



# 农田土壤根际微生物群落多样性特征研究

袁鹏飞<sup>1</sup>, 刘文瑜<sup>2,3</sup>, 杨发荣<sup>1,2,3</sup>, 刘欢<sup>1,4</sup>, 黄杰<sup>2,3</sup>,  
魏玉明<sup>2,3</sup>, 谢志军<sup>2</sup>, 杨富民<sup>5</sup>, 赵保堂<sup>5</sup>

(1. 甘肃农业大学 草业学院, 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院 畜草与绿色农业研究所, 兰州 730070;  
3. 甘肃省藜麦育种栽培技术及综合开发工程研究中心, 兰州 730070; 4. 草业生态系统教育部重点实验室,  
兰州 730070; 5. 甘肃农业大学 食品科学与工程学院, 兰州 730070)

**摘要** 以藜麦、蚕豆、油菜和马铃薯为供试材料, 设置连作藜麦(HLMA)和藜麦轮作马铃薯(HLMLS)、油菜(HLYC)、蚕豆(HLCD)4种不同种植模式, 通过测定土壤养分含量, 并利用高通量测序技术(Illumina-HiSeq)对4种植模式下藜麦根际土壤的基因组进行测序, 研究不同种植模式对作物土壤养分和细菌群落组成特征的影响。结果表明: 3种轮作种植模式下全钾、碱解氮、速效磷、速效钾含量和pH较连作种植模式显著下降。HLCD模式提高土壤细菌群落丰富度指数、多样性指数和优势度指数。细菌组成研究结果显示, 4种植模式下占优势的细菌均为放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)。HLCD处理下, 放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)相对丰度均显著高于其他处理, 分别达到50.48%、13.17%、11.90%、7.42%和4.50%, 较HLMA处理分别增加44.21%、56.36%、36.19%、224.24%和53.16%。土壤细菌群落优势属以Subgroup、芽球菌属(*Blastococcus*)、67-14和土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)为主, 但不同种植模式所占土壤各细菌属的相对丰度大小存在差异。HLCD处理下, Subgroup、芽球菌属(*Blastococcus*)、67-14和土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)相对丰度均显著高于其他处理, 分别达到7.08%、5.48%、4.35%和3.49%, 较HLMA处理分别增加51.99%、64.86%、49.89%和71.85%。聚类分析显示HLYC和HLMLS的组成最接近, 其次是HLCD, HLMA的组成与前两者相差较大。土壤全钾、有效氮和速效磷是土壤细菌群落优势菌门变化的驱动因素。综上所述, 连作藜麦后轮作蚕豆、油菜和马铃薯可改善土壤肥力, 提高细菌群落组成丰富度。

**关键词** 连作; 藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.); 高通量测序; 根际土壤; 群落结构

连作障碍是土壤—根系—作物系统内部生物与非生物因子综合作用的结果, 目前普遍认为作物连作将导致土壤理化特性恶化<sup>[1]</sup>, 土壤微生物区系改变<sup>[2]</sup>, 根系分泌物和病原菌植物自毒作用等<sup>[3]</sup>, 在生产上表现为孢囊线虫, 根腐病等病虫害加重, 土壤环境恶化, 产量下降, 品质降低。土壤微生物在维持土壤功能和生态系统的可持续性方面起着至关重要的作用, 通常被认为是土壤健康的敏感生物指标<sup>[4-5]</sup>。前人大量研究表明土壤微生物的变化与耕作制度关系密切<sup>[6]</sup>。作物轮作被认为是最容易实施的, 并被证明有利于减轻土壤病害, 缓解连作障碍<sup>[7]</sup>。王立光等<sup>[8]</sup>研究发现,

与胡麻连作相比, 胡麻—小麦轮作降低了土壤pH, 使土壤中的氮、磷、钾得到有效利用。樊芳芳等<sup>[9]</sup>研究发现高粱/玉米轮作处理的根际土壤细菌的香农指数显著高于高粱连作处理。随着现代分子生物技术的发展, 有关土壤微生物群落结构、功能类群、土壤微生物与环境关系等研究越来越多<sup>[10-11]</sup>。Illumina扩增测序的16S rRNA基因技术可以检测出更多的微生物物种和多样性。

藜麦(*Chenopodium quinoa* Wild.)是藜科藜属草本植物, 原产于南美洲安第斯山脉, 具有较强的抗旱性、抗寒性和耐盐性<sup>[12-15]</sup>, 距今已有7000多年的种植历史, 是古印加人民的主要粮

收稿日期: 2022-09-14 修回日期: 2022-10-14

基金项目: 国家自然科学基金(31660357); 中央引导地方科技发展专项; 甘肃省科技支撑计划(21JR7RA730); 甘肃省农业科学院农业科技创新专项(2022GASS07); 甘肃省农业科学院重点研发计划(2020GAAS31)。

第一作者: 袁鹏飞, 男, 硕士研究生, 从事作物抗逆栽培研究。E-mail: 2240680875@qq.com

通信作者: 杨发荣, 男, 研究员, 主要从事藜麦育种与栽培的研究。E-mail: lzyfr08@163.com

食作物,被印加民族称为“粮食之母”<sup>[16-17]</sup>。西藏在 20 世纪 90 年代引进并试种成功<sup>[18]</sup>。藜麦种植区主要分布于中国的甘肃、青海、内蒙古等地区。藜麦由于其较高的经济效益和营养价值,受到越来越多种植企业的青睐,在土地资源有限的情况下藜麦连茬种植情况严重,出苗率低、植株生长缓慢、病虫害加重、产量急剧下降等现象在一些藜麦种植区普遍发生。目前,关于藜麦连作机理的研究鲜见报道,尤其是比较连作和轮作种植模式对养分和土壤微生物影响的研究。因此,本试验以藜麦、马铃薯、蚕豆、油菜为材料,设置藜麦连作和不同轮作等 4 个处理,通过测定土壤全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效磷、速效钾等养分指标,同时采用 Illumina-HiSeq 高通量测序技术,分析不同轮作方式和连作处理下作物根际土壤的细菌多

样性和群落结构组成,以期明确连作和轮作处理下根际土壤细菌群落结构和多样性变化规律,揭示藜麦连作障碍与土壤根际微生态系统之间的关系,旨在为缓解藜麦连作障碍提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

