



研究报告

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

马慧媛¹ 黄媛媛¹ 刘胜尧² 徐炳雪¹ 黄亚丽^{*1,3} 范凤翠^{*2} 贾振华¹ 宋水山¹

1 河北省科学院生物研究所 河北 石家庄 050081

2 河北省农林科学院农业信息与经济研究所 河北 石家庄 050051

3 河北科技大学环境科学与工程学院 河北 石家庄 050018

摘要:【背景】设施茄子连作种植和化学肥料过量施用造成土壤养分失衡、微生物多样性降低、土传病害严重等土壤质量问题,微生物制剂是改善土壤环境质量的一项重要措施。【目的】确定微生物菌剂施用对设施茄子根际土壤养分及细菌群落多样性的影响。【方法】在河北省农林科学院鹿泉大河实验园区,以含有哈茨木霉和巨大芽孢杆菌的微生物菌剂为供试菌剂,采用传统的化学分析方法测定微生物菌剂处理和对照茄子开花期、拉秧期土壤的养分含量;采用稀释涂平板方法测定土壤可培养微生物的数量;采用高通量测序技术测定土壤细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区,分析处理和对照土壤的微生物多样性和群落分布规律。【结果】与对照相比,微生物菌剂处理提高了茄子开花期和拉秧期的根际土壤养分含量,拉秧期微生物菌剂处理根际土壤中全氮、碱解氮、有效磷、速效钾含量分别较对照增加 13.85%、21.07%、31.51%和 55.94%;施用微生物菌剂能够改变土壤可培养微生物的数量和构成,微生物菌剂处理土壤中细菌、真菌、放线菌的数量均显著增加,其中细菌、放线菌在微生物总量中所占比例增加,而真菌的占比则有所降低。微生物菌剂处理能够提高土壤微生物的 Shannon 指数、降低 Simpson 指数,ACE 指数和 Chao1 指数差异不显著,表明微生物菌剂能够增加土壤的微生物群落多样性,对微生物群落丰富度影响不明显。从目水平上分析菌剂处理和对照的微生物组成,发现微生物菌剂处理增加了土壤中黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、红螺菌目(*Rhodospirillales*)、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*)、芽孢杆菌目(*Bacillales*)、纤维黏网菌目(*Cytophagales*)、假单胞菌目(*Pseudomonadales*)等优势菌目的占比,降低了伯克氏菌目(*Burholderiales*)、黄杆菌目(*Flavobacteriales*)等病原菌的占比。微生物菌剂的施入能够促进茄子营养生长,增加茄子的产量,增幅为 18.52%。【结论】微生物菌剂作为一种新型环保肥料,具有改善土壤营养状况、增加土壤可培养微生物数量、提高土壤微生物多样性的作用,该结果为微生物菌剂的合理施用提供了科学依据。

关键词: 微生物菌剂, 茄子, 土壤养分, 可培养微生物, 细菌多样性

Foundation items: Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment of China (2015ZX07204-007); Innovation Team Program for Modern Agricultural Industry Technology System of Hebei Province (HBCT2018030205)

***Corresponding authors:** HUANG Ya-Li: Tel: 86-311-83014618; E-mail: huangyali2291@163.com
FAN Feng-Cui: Tel: 86-311-87656283; E-mail: njscffc@163.com

Received: 01-04-2019; **Accepted:** 22-07-2019; **Published online:** 27-08-2019

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2015ZX07204-007); 河北省现代农业产业技术体系创新团队项目(HBCT2018030205)

***通信作者:** 黄亚丽: 0311-83014618; E-mail: huangyali2291@163.com

范凤翠: 0311-87656283; E-mail: njscffc@163.com

收稿日期: 2019-04-01; **接受日期:** 2019-07-22; **网络首发日期:** 2019-08-27

Effects of microbial agents on nutrient and bacterial community diversity in rhizosphere soil of eggplant cultivated in facilities

MA Hui-Yuan¹ HUANG Yuan-Yuan¹ LIU Sheng-Yao² XU Bing-Xue¹
HUANG Ya-Li^{*1,3} FAN Feng-Cui^{*2} JIA Zheng-Hua¹ SONG Shui-Shan¹

¹ Institute of Biology, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050081, China

² Institute of Agriculture Information and Economic of Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang, Hebei 050051, China

³ School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China

Abstract: [Background] Continuous cropping and excessive application of chemical fertilizers of eggplant in greenhouse cause a series of soil quality problems such as imbalance of soil nutrients, decrease of microbial diversity and serious soil-borne diseases. The application of microbial agents can improve soil environmental quality. [Objective] To investigate the effect of microbial agents application on the soil nutrients and bacterial community diversity of eggplant planting soil. [Methods] In the Dahe Experimental Station of Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, the microbial agents containing *Trichoderma harzianum* and *Bacillus megaterium* were used as fertilizers for eggplant planting in greenhouse. The soil nutrient were detected by traditional chemical methods. The number of culturable microorganisms in soil was measured by dilution plate method and the bacterial diversity and community distribution in rhizosphere were determined by high-throughput sequencing on PCR-amplified 16S rRNA gene V3–V4 fragments. [Results] Compared with control group, microbial agents treatment increased the nutrients of rhizosphere soil in eggplant flowering and seedling-pulling stages. The total nitrogen, alkali-hydrolyzed nitrogen, available phosphorus and available potassium in the soil of microbial agents treatment at seedling-pulling stage increased by 13.85%, 21.07%, 31.51% and 55.94% respectively compared with that of control. Application of microbial agents changed the quantity and composition of culturable microorganisms in soil. Microbial agents increased the number of bacteria, fungi, actinomycetes and the proportion of bacteria and actinomycetes in the total microbial number. The Shannon index was higher and the Simpson index was lower in microbial agents treatment than that in control group. However, ACE index and Chao1 index had no significant difference between microbial agents treatment and control. The results indicated that microbial agents can increase the diversity of soil microbial communities, and have no significant impact on microbial community richness. Analysis of microbial communities of soil treated with microbial agents or not showed that microbial agents treatment increased the content of *Xanthomonadales*, *Rhodospirillales*, *Sphingobacteriales*, *Bacillales*, *Cytophagales*, *Pseudomonadale* and decreased the content of *Burholderiales* and *Flavobacteriales* in soil. The application of microbial agents could promote the vegetative growth of eggplant and increase the yield of eggplant by 18.52%. [Conclusion] As a new type of environmental protection fertilizer, microbial agents can improve soil nutrition, increase the number of culturable microorganisms and improve soil microbial diversity. The results provided a scientific basis for the rational application of microbial agents.

