

吴天翊, 顾钢, 张炳辉, 等. 烤烟-水稻-紫云英轮作对土壤理化性质及微生物群落的影响 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (8): 984-992.

WU T Y, GU G, ZHANG B H, et al. Physicochemical Properties and Microbial Community of Soil and Crop Yield under Rice-Tobacco-Milk Vetch Rotation Cropping [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (8): 984-992.

烤烟-水稻-紫云英轮作对土壤理化性质及微生物群落的影响

吴天翊¹, 顾钢², 张炳辉², 张宗平³, 池国胜³, 汪睿琪¹,
李彤¹, 陈瑞¹, 谢小芳^{1,4*}

(1. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省烟草专卖局烟草科学研究所, 福建 福州 350003; 3. 南平市烟草公司光泽县分公司, 福建 南平 353000; 4. 福建省作物设计育种重点实验室, 福建 福州 350002)

摘要:【目的】研究烤烟-水稻-紫云英轮作模式下土壤理化性质和微生物群落结构组成变化, 揭示紫云英对土壤肥力和微生物群落的影响, 为紫云英的合理利用提供科学依据。【方法】选取烤烟-水稻-紫云英 3 种植物连续轮作 5 年的田块土壤为处理样品, 以烤烟-水稻 2 种作物轮作的田块土壤为对照; 利用分光光度法测定土壤的常规理化性质, 采用宏基因组测序等方法测定土壤微生物群落结构变化及功能预测分析。【结果】在烤烟-水稻-紫云英轮作模式下, 土壤有机质、全氮、全钾含量略上升, 全磷含量变化不显著, 速效氮、速效磷的含量显著增加, 但速效钾含量明显减少; 2023 年烤烟、水稻年产量分别提高 2.74%、4.67%; 土壤微生物群落多样性明显提高, 主要微生物为细菌界的变形菌门、硝化螺旋菌门和酸杆菌门微生物, 与对照组相比, 三者相对丰度分别上调 8.67%、上调 3.10% 和下降 11.57%; 土壤微生物功能主要富集在碳水化合物代谢、能量代谢和氨基酸代谢 3 个通路中。【结论】烤烟-水稻-紫云英轮作方式改善土壤的理化性质, 提高作物产量, 明确了轮作紫云英对土壤微生物物种丰富度和群落组成分布影响及其参与的主要代谢通路, 为紫云英对土壤肥力和微生物群落影响的机制研究提供依据。

关键词: 紫云英; 轮作; 微生物; 宏基因组; 土壤理化性质

中图分类号: S158

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 08-0984-09

Physicochemical Properties and Microbial Community of Soil and Crop Yield under Rice-Tobacco-Milk Vetch Rotation Cropping

WU Tianyi¹, GU Gang², ZHANG Binghui², ZHANG Zongping³, CHI Guosheng³, WANG Ruiqi¹,
LI Tong¹, CHEN Rui¹, XIE Xiaofang^{1,4*}

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Institute of Tobacco Science, Fujian Provincial Tobacco Monopoly Bureau, Fuzhou, Fujian 350003, China; 3. Guangze Branch of Nanping Tobacco Company, Nanping, Fujian 353000, China; 4. Fujian Provincial Key Laboratory of Crop Design and Breeding, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: 【Objective】Regulatory functions of milk vetch on soil fertility and microbial communities were studied to determine the potential of incorporating the shrub plant in rotation cropping with tobacco and rice for further land use improvement. 【Method】Soil samples were collected from a field practicing tobacco-rice-milk vetch rotation cropping for 5 years and one of tobacco-rice as control. Physicochemical analysis on the soil using spectrophotometry and metagenomic sequencing on the microbial community were conducted. 【Result】With milk vetch added to the tobacco-rice rotation cropping, the field soil increased significantly on the available nitrogen and phosphorus, rose slightly on the organic matter, total nitrogen, and total potassium, maintained a same level of total phosphorus, and reduced significantly on the available

收稿日期: 2024-03-19 修回日期: 2024-05-16

作者简介: 吴天翊 (2001—), 女, 硕士研究生, 主要从事生物与医药研究, E-mail: 1139964387@qq.com

* 通信作者: 谢小芳 (1978—), 女, 博士, 副教授, 主要从事植物遗传学与基因组学研究, E-mail: xxf317@fafu.edu.cn

基金项目: 中国烟草总公司科技计划项目 [11020201028 (LS-12)]

potassium. The yield of tobacco rose 2.74% and that of rice 4.67% in 2023. And the microbial diversity became significantly enriched by 8.67% and 3.10% but declined by 11.57% over control on the dominant kingdoms of Proteobacteria, Nitrospira, and Acidobacteria, respectively. The microbes in the soil were largely associated with carbohydrate, energy, and amino acid metabolisms. 【Conclusion】 By incorporating milk vetch in the rotation cropping of tobacco and rice, aside from the increased yields on the crops, the physiochemical properties of field soil were significantly improved as well.

Key words: Milk vetch; rotation cropping; microorganisms; metagenomic; soil physicochemical properties

0 引言

【研究意义】随着化肥的长期大量使用，我国的耕地质量显著下降，农业环境趋于严峻，成为作物产量和品质的限制要素之一。绿肥指的是纯天然的清洁有机肥源，即绿色植物体作为肥料，常见的绿肥有紫云英、豇豆、田菁等^[1]。研究发现绿肥具有提高土壤中有机物种类及数量、降低土壤酸化程度、提高土壤肥力等多种功能^[2-4]。此外，绿肥还能改善植物根部及附近土壤微生物的种类结构和丰富度^[5-6]。紫云英（*Astragalus sinicus* L.）是豆科黄芪属的一年生或是越年生草本，根系肥大，须根发达^[7]，具有生长发育快、固氮能力强、改善土壤环境质量和促进作物生长等特点^[8-10]，是目前中国稻区最主要的冬绿肥作物^[11]。闽西素有“福建粮仓”之称，既是烟草种植区，也是我国杂交水稻制种区，烟-稻轮作已成为该区域最主要的栽培模式。基于紫云英固氮和改善土壤环境的特征，以及作为绿肥在替代部分氮肥、提高水稻产量与氮肥利用率，降低稻田氨挥发损失等方面的作用^[12-14]，将紫云英纳入烤烟-水稻种植体系，开展烤烟-水稻-紫云英轮作，有望减小水稻产量变异系数，提高产量可持续指数，并具有系统的生态功能服务价值。【前人研究进展】研究发现，冬种绿肥可较好地归还作物秸秆中的养分，改善土壤理化性状、减少化肥使用、增加作物产量^[15-16]。紫云英根瘤具有很强的固氮功能，可以明显减少水稻化肥尤其是氮肥用量^[7]，并且有效提升土壤有机氮和全氮含量^[17]。紫云英配施减量化肥能降低土壤容重，增强团聚体稳定性，从而改良土壤物理性状^[18]。此外，土壤微生物是评价土壤质量的潜在指标，种植翻压紫云英有利于促进土壤微生物的生长^[19-21]；提高稻田土壤微生物繁殖能力，使土壤好气性细菌和真菌数量上升、放线菌数量下降、土壤酶活性上升，从而促进水稻养分吸收，提高水稻产量^[22-25]。朱强等^[26]研究发现，不同稻茬高度处理对轮作紫云英翻压还田后土壤可培养微生物数量产生影响，细菌、真菌多样性显著提高，且随着水稻的机收留茬高度增加，轮作紫云英可获得更高的生物量和养分