研究样地位于甘南藏族自治州合作市卡加曼乡(35°32'35"N,104°45'30"E),位于合作市东北部,青藏高原东部,海拔 2 750 m。多年平均气温 2.9 °C。生长期年平均 130 d,无霜期年平均 40 d。年平均降水量 548.7 mm。

### 1.2 供试材料

供试农作物分别为藜麦、蚕豆、油菜和马铃薯。具体情况如表 1 所示。

表 1 供试农作物品种与来源

Table 1 Variety and source of tested crops

作物名称 Crop name	品种 Variety	来源 Source
藜麦 <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	陇藜 1 号 Longli No. 1	甘肃省农业科学院 畜草与绿色农业研究所 Institute of Pasture and Green Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences
蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	青海 9 号 Qinghai No. 9	
油菜 <i>Brassica napus</i> L.	青杂 5 号 Qingza No. 5 hybrid	
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	大西洋 Atlantic	

### 1.3 试验方法

在试验地选择已连作藜麦 2 a 的地块 4 个。于 2021 年 4 月中旬进行翻耕、播种。第一个地块设置为对照,继续播种藜麦,连作第 3 年(HLMA);第二、三、四地块设置为处理,分别播种马铃薯(藜麦→马铃薯,HLMLS)、蚕豆(藜麦→蚕豆,HLCD)、油菜(藜麦→油菜,HLYC),均为单作。

试验采用随机区组设计,每个处理下设置 3 个重复,小区面积 12 m<sup>2</sup>(3 m×4 m),小区间距 1.5 m,区组间距 1.0 m。藜麦播种量为 3.75 kg·hm<sup>-2</sup>,株距 25 cm,行距 30 cm。马铃薯播种密度为 85 075 株·hm<sup>-2</sup>,株距 17 cm,行距 60 cm。蚕豆播种量为 225 kg·hm<sup>-2</sup>,株距 20 cm,行距 25 cm。油菜 7.5 kg·hm<sup>-2</sup>,株距 20 cm,行距 25 cm。播种前一次性施入藜麦专用肥(N:P:K=12:22:10,N+P+K≥45%)600 kg·hm<sup>-2</sup>,人工覆膜穴播,整个试验期间不施肥,其他管理如田间管理。

### 1.4 样品采集

于 2021 年 8 月中旬藜麦灌浆时期采集连作

3 a 藜麦(HLMA),轮作油菜(HLYC)、轮作蚕豆(HLCD)、轮作马铃薯(HLMLS)4 种植植模式下藜麦植株的根际土壤。采用“抖土法”<sup>[19]</sup>,以藜麦植株为中心,用铁锹挖出完整根系,抖落吸附在根系上的土壤(非根际土),并用毛刷刷下黏在根系表面的土壤(根际土),将非根际土和根际土混合均匀,过筛,根际土保存于-80 °C 冰箱,用于后续微生物群落结构及多样性测定,非根际土风干保存,用于后续土壤理化性质的测定。

### 1.5 测量指标与方法

1.5.1 土壤基本理化性质 土壤全氮采用凯氏定氮法,全磷采用分光光度法,全钾采用原子吸收光谱法;土壤速效氮用碱解扩散法,速效磷用碳酸氢钠法,速效钾采用 1 mol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵提取,火焰光度计法测定;pH 用电位法测定(水土比为 2.5:1 土壤溶液)<sup>[20]</sup>。

1.5.2 根际土壤样品总 RNA 提取,测序文库制备及高通量测序 参照土壤 DNA 提取试剂盒使用说明书对土壤样品细菌总 DNA 进行提取,同时采用 Nanodrop 对 DNA 进行定量,并经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳和超微量核酸分光光度计对细菌

总 DNA 进行浓度和纯度检测。该步骤由上海派森诺生物科技有限公司完成。

采用细菌通用引物 338F (5'-ACTCCT-ACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGA-CTACHVGGGTWCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因序列的 V3 V4 区进行扩增。扩增产物经电泳检测后,利用 Illumina Hiseq 2500 平台进行高通量测序。该步骤由上海派森诺生物科技有限公司完成。

### 1.6 序列分析

对高通量测序的原始下机数据进行双端拼接、过滤和去除嵌合体等。按照 QIME2 data 2 分析流程或 V search 软件的分析流程进行去噪和 OTU 聚类。根据 ASV/OTU 在不同样本中的分布,评估每个样本 Alpha 多样性水平。在 ASV/OTU 层面,计算各样本的距离矩阵,并通过多种非监督的排序、聚类手段,结合相应统计学检验方法,衡量不同样本(组)间的差异及差异显著性。在物种分类学组成层面,通过各种非监督、监督的排序、聚类和建模手段,结合相应统计学检验方法,进一步衡量不同样本(组)间的物种丰度组成差异,并尝试寻找标志物种。上述分析工作在上

海派森诺生物科技有限公司 genecloud 云平台网站(www.genescloud.cn)完成。

### 1.7 数据分析

用 Microsoft Excel 2021 软件进行数据的计算处理,结果以“平均数±标准误”的形式表示。采用 SPSS 22.0 软件的 Duncan 氏法对试验数据进行比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同种植模式对作物土壤养分的影响

由表 2 可知,HLYC、HLCD 和 HLMLS 处理较 HLMA 处理降低土壤全氮、全磷、全钾、碱解氮、速效钾、速效磷含量和土壤 pH。不同轮作方式和连作处理下土壤全氮、全磷含量差异不显著( $P>0.05$ ),而 HLYC、HLCD、HLMLS 处理下土壤全钾、碱解氮、速效磷、速效钾含量和 pH 显著低于 HLMA 处理( $P<0.05$ )。3 种轮作模式中,HLCD 处理下土壤全氮、全磷、碱解氮含量最高,HLMLS 次之,HLYC 最低。说明轮作降低土壤 pH,使作物对土壤氮、磷、钾肥的利用效率得到提高,缓解连作导致的土壤碱化,其中轮作蚕豆效果最优,其次为轮作马铃薯。

表 2 不同种植模式下作物根际土壤养分变化

Table 2 Changes of nutrients in crop rhizosphere soil under different cropping patterns

