

DOI: 10.20103/j.stxb.202401050045

谢子煜, 彭俊伟, 孙阳, 史子涵, 张欢欢, 党柯柯, 刘洪, 董元华, 李建刚. 芥菜籽粕和威百亩熏蒸对土壤微生物群落影响的异同性. 生态学报, 2024, 44(17): 7807-7816.

Xie Z Y, Peng J W, Sun Y, Shi Z H, Zhang H H, Dang K K, Liu H, Dong Y H, Li J G. Differences and similarities in the effects of *Brassica juncea* seed meals and metham-sodium fumigation on soil microbial communities. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(17): 7807-7816.

芥菜籽粕和威百亩熏蒸对土壤微生物群落影响的异同性

谢子煜^{1,2,3}, 彭俊伟^{1,2,3}, 孙 阳^{1,2,3}, 史子涵^{1,4}, 张欢欢^{1,2,3}, 党柯柯^{1,2}, 刘 洪^{1,2,5}, 董元华^{1,2,3}, 李建刚^{1,2,3,*}

1 中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室, 南京 210008

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 中国科学院大学南京学院, 南京 211135

4 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036

5 平阳县自然资源和规划局, 平阳 325400

摘要:土壤消毒是一种防治土传病害的有效措施。化学熏蒸和生物熏蒸是目前常用的土壤消毒技术。然而,关于化学熏蒸和生物熏蒸对土壤微生物群落影响异同性的研究仍鲜有报道。研究以未熏蒸土壤为对照,向土壤中添加 0.1%、0.2% 和 0.5% (质量分数) 芥菜籽粕和 0.1% (质量分数) 威百亩,探究芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸下土壤微生物群落的变化及二者之间的差异。结果表明:芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸对土壤微生物群落的影响具有相似性也有差异性。芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸会显著改变土壤细菌及真菌群落结构 ($P < 0.01$),熏蒸材料的种类和用量而不是熏蒸时间对土壤细菌和真菌群落结构产生了显著影响 ($P < 0.01$)。在杀灭有害微生物方面,0.5% 芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够降低土壤中镰刀菌属 (*Fusarium*) 的相对丰度。在富集有益微生物方面,芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够富集土壤中芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和马杜拉放线菌属 (*Actinomadura*),其中 0.5% 芥菜籽粕熏蒸能够富集藤黄色单胞菌属 (*Luteimonas*) 和野野村氏菌属 (*Nonomuraea*),威百亩熏蒸能够富集小单胞菌属 (*Micromonospora*) 和青霉菌属 (*Penicillium*)。在微生物功能方面,0.5% 芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸增强了土壤细菌化能异养和需氧化能异养功能,减弱了土壤真菌病害相关功能,0.5% 芥菜籽粕熏蒸还增强了土壤细菌硝酸盐还原和碳氢化合物降解功能。综上,芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够通过富集芽孢杆菌属和马杜拉放线菌属等有益微生物和消减镰刀菌属有害微生物来调控土壤微生物群落,使土壤具有预防土传真菌病害和促进作物生长的潜力。

关键词:芥菜籽粕;威百亩;熏蒸;土传病害;微生物群落

Differences and similarities in the effects of *Brassica juncea* seed meals and metham-sodium fumigation on soil microbial communities

XIE Ziyu^{1,2,3}, PENG Junwei^{1,2,3}, SUN Yang^{1,2,3}, SHI Zihan^{1,4}, ZHANG Huanhuan^{1,2,3}, DANG Keke^{1,2}, LIU Hong^{1,2,5}, DONG Yuanhua^{1,2,3}, LI Jiangang^{1,2,3,*}

1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 University of Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China

4 School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

基金项目:国家自然科学基金项目 (42377129, 41977055); 江苏省碳达峰碳中和科技创新专项 (BE2022301)

收稿日期:2024-01-05; **网络出版日期:**2024-07-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jgli@issas.ac.cn

5 Pingyang Natural Resources and Planning Bureau, Pingyang 325400, China

Abstract: One efficient way to manage infections spread by the soil is to sterilize the soil. Currently, chemical fumigation and biofumigation are the commonly used soil disinfection techniques. However, few research has been done comparing and contrasting the impacts of chemical and biofumigation on soil microbial populations. In this study, unfumigated soil was used as a control, and 0.1%, 0.2% and 0.5% (mass fraction) *Brassica juncea* seed meals and 0.1% (mass fraction) metam-sodium were added to the soil to investigate the changes in soil microbial communities and the differences between them under *Brassica juncea* seed meals fumigation and metam-sodium fumigation. The results showed that there were both similarities and differences in the effects of *Brassica juncea* seed meals fumigation and metam-sodium fumigation on soil microbial communities. *Brassica juncea* seed meals fumigation and metham-sodium fumigation significantly altered the structures of soil bacterial and fungal communities ($P < 0.01$). The type and the amount of fumigant materials, rather than the duration of the fumigation, significantly affected the structure of soil bacterial and fungal communities ($P < 0.01$). In terms of sterilizing harmful microorganisms, the 0.5% (mass fraction) *Brassica juncea seed meals* fumigation and metam-sodium fumigation reduced the relative abundance of *Fusarium* in the soil. In terms of enriching beneficial microorganisms, *Brassica juncea* seed meals fumigation and metham-sodium fumigation were able to enrich *Bacillus* and *Actinomadura*. The 0.5% (mass fraction) *Brassica juncea* seed meals fumigation were able to enrich *Luteimonas* and *Nonomuraea*. Metham-sodium fumigation could enrich *Micromonospora*. In terms of microbial function, the 0.5% (mass fraction) *Brassica juncea* seed meals fumigation and metham-sodium fumigation were capable of enhancing the bacterial functions of chemoheterotrophy and aerobic chemoheterotrophy and weaken the soil fungal disease-related functions. In conclusion, *Brassica juncea* seed meals fumigation and metham-sodium fumigation could regulate the soil microbial community by enriching the beneficial microorganisms such as *Bacillus* and *Actinomadura* and reducing the harmful microorganisms *Fusarium*, so that the soil could potentially prevent soil-borne fungal diseases and encourage the crop growth.