积累，翻压还田腐解后释放有效碳、氮也较多，利于土壤微生物利用并维持较大的生物群落^[27]。同时，在绿肥植物体分解过程中，紫云英根系的分泌物增加了土壤相关酶类以及多种根际微生物需要的营养成分和能源物质，从而有利于微生物的生长。【本研究切入点】将紫云英纳入烤烟-水稻种植体系，开展烤烟-水稻-紫云英轮作，有望提高产量可持续指数以及系统的生态功能服务价值。然而，目前对烤烟-水稻-紫云英轮作系统下作物的产量、土壤营养成分和微生物群落的变化缺乏系统研究。【拟解决的关键问题】本研究拟检测烤烟-水稻-紫云英轮作系统中土壤理化性质，调查轮作系统下作物的产量变化，并利用宏基因组学方法分析微生物群落结构组成变化，以期揭示烤烟-水稻-紫云英轮作系统中土壤微生物的调控机制，同时为紫云英的合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验田块选择

福建省南平市光泽县崇仁乡洋塘村（27°37'57"N，117°21'39"E），属于亚热带季风气候，年平均气温约为 17.6 ℃，平均年降水量约为 1 876.4 mm，平均海拔 226 m，土质良好，排灌通畅。选取烤烟-水稻-紫云英 3 种植物连续轮作 5 年的田块土壤为处理样品（记为 ZY），同时以烤烟-水稻 2 种作物轮作的地块土壤为对照（记为 ZYCK）。由于烤烟、水稻和紫云英 3 种作物的生长周期均为 5 个月左右，因此烤烟间隔一年种植，具体轮作模式详见表 1。

表 1 2019—2023 年试验田轮作方式
Table 1 Rotation cropping practiced at experimentation field from 2019 to 2023

年份 Year	ZY组 ZY Group	ZYCK组 ZYCK Group
2019	烤烟-水稻-紫云英	烤烟-水稻-休耕
2020	水稻-紫云英	水稻-休耕
2021	烤烟-水稻-紫云英	烤烟-水稻-休耕
2022	水稻-紫云英	水稻-休耕
2023	烤烟-水稻-紫云英	烤烟-水稻-休耕

1.2 土壤采集

以紫云英翻压半个月后的土壤为材料,采集深度为 0~20 cm,采用 5 点取样法,采样后混合均匀,3 个生物学重复。具体采样方法为:除去土壤表层未分解的凋落物层,用已灭菌的铁铲去除表层 5 cm 的土壤,铲出一个耕作断面,再平行于断面下铲取土样,每个采样点的取土深度和采样量尽量均匀一致,土样上层和下层的比例相同。

1.3 作物产量统计

2023 年,种植烤烟品种为 K326,水稻品种为甬优 1540。在烤烟种植地块、轮作紫云英地块和对照地块施用同样的肥料,而在水稻种植中,轮作紫云英地块施用水稻专用肥 4 kg·hm⁻²,而对照休耕地块施用 4.67 kg hm⁻²。在作物成熟期,以 20 户烟农(稻农)为一组收割作物,并统计作物产量,设置 3 个生物学重复。

1.4 土壤养分理化性质测定

采用酶联生物(mlbio)土壤有机质(soil organic matter, SOM)含量测试盒,利用分光光度法测定土壤样品的有机质含量。将取回的土样送至南京瑞源生物公司,检测土壤的全氮、全磷、全钾、有效磷、速效钾、土壤水解性氮、pH。

1.5 土壤微生物的测定与数据分析

将混合均匀的土样装入无菌自封袋内,当天置于 4℃ 冷藏箱运送至实验室,用于土壤微生物分析测定。土样去杂捣碎,过 2 mm 筛后,分装至 2 mL EP 管中,每管 1~2 g,用干冰冷藏样品送至奥维森生物公司开展宏基因组测序。利用细菌和真菌基因组提取试剂盒分离提取土壤样品中的微生物 DNA 并纯化。电泳检测合格后,用机械打断的方法(超声波)将 DNA 片段化,然后对片段化的 DNA 进行纯化、末端修复、3'端加 A、连接测序接头,再用琼脂糖凝胶电泳进行片段大小选择,进行 PCR 扩增形成测序文库,利用 Illumina 测序平台对质检合格的样品进行测序。对测序数据处理与统计,过滤质控后,用软件 MEGAHIT 进行宏基因组组装,采用 QUAST 软件对组装结果进行评估。采用 MetaGene Mark 软件,使用默认参数识别基因组中的编码区域,去除冗余数据。利用 KEGG、eggNOG、Pfam、SwissProt、NR、GO 等通用数据库注释和 CARD、CAZy 等特殊数据库进行功能注释;随后开展样品功能多样性的比较分析,包括 PCA 分析、功能 PCoA 分析、Network 网络分析、Anosim 组间相似性分析和差异功能基因分析;分析组间相似性和差异物种。

1.6 数据处理

分别选用香农指数(Shannon)、辛普森指数

(Simpson)、inv-辛普森指数(Inv-Simpson),具体计算公式如下^[28]:

