



叶莎,张雪滢,丰俊,崔爱花,欧阳凤仔,徐华,王淑彬,周泉.油菜紫云英间作对土壤环境及微生物群落的影响[J].中国农业大学学报,2025,30(12):252-264.
YE Sha, ZHANG Xueying, FENG Jun, CUI Aihua, OUYANG Fengzai, XU Hua, WANG Shubin, ZHOU Quan. Effects of rapeseed intercropping with milk vetch on soil environment and microbial community[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(12): 252-264.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.12.21

油菜紫云英间作对土壤环境及微生物群落的影响

叶莎¹ 张雪滢¹ 丰俊¹ 崔爱花² 欧阳凤仔³ 徐华⁴ 王淑彬¹ 周泉^{1*}

- (1. 江西农业大学农学院/作物生理、生态与遗传育种教育部重点实验室/作物生物育种与高效生产江西省重点实验室, 南昌 330045;
2. 江西省经济作物研究所, 南昌 332105;
3. 吉安市农业科学研究所, 江西 吉安 343103;
4. 万年县农业农村产业发展服务中心, 江西 上饶 334199)

摘要 为探究油菜紫云英间作系统的土壤微生物群落特征及其与环境因子的相互关系,设置油菜单作(R)、紫云英单作(V)与油菜紫云英间作(RV)3个处理,通过2年的大田试验分析不同处理下土壤微生物群落特征的差异与环境因子的变化。结果表明:1)不同处理的土壤有机碳组分、氮素转化以及微生物群落特征在年际间差异显著。与油菜单作、油菜紫云英间作相比,紫云英单作不仅可以提高土壤温度,还增加了土壤全磷、速效钾、铵态氮含量和土壤总硝化速率。2)与单作相比,间作显著降低了真菌的 Coverage 指数($P < 0.05$),同时改变了土壤细菌和真菌群落结构,并且细菌群落各物种显著富集,尤其是蓝细菌门(Cyanobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)。3)各环境因子对土壤细菌群落结构的影响比真菌大,其中土壤水分和氮素是关键因子;紫云英单作、间作处理与多个因子显著相关,表明紫云英是导致土壤细菌群落结构差异的关键所在。4)土壤细菌 Shannon 指数与铵态氮呈正相关,与氨化速率呈负相关;土壤真菌 Simpson 指数与铵态氮呈负相关,与氨化速率呈正相关。综上,油菜间作紫云英可显著影响土壤微生物群落结构,其对土壤水分和氮素转化的影响是微生物群落变化的关键。

关键词 间作;油菜;紫云英;土壤微生物;土壤氮素

中图分类号 S663.1

文章编号 1007-4333(2025)12-0252-13

文献标志码 A

Effects of rapeseed intercropping with milk vetch on soil environment and microbial community

YE Sha¹, ZHANG Xueying¹, FENG Jun¹, CUI Aihua², OUYANG Fengzai³, XU Hua⁴,
WANG Shubin¹, ZHOU Quan^{1*}

- (1. School of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education/Jiangxi Provincial Key Laboratory of Crop Bio-breeding and High-Efficient Production, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;
2. Jiangxi Economic Crop Research Institute, Nanchang 332105, China;
3. Ji'an Institute of Agricultural Science, Ji'an 343103, China;
4. Wannian County Agricultural and Rural Industrial Development Service Center, Shangrao 334199, China)

Abstract In order to explore the characteristics of soil microbial communities in rapeseed and milk vetch intercropping systems and their mutualistic mechanisms, three treatments were set up: monocropping rapeseed (R), monocropping milk vetch (V), and rapeseed intercropping with milk vetch (RV). The years of field

收稿日期: 2025-07-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(32260548, 31901476)

第一作者: 叶莎(ORCID: 0009-0000-8357-0962), 硕士研究生, E-mail: yeshajx@163.com

通讯作者: 周泉(ORCID: 0000-0002-2984-6814), 副研究员, 主要从事耕作生态研究, E-mail: zhouquanyilang@163.com

experiments were conducted to analyze the differences in the characteristics of the soil microbial communities under different treatments. The results showed that: 1) There were significant interannual differences in soil organic carbon fractions, nitrogen transformation and microbial community characteristics among different treatments. Compared with rapeseed monocropping and rapeseed-milk vetch intercropping, rapeseed monocropping not only increased soil temperature, but also increased soil total phosphorus, quick-acting potassium and ammonium nitrogen, and total nitrification rate. 2) Compared with monocropping, intercropping significantly reduced the Coverage index of fungi ($P < 0.05$), and altered the structure of soil bacterial and fungal communities and significantly enriched the richness of each species of bacterial communities, especially Cyanobacteria and Proteobacteria. 3) Each environmental factor had a greater influence on soil bacterial community structure than fungi, with soil moisture and nitrogen being the key factors; There was a significant correlation between the milk vetch monocropping and intercropping treatments with several factors, suggesting that milk vetch was the key factor leading to the differences in soil bacterial community structure. 4) The soil bacterial Shannon index was positively correlated with ammonium nitrogen and negatively correlated with ammonification rate; The soil fungal Simpson index was negatively correlated with ammonium nitrogen and positively correlated with ammonification rate. Therefore, the intercropping of rapeseed and milk vetch can significantly affect the soil microbial community structure, and soil moisture and nitrogen process are the key factors.

Keywords intercropping; rapeseed; milk vetch; soil microorganisms; soil nitrogen

土壤微生物包括细菌、真菌、古细菌、病毒、原生动物和微小藻类,在维持土壤健康和肥力方面起着关键作用^[1];同时土壤微生物也是土壤生态系统功能的关键驱动因素,如分解有机物、调控养分循环和抑制土壤传播疾病^[2]。根际微生物群落可通过“微生物氮泵”效应将氮素固定并传递给植物,使作物氮素利用率提升 15%~20%^[3];假单胞菌和芽孢杆菌等土壤细菌通过多种还原机制,在全球氮循环中发挥着重要作用^[4]。然而,不合理的种植模式会严重影响土壤微生物群落特征和健康状况。单一作物连作会导致土壤病原菌(如镰刀菌(*Fusarium*))增加,当病原菌丰度超过阈值,真菌驱动的土壤多功能性(如碳氮循环)将完全丧失,仅能依靠细菌维持部分功能^[5],进而引发土传病害频发和土壤肥力退化。玉米大豆轮作研究表明,连作导致固氮菌丰度显著降低,而轮作处理通过提高土壤 pH 和有机碳含量,可恢复其丰度至初始水平的 60% 以上^[6]。因此,解析不同种植模式对土壤微生物群落的影响机制,已成为提升农田生态系统可持续性的关键科学问题。

间作系统通过根系分泌物互作和微生境异质性,重塑微生物群落结构与功能。例如,玉米大豆间作系统中增加的根系分泌物通过改善丛植菌根真菌群落组成,进而影响土壤肥力,从而维持间作

优势^[7];油茶玉竹间作系统中,间作土壤的有机质和速效钾含量显著提升,驱动放线菌门(*Actinobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)相对丰度分别增加 33.3% 和 50.0%,这些菌群在有机质分解和养分循环中占据主导^[8]。可见,间作模式可通过微生物介导的养分循环机制,实现对农田生态系统的正向调控。红壤旱地本身土壤肥力偏低,长期油菜单作不仅农田生产力较低,而且不利于红壤肥力的改善。研究发现,油菜与紫云英间作可以提高作物产量,改善土壤肥力和土壤微生物的群落组成;而且与单作紫云英相比,间作下的土壤可利用磷、有机质和蔗糖酶含量都有不同程度的提高,优势菌丰度更高^[9]。当两者混作时,系统总生物量较紫云英单作和油菜单作提高 254.2%~383.7% 和 2.6%~35.0%,土地当量比也提升至 2.13~2.94,而且可增加土壤有机质、铵态氮、全氮和有效磷含量,提高土壤磷的有效组分,强化土壤供磷能力^[10]。

当前,油菜紫云英间作模式的研究主要集中在作物生长与养分利用层面,缺乏对土壤微生物群落的深入研究。现有研究初步发现,油菜紫云英间作的土壤微生物群落结构发生改变^[11],但对微生物群落的变化规律仍缺乏系统解析,土壤水分和氮素等环境因子对微生物群落的调控效应尚未明确。因此,本研究重点研究油菜紫云英间作下土壤微生物群落的响应特征,并围绕土壤微生