Key Words: *Brassica juncea* seed meals; metam-sodium; fumigation; soil-borne diseases; microbial communities

随着经济的发展和人口的增长,对蔬菜瓜果的需求进一步扩大,为了追求经济效益,农民采取集约化种植,在同一块土地上连续种植单一作物^[1-2]。长期连作会导致土壤理化性质恶化,微生物种群变化,病原菌积累,土传病害发生,作物产量和质量显著下降^[3-6]。

土壤消毒是一种防治土传病害的有效措施。目前,土传消毒主要采取化学熏蒸剂进行防治,常用的化学熏蒸剂有棉隆、威百亩、氯化苦和二甲基二硫等^[7-10]。研究表明,施用化学熏蒸剂以后,土壤中病原菌的数量和作物病害的发生率明显降低^[11-12]。有研究表明,芽胞杆菌属(*Bacillus*)、类芽胞杆菌属(*Paenibacillus*)和青霉菌属(*Penicillium*)等植物抗病相关有益菌的丰度在棉隆熏蒸后期会显著增加^[13]。赵晓东等发现,威百亩熏蒸可以显著抑制赤霉菌属(*Gibberella*)和镰刀菌属(*Fusarium*)潜在典型病原真菌^[14]。虽然化学熏蒸方法能够有效防治土传病害,但是会对土壤环境产生巨大的负面影响,同时会对农业可持续发展和食品安全构成威胁^[15]。因此,探寻土传病害的绿色防治措施成为目前的研究方向,其中最具有发展前景的就是生物熏蒸^[16]。

生物熏蒸是利用十字花科等植物有机质在分解过程中产生的挥发性杀生气体抑制或杀死土壤中的病原生物的方法^[17-18]。1999年 Angus 等将芸薹属植物组织深翻到小麦田中,发现能够减少小麦全蚀病致病菌禾顶囊壳小麦变种(*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx and Oliver var. *Tritici*, Ggt)的数量,并将该土壤处理方法命名为生物熏蒸^[19]。其作用机制是十字花科作物组织中含有的硫代葡萄糖苷在土壤中水解,最后生成腈、硫氰酸酯和异硫氰酸酯等具有广谱杀菌活性的产物^[20]。当籽粕作为熏蒸材料加入土壤后,会抑制土壤中病原菌的生命活动,从而影响微生物的群落组成^[21-22]。研究表明,生物熏蒸能够抑制土壤中立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和疫霉菌属(*Phytophthora*)等多种重要土传病原菌的生长,从而抑制了相关病害的发生^[23-25]。生物熏蒸可以富集芽胞杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、木霉菌属

(*Trichoderma*) 和毛壳菌属(*Chaetomium*) 等作物有益微生物,促进作物的生长^[26-29]。此外,与传统化学熏蒸剂相比,除了绿色无害,生物熏蒸材料本身富含有机质和氮磷钾等营养元素,可以为作物生长发育提供养分^[30]。

当前研究大多聚焦于生物熏蒸与化学熏蒸对土传病害的防治效果上,而关于熏蒸过程中土壤微生物群落组成和结构变化的研究还比较少。为此,本研究选择芥菜籽粕和威百亩作为熏蒸材料,对熏蒸过程中土壤微生物群落的异同性进行了比较,研究芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸对土壤微生物群落的调控作用,以为提高实际生产土传病害的防治效果提供数据支撑,促进现代农业的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料与土壤样品

供试芥菜籽粕购于新疆阿克苏地区。将芥菜籽粕经破碎机粉碎,过 2 mm 筛得到用于熏蒸处理的籽粕粉末。化学熏蒸农药威百亩(Metam-sodium)购于利民化学有限责任公司,具有广谱的杀菌和杀虫作用。

供试土壤取自南京市溧水区乌飞塘村的华成蔬菜专业合作社(31°30'26" N, 119°00'15" E),属亚热带季风气候区,年平均气温 16.4℃,年平均相对湿度 76%,年平均降水量 1204mm。采样时收集 0—20 cm 的表层土壤,土样混合均匀带回实验室,置于阴凉处过 2 mm 筛备用。

1.2 试验设计

土壤培育试验在 30℃ 的恒温培养箱中进行,共设置空白对照、芥菜籽粕和威百亩熏蒸 3 组处理,每组处理设置 3 个重复。于 240 mL 组培瓶中添加 120g 上述备用的土样,为比较不同芥菜籽粕用量的熏蒸效果,又设置 3 种添加量,分别为 0.1%、0.2%、0.5%,威百亩添加量为 0.1%。熏蒸时调节土壤含水量为饱和含水量的 40%,拧紧瓶盖,裹好保鲜膜,做好密封处理。为探究不同熏蒸时期土壤细菌与真菌群落的变化情况,选取 4 个熏蒸时期的土壤进行了采样:密闭熏蒸 14d (T1)、密闭熏蒸 28d (T2)、揭膜散气 14d (T3)、揭膜散气 28d (T4),5 组处理,4 个取样时间,3 个重复,总计 60 个样品。将采集的样品保存于-80℃ 冰箱内供后续 DNA 提取。

1.3 DNA 提取与 16S rRNA、ITS rRNA 测序和数据公布

称取 0.5g 土壤样品,严格按照 FastDNA® Spin Kit (Bio 101, Carlsbad, CA, 美国)试剂盒附带操作步骤提取土壤 DNA,提取的 DNA 样品用分光光度计 (Nano-drop ND-2000, 美国)进行定量,并按特异性引物 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA)和 907R (CC-GTCAATTCMTTTRAGTTT)进行细菌 16S rRNA V4—V5 区的扩增,然后按照特异性引物 ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)和 ITS2 (GCTGCGTTCCTTCATCGATGC)对真菌 ITS rRNA V1 区进行扩增^[33]。扩增子测序数据在 QIIME2 平台中进行过滤、质控、除去嵌合体、合并双端序列、去噪为扩增序列变体 Amplicon sequence variants (ASVs),细菌的物种注释参比 Greengenes 数据库、真菌的物种注释参比 unite 数据库,并生成对应的 ASVs 特征表。细菌 16S rRNA 和真菌 ITS rRNA 测序数据已经上传到 NCBI 平台,取得序列登录号分别为 SUB14297243 和 SUB14298030。

1.4 数据处理与分析

使用原始的 ASVs 序列数据计算各处理细菌与真菌群落的物种丰富度和 Simpson 指数。基于 Bray-Curtis 距离矩阵,进行 PCoA 以比较熏蒸处理对土壤微生物群落结构的影响,并通过置换多元方差分析 (PERMANOVA)检验各处理间的显著性;通过 FAPROTAX 对土壤细菌进行功能预测,并通过 FUNGuild 对土壤真菌进行功能预测。使用采用单因素方差分析和多重比较进行处理间差异显著性分析 ($\alpha=0.05$)。分析和绘图采用 SPSS 25、R 4.2.3 和 Origin 2022 软件。

