

研究报告

豌豆绿肥翻压入土对攀枝花地区连续多年植烟土壤细菌多样性的影响

宋景琦¹, 曾宗梁², 杨鹏², 余伟², 闫芳芳², 张宗锦², 张鹏³, 辜运富^{*1}

1 四川农业大学 资源学院, 四川 成都 611130

2 四川省烟草公司攀枝花市公司, 四川 攀枝花 617099

3 山东中烟工业有限责任公司, 山东 济南 250014

宋景琦, 曾宗梁, 杨鹏, 余伟, 闫芳芳, 张宗锦, 张鹏, 辜运富. 豌豆绿肥翻压入土对攀枝花地区连续多年植烟土壤细菌多样性的影响[J]. 微生物学通报, 2025, 52(1): 276-289.

SONG Jingqi, ZENG Zongliang, YANG Peng, YU Wei, YAN Fangfang, ZHANG Zongjin, ZHANG Peng, GU Yunfu. Application of pea green manure alters bacterial diversity in the soil cultivated with tobacco for years in Panzhihua[J]. Microbiology China, 2025, 52(1): 276-289.

摘要: 【背景】攀枝花植烟地区的连作现象及不良施肥习惯给植烟土壤的养分平衡和微生物群落多样性带来了严重的胁迫, 这导致了烟叶产量和品质的下滑, 对烟草行业的健康和持续发展造成了严重威胁。【目的】研究豆科绿肥接种根瘤菌并翻压入土对攀枝花烟区新垦烟地和多年连续植烟地土壤细菌多样性和组成的影响, 以期为科学施肥提供可靠的理论依据, 为攀枝花烟区建立合理的烤烟种植模式。【方法】以攀枝花米易县坪山乡新垦烟地和多年连续植烟地为研究对象, 收集了豌豆绿肥混入土壤的样本, 对其土壤的物理和化学性质进行了测定, 并利用高通量测序技术对细菌群落的组成和多样性进行了深入分析。【结果】接种根瘤菌能够有效提高豌豆苗期的结瘤数和根数, 尤以在新垦烟地上的施用效果最佳。使用绿肥进行翻压可以增加烟草种植土壤中的有机碳和无机营养成分, 同时也能降低土壤的 pH 值和容重。豌豆绿肥的翻压显著地影响了种植烟草的土壤中细菌的多样性和构成。绿肥翻压提高了新垦烟地的土壤细菌 Simpson 和 Shannon 多样性指数而降低了连作烟地上相关多样性的指标。不同植烟年限土壤的优势菌群包括变形菌门 (*Proteobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 及放线菌门 (*Actinobacteria*), 而不同植烟年限土壤的优势菌属是不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*)、鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*) 和链霉菌属 (*Streptomyces*)。通过冗余分析发现土壤的 pH 值、速效钾 (available potassium, AK) 及碱解氮 (alkali-hydrolyzed nitrogen, AN) 与微生物群落结构之间的相关性是最显著的 ($P < 0.05$)。【结论】豌

资助项目: 四川省重点研发项目(2020YFN0100); 四川省烟草公司攀枝花市公司项目(PZH2019003)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Sichuan Province (2020YFN0100) and the Sichuan Tobacco Company Panzhihua Branch Project (PZH2019003).

*Corresponding author. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

Received: 2024-04-10; Accepted: 2024-05-30; Published online: 2024-07-04

豆绿肥翻压入土能提高植烟土壤养分条件, 改变不同植烟土壤细菌多样性和细菌群落组成。

关键词: 豆科绿肥; 翻压; 植烟年限; 土壤细菌群落; 多样性

Application of pea green manure alters bacterial diversity in the soil cultivated with tobacco for years in Panzhihua

SONG Jingqi¹, ZENG Zongliang², YANG Peng², YU Wei², YAN Fangfang², ZHANG Zongjin², ZHANG Peng³, GU Yunfu^{*1}

1 College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

2 Panzhihua Branch of Sichuan Tobacco Company, Panzhihua 617099, Sichuan, China

3 China Tobacco Shandong Industrial Company, Jinan 250014, Shandong, China

Abstract: [Background] The continuous cropping and poor fertilization habits in the tobacco-planting areas of Panzhihua have brought serious stress to the nutrient balance and microbial diversity in the soil, leading to declines in the yield and quality of tobacco and seriously affecting the development of the tobacco industry. [Objective] To study the effects of applying rhizobium-inoculated leguminous green manure on the microbial diversity and community composition in the soil cultivated with tobacco for years in Panzhihua and provide a theoretical basis for scientific fertilization and establishment of a reasonable planting pattern of flue-cured tobacco in Panzhihua. [Methods] We collected soil samples from the newly reclaimed tobacco field and the field planted with tobacco for years (both with the application of green manure) in Pingshan Township, Miyi County of Panzhihua. The physical and chemical properties of the soil samples were determined, and the bacterial community composition and diversity were analyzed by high-throughput sequencing. [Results] Inoculation with rhizobia increased the number of nodules and roots of pea seedlings, especially in the newly reclaimed tobacco field. The application of green manure increased the content of organic carbon and inorganic nutrients in soil and reduced soil pH and volume weight. In addition, the application of pea green manure changed the bacterial diversity and community composition in the soil. Specifically, it elevated the Simpson and Shannon indexes of bacteria in the newly reclaimed tobacco field and reduced the relevant diversity indexes in the field cultivated with tobacco for years. The predominant bacterial phyla of the soil samples planted with tobacco for different years included *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, and *Actinobacteria*, while the dominant bacterial genera were *Acinetobacter*, *Ochrobactrum*, *Sphingomonas*, and *Streptomyces*. The redundant analysis showed that soil pH, available potassium (AK), and alkali-hydrolyzed nitrogen (AN) had strong correlations with the microbial community structure ($P < 0.05$). [Conclusion] The application of green manure improves the nutrients and changes the bacterial diversity and community composition of the tobacco-growing soil.

Keywords: leguminous green manure; application of green manure; tobacco cultivation years; soil bacterial community; diversity

烤烟(*Nicotiana tabacum* L.)作为卷烟工业的主要原料,是重要的经济作物,其产量和质量的高低决定着烟草产业是否能可持续健康发展^[1]。由于经济收益、耕地资源及种植习惯等多种因素的综合影响,植烟地区的连作现象非常普遍^[2]。同时,种烟农民为追求经济利益,每年向土壤中投入大量化肥,给植烟土壤的养分平衡和微生物群落多样性带来了严重危害,导致植烟土壤质量下降,烟株生长发育不良,烟叶产量和质量严重下滑,不仅影响其吸食的安全性^[3],还导致了巨大的经济损失^[4],并对烟草行业的持续和健康发展产生了不良影响。

土壤微生物构成了土壤生态系统的—个关键部分,它们不仅有助于维护土壤生态结构和功能的稳定性,还在植物营养吸收和生长发育方面发挥着至关重要的作用^[5-7]。土壤中微生物的多样性和组成受到多种环境因素的影响,而植被无疑是其中的关键影响因素之一^[8]。绿肥作为重要的有机肥料,在化肥减施、地力培肥等方面具有重要作用,是当前土壤改良的重要手段^[9]。绿肥种类很多,常见的绿肥包括十字花科绿肥和豆科绿肥等^[10-11]。尤其是豆科植物绿肥与其根瘤菌共生能把气态氮转化为氨态氮,是重要的生物肥源^[12-13]。豌豆(*Pisum sativum* L.)具有生长周期短、适应能力强和广泛分布的特点,因此它是一种非常重要的用于土地养护的倒茬绿肥植物^[14]。多项研究证实,对豌豆植株进行根瘤菌的接种不仅可以有效地促进其生长和发育,还能增加鲜草的产量、提高土壤中的养分含量及土壤微生物的数量^[15-16]。然而,关于豌豆接种根瘤菌并进行翻压入土对新垦烟地和多年连续植烟土壤微生态的影响特征尚不清楚。

