

DOI: 10.11766/trxb202506070264

CSTR: 32215.14.trxb202506070264

徐淑楠, 谢祎, 卢芝钰, 李瑞敏, 闫元元, 任轶, 周杏, 蔡祖聪, 黄新琦. 土壤强还原处理防控番茄青枯病的微生物多界互作机制[J]. 土壤学报, 2025,

XU Shunan, XIE Yi, LU Zhiyu, LI Ruimin, YAN Yuanyuan, REN Yi, ZHOU Xing, CAI Zucong, HUANG Xinqi. Microbial Multi-kingdom Interaction Mechanism Underlying the Control of Tomato Bacterial Wilt by Reductive Soil Disinfestation[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025,

土壤强还原处理防控番茄青枯病的微生物多界互作机制*

徐淑楠^{1,2}, 谢 祎¹, 卢芝钰¹, 李瑞敏¹, 闫元元¹, 任 轶¹,
周 杏¹, 蔡祖聪^{1,3,4}, 黄新琦^{1,3,4†}

(1. 南京师范大学地理科学学院, 南京 210023; 2. 南京市第二十九中学初中部, 南京 210029; 3. 江苏省土壤利用与农业可持续发展工程研究中心, 南京 210023; 4. 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023)

摘 要: 土壤微生物群落相互关系在维持植物健康中发挥重要作用。作为一种高效防控作物土传病害的生态调控措施, 土壤强还原处理 (Reductive soil disinfestation, RSD) 对土壤微生物群落相互关系的影响及其对植物病害防控效果的贡献仍不清晰。本研究基于两处田间试验, 系统研究 RSD 对土壤细菌、真菌和原生生物群落界内和跨界互作的影响, 以及群落互作与番茄生长之间的关联。结果表明: 与对照相比, RSD 处理后番茄青枯病发生率显著下降 90.3%, 存活植株株高和番茄产量分别提高 13.5%和 57.4%。RSD 处理后土壤细菌和真菌群落多样性指数显著下降, 且细菌、真菌和原生生物群落结构均发生显著变化。RSD 处理富集的微生物类群包括细菌 Proteobacteria 和 Acidobacteria、真菌 Ascomycota 和 Mortierellomycota、原生生物 Rhizaria 和 Archaeplastida。RSD 处理后土壤细菌、原生生物以及跨界群落总内聚力显著提升。相关性分析结果表明, 相较于群落多样性和组成结构, 细菌-细菌-真菌以及细菌-真菌-原生生物群落总内聚力与植物发病率、株高和产量表现出更强和更稳定的联系, 与番茄发病率呈显著负相关, 与产量和株高呈显著正相关。本研究强调了细菌及跨界群落互作在决定植物生长方面的重要作用, 并为 RSD 处理的抑病机制提供了新的认识。

关键词: 土壤强还原处理; 设施栽培; 连作障碍; 土传病害; 微生物互作; 土壤健康

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

Microbial Multi-kingdom Interaction Mechanism Underlying the Control of Tomato Bacterial Wilt by Reductive Soil Disinfestation

XU Shunan^{1,2}, XIE Yi¹, LU Zhiyu¹, LI Ruimin¹, YAN Yuanyuan¹, REN Yi¹, ZHOU Xing¹, CAI Zucong^{1,3,4}, HUANG Xinqi^{1,3,4†}

(1. School of Geography, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2. Nanjing No.29 Junior Middle School, Nanjing

* 国家重点研发计划青年科学家项目 (2023YFD1902000) 资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2023YFD1902000)

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

作者简介: 徐淑楠 (2000—), 女, 江苏淮安人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物研究。E-mail: xsn1010@163.com

收稿日期: 2025-06-07; 收到修改稿日期: 2025-07-15; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2025-08-29

210029, China; 3. Engineering Research Center for Soil Utilization and Agricultural Sustainable Development of Jiangsu Province, Nanjing 210023, China; 4. Collaborative Innovation Center for the Development and Utilization of Jiangsu Geographic Information Resources, Nanjing 210023, China)

Abstract: 【Objective】The interrelationships within soil microbial communities play a crucial role in maintaining plant health. As an efficient ecological regulation measure for controlling crop soil-borne diseases, the impacts of reductive soil disinfestation (RSD) on the interrelationships of soil microbial communities and its contribution to plant disease control efficacy remain unclear. 【Method】Based on two field experiments, this study systematically investigated the effects of RSD on the intra-kingdom and cross-kingdom interactions within soil bacterial, fungal, and protist communities, as well as the associations between community interactions and tomato growth. 【Result】The results showed that compared with the control, the incidence of tomato bacterial wilt significantly decreased by 90.3% after RSD treatment, while the shoot length of surviving plants and tomato yield increased by 13.5% and 57.4%, respectively. RSD treatment significantly reduced the diversity indices of soil bacterial and fungal communities, and significantly altered the community structures of bacteria, fungi, and protists. The microbial groups enriched by RSD treatment included the bacterial phyla Proteobacteria and Acidobacteria, the fungal phyla Ascomycota and Mortierellomycota, and the protist groups Rhizaria and Archaeplastida. Following RSD treatment, the total cohesion within soil bacterial communities, protist communities, and cross-kingdom communities significantly increased. Correlation analysis revealed that compared with community diversity and compositional structure, the total cohesion of bacterial communities, bacteria-fungi communities, and bacteria-fungi-protist communities exhibited stronger and more stable relationships with plant disease incidence, shoot length, and yield, and was significantly negatively correlated with plant disease incidence, and significantly positively correlated with yield and shoot length. 【Conclusion】This study highlights the critical role of bacterial and cross-kingdom community interactions in determining plant growth and provides new insights into the disease-suppressive mechanisms of RSD treatment.

