

微生物菌剂对连作芹菜根际土壤真菌群落多样性与结构的影响

冯海萍, 陈卓, 杨 虎

(宁夏农林科学院园艺研究所, 宁夏 银川 750002)

摘 要:以宁南山区连作4年芹菜根际土壤为研究对象,采用田间定位试验结合高通量测序技术,以常规施肥(CK)为对照,研究常规施肥+枯草·哈茨复合菌剂(MF),常规施肥+枯草芽孢杆菌(BS),常规施肥+哈茨木霉菌(TH)3个处理对芹菜连作根际土壤真菌多样性及群落组成的影响。结果表明:施用枯草·哈茨复合菌显著提高了土壤有效磷、速效钾含量,增幅分别为34.29%和9.98%。施用微生物菌剂增加了土壤脲酶、蔗糖酶活性,平均增幅分别为43.16%和12.98%,并显著改变了土壤真菌的 β -多样性。被孢霉属(*Mortierella*)、织球壳属(*Plectosphaerella*)、赤霉菌属(*Gibberella*)、链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌属(*Fusarium*)是各处理优势菌属,施用枯草·哈茨复合菌显著降低了赤霉菌属、链格孢属、镰刀菌属等真菌性病原菌的相对丰度,降幅分别为59.88%、51.63%、36.13%。冗余分析表明土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶活性、pH值和全磷是影响真菌群落结构组成的主要驱动因子。综合而言,枯草·哈茨复合菌剂的施用不仅降低了连作芹菜根际土壤镰刀菌属、链格孢属、赤霉菌属等病原菌的富集,还通过改变有效磷、速效钾等土壤理化性质,进一步重塑土壤真菌群落结构。

关键词:芹菜;连作;微生物菌剂;土壤理化性质;真菌群落结构;宁南山区

中图分类号:S154.3; S636.3 **文献标志码:**A

Effects of biocontrol agents on fungal community diversity and structure in rhizosphere soil of continuous cropping celery

FENG Haiping, CHEN Zhuo, YANG Hu

(Institute of Horticulture, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002, China)

Abstract: To provide a theoretical basis for alleviating the obstacles of continuous cropping of celery in the mountainous area of southern Ningxia, a field positioning experiment combined with high-flux sequencing technology was used to study the effects of conventional fertilization + mixed bactericides (MF), conventional fertilization + *Bacillus subtilis* (BS), and conventional fertilization + *Trichoderma harzianum* (TH) on fungal diversity and community composition of rhizosphere soil of celery in continuous cropping for 4 years, using conventional fertilization as a control (CK). The results showed that the application of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* compound bacteria increased the content of available phosphorus and available potassium in soil, with an increase of 34.29% and 9.98%, respectively. The application of microbial agents increased the activities of urease and sucrase, with an average increase of 43.16% and 12.98%, respectively, and significantly changed the β -diversity of soil fungi. *Mortierella*, *Plectosphaerella*, *Gibberella*, *Alternaria*, *Fusarium* were the dominant genera in each treatment. The application of compound microbial agent of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* treatment significantly reduced the relative abundance of fungal pathogens such as *Gibberella*, *Alternaria* and *Fusarium* by 59.88%, 51.63% and 36.13%, respectively. Redundancy analysis showed that sucrase, urease, alkaline phosphatase, pH and total phosphorus were the main driving factors affecting the composition of the fungal community. In summary,

收稿日期:2023-08-02

修回日期:2024-01-03

基金项目:宁夏回族自治区农业高质量发展和生态保护科技创新示范项目(NGSB-2021-8-06);国家大宗蔬菜产业技术体系(CARS-23-G24)

作者简介:冯海萍(1981-),女,宁夏盐池人,副研究员,主要从事蔬菜生理研究。E-mail:fenghaiping2005@163.com

the application of compound microbial agent of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* not only reduced the enrichment of pathogens such as *Fusarium*, *Alternaria*, and *Gibberella*, but also further reshaped the soil fungal community structure by changing soil physical and chemical properties such as available phosphorus and potassium.

Keywords: celery; continuous cropping; microbial agent; soil physical and chemical properties; fungal community structure; mountainous area of southern Ningxia

随着农业现代化水平的提高,以单一种植型作物为特征的密集生产逐渐成为农业生产的主流模式^[1]。生姜、棉花、西瓜、辣椒、烟草、草莓等长时间连作引发养分失衡、生物性状退化、多种病原菌富集等土壤群落结构与环境的改变,从而导致植物生长抑制、土传病害发生频繁、作物产量、质量急剧下降,已成为制约农业可持续发展的重要瓶颈^[2-7]。

芹菜是一种功能性蔬菜,富含人体所需的多种营养成分及活性物质,且在抑菌、抗炎、抗肿瘤、降“三高”等方面具有很好的疗效^[8-9]。同时芹菜作为宁夏打造的“六盘山冷凉蔬菜”、“西吉西芹”等众多品牌的主栽蔬菜,以强大稳固的市场占有率保障了宁夏露地冷凉菜行业的高质发展。近年来,宁夏西吉芹菜连续种植导致其出现生长受抑、产量下降、土传病害增加等障碍现象^[10-12]。恢复环境生态服务功能是预防连作和土传病害、土壤病原菌共存的有效方法^[13]。

微生物菌剂作为一种生物制品,旨在利用有益微生物替代有害化学物质,引起了人们的极大兴趣^[14]。微生物菌剂是以某种多孔物质为载体的微生物活制剂,可以在土壤或基质中繁殖,形成有利于植物生长的微生物群落^[15]。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,对植物的生长发育产生重要影响^[16]。真菌作为土壤中多样性仅次于细菌的微生物类群,对于衡量土壤生态功能平衡及反映土壤健康状况具有重要意义^[17]。微生物菌剂可提高土壤真菌多样性、降低镰刀菌属等有害菌相对丰度,改变土壤真菌群落结构,使其向稳定的方向发展,减轻连作障碍^[18];生物熏蒸配施微生物菌剂不仅能够改善土壤环境质量,还可降低土壤有害菌、提高有益真菌群落丰度和多样性,调节连作土壤真菌群落结构向有益方向发展^[19]。然而,有关芹菜连作应用微生物菌剂的研究较少,微生物菌剂对连作芹菜土壤真菌群落的影响鲜有报道。