2 结果与分析

2.1 不同熏蒸方式对土壤微生物群落多样性的影响

将 ASV 表用于计算土壤中细菌和真菌群落的物种丰富度指数和 Simpson 指数。结果表明,T1—T4,相较

于对照,芥菜籽粕和威百亩熏蒸处理组中,均降低了土壤中细菌和真菌物种丰富度和多样性(图1)。在丰富度方面,0.5%芥菜籽粕熏蒸对细菌物种丰富度的降低效果最明显,威百亩熏蒸对真菌物种丰富度降低效果最明显。T1和T4中0.1%芥菜籽粕熏蒸土壤中细菌物种丰富度指数分别为1547.87和1823.93,说明较低用量籽粕熏蒸下土壤中细菌物种丰富度具有一定的恢复趋势。真菌物种丰富度在各熏蒸处理中均处于下降趋势。在多样性方面,熏蒸前期(T1—T2),威百亩熏蒸对细菌多样性的降低效果最明显;熏蒸后期(T3—T4),0.2%和0.5%芥菜籽粕熏蒸对细菌多样性的降低效果最明显。

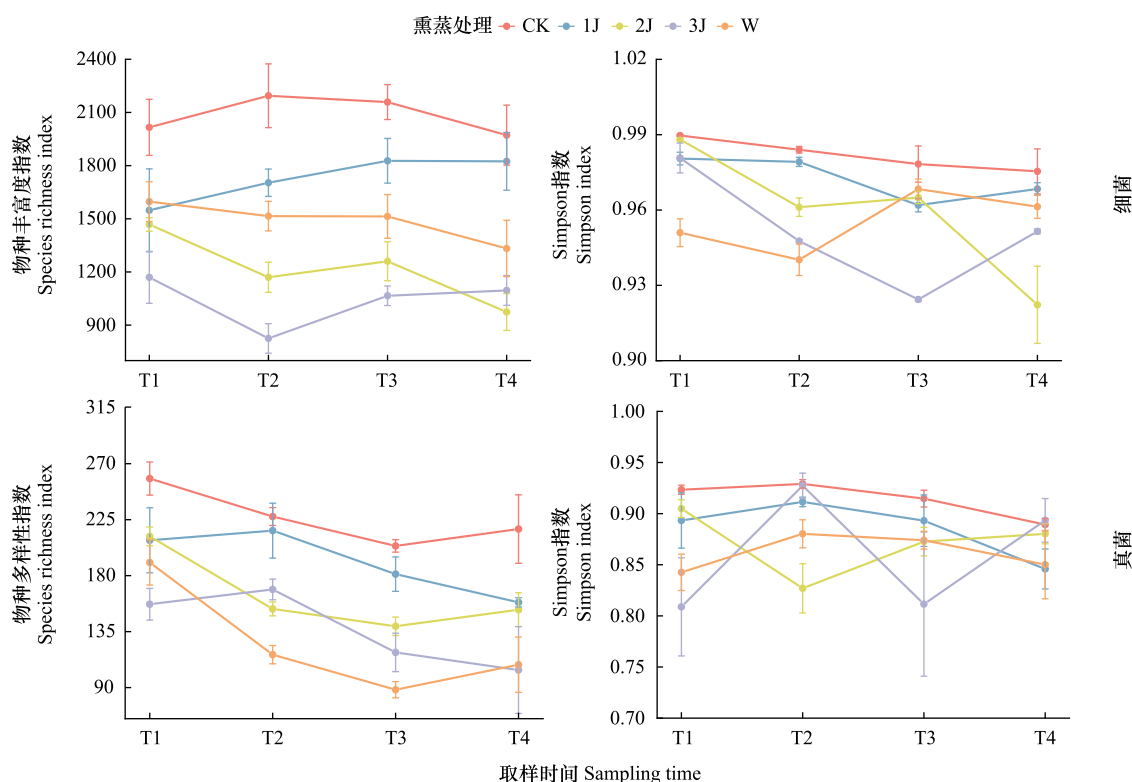


图1 不同处理下土壤微生物群落的 alpha 多样性指数

Fig.1 Alpha diversity index of soil microbial communities under different treatments

CK: 未熏蒸对照 Unfumigated control; 1J: 0.1% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.1% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; 2J: 0.2% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.2% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; 3J: 0.5% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.5% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; W: 威百亩熏蒸 Metham-sodium-fumigation; T1: 密闭熏蒸 14d Closed fumigation for 14 days; T2: 密闭熏蒸 28d Closed fumigation for 28 days; T3: 揭膜散气 14d Uncover the film and disperse the gas for 14 days; T4: 揭膜散气 28d Uncover the film and disperse the gas for 28 days

细菌和真菌群落丰富度和多样性的结果说明,芥菜籽粕和威百亩熏蒸均对土壤中细菌和真菌物种丰富度和多样性造成了负面影响,具有广谱杀菌效应。芥菜籽粕和威百亩熏蒸处理对土壤中细菌和真菌丰富度和多样性的改变方式和过程存在差异,0.5%芥菜籽粕熏蒸对细菌的影响更大,威百亩熏蒸对真菌的影响更大。在熏蒸过程中,0.1%芥菜籽粕熏蒸下土壤中细菌物种丰富度具有一定的恢复趋势,而威百亩熏蒸下细菌多样性增加。

2.2 不同熏蒸方式对土壤微生物群落结构的影响

基于 Bray-Curtis 距离矩阵,通过 PCoA 比较了熏蒸处理对土壤微生物群落 β 多样性的影响。芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸会显著改变土壤细菌及真菌的群落结构(图2)。细菌群落 PCoA 的前两轴分别解释了 27.52% 和 17.85% 的群落变异,真菌群落 PCoA 的前两轴则为 33.55%、24.24%。不同熏蒸方式在第一轴上显著分开。根据置换多元方差分析(PERMANOVA)结果,熏蒸材料的种类和用量而不是熏蒸时间对土壤细菌

和真菌群落结构产生了显著影响(表 1)。在细菌群落结构上,威百亩熏蒸比芥菜籽粕熏蒸产生的影响更大;在真菌群落结构方面,0.2%和 0.5%芥菜籽粕熏蒸比威百亩熏蒸产生的影响更大。相较于对照,芥菜籽粕熏蒸用量越大,对土壤细菌和真菌群落造成的影响也越大(表 1)。

