



摩西管柄囊霉 (*Funneliformis mosseae*) 对连作大豆根际土壤细菌菌群的影响

崔晓莹^{1,2}, 白莉³, 郭娜³, 殷继忠^{1,2}, 蔡柏岩^{1,2}

(1. 黑龙江大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江省寒地生态修复与资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150080; 3. 黑龙江东方学院 食品与环境工程学部, 黑龙江 哈尔滨 150066)

摘要:为探究丛枝菌根真菌(*Arbuscula mycorrhizal fungi*, AMF) - 摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*) 对不同连作年限大豆土壤细菌菌群的影响, 分析了接种 *F. mosseae* 后连作 0, 1, 3 和 5 年的根系菌根侵染率、细菌菌群结构和多样性以及 KEGG 功能预测, 从而为 AMF 缓解大豆连作障碍提供理论依据。结果表明: 大豆土壤细菌菌群多样性和丰度随着连作年限升高而减少, 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*) 和硝化杆菌属(*Nitrobacter*) 等有益菌丰度也随着连作年限升高而减少。而接种 *F. mosseae* 不仅能改善根际土壤的细菌多样性, 提高 *Sphingomonas*、*Gemmatimonas*、*Nitrospira* 和 *Lysobacter* 等有益菌的丰度, 还改善了根际细菌群落氨基酸代谢、强化信号转导、膜转运和碳水化合物代谢等功能, 显著缓解了大豆连作障碍。

关键词:连作大豆; 摩西管柄囊霉; 土壤细菌菌群; KEGG 功能预测

Effect of *Funneliformis mosseae* on Bacterial Flora in Continuous Rhizosphere Soil of Soybean

CUI Xiao-ying^{1,2}, BAI Li³, GUO Na³, YIN Ji-zhong^{1,2}, CAI Bai-yan^{1,2}

(1. College of Life sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; 2. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Restoration and Resource Utilization for Cold Region, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; 3. Department of Food and Environmental Engineering, Heilongjiang Oriental College, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to investigate the effect of arbuscula mycorrhizal fungi (AMF) - *Funneliformis Mosseae* on the bacterial community in soybean soil after different continuous cropping years, we analyzed the infection rate, bacterial community structure and diversity of AMF after 0, 1, 3, 5 continuous cropping years respectively, and KEGG function prediction was also conducted. And we hoped this study could provides theoretical basis for alleviating soybean continuous cropping obstacle. The results showed that, with the increase of continuous cropping years, the diversity and abundance of bacteria in soybean soil, and the abundance of beneficial bacteria such as *Sphingomonas*, *Gemmatimonas*, *Bacillus* and *Nitrobacter* were also decreased. Inoculation of *F. mosseae* not only improved the bacterial diversity in rhizosphere soil, increased the abundance of beneficial bacteria such as *Gemmatimonas*, *Sphingomonas*, *Nitrospira* and *Lysobacter*, but also improved the functions of amino acid metabolism, signal transduction, membrane transport and carbohydrate metabolism of rhizosphere bacterial community, which significantly alleviated the soybean continuous cropping obstacle.

Keywords: Continuous cropping soybean; *Funneliformis mosseae*; Soil bacterial flora; KEGG function prediction

大豆(*Glycine max*) 是我国重要的粮食作物, 近年来由于耕地有限等因素, 其连作导致土壤微生物多样性日益下降、土壤养分失衡、土传病害严重, 最终使大豆产量品质降低^[1-3]。大豆连作会使土壤由

“细菌型”转变为“真菌型”, 影响土壤中微生物的群落结构和数量^[4-6]。刘小龙等^[7]研究证实棉花(*Gossypium* spp.) 连作土壤细菌的多样性、丰富度和均匀度指数随着连作年限增长均呈现下降趋势。殷继

忠等^[8]研究发现土壤细菌多样性在大豆短期连作下有所减少。

植物共生的微生物-丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF)能有效克服连作障碍,它能改变植物根际菌群数量,并抑制病原菌生长^[9],进而有效减轻连作给作物带来的危害。Xu等^[10]对玉米根际土壤接种AM真菌发现,在整个试验期间AM真菌处理与对照相比的细菌数量增加了14.29%。唐艳领等^[11]研究发现黄瓜(*Cucumis sativus*)连作土壤施用丛枝菌根可以使细菌数量增多。戴梅等^[12]研究认为AM真菌根外菌丝能在土壤中扩展,不仅能促进植物养分吸收与利用,还能与根瘤菌*Rhizobium*、芽孢杆菌属*Bacillus*、假单胞菌属*Pseudomonas*等有益细菌在多数情况下相互促进,在土壤健康状况等方面具有重要意义。

对土壤微生物多样性的传统分子生物学研究的方法有很多,速度快、低成本的高通量测序技术作为第二代测序技术给生物学领域带来了巨大的变革,可在体外利用酶处理后直接合成测序。目前,这种技术被广泛地应用于环境监测、土壤等环境样品的细菌多样性研究^[13-14]。但高通量测序应用于连作大豆土壤细菌多样性的研究甚少,以此为出发点探究摩西管柄囊霉对连作大豆土壤细菌菌群结构的研究更是鲜见报道。

本研究选用大豆品种黑农48,选取大田连作0,1,3和5年土样,设置接种*F. mosseae*处理组,测定大豆根系菌根侵染率,采用高通量测序技术分析连作大豆根际土壤中细菌菌群多样性和丰度,以及分析*F. mosseae*对作物根际土壤细菌的代谢功能的影响,旨在缓解大豆连作障碍以及为*F. mosseae*作为生物菌剂应用于农业生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于哈尔滨工业大学糖业研究所试验站进行,供试材料为大豆黑农48(高蛋白品种,蛋白质平均含量为45.27%,脂肪平均含量为19.50%),由黑龙江省农业科学院提供。供试AM真菌为*Funneliformis mosseae*,保藏于中国武汉微生物研究所,菌种保藏号CGMCC No.3013。*F. mosseae*菌剂是以紫花

苜蓿(*Medicago sativa*)为宿主植物经扩繁后获得的混合菌剂。

1.2 试验设计

采用盆栽试验,试验土壤选用连作0,1,3和5年土壤。对照组不接种*F. mosseae*,标记为S0Ynon、S1Ynon、S3Ynon和S5Ynon,处理组接种*F. mosseae*,每个盆栽里面混匀50 g *F. mosseae*菌剂,标记为S0Yin、S1Yin、S3Yin和S5Yin。塑料盆(上口径24.6 cm,高18.5 cm)装风干土2 kg,播种5粒,留苗3株,生产管理方式与大田相同。

