

王 政,王所良,李 智,等. 连作条件下烟草根腐病不同抗性品种根际土壤细菌群落特征[J]. 江苏农业科学,2024,52(5):222-228,236.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.05.033

连作条件下烟草根腐病不同抗性品种 根际土壤细菌群落特征

王 政¹,王所良²,李 智¹,刘久羽¹,敖金成¹

(1. 广西中烟工业有限责任公司,广西南宁 530001; 2. 云南省烟草公司曲靖市公司罗平分公司,云南曲靖 655800;
3. 云南农业大学植物保护学院,云南昆明 650201)

摘要:以烟草根腐病抗病品种云烟 87 和易感品种红花大金元为材料,利用盆栽方式和 Illumina Hiseq 扩增子测序技术,比较烟草根腐病不同抗性品种根际细菌群落结构及其功能多样性,为解析连作烟田易感根腐病成因及有益功能菌开发利用提供理论依据。结果表明,相较于抗病品种,感病品种根际土壤 pH 值稍低,且长期(4 年和 8 年)连作下土壤有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量均较高,其中 pH 值和速效钾是影响细菌群落分布的关键因子;变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)优势菌丰度偏低,而放线菌门(Actinobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)优势菌丰度整体较高;细菌群落相对丰度整体偏低,但长期连作下细菌群落的 Shannon 指数稍高;细菌群落 MetaCyc 代谢途径相对丰度整体随连作年限增加呈降低趋势,撂荒与短期连作土壤主要代谢途径相对丰度较抗病品种高,长期连作下较抗病品种低。总体来看,烟草根腐病抗病品种根际土壤细菌群落结构相对丰度和代谢相对丰度较高可能是其抗根腐病的原因之一。本研究结论为烤烟根腐病的生物防治技术开发提供了技术支撑。

关键词:连作;烟草根腐病;多样性;根际土壤;高通量测序

中图分类号:S154.36;S435.72 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)05-0222-07

良好的土壤微生态环境是保障烟草农业可持续发展的重要前提。近年来,烤烟连作障碍严重制约着烟草产业的健康发展。研究表明,连作破坏了土壤微生物群落平衡,使其根际土壤微生物环境恶化^[1],表现在病原菌富集和有益菌群减少,从而土传病害加重,进而影响作物生长发育^[2],使得烟叶产量和品质降低^[3]。敖金成等的研究表明,连作对土壤细菌群落结构及多样性的影响存在时空异质性^[4]。杜杏蓉等研究也指出,不同土壤类型微生物群落结构对连作的响应存在差异^[5]。说明连作导致土壤微生物群落结构发生趋向性变化、土传病害加重,但连作障碍是诸多因素共同作用的结果。

土传病原菌严重威胁着农业的可持续发展^[6]。在烤烟诸多病害中,根腐病是一种为害面广、防治难、危害重的真菌性土传病害,严重影响着全球的

作物安全与粮食安全。近年来,由镰刀菌侵染引起且危害日益严重的烟草根腐病在我国湖南、云南、贵州、河南等核心烟区呈暴发趋势^[7-10],已引起广泛关注。但根腐病引起作物感病而造成的损失程度取决于病原体、宿主脆弱性和气候条件^[11],Williamson-Benavides 等还推测细菌可能也直接参与了根腐病的发病^[12]。

选育并应用抗病品种是目前公认的减少病害、保障作物产量和质量最经济有效的农业措施之一。王弋等研究认为,作物根际土壤微生物数量及群落多样性受生长发育和品种抗逆性影响^[13]。与感病品种相比,水稻条斑病抗病品种根际土壤细菌群落结构多样性较丰富,发挥生防作用的菌群更多^[14]。涂娜娜等研究发现,海南青枯病抗病桑品种根际有丰度更高的淡紫拟青霉属和丛枝菌根球霉菌目,可能与其抗性有关^[15]。说明根际土壤微生物群落多样性及某些类群丰度和功能的改变影响寄主对病原菌的抗病性。上述研究主要阐释了连作或品种的抗感性状与品种抗病特征的研究,但关于连作下品种的抗病性是否与细菌群落及代谢功能有关鲜见报道。鉴于此,本研究以烟草根腐病抗感品种和连作土壤为对象,采用高通量测序技术,探究了烟

收稿日期:2023-04-17

基金项目:广西中烟工业有限责任公司科技项目(编号:GXZYCX2021B010)。

作者简介:王 政(1978—),男,河南南阳人,硕士,高级农艺师,从事烟叶原料调控新技术研究。E-mail:16627843@qq.com。

通信作者:敖金成,博士,高级工程师,主要从事植物营养与病害微生物调控技术研究。E-mail:89693180@qq.com。

草根腐病抗感品种对烤烟连作胁迫的微生物响应机制,研究结果为深入理解烟草连作障碍成因及根腐病精准生物防控提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 供试撂荒(2 年以上)土壤和连作 2、4、8 年土壤均采自于云南省曲靖市马龙区(103°23'E, 25°20'N)核心烟区同一农户的不同地块,撂荒土壤为同区域未种植任何作物的荒地。于烤烟成熟期随机挖取垄土(0~20 cm),每个连作年限地块及撂荒土壤随机选取 5 个点,混匀后装袋运至云南农业大学试验场(102°45'E, 25°8'N)备用。

1.1.2 供试品种 供试根腐病感病品种为红花大金元(以下称红大),记为 H;抗病品种为云烟 87^[16],记为 Y。

1.2 试验设计

于 2021 年 6 月 1 日,采用漂浮育苗方式育苗。待烟苗培育至 4 叶 1 心时,于 2021 年 8 月 10 日移栽至塑料花盆(33 cm×17 cm×21 cm),每盆栽种 1 株烟苗,栽后浇足定根水。试验设 4 个处理,即撂荒土壤(记为 T0)、连作 2 年土壤(记为 T2)、连作 4 年土壤(记为 T4)、连作 8 年土壤(记为 T8),每个处理 15 盆,重复 3 次。所用基肥为烟草专用复合肥(N、P₂O₅、K₂O 含量分别为 12%、10%、24%)36 g/株和商品有机肥(有机质含量≥60%)300 g/株。提苗肥施农用硝酸钾(N、K₂O 含量分别为 13.5%、44.5%)9.0 g/株,环施后覆薄土。移栽后第 65 天,取根际土,用于土壤理化性质检测和细菌高通量测序。

