

DOI: 10.11766/trxb202205150254

赵军, 张晶清, 林于蓝, 王宝英, 黄新琦, 张金波, 蔡祖聪. 强还原土壤处理驱动的微生物群落稳定性与功能的关联性[J]. 土壤学报, 2024, 61 (1): 187–199.

ZHAO Jun, ZHANG Jingqing, LIN Yulan, WANG Baoying, HUANG Xinqi, ZHANG Jinbo, CAI Zucong. Correlation between the Stability and Function of Soil Microbial Community Driven by Reductive Soil Disinfestation[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61 (1): 187–199.

强还原土壤处理驱动的微生物群落稳定性与功能的关联性*

赵 军^{1, 2, 3}, 张晶清¹, 林于蓝¹, 王宝英¹, 黄新琦^{1, 2}, 张金波^{1, 3},
蔡祖聪^{1, 2, 3, 4†}

(1. 南京师范大学地理科学学院, 南京 210023; 2. 江苏省土壤利用与农业可持续发展工程研究中心, 南京 210023; 3. 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023; 4. 南京师范大学, 江苏省物质循环与污染控制重点实验室, 南京 210023)

摘 要: 为研究强还原土壤处理 (Reductive soil disinfestation, RSD) 对连作土壤微生物群落稳定性的影响, 以及微生物群落稳定性变化与其功能的联系, 以云南省石屏县连续种植多年的洋桔梗栽培土壤为研究对象, 设置 4 个处理: 对照 (CK); 分别添加高碳氮比有机物料 (C/N 122, 15 t·hm⁻², SB), 低碳氮比有机物料 (C/N 19, 15 t·hm⁻², BD), 高、低碳氮比有机物料等质量混合 (15 t·hm⁻², SB+BD) 的 RSD 处理。采用 Biolog 微平板法、定量 PCR 及高通量测序等技术手段分析了土壤微生物群落稳定性及碳、氮代谢功能。结果表明, 与 CK 相比, RSD 处理能够大幅降低细菌群落组成和丰度的稳定性, 且 SB+BD 处理的影响较 SB 和 BD 处理强烈, 但对真菌群落组成和丰度的稳定性无显著影响。同时, RSD 处理能够显著提高细菌和真菌群落相互作用关系的稳定性, 且 SB 和 BD 处理对其提升效果优于 SB+BD 处理。回归分析表明, 土壤微生物群落的相互作用关系稳定性与其组分和丰度的稳定性关系密切。相关性分析显示, 土壤微生物群落稳定性与其活性、碳代谢功能以及反硝化能力高度相关。综上, 强还原土壤处理能够通过降低微生物群落组成和丰度的稳定性来提高类群间相互作用关系的稳定性, 促进土壤微生物活性恢复和群落生态功能改善。

关键词: 设施栽培; 群落稳定性; 功能多样性; 微生物活性; 氮循环功能基因

中图分类号: S154.3 文献标志码: A

Correlation between the Stability and Function of Soil Microbial Community Driven by Reductive Soil Disinfestation

ZHAO Jun^{1, 2, 3}, ZHANG Jingqing¹, LIN Yulan¹, WANG Baoying¹, HUANG Xinqi^{1, 2}, ZHANG Jinbo^{1, 3},
CAI Zucong^{1, 2, 3, 4†}

* 国家自然科学基金项目 (42090065, 42077031)、云南省专家工作站项目 (202205AF150039) 和云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202005AC160043) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42090065, 42077031), the Yunnan Province Expert Workstation Project (No. 202205AF150039), and the Reserve Talent Project of Young and Middle-aged Academic and Technical Leaders of Yunnan Province (No. 202005AC160043)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zccai@njnu.edu.cn.

作者简介: 赵 军 (1988—), 男, 浙江嘉兴人, 副教授, 主要从事微生物群落稳定性及其调控机制相关研究。E-mail: junzhao37@njnu.edu.cn

收稿日期: 2022-05-15; 收到修改稿日期: 2022-07-25; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-10-11

(1. School of Geography, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Engineering Research Center for Soil Utilization & Sustainable Agriculture, Nanjing 210023, China; 3. Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application, Nanjing 210023, China; 4. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Materials Cycling and Pollution Control, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: 【Objective】 Reductive soil disinfestation (RSD) is an effective agriculture practice to conquer continuous cropping obstacles by the elimination of soil-borne pathogens, degradation of allelochemicals, improvement of soil microbial community structure, and restoration of soil microbial functions. However, the effects of RSD practice on the stability of the mono-cropped soil microbial community are still unknown. Moreover, the relationship between soil microbial community stability and functions also needs to be studied. Therefore, this study was oriented to explore the relationship between the stability and function of soil microbial communities driven by reductive soil disinfestation. 【Method】 A field experiment, designed to have four treatments, i.e. CK (control without soil treatment); SB (RSD incorporated with 15 t·hm⁻² organic substrate with C/N ratio of 122); BD (RSD incorporated with 15 t·hm⁻² organic substrate with C/N ratio of 19); and SB+BD (RSD incorporated with 15 t·hm⁻² organic substrates containing both high and low C/N ratios with equal mass), was carried out in a lisanthus mono-cropped soils in Shiping County, Yunnan Province. Biolog microplate method, quantitative real-time PCR, and high-throughput sequencing were used to analyze the microbial community stability, microbial metabolic activity and function diversity, and the abundance of nitrogen-related functional genes. 【Result】 Results showed that RSD significantly reduced the stability of bacterial community composition and abundance as compared to CK, with the effects of SB+BD treatment being stronger than that of SB and BD treatment, whereas it had no significant effect on the stability of fungal community composition and abundance. Also, RSD significantly enhanced the stability of interactions between bacterial and fungal communities, and SB and BD treatments had greater effects on the improvement of stability of the interaction between microbial communities than SB+BD treatment. Regression analysis indicated that the stability of interaction relationship of soil microbial community was closely related to the stability of microbial composition and abundance. In addition, correlation analysis showed that soil microbial community stability was highly correlated with its activity, carbon metabolic function and denitrification capacity. 【Conclusion】 Collectively, reductive soil disinfestation can improve the stability of interactions between microbial taxa by reducing the stability of microbial community composition and abundance, thereby promoting the restoration of soil microbial activity and improvement of community ecological function.

