DOI: 10.20103/j.stxb.202206241801

侯喜庆,禹桃兵,王培欣,臧华栋,曾昭海,杨亚东.轮作模式对冬小麦土壤氨氧化微生物群落多样性和组成的影响.生态学报,2023,43(23): 9900-9911.

Hou X Q, Yu T B, Wang P X, Zang H D, Zeng Z H, Yang Y D.Diversity and composition of ammonia-oxidizing archaeal and bacterial communities in rhizosphere and bulk soils of winter wheat in crop rotations. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(23):9900-9911.

轮作模式对冬小麦土壤氨氧化微生物群落多样性和组 成的影响

侯喜庆,禹桃兵,王培欣,臧华栋,曾昭海,杨亚东*

中国农业大学农学院,农业农村部农作制度重点实验室,北京 100193

摘要:农田温室气体减排已成为农业绿色发展的重要内容,驱动温室气体氧化亚氮(N₂O)产生的氨氧化微生物受到了研究者们的广泛关注。为探究轮作模式对土壤氨氧化微生物群落的影响,基于田间定位试验,研究了夏红小豆-冬小麦、夏绿豆-冬小麦、夏花生-冬小麦、夏大豆-冬小麦和夏玉米-冬小麦5种轮作模式中冬小麦根际和非根际土壤氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的群落组成和多样性变化特征。结果表明:与夏玉米-冬小麦模式相比,豆禾轮作模式增加了根际土中有机碳和硝态氮含量,以及非根际土中全氮和铵态氮含量。豆禾轮作模式降低了非根际土壤中 AOA 群落的 ACE 指数和 Chao1 指数,并显著降低根际土中 AOB 群落的 ACE 指数和 Chao1 指数(P<0.05)。豆禾轮作显著增加 AOA 群落中泉古菌门(Crenarchaeota)和 AOB 群落中变形菌门(Proteobacteria)某些类群的相对丰度(P<0.05)。根际土中豆禾轮作模式与麦玉模式的 AOA 群落结构发生明显分离,而非根际土中豆禾轮作模式与麦玉模式的 AOB 群落发生分离(P<0.05)。研究结果表明:豆禾轮作种植改变了 AOA 和 AOB 的群落结构和多样性,土壤 pH 值和速效氮含量是驱动 AOA 和 AOB 群落结构变化的重要因子,且根际与非根际土壤中氨氧化微生物存在生态位分离。

关键词:轮作模式;土壤;氨氧化古菌;氨氧化细菌;群落多样性;冗余分析

Diversity and composition of ammonia-oxidizing archaeal and bacterial communities in rhizosphere and bulk soils of winter wheat in crop rotations

HOU Xiqing, YU Taobing, WANG Peixin, ZANG Huadong, ZENG Zhaohai, YANG Yadong*

Key Laboratory of Farming System of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Farmland is one of the most important sources of greenhouse gas emissions, and as global warming becomes more and more serious, greenhouse gas emissions from farmland are of increasing concern. The vast majority of the land in the North China Plain is dryland, and the main greenhouse gas emitted from dryland is N_2O . It is mainly driven by ammonia oxidizers. Ammonia oxidizers convert ammonium (NH_4^+) in the soil to nitrite (NO_2^-) , which is eventually converted to other forms of nitrogen, including N_2O . As a result, ammonia oxidizers have received more and more attention from researchers in recent years. Based on a field localization experiment, we investigated the community composition and diversity of ammoniaoxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) of winter wheat in rhizosphere and bulk soils in five crop rotations: summer adzuki bean-winter wheat, summer mungbean-winter wheat, summer peanut-winter wheat, summer soybean-winter wheat, and summer maize-winter wheat (as the control group). Results showed that the legume-based rotations increased soil organic carbon and nitrate contents in rhizosphere soils and increased total nitrogen and ammonium

基金项目:国家重点研发计划课题项目(2022YFD2300803);国家自然科学基金项目(31901470)

收稿日期:2022-06-24; 网络出版日期:2023-08-15

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: yadong_tracy@ cau.edu.cn

contents in bulk soils compared with winter wheat-summer maize, respectively. The legume-based rotations universally reduced Abundance-based Coverage Estimator (ACE) and Chao1 indexes of AOA communities in bulk soils. They significantly reduced ACE and Chao1 indexes of AOB communities in rhizosphere soils (P<0.05). Moreover, the legume-based rotations significantly increased the relative abundance of Crenarchaeota and Proteobacteria for AOA and AOB communities, respectively. Specifically, the relative abundance of OTU58 (Crenarchaeota) in the AOA community and the summer adzuki bean-winter wheat and summer mungbean-winter wheat patterns significantly increased the relative abundance of OTU76, OTU95, and OTU3 (Proteobacteria) in the AOB community, respectively (P<0.05). The AOA community structures were significantly separated between the legume-based rotations and winter wheat-summer maize in rhizosphere soils. In contrast, the AOB communities were separated between the legume-based rotations and winter wheat-summer maize in rhizosphere soils (P<0.05). Increased soil pH and organic carbon content in rhizosphere soils were important environmental drivers for the separation of AOA community structures. In contrast, changes in total nitrogen and ammonium nitrogen content in bulk soils were the main environmental drivers for the separation of AOA community and AOB communities were altered by legume-based rotations, and soil pH and available nitrogen content were the driving factors. Additionally, there was an ecological niche separating AOA and AOB in rhizosphere and bulk soils.

