



炭基肥对植烟黄壤细菌、真菌群落结构和多样性的影响

陈懿¹, 吴春¹, 李彩斌², 林叶春¹, 程建中³, 潘文杰^{1*}

¹贵州省烟草科学研究所, 烟草行业山地烤烟品质与生态重点实验室, 贵州 贵阳 550081

²贵州省烟草公司毕节市公司, 贵州 毕节 551700

³中国科学院地球化学研究所, 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550081

摘要:【目的】探究施用炭基肥对植烟黄壤质量影响的微生物学机制, 为应用炭基肥培育植烟黄壤肥力提供科学依据。【方法】2016年, 以烤烟品种云烟87和贵州黄壤为供试材料, 通过大田试验, 设置不施肥(NF)、常规肥(CF, 条施有机肥和烤烟专用基肥, 穴施烤烟专用追肥)和炭基肥(BF, 条施炭基有机肥和炭基复混肥, 穴施烤烟专用追肥)3个处理, 2年后采集样品, 采用Illumina Miseq高通量测序技术, 剖析土壤细菌、真菌群落结构和多样性的响应差异, 揭示影响微生物的主要土壤因子。【结果】与NF处理和CF处理比较, BF处理烤烟产量提高, 土壤碱解氮和有效磷含量显著提高。BF处理土壤细菌OTUs数量最大(1592), 显著大于其余两处理; 土壤细菌丰富度和多样性指数最高。BF处理土壤真菌OTUs数量最小(280); 土壤真菌丰富度和多样性指数最低。BF处理土壤细菌群落物种最多样, 属于25个门, CF处理属于23个门, NF处理仅属于22个门。细菌门水平, BF处理拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相对丰度(1.50%)提高, *Latescibacteria*相对丰度(0.11%)降低; 与NF处理比较, 拟杆菌门、*Latescibacteria*相对丰度差异显著。真菌门水平, BF处理接合菌门(*Zygomycota*)相对丰度(2.18%)显著降低; 与NF处理相比, 壶菌门(*Chytridiomycota*)相对丰度(0.01%)显著降低。真菌属水平, BF处理镰刀菌属(*Fusarium*)相对丰度(5.83%)显著降低; 与NF处理相比, BF处理被孢霉属(*Mortierella*, 2.11%)、葡萄穗霉属(*Stachybotrys*, 0.90%)、链格孢属(*Alternaria*, 0.01%) (烟草赤星病病原菌)相对丰度显著降低。不同施肥处理下, 引起细菌群落结构变化的最主要土壤因子为pH, 导致真菌群落结构变化的最主要土壤因子为有效磷。【结论】炭基肥引发土壤生物化学环境改变, 进而导致土壤细菌、真菌群落结构和多样性发生变化, 优化土壤生态。

关键词: 烟草, 生物炭, 炭基肥, 黄壤, 细菌, 真菌, 高通量测序

基金项目: 国家自然科学基金(31601273, 41773144); 贵州省烟草公司毕节市公司科技项目(201652050024139)

*通信作者。E-mail: wenjiepan@163.com

收稿日期: 2019-06-10; 修回日期: 2019-10-10; 网络出版日期: 2019-10-21

贵州省是世界喀斯特地貌发育最完全的地带，喀斯特面积占全省土地面积的 73%，生态环境脆弱，石漠化和水土流失等生态退化问题较突出。喀斯特地区土壤侵蚀导致土壤氮磷等养分淋溶作用加快，加速土壤贫瘠。土壤磷主要以难溶性磷酸钙盐的形式存在，有效磷含量偏低，成为其土壤养分的主要制约因子^[1]。贵州是我国第二大烤烟种植省，其主要植烟土壤是黄壤(铝质常湿淋溶土和锥形土)，该区域为岩溶地质特征，常年长期淋溶，烤烟连作较普遍，肥料施用不合理，植烟黄壤酸化、板结，病原微生物大量繁殖，微生物群落结构失衡，致使土传病害大量发生、烟株营养不协调，烟叶品质不稳定，制约烤烟优质可持续生产^[2-3]。微生物是土壤生态系统的重要组成部分，其在土壤养分循环、有机碳的矿化-固定过程中起着关键作用^[4]，伴随着土壤的形成与发育，在维系土壤结构、保育土壤肥力等方面起着不可替代的作用，是土壤质量评价不可缺少的指标之一^[5]。为此，制定相应施肥措施改善植烟土壤微生物群落结构、培肥烟田土壤，对实现贵州烤烟优质可持续生产具有重要意义。

有机无机肥配施在改善植烟土壤生态环境的应用效果明显。陈丹梅等^[6]研究表明，长期施用化肥改变了土壤生态环境，有益于真菌生长繁殖，真菌种群增加，密度增大，优势种群突出，导致土壤真菌化。有机无机肥配施显著提高了土壤中微生物种群和数量。丁伟等^[7]关于植烟黄壤的研究报道，微生物组成、微生物碳、氮和磷脂脂肪酸的测定结果表明，土壤微生物数量以有机无机肥配施处理最多，单施化肥次之，不施肥最少。有机无机肥配施处理显著提高了土壤微生物多样性指数和优势度指数。生物炭在植烟土壤上进行了

较多的研究和应用，生物炭增加土壤含水量，改善土壤孔隙性，提高土壤阳离子交换量和养分有效性，增加根际土壤细菌丰富度和多样性，影响根际土细菌群落组成^[2, 8-9]。为可持续保育农田、减少农田污染，将生物炭作为肥料载体制成炭基肥加以应用，更有利于形成产业化，应用前景更为广阔^[10-13]。炭基肥在烟田也开展了一定的应用，施用后植烟土壤质量提升、烤烟增产提质^[14-15]。然而关于施用炭基肥影响植烟土壤质量的微生物学机制研究报道甚少，不同施肥处理下植烟土壤细菌和真菌群落的响应差异尚待研究。

针对上述问题，本次研究以贵州黄壤为试验土壤，大田设置不同施肥处理，剖析烤烟产量、土壤化学性质、土壤细菌和真菌多样性及群落结构的响应差异，揭示影响微生物群落结构的主要土壤因子，旨在促进炭基肥为贵州植烟黄壤肥力培育提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

田间试验始于 2016 年，在贵州省烟草科学研究院龙岗基地(26°52'N, 107°5'E)开展。试验土壤为黄壤，土壤基本化学性质为 pH 7.06，有机碳 26.90 g/kg，全氮 2.30 g/kg，碱解氮 132.03 mg/kg，全磷 0.92 g/kg，有效磷 26.09 mg/kg，全钾 4.98 g/kg，速效钾 288.45 mg/kg。

1.2 试验材料

供试烤烟品种为云烟 87。供试肥料包括：烤烟专用基肥(N:P₂O₅:K₂O=9:13:22)，烤烟专用追肥(N:P₂O₅:K₂O=12:0:24)，炭基复混肥(N:P₂O₅:K₂O=9:11:18)，采用玉米秸秆炭和烤烟专用基础肥复混

