

王 飞,徐 茜,陈志厚,等. 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.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.11.072

翻压不同绿肥对植烟土壤细菌类群的影响

王 飞¹, 徐 茜², 陈志厚², 陈乾锦³, 杨秋菊¹, 陈爱玲¹

(1. 福建农林大学资源与环境学院, 福建福州 350002; 2. 福建省烟草农业科学研究所南平分所, 福建南平 353000;

3. 南平市烟草公司光泽分公司, 福建光泽 354100)

摘要:为探讨绿肥对植烟土壤细菌的影响,以烤烟 K326 为研究对象,设置 CK(不翻压绿肥)、T₁(翻压光叶苕子)、T₂(翻压黑麦草)和 T₃(翻压紫云英)等 4 个处理。结果表明,与 CK 相比,T₂ 处理土壤细菌在种分类水平上丰度增加得最多;T₁、T₂、T₃ 处理明显提高土壤细菌 α 多样性;旺长期土壤细菌丰度超过 2% 的属分别是浮霉状菌属(*Planctomyces*)、假丝酵母菌属(*Candidatus Solibacter*)、罗丹菌属(*Rhodanobacter*)、红游动菌属(*Rhodoplanes*),成熟期土壤细菌丰度超过 2% 的属为水恒杆菌属(*Mizugakiibacter*)、*Planctomyces*、普雷沃氏菌属(*Prevotella*_9);冗余分析结果表明,旺长期土壤速效钾含量解释了细菌 23.50% 的变化,成熟期土壤有机质含量解释了细菌群落 23.50% 的变化;T₁、T₂、T₃ 处理在旺长期均能显著降低烟草青枯病致病菌(*Ralstonia*)丰度,T₃ 处理显著增加了旺长期和成熟期土壤中苯基杆菌属(*Phenylobacterium*)、固氮螺菌属(*Inquilinus*)、贪铜菌属(*Cupriavidus*)等 3 个固氮菌属丰度。说明翻压绿肥可以在一定程度上改善植烟土壤细菌结构。

关键词:绿肥;烤烟;土壤细菌结构;丰度;16S rDNA 测序;多样性指数;土壤微生物群落;连作障碍

中图分类号: S154.3;S142 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)11-0317-05

土壤微生物是陆地生态系统重要的分解者,地球生物化学过程中的固氮、硝化与反硝化、甲烷氧化、二氧化碳固定等诸多过程都与之密切相关^[1]。土壤微生物群落结构受多方面影响,会随着自然环境中二氧化碳、臭氧、酸雨等环境因子的变化而改变^[2]。人类对土地的耕作和管理方式也会影响土壤微生物多样性,在农业生产中,施肥和农药是影响土壤微生物系统稳定性的两大主导因素^[3]。Fauci 等研究表明,大量使用氮肥会显著降低土壤微生物活性,增施有机肥则可以提高土壤微生物活性^[4-5]。

土壤微生物学兴起于 19 世纪 60 年代^[6],随后关于土壤微生物的研究方法一直都在改进,Garland 等发明提出采用生理学方法(GLPP)研究土壤酶^[7],Torsvik 在前者的基础上提出采用生态微平板法(EcoPlates)专门研究土壤微生物^[8]。20 世纪 70 年代,White 等采用磷脂脂肪酸(PLFA)图谱分析法来鉴定微生物种属^[9],随着科技的发展,高通量测序法凭借其准确性高、测序量大的特点受到人们的青睐^[6]。

烟草为重要的经济作物,连作和增施化肥都会影响其根际土壤微生物环境,土壤微生物系统的改变会引起土壤肥力下降和土壤理化性质不协调,进而导致烟草连作障碍^[10]。因此,许多科研工作者致力于从土壤微生物方面解决烟草连作障碍问题。关于烟田土壤微生物群落结构的研究已有不少报

道^[11],诸如探讨烤烟连作^[12]、套作^[13]、轮作^[14]、秸秆还田^[15]、移栽方式^[16]等对植烟地土壤微生物的影响,而关于绿肥还田对植烟地土壤微生物群落、功能微生物影响的报道相对较少。因此,本研究结合 16S rDNA 高通量测序技术来探究翻压光叶苕子(*Vicia villosa* Roth var.)、黑麦草(*Lolium perenne* L.)、紫云英(*Astragalus sinilis* L.)等 3 种绿肥植物对植烟地土壤细菌群落结构、多样性指数和功能菌的影响,旨在为从土壤微生物群落角度解决烟草连作障碍问题积累数据,为提高烤烟品质服务。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于福建省南平市光泽县寨里镇小寺州村(117°39'E,27°38'N),属中亚热带气候,年平均气温为 17.5℃,年降水量为 1 800 mm,年极高、极低温分别为 39.70、-9.50℃,无霜期为 271 d。烤烟移栽前土壤有机质含量为 17.43 g/kg,碱解氮含量为 183.56 mg/kg,有效磷含量为 39.03 mg/kg,速效钾含量为 100.08 mg/kg,交换性钙含量为 225.66 mg/kg,交换性镁含量为 46.49 mg/kg。土壤细菌的香农(Shannon)指数和辛普森(Simpson)指数分别为 8.013、0.001。

