

# 不同发病率烟田根际土壤微生物群落组成研究

丁亚茹<sup>1</sup>, 陈玉蓝<sup>2</sup>, 林正全<sup>3</sup>, 拓阳阳<sup>4</sup>, 李斌<sup>4\*</sup>, 李红丽<sup>1\*</sup>, 王岩<sup>1</sup>

(1. 郑州大学化工与能源学院, 郑州 450001; 2. 四川省烟草公司凉山州公司, 四川 西昌 615000; 3. 四川省烟草公司凉山州公司宁南分公司, 四川 宁南 615400; 4. 四川省烟草公司凉山州公司德昌分公司, 四川 德昌 615500)

**摘要:** 为有效防治土传病害, 利用 16S rRNA 和 18S rRNA 基因测序分析了成熟期健康与易感病烟田根际土壤微生物群落组成差异, 并研究了微生物与理化性质、酶活性之间的相关性。结果表明, *norank\_p\_Saccharibacteria*、*norank\_o\_Gaiellales*、*Nocardioideis*、*norank\_o\_Sordariales* 和 *Pseudallescheria* 是造成健康与易感病烟田根际土壤微生物群落组成差异的关键物种。土壤有机质、全磷、全氮、有效磷、碱解氮、蛋白酶、脲酶、过氧化氢酶和磷酸酶在健康与易感病烟田中差异极显著。烟田根际微生物与土壤性质之间的相关性表现为, *Nocardioideis* 与有机质 ( $r=0.943$ ) 和磷酸酶 ( $r=0.941$ ) 极显著正相关, 与过氧化氢酶 ( $r=-0.880$ ) 和蛋白酶 ( $r=-0.829$ ) 显著负相关, *norank\_o\_Sordariales* 与有机质 ( $r=0.829$ )、全磷 ( $r=0.943$ )、碱解氮 ( $r=0.943$ ) 和脲酶 ( $r=0.943$ ) 极显著正相关, 与过氧化氢酶 ( $r=-0.941$ ) 极显著负相关。研究结果为通过调控微生物群落结构防治烟草土传病害提供了理论依据。

**关键词:** 根际土壤; 群落组成; 理化性质; 酶活性; 相关性

## Study on Microbial Community Composition in Rhizosphere Soil of Tobacco Fields with Different Disease Incidence Rates

DING Yaru<sup>1</sup>, CHEN Yulan<sup>2</sup>, LIN Zhengquan<sup>3</sup>, TUO Yangyang<sup>4</sup>, LI Bin<sup>4\*</sup>, LI Hongli<sup>1\*</sup>, WANG Yan<sup>1</sup>

(1. College of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. Liangshan Prefecture Company of Sichuan Tobacco Company, Xichang, Sichuan 615000, China; 3. Ningnan Branch of Liangshan Prefecture Company of Sichuan Tobacco Company, Ningnan, Sichuan 615400, China; 4. Sichuan Provincial Tobacco Company Liangshan Company Dechang Branch, Dechang, Sichuan 615500, China)

**Abstract:** To effectively prevent the occurrence of soil-borne diseases, 16S rRNA and 18S rRNA gene sequences were used to analyze the differences in microbial community composition between rhizosphere soils of healthy and susceptible tobacco fields during the mature period, and the correlations between physicochemical properties, enzyme activity and microorganisms were studied. The results showed that *norank\_p\_Saccharibacteria*, *norank\_o\_Gaiellales*, *Nocardioideis*, *norank\_o\_Sordariales* and *Pseudallescheria* were the key genus causing differences in microbial community composition between healthy and susceptible tobacco fields. There were significant differences in organic matter, total phosphorus, total nitrogen, available phosphorus, alkaline nitrogen, protease, urease, catalase and phosphatase in the soils of healthy and susceptible tobacco fields. And the correlations between rhizosphere microbial and soil properties in tobacco fields are the following: *Nocardioideis* was significantly positively correlated with organic matter ( $r=0.943$ ), phosphatase ( $r=0.941$ ), was significantly negatively correlated with catalase ( $r=-0.880$ ) and protease ( $r=-0.829$ ). *norank\_o\_Sordariales* was significantly positively correlated with organic matter ( $r=0.829$ ), total phosphorus ( $r=0.943$ ), alkaline nitrogen ( $r=0.943$ ), urease ( $r=0.943$ ), and extremely significantly negative correlation with catalase ( $r=-0.941$ ). The results provide a theoretical basis for controlling soil-borne diseases of tobacco by regulating the structure of microbial communities.

