

DOI: 10.11686/cyxb2024469

http://cyxb.magtech.com.cn

明艳, 窦梓懿, 郑伟, 等. 紫花苜蓿与库尔勒香梨间作体系氮素转移途径的定量分析. 草业学报, 2025, 34(10): 51-61.

MING Yan, DOU Zi-yi, ZHENG Wei, et al. Quantitative analysis of nitrogen transfer pathways in intercropping systems between alfalfa and Korla pear. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(10): 51-61.

紫花苜蓿与库尔勒香梨间作体系 氮素转移途径的定量分析

明艳^{1,2**}, 窦梓懿^{1,2**}, 郑伟^{1,2*}, 王宁欣^{1,2}, 陈雪^{1,2}

(1. 新疆农业大学草业学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆维吾尔自治区草地资源与生态重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: 在库尔勒香梨行间种植豆科牧草增加库尔勒香梨氮素供应已被大家所证实, 但豆科牧草与库尔勒香梨间作下氮素利用与转移的具体途径还不清晰。本研究以紫花苜蓿与库尔勒香梨间作为对象, 设置紫花苜蓿与库尔勒香梨根系间完全隔离(PS)、仅无机氮离子转移(NS)、有菌丝通道(J)和完全不隔离(S)4种氮素转移途径, 利用¹⁵N同位素示踪法定量测定紫花苜蓿与库尔勒香梨间作体系的生物固氮能力、氮素转移能力及二者影响因素, 量化分析氮素转移途径及其贡献。结果表明: 1) 与单作紫花苜蓿相比, 间作紫花苜蓿的固氮量为 $4.74 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$, 提升了 $0.18 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。2) 与完全隔离(PS)途径相比, 完全不隔离(S)和无机氮离子转移(NS)途径固氮量分别增加了33.6%、5.4%, 有菌丝通道(J)途径则下降了71.7%, 转氮量分别增加了224.8%、119.8%和4.7%; 4种途径下的转氮效率呈 $S(0.92\%) > NS(0.63\%) > J(0.30\%) > PS(0.28\%)$ 的规律。3) 固氮酶活性极显著影响豆科牧草固氮量($P < 0.01$), 土壤菌丝密度则显著影响固氮率($P < 0.05$); AM真菌侵染强度和频度显著影响转氮率和转氮量($P < 0.05$)。因此, 紫花苜蓿与梨树间作下的氮素转移途径主要为无机氮离子和AM真菌菌丝共同存在下的完全不隔离途径, 库尔勒香梨从与紫花苜蓿间作中共收益了33.61%的氮素。这为林草间作体系的氮素高效利用, 节约土地资源, 解决肥料短缺等方面提供了新的有效方法。

关键词: 林草间作; 氮素利用效率; 氮转移途径; AM真菌菌丝途径; 无机离子途径

Quantitative analysis of nitrogen transfer pathways in intercropping systems between alfalfa and Korla pear

MING Yan^{1,2**}, DOU Zi-yi^{1,2**}, ZHENG Wei^{1,2*}, WANG Ning-xin^{1,2}, CHEN Xue^{1,2}

1. College of Grassland Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Key Laboratory of Grassland Resources and Ecology in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830052, China

Abstract: The husbandry methodology of increasing nitrogen supply to Korla pear (*Pyrus sinkiangensis*) by planting legume forage between rows of Korla pear has been well established, but the specific pathways of nitrogen utilization and transfer under such intercropping are not clear. This study, focused on alfalfa (*Medicago sativa*) and Korla fragrant pear intercropping. Four nitrogen transfer pathways were established: complete root isolation (PS), inorganic nitrogen ion transfer only (NS), hyphal channel transfer (J), and no isolation (S). The ¹⁵N isotope tracing method was used to quantify the biological nitrogen fixation capacity, nitrogen transfer efficiency, and influencing

收稿日期: 2024-11-25; 改回日期: 2025-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(项目编号: 32060402)和新疆维吾尔自治区高校科研计划重点项目(项目编号: XJEDU2019I013)资助。

作者简介: 明艳(1998-), 女, 新疆焉耆人, 在读硕士。E-mail: 1975917961@qq.com; 窦梓懿(1998-), 女, 新疆昌吉人, 在读博士。E-mail: 3517669621@qq.com. ** 共同第一作者 These authors contributed equally to this work.

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: zw065@126.com

factors in the intercropping system, as well as to analyze the contributions of each pathway. The results showed: 1) The nitrogen fixation of intercropped alfalfa was $4.74 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$, which was $0.18 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$, greater than mono-cropped alfalfa. 2) Compared with PS, the amount of nitrogen fixation increased under S increased by 33.6%, increased under NS by 5.4% and decreased under J by 71.7%, while the amount of nitrogen transfer increased by 224.8%, 119.8% and 4.7%, respectively. The nitrogen transfer efficiencies under the four pathways ranked S (0.92%) > NS (0.63%) > J (0.30%) > PS (0.28%). 3) Nitrogen fixing enzyme activity had a highly significant effect on the amount of nitrogen fixation by the leguminous intercrop ($P < 0.01$), while soil hyphal density significantly positively effect on the nitrogen fixation rate ($P < 0.05$) and the intensity and frequency of AM fungal infestation was significantly positively correlated with the rate and amount of nitrogen transfer ($P < 0.05$). Therefore, the nitrogen transfer pathway under intercropping of alfalfa and pear was mainly a dual pathway of inorganic nitrogen ions and AM fungal mycelium, and Korla pear gained a total of 33.61% of its total nitrogen from intercropping with alfalfa. This study offers a novel approach to enhancing nitrogen use efficiency, conserving land resources, and addressing fertilizer shortages in tree-forage tercropping system.

Key words: forest-grass intercropping; nitrogen use efficiency; nitrogen transfer pathway; AM fungal mycelium pathway; inorganic ion pathway

间作在提升农田生物多样性与生产力稳定性上优势突出^[1]。豆科植物间作可以利用作物地上部与地下部^[2]的形态差异,有效地进行土壤氮素吸收,也能通过种间根系的互作效应,促进植物对氮素的利用,缓解连作障碍,提升氮素利用效率^[3]从而达到增产的目的^[4]。豆科作物除了自身可以固定大量的氮素以外,还可以改善土壤氮的相对消耗来影响植物生长的氮经济^[5],提升土壤肥力。据统计我国氮素用量占全球的30%左右,但作物吸收利用率普遍低于50%^[6]。在豆科牧草的间作体系中,豆科根系的根瘤菌与根际微生物如AM真菌协同作用将自身固定的氮素通过根系互作转移给与其间作的植物,且由于两种作物占据不同的地上和地下生态位,对养分的需求各不相同,使二者可以在一定程度上减少对养分资源的竞争^[7],从而形成有利的补偿效应机制。目前该固氮模式已被证实为最高效的生物固氮途径,同时具有培肥土壤、减肥增产的特点而在农林业生产上被当作优良的间套作物广泛使用^[8]。综上所述,近年来,不管是国内还是国外对于菌根真菌对植物氮素利用贡献的报道较多,这些研究大多聚焦在养分利用率、基因表达和菌根共生等方面。菌根共生如何定量影响寄主植物的养分利用,以及间作体系氮素转移的其他途径和作用机制,尚不清楚^[9]。因此,探索其如何将氮素等养分转移到邻近植物体内具有重要意义。

