

## 研究报告

## 施肥对马铃薯根组细菌群落多样性与功能的影响

冯艺博<sup>1</sup>, 康超群<sup>2</sup>, 李瑞霞<sup>3</sup>, 霍艳丽<sup>4</sup>, 王晓岑<sup>1</sup>, 张家浩<sup>2</sup>, 李慕贞<sup>5</sup>, 张辉<sup>4</sup>, 马洁华<sup>\*4</sup>

1 河北北方学院 研究生学院, 河北 张家口 075000

2 河北北方学院 中医学院, 河北 张家口 075000

3 河北经贸大学 旅游学院, 河北 石家庄 050061

4 河北北方学院 基础医学院, 河北 张家口 075000

5 河北北方学院 第一临床医学院, 河北 张家口 075000

冯艺博, 康超群, 李瑞霞, 霍艳丽, 王晓岑, 张家浩, 李慕贞, 张辉, 马洁华. 施肥对马铃薯根组细菌群落多样性与功能的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 3004-3019.

FENG Yibo, KANG Chaoqun, LI Ruixia, HUO Yanli, WANG Xiaocen, ZHANG Jiahao, LI Muzhen, ZHANG Hui, MA Jiehua. Effects of fertilization on the bacterial diversity and functions of potato roots[J]. Microbiology China, 2024, 51(8): 3004-3019.

**摘要:**【背景】施肥是一种常用的农业生产手段,但目前关于施肥对马铃薯根系细菌群落多样性影响和对细菌功能影响的研究依然较少。【目的】以张家口地区马铃薯为研究对象,研究未施肥与常规施肥处理对马铃薯根系细菌组成结构和功能的影响。【方法】本研究利用 16S rRNA 基因高通量测序技术,对张家口马铃薯施肥与未施肥处理下根系微生物进行分析。【结果】施肥处理影响了马铃薯苗期与块茎形成期的根系细菌相对丰度:在苗期,相较于未施肥组,施肥组显著降低根际浮霉菌门(*Planctomycetota*)、根表蓝细菌门(*Cyanobacteria*)和根内厚壁菌门(*Firmicutes*)的相对丰度,显著提高根表蛭弧菌门(*Bdellovibrionota*)、装甲菌门(*Armatimonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、髌骨菌门(*Patescibacteria*)与根内绿弯菌门(*Chloroflexi*)、*Planctomycetota* 的相对丰度;在块茎形成期,相较于未施肥组,施肥组显著提高根际的酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、*Firmicutes*、放线菌门(*Actinobacteriota*)、*Bacteroidota*、*Patescibacteria*、根表的 *Armatimonadota*、*Bacteroidota*、*Bdellovibrionota* 和根内的 *Armatimonadota*、念珠菌门(*Hydrogenedentes*)的相对丰度,显著降低根际 *Cyanobacteria*、根表芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、*Cyanobacteria*、黏球菌门(*Myxococcota*)和根内的硝化螺旋菌门(*Nitrospirota*)与 RCP2-54 的相对丰度。同时,施肥处理影响了马铃薯苗期与块茎形成期的基因功能相对丰度:在苗期,相较于未施肥组,施肥组显著提高根表其他次级代谢物的生物合成、糖类生物合成和代谢、复制与修复,以及根内复制与修复的基因功能相对丰度;在块茎形成期,相较于未施肥组,施肥组显著提高根际萜类和聚酮类化合物的代谢和脂质代谢、根内复制与修复,以及根

资助项目: 张家口市应用基础研究和人才培养计划(1911028A)

This work was supported by the Zhangjiakou City Applied Basic Research and Talent Training Project (1911028A).

\*Corresponding author. E-mail: majiehua1981@163.com

Received: 2023-10-27; Accepted: 2023-11-22; Published online: 2023-12-27

表萜类和聚酮类化合物的代谢和脂质代谢的基因功能相对丰度, 显著降低根际能量代谢、辅酶和维生素的代谢及其他氨基酸的代谢, 以及根表转录、折叠、分类与降解和能量代谢的基因功能相对丰度。【结论】常规施肥能够改善其根系微生物结构和基因功能相对丰度, 即相较于对照组, 施肥组中细菌群落丰富度和多样性显著提高, 并且有关代谢、能量转化与利用的基因功能相对丰度显著提高, 从而有效地提高马铃薯产量。

关键词: 马铃薯; 常规施肥; 根系微生物群

## Effects of fertilization on the bacterial diversity and functions of potato roots

FENG Yibo<sup>1</sup>, KANG Chaoqun<sup>2</sup>, LI Ruixia<sup>3</sup>, HUO Yanli<sup>4</sup>, WANG Xiaocen<sup>1</sup>, ZHANG Jiahao<sup>2</sup>, LI Muzhen<sup>5</sup>, ZHANG Hui<sup>4</sup>, MA Jiehua<sup>\*4</sup>

