土壤肥力^[2]。团聚体的分布和稳定性, 以及团聚体内部间的孔隙, 影响土壤性质和土壤生物群落的组成和活动^[3]。土壤团聚体被认为是在微观组织水平上控制土壤微生物多样性、丰度和群落组成的主要因素^[4]。团聚体和微生物关系密不可分, 一方面不同大小的团聚体为土壤微生物提供了空间异质性栖息地, 这些微生物的养分有效性、水势、捕食压力和氧浓度各不相同; 另一方面, 土壤微生物群落在团聚体的形成和稳定性中也发挥着重要作用^[5-6]。不同粒级土壤团聚体结构和组成存在差异, 影响了微生物群落的分布及其生态功能。

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分, 其中细菌和真菌是陆地生态系统中最大的生物多样性储库^[7], 在土壤结构形成、养分循环、作物生产中起着至关重要的作用^[8-9]。合理的间作模式能通过改变植物生理特征和根系分泌物特性而间接影响微生物群落组成, 从而改善土壤环境^[10]。宋亚娜等^[11]利用 PCR-DGGE 方法研究玉米与蚕豆、玉米与小麦间作对土壤细菌群落结构的影响, 结果表明间

作提高了土壤微生物多样性, 改变了细菌群落组成。覃萧敏等^[12]利用 Biolog 技术研究玉米马铃薯间作对土壤微生物群落结构和功能多样性的影响, 结果显示间作改变了土壤中微生物群落结构组成, 提高了微生物功能多样性。赵雅姣等^[10]通过高通量测序方法研究豆禾牧草间作对土壤微生物群落的影响, 结果表明间作改变了细菌群落结构特征, 可见在不同作物类型中间作均能改变微生物群落组成和提高微生物多样性。但目前间作对微生物群落影响的研究主要集中在全土范畴, 在团聚体尺度上研究较少。由于不同粒径团聚体中的养分、孔隙、水分等理化性质存在差异, 进而影响了土壤团聚体内微生物与环境间的物质和能量交换^[13], 导致土壤团聚体微生物的分布有较大的差异。然而, 团聚体尺度上微生物群落结构如何响应种植模式, 不同团聚体粒组中微生物对其响应是否一致, 目前鲜有报道。

因此, 本试验以坡耕地红壤为研究对象, 对团聚体中的真菌群落进行高通量测序, 研究间作条件下不同粒径团聚体中真菌群落结构和多样性变化特征, 以期对间作模式背景下如何提升坡耕地土壤质量及保持微生物多样性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况与试验设计

试验于云南农业大学后山的坡耕地 (25°8'18"N, 102°45'58"E) 上进行, 该地海拔为 1950 m, 坡向为北偏西 57°。该区年均降雨量为 960 mm, 年均气温为 14.2℃, 是云南省典型的坡耕地红壤水土流失区。供试土壤质地为红壤轻黏土, 有机质 39.25 g/kg、全氮 0.75 g/kg、有效磷 9.52 mg/kg、碱解氮 55.25 mg/kg、速效钾 155 mg/kg、pH 6.10。田间定位试验始于 2013 年, 试验共设置 4 个处理: 大豆单作 (DD)、玉米单作 (MM)、大豆玉米间作 (MD)、裸地 (CK), 每个处理设置 3 个重复, 共 12 个小区。各小区面积均为 28 m² (4 m × 7 m), 小区间用铝塑板分隔, 每个小区间隔 40 cm, 以防小区之间相互干扰。玉米单作采用宽窄行种植, 宽行 80 cm, 窄行 40 cm, 株距 25 cm。大豆单作采用等行距种植, 行距 60 cm, 株距 25 cm。间作采用 2:2 种植模式, 玉米与玉米间行距 40 cm, 大豆与大豆间行距 40 cm, 玉米与大豆间行距 50 cm, 株距均为 30 cm。玉米每穴播种 2 粒, 大豆每穴播种 4 粒, 后期玉米每穴留 1 株, 大豆每穴留 2 株。播种方式均为穴播。每年播种前用锄头整地, 轻微翻动表土, 各小区一致。

参照当地常规施肥量进行施肥, 玉米施肥量为 N 250 kg/hm²、P₂O₅ 120 kg/hm²、K₂O 120 kg/hm², 大豆施肥量为 N 120 kg/hm²、P₂O₅ 240 kg/hm²、K₂O 180 kg/hm²。间作与单作玉米、大豆施肥量均不变。施肥方式为穴施。

1.2 样品采集

基于课题组前期研究, 微生物量碳氮在玉米抽雄期达到最高, 因此, 于 2021 年 8 月 15 日玉米抽雄期采集土壤样品。采用五点取样法, 在每个间作小区采集 0—20 cm 土层非根际土。单间作小区在行间采集土壤样品。将采集的土壤样品放入硬质塑料盒内, 保持原状土壤结构带回实验室, 剔除石砾、植物残根等杂物, 一部分立即用湿筛法分级, 另一部分混合均匀后自然风干。

1.3 团聚体分组

土壤团聚体分组采用 Elliott 团聚体湿筛法^[14], 称取一定新鲜土样 (相当于 50 g 风干土) 置于孔径为 2 mm 筛中, 浸入无菌水浸泡 10 min, 上下移动筛子 3 cm, 重复 50 次 (2 min 内), 然后用同样的方法依次通过 1 mm、0.25 mm 筛子, 分离出 2~1 mm、

1~0.25 mm、<0.25 mm 粒径团聚体, 收集筛子上面的团聚体, 一部分放入 -80℃ 冰箱冷藏用于高通量测序, 另一部分风干用于测定土壤理化性质^[15]。大于 0.25 mm 团聚体的质量比例 ($R_{0.25}$) 计算公式为:

$$R_{0.25} = \frac{MR_{0.25}}{MT}$$

式中: $MR_{0.25}$ 表示大于 0.25 mm 团聚体的质量, MT 表示团聚体总质量。

团聚体平均质量直径 (MWD) 计算公式为:

$$MWD = \sum_{i=1}^n (DiWi)$$

式中: Di 为各粒级水稳性团聚体平均直径, mm; Wi 为各粒级水稳性团聚体质量百分数, %。

1.4 微生物高通量测序

按照操作说明, 使用 FastDNA SPIN Kit 试剂盒从 0.5 g 土壤团聚体中提取 DNA, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性和纯度, 同时利用 NanoDropOne 检测 DNA 的浓度和纯度。之后对真菌 ITS2~1 的基因进行 PCR 扩增, 引物为 ITS3~F (GCATCGATGAAGAACGCAGC) 和 ITS4~R (TCCTCCGCTTATTGATATGC)。使用凝胶回收试剂盒回收 PCR 混合产物, TE 缓冲液洗脱回收目标 DNA 片段。按照 NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina® (New England Biolabs, USA) 标准流程进行建库操作。完成后以高通量测序平台 Illumina Nova 6000 对测得的数据拼接过滤, 去除嵌合体、短序列后得到优质序列, 用 UPARSE 方法按照 97% 相似度对序列进行 OTU 聚类。通过 usearch-sintax 将每个 OTU 的代表序列与 Unite (ITS) 数据库进行比对获得物种注释信息, 利用 Qiime 从每个 OTU 的序列中抽取一条代表序列, 用于统计每个 OTU 的序列数和物种注释。