前人分析发现,紫花苜蓿(*Medicago sativa*)与杨树(*Populus*)间作能促进紫花苜蓿固定的氮素向杨树转移,有利于提高间作作物的生物产量^[10];果粮间作体系中,离树越近的玉米(*Zea mays*),获得的氮素越多^[11-12],这些研究都表明了在林草间作之间存在氮素的高效利用与转移。另外Heap等^[13]研究发现豆科和非豆科作物根系之间存在真菌外部菌丝体间的联系,并证明了豆科和非豆科作物之间存在通过菌丝途径进行氮的直接转移现象。其中同位素标记与根系分隔试验是研究间作体系中氮素吸收、利用和转移的主要方式。进行该方法不仅能够降低地上部因素的相互作用对植株产生的影响,还能更好地解释和控制地下部种间氮素吸收、利用及转移的过程^[14]。王一帆等^[15]通过禾豆间作根系分隔试验发现,氮含量和氮累积量呈不分隔>尼龙网分隔>塑料板分隔的特点,且尼龙网能有效阻止根系接触的同时,还能通过菌丝途径发生氮素转移^[16],除菌丝等因素外还发现豆科作物根系的结瘤量也会显著影响间作体系氮素的固定与转移效率^[17-18]。虽然前人对间作体系间的氮素利用研究已较为广泛,但仍然存在氮素转移途径与氮素利用效率的量化策略机制不明晰等问题,本研究以豆科牧草紫花苜蓿与库尔勒香梨(*Pyrus sinkiangensis*)进行间作为例,探究二者之间养分的具体传递途径和氮转移特征,比较不同的养分传递方式下氮素利用效率的变化趋势,并分析影响氮素利用效率的决定性因素与量化养分转移途径的内部相关性,阐明豆科牧草与库尔勒香梨间作时氮素高效利用优势产生的机理,为实现林草间作复合群体的可持续发展提供更

多理论依据和切实途径。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

研究区位于阿克苏地区阿拉尔市十团十七连(83°33'E, 40°61'N), 海拔约1028 m。该区域属暖温带内陆干旱气候, 多年平均气温10.8℃, 年平均最高气温18℃, 年平均最低气温3℃, 日照时数2556.3~2991.8 h, 年均降水量为40.1~82.5 mm, 年均蒸发量1876.6~2558.9 mm。作物主要生长期在4—9月, 土壤类型为砂壤土。土壤全氮含量 $0.68 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全磷 $2.12 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全钾 $2.30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效磷 $12.36 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾 $97 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

试验采用大田方式随机区组设计。选高固氮能力的新牧4号紫花苜蓿为供试材料。选取树龄6 a、长势良好、主干粗度和枝条数等相对一致、无虫害、结果正常的库尔勒香梨幼苗。施肥按当地常规量进行。库尔勒香梨: $\text{N } 300 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5 300 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $\text{K}_2\text{O } 60 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。豆科牧草: $\text{N } 53 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5 135 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $\text{K}_2\text{O } 90 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。试验布局如图1所示, 3(种植模式) \times 5(重复)。3种植植模式分别为: 模式I: 库尔勒香梨单作(CK); 模式II: 紫花苜蓿单作(IIa); 模式III: 库尔勒香梨与紫花苜蓿间作(IIIa)。单作下豆科牧草小区面积为 $4 \text{ m}\times 3 \text{ m}$ 。单作和间作库尔勒香梨行距为4.5 m, 各小区长16.5 m, 各小区面积为 74.25 m^2 , 小区播量如表1所示。在大田进行原位根系分隔试验, 分别为: 不分隔、尼龙网分隔、塑料膜分隔, 其中, 塑料膜分隔和尼龙网分隔方式分别采用0.12 mm厚优质塑料膜和 $35 \mu\text{m}$ 尼龙网分隔根系。3种植植模式表示的养分转移途径分别为: 完全不隔离(S, 允许无机氮离子、菌丝和分泌物通过)、无机氮离子转移(NS)、完全隔离(PS, 防止无机氮离子、菌丝和分泌物通过), 菌丝通道(J, 由完全不隔离—仅允许无机氮离子通过途径而得)。氮素固定和转移研究采用 ^{15}N 同位素稀释法^[19]: 每个小区内取 1 m^2 作为施用 ^{15}N 标记肥料的微处理区, 其丰度为10.32%。施用方法为1/2的 $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ 同位素溶于水, 种植前均匀施于土壤, 在豆科植物开花期, 1/2的 $\text{CO}(^{15}\text{NH}_2)_2$ 溶于水用注射器小心施于土壤。在生理期成熟后, 随机选取 $20 \text{ cm}\times 20 \text{ cm}$ 的代表性区域, 将植物连同根系一起挖出, 冲洗干净后于 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 杀青30 min, $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重, 并磨成细粉, 茎叶 $^{15}\text{N}\%$ 用精密同位素质谱仪(Elementar Isoprime precisION, 德国)测定。

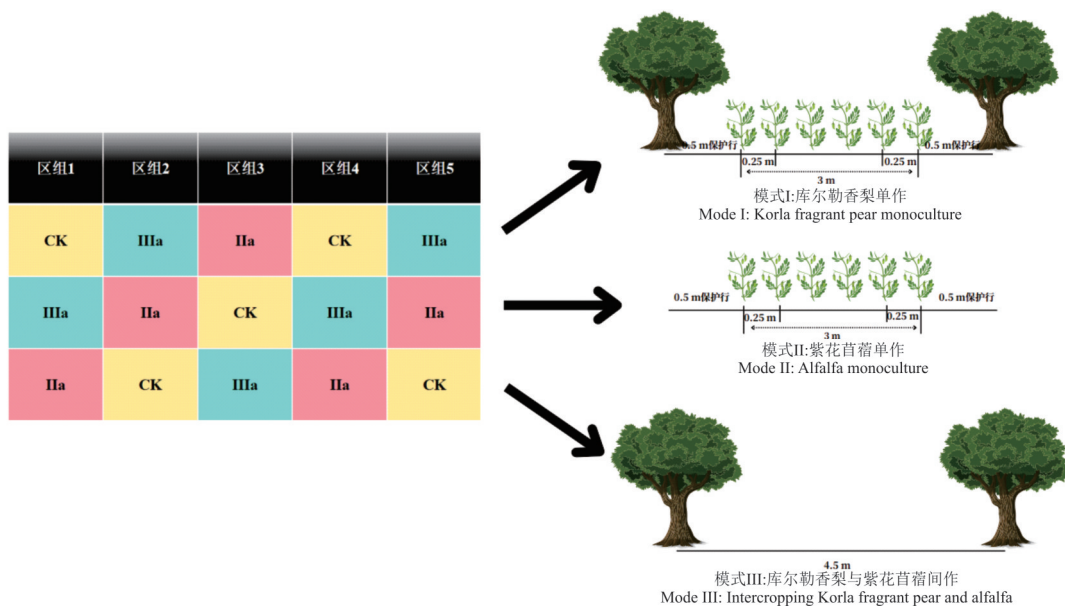


图1 田间试验种植模式

Fig. 1 Field trial planting mode

保护行 Protection row. 区组 District group.

