



施加微生物菌剂对马铃薯根际土壤细菌多样性的影响

杨 楠¹, 谭雪莲², 郭天文^{1,3}, 张平良², 刘晓伟²

(1. 甘肃农业大学 资源与环境学院, 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院 旱地农业研究所,
兰州 730070; 3. 甘肃省农业科学院, 兰州 730070)

摘要 为了从土壤微生物生态学的角度阐述微生物菌剂对马铃薯根际土壤细菌群落结构的影响,采用高通量测序技术对细菌 16S rRNA V3+V4 区序列进行测序分析,以不施肥(CK)、单施化肥(F)作为对照,研究 T1(化肥+颗粒菌剂 75 kg·hm⁻²)、T2(化肥+颗粒菌剂 150 kg·hm⁻²)、T3(化肥+颗粒菌剂 225 kg·hm⁻²)、T4(化肥+颗粒菌剂 300 kg·hm⁻²)处理下根际土壤细菌群落多样性。结果表明,与 F 相比,T2 可以显著提高土壤细菌 OTU 数量、Chao1 指数和 ACE 指数。门水平上,与 CK、F 相比,T4 酸杆菌门分别降低 33.24%、29.33%,芽单胞菌门分别降低 25.16%、21.01%。纲水平上,与 CK 相比,T4 γ-变形菌纲和拟杆菌纲相对丰度分别显著增加 32.04%、59.73%,T3 和 T4 放线菌纲相对丰度分别显著增加 129.11%、169.68%,T4 芽单胞菌纲、母链菌纲相对丰度分别显著降低 26.91%、38.1%;与 F 相比,T3 和 T4 酸微菌纲相对丰度分别显著降低 21.38%、24.04%,而放线菌纲相对丰度分别显著提高 59.48%、87.72%,T2、T3 和 T4 拟杆菌纲相对丰度分别显著增加 74.19%、73.52%、124.49%。说明施用微生物菌剂显著提高土壤细菌的丰富度,改善菌群结构,增加有益菌的丰度,进而改善马铃薯土壤微环境。

关键词 微生物菌剂; 根际土壤; 细菌多样性; 马铃薯

甘肃省是中国马铃薯的主产区,面积和产量均居全国第三位^[1]。近年来,规模化和集约化的种植模式以及化肥的不合理使用,导致马铃薯产量和品质下降、土壤微生物多样性降低、土壤生态系统失衡等问题日益突出^[2],制约甘肃省马铃薯产业健康发展。因此,研究新型环保肥料对土壤生态环境具有重要的意义。微生物菌剂作为一种新型环保肥料,含有大量有效活菌,可以分解土壤有机质^[3],促进土壤中难溶性养分的溶解和释放^[4-5];此外,这些有效菌在生命活动过程中,能够分泌植物激素和抗生素等活性物质,刺激作物生长^[6];微生物菌剂还含有大量营养成分,其特定的肥料效应能够提供作物生长所需的营养元素^[7]。微生物菌剂具有改善土壤结构^[8-9]、提高土壤微生物丰富度^[10]、减轻病虫害^[11]等作用,可实现农业的持续发展。前人研究表明,哈茨木霉菌在提高枸杞幼苗成活率的同时,提高了果实内含物多糖、

甜菜碱、总黄酮含量和胡萝卜素^[12];施用菌剂可有效降低连作棉田棉花黄萎病的发病率,并增产 9.64%~26.21%,缓解连作障碍的同时,显著降低棉花根系丙二醛的含量,提高根系活力,减轻作物的自毒作用,也可显著提高连作土壤碱解氮、有效磷和速效钾含量,较不施菌剂处理分别增加 15.4%、36.8%、19.8%^[13];复合微生物菌剂与氨基酸水溶肥组合施用显著提高了香蕉土壤有益菌鞘氨醇单胞菌属的物种丰度,且显著降低了土壤致病真菌炭疽菌属的物种丰度,降低香蕉发病率^[14]。目前,微生物菌剂对马铃薯土壤微生物多样性的研究鲜有报道。本研究采用高通量测序对马铃薯土壤微生物多样性进行研究,从微生物生态学的角度探讨施用不同剂量微生物菌剂马铃薯根际土壤细菌群落组成和多样性,为土壤可持续发展作理论支撑。

收稿日期:2022-01-18 修回日期:2022-03-02

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201503120);甘肃省农科院科技创新专项(2021GAAS19);甘肃省重点研发计划(20YF3WA010);国家自然基金地区科学基金(31560172)。

第一作者:杨楠,女,硕士研究生,从事农业资源利用研究。E-mail:2234811515@qq.com

通信作者:郭天文,男,研究员,主要从事植物营养与土壤肥料研究。E-mail:guotianwen2007@hotmail.com

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于2020年在甘肃省定西市团结镇高泉山上进行。该地区位于北纬 $35^{\circ}24'21''$,东经 $104^{\circ}34'94''$,海拔2 155 m,年平均气温较低,年平均降水量500~550 mm,属干旱、半干旱地区。试验地前茬作物是柴胡,土壤肥力良好,0~20 cm土层的有机质、全氮、全磷、全钾、速效氮、速效钾分别为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $0.73 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $0.67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $19.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $15.12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $174.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,pH为8.21。

