

郑梅迎,刘福童,郑邦玺,等.不同年限烤烟连作对土壤养分和微生物变化的影响[J].华中农业大学学报,2024,43(4):182-191.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.04.020

## 不同年限烤烟连作对土壤养分和微生物变化的影响

郑梅迎<sup>1</sup>,刘福童<sup>2</sup>,郑邦玺<sup>3</sup>,黄治宏<sup>2</sup>,徐画晴<sup>2</sup>,  
张雅楠<sup>2</sup>,何文勤<sup>1</sup>,姚峰<sup>1</sup>,任天宝<sup>2</sup>

1. 陕西省烟草公司汉中市公司,汉中 723000; 2. 河南农业大学烟草学院/河南省生物炭研究工程技术中心,郑州 450002; 3. 陕西中烟工业有限责任公司,汉中 723000

**摘要** 为探究烤烟连作障碍的关键影响因素及规律,对汉中地区种植5种不同年份处理:连作0 a(CK)、连作2 a(T1)、连作4 a(T2)、连作6 a(T3)和连作8 a(T4)的烤烟土壤进行了土壤理化性质、微生物多样性及群落结构变化的分析。结果显示:烤烟土壤有机质、土壤pH和总碳含量随着种植年限的增加而降低;T4处理相比于CK处理,土壤有机质、土壤pH和总碳含量分别减少8.34%、25.39%和25.20%;土壤中细菌和真菌多样性及丰富度均呈现先增加后减少的趋势,其中细菌优势菌门为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和厚壁菌门;真菌优势菌门为子囊菌门、担子菌门和毛霉菌门,相比于CK处理,T3处理下微生物相对丰度变化较大,其中放线菌门、厚壁菌门和担子菌门变化幅度分别为4.04%、6.24%和28.86%。结果表明,连作降低了土壤有机质含量、土壤pH和全碳含量,影响土壤微生物群落组成。

**关键词** 烤烟;连作障碍;土壤养分;土壤微生物;微生物群落

**中图分类号** S572.062    **文献标识码** A    **文章编号** 1000-2421(2024)04-0182-10

连作是指在同一块耕地上连续种植同一种作物的方式。受产业结构的调整和耕地资源短缺的制约,烟草连作现象突出,国内各大烟区已出现不同程度的连作现象<sup>[1]</sup>。连作会造成土壤养分降低、有机质含量下降,最终导致植物生长受阻,抗逆性降低。正常生产条件下,作物产量和质量仍下降的现象称之为连作障碍<sup>[2-3]</sup>。连作障碍是制约现代农业可持续发展的关键因素<sup>[4-5]</sup>。土壤理化性质的劣变、养分失调、自毒作用以及微生物群落结构的改变等多种土壤因素相互作用导致了连作障碍<sup>[6]</sup>。

土壤微生物在维持土壤结构、促进植物生长发育方面发挥着重要作用<sup>[7]</sup>,已成为研究连作障碍的焦点。相关研究表明,与连作障碍严重烟田相比,能克服连作障碍烟田的土壤细菌多样性指数较高,且群落组成方面存在明显差异<sup>[8]</sup>。赖先军等<sup>[3]</sup>研究发现,与未连作植烟土壤相比,短期连作对植烟土壤细菌多样性及群落结构无显著影响,而真菌丰度及多样性指数明显降低。而许自成等<sup>[9]</sup>在比较研究轮作、连作3、6 a 烟草根际土壤发现,连作6 a 植烟土壤真菌

多样性指数有明显增加,立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)和烟草靶斑病(*Thanatephorus cucumeris*)、盘菌科(*Rhizoctonia*)等优势菌群在连作6 a 的土壤中具有更明显的优势地位。连作导致微生物赖以生存的土壤养分降低,微生物结构改变,进一步影响植物的生长发育。

汉中烟区地处秦巴西段,烤烟是当地重要的经济作物。近年来受到其他经济作物种植面积影响,当地连作现象十分普遍。连作导致当地烤烟病虫害加剧、产量和品质下降等问题日益凸显。本研究采用高通量测序技术对汉中地区烤烟连作土壤微生物进行分析,探究烤烟长期连作下土壤微生物群落结构的变化,以期为我国烤烟连作条件下基于土壤微生物群落构建和重塑技术缓解连作障碍提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况

试验地位于陕西省汉中市南郑区(107°

收稿日期:2023-08-20

基金项目:国家重点研发计划项目(2021YFD1700900);汉中烟草科技攻关项目(2021HZ05)

郑梅迎, E-mail:641634611@qq.com

通信作者:姚峰, E-mail:43863974@qq.com;任天宝, E-mail:biochar2018@henau.edu.cn

1°45.48"E, 32°49'45.85"N), 土壤类型为壤土, 气候温和湿润, 年日照时数1 599.9 h, 无霜期247 d, 年平均气温10.7 °C, 年平均降雨量1 200 mm, 适合烤烟生长。

## 1.2 样品采集

样品采集于2021年烟苗移栽和施肥前, 根据当地种烟情况, 选取土壤类型为壤土, 连作年限为0 a (CK)、2 a(T1)、4 a(T2)、6 a(T3)和8 a(T4)5种烤烟不同种植年限土壤。土壤采集过程中采取五点取样法, 将取得的土壤样品一部分于室内自然风干, 测定其土壤理化性质, 一部分用干冰保存, 寄往上海美吉生物有限公司, 进行微生物群落结构测定。

## 1.3 测定方法

1) 植烟土壤理化性状测定。参照文献[10]的方法进行测定, 微生物生物量碳、氮采用熏蒸法测定, 均通过熏蒸和不熏蒸土壤中总量的差值为基础计算土壤微生物生物量碳、氮<sup>[11]</sup>。

2) 土壤微生物群落结构测定。细菌采用338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3') 对V3~V4可变区进行PCR扩增<sup>[12]</sup>, 真菌采用SSU0817F

(5'-TTAGCATGGAATAATRRAATAGGA-3') 和 1196R (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTCC-3') 引物对V5~V7可变区进行PCR扩增。用2%琼脂糖胶回收PCR产物, 混合后送 Illumina MiSeq 平台进行基因序列测定<sup>[11]</sup>。

## 1.4 数据处理

运用Excel 2020计算数据的平均值和标准差、运用SPSS 25.0进行数据的Pearson相关性分析, 微生物数据分析首先通过 Illumina 测序得到的 PE reads 根据 overlap 关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤, 区分样本后进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析, 最后运用 R 语言对得到的微生物数据进行处理及制作图形。

# 2 结果与分析

## 2.1 烤烟连作对土壤理化性质的影响

从表1可见, 土壤有机质含量随着连作年限的增加显著降低; 土壤有效磷含量和速效钾含量随着连作年限的增加均呈现先增加后减少的趋势, 分别在T2(种植4 a)和T1(种植2 a)达到最大值; 土壤pH值随着连作时间的延长显著降低。

