

DOI: 10.5846/stxb201407011357

胡国彬,董坤,董艳,郑毅,汤利,李欣然,刘一鸣.间作缓解蚕豆连作障碍的根际微生态效应.生态学报,2016,36(4): - .

Hu G B, Dong K, Dong Y, Zheng Y, Tang L, Li X R, Liu Y M. Effects of cultivars and intercropping on the rhizosphere microenvironment for alleviating the impact of continuous cropping of faba bean. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(4): - .

## 间作缓解蚕豆连作障碍的根际微生态效应

胡国彬<sup>1</sup>,董坤<sup>2</sup>,董艳<sup>1,\*</sup>,郑毅<sup>1,3</sup>,汤利<sup>1</sup>,李欣然<sup>1</sup>,刘一鸣<sup>1</sup>

1 云南农业大学资源与环境学院,昆明 650201

2 云南农业大学食品科技学院,昆明 650201

3 西南林业大学,昆明 650224

**摘要:**通过田间小区试验,研究了3个品种蚕豆(92—24、云豆324、凤豆6号)与小麦间作对蚕豆产量、枯萎病病情指数、根际镰刀菌数量、根际真菌代谢功能多样性和土壤酶活性的影响。结果表明:与单作蚕豆相比,云豆324与小麦间作(YD324/W)和凤豆6号与小麦间作(FD6/W)处理均显著提高了蚕豆地上部干重、籽粒产量和百粒重。YD324/W和FD6/W处理使蚕豆枯萎病发病初期病情指数分别降低57.14%和41.67%,镰刀菌数量分别降低32.06%和29.88%,而92—24与小麦间作(92—24/W)处理蚕豆产量、枯萎病病情指数和镰刀菌数量与单作蚕豆均无显著差异。YD324/W和FD6/W处理显著提高了蚕豆根际真菌的多样性指数和丰富度指数,并使蚕豆根际真菌的AWCD值分别比单作蚕豆提高了61.75%和46.49%;YD324/W和FD6/W处理明显改变了蚕豆根际真菌的群落结构。而92—24/W处理对蚕豆根际真菌的多样性指数、丰富度指数和AWCD值均无显著影响,也未明显改变真菌的群落结构。不同发病时期,YD324/W和FD6/W处理均显著提高了蚕豆根际土壤的蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶活性;而92—24/W处理蚕豆根际蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶活性与单作蚕豆均无显著差异。总之,小麦与不同品种蚕豆间作改变了蚕豆根际的真菌群落结构,提高了蚕豆根际真菌的活性、多样性和丰富度,提高土壤酶活性并改善蚕豆生长,增加了蚕豆产量。表明小麦与蚕豆间作改善了根际土壤的微生态环境,降低了镰刀菌的数量,缓解了蚕豆连作障碍,但蚕豆品种的差异影响间作控病效果。

**关键词:**间作;蚕豆品种;蚕豆枯萎病;真菌代谢功能多样性;土壤酶活性

## Effects of cultivars and intercropping on the rhizosphere microenvironment for alleviating the impact of continuous cropping of faba bean

HU Guobin<sup>1</sup>, DONG Kun<sup>2</sup>, DONG Yan<sup>1,\*</sup>, ZHENG Yi<sup>1,3</sup>, TANG Li<sup>1</sup>, LI Xinran<sup>1</sup>, LIU Yiming<sup>1</sup>

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

2 College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

3 Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

**Abstract:** A field trial was conducted to investigate the effects of three different faba bean cultivars [92—24 (92—24), Yundou 324 (YD324), Fengdou 6 (FD6)] and wheat intercropping on yield, disease index of fusarium wilt, amount of *Fusarium oxysporum* on faba bean, functional diversity of the fungal community, and enzyme activities in the rhizosphere of faba bean. Results showed that in comparison with that of mono-cropping, aboveground dry weight, grain yield, and 100-seed weight of faba bean were significantly increased by use of YD324 with wheat intercropping (YD324/W), and by use of FD6 with wheat intercropping (FD6/W). The disease index of fusarium wilt, and the amount of *Fusarium oxysporum* on YD324 decreased significantly (57.14% and 32.06%, respectively) as did those of FD6 (41.67% and 29.88%,

**基金项目:**国家自然科学基金项目(31360507, 31210103906, 31260504, 31460551, 31060277)

**收稿日期:**2014-07-01; **网络出版日期:**2015- -

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dongyanx@163.com

respectively) as they were intercropped with wheat, but use of 92—24 caused no significant change. The Shannon diversity index ( $H$ ) and substrate richness ( $S$ ) in Biolog FF microplates of YD324/W and FD6/W were significantly higher than those for faba bean from mono-cropping. In comparison with the values for mono-cropping, the average well color development value (AWCD) of faba beans with YD324/W and FD6/W was increased by 61.75% and 46.49%, respectively. The fungal communities of faba bean rhizosphere were also changed with YD324/W and FD6/W, but use of 92—24 with wheat intercropping (92—24/W) had no significant impact on  $H$ ,  $S$ , AWCD value, and fungal community. During different stages of fusarium wilt occurrence in the faba beans, the activity of invertase, urease, and catalase in the faba bean rhizosphere increased with YD324/W and FD6/W, but not with 92—24/W. Faba bean with wheat intercropping could change fungal communities; increase fungal activity, Shannon diversity index, and substrate richness; and promote soil enzyme activities. It is suggested that wheat and faba bean intercropping plays an important role in rhizosphere soil microenvironment. This could reduce the amount of *Fusarium oxysporum* and control the build-up of soil-borne disease caused by continuous faba bean cultivation, but the effects of intercropping are influenced by the faba bean cultivars used.

**Key Words:** Intercropping; Faba bean cultivar; Faba bean fusarium wilt; Functional diversity of fungi community; Soil enzymes activity

蚕豆是世界上重要的豆科作物,因具粮食、蔬菜、饲料和绿肥兼用等特点,且适应性广而具有较高的固氮量,在世界范围内超过 70 个国家均有种植<sup>[1]</sup>。连作种植造成蚕豆生长矮小,瘦弱、病害加重、结荚少、产量低,连作障碍已成为制约全球及我国蚕豆可持续发展的重要因子<sup>[2]</sup>。而土传病害是导致连作障碍的重要因子之一,蚕豆连作种植中枯萎病的发生是威胁蚕豆生产最严重的病害之一,该病在德国、日本、英国等均有报道,在我国蚕豆主产区发病非常普遍,云南是枯萎病发生最重的省份。枯萎病发生造成根系腐烂、茎基部坏死直至植株萎蔫死亡,一般田块枯死率 30%,重病田块发病率高达 90%<sup>[3]</sup>。