1.2 试验设计

供试马铃薯品种为‘陇薯10号’,试验所用菌剂为黑沃土酸性微生物颗粒菌剂(有效活菌数 $\geq 5 \text{亿/g}$),功能菌为枯草、地衣、解淀粉芽孢杆菌以及哈茨木霉菌等多种复合菌,总养分 $\geq 15\%$ (N:10%,P₂O₅:2%,K₂O:3%),定殖率为37.8%,由黑沃土生物科技有限公司提供。大田试验共设计6个处理,分别为:不施肥对照处理CK;单施化肥对照处理F(N:180 kg·hm⁻²,P₂O₅:90 kg·hm⁻²,K₂O:90 kg·hm⁻²);处理T1(化肥+颗粒菌剂75 kg·hm⁻²);处理T2(化肥+颗粒菌剂150 kg·hm⁻²);处理T3(化肥+颗粒菌剂225 kg·hm⁻²);处理T4(化肥+颗粒菌剂300 kg·hm⁻²),其中施菌剂处理所施用的化肥量均与单施化肥相同,化肥全部一次性在播前基施,黑沃土酸性微生物颗粒菌剂采用穴施。试验共18个小区,长8 m,宽6 m,面积48 m²,试验地四周均设有4行保护行。马铃薯采用全膜覆盖垄播栽培,垄高30 cm、行距60 cm、株距30 cm,播种密度:52 500穴·hm⁻²。试验于2020年4月20日播种,于10月20日成熟收获。

1.3 田间管理及样品采集

播前撒施毒死蜱杀虫药75 kg·hm⁻²,预防虫害。苗高8~10 cm时结合锄草适时中耕培土提高地温,疏松土壤。样品于2020年8月采集各试验区耕层(0~20 cm)土壤新鲜样品,将植株和周围的土体取出,轻轻抖落掉根系外围土,取其表层土壤,将取到的土样混合均匀,土样装到无菌袋密封,放入冰盒带回实验室,并在-80 °C的冰箱储存,土样用于后续土壤微生物DNA提取及微生物多样性分析。

1.4 根际土壤总DNA提取及PCR扩增

土壤样品利用CTAB方法对基因组DNA进行提取,提取后的DNA使用Qbiut(厂家 invitrogen,试剂 Qubit TM dsDNA HS Assay Kit)进行浓度检测,使用 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂糖凝胶电泳检测提取DNA的完整性。PCR扩增采用细菌通用引物338F(ACCCCTACGGGAGGCAGCA)和806R(GGACTTACHVGGGTWTCTAAT)进行扩增,PCR反应用 $10 \mu\text{L}$ 体系:KOD FX Neo Buffer 5 μL,2 mmol·L⁻¹dNTPs 2 μL,正向引物($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)0.3 μL,反向引物($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)0.3 μL,KOD FX Neo 0.2 μL,Template DNA 5~50 ng,补ddH₂O至 $10 \mu\text{L}$ 。扩增条件为95 °C预变性5 min,95 °C变性30 s,50 °C退火30 s,72 °C延伸40 s,共25个循环,72 °C延伸7 min,4 °C保存备用。基于 Illumina Novaseq 测序平台构建小片段文库进行双末端测序,委托北京百迈客生物科技有限公司完成。

1.5 数据分析与处理

高通量测序得到的原始数据通过拼接过滤最后保留高质量序列用于分析,符合的序列进行OTU聚类分析,基于聚类结果进行多样性分析;分析不同分类水平下土壤细菌在群落结构上的相似性。采用Microsoft Excel 2016对试验数据进行处理与作图,采用DPS 9.01进行统计分析,LSD法进行差异显著性检验。使用QIIME2(Version 2020.6)计算Chao1、ACE、Shannon指数,采用基于Binary-Jaccard距离矩阵对细菌群落进行 β 多样性分析。

2 结果与分析

2.1 测序数据质量评估及OTU聚类分析

由表1可知,6个样品共获得原始序列946 008条,通过质控后获得高质量序列849 727条,有效序列数共797 583条,平均序列长度为417.67 bp。其中,土壤样本CK、F、T1、T2、T3、T4分别读取了142 137、143 102、145 191、144 629、144 456、130 212条优化序列,T4与其他处理差异显著。

依据0.97的序列相似性在6个土壤样本中共检测出9 939个OTU,每一个OTU被视为一个微生物物种。所有的OTU数量可分为30门、85纲、180目、266科、426属、463种。各土壤样本CK、F、T1、T2、T3、T4所含的OTU数分别为

1 666、1 657、1 653、1 676、1 656、1 631,其中共有 OTU 数为 1 558。各处理所含 OTU 数排序为 T2>CK>F>T3>T1>T4,其中 F 与 T2 差异显著,T2 较 F 增加 1.15%;随着菌剂用量的增加,OTU 数量呈现出先增加后降低的趋势,在菌剂用量增加到 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ (T2)时达到最大值,T2 与 T4 差异显著,较 T4 增加 2.76%。由此表明施用化肥+颗粒菌剂 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 可显著

提高 OTU 数量。

图 1 是相似度在 0.97 条件下各土壤样品的稀释曲线,细菌丰富度稀释曲线呈现出的趋势为先升高后趋于平缓,逐渐达到饱和状态,表明所测的样品序列很充分,环境中的物种数目不会因为所测序列的增加而一直增加,可以真实的反映样品中的细菌群落。

表 1 样本测序数据统计结果

Table 1 Statistical results of sample sequencing data

样品名称 Sample	分类操作单元 OTU	原始序列数 Raw reads	高质量序列数 Clean reads	有效序列数 Effective reads	样品平均序列长度/bp AvgLen
CK	1 666 ab	160 062 a	142 137 a	137 417 a	418 a
F	1 657 b	160 274 a	143 102 a	135 269 a	418 a
T1	1 653 ab	160 075 a	145 191 a	138 476 a	418 a
T2	1 676 a	159 851 a	144 629 a	134 964 a	417 a
T3	1 656 ab	160 662 a	144 456 a	134 602 a	418 a
T4	1 631 b	145 084 b	130 212 b	116 855 b	417 a

注:同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异达 5% 显著水平($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters after the data within the same columns indicate the significant difference among different treatment at 0.05 level.