表1 不同连作年限下烤烟土壤理化性质

Table 1 Soil physical and chemical properties of flue-cured soil under different continuous cropping years

处理 Treatment	有机质/(g/kg) Organic matter(OM)	碱解氮/(mg/kg) Alkali-hydro nitrogen(AN)	有效磷/(mg/kg) Available phosphorus(AP)	速效钾/(mg/kg) Available potassium(AK)	pH
CK	15.82±0.13a	127.98±4.22b	11.02±1.20e	102.88±2.59e	7.76±0.20a
T1	15.43±0.30b	154.13±3.90a	30.44±1.44b	158.36±5.26a	7.13±0.05b
T2	14.99±0.13c	152.07±1.99a	33.70±1.27a	148.65±4.55b	6.73±0.06c
T3	14.80±0.07cd	150.69±2.33a	25.44±0.57c	136.23±4.81c	6.15±0.08d
T4	14.50±0.18d	150.69±4.06a	20.33±0.46d	114.29±5.05d	5.79±0.04e

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。Note: Different letters in a column indicate significant difference among treatments ( $P<0.05$ ). The same as below.

从表2中可以得出, 土壤总碳和总氮含量随着连作时间的延长也发生了显著变化, 土壤总碳含量随着连作时间的延长而显著降低; 土壤总氮含量随着

连作时间的延长, 其含量先增加后减少, 在T2(种植4 a)达到最大值。土壤碳氮比随着连作时间的延长, 均显著低于新植土壤(CK); 连作土壤中, 微生物生物

表2 连作对烤烟土壤碳和氮的影响

Table 2 The impact of continuous cropping on soil carbon and nitrogen of flue-cured soil

处理 Treatment	总碳/(g/kg) Total C(TC)	总氮/(g/kg) Total N(TN)	碳氮比 TC/TN ratio	微生物生物量碳/(mg/kg) Microbial biomass carbon (MBC)	微生物生物量氮/(mg/kg) Microbial biomass nitrogen (MBN)	微生物生物量碳氮比 MBC/MBN
CK	12.70±0.06a	1.30±0.06b	9.38±0.006a	80.70±3.575d	5.10±0.035e	15.83±0.215c
T1	10.60±0.01b	1.60±0.04a	6.75±0.090c	168.79±4.420a	8.04±0.055a	21.00±0.690b
T2	10.20±0.10c	1.70±0.08a	6.10±0.145d	164.47±3.775a	6.45±0.020b	25.50±0.675a
T3	10.00±0.30c	1.40±0.05b	6.99±0.065bc	122.43±4.990b	6.03±0.100c	20.30±0.485b
T4	9.50±0.01d	1.30±0.08b	7.14±0.290b	114.78±3.415c	5.74±0.015d	19.99±0.640b

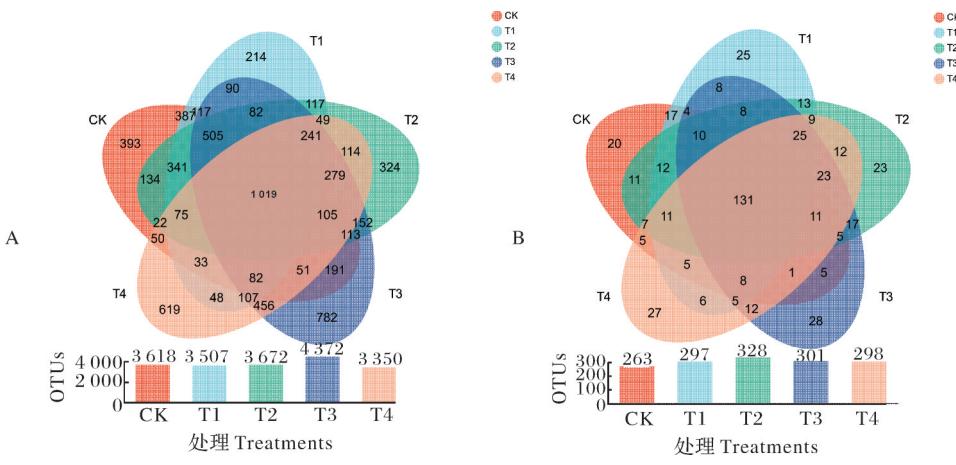
量碳、氮,以及微生物生物量碳氮比均显著高于相应的新植土壤(CK)。

## 2.2 连作对土壤微生物多样性的影响

对土壤样本进行细菌检测,共获得7 292个OTUs,样本平均OTUs为3 703.8(图1A),样品覆盖度在99%以上,表明测序数据合理。由细菌 $\alpha$ 多样性指数得出,随着连作时间的延长,土壤中细菌多样性和丰富度呈先增加后减少的趋势,且具有显著差

异(表2),细菌多样性在T2(种植4 a)中达到最大值,丰富度指数在T3(种植6 a)中达到最大值。

对土壤样本进行真菌检测,共获得504个OTUs,样本平均OTUs为297.4(图1B),样品覆盖度在99%以上,测序数据合理。从真菌 $\alpha$ 多样性指数得出,土壤中真菌多样性和丰富度呈先增加后减少的趋势,且具有显著差异(表3),真菌多样性和丰富度在T2(种植2 a)中均达到最大值。



A:细菌;B:真菌。A: Bacteria; B: Fungi.

图1 不同连作年限下土壤微生物OTUs

Fig.1 Soil microbial OTUs under different continuous cropping years

表3 不同连作年限下土壤微生物 $\alpha$ 多样性指数

Table 3 Soil microorganisms  $\alpha$  diversity index under different continuous cropping years