**Keywords:** rhizosphere soil; community composition; physicochemical properties; enzyme activity; correlation

烟草作为四川省凉山州的支柱性产业, 越来越受到重视。但近年来由于长期连作, 烟田土传病害越发严重, 特别是黑胫病、青枯病、根腐病和根结线虫, 直接影响烟叶品质及农民收入<sup>[1]</sup>。虽有大量关于烟田土传病害的研究, 但以往关注点主要在种

植方式、烤烟品种、有益菌筛选等方面<sup>[2-4]</sup>, 而病害的发生受多因素的影响, 关键还是土壤。

土壤是微生物生存的大本营, 健康土壤中微生物可增加养分利用率、产生生长激素和抗病因子, 进而促进植物生长, 提高植物抗病性<sup>[5]</sup>。但微生物

基金项目: 四川省烟草公司凉山州公司科技项目“凉山州烟田健康土壤微生物特征、绿色调控技术及其推广”(LSYC201803)

作者简介: 丁亚茹(1992-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事土壤微生物方面的研究。E-mail: 1730026359@qq.com

\*通信作者, E-mail: 871108561@qq.com; lihonglihn@zzu.edu.cn

收稿日期: 2019-07-11

修回日期: 2019-12-06

群落结构受土壤环境因素的影响较大<sup>[6-7]</sup>,了解土壤微生物群落结构特征及其与环境之间的关系显得尤为重要。为此,本研究通过对比健康烟田(未发病或零星发病)与易感病烟田(以黑胫病为主的土传病害,前两年发病率分别为52%和50%)根际土壤微生物群落组成特征,分析其与环境因子之间的关系,探讨土壤微生物群落与土传病害的内在联系,为定向调控土壤微生物群落结构和提高土壤质量提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 烟田概况与取样

取样地点为四川凉山州德昌县,经度102°11'17",纬度27°25'40",海拔1560 m,烤烟品种为云烟87。2016—2017年发病率如表1所示,根据发病率,健康烟田和易感病烟田编号分别为H

和S,每块烟田面积约220 m<sup>2</sup>,土质为砂土,2018年前茬为油菜,于2018年3月26日(移栽前),在每块烟田随机选5个点,取0~20 cm土样,基本理化性状如表2所示。于2018年7月26日取成熟期土样,并按5点取样法选取烟株,抖土法采集根际土壤,将土样混匀,装袋编号,每块烟田3个平行样。部分土壤装离心管,-20℃保存,送上海美吉生物医药科技有限公司进行微生物多样性基因测序,部分土壤风干研磨后过不同孔径筛,用于理化性状及酶活性的测定。

表1 供试烟田2016—2017年发病率

年份 Year	根腐病		青枯病		黑胫病	
	H	S	H	S	H	S
2016	4	41	5	11	2	39
2017	2	33	1	17	0	24

表2 供试烟田理化性状

土壤样本 Soil sample	pH	有机质 Organic matter/ (g·kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total nitrogen/ (g·kg <sup>-1</sup> )	全磷 Total phosphorus/ (g·kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Alkaline nitrogen/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Effective phosphorus/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Quick-acting potassium/ (mg·kg <sup>-1</sup> )
H	4.51±0.01bB	30.04±0.32bB	1.62±0.12bB	0.57±0.01bB	143.5±5.6b	88.09±4.20bB	147.21±5.50bB
S	4.67±0.01aA	37.32±0.01aA	2.09±0.02aA	0.97±0.02aA	155.4±4.90a	233±4.20aA	475.18±6.83aA

注:表中数据为平均值±标准差,不同小写字母表示处理间在0.05水平上差异显著,不同大写字母表示处理间在0.01水平上差异显著,下同。

Note: The data in the table are mean ± standard deviation. Different lowercase letters indicate significant difference in treatments at 0.05 level, different capital letter indicate significant difference in treatments at 0.01 level. The same below.

### 1.2 测定方法

1.2.1 土壤理化性质 土壤pH、有机质、全氮、全磷、全钾、速效钾、有效磷和碱解氮含量参照文献[8]的方法测定。

1.2.2 土壤酶活性 土壤蛋白酶活性的测定采用福林试剂比色法<sup>[9]</sup>;蔗糖酶活性测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[10]</sup>;脲酶活性的测定方法为靛酚蓝比色法<sup>[10]</sup>;过氧化氢酶活性测定采用容量法<sup>[9]</sup>;磷酸酶活性采用对硝基苯磷酸二钠比色法测定<sup>[11]</sup>。

1.2.3 微生物基因测序 土壤微生物基因测序采用第二代高通量测序技术,利用多样性基因测序对烟株土壤样本进行细菌(16S rRNA)<sup>[12]</sup>和真菌(18S rRNA)<sup>[13]</sup>序列检测。

### 1.3 数据处理

试验数据采用WPS 2019进行计算处理,利用SPSS 22软件进行方差分析,显著性检验采用独立

样本 $T$ 检验。基因测序利用上海美吉生物医药科技有限公司平台软件进行分析。

## 2 结果

### 2.1 健康与易感病烟田根际土壤理化性质及酶活性

健康与易感病烟田根际土壤理化性质和酶活性如表3所示,从表3可看出,健康与易感病烟田根际土壤酶活性和理化性质存在差异,其中极显著性差异( $p < 0.01$ )有蛋白酶、脲酶、过氧化氢酶、磷酸酶活性,有机质、全磷、全氮、有效磷和碱解氮含量,且结果显示,除蛋白酶、过氧化氢酶活性及全钾含量以外,其余都是易感病烟田高于健康烟田。

### 2.2 根际土壤微生物在门水平上的群落组成分析

土壤微生物群落组成分析主要反映分类学水平上的群落结构及相对丰度,图1为健康与易感病烟田根际土壤细菌1(a)和真菌1(b)在门水平上的

表 3 健康与易感病烟田根际土壤酶活性和理化性质

Table 3 Enzyme activities and physicochemical properties of rhizosphere soil in healthy and susceptible tobacco fields

