

研究报告

不同熏蒸剂对草莓连作土壤养分和微生物群落的影响

杨馥霞, 汤玲, 贺欢, 唐小刚, 王卫成*

甘肃省农业科学院林果花卉研究所, 甘肃 兰州 730070

杨馥霞, 汤玲, 贺欢, 唐小刚, 王卫成. 不同熏蒸剂对草莓连作土壤养分和微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2452-2467.

YANG Fuxia, TANG Ling, HE Huan, TANG Xiaogang, WANG Weicheng. Effects of different fumigants on soil nutrients and microbial communities of strawberry continuous cropping[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2452-2467.

摘要:【背景】草莓连年栽培导致土传病害问题突出, 施用熏蒸剂进行土壤消毒因效果显著得以广泛应用。但不同熏蒸剂对土壤病原微生物的影响存在较大差异, 同时对非靶标微生物和土壤理化性质也会有不同程度的影响。【目的】明确不同熏蒸剂对草莓连作土壤养分和土壤细菌、真菌群落结构的影响, 为合理选择熏蒸剂提供科学依据。【方法】以连作土壤为材料设置 5 个处理: 未熏蒸、石灰氮熏蒸、石灰熏蒸、棉隆熏蒸、威百亩熏蒸, 测定熏蒸处理后土壤养分含量; 采用 PacBio 测序平台分析土壤微生物多样性的变化。【结果】石灰氮和威百亩处理均增加了碱解氮含量, 降低了有机质、有效磷和速效钾含量; 棉隆处理土壤中各养分含量均增加; 石灰处理除有机质含量增加外, 碱解氮、有效磷和速效钾含量均降低; 棉隆、石灰和威百亩处理显著降低 pH 值。5 个处理草莓连作土壤样本中获得了 1 164 个细菌 OTU 和 444 个真菌 OTU。细菌多样性和丰富度分析发现, 4 种熏蒸剂处理均增加了土壤细菌群落的丰富度, 石灰氮、石灰和威百亩处理增加了土壤细菌菌落的多样性。4 种熏蒸剂处理真菌菌落的丰富度低于对照; 石灰、棉隆处理真菌菌落的多样性高于对照和石灰氮、威百亩处理低于对照, 但差异不显著。在物种组成分析中, 从门水平看, 变形菌门(*Proteobacteria*)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)为优势细菌门; 与对照相比, 石灰氮、石灰、棉隆处理变形菌门相对丰度增高, 威百亩处理相对丰度降低。4 种处理均降低了芽单胞菌门的相对丰度。其他门类中, 4 种处理均增加了浮霉菌门(*Planctomycetota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的相对丰度。优势细菌群落分析表明土壤熏蒸减少了芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、藤黄单胞菌属(*Luteimonas*)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)等细菌的相对丰度, 增加了噬几丁质菌属

资助项目: 甘肃省农业科学院重点研发计划(2020GAAS21); 甘肃省青年科技基金(20JR10RA461); 甘肃省重点研发计划农业类项目(21YF1NA369)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Gansu Academy of Agricultural Sciences (2020GAAS21), the Youth Science and Technology Fund of Gansu Province (20JR10RA461), and the Key Research and Development Program of Gansu Province Agricultural Project (21YF1NA369).

*Corresponding author. E-mail: wang216630@sohu.com

Received: 2022-08-15; Accepted: 2022-10-31; Published online: 2022-12-26

(*Chitinophaga*)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)的相对丰度。子囊菌门(*Ascomycota*)为优势真菌, 石灰氮、石灰、棉隆、威百亩 4 种处理均增加了子囊菌门的相对丰度。另外还检测到引起草莓根部土传病害的枝孢属(*Cladosporium*)和镰刀菌属(*Fusarium*)病菌, 熏蒸处理后均降低了枝孢属和镰刀菌属的相对丰度, 其中枝孢属在石灰氮、石灰、棉隆、威百亩处理中分别降低了 1.35%、1.11%、0.90% 和 1.31%, 镰刀菌属分别降低了 0.71%、0.85%、0.19% 和 0.65%, 但差异不显著。4 种土壤熏蒸剂均增加了有益真菌毛壳菌属(*Chaetomium*)的相对丰度。【结论】采用熏蒸剂处理连作土壤改变了微生物群落构成, 减少或灭杀土壤中的大部分致病菌属, 起到有效防治草莓土传病害的作用, 但不能灭杀所有病菌, 而且对有益菌和土壤理化性质有不同程度的影响, 因此处理后补充有益微生物非常关键。根据对病原菌的灭杀效果, 石灰氮、威百亩处理的效果优于其他处理, 可作为轮换使用的熏蒸剂, 本试验条件下, 棉隆是一种弱的处理剂。

关键词: 草莓; 熏蒸剂; 土壤微生物群落; 多样性

Effects of different fumigants on soil nutrients and microbial communities of strawberry continuous cropping

YANG Fuxia, TANG Ling, HE Huan, TANG Xiaogang, WANG Weicheng*

Institute of Fruit and Floriculture Research, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: [Background] The problem of soil-borne diseases caused by successive cultivation of strawberries has become more and more prominent, and fumigants have been widely used for soil disinfection because of their remarkable effect. However, different fumigants have different effects on soil pathogenic organisms, and at the same time, they have different effects on non-target organisms and soil properties. **[Objective]** To explore the effects of different fumigants on soil nutrients, soil bacteria, and fungal diversity, thereby providing a scientific basis for the reasonable selection of fumigants. **[Methods]** Continuous cropping soil was used as material and treated with five treatments including control, soil fumigation using calcium cyanamide, soil fumigation using calcium oxide, soil fumigation using dazomet, and soil fumigation using metam-sodium, to measure soil nutrient content after fumigation. PacBio sequencing platform was used to analyze the microbial diversity of soil. **[Results]** Both calcium cyanamide and metam-sodium treatments increased the content of alkali-hydrolyzable nitrogen and decreased the content of organic matter, available phosphorus, and available potassium. Each nutrient content in the soil of dazomet treatment increased, while the content of alkali-hydrolyzable nitrogen, available phosphorus, and available potassium in calcium oxide treatment decreased except the content of organic matter. In addition, the pH of dazomet, calcium oxide, and metam-sodium treatments decreased significantly. A total of 1 164 bacterial OTUs and 444 fungal OTUs were obtained from five soil samples of strawberry continuous cropping. Analysis of bacterial diversity and richness showed that four fumigant treatments

increased the richness of the soil bacterial community, and calcium cyanamide, calcium oxide, and metam-sodium treatments increased the diversity of soil bacterial colonies. As compared with the control, the richness of fungal colonies treated with four fumigants was lower, and the diversity of fungal colonies in calcium oxide and dazomet treatments was higher while that in calcium cyanamide and metam-sodium treatments was lower, but the difference was not significant. In the analysis of species composition, from the phylum level, the dominant bacterial phyla were *Proteobacteria* and *Gemmatimonadetes*. As compared with control, the relative abundance of *Proteobacteria* in calcium cyanamide, calcium oxide, and dazomet treatments increased, while that in metam-sodium treatments decreased. All four treatments reduced the relative abundance of *Gemmatimonadetes*. The four soil fumigation treatments increased the relative abundance of *Planctomycetota* and *Verrucomicrobia* in other phyla. The analysis of dominant bacterial communities showed that soil fumigation reduced the relative abundance of bacteria such as *Gemmatimonas*, *Luteimonas*, and *Mesorhizobium*, but increased that of *Chitinophaga* and *Ochrobactrum*. The dominant fungus phylum was *Ascomycota*, and the relative abundance of *Ascomycota* was increased by calcium cyanamide, calcium oxide, dazomet, and metam-sodium treatments. *Cladosporium* and *Fusarium* causing soil-borne diseases in strawberry roots were detected, and the relative abundance of *Cladosporium* and *Fusarium* decreased after the fumigant treatment, among which *Cladosporium* decreased by 1.35%, 1.11%, 0.90%, and 1.31%, and *Fusarium* decreased by 0.71%, 0.85%, 0.19%, and 0.65% in calcium cyanamide, calcium oxide, dazomet, and metam-sodium treatments, respectively. All four soil fumigants increased the relative abundance of *Chaetomium*, a beneficial fungus. **[Conclusion]** Comprehensive analysis shows that fumigant treatment of continuous cropping soil changes the microbial community composition, and reduces or kills most pathogenic bacteria in the soil, thus playing an effective role in preventing and controlling soil-borne diseases of strawberries. However, it cannot kill all pathogens and affect beneficial bacteria and soil properties to different degrees. Therefore, it is very important to supplement beneficial microorganisms after treatment. According to the killing effect of pathogenic bacteria, calcium cyanamide and metam-sodium treatments are superior to other treatments and can be used as fumigants for soil application in turn. Under this experimental condition, dazomet is a weak treatment agent.

