

付龙威,汤晓娟,林授锴,等. 不同施肥处理对福建莆田地区枇杷根际微生物多样性的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(22):261-267.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.048

不同施肥处理对福建莆田地区枇杷根际微生物多样性的影响

付龙威^{1,2}, 汤晓娟², 林授锴³, 王春花³, 张艳珍^{1,2}, 刘云国²

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830046; 2. 临沂大学生命科学学院, 山东临沂 276000;

3. 莆田学院枇杷种质资源创新与利用福建省高校重点实验室, 福建莆田 351100)

摘要:福建莆田地区是我国枇杷的主产地之一。为探讨复合肥对莆田地区枇杷根际土壤微生物的影响,利用高通量测序技术(Illumina Hiseq)研究 4 个采样点的根际土壤细菌多样性与土壤理化性质的相关性。结果显示,在 12 份枇杷根际土壤样品中共得到 35 371 个细菌操作分类单元(OTU),属于 31 个门,617 个属;共有 12 个优势门(丰度 > 1%),其中丰度 > 6% 的是变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria),25 个优势属(丰度 > 1%)。在不同处理的根际土壤中各优势菌门、属所占比例存在明显差异。土壤细菌群落结构和主要理化性质存在显著相关性,其中 pH 值和全氮、有效磷、总磷含量是影响土壤细菌丰度的主要因素。

关键词:枇杷;复合肥;高通量测序;根际土壤细菌多样性;土壤理化性质

中图分类号:S147.2;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)22-0261-07

枇杷 [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl] 是一种原产于我国的常绿蔷薇科果树,广泛分布于亚热带地区。福建省莆田市是我国枇杷的主产区之一,该地区枇杷产量占全国枇杷总产量的 1/3,枇杷栽培历史悠久,其果肉柔软多汁,营养丰富,酸度适中,风味极佳。由于连年大面积单一种植枇杷,土壤连作障碍问题日益突出;长期施用化肥导致了土

壤板结、有效磷含量低^[1]、微生物群落改变等一系列问题。土壤微生物是影响土壤生态过程的一个重要因素,与土壤养分循环^[2]、有机质分解以及碳、氮等元素的转化紧密关联^[3-4],在维持土壤的质量和生态系统的稳定性方面发挥着重要作用。因而,研究莆田地区枇杷根际微生物的多样性十分重要。

近年来,国内外在盐爪爪^[5-6]、翅碱蓬^[7]、香蕉^[8]、森林^[9-10]等的根际微生物多样性方面取得了一定研究进展。然而,莆田地区作为我国重要的枇杷产区之一,针对其枇杷根际微生物的研究鲜有报道。为研究施用复合肥对微生物群落造成的影响,本研究以福建省莆田地区的枇杷根际土壤为试验对象,利用高通量测序技术(Illumina Hiseq)对根际土壤微生物的菌群结构进行比较分析,以期为进一步

收稿日期:2020-01-02

基金项目:枇杷种质资源创新与利用福建省高校重点实验室(莆田学院)开放课题(编号:2018002)。

作者简介:付龙威(1993—),男,河南周口人,硕士,主要从事应用微生物研究。E-mail:445322966@qq.com。

通信作者:刘云国,博士,教授,主要从事食品微生物学研究。E-mail:yguoliu@163.com。

[22] Zhang J, Liu C L. Riverine composition and estuarine geochemistry of particulate metals in China - weathering features, anthropogenic impact and chemical fluxes[J]. Estuarine Coastal & Shelf Science, 2002, 54(6): 1051-1070.

[23] 生态环境部, 自然资源部, 农业农村部. 农用地土壤环境风险评价技术规定[EB/OL]. (2018-12-21)[2020-01-01]. <https://www.doc88.com/p-14587040019236.html>.

[24] Streets D G, Devane M K, Lu Z F, et al. Ail-time releases of mercury to the atmosphere from human activities[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(24): 10485-10491.

[25] Tian H Z, Zhu C Y, Gao J J, et al. Quantitative assessment of atmospheric emissions of toxic heavy metals from anthropogenic sources in China: historical trend, spatial distribution, uncertainties, and control policies[J]. Atmospheric Chemistry & Physics, 2015, 15(18): 12107-12166.