香农指数:

$$H = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i \quad (1)$$

辛普森指数:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2 \quad (2)$$

Inv-辛普森指数:

$$D_s = \frac{\sum_{i=1}^s n_i(n_i-1)}{N(N-1)} \quad (3)$$

其中, S 为样地内出现的物种数, P_i 为物种 i 在群落内的相对重要值, n_i 为物种 i 序列数目, N 为总序列数。

1.7 数据分析

用 Excel、Adobe Illustrator 2020 等软件进行数据计算整理、图表的绘制以及趋势分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质情况

土壤理化性质分析结果表明(表 2),与未种植紫云英的对照土壤(ZYCK)相比,种植紫云英的土壤(ZY)的 pH 值为 5.85,土壤呈弱酸性,与对照组的 5.98 相比略有下降。有机质、全氮含量显著上升,全磷含量变化不显著,同时速效氮、速效磷的含量显著提高。此外,全钾含量也呈现显著上升,但速效钾的含量有明显的下降。

2.2 紫云英对作物产量影响

统计第 5 年(2023 年)不同轮作方式下的水稻和烟草产量(表 3),结果发现,轮作紫云英后,烤烟品种 K326 产量上升了 2.74%;水稻种植过程中化肥用量减少了 14.35%,而水稻产量提高了 4.67%。由此可见,轮作紫云英可替代部分化肥提供作物所需养料,提高作物产量。

2.3 紫云英对土壤微生物群落结构的影响

2.3.1 土壤宏基因组数据分析与基因预测

利用 Illumina 平台测序获得宏基因原始序列,经质控处理后进行拼接组装,结果如表 4 所示。从种植和未种植紫云英的 6 份土壤样品中共获得 250 511 606 个 clean reads。序列拼接组装后,共获得 7 427 954 552 条 contigs,且每份样品的 contigs 均在 5.1 万条以上, N50 均大于 650 bp,最大值达 744 bp,表明组装良好,适合开展后续分析。对总 contigs 进行

表 2 土壤理化性质检测结果
Table 2 Physicochemical properties of soil

组别 Group	pH值 pH value	有机质 Organic matter/ (g·kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen/ (g·kg ⁻¹)	全磷 Total phosphorus/ (g·kg ⁻¹)	全钾 Total potassium/ (g·kg ⁻¹)	速效氮 Available nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available phosphorus/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium/ (mg·kg ⁻¹)
ZY	5.85±0.01b	49.14±0.45a	2.77±0.04a	0.49±0.05b	13.80±1.09a	196.33±2.55a	23.80±1.03a	23.80±1.03a
ZYCK	5.98±0.07a	43.87±0.72b	2.43±0.04b	0.52±0.04a	11.48±0.97b	177.89±1.48b	18.69±1.29b	18.69±1.29b

同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Data with different lowercase letters on same column indicate significant differences at $P<0.05$.

ORF 预测，共获得 ORF 数量为 568 283。

2.3.2 土壤微生物丰度和菌落 Alpha 多样性分析

根据宏基因组分析，共获得 10 450 种微生物，包括古细菌（Archaea）、细菌（Bacteria）、真菌（Fungi）、病毒（Virus）以及未知物种。由表 5 可见，在所有土壤样品中细菌的相对丰度均最大，其占比最高达 99.39%，平均相对丰度高达 99.10%；其次是古菌，但相对丰度仅为 0.84%~1.01%，真核生物和病毒的相对丰度为 0.01% 和 0.01%~0.02%，同时还存在 0.01% 的未知微生物。由此可见，细菌是该土壤区域中最主要的微生物类群，古菌、真菌、病毒的含量

较低。此外，所有样品中还包含分类地位尚未明确的微生物类群，相对丰度约为 0.01%，表明取样土壤区域循环系统中生物多样性丰富。香农指数（Shannon）、辛普森指数（Simpson）^[28] 和 inv-辛普森指数（invsimpson）用来估算微生物群落多样性、物种丰富度的指数。土壤微生物群落的 Alpha 多样性分析发现（表 6），种植紫云英后，这三个指数都出现了上升，表明种植紫云英后土壤中的微生物群落多样性和物种丰富度都有所提高。

2.3.3 细菌群落组成

试验组 ZY 与对照组 ZYCK 土壤微生物群落组成

表 3 2023 年作物产量对比
Table 3 Yields of crops in 2023

轮作模式 Crop Rotation Pattern	烤烟（K326） Tobacco（K326）				水稻（甬优1540） Rice（YongYou1540）			
	产量 Yield / (kg·hm ⁻²)	增产率 Production increase ratio/%	化肥配施 Fertilizer dosage/ (kg·hm ⁻²)	减施率 Reduction rate/%	产量 Yield / (kg·hm ⁻²)	增产率 Production increase ratio/%	化肥配施 Fertilizer dosage/ (kg·hm ⁻²)	减施率 Reduction rate/%
烤烟-水稻-紫云英 Tobacco-Rice-Milk vetch	9.00±0.18a	2.74	4	0	43.68±0.91a	4.67	4	14.35
烤烟-水稻 Tobacco-Rice	8.76±0.15b	—	4	—	41.73±0.47b	—	4.67	—

表中每公顷作物产量为三组烟农（稻农）共60户收获作物产量的平均值。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Crop yield per hectare is averaged harvest of 3 tobacco/rice farmer groups of 60 households. Data with different lowercase letters on same column indicate significant differences at $P<0.05$.

表 4 组装及基因预测结果
Table 4 Assembly and gene predictions

样品编号 Sample number	读段 Clean reads/bp	contigs总数 Total contigs/个	contigs总长 Contigs total length/bp	contigs平均长度 Contigs average length/bp	N50/bp	开放阅读框ORF
ZY1	41 140 450	53 533	37 145 783	693.9	653.0	71 335
ZY2	42 103 566	64 213	45 184 155	703.7	664.0	86 224
ZY3	40 249 302	61 491	43 430 673	706.3	664.0	82 535
ZYCK1	43 096 370	83 046	70 399 309	847.7	761.0	123 983
ZYCK2	39 600 220	51 862	43 618 116	841.0	765.0	76 974
ZYCK3	44 321 698	85 949	71 272 981	829.2	744.0	127 232