于2017年7月31日(大豆生长60 d)采集大豆根际10~20 cm土壤样本,去除土样中的植物和动物残体等杂质,分别混合后过40目筛子,用于土样的高通量测序。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 大豆根系菌根侵染率 自大豆播种后30 d起,每隔6 d取大豆根样测侵染率至90 d。菌根侵染率测定采用酸性品红染色法^[15]。

1.3.2 PCR扩增和高通量测序分析 使用mobio土壤微生物DNA强力提取试剂盒PowerSoil® DNA Isolation Kit提取样品总DNA。以338F(5'-ACTC-CTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACH-VGGGTWTCTAAT-3')为引物,对细菌16S rRNA的V3-V4进行扩增。PCR反应条件为:95℃预变性5 min;95℃变性1 min,15个循环;50℃1 min,15个循环;72℃延伸1 min,15个循环,72℃延伸7 min。将获得的PCR扩增产物进行纯化、定量和均一化后形成测序文库,建好的文库进行文库质检,质检合格的文库用Illumina HiSeq 2500进行测序。

α多样性分析(Alpha diversity):使用Mothur软件(version v. 1.30 <http://www.mothur.org/>)^[16],对样品Alpha多样性指数进行评估。分析时将样品所含序列数进行标准化,进而比较样品间的多样性指数。包括OTU个数、ACE指数、Chao1指数、辛普森指数、香农指数和覆盖率。

物种注释丰度分析:采用RDP Classifier(version 2.2, <http://sourceforge.net/projects/rdpclassifier/>)^[17]进行物种注释。利用QIIME软件^[18]生成不同分类水平上的物种丰度表,再利用R语言工具绘制成样品各

分类学水平下的群落结构图和 Heatmap。

KEGG 功能预测:使用 PICRUSt 软件^[19] 通过对 16S 测序数据获得的物种组成信息,推测样本中的功能基因组成,并分析不同样本或分组之间在功能上的差异。

1.4 数据分析

采用 Excel 2013 对数据进行记录及初始计算。运用 STAMP 中的 G-TEST 和 Fisher 检验方法进行两两样本间的显著性差异检验,对不同组间进行两两 T-test 检验, P -value 阈值为 0.05 ($P < 0.05$ 表示存在显著性差异)。

2 结果与分析

2.1 不同连作年限摩西管柄囊霉侵染情况

大豆根系中的菌丝和泡囊结构的显微镜检测结果表明:30 d 前试验组和对照组的大豆根部均未发现 AM 真菌侵染现象,30 d 后每组均检测出侵染现象,并观察到大豆根系中的菌丝和泡囊结构。随着大豆的生长发育,侵染率逐渐升高,60 d 左右试验组侵染率达到最高且逐渐平稳,对照组因受土壤中 AM 真菌影响,侵染率最高达到 35%,试验组侵染率显著高于对照组(图 1)。

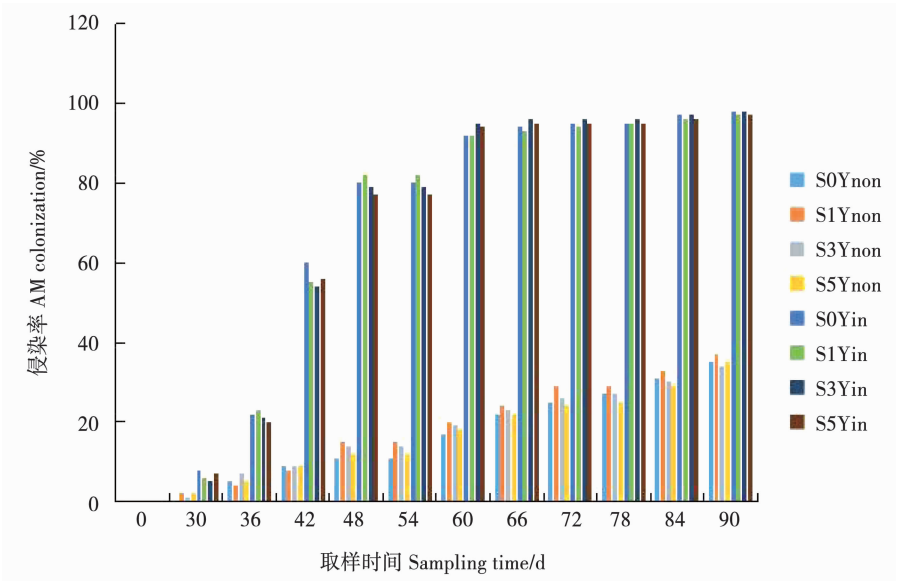


图 1 不同连作年限大豆根系 AM 真菌侵染率

Fig 1 The infection rate of AM fungi in soybean root among different continuous cropping soil

2.2 土壤细菌群落 Alpha 多样性分析

通过对土壤细菌 16S rRNA 的 V3-V4 区测序,得到每个样品的 OTU 个数,其中 Chao1 和 ACE 指数衡量物种丰度,Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性。Shannon 和 Simpson 指数越大,说明样品的物种多样性越高。由表 1 看出连作 5 年土样的 OTU 数量显著低于其它样品,其 ACE 指数和 Chao1 指数也最小。观察 Shannon 指数和 Chao1 指数后发现,连作 0,1 和 3 年的土壤中试验组数值高于对照组,但是两者差异并不显著。试验样本的 Coverage 指数均在 0.98 以上,表明测序数据具有很好的覆盖率。研究表明大豆连作会影响土壤的细菌丰度和

多样性,AM 真菌的接种对土样中的细菌多样性有所改善。

2.3 土壤细菌群落结构多样性分析

图 2 表示土壤样品的细菌结构图,排除其中不能培养和分类的部分主要有 4 个属的细菌,分别为 *RB41*、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、气微菌属 (*Aeromicrobium*) 和芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*)。*RB41* 的丰度在连作 3 年时最低,且连作 5 年小于连作 0 年和 1 年,在连作 5 年试验组中显著高于对照组。有益菌的丰度随着连作年限升高逐渐降低,在连作 0,3,5 年试验组中均高于对照组。气微菌属丰度随着连作年限呈现降低后升高的趋势,在连作

