

云南会泽地区草莓多年一栽制生产模式下产量下降原因探究

李双桃¹, 孙瑞^{1#}, 万红^{2#}, 隗永青¹, 吴瑞双¹, 董静¹, 常琳琳¹, 魏灵芝¹,
陶磅², 熊融¹, 钟传飞¹, 高用顺¹, 张宏力¹, 张运涛¹, 王桂霞^{1*}, 孙健^{1*}

(¹北京市农林科学院林业果树研究所·农业农村部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室·北京市草莓工程技术研究中心·北京市落叶果树工程技术研究中心·农业农村部华北都市农业重点实验室, 北京 100093; ²云南省农业科学院园艺作物研究所, 昆明 650205)

摘要:【目的】云南会泽地区为我国四季草莓主产区, 主要采取多年一栽模式, 即一次定植连续多年收获, 后期产量逐年下降, 多年生产后重新定植连作障碍问题十分严重。解析草莓多年一栽生产模式下的产量下降原因, 能够为该模式提质升级和可持续发展提供理论基础。【方法】在盛果期对不同生产年份土壤取样, 检测土壤有机质含量、pH、电导率以及主要矿质养分含量并比较分析; 提取土壤微生物DNA, 通过高通量测序分析细菌和真菌群落结构和功能变化, 并与土壤理化性状进行相关性分析。【结果】多年一栽模式下, 土壤pH平均每年下降0.87, 土壤电导率(EC)每年上升60.40%, 第四年土壤有机质含量下降超过59%。微生物群落多样性逐年降低, 第4年土壤微生物Chao1指数下降41.8%, 真菌多样性下降52.5%; N循环相关细菌的相对丰度降低, 大多数C循环与N循环细菌丰度与土壤有机质含量呈正相关, 而与土壤EC呈负相关。同时, 随着收获年限增加, FUNGuild分析显示病原菌和腐生菌相对丰度呈增加趋势, 其中镰孢菌属为最主要病原菌, 同时有益菌如共生真菌和丛枝菌根真菌相对丰度显著降低。【结论】会泽地区特殊的栽培模式导致土壤酸化、土壤盐渍化、有机质亏缺、土壤微生物群落结构失衡, 从而导致土壤退化和草莓减产。

关键词: 草莓; 多年一栽模式; 产量下降; 土壤退化

中图分类号: S668.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2025)02-0376-15

Exploration of the reasons for yield decline in the perennial harvesting model of strawberries in Huize county of Yunnan province

LI Shuangtao¹, SUN Rui^{1#}, WAN Hong^{2#}, WEI Yongqing¹, WU Ruishuang¹, DONG Jing¹, CHANG Linlin¹, WEI Lingzhi¹, TAO Pang², XIONG Rong¹, ZHONG Chuanfei¹, GAO Yongshun¹, ZHANG Hongli¹, ZHANG Yuntao¹, WANG Guixia^{1*}, SUN Jian^{1*}

(¹Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Forestry and Pomology Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Beijing Engineering Research Center for Strawberry/Beijing Engineering Research Center for Deciduous Fruit Trees/Key Laboratory of Urban Agriculture (North China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100093, China; ²Horticultural Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan, China)

Abstract: 【Objective】Strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) are typically planted annually with annual disinfection treatments to suppress pests and diseases. In contrast, strawberries are cultivated perennially in Huize, Yunnan, China, fruits can be harvested for 3–5 years after planting. This strategy results in low carbon emissions and significantly reduces the labor input and the cost of nursery supplies, chemical fumigants, and plastic film. Under this cultivation system the yield and profits of strawberry decreases from the third year after planting, and the production becomes unprofitable in the fifth year.

收稿日期: 2024-09-04

接受日期: 2024-11-11

基金项目: 现代农业产业技术体系(CARS-24-A-14); 北京农林科学院科技创新能力建设专项基金(KJCX20230118)

作者简介: 李双桃, 女, 助理研究员, 博士, 主要从事草莓非生物胁迫响应机制研究。E-mail: lishuangtao90@163.com。#为共同第一作者。

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: sjroad@126.com; E-mail: wgxia1972@163.com

Soil degradation is suspected to be the reason for the inability to sustain stable production. This study aimed to survey the factors affecting the soil degradation in perennial cultivation (PC) area. **【Methods】** We examined the soil nutrient traits and the microbial structure of four strawberry fields following perennial cultivation in this area, the SOM (Soil organic matter) content, pH, and key mineral nutrient contents of the strawberry (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, and Mo) were assessed. The soil microbial community was analyzed by high-throughput amplicon sequencing based on Illumina MiSeq PE300 platform. The soil microbial functions were predicted to determine the effects of PC on soil microbial communities. The microbial function focusing on C-cycling and N-cycling processes were assessed to determine the soil productivity tendency. **【Results】** Our results indicated that PC resulted in significant soil acidification, salinization, and organic matter deficiency. The average soil pH was 5.58 ± 0.67 in the first year and decreased to 4.35 ± 0.53 , 3.57 ± 0.28 , and 2.98 ± 0.04 in the second, third, and fourth years, respectively. The average SOM content was $0.66\% \pm 0.14\%$ in the first year and $0.27\% \pm 0.03\%$ in the fourth year (a 25.6% decrease per year). The average soil EC was 328.5 ± 113.3 in the first year and 923.7 ± 158 in the fourth year (a 41.1% increase per year). The Ca content showed a generally decreasing trend at most sites, and the lowest Ca content was found in the fourth harvesting year of JC1 (Jiache Town 1, $0.878 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 74.4% lower than that in the first harvesting year). PC also significantly affected the soil microbial community. The Chao1 richness, Shannon, and ACE indices of the bacterial communities in the soils differed significantly among the harvesting years. The Chao1 richness decreased significantly by 13.6% from the first to the second harvesting year, 38.2% to the third harvesting year, and 41.8% to the fourth harvesting year. The greatest decline in the Chao1 richness index was observed in the fourth harvesting year of JC1 (52.2%) and the third harvesting year of JC2 (Jiache Town 2, 52.5%). The Chao1 richness and ACE indices for fungal diversity differed among the harvesting years at all sites except for XJ (Xinjie Street). The ACE index decreased by 28.7% from the first to the second year of DB (Daibu Town), 25.0% from the first to the second year of JC2, and 31.7% from the second to the third year of JC1. The fungal diversity of XJ was lower than those at the other three sites. The average ACE index of the XJ samples was 578.7, which was 37.2% lower than that of DB, 25.5% lower than that of JC1, and 33.2% lower than that of JC2. The relationship between the microbial community and environmental variables was analyzed by RDA. The RDA1 (34.33%) and RDA2 (21.96 %) explained 56.29% of the total variation in bacterial community structure. For fungi, the RDA1 (26.21%) and RDA2 (12.98 %) explained 39.19% of the total variation. The SOM, pH, and EC were the dominant contributors to the variation of bacterial community, accounting for 59.8%, 58.9%, and 51.8%, respectively. The soil EC and SOM were the most important contributors to the variation of fungal community, accounting for 83.3% and 82.7%, respectively. FAPROTAX was utilized to determine the functional effects of PC on the bacterial community. The relative abundance of N-cycling processes related bacteria showed a decreasing trend. The correlation analysis showed that most C-cycling and N-cycling processes were significantly positively correlated with the SOM content and negatively correlated with the EC, whereas most C-cycling processes was significantly positively correlated with pH. The FUNGuild analysis showed a significantly decreasing trend for that relative abundance of symbiotroph fungi and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), and the relative abundance of *Fusarium*, the main pathotroph of strawberry, showed a significantly increasing trend. **【Conclusion】** The PC of strawberries resulted in significant soil acidification, salinization, SOM deficiency, and shaped microbial community structures. Of both bacteria and fungi, the community diversity decreased by year, while symbiotroph fungi and AMF showed a significantly decreasing trend in the PC. The soil microbial function prediction suggested that PC reduced the N cy-

cles related bacterial functions, while most C-cycling and N-cycling processes were positively correlated with the SOM, and negatively correlated with the EC. The PC of strawberries showed a significant negative impact not only on soil physicochemical properties but also on microbial community and function. Thus, for this perennial cultivation strategy of strawberries, maintaining soil physicochemical properties and soil microbial structure and function would be the key problem to solve for sustainable development.