圆盘造粒制成, 玉米秸秆炭添加比例为 12%), 毕节灵丰复肥有限公司提供以上肥料; 有机肥(N 2%、P₂O₅ 0.6%、K₂O 0.5%、有机质 80.2%、pH 5.5)、炭基有机肥(N 2%、P₂O₅ 0.4%、K₂O 0.9%、有机质 81.0%、pH 5.5, 采用玉米秸秆炭和有机肥复混制成, 玉米秸秆炭添加比例为 20%), 金沙增孟专业合作社提供以上肥料。

1.3 试验设计

采用田间小区试验, 小区面积为 36.3 m², 随机区组排列, 烤烟移栽的株行距为 1.1 m×0.55 m。设计 3 个施肥处理: (1) 不施肥(NF); (2) 常规肥(CF) (条施有机肥、烤烟专用基肥, 穴施烤烟专用追肥); (3) 炭基肥(BF) (条施炭基有机肥、炭基复混肥, 穴施烤烟专用追肥)。每个处理设 3 次重复。具体施肥方法: 起垄前条施基肥, 烤烟专用基肥、炭基复混肥施用量是 600 kg/hm², 有机肥、炭基有机肥施用量是 750 kg/hm², 炭基肥处理分别用过磷酸钙和硫酸钾补足 P₂O₅ 和 K₂O。烤烟专用追肥在填窖时穴施, 施用量是 150 kg/hm²。按当地优质烟叶生产技术规范进行其余常规农事操作。每年施肥措施一致, 4 月底烤烟移栽, 9 月采烤结束, 烟叶采收后冬闲越冬。

1.4 土壤样品采集

2018 年 6 月 22 日, 烤烟栽后 50 d (旺长期), 用土钻对角线 5 点取样法采集 0–20 cm 耕层非根际土样, 去杂、均匀混合后四分法留取 1.5 kg。样品分两部分: 一部分用锡箔纸包裹, 迅速装入离心管, 投入液氮冷冻运输, 之后转移至–80 °C 冰箱保存, 用于土壤细菌、真菌高通量测序分析; 其余部分自然风干、研磨过筛, 用于化学性质测定。

1.5 土壤 DNA 提取与扩增、高通量测序

采用 E.Z.N.A.[®] Soil (Omega Bio-Tek, Norcross,

GA, U.S.) 试剂盒方法, 称取 0.5 g 土壤样品, 按照试剂盒操作说明提取土壤微生物总 DNA。经 DNA 浓度和纯度检测后(DNA 浓度 ≥ 10 ng/μL, A₂₆₀/A₂₈₀=1.8–2.0), 利用 ABI GeneAmp[®]9700 型 PCR, 分别针对细菌 16S rRNA、真菌 ITS 进行 PCR 引物扩增, 细菌引物为 338F (5'-ACTCCTACGGG AGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3')^[16], 真菌引物为 ITS1F (5'-CTTGG TCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R (5'-GCTG CGTTCTTCATCGATGC-3')^[17]。PCR 反应体系为 20 μL: 5×*TransStart FastPfu* 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 上游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, 下游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, *TransStart FastPfu* DNA 聚合酶 0.4 μL, DNA 模板 1 μL, 最后用灭菌 ddH₂O 补足。细菌扩增条件: 95 °C 预变性 3 min, 27 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s), 最后 72 °C 延伸 10 min。真菌扩增条件: 95 °C 预变性 3 min, 35 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s), 最后 72 °C 延伸 10 min。Miseq 文库构建和测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成, 测序平台为 Illumina Miseq PE300。测序后对有效序列进行过滤优化处理, 使用 UPARSE 软件, 以 97% 的序列相似度为标准, 进行 OTUs (operational taxonomic units) 聚类 and 物种分类注释。

1.6 土壤化学性质测定

土壤化学性质具体测定方法参考文献[18]。pH 采用电位法; 有机碳采用重铬酸钾容量法; 全氮采用凯氏法; 碱解氮采用碱解扩散法; 全磷采用碳酸钠熔融法; 有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法; 全钾采用氢氧化钠熔融火焰光度法; 速效钾采用醋酸铵浸提-火焰光度法; 阳离子交换

量采用乙酸铵交换法。

1.7 烟叶产量统计

2018年9月,烘烤结束后,将当年各小区各炕次初烤烟叶称重累加除以种植面积,统计产量。

1.8 统计与分析

利用 mothur 软件计算丰富度指数 Ace、Chao1 和多样性指数 Shannon、Simpson 指数。利用 Canoco(4.5)软件进行冗余分析(RDA)。采用 Systat Sigmaplot 10.0 制图。利用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 不同施肥处理对烤烟产量的影响

如图 1 所示,不同施肥处理烤烟产量由高至低依次为 BF 处理、CF 处理、NF 处理, BF 处理和 CF 处理烤烟产量均显著高于 NF 处理。BF 处理烤烟产量比 NF 处理显著提高 56.25%, 较 CF 处理提高 4.90%。说明施用炭基肥烤烟增产效果更佳。

2.2 不同施肥处理对植烟黄壤化学性质的影响

由表 1 可看出,不同施肥处理土壤全氮、全磷、全钾含量规律不明显,处理间差异不显著。与 NF 处理和 CF 处理比较, BF 处理土壤碱解氮

含量显著提高,增幅分别为 5.41%和 5.49%。BF 处理土壤有效磷、速效钾、有机碳含量和阳离子交换量最高, CF 处理居中, NF 处理最低;相比于 NF 处理和 CF 处理, BF 处理土壤有效磷含量分别提高 56.27%和 21.75%, 处理间差异显著;与 NF 处理比较, CF 处理和 BF 处理土壤速效钾含量显著提高,增幅分别为 69.85%和 90.19%。较之 NF 处理, CF 处理和 BF 处理土壤 pH 显著降低。

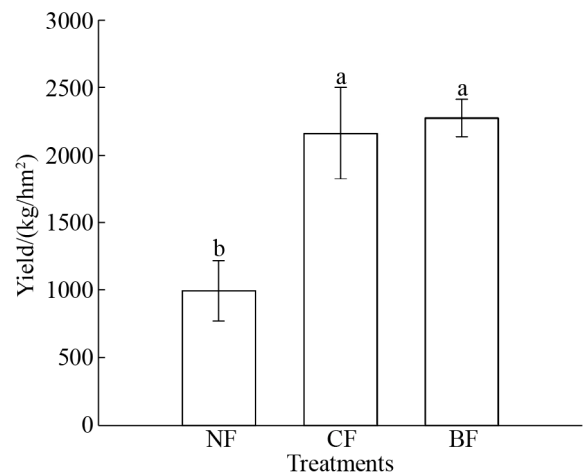


图 1. 不同施肥处理烤烟产量

Figure 1. Yield of flue-cured tobacco relative to different fertilization treatment. NF: no fertilization; CF: conventional fertilization; BF: fertilization with biochar-based fertilizer. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

表 1. 不同施肥处理土壤化学性质

Table 1. Chemical property of soil relative to different fertilization treatments

