

引文格式: 赵诣, 符昌武, 刘毅, 等. 增施微藻和牛粪有机肥对土壤化学性质和细菌群落以及烤烟产质量的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2024, 39(3): 172-181. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202307006

## 增施微藻和牛粪有机肥对土壤化学性质和细菌群落以及烤烟产质量的影响\*

赵诣<sup>1</sup>, 符昌武<sup>2</sup>, 刘毅<sup>3</sup>, 向东<sup>4</sup>, 王振华<sup>2</sup>, 秦红灵<sup>3</sup>, 程昌新<sup>5\*\*</sup>, 李强<sup>1\*\*</sup>

[1. 湖南农业大学农学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南省烟草公司张家界市公司, 湖南张家界 4270002;  
3. 中国科学院亚热带生态农业研究所, 湖南长沙 410125; 4. 湖南中烟工业有限责任公司, 湖南长沙 41000;  
5. 红云红河烟草(集团)有限责任公司, 云南昆明 650231]

**摘要:**【目的】研究增施微藻和牛粪有机肥对烟草生长、产质量及土壤细菌群落的影响。【方法】设置微藻、牛粪有机肥、微藻+牛粪有机肥和空白对照(CK) 4个田间试验处理, 监测烟株农艺性状、烤后烟叶产量和化学成分, 测定土壤化学性质, 运用荧光定量PCR、Illumina Miseq测序等分子生物学技术分析土壤细菌群落丰度和组成。【结果】与CK相比, 增施微藻+牛粪有机肥可显著增加土壤硝态氮、溶解性有机碳、有效磷和速效钾含量, 改善土壤pH; 烟株圆顶期株高和叶数显著增加, 烤后烟叶中总氮、钾、烟碱、总糖和还原糖含量以及氮碱比和钾氮比显著增加, 烟叶产量和产值分别提高13.70%和16.78%; 可提高土壤细菌群落多样性, 优化土壤细菌群落结构, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)的相对丰度升高, 提升了土壤细菌群落抑制青枯病害的能力。典型对应分析结果表明: 土壤pH以及硝态氮和速效钾含量是影响土壤细菌群落结构组成的关键因素。【结论】增施微藻和牛粪有机肥可提高土壤养分含量, 活化土壤有益微生物, 提高细菌群落抑制青枯病菌的能力, 改善土壤微生态环境, 促进烟草生长, 提高烟叶产量和品质。

**关键词:** 微藻; 牛粪有机肥; 土壤化学性质; 烟叶产质量; 细菌群落

中图分类号: S141.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X(2024)03-0172-10

## Effects of Adding Microalgae and Cow Manure Organic Fertilizer on Soil Chemical Properties and Bacterial Community, Yield and Quality of Flue-cured

ZHAO Yi<sup>1</sup>, FU Changwu<sup>2</sup>, LIU Yi<sup>3</sup>, XIANG Dong<sup>4</sup>, WANG Zhenhua<sup>2</sup>,  
QIN Hongling<sup>3</sup>, CHENG Changxin<sup>5</sup>, LI Qiang<sup>1</sup>

[1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Zhangjiajie Company of Hunan Tobacco Company, Zhangjiajie 4270002, China; 3. Institute of Subtropical Ecological Agriculture, China Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 4. Hunan China Tobacco Industry Co., Ltd., Changsha 41000, China;  
5. Hongyun Honghe Tobacco (Group) Co., Ltd., Kunming 650231, China]

收稿日期: 2023-07-06 修回日期: 2024-07-01 网络首发日期: 2024-07-16

\*基金项目: 湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30647); 湖南创新型省份建设专项经费(2021NK2028); 湖南省烟草公司张家界市公司项目(202103); 湖南中烟工业有限责任公司项目(KY2020JD0010)。

作者简介: 赵诣(1999—), 女, 湖南常德人, 在读硕士研究生, 主要从事烟草栽培生理研究。

E-mail: 2603816700@qq.com

\*\*通信作者 Corresponding authors: 程昌新(1979—), 男, 河南潢川人, 硕士, 高级农艺师, 主要从事植烟生态环境与烟叶质量评价研究。E-mail: ccxin1003@126.com; 李强(1982—), 男, 江苏仪征人, 博士, 副教授, 主要从事烟草科学与工程技术和农业可持续发展研究。E-mail: zqiangli@126.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240715.1751.001>



**Abstract:** [Purpose] To study the effects of adding microalgae and cow manure organic fertilizer on tobacco growth, yield and quality, and soil bacterial community. [Methods] Four field experiments were conducted on microalgae, cow manure organic fertilizer, microalgae+cow manure organic fertilizer, and blank control (CK). Agronomic traits, yield, and chemical composition of cured tobacco leaves were monitored, and soil chemical properties were measured. Molecular biology techniques such as fluorescence quantitative PCR and Illumina Miseq sequencing were used to analyze the abundance and composition of soil bacterial communities. [Results] Compared with CK, the application of microalgae+cow manure organic fertilizer significantly increased the content of soil nitrate nitrogen, dissolved organic carbon, available phosphorus, and available potassium, and improved soil pH; the height and number of leaves of tobacco plants during the round top stage, the contents of total nitrogen, potassium, nicotine, total sugar, and reducing sugar content, nitrogen-nicotine ratio and potassium-chlorine ratio of tobacco leaves significantly increased; the yield and output value of tobacco increased by 13.70% and 16.78% respectively; the diversity of soil bacterial communities had been improved, and the structure of soil bacterial communities had been optimized, among them, the relative abundance of *Bacillus* had increased, and the ability of soil bacterial communities to inhibit bacterial wilt disease had been enhanced. The typical correspondence analysis results showed that: soil pH, nitrate nitrogen, and available potassium content were key factors affecting the composition of soil bacterial community structure. [Conclusion] The combination of microalgae and cow manure organic fertilizer can increase soil nutrient content, activate soil beneficial microorganisms, enhance the ability of bacterial communities to inhibit bacterial wilt, improve soil microecological environment, promote tobacco growth, and increase tobacco yield and quality.