基于此,本试验以连作 4 年的芹菜地为研究对象,采用田间定点试验,基于常规施肥,研究施用不同菌剂处理对芹菜连作根际土壤真菌群落的影响,以揭示芹菜连作土壤真菌对不同微生物菌剂处理

的响应机制,为宁夏南部山区及同类地区蔬菜的高质量栽培及其产业的可持续发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验在宁夏回族自治区固原市西吉县硝河村蔬菜基地(35°53'35" N、105°51'12"E)进行,该地区属于黄土高原干旱丘陵区,是典型的温带大陆性季风气候。试验地海拔约 1 916.5 m,降雨主要分布在 7—9 月,年降雨量 397~471 mm,年蒸发量 1 400~2 200 mm,年平均气温 5.3℃,≥10℃积温为 2 400℃,无霜期为 125~139 d。供试土壤为黑垆土,芹菜种植前土壤根层化学性状见表 1。

1.2 试验材料

供试土壤于 2018—2021 年连续种植芹菜;供试芹菜品种为‘法国皇后’;供试菌剂为枯草芽孢杆菌(200 亿·g⁻¹)、哈茨木霉菌(15 亿·g⁻¹)、含枯草芽孢杆菌与哈茨木霉菌的复合菌剂(100 亿·g⁻¹),生物菌剂均由济宁市金益菌生物科技有限公司提供,施用是按照 300 倍稀释后进行灌根。有机肥料由宁夏源龙现代农业服务有限公司提供(N+P₂O₅+K₂O≥5%,N 2.02%,有机质≥45%),大量元素水溶复合肥由四川宏达股份有限公司提供(N:P₂O₅:K₂O 含量为 30%:10%:10%)。

1.3 试验设计

试验于 2022 年 5—8 月进行,采用单因素随机区组设计,共设 4 个处理,分别为常规施肥(CK),常规施肥+枯草芽孢杆菌与哈茨木霉菌复合菌剂(简称枯草·哈茨复合菌,MF),常规施肥+枯草芽孢杆菌(BS),常规施肥+哈茨木霉菌(TH),具体设计与施肥方案见表 2。芹菜于 5 月 24 日移栽定植,定植株行距平均为 25 cm×25 cm,8 月 15 日采收。供试混合菌剂、枯草芽孢杆菌、哈茨木霉菌分别在芹菜移栽后 20、40、60 d 通过灌根方式施入土壤中,每次用量 22.5 kg·hm⁻²。每个处理 3 次重复,随机排列,共 12 个小区,小区面积为 30 m²。除生物菌剂施用按照各处理要求进行独自操作外,其他田间管理同常规。

表 1 种植前土壤化学性质
Table 1 Soil chemical properties before planting

pH	全氮 TN /(g·kg ⁻¹)	碱解氮 AN /(mg·kg ⁻¹)	全磷 TP /(g·kg ⁻¹)	有效磷 AP /(mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK /(mg·kg ⁻¹)	有机质 OM /%
8.10	1.33	58.98	1.59	8.61	201.10	1.47

表 2 不同处理的施肥方法及用量/(kg·hm⁻²)
Table 2 Fertilization methods and amounts for different treatments

处理 Treatment	施肥用量 Fertilization amount	氮素养分 Nitrogen		合计 Total
		有机氮 Organo nitrogen	无机氮 Inorganic nitrogen	
CK	3000 kg 有机肥+1125 kg 复合水溶肥 3000 kg organic fertilizer+1125 kg compound water-soluble fertilizer	60.0	337.5	397.5
MF	3000 kg 有机肥+1125 kg 复合水溶肥+67.5 kg 复合菌剂 3000 kg organic fertilizer+1125 kg compound water-soluble fertilizer+67.5 kg compound microbial agent	60.0	337.5	397.5
BS	3000 kg 有机肥+1125 kg 复合水溶肥+67.5 kg 枯草芽孢杆菌 3000 kg organic fertilizer+1125 kg compound water-soluble fertilizer+67.5 kg <i>Bacillus subtilis</i>	60.0	337.5	397.5
TH	3000 kg 有机肥+1125 kg 复合水溶肥+67.5 kg 哈茨木霉菌 3000 kg organic fertilizer+1125 kg compound water-soluble fertilizer+67.5 kg <i>Trichoderma harzianum</i>	60.0	337.5	397.5

注:常规施肥为有机肥作为底肥一次性施入,水溶性肥料分别在芹菜移栽后 15、30、45、60、70 d 追施,每次用量 225 kg。
Note : Conventional fertilization was one-time application of organic fertilizer as base fertilizer, and compound water-soluble fertilizer was applied 15, 30, 45, 60,70 days after celery transplanting, with 225 kg each time.

1.4 土壤采集及处理

采用五点取样法对收获期 0~20 cm 土层根际土进行采样,即先除去约 5 cm 厚表面土壤,挖取作物的完整根,轻轻抖去没有根系的土壤,用刷子刷去附在根毛上的土壤即为根际土。一部分土样放入无菌自封袋中,风干后用于测定土壤养分指标、酶活性指标;一部分土样迅速过 1 mm 筛,去除杂物后装在 5 ml 冻存管中;剩余土样迅速使用 1 mm 隔筛除去杂质,装于 5 ml 冻存管中,置入采样盒中 4℃ 环境暂时贮存,及时送回实验室,用于土壤真菌群落测定。

1.5 测定指标及其方法

1.5.1 土壤化学性质及酶活性测定 全氮(TN)采用凯氏定氮法测定,碱解氮(AN)采用碱解扩散法测定,全磷(TP)采用 HClO₄-H₂SO₄法测定,速效磷(AP)采用 NaHCO₃-钼锑抗比色法测定,速效钾(AK)采用 NH₄OAc-火焰光度法测定,有机质(OM)采用重铬酸钾容量法-外加热法采用测定,pH 值以 1:5 的土水比测定^[20]。脲酶活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定,过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定,碱性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定,蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[21]。