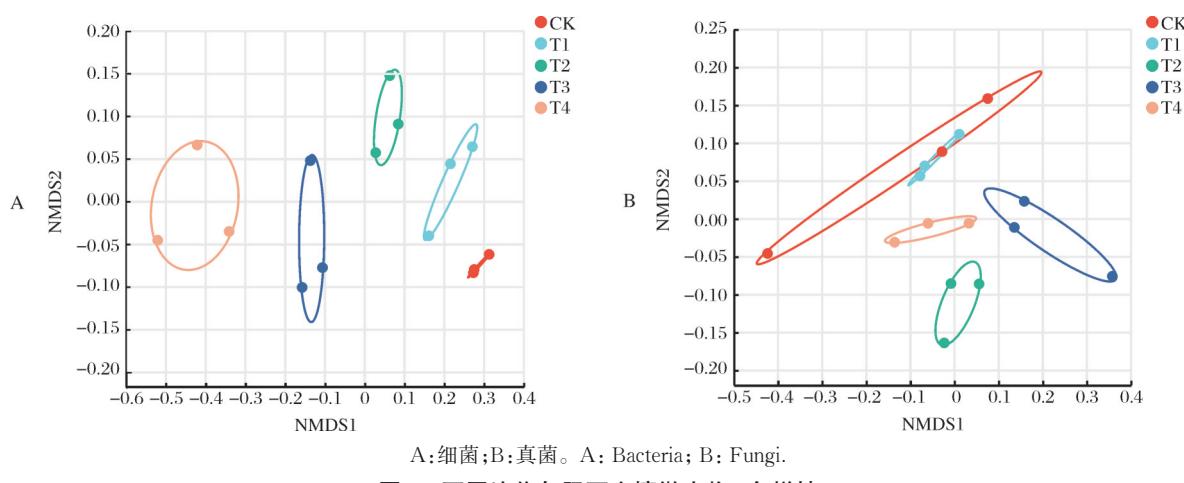
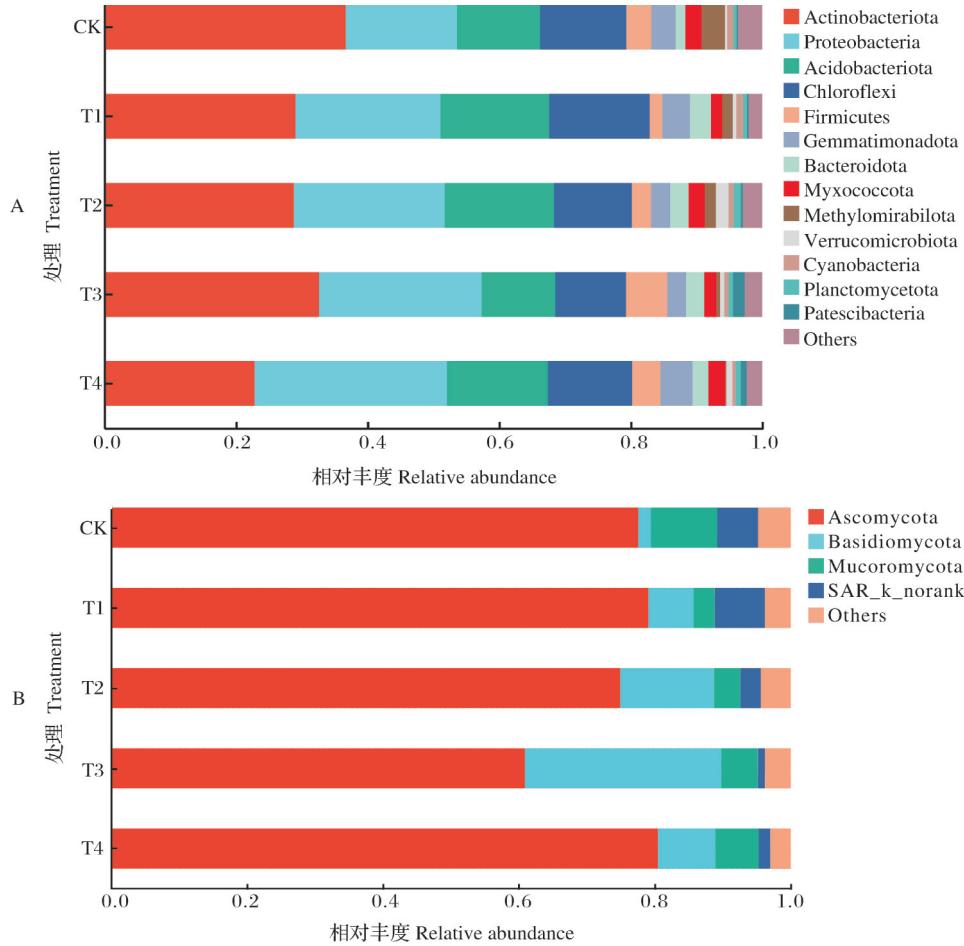
微生物种类 Types of microorganisms	处理 Treatment	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	ACE指数 ACE index	Chao1指数 Chao1 index	覆盖度/% Coverage
细菌 Bacteria	CK	6.270 $\pm$ 0.067ab	0.0080 $\pm$ 0.0009ab	3 188.090 $\pm$ 119.591bc	3 211.530 $\pm$ 121.891b	97.86
	T1	6.370 $\pm$ 0.037a	0.0070 $\pm$ 0.0019ab	3 091.750 $\pm$ 174.834bc	3 086.960 $\pm$ 192.076b	97.94
	T2	6.400 $\pm$ 0.053a	0.0060 $\pm$ 0.0006b	3 251.600 $\pm$ 91.991b	3 204.790 $\pm$ 80.205b	97.15
	T3	6.310 $\pm$ 0.095ab	0.0100 $\pm$ 0.0036a	3 817.920 $\pm$ 255.741a	3 813.680 $\pm$ 283.610a	97.24
	T4	6.150 $\pm$ 0.165c	0.0070 $\pm$ 0.0002ab	2 830.020 $\pm$ 244.776c	2 852.760 $\pm$ 254.776b	98.03
真菌 Fungi	CK	3.170 $\pm$ 0.053b	0.0780 $\pm$ 0.0200a	229.800 $\pm$ 11.796d	233.950 $\pm$ 9.939d	99.92
	T1	3.300 $\pm$ 0.165b	0.0780 $\pm$ 0.0172a	259.610 $\pm$ 9.795c	260.360 $\pm$ 2.383c	99.94
	T2	3.750 $\pm$ 0.071a	0.0470 $\pm$ 0.0059a	291.760 $\pm$ 4.645a	294.940 $\pm$ 6.631a	99.89
	T3	3.510 $\pm$ 0.282ab	0.0760 $\pm$ 0.0302a	291.700 $\pm$ 5.329a	289.400 $\pm$ 4.212a	99.91
	T4	3.290 $\pm$ 0.272b	0.0910 $\pm$ 0.0357a	278.630 $\pm$ 2.276b	279.370 $\pm$ 5.379b	99.90

## 2.3 烤烟连作对土壤微生物群落组成的影响

1) 土壤微生物 $\beta$ 多样性分析。由图2可见,不同连作年限下土壤细菌群落明显分离,表明随着连作时间的延长,显著改变细菌群落结构(图2A)。CK处理与T1处理在土壤真菌的NMDS上有部分重合,其余处理在NMDS上均明显分离,说明长期连作对真菌群落结构亦发生显著影响。

2) 烤烟连作土壤微生物群落门分类水平组分

析。不同连作年限下,烤烟土壤中细菌优势菌门均为放线菌门(Actinobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)和厚壁菌门(Firmicutes)。但不同种植年限土壤中,它们的丰度占比发生变化。其中,烤烟新植土壤中(CK),它们的相对丰度占比分别为36.73%、16.91%、12.61%、13.14%和3.78%;连作2 a土壤中(T1)的相对丰度占比分别为29.07%、22.07%、

图2 不同连作年限下土壤微生物 $\beta$ 多样性Fig.2 Soil microorganisms  $\beta$  diversity under different continuous cropping years

A:细菌;B:真菌。A: Bacteria; B: Fungi.