Keywords: Microbial agents, Eggplant, Soil nutrient, Culturable microorganisms, Bacterial diversity

我国是世界上最大的茄子生产国, 栽培面积约占世界的 52.20%, 但由于设施种植产量和经济效益均高于露地栽培, 设施茄子发展迅速, 目前我国设施茄子栽培面积约 47 333 hm², 占茄子栽培面

积的 30%以上^[1]。然而, 蔬菜设施栽培存在过度施用化肥、长期连作的生产情况, 导致土壤板结、养分失衡、微生物多样性降低、土传病害严重等问题, 制约了设施蔬菜的可持续发展^[2-3]。采用新

型环保肥料以改善土壤理化性状及微生态环境是保障设施蔬菜可持续发展的重要措施之一。

微生物菌剂是一种含有大量有益活菌及多种天然活性物质的新型环保肥料,菌剂中微生物能在土壤中繁殖,改善土壤养分状况、提高土壤酶活性、增加微生物多样性、改变微生物菌群,为蔬菜生长提供良好的根区环境,从而起到促进作物生长、降低土传病害、提高产量的作用^[4-5]。方雪丹等^[6]、常勃^[7]、朱金英^[8]研究表明,在油菜、设施黄瓜和番茄等作物上施用微生物菌剂能够增强植物抗逆性、改善土壤性状、提高肥力、净化土壤,从而达到调节作物生长、提高作物产量和改善品质的作用。贾娟等^[9]研究发现,氨基酸水溶肥与菌剂配合施用能够显著提升设施松花菜的肥料利用率,改善土壤酶活性,增产幅度达46.07%。微生物菌剂施用已经成为目前改善土壤理化和生物性状、防治土壤生态环境污染、保障蔬菜优质高产的重要措施^[10-12]。

根际土壤是指附着在根系上的土壤区域,根际区是土壤环境中生物学和生态学过程进行最为剧烈的区域,包括微生物的聚集、定殖、抗生物质的产生、矿质元素活化和吸收、病害的防治等^[13-14]。微生物菌剂在植物根际定殖并改变土壤微生物群落的结构和营养成分是菌剂发挥作用的前提^[15],因此有必要研究施用微生物菌剂对根际土壤养分性质、微生物群落结构、功能多样性的影响,以明确微生物菌剂的作用机理。目前微生物菌剂施用对设施茄子根际土壤养分性质、可培养微生物及微生物多样性的影响尚鲜有报道。因此,本试验以设施茄子为研究对象,通过测定施用微生物菌剂后茄子开花期和拉秧期根际土壤养分性质及可培养微生物数量和微生物多样性等指标,明确微生物菌剂的施用对茄子根际土壤养分和微生物性质的影响,为下一步设施茄子的化肥减量及微生物菌剂的合理施用提供理论依据,为改善目前设施蔬菜不良施肥现状、降低土壤生态环境污染提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验于2018年在河北省农林科学院鹿泉大河试验园区(38°14'N、114°39'E)进行,该地为北温带半湿润大陆性季风气候区,年平均气温13.3℃,平均降雨525mm,年均无霜期205d。茄子种植于拱形塑料大棚中,棚室长30m、宽15m,南北走向,整地后覆盖黑色聚乙烯薄膜。供试土壤土质类型为壤质褐土,土壤有机质含量为23.25g/kg,全氮含量为1.97g/kg,有效磷含量为62.54mg/kg,速效钾含量为167.42mg/kg, pH 7.54。

1.2 供试茄子品种

供试茄子品种为茄杂1号,在河北省农林科学院种子市场购买。

1.3 主要试剂和仪器

E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit,广州飞扬生物工程有限公司; MagicPure Size Selection DNA Beads,北京全式金生物技术有限公司; 2×*Taq* Master Mix,南京诺唯赞生物科技有限公司。台式离心机, Thermo Fisher 公司; Qubit® 3.0 荧光计, Invitrogen 公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司。

1.4 供试肥料及用法用量

商品有机肥(N+P+K≥5%,有机质≥40%)由河北瑞安康生物科技有限公司生产;化肥为沃利沃氮磷钾复合肥(N-P₂O₅-K₂O为25-10-25),由河南农心肥业有限公司生产。

微生物菌剂由河北省科学院生物研究所研制,功能菌为哈茨木霉、巨大芽孢杆菌,有效活菌数≥4.0 CFU/g。试验所用菌剂已经完成中试生产,分别采用PDA和LB液体培养基于28℃、200 r/min培养,待哈茨木霉产生孢子、巨大芽孢杆菌产生芽孢后,5 000 r/min离心10 min后收集菌体并用硅藻土进行吸附,吸附后哈茨木霉活菌数≥2.0 CFU/g、巨大芽孢杆菌活菌数≥2.0 CFU/g。