Keywords: strawberry; fumigants; soil microbial community; diversity

草莓作为高附加值经济作物,因其巨大经济利益促使连作栽培成为常态,由此引发的重茬障碍已成为限制产业发展的瓶颈,定植成活率低、长势弱、生产力下降、品质变劣等系列问题常有发生,给果农造成巨大损失。草莓连年种植导致土壤生态系统失衡^[1]、土传病虫害增加,消除连

作引起的土传病害、保证土壤生态环境良性循环成为亟待解决的问题。一些研究发现,根际微生物群体的变化与土传病害发生有密切关系^[2]。随种植年限增长,土壤中细菌、真菌数量与比例逐渐失衡^[3],微生物有益菌落和有害菌落比例发生变化,由“细菌型”向“真菌型”转变。草莓根部土

传病害多由真菌引起, 涉及十几个属等 20 多种病原菌^[4], 多数为多种病原菌复合侵染^[5], 常规的杀菌剂无法大规模防治。

采取适当措施可有效防止土传病害发生。太阳能高温闷棚是一种低成本、环境友好型土壤消毒方法, 但方法过于单一, 不足以解决日益复杂的连作障碍问题。选择高温闷棚结合熏蒸剂这种防治手段可有效杀死多种病原菌、虫卵和杂草种子, 不失为一种好的选择^[6]。之前生产上多用氯化苦、溴甲烷等毒性大、操作复杂的化学药品用于土壤消毒, 随着绿色、安全、环保理念的深入贯彻, 棉隆、威百亩、石灰氮等低毒、低残留的土壤熏蒸剂备受关注^[7]。威百亩和棉隆分解的异硫氰酸甲酯、石灰氮分解的中间产物氰氨和双氰氨^[8]均对土壤中微生物有很强杀灭作用, 并且价格较为便宜、操作方法简便, 已在多种作物的土传病害防治上广泛应用^[9]。生石灰遇水产生热和呈强碱性的氢氧化钙, 大多数病菌在此条件下难以生存, 也用于土壤消毒^[10]。前人以石灰氮、威百亩这 2 种熏蒸剂配施微生物有机肥有效缓解了设施茄子连作障碍, 并得出石灰氮结合微生物有机肥效果更佳^[11]; 张艳^[12]也认为石灰氮是处理效果好、效益高的土壤连作障碍处理剂。张庆华等^[13]用棉隆为研究对象, 结合生物菌肥处理草莓连作土壤, 发现其降低了土壤中真菌群落的多样性, 减少大部分致病菌属, 对草莓土传病害起到有效防治作用。土壤熏蒸剂虽能有效灭杀土传病原微生物, 但同时会对非靶标微生物也会有不同程度的影响, 而不同熏蒸剂对土壤中微生物的影响存在很大差异^[14], 且多数研究发现熏蒸剂处理后对土壤养分、酶活性有影响。土壤微生物变化和土壤养分转化、有机质分解息息相关, 因此研究土壤微生物时结合土壤养分变化会更全面。因此, 本试验以高温闷棚结合土壤熏蒸剂(棉隆、威百亩、石灰、石灰氮)的方式处理连作

3 年的草莓园土壤, 利用 PacBio 测序平台对不同处理后土壤中微生物群落变化进行分析, 结合土壤养分的变化, 明确各处理对草莓土壤微生物多样性的影响、对草莓土传病原菌的灭杀效果及对土壤养分的影响, 以期科学指导农民选择熏蒸剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2020 年 7–8 月在甘肃省永靖县三塬农业生态园连作 3 年草莓的温室大棚进行, 该地点海拔 1 820 m (35°53'43"N, 103°14'55"E), 土壤基本理化性质为: 有机质含量 10.60 g/kg, 碱解氮含量 114.00 mg/kg, 有效磷含量 75.57 mg/kg, 速效钾含量 470.33 mg/kg, pH 8.5。

试验中土壤熏蒸剂用量与处理方法参考当地农户, 采用完全随机区组设计, 共 5 个处理: CK, 未添加任何物质处理; W, 威百亩 450 kg/hm²熏蒸处理; M, 棉隆 450 kg/hm²熏蒸处理; SD, 石灰氮 1 500 kg/hm²熏蒸处理; SH, 石灰 1 500 kg/hm²熏蒸处理, 各处理均结合太阳能高温闷棚。小区面积 9 m×4.5 m, 3 次重复。覆膜熏蒸 30 d, 揭膜 7 d 后采集土样。

供试熏蒸剂: 35%威百亩水剂, 利民化学有限责任公司生产; 98%棉隆, 南通施壮化工有限公司生产; 石灰氮, 宁夏蓝白黑活性炭有限公司生产; 石灰(氧化钙 85%), 甘肃中陇天玉新材料有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 样品采集与测定

使用土钻按照“S”型五点混合取样法采集土样(5–30 cm 表层土)。采集时去除表层 5 cm 的土壤, 按四分法取适量土样装于无菌塑料封口袋内带回, 过 2 mm 灭菌筛后, 分装至冻存管中液氮冷冻 3 h 后–80 °C 保存, 用于土壤微生物多样性

分析, 剩余样品用于理化性质测定。

1.2.2 土壤理化性质测定

土壤养分测定: 碱解氮的含量采用碱解扩散法, 有效磷的含量用 NaHCO_3 提取-钼锑抗比色法, 速效钾的含量用乙酸铵浸提-火焰光度法, 有机质采用重铬酸钾硫酸氧化-外加热法, pH 用电极法(土:水=1:2.5)^[15]。

1.2.3 土壤微生物基因组 DNA 提取、PCR 扩增、Illumina 高通量测序

将 0.5 g 土壤样品置于离心管中, 使用土壤 DNA 试剂盒提取 DNA, 试剂盒来自天根生化科技(北京)有限公司。使用表 1 中引物进行 16S rRNA 基因和 ITS 序列全长扩增。PCR 反应体系(30 μL): 基因组 DNA (7.6 ng/ μL) 1.5 μL , ddH₂O 10.5 μL , KOD OneTM PCR Master Mix 15 μL , 上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 1.5 μL 。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。2%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 使用 Monarch DNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物。建库和高通量测序委托北京百迈客生物科技有限公司完成, 用 PacBio 测序平台 Sequel II 测序仪上机测序。

1.2.4 原始数据处理、操作分类单位(OTU)划分及多样性分析

测序完成后, 原始数据经 LimA V1.7.0 软件, 通过 barcode 序列识别不同样品的 circular consensus sequencing (CCS)序列并去除嵌合体, 得到高质量 CCS 序列用于后续分析。OTU 聚类分析: 使用 USEARCH V 10.0 软件对序列在 97% 相似度进行聚类。ASV 分析: 使用 QIIME2 V

表 1 扩增引物

Table 1 Amplification primer

Primer name	Primers sequence (5'→3')
27F	AGRGTITGATYNTGGCTCAG
1492R	TASGGHTACCTTGTTASGACTT
ITS1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

2020.6 中 DADA2 方法对质控后的数据进行去噪处理。对各样品 OTU 进行物种分类统计得到不同水平(门、属)物种丰度柱状图; 用 QIIME2 软件进行物种注释, 统计物种丰富度和多样性指数, 包括 ACE、Chao1、Simpson 和 Shannon 指数; 使用 R 语言工具制作稀释曲线图、群落结构组分图和 Venn 图; 利用 LEfSe 软件, 根据分类学组成进行线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)^[15], 了解不同样品间群落的差异性。数据处理采用 Excel、DPS 软件进行。

2 结果与分析

2.1 不同熏蒸剂处理后土壤理化性质分析

由表 2 可见, 与对照相比, 棉隆和石灰处理土壤有机质显著增加, 分别增加 6.60%和 5.66%, 而石灰氮和威百亩处理有机质含量降低, 分别降低 9.91%和 6.51%。碱解氮含量除石灰处理降低 20.79%外, 石灰氮、棉隆、威百亩处理均较对照增加, 分别增加 23.97%、10.53%和 2.34%。石灰氮、石灰、威百亩处理均降低了有效磷和速效钾含量, 而棉隆处理有效磷和速效钾含量有所增加。pH 也出现不同程度的变化, 与对照相比, 石灰、棉隆和威百亩处理后土壤 pH 值显著下降, 威百亩处理下降最明显, pH 为 8.36; 而石灰氮处理后 pH 值增至 8.53。