1.5 数据处理

试验数据采用 Excel 2016 进行整理, 运用 SPSS 17.0 对不同粒径和不同处理间的 α 多样性指数进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 用 Duncan 法进行显著性检验 ($P < 0.05$), 采用 Origin 2021 作图, 主坐标分析 (PCoA) 是基于 OTU 水平, 用于确定真菌群落组成的差异, 采用置换多元方差分析 (PERMANOVA) 确定种植模式和团聚体大小对真菌群落的影响, 对真菌群落与环境因子进行相关性分析并生成热图。

2 结果与分析

2.1 土壤团聚体组成及稳定性特征

表 1 显示, 不同种植模式下均以 1~0.25 mm 粒径含量最高, 占总团聚体的 49.4%, 其次是<0.25 mm 粒径, >2 mm 粒径最低。与 CK 相比, 3 个种植模式土壤>2 mm 的团聚体的比例没有显著变化, MD 处理显著提高了 2~1 mm 粒径团聚体的含量 ($P<0.05$), 提高 51.1%; 3 个种植模式处理的 1~0.25 mm 粒径团聚体与 CK 处理无显著差异, 但裸地 (CK 处理) 土壤中<0.25 mm 粒径团聚体的比例高于种植土壤, 因而 CK 处理土壤>0.25 mm 团聚体的质量比 ($R_{0.25}$) 显著降低。3 个种植模式相比, MD 处理下的团聚体平均质量直径 (MWD) 显著高于 DD 和 MM 处理 ($P<0.05$), 显示了其提升土壤结构的效果。

2.2 土壤团聚体真菌 OTU 及 α 多样性

由图 1 可知, 粒径和种植模式对真菌 α 多样性均有显著影响。从团聚体粒径来看, <0.25 mm 粒径团聚体中的 OTU 数和 Chao1 显著高于 2~1 mm 和 1~0.25 mm 粒径 ($P<0.05$), Shannon 指数各粒径间无显著差异。

从种植模式上来看, 与 CK 相比, MD 处理显著提高了 2~1 mm 和 1~0.25 mm 粒径团聚体中的 OTU 数 ($P<0.05$), 各处理下的 OTU 数在<0.25 mm 粒径团聚体中无显著差异 ($P>0.05$)。3 个粒径团聚体的 Shannon 指数各粒径团聚体间无显著差异 ($P>0.05$)。有些处理 Chao1 指数在 2~1 mm 和 1~0.25 mm 粒径团聚体中有显著差异, 在<0.25 mm 粒径团聚体中无显著差异。从种植模式来看, MD 处理的 Chao1 指数在 2~1 mm 团聚体中显著高于 CK 和 MM 处理,

在 1~0.25 mm 粒径团聚体中显著高于 CK, 而 MM 和 DD 处理 3 个粒径团聚体的 Chao1 指数与 CK 均无显著差异。综上, MD 处理的土壤各粒径团聚体中的真菌多样性显著高于单作和裸地对照。

2.3 土壤团聚体真菌群落门和属水平上的分布

真菌群落主要以子囊菌门 (Ascomycota)、未注释菌门 (Unassigned)、担子菌门 (Basidiomycota)、未定义菌门 (unidentified)、被孢霉菌门 (Mortierellomycota)、球囊菌门 (Glomeromycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 为主。不同类型菌群的相对丰度在不同粒径团聚体中存在差异 (图 2)。其中子囊菌的相对丰度在 1~0.25 mm 粒径团聚体中最高, Unassigned 和 Basidiomycota 的相对丰度在 2~1 mm 粒径团聚体中最高, 壶菌门 (Chytridiomycota) 的相对丰度在<0.25 mm 粒径团聚体中最高。从种植模式来看, 在 2~1 mm 粒径团聚体中 MD 处理下担子菌相对丰度较 DD 处理提高 85.7%。MD 处理下的担子菌门 (Basidiomycota)、被孢霉菌门 (Mortierellomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 的相对丰度较 MM 处理分别提高 194.1%、60.0%、20.0%。在 1~0.25 mm 粒径团聚体中, MD 处理下的子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 的相对丰度较 DD 处理分别提高 12.6%、133.3%、8.3%。MD 处理下的担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 的相对丰度较 MM 处理分别提高 69.7%、333.3%。在<0.25 mm 粒径团聚体中, MD 处理下球囊菌门 (Glomeromycota) 的相对丰度较 DD 处理分别提高 66.7%。MD 处理下的子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 的相对丰度较 MM 处理分别提高 12.2%、61.8%、23.3%。

