

不同前作对植烟土壤养分含量、酶活性及 细菌群落结构的影响*

李忠奎¹, 丁亚茹¹, 周应刚², 凌爱芬³, 李孝慈³, 陈玉蓝^{3**}, 李红丽¹, 王 岩¹

(1. 郑州大学 化工学院, 河南 郑州 450001; 2. 四川省烟草公司凉山州公司冕宁分公司, 四川 冕宁 615600;

3. 四川省烟草公司凉山州公司, 四川 西昌 615000)

摘要:【目的】研究不同前作对土壤生物化学性质的影响。【方法】利用化学和酶学分析及 16S 多样性测序技术, 分析种植 7 年的不同前作[荞麦 (FB)、油菜 (FR)、小麦 (FW) 和绿肥 (FG)]烟田土壤的养分、酶活性及细菌群落结构组成。【结果】(1) FR 烟田土壤的有机质、全氮、碱解氮和有效磷含量最高, 分别为 30.04 g/kg、1.62 g/kg、143.50 mg/kg 和 88.09 mg/kg, FG 烟田次之, 但 FG 烟田速效钾的含量最高 (240.10 mg/kg); FG 烟田土壤蛋白酶和磷酸酶的活性最高, 分别为 709.02 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (酪氨酸) 和 306.60 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (对硝基酚), 而其脲酶和蔗糖酶的活性仅低于 FW 烟田, 且无显著性差异 ($P>0.05$)。 (2) 在细菌群落组成上, FB、FG、FW 和 FR 烟田分别检测出 770、670、654 和 597 属, 归属于 Actinobacteria、Proteobacteria、Chloroflexi 和 Acidobacteria 等 36 门, 其中 Actinobacteria 和 Proteobacteria 相对丰度最高, 分别为 26.87%~45.21% 和 25.82%~30.69%, *Trematococcus*、*Bradyrhizobium*、*Bacillus* 和 *Mycobacterium* 等拮抗菌和 *Bradyrhizobium*、*Rhizobium* 和 *Paenibacillus* 等固氮菌在 FB 烟田土壤细菌群落的相对丰度最高。【结论】不同前作对烟田土壤理化性质、酶活性和细菌群落结构的影响不同, 绿肥提高了土壤有机质和养分含量以及酶活性; 而荞麦改善和提高了烟田土壤细菌种群结构和多样性。

关键词: 前作; 养分; 酶活性; 烟田土壤细菌群落

中图分类号: S 154.3; S 572.047

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2020) 04-0708-09

Effect of Different Previous Crops on the Nutrient Content, Enzyme Activity and Bacterial Community Structure in Tobacco Growing Soil

LI Zhongkui¹, DING Yaru¹, ZHOU Yinggang², LING Aifen³, LI Xiaoci³,

CHEN Yulan³, LI Hongli¹, WANG Yan¹

(1. College of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

2. Mianning Branch of Liangshan Prefecture Branch of Sichuan Tobacco Company, Mianning 615600, China;

3. Liangshan Prefecture Branch of Sichuan Tobacco Company, Xichang 615000, China)

Abstract: [Purpose] The effects of different previous crops on the soil biochemical properties were studied. [Method] Using chemical, enzymatic analysis and 16S diversity sequencing techniques, the soil nutrient, enzyme activity and bacterial community structure of tobacco fields with

收稿日期: 2019-09-24

修回日期: 2020-04-19

网络首发时间: 2020-08-03 09:09:27

*基金项目: 四川省烟草公司凉山州公司科技项目 (LSYC201803)。

作者简介: 李忠奎 (1994—), 男, 河南濮阳人, 在读硕士研究生, 主要从事微生物应用研究。

E-mail: 413310575@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 陈玉蓝 (1990—), 女, 四川宜宾人, 硕士, 农艺师, 主要从事土壤学和烟草栽培研究。E-mail: 369507968@qq.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20200730.1608.002.html>



fagopyrum (FB), rape (FR), wheat (FW) and green manure (FG) were analyzed after seven years.

[**Results**] (1) The contents of organic matter, total nitrogen, alkali-hydrolyzed nitrogen and available phosphorus were the highest in FR tobacco field, which respectively were 30.04 g/kg, 1.62 g/kg, 143.50 mg/kg and 88.09 mg/kg, followed by FG tobacco field, but the content of available potassium was 240.10 mg/kg, and the activities of protease and phosphatase in FG tobacco field were the highest, which were 709.02 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (tyrosine) and 306.60 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (p-nitroph), respectively. (2) The activities of urease and invertase were lower than those of FW tobacco field, and there was no significant difference ($P>0.05$). In terms of bacterial community composition, 770, 670, 654 and 597 genera were detected in FB, FG, FW and FR tobacco fields, belonging to 36 taxa, including Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi and Acidobacteria. Among them, the abundance of Actinobacteria and Proteobacteria were the highest, respectively ranging from 26.87% to 45.21% and 25.82% to 30.69%. Antagonistic bacteria such as *Treptomyces*, *Bradyrhizobium*, *Bacillus* and *Mycobacterium* and nitrogen-bacteria such as *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* and *Paenibacillus* had the highest relative abundance of bacterial community in FB tobacco field soil. [**Conclusion**] The effects of different preceding cropping on the soil physical and chemical properties, enzyme activities and bacterial community structure were different. Green manure improved soil organic matter, nutrients and enzyme activities, while buckwheat improved soil bacterial population structure and diversity, and the relative abundance of probiotics was higher.