**Keywords:** microalgae; cow manure organic fertilizer; chemical properties of soil; tobacco leaf yield and quality; bacterial community

烟草是中国重要的经济作物, 其种植面积和总产量均占世界 1/3 以上<sup>[1]</sup>。化肥具有速效养分含量高和肥效快等优点, 对促进烟草生长和提高烟叶产量具有重要作用, 在烟草生产中被广泛施用。然而, 化肥长期过量施用, 会引起土壤板结、酸化、有机质含量减少和微生物多样性降低等一系列问题, 严重影响烟叶的产量和质量, 制约烟草产业的可持续发展<sup>[2-3]</sup>。有机肥施用不仅能提高土壤总孔隙度, 使耕层土壤变松和持水能力增加, 还能活化土壤养分和促进有机质累积, 提高土壤微生物多样性和酶活性等<sup>[4]</sup>。牛粪含有烤烟生长所必需的氮、磷、钾等营养元素, 是优质的有机肥源<sup>[5]</sup>。增施牛粪不仅能显著改善土壤质地和养分状况, 提高土壤微生物数量和多样性<sup>[6]</sup>, 还能促进烟株生长, 增加烟叶干物质和致香物质总量, 促进烟叶化学成分更协调, 从而提高烟叶产量和质量<sup>[7]</sup>。

微藻是一组高度多样化的光合微生物, 包括原核生物 (如蓝藻) 和真核生物 (如绿藻、硅藻、

裸藻)<sup>[8]</sup>。作为新型微生物肥料, 微藻具有改良土壤结构、提高土壤肥力、促进植物生长和改善土壤微生物群落结构等优点<sup>[9]</sup>。目前已应用于水稻、小麦、玉米、番茄等作物生产中<sup>[10-13]</sup>。RENUKA 等<sup>[14]</sup>将蓝藻和绿藻复合物施用于小麦后, 土壤微生物活性增强, 土壤有机碳含量增加, 可促进小麦生长和增加产量。沈银武等<sup>[15]</sup>将蓝藻与无机肥料配施发现: 适量的蓝藻有机无机复混肥对烟草产量和质量有促进作用。然而, 微藻和有机肥组合施用在烟草生产中的应用鲜有报道, 其对土壤化学性质、烟株生长和烟叶产质量及土壤微生物群落结构的影响尚不明确。

本研究选取典型植烟大田, 设置空白对照 (不施微藻和牛粪有机肥)、微藻、牛粪有机肥、微藻+牛粪有机肥 4 种处理, 在烟株生长关键期观测烟株农艺性状, 测定土壤化学性质、烤后烟叶产量和化学成分, 利用荧光定量 PCR、Illumina Miseq 测序等技术分析土壤细菌群落结构, 揭示增施微藻和牛粪有机肥对植烟土壤化学性质、烟株生

长、烟叶质量及土壤微生物群落结构的影响, 以期烟草产业绿色可持续发展提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况和试验材料

试验地位于湖南省张家界市桑植县龙潭坪镇(29°18'N, 110°02'E), 其土壤基本理化性质为: 有机质含量 22.36 g/kg, 全氮含量 1.27 g/kg, 全磷含量 0.60 g/kg, 全钾含量 24.84 g/kg, 有效磷含量 83.44 mg/kg, 速效钾含量 123.69 mg/kg, 铵态氮含量 37.41 mg/kg, 硝态氮含量 7.21 mg/kg, 溶解性有机碳含量 65.89 mg/kg, pH 值 6.48。按照当地烟叶生产实际肥料需求, 施氮量为 120 kg/hm<sup>2</sup>, 养分比例为 N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O=1 : 1 : 3。

供试烟草品种为 K326, 由张家界市烟草公司提供。微藻主要成分为固氮蓝藻、蛋白核小球藻和小单歧藻, 有效活菌数为 3×10<sup>6</sup> 个/mL, 由湖南省耕天下生物科技有限公司提供。牛粪有机肥主要成分为牛粪、谷糠、蘑菇菌渣等, 有机质含量≥30%, N+P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>+K<sub>2</sub>O 含量≥5%, 由湖南神隆华绿肥业有限公司提供。

### 1.2 试验设计

试验共设置 4 个处理: 常规施肥 (CK); 增施微藻 (M), 由微藻原液 1 mL 兑水稀释 100 倍而成; 增施牛粪有机肥 (NF), 施肥量为 3000 kg/hm<sup>2</sup>; 增施微藻+牛粪有机肥 (MNF), 微藻配制同 M 处理, 牛粪有机肥施肥量同 NF 处理。微藻于烟苗移栽 3 d 后穴施; 牛粪有机肥与烟草专用肥混合后作基肥撒施, 条施后起垄。试验采用完全随机区组设计, 每个处理设置 3 个重复, 共 12 个小区, 每个小区 7 垄, 每垄 17 株, 株行距为 1.2 m×0.5 m, 其他生产技术措施和当地一致。

### 1.3 土壤采集

烟苗于 2021 年 5 月 10 日移栽, 移栽前采集 1 次土样作为起始对照 (CK0), 分别于 7 月 12 日 (旺长期) 和 8 月 25 日 (成熟期) 各取 1 次土壤样品。每个小区采用抖根法收集 5 株烟草根际土壤并充分混匀, 去除土壤中的杂草、石块等杂质, 一部分用于测定土壤化学性质, 另一部分储存于 -80 °C 冰箱中, 用于分析土壤细菌群落。

### 1.4 测定方法

#### 1.4.1 土壤化学性质的测定

土壤 pH 采用电位法测定; 采用硫酸钾溶液浸

提新鲜土壤, 铵态氮和硝态氮含量采用 AA3 流动注射分析仪测定; 土壤溶解性有机碳含量采用可溶性有机碳分析仪测定; 采用碳酸氢钠浸提有效磷, 再采用 AA3 流动注射分析仪测定其含量; 采用醋酸铵浸提速效钾, 再采用火焰光度计测定其含量<sup>[16]</sup>。

#### 1.4.2 烤烟农艺性状调查

按照《烟草农艺性状调查测量方法》(YC/T 142—2010)<sup>[17]</sup>调查烟草农艺性状, 包括团棵期、现蕾期、圆顶期的株高、有效叶数、最大叶面积、茎围和节距。

#### 1.4.3 烤后烟叶经济性状与化学成分

按照《烤烟》(GB 2635—1992)<sup>[18]</sup>对烤后烟叶进行分级, 称量烤后烟叶各等级质量, 计算上等烟、中等烟、下等烟的比例和产量, 并按当年收购价计算产值。对烤后烟叶的化学成分进行分析, 测定指标包括烟碱、总糖、还原糖、总氮、钾和氯含量, 测定方法按照文献 [19] 进行, 所测化学成分含量换算为百分率。

#### 1.4.4 土壤细菌与青枯菌的荧光定量 PCR

*16S rRNA* 基因定量采用 1369F/1492R 通用引物 (F: 5'-CGGTGAATACGTTTCYCGG-3'; R: 5'-GGWTACCTTGTTACGACT-3'); 青枯雷尔氏杆菌定量采用特异性引物 (F: 5'-GAACGCCAACGGTGC GAACT-3'; R: 5'-GGCGCCTTCAGGGAG GTC-3')<sup>[20]</sup>。PCR 反应体系均为 10 μL, 包括 SYBR Green II (Takara) 5 μL, 10 μmol/L 上、下游引物各 1 μL, DNA 模板 1 μL, 加 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 补足体系。*16S rRNA* 的 PCR 程序为: 95 °C 预变性 2 min; 95 °C 变性 5 s, 58 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 循环 40 次; 溶解曲线程序为: 95 °C 15 s, 60 °C 15 s 和 95 °C 15 s。青枯雷尔氏杆菌的 PCR 程序为: 95 °C 预变性 2 min; 95 °C 变性 5 s, 61 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 循环 40 次; 溶解曲线程序为 95 °C 15 s, 60 °C 15 s 和 95 °C 15 s。将含有目标基因片段的质粒以 10 倍浓度梯度稀释, 以制备标准曲线。扩增效率均在 90%~110% 范围内, R<sup>2</sup> 均达到 0.99。

