

刘思娜, 董建新, 夏龙龙, 肖鑫, 苏文燕, 张广雨, 丛萍. 不同施肥措施对植烟土壤微生物群落结构与功能的影响[J]. 土壤学报, 2026,

LIU Sina, DONG Jianxin, XIA Longlong, XIAO Xin, SU Wenyan, ZHANG Guangyu, CONG Ping. Effects of Different Fertilization Practices on the Structure and Function of Microbial Communities in Tobacco-Growing Soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

不同施肥措施对植烟土壤微生物群落结构与功能的影响 *

刘思娜^{1,2}, 董建新^{1,3}, 夏龙龙⁴, 肖鑫^{1,2}, 苏文燕^{1,2}, 张广雨^{1,3}, 丛萍^{1,3†}

(1. 中国农业科学院烟草研究所, 山东青岛 266101; 2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081; 3. 农业农村部即墨野外综合科学观测研究站, 山东青岛 266200; 4. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135)

摘要: 为探究长期施肥驱动下植烟土壤根际与非根际微生物多样性的差异化响应及其关键养分因子, 依托始于 2010 年的长期定位试验, 采集不施肥 (CK)、单施无机肥 (NPK)、单施有机肥 (OM)、有机无机肥配施 (NPKO) 和无机肥加绿肥还田 (NPKG) 5 个试验处理下烟株的根际与非根际土壤, 采用高通量测序、土壤理化性质测定和功能预测分析, 评估不同施肥处理对根际与非根际土壤细菌和真菌群落组成、多样性及潜在功能的影响。结果表明: 长期施肥对细菌群落结构的影响在根际与非根际土壤中均表现显著, 而对真菌群落仅在非根际土壤表现突出; 变形菌门、放线菌门、酸杆菌门以及子囊菌门、担子菌门等为根际与非根际土壤的共有优势类群。施肥普遍促进了鞘氨醇单胞菌属的富集; 同时, NPKG 处理的镰刀菌属丰度较 CK 显著增加 117.20%, 而 NPKO 处理则提升根际中腐质霉属丰度并使镰刀菌属降至所有处理中最低水平, 较 CK 下降 42.86%。施肥处理显著提升了土壤碳 (32.32%~159.76%)、氮 (17.68%~229.80%) 组分含量, 其中, 土壤 pH、全氮、总有机碳和可溶性有机碳是影响根际细菌群落演替的关键因子 ($P < 0.05$), 而非根际真菌群落则主要受碱解氮水平的驱动。施肥增强了非根际细菌在碳氮代谢与跨膜运输方面的潜在功能丰度, NPKO 不仅增强了真菌分解复杂有机底物的潜力, 还降低了根际潜在病原菌相关的预测功能丰度。综上, 细菌与真菌对长期不同施肥的响应存在明显生境分异, 其演替分别受根际土壤多养分因子与非根际土壤碱解氮的差异化驱动, 而有机无机配施处理更有利于协调养分周转并维持根际微生态健康。

关键词: 长期施肥; 植烟土壤; 根际; 非根际; 微生物群落; 功能预测

中图分类号: S154

文献标志码: A

Effects of Different Fertilization Practices on the Structure and Function of Microbial Communities in Tobacco-Growing Soil

* 国家自然科学基金项目 (32301969)、中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-TRIC-JC-202601) 和山东省自然科学基金项目 (ZR2024MC159) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 32301969), the Agricultural Science and Technology Innovation Program of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (No. ASTIP-TRIC-JC-202601), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2024MC159)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: conging@caas.cn

作者简介: 刘思娜 (2000—), 女, 云南楚雄人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态研究。E-mail: 2295023712@qq.com
收稿日期: 2026-01-07; 收到修改稿日期: 2026-01-07; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2026-01-07

LIU Sina^{1,2}, DONG Jianxin^{1,3}, XIA Longlong⁴, XIAO Xin^{1,2}, SU Wenyan^{1,2}, ZHANG Guangyu^{1,3}, CONG Ping^{1,3†}

(1. Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao, Shandong 266101, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. Jimo Field Comprehensive Scientific Observation and Research Station of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao, Shandong 266200, China; 4. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to investigate the differential responses of rhizosphere and bulk soil microbial diversity to long-term fertilization and to identify the key nutrient drivers. 【Method】 Rhizosphere and bulk soils were collected from tobacco plants under five treatments in a long-term field experiment established in 2010. The samples were collected from plots with no fertilization (CK), inorganic fertilizer alone (NPK), organic fertilizer alone (OM), combined inorganic and organic fertilization (NPKO), and inorganic fertilizer plus green manure incorporation (NPKG). Using high-throughput sequencing, soil physicochemical analyses, and functional prediction, we evaluated the effects of different fertilization treatments on the composition, diversity, and potential functions of bacterial and fungal communities in rhizosphere and bulk soils. 【Result】 The results showed that long-term fertilization significantly altered bacterial community structure in both rhizosphere and bulk soil, whereas fungal community structure responded significantly only in bulk soil. Proteobacteria, Actinobacteriota, Acidobacteriota, Ascomycota, and Basidiomycota were the dominant phyla shared by both habitats. Fertilization generally promoted the enrichment of *Sphingomonas*. Meanwhile, compared with CK, the relative abundance of *Fusarium* under NPKG increased significantly by 117.20%, whereas NPKO increased the abundance of *Humicola* in the rhizosphere and reduced *Fusarium* to the lowest level among all treatments, representing a 42.86% decrease relative to CK. Also, fertilization significantly increased soil carbon (32.32%–159.76%) and nitrogen (17.68%–229.80%) fractions. Soil pH, total nitrogen, total organic carbon, and dissolved organic carbon were the key factors driving rhizosphere bacterial succession ($P < 0.05$), whereas bulk soil fungal communities were mainly driven by alkali-hydrolyzable nitrogen. Fertilization enhanced the potential functions of bulk soil bacteria related to carbon and nitrogen metabolism and transmembrane transport. In addition, NPKO not only strengthened the potential of fungi to decompose complex organic substrates, but also reduced the predicted abundance of functions associated with potential rhizosphere pathogens. 【Conclusion】 Bacterial and fungal communities showed clear habitat-specific responses to long-term fertilization, with their succession driven primarily by multiple nutrient factors in the rhizosphere soil and by alkaline hydrolyzable nitrogen in bulk soil. Additionally, combined organic–inorganic fertilization was more effective in coordinating nutrient turnover and maintaining rhizosphere microecological health. **Key words:** Long-term fertilization; Tobacco-growing soil; Rhizosphere; Bulk soil; Microbial community; Functional prediction

土壤微生物参与有机质分解及碳、氮、磷、钾等养分转化,对土壤肥力、作物生长和土壤健康具有重要作用^[1-2]。根际受到根系分泌物和养分吸收活动的持续影响,形成区别于非根际的特异性微生态环境^[1,3],并与养分活化及土传病原菌定殖密切相关^[1,4-5]。非根际土壤受根系直接影响较弱,其微生物群落更多反映长期施肥、基础养分和有机质积累等环境条件^[6]。因此,明确根际与非根际土壤微生物群落的组成差异及其功能特征,对于认识施肥条件下土壤微生态环境变化具有重要意义^[2]。

施肥是调控土壤养分供给和微生物群落的重要措施,不同施肥方式对两类微域的影响并不一致^[6]。长期单施无机肥可能造成土壤酸化和养分失衡,进而改变微生物群落组成。Geisseler 和 Scow^[7]发现,长期单施无机肥可导致土壤酸化并降低细菌多样性。相比之下,有机肥或有机无机肥配施可补充有机质和多样化底物,为微生物生长提供较稳定的资源条

件,并有助于改善土壤结构和根际微生态环境^[8-9]。绿肥翻压可为土壤提供有机碳和氮源,并改变微生物群落组成及有机质周转过程^[10]。已有研究表明,绿肥还田能够调节植烟土壤微生物群落,并降低部分根部病害发生风险^[11]。但不同绿肥种类可能带来不同的微生态效应。Suproniene 等^[12]发现,禾本科植物残体可能为部分镰刀菌提供潜在定殖基质。因此,绿肥还田的效果不能仅从养分归还或土壤理化性质改善角度进行评价,还应关注其对根际和非根际微生物群落及潜在病原类群的影响^[11-12]。