1.3 测定项目与方法

1.3.1 氮素固定与转移指标测定 氮素固定率(nitrogen fixation rate, NDF A): 试验中把施用¹⁵N肥料处理的植株样品的¹⁵N丰度与不施¹⁵N植株样品丰度差值计为该样品的¹⁵N原子百分超(¹⁵N enrichment, A% E)。固氮比例(percentage of nitrogen fixation, NDF A%), 即固氮植物固定空气中氮素占植株全氮的百分数, 利用固氮植物¹⁵N原子百分超与非固氮植物相比下降的程度来计算。

$$\text{NDF A \%}_{\text{单作固氮植物}} = (1 - \text{A \% E}_{\text{单作固氮植物}} / \text{A \% E}_{\text{单作非固氮植物}}) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{NDF A \%}_{\text{间作固氮植物}} = (1 - \text{A \% E}_{\text{间作固氮植物}} / \text{A \% E}_{\text{单作非固氮植物}}) \times 100\% \quad (2)$$

氮素转移率: 豆科植物向非豆科植物氮转移率(nitrogen transfer rate, NTFT), 利用间作模式中非豆科植物¹⁵N原子百分超与单作相比下降的程度来计算。

$$\text{NTFT \%}_{\text{氮转移率}} = 1 - (\text{A \% E}_{\text{间作非豆科植物}} / \text{A \% E}_{\text{单作非豆科植物}}) \times 100\% \quad (3)$$

植株从肥料(fertilizer)和土壤(soil)吸取氮素占植株全氮的百分数。

$$\text{NDF F \%} = (\text{A \% E}_{\text{植株样品}}) / (\text{A \% E}_{\text{肥料样品}}) \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{NDF S \%} = 1 - \% \text{NDF F} \quad (5)$$

式中: NDF F 代表来自肥料的氮素比例, NDF S 代表来自土壤的氮素比例。

1.3.2 根系真菌的测定

丛枝菌根真菌侵染率和侵染强度: 在不同种植模式以及施氮处理中随机挖取代表性作物 0~20 cm 土层根系, 然后摘取直径 ≤ 1 mm 的细根, 用蒸馏水清洗后, 储存于 70% 的乙醇中冷藏保存。带回实验室后, 将根浸泡在 10% 的氢氧化钾中, 然后在 90 °C 水浴 60 min。冷却后弃去 KOH 溶液, 用蒸馏水清洗 3~5 次。再用 2% HCl 酸化 5 min, 用蒸馏水清洗 3 次; 加入曲利苯蓝后在 90 °C 水浴锅中染色 30 min; 除去曲利苯蓝后加入 1:1:1 乳酸甘油水, 室温下脱色 48 h。将脱色后的根样品剪成 1 cm 长的根段, 用镊子夹取根段, 将其整齐地排列在载玻片上, 每片 15 条根段, 每个处理 2 个片子, 共 30 条根段, 镜检 (EX21, 宁波舜宇仪器有限公司) 测定丛枝菌根真菌侵染率和侵染强度。根据根段的菌根侵染率 (0、<1%、<10%、<50%、>50% 和 >90%), 确定每条根系的菌根侵染情况, 并用“MYCOCALC”软件计算出菌根侵染频度 (infection frequency)、整个根系的菌根侵染强度 (infection intensity index of mycorrhizae)^[20]。

土壤菌丝密度: 采用真空泵微孔滤膜抽滤方法^[21]测定。称取 5 g 风干土样放入容量为 1 L 的烧杯中, 缓慢加水充分搅拌使菌丝脱落。过滤处理完样品后用移液枪吸取 5 mL 液体进行抽滤。将滤膜转移至载玻片, 滴 2 滴曲利苯蓝染色。重复“剧烈摇晃”和“抽滤”两次, 然后将染完色的载玻片放在 200 倍显微镜 (ML31, 广州明美光电技术有限公司) 下观察, 采用交叉划线法^[22]计算土壤菌丝密度。

1.3.3 牧草根瘤特征测定 固氮酶活性测定: 采用植物固氮酶 ELISA 试剂盒 (上海)^[23]、酶标仪 (Infinite F50, 上海) 测定, 试剂盒采用双抗体进一步夹心法酶联免疫吸附试验^[24]。

豆血红蛋白含量: 将冷冻的新鲜根瘤在 5 °C 的磷酸盐缓冲液 (0.1 mol·L⁻¹, pH 6.8) 中彻底研磨成匀浆。磷酸缓冲溶液的量为根瘤体积的 4 倍左右, 再将磨碎的悬浮液过滤后, 滤液在 100 r·min⁻¹、4 °C 下离心 15 min, 弃掉沉淀物。将上清液继续在 4 °C、39000 r·min⁻¹ 下离心 20 min, 溶解沉淀物, 并在 540 nm 波长下利用分光光度计 (721 型, 上海佑科仪器有限公司) 观察吸光度, 测定吸光值^[25-26]。

根瘤菌数量和重量: 从不同豆科牧草单作或豆科牧草与库勒勒香梨间作行中随机抽取 3 株代表性植物, 将其根系挖深约 0.3 m。将根系上的根瘤计数, 后将取出的土壤过 2 mm 筛, 挑出土壤中的根瘤。将所有新鲜的根瘤

表 1 各小区不同种植模式下林草间作氮素转移途径与播种量
Table 1 Nitrogen transfer pathway and seeding rate of forest-grass intercropping under different cropping patterns in each plot (g·m⁻²)

间作模式 Intercropping mode	氮素转移途径 Nitrogen transfer pathway	播量 Sowing quantity
CK	—	16 棵
IIa	—	7.8 × 10 ⁻⁴
IIIa	S	16.0 棵: 7.8 × 10 ⁻⁴
	NS	
	J	
	PS	