1 Graduate School, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

2 College of Traditional Chinese Medicine, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

3 School of Tourism, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, Hebei, China

4 Basic Medical College, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

5 The First Clinical Medical College, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

**Abstract:** [Background] Fertilization is a common agronomic measure, while there are few studies about the effects of fertilization on the bacterial diversity and functions of potato roots. [Objective] To study the effects of non-fertilization and conventional fertilization on the community composition, structure, and function of bacteria in potato root samples collected from Zhangjiakou. [Methods] The 16S rRNA gene sequencing was employed to analyze the root bacteria of potato under fertilization and non-fertilization treatments. [Results] Fertilization affected the bacterial abundance of potato plants at the seedling stage and tuber formation stage. At the seedling stage, fertilization significantly reduced the abundance of *Planctomycota*, *Cyanobacteria*, and *Firmicutes* in the rhizosphere and significantly increased the abundance of *Bdellovibrionota*, *Armatimonadota*, *Bacteroidota*, and *Patescibacteria* on the root surface and the abundance of *Chloroflexi* and *Planctomycetota* in the roots, compared with non-fertilization treatment. At the tuber formation stage, fertilization significantly increased the abundance of *Acidobacteriota*, *Firmicutes*, *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, and *Patescibacteria* in the rhizosphere, *Armatimonadota*, *Bacteroidota*, and *Bdellovibrionota* on the root surface, and *Armatimonadota* and *Hydrogenedentes* in the roots. Meanwhile, it significantly decreased the abundance of *Cyanobacteria* in the rhizosphere, *Gemmatimonadota*, *Cyanobacteria*, and *Myxococcota* on the root surface, and *Nitrospirota* and RCP2-54 in the roots. In addition, fertilization affected the gene abundance of potato plants at the seedling stage and tuber formation stage. At the seedling stage, compared with non-fertilization treatment, fertilization significantly increased the abundance of genes involved in the biosynthesis of other secondary metabolites, glycan biosynthesis and metabolism, and replication and repair on the root surface and those for replication and repair in the roots. At the tuber formation stage, fertilization

significantly increased the abundance of the genes associated with the metabolism of terpenoids and polyketides and lipid metabolism in the rhizosphere, replication and repair in the roots, and the metabolism of terpenoids and polyketides and lipid metabolism on the root surface. Meanwhile, it significantly reduced the abundance of genes involved in the energy metabolism, metabolism of cofactors and vitamins, metabolism of other amino acids in the rhizosphere and those participating in transcription, folding, sorting, degradation, and energy metabolism on the root surface. **[Conclusion]** Conventional fertilization could improve the root microbial structure and gene function abundance. That is, compared with the control group, fertilization increases the bacterial richness and diversity and the abundance of genes associated with the metabolism and energy conversion and utilization, thereby improving the potato yield.

**Keywords:** potato; conventional fertilization; root microbiota

施肥是农业生产中的一项重要措施, 长期施肥可以很好地维持土壤循环过程从而保持作物的产量稳定, 通过给予适量的肥料供应, 可以为作物提供充足的养分<sup>[1]</sup>。尤其是在养分不足的土壤中, 适量的施肥可以促进作物生长发育和产量的增加<sup>[2]</sup>。微生物与生态系统的养分循环与能量流动的变化密切相关<sup>[3]</sup>, 因此, 施肥可以通过改变土壤营养物质显著影响微生物的结构和功能。其中, 肥料中的养分可以为根系细菌提供生长和繁殖的重要条件<sup>[4]</sup>。Wang 等<sup>[5]</sup>研究表明, 施肥显著改善土壤有机质和养分含量, 提高根际和内层好氧氨氧化和硝化相关功能微生物的相对丰度。另外, 根系细菌还可以与植物根系相互作用, 通过固氮、溶解磷、产生激素和抗生素等途径对植物的生长和健康发挥重要作用<sup>[6]</sup>。Liu 等<sup>[7]</sup>研究表明, 适当的氮肥处理下水稻籽粒中有益细菌类群表现出更复杂的共生网络, 而这种变化显著提高籽粒直链淀粉和支链淀粉含量。微生物和环境相互作用促进植物对养分的吸收能力、增强植物的抵抗力, 并提高作物的产量和品质<sup>[8]</sup>。此外, 施肥能有效提高土壤微生物氮气固定、异化硝酸盐还原等有益作物生长发育的功能作用<sup>[9]</sup>。