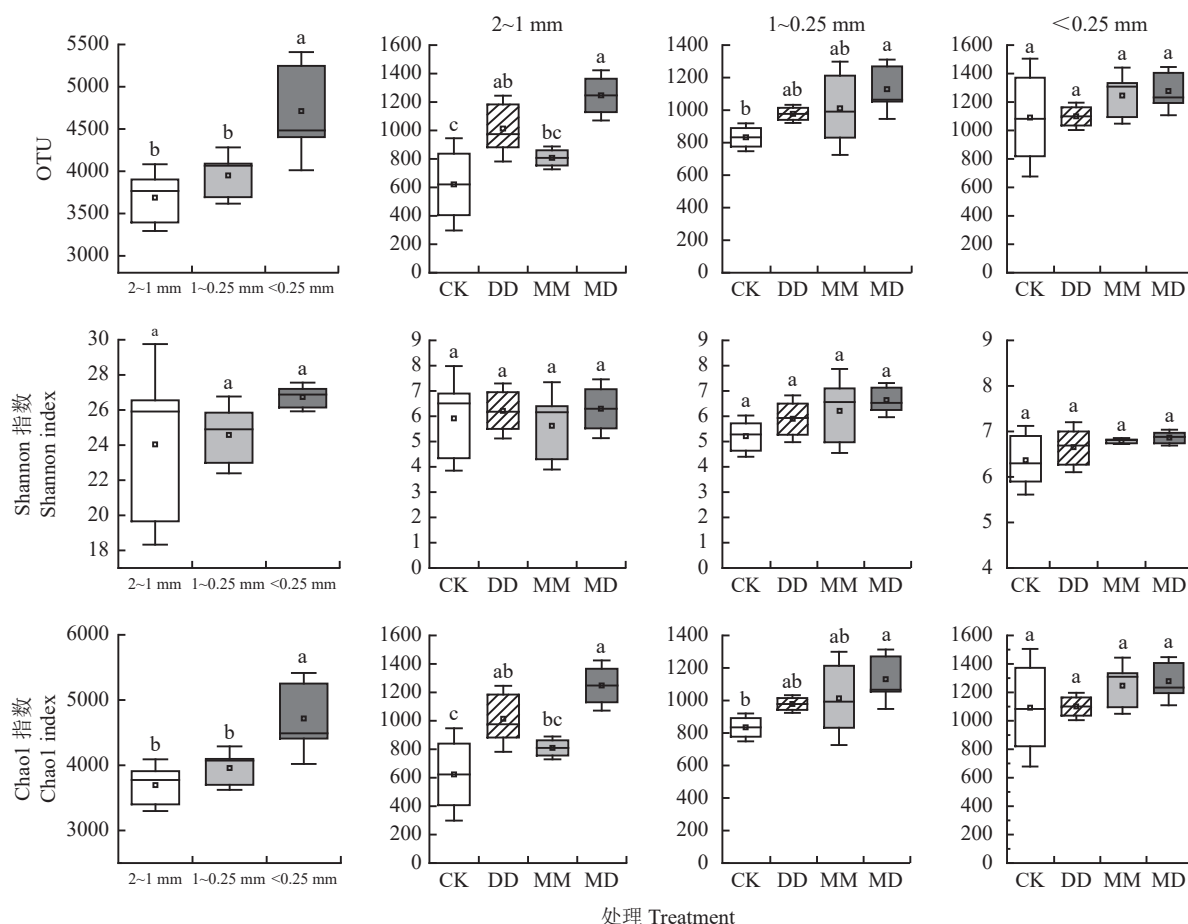
表 1 不同种植模式下土壤团聚体粒径分布及稳定性指标

Table 1 Particle size distribution and stability indexes of soil aggregates under different modes of planting

处理 Treatment	不同粒径团聚体组分占比 (%) Percentage of aggregate fraction with different particle sizes				团聚体稳定性 Aggregate stability	
	>2 mm	2~1 mm	1~0.25 mm	<0.25 mm	$R_{0.25}$ (%)	MWD (mm)
CK	5.53±0.74 a	13.10±2.6 c	47.80±2.5 a	33.90±2.7 a	67.7±2.6 b	0.44±0.03 b
DD	4.10±1.67 a	17.20±2.3 ab	48.37±2.8 a	29.93±3.5 ab	72.5±0.9 a	0.47±0.02 b
MM	4.47±1.67 a	16.00±1.4 bc	51.73±0.6 a	27.23±1.9 b	72.6±1.3 a	0.48±0.02 b
MD	6.30±0.98 a	19.80±0.8 a	49.73±1.3 a	24.27±2.5 b	75.2±2.4 a	0.54±0.03 a

注: CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively. Values followed by different lowercase letters in a column indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图1 团聚体中 OTU 及 α 多样性指数Fig. 1 OTU and α diversity index in soil aggregates

注: 柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。箱体内横线和点分别代表中位数和均值, 上下边框分别代表上下四分位数, 从方框延伸的细黑线代表四分位间距的 1.5 倍。CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。

Note: Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$). The solid line and point in the box represent the median and mean values, the upper and lower frames of the box represent the upper and lower quartiles, respectively, and the thin black lines extending from the box represent 1.5 times the interquartile range. CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively.

如图 3 所示, 在属分类水平上, 相对丰度较高的分别是未注释菌属 (*Unassigned*)、未定义菌属 (*unidentified*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、被孢霉属 (*Mortierella*)、毛壳菌属 (*Chaetomium*)。各粒径团聚体中的 *Unassigned* 的相对丰度没有明显差异, 1~0.25 mm 粒径和<0.25 mm 粒径团聚体中的 *unidentified* 和 *Mortierella* 的相对丰度高于 2~1 mm 粒径团聚体, 2~1 mm 粒径和 1~0.25 mm 粒径团聚体中的 *Fusarium* 相对丰度高于<0.25 mm 粒径团聚体。从种植模式来看, 在 2~1 mm 粒径中, MD 处理下的 *Fusarium* 相对丰度较 DD 处理提高 6.2%, 被孢霉菌、毛壳菌较 MM 处理分别提高 72.4%、68.7%。在 1~0.25 mm 粒径团聚体中, MD 处理下的镰刀菌与 DD 和 MM 处理相比, 分别

提高 13.5%、9.3%, 毛壳菌与 MM 处理相比, 提高 80.0%。在<0.25 mm 粒径团聚体中, MD 处理下的毛壳菌与 MM 处理相比, 提高 53.2%。

2.4 土壤团聚体真菌群落 β 多样性分析

PCoA 分析显示真菌群落结构在不同粒径大小和种植模式下存在显著差异 ($P < 0.01$), PERMANOVA 表明, 团聚体粒径和种植模式会改变微生物群落组成。由图 4 可看出, >0.25 mm 粒径团聚体与<0.25 mm 粒径团聚体沿轴 1 明显分离。