图3 不同连作年限下土壤微生物门水平上相对丰度

Fig.3 The relative abundance of soil microorganisms at phylum level under different continuous cropping years

16.49%、25.29% 和 1.92%; 连作 4 a 土壤中的 (T2) 相对丰度占比分别为 28.82%、22.95%、16.60%、11.85% 和 2.89%; 连作 6 a 土壤中 (T3) 的相对丰度占比分别为 32.69%、24.70%、11.19%、10.76% 和 6.24%; 连作 8 a 土壤中 (T4) 的相对丰度占比分别为 22.88%、29.21%、15.35%、12.84% 和 4.29%。同样地, 不同连作时间下, 烤烟土壤中真菌优势菌门均为子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidio-

mycota)和毛霉菌门(Mucoromycota)。但烤烟不同种植年限土壤中,它们的丰度占比发生变化:其中,烤烟新植土壤中(CK),它们的相对丰度占比分别为77.58%、1.80%和9.79%;连作2 a土壤中(T1)的相对丰度占比分别为79.05%、6.66%和3.06%;连作4 a土壤中(T2)的相对丰度占比分别为74.92%、13.75%和3.89%;连作6 a土壤中(T3)的相对丰度占比分别为60.89%、28.86%和5.38%;连作8 a土壤中(T4)相对丰度占比分别为80.48%、8.39%和6.41%。

3)连作土壤微生物群落属分类水平组成分析。不同连作时间下,烤烟土壤中细菌优势菌属均为节

杆菌属(*Arthrobacter*)、*Vicinamibacteriales*、放线菌属(*Gaiellales*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Vicinamibacteraceae*。其中,烤烟新植土壤中(CK),它们的相对丰度占比分别为6.31%、4.66%、2.89%、2.95%和3.31%;连作2 a土壤中(T1)的相对丰度占比分别为6.05%、4.36%、3.07%、3.12%和3.62%;连作4 a土壤中(T2)的相对丰度占比分别为4.98%、5.91%、3.54%、2.83%和3.82%;连作6 a土壤中(T3)的相对丰度占比分别为7.45%、2.97%、3.30%、3.49%和1.45%;连作8 a土壤中(T4)相对丰度占比分别为3.25%、1.21%、4.34%、3.08%和0.16%。

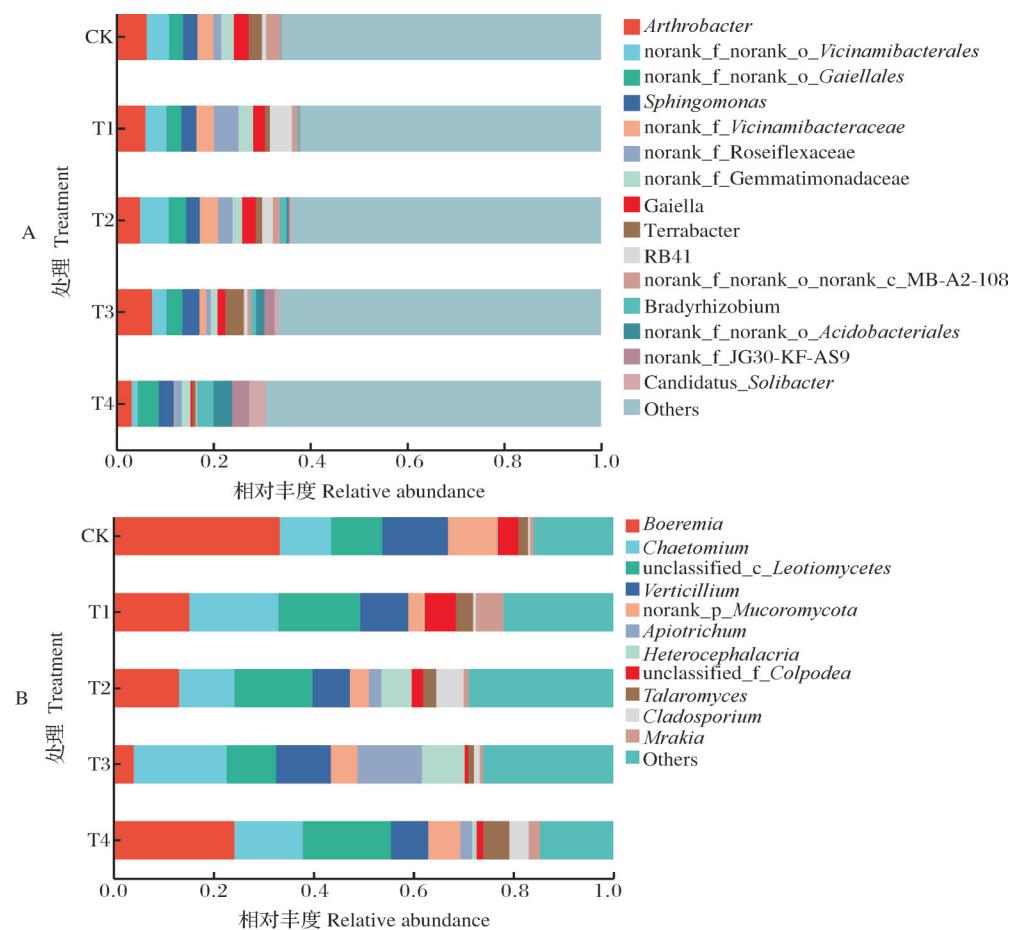


图4 不同连作年限下土壤微生物属水平上的相对丰度

Fig.4 The relative abundance of soil microorganisms at genus level under different continuous cropping years

不同连作时间下烤烟土壤中,真菌优势菌属均为*Boeremia*、毛壳属(*Chaetomium*)、锤舌菌属(*Leotiomycetes*)、轮枝孢属(*Verticillium*)和毛霉菌属(*Mucoromycota*)。其中,烤烟新植土壤中(CK),它们的相对丰度占比分别为33.35%、10.24%、10.21%、13.17%和9.74%;连作2 a土壤中(T1)的相

对丰度占比分别为15.23%、17.85%、16.33%、9.58%和3.06%;连作4 a土壤中(T2)的相对丰度占比分别为13.15%、11.11%、15.62%、7.43%和3.83%;连作6 a土壤中(T3)的相对丰度占比分别为4.13%、18.60%、9.87%、10.96%和5.29%;连作8 a土壤中(T4)相对丰度占比分别为24.23%、13.73%、