种植模式 Cropping pattern	全氮/ (g·kg <sup>-1</sup> ) Total N	全磷/ (g·kg <sup>-1</sup> ) Total P	全钾/ (g·kg <sup>-1</sup> ) Total K	碱解氮/ (mg·kg <sup>-1</sup> ) Available N	速效磷/ (mg·kg <sup>-1</sup> ) Available P	速效钾/ (mg·kg <sup>-1</sup> ) Available K	pH
HLMA	2.35±0.11 a	0.85±0.11 a	25.87±1.51 a	137.32±11.31 a	26.19±1.73 a	317.67±7.51 a	7.46±0.09 a
HLYC	2.26±0.08 a	0.75±0.11 a	25.32±1.36 ab	113.78±6.53 b	13.12±1.12 b	235.00±11.79 c	7.37±0.01 ab
HLCD	2.28±0.19 a	0.78±0.11 a	23.21±1.22 b	127.03±8.94 ab	8.51±0.52 c	257.33±13.32 b	7.28±0.07 b
HLMLS	2.26±0.10 a	0.77±0.05 a	24.52±1.18 ab	124.07±12.44 ab	14.14±0.89 b	265.00±13.53 b	7.29±0.04 b

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),下同。

Note:Different lowercase letters within the same columns indicate significant differences between the different cropping pattern at the 0.05 level, the same below.

### 2.2 不同种植模式下土壤样品序列数统计

由表 3 可知,Hiseq 测序所得数据经过质检后,所有土壤样品获得细菌的有效序列总数为 403 811 条。不同种植模式中 HLCD 模式的有效序列最高,其次为 HLYC 和 HLMA,HLMLS 模

式最低。各模式下有效序列比例均大于 85%,说明测序质量可以反映土壤细菌群落组成情况。不同种植模式统计分析表明,HLCD 模式的土壤细菌 OTU 种类数最高,其次为 HLYC 和 HLMA,HLMLS 模式最低,且均无显著差异( $P>0.05$ )。

表 3 不同种植模式下土壤样品有效序列数和 OTU 数

Table 3 Number of effective sequence and OTU of soil samples under different cropping patterns

种植模式 Planting mode	原始序列数 Number of raw tags	有效序列数 Number of valid tags	OTU 数 Number of OTU	有效序列比/% Effective sequence alignment
HLMA	117 299 a	102 888 a	2 871 a	87.72 a
HLCD	120 558 a	104 680 a	3 416 a	86.81 ab
HLYC	117 414 a	100 794 a	3 119 a	85.85 b
HLMLS	109 437 a	95 499 a	2 675 a	87.15 a

### 2.3 不同种植模式对作物根际土壤细菌群落 Alpha 多样性的影响

由表 4 可知, HLMA、HLYC、HLCD 和 HLMLS 模式的细菌测序文库覆盖率均达到 0.975% 以上, 说明可以测出绝大多数细菌的序列, 并且测序结果具有较好的代表性。所有样品的丰富度指数 Chao1 差异显著 ( $P < 0.05$ ), HLCD 模式的 Chao1 最高, 表明此种植模式根际土

壤细菌丰度显著高于其他 3 种。HLMA、HLYC、HLCD 和 HLMLS 模式的土壤样品的多样性 Shannon 指数和优势度 Simpson 指数差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 其中, HLCD 模式的 Shannon 指数和 Simpson 指数最高, 分别达到 11.47 和 0.999 0, 其次为 HLMA 和 HLYC, HLMLS 模式最低, 仅为 11.00 和 0.996 6。

表 4 根际土壤细菌 Alpha 多样性指标

Table 4 Alpha diversity indexes of bacteria communities in rhizosphere soil

种植模式 Cropping pattern	丰富度指数 Chao1 index	多样性指数 Shannon index	优势度指数 Simpson index	覆盖率/% Coverage
HLMA	5 411.22±434.40 c	11.10±0.38 a	0.998 4±0.000 2 a	0.983 1±0.016 6 a
HLCD	7 382.38±383.41 a	11.47±0.20 a	0.999 0±0.000 2 a	0.977 6±0.006 3 a
HLYC	6 407.19±778.89 b	11.08±0.51 a	0.998 1±0.000 5 a	0.981 3±0.003 4 a
HLMLS	6 499.42±600.58 b	11.00±0.87 a	0.996 6±0.003 6 a	0.979 7±0.004 2 a

### 2.4 不同种植模式对根际土壤细菌群落组成的影响

根际土壤细菌在门水平的样本群落结构组成如图 1 所示, 可以看出 4 种植植模式的根际土壤细菌群落在门水平上具有较高的多样性, 均在 10 个门以上。其中相对丰度最高的为放线菌门 (Actinobacteria, 35.00%~50.48%)、变形菌门 (Proteobacteria, 20.24%~29.51%)、酸杆菌门 (Acidobacteria, 8.42%~13.17%)、绿弯菌门 (Chloroflexi, 8.74%~11.90%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 2.29%~7.42%) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes, 2.93%~4.49%), 也是优势菌群; 相对丰度次高的有厚壁菌门 (Firmicutes, 1.17%~2.45%)、瓣骨细菌门 (Patescibacteria, 0.23%~1.68%)、棒状杆菌门 (Rokubacte-

ria, 0.51%~0.83%) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia, 0.35%~0.57%)。4 种处理方式下根际土壤样品细菌门类组成基本相同, 但是不同种植模式下的根际土壤样品中占比不同。HLCD 种植模式的放线菌门 (Actinobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 相对丰度均显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ ), 分别达到 50.48%、13.17%、11.90%、7.42% 和 4.50%, 较 HLMA 种植模式分别增加 44.21%、56.36%、36.19%、224.24% 和 53.16%。HLYC 种植模式的变形菌门 (Proteobacteria) 相对丰度显著高于其他种植模式的 ( $P < 0.05$ ), 达到 29.51%, 较 HLMA 种植模式增加 45.79%。