攀枝花市的烤烟种植范围广、年限久,存在不同程度烤烟连作现象。为了探索豆科绿肥

接种根瘤菌对植烟连作土壤微生物生态的影响,本研究以攀枝花新垦烟地和多年连续植烟土壤为供试土壤,将豌豆根瘤菌接种到攀枝花烟区冬闲种植的豌豆,分析接种根瘤菌的豌豆翻压对该区域新垦烟地和连续多年植烟土壤肥力和土壤细菌多样性及群落组成的影响,以期提高植烟土壤质量、建立合理的绿肥-烤烟轮作模式,促进烤烟产业可持续健康发展。

1 材料与方法

1.1 样品

攀枝花米易县(101°44′-102°15′E, 26°42′-27°10′N)的年均气温为19.7℃,年均日照时间为2700h,年降雨量高达1100mm,光热资源及水资源都较丰富,为国内少有的烤烟生态最适宜区^[17]。

烤烟品种为云烟87,新垦烟地和连作烟地的土壤样本来自米易县坪山乡的试验地,海拔高度为1800m,土壤类型为紫色土。于2020年3月20日,待翻压的豌豆植株完全腐烂后,按“梅花型”法采集表层土壤放入冰盒并带回实验室,将这些土壤分为两部分:一部分是新鲜的土样,用于提取土壤的总DNA;另一部分经过风干后测定其理化性质。新垦烟地和连作烟地土壤样品的具体理化性质见表1。

供试绿肥:豌豆(*Pisum sativum* L.),中豌6号(当地品种)。

供试菌株:豌豆根瘤菌(*Rhizobium* sp.) CP4-2,分离自豌豆根系,由四川农业大学徐开未教授提供。

专用根瘤菌菌剂:在YMB培养基中培养至对数生长时期的CP4-2菌液^[18]。

1.2 培养基

YMB培养基(g/L):甘露醇10.0,酵母粉1.0, K₂HPO₄·3H₂O 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.2, NaCl

表 1 两种植烟土壤的基础理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of two tobacco-growing soils

基础理化性质 Basic physical and chemical property	新垦烟地对照 The newly cultivated tobacco field control	连作多年烟地 Continuous cultivation for many years
pH	7.11±0.015a	6.53±0.032b
有机质 Organic matter (g/kg)	5.49±0.22a	4.95±0.09b
容重 Unit weight (g/cm)	1.31±0.01a	1.27±0.01b
碱解氮 Alkali-hydrolyzed nitrogen (mg/kg)	3.26±0.81b	21.90±1.40a
有效磷 Available phosphorus (mg/kg)	12.20±0.20b	21.60±0.51a
速效钾 Available potassium (mg/kg)	58.90±3.06b	134.60±3.06a
植烟年限 Planting years (years)	<1	<1

不同小写字母代表数据间存在显著差异。

Different lowercase letters represent significant differences between the data.

0.1, CaCO₃ 3.0, pH 7.0–7.2, 121–126 °C 湿热灭菌 30 min。

1.3 主要试剂和仪器

FastDNA[®] SPIN Kit for Soil, MP Biomedicals 公司; 5×*ExTaq* 缓冲液和 dNTPs, Thermo Fisher Scientific 公司。双层恒温摇床, 武汉汇诚生物科技有限公司; 立式高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; PCR 仪, Eppendorf 公司; 电泳仪, 北京市六一生物科技有限公司; 凝胶成像系统, 北京凯元信瑞仪器有限公司。

1.4 试验设计

在新垦烟地(X)和连作烟地(L)中均设 3 个试验处理: (1) 空闲处理(XCK 和 LCK); (2) 单纯种植豌豆(XW 和 LW); (3) 种植豌豆并接种专用根瘤菌菌剂(XWR 和 LWR)。每个处理重复

3 次, 随机区组布置, 每个肥力植烟地共设置 9 个小区, 每个小区的长度为 7.5 m, 宽度为 5.0 m, 并且各小区之间的距离为 1.0 m。豌豆播种量为 210 kg/hm²。将根瘤菌株接种到 YMB 培养基中, 28 °C、180 r/min 培养至对数生长期(3 d)以制备根瘤菌剂。种植豌豆时将根瘤菌剂与豌豆种子混合拌种, 根瘤菌剂用量为 15 kg/hm²。于 2019 年 10 月 8 日撒播绿肥种子。用旋耕机整地后将豌豆种子播下, 并再次用旋耕机将种子翻入土中。绿肥种植期间不施用肥料, 适当挖排水沟, 确保能灌能排。于 2020 年 2 月 16 日豌豆盛花期时(生育期 130 d)将绿肥进行翻压入土, 采用旋耕机将植物完整地翻入深度为 10–20 cm 的土地里, 以无豌豆植株裸露在土壤表面为准。

1.5 豌豆植株性状测定

于豌豆盛花期时测定各项指标。取样方式: 采用 30 cm×40 cm 的取样框, 随机取样 5 株植株。测定指标: 株高、根长、根重、根瘤数。在进行根瘤的采集过程中, 首先摘下粉红色和浅粉红色的根瘤, 用清水彻底清洗, 用吸水纸将其吸干, 最后对根瘤的数量进行统计并进行称重。

1.6 土壤 DNA 提取及高通量测序

利用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil 提取土壤的总 DNA, 以提取的 DNA 为模板采用特异性引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3')进行 PCR 扩增^[19]。PCR 反应体系: 5×*ExTaq* 缓冲液 10.0 μL, 正、反向引物(4 μmol/L)各 0.5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 4.0 μL, DNA 模板(10 ng/μL) 1.0 μL, ddH₂O 补足 50.0 μL。PCR 反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 30 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 扩增后的产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

1.7 生物信息学分析及统计分析

采用 QIIME 2 软件对原始的数据序列执行质量监控。使用 Mothur v1.31.2 软件对 OTU 进行计算划分, 并设定 97% 的阈值。此外, 还利用 RDP classifier 软件对物种进行注释, 并采用 R 语言 pheatmap 包绘制物种组成的热图。使用 QIIME2 软件来估算 Chao1、Shannon、Simpson 和 Observed_species 指数。使用 CANOCO5.0 软件进行土壤环境参数及细菌群落特性的冗余分析(redundancy analysis, RDA)。使用 Excel 2013 处理和绘制基础数据, 并采用 SPSS 21.0 软件进行了单因素方差的分析^[20]。

2 结果与分析

2.1 接种根瘤菌对豌豆苗生长的影响

接种根瘤菌对豌豆的生长有明显的促进作用, 特别是在新垦烟地上(表 2)。接种根瘤菌处理(XWR 和 LWR)与不接种根瘤菌处理(XW 和 LW)比较, 接种根瘤菌后, 豌豆植株大大地增加了根部根瘤数量, 差异均达显著水平, 接种根瘤菌的豌豆植株与不接种根瘤菌的豌豆植株根数比较, 增幅均在 50.0% 以上。同种绿肥接种根瘤菌与不接种根瘤菌比, 株高也有所提高, 豌豆根数增幅达 63.9%。然而, 与未接种根瘤菌的处理相比, 接种根瘤菌后根的长度变

化并不显著。

2.2 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对新垦烟地和连作烟地土壤养分含量的影响

种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对新垦烟地和连作烟地土壤理化性质的影响见表 3。

从表 3 可以看出, 接种根瘤菌后的豌豆绿肥可以显著提高土壤的有机碳含量, 降低土壤的容重并提高土壤的全氮和碱解氮(alkali-hydrolyzed nitrogen, AN)含量, 此外, 土壤中的有效磷(available phosphorus, AP)和速效钾(available potassium, AK)含量也得到了显著的提升, 其中有机碳(soil organic carbon, SOC)的含量分别增加了 6.5% 和 52.9%, 碱解氮分别提高 26.2% 和 175.5%, 有效钾分别提高 56.3% 和 64.3%。两种烟地以新垦烟地的效果更显著, 有机质和速效钾的增幅最大。实验结果显示豌豆绿肥翻压能够明显提升土壤中的养分含量, 并且能明显增加土壤中有机质的含量。

2.3 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对土壤细菌群落多样性及结构的影响

2.3.1 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对土壤细菌多样性的影响

通过 Simpson、Chao1、Observed_species 和 Shannon 4 个 α 多样性指标对 2 种烟地的细菌多样性进行评价, 结果见图 1。

表 2 接种根瘤菌 CP4-2 对豌豆生长的影响

Table 2 Impact of inoculate strain CP4-2 to the *Pisum sativum* L.