17.61%、7.45% 和 6.38%。

4) 土壤微生物群落 LefSe 多级物种差异判别分析。利用 LefSe 分析筛选出 5 种土壤中最具有显著差异的微生物种类 (LDA 阈值为 2)。如图 5A 所示, 放线菌门细菌 (Actinobacteriota) 在 CK (种植 0 a) 显著富集; 疣微菌门细菌 (Verrucomicrobiota) 在 T2 (种

植 4 a) 中显著富集; 厚壁菌门细菌 (Firmicutes) 在 T3 (种植 6 a) 中显著富集; 变形菌门细菌 (Proteobacteria) 在 T4 (种植 6 a) 中显著富集; 由图 5B 可知 Aphelidea 门真菌在 CK (种植 0 a) 显著富集; 担子菌门 (Basidiomycota) 真菌在 T3 (种植 6 a) 中显著富集。

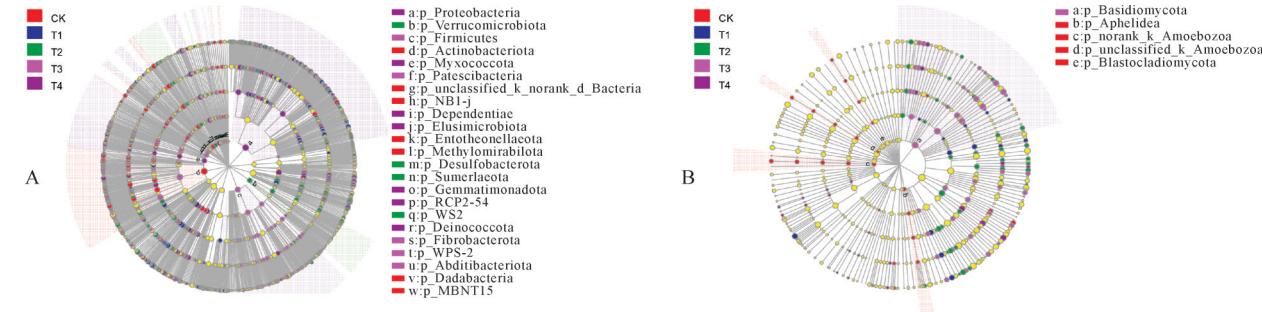


图 5 不同连作年限下土壤微生物物种差异

Fig. 5 Diversity of soil microbial species under different continuous cropping years

#### 2.4 土壤理化性质与微生物群落结构及多样性之间的相关性

1) 微生物多样性指数与土壤理化性质之间的相关性。细菌香农指数与 AP、AK 和 MBC 呈显著正相关关系 ( $P < 0.05$ ), 与 TN 呈极显著正相关关系 ( $P < 0.01$ ); 真菌香农指数与 AP、TN 和 MBC 呈显著正相

关关系, 与 MBC/MBN 呈极显著正相关关系, 与 TC/TN 呈显著负相关关系; 真菌辛普森指数与 TN 呈显著负相关关系; 真菌 ACE 指数与 AP 呈显著正相关关系, 与 AN 和 MBC/MBN 呈极显著正相关关系, 与 OM、pH、TC 和 TC/TN 呈极显著负相关关系 (表 4)。

表 4 微生物多样性指数与土壤理化性质间的相关性

Table 4 Correlation between microbial diversity index and soil physical and chemical properties

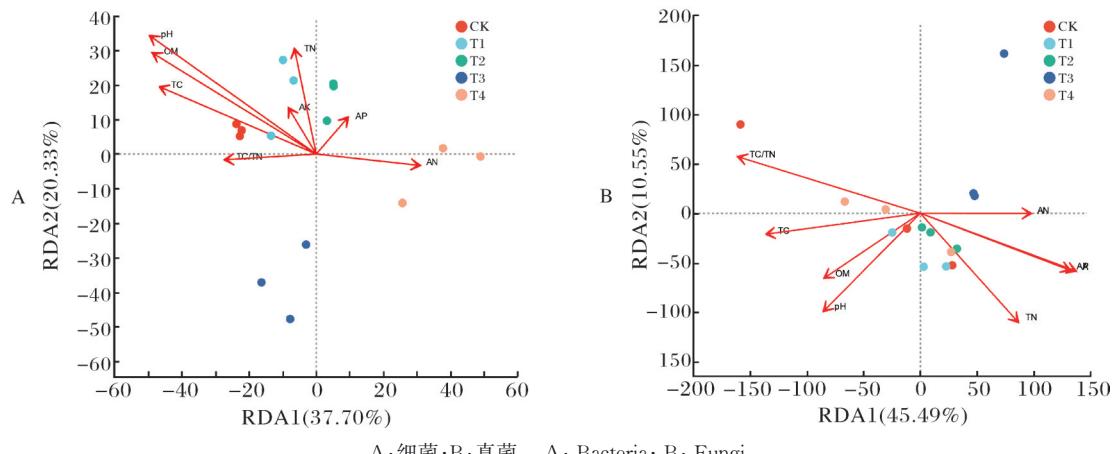
微生物种类 Types of micro- organisms	指标 Index	OM	AN	AP	AK	pH	TC	TN	TC/TN	MBC	MBN	MBC/ MBN
细菌 Bacteria	香农指数 Shannon index	0.221	0.153	0.514*	0.594*	0.318	0.115	0.748**	-0.353	0.548*	0.462	0.452
	辛普森指数 Simpson index	-0.088	-0.143	-0.215	-0.110	-0.136	-0.021	-0.431	0.200	-0.378	-0.244	-0.379
	ACE 指数 ACE index	-0.051	0.017	0.169	0.217	-0.053	0.005	0.107	-0.083	-0.027	-0.066	0.038
	Chao1 指数 Chao1 index	-0.045	-0.023	0.105	0.162	-0.048	0.031	0.039	-0.028	-0.078	-0.096	-0.020
真菌 Fungi	香农指数 Shannon index	-0.339	0.365	0.575*	0.449	-0.241	-0.373	0.635*	-0.623*	0.517*	0.155	0.757**
	辛普森指数 Simpson index	0.002	-0.062	-0.338	-0.309	-0.124	-0.034	-0.616*	0.302	-0.352	-0.108	-0.486
	ACE 指数 ACE index	-0.671**	0.610**	0.574*	0.375	-0.653**	-0.720**	0.380	-0.729**	0.469	0.174	0.689**
	Chao1 指数 Chao1 index	-0.652**	0.619*	0.574*	0.368	-0.637*	-0.706*	0.392	-0.723**	0.484	0.161	0.725**

注:“\*, \*\*, \*\*\*”分别表示“显著 ( $P < 0.05$ ), 极显著 ( $P < 0.01$ ), 极其显著 ( $P < 0.001$ )”。下同。Note: “\*, \*\*, \*\*\*” respectively mean “significant ( $P < 0.05$ ), extremely significant ( $P < 0.01$ ), extremely significant ( $P < 0.001$ )”. The same as below.