Key Words: crop rotation; soil; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria; community diversity; redundancy analysis

华北平原是我国重要的粮食生产基地,集约化的冬小麦-夏玉米种植模式需要投入大量水肥资源来维持 作物产量,引发了肥料利用率降低、温室气体排放加剧等农业生态环境问题^[1]。由于温室气体排放的不断加 剧,导致了极端天气频发,对农业生产造成了巨大的潜在威胁^[2]。同时,农业生产又是环境温室气体产生的 重要部分,来源于农田的氧化亚氮(N₂O)排放约占全球人类活动 N₂O 总排放的 50%^[3]。农田土壤的 N₂O 排 放主要由反硝化作用和硝化作用等途径产生,且施用氮肥会促进土壤 N₂O 的产生和排放^[4-5]。因此,农业生 产中温室气体减排及其微生物调控成为农业绿色可持续发展和缓解气候变化的热点问题。

由微生物介导的硝化作用是全球土壤氮素循环的关键过程^[6],包括由铵根(NH₄)氧化为亚硝酸根 (NO₂)和由亚硝酸根氧化为硝酸根(NO₃)的两个步骤组成。其中,氨氧化作用是硝化作用的第一步和限速步 骤,主要由氨氧化细菌(AOB)、氨氧化古菌(AOA)和全程氨氧化微生物(Comammox)共同驱动完成^[7-8]。前 人研究表明,AOA 在酸性土壤中和较低 NH₄ 浓度下主导硝化作用,具有更高的耐贫瘠能力;而在中性或偏碱 性土壤以及有氮添加的条件下,AOB 起主导作用^[9]。在华北平原长期冬小麦-夏玉米集约化生产的情况下, 高水肥投入导致了土壤 pH 变化及 NH₄ 盈余,因此探究 AOA 和 AOB 群落组成和多样性的变化十分重要。

作为农田管理的重要措施,灌溉^[10]、施肥制度^[11]和种植制度^[12-13]等均会引起氨氧化微生物群落组成和 结构的变化。有研究表明,长期施肥增加了 AOA 群落泉古菌门(Crenarchaeota)和 AOB 群落硝化螺旋菌属 (*Nitrosospira*)的相对丰度^[14];而杨亚东等^[15]的研究发现增施氮肥仅提高了 AOB 数量,对 AOA 数量没有显著 影响。此外,Song 等^[16]发现种植模式影响氨氧化微生物群落组成,并且玉米根际土壤中 AOB 群落组成与蚕 豆根际土壤中不同。Wattenburger 等^[12]发现玉米-大豆轮作土壤的 AOB 丰度高于其他轮作土壤,并在根际和 非根际土壤中发现存在生态位分化现象。因此,不同作物种植历史及当前作物的根际效应均会对氨氧化微生 物群落产生影响,引起氨氧化微生物群落组成和多样性发生改变。

研究表明,长期豆科作物与禾本科作物轮作不仅能够提高或维持作物产量,还能提高土壤微生物的群落 多样性^[17]。但豆科作物轮作对后茬作物土壤中氨氧化微生物群落的影响及其受后茬作物的根际调控机制尚 不清楚。因此,本研究基于豆科作物与冬小麦轮作定位试验,测定了4种豆禾轮作模式及常规麦玉模式中冬 小麦根际和非根际土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落组成和多样性,为华北平原豆禾轮作种植制度优化及温 室气体减排提供微生物调控方面的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

田间定位试验起始于 2016 年 6 月,在河北省沧州市吴桥县中国农业大学吴桥实验站基地(37°41′N, 116°36′E)进行。该地区位于黑龙港流域中部,属于暖温带半湿润大陆性季风气候,日照充足,年均降雨量 562 mm,年均气温 12.6 ℃,全年积温(≥0 ℃)为 4826 ℃,无霜期为 201 d。供试土壤为中壤质潮土,试验开始 前 0—20 cm 土层土壤基础养分为:有机质 16.09 g/kg,全氮 1.02 g/kg,速效磷 20.31 mg/kg,速效钾 87.49 mg/kg,土壤 pH 值为 8.0。

1.2 试验设计

试验采用随机区组设计,设置 5 种轮作种植模式,分别为夏红小豆-冬小麦(AW)、夏绿豆-冬小麦(MW)、 夏花生-冬小麦(PW)、夏大豆-冬小麦(SW)和夏玉米-冬小麦(CW)轮作种植模式,其中 CW 作为对照。试验 田自建立以来未改变种植模式。每种种植模式 3 次重复,共15 个小区,小区面积为 52 m²(8 m × 6.5 m)。

供试作物品种分别为红小豆"白红7号"、绿豆"白绿8号"、花生"豫花9719"、大豆"中黄35"、玉米"郑 单958"和小麦"济麦22"。夏季作物于2018年6月15号播种,玉米采用机械播种,行距60 cm,株距22 cm; 豆科作物采用人工播种,行距40 cm,株距15 cm。冬小麦于2018年10月20日播种,行距12 cm,播量为300 kg/hm²。为发挥豆禾轮作模式的氮效应作用,试验期间所有作物均采用不施肥管理。夏季作物播种前浇底 墒水60 mm,生育期不再进行灌溉。冬小麦播种前浇底墒水60 mm,拔节期灌溉60 mm。豆科作物出苗后进 行间苗,定期进行中耕除草和病虫害防治,其他农事管理根据生产实际需求操作。

1.3 土壤样品采集及土壤理化性质测定

于 2019 年 4 月 23 日冬小麦拔节期采集冬小麦根际和非根际土壤样品。采用抖土法收集冬小麦根际土 壤,每个小区随机取 20—30 株冬小麦,整株拔出后轻轻抖动根部,抖落的土壤作为非根际土,随后用细毛刷将 根系表面的土壤扫下来作为根际土。土壤样品装于封口袋中,封口时将空气排净,迅速放入装有干冰的保温 箱内带回实验室。用无菌镊子除去碎石和细根等杂物后过 2 mm 筛,将土壤样品分成两部分,一部分自然风 干,用于理化性质测定;另一部分放入-80 ℃冰箱保存,用于 DNA 提取。