2.5 土壤真菌群落特征和土壤化学性质的关系

表 2 显示, 不同处理土壤各粒径团聚体中的养分含量存在明显差异。通过 RDA 分析不同粒径团聚体中真菌多样性指数和土壤理化性状的相关性

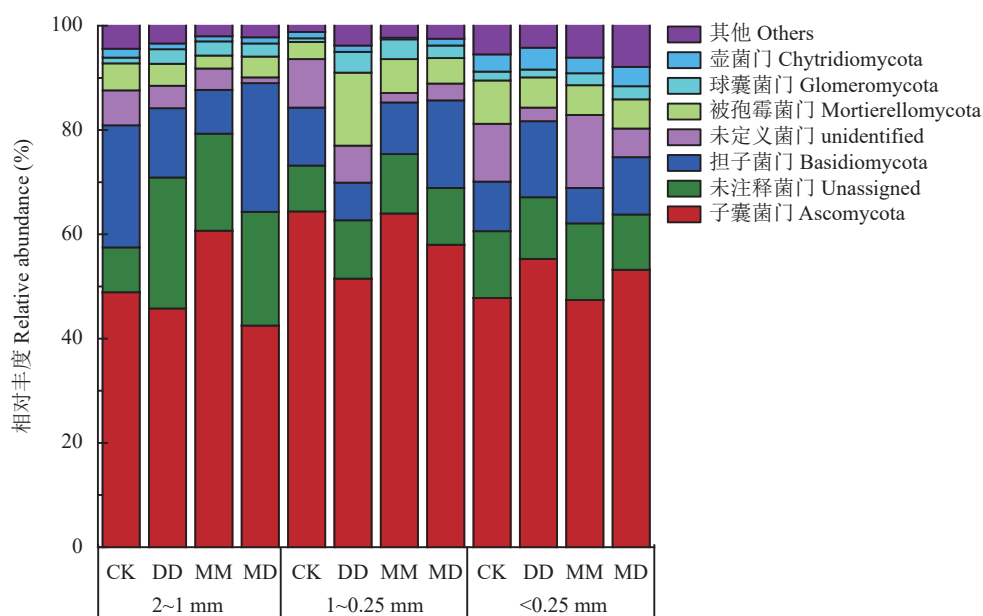


图 2 不同粒径团聚体中主要真菌门的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of main fungal phylum in aggregates of different sizes

注：CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。
Note: CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively.

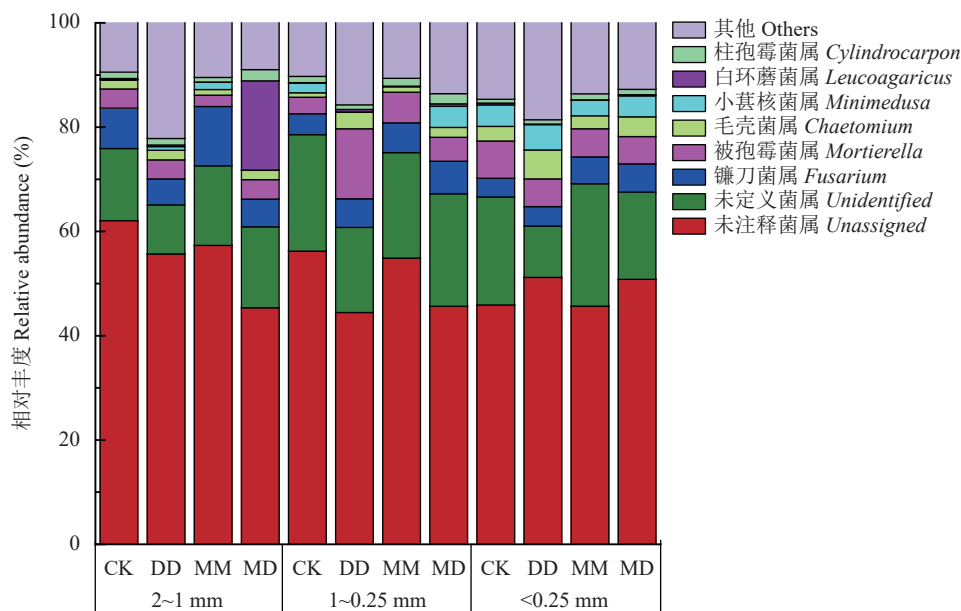


图 3 不同粒径团聚体中真菌属的相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of fungi at the genus level in aggregates with different sizes

注：CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。
Note: CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively.

(图 5)，发现 2~1 mm 粒径团聚体中的 Chao1 指数和 OTU 数与有机碳和碱解氮含量显著相关；1~0.25 mm 粒径团聚体中 Chao1、OTU、Shannon 指数与全氮、有效磷、有机碳含量显著相关；<0.25 mm 粒径团聚体中 Chao1、OTU、Shannon 指数与 AN 显著相

关。由图 6 可以看出，在 2~1 mm 粒径团聚体中担子菌门相对丰度与有机碳含量极显著相关，与全氮和碱解氮含量显著相关；1~0.25 mm 粒径团聚体中，子囊菌门相对丰度与有机碳含量显著相关，担子菌门相对丰度与碱解氮显著相关；在<0.25 mm 粒

