

引用格式:

魏光钰, 胡勇, 吴永琴, 张清壮, 李鑫. 灭菌方式对植烟土壤微生物群落的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(6): 652–660.

WEI G Y, HU Y, WU Y Q, ZHANG Q Z, LI X. Effects of soil disinfestation methods on microbial community in tobacco planting fields [J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(6): 652–660.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 灭菌方式对植烟土壤微生物群落的影响

魏光钰<sup>1</sup>, 胡勇<sup>1</sup>, 吴永琴<sup>1</sup>, 张清壮<sup>2</sup>, 李鑫<sup>2\*</sup>

(1.贵阳市烟草公司清镇市分公司, 贵州 贵阳 551400; 2.湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125)

**摘要:** 对连作障碍严重的植烟土壤进行物理熏蒸、棉隆化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原技术灭菌处理, 以未经处理的土壤为对照, 分析土壤的理化性质和微生物群落的变化; 应用 FUNGuild 对真菌群落进行功能预测。结果表明: 与对照相比, 化学熏蒸显著提高了土壤的水解氮含量, 物理熏蒸显著提高了速效磷和速效钾含量, 甘蔗渣土壤强还原处理显著提高了土壤的 pH 值和有机质含量; 物理熏蒸、化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理的土壤中尖孢镰刀菌数量分别减少了 26.74%、41.39% 和 38.46%, 3 种灭菌方式对植烟土壤尖孢镰刀菌均具有抑制效应; 不同灭菌方式的土壤微生物群落组成发生明显变化, 化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理提高了土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*)、结核杆菌属(*Tuberibacillus*)、梭菌属(*Clostridium*)和拟杆菌属(*Bacteroides*)的相对丰度; 甘蔗渣土壤强还原处理土壤中, 氢孢菌属(*Hydrogenispora*)、瘤胃梭菌属(*Ruminiclostridium*)和拟杆菌属(*Bacteroides*)成为优势菌属。群落功能预测表明, 物理熏蒸导致土壤中病理营养型真菌增加, 化学熏蒸导致腐生-共生营养型向病理-腐生营养型转变, 而甘蔗渣土壤强还原灭菌处理则降低了病理营养型真菌丰度并促进腐生真菌的大量繁殖。

**关键词:** 植烟土壤; 土壤强还原; 物理熏蒸; 化学熏蒸; 微生物群落; 功能预测

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)06-0652-09

## Effects of soil disinfestation methods on microbial community in tobacco planting fields

WEI Guangyu<sup>1</sup>, HU Yong<sup>1</sup>, WU Yongqin<sup>1</sup>, ZHANG Qingzhuang<sup>2</sup>, LI Xin<sup>2\*</sup>

(1.Qingzhen Branch of Guiyang Tobacco Company, Guiyang, Guizhou 551400, China; 2.Hunan Vegetable Research Institute, Changsha, Hunan 410125, China)

**Abstract:** Tobacco planting soil with severe continuous cropping obstacles were treated by physical fumigation, chemical fumigation and reductive soil disinfestation based on sugarcane bagasse, with untreated soil as the control. Then, the changes in the soil physicochemical properties and microbial communities were analyzed, and FUNGuild platform was applied for functional prediction of fungal communities. Results showed that compared with the control, chemical fumigation significantly increased the content of hydrolyzed nitrogen in the soil, physical fumigation significantly increased the content of available phosphorus and available potassium, and reductive soil disinfestation significantly increased the pH value and organic matter content of the soil. The number of *Fusarium oxysporum* in the soil treated with physical fumigation, chemical fumigation, and reductive soil disinfestation decreased by 26.74%, 41.39% and 38.46%, respectively; these sterilization methods all had inhibitory effects on *Fusarium oxysporum* in tobacco planting fields. The composition of microbial communities in soil changed significantly with different disinfestation methods. Chemical fumigation and reductive soil disinfestation increased the relative abundance of

收稿日期: 2022-11-07

修回日期: 2023-09-18

基金项目: 贵州省烟草公司贵阳市公司科技项目(筑烟科[2018]4号)

作者简介: 魏光钰(1993—), 男, 贵州兴义市人, 硕士, 助理农艺师, 主要从事烤烟栽培技术研究, 2979546706@qq.com; \*通信作者, 李鑫, 博士, 助理研究员, 主要从事土壤连作障碍修复研究, s2007203272@yeah.net

*Bacillus*, *Tuberibacillus*, *Clostridium*, and *Bacteroides* in the soil. In reductive soil disinfestation treated soil, *Hydrogenospora*, *Ruminiclostridium* and *Bacteroides* are the dominant bacterial genera. Function prediction for microbial community shows that physical fumigation leads to an increase in pathotrophic fungi in the soil, chemical fumigation transforms nutritional type of fungi from saprotroph-symbiotroph to pathotroph-symbiotroph, and reductive soil disinfestation significantly reduces the abundance of pathotrophic fungi and promotes the large-scale reproduction of saprophytic fungi.

**Keywords:** tobacco planting soil; reductive soil disinfestation; physical fumigation; chemical fumigation; microbial community; functional prediction

烟草连作会导致植烟土壤质量下降、烟叶的产量和品质降低、土传病害加重,严重影响烟叶的高质量和可持续生产<sup>[1]</sup>。缓解烟草连作障碍包括日晒消毒、科学合理轮作和间作、套作、科学施肥、施用微生物菌剂、培育抗病良种和物理化学防治等多种方式<sup>[2-5]</sup>。运用生态学方法,实施土壤强还原灭菌技术(RSD)<sup>[6]</sup>成为较新兴的方法,已在缓解辣椒、三七等作物的连作障碍中取得显著成效<sup>[7-8]</sup>。RSD处理是在土壤中添加易分解的有机物料,饱和灌溉后用塑料薄膜覆盖,快速创建厌氧强还原环境的过程<sup>[9]</sup>。