1.5.2 土壤真菌微生物群落结构及多样性的测序 采用 Illumina MiSeq 高通量测序进行微生物真菌群落结构的测定,具体流程为:利用 Omega soil DNA

Kit 试剂盒进行土壤群落 DNA 提取→真菌 ITS1 区 PCR 扩增(引物 ITS5F 为 5'- GGAAGTAAAAGTCG-TAACAAGG - 3', ITS2R 为 5' - GCTGCGTTCT-TCATCGATGC -3')→使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒酶切目的片段进行扩增产物磁珠纯化回收→扩增产物纯化、荧光定量→测序文库制备与检测质量→上机进行高通量测序。土壤真菌高通量测序由派森诺生物科技股份有限公司完成。

1.6 数据统计

使用 QIIME2 软件进行物种注释,统计物种丰富度和多样性指数;用 Office 2010 和 SPSS 26 对土壤化学性质、酶活性、真菌多样性及相对丰度等数据进行统计分析及处理,对不同处理间各项指标进行单因素方差分析(One-way ANOVA);采用 Duncan 法进行多重比较,显著性水平设为 P<0.05;使用 R 软件绘制主成分分析(PCA)、群落结构组成堆积图和 Venn 图、冗余分析(RDA)图;利用 LEfSe 软件,根据分类学组成采用 Python LEfSe 进行线性判别分析。

2 结果与分析

2.1 不同菌剂处理下芹菜连作根际土壤化学性质及酶活性

由表 3 可知,各处理土壤 pH 值表现为 MF>BS, CK>TH,与 CK 相比,TH 处理显著降低了土壤 pH 值,降幅为 0.84%,而 MF 处理则显著增加了 1.33%。

MF、TH 处理显著增加土壤速效磷含量,增幅分别为 34.29%和 31.21%。与 CK 相比,MF 处理显著增加土壤速效钾含量,增幅为 9.98%,TH、BS 处理则显著降低了 1.77%和 7.56%。TH、BS 处理显著增加了土壤有机质含量,增幅分别为 7.67%和 3.42%。施用微生物菌剂处理对 TN、AN、TP 的影响不显著($P>0.05$)。

由表 4 可知,较 CK 相比,施用菌剂增加了芹菜连作根际土壤的脲酶和蔗糖酶活性,其中 TH、BS 处理显著增加了脲酶活性 78.02%和 38.11%,TH、BS、MF 处理显著增加了蔗糖酶活性,增幅分别为 18.01%、15.26%、5.66%。TH、BS 处理显著降低了碱性磷酸酶活性 10.06%和 40.18% ($P<0.05$);而其过氧化氢酶活性与 CK 之间未达到显著差异 ($P>0.05$)。

2.2 不同菌剂处理下芹菜连作根际土壤真菌多样性

2.2.1 真菌群落 α -多样性分析 由表 5 可知,各处理中真菌覆盖度指数 (Goods _ coverage) 均大于 99%,说明测序合理,能够反映不同菌剂处理连作芹

菜根际土壤真菌群落的真实情况。与 CK 相比,BS 处理显著提高了连作芹菜根际细菌群落的多样性 (Shannon) 和均匀度 (Pielou_e) ($P<0.05$),MF、TH 处理未显著影响根际真菌群落的丰富度 (Chao1)、多样性 (Shannon) 和均匀度 (Pielou_e) ($P>0.05$)。

2.2.2 真菌群落 β -多样性分析 基于 Bray-Curits 距离的 PCoA 分析 (图 1) 可知,第一主成分 (PCo1) 贡献率为 35.3%,第二主成分 (PCo2) 贡献率为 21.4%,前两个主成分累积方差贡献率达到 56.7%,表明能够反映样品大多数信息。不同样本在坐标轴上的投影距离表明,与 CK 相比,FM、BS 和 TH 菌剂处理均显著或极显著改变连作芹菜根际真菌的群落结构 ($P<0.05$)。

2.3 不同菌剂处理的土壤真菌群落结构组成分析

2.3.1 土壤真菌群落的 OTU 分布 不同菌剂处理土壤样本在 97%相似性水平下进行 OTU 聚类 (图 2) 可知,4 个处理土壤真菌共有 OTU 数 293 个,特有 OTU 数由高到低依次为 CK>TH>BS>MF。与 CK 相比,微生物菌剂施入降低了土壤真菌特有 OTU 数目。

表 3 不同菌剂处理对连作芹菜根际土壤化学性质的影响

Table 3 Effects of different microbial agents on rhizosphere soil chemical properties of continuous cropping celery							
处理 Treatment	pH	全氮 TN /(g · kg ⁻¹)	碱解氮 AN /(mg · kg ⁻¹)	全磷 TP /(g · kg ⁻¹)	有效磷 AP /(mg · kg ⁻¹)	速效钾 AK /(mg · kg ⁻¹)	有机质 OM /%
CK	8.28±0.03b	1.26±0.01a	62.16±1.80a	1.67±0.01ab	6.15±0.90b	194.21±0.15b	1.70±0.04c
MF	8.39±0.05a	1.28±0.01a	66.72±1.34a	1.65±0.01b	8.26±0.42a	213.59±0.10a	1.68±0.04c
BS	8.29±0.05b	1.27±0.01a	65.88±1.53a	1.81±0.01ab	5.85±0.51b	179.53±0.54c	1.75±0.03b
TH	8.21±0.07c	1.28±0.01a	66.32±1.25a	1.85±0.01a	8.07±0.43a	182.77±0.23c	1.83±0.03a

注:同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$),下同。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$), the same below.