Key words: Facility cultivation; Community stability; Functional diversity; Microbial activity; Nitrogen-related functional genes

设施栽培的快速发展不仅为园艺作物如瓜果、蔬菜的周年生产和均衡供应提供了有力保障,而且在提高农民收入和发展地方经济方面发挥了重要作用^[1]。但是,由于复种指数高、肥料施用量大、单一作物常年连作等特点,设施栽培易引起酸化、次生盐渍化、养分失衡、土传病害频发等一系列土壤退化问题,且随着种植年限的增加,以土传病害为主要特征的连作障碍问题日益突出,已成为制约我国设施农业可持续发展的主要瓶颈^[2-3]。强还原土壤处理(Reductive soil disinfestation, RSD)是一种作物种植前的土壤修复方法,具有杀灭土传病原菌和有害植食性线虫、缓解土壤酸化和次生盐渍化、降解化感自毒物质和重建健康土壤微生物区系等多重作用,在消除设施蔬菜和花卉等作物的连作障碍上

取得了显著的效果^[4-7]。因此,RSD处理的推广应用对消除我国设施栽培的连作障碍问题,促进我国设施农业的绿色可持续发展具有重要的意义。

研究表明,RSD处理形成的土壤微生物群落组成与其对再植作物土传病害的防控效果密切相关^[8-9]。因此,准确表征和评估RSD处理形成的土壤微生物群落结构特征对预测其作用效果至关重要。微生物群落稳定性是指受到干扰时微生物群落保持类群组成、丰度及其相互作用关系稳定的能力,其中类群组成和丰度稳定性可用平均变异度指数(Average variation degree, AVD)表征,而相互作用关系稳定性可用模块化程度和负相关性占比表征^[10-12]。Herren和McMahon^[13]进一步提出了群落内聚力(Community cohesion)的概念,用于量化微生物群落间的连通性,

发现群落负内聚力与其稳定性呈显著正相关关系。Hernandez 等^[12]研究发现环境压力能够通过瓦解微生物群落的模块化程度和负内聚力来降低群落稳定性。然而，RSD 处理对土壤微生物群落稳定性有何影响以及能否利用群落稳定性来表征 RSD 处理形成的土壤微生物群落结构特征，目前还不得而知。

Liu 等^[14]的研究发现，有机物料类型（如碳氮比、易分解有机碳含量）在很大程度上决定了 RSD 处理后土壤微生物群落的组成和结构，因此采用不同碳氮比的有机物料进行 RSD 处理能够更全面地了解并揭示该修复方法对土壤微生物群落稳定性的影响。我们前期对连作障碍较为严重的设施洋桔梗栽培土壤进行了不同碳氮比的单一及混合有机物料 RSD 处理，采用 Biolog 微平板法、实时荧光定量 PCR 及高通量测序等技术手段分析了土壤微生物的碳源代谢活性、氮素循环功能基因丰度及细菌、真菌的群落结构和多样性，结果发现混合有机物料 RSD 处理驱动形成的土壤细菌和真菌群落结构及多样性较单一有机物料 RSD 处理显著不同，且其微生物碳源代谢活性及其功能多样性明显优于单一有机物料 RSD 处理，但杀菌效果无显著差别^[15]。本文在此基础上，首先研究不同单一及混合有机物料 RSD 处理对土壤微生物群落稳定性的影响，并进一步探究土壤微生物群落稳定性与群落碳、氮代谢功能之间的联系，旨在从群落稳定性的角度揭示 RSD 处理重建的健康土壤微生物区系的本质特征，为进一步理解田间不同有机物料 RSD 处理防控效果差异形成的内在原因，及后续研发再植寄主作物生长过程中的调控措施、强化基于 RSD 处理的设施栽培连作障碍防控效果提供思路。

1 材料与amp;方法

1.1 研究区概况

田间试验位于云南省红河州石屏县异龙镇的洋桔梗种植基地（23°40'N，102°35'E），该地区属亚热带高原季风气候，年均气温 18℃，年均降雨量 899 mm，全年无霜期 317 d。试验前该基地因连续多年种植洋桔梗导致枯萎病发生率高达 80%，严重影响其产量和经济效益。试验前耕层土壤 pH 为 7.41，硝态氮含量为 305.8 mg·kg⁻¹，尖孢镰刀菌数量为 1.9 × 10⁷ ITS 拷贝数每克干土^[8]。

1.2 试验设计与土壤样品采集

田间试验共设置四个处理：1) CK，不做任何土壤处理的对照；2) SB，添加高碳氮比有机物料的 RSD 处理（C/N 122）；3) BD，添加低碳氮比有机物料的 RSD 处理（C/N 19）；4) SB+BD，添加高、低碳氮比等质量混合有机物料的 RSD 处理（m/m=1:1）。各处理包含 3 个小区，每个小区面积为 30 m²，随机排列分布。RSD 处理的田间操作流程参照李云龙等^[16]，处理期间土壤温度为 35~40℃，共处理 28 d。处理结束后，按“S”形路线采集各小区土壤样品，分别混合均匀后过 2 mm 筛，一部分保存于 4℃用于分析土壤微生物活性和碳源代谢功能；一部分保存于-80℃用于土壤 DNA 提取、氮素循环功能基因丰度和微生物群落结构分析。

1.3 土壤微生物活性及碳源代谢功能分析

土壤微生物活性以荧光素二乙酸酯（Fluorescein diacetate, FDA）水解酶活性表征，采用荧光素比色法测定，具体操作步骤及标准曲线构建参照 Adam 和 Duncan^[17]。土壤微生物碳源代谢活性及功能多样性采用 Biolog ECO 微平板法进行测定^[18]。具体步骤如下：准确称取 5 g 土壤至 250 mL 三角瓶中，加入 45 mL 灭菌 NaCl（0.85%，w/v）溶液后黑暗震荡 30 min，静置后将逐步稀释得到的 10⁻³ 稀释液接种至 ECO 板微孔中，于 25℃黑暗培养 144 h，每隔 24 h 在 590 nm 处测定吸光值。选取 144 h 时的吸光值进行统计分析，采用平均每孔颜色变化率（Average well color development, AWCD）表征土壤微生物碳源代谢活性，同时采用丰富度指数（S）、多样性指数（H）和均匀度指数（E）评估土壤微生物对碳源的利用能力，表征微生物代谢功能多样性^[19]。

1.4 土壤 DNA 提取及氮素循环功能基因定量分析

称取 0.5 g 保存于-80℃冰箱中的土壤样品，使用 PowerSoil[®] DNA Isolation Kit（MoBio Laboratories, Inc., USA）按说明书步骤提取土壤 DNA，保存于-20℃冰箱待用。用于定量氮素循环功能基因 *nirK*（*nirK1F/nirK5R*）、*nirS*（*Cd3aF/R3cd*）和 *nosZ*（*nosZFb/nosZRb*）的引物如表 1 所示，其扩增条件为 95℃预变性 2 min，95℃变性 10 s，58℃退火 20 s，72℃延伸 20 s，40 个循环。实时荧光定量 PCR 扩增反应在 CFX96[™] Real-Time System（Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, USA）上进行。

表 1 实时荧光定量 PCR 及高通量测序所用引物

Table 1 Primers used in real-time PCR assay and high-throughput sequencing

目标基因 Target gene	引物 Primer set	序列 Sequence (5'-3')	参考文献 Reference
<i>nirK</i>	nirK1F	GG <u>M</u> ATGGT <u>K</u> CC <u>S</u> TGGCA	[20]
	nirK5R	GCCTCGATCAG <u>R</u> T <u>T</u> RTGG	
<i>nirS</i>	Cd3aF	GT <u>S</u> AACGT <u>S</u> AAGGARAC <u>S</u> GG	[21]
	R3cd	GA <u>T</u> TCGG <u>R</u> TG <u>S</u> GTCTTGA	
<i>nosZ</i>	nosZFb	AACGCCTAYAC <u>S</u> AC <u>S</u> CTGTTC	[22]
	nosZRb	TCCATGTGCAG <u>N</u> G <u>C</u> RTGGCAGAA	
16S rRNA	515F	GTGCCAGC <u>M</u> GCCCGCGTAA	[23]
	806R	GGACTACH <u>V</u> GGGT <u>W</u> TCTAAT	
Fungal ITS	ITS1F	CTTGTCATTAGAGGAAGTAA	[9]
	ITS2R	GCTGCGTCTTCATCGATGC	

注：下划线为简并碱基。Note: Underlined letters denote degenerate positions. M, A/C; R, A/G; W, A/T; S, C/G; Y, C/T; K, G/T; H, A/C/T; V, A/C/G; N, A/C/G/T.

