

曹超逸,潘义宏,冀新威,等. 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.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2022.19.032

不同连作年限烤烟根际红壤微生物多样性比较

曹超逸¹, 潘义宏¹, 冀新威², 黄 坤², 李柘锦², 张加研¹

(1. 西南林业大学化学工程学院, 云南昆明 650224; 2. 云南省烟草公司红河州公司, 云南弥勒 652300)

摘要:为探究不同种植年限现蕾期烤烟根际土壤微生物多样性的规律及差异,以云南红河不同种植年限根际红壤为研究对象,采用 16S rRNA 和 ITS 序列进行高通量测序,对比分析不同种植年限烤烟根系细菌和真菌多样性、群落分布规律及与种植年限的相关性。结果表明,根际土壤细菌和真菌群落的 α 多样性(ACE 和 Chao1)随种植 0 年—种植 1 年—连续种植 2 年—3 年—连续种植 4 年—连续种植 5 年呈升高—降低—升高—降低的变化趋势,且轮作处理细菌群落 ACE 和 Chao1 多样性最高,撂荒处理真菌群落 ACE 和 Chao1 多样性最高;6 个处理间根际土壤细菌和真菌群落 β 多样性均存在极显著差异($R^2 = 0.732, P < 0.01$; $R^2 = 0.520, P < 0.01$),短期连续种植年限(SCC2 和 SCC3)能使土壤具有明显的细菌群落结构,撂荒处理(SCK)能使土壤具有明显的真菌群落结构;优势细菌中的酸杆菌门和绿弯菌门与种植年限呈显著负相关($P < 0.05$);疣微菌门与种植年限呈显著正相关($P < 0.05$)。细菌属水平中的苔藓杆菌属、RB41 菌属与种植年限呈显著负相关($P < 0.05$)。真菌门和属水平类群与种植年限均无显著相关性($P > 0.05$)。其中,6 个处理优势真菌均为子囊菌门,属水平的镰刀菌属在连续种植 5 年处理丰度最高,达到 10.01%,可能会引起真菌病害,导致连作障碍的发生。说明不同耕作方式对土壤微生物群落结构均有影响,连续种植对烤烟根际土壤微生物多样性有负向影响,研究中筛选的关键菌群,可为连作烤烟红壤微环境健康的判断提供科学依据。

关键词:烤烟;连续种植;红壤;细菌群落;真菌群落

中图分类号:S572.06;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2022)19–0211–08

烤烟作为云南重要的经济作物,近年来由于耕地资源短缺、其他经济作物影响等导致种植区域不断压缩,连作现象愈加严重。长期连作的烟田土壤理化性状恶化^[1–2]、微生物群落结构失衡^[3–4]等,加剧了烤烟土传病害发生和降低了烟叶产质量,严重制约烟草产业可持续稳定发展。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,参与土壤中物质转化、养分循环利用等,对土壤肥力形成、土壤健康和生态稳定具有关键作用。研究表明,长期连作降低了土壤微生物结构和功能多样性^[5–6],尤其土壤微生物功能多样性丰富度指数、香农指数等呈现降低趋势,且与轮作差异达到显著水平^[7]。土壤细菌群

落连作 5 年后多样性和相对丰度开始降低,并随连作年限的延长,群落丰度、多样性和特有细菌数呈递减趋势^[8–9];同时连作造成了土壤中病原真菌(被孢霉科、镰刀菌属、链格孢属等)增加^[10],加上自毒物质积累,破坏了土壤微生态平衡,降低土壤功能,引起严重的连作障碍^[11]。

土壤微生物多样性可揭示土壤微生物群落的结构和功能的差异,尤其根际微生物与植株和周围土壤之间发生着各种关系,根际微生物的数量、种类等相互作用决定着烟株健康^[12]。目前,关于烟草连作对土壤微生物多样性的研究报道主要集中在土壤细菌群落和真菌群落多样性方面^[8–10],而对于红壤烟区根际土壤微生物群落多样性、种群变化以及与连作年限相关性等方面的研究还较为欠缺。因此,笔者采用 Illumina Miseq 高通量测序技术开展了云南省红河红壤烟区不同连作年限的烟田根际土壤微生物多样性研究,分析连作下根际土壤微生物群落丰度和结构组成多样性的变化,挖掘连作下根际红壤微生物功能和群落相关性,有助于进一步了解红河红壤烟区连作烟田根际土壤微生物变化特点,为该地区种植烤烟过程中的微生物调控以及

收稿日期:2022–05–10

基金项目:中国烟草总公司云南省公司科技计划(编号:2019S30000241036);云南省教育厅科学研究基金(编号:2020Y0415)。

作者简介:曹超逸(1994—),男,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向为烟叶配套生产技术。E-mail:caochaoyi123@163.com。

通信作者:张加研,博士,教授,主要从事林产化学、烟草原料化学以及烤烟配套种植技术研究工作。E-mail:zhangjiayan@swfu.edu.cn。

栽培管理提供理论依据和实践指导,促进烤烟产业可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于 2019 年在云南省红河州泸西县白水镇大孟泽村(103°30'E,24°46'N)开展,年平均气温 15.2℃,海拔 1 803 m,年平均降水量 950 mm,植烟土壤为红壤,试验地块土壤基本理化性质如下:pH 值为 6.67,有机质含量为 30.12 g/kg,全氮含量为 1.42 g/kg,全磷含量为 1.23 g/kg,全钾含量为 6.30 g/kg,速效氮含量为 42.13 mg/kg,速效磷含量为 51.46 g/kg,速效钾含量为 479.68 g/kg。

1.2 试验设计

在同一连片的地块,分别选取轮作(SCR,种植烤烟前一年种植玉米)、连续种植烤烟 2 年(SCC2)、3 年(SCC3)、4 年(SCC4)、5 年(SCC5)的地块,并以同连片地块撂荒 3 年地块为对照(SCK)作为试验小区,每个小区 3 个重复,每个重复 300 株烤烟,连续种植烤烟地块烤烟收获后冬闲处理,次年连续种植烤烟。所有处理采用膜下小苗的移栽方法于同一天进行移栽,各处理纯氮用量统一为 105 kg/hm²,统一移栽时按 75 kg/hm² 进行环施复合肥(N:P₂O₅:K₂O=12:8:25),第 1 次追肥按 30 kg/hm² 浇施复合肥(N:P₂O₅:K₂O=12:8:25),第 2 次追肥按 150 kg/hm² 浇施硫酸钾(K₂O≥52%)。烤烟其他管理措施统一参照红河州烟草公司优质烟叶生产技术措施进行。

