

轮作休耕模式对土壤细菌群落的影响

南丽丽¹, 郭全恩², 谭杰辉¹, 康发云³

(1. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所, 甘肃 兰州 730070;
3. 甘肃省永靖县农业技术推广中心, 甘肃 永靖 731600)

摘 要:以黄土高原半干旱区 9 种轮作休耕模式土壤为研究对象, 分别设残膜覆盖(T₁)、伏天深耕(T₂)、施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续休耕 3 a(T₃)、施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续种植豌豆 3 a 并在盛花期翻压还田(T₄)、施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植豌豆(每 kg 豌豆种子拌根瘤菌粉 8.5 g)并在盛花期翻压还田(T₅)、玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg·hm⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续休耕 3 a(T₆)、玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg·hm⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植毛苕子在盛花期翻压还田(T₇)、玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg·hm⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg·hm⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植毛苕子在盛花期翻压还田(T₈)等 8 个处理, 以连续休耕 3 a 为对照(CK), 采用 16S rRNA 扩增子测序技术对土壤细菌群落组成、丰度和多样性等特征进行研究, 分析了土壤养分与细菌种群多样性的相关关系。结果表明, 9 种休耕轮作模式下, 土壤细菌群落中相对丰度较高的前 5 位菌门依次为变形菌门(Proteobacteria)(26.33%~37.33%)、酸杆菌门(Acidobacteria)(17.93%~21.43%)、放线菌门(Actinobacteria)(12.42%~19.41%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)(6.98%~10.99%)和绿弯菌门(Chloroflexi)(6.48%~10.50%)。其中 T₁、T₅ 处理显著升高了硝化螺旋菌门的相对丰度(分别为 50.04%和 42.44%), T₂ 处理显著提高了变形菌门和拟杆菌门的相对丰度(分别为 31.51%和 159.96%), T₆、T₇ 处理显著增加了芽单胞菌门的相对丰度(分别为 28.36%和 28.33%), T₈ 处理显著增高了奇古菌门的相对丰度(519.79%)。不同轮作休耕模式的土壤全氮含量均高于 CK。细菌群落丰富度指数除 T₇ 处理外, 其余处理均高于 CK。冗余分析和 Monte Carlo 置换检验结果显示, 土壤全氮、全钾、速效氮含量对土壤细菌群落结构影响显著(P<0.05)。

关键词:休耕轮作模式; 土壤细菌群落丰度; 土壤养分; 黄土高原半干旱区

中图分类号:S344.1⁺1; S154.38⁺1 **文献标志码:**A

Influence of rotation fallow mode on bacterial community in soil

NAN Lili¹, GUO Quanen², TAN Jiehui¹, KANG Fayun³

(1. College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;
2. Soil Fertilizer and Water-Saving Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China;
3. The Agricultural Technique Popularization of Yongjing county in Gansu Province, Yongjing, Gansu 731600, China)

Abstract: Soil bacterial community composition, abundance, and diversity were studied in nine rotation fallow modes in semi-arid region of Loess Plateau. Nine rotation fallow treatments as: a control (CK) with continuous three years of fallow; a three-year residual plastic film mulching (T₁); a three-year deep tillage in hot summer (T₂); applying cattle and sheep manure of 7 500 kg·hm⁻², then deep tillage of 30 cm for 3 consecutive years of fallow (T₃); applying cattle and sheep manure of 7 500 kg·hm⁻², after deep tillage of 30 cm planting *Pisum sativum* for 3 consecutive years and returning to the field in full bloom (T₄); applying cattle and sheep manure of 7 500 kg·hm⁻², after deep tillage of 30 cm planting *Pisum sativum* with rhizobium powder 8.5 g·kg⁻¹ for 3 consecutive years and returning to the field in full bloom (T₅); corn straw chopping and returning to the field of 7 500