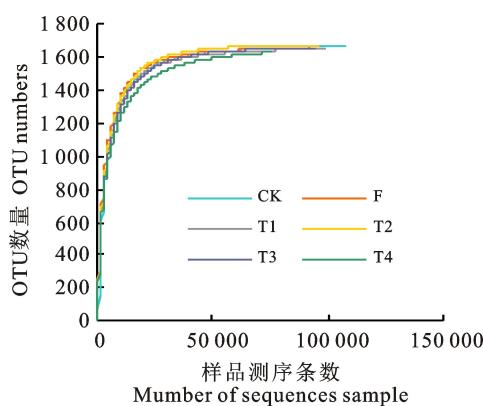


图 1 相似度为 0.97 条件下各土壤样品的稀释曲线

Fig. 1 Dilution curve of each soil sample with similarity of 0.97

2.2 根际土壤细菌的多样性分析

2.2.1 土壤 α 多样性分析 在供试土壤样品 Alpha 多样性指数中,Chao1 指数和 ACE 指数越大表明土壤样品中细菌的含量越高,土壤菌种的丰富度越高。Shannon 指数代表了菌群的多样性,指数大小与菌群多样性高低成正比。由表 2 可知,Chao1 指数在各处理中的大小依次为 T2>CK>T1>T4>T3>F,与 F 相比,T2、T3 分别增加 1.33%、0.11%,两者间差异显著;在不同菌剂用量之间,T1 与 T2 差异显著,T2 较 T1 增加 0.65%。ACE 指数排序为 T2>CK>T1>F>T3>T4,F 与 T2 有极显著差异,T2 较 F 增加

1.14%。Shannon 指数大小依次表现为 F>T2>CK>T4>T1>T3,在不同菌剂用量之间,T2 与 T3 差异显著,T2 较 T3 增加 2.15%,施用菌剂处理与对照无显著差异。结果表明,较单施化肥,微生物菌剂可以显著增加土壤细菌的丰富度,尤以菌剂用量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时作用最明显;与不同菌剂用量相比,菌剂用量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 可以提高土壤细菌的多样性。

2.2.2 土壤 β 多样性分析 图 2 为 OTU 水平下采用样品间 jaccard 距离矩阵绘制的聚类热图,样品距离热图的颜色可以反映样品间土壤细菌群落结构与多样性的差异,颜色越蓝表示样品间距离越近,细菌群落相似度越高,越红则距离越远。T4 与 CK、F、T1 的土壤细菌群落之间具有差异,其中 T4 和 F、T1 的细菌群落之间的差异显著。说明施用菌剂的用量越高对土壤细菌群落的影响越大。

2.3 根际土壤细菌群落结构多样性分析

2.3.1 门水平根际土壤细菌群落结构变化 图 3 为供试土壤细菌门水平上的分类,其中相对丰度较高的分别是变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)。土壤细菌各处理在组成

表2 不同处理马铃薯根际土壤细菌群落多样性

Table 2 Diversity of bacterial community in potato rhizosphere soil under different treatments

样品名称 Sample ID	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index
CK	1 682.24 ABabc	1 672.45 ABab	9.13 Aab
F	1 660.53 Bc	1 660.18 Bb	9.26 Aab
T1	1 671.86 ABbc	1 660.33 ABab	9.02 Aab
T2	1 682.65 Aa	1 679.05 Aa	9.17 Aa
T3	1 662.33 ABab	1 659.48 ABab	8.97 Ab
T4	1 663.04 ABabc	1 650.82 ABab	9.02 Aab

注:同列数据后不同大小写字母表示不同处理间差异达1%和5%显著水平($P<0.01, P<0.05$)。

Note: Different capital and lowercase letters after the data within the same columns indicate significant differences among different treatments at 0.01 and 0.05 levels.

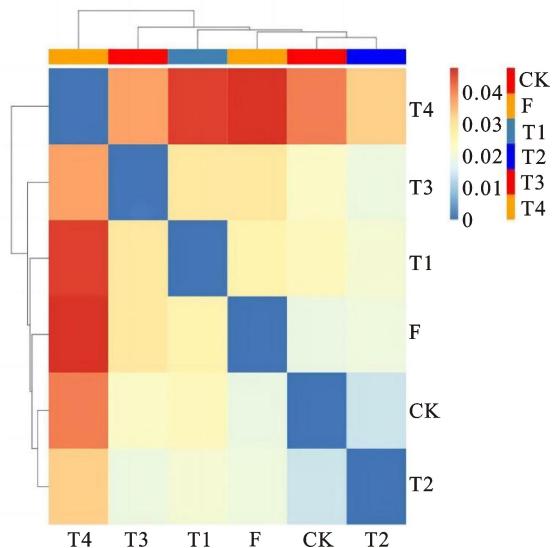


图2 OTU水平下土壤细菌距离热图

Fig. 2 Heatmap of soil bacteria distance at OTU level

上没有区别,但在菌群结构和相对丰度上有一定差异。变形菌门是各供试土壤的优势菌门(占比为31.40%~34.78%),相对丰度最高,各处理间差异不显著。放线菌门在土壤中分布较广,是本研究的第二大优势菌门,与F相比,T4放线菌门相对丰度增加4.59%,CK、T1、T2、T3分别降低29.19%、17.08%、8.26%、0.77%,其中F与其余各处理均达到显著水平,且与CK、T1、T2达到极显著水平,T4放线菌门相对丰度最高,较CK增加35.10%。酸杆菌门菌剂用量为300 kg·hm⁻²(T4)时土壤菌群丰度最高,在不施肥土壤中丰度最低,与CK相比,T2、T3、T4分别降低27.38%、22.17%、33.24%,两者之间均有显著差异,且CK与T4达到极显著水平;与F相比,T4酸杆菌门相对丰度降低29.33%,两者差异显著;随着菌剂用量增加,酸杆菌门在土壤中的相对丰度呈现先降