1.3 根际土壤样品采集

各处理统一于烤烟现蕾期参照 Smalla 等的方法^[13],将烤烟全株挖出,并将烟草根放入无菌袋中,用力摇晃,每个重复土样由 3 个土样组成。及时用冷藏箱将土壤带回实验室,剔除石块和烤烟残根等杂物后过 1 mm 筛,采用干冰保存的方式送样进行高通量测序。

1.4 检测方法

使用 PowerSoil DNA Isolation Kit (Qiagen, Hilden, Germany)试剂盒提取每个样品根际土壤总 DNA。用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGC A-3')、806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对土壤细菌 16S rRNA 的 V3-V4 区域进行 PCR 扩增。用引物 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAA GTAA-3')和引物 ITS2(5'-GCTGCGTTCTTCATCG

ATGC-3')和对土壤真菌 ITS 区域进行 PCR 扩增。PCR 扩增后,用 PCR 纯化试剂盒(Omega, USA)纯化产物,在北京百迈客生物科技有限公司采用 Illumina HiSeq 2500 测序仪(Illumina Inc., San Diego, USA)进行高通量测序。

1.5 数据处理

测序结束后,原始标记在重叠之后与 FLASH 合并。用 Trimmomatic (Version 0.33) 删除低质量标签,用 UCHIME (Version 4.1) 删除嵌合物。将符合条件的序列以 97% 的相似度划分到操作分类单元(OTU)中。高通量测序数据的图由 R 软件生成 (Version 2.15.3)。采用 Qiime 软件 (Version 1.7) 进行主成分(PCA)分析,SPSS 21.0 进行相关性分析和方差分析。

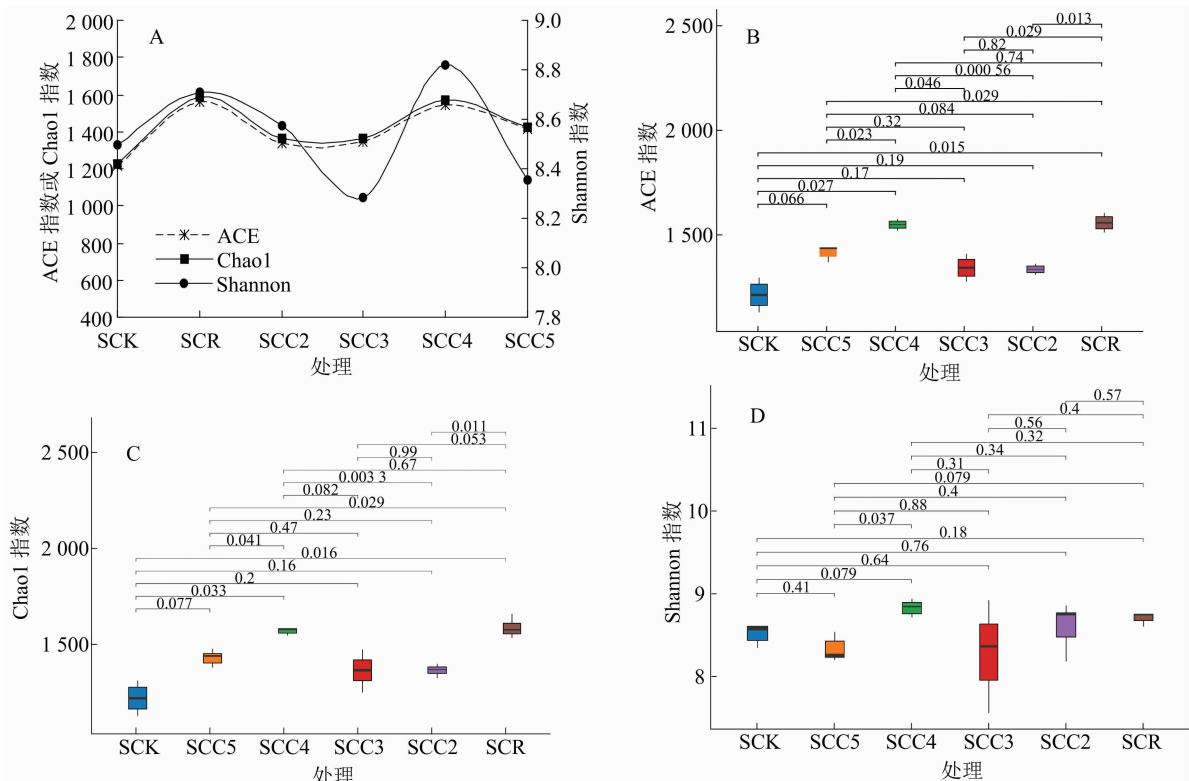
2 结果与分析

2.1 根际土壤微生物区系 α 多样性分析

2.1.1 根际土壤细菌群落 α 多样性分析 通过对不同种植年限烤烟根际土壤细菌 α 多样性进行分析发现,随着种植年限的延长,烤烟根际土壤细菌群落 α 多样性呈升高—降低—升高—降低趋势(图 1-A)。与 SCK(撂荒地)相比,种植 1 年(SCR)烤烟 ACE、Chao1、Shannon 指数升高,种植 2 年(SCC2)、种植 3 年(SCC3)烤烟的 ACE、Chao1、Shannon 指数下降,种植 4 年(SCC4) ACE、Chao1、Shannon 指数上升,种植 5 年(SCC5)后的 ACE、Chao1、Shannon 指数有呈下降趋势。