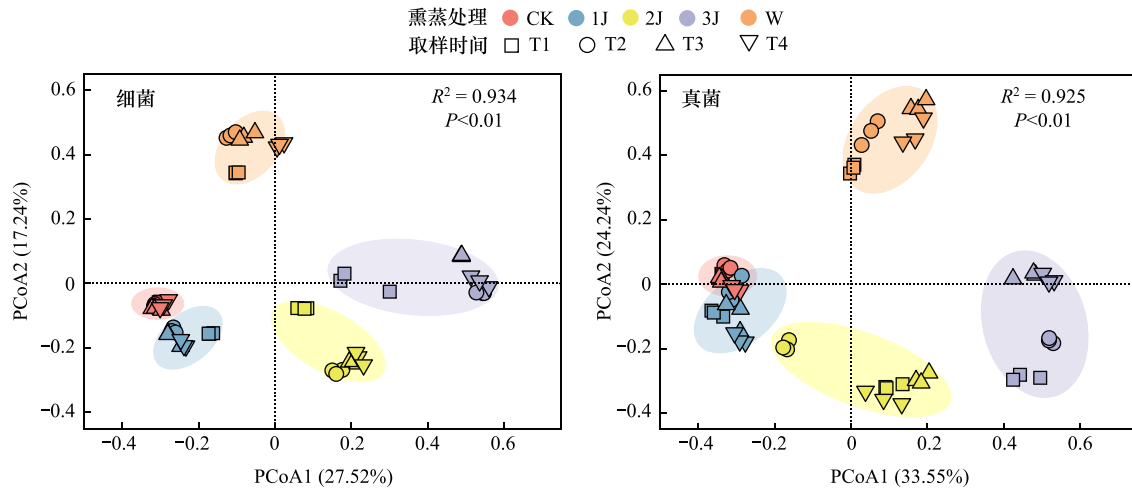


图 2 不同处理下土壤微生物群落主坐标分析

Fig.2 Principal coordinate analysis of soil microbial community under different treatments

表 1 不同分组方式的置换多元方差分析

Table 1 PERMANOVA under different grouping methods

分组方式 Grouping methods	细菌 R^2 Bacteria R^2	P	真菌 R^2 Fungi R^2	P
熏蒸材料+熏蒸时间 Fumigation material+ Fumigation time	0.917	0.001	0.925	0.001
熏蒸材料 Fumigation material	0.577	0.001	0.670	0.001
熏蒸时间 Fumigation time	0.082	0.382	0.054	0.382
CK vs 1J	0.329	0.001	0.440	0.001
CK vs 2J	0.506	0.001	0.675	0.001
CK vs 3J	0.517	0.001	0.685	0.001
CK vs W	0.551	0.001	0.561	0.001
1J vs 2J	0.393	0.001	0.475	0.001
1J vs 3J	0.480	0.001	0.646	0.001
1J vs W	0.537	0.001	0.531	0.001
2J vs 3J	0.321	0.001	0.475	0.001
2J vs W	0.479	0.001	0.527	0.001
3J vs W	0.452	0.001	0.484	0.001
T1 vs T2	0.060	0.180	0.033	0.563
T1 vs T3	0.077	0.051	0.032	0.563
T1 vs T4	0.101	0.006	0.050	0.516
T2 vs T3	0.029	0.542	0.016	0.814
T2 vs T4	0.038	0.498	0.055	0.516
T3 vs T4	0.029	0.542	0.033	0.563

CK: 未熏蒸对照 Unfumigated control; 1J: 0.1% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.1% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; 2J: 0.2% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.2% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; 3J: 0.5% (质量分数) 芥菜籽粕熏蒸 0.5% (质量分数) *Brassica juncea* seed meals fumigation; W: 威百亩熏蒸 Metham-sodium-fumigation; T1: 密闭熏蒸 14d Closed fumigation for 14 days; T2: 密闭熏蒸 28d Closed fumigation for 28 days; T3: 揭膜散气 14d Uncover the film and disperse the gas for 14 days; T4: 揭膜散气 28d Uncover the film and disperse the gas for 28 days

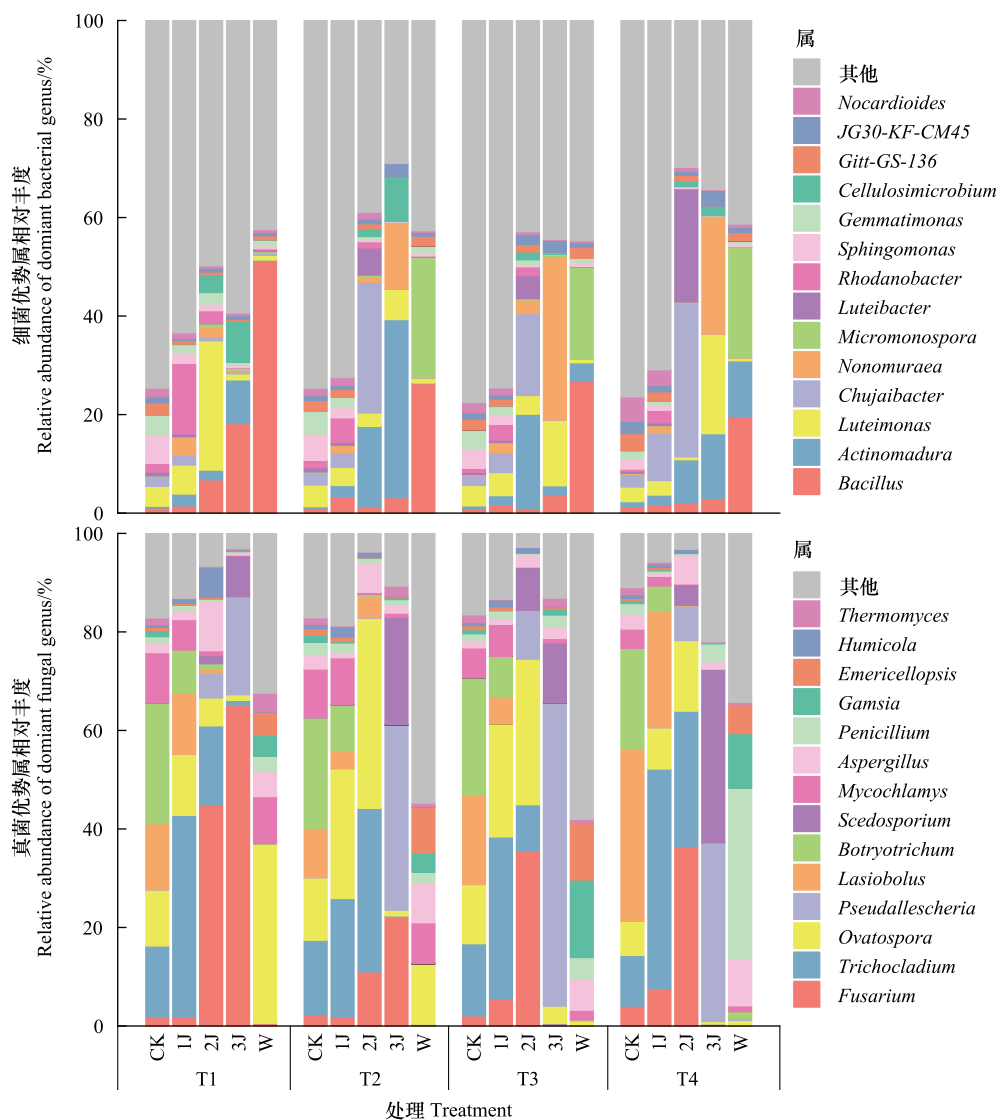


图3 不同处理下土壤微生物群落优势属相对丰度

Fig.3 Relative abundance of dominant genus of soil microbial communities under different treatments