Item	新垦烟地			连作烟地		
	New reclamation of tobacco land			Continuous cropping of smoke		
	XCK	XW	XWR	LCK	LW	LWR
株高 Plant height (cm)	nd	39.44±1.60b	41.58±1.61a	nd	37.38±2.32a	37.09±2.23a
根长 Root length (cm)	nd	27.87±1.33a	27.03±2.87a	nd	25.86±1.34a	25.90±2.29a
根数 Root number	nd	61.00±13.20b	100.00±16.65a	nd	27.00±5.69b	36.33±5.49a
根瘤数 Nodule number	nd	7.67±1.76b	17.67±3.53a	nd	0.33±0.33b	3.67±1.20a

数字为平均值±标准误($n=3$), 不同小写字母代表差异显著($P<0.05$), nd: 未检测到。

The numbers are average±standard error ($n=3$), and the different lowercase letters represent significant differences ($P<0.05$), nd: Not detected.

表 3 豌豆接种根瘤菌对新垦烟地和连作烟地土壤理化性质的影响

Table 3 Impact of *Pisum sativum* L. cultivation with strain CP4-2 inoculum on the physico-chemical parameters of newly reclaimed tobacco fields and continuously cropped tobacco fields

Item	新垦烟地			连作烟地		
	New reclamation of tobacco land			Continuous cropping of smoke		
	XCK	XW	XWR	LCK	LW	LWR
pH	6.71±0.17b	6.72±0.10b	6.27±0.11c	5.73±0.07b	5.81±0.11b	5.37±0.04b
有机碳	5.03±0.21c	4.91±0.17c	7.69±0.11a	7.08±0.13b	6.70±0.33c	7.54±0.74a
Soil organic carbon (g/kg)						
容重	1.28±0.01b	1.26±0.02c	1.24±0.01c	1.27±0.01a	1.27±0.01a	1.25±0.01b
Bulk density (g/cm)						
全氮	1.35±0.18c	1.62±0.10c	2.28±0.10b	1.96±0.15bc	2.03±0.04b	2.72±0.09a
Total nitrogen (g/kg)						
碱解氮	5.59±0.81b	6.53±1.40b	15.40±0.81a	22.91±0.81b	28.91±1.40a	28.90±1.41a
Alkali-hydrolyzed nitrogen (mg/kg)						
有效磷	4.97±0.31d	9.07±0.15c	15.93±0.25a	27.31±0.31b	21.93±0.41c	30.82±0.55a
Available phosphorus (mg/kg)						
速效钾	39.32±2.00d	46.90±2.08c	64.61±2.52a	167.91±4.16c	219.12±4.57b	262.52±2.15a
Available potassium (mg/kg)						

数字为平均值±标准误($n=3$), 不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。

The numbers are average ± standard error ($n=3$), and the different lowercase letters represent significant differences ($P<0.05$).

图 1 显示, 在新垦烟地和连作烟地上种植豌豆植物并接种根瘤菌对植烟土壤细菌多样性具有明显影响。总体而言, 种植豌豆绿肥并接种根瘤菌提高了新垦烟地的土壤细菌多样性。而在连作烟地上, 种植豆科植物豌豆绿肥(LW)以及接种根瘤菌(LWR)的土壤细菌 Chao1、Shannon、Simpson 和 Observed_species 多样性指数均表现为略有降低。

2.3.2 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对土壤细菌群落的影响

利用非度量多维尺度 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析技术对 2 种不同烟地的细菌群落变化进行了评估, 具体结果见图 2。

图 2 显示, 2 个肥力条件的植烟土壤细菌群落结构分为 2 个群, 显示新垦烟地和连作烟地的土壤细菌群落结构明显不一样。另外, 种

植豌豆(XW, LW)及接种根瘤菌(XWR, LWR)的细菌群落结构和 CK 土壤也明显不一样, 表现为在图中明显分隔开。上述结果表明, 在新垦烟地上种植豌豆植物并接种根瘤菌对土壤细菌的影响更为深刻。

2.3.3 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对土壤细菌群落组成和细菌优势物种的影响

图 3 显示 2 种烟地中土壤细菌的群落组成。结果表明, 土壤优势菌群为放线菌门 (*Actinobacteria*)、变形菌门 (*Proteobacteria*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*) (图 3A)。在新垦烟地中, 种植豌豆(XW)和接种根瘤菌(XWR)能使放线菌门 (*Actinobacteria*) 的相对丰度增加, 而使变形菌门的相对丰度减小; 而在连作烟地中, 种植豌豆(LW)和接种根瘤菌(LWR)均明显增加了变形菌门的相对丰度, 但对于放线菌门细菌的相对丰度, 只有种植豌豆(LW)时才有所增加。