类别	相关指标	健康烟田	易感病烟田
Category	Related indicators	Healthy tobacco fields	Susceptible tobacco fields
酶活性	蛋白酶 Protease/( $\mu\text{g tyrosine}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	427.52 $\pm$ 5.14aA	303.42 $\pm$ 21.68bB
	脲酶 Urease/( $\mu\text{g NH}_3\text{-N}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	303.81 $\pm$ 1.58bB	565.14 $\pm$ 19.98aA
	蔗糖酶 Sucrase/( $\text{mg glucose}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	13.38 $\pm$ 4.14a	16.20 $\pm$ 0.21a
	过氧化氢酶 Catalase/( $\text{mL KMnO}_4\cdot\text{g}^{-1}$ )	8.94 $\pm$ 0.05aA	7.6 $\pm$ 0.01bB
	磷酸酶/( $\mu\text{g p-nitrophenol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	32.37 $\pm$ 0.01bB	53.95 $\pm$ 5.22aA
理化性质	pH	5.31 $\pm$ 0.01b	5.54 $\pm$ 0.01a
	有机质 Organic_matter/( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	24.84 $\pm$ 0.38bB	33.75 $\pm$ 0.95aA
	全磷 Total phosphorus/( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	0.65 $\pm$ 0.02bB	1.17 $\pm$ 0.05aA
	全钾 Total potassium/( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	1.18 $\pm$ 0.34a	1.15 $\pm$ 0.01a
	全氮 Total nitrogen/( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	1.48 $\pm$ 0.06bB	2.02 $\pm$ 0.03aA
	有效磷 Effective phosphorus/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	61.90 $\pm$ 0.17bB	114.27 $\pm$ 1.93aA
	速效钾 Quick-acting potassium/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	468.72 $\pm$ 7.10a	576.68 $\pm$ 102.85a
	碱解氮 Alkaline nitrogen/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	84.35 $\pm$ 1.75bB	115.85 $\pm$ 2.45aA

群落组成。由图 1(a)可知,变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)总丰度在健康烟田与易感烟田分别占细菌总量的 72.65%、71.59%,而厚壁菌门(Firmicutes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、糖化菌门(Saccharibacteria)、

拟杆菌门(Bacteroidetes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)所占比例较低,其中健康烟田根际土壤中糖化菌门相对丰度比易感病烟田高 62.75%,而厚壁菌门和芽单胞菌门在易感病烟田相对丰度分别比健康烟田高 31.89%和 46.23%。

由图 1(b)可知,健康与易感病烟田根际土壤真菌在门水平上有 6 种优势菌种,相对丰度最高的子囊菌门(Ascomycota),在健康与易感病烟田根际土壤相对丰度分别为 77.03%和 82.03%,健康烟田中担子菌门(Basidiomycota)、norank\_k\_Fungi、unclassified\_k\_Fungi 和壶菌门(Chytridiomycota)相对丰度依次比易感病烟田高 20.50%、65.41%、29.41%和 8.29%,易感病烟田的纤毛门(Ciliophora)比健康烟田高 8.04%。

### 2.3 根际土壤微生物在属水平上的群落组成分析

属水平上,健康与易感病烟田根际土壤微生物群落组成如图 2 所示,由图 2(a)可知,健康烟田中细菌相对丰度超过 2%的有鞘脂单胞菌属(Sphingomonas)、norank\_p\_Saccharibacteria、芽孢杆菌属(Bacillus)、unclassified\_f\_Micrococcacea、慢生根瘤菌属(Bradyrhizobium)和寡养单胞菌属(Stenotrophomonas),其中 norank\_p\_Saccharibacteria、unclassified\_f\_Micrococcacea 和 Stenotrophomonas 在易感病烟田根际土壤相对含量分别比健康烟田低 38.56%、61.28%和 97.01%,而 Sphingomonas 和 Bacillus 分别比健康烟田高 27.31%和 42.91%。值得注意的是,norank\_o\_Gaiellales 和类诺卡氏菌属(Nocardioides)在健康烟田仅为 1.94%