物群落与环境因子的关系进行系统解析,为揭示油菜紫云英互作的微生物机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

大田试验在江西农业大学科技园(28°46' N, 115°55' E)进行。试验地土壤类型为南方红壤旱地,年均日照时数为1 714.5 h,年均降雨量1 518.2 mm。供试土壤pH为4.75,有机质质量分数23.17 g/kg,全氮质量分数1.29 g/kg,全磷质量分数0.92 g/kg,全钾质量分数11.14 g/kg,碱解氮质量分数99.98 mg/kg,有效磷质量分数5.01 mg/kg,速效钾质量分数118.44 mg/kg。

1.2 试验设计

本研究基于2019年设置的大田定位试验,重点研究2022年10月—2024年8月期间的土壤微生物及其环境因子特征。供试油菜品种为‘阳光131’、紫云英品种为‘余江大叶’,单因素试验设计。设3种植模式:油菜单作(R)、紫云英单作(V)、油菜紫云英间作(RV)。具体种植方式如下:油菜单作:采用宽窄行穴播方式,株距20 cm,宽行距80 cm,窄行距20 cm(每个小区6行,每行26株,每穴3~5粒);紫云英单作:采用条播方式,播种量为45 kg/hm²(每个小区16条,每条4.2 g);油菜紫云英间作:油菜播种方式与单作相同,紫云英条播在油菜宽行内,播种量为45 kg/hm²(每个小区9条,每条7.5 g)。每个处理设置4次重复,随机区组排列,小区面积3.0 m×5.0 m,共12个小区。各处理施肥措施一致,分别施氮肥(N)180 kg/hm²、磷肥(P₂O₅)180 kg/hm²、钾肥(K₂O)180 kg/hm²,肥料品牌为‘史丹利17-17-17三元复合肥’。所有肥料均于播种前1~2 d一次性施入,并使用锄头将其与土壤充分混合(每个小区施1.59 kg)。

试验田的种植与管理措施具体如下:2022—2023年度:2022年10月22日施肥,2022年10月23日播种油菜、紫云英,2022年11月20日油菜定苗,2023年4月17日收获紫云英(处于盛花期)地上部并覆盖还田,2023年5月3日收获油菜、秸秆不还田;2023—2024年度:2023年10月13日施肥,2023年10月15日播种油菜、紫云英,2023年11月8日油菜定苗,2024年4月18日收获紫云英(处于开花期)地上部并覆盖还田,2024年5月6日收获油菜、秸秆不还田。

1.3 样品采集及测定

于油菜成熟期,采用“5点取样法”在每个小区采集大田土样,其中间作处理采样点兼顾油菜行间、紫云英行间和油菜紫云英行间,用土钻(d=5 cm)取0~20 cm的耕作层土壤,混合均匀,除去杂物与残根后,一部分土壤自然风干过筛,测土壤养分;另一部分土壤存放于-80℃冰箱,待测土壤微生物群落多样性。

1.3.1 土壤环境因子的测定

土壤温度、水分:于油菜成熟期取样时同步测定,使用ZENTRA(Meter Teros 12)土壤温湿度仪测量土深5 cm左右处的土壤温度和水分,每个小区测5个原始值。

土壤化学性状:全氮采用半微量凯氏定氮法^[12],全磷采用NaOH熔融-钼锑抗比色法^[12],全钾采用NaOH熔融-原子分光光度法^[12],碱解氮采用碱解扩散法^[12],有效磷采用Black法(HCl-NH₄F)^[12],速效钾采用NH₄Ac浸提-火焰光度法^[12]。

土壤氮素转化:土壤硝态氮、铵态氮用KCl浸提-比色法测定。取新鲜土样约3 g(相当于2 g干土),加入200 μL 50 mmol/L NH₄Cl溶液,用盖子密封,在25℃避光环境下培养7 d后,用10 mL 1 mol/L KCl溶液浸提,200 r/min震荡1 h,然后离心(3 500 r/min,10 min),测定浸提液中铵态氮和硝态氮的浓度(酶标仪比色)。培养期间单位时间内硝态氮浓度的变化(增加)为净硝化速率,培养期间单位时间内铵态氮浓度的变化(减少)为总硝化速率。取新鲜土样约3 g(相当于2 g干土),加入10 mL纯水,用盖子密封,在40℃避光厌氧环境下培养7 d后,用10 mL 1 mol/L KCl溶液浸提,200 r/min震荡1 h,然后离心(3 500 r/min,10 min),测定浸提液中铵态氮的浓度(酶标仪比色)。培养期间单位时间内铵态氮浓度的累积量为氨化速率。

土壤有机碳:将自然风干后的土壤研磨、过筛,用岛津TOC分析仪(TOC-L SSM-5000A and ASI-L, SHIMADZU公司,日本)测定土壤总有机碳含量。采集新鲜土样立即去除植物残体、根系和可见的土壤动物等,迅速过2 mm筛,并放在低温(2~4℃)保存。称取新鲜土样10~15 g至玻璃瓶中进行氯仿熏蒸,同时称取等量的新鲜土样放入玻璃瓶中但不进行熏蒸;然后将2批土样同时放入培养箱中,25℃培养72 h;将培养后的2批土样转移至

50 mL 离心管中,加入 40 mL 0.05 mol/L K_2SO_4 溶液,震荡(200 r/min, 30 min),离心(8 000 r/min, 5 min),过滤上清液后用碳氮分析仪测定碳含量。未熏蒸的土样碳含量即为可溶性有机碳含量,熏蒸的土样碳含量减去未熏蒸的土样碳含量即为微生物生物量碳的含量。

1.3.2 土壤微生物群落多样性

微生物群落多样性测定由上海美吉生物医药科技有限公司完成,步骤如下:用 DNA 抽提试剂盒进行微生物群落总基因组 DNA 抽提,并测定 DNA 浓度和纯度。以上述提取的 DNA 为模板,使用携带 Barcode 序列的上游引物(细菌 338F 序列号为 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'、真菌 ITS1F 序列号为 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')、下游引物(细菌 806R 序列号为 5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT-3'、真菌 ITS2R 序列号为 5'-GCTGC-GTTCTTCATCGATGC-3')对(细菌 16S rRNA、真菌 ITS 序列)基因(细菌 V3~V4 区、真菌 ITS1 区)可变区进行 PCR 扩增,每个样本 3 个重复。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库,利用 Miseq PE300 平台进行测序。

高通量测序数据分析:使用 fastp 软件对双端原始测序序列进行质控,使用 FLASH 软件进行拼接,

使用 UPARSE 根据 97% 的相似度对质控拼接后的序列进行操作分类单元 OTU (Operational taxonomic unit) 聚类并剔除嵌合体。利用 RDP classifier 比对细菌 silva 138/16s_bacteria 和真菌 unite9.0/its_fungi 基因数据库进行 OTU 物种分类学注释,置信度阈值为 70%,并在不同物种分类水平下统计每个样本的群落组成。

1.4 数据处理及分析

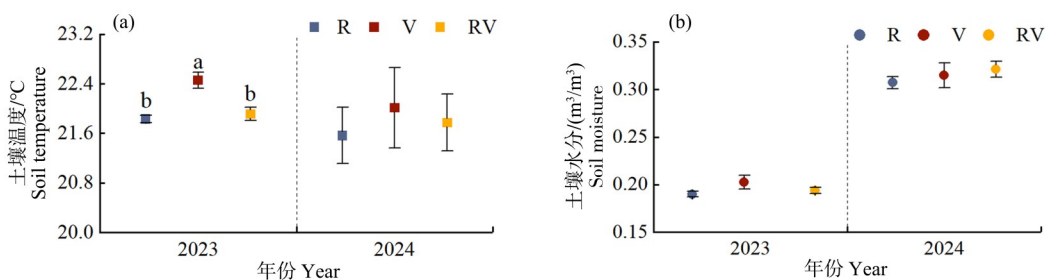
运用 Microsoft Excel 2021 和 IBM SPSS Statistics 25 整理分析试验数据。不同处理之间的差异采用单因素方差分析,并使用 Duncan 法进行多重比较($P < 0.05$);同一处理不同年份的差异采用独立样本 *T* 检验。土壤微生物分析在上海美吉生物医药科技有限公司平台进行,相关图片采用其公司平台和 Origin 2025 软件共同绘制。

2 结果与分析

2.1 土壤环境因子的变化

2.1.1 土壤温度和水分

从油菜成熟期的土壤温度和水分来看(图 1),不同种植模式对土壤水分无显著影响,但对 2023 年的土壤温度有显著影响。与紫云英单作相比,油菜紫云英间作显著降低了土壤温度($P < 0.05$)。



R: 油菜单作, V: 紫云英单作, RV: 油菜紫云英间作。不同小写字母代表在同一年份下不同处理之间存在显著差异($P < 0.05$)。下同。
R: Rapeseed monoculture; V: Milk vetch monoculture; RV: Rapeseed-Milk vetch intercropping. Different lowercase letters denote significant differences between treatments within the same year ($P < 0.05$). The same below.