2.2 不同熏蒸剂处理对土壤细菌和真菌群落的影响

2.2.1 样品测序深度评估及 OTU 聚类分析

对照、石灰氮、石灰、棉隆、威百亩 5 种处理后土壤样品共获得 112 589 条 CCS 序列, 平均产生 7 506 条序列, 97%的相似水平聚类获得 1 164 个 OTU。真菌样品测序共获得 100 520 条 CCS 序列, 平均产生 6 701 条序列, 聚类后获得 444 个 OTU。所有样本聚类 OTU 制作的稀释曲线(图 1)逐渐趋向平坦, 说明测序序列充分, 数量合理, 可用于后续分析。

表 2 不同熏蒸剂处理后土壤理化性质变化

Table 2 Changes of physical and chemical properties of soil treated with different fumigants

Sample	Organic matter (g/kg)	Alkaline hydrolyzable nitrogen (mg/kg)	Available phosphorus (mg/kg)	Available potassium (mg/kg)	pH
CK	10.60±0.20b	114.00±1.00d	75.57±1.25a	470.33±0.58b	8.50±0.05a
SD	9.55±0.19d	141.33±1.15a	69.37±0.95b	467.00±1.73c	8.53±0.02a
SH	11.20±0.20a	90.30±0.60e	68.40±1.50b	456.33±0.58e	8.40±0.02c
M	11.30±0.10a	126.00±1.73b	76.00±1.40a	475.33±0.58a	8.45±0.03b
W	9.91±0.19c	116.67±1.53c	62.30±1.50c	461.67±1.53d	8.36±0.02c

同列数值后不同小写字母表示处理间差异达显著水平($P<0.05$). 下同

Values followed by different lowercase letters in a row are significant among treatments at the 0.05 level. The same below.

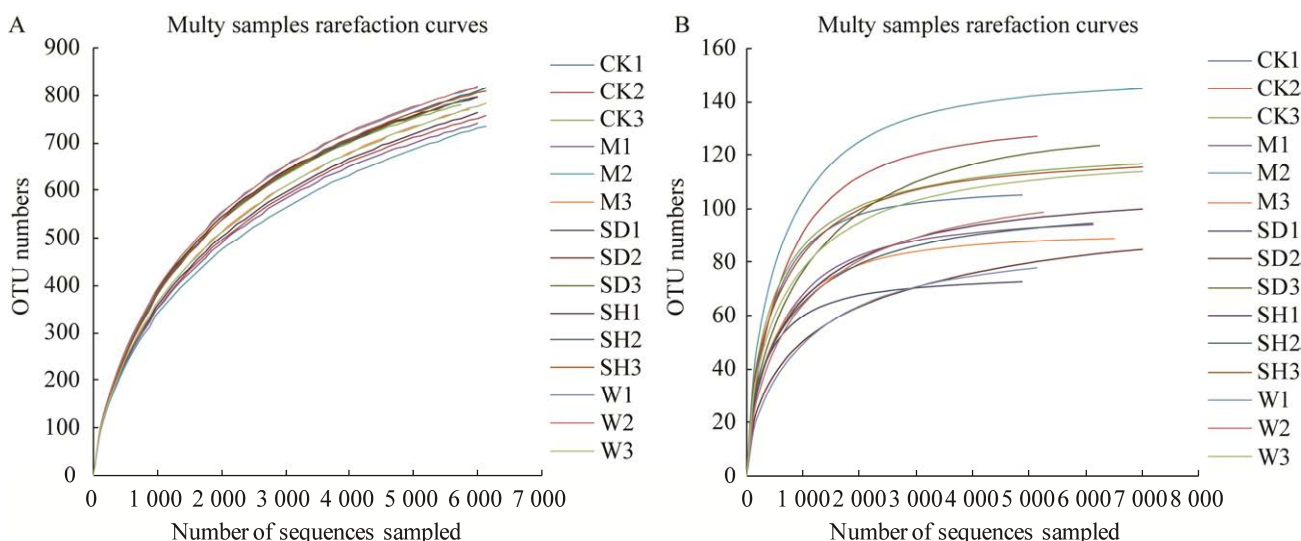


图 1 不同熏蒸处理土壤中细菌(A)和真菌(B)的稀释曲线

Figure 1 Bacterial (A) and fungal (B) rarefaction curves in soils treated with different fumigation.

2.2.2 Venn 图分析

由 Venn 图可看出 5 个处理特有和共有的 OTU 数量。如图 2 所示, 细菌样品间共有 793 个 OTU, 对照处理特有的 OTU 为 4 个, 石灰氮处理特有的 OTU 为 2 个, 棉隆处理特有的 OTU 为 8 个, 威百亩与石灰处理中无特有的 OTU (图 2A)。真菌样品间共有 65 个 OTU, 对照、石灰氮、石灰、棉隆、威百亩处理特有的 OTU 数目分别为 71、17、33、62 和 13 (图 2B)。

2.2.3 不同熏蒸剂处理后土壤细菌和真菌的 α 多样性

由表 3 可知, 不同熏蒸剂处理后细菌的 ACE、Chao1 指数均增高, 说明熏蒸剂处理均增

加了土壤细菌群落的丰富度, 其中石灰、威百亩处理与对照差异显著。Shannon、Simpson 指数棉隆处理最小。结果显示, 石灰氮、石灰和威百亩处理增加了物种的多样性, 棉隆处理降低了土壤细菌菌落的多样性。

对照处理的真菌 ACE、Chao1 指数最大, 菌落丰富度高。4 种熏蒸剂处理均降低了真菌菌落丰富度, 石灰氮处理丰富度指数最小, 其他的介于中间, 但差异不显著。棉隆、石灰处理的 Shannon 和 Simpson 指数较高, 说明真菌的多样性增加, 石灰氮处理 Shannon 指数低于对照, Simpson 指数高于对照, 而威百亩处理均低于对照, 表明这 2 种处理降低了真菌的多样性。

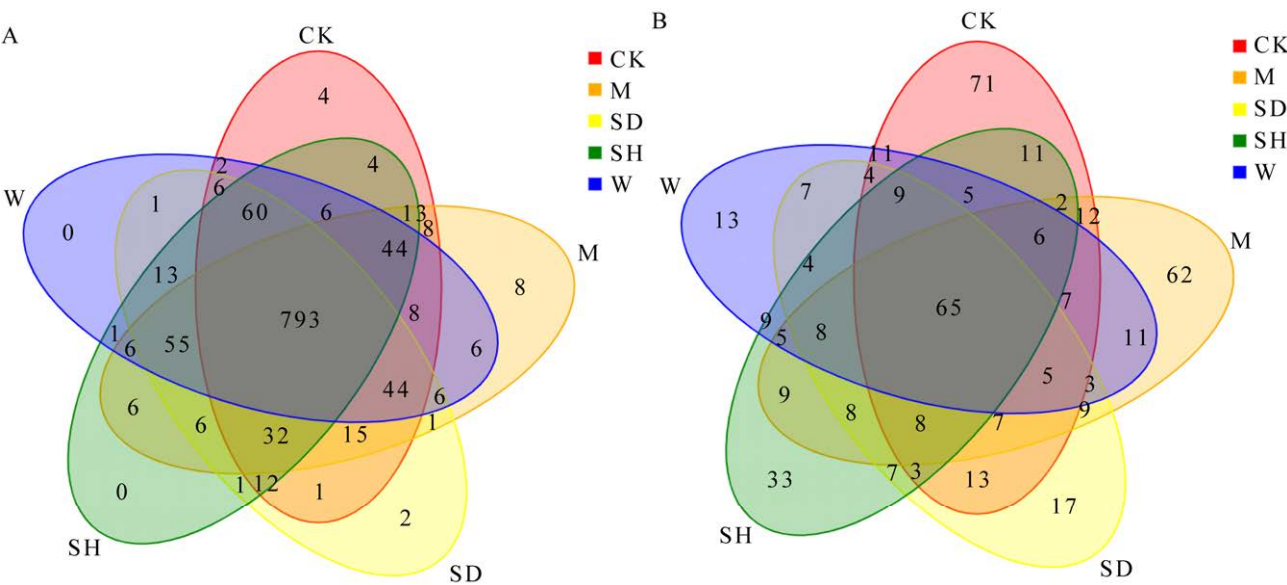


图 2 不同熏蒸剂处理土壤中细菌(A)和真菌(B)韦恩图分析
Figure 2 Analysis of bacteria (A) and fungi (B) Venn diagrams in soils with different fumigation.