Keywords: previous crop; nutrient; enzyme activity; soil bacterial community in tobacco field

同一作物长期连续种植会造成土壤养分异常积累或过度消耗, 根系的毒害分泌物增多, 病原微生物迅速繁衍, 土壤微生物多样性改变以及种群结构失衡, 最终导致土壤调控能力减弱, 产生连作障碍^[1-2]。轮作可以适当减缓连作障碍的发生, 前茬作物的根系分泌物和残留物对土壤微生物的多样性、群落结构和组成产生重要影响^[3], 是生态防治土传病害的重要手段。在烟草生产上, 可以通过合理轮作改善土壤质量达到增产提质的目的。毛倪寿等^[4]研究表明: 小麦和油菜根系浸提液对烟株生长有促进作用, 能促进生长发育, 提高烟叶质量和产量。郭云周等^[5]通过红壤旱地上 2 年的定位试验表明: 翻压等量绿肥(光叶紫花苕)相比化肥减量, 不仅有利于提高烟草产量, 更有利于提高烟草品质。

不同前作对烟田土壤物理、化学、酶活性和微生物学性质的影响不一样。嵇其翠等^[6]研究表明: 前茬种植大蒜与绿肥均能在一定程度上改善烟田土壤有效磷、速效钾及可溶性有机碳含量以及烟叶产量。陈丹梅等^[7]研究表明: 烤烟—苕子—水稻轮作能够提高烟田土壤的蔗糖酶、脱氢酶、脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性及细菌群落

多样性, 有益于保持或提高土壤肥力和土地生产力。选择合适的前作有利于改善土壤的生产力与生态功能, 是保持土地生产力和可持续发展的重要措施, 而以往的研究着重于前作对根际土壤理化性质、酶活性和微生物数量的影响, 较少关注烟田土壤中微生物群落的变化和根际土壤理化性质、酶活性与微生物群落的相关性。因此, 本研究以凉山州不同前作烟田为对象, 利用化学、酶学分析及 16S 多样性测序技术, 分析前作荞麦、油菜、小麦和绿肥耕种后土壤的养分、酶活性及细菌群落结构组成, 研究不同前作对烟田土壤养分、酶活性和细菌群落的影响, 为轮作调控技术提供更丰富的理论依据和指导。

1 材料与方法

1.1 试验田概况

试验田位于四川省凉山彝族自治州, N26°50', E102°17', 海拔 1 944 m, 红壤黏土。前作荞麦、油菜、小麦和绿肥烟田分别编号 FB、FR、FW 和 FG 烟田, 种植烟草品种均为云烟 87, 轮作 7 年。每个处理面积 222 m², 荞麦秸秆、油菜秸秆和小麦秸秆均不翻压烟田, 绿肥苕

子秸秆翻压到烟田。荞麦和油菜在 9 月下旬种植, 苕子和小麦在 10 月下旬种植, 荞麦在 12 月下旬收割, 油菜、苕子和小麦在次年 3 月收割。在烤烟种植季节, 行距约 1 m, 株距约 0.5 m, 每 667 m² 种植约 1000 株, 基肥由 $m(\text{N}) : m(\text{P}_2\text{O}_5) : m(\text{K}_2\text{O}) = 10 : 15 : 20$ 烤烟专用肥提供, 用量 30 kg/667 m², 追肥 $m(\text{N}) : m(\text{K}_2\text{O}) = 9 : 35$ 烤烟专追肥提供, 用量 20 kg/667 m²。油菜和荞麦种植季节氮磷分别由尿素和普钙提供, 苕子和小麦种植季节氮磷分别由尿素和烤烟专用用肥 [$m(\text{N}) : m(\text{P}_2\text{O}_5) : m(\text{K}_2\text{O}) = 10 : 15 : 20$] 提供, 4 种前作全部的氮和磷均作基肥, 全部基施。

1.2 烟田土壤的采集与处理

于前作收获后、烟株移栽前采集土样, 采用五点取样法, 去掉表层, 采 5~20 cm 耕层土壤, 混合后取土样总量不少于 1 kg, 每块烟田取 3 个平行样, 每个样品过筛除去根等杂质后取少量土壤装入 15 mL 带盖的离心管中, 储存于有冰袋的保温箱中, 带回实验室 -20 ℃ 保存, 并及时送到上海美吉生物医药科技有限公司进行多样性测序与分析。取部分土壤风干, 用于常规分析。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 土壤理化性质测定方法

土壤 pH 值采用电位法测定; 有机质采用重铬酸钾—油浴法测定; 全氮用硫酸消解—凯氏定氮法测定; 速效钾用乙酸铵提取—原子吸收法测定; 采用同一消解法测定全磷和全钾; 有效磷用碳酸氢钠提取—钼锑抗比色法测定; 碱解氮用碱解扩散法测定^[8]。

1.3.2 土壤酶活性测定方法

蛋白酶的测定采用福林试剂比色法^[9]; 蔗糖酶的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[10]; 脲酶的测定方法为靛酚蓝比色法^[10]; 过氧化氢酶活性测定采用滴定法, 酶活性以单位土重消耗高锰酸钾毫升数表示^[9]; 磷酸酶采用对硝基苯磷酸二钠比色法测定^[11]。

1.3.3 微生物多样性分析测定

由上海美吉生物医药科技有限公司对根际土壤微生物进行 16S 多样性测序; 根据 E.Z.N.A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行总 DNA 抽提, DNA 质量浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量; 用 338F (5'-ACTCCT-

ACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTA-CHVGGGTWTCTAAT-3') 引物对 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。Illumina Miseq 测序, 使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™-ST (Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2×300 文库。用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序