表 5 样品的物种丰度统计
Table 5 Statistics on microbial abundance of soils

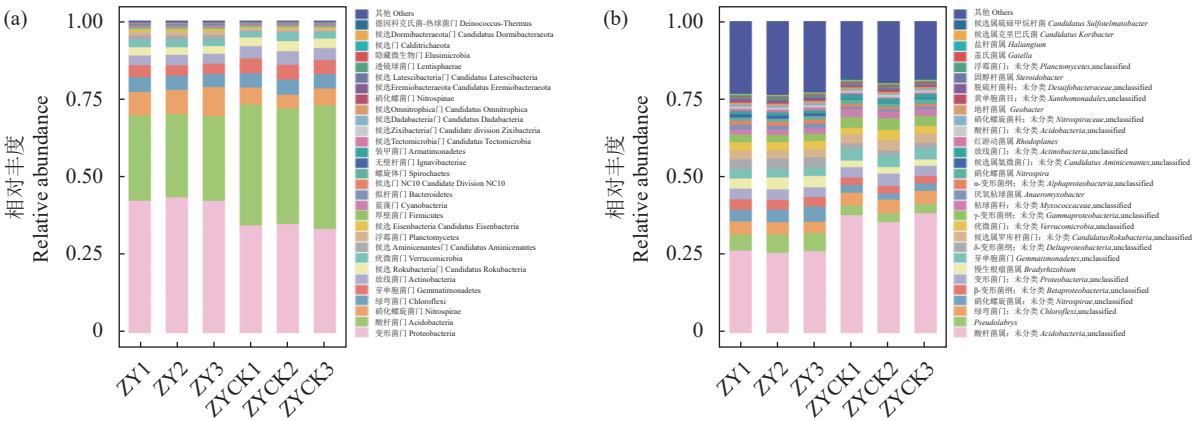
样品编号 Sample number	细菌 Bacteria/ %	古菌 Archaea/ %	真核生物 Eukaryotes/ %	病毒 Viruses/ %	未知物种 Unknown species/%
ZY1	98.95	1.01	0.01	0.02	0.01
ZY2	99.02	0.95	0.01	0.02	0.01
ZY3	99.02	0.96	0.01	0.01	0.01
ZYCK1	99.39	0.58	0.01	0.01	0.01
ZYCK2	99.10	0.88	0.01	0.01	0.01
ZYCK3	99.13	0.84	0.01	0.02	0.01

中，均以细菌为主，对细菌群落进一步分析。图 1 展示了各样品在细菌界门和属分类水平上总体丰度前 30 位的物种组成情况。在门水平上（图 1a），所有样品的优势菌门类依次为变形菌门（Proteobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、硝化螺旋菌门（Nitrospirae），三者合计总相对丰度大于 75%。在 ZY 组样品中，变形菌门相对丰度平均占比为 42.81%；酸杆菌门相对丰度的平均占比为 26.97%；硝化螺旋菌门相对丰度平均占比为 8.15%。在 ZYCK 组 3 个平行样品中，变形菌门的相对丰度平均仅为 34.14%；酸杆菌门相对丰度平均为 38.53%；硝化螺旋菌门相对丰度平均为 5.05%。由此可见，种植紫云英地块土壤的变形菌门和硝化螺旋菌门的相对

表 6 土壤 Alpha 多样性分析结果
Table 6 Alpha diversity of soil

组别 Group	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	inv-辛普森指数 Inv-Simpson
ZY1	5.105	0.929	13.996
ZY2	5.143	0.931	14.586
ZY3	5.089	0.928	13.980
ZYCK1	4.346	0.857	6.974
ZYCK2	4.473	0.874	7.911
ZYCK3	4.350	0.854	6.841

丰度与对照相比有明显的提升，而酸杆菌门的相对丰度却明显下降。从图 1b 可知，优势属类群依次为酸杆菌属（*Acidobacterium,unclassified*）、*Pseudolabrys* 和硝化螺旋菌属（*Nitrospirae,unclassified*）。ZY 组中，酸杆菌属的平均相对丰度为 26.10%；*Pseudolabrys* 的平均相对丰度为 5.57%；硝化螺旋菌属的平均相对丰度为 3.93%。在 ZYCK 组中，这 3 个属的平均相对丰度分别为 37.18%，3.03% 和 4.34%。可见，种植紫云英地块的土壤中，酸杆菌属和硝化螺旋菌属的丰度明显降低，而 *Pseudolabrys* 的相对丰度明显上升。*Pseudolabrys* 是植物根际的有益细菌，与土壤有机质的含量密切相关，说明种植紫云英改良了土壤的有机质环境，该结果与土壤成分变化一致。



(a) 门水平的物种相对丰度；(b) 属水平的物种相对丰度。

(a) relative abundance of species at the phylum level and (b) relative abundance of species at the genus level.

图 1 土壤样品在细菌界物种的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of microbes in soils

2.3.4 古菌群落组成变化

在鉴定的微生物群落中，古菌的含量位居第二，对其进一步分析发现（图 2），在门分类水平的优势菌主要有广古菌门（Euryarchaeota）、奇古菌门（Thaumarchaeota）、深古菌门（Candidatus

Bathyarchaeota）、泉古菌门（Crenarchaeota）和 Candidatus_Thermoplasmata（图 2a）。在 ZY 组中广古菌门的平均相对丰度高达 50.67%；而 ZYCK 组则为 26.61%，可见轮作紫云英后土壤中的广古菌门含量明显上升。同时，ZY 和 ZYCK 中奇古菌门的平均

相对丰度分别 17.99% 和 36.37%，说明轮作紫云英土壤中的奇古菌门含量明显下降。此外，在奇古菌门、深古菌门和泉古菌门中，ZY 和 ZYCK 的平均相对丰度分别 9.62% 和 10.51%；6.03% 和 8.46%；6.52 和 7.44%。可见这三种古菌门在轮作紫云英田块土壤中均发生了下调，但是变化幅度相对较小。进一步分析了古菌界属分类水平上总体丰度前 30 位的物种组成和其他属类（others）的总和占比情况。由图 2b 可知，在属水平下相对丰度排名前五的菌属是 *Euryarchaeota*、*Candidatus Bathyarchaeota*、*Candidatus Nitrosotalea*、*Thaumarchaeota*、*Methanomicrobiales*。在 ZY 组和