不同作物连作障碍发生的原因差别很大,但主要来自土壤。在多种作物上的研究表明,单一作物长期连作使土壤微生物区系恶化和土壤酶活性下降,导致作物土传病害高发而减产,产生连作障碍<sup>[4-5]</sup>。连作障碍是长期以来困扰农业生产的复杂问题,其形成机理与防治一直是国内外学者的研究热点。多年来,很多研究者从改善土壤微生物区系与多样性的角度研究了缓解连作障碍的措施,如施用生物有机肥、植物生长激素,接种菌根,嫁接等措施,并取得了一定的效果<sup>[6-9]</sup>。间作缓解连作障碍、增加作物产量的现象已经在多种间作体系中得到证实<sup>[10-12]</sup>,但有关间作对根际微生态的影响及其与连作障碍方面的研究较少。近年来少量研究报道了间作系统根际细菌群落结构变化与土传病害控制的关系,如西瓜与旱作水稻间作丰富了土壤细菌群落结构,抑制了病原菌的生长而降低了土壤中病原菌密度,减轻了西瓜枯萎病的发生<sup>[13]</sup>;小麦与黄瓜间作改变了细菌群落结构并抑制了黄瓜枯萎病的发生<sup>[14]</sup>。最近研究显示,间套作系统地下部动物多样性和真菌群落多样性变化也显著影响连作障碍的发生。如茅苍术与花生间作控制花生根腐病并显著增加了花生产量与间作改变根际动物群落组成和增加动物多样性密切相关<sup>[15]</sup>。菇菜套作明显改变了番茄根际真菌的群落结构,控制了番茄枯萎病的危害并显著提高了番茄产量<sup>[16]</sup>。但有关小麦与蚕豆间作系统根际真菌群落结构和酶活性变化与土传病害控制方面的研究还未见报道。

Biolog 微生物分析系统从 1991 年起被广泛应用于微生物群落结构分析,具有灵敏度高、分辨力强、无需分离纯种微生物、操作简便等优点。在研究微生物群落功能多样性时通常采用 GN 或 ECO 板,通过 GN 或 ECO 板微孔中四唑紫染料(MTT)显色反应来反映微生物代谢作用。由于许多真菌代谢过程不能使四唑紫染料显色,因此真菌群落代谢功能多样性变化不能在 Biolog GN 或 ECO 板上得到有效反映,而需要改用 Biolog FF 板来进行测定,FF 板采用碘硝基四氮唑紫染料(NT)使真菌代谢过程能够通过显色反映出来而成为研究真菌代谢功能多样性的有效方法之一<sup>[17]</sup>。

本课题小组在前期研究中发现蚕豆连作导致蚕豆枯萎病严重发生,蚕豆枯萎病在田间存在多种病原菌的

复合侵染,而最主要的病原菌-尖孢镰刀菌蚕豆专化型在田间侵染过程复杂,存活时间长,发病后常规化学方法很难控制。而我们采用小麦与蚕豆间作显著增加了蚕豆根际微生物的数量并减轻了枯萎病的危害<sup>[18]</sup>。我们的研究还发现不同品种蚕豆对枯萎病的抗性存在明显差异<sup>[19]</sup>,那么不同抗性蚕豆品种与小麦间作对蚕豆枯萎病发生有何影响,蚕豆根际真菌群落结构和酶活性有何变化尚不清楚。因此,本研究采用3个品种蚕豆与小麦间作,研究不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆产量、枯萎病病情指数、蚕豆根际病原菌数量和土壤酶活性的影响,采用 Biolog FF 板测定单间作条件下蚕豆根际真菌群落结构的变化,旨在明确间作对根际微生态环境的影响,从根际微生态环境变化与连作障碍角度阐明间作控制土传病害的作用机理,为间作控病增产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验于2011—2012年在云南省安宁市禄脰镇上村进行。土壤基本农化性状为有机质含量14.51 g/kg,碱解氮59.83 mg/kg,速效磷29.90 mg/kg,速效钾52.11 mg/kg,pH值为7.25。试验采用2因素随机区组设计,A因素为种植模式,设蚕豆单作(M)和蚕豆与小麦间作(I)2种植植模式,B因素为蚕豆品种,设3个蚕豆品种,分别为92—24(92—24),云豆324(YD324)和凤豆6号(FD6),组合为6个处理,每个处理重复3次,随机区组排列,共18个小区。

试验供试肥料为尿素、普通过磷酸钙和硫酸钾,间作小麦尿素施用量为225 kg/hm<sup>2</sup>(以N计),磷肥施用量为112.5 kg/hm<sup>2</sup>(以P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>计),钾肥施用量为112.5 kg/hm<sup>2</sup>(以K<sub>2</sub>O计),不施有机肥。单间作蚕豆氮肥用量相同,均为小麦的一半,即112.5 kg/hm<sup>2</sup>,磷钾肥用量为112.5 kg/hm<sup>2</sup>。蚕豆氮肥、磷肥和钾肥全部作为基肥一次性施入;间作小麦氮肥50%作为基肥,另外50%作为追肥,分两次施入。

### 1.2 种植规格

小区面积5.4 m×4 m,小麦条播,行距0.2 m,蚕豆点播,行距0.3 m,株距0.15 m。间作小区按6行小麦2行蚕豆的方式种植,间作小区内3个小麦种植带,4个蚕豆种植带(每个间作小区的第一和第四个蚕豆带的最外1行为保护行,不采样)。在整个试验田的四周均种植1 m宽的蚕豆带作为保护行。

### 1.3 蚕豆枯萎病调查

于蚕豆枯萎病发病初期(蚕豆分枝期)、发病盛期(蚕豆开花期)和发病末期(蚕豆鼓荚期)进行调查,调查时单作小区按对角线法选5点,每点调查3株,每个小区共调查15株;间作小区在两个蚕豆带上选取5点(第一个带选2点,第二个带选3点),每点调查3株,每个小区共调查15株(图1)。蚕豆枯萎病调查按5级分类标准进行<sup>[18]</sup>。病情指数(%) =  $\sum$  (各级病株数×相应级值)/(最高级值×调查总株数)×100。

### 1.4 取样

于病害调查的同时进行采样,即病害调查完的蚕豆植株即作为采样植株,蚕豆单间作处理的每个重复均采15株蚕豆,将15株蚕豆的根际土壤混合为1个样品(图1)。在田间取得的根际土样立即放入冰盒中保存用于土壤真菌群落结构和酶活性分析。

### 1.5 土壤真菌群落功能多样性分析

土壤真菌代谢功能多样性采用 Biolog FF 板(FF MicroPlate)进行。称取相当于5 g烘干土重的新鲜土样加入45 mL 无菌的0.85%的NaCl溶液中,在摇床上振荡30 min,将土壤样品稀释至10<sup>-3</sup>,吸取150 μL 稀释液至FF板的微孔中。将接种好的测试板加盖置于25℃下培养,每隔24 h在自动读盘机上用 Biolog Reader4.2 软件(Biolog, Hayward, CA, USA)读取490 nm 波长的光密度值,培养时间为168 h。采用培养96 h的数据计算单孔平均颜色变化率(average well color development,AWCD)、Shannon 多样性指数(H)和丰富度指数(S)。