植烟土壤具有较强的特殊性。烟草根系分泌物中含有烟碱、酚酸等次生代谢物,可与施肥措施共同影响根际微生物群落的组装和演替^[13-14]。在长期连作条件下,根际土壤既是养分吸收和微生物活动的重要区域,也是土传病原菌与烟草根系直接互作的关键界面,其微生态稳定性与病害发生密切相关^[13-14]。同时,非根际土壤作为根际周围的基础土壤环境,可通过养分供给、有机质转化及微生物扩散对根际微生态产生持续影响^[15]。然而,现有研究多集中于施肥对土壤微生物群落的整体影响,对于长期定位施肥条件下,不同施肥模式如何影响植烟根际与非根际土壤中细菌、真菌群落、潜在病原类群及其功能特征的差异响应,仍缺乏系统分析。

基于此,本研究依托长期定位施肥试验,比较 NPK、OM、NPKO 及 NPKG 处理下烟草根际与非根际土壤细菌和真菌群落结构与多样性、潜在功能类群及土壤养分状况的影响差异,旨在揭示长期施肥驱动下烟田根际与非根际微生态的差异化响应规律,解析驱动微生物群落的关键养分因子,从而为优化烟田养分管理与改善根际土壤健康状况提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验点概况

试验在农业农村部即墨野外综合科学观测研究站进行。试验地位于山东省青岛市即墨区石门村(36°26'N, 120°34'E),年均气温 12.7℃,降水量 959.5 mm,无霜期 203 d,海拔 75.0 m。土壤类型为棕壤,耕层(0~20 cm)土壤 pH 为 5.56,容重 1.20 g·cm⁻³,有机碳含量 6.67 g·kg⁻¹,碱解氮 52.69 mg·kg⁻¹,有效磷 10.60 mg·kg⁻¹,速效钾 105.25 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计与田间管理

长期定位试验始于 2010 年,田间试验采用完全随机区组设计,共设不施肥组(CK)、单施无机肥组(NPK)、单施有机肥组(OM)、有机无机肥配施组(NPKO)、无机肥加绿肥还田组(NPKG,后文简称绿肥组)五组处理,每个处理重复 3 次。主要种植制度为烟草单作。在施肥管理上,CK 处理无任何添加,NPK、NPKO、NPKG 处理组无机肥(N、P、K)施用量一致,OM 处理仅施用腐熟牛粪有机肥,NPKO 处理在基肥中配施腐熟牛粪有机肥,NPKG 于冬闲期种植一年生黑麦草“冬牧 70”,于次年 4 月中旬将黑麦草翻压还田作为绿肥。腐熟牛粪有机肥的有机碳和碱解氮含量分别为 201.27 g·kg⁻¹和 1.47 g·kg⁻¹,黑麦草碳含量 36.87%,氮含量 2.52%,碳氮比(C/N) 14.61。各处理具体施肥量见表 1。

表 1 各处理肥料施用总量

Table 1 Total fertilizer application rates under different treatments

处理 Treatment	肥料施用量 Fertilizer application rate/(kg·hm ⁻²)				
	无机肥 Chemical fertilizer			有机肥	绿肥
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Organic fertilizer	Green fertilizer
CK	0	0	0	0	0
NPK	82.20	83.25	249.75	0	0
OM	0	0	0	22 500	0

NPKO	82.20	83.25	249.75	15 000	0
NPKG	82.20	83.25	249.75	0	4 541

1.3 样品采集与分析

2024 年 8 月 9 日烟株下部叶成熟期采集土壤样品。非根际土壤取自植株根周 50 cm 范围 0~20 cm 的土壤，根际土壤使用无菌毛刷将附着在烤烟根系附近 2 mm 的土壤刷下收集，将土壤样品等量混合，分为三部分保存以备后用。一部分放入无菌塑料袋储存在冰盒中，带回实验室-80℃保存，用于微生物分析^[16]；一部分 4℃保存用于土壤可溶性有机碳（DOC）的测定；另一部分经风干研磨过筛后用于土壤速效钾（AK）、有效磷（AP）等指标的测定。

土壤全氮采用半微量凯氏定氮法（Kjeltec 8400，丹麦）^[17]；土壤总有机碳（TOC）、DOC 和颗粒有机碳（POC）均采用 TOC 分析仪（multi N/C 3100，Analytik Jena，德国）测定；土壤碱解氮采用 1.0 mol·L⁻¹ NaOH 碱解扩散法测定；有效磷采用 0.5 mol·L⁻¹ 碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法，利用酶标仪（Multiskan GO，Thermo Fisher Scientific，上海）测定吸光度；速效钾采用 1 mol·L⁻¹ 乙酸铵浸提-火焰光度计法测定。

土壤细菌和真菌群落分别扩增 16S rRNA 基因 V4 区（515F/806R）和 ITS1 区（ITS5-1737F/ITS2-2043R）。采用 DNeasy® PowerSoil® Pro Kit 提取土壤微生物基因组 DNA，并通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。PCR 产物经纯化、混合和文库构建后进行高通量测序，测序工作由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

1.4 数据处理

原始测序数据在 QIIME2 平台中采用 DADA2 算法进行质控、去噪、拼接和嵌合体去除，获得 ASVs（Amplicon Sequence Variants）及特征表。分类学注释采用 QIIME 2 软件完成，其中细菌 16S rRNA 基因序列基于 SILVA 138.1 数据库进行注释，真菌 ITS 序列基于 UNITE v9.0 数据库进行注释，并在 α 和 β 多样性分析前按最小测序深度进行均一化处理。细菌功能采用 PICRUST2 进行预测，并获得 PFAM 功能谱；真菌生态功能类群采用 FUNGuild 进行注释。采用单因素方差分析比较不同处理间土壤养分和微生物指标差异，并以 LSD 法进行多重比较。基于 Bray-Curtis 距离进行 NMDS 排序和 PERMANOVA 分析；采用 Mantel 检验分析群落结构与养分因子的关联，并对属水平 Spearman 相关性进行 BH-FDR 校正。

2 结果

2.1 施肥处理对根际与非根际土壤微生物多样性的影响

在 ASV 水平上，长期施肥对细菌群落 α 多样性指数的整体影响较为有限（表 2）。根际土壤细菌中，NPKO 处理的 Chao1 和 Observed_ASVs 指数显著低于 CK 处理（ $P<0.05$ ），其余处理间差异不显著。非根际细菌各 α 多样性指数在不同处理间均无显著差异。根际和非根际真菌的 Chao1、Observed_ASVs 和 Shannon 指数在各处理间均无显著变化（ $P>0.05$ ）。

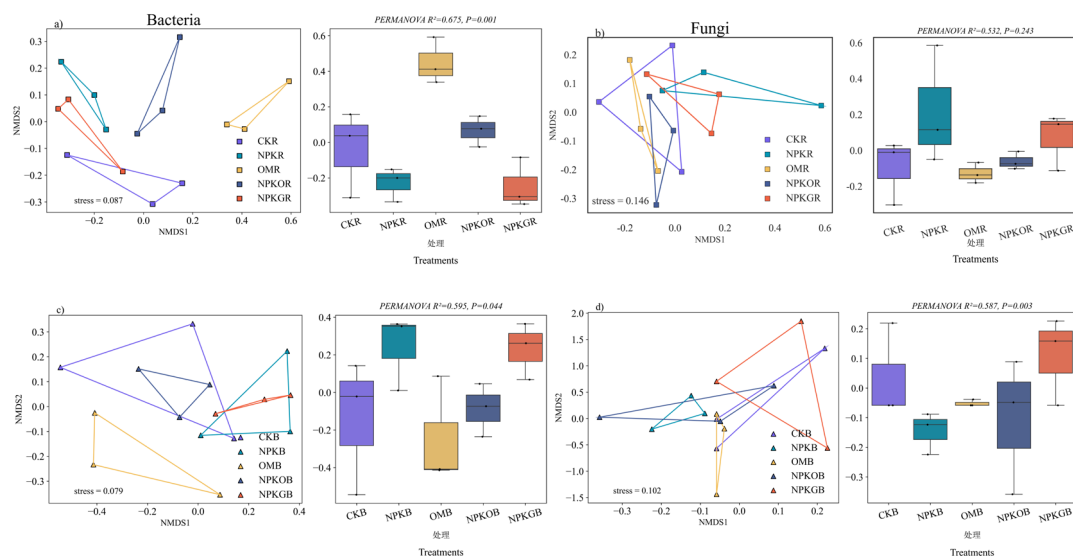
表 2 不同处理下根际与非根际土壤细菌与真菌 α 多样性指数

Table 2 α-diversity of rhizosphere and bulk soil bacteria and fungi under different fertilization treatments