滕凯等<sup>[10]</sup>研究表明,应用RSD技术可增加植烟土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及有效磷养分含量,提高土壤pH;RSD处理后的土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*)、粪球菌属(*Coprococcus*)、柄孢壳菌属(*Podospora*)和被孢霉属(*Mortierella*)等功能菌属的相对丰度显著提高,而青枯病致病菌属雷尔氏菌属(*Ralstonia*)的相对丰度显著降低。笔者以尖孢镰刀菌种群数量较多的连作植烟土壤为材料,研究物理熏蒸、棉隆化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原技术等灭菌方式对土壤矿质养分、微生物群落结构以及病原菌消减的影响,探讨它们对土壤连作障碍的防治效果,以期烟草连作土壤新型灭菌技术的应用提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试土壤

供试土壤为贵州省清镇市卫城镇暗流乡(106°36'63"E, 26°81'58"N)连作5年的植烟土壤。基本理化性质:pH 5.07,水解氮 165.27 mg/kg,有效磷 133.33 mg/kg,有效钾 550.23 mg/kg,总有机质 33.28 g/kg,土壤氧化还原电位(Eh)351.00 mV,尖孢镰刀菌种群数量为每 g  $1.10 \times 10^7$  ITS 拷贝数。

## 1.2 方 法

### 1.2.1 试验设计

设置4个处理,每个处理3个重复。CK为空白对照,即对5 kg植烟土壤不作灭菌处理;物理熏蒸(HT),将5 kg土壤灌溉至饱和后密封,淹水覆膜;化学熏蒸(DZ),向5 kg土壤中添加质量分数为2%的棉隆溶液,灌溉至饱和后密封;强还原灭菌(RSD),向5 kg土壤中添加质量分数为2%的甘蔗渣,灌溉至饱和后密封。所有处理在35℃下放置25 d。其间,CK模拟田间土壤水分条件,相对含水量保持在15%~18%。处理结束后,将土壤风干,研磨后过孔径8 mm筛。土样分成2份:1份置于4℃冰箱保存,用于土壤理化性质测定;另1份用液氮处理后置于-80℃冰箱保存,用于微生物群落的检测。

### 1.2.2 土壤理化性质测定

用于理化性质分析的土壤样品研磨后过孔径2 mm筛,依照文献<sup>[11]</sup>的方法,测定土壤pH、土壤氧化还原电位(Eh)、土壤总有机质(TOM)、土壤水解氮(AN)、土壤速效磷(AP)、土壤速效钾(AK)。按照文献<sup>[12]</sup>的方法测定土壤阳离子交换量(CEC)。

### 1.2.3 土壤微生物群落的检测

依据E.Z.N.A.® soil试剂盒说明书提取土壤的总DNA,使用超微量分光光度计NanoDrop2000检测DNA浓度和纯度。采用实时荧光定量PCR检测土壤中尖孢镰刀菌的数量,特异性引物为ITS1F/AFP308<sup>[13]</sup>。使用ABI GeneAmp® 9700 PCR仪和引物对338F/806R、TS1F/ITS2分别扩增细菌16S rRNA基因的高变区V3-V4和真菌ITS1区,

PCR 产物的 MiSeq 测序在上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina MiSeq PE300 平台进行, 获得的原始扩增序列上传至 NCBI 数据库 SRA(登录号 SRP310277)。

### 1.3 数据处理与统计分析

使用 UPARSE 将细菌与真菌的序列按照 97% 的相似度分别进行 OTU 聚类, 再运用 QIIME(1.9.1 版)基于 Silva(细菌)和 UNITE(真菌)分类学数据库对 OTU 进行分类学注释。运用 Mothur(1.30.2)软件计算微生物群落  $\alpha$  多样性指数(香农指数、辛普森指数、ACE 指数、Chao 1 指数)并检验样本之间的差异性。利用主坐标分析(PCoA)和系统聚类分析比较处理之间的微生物群落结构相似性。采用冗余分析(RDA)分析优势属和土壤变量之间的关系。采用皮尔森相关性分析法分析微生物属与土壤理化性质的关系, 以阈值 0.58 筛选出与理化特性有显著相关关系( $P < 0.05$ )的微生物群落并构建网络图。采用

FUNGuild 对真菌群落进行功能预测。

## 2 结果与分析

### 2.1 灭菌方式对植烟土壤理化性质的影响

不同灭菌方式的植烟土壤的理化性质测定结果列于表 1。结果表明, 与 CK 相比, 3 种灭菌处理的土壤的 pH 值显著增加, 甘蔗渣土壤强还原处理的土壤 pH 值最高。物理熏蒸土壤的有效磷和速效钾含量显著增加, 甘蔗渣土壤强还原处理土壤有效磷和速效钾含量均有所降低。与其他处理相比, 甘蔗渣土壤强还原处理土壤中的有机质含量和化学熏蒸处理土壤中的水解氮含量显著高于其他处理。灭菌处理后土壤的 Eh 均显著下降。在化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理中, Eh 值均降为负值。综上, 3 种灭菌方式对植烟土壤均有改善作用: 土壤强还原灭菌具有改良土壤酸化及提高土壤有机质含量的作用; 物理熏蒸提升了土壤养分有效磷和速效钾含量; 化学熏蒸提高了土壤养分解氮的含量。

表 1 不同灭菌方式的植烟土壤的理化性质

Table 1 Physicochemical characteristics of tobacco planting soils with different sterilization methods

处理	水解氮/(mg kg <sup>-1</sup> )	有效磷/(mg kg <sup>-1</sup> )	速效钾/(mg kg <sup>-1</sup> )	pH	有机质/(g kg <sup>-1</sup> )	阳离子交换量/(cmol kg <sup>-1</sup> )	氧化还原电位/mV
CK	(165.27±3.42)b	(133.33±4.07)c	(550.23±48.32)b	(5.07±0.12)d	(33.30±1.30)b	(13.20±0.20)a	(351.00±10.15)a
HT	(174.47±5.63)b	(282.07±66.57)a	(628.83±8.52)a	(5.50±0.17)c	(32.20±0.87)b	(13.00±0.44)a	(302.33±5.51)b
DZ	(258.67±5.13)a	(213.33±20.34)b	(599.33±17.04)ab	(5.83±0.06)b	(31.96±1.19)b	(13.17±0.23)a	(-79.67±5.77)c
RSD	(159.00±3.00)c	(95.37±4.62)c	(491.67±4.04)c	(6.27±0.06)a	(36.97±1.20)a	(12.37±0.11)b	(-70.33±20.03)c