$AWCD = \sum (C_i - R) / 95$ ,式中,C<sub>i</sub>为各反应孔在490 nm下的光密度值;R为FF板对照孔的光密度值;C<sub>i</sub> - R 小于0的孔在计算中均记为零,即C<sub>i</sub> - R 的值均大于等于0。

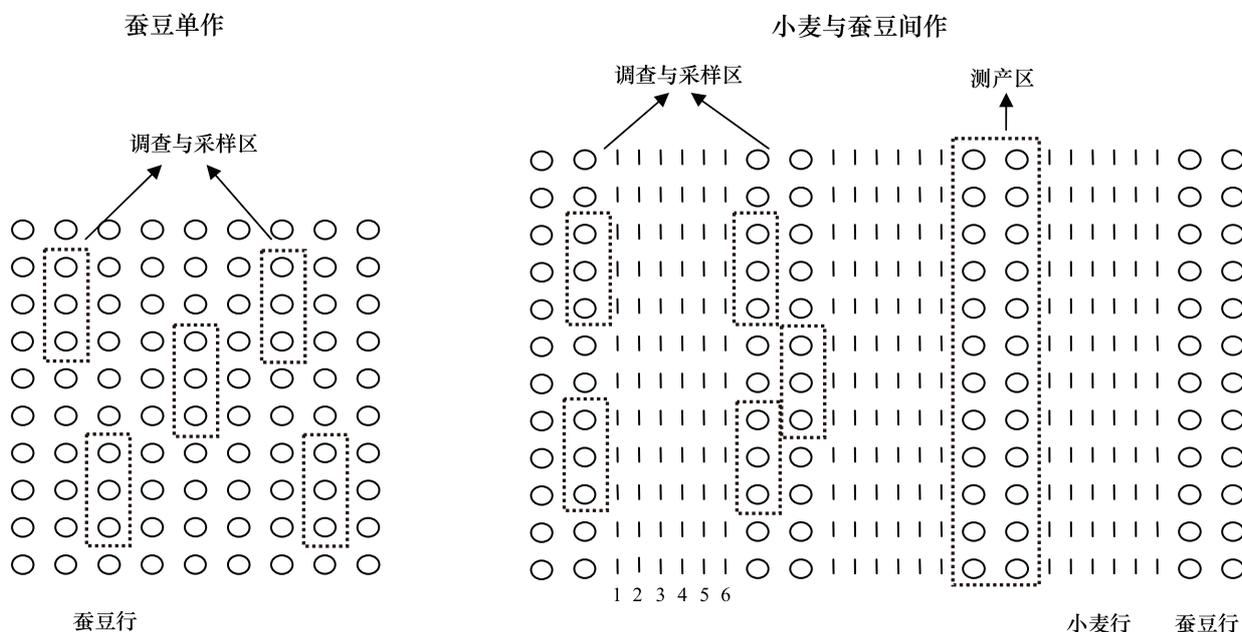


图 1 蚕豆单作(a)和小麦与蚕豆间作(b)种植及病害调查与采样示意图

Fig. 1 Schematic diagram of faba bean monocropping (a) and wheat and faba bean intercropping (b) and disease investigation and sampling

Shannon 多样性指数( $H$ ):  $H = - \sum P_i \times \ln P_i$ , 式中  $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$ 。

丰富度指数( $S$ )用碳源代谢孔的数目表示群落丰富度指数。

### 1.6 镰刀菌数量测定

尖孢镰刀菌计数参照 Booth C<sup>[20]</sup> 的方法选择 PCNB 培养基进行镰刀菌培养,其具体配方为:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0 g,  $\text{KCl}$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g, 五氯硝基苯(PCNB) 0.5 g, 水 1000 mL, 培养基用 10% 磷酸调 pH 值至  $3.8 \pm 0.2$ , 装瓶灭菌。待培养基冷却至  $60^\circ\text{C}$  以下, 迅速加入 0.3 g 硫酸链霉素和 0.5 g 牛胆汁, 然后倒平板备用。尖孢镰刀菌计数方法为称取待测根际土 10 g, 放入装有 90 mL 无菌水的三角瓶中, 振荡 30 min, 将样品稀释至  $10^{-3}$ , 吸取 100  $\mu\text{L}$  菌悬液加入到冷却的 PCNB 培养基中, 刮匀, 置于  $28^\circ\text{C}$  黑暗条件下培养 3 天后计数。

### 1.7 土壤酶活性测定

土壤蔗糖酶测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法, 脲酶测定采用氯酸钠-苯酚钠比色法, 过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法进行测定<sup>[21]</sup>。

### 1.8 蚕豆产量测定

于蚕豆成熟期进行实收测产, 单作小区和间作小区均采收 2 行蚕豆植株, 测定蚕豆的地上部生物量、籽粒产量和百粒重。

### 1.9 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 进行数据处理, 采用 SAS 8.0 软件进行方差分析和主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 小麦与蚕豆间作对蚕豆产量的影响

从图 1 可看出, 与单作相比, 92—24 与小麦间作对蚕豆地上部干重、籽粒产量和百粒重均无显著影响。而云豆 324 与小麦间作和凤豆 6 号与小麦间作处理均显著提高了蚕豆地上部干重、籽粒产量和百粒重。

与单作相比, YD324/W 处理使蚕豆地上部干重、籽粒产量和百粒重分别增加 51.26%、52.84% 和 6.43%; 而 FD6/W 处理使蚕豆地上部干重、籽粒产量和百粒重分别增加 99.11%、44.29% 和 12.17%。表明 YD324/W

和 FD6/W 处理显著改善了蚕豆的生长,增加了蚕豆的产量。

表 1 小麦与不同品种蚕豆间作对蚕豆产量的影响(平均值±标准偏差)

Table 1 Effects of wheat intercropped with different faba bean varieties on faba bean yield (Mean ± SD)

处理 Treatment	92—24	92—24/W	YD324	YD324/W	FD6	FD6/W
地上部干重 Aboveground dry weight (g/row)	6.17±0.25 a	6.97±2.67 a	3.94±0.57 b	5.96±0.21 a	3.67± 0.30 b	7.31±0.90 a
籽粒产量 Grain yield(kg/row)	0.51±0.03 b	0.53±0.02 b	0.34±0.03 d	0.52±0.03 b	0.41±0.04 c	0.60±0.05 a
百粒重 100-seed weight(g)	91.28±4.26 bcd	93.19±3.14 abc	88.63±2.89 dc	94.33±2.88 ab	87.40±1.84 d	98.03±1.70 a

92—24: 蚕豆品种 92—24, Variety of 92—24; 92—24/W: 92—24 与小麦间作, 92—24 and wheat intercropping; YD324: 云豆 324, Yundou324; YD324/W: 云豆 324 与小麦间作, Yundou324 and wheat intercropping; FD6: 凤豆 6 号, Fengdou6; FD6/W: 凤豆 6 号与小麦间作, Fengdou6 and wheat intercropping. 表中同行不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