土壤理化性质测定参照鲍士旦《土壤农化分析》^[18]进行。土壤 pH 采用电位法测定(土:水=1:2.5),土壤 有机碳采用重铬酸钾容量法测定,全氮采用半微量凯氏定氮法测定,速效磷采用碳酸氢钠提取法,速效钾采用 原子吸收分光光度法,铵态氮和硝态氮用 2 mol/L CaCl₂溶液浸提,用流动分析仪测定。

1.4 土壤 DNA 提取及 amoA 基因的扩增

用 E.Z.N.A.[®] Soil DNA Kit For Soil(Omega,美国)试剂盒提取土壤总 DNA,用 1%琼脂糖凝胶电泳检测提 取的 DNA,并用 NANO Quant(Tecan,瑞士)检测 DNA 的浓度和纯度。选用引物 Arch-amoAF(5'-STA ATG GTC TGG CTT AGA CG-3')/Arch-amoAR(5'-GCG GCC ATC CAT CTG TAT GT-3')^[19]和 amoA-1F(5'-GGG GTT TCT ACT GGT GGT-3')/amoA-2R(5'-CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC-3')^[20]分别扩增 AOA 和 AOB 的 aomA 基 因。聚合酶链式反应基因扩增(PCR)扩增体系为 50 µL:5.0 µL 10 × Ex Taq 缓冲液、4.0 µL dNTP、1.0 µL 上 游引物(10 µM)、1.0 µL 下游引物(10 µM)、0.5 µL Ex Taq DNA 聚合酶和 2.0 µL DNA 模板,最后加 ddH₂O 至 50 µL。PCR 扩增条件为 95 ℃预变性 3 min,94 ℃变性 45 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 45 s,循环 35 次。AOA 和 AOB aomA 基因 PCR 扩增产物用浓度为 2%的琼脂糖凝胶电泳检测其大小和质量。

1.5 高通量测序及序列筛选

用 NANO Quant(Tecan,瑞士)测定回收 AOA 和 AOB aomA 基因的 PCR 产物浓度,并将其稀释至同一浓度。采用 Illumina MiSeq 测序平台对 AOA 和 AOB amoA 基因进行双末端测序,由上海美吉生物医药科技有限公司完成。用 QIIME 软件 1.8.0 对不同样本 AOA 和 AOB amoA 基因测序的原始序列进行质控筛选,30 个样本 AOA 和 AOB amoA 基因测序分别得到 1518234 和 1383621 条优化序列。根据标签和引物序列区分不同处

43 卷

理 AOA 和 AOB amoA 基因序列信息,利用 UPARSE 7.0 软件在 97%相似水平下对操作分类单元(OTU)的代表序列进行聚类分析,利用基于核糖体数据库项目(RDP)的 RDP-classifier 贝叶斯算法在功能基因组数资源 据库(FGR)中以 97%的相似水平对 AOA 和 AOB amoA 基因的 OTU 代表序列进行注释。利用 MOTHUR 软件 1.30.1 按最小样本序列数(保留了在 3 个样本中序列数都≥5 的 OTU 和序列数总和≥20 的 OTU)对各样本进行抽平分析^[21]。经抽平后各样本分别得到 25853 条 AOA amoA 基因序列和 29506 条 AOB amoA 基因序列。以 Shannon 指数(多样性)、ACE 指数和 Chao1 指数(丰富度)代表氨氧化微生物群落的 Alpha 多样性。

1.6 数据分析

对轮作模式和根际效应及其互作效应进行双因素方差分析,并用 Duncan 法对根际土和非根际土中不同 轮作模式间的土壤理化性质和氨氧化微生物多样性及组成相对丰度差异显著性进行检验(P<0.05),所用软 件为 SPSS 25.0。群落 Alpha 多样性图和群落丰度图均由 Origin 2021 完成。利用主成分分析(PCA)和冗余分 析(RDA)来分析不同处理微生物群落结构差异及其与土壤理化性质之间的关系,计算和作图用 R 4.1.2 中 "vegan"包完成。

2 结果与分析

2.1 不同轮作模式冬小麦根际与非根际土壤理化性质

方差分析结果表明(表1),冬小麦根际和非根际土壤的理化性质存在显著差异,且轮作模式显著影响土 壤理化性质,根际效应对土壤 pH、有机碳、速效钾、铵态氮和硝态氮含量均有极显著影响(P<0.001)。根际土 中,豆禾轮作(AW、MW、PW、SW)显著增加有机碳和硝态氮含量,但显著降低土壤 pH(P<0.05)。豆禾轮作的 土壤有机碳和硝态氮含量分别介于 11.48—11.92 g/kg 和 1.78—3.96 mg/kg 之间,而 CW 模式的有机碳和硝态氮 含量分别为 9.63 g/kg 和 0.38 mg/kg。MW 模式的土壤速效钾和铵态氮含量均显著高于其他模式(P<0.05)。非 根际土中,豆禾轮作显著增加土壤全氮和铵态氮含量,其中 MW 模式显著增加速效钾含量(P<0.05)。