Treatments	Total N/ (g/kg)	Alkaline hydrolyzed N/(mg/kg)	Total P/ (g/kg)	Available P/ (mg/kg)	Total K/ (g/kg)	Available K/ (mg/kg)	Organic C/ (g/kg)	pH	CEC/ (cmol/kg)
NF	2.11±0.05a	126.71±4.29b	1.11±0.07a	18.87±2.67c	15.47±0.41a	351.44±106.60b	28.98±1.58a	7.51±0.03a	18.44±0.44a
CF	2.27±0.13a	126.61±2.51b	1.05±0.07a	33.76±4.28b	14.08±2.37a	596.91±82.27a	29.27±3.05a	7.12±0.20b	18.56±0.11a
BF	2.26±0.08a	133.96±1.10a	1.15±0.03a	43.14±6.07a	14.32±2.17a	668.42±108.33a	30.33±1.77a	7.13±0.24b	18.88±0.38a

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

2.3 土壤样品测序深度分析

对 9 个土壤样品中的细菌 16S rRNA V3-V4 序列过滤后, 共获得有效序列 326031 条, 平均碱基长度为 438.71 bp, 聚类共获 14272 个 OTUs, 平均测序覆盖率为 98% 以上。从 9 个土壤样品真菌测序、过滤后, 共获得有效序列 345057 条, 平均碱基长度为 267.98 bp, 聚类共获 3260 个 OTUs, 平均测序覆盖率为 99% 以上。由图 2 可知, 土壤样品中测到的细菌和真菌 OTUs 稀释曲线趋向平坦, 说明测到的 OTUs 趋于饱和。

2.4 不同施肥处理对植烟黄壤细菌、真菌群落丰富度和多样性的影响

生物种群丰富和多样性指数高是生态环境健康稳定的重要表现^[19]。Ace 和 Chao1 指数反映群

落物种丰富度。由表 2 可知, BF 处理土壤细菌群落实际观测的 OTUs 数量最大, 与其余两处理差异显著, 分别是 NF 处理和 CF 处理的 1.02 倍和 1.01 倍。BF 处理细菌群落 Ace、Chao1 和 Shannon 指数最高, CF 处理其次, NF 处理最低; BF 处理细菌群落 Ace 指数显著高于 NF 处理; BF 处理细菌群落 Simpson 指数最低。表明施肥、施用炭基肥提高土壤细菌群落丰富度和多样性。BF 处理土壤真菌群落实际观测的 OTUs 数量最小, 显著小于其余两处理。BF 处理真菌群落 Ace、Chao1 和 Shannon 指数最低, CF 处理居中, NF 处理最高; BF 处理真菌群落 Ace 和 Shannon 指数显著低于 NF 处理。表明施肥、施用炭基肥降低土壤真菌群落丰富度和多样性。

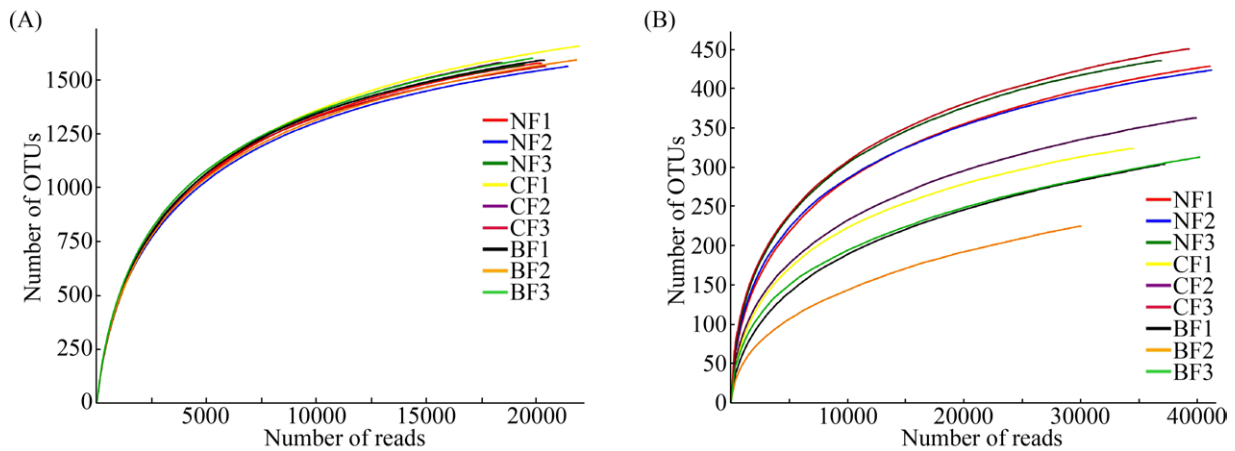


图 2. 不同施肥处理土壤中测到的细菌(A)、真菌(B)的 OTUs 稀释曲线

Figure 2. Bacterial(A) and fungal (B) OTUs rarefaction curves of soil relative to different fertilization treatments.

表 2. 不同施肥处理土壤细菌、真菌群落多样性指数

Table 2. Diversity index of bacterial and fungal community of soil relative to different fertilization treatments

Treatments	Bacterial community					Fungal community				
	OTUs	Ace	Chao1	Shannon	Simpson	OTUs	Ace	Chao1	Shannon	Simpson
NF	1568±8b	1766±12b	1758±19a	6.37±0.03a	0.0035±0.0002a	429±6a	500±4a	491±9a	3.08±0.09a	0.13±0.02a
CF	1569±11b	1791±57ab	1813±84a	6.38±0.07a	0.0036±0.0008a	378±65a	462±60ab	454±64a	2.74±0.49ab	0.21±0.08a
BF	1592±5a	1813±19a	1814±24a	6.42±0.04a	0.0032±0.0002a	280±48b	426±13b	390±56a	2.18±0.26b	0.23±0.02a

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

2.5 不同施肥处理对植烟黄壤细菌、真菌群落结构的影响

对不同施肥处理土壤细菌群落组成分析发现,在门水平上,BF处理土壤细菌的多样性最高,属于25个门,CF处理属于23个门,NF处理仅属于22个门。各处理放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)相对丰度较高,分别为38.40%–42.17%、15.87%–25.51%、11.26%–14.61%、5.76%–15.83%,属于细菌优势菌群,相对丰度合计为82.06%–86.11%。对土壤细菌主要门进行方差分析(表3),与NF处理比较,CF处理和BF处理均提高了拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相对丰度;BF处理拟杆菌门相对丰度分别是NF处理和CF处理的1.80倍和1.44倍,BF处理显著高于NF处理。较之NF处理,CF处理和BF处理均降低了装甲菌门(*Armatimonadetes*)相对丰度,其中CF处理显著低于NF处理。与NF处理相比,CF处理和BF处理*Latescibacteria*相对丰度分别显著降低0.09%和0.10%。处理间放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、硝化螺菌门(*Nitrospirae*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)及疣微菌门(*Verrucomicrobia*)相对丰度规律不明显。可见施用炭基肥改变了土壤细菌主要门相对丰度,提高了拟杆菌门相对丰度,降低了*Latescibacteria*相对丰度;与不施肥比较,施用炭基肥显著影响了拟杆菌门和*Latescibacteria*相对丰度。与不施肥比较,施用常规肥显著降低了装甲菌门和*Latescibacteria*相对丰度。