2)微生物群落与土壤理化性质之间的相关性。基于冗余分析微生物群落与土壤理化性质之间的关系,在土壤细菌中(图6A),被选择的土壤理化性质共解释了土壤细菌群落变化的58.03%,RDA的2个轴分别解释了细菌总变异的37.70% (RDA1) 和20.33% (RDA2)。pH、有机质和总碳含量显著影响细菌群落结构,  $P$ 值分别为0.001、0.001和0.015,其中有机质和pH对细菌组成影响更大;在土壤真菌中(图6B),被选择的土壤理化性质共解释了真菌群落变化的56.04%,RDA的2个轴分别解释了真菌总变异的45.49% (RDA1) 和10.55% (RDA2)。真菌土壤样本分布较细菌更分散,土壤理化性质对细菌群落结构影响较小。

3)微生物优势菌门与土壤理化性质间的关系

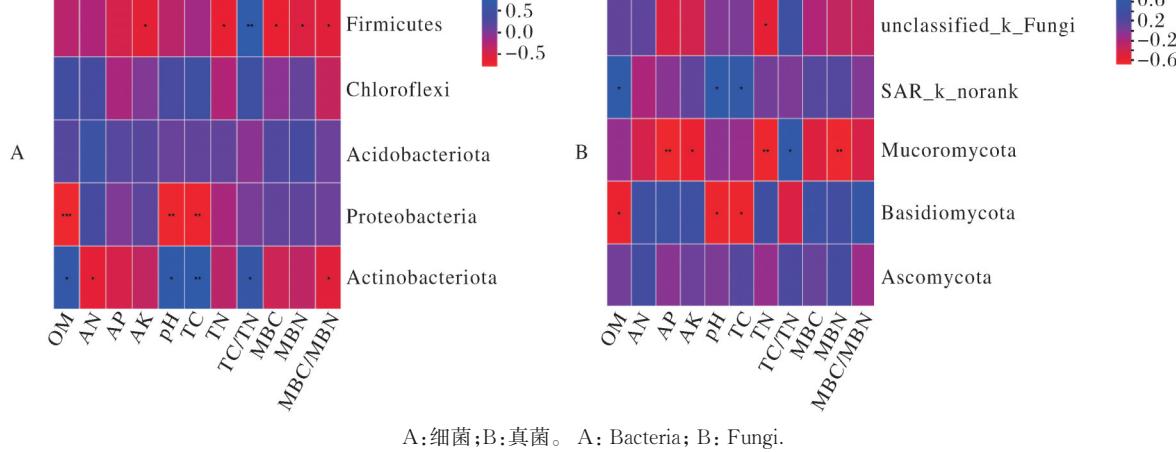
性。基于Pearson分析微生物优势菌门与土壤理化性质之间的关系(图7),在土壤细菌中,厚壁菌门与TC/TN呈极显著正相关关系( $P<0.01$ ),与AK、TN、MBC、MBN和MBC/MBN呈显著负相关( $P<0.05$ );变形菌门与pH、TC呈极显著负相关( $P<0.01$ ),与OM呈极其显著正相关( $P<0.001$ );放线菌门与OM、pH和TC/TN呈显著正相关( $P<0.05$ ),与TC呈极显著正相关关系( $P<0.01$ ),与AN和MBC/MBN呈显著负相关关系( $P<0.05$ )。在土壤真菌中,毛霉菌门与TC/TN呈显著正相关( $P<0.05$ ),与AK呈显著负相关( $P<0.05$ ),与AP、TN和MBN呈极显著负相关( $P<0.01$ );担子菌门与OM、pH和TC呈显著负相关( $P<0.05$ )。



A:细菌;B:真菌。A: Bacteria; B: Fungi.

图6 冗余分析

Fig.6 Redundancy analysis



A:细菌;B:真菌。A: Bacteria; B: Fungi.

图7 土壤优势菌门与理化性质间相关性

Fig. 7 Correlation between soil dominant bacterial phyla and physical-chemical properties

### 3 讨 论

#### 3.1 烤烟连作对土壤理化特性的影响

土壤理化性质会随着种植制度和人为调节等因素的不同而出现差异<sup>[13]</sup>。研究表明,连作时间的不同会导致土壤中物理组成、化学特性和物质组成产生较大差异,进而表现出土壤理化性质的变化<sup>[6]</sup>。本研究中,土壤有机质含量、碱解氮含量、有效磷含量、速效钾含量、pH、总碳、总氮、总碳氮比、微生物生物量碳、氮和微生物生物量碳氮比在不同连作时间中均发生变化。其中,有机质含量、碱解氮、速效钾含量、pH、总碳、微生物生物量碳、氮均会随着连作时间的延长而减少,这与前人的研究结果<sup>[14-18]</sup>相同。不同之处是,本研究连作处理(T1~T4)土壤中,碱解氮、速效钾含量、微生物生物量碳、氮均高于相应的新植(CK)处理,这可能是由于在种植过程中施用肥料,增加了土壤中速效养分的含量;微生物数量与土壤养分含量息息相关<sup>[19]</sup>,因此微生物生物量碳、氮与土壤养分变化趋势一致。研究表明,施加化学肥料会导致土壤pH下降<sup>[20]</sup>,土壤pH值影响土壤养分的固定与流失<sup>[19]</sup>。

#### 3.2 烤烟连作对土壤微生物群落结构的影响

烤烟不同连作时间对土壤细菌多样性和丰富度影响较大,土壤细菌多样性和丰富度随着连作时间的延长呈先增加后减少趋势,这可能是因为在连作时间较短的情况下,土壤中有机质含量较高,可供细菌利用的碳源充足。随着连作时间的延长,土壤碳储量持续下降,细菌碳源利用率显著降低<sup>[21]</sup>。相关性分析结果显示,土壤细菌多样性和AP、AK、TN和MBC含量密切相关。与连作4 a相比,连作6 a时土壤微生物生物量碳含量降幅达25.56%,总氮、速效磷、速效钾降低量也达到了17.64%、24.51%、8.33%。土壤养分的显著降低抑制了土壤细菌的生长繁殖,使细菌多样性指数下降。连作8 a时土壤养分的进一步降低也加剧了细菌多样性的减少。在物种组成方面,连作时间的延长对细菌优势菌门群落组成影响较小,但对其丰度影响显著。其中放线菌门相对丰度较CK相比均显著下降,T4处理下降幅度最大,为13.85%。而厚壁菌门细菌在T3处理时相对丰度有所增加,与CK相比增幅为2.46%。厚壁菌门细菌是驱动反硝化作用的关键微生物<sup>[22]</sup>,还是土壤中纤维素降解的承担者<sup>[23]</sup>,以及可产生多种抗生素,其相对丰度与土壤TC/TN呈显著正相关,可表征土壤对病原的抵抗能力,因此,提高土壤碳氮比,增加其相对丰度,对减少烤烟病害具有一定作用。