Key words: Reductive soil disinfestation; Facility cultivation; Continuous cropping obstacle; Soil-borne disease; Microbial interaction; Soil health

集约化设施栽培已成为我国农业生产中的一种主要方式,为保障蔬菜稳定安全供给、促进农民增收和地方经济发展、提高耕地利用效率等做出重要贡献^[1]。然而,与传统大田作物不同,设施蔬菜种植过程中,高复种指数导致土壤致病微生物富集、微生物功能衰退等生物障碍问题,过量施肥(尤其是氮肥)导致土壤次生盐渍化、酸化等理化障碍问题,造成蔬菜作物连作障碍频发和大量经济损失,已成为制约我国设施农业可持续发展的瓶颈^[2-4]。作为一种市场需求量巨大的蔬菜作物,番茄的可持续生产即受到由茄科劳尔氏菌侵染引起的青枯病的严重威胁^[5]。为了应对蔬菜作物连作障碍,研究和实践中均提出一系列方法,包括化学熏蒸、有益菌剂施用、土壤强还原处理(Reductive soil disinfestation, RSD)等。

RSD是通过向土壤施加大量易分解有机物料、灌溉和覆膜等手段,创造土壤强还原环境,在2~4周内实现连作障碍因子消减的一种作物种植前土壤处理方法。现有研究表明,RSD可以有效消除土壤酸化、次生盐渍化、土传致病菌和根结线虫^[6-8]。因其具备绿色、高效和作用效果全面等特点,在作物连作障碍防治中展现出较好的应用效果和前景^[9]。RSD处理过程中厚壁菌门梭菌科等厌氧微生物大量繁殖,通过厌氧分解有机物产生乙酸等小分子有机酸,进而杀灭多种土传致病微生物^[10-11]。这一机制被认为是RSD具有高效土传病害防控效果的主要原因。然而,近期研究表明,与棉隆熏蒸和热消毒处理不同,RSD处理后的土壤即使回接致病菌至处理前水平,植物病害仍然可以得到有效抑制,表明除杀灭致病菌之外,RSD处理对土壤微生物群落的调控作用同样在其抑制植物病害过程中发挥着不可忽视的作

用^[12]。

土壤微生物群落成员之间存在广泛且复杂的联系,众多研究表明,微生物之间的互作在决定土壤多种生态功能中发挥着重要的作用。例如,食细菌线虫和细菌的互作可增强土壤有益芽孢杆菌的比例,从而促进植物健康^[13];通过调控细菌和真菌的互作可实现植物病害的高效防控^[14]。然而,RSD处理对于微生物互作,尤其是跨界微生物互作的影响,以及其在RSD抑病机制中发挥的作用仍然不明。本研究基于两处田间试验,深入探究RSD处理对土壤细菌-真菌-原生生物之间相互作用的影响,明确微生物界内和界间互作在抑制植物病害、促进植物生长中所起的作用,以期为全面理解RSD的作用机制提供全新的认知维度。

1 材料与方法

1.1 试验设计

田间试验于银川(YC)和吴忠(WZ)番茄种植大棚中进行,土壤类型分别为灌淤土和灰钙土。土壤pH分别为7.98和7.84;有机质分别为19.6和12.1 g·kg⁻¹;全氮分别为2.19和1.61 g·kg⁻¹。RSD处理材料为甘蔗制糖副产物糖粉,其有机碳含量为347.8 g·kg⁻¹,全氮含量为16.8 g·kg⁻¹。每个大棚中设置CK和RSD处理,每个处理3个重复小区,每个小区面积150 m²。于2023年7—8月开展RSD处理,将糖粉以3 t·hm⁻²的添加量施入土壤,灌溉土壤至水分饱和,随后在处理地块表面覆盖塑料薄膜(厚度0.04 mm)并维持25 d。处理期间环境温度为22~38℃。处理结束后移除薄膜,土壤翻耕晾晒5 d后种植番茄(京采6号),常规水肥管理。2024年1月统计番茄长势、发病率和产量,并采集土壤样品。每个小区采集10个土壤样品混合为一个重复。

1.2 土壤DNA提取与微生物定量分析

称取0.5 g鲜土,采用试剂盒FastDNA SPIN Kit提取土壤总DNA。所有DNA样品的浓度和纯度经DS-11超微量分光光度计检测,随后置于-80℃冰箱保存待用。采用QuanStudio 3 Real-Time PCR system对土壤细菌、真菌、尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌以及茄科劳尔氏菌进行定量分析,用于定量细菌16S rDNA(Eub338F/Eub518R)、真菌(ITS1F/ITS2R)、尖孢镰刀菌(ITS1F/AFP308R)、腐皮镰刀菌(ITS1F/AFP346R)以及立枯丝核菌(ST-RS1F/ITS4R) ITS基因的引物和扩增条件参照文献[15-19]。各基因的扩增效率均介于90%~110%之间。

1.3 土壤微生物扩增子测序及数据处理

分别采用515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和907R(5'-TACCCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')、ITS1(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')、FWTAReuk454F(5'-CCAGCASCYGCGTAATTCC-3')和REVTAReukR(5'-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3')引物扩增土壤细菌16S rDNA、真菌ITS以及原生生物18S rDNA序列。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,样品分别等摩尔混合后进行高通量测序。高通量测序在Illumina Miseq(Genesky Biotechnologies, Inc.)平台上进行。下机数据上传至NCBI,登录号为PRJNA1270774。原始数据导入QIIME2(版本2021.4)中进行处理和分析。对测序质量进行评估,并使用DADA2插件(版本1.24.0)对低质量序列进行过滤,该插件对数据进行去噪并生成了扩增子序列变异体(Amplicon Sequence Variants, ASVs)。分别基于Greengene、Unite和pr2数据库对细菌、真菌和原生生物ASV进行分类注释。采用R软件“picante”包“diversity”函数计算各样品Shannon-Weiner(Shannon)指数,用于表征微生物多样性。

1.4 统计分析

使用 R 软件（版本 4.3.0）和 SPSS（版本 22.0）进行统计分析。采用独立样本 t 检验对 RSD 处理与对照之间的差异进行显著性检验，单因素方差分析（One-way ANOVA）配合邓肯新复极差法检验多组间微生物数量均值差异的显著性，双因素方差分析（Two-way ANOVA）计算处理方式和位置对植物指标和微生物特征的交互影响。基于 Bray-Curtis 相似性矩阵，采用“phyloseq”包对微生物群落结构进行主坐标分析（Principal Co-ordinates Analysis, PCoA），并用“vegan”包通过置换多因素方差分析（PERMANOVA）进行差异显著性检验。使用“edgeR”函数进行对照和处理组差异 ASV 分析，通过“cor.test”函数计算植物株高、产量、发病率与微生物特征之间的 Spearman 相关性系数。

为量化微生物类群间的相互作用关系强度，对细菌、真菌、原生生物的群落内聚力（Community cohesion）进行计算^[20]：首先将平均相对丰度小于 0.02% 的 ASV 去除，计算剩余 ASV 之间 Spearman 相关性矩阵；通过控制变量零模型对微生物类群间的相关性进行估计得到预期相关矩阵，将实际相关性矩阵减去由零模型产生的预期相关性矩阵得到修正后的相关性矩阵。对每个 ASV 与其他 ASV 之间的正相关和负相关系数分别求和后取平均，从而得到每个 ASV 的正/负连通性。然后用每个 ASV 的连通性乘以其相对丰度，并将各处理中所有 ASV 的结果相加，即群落内聚力。计算公式如下：

