

研究报告

贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物群落结构及理化性质的影响

白雪飞¹, 李倩¹, 丁丽丽², 张岱¹, 赵益¹, 杨志辉^{*1}, 朱杰华^{*1}

1 河北农业大学 植物保护学院, 河北 保定 071000

2 河北省农林科学院生物技术与食品科学研究所, 河北 石家庄 050057

白雪飞, 李倩, 丁丽丽, 张岱, 赵益, 杨志辉, 朱杰华. 贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物群落结构及理化性质的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 2844-2856.

BAI Xuefei, LI Qian, DING Lili, ZHANG Dai, ZHAO Yi, YANG Zhihui, ZHU Jiehua. Effects of *Bacillus velezensis* HN-Q-8 on the microbial community structure and physicochemical properties of potato rhizosphere soil[J]. Microbiology China, 2024, 51(8): 2844-2856.

摘要:【背景】贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)对作物生长有较好的促进效果, 并且能抑制多种病原菌生长, 但该菌对作物根际微生态影响的研究较少。【目的】明确贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物群落结构和理化性质的影响, 旨在为芽孢杆菌在马铃薯生产中的应用提供理论依据。【方法】使用菌株 HN-Q-8 发酵液(fermentation liquid with bacterial cells, FLBS)、菌悬液(bacterial cell suspension, BCS)和上清液(fermentation liquid without bacterial cells, FL)灌根后的马铃薯根际土壤为研究对象, 采用高通量测序技术测定了不同处理条件下马铃薯根际土壤微生物多样性和群落结构的变化, 并且进一步测定了马铃薯根际土壤理化性质的变化。【结果】菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物多样性无显著影响, 但是影响了微生物群落结构的组成。在属水平上, 相较于对照组, 各处理马铃薯根际土壤中溶杆菌属(*Lysobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和被孢霉属(*Mortierella*)等多种有益菌属的相对丰度均有显著升高, 改善了马铃薯根际土壤的群落结构; 菌株 HN-Q-8 增强了脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶的活性, 并且显著提高了土壤中的速效氮、速效磷和速效钾的含量。【结论】贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以影响马铃薯根际土壤的微生物群落结构, 提高土壤中有益微生物的相对丰度, 并进一步增强了土壤酶活性及土壤肥力, 为促进马铃薯生长发育及抵御病原菌侵染提供有利的土壤环境。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8; 马铃薯; 微生物群落结构; 土壤酶; 土壤肥力

资助项目: 河北省薯类产业技术体系创新团队专项基金(HBCT2023060205); 现代农业产业技术体系(CARS-09-P18); 河北省自然科学基金(C2021204024); 河北农业大学引进人才科研专项(YJ2020041)

This work was supported by the Earmarked Fund for Modern Agro-industry Technology Research System in Hebei Province (HBCT2023060205), the Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-09-P18), the Natural Science Foundation of Hebei Province (C2021204024), and the Talent Introduction Scientific Research Special Project of Hebei Agricultural University (YJ2020041).

*Corresponding authors. E-mail: YANG Zhihui, bdyzh@hebau.edu.cn; ZHU Jiehua, zhujiehua356@126.com

Received: 2023-10-23; Accepted: 2024-04-26; Published online: 2024-05-23

Effects of *Bacillus velezensis* HN-Q-8 on the microbial community structure and physicochemical properties of potato rhizosphere soil

BAI Xuefei¹, LI Qian¹, DING Lili², ZHANG Dai¹, ZHAO Yi¹, YANG Zhihui^{*1}, ZHU Jiehua^{*1}

1 College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, Hebei, China

2 Institute of Biotechnology and Food Science, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050057, Hebei, China

Abstract: [Background] *Bacillus velezensis* can promote the growth of crops and inhibit the growth of a variety of pathogens. However, the knowledge is limited regarding the effects of *B. velezensis* on the rhizosphere microecology of crops. [Objective] The effects of *B. velezensis* HN-Q-8 on the microbial community structure and physical and chemical properties of potato rhizosphere soil were studied in order to provide a theoretical basis for the application of *Bacillus* in potato production. [Methods] Potato rhizosphere soil samples were inoculated with the fermentation liquid with bacterial cells (FLBS), fermentation liquid without bacterial cells (FL), and bacterial cell suspension (BCS) of strain HN-Q-8, respectively. The changes of microbial diversity and community structure of potato rhizosphere soil under different treatment conditions were determined by high-throughput sequencing. Furthermore, the changes in physicochemical properties of potato rhizosphere soil were determined. [Results] Strain HN-Q-8 had no significant effect on the microbial diversity but affected the microbial community structure in potato rhizosphere soil. Compared with the control, each treatment significantly increased the relative abundance of beneficial bacteria, such as *Lysobacter*, *Bacillus*, and *Mortierella*, in potato rhizosphere soil, which improved the microbial community structure of potato rhizosphere soil. In addition, strain HN-Q-8 enhanced the activities of urease, phosphatase, and catalase and significantly increased the content of available nitrogen, available phosphorus, and available potassium in potato rhizosphere soil. [Conclusion] *B. velezensis* HN-Q-8 regulates the microbial community structure and increases the relative abundance of beneficial microorganisms in potato rhizosphere soil. Furthermore, it enhances the enzyme activity and fertility of rhizosphere soil, shaping a favorable soil environment for potato growth and development of resistance against pathogen infection.

Keywords: *Bacillus velezensis* HN-Q-8; potato; microbial community structure; soil enzyme; soil fertility

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是世界上第四大粮食作物, 种植范围广、价格低且营养价值高^[1]。多年来, 人们经常通过大量使用化学肥料来提高马铃薯的产量, 这不仅会污染环境, 还会带来土壤的生物活性降低、养分失