1.5 高通量测序及群落稳定性分析

采用通用引物 515F/806R 和 ITS1F/ITS2R (见表 1) 分别对细菌 V4 和真菌 ITS1 区域进行 PCR 扩增, PCR 体系及扩增条件参照 Huang 等^[24]。扩增结束后, 用纯化试剂盒 AMPure XP Beads (Beckman Coulter, Brea, USA) 对扩增产物进行纯化, 并用 Invitrogen Qubit Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, USA) 进行定量, 细菌和真菌样品分别等摩尔混合后进行高通量测序。高通量测序在上海天昊科技有限公司 (Genesky Biotechnologies, Inc.) 的 Illumina Miseq 平台上进行。利用 QIIME 软件^[25]对高通量测序产生的数据进行处理和分析 (包括序列拼接、序列质控、序列聚类及注释等步骤), 为降低测序深度对群落多样性分析的影响, 分别将细菌和真菌各样品随机抽平至 65 000 和 80 000 条序列, 共获得 15 111 个细菌 OTU 和 1 567 个真菌 OTU, 随后对细菌和真菌群落的 *alpha* 多样性 (丰富度 Sobs、Shannon 多样性) 及 *beta* 多样性 (主坐标分析) 进行分析^[15]。为研究 RSD 处理对微生物群落 OTU 分布的影响, 将某一处理所有重复中均具有的 OTU 定义为共有 OTU (Shared OTU), 而将仅出现在某一重复中的 OTU 定义为独有 OTU (Unique OTU)。

微生物类群组成及丰度稳定性用群落平均变异度指数表示。计算公式如下^[11]:

$$AVD(j) = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}_i|}{k \times n}$$

式中, x_i 表示样品 j 中第 i 个 OTU 的丰度; \bar{x}_i 表示样品 j 所在处理所有重复中第 i 个 OTU 的平均丰度; δ_i 表示样品 j 所在处理所有重复中第 i 个 OTU 丰度的标准差; k 表示样品 j 所在处理的重复数量; n 表示样品 j 中 OTU 的数量。AVD 值越大, 表明微生物类群组成及丰度稳定性越低。

微生物群落相互作用关系稳定性用群落内聚力表示, 其计算分析步骤如下: 首先将所有处理中出现频率小于 50% 的 OTU 去除, 然后对剩余 OTU 的两两相关性进行计算, 得到实际相关性矩阵; 同时通过控制变量零模型计算得到其预期相关性矩阵, 然后将两者相减得到修正后的相关性矩阵。随后对每个 OTU 与其他 OTU 之间的正相关和负相关系数分别求和后取平均, 得到所有 OTU 的正/负连通性。然后用每个 OTU 的连通性乘以其相对丰度, 并将各样品中所有 OTU 的结果相加, 即得到群落内聚力。计算公式如下^[13]:

$$\text{cohesion}(j) = \sum_{i=1}^n a_i \times c_i$$
 (若 $c_i > 0$, 则为正内聚力; 若 $c_i < 0$, 则为负内聚力)

式中, n 为样本 j 中 OTU 的数量, a_i 和 c_i 分别为第 i 个 OTU 在群落中的相对丰度和连通性。群落负内聚力和正内聚力的取值范围分别为 $-1 \sim 0$ 和 $0 \sim 1$, 本研究中呈现的均是其绝对值, 两者绝对值之和为总内聚力, 绝对值之比即负内聚力/正内聚力的比值, 其值越高, 则表示群落相互作用关系稳定性越强。

1.6 统计分析

土壤微生物活性、碳源代谢活性及其功能多样性、反硝化功能基因丰度、细菌和真菌群落丰富度 Sobs、Shannon 多样性及其结构 (主坐标 PCoA1) 的数据引自 Zhao 等^[15]。采用 SPSS 19.0 进行统计分析, 单因素方差 (One-way ANOVA) 配合邓肯新复极差法检验多处理间均值差异的显著性, 并用 t 检验对各 RSD 处理与对照之间的差异进行显著性检验。采用 Pearson 相关性分析法对群落平均变异度与 OTU 分布, 群落总内聚力及负内聚力/正内聚力的比值与正、负内聚力, 以及群落丰富度、多样性、结构、平均变异度和负内聚力/正内聚力的比值与微生物活性、碳源代谢活性及其功能多样性以及反硝化功能基因丰度之间的相关性进行检验, 并对群落负内聚力/正内聚力的比值与群落平均变异度进行回归分析。

2 结 果

2.1 RSD 处理对微生物群落 OTU 分布及平均变异度的影响

如表 2 所示, 与 CK 处理相比, RSD 处理能够显著改变细菌和真菌群落的 OTU 分布。对于细菌群落, RSD 处理能够显著 ($P < 0.05$) 降低其共有 OTU 的占比, 同时增加其独有 OTU 所占的比例, 且不同 RSD 处理对细菌群落 OTU 分布的影响程度不同, 其中 SB+BD 处理的影响最为显著。类似地, RSD 处理能够增加独有 OTU 在真菌群落中的占比, 并降低其共有 OTU 所占的比例, 其中 SB+BD 处理中共有 OTU 的占比显著 ($P < 0.05$) 低于 CK 处理。

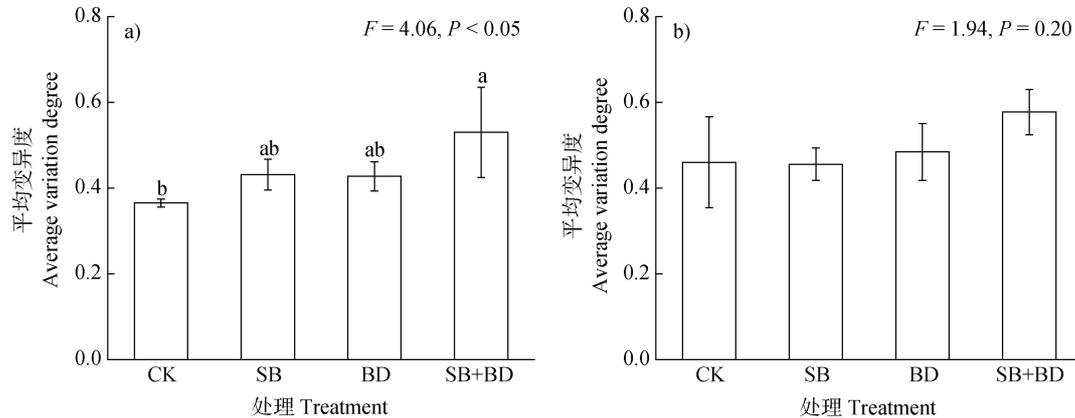
如图 1a 所示, 与 CK 处理相比, RSD 处理均能增加细菌群落的平均变异度, 其中 SB+BD 处理的细菌群落平均变异度最高, 达到 0.53, 显著 ($P < 0.05$) 高于 CK 处理, 而 SB 和 BD 处理间无显著差异。由图 1b 可知, RSD 处理对真菌群落平均变异度的影响较细菌弱, 其中 BD 和 SB+BD 处理的真菌群落平均变异度略高于 CK 处理。Pearson 相关性分析显示, 细菌群落的平均变异度与其共有 OTU 的占比呈显著 ($P < 0.05$) 负相关, 与其独有 OTU 的占比呈显著 ($P < 0.01$) 正相关; 而真菌群落的平均变异度与其共有和独有 OTU 占比均无显著关系 (表 3)。结果表明, RSD 处理能够显著降低细菌群落组成和丰度的