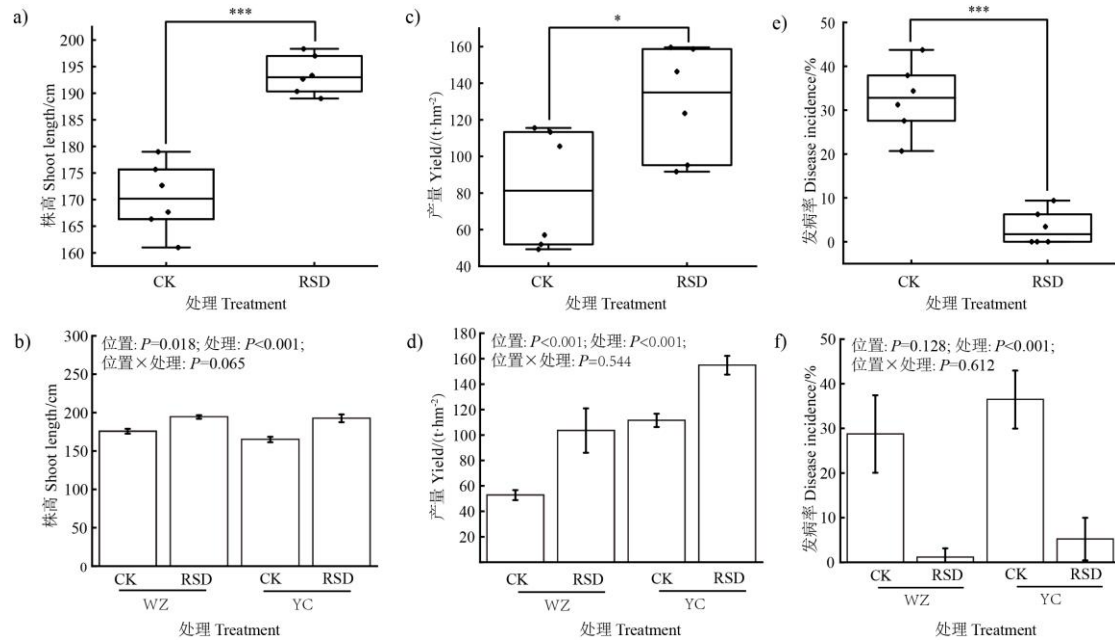
$$\text{cohesion}(j) = \sum_{i=1}^n a_i \times c_i$$

式中， n 为样本 j 中 ASV 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。若 $c_i > 0$ ，则为正内聚力；若 $c_i < 0$ ，则为负内聚力。群落负内聚力和正内聚力的取值范围分别为 -1~0 和 0~1，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越强。

2 结果

2.1 植物长势、产量和发病率

如图 1a 所示，与 CK 处理的 170.4 cm 相比，RSD 处理后两地番茄的平均株高显著提高至 193.4 cm ($P < 0.001$)，增幅为 13.5%。双因素方差分析显示，处理方式 ($P < 0.001$) 和位置 ($P < 0.05$) 均对株高产生显著影响，但两者无交互作用。银川土壤经 RSD 处理后番茄株高上升幅度 (16.7%) 高于吴忠土壤 (10.6%) (图 1b)。同时，RSD 处理后番茄产量从 CK 处理的 82.1 t·hm⁻² 显著增至 129.2 t·hm⁻² ($P < 0.05$)，上升幅度为 57.3% (图 1c)。处理方式 ($P < 0.001$) 和位置 ($P < 0.001$) 均对番茄产量产生显著影响。吴忠土壤 (96.1%) 经 RSD 处理后番茄产量上升幅度显著大于银川 (38.9%) (图 1d)。此外，RSD 处理显著降低了番茄的发病率 ($P < 0.001$)，从 CK 处理的 32.6% 降至 3.18%，防控效果高达 90.3% (图 1e)。处理方式对番茄发病率有显著影响 ($P < 0.001$)，而位置的影响不显著，且两者无交互效应。吴忠地区番茄发病率下降 96.0%，银川地区下降 85.7% (图 1f)。



注: a)、c)和e) 图为 CK 与 RSD 处理之间单因素比较; b)、d)和f) 图为两地 CK 与 RSD 处理的双因素比较。WZ 和 YC 分别表示吴忠和银川。*、**和***分别表示 $P<0.05$ 、 0.01 和 0.001 。下同。Note: Figures a, c, and e represent univariate comparison between CK and RSD treatments. Figures b, d, and f represent two-factor comparison of CK and RSD treatments in two locations. WZ and YC denote Wuzhong and Yinchuan, respectively. *, **, and *** denote $P<0.05$, 0.01 , and 0.001 , respectively. The same below.

图 1 RSD 处理对植物长势、产量和发病率的影响

Fig.1 Effects of reductive soil disinfestation on plant growth tendency, yield, and disease incidence

2.2 土壤微生物数量及群落 α 和 β 多样性

由表 1 可知, 细菌数量在两个地区不同处理组间无显著差异, 吴忠土壤 RSD 处理后真菌数量显著 ($P<0.05$) 高于 CK 组。尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌数量在不同处理组间差异显著, 且两个地区的土壤经 RSD 处理后数量均显著 ($P<0.05$) 降低, 吴忠土壤尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌数量分别降低 96.0%和 91.9%, 银川土壤分别降低 98.3%和 99.6%。然而, 茄科劳尔氏菌的数量在 CK 和 RSD 处理组间无显著差异。

表 1 CK 和 RSD 处理土壤中细菌、真菌及病原菌数量

Table 1 The number of bacteria, fungi and pathogens in the CK and RSD-treated soils