表 3 不同熏蒸剂处理对土壤细菌和真菌群落 α 多样性指数的影响

Kingdom	Sample	Community richness index		Biodiversity index	
		ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
Bacteria	CK	952.24±7.09b	931.84±20.85c	8.16±0.18ab	0.991±0.002ab
	SD	971.28±14.27ab	964.32±20.92c	8.33±0.01a	0.993±0.000a
	SH	1 009.54±29.04a	1 017.02±33.49a	8.17±0.13ab	0.991±0.002ab
	M	974.49±31.08ab	968.61±33.98bc	7.94±0.16b	0.986±0.005b
	W	1 006.96±7.29a	1 010.36±14.8ab	8.28±0.16a	0.992±0.001a
Fungi	CK	118.54±11.91a	118.22±11.81a	3.69±0.65a	0.758±0.120a
	SD	98.19±27.34a	96.63±26.85a	3.52±0.29a	0.797±0.015a
	SH	106.81±9.94a	109.57±9.21a	3.89±0.41a	0.834±0.029a
	M	110.77±31.45a	111.09±31.59a	3.96±0.86a	0.826±0.107a
	W	102.18±17.36a	103.97±13.85a	3.20±0.84a	0.713±0.115a

2.2.4 不同熏蒸剂处理后土壤细菌和真菌群落结构组成分析

不同熏蒸处理的样本中共含有 29 个细菌门,由图 3A 可知,变形菌门(*Proteobacteria*)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)为共同的优势菌门,占 51.53%–59.32%。石灰氮、石灰、棉隆处理后变形菌门相对丰度分别增加 0.48%、3.03%和 9.92%,而威百亩处理降低 0.96%。石灰

氮、石灰、棉隆、威百亩 4 种处理的芽单胞菌门相对丰度均降低,分别降低 3.33%、4.08%、10.51%和 6.83%。其他门类中,石灰氮处理增加了酸杆菌门(*Acidobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、浮霉菌门(*Planctomycetota*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的相对丰度;石灰、威百亩处理增加了拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、浮霉

菌门、绿弯菌门、放线菌门、疣微菌门和 *Patescibacteria* 的相对丰度; 棉隆处理增加了厚壁菌门、浮霉菌门和疣微菌门的相对丰度。

鉴定的真菌主要来自 7 个门(图 3B), 包括子囊菌门(*Ascomycota*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)、

担子菌门(*Basidiomycota*)、毛霉门(*Mucoromycota*)、罗兹菌门(*Rozellomycota*)、球囊菌门(*Glomeromycota*)和壶菌门(*Chytridiomycota*)。其中子囊菌门为优势菌群, 总丰度占 76.69%–85.95%, 与对照相比, 石灰氮、石灰、棉隆和威百亩处理

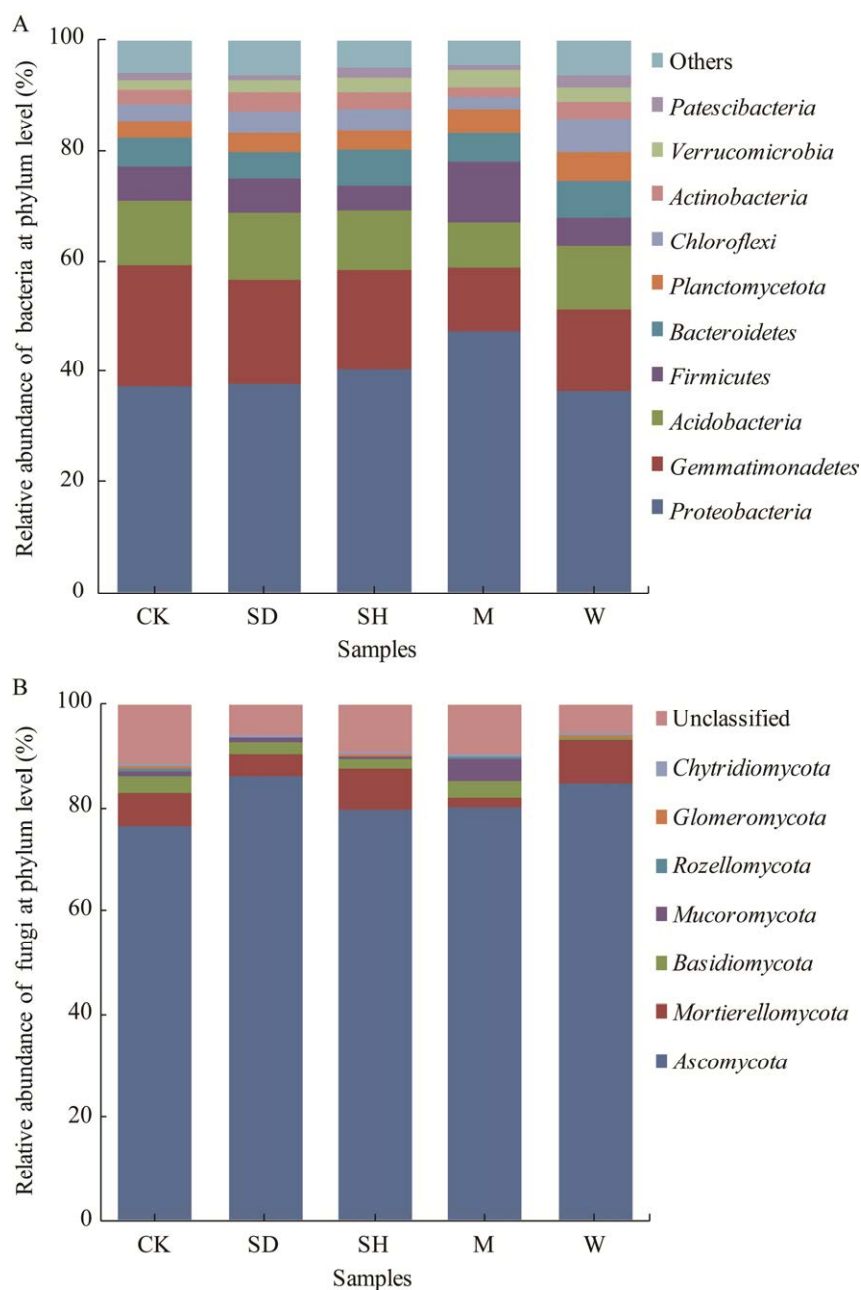


图 3 不同熏蒸剂处理土壤中细菌(A)和真菌(B)门水平的组成

Figure 3 Relative abundance of soil bacteria (A) and fungal (B) at phylum level with different fumigation.

均增加了子囊菌门的相对丰度,分别增加 9.25%、3.04%、3.38%和 7.98%。尚未分类的真菌比例均较对照降低。上述结果表明,土壤熏蒸处理均导致了细菌和真菌群落结构的改变。

属水平细菌群落中检测到 398 个,多数未分

类。图 4A 为前 20 个优势菌,其中 9 类未确定到属。分析已确定分类地位的细菌发现,与对照相比,石灰氮处理后鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、狭窄杆菌属(*Stenotrophobacter*)、噬几丁质菌属(*Chitinophaga*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、黄