## 2.2 间作对蚕豆枯萎病病情指数的影响

从图 2 可看出,发病初期, YD324/W 和 FD6/W 处理均显著降低了蚕豆枯萎病的病情指数, 分别比单作蚕豆降低病指 57.14% 和 41.67%, 而 92—24/W 处理蚕豆枯萎病病指与单作蚕豆无显著差异。

发病盛期, 与发病初期相似, 表现为 YD324/W 和 FD6/W 处理均显著降低了蚕豆枯萎病的病情指数, 病指分别比单作蚕豆降低 15.63% 和 10.00%, 而 92—24/W 处理蚕豆枯萎病病指与单作蚕豆无显著差异。

发病末期, 与单作处理相比, FD6/W 处理使蚕豆枯萎病病情指数显著降低 22.41%, 而 YD324/W 和 92—

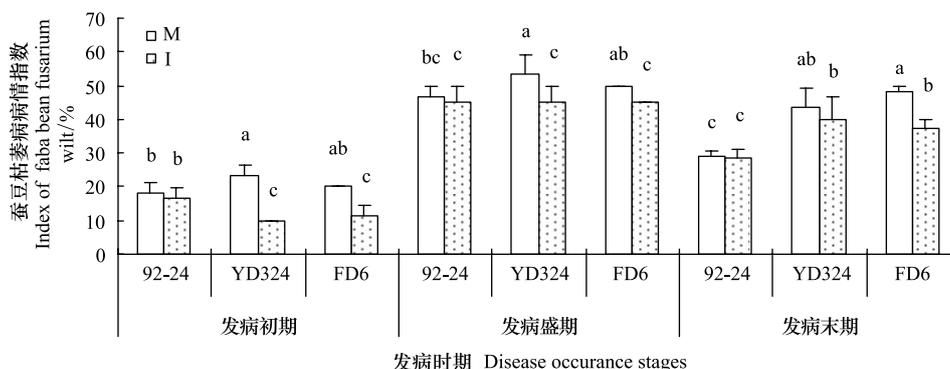


图 2 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆枯萎病病情指数的影响

Fig. 2 Effects of different varieties faba bean intercropped wheat on index of faba bean fusarium wilt

M: 单作, Monocropping; I: 间作, Intercropping. 图中相同发病时期不同字母表示 0.05 水平下的差异显著性 ( $P < 0.05$ ), 下同。

24/W 处理单间作处理间无显著差异(图 2)。

## 2.3 间作对蚕豆枯萎病病原菌(尖孢镰刀菌)数量的影响

从图 3 可看出,发病初期, YD324/W 和 FD6/W 处理显著降低了蚕豆根际的镰刀菌数量。与单作相比, YD324/W 和 FD6/W 处理根际镰刀菌数量分别降低 32.06% 和 29.88%, 而 92—24/W 处理蚕豆根际镰刀菌数量与单作蚕豆无显著差异。

发病盛期, 与发病初期相似, YD324/W 和 FD6/W 处理显著降低了根际镰刀菌的数量, 分别比单作蚕豆降低 45.57% 和 17.69%, 而 92—24/W 处理蚕豆根际镰刀菌数量与单作蚕豆无显著差异。

发病末期, YD324/W 和 FD6/W 处理分别比单作显著降低蚕豆根际镰刀菌数量 39.24% 和 50.76%, 而 92—24/W 处理蚕豆根际镰刀菌数量与单作蚕豆无显著差异(图 3)。

## 2.4 间作对蚕豆根际真菌代谢功能多样性的影响

### 2.4.1 间作对根际真菌群落代谢剖面的影响

各处理根际土壤 Biolog 代谢剖面, 即平均颜色变化率(AWCD)随培养时间呈明显的“S”型曲线变化。AWCD 值能表征微生物群落碳源利用率, 是土壤微生物群落利用单一碳源能力的重要指标, 其随时间的变化是微生物碳源利用强度的反映, 因此 AWCD 值可表征土壤微生物的活性<sup>[22]</sup>。土壤连续培养 7 d, 每隔 24 h 测

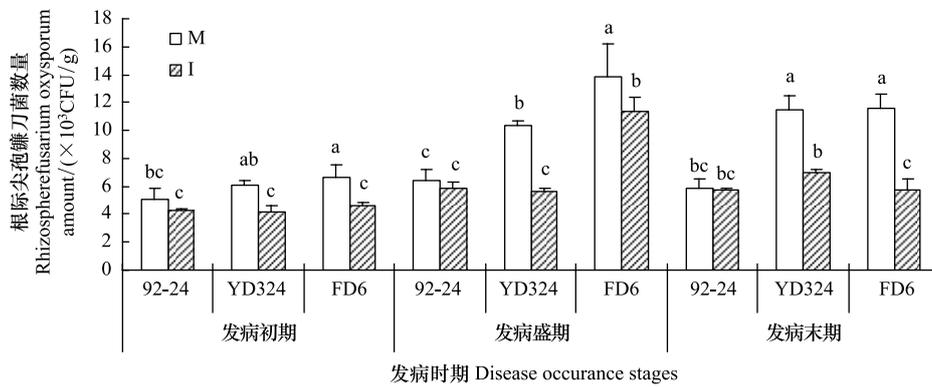


图3 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆根际镰刀菌数量的影响

Fig. 3 Effects of different varieties faba bean intercropped with wheat on faba bean rhizosphere *fusarium oxysporum* amount

得的 AWCD 值变化如图 4, AWCD 随培养时间延长而提高, 各处理的 AWCD 值在 24 h 之前很小, 表明在 24 h 内碳源基本未被利用; 培养 24 h 后 AWCD 值快速升高, 反映培养 24 h 后碳源被根际真菌大幅度利用(图 4)。

从培养 96 h 时的 AWCD 值来看, 间作对根际真菌的 AWCD 值有显著影响 ( $F = 7438.32, P < 0.01$ ), 但间作效应受蚕豆品种的影响。FD6/W 和 YD324/W 处理均显著提高了根际真菌的活性, 其中又以 FD6 的效果最好, 间作比单作提高 AWCD 值 61.75%; 而间作 YD324 比单作 YD324 提高 AWCD 值 46.49%; 92—24/W 处理蚕豆根际真菌的 AWCD 值比单作降低 2.72%(图 4)。表明间作对蚕豆根际真菌活性的影响与蚕豆品种有密切的关系。