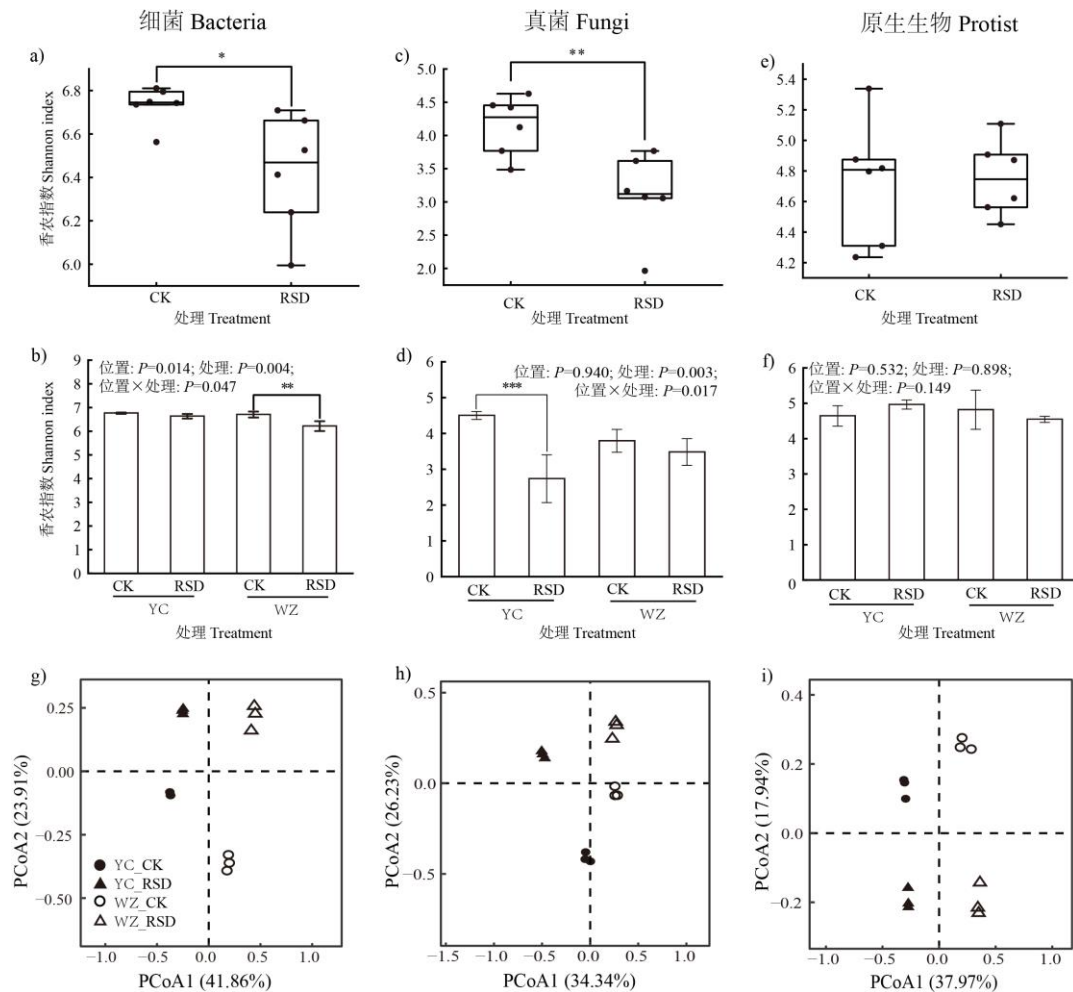
处理 Treatment	细菌 Bacteria /lg(copies·g ⁻¹ soil)	真菌 Fungi /lg(copies·g ⁻¹ soil)	尖孢镰刀菌 (FO) /lg(copies·g ⁻¹ soil)	腐皮镰刀菌 (FS) /lg(copies·g ⁻¹ soil)	茄科劳尔氏菌 (RS) /lg(copies·g ⁻¹ soil)
WZ_CK	9.84±0.04a	8.83±0.12b	7.05±0.33a	6.18±0.42a	5.02±0.44a
WZ_RSD	9.96±0.09a	9.31±0.12a	5.49±0.67b	5.19±0.06b	5.05±0.06a
YC_CK	9.91±0.01a	8.66±0.12b	6.35±0.22ab	6.51±0.36a	4.63±0.03ab
YC_RSD	9.77±0.19a	8.75±0.06b	4.31±0.63c	4.06±0.48c	4.29±0.05b

注: 同一列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。FO、FS、RS 分别为 *Fusarium oxysporum*、*F. solani* 和 *Ralstonia solanacearum*。Note: Different letters represent significant differences among the four treatments at 0.05 level. FO, FS, and RS represent *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, and *Ralstonia solanacearum*, respectively.

处理前后细菌、真菌和原生生物 Shannon 指数分析结果表明, RSD 处理显著 ($P<0.05$)

降低了细菌的 Shannon 指数 (图 2a)。双因素方差分析表明, 位置 ($P<0.05$) 和处理方式 ($P<0.01$) 均对细菌 Shannon 指数有显著影响, 且两者具有交互效应 ($P<0.05$)。其中吴忠土壤 RSD 处理后 Shannon 指数降低 7.27%, 而银川土壤无显著差异 (图 2b)。真菌 Shannon 指数经 RSD 处理后也显著降低 ($P<0.01$) (图 2c), 位置对其无显著影响, 但处理方式影响较为显著 ($P<0.01$), 且两者具有交互效应 ($P<0.05$)。RSD 处理后银川土壤的真菌 Shannon 指数降低了 39.3%, 吴忠地区处理前后无显著差异 (图 2d)。综上, RSD 处理显著影响了细菌和真菌的 Shannon 指数, 但对原生生物群落无显著影响 (图 2e、图 2f)。

PCoA 结果表明, 与 CK 相比, RSD 处理显著改变了土壤细菌 ($R^2=0.25$, $P=0.006$) 和真菌 ($R^2=0.26$, $P=0.004$) 的群落结构, 且不同地区微生物群落结构差异显著。对于细菌群落, PCoA1 和 PCoA2 分别解释了 41.9%和 23.9%的群落变异, 真菌群落中分别解释了 34.3%和 26.2%的群落变异。PERMANOVA 结果表明, 处理方式对原生生物群落结构无显著影响 ($R^2=0.18$, $P=0.07$), 但 CK 组和 RSD 组在 PCoA2 上有分离趋势, 这在一定程度上暗示不同处理对原生生物群落结构产生了影响。



注: 图 a)、c) 和 e) 为 CK 与 RSD 处理之间单因素比较; 图 b)、d) 和 f) 为两地 CK 与 RSD 处理的双因素比较; 图 g)、h) 和 i) 分别为细菌、真菌和原生生物群落基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析。Note: Figures a, c, and e represent univariate comparison between CK and RSD treatments. Figures b, d, and f represent two-factor comparison of CK and RSD treatments in two locations. Figures g, h, and i represent the principal coordinates analyses of bacterial, fungal, and protistan communities based on Bray-Curtis distance, respectively.