1.2 材料

光叶苕子、黑麦草、紫云英种子采购于山东蓝天种业专业种子子公司,千粒质量分别为 70.74、3.28、9.62 g,在试验地发芽率分别为 35.00%、80.00%、35.00%。供试烤烟品种为 K326。

1.3 试验设计

试验时间为 2016 年 11 月至 2017 年 7 月。采用随机区组试验设计,设置 CK(不翻压绿肥)、T₁(翻压光叶苕子)、T₂

收稿日期:2018-02-03

基金项目:中国烟草总公司福建省南平市烟草公司科技项目(编号:KH1700020)。

作者简介:王 飞(1990—),男,安徽安庆人,硕士,主要从事土壤学方面研究。E-mail:2438415398@qq.com。

通信作者:陈爱玲,博士,副教授,主要从事土壤学方面研究。E-mail:fjcal@126.com。

(翻压黑麦草)和 T_3 (翻压紫云英)等 4 个处理,每个处理重复 3 次,每个重复小区面积为 24 m^2 。绿肥植物在 2016 年 11 月采用撒播方式播种,根据绿肥植物种子发芽率和千粒质量,将 3 种绿肥植物成活密度控制为 $200\text{ 株}/\text{m}^2$ 。在烤烟移栽前 20 d 同时翻压 3 种绿肥植物,翻压时光叶苕子、黑麦草、紫云英的鲜生物量分别为 $4\ 600.05$ 、 $6\ 800.32$ 、 $4\ 700.58\text{ kg}/\text{hm}^2$ 。烤烟播种时间为 2016 年 12 月 5 日,移栽至试验地时间为 2017 年 2 月 18 日,基肥为烟草专用肥(施用量为 $480.00\text{ kg}/\text{hm}^2$)以及钙镁磷肥(施用量为 $150.00\text{ kg}/\text{hm}^2$),基肥施用时间为移栽前 20 d;追肥为硝酸钾(施用量为 $300.00\text{ kg}/\text{hm}^2$),追肥时间为移栽后 30、60 d,烟田行距为 1.20 m ,株距为 0.50 m 。

1.4 测定方法

1.4.1 土壤化学性质测定 分别于烟草生长的旺长期、成熟期在烟垄上 2 棵烟株的正中位置(避开施肥点),采用 3 点混合的方式采集 $0\sim 20\text{ cm}$ 耕作层土壤,用灭菌的自封袋装好后,用保鲜箱带回实验室,剔除杂物,一部分用于检测土壤细菌类群,另一部分风干后混合均匀过 2.0 、 0.149 mm 筛,用于测定土壤化学性质。土壤有机质、全氮含量采用元素分析仪(Elementer 公司生产的 Vario MAX CN)测定;碱解氮含量采用碱解扩散法测定;有效磷含量采用 NaHCO_3 浸提后用分光光度计测定;速效钾含量用 $1\text{ mol/L CH}_3\text{COONH}_4$ 浸提后,用火焰光度计测定;交换性钙、交换性镁含量用 $1\text{ mol/L CH}_3\text{COONH}_4$ 浸提后,用原子吸收分光光度计测定;土壤 pH 值用 1 mol/L KCl 浸提测定^[17]。

1.4.2 土壤细菌类群测定 土壤细菌类群采用 16S rDNA 高通量测序法测定,具体操作过程如下。

1.4.2.1 提取土壤微生物 DNA 采用 MoBio96 试剂盒提取土壤微生物 DNA。

1.4.2.2 PCR 扩增 从样本中提取基因组 DNA 后,用带有条形码(bar code)的特异引物扩增 16S rDNA 的 $V_3 + V_4$ 区。引物序列为 341F:CCTAYGGGRBGCASCAG;806R:GGACTACNN GGGTATCTAAT。然后对 PCR 扩增产物进行切胶回收,用 Quanti FluorTM 荧光计进行定量。再将纯化的扩增产物进行等量混合、连接测序接头、构建测序文库,最后利用 Hiseq2500 PE250 上机测序。