1.5 试验设计

试验设微生物菌剂处理和对照,其中微生物菌剂用量为45 kg/hm²,采用穴施的方式施用,其

他有机肥、化肥用量相同, 氮磷钾复合肥 750 kg/hm²、有机肥用量为 3 000 kg/hm², 化肥和有机肥均以底肥施入, 旋耕后起垄覆膜种植, 行距 60 cm、株距 30 cm。每个处理 3 次重复, 共 6 个小区, 小区面积 16.12 m², 随机排列。

1.6 土壤样品采集

于茄子的开花期和拉秧期采集根际土壤样品, 取样方法为五点取样法, 将植株整根从土壤中挖出, 采用抖土法抖掉与根系松散结合的土, 然后将与根系紧密结合的土壤刷下来作为根际土样品^[16]。采集的土壤样品用无菌袋密封保存并冰袋保鲜运送至实验室。土样一部分自然风干, 磨碎并过 1 mm 筛, 用于测定土壤理化指标; 一部分 4 °C 保存, 用于根际土壤可培养微生物数量的测定; 一部分-80 °C 超低温冰箱保存, 用于微生物多样性测定。

1.7 测定指标和方法

土壤养分指标的测定^[17-18]: 土壤有机质含量采用重铬酸钾氧化-硫酸亚铁滴定法测定; 全氮采用半微量凯氏法测定, 碱解氮采用碱解扩散法; 有效磷含量采用碳酸氢钠浸提-钼抗比色法测定; 速效钾含量采用醋酸铵浸提-火焰光度法测定。

土壤可培养微生物^[19]: 采用稀释涂平板的方法测定土壤中可培养细菌、真菌、放线菌的数量, 其中细菌测定采用 LB 培养基, 真菌测定采用 PDA+200 U/mL 庆大霉素培养基, 放线菌采用改良高氏一号培养基+重铬酸钾 0.01 g/L。

土壤细菌多样性^[20]: 将采集样品送至生工生物工程(上海)股份有限公司, 采用 Illumina MiSeq 测序技术进行样品测定, 并进行聚类 and 多样性分析。

茄子叶面积: 单叶叶面积(leaf area, LA)采用直接测量法测定^[21], 于开花期和采摘期测定茄子叶面积。

叶绿素含量: 采用叶绿素仪测定茄子开花期和拉秧期节位叶, 测定位置为叶顶端, 避开叶脉^[21]。

茄子产量: 在进入收获期后, 统一采摘, 每个小区分别称量。

1.8 数据处理

采用 Microsoft Excel 2007 与 SPSS 19.0 软件对土壤营养成分、微生物数量、多样性指数等指标进行单因素方差分析; 利用 Mothur 软件对土壤微生物多样性数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 施用微生物菌剂对设施茄子土壤养分的影响

表 1 为施用微生物菌剂对茄子不同生育时期土壤养分含量的影响, 由结果可以看出微生物菌剂的施用对茄子开花期、拉秧期的土壤全氮、碱解氮、有效磷、速效钾均有一定的影响, 但是土壤有机质含量没有显著的变化。与对照相比, 开花期菌剂处理的土壤中有有效磷、速效钾的含量分别较对照增加 7.31% 和 67.88%, 其中速效钾在 $P<0.05$ 水平上存在显著差异; 拉秧期微生物菌剂处理土壤中全氮、碱解氮、有效磷、速效钾含量分别较对照增加 13.85%、21.07%、31.51% 和 55.94%。土壤中有有效磷和速效钾的含量与土壤 pH 存在直接的关系, 本研究中微生物菌剂由哈茨木霉和巨大芽孢杆菌组成, 这两种微生物均能够分泌有机酸, 起到降低土壤 pH、活化土壤中固定的磷钾营养元素的作用。从该结果还可以看出, 微生物菌剂对土壤中营养成分的改变在茄子的整个生育期均发挥作用, 不同时期土壤养分的差异原因还需进一步分析。

2.2 施用微生物菌剂对设施茄子土壤可培养微生物数量和种类的影响

测定和分析微生物菌剂处理和对照开花期和拉秧期茄子根际土壤样品中可培养微生物的数量发现(表 2), 微生物菌剂处理土壤中细菌、真菌和放线菌的数量均高于常规对照, 其中开花期两处理之间细菌、真菌和放线菌含量均存在显著差异, 说明菌剂中微生物的定殖为土壤微生物繁殖提供了合适的环境。分析不同处理中细菌、真菌、放线菌的占比发现, 微生物菌剂处理的细菌、放线菌的占比较对照增加, 而真菌的占比则降低, 表明施用微生物菌剂使土壤微生物向细菌型

表 1 施用微生物菌剂对茄子不同生育时期土壤养分含量的影响

Table 1 Effects of microbial agents on soil nutrient contents in different growth stages of eggplant

处理 Treatment	有机质 Organic matter (g/kg)	全氮 Total N (g/kg)	碱解氮 Alkalide N (mg/kg)	有效磷 Available P (mg/kg)	速效钾 Available K (mg/kg)	pH
菌剂-FP Microbial agent-FP	24.62±0.89	2.47±0.17	201.78±20.68	154.18±10.43	451.60±48.21*	7.21±0.23
对照-FP Control-FP	25.83±1.43	2.34±0.12	198.12±15.27	143.68±14.87	269.00±39.25	7.26±0.18
菌剂-PP Microbial agent-PP	25.43±0.67	2.63±0.18*	226.14±16.46*	157.07±15.64*	352.90±29.40*	7.24±0.18
对照-PP Control-PP	24.89±1.12	2.31±0.15	186.77±18.33	119.44±22.45	226.30±36.57	7.34±0.14

注: 菌剂-FP: 开花期菌剂处理; 对照-FP: 开花期对照; 菌剂-PP: 拉秧期菌剂处理; 对照-PP: 拉秧期对照; 同一列中的*表示同一生育期菌剂处理和对照相比存在显著差异($P<0.05$).