图 2 RSD 处理对土壤细菌、真菌和原生生物 alpha 及 beta 多样性的影响

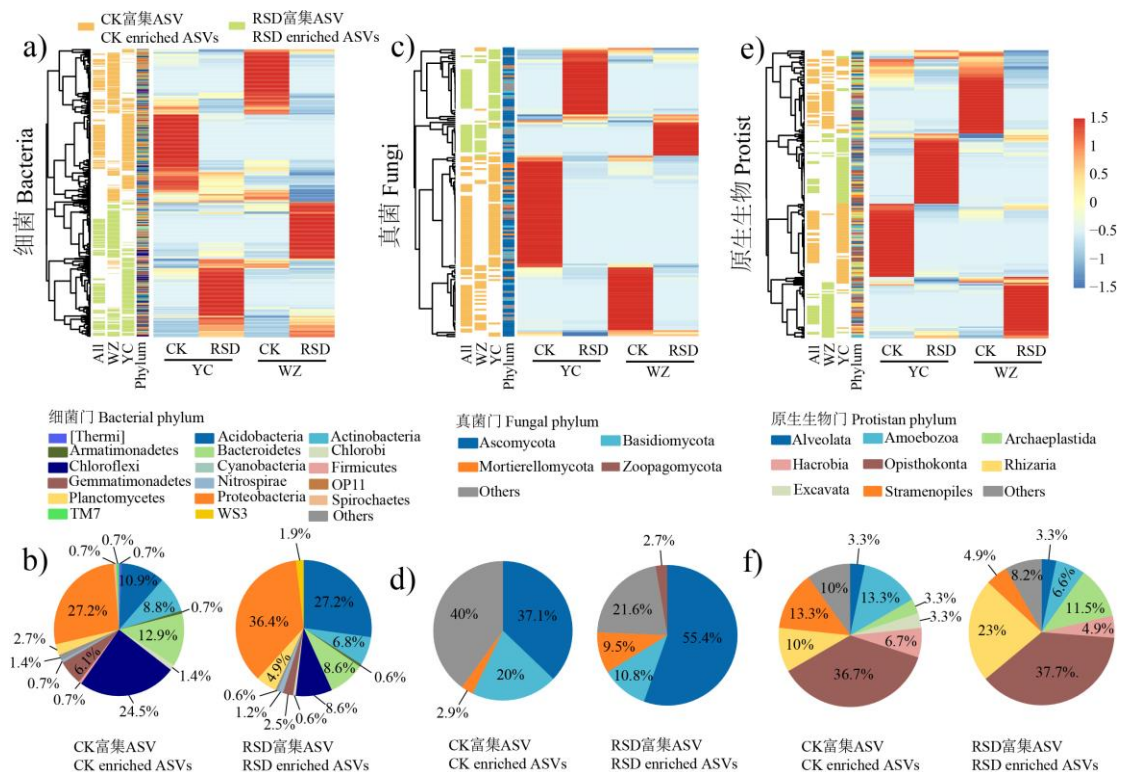
Fig. 2 Effects of reductive soil disinfestation on alpha and beta diversities of soil bacteria, fungi, and protists

2.3 土壤细菌、真菌和原生生物群落组成

筛选了平均相对丰度大于 0.02% 的 ASV 分析 CK 和 RSD 处理间的差异微生物类群, 经过滤, 共有 619 个细菌 ASV、147 个真菌 ASV 和 197 个原生生物 ASV 用于该分析。结果表明, RSD 处理显著改变了土壤微生物群落的 ASV 组成。由图 3a 可知, 两个地区总体土壤中 CK 富集的细菌 ASV 有 162 个, RSD 富集的有 147 个。其中, 银川土壤中 CK 和 RSD 富集的细菌 ASV 分别为 187 个和 178 个, 吴忠土壤中为 180 个和 158 个。CK 富集的 ASV 中 Proteobacteria (27.2%) 和 Chloroflexi (24.5%) 为优势门, 而 RSD 处理改变了微生物的组成, 其所富集 ASV 中 Proteobacteria 占比有所上升 (36.4%), 与 Acidobacteria (27.2%) 一同成为 RSD 富集 ASV 中的优势门 (图 3b)。

如图 3c 所示, 吴忠和银川总体土壤中 CK 和 RSD 富集的真菌 ASV 分别为 74 个和 35 个, CK 富集的真菌类群更多。其中, 银川土壤 CK 富集 61 个真菌 ASV, RSD 富集 35 个, 吴忠土壤 CK 和 RSD 富集的真菌 ASV 分别为 31 和 18 个。CK 富集的真菌 ASV 中 Ascomycota (37.1%) 和 Basidiomycota (20.0%) 为优势类群, RSD 处理后 Ascomycota、Basidiomycota 仍为优势类群, 但 Ascomycota 数量显著上升至 55.4%, Basidiomycota 下降至 1.08% (图 3d)。

如图 3e 所示, 两地总体土壤中 CK 富集的原生生物 ASV 多于 RSD, 分别为 61 和 30 个。其中, 银川地区 CK 富集 66 个, RSD 富集 50 个 ASV, 吴忠地区 CK 和 RSD 分别富集 42 和 43 个 ASV。从两种处理方式富集原生生物类群门水平的数量占比来看, CK 富集原生生物 ASV 中, Opisthokonta (36.7%)、Stramenopiles (13.3%) 和 Amoebozoa (13.3%) 为优势类群。RSD 处理后 Opisthokonta (37.7%) 仍最为普遍, 且 Rhizaria (23%) 和 Archaeplastida (11.5%) 成为优势类群 (图 3f)。



注: 图 a)、c) 和 e) 分别为在 CK 和 RSD 处理间具有显著差异的细菌、真菌和原生生物 ASVs; 图 b)、d) 和 f) 分别为 CK 和 RSD 所富集 ASV 在门水平上的个数比例。Note: Figures a, c, and e represent the differential bacterial, fungal, and protistan ASVs between CK and RSD treatments, respectively. Figures b, d, and f represent the proportion at the phylum level of CK and RSD enriched ASVs.

图 3 CK 与 RSD 处理间差异微生物类群

Fig. 3 Differential microbial groups between CK and RSD treatments

2.4 微生物群落内聚力

选取平均相对丰度大于 0.02% 的 619 个细菌 ASV、147 个真菌 ASV 和 197 个原生生物 ASV 计算单界和跨界内聚力。由表 2 可知, RSD 处理对土壤细菌单界和原生生物单界内聚力影响显著, 但对真菌单界内聚力无显著影响。其中 RSD 处理的土壤细菌正内聚力 ($P<0.001$)、总内聚力 ($P<0.001$) 以及原生生物的正内聚力 ($P<0.01$)、|负内聚力| ($P<0.01$)、总内聚力 ($P<0.01$) 以及|负内聚力:正内聚力| ($P<0.05$) 均显著高于 CK 处理组。RSD 处理前后微生物之间两两跨界内聚力也有显著差异, 其中, 细菌-真菌的正内聚力 ($P<0.001$)、总内聚力 ($P<0.001$) 以及细菌-原生生物的正内聚力 ($P<0.001$)、|负内聚力| ($P<0.01$) 和总内聚力 ($P<0.001$) 经 RSD 处理后均显著升高, 真菌-原生生物的正内聚力 ($P<0.05$) 和总内聚力 ($P<0.01$) 也显著升高。同时, RSD 处理也对三界微生物之间的跨界内聚力有显著影响, 细菌-真菌-原生生物的正内聚力 ($P<0.001$)、|负内聚力| ($P<0.001$) 和总内聚力 ($P<0.001$) 均显著高于 CK 处理。