1.4.2.3 Tag 拼接和过滤 将测序结果中含 N 碱基比例超过 10% 的序列和质量值高于 20 的且碱基数在碱基总数中占比小于 40% 的碱基序列(reads)去除,根据测序序列(paired-end reads,简称 PE reads)之间的重叠关系将对双端 reads 拼接为原始条带(raw tags)。然后在碱基位点截断 raw tags,从连续低质量值(默认质量阈值为 ≤ 3)碱基数达到设定长度(默认长度值为 3)的第 1 个低质量碱基位点,得到的条带(tags)数据集之后过滤掉其中连续高质量碱基长度小于 tags 长度 75% 的 tags。

1.4.2.4 OTU 聚类分析 将相似性达到 97% 的有效 tags 聚成操作分类单元(operational taxonomic units,简称 OTUs),计算出每个 OTU 在各个样品中的 tags 绝对丰度和相对信息,用于分析多样性指数。

1.4.3 数据处理 数据分析采用 SPSS 21.0 完成,制图采用 SigmaPlot12.5、Canoco4.5 完成。

2 结果与分析

2.1 不同处理对植烟土壤细菌各分类水平丰度的影响

由图 1、图 2、图 3 可以看出,初始、旺长期、成熟期土壤细菌的稀释曲线随着序列数的增加逐渐变缓,说明随着序列数的增加,细菌数目趋于稳定,表明取样合理。

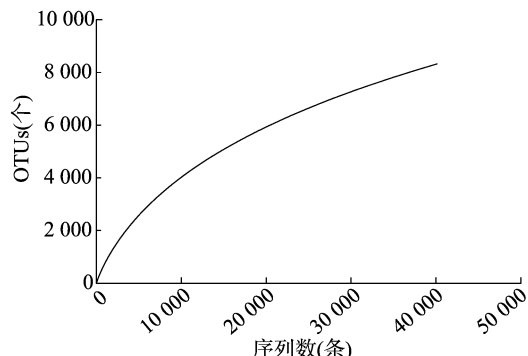


图1 初始土壤细菌稀释曲线

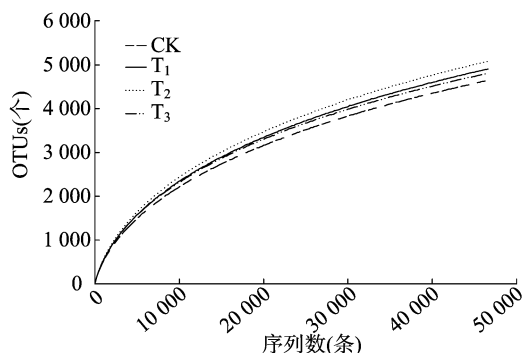


图2 旺长期土壤细菌稀释曲线

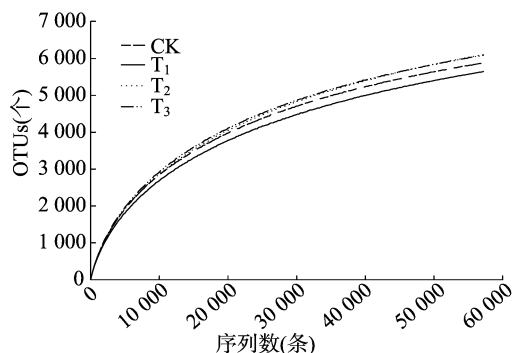


图3 成熟期土壤细菌稀释曲线

由图 4 可知,各时期不同处理土壤细菌种的相对丰度普遍低于 20%,细菌属水平上的相对丰度在 20%~40% 之间,细菌科水平上的相对丰度在 40%~60% 之间,土壤细菌目及以上水平的相对丰度均超过 60%。各生长期不同处理土壤细菌种水平以上的门类在所有分类水平中的比例变化不明显,而土壤细菌种的丰度变化较大。初始土壤细菌种的丰度仅为 0.48%,各处理旺长期土壤细菌种的丰度均大于 1%,与 CK 处理相比, T_1 、 T_2 、 T_3 处理土壤细菌种的丰度分别增长了 15.68%、21.57%、14.71%,成熟期土壤细菌种的丰度均超过 5%,尤其是 T_2 处理,丰度达到了 9.31%。