#### 1.4.5 土壤细菌群落结构分析

采用 CTAB 法<sup>[21]</sup>提取土壤 DNA, 通过 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外可见分光光度计 (ND-1000, 德国) 检测 DNA 的质量和浓度; 将 DNA 样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina

Miseq 测序; 上传测序原始数据至 NCBI 的 SRA 数据库, 登录号为 PRJNA937210。

### 1.5 数据处理与统计分析

采用 SPSS 20.0 对土壤化学性质、烟叶各项指标、土壤细菌和青枯菌的丰度及  $\alpha$  多样性指数进行单因素方差分析; 采用 Origin pro 2022 绘图; 采用 Canoco 5 对土壤细菌群落与土壤化学性质之间的关系进行典型对应分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤化学性质

增施微藻和牛粪有机肥能够提高土壤 pH, 增加或显著增加土壤硝态氮、溶解性有机碳、有效磷和速效钾含量 (表 1)。在烟株旺长期 (7 月 12 日), NF 和 MNF 处理的土壤 pH 以及硝态氮、溶解性有机碳和速效钾含量均显著高于 CK 处理, 铵态氮含量则显著低于 CK 处理。在烟株成熟期 (8 月 25 日), NF 处理的土壤 pH 以及硝态氮、溶解性有机碳、有效磷和速效钾含量均显著高于 CK 处理; MNF 处理的土壤硝态氮、溶解性有机碳、有效磷和速效钾含量均显著高于 CK 处理。

### 2.2 烟株农艺性状

增施微藻和牛粪有机肥可促进烟株生长 (表 2)。烟株团棵期, M 处理的烟株叶数和茎围较 CK 处理分别显著提高 35.95% 和 12.52%; 烟株现蕾期, NF 和 MNF 处理的烟株叶数较 CK 处理分别显著提高 16.82% 和 16.38%; 烟株圆顶期,

MNF 处理的烟株叶数和株高显著高于其他处理, 较 CK 处理分别显著提高 29.24% 和 25.56%。

### 2.3 烤后烟叶经济性状与化学成分

增施微藻和牛粪有机肥可提高烟叶产量和产值 (表 3)。与 CK 相比, M、NF 和 MNF 处理的烟叶产量和产值均显著提高, 产量分别提高 6.61%、10.01% 和 13.70%, 产值分别提高 4.24%、6.11% 和 16.78%, 且以 MNF 处理的产量与产值最高。

由图 1 可知: 与 CK 处理相比, M 处理的烟叶还原糖含量、总糖含量和糖碱比显著增加; NF 处理的烟叶总氮和烟碱含量显著增加, 中部叶还原糖含量和氮碱比显著增加, 上部叶氯含量显著增加但糖碱比显著减少; MNF 处理的烟叶总氮、钾、烟碱、还原糖和总糖含量以及钾氯比和氮碱比均显著增加, 且各含量相对比较适中。

### 2.4 土壤细菌与青枯菌丰度

由图 2 可知: 增施微藻和牛粪有机肥可提高土壤中的细菌丰度, 并抑制青枯菌丰度的增加。烟株成熟期 (8 月), NF 和 MNF 处理的细菌丰度显著高于 CK 处理。从烟苗移栽 (CK0) 到烟叶成熟, CK 处理的土壤青枯菌丰度显著增加, 但 NF 和 MNF 处理的土壤青枯菌丰度增幅更小; 与 CK 处理相比, 成熟期 NF 和 MNF 处理的土壤青枯菌丰度分别降低 37.00% 和 40.06%。

### 2.5 土壤细菌群落的多样性和组成

增施微藻和微藻+牛粪有机肥可提高土壤细菌多样性 (图 3)。M 处理和 MNF 处理在旺长期和

表 1 施用微藻和牛粪有机肥对土壤化学性质的影响

Tab. 1 Effects of microalgae and cow manure organic fertilizer on the soil chemical properties

时间 time	处理 treatments	土壤 pH soil pH	铵态氮/(mg·kg <sup>-1</sup> ) ammonium nitrogen	硝态氮/(mg·kg <sup>-1</sup> ) nitrate nitrogen	溶解性有机碳/(mg·kg <sup>-1</sup> ) dissolved organic carbon	有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> ) available phosphorus	速效钾/(mg·kg <sup>-1</sup> ) available potassium
7月 July	CK	6.64±0.19 b	10.08±1.02 a	3.56±1.57 c	48.17±4.66 b	91.17±9.94 a	117.90±11.61 c
	M	6.81±0.08 b	12.56±2.02 a	1.41±0.30 c	58.25±3.13 b	90.95±11.91 a	132.86±19.57 c
	NF	7.25±0.02 a	0.87±0.03 b	33.27±2.36 b	92.24±6.87 a	80.58±1.36 a	228.18±0.06 b
	MNF	7.32±0.08 a	0.35±0.05 b	56.09±0.87 a	94.34±10.54 a	100.72±2.60 a	288.05±18.45 a
8月 August	CK	6.74±0.05 b	6.29±2.54 a	5.73±0.88 c	33.74±6.29 c	65.98±0.55 c	111.46±26.18 c
	M	6.74±0.08 b	6.33±2.11 a	4.60±0.75 c	28.84±1.17 bc	67.22±5.80 c	149.66±20.56 bc
	NF	6.98±0.09 a	3.94±0.80 a	45.09±3.16 b	42.81±0.26 b	94.86±4.48 b	176.72±2.36 b
	MNF	6.84±0.09 ab	2.14±0.24 a	68.35±1.83 a	55.58±3.44 a	116.35±0.67 a	376.29±9.57 a

注: CK. 常规施肥, M. 增施微藻, NF. 增施牛粪有机肥, MNF. 增施微藻+牛粪有机肥; 下同。不同小写字母表示同一时期处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: CK. conventional fertilization, M. increase the application of microalgae, NF. increase the application of cow manure organic fertilizer, MNF. increase the application of microalgae+cow manure organic fertilizer; the same as below. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments in the same period ( $P<0.05$ ).