Table 1 Soil physicochemical properties of rhizosphere and bulk soils of winter wheat in different rotation systems							
处理 Treatments	有机碳 Soil organic carbon/(g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	有效磷 Available P/ (mg/kg)	有效钾 Available K/ (mg/kg)	铵态氮 NH4-N/ (mg/kg)	硝态氮 NO3-N/ (mg/kg)	рН
根际 Rhizosphere soil							
AW	$11.48 \pm 0.44a$	1.20±0.10a	$102.58 \pm 12.86a$	$426.46{\pm}9.59{\rm b}$	1.72±0.44a	$2.23{\pm}0.30{\rm b}$	$7.75{\pm}0.08{\rm b}$
MW	11.77±0.12a	1.14±0.04a	100.97±6.97a	509.36±18.70a	1.78±0.63a	3.96±0.55a	$7.73{\pm}0.05{\rm b}$
PW	11.92±0.46a	$1.16 \pm 0.03a$	99.39±12.11a	$417.73 {\pm} 17.70 {\rm b}$	2.41±0.97a	$1.78 \pm 0.25 \mathrm{b}$	$7.67{\pm}0.02{\rm b}$
SW	11.71±0.59a	$1.18 \pm 0.03a$	94.00±21.69a	424.44 ± 17.66 b	$1.88 \pm 0.35a$	$2.82{\pm}0.68{\rm ab}$	$7.68{\pm}0.02{\rm b}$
CW	$9.63{\pm}0.45{\rm b}$	1.09±0.01a	93.10±3.45a	$386.57{\pm}25.74\mathrm{b}$	1.52±0.69a	$0.38{\pm}0.05{\rm c}$	7.92±0.01a
非根际 Bulk soil							
AW	8.30±0.69a	$1.00{\pm}0.02{\rm cd}$	71.65±3.76a	$310.46 \pm 11.45 c$	$0.78 \pm 0.03a$	$0.22 \pm 0.02a$	$7.99 \pm 0.03 a$
MW	$9.48 \pm 1.08a$	$1.12 \pm 0.02 ab$	70.11±3.77a	376.14±3.13a	$0.70 \pm 0.07 a$	0.28 ± 0.05 a	$7.96 \pm 0.05 a$
PW	$8.86 \pm 0.30a$	1.15±0.04a	64.50±18.89a	$347.29{\pm}12.53\mathrm{b}$	$0.55{\pm}0.02{\rm ab}$	0.22±0.01a	$7.98 \pm 0.03 a$
SW	$8.45 \pm 0.68a$	$1.07{\pm}0.02{\rm bc}$	75.72±9.95a	$323.41{\pm}2.85\mathrm{bc}$	$0.56 \pm 0.03 \mathrm{ab}$	0.20±0.01a	8.00 ± 0.04 a
CW	8.54±0.89a	$0.96{\pm}0.00{\rm d}$	81.52±8.99a	$337.72{\pm}8.00{\rm bc}$	$0.34 \pm 0.16 \mathrm{b}$	$0.19 \pm 0.03 a$	$7.96 \pm 0.04 a$
根际效应 Rhizosphere effect (R)	* * *	* *	* *	* * *	* * *	* * *	* * *
轮作模式 Rotation (C) ns	*	ns	* * *	ns	* * *	ns
根际效应×轮作模式 (R×C)	ns	ns	ns	ns	ns	* * *	*

表1 不同轮作模式冬小麦根际和非根际土壤理化性质

数据为平均值±标准误差(n=3)。根际和非根际土壤中,同列不同小写字母表示轮作模式间差异显著(P<0.05);* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, ns P>0.05;AW:夏红小豆-冬小麦 Summer adzuki bean-winter wheat;MW:夏绿豆-冬小麦 Summer mungbean-winter wheat;PW:夏花 生-冬小麦 Summer peanut-winter wheat;SW:夏大豆-冬小麦 Summer soybean-winter wheat;CW:夏玉米-冬小麦 Summer corn-winter wheat

2.2 不同轮作模式冬小麦根际与非根际土壤氨氧化微生物群落 Alpha 多样性

方差分析表明(图 1),除 AOB 群落的 Shannon 指数外,轮作模式对 AOA 和 AOB 群落的 Alpha 多样性均 有显著影响(P<0.001),根际效应对 AOA 和 AOB 群落的 Alpha 多样性均有显著影响(P<0.05)。对于 AOA 群 落而言(图 1),根际土中,AW 模式的 Shannon 指数最高,比 CW 模式高 8.0%(P<0.05),而 AW 和 MW 模式的 ACE 指数比 CW 模式分别低 11.9%和 15.6%(P<0.05),且 Chao1 指数比 CW 模式分别低 11.2%和 16.1%(P< 0.05)。非根际土中,Shannon 指数与根际土中有相同趋势,AW 模式最高,比 MW 和 CW 模式分别高 16.4%和 4.7%(P<0.05);AW 和 CW 模式的 ACE 指数分别比 MW 和 PW 模式高 14.5%—18.9%和 11.9%—16.2%(P< 0.05);AW 和 CW 模式的 Chao1 指数比其他 3 种模式分别高 11.7%—19.8%和 8.3%—16.1%(P<0.05)。



图 1 不同轮作模式冬小麦根际和非根际土氨氧化古菌和氨氧化细菌群落的 Alpha 多样性

Fig.1 Alpha diversity index of ammonia-oxidizing archaeal (AOA) and bacterial (AOB) communities in rhizosphere and bulk soils of winter wheat in different crop rotations

数据为平均值±标准误差(n=3);不同小写字母表示轮作模式间差异显著(P<0.05);*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001,nsP>0.05; AW:夏红小豆-冬小麦;MW:夏绿豆-冬小麦;PW:夏花生-冬小麦;SW:夏大豆-冬小麦;CW:夏玉米-冬小麦;R:根际效应;C:轮作模式;R×C: 根际效应×轮作模式;AOA:氨氧化细菌;AOB:氨氧化细菌