kg · hm⁻², then deep tillage of 30 cm for 3 consecutive years (T₆); corn straw chopping and returning to the field of 7 500 kg · hm⁻², after deep tillage of 30 cm planting *Licia villosa* and returning to the field in full bloom (T₇); and corn straw chopping and returning to the field of 7 500 kg · hm⁻², then applying cattle and sheep manure of 7 500 kg · hm⁻², after deep tillage of 30 cm planting *Vicia sativa* and returning to the field in full bloom (T₈). The determination of the soil bacterial community characteristics was achieved by DNA extraction followed by PCR amplification, and sequencing using the HiSeq platform. The 16 SrRNA amplifier sequencing technique was used in the study. The correlation between soil nutrients and bacterial population diversity was analyzed. The results showed that the top five phyla with highest relative abundance were Proteobacteria (26.33% ~ 37.33%), Acidobacteria (17.93% ~ 21.43%), Actinobacteria (12.42% ~ 19.41%), Gemmatimonadetes (6.98% ~ 10.99%), and Chloroflexi (6.48% ~ 10.50%) under the nine rotation fallow modes. The relative abundance of Nitrospirae in T₁ and T₅ treatments significantly improved by 50.04 and 42.44%, respectively, the relative abundances of Proteobacteria and Bacteroidetes in T₂ treatment significantly increased by 31.51% and 159.96% respectively, the relative abundances of Gemmatimonadetes in T₆ and T₇ treatments significantly increased by 28.36% and 28.33%, respectively, the relative abundance of Thaumarchaeota in T₈ treatment significantly increased by 519.79%. Soil total nitrogen content of all treatments was significantly higher than that of CK. The abundance indexes (ACE and Chao1) of all treatments except T₇ treatment were significantly higher than that of CK. Redundancy analysis (RDA) showed that the compositions of the soil bacterial communities were driven by several soil chemical proprieties. The Monte Carlo permutation test showed that the soil total nitrogen, total potassium, and available nitrogen contents significantly influenced the composition of the bacterial community.

Keywords: fallow rotation mode; soil bacterial community abundance; soil nutrient; semi-arid region of Loess Plateau

黄土高原是中国文明发祥地及主要旱作农业生产区^[1]。近年来,由于降雨集中、植被覆盖度降低、特殊的土壤性质以及人类不合理的利用导致黄土高原水土流失日益严重,现已成为国内水土流失最严重的区域^[2]。水土资源的短缺与流失严重制约了黄土高原区的经济发展,限制黄土区生态恢复和土地生产力提高^[3]。为了坚守耕地红线,保障国家粮食安全,更好地实施“藏粮于地、藏粮于技”战略,实现节约地下水、保护生态环境的目标,国家提出在部分地区探索试行耕地轮作休耕制度。2016年,将河北省地下水漏斗区、湖南省长株潭重金属污染区、贵州及云南省石漠化区、甘肃省生态严重退化区作为我国的休耕试点区^[4]。这对提高我国土壤质量、促进农业提质增效^[5]、维护食品安全和保障生态安全^[6]均具有重要意义。

已有研究表明,稻麦还田^[7]、麦秸还田^[8]、绿肥还田^[9-10]、耕作方式^[11]等能够显著改变土壤细菌群落;农田种植制度^[12]、耕作方式(如免耕、旋耕、深松)^[13]、休耕^[14]等对物种多样性有重要影响。而有关甘肃省生态严重退化区轮作休耕模式与技术措施对细菌群落的影响少见报道。为此,本试验对甘肃省黄土高原半干旱区不同轮作休耕模式下土壤

化学性质及细菌群落多样性进行了研究,从微生物和养分的角度探讨黄土高原半干旱地区休耕轮作最佳模式,旨在为该地区农业的可持续发展提供理论依据和技术支持,亦为我国科学推行休耕轮作制度试点工作提供现实参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地位于甘肃省永靖县新寺乡大湾岷村(36°00'N, 103°12'E),地处陇西黄土高原丘陵沟壑区,境内山大沟深,土质疏松,水土流失严重,属温带半干旱偏旱气候类型,海拔1 957 m,年均温度8.7℃, > 10℃积温2 750℃,年均降雨量260 mm,且年际、季节性分布不均,降雨主要集中在7—9月,蒸发量高达1 500 mm。样地0~20 cm土层的pH值为8.24,全氮、全磷、全钾、有机质含量分别为1.09、0.15、8.25、3.45 g · kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验采用完全随机设计,于2017年5月设置9种轮作休耕模式(表1),小区面积56 m²(7 m × 8 m),区间距为80 cm,3次重复。豆科绿肥作物豌豆(*Pisum sativum*)、毛苕子(*Licia villosa*)和箭筈豌豆(*Vicia sativa*)的播种量分别为90、45、70 kg · hm⁻²,