2.2 不同处理对植烟土壤细菌 α 多样性的影响

Shannon 指数和 Simpson 指数代表细菌多样性,表 1 为旺

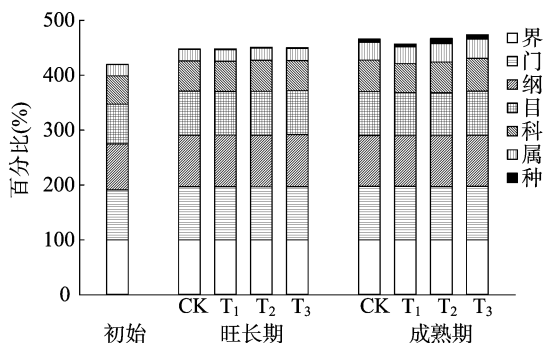


图4 不同时期土壤细菌各分类水平相对丰度

长期与成熟期土壤细菌 Shannon 指数和 Simpson 指数。方差分析结果表明,旺长期和成熟期土壤细菌 Shannon 指数和 Simpson 指数均明显高于初始土壤。旺长期 Shannon 指数大小表现为 T₂ 处理 > T₃ 处理 > T₁ 处理 > CK 处理,其中 T₂、T₃ 处理显著大于 CK 处理;Simpson 指数大小表现为 T₂ 处理 > T₃ 处理 = T₁ 处理 > CK 处理,T₁、T₂、T₃ 处理均与 CK 处理差异显著;成熟期 Shannon 指数大小表现为 T₃ 处理 > T₁ 处理 > T₂ 处理 > CK 处理,其中 T₃ 处理显著高于 CK 处理,T₁、T₂、T₃ 处理差异不显著。由此可见,绿肥翻压有助于提高土壤细菌 α 多样性。

2.3 植烟土壤属分类水平细菌与土壤养分的冗余关系分析

表 1 不同处理对土壤细菌 α 多样性的影响

时期	处理	多样性指数	
		Shannon	Simpson
旺长期	CK	9.436 ± 0.152Aa	0.992 ± 0.001Aa
	T ₁	9.760 ± 0.349Aab	0.995 ± 0.002Ab
	T ₂	9.964 ± 0.106Ab	0.996 ± 0.000Ab
	T ₃	9.855 ± 0.125Ab	0.995 ± 0.001Ab
成熟期	CK	10.418 ± 0.126Ba	0.995 ± 0.000Ba
	T ₁	10.524 ± 0.054Bab	0.997 ± 0.000Aa
	T ₂	10.471 ± 0.047Ba	0.997 ± 0.001Aa
	T ₃	10.650 ± 0.071Bb	0.997 ± 0.000Ba

注:同列不同大写字母表示同一处理不同时期之间达到显著差异,同列不同小写字母表示同一时期不同处理之间达到显著差异 ($P < 0.05$)。表 3 同。

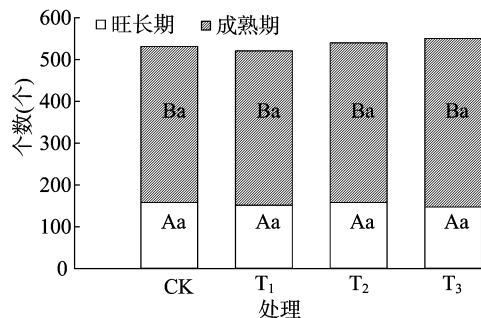
由表 2 可知,烤烟旺长期 T₁、T₂、T₃ 处理土壤碱解氮、有效磷、速效钾、交换性钙、交换性镁含量大多显著高于 CK 处理。与 CK 处理相比,T₂ 处理对土壤有机质含量提高得最多,在旺长期、成熟期分别比 CK 处理高了 3.71%、7.59%。T₃ 处理对土壤碱解氮、交换性钙、交换性镁含量提高幅度最大,土壤碱解氮含量的提高说明紫云英固氮作用显著。T₁、T₂、T₃ 处理的土壤 pH 值在烤烟旺长期与 CK 处理无显著差异,而在成熟期显著低于 CK 处理。