衡、土壤板结和土传病害严重等问题^[2-3]。因此, 减少对化学肥料的依赖, 使用更科学环保的方法来提高马铃薯产量对农业的可持续发展具有重大意义。

植物根际是植物根系与土壤微生物相互作用

用的重要场所^[4]。植物根系的分泌物可以为土壤微生物提供营养,改善根际微生物的菌群结构^[5],土壤中的有益微生物可以产生次生代谢产物,直接或间接抵御病原菌侵染,促进植物生长^[6-7]。植物根际促生菌是土壤中有益微生物的重要组成部分^[8]。芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)作为最重要的植物根际促生菌之一,可以在植物的根部快速定殖并且形成生物膜,通过影响根际微生物的优势种群和调整根际微生物相对丰度的方式,改善根际土壤微生物的菌落结构,长期使用可恢复微生物多样性,提高土壤酶活性、改善土壤养分状况,从而促进植物生长^[9]。如 Bai 等^[10]发现蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) CLY07 使红豆杉苗根际土壤的被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度增加,并且增强了根际土壤酶活性,从而促进红豆杉苗的生长。赵雨萌等^[11]研究发现解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) TR2 可以在 7-60 d 内显著提高草莓根际土壤的土壤酶活性,并且可以显著降低草莓根腐病的发生,提高草莓植株的产量。武建华等^[12]发现使用芽孢杆菌处理马铃薯,可以提高土壤中脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶的活性,不仅对马铃薯生长具有促进作用,还能够有效防治马铃薯黑痣病和黄萎病。此外,王凤娇等^[13]使用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)处理丹参苗后,提高了丹参苗根际土壤中土壤酶的活性和速效养分含量,更适合丹参生长。以上研究表明,芽孢杆菌可以通过改变红豆杉、草莓和丹参等植物根际土壤的微生物群落结构及理化性质,抵御病原菌侵染,促进植物生长,是一种对生态环境友好的生防菌。

本研究前期在马铃薯根际土壤中筛选出一株贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) HN-Q-8^[14]。前期试验结果表明贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以通过调控马铃薯植物激素(生长素、赤霉

素、脱落酸)和叶绿素含量的方式促进马铃薯生长,增加马铃薯产量;同时还表明贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以诱导防御酶活性和触发 JA/ET 通路,增强马铃薯植株对早疫病抗性,说明贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 具有良好的促生增产和诱导植物抗病性的功能^[15]。植物根际土壤微生态也是影响植物生长的重要因素,但是针对贝莱斯芽孢杆菌菌种对马铃薯根际土壤微生态影响的相关研究相对匮乏。因此,本研究基于前期研究进一步利用贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 的发酵液(fermentation liquid with bacterial cells, FLBS)、菌悬液(bacterial cell suspension, BCS)和上清液(fermentation liquid without bacterial cells, FL)对马铃薯进行灌根处理,通过检测马铃薯根际土壤微生物群落结构以及理化性质的变化综合评价该菌株对马铃薯根际土壤的影响,为进一步阐明芽孢杆菌对马铃薯植株的促生及防病机制奠定理论基础,同时也为生防菌剂的开发及其剂型的确定提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 样 品

贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8^[14]:由实验室前期从马铃薯根际土壤中筛选分离纯化,保存于河北农业大学马铃薯病害研究中心。

马铃薯品种为荷兰 15,由河北慧谷农业科技有限公司提供。

土壤采自河北省保定市马铃薯抗性鉴定中心马铃薯田里的表层土壤(0-10 cm)。

1.2 主要试剂和仪器

土壤 DNA 试剂盒,广州美基生物科技有限公司;土壤速效氮含量检测试剂盒、土壤速效磷含量检测试剂盒、土壤速效钾含量检测试剂盒、土壤脲酶(S-UE)活性检测试剂盒、土壤酸性磷酸酶(S-ACP)活性检测试剂盒及土壤过氧

化氢酶(S-CAT)活性检测试剂盒,北京索莱宝生物科技有限公司等。

高压蒸汽灭菌锅, Hirayama 公司; 恒温振荡器, 上海右一仪器有限公司; 分光光度计, 深圳雷杜生命科学股份有限公司; 超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; 高速离心机, 上海赛默飞世尔科技有限公司; 恒温培养箱, 宁波江南仪器厂。

1.3 培养基

LB 液体培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, NaCl 10.0, 酵母浸粉 5.0。

LB 固体培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, NaCl 10.0, 酵母浸粉 5.0, 琼脂粉 20.0。

1.4 菌株 HN-Q-8 发酵液、菌悬液及上清液的制备

将菌株 HN-Q-8 接种于 LB 液体培养基, 37 °C、200 r/min 振荡培养 24 h 作为种子液。将种子液接种到 LB 液体培养基, 37 °C、200 r/min 培养至 10^8 CFU/mL 作为发酵液。将菌株发酵液在 4 °C、12 000 r/min 离心 20 min, 上清液备用, 用同体积的无菌水将沉淀重悬作为菌悬液备用。

1.5 试验设计及土壤样品采集

将带芽的马铃薯块茎种植到装满土壤的花盆(直径×高=20 cm×18 cm)中培养, 保持室温在 25 °C, 每天日照时间为 16 h。每隔 1 d 浇 1 次水, 以保持土壤足够湿润。待马铃薯幼苗长出 4–5 个叶片后, 分别将 5 mL 菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 稀释后注入马铃薯根部附近的土壤中, 同时使用相同体积的无菌水作为对照(CK)。共设 4 个处理, 每个处理 6 个重复。

处理 30 d 后进行土壤样品采集, 将整株马铃薯连根拔出, 抖去根部松散土壤, 收集与马铃薯根部紧密结合的根际土壤, 过 2 mm 筛后分别称取 5 g 土壤样品并且分为 2 份, 1 份保存

在 -80 °C 冰箱中用于微生物多样性送测, 另 1 份用于土壤理化性质的检测, 每个处理 3 次重复。

1.6 马铃薯根际土壤 DNA 的提取与高通量测序

按照土壤 DNA 试剂盒说明书提取马铃薯根际土壤的总 DNA。采用细菌的 16S rRNA 基因 V3–V4 区引物 343F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和 798R (5'-AGGGTATCTAATCCT-3')进行 PCR 扩增; 采用真菌的 ITS 区引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2 (5'-GCTGCGTTTCTTCATCGATGC-3')进行 PCR 扩增^[16], 将扩增产物纯化后进行文库构建, 文库检测合格后送上海欧易生物医学科技有限公司使用 Illumina NovaSeq6000 MiSeq 进行高通量测序。获得的数据均已上传至 NCBI SRA 数据库(序列号: PRJNA976799)。

1.7 马铃薯根际土壤理化性质检测

按照土壤速效氮含量检测试剂盒、土壤速效磷含量检测试剂盒、土壤速效钾含量检测试剂盒、土壤脲酶(S-UE)活性检测试剂盒、土壤酸性磷酸酶(S-ACP)活性检测试剂盒和土壤过氧化氢酶(S-CAT)活性检测试剂盒说明书检测不同处理马铃薯根际土壤的理化性质。

1.8 数据和分析

采用 Excel 2019 软件整理统计数据; 用 SPSS 18.0 软件进行方差分析(analysis of variance, ANOVA)并计算最小显著差异(least significant difference, LSD); 采用 Excel 2019 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物多样性及群落结构的影响