[26] 陈同斌. 土壤溶液中的砷及其与水稻生长效应的关系[J]. 生态学报, 1996, 16(2): 148-153.

[27] 李霞, 张慧鸣, 徐震, 等. 农田 Cd 和 Hg 污染的来源解析与风险评价研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(7): 1314-1320.

步了解莆田地区枇杷根际土壤微生物多样性,探究微生物与土壤性质间的关系,以及解决莆田地区过度使用复合肥的问题,开发枇杷专用生物菌肥奠定基础。研究结果将服务于“三农”,推进精准农业在枇杷种植方面的实施。

1 材料与方法

1.1 试验设计

根据长期种植枇杷的果农的经验,枇杷树不能施用过多复合肥,否则会造成根部腐烂。本研究设制 A、B、C、D 4 个采样点,每年 A 采样点每棵树共施 500 g 复合肥和 20 kg 有机肥,B 采样点每棵树共施 400 g 复合肥和 20 kg 有机肥,C 采样点每棵树共施 300 g 复合肥和 20 kg 有机肥,D 采样点每棵树共施 200 g 复合肥和 20 kg 有机肥,每年每个采样点分 4 次施肥,连续施肥 3 年,第 4 年采样 1 次。

1.2 土样采集

于 2019 年 4 月在莆田地区枇杷集中区根据不同的化肥施用量选取 A、B、C、D 4 个采样点。分别从 4 个取样点选取间隔约 10 m 的 3 棵编号依次为 1、2、3,树龄 5 年以上的枇杷(共 12 棵)的根部土壤进行 5 点取样,每次取样的土层厚度为 0~30 cm。每份土样分为 2 个部分,一部分用于测定土壤理化性状,另一部分提取 DNA 用于测序。

1.3 土壤理化性质检测

土壤 pH 值用 pH 计(土壤:水=1 g:5 mL)测定;有效钾(AK)含量用乙酸铵提取,原子吸收分光光度法测定;有效磷(AP)含量、总磷(TOP)含量用碳酸氢钠提取,钼蓝法测定;总钾(TOK)含量用氢氟酸提取,原子吸收分光光度法测定;总氮(TON)含量用凯氏定氮法测定。

1.4 土壤微生物的 16S rRNA 基因测序

1.4.1 土样 DNA 提取 称取 200 mg 土壤样品,利用 OMEGA 土壤总 DNA 抽提试剂盒(E. Z. N. A™ Mag-Bind Soil DNA Kit)提取土壤总 DNA。

1.4.2 16S rRNA 文库构建 利用 Qubit 3.0 DNA 检测试剂盒对提取的基因组 DNA 进行精确定量,以确定聚合酶链式反应(PCR)加入的 DNA 量。PCR 引物为 515F:CCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNG TGCCAGCMGCCGCGGTAA;806R:GACTGGAGTTC CTTGGCACCCGAGAATTCCAGGACTACHVGGGTW TCTAAT,利用该引物对 16S rRNA 基因的 V4 区进行扩增。PCR 结束后,通过琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

利用 Qubit 3.0 DNA 检测试剂盒对回收的 DNA 进行精确定量,以便按照 1:1 等量混合后测序。等量混合时,每个样品 DNA 量取 10 ng,最后使用 Illumina Hiseq™进行测序。

1.5 生物信息学分析

对高通量测序得到原始数据进行拼接、过滤得到有效数据,然后基于有效数据进行操作分类单元(OTU)聚类 and 物种分类分析。采用 QIIME(v. 2.0-10)软件进行 α-多样性分析,分析指标包括 Chao1 指数、Shannon 指数、ACE 指数。

1.6 数据分析

利用 Excel 2010 完成数据标准化处理及作图,SPSS 22.0 软件完成数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质分析

如表 1 所示,4 个采样点的根际土壤都呈弱酸性。A、B 采样地的土壤 TON、AP、AK、TOP 含量显著高于 C、D 采样地,D 采样地的 TOK 显著低于 A、B、C 采样地。

2.2 样本的有效序列数据量

使用 Mothur 软件删除了短小和质量低的序列后,在 12 个样品中获得 614 697 条高质量序列,分配到 35 371 个 OTU(序列同一性为 97%),利用 R 软件处理得到 OTU 数目花瓣图,从图 1 可以看出,样本间共有的有代表性的 OTU 有 192 个,不同样本