1.3 检测项目及方法

1.3.1 土壤理化性质的测定 参照文献[17]中的方法测定土壤机质(SOM)、碱解氮(AN)、有效磷(AP)、速效钾(AK)含量及 pH 值。

1.3.2 土壤细菌 DNA 的抽提和 PCR 扩增 土壤细菌多样性检测和分析由北京果壳生物科技有限公司(www.bioguo.com)完成。采用 MN NucleoSpin 96 Soil 试剂盒对土壤样本的基因组 DNA 进行抽提,然后利用琼脂凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。稀释后的基因组 DNA 采用具有 Barcode 标记的引物:338F:5'-ACTCCTACGGGAGGGCAGC A-3';806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'对细菌 16S rDNA V3+V4 区进行 MiSeq 扩增子测序。采用 Omega DNA 纯化柱进行过柱纯化,1.8%

的琼脂糖凝胶于 120 V 40 min 电泳后,切取目的片段并回收。采用 Qubit 定量和文库检测合格后,使用 NovaSeq 6000 平台进行上机测序。

1.4 生信分析流程

分别采用 Excel 2016 和 SPSS 20.0 进行数据处理及方差分析。首先对原始数据进行拼接、过滤、去除嵌合体后得到高质量的 Tags 序列。然后利用软件平台 Usearch(version 1.9.1)基于 97% 相似度对分类操作单元(operational taxonomic units, OTU)进行聚类。数据库选择 Silva(Release128, <http://www.arb.silva.de>)。采用 RDP Classifier(<http://sourceforge.net/project/rdpclassifier/>)和 PyNAST(<http://Biocore.github.io/pynast/>)进行物种注释和多重比较。采用 Mothur(version v.1.30)进行 α 多样性分析(<http://www.Mothur.org/>)。采用主坐标分析(principal coordinant analysis, PCoA)进行 β 多样性分析。利用 MetaCye 预测土壤细菌代谢途径。群落组成柱状图的统计和作图,以及冗余分析(redundancy analysis, RDA)均利用 R 语言工具进行。

2 结果与分析

2.1 连作条件下烟草根腐病不同抗性品种根际土壤化学性质

烟草根腐病不同抗性品种对根际土壤化学性质的影响存在差异。由表 1 可知,连作条件下,烤烟红大和云烟 87 的根际土壤 pH 值降低 0.1~0.3,撂荒土壤和连作 2 年、连作 4 年土壤以抗病品种稍高,连作 8 年抗(感)品种根际土壤 pH 值大小一致;烟草根腐病感病品种根际土壤 SOM、AN、AK 含量整体高于抗病品种,SOM、AN 含量以 HT4 与 YT4、HT8 与 YT8 样本间差异较大,AK 含量以 HT8 与 YT8 样本间差异较大;相同连作年限烟草根腐病抗病品种根际土壤 AP 含量均高于感病品种。综上所述,感病品种根际土壤 AN 和 AK 富集效应较抗病品种强,AP 含量相反。

2.2 连作条件下不同抗性品种根际土壤细菌优势菌的丰度分析

由图 1-a 可知,在门水平上,HT0 到 HT8 样本前 10 位的优势菌相对丰度累积总和介于 98.4%~98.7%之间,YT0 到 YT8 样本介于 98.5%~98.8%之间,其中变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门

表 1 连作条件下烟草根腐病抗(感)品种根际土壤化学性质

处理	pH 值	SOM 含量 (g/kg)	AN 含量 (mg/kg)	AP 含量 (mg/kg)	AK 含量 (mg/kg)
HT0	5.2 ± 0.1a	26.7 ± 1.7b	31.6 ± 3.2B	37.4 ± 2.3b	310.9 ± 6.8C
HT2	5.1 ± 0.1ab	28.2 ± 1.4ab	54.3 ± 4.6A	40.0 ± 0.7b	436.6 ± 18.2B
HT4	4.9 ± 0.2b	29.2 ± 1.5a	57.8 ± 6.2A	48.0 ± 3.5a	483.6 ± 13.2A
HT8	5.0 ± 0.2ab	26.0 ± 0.2b	61.8 ± 10.8A	51.1 ± 6.5a	501.5 ± 21.5A
YT0	5.3 ± 0.1A	26.7 ± 2.3a	41.1 ± 3.1b	49.2 ± 2.0B	289.0 ± 18.4C
YT2	5.2 ± 0.1A	27.8 ± 4.9a	52.2 ± 8.8a	45.3 ± 5.0B	427.1 ± 24.3B
YT4	5.2 ± 0.0A	26.9 ± 1.3a	46.8 ± 3.0ab	66.1 ± 4.9A	483.4 ± 13.0A
YT8	5.0 ± 0.2B	23.4 ± 0.7a	51.4 ± 0.7a	51.3 ± 1.0B	470.4 ± 21.6A

注:表中数据采用平均值±标准误表示,同栏同列数据后不同大写字母、小写字母分别表示处理间差异极显著($P < 0.01$)、显著($P < 0.05$)。下表同。

(*Acidobacteria*) 和绿弯菌门(*Chloroflexi*) 是各样本主要的优势细菌门,相同连作年限下,抗病品种根际土壤的变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门相对丰度高于感病品种,放线菌门和拟杆菌门相对丰度整体低于感病品种。由图 1 - b 可知,在属水平上,HT0 到 HT8 样本前 10 位的优势菌属相对丰度累积总和介于 34.7% ~ 54.7% 之间,YT0 到 YT8 介于 38.4% ~ 40.8% 之间,以感病品种撂荒土壤和连作 2 年的土壤样本较高,而长期(4、8 年)连作条件下感病品种根际土壤优势菌属相对丰度累积总和均低于抗病品种,