土壤真菌门分类水平上,毛霉菌门和担子菌门真菌与环境因子OM、AP、pH、TC、TN和TC/TN均呈现相关,这些因素又是影响土壤真菌多样性和相对丰度的关键因素。毛霉菌门与土壤AP、AK和TC呈显著负相关,与连作2 a相比,连作8 a土壤AP、AK和TC分别降低了30.21%、27.83%和10.38%,毛霉菌门相对丰度增加了3.35%,增加了烤烟在烘烤阶段发生腐烂发霉的风险<sup>[6]</sup>。担子菌门相对丰度在连作过程中呈现先增加后减少的趋势,在连作6 a的土壤中显著富集。连作8 a与连作6 a相比,担子菌门相对丰度减少了20.47%,OM、pH和TC分别减少了2.03%、5.85%和5.00%。担子菌门在土壤中主要承担着植物残体降解和有机质降解的作用<sup>[24]</sup>,土壤中担子菌门真菌相对丰度的下降阻碍了有机质降解、碳循环、团聚体形成、土壤物理结构自我调节等方面,对烤烟生长环境造成不利因素。

连作显著改变了土壤理化性质,其中土壤有机质含量、土壤pH和全碳含量随连作时间的延长而逐渐降低。连作还显著改变了土壤微生物群落组成,随连作时间的延长,土壤中细菌多样性和丰富度呈先增加后减少的趋势,真菌多样性和丰富度呈先增加后减少的趋势,其中土壤细菌多样性与AP、AK、TN和MBC含量密切相关,土壤真菌多样性与土壤OM、AP、pH、TC、TN和TC/TN密切相关。在本研究中,T3处理下微生物相对丰度变化较大,放线菌门、厚壁菌门细菌和担子菌门真菌变化幅度分别为4.04%、6.24%和28.86%。

#### 参考文献 References

- [1] 寇智瑞.有机物料对黄壤烟田土壤肥力特性及烟叶产质量的影响[D].重庆:西南大学,2020.KOU Z R.Effects of organic materials on fertility of yellow tobacco soil and yield & quality of tobacco [D]. Chongqing: Southwest University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [2] 周信雁,杨尚东.番茄连作土壤中微生物群落的变化特征及其重塑研究进展[J].华中农业大学学报,2024,43(1):1-8.ZHOU X Y, YANG S D. Progress on changing characteristics and reconstruction of microbial communities in soil under tomato continuous cropping [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2024, 43(1): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [3] 赖先军,颜朗,张文友,等.烟草短期连作对根际微生物和代谢物的影响[J].西南农业学报,2023,36(4):706-714.LAI X J, YAN L, ZHANG W Y, et al. Effects of tobacco short-term continuous cropping on rhizosphere microorganisms and metabolites [J]. Southwest China journal of agricultural scienc-

- es, 2023, 36(4): 706-714 (in Chinese with English abstract).
- [4] 王立光, 叶春雷, 陈军, 等. 胡麻连作对土壤细菌群落的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(1): 70-75. WANG L G, YE C L, CHEN J, et al. Effects of continuous cropping on bacteria community in oil flax soil [J]. Agricultural research in the arid areas, 2022, 40(1): 70-75 (in Chinese with English abstract).
- [5] 魏全全, 荀久兰, 赵欢, 等. 黄壤区烤烟轮作与连作根系形态、产量及养分吸收的变化 [J]. 西南农业学报, 2018, 31(11): 2294-2299. WEI Q Q, GOU J L, ZHAO H, et al. Changes of root morphology, yield and nutrients uptake of flue-cured tobacco rotation and continuous cropping in yellow soil [J]. Southwest China journal of agricultural sciences, 2018, 31(11): 2294-2299 (in Chinese with English abstract).
- [6] 刘福童, 李茂森, 闫超超, 等. 烤烟连作条件下土壤微生物群落结构变化及驱动因素分析 [J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(2): 139-146. LIU F T, LI M S, YAN C C, et al. Changing characteristics and driving factors of soil microbial community structure under continuous cropping of flue-cured tobacco [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2023, 42(2): 139-146 (in Chinese with English abstract).
- [7] LYU F J, ZHANG W M, WANG R Q, et al. Rhizosphere bacterial community composition was significantly affected by continuous cropping but not by sesame genotype [J/OL]. Rhizosphere, 2023, 27: 100750 [2023-08-20]. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100750>.
- [8] 滕凯, 陈前峰, 周志成, 等. 烤烟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. TENG K, CHEN Q F, ZHOU Z C, et al. Effect of soil physical and chemical properties and microbial community on continuous cropping obstacles in tobacco field [J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 2848-2856 (in Chinese with English abstract).
- [9] 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. XU Z C, WANG F Z, JIN Y N, et al. Analysis of fungal communities in rhizosphere soil of flue-cured tobacco under different cropping years using 18S rDNA-PCR-DGGE [J]. Soil and fertilizer sciences in China, 2019(4): 39-46 (in Chinese with English abstract).
- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [11] 李茂森, 高卫锴, 任天宝, 等. 遵义烟区不同海拔下植烟土壤细菌群落及影响因素分析 [J]. 作物杂志, 2021(6): 193-198. LI M S, GAO W K, REN T B, et al. Analysis of bacterial community and influencing factors in tobacco soil at different altitudes in Zunyi [J]. Crops, 2021(6): 193-198 (in Chinese with English abstract).
- [12] 冯慧琳, 付兵, 任天宝, 等. 生物炭对青枯病烟株的根际土壤微生物群落结构调控机制分析 [J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(1): 173-181. FENG H L, FU B, REN T B, et al. Analysis of regulation mechanism of biochar on rhizosphere soil microbial community structure of *Ralstonia solanacearum* [J]. Journal of agricultural resources and environment, 2022, 39(1): 173-181 (in Chinese with English abstract).
- [13] 胡国松, 郑伟, 王震东, 等. 烤烟营养原理 [M]. 北京: 科学出版社, 2000. HU G S, ZHENG W, WANG Z D, et al. Nutrition principle of flue cured tobacco [M]. Beijing: Science Press, 2000 (in Chinese).
- [14] 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. ZENG W A, YANG Z Y, HUANG Y, et al. Response of soil bacterial community structure and co-occurrence network topology properties to soil physicochemical properties in long-term continuous cropping farmland [J]. Acta microbiologica sinica, 2022, 62(6): 2403-2416 (in Chinese with English abstract).
- [15] 寇智瑞, 周鑫斌. 不同连作年限黄壤烟田土壤细菌群落的差异 [J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(3): 511-521. KOU Z R, ZHOU X B. Variation of soil bacterial community in tobacco field after different years of continuous monocropping [J]. Journal of plant nutrition and fertilizers, 2020, 26(3): 511-521 (in Chinese with English abstract).
- [16] 饶德安, 刘潘洋, 邹路易, 等. 长期连作及强还原土壤灭菌处理对烤烟根际土壤真菌群落的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2022(4): 47-56. RAO D A, LIU P Y, ZOU L Y, et al. Effects of long-term continuous cropping and reductive soil disinfection on fungal community in flue-cured tobacco rhizosphere [J]. Soil and fertilizer sciences in China, 2022(4): 47-56 (in Chinese with English abstract).
- [17] 田秀平, 薛青芳, 韩晓日. 长期轮作和连作对白浆土中氮素的影响 [J]. 水土保持学报, 2007, 21(1): 185-187. TIAN X P, XUE J F, HAN X R. Effects of long-term crop rotation and continuous cropping on nitrogen in albic soil [J]. Journal of soil and water conservation, 2007, 21(1): 185-187 (in Chinese with English abstract).
- [18] 张福韬, 乔云发, 苗淑杰, 等. 长期玉米连作下黑土各组分有机质化学结构特征 [J]. 中国农业科学, 2016, 49(10): 1913-1924. ZHANG F T, QIAO Y F, MIAO S J, et al. Chemical structure characteristics of all fractionations in mollisol organic matter under long-term continuous maize cropping [J]. Scientia agricultura sinica, 2016, 49(10): 1913-1924 (in Chinese with English abstract).
- [19] 郭振威, 李永山, 陈梦妮, 等. 长期秸秆还田和施用有机肥对连作棉田土壤化学性质及微生物数量的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(11): 177-186. GUO Z W, LI Y S, CHEN M N, et al. Effects of long-term straw returning and organic fertilizer application on the soil chemical properties and microbial quantity of continuous cropping cotton field [J]. Journal of China Agricultural University, 2022, 27(11): 177-186 (in Chinese with English abstract).