表 1 不同轮作休耕模式
Table 1 Different rotation fallow modes

代码 Code	处理 Treatment
CK	连续休耕 3 a Continuous three years of fallow
T ₁	残膜覆盖,即前茬地膜玉米收获后,除去秸秆,未去除残膜,连续休耕 3 a A three-year residual plastic film mulching
T ₂	伏天深耕,即每年三伏天深耕 1 次,连续休耕 3 a A three-year deep tillage in hot summer
T ₃	施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续休耕 3 a Apply cattle and sheep manure of 7500 kg · hm ⁻² , then deep tillage of 30 cm for 3 consecutive years of fallow
T ₄	施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植豌豆并在盛花期翻压还田 Apply cattle and sheep manure of 7 500 kg · hm ⁻² , after deep tillage of 30 cm planting <i>Pisum sativum</i> for 3 consecutive years and returning to the field in full bloom
T ₅	施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植豌豆(每 kg 种子拌根瘤菌粉 8.5 g)并在盛花期翻压还田 Apply cattle and sheep manure of 7 500 kg · hm ⁻² , after deep tillage of 30 cm planting <i>Pisum sativum</i> with rhizobium powder 8.5 g · kg ⁻¹ for 3 consecutive years and returning to the field in full bloom
T ₆	玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg · hm ⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)后连续休耕 3 a Corn straw chopping and returning to the field of 7 500 kg · hm ⁻² , then deep tillage of 30 cm for 3 consecutive years
T ₇	玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg · hm ⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植毛苕子并在盛花期翻压还田 Corn straw chopping and returning to the field of 7 500 kg · hm ⁻² , after deep tillage of 30 cm planting <i>Licia villosa</i> and returning to the field in full bloom
T ₈	玉米秸秆粉碎(还田量 7 500 kg · hm ⁻²)+施牛羊粪(7 500 kg · hm ⁻²)+深翻耕(30 cm)+连续 3 a 种植箭筈豌豆并在盛花期翻压还田 Corn straw chopping and returning to the field of 7 500 kg · hm ⁻² , then apply cattle and sheep manure of 7 500 kg · hm ⁻² , after deep tillage of 30 cm planting <i>Vicia sativa</i> and returning to the field in full bloom

播种深度 3 cm,行距 30 cm。休耕第 3 年即 2019 年 9 月 21 日用土钻在各小区按“S”形路线采取 0~20 cm 土层土样,3 次重复。土样混匀后装入灭菌袋中用冰盒带回,在-80℃冰箱中保存备用。土样分为两份,一份用于土壤化学指标测定,另一份用于土壤微生物总 DNA 提取。

1.3 测定方法

土壤化学指标测定:土壤全氮(total nitrogen, TN)采用凯氏定氮法测定,全磷(total phosphorus, TP)采用 HClO₄-浓 H₂SO₄外加热消煮法(分光光度法)测定,全钾(total potassium, TK)采用 HClO₄-HF 外加热消煮法(火焰光度法)测定,速效氮(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法测定,速效磷(available phosphorus, AP)采用 0.5 mol · L⁻¹ NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法测定,速效钾(available potassium, AK)采用 NH₄OAc 浸提(火焰光度法)测定,有机质(organic matter, OM)采用重铬酸钾容量法(外加热法)测定,土:水为 1:5 悬液用 pH S-4 智能酸度计测定^[15]。

土壤总 DNA 提取及细菌 16 SrRNA 基因扩增:采用 CTAB 法对土壤基因组 DNA 进行提取,用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,取适量的样本 DNA 于离心管中,使用无菌水稀释样本至 1 ng · μl⁻¹。

以稀释后的基因组 DNA 为模板,对细菌 16S rRNA 基因 V4 区采用带 Barcode 的特异性引物^[16](515F 和 806R)进行 PCR 扩增,每个样品 3 次重复。根据 PCR 产物浓度进行等量混样,充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,对目的条带使用 Qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物。使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行上机测序。对 Illumina NovaSeq 测序得到的下机数据(Raw PE)进行拼接和质控^[17],得到 Clean tags,再进行嵌合体过滤,得到可用于后续分析的有效数据(effective tags)。

1.4 数据分析

利用 Uparse 软件对样品的有效序列进行 OTUs 聚类(Operational Taxonomic Units,相似度 97% 以上),用 Mothur 方法^[18]与 Silva 软件的 SSUrRNA 数据库^[19]进行物种注释(设定阈值为 0.8~1.0);采用 MUSCLE(3.8.31)软件^[20]进行快速多序列比对,最后对测序数据进行标准化处理,采用 Qiime(1.9.1)软件计算 Alpha 多样性指数,使用 R 软件(2.15.3)绘制稀释曲线。

用 Excel 2003 进行数据统计,用 SPSS 20.0 软件

对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),用 Duncan 法对数据进行多重比较。用 CANOCO 4.0 软件对细菌优势群落与土壤化学指标间的相互关系进行冗余分析,并采用 Monte Carlo 置换检验计算因子的重要性,其中置换次数设为 999 次,显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 土壤化学性质

由表 2 可知,不同轮作休耕模式对土壤全量养分、速效养分、有机质及 pH 值均有显著影响($P<0.05$)。其中全氮、全磷、全钾含量的变化范围分别为 $3.97\sim 11.97\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $0.16\sim 0.26\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $9.49\sim 11.08\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮含量各处理均显著高于 CK;全磷含量 T_5 和 T_6 处理显著大于 CK,其余处理与 CK 差异不显著;全钾含量 T_2 处理与 CK 差异不显著,其余处理均显著高于 CK。各处理速效氮、速效磷、速效钾含量分别在 $98.14\sim 124.44\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $0.81\sim 2.62\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $28.85\sim 43.15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内变化,其中速效氮含量 T_2 处理与 CK 差异不显著,其余处理均显著低于 CK;速效磷含量 T_5 和 T_6 处理显著低于 CK, T_7 处理与 CK 差异不明显,其余处理均显著高于