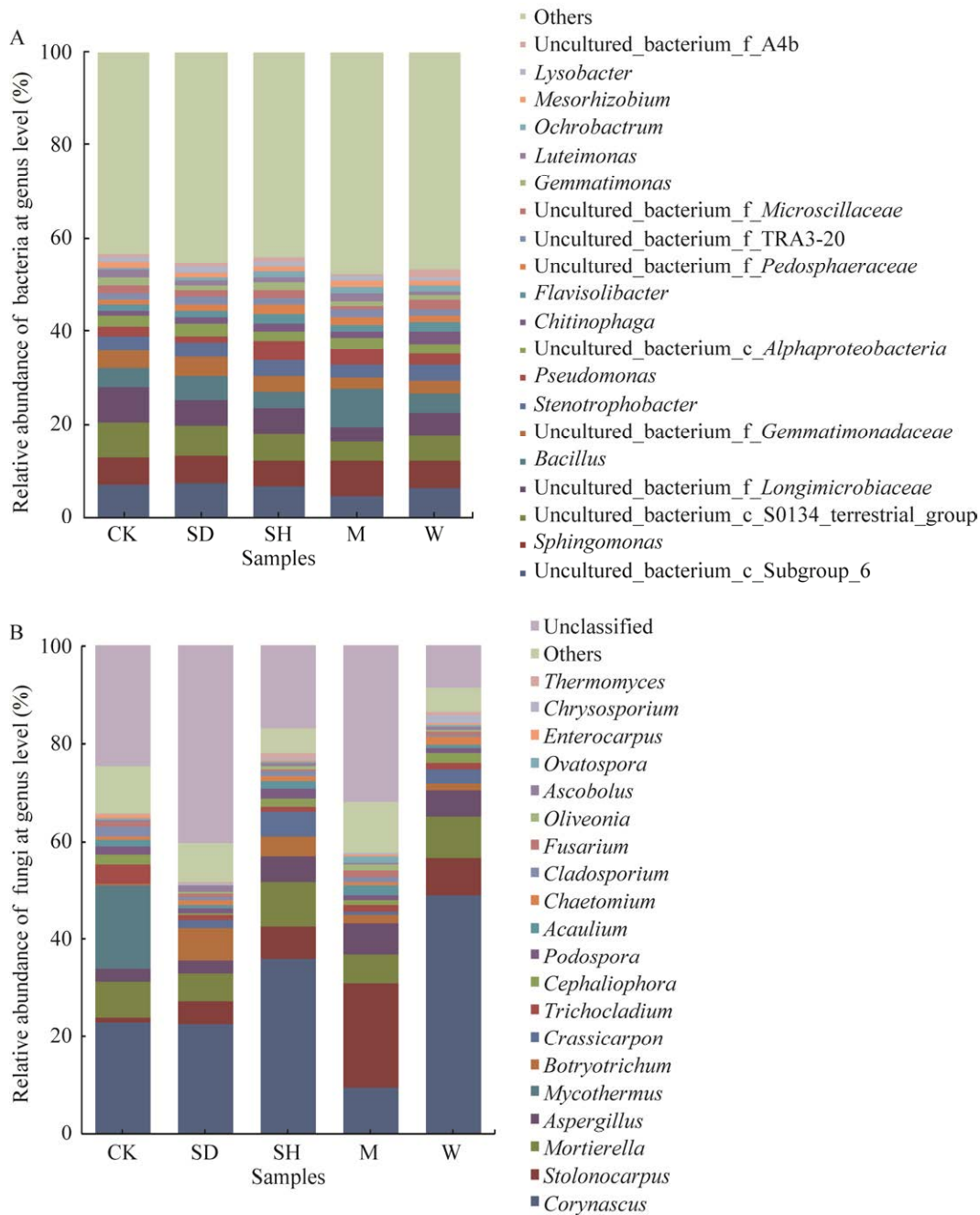


图 4 不同熏蒸剂处理土壤中细菌(A)和真菌(B)属水平的组成

Figure 4 Relative abundance of soil bacteria (A) and fungal (B) at genus level with different fumigation.

异杆菌属(*Flavisolibacter*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、藤黄单胞菌(*Luteimonas*)和中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)相对丰度降低;石灰处理后鞘脂单胞菌属、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、芽单胞菌属、中慢生根瘤菌属、溶杆菌属(*Lysobacter*)和藤黄单胞菌属相对丰度降低;棉隆处理后狭窄杆菌属、藤黄单胞菌、黄异杆菌属、中慢生根瘤菌属和芽单胞菌属相对丰度降低;威百亩处理后相对丰度降低的有鞘脂单胞菌属、中慢生根瘤菌属、芽单胞菌属、藤黄单胞菌和溶杆菌属;其他菌属相对丰度增加。

真菌群落共检测到 167 属,对照处理中优势菌群为棒囊壳属(*Corynascus*) (22.68%),棉隆处理显著降低了棒囊壳属的相对丰度,降低 13.23%;石灰氮处理降低 0.31%,差异不显著;石灰、威百亩处理增加了该属丰度,分别增加 13.02%和 26.00%。对照处理中第 2 大优势菌为嗜热链球菌属(*Mycothermus*) (17.06%),4 种熏蒸剂处理后均未检测到嗜热链球菌属。被孢霉属(*Mortierella*)为对照处理中第 3 大优势菌,相对丰度 7.18%,棉隆、石灰氮处理后其相对丰度降低了 1.21%和 1.50%,石灰、威百亩处理后其相对丰度增加 1.72%和 1.12%,但差异均不显著。引起草莓根部土传病害的病菌在前 20 属中检测到枝孢属(*Cladosporium*)和镰刀菌属(*Fusarium*),其中枝孢属在对照、石灰氮、石灰、棉隆、威百亩处理中的相对丰度分别为 1.85%、0.50%、0.74%、0.95%和 0.54%,镰刀菌属的相对丰度分别为 1.39%、0.68%、0.54%、1.20%和 0.74%,可见熏蒸剂处理均降低了枝孢属和镰刀菌属的相对丰度,但差异不显著。4 种熏蒸剂处理还降低了短梗蠕孢属(*Trichocladium*)、头梗霉属(*Cephalophora*)和 *Enterocarpus* 的相对丰度。毛壳菌属(*Chaetomium*)被认为对草莓的生长发育有重要作用^[2]。石灰氮、石灰、棉隆、威百亩处理中毛壳菌属相对丰度分别为 1.16%、1.28%、

0.64%和 1.67%,与对照(0.58%)相比,4 种处理均增加了此菌的相对丰度(图 4B)。

2.2.5 不同土壤熏蒸剂处理后细菌和真菌中的特殊群落

利用 LEfSe 差异分析研究不同处理在不同分类水平具有显著差异的生物标志物发现(LDA 阈值为 3)^[16],细菌群落共产生 55 个差异指示种,其中 21 个为对照处理差异指示种,包括装甲菌(*Armatimonadetes*) (从目到种)、芽单胞菌(*Gemmatimonadales*) (从目到种)、S0134 (从目到种)、*Longimicrobiales* (从科到种)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)、*Roseomonas* (从属到种)、芽孢杆菌(*Bacillus sinesaloumensis*)。石灰氮处理差异指示种有 3 个,包括芽单胞菌(*Gemmatimonadaceae*) (从属到种)、*Flavitalea*。石灰处理 2 个,即 *Solirubrobacter* (从属到种)。棉隆处理 13 个,包括嗜氢菌(*Hydrogenophilaceae*) (从科到种)、*Cohnella* (从属到种)、产碱杆菌属(*Advenella*) (从属到种)、鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium mizutaii*)、嗜碱赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus alkaliphilus*)、副球菌(*Paracoccus*)、脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)和 *Verrucomicrobia bacterium* WY51。W 处理 16 个,包括 SBR1031 目、*Tepidisphaerales* 目、*Candidatus Magasanikbacteria* (从目到种)、*Rhodocyclaceae*、A4b (从科到种)、WD2101 (从科到种)、气微菌(*Aeromicrobium*) (从属到种)、*Azoarcus* (图 5A)。

真菌群落在对照、石灰氮、石灰 3 种处理中共产生 6 个差异指示种(图 5B)。对照处理中有 3 个,为 *Hannaella* 菌(从属到种)、*Mortierella sarnyensis*;石灰氮处理 2 个,包括柔膜菌科(*Helotiaceae*)、粪盘菌属(*Ascobolus*);石灰处理 1 个,为疏绵状嗜热丝孢菌(*Thermomyces lanuginosus*)。以上物种对不同处理土壤之间微生物群落结构组成产生影响。