(包括植物根系和土壤中的根瘤)计数、称重。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel 2010 软件整理数据,运用 SPSS 23.0 进行 q 检验法(student-Newman-keuls, SNK)和最小差异显著法(least-significant difference, LSD)分析,对氮素固定与转移进行差异显著性检验($P < 0.05$);运用 SPSS 23.0 对紫花苜蓿和香梨根际微生物特征与氮素利用效率进行 Pearson 偏相关分析;使用 Origin 8.0 中“Principal Component Analysis”和“Correlation Plot”插件进行固氮效率和转氮效率的影响因素相关性分析,判定对梨树氮素贡献的主要影响因子并用其制图;使用 SPSSAU 进行结构方程模型分析,构建豆科牧草固氮与转氮效率和梨树氮素增量之间的联系,使用 CNSknowall 数据分析平台进行氮转移效率与影响因素的相关性分析,探明豆科牧草对其的氮养分贡献作用^[27]。

2 结果与分析

2.1 紫花苜蓿与香梨间作体系在不同处理与氮转移途径下氮素利用效率的分析

在不同氮素转移途径下,梨树与紫花苜蓿间作的固氮效率和转氮效率呈现出不同趋势。其中,与单作相比,间作固氮量为 $4.74 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$,提升 $0.18 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$,但二者之间差异不显著($P > 0.05$);固氮率则呈现相反趋势,单作比间作显著提升了 10.9% ($P < 0.05$,图 2A, B)。固氮量在不同的氮转移途径下,完全不隔离途径和菌丝通道间差异极显著($P < 0.01$),与无机氮离子转移途径差异显著($P < 0.05$);无机氮离子转移途径和完全隔离途径下其固氮量显著高于菌丝通道($P < 0.05$),但前二者之间差异不显著($P > 0.05$)。与完全隔离途径相比,固氮量在完全不隔离与无机氮离子转移途径下分别提高 33.6% 和 5.4% ,而菌丝通道则下降 71.7% ;转氮量在这 3 种氮转移途

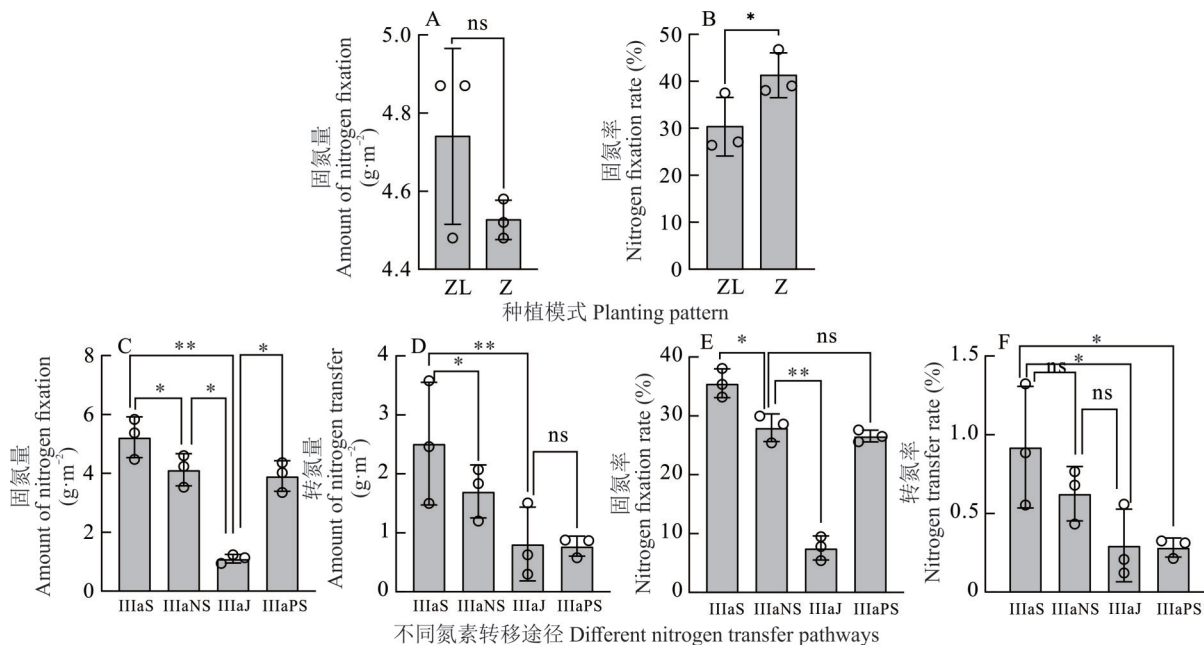


图 2 紫花苜蓿与梨树体系间作在不同氮转移途径下氮素利用效率的比较

Fig. 2 Comparison of nitrogen use efficiency between alfalfa and Korla pear intercropping under different nitrogen transfer pathways

ZL, Z 代表紫花苜蓿间作与单作; A, B 代表不同间作模式下固氮量、固氮率比较; C, D, E, F 代表不同氮素转移途径下固氮量、转氮量、固氮率、转氮率比较。* 表示 0.05 水平, 显著性相关; ** 表示 0.01 水平, 极显著性相关, *** 表示 0.001 水平, 极显著性相关, ns 表示无显著性, 下同。ZL and Z represent intercropping and monocropping of alfalfa, respectively. A and B denote comparisons of nitrogen fixation amount and nitrogen fixation rate under different intercropping patterns. C, D, E, and F represent comparisons of nitrogen fixation amount, nitrogen transfer amount, nitrogen fixation rate and nitrogen transfer rate under different nitrogen transfer pathways. The asterisk * indicates significance at the 0.05 level, ** indicates extremely significant difference at the 0.01 level, *** indicates highly significant difference at the 0.001 level, and “ns” denotes no significant difference. The same below.

径下分别比完全隔离途径提升了224.8%、119.8%和4.7%(图2C,D)。转氮率在3种途径下分别较完全隔离途径增加了224.9%、120.6%和4.4%,与转氮量基本持相同趋势;在完全不隔离与无机氮离子转移途径下二者差异不显著($P>0.05$)但显著高于菌丝通道途径与完全隔离途径($P<0.05$)(图2E,F)。通过对不同氮素转移途径的比较发现,4种方式下的转氮量和转氮率均呈现完全不隔离>无机氮离子转移>菌丝通道>完全隔离的趋势。

