

何德鑫, 赵翔, 张雪静, 等. 大豆连作根际土壤微生物群落构建特征[J]. 沈阳农业大学学报, 2024, 55(1): 1-8.

HE Dexin, ZHAO Xiang, ZHANG Xuejing, et al. Characteristics of microbial community construction in soybean continuous cropping rhizosphere soil[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2024, 55(1): 1-8.

大豆连作根际土壤微生物群落构建特征

何德鑫¹, 赵翔¹, 张雪静¹, 李佳宜¹, 张鹏宇², 姚兴东¹, 谢甫缙¹

(1. 沈阳农业大学大豆研究所, 沈阳 110161; 2. 内蒙古自治区农牧业技术推广中心, 呼和浩特 010051)

摘要: 研究连作对大豆根际土壤中细菌、真菌群落组成、构建的影响, 为大豆连作障碍的生物防治和农田土壤修复提供理论支持。试验于 2021-2022 年在沈阳农业大学铁西区定位试验站进行, 试验站土壤类型为棕壤土。以玉米-大豆轮作(对照)和大豆连作根际土壤为研究对象, 利用 16S rDNA、ITS 高通量测序技术, 结合土壤化学性质和土壤酶活性测定, 分析连作对大豆土壤化学性质、酶活性以及根际微生物多样性、群落构建特征的影响。结果表明: 连作下, 土壤全氮、全磷、全钾等土壤化学性质指标含量下降, 速效钾、pH 值升高; 连作显著提高土壤蔗糖酶和过氧化氢酶活性, 显著降低土壤脲酶、亮氨酸氨肽酶活性和 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性。土壤细菌多样性指数连作处理(4.63)低于轮作处理(5.34), 细菌属水平下, 连作增加鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)和卡氏伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*, LRR: 1.4%; LCR: 2.4%)相对丰度; 土壤真菌多样性指数连作处理低于轮作处理, 真菌属水平下, 连作增加病原真菌镰刀菌属(*Fusarium*, LCR: 20.5%; LRR: 13.2%)相对丰度。在群落组装过程中, 大豆连作根际土壤细菌群落构建主要由确定性过程主导; 玉米大豆轮作根际土壤细菌群落构建主要由随机过程主导; 大豆连作根际土壤真菌群落构建和玉米大豆轮作根际土壤真菌群落构建由随机过程主导。连作引起大豆根际土壤环境因子、细菌、真菌群落组成及构建的变化, 病原菌相对丰度增加, 其中镰刀菌(*Fusarium*)相对丰度的增加可能是导致大豆连作障碍发生的重要因素。

关键词: 大豆; 根际微生物; 群落构建

中图分类号: S513; S565.1

文章编号: 1000-1700(2024)01-0001-08

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Characteristics of Microbial Community Construction in Soybean Continuous Cropping Rhizosphere Soil

HE Dexin¹, ZHAO Xiang¹, ZHANG Xuejing¹, LI Jiayi¹, ZHANG Pengyu²,
YAO Xingdong¹, XIE Futi¹

(1. Soybean Research Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China;

2. Inner Mongolia Agronomy and Animal Husbandry Technology Extension Center, Hohhot 010051, China)

Abstract: To study the effects of continuous cropping on the composition and construction of bacterial and fungal communities in soybean rhizosphere soil, providing theoretical support for the biological control of soybean continuous cropping obstacles and soil remediation in farmland, experiment was conducted from 2021 to 2022 at the Tiexi District Positioning Test Station of Shenyang Agricultural University, with a type of brown soil area. The effects of continuous cropping on soybean soil chemical properties, soil enzyme activity, rhizosphere microbial diversity, and community construction characteristics were analyzed, taking maize soybean rotation (control) and continuous cropping of soybean rhizosphere soil as the research object, using 16S rDNA and ITS high-throughput sequencing technology, combined with

收稿日期: 2023-12-25

基金项目: 辽宁省科技厅农业重大专项项目(2022JH1/10200002)

第一作者: 何德鑫(1993-), 男, 博士研究生, 从事大豆土壤微生物研究, E-mail: 670888084@qq.com

通信作者: 姚兴东(1986-), 男, 博士, 讲师, 从事作物-土壤-微生物互作研究, E-mail: xingdongyao@syau.edu.cn

soil chemical properties and enzyme activity measurements. The results showed that under continuous cropping, the content of soil chemical properties such as total nitrogen, total phosphorus, and total potassium decreased, while available potassium and pH increased. Continuous cropping significantly increased the activities of soil sucrase and catalase, while significantly reduced the activities of soil urease, leucine aminopeptidase, and N-acetylglucosaminidase. In continuous cropping mode, the soil bacterial diversity index (4.63) was lower than that of rotation treatment (5.34). At the bacterial level, continuous cropping increased the relative abundance of *Sphingobacterium* and *Burkholderia* genera (LRR: 1.4%; LCR: 2.4%); The soil fungal diversity index was lower than that of crop rotation treatment. At the fungal genus level, continuous cropping increased the relative abundance of pathogenic fungi *Fusarium* (LCR: 20.5%; LRR: 13.2%). In the process of community assembly, the construction of bacterial communities in the rhizosphere soil of soybean continuous cropping is mainly dominated by deterministic processes. The construction of bacterial communities in the rhizosphere soil of maize soybean rotation was mainly dominated by random processes. The construction of fungal communities in the rhizosphere soil of soybean continuous cropping and maize soybean rotation was dominated by random processes. Continuous cropping causes changes in soil environmental factors, bacterial and fungal community composition, and construction in the rhizosphere of soybean, leading to an increase in the relative abundance of pathogens. Among them, the increase in the relative abundance of *Fusarium* might be an important factor leading to the occurrence of soybean continuous cropping obstacles.