Key words: Strawberry; Perennial harvesting; Yield decline; Soil degradation

草莓是世界各地广泛种植的浆果,我国已经是世界第一草莓生产大国,大部分地区为冬春季生产。自2012年以来,我国四季草莓生产迅速发展,目前面积已达6700 hm²,有效填补了夏季草莓鲜果供给缺口。云南省会泽县是我国四季草莓主产区,产量全国占比超过70%^[1],该区1月平均气温在4.6℃左右,既能够保障草莓自然越冬又能够打破植株休眠,从而实现多年结果。该地区四季草莓生产主要采用多年一栽模式,一次定植后可以收获3~7 a(年),显著减少了劳动力投入和生产苗用量,是一种低成本和相对低碳的生产模式。草莓是连作障碍现象最明显的果树,在普遍的一年一栽制生产模式下,主要表现为成活率下降、长势不整齐、结果期推迟、产量低、品质下降和病害多发等现象。在不消毒的情况下,草莓重茬死苗问题严重,部分重茬栽培地死苗在70%以上,3~4次补苗仍难以补齐,严重影响经济效益^[2]。发达国家草莓生产长期以化学熏蒸处理重茬土^[3],主要使用溴化甲烷和氯化苦等熏蒸剂,但该方法也将大多数微生物杀死,对致病微生物不具有选择性,同时降低有益微生物水平。目前我国一年一栽制草莓生产中,普遍采用夏季高温期闷棚配合使用石灰氮^[4]。在云南会泽地区的多年一栽制生产模式下,从第3年开始普遍出现草莓产量下降、病害多发问题,拉秧后重新定植出现严重的死苗等连作障碍问题。由于该地区多采用秋冬季收获期结束后整地、次年早春定植的生产模式,不具备高温闷棚作业的条件,因此解析该地区草莓生产土壤的退化机制对优化栽培措施、减缓重茬危害十分必要。

笔者在会泽县选取4个取样点,对多年一栽制草莓生产园土壤的有机质(soil organic matter, SOM)含量、土壤电导率(electrical conductivity, EC)、pH和矿质养分(N、P、K、Ca、Fe、Mn、Mg、Cu、Zn和Mo)含量进行了检测。基于Illumina MiSeq PE300平台,通过高通量扩增子测序分析土壤微生物

群落、预测土壤微生物功能,以确定多年一栽制草莓生产对土壤微生物群落结构和碳循环、氮循环过程微生物功能的影响,综合解析土壤生产力退化的原因,以期为该地区草莓优质高产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地点位于云南省会泽县,属典型的温带高原季风气候,年平均晴日225 d,年日照2100 h,年平均气温12.7℃,年均降雨量54亿m³。其中待补镇海拔2600 m、驾车乡海拔2400~2460 m,新街街道海拔2260 m。

1.2 材料

采样园区土壤均为红壤土,前茬作物均为玉米;种植草莓品种均为蒙特瑞,草莓生产在南北向钢架大拱棚设施进行避雨栽培,首次定植每666.7 m²加入发酵农家肥4~5 t,按照垄高55 cm、上部垄面宽度35 cm、基部垄面宽度45 cm的梯形高垄起垄。3月中旬双行定植,90 000~97 500株·hm²,采用滴灌进行肥水一体化管理,肥料以化肥为主,每公顷每年使用20-20-20 NPK硫酸钾型水溶平衡肥0.75~1.2 t,高钾型水溶平衡肥0.9~1.2 t。每年果品生产至11月结束,然后去除棚膜,植株自然越冬后去除老叶,进行病虫害管理和植株修整,进入下一年度生产管理。

1.3 试验设计

选择待补镇(DB)、驾车乡1(JC1)、驾车乡2(JC2)、新街街道(XJ)的4个草莓园区不同连作年限的土壤进行试验。待补镇园区取种植1~4 a(年)土壤(DB Year 1, DB Year 2, DB Year 3, DB Year 4),驾车乡园区分别取种植1~4 a土壤(JC1 Year 1, JC1 Year 2, JC1 Year 3, JC1 Year 4)及1~3 a土壤(JC2 Year 1, JC2 Year 2, JC2 Year 3),新街街道园区取种植1~3 a土壤(XJ Year 1, XJ Year 2, XJ Year 3)。

1.4 测定指标样品采集及测定方法

取样均在7月盛果期进行,在每个园区采集不同收获年份的土壤样品,在南北方向相邻的两株草莓中间点以土钻取样,随机选择6个采样点进行混合取样作为1份样品,每个园区单个收获年份采样3份,取样深度0~20 cm。土壤样品过2 mm筛后冷藏保存运输至实验室用于进一步分析。样品分为两部分,分别用于土壤DNA提取和化学性质分析。园区草莓单位面积年产量为4月底至11月底累计值。

土壤样品阴干后进行土壤电导率、pH和N、P、K、Ca、Fe、Mn、Mg、Cu、Zn、Mo等矿质养分含量测定,使用改进的凯氏定氮法(Kjeldahl方法)和中国国家标准系统(HJ 717—2014)测量总N含量^[5]。使用电感耦合等离子体(inductively coupled plasma, ICP)光谱法和中国国家标准系统(HJ 803)分析P、K、Ca、Fe、Mn、Mg、Cu、Zn和Mo等其他元素的含量^[6]。

1.5 土壤微生物结构分析

使用E.Z.N.A.®土壤DNA试剂盒(Omega Bio-tek,美国)从42个样品中提取总DNA。使用NanoDrop® Lite Plus分光光度计(Thermo Scientific Inc.,美国)和1.0%琼脂糖凝胶电泳确定DNA的质量和浓度。使用引物对338F(ACTCCTACGGGAG-GCAGCAG)和806R(GGACTACHVGGGTWTC-TAAT)扩增细菌16S rRNA V3-V4区,使用ITS1-1F(CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA)和ITS2R(GCTGCGTTCTTCATCGATGC)扩增真菌ITS1区。PCR(Polymerase Chain Reaction,聚合酶链式反应)反应体系和扩增循环条件参照前人研究工作^[7]。

PCR产物以2%琼脂糖凝胶提取和纯化,使用GenElute™凝胶提取试剂盒(Sigma-Aldrich Co.,美国);使用NanoDrop® Lite Plus分光光度计(Thermo Scientific Inc.,美国)定量。将纯化的扩增子以等摩尔量混合,并按照Majorbio Bio-Pharm Technology Co. Ltd.(上海,中国)使用的标准方法在Illumina MiSeq PE300平台上测序。

获得的原始数据通过质控、过滤、去重,利用UPARSE 7.1根据97%的序列相似性水平将优化序列聚类成OTUs(operational taxonomic units)^[8]。使用RDP 2.2进行OTU的分类学信息分析^[9],并与16S rRNA基因数据库(silva138/16s_bacteria)或ITS数据库(unite8.0/its_fungi)进行比对,以0.7作为置

信度阈值。使用HMMER、EPA-NG和Gapp对OTU代表性序列对齐和比较。使用BugBase预测细菌群落的表型功能,并使用FAPROTAX(Functional Annotation of Prokaryotic Taxa)预测细菌群落的功能变化^[10]。使用FUNGuild预测真菌群落功能^[11]。

1.6 数据分析

本研究中土壤的基本生物信息学分析是在Majorbio云平台(<https://cloud.majorbio.com>)上进行的。从OTU信息中获得稀释曲线,使用Mothur v1.30.1计算 α 多样性指数^[12]。使用Vegan v2.5-3包进行主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)和冗余分析(redundancy analysis, RDA)^[13],以研究微生物群落相似性和对土壤物理化学性质的响应。

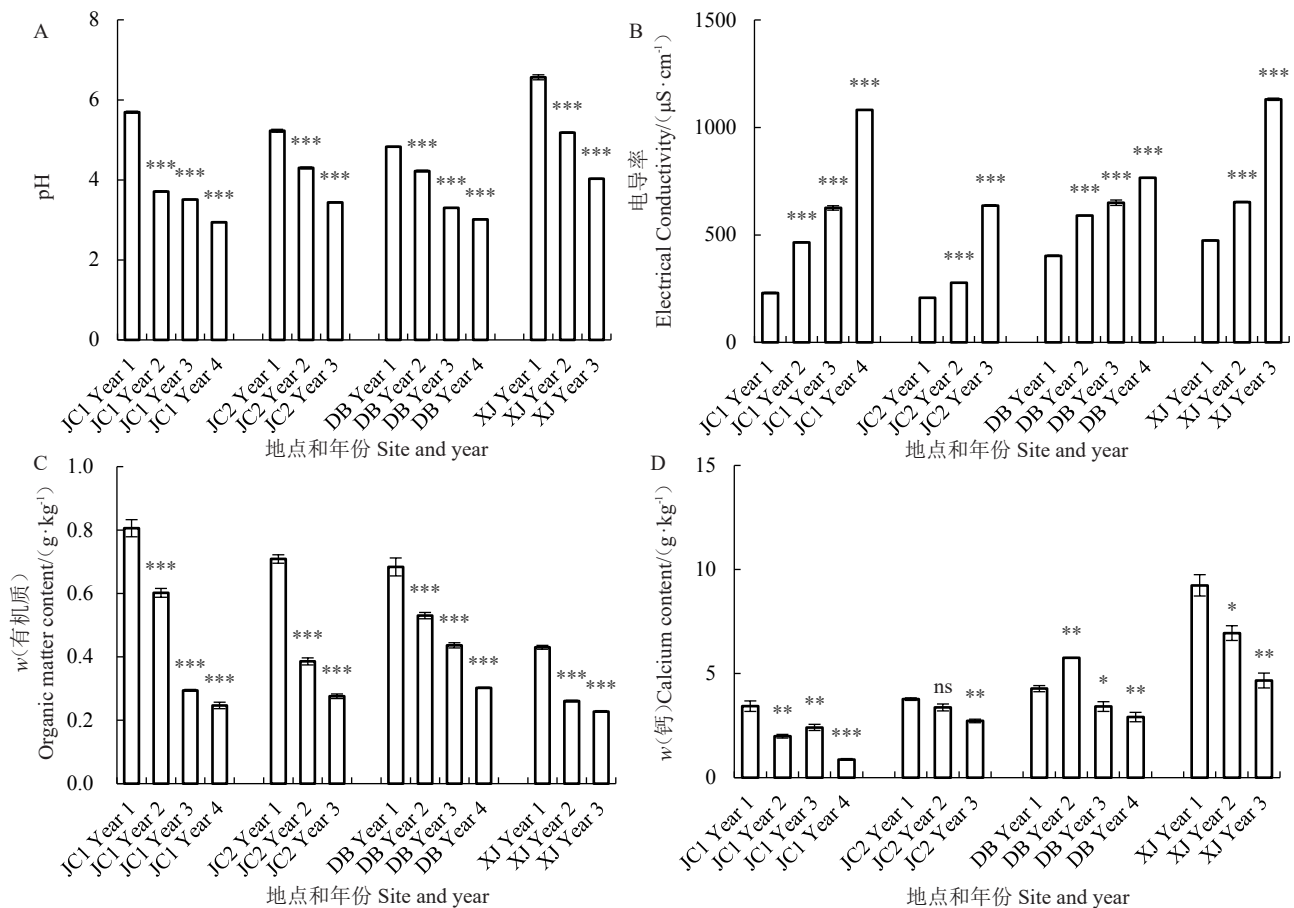
2 结果与分析

2.1 草莓多年一栽模式对土壤化学性质的影响

由图1可以看出,所有测试园区的土壤pH和SOM含量从第一年到第四年呈现显著下降趋势,而土壤EC呈显著上升趋势。第一年土壤平均pH为5.58,在第二年、第三年和第四年分别下降到4.35、3.57和2.98。SOM含量在第一年为0.66%,在第四年为0.27%,平均每年下降0.13个百分点。土壤EC在第一年为328.5 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$,在第四年为923.7 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$,平均每年增加60.40%,以上结果表明多年生产导致土壤有机质含量降低、土壤酸化和盐渍化。同时,大多数园区的Ca含量总体呈下降趋势,最低的Ca含量出现在JC1第四年(0.878 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,比第一年低74.4%)。