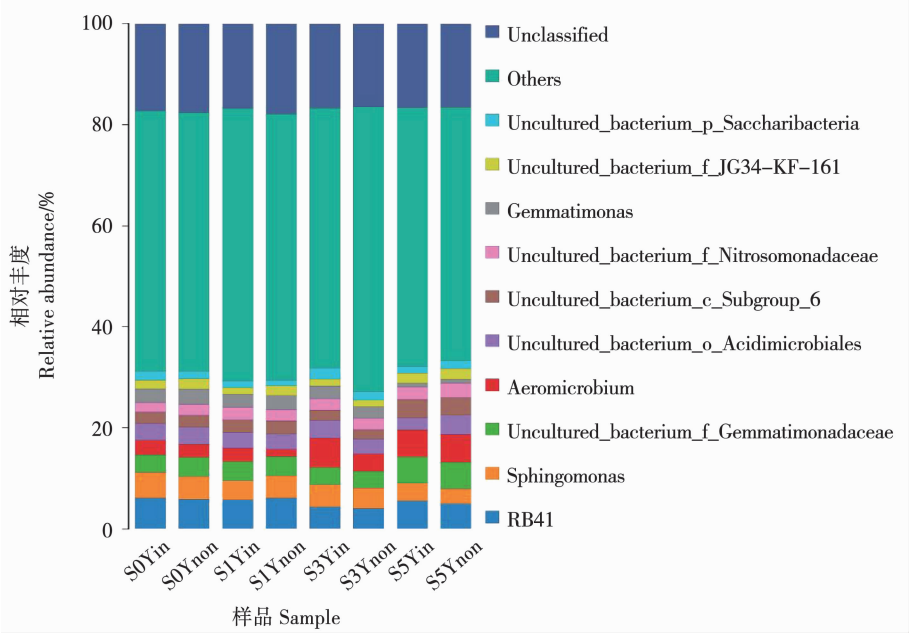
0,1,3年试验组中高于对照组,并在连作 1 年时数值最低。有益菌 *Gemmatimonas* 属表现出随着连作年

限升高逐年降低的趋势,连作 5 年时数值最小,且试验组菌属丰度占比同样高于对照组。

表 1 细菌物种丰度和多样性指数

Table 1 Bacterial species abundance and diversity index

样品	OTU 个数	ACE 指数	Chao1 指数	辛普森指数	香农指数	覆盖率
Sample	OTU number	ACE index	Chao1 index	Simpson index	Shannon index	Coverage/%
S0Ynon	3198	3679.443	3667.802	0.0057	6.5763	0.9886
S0Yin	3244	3630.787	3607.893	0.0051	6.6091	0.9884
S1Ynon	3256	3814.638	3789.972	0.0045	6.6489	0.9876
S1Yin	3307	3848.803	3922.097	0.0047	6.6214	0.9863
S3Ynon	3259	3758.738	3776.302	0.0051	6.5020	0.9875
S3Yin	3317	3821.018	3785.721	0.0072	6.6018	0.9879
S5Ynon	2035	2648.417	2652.973	0.0063	6.3938	0.9642
S5Yin	2673	3065.052	3087.028	0.0062	6.5002	0.9881



显示丰度水平为前十的物种,其它物种合并为 Others,Unclassified 代表未得到分类学注释的物种。

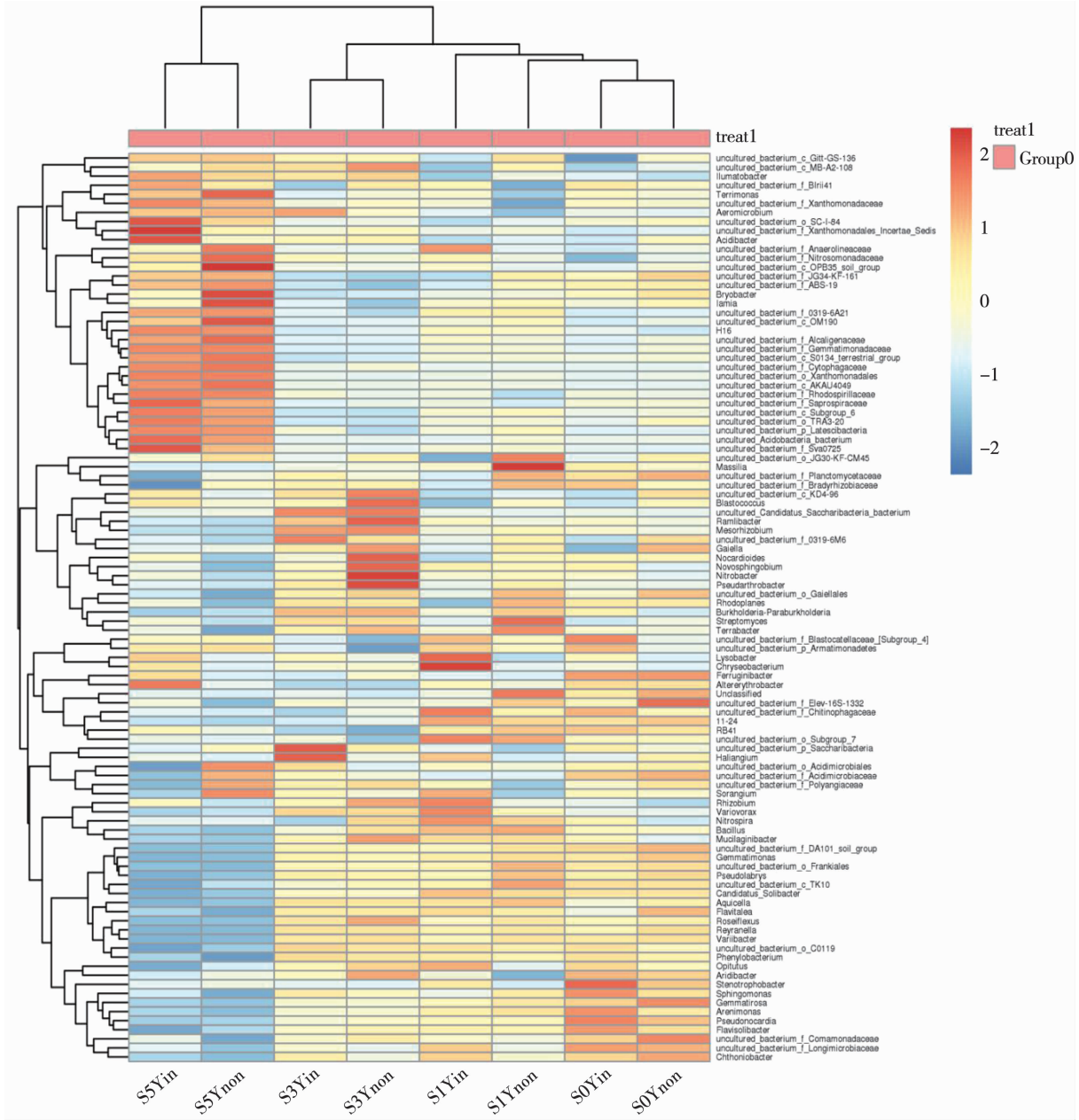
Display the top ten species with the abundance level, combine other species into Others, and Unclassified represents species that were not taxonomically annotated.