Note: Microbial agent-FP: Microbial agent treatment in flowering period; Control-FP: Control in flowering period; Microbial agent-PP: Microbial agent treatment in pulling period; Control-PP: Control in pulling period; * in the same column indicates that there is a significant difference between the bacterial treatment and the conventional control for the same growth period ($P<0.05$).

表 2 施用微生物菌剂对茄子根际土壤可培养微生物指标的影响

Table 2 Effects of microbial agents on the culturable microbial indicators of eggplant rhizosphere soil

处理 Treatment	微生物总数 Microbial amount ($\times 10^7$ CFU/g)	细菌 Bacteria		真菌 Fungus		放线菌 Actinomyces	
		数量 Number ($\times 10^7$ CFU/g)	比例 Proportion (%)	数量 Number ($\times 10^4$ CFU/g)	比例 Proportion (%)	数量 Number ($\times 10^6$ CFU/g)	比例 Proportion (%)
菌剂-FP Microbial agent-FP	87.02	80.3±4.8*	92.27	18.4±0.6*	0.04	67.0±7.8*	7.69
对照-FP Control-FP	16.25	14.4±0.5	88.62	10.7±0.8	0.06	18.4±1.6	11.32
菌剂-PP Microbial agent-PP	7.69	6.4±0.6	83.22	4.6±0.4*	0.01	12.9±0.6*	16.77
对照-PP Control-PP	5.98	5.2±0.8	86.95	3.3±0.7	0.01	7.8±0.7	13.04

注: 菌剂-FP: 开花期菌剂处理; 对照-FP: 开花期对照; 菌剂-PP: 拉秧期菌剂处理; 对照-PP: 拉秧期对照; *表示同一生育时期菌剂处理和对照相比存在显著差异($P<0.05$).

Note: Microbial agent-FP: microbial agent treatment in flowering period; Control-FP: Control in flowering period; Microbial agent-PP: Microbial agent treatment in pulling period; Control-PP: Control in pulling period; * in the same column indicates that there is a significant difference between the bacterial treatment and the conventional control for the same growth period ($P<0.05$).

改变, 对降低茄子病害有良好的作用。比较开花期和拉秧期微生物菌剂处理中的微生物数量发现, 菌剂对茄子生育前期微生物数量的影响较生育后期更为明显。

2.3 施用微生物菌剂对设施茄子土壤微生物多样性的影响

2.3.1 施用微生物菌剂对设施茄子土壤细菌多样性的影响

物种多样性指数是表征物种丰富度和均匀度

的函数, 其中 Chao1 指数和 ACE 指数用于表征土壤中细菌的丰富度, 即物种的多少, Shannon 指数、Simpson 指数则表征微生物的多样性和均匀度, 是目前描述物种多样性的常用统计指标^[22]。统计分析结果(表 3)显示, 菌剂处理和常规对照相比, ACE 指数和 Chao1 指数之间不存在显著差异, 表明微生物菌剂未能显著改变土壤中细菌的丰富度; 根据 Simpson 指数和 Shannon 指数分析, 菌剂处理 Simpson 指数显著低于对照, 而 Shannon

表 3 施用微生物菌剂对土壤微生物多样性指数的影响

Table 3 Effects of different treatments on soil microbial diversity index

处理 Treatment	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index
菌剂 Microbial agent	6 059.72±223.94	5 676.54±175.84	0.005±0.000 2*	6.63±0.10
对照 Control	5 863.37±202.63	5 876.06±255.83	0.007±0.000 3	6.47±0.10

注: 同一列中的*表示菌剂处理和对照相比存在显著差异($P<0.05$).

Note: * in the same column indicates that there is a significant difference between treatment and control ($P<0.05$).

指数高于对照, 表明施用微生物菌剂具有提高土壤细菌多样性和均匀度的作用。

2.3.2 施用微生物菌剂对设施茄子土壤细菌种群的影响

采用 Illumina MiSeq 技术分析和鉴定了茄子拉秧期根际土壤的微生物菌群组成, 从聚类结果可以看出同一处理 3 个重复的土壤样品中微生物聚于一个分支, 而菌剂处理和对照的微生物则分别聚于独立的分支, 说明重复之间的数据具有一致性(图 1); 由于菌剂施用对土壤细菌的种类及组成有明显的影响, 所以导致菌剂处理和对照二者的微生物种群单独聚类。分析不同处理土壤样品中微生物门、纲、目、科、属、种 6 个水平上微生物种类的差异(图 2), 发现土壤样品中包含的种类基本相同, 但是在占比上却存在较大的差异。从目水平上分析菌剂处理和对照的微生物组成发现, 两个处理中占比大于 1% 的目共有 17 个, 排名前 5 位优势菌目为鞘氨醇单胞菌目(*Sphingomonadales*)、黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、根瘤菌目(*Rhizobiales*)、红螺菌目(*Rhodospirillales*)、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*), 在前 5 个优势菌目中, 微生物菌剂处理中鞘氨醇单胞菌目(*Sphingomonadales*)、黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、红螺菌目(*Rhodospirillales*)、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*)的丰度增加; 在其他的 12 个优势菌目中, 菌剂处理中芽孢杆菌目(*Bacillales*)、纤维黏网菌目(*Cytophagales*)、假单胞菌目(*Pseudomonadales*)的丰度增加, 其中芽孢杆菌目(*Bacillales*)的丰度由对照的 0.92% 提高到 1.08%, 增加幅度为 0.16%, 二