2.2 紫花苜蓿与香梨间作体系中氮转移途径的影响因素分析

在间作系统中,豆科牧草的固氮量与固氮酶活性、根瘤数、根瘤重、豆血红蛋白和固氮率呈极显著相关性($P<0.01$);转氮量和转氮率与AM真菌侵染强度和频度呈显著相关性($P<0.05$,图3)。通过相关性聚类发现,土壤菌丝密度显著影响固氮率,并在该系统中,根瘤数、根瘤重和豆血红蛋白共同作用于间作体系的氮素固定效率,AM真菌侵染强度和频度显著影响转氮率和转氮量,共同作用于间作体系的氮素转移效率(图3)。在不同的氮素转移途径下,各氮素利用影响因素总体呈现完全不隔离>无机氮离子转移>完全隔离>菌丝通道,其中根瘤数在单间作模式中差异显著($P<0.05$);豆血红蛋白在4种间作模式中也存在显著差异($P<0.05$),但无机氮离子转移途径与单播差异不显著($P>0.05$)。与CK相比,根瘤重和固氮酶活性在4种不同的转移途径下差异不显著($P>0.05$),而根瘤数、豆血红蛋白、AM真菌侵染频度和强度以及土壤菌丝密度均总体显示完全不隔离大于豆科单播模式,分别增加了12.6%、18.0%、25.3%、22.1%、29.9%(图4)。

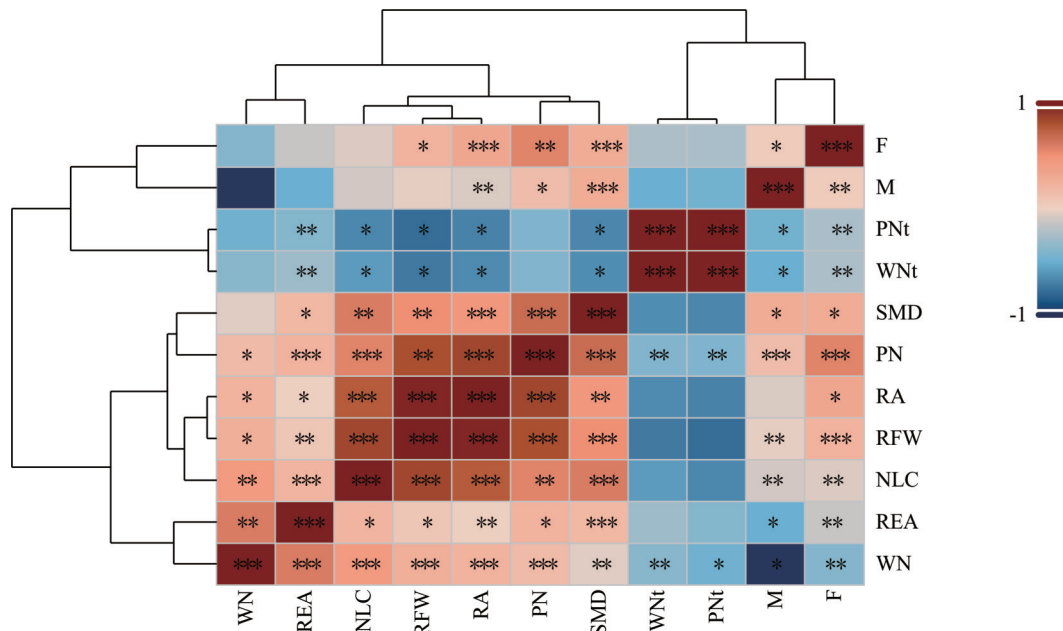


图3 紫花苜蓿与梨树间作体系下氮转移效率与影响因素的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of nitrogen transfer efficiency and influencing factors between alfalfa and Korla pear intercropping

F: AM真菌侵染强度; M: AM真菌侵染频度; PNT: 转氮率; WNT: 转氮量; SMD: 土壤菌丝密度; PN: 固氮率; RA: 根瘤数; RFW: 根瘤重; NLC: 豆血红蛋白; REA: 固氮酶活性; WN: 固氮量。 F: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungal infection intensity; M: AM fungal infection frequency; PNT: Nitrogen transfer rate; WNT: Nitrogen transfer amount; SMD: Hyphal density; PN: Nitrogen fixation rate; RA: Nodule number; RFW: Nodule weight; NLC: Leguminous hemoglobin; REA: Nitrogenase activity; WN: Nitrogen fixation amount. 下同。 The same below.

2.3 林草间作体系中氮素转移途径的驱动因素(特征重要值评估)

结构方程模型显示固氮酶活性(nitrogenase activity, REA)对于固氮率(pear tree nitrogen incremen, PNI)影响时,标准化路径系数值为0.356>0($z=2.091, P=0.037<0.05$),表明产生显著的正向影响;根瘤重(nodule weight, RFW)对PNI影响时标准化路径系数值为0.001>0,表明产生显著的正向影响,Z代表标准化检验统计量(Z-score),用于检验模型中参数(路径系数,因子载荷等)统计显著性的指标。当 $|Z|>1.96$ 时,对应 $P<0.05$ (单尾检验);当 $|Z|>2.58$ 时,对应 $P<0.01$ 。本研究 $Z=2.091>1.96$,且 $P=0.037<0.05$,表明参数在统计学上具有显

著意义。数据来源于模型计算产生数据。根瘤数 (nodule number, RA) 对 PNI 影响时显示标准化路径系数值为 $-0.851 < 0$ ($z = -4.200, P = 0.000 < 0.01$), 因而说明 RA 会对 PNI 产生显著的负向影响; 转氮量 (nitrogen transfer amount, WNt) 对 PNI 影响时, 标准化路径系数值为 $0.636 > 0$, 表明产生显著的正向影响; 豆血红蛋白 (leguminous hemoglobin, NLC) 对于 PNI 产生显著的正向影响 ($z = 4.798, P = 0.000 < 0.01$); REA 对固氮量 (nitrogen fixation amount, WN) 影响时, 标准化路径系数值为 $0.524 > 0$, 并且此路径呈现出在 0.01 水平的显著性 ($z = 3.154, P = 0.002 < 0.01$), 故 REA 会对 WN 产生显著的正向影响; NLC 对于 WN 影响时, 标准化路径系数值为 $0.824 > 0$ ($z = 3.813, P = 0.000 < 0.01$), 该模型拟合指标通过检验, 可信度较高 (图 5A)。通过对林草间作体系下影响氮素转移效率的主要成分因子进行随机森林分析发现, 根瘤重对转氮量的重要程度贡献较为显著 ($P < 0.05$), 其次是土壤菌丝密度, 其中土壤菌丝密度与 AM 真菌侵染频度和根瘤数重要值贡献程度差异不显著, 且与豆血红蛋白、AM 真菌侵染强度以及固氮酶活性共同解释了 31.31% 的重要贡献值 (图 5B), AM 真菌侵染频度对转氮率的重要值贡献程度显著大于根瘤数、土壤菌丝密度和根瘤重 ($P < 0.01$), 但其三者之间对转氮率的贡献程度差异不显著 ($P > 0.05$), 且与豆血红蛋白、AM 真菌侵染强度以及固氮酶活性共同解释了 33.61% 的重要贡献值 (图 5C)。