图 2 属水平土壤细菌群落分布结构图

Fig. 2 Distribution structure of bacterial communities in horizontal soils

图 3 表示在属水平各样品中不同菌属的丰度 Heatmap。图中看出连作土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*) 丰度会随着连作年限增加而减少,硝化杆菌属(*Nitrobacter*)在连作 5 年时丰度最低。苯基杆菌属(*Phenylobacterium*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、硝化螺菌属(*Nitrospira*) 和溶杆菌属(*Lysobacter*) 的

丰度在试验组中均明显高于对照组,其中 *Nitrospira* 和 *Lysobacter* 为有益菌。表明 AM 真菌能够提高 *Gemmatimonas*、*Sphingomonas*、*Nitrospira* 和 *Lysobacter* 在各个样本中的丰度占比,有促进有益菌增殖的作用。



Heatmap 对应的值为每一行物种的相对丰度经过标准化处理后得到 Z 值,颜色梯度由蓝色到红色表示相对丰度由低到高,反映在菌属水平上各样品细菌群落结构的差异性;Unclassified 代表未得到分类学注释的物种。

The corresponding values of the Heatmap are the Z values obtained after normalization of the relative abundance of each row of species. The color gradient from blue to red indicates the relative abundance from low to high, reflecting the difference of bacterial community structure of each sample at the genus level. Unclassified represents a species that has not been taxonomically annotated.

图 3 属水平土壤微生物菌群聚类分析

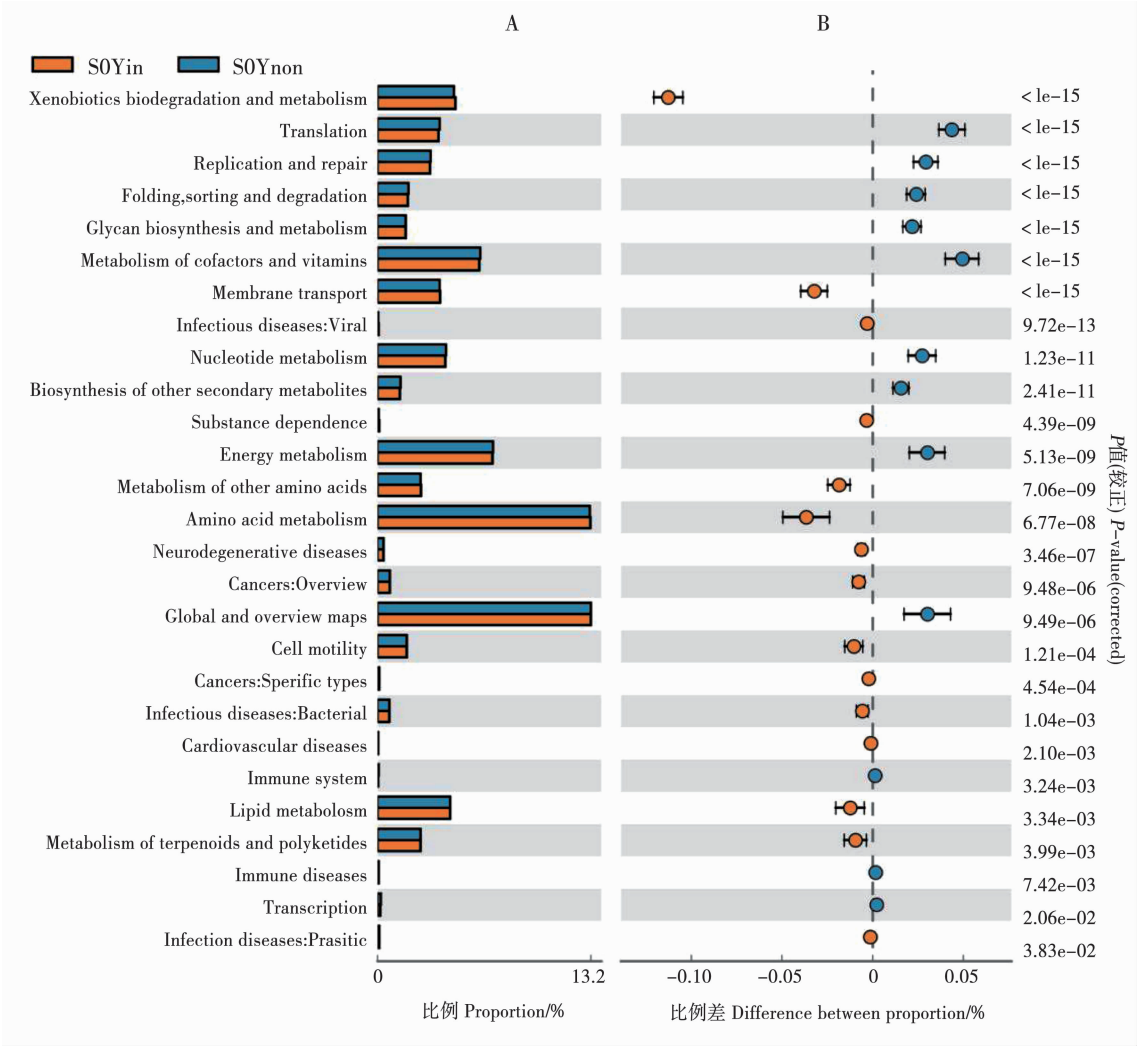
Fig 3 Soil microbial community cluster analysis on generic level

2.4 KEGG 功能预测

2.4.1 连作 0 年土样 KEGG 代谢途径差异分析

由图 4 所示:连作 0 年土样对照组辅酶因子及维生素代谢和能量代谢丰度显著高于试验组,而试验组

的外源生物降解和新陈代谢功能、膜运输和氨基酸代谢等功能相对丰度显著高于对照组,说明在连作 0 年时,AM 真菌对土壤代谢途径有影响,能增强一部分有益代谢功能。



A: 样品丰度比例; A 纵坐标代谢途径依次为: 外源生物降解与代谢; 翻译; 复制和修复; 折叠、分类和降解; 多糖生物合成及代谢; 辅酶因子及维生素代谢; 膜转运; 传染病: 病毒引起; 核苷酸代谢; 其它次级代谢物的生物合成; 物质依赖性; 能量代谢; 其它氨基酸代谢; 氨基酸代谢; 神经退行性疾病; 癌症: 概况; 全面概况图; 细胞能动性; 癌症: 特定种类; 传染病: 细菌引起; 心血管疾病; 免疫系统; 脂代谢; 萜类及聚酮类化合物代谢; 免疫疾病; 转录; 传染病: 寄生物引起。B: 95% 置信度区间内功能丰度的差异比例。

A shows the sample abundance ratio. B shows the difference ratio of the functional abundance in the 95% confidence interval.