图 1 不同种植模式对土壤温度(a)和土壤水分(b)的影响

Fig. 1 Effect of different cropping patterns on soil temperature (a) and soil moisture (b)

2.1.2 土壤养分

油菜成熟期土壤氮、磷、钾含量的差异如图 2 所示。从不同处理来看,2023 年紫云英单作的土壤速效钾和全磷含量显著高于油菜单作和油菜紫云英间作($P < 0.05$, 图 2(c)和 2(e)),其中速效钾提高了 48.89% 和 26.81%、全磷提高了

21.31% 和 37.94%。从年际间来看,相比 2023 年,2024 年的油菜单作的全氮和全钾均显著下降(图 2(d)和 2(f)),其中全氮下降 8.35% ($P < 0.05$)、全钾下降 27.56% ($P < 0.001$)。说明油菜单作对全氮、全钾的消耗较大,紫云英单作可改善土壤全磷和速效钾。

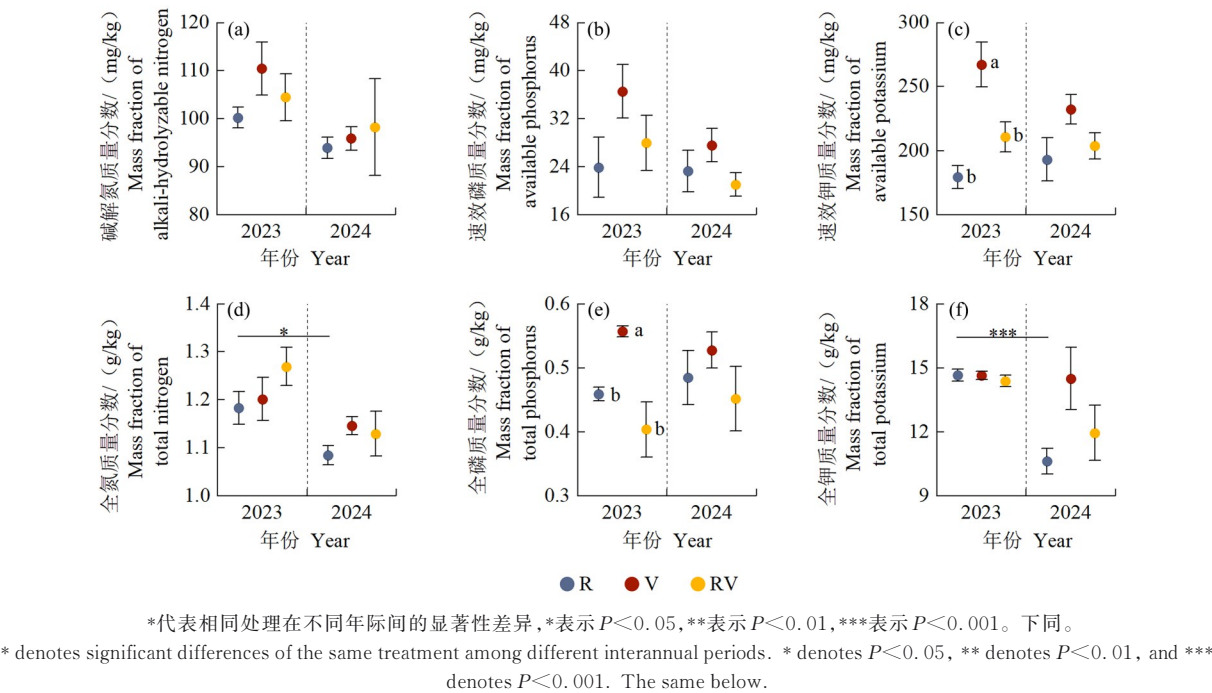


图2 不同种植模式对土壤养分的影响

Fig. 2 Effect of different cropping patterns on soil nutrients

2.1.3 土壤氮素转化

由2年的土壤氮素质量分数变化可以得出(图3),单作与间作种植模式的确态氮质量分数无显著差异,但同一种种植模式在年际间有差异(图3(a))。与2023年相比,2024年油菜单作、紫云英单作和油菜紫云英间作的硝态氮质量分数分别显著增加179.02%($P < 0.05$)、115.33%($P < 0.01$)和

152.78%($P < 0.01$)。2023年紫云英单作的铵态氮质量分数较油菜单作和油菜紫云英间作分别提高31.48%和59.31%($P < 0.05$,图3(b))。与2023年相比,2024年紫云英单作和油菜紫云英间作的铵态氮质量分数显著降低56.23%($P < 0.01$)和36.00%($P < 0.05$)。

2023年紫云英单作的土壤总硝化速率显著高

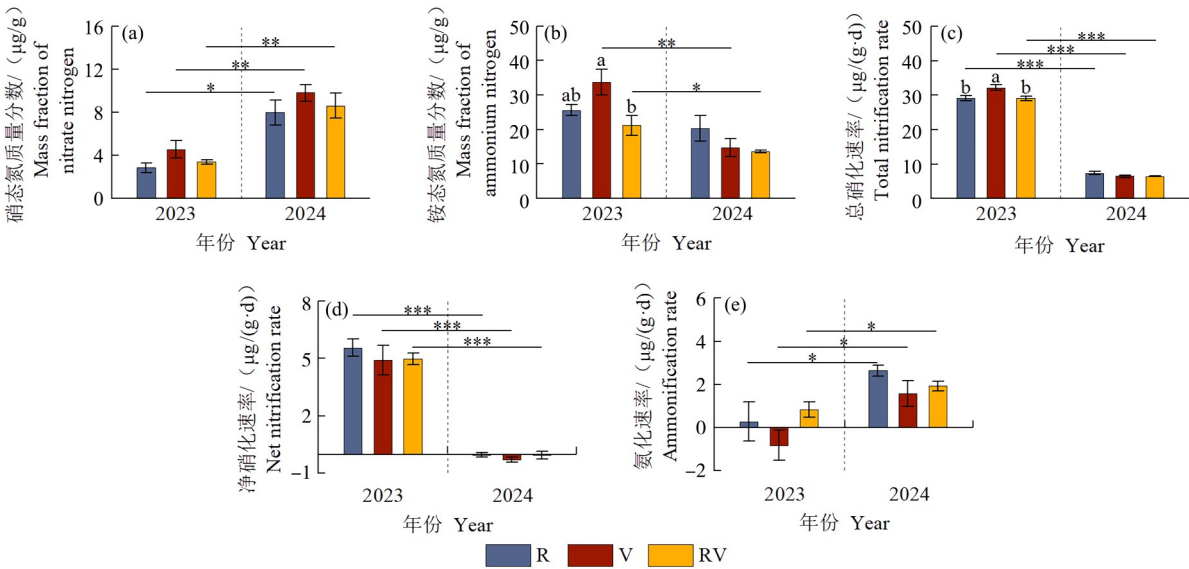


图3 不同种植模式对土壤氮素转化的影响

Fig. 3 Effects of different cropping patterns on soil nitrogen transformation

于油菜单作和油菜紫云英间作($P<0.05$,图 3(c))。不同处理在 2024 年的土壤总硝化速率和 2 年的净硝化速率与氨化速率之间均无显著差异(图 3(d)和 3(e))。与 2023 年相比,2024 年油菜单作、紫云英单作和油菜紫云英间作的总硝化速率分别显著降低 74.71%、79.84% 和 78.00%($P<0.001$),净硝化速率显著降低 100.56%、105.56% 和 100.54%($P<0.001$),氨化速率显著提高 902.99%、288.11% 和 133.43%($P<0.05$)。