YT4 样本相对丰度高于 HT4 样本 5.4%,YT8 样本相对丰度高于 HT8 样本 6.0%。罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、*Arachidicoccus*、*Chujaibacter*、鞘氨醇单细胞菌属(*Sphingomonas*) 为前 4 种优势细菌类群,撂荒土壤和短期(2 年)连作土壤 4 种优势菌属累积相对丰度总和以 HT0 和 HT2 较高,长期连作土壤以 YT4 和 YT8 样本较高。综上所述,连作下,撂荒土壤和短期连作条件下感病品种根际土壤优势菌累积相对丰度总和较高,而长期(4、8 年)连作下抗病品种根际土壤优势菌相对丰度较高。

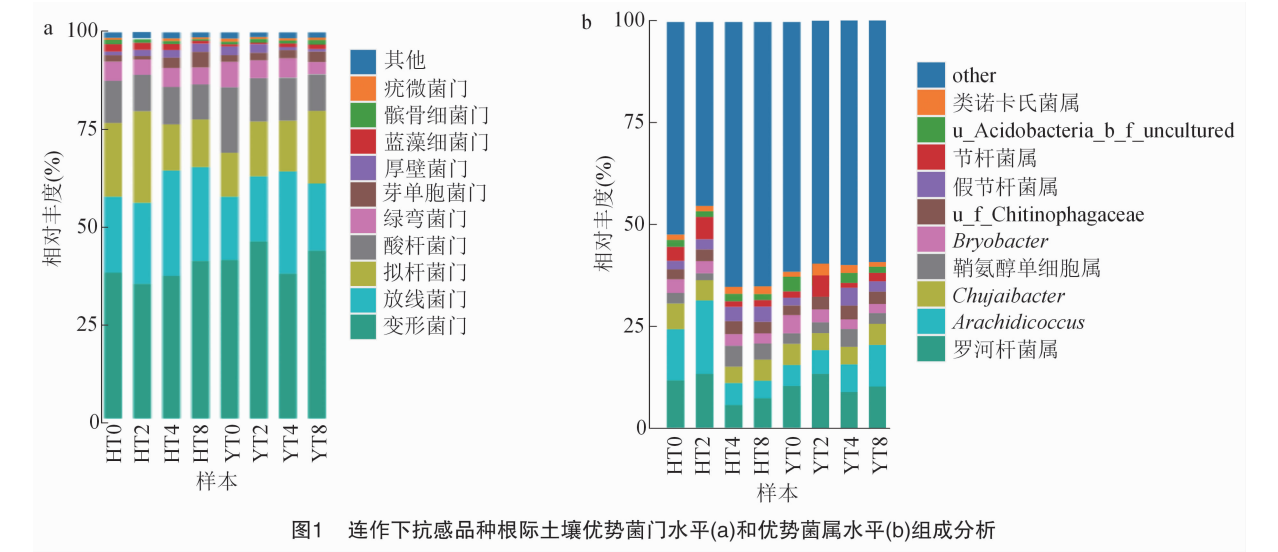


图1 连作下抗感品种根际土壤优势菌门水平(a)和优势菌属水平(b)组成分析

2.3 连作条件下不同抗性品种根际土壤细菌群落多样性对连作的响应

2.3.1 细菌群落 OTU 聚类分析 由图 2 可知,基于 97% 的相似性条件下,32 个样品共得到 24 284 个 OTU。其中,共有细菌 OTU 为 1 466 个。相较于 HT2 样本,HT4、HT8 样本特有 OTU 分别减少 4 个

和 18 个,且均较 HT0 样本多。相较于 YT2 样本,YT4 样本特有 OTU 增加 1 个,YT8 样本特有 OTU 减少 43 个,且 YT2 和 YT4 特有 OTU 均大于 YT0 和 YT8 样本。撂荒土壤条件下,YT0 样本细菌群落特有 OTU 较 HT0 样本增加了 31 个。在相同连作年限下,YT2 样本特有 OTU 数高于 HT2 样本,YT4 样本

特有 OTU 数高于 HT4 样本,但 YT8 样本特有 OTU 数则低于 HT8 样本。综上所述,短期连作条件下烟草根腐病抗病品种根际土壤特有细菌种类较感病品种丰富,长期连作条件下则相反。