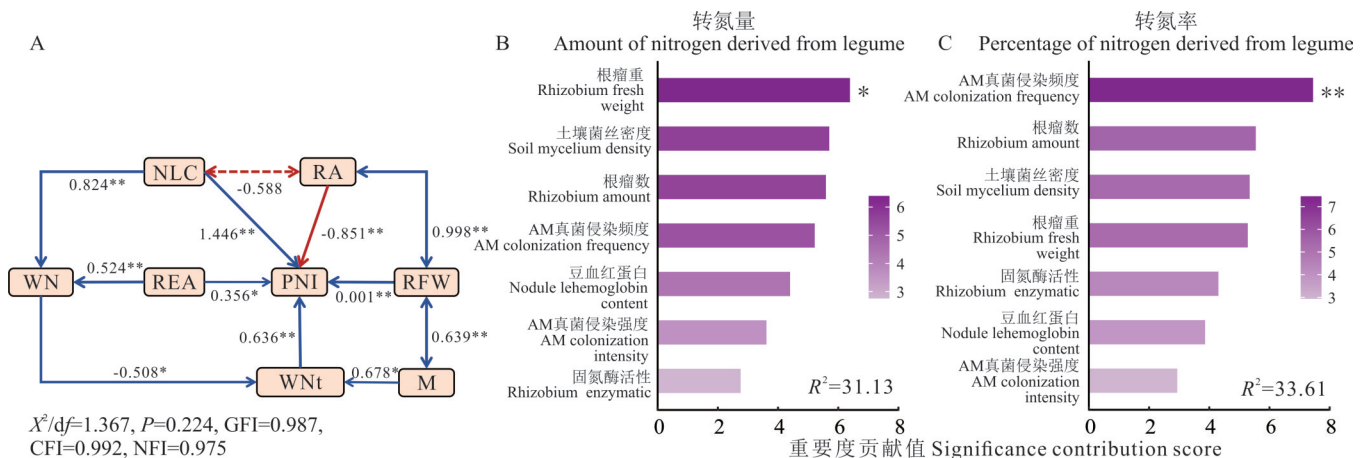


图 5 基于影响因子对氮素转移重要度的结构方程模型和随机森林分析模型

Fig. 5 Structural equation model and random forest analysis model based on influencing factors for the importance of nitrogen transfer

PNI 为梨树氮素增量; X^2/df 为卡方值与自由度的比值; P 值为相关系数; GFI 为拟合优度指数; CFI 为比较拟合指数; NFI 为规范拟合指数。PNI was the increase of nitrogen in pear trees; X^2/df is the ratio of the chi-square value to the degrees of freedom; The P -value is the interaction coefficient; GFI is the goodness-of-fit index; CFI is a comparative fitting index; NFI is a canonical fit index.

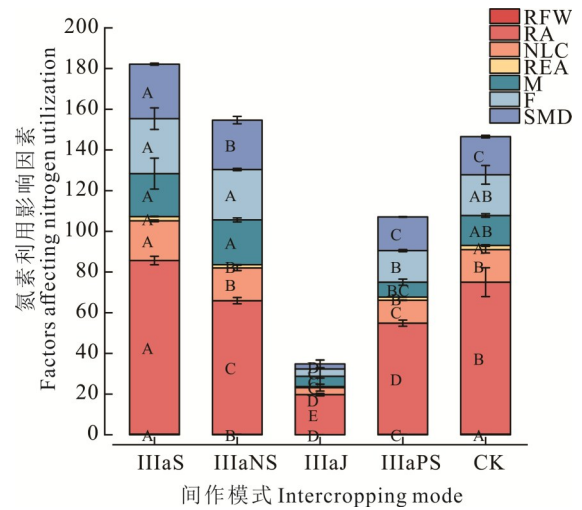


图 4 紫花苜蓿与梨树间作在不同氮转移途径下影响因素比较
Fig. 4 Comparisons of influencing factors between alfalfa and Korla pear intercropping under different nitrogen transfer pathways

不同字母表示 4 种氮素转移途径与单作各影响因素之间的差异性。The difference letters indicates the differences among the four nitrogen transfer pathways and the influencing factors of mono-cropping. A、B、C、D 表示总高度=总影响, 分段=各因素贡献; 分段处 A、B、C 表示 4 种氮素转移途径与单作各影响因素之间的差异性。A, B, C and D represent that the total height=total impact, and the segmentation=contributions of various factors; A, B and C at the segmentation points indicate the differences among the four nitrogen transfer pathways and the influencing factors of sole cropping.

3 讨论

3.1 不同氮转移途径下间作体系中固氮与转氮效率的分析

间作是促进田间植物群落更加多样化的有效方法,从而实现互补和促进关系。在这些系统中,豆科植物是一个重要的功能群也是促进生态系统养分吸收效率的关键物种^[28-29],且越来越多的试验证明间作可以提高产量等多种效益^[30-31]、稳定粮食生产^[32-33]等。本研究发现在林草间作体系中单作固氮量低于间作,但单作的固氮效率优于间作($P < 0.05$),可能是由于在播种初期施肥从而抑制了氮的固定,这与Fan等^[34]的研究结果一致。但是也有研究发现当豆科作物与禾本科作物间作后,其根际氮的供应量下降,从而反向促进豆科植物的结瘤与 N_2 固定^[18,35-36],故而这种促进与抑制作用并不是完全统一的,更多的不确定性是由于在较低的土壤氮有效性的区域下间作,试验地土壤基质不同的原因所导致。在不同氮素转移途径下与完全隔离途径相比,无机氮离子转移途径与完全不隔离途径的固氮率分别增加了5.4%和33.7%,转氮率在3种途径下分别增加了224.9%、120.6%和4.4%。故而完全不隔离途径可以更好地促进间作体系的氮素吸收,相比其余3种氮转移途径而言,完全不隔离途径扩大了AM真菌与豆科牧草形成的菌丝网络的延伸,增加了根系与土壤的接触面积,从而促进系统氮素的转移和再分配^[37]。而菌丝通道途径效果弱于无机氮离子转移途径和完全不隔离途径,主要由于梨树与林下草紫花苜蓿间作后,梨树因其自身的形态而获得更多光照,具有更强的竞争力,二者在空间生态位上的互补会促进养分的转移与吸收,但在一定程度上会对豆科作物产生遮阴作用,使得豆科作物生长缓慢,阻碍了根系的“源”“库”机制,从而使得豆科作物的固氮效率大大下降^[38]。