表 2 烟株各生育期农艺性状

Tab. 2 Agronomic traits of tobacco plant at different growth stages

生育期 growth period	处理 treatments	株高/cm plant height	叶数 number of leaves	茎围/cm stem girth	节距/cm pitch distance	最大叶面积/cm <sup>2</sup> maximum leaf area
团棵期 rosette stage	CK	37.15±8.64 d	12.60±2.25 e	7.51±0.75 cd	2.93±0.23 d	1224.82±289.51 c
	M	52.90±8.24 d	17.13±1.10 cd	8.45±0.43 ab	3.02±0.33 d	1667.13±327.18 bc
	NF	41.66±4.66 d	13.20±0.92 e	7.37±0.51 d	3.15±0.23 d	1134.12±254.63 c
	MNF	47.01±3.92 d	14.40±0.84 de	8.32±0.41 abc	3.27±0.26 d	1320.45±157.48 c
现蕾期 flower budding stage	CK	105.74±8.90 c	22.17±1.06 b	9.74±0.52 a	4.78±0.55 bc	2151.38±254.42 ab
	M	98.78±3.25 c	20.33±0.97 bc	9.64±0.27 a	4.86±0.17 b	2165.20±276.04 ab
	NF	105.77±9.08 c	25.90±2.13 a	10.01±0.44 a	4.17±0.28 c	2088.70±272.10 ab
	MNF	115.26±8.88 bc	25.50±2.31 a	9.80±0.76 a	4.17±0.29 c	2363.55±293.41 ab
圆顶期 round top stage	CK	112.39±5.18 bc	20.07±1.29 bc	9.74±0.52 a	5.66±0.30 a	2191.05±270.77 ab
	M	108.78±7.93 bc	19.27±0.49 bc	9.64±0.27 a	5.69±0.29 a	2187.72±316.30 ab
	NF	127.06±10.57 b	21.60±1.58 b	9.22±0.47 ab	5.90±0.51 a	1771.64±438.98 bc
	MNF	145.25±16.33 a	25.20±1.81 a	10.18±0.60 a	5.76±0.40 a	2608.50±478.42 a

注: 不同小写字母表示处理间有显著差异 ( $P<0.05$ ); 下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ); the same as below.

表 3 烤后烟叶经济性状

Tab. 3 Economic properties of cured tobacco leaves

处理 treatments	产量/(kg·hm <sup>-2</sup> ) yield	产值/(元·hm <sup>-2</sup> ) output value/ (yuan·hm <sup>-2</sup> )	均价/(元·kg <sup>-1</sup> ) average price/ (yuan·kg <sup>-1</sup> )	上等烟比例/% proportion of superior leaves	上中等烟比例/% proportion of middle and superior leaves
CK	2254.50±38.40 c	62314.38±857.73 c	27.64±1.63 ab	34.26±2.68 a	77.26±2.62 a
M	2403.45±50.40 b	64954.98±933.39 b	27.03±2.72 ab	34.43±4.35 a	79.56±5.60 a
NF	2480.10±39.65 b	66119.47±948.10 b	26.66±2.65 b	33.21±2.10 a	78.45±4.55 a
MNF	2563.35±56.40 a	72773.51±837.77 a	28.39±4.95 a	34.39±3.92 a	78.59±1.57 a

成熟期的 Shannon 指数均显著高于 CK 处理; 各处理的 Shannon 指数随时间呈上升趋势, 但 CK 处理、M 处理和 NF 处理均未达到显著差异水平, 而 MNF 处理 Shannon 指数显著增加。各时期各处理间的 Simpson 指数均无显著差异。

施入微藻和牛粪有机肥可显著影响细菌群落组成(图 4)。门水平上, 变形菌门(Proteobacteria)为各处理中土壤细菌群落最优势的门, 其在各处理中的相对丰度均大于 25%。与 CK 处理相比, MNF 处理酸杆菌门(Acidobacteria)的相对丰度显著降低; 烟株旺长期, NF 处理和 MNF 处理放线菌门(Actinobacteria)的相对丰度显著增加。属水平上, 鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)为各处理土壤细菌群落中最优势的属, 其在 CK 处理中的相对丰度随时间有所增加, 而在 M 处理、NF 处理和 MNF 处理中的相对丰度随时间有所下降。烟株成熟期, NF 处理和 MNF 处理的芽孢杆

菌属(*Bacillus*)相对丰度显著高于 CK 处理和 M 处理。

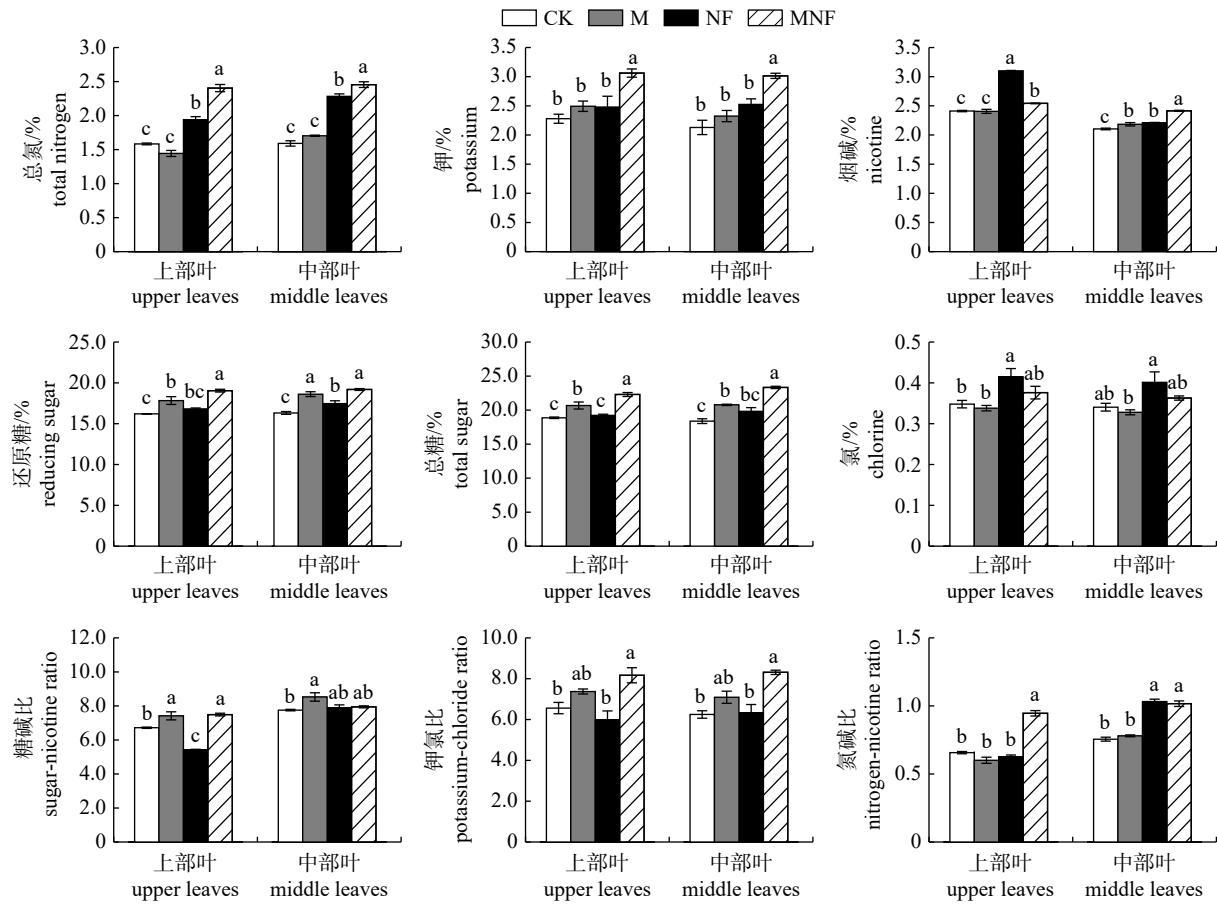
## 2.6 土壤细菌群落与土壤化学性质间的关系

由图 5 可知: 增施牛粪有机肥和微藻+牛粪有机肥对土壤细菌群落结构的影响较大。M 处理与 CK 处理土壤聚集在一起, 而 NF 处理和 MNF 处理分别与其他处理的土壤分离, 表明差异较大。此外, 土壤化学性质可显著影响土壤细菌群落结构。土壤 pH 以及硝态氮和速效钾含量对土壤细菌群落结构有极显著影响 ( $P<0.01$ ), 而铵态氮含量对土壤细菌群落结构有显著影响 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 增施微藻和牛粪有机肥对土壤性质的影响