表 2 不同绿肥翻压后对土壤养分的影响

时期	处理	土壤养分含量							pH 值
		有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	碱解氮 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	交换性钙 (mg/kg)	交换性镁 (mg/kg)	
旺长期	CK	17.23 ± 1.50a	0.97 ± 0.01a	300.91 ± 0.70a	33.70 ± 0.87a	111.62 ± 2.58a	230.52 ± 0.73a	107.49 ± 1.33a	5.12 ± 0.06a
	T ₁	17.66 ± 0.32a	0.98 ± 0.02a	331.38 ± 1.29c	37.03 ± 0.32b	118.99 ± 1.58b	232.43 ± 1.00a	139.02 ± 2.18c	5.07 ± 0.08a
	T ₂	17.87 ± 1.85a	0.99 ± 0.09a	322.49 ± 1.02b	42.05 ± 1.16d	117.27 ± 2.20b	238.24 ± 2.08b	114.56 ± 0.23b	5.08 ± 0.08a
	T ₃	17.43 ± 1.35a	0.98 ± 0.09a	342.61 ± 0.97d	40.33 ± 1.10c	116.30 ± 1.88b	382.16 ± 0.21c	148.48 ± 2.09d	5.10 ± 0.09a
成熟期	CK	14.37 ± 0.16a	0.81 ± 0.04a	170.99 ± 0.62a	35.98 ± 2.30a	86.65 ± 1.47a	225.23 ± 2.14a	97.07 ± 2.20a	5.17 ± 0.05c
	T ₁	15.32 ± 0.90a	0.84 ± 0.05a	175.84 ± 0.74b	37.89 ± 2.08a	93.13 ± 2.27b	235.36 ± 0.95b	105.60 ± 1.59b	5.06 ± 0.03b
	T ₂	15.46 ± 0.50a	0.81 ± 0.02a	173.21 ± 1.01a	45.36 ± 1.20b	91.49 ± 4.58ab	233.06 ± 1.50b	104.95 ± 1.23b	4.88 ± 0.01a
	T ₃	14.66 ± 0.79a	0.86 ± 0.04a	178.54 ± 2.18c	46.45 ± 1.09b	97.31 ± 2.65b	295.89 ± 2.35c	119.65 ± 2.05c	5.07 ± 0.06b

注:同列数据后不同小写字母表示同一时期不同处理土壤养分含量在 0.05 水平上差异显著。

由图 5 可知,CK、T₁、T₂、T₃ 处理旺长期土壤细菌数量分别为 158.00、151.33、157.67、147.00 个,成熟期分别为 373.00、369.33、382.00、403.33。旺长期和成熟期各处理间土壤细菌数量均无显著差异,而同一处理成熟期土壤细菌数



不同大写字母表示同一处理不同时期属水平细菌数量达显著差异水平 ($P < 0.05$)；不同小写字母表示同一时期不同处理属水平细菌数量达显著差异水平 ($P < 0.05$)

图5 不同时期不同处理细菌在属分类水平上的数目

量均显著大于旺长期。

图 6、图 7 分别为旺长期、成熟期土壤细菌丰度大于 2% 的属分类水平细菌。旺长期 4 个处理中未分类属的丰度均超过 77.00%，其他属丰度均超过 12.00%；可分类的属为浮霉状菌属 (*Planctomyces*)、假丝酵母菌属 (*Candidatus Solibacter*)、罗丹菌属 (*Rhodanobacter*)、红游动菌属 (*Rhodoplanes*) 等；T₃ 处理土壤中 *Planctomyces*、*Rhodanobacter* 2 个属丰度均高于其他处理,分别比 CK 处理高 128.55%、37.44%。T₂ 处理土壤中 *Candidatus Solibacter*、*Rhodoplanes* 2 个属丰度高于其他 3 个处理,分别比 CK 处理高 55.68%、7.48%。与旺长期相比,成熟期土壤细菌丰度大于 2% 的属差异较大,分别为水恒杆菌属 (*Mizugakiibacter*)、*Planctomyces*、普雷沃氏菌属 (*Prevotella_9*),其中 *Mizugakiibacter* 丰度在 T₁ 处理下最大,比 CK 处理高 165.41%;*Planctomyces* 丰度在 T₁ 处理下为 2.31%,高于 CK 处理。T₂ 处理有利于 *Prevotella_9* 丰度的提高,与 CK 处理相比,提高 240.66%。

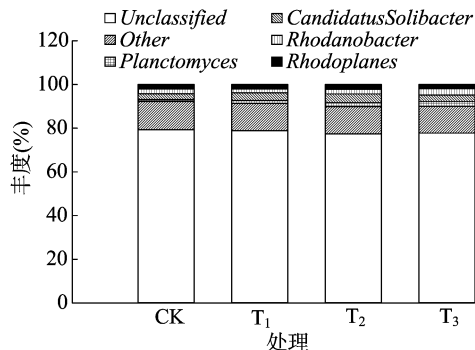


图6 旺长期土壤属水平细菌丰度

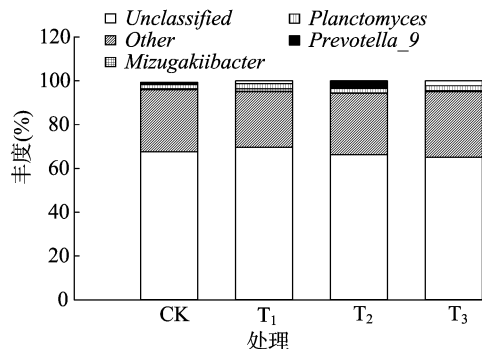
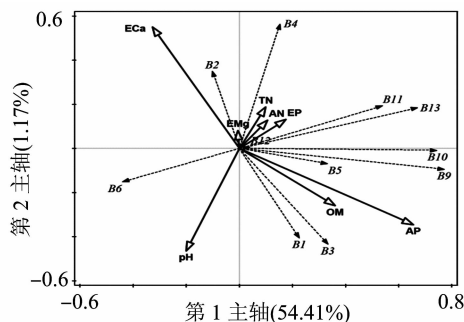