Key words: soybean; rhizospheric microorganism; community construction

大豆作为一种重要的油料作物,对全世界粮食安全都具有举足轻重的影响^[1-2]。近年来受耕地面积缩减、种植结构调整、过度依赖进口等多方面影响,在有些地区大豆连作已经成为一种普遍的种植模式^[3-4]。大豆忌连作,连作会导致大豆土壤理化性质失调、土壤微生物群落发生异常改变、加剧土传病害蔓延,继而导致大豆产量和品质下降^[5]。

土壤微生物群落对陆地生态系统循环至关重要,如土壤碳循环、氮循环等^[6]。近年来研究表明,土壤微生物群落组成及多样性的变化可引起土壤理化性质和土壤酶活性的变化^[7-8]。季尚宁等^[9]对连作大豆土壤进行杀菌消毒后种植,结果表明杀菌消毒能从根本上消除大豆连作对土壤造成的不利影响,从而保证大豆良好的生长发育和增产效果。这表明土壤微生物群落的改变是导致大豆连作障碍的主要因素之一^[4]。大豆连作会使土壤中致病细菌和病原真菌的富集丰度增加,土壤理化性质发生异常变化,土壤微生物多样性减少继而引起大豆的产量和品质的下降^[10]。

群落构建过程对于微生物生态学研究起着至关重要的作用,对于解释微生物组成及多样性形成过程有着重要的指导作用^[11]。微生物群落构建过程分为确定性和随机性两个过程,二者主要在研究尺度、群落类型等方面存在差异^[12]。目前主要是通过 β NTI(β -Nearest Taxon Index,最近种间指数)模型来构建土壤微生物群落,并通过 β NTI模式的构建发现确定性过程对土壤生态环境起主导作用^[13]。郭晗玥等^[14]对西瓜连作土壤群落构建过程的研究表明,西瓜连作细菌群落构建过程以随机性为主导,真菌构建过程由确定性过程主导。然而,对于连作大豆根际土壤生态环境中土壤微生物群落的构建过程机制,至今仍缺乏深入细致的探究。

本研究选择连作大豆根际土壤微生物群落为对象,采用16S rRNA测序、ITS测序和 β NTI模型构建,分析了连作大豆、玉米-大豆轮作根际土壤微生物群落组成、多样性和群落构建过程的差异,试图阐释连作大豆土壤微生物组装机理,为缓解大豆连作障碍研究提供新的见解。

1 材料与方法

1.1 试验地点和取样

2015年在沈阳农业大学辽中定位试验基地(41°52'N, 122°72'W, 海拔5.5~23.5 m)建立定位试验,采用大豆连作和玉米-大豆轮作的种植制度进行种植。本试验于2021-2022年进行取样测定。采用大豆连作(LCR)和玉米-大豆轮作(LRR)两种处理方法,玉米-大豆轮作为对照处理,玉米:东单6531,大豆:辽豆14。小区行数6行,垄长15 m,垄距0.6 m,小区面积54 m²,密度15万株·hm⁻²,3个重复,每穴保苗2株,常规田间管理。

在大豆鼓粒期(R6),按照 5 点法取样,即从每个处理中随机选择 5 个取样点,用无菌刷子将大豆根系表面 5 mm 以内的土壤轻轻取下,作为根际土壤,混合充分,在-80 °C 保存,用于土壤微生物的测序。

每个小区按照 5 点法取 5 个点(直径 5 cm×深度 20 cm),然后充分混合成 1 个复合样品,并用 2 mm 的筛子筛分土壤样品以除去叶子和根等作物残茬,然后每个样分成两部分:1 份保存在-80 °C 用于土壤酶活性的测定,1 份自然条件下风干用于土壤化学指标分析。

1.2 土壤化学指标测定

使用 pH 计测定土壤 pH 值;土壤含水量和容重的测定分别使用铝盒烘干法和环刀法;总碳、总氮使用元素分析仪测定;铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)使用间断化学分析仪测定。

1.3 土壤细菌 16S 和真菌 ITS 高通量测序

将待测样品送到武汉迈特维尔生物科技有限公司,提取土壤总 DNA 和后续分析。采用 CATB 方法进行土壤样品 DNA 提取;DNA 提取完成后,采用琼脂糖凝胶电泳检测提取的 DNA 浓度以及纯度。用无菌水将所取的样品稀释到 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$;稀释后得到 DNA 模板,进行 PCR 扩增;选用琼脂糖凝胶对扩增后的引物进行电泳检测;对 16S r RNA 的 V4 区进行 PCR 扩增,使用特异性引物 515F(GTGCCAGC-MGCCGCGGTAA)和 806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)^[15];ITS1 区引物 ITS5-1737F(5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS2-2043R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')^[16]。