2.1.1 根际土壤微生物 α 多样性和主坐标分析

利用高通量测序技术对不同处理马铃薯根

际土壤样本提取的 DNA 扩增测序并优化, 基于 97%相似水平聚类分析后发现, 相较于对照组, 使用菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理后马铃薯根际土壤微生物物种数虽然有所降低, 但是无显著差异(表 1)。Chao1 指数和 Shannon 指数分析结果显示, 相较于对照组, 各处理马铃薯根际土壤的细菌和真菌的丰富度和多样性也均无显著差异(表 1)。主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)结果显示(图 1), 利用菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理马铃薯植株后, 明显改变了马铃薯根际土壤微生物的群落结构。说明菌株 HN-Q-8 主要

影响马铃薯根际土壤的微生物群落结构。

2.1.2 基于门水平的群落组成分析

在不同处理的马铃薯根际土壤中, 细菌以假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、蛭弧菌门(*Bdellovibrionota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)和酸杆菌门(*Acidobacteriota*)为优势类群(相对丰度>1%)(图 2)。虽然优势类群大致相同, 但是经菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理后的根际土壤细菌的相对丰度都有显著的变化。其中 FLBS 处理的马铃薯根际土壤

表 1 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤微生物 α 多样性指数的影响

Table 1 Effects of strain HN-Q-8 on microbial α diversity index of potato rhizosphere soil

样品 Sample	细菌 Bacteria			真菌 Fungi		
	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	香农指数 Shannon index	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	香农指数 Shannon index
CK	1 359.33±100.28a	1 363.63±59.39a	8.77±0.05a	344.67±37.29a	345.21±21.67a	5.37±0.99a
FLBS	1 227.33±89.80a	1 231.30±52.49a	8.76±0.03a	342.67±30.92a	342.99±18.00a	5.60±0.10a
BCS	1 354.00±92.67a	1 356.52±54.01a	8.92±0.08a	339.67±25.42a	339.71±14.74a	5.32±0.28a
FL	1 293.00±92.41a	1 298.04±53.17a	8.74±0.03a	280.67±28.36a	280.84±16.57a	4.79±0.54a

同列数据后相同小写字母表示无显著差异

The same lowercase letter after the same column of data indicates no significant difference.

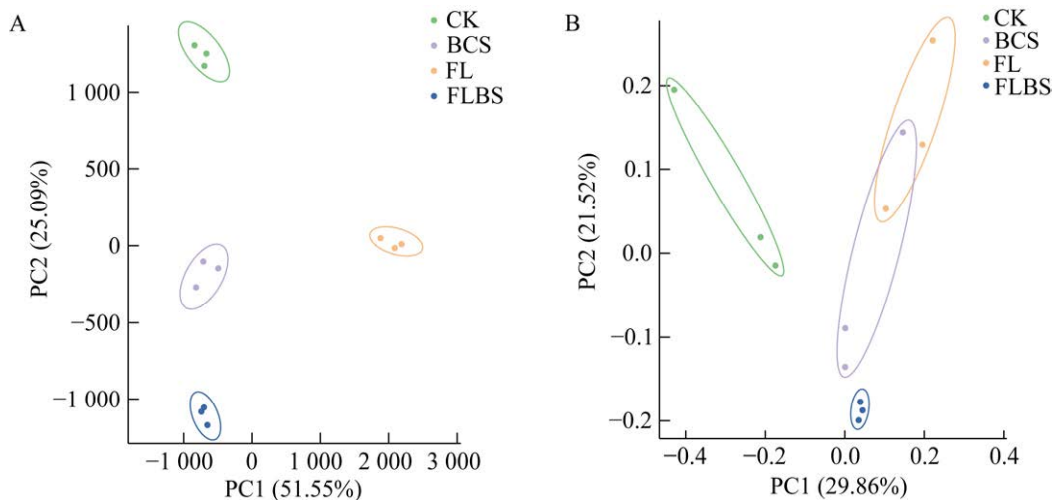


图 1 马铃薯根际土壤细菌(A)和真菌(B)的主坐标分析

Figure 1 Principal co-ordinates analysis of bacteria (A) and fungi (B) in potato rhizosphere soil.

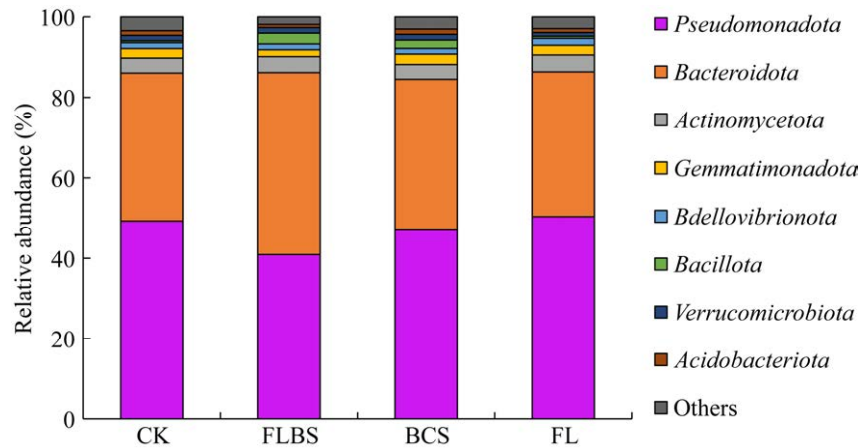


图 2 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤细菌门水平(相对丰度>1%)的影响 CK: 无菌水; FLBS: 发酵液; BCS: 菌悬液; FL: 上清液. 下同

Figure 2 Effect of strain HN-Q-8 on the bacterial phylum level (relative abundance>1%) in potato rhizosphere soil. CK: Sterile water; FLBS: Fermentation liquid with bacterial cells; BCS: bacterial cell suspension; FL: Fermentation liquid without bacterial cells. The same below.

中, 芽孢杆菌门和拟杆菌门的相对丰度分别显著升高了 511.36%和 23.24%; 而酸杆菌门、芽单胞菌门和假单胞菌门的相对丰度分别降低了 33.62%、28.1 和 17.08%, 芽孢杆菌门中的芽孢杆菌属(*Bacillus*)和拟杆菌门中的鞘氨醇杆菌属(*Sphingomonas*)均具有促进植物的生长和抵御病菌感染植物的能力, 其相对丰度上升可以为植物生长发育提供有利环境^[8-9,17]; BCS 处理的马铃薯根际土壤中, 芽孢杆菌门的相对丰度升高了 366.94%, 假单胞菌门的相对丰度降低了 4.65%; FL 处理的马铃薯根际土壤中, 蛭弧菌门的相对丰度升高了 14.95%、疣微菌门和酸杆菌门的相对丰度分别降低了 30.26%和 18.89%。这表明菌株 HN-Q-8 可以改变马铃薯根际土壤中细菌门水平的相对丰度。