表 2 土壤微生物群落正内聚力、|负内聚力|、总内聚力及|负内聚力:正内聚力|

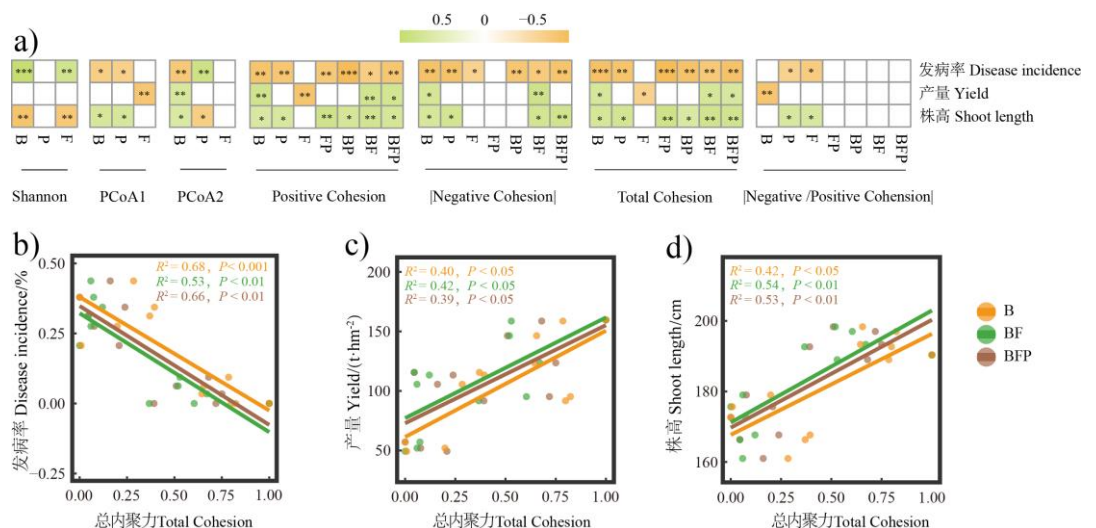
Table 2 Positive cohesion, |negative cohesion|, total cohesion and |negative cohesion : positive cohesion| of soil microbial communities

内聚力指数 Cohesion index	处理 Treat ment	B	F	P	BF	BP	FP	BFP
正内聚力	CK	0.32b	0.39	0.39b	0.74b	0.72b	0.76b	1.14b
Positive cohesion	RSD	0.36a	0.39	0.42a	0.82a	0.78a	0.81a	1.23a
负内聚力	CK	0.24	0.20	0.23b	0.47	0.49b	0.47	0.70b
Negative cohesion	RSD	0.27	0.21	0.26a	0.53	0.54a	0.49	0.77a
总内聚力	CK	0.56b	0.59	0.61b	1.21b	0.23b	1.23b	1.84b
Total cohesion	RSD	0.62a	0.59	0.68a	1.35a	0.24a	1.30a	2.00a
负内聚力:正内聚力	CK	0.75	0.50	0.58b	0.63	0.68	0.61	0.61
Negative / Positive cohesion	RSD	0.74	0.53	0.63a	0.65	0.69	0.60	0.63

注: 不同小写字母表示 CK 与 RSD 处理间具有显著差异。B、F 和 P 分别代表细菌、真菌和原生生物群落。Note: Different letters represent significant differences between CK and RSD treatments. B, F, and P represent bacterial, fungal, and protistan communities, respectively.

2.5 微生物特征与植物发病率、产量和株高的相关性

由图 4a 可知, 细菌和真菌的 Shannon 多样性与植物株高呈显著 (细菌: $P<0.01$; 真菌: $P<0.01$) 负相关, 与发病率呈显著正相关 (细菌: $P<0.001$; 真菌: $P<0.01$), 但原生生物的 Shannon 多样性与其无显著相关性。细菌和原生生物的 PCoA1 和 PCoA2 与株高和发病率具有较强的关联, 真菌的 PCoA1 与产量显著负相关 ($P<0.01$), 表明土壤微生物多样性和群落结构影响了植物生长。值得注意的是, 微生物群落之间的多种内聚力指标与番茄发病率、株高和产量均有较强的关联性 (图 4a)。如图 4b-图 4d 所示, 细菌、细菌-真菌和细菌-真菌-原生生物的总内聚力与番茄发病率呈显著负相关, 与产量和株高呈显著正相关, 表明番茄的发病率、产量和株高均受到细菌单界和原生-真核跨界内聚力的重要影响。



注：图 a) 表示基于 spearman 相关性分析得出的土壤微生物性质与植物生长状态的关联。*、**和***分别表示 $P < 0.05$ 、0.01 和 0.001。B、F 和 P 分别代表细菌、真菌和原生生物群落。图 b)、c) 和 d) 分别表示细菌群落 (B)、细菌-真菌 (BF) 和细菌-真菌-原生生物 (BFP) 跨界群落总内聚力对植物发病率 (b)、产量 (c) 和株高 (d) 的影响。Note: Figure a represents the relationships between microbial characteristics and plant performance based on spearman correlation analysis. *, **, and *** denote $P < 0.05$, 0.01, and 0.001, respectively. B, F, and P represent bacterial, fungal, and protistan communities, respectively. Figures b, c, and d represent the effects of the total community cohesions of bacteria (B), bacteria-fungi (BF), and bacteria-fungi-protists (BFP) on plant disease incidence(b), yield(c), and shoot length(d), respectively.