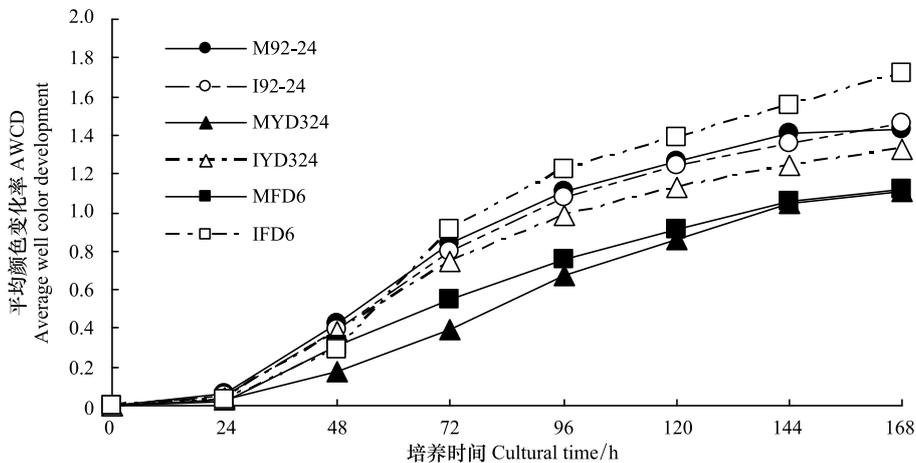


图4 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆根际平均颜色变化率的影响

Fig. 4 Different varieties faba bean intercropped with wheat on AWCD value of faba bean rhizosphere

M92—24: 92—24 单作, 92—24 monocropping; I92—24: 92—24 与小麦间作, 92—24 and wheat intercropping; MYD324: 云豆 324 单作, Yundou324 monocropping; IYD324: 云豆 324 与小麦间作, Yundou324 and wheat intercropping; MFD6: 凤豆 6 号单作, Fengdou6 monocropping; IFD6: 凤豆 6 号与小麦间作, Fengdou6 and wheat intercropping

#### 2.4.2 间作对蚕豆根际真菌多样性指数的影响

间作对蚕豆根际真菌香农多样性指数 ( $H$ ) 和丰富度指数 ( $S$ ) 的影响见表 2。从表 2 可看出, 与单作蚕豆相比, YD324/W 处理使蚕豆根际  $H$  和  $S$  分别显著提高 1.15% 和 16.22%; FD6/W 处理使蚕豆根际  $H$  和  $S$  分别显著提高 3.07% 和 8.30%; 92—24/W 处理对蚕豆根际  $H$  和  $S$  均无显著影响。

#### 2.4.3 间作蚕豆根际真菌群落的主成分分析

利用培养 96 h 的数据进行真菌群落功能的主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA)。95 个主成分因子中前 7 个累积方差贡献率达 100%, 其中第 1 主成分 (PC1) 的方差贡献率为 32.85%, 第 2 主成分 (PC2)

为 22.11%,第 3-7 主成分贡献率较小,为 4.71%—14.05%。从中选取累积方差贡献率为 54.96%的前两个主成分 PC1 和 PC2 来进行真菌群落功能多样性分析,PC1 和 PC2 的特征根分别为 32.85 和 21.11。

表 2 间作对蚕豆根际真菌多样性指数和丰富度指数的影响

Table 2 Effects of intercropping on fungi diversity index and richness index of faba bean rhizosphere

蚕豆品种 Faba bean varieties	种植模式 Plant pattern	Shannon 多样性指数 Shannon diversity index ( <i>H</i> )	丰富度指数 Richness index ( <i>S</i> )
92—24	M	4.37b	89a
	I	4.37b	90a
云豆 324 YD324	M	4.26d	74e
	I	4.31c	86b
凤豆 6 号 FD6	M	4.25e	80c
	I	4.38a	87b

同列中不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

主成分分析表明(图 5),间作明显改变了根际真菌的群落结构,但间作对蚕豆根际真菌群落结构的影响与蚕豆品种有关。YD324/W 和 FD6/W 处理与蚕豆单作处理在主成分向量空间中均有较好的分离,而 92—24 单间作处理在主成分向量空间中几乎无分离。表明云豆 324、凤豆 6 号与小麦间作均明显改变了蚕豆根际真菌的群落结构,而 92—24 与小麦间作对蚕豆根际真菌群落结构无明显影响。

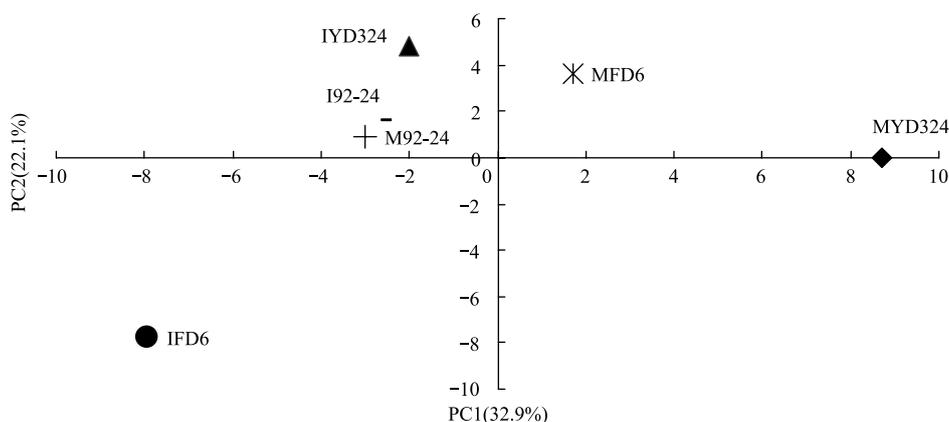


图 5 不同品种蚕豆与小麦间作系统蚕豆根际真菌群落结构的主成分分析

Fig. 5 Principal Component analysis of fungi community structures in different varieties faba bean intercropped with wheat system

## 2.5 小麦与不同品种蚕豆对蚕豆根际土壤酶活性的影响

### 2.5.1 间作对蚕豆根际土壤蔗糖酶活性的影响

蔗糖酶广泛存在于所有土壤中,能使蔗糖水解成葡萄糖和果糖,成为植物和微生物能利用的营养物质,因此蔗糖酶是表征土壤生物化学活性的重要酶<sup>[21]</sup>。从图 6 可看出,蚕豆从发病初期开始到发病末期,不同品种蚕豆单间作处理根际土壤蔗糖酶活性均呈先上升后下降的趋势,在发病盛期达到最高峰。

整个发病期,间作对蚕豆根际土壤蔗糖酶活性均具有显著影响(发病初期,  $F = 56.29, P < 0.01$ ;发病盛期,  $F = 25.38, P < 0.01$ ;发病末期,  $F = 6.34, P < 0.01$ )。发病初期, YD324/W 和 FD6/W 处理蚕豆根际土壤蔗糖酶活性均显著高于单作,分别比单作提高 27.43%和 23.94%。发病盛期和发病末期, FD6/W 处理蚕豆根际土壤蔗糖酶活性均显著高于单作,分别比单作提高 53.89%和 65.47%。而整个发病期, 92—24/W 处理蚕豆根际土壤蔗糖酶活性与单作无显著差异(图 6)。

### 2.5.2 间作对蚕豆根际土壤脲酶活性的影响

脲酶是一种专性较强的酶,能酶促酰胺态有机氮化物水解转化为植物可以直接吸收利用的无机氮化物,在土壤氮素转化过程中起着重要作用,其活性在一定程度上可反映土壤供氮能力<sup>[21]</sup>。从图 7 可看出,随蚕豆