土壤分区 Soil compartment	处理 Treatment	细菌 Bacteria			真菌 Fungi		
		Chao1	Observed_ASVs	Shannon	Chao1	Observed_ASVs	Shannon
根际 Rhizosphere	CKR	3 203±312ab	3 056±277ab	10.5±0.2a	537±118a	467±120.6a	4.8±0.8a
	NPKR	2 769±554ab	2 664±500ab	10.2±0.4a	467±44a	374±44.6a	3.8±1.1a
	OMR	2 888±930ab	2 751±864ab	9.9±1.3a	585±139a	483±133a	4.6±1.3a
	NPKOR	2 417±496c	2 346±441c	9.9±0.4a	578±60a	436±18a	4.5±0.3a

	NPKGR	3 615±254a	3 452±212a	10.4±0.2a	491±85a	412±86a	5.1±0.7a
非根际	CKB	2 462±232ab	2 385±226ab	10.2±0.3a	674±173a	564±121a	5.8±0.8a
Bulk soil	NPKB	2 230±433b	2 131±411b	9.4±0.7a	642±45a	533±20a	5.5±0.1a
	OMB	3 114±427a	2 943±410a	10.3±0.5a	638±132a	537±49a	5.3±0.4a
	NPKOB	2 745±407ab	2 628±335ab	10.3±0.2a	645±157a	515±130a	5.6±0.6a
	NPKGB	2 286±278b	2 166±270b	9.7±0.4a	464±110a	409±94a	5.4±0.5a

基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析表明,不同施肥处理显著影响了根际和非根际土壤细菌群落结构(图 1)。根际细菌群落处理间差异显著(stress=0.087, $R^2=0.675$, $P=0.001$),非根际细菌群落处理间差异亦显著(stress=0.079, $R^2=0.595$, $P=0.044$)。根际真菌群落在不同处理间差异不显著(stress=0.146, $R^2=0.532$, $P=0.243$),而非根际真菌群落处理间差异显著(stress=0.102, $R^2=0.587$, $P=0.003$)。



注: a)、c)为细菌群落; b)、d)为真菌群落; 左侧为 NMDS 排序图, 右侧为对应的 PERMANOVA 检验结果; R: 根际; B: 非根际。(后续各图中根际与非根际字母标注规则与本文一致)。Note: a) and c), Bacterial communities; b) and d), Fungal communities. The left panel shows the NMDS ordination, and the right panel shows the corresponding PERMANOVA results. R: Rhizosphere; B: Bulk soil. (The lettering scheme for rhizosphere and bulk soil in the following figures is consistent with that used in this figure.)

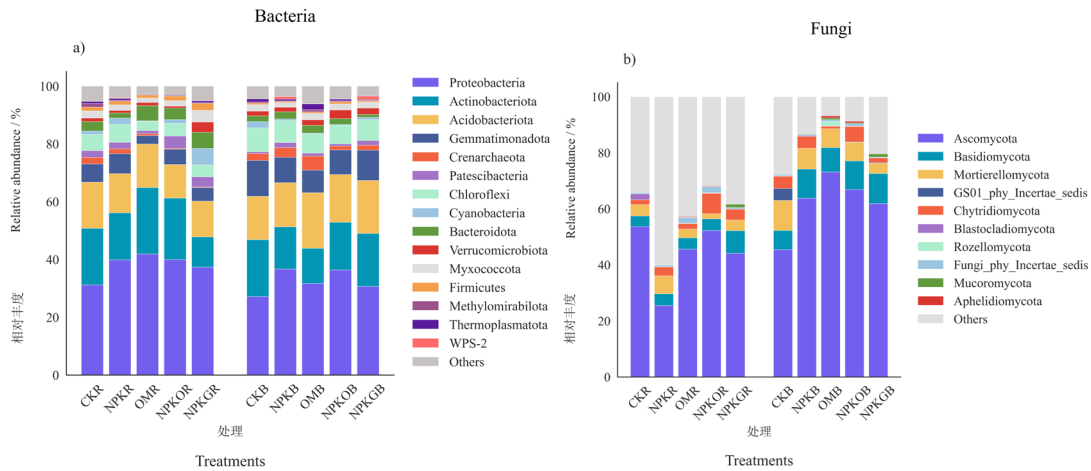
图 1 不同处理下根际与非根际土壤微生物 NMDS 分析

Fig. 1 NMDS analysis of rhizosphere and bulk soil microbial communities under different fertilization treatments

2.2 施肥处理对根际与非根际土壤微生物群落组成的影响

植烟土壤根际与非根际土壤的菌群组成如图 2 所示。结果显示,根际土壤的优势菌门依次为变形菌门(Proteobacteria)(31.20%~41.92%)、放线菌门(Actinobacteriota)(10.50%~22.97%)、酸杆菌门(Acidobacteriota)(11.58%~16.00%)。与 CK 相比,施肥处理提高了变形菌门丰度,降低了酸杆菌门的丰度,而 OM 处理中部分优势细菌门的相对丰度较高。非根际菌门组成与根际相似,变形菌门仍占主导(27.15%~36.67%),其次为放线菌门(12.19%~19.69%)、酸杆菌门(15.00%~19.25%)。根际土壤中变形菌门和放线菌门的相对丰度整体高于非根际土壤,而酸杆菌门在非根际土壤中相对较高。真菌群落门水平相对丰度分析表明(图 2b),根际土壤中优势菌门为子囊菌门(Ascomycota)(25.52%~53.66%),其次为担子菌门(Basidiomycota)(3.80%~8.05%)、被孢霉门(Mortierellomycota)(1.82%~6.40%)和壶菌门(Chytridiomycota)(1.73%~7.30%)。与 CK 相比,施肥处理普遍降低了子囊菌门的相对丰度,同时提高了担子菌门和壶菌门的丰度。在非根际土壤中,子囊菌门仍占主导

(45.43%~73.14%), 担子菌门 (6.85%~10.74%) 和被孢霉门 (3.66%~10.72%) 次之。与细菌相反, 非根际中主要优势真菌菌门的丰度高于根际。



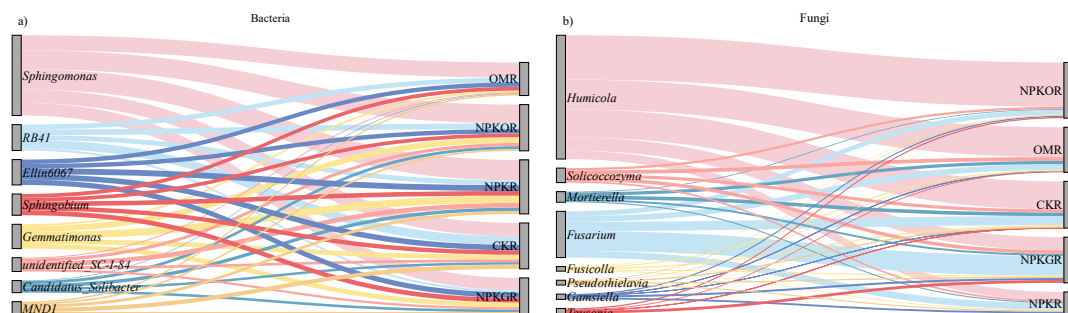
注: a) 细菌, b) 真菌。Note: a) Bacterial, b) Fungal.