表 3. 不同施肥处理土壤细菌门水平主要菌群相对丰度方差分析

Table 3. Variance analysis on relative abundance of chief bacterial community at phylum level in soil relative to different fertilization treatments

Phylum	Relative abundance/%		
	NF	CF	BF
<i>Actinobacteria</i>	40.10±0.94a	40.55±1.89a	39.96±1.81a
<i>Proteobacteria</i>	18.96±3.61a	20.59±1.13a	21.97±3.07a
<i>Chloroflexi</i>	13.42±1.12a	13.05±0.80a	12.02±0.92a
<i>Acidobacteria</i>	11.39±2.23a	9.35±0.46a	9.89±5.27a
<i>Firmicutes</i>	4.94±0.28a	5.10±0.56a	4.35±1.34a
<i>Gemmatimonadetes</i>	3.96±0.53a	4.02±0.17a	4.60±1.07a
<i>Nitrospirae</i>	3.14±0.39a	3.55±0.39a	3.12±0.69a
<i>Bacteroidetes</i>	0.84±0.19b	1.04±0.07ab	1.50±0.40a
<i>Planctomycetes</i>	1.19±0.33a	0.70±0.11a	0.85±0.54a
<i>Cyanobacteria</i>	0.29±0.20a	0.74±0.80a	0.28±0.14a
<i>Verrucomicrobia</i>	0.51±0.13a	0.31±0.14a	0.35±0.20a
<i>Armatimonadetes</i>	0.24±0.01a	0.17±0.04b	0.20±0.01ab
<i>Latescibacteria</i>	0.21±0.02a	0.12±0.03b	0.11±0.02b

Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

在属水平,BF处理土壤细菌群落多样性最高,属于436个属,CF处理属于427个属,NF处理仅属于417个属。各处理土壤前6个相对丰度较高的已知菌属依次为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、*Gaiella*、*Solirubrobacter*、硝化螺菌属(*Nitrospira*)、玫瑰弯菌属(*Roseiflexus*)、芽球菌属(*Blastococcus*)。对土壤细菌主要属进行方差分析(表4),较之NF处理,CF处理和BF处理均降低了绿弯菌门未知属相对丰度,BF处理显著低于NF处理。与NF处理比较,CF处理和BF处理均显著提高了热微菌纲未知属相对丰度,CF处理和BF处理分别是NF处理的1.33倍和1.39倍。由此可见,施用炭基肥提高了热微菌纲未知属相对丰度,降低了绿弯菌门未知属相对丰度;与不施肥比较,施用炭基肥显著影响了热微菌纲未知属和绿弯菌门未知属相对丰度。

表 4. 不同施肥处理土壤细菌属水平主要菌群相对丰度方差分析

Table 4. Variance analysis on relative abundance of chief bacterial community at genus level in soil relative to different fertilization treatments

Genus	Relative abundance/%		
	NF	CF	BF
<i>g_norank_c_Acidobacteria</i>	8.09±1.73a	6.60±0.51a	7.21±4.65a
<i>Bacillus</i>	3.49±0.24a	3.63±0.24a	3.22±1.05a
<i>g_norank_o_Gaiellales</i>	3.84±0.46a	3.15±0.40a	3.19±0.92a
<i>Gaiella</i>	3.46±0.26a	3.09±0.05a	3.45±0.75a
<i>Solirubrobacter</i>	3.27±0.18a	3.40±0.71a	3.23±0.21a
<i>Nitrospira</i>	3.14±0.39a	3.55±0.39a	3.12±0.69a
<i>g_norank_f_Gemmatimonadaceae</i>	2.67±0.29a	2.78±0.04a	3.19±0.85a
<i>Roseiflexus</i>	3.02±0.25a	2.70±0.26a	2.91±0.63a
<i>g_norank_p_Chloroflexi</i>	2.92±0.33a	2.68±0.43ab	1.96±0.54b
<i>g_norank_o_Solirubrobacterales</i>	2.42±0.65a	2.12±0.08a	2.16±0.58a
<i>g_norank_c_Thermomicrobia</i>	1.64±0.25b	2.18±0.14a	2.28±0.21a
<i>Blastococcus</i>	1.80±0.29a	1.74±0.10a	2.05±0.53a

Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

据表 5 可看出, 在门水平上, 不同施肥处理土壤真菌群落组成差异较大, NF 和 CF 处理属于 6 个门, BF 处理仅属于 5 个门, 无 *Rozellomycota*。子囊菌门(*Ascomycota*)是不同施肥处理土壤真菌群落的优势门类, NF 处理子囊菌门相对丰度最高, CF 处理居中, BF 处理最低。BF 处理接合菌门(*Zygomycota*)相对丰度比 NF 处理和 CF 处理分别降低 5.22% 和 4.51%, BF 处理显著低于其余两处理。NF 处理壶菌门(*Chytridiomycota*)相对丰度分别是 CF 处理和 BF 处理的 3.20 倍和 4.32 倍, 差异显著。可见施用炭基肥影响了土壤真菌主要门相对丰度, 显著降低了接合菌门; 与不施肥比较, 显著降低了壶菌门相对丰度。

不同施肥处理土壤真菌属水平组成分析(表 6), 前 8 个相对丰度较高的真菌属依次为曲霉属(*Aspergillus*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、未分类的粪壳菌纲(*g_unclassified_c_Sordariomycetes*)、被孢霉属(*Mortierella*)、未分类的毛壳科(*g_unclassified_f_Chaetomiaceae*)、赤霉菌属(*Gibberella*)、篮状菌属(*Talaromyces*)、葡萄穗霉属(*Stachybotrys*)。与

CF 处理相比, BF 处理曲霉属相对丰度显著降低。镰刀菌属、被孢霉属、葡萄穗霉属相对丰度由高至低依次为 NF 处理、CF 处理、BF 处理; BF 处理镰刀菌属相对丰度显著低于其余两处理; BF 处理被孢霉属、葡萄穗霉属相对丰度显著低于 NF 处理。黑胫病、赤星病、白粉病等是烟草主要流行的真菌病害, 对生产可造成极其严重的经济损失, 其病原菌属疫霉属(*Phytophthora*)、链格孢属

表 5. 不同施肥处理土壤真菌门水平相对丰度方差分析

Table 5. Variance analysis on relative abundance of fungal community at phylum level in soil relative to different fertilization treatments

Phylum	Relative abundance/%		
	NF	CF	BF
<i>Ascomycota</i>	89.82±3.01a	88.36±2.65a	70.94±38.85a
<i>Zygomycota</i>	7.40±3.66a	6.69±0.76a	2.18±0.87b
<i>Basidiomycota</i>	1.62±0.57a	3.64±3.50a	24.55±39.58a
Unclassified	1.04±0.31a	1.18±1.15a	2.32±2.75a
<i>Glomeromycota</i>	0.04±0.03a	0.10±0.12a	0.01±0.00a
<i>Chytridiomycota</i>	0.06±0.03a	0.02±0.02b	0.01±0.01b
<i>Rozellomycota</i>	0.01±0.02a	0.01±0.02a	0.00±0.00a

Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

(*Alternaria*)、白粉菌属(*Erysiphe*)。本次测序中，各处理土壤样品均未检测出疫霉属。NF 处理土壤链格孢属相对丰度最高，CF 处理居中，BF 处理最低，BF 处理显著低于 NF 处理。NF 处理土壤白粉菌属相对丰度最高，BF 处理其次。

2.6 不同施肥处理下植烟黄壤细菌、真菌群落结构对化学性质的响应

选取不同施肥处理土壤细菌主要门类相对丰

度数据进行去趋势对应分析(DCA),分析结果显示四个轴中梯度最大值为 0.256, 小于 3, 为此, 进行冗余分析(RDA)。经 forward 分析, 对细菌群落结构的影响程度排前 3 位的土壤化学性质因子依次为 pH、有效磷、阳离子交换量, 蒙特卡罗检验显示土壤 pH 影响显著($P=0.034$)。由排序图(图 3-A)可看出, 第 1 轴解释了细菌群落结构 50.1%的变异, 第 2 轴解释了 23.9%变异。

表 6. 不同施肥处理土壤真菌属水平菌群相对丰度方差分析

Table 6. Variance analysis on relative abundance of fungal community at genus level in soil relative to different fertilization treatments

Genus	Relative abundance/%		
	NF	CF	BF
<i>Aspergillus</i>	31.88±4.67ab	40.98±11.93a	16.68±9.08b
<i>Fusarium</i>	17.79±3.40a	17.66±5.43a	5.83±0.89b
<i>g_unclassified_c_Sordariomycetes</i>	2.25±0.50a	2.50±0.22a	15.09±25.11a
<i>Mortierella</i>	7.31±3.69a	6.27±0.95ab	2.11±0.86b
<i>g_unclassified_f_Chaetomiaceae</i>	2.37±1.03a	4.74±2.03a	8.75±12.95a
<i>Gibberella</i>	5.45±2.90a	5.72±1.87a	2.83±1.38a
<i>Talaromyces</i>	5.65±3.64a	1.09±1.02a	2.79±4.57a
<i>Stachybotrys</i>	3.29±1.27a	1.64±1.11ab	0.90±0.71b
<i>Alternaria</i>	0.06±0.02a	0.04±0.02ab	0.01±0.00b
<i>Erysiphe</i>	0.002±0.003a	0.000±0.000a	0.001±0.001a

Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between treatments at 0.05 level.

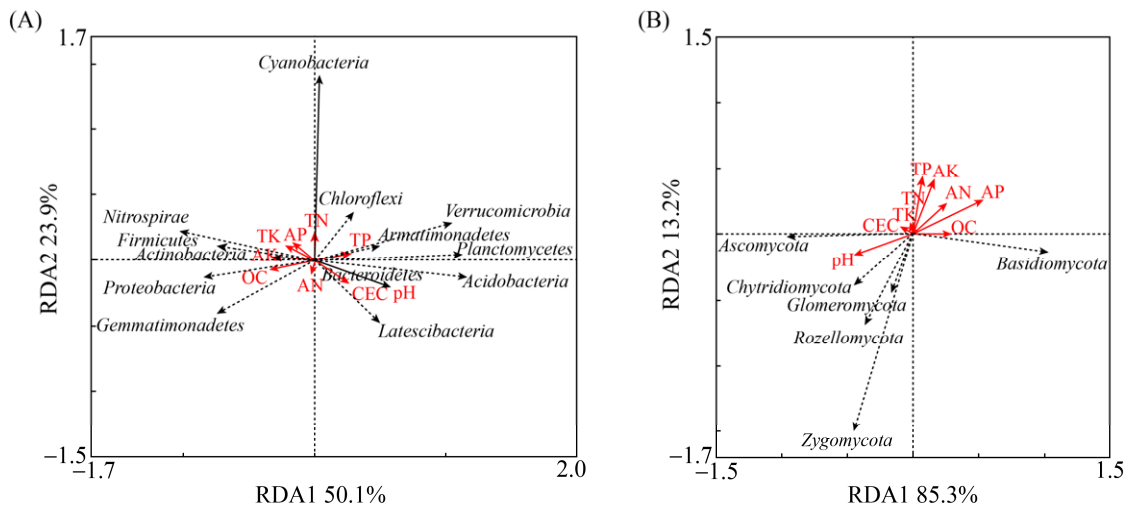


图 3. 土壤细菌(A)、真菌(B)门水平相对丰度与土壤化学性质冗余分析

Figure 3. Relationship between on relative abundance of bacterial (A), fungal (B) community at phylum level in soil and chemical property of soil by RDA.

选取不同施肥处理土壤真菌门类相对丰度数据进行去趋势对应分析(DCA), 分析结果显示四个轴中梯度最大值为 0.790, 小于 3, 为此, 进行冗余分析(RDA)。经 forward 分析, 对真菌群落结构的影响程度排前 3 位的土壤化学性质因子依次为有效磷、pH、速效钾, 蒙特卡罗检验显示土壤有效磷影响显著($P=0.040$)。两个排序轴共解释了真菌群落结构 98.5% 的变异, 其中第 1 轴解释了 85.3% 变异(图 3-B)。

3 讨论

3.1 不同施肥处理对烤烟产量和植烟黄壤化学性质的影响

因为表面电荷的吸附作用^[20], 生物炭能有效滞留土壤中养分, 对地球土壤生物化学过程尤其营养元素循环可产生非常重要的作用^[21]。在土柱淋溶试验中, 炭基肥降低氮素和钾素淋溶量^[13]。本研究结果表明, 施用炭基肥显著提升土壤碱解氮含量和有效磷含量, 提升土壤速效钾含量、有机碳含量和阳离子交换量。炭基肥处理烤烟增产效果优于常规肥处理。

3.2 不同施肥处理对植烟黄壤细菌、真菌群落丰富度和多样性的影响

不同施肥措施引起土壤生物化学环境的改变, 会间接影响微生物群落物种的丰富度和多样性。本研究表明, 炭基肥(BF)处理土壤细菌群落实际观测的 OTUs 数量最大, 显著大于其余两处理; 施肥、施用炭基肥提高土壤细菌群落丰富度和多样性, 可能与施肥带入的外源有机碳、氮源促进土壤细菌生长和繁殖有关。炭基肥以生物炭为肥料载体, 通过生物炭、肥料建立和土壤微生物