对于 AOB 群落而言(图 1),根际土中,CW 模式的 Shannon 指数比其他模式高 0.1%—5.7%;CW 模式的 ACE 指数比 AW、MW、PW 和 SW 模式分别高 29.3%、52.6%、16.0%和 31.4%(P<0.05);CW 模式的 Chao1 指数 比其他模式高 23.9%—48.4%,且 AW、PW 和 SW 模式的 Chao1 指数显著高于 MW 模式(P<0.05)。非根际土 中,AW 模式的 Shannon 指数比 MW 和 PW 模式分别高 5.9%和 6.6%(P<0.05),CW 模式的 Chao1 指数比 AW、

PW和SW模式分别高15.8%、8.2%和10.0%(P<0.05)。

2.3 不同轮作模式冬小麦根际与非根际土壤氨氧化微生物群落组成

对 AOA 和 AOB amoA 基因序列进行 OTU 聚类分析后分别得到 58 和 52 个 OTUs。根际土中 AW、MW、 PW、SW 和 CW 模式分别获得 55、55、55、54 和 57 个 AOA amoA 基因 OTUs 以及 39、42、43、38 和 47 个 AOB amoA 基因 OTUs;非根际土中 AW、MW、PW、SW 和 CW 模式分别获得 56、50、53、56 和 57 个 AOA amoA 基因 OTUs 以及 39、40、38、40 和 42 个 AOB amoA 基因 OTUs。由图 2 所示,不同轮作模式 AOA 群落的优势类群主要 由 OTU57(Norank_Crenarchaeota)、OTU58(Norank_Crenarchaeota)和 OTU59(Norank_Crenarchaeota)组成,其相对 丰度分别为 56.6%、15.4%和 4.5%。根际土中,PW 模式中 AOA 群落 OTU57 的相对丰度比 CW 模式低 15.0%(P< 0.05),而 AW、MW、PW和 SW 模式中 AOA 群落 OTU58 的相对丰度比 CW 模式分别高 70.2%、68.0%、109.3%和 79.9%(P<0.05)。非根际土中,各轮作模式中 AOA 群落的优势类群及其相对丰度与根际土中相似,但仅 OTU58 和 OTU5(Norank_Crenarchaeota)的相对丰度在不同轮作模式间存在显著差异,其中豆禾轮作模式中 AOA 群落 OTU58 和 OTU58 和 OTU55 的相对丰度比 CW 模式分别高 57.4%—90.8%和 43.4%—134.7%(P<0.05)。



图 2 不同轮作模式冬小麦根际和非根际土壤氨氧化古菌群落组成

Fig.2 Relative abundance of ammonia-oxidizing archaea (AOA) community in rhizosphere and bulk soils of winter wheat in different crop rotations at the OTU level

如图 3 所示, AOB 群落的优势类群主要由 OTU143(Norank_AOB)、OTU139(Norank_AOB)、OTU3(Norank_Nitrosomonadales)、OTU52(*Nitrosospira*)、OTU56(Norank_Bacteria)、OTU22(Norank_AOB)、OTU95(Norank_Nitrosomonadales)、OTU153(*Nitrosospira*)和 OTU76(Norank_Nitrosomonadales)组成,其相对丰度分别为 13.8%、

10.3%、8.9%、8.1%、6.5%、6.4%、6.2%、5.8%和4.9%。根际土中,AW模式中AOB 群落OTU76的相对丰度比MW和CW模式分别高193.1%和372.1%(P<0.05),MW模式中AOB 群落OTU95的相对丰度比SW模式高124.6%(P<0.05)。非根际土中,AW模式中AOB 群落OTU76的相对丰度比SW和CW模式分别高192.0%和132.6%(P<0.05),MW模式中AOB 群落OTU3的相对丰度比CW模式高161.6%(P<0.05)。



图 3 不同轮作模式冬小麦根际和非根际土壤氨氧化细菌群落组成

Fig.3 Relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) community in the rhizosphere and bulk soils of winter wheat in different crop rotations at the OTU level

2.4 不同轮作模式冬小麦根际与非根际氨氧化微生物群落 Beta 多样性及影响因素

主成分分析(PCA)结果如图 4 所示,根际土中主轴 1(PC1)和主轴 2(PC2)分别解释了 72.1%和 15.8%的 AOA 群落变异,以及 34.4%和 22.1%的 AOB 群落变异。非根际土中主轴 1 和主轴 2 分别解释了 79.3%和 8.8%的 AOA 群落变异,以及 30.1%和 20.5%的 AOB 群落变异。总的来看,不同轮作模式的 AOA 和 AOB 群落 结构存在差异。其中,根际土中豆禾轮作模式的 AOA 和 AOB 群落与 CW 模式在主轴 1 和主轴 2 上有分离, 而非根际土中豆禾轮作模式的 AOB 群落与 CW 模式在显著分离现象(P<0.05)。

利用冗余分析进一步分析驱动不同轮作模式 AOA 和 AOB 群落的变异因子,结果如图 5 所示,根际土和 非根际土的土壤理化性质对 AOA 和 AOB 群落结构变异总解释度分别为 60.1%、72.9%和 49.0%、32.8%。根 际土中,不同轮作模式间 pH 值(P<0.05)和 SOC 含量(P<0.01)的差异导致了 AOA 群落结构的差异。非根际 土中,SOC 含量(P<0.05)和 TN 含量(P<0.05)的变化驱动了不同轮作模式间 AOA 群落结构发生分离,而 TN 含量(P<0.05)、NH⁴₄-N 含量(P<0.05)和 NO⁵₃-N 含量(P<0.05)的变化驱动了不同轮作模式间 AOB 群落结构



图 4 不同轮作模式冬小麦根际和非根际土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落的主成分分析

Fig.4 Principal component analysis (PCA) of ammonia-oxidizing archaeal (AOA) and bacterial (AOB) communities in rhizosphere and bulk soils of winter wheat in different crop rotations