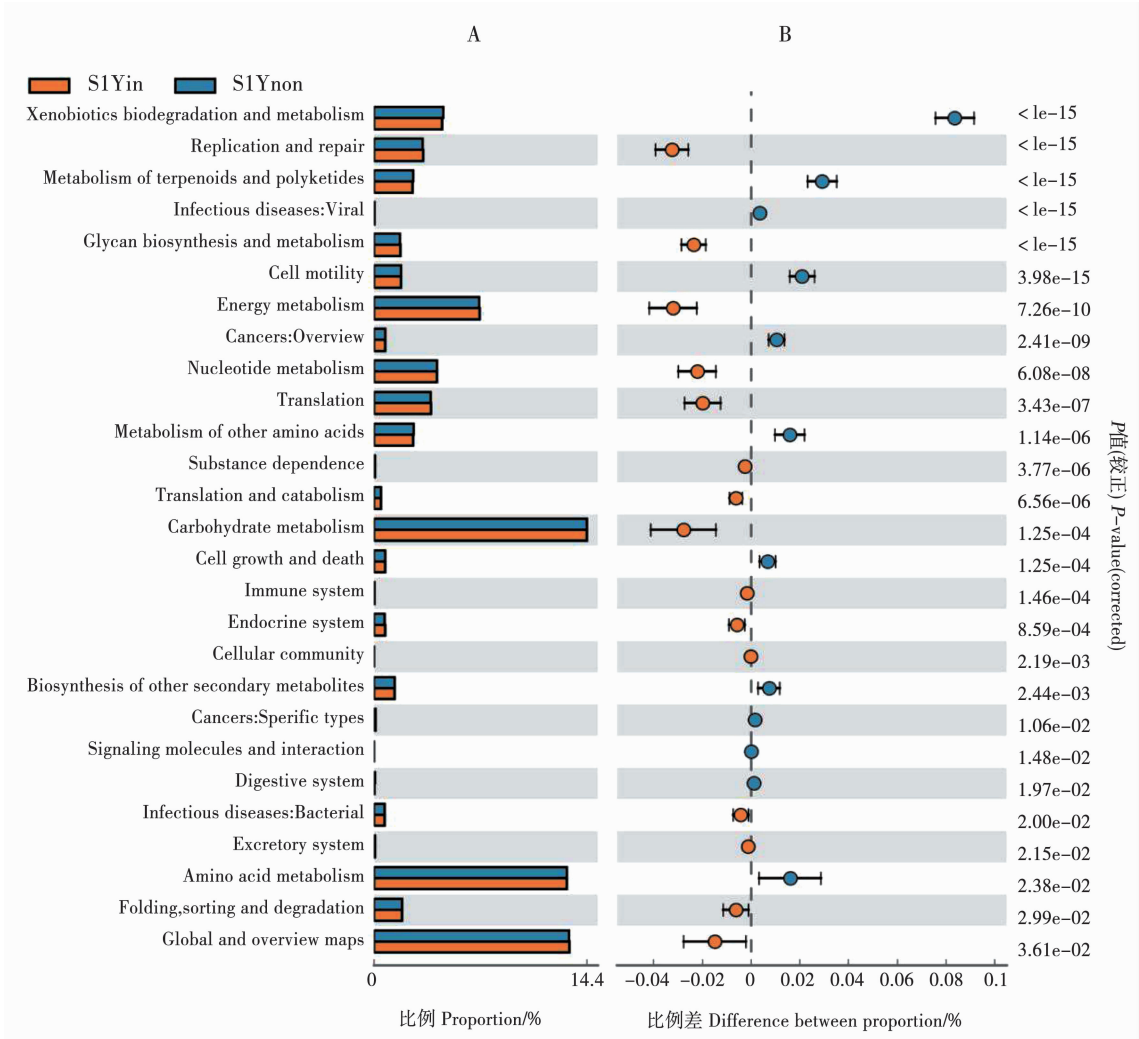
图 4 土样连作 0 年 KEGG 代谢途径差异图

Fig. 4 KEGG metabolic pathway difference of soil sample continuous cropping 0 year

2.4.2 连作1年土样KEGG代谢途径差异分析

由图5所示:连作1年土样对照组外源生物降解与代谢、氨基酸代谢和萜类及聚酮类化合物代谢丰度显著高于试验组,而试验组的复制和修复、细胞能

动性、能量代谢、翻译和碳水化合物代谢这些功能相对丰度高于对照组,说明在连作1年时,AM真菌对土壤代谢途径有影响。



A 为样品丰度比例。A 纵坐标代谢途径依次为:外源生物降解与代谢;复制和修复;萜类及聚酮类化合物的代谢;传染病:病毒引起;多糖的生物合成及代谢;细胞能动性;能量代谢;癌症:概况;核苷酸代谢;翻译;其它氨基酸代谢;物质依赖性;翻译和分解代谢;碳水化合物代谢;细胞生长及死亡;免疫系统;内分泌系统;细胞群;其它次级代谢物的生物合成;癌症:特定种类;信号分子与相互作用;消化系统;传染病:细菌引起;排泄系统;氨基酸代谢;折叠、分类和降解;全面概括图。

B 为 95% 置信度区间内功能丰度的差异比例。

A shows the sample abundance ratio. B shows the difference ratio of the functional abundance in the 95% confidence interval.