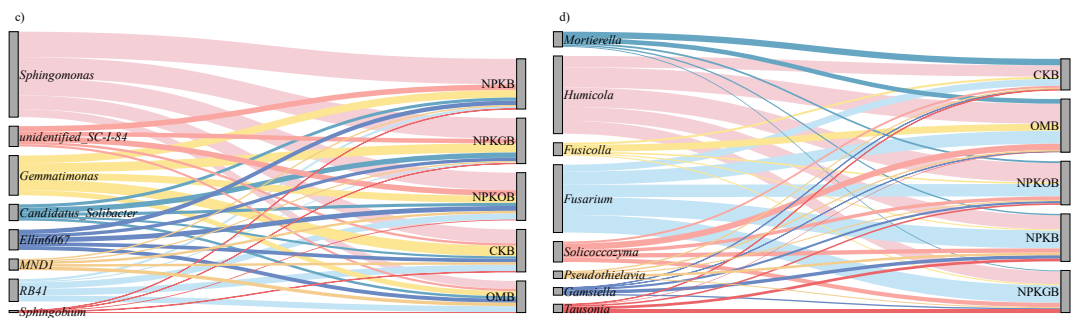
图2 不同处理下根际与非根际土壤微生物菌门相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of microbial phyla in rhizosphere and bulk soil under different fertilization treatments

属水平分布显示,鞘氨醇单胞菌属在根际 NPK 和 NPKO 处理以及非根际 NPK 处理中相对丰度较高(图3)。真菌群落中,腐质霉属和镰刀菌属为根际与非根际土壤的主要优势属。根际土壤中, NPKO 处理的腐质霉属相对丰度最高,为 33.47%; NPKG 处理的镰刀菌属相对丰度最高,为 15.03%,而 NPKO 处理最低,为 3.67%。非根际土壤中,优势真菌属的变化趋势与根际总体相似,但镰刀菌属相对丰度整体高于根际。

Fusarium 属包含多种与烟草土传病害相关的病原真菌,进一步比较 *Fusarium* 的相对丰度发现(图4b),与 CK 相比,根际土壤中 NPK、OM 和 NPKO 处理的镰刀菌属相对丰度分别降低 28.57%、38.14%和 42.86%,其中 NPKG 处理显著增加 117.20%。在非根际土壤中,各施肥处理下镰刀菌属相对丰度均呈增加趋势,其中 NPK 和 NPKG 处理增幅为 156.06%和 152.10%。选取文献中报道较多的代表性潜在拮抗类群与代表性潜在病原类群进行相对丰度比较,进一步分析各处理下 *Fusarium* 增加是否伴随拮抗或共存病原类群的变化(图4a)。结果显示,根际土壤中,与 CK 相比,OM 和 NPKO 处理下的 *Lysobacter* 是优势拮抗类群,相对丰度分别为 2.76%和 2.22%,NPKG 处理下 *Bacillus* 的丰度升至 1.71%;施肥处理降低了 *Alternaria* 的丰度(图4a2),其中 NPKO 和 NPKG 处理下降幅度最大,分别为 87.69%、97.54%。非根际土壤中 OM 处理下 *Streptomyces* 丰度为 1.28%,NPKO 处理中 *Bacillus* 和 *Streptomyces* 丰度分别为 0.35%、0.99%,NPKG 处理中 *Bacillus* 和 *Streptomyces* 丰度分别为 0.30%、0.81%。

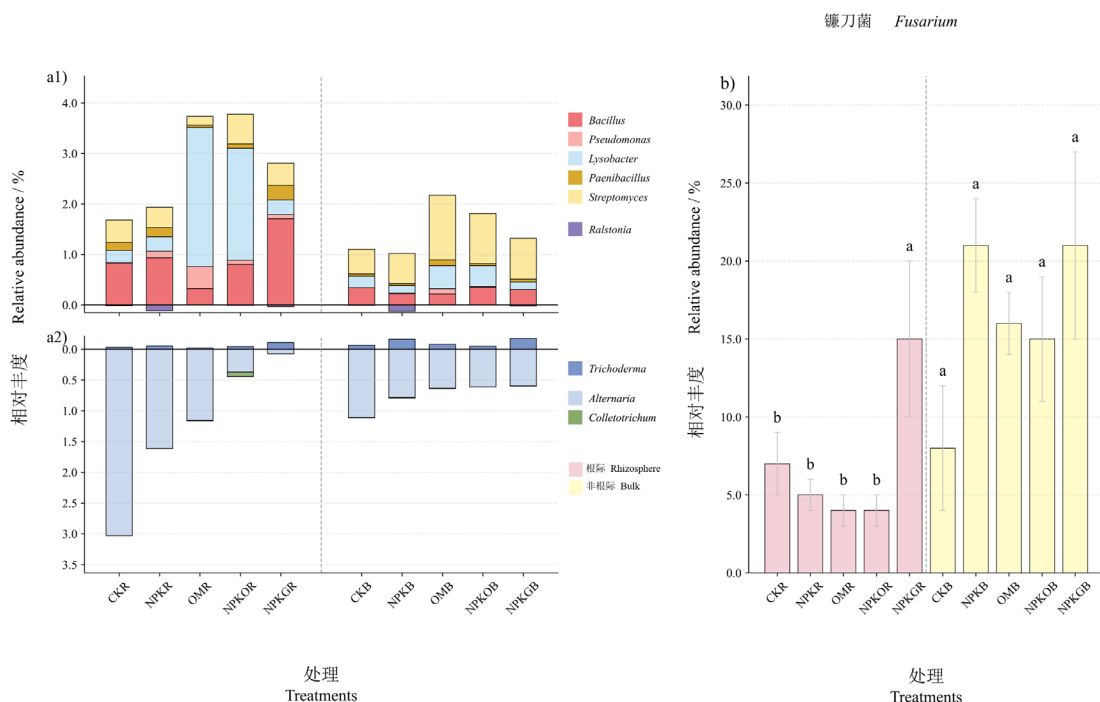




注: a)、c)细菌, b)、d)真菌。连接宽度代表相对丰度大小, 颜色用于区分不同微生物属。Note: a) and c), Bacterial; b) and d), Fungal. The width of the links represents relative abundance, and colors distinguish different microbial genera.

图3 不同处理下根际与非根际土壤微生物群落的属水平分布图

Fig. 3 Genus-level diagrams of microbial community composition in rhizosphere and bulk soil under different fertilization treatments



注: 潜在拮抗类群: *Bacillus* (芽孢杆菌属)、*Pseudomonas* (假单胞菌属)、*Lysobacter* (溶杆菌属)、*Paenibacillus* (类芽孢杆菌属)、*Trichoderma* (木霉属)、*Streptomyces* (链霉菌属); 潜在病原类群: *Ralstonia* (劳氏菌属)、*Colletotrichum* (炭疽菌属) 和 *Alternaria* (链格孢菌属)。Note: Potential antagonistic genera: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lysobacter*, *Paenibacillus*, *Trichoderma*, *Streptomyces*; Potential pathogenic genera: *Ralstonia*, *Colletotrichum*, *Alternaria*.