2.3.2 细菌群落 α 多样性分析 由表 2 可知,红大

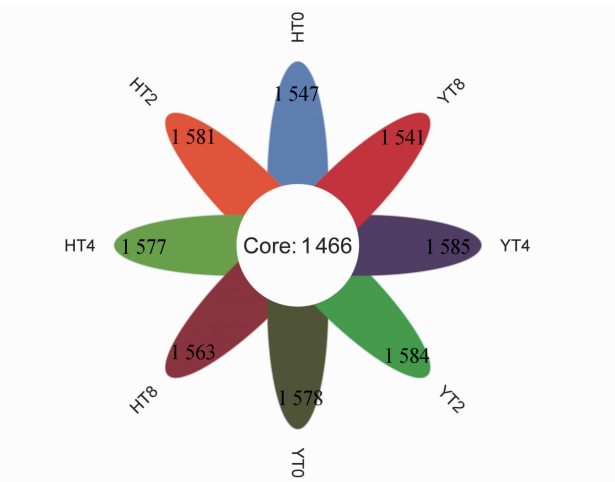


图2 连作条件下烟草根腐病不同抗性品种根际细菌 OTU 聚类分析

根际土壤细菌群落的 ACE、Chaol 指数随连作年限的延长呈先增后降趋势,仅 HT4 样本显著高于 HT2 ($P < 0.05$),与 HT0 和 HT8 差异不显著($P > 0.05$);抗病品种呈先降后升趋势,且均高于 YT0,样本间均无显著性差异($P > 0.05$)。YT2、YT8 样本根际土壤细菌群落的 ACE、Chaol 指数高于 HT2、HT8 样本,而 YT4 则低于 HT4。HT0 到 HT8 样本的 Simpson 指数介于 0.96 ~ 0.99 之间, YT0 到 YT8 样本的 Simpson 指数介于 0.98 ~ 0.99 之间,组间差异较小。感病品种的 Shannon 指数随连作年限的延长呈明显增加趋势,HT4 和 HT8 样本差异不显著($P > 0.05$),但极显著大于 HT0 和 HT2($P < 0.01$)。抗病品种根际土壤细菌群落的 Shannon 指数随连作年限的延长呈降低趋势,组间差异不显著($P > 0.05$)。总体看,连作下,抗病品种根际土壤细菌群落丰度均高于感病品种,撂荒和短期连作抗病品种根际土壤细菌群落多样性高于感病品种,但长期连作下感病品种根际土壤细菌群落多样性略高于抗病品种。

表 2 连作条件下抗感品种根际土壤细菌群落 α 多样性分析 (OTU 水平)

处理	ACE 指数	Chaol 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
HT0	1 446.22 ± 16.89ab	1 455.64 ± 4.34ab	0.98 ± 0.01a	7.69 ± 0.19B
HT2	1 421.40 ± 43.27b	1 414.85 ± 47.54b	0.96 ± 0.01a	6.98 ± 0.35C
HT4	1 482.30 ± 41.82a	1 499.21 ± 36.09a	0.99 ± 0.00a	8.37 ± 0.23A
HT8	1 437.38 ± 15.58ab	1 458.69 ± 9.86ab	0.99 ± 0.00a	8.41 ± 0.09A
YT0	1 454.03 ± 43.97a	1 450.52 ± 45.38a	0.99 ± 0.00a	8.15 ± 0.32a
YT2	1 502.53 ± 35.46a	1 511.70 ± 40.10a	0.99 ± 0.00a	8.26 ± 0.15a
YT4	1 455.29 ± 32.63a	1 465.62 ± 37.89a	0.99 ± 0.00a	8.02 ± 0.12a
YT8	1 494.31 ± 15.09a	1 510.17 ± 8.67a	0.98 ± 0.00a	8.00 ± 0.11a

2.3.3 细菌群落 β 多样性分析 从图 3 - a 主坐标分析法(principal coordinates analysis,简称 PCoA)可以看出,PCoA1 和 PCoA2 排序轴对样品差异性的解释度分别为 29.4% 和 13.1%,两者累计可解释全部样本的 42.5%,说明连作下抗感品种根际土壤细菌群落结构存在差异,且高度复杂,以 HT0 和 HT2 样本距离较近,但与 HT4 和 HT8 距离较远, YT0 和 YT2 距离较近,但与 YT4 和 YT8 距离较远。进一步 Adnois 分析表明,决定性系数 r^2 为 0.669 4, P 值为 0.001,说明抗感品种根际土壤细菌群落组成与连作年限紧密相关。

通过组间差异显著物种分析 (LefSe), 确定了 45 个显著富集的细菌类群(图 3 - b),感病品种有 22 个富集细菌类群,抗病品种有 23 个富集细菌类群。在属水平上,HT0 富集生物标志细菌属为藤黄

杆菌属 (*Rhodanobacteraceae*); HT2 为 *Arachidicoccus*、罗河杆菌属 (*Rhodanobacter*) 和节杆菌属 (*Arthrobacter*); HT4 为鞘氨醇单细胞菌属 (*Sphingomonas*); HT8 为 *u_f_Gemmatimonadaceae*。YT0 富集生物标志细菌属为苔藓菌属 (*Bryobacter*) 和 *u_Acudivacterua_b_f_uncultured*; YT4 为假节杆菌属 (*Pseudarthrobacter*); YT8 为鲍特氏菌属 (*Bordetella*)。

2.4 连作条件下不同抗性品种根际土壤细菌群落功能代谢多样性分析

由表 3 可知,感病品种根际土壤细菌排前 10 位的 MetaCyc 代谢途径相对丰度均随连作年限的延长呈递减趋势,HT2 样本均高于 HT0,但差异不显著, HT4 和 HT8 均小于 HT0,其中 HT4 样本与 HT0 样本差异不显著, HT8 样本细菌排前 10 位的 MetaCyc