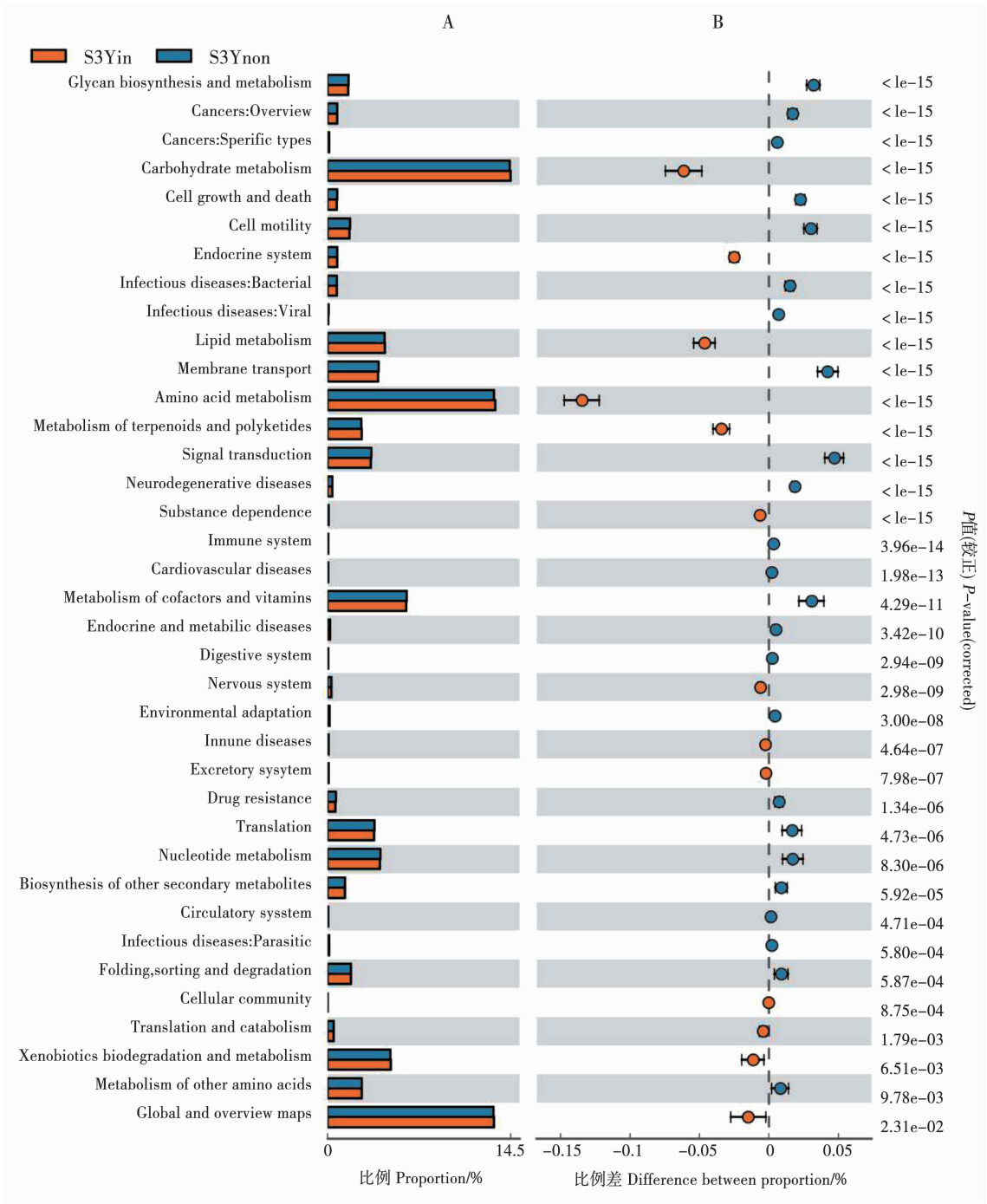
图5 土样连作1年KEGG代谢途径差异图

Fig.5 KEGG metabolic pathway difference soil sample continuous cropping 1 year

2.4.3 连作3年土样KEGG代谢途径差异分析

图6表明连作3年土壤对照组中萜类化合物和聚酮类化合物的代谢与试验组差异较大,而连作3年样

本中接种AM真菌后,碳水化合物代谢功能、膜转运和氨基酸代谢功能变化最为突出。



A 为样品丰度比例; A 纵坐标代谢途径依次为:多糖生物合成及代谢;癌症:概况;癌症:特定种类;糖类物质代谢;细胞生长及死亡;细胞能动性;内分泌系统;传染病:细菌引起;传染病:病毒引起;脂代谢;膜转运;氨基酸代谢;萜类及聚酮类化合物代谢;信号传导;神经退行性疾病;物质依赖性;免疫系统;心血管疾病;辅助因子及维生素代谢;内分泌及代谢疾病;消化系统;神经系统;环境适应;免疫疾病;排泄系统;耐药性;翻译;核苷酸代谢;其它次级代谢物的生物合成;血液循环系统;传染病:寄生生物引起;折叠、分类及降解;细胞群;转运及分解代谢;外源物质生物降解及代谢;其它氨基酸代谢;全面概况图。B 为 95% 置信度区间内功能丰度的差异比例。

A shows the sample abundance ratio. B shows the difference ratio of the functional abundance in the 95% confidence interval.

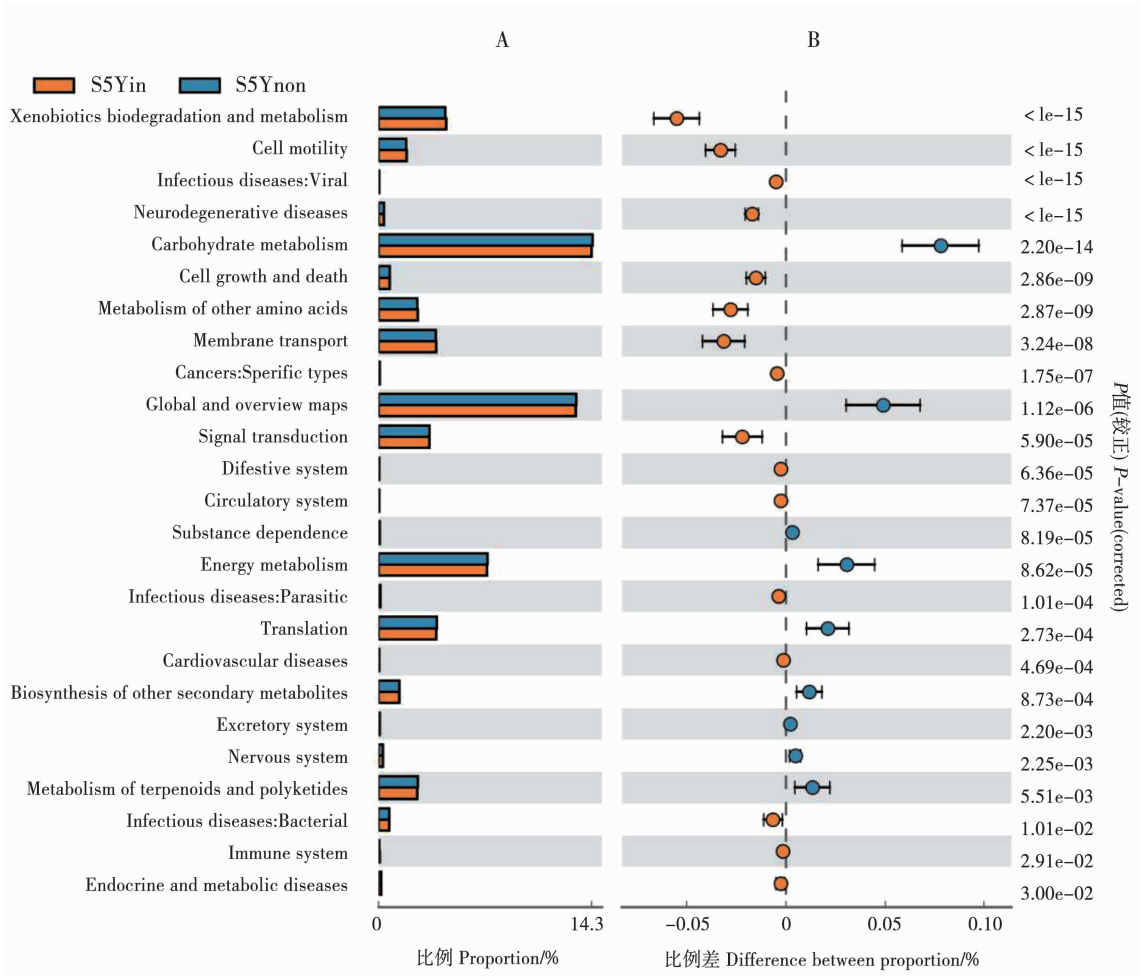
图 6 土样连作 3 年 KEGG 代谢途径差异图

Fig. 6 EGG metabolic pathway difference of soil sample continuous cropping 3 years