微藻可提高土壤肥力和改善土壤微生态环境, 如增加土壤有机质、氮、磷等养分含量及调节土壤 pH 值, 增强土壤团聚体稳定性等<sup>[22]</sup>。本

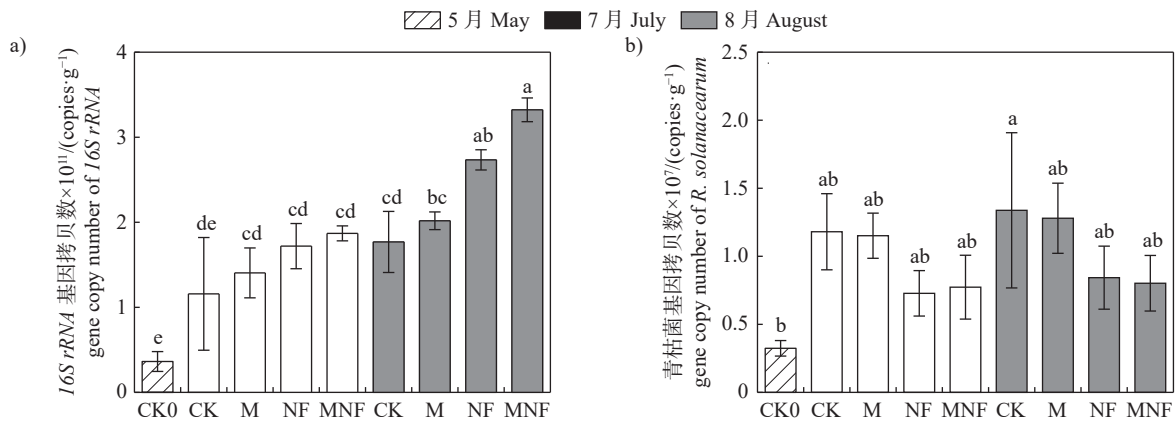


注: CK. 常规施肥, M. 增施微藻, NF. 增施牛粪有机肥, MNF. 增施微藻+牛粪有机肥; 下同。不同小写字母表示不同处理同部位烟叶的化学成分有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Note: CK. conventional fertilization, M. increase the application of microalgae, NF. increase the application of cow manure organic fertilizer, MNF. increase the application of microalgae+cow manure organic fertilizer; the same as below. Different lowercase letters indicate that there are significant differences in chemical composition of tobacco leaves in the same position but different treatments ( $P < 0.05$ ).

图 1 烟叶常规化学成分含量

Fig. 1 Content of conventional chemical components in tobacco leaves

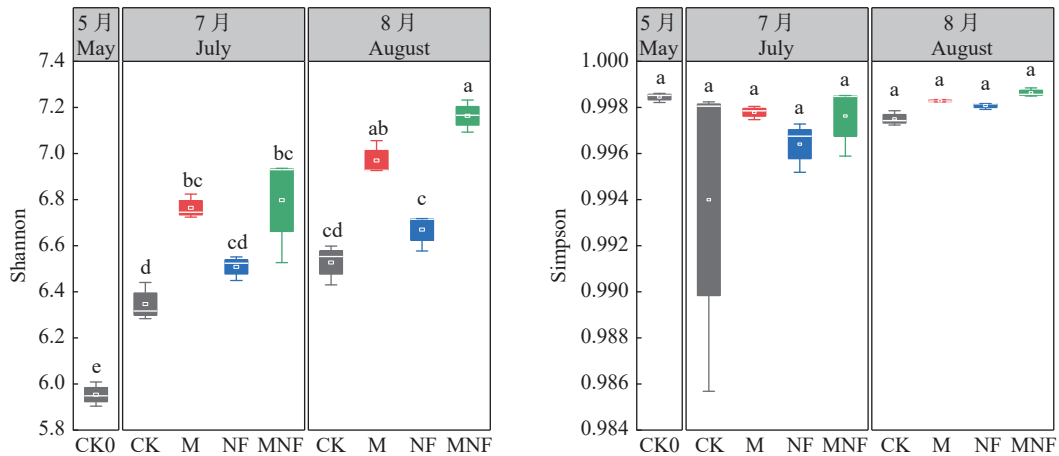


注: CK0 为土壤样品在烤烟移栽前的起始对照, 下同。不同小写字母表示处理间有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Note: CK0 is the initial control of soil before tobacco transplanting, the same as below. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 2 细菌 (a) 和青枯菌 (b) 在土壤中的绝对丰度

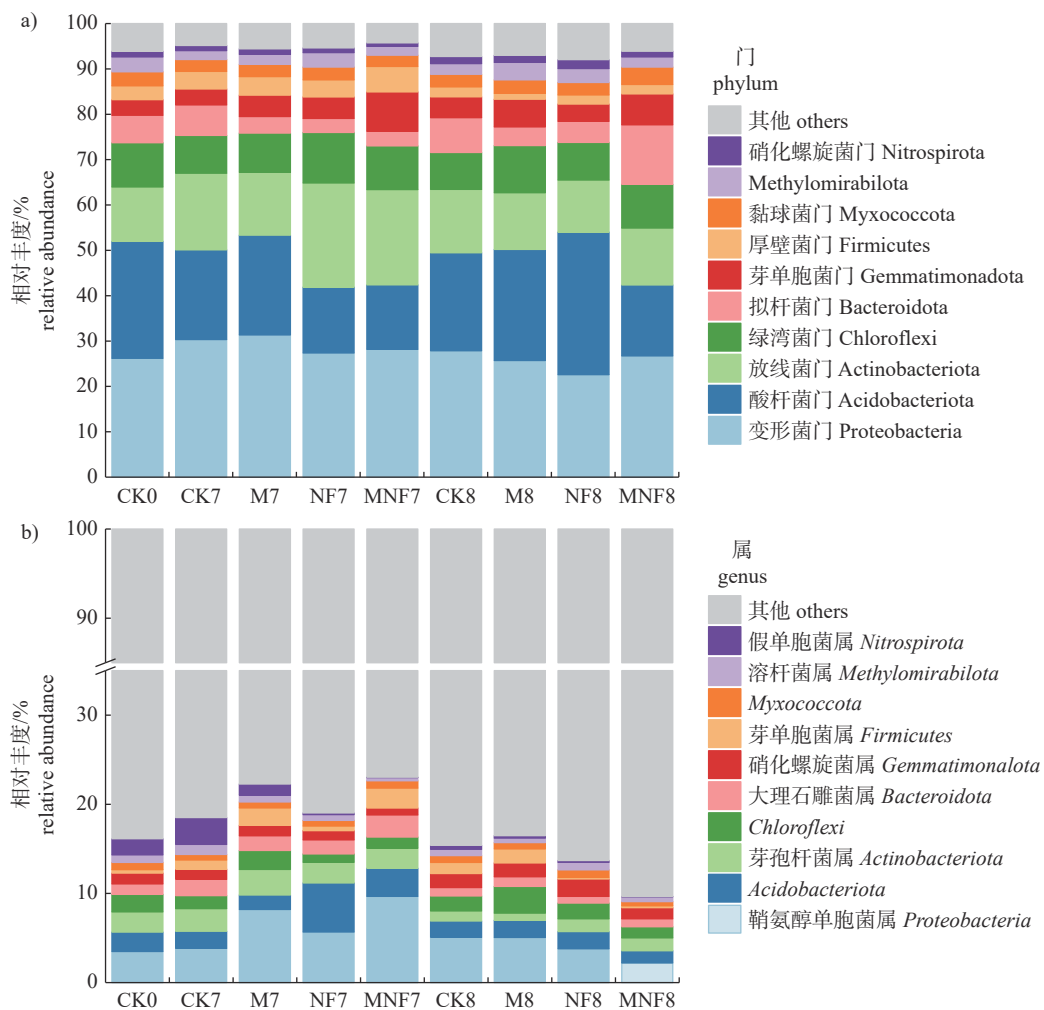
Fig. 2 Absolute abundance of bacteria (a) and *Ralstonia solanacearum* (b) in soil