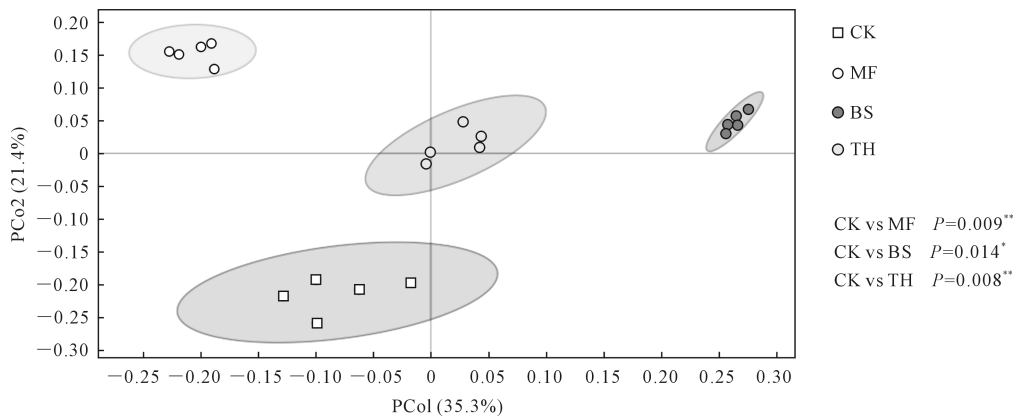
表 4 不同菌剂处理对连作芹菜根际土壤酶活性的影响

Table 4 Effects of different microbial agents on rhizosphere soil enzyme activities of continuous cropping celery				
处理 Treatment	脲酶活性 Urease activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	过氧化氢酶活性 Catalase activity /(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)	蔗糖酶活性 Sucrase activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity /(mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)
CK	98.03±1.05c	4.49±0.06ab	9.50±0.18d	105.64±3.30a
MF	111.73±8.80c	4.54±0.03a	10.04±0.22c	105.59±3.27a
BS	136.15±4.08b	4.45±0.02b	10.95±0.19b	63.20±4.18c
TH	175.50±5.89a	4.47±0.07b	11.21±0.03a	95.01±4.12b

表 5 不同菌剂处理下连作芹菜根际土壤真菌的 α -多样性指数
Table 5 α -diversity index of fungi in rhizosphere soil of continuous cropping celery with different microbial agents

处理 Treatment	Chao1	Shannon	Pielou_e	Goods_coverage
CK	426.07±27.21a	5.54±0.31b	0.63±0.03b	0.9998±0.00a
MF	392.21±30.78a	5.66±0.11ab	0.66±0.01ab	0.9998±0.00a
BS	422.80±3.95a	5.93±0.07a	0.68±0.01a	0.9998±0.00a
TH	450.51±70.66a	5.56±0.27b	0.63±0.02b	0.9998±0.00a

2.3.2 土壤真菌群落门水平分布特征 由图 3 (见 59 页) 可知,在门分类水平上,不同处理真菌群落组成相对丰度排名前 10 的分别为子囊菌门 (Ascomycota)、被孢霉门 (Mortierellomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、油壶菌门 (Olpidiomycota)、罗兹菌门 (Rozellomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)、球囊菌门 (Glomeromycota)、捕虫霉亚门 (Zoopagomycota)、芽枝霉门 (Blastocladiomycota)、蛙粪霉门 (Basidiobolomycota);其中子囊菌门、被孢霉门、担子菌门真菌相

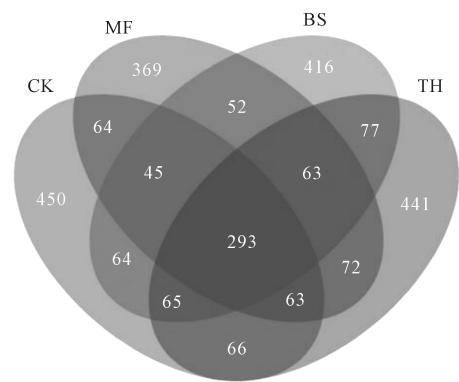


注:采用 Permannova 检验方法进行处理之间差异分析, P 表示置换检验的值。* 表示处理间于 $P<0.05$ 水平上的差异显著性, ** 表示处理间于 $P<0.01$ 水平上的差异显著性。

Note: Permannova test method is used to analyze the difference between treatments. P represents the value of permutation test. * represents the significant difference between treatments at the $P<0.05$ level, and ** represents the significant difference between treatments at the $P<0.01$ level.

图 1 基于 Bray-Curits 距离的连作芹菜根际真菌群落结构主坐标分析

Fig.1 Principal coordinate analysis of rhizosphere fungal community structure of celery based on Bray-Curits distance



注:重叠区数字代表共有 OTU 数量,其他数字代表每个处理特有 OTU 数量。

Note: Numbers of overlapping regions represent the number of common OTUs, and other numbers represent the number of unique OTUs for each treatment.

图 2 不同处理土壤真菌 OTU 分布特征图

Fig.2 OTU distribution characteristics of soil fungi under different treatments

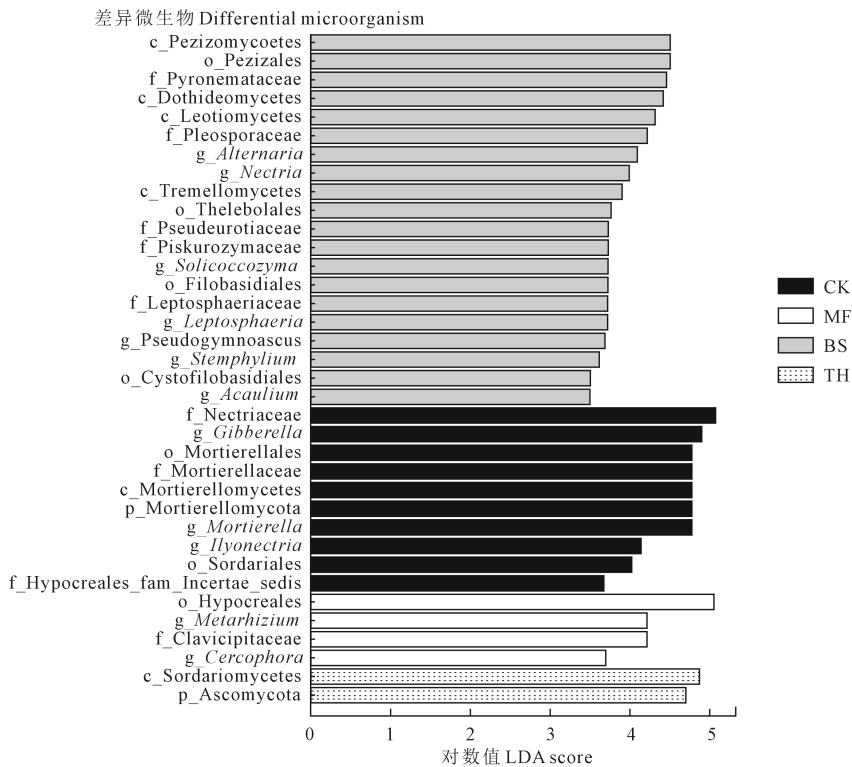
对丰度在各处理均达到 2% 以上,相对丰度占总丰度的 97.12%,是各处理优势真菌门类。与 CK 相比,施用微生物菌剂增加了子囊菌门和担子菌门相对丰度,其中 TH 处理分别显著增加了 13.83% 和 84.83%;施用微生物菌剂降低了被孢霉门相对丰度,其中 BS、TH 处理分别显著降低了 30.50% 和 55.40%。