表 1 土壤理化性质

采样点	pH 值	TON 含量 (mg/kg)	AP 含量 (mg/kg)	AK 含量 (mg/kg)	TOP 含量 (mg/kg)	TOK 含量 (%)
A	5.04 ± 0.22a	1 330.35 ± 68.65b	14.40 ± 1.65b	86.00 ± 2.00bc	766.00 ± 18.01c	1.18 ± 0.17b
B	6.08 ± 0.13b	1 336.67 ± 125.83b	21.83 ± 3.35c	88.67 ± 3.06c	850.00 ± 12.00d	1.16 ± 0.36b
C	6.35 ± 0.10c	714.33 ± 104.31a	0.40 ± 0.35a	74.00 ± 2.00a	289.67 ± 12.50b	1.20 ± 0.69b
D	6.53 ± 0.15c	892.33 ± 15.63a	1.40 ± 0.10a	83.67 ± 6.66b	170.33 ± 24.54a	0.44 ± 0.18a

注:表中数值为平均值 ± 标准偏差;同列不同小写字母表示差异显著。下表同。

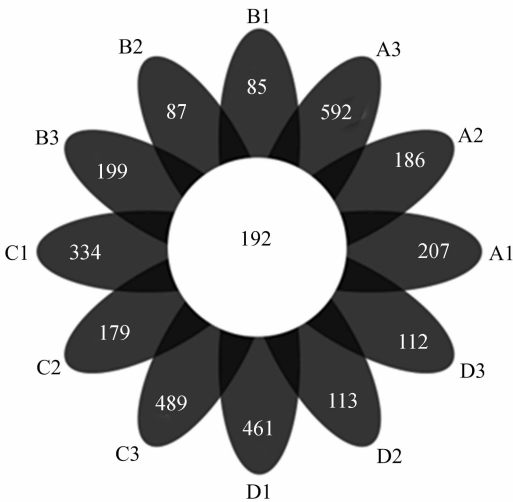


图1 不同样品 OTU 数目的花瓣

的代表 OTU 数量不一,其中,A3 样品的 OTU 数目最多,为 592 个;B1 样品的 OTU 数目最少,为 85 个。

2.3 土壤细菌群落丰富度和多样性分析

通过对 16S rRNA 基因的 V4 区进行测序,得到各采样点土壤样品的细菌群落多样性数据。如表 2 所示,4 个采样点的 OTU 数目、ACE 指数、Chao1 指数均无显著性差异,A 采样点的 Shannon 指数显著低于 B、C、D 采样点。

2.4 多样性指数与土壤理化因子相关性

如表 3 所示,Shannon 指数与土壤 pH 值呈极显著正相关,与 TON、AP、TOP 含量呈极显著负相关;ACE 指数与 TOK 含量呈显著负相关;Chao1 指数与

表 2 α-多样性数据统计

采样点	OTU 数目(个)	Shannon 指数	ACE 指数	Chao1 指数
A	3 267.67 ±1 266.39a	5.54 ±0.75a	4 754.89 ±1 351.66a	4 402.51 ±1 334.55a
B	3 096.33 ±49.56a	6.29 ±0.10b	4 482.49 ±159.36a	4 332.89 ±158.95a
C	3 665.00 ±702.41a	6.64 ±0.14b	4 931.70 ±1 463.43a	4 838.63 ±1 178.92a
D	4 323.67 ±894.69a	6.73 ±0.19b	6 137.57 ±900.71a	5 888.65 ±806.57a

表 3 多样性指数与土壤理化性质相关性分析

土壤理化性质	相关系数		
	Shannon 指数	ACE 指数	Chao1 指数
pH 值	0.814 **	0.332	0.385
TON 含量	-0.857 **	-0.519	-0.539
AP 含量	-0.729 **	-0.389	-0.416
AK 含量	-0.555	-0.207	-0.218
TOP 含量	-0.723 **	-0.496	-0.531
TOK 含量	-0.264	-0.581 *	-0.545

注:**、* 分别表示在 0.01、0.05 水平上显著相关。表 9 同。

pH 值以及 TON、AP、AK、TOP、TOK 含量的相关性均不显著。

2.5 土壤微生物物种分类及样本间差异

4 个采样点的土壤微生物共属 31 个门,其中优势门(除去未分类和其他,丰度均 > 1%)共有 12 个,如表 4 所示,A 采样点优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(Chloroflexi),占比