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是茄科茄属

的一年生草本植物, 是世界范围内最主要的蔬菜作物之一<sup>[10]</sup>, 在我国居民膳食结构中占据着重要位置, 是仅次于玉米、水稻和小麦的第四大主粮<sup>[11]</sup>。由于马铃薯需求量增多导致其被大量种植, 造成土壤质量下降, 甚至影响马铃薯本身的生长和品质<sup>[12]</sup>。因此, 本研究选取张家口地区马铃薯为研究对象, 通过 16S rRNA 基因高通量测序的方法分析了施肥对马铃薯根系细菌群落的影响, 旨在揭示马铃薯苗期与块茎形成期的根系细菌群落组成对施肥的响应机制, 并为农业生产的可持续发展提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

试验地点位于河北省张家口市, 地处 113°50′–116°30′E, 39°30′–42°10′N, 属寒温带大陆性干旱半干旱地区。土壤类型以栗钙土、栗褐土和褐土为主, 有机质含量 0.2%–5.7%。年平均降水量 350–600 mm, 雨季和旱季相当分明, 年降水量高度集中在 6–8 月份。平均年日照时数 2 600–3 100 h, 其中坝上地区为 2 300–3 100 h。年平均气温–0.6–9.6 °C, 无霜期 80–150 d, 日平均气温≥0 °C积温 1 920–4 065 °C, ≥10 °C积温 1 320–3 650 °C。

## 1.2 主要试剂和仪器

E.Z.N.A. Soil DNA Kit, Omega Bio-Tek 公司。NanoDrop 2000 分光光度计, Thermo Fisher Scientific 公司; ABI 9700 PCR 仪, Applied Biosystems 公司。

## 1.3 田间试验

田间试验在河北省张家口市张北县田间试验基地进行, 种植制度为一年一熟, 马铃薯是主要作物之一。试验于 2022 年 5 月 1 日播种, 10 月 3 日收获。试验共设 2 个处理组: 对照组即未施肥组(CK 组)和施肥组(T 组)。栽培管理遵循常规生产原则, 即采用大垄双行, 垄宽(含垄沟) 120 cm, 上垄面宽 60 cm, 下垄面宽 80 cm, 株行距为 40 cm×25 cm, 种植密度 52 500 株/hm<sup>2</sup>。常规化肥用量为硫肥 10 kg/hm<sup>2</sup>+复合肥 50 kg/hm<sup>2</sup>, 每个试验组处理重复 5 次。

## 1.4 马铃薯根系土壤的采集

在马铃薯苗期、块茎形成期 2 个时期, 分别采集根系样品, 各 5 次重复。将采集根系样品分别装于无菌自封袋, 装入恒温箱低温保存, 并尽快带回实验室处理。

**根际样本:** 轻轻地摇动根部以去除松散的土壤团块, 然后通过毛刷刷去根部残留的土壤仔细收集, 将样本分装至离心管中, 密封, 标记样本信息后液氮速冻, 置于-80 °C 保存。

**根表样本:** 根表样品采集是在根际取样的基础上进行, 在实验室用无菌刷刷去根系表层附着的土壤, 将根系浸没于无菌 PBS 溶液, 室温下 180 r/min 孵育 20 min, 重复 2 次, 取出根系放入无菌 PBS 溶液, 用频率为 42 kHz 的超声波工作 30 s, 间隔 30 s, 洗涤 10 min, 将洗涤液汇总并于 4 °C、12 000×g 离心 1 min, 收集沉淀, 于-80 °C 保存。

**根内样本:** 收集完根表土样后, 将根系用

去离子水清洗, 取上中下部混合样, 将组织表面的水分用滤纸吸干, 浸泡于 1%次氯酸钠溶液中 50 s, 用无菌水冲洗 3 次, 再浸泡于 75%乙醇溶液 1 min, 用无菌水冲洗 3 次, 进行表面消毒灭菌。滤纸吸干后, 再剪成 0.5 cm×0.5 cm 的小段, 置于无菌袋, 并保存于-80 °C 等待检测。

## 1.5 16S rRNA 基因高通量测序

使用 E.Z.N.A. Soil DNA Kit 提取土壤样本的基因组 DNA。使用 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度和纯度。细菌 16S rRNA 基因扩增选择在 V5-V7 区域的两轮引物, 第 1 轮引物 967F (5'-AACMGGATTAGATACCCCKG-3') 和 1391R (5'-GACGGGCGGTGWGTRCA-3'), 第 2 轮引物 967F (5'-CAACGCGAAGAACCTTACC-3') 和 1391R (5'-GACGGGCGGTGWGTRCA-3')。PCR 反应体系(25 μL): DNA 2 μL, 其中加入的 DNA 总量 30 ng, 引物 F/R (5 μmol/L)各 1 μL, BSA (2 ng/μL) 3 μL, 2×Taq Plus Master Mix 12.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 5.5 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 60 s, 25 个循环; 72 °C 7 min。PCR 产物送北京奥维森基因科技有限公司测序。