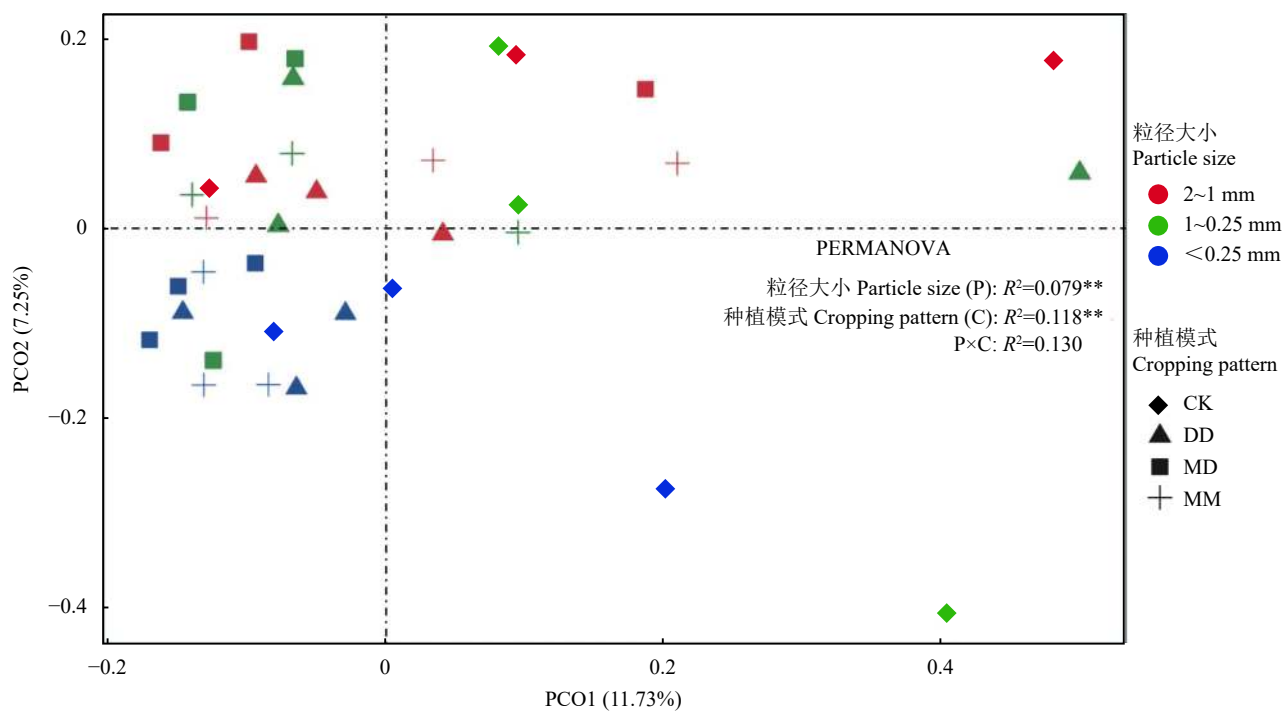


图 4 不同粒径团聚体中真菌群落结构的主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of fungal community structure in aggregates with different particle sizes

注: CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。 $^{**}P<0.01$ 。
Notes: CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively. $^{**}P<0.01$.

表 2 不同处理土壤各粒径团聚体中的养分含量

Table 2 Nutrient content in soil aggregates under different cropping treatments

粒径 Particle size (mm)	处理 Treatment	有机碳 Organic C (g/kg)	有效磷 Available P (mg/kg)	速效钾 Available K (mg/kg)	碱解氮 Available N (mg/kg)	全氮 Total N (g/kg)
2~1	CK	21.51±1.12 c	10.34±0.67 b	178.82±7.47 b	46.08±3.64 c	1.00±0.07 b
	DD	24.84±0.46 b	10.78±1.34 b	218.57±12.93 a	51.08±3.50 b	1.12±0.02 a
	MM	25.88±0.39 b	14.34±2.14 a	177.15±3.80 b	58.92±1.01 a	1.18±0.02 a
	MD	27.79±1.24 a	16.29±1.36 a	169.67±16.90 b	59.50±5.25 a	1.15±0.03 a
1~0.25	CK	20.94±3.46 b	8.56±0.73 b	177.17±6.24 b	47.25±3.00 c	0.95±0.01 c
	DD	22.50±1.09 ab	12.53±1.46 a	245.07±1.44 a	47.25±4.63 c	1.13±0.04 b
	MM	26.22±0.32 a	13.14±0.75 a	184.61±6.26 b	56.00±1.75 b	1.21±0.05 a
	MD	25.90±1.49 a	13.24±1.25 a	163.90±6.61 c	63.00±4.63 a	1.21±0.05 a
<0.25	CK	23.54±3.46 a	8.29±1.09 b	190.42±12.53 b	44.92±2.67 d	1.00±0.02 b
	DD	22.56±2.45 a	12.02±0.72 a	234.28±7.59 a	50.75±1.75 c	1.18±0.08 a
	MM	25.44±0.40 a	11.99±2.15 a	198.70±8.66 b	56.00±1.75 b	1.18±0.05 a
	MD	25.38±1.78 a	11.07±1.22 a	184.60±5.16 b	61.83±2.67 a	1.19±0.05 a

注: CK、DD、MM、MD 分别代表裸地对照、大豆单作、玉米单作、大豆玉米间作。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: CK, DD, MM and MD indicate no crop control, soybean monoculture, maize monoculture, and soybean-corn intercropping, respectively. Values followed by different lowercase letters in a column denote significant difference among treatments ($P<0.05$).

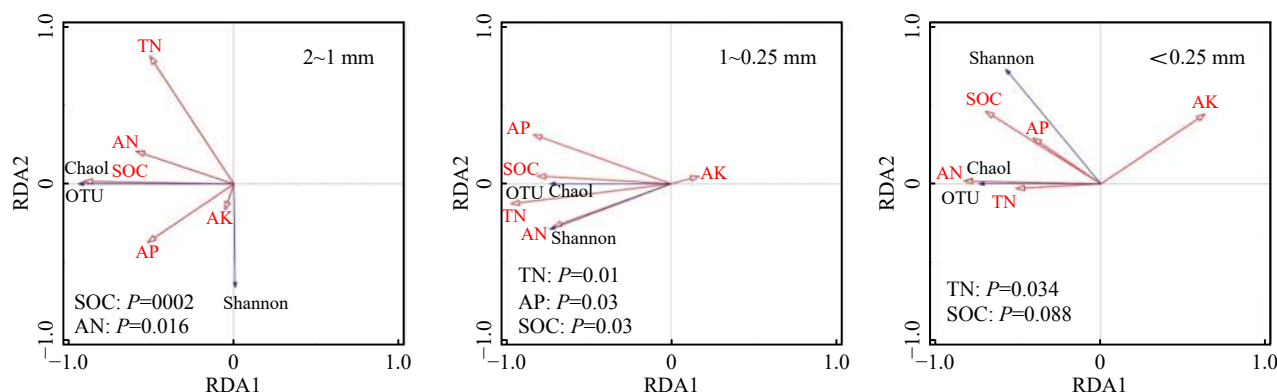


图 5 不同粒径团聚体中真菌多样性指标和土壤养分含量的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis of fungal diversity indices and soil nutrients in aggregates with different particle sizes

注: SOC—土壤有机碳; AN—碱解氮; TN—全氮; AP—有效磷; AK—速效钾。

Note: SOC—Soil organic carbon; AN—Alkaline-hydrolyzed N; TN—Total N; AP—Available P; AK—Available K.