同列不同字母表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 灭菌方式对植烟土壤尖孢镰刀菌数量的影响

测定了不同处理土壤样品中尖孢镰刀菌的种群数量。结果表明, 灭菌处理均显著减少了土壤尖孢镰刀菌的数量。与 CK 相比, 物理熏蒸、化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理的土壤中尖孢镰刀菌的数量分别减少了 26.74%、41.39%和 38.46%。3 种灭菌方式对尖孢镰刀菌均表现出显著的抑制效应, 以化学熏蒸效果最佳, 将每克土壤中尖孢镰刀菌种群数量(ITS 拷贝数)由对照组的  $6.85 \pm 0.48$  降低至  $3.95 \pm 0.13$ 。

### 2.3 灭菌方式对植烟土壤微生物多样性的影响

主坐标分析(图 1)和系统聚类分析(图 2)结果表

明: 物理熏蒸、化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原灭菌后的土壤的细菌和真菌群落结构均发生了显著变化, 出现了明显聚集和相互分离。与 CK 相比, 物

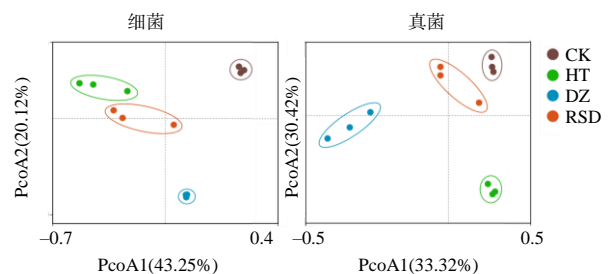


图 1 不同灭菌方式植烟土壤的细菌和真菌群落的主坐标分析

Fig.1 Principal coordinates analysis of the bacterial and fungal communities in tobacco planting soil under different soil disinfestation treatments

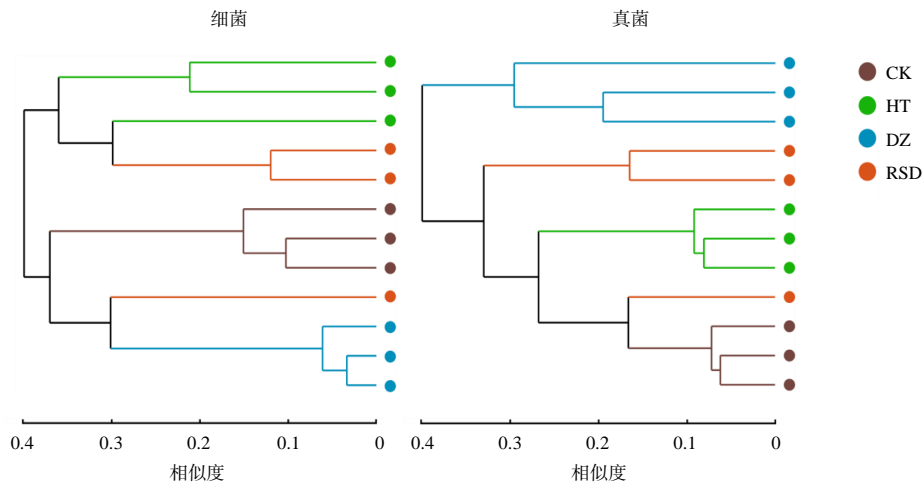


图 2 不同灭菌方式植烟土壤的细菌和真菌的群落系统聚类

Fig.2 Hierarchical cluster analysis of the bacterial and fungal communities tobacco planting soil under different soil disinfestation treatments

理熏蒸和化学熏蒸土壤的细菌的 Chao 1 指数和 ACE 指数下降，甘蔗渣土壤强还原灭菌的增加；不同灭菌处理的细菌香农指数均下降(表 2)。化学熏蒸的土壤的真菌香农指数显著增加，化学熏蒸和甘蔗渣土

壤强还原灭菌的 ACE 指数及 Chao 1 指数均升高，其中化学熏蒸灭菌的显著升高。与物理熏蒸和化学熏蒸灭菌相比，甘蔗渣土壤强还原灭菌明显减少了真菌群落的丰富度。

表 2 不同灭菌方式植烟土壤的细菌和真菌的 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of bacteria and fungi in tobacco planting soil under different soil disinfestation treatments

处理	香农指数		辛普森指数		ACE 指数		Chao 1 指数	
	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌
CK	(5.64±0.13)a	(3.36±0.10)b	(0.010±0.001)b	0.09±0.01	(1242.83±34.78)ab	(318.38±22.02)bc	(1256.64±35.35)a	(318.42±24.82)bc
HT	(5.57±0.07)a	(3.37±0.63)b	(0.009±0.000)b	0.21±0.21	(1203.07±8.96)b	(248.90±32.43)c	(1213.98±8.28)a	(256.50±40.44)c
DZ	(3.70±0.96)b	(5.37±0.10)a	(0.103±0.073)a	0.01±0.00	(872.13±50.93)c	(921.02±3.76)a	(818.55±81.66)b	(927.92±3.31)a
RSD	(5.51±0.59)a	(3.14±0.32)ab	(0.037±0.052)b	0.14±0.06	(1288.44±49.75)a	(362.22±66.88)b	(1309.50±75.61)a	(364.80±76.24)b