R:相关系数;P:概率

发生分离。

3 讨论

3.1 轮作模式对土壤养分的影响

本研究中,与麦玉轮作相比豆禾轮作增加了冬小麦根际土有机碳和硝态氮含量,但降低了土壤 pH值,增加了非根际土全氮和铵态氮含量。有研究表明,将豆科作物掺入连续的禾本科作物轮作系统会增加表层土壤全氮、有机碳等养分含量^[22-23]。豆科作物的秸秆 C/N 比较小,其残茬中的含氮量较非豆科作物(玉米)高,土壤氮素矿化程度更高,进而引起土壤中全氮含量的增加^[22]。作物轮作影响土壤中碳循环过程,进而影响最终的土壤有机物(包括 SOC)的形成。这是因为作物残茬、作物凋落叶以及根系分泌物为土壤提供较高的碳输入,进而导致有机碳含量的增加^[23]。此外,豆科作物与禾本科长期轮作可以防止土壤疏水成分的过度降解,其机理是通过在土壤疏水结构域中掺入较不稳定的有机化合物保护其免受微生物的矿化作用,从而增加有机碳含量^[24]。无机氮含量是体现土壤供氮能力大小的有效指标,豆科残茬能增加土壤无机氮并提高后茬作物的氮利用率^[25]。豆禾轮作,尤其是 AW 和 MW 模式,土壤中铵态氮和硝态氮含量均高于麦玉轮作,表明其无机氮的比例高于麦玉轮作,这是由于豆科作物的固氮作用导致无机氮的积累、富氮残留物的矿化以及豆禾轮作过程中土壤累积了更多的矿物结合有机氮(MAOM-N),而 MAOM-N 是无机氮的重要来源^[25-26]。结合来看,豆科作物加入轮作系统在上述情况下是可以增加土壤中养分含量的。







Fig.5 Effects of cropping rotations on the beta diversity of ammonia-oxidizing archaeal (AOA) and bacterial (AOB) communities in rhizosphere and bulk soil as indicated by Redundancy analysis (RDA)

* P<0.05;SOC:土壤有机碳;TN:全氮;AP:有效磷;AK:有效钾;NH4+-N:铵态氮;NO3-N:硝态氮;pH:土壤酸碱度

3.2 轮作模式对氨氧化微生物群落 Alpha 多样性和组成的影响

轮作模式中不同作物对土壤氨氧化微生物多样性和组成的影响不同,是由于不同作物的根系形态和根系 分泌物有差异。有研究表明,种植玉米和种植大豆的土壤细菌群落有明显的差异,长期轮作也会导致这种差 异^[27]。前人利用 OTU 水平的物种组成来评估微生物群落组成的相对丰度和频率存在的差异,将其作为微生 物群落结构和生理学之间的桥梁^[28]。本研究也分析了不同种植模式下氨氧化微生物的 OTU 组成,发现不同 轮作模式下 AOA 群落中占主导地位的 OTUs 属于泉古菌门(Crenarchaeota), AOB 群落中占主导地位的 OTUs 属于亚硝化单胞菌目(Nitrosomonadales),并且在不同轮作模式下 AOA 和 AOB 群落 OTUs 的相对丰度是波动 变化的,少数 OTUs 的相对丰度在不同轮作模式中表现出显著差异(图 2 和 3)。这是由于作物会分泌不同的 分泌物,招募了不同的微生物组^[29],进而导致了轮作模式间氨氧化微生物群落组成的动态变化。

研究表明,豆科参与轮作系统会显著提高土壤微生物的多样性^[17]。但在本研究中,豆禾轮作中夏绿豆-冬小麦模式根际和非根际土中 AOA 群落 Alpha 多样性指数均偏低,而其他豆禾轮作模式与夏玉米-冬小麦模 式间没有明显差异,是因为轮作作物多样性低或轮作年限较短^[30],不同豆科作物轮作模式间虽存在差异,但 未体现出显著趋势。夏玉米-冬小麦模式中 AOB 群落 ACE 指数和 Chaol 指数高于其他轮作模式,说明夏玉 米-冬小麦模式 AOB 群落多样性与豆禾轮作模式相似的情况下,其群落丰富度更高。有研究表明,与大豆根 际土壤相比,玉米根际土壤有较高的微生物群落多样性,主要是因为豆科作物根部存在根瘤菌能够降低细菌的相对丰度^[31]。另外,AOA 和 AOB 群落的差异没有广泛反映在 Shannon 多样性和群落丰富度指标中,是由于这些指标不能完整地体现出微生物群落之间的差异^[32]。

3.3 轮作模式对氨氧化微生物群落 Beta 多样性的影响

农田管理措施会改变农田土壤生态环境,反过来土壤理化性质的改变也会反馈调节整个农业系统,其中包括根际效应及其与土壤-细菌群落的相互作用^[33]。农田中 AOA 和 AOB 主导的氨氧化作用(硝化作用)在土壤氮素循环过程扮演重要角色,但 AOA 和 AOB 群落会受到土壤 pH、速效氮等众多土壤环境因素的影响^[34]。土壤 pH 被认为是决定 AOA 和 AOB 群落组成及对硝化作用相对贡献的关键因素,AOA 的活性随着土壤 pH 的降低而增加,而 AOB 的活性则表现出相反的趋势^[35-36]。研究表明,土壤有机碳的数量和质量以及 NH⁴ 的可利用性均会刺激或抑制 AOA 和 AOB 的活性^[37]。作物轮作显著影响了这些指标,也是影响农田生态系统土壤微生物群落的重要因素^[38]。在 Li 等^[39]的一项研究中发现,将夏玉米-冬小麦模式中的玉米替换为大豆显著改变了土壤细菌的群落结构。本研究中,夏玉米-冬小麦模式的 AOA 和 AOB 群落结构与豆禾轮作模式发生明显分离现象,说明轮作作物的差异会改变土壤微生物的群落结构,与其研究结果一致。