1.4 数据分析

使用 Qiime 软件(Version 1.9.1)计算 Observed-otus、Chao1、Shannon、Simpson、ace 指数;群落构建过程使用最近种间亲缘关系指数(βNTI)进行评估。当 $|\beta\text{NTI}| > 2$ 时为确定性过程,确定性过程又分为同质选择过程($\beta\text{NTI} < -2$)和异质选择过程($\beta\text{NTI} > +2$);而 $0 < |\beta\text{NTI}| < 2$ 时为随机过程,随机过程又分为扩散限制($|\beta\text{NTI}| < 2$)、均匀扩散($|\beta\text{NTI}| < 2$)和不确定性过程($|\beta\text{NTI}| < 2$);基于物种丰度,计算各菌属之间的相关系数。

2 结果与分析

2.1 土壤环境因子对大豆连作的响应

由表 1 可知,两种种植模式下土壤的化学性质呈现不同变化。与玉米-大豆轮作相比,大豆连作土壤全氮、全磷、全钾、全碳、有效磷、硝态氮、铵态氮、有机质和速效磷含量均不同程度下降,其中土壤全氮、全磷、硝态氮含量下降较大,下降幅度分别为 40.35%、56.45%、33.13%。玉米-大豆轮作降低了土壤速效钾含量和 pH 值。

表 1 大豆轮作和连作处理对土壤理化性质参数的影响

处理 Treatment	全氮 TK	全磷 TP	全钾 TK	全碳 TC	有效磷 AP	速效钾 AK	硝态氮 NO_3^--N	铵态氮 NH_4^+-N	有机质 DOC	速效磷 A-P	pH
LRR	1.6±0.42 ^{aA}	1.94±0.31 ^{aA}	16.91±0.79 ^{aA}	17.77±0.04 ^{aA}	16.50±0.63 ^{aA}	130.42±0.50 ^{aA}	2.17±0.13 ^{aA}	17.89±2.06 ^{aA}	30.63±0.07 ^{aA}	15.66±1.07 ^{aA}	6.09±0.01 ^{bA}
LCR	1.14±0.31 ^{aA}	1.24±0.39 ^{aA}	15.65±0.39 ^{bA}	17.24±0.15 ^{bA}	11.56±0.58 ^{bA}	132.15±0.50 ^{aA}	1.63±0.12 ^{bA}	13.52±1.49 ^{aA}	29.73±0.26 ^{bA}	14.56±0.96 ^{aA}	6.16±0.01 ^{aA}

注:同一行不同小写字母表示各处理在 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters on the same line indicate significant differences among treatments at the 0.05 level. The same below.

2.2 土壤酶活性对大豆连作的响应

由表 2 可知,对比玉米-大豆轮作处理,连作显著提高土壤蔗糖酶和过氧化氢酶活性,提高幅度分别为 30.15% 和 54.30%;显著降低土壤脲酶、亮氨酸氨肽酶活性和 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性,下降幅度分别为 12.32%、13.60% 和 20.28。两处理间土壤蔗糖酶、过氧化氢酶、亮氨酸氨肽酶活性及 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性差异显著。

2.3 根际土壤微生物多样性和群落结构对大豆连作的响应

由图 1a 可知,在属水平下(相对丰度>0.01%),玉米-大豆轮作和连作及根际土壤细菌群落的优势属均为鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, LRR: 6%; LCR: 9%)、短根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, LRR: 3.9%; LCR: 4.1%)、贪噬菌属(*Variovorax*, LRR: 0.7%; LCR: 2%)、鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*,

表2 大豆轮作和连作处理对土壤酶活性参数的影响

处理 Treatment	蔗糖酶 IVE	过氧化氢酶 S-CAT	脲酶 Ure	亮氨酸氨肽酶 LAP	N 乙酰氨基葡萄糖苷酶 NAG
LRR	6.70±0.18 ^{bb}	12.12±0.60 ^{bb}	2.11±0.06 ^{aa}	35.29±1.65 ^{aa}	28.40±0.83 ^{aa}
LCR	8.72±0.35 ^{aa}	18.70±0.25 ^{aa}	1.85±0.04 ^{aa}	30.49±1.24 ^{bb}	22.64±0.47 ^{ba}

LRR:0.15%;LCR:1.5%)、噬几丁质菌属(*Chitinophaga*, LRR:1.9%;LCR:0.9%)、卡氏伯克霍尔德菌属(*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, LRR:1.4%;LCR:2.4%)、念珠菌属(*Candidatus_Solibacter*, LRR:2.5%;LCR:1.9%)、氨氧化菌属(*Ellin6067*, LRR:2.2%;LCR:2%)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*, LRR:2.1%;LCR:1.7%)、苔藓杆菌(*Bryobacter*, LRR:1.7%;LCR:1.5%)。相比于玉米-大豆轮作处理,大豆连作根际土壤鞘氨醇单胞菌属、短根瘤菌属、贪噬菌属、鞘氨醇杆菌属、卡氏伯克霍尔德菌属相对丰度较高。