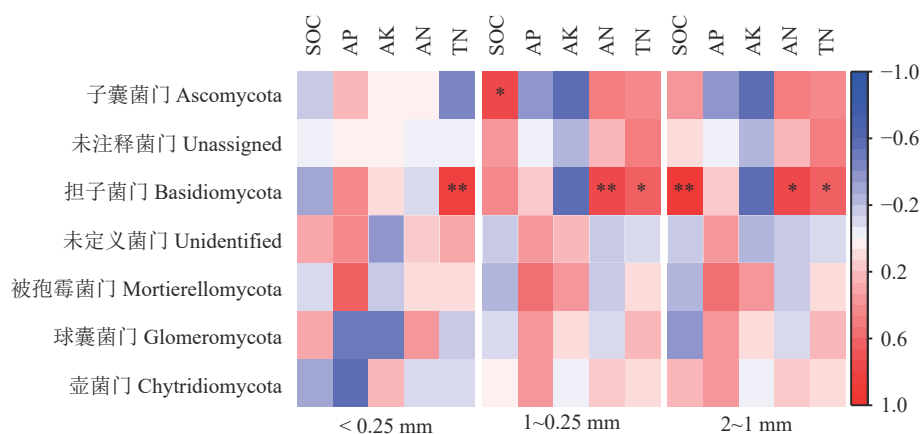


图 6 土壤养分含量与真菌群落的相关性分析

Fig. 6 Correlation between soil nutrient content and fungal communities

注: SOC—土壤有机碳; TN—全氮; AK—速效钾; AP—有效磷; AN—碱解氮。*— $P<0.05$; **— $P<0.01$ 。

Note: SOC—Soil organic carbon; TN—Total N; AK—Available K; AP—Available P; AN—Alkaline-hydrolyzed N. *— $P<0.05$; **— $P<0.01$.

径团聚体中,担子菌门相对丰度与全氮显著相关。这说明真菌群落和多样性主要受土壤碳和氮影响。

3 讨论

3.1 大豆玉米间作对土壤团聚体粒径组成的影响

土壤团聚体的含量和组成影响着土壤结构和肥力^[16]。种植模式影响着土壤团聚体的组成和稳定。在本研究中,玉米大豆间作显著提高了土壤中 2~1 mm 径团聚体的百分含量和平均质量直径 (MWD),其 $R_{0.25}$ 值高于单作和裸地对照。李孝梅等^[17]研究也证实玉米//大豆、玉米//萝卜显著提高了 0.25~2 mm 水稳性团聚体的含量,王婷等^[18]也证实了玉米//马铃薯、玉米//大豆显著提高了 $R_{0.25}$ 含量和团聚体的平均质量直径。这是因为豆科与禾本科间作,根系间交错叠

加,根系分泌物增加,给微生物提供了适合其生长的土壤环境^[3,19],刺激了真菌菌丝的生长和多糖的产生,从而增加土壤粒径的胶结作用,而大团聚体中的胶结物质主要是有机质,大团聚体主要是由较低层次的团聚体和有机物质胶结而成,与小团聚体相比,大团聚体内含有较多的土壤有机碳^[20],因此有机质把微团聚体和沙子、淤泥和黏土胶结成大团聚体,从而增加了大团聚体的数量。

3.2 大豆玉米间作对土壤团聚体中真菌群落多样性的影响

真菌 α 多样性受团聚体粒径大小和种植模式的影响。本研究发现,Chaol 指数、Shannon 指数及 OTU 数在 <0.25 mm 粒径团聚体中较高,说明小粒径团聚体支持较高的微生物多样性。Elizabeth 等^[21]在种

植高草草原和施肥种植高草草原中发现较小团聚体中具有较大的生物多样性, 这与本研究结果相似。这可能是因为与大粒径团聚体相比, 小粒径团聚体的孔隙较小, 养分周转循环速率慢, 有足够的养分来维持微生物的生长与繁殖, 从而导致较高的微生物多样性。但 Chen 等^[22]在有机无机肥配施中发现生物多样性指数均在大团聚体中最高。赵美纯等^[20]在旱田土壤中发现大团聚体和微团聚体中的 Shannon 和 Simpson 指数均低于淤泥和黏土。与本研究结果相反, 这可能是因为土地利用方式、土壤类型、施肥、粒径大小等影响微生物的多样性^[23], 且不同的土地利用下土壤中的通气状况、水分、孔隙会发生改变, 这直接影响了土壤团聚体内的微生物与环境间的物质和能量交换, 从而影响了微生物在团聚体中的生长与繁殖^[24-25]。

另外, 本研究发现间作处理下的 OTU 数和 Chao1 指数较高, 因为间作土壤中的有机碳和碱解氮含量显著增加, 为微生物的生长提供了更多的能源和氮源。需要指出的是单作与间作的 OTU 数和 Chao1 指数仅在 2~1 mm 粒径团聚体中存在显著差异, 说明间作模式促进了大团聚体的形成和稳定, 改善了土壤中的通气性和保水性, 有利于微生物定殖, 从而提高了微生物的多样性。

3.3 大豆玉米间作对土壤团聚体中真菌群落组成的影响

不同粒级团聚体为不同真菌群落的定殖提供了不同的栖息地, 从而影响真菌群落的分布。本研究中 PERMANOVA 分析表明, 粒径大小会显著影响真菌群落的分布, 子囊菌门 (Ascomycota)、未注释菌 (Unassigned)、担子菌门 (Basidiomycota) 是真菌门水平中相对丰度最高的 3 个菌种, 属水平分类上镰刀菌属 (*Fusarium*)、被孢霉属 (*Mortierella*) 的相对丰度较高。子囊菌门 (Ascomycota) 的相对丰度在 1~0.25 mm 粒径团聚体中最高, 未注释菌门 (Unassigned)、担子菌门 (Basidiomycota)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 在 2~1 和 1~0.25 mm 粒径团聚体中最高, 被孢霉属 (*Mortierella*) 相对丰度在 1~0.25 和 <0.25 mm 粒径团聚体中最高。这是因为土壤中的养分在不同粒径团聚体组分中分布不均匀, 从而导致微生物的分布存在差异。Elizabeth 等^[21]在不同种植系统中发现大粒径团聚体具有较高的丛枝菌根真菌丰度, Shabeg 等^[24]在不同种植系统中研究发现大团聚体中的真菌生物量最高。说明较大的团聚体为真菌提供了更好的