在不同处理的马铃薯根际土壤中, 真菌均以子囊菌门 (*Ascomycota*)、担子菌门 (*Basidiomycota*)、接合菌门 (*Zygomycota*) 和壶菌门 (*Chytridiomycota*) 为优势类群(相对丰度>1%) (图 3)。经菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL

处理后马铃薯根际土壤中真菌门水平的群落相对丰度均有不同程度变化(图 3)。其中 FLBS 处理的接合菌门相对丰度提高了 164.64%, 子囊菌门的相对丰度降低了 20.46%; BCS 处理的壶菌门相对丰度显著提高了 239.35%, 子囊菌门的相对丰度也有略微降低; FL 处理的担子菌门相对丰度显著提高了 258.58%, 子囊菌门的相对丰度降低了 41.96%。而子囊菌门中包含引起赤霉病等的常见病原菌, 其丰度的降低可以在一定程度上使马铃薯感染病原菌的可能性下降。以上结果说明使用菌株 HN-Q-8 处理马铃薯植株后可以改变马铃薯根际土壤中真菌门水平的相对丰度。

2.1.3 基于属水平的群落组成分析

对马铃薯根际土壤细菌属水平的分析发现(图 4), FLBS 处理的马铃薯根际土壤中黄杆菌属(*Flavobacterium*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)、*Arenimonas*、*Fluviicola*、马赛菌属(*Massilia*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、*Flavisolibacter* 和 *Lacibacter* 较对照组的相对丰度显著提升, 纤维弧菌属

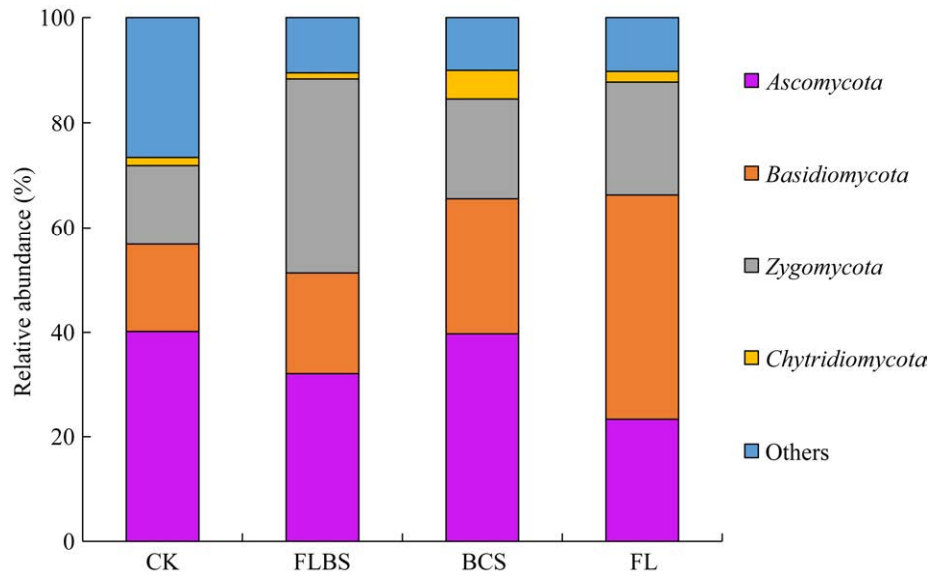


图 3 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤真菌门水平(相对丰度>1%)的影响

Figure 3 Effect of strain HN-Q-8 on the fungal phylum level (relative abundance>1%) in potato rhizosphere soil.

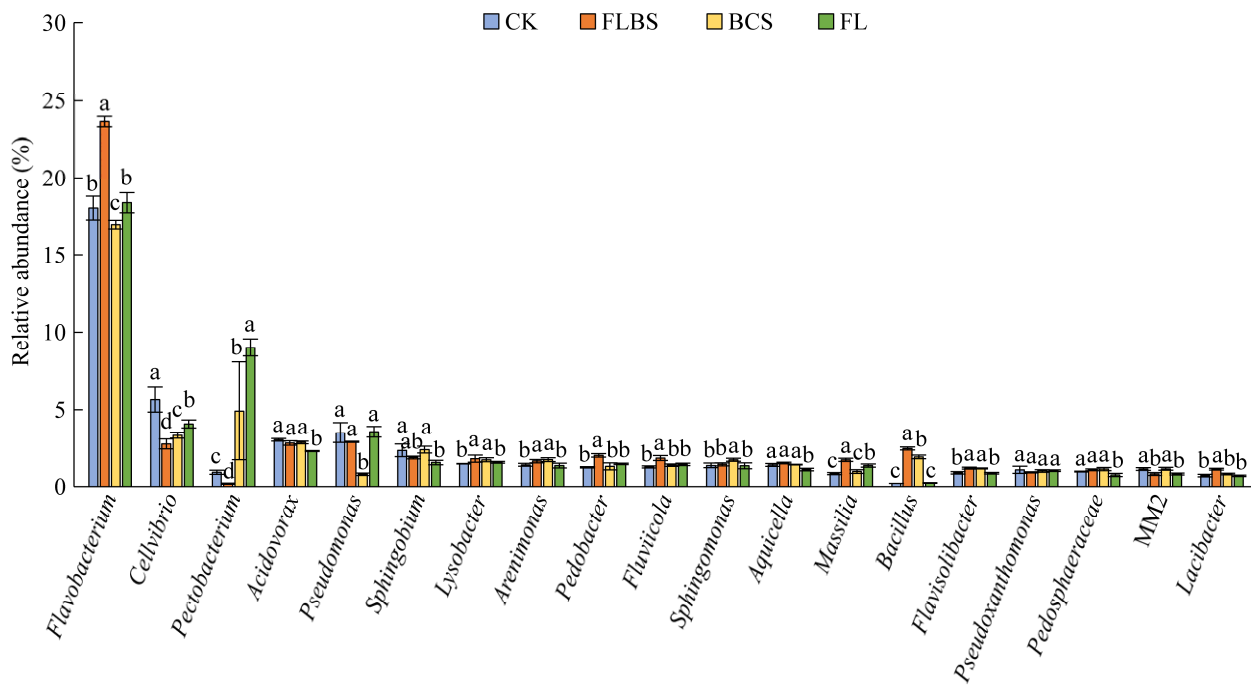


图 4 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤细菌属水平(相对丰度>1%)的影响

不同小写字母代表各组间

差异显著. 下同

Figure 4 Effect of strain HN-Q-8 on bacterial genus level (relative abundance>1%) in potato rhizosphere soil. Different lowercase letters indicate significant differences between groups. The same below.