2.3.3 土壤真菌群落属水平分布特征 由图 4(见 59 页)可知,在属分类水平上,各处理的被孢霉属(*Mortierella*)、织球壳属(*Plectosphaerella*)、赤霉菌属(*Gibberella*)、链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌属(*Fu-*

sarium) 相对丰度均大于 2%,为优势菌属。与 CK 相比,施用微生物菌剂均降低了有益菌被孢霉属的相对丰度,TH、BS、MF 处理分别降低了 55.40%、30.50%、14.25%,其中 MF 处理降幅未达显著水平。与 CK 相比,施用微生物菌剂均降低了致病菌织球壳属、赤霉菌属、链格孢属、镰刀菌属的相对丰度,其中 MF 处理显著降低了赤霉菌属、链格孢属、镰刀菌属的相对丰度,降幅分别为 59.88%、51.63% 和 36.12%,BS、TH 处理显著降低了赤霉菌属和织球壳属相对丰度,降幅分别为 92.47%、45.75% 和 57.69%、66.38%。

2.3.4 不同菌剂处理土壤真菌物种差异分析 线性判别分析(图 5)可知,在门、纲、目、科、属、种水平上共鉴定了 48 个真菌生物标志物,其中在属水平上共鉴定了 11 个真菌生物标志物($LDA(\log) \geq 3.5$)。被孢霉属(*Mortierella*)、赤霉菌属(*Gibberella*)、*Ily-onectria* 是 CK 处理芹菜根际土壤中具有显著丰度差异特征的物种;绿僵菌属(*Metarhizium*)、尾柄孢壳属(*Cercophora*)是 MF 处理芹菜根际土壤中具有显著丰度差异特征的物种;链格孢属(*Alternaria*)、丛赤壳属(*Nectria*)、产油菌属(*Solicoccozyma*)、油菜黑胫病菌属(*Leptosphaeria*)、假裸囊菌属(*Pseudogym-noascus*)是 BS 处理芹菜根际土壤中具有显著丰度差异特征的物种。

2.3.5 土壤环境因子与真菌优势菌群结构的相关性 不同处理土壤真菌群落优势门与属与土壤环境因子进行冗余分析(RDA,图 6)可知,第一轴贡献率为 62.72%,第二轴贡献率为 19.41%,两者共同解



注:p、c、o、f、g 分别表示门、纲、目、科、属水平。
Note: p、c、o、f、g represent phylum, class, order, family, genus and species level, respectively.

图 5 不同处理土壤真菌物种差异分析

Fig.5 Difference analysis of soil fungal species under different treatments

释了优势门与属群落结构变异的 82.13%;从环境因子轴的长短及其与真菌优势群落的夹角可知,蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶活性、pH 值、TP 等是显著影响真菌群落组成的因子 ($P<0.01$)。其中子囊菌门 (*Ascomycota*) 与 pH 值、过氧化氢酶活性存在显著负相关关系,与 AN、AP、OM、蔗糖酶活性存在显著正相关关系,而与 TP 达到极显著正相关关系;被孢霉门 (*Mortierellomycota*) 和被孢霉属 (*Mortierella*) 与 pH 值、过氧化氢酶活性存在显著正相关关系,与 AN 存在显著负相关关系,而与 TP、OM、脲酶、蔗糖酶活性达到极显著负相关关系;织球壳属 (*Plectosphaerella*) 与蔗糖酶活性存在显著正相关关系,而与 TP、脲酶活性达到极显著正相关关系,与 pH 值、AK、过氧化氢酶活性存在极显著负相关关系;赤霉菌属 (*Gibberella*) 与碱性磷酸酶活性存在极显著正相关关系,与蔗糖酶活性存在极显著负相关关系;担子菌门 (*Basidiomycota*)、链格孢属 (*Alternaria*)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 与各环境因子之间未存在显著的相关关系。

3 讨 论

土壤的物化性质对农业生产和农业用地的可持续利用至关重要,土壤酶是衡量土壤质量和功能

的重要指标。研究发现,与不施微生物菌剂的根际土壤相比较,微生物菌剂处理后的茄子根际土壤中全氮、碱解磷、有效磷、速效钾等营养物质浓度得到不同程度的提高^[22]。微生物菌剂施用后砒砂岩土壤有机质、酸解磷、速效磷、速效钾等浓度显著提高的同时,又提高了土壤蔗糖酶和脲酶活力,从而提高了土地菌量^[23]。本研究中,施用枯草·哈茨复合菌显著增加了土壤 pH 值、有效磷和速效钾含量;施用微生物菌剂提高了土壤脲酶、蔗糖酶活性,平均增幅分别为 43.16%和12.98%,降低了碱性磷酸酶活性,平均降幅为 16.76%,均与前人研究结论相似。

土壤真菌是土壤中具有分解有机质、参与养分循环与交换、促进植物生长和改善土壤生产力等诸多作用的重要微生物类群,其多样性和群落组成能很好地表征土壤健康状况^[17,24]。施用微生物菌剂是目前常用的提升土壤有益微生物群落组成及相对丰度、降低病原微生物组成及丰度的重要农艺措施^[25]。高通量测序技术因其通量大、速度快、测序结果准确等诸多优点目前被广泛应用于研究土壤中的微生物多样性及其群落组成^[26]。本研究基于高通量测序技术对连作芹菜地施用微生物菌剂下的根际土壤真菌 α 、 β 多样性、群落组成进行全面分