由图 1b 可知,在属水平下(相对丰度>0.01%),玉米-大豆轮作和大豆连作根际土壤真菌的优势属均为散尾鬼笔属(*Lysurus*, LCR:29.5%;LRR:19.3%)、球盖菇属 *Stropharia*, LCR:1.3%;LRR:15.9%)、镰刀菌属(*Fusarium*, LCR:20.5%;LRR:13.2%)、丽赤壳属(*Calonectria*, LCR:8.9%;LRR:0.2%)、拟松针藻属(*Codinaeopsis*, LCR:1.6%;LRR:4.2%)、亚隔孢壳属(*Didymella*, LCR:4.7%;LRR:1.3%)、球菌属(*Powellomyces*, LCR:1.3%;LRR:0.1%)、被孢霉属(*Mortierella*, LCR:2.4%;LRR:1.6%)、线虫捕捉菌属(*Arthrotrys*, LCR:0.05%;LRR:1.2%)、鹅膏菌(*Amanita*, LCR:0.05%;LRR:0.8%)相比于玉米大豆轮作处理,大豆连作根际土壤镰刀菌属(*Fusarium*)、丽赤壳属(*Calonectria*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)、被孢霉属(*Mortierella*)相对丰度较高。

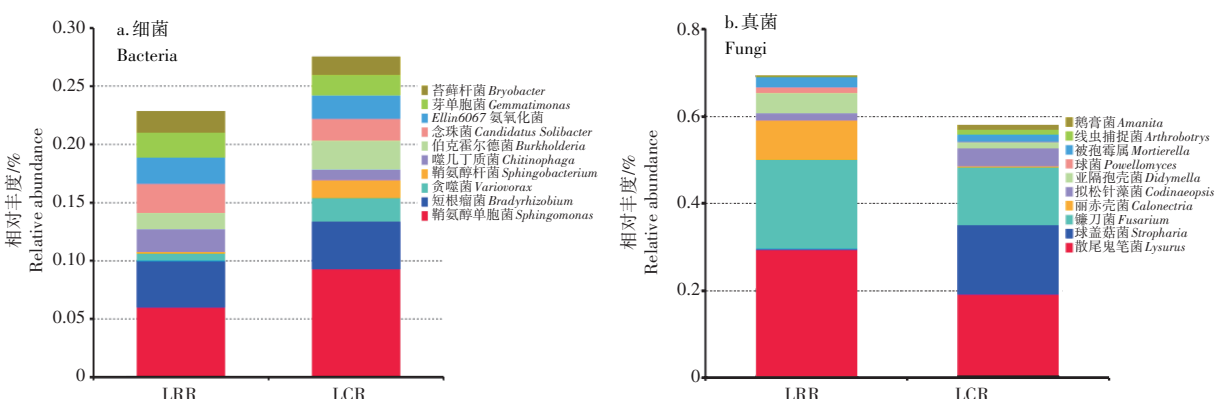


图1 玉米-大豆轮作和连作大豆根际土壤微生物群落的优势属柱状图

Figure 1 Dominant genus bar chart of rhizosphere soil microbial communities in maize soybean rotation and continuous soybean cropping

2.4 大豆连作根际土壤微生物群落特征

由表 3 和表 4 可知,对比轮作根际,连作根际土壤细菌富集 OTU 数量显著降低,下降幅度为 8.21%,连作根际土壤细菌香农指数、辛普森指数、chao1 指数和 ace 指数均不同程度下降,下降幅度分别为 15.33%、10.98%、6.28% 和 5.92。同样地,对比轮作根际,连作根际土壤真菌 OTU 数量、香农指数、chao1 指数和 ace 指数均不同程度下降,但下降幅度较小。

表3 轮作和连作处理对大豆土壤细菌α多样性的影响

处理 Treatment	OTU 数量 Observed_otus	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	chao1 指数 Chao1	ace 指数 ace
LRR	937.67±117.63 ^{aa}	5.34±0.19 ^{aa}	0.91±0.02 ^{aa}	1032.34±129.97 ^{aa}	1055.29±132.53 ^{aa}
LCR	866.33±114.74 ^{aa}	4.63±1.21 ^{aa}	0.82±0.17 ^{aa}	971.76±117.04 ^{aa}	996.80±115.82 ^{aa}