低再增加后降低的趋势,菌剂用量增加到300 kg·hm⁻²(T4)时达到最低值,其中T1与T4差异显著,T4较T1降低26.81%。与CK、F相比,T4芽单胞菌门相对丰度分别降低25.16%、21.01%,两者之间均有显著差异,且CK与T4达到极显著水平;随着菌剂用量增加,芽单胞菌门在土壤中相对丰度变化趋势与酸杆菌门相同,T4较T1、T3分别降低21.01%、17.73%,两者之间有显著差异。由此可见,施用微生物菌剂可显著引起马铃薯根际土壤细菌门水平群落组成的变化,较不施肥和单施化肥,施用微生物菌剂会显著降低酸杆菌门、芽单胞菌门的相对丰度,且以菌剂用量300 kg·hm⁻²时最为显著。较单施化肥,菌剂用量为300 kg·hm⁻²时可以显著提高放线菌门的相对丰度,其余处理则会降低放线菌门的相对丰度。

2.3.2 纲水平根际土壤细菌群落结构变化

由图4可知,供试土壤细菌在纲水平上主要有 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes)、Subgroup_6、放线菌纲(Actinobacteria)、拟杆菌纲(Bacteroidia)、酸微菌纲(Acidimicrobia)、 δ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)、母链菌纲(Blastocatellia_Subgroup_4)、绿弯菌纲(Chloroflexia)。平均丰度小于1.50%的部分(others)未在图中显示。通过细菌群落丰度比例可知, α -变形菌纲(17.54%~19.56%)和 γ -变形菌纲(10.24%~13.62%)在土壤细菌结构中所占比例最大, α -变形菌纲是各处理的优势菌纲,各处理间差异不显著。 γ -变形菌纲是第二大优势菌纲,其相对丰度大小依次为:T4>T2>T3>T1>CK>F,与CK相比,T4 γ -变形菌纲相对丰度增加