的交互作用。生物炭较大的比表面积和多微孔结构为细菌提供了良好的繁殖环境, 同时生物炭表面丰富的官能团, 可吸附肥料中养分, 为细菌提供了易利用的有机碳氮及速效氮, 促进细菌大量定殖。本结果与前人研究结果类似。施用秸秆生物炭显著增加了细菌 16S rRNA 基因拷贝数^[22]。与丁伟等^[7]的研究报道基本吻合, 有机无机肥配施处理土壤多样性指数显著高于不施肥处理。添加生物炭增加了土壤细菌丰富度, 尤其高用量, 增加了土壤细菌群落 α 多样性^[23]。本研究中炭基肥与常规肥带入的外源有机物可能在数量、组分、性质(分解转化)不同, 导致细菌繁殖响应有差异。本研究结果表明, 炭基肥(BF)处理土壤真菌群落实际观测的 OTUs 数量最小; 施肥、施用炭基肥降低土壤真菌群落丰富度和多样性。细菌和真菌对土壤有机物的利用不同, 细菌偏好繁殖于营养丰富、有机物易分解的土壤环境中, 底物周转快; 真菌易繁殖于低营养、难分解以及低氮含量有机物的土壤环境^[24]。本研究结论与陈坤等^[25]研究近似, 炭基肥处理和生物炭配施化肥处理土壤真菌 PLFA 含量均低于猪厩肥配施化肥。在茶园同层土壤中, 多样性指数均呈现 CK(不施氮肥) $>$ N300(施化肥氮) $>$ OM300(有机肥配施化肥氮)^[26]。在东北黑土长期定位试验同样发现, 不施肥处理(CK)土壤真菌 Chao 和 Shannon 指数均大于有机肥配施无机肥处理(MNPK)^[27]。研究比较亚马逊黑色土壤和生物炭改良土壤, 结果发现生物炭改良土壤真菌多样性较未改良土壤低^[28]。在红壤短期施用生物炭, 细菌多样性提高, 真菌多样性降低^[29]。

3.3 不同施肥处理对植烟黄壤细菌、真菌群落结构的影响

土壤微生物群落结构与土壤理化性质关系密

切, 例如养分、pH、水分、通气状况等的改变, 都可能引起一些微生物群体快速繁殖成为优势群落, 引起群落结构的变化。本研究揭示, 施用炭基肥改变了土壤细菌主要门相对丰度, 提高了拟杆菌门相对丰度, 降低了 *Latescibacteria* 相对丰度; 与不施肥比较, 施用炭基肥显著影响了拟杆菌门和 *Latescibacteria* 相对丰度。施用炭基肥提高了热微菌纲未知属相对丰度, 降低了绿弯菌门未知属相对丰度; 与不施肥比较, 施用炭基肥显著影响了热微菌纲未知属和绿弯菌门未知属相对丰度。拟杆菌门与脂类、DNA 和蛋白质等有机物的转换密切相关, 这些有机物的利用和分解是碳循环的重要组成部分^[30], 施用炭基肥致使土壤拟杆菌门菌群增加。本研究揭示, 施用炭基肥影响了土壤真菌主要门相对丰度, 显著降低了接合菌门; 与不施肥比较, 显著降低了壶菌门相对丰度。与李瑞霞等^[31]研究结论相似, 施用棉花秸秆生物炭显著降低接合菌门、壶菌门相对丰度。接合菌门菌类被认为是葡萄糖和纤维素的降解菌。生物炭颗粒可利用碳源的缺乏可能阻碍真菌的繁殖。本研究中炭基肥处理土壤真菌群落多样性和结构发生了变化, 推测是否与生物炭表面吸附的物质对其具有毒素作用以及干预根与根际微生物信号物质传导有关^[20]。本研究发现, 在土壤真菌属水平, 施用炭基肥降低了曲霉属、被孢霉属、葡萄穗霉属、链格孢属相对丰度, 显著降低了镰刀菌属相对丰度; 与施用常规肥相比, 曲霉属相对丰度显著降低; 与不施肥相比, 被孢霉属、葡萄穗霉属、链格孢属相对丰度显著降低。镰刀菌属是主要的作物病原菌之一, 可侵染多种作物(包括烟草), 造成作物根腐、茎腐、穗腐等, 导致严重减产。有些镰刀菌还产生真菌毒素, 造成人畜食物中毒^[32]。

与 Yao 等^[33]研究结果略有不同, 前期三个取样时期, 镰刀菌属相对丰度随生物炭用量的增加而降低, 被孢霉属相对丰度影响不显著。黑胫病、赤星病、白粉病等是烟草主要流行的真菌病害, 对生产可造成极其严重的经济损失, 其病原菌属疫霉菌属、链格孢属、白粉菌属。生态炭肥防治烟草黑胫病的积极效果已被验证^[34]。本研究结果表明, 施用炭基肥可能有助于降低烟草赤星病的发生几率。

3.4 不同施肥处理下植烟黄壤细菌、真菌群落结构对化学性质因子影响

本研究冗余结果显示, pH 是影响土壤细菌群落结构变化的主导因子, 再次证实了前人的结论^[25,35]。pH 对细菌群落结构的直接影响可能取决于适宜细菌最佳生长的狭窄变化范围^[36]。本研究冗余结果显示, 有效磷是影响土壤真菌群落结构变化的主导因子, 与丁建莉等^[27]的报道吻合, 土壤有效磷、铵态氮和硝态氮是不同施肥条件下影响黑土真菌群落结构变化的重要因素。

4 结论

施用炭基肥显著提升土壤碱解氮含量和有效磷含量, 提升土壤速效钾含量、有机碳含量和阳离子交换量。土壤生物化学环境的改变(外源有机碳、氮增加以及生物炭孔隙的吸附等), 进而影响土壤细菌多样性和结构特征。炭基肥施用后, 土壤细菌物种 OTUs 数量、群落丰富度和多样性增加, 拟杆菌门和热微菌纲未知属相对丰度提高, *Latescibacteria* 和绿弯菌门未知属相对丰度降低。数量丰富和物种多样的细菌有益于土壤养分的转化, 提升土壤生物化学功能, 维持土壤生态健康, 促进烤烟增产。施用炭基肥, 土壤养分有效性提

升, 对难分解有机物的降解需求下降, 引发真菌物种间竞争, 同时生物炭表面吸附的物质可能对其产生毒素作用以及干预根际菌群信号, 降低土壤真菌群落丰富度和多样性, 显著降低接合菌门和镰刀菌属相对丰度, 降低链格孢属相对丰度, 这可能有助于降低烟草赤星病的发生几率。不同施肥处理下, 土壤 pH 和有效磷分别是影响细菌、真菌群落结构变化的主导因子。综上, 炭基肥引发土壤生物化学环境改变(养分吸持、生物炭孔隙的吸附作用、生物炭表面物质的信号干预等), 进而导致土壤细菌、真菌群落结构和多样性发生变化, 优化土壤生态。为应用炭基肥培育植烟黄壤肥力提供了重要科学参考。