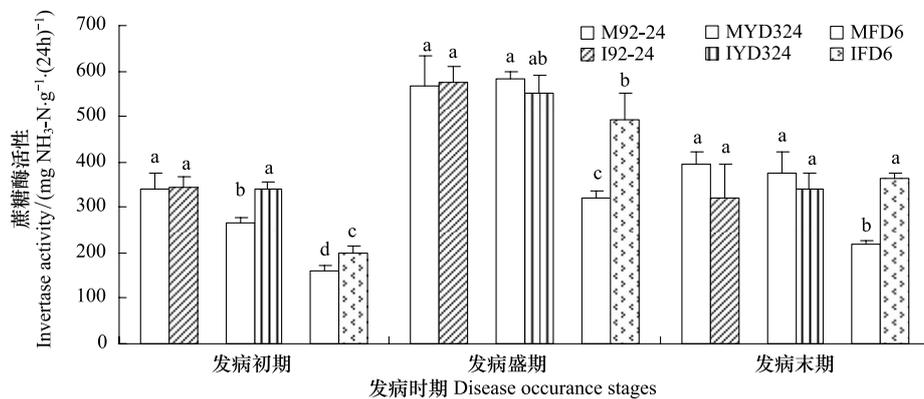


图 6 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆根际蔗糖酶活性影响

Fig. 6 Effect of different varieties faba bean intercropped with wheat on invertase activity in faba bean rhizosphere

发病程度的加重,各品种蚕豆单间作处理根际土壤脲酶活性均呈先上升后下降的趋势,在发病盛期达到最高峰。

整个发病期,间作对蚕豆根际土壤脲酶活性均有显著影响(发病初期,  $F = 3.73$ ,  $P < 0.05$ ; 发病盛期,  $F = 12.89$ ,  $P < 0.01$ ; 发病末期,  $F = 17.01$ ,  $P < 0.01$ )。发病初期, YD324/W 处理显著提高了蚕豆根际土壤的脲酶活性,比单作提高 35.58%; 发病盛期, YD324/W 和 FD6/W 处理蚕豆根际土壤脲酶活性均显著高于单作,分别比单作提高 25.13% 和 36.47%; 发病末期, YD324/W 和 FD6/W 处理蚕豆根际土壤脲酶活性分别比单作显著提高 84.92% 和 45.62% (图 7)。

而发病初期、盛期和末期, 92—24/W 处理蚕豆根际土壤脲酶活性与单作相比均无显著差异 (图 7)。

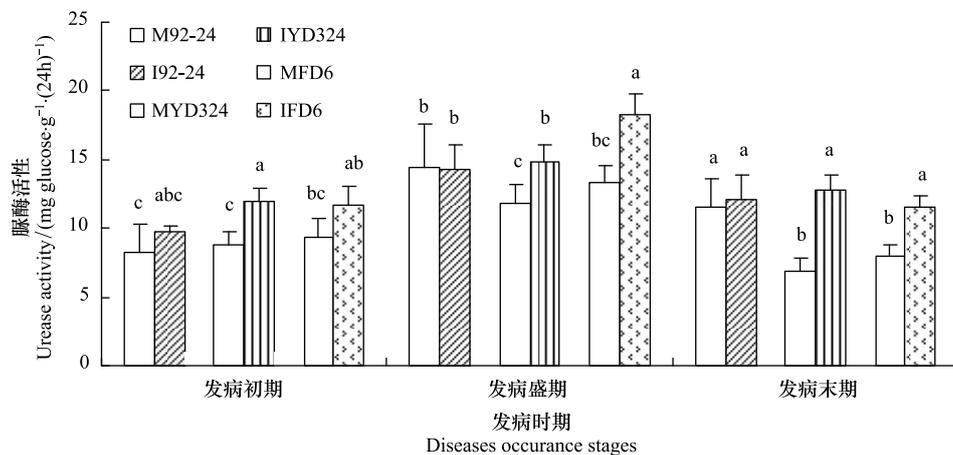


图 7 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆根际土壤脲酶活性影响

Fig. 7 Effect of different varieties faba bean intercropped with wheat on urease activity in faba bean rhizosphere

### 2.5.3 间作对蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶能破坏土壤中生化反应生成的过氧化氢,减轻对植物的危害,其活性在一定程度上可反映土壤解毒作用的强弱<sup>[21]</sup>。发病初期和发病盛期,间作对蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性均具有显著影响(发病初期,  $F = 7.64$ ,  $P < 0.01$ ; 发病盛期,  $F = 11.64$ ,  $P < 0.01$ )。发病初期, YD324/W 和 FD6/W 处理蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性显著高于单作,分别比单作高 15.38% 和 14.98%。发病盛期, YD324/W 和 FD6/W 处理蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性比单作显著提高 17.71% 和 26.22%。而 92—24/W 处理与单作蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性无显著差异。发病末期,间作对蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性无显著影响 (图 8)。

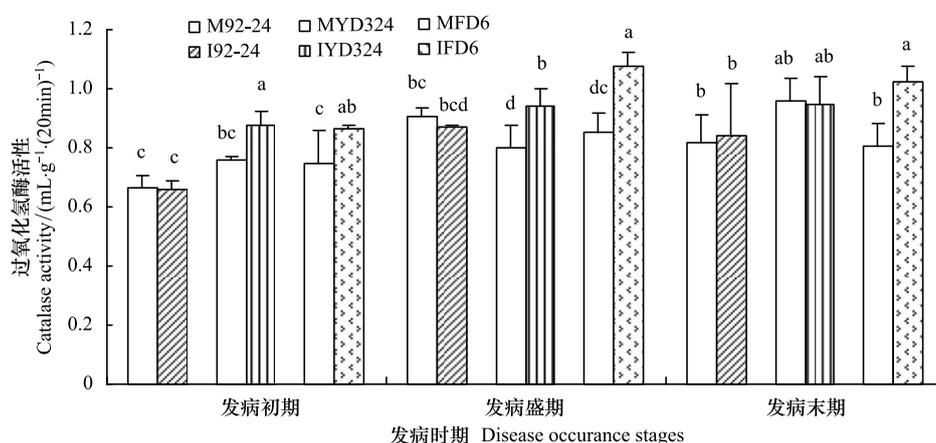


图 8 不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性影响

Fig. 8 Effect of different varieties faba bean intercropped with wheat on catalase activity in faba bean rhizosphere

### 3 讨论

#### 3.1 根际真菌群落结构和多样性对间作缓解连作障碍的响应

连作条件下土壤中致病真菌类微生物大量繁殖和微生物区系的变化,是连作障碍的主要原因之一<sup>[5,13,23]</sup>。马铃薯的连作较轮作显著降低了块茎产量、植株生物量及经济生产力,连作马铃薯根际真菌群落结构发生了显著变化<sup>[24]</sup>。研究表明对作物土传病害的抑制在一定程度上是土壤微生物群体的作用,当微生物群落结构越丰富、多样性越高时对抗病原菌的综合能力就越强,因此调控作物根际微生物活性、多样性和群落结构是减轻土传病害的关键<sup>[25]</sup>。