1.4 数据处理

试验数据均以 3 个值的“平均值±标准差”表示, 并采用 Excel 2010 软件进行统计处理。利用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行独立样本 T 检验, 差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。多样性基因测序由上海美吉生物医药科技有限公司信息平台相应软件进行分析, 原始数据上传至 NCBI 数据库中, 原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, 使用 FLASH 软件进行拼接。使用 UPARSE 软件 (version 7.1), 根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类, 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体, 利用 RDP classifier 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 数据库, 设置比对阈值为 70%。利用 Mothur (version v.1.30.1) 软件计算 Chao、ACE、Shannon 和 Sobs 等 4 种常用的群落 α 多样性指数, 测序深度用覆盖率 (coverage) 表示, 利用 Excel 2010 进行初处理和制图, 采用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行统计分析。基于 tax_summary_a 文件夹中的数据表, 利用 R 语言工具绘制在门水平和属水平上的群落柱状图, Qiime 计算 β 多样性距离矩阵, 然后用 R 语言作层级聚类分析, 利用 R 语言的 VEGAN 数据包对根际土壤细菌群落结构与土壤环境因子进行冗余分析 (RDA)。利用 R (pheatmap package) 进行根际土壤细菌群落结构多样性和丰度与土壤环境因子的 Spearman 相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同前作烟田土壤理化性质和酶活性

由表 1 可知: 4 种前作烟田土壤 pH 值在 4.50~7.10, 前作小麦土壤最高, 油菜最低, 且小麦和绿肥相差不大。有机质、全氮和碱解氮含量

表 1 烟田土壤的理化性质

Tab. 1 Physicochemical properties of tobacco field soil with different previous crops

前作 previous crops	含量 content							
	pH	有机质/ (g·kg ⁻¹)	全氮/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮/ (mg·kg ⁻¹)	全磷/ (g·kg ⁻¹)	有效磷/(mg·kg ⁻¹) available	全钾/ (g·kg ⁻¹)	速效钾/(mg·kg ⁻¹) available
		organic matter	total nitrogen	alkaline nitrogen	total phosphorus	phosphorus	total potassium	potassium
FB	6.26±0.01 b	19.68±0.48 b	0.76±0.12 b	47.95±0.49 b	0.96±0.01 a	78.62±6.98 a	19.09±0.71 c	210.91±6.79 a
FR	4.50±0.03 c	30.04±0.32 a	1.62±0.16 a	143.50±7.92 a	0.57±0.00 d	88.09±5.93 a	29.09±0.71 a	147.21±7.78 b
FG	6.53±0.07 ab	27.42±2.09 ab	1.12±0.00 a	66.50±3.96 b	0.65±0.00 b	62.17±0.57 a	23.59±0.00 b	240.10±10.98 a
FW	7.10±0.14 a	21.51±0.16 b	1.04±0.12 ab	58.45±8.41 b	0.60±0.00 c	44.41±1.10 a	19.70±0.00 c	155.34±2.80 b

注: FB. 荞麦; FR. 油菜; FG. 绿肥; FW. 小麦; 同列数据后不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P<0.05$); 下同。
Note: FB. fagopyrum; FR. rape; FG. green manure; FW. wheat; after the same columns of data, the difference between different lower-case letters was significant ($P<0.05$); the same as below.

在 FR 烟田土壤最高, FG 和 FW 烟田的次之, FB 烟田最低。全钾和有效磷含量同样是 FR 烟田最高, 但 FW 烟田较低。速效钾含量则是 FG 烟田最高, 而在 FR 烟田最低。

由表 2 可知: 蛋白酶、脲酶和磷酸酶活性在 4 种前作烟田土壤存在显著差异, 而蔗糖酶和过氧化氢酶活性在 4 种前作烟田土壤的差异不显著。蛋白酶在 FG 烟田土壤的活性最高, 其次是 FR 烟田和 FB 烟田, FW 烟田土壤的活性最低。脲酶和蔗糖酶在 FW 烟田土壤的活性最高, 在 FB 烟田的活性最低。磷酸酶在 FG 烟田的活性最高, 在 FR 烟田的活性最低。

2.2 不同前作烟田土壤细菌群落 α 多样性比较

由表 3 可知: 样本土壤细菌群落的覆盖率均达到 94% 以上, 结果可真实反映环境中细菌群落

结构。烟田土壤细菌群落的 α 多样性指数中 Sobs、ACE 和 Chao 可表示土壤样本细菌的总数, 4 种前作土壤细菌总数大小为: FB>FW>FG>FR; Shannon 指数反应土壤细菌的多样性, 其大小为: FW>FR>FB>FG。表明 FB 烟田土壤细菌丰度最高, 其次是 FW 烟田, 而 FW 烟田土壤细菌种类最多且含量均匀, 即多样性最高。

2.3 不同前作烟田土壤细菌的群落结构

2.3.1 土壤细菌群落结构相似性分析

不同前作烟田土壤细菌群落在门水平和属水平上的层级聚类分析 (图 1) 发现: 4 种轮作模式烟田土壤细菌群落结构具有差异, 在门水平和属水平上, FB 烟田和 FG 烟田细菌群落结构都比较相似, 且在属水平上, FR 与另外 3 种前作烟田土壤细菌群落差异较大。

表 2 烟田土壤酶的活性

Tab. 2 Activities of soil enzymes in tobacco fields with different previous crops

前作 previous crops	酶活性 enzyme activity				
	蛋白酶/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	脲酶/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	蔗糖酶/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	过氧化氢酶/ ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)	磷酸酶/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
	protease	urease	sucrase	hydrogen peroxide	phosphatase
FB	364.74±3.38 b	126.02±8.83 b	57.20±7.57 a	9.84±0.09 a	92.01±5.52 c
FR	373.98±4.76 b	148.63±7.77 b	69.34±14.33 a	8.38±0.09 a	40.79±14.66 c
FG	709.02±7.03 a	405.82±119.72 ab	75.92±32.40 a	9.69±0.04 a	306.60±0.65 a
FW	181.63±2.65 c	736.55±2.97 a	87.55±42.01 a	10.03±0.01 a	117.42±4.91 b