可见,间作主要降低了土壤铵态氮含量,年际间的土壤硝态氮有所升高,土壤铵态氮有所降低。与不同种植模式相比,年际对土壤总硝化速率、净硝化速率和氨化速率的影响更大。

2.1.4 土壤有机碳组分

从 2 年的土壤有机碳组分来看(图 4),不同处理间的差异不显著,但年际间的差异较大。相比 2023 年,2024 年油菜单作、紫云英单作和油菜紫云英间作的土壤总有机碳质量分数分别显著下降了 30.94%($P<0.05$)、37.94%($P<0.001$)和 28.40%($P<0.001$,图 4(a)),油菜紫云英间作的可溶性有机碳质量分数显著提高 49.36%($P<0.05$,图 4(b)),紫云英单作和油菜紫云英间作的微生物生物量碳质量分数显著降低 52.34%($P<0.01$)和 42.91%($P<0.05$,图 4(c))。可见,与种植模式的影响相比,土壤有机碳组分的变化主要体现在年际间。

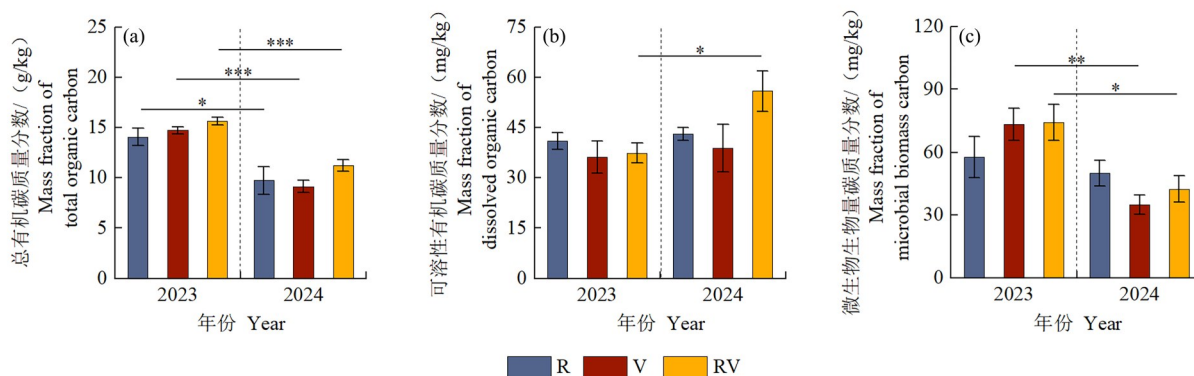


图 4 不同种植模式对土壤有机碳组分的影响

Fig. 4 Effects of different cropping patterns on soil organic carbon fractions

2.2 土壤微生物群落特征

2.2.1 α 多样性

土壤微生物群落 α 多样性指数分析结果表明(图 5),细菌群落中不同处理的各项指数无显著差异。但与 2023 年相比,2024 年的 Coverage 指数显著下降,分别为油菜单作下降 0.28%($P<0.05$)、紫云英单作下降 0.26%($P<0.01$)、油菜紫云英间作下降 0.23%($P<0.05$,图 5(a₃))。因此,不同种植模式对细菌群落 α 多样性无显著影响,但年际间的群落 α 多样性会出现差异。

真菌群落的结果表明,不同处理在 2024 年的 Coverage 指数有显著差异(图 5(b₃)),其中间作低于油菜单作 0.08%($P<0.05$);其他指数在各处理之间差异不显著。但在年际之间,2024 年,油菜单作和紫云英单作的 Coverage 指数较 2023 年分别显著提高 0.11%($P<0.05$)和 0.09%($P<0.001$),油菜

单作和紫云英单作的 Simpson 指数分别显著提高 62.52% 和 32.87%($P<0.05$),油菜单作的 Shannon 指数显著降低 6.07%($P<0.05$)。因此,不同种植模式对 2024 年的土壤真菌 Coverage 指数有显著影响,对其他指数无显著影响;并且,年际对油菜单作的真菌群落多样性指数的影响更大。

2.2.2 β 多样性

通过多维 PCA 对土壤微生物群落结构差异进行分析得出(图 6),不同处理在同一年代的分离较小,在年际间 PC1 轴上有较大分化,表明土壤微生物群落结构在年际间发生变化。从细菌来看,油菜紫云英间作在 2024 年与油菜单作、紫云英单作相比有较大差异(图 6(a));从真菌来看,油菜紫云英间作在 2023 和 2024 年均与油菜单作、紫云英单作相比有较大差异(图 6(b))。可见,与单作相比,油菜紫云英间作可显著改变土壤微生物群落结构。

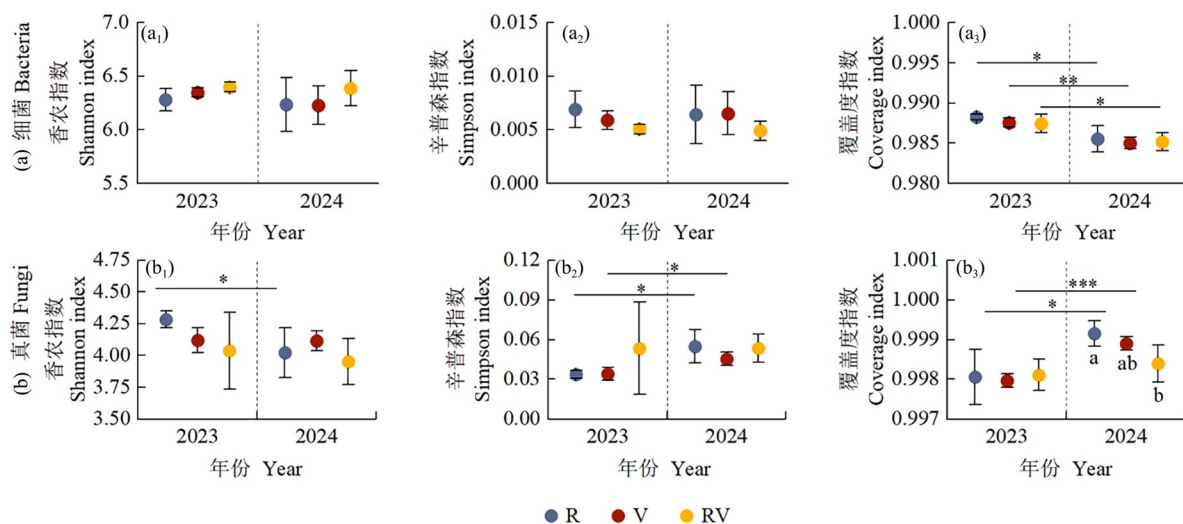
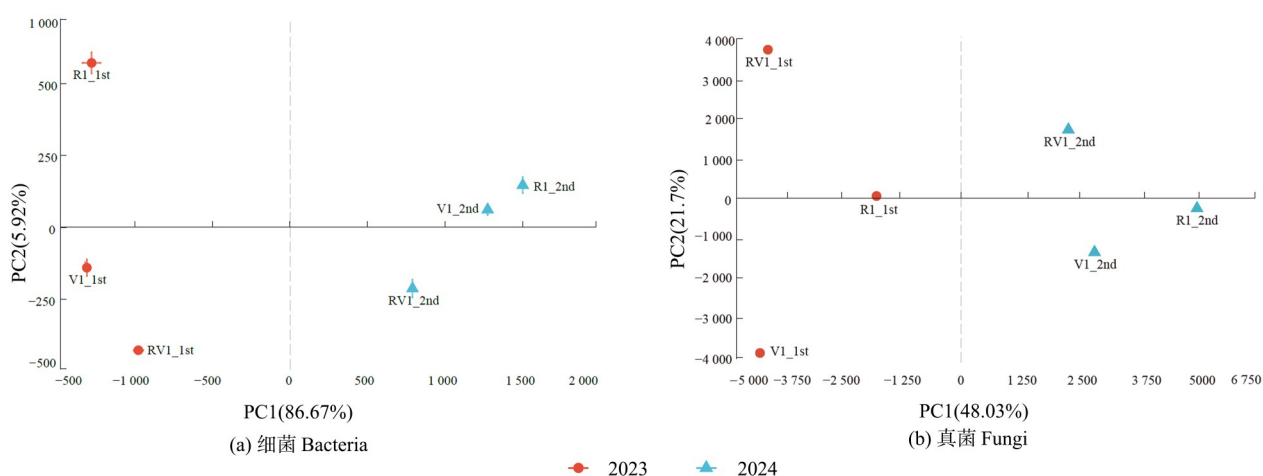


图5 不同种植模式下土壤微生物 α 多样性指数的差异(OUT水平)

Fig. 5 Differences in α diversity indices of soil microorganisms under different cropping patterns (OUT level)



图中的点为各个处理在PC1、PC2轴上的均值,误差棒为各处理在PC1、PC2方向上的标准差。

The points in the figure represent the mean values of each treatment along the PC1 and PC2 axes, with error bars indicating the standard deviation of each treatment in the PC1 and PC2 directions.