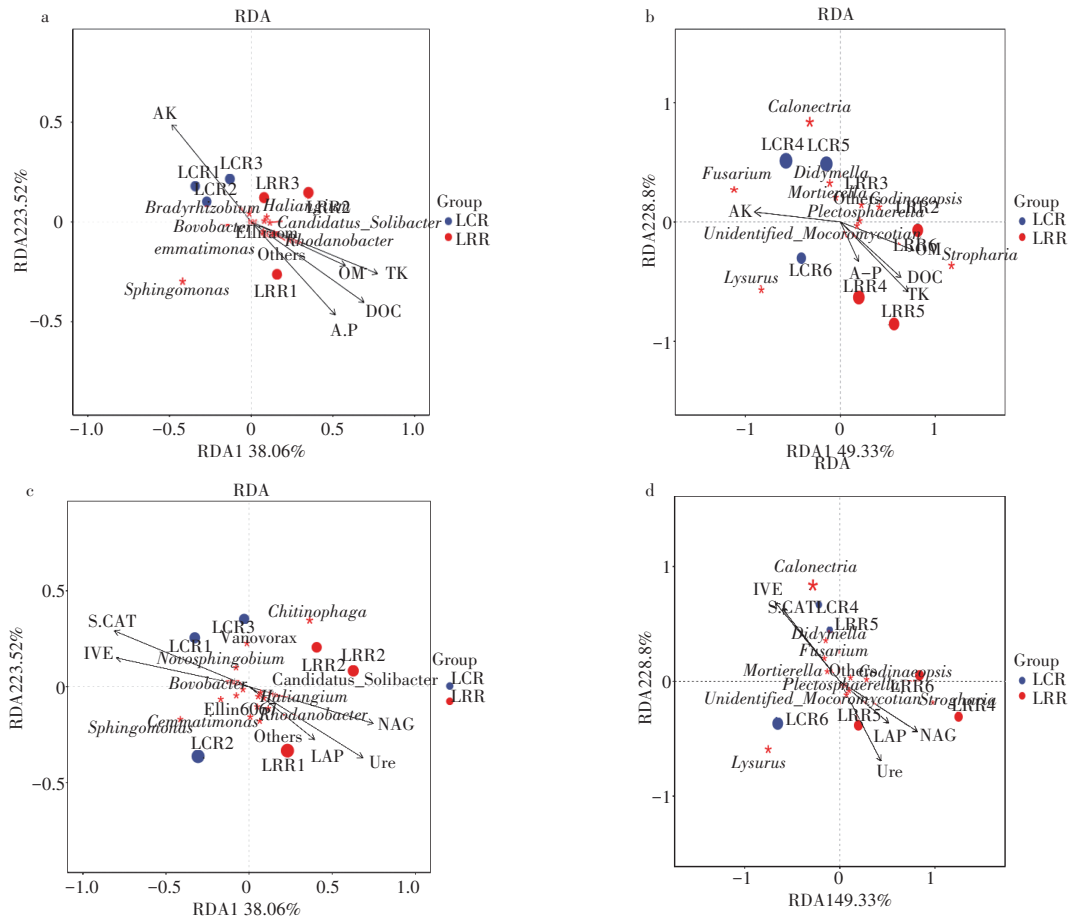
表4 轮作和连作处理对大豆土壤真菌α多样性的影响

Table 4 Effects of rotation and continuous cropping on fungi in soybean soil α impact of diversity

处理 Treatment	OTU 数量 Observed_otus	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	chao1 指数 Chao1	ace 指数 ace
LRR	2908.00±71.16 ^{aA}	9.18±0.06 ^{aA}	0.99±0.00 ^{aA}	3235.35±37.20 ^{aA}	3280.80±50.76 ^{aA}
LCR	2876.33±186.60 ^{aA}	8.97±0.23 ^{aA}	0.99±0.00 ^{aA}	3195.98±37.20 ^{aA}	3262.19±253.39 ^{aA}

2.5 连作下土壤环境因子与土壤微生物的关系

冗余分析(RDA)表明,土壤环境因子与土壤微生物相对丰度具有较大的相关性(图4)。两处理下10个细菌属和真菌属表现出差异。细菌RDA分布结构中,RDA前两轴分别解释38.1%(RDA1)、23.5%(RDA2)。其中速效钾、速效磷、有机质、有机碳、全钾、蔗糖酶、过氧化氢酶、脲酶、亮氨酸氨肽酶及N-乙酰氨基葡萄糖苷酶是决定罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、多嗜菌(*Variovorax*)、伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)、鞘脂杆菌属(*Sphingobacterium*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)和鞘氨醇菌属(*Chitinophaga*)相对丰度的主要土壤酶。其中,LRR处理下,脲酶、亮氨酸氨肽酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、速效磷、有机质、有机碳、全钾与罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)及芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)表现出强烈相关性;LCR处理下,速效钾、蔗糖酶、过



a. 土壤理化因子和土壤细菌RDA分析;b. 土壤理化因子和土壤真菌RDA分析;c. 土壤酶和土壤细菌RDA分析;d. 土壤酶和土壤真菌RDA分析.AK.速效钾;A-P.速效磷;OM.有机质;DOC.有机碳;TK.全钾;IVE.蔗糖酶;S-CAT.过氧化氢酶;Ure.脲酶;LAP.亮氨酸氨肽酶;NAG.N-乙酰氨基葡萄糖苷酶
a. Analysis of soil physicochemical factors and soil bacterial RDA; b. Soil physicochemical factors and RDA analysis of soil fungi; c. RDA analysis of soil enzymes and soil bacteria; d. RDA analysis of soil enzymes and soil fungi. AK. Quick acting potassium; A-P. Quick acting phosphorus; OM. Organic matter; DOC. Organic carbon; TK.Total potassium; IVE. Sucrase; S-CAT. Catalase; Ure. Urease; LAP. Leucine aminopeptidase; NAG. N-acetylglucosamine glycosidase