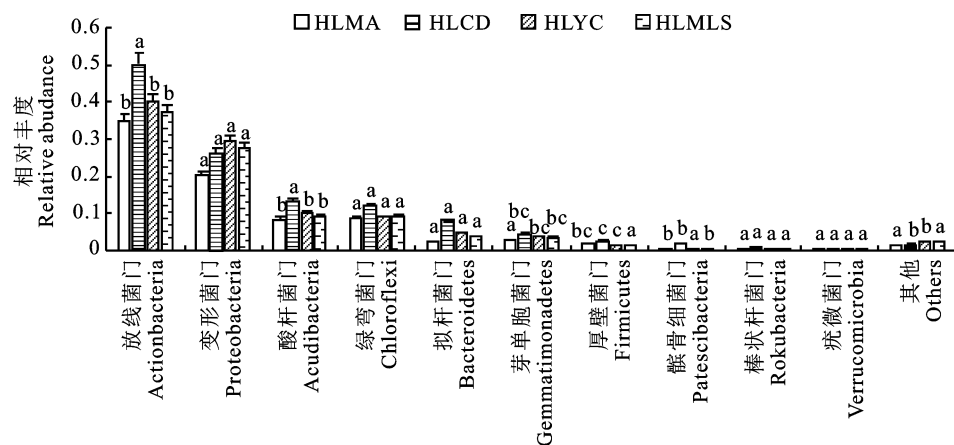


图 1 不同种植模式下根际土壤细菌门水平群落结构分布

Fig. 1 Histogram of horizontal community structure in rhizosphere soil



在属的分类水平,除未被分类的细菌属外,不同种植模式的土壤细菌中,相对丰度排序前 20 的细菌属分布见图 2。相对丰度最高的细菌属有 *Subgroup* (4.66%~7.08%)、芽球菌属 (*Blastococcus*, 3.32%~5.48%)、67-14 (2.18%~4.35%) 和土壤红杆菌属 (*Solirubrobacter*, 2.03%~3.49%),均为优势属。不同种植模式下

土壤优势细菌属种类基本相同,但土壤各细菌属相对丰度所占比例大小存在差异。HLCD 模式的 *Subgroup*、芽球菌属 (*Blastococcus*)、67-14 和土壤红杆菌属 (*Solirubrobacter*) 相对丰度均显著高于其他种植模式 ( $P < 0.05$ ),分别达到 7.08%、5.48%、4.35% 和 3.49%,较 HLMA 种植模式分别增加 51.99%、64.86%、49.89% 和 71.85%。

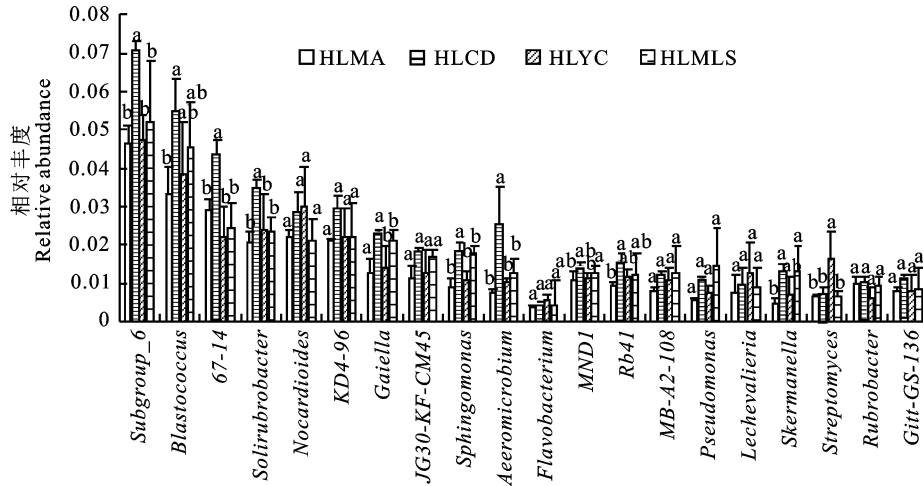


图 2 不同种植模式下根际土壤细菌属水平分布

Fig. 2 Horizontal distribution of bacterial phylum composition in rhizosphere soil

2.5 根际土壤细菌群落主成分分析

根际土壤细菌群落主成分分析(图 3)可知,4 种植模式下细菌群落结构的变异主要受 3 个主坐标成分的控制,其中第 1 主成分(PC1) 和第 2 主成分(PC2) 贡献率分别为 72.0% 和 21.3%。4 种植模式中 HLMA 和 HLMLS 的群落样本不论在第一轴的维度还是第二轴的维度都表现出较大差异,表明两组群落样本变异较大,且细菌群落发生明显分化,而 HLMA 与其他 2 种植模式的群落样本相似。

由表 5 可知,与第一主成分 (PC1) 具有较高相关性的细菌属主要有寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*, 0.37)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*, 0.25)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 0.22)、*Pa-jaroellobacter* 菌属 (0.21)、链霉菌属 (*Streptomyces*, 0.17)、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*, 0.15)、*Lechevalieria* 菌属 (0.15) 和鞘脂杆菌属 (*Sphingobacterium*, 0.11),与第二主成分(PC2) 具有较高相关性的细菌属则主要有鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 0.12)、67-14 菌属 (0.12)、RB41 菌属 (0.11)、JG30-KF-CM45 菌属 (0.11)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*, 0.16)、Sub-

group\_6 菌属 (0.40) 和 KD4-96 菌属 (0.14)。

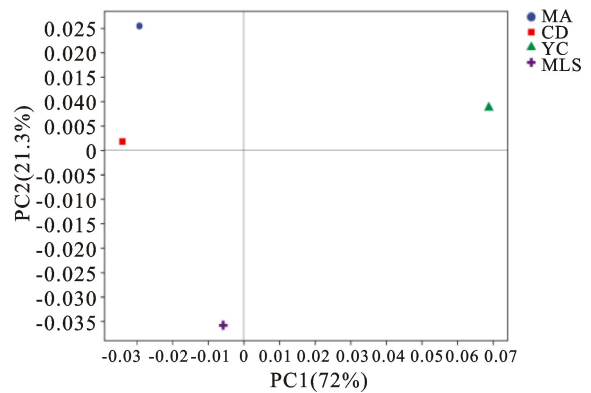


图 3 不同种植模式土壤细菌在属水平相对丰度主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis of relative abundance of soil bacteria at genus level under different cropping patterns