微环境, 其中含有更有利的基质和更大的孔隙空间, 另一方面真菌作为生物黏合剂, 推动土壤团聚体的形成和稳定。

另外, PERMANOVA 分析还表明, 种植模式对真菌群落的分布有显著影响。本研究中发现在 2~1 和 1~0.25 mm 大粒径团聚体中, MD 处理较 DD 和 MM 处理均提高了担子菌的相对丰度。另外在 2~1 mm 粒径团聚体中, MD 处理较 MM 处理提高了被孢霉菌 (*Mortierellomycota*) 的相对丰度。真菌是有机物质分解的主要媒介, 真菌群落可能会影响有机物的分解速率和碳循环^[26], 纤维素和葡萄糖分解通常由真菌进行, 尤其是腐生担子菌, 而纤维素是植物凋落物中最丰富的多糖^[27]。说明间作条件下, 根系交错叠加, 根系分泌物丰富, 根系分泌的总糖含量增加, 促进大团聚体的形成和稳定, 而大粒径团聚体中含有较多的有机残留物, 为腐生担子菌提供了较好的营养和生长发育条件, 从而导致担子菌的丰度升高。被孢霉菌是土壤有机质和养分丰富的象征, 可以分解土壤中的糖类物质, 能高效利用简单碳水化合物来进行生长代谢^[28], 从而增加土壤中的有机质和养分含量。有研究表明被孢霉菌的相对丰度与土壤中活性炭组分的含量呈正相关^[17]。本研究中间作显著提高了大粒径团聚体中的有机碳含量, 这可能是导致被孢霉菌相对丰度高的原因。另外本研究中发现毛壳菌属相对丰度在各粒径团聚体中均表现为 MD 处理高于 MM 处理, 毛壳菌是有益微生物, 有研究表明毛壳菌属能有效抑制疫病霉、辣椒疫霉、尖孢镰刀等病原菌^[29]。说明间作下有利于毛壳菌等有益菌的定殖, 从而抑制土壤中的病原菌, 起到保持土壤健康的作用。

3.4 土壤团聚体中真菌群落多样性及群落组成与环境因子的相关性分析

土壤微生物群落的丰度、组成与环境因素之间是相互作用的, 土壤环境因子与微生物群落之间存在着显著关系^[30]。本研究中发现团聚体中的真菌群落和多样性主要与有机碳、碱解氮、全氮显著相关。相关研究表明, 在土壤养分水平上, 尤其是有机碳和全氮含量, 在改变土壤微生物群落组成方面起着至关重要的作用^[31]。Liao 等^[7]研究发现, 真菌群落与土壤 C 和 N 的变化密切相关。Yao 等^[32]在 3 种不同的植被恢复措施下发现, 表层土壤团聚体中的土壤有机碳和全氮含量主要以大团聚体的形式累积, 沈晓琳等^[33]研究表明, 较大粒级团聚体微生物群落主要

受碳氮比、含水量等影响,与本研究结果相似。说明碳氮是影响真菌群落的主要环境因子。土壤微生物参与土壤碳、氮等元素的循环过程和土壤矿物的矿化过程,与土壤有机碳有着密切的关系,同时对土壤团聚体的形成及其稳定起着重要的作用^[34]。大团聚体内的碳氮含量比微团聚体高可为微生物提供可利用的营养和能量,有利于真菌群落的定殖,从而显著影响了微生物的群落结构^[35];另外,土壤有机碳可以通过提高土壤团聚体的物理稳定性来改善不同微生物的微环境,这对微生物的功能至关重要。

4 结论

玉米大豆间作促进了土壤大团聚体的形成,提高了团聚体的稳定性和大粒径团聚体中的生物多样性指数,增加了大粒径团聚体中担子菌、被孢霉菌等优势菌门的相对丰度和被孢霉菌属、毛壳菌属等优势菌属的相对丰度。土壤全氮、碱解氮、有机碳是改变真菌群落结构和多样性的主要驱动因子。由此可见,间作模式改变了土壤团聚体的粒径分布,同时伴随着土壤真菌群落和多样性的改变,有利于改善土壤微环境,提升土壤质量,保持土壤健康。

参 考 文 献:

- [1] Zheng W, Zhao Z Y, Lv F L, *et al.* Fungal alpha diversity influences stochasticity of bacterial and fungal community assemblies in soil aggregates in an apple orchard[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 162: 103878.
- [2] Gong X W, Liu C J, Li J, *et al.* Responses of rhizosphere soil properties, enzyme activities and microbial diversity to intercropping patterns on the Loess Plateau of China[J]. *Soil & Tillage Research*, 2019, 195: 10435.
- [3] 赵雅姣, 刘晓静, 吴勇, 等. 西北半干旱区紫花苜蓿-小黑麦间作对根际土壤养分和细菌群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(5): 1645-1652.
Zhao Y J, Liu X J, Wu Y, *et al.* Effects of alfalfa-triticale intercropping on rhizosphere soil nutrients and bacterial communities in semi-arid northwest China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(5): 1645-1652.
- [4] 李娜, 韩晓增, 尤孟阳, 等. 土壤团聚体与微生物相互作用研究[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(9): 1625-1632.
Li N, Han X Z, You M Y, *et al.* Interaction between soil aggregates and microorganisms[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2013, 22(9): 1625-1632.
- [5] 伏云珍, 马琨, 李倩, 等. 马铃薯//玉米间作对土壤细菌多样性的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2020, 28(11): 1715-1725.
Fu Y Z, Ma K, Li Q, *et al.* Potato//maize intercropping effects on soil bacterial diversity[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2020, 28(11): 1715-1725.
- [6] Bearden B N, Petersen L. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of vertisol[J]. *Plant and Soil*, 2000, 218: 173-183.
- [7] Liao H, Zhang Y C, Zuo Q Y, *et al.* Contrasting responses of bacterial and fungal communities to aggregate-size fractions and long-term fertilizations in soils of northeastern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 635: 784-792.
- [8] 王清奎, 汪思龙. 土壤团聚体形成与稳定机制及影响因素[J]. *土壤通报*, 2005, 36(3): 415-421.
Wang Q K, Wang S L. Formation and stabilization mechanism of soil aggregates and influencing factors[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2005, 36(3): 415-421.
- [9] Cui H, Ou Y, Wang L X, *et al.* Dynamic changes in microbial communities and nutrient stoichiometry associated with soil aggregate structure in restored wetlands[J]. *Catena*, 2021, 197: 104984.
- [10] 赵雅姣, 刘晓静, 吴勇, 等. 豆禾牧草间作根际土壤养分、酶活性及微生物群落特征[J]. *中国沙漠*, 2020, 40(3): 219-228.
Zhao Y J, Liu X J, Wu Y, *et al.* Characteristics of soil nutrients, enzyme activities and microbial community in rhizosphere of soybean grass intercropping[J]. *Journal of Desert Research*, 2020, 40(3): 219-228.
- [11] 宋亚娜, Petra M, 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, Petra M, Zhang F S, *et al.* Effects of wheat/fababean, maize/faba bean and wheat/maize intercropping on rhizosphere bacterial community structure[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(7): 2268-2274.
- [12] 覃潇敏, 郑毅, 汤利, 等. 玉米与马铃薯间作对根际微生物群落结构和多样性的影响[J]. *作物学报*, 2015, 41(6): 919-928.
Qin X M, Zheng Y, Tang L, *et al.* Effects of maize and potato intercropping on rhizosphere microbial community structure and diversity[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(6): 919-928.
- [13] 朱孟涛, 刘秀霞, 王佳盟, 等. 生物质炭对水稻土团聚体微生物多样性的影响[J]. *生态学报*, 2020, 40(5): 1505-1516.
Zhu M T, Liu X X, Wang J M, *et al.* Effects of biochar on microbial diversity of paddy soil aggregates[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(5): 1505-1516.
- [14] Elliott E T. Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1986, 50(3): 627-633.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
Lu R K. Soil and agricultural chemistry analysis method[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [16] Xiao L, Huang Y M, Zhao J F, *et al.* Effects of planting structure on soil water-stable aggregates, microbial biomass and enzyme activity in a catchment of Loess Plateau terraces, China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 159: 103819.
- [17] 李孝梅, 李永梅, 乌达木, 等. 玉米间作大豆、萝卜对红壤不同粒径水稳性团聚体碳氮分布的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2022, (1): 104-111.