从 ACE 指数来看(图 1-B),种植 1 年(SCR)烤烟的 ACE 显著高于撂荒地(SCK)、SCC2、SCC3、SCC5($P<0.05$),SCK、SCC2、SCC3、SCC5 之间无显著性差异($P>0.05$)。从 Chao1 指数来看(图 1-C),SCR 处理 Chao1 显著高于 SCK、SCC2、SCC5($P<0.05$),SCC4 处理 Chao1 显著高于 SCK、SCC5、SCC2($P<0.05$),与其他种植年限间无显著性差异($P>0.05$)。从 Shannon 指数来看(图 1-D),SCC4 显著高于 SCC5,其他种植年限间差异不显著($P>0.05$)。

2.1.2 根际土壤真菌 α 多样性分析 对不同种植年限烤烟根际土壤真菌 α 多样性进行分析发现,随着种植年限的延长,烤烟根际土壤真菌群落呈波动变化,ACE、Chao1 指数呈升高—降低—升高—降低趋势,Shannon 指数呈降低—升高—降低趋势(图 2-A)。其中 SCK 的 ACE、Chao1 指数最低,

图1 不同种植年限烤烟根际细菌群落 α 多样性

Shannon 指数最高。随着种植年限延长,SCR 处理土壤的 ACE、Chao1 升高,Shannon 指数降低,SCC2、SCC3 处理土壤的 3 个指数均持续下降,SCC4 处理土壤的 3 个指数均上升,但 SCC5 处理土壤的 3 个指数均呈下降趋势。

从 ACE 指数来看(图 2-B),SCC4 的 ACE 指数最高,显著高于 SCC5 和 SCC2 ($P < 0.05$),SCC5 显著高于 SCC2 ($P < 0.05$),其他处理之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。从 Chao1 指数来看(图 2-C),不同年限间差异较大,其中 SCC4 最高,显著高于 SCK、SCC2、SCC5 ($P < 0.05$),其次是 SCC5,显著高于 SCK ($P < 0.05$),其他处理间无显著差异 ($P > 0.05$)。从 Shannon 指数来看(图 2-D),SCK 最高,显著高于 SCC3 ($P < 0.05$),其次为 SCC4,显著高于 SCC3 ($P < 0.05$),其他年限间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.2 根际土壤微生物区系 β 多样性分析

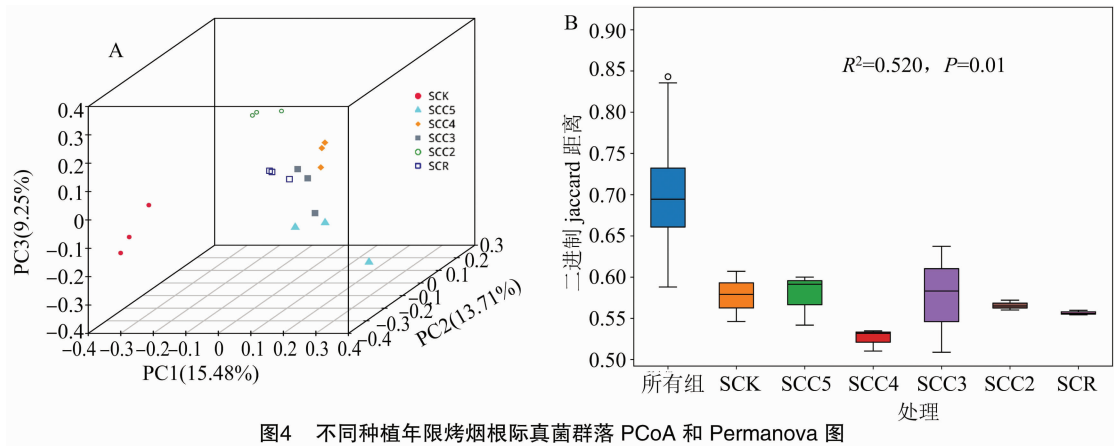
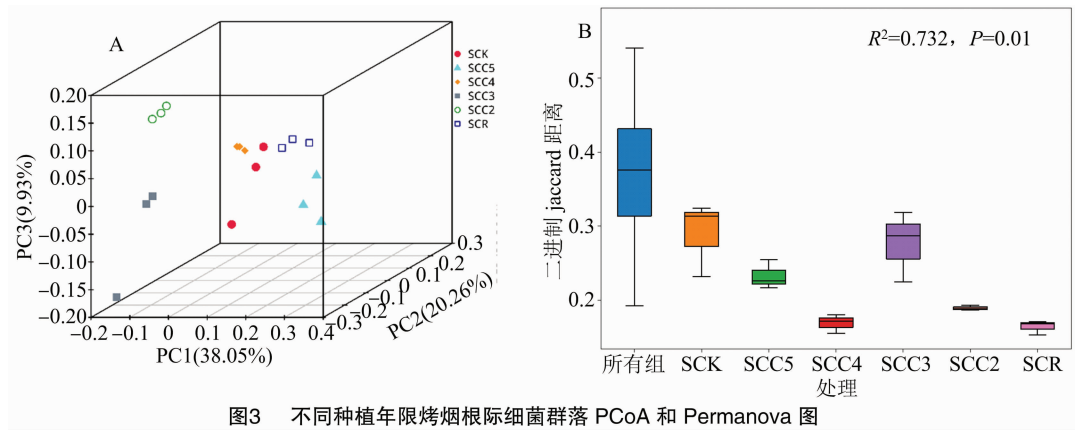
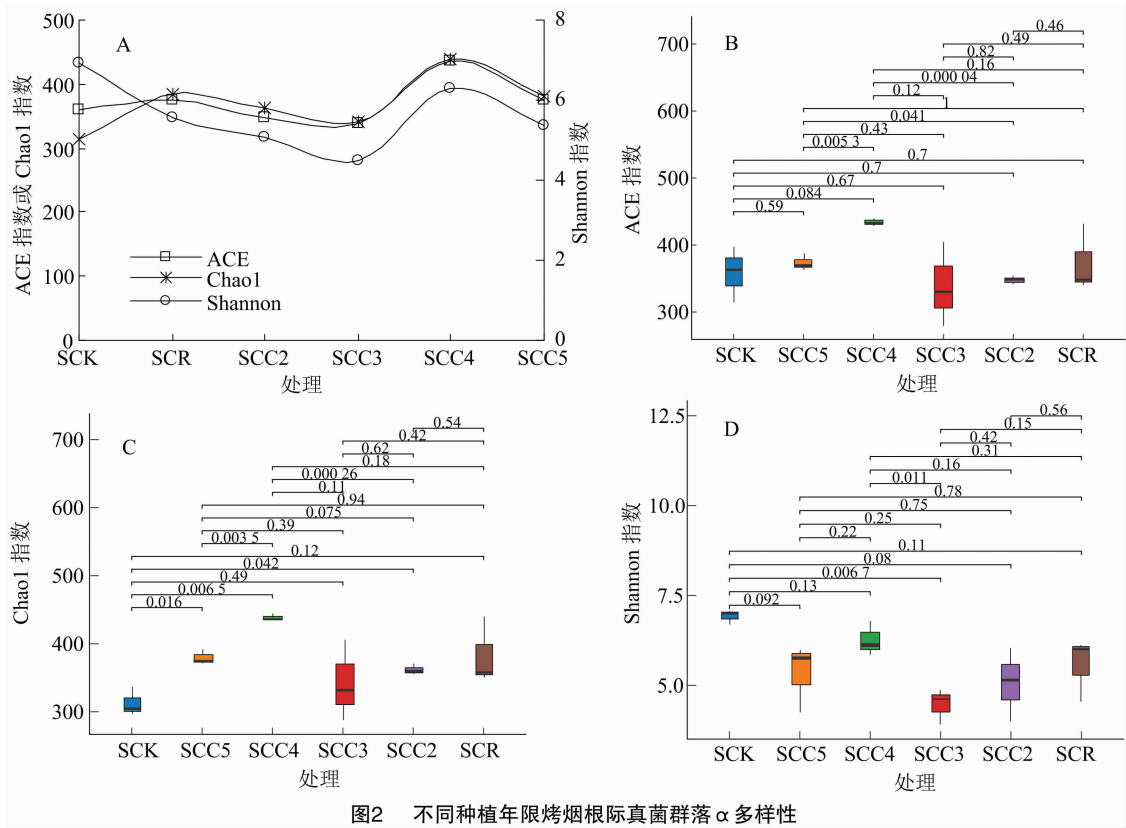
2.2.1 根际土壤细菌群落 β 多样性分析