2.3 不同熏蒸方式对土壤微生物群落组成的影响

不同熏蒸处理对土壤微生物群落的影响效果不同,而且一些微生物随着熏蒸时间的变化而变化(图3)。T4期,在细菌属水平方面,熏蒸富集了芽孢杆菌属(*Bacillus*)、马杜拉放线菌属(*Actinomadura*)、藤黄色单胞菌属(*Luteimonas*)、野野村氏菌属(*Nonomuraea*)、*Chujaibacter* 和小单胞菌属(*Micromonospora*)等,其中0.1%和0.2%芥菜籽粕熏蒸特有的富集了*Chujaibacter*,0.5%芥菜籽粕熏蒸特有的富集了藤黄色单胞菌属和野野村氏菌属,威百亩熏蒸特有的富集了小单胞菌属。选择了T4时期芽孢杆菌属、马杜拉放线菌属、野野村氏菌属和小单胞菌属和藤黄色单胞菌属深入分析它们在各熏蒸处理中相对丰度的变化(图4)。

对照中马杜拉放线菌属的相对丰度为0.99%,0.1%、0.2%、0.5%芥菜籽粕和威百亩处理中的相对丰度分别为1.97%、8.69%、13.27%和11.48%,可见熏蒸对马杜拉放线菌属的富集效果明显,0.5%芥菜籽粕熏蒸效果最好。对照中芽孢杆菌属的相对丰度为1.34%,0.1%、0.2%和0.5%芥菜籽粕和威百亩处理中的相对丰度分别为1.71%、2.15%、2.85%和19.45%,熏蒸均富集了芽孢杆菌属,威百亩熏蒸效果最好。藤黄色单胞菌属和野野村氏菌属只在0.5%芥菜籽粕熏蒸中显著富集,小单胞菌属仅在威百亩处理中显著富集。

T4 时期,在真菌物种组成方面主要关注的是镰刀菌属和青霉菌属的变化,在细菌物种组成方面主要关注的是芽孢杆菌属、马杜拉放线菌属和野野村氏菌属等有益菌属的变化(图 4)。相较对照,镰刀菌属的相对丰度在 0.1% 和 0.2% 芥菜籽粕处理中提高了,但在 0.6% 芥菜籽粕和威百亩处理中降低了,说明施加威百亩和提高芥菜籽粕熏蒸用量可以抑制土壤中镰刀菌属病原真菌的相对丰度。特别的,威百亩熏蒸中显著富集了青霉菌属(*Penicillium*)。

2.4 不同熏蒸方式对土壤微生物群落功能的影响

对 T4 时期不同处理下的细菌群落进行了 FAPROTAX 功能预测分析(图 5)。0.5% 芥菜籽粕和威百亩处理增强了细菌化能异养(chemoheterotrophy)和需氧化能异养(aerobic chemoheterotrophy)功能。较威百亩处理,0.5% 芥菜籽粕处理还增强了细菌硝酸盐还原(nitrate reduction)和碳氢化合物降解(hydrocarbon degradation)功能。

为初步的探究熏蒸处理后构建的真菌群落是否能具有抑制土传病害发生的土壤生态功能,对 T4 时期不同处理下的真菌群落进行了 FUNGuild 功能预测分析(图 6)。通过对样品的聚类发现,所有处理主要分为了三大类,对照和威百亩熏蒸分别聚为第一、第二大类,0.1%、0.2% 和 0.5% 芥菜籽粕处理聚为第三大类,得到了很好的区分,说明芥菜籽粕熏蒸后构建的真菌群落在功能层次上与威百亩熏蒸存在不同。在功能预测分析的丰度热图中,根据功能菌群的分类,熏蒸处理与对照组间展现了明显的差别,在结果中出现三个潜在的植物病原菌群 Plant Pathogen、Plant Pathogen-Undefined Saprotroph 和 Endophyte-Plant Pathogen,且这三种功能作用的丰度在芥菜籽粕和威百亩熏蒸下要明显低于对照,说明熏蒸都有效地抑制了土壤中与真菌病害相关功能的丰度,具有预防土传真菌病害的潜力。

3 讨论

本研究发现,相较于对照,0.5% 芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够降低土壤中镰刀菌属的相对丰度。镰刀菌是一类世界性分布的真菌,它不仅可以在土壤中越冬越夏,还可侵染多种作物,引起作物的根腐、茎腐、花腐和穗腐等多种病害,寄主植物达 100 余种^[31]。据报道,土壤中病原菌丰度与土传病害的发生率息息相关,通过降低病原菌的相对丰度可以对土传病害进行有效防治^[32-33]。这表明对土壤进行芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够杀灭镰刀菌属,预防作物根腐和茎腐等镰刀菌引起的病害。

芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸能够富集芽孢杆菌、马杜拉放线菌、藤黄色单胞菌、野野村氏菌和小单胞菌等有益微生物。芽孢杆菌是被广泛研究的生防菌和植物促生菌,通过对营养和空间位点的竞争、分泌抗菌物质、溶菌作用和诱导植物抗病性等产生防病促生作用^[34]。其对多种植物病原物具有拮抗效应,可用于多种植物病害的防治工作,例如番茄灰霉病、棉花枯萎病和辣椒炭疽病等^[34-37]。马杜拉放线菌属于放线菌,而放线菌能加速土壤中动植物残骸的分解,促进土壤物质转化和氮素循环,产生抗生素物质,与植物病害防治有密切的联系^[38]。有研究表明,马杜拉放线菌属能够促进根瘤菌生,促进鹰嘴豆芽长、次生根和根长,增加鹰嘴豆生物量和根干重,这说明马杜拉放线菌是一种植物有益放线菌^[39]。野野村氏菌和小单胞菌是寻找新的生物活性物质的重要菌源,某些种能产生抗生素^[40-41]。藤黄色单胞菌属被确定为影响植物生长的潜在关键属^[42]。

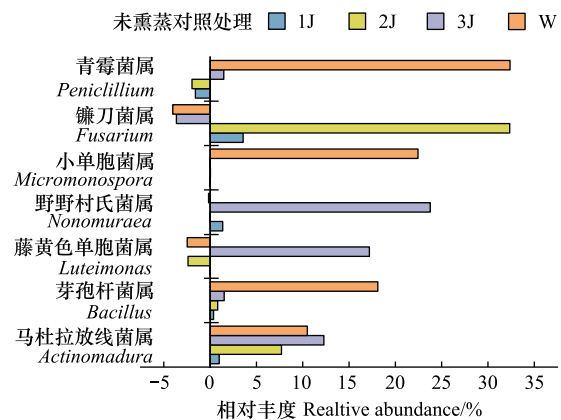


图 4 T4 时期对照与 0.1%、0.2% 和 0.5% 芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸中某些微生物相对丰度之间的差异分析