(*Cellvibrio*)、果胶杆菌属(*Pectobacterium*)和 MM2 有明显的下降; 并且 BCS 和 FL 处理的细菌属水平相对丰度也发生了不同程度的改变。说明使用菌株 HN-Q-8 处理马铃薯幼苗后, 对马铃薯根际土壤细菌属水平的相对丰度有一定的影响。

对马铃薯根际土壤真菌属水平的分析发现(图 5), FLBS 处理的马铃薯根际土壤中丝膜菌属(*Cortinarius*)、被孢霉属(*Mortierella*)和镰刀菌属(*Fusarium*)的相对丰度分别升高了 268.08%、172.62% 和 58.67%, 腐质霉属(*Humicola*)和 *Monographella* 的相对丰度分别降低了 57.68% 和 33.49%; BCS 处理马铃薯根际土壤中 *Fibulochlamys* 和丝膜菌属的相对丰度分别升高了 56.93% 和 35.69%, 腐质霉属的相对丰度降低了 79.89%; FL 处理的马铃薯根际土壤中丝膜菌属和被孢霉属的相对丰度分别升高了 100.09% 和 57.53%, 腐质霉属的相对丰度显著

下降了 85.31%。说明使用菌株 HN-Q-8 处理马铃薯幼苗后, 对马铃薯根际土壤真菌属水平的相对丰度有一定的影响。

2.2 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤酶活的影响

经菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理马铃薯植株后, 根际土壤中脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性均有不同程度的提高(图 6)。其中, FLBS 处理分别提高了 24.71%、19.38% 和 36.18%, 效果最显著; BCS 处理分别提高了 16.22%、10.85 和 27.51%, 仅次于 FLBS 处理; FL 处理分别提高了 11.13%、6.20% 和 10.15%, 与对照相比也有显著差异。这说明菌株 HN-Q-8 可以通过刺激马铃薯根际土壤脲酶和磷酸酶活性, 释放土壤中固定的氮和磷, 增强土壤中的养分循环, 还可以提高土壤中过氧化氢酶的活性, 减轻植株受到过氧化氢的毒害。

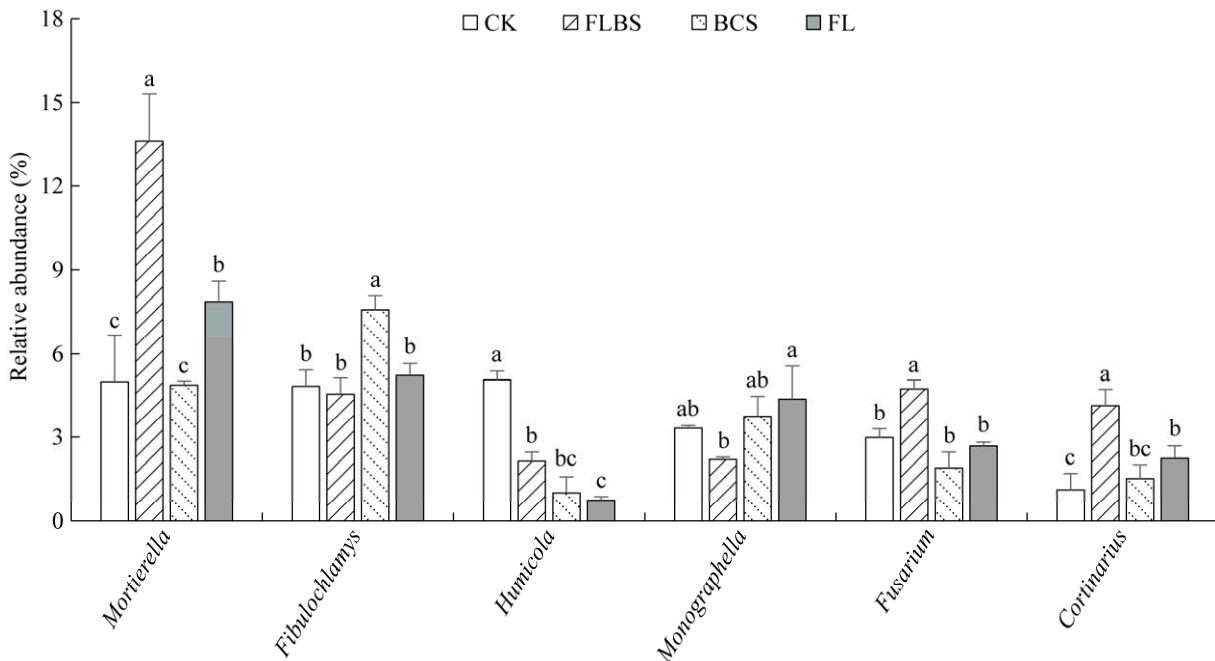


图 5 菌株 HN-Q-8 对马铃薯根际土壤真菌属水平(相对丰度>1%)的影响

Figure 5 Effect of strain HN-Q-8 on the fungal genus level (relative abundance>1%) in potato rhizosphere soil.

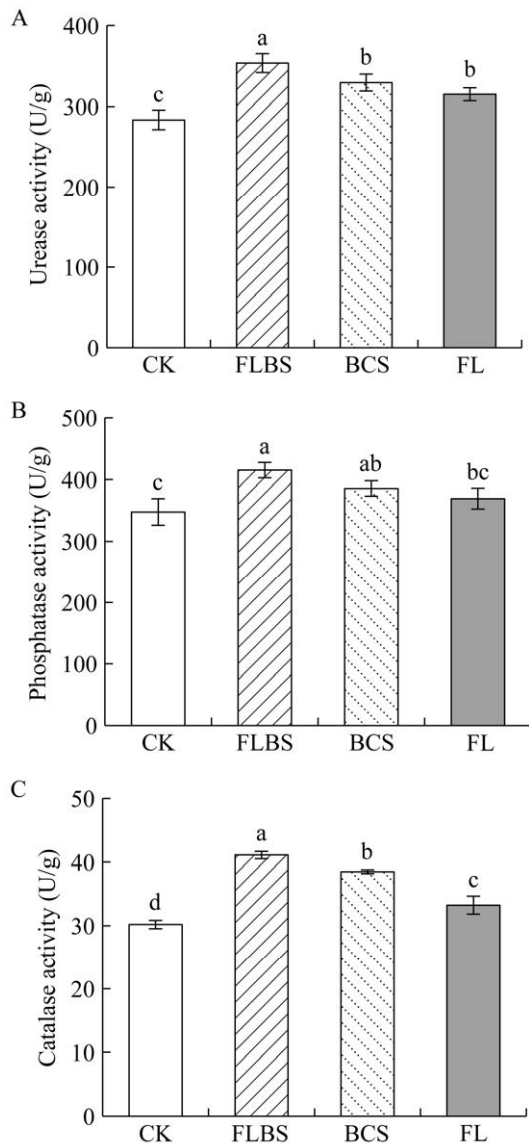


图6 菌株HN-Q-8对马铃薯植根际土壤脲酶(A)、磷酸酶(B)和过氧化氢酶(C)活性的影响

Figure 6 Effects of strain HN-Q-8 on urease (A), phosphatase (B) and catalase (C) activities in potato rhizosphere soil.