不同种植年限烤烟根际土壤细菌分别在 x 轴(38.05%)、 y 轴(9.93%)和 z 轴(20.26%)可以较好地聚合(图 3-A),表明分析结果较好。SCC2、SCC3 能够与其他种植年限根际细菌群落明显区分,SCK、SCR、SCC4、SCC5 根际细菌群落没有明显分离。通过置

换多元方差(Permanova)分析发现(图 3-B),6 个种植年限处理间根际土壤细菌群落存在极显著差异($R^2 = 0.732$, $P < 0.01$),烤烟种植年限对根际细菌群落 β 多样性影响较大,其中 SCC3 和 SCC2 处理与其他 4 个处理土壤细菌群落组成差异达到极显著水平($P < 0.01$),说明不同样本微生物群落结构相似性较低,短期的连续种植(2 年和 3 年)使土壤具有明显的细菌群落结构。SCC4、SCR 土壤细菌群落组成无显著差异,说明 2 个处理细菌群落结构相似性较高。

2.2.2 根际土壤真菌群落 β 多样性分析

不同种植年限烤烟根际土壤真菌分别在 x 轴(15.48%)、 y 轴(9.25%)和 z 轴(13.71%)可以较好地聚合(图 4-A),表明分析结果较好。SCK 能够与其他种植年限根际真菌群落明显区分,其他种植年限根际真菌群落没有明显分离,聚合效果较好。通过 Permanova 分析发现(图 4-B),6 个种植年限处理间根际土壤真菌群落存在极显著差异($R^2 = 0.520$, $P < 0.01$),烤烟种植年限对根际真菌群落 β 多样性影响较大,其中 SCK 处理与其他 5 个处理土壤真菌群落组成差异达到极显著水平($P < 0.01$),说明 SCK 与其他 5 个处理土壤真菌群落结构相似性较低,撂荒处理(SCK)能使土壤具有明显的真菌群落结构。



2.3 根际土壤微生物群落组成分析

2.3.1 根际土壤细菌群落组成分析 分析所测样品细菌 TOP10 门水平丰富度(图 5 - A)可知,不同种植年限烤烟根际细菌门水平存在差异。随着种植年限增加,变形菌门明显富集,以 SCK 最低,为 30.63%,SCC4 最高,达到 41.73%。放线菌门和绿弯菌门呈降低趋势,SCK 最高(分别为 21.96% 和 10.03%),SCC5 最低(8.17% 和 5.75%)。

从 TOP10 属水平(图 5 - B)来看,各处理 TOP10 的优势细菌菌属相对丰度累积总和在 17.45% ~ 38.96%,其中 SCC3 处理最低(17.45%),