图6 不同种植模式下的土壤微生物群落结构多维PCA(OTU水平)

Fig. 6 Multidimensional PCA of soil microbial community structure under different cropping patterns (OTU level)

2.2.3 物种差异分析

土壤微生物群落LEfSe多级物种差异判别分析结果表明(图7),显著富集微生物种类最多的是油菜紫云英间作处理。在细菌群落中(图7(a)),油菜单作有2种微生物显著富集,分别是高温放线菌属*Thermoactinomyces*和*Candidatus_Megaira*(未命名);紫云英单作有4种微生物显著富集,分别是酸杆菌门的土壤杆菌属(*Edaphobacter*)、绿弯菌门的丝状杆菌属(*Ktedonobacter*)等;油菜紫云英间作有21种微生物显著富集,主要有蓝细菌门(Cyanobacteria)、变形菌门(Cellvibrionales、Methylophilaceae、Xanthomonadaceae

等)。在真菌群落中(图7(b)),油菜单作有16种微生物显著富集,包括担子菌门(Cystofilobasidiales、Entylomatales)、子囊菌门(Thelebolales)等;紫云英单作有12种微生物显著富集,主要是子囊菌门(Coniothyriaceae、Bionectriaceae、*Veronaeopsis*、*Ophiocordyceps*等);油菜紫云英间作有17种微生物显著富集,主要包括子囊菌门(如*Setophaeosphaeria*、*Helotiaceae*、*Hypocreales*)、半知菌(如*Terramycetaceae*、*Torula*)等。可见,间作处理显著影响细菌群落物种丰富度,如蓝细菌和变形菌;真菌群落中子囊菌门的丰富度较高,在各处理中都有显著富集。



不同颜色节点表示在对应组别中显著富集,且对组间差异存在显著影响的微生物类群;淡黄色节点表示在不同分组中均无显著差异,或对组间差异无显著影响的微生物类群。

Nodes in different colours denote microbial groups that are significantly enriched within their respective groups and exert a significant influence on inter-group differences; pale yellow nodes denote microbial groups that show no significant differences across different groupings or exert no significant influence on inter-group differences.

图7 不同种植模式下的土壤微生物 LEfSe 多级物种差异判别分析

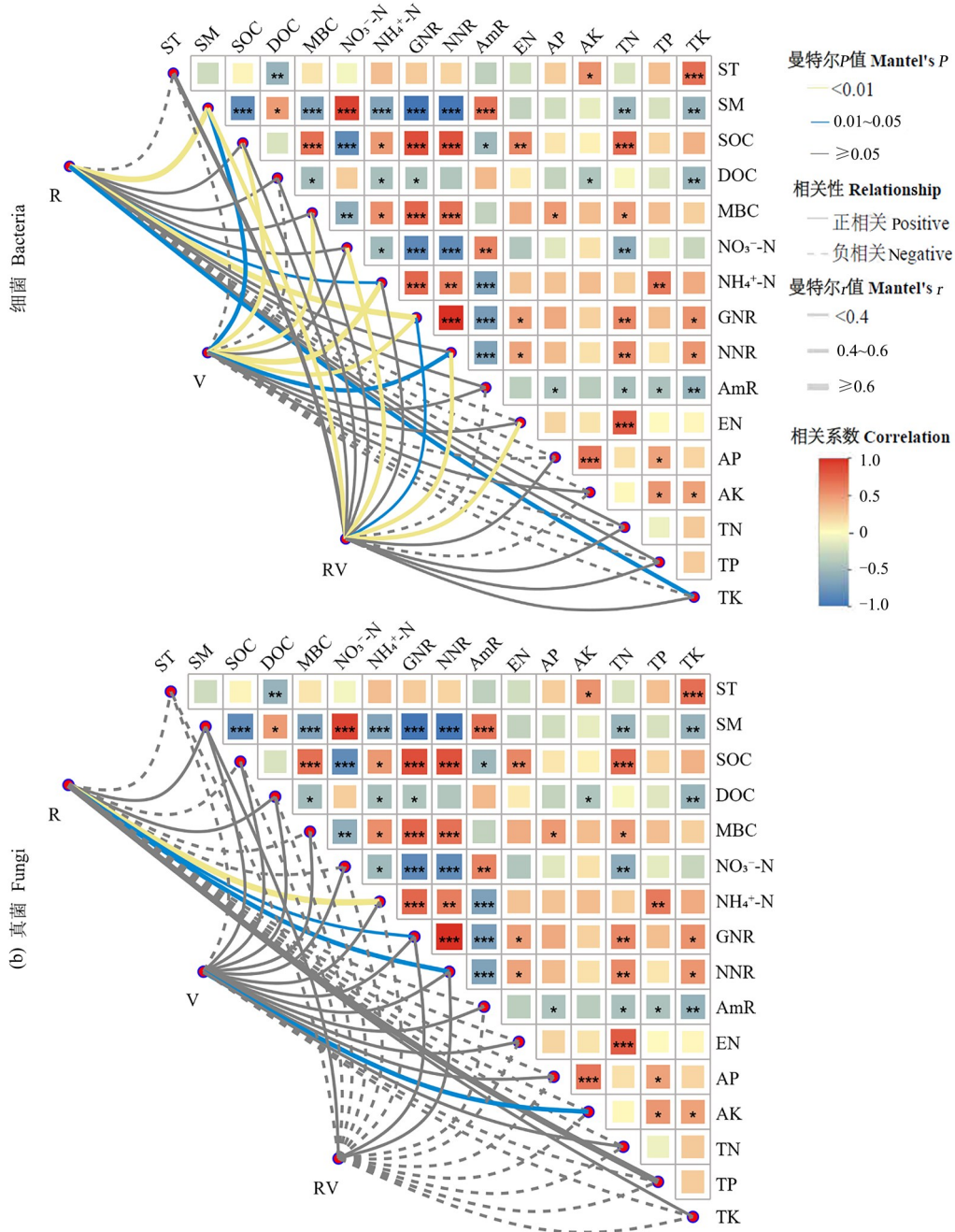
Fig. 7 Discriminant analysis of soil microbial LEfSe multilevel species differences under different cropping patterns

2.3 土壤微生物与环境因子关联分析

2.3.1 Mantel test

从土壤微生物群落结构与环境因子的 Mantel test 相关性分析可知(图 8),各环境因子之间显著相关,环境因子与土壤微生物群落结构的关系密切。其中,土壤水分和碳氮含量是影响不同处理微生物群落结构的关键因子。

细菌群落中(图8(a)),土壤水分、硝态氮、硝化速率和碱解氮是显著影响间作土壤微生物群落结构的主要因子,土壤水分、铵态氮、总硝化速率和全钾是显著影响油菜单作土壤微生物群落结构的主要因子,土壤水分、有机碳、微生物生物量碳、铵态氮和硝化速率是显著影响紫云英单作土壤微生物群落结构的主要因子。真菌群落中



图中线条代表群落和环境因子相关性,热图代表环境因子之间相关性,所用数据为2年合并数据。线条粗细:群落与环境因子之间相关性大小,取 Mantel' r (R 的绝对值)绘制;热图中不同颜色代表正负相关性,颜色深浅代表正负相关性大小,色块中星号代表显著性。*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$ 。ST:土壤温度;SM:土壤水分;SOC:总有机碳;DOC:可溶性有机碳;MBC:微生物生物量碳;NO₃⁻-N:硝态氮;NH₄⁺-N:铵态氮;GNR:总硝化速率;NNR:净硝化速率;AmR:氨化速率;EN:碱解氮;AP:速效磷;AK:速效钾;TN:全氮;TP:全磷;TK:全钾。下同。

The lines in the figure represent correlations between communities and environmental factors, while the heatmap depicts correlations among environmental factors. The data used is a combined dataset spanning two years. Line thickness indicates the magnitude of correlation between communities and environmental factors, plotted using Mantel's r (the absolute value of R). Colours in the heatmap denote positive or negative correlations, with shade intensity indicating correlation strength. Asterisks within colour blocks indicate significance: * denotes $P<0.05$, ** denotes $P<0.01$, and *** denotes $P<0.001$. ST: Soil temperature; SM: Soil moisture; SOC: Total organic carbon; DOC: Dissolved organic carbon; MBC: Microbial biomass carbon; NO₃⁻-N: Nitrate nitrogen; NH₄⁺-N: Ammonium nitrogen; GNR: Gross nitrification rate; NNR: Net nitrification rate; AmR: Ammonification rate; EN: Alkali-hydrolysable nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; TK: Total potassium. The same below.