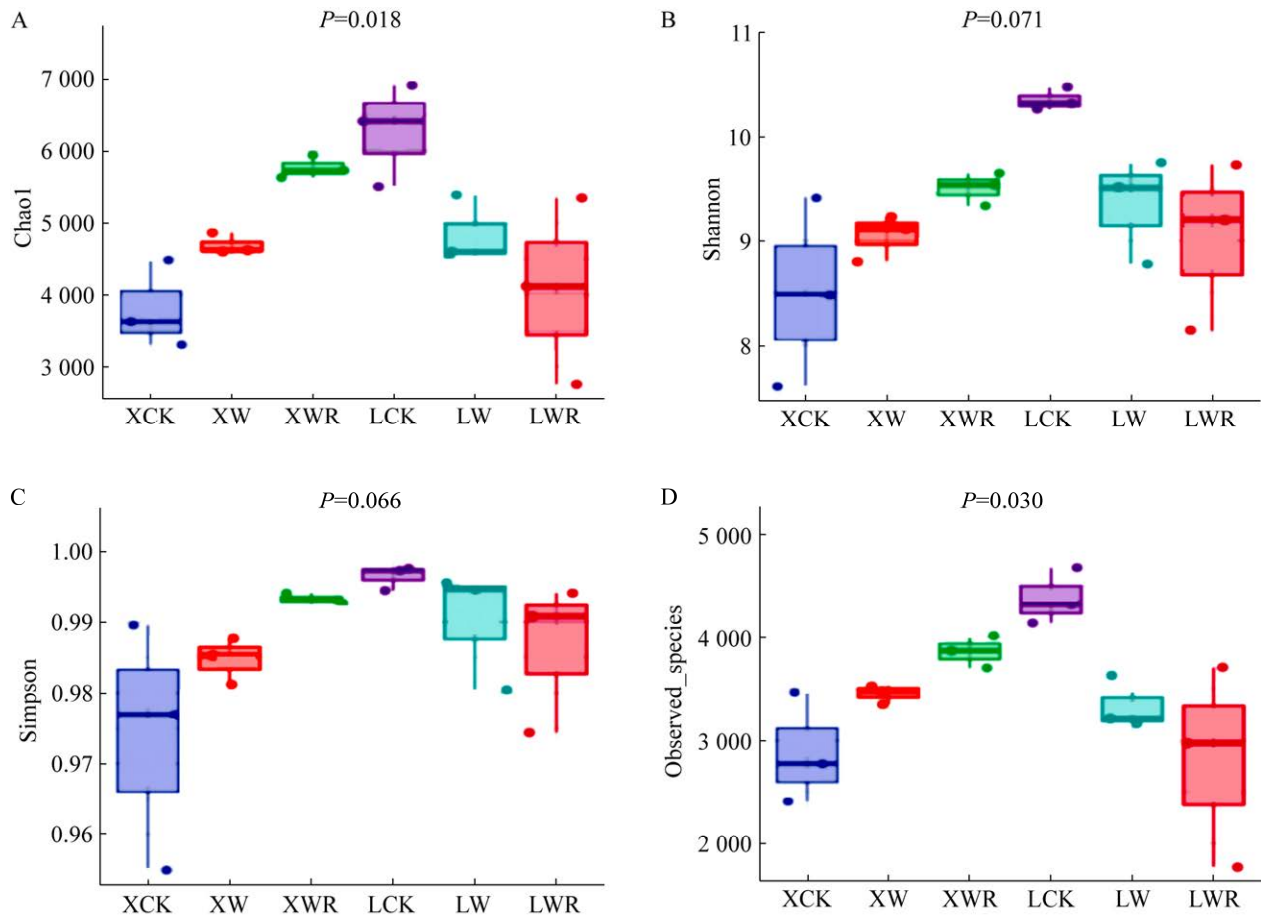


图1 种植豌豆接种根瘤菌 CP4-2 对植烟土壤细菌多样性的影响 A: 各处理土壤中细菌群落的 Chao1 指数; B: 各处理土壤中细菌群落的 Shannon 指数; C: 各处理土壤中细菌群落的 Simpson 指数; D: 各处理土壤中细菌群落的 Observed_species 指数。

Figure 1 Impact of *Pisum sativum* L. cultivation with strain CP4-2 inoculum to the soil bacterial diversity. A: Chao1 index of bacterial communities in each treated soil; B: Shannon index of bacterial communities in each treated soil; C: Simpson index of bacterial communities in soil of each treatment; D: Observed_species index of bacterial communities in soil of each treatment.

通过 top10 的数据统计可以观察到, 在相同的处理条件下, 群落的组成和数量在属级别上有所不同。土壤中的优势细菌是鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 和苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*) (图 3B)。在新垦烟地中, 种植豌豆 (XW) 的土壤不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 相对丰度值最高 (11.47%), 而其相对丰度最低是种植豌豆+接种根瘤菌处理; 而在连作烟地中,

种植豌豆和接种根瘤菌均降低了其相对丰度值。对于苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*), 在新垦烟地中绿肥翻压入土降低了该属细菌的相对丰度值, 但在连作烟地中表现为增加的趋势。鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*) 在新垦烟地土壤中表现为降低, 在连作烟地土壤中变化不明显。此外, 链霉菌属 (*Streptomyces*) 细菌在新垦烟地的各处理下也表现增加的趋势, 而在连作烟地土壤中表现为降低。

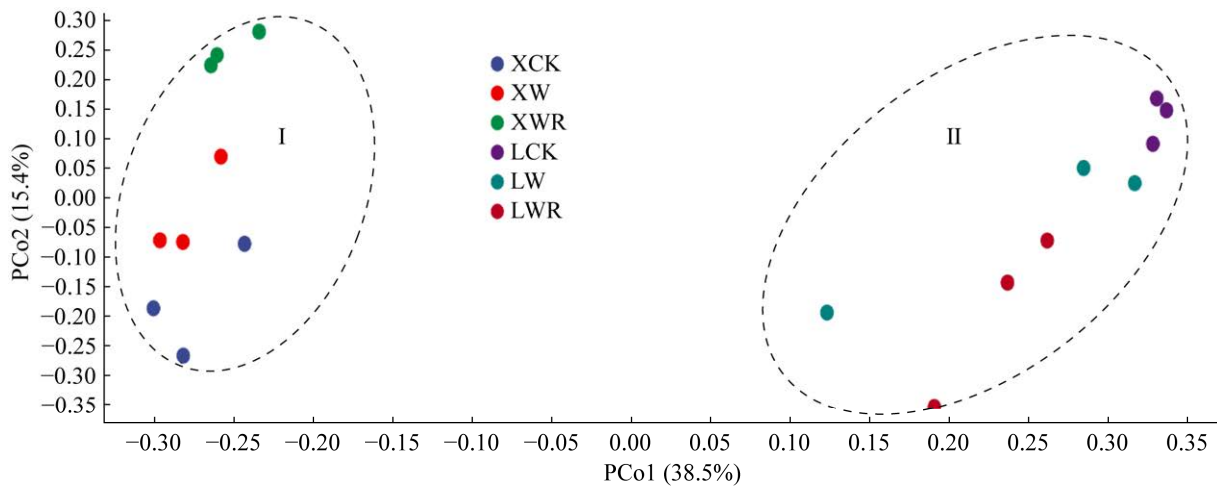


图2 种植豌豆接种根瘤菌 CP4-2 对植烟土壤细菌群落结构的影响 I 和 II 分别代表新垦烟地和连作烟地两种土壤在细菌群落结构的明显分异。

Figure 2 Impact of *Pisum sativum* L. cultivation with *Rhizobium* sp. CP4-2 inoculum on the soil bacterial community structure. I and II represent the obvious difference in bacterial community structure between newly cultivated and continuously cultivated tobacco-growing soils.

为了揭示种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对土壤细菌优势物种的影响, 本文进一步统计了不同处理下不同植烟土壤细菌前 20 个优势物种相对丰度值的变化, 结果见图 4。

从图 4 可以看出, 种植豌豆绿肥和接种根瘤菌对植烟土壤优势细菌物种产生显著影响。在新垦烟地中, 种植豌豆和接种根瘤菌处理下(XWR)的土壤优势细菌物种是马赛菌属(*Massilia*)、拟无知酸菌属(*Amycolatopsis*)、*Streptomyces* 和泥单胞菌属(*Pelomonas*)等; 而在连作烟地(LWR)中是 *Ochrobactrum*、*Candidatus_Solibacter*、苔藓杆菌属(*Bryobacter*)、硝化螺菌属(*Nitrospira*)及根瘤菌属(*Rhizobium*)等。新垦烟地和连作烟地中单纯种植豌豆处理(XW 和 LW)的土壤优势细菌也表现出明显的差异, 优势细菌物种分别是 *Acinetobacter*、代尔夫特菌属(*Delftia*)、*RB41* 和假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、*Nitrospira*、类诺卡式菌属(*Nocardioides*)等。此外, 接种根瘤菌后新垦烟地土壤(XWR)中的根瘤菌(*Rhizobium*)相对丰度较对照(XCK)有所降低, 而连作烟地(LWR)

土壤中的根瘤菌(*Rhizobium*)相对丰度较对照(LCK)显著增加。

2.3.4 不同处理下土壤细菌群落与土壤肥力间的关系

本研究以 pH、有机碳(SOC)、容重(bulk density, BD)、全氮(TN)、碱解氮(AN)、有效磷(AP)和速效钾(AK)来表征土壤养分特性差异。对新、连作植烟土壤不同处理下细菌群落和土壤理化性质进行冗余分析(图 5), 结果显示连作烟地土壤细菌群落与 pH 显著正相关, 与其他 6 个所测土壤养分指标呈负相关; 而在新垦烟地中土壤细菌与土壤理化性质间的相关性则呈相反的特征。总体而言, 从箭头的连线长度可以看出土壤 pH、土壤速效钾(AK)和碱解氮(AN)是该区域影响植烟土壤细菌群落结构的主要因素。