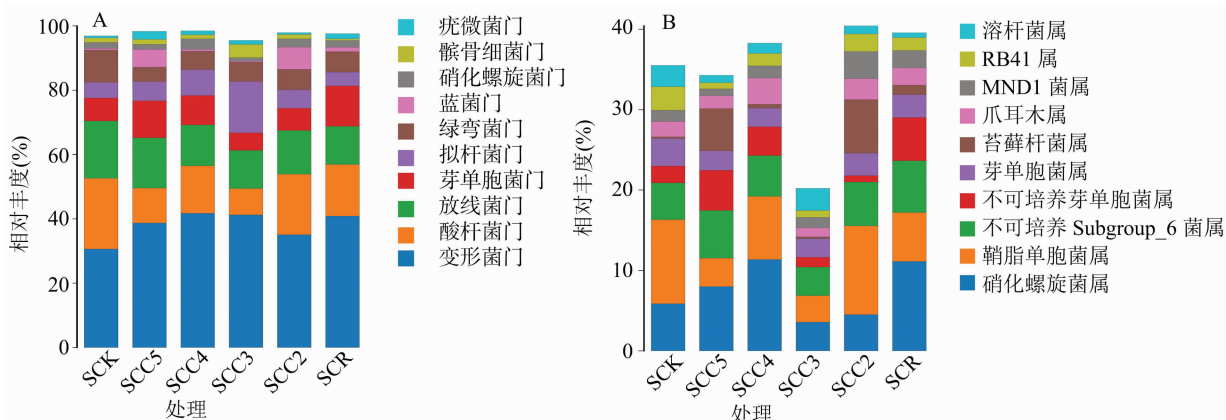


图5 门水平(A)和属水平(B)根际土壤细菌 TOP10 群落结构

2.3.2 根际土壤真菌群落组成分析 分析 6 个处理中 TOP10 门水平真菌组成(图 6 - A),6 个处理优势真菌均为子囊菌门。TOP10 的优势细菌菌门相对丰度累积总和随着种植年限增加呈下降 - 升高的变化趋势,其中 SCK 处理最高,达到 83.45%,SCR 下降到 65.91%,随着种植年限的增加呈增加的趋势,于 SCC4 达到最高(77.63%),SCC5 丰富度略有降低(74.40%)。SCR 中被孢霉门和壶菌门相对丰度最高,分别为 11.05% 和 7.70%,明显高于其他处理。

分析 6 个处理中 TOP10 属水平真菌分布(图 6 - B),各处理 TOP10 的优势真菌菌属相对丰度累积总和在 14.46% ~ 43.93%,其中 SCK 处理相对丰度最低(14.46%),SCC3 处理最高(43.93%)。与 SCK 处理相比,不同处理均能提高根际土壤 TOP10 的优势真菌菌属相对丰度。说明种植植物能提高土壤真菌的相对丰度。其中 SCR 处理中被孢霉属丰度最高,达到 11.01%;SCC2 处理中小不整球壳属丰度最高,达到 15.25%;SCC3 处理中枝鼻菌属、黑蛋巢菌属和毛葡萄属丰度最高,分别达到 17.24%、11.35% 和 8.21%;SCC4 处理中裂壳属和曲霉属丰度最高,分别达到 6.45% 和 6.27%;

SCR 处理最高(43.93%)。与 SCK 处理相比,除 SCC3 处理外,其他 4 个处理均能提高根际土壤 TOP10 的优势细菌菌属相对丰度。其中硝化螺旋菌属、鞘脂单胞菌属、芽单胞菌属、不可培养 Subgroup_6 菌属、MND1 菌属在不同种植年限间富集差异明显。说明种植植物后能提高土壤细菌的相对丰度。随着种植年限增加 SCC3 中硝化螺旋菌属和不可培养 Subgroup_6 菌属明显下降,该处理下水平细菌菌属相对丰度累积总和下降明显,仅为 17.45%,而 SCC4 中属水平细菌相对丰度累积总和明显增加,达到 36.98%。

SCC5 中镰刀菌属富集明显,丰度最高,达到 10.01%,明显高于其他处理。

2.4 根际土壤细菌和真菌群落相关性分析

对不同种植年限与烤烟根际土壤微生物群落相关性(表 1)进行分析,细菌群落多样性指数与烤烟种植年限均无显著相关性($P > 0.05$),但细菌门水平的酸杆菌门、绿弯菌门与种植年限呈显著负相关($P < 0.05$),疣微菌门与种植年限呈显著正相关($P < 0.05$)。属水平中的苔藓杆菌属、RB41 菌属与种植年限呈显著负相关($P < 0.05$)。真菌多样性指数、真菌门水平和属水平与种植年限无显著相关性($P > 0.05$)。

3 讨论与结论

土壤中的微生物在土壤中扮演着主要的角色,受种植模式、养分、水分等外界环境影响较大,其群落的多样性和结构组成的稳定性是土壤生态系统健康的重要指标之一^[14-15]。土壤微生物多样性的降低会直接造成土传病害发病率增加^[16-18],而丰富的微生物多样性有利于促进作物根系的生长发育^[19-20],同时提高作物对土传病害的抑制率^[18,21]。