ZYCK 组中，*Euryarchaeota* 物种平均相对丰度为 19.56% 和 9.77%；*Candidatus Bathyarchaeota* 的平均相对丰度为 10.45% 和 11.15%；而 *Candidatus Nitrosotalea*、*Thaumarchaeota*、*Methanomicrobiales* 这 3 个属的平均相对丰度分别为 8.41% 和 21.88%；6.50% 和 9.23%；6.11% 和 1.34%。由此可见，轮作紫云英后土壤中 *Euryarchaeota* 和 *Methanomicrobiales* 的物种相对丰度有明显上升，前者上升约 9.79%，后者上升 4.77%；而 *Candidatus Nitrosotalea* 的物种相对丰度下降了 13.47%，其余菌属基本持平或增幅不明显。综上，种植紫云英对土壤中古菌的分布造成一定的影响。

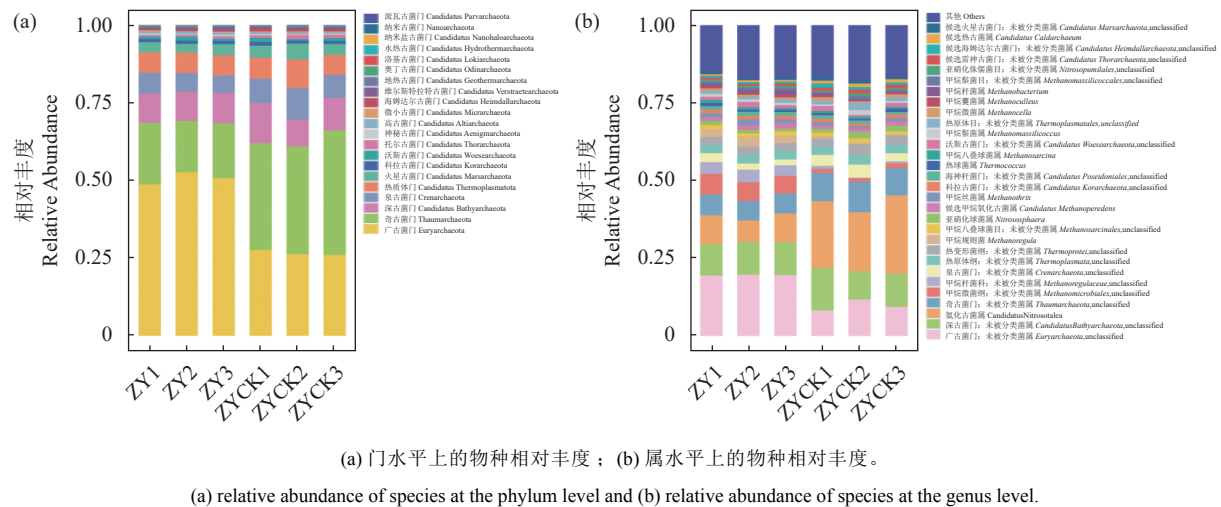


图 2 土壤样品在古菌界的物种相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of archaea in soils

2.3.5 土壤微生物功能预测分析

为探究轮作与未轮作紫云英的土壤微生物群落 在功能分布上的差异，对土壤微生物基因进行功能 预测和 KEGG 分析，结果表明（图 3），预测基因主 要富集在碳水化合物代谢（Carbohydrate metabolism）、

能量代谢（Energy metabolism）、氨基酸代谢（Amino acid metabolism）等 3 个通路中。此外，各代谢通路 在 ZY 和 ZYCK 占比相近，从下往上各通路的占比逐 渐减小。总体来看，轮作紫云英的土壤与对照样品的 微生物基因预测功能丰富，且功能丰度占比变化 不明显，具体有待进一步深入研究。

2.4 微生物变化与理化性质及作物产量的相关性

作物产量与土壤理化性状的相关系数分析显示 （表 7），水稻产量与有机质含量呈显著负相关；烟 草产量与速效钾呈显著正相关。此外，微生物与土 壤理化性质分析表明，变形菌门与 pH 值呈显著负相 关，表明变形菌门在酸性更强的环境中其丰度可能 更高；同时，其与有机质、速效氮和速效磷呈正相 关，但未达到显著性。硝化菌门和全氮含量呈显著 正相关。酸杆菌门和酸杆菌属都与 pH 值、速效钾呈 正相关，与有机质呈负相关，但也都未达到显著。 而 Pseudolabrys 与 pH 值、有机质、速效磷和速效钾 相关性不强。

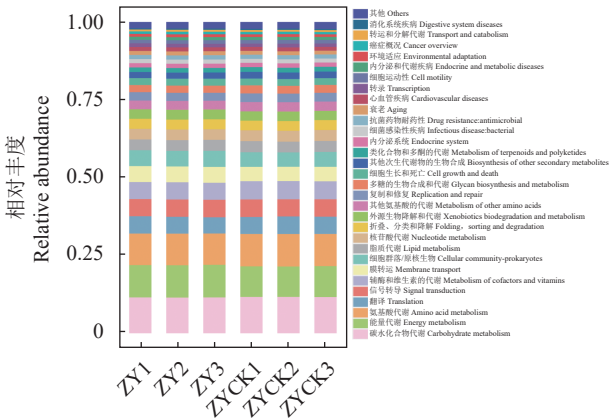


图 3 KEGG 功能预测

Fig. 3 KEGG prediction on functions

表 7 作物产量与微生物及土壤理化性状的相关系数

Table 7 Pearson correlation coefficients on crop yield, microbes, and soil physicochemical properties

菌种/参数 Strain/Parameters	pH值 pH value	有机质 Organic matter	全氮 Total nitrogen	全磷 Total phosphorus	全钾 Total potassium	速效氮 Available nitrogen	速效磷 Available phosphorus	速效钾 Available potassium
水稻产量 Rice yield	0.955 6	-0.999 9*	0.621 9	-0.367 5	-0.342 8	-0.755 5	-0.952 8	0.974 6
烟草产量 Tobacco yield	0.866 5	-0.978 4	0.779 9	-0.564 5	-0.542 5	-0.591 6	-0.996 4	1.000 0**
变形菌门 Proteobacteria	-0.999 5*	0.960 2	-0.392 3	0.108 1	0.081 8	0.902 0	0.838 5	-0.880 5
酸杆菌门 Acidobacteria	0.954 5	-0.815 6	0.069 1	0.223 7	0.249 4	-0.993 7	-0.613 5	0.676 5
硝化菌门 Nitrospirae	0.369 2	-0.638 4	1.000 0**	-0.955 0	-0.946 9	0.036 9	-0.833 7	0.785 3
酸杆菌属 <i>Acidobacterium</i>	0.954 5	-0.852 9	0.136 5	0.157 2	0.183 2	-0.983 8	-0.665 6	0.724 9
<i>Pseudolabrys</i>	-0.476 4	0.181 2	0.646 0	-0.839 9	-0.854 0	0.790 5	-0.110 8	0.028 4
硝化螺旋菌属 <i>Nitrospirae</i>	0.286 5	-0.568 6	0.996 7*	-0.977 3	-0.971 4	0.124 3	-0.782 1	0.728 1