农田中 AOA 和 AOB 存在着生态位分化。有研究表明根际和非根际土壤的 AOA 和 AOB 群落存在差异, 主要是因为作物根系活性和分泌物会造成根际和非根际土壤微环境的差异,进而驱动着土壤微生物群落的组 装和系统发育^[40]。本研究结果也表明 AOA 和 AOB 群落在根际和非根际土中存在差异,且其群落结构受到 不同环境因素的影响。根际土壤中,AOA 群落主要受土壤 pH 和有机碳的影响,而非根际土壤中 AOA 群落变 化受有机碳和全氮驱动,说明在根际和非根际土壤中,每种生态位都有可能的独特作用^[7]。不同轮作模式改 变了冬小麦根际土和非根际土壤的有机碳、全氮和土壤 pH,而这些因子也是影响 AOA 和 AOB 群落的重要因 素^[41],这进一步表明轮作模式中作物差异可以影响 AOA 和 AOB 的群落组成和结构。

4 结论

轮作模式驱动了冬小麦根际和非根际土壤中氨氧化微生物的群落组成及结构变化。豆禾轮作显著增加 氨氧化古菌群落泉古菌门(Crenarchaeota)OTU58的相对丰度,夏红小豆-冬小麦和夏绿豆-冬小麦模式分别显 著增加氨氧化细菌群落变形菌门(Proteobacteria)OTU76的相对丰度和OTU95、OTU3的相对丰度。根际土壤 中土壤 pH 和有机碳含量增加是导致豆禾轮作模式与麦玉模式氨氧化古菌群落结构发生分离的重要环境驱 动因子,而非根际土壤中全氮、铵态氮含量变化是引起豆禾轮作模式与麦玉模式氨氧化细菌群落结构发生分 离的主要环境因子。综上所述,研究结果表明,豆禾轮作种植引起的土壤 pH 和速效氮含量变化驱动氨氧化 古菌和氨氧化细菌群落结构发生演变,且根际与非根际土壤中氨氧化微生物存在生态位分离。

参考文献(References):

- [1] Riahi K, Van Vuuren D P, Kriegler E, Edmonds J, O'neill B C, Fujimori S, Bauer N, Calvin K, Dellink R, Fricko O, Lutz W, Popp A, Cuaresma J C, Kc S, Leimbach M, Jiang L, Kram T, Rao S, Emmerling J, Ebi K, Hasegawa T, Havlik P, Humpender F, Da Silva L A, Smith S, Stehfest E, Bosetti V, Eom J, Gernaat D, Masui T, Rogelj J, Strefler J, Drouet L, Krey V, Luderer G, Harmsen M, Takahashi K, Baumstark L, Doelman J C, Kainuma M, Klimont Z, Marangoni G, Lotze-Campen H, Obersteiner M, Tabeau A, Tavoni M. The shared socioeconomic pathways and their energy, land use, and greenhouse gas emissions implications: An overview. Global Environmental Change, 2017, 42: 153-168.
- [2] Mora C, Spirandelli D, Franklin E C, Lynham J, Kantar M B, Miles W, Smith C Z, Freel K, Moy J, Louis L V, Barba E W, Bettinger K, Frazier A G, Colburn IX J F, Hanasaki N, Hawkins E, Hirabayashi Y, Knorr W, Little C M, Emanuel K, Sheffield J, Patz J A, Hunter C L. Broad threat to humanity from cumulative climate hazards intensified by greenhouse gas emissions. Nature Climate Change, 2018, 8 (12): 1062-1071.
- [3] Yan X Y, Akimoto H, Ohara T. Estimation of nitrous oxide, nitric oxide and ammonia emissions from croplands in East, Southeast and South Asia.
 Global Change Biology, 2003, 9(7): 1080-1096.
- [4] Bateman E J, Baggs E M. Contributions of nitrification and denitrification to N2O emissions from soils at different water-filled pore space. Biology

and Fertility of Soils, 2005, 41(6): 379-388.