图3 轮作和连作处理根际环境因子与土壤微生物属水平的RDA分析

Figure 3 RDA analysis of rhizosphere environmental factors and soil microbial genus levels in crop rotation and continuous cropping treatments

氧化氢酶及慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)具有较强的正相关性(图 3a、图 3c)。真菌 RDA 分布结构中,RDA 前两轴分别解释 49.3%(RDA1)和 28.8%(RDA2)。其中,速效钾、速效磷、有机质、有机碳、全钾、蔗糖酶、过氧化氢酶、脲酶、亮氨酸氨肽酶及 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶是决定散尾鬼笔属(*Lysurus*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、球盖菇属(*Stropharia*)、被孢霉属(*Mortierella*)、丽赤壳属(*Calonectria*)、巨孢囊霉属(*Gigaspora*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)、丝蕈霉属(*Papulaspora*)和毛霉菌属(*Mucoromycotina*)相对丰度的主要土壤因子。LRR 处理下,脲酶、亮氨酸氨肽酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、速效磷、有机质、有机碳、全钾与球盖菇属(*Stropharia*)、丝蕈霉属(*Papulaspora*)及毛霉菌属(*Mucoromycotina*)表现出强烈相关性;LCR 处理下,速效钾、蔗糖酶、过氧化氢酶与镰刀菌属(*Fusarium*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)、丽赤壳属(*Calonectria*)及被孢霉属(*Mortierella*)具有较强的正相关性(图 3b、图 3d)。

2.6 土壤微生物群落构建过程

由图 4 可知,大豆连作根际土壤细菌群落构建主要由确定性过程($\beta\text{NTI}>2$)和随机过程($0<\beta\text{NTI}<2$)主导,分别占比 20% 和 13%;玉米-大豆轮作根际土壤细菌群落构建主要由随机过程($0<\beta\text{NTI}<2$)主导,其占比大于 50%(图 4a);大豆连作根际土壤真菌群落构建、玉米-大豆轮作根际土壤真菌群落构建由随机过程($0<\beta\text{NTI}<2$)即扩散限制过程主导(图 4b)。由此可见,大豆连作和玉米-大豆轮作根际土壤微生物群落的构建具有一定的差异。

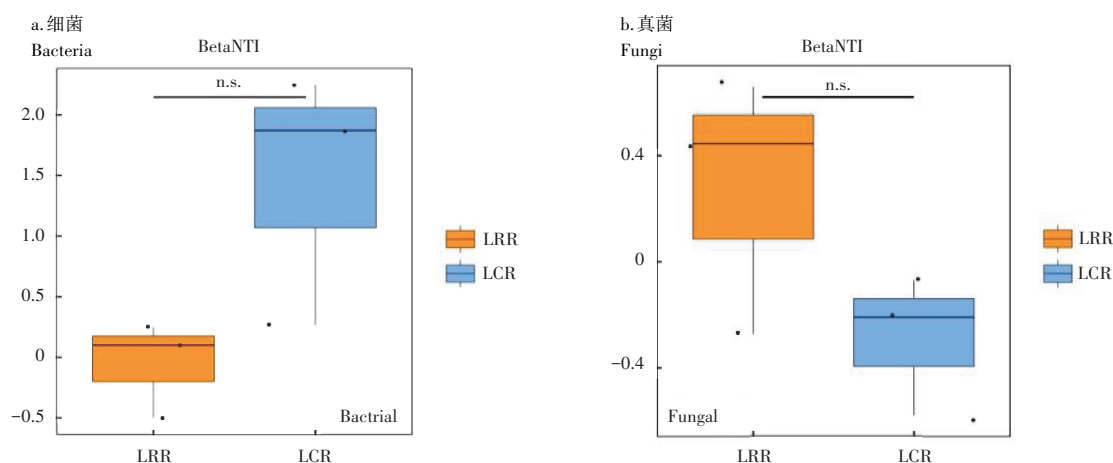


图 4 轮作和连作处理根际土壤微生物群落构建图

Figure 4 Construction diagram of rhizosphere soil microbial community under rotation and continuous cropping treatments

3 讨论与结论

3.1 大豆连作、玉米-大豆轮作对根际土壤化学性质和酶活性的影响

大豆连作可造成土壤理化性质失衡^[17]。玉米-大豆轮作可显著提高大豆根际土壤养分含量^[10]。本试验研究结果显示,玉米-大豆轮作处理下,土壤全氮、溶解性有机碳、有机质等含量均高于连作处理。土壤酶活性随着土壤内部环境的变化而变化,如土壤过氧化氢酶与土壤逆境相关联。土壤脲酶活性变化可引起土壤养分的变化。亮氨酸氨肽酶是一种土壤氮获取酶,其活性变化与微生物氮利用效率呈正相关^[18-20]。本研究结果表明,连作会提高土壤蔗糖酶和过氧化氢酶活性,降低土壤脲酶、亮氨酸氨肽酶活性和 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶活性,该结果与 LIU 等^[18]研究结果一致。