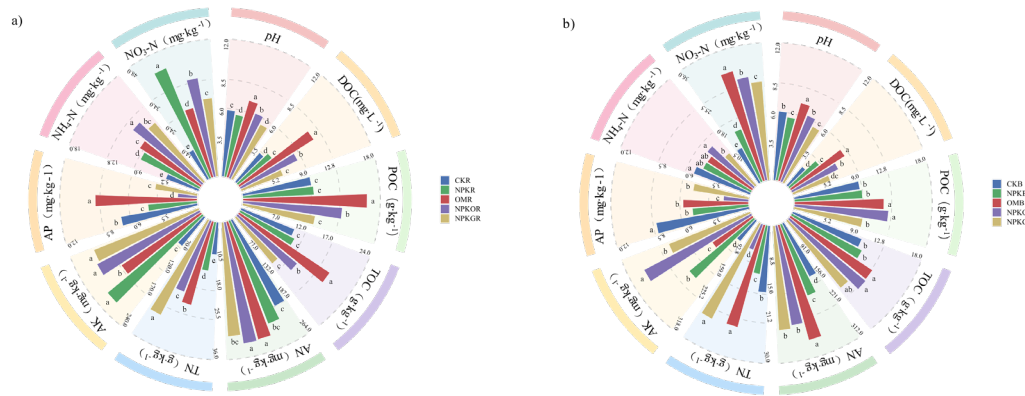
图4 不同处理下根际与非根际土壤潜在拮抗与病原菌属、镰刀菌的相对丰度特征

Fig. 4 Relative abundance characteristics of potential antagonistic and pathogenic genera, including *Fusarium*, in rhizosphere and bulk soil under different fertilization treatments

2.3 施肥处理下根际与非根际微生物群落与养分因子的关联特征

不同施肥处理对根际与非根际土壤养分因子的影响存在明显差异 (图 5)。在根际土壤中, 与 CK 相比, OM 处理显著提高 DOC、POC 和 TOC 含量, 增幅分别为 130.75%、78.63% 和 89.97%; 同时, AN、TN、AK 和 AP 含量分别提高 25.91%、166.65%、156.47%和 31.13%, pH 提高 20.05% ($P<0.05$)。NPKO 处理显著提高 DOC、POC 和 TOC 含量, 增幅分别为 67.42%、43.34%和 35.01%; AN、TN、AK、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量分别提高 151.72%、135.16%、211.37%、151.72%和 199.63% ($P<0.05$)。NPKG 处理主要提高 AN、TN 和 AK 含

量,增幅分别为 17.68%、229.80%和 203.14% ($P<0.05$)。在非根际土壤中,OM 处理显著提高 DOC、POC 和 TOC 含量,增幅分别为 159.76%、34.53%和 32.32%; AN 和 NO_3^- -N 含量分别提高 98.16%和 188.29% ($P<0.05$)。NPKO 处理下 DOC、POC、TOC、AN 和 NO_3^- -N 含量分别提高 110.86%、41.88%、33.69%、67.96%和 165.10% ($P<0.05$)。NPKG 处理主要提高 AN、TN 和 AK 含量,增幅分别为 73.85%、60.87%和 229.45% ($P<0.05$)。

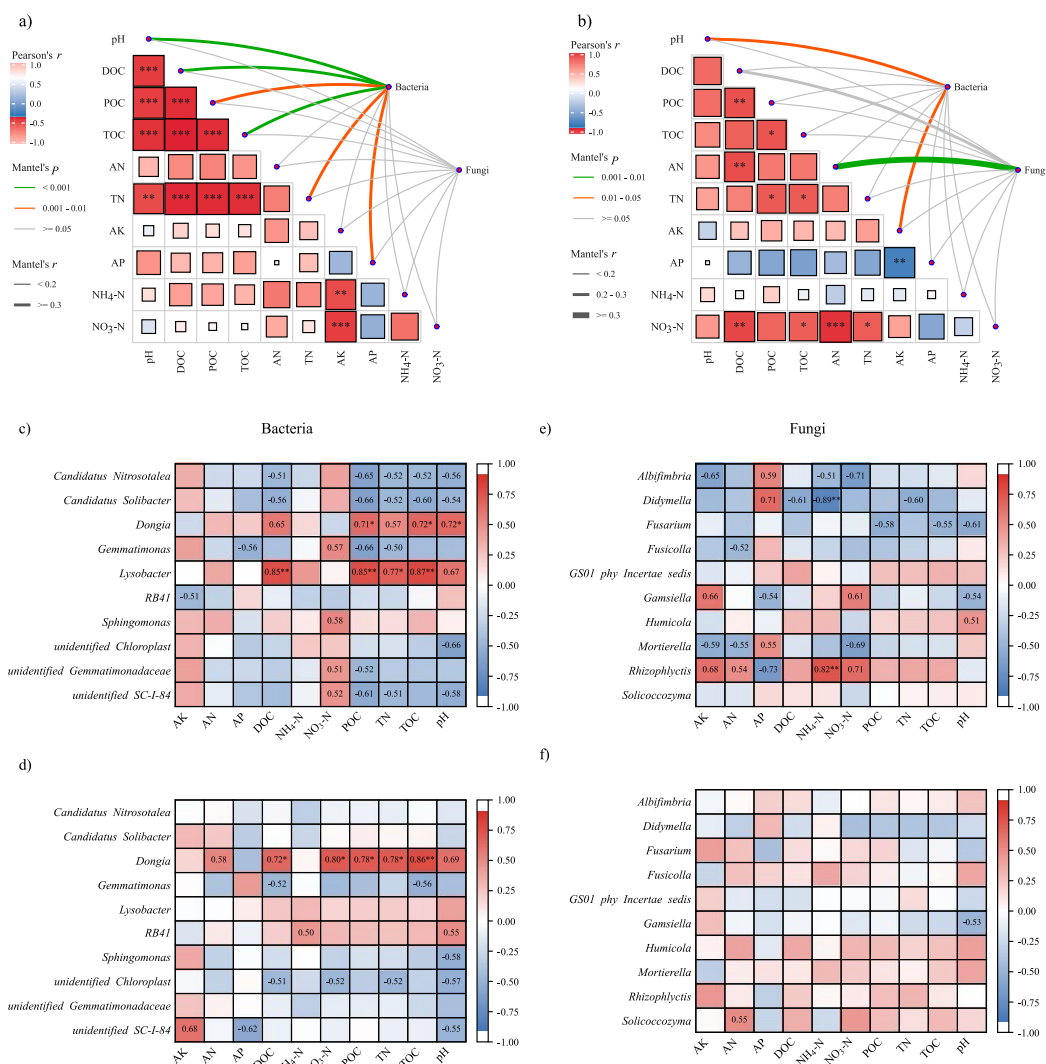


注: a)根际; b)非根际; a、b、c、d、e 为显著性标识。Note: a) Rhizosphere; b) Bulk soil; a, b, c, d, e indicate significant differences.

图 5 不同处理下土壤养分因子的含量特征

Fig. 5 Soil nutrient content characteristics under different fertilization treatments

Mantel 检验显示,根际土壤细菌群落与 pH、DOC 和 TOC 极显著相关 ($P<0.001$) (图 6a),并与 TN、AP 显著相关 ($P<0.05$)。非根际细菌群落与 pH 和 AK 呈显著相关 ($P<0.05$) (图 6b)。真菌群落在根际土壤中与养分因子相关性不显著,非根际土壤中仅与 AN 呈极显著相关 ($P<0.001$)。进一步选取各样品中相对丰度前十的优势属进行 Spearman 相关性分析,根际土壤细菌群落中的 *Dongia* 属和 *Lysobacter* 属均与部分碳氮组分呈显著正相关 ($P<0.05$) (图 6c),而 *Candidatus_Solibacter* 和 *Candidatus_Nitrosotalea* 属则呈负相关。在非根际土壤中 (图 6d), *Dongia* 属与 DOC、 NO_3^- -N、POC、TN、TOC 保持显著正相关 ($P<0.05$),真菌方面, *Rhizophlyctis* 属在根际中与 NH_4^+ -N 呈显著的正相关关系 ($P<0.01$), *Didymella* 属与 NH_4^+ -N 呈显著负相关关系 ($P<0.01$),而非根际真菌属与养分因子的相关性整体较弱。



注: a)根际; b)非根际; c)根际细菌; d)非根际细菌; e)根际真菌; f)非根际真菌。相关性结果经 BH-FDR 校正: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 仅对 $|\rho|\geq 0.50$ 的格子标注数值。Note: a) Rhizosphere; b) Bulk soil; c) Rhizosphere bacteria; d) Bulk soil bacteria; e) Rhizosphere fungi; f) Bulk soil fungi. Correlation results were adjusted using BH-FDR: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; values are annotated only for cells with $|\rho| \geq 0.50$ (colors represent ρ).