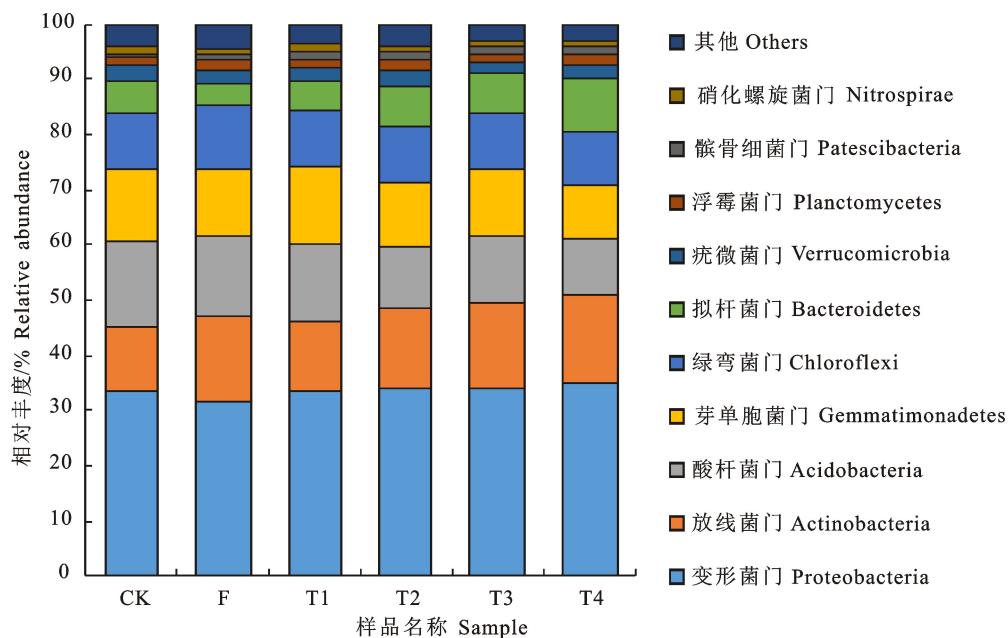


图 3 供试土壤细菌门水平分类

Fig. 3 Classification of bacterial phylum level in tested soil

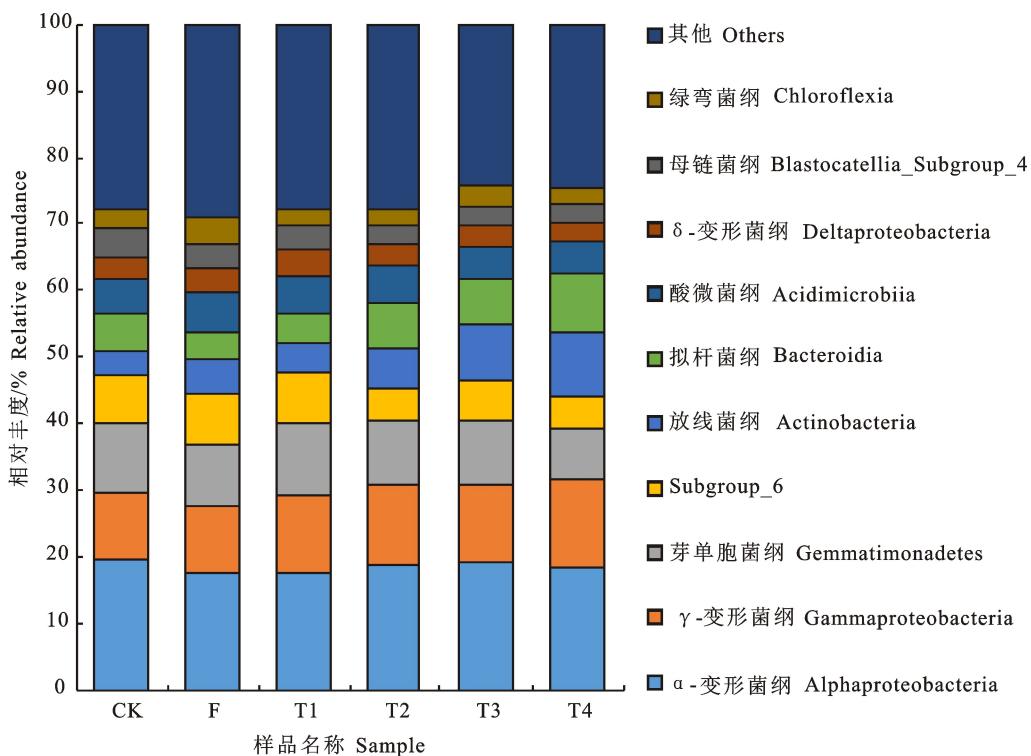


图 4 供试土壤细菌纲水平分类

Fig. 4 Classification of bacterial class level in tested soil

32.04%，两者有显著差异。与 CK 相比，T4 芽单胞菌纲相对丰度降低了 26.91%，两者达到极显著水平；随着菌剂用量增加，其相对丰度呈现出先降低后增加再降低的趋势，T2、T3、T4 较 T1 分别降低 14.38%、11.94%、32.45%。与 CK、F 相

比，T3 放线菌纲相对丰度分别增加 129.11%、59.48%，T4 分别增加 169.68%、87.72%，T3、T4 和 CK、F 差异显著，其中 CK 和 T3、T4 达到了极显著水平；在不同菌剂用量中 T3、T4 较 T1 分别增加 93.39%、127.63%，且两者之间差异显

著。与 F 相比, T2、T3、T4 拟杆菌纲相对丰度分别增加 74.19%、73.52%、124.49%, 且两者间达到极显著水平; 与 CK 相比, T4 拟杆菌纲相对丰度增加了 59.73%, 两者间有显著差异; 在不同菌剂用量之间, T1 与 T2、T3、T4 有显著差异, T2、T3、T4 较 T1 分别增加 46.80%、46.24%、89.20%。与 F 相比, T3、T4 酸微菌纲相对丰度分别降低 21.38%、24.04%, 两者间均有显著差异。与 CK 相比, T2、T3、T4 母链菌纲相对丰度分别降低 32.25%、29.20%、38.10%, 两者间均有显著差异, 且 CK 与 T4 达到极显著水平。绿弯菌属于光合细菌类群, 能够利用光合作用来维持生存。与 F 相比, T1、T2 绿弯菌纲相对丰度分别降低了 39.38%、40.45%, 两者间有显著差异。由此可见, 施用微生物菌剂可显著引起马铃薯根际土壤细菌纲水平群落组成的变化, 较不施肥, 微生物菌剂可以显著提高 γ -变形菌纲相对丰度, 可以显著降低芽单胞菌纲、母链菌纲相对丰度, 且都以菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时最显著。较单施化肥, 微生物菌剂可以显著降低酸微菌纲、绿弯菌纲相对丰度。较对照, 菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 可以显著提高放线菌纲和拟杆菌纲相对丰度。

3 讨论

土壤中大量的细菌会抑制病原菌的生长繁殖, 土壤细菌的丰富度与土壤健康息息相关^[15]。本研究基于高通量测序平台 Illumina Novaseq 对不同用量微生物菌剂的马铃薯根际土壤细菌的多样性进行了分析, 结果表明, 马铃薯施用微生物菌剂后土壤细菌多样性发生显著变化, 单施化肥与菌剂用量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 两者差异显著, 说明施用菌剂可以显著增加土壤细菌的 Chao1 指数和 ACE 指数。前人研究结果也证明, 复合木霉菌菌剂处理后的小麦根际土壤细菌 Shannon 指数及 Chao1 指数显著增加^[16]; 枯草芽孢杆菌菌肥会在一定程度上提高土壤细菌种群多样性, 使土壤细菌群落结构更加丰富^[17]; 黄腐酸与微生物菌剂协同处理后可显著提高烟草根际土壤细菌群落 Shannon 指数和辛普森指数, 有效改善了根际土壤细菌的生态环境^[18]。

在门、纲水平上, 马铃薯根际土壤的优势菌门有变形菌门、放线菌门、酸杆菌门, 本研究中变形菌门是存在于土壤中最为广泛的优势菌门, 此结果与前人研究结果一致^[19-24]。主要原因可能是微