表 2 不同有机物料 RSD 处理对细菌和真菌群落 OTU 分布的影响

Table 2 Effects of reductive soil disinfestation on the OTU distribution of bacterial and fungal communities relative to the type of material incorporated

处理 Treatment	细菌群落 Bacterial community		真菌群落 Fungal community	
	共有 OTU 占比 Proportion of shared OTUs /%	独有 OTU 占比 Proportion of unique OTUs /%	共有 OTU 占比 Proportion of shared OTUs /%	独有 OTU 占比 Proportion of unique OTUs /%
CK	55.7±1.7a	18.8±1.2bc	42.6±12.1a	29.5±10.1a
SB	25.2±1.3c	13.6±0.5c	41.0±5.4a	33.8±6.2a
BD	43.2±2.0b	29.3±0.7b	33.2±3.1ab	39.0±3.1a
SB+BD	19.5±2.1d	45.5±13.4a	22.3±4.5b	54.6±15.4a

注: CK, 对照; SB, 添加高碳氮比 (C/N 122) 有机物料的 RSD 处理; BD, 添加低碳氮比 (C/N 19) 有机物料的 RSD 处理; SB+BD, 添加高、低碳氮比等质量混合有机物料的 RSD 处理。表中数据为平均值 ± 标准差 ($n = 3$), 同一列中不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: CK, control; SB, RSD incorporated with organic material high in C/N ratio (C/N 122); BD, RSD incorporated with organic material low in C/N ratio (C/N 19); SB+BD, RSD incorporated with organic material containing both high and low C/N ones (m/m=1:1). Means ± SD. Different letters within the same column indicate a significant difference between treatments at $P < 0.05$. The same below.



注：误差线表示标准差 ($n = 3$)，柱上方不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: Error bars indicate the standard deviation of the means of replicates. Different letters above the bars mean a significant difference between treatments at $P < 0.05$. The same below.

图 1 不同有机物料 RSD 处理对土壤细菌 (a) 和真菌 (b) 群落平均变异度的影响

Fig. 1 Effects of reductive soil disinfestation on the average variation degree of bacterial (a) and fungal (b) communities relative to the type of material incorporated

表 3 细菌和真菌群落 OTU 分布与其平均变异度的 Pearson 相关性分析

Table 3 Pearson correlation analyses between OTU distribution of bacterial and fungal communities and their average variation degrees

	细菌群落 Bacterial community		真菌群落 Fungal community	
	共有 OTU 占比	独有 OTU 占比	共有 OTU 占比	独有 OTU 占比
	Proportion of shared OTUs	Proportion of unique OTUs	Proportion of shared OTUs	Proportion of unique OTUs
	/%	OTUs /%	/%	/%
细菌群落平均变异度 AVD of bacterial community	-0.62*	0.81**	—	—
真菌群落平均变异度 AVD of fungal community	—	—	-0.08	0.15

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

稳定性，其主要通过刺激产生更多的独有 OTU 实现，且混合物料 RSD 处理的作用效果更突出。

2.2 RSD 处理对微生物群落内聚力的影响

经过滤，共有 2 546 个细菌 OTU 和 141 个真菌 OTU 用于群落内聚力的分析。由图 2 可知，细菌群落负内聚力在不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)，其中 SB 和 BD 处理的细菌群落负内聚力显著 ($P < 0.05$) 高于 CK 和 SB+BD 处理，且 SB 和 BD 以及 CK 和 SB+BD 之间无显著差异；而细菌群落正内聚力、总内聚力以及负内聚力/正内聚力的比值在不同处理间均无显著差异。T 检验分析发现，与 CK 处理相比，SB 和 BD 处理均能显著 ($P < 0.05$) 降低细菌群落正内聚力，且 SB 处理能显著 ($P < 0.05$) 增加细菌

群落总内聚力 (图 2a, 图 2c)。此外，RSD 处理后，土壤细菌群落的负内聚力/正内聚力的比值有所提高，其中 SB 处理和 BD 处理均能较 CK 处理显著 (t -test, $P < 0.01$) 增加细菌群落负内聚力/正内聚力的比值 (图 2d)。

如图 3 所示，RSD 处理均能不同程度地提高真菌群落的正内聚力、负内聚力、总内聚力以及负内聚力/正内聚力的比值，其中正内聚力在不同处理间差异不显著，而负内聚力及负内聚力/正内聚力的比值在 RSD 处理后均有显著 ($P < 0.001$) 提高，且 SB 和 BD 处理的提升效果显著 ($P < 0.05$) 优于 SB+BD 处理。此外，与 CK 处理相比，SB 和 BD 处理均能显著 ($P < 0.05$) 提高真菌群落的总内聚力，

且两者之间无显著差异，而 SB+BD 处理的影响不显著（图 3c）。

Pearson 相关性分析显示，细菌群落总内聚力与其正内聚力和负内聚力均呈显著 ($P < 0.01$) 正相关关系，而其负内聚力/正内聚力的比值与正内聚力呈显著 ($P < 0.01$) 负相关关系；真菌群落总内聚力和负内聚力/正内聚力的比值均与其正内聚力和负内聚力呈显著 ($P < 0.05$) 正相关关系（表 4）。结果表明，RSD 处理能够强化不同微生物类群之间的相互作用关系，特别是负相关关系，且这种效应在真菌群落中更为显著。同时，RSD 处理能够提高微生物群落负内聚力/正内聚力的比值，在细菌群落中主要通过降低正内聚力实现，而在真菌群落中主要通过增加负内聚力实现。因此，RSD 处理能够提高微生物