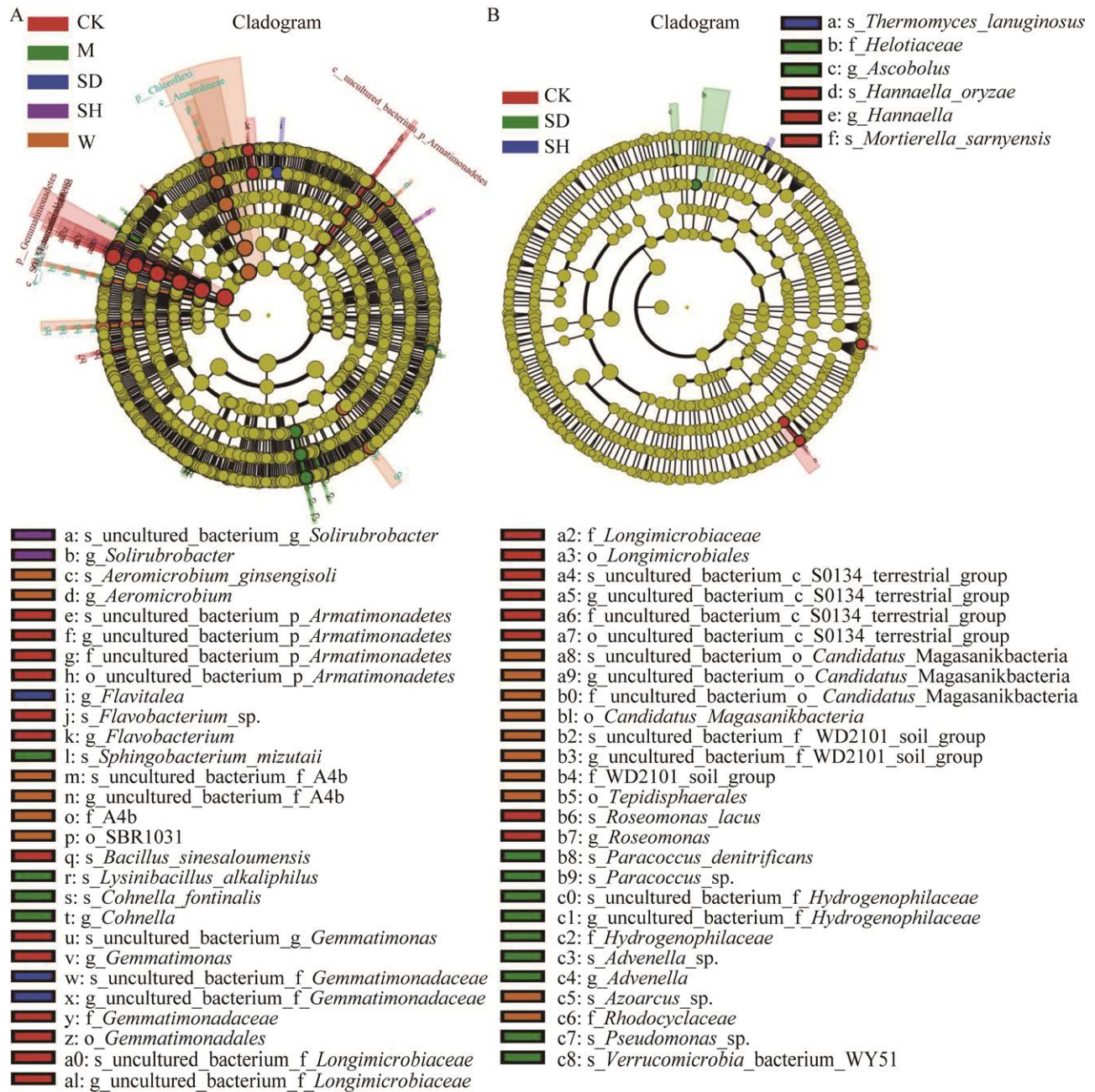


图 5 不同土壤熏蒸剂处理后土壤中的特殊群落及影响力 不同颜色节点表示在对应组别中显著富集且对组间差异存在显著影响的微生物类群；淡黄色节点表示在不同分组中均无显著差异或对组间差异无显著影响的微生物类群；小写字母代表差异指示种，其中 p 代表门，c 代表纲，o 代表目，f 代表科，g 代表属，s 代表种

Figure 5 Special communities and their effects under different fumigation. The nodes in different colors represent the microbial groups which are significantly enriched in the corresponding groups and have a substantial impact on between-group variance; The yellowish nodes denote the microbial groups which are not significantly different between groups and or have no significant effect on between-group variance; The lowercase letters represent difference indicator species, of which p means phylum, c means class, o means order, f means family, g means genus and s means species.

3 讨论与结论

土壤熏蒸影响了土壤的理化性状, 试验结果中石灰氮和威百亩处理均增加了碱解氮含量, 降低了有机质、有效磷和速效钾含量; 棉隆处理土壤各养分含量均增加; 石灰处理除有机质含量增加外, 碱解氮、有效磷和速效钾含量均降低, 以上结果说明施用不同熏蒸剂对土壤养分含量影响有差异。研究还发现, 棉隆、石灰和威百亩处理显著降低了土壤的 pH 值, 改善了土壤酸碱度, 有利于草莓生长。

连作草莓根部病害是导致重茬障碍的主要因素。土壤消毒是缓解重茬障碍, 减少病菌的有效手段。甲基溴^[17]因污染问题已经被禁止使用, 而威百亩、棉隆和石灰氮等因较好的防治效果成功用于生产^[18]。有关香蕉^[10]、草莓^[13]、甘蓝^[19]、苹果^[20]、核桃^[21]的研究结果表明, 土壤熏蒸剂对连作障碍有较好的缓解作用, 能灭杀大部分病原菌。de Cal^[22]等观察到施用棉隆等熏蒸剂后草莓苗圃土壤中腐霉和黄萎病菌数量明显减少。但张立彭等^[23]给出不同建议, 认为选用棉隆或威百亩进行土壤熏蒸时应慎重, 否则不但不能缓解兰州百合连作障碍, 还可能因降解挥发不完全发生药害。申光辉^[5]也认为威百亩、棉隆消毒对连作障碍防治效果欠佳, 且长期使用会破坏有益微生物群落结构, 甚至对环境与人类健康构成潜在威胁。本试验利用威百亩、棉隆、石灰氮、石灰等熏蒸剂结合太阳能高温闷棚处理连作草莓田发现, 经熏蒸剂处理后土壤细菌群落的丰富度均有所增加, 真菌群落的丰富度降低, 从多样性指数来分析, 除棉隆处理外其他处理增加了细菌群落的多样性, 石灰氮、威百亩处理降低了真菌群落的多样性。从引起草莓根部土传病害菌群所降比例来看, 4 种熏蒸剂均降低了病原菌的相对丰度, 但未彻底杀灭, 这也印证了土壤熏蒸可以抑

制大多数病菌但不能杀灭所有有害菌^[22]。王礼^[8]认为与其他熏蒸剂相比, 石灰氮对土壤微生物的冲击相对柔和, 并可对土壤环境进行优化调控。但熏蒸剂消杀具有广谱性特点, 对土壤中的微生物均会产生一定影响, 这一点多项研究结果中均有提及。例如: 高剂量石灰氮处理释放的氰氨会使某些拮抗益生菌群大量死亡^[24]; 威百亩因影响土壤中碳、氮矿化等重要转化过程微生物种群数量, 从而减弱这一过程^[25]。本试验也发现, 4 种熏蒸剂均降低了可固氮的中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)的相对丰度, 因此在熏蒸后配施微生物菌肥非常必要。张庆华等^[13]认为熏蒸会使土壤处于一种暂时性的“真空”状态, 此时将生物菌施入土壤中可以促进生物菌在土壤中定殖, 充分发挥生防潜能。

基因组测序技术已广泛应用于土壤微生物的研究, 使人们对微生物的组成有更多了解^[25-27]。本研究利用高通量测序平台鉴定到的真菌主要来自子囊菌门(*Ascomycota*), 总相对丰度占 76.69%–85.95%, 4 种处理均增加了子囊菌门的丰度。子囊菌门是土壤微生物群落中最丰富的真菌门, 通过分解土壤中难降解的有机质, 在养分循环中发挥重要作用^[5]。草莓连作土壤中主要菌为大丽花轮枝孢菌(*Verticillium dahliae* kleb)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、*Ralstonia solanacearum*, 这些是引起草莓黄萎病^[28]及枯萎病、根腐病、青枯病等土传病害的主要菌类^[6]。本次检测到引起草莓根部土传病害的镰刀菌属(*Fusarium*)和枝孢属(*Cladosporium*)有害微生物。从试验结果来看, 4 种熏蒸剂均降低了镰刀菌属和枝孢属的相对丰度, 对土传病原菌均有较好的灭杀作用; 从所降比例来看, 石灰氮处理效果最好, 这与贾喜霞等^[11]结论一致, 威百亩次之, 石灰效果好于棉隆。镰刀菌属属于子囊菌门, 是人类发现引起植物破

坏性病害的主要病原真菌之一,广泛分布于自然界中。其兼寄生或腐生生活,侵染后会使植物不同部位腐烂、萎蔫,严重影响产量^[29],试验结果中镰刀菌属相对丰度降低,子囊菌门相对丰度增加,表明熏蒸处理在灭杀有害菌的同时增加了子囊菌门中其他菌的相对丰度,比如毛壳菌属(*Chaetomium*)。据报道,毛壳菌属具有分解纤维素的能力,可以促进土壤中碳循环,防控某些病害,对草莓的生长发育也有重要作用^[2],是一种生物防治剂。土壤熏蒸处理后该菌的相对丰度有所增加,这也印证了上述推论是正确的。同时也与张大琪^[9]试验结果一致,认为镰刀菌属与毛壳菌属的相对丰度呈负相关关系。枝孢属菌几乎在任何环境中都可以发现,大多数为病原菌^[30],危害叶片和果实,造成产量下降和品质变劣。4种熏蒸剂均对该菌表现出抑制作用,有一定的防治效果。