3 讨论

土壤是各种生物赖以生存的根基, 不仅支持着植物和微生物的生存, 也将两者紧密地联系起来。土壤中的微生物不仅影响物质在土壤

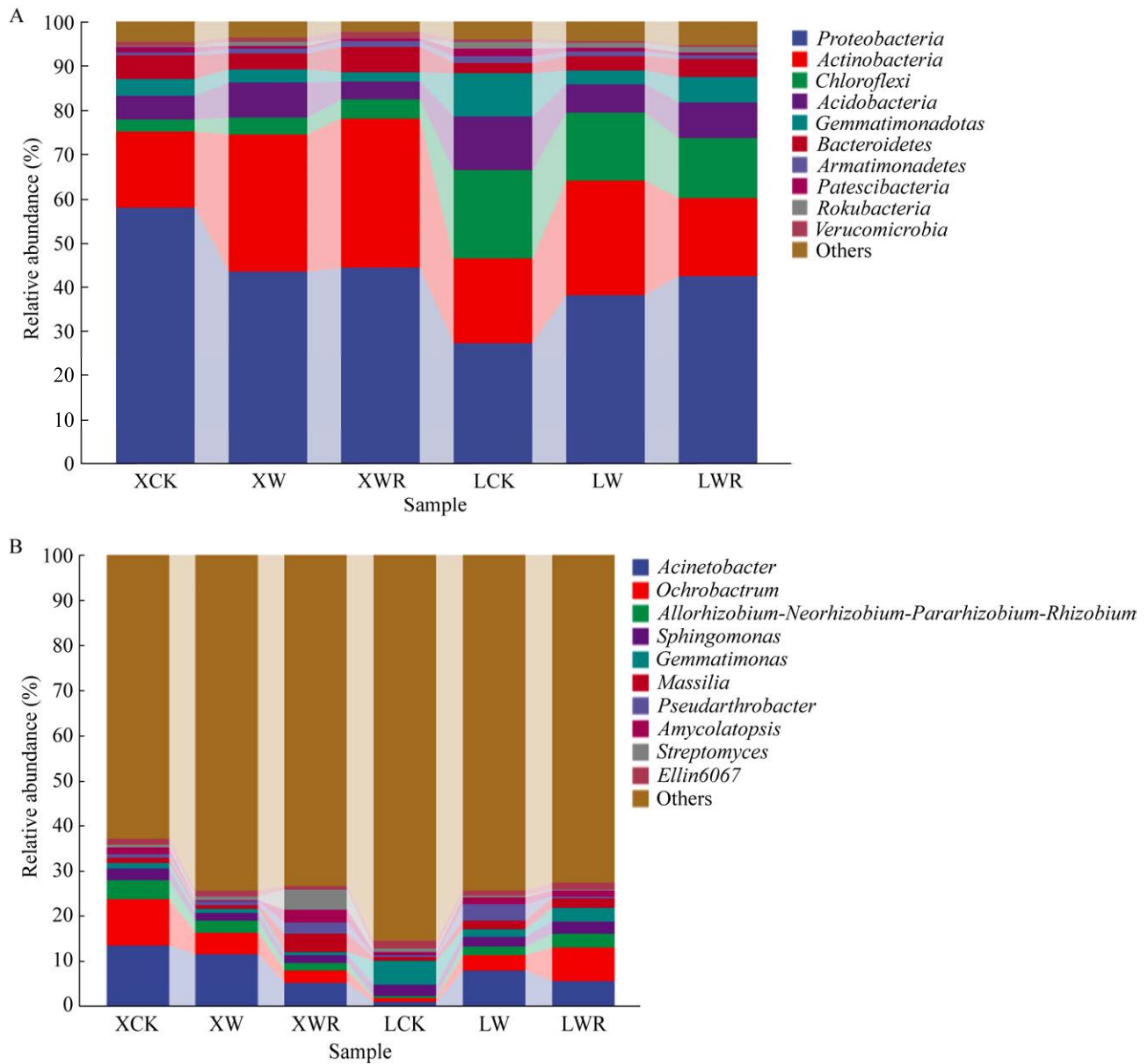


图3 种植豌豆接种根瘤菌 CP4-2 对植烟土壤细菌群落组成在门(A)和属(B)水平上的影响

Figure 3 Impact of *Pisum sativum* L. cultivation with *Rhizobium* sp. CP4-2 inoculum on the soil bacterial community composition at the phylum (A) and genus level (B).

中的循环机制,而且还对该土壤生态系统的稳定性和抗逆性产生影响^[21]。农业耕作不仅是人类生存所依赖的社会行为,也是人类文明不断积累和发展的体现。不同的耕作方法对土壤中的微生物群落构成和土壤的物理化学性质产生了显著的影响,这在一定程度上塑造了土壤的生物和非

生物结构^[22]。连作是当前很多地区的主要耕作方式,它是指在同一土壤上种植同一种作物,可以在短期内满足作物的生产需求^[23]。马文富等^[4]的研究表明烤烟连作会导致土壤中养分含量和土壤 pH 显著下降,并积累对烤烟有害的病虫害和化学性物质,并且烤烟连续种植的时间越

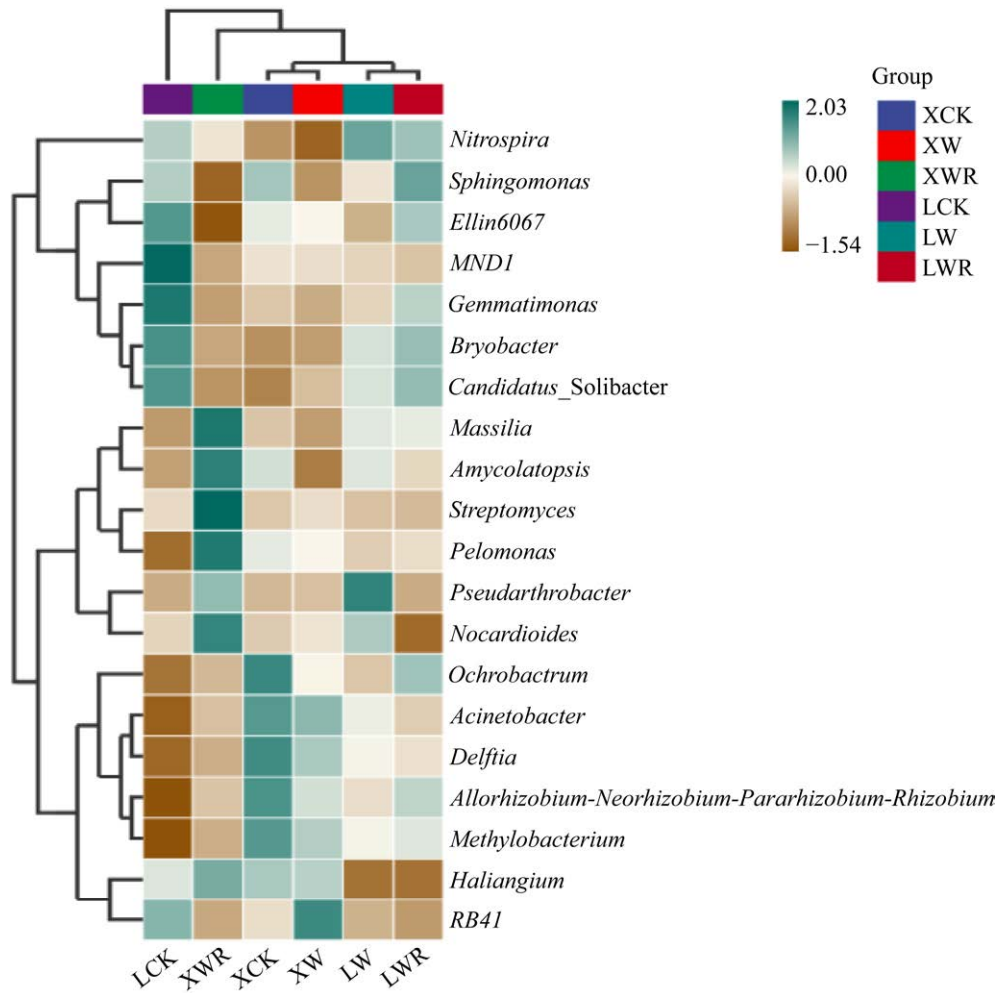


图 4 种植豌豆接种根瘤菌 CP4-2 对植烟土壤中属水平上前 20 优势细菌物种的影响

Figure 4 Impact of *Pisum sativum* L. cultivation with *Rhizobium* sp. CP4-2 inoculum on the top 20 bacterial species at the genus level in the tobacco cultivation soil.