图8 土壤微生物群落结构与环境因子的关联分析-Mantel Test

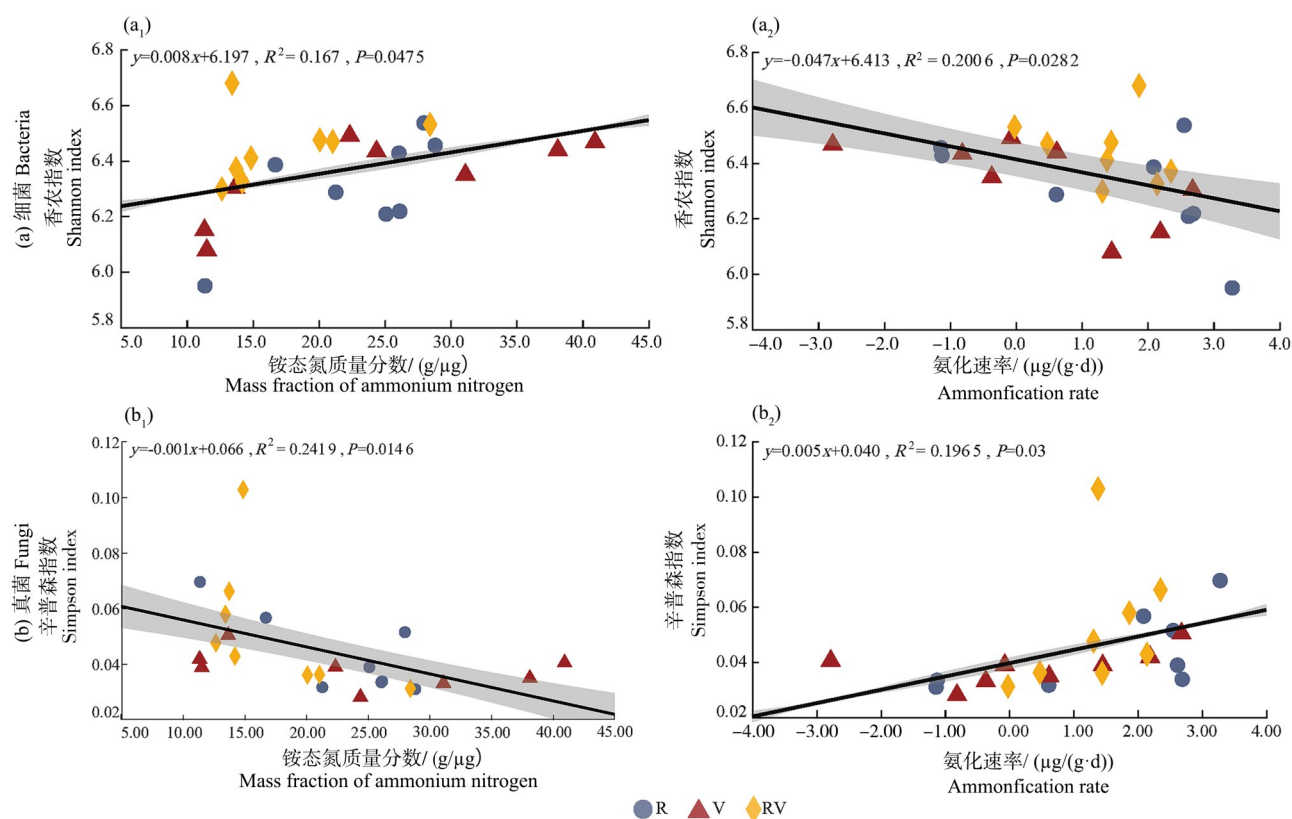
Fig. 8 Correlation analysis between soil microbial community structure and environmental factors-Mantel Test

(图 8(b)), 铵态氮和硝化速率是显著影响油菜单作土壤微生物群落结构的主要因子, 速效钾是显著影响紫云英单作土壤微生物群落结构的主要因子。

由此可见, 土壤环境因子的变化对土壤细菌群落结构的影响更显著, 其中紫云英单作和油菜紫云英间作处理的细菌群落结构与多个因子呈极显著相关, 表明种植紫云英对土壤细菌群落结构的影响较大, 是间作影响土壤群落结构的关键所在。

2.3.2 排序回归分析

对土壤微生物 α 多样性指数与环境因子做排序回归分析发现(图 9), 铵态氮、氨化速率与 α 多样性指数之间存在相关性。其中, 细菌 Shannon 指数与铵态氮质量分数显著正相关, 与氨化速率呈显著负相关(图 9(a)); 真菌 Simpson 指数与铵态氮质量分数呈显著负相关, 与氨化速率呈显著正相关(图 9(b))。进一步说明土壤氮素尤其是铵态氮是影响土壤微生物群落多样性的关键。



将氮素指标与 α 多样性做排序回归分析, 展示单个氮素指标对样本物种多样性组成差异的影响。 R^2 为决定系数, 代表变异被回归直线解释的比例, R^2 越大, 表明该氮素指标对样本 α 多样性指数差异的解释度越高。 P 为概率值。

Sequential regression analysis between nitrogen indicators and α -diversity to demonstrate the impact of individual nitrogen indicators on the differences in the composition of sample species diversity. R^2 (coefficient of determination) represents the proportion of variance explained by the regression line; a larger R^2 value indicates a higher degree of explanation of the differences in sample α -diversity indices by that nitrogen indicator. P stands for probability value.

图 9 土壤微生物群落结构与环境因子的排序回归分析

Fig. 9 Sequential regression analysis of soil microbial community structure and environmental factors

3 讨论

本研究中不同种植模式下的土壤有机碳含量的差异主要体现在年际间, 间作下的土壤总有机碳和土壤微生物生物量碳含量显著降低, 土壤可溶性

有机碳含量显著提高。研究表明, 间作会通过植物之间对土壤养分的竞争, 增加土壤有机质的分解和矿化, 从而降低有机碳含量^[13-14]; 还有研究表明, 间作有增加胺类和芳香族化合物含量以及土壤可溶性有机碳平均分子量的趋势, 并且通过土壤温度和

根系生物量的增加来提高土壤中的可溶性有机碳含量^[15]。另外,土壤微生物生物量碳与土壤有机质通常表现出极强的相关性^[16-17],本研究中土壤有机碳含量在年际间降低,可能与微生物生物量碳的下降密切相关。相比紫云英单作,间作对土壤温度有降低作用,这是因为间作通过增加植被覆盖和改善土壤结构,降低了土壤温度^[18]。2023年紫云英单作的土壤速效钾和全磷显著高于间作,这是因为间作通过紫云英(豆科绿肥)分泌酸性磷酸酶和有机酸促进有机磷矿化,降低土壤有机磷含量^[19]。在间作模式下,不同作物对土壤养分的竞争能力不一,导致土壤系统中对速效钾的吸收利用受到影响,从而降低了土壤中速效钾的含量^[20]。此外,年际间的全氮和全钾含量降低,这与王立光等^[21]研究结果一致,可能是因为间作后土壤pH降低,土壤氮磷钾被作物充分吸收利用。相比间作,紫云英单作的土壤铵态氮和总硝化速率在2023年时含量显著提高,总硝化速率是铵态氮被微生物氧化为硝态氮的总反应速率(不考虑硝态氮的损失)^[22]。本研究中土壤有机碳在年际间显著降低,导致氨化速率在年际间也出现显著差异^[23],削弱硝化作用的底物供应,总硝化速率和净硝化速率也随之降低。