参考文献

- [1] Zhu Q, Zhou ZD, Shi Y, Wu YB, Xue JH. Effects of biochar-based fertilizer on phosphorus content of karst calcareous soil. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(11): 4037–4044. (in Chinese)
朱倩, 周之栋, 施毅, 吴永波, 薛建辉. 施用生物炭基肥对喀斯特石灰土磷元素特性的影响. *生态学报*, 2018, 38(11): 4037–4044.
- [2] Chen Y, Chen W, Lin YC, Cheng JZ, Pan WJ. Effects of biochar on the micro-ecology of tobacco-planting soil and physiology of flue-cured tobacco. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(12): 3781–3787. (in Chinese)
陈懿, 陈伟, 林叶春, 程建中, 潘文杰. 生物炭对植烟土壤微生态和烤烟生理的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(12): 3781–3787.
- [3] Lin YC, Li Y, Chen W, Chen Y, Gao WC, He FM, Huang HG, Pan WJ. Effects of green manures on the bacterial community characteristics of the rhizosphere soil in flue-cured tobacco. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2018, (3): 161–167. (in Chinese)
林叶春, 李雨, 陈伟, 陈懿, 高维常, 和凤梅, 黄化刚, 潘文杰. 绿肥压青对喀斯特地区植烟土壤细菌群落特征的影响. *中国土壤与肥料*, 2018, (3): 161–167.
- [4] Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(5): 634–663.
- [5] Shi Y, Grogan P, Sun HB, Xiong JB, Yang YF, Zhou JZ, Chu HY. Multi-scale variability analysis reveals the importance of spatial distance in shaping Arctic soil microbial functional communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 86: 126–134.
- [6] Chen DM, Duan YQ, Yang YH, Jin Y, Huang JG, Yuan L. Effects of long-term fertilization on flue-cured tobacco soil nutrients and microorganisms community structure. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(17): 3424–3433. (in Chinese)
陈丹梅, 段玉琪, 杨宇虹, 晋艳, 黄建国, 袁玲. 长期施肥对植烟土壤养分及微生物群落结构的影响. *中国农业科学*, 2014, 47(17): 3424–3433.
- [7] Ding W, Ye JP, Jiang W, Huo QJ, Chen XM, Liang YJ, Zhang CH, Yuan L. Effects of long-term fertilization on microorganisms in flue-cured tobacco grown soil. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, 18(5): 1168–1176. (in Chinese)
丁伟, 叶江平, 蒋卫, 霍沁建, 陈晓明, 梁永江, 张长华, 袁玲. 长期施肥对植烟土壤微生物的影响. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(5): 1168–1176.
- [8] Zhang CS, Lin Y, Tian XY, Xu Q, Chen ZH, Lin W. Tobacco bacterial wilt suppression with biochar soil addition associates to improved soil physiochemical properties and increased rhizosphere bacteria abundance. *Applied Soil Ecology*, 2017, 112: 90–96.
- [9] Gao L, Wang R, Shen GM, Zhang JX, Meng GX, Zhang JG. Effects of biochar on nutrients and the microbial community structure of tobacco-planting soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2017, 17(4): 884–896.
- [10] Gao HY, Chen XX, Zhang W, He XS, Geng ZC. Physicochemical properties and efficiencies of biochar and biochar-based nitrogenous fertilizer. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2013, 41(4): 69–78. (in Chinese)
高海英, 陈心想, 张雯, 何绪生, 耿增超. 生物炭和生物炭基氮肥的理化特征及其作物肥效评价. *西北农林科技大学学报 (自然科学版)*, 2013, 41(4): 69–78.

- [11] Zhao J, Geng ZC, Shang J, Geng R, Wang YL, Wang S, Zhao HF. Effects of biochar and biochar-based ammonium nitrate fertilizers on soil microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activities. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(8): 2355–2362. (in Chinese)
赵军, 耿增超, 尚杰, 耿荣, 王月玲, 王森, 赵宏飞. 生物炭及炭基硝酸铵对土壤微生物量碳、氮及酶活性的影响. *生态学报*, 2016, 36(8): 2355–2362.
- [12] Li DW, Zhou JS, Pan GX, Zhang XH, Li LQ, Liu XY, Zheng JF, Zheng JW, Cheng K. Effect of biochar-based compound fertilizer on the yield, fruit quality and N use efficiency of vegetables. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2016, 39(3): 433–440. (in Chinese)
李大伟, 周加顺, 潘根兴, 张旭辉, 李恋卿, 刘晓雨, 郑聚锋, 郑金伟, 程琨. 生物质炭基肥施用对蔬菜产量和品质以及氮素农学利用率的影响. *南京农业大学学报*, 2016, 39(3): 433–440.
- [13] Li YL, Cheng JZ, Lee X, Chen Y, Gao WC, Pan WJ, Tang Y. Effects of biochar-based fertilizers on nutrient leaching in a tobacco-planting soil. *Acta Geochimica*, 2019, 38(1): 1–7.
- [14] Zhang K, Liu GS, Wang GF, Li XD, Wang ZZ, He XB, Yun F, Yao Q, Zhang ST. Effects of high-carbon biochar-based fertilizer on soil properties and tobacco quality formation in Wuyang tobacco-growing area. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2016, 28(12): 52–56. (in Chinese)
张珂, 刘国顺, 王国峰, 李学东, 王志忠, 何孝兵, 云菲, 姚倩, 张松涛. 高碳基肥对舞阳烟区土壤特性和烟叶品质形成的影响. *江西农业学报*, 2016, 28(12): 52–56.
- [15] Chen Y, Lin YC, Huang HG, Lin YC, Gao WC, Pan WJ. Effect of biochar-based fertilizer on properties of tobacco-planting yellow soil, and nutrient accumulation, yield and quality of flue-cured tobacco. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(2): 495–504. (in Chinese)
陈懿, 林英超, 黄化刚, 林叶春, 高维常, 潘文杰. 炭基肥对植烟黄壤性状和烤烟养分积累、产量及品质的影响. *土壤学报*, 2019, 56(2): 495–504.
- [16] Xu N, Tan GC, Wang HY, Gai XP. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1–8.
- [17] Adams RI, Miletto M, Taylor JW, Bruns TD. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1262–1273.
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [19] Gao D, He XH. Research advances on biodiversity and ecosystem stability. *Chinese Journal of Ecology*, 2010, 29(12): 2507–2513. (in Chinese)
高东, 何霞红. 生物多样性与生态系统稳定性研究进展. *生态学杂志*, 2010, 29(12): 2507–2513.
- [20] Lehmann J, Rillig MC, Thies J, Masiello CA, Hockaday WC, Crowley D. Biochar effects on soil biota - A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812–1836.
- [21] Singh BP, Hatton BJ, Balwant S, Cowie AL, Kathuria A. Influence of biochars on nitrous oxide emission and nitrogen leaching from two contrasting soils. *Journal of Environmental Quality*, 2010, 39(4): 1224–1235.
- [22] Hou JW, Xing CF, Lu ZH, Chen F, Yu G. Effects of the different crop straw biochars on soil bacterial community of yellow soil in Guizhou. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(23): 4485–4495. (in Chinese)
侯建伟, 邢存芳, 卢志宏, 陈芬, 余高. 不同秸秆生物炭对贵州黄壤细菌群落的影响. *中国农业科学*, 2018, 51(23): 4485–4495.
- [23] Yao Q, Liu JJ, Yu ZH, Li YS, Jin J, Liu XB, Wang GH. Changes of bacterial community compositions after three years of biochar application in a black soil of northeast China. *Applied Soil Ecology*, 2017, 113: 11–21.
- [24] Ingwersen J, Poll C, Streck T, Kandeler E. Micro-scale modelling of carbon turnover driven by microbial succession at a biogeochemical interface. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(4): 864–878.
- [25] Chen K, Xu XN, Peng J, Feng XJ, Li YP, Zhan XM, Han XR. Effects of biochar and biochar-based fertilizer on soil microbial community structure. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(10): 1920–1930. (in Chinese)
陈坤, 徐晓楠, 彭靖, 冯小杰, 李亚朋, 战秀梅, 韩晓日. 生物炭及炭基肥对土壤微生物群落结构的影响. *中国农业科学*, 2018, 51(10): 1920–1930.
- [26] Ji LF, Ni K, Ma LF, Chen ZJ, Zhao YY, Ruan JY, Guo SW. Effect of different fertilizer regimes on the fungal community