者之间的差异达显著水平, 而嗜甲基菌目(*Methylophilales*)、伯克氏菌目(*Burholderiales*)、黄杆菌目(*Flavobacteriales*)的丰度降低。菌剂中含有巨大芽孢杆菌和哈茨木霉, 这两种菌均具有较强的根际定殖能力, 巨大芽孢杆菌的定殖直接导致了芽孢杆菌目(*Bacillales*)丰度的增加, 另外, 这两种菌可能对伯克氏菌目(*Burholderiales*)、黄杆菌目(*Flavobacteriales*)等病原菌的繁殖起到了抑制作用。

RDA 分析(redundancy analysis)菌剂施用与细菌群落土壤养分及茄子产量的相关关系(图 3), 结果表明微生物菌剂处理与鞘氨醇单胞菌目(*Sphingomonadales*)、黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、纤维黏网菌目(*Cytophagales*)、鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*)呈正相关关系, 与黄杆菌目(*Flavobacteriales*)呈负相关。另外, 菌剂处理与土壤的全氮、有机质、有效磷、有效钾、茄子产量呈现正相关关系($P<0.05$), 说明土壤养分和茄子产量直接受微生物菌剂施用的影响。

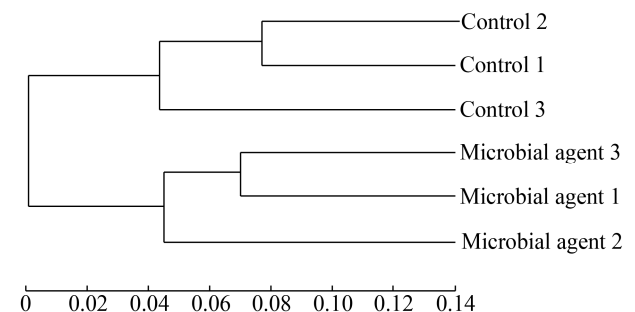


图 1 不同处理之间的微生物 OTU 聚类分析

Figure 1 Cluster analysis of OTUs between different treatments

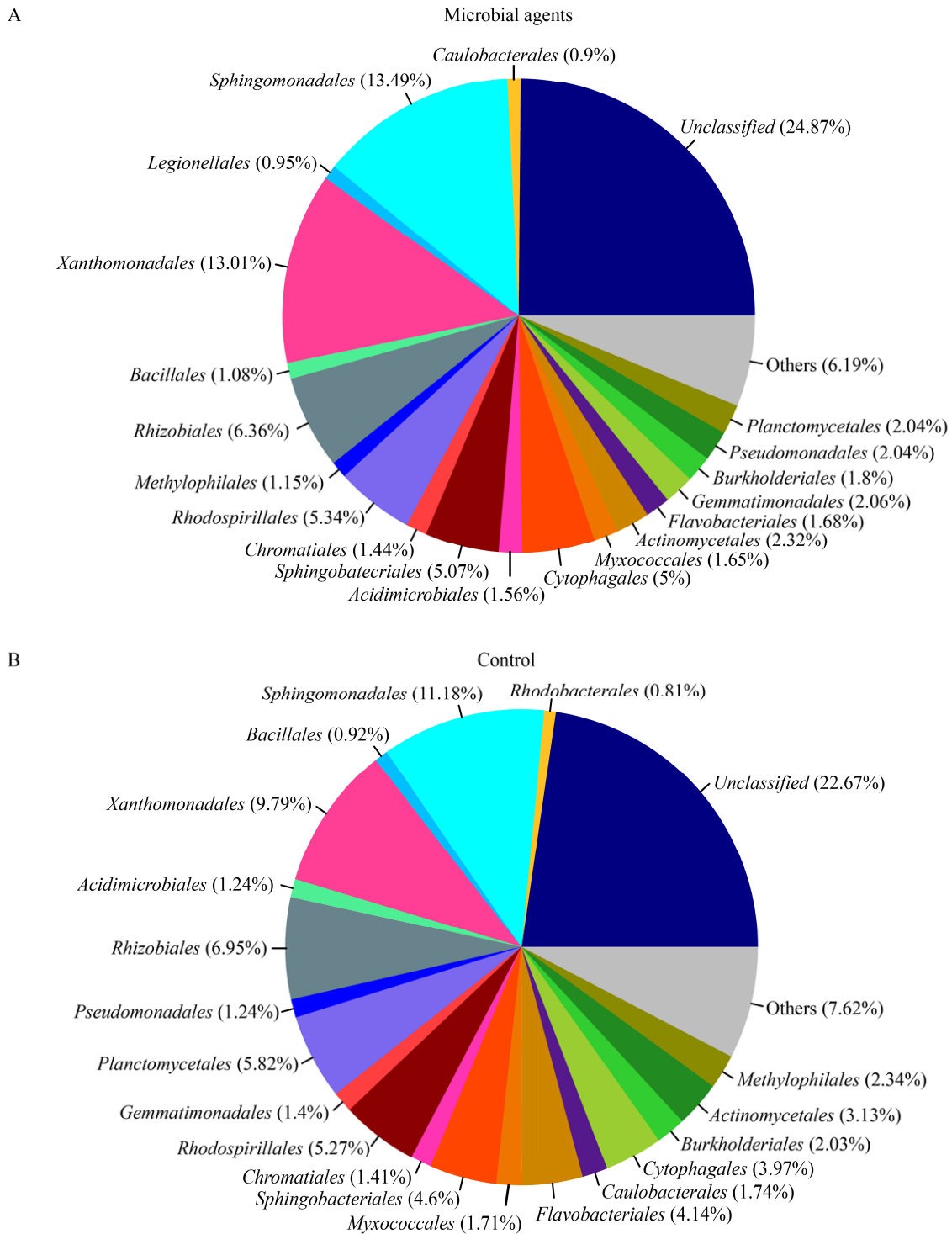


图 2 菌剂处理(A)与对照处理(B)中细菌种群及含量的变化

Figure 2 Changes of soil bacterial communities and content in microbial agents treatment (A) and control treatment (B)