图 4 微生物特征与植物发病率、产量和株高的关联性

Fig. 4 The correlations between microbial characteristics and plant disease incidence, yield, and shoot length

3 讨论

本研究表明, RSD 显著降低了番茄青枯病发病率、提高了存活植株株高和番茄产量, 且效果在两地表现出一致性。这与先前针对黄瓜、洋桔梗、三七、西瓜等其他作物的试验结果一致^[21-24]。先前研究表明, RSD 处理中厚壁菌门梭菌科等厌氧微升大量繁殖, 通过分解所添加有机物产生乙酸和丁酸等小分子有机酸, 可杀灭包括尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌、茄科劳尔氏菌等多种土传致病菌, 进而有效抑制植物病害发生^[25-27]。与之相似, 本研究同样发现 RSD 处理后两地的尖孢镰刀菌和腐皮镰刀菌的丰度均显著下降。然而, 茄科劳尔氏菌的丰度并无显著变化, 这可能是土壤本底茄科劳尔氏菌丰度降低的原因所致。该结果同时说明土壤致病菌的丰度并不是决定病害发生的唯一因素, 植物健康还受到土壤微生物群落特征的重要影响, 这也被随微生物特征与植物生长指标相关性的分析结果所证实。

本研究发现, RSD 处理后土壤细菌和真菌群落多样性均有下降趋势, 与先前研究结果相似^[28-29]。然而土壤原生生物群落多样性并未呈现显著变化, 表明不同微生物类群对 RSD 处理的敏感性呈现差异。一般认为, 较高的土壤微生物多样性可维持土壤微生物群落稳定性和功能多样性, 从而有效抵御植物致病菌的入侵和植物病害的爆发^[30]。然而, 本研究中 RSD 处理以较低的细菌和真菌多样性取得了更高的抑病和促生效果, 表明土壤微生物多样性与植物生长和健康的关系因具体环境而异。进一步分析发现, RSD 处理对微生物群落组成具有较大影响, 但两地 RSD 处理土壤中富集了不同的细菌、真菌和原生生物 ASV, 说明土壤初始性质影响了微生物对 RSD 处理的响应。此外, 先前研究已揭示了多种土壤中细菌和真菌类群对 RSD 处理的响应, 但 RSD 对原生生物群落的影响关注较少^[12, 31-32]。我们发现 RSD

处理富集了原生生物的 Rhizaria。Rhizaria 是一个近来备受关注的捕食性原生动物类群, 在土壤系统中广泛存在并发挥重要的生态作用^[33]。研究表明, 捕食性原生动物可以通过由上至下的方式调节土壤细菌类群, 从而抑制番茄青枯病的发生^[34], 说明 RSD 处理对微生物互作的影响及其在植物病害抑制过程中发挥的作用值得关注。

微生物之间相互作用在维持植物-土壤系统生产力、多功能性和稳定性中发挥重要作用^[35-36]。有研究发现, 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/正内聚力的比值等, 塑造一个相互作用关系更加稳定的微生物群落^[30]。近期研究表明, 土壤细菌与植物根部的丛植菌根菌根协同作用, 强烈促进植物生长、氮素吸收和菌根化^[37]。捕食性原生生物刺激植物微生物群中的抑病芽孢杆菌, 最终提高植物的健康状况和产量^[38]。食细菌线虫倾向于捕食非抗病原菌细菌, 进而促进枯草芽孢杆菌富集抑制番茄青枯病菌^[13]。通过细菌和真菌之间相互作用的基因水平调控可实现植物病害的高效防控^[39]。上述研究均表明, 微生物之间相互作用, 尤其是跨界互作, 对植物生长和健康产生重要影响。与之相似, 本研究结果表明, 番茄发病率、产量和株高均受到微生物互作强度的影响, 其中细菌界内互作、细菌-真菌和细菌-真菌-原生生物跨界互作影响最大。这些结果表明 RSD 处理可能通过影响细菌类群调节细菌群落互作, 并进一步将这种影响传递到细菌与真菌及原生生物的互作上, 最终实现植物病害的抑制和产量的提升。RSD 处理过程中大量可利用有机碳源的输入, 对微生物营养代谢网络具有极大的影响, 可通过交叉喂养、资源竞争等途径增强微生物之间的互作^[40]。进一步研究可关注引起微生物跨界互作改变的关键类群及其调控机制, 为微生物互作的精准靶向调控提供理论依据。

4 结 论

RSD 处理显著降低了番茄青枯病的田间发生率, 提高了存活植物的长势和产量, 是一种调控设施蔬菜连作障碍土壤的有效措施。RSD 处理显著降低了土壤植物致病菌尖孢镰刀菌和腐皮镰刀菌的丰度, 降低了土壤细菌和真菌群落多样性, 富集了细菌 Proteobacteria、真菌 Ascomycota 和原生生物 Rhizaria 等。尤为重要的是 RSD 处理显著提升细菌、细菌-真菌以及细菌-真菌-原生生物跨界群落内聚力, 而这些群落互作特征与植物发病率、株高和产量具有一致且较强的关联。以上结果说明土壤微生物群落互作对植物健康具有重要影响, 且 RSD 对于土壤微生物群落界内和跨界互作调控应该是其有效防控植物土传病害发生的重要机制之一。进一步研究可从微生物营养竞争、互补以及关键节点类群等角度深入揭示 RSD 处理调控微生物群落互作的机制, 为土壤健康的靶向精准调控提供理论支撑。

参考文献 (References)

- [1] Liu S Z. Investigation of soil obstacle factors and analysis of influencing factors in facility vegetable areas—A case study of Suzhou City[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2020. [刘书哲. 设施蔬菜地土壤障碍因子调查与影响因素分析[D]. 南京: 南京师范大学, 2020.]
- [2] Xu B, Xu J, Qi J H, et al. Soil physical, chemical and biological characteristic analysis of long-term vegetable monoculture in greenhouse in Jiangsu Province[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2019, 35(5): 1124-1129. [徐彬, 徐健, 祁建杭, 等. 江苏省设施蔬菜连作障碍土壤理化及生物特征[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(5): 1124-1129.]
- [3] Zhou Y S. Causes and biological control of vegetable continuous cropping obstacles[J]. Agriculture and Technology, 2018, 38(22): 9-10. [周义苏. 蔬菜连作障碍产生原因与生物防治[J]. 农业与技术, 2018, 38(22): 9-10.]
- [4] Yang L Q, Huang B, Mao M C, et al. Sustainability assessment of greenhouse vegetable farming practices from environmental, economic, and socio-institutional perspectives in China[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(17): 17287-

17297.