2.3 菌株HN-Q-8对马铃薯根际土壤养分的影响

经菌株HN-Q-8的FLBS、BCS和FL处理马铃薯植株后,改变了马铃薯根际土壤的速效氮、速效磷和速效钾的含量(图7),其中FLBS处理的效果最好,分别提高了41.77%、68.46%

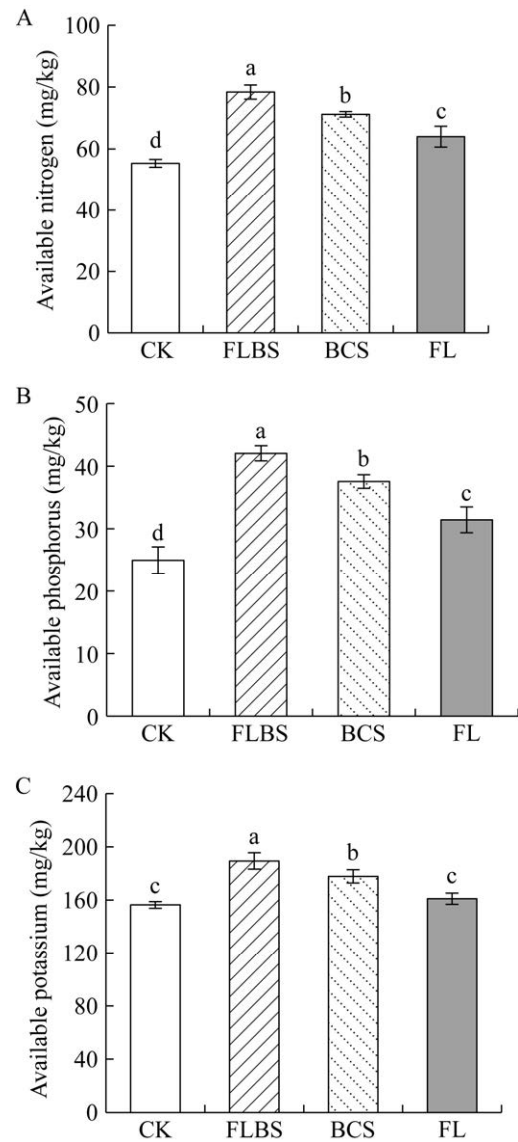


图7 菌株HN-Q-8对马铃薯植根际土壤速效氮(A)、速效磷(B)和速效钾(C)含量的影响

Figure 7 Effects of strain HN-Q-8 on the content of available nitrogen (A), available phosphorus (B) and available potassium (C) in potato rhizosphere soil.

和21.13%。BCS处理的效果仅次于FLBS,分别使根际土壤的速效氮、速效磷和速效钾的含量提高了28.69%、50.45%和13.71%,而FL处理的效果较微弱。这说明菌株HN-Q-8可以通过分解土壤中的无机氮、磷和钾元素,为马铃薯提供生长发育所需的营养元素,与土壤酶活

性所得结果一致。

3 讨论与结论

土壤微生物是土壤中的关键组成成分，在土壤生态系统的物质转化和能量传递等过程中发挥重要作用^[18-19]。研究发现外施芽孢杆菌不仅能够利用其定殖快的特点来影响植株根际的优势菌群，还可以利用生长过程中产生的抑菌物质来改变植物根部土壤的微生物群落结构^[9,20]，也有研究人员发现使用芽孢杆菌处理花生和茄子后，土壤微生物多样性指数却无显著性变化^[21-22]。在本研究中，利用前期筛选出的具有促生和抗病作用的贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 处理马铃薯植株后，根际土壤的微生物多样性未发生显著变化，但是经过 PCoA 分析发现菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 均改变了马铃薯根际土壤的微生物群落结构，并且 FLBS 处理的变化最大。在门水平上，所有处理的马铃薯根际土壤细菌均以假单胞菌门、拟杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门、蛭弧菌门、芽孢杆菌门、疣微菌门和酸杆菌门为优势类群，真菌以子囊菌门、担子菌门、接合菌门和壶菌门为优势类群，优势种群与吴晓颖等^[23]的研究结果基本一致。在属水平上，经菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理后，溶杆菌属、芽孢杆菌属和被孢霉属等多种菌属的相对丰度均有显著升高，其中溶杆菌属和芽孢杆菌属具有产生抗真菌活性物质和促进植物生长等功能^[24-26]；被孢霉属具有溶磷、固氮以及增强植物抗病性等多种促生作用^[27-28]，因此推测本研究前期筛选的贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以通过在马铃薯根部定殖或分泌抑菌物质的方式改善马铃薯根际土壤微生物的群落结构，在促进马铃薯生长并减少病害侵染方面发挥积极作用。

许多研究表明，使用芽孢杆菌处理植株

后，可以改善土壤中微生物菌群结构，提高土壤酶活性^[29]和土壤速效养分含量^[30-31]，促进养分循环，改良土壤的营养结构。黄文茂等^[21]发现使用贝莱斯芽孢杆菌 HP9 处理花生幼苗后，花生根际土壤的微生物菌群结构发生了改变，影响了土壤肥力，进而促进花生幼苗的生长；孔涛等^[32]使用胶质芽孢杆菌处理紫花苜蓿后，显著增强了紫花苜蓿根际土壤的土壤酶活性，进而促进了紫花苜蓿的生长。本研究中，利用前期筛选的促生菌株 HN-Q-8 的 FLBS、BCS 和 FL 处理马铃薯植株后，马铃薯根际土壤中的脲酶和磷酸酶的活性均显著提高，而先前有报道，土壤脲酶能将土壤中的尿素水解为植物可以利用的氮源，提高土壤中的氮含量^[33]，土壤磷酸酶可以将土壤中的有机磷转化为无机磷供植物吸收利用，促进植物生长^[34]。因此，本研究进一步检测了马铃薯根际土壤中的速效养分的含量，发现各处理的马铃薯根际土壤中的速效氮、速效磷和速效钾的含量均显著升高。土壤中的过氧化氢酶可以促进土壤中的过氧化氢分解为水和氧供植物使用，并且减轻植物受土壤中过量过氧化氢的毒害^[35]，本研究中各处理马铃薯根际土壤中过氧化氢酶也均显著提高。以上结果表明贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以影响马铃薯根际土壤中土壤酶的活性，消除土壤中的有害物质，并进一步提高土壤中的速效养分含量，增强土壤的养分循环，为促进植物生长发育提供有利环境。