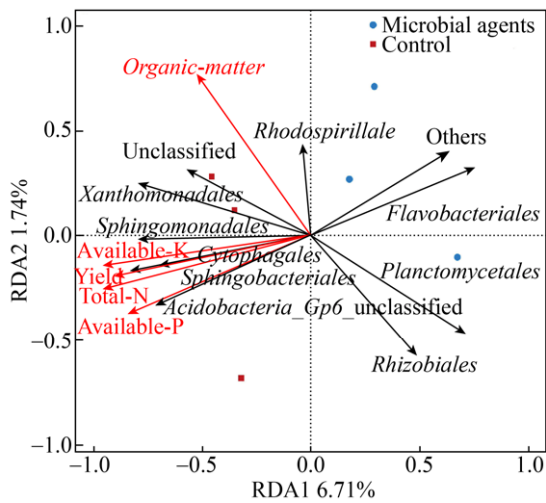


图3 环境因子与细菌群落多样性的 RDA 图
Figure 3 RDA ordination graph for environmental factors and bacterial community diversity

2.4 微生物菌剂处理对茄子生长及产量指标的影响

由表4结果可以看出, 微生物菌剂施用对茄子营养生长和产量指标具有明显的影响, 微生物菌剂处理增加了茄子的株高、叶面积、叶绿素含量和产量。但是微生物菌剂对茄子开花期和采摘期的茄子株高、叶面积的影响不同, 在开花期时微生物菌剂处理和常规对照的株高、叶面积不存在显著差异, 而在采摘期微生物菌剂处理的茄子株高、叶面积等指标则均显著高于对照($P < 0.05$)。微生物菌剂对营养生长的促进作用, 最终体现在对产量的促进, 结果表明微生物菌剂较对照增长18.52%, 显著高于对照($P < 0.05$)。

表4 不同施肥处理对茄子营养生长和产量指标的影响

Table 4 Effects of different fertilization treatments on nutritional growth and yield index of eggplant

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)		叶面积 Leaf area (cm ²)		叶绿素含量 Chlorophyll content (g)		产量 Yield (kg/hm ²)
	开花期 Flowering period	采摘期 Picking period	开花期 Flowering period	采摘期 Picking period	开花期 Flowering period	采摘期 Picking period	
菌剂 Microbial agent	51.01±5.57	92.33±4.62*	165.23±14.84	185.42±25.12*	55.81±2.11*	48.94±1.89*	2 833.46±89.66*
对照 Control	55.67±3.21	84.33±2.08	162.95±18.24	152.44±18.23	51.81±2.11	43.21±2.32	2 390.83±83.28

注: 同一列中的*表示菌剂处理和对照相比存在显著差异($P < 0.05$)。

Note: * in the same column indicates that there is a significant difference between treatment and control ($P < 0.05$).

3 讨论与结论

微生物是土壤养分转化和循环的动力^[22], 调控着土壤能量和养分循环过程^[23], 因此在土壤中添加具有特殊功能的微生物菌剂能够改变土壤中营养元素的活性状态、改善土壤营养状况。本研究以具有产生有机酸和分泌多种酶类的巨大芽孢杆菌和哈茨木霉为微生物菌剂, 分析了施用微生物菌剂对设施茄子根际土壤养分含量的影响, 结果表明施用微生物菌剂对土壤的全氮、碱解氮、速效磷和有效钾的含量均有一定程度的增加作用, 有效改善了土壤的供肥能力, 有利于作物的生长, 该结果与柳晓磊等在香蕉上施用微生物菌剂的结果相似^[24]。分析施用微生物菌剂对茄子不同生育时期土壤养分的影响发现, 施用微生物菌剂对土壤养分含量的活化作用具有持久性。然而, 菌剂短期施用对土壤有机质和总氮不存在显著影响。

微生物群落的数量、结构和活性与土壤生态系统功能密切相关, 土壤微生物群落受诸多环境因素的影响^[2,25-26]。本研究结果表明微生物菌剂的施用可以增加土壤中可培养细菌、放线菌、真菌的数量, 分析不同种类微生物占总微生物数量的比例发现, 施用微生物菌剂可以增加土壤中细菌和放线菌的占比, 降低真菌的占比, 使土壤微生物呈现细菌化状态, 土壤微生物环境更趋健康, 对控制土传病害起到了良好的作用^[27]。李凤霞等的研究也表明, 微生物菌剂+氮肥减量处理能够增

加土壤中细菌、放线菌和微生物总数的数量,提高细菌和放线菌占微生物总数的比例,为作物生长提供良好的土壤微生态环境^[28]。其他研究也表明,芽孢杆菌、木霉属真菌等微生物在根区的定殖占领根部空间,改变土壤中微生物的种类和组成,能够起到防治植物土传病害、诱导植物产生系统抗性、促进植物生长等多种作用^[29]。