间套作比单一栽培更有利于增加土壤微生物数量,维持土壤微生物的多样性,最终减轻土传病害的发生危害而成为缓解连作障碍的有效方法<sup>[13,26]</sup>。宋亚娜等<sup>[27]</sup>采用 DGGE 的研究表明,小麦与玉米间作显著改变了玉米根际真菌群落结构组成。本研究采用 Biolog FF 板的研究结果表明,YD324/W 和 FD6/W 处理显著提高了蚕豆根际真菌的多样性指数和丰富度指数(表 2),明显改变了蚕豆根际真菌的群落结构(图 5),显著降低了蚕豆根际镰刀菌的数量(图 3),导致蚕豆根际病原真菌数量占真菌总数的百分比下降,使蚕豆枯萎病得到有效控制并显著提高了蚕豆产量(表 1)。这与旱作水稻和西瓜间作提高了西瓜根际土壤微生物群落多样性,降低西瓜枯萎病病情指数的结论相同<sup>[13]</sup>。

研究证实,根系分泌物在塑造土壤微生物群落中起着重要的作用,由于根系分泌物的成分和含量不同,会对土壤微生物的生长和代谢产生不同的影响<sup>[28]</sup>。间作种植在增加地上部多样性的同时,也显著增加了根系分泌物的种类和数量,从而产生正反馈调节作用,增加根际土壤微生物的功能多样性<sup>[12,29]</sup>。本研究中,蚕豆与小麦间作改变根际真菌群落结构,缓解蚕豆连作障碍的原因可能是由于间作物根系的交错叠加作用,根系分泌物十分丰富,使根际土壤中含有更多的维生素、碳水化合物、氨基酸和有机酸等碳源,不仅为根际真菌的生存和繁殖提供了所需的营养和能源物质,而且间作系统中不同作物会产生不同的特异根系分泌物,并形成与之相适应的根际真菌群落,从而促进土壤真菌群落结构多样化的形成,使土壤健康发展。

同时本研究中不同品种蚕豆与小麦间作对蚕豆枯萎病的控制效应存在差异,这可能与不同品种蚕豆根系分泌物的差异有关。我们的前期研究表明,云豆 324、凤豆 6 号根系分泌物中游离氨基酸和可溶性总糖含量较高,而 92—24 根系分泌物中游离氨基酸和可溶性总糖含量显著低于云豆 324 和凤豆 6 号(另文发表)。蚕豆根系分泌物种类和含量的差异通过影响小麦与蚕豆间作系统根际微生物群落结构的变化而最终影响对病原菌的抑制效果,表现出小麦与不同品种蚕豆间作控病效果的差异。而有关小麦与不同品种蚕豆间作对根系分泌物的影响还需进一步深入研究。

### 3.2 根际真菌活性对间作缓解连作障碍的响应

土壤微生物群落的 AWCD 与作物发病情况有较好的一致性,是表征与土壤防病能力密切相关的重要参数<sup>[22]</sup>。本研究中 YD324/W 和 FD6/W 处理显著提高了蚕豆根际真菌对碳源的利用能力并降低了蚕豆枯萎病的病情指数(图 2),原因一方面可能是 YD324/W 和 FD6/W 条件下蚕豆根际真菌活性提高(图 4),能利用多种碳源且利用效率较高,使蚕豆根际真菌生长更好,从而大量消耗根际的能源和碳源,对病原菌来说可用的碳源较少而不能大量增殖,最终抑制了镰刀菌的生长而降低病害的发生(图 3)。研究表明单一连作条件下,作物根系分泌和土壤中累积的自毒物质会促进病原菌的增殖,恶化微生物群落环境,助长土传病害的发生,而恶化的微生物群落结构使土壤中自毒物质降解缓慢,造成自毒物质积累而进一步加重作物连作障碍<sup>[30]</sup>。因此 YD324/W 和 FD6/W 处理降低蚕豆枯萎病病情指数的另一方面原因可能是间作提高了蚕豆根际真菌的活性,从而促进根际真菌对自毒物质的分解而减轻其对病原菌的刺激作用。

### 3.3 根际土壤酶活性对间作缓解连作障碍的响应

土壤酶是土壤质量或健康评价指标体系中的重要指标之一<sup>[23]</sup>。单一作物持续连作会使蔗糖酶、脲酶、磷酸酶等土壤酶活性随连作时间延长而下降<sup>[31]</sup>。随花生连作年限增加,过氧化氢酶活性下降,土壤中氧化作用降低,使过氧化氢分解减慢,导致过氧化氢在土壤中大量积累,容易使根系的毒害作用加重而引起连作障碍<sup>[32]</sup>。王树起等<sup>[33]</sup>的研究表明,土壤酶活性降低是造成大豆连作障碍减产的重要原因之一。本研究结果表明,3 个发病期, YD324/W 和 FD6/W 处理均显著提高了蚕豆根际土壤脲酶活性(图 7); FD6/W 处理显著提高了蚕豆根际土壤的蔗糖酶活性(图 6); 发病初期和发病盛期, YD324/W 和 FD6/W 处理均显著提高了蚕豆根际土壤过氧化氢酶活性(图 8)。本研究结果与玉米大豆间作提高根际土壤脲酶、磷酸酶、转化酶和蛋白酶活性的结论相似<sup>[34]</sup>。

间作提高土壤酶活性的原因可能是在间作系统中,两种作物根系的互作不仅使有机物转化速度加快,生物氧化代谢活动加强,而且增加了根际微生物数量和活性,使作物根系和微生物向土壤中释放酶的数量增加;而间作系统酶活性提高并降低土传病害的原因可能是间作系统中根际微生物活性增强,对土壤中自毒物质进行加速分解而减轻自毒物质对酶活性的抑制作用。本研究结果表明间作提高蚕豆根际土壤酶活性对控制蚕豆枯萎病发生具有影响,这与嫁接辣椒根际土壤过氧化氢酶和脱氢酶活性均显著高于自根苗,嫁接辣椒较高的根际土壤酶活性是其青枯病抗性增强的重要原因之一的结论相似<sup>[35]</sup>。

总之,小麦与蚕豆间作系统中,蚕豆根际土壤中真菌群落的多样性和丰富度显著增加,真菌活性显著增强,真菌群落结构发生了明显变化,蚕豆枯萎病致病菌—尖孢镰刀菌的数量显著降低,根际土壤酶活性增强,最终减轻了蚕豆枯萎病的危害并提高了蚕豆产量。小麦与蚕豆间作改变了蚕豆根际的微生态环境,使根际土壤朝着健康方向转化,最终缓解了蚕豆连作障碍的不良影响。