析,结果表明:施用微生物菌剂显著或极显著改变连作芹菜根际真菌的群落结构。施用枯草芽孢杆菌显著提高了连作芹菜根际细菌群落的多样性

(Shannon) 和均匀度 (Pielou_e), 增幅分别为7.10%和 7.23%。施用哈茨木霉菌和枯草哈茨复合菌剂降低了连作芹菜根际真菌群落的丰富度 (Chao1), 增加

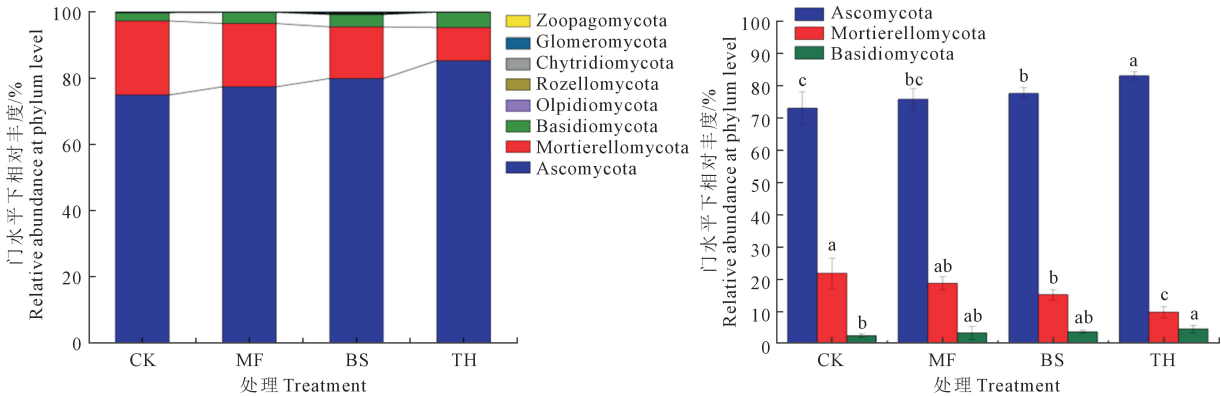


图 3 不同处理门分类水平土壤真菌群落组成堆积图

Fig.3 Accumulation diagram of soil fungal community composition at different treatment phylum classification level

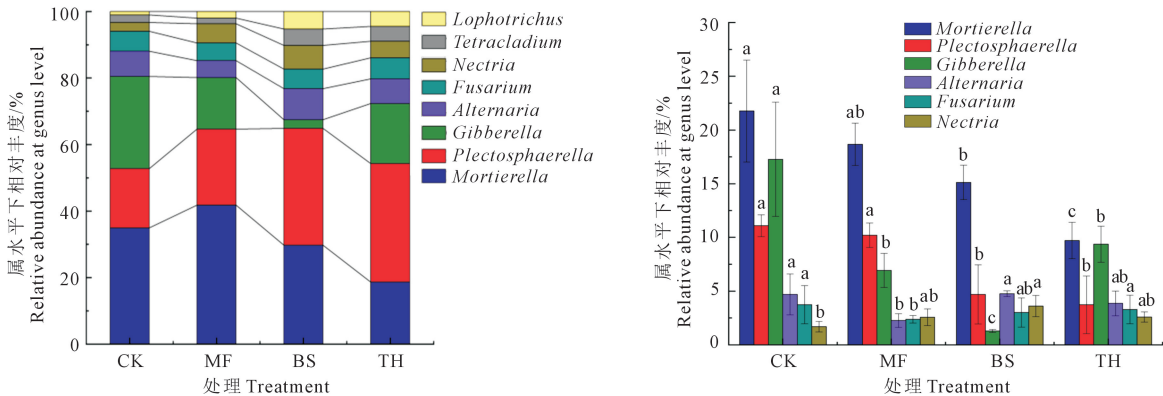
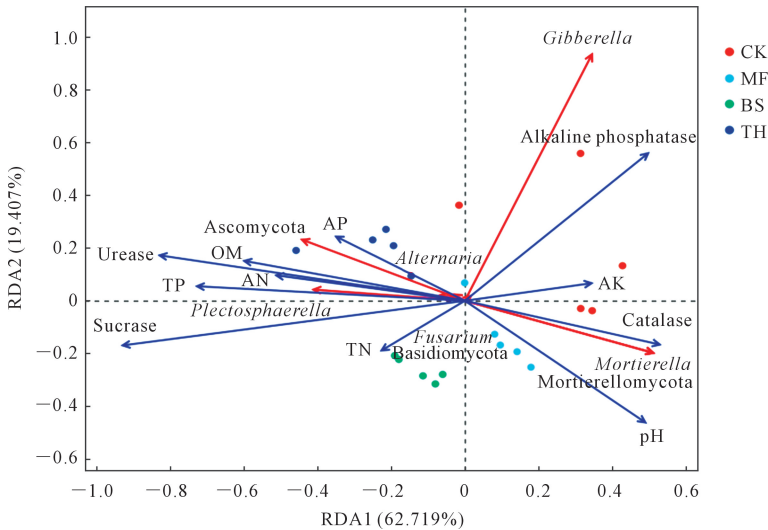


图 4 不同处理属分类水平土壤真菌群落组成堆积图

Fig.4 Accumulation diagram of soil fungal community composition at different treatment genus classification level



注:红色箭头代表在门与属水平上优势菌门和菌属,蓝色箭头代表土壤环境因子。

Note: Red arrows represent the dominant phylum and genus at the phylum and genus level, and blue arrows represent soil environmental factors.