3.2 大豆连作、玉米-大豆轮作对根际土壤微生物群落的影响

不同种植模式下,土壤微生物群落的组成、数量和多样性变化不尽相同。RAO 等^[10]研究发现,与大豆连作相比,玉米-大豆轮作提高了大豆根际土壤微生物的数量和多样性指数。本研究中,相比于大豆连作,玉米-大豆轮作会提高大豆根际土壤细菌、真菌 OTUs 数量、ace 指数和 shannon 指数。

相关研究表明,作物连作可造成其根际土壤微生物群落组成的变化^[10]。本研究中,大豆连作土壤中鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)相对丰度高于轮作处理,而轮作土壤中鞘氨醇菌属(*Chitinophaga*)相对丰度高于连作处理。鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)是一种生防细菌,其耐受恶劣土壤生态环境^[21-22]。本研究中,连作处理鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)相对丰度升高,有可能是连作障碍激发了大豆根际鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)生物防御效应以应对大豆连作障碍造成的。小麦连作障碍的研究表明,噬几丁质菌属(*Chitinophaga*)具有抑制或拮抗功能,可抑制病原菌在土壤中繁殖,其相对丰度的增加可进一步抑制土传病害的发生,进而促进植株健康生长^[23]。在真菌群落中,有研究表明,球盖菇属(*Stropharia*)为有益真菌,球盖菇属(*Stropharia*)真菌相对丰度升高,可有效改善表层土壤理化性质,提升土壤有机质含量,减少土壤病虫害^[24]。镰刀菌属(*Fusarium*)真菌为连作土壤典型病原菌,其相对丰度的升高导致党参、西瓜枯萎病的发生^[25-26]。本研究中,与轮作处理相比,连作处理镰刀菌属(*Fusarium*)相对丰度显著增加,球盖菇属(*Stropharia*)真菌相对丰度显著降低。因此,连作改变土壤微生物群落组成,增加病原菌相对丰度,从而引起连作障碍的发生。

3.3 大豆连作、玉米-大豆轮作土壤因子与土壤微生物的关系

前人研究表明,土壤环境因子与土壤微生物相对丰度具有密切联系^[27]。本研究中,轮作处理下,脲酶、亮氨酸氨基肽酶、N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、速效磷、有机质、有机碳及全钾显著影响罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)和芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)细菌;球盖菇属(*Stropharia*)、丝蕈霉属(*Papulaspora*)和毛霉菌属(*Mucoromycotina*)真菌相对丰度;连作处理下,速效钾、蔗糖酶、过氧化氢酶显著影响细菌慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、真菌镰刀菌(*Fusarium*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)及丽赤壳属(*Calonectria*)、被孢霉属(*Mortierella*)相对丰度。镰刀菌(*Fusarium*)与土壤蔗糖酶具有显著正相关性,蔗糖酶进一步分解可为镰刀菌提供有利碳源^[28]。本研究中,轮作处理蔗糖酶含量高于连作处理,轮作处理镰刀菌(*Fusarium*)相对丰度低于连作处理,这也说明,大豆连作条件下,土壤消耗了过量的蔗糖酶等土壤因子从而提升了镰刀菌(*Fusarium*)等致病真菌的相对丰度。

3.4 大豆连作、玉米-大豆轮作对根际土壤微生物群落组装过程的影响

为了更好地阐释土壤根际微生物群落构建对大豆连作的响应,研究了连作大豆、玉米-大豆轮作土壤根际细菌、真菌群落构建过程。本研究中,由于土壤化学性质(pH、土壤全氮、全碳)和土壤酶活性等变化,使得大豆连作根际土壤细菌群落构建主要由随机性过程转为确定性过程;玉米-大豆轮作根际土壤细菌群落构建主要由随机过程主导;大豆连作根际土壤真菌群落构建由随机过程主导^[29]。有研究指出,西瓜连作时,pH值和有机质含量等环境因素的选择会将细菌群落构建过程由随机性转换为确定性过程,而在连作年限增加后,细菌群落构建更容易受到随机性事件影响^[14]。真菌群落构建过程中,随机性过程更为突出,这是由于一些土壤环境因子如根系分泌物、土壤理化指标、土壤酶等变化所造成的结果^[30]。

连作会显著影响大豆根际土壤细菌和真菌群落结构,从而导致土壤有益菌(噬几丁质菌属 *Chitinophaga*、球盖菇属 *Stropharia*)相对丰度下降,病原菌(镰刀菌 *Fusarium*、伯克霍尔德菌属 *Burkholderia*)相对丰度升高,进而改变土壤微生物群落的组成和多样性,降低根际土壤应对环境变化的抵抗作用。玉米-大豆轮作模式下,土壤真菌相对丰度显著下降,根际土壤细菌群落组装也趋向于随机性过程。本研究结果表明,玉米-大豆轮作模式通过改变大豆根际土壤群落特征和提高土壤有益菌相对丰度等方式,缓解大豆连作障碍,进而促进大豆土壤环境健康,提升大豆产量。

参考文献:

- [1] 王晓梅,何微,林巧,等.后疫情时代粮食安全现状、问题和对策[J].中国农业大学学报,2022,27(5):257-266.
- [2] 许建玉,陆阳,孙睿东,等.GmDREB8在大豆干旱胁迫下的功能分析[J].南京农业大学学报,2023,46(2):226-236.
- [3] 姚兴东,王小凡,檀卓芮,等.生殖生长期遮光处理对大豆叶片光合生理和衰老的影响[J].沈阳农业大学学报,2023,54(5):513-521.