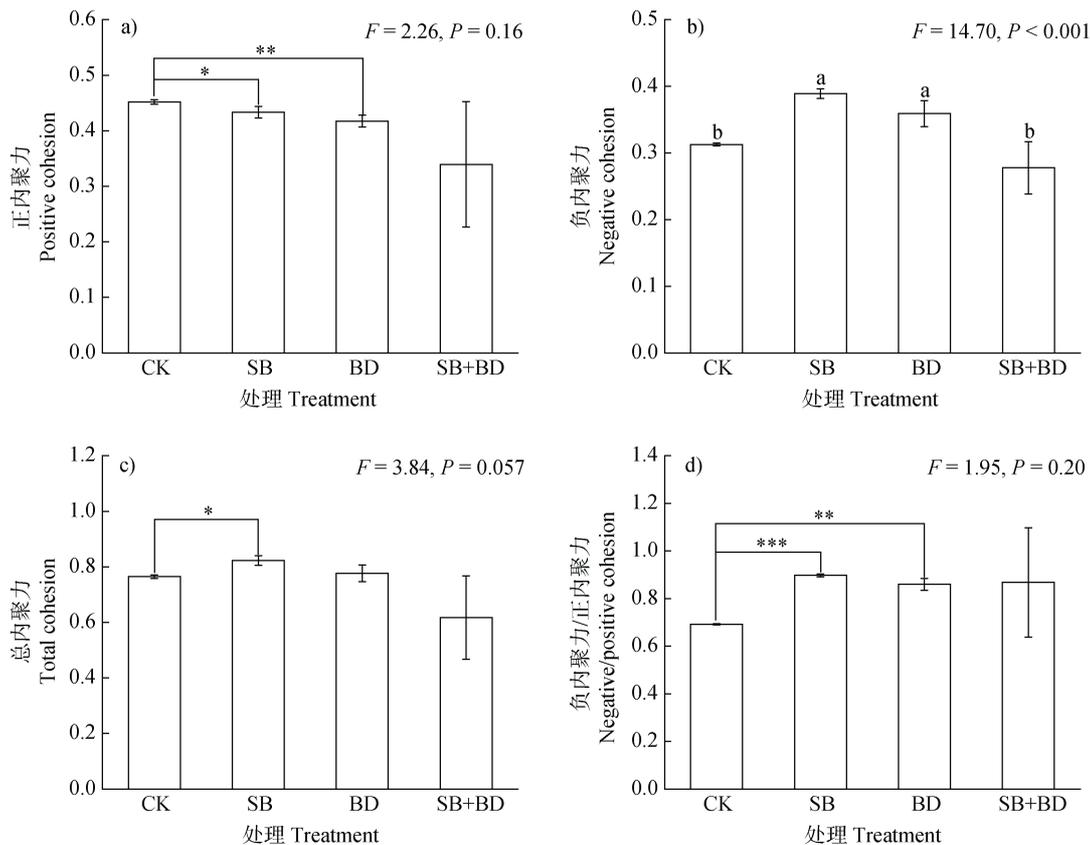
物类群间相互作用关系的稳定性，且单一有机物料 RSD 处理的提升效果较混合有机物料处理强。

2.3 微生物群落平均变异度与负内聚力/正内聚力比值的相关性

回归分析（图 4）显示，细菌群落负内聚力/正内聚力的比值与其平均变异度呈线性相关 ($P < 0.01$)；而真菌群落负内聚力/正内聚力的比值与其平均变异度呈不显著 ($P = 0.13$) 非线性相关。结果表明，微生物群落的相互作用关系稳定性与其组分和丰度的稳定性关系密切。

2.4 微生物群落结构、多样性、平均变异度、内聚力与其功能之间的相关性

由表 5 可知，细菌群落的丰富度、Shannon 多样性以及结构 (PCoA1) 与微生物活性、碳源代谢



注：*表明处理与对照间差异显著 (t-test), $*$, $P < 0.05$; $**$, $P < 0.01$; $***$, $P < 0.001$ 。下同。Note: *indicates a significant difference at $P < 0.05$ between the RSD-related treatment and the CK treatment according to the t-test. $*$, $P < 0.05$; $**$, $P < 0.01$; $***$, $P < 0.001$. The same below.

图 2 不同有机物料 RSD 处理对土壤细菌群落正内聚力 (a)、负内聚力 (b)、总内聚力 (c) 及负内聚力/正内聚力比值 (d) 的影响

Fig. 2 Effects of reductive soil disinfestation on the positive cohesion (a), [negative cohesion] (b), total cohesion (c), and [negative/positive cohesion] (d) of the bacterial community relative to the type of material incorporated

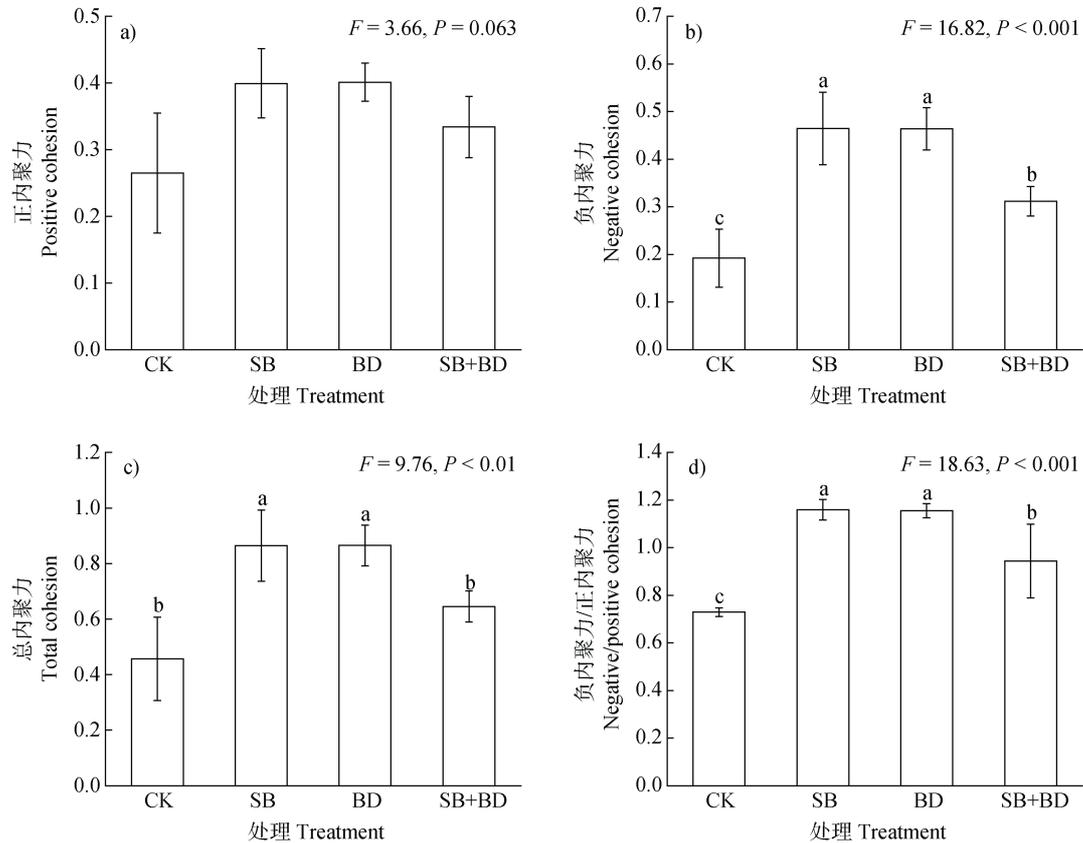


图 3 不同有机物料 RSD 处理对土壤真菌群落正内聚力 (a)、负内聚力 (b)、总内聚力 (c) 及负内聚力/正内聚力比值 (d) 的影响

Fig. 3 Effects of reductive soil disinfestation on the positive cohesion (a), |negative cohesion| (b), total cohesion (c), and |negative/positive cohesion| (d) of the fungal community relative to the type of material incorporated