细菌在土壤生态环境改善中发挥重要作用,如有机质的形成和分解、肥力的提高及抑制土传病害^[31]等方面。测序结果表明,不同处理中变形菌门(*Proteobacteria*)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)为两大优势门,与对照相比,石灰氮、石灰和威百亩处理增加了变形菌门的相对丰度。大多数固氮、氨氧化和反硝化细菌属于变形菌门^[32],且变形菌门中的部分微生物参与有机质和蛋白质的分解^[33],在养分循环中起重要作用。4种熏蒸剂均降低了芽单胞菌门的相对丰度,芽单胞菌门中的部分菌类可以防治多种植物病害。在属水平上,4种熏蒸剂均降低了有益微生物中慢生根瘤菌属的相对丰度,这类菌具有固氮的能力,为作物提供营养物质,促进植株生长。同时有降污能力的鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)在石灰氮、石灰和威百亩处理后相对丰度也不同程度降低,有可能是这些菌属对熏蒸剂的耐受力低所致。目前已分离出的根际促

生菌广泛应用于市场,如芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)^[6]。芽孢杆菌属可以帮助植物抵御生物胁迫,与植物建立了良好的共生关系^[34],是有效的生物防治剂。相较于对照处理,石灰氮、棉隆和威百亩处理增加了该菌的相对丰度。假单胞菌属有解磷作用,可将土壤中的难溶性磷转化为有效磷,供作物吸收^[33],但是一些假单胞菌也表现出对植物的致病性,使农作物减产^[2],石灰、棉隆和威百亩处理增加了假单胞菌属的相对丰度。溶杆菌属(*Lysobacter*)是一种生防细菌,对作物猝倒病有较好的抑菌效果^[33],She等^[31]在烟草中发现,随着连作年限增长,溶杆菌的相对丰度明显下降。而本试验中,石灰氮和棉隆处理增加了该菌的丰度,石灰氮增幅最大,说明这2种熏蒸剂对该菌有潜在的促进作用。以上结果均表明,熏蒸处理对病原菌的防治离不开土壤中有益菌的参与。同时也进一步验证熏蒸会对土壤中的非目标微生物组成及活性产生影响,有正向促进也有负向抑制,有益微生物的增加对维持土壤微生态动态平衡至关重要^[35],对土壤功能性有着不可忽视的影响。

通过LEfSe分析土壤细菌和真菌发现,对照处理富集21个细菌差异指示种,经熏蒸剂处理后,石灰氮、石灰、棉隆、威百亩处理分别富集3、2、13、16个细菌差异指示种,而真菌差异指示种出现在对照、石灰氮、石灰之间,这些差异指示种对处理间微生物群落结构组成产生影响。总之,石灰氮、石灰、棉隆和威百亩4种熏蒸剂处理可以防治土传病菌,可成为草莓土传病害防治的一部分,但对土壤养分含量和微生物的影响不同。根据对病原菌的灭杀效果可确定,石灰氮和威百亩可作为轮换施用的土施熏蒸剂,本试验条件下,棉隆是一种弱的处理剂。鉴于熏蒸剂对益生菌群的影响,认为在土壤处理后及时补充有益微生物如配施微生物菌肥非常必要。

REFERENCES

- [1] CHEN P, WANG YZ, LIU QZ, ZHANG YT, LI XY, LI HQ, LI WH. Phase changes of continuous cropping obstacles in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) production[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 155(155): 1-9.
- [2] 全利红, 高洁, 靳永胜. 草莓不同生育期根际微生物的动态变化[J]. *北京农学院学报*, 2019, 34(4): 10-15.
- TONG LH, GAO J, JIN YS. Dynamic changes of microorganisms in the rhizosphere of strawberry during different growth stages[J]. *Journal of Beijing University OF Agriculture*, 2019, 34(4): 10-15 (in Chinese).
- [3] 王廷峰, 赵密珍, 关玲, 赵帆, 于红梅, 庞夫花. 江苏省不同区域草莓连作土壤养分及微生物区系分析[J]. *果树学报*, 2019, 36(1): 86-93.
- WANG TF, ZHAO MZ, GUAN L, ZHAO F, YU HM, PANG FH. Analysis of nutrient contents and microbial flora in the continuous cropping soil of strawberry in different regions of Jiangsu Province[J]. *Journal of Fruit Science*, 2019, 36(1): 86-93 (in Chinese).
- [4] 赵帆, 赵密珍, 王钰, 关玲, 庞夫花. 基于高通量测序研究草莓根际微生物群落结构和多样性[J]. *土壤*, 2019, 51(1): 51-60.
- ZHAO F, ZHAO MZ, WANG Y, GUAN L, PANG FH. Microbial community structures and diversities in strawberry rhizosphere soils based on high-throughput sequencing[J]. *Soils*, 2019, 51(1): 51-60 (in Chinese).
- [5] 申光辉. 草莓连作根腐病发生机制与微生物及化学修复研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2012.
- SHEN GH. Study on the occurrence mechanism, microbial and chemical remediation of strawberry root rot in continuous cropping[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2012 (in Chinese).
- [6] 戚嘉琦. 高温闷棚配施生物制剂对草莓连作障碍修复作用的研究[D]. 淮阴: 淮阴工学院硕士学位论文, 2021.
- QI JQ. Study on the effect of applying biological agents in high-temperature greenhouse to repair strawberry continuous cropping obstacle[D]. Huaiyin: Master's Thesis of Huaiyin Institute of Technology, 2021 (in Chinese).
- [7] 王素素, 杜国栋, 吕德国. 土壤高温处理对连作草莓根系呼吸代谢及植株发育的影响[J]. *果树学报*, 2011, 28(2): 234-239.
- WANG SS, DU GD, LÜ DG. Effects of soil high temperature treatment on root respiratory metabolism and plant development of continuous cropping strawberry[J]. *Journal of Fruit Science*, 2011, 28(2): 234-239 (in Chinese).
- [8] 王礼. 石灰氮对土壤微生物种群及黄瓜枯萎病原菌影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2006.
- WANG L. Effects of lime nitrogen on soil microbial population and pathogen of cucumber *Fusarium* wilt[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2006 (in Chinese).
- [9] 张大琪. 氯化苦与生物熏蒸轮用对草莓土传病害防控效果和对土壤微生物群落结构的影响[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2020.
- ZHANG DQ. Control effect of chloropicrin and biological fumigation rotation on soil-borne diseases of strawberry and its influence on soil microbial community structure[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020 (in Chinese).
- [10] 钟书堂, 吕娜娜, 孙逸飞, 沈宗专, 李荣, 张娟, 沈其荣. 连作香蕉园生态熏蒸剂的筛选及其对土壤微生物群落结构的影响[J]. *土壤*, 2015, 47(6): 1092-1100.
- ZHONG ST, LÜ NN, SUN YF, SHEN ZZ, LI R, ZHANG J, SHEN QR. Screening of ecological fumigants in continuous cropping banana plantations and their effects on soil microbial community structure[J]. *Soils*, 2015, 47(6): 1092-1100 (in Chinese).
- [11] 贾喜霞, 师桂英, 黄炜, 张立彭, 吕海龙, 高启发. 土壤消毒剂配施微生物有机肥及生防菌剂缓解设施茄子连作障碍的作用效应微生物菌剂[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(13): 4492-4498.
- JIA XX, SHI GY, HUANG W, ZHANG LP, LÜ HL, GAO QF. Effect of soil disinfectant combined with microbial organic fertilizer and biocontrol agent on alleviating continuous cropping obstacle of greenhouse eggplant microbial agent[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(13): 4492-4498 (in Chinese).
- [12] 张艳. 设施草莓生产石灰氮土壤处理技术初探[J]. *中国园艺文摘*, 2014, 30(11): 190-190, 215.
- ZHANG Y. Preliminary study on lime nitrogen soil treatment technology for strawberry production in facilities[J]. *Zhongguo Yuanyi Wenzhai*, 2014, 30(11): 190-190, 215 (in Chinese).
- [13] 张庆华, 曾祥国, 韩永超, 向发云, 过聪, 陈丰滢, 顾玉成. 土壤熏蒸剂棉隆和生物菌肥对草莓连作土壤真菌多样性的影响[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(5): 1048-1060.
- ZHANG QH, ZENG XG, HAN YC, XIANG FY, GUO C, CHEN FY, GU YC. Effects of dazomet fumigation and biological fertilizer on strawberry soil fungal diversity under replant conditions[J]. *Microbiology China*, 2018,