2.6 聚类分析

由图 4 可知,4 种植模式的根际土壤细菌在属组成水平上可聚为 3 类。HLYC 和 HLMLS 聚为第一类,HLCD 和 HLYC、HLMLS 聚为第二类,HLMA 和 HLCD、HLMLS、HLYC 聚为第三类。说明轮作较连作处理,作物根际土壤细菌组成差异较大。

表 5 不同种植模式土壤细菌属水平主成分载荷因子

Table 5 Principal component loading factors of soil bacteria at genus level under different planting patterns

细菌属 Bacterial genus	PC1	PC2	细菌属 Bacterial genus	PC1	PC2
<i>Stenotrophomonas</i>	0.37	0.16	<i>Subgroup_6</i>	-0.17	0.40
<i>PAcinetobacter</i>	0.25	0.09	<i>Gaiella</i>	-0.14	-0.19
<i>Pseudomonas</i>	0.22	0.03	KD4-96	-0.09	0.14
<i>Pajaroellobacter</i>	0.21	0.09	<i>Sphingomonas</i>	-0.09	0.12
<i>Streptomyces</i>	0.17	0.07	67-14	-0.20	0.12
<i>Comamonas</i>	0.15	0.07	RB41	-0.06	0.11
<i>Lechevalieria</i>	0.15	-0.11	JG30-KF-CM45	-0.12	0.11
<i>Sphingobacterium</i>	0.11	0.05	<i>Solirubrobacter</i>	-0.14	0.10
Blrii41	0.10	-0.01			

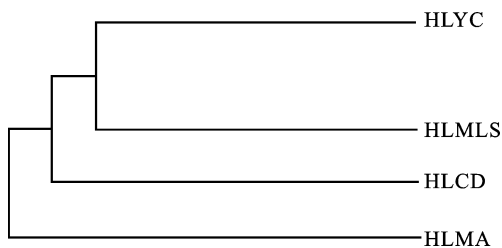


图 4 不同种植模式土壤细菌在属水平组成聚类分析

Fig. 4 Clustering analysis of soil bacteria composition at genus level under different planting patterns

## 2.7 不同种植模式的土壤养分与细菌优势菌群相关性分析

由表 6 可知,细菌群落结构优势菌门中变形

表 6 不同种植模式下土壤化学性质与优势细菌相关性分析

Table 6 Correlation analysis of soil chemical properties and dominant bacteria under different planting patterns

指标 Index	全氮 Total N	全磷 Total P	全钾 Total K	碱解氮 Available N	速效磷 Available P	速效钾 Available K
变形菌门 Proteobacteria	-0.325	0.588*	0.670*	-0.454	0.416	0.253
放线菌门 Actinobacteria	0.483	-0.352	-0.600*	0.074	0.039	-0.471
酸杆菌门 Acidobacteria	-0.409	-0.375	-0.022	0.659*	-0.660*	-0.054
绿弯菌门 Chloroflexi	-0.214	-0.604*	-0.106	0.745**	-0.470	-0.011
拟杆菌门 Bacteroidetes	-0.001	0.509	0.248	-0.415	0.141	0.490
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	-0.309	-0.430	-0.137	0.665*	-0.622*	-0.032

## 3 讨论与结论

### 3.1 不同处理对作物根际土壤养分的调控

土壤 C、N、P 是土壤基本组成部分,是反应土壤肥力的重要指标<sup>[21]</sup>。土壤化学性质是衡量土壤肥力状况的重要指标,土壤养分的丰缺程度影响作物生长和产量水平<sup>[22]</sup>。农作物由于其自身营养特性的原因对于土壤养分并非均衡吸收,研究认为长此以往所带来的土壤养分匮乏、比例失衡会导致连作障碍发生<sup>[23]</sup>。因此,造成作物连作

障碍的重要因素之一是土壤理化性状发生恶劣<sup>[24]</sup>。而合理的农田轮作系统能促进土壤养分特征的改善。秦舒浩等<sup>[25]</sup>研究表明轮作 3 种豆科植物均能提高土壤氮素的有效性。Soman 等<sup>[26]</sup>研究发现相较于连作,轮作提高了土壤全氮的含量。Zuber 等<sup>[27]</sup>研究表明轮作蚕豆或小麦降低了连作玉米 0~20 cm 土壤层 pH,土壤全氮含量增加,速效磷和速效钾含量减少。本试验结果表明轮作蚕豆(HLCD)、油菜(HLYC)或马铃薯(HLMLS)后,土壤 pH、全钾、碱解氮、速效磷和

菌门(Proteobacteria)数量与土壤全磷、全钾含量呈显著正相关( $P < 0.05$ , 0.588、0.670),放线菌门(Actinobacteria)数量与土壤全钾含量呈显著负相关( $P < 0.05$ , -0.600),酸杆菌门(Acidobacteria)数量与土壤碱解氮含量呈显著正相关( $P < 0.05$ , 0.659),与土壤速效磷含量呈显著负相关( $P < 0.05$ , -0.660),绿弯菌门(Chloroflexi)数量与土壤全磷含量呈显著负相关( $P < 0.05$ , -0.604),与土壤碱解氮含量呈极显著正相关( $P < 0.01$ , 0.745),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)数量与土壤碱解氮含量呈显著正相关( $P < 0.05$ , 0.665),与土壤速效磷含量呈显著负相关( $P < 0.05$ , -0.622)。

速效钾的含量降低。说明轮作降低土壤 pH, 提高土壤速效养分的利用率, 从而缓解连作导致的土壤养分失衡。

### 3.2 不同处理对作物根际土壤细菌群落结构和多样性的调控

土壤微生物是土壤中最活跃的部分, 是土壤中物质转化和养分循环的驱动力, 参与了土壤有机质分解、腐殖质形成、土壤养分转化和循环等多种过程<sup>[28-32]</sup>。细菌是土壤中最丰富且多样的一类微生物, 参与土壤养分转化、有机质的形成与分解<sup>[33-35]</sup>。土壤细菌群落的结构多样性对维持农业生态系统的稳定起着关键的作用<sup>[36]</sup>。作物轮作可以产生积极的环境影响, 特别是微生物多样性和真菌丰度的增加<sup>[37]</sup>。苟久兰等<sup>[38]</sup>研究发现烤烟轮作提高了细菌 OTU 数量, 并改变了细菌群落的相对丰度。Gong 等<sup>[39]</sup>试验研究表明轮作提高了土壤细菌 OTU 数量, 增加细菌多样性, 尤其是有益细菌类群数量。本研究发现, 轮作模式下的作物根际土壤细菌丰富度指数 Chao1 较 HLMA 均呈增大的趋势, 且差异达到显著水平, 其中 HLCD 模式下 Chao1 最大。说明与连作相比, 轮作改变了土壤的微环境, 使得土壤中适合寄生的细菌种类变得丰富。