表 4 细菌和真菌群落正、负内聚力和总内聚力以及负内聚力/正内聚力比值的 Pearson 相关性分析

Table 4 Pearson correlation analyses between positive and negative cohesion of bacterial and fungal communities and their total cohesion and negative/positive cohesion

	细菌 Bacteria		真菌 Fungi	
	正内聚力 Positive cohesion	负内聚力 Negative cohesion	正内聚力 Positive cohesion	负内聚力 Negative cohesion
细菌总内聚力 Bacterial total cohesion	0.93**	0.87**	—	—
细菌负内聚力/正内聚力 Bacterial negative/positive cohesion	-0.75**	0.02	—	—
真菌总内聚力 Fungal total cohesion	—	—	0.95**	0.99**
真菌负内聚力/正内聚力 Fungal negative/positive cohesion	—	—	0.65*	0.92**

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

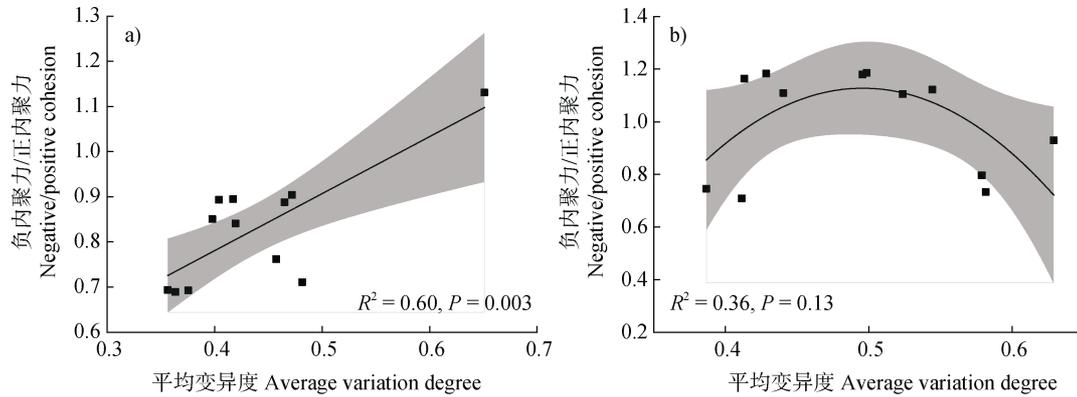


图 4 细菌 (a)、真菌 (b) 群落负内聚力/正内聚力的比值与其平均变异度的回归分析

Fig. 4 Regression analyses between the negative/positive cohesion and average variation degree of bacterial (a) and fungal (b) community

表 5 细菌和真菌群落结构、多样性、平均变异度、负内聚力/正内聚力比值与其活性和功能之间的 Pearson 相关性分析

Table 5 Pearson correlation analyses between structure, diversity, average variation degree and negative/positive cohesion of bacterial and fungal communities and microbial activity and functions

	微生物活性 Microbial activity	碳源代谢活性及功能多样性 Metabolic activity and functional diversity of carbon substrates				反硝化基因丰度 Abundance of denitrifying genes			
		FDA activity	AWCD	Shannon	Evenness	Richness	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZ</i>
细菌 Bacteria	丰富度 Sobs	-0.12	-0.59*	-0.70*	-0.30	-0.73**	-0.44	-0.49	-0.45
	多样性 Shannon	-0.03	-0.52	-0.63*	-0.22	-0.66*	-0.36	-0.45	-0.39
	主坐标 1 PCoA1	-0.04	-0.52	-0.64*	-0.23	-0.67*	-0.36	-0.49	-0.41
	平均变异度 AVD	0.71**	0.64*	0.59*	0.49	0.60*	0.75**	0.40	0.59*
	负内聚力/正内聚力 Negative/positive cohesion	0.37	0.52	0.56	0.26	0.59*	0.52	0.49	0.54
真菌 Fungi	丰富度 Sobs	-0.09	-0.55	-0.66*	-0.41	-0.66*	-0.39	-0.46	-0.41
	多样性 Shannon	0.30	-0.20	-0.33	0.00	-0.35	0.00	-0.35	-0.16
	主坐标 1 PCoA1	-0.34	-0.74**	-0.81**	-0.39	-0.85**	-0.61*	-0.65*	-0.64*
	平均变异度 AVD	0.60*	0.51	0.41	0.64*	0.37	0.56	0.11	0.37
	负内聚力/正内聚力 Negative/positive cohesion	0.18	0.58*	0.66*	0.23	0.70*	0.45	0.62*	0.56

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

活性、碳源代谢多样性以及反硝化功能基因丰度呈负相关关系，而细菌群落平均变异度和负内聚力/正内聚力的比值与微生物活性、碳、氮代谢功能呈正相关关系，其中细菌群落平均变异度与微生物活性、碳源代谢活性、碳源代谢 Shannon 多样性和丰富度、*nirK* 和 *nosZ* 基因丰度的相关性达到显著 ($P < 0.05$)，而细菌群落负内聚力/正内聚力的比值仅与碳源代谢丰富度呈显著 ($P < 0.05$) 正相关。类似地，真菌

群落的丰富度、Shannon 多样性以及结构 (PCoA1) 与微生物活性、碳源代谢活性、碳源代谢多样性以及反硝化功能基因丰度也呈负相关关系，而真菌群落平均变异度和负内聚力/正内聚力的比值与微生物活性、碳、氮代谢功能呈正相关关系，其中真菌群落平均变异度与微生物活性、碳源代谢均匀度的相关性达到显著 ($P < 0.05$)，而真菌群落负内聚力/正内聚力的比值与碳源代谢活性、碳源代谢 Shannon

多样性和丰富度以及 *nirS* 基因丰度呈显著 ($P < 0.05$) 正相关。结果表明, RSD 处理驱动形成的微生物群落结构和多样性特征不能有效指征其活性和碳、氮功能的变化; 而该处理驱动形成的微生物群落稳定性(平均变异性、负内聚力/正内聚力比值)变化与其活性和碳、氮功能息息相关。因此, RSD 处理能够通过优化微生物群落结构, 协调并强化微生物群落间的互作关系, 从而实现恢复微生物活性及改善群落功能的目的。

3 讨 论

3.1 RSD 处理能降低微生物群落组成及其丰度的稳定性

大量研究表明, RSD 处理创造的高温厌氧且富含小分子有机酸和还原性金属离子的土壤环境不仅能够有效杀灭土传病原菌, 还能改善土壤微生物群落结构^[8, 15, 26]。Li 等^[7]研究发现, 有益微生物如芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、柄孢壳属 (*Zopfiella*)、被孢霉属 (*Mortierella*) 的丰度在 RSD 处理土壤中显著增加, 一定程度上表明 RSD 处理有利于驱动形成健康的土壤微生物群落。本研究中, 经过 28 d 的 RSD 处理, 土壤微生物群落的 OTU 分布发生显著变化, 其中共有 OTU 的占比明显下降, 而独有 OTU 的占比有所增加, 且混合有机物料处理的效应较单一处理显著, 这表明 RSD 处理能够刺激产生特定的微生物类群, 且这种刺激效应与有机物料的类型及多样性密切相关。进一步分析发现, RSD 处理能够提高细菌群落的平均变异性, 但对真菌群落的平均变异性影响不大, 这可能与土壤细菌群落的多样性更高, 且群落中对 RSD 处理形成的环境敏感类群更多有关。此外, 混合有机物料处理对群落平均变异性的影响大于单一处理, 这与混合有机物料在施用难以均匀, 因而能够刺激产生更多的独有微生物类群有关。所以, RSD 处理能够通过降低微生物群落组成及其丰度的稳定性, 以恢复土壤微生态平衡和群落健康。