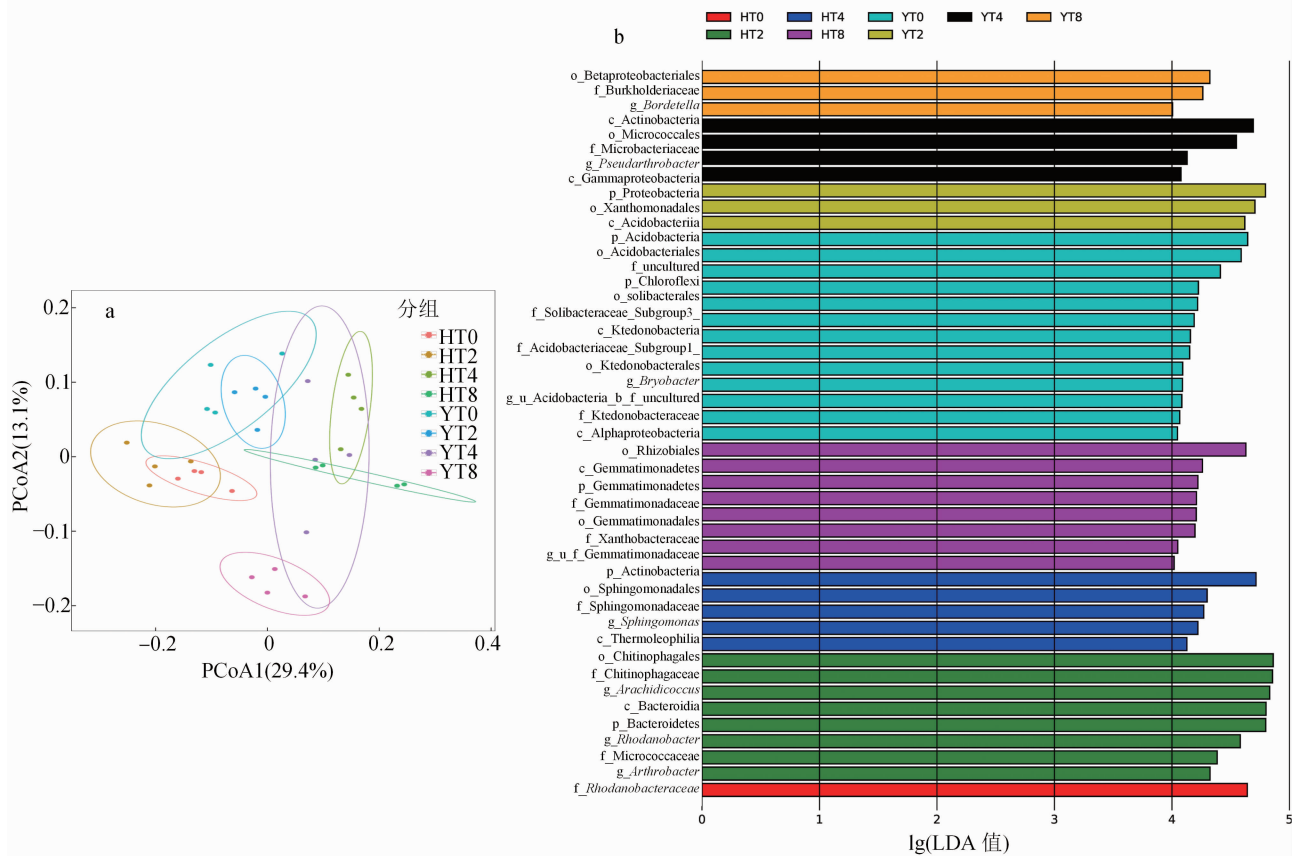


图3 连作条件下烟草抗感品种根际土壤细菌 PCoA (a)和 LefSe (b)

表 3 烟草根腐病抗感品种根际土壤真菌代谢途径对连作的响应

处理	相对丰度									
	有氧呼吸 I (细胞色素 c)	丙酮酸发酵 呈异丁醇 (engineered)	L-缬氨酸 生物合成	支链氨基酸 生物合成的 超途径	磷酸戊糖 途径(非 氧化分支)	L-异亮 氨酸生物 合成的超 途径 I	L-赖氨酸 生物合成 III	磷酸戊糖 途径	磷脂生物 合成超 途径 I (细菌)	卡尔文- 本森- 巴沙姆循环
HT0	160 265.7a	86 267.5A	84 717.9A	74 847.1A	72 033.0A	67 162.7A	63 840.6A	60 556.2A	63 201.5A	59 964.1A
HT2	162 086.0a	88 085.5A	86 532.0A	76 036.5A	75 351.9A	69 537.6A	66 129.5A	61 201.3A	66 172.4A	62 923.3A
HT4	146 259.7ab	87 007.4A	82 455.1A	70 683.2A	64 652.6A	60 132.7AB	57 950.9A	57 276.4A	56 232.9AB	55 438.0A
HT8	121 709.3b	72 837.0B	69 323.4B	58 649.2B	53 377.9B	50 089.4B	48 243.3B	47 848.7B	46 527.3B	45 710.5B
YT0	147 644.3ab	87 695.4a	84 738.4a	72 240.6a	66 682.7a	62 643.3a	58 980.9a	57 341.7ab	57 263.3ab	54 395.8ab
YT2	140 972.5b	82 191.8a	80 058.3a	68 940.7a	63 230.5a	59 961.3a	57 382.1a	54 641.4b	54 972.6b	52 707.3b
YT4	167 186.2a	95 645.4a	91 964.3a	79 586.5a	74 055.4a	68 897.1a	66 153.4a	64 642.7a	65 220.5a	63 133.1a
YT8	165 836.2a	97 165.1a	94 647.0a	79 685.2a	74 063.2a	69 946.7a	66 019.9a	63 628.7a	64175.5ab	61 784.8ab

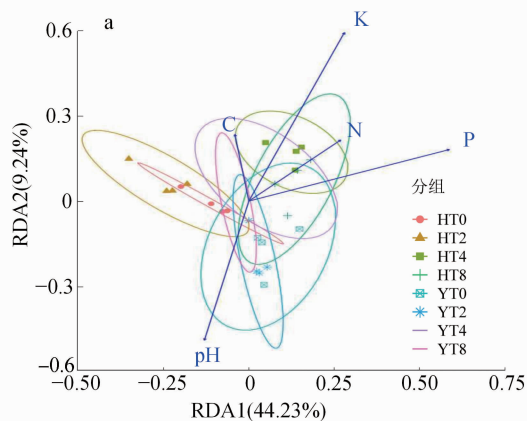
代谢途径相对丰度显著或极显著低于 HT0、HT2 样本;抗病品种随连作年限的延长,根际土壤细菌的有氧呼吸 I、戊糖磷酸途径、磷脂生物合成超通路 I、卡尔文循环 MetaCyc 代谢途径相对丰度呈先增后降趋势,且 YT4 和 YT8 均高于 YT0 样本,但差异不显著,而 YT2 样本小于 YT0,差异不显著。抗病品种根际土壤细菌的丙酮酸发酵呈异丁醇、L-缬