### 参考文献(References):

- [ 1 ] Unkovich M J, Pate J S. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N<sub>2</sub> fixation by annual legumes. *Field Crops Research*, 2000, 65(2-3): 211-228.
- [ 2 ] Jensen E S, Peoples M, Hauggaard-Nielsen H. Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*, 2010, 115(3): 203-216.
- [ 3 ] 叶茵. 中国蚕豆学. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [ 4 ] Yao H Y, Wu F Z. Soil microbial community structure in cucumber rhizosphere of different resistance cultivars to fusarium wilt. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3): 456-463.
- [ 5 ] Huang L F, Song L X, Xia X J, Mao W H, Shi K, Zhou Y H, Yu J Q. Plant-soil feedbacks and soil sickness: from mechanisms to application in agriculture. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(2): 232-242.
- [ 6 ] Ling N, Zhang W W, Tan S Y, Huang Q W, Shen Q R. Effect of the nursery application of bioorganic fertilizer on spatial distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and its antagonistic bacterium in the rhizosphere of watermelon. *Applied Soil Ecology*, 2012, 59: 13-19.
- [ 7 ] Mondal M F, Asaduzzaman M, Kobayashi Y, Ban T, Asao T. Recovery from autotoxicity in strawberry by supplementation of amino acids. *Scientia Horticulturae*, 2013, 164: 137-144.
- [ 8 ] Ren L X, Lou Y S, Sakamoto K, Inubushi K, Amemiya Y, Shen Q R, Xu G H. Effects of arbuscular mycorrhizal colonization on microbial

- community in rhizosphere soil and *Fusarium* wilt disease in tomato. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2010, 41(11): 1399-1410.
- [ 9 ] Louws F J, Rivard C L, Kubota C. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. *Scientia Horticulturae*, 2010, 127(2): 127-146.
- [ 10 ] Zhang H, Mallik A, Zeng R S. Control of panama disease of banana by rotating and intercropping with chinese chive (*Allium Tuberosum Rotler*): role of plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(2): 243-252.
- [ 11 ] Ratnadass A, Fernandes P, Avelino J, Habib R. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2012, 32(1): 273-303.
- [ 12 ] Dai C C, Chen Y, Wang X X, Li P D. Effects of intercropping of peanut with the medicinal plant *Atractylodes lancea* on soil microecology and peanut yield in subtropical China. *Agroforestry Systems*, 2013, 87(2): 417-426.
- [ 13 ] Ren L X, Shi M S, Xing M Y, Xu Y C, Huang Q W, Shen Q R. Intercropping with aerobic rice suppressed *Fusarium* wilt in watermelon. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(3): 834-844.
- [ 14 ] Zhou X G, Yu G B, Wu F Z. Effects of intercropping cucumber with onion or garlic on soil enzyme activities, microbial communities and cucumber yield. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(5): 279-287.
- [ 15 ] Li X G, Wang X X, Dai C C, Zhang T L, Xie X G, Ding C F, Wang H W. Effects of intercropping with *Atractylodes lancea* and application of bio-organic fertilizer on soil invertebrates, disease control and peanut productivity in continuous peanut cropping field in subtropical China. *Agroforestry Systems*, 2014, 88(1): 41-52.
- [ 16 ] 陈敏, 王军涛, 冯有智, 李晶, 王俊华, 林先贵. 菇菜套作对土壤微生物群落的影响. *土壤学报*, 2015, 52(1): 145-153.
- [ 17 ] 韩蕙, 翟振华, 张燕燕, 王晓丹, 郑少奎, 李艳红. 环境微生物样品真菌群落 BIOLOG 分析方法. *生态学报*, 2009, 29(5): 2368-2373.
- [ 18 ] 董艳, 汤利, 郑毅, 魏兰芳. 施氮对间作蚕豆根际微生物区系和枯萎病发生的影响. *生态学报*, 2010, 30(7): 1797-1805.
- [ 19 ] 董艳, 董坤, 郑毅, 杨智仙, 汤利, 肖靖秀. 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对枯萎病菌的化感作用及根系分泌物组分分析. *中国生态农业学报*, 2014, 22(3): 292-299.
- [ 20 ] Booth C. 陈其焕, 译. 镰刀菌属. 北京: 农业出版社, 1988.
- [ 21 ] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [ 22 ] Irikiin Y, Nishiyama M, Otsuka S, Senoo K. Rhizobacterial community-level, sole carbon source utilization pattern affects the delay in the bacterial wilt of tomato grown in rhizobacterial community model system. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34(1): 27-32.
- [ 23 ] Yao H Y, Jiao X D, Wu F Z. Effects of continuous cucumber cropping and alternative rotations under protected cultivation on soil microbial community diversity. *Plant and Soil*, 2006, 284(1/2): 195-203.
- [ 24 ] 刘星, 邱慧珍, 王蒂, 张俊莲, 沈其荣. 甘肃省中部沿黄灌区轮作和连作马铃薯根际土壤真菌群落的结构性差异评估. *生态学报*, 2015, 35(12), DOI: 10.5846/stxb201308212122. (未出版刊物)
- [ 25 ] Raaijmakers J M, Paulitz T C, Steinberg C, Alabouvette C, Moënne-Loccoz Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 2009, 321(1-2): 341-361.
- [ 26 ] Rao V N, Sastry R K, Craufurd P, Meinke H, Parsons D, Rego T J, Rathore A. Cropping systems strategy for effective management of fusarium wilt in safflower. *Field Crops Research*, 2014, 156: 191-198.
- [ 27 ] 宋亚娜. 不同间作体系中作物根际微生物群落结构多样性特征[D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [ 28 ] Doornbos R F, van Loon L C, Bakker P A H M. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2012, 32(1): 227-243.
- [ 29 ] Hao W Y, Ren L X, Ran W, Shen Q R. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant and Soil*, 2010, 336(1/2): 485-497.
- [ 30 ] van de Voorde T F J, Ruijten M, van der Putten W H, Bezemer T M. Can the negative plant - soil feedback of *Jacobaea vulgaris* be explained by autotoxicity?. *Basic and Applied Ecology*, 2012, 13(6): 533-541.
- [ 31 ] 张子龙, 王文全. 植物连作障碍的形成机制及其调控技术研究进展. *生物学杂志*, 2010, 27(5): 69-72.
- [ 32 ] 黄玉茜, 韩立思, 韩梅, 肖亦农, 杨劲峰, 韩晓日. 花生连作对土壤酶活性的影响. *中国油料作物学报*, 2012, 34(1): 96-100.
- [ 33 ] 王树起, 韩晓增, 乔云发, 王守宇, 李晓慧, 许艳丽. 寒地黑土大豆轮作与连作不同年限土壤酶活性及相关肥力因子的变化. *大豆科学*, 2009, 28(4): 611-615.
- [ 34 ] 张向前, 黄国勤, 卞新民, 赵其国. 施氮肥与隔根对间作大豆农艺性状和根际微生物数量及酶活性的影响. *土壤学报*, 2012, 49(4): 731-739.
- [ 35 ] 刘业霞, 付玲, 艾希珍, 张宁, 王洪涛, 姬德刚. 嫁接辣椒根系特征及根际土壤酶活性与青枯病抗性的关系. *西北植物学报*, 2012, 32(5): 963-968.