表 4 细菌门相对丰度分析

采样点	相对丰度(%)					
	Proteobacteria	Acidobacteria	Firmicutes	Actinobacteria	Planctomycetes	Verrucomicrobia
A	48.51 ±14.53b	15.50 ±8.17a	9.07 ±2.17a	3.42 ±1.53a	3.15 ±1.02a	2.66 ±1.14a
B	38.10 ±6.83ab	24.83 ±1.88b	1.40 ±0.71a	3.57 ±1.31a	4.37 ±0.96a	4.23 ±0.78a
C	30.44 ±1.61a	27.07 ±1.05b	2.20 ±1.94a	6.07 ±3.37a	4.86 ±1.20a	6.51 ±3.71ab
D	28.73 ±1.09a	26.45 ±2.05b	2.57 ±1.35a	4.60 ±0.42a	4.48 ±0.30a	9.46 ±0.51b

采样点	相对丰度(%)					
	Bacteroidetes	Chloroflexi	Gemmatimonadetes	candidate division WPS-1	Thaumarchaeota	Latescibacteria
A	2.45 ±0.88a	1.70 ±0.64a	0.71 ±0.39a	0.44 ±0.14a	0.67 ±0.31a	0.19 ±0.27a
B	3.35 ±0.61a	1.92 ±0.34a	2.42 ±0.87b	0.72 ±0.65ab	2.71 ±1.29a	0.61 ±0.22ab
C	2.99 ±0.31a	1.14 ±0.71a	2.02 ±1.12ab	0.91 ±0.35ab	2.47 ±2.12a	1.39 ±0.62b
D	4.55 ±0.28b	1.27 ±0.71a	1.98 ±0.46ab	1.46 ±0.67b	1.42 ±0.52a	1.42 ±0.52b

86.46%。B 采样点优势菌门比 A 采样点多了芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、奇古菌门 (Thaumarchaeota), 占比之和为 86.90% ; C 采样点优势菌门比 A 采样点多了芽单胞菌门、奇古菌门、Latescibacteria, 占比 87.16% , D 采样点优势菌门比 A 点多了芽单胞菌门、奇古菌门、Latescibacteria、candidate division WPS - 1, 占比 88.39%。4 个采样点优势菌门平均丰度以变形菌门 (36.45%) 和酸杆菌门 (23.46%) 较高。A 采样点变形菌门的丰度显著高于 C、D 采样地, A 采样点的酸杆菌门、疣微菌门、拟杆菌、芽单胞菌门、candidate division WPS - 1、Latescibacteria 丰度低于 B、C、D 采样点。

4 个采样点共有 617 个属的土壤微生物, 其中根际土壤微生物群落优势菌属共有 25 个 (单个优势菌属的丰度均 > 1%), 4 个采样点共同含有的优势菌属有 5 个。如表 5、表 6、表 7、表 8 所示, A 采样点的优势菌属有 *Gp6*、*Gp2*、*Gp1*、*Gp3*、*Subdivision3 genera incertae sedis*、*Gp4*、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia*)、罗思河小杆菌属 (*Rhodanobacter*)、*Massilia*、鸟氨酸芽孢杆菌属 (*Ornithinibacillus*)、芽孢八叠球菌属 (*Sporosarcina*)、副球菌属 (*Rhizomicrobium*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*), 占细菌总类群的 28.31%。B 采样点的优势菌属有芽孢杆菌属 (*Gemmatimonas*)、*Gp6*、*Gp2*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Gp1*、*Subdivision3 genera incertae sedis*、*Gp4*、伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、假单胞菌属 (*Pseudolabrys*) 和亚硝化球菌属 (*Nitrososphaera*), 占细菌总类群的 31.01%。C 采样点的优势菌属有芽孢杆菌属 (*Gemmatimonas*)、*Gp6*、*Gaiella*、*Gp2*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Gp1*、*Subdivision3 genera incertae sedis*、*Gp4*、硝化螺菌属 (*Nitrospira*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、出芽菌属 (*Gemmata*) 和 *Latescibacteria genera incertae sedis*, 占细菌总类群的 35.32%。D 采样点的优势菌属有芽孢杆菌属 (*Gemmatimonas*)、*Gp6*、*Gaiella*、*Gp2*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Gp1*、*Subdivision3 genera incertae sedis*、*WPS - 1 genera incertae sedis*、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、亚硝化球菌属 (*Nitrososphaera*)、*Gp7* 和 *Latescibacteria genera incertae sedis*, 占细菌总类群的 38.16%。优势菌属的丰度与复合肥的用量呈负相关, 说明复合肥的过度使用会降低微生物多样性。