CK;速效钾含量 T_5 和 T_6 处理显著低于 CK, T_1 处理显著大于 CK,其余处理与 CK 差异均不显著。 T_1 、 T_2 、 T_6 处理的有机质含量与 CK 差异不显著,其他处理均显著小于 CK。pH 值 T_1 、 T_6 、 T_7 处理与 CK 差异不显著,其余处理均显著低于 CK。

2.2 土壤细菌群落丰度与 Alpha 多样性分析

由表 3 可知,通过高通量测序,过滤掉低质量的序列后,CK、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 、 T_5 、 T_6 、 T_7 、 T_8 处理的有效序列分别为 78325、80788、79104、77342、81711、82409、83994、78413、81662; OTU 数分别为 3271、3536、3321、3342、3352、3490、3199、3298、3461。由图 1 可知,各样品文库的覆盖度均在 98% 以上,并结合样品稀释曲线均趋于平缓,说明本研究测序数据合理,能够准确反映出土壤细菌群落的真实信息。不同处理土壤细菌群落丰富度指数(Chao1 指数和 ACE 指数) T_7 处理与 CK 差异不显著,其余处理均显著高于 CK,且 T_3 处理最大;细菌群落多样性指数(Simpson 和 Shannon-wiener 指数)各处理间差异不显著。由图 2 可知,所有样品中共有 OTUs 数目为 2474 个,其中 CK、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 、 T_5 、 T_6 、 T_7 、 T_8 各处理中所特有的 OTUs 数目分别为 108、209、116、91、102、111、76、123 和 115 个。

表 2 各样地土壤化学性质

Table 2 Soil chemical properties of different soil sampling sites (mean±SD, n=3)

处理 Treatment	pH	有机质 OM/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	全磷 TP/(g·kg ⁻¹)	全钾 TK/(g·kg ⁻¹)	速效氮 AN/(mg·kg ⁻¹)	速效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK/(mg·kg ⁻¹)
CK	7.37±0.08a	16.66±0.65a	3.97±0.03f	0.19±0.03cd	9.49±0.09d	123.33±0.62a	1.21±0.11c	38.38±1.16bc
T ₁	7.39±0.04a	15.11±1.47a	5.55±0.03e	0.18±0.01cd	10.23±0.05c	115.51±1.10b	1.82±0.04b	43.15±1.38a
T ₂	7.28±0.04b	15.38±1.64a	5.28±0.16e	0.20±0.00cd	9.67±0.25d	124.44±1.87a	2.54±0.30a	38.92±1.39b
T ₃	7.26±0.06b	11.64±1.02b	7.11±0.54d	0.16±0.02d	10.11±0.11c	111.38±1.62cd	1.59±0.01b	36.83±0.24c
T ₄	7.27±0.05b	10.77±0.67bc	8.45±0.10c	0.20±0.03cd	10.38±0.22c	98.14±1.78f	2.62±0.10a	37.98±1.15bc
T ₅	7.26±0.05b	11.50±1.06b	7.22±0.19d	0.22±0.01ab	11.08±0.13a	104.78±0.19e	0.87±0.04d	28.85±0.45e
T ₆	7.36±0.06a	14.35±0.59ab	11.97±0.39a	0.26±0.02a	10.68±0.12b	110.06±2.60d	0.81±0.03d	32.52±0.70d
T ₇	7.39±0.04a	12.67±0.72b	10.73±1.27b	0.16±0.02d	10.20±0.13c	114.20±1.89bc	1.32±0.04c	37.17±0.11bc
T ₈	7.29±0.08b	9.09±0.28c	8.22±0.12c	0.21±0.02bc	10.16±0.17c	113.28±1.81bc	1.60±0.17b	38.30±1.24bc

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Values with different lowercase letters in same column indicate significant difference at the 0.05 level ($P<0.05$). The same below.