氨酸生物合成、支链氨基酸生物合成的超通路、L-异亮氨酸生物合成的超通路 I MetaCyc 代谢途径相对丰度随连作年限延长呈增加趋势,YT2 样本小于 YT0,而 YT4 和 YT8 均高于 YT0,且处理间无显著性差异。短期连作年限(2 年)下,感病品种代谢相对丰度较抗病品种高,反之,长期(4、8 年)连作下抗病品种较高。

2.5 不同抗性品种根际土壤细菌群落与环境因子的关联分析

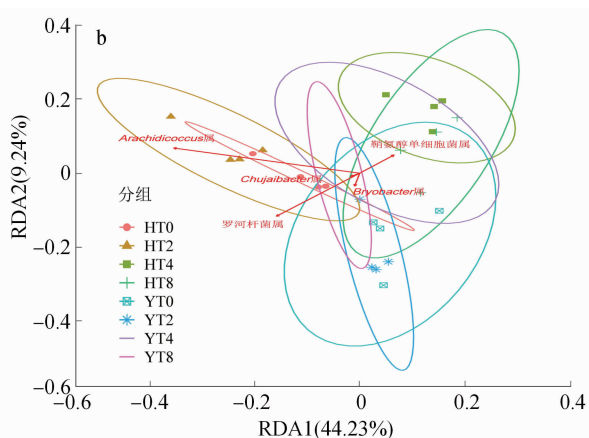
冗余分析(RDA)结果(图4-a)表明,第一、二排序轴累计解释率分别为44.23%、9.24%,累计解释变异量达到53.47%,说明第一、二排序轴能很好地反映出细菌群落与土壤理化性质之间的相关性。进一步 Mantel 检测结果表明,pH 值、有机质含量、碱解氮含量、有效磷含量、速效钾含量环境因子与细菌群落属水平丰度达极显著($r = 0.1706$, $P =$

0.006) 相关。土壤碱解氮、有效磷、速效钾含量与细菌群落丰度相关性较高,且呈正相关,有机质含量与细菌群落分布相关性较小。pH 值和速效钾箭头较长,说明土壤 pH 值和速效钾含量是影响细菌群落分布的主要因子。主要细菌类群罗河杆菌属、*Arachidicoccus*、鞘氨醇单细胞菌属、*Bryobacter* 和 *Chujaibacter* 丰度受土壤 pH 值、碱解氮含量、有效磷含量、速效钾含量影响较大(图4-b)。



图中 pH、C、N、P、K 分别表示土壤 pH 值、有机质含量、碱解氮含量、有效磷含量、速效钾含量

图4 连作条件下烟草根腐病抗感品种根际土壤细菌群落分布与土壤理化性质关联分析



3 结论与讨论

细菌是土壤养分循环的重要的驱动者^[18],具有重要的生态功能^[19-20],在土壤-作物健康维持机制中发挥着重要作用,而群落结构差异与土壤化学性质及系统功能变化有着密切关系。本研究结果表明,烤烟连作改变了土壤细菌群落多样性、组成及功能代谢,降低土壤 pH 值,促进土壤氮、磷富集,烟草根腐病感病品种根际土壤 AN 和 AK 富集效应较抗病品种强,AP 含量相反,这与烟草^[21]、西瓜^[22]、马铃薯^[23]连作土壤研究结论基本一致。

土壤细菌群落多样性对连作的响应取决于土壤、作物类型等。有研究认为,大豆长期连作提高土壤养分含量和细菌群落丰富度和多样性指数^[24],也有研究指出,大豆连作会降低土壤的细菌多样性,改变细菌群落结构^[25],说明土壤细菌群落构建受多种因素的驱动,因为土壤细菌表现出高度多样性,且对环境变化的响应迅速^[26]。本研究中,短期(2年)连作下,感病品种根际土壤细菌群落多样性小于抗病品种,相对丰度累积总和高于抗病品种,而长期连作(8年)下相对丰度累积总和低于抗病品

种,但多样性略高于抗病品种,其原因是否与品种根系分泌物对细菌召集效应有关有待进一步研究。

研究表明,土壤细菌群落结构的差异主要由栽培年限造成^[27]。本研究中,不同连作年限抗病品种根际土壤的变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和绿弯菌门为主要的优势菌门,罗河杆菌属、*Arachidicoccus*、*Chujaibacter* 和鞘氨醇单细胞菌属为主要的优势菌属,其中抗病品种根际土壤变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门丰度均高于感病品种,放线菌门和拟杆菌门丰度整体低于感病品种。变形菌门是土壤细菌类群中丰度最高的细菌之一,广泛分布在土壤中,具有多种代谢种类,参与多种化学循环过程^[28]。绝大多数放线菌为腐生菌,但少数寄生性放线菌则能引起某些动植物的病害^[29]。酸杆菌门对于降解植物残体聚合物具有重要作用^[30],说明抗病品种根际土壤能维持较高丰度有益菌类群。杨尚东等研究认为,细菌丰富度和多样性显著下降,部分优势菌门属占比发生剧变可能是导致甘蔗宿根矮化病发生的重要原因^[31]。而根际土壤细菌群落结构的变化受到植物性状的显著影响^[32],可见根腐病抗病品种能刺激连作土壤中有益菌的增殖,抑

制病原菌增殖,可能是其具有抗根腐病原菌和缓解连作胁迫的原因之一,而当连作年限延长,抗病品种的抗病性出现减弱。

本研究发现随连作年限的延长,烟草根腐病感病品种根际土壤细菌 MetaCyc 数据库的前 10 位代谢反应集丰度均呈降低趋势,且均小于对应抗病品种样本,而抗病品种有氧呼吸 I、戊糖磷酸途径、磷脂生物合成超通路 I、卡尔文循环 MetaCyc 代谢途径丰度呈先增后降趋势,丙酮酸发酵呈异丁醇、L-缬氨酸生物合成、支链氨基酸生物合成的超通路、L-异亮氨酸生物合成的超通路 I MetaCyc 代谢途径丰度随连作年限延长呈增加趋势。细菌群落代谢功能强弱与其群落结构和组成密切相关。研究表明,根际微生物释放脂肪酸以应对胁迫并调节微生物群落结构^[33-34],乙醛酸循环对于三羧酸(TCA)循环和糖异生,以及更重要的是通过代谢储备在幼苗萌发中发挥着重要作用^[35]。说明烟草根腐病抗病品种通过提高根际土壤细菌群落代谢水平以适应病原菌及连作障碍的胁迫,从而表现出较强的抗病性。