Fig.4 Analysis of differences between the control and 0.1%, 0.2%, and 0.5% *Brassica juncea* seed meals fumigation and metam-sodium fumigation in relative abundance of some microorganisms at the T4 period

预测土壤微生物功能可能有助于解释一些土壤过程和功能^[43]。在土壤细菌群落功能方面,0.5%芥菜籽粕处理和威百亩处理增强了细菌化能异养和需氧化能异养功能,说明熏蒸处理下土壤细菌分解复杂有机质的能力增强,可供植物吸收利用的简单有机化合物和无机化合物增加,这种现象有利于作物生长发育。较威百亩处理,0.5%芥菜籽粕处理还增强了细菌硝酸盐还原和碳氢化合物降解功能,这样土壤中可供作物吸收利用的铵态氮含量增加,提高了植物对氮的利用效率并且分解复杂有机物和降解可能存在的有机污染物的能力增强,有利于作物生长发育^[43]。在土壤真菌群落功能方面, FunGuild 分析结果表明,芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸确实具有潜在的抑制土壤中一些真菌土传病害的能力^[44]。结合熏蒸对土壤真菌物种组成的影响,这些真菌土传病害可能是与镰刀菌属相关的根腐病和枯萎病病害。

化学熏蒸的危害是化学品会在环境中产生残留,具有一定的危害;生物熏蒸的优势是生物熏蒸材料富含有机质、氮磷钾等营养元素,在杀灭病原物和防控土传病害的同时可以为植物生长发育提供保障。在今后的研究中应进一步探究芥菜籽粕和威百亩熏蒸土壤细菌和真菌群落组成、土传病害防治与作物健康生长之间的相互关系,以便为熏蒸土壤在土传病害防控应用方面提供理论支撑。

4 结论

本研究发现,0.5%芥菜籽粕和威百亩熏蒸能够消灭土壤中的镰刀菌属,降低了土壤中与真菌病害相关功能的丰度,具有预防由镰刀菌属引起的作物根腐病和枯萎病的潜在能力。芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸共同富集了土壤中的芽孢杆菌属和马杜拉放线菌属这两类有益微生物。0.5%芥菜籽粕熏蒸特有的富集了藤黄色单胞菌属和野野村氏菌属,而威百亩熏蒸特有的富集了小单胞菌属和青霉菌属,这些微生物都对病原菌具有杀灭效果。0.5%芥菜籽粕熏蒸和威百亩熏蒸增强了细菌化能异养和需氧化能异养功能,0.5%籽粕熏蒸还增强了细菌硝酸盐还原和碳氢化合物降解功能。这些功能的增强可能有利于作物生长。综上,芥菜籽粕和威百亩熏蒸能够通过富集芽孢杆菌属和马杜拉放线菌属等有益微生物和消减镰刀菌属有害微生物来调控土壤微生物群落,使土壤具有预防土传真菌病害和促进作物生长的潜能,促进土壤微生物群落结构和功能类群向健康有益方向发展。

致谢:感谢李建刚老师和董元华老师在实验设计和写作给予的帮助,感谢彭俊伟、孙阳、张欢欢、党柯柯、刘洪和史子涵在实验操作、数据分析等方面给予的帮助。

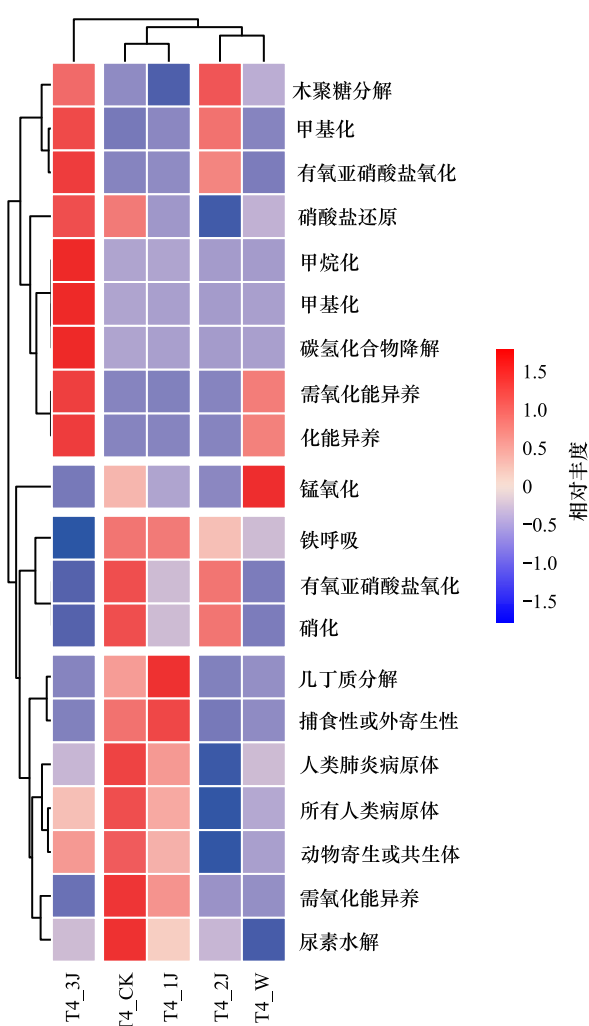


图5 T4时期不同处理下土壤细菌群落 FAPROTAX 生态功能预测

Fig.5 FAPROTAX ecological function prediction of soil bacterial community under different treatments at the T4 period