生物菌剂的施用影响了原有土壤微生物菌群结构, 并形成了一种特定的微生态环境。本研究表明, 在单施化肥的基础上, 增施 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的微生物菌剂可显著增加有益菌群放线菌门相对丰度, 这与前人研究结果一致^[25]。放线菌具有解磷固氮的作用, 其代谢产物中产生的一些物质不仅对病原菌有拮抗作用^[26], 还可以降解一些有毒有害物质^[27-28], 说明微生物菌剂会明显减轻病原菌和有害物质对土壤的侵害, 使土壤生态系统向着健康的方向发展。酸杆菌门是本研究中的第三大优势菌门, 酸杆菌门适宜在较贫瘠的土壤上生存^[29], 其相对丰度与土壤肥力成反比, 可以作为土壤养分状况的指示菌^[30]。本研究中不施肥处理中酸杆菌门的相对丰度最低, 单施化肥次之, 而菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 相对丰度最高, 说明微生物菌剂可以有效活化土壤养分、提高土壤肥力。纲水平上, 本研究发现, 较不施肥, 菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 会显著提高 γ -变形菌纲的相对丰度, 这与李金花等^[31]、谭雪莲^[32]的研究结果相反, 原因可能是菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的土壤处于高营养状态, γ -变形菌纲在土壤养分含量较高的环境中含量丰富, 且含有一些优势菌, 例如: 氨氧化细菌, 说明高养分含量对 γ -变形菌纲的相对丰度有促进作用。此外, 研究发现较不施肥与单施化肥, 施用菌剂也会显著提高拟杆菌纲、放线菌纲的相对丰度。拟杆菌具有溶磷作用, 其相对丰度和速效磷含量成正比^[25], 拟杆菌不仅对土壤有机碳转化为无机碳的过程起到重要作用^[30], 而且还可以分解高分子物质达到降解的目的^[33]。酸微菌纲、放线菌纲均属于放线菌门, 以往研究表明, 放线菌纲对增加土壤有机碳、氮磷比、碳氮比上有极显著的作用, 但会降低土壤 pH, 而酸微菌纲与土壤 pH 呈显著正相关关系^[34], 本研究供试土壤为碱性土壤, 施用菌剂使酸微菌纲显著降低, 说明菌剂有中和土壤酸碱度的作用, 放线菌纲在施用菌剂后显著增加, 说明施用菌剂会促进土壤营养元素的流动, 这与前人研究结果一致^[35]。本研究中菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 较不施肥会显著降低芽单胞菌纲的相对丰度, 这与前人研究结果一致^[14,36]。芽单胞菌纲中含有很多病原菌, 如肠杆菌科、假单胞菌科, 说明菌剂可以通过降低芽单胞菌纲的相对丰度, 从而降低马铃薯的发病几率。

4 结 论

较单施化肥,菌剂用量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时会显著提高土壤细菌 OTU 数量和丰富度。施用微生物菌剂对土壤细菌结构有很大的影响,与对照相比,菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时可以显著降低酸杆菌门、芽单胞菌门相对丰度,显著提高放线菌纲、拟杆菌纲相对丰度;较单施化肥,菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时可以显著提高放线菌门的相对丰度,显著降低酸微菌纲相对丰度;较不施肥,菌剂用量为 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时可显著提高 γ -变形菌纲相对丰度,降低芽单胞菌纲相对丰度。微生物菌剂显著改善了土壤细菌菌群结构,增加了有益菌的丰度,进而改善了马铃薯土壤微环境。

参 考 文 献 Reference:

- [1] 刘艳萍.甘肃省马铃薯产业发展现状与前景展望[J].种子科技,2020,38(9):113-114.
LIU Y P. The status quo and prospect of potato industry development in Gansu province[J]. *Seed Science & Technology*, 2020, 38(9): 113-114.
- [2] 沈宝云,刘 星,王 蒂,等.甘肃省中部沿黄灌区连作对马铃薯植株生理生态特性的影响[J].中国生态农业学报,2013,21(6):689-699.
SHEN B Y, LIU X, WANG D, et al. Effects of continuous cropping on physiological and ecological characteristics of potato plants in irrigation area along the Yellow River in central Gansu province[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(6): 689-699.
- [3] WANG L, LI J, YANG F, et al. Application of bioorganic fertilizer significantly increased apple yields and shaped bacterial community structure in orchard soil [J]. *Microbial Ecology*, 2017, 73(2): 404-416.
- [4] 钱建民.微生物制剂对土壤肥力及马铃薯产量品质的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2015.
QIAN J M. Effects of microbial agents on soil fertility and potato yield and quality[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015.
- [5] 陈晓燕,王小琳,谢先进.不同微生物菌剂对玉米产量及土壤肥力的影响[J].热带农业科学,2021,41(9):11-16.
CHEN X Y, WANG X L, XIE X J. Effects of different microbial agents on corn yield and soil fertility[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2021, 41(9): 11-16.
- [6] ASSAINAR S K, ABBOTT L K, MICKAN B S, et al. Response of wheat to a multiple species microbial inoculant compared to fertilizer application[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 99: 1601.
- [7] 宋以玲,于 建,陈士更,等.复合微生物菌剂对棉花生理特性及根际土壤微生物和化学性质的影响[J].土壤,2019,51(3):477-487.
SONG Y L, YU J, CHEN SH G, et al. Effects of compound microbial agents on cotton physiological characteristics and rhizosphere soil microbes and chemical properties[J]. *Soil*, 2019, 51(3): 477-487.
- [8] 王国丽,张晓丽,张晓霞,等.施用功能微生物菌剂对重度盐碱地向日葵生长及土壤微生物的影响[J].中国土壤与肥料,2021(5):133-139.
WANG G L, ZHNAG X L, ZHANG X X, et al. Effects of application of functional microbial agents on sunflower growth and soil microbes in severe saline alkaline soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2021(5): 133-139.
- [9] CORREA O S, MONTECCHIA M S, BERTI M F, et al. Bacillus amyloliquefaciens BNM122, a potential microbial biocontrol agent applied on soybean seeds, causes a minor impact on rhizosphere and soil microbial communities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2008, 41(2): 185-194.
- [10] 宋 健,刘伟峰,魏喜喜,等.枣专用微生物菌剂对干旱区骏枣园土壤养分及土壤酶活性的影响[J].西南农业学报,2021,34(7):1472-1479.
SONG J, LIU W F, WEI X X, et al. Effects of special microbial agents for jujube on soil nutrients and soil enzyme activities in junzao orchard in arid area[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34(7): 1472-1479.
- [11] 李晶晶,刘 聪,王鑫鑫,等.微生物菌剂对青椒生长、品质和土壤养分状况的影响[J].北方园艺,2021(13):1-10.
LI J J, LIU C, WANG X X, et al. Effects of microbial agents on the growth, quality and soil nutrient status of green pepper[J]. *Northern Horticulture*, 2021(13): 1-10.
- [12] 何 嘉,马婷慧,白小军,等.不同微生物菌剂对枸杞生长发育及产量品质的影响[J].西南农业学报,2021,34(6):1296-1301.
HE J, MA T H, BAI X J, et al. Effects of different microbial agents on the growth and development, yield and quality of *Lycium chinensis*[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34(6): 1296-1301.
- [13] 李 国,易 强,许世武,等.微生物菌剂对新疆棉花连作障碍的消减研究[J].中国土壤与肥料,2020(1):202-207.
LI G, YI Q, XU SH W, et al. Research on the reduction of continuous cropping obstacles of Xinjiang cotton by microbial agents[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2020 (1): 202-207.
- [14] 柳晓磊,齐 钊,闫 珍,等.复合微生物菌剂与氨基酸水溶肥组合施用对香蕉土壤理化性质及微生物群落的影响[J].中国土壤与肥料,2019(1):151-158.
LIU X L, QI ZH, YAN ZH, et al. Effects of combined application of compound microbial agents and amino acid water-soluble fertilizer on the physical and chemical properties of banana soil and microbial community[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2019(1): 151-158.
- [15] SHIOMI Y, NISHIYAMA M, ONIZUKA T, et al. Com-