- 45(5): 1048-1060 (in Chinese).
- [14] 李青杰, 方文生, 颜冬冬, 王秋霞, 曹勘程. 熏蒸剂对土壤微生物的影响研究进展[J]. 农药学报, 2019, 21(5): 780-786.
- LI QJ, FANG WS, YAN DD, WANG QX, CAO AC. Research progress on the effect of fumigants on soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(5): 780-786 (in Chinese).
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BAO SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [16] 孙建平, 刘雅辉, 左永梅, 韩民利, 张虹伟, 吕晶晶. 盐碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(10): 1618-1629.
- SUN JP, LIU YH, ZUO YM, HAN ML, ZHANG HW, LYU JJ. The bacterial community structure and function of *Suaeda salsa* rhizosphere soil[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(10): 1618-1629 (in Chinese).
- [17] STRAUSS SL, KLUEPFEL DA. Anaerobic soil disinfestation: A chemical-independent approach to pre-plant control of plant pathogens[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(11): 2309-2318.
- [18] 赵存鹏, 郭宝生, 刘素恩, 王兆晓, 耿昭, 王凯辉, 耿军义. 粮棉轮作对土壤中养分及真菌多样性的影响[J]. 华北农学报, 2017, 32(6): 139-146.
- ZHAO CP, GUO BS, LIU SE, WANG ZX, GENG Z, WANG KH, GENG JY. Effect of cotton and grain crops rotation on nutrients contents and diversity of fungi in the soil[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2017, 32(6): 139-146 (in Chinese).
- [19] 胡洪涛, 朱志刚, 焦忠久, 闵勇, 曹春霞, 颜冬冬, 曹勘程. 棉隆土壤消毒对高山甘蓝根肿病的防效及土壤真菌群落的影响[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(3): 25-31.
- HU HT, ZHU ZG, JIAO ZJ, MIN Y, CAO CX, YAN DD, CAO AC. Effects of soil disinfection by dazomet on control efficacy of cabbage clubroot disease and soil fungal communities in high mountain area[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(3): 25-31 (in Chinese).
- [20] 徐少卓, 刘宇松, 夏明星, 王英平, 陈学森, 沈向, 尹承苗, 毛志泉. 棉隆熏蒸加短期轮作葱显著减轻苹果连作障碍[J]. 园艺学报, 2018, 45(1): 11-20.
- XU SZ, LIU YS, XIA MX, WANG YP, CHEN XS, SHEN X, YIN CM, MAO ZQ. Dazomet fumigation and short-time *Allium fistulosum* rotation can significantly reduce the apple replant disease[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(1): 11-20 (in Chinese).
- [21] YAKABE LE, PARKER SR, KLUEPFEL DA. Effect of pre-plant soil fumigants on agrobacterium tumefaciens, pythiaceae species, and subsequent soil recolonization by *A. tumefaciens* [J]. Crop Protection, 2010, 29(6): 583-590.
- [22] de CAL A, MARTINEZ-TRECEÑO A, SALTO T, LÓPEZ-ARANDA JM, MELGAREJO P. Effect of chemical fumigation on soil fungal communities in Spanish strawberry nurseries[J]. Applied Soil Ecology, 2005, 28(1): 47-56.
- [23] 张立彭, 师桂英, 史贵红, 于彦琳, 李谋强, 苏国礼, 贾喜霞. 土壤熏蒸-微生物菌剂联用缓解兰州百合 (*Lilium davidii* var. *unicolor*) 连作障碍研究[J]. 中国沙漠, 2020, 40(5): 169-179.
- ZHANG LP, SHI GY, SHI GH, YU YL, LI MQ, SU GL, JIA XX. Alleviating obstacles of continuous cropping in Lanzhou lily by soil fumigation combined with microbial fertilizer[J]. Journal of Desert Research, 2020, 40(5): 169-179 (in Chinese).
- [24] 贾海燕, 石延霞, 谢学文, 柴阿丽, 李宝聚. 氰氨化钙土壤消毒对黄瓜根腐病及土壤病原菌的控制效果[J]. 园艺学报, 2016, 43(11): 2173-2181.
- BEN HY, SHI YX, XIE XW, CHAI AL, LI BJ. Studies of soil improvement effect of calcium cyanamide and its control efficiency on soil-borne diseases of vegetable crops[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(11): 2173-2181 (in Chinese).
- [25] COLLINS HP, ALVA A, BOYDSTON RA, COCHRAN RL, HAMM PB, MCGUIRE A, RIGA E. Soil microbial, fungal, and nematode responses to soil fumigation and cover crops under potato production[J]. Biology and Fertility of Soils, 2006, 42(3): 247-257.
- [26] 李青杰, 张大琪, 任立瑞, 颜冬冬, 李园, 王秋霞, 曹勘程. 氯化苦和棉隆对草莓土壤养分、病原菌及微生物群落的影响[J]. 河北农业大学学报, 2021, 44(6): 24-29.
- LI QJ, ZHANG DQ, REN LR, YAN DD, LI Y, WANG QX, CAO AC. Effects of chloropicrin and dazomet on strawberry soil nutrients, pathogenic bacteria and microbial communities[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2021, 44(6): 24-29 (in Chinese).
- [27] 岳丹丹, 韩贝, ULLAH A, 张献龙, 杨细燕. 干旱条件下棉花根际真菌多样性分析[J]. 作物学报, 2021, 47(9): 1806-1815.
- YUE DD, HAN B, ULLAH A, ZHANG XL, YANG XY. Fungi diversity analysis of rhizosphere under drought

- conditions in cotton[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(9): 1806-1815 (in Chinese).
- [28] MESZKA B, MALUSÀ E. Effects of soil disinfection on health status, growth and yield of strawberry stock plants[J]. *Crop Protection*, 2014, 63: 113-119.
- [29] 赵帆, 赵密珍, 王钰, 庞夫花. 不同连作年限草莓根际细菌和真菌多样性变化[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(6): 1377-1386.
- ZHAO F, ZHAO MZ, WANG Y, PANG FH. Biodiversity of bacteria and fungi in rhizosphere of strawberry with different continuous cropping years[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(6): 1377-1386 (in Chinese).
- [30] 吕靖雯, 刘蕊, 李国华, 李红叶, 王洪凯. 柚果面枝孢菌斑点病病原鉴定[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2018, 44(6): 687-694.
- LÜ JW, LIU R, LI GH, LI HY, WANG HK. Identification of pathogens causing fruit spot disease on *Citrus grandis*[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2018, 44(6): 687-694 (in Chinese).
- [31] SHE SY, NIU JJ, ZHANG C, XIAO YH, CHEN W, DAI LJ, LIU XD, YIN HQ. Significant relationship between soil bacterial community structure and incidence of bacterial wilt disease under continuous cropping system[J]. *Archives of Microbiology*, 2017, 199(2): 267-275.
- [32] 李晶晶, 续勇波. 连作年限对设施百合土壤微生物多样性的影响[J]. *土壤通报*, 2020, 51(2): 343-351.
- LI JJ, XU YB. Effects of continuous cropping years of lily on soil microbial diversities under greenhouse cultivation[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2020, 51(2): 343-351 (in Chinese).
- [33] 史文宇. 绿肥-秸秆协同还田对连作棉田土壤微生物群落和功能多样性的影响[D]. 邯郸: 河北工程大学硕士学位论文, 2021.
- SHI WY. Effect of green manure-straw cooperative returning on soil microbial community and functional diversity in continuous cropping cotton field[D]. Handan: Master's Thesis of Hebei University of Engineering, 2021 (in Chinese).
- [34] 陈梦, 陈敬忠, 刘济明, 武梦瑶, 颜强, 李鹏, 黄路婷, 肖雪峰. 小蓬竹根际土壤微生物及内生真菌多样性分析[J]. *生态学报*, 2021, 41(10): 4120-4130.
- CHEN M, CHEN JZ, LIU JM, WU MY, YAN Q, LI P, HUANG LT, XIAO XF. Diversity analysis of rhizosphere soil fungi and endophytic fungi in *Ampelocalamus luodianensis*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(10): 4120-4130 (in Chinese).
- [35] 陈利达, 石延霞, 李磊, 柴阿丽, 郭宁, 范腾飞, 谢学文, 李宝聚. 不同土壤熏蒸剂对生菜种植土壤镰孢病菌的抑制效果及土壤微生物群落的影响[J]. *农业生物技术学报*, 2021, 29(12): 2365-2374.
- CHEN LD, SHI YX, LI L, CHAI AL, GUO N, FAN TF, XIE XW, LI BJ. Efficacies of different soil fumigants against *Fusarium* spp. of lettuce (*Lactuca sativa*) planting soil and their influences on soil microbial community[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(12): 2365-2374 (in Chinese).