图 6 土壤环境因子与优势菌门和菌属群落结构分析

Fig.6 Analysis of soil environmental factors and community structure of dominant phylum and genus

了其多样性(Shannon)和均匀度(Pielou_e),但与对照处理之间未达到显著水平。马二磊等^[18]对多年连作甜瓜土壤真菌α多样性的研究表明施用微生物菌剂降低了土壤真菌群落丰富度,但明显提高了土壤真菌群落物种的均匀度,且真菌多样性优于未施用微生物菌剂的对照样品,与本研究结果具有相似性。也有研究结果与本研究不一致,如沙月霞等^[13]研究表明施用微生物菌剂后,土壤真菌的丰富度、均匀度和多样性均有显著增加;张春怡等^[27]的研究结果表明,土壤消毒结合微生物菌剂显著降低了茄子根际土壤真菌的丰富度和多样性。造成以上结果差异的原因可能与研究地土壤性质、土壤健康状况、微生物菌剂的施用方式及施用类型有关。

在土壤样品真菌群落组成分析中,不同处理间优势菌群具有相似性,但各优势菌群相对丰度存在差异,这与大多数研究结果相似^[5,28]。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,在养分循环中担任着重要角色^[29]。本研究中,各处理优势真菌门类均为子囊菌门、被孢霉门、担子菌门,其中子囊菌门相对丰度达到了73%~83%,是各处理丰度最高的菌门;与CK相比,接种3种微生物菌剂均增加了子囊菌门和担子菌门的相对丰度,平均增幅为7.99%和56.08%,均降低了被孢霉门相对丰度,平均降幅为33.38%。镰刀菌属、链格孢属、赤霉菌属是根际土壤潜在的植物病原菌,可侵染植物维管束系统,引起植物萎蔫死亡^[7],导致植物叶枯病、黑斑病、茎基腐病等多种真菌病害^[30-31]。本研究中,在属分类水平上,各处理优势菌属均为被孢霉属、织球壳属、赤霉菌属、链格孢属、镰刀菌属。与CK相比,施用微生物菌剂降低了被孢霉属有益菌和镰刀菌属、链格孢属、赤霉菌属、织球壳属等病原菌的相对丰度,降幅分别在14.25%~55.40%、11.67%~36.12%、17.71%~51.63%、45.75%~92.47%、7.92%~66.38%范围。其中MF处理对被孢霉属的降幅未达到显著水平,但对镰刀菌属、链格孢属、赤霉菌属降幅最为显著,分别达36.13%、51.63%、59.88%。说明施用微生物菌剂能够调节有益菌和有害菌的比例,使连作芹菜土壤向着健康的方向发展,且以接种MF复合菌剂更有利于减轻枯萎病、根腐病、黑斑病等真菌病害的发生。

土壤微生物群落结构组成与其所处的环境有关,微生物对环境因子的适应能力决定了其群落组成,冗余分析(RDA)可以预测微生物群落结构组成与环境因子之间的关系^[32]。本研究中,蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶活性都与微生物群落组成具有明

显相关性,这是由于土壤酶活性是土壤生态系统物质循环和能量转换的重要参与者,主要来源于微生物的影响^[33]。不同处理微生物数量的增减及群落组成直接影响到土壤酶的分泌。除酶活性外,pH值是影响真菌群落组成的主要驱动因子,这与大多数研究结果一致,如缪才凌等^[34]研究表明,pH值是影响连作生姜土壤真菌的主要因子;敖金成等^[6]的研究也表明pH值和速效钾含量是影响连作和感病烟株根际土壤真菌群落分布的核心环境因子。可能原因是pH值能够影响土壤化合物形态,进而影响土壤微生物对养分的吸收利用,最终影响到土壤微生物群落组成^[35]。

4 结 论

与常规施肥处理相比,常规施肥配施枯草·哈茨复合菌显著提高了土壤有效磷、速效钾含量,增幅分别为34.29%和9.98%。常规施肥配施微生物菌剂显著增加了脲酶、蔗糖酶活性,平均增幅分别为43.16%和12.98%,且改变了土壤真菌物种构成,并降低了镰刀菌属、链格孢属、赤霉菌属、织球壳属等病原菌的相对丰度,平均降幅分别为33.38%、22.64%、22.37%、43.99%,其中枯草·哈茨复合菌剂对以上病原菌的降低效果最为明显,降幅分别为36.12%、51.63%、59.88%、7.92%。而且蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶、pH值、全磷是影响真菌群落结构组成的核心驱动因子。研究结果从微生物层面为宁南山区连作芹菜土壤的改良提供了一定的理论依据。

参 考 文 献:

[1] SOBICZEWSKI P, MESZKA B, BRYK H, et al. Changes in soil microbial populations after fumigation and alternative methods to control soil-borne diseases[J]. Plant Science, 2014, 51(6): 79-81.

[2] WANG Q, SONG J, ZHANG J L, et al. Effects of microbial agent application on the bacterial community in ginger rhizosphere soil under different planting years[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1203796.

[3] 姚丽娟, 田春丽, 王立河, 等. 设施西瓜连作土壤生化性质及微生物群落变化[J/OL]. 中国土壤与肥料: 1-13. (2023-10-10). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5498.S.20231009.0923.002.html>.

YAO L J, TIAN C L, WANG L H, et al. Changes of soil biochemical properties and microbial community in watermelon continuous cropping soil[J/OL]. Soil and Fertilizer Sciences in China: 1-13. (2023-10-10). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5498.S.20231009.0923.002.html>.

[4] 余智斌, 韦继超, 曹娟, 等. 连作对新疆南疆棉花产量及纤维品质的影响[J]. 中国棉花, 2023, 50(9): 11-16.

YU Z B, WEI J C, CAO J, et al. Effect of continuous cropping on yield and fibre quality of cotton in southern Xinjiang [J]. China Cotton, 2023, 50(9): 11-16.

[5] 陈哲, 黄静, 赵佳, 等. 杀菌剂和肥料对连作草莓根际土壤微生物多样性的影响[J]. 山西农业科学, 2019, 47(8): 1380-1385, 1433.