表 3 样品序列数统计、丰富度与多样性指数

Table 3 Sample sequence numbers statistics, richness and diversity index

处理 Treatment	有效序列 Effective sequence	分类单元 Observed OTUs	香农-威纳指数 Shannon-wiener index	辛普森指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	覆盖度 Coverage/%
CK	78325±331	3271±135	9.69±0.01a	0.996±0.00a	3609.57±121.03c	3720.86±190.10c	0.987±0.00
T ₁	80788±989	3536±234	9.84±0.17a	0.997±0.00a	3930.53±263.61b	4025.11±301.36ab	0.986±0.00
T ₂	79104±986	3321±190	9.62±0.11a	0.996±0.00a	3735.73±199.39b	3823.48±274.20b	0.987±0.00
T ₃	77342±142	3342±161	9.59±0.12a	0.996±0.00a	4634.31±162.17a	4104.39±473.10a	0.983±0.00
T ₄	81711±929	3352±118	9.72±0.07a	0.996±0.00a	3701.84±128.71b	3791.13±143.95b	0.987±0.00
T ₅	82409±1092	3490±154	9.82±0.07a	0.997±0.00a	3916.07±156.60b	4039.53±218.55ab	0.985±0.00
T ₆	83994±1153	3199±134	9.58±0.13a	0.996±0.00a	3758.78±350.38b	3803.37±241.31b	0.985±0.00
T ₇	78413±1285	3298±132	9.80±0.07a	0.997±0.00a	3637.36±162.82c	3722.04±207.86c	0.988±0.00
T ₈	81662±626	3461±148	9.85±0.11a	0.997±0.00a	3917.11±144.60b	3948.15±153.64b	0.986±0.00

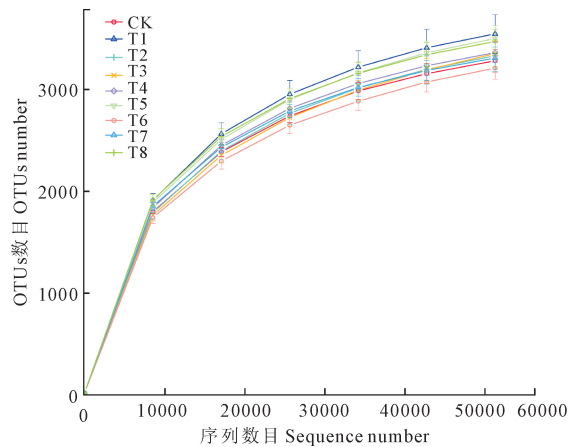


图 1 样品稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves for samples

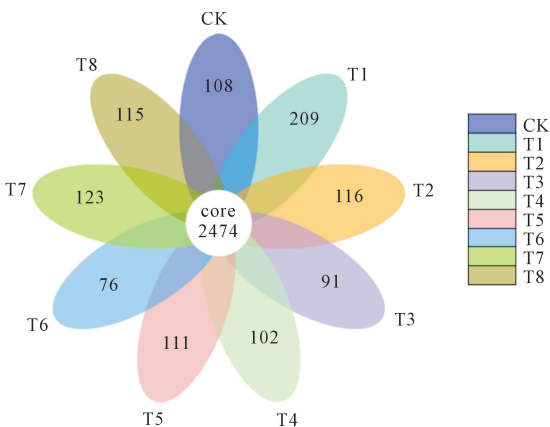


图 2 土壤细菌 OTUs 分布花瓣图

Fig.2 Flower diagrams of soil bacteria OTUs

2.3 不同轮作休耕模式土壤细菌群落分布

2.3.1 门水平上的群落组成 由图 3 可知,各处理细菌群落相对丰度从大到小位于前十位的细菌门分别为:变形菌门 (Proteobacteria) (26.33% ~ 37.33%)、酸杆菌门 (Acidobacteria) (17.93% ~ 21.43%)、放线菌门 (Actinobacteria) (12.42% ~ 19.41%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) (6.98% ~ 10.99%)、绿弯菌门 (Chloroflexi) (6.48% ~ 10.50%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) (3.10% ~ 8.95%)、棒状杆菌门 (Rokubacteria) (1.97% ~ 3.53%)、疣微菌门 (Verrucomicrobia) (1.63% ~ 2.37%)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) (0.72% ~ 1.17%)、奇古菌门 (Thaumarchaeota) (0.18% ~ 1.14%),共占细菌总数的 93.37%~95.85%。其中变形菌门、酸杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门和绿弯菌门占细菌总数的 81.50%~87.01%,说明这 5 个门的细菌为优势菌群。除疣微菌门外,不同处理细菌在门分类水平上相对丰度有一定的差异,其中变形菌门、拟杆菌门 T₂处理显著高于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 无明显差异;酸杆菌门 T₈处理显著小于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;放线菌门 T₁、T₂处理显著低于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;芽单胞菌门 T₆、T₇处理显著高于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;绿弯菌门 T₂处理显著低于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;棒状杆菌门 T₂、T₆、T₈处理显著小于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不明显;奇古菌门 T₈处理最高并显著大于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;硝化螺旋菌门 T₁、T₅处理显著大于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著。