综上所述，贝莱斯芽孢杆菌 HN-Q-8 可以通过改变马铃薯根际土壤微生物群落结构，增加根际土壤有益微生物的相对丰度，进一步增强马铃薯根际土壤的土壤酶活性，提高速效养分含量，在改善马铃薯的根际微生态中发挥积极调控作用。其中菌株 HN-Q-8 的 FLBS 处理作用最好，BCS 其次，而 FL 的作用较弱，说明

菌体和次生代谢产物同时施用比单独施用的效果更佳。我们的研究为进一步阐明芽孢杆菌对马铃薯植株的促生及防病机制奠定了理论基础,同时也为生防菌剂的开发及其剂型的确定提供了科学依据。

REFERENCES

- [1] MORGAN GD, STEVENSON WR, MACGUIDWIN AE, KELLING KA, BINNING LK, ZHU J. Plant pathogen population dynamics in potato fields[J]. *Journal of Nematology*, 2002, 34(3): 189-193.
- [2] 王才斌, 郑亚萍, 梁晓艳, 王建国, 郑永美, 孙学武, 冯昊, 吴正峰, 孙秀山. 施肥对旱地花生主要土壤肥力指标及产量的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33(4): 1300-1307.
- WANG CB, ZHENG YP, LIANG XY, WANG JG, ZHENG YM, SUN XW, FENG H, WU ZF, SUN XS. Effects of fertilization on soil fertility indices and yield of dry-land peanut[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(4): 1300-1307 (in Chinese).
- [3] 赵政, 陈巍, 王欢, 夏可心, 高仁维, 姜斯琪, 庞冠, 蔡枫. 木霉微生物肥与减量化肥配施对番茄产量、品质及土壤肥力的影响[J]. *土壤学报*, 2018, 55(5): 1243-1253.
- ZHAO Z, CHEN W, WANG H, XIA KX, GAO RW, JIANG SQ, PANG G, CAI F. Effects of bio-manure combined with chemical fertilizer reduced in application rate on soil fertility and yield and quality of tomato[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(5): 1243-1253 (in Chinese).
- [4] ZHANG JY, LIU YX, ZHANG N, HU B, JIN T, XU HR, QIN Y, YAN PX, ZHANG XN, GUO XX, HUI J, CAO SY, WANG X, WANG C, WANG H, QU BY, FAN GY, YUAN LX, GARRIDO-OTER R, CHU CC, BAI Y. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37: 676-684.
- [5] PÉREZ-MONTAÑO F, ALÍAS-VILLEGAS C, BELLOGÍN RA, del CERRO P, ESPUNY MR, JIMÉNEZ-GUERRERO I, LÓPEZ-BAENA FJ, OLLERO FJ, CUBO T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(5/6): 325-336.
- [6] ADESEMOYE AO, KLOPPER JW. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 85(1): 1-12.
- [7] SAIA S, RAPPÀ V, RUISI P, ABENAVOLI MR, SUNSERI F, GIAMBALVO D, FRENDÀ AS, MARTINELLI F. Soil inoculation with symbiotic microorganisms promotes plant growth and nutrient transporter genes expression in durum wheat[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 815.
- [8] VERBON EH, LIBERMAN LM. Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development[J]. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(3): 218-229.
- [9] 康貽军, 沈敏, 王欢莉, 赵庆新. 两株 PGPR 对豇豆苗期生长及土著细菌群落的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(8): 1537-1543.
- KANG YJ, SHEN M, WANG HL, ZHAO QX. Effects of two plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on yardlong bean early seedlings growth and indigenous soil bacterial community[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(8): 1537-1543 (in Chinese).
- [10] BAI BX, YANG X, ZHAO QS, LIU RX, REN JH. Inoculations with *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus cereus* affect the soil enzyme activity, growth and rhizosphere microbial diversity of *Taxus chinensis* var. *mairei*[J]. *Plant and Soil*, 2020, 455(1): 41-52.
- [11] 赵雨萌, 缪佩佩, 王旭东, 高坦坦, 史晓艺, 贾绍雷, 任争光, 赵晓燕. 解淀粉芽孢杆菌 TR2 对草莓土壤酶活性的影响与防病促生作用[J]. *中国生物防治学报*, 2022, 38(2): 495-501.
- ZHAO YM, MIAO PP, WANG XD, GAO TT, SHI XY, JIA SL, REN ZG, ZHAO XY. Influences of *Bacillus amyloliquefaciens* TR2 on soil enzyme activities and its effects on disease control and growth promotion in strawberry[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(2): 495-501 (in Chinese).
- [12] 武建华, 吕文霞, 刘广晶, 胡俊, 孙彦敏, 刘智慧. 枯草芽孢杆菌对马铃薯黑痣病和黄萎病的防效及对土壤酶活性的影响[J]. *中国马铃薯*, 2019, 33(2): 101-109.
- WU JH, LU WX, LIU GJ, HU J, SUN YM, LIU ZH. Effects of *Bacillus subtilis* on potato black scurf and *Verticillium* wilt of potato and on soil enzyme activity[J]. *Chinese Potato Journal*, 2019, 33(2): 101-109 (in Chinese).
- [13] 王凤娇, 郭新送, 丁方军, 吴钦泉, 祝丽香. 腐植酸与枯草芽孢杆菌和过氧化钙对丹参连作田土壤肥力的影响[J]. *山东农业科学*, 2021, 53(10): 85-90.