表 3 烟田土壤细菌群落 α 多样性

Tab. 3 The α diversities of soil bacterial communities in tobacco fields with different previous crops

前作 previous crops	Sobs	Shannon	ACE	Chao	覆盖率/% coverage
FB	2 850±85.50 a	6.582±0.04 b	4 112±120.94 a	4 086±190.15 a	94.80±0.00
FR	2 227±55.37 c	6.605±0.05 b	2 925±103.36 c	2 922±142.80 c	96.65±0.00
FG	2 584±65.02 b	6.322±0.10 c	3 630±71.49 b	3 602±55.03 b	95.50±0.00
FW	2 702±86.93 ab	6.795±0.04 a	3 634±93.22 b	3 659±132.45 b	95.64±0.00

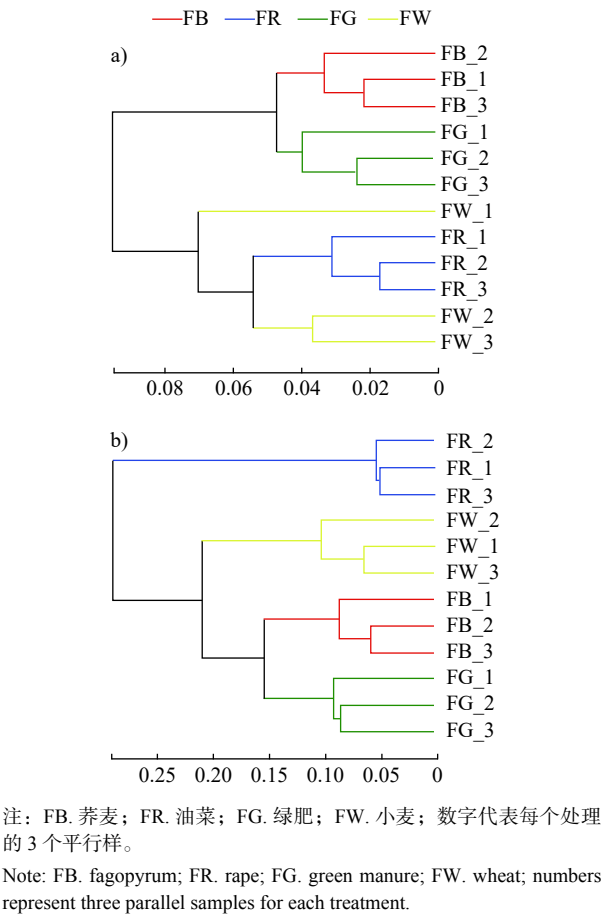


图 1 土壤细菌群落门水平 (a) 和属水平 (b) 层级聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis of phylum level (a) and genus level (b) of soil bacterial community

2.3.2 土壤细菌群落结构在门水平的分析

不同前作烟田土壤细菌群落结构在门水平上的分布见图 2。4 种前作烟田共检测出 36 门菌，

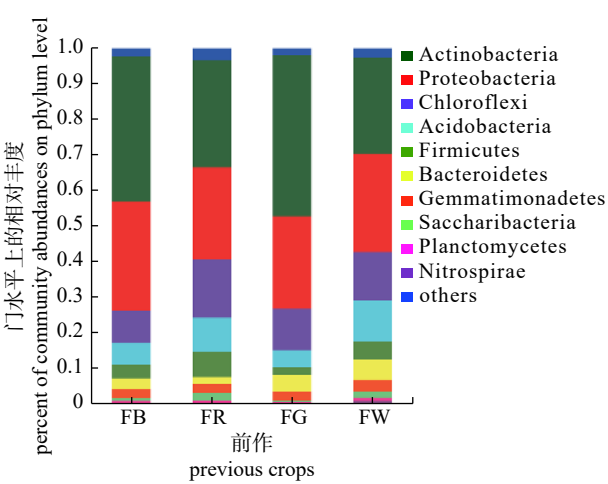


图 2 不同前作烟田土壤细菌群落门水平结构分布

Fig. 2 Distribution of soil bacterial community structure in phylum level of tobacco fields with different previous crops

其中 FB 烟田 32 门，FR 烟田 30 门，FW 烟田 30 门，FG 烟田 27 门。平均相对丰度高于 1% 的菌门共有 8 门，依次是 Actinobacteria、Proteobacteria、Chloroflexi、Acidobacteria、Firmicutes、Bacteroidetes、Gemmatimonadetes 和 Saccharibacteria，其中 Actionbacteria 的相对丰度最高，占总量的 26.87%~45.21%，平均相对丰度为 35.81%，Proteobacteria、Chloroflexi 和 Acidobacteria 的平均相对丰度依次为 27.57%、12.68% 和 8.06%，因前作不同而异。

2.3.3 土壤细菌群落结构在属水平的分析

不同前作烟田土壤细菌群落结构在属水平上的分布见图 3。4 种前作烟田共检测出 899 属菌，其中 FB 烟田 770 属，FR 烟田 597 属，FG 烟

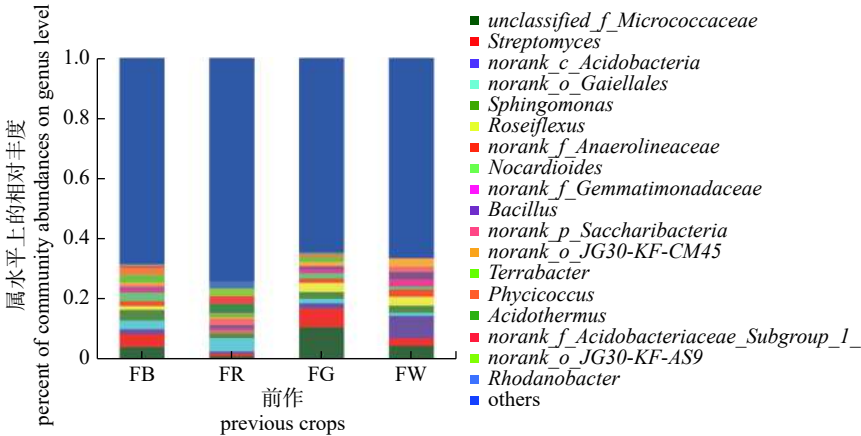


图 3 不同前作烟田土壤细菌属水平群落结构分布

Fig. 3 Distribution of soil bacterial community structure in genus level of tobacco fields with different previous crops