2.4.4 连作 5 年土样 KEGG 代谢途径差异分析

图 7 表明试验组连作 5 年土样的异生素生物降解和新陈代谢功能、氨基酸代谢和信号转导等功能强于对照组。以上 KEGG 代谢途径差异分析证实接种

AM 真菌能提升部分连作大豆根际土壤细菌的代谢功能,帮助作物积累物质,促进作物生长,起到缓解连作障碍的效果。



A 为样品丰度比例。A 纵坐标代谢途径依次为:外源生物降解与代谢;细胞能动性;传染病:病毒引起;神经退行性疾病;碳水化合物代谢;细胞生长及死亡;其它氨基酸代谢;膜转运;癌症:特定种类;全面概况图;信号传导;消化系统;血液循环系统;物质依赖性;能量代谢;传染病:寄生物引起;翻译;心血管疾病;其它次级代谢物的生物合成;排泄系统;神经系统;萜类及聚酮类化合物代谢;传染病:细菌引起;免疫系统;内分泌及分解代谢。B 为 95% 置信度区间内功能丰度的差异比例。

A shows the sample abundance ratio. B shows the difference ratio of the functional abundance in the 95% confidence interval.

图 7 土样连作 5 年 KEGG 代谢途径差异图

Fig. 7 KEGG metabolic pathway difference of soil sample continuous cropping 5 years

3 讨论

本研究对连作大豆土壤样品进行 Miseq 高通量测序,发现随着连作年限升高,测序得到细菌丰度、多样性和 OTU 数量逐年减少,菌群多样性水平呈下降趋势。通过对细菌菌群分析得知,连作土壤优势菌属 *RB41*、*Sphingomonas*、*Aeromicrobium* 和 *Gemmatimonas* 的丰度,以及 *Nitrospira*、*Lysobacter*、*Bacillus* 和 *Nitrobacter* 等有益菌丰度均逐年减少随着连作年限

增加逐年减少。林茂兹等^[20]对太子参 (*Pseudostellaria heterophylla*) 的研究和刘晔等^[21]对烟草 (*Nicotiana tabacum*) 的研究,证实了土壤中的细菌数量会随着连作年限的增加而显著下降。研究证实黄花蒿 (*Artemisia annua*) 连作不仅使土壤细菌数量减少、菌群结构发生变化,还减少了氮素转化相关、参与土壤硝化作用的 *Nitrospira* 数量^[22],本研究也表明氮的氧化过程中起主要作用的 *Nitrospira* 和 *Nitrobacter*^[23-24] 的丰度随着连作逐年降低。Liu 等^[25]

研究发现大棚黄瓜的连作不仅削弱了细菌群落中物种的相互作用,还减少了参与氨化作用的 *Bacillus* 相对丰度。综上,连作对土壤细菌菌群的结构造成显著影响,并降低了细菌菌群之间的复杂性和关联性。

连作大豆土壤接种 AM 真菌后,土壤中 ACE、Shannon 和 Chao1 指数升高,说明 AM 真菌在一定程度上增加了土壤细菌菌群的丰富度和多样性指数。该结果与孙秀秀等^[26]研究相似,在灭菌连作黄瓜土壤中接种 AM 真菌后,土壤中速效养分含量和细菌的数量均有增多。研究表明在西瓜 (*Citrullus lanatus*) 连作土壤中施加 AM 真菌后,土壤细菌数量显著高于对照组,土壤酶活性也呈上升趋势^[27]。接种 AM 真菌后,*Sphingomonas*、*Gemmatimonas* 和 *Nitrospira* 的菌属丰度升高,对土壤病原菌有强大拮抗作用的 *Lysobacter* 丰度也有所提升^[28]。AM 真菌与大豆共生,可以扩增大豆根际吸收面积,促进其生长和对营养元素的吸收。Miransari 等^[29]研究发现 AM 真菌可以和 *Bacillus*、*Nitrospira* 等植物根际促生菌 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) 相互作用,促进宿主植物生长,增强固氮能力以及对土壤营养元素的摄取。AM 真菌能够增加连作大豆土壤中有益菌丰度、促进植物吸收土壤养分,改善土壤微生物环境,起到缓解连作障碍的作用。

通过 KEGG 代谢途径分析,观测不同连作大豆土壤试验组与对照组之间细菌群落的功能基因在代谢途径上的差异和变化,得知 AM 真菌能显著改善根际细菌群落生物降解、新陈代谢功能,强化信号转导、膜转运和碳水化合物代谢等功能,可以为大豆的生长提供物质和能量基础。Toljander 等^[30]和 Johansson 等^[31]研究证实 AM 真菌能直接或间接地影响与根部相关的细菌群落,其菌丝体分泌物能增强细菌的生长和活力。但是 AM 真菌影响土壤细菌菌群代谢功能的机制需要更精细的进一步研究。

4 结 论

本研究表明大豆土壤在连作之后,土壤细菌群落的多样性指数和优势菌属丰度均呈下降趋势,土壤中 *Nitrospira*、*Lysobacter*、*Bacillus* 和 *Nitrobacter* 等有益菌丰度随着连作年限增加而逐年减少。接种 AM 真菌后,提高了土壤细菌群落的多样性指数和丰富度,改善了根际土壤的细菌多样性和物种丰富度,还增加了 *Sphingomonas*、*Nitrospira* 和 *Lysobacter* 等有益菌的丰度。AM 真菌不仅能改善根际细菌群

落生物降解,增强新陈代谢功能、强化信号转导、膜转运和碳水化合物代谢等功能,还能帮助作物积累物质,促进作物生长,起到缓解连作障碍的效果。

参考文献

[1] 李天来, 杨丽娟. 作物连作障碍的克服 - 难解的问题[J]. 中国农业科学, 2016, 49(5): 916-918. (Li T L, Yang L J. Overcoming the crop continuous cropping obstacles-incomprehensible problem [J]. Chinese Agricultural Science, 2016, 49 (5): 916-918.)

[2] Xiong W, Li Z, Liu H, et al. The effect of long-term continuous cropping of black pepper on soil bacterial communities as determined by 454 pyrosequencing[J]. PLoS One, 2015, 10(8): 1-13.