- WANG FJ, GUO XS, DING FJ, WU QQ, ZHU LX. Effects of humic acid, *Bacillus subtilis* and calcium peroxide on soil fertility of *Salvia miltiorrhiza* continuous cropping field[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2021, 53(10): 85-90 (in Chinese).
- [14] 朱明明, 张岱, 赵冬梅, 潘阳, 朱杰华, 杨志辉. 马铃薯黑痣病生防芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(14): 97-101.
- ZHU MM, ZHANG D, ZHAO DM, PAN Y, ZHU JH, YANG ZH. Screening and identification of antagonistic bacillus against potato black scurf[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(14): 97-101 (in Chinese).
- [15] BAI XF, LI Q, ZHANG D, ZHAO Y, ZHAO DM, PAN Y, WANG JH, YANG ZH, ZHU JH. *Bacillus velezensis* strain HN-Q-8 induced resistance to *Alternaria solani* and stimulated growth of potato plant[J]. Biology, 2023, 12(6): 856.
- [16] YANG FK, HE BL, DONG B, ZHANG GP. Film-straw dual mulching improves soil fertility and maize yield in dryland farming by increasing straw-degrading bacterial abundance and their positive cooperation[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2024, 367: 108997.
- [17] 刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 韦豪, 白云霞, 刘小玲, 李树波. 鞘氨醇单胞菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2738-2752.
- LIU H, WEI LL, ZHU LF, WEI H, BAI YX, LIU XL, LI SB. Research progress of *Sphingomonas*[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2738-2752 (in Chinese).
- [18] 赵吉. 土壤健康的生物学监测与评价[J]. 土壤, 2006, 38(2): 136-142.
- ZHAO J. Biological monitoring and assessment of soil health[J]. Soils, 2006, 38(2): 136-142 (in Chinese).
- [19] NANNIPIERI P, ASCHER J, CECCHERINI MT, LANDI L, PIETRAMELLARA G, RENELLA G. Microbial diversity and soil functions[J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 655-670.
- [20] HATZINGER PB, ALEXANDER M. Relationship between the number of bacteria added to soil or seeds and their abundance and distribution in the rhizosphere of alfalfa[J]. Plant and Soil, 1994, 158(2): 211-222.
- [21] 黄文茂, 韩丽珍, 王欢. 两株芽孢杆菌对花生幼苗生长及其根际土壤微生物群落结构的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3551-3563.
- HUANG WM, HAN LZ, WANG H. Effects of two *Bacillus* spp. strains on the growth of peanut seedling and microbial community structure in rhizosphere soil[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3551-3563 (in Chinese).
- [22] 马慧媛, 黄媛媛, 刘胜尧, 徐炳雪, 黄亚丽, 范凤翠, 贾振华, 宋水山. 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 HY, HUANG YY, LIU SY, XU BX, HUANG YL, FAN FC, JIA ZH, SONG SS. 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 (in Chinese).
- [23] 吴晓颖, 杨方岩, 李寿如, 贾景丽, 于秀梅, 刘大群, 赵伟全. 菌药协同防治马铃薯疮痂病后蛭石基质微生物菌群的变化[J]. 河南农业科学, 2022, 51(1): 89-96.
- WU XY, YANG FY, LI SR, JIA JL, YU XM, LIU DQ, ZHAO WQ. Variation of microbial flora in vermiculite matrix after synergistic control of potato common scab disease[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(1): 89-96 (in Chinese).
- [24] 王娜, 武坤毅, 崔浪军, 章华伟. 溶杆菌属细菌鉴定及生防机制概况[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(5): 174-182, 191.
- WANG N, WU KY, CUI LJ, ZHANG HW. Advance in bacteria identification and biocontrol mechanism of *Lysobacter* spp.[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2015, 43(5): 174-182, 191 (in Chinese).
- [25] WANG JJ, XU S, YANG R, ZHAO W, ZHU D, ZHANG XX, HUANG ZY. *Bacillus amyloliquefaciens* FH-1 significantly affects cucumber seedlings and the rhizosphere bacterial community but not soil[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 12055.
- [26] ZHANG D, YU SQ, YANG YQ, ZHANG JL, ZHAO DM, PAN Y, FAN SS, YANG ZH, ZHU JH. Antifungal effects of volatiles produced by *Bacillus subtilis* against *Alternaria solani* in potato[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1196.
- [27] ZHANG HS, WU XH, LI G, QIN P. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on *Kosteletzkya virginica* growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(5): 543-554.
- [28] LIAO XG, FANG WG, LIN LC, LU HL, ST LEGER

- RJ. *Metarhizium robertsii* produces an extracellular invertase (MrINV) that plays a pivotal role in rhizospheric interactions and root colonization[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e78118.
- [29] 杨可欣, 王欢, 刘雪娇, 时向哲, 贾田惠, 高同国. 生防芽孢杆菌 8-32 对盆栽大豆土壤酶系和微生物区系的影响[J]. 大豆科学, 2018, 37(5): 762-768.
YANG KX, WANG H, LIU XJ, SHI XZ, JIA TH, GAO TG. Effect of *Bacillus subtilis* 8-32 on soil enzymes and microflora of potted soybean[J]. Soybean Science, 2018, 37(5): 762-768 (in Chinese).
- [30] PROBANZA A, LUCAS GARCÍA JA, RUIZ PALOMINO M, RAMOS B, GUTIÉRREZ MAÑERO FJ. *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105)[J]. Applied Soil Ecology, 2002, 20(2): 75-84.
- [31] 曾仟, 徐雪婷, 张亚见, 邓琳, 何琳燕. 腐殖酸和植物促生芽孢杆菌对黑麦草抗逆性及砒砂岩土壤性状的影响[J]. 水土保持通报, 2021, 41(2): 208-214, 266.
ZENG Q, XU XT, ZHANG YJ, DENG L, HE LY. Effects of humic acids and plant growth-promoting *Bacillus* on stress resistance of ryegrass and characteristics of feldspathic sandstone soil[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2021, 41(2): 208-214, 266 (in Chinese).
- [32] 孔涛, 任曦玥, 张宇航, 吕刚, 郑爽, 冯奥哲. 胶质芽孢杆菌与苜蓿根瘤菌双接种对排土场紫花苜蓿生长和土壤性质的影响[J]. 水土保持学报, 2021, 35(4): 321-326.
KONG T, REN XY, ZHANG YH, LÜ G, ZHENG S, FENG AZ. Effect of dual inoculant of *Paenibacillus mucilaginosus* and *Rhizobium meliloti* on alfalfa growth and soil properties of dumping in mining area[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2021, 35(4): 321-326 (in Chinese).
- [33] TENG Y, ZHOU QX. Response of soil enzymes, functional bacterial groups, and microbial communities exposed to Sudan I-IV[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 166: 328-335.
- [34] 陆琴, 王校常, 严蔚东, 安志装, 施卫明, 曹志洪. 太湖水稻土中的芳基硫酸酯酶活性[J]. 土壤学报, 2003, 40(3): 386-392.
LU Q, WANG XC, YAN WD, AN ZZ, SHI WM, CAO ZH. Arylsulphatase activity of paddy soils in the Taihu Lake region[J]. Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(3): 386-392 (in Chinese).
- [35] 孙慧, 张建锋, 胡颖, 王雷, 陈光才. 土壤过氧化氢酶对不同林分覆盖的响应[J]. 土壤通报, 2016, 47(3): 605-610.
SUN H, ZHANG JF, HU Y, WANG L, CHEN GC. Research on the response of soil catalase to different forest stand covers[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2016, 47(3): 605-610 (in Chinese).