- of acidic tea-garden soil. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(22): 8158–8166. (in Chinese)
- 季凌飞, 倪康, 马立锋, 陈兆杰, 赵远艳, 阮建云, 郭世伟. 不同施肥方式对酸性茶园土壤真菌群落的影响. *生态学报*, 2018, 38(22): 8158–8166.
- [27] Ding JL, Jiang X, Ma MC, Guan DW, Zhao BS, Wei D, Cao FM, Li L, Li J. Structure of soil fungal communities under long-term inorganic and organic fertilization in black soil of Northeast China. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23(4): 914–923. (in Chinese)
- 丁建莉, 姜昕, 马鸣超, 关大伟, 赵百锁, 魏丹, 曹凤明, 李力, 李俊. 长期有机无机肥配施对东北黑土真菌群落结构的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(4): 914–923.
- [28] Jin HY. Characterization of microbial life colonizing biochar and biochar-amended soils. Doctor Dissertation of Cornell University, 2010.
- [29] Hu L, Cao LX, Zhang RD. Bacterial and fungal taxon changes in soil microbial community composition induced by short-term biochar amendment in red oxidized loam soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30(3): 1085–1092.
- [30] Michaud L, Giudice AL, Troussellier M, Smedile F, Bruni V, Blancheton JP. Phylogenetic characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107(6): 1935–1946.
- [31] Li RX, Li HJ, Huo YL, Gao Y, Yang ZL, Zhang AP. Effect of biochar on root morphology and endophytic fungal diversity of winter wheat in north China. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49(3): 235–242. (in Chinese)
- 李瑞霞, 李洪杰, 霍艳丽, 高悦, 杨正礼, 张爱平. 生物炭对华北冬小麦根系形态和内生真菌多样性的影响. *农业机械学报*, 2018, 49(3): 235–242.
- [32] Zhang XM. History and current research on taxonomy of the genus *Fusarium*. *Journal of Fungal Research*, 2005, 3(2): 59–62. (in Chinese)
- 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状. *菌物研究*, 2005, 3(2): 59–62.
- [33] Yao Q, Liu JJ, Yu ZH, Li YS, Jin J, Liu XB, Wang GH. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast china. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 56–67.
- [34] Zhang H, Jiao YJ, Zhao SM, Zhao YB, Liu T, Jiang SJ. Effects of eco-biochar fertilizer on soil renovating and control of tobacco root-knot nematode and black shank. *Tobacco Science & Technology*, 2016, 49(6): 30–35. (in Chinese)
- 张涵, 焦永吉, 赵世民, 赵云波, 刘涛, 蒋士君. 利用生态炭肥修复土壤防治烟草根结线虫病与黑胫病. *烟草科技*, 2016, 49(6): 30–35.
- [35] Wang HY, Xu MG, Zhou BK, Ma X, Duan YH. Response and driving factors of bacterial and fungal community to long-term fertilization in black soil. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(5): 914–925. (in Chinese)
- 王慧颖, 徐明岗, 周宝库, 马想, 段英华. 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. *中国农业科学*, 2018, 51(5): 914–925.
- [36] Rousk J, Bååth E, Brookes PC, Lauber CL, Lozupone C, Caporaso JG, Knight R, Fierer N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal*, 2010, 4(10): 1340–1351.

Effect of biochar-based fertilizer on bacterial and fungal community composition, diversity in tobacco-planting yellow soil

Yi Chen¹, Chun Wu¹, Caibin Li², Yechun Lin¹, Jianzhong Cheng³, Wenjie Pan^{1*}

¹ Upland Flue-Cured Tobacco Quality & Ecology Key Laboratory of China Tobacco, Guizhou Academy of Tobacco Science, Guiyang 550081, Guizhou Province, China

² Bijie Tobacco Company of Guizhou Province, Bijie 551700, Guizhou Province, China

³ State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, Guizhou Province, China

Abstract: [Objective] This study was to explore the effect of biochar-based fertilizer application on the microbiological mechanism of the quality of tobacco-planting yellow soil. [Methods] In 2016, 3 different treatments were designed: no fertilizer (NF), conventional fertilizer (CF) and biochar-based fertilizer (BF). Illumina miseq sequencing was applied to analyze soil bacterial and fungal communities. [Results] Compared with NF and CF treatments, the yield of flue-cured tobacco was increased, the contents of soil alkaline hydrolyzed N and available P were increased significantly in the BF treatment. In the BF treatment, the number of operational taxonomic units (OTUs, 1592), abundance and diversity indexes of soil bacterial community were the highest. However, the number of OTUs (280), abundance and diversity indexes of soil fungal community were the lowest. The relative abundance of *Bacteroidetes* (1.50%) was increased in the BF treatment, whereas *Latescibacteria* (0.11%) was decreased. There were significant differences in the relative abundance of *Bacteroidetes* and *Latescibacteria* between BF and NF treatments. In addition, BF significantly decreased the relative abundance of *Zygomycota* (2.18%). Compared with the NF treatment, the relative abundance of *Chytridiomycota* (0.01%) was significantly decreased in the BF treatment. BF changed the fungal community at the genus level and significantly decreased the relative abundance of *Fusarium* (5.83%). Compared with the NF treatment, the relative abundance of *Mortierella* (2.11%), *Stachybotrys* (0.90%) and *Alternaria* (0.01%), was decreased significantly in the BF treatment. The most important soil factor causing the change of bacterial community structure was pH, and the most important soil factor causing the change of fungal community structure was available P. [Conclusion] Biochar-based fertilizers cause changes in soil biochemical environment, lead to changes in community structure, diversity of soil bacteria and fungi and then optimize soil ecology.

Keywords: tobacco, biochar, biochar-based fertilizer, yellow soil, bacteria, fungi, high-throughput sequencing

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31601273, 41773144) and the Science and Technology Program of Bijie Tobacco Company of Guizhou Province (201652050024139)

*Corresponding author. E-mail: wenjiepan@163.com

Received: 10 June 2019; Revised: 10 October 2019; Published online: 21 October 2019