[3] Bai L, Sun H B, Liang R T, et al. ITRAQ proteomic analysis of continuously cropped soybean root inoculated with *Funneliformis mosseae*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10(61): 1-13.

[4] 陈雪丽. 黑土区连作大豆根际微生物群落特征研究[D]. 哈尔滨: 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 2015. (Chen X L. Characteristics of rhizosphere microbial community in continuous cropping of soybean in black soil region[D]. Harbin: Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, 2015.)

[5] Chen X, Wang Y, Li W, et al. Impact of long-term continuous soybean cropping on ammonia oxidizing bacteria communities in the rhizosphere of soybean in northeast China[J]. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science, 2015, 65(5): 470-478.

[6] 王晋莉. 大豆连作条件下的根际细菌与氨氧化微生物群落特征及其影响因素[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 1-87. (Wang J L. Characteristics of rhizosphere bacteria and ammonia-oxidizing microbial community under soybean continuous cropping and its influencing factors[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014: 1-87.)

[7] 刘小龙, 马建江, 管吉钊, 等. 连作对棉田土壤枯、黄萎病菌数量及细菌群落的影响[J]. 棉花学报, 2015, 27(1): 62-70. (Liu X L, Ma J J, Guan J Z, et al. Effects of continuous cropping on the quantity and bacterial community of *Fusarium* and *Verticillium dahliae* in cotton soil [J]. Cotton Journal, 2015, 27 (1): 62-70.)

[8] 殷继忠, 李亮, 接伟光, 等. 连作对大豆根际土壤细菌菌群结构的影响[J]. 生物技术通报, 2018, 34(1): 230-238. (Yin J Z, Li L, Jie W G, et al. Effects of continuous cropping on bacterial flora structure of soybean rhizosphere soil [J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(1): 230-238.)

[9] 高群, 孟宪志, 于洪飞. 连作障碍原因分析及防治途径研究[J]. 山东农业科学, 2006(3): 66-69. (Gao, Q, Meng X Z, Yu H F. Analysis of causes of continuous cropping obstacle and research on prevention and treatment ways [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2006(3): 66-69.)

- [10] Xu H W, Shao H B, Lu Y. Arbuscular mycorrhiza fungi and related soil microbial activity drive carbon mineralization in the maize rhizosphere[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 182: 1-7.
- [11] 唐艳领, 李杰, 蔡毓新, 等. 丛枝菌根真菌对连作黄瓜根际土壤的影响[J]. *中国瓜菜*, 2018, 31(2): 15-18. (Tang Y L, Li J, Cai Y X, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on rhizosphere soil of cucumber[J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2018, 31(2): 15-18.)
- [12] 戴梅, 王洪炯, 殷元元, 等. 丛枝菌根真菌与根围促生细菌相互作用的效应与机制[J]. *生态学报*, 2008, 28(6): 2854-2860. (Dai M, Wang H X, Yin Y Y, et al. Effects and mechanisms of interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and root-promoting bacteria[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 28(6): 2854-2860.)
- [13] Bruno A, Sandionigi A, Galimberti A, et al. One step forwards for the routine use of high-throughput DNA sequencing in environmental monitoring. An efficient and standardizable method to maximize the detection of environmental bacteria[J]. *Microbiology Open*, 2017, 6(1): 1-9.
- [14] Lou J, Yang L, Wang H, et al. Assessing soil bacterial community and dynamics by integrated high-throughput absolute abundance quantification[J]. *Peer Journal*, 2018, 6(3): 1-16.
- [15] Qu L, Huang Y, Zhu C, et al. Rhizobia-inoculation enhances the soybean's tolerance to salt stress[J]. *Plant and Soil*, 2016, 400(1-2): 209-220.
- [16] Kong H H, Conlan S, Grice E A, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome[J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1190-1192.
- [17] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [18] Caporaso J G, Kuczynski J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [19] Parks D H, Tyson G W, Hugenholtz P, et al. Stamp: Statistical analysis of taxonomic and functional profiles[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(21): 3123-3124.
- [20] 林茂兹, 王海斌, 林辉锋. 太子参连作对根际土壤微生物的影响[J]. *生态学杂志*, 2012, 31(1): 106-111. (Lin M Z, Wang H B, Lin H F. Effects of radix *Pseudostellaria heterophylla* continuous cropping on rhizosphere soil microorganisms[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(1): 106-111.)
- [21] 刘晔, 姜瑛, 王国文. 不同连作年限对植烟土壤理化性状及微生物区系的影响[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(13): 136-140. (Liu Y, Jiang Y, Wang G W. Effects of different continuous cropping years on physical and chemical properties and microflora of tobacco growing soil[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(13): 136-140.)
- [22] 李倩, 袁玲, 杨水平, 等. 连作对黄花蒿生长及土壤细菌群落结构的影响[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(10): 1803-1810. (Li Q, Yuan L, Yang S P, et al. Effects of continuous cropping on the growth of *Artemisia annua* L. and soil bacterial community structure[J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 41(10): 1803-1810.)
- [23] Panthee S, Hamamoto H, Paudel A, et al. *Lysobacter*, species: A potential source of novel antibiotics[J]. *Archives of Microbiology*, 2016, 198(9): 839-845.
- [24] Raiman M P, Albino U, Cruz M F, et al. Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Drosera villosa* var. *villosa* and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Oryza sativa*) [J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35(1): 25-34.
- [25] Liu X, Li Y J, Ren X J, et al. Long-term greenhouse cucumber production alters soil bacterial community structure[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2019, 182(5): 1-16.
- [26] 孙秀秀, 贺超兴, 李衍素, 等. AM 真菌对黄瓜根围土壤微生物群落功能的影响[J]. *菌物学报*, 2017, 36(7): 892-903. (Sun X X, He C X, Li Y S, et al. Effects of AM fungi on soil microbial community function in cucumber roots[J]. *Journal of the Chinese Journal of Fungi*, 2017, 36(7): 892-903.)
- [27] 谢宏鑫, 刘润进, 孙吉庆, 等. AMF 与嫁接对西瓜连作土壤理化和微生物状况的影响[J]. *菌物学报*, 2018, 179(5): 89-96. (Effects of AMF and grafting on soil physical and chemical status and microbial status in continuous cropping of watermelon [J]. *Journal of Fungal Science*, 2018, 179(5): 89-96.)
- [28] Gómez E R, Joeke P, Raaijmakers J M, et al. Diversity and activity of *lysobacter* species from disease suppressive soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(1243): 1-13.
- [29] Miransari M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(4): 917-930.
- [30] Toljander J F, Paul L R, et al. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 61(2): 295-304.
- [31] Johansson J F, Paul L R, Finlay R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(1): 1-13.