长，其累积的危害就越严重，导致土壤质量的进一步恶化。本研究也显示连作烟地烤烟根际土壤 pH 明显低于新垦烟地，再次完全证明了这一点。

农业田间管理措施会对土壤养分和微生物种群产生明显影响，种植豆科绿肥并翻压还田能明显提高土壤的养分含量。研究发现，种植豆科绿肥能更好地帮助种植玉米的土壤进行氮素的固定和转移，增加土壤氮素的供应^[24-25]；同时豆科植物还可与混作植物在根际空间产生磷养分

利用差异，从而改善根际磷素养分供应^[25]。对豆科植物与其他农作物的种植模式进行优化，不仅有助于调整间作或混作系统中氮素的使用效率^[26]，还能改变土壤中营养成分的分布和积累模式。与同行混作相比，豆科植物与玉米的异行混作方式更有助于土壤中碱解氮、速效钾和有机质的累积，同时，同行混种方式下的有效磷含量也相对较高^[27]。在种植豆科绿肥的过程中，接种适当的根瘤菌有助于进一步增加土壤中的有机物、全氮和碱解氮含量。与前人研究

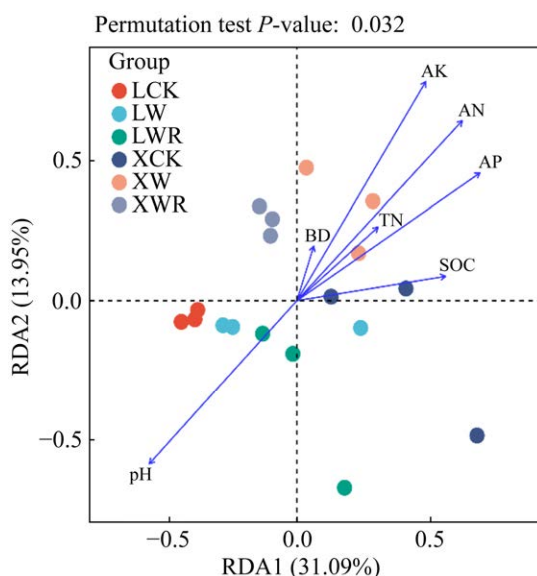


图5 土壤细菌与土壤理化性质的冗余分析 SOC: 有机碳; BD: 容重; TN: 全氮; AN: 碱解氮; AP: 有效磷; AK: 有效钾。

Figure 5 Redundancy analysis between soil bacterial community composition and physico-chemical properties. SOC: Organic carbon; BD: Bulk density; TN: Total nitrogen; AN: Available nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium.

相似^[27], 本研究也发现种植豌豆并接种根瘤菌可以提高植烟土壤的有机碳、全氮和碱解氮含量。关于种植豆科绿肥并接种根瘤菌对土壤钾含量的影响, 目前的研究尚存在争论。曾长立等^[28]研究发现, 豆科植物苜蓿在接种根瘤菌后土壤有效钾的含量显著降低, 而朱亚琼等^[27]研究却得到相反的结论, 具体原因尚待进一步研究证实。本研究显示, 种植豌豆绿肥并接种根瘤菌有利于提高植烟土壤的有效钾含量。总体而言, 本研究显示, 植烟土壤种植豌豆并接种根瘤菌有利于提高土壤肥力。

利用绿肥翻压还田的方法, 可以通过提高土壤中的营养成分和有机物含量, 进而刺激土壤微生物的增长^[29]。之前的研究已经证实, 对

绿肥进行翻压处理可以增强土壤微生物的多样性, 并调整土壤微生物的相对数量分布^[30]。土壤微生物多样性影响着土壤中物质的分解、流动和循环, 因此高水平的土壤微生物多样性有利于土壤质量的提高^[31]。本研究表明, 在不同种植年数的烟草种植土壤中, 绿肥翻压对土壤微生物多样性产生的影响并不统一。在新垦的烟草种植区, 使用绿肥进行翻压有助于增加土壤中微生物的多样性, 特别是在连续种植烟草的土地上, 绿肥翻压降低了土壤微生物的多样性, 这可能是由于连作烟地受施肥和农药的选择性改变了土壤微生物的群落结构, 绿肥翻压的土壤生物学效应较弱。具体原因尚待进一步研究证实。

前人研究表明, 绿肥翻压能明显改变土壤微生物的群落, 如 Wang 等^[32]研究表明, 绿肥翻压有利于提高水稻种植土壤中变形菌门和放线菌门的相对丰度, Zhao 等^[33]的研究也得到了类似的结果。本研究结果与前人研究结果相似。变形菌门和放线菌门在土壤生态系统中广泛存在, 具有重要的土壤培肥能力, 特别是在土壤生态系统的氮素固定和有机物降解方面^[34]。不动杆菌属、苍白杆菌属和鞘脂单胞菌属细菌是土壤中重要的指示微生物。研究显示不动杆菌属细菌对于土壤中的磷循环具有重要意义, 能够提高植物磷素营养^[35]。同时, Wu 等^[36]研究发现不动杆菌属细菌可以有效降解土壤中的阿魏酸和对羟基苯酸, 从而可以保护连作土壤中的植株的健康生长。苍白杆菌属的细菌在土壤中是一种常见的微生物群体, 它们在土壤元素的生物地球化学循环中起到了关键的调节作用。然而, 这一属中的某些细菌种类也是对人类和植物造成威胁的主要病原菌, 如人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropic*) 和中间苍白杆菌 (*Ochrobactrum intermedium*)^[37], 本研究发现苍

白杆菌属细菌的相对丰度在烤烟连作土壤中呈增加的趋势,关于它是否会给烤烟带来不良影响,还需要进行更深入的研究。链霉菌属(*Streptomyces*)放线菌在土壤培肥、质量维持和元素循环方面也具有重要作用^[38]。本研究显示,新垦植烟土壤中进行绿肥翻压提高了土壤中链霉菌属放线菌的相对丰度值,可能的原因是绿肥的翻压作用为土壤提供了丰富的有机物,这对链霉菌的成长是有益的。此外,本研究发现接种根瘤菌后新垦烟地土壤(XWR)中的根瘤菌相对丰度较对照(XCK)有所降低;而连作烟地(LWR)土壤中的根瘤菌度较对照(LCK)显著增加,其原因可能是新垦烟地中微生物生态系统尚未完全建立,使得新添加的根瘤菌竞争激烈,难以迅速定殖;而连作土壤的生态系统相对成熟稳定,新添加的根瘤菌更容易适应和繁殖,从而显著增加其丰度^[39-40]。

4 结论

本文通过化学分析和扩增子测序研究了豌豆绿肥翻压入土对攀枝花烟区不同植烟年限植烟土壤理化性质以及土壤微生物群落及多样性的影响。研究发现,使用豌豆绿肥进行翻压可以明显地改变种植烟草的土壤的物理和化学性质,同时也会改变土壤中微生物群落的结构,从而提高新开垦的烟草地土壤的微生物多样性,而减少连续种植烟草地土壤的微生物多样性。植烟土壤的优势菌群有变形菌门、绿弯菌门和放线菌门。不动杆菌属、苍白杆菌属及鞘脂单胞菌属为优势属。土壤 pH、速效钾(AK)和碱解氮(AN)是驱动攀枝花不同年限烟区植烟土壤微生物群落组成及多样性的重要土壤理化因子。相关研究结果可为提高攀枝花植烟土壤质量、建立合理的植烟制度提供理论依据。