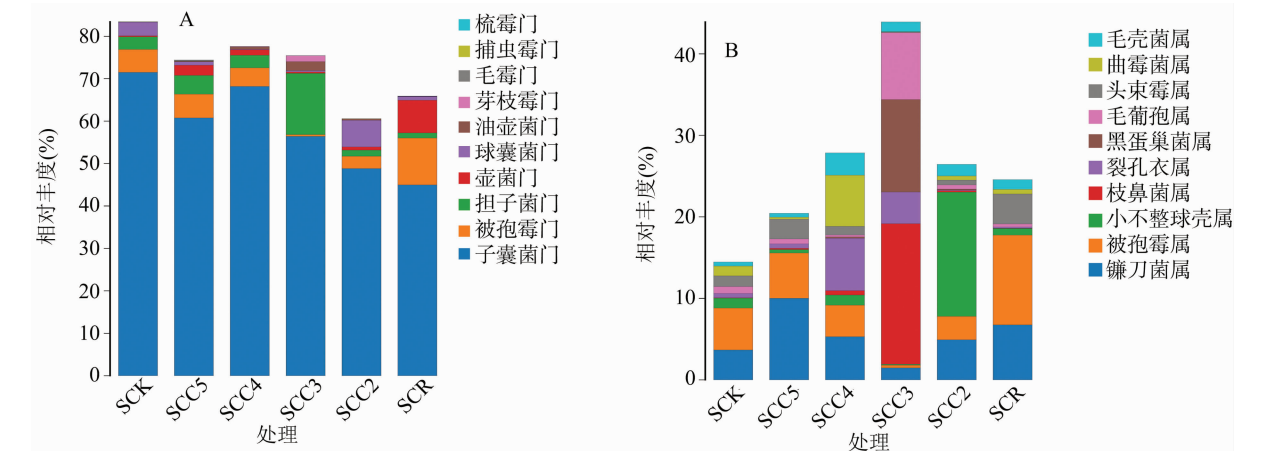


图6 门水平(A)和属水平(B)根际土壤真菌TOP10群落结构

表 1 烤烟种植年限与根际微生物群落相关性分析

分类	名称	皮尔逊相关系数	分类	名称	皮尔逊相关系数
细菌多样性指数	ACE 指数	0.357	真菌多样性	ACE 指数	0.282
	Shannon 指数	-0.101		Shannon 指数	-0.314
	Chao1 指数	0.329		Chao1 指数	0.500
细菌门	变形菌门	0.599	真菌门	子囊菌门	-0.365
	酸杆菌门	-0.741 *		被孢霉门	-0.686
	放线菌门	-0.227		担子菌门	0.329
	芽单胞菌门	0.193		壶菌门	-0.387
	拟杆菌门	0.330		球囊菌门	0.285
	绿弯菌门	-0.858 *		油壶菌门	0.541
	蓝菌门	0.298		芽枝霉门	0.404
	硝化螺旋菌门	0.028		毛霉门	-0.048
	骸骨细菌门	0.251		捕虫霉门	-0.503
	疣微菌门	0.671 *		梳霉门	-0.329
细菌属	鞘脂单胞菌属	0.168	真菌属	镰刀菌属	-0.071
	不可培养 Subgroup_6 菌属	-0.594		被孢霉属	0.267
	不可培养芽单胞菌属	0.042		小不整球壳属	0.373
	芽单胞菌属	0.262		枝鼻菌属	0.128
	苔藓杆菌属	-0.879 *		裂壳属	-0.118
	爪耳木属	0.312		黑蛋巢菌属	0.133
	硝化螺旋菌属	0.028		毛葡萄属	0.091
	MND1 菌属	-0.409		头束霉属	0.220
	RB41 属	-0.807 *		曲霉菌属	-0.196
	溶杆菌属	-0.281		毛壳菌属	0.312

注: * 表示相关性达到显著水平 ($P < 0.05$)。

研究中土壤微生物群落的 α 多样性呈升高—降低—升高—降低的变化趋势,其中轮作种植处理 (SCR)土壤细菌 ACE 和 Chao1 显著高于其他处理,说明轮作能有效提高土壤细菌群落多样性^[22]。SCC4 处理土壤真菌 ACE 和 Chao1 最高,显著高于其他处理,说明持续长期连作 (SCC4)土壤微生物群落多样性有恢复的趋势,但在 SCC5 处理下又呈现

降低的趋势,可能与连作根际土壤微生物适应胁迫条件下生态环境能力不断增强有关^[23]。但随着连作时间继续延长 (SCC5),可能会导致土壤中自毒物质的积累,促进有害微生物的繁殖,从而降低微生物多样性^[24],具体的原因需要进一步进行试验验证。

PCoA 分析结果表明,短期连作 (SCC2、SCC3)

土壤细菌与 SCK、SCR 以及长期连作样品明显分离, 撂荒地 (SCK) 土壤真菌与其他处理明显分离, 说明短期连作能使土壤有明显的细菌群落结构, 而撂荒处理能使土壤具有明显的真菌群落结构。这与敖金成等的研究结果^[25]一致。所有样品中细菌确定的优势门为变形菌门, 其次为酸杆菌门和放线菌门, 这与以往的报道^[26-27]一致, 但这些门在不同连作年份测量的相对丰度存在差异。TOP10 的细菌相对丰度累积总和呈升高—降低—升高的趋势。而真菌优势菌属随着种植年限的增加呈升高趋势, 并在 SCC3 处理达到最高, 之后又逐渐降低。与其他处理相比, 轮作 (SCR) 土壤中真菌的被孢霉门和壶菌门富集明显, 相对丰度分别达到 11.05% 和 7.70%, 担子菌门丰富度较低, 仅为 1.20%, 研究表明, 被孢霉门大部分微生物为有益菌, 在土壤中具有解磷、解氮的功能, 同时还具有促进植物生长的作用^[28-29]。壶菌门的大部分微生物种属能分解土壤中的几丁质和维生素, 促进土壤碳氮循环和作物的生长^[30]。而担子菌门微生物是大部分作物病害的病原菌, 如立枯病和白粉病等^[31]。说明与不同连作年限烤烟相比, 轮作有利于提高有益菌的相对丰度, 降低有害微生物的丰度。从真菌属来看, SCC5 中镰刀菌属丰度最高, 达到 10.01%。镰刀菌属包含多种病原真菌, 如串珠镰刀菌、尖孢镰刀菌、黄色镰刀菌等会侵染作物, 造成病害^[32]。这可能也是长期连作会造成病害频发的主要原因之一。

研究中根际土壤细菌门水平酸杆菌门和绿弯菌门与种植年限呈显著负相关 ($P < 0.05$), 而疣微菌门与种植年限呈显著正相关 ($P < 0.05$)。酸杆菌门在土壤中细菌群落中有较高的占比, 是一类新划分的细菌门^[33], 一般能占到土壤总细菌的 20% ~ 50%, 尤其在酸性、养分较低的土壤中有较高的丰度, 在土壤环境构建和物质循环中起着关键作用^[34-36]。而绿弯菌门也是土壤环境构建过程中重要的参与者, 广泛参与了碳、氮、硫等元素在土壤环境中的循环^[37]。随着烤烟种植年限的增加, 这 2 类有益菌明显减少, 这可能是连作打破土壤微环境平衡, 造成连作障碍的主要原因之一。而相关研究也发现, 疣微菌门在土壤碳循环过程中起着较为重要的作用^[38]。近年的研究也发现该门细菌中的一些成员和其他有益细菌可以在玉米根际土壤与根系建立有益的微生物—植物的相互作用^[39], 其相对丰度与玉米的农艺性状和钾含量呈显著正相关关

系^[40]。但本研究中, 各处理疣微菌门在 TOP10 细菌中的相对丰度最小, 均未超过 2.6%, 因此可以推断该类群细菌虽然随着种植年限增加而增加, 但对烤烟的正向影响有限。在属水平上, 酸杆菌门中的苔藓杆菌属、RB41 菌属与种植年限呈显著负相关 ($P < 0.05$)。苔藓杆菌属细菌在土壤中能分解木质素和纤维素等有机质, 有助于改善土壤环境^[41-42]。最近的研究发现 RB41 菌属、根瘤菌属和链霉菌属等 3 个细菌属通过细菌生产力和呼吸共同构成了 45% ~ 57% 的碳流通, 在生态系统中属于重要的特定关键类群^[43]。研究中随着种植年限的增加, 苔藓杆菌属、RB41 菌属明显减少, 这可能是造成连作土壤微环境失衡的重要原因。Banerjee 等研究指出, 微生物多样性是评价土壤的重要指标, 但土壤中一些起着重要作用的关键微生物类群也是评价土壤健康的重要指标, 针对不同的需求, 深入研究土壤微生物关键类群具有重要意义^[44]。研究中酸杆菌门、绿弯菌门、疣微菌门以及苔藓杆菌属、RB41 菌属可以作为连作烤烟土壤的关键菌群, 可为连作烤烟红壤微环境健康的判断提供科学依据。