田 670 属, FW 烟田 654 属。FB 烟田土壤相对丰度较高的 5 属依次是 *Streptomyces*、*unclassified_f_Micrococcaceae*、*Sphingomonas*、*norank_o_Gaiellales* 和 *Nocardioide*s, 相对丰度分别为 4.22%、4.03%、3.55%、2.88% 和 2.87%; FR 烟田土壤相对丰度较高的 5 属依次是 *norank_o_Gaiellales*、*Acidothermus*、*norank_f_Acidobacteriaceae_Subgroup_1_*、*norank_o_JG30-KF-AS9* 和 *Rhodanobacter*, 相对丰度分别为 4.43%、3.07%、2.57%、2.54% 和 2.44%; FG 烟田土壤相对丰度较高的 5 属依次是 *unclassified_f_Micrococcaceae*、*Streptomyces*、*Roseiflexus*、*Sphingomonas*和 *Nocardioide*s, 相对丰度分别为 10.05%、6.22%、3.01%、2.30% 和 1.79%; FW 烟田土壤相对丰度较高的 5 属依次是 *norank_c_Acidobacteria*、*unclassified_f_Micrococcaceae*、*Roseiflexue*、*Bacillus* 和 *Streptomyces*, 相对丰度分别为 7.38%、4.33%、2.93%、2.62%

和 2.58%。其中 *unclassified_f_Micrococcaceae*、*Streptomyces*、*norank_c_Acidobacteria*、*norank_o_Gaiellales*、*Sphingomonas* 和 *Roseiflexus* 在 4 种前作烟田土壤的平均相对丰度超过 2%, 分别为 5.52%、3.85%、3.24%、2.74%、2.69% 和 2.00%。

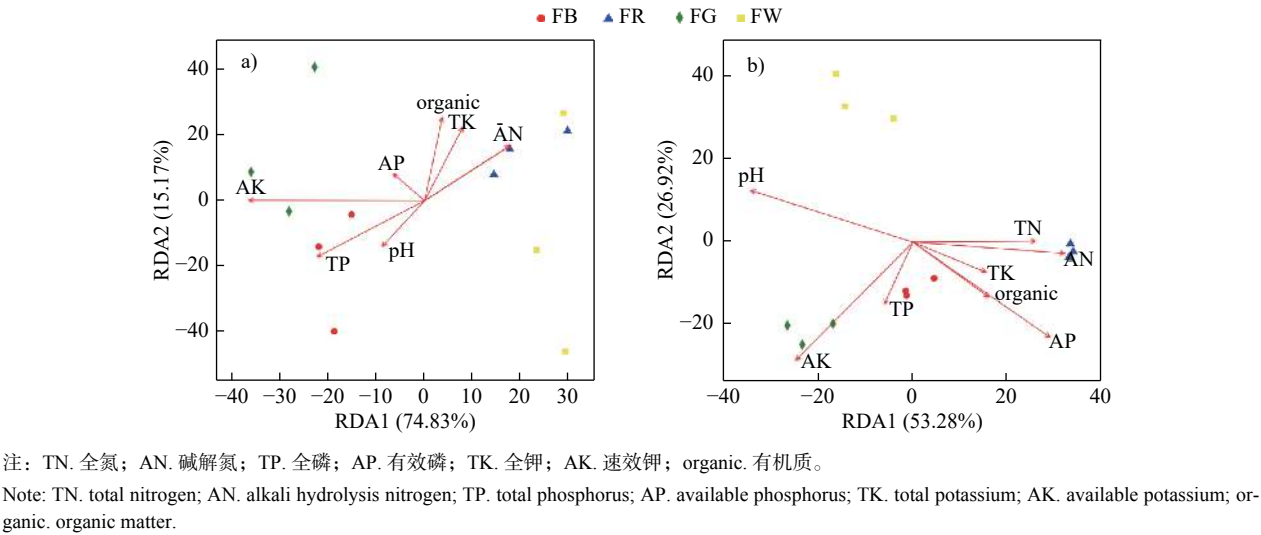
由表 4 可知: *Bradyrhizobium*、*Rhizobium* 和 *Paenibacillus* 在 FB 烟田的相对丰度最高, *Streptomyces* 和 *Pseudomonas* 在 FB 烟田的相对丰度分别为 4.217% 和 0.238%, 仅次于其在 FG 烟田的相对丰度, 同样 *Mycobacterium* 在 FB 烟田的相对丰度为 0.846%, 仅次于其在 FR 烟田的相对丰度。*Bacillus* 在 FB 烟田的相对丰度为 1.609%, 仅次于其在 FW 烟田的相对丰度。

2.4 不同前作烟田细菌群落与环境因子的关系
2.4.1 烟田土壤细菌群落与环境因子的 RDA 分析

由图 4a 可知: 2 个坐标轴共解释细菌物种和环境因子总方差的 90.00%, 能较好地反映土壤环

表 4 不同前作烟田土壤功能菌的相对丰度
Tab. 4 Relative abundance of soil functional bacteria in different tobacco fields %