表 5 A 采样点细菌属水平分布 (丰度 > 1%)

细菌属	在细菌总类群中的占比 (%)
<i>Gp6</i>	3.64
<i>Gp2</i>	2.61
<i>Gp1</i>	2.19
<i>Subdivision3 genera incertae sedis</i>	1.46
<i>Gp4</i>	1.33
<i>Burkholderia</i>	1.91
<i>Massilia</i>	5.04
<i>Ornithinibacillus</i>	1.01
<i>Sporosarcina</i>	2.09
<i>Rhizomicrobium</i>	1.02
<i>Arthrobacter</i>	1.19
<i>Pseudomonas</i>	1.26
<i>Gp3</i>	1.09
<i>Rhodanobacter</i>	2.47

表 6 B 采样点细菌属水平分布 (丰度 > 1%)

细菌属	在细菌总类群中的占比 (%)
<i>Gp6</i>	10.42
<i>Gp2</i>	1.67
<i>Gp1</i>	1.73
<i>Subdivision3 genera incertae sedis</i>	2.55
<i>Gp4</i>	3.71
<i>Burkholderia</i>	1.45
<i>Spartobacteria genera incertae sedis</i>	1.06
<i>Gemmatimonas</i>	2.43
<i>Sphingomonas</i>	1.05
<i>Nitrososphaera</i>	2.65
<i>Pseudolabrys</i>	2.29

表 7 C 采样点细菌属水平分布 (丰度 > 1%)

细菌属	在细菌总类群中的占比 (%)
<i>Gp6</i>	9.83
<i>Gp2</i>	3.19
<i>Gp1</i>	3.23
<i>Subdivision3 genera incertae sedis</i>	2.95
<i>Gp4</i>	3.11
<i>Spartobacteria genera incertae sedis</i>	3.04
<i>Gemmatimonas</i>	1.98
<i>Sphingomonas</i>	1.18
<i>Gaiella</i>	2.18
<i>Latescibacteria genera incertae sedis</i>	1.31
<i>Gemmata</i>	1.07
<i>Nitrospira</i>	2.25

表8 D采样点细菌属水平分布(丰度>1%)

细菌属	在细菌总类群中的占比(%)
Gp6	9.33
Gp2	3.30
Gp1	3.87
Subdivision3 genera incertae sedis	3.27
Gp4	2.63
Spartobacteria genera incertae sedis	5.09
Gemmatimonas	2.08
Sphingomonas	1
Gaiella	1.54
Latescibacteria genera incertae sedis	1.33
Nitrososphaera	2.03
Gp7	1.10
WPS-I genera incertae sedis	1.59

表9 细菌门丰度与土壤理化性质的相关性分析

土壤理化性质	相关系数							
	Proteobacteria丰度	Acidobacteria丰度	Firmicutes丰度	Actinobacteria丰度	Planctomycetes丰度	Verrucomicrobia丰度	Bacteroidetes丰度	Chloroflexi丰度
pH 值	-0.719 **	0.739 **	-0.468	0.348	0.562	0.681 *	0.640 *	0.219
TON 含量	0.618 *	-0.795 **	0.595 *	-0.313	-0.602 *	-0.775 **	-0.529	-0.172
AP 含量	0.658 *	-0.634 *	0.361	-0.395	-0.488	-0.768 **	-0.520	0.009
AK 含量	0.528 *	-0.415	0.204	-0.298	-0.375	-0.565 *	-0.267	0.073
TOP 含量	0.707 *	-0.612 *	0.283	-0.450	-0.481	-0.800 **	-0.591 *	0.185
TOK 含量	0.108	-0.032	0.009	-0.056	0.133	-0.648 *	-0.570	0.019