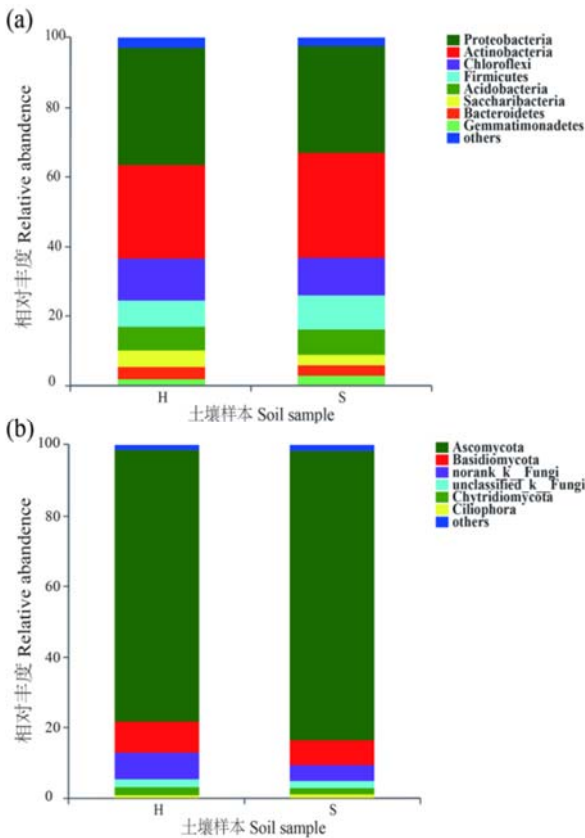


图 1 健康与易感病烟田根际土壤细菌 (a) 与真菌 (b) 在门水平群落组成

Fig. 1 Composition at the phylum level of the community about bacteria (a) and fungi (b) in rhizosphere soil of healthy and susceptible tobacco fields

和 0.64%，而在易感病烟田中其含量为 3.56%和 2.42%。

由图 2 (b) 可见，根际土壤中相对丰度 > 3%的真菌有 *norank\_o\_Sordariales*、*norank\_o\_Hyphocreales*、*unclassified\_f\_Trichocomaceae*、*norank\_k\_Fungi*、镰刀菌属(*Fusarium*)、*Boeremia*、*norank\_o\_Tremellales*、*unclassified\_o\_Sordariales*、*unclassified\_o\_Pleosporales*和旋孢腔属(*Cochliobolus*)。通过对比发现，*norank\_o\_Tremellales* 在健康烟田含量比易感病烟田高 64.69%。而 *norank\_o\_Sordariales*、*unclassified\_f\_Trichocomaceae*和*Fusarium*均属于子囊菌门，其在易感病烟田的相对丰度较健康烟田分别高 65.82%、54.62%和 26.00%。

枯病病原菌数量几乎相同，根腐病病原菌属则表现出极显著性差异(表 4)。

表 4 移栽前与成熟期病原菌的相对丰度

Table 4 Relative abundance of pathogenic bacteria before transplantation and at the maturity stage %

病害种类 Disease types	病原菌 Pathogenic bacteria	烟田 Tobacco field	移栽前 Before transplantation	成熟期 Maturity period
青枯病 Bacterial wilt	<i>Ralstonia</i>	H	0.02 ± 0.01A	0.05 ± 0.03A
		S	0.02 ± 0.01A	0.07 ± 0.02A
根腐病 Root rot	<i>Fusarium</i>	H	2.41 ± 0.35B	5.22 ± 0.55A
		S	3.98 ± 0.30A	6.59 ± 1.21A

为找出细菌和真菌在健康与易感病土壤之间的差异性物种，将细菌和真菌在属水平上的相对丰度数据运用 Student's T 检验进行差异分析，获取显著性差异物种。按物种丰度降序，列出了在健康与易感病土壤之间存在显著差异的前 5 种菌属(图 3)。前 5 种具有显著差异的细菌分别是 *norank\_p\_Saccharibacteria*、*Bacillus*、*norank\_o\_Gaiellales*、*Nocardioideis*和*norank\_o\_Acidimicrobiales*(图 3a)。其中，健康烟田中 *norank\_p\_Saccharibacteria* 相对丰度显著高于易感病烟田，而 *Nocardioideis* 相对丰度在健康与易感病烟田差异明显，*norank\_o\_Gaiellales* 显著性差异最大 ( $p < 0.001$ )，其可能是造成健康与易感病烟田群落组成差异的关键物种。真菌在属水平上，具有显著差异的前 5 种菌属分别是 *norank\_o\_Sordariales*、*norank\_o\_Tremellales*、*norank\_p\_Ascomycota*、假霉样真菌属(*Pseudallescheria*)和*norank\_o\_Chaetothyriales*(图 3b)。其中，*norank\_o\_Sordariales* 在易感病烟田占据显著优势，*Pseudallescheria* 相对丰度虽不高，但达到了极显著差异。