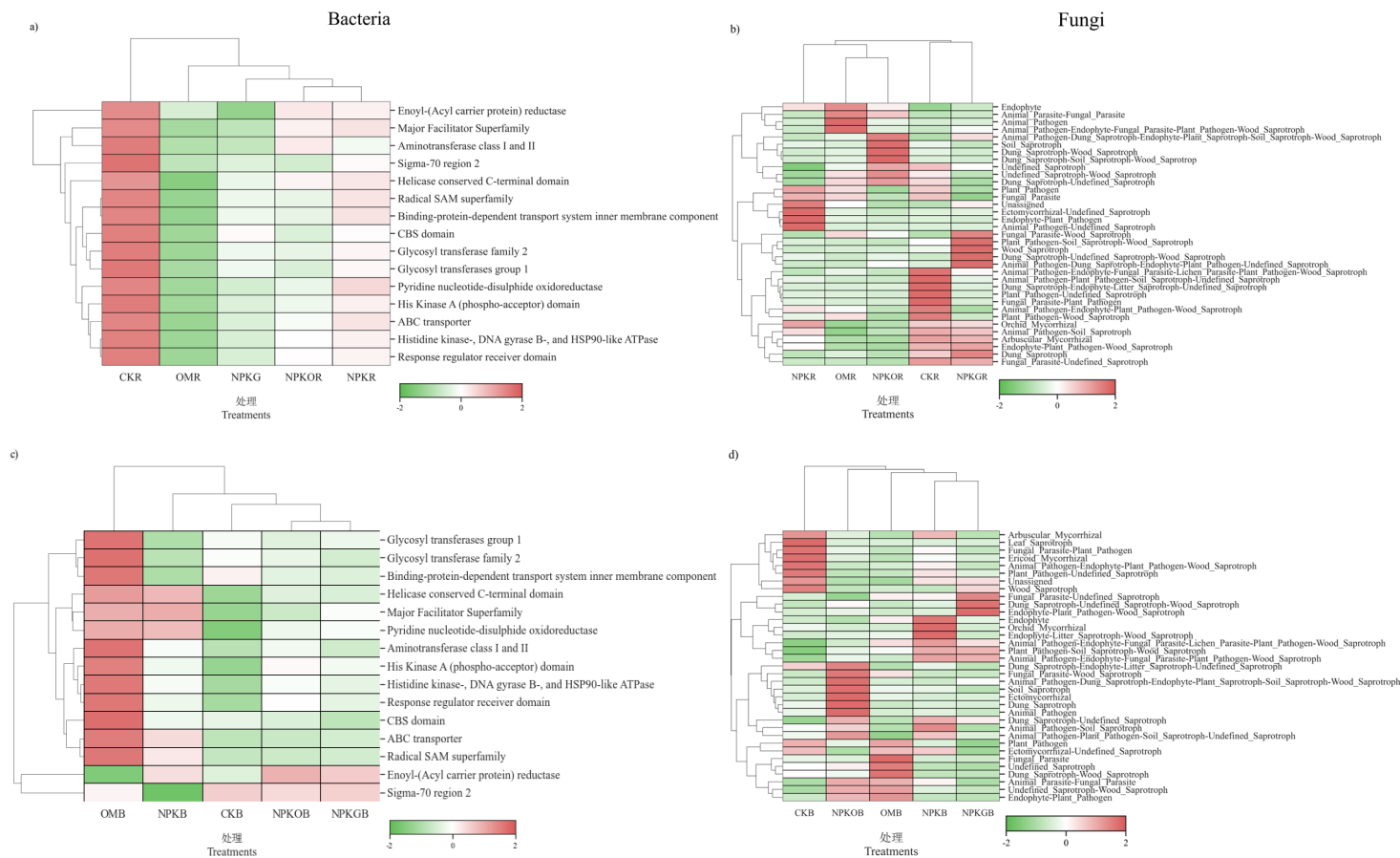
图 6 不同处理下根际与非根际土壤微生物群落结构与养分因子的 Mantel 检验及 Spearman 相关性

Fig. 6 Mantel test and Spearman correlation analyses between microbial community structure and nutrient factors in rhizosphere and bulk soils under different fertilization treatments

2.4 施肥处理下根际与非根际土壤微生物功能响应特征

基于 PICRUST2 的 PFAM 功能预测结果显示, 根际土壤细菌功能组成在不同施肥处理间分化较弱 (图 7a)。非根际土壤中 OM 处理形成了独特的功能特征 (图 7c), 参与碳水化合物代谢 (Glycosyl transferases group 1 和 family 2)、物质跨膜运输 (Binding-protein-dependent transport system inner membrane component)、氮代谢 (Aminotransferase class I and II) 以及参与细胞信号转导相关功能的预测丰度较高; NPK 处理组中主要促进因子超家族 (Major Facilitator Superfamily) 的相对丰度较高; NPKO 处理则提高了与脂肪酸合成相关的烯酰基载体蛋白还原酶 (Enoyl-(Acyl carrier protein) reductase) 的丰度。

根际真菌功能群在不同施肥处理中表现出明显分化 (图 7b), 其中 NPK、OM 和 NPKO 聚为一类, CK 与 NPKG 聚为另一类。CK 处理中植物病原及病原-腐生混合型功能类群的预



注: a)、c)细菌 PFAM 功能谱; b)、d)真菌功能类群 (FUNGuild) 聚类。Note: a) and c), Bacterial PFAM functional spectrum; b) and d), Clustering of fungal functional groups (FUNGuild).

图 7 不同处理下根际与非根际土壤微生物功能组成及生态类群聚类热图

Fig. 7 Cluster heatmap of functional composition and ecological guilds of rhizosphere and bulk soil microbial communities under different fertilization treatments

测丰度较高,提示未施肥根际土壤中潜在病原相关功能占比较高;NPK和OM处理则以内生-植物病原菌(Endophyte-Plant Pathogen)及动物病原-兼性腐生菌(Animal Pathogen-Undefined Saprotroph)等病原及腐生复合类群的增加为主;NPKO处理下土壤腐生、木腐生及粪生腐生菌等分解功能群较为富集,表明有机无机肥配施可能增强真菌对有机底物的潜在分解能力;NPKG处理则兼具部分病原相关类群和较高丰度的腐生类群,与CK表现出一定相似性。非根际真菌功能群未表现出清晰聚类,但不同处理间仍存在功能差异(图7d),其中OM处理以真菌寄生和腐生类群为主,NPK处理下内生菌和兰科菌根真菌等类群的预测丰度较高,NPKO和NPKG处理则主要表现为寄生-腐生及分解复合类群的变化。

3 讨论

3.1 根际与非根际土壤微生物群落结构对长期施肥的响应差异

长期定位施肥并非必然导致土壤微生物多样性线性升高或降低,更常见的是在持续选择压力下趋于群落结构的稳定化^[6-7]。本研究,长期施肥对细菌和真菌 α 多样性的影响总体有限,但显著改变了部分生境中的群落结构,说明长期施肥的影响主要体现在群落组成和优势类群替换,而非单纯表现为丰富度或均匀度变化。这与长期施肥通过持续改变养分条件和资源供给而重塑微生物群落结构的认识一致^[7,18]。土壤微生物 β 多样性可反映不同处理下群落结构的分异程度。研究结果显示,在根际区域(图1a),单施有机肥样本在排序图中呈现相对聚集趋势,并与部分处理表现出一定分离,表明有机肥对根际细菌群落具有显著驱动效应,可能与外源有机质输入促进特定功能类群富集有关^[9,19-20]。非根际土壤中绿肥处理样本在排序图中呈现相对聚集趋势(图1c),这可能与绿肥翻压后残体腐解产生的可溶性有机酸、氮源及代谢物对非根际微生物群落形成持续选择作用有关^[10-11,20]。相比之下,根际真菌群落对环境扰动响应较弱(图1b),可能与根系活动维持了相对稳定的根际微环境,从而缓冲了施肥处理带来的理化波动有关^[1,21]。在非根际土壤中(图1d),单施有机肥和化肥处理中土壤真菌群落对有机质和无机养分输入较敏感^[15,22]。根系活动有助于维持相对稳定的微环境,从而增强了根际真菌群落的生态缓冲能力与弹性,而非根际缺乏这种缓冲,外源添加物的直接作用可放大不同施肥方式间的差异^[4,23]。