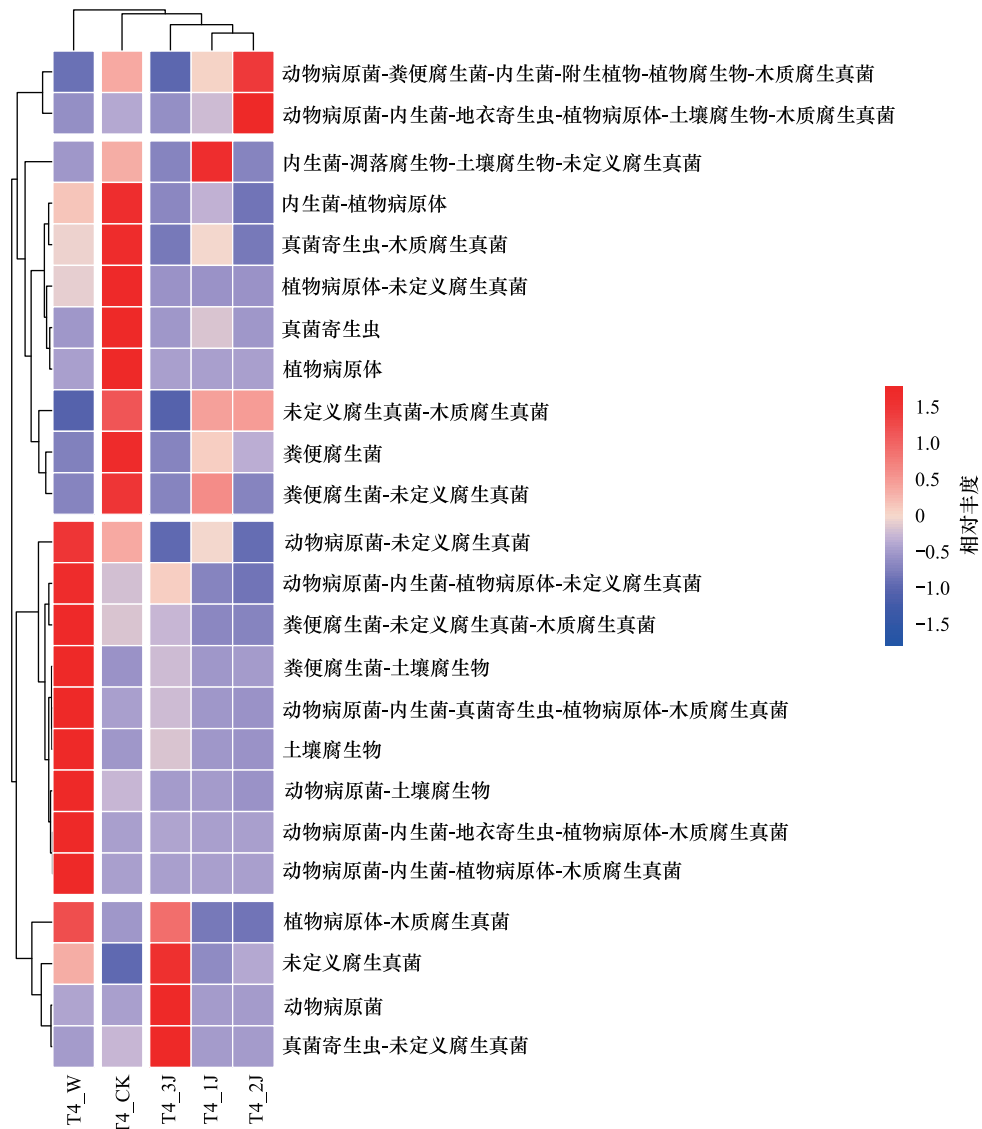


图 6 T4 时期不同处理下土壤真菌群落 FUNGuild 生态功能预测

Fig.6 FUNGuild ecological function prediction of soil fungal community under different treatments at the T4 period

参考文献 (References):

- [1] 张敏, 马森. 甘草根际土壤微生物群落对长期连作的响应. 生态学报, 2022, 42(22): 9017-9025.
- [2] 姚小东, 李孝刚, 丁昌峰, 韩正敏, 王兴祥. 连作和轮作模式下花生土壤微生物群落不同微域分布特征. 土壤学报, 2019, 56(4): 975-985.
- [3] Zhang W, Long X Q, Huo X D, Chen Y F, Lou K. 16S rRNA-based PCR-DGGE analysis of actinomycete communities in fields with continuous cotton cropping in Xinjiang, China. Microbial Ecology, 2013, 66(2): 385-393.
- [4] Li X G, Ding C F, Zhang T L, Wang X X. Fungal pathogen accumulation at the expense of plant-beneficial fungi as a consequence of consecutive peanut monoculturing. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 72: 11-18.
- [5] 刘传和, 贺涵, 何秀古, 刘开, 邵雪花, 赖多, 林伟, 林望达, 匡石滋, 肖维强. 菠萝不同连作年限对土壤理化性状和微生物群落丰度的影响. 土壤, 2021, 53(6): 1244-1249.
- [6] 王才斌, 吴正锋, 成波, 郑亚萍, 万书波, 郭峰, 陈殿绪. 连作对花生光合特性和活性氧代谢的影响. 作物学报, 2007, 33(8): 1304-1309.
- [7] 方文生, 王秋霞, 颜冬冬, 李园, 曹兵伟, 徐进, 靳茜, 曹勘程. 土壤熏蒸剂棉隆防治土传病害研究进展及未来发展趋势. 植物保护学报, 2023, 50(1): 40-49.
- [8] 卜东欣, 张超, 张鑫, 丛聪, 王金信. 熏蒸剂威百亩对土壤微生物数量和酶活性的影响. 中国农学通报, 2014, 30(15): 227-233.
- [9] 杨叶青, 范琳娟, 刘奇志, 李维华, 宋兆欣. 棉隆和氯化苦熏蒸对重茬草莓土壤线虫群落及养分含量的影响. 园艺学报, 2018, 45(4): 725-733.