如图2所示,与第一年相比,随着草莓种植年限的延长,JC1土壤中总N和P含量先升后降再升,Fe和Cu含量先降后升,K和Zn含量先升后降;JC2土壤中N、P、Fe、Mn含量下降,Mg含量上升;DB土壤中N、P、K含量先降后升,Fe、Mg、Mn、Zn、Cu含量先升后降;XJ土壤中K含量上升,Fe、Mg、Mn、Zn、Cu、Mo含量下降。各取样点土壤矿质含量变化趋势各异可能是管理措施差异所致。

土壤化学性质参数的相关性分析表明,pH与SOM含量呈显著正相关($R=0.502$),EC与pH呈显著负相关($R=-0.573$);EC与SOM含量呈显著负相关($R=-0.769$)。总N含量($R=-0.428$)和P含量($R=-0.583$)与pH呈显著负相关;Mg含量与pH呈显著正相关($R=0.410$)。K含量与EC呈显著正相关



JC. 驾车乡; DB. 待补镇; XJ. 新街街道. Year 1, Year 2, Year 3 和 Year 4 表示收获年份, *, ** 和 *** 分别表示在 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 和 $p < 0.001$ 水平上的显著差异. 下同.

JC. Jiache Town. DB. Daibu Town; XJ. Xinjie Street. Year 1, Year 2, Year 3, and Year 4 indicated the harvesting years. *, **, and *** indicate significant difference at $p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively. The same below.

图 1 土壤化学性质分析

Fig. 1 Variations of soil physicochemical property parameters

($R=0.537$); Fe 含量($R=-0.512$), Cu 含量($R=-0.441$), Zn 含量($R=-0.484$)和 Mo 含量($R=-0.521$)与 EC 呈显著负相关。

2.2 不同年份草莓栽培生产对土壤微生物多样性的影响

原始数据经过滤后,获得了 3 317 973 个细菌序列和 2 558 395 个真菌序列。在 97% 的相似性水平下,获得了 26 644 个细菌 OTUs 和 5264 个真菌 OTUs。细菌 OTUs 属于 47 个门、160 个纲、410 个目、679 个科和 1470 个属。真菌 OTUs 属于 16 个门、58 个纲、134 个目、319 个科和 727 个属。细菌群落的 Chao1 指数、Shannon 指数和 ACE (Abundance-based Coverage Estimator) 指数在收获年份之间显著不同(图 3-A~C), Chao1 指数第二年显著下降了 13.6%, 第三年下降了 38.2%, 第四年下降了 41.8%。

在 JC1 的第四年和 JC2 的第三年, Chao1 指数的最高降幅分别为 52.2% 和 52.5%。在除 XJ 外的取样点, 真菌多样性的 Chao1 指数和 ACE 指数在不同生产年份之间存在显著差异。从第一年到第二年, DB 取样点的 ACE 指数显著下降了 28.7%, JC2 显著下降了 25.0%, 从第二年到第三年, JC1 显著下降了 31.7%。XJ 的真菌多样性低于其他 3 个地点(图 3-D~F)。XJ 样本的平均 ACE 为 578.7, 比 DB1 低 37.2%, 比 JC1 低 25.5%, 比 JC2 低 33.2%。

细菌群落在门水平上的优势物种组成相似, 变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)和绿弯菌门(Chloroflexi)在所有土壤样本中占 61.1%~76.7%, 其他门细菌在第三年到第四年呈现下降趋势。与第一年相比, 酸杆菌门(Acidobacteriota)在 JC1 的第四年下降到 48.5%, 芽单胞菌门(Gem-