3.2 根际与非根际土壤微生物优势类群与潜在功能群的差异性

本研究中,子囊菌门在非根际土壤中的相对丰度高于根际土壤,这与部分林地和粮食作物土壤中子囊菌门偏向根际富集、担子菌门偏向非根际分布的报道并不完全一致^[21,24]。这一差异可能与植烟土壤非根际区域受根系分泌物影响较弱、可利用底物供应相对有限有关,在这种环境条件下,部分耐逆性较强或适应低养分环境的子囊菌类群更易维持较高丰度^[15,23]。属水平上,鞘氨醇单胞菌属在根际和非根际土壤中对施肥表现出不同响应,其中该菌属在根际单施无机肥和有机无机肥配施处理中富集,说明其可能对速效养分输入及复合底物供给较为敏感,并参与施肥后有机底物转化和土壤微环境调节^[18]。腐质霉属在有机无机配施处理下相对丰度升高,而在单施化肥处理中下降。腐质霉属具有纤维素分解能力,其变化说明有机无机配施形成的底物和养分条件可能更有利于腐生真菌维持及有机质转化^[9,25]。结合有机无机肥配施下腐质霉属增加、镰刀菌属相对丰度较低的结果,该施肥方式可能有助于改善根际真菌群落组成,并降低潜在病原菌扩张风险^[24,26]。本研究中,绿肥处理下镰刀菌属在根际和非根际土壤中均呈升高趋势(图4b),说明不同有机投入方式对潜在病原类群的影响并不一致^[11,26]。该差异可能与绿肥种类及其腐解特征有关。与常用豆科绿肥不同,本试验施用的黑麦草属于禾本科牧草,可能作为镰刀菌的兼性寄主或内生定殖基质,可能形成病原菌存留和扩散的“绿色桥梁”^[12,27]。翻压后,残体和根系可维持一定接种源,而其较低的碳氮比(14.61)

可能促进腐解初期速效氮和易分解有机碳的释放,为镰刀菌的腐生生长和定殖提供有利条件^[10,28]。相比之下,腐熟牛粪提供的有机底物组成更复杂,可能更有利于溶杆菌等拮抗微生物及腐生真菌共同利用资源位点,从而限制机会性病原菌扩张^[5,26]。尽管绿肥处理下芽孢杆菌丰度有所增加,但未同步抑制镰刀菌的增长,说明单一潜在拮抗类群的增加不足以形成稳定的病原抑制作用^[29]。非根际土壤缺乏根系持续调节,外源底物输入后病原菌对新增资源的响应可能更直接,因此更易表现出镰刀菌积累趋势^[1,23]。因此,在以黑麦草等禾本科牧草作为绿肥时,应充分评估其作为高能底物和潜在宿主基质的双重风险,并通过优化翻压方式和腐解窗口期,降低病原菌隐匿增殖及加剧连作障碍的可能性。

细菌功能预测结果显示,在缺乏外源养分输入的环境下,可能根际细菌群落具备更强的环境应激感应与双组分信号转导潜力(图 7a),倾向于投入更多能量用于捕捉根系分泌物中微量的营养信号^[1,3],而施肥后碳氮供应增加,使微生物处于稳定富营养环境中,其对外界刺激感知和调控相关功能的依赖可能有所降低^[18,22]。非根际土壤中(图 7c),由于缺乏根系持续调控,微生物可能更多依赖自身代谢和物质转运过程来利用有机肥输入的底物。真菌 FUNGuild 功能聚类结果显示(图 7b),长期施肥条件下根际土壤中不施肥与绿肥处理真菌功能结构相似。考虑到不施肥土壤中潜在病原相关功能类群占比较高,而绿肥连续翻压可输入大量植物源有机质,二者在病原-腐生相关生态位上可能表现出一定相似性,提示绿肥的施用可能同样存在较高的潜在病原风险,而非仅改善土壤性状^[11-12]。与之相比,有机无机肥配施在非根际土壤中富集了多类腐生和分解功能群,表明其可能增强真菌对复杂有机底物的潜在分解能力,这与增加有机质投入有利于真菌参与复杂底物分解的报道一致^[9,30]。结合根际和非根际土壤的功能预测结果,有机无机肥配施可能有助于提升土壤真菌群落的有机质分解潜力^[25]。需要指出的是, PICRUST2 和 FUNGuild 仅反映功能潜力,不能直接代表微生物实际代谢活性,后续仍需结合宏基因组或宏转录组等方法进一步验证。

3.3 养分因子在根际与非根际土壤微生物群落构建中的作用

不同施肥处理显著改变了土壤关键养分因子的空间分布,并进一步影响根际与非根际微生物群落对养分梯度的响应^[6,22]。与宣泽鹏等^[31]的研究结果类似,本研究发现,单施有机肥和有机无机肥配施显著提高了根际和非根际土壤的碳氮水平(图 5),可能源于有机物分解释放的可利用碳氮不仅为异养微生物提供能量,也增强了土壤无机氮的生物有效性和养分保持能力^[8-9]。Mantel 检验表明,根际细菌群落对 pH 及碳氮供给变化更为敏感(图 6a)。这可能与根际持续接收活性碳源输入、微生物代谢活跃及根际激发效应增强有关^[10]。pH 作为关键环境过滤因子,在长期施肥和根系活动共同作用下可能进一步增强对细菌群落的筛选效应^[6,22]。本研究采样于烤烟下部叶成熟期,根系活性和分泌物输入减弱,根际碳源可能更多来自衰老根系及微生物残体的分解与矿化,从而增强细菌对可溶性碳和土壤碳库变化的响应^[14]。此外,本研究采用条施方式施肥,肥料主要集中于根系附近土层,这种空间上的养分富集可能放大根际与非根际土壤的微生态差异。相比之下,非根际细菌群落在底物通量较低的生境中(图 6b),其群落构建更多受限于土壤母质及长期施肥形成的背景养分^[15,23]。非根际真菌对速效氮变化表现出较强响应(图 6b),可能由于非根际缺乏根系持续提供的新鲜碳源,真菌长期处于资源受限状态^[15,21],当施肥使土壤 AN 含量跨越特定阈值时,速效氮的脉冲式输入解除了真菌的代谢抑制,从而促进真菌生长和群落调整^[7,21]。此外,菌丝空间扩展能力使真菌更高效截获非根际分散的氮素资源,因此在群落水平上对 AN 波动表现出较强响应^[21]。Spearman 分析结果进一步表明,根际 *Lyso bacter* 和 *Dongia* 与碳氮周转较活跃的微环境密切相关,这与前人研究结果相似^[18,23]。非根际 *Dongia* 对长期施肥塑造的碳氮梯度表现出稳定响应(图 6d),可作为反映土壤碳氮改善状态的潜在指示类群。总体而言,长期有机投入通过增加碳氮库并缓冲酸化,结合成熟期根际底物变化,共同驱动了根际细菌的敏感响应与非根际真菌对速效氮变化的较强响应^[8,20]。但相关性分析仅反映变量间协变关系,具体机