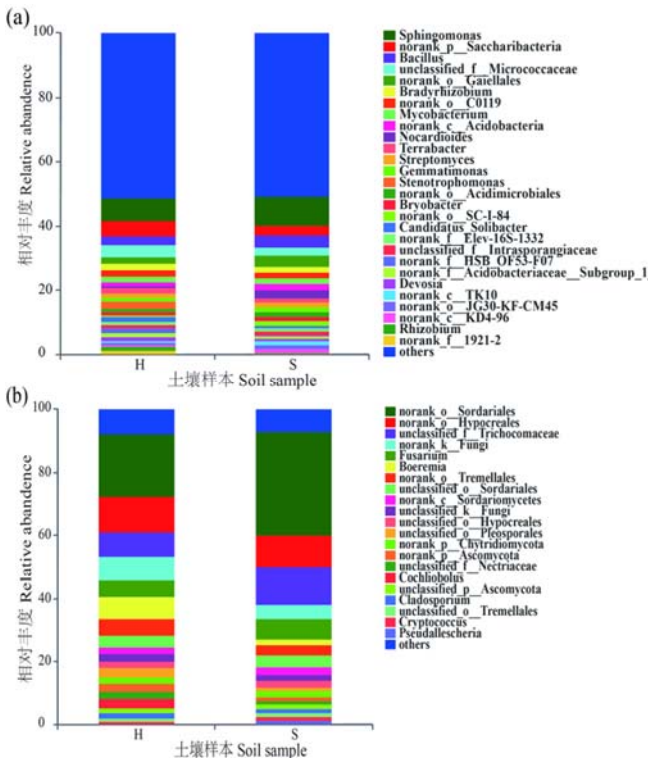


图 2 健康与易感病烟田根际土壤细菌 (a) 与真菌 (b) 在属水平群落组成

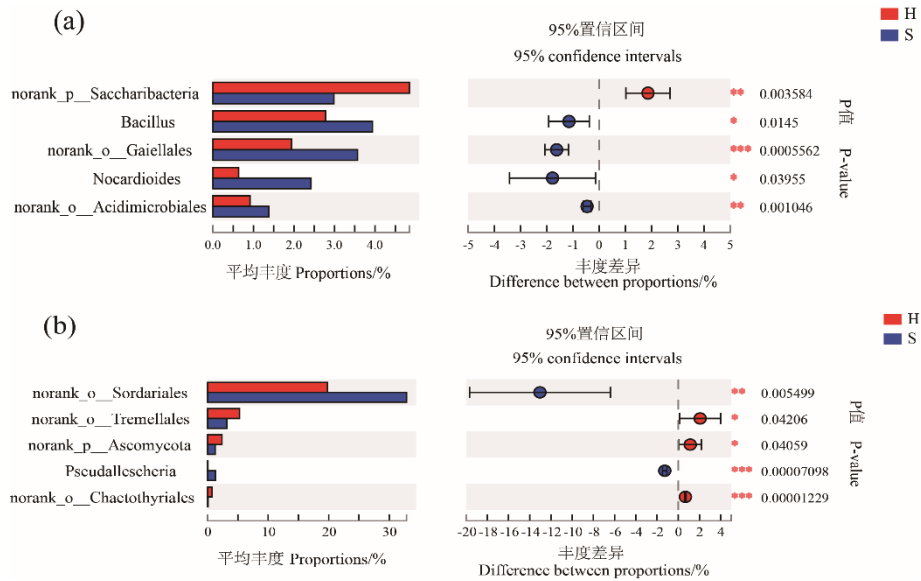
Fig. 2 Composition at the genus level of the community about bacteria (a) and fungi (b) in rhizosphere soil of healthy and susceptible tobacco fields

2.3.1 根际土壤微生物在属水平上组间差异性检验 属水平上，根腐病与青枯病的病原菌在健康和易感病烟田的相对丰度：*Fusarium*(5.23%、6.59%)和芳尔氏属(*Ralstonia*)(0.05%、0.07%)，以上两种菌在健康烟田与易感病烟田中并不存在显著差异。同时发现，移栽前，健康烟田与易感病烟田青

2.3.2 根际土壤微生物差异物种与理化性质、酶活性之间的相关性 为探讨影响健康与易感病烟田根际土壤微生物群落组成差异的因素，将显著差异物种与表现出极显著差异的土壤环境因子进行 Spearman 相关性分析(表 5 和 6)。发现，*norank\_p\_Saccharibacteria* 与全氮和有效磷极显著负相关，与蛋白酶显著正相关。*norank\_o\_Gaiellales* 与有机质和磷酸酶极显著正相关，与过氧化氢酶极显著负相关。*Nocardioideis* 与有机质和磷酸酶极显

著正相关，与过氧化氢酶和蛋白酶显著负相关。  
*norank\_o\_Sordariales* 与有机质、全磷、碱解氮和脲酶极显著正相关，与过氧化氢酶极显著负相关。

*Pseudallescheria* 与磷酸酶显著正相关，与蛋白酶显著负相关，表明土壤环境与土壤微生物群落结构之间存在一定关系。



注：\* 表示  $0.01 < p < 0.05$ ，\*\* 表示  $0.001 < p < 0.01$ ，\*\*\* 表示  $p < 0.001$ ，下同。

Note: \* indicates  $0.01 < p < 0.05$ , \*\* indicates  $0.001 < p < 0.01$ , \*\*\* indicates  $P < 0.001$ , The same below.

图 3 健康与易感病烟田根际土壤细菌 (a) 与真菌 (b) 在属水平组间群落组成差异性检验

Fig. 3 Species difference analysis of microbial community about bacteria (a) and fungi (b) on the genus level in rhizosphere soil of healthy and susceptible tobacco fields

表 5 差异菌属与根际土壤理化性质的 Spearman 相关性分析

Table 5 Spearman correlation analysis between differentiated genus and physicochemical properties in rhizosphere soil