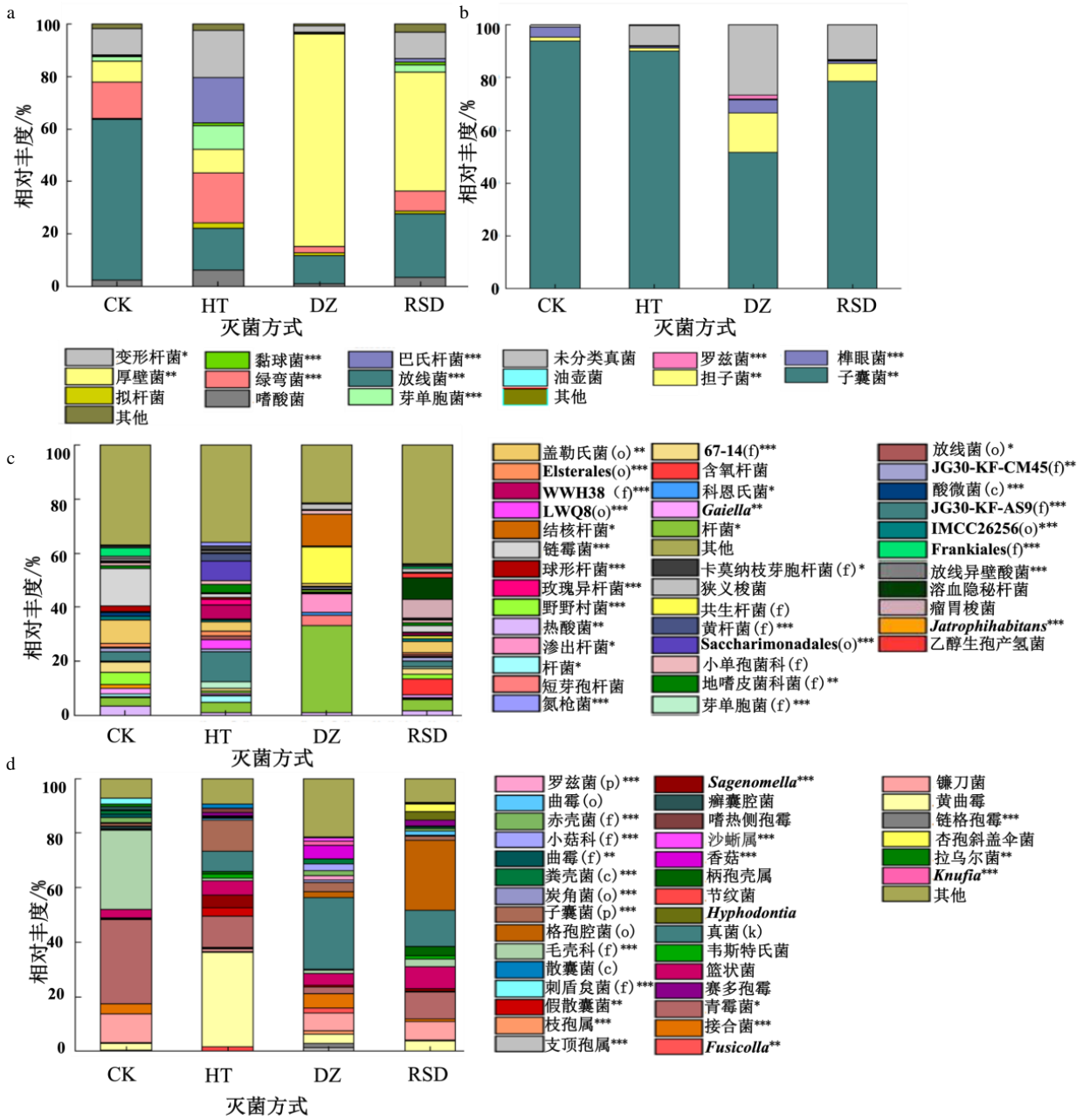
同列不同字母表示处理间的差异有统计学意义(P < 0.05)。

## 2.4 灭菌方式对植烟土壤微生物群落组成的影响

比较不同灭菌方式对微生物群落组成的影响，与 CK 相比，灭菌处理均显著降低了植烟土壤中放线菌门(Actinomycetes)的相对丰度(图 3)。物理熏蒸显著提高土壤中巴氏杆菌门(Patescibacteria)的相对丰度，化学熏蒸处理显著提高了厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度，甘蔗渣土壤强还原灭菌提高了土壤中放线菌门、厚壁菌门、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)的相对丰度(图 3-a)。真菌群落变化(图 3-b)表明，子囊菌门(Ascomycota)是灭菌土壤的优势菌门；与 CK 相比，化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原灭菌显著提高了担子菌门(Basidiomycota)相

对丰度，而化学熏蒸灭菌显著降低了土壤中子囊菌门的相对丰度。

与 CK 相比，化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原灭菌土壤的芽孢杆菌属、乙醇生孢产氢菌属(*Hydrogenispora*)、瘤胃梭菌属(*Ruminiclostridium*)的相对丰度提高；链霉菌属(*Streptomyces*)的相对丰度显著降低(图 3-c)。不同灭菌处理的土壤的青霉菌属(*Penicillium*)和 UC-*Chaetomaceae*(f)的相对丰度显著降低；物理熏蒸灭菌土壤的曲霉属(*Aspergillus*)和 UC-*Ascomycota*(p)的相对丰度升高，而甘蔗渣土壤强还原灭菌的土壤的 UC-*Pleosporales*(o)的相对丰度升高(图 3-d)。