- Li X M, Li Y M, Wu D M, *et al.* Effects of corn intercropping with soybean and radish on carbon and nitrogen distribution of water-stable aggregates with different particle sizes in red soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2022, (1): 104–111.
- [18] 王婷, 李永梅, 王自林, 等. 间作对玉米根系分泌物及团聚体稳定性的影响[J]. *水土保持学报*, 2018, 32(3): 185–190.
- Wang T, Li Y M, Wang Z L, *et al.* Effects of intercropping on maize root exudates and soil aggregates stability[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2018, 32(3): 185–190.
- [19] 张向前, 黄国勤, 卞新民, 等. 间作对玉米品质、产量及土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(22): 7082–7090.
- Zhang X Q, Huang G Q, Bian X M, *et al.* Effects of intercropping on maize quality and yield, soil microbial quantity and enzyme activities [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(22): 7082–7090.
- [20] 赵美纯, 李鑫, 王月, 等. 东北黑土旱田改稻田对土壤团聚体微生物群落功能多样性的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(12): 2831–2838.
- Zhao M C, Li X, Wang Y, *et al.* Effects of paddy field to upland field on functional diversity of soil aggregate microbial community in northeast China[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(12): 2831–2838.
- [21] Elizabeth M B, Williams R J, Hargreaves S K, *et al.* Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 217–226.
- [22] Chen X F, Li Z P, Liu M, *et al.* Microbial community and functional diversity associated with different aggregate fractions of a paddy soil fertilized with organic manure and/or NPK fertilizer for 20 years[J]. *Soils Sediments*, 2014, 15(2): 292–301.
- [23] 刘红梅, 李睿颖, 高晶晶, 等. 保护性耕作对土壤团聚体及微生物学特性的影响研究进展[J]. *生态环境学报*, 2020, 29(6): 1277–1284.
- Liu H M, Li R Y, Gao J J, *et al.* Research progress on effects of conservation tillage on soil aggregates and microbial characteristics [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2020, 29(6): 1277–1284.
- [24] Shabeg S, Briar S J, Fonte I P, *et al.* The distribution of nematodes and soil microbial communities across soil aggregate fractions and farm management systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43: 905–914.
- [25] Colin W B, Shinichi A, Francisco C, *et al.* Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 85: 170–182.
- [26] Mäkipää R, Rajala T, Schigel D, *et al.* Interactions between soil and dead wood-inhabiting fungal communities during the decay of Norway spruce logs[J]. *ISME Journal*, 2017, 11(9): 1964–1974.
- [27] Baldrian P, Kolařík M, Štursová M, *et al.* Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition[J]. *ISME Journal*, 2012, 6(2): 248–258.
- [28] 宁琪, 陈林, 李芳, 等. 被孢霉对土壤养分有效性和秸秆降解的影响[J]. *土壤学报*, 2022, 59(1): 206–217.
- Ning Q, Chen L, Li F, *et al.* Effects of trichoderma on soil nutrient availability and straw degradation[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(1): 206–217.
- [29] 方宇, 白涛, 刘冬梅, 等. 烟草黑胫病植株根际土壤真菌群落多样性及结构分析[J]. *西南农业学报*, 2022, 35(4): 822–830.
- Fang Y, Bai T, Liu D M, *et al.* Fungal community diversity in rhizosphere soil of tobacco with black tibia disease[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(4): 822–830.
- [30] Zhang S X, Li Q, Lü Y, *et al.* Contributions of soil biota to C sequestration varied with aggregate fractions under different tillage systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 62: 147–156.
- [31] Eric B B, Veronica A M. Cover cropping frequency is the main driver of soil microbial changes during six years of organic vegetable production[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 109: 188–204.
- [32] Yao Y F, Nannan G, Yu S, *et al.* Response of aggregate associated organic carbon, nitrogen and phosphorous to re-vegetation in agro-pastoral ecotone of northern China[J]. *Geoderma*, 2019, 341: 172–180.
- [33] 沈晓琳, 王丽丽, 赵建宁, 等. 耕作方式对潮土土壤团聚体微生物群落结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2021, 32(8): 2713–2721.
- Shen X L, Wang L L, Zhao J N, *et al.* Effects of tillage methods on microbial community structure of soil aggregates in aquic soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(8): 2713–2721.
- [34] 李明, 赵建宁, 秦洁, 等. 氮素添加对贝加尔针茅草原土壤团聚体微生物群落的影响[J]. *生态学报*, 2021, 41(3): 1127–1137.
- Li M, Zhao J N, Qing J, *et al.* Effects of nitrogen addition on soil aggregate microbial community in *Stipa baical* steppe[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(3): 1127–1137.
- [35] Han S, Manuel D B, Luo X S, *et al.* Soil aggregate size-dependent relationships between microbial functional diversity and multifunctionality[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 154: 108143.