不同种类的作物的分泌物成分不同, 这可能会选择性地同一土壤中富集不同的土壤微生物<sup>[39]</sup>。尹晓雷等<sup>[40]</sup>研究表明不同轮作模式下根际土壤中放线菌门、变形菌门、绿弯菌门和酸杆菌门等具有相对较高丰度, 其中放线菌门相对丰度最高。本试验结果发现, 4 种处理下作物根际土壤细菌门类组成基本一致, 相对丰度最高的是放线菌门, 其次为变形菌门, 但各优势菌门在不同处理下的相对丰度有较大的差异, 其中, 与 HLMA 模式相比, HLCD 模式下放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和拟杆菌门相对丰度分别增加 44.21%、56.36%、36.19%、224.24% 和 53.16%, 且差异均达到显著水平。放线菌丰度的提高, 产生大量抗生素, 促进了动植物残体在土壤中快速分解, 参与土壤碳、氮、磷等养分循环<sup>[41]</sup>。说明由于轮作不同作物后, 土壤优势细菌菌群丰富度增加, 导致土壤养分循环加速, 土壤根际环境得到有效改善。4 种植模式根际土壤细菌属水平分布也基本一致, 优势菌属有 *Subgroup*、芽球菌属、67-14 和土壤红杆菌属, 不同优势菌属在不同处理下的相对丰度有所不同。以上结果表明,

与连作藜麦的模式相比, 藜麦轮作蚕豆可显著提高根际土壤细菌多样性, 增加优势菌门和属的相对丰度。

### 3.3 土壤养分因子与土壤细菌优势菌群的关系

由于土壤基质的组成、化学性质和养分利用效率受到土壤 pH 的影响, 从而导致土壤微生物群落的组成和多样性受到干扰<sup>[42]</sup>, 因此土壤 pH 被认为是影响土壤微生物群落结构的重要因素。高洪军等<sup>[43]</sup>研究表明土壤细菌群落结构主要受速效钾、总氮和有机质含量的影响。本试验结果表明, 不同轮作模式下, 土壤细菌优势菌群结构与土壤全钾有显著相关性。说明土壤优势菌群的形成受到土壤中全钾含量的影响。

通常载荷因子结合主成分分析用来解释不同处理下土壤微生物群落组成的差异。本试验的根际土壤细菌群落主成分分析结果表明 4 种植模式中 HLMA 和 HLMLS 的群落样本不论在第一轴的维度还是第二轴的维度都表现出较大差异, 说明连作藜麦和轮作马铃薯处理下群落样本变异较大, 两个处理下细菌群落组成发生了明显变化。

#### 参考文献 Reference:

- [1] MERILES J M, VARGAS G S, HARO R, et al. Selected soil-borne fungi under glyphosate application and crop residues from a long-term field experiment[J]. *Biological Agriculture and Horticulture*, 2008, 26(2): 193-205.
- [2] ZHANG W, DU Y. Analysis of the succession of structure of the bacteria community in soil from long-term continuous cotton cropping in Xinjiang using high-throughput sequencing[J]. *Archives of Microbiology*, 2018, 200: 653-662.
- [3] FREDDY A. Common bean response to tillage intensity and weed control strategies[J]. *Cropping System*, 2001, 93: 556-563.
- [4] AVIDANO L, GAMALERO E, COSSA G P, et al. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators[J]. *Applied Soil Ecology*, 2005, 30: 21-33.
- [5] WALDROP M P, BALSER T C, FIRESTONE M K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32: 1837-1846.
- [6] LIU Z X, LIU J J, YU Z H, et al. Long-term continuous cropping of soybean is comparable to crop rotation in mediating microbial abundance, diversity and community composition[J]. *Soil and Tillage Research*, 2020, 197: 1-9.
- [7] HUANG H C, CHOU CH H, ERICKSON R S. Soil sickness and its control[J]. *Allelopathy Journal*, 2006, 18(1): 1-22.
- [8] 王立光, 叶春雷, 陈军, 等. 胡麻/小麦间作与胡麻-小麦轮作对土壤理化特性及胡麻生长的影响[J]. *中国农业科技导报*, 2021, 23(12): 161-171.  
WANG L G, YE CH L, CHEN J, et al. Effects of intercropping and rotation between oil flax and wheat on soil