本研究主要从根际细菌群落组成、功能及理化性质解析了连作下不同抗性品种的差异,认为抗病品种根际土壤能维持相对高的细菌有益菌群丰度和代谢水平可能是其抗烟草根腐病的机制之一。在真菌群落结构及功能方面,Ao 等研究已发现,连作下烟草根腐病不同抗性品种根际土壤真菌群落富集能力存在差异^[36]。

参考文献:

- [1]秦越,马琨,刘萍.马铃薯连作栽培对土壤微生物多样性的影响[J].中国生态农业学报,2015,23(2):225-232.
- [2]曾维爱,杨昭玥,黄洋,等.长期连作农田土壤细菌群落结构和共现网络拓扑性质对土壤理化性质的响应[J].微生物学报,2022,62(6):2403-2416.
- [3]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.
- [4]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.
- [5]杜杏蓉,李运国,邓小鹏,等.连作对不同类型植烟土壤化学性状、酶活性及细菌群落的影响[J].中国烟草科学,2021,42(5):30-35.
- [6]韦中,王佳宁,江高飞,等.土传病原细菌的生存与致病权衡[J].土壤学报,2022,59(2):324-333.
- [7]Yang M, Cao J D, Zheng Y X, et al. First report of *Fusarium* root rot of tobacco caused by *Fusarium solani* in Lincang, China[J]. Plant

Disease, 2020, 104(5):1541.

- [8]邱睿,白静科,李成军,等.河南烟草镰刀菌的分子鉴定及致病性分析[J].中国烟草学报,2018,24(2):129-134.
- [9]李海江,王正平,宋学立,等.河南省平顶山烟区烟草根腐病发病情况调查及 EM 菌剂防治效果研究[J].农学学报,2017,7(2):25-30.
- [10]田艳艳,王伟杰,苗圃,等.河南烟草镰刀菌的初步分子鉴定[J].烟草科技,2014,47(11):89-92.
- [11]Elodie G, Christophe J, Arnaud B, et al. Root rot disease of legumes caused by *Aphanomyces euteiches* [J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(5):539-48.
- [12]Williamson - Benavides, B A, Dhingra, A. Understanding root rot disease in agricultural crops [J/OL]. Horticulturae, 2021 [2023-04-17]. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7020033>.
- [13]王戈,杨焕文,赵正雄,等.不同抗性烤烟品种根际微生物数量及多样性差异研究[J].植物营养与肥料学报,2012,18(2):451-458.
- [14]杨俊,王星,付丽娜,等.水稻条斑病抗感品种根际微生物群落结构和功能分析[J].生态科学,2019,38(1):17-25.
- [15]涂娜娜,武华周,娄德钊,等.海南青枯病抗、感桑品种根际土壤真菌群落多样性分析[J].热带作物学报,2021,42(12):3671-3677.
- [16]邱睿,李芳芳,徐敏,等.烟草品种对镰刀菌根腐病的抗性鉴定[J].中国烟草学报,2019,25(4):59-63.
- [17]鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [18]Castrillo G, Teixeira P J P L, Paredes S H, et al. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity [J]. Nature, 2017, 543(7646):513-518.
- [19]Li J Y, Zhang Q C, Li Y, et al. Effects of long-term mowing on the fractions and chemical composition of soil organic matter in a semiarid grassland [J]. Biogeosciences, 2017, 14(10):2685-2696.
- [20]Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64(1):807-838.
- [21]敖金成,李永梅,李博.连作烟田健株与感染根腐病烟株根际土壤细菌群落多样性研究[J].江苏农业科学,2022,50(4):198-204.
- [22]Tan Ge, Liu Y J, Peng S G, et al. Soil potentials to resist continuous cropping obstacle: three field cases [J/OL]. Environmental Research, 2021, 200:111319 [2023-04-17]. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111319>.
- [23]Wei X M, Hu Y J, Razavi B S, et al. Rare taxa of alkaline phosphomonoesterase - harboring microorganisms mediate soil phosphorus mineralization [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 131:62-70.
- [24]刘株秀,刘俊杰,徐艳霞,等.不同大豆连作年限对黑土细菌群落结构的影响[J].生态学报,2019,39(12):4337-4346.
- [25]殷继忠,李亮,接伟光,等.连作对大豆根际土壤细菌菌群结构的影响[J].生物技术通报,2018,34(1):230-238.

(下转第 236 页)