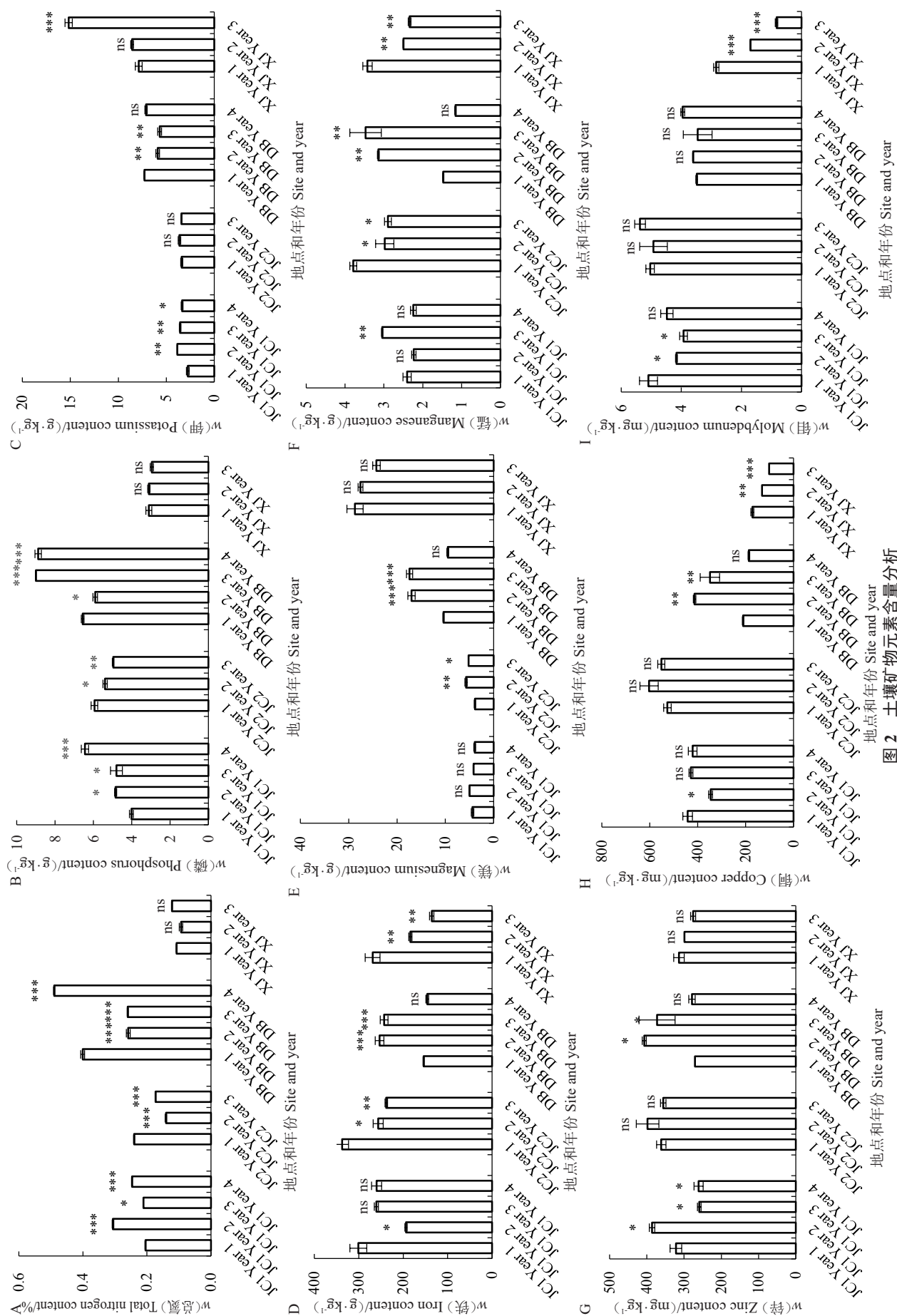


图2 土壤矿物元素含量分析

Fig. 2 Variations of soil mineral element content

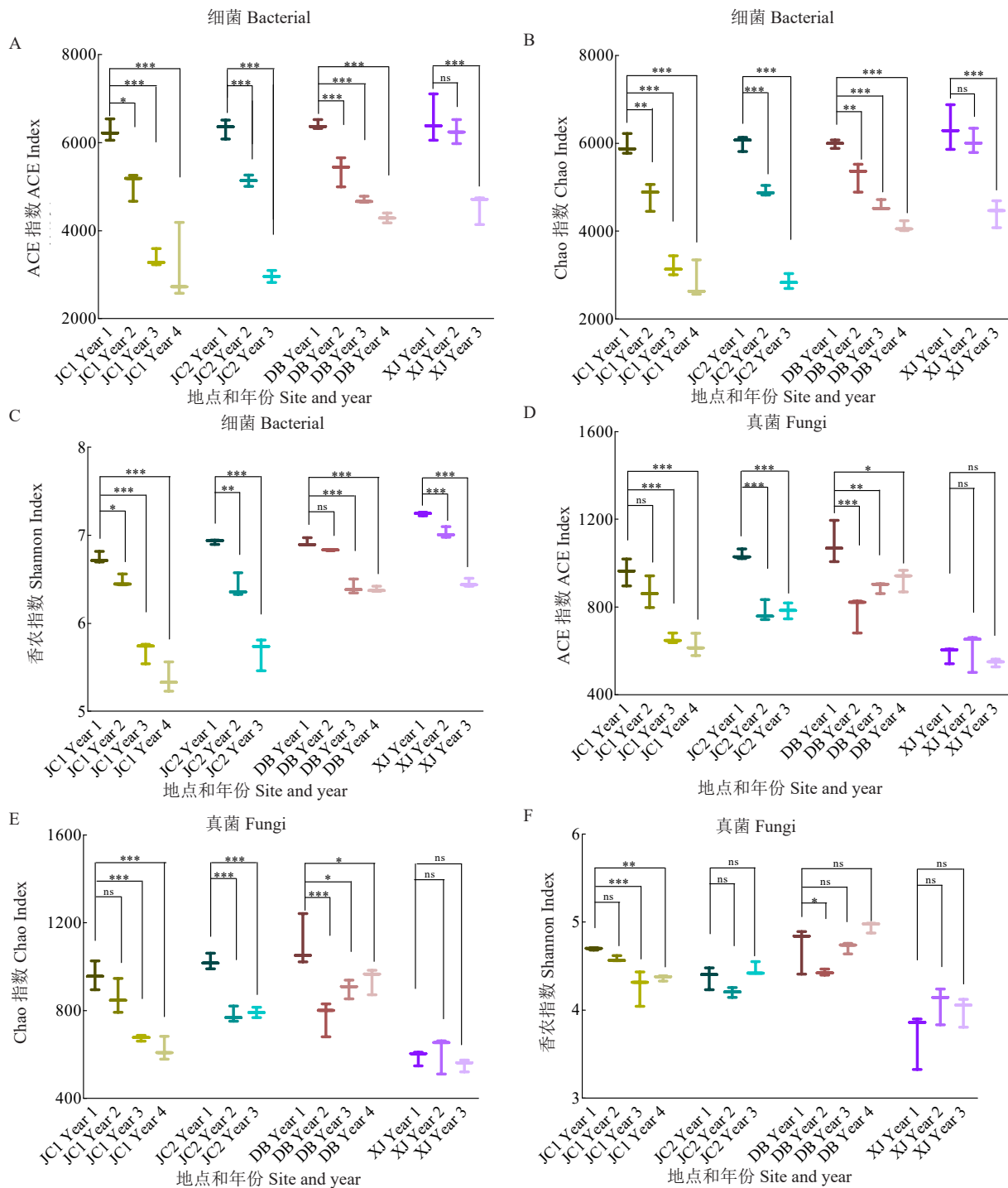


图3 细菌群落和真菌群落的 Alpha 多样性指数分析

Fig. 3 Analysis of α -diversity indices of bacteria and fungi

matimonadota)在JC2的第三年下降到20.2%，黏菌门(Myxococcota)和疣微菌门(Verrucomicrobiota)在JC1的第四年分别下降到4.3%和5.45%。值得注意的是,在DB和JC1,从第一年到第四年,厚壁菌门(Firmicutes)的比例分别增加了125.9%和181.1%(图4-A)。在所有土壤样本中,子囊菌门(Ascomycota)是门水平上的优势真菌,平均为71.1%。与第

一年相比,被孢霉门(Mortierellomycota)在JC1从30.0%下降到第四年的5.8%。壶菌门(Chytridiomycota)在3~4年的收获期间呈现下降趋势,在不同地点与第一年相比分别下降了24.4%和63.3%(图4-B)。

2.3 土壤化学性质与微生物群落结构的关联分析

通过RDA(图5-A,B)分析了微生物群落与环境

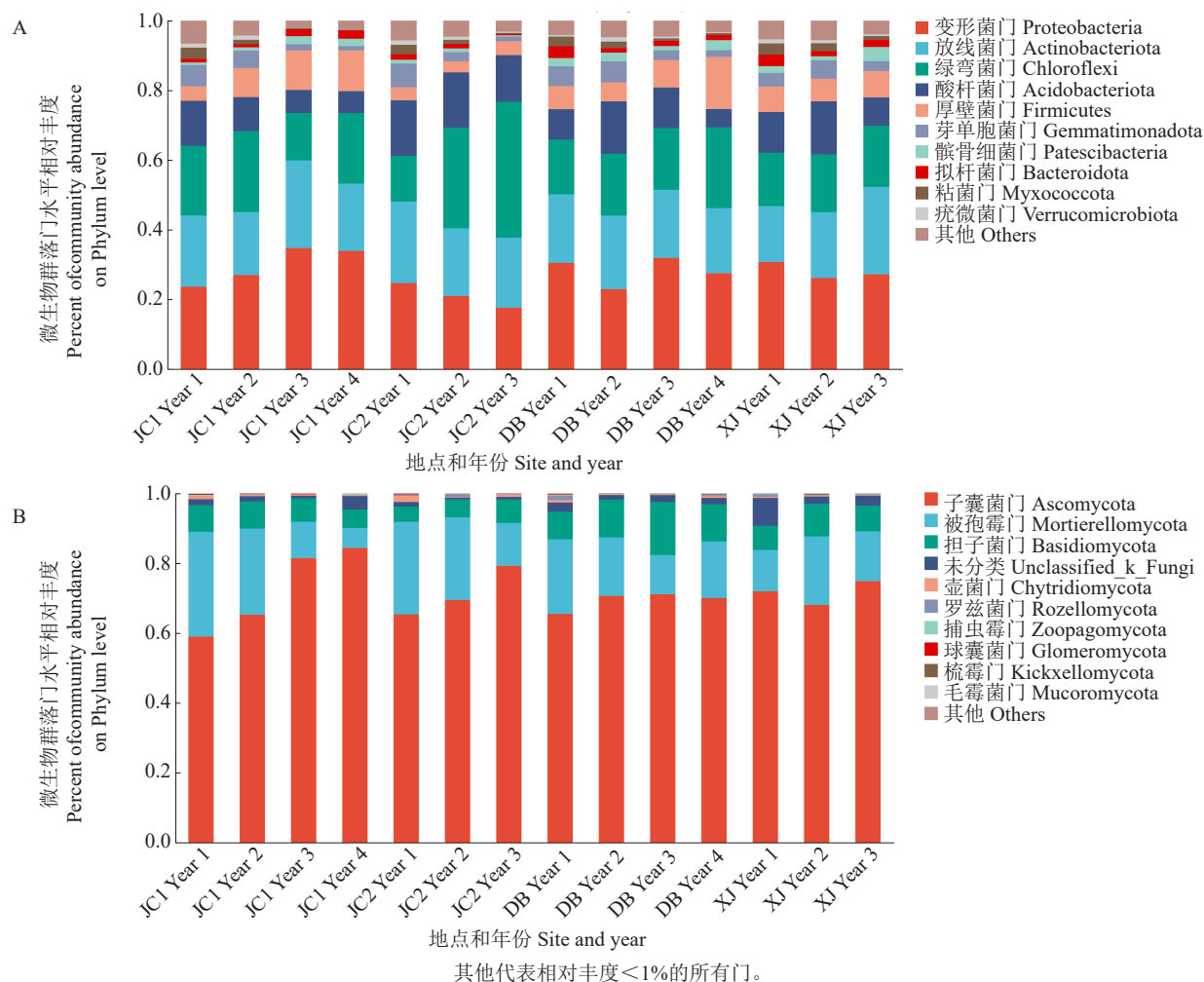


图4 土壤细菌(A)和真菌(B)群落中优势门的相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of the dominant phylum in soil bacterial (A) and fungal (B) communities

变量之间的关系。RDA1 和 RDA2 解释了细菌群落结构总变异的 56.29%。对于真菌群落结构, RDA1 和 RDA2 解释了总变异的 39.19%。SOM、土壤 pH 和土壤 EC 是细菌群落变异的主要贡献者, 分别占 59.8%、58.9% 和 51.8%。土壤 EC 和 SOM 是真菌群落变异的最重要贡献者, 分别占 83.3% 和 82.7%。