3 讨论

不同的施肥处理主要影响了土壤 pH 值以及全氮、有效磷、总磷含量等指标,4 个试验点通过连续 4 年的不同施肥处理,不同无机肥施用量下土壤 pH 值有显著差异,其中无机肥施用量最多的处理 pH 值最低,这是因为长期大量施用复合肥能降低土壤 pH 值^[11-12]。有机肥处理对土壤的氮、磷、钾含量的影响不大^[13-14],所以无机肥的施用量是造成土壤 pH 值以及氮、磷、钾含量不同的主要因素。

大量无机肥料特别是氮肥的投入,通常会导致旱地土壤细菌多样性减少^[15]。本研究结果显示,A 采样点的 Shannon 指数最低,且与其他地区差异显著,这与 Geisseler 等的研究结果^[16-17]相符。土壤 pH 值常被认为是长期施用无机肥土壤中影响细菌生物多样性的主要因素^[11,16]。总体来看,细菌生物

2.6 细菌门丰度与土壤理化性质的相关性分析

4 个采样点共同含有的 8 种优势细菌门(丰度>1%)丰度和根际土壤的理化性质相关性如表 9 所示,变形菌门丰度与 pH 值呈极显著显著负相关,与氮、磷、钾含量呈正相关,其中与 TON、AP、AK、TOP 含量呈显著正相关。酸杆菌门是所有土壤样品中丰度位居第 2 的菌门,与 pH 值呈极显著正相关,与 TON、AP、TOP 含量呈极显著或显著负相关。厚壁菌门丰度与总氮含量呈显著正相关。浮霉菌门丰度与 TON 含量呈显著负相关。疣微菌门与 pH 值呈显著正相关,与 TON、AP、TOP 含量呈极显著负相关,与 AK、TOK 含量呈显著负相关。拟杆菌门丰度与 pH 值呈显著正相关,与 TOP 含量呈显著负相关。

丰度与 TON、AP、AK、TOP、TOK 含量呈显著负相关,说明长期施用无机肥后,氮、磷、钾对根基微生物有一定的抑制作用。Delgado - Baquerizo 等的研究结果表明,土壤理化指标对细菌生物多样性有一定的驱动作用^[18]。土壤氮、磷是决定细菌群落结构的重要因素,本研究中总氮含量与 Shannon 指数呈显著负相关,表明氮肥的过度使用降低了土壤微生物多样性^[19-20];在我国亚热带地区,由于风化和土壤流失,酸性水稻土壤中的磷含量很低^[15,21],枇杷生长过程中不需要很多水分,因此土壤中磷的流失较少,含量相对丰富。已有研究报道,施加高磷肥料直接改变了植物土壤微生物群落结构^[21-22]。综合来看,本研究中 Shannon 指数与 pH 值呈极显著正相关,与 TON、AP、TOP 含量均呈极显著负相关,与 AK、TOK 含量呈负相关,说明长期施用复合肥会降低土壤微生物多样性。

本研究通过对不同施肥处理下土壤微生物门丰度进行聚类分析发现,施用复合肥量最多的 A 采样点的优势门个数最少,且优势菌门较为集中,变形菌门丰度为 48.51%,明显高于其他处理。变形杆菌门细菌具有固氮功能,变形杆菌门丰度增加有利于土壤氮素的有效转化^[23],氮循环过程对土壤 pH 值存在影响^[24]。枇杷根际土壤细菌群落中变形菌门和酸杆菌门占主导地位,与该土壤呈酸性有关。河北省中南部地区耕地^[25]、苹果园土壤^[26]、酸性土壤^[27]的根际微生物优势菌门一致。变形菌门被认为是世界上微生物最丰富的菌门,是多数土壤中的优势门类,与碳循环有关^[28]。酸杆菌门多存在于营养贫瘠的土壤环境中^[29],Barns 等研究表明,酸杆菌门是土壤细菌群落第 2 优势门,仅次于变形菌门^[30],与本研究结果与之一致。