注：不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P < 0.05$ ).

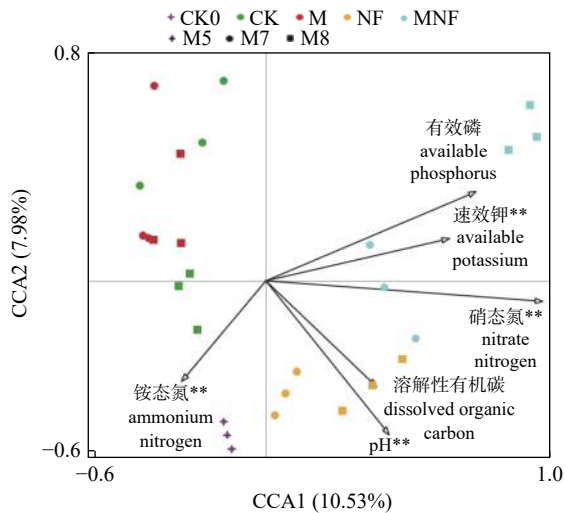
图 3 土壤细菌群落  $\alpha$  多样性  
Fig. 3 Alpha diversity of soil bacterial community



注：7 和 8 分别表示旺长期和成熟期的土壤样品。

Note: The numbers 7 and 8 indicate soil samples from the rapid growth stage and mature stages, respectively.

图 4 相对丰度前 10 的土壤细菌群落组成  
Fig. 4 The top 10 relative abundance of soil bacterial communities



注: 不同颜色表示不同处理, 不同形状表示不同时期; M5、M7和M8分别表示烤烟移栽前、旺长期和成熟期的土壤样品; \*\*,  $P < 0.01$ , \*,  $P < 0.05$ 。

Note: Different colors indicate different treatments, different shapes indicate different periods; M5, M7, and M8 indicate soil samples before transplanting, during the rapid growth stage and mature stages of tobacco, respectively.

图5 土壤细菌群落典型对应分析

Fig. 5 Canonical correspondence analysis (CCA) of soil bacterial communities

研究中, 与CK相比, 增施微藻对土壤氮、磷含量的改善未达到显著效果, 其原因与土壤的性状和微生态环境以及微藻的施用量等因素有关。与CK相比, 增施牛粪有机肥可显著提高土壤pH、硝态氮、溶解性有机碳和速效钾含量, 而铵态氮含量下降, 这与郭龙等<sup>[6]</sup>的研究结果一致。增施微藻+牛粪有机肥可显著增加土壤溶解性有机碳、硝态氮、速效钾和有效磷的含量; 与只增施牛粪有机肥相比, 可显著增加土壤硝态氮、速效钾和有效磷的含量。其原因是牛粪有机肥施入可改善土壤质地及微生态环境, 促进微藻等微生物的繁殖和活动, 一方面促进微藻对土壤碳的同化和有机磷的矿化, 另一方面加快牛粪有机肥养分释放和积累<sup>[9, 23]</sup>。

### 3.2 增施微藻和牛粪有机肥对烟株农艺性状、烤后烟叶产量和品质的影响

微藻可以合成和分泌多种活性物质, 如生长素、细胞分裂素、赤霉素等, 对促进植物生理代谢和生长调节发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。已有研究表明: 施用微藻可显著提高小麦和番茄的株高和产量<sup>[24]</sup>, 提升黄瓜可溶性总糖等营养品质<sup>[25]</sup>。本研究中, 增施微藻可显著增加烟株在团棵期的叶数和茎围, 提高烤后烟叶产量、总糖和还原糖含量以及糖碱

比, 其原因是烟株利用微藻合成和分泌的促生长活性物质刺激自身更快地代谢和发育, 促进化学物质的合成和积累<sup>[26]</sup>。增施微藻+牛粪有机肥对促进烟株生长、提高烟叶产量以及协调化学成分的效果最好, 其原因主要为: 首先, 牛粪含有丰富的氮、磷、钾等营养元素, 可为烟株生长提供大量养分<sup>[5]</sup>; 其次, 牛粪有机肥可以改善土壤质地, 提高耕层土壤总孔隙度及持水能力等, 优化烟株生长的微生态环境<sup>[7]</sup>; 第三, 牛粪有机肥提供的营养元素以及对土壤微生态环境的改善也可促进微藻的繁殖和活性, 不仅有利于微藻促生活活性物质的分泌, 也有利于牛粪有机肥养分的释放, 进而促进烟株生长<sup>[27]</sup>。因此, 增施微藻+牛粪有机肥能有效提高土壤有机质含量, 调节土壤碳氮比值, 改善土壤微生态环境, 使土壤养分供应更加协调<sup>[28]</sup>, 更有利于烟叶对营养物质的吸收与转化, 进而促进烟株生长, 改善烟叶品质。