- physicochemical properties and growth of oil flax[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(12):161-171.
- [9] 樊芳芳,白文斌,王磊,等.不同调控措施对连作高粱生长及根际土壤微生物群落结构的影响[J].河南农业科学,2020,49(10):70-77.  
FAN F F, BAI W B, WANG L, *et al.* Effects of different control measures on the growth and rhizosphere soil microbial community structure of continuous cropping Sorghum [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2020, 49(10):70-77.
- [10] TOM O D, EMMANUEL P, KEVIN P K, *et al.* Structure, fluctuation and magnitude of a natural grassland soil metagenome[J]. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2012, 6(9):1677-1687.
- [11] 魏鹏,安沙舟,董乙强,等.基于高通量测序的准噶尔盆地荒漠土壤细菌多样性及群落结构特征[J].草业学报,2020,29(5):182-190.  
WEI P, AN SH ZH, DONG Y Q, *et al.* A high-throughput sequencing evaluation of bacterial diversity and community structure of the desert soil in the Junggar Basin [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(5):182-190.
- [12] 刘文瑜,杨发荣,谢志军,等.不同品种藜麦幼苗对干旱胁迫的生理响应及耐旱性评价[J].干旱地区农业研究,2021,39(6):10-18.  
LIU W Y, YANG F R, XIE ZH J, *et al.* Evaluation of drought tolerance and physiological response to drought stress of different varieties of quinoa seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(6):10-18.
- [13] 杨发荣.藜麦新品种‘陇藜1号’的选育及应用前景[J].甘肃农业科技,2015(12):1-5.  
YANG F R. Breeding and application prospects of new variety *Chenopodium quinoa* cv. ‘Longli 1’[J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2015(12):1-5.
- [14] 杨发荣,刘文瑜,黄杰,等.不同藜麦品种对盐胁迫的生理响应及耐盐性评价[J].草业学报,2017,26(12):77-88.  
YANG F R, LIU W Y, HUANG J, *et al.* Physiological responses of different quinoa varieties to salt stress and evaluation of salt tolerance[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(12):77-88.
- [15] JACOBSEN S E, MUJICA A, JENSEN C R. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors [J]. *Food Reviews International*, 2003, 19(1/2):99-109.
- [16] 杨科,刘文瑜,王旺田,等.连作对藜麦生长和生理特性的影响[J].江西农业学报,2021,43(2):244-252.  
YANG K, LIU W Y, WANG W T, *et al.* Effects of continuous cropping on growth and physiological characteristics of quinoa[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2021, 43(2):244-252.
- [17] 贡布扎西,旺姆,张崇玺,等.南美藜在西藏的生物学特性研究[J].西北农业学报,1994,3(4):81-86.  
GONGBUZHAXI, WANG M, ZHANG CH X, *et al.* Preliminary study of biological characteristics on quinoa in Tibet[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 1994, 3(4):81-86.
- [18] 刘文瑜,李健荣,杨发荣,等.盐胁迫对40份藜麦种质种子萌发的影响及耐盐性评价[J].分子植物育种,2021, 19(3):983-995.
- LIU W Y, LI J R, YANG F R, *et al.* Effects of salt stress on seed germination of 40 quinoa germplasm and evaluation of salt tolerance [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(3):983-995.
- [19] 宁和平,刘丽,栾振斌,等.甘南合作地区牧草生长季土壤水分气候变化特征[J].中国农学通报,2021,37(14):116-122.  
NING H P, LIU L, LUAN ZH B, *et al.* Climate change characteristics of soil moisture in forage growing season in Hezuo of Gannan Plateau[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(14):116-122.
- [20] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.  
BAO SH D. Soil Agro-chemical Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [21] CHEN M M, YIN H B, O’CONNOR P, *et al.* C : N : P stoichiometry and specific growth rate of clover colonized by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Plant and Soil*, 2010, 326(1/2):21-29.
- [22] 张成君,师尚礼,康文娟,等.不同轮作模式土壤酶活性特征及与化学性质的关系[J].中国草地学报,2020,42(5):92-102.  
ZHANG CH J, SHI SH L, KANG W J, *et al.* Characteristics of soil enzyme activity and its relationship with chemical properties under different rotation pattern[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2020, 42(5):92-102.
- [23] 孙小花,胡新元,陆立银,等.黄土高原马铃薯不同连作年限土壤理化性质及微生物特性[J].干旱地区农业研究,2019,37(4):184-192.  
SUN X H, HU X Y, LU L Y, *et al.* Soil physical and chemical properties and microbial characteristics of potato in different continuous cropping years on the Loess Plateau[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(4):184-192.
- [24] 张子龙,李凯明,杨建忠,等.轮作对三七连作障碍的消减效应研究[J].西南大学学报(自然科学版),2015,37(8):39-46.  
ZHANG Z L, LI K M, YANG J ZH, *et al.* Effects of crop rotation for reducing continuous cropping obstacles in Panaxnoto ginseng cultivation[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2015, 37(8):39-46.
- [25] 秦舒浩,曹莉,张俊莲,等.轮作豆科植物对马铃薯连作田土壤速效养分及理化性质的影响[J].作物学报,2014, 40(8):1452-1458.  
QIN SH H, CAO L, ZHANG J L, *et al.* Effect of rotation of leguminous plants on soil available nutrients and physical and chemical properties in continuous cropping potato field[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2014, 40(8):1452-1458.
- [26] SOMAN C, LI D F, MICHELLE M, *et al.* Long-term fertilizer and crop-rotation treatments differentially affect soil bacterial community structure[J]. *Plant and Soil*, 2017, 413:145-159.
- [27] ZUBER S M, BEHNKE G D, NAFZIGER E D, *et al.* Crop rotation and tillage effects on soil physical and chemical properties in illinois [J]. *Agronomy Journal*, 2015,