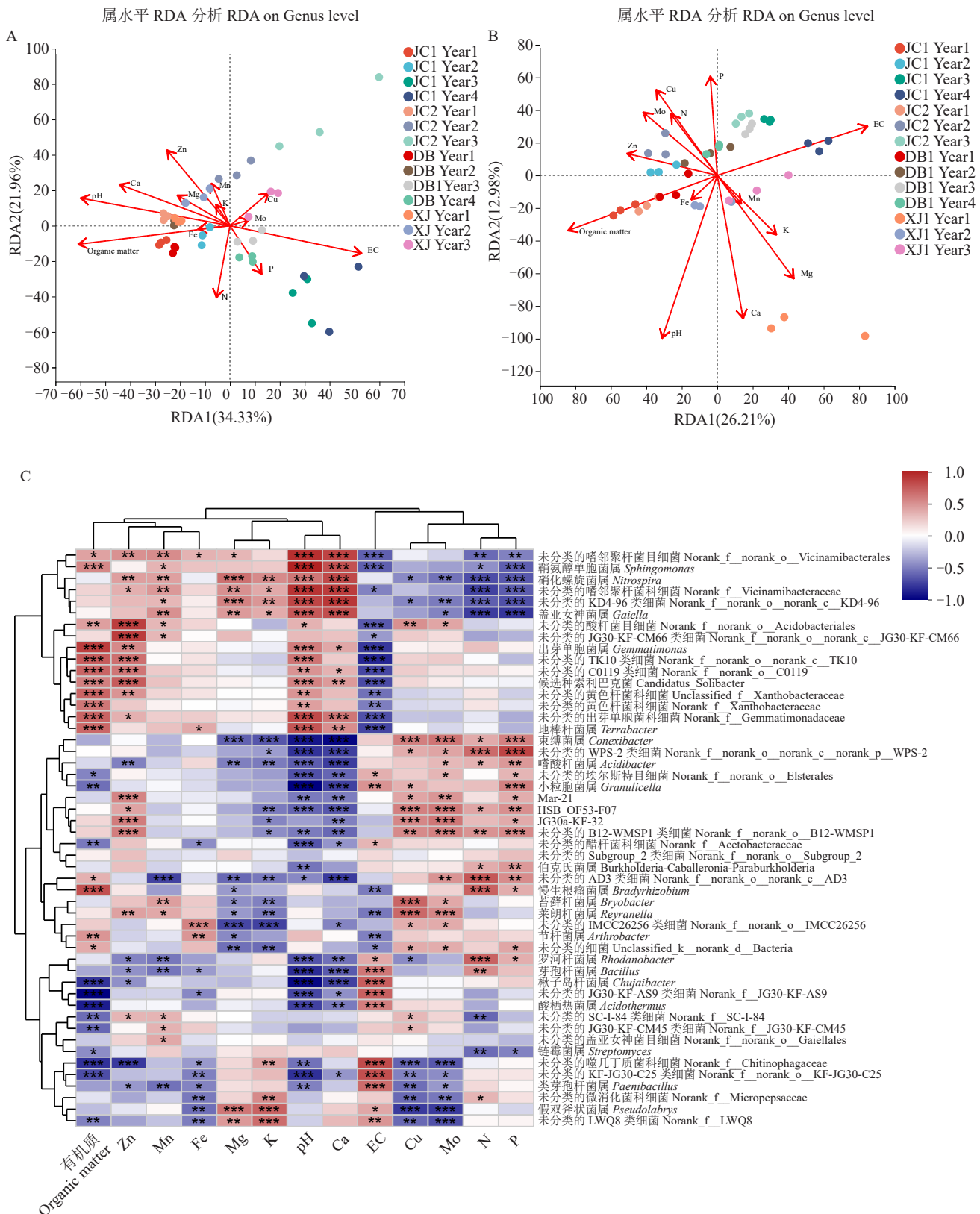
基于 Spearman 相关性分析, 图 5-C、D 显示了土壤性质与相对微生物丰度(属水平前 50)之间的关系。结果表明, 细菌属中芽单胞菌属(*Gemmatimonas*, $R=0.78$)、嗜酸栖热菌属(*Acidothermus*, $R=-0.74$)和慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, $R=0.71$)与 SOM 含量呈显著相关。鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, $R=0.89$)、*Granulicella* ($R=-0.83$)、*Chujai-bacter* ($R=-0.81$)和 *Conexibacter* ($R=-0.76$)与 pH 呈显著相关。*Chujai-bacter* ($R=0.66$)和 *Gemmatimonas* ($R=-0.64$)与 EC 显著相关。*Conexibacter* ($R=-0.81$)、

硝化螺旋菌属(*Nitrospira*, $R=0.74$)、*Gaiella* ($R=0.72$)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, $R=0.71$)与 Ca 含量呈显著相关。对于真菌属, 青霉属(*Penicillium*, $R=0.74$)、被孢霉属(*Mortierella*, $R=-0.70$)和木霉属(*Trichoderma*, $R=0.69$)与 EC 呈显著相关。青霉属(*Penicillium*, $R=-0.86$)、螺旋聚孢霉属(*Clonostachys*, $R=0.71$)和木霉属(*Trichoderma*, $R=-0.70$)与 SOM 含量呈显著相关。

2.4 草莓 4 年栽培生产对土壤微生物群落功能的影响

2.4.1 多年生产对细菌群落功能的影响

利用 BugBase 预测细菌群落的表型功能, 结果表明从第一年到第四年, 厌氧菌、兼性厌氧菌、革兰氏阴性菌和形成生物膜的细菌相对丰度呈现下降趋势; 潜在致病菌、逆境耐受菌等相对丰度呈现上升的趋势(图 6-A)。



土壤理化参数与土壤细菌群落(A)和土壤真菌群落(B)的 RDA 分析,土壤理化参数与土壤细菌群落(C)和土壤真菌群落(D)的 Spearman 相关性分析。

Analysis of soil physicochemical parameters and soil bacteria community (A), and soil fungi community (B). Analysis of soil physicochemical parameters and soil bacteria community (C), and soil fungi community (D).

图5 土壤微生物群落与土壤理化参数的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis of soil microbial community and soil physicochemical parameters

D

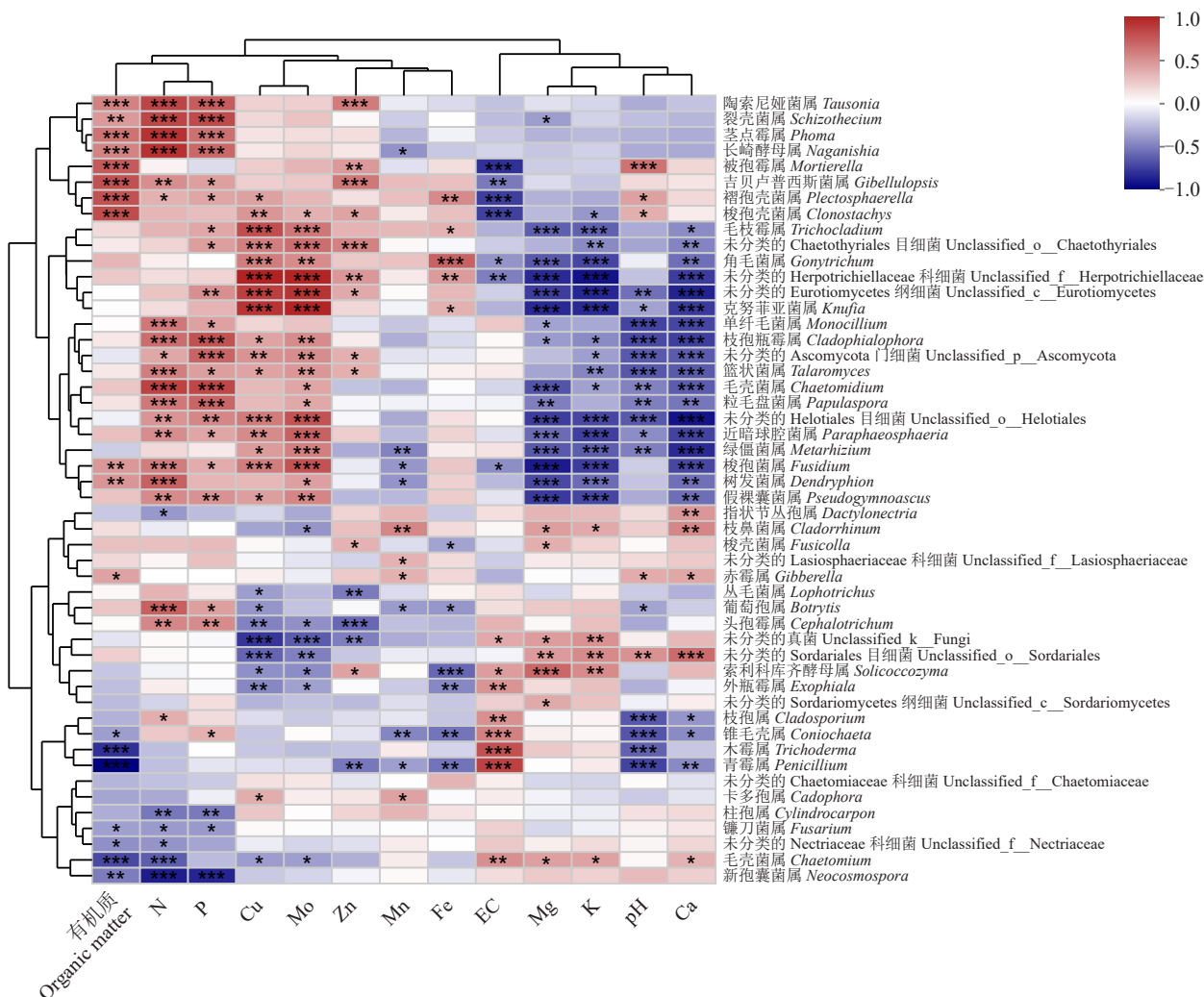


图5 (续) Fig. 5 (Continued)