3 讨论与结论

紫云英是我国南方水稻田的主要绿肥，紫云英翻压并还田提高土壤中营养成分含量，改善土壤理化性质，提升微生物生长繁殖条件^[21]。研究表明，紫云英翻压还田同时配施化肥可以增加土壤全氮、全磷、全钾等，尤其是有机质、速效钾、速效磷含量，从而提高作物的产量和品质^[29,30]。王慧等^[31]研究表明，种植紫云英配合氮肥减施 20%~60% 可以保证水稻稳产，常单娜等研究表明，水稻-紫云英轮作并减施 20% 化肥可以显著增加早稻产量，6 年平均增产率为 10.12%^[32]。本研究中，烤烟-水稻-紫云英轮作田块，在化肥减施情况下，水稻产量仍然明显高于烤烟-水稻轮作的田块，原因可能是紫云英固氮作用，增加外源氮投入，提高水稻分蘖成穗，促进地上部氮营养的吸收和积累，进而提高地上部干物质积累量，促进营养器官干物质向穗中转移和积累^[31,33]。同时，烤烟-水稻-紫云英轮作的田块与烤烟-水稻轮作田块的土壤理化性质相比，有机质、全氮、全钾含量轻微上升，全磷含量变化不显著，速效氮、速效磷含量显著提高，但速效钾含量明显下调，原因可能是紫云英具有生物固氮作用，并且能够吸收土壤中难溶性磷、钾，因此，速效氮、速效磷有明显提升；但后茬水稻肥料减施，消耗了氮、磷等元素，出现全氮、全磷含量略上升或变化不显著的现象^[34,35]。

土壤微生物的组成体现了土壤群落结构的复杂性，土壤微生物对土壤质量变化敏感，能随土壤中营养物质的改变而呈现相应的改变，是土壤质量变化的敏感指标^[36]。特别是变形菌门、酸杆菌门、硝化螺旋菌门等细菌优势菌门^[37]，在碳、氮、硫、磷

等循环中扮演关键角色，例如酸杆菌门下菌种可降解植物残体、参与碳代谢与光合作用等，硝化螺旋菌门下菌种能将亚硝酸盐氧化为硝酸盐，还参与土壤中硫的代谢过程^[38-41]。在本研究中，与烤烟-水稻轮作模式相比，烤烟-水稻-紫云英轮作模式下的土壤微生物群落结构发生了明显变化，其中变形菌门和硝化螺旋菌门的相对丰度上升，而酸杆菌门的相对丰度下降。这些微生物群落的变化与土壤的理化性质以及作物的产量均有不同程度的相关性。值得注意的是，硝化螺旋菌门和硝化螺旋菌属与有机质、全磷、全钾呈负相关；但与全氮、速效钾呈正相关。硝化螺旋菌门和硝化螺旋菌属通常与硝化作用（将铵态氮转化为硝态氮）相关，因此它们可能在低营养、高 pH 的环境中更为活跃^[37,38]。同时，轮作紫云英的田块有机质、全氮、全钾、速效氮、速效磷含量有一定程度的提高，推测种植并翻压紫云英后导致微生物优势菌相对丰度的变化从而影响土壤中的碳氮循环、硝酸盐含量及硫代谢，进而改变土壤中氮、钾、磷等元素的含量和分布。此外，水稻和烟草的产量与全氮、速效钾的含量呈强正相关，推测种植紫云英提升土壤的氮含量，可以有效提高作物的产量。

万水霞研究认为真菌与土壤肥力有密切的关系，真菌数量可反映土壤的肥力水平^[42]。尽管真菌与土壤肥力有密切关系，但本研究利用宏基因组学方法检测到的真菌含量较少且分布不稳定，故在统计分析中不具有显著意义。这种差异可能与土壤类型、肥沃程度、耕作方式等多种因素相关，导致本研究结果与前人研究略有不同。