- parison of bacterial community structures in the rhizoplane of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(9): 3996-4001.
- [16] 陈一慧. 高磷土壤中微生物菌剂对作物氮磷营养及根际微环境的影响[D]. 济南: 山东大学, 2021.
- CHEN Y H. Effects of microbial agents in high-phosphorus soil on crop nitrogen and phosphorus nutrition and rhizosphere microenvironment[D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [17] 王超, 李刚, 黄思杰, 等. 枯草芽孢杆菌菌肥对有机冬瓜根区土壤微生态的影响[J]. 微生物学通报, 2019, 46(3): 563-576.
- WANG CH, LI G, HUANG S J, et al. Effect of *Bacillus subtilis* bacterial fertilizer on the soil microecology in the root zone of organic wax gourd[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(3): 563-576.
- [18] 施河丽, 向必坤, 左梅, 等. 黄腐酸与微生物菌剂协同对烟草青枯病及根际土壤细菌群落的影响[J]. 烟草科技, 2021, 54(9): 1-10.
- SHI H L, XIANG B K, ZUO M, et al. Synergistic effect of fulvic acid and microbial agents on tobacco bacterial wilt and rhizosphere soil bacterial communities[J]. *Tobacco Science*, 2021, 54(9): 1-10.
- [19] 游偲, 张立猛, 计思贵, 等. 枯草芽孢杆菌菌剂对烟草根际土壤细菌群落的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(11): 3323-3330.
- YOU S, ZHANG L M, JI S G, et al. Effects of *Bacillus subtilis* agents on bacterial communities in tobacco rhizosphere soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(11): 3323-3330.
- [20] 丁新景, 黄雅丽, 敬如岩, 等. 基于高通量测序的黄河三角洲4种人工林土壤细菌结构及多样性研究[J]. 生态学报, 2018, 38(16): 5857-5864.
- DENG X J, HUANG Y L, JING R Y, et al. Study on the structure and diversity of soil bacteria in four plantations in the Yellow River delta based on high-throughput sequencing[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(16): 5857-5864.
- [21] NACKE H, THÜRMER A, WOLLHERR A, et al. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils[J]. *Public Library of Science ONE*, 2017, 6(2): e17000.
- 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 等. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. 土壤学报, 2017, 54(3): 735-748.
- DAI Y T, YAN ZH J, XIE J H, et al. Research on bacterial diversity of rhizosphere soil in two types of vegetation restoration based on high-throughput sequencing[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54(3): 735-748.
- [23] 滕齐辉, 曹慧, 崔中利, 等. 太湖地区典型菜地土壤微生物 16S rDNA 的 PCR-RFLP 分析[J]. 生物多样性, 2006(4): 345-351.
- TENG Q H, CAO H, CUI ZH L, et al. PCR-RFLP analysis of 16S rDNA of soil microorganisms in typical vegetable fields in Taihu Lake area[J]. *Biodiversity Science*, 2006(4): 345-351.
- [24] 寇文伯, 黄正云, 张杰, 等. 鄱阳湖湖泊细菌群落组成及结构——以松门山为例[J]. 生态学报, 2015, 35(23): 7608-7614.
- KOU W B, HUANG ZH Y, ZHANG J, et al. The composition and structure of the bacterial community in Poyang Lake: A case study of Songmen Mountain[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(23): 7608-7614.
- [25] 王丹, 赵亚光, 马蕊, 等. 微生物菌肥对盐碱地枸杞土壤改良及细菌群落的影响[J]. 农业生物技术学报, 2020, 28(8): 1499-1510.
- WANG D, ZHAO Y G, MA R, et al. Effect of microbial fertilizer on soil improvement and bacterial community of *Lycium barbarum* in saline-alkali land[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2020, 28(8): 1499-1510.
- [26] 曾希柏, 王亚男, 王玉忠, 等. 不同施肥模式对设施菜地细菌群落结构及丰度的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(1): 69-79.
- ZENG X B, WANG Y N, WANG Y ZH, et al. Effects of different fertilization modes on the structure and abundance of bacterial community in greenhouse vegetable field[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(1): 69-79.
- [27] 徐扬, 张冠初, 丁红, 等. 干旱与盐胁迫对花生根际土壤细菌群落结构和花生产量的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(4): 1305-1313.
- XU Y, ZHANG G CH, DENG H, et al. Effects of drought and salt stress on bacterial community structure of peanut rhizosphere soil and peanut yield[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(4): 1305-1313.
- [28] 韩洋, 乔冬梅, 齐学斌, 等. 再生水灌溉水平对土壤盐分累积与细菌群落组成的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(4): 106-117.
- HAN Y, QIAO D M, QI X B, et al. Effect of reclaimed water irrigation level on soil salt accumulation and bacterial community composition[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(4): 106-117.
- [29] SHEN C C, XIONG J B, ZHANG H Y, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [30] 陆梅. 纳帕海湿地退化对土壤微生物群落结构及多样性的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2018.
- LU M. Influence of Napahai Wetland Degradation on soil microbial community structure and diversity[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2018.
- [31] 李金花, 高克祥, 万利, 等. 微生物菌剂对楸树幼苗生长