- CHEN Z, HUANG J, ZHAO J, et al. Effects of fenaminosulf and fertilizer on strawberry rhizosphere soil microbial diversity under replant conditions[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2019, 47(8): 1380-1385, 1433.
- [6] 敖金成, 周桂凤, 李永梅. 连作和感病对烟株根际土壤真菌群落结构的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 50(11): 135-144.
- AO J C, ZHOU G S, LI Y M. Effects of continuous cropping and infection on fungal community structure in tobacco-planting rhizosphere soil [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2022, 50(11): 135-144.
- [7] 董宇飞, 吕相璋, 张自坤, 等. 不同栽培模式对辣椒根际连作土壤微生物区系和酶活性的影响[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(9): 1485-1492.
- DONG Y F, LV X Z, ZHANG Z K, et al. Effects of different cultivation patterns on soil microbial community and enzyme activity in continuous cropped pepper field [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(9): 1485-1492.
- [8] 袁涛, 李贤, 龚小雅, 等. 早春大棚菜豆/芹菜间作对其产量和品质的影响[J]. 北方园艺, 2021, (18): 42-47.
- YUAN T, LI X, GONG X Y, et al. Effects of kidney bean/celery intercropping on its yield and quality [J]. Northern Horticulture, 2021, (18): 42-47.
- [9] 于金慧, 尤升波, 高建伟, 等. 芹菜功能性成分及生物活性研究进展[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(7): 5-10.
- YU J H, YOU S B, GAO J W, et al. Research progress of functional ingredients and biological activity of *Apiumgraveolens* L. [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(7): 5-10.
- [10] 刘素, 吴宏亮, 陈倬, 等. 连作年限影响芹菜根际土壤微生物群落结构及功能类群[J]. 中国农业气象, 2023, 44(5): 372-385.
- LIU S, WU H L, CHEN Z, et al. Continuous cropping years affect the rhizosphere soil microbial community structure and functional taxa of celery [J]. Chinese Journal of Agrometeorology, 2023, 44(5): 372-385.
- [11] 杨泉润. 西吉蔬菜产业高质量发展建议[J]. 西北园艺(综合), 2022, (4): 1-3.
- YANG Q R. Suggestions on the high-quality development of Xiji vegetable industry [J]. Northwest Horticulture (Comprehensive), 2022, (4): 1-3.
- [12] 庞顺家. 西吉县冷凉蔬菜产业高质量发展现状及对策[J]. 中国农技推广, 2022, 38(4): 15-17.
- PANG S J. High-quality development status and countermeasures of cold vegetable industry in Xiji County [J]. China Agricultural Technology Extension, 2022, 38(4): 15-17.
- [13] 沙月霞, 黄泽阳, 李云翔, 等. 生物菌剂对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2752-2762.
- SHA Y X, HUANG Z Y, LI Y X, et al. Impact of microbial agents on the structure and function of the soil microbial community [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(12): 2752-2762.
- [14] KWON J W, KIM S D. Characterization of an antibiotic produced by *Bacillus subtilis* JW-1 that suppresses *Ralstonia solanacearum* [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 24(1): 13-18.
- [15] 侯乐梅, 孟瑞青, 乜兰春, 等. 不同微生物菌剂对基质酶活性和番茄产量及品质的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(8): 2520-2526.
- HOU L M, MENG R Q, NIE L C, et al. Effects of different microbial agents on substrate enzyme activities and tomato yield and quality [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(8): 2520-2526.
- [16] 王珍, 金轲, 丁勇, 等. 植物—土壤微生物反馈在草地演替过程中的作用机制[J]. 中国草地学报, 2022, 44(1): 95-103.
- WANG Z, JIN K, DING Y, et al. The mechanism of plants-soil microbial feedback in grassland succession [J]. Chinese Journal of Grassland, 2022, 44(1): 95-103.
- [17] 杨虎, 王佩瑶, 李小伟, 等. 贺兰山东坡不同植被类型的土壤真菌多样性及其群落结构[J]. 生态环境学报, 2022, 31(2): 239-247.
- YANG H, WANG P Y, LI X W, et al. Distribution of soil fungal diversity and community structure in different vegetation types on the eastern slopes of Helan Mountains [J]. Ecology and Environment Sciences, 2022, 31(2): 239-247.
- [18] 马二磊, 黄芸萍, 臧全宇, 等. 4种微生物菌剂对多年连作甜瓜土壤真菌群落的影响[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(4): 15-20.
- MA E L, HUANG Y P, ZANG Q Y, et al. Effects of four microbial agents on soil fungal community in continuous cropping melon based on diversity sequencing [J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(4): 15-20.
- [19] 常芳娟, 张贵云, 张丽萍, 等. 生物熏蒸配施微生物菌剂对西瓜连作土壤真菌群落结构的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2022, 30(2): 248-257.
- CHANG F J, ZHANG G Y, ZHANG L P, et al. Effects of biological fumigation combined with microbial agents on fungi community structure in continuous watermelon cropping soil [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2022, 30(2): 248-257.
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 5-30.
- BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 5-30.
- [21] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 10-25.
- GUAN S Y. Soil enzyme and its research methods [M]. Beijing: Agricultural Publishing House, 1986: 10-25.
- [22] 马慧媛, 黄媛媛, 刘胜尧, 等. 微生物菌剂施用对设施茄子根际土壤养分和细菌群落多样性的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(1): 140-150.
- MA H Y, HUANG Y Y, LIU S Y, et al. Effects of microbial agents on nutrient and bacterial community diversity in rhizosphere soil of eggplant cultivated in facilities [J]. Microbiology China, 2020, 47(1): 140-150.
- [23] 王涛, 杨怡钧, 邓琳, 等. 不同固体微生物菌剂对砒砂岩土壤性质和紫花苜蓿生长的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(8): 96-102.
- WANG T, YANG Y J, DENG L, et al. Effects of different solid microbial agents on soil properties of Pisha sandstone and the growth of alfalfa [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(8): 96-102.
- [24] TEDERSOO L, BAHRAM M, PÖLME S, et al. Global diversity and geography of soil fungi [J]. Science, 2014, 346(6213): 1256688.
- [25] 黄亚丽, 郑立伟, 黄媛媛, 等. 枯草芽孢杆菌菌剂不同施用方式对甜瓜土壤微生物多样性及生长的影响[J]. 生物工程学报, 2020, 36(12): 2644-2656.
- HUANG Y L, ZHENG L W, HUANG Y Y, et al. Effects of different application methods of *Bacillus subtilis* agent on soil microbial diversity and growth of muskmelon [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(12): 2644-2656.