REFERENCES

- [1] 苟久兰, 顾小凤, 张萌, 魏全全, 柳玲玲. 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 JL, GU XF, ZHANG M, WEI QQ, LIU LL. Effects of different flue-cured 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 (in Chinese).
- [2] 曹超逸, 潘义宏, 冀新威, 黄坤, 李柘锦, 张加研. 不同连作年限烤烟根际红壤微生物多样性比较[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(19): 211-219.
CAO CY, PAN YH, JI XW, HUANG K, LI ZJ, ZHANG JY. Comparison of microbial diversity in rhizosphere red soil of flue-cured tobacco with different continuous cropping years[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(19): 211-219 (in Chinese).
- [3] 向鹏华, 单雪华, 黄银章, 郭维, 龙世平. 烟-稻复种连作年限对土壤理化性状及烟叶产量与品质的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2016(5): 105-109.
XIANG PH, SHAN XH, HUANG YZ, GUO W, LONG SP. Effects of tobacco-rice continuous cropping years on soil physicochemical properties and tobacco yield and quality[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2016(5): 105-109 (in Chinese).
- [4] 马文富, 邓小鹏, 杜杏蓉, 代方秀, 李军营, 赵正雄, 王娜. 连作年限对植烟土壤化学特性及烟叶产质量的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(6): 993-999.
MA WF, DENG XP, DU XR, DAI FX, LI JY, ZHAO ZX, WANG N. Effects of continuous cropping years on the chemical characteristics of tobacco-planted soil, yield and quality of tobacco leaves[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2021, 36(6): 993-999 (in Chinese).
- [5] 严嘉慧, 周岐海, 胡林安, 钟菊新, 李强. 不同演替阶段岩溶石灰土可培养细菌的群落特征[J]. 微生物学报, 2021, 61(6): 1666-1680.
YAN JH, ZHOU QH, HU LA, ZHONG JX, LI Q. Community characteristics of culturable bacteria in calcareous soil at different succession stages[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(6): 1666-1680 (in Chinese).
- [6] YANG L, BAI JS, ZENG NH, ZHOU X, LIAO YL, LU YH, REES RM, NIE J, CAO WD. Diazotroph abundance and community structure are reshaped by straw return and mineral fertilizer in rice-rice-green manure rotation[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 136: 11-20.
- [7] 孟鹏飞, 郭涛, 刘文. 基于植物-土壤反馈的不同绿肥驯化微生物对玉米生长的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1111-1122.
MENG PF, GUO T, LIU W. Microorganisms domesticated with different green manures regulate maize growth via plant-soil feedback[J]. Microbiology China, 2023, 50(3): 1111-1122 (in Chinese).
- [8] 王光州, 贾吉玉, 张俊伶. 植物-土壤反馈理论及其在自然和农田生态系统中的应用研究进展[J]. 生态学报, 2021, 41(23): 9130-9143.
WANG GZ, JIA JY, ZHANG JL. Plant soil feedback

- theory and its applications and prospects in natural and agricultural ecosystems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(23): 9130-9143 (in Chinese).
- [9] 管彤彤, 张燕, 陶海宁, 董秀, 沈禹颖. 绿肥还田对土壤有机碳组分及碳转化酶活性的影响[J]. *中国农业科学*, 2024, 57(14): 2791-2802.
GUAN TT, ZHANG Y, TAO HN, DONG X, SHEN YY. Effects of green manure return on soil organic carbon component and carbon invertase enzyme activities[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(14): 2791-2802 (in Chinese).
- [10] 胡启良, 杨滨娟, 刘宁, 黄国勤. 绿肥混播下不同施氮量对水稻产量、土壤碳氮和微生物群落的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2022, 41(6): 16-26.
HU QL, YANG BJ, LIU N, HUANG GQ. Effects of application rates of nitrogen on rice yield, carbon and nitrogen, microbial community in soil under mixed sowing of green manure[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2022, 41(6): 16-26 (in Chinese).
- [11] 黄国勤. 江南丘陵区农田循环生产技术研究: I. 江西绿肥生产的发展[J]. *耕作与栽培*, 2008(2): 1-2, 12.
HUANG GQ. Study on farmland circular production technology in hilly area of South China I. development of green manure production in Jiangxi Province[J]. *Tillage and Cultivation*, 2008(2): 1-2, 12 (in Chinese).
- [12] 黄建余, 廖育林, 鲁艳红, 聂军, 高雅洁, 孙玉桃. 紫云英与油菜混播对绿肥及早稻产量的影响[J]. *湖南农业科学*, 2021(6): 34-37, 48.
HUANG JY, LIAO YL, LU YH, NIE J, GAO YJ, SUN YT. Effect of Mixed Sowing of Chinese Milk Vetch with Rape on the Yields of Green Manure and Early rice[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2021(6): 34-37, 48 (in Chinese).
- [13] 张秋丽, 宋安易, 费全凤, 李秀玲. 紫云英(蚕豆)与油菜混种对土壤及后茬水稻产量的影响[J]. *上海农业科技*, 2020(5): 122-123, 128.
ZHANG QL, SONG AY, FEI QF, LI XL. Effects of mixed planting of Chinese milk vetch (*Vicia faba*) and rape on soil and rice yield in subsequent crops[J]. *Shanghai Agricultural Science and Technology*, 2020(5): 122-123, 128 (in Chinese).
- [14] PIOTROWSKA-DUGOSZ A, WILCZEWSKI E. Influence of field pea (*Pisum sativum* L.) as catch crop cultivated for green manure on soil phosphorus and P-cycling enzyme activity[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2020, 66: 1570-1582.
- [15] 谢楠, 李梦, 冯伟, 刘振宇, 张立锋, 智健飞, 杜姿璇, 刘忠宽. 河北坝上地区野豌豆作为绿肥的生产潜力研究[J]. *中国草地学报*, 2023, 45(4): 100-106.
XIE N, LI M, FENG W, LIU ZY, ZHANG LF, ZHI JF, DU ZX, LIU ZK. Study on production potential of vetch as green fertilizer in Bashang area of Hebei Province[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(4): 100-106 (in Chinese).
- [16] 律泽, 苏澳, 胡芳雨, 丁子明, 王宝玉, 徐明恺, 张惠文, 安婧. 田菁对农田氯噻磺隆去除及土壤微生物群落的影响[J]. *生态学杂志*, 2024, 43(9): 2750-2757.
LYU Z, SU A, HU FY, DING ZM, WANG BY, XU MK, ZHANG HW, AN J. Effects of sesbania on chlorimuron-ethyl removal and soil microbial community in farmland[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2024, 43(9): 2750-2757 (in Chinese).
- [17] 康博, 李冰, 王昌全, 曾庆宾, 黄容, 苟宁健, 张宗锦. 烤烟肥料养分投入及产出效益分析: 以攀枝花烟区为例[J]. *中国土壤与肥料*, 2022(2): 189-196.
KANG B, LI B, WANG CQ, ZENG QB, HUANG R, GOU NJ, ZHANG ZJ. Effect of fertilizer nutrient inputs and output benefits of tobacco: based on the case of Panzhihua tobacco growing area[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2022(2): 189-196 (in Chinese).
- [18] 金芮民, 郝思迪, 董官勇, 严靖, 程曦冉, 陈强, 余秀梅. 根瘤菌 PP3 对水黄皮抗氧化系统应激镍胁迫的影响[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(5): 1626-1640.
JIN RM, HAO SD, DONG GY, YAN J, CHENG XR, CHEN Q, YU XM. Effect of *Rhizobium* sp. PP3 on the antioxidant system of *Pongamia pinnata* under nickel stress[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(5): 1626-1640 (in Chinese).
- [19] 谢星光, 陈晏, 卜元卿, 戴传超. 酚酸类物质的化感作用研究进展[J]. *生态学报*, 2014, 34(22): 6417-6428.
XIE XG, CHEN Y, BU YQ, DAI CC. A review of allelopathic researches on phenolic acids[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(22): 6417-6428 (in Chinese).
- [20] 侯慧, 董坤, 杨智仙, 董艳, 汤利, 郑毅. 连作障碍发生机理研究进展[J]. *土壤*, 2016, 48(6): 1068-1076.
HOU H, DONG K, YANG ZX, DONG Y, TANG L, ZHENG Y. Advance in mechanism of continuous cropping obstacle[J]. *Soils*, 2016, 48(6): 1068-1076 (in Chinese).
- [21] MOUGI A, KONDOH M. Diversity of interaction types and ecological community stability[J]. *Science*, 2012, 337(6092): 349-351.
- [22] 贾梦圆, 黄兰媚, 李琦聪, 赵建宁, 张艳军, 杨殿林, 王慧. 耕作方式对农田土壤理化性质、微生物学特性及小麦营养品质的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2022, 28(11): 1964-1976.
JIA MY, HUANG LM, LI QC, ZHAO JN, ZHANG YJ, YANG DL, WANG H. Effects of tillage methods on physico-chemical and microbial characteristics of farmland soil and nutritional quality of wheat[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(11): 1964-1976 (in Chinese).
- [23] 孙子欣, 蔡柏岩. 连作对土壤微生物菌群影响及修复研究进展[J]. *作物杂志*, 2022(6): 7-13.
SUN ZX, CAI BY. Research advances on the effects of continuous cropping on soil microbial community and restoration techniques[J]. *Crops*, 2022(6): 7-13 (in Chinese).
- [24] 王飞, 徐茜, 陈志厚, 陈乾锦, 杨秋菊, 陈爱玲. 翻压不同绿肥对植烟土壤细菌类群的影响[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(11): 317-321.
WANG F, XU Q, CHEN ZH, CHEN QJ, YANG QJ, CHEN AL. Impact of burying different kinds of green manure on soil bacteria in growing tobacco field[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(11): 317-321 (in Chinese).
- [25] 赵书军, 秦兴成, 张新然, 倡国涵, 徐祥玉, 袁家富. 不同绿肥翻压量及施肥条件下土壤酸性磷酸酶活性的变化[J]. *中国烟草科学*, 2011, 32(S1): 99-102.
ZHAO SJ, QIN XC, ZHANG XR, SI GH, XU XY, YUAN JF. Changes of soil acid phosphatase activity under different green manure turnover and fertilization conditions[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2011, 32(S1): 99-102 (in Chinese).
- [26] 方林发, 谢军, 孔萌, 马丽革, 焦祥祥, 杨叶华, 魏勇, 徐文静, 张建伟, 张宇亭, 石孝均. 豆科绿肥替