微生物种类	菌种名称	有机质	全氮	全磷	碱解氮	有效磷
Microbial species	Species name	Organic matter/ (g·kg <sup>-1</sup> )	Total nitrogen/ (g·kg <sup>-1</sup> )	Total phosphorus/ (g·kg <sup>-1</sup> )	Alkaline nitrogen/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Effective phosphorus/ (mg·kg <sup>-1</sup> )
细菌	<i>norank_p_Saccharibacteria</i>	-0.600	-0.943**	-0.714	-0.714	-0.943**
	<i>Bacillus</i>	0.771	0.771	0.886*	0.886*	0.771
	<i>norank_o_Gaiellales</i>	1.000***	0.543	0.771	0.771	0.543
	<i>Nocardioiodes</i>	0.943**	0.600	0.714	0.714	0.600
	<i>norank_o_Acidimicrobiales</i>	0.943**	0.600	0.829*	0.829*	0.600
真菌	<i>norank_o_Sordariales</i>	0.829*	0.714	0.943**	0.943**	0.714
	<i>norank_o_Tremellales</i>	-0.829*	-0.714	-0.600	-0.600	-0.714
	<i>norank_p_Ascomycota</i>	-0.771	-0.771	-0.886*	-0.886*	-0.771
	<i>Pseudallescheria</i>	0.771	0.771	0.657	0.657	0.771
	<i>norank_o_Chaetothyriales</i>	-0.771	-0.771	-0.657	-0.657	-0.771

表 6 差异菌属与根际土壤酶活性的 Spearman 相关性分析

Table 6 Spearman correlation analysis between differentiated genus and enzyme activities in rhizosphere soil

微生物种类	菌种名称	磷酸酶 Phosphatase/	过氧化氢酶 Catalase/	脲酶 Urease/	蛋白酶 Protease/
Microbial species	Species name	( $\mu\text{g p-nitrophenol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	( $\text{mL KMnO}_4\cdot\text{g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g NH}_3\cdot\text{N}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	( $\mu\text{g tyrosine}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )
细菌	<i>norank_p_Saccharibacteria</i>	-0.759	0.698	-0.714	0.829*
	<i>Bacillus</i>	0.759	-0.880*	0.886*	-0.657
	<i>norank_o_Gaiellales</i>	0.941**	-0.941**	0.771	-0.771
	<i>Nocardioiodes</i>	0.941**	-0.880*	0.714	-0.829*
	<i>norank_o_Acidimicrobiales</i>	0.880	-0.941**	0.829*	-0.714
真菌	<i>norank_o_Sordariales</i>	0.759	-0.941**	0.943**	-0.600
	<i>norank_o_Tremellales</i>	-0.941**	0.759	-0.600	0.943**
	<i>norank_p_Ascomycota</i>	-0.759	0.880*	-0.886*	0.657
	<i>Pseudallescheria</i>	0.880*	-0.759	0.657	-0.886*
	<i>norank_o_Chaetothyriales</i>	-0.880*	0.759	-0.657	0.886*

### 3 讨论

本研究结果表明,健康与易感病烟田根际土壤细菌在门水平优势菌组成基本相似。变形菌门、放线菌门和绿弯菌门为优势菌群,这与前人测定的烟田土壤中优势菌一致<sup>[14-15]</sup>。放线菌,大多为腐生细菌,能够将动植物残骸腐烂,但少数寄生性放线菌则能引起某些动植物病害<sup>[16-17]</sup>,本试验结果显示,与健康烟田相比,放线菌门中的 *norank\_o\_Gaiellales* 和 *Nocardioides* 在易感病烟田占显著优势,且都与有机质有极强的正相关性,李盼盼等<sup>[18]</sup>研究发现,有机质含量过高,可能会影响烟株的生长,有机质含量越高,可能越有利于潜在病原菌的生长,导致有益菌相对丰度下降,进而影响植株的正常生长,例如,糖化细菌门中 *norank\_p\_Saccharibacteria* 相对丰度在易感病烟田显著下降,糖化细菌可利用微生物处理的植物源碳为自身提供能量,通过与有害微生物竞争改善土壤质量<sup>[19-21]</sup>。真菌中子囊菌门在易感病烟田中占据明显优势,其中,易感病烟田中 *norank\_o\_Sordariales* 相对丰度较健康烟田高 54.62%,与全磷和碱解氮有极强的相关性,该菌属于子囊菌门粪壳菌纲 (*Sordariomycetes*),粪壳菌纲中含有较多植物病原菌,能够侵染植物根系,引发植物病害<sup>[22]</sup>,从侧面反映出合理控制土壤养分对于减少潜在病原菌的富集至关重要。陈乾锦等<sup>[14]</sup>在研究青枯病时发现, *Pseudallescheria* 在发病土壤中丰度较高,且是健康土壤的 2 倍,而本研究结果显示, *Pseudallescheria* 虽在健康与易感病烟田表现出极显著性差异,但相对丰度较低,考虑到易感病烟田未出现发病情况,推测 *Pseudallescheria* 的丰度与青枯病的发生存在一定的联系。2018 年易感病烟田未发病,但易感病烟田青枯病病原菌属 *Ralstonia* 及根腐病病原菌属 *Fusarium* 含量均高于健康烟田(虽未达到显著水平)。总之,易感病烟田中含有较多的潜在病原菌,虽未产生病害,但并不能说明其已向健康烟田转化,可能与气候有一定的关系,需进一步分析。

同时,在健康烟田根际土壤中存在较多的有益菌,比如 *unclassified\_f\_Micrococcaceae* 和 *Bradyrhizobium*,这两种菌虽未达到显著水平,但其相对丰度较易感病烟田高。相关研究证实,