相对于可培养微生物来说,采用 Illumina MiSeq 技术对土壤微生物多样性进行分析能够更为准确地反映土壤微生物环境的全貌^[30],本研究分析了微生物菌剂处理和对照根际土壤微生物的 Shannon、Simpson、Chao1 和 ACE 指数等多样性指标,发现微生物菌剂处理没有改变细菌的丰富度,但是显著提高了土壤微生物的多样性,其他研究也得到了相似的结论^[25,31]。进一步分析不同处理土壤样品中微生物门、纲、目、科、属、种 6 个水平上微生物种类的差异,发现不同处理土壤中所含的微生物种类基本相同。从目水平上分析菌剂处理和对照的微生物组成发现,两个处理中占比大于 1% 的目均为 17 个,其中 15 个目相同,微生物菌剂处理使排名前 5 位优势菌目中的 4 个目的占比均增高。分析其他优势菌目发现,微生物菌剂处理还提高了芽孢杆菌目 (*Bacillales*)、纤维黏网菌目 (*Cytophagales*)、假单胞菌目 (*Pseudomonadales*) 的比例,这些菌目中以有益菌为主,本研究微生物菌剂中的巨大芽孢杆菌属于芽孢杆菌目 (*Bacillales*),该目微生物丰富度的增加可能与研究中菌剂含有大量芽孢杆菌相关。RDA 分析表明,菌剂处理不仅与部分微生物的丰度直接相关,还与土壤的全氮、有机质、有效磷、有效钾、茄子产量呈现正相关关系。

微生物菌剂施用对茄子营养生长和产量指标具有明显的影响,微生物菌剂施用对茄子开花期和采摘期的茄子株高、叶面积的影响不同,对茄子生育中后期的影响更为明显,这可能是由于前期茄子生长消耗养分相对较少、而底肥供应的养分也比较充足,随着茄子营养生长和生殖生长的增加,后期

养分逐渐供应不足,在这种情况下微生物菌剂由于能够改善土壤微生态环境、促进土壤中营养元素的活化,而使茄子生长处在一个更好的营养供应之下。

REFERENCES

- [1] Hebei Statistical Bureau, Hebei Investigation Team of National Statistical Bureau. Statistical communique on national economic and social development in Hebei Province in 2017[J]. Statistics and Management, 2018(3): 3-7 (in Chinese)
河北省统计局,国家统计局河北调查总队. 河北省 2017 年国民经济和社会发展统计公报[J]. 统计与管理, 2018(3): 3-7
- [2] Liu L, Wang L, Liu XY, et al. Problems and countermeasures of water and fertilizer management in protected vegetables production in Hebei Province[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2017, 21(3): 59-62 (in Chinese)
刘蕾,王凌,刘晓艳,等. 河北省设施蔬菜生产中水肥管理存在的问题与发展策略[J]. 河北农业科学, 2017, 21(3): 59-62
- [3] Zhou DP, Chu CB, Liu FF, et al. Effect of asparagus cultivation years on physio-chemical properties, microbial community and enzyme activities in greenhouse soil[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(2): 459-466 (in Chinese)
周德平,褚长彬,刘芳芳,等. 种植年限对设施芦笋土壤理化性状、微生物及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(2): 459-466
- [4] Han ZM, Yang S, Han M, et al. Effects of different microbial agents on enzymes activity of soil in *Panax ginseng* continuous cultivating field[J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2016, 41(1): 50-53 (in Chinese)
韩志明,杨颂,韩梅,等. 不同菌剂对人参连作土壤酶活性的影响[J]. 东北农业科学, 2016, 41(1): 50-53
- [5] Zhang N. Research of interaction between plant roots and rhizosphere beneficial *Bacillus* strains N11 and SQR9[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural College, 2012 (in Chinese)
张楠. 根际有益芽孢杆菌 N11 及 SQR9 与植物根系的互作研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2012
- [6] Fang XD, Geng LP, Xie JZ, et al. Effects of solid microbial agents on growth and yield of tomato[J]. Northern Horticulture, 2017(8): 179-182 (in Chinese)
方雪丹,耿丽平,谢建治,等. 固态微生物菌剂对番茄生长及产量的影响[J]. 北方园艺, 2017(8): 179-182
- [7] Chang B. Effects of microbial agent on reclaimed soil