3.2 间作体系中不同氮转移途径下豆科牧草氮素利用效率的影响因素与重要值分析

林草间作体系中,存在种间氮营养互补利用策略,林地通过竞争吸收土壤氮素,降低其对固氮酶活性的影响,促进豆科牧草氮素的固定^[39]。通过对间作体系根系互作的研究发现,间作能提高豆科牧草的根瘤数、根瘤重和固氮酶活性,且豆血红蛋白含量也增加了73.3%^[40]。本研究认为影响间作体系固氮和转氮能力的因素有很多包括生物因素和非生物因素,本研究则主要通过根系特性和土壤菌丝密度等研究探讨了生物因素对固氮与转氮的影响,发现在间作系统中,豆科牧草的氮素转移与AM真菌侵染强度和频度呈显著相关性($P < 0.05$),通过相关性聚类发现,二者共同作用于间作体系的氮素转移效率。构建结构方程模型发现主要对梨树氮素增量造成显著影响的是转氮量、根瘤重、豆血红蛋白含量和固氮酶活性,结合之前对氮素固定与转移途径的分析发现,多种因素共同影响着梨树氮素增加的通路,其中根瘤是豆科作物固氮的主要场所,根瘤数越多,根瘤越重将会增强作物的固氮效率^[41]。随机森林分析发现,林草间作体系下影响氮素转移效率的主要成分因子AM真菌侵染频度对转氮率的重要程度贡献较为显著($P < 0.05$),与豆血红蛋白、AM真菌侵染强度、土壤菌丝密度等共同解释了33.61%的重要贡献值,可能是由于间作体系下氮转移还会通过根系互作^[42]、残留物分解^[43]和邻近植物对氮的双向转移^[35]等途径所致,但依然可以清晰地发现AM真菌侵染频度对转氮效率贡献的重要性。

4 结论

通过分析根系阻隔方式对氮素转移的影响,发现不同氮转移途径显著影响了豆科与非豆科物种间的养分利用。林草间作模式中间作固氮量高于单作 $4.74 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。NS途径和S途径比PS途径处理下的固氮量分别增加了5.4%、33.6%,转氮量分别增加了119.8%、224.8%;4种途径下的转氮效率呈 $S > NS > J > PS$ 的规律。氮转移的关键途径是通过离子+菌丝连接的S途径,氮素从供体作物向受体作物的转移量比PS途径提高了两倍,该途径也在氮转移中起主导作用。通过对间作体系中不同氮素转移途径的量化以及不同因素对间作体系氮转移贡献的重要值分析,更加明确了林草间作体系下氮素高效利用的作用机理,为新疆阿拉尔地区林草间作复合体系的可行性提供了理论依据。

参考文献 References:

- [1] Li L. Research progress and application prospects of intercropping and relay cropping in strengthening the ecosystem services of farmland. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2016, 24(4): 403-415.

- 李隆. 间套作强化农田生态系统服务功能的研究进展与应用展望. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 403–415.
- [2] Yang H, Zhao Y J, Liu X J. Photosynthetic characteristics of alfalfa/oat intercropping and its regulatory effects on yield. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(1): 187–195.
杨航, 赵雅姣, 刘晓静. 紫花苜蓿/燕麦间作的光合特征及其对产量的调控效应. 草地学报, 2023, 31(1): 187–195.
- [3] Tang L B, Wang J H, Wang L T, *et al.* Effects of maize-white clover intercropping on soil nutrients and crop production performance in Karst mountainous area. *Chinese Journal of Grassland*, 2022, 44(5): 31–39.
唐柳办, 王家豪, 王雷挺, 等. 岩溶山区玉米白三叶间作对土壤养分及作物生产性能的影响. 中国草地学报, 2022, 44(5): 31–39.
- [4] Wang Y. Research of intercropping benefit and nitrogen absorption mechanism of alfalfa//oat intercropping systems. Changchun: Northeast Normal University, 2019.
王妍. 紫花苜蓿—燕麦间作效应及氮素吸收机理研究. 长春: 东北师范大学, 2019.
- [5] Li Q, Huang Y X, Zhou D Y, *et al.* Influence of mycorrhizal fungi on growth and biological nitrogen fixation and phosphorus uptake in legume crops. *Journal of Plant Ecology*, 2021, 32(5): 1761–1767.
- [6] Zhang F S, Wang J Q, Zhang W F, *et al.* The current situation and ways to improve the fertilizer utilization efficiency of major grain crops in China. *Journal of Soil Science*, 2008, 45(5): 915–924.
张福锁, 王激清, 张卫峰, 等. 中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径. 土壤学报, 2008, 45(5): 915–924.
- [7] Vandermeer J. The ecology of intercropping. New York: Cambridge University Press, 1989.
- [8] Li S S. Effect of mixed planting of *Vicia sativa* or fertilization on weight loss and efficiency enhancement of *Avena sativa* pastures. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021.
黎松松. 混播箭筈豌豆或施肥对燕麦草地减肥增效的影响. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021.
- [9] Zhang D S. Efficient capture and utilization of light energy in corn/peanut intercropping in wind sand semi arid areas. Beijing: China Agricultural University, 2018.
张东升. 风沙半干旱区玉米/花生间作光能高效捕获和利用. 北京: 中国农业大学, 2018.
- [10] Chen J, Arafat Y, Wu L, *et al.* Shifts in soil microbial community, soil enzymes and crop yield under peanut/maize intercropping with reduced nitrogen levels. *Applied Soil Ecology*, 2018, 124: 327–334.
- [11] Feng X M, Gao X, Zang H D, *et al.* The intercropping effect and nitrogen transfer characteristics between oats and mung beans. *Acta Botanica Sinica*, 2023, 58(1): 122–131.
冯晓敏, 高翔, 臧华栋, 等. 燕麦—绿豆间作效应及氮素转移特性. 植物学报, 2023, 58(1): 122–131.
- [12] Willey R W. Intercropping—its importance and research needs. Part 2. Agronomy and research approaches. *Field Crop Abstracts*, 1979, 32: 73–85.
- [13] Heap A J, Newman E I. Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 1980, 85(2): 169–171.
- [14] Zhao Y J, Liu X J, Tong C C, *et al.* Effect of alfalfa/maize intercropping on the nodulation and nitrogen fixation characteristics of alfalfa. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(1): 95–105.
赵雅姣, 刘晓静, 童长春, 等. 紫花苜蓿/玉米间作对紫花苜蓿结瘤固氮特性的影响. 草业学报, 2020, 29(1): 95–105.
- [15] Wang Y F, Liu H Q, Zhao X N, *et al.* Effects of water and root separation on nitrogen uptake, utilization and transfer in a gramineae-legume intercropping system. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2024, 38(4): 279–287.
王一帆, 刘华清, 赵西宁, 等. 禾豆间作系统水分和根系分隔对牧草氮素吸收利用及转移的影响. 水土保持学报, 2024, 38(4): 279–287.
- [16] Zhu Y Q, Li S S, Wang N X, *et al.* Effects of rhizobium—root system—arbuscular mycorrhizal fungi features on nitrogen fixation and transfer efficiency of mixed sowing meadow. *Chinese Journal of Grassland*, 2022, 44(11): 18–31.
朱亚琼, 黎松松, 王宁欣, 等. 根瘤菌—根系构型—丛枝菌根真菌对混播草地氮素固定与转移效率的影响. 中国草地学报, 2022, 44(11): 18–31.
- [17] Ren J, Liu X Y, Liu F, *et al.* Absorption, utilization and transfer efficiency of nitrogen in walnut-soybean intercropping pattern. *Nonwood Forest Research*, 2022, 40(1): 1–10.
任静, 刘小勇, 刘芬, 等. 核桃/大豆间作对氮素吸收利用及转移的影响. 经济林研究, 2022, 40(1): 1–10.
- [18] Fan F L, Zhang F S, Song Y N, *et al.* Nitrogen fixation of faba bean (*Vicia faba* L.) interacting with a non-legume in two contrasting intercropping systems. *Plant & Soil*, 2006, 283(1/2): 275–286.
- [19] Yoneyama T, Yamada N, Kojima H, *et al.* Variations of natural ^{15}N abundances in leguminous plants and nodule fractions.