*unclassified\_f\_Micrococcaceae*,放线菌门下的微球菌科,感染青枯病的土壤中 *unclassified\_f\_Micrococcaceae* 相对丰度显著低于健康土壤<sup>[14]</sup>; *Bradyrhizobium*,一种固氮菌,在患青枯病烟株根际土壤中占据显著优势<sup>[23]</sup>,与本研究结论相悖,但说明这两种菌同样与青枯病存在一定的关系,具体关系有待进一步探讨。易感病烟田根际土壤中也含有有益菌,比如厚壁菌门下的 *Bacillus*。众多文献中提到 *Bacillus* 对黑胫病及根腐病有较好的防治作用<sup>[15,24-26]</sup>。同时,它还是高效的解磷微生物,为植物提供磷素营养<sup>[27-28]</sup>,从侧面证实了易感病烟田根际土壤中有效磷和磷酸酶活性较高的原因。

众所周知,土传病害的发生需满足高温高湿的条件,比如,黑胫病最适宜温度为 24~25 °C,当相对湿度达到 80%以上且保持 3~5 d,才会出现发病高峰期;青枯病,30~35 °C 为最适宜温度,相对湿度达 90%以上且保持 7~10 d,烟株才会出现典型症状<sup>[29]</sup>。而 2018 年四川凉山州德昌县并未出现高热高湿气候,有益菌占领主要生态位,抑制了病原菌繁殖,潜在病原菌没有适宜的生长环境,易感病烟田土壤微生物达到了动态平衡,减轻了潜在病原菌对烟株的影响,最终使易感病烟田几乎没有发病。今后应持续跟进调查,进一步研究烟田发病程度与土壤微生物菌群的关系。

### 4 结论

健康与易感病烟田根际土壤微生物群落组成存在差异,易感病烟田中存在较多潜在病原菌。土壤性质会影响微生物的群落结构,可通过调控措施改善土壤性质及微生物群落结构,减少病原菌定殖,有效防控烟田土传病害,实现易感病烟田向健康烟田转化的目的。

#### 参考文献

- [1] 张笑宇,段宏群,王闯灵,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,2018,278(6):90-96. ZHANG X Y, DUAN H Q, WANG M L, et al. Effects of rotation and continuous cropping on soil microflora and diversity in tobacco field[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2018, 278(6): 90-96.
- [2] NIU J J, CHAO J, XIAO Y H, et al. Insight into the effects of different cropping systems on soil bacterial community and tobacco bacterial wilt rate[J]. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(1): 3-11.
- [3] 桑正林,杨顺强,武婷,等.不同抗性烤烟根系分泌单糖特征及其对黑胫病菌的化感效应[J].西北植物学报,2018,38(4):698-705.