益生菌 vprobiotics	FB	FR	FG	FW
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	4.217±0.51	0.823±0.11	6.222±2.92	2.583±0.36
短根瘤菌属 <i>Bradyrhizobium</i>	1.937±0.26	1.927±0.14	1.168±0.29	0.857±0.15
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	1.609±0.09	1.147±0.10	0.952±0.10	2.619±0.66
分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	0.846±0.06	1.114±0.15	0.439±0.09	0.439±0.15
根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	0.670±0.07	0.078±0.02	0.604±0.10	0.311±0.11
类假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0.238±0.19	0.052±0.03	0.616±0.14	0.136±0.18
芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>	0.249±0.02	0.208±0.00	0.102±0.03	0.240±0.05



注: TN. 全氮; AN. 碱解氮; TP. 全磷; AP. 有效磷; TK. 全钾; AK. 速效钾; organic. 有机质。
Note: TN. total nitrogen; AN. alkali hydrolysis nitrogen; TP. total phosphorus; AP. available phosphorus; TK. total potassium; AK. available potassium; organic. organic matter.

图 4 门分类水平 (a) 和属分类水平 (b) 土壤细菌群落与环境因子的 RDA 分析
Fig. 4 RDA analysis of soil bacterial communities and environmental factors on phylum (a) and genus (b) levels

境因素对土壤细菌群落结构的影响。土壤全磷含量 ($P=0.041$) 对土壤细菌群落结构正相关且影响达到显著水平, 速效钾含量 ($P=0.001$) 与细菌群落结构极显著负相关。由图 4b 可知: 2 个坐标轴共解释 80.20% 的细菌群落变化。土壤 pH 值 ($P=0.001$)、有效磷含量 ($P=0.001$) 和速效钾含量 ($P=0.001$) 对土壤细菌群落影响达到极显著水平, 其中 pH、有效磷含量是极显著负相关, 速效钾含量为极显著正相关, 碱解氮含量 ($P=0.013$) 对土壤细菌群落的影响为显著正相关。

2.4.2 土壤细菌群落优势菌与环境因子的关系

由表 5 可知: 不同前作烟田土壤细菌群落包含 8 个主要细菌门和 6 个主要细菌属。在门水平上, Actinobacteria 与土壤速效钾含量极显著正相关; Proteobacteria 与有机质、全钾和碱解氮含量显著负相关; Chloroflexi 与碱解氮含量极显著正

相关, 与全磷含量极显著负相关; Acidobacteria 与速效钾含量极显著负相关; Firmicutes 与速效钾极含量显著负相关; Bacteroidetes 与 pH 值极显著正相关, 与有效磷含量极显著负相关; Saccharibacteria 与速效钾和全磷含量极显著负相关。在属水平上, *unclassified_f_Micrococcaceae* 与土壤有效磷含量显著负相关, 与速效钾含量极显著正相关; *Streptomyces* 与速效钾和全磷含量极显著正相关; *norank_c_Acidobacteria* 与有效磷含量值极显著负相关, 与 pH 显著正相关; *norank_o_Gaiellales* 与 pH 值极显著负相关, 与有效磷含量极显著正相关; *Sphingomonas* 与有机质、全氮、碱解氮和全钾含量极显著负相关, 与全磷含量极显著正相关; *Roseiflexus* 与有效磷含量极显著负相关, 与 pH 值极显著正相关。

表 5 烟田土壤主要细菌与土壤环境因子的 Spearman 相关性

Tab. 5 Spearman correlation between main soil bacteria and soil environmental factors in tobacco fields

菌门 (属) phylum (genus)	pH	Organic	TN	AN	TP	AP	TK	AK
门水平 phylum level								
放线菌门 Actinobacteria	-0.077	-0.077	-0.192	-0.126	0.587*	0.098	-0.071	0.755***
变形菌门 Proteobacteria	0.168	-0.643*	-0.541	-0.657*	0.517	-0.056	-0.631*	0.182
绿弯菌门 Chloroflexi	-0.231	0.699*	0.698*	0.755***	-0.867***	0.126	0.674*	-0.629*
酸杆菌门 Acidobacteria	-0.035	0.126	0.157	0.210	-0.650*	-0.007	0.135	-0.818***
厚壁菌门 Firmicutes	-0.420	0.371	0.445	0.371	0.650*	0.399	0.355	-0.902***
拟杆菌门 Bacteroidetes	0.853***	-0.252	-0.210	-0.259	0.287	-0.832***	-0.255	0.622*
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	0.517	-0.294	-0.185	-0.280	-0.112	-0.503	-0.248	-0.189
螺旋体菌门 Saccharibacteria	-0.245	0.294	0.402	0.378	-0.741***	0.238	0.277	-0.853***
属水平 genus level								
微球菌科未分级菌属 <i>unclassified_f_Micrococcaceae</i>	0.559	-0.273	-0.367	-0.301	0.510	-0.594*	-0.255	0.776***
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	0.336	-0.510	-0.566	-0.531	0.818***	-0.301	-0.489	0.930***
酸杆菌纲未知菌属 <i>norank_c_Acidobacteria</i>	0.692*	-0.573	-0.584*	-0.483	0.217	-0.832***	-0.617*	0.196
盖勒氏菌目未知菌属 <i>norank_o_Gaiellales</i>	-0.888***	0.364	0.342	0.315	-0.161	0.972***	0.397	-0.385
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	0.343	-0.909***	-0.883***	-0.895***	0.860***	-0.231	-0.880***	0.601**
玫瑰弯菌属 <i>Roseiflexus</i>	0.762**	-0.252	-0.274	-0.252	0.301	-0.832***	-0.270	0.629*

注: TN. 全氮; AN. 碱解氮; TP. 全磷; AP. 有效磷; TK. 全钾; AK. 速效钾; organic. 有机质; “*”为 $0.01 < P \leq 0.05$, “**”为 $0.001 < P \leq 0.01$, “***”为 $P \leq 0.001$ 。
Note: TN. total nitrogen; AN. alkali hydrolysis nitrogen; TP. total phosphorus; AP. available phosphorus; TK. total potassium; AK. available potassium; organic. organic matter.