采样地土壤微生物在属水平上的差异很大,莆田地区 4 个采样点共同的菌属有 *Gp6*、*Gp2*、*Gp1*、*Subdivision3 genera incertae sedis*、*Gp4*。随着复合肥用量的增加,优势菌属丰度在减少,但是由于 A 采样点长期施肥量较多,导致 *Massilia*、鸟氨酸芽孢杆菌属、芽孢八叠球菌属、副球菌属、节杆菌属、假单胞菌属细菌出现适应现象,成为 A 采样点的优势菌属。芽孢杆菌属广泛存在于土壤、水、植物及动物活动环境中,营养要求低,代谢能力强,可以耐受不良环境条件,部分芽孢杆菌对病原菌有一定的拮抗作用^[31]。芽孢杆菌属对洋葱遭受铜胁迫具有缓解作用^[32],该属除了具有良好的解磷能力,还具有良好的固氮作用和生防作用^[33]。后续可有目的地筛选优势菌,制成生物菌肥解决莆田地区过度施复合肥的问题。

相关性分析发现,土壤 pH 值对变形菌门和酸杆菌门细菌丰度影响明显,总氮、速效磷、总磷含量对变形菌门丰度有显著影响。在迄今已知的与土壤中酸性细菌丰度相关的环境因素中,pH 值为影响最为突出的因素^[34-35],本研究相关性分析结果与之一致。pH 值和氮、磷、钾含量会影响细菌的分布,罗旦等对沙漠环境植物根际微生物的研究结果表明,变形菌门的丰度与有效氮、AP 含量显著正相关^[36]。土壤全氮、全磷含量是影响土壤变形菌的关键因子^[37],本研究结果与之一致。厚壁菌门分布与 TON 含量呈显著正相关,与 pH 值以及磷、钾含量的相关性不显著,与 Navarrete 等对大豆根际土壤的研究结果^[38]类似。相关性分析发现,土壤 pH 值对变形菌

门、酸杆菌门、拟杆菌门和疣微菌门影响显著。

本研究充分了解了短期内使用大量复合肥引起 pH 值下降对枇杷根际土壤微生物多样性、结构以及功能造成的影响,为以后研发生物菌肥以及解决土壤板结、酸化问题提供理论依据。

参考文献:

- [1] 傅丽君,杨文金,林文彬,等. 莆田市常太枇杷园土壤肥力与果树营养状况测定[J]. 莆田学院学报,2005,12(5):41-43.
- [2] Nannipieri P, Ascher - Jenull J, Ceccherini M T, et al. Microbial diversity and soil functions[J]. European Journal of Soil Science, 2003,54(4):655-670.
- [3] Tebo B M, Johnson H A, McCarthy J K, et al. Geomicrobiology of manganese (II) oxidation [J]. Trends Microbiol, 2005, 13 (9) : 421 - 428.
- [4] 李小霞,靳鲲鹏,曹晋军,等. 轮作制度对土壤生态的影响研究进展[J]. 现代农业科技,2019(6):154-155,159.
- [5] 陈禹竹,唐琦勇,顾美英,等. 盐爪爪根部微生物分布特征及盐浓度对碳源代谢分析的影响[J]. 微生物学通报,2019,46(11):2900-2908.
- [6] 木尼热木·阿力木江,楚敏,唐琦勇,等. 辐射污染区盐爪爪根际可培养细菌群落组成及功能特性[J]. 微生物学通报,2018,45(7):1416-1425.
- [7] 李志杰,郭长城,石杰,等. 高通量测序解析多环芳烃污染盐碱土壤翅碱蓬根际微生物群落多样性[J]. 微生物学通报,2017,44(7):1602-1612.
- [8] 游晓朝. 香蕉枯萎病拮抗菌株筛选及生防菌肥研发[D]. 泉州:华侨大学,2018.
- [9] Naveed M, Mubeen S, Khan S U, et al. Identification and characterization of rhizospheric microbial diversity by 16S ribosomal RNA gene sequencing[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, 45(3):985-993.
- [10] Meng M J, Lin J, Guo X P, et al. Impacts of forest conversion on soil bacterial community composition and diversity in subtropical forests [J]. Catena, 2019, 175:167-173.
- [11] Dai Z M, Su W Q, Chen H H, et al. Long - term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of *Actinobacteria* and *Proteobacteria* in agro - ecosystems across the globe [J]. Global Change Biology, 2018, 24(8), 3452-3461.
- [12] Zhou J, Guan D W, Zhou B K, et al. Influence of 34 - years of fertilization on bacterial communities in an intensively cultivated black soil in northeast China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 90:42-51.
- [13] Liu E K, Yan C G, Mei X R, et al. Long - term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China [J]. Geoderma, 2010, 158 (3/4) : 173 - 180.
- [14] 李想,刘艳霞,陈风雷,等. 长期不同施肥处理对贵州植烟土壤酶活及微生物群落的影响[J]. 中国烟草学报,2019,25(6):50-59.