- SANG Z L, YANG S Q, WU T, et al. Monosaccharide secreted by root of different resistant flue-cured tobacco and its allelopathy to phytophthora parasitica var. nicotiana[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2018, 38(4): 698-705.
- [4] 杨珍福, 吴毅歆, 陈映岚, 等. 烟草拮抗内生细菌的筛选与防病促生长效果[J]. 中国烟草科学, 2014, 35 ( 6 ) : 48-53.
- YANG Z F, WU Y X, CHEN Y L, et al. Screening, growth promotion, and endophytic bacteria in tobacco [J]. China Tobacco Science, 2014, 35 (6): 48-53.
- [5] 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, 1(1): 44382.
- [6] 施河丽, 孙立广, 谭军, 等. 生物有机肥对烟草青枯病的防治及对土壤细菌群落的影响[J]. 中国烟草科学, 2018, 39 ( 2 ) : 54-62.
- SHI H L, SUN L G, TAN J, et al. Control efficiency of bio-organic fertilizers on tobacco bacterial wilt and their effects on soil bacterial community[J]. China Tobacco Science, 2018, 39(2): 54-62.
- [7] 韦俊, 杨焕文, 徐照丽, 等. 烤烟不同套作模式对土壤理化性质和真菌群落结构的影响[J]. 土壤通报, 2017, 48 ( 3 ) : 631-638.
- WEI J, YANG H W, XU Z L, et al. Influence of different intercropping patterns of flue-cured tobacco on soil properties and fungal community structure[J]. Soil Bulletin, 2017, 48 (3): 631-638.
- [8] 鲍士旦. 土壤农业化学分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000 : 25-110.
- BAO S D. Soil agro-chemical analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 25-110.
- [9] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008 : 395-410.
- LI Z G, LUO Y M, TENG Y. Research methods of soil lenvironmental microorganism[M]. Beijing: Science Press, 2008: 395-410.
- [10] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006 : 186-190.
- YAO K Y, HUANG C Y. Soil microbial ecology and its experimental techniques[M]. Beijing: Science press, 2006: 186-190.
- [11] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000 : 12-252.
- LU R K. Soil agrochemical analysis method[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 12-252.
- [12] XU N, TAN G, WANG H, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. European Journal of Soil Biology, 2016, 74: 1-8.
- [13] ROUSK J, BAATH E, BROOKES P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. The Isme Journal, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [14] 陈乾锦, 林书震, 李红丽, 等. 邵武烟田土壤微生物群落结构变化与烟草青枯病发生关系初报[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(4) : 64-71.
- CHEN Q J, LIN S Z, LI H L, et al. A preliminary analysis on relationship between soil microbial community structure and tobacco bacterial wilt in Shaowu tobacco field[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2019, 25(4): 64-71.
- [15] 韩腾. 枯草芽孢杆菌 Tpb55 菌株对黑胫病的防治效果、根际定殖规律及微生态效应[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016 : 9-39.
- HAN T. The effects of bacillus subtilia Tpb55 strain in controlling tobacco black shank and colonization in tobacco rhizosphere and its effect on micro ecology[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016: 9-39.
- [16] 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 ( 10 ) : 1860-1873.
- LI W J, ZHI X Y, TANG S K. Actinobacterial systematics in china: past, present and future[J]. Microbiology China, 2013(10): 1860-1873.
- [17] 诸葛健, 李华忠. 微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2004 : 61-69.
- ZHU G J, LI H Z. Microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2004: 61-69.
- [18] 李盼盼, 李方明, 申国明, 等. 土壤有机质含量和酸碱度对烟草内生真菌生物多样性的影响[J]. 中国烟草科学, 2018, 39 ( 3 ) : 24-30.
- LI P P, LI F M, SHEN G M, et al. Effects of soil organic matter content and pH values on the biodiversity of tobacco endophytic fungi[J]. China Tobacco Science, 2018, 39 (3): 24-30.
- [19] STARR E P, SHI S J, BLAZEWCZ S J. Stable isotope informed genome-resolved metagenomics reveals that sacchari bacteria utilize micro bially-processed plant- derived carbon[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 122.
- [20] SHEN G H, ZHANG S T, LIU X J, et al. Soil acidification amendments change the rhizosphere bacterial community of tobacco in a bacterial wilt affected field[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(22): 9781-9791.
- [21] ZHANG S, LIU X, JIANG Q, et al. Legacy effects of continuous chloropicrin-fumigation for 3-years on soil microbial community composition and metabolic activity[J]. AMB Express, 2017, 7(1): 178.
- [22] 管晓辉. 座囊菌纲和粪壳菌纲部分种类的初步鉴定[D]. 青岛: 青岛农业大学, 2014 : 24-26.
- Guan X H. Preliminary identification of some species of dothideomycetes and sordariomycetes[D]. Qingdao: Qingdao Agricultural University, 2014: 24-26.
- [23] 施河丽, 向必坤, 谭军, 等. 烟草青枯病发病烟株根际土壤细菌群落分析[J]. 中国烟草学报, 2018, 24 ( 5 ) : 61-69.
- SHI H L, XIANG B G, TAN J, et al. Analysis of bacterial community in rhizosphere soil of tobacco plant infected by bacterial wilt disease [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2018, 24(5): 61-69.
- [24] SU A, XIE G L, LI B, et al. Comparative performance of bacillus spp. in growth promotion and suppression of tomato bacterial wilt caused by ralstonia solanacearum[J]. Journal of Zhejiang University, 2004, 30(6): 603-610.
- [25] 李小杰, 李成军, 刘红彦, 等. 烟草疫霉菌拮抗细菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 中国烟草科学, 2019, 40 ( 1 ) : 68-74.
- LI X J, LI C J, LIU H Y, et al. Screening and fermentation condition optimization for antagonistic bacteria to phytophthora nicotianae[J]. China Tobacco Science, 2019, 40 (1): 68-74.
- [26] 朱文静, 伍辉军, 高学文. 芽孢杆菌对大豆根腐病防治效果研究 [J]. 大豆科学, 2011, 30 ( 4 ) : 621-625.
- ZHU W J, WU H J, GAO X W. Control efficacy of *Bacillus* spp. to soybean root rot[J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 621-625.
- [27] 孙波, 廖红, 苏彦华, 等. 土壤-根系-微生物系统中影响氮磷利用的一些关键协同机制的研究进展[J]. 土壤, 2015, 47 ( 2 ) : 210-219.
- SUN B, LIAO H, SU Y H, et al. Advances in key coordinative mechanisms in soil-root-microbe systems to affect nitrogen and phosphorus utilization[J]. Soil, 2015, 47(2): 210-219 .
- [28] 张爱民, 李乃康, 赵钢勇, 等. 土壤中解磷、解钾微生物研究进展[J]. 河北大学学报 ( 自然科学版 ), 2015, 35 ( 4 ) : 442-448.
- ZHANG A M, LI N K, ZHAO G Y, et al. Research progress on the phosphate-solubilizing and potassium -solubilizing microorganisms[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2015, 35(4): 442-448.
- [29] 汤晓明, 赵莉, 彭业敏, 等. 张家界烟区根茎病害发生的主要原因及防治措施[J]. 湖南农业科学, 2014 ( 6 ) : 38-40.
- TANG X M, ZHAO L, PENG Y M, et al. Main occurrence reasons of tobacco rhizome diseases in tobacco planting area in zhangjiajie city and their preventing measures[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2014(6): 38-40.