- 及根际土细菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(21):7588-7601.
- LI J H, GAO K X, WAN L, et al. Effects of microbial agents on the growth of catalpa tree seedlings and the bacterial community structure in rhizosphere soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(21):7588-7601.
- [32] 谭雪莲. 轮作模式下马铃薯土壤微生物多样性、酶活性及根系分泌物的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
- TAN X L. Study on potato soil microbial diversity, enzyme activity and root exudates under rotation mode [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016.
- [33] 戴良香, 徐 扬, 张冠初, 等. 花生根际土壤细菌群落多样性对盐胁迫的响应[J]. 作物学报, 2021, 47(8): 1581-1592.
- DAI L X, XU Y, ZHANG G CH, et al. Responses of peanut rhizosphere soil bacterial community diversity to salt stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(8): 1581-1592.
- [34] 赵璇. 中国北方主要草地类型土壤放线菌多样性和群落结构的比较研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2015.
- ZHAO X. Comparative study on diversity and community structure of soil actinobacteria in main grassland types in northern China [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2015.
- [35] 姚有华, 王玉林, 姚晓华, 等. 促生菌接种对青稞根际土壤微生物群落结构的影响[J]. 西南农业学报, 2021, 34(6): 1277-1285.
- YAO Y H, WANG Y L, YAO X H, et al. Effect of growth-promoting bacteria inoculation on soil microbial community structure in barley rhizosphere soil[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34(6): 1277-1285.
- [36] 齐 刹, 张曼丽, 同 璇, 等. 联合施用微生物菌剂和氨基酸水溶肥对哈密瓜土壤性质及细菌群落结构的影响[J]. 热带生物学报, 2019, 10(4): 352-359.
- QI ZH, ZHANG M L, YAN ZH, et al. Effects of combined application of microbial agents and amino acid water-soluble fertilizers on soil properties and bacterial community structure of cantaloupe[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2019, 10(4): 352-359.

Effect of Microbial Agents on Bacterial Diversity in Potato Rhizosphere Soil

YANG Nan¹, TAN Xuelian², GUO Tianwen^{1,3},
ZHANG Pingliang² and LIU Xiaowei²

(1. College of Resource and Environment, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Institute of Dryland Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China;
3. Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract In order to illustrate the effect of microbial agents on the bacterial community structure of potato rhizosphere soil from the perspective of microbial ecology, the high-throughput sequencing technology was used to sequence and analyze the sequence of the bacterial 16S rRNA V3+V4 region, CK(no fertilizer) and F(single application of chemical fertilizers) were used as controls, the diversity analysis of rhizosphere soil bacterial communities was studied under treatments of T1 (fertilizer + granular agent 75 kg · hm⁻²), T2 (chemical fertilizer + granular agents 150 kg · hm⁻²), T3 (chemical fertilizer + granular agents 225 kg · hm⁻²) and T4 (chemical fertilizer + granular agents 300 kg · hm⁻²). The results showed that T2 could significantly increase the number of OTU, Chao1 index and ACE index compared with F. Compared with CK at the F level, T4 Acidobacteria decreased by 33.24%, 29.33%, respectively. Gemmatimonadetes decreased by 25.16%, 21.01%, respectively. Compared with CK at the class level, the relative abundances of T4 Gammaproteobacteria and Bacteroidia increased by 32.04% and 59.73%, respectively, and the relative abundances of T3 and T4 Actinobacteria increased by 129.11% and 169.68%, respectively, the relative abundances of T4 Gemmatimonadetes and Blastocatellia_Subgroup_4 decreased by 26.91% and 38.1%, respectively; compared with F, the relative abundances of T3 and T4 Acidimicrobia decreased by 21.38% and 24.04%, respectively, while the relative abundances of Actinobacteria increased by 59.48% and 87.72%, respectively. The relative abundance of T2, T3 and T4 Bacteroidia increased by 74.19%, 73.52%, 124.49%, respectively. This study indicated that the application of microbial agents significantly increases the abundance of soil bacteria, improves the microbial community structure, and increases the abundance of beneficial bacteria, and then improves the soil microenvironment of potato.

Key words Microbial agents; Rhizosphere soil; Bacterial diversity; Potato

Received 2022-01-18 **Returned** 2022-03-02

Foundation item Public Welfare Industry (agriculture) Scientific Research Project (No. 201503120); Technology Innovation Project of Gansu Academy of Agricultural Sciences (No. 2021GAAS19); Key R&D Project of Gansu Province (No. 20YF3WA010); Regional Science Fund Project Under National Natural Science Foundation of China (No. 31560172).

First author YANG Nan, female, master student. Research area: agricultural resource utilization. E-mail: 2234811515@qq.com

Corresponding author GUO Tianwen, male, research fellow. Research area: plant nutrition and soil fertilizers. E-mail: guotianwen2007@hotmail.com

(责任编辑:史亚歌 Responsible editor: SHI Yage)