- Plant and Cell Physiology, 1984, 25(8): 1561–1565.
- [20] Fang L, Xu J, Yang C. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviates salt-alkali stress damage on *syneilesis aconitifolia*. *Phyton*, (0031–9457), 2023, 92(12).
- [21] Jakobsen I, Abbott L K, Robson A D. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.: I. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 1992, 120(3): 371–380.
- [22] Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in root. *New Phytologist*, 1980, 84: 489–500.
- [23] Lin B, Zheng X, Zheng S, *et al.* Metabolomics analysis of ammonia secretion during the fermentation of *Klebsiella variicola* GN02 with highly efficient endophytic nitrogen-fixing bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2020, 56(4): 400–411.
- [24] Lin B S, Fan J L, Song Z Z, *et al.* Endophytic diazotrophs composition of *Pennisetum* sp. at different growth stages. *Microbiology China*, 2018, 45(7): 1479–1490.
林标声, 范锦琳, 宋昭昭, 等. 巨菌草不同生长时期的内生固氮菌群组成分析. *微生物学通报*, 2018, 45(7): 1479–1490.
- [25] Wang S Q, Han X Z, Qiao Y F, *et al.* Effects of low molecular organic acids on nitrogen accumulation, nodulation, and nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L.) under phosphorus deficiency stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(5): 1079–1084.
王树起, 韩晓增, 乔云发, 等. 缺磷条件下低分子量有机酸对大豆氮积累和结瘤固氮的影响. *应用生态学报*, 2009, 20(5): 1079–1084.
- [26] Zuo Y M, Liu Y X, Zhang F S. Effects of improvement of iron nutrition by mixed cropping with maize on nodule microstructure and leghaemoglobin content of peanut. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003(1): 33–38.
左元梅, 刘永秀, 张福锁. 与玉米混作改善花生铁营养对其根瘤形态结构及豆血红蛋白含量的影响. *植物生理与分子生物学学报*, 2003(1): 33–38.
- [27] Beijing Xinzhi Shudu Technology Limited Company. SPSSAU. (Version 28.0). [2024.10]. <https://www.spssau.com/>.
北京心知数度科技有限公司. SPSSAU. (Version 28.0). [2024.10]. <https://www.spssau.com/>.
- [28] Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C, *et al.* Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2009, 29(1): 329–353.
- [29] Vandermeer J, Van Noordwijk M, Anderson J, *et al.* Global change and multi-species agroecosystems: concepts and issues. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1998, 67: 1–22.
- [30] Li C, Hofand E, Kuyper T W, *et al.* Syndromes of production in intercropping impact yield gains. *Nature Plants*, 2020, 6(6): 653–660.
- [31] Yu Y, Stomph T J, Makowski D, *et al.* Temporal niche differentiation increases the land equivalent ratio of annual intercrops: a meta-analysis. *Field Crops Research*, 2015, 184: 133–144.
- [32] Li X F, Wang Z G, Bao X G, *et al.* Long-term increased grain yield and soil fertility from intercropping. *Nature Sustainability*, 2021, 4(11): 943–950.
- [33] Stomph T, Dordas C, Baranger A, *et al.* Designing intercrops for high yield, yield stability and efficient use of resources: are there principles. *Advances in Agronomy*, 2020, 160(1): 1–50.
- [34] Fan K K, Delgado-Baquerizo M, Guo X S, *et al.* Suppressed N fixation and diazotrophs after four decades of fertilization. *Microbiome*, 2019, 7(1): 143.
- [35] Chu G X, Shen Q R, Cao J L, *et al.* Biological nitrogen fixation and nitrogen export of groundnut intercropped with rice cultivated in aerobic soil and its effect on soil nitrogen fertility. *Acta Pedologica Sinica*, 2003(5): 717–723.
褚贵新, 沈其荣, 曹金留, 等. 旱作水稻与花生间作系统中的氮素固定与转移及其对土壤肥力的影响. *土壤学报*, 2003(5): 717–723.
- [36] Li Y Y, Yu C B, Cheng X, *et al.* Intercropping alleviates the inhibitory effect of N fertilization on nodulation and symbiotic N₂ fixation of faba bean. *Plant and Soil*, 2009, 323(1): 295–308.
- [37] Corre-Hellou G, Fustec J, Crozat Y. Interspecific competition for soil N and its interaction with N₂ fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant and Soil*, 2006, 282(1/2): 195–208.
- [38] Bedoussac L, Justes E. Dynamic analysis of competition and complementarity for light and N use to understand the yield and the protein content of a durum wheat-winter pea intercrop. *Plant and Soil*, 2010, 330(1/2): 37–54.
- [39] Hauggaard-Nielsen H, Ambus P, Jensen E S. The comparison of nitrogen use and leaching in sole cropped versus intercropped pea and barley. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2003, 65(3): 289–300.

- [40] Ding T T, Duan T Y. Research progress on the influence of orchard green manure on fruit tree soil microbial system. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(12): 2196–2208.
丁婷婷, 段廷玉. 果园绿肥对果树—土壤—微生物系统影响研究进展. *果树学报*, 2021, 38(12): 2196–2208.
- [41] Jiang S, Jardinaud M F, Gao J, *et al.* NIN-like protein transcription factors regulate leghemoglobin genes in legume nodules. *Science*, 2021, 374(6567): 625–628.
- [42] Zang H D, Yang X C, Feng X M, *et al.* Rhizodeposition of nitrogen and carbon by mungbean (*Vigna radiata* L.) and its contribution to intercropped oats (*Avena nuda* L.). *PLoS One*, 2017, 10(3): e0121132.
- [43] Dong Z X, Sun B, Yin S X, *et al.* Impacts of climate and cropping on community diversity of diazotrophs in pachic udic argiboroll and fluventic ustochrept. *Acta Pedologica Sinica*, 2012, 49(1): 130–138.
董志新, 孙波, 殷士学, 等. 气候条件和作物对黑土和潮土固氮微生物群落多样性的影响. *土壤学报*, 2012, 49(1): 130–138.