利用FAPROTAX分析多年生产对细菌群落功能的潜在影响,结果表明,与C循环相关的细菌,如化学异养菌、好氧化学异养菌和纤维素分解菌的相对丰度呈现显著提高的趋势,而与芳香化合物降解、光养、光异养、烃降解和几丁质分解相关的细菌相对丰度呈现下降趋势(图6-B);与N循环相关的细菌,如硝酸盐还原菌、亚硝酸盐氮化菌和硝酸盐氮化菌的相对丰度呈现提高趋势,而与脲酶、固氮、反硝化、亚硝酸盐反硝化和一氧化二氮反硝化相关的细菌相对丰度呈现下降趋势(图6-C)。相关性分析表明,大多数C循环和N循环细菌相对丰度与SOM含量呈显著正相关,与EC呈负相关,并且大多数C循环过程细菌相对丰度与pH呈显著正相关(图6-D-E)。

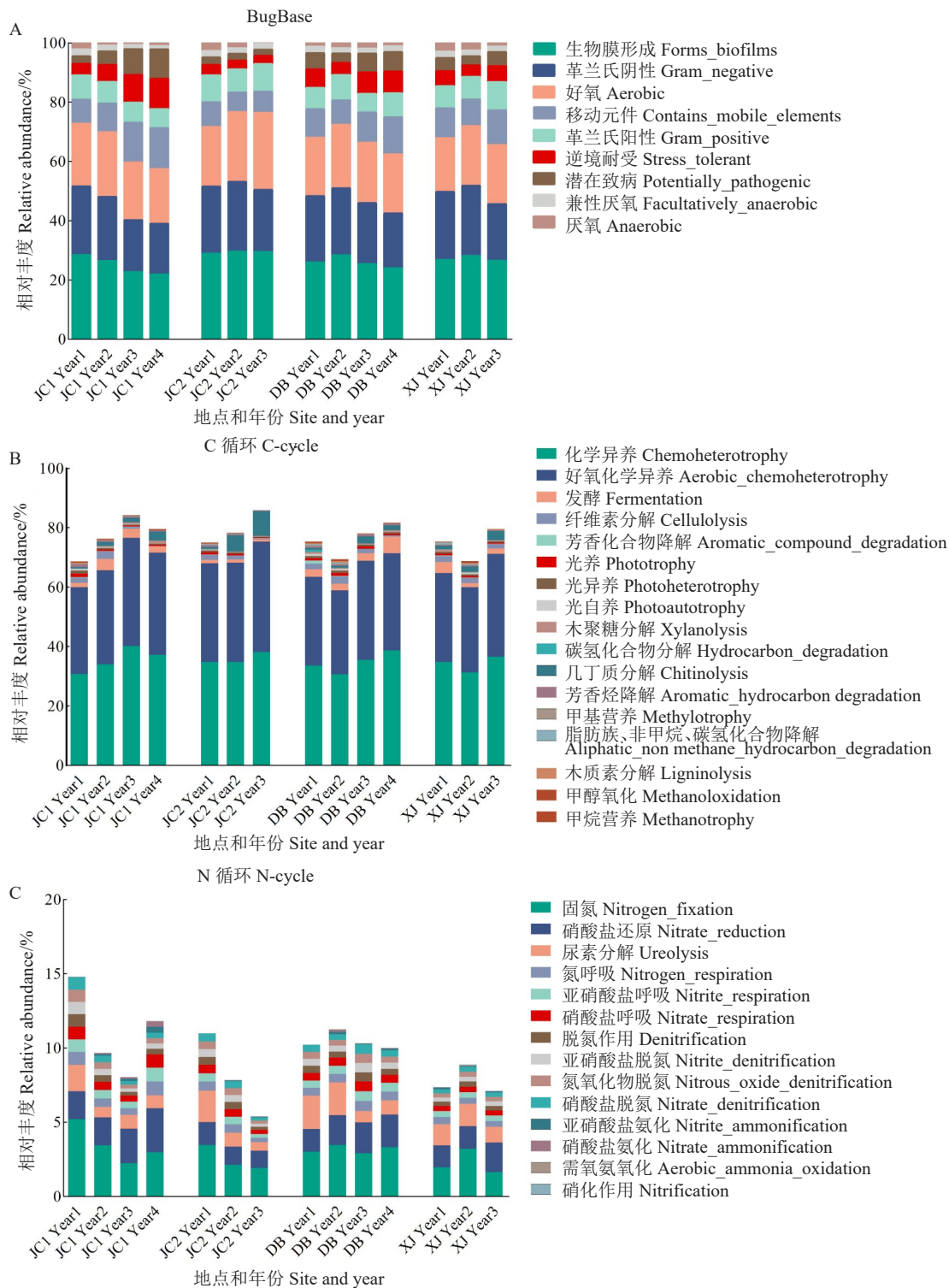
2.4.2 四年生产对真菌群落潜在功能的影响

FUNGuild分析显示,病原菌和腐生菌相对丰度整体上呈提高趋势(图7-A、B),而共生菌相对丰度整体

上呈下降趋势(图7-C)。在JC1,腐生菌相对丰度从第一年的23.23%显著提高到第四年的51.10%,共生菌相对丰度从第一年的42.31%显著下降到第四年的9.88%,丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)从第一年的0.24%显著下降到第四年的0%(图7-D)。值得注意的是,在XJ,病原菌从第一年的21.25%提高到第三年的43.20%(图7-A)。

2.5 不同年份产量与土壤化学指标和微生物指标的相关性

产量分析表明,JC1、JC2、DB试验园区产量呈先上升后下降趋势,XJ试验园区产量随着种植年限增加逐渐降低,且各试验地点均出现从第三年开始产量下降的趋势(表1)。相关性分析表明,产量与Ca、Mn、Zn和有机质含量及pH呈正相关,与P含量和EC呈负相关,与N和K含量相关性不显著;以产量为变量进行的偏最小二乘回归分析显示,VIP值



A. Bugbase 表型预测结果。草莓多年一栽制模式对土壤 C 循环相关细菌(B)和 N 循环相关细菌(C)相对丰度的影响。环境因素与 N 循环相关细菌(D)、C 循环相关细菌之间的相关性(E)。正相关以红色显示,负相关以蓝色显示。相关系数与颜色强度和椭圆大小成比例,*表示在 $p < 0.05$ 水平的显著相关。

A. Bugbase phenotype prediction results. Effects of PC on the relative abundance of soil functional bacteria for C-cycle (B) and N-cycle (C). Correlation between the environmental factors and N-cycle processes (D). Correlation between the environmental factors and C-cycle processes (E). Positive correlations are shown in red, and negative correlations are shown in blue. The correlation coefficients are proportional to the color intensity and ellipse size, * indicates significant correlation at $p < 0.05$.

图 6 细菌群落的功能组和表型预测

Fig. 6 Functional groups and phenotypic prediction of bacterial community

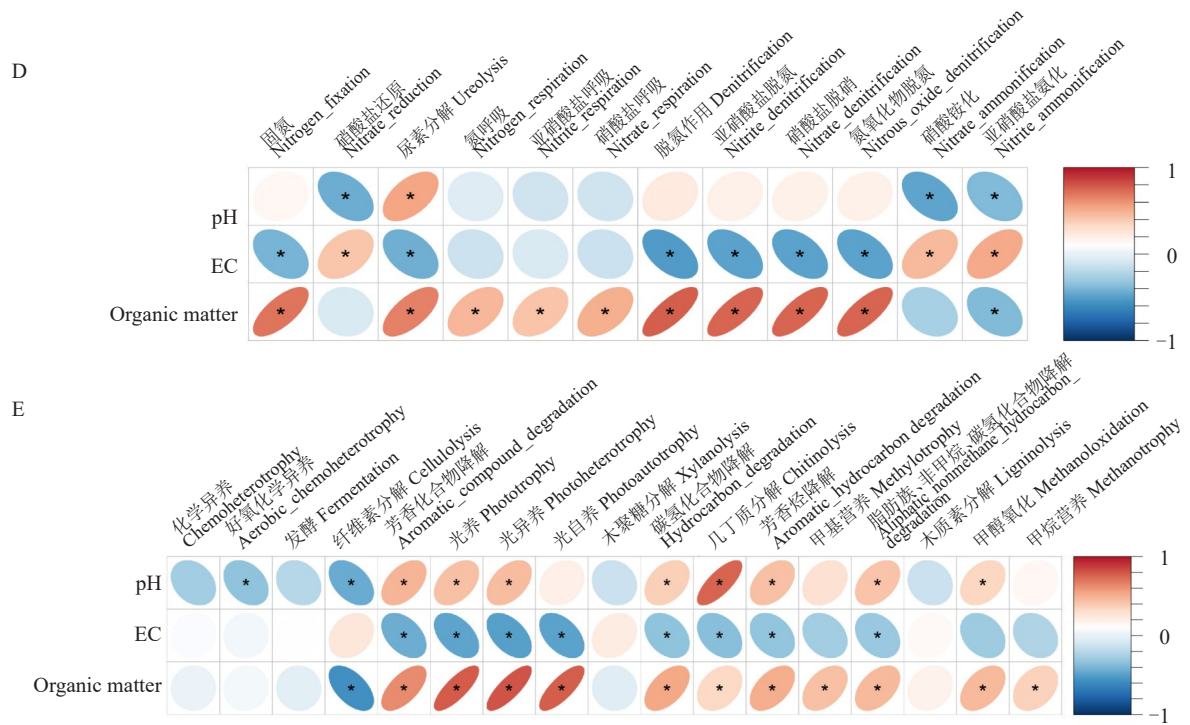


图6 (续) Fig. 6 (Continued)