3 讨论

土壤养分是衡量土壤质量的重要指标, 有机质是土壤微生物的碳源和氮源^[12], 其含量与前作

的根系分泌物和有机肥残存有关^[13]。不同前作由于耕作管理、根系分泌物及残留物等差异, 使得其对烟田土壤理化性质的影响各不相同。黄新杰等^[14]研究表明: 烟稻轮作能够使土壤中的养分在

不同的条件下交替变化,从而为作物提供更高的土壤养分。贾志红等^[15]研究表明:烟玉轮作可以导致土壤全氮和碱解氮含量的增加以及有效磷和速效钾含量的改变。本研究表明:FR烟田土壤的pH值最低,而有机质、全氮、碱解氮和有效磷的含量最高,FG烟田土壤的有机质、全氮、碱解氮和有效磷的含量仅低于FR烟田,且无显著差异,而FG烟田速效钾含量显著高于其他烟田,与前人的研究结果^[16]相似。说明油菜和绿肥对烟田土壤的有机质和养分含量有利,特别是绿肥有利于改善速效钾含量的状况。其原因一方面可能由于油菜和绿肥前作对土壤磷素和氮素吸收量小于小麦前作^[17],且油菜地上部覆盖量较大,自身落花落叶多,干物质C/N较大,导致烟田土壤养分相对较高;而绿肥是由于翻压增加了土壤有机质含量,改善土壤缓效钾状况,且自身固氮效应能增加土壤氮素含量。土壤酶在土壤生态系统代谢扮演重要的角色,调控土壤中的生化反应,植物根系的分泌物释放和植物残体释放是土壤酶的重要来源^[18-19]。FG烟田土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性仅低于FW烟田,且无显著性差异,而其土壤蛋白酶和磷酸酶活性显著高于其他烟田。其原因是翻压绿肥为微生物代谢提供更多可供分解的植物残体,进而促进了土壤酶的产生。因此从土壤有机质、养分含量和酶活性的角度来看,绿肥是合适的前作。

4种前作烟田土壤细菌在门水平和属水平上的群落组成存在明显差异,且FB烟田土壤细菌群落的相对丰度在门水平和属水平上最高。优势细菌门与土壤功能密切相关,Actinobacteria和Proteobacteria是本研究两大优势细菌门,且在FB烟田的相对丰度高。Actinobacteria能够促使土壤中的动物和植物残体腐烂^[20],在土壤的氮素循环中也起着一定的作用,其与速效钾含量显著正相关,其在4种前作烟田土壤细菌群落的相对丰度大小与速效钾在4种前作烟田土壤含量的大小相同,这与烤烟是喜“钾”作物^[21]相符合;Proteobacteria为土壤生态系统的氮素以及能量的循环提供帮助^[22],是土壤生态环境物质循环的重要组成部分。土壤是决定细菌群落组成的基本要素,种植模式可不同程度地改变细菌的群落结构。FB烟田的细菌群落种类最丰富,细菌之间互相

制约达到动态平衡,可防止病原菌的大量繁殖,降低作物土传病害的发生。*Sphingomonas*、*Streptomyces*、*Bacillus*、*Pseudomonas*、*Bradyrhizobium*、*Paenibacillus*、*Rhizobium*和*Mycobacterium*等功能菌属在FB烟田的相对丰度高,*Sphingomonas*是土壤主要有益菌之一,促进烟株根际吸收营养,抵抗多种病原菌,能够降解高分子有机污染物^[23],在维持土壤氮平衡方面起着重要作用;*Streptomyces*可改善根际土壤的微生物生态^[24],促使根际土壤微生物由“真菌型”向“细菌型”转变;*Bacillus*和*Pseudomonas*主要的抑菌途径是产生抗生素,能显著降低烟草青枯病菌的侵染机会^[25],从而促进植物生长;*Bradyrhizobium*、*Paenibacillus*和*Rhizobium*是作物根际和农田环境中固氮微生物的优势种群,并且是固氮潜能相对较大的种群^[26],是重要的植物根际促生菌;*Mycobacterium*能够拮抗多种真菌产生的病害。在属水平上不同前作烟田土壤细菌群落结构组成存在明显差异,FB烟田土壤细菌群落种属较多,且益生菌的相对丰度较高,菌属数量和益生菌的增多可以预防烟田病害的发生,因此从防治作物土传病害的角度看,荞麦是最合适的前作。

土壤养分的变化,一部分是土壤中化学作用,最主要的是通过土壤中的微生物活动来进行的^[27]。土壤养分影响微生物,微生物群落结构变化也会影响土壤养分^[22,28]。土壤微生物可以分解各种有机物质,释放丰富的氮、磷和钾等营养元素,并对土壤中无机化合物通过不同途径进行转化,为烟草提供养分来源。土壤微生物生命活动过程中还会形成各种产物如有机酸、维生素、抗生素和激素等,这些物质可以改变烟草土壤营养和氧化还原条件,影响土壤养分供应特征。该研究表明:土壤pH值、有效磷和速效钾含量是烟田土壤细菌群落在属水平上相关性较大且影响显著的环境因子,土壤全磷和速效钾含量是与烟田土壤细菌群落在门水平上相关性较大且影响显著的环境因子,土壤群落主要菌门和菌属与土壤养分之间存在一定的显著相关性,表明土壤微生物的种类和数量在一定程度上影响着土壤养分的含量和释放,而土壤养分的变化又在一定程度上影响着土壤细菌群落结构。因此,土壤养分与微生物之间相互依存、相互影响,对土壤生态系统的