- [20] 赵晨光,牛司耘,陈勋,等.复合肥料对茶叶产量、品质及茶园土壤肥力的影响[J].中国农业科技导报,2022,24(6):206-217.ZHAO C G, NIU S Y, CHEN X, et al. Effects of compound fertilizer on tea yield, quality and fertility of tea garden soil[J]. Journal of agricultural science and technology, 2022, 24 (6):206-217 (in Chinese with English abstract).
- [21] LI Y C, LI Z W, ARAFAT Y, et al. Studies on fungal communities and functional guilds shift in tea continuous cropping soils by high-throughput sequencing[J/OL]. Annals of microbiology, 2020, 70 (1) : 7 [2023-08-20]. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01555-y>.
- [22] 郝近羽,刘瑾,陈源泉,等.施用不同有机物料对砂质土壤玉米成熟期根际细菌群落变化的影响[J].中国农业大学学报,2022,27(10):65-79.HAO J Y, LIU J, CHEN Y Q, et al. Effects of application different organic materials on the bacterial community of maize rhizosphere in sandy soil at the maturity stage [J]. Journal of China Agricultural University, 2022, 27 (10):65-79 (in Chinese with English abstract).
- [23] 马垒,李燕,魏建林,等.连续施用化肥及秸秆还田对潮土酶活性、细菌群落和分子生态网络的影响[J].植物营养与肥料学报,2022,28(8):1353-1363.MA L, LI Y, WEI J L, et al. Effects of continuous chemical fertilizer application and straw returning on soil enzyme activity, bacterial community and co-occurrence patterns in a fluvo-aquic soil[J]. Journal of plant nutrition and fertilizers, 2022, 28 (8): 1353-1363 (in Chinese with English abstract).
- [24] DU J J, ZHANG Y Y, CUI M H, et al. Evidence for negative effects of ZnO nanoparticles on leaf litter decomposition in freshwater ecosystems[J]. Environmental science: nano, 2017, 4(12):2377-2387.

## Effects of different years of continuously cropping flue-cured tobacco on changes of nutrients and microbial community in soil

ZHENG Meiyi<sup>1</sup>, LIU Futong<sup>2</sup>, ZHENG Bangxi<sup>3</sup>, HUANG Zhihong<sup>2</sup>,  
XU Huaqing<sup>2</sup>, ZHANG Ya'nan<sup>2</sup>, HE Wenqin<sup>1</sup>, YAO Feng<sup>1</sup>, REN Tianbao<sup>2</sup>

1.Hanzhong Tobacco Company of Shaanxi Tobacco Company, Hanzhong 723000, China;  
2.College of Tobacco/Henan Provincial Biochar Research and Engineering Technology Center,  
Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;  
3.China Tobacco Industry Co., Ltd., at Shaanxi Province, Hanzhong 723000, China

**Abstract** The changes in the physicochemical properties, the diversity of microorganisms and the structure of microbial community in the soil planted continuously with flue-cured tobaccos of different planting years including continuous cropping for 0 year (CK), continuous cropping for 2 years (T1), continuous cropping for 4 years (T2), continuous cropping for 6 years (T3), and continuous cropping for 8 years (T4) in Hanzhong area of Shaanxi Province were analyzed to study the key factors affecting the obstacles for continuous cropping of flue-cured tobacco and its patterns. The results showed that the organic matter, pH, and the content of total carbon in soil decreased with the increasing years of planting. The organic matter, pH, and the content of total carbon in the soil of T4 was 8.34%, 25.39%, and 25.20% lower than that of CK. The diversity and abundance of bacteria and fungi in soil showed a trend of increasing first and then decreasing, with the dominant bacterial phyla being Actinobacteriota, Proteobacteria, Acidobacteriota, Chloroflexi and Firmicutes. The dominant fungal phyla were Ascomycota, Basidiomycota, and Mucoromycota. Compared with CK, the relative abundance of microorganisms under T3 changed significantly, with change in Actinobacteria, Firmicutes, and Basidiomycota of 4.04%, 6.24%, and 28.86%, respectively. It is indicated that continuous cropping of flue-cured tobaccos reduces the content of organic matter, pH, and the content of total carbon in soil, affecting the composition of microbial community in soil.

**Keywords** flue-cured tobacco; obstacles for continuous cropping; nutrients in soil; microorganisms in soil; microbial community

(责任编辑:张志钰)