制仍需结合环境因子共线性和处理效应谨慎解释。

4 结论

植烟土壤细菌和真菌的 α 多样性的变化较小, 但施肥促使微生物群落结构发生显著差异, 且驱动了根际土壤细菌群落向富营养型类群偏移。土壤碳氮水平是影响根际细菌与非根际真菌群落结构的关键因子, 有机无机肥配施增强了微生物对复杂有机底物的潜在分解功能, 有利于养分周转。长期施用禾本科绿肥虽能提升土壤养分, 但其潜在寄主效应或残体基质特征可能导致根际病原菌的隐性增殖, 进而加剧烟草连作障碍的潜在风险。因此, 合理进行有机无机肥配施有助于优化根际和非根际土壤微生态结构, 协调养分供应与微生物利用, 但在实际生产中应警惕禾本科绿肥翻压不当可能诱发潜在病原菌增殖而带来生物安全风险。

参考文献 (References)

- [1] Ling N, Wang T T, Kuzyakov Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 836.
- [2] Delgado-Baquerizo M, Maestre F T, Reich P B, et al. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 10541.
- [3] Sun Y, Chang J J, Tian C J. Ecological functions of the bacterial chemotaxis systems in rhizosphere microbiome[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(24): 9963-9969. [孙雨, 常晶晶, 田春杰. 根际微生物组中细菌趋化系统的生态功能[J]. *生态学报*, 2021, 41(24): 9963-9969.]
- [4] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 68(1): 1-13.
- [5] Li T, Shi X T, Wang J G, et al. Turning antagonists into allies: Bacterial-fungal interactions enhance the efficacy of controlling *Fusarium* wilt disease[J]. *Science Advances*, 2025, 11(7): eads5089.
- [6] Wang H Y, Xu M G, Zhou B K, et al. Response and driving factors of bacterial and fungal community to long-term fertilization in black soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(5): 914-925. [王慧颖, 徐明岗, 周宝库, 等. 黑土细菌及真菌群落对长期施肥响应的差异及其驱动因素[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(5): 914-925.]
- [7] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 75: 54-63.
- [8] Tian S Y, Zhu B J, Yin R, et al. Organic fertilization promotes crop productivity through changes in soil aggregation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2022, 165: 108533.
- [9] Wang Y Q, Liu J, Gou J Y, et al. Optimization of soil microbial activation of inorganic phosphorus in tobacco-maize rotation under long-term combined application of organic and inorganic fertilizers[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(3): 808-818. [王亚麒, 刘京, 苟剑渝, 等. 长期有机无机配施下烤烟-玉米轮作优化土壤微生物活化无机磷[J]. *土壤学报*, 2022, 59(3): 808-818.]
- [10] Kuzyakov Y. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(9): 1363-1371.
- [11] Zhao W J, Wang Z X, Zhao W J, et al. Incorporation of green manure reduces tobacco root rot incidence via modulation of rhizosphere microbial communities[J]. *Land Degradation & Development*, 2026, 37(5): 1879-1891.
- [12] Suproniene S, Kadziene G, Irzykowski W, et al. Weed species within cereal crop rotations can serve as alternative hosts for *Fusarium graminearum* causing *Fusarium* head blight of wheat[J]. *Fungal Ecology*, 2019, 37: 30-37.
- [13] Gong B, He Y, Luo Z B, et al. Response of rhizosphere soil physicochemical properties and microbial community structure to continuous cultivation of tobacco[J]. *Annals of Microbiology*, 2024, 74(1): 4.
- [14] Li A B, Jin K K, Zhang Y Z, et al. Root exudates and rhizosphere microbiota in responding to long-term continuous cropping of tobacco[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 11274.

- [15] Ning Z, Cheng A W, Tang H M, et al. Microbial carbon source metabolic profile in rice rhizosphere and non-rhizosphere soils with different long-term fertilization management[J]. Environmental Science, 2019, 40(3): 1475-1482. [宁赵, 程爱武, 唐海明, 等. 长期施肥下水稻根际和非根际土壤微生物碳源利用特征[J]. 环境科学, 2019, 40(3): 1475-1482.]
- [16] Dong Z Y, Rao M P N, Liao T J, et al. Diversity and function of rhizosphere microorganisms between wild and cultivated medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis* Fisch under different soil conditions[J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(6): 3657-3665.
- [17] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [18] Bai Y X, Liu L Z, An T T, et al. Effects of long-term fertilization on bacterial community structure and carbon metabolic functions in brown soil[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2025, 58(8): 1579-1590. [白雨欣, 刘灵芝, 安婷婷, 等. 长期不同施肥对棕壤细菌群落结构和碳代谢功能的影响[J]. 中国农业科学, 2025, 58(8): 1579-1590.]
- [19] Dang P F, Li C F, Lu C, et al. Effect of fertilizer management on the soil bacterial community in agroecosystems across the globe[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2022, 326: 107795.
- [20] Dai P G, Cong P, Wang P, et al. Alleviating soil acidification and increasing the organic carbon pool by long-term organic fertilizer on tobacco planting soil[J]. Agronomy, 2021, 11(11): 2135.
- [21] Wang Z, Zhang B, Dong S Q, et al. Effects of long-term nitrogen fertilizer application on the rhizosphere microbial community structure and function in black soil and sandy soil[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2025, 58(3): 520-537. [王钊, 张冰, 董思奇, 等. 长期施用氮肥对黑土和风沙土根际微生物群落结构及功能的影响[J]. 中国农业科学, 2025, 58(3): 520-537.]
- [22] Dincă L C, Grenni P, Onet C, et al. Fertilization and soil microbial community: A review[J]. Applied Sciences, 2022, 12(3): 1198.
- [23] Hou X B, Zhao X H, He H J, et al. Responses of rhizosphere and non-rhizosphere microbial communities to the soil carbon and nitrogen in *Quercus mongolica* pure forest[J]. Biodiversity Science, 2025, 33(7): 67-81. [侯馨博, 赵秀海, 何怀江, 等. 蒙古栎纯林根际与非根际微生物群落结构对土壤碳氮的响应[J]. 生物多样性, 2025, 33(7): 67-81.]
- [24] Zhao L G, Tang X Y, Tang L, et al. Effects of bio-organic fertilizers combination with chemical fertilizer reduction on the soil microbial flora and its correlation of bacterial wilt of flue-cured tobacco[J]. Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science, 2018, 33(4): 744-750. [赵力光, 唐兴莹, 汤利, 等. 化肥减量配施生物有机肥对植烟土壤微生物区系的影响及其与烤烟青枯病的关系[J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2018, 33(4): 744-750.]
- [25] Miao Y C, Li J J, Li Y, et al. Long-term compost amendment spurs cellulose decomposition by driving shifts in fungal community composition and promoting fungal diversity and phylogenetic relatedness[J]. MBio, 2022, 13(3): e00323-22.
- [26] Bonanomi G, Antignani V, Pane C, et al. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments[J]. Journal of Plant Pathology, 2007, 89(3): 311-324.
- [27] Leplat J, Friberg H, Abid M, et al. Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of *Fusarium head blight*. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2013, 33(1): 97-111.
- [28] Wang S H, Shang J, Tang H Y, et al. Deciphering microbial mechanism underlying changes of available phosphorus content in tobacco-planting soils during different green manure decomposition[J]. Soils, 2024, 56(4): 769-775. [王仕海, 尚军, 汤红印, 等. 不同绿肥腐解对烟田土壤有效磷含量影响的微生物机制[J]. 土壤, 2024, 56(4): 769-775.]
- [29] Sun X L, Xu Z H, Xie J Y, et al. *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions[J]. The ISME Journal, 2022, 16(3): 774-787.
- [30] Wang P, Dong J X, Xia L L, et al. Effects of straw carbon types on fungal community characteristics of soil aggregates[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(6): 1714-1728. [王萍, 董建新, 夏龙龙, 等. 秸秆碳类型对土壤团聚体真菌群落特征的影响[J]. 土壤学报, 2024, 61(6): 1714-1728.]
- [31] Xuan Z P, Feng H Y, Chen M Q, et al. Effects of straw returning combined with chemical fertilizer on soil ecosystem multifunctionality[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2025, 58(14): 2821-2837. [宣泽鹏, 冯慧瑶, 陈美淇, 等. 秸秆还田配施化肥对土壤生态系统多功能性的影响[J]. 中国农业科学, 2025, 58(14): 2821-2837.]

(责任编辑: 卢萍)