- potential of soil organic carbon and total nitrogen stocks of leguminous green manure – based cropping systems on the Loess Plateau of China [J]. *Soil & Tillage Research*, 2019, 191: 108 – 116.
- [8] Steiner C, Teixeira W G, Lehmann J, et al. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil [J]. *Plant and Soil*, 2007, 291 (1/2): 275 – 290.
- [9] Li Z G, Schneider R L, Morreale S J, et al. Woody organic amendments for retaining soil water, improving soil properties and enhancing plant growth in desertified soils of Ningxia, China [J]. *Geoderma*, 2018, 310: 143 – 152.
- [10] Huang P, Zhang J B, Ma D H, et al. Response to discussion of “Atmospheric deposition as an important nitrogen load to a typical agro – ecosystem in the Huang – Huai – Hai Plain” by Huang et al [J]. *Atmospheric Environment*, 2017, 153: 236 – 239.
- [11] 刘佳琪, 彭光爵, 郑重谊, 等. 粉垄及秸秆腐熟有机肥对湖南稻作烟区土壤养分和烤烟产质量的影响 [J]. *西南农业学报*, 2022, 35 (2): 397 – 404.
- [12] 陈美洪, 马 垒, 赵炳梓, 等. 木本泥炭对红黄壤性水田土壤有机质提升和细菌群落组成的影响 [J]. *土壤*, 2020, 52 (2): 279 – 286.
- [13] 其力莫格, 常瑞雪, 张新梅, 等. 培养条件下添加有机废弃物对土壤氮磷养分有效性的影响 [J]. *中国农业大学学报*, 2018, 23 (11): 124 – 132.
- [14] 舒 灏, 石国荣, 谭 军. 外源有机碳对植烟土壤水稳性团聚体稳定性的影响 [J]. *天津农业科学*, 2017, 23 (6): 20 – 23, 26.
- [15] 孙 雪, 张玉铭, 张丽娟, 等. 长期添加外源有机物料对华北农田土壤团聚体有机碳组分的影响 [J]. *中国生态农业学报 (中英文)*, 2021, 29 (8): 1384 – 1396.
- [16] 何甜甜, 王 静, 符云鹏, 等. 等碳量添加秸秆和生物炭对土壤呼吸及微生物生物量碳氮的影响 [J]. *环境科学*, 2021, 42 (1): 450 – 458.
- [17] 于 兵, 吴克宁, 黄 勤. 木本泥炭对谷子物质生产及产量构成的影响研究 [J]. *中国土壤与肥料*, 2018 (5): 102 – 108.
- [18] 陈 硕, 聂海斌, 谭 钧, 等. 木本泥炭促进设施番茄生长和改良土壤的效果 [J]. *中国蔬菜*, 2015, 1 (10): 42 – 46.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [20] 徐赛亚, 徐占军, 毕如田, 等. 添加木本泥炭改良剂对矿区新复垦耕地土壤有机碳组分的影响 [J]. *山西农业科学*, 2021, 49 (3): 324 – 331.
- [21] 马海洋, 陈 清, 石伟琦, 等. 木本泥炭施用对香蕉园土壤养分状况的影响 [J]. *中国南方果树*, 2017, 46 (3): 51 – 56.
- [22] 范业宏, 于向华, 陈丽楠, 等. 木本泥炭土壤调理剂对“早金酥”梨品质的影响 [J]. *北方果树*, 2017 (3): 8 – 10.
- [23] 王梦雅, 符云鹏, 黄婷婷, 等. 等碳量添加不同有机物料对土壤有机碳组分及土壤呼吸的影响 [J]. *中国烟草学报*, 2018, 24 (2): 65 – 73.
- [24] 许伟佳, 陈 林, 李敬王, 等. 秸秆还田配施不同激发剂对潮土有机碳和微生物群落的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2023, 39 (2): 383 – 392.
- [25] Farrell M, Kuhn T K, MacDonald L M, et al. Microbial utilisation of biochar – derived carbon [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 465: 288 – 297.
- [26] 刘晓林. 不同有机物料改良剂对川西北高寒沙地土壤改良效果研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
- [27] 黎嘉成, 高 明, 田 冬, 等. 秸秆及生物炭还田对土壤有机碳及其活性组分的影响 [J]. *草业学报*, 2018, 27 (5): 39 – 50.
- [28] 杨 昕, 王克勤, 宋娅丽, 等. 施用土壤改良剂对坡耕地烤烟土壤有机碳及其组分的影响 [J]. *土壤*, 2023, 55 (1): 178 – 186.
- [29] 马雪莲. 秸秆还田配施氮肥对麦田土壤养分、微生物群落结构及酶活性的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [30] 赵文慧, 马 垒, 徐基胜, 等. 秸秆与木本泥炭短期施用对潮土有机质及微生物群落组成和功能的影响 [J]. *土壤学报*, 2020, 57 (1): 153 – 164.
- [31] 李媛媛, 徐婷婷, 艾 喆, 等. 锦鸡儿属植物功能性状与根际土壤细菌群落结构的关系 [J]. *草业学报*, 2022, 31 (7): 38 – 49.
- [32] Bi B Y, Wang K, Zhang H, et al. Plants use rhizosphere metabolites to regulate soil microbial diversity [J]. *Land Degradation & Development*, 2021, 32 (18): 5267 – 5280.
- [33] Venugopal S C, Chanda B, Vaillancourt L, et al. The common metabolite glycerol – 3 – phosphate is a novel regulator of plant defense signaling [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4 (8): 746 – 749.
- [34] Eastmond P J, Graham I A. Re – examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds [J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6 (2): 72 – 78.
- [35] Ao J C, Wang Z, Yang Q G, et al. Differentially enriched fungal communities in root rot resistant and susceptible varieties of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) under continuous monoculture cropping [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1036091.

(上接第 228 页)

- [26] Avidano L, Gamalero E, Cossa G P, et al. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators [J]. *Applied Soil Ecology*, 2005, 30 (1): 21 – 33.
- [27] 李 茜, 徐瑞蔓, 陈 迪, 等. 不同栽培年限人参根际土壤细菌群落与土壤理化性质和酶活性的相关性 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2022, 28 (2): 313 – 324.
- [28] 余炎炎, 李梦莎, 刘啸林, 等. 大兴安岭典型永久冻土土壤细菌群落组成和多样性 [J]. *微生物学通报*, 2020, 47 (9): 2759 – 2770.
- [29] 李文均, 职晓阳, 唐蜀昆. 我国放线菌系统学研究历史、现状及未来发展趋势 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40 (10): 1860 – 1873.
- [30] 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.
- [31] 杨尚东, 郭 霜, 任奎喻, 等. 甘蔗宿根矮化病感病与非感病株根际土壤生物学性状及细菌群落结构特征 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25 (6): 910 – 916.