图7 成熟期土壤属水平细菌丰度

将属水平上的细菌与土壤中环境因子作冗余分析,结果如图8、图9所示。图中环境因子与细菌夹角的余弦值绝对值大小代表相关性强弱。当夹角呈锐角时,表示两者正相关,夹角越小,则余弦值越大,相关性越强,反之越弱;当夹角为钝角时,表示两者负相关,夹角越大,则余弦值绝对值越大,相关性越强,反之越弱。旺长期第1主轴可以解释细菌54.41%的变化,第2主轴解释1.17%的变化。主要环境因子对细菌变化解释率大小依次为速效钾含量(23.50%) > 碱解氮含量(9.60%) > 土壤有机质含量(8.60%) > 土壤酸碱度(4.80%)。由图8可知, *Candidatus Solibacter*、*Rhodoplanes*、Shannon 指数与土壤有机质、速效钾含量呈较强正相关关系, *Rhodanobacter*、*Planctomyces* 分别与土壤交换性钙、全氮含量呈较强正相关关系。由图9可知,成熟期第1主轴解释细菌57.87%的变化,第2主轴解释2.99%的变化。主要环境因子对菌落变化的解释率大小为土壤有机质含量(23.50%) > 交换性镁含量(10.50%) > 有效磷含量(7.90%) > 碱解氮含量(6.70%)。该时期 *Planctomyces* 与土壤有机质含量及土壤酸碱度呈较强正相关关系,Shannon 指数与 Simpson 指数均与土壤碱解氮、速效钾含量呈较强正相关关系;物种丰富度指数(Chao1 指数)大小反映了物种种类多少,本研究中 Chao1 指数与土壤全氮、交换性镁含量呈正相关关系。

2.4 不同绿肥翻压处理对植烟地土壤致病菌与固氮菌的影响

烤烟之所以产生连作障碍,其主要原因是烤烟根部土壤中易产生致病菌,而固氮菌能够固定空气中氮气产生养分,因此有必要调查不同处理后土壤中致病菌与固氮菌的丰度差异。本研究分析了青枯菌属(*Ralstonia*)、短杆菌属(*Conexibacter*)、柯克斯体属(*Aquicella*)等3种致病菌丰度变化情况。由表3可知, *Aquicella* 丰度较高,是主要致病菌;所有处理成熟期土壤中致病菌丰度均高于旺长期,尤其是



B1—*Candidatus Solibacter*; B2—*Rhodanobacter*; B3—*Rhodoplanes*; B4—*Planctomyces*; B5—*Other*; B6—*Unclassified*; B7—*Prevotella_9*; B8—*Mizugakiibacter*; B9—Shannon 指数; B10—Simpson 指数; B11—Chao1 指数; B12—ACE 指数; B13—OTUs; OM—有机质含量; TN—全氮含量; AN—碱解氮含量; EP—有效磷含量; AP—速效钾含量; ECa—交换性钙含量; EMg—交换性镁含量; pH—土壤酸碱度。下同