3.2 RSD 处理能提高微生物群落相互作用关系的稳定性

不同微生物类群间的相互作用关系(竞争、互生、共生等)是土壤微生物多样性的重要组成部分,

对于维持土壤微生物群落结构和功能的稳定至关重要^[27]。具有正相关关系的微生物类群在生态位上高度重叠, 而具有负相关关系的微生物类群则占据着不同的生态位。研究表明, 当正相关关系在微生物群落中占据主导时, 外界环境的扰动易通过正反馈机制迅速传递至整个群落, 一旦群落中某些关键类群消亡, 将直接导致群落互作关系瓦解; 而当负相关关系在微生物群落中占据主导时, 微生物类群可通过负反馈机制降低外界环境扰动对整个群落的影响, 从而维持群落组成和功能的稳定^[28-29]。本研究发现, RSD 处理能够重塑土壤微生物类群间的相互作用关系, 显著提高群落负内聚力以及负内聚力/正内聚力的比值, 表明 RSD 处理能够塑造一个相互作用关系更加稳定的微生物群落^[13], 这是 RSD 处理重建的健康土壤微生物区系的本质特征之一, 也是其能够有效抑制再植寄主作物生长过程中病原菌的增殖速率, 发挥群落整体抑病功能的关键^[9]。同时, 本研究还发现, RSD 处理对真菌群落相互作用关系稳定性的提升效果较细菌群落更强, 且显著提高了真菌群落的总内聚力, 这从侧面证明了连作介导的土壤微生物区系失衡主要是由以病原菌为主导的“真菌型”群落互作关系恶化(稳定性下降、关系弱化)所引起的, 因此只有强化土壤真菌类群间的相互作用关系, 提高其负相关关系的占比, 才能有效恢复其微生态平衡。此外, 单一有机物料 RSD 处理对微生物群落相互作用关系稳定性的提升效果明显优于混合有机物料, 这表明同种有机物料的使用量对群落负相关关系的形成起着较为重要的作用。Pearson 相关性分析发现, 土壤微生物群落互作关系稳定性的提升与其组成和丰度稳定性的降低密切相关, 表明 RSD 处理对连作土壤微生物群落互作关系的重构很大程度上依赖于其对微生物群落组成及其丰度的影响(图 4), 尤其是对土传病原菌的抑制作用和对有益微生物的激发作用^[15, 24]。因此可以推测, RSD 处理过程中产生的某些特有微生物类群可能在强化微生物群落互作关系及其稳定性上起着主导作用, 但还需要进一步的研究。

3.3 RSD 处理驱动的微生物群落稳定性变化与其活性和功能密切相关

Xun 等^[11]的研究发现某些关键微生物类群在组成及丰度上的稳定对于群落实现特定的生态功能至

关重要。因此，当这些功能微生物消失或种群数量大幅下降时，就会造成特定土壤功能的紊乱或缺失，如抑病土壤中的拮抗微生物数量下降时就会导致土壤抑病能力降低或消失^[30-31]。我们前期的研究发现，RSD 处理诱导形成的特有微生物类群与土壤抑病及化感物质降解等功能密切相关^[7, 15]，表明 RSD 处理能够恢复或强化某些特定土壤功能。本研究中发现细菌群落的平均变异度与反硝化功能基因丰度呈显著正相关，表明 RSD 处理激发的某些细菌类群具有反硝化功能，是实现连作土壤硝态氮去除的关键^[24]。此外，微生物（细菌和真菌）群落的平均变异度与其活性呈显著正相关，表明 RSD 处理重构的土壤微生物群落有利于其活性的恢复与提升。众所周知，大部分土壤微生态功能是由多种微生物类群共同参与接力完成的，因此土壤微生物间的相互联系及其稳定性对实现特定功能至关重要^[32]。本研究发现，真菌群落相互作用关系的稳定性与碳源代谢活性、功能多样性以及 *nirS* 基因的丰度显著相关，表明 RSD 处理驱动形成的真菌群落互作关系稳定性的提升是群落功能改善的关键，这也从侧面说明由病原菌主导的真菌群落互作关系弱化是导致连作土壤微生态功能下降的“元凶”之一^[33-34]。Huang 等^[24]的研究发现，复杂有机物料 RSD 处理在种植洋桔梗两季后，土壤中尖孢镰刀菌的相对丰度以及洋桔梗枯萎病的发病率显著低于酒精 RSD 处理或棉隆熏蒸，这可能是因为复杂有机物料处理形成的土壤微生物群落结构更加稳定，从而更好地发挥了群落整体抑病活性，减缓了土传病原菌的增殖，保障再植作物健康生长。此外，大量的研究发现，RSD 处理能够显著改变土壤微生物群落结构并降低其多样性，提高土壤微生物活性及其功能^[15, 35-36]，因此土壤微生物群落结构及其多样性并不能有效指征 RSD 处理后微生物群落功能状况（表 5）。综上，RSD 处理驱动的土壤微生物群落稳定性是恢复或实现群落功能的基础，是 RSD 处理重建的健康土壤微生物群落结构的本质特征，因此可用于评价 RSD 处理后土壤的健康状况^[37]。

4 结 论

RSD 处理能够显著改变连作土壤微生物群落的

稳定性，主要表现为降低群落组成和丰度的稳定性，增强群落间相互作用关系的稳定性，其中混合有机物料对微生物群落组成和丰度稳定性的影响较单一有机物料大，而对微生物群落互作关系稳定性的影响则明显弱于单一有机物料。土壤微生物群落稳定性与其活性、碳源代谢功能、反硝化功能以及抑病能力密切相关，表明微生物群落稳定性可有效表征 RSD 处理土壤的健康状况。研究结果从微生物群落稳定性的角度揭示了 RSD 处理重建健康土壤微生物区系的本质特征，为后续通过研发再植寄主作物生长过程中的调控措施以保障 RSD 处理的抑病效果提供了思路和理论依据。

参考文献 (References)