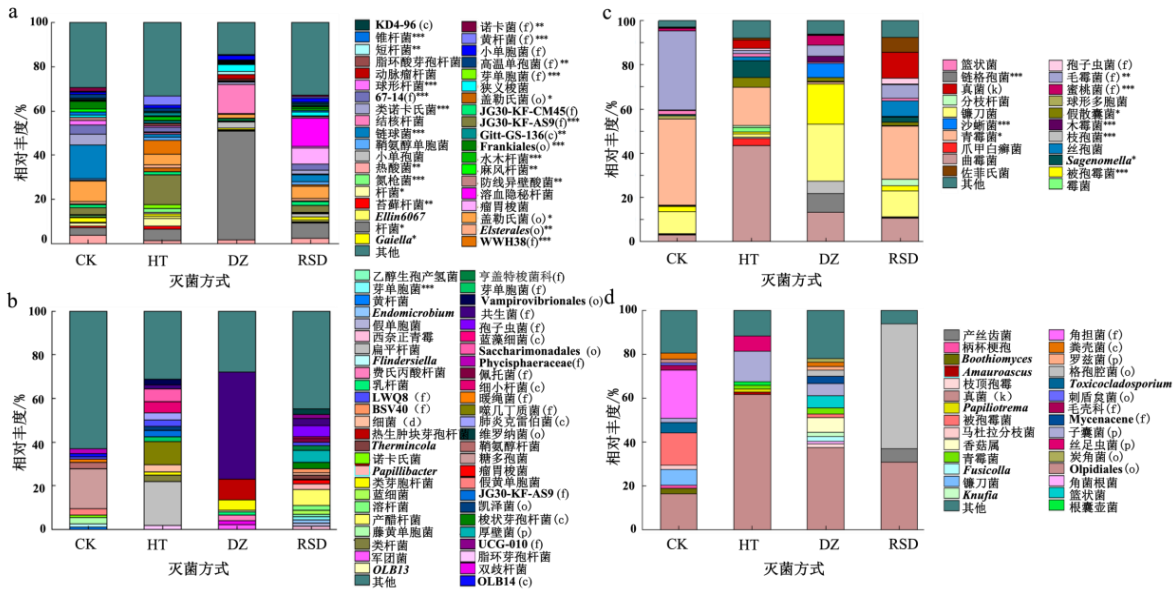
细菌(a、c)与真菌(b、d)微生物群落的门(a、b)和属(c、d)的相对丰度；土壤微生物群落相对丰度 < 1% 的归类到“其他”；单因素方差分析评估不同处理组间差异的显著性，“\*”表示  $P < 0.05$ ，“\*\*\*”表示  $P < 0.01$ ，“\*\*\*\*”表示  $P < 0.001$ 。

图 3 不同灭菌方式的植烟植烟土壤的微生物群落组成

Fig. 3 The composition of microbial communities in tobacco planting soil under different soil disinfestation treatments

图 4 和表 3 显示了不同灭菌处理对共有和特有真菌 OTUs 的影响。3 种灭菌处理共有和特有 OTUs 的统计分析结果表明：土壤灭菌处理重塑了共有和特有的微生物组。3 种灭菌土壤中链霉菌属、盖勒氏菌(o)、嗜酸菌属(Acidothermus)等细菌的相对丰度显著降低；而物理熏蒸的土壤中 UC-JG30-KF-AS9(f)

和 UC-WWH38(f)显著富集；在化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理的土壤中芽孢杆菌属、结核杆菌属(Tuberibacillus)、瘤胃梭菌属及假杆菌属(Pseudobacteroides)的相对丰度均显著提高。在甘蔗渣土壤强还原处理土壤中，氢孢菌属、瘤胃梭菌属和假杆菌属成为其中的优势菌属。



细菌(a, b)与真菌(c, d)的共有(a, c)和特有(b, d)OUT 种类；土壤微生物群落相对丰度 < 1%的归类到“其他”；单因素方差分析评估不同处理组间差异的显著性；“\*”表示  $P < 0.05$ ，“\*\*”表示  $P < 0.01$ ，“\*\*\*”表示  $P < 0.001$ 。

图 4 不同方式灭菌土壤微生物群落属水平上共有和特有 OTUs 的相对丰度

Fig.4 Relative abundance of shared and unique OTUs of microbial communities at the genus level in tobacco planting soil under different soil disinfection treatments

表 3 不同灭菌处理土壤的特有及共有 OTUs 的数量

Table 3 The number of unique OTUs for each treatment and overlapped OTUs for every pair of the treatments

微生物	处理	特有 OTUs				共有 OTUs			
		CK	HT	DZ	RSD	CK	HT	DZ	RSD
细菌	CK	479							
	HT		271			144			
	DZ			686		115	43		
	RSD				852	346	288	101	
真菌	CK	172							
	HT		189					17	
	DZ			2329		72	26		
	RSD				363	115	119	76	

CK、物理熏蒸、化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原灭菌的土壤中特有细菌 OTUs 数量分别为 479、271、686 和 852(表 3)，特有细菌属分别有 10、13、8 和 20 个(图 4-b)。其中，CK 特有的细菌属主要包括糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*)、黄单胞菌属 (*Luteimonas*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*) 等；物理熏蒸土壤特有属主要是黄杆菌属 (*Flavisolibacter*)、UC-Chitinophagaceae(f)、UC-Parcubacteria(c)和 UC-Saccharimonadales(o)等；化学熏蒸土壤的特有属包括 UC-Symbiobacteraceae(f)、结核杆菌属、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 等；而甘蔗渣土壤强还原土壤中产醋杆菌 (*Oxobacter*)、溶杆菌 (*Lysobacter*)、乳头状杆菌 (*Papillibacter*) 与瘤胃梭菌等特有细菌属出现富集。

与 CK 相比，在物理熏蒸、化学熏蒸和甘蔗渣土壤强还原处理的土壤中，曲霉属、*Sagenomella*、

原隐球菌属 (*Saitozyma*) 和丝孢菌属 (*Scedosporium*) 等富集，但青霉属和毛霉菌 (f) 的相对丰度显著下降 (图 4-c)。图 4-d 显示镰刀菌属 (*Fusarium*)、毒枝孢菌属 (*Toxicocladosporium*)、马杜拉分支菌属 (*Madurella*) 等是 CK 土壤中特有真菌属；物理熏蒸后，土壤出现了以根霉菌属 (*Rhizophlyctis*) 和黑曲霉属 (*Amauroascus*) 为主的特有真菌类群；丝齿菌属 (*Hyphodontia*) 仅在甘蔗渣土壤强还原处理土壤中出现；而化学熏蒸土壤中出现香菇菌属 (*Lentinula*)、篮状菌属 (*Talaromyces*) 和 UC-Mycenaceae(f) 等特有菌属。值得注意的是，在 RSD 处理的土壤中出现多种参与拮抗病原菌和分解有机质的微生物类群，在物理熏蒸或化学熏蒸处理的土壤中极少出现，如特有 OTUs 溶杆菌属和乳头状杆菌的相对丰度大幅增加。此外，甘蔗渣土壤强还原处理还提高了抑病真菌产丝齿菌属的相对丰度。