### 3.3 增施微藻和牛粪有机肥对土壤细菌群落的影响

土壤微生物是土壤微生态的重要组成部分, 是驱动土壤养分循环的关键因子, 对维持土壤质量、促进植物生长等具有重要作用。本研究表明: 增施微藻+牛粪有机肥可显著提高土壤中细菌丰度, 增加土壤细菌群落多样性, 改变细菌群落结构, 这与HU等<sup>[29]</sup>的研究结果相似。微藻和牛粪有机肥施入土壤后, 可通过调节土壤pH值和增加土壤养分含量改善土壤团聚体结构<sup>[22]</sup>, 同时, 微藻可释放类型多样的胞外物质(如糖类和氨基酸)<sup>[27]</sup>及自身细胞死亡后的有机物, 而牛粪可影响这些代谢物的浓度<sup>[29]</sup>, 从而显著改善细菌栖息的土壤微生态环境和营养条件, 促进细菌的生命活动, 驱动土壤细菌群落的构建, 促使土壤形成不同数量和种类的细菌群落<sup>[30]</sup>。在门水平上, 施入微藻和牛粪有机肥可增加部分门的丰度, 如芽单胞菌门、放线菌门和拟杆菌门。芽单胞菌门常见于营养丰富的土壤环境中, 能将各种糖分子转化为维生素, 促进烟草生长, 也能产生抗菌物质, 提高烟草抗逆能力<sup>[31]</sup>。放线菌门可通过分解土壤中植物有机残体、纤维素、木质素等改善土壤养分状况, 有利于烟株对土壤养分的吸收利用, 一些放线菌还可产生生长素促进烟株根系的生长发育, 刺激根系分泌糖类、氨基酸等活性物质, 为土壤细菌生长提供重要的营养及能量来源, 进一



步优化土壤微生态环境<sup>[32]</sup>。拟杆菌门生态适应性强,能够分泌多种胞外水解酶和碳水化合物活性酶,降解土壤中的复杂有机质,促进土壤养分的释放<sup>[33]</sup>。这些细菌门通过分泌多种酶或活性物质,提高土壤养分有效性,改善土壤性质,促进烟株对养分的吸收利用,从而促进烟草生长发育。但是,施入微藻和牛粪有机肥降低了酸杆菌门的相对丰度。酸杆菌门参与铁循环和光合作用等物质循环和生态环境构建过程,可以作为较贫瘠土壤环境的指标,其丰度越低,土壤质量越高<sup>[34]</sup>,因此,增施微藻和牛粪有机肥改善了土壤质量。在属水平上,施入微藻和牛粪有机肥后增加了芽孢杆菌属的相对丰度。芽孢杆菌能通过产生胞外多聚物和有机酸等机制促进土壤矿物中钾和不溶性磷的释放,促进烟株对钾素和磷素的吸收和利用,进而提高烟叶产量<sup>[35]</sup>。土壤细菌群落结构与土壤环境因子关系密切,土壤 pH、养分、水分和通气状况的改善都可能引起一些细菌群体快速繁衍成为优势群体,导致群落组成和结构发生变化<sup>[36]</sup>。在本研究中,土壤 pH、硝态氮含量和速效钾含量可极显著影响土壤细菌的群落结构,是影响细菌群落的关键因子。土壤 pH 可通过影响细菌代谢酶活性及细胞膜稳定性,进而影响细菌对土壤养分的吸收利用能力,使土壤细菌群落结构发生改变<sup>[37]</sup>。烟草在生长过程中对氮素(尤其是硝态氮)和钾素的需求较大,烟株从土壤中获取水分和养分的同时改变了土壤性质和土壤细菌群落结构,进而影响烟株自身和后续的生长<sup>[38]</sup>。本研究还发现:增施微藻和牛粪有机肥可降低青枯菌丰度,这可能是因为施用微藻和牛粪有机肥促进了拮抗青枯菌的益生菌群大量繁殖<sup>[39]</sup>,如对青枯病菌具有显著抑制效果的芽孢杆菌属的相对丰度显著增加。芽孢杆菌是防控烟草青枯菌的有效拮抗菌,通过与病原体争夺营养和生存空间、分泌类植物激素和抗菌物质、诱导植物抗性等机制减少烟草青枯病发生<sup>[40]</sup>。

#### 4 结论

增施微藻和牛粪有机肥可改善土壤 pH,增加土壤硝态氮、溶解性有机碳、有效磷、速效钾等养分含量,提高土壤细菌群落多样性,有利于有益微生物如芽孢杆菌的富集,抑制土传病原菌

青枯菌的数量,改善土壤微生态环境,从而促进烟株生长,提高烟叶的产量与品质。

#### [参考文献]

- [1] 肖志鹏,刘勇军,郭维,等.稻壳生物炭施用方式对土壤理化特性及烤烟产质量的影响[J].湖南农业科学,2023,450(3):40. DOI: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2023.003.009.
- [2] 刘楚祺,赵高坤,邓小鹏,等.连作年限对植烟土壤养分和微生物量及胞外酶化学计量特征的影响[J].云南农业大学学报(自然科学),2023,38(3):494. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202204038.
- [3] 肖和友,朱伟,王海军,等.连续施用不同生物质炭对植烟土壤特性和烤烟品质的影响[J].中国烟草科学,2021,42(3):19. DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2021.03.004.
- [4] 王东飞,肖飞,张亚恒,等.不同有机肥对烤烟生长发育及产质量的影响[J].贵州农业科学,2023,51(2):15. DOI: 10.3969/j.issn.1001-3601.2023.02.003.
- [5] 张涛,刘勇鹏,朱广权,等.定位化肥牛粪配施对设施蔬菜产量和土壤肥力的影响[J].中国土壤与肥料,2021(1):161. DOI: 10.11838/sfsc.1673-6257.19591.
- [6] 郭龙,李陈,刘佩诗,等.牛粪有机肥替代化肥对茶叶产量、品质及茶园土壤肥力的影响[J].水土保持学报,2021,35(6):264. DOI: 10.13870/j.cnki.stbxb.2021.06.036.
- [7] 何冬冬,魏欣琪,林紫婷,等.不同有机肥对植烟红壤真菌群落结构及功能的影响[J].植物营养与肥料学报,2020,26(11):2081. DOI: 10.11674/zwyf.20209.
- [8] SONG X T, BO Y H, FENG Y Z, et al. Potential applications for multifunctional microalgae in soil improvement[J]. Frontiers in Environmental Science, 2022, 10: 1035332. DOI: 10.3389/fenvs.2022.1035332.
- [9] SOLOMON W, MUTUM L, JANDA T, et al. Potential benefit of microalgae and their interaction with bacteria to sustainable crop production[J]. Plant Growth Regulation, 2023, 101(1): 53. DOI: 10.1007/s10725-023-01019-8.
- [10] 邵继海,陈杰锋,胡婷.林氏念珠藻对酸化稻田水稻产量和土壤细菌群落结构与功能的影响[J].河南师范大学学报(自然科学版),2022,50(6):22. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2022.06.004.
- [11] ISLAM M R, JAHAN R, UDDIN S, et al. Lime and organic manure amendment enhances crop productivity of wheat-mungbean-T. Aman cropping pattern in acidic piedmont soils[J]. Agronomy, 2021, 11(8): 1595. DOI: 10.3390/agronomy11081595.
- [12] DINESHKUMAR R, SUBRAMANIAN J, GOPALSA-MY J, et al. The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays* L.)[J]. Waste and Biomass Valorization, 2019, 10(5): 1101. DOI: 10.1007/s12649-017-0123-7.
- [13] RACHIDI F, BENHIMA R, SBABOU L, et al. Microalgae polysaccharides bio-stimulating effect on tomato plants: growth and metabolic distribution[J]. Biotechnology Reports, 2020, 25: e00426. DOI: 10.1016/j.btre.2020.e004