- 代化学氮肥促进柑橘幼苗生长和氮素吸收[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(11): 1959-1970.
- FANG LF, XIE J, KONG M, MA LG, JIAO XX, YANG YH, WEI Y, XU WJ, ZHANG JW, ZHANG YT, SHI XJ. Legume green manure substituting partial chemical nitrogen fertilizers improves growth and nitrogen absorption of citrus seedlings[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021, 27(11): 1959-1970 (in Chinese).
- [27] 朱亚琼, 简大为, 郑伟, 王朴, 黎松松, 郝帅, 娜尔克孜, 刘岳含, 艾丽菲热. 不同种植模式下豆科绿肥对土壤改良效果的影响[J]. 草业科学, 2020, 37(5): 889-900.
- ZHU YQ, JIAN DW, ZHENG W, WANG P, LI SS, HAO S, NA E, LIU YH, AI L. Effects of improving soil fertility by planting different leguminous green manure plants under different mixed cropping patterns[J]. Pratacultural Science, 2020, 37(5): 889-900 (in Chinese).
- [28] 张黎明, 邓小华, 周米良, 田峰, 赵炯平, 江智敏, 菅攀锋, 张明发. 不同种类绿肥翻压还田对植烟土壤微生物量及酶活性的影响[J]. 中国烟草科学, 2016, 37(4): 13-18.
- ZHANG LM, DENG XH, ZHOU ML, TIAN F, ZHAO JP, JIANG ZM, JIAN PF, ZHANG MF. Effects of different green manures on microbial biomass and enzyme activities of tobacco-planting soil[J]. Chinese Tobacco Science, 2016, 37(4): 13-18 (in Chinese).
- [29] 曾长立, 刘丽, 田雪婷, 戴希刚, 宁婷婷, 丁建军. 耕作方式与接种根瘤菌对土壤肥力及豌豆产量与品质的影响[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2021, 49(2): 66-75.
- ZENG CL, LIU L, TIAN XT, DAI XG, NING TT, DING JJ. Effects of tillage management and rhizobia inoculation on soil fertility, pea yield and quality[J]. Journal of Jiangnan University (Natural Science Edition), 2021, 49(2): 66-75 (in Chinese).
- [30] 祖韦军, 潘文杰, 薛亚军, 杨磊, 林叶春. 耕作深度与翻压绿肥对植烟土壤细菌群落结构及多样性的影响[J]. 南方农业学报, 2022, 53(6): 1513-1524.
- ZU WJ, PAN WJ, XUE YJ, YANG L, LIN YC. Effects of tillage depths and green manure overturning on microbial community structure and diversity of tobacco-planting soil[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(6): 1513-1524 (in Chinese).
- [31] CHEN XF, LI ZP, LIU M, JIANG CY, CHE YP. Microbial community and functional diversity associated with different aggregate fractions of a paddy soil fertilized with organic manure and/or NPK fertilizer for 20 years[J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(2): 292-301.
- [32] WANG XD, MA H, GUAN CY, GUAN M. Germplasm screening of green manure rapeseed through the effects of short-term decomposition on soil nutrients and microorganisms[J]. Agriculture, 2021, 11(12): 1219.
- [33] ZHAO J, ZHANG RF, XUE C, XUN WB, SUN L, XU YC, SHEN QR. Pyrosequencing reveals contrasting soil bacterial diversity and community structure of two main winter wheat cropping systems in China[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(2): 443-453.
- [34] CHEN WM, MOULIN L, BONTEMPS C, VANDAMME P, BÉNA G, BOIVIN-MASSON C. Legume symbiotic nitrogen fixation by beta-proteobacteria is widespread in nature[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(24): 7266-7272.
- [35] RASUL M, YASMIN S, YAHYA M, BREITKREUZ C, TARKKA M, REITZ T. The wheat growth-promoting traits of *Ochrobactrum* and *Pantoea* species, responsible for solubilization of different P sources, are ensured by genes encoding enzymes of multiple P-releasing pathways[J]. Microbiological Research, 2021, 246: 126703.
- [36] WU FH, AN YQ, AN YR, WANG XJ, CHENG ZY, ZHANG Y, HOU XW, CHEN CX, WANG L, BAI JG. *Acinetobacter calcoaceticus* CSY-P13 mitigates stress of ferulic and p-hydroxybenzoic acids in cucumber by affecting antioxidant enzyme activity and soil bacterial community[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1262.
- [37] HOLMES B, POPOFF M, KIREDJIAN M, KERSTERS K. *Ochrobactrum anthropi* gen. nov., sp. nov. from human clinical specimens and previously known as group vd[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1988, 38(4): 406-416.
- [38] SHI GY, SUN HQ, CALDERÓN-URREA A, LI MQ, YANG HY, WANG WZ, SU GL. Bacterial communities as indicators of soil health under a continuous cropping system[J]. Land Degradation & Development, 2021, 32(7): 2393-2408.
- [39] 梅沛沛, 王平, 李隆, 张轩, 桂林国, 黄建成. 新开垦土壤上构建玉米/蚕豆-根瘤菌高效固氮模式[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(1): 62-74.
- MEI PP, WANG P, LI L, ZHANG X, GUI LG, HUANG JC. Construction of efficient nitrogen-fixing cropping pattern: maize/faba bean intercrop with rhizobium inoculation in reclaimed low-fertility soils[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(1): 62-74 (in Chinese).
- [40] WIELBO J. Rhizobial communities in symbiosis with legumes: genetic diversity, competition and interactions with host plants[J]. Central European Journal of Biology, 2012, 7(3): 363-372.