本研究表明,间作与单作相比,土壤细菌的 α 多样性指数无显著差异,但 β 多样性(群落结构异质性)差异显著,这与前人研究一致^[24-25]。原因是间作显著增加了根际微生物网络的复杂性和模块化程度^[26],根系分泌物的差异显著^[27],导致了群落结构的差异。此外,间作显著降低真菌群落的Coverage指数,可能是因为间作可能通过降低优势菌群的比例,增加稀有菌属的多样性,导致测序覆盖度降低^[28]。本研究还发现,细菌群落中间作下的蓝细菌和变形菌显著富集,这是因为豆科作物固氮后释放的铵态氮促进蓝细菌的光合作用^[29],而且间作系统中根系分泌物的多样性会促进变形菌门的代谢功能基因(如硝酸盐还原酶基因narG)的表达,导致变形菌的富集^[30]。

土壤各环境因子之间显著相关,土壤水分和氮素是影响细菌群落结构的关键因子。有研究发现,土壤铵态氮(解释度22%)和土壤水分(19%)是解释细菌群落 β 多样性变化的关键因子,且两者间存在显著正相关^[31]。并且,土壤水分与氮素的交互作用可解释细菌群落结构变异的41%,其中水分通过

影响土壤通气性(如土壤孔隙度增加12%)和氮素扩散速率,间接调控变形菌门的氮代谢基因表达^[32]。紫云英单作与间作处理的土壤细菌群落结构与多个环境因子显著相关,这是因为紫云英单作使土壤总氮质量分数增加28%,铵态氮浓度提高45%,而间作处理进一步通过根系分泌物协同效应,使土壤硝态氮质量分数提升32%^[33],这些氮素变化与细菌物种丰度呈显著正相关。而Petkova等^[30]通过SEM模型也指出,紫云英间作通过“氮素 $\rightarrow$ pH $\rightarrow$ 水分”的链式效应,间接调控细菌群落结构,总效应值为0.71。本研究发现细菌Shannon指数与铵态氮呈显著正相关,这可能是由于铵态氮通过刺激变形菌门和酸杆菌门等优势菌群的活性,优化了碳源利用策略^[34],而Shannon指数与氨化速率呈负相关,这可能是因为高氨化速率加速了氮素周转,抑制了稀有菌群的生态位分化^[35]。本研究还发现真菌Simpson指数与铵态氮呈负相关,这可能是因为铵态氮的积累可能通过硝化作用降低土壤pH,抑制对酸敏感的真菌类群(如担子菌门)^[36],而Simpson指数与氨化速率正相关,这可能是因为氨化作用释放的 NH_4^+ 通过硝化作用转化为 NO_3^- ,驱动硝化菌(如亚硝化古菌)的活性,间接影响真菌群落^[37]。

4 结 论

通过2年的研究发现,不同种植模式的土壤有机碳组分、氮素转化以及微生物群落特征在年际间差异明显。具体来看,紫云英单作可以提高土壤温度、全磷、速效钾和铵态氮含量,同时提高土壤的总硝化速率。间作则同时改变了土壤细菌和真菌群落结构,降低了真菌的Coverage指数,并显著富集细菌群落的各种丰富度,尤其是蓝细菌和变形菌;而且,种植紫云英是导致土壤细菌群落结构差异的关键。与真菌相比,土壤细菌群落结构受各环境因子的影响更大,其中土壤水分和氮素是关键因子。另外,土壤细菌Shannon指数与铵态氮呈正相关,与氨化速率呈负相关;土壤真菌Simpson指数与铵态氮呈负相关,与氨化速率呈正相关。可见,由于种植紫云英,间作对土壤微生物群落结构产生显著影响,而且土壤水分和氮素转化是影响土壤微生物群落变化的关键。

参考文献 References

- [1] Islam W, Noman A, Naveed H, Huang Z, Chen H Y H. Role of environmental factors in shaping the soil microbiome[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(33): 41225-41247
- [2] Chen Q, Song Y, An Y, Lu Y, Zhong G. Soil microorganisms: Their role in enhancing crop nutrition and health[J]. *Diversity*, 2024, 16(12): 734
- [3] Püschel D, Bitterlich M, Rydlová J, Jansa J. Drought accentuates the role of mycorrhiza in phosphorus uptake[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 157: 108243
- [4] Jiang Z, Wang Z, Zhao Y, Peng M. Unveiling the vital role of soil microorganisms in selenium cycling: A review[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15
- [5] Jia J, Hu G, Ni G, Xie M, Li R, Wang G, Zhang J. Bacteria drive soil multifunctionality while fungi are effective only at low pathogen abundance [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 906: 167596
- [6] Liu J, Yu Z, Yao Q, Hu X, Zhang W, Mi G, Chen X, Wang G. Distinct soil bacterial communities in response to the cropping system in a mollisol of Northeast China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 119: 407-416
- [7] Zhang S, Li S, Meng L, Liu X, Zhang Y, Zhao S, Zhao H. Root exudation under maize/soybean intercropping system mediates the arbuscular mycorrhizal fungi diversity and improves the plant growth[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1375194
- [8] Zhou Z, Wang X, Chen C, Cui Z, Li A, He W, Guo Y, Zeng Y. Polygonatum odoratum and Vernicia fordii intercropping effects on crop quality, soil nutrients and microbial community structure[J]. *Agroforestry Systems*, 2025, 99(4): 85
- [9] Qu J, Li L, Wang Y, Yang J, Zhao X. Effects of rape/common vetch intercropping on biomass, soil characteristics, and microbial community diversity[J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2022, 10: 947014
- [10] 胡宇. 紫云英/绿肥油菜混作体系氮磷养分利用特征研究[D]. 华中农业大学, 2023
- Hu Y. Study on nitrogen and phosphorus nutrient utilization characteristics in the astragalus sinicus/brassica napus (green manure rape) intercropping system[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023 (in Chinese)
- [11] 刘泽琴, 刘宁, 李淑娟, 黄国勤, 周泉. 紫云英与油菜间作模式下根系分泌物对土壤微生物的影响[J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(4): 177-184
- Liu Z Q, Liu N, Li S J, Huang G Q, Zhou Q. Effects of root exudates on soil microorganisms under the intercropping pattern of astragalus sinicus and brassica napus[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2023, 42(4): 177-184 (in Chinese)
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000
- Bao S D. *Chemical Analysis Methodes of Soil Agriculture*[M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000 (in Chinese)
- [13] Nyawade S O, Karanja N N, Gachene C K K, Gitari H I, Schulte-Geldermann E, Parker M L. Short-term dynamics of soil organic matter fractions and microbial activity in smallholder potato-legume intercropping systems[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 142: 123-135
- [14] Zhang Y, Han M, Song M, Tian J, Song B, Hu Y, Zhang J, Yao Y. Intercropping with aromatic plants increased the soil organic matter content and changed the microbial community in a pear orchard[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 616932
- [15] Wang D, Yi W, Zhou Y, He S, Tang L, Yin X, Zhao P, Long G. Intercropping and N application enhance soil dissolved organic carbon concentration with complicated chemical composition[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 210: 104979
- [16] 周莎, 马袁菲, 王洁莹, 任成杰, 郭鑫鑫, 王俊, 赵发珠. 我国森林土壤微生物生物量碳的纬度分布特征及影响因子[J]. 林业科学, 2022, 58(2): 49-57
- Zhou S, Ma H F, Wang J Y, Ren C J, Guo Y X, Wang J, Zhao F Z. Latitudinal distribution characteristics of forest soil microbial biomass carbon in China and its influencing factors[J]. *Journal of Forestry Science*, 2022, 58(2): 49-57 (in Chinese)
- [17] Cai Y, Yang Y, Jiang J, Long T, Gu X, Guo Y, Li M, Xie Y. Response of soil organic carbon stocks and soil microbial biomass carbon to natural grassland conversion: A global meta-analysis[J]. *Science of The Total Environment*, 2025, 965: 178481
- [18] 张兆斌, 宋礼毓, 相昆, 李宪利, 史作安. 间作白三叶草和覆膜对甜樱桃园土壤温度变化的影响[J]. 落叶果树, 2007(3): 7-9
- Zhang Z B, Song L Y, Xiang K, Li X L, Shi Z A. Intercropping with white clover (*Trifolium repens*) and plastic mulching effects on soil temperature dynamics in sweet cherry orchards[J]. *Deciduous Fruits*, 2007(3): 7-9 (in Chinese)
- [19] An R, Yu R P, Xing Y, Zhang J D, Bao X G, Lambers H, Li L. Intercropping efficiently utilizes phosphorus resource in soil via different strategies mediated by crop traits and species combination[J]. *Plant and Soil*, 2024, 497(1): 705-725
- [20] 邱江梅, 吴海宁, 黄志鹏, 贺梁琼, 李忠, 钟瑞春, 韩柱强, 蒋菁, 黎冰, 唐秀梅, 唐荣华. 甘蔗/花生间作对根系生理及根际土壤养分的影响[J]. 中国油料作物学报, 2024, 46(4): 889-896
- Qiu J M, Wu H N, Huang Z P, He L Q, Li Z, Zhong R C, Han Z Q, Jiang J, Li B, Tang X M, Tang R H. Sugarcane (*Saccharum officinarum*)/peanut (*Arachis hypogaea*) intercropping effects on root physiology and rhizosphere soil nutrients[J]. *Oil Crop Science*, 2024, 46(4): 889-896 (in Chinese)
- [21] 王立光, 叶春雷, 陈军, 李进京, 罗俊杰. 胡麻/小麦间作与胡麻-小麦轮作对土壤理化特性及胡麻生长的影响[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(12): 161-171
- Wang L G, Ye C L, Chen J, Li J J, Luo J J. Flax (*Linum usitatissimum*)/wheat (*Triticum aestivum*) intercropping and flax-wheat rotation effects on soil physicochemical properties and flax growth[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(12): 161-171 (in Chinese)
- [22] Li Z, Tang Z, Song Z, Chen W, Tian D, Tang S, Wang X, Wang J, Liu W, Wang Y, Li J, Jiang L, Luo Y, Niu S. Variations and controlling factors of soil denitrification rate[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(6): 2133-2145
- [23] 李平, 郎漫. 开垦年限对黑土氮初级转化速率和净转化速率的影响[J]. 土壤学报, 2020, 57(1): 165-173
- Li P, Lang M. Effects of reclamation years on gross and net nitrogen transformation rates in black soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(1): 165-173 (in Chinese)
- [24] 刘柱, 南镇武, 林松明, 孟维伟, 于海秋, 谢立勇, 张正, 万书波. 黄河下游谷子花生间作农田土壤细菌群落结构与功能预测[J]. 环境科学, 2023, 44(8): 4575-4584
- Li Z, Nan Z W, Lin S M, Meng W W, Yu H Q, Xie L Y, Zhang Z, Wan S B. Bacterial community structure and functional prediction in lower yellow river foxtail millet (*Setaria italica*)/peanut (*Arachis hypogaea*) intercropping farmland soil[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(8): 4575-4584 (in Chinese)
- [25] 王雪. 不同牧草间作模式对油茶林地土壤养分和真菌群落结构的影响[D]. 长沙, 中南林业科技大学, 2024
- Wang X. Effects of different forage grass intercropping patterns on soil nutrients and fungal community structure in camellia oleifera forest land[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2024 (in