- [15] Zheng S X, Cao H C, Huang Q Y, et al. Long-term fertilization of P coupled with N greatly improved microbial activities in a paddy soil ecosystem derived from infertile land[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 72: 14–20.
- [16] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 54–63.
- [17] Liu Y X, Shi J X, Feng Y G, et al. Tobacco bacterial wilt can be biologically controlled by the application of antagonistic strains in combination with organic fertilizer[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(4): 447–464.
- [18] Delgado – Baquerizo M, Reich P B, Khachane A N, et al. It is elemental; soil nutrient stoichiometry drives bacterial diversity[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(3): 1176–1188.
- [19] 刘倩倩. 长期秸秆还田配施氮肥对砂姜黑土肥力及细菌多样性的影响[D]. 阜阳: 阜阳师范学院, 2019.
- [20] 聂江文, 王幼娟, 吴邦魁, 等. 双季稻田冬闲期土壤细菌数量及结构对施氮的响应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(6): 889–896.
- [21] Su J Q, Ding L J, Xue K, et al. Long-term balanced fertilization increases the soil microbial functional diversity in a phosphorus – limited paddy soil [J]. *Molecular Ecology*, 2015, 24(1): 136–150.
- [22] Wei X M, Hu Y J, Peng P Q, et al. Effect of P stoichiometry on the abundance of nitrogen – cycle genes in phosphorus – limited paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(7): 767–776.
- [23] Moulin L, Munive A, Dreyfus B, et al. Nodulation of legumes by members of the β – subclass of proteobacteria[J]. *Nature*, 2001, 411(6840): 948–950.
- [24] Ring E, Hogbom L, Jansson G. Effects of previous nitrogen fertilization on soil – solution chemistry after final felling and soil scarification at two nitrogen – limited forest sites[J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 2013, 43(4): 396–404.
- [25] 张翔, 宋水山, 黄亚丽, 等. 基于高通量测序分析河北省中南部地区耕地土壤细菌多样性[J]. *华北农学报*, 2018, 33(4): 196–203.
- [26] 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.
- [27] 任庆水. 三峡库区消落带不同人工植被土壤微生物群落多样性[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [28] Liu J J, Sui Y Y, Yu Z H, et al. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of Northeast China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 113–122.
- [29] Zhang Y G, Cong J, Lu H. Community structure and elevational diversity patterns of soil *Acidobacteria* [J]. *Journal of Environmental Science*, 2014, 26(8): 1717–1727.
- [30] Barns S M, Takala S L, Kuske C R. Wide distribution and diversity of members of the bacterial kingdom *Acidobacterium* in the environment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(4): 1731–1737.
- [31] 姚丽瑾, 王琦, 付学池, 等. 小麦纹枯病生防芽孢杆菌的筛选及鉴定[J]. *中国生物防治*, 2008, 24(1): 53–57.
- [32] 任彩婷, 王鲁, 庞亚琴, 等. 2种芽孢杆菌属细菌对洋葱根系遭受铜胁迫的缓解作用[J]. *天津师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(6): 36–41.
- [33] 张艳群. 功能型生物肥料优良芽孢杆菌的筛选及其作用机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [34] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, et al. A comprehensive survey of soil *Acidobacterial* diversity using pyrosequencing and clone library analyses[J]. *ISME J*, 2009, 3(4): 442–453.
- [35] Griffiths R I, Thomson B C, James P, et al. The bacterial biogeography of British soils [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(6): 1642–1654.
- [36] 罗旦, 陈吉祥, 程琳, 等. 陕北沙化区3种主要植物根际土壤细菌多样性与土壤理化性质相关性分析[J]. *干旱区资源与环境*, 2019, 33(3): 151–157.
- [37] 刘洋, 黄懿梅, 曾全超. 黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究[J]. *环境科学*, 2016, 37(10): 3931–3938.
- [38] Navarrete A A, Kuramae E E, de Hollander M. *Acidobacterial* community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils [J]. *FEMS Microbiol Ecology*, 2013, 83(3): 607–621.