- biological activity and rape growth[D]. Taiyuan: Master's Thesis of Shanxi University, 2013 (in Chinese)
常勃. 微生物菌剂对矿区复垦土壤生物活性和油菜生长的影响[D]. 太原: 山西大学硕士学位论文, 2013
- [8] Zhu JY. Study on the application of microbial agents in cucumber and tomato cultivated in greenhouse[D]. Taian: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2014 (in Chinese)
朱金英. 微生物菌剂在设施黄瓜和番茄上的应用效果研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2014
- [9] Jia J, Li S, Gao XT, et al. Effects of water-soluble fertilizer and microbial agents combined application on the growth of cauliflower and soil ecological characteristics[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2018, 41(1): 17-23 (in Chinese)
贾娟, 李硕, 高夕彤, 等. 氨基酸水溶肥与菌剂配施对松花菜生长及土壤生态特征的作用效果[J]. 河北农业大学学报, 2018, 41(1): 17-23
- [10] Chu YH. Effects of different microbial fertilizers on the growth, the quality, the production and the nitrogen accumulation of lettuce[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese)
褚义红. 不同微生物菌肥对温室生菜生长、品质、产量及氮素积累的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2014
- [11] Zhang ZR, Bu YH, Lai YH, et al. The effects of different function bacteria on the agronomic trait of continuous cropping tobacco and rhizospheric soil bacteria[J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2012, 34(S1): 116-121 (in Chinese)
张振荣, 布云红, 赖泳红, 等. 不同功能菌剂对连作烟叶农艺性状和根际土壤细菌的影响[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2012, 34(S1): 116-121
- [12] Brussaard L, de Ruiter PC, Brown GG. Soil biodiversity for agricultural sustainability[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2007, 121(3): 233-244
- [13] Yu C, Hu XM, Deng W, et al. Research of rhizosphere microorganism and its utilization in mulberry[J]. Bulletin of Sericulture, 2010, 41(2): 1-5 (in Chinese)
于翠, 胡兴明, 邓文, 等. 植物根际微生物研究及其在桑树上的利用[J]. 蚕桑通报, 2010, 41(2): 1-5
- [14] Matos A, Kerkhof L, Garland JL. Effects of microbial community diversity on the survival of *Pseudomonas aeruginosa* in the wheat rhizosphere[J]. Microbial Ecology, 2005, 49(2): 257-264
- [15] Marschner P, Crowley D, Yang CH. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type[J]. Plant and Soil, 2004, 261(1/2): 199-208
- [16] Chen HS, Qin CX, Peng C, et al. Effects of sugarcane intercropping with peanut on rhizosphere soil microbial community and enzyme activity[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(3): 223-226 (in Chinese)
陈海生, 秦昌鲜, 彭崇, 等. 甘蔗间作花生对根际土壤微生物种群及酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(3): 223-226
- [17] Yang JH, Wang CL, Dai HL. Soil Agrochemical Analysis and Environmental Monitoring[M]. Beijing: China Land Press, 2008: 49-50 (in Chinese)
杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测[M]. 北京: 中国大地出版社, 2008: 49-50
- [18] Bao SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 212-279 (in Chinese)
鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 212-279
- [19] Lin XG. Principles and Methods of Soil Microbiology Research[M]. Beijing: Higher Education Press, 2010 (in Chinese)
林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010
- [20] Zhao X, Liu HL, Yang P, et al. Effect of drip irrigation on bacterial diversity and community structure in rhizosphere soil of Alfalfa[J]. Microbiology China, 2019, 46(10): 2579-2590 (in Chinese)
赵祥, 刘红玲, 杨盼, 等. 滴灌对苜蓿根际土壤细菌多样性和群落结构的影响[J]. 微生物学通报, 2019, 46(10): 2579-2590
- [21] Wang HL, Li JX, Fan FC, et al. Evapotranspiration model and crop coefficient of greenhouse eggplant in North China[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(12): 1819-1827 (in Chinese)
王贺垒, 李家曦, 范凤翠, 等. 华北地区设施茄子蒸散量估算模型及作物系数确定[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(12): 1819-1827
- [22] Shen RF, Zhao XQ. Role of soil microbes in the acquisition of nutrients by plants[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(20): 6584-6591 (in Chinese)
沈仁芳, 赵学强. 土壤微生物在植物获得养分中的作用[J]. 生态学报, 2015, 35(20): 6584-6591
- [23] Xue JF, Gao YM, Wang JK, et al. Microbial biomass carbon and nitrogen as an indicator for evaluation of soil fertility[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2007, 38(2): 247-250 (in Chinese)
薛菁芳, 高艳梅, 汪景宽, 等. 土壤微生物量碳氮作为土壤肥力指标的探讨[J]. 土壤通报, 2007, 38(2): 247-250
- [24] Liu XL, Qi Z, Yan Z, et al. Effects of compound microbial fertilizer and amino acid water-soluble fertilizer on

- physic-chemical properties and microbial community structures in banana soil[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2019(1): 151-158 (in Chinese)
- 柳晓磊, 齐钊, 闫臻, 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
- [25] Shi P, Wang SP, Jia SG, et al. Effects of three planting patterns on soil microbial community composition[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, 35(9): 965-972 (in Chinese)
- 时鹏, 王淑平, 贾书刚, 等. 三种种植方式对土壤微生物群落组成的影响[J]. *植物生态学报*, 2011, 35(9): 965-972
- [26] Liu BR, Zhang XZ, Hu TH, et al. Soil microbial diversity under typical vegetation zones along an elevation gradient in Helan Mountains[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(22): 7211-7220 (in Chinese)
- 刘秉儒, 张秀珍, 胡天华, 等. 贺兰山不同海拔典型植被带土壤微生物多样性[J]. *生态学报*, 2013, 33(22): 7211-7220
- [27] van Elsas JD, Chiurazzi M, Mallon CA, et al. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012; 109(4): 1159-1164
- [28] Li FX, Zhao Y. Effect of nitrogen fertilizer reduction with microbial inoculants on broccoli production and the influence of the soil microbial characteristics[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2017, 24(2): 94-100 (in Chinese)
- 李凤霞, 赵莹. 氮肥减量配施微生物菌剂对灌溉土花椰菜产量及土壤微生物的影响[J]. *水土保持研究*, 2017, 24(2): 94-100
- [29] Deng KY, Ling N, Zhang P, et al. Effects of bio-organic fertilizers on the growth and rhizosphere microflora of watermelon plants in nursery pots[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2013, 36(2): 103-109 (in Chinese)
- 邓开英, 凌宁, 张鹏, 等. 专用生物有机肥对营养钵西瓜苗生长和根际微生物区系的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2013, 36(2): 103-109
- [30] Xin BM, Liu Y, Zhu DB, et al. Microbiota diversity analysis of potable water treated with silver ion using Illumina MiSeq sequencing technology[J]. *Manned Spaceflight*, 2017, 23(6): 824-828 (in Chinese)
- 辛冰牧, 刘亚, 朱德斌, 等. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析活性银离子处理饮用水微生物多样性[J]. *载人航天*, 2017, 23(6): 824-828
- [31] Zhong ST, Shen ZZ, Sun YF, et al. Effects of continuous application of bio-organic fertilizer on banana production and cultural microflora of bulk soil in orchard with serious disease incidence[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(2): 481-489 (in Chinese)
- 钟书堂, 沈宗专, 孙逸飞, 等. 生物有机肥对连作蕉园香蕉生产和土壤可培养微生物区系的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(2): 481-489