- [5] Liu L L, Chen Z Y, Su Z, et al. Soil pH indirectly determines *Ralstonia solanacearum* colonization through its impacts on microbial networks and specific microbial groups[J]. Plant and Soil, 2023, 482(1): 73-88.
- [6] Uematsu S, Tanaka -Miwa C, Sato R, et al. Ethyl alcohol as a promising material of reductive soil disinfestation for controlling root knot nematode and soilborne plant disease[C]. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, 2007, 75.1-75.3.
- [7] Messiha N A S, van Diepeningen A D, Wenneker M, et al. Biological Soil Disinfestation (BSD), a new control method for potato brown rot, caused by *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2[J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 117(4): 403-415.
- [8] Huang X Q, Wen T, Meng L, et al. The inhibitory effect of quickly and intensively reductive soil on *Fusarium oxysporum*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(16): 4526-4534. [黄新琦, 温腾, 孟磊, 等. 土壤快速强烈还原对于尖孢镰刀菌的抑制作用[J]. 生态学报, 2014, 34(16): 4526-4534.]
- [9] Zhu W J, Wang X G. Advances in method of reductive soil disinfestation[J]. Soils, 2020, 52(2): 223-233. [朱文娟, 王小国. 强还原土壤灭菌研究进展[J]. 土壤, 2020, 52(2): 223-233.]
- [10] 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.]
- [11] Huang X Q, Liu L L, Wen T, et al. Changes in the soil microbial community after reductive soil disinfestation and cucumber seedling cultivation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(12): 5581-5593.
- [12] Zhou X, Zhang Q, Yan Y Y, et al. Effects of soil management strategies based on different principles on soil microbial communities and the outcomes for plant health[J]. Biological Control, 2025, 201: 105708.
- [13] Xu X, Jiang R Q, Wang X L, et al. *Protorhabditis* nematodes and pathogen-antagonistic bacteria interactively promote plant health[J]. Microbiome, 2024, 12(1): 221.
- [14] 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.
- [15] Dorsch M, Lane D, Stackebrandt E. Towards a phylogeny of the genus *Vibrio* based on 16S rRNA sequences[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1992, 42(1): 58-63.
- [16] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695-700.
- [17] Durán P, Thiergart T, Garrido-Oter R, et al. Microbial interkingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival[J]. Cell, 2018, 175(4): 973-983.e14.
- [18] Lievens B, Brouwer M, Vanachter A C R C, et al. Real-time PCR for detection and quantification of fungal and oomycete tomato pathogens in plant and soil samples[J]. Plant Science, 2006, 171(1): 155-165.
- [19] Lievens B, Brouwer M, Vanachter A C R C, et al. Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA macroarray[J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(11): 1698-1710.
- [20] 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.
- [21] Zhu T B, Meng T Z, Zhang J B, et al. Effects of strong reductive approach on remediation of degraded facility vegetable soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(9): 2619-2624. [朱同彬, 孟天竹, 张金波, 等. 强还原方法对退化设施蔬菜地土壤的修复[J]. 应用生态学报, 2013, 24(9): 2619-2624.]
- [22] Zhou X. Effects of organic resources on soil-borne disease of crops and its microbial mechanisms[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2022. [周杏. 有机碳源对作物土传病害发生的影响及其微生物学机制研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2022.]

- [23] 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.]
- [24] Liu L L, Zhou K S, Huang X Q, et al. Effects of reductive soil disinfestation during low-temperature stubble free period on the control of watermelon *Fusarium* wilt[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2021, 32(8): 2967-2974. [刘亮亮, 周开胜, 黄新琦, 等. 低温茬口空闲期土壤强还原消毒对西瓜枯萎病的影响[J]. 应用生态学报, 2021, 32(8): 2967-2974.]
- [25] Xia Q, Luo C, Zeng L B, et al. Effect of reductive soil disinfestation mitigating adverse factors for growth of replanted Longya Lily (*Lilium brownii* var. *viridulum*)[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(1): 183-193. [夏青, 罗晨, 曾粮斌, 等. 强还原土壤处理对再植龙牙百合生长不利因子的消减作用[J]. 土壤学报, 2022, 59(1): 183-193.]
- [26] Yan Y Y, Zhou K S, Zhang J B, et al. Influencing factors to improvement effect of reductive soil disinfestation on continuous cropping diseased soil[J]. Soils, 2022, 54(3): 508-516. [闫元元, 周开胜, 张金波, 等. 强还原土壤灭菌处理对连作病土改良效果的影响因素[J]. 土壤, 2022, 54(3): 508-516.]
- [27] Yan Y Y, Xie Y, Zhang J Q, et al. Effects of reductive soil disinfestation combined with liquid-readily decomposable compounds and solid plant residues on the bacterial community and functional composition[J]. Microbial Ecology, 2023, 86(2): 1132-1144.
- [28] Yin C J, Liu M L, Zhong X F, et al. Effects of reductive soil disinfestation and organic fertilizer application on microbial community stability in a facility vegetable soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2024, 35(5): 1293-1300. [尹春江, 刘茂兰, 钟羨芳, 等. 强还原处理和施用有机肥对设施蔬菜地土壤微生物群落稳定性的影响[J]. 应用生态学报, 2024, 35(5): 1293-1300.]
- [29] Chen H J, Liao H K, Long J, et al. Effects of reductive soil disinfestation on soil protist community[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2024, 33(4): 539-547. [陈弘杰, 廖洪凯, 龙健, 等. 强还原土壤灭菌对土壤原生生物群落的影响[J]. 生态环境学报, 2024, 33(4): 539-547.]
- [30] Zhao J, Zhang J Q, Lin Y L, et al. Correlation between the stability and function of soil microbial community driven by reductive soil disinfestation[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(1): 187-199. [赵军, 张晶清, 林于蓝, 等. 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.]
- [31] Liu L L, Yan Y Y, Ali A, et al. Deciphering the *Fusarium*-wilt control effect and succession driver of microbial communities managed under low-temperature conditions[J]. Applied Soil Ecology, 2022, 171: 104334.
- [32] Zhao Y X, Liao H K, Ran T S, et al. Changes in rhizosphere soil bacterial, fungal, and protistan communities during tomato (*Solanum lycopersicum*) growth after reductive soil disinfestation[J]. Plant and Soil, 2025, 506(1): 573-589.
- [33] Burki F, Keeling P J. Rhizaria[J]. Current Biology, 2014, 24(3): R103-R107.
- [34] Xiong W, Song Y Q, Yang K M, et al. Rhizosphere protists are key determinants of plant health[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 27.
- [35] Du Y, Yang Y, Wu S N, et al. Core microbes regulate plant-soil resilience by maintaining network resilience during long-term restoration of alpine grasslands[J]. Nature Communications, 2025, 16: 3116.
- [36] Long X W, Li J N, Liao X H, et al. Stable soil biota network enhances soil multifunctionality in agroecosystems[J]. Global Change Biology, 2025, 31(1): e70041.
- [37] Zhang C F, van der Heijden M G A, Dodds B K, et al. A tripartite bacterial-fungal-plant symbiosis in the mycorrhiza-shaped microbiome drives plant growth and mycorrhization[J]. Microbiome, 2024, 12(1): 13.
- [38] Guo S, Tao C Y, Jousset A, et al. Trophic interactions between predatory protists and pathogen-suppressive bacteria impact plant health[J]. The ISME Journal, 2022, 16(8): 1932-1943.
- [39] 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.
- [40] Schäfer M, Pacheco A R, Künzler R, et al. Metabolic interaction models recapitulate leaf microbiota ecology[J]. Science, 2023, 381(6653): eadf5121.