- 26.
- [14] RENUKA N, PRASANNA R, SOOD A, et al. Wastewater grown microalgal biomass as inoculants for improving micronutrient availability in wheat[J]. *Rhizosphere*, 2017, 3: 150. DOI: [10.1016/j.rhisph.2017.04.005](https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.005).
- [15] 沈银武, 刘永定, 吴国樵, 等. 蓝藻有机无机复混肥对几种作物的增效试验[J]. *水生生物学报*, 2005, 29(4): 399. DOI: [10.3321/j.issn:1000-3207.2005.04.008](https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-3207.2005.04.008).
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [17] YC/T 142—2010. 烟草农艺性状调查测量方法[S].
- [18] GB 2635—1992. 烤烟[S].
- [19] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [20] WANG X F, WEI Z, YANG K M, et al. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(12): 1513. DOI: [10.1038/s41587-019-0328-3](https://doi.org/10.1038/s41587-019-0328-3).
- [21] 蔡刘体, 胡重怡, 罗正友. SDS-CTAB法提取烟草病菌土壤微生物总DNA[J]. *江西农业学报*, 2011, 23(2): 119. DOI: [10.19386/j.cnki.jxnyxb.2011.02.038](https://doi.org/10.19386/j.cnki.jxnyxb.2011.02.038).
- [22] REDMILE-GORDON M, GREGORY A S, WHITE R P, et al. Soil organic carbon, extracellular polymeric substances (EPS), and soil structural stability as affected by previous and current land-use[J]. *Geoderma*, 2020, 363: 114143. DOI: [10.1016/j.geoderma.2019.114143](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114143).
- [23] ALVAREZ A L, WEYERS S L, GOEMANN H M, et al. Microalgae, soil and plants: a critical review of microalgae as renewable resources for agriculture[J]. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, 2021, 54(5): 102200. DOI: [10.1016/j.algal.2021.102200](https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200).
- [24] 邱智超, 勾宇春, 张志鹏, 等. 藻类资源在农业种植业中的应用研究进展[J]. *农业资源与环境学报*, 2023, 40(4): 840. DOI: [10.13254/j.jare.2022.0563](https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0563).
- [25] 蒋龙刚, 王丽英, 任燕利, 等. 微藻用量对滴灌日光温室番茄/黄瓜土壤质量、产量及品质的影响[J]. *北方园艺*, 2022(20): 48. DOI: [10.11937/bfy.20221328](https://doi.org/10.11937/bfy.20221328).
- [26] 边建文, 崔岩, 杨宋琪, 等. 微藻生物肥料的农业应用研究进展[J]. *中国土壤与肥料*, 2020(5): 1. DOI: [10.11838/sfsc.1673-6257.19290](https://doi.org/10.11838/sfsc.1673-6257.19290).
- [27] WU W Y, KE T, ZHOU X J, et al. Synergistic remediation of copper mine tailing sand by microalgae and fungi[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 175: 104453. DOI: [10.1016/j.apsoil.2022.104453](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104453).
- [28] 张广雨, 褚德朋, 刘元德, 等. 生物炭及海藻肥对烟草生长、土壤性状及青枯病发生的影响[J]. *中国烟草科学*, 2019, 40(5): 15. DOI: [10.13496/j.issn.1007-5119.2019.05.003](https://doi.org/10.13496/j.issn.1007-5119.2019.05.003).
- [29] HU J J, GUO H C, XUE Y Y, et al. Using a mixture of microalgae, biochar, and organic manure to increase the capacity of soil to act as carbon sink[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19(11): 3718. DOI: [10.1007/s11368-019-02337-z](https://doi.org/10.1007/s11368-019-02337-z).
- [30] YODER N, DAVIS J G. Organic fertilizer comparison on growth and nutrient content of three kale cultivars[J]. *HortTechnology*, 2020, 30(2): 176. DOI: [10.21273/HORTTECH04483-19](https://doi.org/10.21273/HORTTECH04483-19).
- [31] LI Q J, ZHANG D Q, SONG Z X, et al. Organic fertilizer activates soil beneficial microorganisms to promote strawberry growth and soil health after fumigation[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 295(7): 118653. DOI: [10.1016/j.envpol.2021.118653](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118653).
- [32] ZHANG Y, SHANGGUAN Z P. Long-term N addition accelerated organic carbon mineralization in aggregates by shifting microbial community composition[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 342(1): 108249. DOI: [10.1016/j.agee.2022.108249](https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108249).
- [33] GUO H H, GU J, WANG X J, et al. Beneficial effects of bacterial agent/bentonite on nitrogen transformation and microbial community dynamics during aerobic composting of pig manure[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 298(12): 122384. DOI: [10.1016/j.biortech.2019.122384](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122384).
- [34] 姜伟, 白红梅, 薛国萍, 等. 基于高通量测序的设施连作果类菜根际土壤细菌群落结构和多样性分析[J]. *华北农学报*, 2021, 36(4): 82. DOI: [10.7668/hbnxb.20192021](https://doi.org/10.7668/hbnxb.20192021).
- [35] 林斌, 黄菊青, 官雪芳, 等. 解淀粉芽孢杆菌液体肥在茶叶上的应用研究[J]. *福建农业学报*, 2019, 34(10): 1173. DOI: [10.19303/j.issn.1008-0384.2019.10.009](https://doi.org/10.19303/j.issn.1008-0384.2019.10.009).
- [36] 陈懿, 吴春, 李彩斌, 等. 炭基肥对植烟黄壤细菌、真菌群落结构和多样性的影响[J]. *微生物学报*, 2020, 60(4): 653. DOI: [10.13343/j.cnki.wsxb.20190258](https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20190258).
- [37] 李梦茵, 张丽平, 李鑫, 等. 茶园土壤微生物量碳的质量分数及其影响因素的研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2021(1): 26. DOI: [10.11838/sfsc.1673-6257.19587](https://doi.org/10.11838/sfsc.1673-6257.19587).
- [38] 黄锦文, 李日坤, 陈志诚, 等. 不同稻草还田技术对烟—稻轮作系统土壤养分、有机碳及微生物多样性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2023, 37(4): 415. DOI: [10.16819/j.1001-7216.2023.220901](https://doi.org/10.16819/j.1001-7216.2023.220901).
- [39] MESSIHA N A S, VAN BRUGGEN A H C, FRANZ E, et al. Effects of soil type, management type and soil amendments on the survival of the potato brown rot bacterium *Ralstonia solanacearum*[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43(2/3): 206. DOI: [10.1016/j.apsoil.2009.07.008](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.07.008).
- [40] 冯印印, 李斌, 杨洋, 等. 烟草青枯病菌拮抗细菌的筛选、鉴定和抑菌机制研究[J]. *中国生物防治学报*, 2021, 37(2): 331. DOI: [10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.02.008](https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.02.008).

责任编辑: 何馨成