参考文献：

[1] 唐治喜, 高菊生, 宋阿琳, 等. 用宏基因组学方法研究绿肥对水稻根

- 际微生物磷循环功能基因的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(9): 1578–1590.
- TANG Z X, GAO J S, SONG A L, et al. Impact of green manure on microbial phosphorus cycling genes in rice rhizosphere as investigated by metagenomics [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(9): 1578–1590. (in Chinese)
- [2] 李科江, 张素芳, 贾文竹, 等. 半干旱区长期施肥对作物产量和土壤肥力的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(1): 21–25.
- LI K J, ZHANG S F, JIA W Z, et al. Effect of long term fertilization on crop yield and soil fertility in semi arid area [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 1999, 5(1): 21–25. (in Chinese)
- [3] 高菊生, 徐明岗, 董春华, 等. 长期稻-稻-绿肥轮作对水稻产量及土壤肥力的影响[J]. 作物学报, 2013, 39(2): 343–349.
- GAO J S, XU M G, DONG C H, et al. Effects of long-term rice-rice-green manure cropping rotation on rice yield and soil fertility [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(2): 343–349. (in Chinese)
- [4] 叶协锋, 杨超, 李正, 等. 绿肥对植烟土壤酶活性及土壤肥力的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(2): 445–454.
- YE X F, YANG C, LI Z, et al. Effects of green manure in corporation on soil enzyme activities and fertility in tobacco-planting soils [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2013, 19(2): 445–454. (in Chinese)
- [5] 王秀呈. 稻—稻—绿肥长期轮作对水稻土壤及根系细菌群落的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- WANG X C. Effects of long-term rice-rice-green manure rotation on bacterial communities in rice soil and root system[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015. (in Chinese)
- [6] 方宇, 王飞, 贾宪波, 等. 绿肥配施减量化肥对土壤固氮菌群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(9): 1933–1941.
- FANG Y, WANG F, JIA X B, et al. Effect of green manure and reduced chemical fertilizer load on the community of soil nitrogen-fixing bacteria [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(9): 1933–1941. (in Chinese)
- [7] 林多胡, 顾荣申. 中国紫云英[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2000.
- [8] KIM D J, CHUNG D S, BAI S C C, et al. Effects of soil selenium supplementation level on selenium contents of green tea leaves and milk vetch [J]. *Preventive Nutrition and Food Science*, 2007, 12(1): 35–39.
- [9] ASAGI N, UENO H. Nitrogen dynamics in paddy soil applied with various ¹⁵N-labelled green manures [J]. *Plant and Soil*, 2009, 322(1): 251–262.
- [10] 周影, 魏启舜, 管永祥, 等. 播种量对晚播紫云英生长及养分积累的效应[J]. 土壤, 2020, 52(3): 482–486.
- ZHOU Y, WEI Q S, GUAN Y X, et al. Effects of different sowing rates on growth and nutrient accumulation of later-sown Chinese milk vetch [J]. *Soils*, 2020, 52(3): 482–486. (in Chinese)
- [11] 谢志坚, 周春火, 贺亚琴, 等. 21 世纪我国稻区种植紫云英的研究现状及展望[J]. 草业学报, 2018, 27(8): 185–196.
- XIE Z J, ZHOU C H, HE Y Q, et al. A review of *Astragalus sinicus* in paddy fields in South China since 2000s [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(8): 185–196. (in Chinese)
- [12] 黄晶, 刘淑军, 张会民, 等. 水稻产量对双季稻-不同冬绿肥轮作及环境的响应[J]. 生态环境学报, 2016, 25(8): 1271–1276.
- HUANG J, LIU S J, ZHANG H M, et al. The response of rice yields on long-term double cropping rice with different winter green manure rotation and environment [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25(8): 1271–1276. (in Chinese)
- [13] XIE Z J, TU S X, SHAH F, et al. Substitution of fertilizer-N by green manure improves the sustainability of yield in double-rice cropping system in South China [J]. *Field Crops Research*, 2016, 188: 142–149.
- [14] 谢志坚, 涂书新, 徐昌旭, 等. 紫云英还田对单季稻田氮挥发的影响[J]. 核农学报, 2017, 31(8): 1576–1584.
- XIE Z J, TU S X, XU C X, et al. Effects of Chinese milk vetch on ammonia volatilization from single season rice fields in South China [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(8): 1576–1584. (in Chinese)
- [15] 马守田, 冯荣成, 张黛静, 等. 有机物料替代部分氮肥对小麦光合特性及产量的影响[J]. 河南农业科学, 2015, 44(2): 48–51.
- MA S T, FENG R C, ZHANG D J, et al. Effects of replacing part of nitrogen fertilizer by organic materials on photosynthetic traits and yield of wheat [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2015, 44(2): 48–51. (in Chinese)
- [16] 周国朋, 谢志坚, 曹卫东, 等. 稻草高茬-紫云英联合还田改善土壤肥力提高作物产量[J]. 农业工程学报, 2017, 33(23): 157–163.
- ZHOU G P, XIE Z J, CAO W D, et al. Co-incorporation of high rice stubble and Chinese milk vetch improving soil fertility and yield of rice [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 33(23): 157–163. (in Chinese)
- [17] 程会丹, 鲁艳红, 聂军, 等. 减量化肥配施紫云英对稻田土壤碳、氮的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(6): 1259–1270.
- CHENG H D, LU Y H, NIE J, et al. Effects of reducing chemical fertilizer combined with Chinese milk vetch on soil carbon and nitrogen in paddy fields [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(6): 1259–1270. (in Chinese)
- [18] 刘小粉, 贺小思, 易柏宁, 等. 有机肥绿肥配施对水稻土有机碳组分和水稻产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2020, (5): 147–151.
- LIU X F, HE X S, YI B N, et al. Effect of applying organic fertilizer and green manure on organic carbon fractions and rice yield in a paddy soil [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2020(5): 147–151. (in Chinese)
- [19] 杨曾平, 高菊生, 郑圣先, 等. 长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物特性及酶活性的影响[J]. 土壤, 2011, 43(4): 576–583.
- YANG Z P, GAO J S, ZHENG S X, et al. Effects of long-term winter planting-green manure on microbial properties and enzyme activities in reddish paddy soil [J]. *Soils*, 2011, 43(4): 576–583. (in Chinese)
- [20] 张珏梅, 曹卫东, 徐昌旭, 等. 种植利用紫云英对稻田土壤微生物及酶活性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2012, (1): 19–25.
- ZHANG J T, CAO W D, XU C X, et al. Effects of incorporation of milk vetch(*Astragalus sinicus*) on microbial populations and enzyme activities of paddy soil in Jiangxi [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2012(1): 19–25. (in Chinese)
- [21] 肖嫩群, 张洪霞, 成壮, 等. 紫云英还田量对烟田土壤微生物及酶的影响[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(4): 711–715.
- XIAO N Q, ZHANG H X, CHENG Z, et al. Effect of incorporation of *Astragalus sinicus* on microbe and enzyme dynamics in tobacco cultivated soils [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(4): 711–715. (in Chinese)
- [22] FALKOWSKI P G, FENCHEL T, DELONG E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles [J]. *Science*, 2008, 320(5879): 1034–1039.
- [23] 万水霞, 唐杉, 王允青, 等. 紫云英还田量对稻田土壤微生物数量及活度的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2013, (4): 39–42.
- WAN S X, TANG S, WANG Y Q, et al. Effect of returning quantity of *Astragalus sinicus* to soil on quantity and activity of microbial in paddy soil [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2013(4): 39–42. (in Chinese)