图8 旺长期土壤细菌与环境因子间的冗余关系

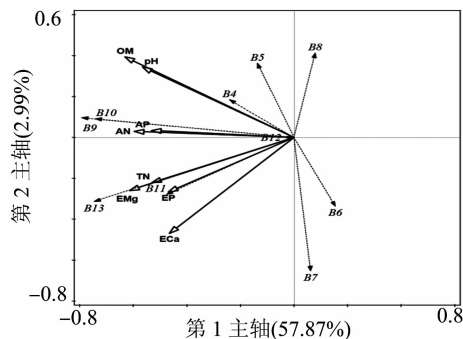


图9 成熟期土壤细菌与环境因子间的冗余关系

Ralstonia、*Aquicella* 在成熟期除 CK 处理外土壤中均显著增加,说明烤烟生长过程中根部土壤一直在聚集致病菌,但是同一时期内,翻压绿肥的土壤致病菌大多显著低于未翻压绿肥的土壤,说明翻压绿肥有助于降低植烟地土壤致病菌丰度,尤其是 T₃ 处理,在旺长期与成熟期均能显著降低 *Ralstonia* 丰度。对土壤中苯基杆菌属(*Phenylobacterium*)、固氮螺菌属(*Inquilinus*)、贫铜菌属(*Cupriavidus*)等3个固氮菌属的丰度变化研究发现, *Phenylobacterium* 相对其他2种固氮菌丰度较高,属于优势固氮菌。且本研究表明,与对照相比,绿肥翻压能显著增加旺长期土壤固氮菌属 *Phenylobacterium* 的丰度。旺长期 T₁ 处理土壤中 *Phenylobacterium* 丰度比 CK 处理提高了75.00%,成熟期 T₃ 处理土壤中 *Phenylobacterium* 丰度比 CK 提高了92.31%, T₂ 处理土壤中 *Phenylobacterium* 丰度在旺长期与成熟期分别比 CK 处理增加了62.50%、46.15%。由此可见,翻压豆科绿肥植物有利于增加植烟土壤中 *Phenylobacterium* 丰度。

3 讨论与结论

土壤微生物群落结构因土壤类型、作物种类、施用肥料的不同而有很大差异^[18],因此,本研究中除了翻压的绿肥植物不同外,其他条件均控制一致,避免其对试验结果造成干扰。本研究发现,翻压绿肥植物可以提高土壤有机质、全氮、土壤速效养分含量,养分含量的提高在旺长期表现得更明显,这与叶协锋等的研究结果^[19-21]类似。不同种类绿肥植物对不同

表 3 不同处理土壤致病菌与固氮菌丰度

时期	处理	致病菌丰度(‰)			固氮菌丰度(%)		
		<i>Ralstonia</i>	<i>Conexibacter</i>	<i>Aquicella</i>	<i>Phenylobacterium</i>	<i>Inquilinus</i>	<i>Cupriavidus</i>
旺长期	CK	0.42 ± 0.05 Ab	0.15 ± 0.03 Ac	2.03 ± 0.32 Aa	0.16 ± 0.00 Aa	0.01 ± 0.00 Aa	0.02 ± 0.00 Ba
	T ₁	0.24 ± 0.02 Aa	0.08 ± 0.01 Ab	1.83 ± 0.20 Aa	0.28 ± 0.01 Bb	0.02 ± 0.00 Aa	0.02 ± 0.00 Aa
	T ₂	0.23 ± 0.03 Aa	0.03 ± 0.01 Aa	1.78 ± 0.25 Aa	0.26 ± 0.03 Ab	0.01 ± 0.00 Aa	0.03 ± 0.00 Ab
	T ₃	0.19 ± 0.05 Aa	0.02 ± 0.01 Aa	1.48 ± 0.26 Aa	0.24 ± 0.02 Ab	0.03 ± 0.00 Ab	0.06 ± 0.01 Ac
成熟期	CK	0.74 ± 0.10 Bb	0.16 ± 0.02 Aa	3.92 ± 0.61 Ab	0.13 ± 0.01 Aa	0.04 ± 0.00 Ba	0.00 ± 0.00 Aa
	T ₁	0.59 ± 0.04 Bab	0.18 ± 0.06 Aa	3.45 ± 0.11 Bb	0.14 ± 0.02 Aa	0.04 ± 0.00 Ba	0.01 ± 0.00 Ab
	T ₂	0.49 ± 0.05 Ba	0.10 ± 0.05 Aa	3.19 ± 0.16 Bb	0.19 ± 0.03 Aab	0.03 ± 0.01 Ba	0.03 ± 0.00 Ab
	T ₃	0.47 ± 0.07 Ba	0.05 ± 0.01 Aa	2.71 ± 0.31 Ba	0.25 ± 0.01 Ab	0.12 ± 0.01 Bb	0.12 ± 0.00 Bc

养分含量的提高效果也不尽相同,本研究发现,T₂ 处理有利于提高土壤有机质含量,T₁、T₃ 处理则更有利于增加土壤氮素含量。

绿肥翻压后提供了大量碳源和氮源,使土壤细菌 Shannon 指数与 Simpson 指数明显提高,这与杨昊等的研究结果^[22]一致。本研究发现,土壤细菌 Shannon 指数在旺长期与有机质含量呈正相关关系,而在旺长期翻压黑麦草处理的 Shannon 指数提高得最多,因此可以得出,有机质含量高的绿肥植物更有利于提高土壤细菌 Shannon 指数。

通过对土壤细菌属分类水平的分析发现,绿肥翻压后,旺长期 *Planctomyces* 丰度有很大提高,已有研究表明,*Planctomyces* 是 Planctomycetaceae 下的 1 个属,具有参与碳循环、富集矿物的功能^[23],这与本研究发现的 *Planctomyces* 与有机质、全氮、有效磷含量呈正相关关系的结果类似。