2.3.2 属水平上的群落组成 由图 4 可知,各处理细菌群落相对丰度从大到小位于前十位的细菌属

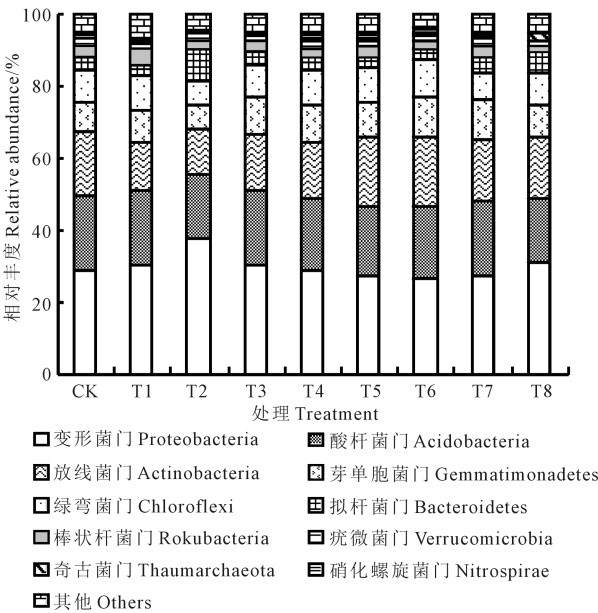


图 3 门分类水平下的细菌群落相对丰度

Fig.3 Relative abundance of bacterial community at phylum level

分别为:鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、*Adhaeribacter* 属、未分类酸杆菌属、内共生菌属 (*Buchnera*)、芽生球菌属 (*Blastococcus*)、黄杆菌属 (*Flavisolibacter*)、黄曲霉属 (*Flaviaestuariibacter*)、*Gaiella* 属、*Haliangium* 属、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*),其他类群的相对丰度占 80.07%~87.70%。除未分类酸杆菌属外,细菌在属分类水平上各处理相对丰度有一定的差异。其中鞘氨醇单胞菌属、*Adhaeribacter* 属、黄曲霉属和黄杆菌属 T₂处理均显著高于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;芽生球菌属 T₁处理显著低于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不显著;*Gaiella* 属 T₁、T₂、T₃处理显著小于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不明显;*Haliangium* 属 T₁、T₄处理差异不显著,且均显著高于 CK ($P<0.05$),其他处理与 CK 差异不

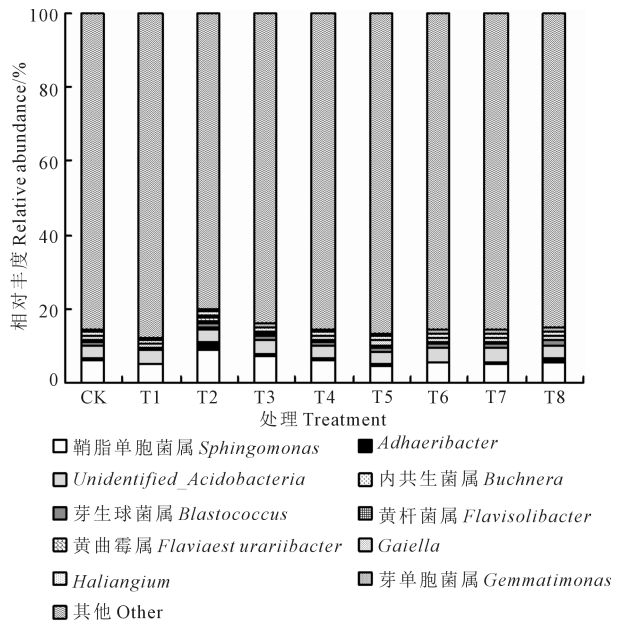


图 4 属分类水平下的细菌群落相对丰度

Fig.4 Relative abundance of bacterial community at genus level

显著;芽单胞菌属 T₃、T₆、T₇、T₈处理显著大于 CK ($P < 0.05$),其余处理与 CK 差异不显著;内共生菌属各处理间无明显差异。

2.4 细菌群落结构与土壤性质的关系

为进一步分析不同土壤环境因子对细菌门水平群落结构的影响,对细菌群落结构与土壤环境因子进行 RDA 分析(图 5)。结果表明,RDA1、RDA2 分别解释总变异的 47.95%和 8.49%。其中变形菌门、疣微菌门与速效氮、速效磷、速效钾、有机质呈正相关,与全磷、全氮呈负相关;放线菌门、绿弯菌门、奇古菌门与全氮、全磷、全钾呈正相关,与速效氮、速效磷、速效钾、有机质呈负相关;芽单胞菌门、硝化螺旋菌门、酸杆菌门、棒状杆菌门与全钾、pH 呈正相关,而拟杆菌门与全钾、pH 呈负相关。置换检验的结果显示(表 4),全氮、全钾、速效氮是主导细菌群落变化的主要因子。