### 2.5 不同灭菌方式土壤微生物群落与土壤理化性质的关系

冗余分析(图 5)和共现网络(图 6)结果表明:化学熏蒸土壤厚壁菌门产生显著富集, 主要与土壤水解氮含量提高有关, 而 CK 土壤中放线菌相对丰度变化是因为土壤 Eh 起了关键作用。土壤水解氮与芽孢杆菌属、短芽孢杆菌属(*Brevibacterium*)和粘液杆菌(*Effusibacillus*)等的相对丰度呈显著正相关, 与分枝杆菌属(*Mycobacteria*)的相对丰度呈负相关, 这些与水解氮相关的菌属大多是化学熏蒸、物理熏蒸土壤中的特有菌属(图 4)。土壤 pH 与麻风杆菌属

(*Jatrophihabitans*)、链霉菌属和高温单孢菌(f)的相对丰度呈显著负相关, 土壤总有机质(TOM)与芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)和分枝杆菌属(*Mycobacterium*)的相对丰度呈显著正相关。经甘蔗渣土壤强还原处理后, 土壤总有机质含量和芽单胞菌属的相对丰度较对照组有所增加: 因此, RSD 处理后土壤中养分含量发生了变化, 也促进土壤微生物群落的改变。植烟后土壤处于好氧条件下, 土壤中水解氮、有机质、速效钾和有效磷含量显著影响微生物的群落结构, 还杀灭了土壤中一些病原微生物。

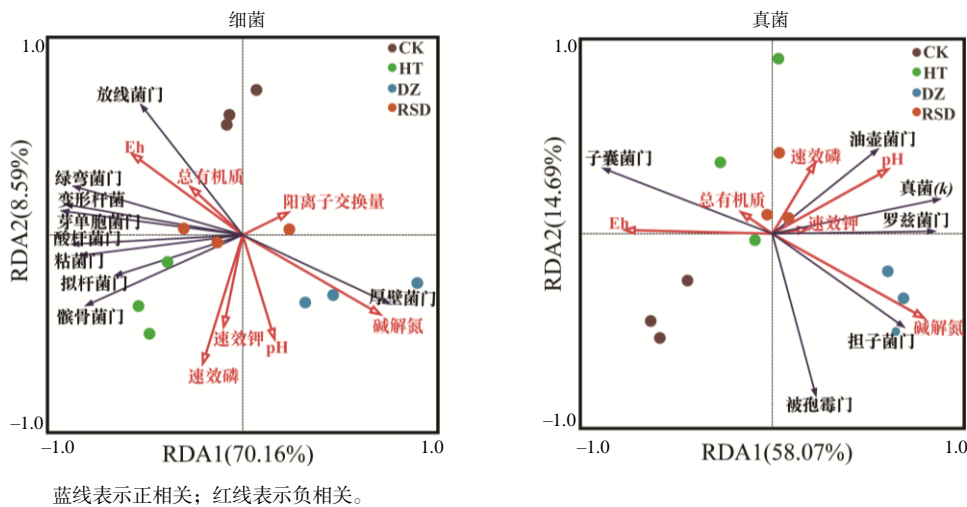


图 5 灭菌土壤的细菌和真菌门与环境因子冗余分析

Fig. 5 RDA ordination plots of the relationships between the bacterial and fungal distributions at phyla level and the soil environmental factors

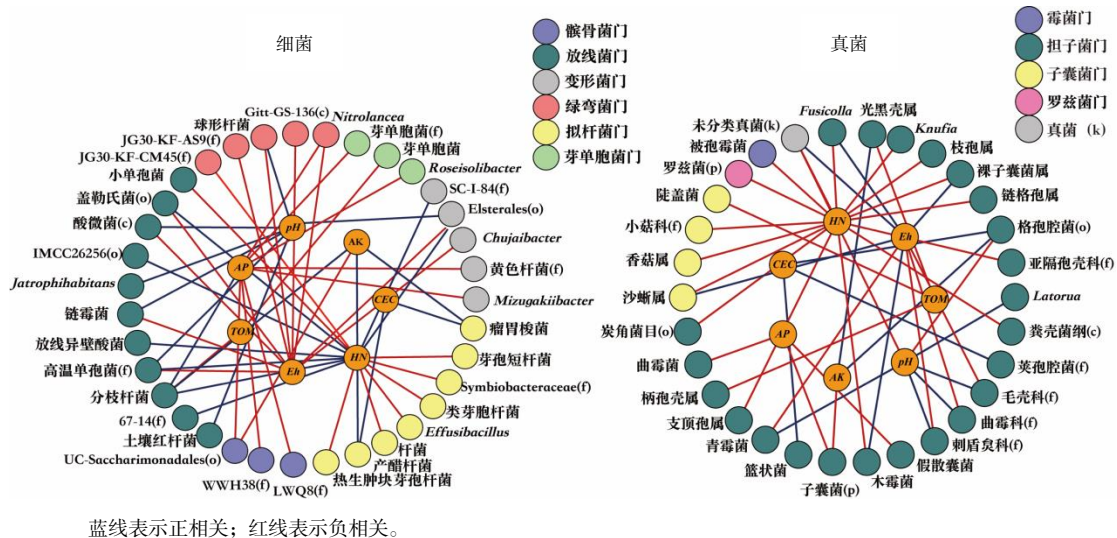


图 6 基于皮尔森相关分析的细菌和真菌属与灭菌土壤理化性质相互作用的共现网络

Fig.6 Co-occurrence network of bacterial and fungal genera interactions with different soil physicochemical properties based on pearson's correlation analysis