- [1] Qu J. China is the world's largest facility horticulture area[N]. Science and Technology Daily, 2017-08-22(1). [瞿剑. 中国设施园艺面积世界第一[N]. 科技日报, 2017-08-22(1).]
- [2] Wang G Y, Guo W L, Chen B H, et al. Continuous cropping obstacles of facilities vegetables in Henan: Investigation and analysis[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(25): 27—33. [王广印, 郭卫丽, 陈碧华, 等. 河南省设施蔬菜连作障碍现状调查与分析[J]. 中国农学通报, 2016, 32(25): 27—33.]
- [3] Lu W H, Zhang N M, Bao L, et al. Study advances on characteristics, causes and control measures of continuous cropping obstacles of facility cultivation in China[J]. Soils, 2020, 52(4): 651—658. [卢维宏, 张乃明, 包立, 等. 我国设施栽培连作障碍特征与成因及防治措施的研究进展[J]. 土壤, 2020, 52(4): 651—658.]
- [4] Cai Z C, Zhang J B, Huang X Q, et al. Application of reductive soil disinfestation to suppress soil-borne pathogens[J]. Acta Pedologica Sinica, 2015, 52(3): 469—476. [蔡祖聪, 张金波, 黄新琦, 等. 强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究[J]. 土壤学报, 2015, 52(3): 469—476.]
- [5] Shrestha U, Augé R M, Butler D M. A meta-analysis of the impact of anaerobic soil disinfestation on pest suppression and yield of horticultural crops[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1254.
- [6] Wang B Y, Li J Z, Huang X Q, et al. Effects of reductive soil disinfestation on yield, population and activity of microorganisms in continuously cropped soils of Chinese kale[J]. Soils, 2019, 51(2): 316—323. [王宝英, 李金泽, 黄新琦, 等. 土壤强还原处理对连作芥蓝产量、微生物数量及活性的影响[J]. 土壤, 2019, 51(2): 316—323.]
- [7] Li Y L, Wang B Y, Chang Y F, et al. Reductive soil

- disinfestation effectively alleviates the replant failure of Sanqi ginseng through allelochemical degradation and pathogen suppression[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103 (8): 3581—3595.
- [8] Zhao J, Zhou X, Jiang A Q, et al. Distinct impacts of reductive soil disinfestation and chemical soil disinfestation on soil fungal communities and memberships[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102 (17): 7623—7634.
- [9] Huang X Q, Zhao J, Zhou X, et al. How green alternatives to chemical pesticides are environmentally friendly and more efficient[J]. *European Journal of Soil Science*, 2019, 70 (3): 518—529.
- [10] Wang C T, Long R J, Ding L M, et al. Species diversity, community stability and ecosystem function—extension of the continuous views[J]. *Pratacultural Science*, 2005, 22 (6): 1—7. [王长庭, 龙瑞军, 丁路明, 等. 草地生态系统中物种多样性、群落稳定性和生态系统功能的关系[J]. *草业科学*, 2005, 22 (6): 1—7.]
- [11] Xun W B, Liu Y P, Li W, et al. Specialized metabolic functions of keystone taxa sustain soil microbiome stability[J]. *Microbiome*, 2021, 9 (1): 35.
- [12] Hernandez D J, David A S, Menges E S, et al. Environmental stress destabilizes microbial networks[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15 (6): 1722—1734.
- [13] Herren C M, McMahon K D. Cohesion: a method for quantifying the connectivity of microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11 (11): 2426—2438.
- [14] Liu L L, Kong J J, Cui H L, et al. Relationships of decomposability and C/N ratio in different types of organic matter with suppression of *Fusarium oxysporum* and microbial communities during reductive soil disinfestation[J]. *Biological Control*, 2016, 101 : 103—113.
- [15] Zhao J, Liu S Z, Zhou X, et al. Reductive soil disinfestation incorporated with organic residue combination significantly improves soil microbial activity and functional diversity than sole residue incorporation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104 (17): 7573—7588.
- [16] Li Y L, Wang B Y, Chang Y F, et al. Effects of reductive soil disinfestation on obstacles and growth of replant seedlings in Sanqi ginseng mono-cropped soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56 (3): 703—715. [李云龙, 王宝英, 常亚锋, 等. 土壤强还原处理对三七连作障碍因子及再植三七生长的影响[J]. *土壤学报*, 2019, 56 (3): 703—715.]
- [17] Adam G, Duncan H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33 (7/8): 943—951.
- [18] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57 (8): 2351—2359.
- [19] Dang W, Gao C H, Zhang Q, et al. Screening of preprocessing methods of biolog for soil microbial community functional diversity[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31 (2): 153—158. [党雯, 郜春花, 张强, 等. Biolog 法测定土壤微生物群落功能多样性预处理方法的筛选[J]. *中国农学通报*, 2015, 31 (2): 153—158.]
- [20] Braker G, Fesefeldt A, Witzel K P. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64 (10): 3769—3775.
- [21] Throback I N, Enwall K, Jarvis Å, et al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49 (3): 401—417.
- [22] Rösch C, Bothe H. Improved assessment of denitrifying, N₂-fixing, and total-community bacteria by terminal restriction fragment length polymorphism analysis using multiple restriction enzymes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (4): 2026—2035.
- [23] Kozich J J, Westcott S L, Baxter N T, et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79 (17): 5112—5120.
- [24] Huang X Q, Zhao J, Zhou X, et al. Differential responses of soil bacterial community and functional diversity to reductive soil disinfestation and chemical soil disinfestation[J]. *Geoderma*, 2019, 348: 124—134.
- [25] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7 (5): 335—336.
- [26] Strauss S L, Greenhut R F, McClean A E, et al. Effect of anaerobic soil disinfestation on the bacterial community and key soilborne phytopathogenic agents under walnut tree-crop nursery conditions[J]. *Plant and Soil*, 2017, 415 (1/2): 493—506.
- [27] Mougi A, Kondoh M. Diversity of interaction types and ecological community stability[J]. *Science*, 2012, 337 (6092): 349—351.
- [28] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability[J]. *Science*, 2015, 350 (6261): 663—666.
- [29] Suweis S, Grilli J, Maritan A. Disentangling the effect of hybrid interactions and of the constant effort hypothesis on ecological community stability[J]. *Oikos*, 2014, 123

- (5): 525—532.
- [30] Cha J Y, Han S, Hong H J, et al. Microbial and biochemical basis of a *Fusarium* wilt-suppressive soil[J]. The ISME Journal, 2016, 10 (1): 119—129.
- [31] Mendes R, Kruijt M, de Bruijn I, et al. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria[J]. Science, 2011, 332 (6033): 1097—1100.
- [32] Chaparro J M, Sheflin A M, Manter D K, et al. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility[J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 48 (5): 489—499.
- [33] Solís-García I A, Ceballos-Luna O, Cortazar-Murillo E M, et al. Phytophthora root rot modifies the composition of the avocado rhizosphere microbiome and increases the abundance of opportunistic fungal pathogens[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 574110.
- [34] Xue C, Huang Q W, Ling N, et al. Analysis, regulation and high-throughput sequencing of soil microflora in mono-cropping system[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48 (3): 612—618. [薛超, 黄启为, 凌宁, 等. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, 48 (3): 612—618.]
- [35] Meng T Z, Ren G D, Wang G F, et al. Impacts on soil microbial characteristics and their restorability with different soil disinfection approaches in intensively cropped greenhouse soils[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103 (15): 6369—6383.
- [36] Mazzola M, Muramoto J, Shennan C. Anaerobic disinfection induced changes to the soil microbiome, disease incidence and strawberry fruit yields in California field trials[J]. Applied Soil Ecology, 2018, 127: 74—86.
- [37] Griffiths B S, Philippot L. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37 (2): 112—129.

(责任编辑：卢 萍)