随着种植年限的增加, 现蕾期烤烟根际土壤微生物群落的 ACE、Chao1 呈升高—降低—升高—降低的变化趋势, 且各处理间根际土壤微生物群落 β 多样性均存在极显著差异 ($P < 0.01$), 短年限种植 (SCC2 和 SCC3) 能使土壤具有明显的细菌群落结构, 撂荒处理 (SCK) 能使土壤具有明显的真菌群落结构。细菌门水平中的酸杆菌门和绿弯菌门与种植年限呈显著负相关 ($P < 0.05$), 疣微菌门与种植年限呈显著正相关 ($P < 0.05$); 属水平中的苔藓杆菌属、RB41 菌属与种植年限呈显著负相关 ($P < 0.05$); 6 个处理优势真菌门均为子囊菌门, 属水平的镰刀菌属微生物在连续种植 5 年处理丰度最高, 达到 10.01%, 这几类微生物的相对丰度可以作为评价红河烟区连作烤烟红壤微环境健康的关键门属。

参考文献:

- [1] 向鹏华, 单雪华, 黄银章, 等. 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.
- [2] 马文富, 邓小鹏, 杜杏蓉, 等. 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.
- [3] 滕凯, 陈前锋, 周志成, 等. 烟草连作障碍与土壤理化性质及微

- 生物多样性特征的关联[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2848–2856.
- [4] 尤垂淮, 高峰, 王峰吉, 等. 连作对云南烤烟根际微生态及烟叶产质量的影响[J]. 中国烟草学报, 2015, 21(1): 60–67.
- [5] 岳冰冰, 李鑫, 张会慧, 等. 连作对黑龙江烤烟土壤微生物功能多样性的影响[J]. 土壤, 2013, 45(1): 116–119.
- [6] 王胜男. 西南山区烤烟连作对土壤微生物多样性的影响及机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [7] 张笑宇, 段宏群, 王闷灵, 等. 轮作与连作对烟田土壤微生物区系及多样性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2018(6): 84–90.
- [8] 敖金成, 李博, 阎凯, 等. 连作对云南典型烟区植烟土壤细菌群落多样性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(1): 46–54.
- [9] 高林, 王新伟, 申国明, 等. 不同连作年限植烟土壤细菌和真菌群落结构差异[J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(8): 147–152.
- [10] 许自成, 王发展, 金伊楠, 等. 不同连作年限烤烟根际土壤真菌群落 18S rDNA-PCR-DGGE 分析[J]. 中国土壤与肥料, 2019(4): 39–46.
- [11] 杨敏, 曹敬东, 郑元仙, 等. 生物有机肥对热区烤烟根际土壤酚酸类物质和细菌群落结构的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(24): 244–251.
- [12] 刘艳霞, 李想, 邹焱, 等. 贵州省典型植烟生态区域根际土壤微生物群落多样性[J]. 生态学报, 2018, 38(9): 3145–3154.
- [13] Smalla K, Wieland G, Buchner A, et al. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4742–4751.
- [14] Diosma G, Aulicino M, Chidichimo H, et al. Effect of tillage and N fertilization on microbial physiological profile of soils cultivated with wheat[J]. Soil and Tillage Research, 2006, 91(1/2): 236–243.
- [15] Yuan J, Wen T, Zhang H, et al. Predicting disease occurrence with high accuracy based on soil macroecological patterns of *Fusarium* wilt[J]. The ISME Journal, 2020, 14(12): 2936–2950.
- [16] 潘孝晨, 唐海明, 肖小平, 等. 不同土壤耕作方式下稻田土壤微生物多样性研究进展[J]. 中国农学通报, 2019, 35(23): 51–57.
- [17] van Elsas J D, Garbeva P, Salles J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens[J]. Biodegradation, 2002, 13(1): 29–40.
- [18] Wei Z, Yang T J, Friman V P, et al. Trophic network architecture of root-associated bacterial communities determines pathogen invasion and plant health[J]. Nature Communications, 2015, 6: 8413.
- [19] Mendes L W, Tsai S M, Navarrete A A, et al. Soil-borne microbiome: linking diversity to function[J]. Microbial Ecology, 2015, 70(1): 255–265.
- [20] Hunter P J, Petch G M, Calvo-Bado L A, et al. Differences in microbial activity and microbial populations of peat associated with suppression of damping-off disease caused by *Pythium sylvaticum* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(10): 6452–6460.
- [21] Jaiswal A K, Elad Y, Paudel I, et al. Linking the belowground microbial composition, diversity and activity to soilborne disease suppression and growth promotion of tomato amended with biochar[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 44382.
- [22] 陈丹梅, 陈晓明, 梁永江, 等. 轮作对土壤养分、微生物活性及细菌群落结构的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(12): 56–65.
- [23] Gao Y H, Lu X H, Guo R J, et al. Responses of soil abiotic properties and microbial community structure to 25-year cucumber monoculture in commercial greenhouses[J]. Agriculture, 2021, 11(4): 341.
- [24] Wu H M, Qin X J, Wang J Y, et al. Rhizosphere responses to environmental conditions in *Radix pseudostellariae* under continuous monoculture regimes[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2019, 270/271: 19–31.
- [25] 敖金成, 周桂凤, 李永梅. 连作烟田健株与根腐病感病烟株根际土壤微生物多样性研究[J]. 河南农业科学, 2022, 51(2): 86–96.
- [26] Li Y Y, Feng J, Zheng L, et al. Intercropping with marigold promotes soil health and microbial structure to assist in mitigating tobacco bacterial wilt[J]. Journal of Plant Pathology, 2020, 102(3): 731–742.
- [27] Liu X J, Zhang S T, Jiang Q P, et al. Using community analysis to explore bacterial indicators for disease suppression of tobacco bacterial wilt[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 36773.
- [28] Zhang H S, Wu X H, Li G, et al. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on *Kosteletzkya virginica* growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(5): 543–554.
- [29] Liao X G, Fang W G, Lin L C, et al. *Metarhizium robertsii* produces an extracellular invertase (MrINV) that plays a pivotal role in rhizospheric interactions and root colonization[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e78118.
- [30] Sudová R, Kohout P, Rydlová J, et al. Diverse fungal communities associated with the roots of isoetid plants are structured by host plant identity[J]. Fungal Ecology, 2020, 45: 100914.
- [31] 谢海儿扎提·艾萨. 乌鲁木齐·库尔勒和伊犁园林观赏植物真菌病害调查[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016.
- [32] 张岳平. 镰刀菌真菌毒素产生与调控机制研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(3): 311–316.
- [33] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14–20.
- [34] Janssen P H, Yates P S, Grinton B E, et al. Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(5): 2391–2396.
- [35] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, et al. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone

何宏涛,王玉虎,周洪友,等. 番茄根际产生生长素菌株分离及其对番茄和马铃薯幼苗的促生作用[J]. 江苏农业科学,2022,50(19):219-225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.19.033

番茄根际产生生长素菌株分离及其对番茄和马铃薯幼苗的促生作用

何宏涛¹, 王玉虎¹, 周洪友¹, 刘颖², 赵明敏¹, 郑红丽¹

(1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 内蒙古呼和浩特 010019; 2. 鄂尔多斯生态环境职业学院, 内蒙古鄂尔多斯 017010)

摘要:采用 Salkowski 比色法测定了从阿须贝培养基中筛选的 64 株番茄根际细菌的生长素分泌特性。结果表明, 64 株番茄根际细菌中有 7 株具有生长素分泌特性, 占总数的 10.94%。同时, 研究了 7 株生长素产生菌对磷的溶解作用, 发现有 5 株具有溶解有机磷的特性, 其中菌株 FQD47-2 对有机磷的可溶性指数最高, 为 1.53, 其他菌株均小于 1.5。采用根灌法研究了 7 株生长素产生菌对番茄和马铃薯幼苗的促生长作用。结果表明, 菌株 FQD47-2 对番茄和马铃薯幼苗具有明显的促生长作用。接种菌株 FQD47-2 的番茄幼苗株高、地上部分及地下部分鲜质量分别增加了 16.87%、67.14% 和 29.58%; 马铃薯幼苗地上部分和地下部分的鲜质量分别增加了 17.64% 和 15.26%, 地上部分和地下部分的干质量分别增加了 12.71% 和 15.00%。对优势菌株 FQD47-2 的蛋白酶产量进行了测定, 结果表明, 菌株 FQD47-2 具有产蛋白酶特性。通过形态鉴定和生理生化鉴定并结合 16S rDNA 分子生物学鉴定分析, 证明菌株 FQD47-2 为阿氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhattai*)。

关键词:番茄; 根际促生菌; 生长素; 多功能菌; 促生作用

中图分类号:S182;S144 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)19-0219-07

植物根际促生长细菌(PGPR)是存在于植物根际并促进植物生长的细菌。生物菌肥能促进土壤

养分的释放,改善土壤结构,肥沃土壤,在植物根部大量生长繁殖,成为优势菌,产生屏障效应,增强植物的抗病性和抗逆性。同时,这些细菌的一些代谢产物可以促进植物的生长发育。已有研究表明,一些微生物能产生生长素(IAA)和 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)脱氨酶,乙烯生物合成的前体是 ACC,ACC 可被 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶降解,从而减少乙烯合成,在提高植物对非生物胁迫方面起到重要作用^[1]。生长素调控着植物生长发育

收稿日期:2021-11-03

基金项目:内蒙古农业大学高层次人才引进科研启动项目(编号:NDGCC2016-23);内蒙古自治区科技成果转化项目(编号:2019CG026);内蒙古自治区科技计划项目(编号:2019GG180)。

作者简介:何宏涛(1997—),男,山西大同人,硕士,主要从事植物内生固氮菌方面的研究。E-mail:627591293@qq.com。

通信作者:郑红丽,副教授,研究方向为植物病害生物防治研究。E-mail:zhlfey66@126.com。

library analyses[J]. The ISME Journal,2009,3(4):442-453.

[36] Lee S H, Ka J O, Cho J C. Members of the phylum Acidobacteria are dominant and metabolically active in rhizosphere soil[J]. FEMS Microbiology Letters,2008,285(2):263-269.

[37] 鲜文东,张潇潼,李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. 微生物学报,2020,60(9):1801-1820.

[38] 崔浩然. 黄河三角洲不同树种混交对土壤微生物群落组成及其功能特性的影响[D]. 泰安:山东农业大学,2021.

[39] Aguirre-von-Wobeser E, Rocha-Estrada J, Shapiro L R, et al. Enrichment of Verrucomicrobia, Actinobacteria and Burkholderiales drives selection of bacterial community from soil by maize roots in a traditional milpa agroecosystem[J]. PLoS One, 2018, 13(12):e0208852.

[40] 李艳玲. 根际微生物群落对挥发性有机物和作物生长的影响[D]. 北京:中国农业科学院,2019.

[41] García-Fraile P, Benada O, Cajthaml T, et al. *Terracidiphilus gabretensis* gen. nov., sp. nov., an abundant and active forest soil *Acidobacterium* important in organic matter transformation[J]. Applied and Environmental Microbiology,2016,82(2):560-569.

[42] Guo L J, Zheng S X, Cao C G, et al. Tillage practices and straw-returning methods affect topsoil bacterial community and organic C under a rice-wheat cropping system in central China[J]. Scientific Reports,2016,6:33155.

[43] Stone B W, Li J H, Koch B J, et al. Nutrients cause consolidation of soil carbon flux to small proportion of bacterial community[J]. Nature Communications,2021,12:3381.

[44] Banerjee S, Kirkby C A, Schmutter D, et al. Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil[J]. Soil Biology and Biochemistry,2016,97:188-198.