在化学熏蒸土壤中, 被孢菌门(*Mortierella*)和担子菌门受到土壤水解氮的显著影响, 化学熏蒸显著

提高了土壤水解氮含量和担子菌门的相对丰度; 在物理熏蒸土壤中, 子囊菌门受土壤 Eh 的影响; 甘蔗

渣土壤强还原处理土壤中罗泽菌门(Rozebacteria)和油壶菌门(Olpidiomycota)的相对丰度受到土壤 pH 值的影响。土壤水解氮与顶孢属(*Acremonium*)、枝孢属(*Cladosporium*)和香菇菌属等的相对丰度呈显著正相关;土壤总有机质与斜盖伞属(*Clitopilus*)、光黑壳属(*Preussia*)和柄孢壳属(*Zopfiella*)的相对丰度呈显著正相关;土壤速效磷与曲霉属、假散囊菌属(*Pseudeurotium*)的相对丰度呈显著正相关;格孢腔菌(o)属与土壤 pH 呈显著正相关;包括青霉属在内的 5 个属则与土壤 pH 呈显著负相关。

利用 FUNGuild 微生态工具,基于真菌群落对环境资源的利用方式进行真菌功能分类和预测。结果(图 7)表明,利用 FUNGuild 预测得到植烟土壤的真菌群落涵盖 7 种营养类型,即病理营养型、腐

生营养型、病理-腐生营养型、病理-共生营养型、腐生-共生营养型、病理-腐生-共生营养型、病原-腐生-共生营养型。将平均相对丰度大于 1%的真菌制成热图,结果显示:在 CK 土壤中,真菌群落以腐生营养型、病理-腐生-共生营养型为主;在物理熏蒸土壤中,病理营养型真菌的相对丰度提高,而病理-腐生-共生营养型群落减少;化学熏蒸土壤中有大量病理-腐生-共生、病理-共生和病理-腐生营养型真菌群落;而甘蔗渣土壤强还原灭菌的土壤中富含腐生模式真菌。总之,物理熏蒸导致土壤中病理营养型真菌的增加,化学熏蒸导致腐生-共生营养型向病理-腐生营养型转变,而甘蔗渣土壤强还原灭菌则明显降低了土壤病理营养型真菌的相对丰度,并促进了腐生真菌的大量繁殖。

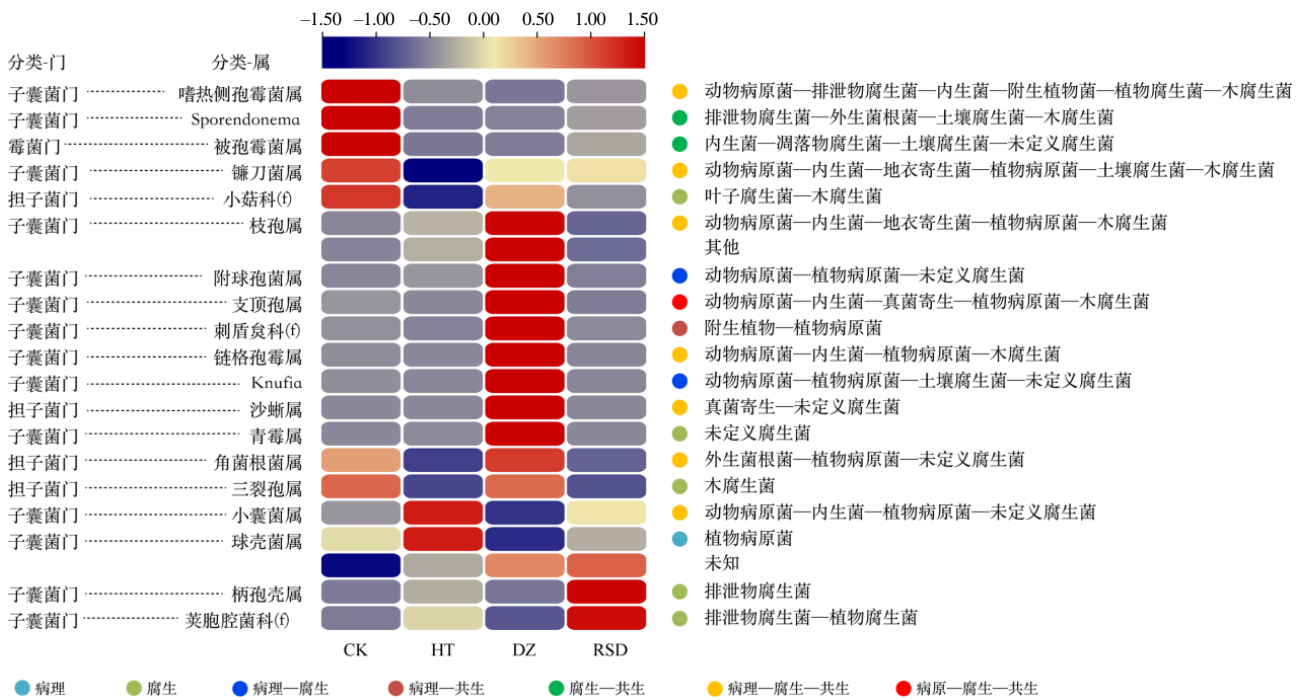


图 7 FUNGuild 注释的平均相对丰度大于 1%的不同灭菌方式的土壤真菌

Fig.7 Guild of fungal species with an average relative abundance greater than 1% annotated by FUNGuild under different soil disinfestation treatments

### 3 结论与讨论

不同灭菌方式的植烟土壤的理化性质都有所改变,物理熏蒸和化学熏蒸提高了土壤有效磷、速效钾和水解氮的含量;土壤强还原灭菌除提高土壤有机质含量外,还使土壤酸化得到改善。土壤环境因子与微生物群落之间的关联分析表明,土壤中养分含量以及 pH 发生变化也促进了土壤微生物群落的改变。3 种灭菌方式的植烟土壤微生物群落与对