3 讨 论

土壤细菌不仅能够快速、高效地分解与转化营养物质^[21]、影响植物对养分的获取和土壤肥力,而且细菌群落结构的差异和变化规律能反映土壤现状及变化趋势,可用来指示土壤生态功能^[22]。通过对不同轮作休耕处理 10 大优势菌门分析发现,变形菌门、酸杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门和绿弯菌门是本研究中的优势菌门,这一结果与多数学者的研究结果相一致^[23-24]。变形菌门是土壤中最主要的细菌类群,其代谢活动是土壤中最主要的细菌活动^[25]。

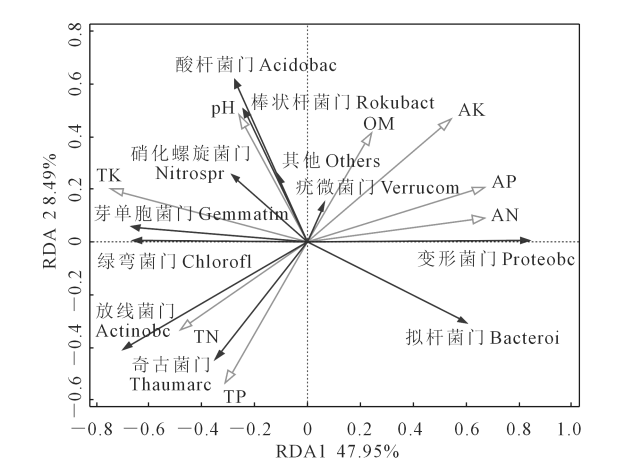


图 5 细菌群落与土壤环境因子冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis for bacterial community and soil environmental factors

表 4 冗余分析 Monte Carlo 置换检验结果

Table 4 Results of Monte Carlo permutation test

因子 Factor	解释率 Explanation/%	贡献率 Contribution/%	R ²	P
pH	3.4	5.4	1.7	0.146
有机质 OM	1.1	1.7	0.5	0.636
全氮 TN	7.7	12.0	2.8	0.038
全磷 TP	2.7	4.3	1.4	0.24
全钾 TK	27.2	42.7	9.3	0.002
速效氮 AN	8.7	13.7	4.2	0.01
速效磷 AP	6.7	10.5	2.8	0.054
速效钾 AK	6.2	9.7	2.4	0.092

酸杆菌门是嗜酸菌,植被类型会影响其分布^[26],不同休耕轮作模式使土壤 pH 值下降(pH 值由 8.24 下降为 7.26~7.39),有利于酸杆菌生存。放线菌门是土壤养分供给的主要来源,其产生的孢子能够抵抗外界不利的环境条件^[27]。芽单胞菌门是典型的植物促生菌,通过与植物互作,进行生物固氮,诱导植物分泌植物激素,促进植物生长。绿弯菌具有生态恢复的能力,可以增强土壤中营养物质的吸收^[28],本研究显示 T₂处理(伏天深耕)的绿弯菌较低,其余轮作休耕模式均优化了土壤环境。

土壤微生物参与完成土壤中各种复杂的生化反应过程^[29]。研究表明,土壤细菌群落多样性(Shannon 和 Simpson)指数无显著性变化,这是由于样地具有相同的田间管理模式,表明样地土壤细菌群落均匀度较高;细菌群落丰富度指数(Chao1 和 ACE),除 T₇处理外,其余轮作休耕模式均高于 CK,这是由于不同休耕轮作模式根系分泌物的不同影响了土壤细菌群落多样性^[30]。

大量研究表明,土壤化学性质与土壤微生物关系密切^[22,31-32]。本研究中土壤优势菌门与土壤化

学因子都有一定的相关性,其中土壤全氮、全钾、速效氮含量是主导土壤细菌群落结构产生变化的主要因子,表明不同休耕轮作模式的土壤化学性质不同,改变了微生物物种组成及其结构。

4 结 论

在门分类水平上,变形菌门、酸杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门和绿弯菌门是黄土高原半干旱区不同轮作休耕模式下土壤的优势细菌门,占整个细菌类群丰富度的 81.50%~87.01%,其中 T₆处理的丰富度最大为 87.01%,T₂处理的丰富度最低为 81.50%;T₁、T₅处理显著升高了硝化螺旋菌门的相对丰度,T₂处理显著提高了变形菌门和拟杆菌门的相对丰度,T₆、T₇处理显著增加了芽单胞菌门的相对丰度,T₈处理显著增高了奇古菌门的相对丰度。不同轮作休耕模式的土壤全氮含量均显著高于 CK,土壤细菌群落丰富度指数(Chao1 和 ACE)除 T₇处理外,其余处理均显著高于 CK;土壤全氮、全钾、速效氮含量是不同轮作休耕模式土壤细菌群落结构演变的重要因素。

参 考 文 献:

[1] 姜娜,邵明安. 黄土高原小流域不同坡地利用方式的水土流失特征[J]. 农业工程学报, 2011, 27(6): 36-41.