- [4] LIANG X L, HOU X, LI J Y, et al. High-resolution DNA methylome reveals that demethylation enhances adaptability to continuous cropping comprehensive stress in soybean[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1):79.
- [5] 汪瑞清, 肖运萍, 魏林根, 等. 油料作物连作障碍形成机理与生态修复措施研究进展[J]. *农学学报*, 2015, 5(6):29-33.
- [6] CROWTHER T W, VAN DEN HOOGEN J, WAN J, et al. The global soil community and its influence on biogeochemistry[J]. *Science*, 2019, 365(6455):eaav0550.
- [7] KAPPLER A, BRYCE C, MANSOR M, et al. An evolving view on biogeochemical cycling of iron[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19:360-374.
- [8] GAO Q, YANG Y F, FENG J J, et al. The spatial scale dependence of diazotrophic and bacterial community assembly in paddy soil[J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2019, 28(8):1093-1105.
- [9] 季尚宇, 肖玉珍, 田慧梅, 等. 土壤灭菌对连作大豆生长发育的影响[J]. *东北农业大学学报*, 1996, 27(4):326-329.
- [10] RAO D M, MENG F G, YAN X Y, et al. Changes in soil microbial activity, bacterial community composition and function in a long-term continuous soybean cropping system after corn insertion and fertilization[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12:638326.
- [11] 任倩茹, 毛晓雅, 齐晓君, 等. 芦芽山华北落叶松林不同深度土壤原生动植物群落分布格局及驱动机制[J]. *应用生态学报*, 2023, 34(5):1395-1403.
- [12] 赵鹏宇. 山西亚高山华北落叶松林土壤微生物群落构建机制[D]. 太原:山西大学, 2019.
- [13] DINI-ANDREOTE F, STEGEN J C, VAN ELSAS J D, et al. Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11):E1326-E1332.
- [14] 郭晗玥, 王东升, 阮杨, 等. 西瓜连作根际土壤微生物群落演替特征[J]. *中国农业科学*, 2023, 56(21):4245-4258.
- [15] CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(Suppl 1):4516-4522.
- [16] 蔡芸霜, 张建兵, 钟丽雯, 等. 桂西北峰丛洼地农作区土壤真菌多样性对不同耕作模式的响应[J]. *生态学报*, 2021, 41(12):4886-4899.
- [17] 喻景松, 松井佳久. 豌豆根系分泌物自毒作用的研究[J]. *园艺学报*, 1999, 26(3):37-41.
- [18] LIU W B, WANG N, YAO X D, et al. Continuous-cropping-tolerant soybean cultivars alleviate continuous cropping obstacles by improving structure and function of rhizosphere microorganisms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13:1048747.
- [19] WANG Q, WU Y X, GE J H, et al. Soil enzyme activities, physiological indicators, agronomic traits and yield of common buckwheat under herbicide combined with safeners[J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 903:166261.
- [20] GOSWAMI S, SINGH S K, PATRA A, et al. Residual effects of nickel and its interaction with applied zinc and NPK improve the growth, yield, and nutritional quality of cowpea and urease activity of soil grown in vertisols[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, 22(4):4262-4272.
- [21] MARGENOT A J, DAUGHTRIDGE R C. Overlooked tools for studying soil nitrogen depolymerization: Aminopeptidase assays using nitroanilide substrates[J]. *Agricultural & Environmental Letters*, 2022, 7(1):e20079.
- [22] ZHANG Y, GAO Q Z, GANJURJAV H, et al. Grazing exclusion changed the complexity and keystone species of alpine meadows on the qinghai-tibetan plateau[J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2021, 9:638157.
- [23] 熊玉婷, 郑璐瑶, 贾雯淇, 等. 黄瓜枯萎病的拮抗放线菌菌株的分离与鉴定[J]. *作物杂志*, 2023(6):261-269.
- [24] YIN C T, CASA VARGAS J M, SCHLATTER D C, et al. Rhizosphere community selection reveals bacteria associated with reduced root disease[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1):86.
- [25] 李方桥, 喻敏, 刘璐, 等. 鄂西武陵山区大球盖菇-烟草轮作栽培技术[J]. *长江蔬菜*, 2023(17):10-12.
- [26] 杨阳, 孔维宝, 牛世全. 党参根腐病原菌的分离鉴定及其特性研究[J/OL]. *分子植物育种*, <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231017.1039.004>.
- [27] XIONG C, LU Y H. Microbiomes in agroecosystem: Diversity, function and assembly mechanisms[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2022, 14(6):833-849.
- [28] WANG Y, WANG L W, SUO M, et al. Regulating root fungal community using *Mortierella alpina* for *Fusarium oxysporum* resistance in *Panax ginseng*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13:850917.
- [29] CHEN Q L, HU H W, YAN Z Z, et al. Deterministic selection dominates microbial community assembly in termite mounds[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 152:108073.
- [30] HU L F, ROBERT C A M, CADOT S, et al. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota[J]. *Nature Communications*, 2018, 9:2738.