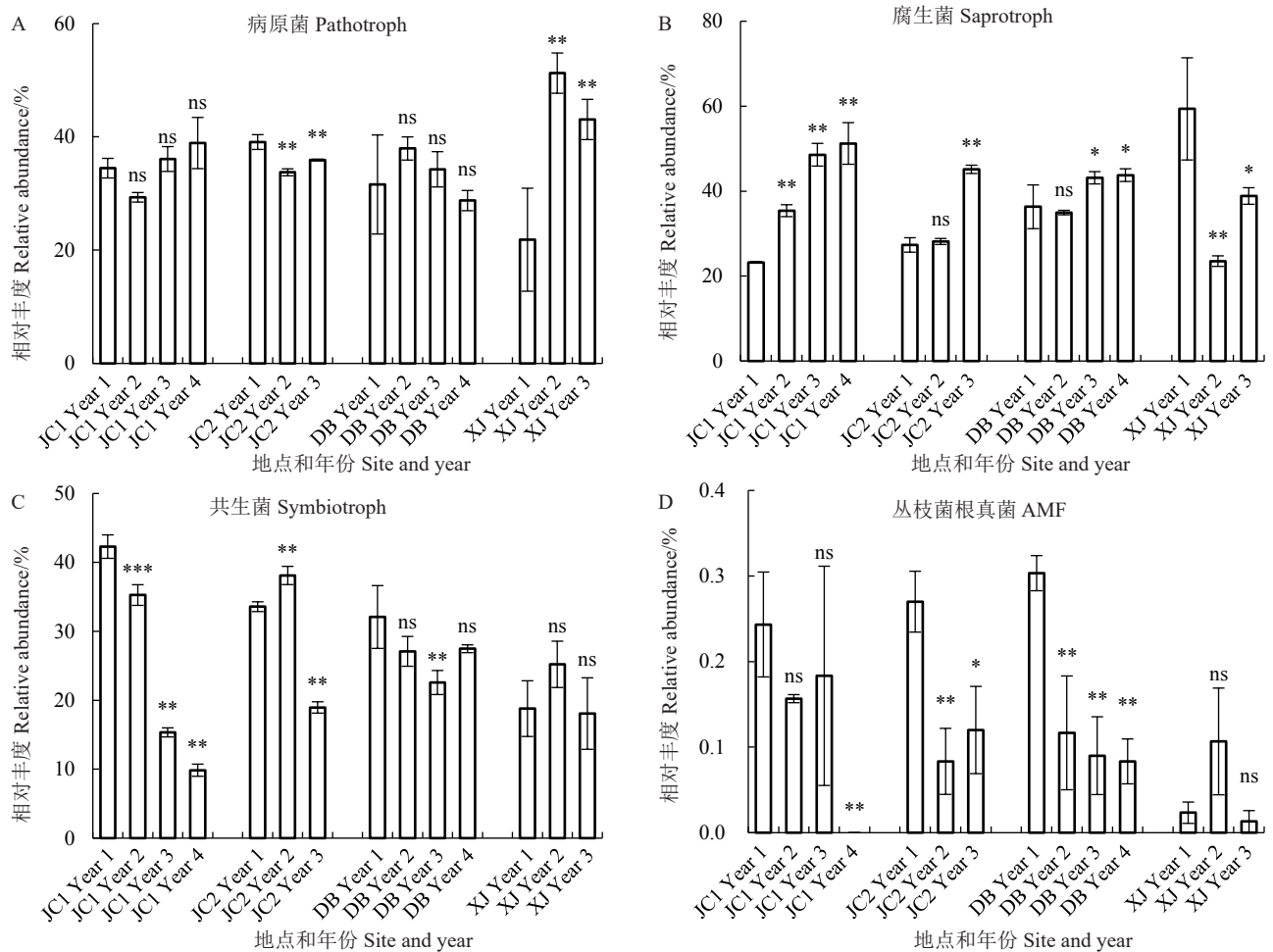


图7 草莓多年一栽制模式对真菌功能组相对丰度的影响

Fig. 7 Effects of PC on the relative abundance of fungal functional groups

表 1 产量统计分析
Table 1 Statistical analysis of yield
(kg·666.7 m⁻¹)

取样点 Site	生产年限 Year			
	Year 1	Year 2	Year 3	Year 4
JC1	1 846.0±51.2 a	1 895.3±104.7 a	1 477.7±36.2 b	718.7±57.5 c
JC2	1 546.7±96.5 b	1 986.7±146.1 a	1 412.0±71.0 b	
DB	1 877.0±190.1 b	2 183.3±105.4 a	1 154.0±60.2 c	849.3±39.4 d
XJ	2 126.7±40.3 a	1 548.0±94.4 b	1 068.3±22.2 b	

注:同行不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

Note: Different small letters in the same line indicate significant difference at 0.05 level.

大于1的自变量分别为EC(1.738)、pH(1.577)、有机质含量(1.359)、钙含量(1.206)、锌含量(1.203),多年一栽模式草莓产量下降的主要原因是盐分升高、土壤酸化、有机质亏缺和钙、锌等中量元素亏缺。

以产量为变量,真菌属丰度为自变量进行的偏最小二乘回归分析(表2)显示,对产量影响权重最高的真菌为镰孢菌属*Fusarium*,该分析结果与田间观察到的尖孢镰刀菌枯萎病一致,说明导致产量下降的主要病原菌为镰孢菌属真菌。值得注意的是,其他常见真菌病害如炭疽病病原菌*Colletotrichum*、红叶病病原菌*Pestalotiopsis*、黄萎病病原菌*Verticillium*在各年份差异并不显著。

表 2 产量和真菌属水平的偏最小二乘回归分析结果
Table 2 Partial least squares regression analysis results
of yield and fungal genus level

属 Genus	权重 Weight	投影变量重要性 VIP
镰孢菌属 <i>Fusarium</i>	-0.430	3.042 993 785
毛孢壳属 <i>Coniochaeta</i>	-0.277	1.958 574 787
青霉属 <i>Penicillium</i>	-0.271	1.917 551 417
被孢霉属 <i>Mortierella</i>	0.231	1.631 290 187
外瓶霉属 <i>Exophiala</i>	-0.227	1.603 197 421
光黑壳属 <i>Preussia</i>	0.207	1.461 767 238
螺旋聚孢霉属 <i>Clonostachys</i>	0.202	1.424 934 82
假裸囊菌属 <i>Pseudogymnoascus</i>	-0.192	1.358 252 396
头束霉属 <i>Cephalotrichum</i>	-0.189	1.335 702 335
树粉孢属 <i>Oidiodendron</i>	-0.188	1.326 856 067

3 讨 论

3.1 草莓多年一栽模式对土壤理化性质的影响

本研究发现,草莓多年一栽模式导致土壤pH

和SOM含量呈现逐年下降趋势,而土壤EC呈现上升趋势;有机质含量平均每年下降0.13个百分点,导致土壤碳亏缺。前人研究表明,长期耕作系统中土壤有机碳普遍下降,需要施用有机肥料来维持土壤生产力^[14],果园的地面覆盖管理对土壤碳代谢有显著影响,长期施用生物有机肥料和果园生草能够显著提高SOM含量,改变土壤微生物群落结构,并提高土壤生产力^[15-16]。在定植前施足有机肥或通过滴灌补充有机态肥料是补充土壤有机质的重要手段。本研究中该生产模式中以化肥投入为主、有机肥投入不足,但是田间观察叶片形态未有明显的缺素表现;在植株方面,每年进行植株整理、保留1~3个分蘖,分蘖会重新发出根系,因此整体存活植株的生长势差异不明显,从不同年份矿质养分含量对比可以发现,除有机质以外,其他主要养分含量均在合理区间。

在本研究中观察到了明显的土壤酸化和盐渍化现象。土壤pH在第四年下降到2.98。土壤酸化降低了磷的生物有效性,并增加了作物被镰刀菌感染的风险^[17]。前人研究表明,N肥的过度使用对区域土壤酸化有显著作用,在25年的常规施肥后观察到的土壤pH下降2.2^[18]。值得注意的是,本研究中每年pH下降0.87。此外,土壤EC每年上升60.40%,SOM含量每年减少0.13个百分点,表明在多年一栽模式草莓生产中,土壤酸化、盐渍化、有机质含量下降是土壤退化的主要特征。

3.2 土壤微生物多样性变化

微生物对农业可持续发展至关重要,因为其在养分转化、运输和SOM降解中起着关键作用^[19]。试验结果表明,多年一栽模式显著影响了土壤微生物群落结构。Chao'指数、Shannon指数和ACE指数反映了细菌和真菌微生物多样性的逐年下降。环境因素对土壤细菌和真菌群落的影响不同,对于细菌群落结构,SOM、pH和EC是变异的主要贡献者,分别占59.8%、58.9%和51.8%。另一方面,对于真菌群落,土壤EC和SOM是主要的变异贡献者,分别占83.3%和82.7%。这一发现与先前的研究结果一致,土壤酸化、矿物和氮肥施用是影响土壤微生物群落和功能的主要因素^[20],土壤盐渍化指标,如pH和EC对细菌群落结构有显著影响^[21]。

在属水平上,青霉菌属(*Penicillium*)和木霉属(*Trichoderma*)与EC呈显著正相关,与SOM含量呈显著负相关,这两个属的丰度在多年生产中增加。木霉