- 107(3):971-978.
- [28] TIEMANN L K,GRANDY A S,ATKINSON E E,*et al.* Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem[J]. *Ecology Letters*,2015,18(8):761.
- [29] 尹国丽,李亚娟,张振粉,等. 不同草田轮作模式土壤养分及细菌群落组成特征[J]. *生态学报*,2020,40(5):1542-1550.
- YIN G L,LI Y J,ZHANG ZH F,*et al.* Characteristics of soil nutrients and bacterial community composition under different rotation patterns in grassland[J]. *Acta Ecologica Sinica*,2020,40(5):1542-1550.
- [30] RAJKUMAR M,AE N,PRASAD M N,*et al.* Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction [J]. *Trends in Biotechnology*,2010,28(3):142-149.
- [31] JANGID K. Relative impacts of land-use,management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*,2008,40(11):2843-2853.
- [32] LI Y,FANG F,WEI J L,*et al.* Humic acid fertilizer improved soil properties and soil microbial diversity of continuous cropping peanut;a three-year experiment[J]. *Scientific Reports*,2019,9:1-15.
- [33] PAN H,CHEN M M,FENG H J,*et al.* Organic and inorganic fertilizers respectively drive bacterial and fungal community compositions in a fluvoaquic soil in northern China[J]. *Soil and Tillage Research*,2020,198:104540.
- [34] YE Z,LI J,WANG J,*et al.* Diversity and co-occurrence network modularization of bacterial communities determine soil fertility and crop yields in arid fertigation agroecosystems[J]. *Biology and Fertility of Soils*,2021,57:809-824.
- [35] 陈佳欣,冯静怡,李娟,等. 生物炭与干旱胁迫对冬小麦根际土壤理化性质及细菌群落的影响[J]. *西北农业学报*,2023,32(11):1725-1735.
- CHEN J X,FENG J Y,LI J,*et al.* Effects of biochar and drought stress on soil physicochemical properties and bacterial community in winter wheat rhizosphere[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2023,32(11):1725-1735.
- [36] WANG J,CHAPMAN S J,YAO H. The effect of storage on microbial activity and bacterial community structure of drained and flooded paddy soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*,2015,15(4):880-889.
- [37] LI M H,GUO J J,REN T,*et al.* Crop rotation history constrains soil biodiversity and multifunctionality relationships [J]. *Agriculture, Ecosystem and Environment*,2021,319:1-12.
- [38] 苟久兰,顾小凤,张萌,等. 不同烤烟种植模式对贵州土壤养分、酶活性及细菌群落结构的影响[J]. *核农学报*,2022,36(7):1475-1484.
- GOU J L,GU X F,ZHANG M,*et al.* Effects of different fluecured tobacco planting patterns on nutrients, enzyme activities and bacterial community structure in soil of Guizhou province[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*,2022,36(7):1475-1484.
- [39] GONG X Y,SHI J B,ZHOU X G. Crop rotation with cress increases cucumber yields by regulating the composition of the rhizosphere soil microbial community [J]. *Frontiers in Microbiology*,2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.631882.
- [40] 尹晓雷,李先德,林少颖,等. 不同轮作模式下土壤细菌群落特征及其对土壤全碳、全氮与温室气体释放潜力的影响[J]. *环境科学学报*,2021,41(23):5161-5173.
- YIN X L,LI X D,LIN SH Y,*et al.* Effects of soil bacterial community characteristics on total carbon and total nitrogen contents and greenhouse gas emission potential under different rotation patterns[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*,2021,41(23):5161-5173.
- [41] 郑佳华,张峰,杨阳,等. 刈割留茬高度对大针茅草原土壤微生物群落结构及多样性的影响[J]. *中国草地学报*,2021,43(1):68-75.
- ZHENG J H,ZHANG F,YANG Y,*et al.* Effects of stubble height on the structure and diversity of soil microbial community in *Stipa grandis* steppe[J]. *Chinese Journal of Grassland*,2021,43(1):68-75.
- [42] TIE Z C,ABDULROHIMKEYOMU,BAYEMUREDUVE P B,*et al.* Effect of different land uses on soil microflora and activity in Tajikistan[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2014,23(5):177-184.
- [43] 高洪军,李强,彭畅,等. 不同轮作和秸秆还田方式对黑土细菌群落结构的影响[J]. *吉林农业大学学报*,2022,44(3):336-344.
- GAO H J,LI Q,PENG CH,*et al.* Effects of crop rotation and straw return on the bacterial community structure in black soil[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*,2022,44(3):336-344.

## Study on Diversity Characteristics of Microbial Community in Rhizosphere Soil of Farmland

YUAN Pengfei<sup>1</sup>, LIU Wenyu<sup>2,3</sup>, YANG Farong<sup>1,2,3</sup>, LIU Huan<sup>1,4</sup>, HUANG Jie<sup>2,3</sup>, WEI Yuming<sup>2,3</sup>, XIE Zhijun<sup>2</sup>, YANG Fumin<sup>5</sup> and ZHAO Baotang<sup>5</sup>

(1. Prataculture College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Institute of Pasture and Green Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 3. Gansu Quinoa Breeding and Cultivation Technology and Comprehensive Development Engineering Research Center, Lanzhou 730070, China; 4. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou 730070, China; 5. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract** In this study, quinoa, faba bean, rape, and potato were used as tested materials, and continuous cropping of quinoa (HLMA), and quinoa rotated with potato (HLMLS), rapeseed (HLYC), and faba bean (HLCD) were set as treatments. Characteristics of soil nutrients and bacterial community composition under these four quinoa planting patterns were determined by measurement of the soil nutrient content and use of high-throughput sequencing technology (Illumina-HiSeq) to sequence the rhizosphere soil genome of quinoa. Soil nutrient content and pH value decreased significantly with rotation compared with the continuous cropping pattern. Faba bean rotation increased the richness index, diversity index, and dominance index of the bacterial community in soil. For bacterial composition, the dominant bacterial phyla under the four cropping patterns were Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes, and Gemmatimonadetes. Under HLCD treatment, the relative abundances of Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes, and Gemmatimonadetes were significantly higher than those under other treatments, which respectively reached 50.48%, 13.17%, 11.90%, 7.42%, and 4.50%, increased by 44.21%, 56.36%, 36.19%, 224.24%, and 53.16% compared with HLMA treatment. The dominant genera of the soil bacteria were *Subgroup*, *Blastococcus*, 67-14, and *Solirubrobacter*, but the relative abundances of soil bacterial genera differed under different planting patterns. Under HLCD treatment, the relative abundances of *Subgroup*, *Blastococcus*, 67-14, and *Solirubrobacter* were significantly higher than those under other treatments, reaching 7.08%, 5.48%, 4.35%, and 3.49%, respectively. Compared with HLMA treatment, abundances increased by 51.99%, 64.86%, 49.89%, and 71.85%, respectively. The cluster analysis showed that the compositions of HLYC and HLMLS were the most similar, followed by HLCD, and the composition of HLMA was significantly different from the HLYC and HLMLS. Soil total potassium, available nitrogen, and available phosphorus were the driving factors for changes of the dominant phyla in the soil bacterial community. In conclusion, continuous cropping of quinoa followed by rotation of faba bean, rape, or potato can improve soil fertility and increase the richness of the bacterial community.

**Key words** Continuous cropping; Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.); Illumina-HiSeq; Rhizosphere soil; Community structure

**Received** 2022-09-14

**Returned** 2022-10-14

**Foundation item** The National Natural Science Foundation of China (No. 31660357); the Special Fund for Central Government to Guide Science and Technology Development of Local Governments; the Natural Science Foundation of Gansu Province (No. 21JR7RA730); the Special Project of Science and Technology Innovation of Gansu Academy of Agricultural Sciences (No. 2022GASS07); the Key Research and Development Plan of Gansu Academy of Agricultural Sciences (No. 2020GAAS31).

**First author** YUAN Pengfei, male, master student. Research area: crop anti-culture. E-mail: 2240680875@qq.com

**Corresponding author** YANG Farong, male, research fellow. Research area: quinoa planting and breeding. E-mail: lzyfr08@163.com

(责任编辑:顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)