- [5] Bremner J M, Blackmer A M. Nitrous oxide: emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. Science, 1978, 199(4326): 295-296.
- [6] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展. 生态学报, 2009, 29(1): 406-415.
- [7] Prosser J I, Nicol G W. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. Trends in Microbiology, 2012, 20(11): 523-531.
- [8] Li C Y, He Z Y, Hu H W, He J Z. Niche specialization of comammox Nitrospira in terrestrial ecosystems: Oligotrophic or copiotrophic? Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2023, 53(2): 161-176.
- [9] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms A review. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 54-63.
- [10] Yang Y D, Wang Z M, Hu Y G, Zeng Z H. Irrigation frequency alters the abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in a northern Chinese upland soil. European Journal of Soil Biology, 2017, 83: 34-42.
- [11] 杨亚东,宋润科,赵杰,王培欣,许晓玲,曾昭海.长期不同施肥制度对水稻土氨氧化微生物数量和群落结构的影响.应用生态学报, 2018, 29(11): 3829-3837.
- [12] Wattenburger C J, Gutknecht J, Zhang Q, Brutnell T, Hofmockel K, Halverson L. The rhizosphere and cropping system, but not arbuscular mycorrhizae, affect ammonia oxidizing archaea and bacteria abundances in two agricultural soils. Applied Soil Ecology, 2020, 151; 103540.
- [13] 杨亚东,冯晓敏,胡跃高,任长忠,曾昭海. 豆科作物间作燕麦对土壤固氮微生物丰度和群落结构的影响. 应用生态学报, 2017, 28(3): 957-965.
- [14] Cai F F, Luo P Y, Yang J F, Irfan M, Zhang S Y, An N, Dai J, Han X R. Effect of long-term fertilization on ammonia-oxidizing microorganisms and nitrification in brown soil of northeast China. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 622454.
- [15] 杨亚东,张明才,胡君蔚,张凯,胡跃高,曾昭海.施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响. 生态学报, 2017, 37(11): 3636-3646.
- [16] Song Y N, Marschner P, Li L, Bao X G, Sun J H, Zhang F S. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria in the rhizosphere of intercropped wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.), and faba bean (*Vicia faba* L.). Biology and Fertility of Soils, 2007, 44(2): 307-314.
- [17] Carlos F S, Schaffer N, Mariot R F, Fernandes R S, Boechat C L, Roesch L F W, de Oliveira Camargo F A. Soybean crop incorporation in irrigated rice cultivation improves nitrogen availability, soil microbial diversity and activity, and growth of ryegrass. Applied Soil Ecology, 2022, 170: 104313.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, Santoro A E, Oakley B B. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(41): 14683-14688.
- [20] Rotthauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [21] Schloss P D, Gevers D, Westcott S L. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies. PLoS One, 2011, 6(12): e27310.
- [22] Kumar K, Goh K M. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. European Journal of Agronomy, 2002, 16(4): 295-308.
- [23] Zhang K L, Maltais-Landry G, Liao H L. How soil biota regulate C cycling and soil C pools in diversified crop rotations. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 156: 108219.
- [24] Savarese C, Drosos M, Spaccini R, Cozzolino V, Piccolo A. Molecular characterization of soil organic matter and its extractable humic fraction from long-term field experiments under different cropping systems. Geoderma, 2021, 383: 114700.
- [25] Yu Y L, Xue L H, Yang L Z. Winter legumes in rice crop rotations reduces nitrogen loss, and improves rice yield and soil nitrogen supply. Agronomy for Sustainable Development, 2014, 34(3): 633-640.
- [26] Daly A B, Jilling A, Bowles T M, Buchkowski R W, Frey S D, Kallenbach C M, Keiluweit M, Mooshammer M, Schimel J P, Grandy A S. A holistic framework integrating plant-microbe-mineral regulation of soil bioavailable nitrogen. Biogeochemistry, 2021, 154(2): 211-229.
- [27] Chamberlain L A, Bolton M L, Cox M S, Suen G, Conley S P, Ané J M. Crop rotation, but not cover crops, influenced soil bacterial community composition in a corn-soybean system in southern Wisconsin. Applied Soil Ecology, 2020, 154: 103603.
- [28] Chen D L, Wang X X, Carrión V J, Yin S, Yue Z F, Liao Y, Dong Y H, Li X G. Acidic amelioration of soil amendments improves soil health by impacting rhizosphere microbial assemblies. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 167: 108599.
- [29] Lau J A, Lennon J T. Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments. Proceedings of the National Academy of

Sciences of the United States of America, 2012, 109(35): 14058-14062.

- [30] Venter Z S, Jacobs K, Hawkins H J. The impact of crop rotation on soil microbial diversity: a meta-analysis. Pedobiologia, 2016, 59(4): 215-223.
- [31] Paungfoo-Lonhienne C, Wang W J, Yeoh Y K, Halpin N. Legume crop rotation suppressed nitrifying microbial community in a sugarcane cropping soil. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1-7.
- [32] Soman C, Li D F, Wander M M, Kent A D. Long-term fertilizer and crop-rotation treatments differentially affect soil bacterial community structure. Plant and Soil, 2017, 413(1): 145-159.
- [33] Schmidt J E, Kent A D, Brisson V L, Gaudin A C M. Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. Microbiome, 2019, 7(1): 146.
- [34] Yao H Y, Campbell C D, Chapman S J, Freitag T E, Nicol G W, Singh B K. Multi-factorial drivers of ammonia oxidizer communities: evidence from a national soil survey. Environmental Microbiology, 2013, 15(9): 2545-2556.
- [35] Li Y Y, Chapman S J, Nicol G W, Yao H Y. Nitrification and nitrifiers in acidic soils. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 116: 290-301.
- [36] Tzanakakis V A, Taylor A E, Bakken L R, Bottomley P J, Myrold D D, Dörsch P. Relative activity of ammonia oxidizing Archaea and bacteria determine nitrification-dependent N₂O emissions in Oregon forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 139: 107612.
- [37] Xiao R, Ran W, Hu S J, Guo H. The response of ammonia oxidizing archaea and bacteria in relation to heterotrophs under different carbon and nitrogen amendments in two agricultural soils. Applied Soil Ecology, 2021, 158: 103812.
- [38] Li M H, Guo J J, Ren T, Luo G W, Shen Q R, Lu J W, Guo S W, Ling N. Crop rotation history constrains soil biodiversity and multifunctionality relationships. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2021, 319; 107550.
- [39] Li T, Li Y Z, Wang S N, Wang Z T, Liu Y, Wen X X, Mo F, Han J, Liao Y C. Assessing synergistic effects of crop rotation pattern, tillage practice, and rhizosphere effect on soil bacterial community structure and assembly in China's Loess Plateau farmlands. Applied Soil Ecology, 2022, 174; 104411.
- [40] Dias A C F, Hoogwout E F, de Cassia Pereira e Silva M, Salles J F, van Overbeek L S, van Elsas J D. Potato cultivar type affects the structure of ammonia oxidizer communities in field soil under potato beyond the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 50: 85-95.
- [41] Henneron L, Kardol P, Wardle D A, Cros C, Fontaine S. Rhizosphere control of soil nitrogen cycling: a key component of plant economic strategies. New Phytologist, 2020, 228(4): 1269-1282.