通常烤烟收获之后,为防止烤烟根际土壤中致病菌对下茬作物的影响,烟农要将烟株连根挖起。对植烟地土壤中致病菌的调查发现,*Ralstonia*、*Conexibacter*、*Aquicella* 等 3 种致病菌相对丰度较大,其中 *Ralstonia* 是烟草青枯病的主要病原菌^[24]。本研究发现,翻压绿肥的土壤中致病菌丰度均低于 CK 处理,其中 T₃ 处理对降低植烟地土壤致病菌的作用最明显,这可能是由于绿肥翻压为土壤其他类细菌提供了繁殖的条件,与致病菌产生拮抗作用。对固氮菌的丰度分析发现,T₃ 处理土壤 *Phenylobacterium*、*Inquilinus*、*Cupriavidus* 等 3 种固氮菌丰度较对照均有显著提高。土壤致病菌与固氮菌丰度的变化说明翻压绿肥能够改善植烟土壤细菌结构。

参考文献:

- [1] 张 晶,陈秋初,关丽萍,等. 甲噻磺隆和炔草酯对土壤微生物呼吸强度和氮转化的影响[J]. 农药学报,2017,19(2):203–210.
- [2] 郑有飞,石春红,吴芳芳,等. 土壤微生物活性影响因子的研究进展[J]. 土壤通报,2009,40(5):1209–1214.
- [3] 郝海婷,王若愚,赵 霞,等. 基于高通量测序技术的堆肥对兰州百合根际微生物多样性的影响[J]. 西北农业学报,2017,26(3):437–447.
- [4] Fauci M F, Dick R P. Soil microbial dynamics: short – and long – term effects of inorganic and organic nitrogen [J]. Soil Science Society of America Journal,1994,58(3):801–806.
- [5] 唐海明,肖小平,李微艳,等. 长期施肥对双季稻田根际土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态环境学报,2016,25(3):402–408.
- [6] 李显刚,班镁光,周泽英,等. 土壤微生物生态学在农业中的应用研究综述[J]. 中国土壤与肥料,2015(2):5–11.
- [7] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community – level sole – carbon – source utilization[J]. Applied and Environmental Microbiology,1991,57(8):2351–2359.
- [8] Torsvik V L. Isolation of bacterial DNA from soil[J]. Soil Biology and Biochemistry,1980,12(1):15–21.
- [9] White D C, Davis W M, Nickels J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate [J]. Oecologia,1979,40(1):51–62.
- [10] 李 鑫,张秀丽,孙冰玉,等. 烤烟连作对耕层土壤酶活性及微生物区系的影响[J]. 土壤,2012,44(3):456–460.
- [11] 张明艳,张继光,申国明,等. 烟田土壤微生物群落结构及功能微生物的研究现状与展望[J]. 中国农业科技导报,2014,16(5):115–122.
- [12] 古战朝,习向银,刘红杰,等. 连作对烤烟根际土壤微生物数量和酶活性的动态影响[J]. 河南农业大学学报,2011,45(5):508–513.
- [13] 涂 勇,杨文钰,刘卫国,等. 大豆与烤烟不同套作年限对根际土壤微生物数量的影响[J]. 作物学报,2015,41(5):733–742.
- [14] 贾志红,易建华,苏以荣,等. 烟区轮作与连作土壤细菌群落多样性比较[J]. 生态环境学报,2010,19(7):1578–1585.
- [15] 曹仕明,廖 浩,张 翼,等. 施用腐熟秸秆肥对烤烟根系土壤微生物和酶活性的影响[J]. 中国烟草学报,2014,20(2):75–79.
- [16] 刘 琳,王紫滢,张志鹏,等. 移栽方式对烤烟土壤根际微生物的影响[J]. 黑龙江农业科学,2016(1):51–54.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2000.
- [18] Sudini H, Liles M R, Arias C R, et al. Exploring soil bacterial communities in different peanut – cropping sequences using multiple molecular approaches [J]. Phytopathology, 2011, 101(7):819–827.
- [19] 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.
- [20] 李 正,刘国顺,敬海霞,等. 绿肥与化肥配施对植烟土壤微生物量及供氮能力的影响[J]. 草业学报,2011,20(6):126–134.
- [21] 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.
- [22] 杨 昊,Perez P G,张 瑞,等. 不同碳氮有机物料对有机菜田土壤细菌多样性的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2016,34(1):36–44.
- [23] 黄佩蓓,焦念志,冯 洁,等. 海洋浮霉状菌多样性与生态学功能研究进展[J]. 微生物学通报,2014,41(9):1891–1902.
- [24] 刘 颖,唐元满,张淑婷,等. 重庆烟区青枯雷尔氏菌生化变种及序列变种的特性研究[J]. 中国烟草学报,2016,22(4):75–82.