照组相比都发生了群落重构现象,且对植烟土壤中广泛存在的病原菌尖孢镰刀菌均表现出显著抑制效应。相对于物理熏蒸和化学熏蒸处理,甘蔗渣土壤强还原灭菌方式明显地重组了植烟土壤微生物群落,也减少了真菌群落的丰富度。

对照组特有的细菌属主要包括糖多孢菌属、黄单胞菌属、假黄单胞菌属等;物理熏蒸处理特有属主要是黄杆菌属、嗜几丁质菌(f)、细小杆菌(c)和 UC-Saccharimonadales(o)等;化学熏蒸土壤的特有



属包括共生菌(f)、结核杆菌属、类芽孢杆菌属等；在甘蔗渣土壤强还原处理土壤中，产醋杆菌、溶杆菌、乳头状杆菌与瘤胃梭菌等特有细菌属出现富集。化学熏蒸显著降低了土壤中细菌的多样性，这是由于化学熏蒸中使用的棉隆水解释放的异硫氰酸甲酯对土壤细菌具有广谱杀菌活性，从而降低了细菌群落的多样性和丰富度<sup>[14]</sup>。此外，化学熏蒸显著增加了水解氮含量，而真菌群落对氮的利用更敏感，氮含量的增加会使土壤微生物组成倾向于真菌优势，这可能是化学熏蒸处理土壤真菌多样性显著增加的原因<sup>[15]</sup>。甘蔗渣土壤强还原处理的土壤中富集了更多对有机物降解起重要作用的非病原微生物，如丝齿菌和柄孢壳菌，以及可以分泌木聚糖降解酶<sup>[16]</sup>和具有广谱抗菌活性的截短侧耳素的真菌属篮状菌和斜盖伞菌<sup>[17]</sup>。

影响植物健康生长的核心微生物组的差异是RSD处理优于其他土壤灭菌处理的关键所在，不同土壤灭菌方式主要是通过调节土壤中存在的核心微生物组来改变土壤功能。研究中还发现，RSD技术的关键在于有机物料与厌氧环境同时存在才能起到良好的灭菌效果，单纯的淹水覆膜处理创造的厌氧环境并不能起到改良土壤的效果，这与朱同彬等<sup>[18]</sup>的研究结果相似。此外，不同灭菌方式土壤中的真菌功能分类预测表明，物理熏蒸使土壤中营寄生真菌以及化能营养微生物增加；化学熏蒸处理促使腐生-共生营养型向病理-腐生营养模式转变，土壤中病原微生物的相对丰度和真菌群落多样性增加；而以甘蔗渣为原料的RSD处理促进了土壤腐生营养型真菌的富集，抗病微生物和分解有机物的微生物增多，土壤质量得到改善。从应用的角度来看，RSD处理的实际效果与土传病害数量、土壤微生态和理化性质以及作物本身都有关系。这些因素与病害发生率间的关系尚需建立定量关系，以便指导生产实际。

#### 参考文献：

- [1] 顾怀胜, 郭亮, 曾中林, 等. 烤烟连作障碍的形成机制及调控技术研究进展[J]. 湖南农业科学, 2013(1): 25-28.
- [2] 王鹏. 烟草连作障碍及防治研究进展[J]. 安徽农学通报, 2023, 29(12): 24-26.
- [3] 张子龙, 王文全. 植物连作障碍的形成机制及其调控技术研究进展[J]. 生物学杂志, 2010, 27(5): 69-72.
- [4] 李彤. 保护性耕作和豆麦轮作对土壤微生物和冬小麦氮素利用的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [5] 郭肖, 孔德章, 黄本婷, 等. 农作物连作障碍产生机理与调控技术研究[J]. 作物研究, 2016, 30(2): 215-220.
- [6] 刘亮亮, 崔慧灵, 孔继婕, 等. 强还原处理所使用有机物料与其杀菌效果的相互关系[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 73-81.
- [7] 侯劲炜. 辣椒疫病防治中AM真菌的作用及应用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [8] 李云龙. 三七化感作用及其微生物学消减机制[D]. 南京: 南京师范大学, 2020.
- [9] SANABRIA-VELAZQUEZ A D, TESTEN A L, KHADKA R B, et al. Anaerobic soil disinfestation reduces viability of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* Sclerotia and root-knot nematodes in muck soils[J]. *Phytopathology*, 2020, 110(4): 795-804.
- [10] 滕凯, 张清壮, 彭镜先, 等. 强还原土壤灭菌对烟草种植前后土壤化学性质及微生物群落结构的影响[J]. 烟草科技, 2022, 55(4): 9-19.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] BACHE B W. The measurement of cation exchange capacity of soils[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1976, 27(3): 273-280.
- [13] GARDES M, BRUNS T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts[J]. *Molecular Ecology*, 1993, 2(2): 113-118.
- [14] HUANG X Q, ZHAO J, ZHOU X, et al. Differential responses of soil bacterial community and functional diversity to reductive soil disinfestation and chemical soil disinfestation[J]. *Geoderma*, 2019, 348: 124-134.
- [15] MALUIN F N, HUSSEIN M Z, YUSOF N A, et al. A potent antifungal agent for basal stem rot disease treatment in oil palms based on chitosan-dazomet nanoparticles[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9): 2247.
- [16] TUOHY M G, COUGHLAN M P. Production of thermostable xylan-degrading enzymes by *Talaromyces emersonii*[J]. *Bioresource Technology*, 1992, 39(2): 131-137.
- [17] HARTLEY A J, DE MATTOS-SHIPLEY K, COLLINS C M, et al. Investigating pleuromutilin-producing *Clitopilus* species and related basidiomycetes[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 297(1): 24-30.
- [18] 朱同彬, 孟天竹, 张金波, 等. 强还原方法对退化设施蔬菜地土壤的修复[J]. 应用生态学报, 2013, 24(9): 2619-2624.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维