- [24] ZHANG X X, ZHANG R J, GAO J S, et al. Thirty-one years of rice-rice-green manure rotations shape the rhizosphere microbial community and enrich beneficial bacteria [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 208–217.
- [25] 李增强, 张贤, 王建红, 等. 紫云英施用量对土壤活性有机碳和碳转化酶活性的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2018, (4): 14–20.
LI Z Q, ZHANG X, WANG J H, et al. Effects of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) application rate on soil labile organic carbon and C-transformation enzyme activities [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2018(4): 14–20. (in Chinese)
- [26] 朱强, 张静, 郭再华, 等. 稻草和紫云英联合还田下施氮水平对水稻产量及土壤氮素形态的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26 (12): 2177–2183.
ZHU Q, ZHANG J, GUO Z H, et al. Effects of different nitrogen inputs on rice yield and soil nitrogen forms under incorporation of rice straw and Chinese milk vetch [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(12): 2177–2183. (in Chinese)
- [27] WANG Y F, LIU X M, BUTTERLY C, et al. pH change, carbon and nitrogen mineralization in paddy soils as affected by Chinese milk vetch addition and soil water regime [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(4): 654–663.
- [28] 童跃伟, 屈利利, 符庆响, 等. 大别山南坡森林植物群落物种多样性及其与海拔因子的关系 [J]. 生态学报, 2024, 44 (12): 5307–5317.
TONG Y W, QU L L, FU Q X, et al. Species diversity of forest plant communities on the southern slope of the Dabie Mountains and its relationship with altitude factors [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2024, 44(12): 5307–5317. (in Chinese)
- [29] 颜志雷, 方宇, 陈济琛, 等. 连年翻压紫云英对稻田土壤养分和微生物学特性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20 (5): 1151–1160.
YAN Z L, FANG Y, CHEN J C, et al. Effect of turning over Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) on soil nutrients and microbial properties in paddy fields [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(5): 1151–1160. (in Chinese)
- [30] 聂良鹏, 郭利伟, 郑春风, 等. 种植翻压紫云英配施化肥对稻田土壤理化性状和水稻产量的影响 [J]. 中国农学通报, 2021, 37 (27): 65–69.
NIE L P, GUO L W, ZHENG C F, et al. Planting and incorporation of Chinese milk vetch coupled with chemical fertilizer application: Effects on the physical and chemical characters of paddy soil and rice yield [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(27): 65–69. (in Chinese)
- [31] 王慧, 周国朋, 常单娜, 等. 湘北双季稻区种植翻压紫云英的氮肥减施效应 [J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28 (1): 33–44.
WANG H, ZHOU G P, CHANG D N, et al. Nitrogen reduction effects in double rice by planting and returning Chinese milk vetch to the field in Northern Hunan Province [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(1): 33–44. (in Chinese)
- [32] 常单娜, 王慧, 周国朋, 等. 赣北地区稻-稻-紫云英轮作体系减施化肥对水稻产量、氮素吸收及土壤供氮能力的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2023, 29 (8): 1449–1460.
CHANG D N, WANG H, ZHOU G P, et al. Yield and nitrogen uptake of rice and soil nitrogen supply capacity under fertilizer reduction in a rice-rice-Chinese milk vetch rotation system, northern Jiangxi Province, China [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2023, 29(8): 1449–1460. (in Chinese)
- [33] 张济世, 张琳, 丁丽, 等. 紫云英还田与化肥减量配施对土壤氮素供应和水稻生长的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28 (10): 1793–1803.
ZHANG J S, ZHANG L, DING L, et al. Effects of Chinese milk vetch incorporation and chemical fertilizer reduction on soil nitrogen supply and rice growth [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(10): 1793–1803. (in Chinese)
- [34] 吕玉虎, 郭晓彦, 李本银, 等. 翻压不同量紫云英配施减量化肥对土壤肥力和水稻产量的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2017, (5): 94–98.
LÜ Y H, GUO X Y, LI B Y, et al. Effects of the incorporation of various amounts of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) and reducing chemical fertilizer on soil fertility and rice yield [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2017(5): 94–98. (in Chinese)
- [35] 何春梅, 钟少杰, 严建辉, 等. 紫云英翻压对葡萄产量品质与果园土壤理化性状及微生物量的影响 [J]. 福建农业学报, 2018, 33 (11): 1151–1157.
HE C M, ZHONG S J, YAN J H, et al. Effect of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) as a green manure on grape productivity and quality, nutrient contents, and microbiologic properties of vineyard soils [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33(11): 1151–1157. (in Chinese)
- [36] 林文星, 马鹏生, 王芳, 等. 基于宏基因组学分析农药对宁夏枸杞地微生物的影响 [J]. 北方园艺, 2023, (1): 98–105.
LIN W X, MA P S, WANG F, et al. Analysis of the effects of pesticides on microbial diversity of *Lycium chinense* L. in Ningxia based on macrogenomics [J]. *Northern Horticulture*, 2023(1): 98–105. (in Chinese)
- [37] PHILIPPOT L, RAAIJMAKERS J M, LEMANCEAU P, et al. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 789–799.
- [38] 刘进, 冀瑞卿, 李冠霖, 等. 红松和蒙古栎菌根系变形菌门的群落多样性 [J/OL]. 吉林农业大学学报, 2023: 1–9.
LIU J, JI R Q, LI G L, et al. Diversity of Proteobacteria in the ectomycorrhizosphere of *Pinus koraiensis* and *Quercus mongolica* [J/OL]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2023: 1–9. (in Chinese)
- [39] 钟珍梅. 圆叶决明对果园红壤可溶性氮及细菌群落动态变化的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2019.
ZHONG Z M. Effects of *Cassia rotundifolia* on the dynamic changes of soluble nitrogen and bacterial community in red soil of orchard [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2019. (in Chinese)
- [40] 赵峥, 朱元宏, 周德平, 等. 不同轮作模式对稻田土壤肥力和微生物群落结构的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2024, 43 (4): 874–885.
ZHAO Z, ZHU Y H, ZHOU D P, et al. Effects of different rotation patterns on soil fertility and microbial community composition in a paddy field system [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(4): 874–885. (in Chinese)
- [41] 王新月. 磷石膏污染农田土壤中镉、氟和磷的交互作用研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
WANG X Y. Study on the interaction of cadmium, fluorine and phosphorus in agricultural soil polluted by phosphogypsum [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [42] 万水霞, 朱宏斌, 唐杉, 等. 紫云英与化肥配施对稻田土壤养分和微生物学特性的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2015, (3): 79–83.
WAN S X, ZHU H B, TANG S, et al. Effects of *Astragalus sinicus* manure and fertilizer combined application on soil nutrient and microbiological characteristics [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2015(3): 79–83. (in Chinese)