- [10] 张大琪, 颜冬冬, 方文生, 黄斌, 王献礼, 王晓宁, 李雄亚, 王倩, 靳茜, 李园, 欧阳灿彬, 王秋霞, 曹堃程. 生物熏蒸——环境友好型土壤熏蒸技术. 农药学报, 2020, 22(1): 11-18.
- [11] Zhang D Q, Yan D D, Fang W S, Huang B, Wang X L, Wang X N, Zhu J H, Liu J, Ouyang C B, Li Y, Wang Q X, Cao A C. Chloropicrin alternated with biofumigation increases crop yield and modifies soil bacterial and fungal communities in strawberry production. Science of the Total Environment, 2019, 675: 615-622.
- [12] Fraedrich S W, Dwinell L D. An evaluation of dazomet incorporation methods on soilborne organisms and pine seedling production in southern nurseries. Southern Journal of Applied Forestry, 2003, 27(1): 41-51.
- [13] Zhu F Y, Xiao J L, Zhang Y, Wei L, Liang Z H. Dazomet application suppressed watermelon wilt by the altered soil microbial community. Scientific Reports, 2020, 10: 21668.
- [14] 赵晓东, 赵鹏宇, 李晓晶, 燕平梅, 任天志, 李永涛. 土壤真菌对威百亩熏蒸的响应特征. 农业环境科学学报, 2021, 40(3): 580-590.
- [15] Pu R F, Wang P P, Guo L P, Li M H, Cui X M, Wang C X, Liu Y, Yang Y. The remediation effects of microbial organic fertilizer on soil microorganisms after chloropicrin fumigation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 231: 113188.
- [16] Morris E K, Fletcher R, Veresoglou S D. Effective methods of biofumigation: a meta-analysis. Plant and Soil, 2020, 446(1): 379-392.
- [17] Larkin R P, Griffin T S. Control of soilborne potato diseases using Brassica green manures. Crop Protection, 2007, 26(7): 1067-1077.
- [18] Tagele S B, Kim R H, Shin J H. Interactions between Brassica biofumigants and soil microbiota: causes and impacts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(39): 11538-11553.
- [19] Angus J F, Gardner P A, Kirkegaard J A, Desmarchelier J M. Biofumigation: Isothiocyanates released from Brassica roots inhibit growth of the take-all fungus. Plant and Soil, 1994, 162(1): 107-112.
- [20] 王庆仁. 油菜疏土的农业生态学意义与研究进展. 生态农业研究, 1998, 6(3): 17-20.
- [21] 彭俊伟, 申民翀, 董元华, 李建刚. 籽粕熏蒸对哈密瓜发病土壤真核生物群落组成和变化的影响. 土壤, 2021, 53(2): 321-328.
- [22] Deng X H, Zhang N, Shen Z Z, Zhu C Z, Liu H J, Xu Z H, Li R, Shen Q R, Salles J F. Soil microbiome manipulation triggers direct and possible indirect suppression against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. Npj Biofilms and Microbiomes, 2021, 7: 33.
- [23] Abdallah I, Yehia R, Kandil M A H. Biofumigation potential of Indian mustard (*Brassica juncea*) to manage *Rhizoctonia solani*. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2020, 30(1): 99.
- [24] Vandicke J, De Visschere K, Deconinck S, Leenknicht D, Vermeir P, Audenaert K, Haesaert G. Uncovering the biofumigant capacity of allyl isothiocyanate from several Brassicaceae crops against *Fusarium* pathogens in maize. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(15): 5476-5486.
- [25] Wang Q J, Ma Y, Yang H, Chang Z Z. Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight. World Journal Microbiol & Biotechnol 2014, 30: 507-518.
- [26] Zhang D Q, Yan D D, Cheng H Y, Fang W S, Huang B, Wang X L, Wang X N, Yan Y, Ouyang C B, Li Y, Wang Q X, Cao A C. Effects of multi-year biofumigation on soil bacterial and fungal communities and strawberry yield. Environmental Pollution, 2020, 256: 113415.
- [27] Njoroge S M C, Riley M B, Keinath A P. Effect of incorporation of Brassica spp. residues on population densities of soilborne microorganisms and on damping-off and *Fusarium* wilt of watermelon. Plant Disease, 2008, 92(2): 287-294.
- [28] Paudel B R, Carpenter-Boggs L, Higgins S. Influence of brassicaceous soil amendments on potentially beneficial and pathogenic soil microorganisms and seedling growth in Douglas-fir nurseries. Applied Soil Ecology, 2016, 105: 91-100.
- [29] Ogundeyi A O, Meng L B, Cheng Z Y, Hou J, Yin T J, Zhang S, Liu X D, Liu X J, Li S M. Integrated crop practices management stimulates soil microbiome for *Verticillium* wilt suppression. European Journal of Agronomy, 2022, 140: 126594.
- [30] 祝红蕾, 储大勇, 赵红艳, 郭佳佳, 姚帮本. 菜籽饼粕有机肥腐熟过程中有效成分变化的研究. 安徽化工, 2015, 41(1): 59-61.
- [31] 赵亚南, 黎妍妍, 曹春霞, 姚经武, 袁勤峰, 黄大野. 烟草镰刀菌根腐病研究进展. 中国植保导刊, 2023, 43(11): 20-25, 59.
- [32] 李朋发, 杨龙, 李桂龙, 徐后娟, 王玉军, 李忠佩. 基于 FUNGuild 的镰刀菌根腐病发病烟株根际真菌群落研究. 中国烟草学报, 2019, 25(2): 63-68.
- [33] 鲍莹, 严梦圆, 吴萌, 李桂龙, 刘凯, 李忠佩. 腐殖酸配施壳聚糖调控设施番茄土壤细菌群落. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2772-2778.
- [34] 陈志谊, 刘永峰, 刘邰洲, 张荣胜. 植物病害生防芽孢杆菌研究进展. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 999-1006.
- [35] 侯凯丽, 冯宇航, 杨从军. 枯草芽孢杆菌 WR 菌株对番茄灰霉病的生防潜力. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2023, 40(1): 030-034.
- [36] Li S Q, Zhang N, Zhang Z H, Luo J, Shen B, Zhang R F, Shen Q R. Antagonist *Bacillus subtilis* HJ5 controls *Verticillium* wilt of cotton by root colonization and biofilm formation. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(3): 295-303.
- [37] Srikhong P, Lertmongkonthum K, Sowanprecha R, Rerngsamran P. *Bacillus* sp. strain M10 as a potential biocontrol agent protecting chili pepper and tomato fruits from anthracnose disease caused by *Colletotrichum capsici*. BioControl, 2018, 63(6): 833-842.
- [38] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [39] Tuan Vo Q A, Ballard R A, Barnett S J, Franco C M M. Isolation and characterisation of endophytic Actinobacteria and their effect on the growth and nodulation of chickpea (*Cicer arietinum*). Plant and Soil, 2021, 466(1): 357-371.
- [40] Bashir S, Numan M, Shinwari Z K. Selective Isolation of Bioactive-Pigmented Bacteria from Saline Agricultural Soil and Assessment of Their Antimicrobial Potential against Plant Pathogens. Sustainability, 2022, 14(20): 13574.
- [41] Dede A, Güven K. Plant growth-promoting of olive and walnut Actinobacteria: isolation, screening PGP traits, antifungal activities, identification, and hydroponic production of wheat. Archives of Agronomy and Soil Science, 2023, 69(8): 1343-1358.
- [42] Gu Y A, Dong K, Geisen S, Yang W, Yan Y E, Gu D L, Liu N S, Borisjuk N, Luo Y M, Friman V P. The effect of microbial inoculant origin on the rhizosphere bacterial community composition and plant growth-promotion. Plant and Soil, 2020, 452(1): 105-117.
- [43] Tang K, Jia L J, Yuan B, Yang S S, Li H, Meng J Y, Zeng Y H, Feng F Y. Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria Promote the Development of Biological Soil Crusts. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2715.
- [44] Kim R H, Tagele S B, Jeong M, Jung D R, Lee D, Park T, Tino B F, Lim K, Kim M A, Park Y J, Shin J H. Spinach (*Spinacia oleracea*) as green manure modifies the soil nutrients and microbiota structure for enhanced pepper productivity. Scientific Reports, 2023, 13: 4140.