- Chinese)
- [26] Zhang Z, Chai X, Tariq A, Zeng F, Li X, Graciano C. Intercropping systems modify desert plant-associated microbial communities and weaken host effects in a hyper-arid desert[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 754453
- [27] Liu D, Abdellah Y A Y, Dou T, Keiblinger K M, Zhou Z, Bhople P, Jiang J, Shi X, Zhang F, Yu F, Xing B. Livestock-crop-mushroom (LCM) circular system: An eco-friendly approach for enhancing plant performance and mitigating microbiological risks[J]. *Environmental Science & Technology*, 2025, 59(17): 8541-8554
- [28] 张晓岗, 刘萍, 马琨, 王娜. 间作栽培对宁夏南部山区马铃薯根际土壤真菌菌群结构的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29(12): 1875-1882
Zhang X G, Liu P, Ma K, Wang N. Effects of intercropping on rhizosphere soil fungal community structure of potato (*solanum tuberosum*) in southern mountainous area of Ningxia[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2020, 29(12): 1875-1882 (in Chinese)
- [29] Xiao X, Han L, Chen H, Wang J, Zhang Y, Hu A. Intercropping enhances microbial community diversity and ecosystem functioning in maize fields[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1084452
- [30] Petkova M, Shilev S, Popova V, Neykova I, Minev N. Intercropping of oats with vetch conducts to improve soil bacteriome diversity and structure[J]. *Microorganisms*, 2025, 13(5): 977
- [31] Xue P, Minasny B, Wadoux A M J C, Dobarco M R, McBratney A, Bissett A, de Caritat P. Drivers and human impacts on topsoil bacterial and fungal community biogeography across Australia[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30(3): e17216
- [32] Li J, Zou Y, Yang K, Zhu Y, Zhou Q, Shao L, Gong J, Peng S, Peng G, Qin T, Tian M, Tian Y, Liu Y, Wang C, Hu R, Li J. Well-developed root systems and a nitrogen-rich rhizosphere recruit key bacterial taxa to resist disease invasion of field crop[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2025, 378: 109279
- [33] Zhong C, Liu Y, Xu X, Yang B, Aamer M, Zhang P, Huang G. Paddy-upland rotation with Chinese milk vetch incorporation reduced the global warming potential and greenhouse gas emissions intensity of double rice cropping system[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 276: 116696
- [34] 曾红丽. 模拟增温与氮沉降对青藏高原沼泽草甸土壤细菌群落多样性的影响[D]. 兰州交通大学, 2023
Zeng H L. Effects of simulated warming and nitrogen deposition on soil bacterial community diversity in swamp meadows of the Qinghai-Tibet Plateau [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2023 (in Chinese)
- [35] 王先芳, 任天志, 智燕彩, 张贵龙, 李洁, 王知文. 添加生物炭改善菜地土壤氨氧化细菌群落并提高净硝化率[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(3): 502-510
Wang X F, Ren T Z, Zhi Y C, Zhang G L, Li J, Wang Z W. Biochar amendment improves ammonia-oxidizing bacterial (AOB) community and enhances net nitrification rate in vegetable field soils[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(3): 502-510 (in Chinese)
- [36] 林艳, 何跃军, 何敏红, 吴春玉, 方正圆, 韩勤, 徐鑫洋, 王世雄. 喀斯特植被演替过程土壤丛枝菌根真菌(AMF)多样性[J]. 生态学报, 2019, 39(11): 4127-4137
Lin Y, He Y J, He M H, Wu C Y, Fang Z Y, Han X, Xu X Y, Wang S X. Soil arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) diversity during Karst vegetation succession[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(11): 4127-4137 (in Chinese)
- [37] Liu M, Wei Y, Lian L, Zhang J, Liu N, Wilson G W T, Rillig M C, Jia S, Yang G, Zhang Y. Discovering the role of fairy ring fungi in accelerating nitrogen cycling to promote plant productivity in grasslands[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024, 199: 109595

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 叶莎, 硕士研究生, 江西农业大学农学院生态学专业。获学业奖学金2次, 参与国家自然科学基金(32260548, 31901476)项目2项, 参与编写学术著作1部。



通讯作者简介: 周泉, 博士、副研究员、硕士生导师, 江西农业大学未来之星, 江西省杰出青年基金获得者, 国家公派德国卡塞尔大学访问学者。兼任中国农学会耕作制度分会理事、副秘书长, 中国生态经济学学会理事, 江西省生态经济学会常务理事、秘书长, 江西省农学会耕作专业委员会常务理事。主要从事生态农业与可持续发展、多样化种植、农田固碳减排和提质增效等领域的科研工作。主持国家自然科学基金项目2项、江西省杰出青年基金1项、江西省教育厅科学技术研究项目1项, 参与国家重点研发计划、中国工程院咨询项目、国家自然科学基金项目等多项。以第一/通讯作者发表国内外学术论文20余篇。获江西农业大学研究生教学成果奖二等奖2项, 获批实用新型专利3项。