属是一种丝状真菌属,以其他真菌为食,作为植物生长促进菌影响植物对非生物和生物胁迫的响应^[22]。青霉菌属是一种环境中常见的真菌属,许多青霉菌属真菌增强了根对养分(如可溶性P)的吸收^[23],并在盐胁迫下产生植物激素,如赤霉素^[24]。在连续种植黄瓜的根际土壤中,青霉属与农艺性状显著相关^[25]。一些青霉属真菌显示出对某些病原体的天然拮抗活性,青霉属种能有效控制由交链孢霉属(*Alternaria* sp.)和镰刀菌属(*Fusarium* sp.)真菌引起的香蕉腐烂病^[26]。值得注意的是,田间观察显示镰刀菌引起的枯萎病是草莓多年连作导致田间死苗的常见原因。本试验结果表明,青霉属、木霉属等微生物群体对保护植物免受土壤病原体侵害以及缓解土壤酸化和盐渍化引起的胁迫至关重要。未来研究中应关注第四年或更长年份田间正常生产的植株根际微生物组成和植物生理特征,并尝试从中分离和纯化培养促生菌,如木霉属和青霉属微生物,从而开发新型菌剂用于生产。

3.3 土壤微生物功能变化

革兰氏阴性菌依赖于从植物中获得的简单C化合物^[27]。在本研究中,革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌的比例增加表明有机土壤中相对C可用性下降和生态系统生产力下降,这与每年SOM含量下降的现象一致。病原菌和腐生菌比例的增加以及共生菌比例的下降与病害加重和产量下降的现象一致。此外,随着收获年份的增加,丛枝菌根真菌(AMF)的丰度显著下降,AMF能够促进植物生长和产量提高,特别是在盐胁迫等非生物胁迫下^[28-29]。AMF比例的下降表明随着年份增加,草莓生长的土壤微生物环境恶化。

4 结 论

在本试验条件下,发现多年一栽模式草莓生产产量呈现下降趋势,产量与Ca、Mn、Zn、有机质含量及pH呈正相关,与P含量和EC呈负相关,与N和K含量相关性不显著;多年一栽模式草莓产量下降的主要原因是盐分升高、土壤酸化、有机质亏缺和钙、锌等中量元素亏缺,因此在施肥过程中应增加对有机质与钙、锌等中量元素的补充。同时产量下降与土壤微生态的恶化相关,具体表现为土壤微生物群落多样性降低、病原菌水平提高、与N循环相关的功能弱化、AMF比例下降等,其中镰孢菌属真菌是导

致产量下降的核心病原菌因素。

参考文献 References:

- [1] 万红,阮继伟,曾志伟,罗红,贾乔雅,王连润,杜会明,陶磅. 云南四季草莓产业生产现状及发展对策[J]. 中国蔬菜, 2020(2): 99-102.
WAN Hong, RUAN Jiwei, ZENG Zhiwei, LUO Hong, JIA Qiaoya, WANG Lianrun, DU Huiming, TAO Pang. The production status and development countermeasures of Yunnan four everbearing strawberry industry[J]. China Vegetables, 2020(2): 99-102.
- [2] 杨叶青,范琳娟,刘奇志,李维华,宋兆欣. 棉隆和氯化苦熏蒸对重茬草莓土壤线虫群落及养分含量的影响[J]. 园艺学报, 2018, 45(4): 725-733.
YANG Yeqing, FAN Linjuan, LIU Qizhi, LI Weihua, SONG Zhaoxin. Effects of dazomet and chloropicrin on the soil nematode communities and nutrient content of replanted strawberry[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(4): 725-733.
- [3] BAGGIO J S, CORDOVA L G, TOLEDO B F, NOLING J W, PERES N A. A reassessment of the fungicidal efficacy of 1,3-dichloropropene, chloropicrin, and metam potassium against *Macrophomina phaseolina* in strawberry[J]. Pest Management Science, 2022, 78(8): 3416-3423.
- [4] 李军见,王艳丽,于艳梅. 不同土壤处理方法防治设施草莓重茬病害效果对比试验[J]. 陕西农业科学, 2011, 57(2): 23.
LI Junjian, WANG Yanli, YU Yanmei. The comparative on the efficacy of different soil management methods in controlling replant diseases in greenhouse strawberries[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2011, 57(2): 23.
- [5] MARTÍ E, SIERRA J, DOMENE X, MUMBRÚ M, CRUAÑAS R, GARAU M A. One-year monitoring of nitrogen forms after the application of various types of biochar on different soils[J]. Geoderma, 2021, 402: 115178.
- [6] STAFILOV T, ŠAJN R, BLAŽEVSKA R, TĀNĀSELIA C. Assessment of natural and anthropogenic factors on the distribution of chemical elements in soil from the Skopje region, North Macedonia[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2022, 57(5): 357-375.
- [7] WANG X Y, LIANG C, MAO J D, JIANG Y J, BIAN Q, LIANG Y T, CHEN Y, SUN B. Microbial keystone taxa drive succession of plant residue chemistry[J]. The ISME Journal, 2023, 17(5): 748-757.
- [8] EDGAR R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [9] WANG Q, GARRITY G M, TIEDJE J M, COLE J R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [10] SANSUPA C, WAHDAN S F M, HOSSEN S, DISAYATHA-

- NOOWAT T, WUBET T, PURAHONG W. Can we use functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX) to assign the ecological functions of soil bacteria?[J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(2):688.
- [11] NGUYEN N H, SONG Z W, BATES S T, BRANCO S, TEDER-SOO L, MENKE J, SCHILLING J S, KENNEDY P G. FUN-Guild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild[J]. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241-248.
- [12] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, HALL J R, HARTMANN M, HOLLISTER E B, LESNIEWSKI R A, OAKLEY B B, PARKS D H, ROBINSON C J, SAHL J W, STRESB, THALLINGER G G, VAN HORN D J, WEBER C F. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23):7537-7541.
- [13] DIXON P. VEGAN, a package of R functions for community ecology[J]. *Journal of Vegetation Science*, 2003, 14(6): 927-930.
- [14] LI X L, FANG J C, SHAGAHALEH H, WANG J F, HAMAD A A A, ALHAJ HAMOUD Y. Impacts of partial substitution of chemical fertilizer with organic fertilizer on soil organic carbon composition, enzyme activity, and grain yield in wheat-maize rotation[J]. *Life*, 2023, 13(9): 1929.
- [15] WANG L, YANG F, YAOYAO E, YUAN J, RAZA W, HUANG Q W, SHEN Q R. Long-term application of bioorganic fertilizers improved soil biochemical properties and microbial communities of an apple orchard soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7:1893.
- [16] YANG J F, ZHANG T R, ZHANG R Q, HUANG Q Q, LI H K. Long-term cover cropping seasonally affects soil microbial carbon metabolism in an apple orchard[J]. *Bioengineered*, 2019, 10(1):207-217.
- [17] LI X G, CHEN D L, CARRIÓN V J, REVILLINI D, YIN S, DONG Y H, ZHANG T L, WANG X X, DELGADO-BAQUERIZO M. Acidification suppresses the natural capacity of soil microbiome to fight pathogenic *Fusarium* infections[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1):5090.
- [18] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, SHEN J L, HAN W X, ZHANG W F, CHRISTIE P, GOULDING K W T, VITOUSEK P M, ZHANG F S. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327(5968):1008-1010.
- [19] MIR Y H, GANIE M A, SHAH T I, BANGROO S A, MIR S A, SHAH A M, WANI F J, QIN A Z, RAHMAN S U. Soil microbial and enzyme activities in different land use systems of the Northwestern Himalayas[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e15993.
- [20] FÜZY A, PARÁDI I, KELEMEN B, KOVÁCS R, CSERESNYÉS I, SZILI-KOVÁCS T, ÁRENDÁS T, FODORN, TAKÁCS T. Soil biological activity after a sixty-year fertilization practice in a wheat-maize crop rotation[J]. *PLoS One*, 2023, 18(9):e0292125.
- [21] WANG W N, LIU H J, CHEN L F, KOOREM K, HU Y C, HU L J. Natural restoration alters soil microbial community structure, but has contrasting effects on the diversity of bacterial and fungal assemblages in salinized grasslands[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 891: 164726.
- [22] WOO S L, HERMOSA R, LORITO M, MONTE E. *Trichoderma*: A multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture[J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2023, 21(5):312-326.
- [23] DE OLIVEIRA MENDES G, DE FREITAS A L M, PEREIRA O L, DA SILVA I R, VASSILEV N B, COSTA M D. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources[J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 64(1):239-249.
- [24] LEITÃO A L, ENGUITA F J. Gibberellins in *Penicillium strains*: Challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress[J]. *Microbiological Research*, 2016, 183:8-18.
- [25] ZHANG M M, LIANG G Y, REN S, LI L P, LI C, LI Y J, YU X L, YIN Y P, LIU T, LIU X J. Responses of soil microbial community structure, potential ecological functions, and soil physicochemical properties to different cultivation patterns in cucumber[J]. *Geoderma*, 2023, 429:116237.
- [26] WIN T T, BO B, MALEC P, FU P. The effect of a consortium of *Penicillium* sp. and *Bacillus* spp. in suppressing banana fungal diseases caused by *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp.[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 131(4):1890-1908.
- [27] FANIN N, KARDOL P, FARRELL M, NILSSON M C, GUNDALE M J, WARDLE D A. The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 128:111-114.
- [28] DASTOGEER K M G, ZAHAN M I, TAHJIB-UL-ARIF M, AKTER M A, OKAZAKI S. Plant salinity tolerance conferred by arbuscular mycorrhizal fungi and associated mechanisms: A meta-analysis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:588550.
- [29] WAHAB A, MUHAMMAD M, MUNIR A, ABDI G, ZAMAN W, AYAZ A, KHIZAR C, REDDY S P P. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses[J]. *Plants*, 2023, 12(17):3102.