稳定和维持起着重要的作用。

4 结论

不同前作对烟田土壤的养分、酶活性和细菌群落的影响不同。油菜和绿肥对烟田土壤有机质、碱解氮、全氮和有效磷含量等理化性质有较好的改善作用,绿肥有利于改善土壤缓效钾,对烟田土壤脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶、蛋白酶和磷酸酶活性有利。前作荞麦烟田土壤细菌群落丰度最高,其次是前作小麦烟田,而前作小麦烟田土壤细菌种类最多,即最丰富,荞麦能提高烟田土壤细菌群落的总数和 *Streptomyces*、*Bradyrhizobium*、*Bacillus*、*Mycobacterium* 等拮抗菌及 *Rhizobium*、*Pseudomonas*、*Paenibacillus* 等固氮菌的相对丰度。

[参考文献]

- [1] 王飞,李世贵,徐凤花,等.连作障碍发生机制研究进展[J].中国土壤与肥料,2013(5): 6. DOI: 10.11838/sfsc.20130502.
- [2] 张翔,范艺宽,毛家伟,等.不同种植制度和施肥措施对烟田土壤养分及微生物的影响[J].华北农学报,2008,23(4): 208. DOI: 10.7668/hbxb.2008.04.047.
- [3] 杨瑞吉.油菜根系分泌物对不同作物幼苗生长的化感效应[J].生态环境,2006,15(5): 1062. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5906.2006.05.034.
- [4] 毛倪寿,杨宇虹,晋艳,等.前作的根际物质及根际微生物对烤烟生长的影响研究[J].烟草科技,2002(5): 38. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0861.2002.05.010.
- [5] 郭云周,尹小怀,王劲松,等.翻压等量绿肥和化肥减量对红壤旱地烤烟产量产值的影响[J].云南农业大学学报(自然科学),2010,25(6): 811. DOI: 10.3969/j.issn.1004-390X.2010.06.011.
- [6] 嵇其翠,宋文静,董建新,等.不同前作对烟田土壤养分、酶活性及烤烟生长的影响[J].中国烟草科学,2018,39(1): 64. DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2018.01.009.
- [7] 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. DOI: 10.11686/cyxb2015002.
- [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.
- [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.
- [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.
- [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] KATARIAN H. Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(9): 1299. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00073-1.
- [13] 符建国,贾志红.烤烟连作障碍产生机制及其调控研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(28): 13762. DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2012.28.030.
- [14] 黄新杰,屠乃美,李艳芳,等.湖南省烟稻轮作区土壤养分的空间变异特征[J].中国烟草科学,2012,33(3): 13. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2012.03.003.
- [15] 贾志红,易建华,符建国,等.烤烟连作与轮作土壤养分差异研究[J].西南农业学报,2011,24(5): 1784. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4829.2011.05.035.
- [16] 彭云.不同前作对烟田土壤养分供应、烟株营养及烟叶产质量的影响[D].昆明:云南农业大学,2009.
- [17] 刘枫,赵正雄,李忠环,等.不同前茬作物条件下烤烟氮磷钾养分平衡[J].应用生态学报,2011,22(10): 2622.
- [18] 张翼,张长华,王振民,等.连作对烤烟生长和烟地土壤酶活性的影响[J].中国农学通报,2007,23(12): 211. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6850.2007.12.048.
- [19] AL-TURKI A I, DICK W A. Myrosinase activity in soil[J]. Soil Science Society of America Journal, 2003, 67(1): 139. DOI: 10.2136/sssaj2003.0139.
- [20] LYND L R, WEIMER P J, VAN ZYL W H, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(3): 506. DOI: 10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002.
- [21] 张明发,朱列书.烤烟不同生育期供钾水平对叶片钾含量的影响[J].中国烟草科学,2009,30(1): 23. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2009.01.006.
- [22] 谭雪莲,郭天文,刘高远.马铃薯连作土壤微生物特性与土传病原菌的相互关系[J].灌溉排水学报,2016,35(8): 30. DOI: 10.13522/j.cnki.gggs.2016.08.006.
- [23] 胡杰,何晓红,李大平,等.鞘氨醇单胞菌研究进展[J].应用与环境生物学报,2007,13(3): 431. DOI: 10.3321/j.issn:1006-687X.2007.03.030.
- [24] 储慧清,方敦煌,孔光辉,等.拮抗球胞链霉菌 AM6 代谢产物防治烟草赤星病的田间效果测定[J].云南农业大学学报,2004,19(1): 4. DOI: 10.3969/j.issn.1004-390X.2004.01.002.
- [25] 顾金刚,方敦煌,李天飞,等.防治烟草黑胫病的根际细菌分离与筛选[J].中国烟草学报,2001,7(3): 19. DOI: 10.3321/j.issn:1004-5708.2001.03.005.
- [26] 孙建光,胡海燕,刘君,等.农田环境中固氮菌的促生潜能与分布特点[J].中国农业科学,2012,45(8): 1532. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2012.08.009.
- [27] 陈懿,潘文杰,雷波,等.相同气候下不同区域植烟土壤生物活性及养分含量的动态变化[J].云南农业大学学报(自然科学),2014,29(1): 71. DOI: 10.3969/j.issn.1004-390X(n).2014.01.014.
- [28] 朱红惠,龙良坤,羊宋贞,等. AM 真菌对青枯菌和根际细菌群落结构的影响[J].菌物学报,2005,24(1): 137. DOI: 10.13346/j.mycosystema.2005.01.023.

责任编辑: 何馨成