[2] 赵珩航,曹斌挺,焦菊英. 黄土丘陵沟壑区退耕坡地不同植物群落的土壤侵蚀特征[J]. 中国水土保持科学, 2017, 15(3): 105-113.

[3] 赵安周,张安兵,刘海新,等. 退耕还林(草)工程实施前后黄土高原植被覆盖时空变化分析[J]. 自然资源学报, 2017, 32(3): 449-460.

[4] 王盼,阎建忠,杨柳,等. 轮作休耕对劳动力转移的影响——以河北、甘肃、云南三省为例[J]. 自然资源学报, 2019, 34(11): 2348-2362.

[5] 王亚静,王飞,石祖梁,等. 基于农业供给侧结构性改革背景的秸秆资源与利用研究[J]. 中国农业资源与区划, 2017, 38(6): 13-20.

[6] 李新斗,席志敏. 河北平原深层地下水开采程度评价[J]. 南北水调与水利科技, 2013, 11(6): 129-132.

[7] Chen Z M, Wang H Y, Liu X W, et al. Changes in soil microbial community and organic carbon fractions under short-term straw return in a rice-wheat cropping system [J]. Soil & Tillage Research, 2017, 165:121-127.

[8] 王宁,罗佳琳,赵亚慧,等. 不同麦秸还田模式对稻田土壤微生物活性和微生物群落组成的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(1):125-133.

[9] Longa C M O, Nicola L, Antonielli L, et al. Soil microbiota respond to green manure in organic vineyards [J]. Journal of Applied Microbiology, 2017, 123(6): 1547-1560.

[10] 李文广,杨晓晓,黄春国,等. 饲料油菜作绿肥对后茬麦田土壤肥力及细菌群落的影响[J]. 中国农业科学 2019, 52(15): 2664-2677.

[11] 蒋云峰,屈明秋,王月,等. 不同耕作方式对耕层土壤性质的影响[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版),2016,37(1):144-146.

[12] 强胜,沈俊明,张成群,等. 种植制度对江苏省棉田杂草群落影响的研究[J]. 植物生态学报,2003, 27(2): 278-282.

[13] 魏有海,郭青云,郭良芝,等. 青海保护性耕作农田杂草群落组成及生物多样性[J]. 干旱地区农业研究, 2013, 31(1): 219-222.

[14] 吴芸紫,刘章勇,蒋哲,等. 稻-麦连作和稻-休耕农田植物物种多样性的比较[J]. 草业科学,2017, 34(5): 1090-1099.

[15] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-42.

[16] Bergmann G T, Bates S T, Eilers K G, et al. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(7): 1450-1455.

[17] Mago T, Salzberg S L. Flash: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.

[18] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naive bayesian classifier for rapid assignment of Rna sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267.

[19] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The Silva ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41: 590-596.

[20] Edgar R C. Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput [J]. Nucleic Acids Research, 2004, 32(5): 1792-1797.

[21] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning[J]. Nature, 2014, 515(7528): 505-511.

[22] 张文文,刘秉儒,牛宋芳. 引黄灌区不同种植年限紫花苜蓿土壤养分与细菌群落特征研究[J]. 草业学报, 2019, 28(5): 46-54.

[23] 杨广容,马燕,蒋宾,等. 基于 16S rDNA 测序对茶园土壤细菌群落多样性的研究[J]. 生态学报, 2019, 39(22): 1-10.

[24] 苟文龙,李平,董臣飞,等. 混播比例和刘割茬次对多花黑麦草+箭筈豌豆混播草地土壤细菌群落的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(5): 1222-1230.

[25] 李海云,姚拓,马亚春,等. 祁连山中段退化高寒草地土壤细菌群落分布特征[J]. 草业学报,2019,28(8):170-179.

[26] Naether A, Foessel B U, Naegele V, et al. Environmental factors affect Acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78:7398.

[27] De Boer W, Folman L B, Summerbell R C, et al. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2005, 29(4): 795-811.

[28] Kragelund C, Levantesi C, Borger A, et al. Identity, abundance and ecophysiology of filamentous Chloroflexi species present in activated sludge treatment plants[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 59(3): 671-682.

[29] 袁红朝,吴昊,葛体达,等. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(6): 1807-1813.

[30] Liang R B, Liang J, Qiao M F, et al. Effects of simulated exudate C: N stoichiometry on dynamics of carbon and microbial community composition in a subalpine coniferous forest of western Sichuan, China [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2015, 39(5): 466-476.

[31] 刘平静,肖杰,孙本华,等. 长期不同施肥措施下矮土细菌群落结构变化及其主要影响因素[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(2):307-315.

[32] 张晓丽,张宏媛,卢闯,等. 河套灌区不同秋浇年限对土壤细菌群落的影响[J]. 中国农业科学, 2019, 52(19): 3380-3392.