利用 QIIME v1.7.0 计算 OTU、丰富度指数(Chao1 指数)和多样性指数(Shannon 指数)。采用 PICRUS2 对细菌菌群功能进行预测分析。

## 1.6 数据分析

采用 SPSS 16.0 对数据进行单因素方差分析(ANOVA)确定未施肥组与施肥组对马铃薯苗期和块茎形成期根系细菌多样性和结构相对丰度的影响, 并基于 PICRUS2 对细菌功能进行预测, 利用 KEGG 数据库对测序数据进行比对, 采用 Duncan 多重比较法在 0.05 水平进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对马铃薯根系细菌 $\alpha$ 多样性的影响

如表 1 所示,根系不同部位细菌多样性对施肥处理的响应不同。群落丰富度 Chao1 指数越大,说明群落丰富度越高。在苗期和块茎形成期仅根表 Chao1 指数显著增加,说明根表细菌丰富度对施肥的响应较根际和根内细菌更敏感。Shannon 指数越大,说明群落多样性越高,施肥处理仅显著提高块茎形成期的根表 Shannon 指数,说明块茎形成期根表群落多样性对施肥响应较根际和根内更敏感。所有供试样品测序 good's coverage 指数均在 0.90 以上。样品中细菌群落相对丰度 Chao1、observed species 指数和 PD whole tree 指数分别为 1 784.46–4 932.75、692.96–3 034.10 和 74.19–231.80,说明苗期和块茎期土壤细菌的丰富度有较大波动。对于 Chao1、observed species 和 PD whole tree 指数,马铃薯苗期中以根内施肥处理组较高;而在块茎期中以根际对照组较高;但不同处理间以根表差异性最为显著,说明不同时期不同部位的细菌对施肥响应程度差异比较显著。

### 2.2 不同处理对马铃薯根系细菌群落门水平组成的影响

将施肥组与对照组的结果进行比较发现,在门水平,除去未鉴定出来的细菌外,各类细菌相对丰度均有不同程度的改变。在苗期和块茎形成期的不同部位中,蓝细菌门(*Cyanobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteriota*)这 3 个菌门均有分布,其中在苗期,根表和根内 *Proteobacteria* 表现为优势菌门,其相对丰度为 25.1%–50.3%,而在根际处 *Cyanobacteria* 表现为优势菌门,其相对丰度为 85.7%–87.3% (图 1A);在块茎形成期,根表和根内 *Proteobacteria* 同样

表现为优势菌门,其相对丰度为 31.4%–54.7%,在根际处, *Cyanobacteria* 表现为优势菌门,其相对丰度为 73.6%–87.7% (图 1B)。进一步对相对丰度排名前 14 名的菌门在对照组和施肥组中的相对丰度进行比较,结果表明在苗期根内厚壁菌门(*Firmicutes*)的相对丰度较对照组显著降低 77.9% (图 2A),块茎形成期根内装甲菌门(*Armatimonadota*)的相对丰度较对照组提高 122.0% (图 2B),苗期根际浮霉菌门(*Planctomycetota*)的相对丰度较对照组显著降低 79.1% (图 2C),块茎形成期根际酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和 *Actinobacteriota* 的相对丰度较对照组分别显著提高 160.8% 和 111.1% (图 2D),苗期根表 *Cyanobacteria* 的相对丰度较对照组显著降低 67.3% (图 2E),块茎形成期根表 *Armatimonadota* 和拟杆菌门(*Bacteroidota*)的相对丰度较对照组分别极显著提高 300.0% 和 39.7% (图 2F)。综上所述可知,在门水平上,施肥组对马铃薯不同时期不同部位的根系细菌群落组成均有较显著影响。

### 2.3 不同处理对马铃薯根系细菌群落属水平组成的影响

在属水平,通过对优势菌属及其他非优势菌属评估发现,在苗期与块茎形成期的不同部位中, unidentifed、uncultured 和鞘酯菌属(*Sphingobium*)这 3 个菌属均有分布。其中在苗期,根内、根际和根表这 3 个部位中均以 unidentifed 表现为优势菌属,相对丰度为 10.9%–87.8% (图 3A)。而在块茎形成期的根内、根际和根表中均以 uncultured 表现为优势菌属,其相对丰度为 1%–12% (图 3B)。进一步对相对丰度排名前 16 名的菌属在对照组与施肥组中的相对丰度进行比较,结果表明在苗期,根际中 *Legionella* 的相对丰度较对照组极显著增加 900% (图 4A),根表中 *Flavitalea* 的相对丰度较对照组显著增加 2581% (图 4B),根内 *Xanthomonas*

表 1 不同施肥处理对马铃薯根系细菌  $\alpha$  多样性指数的影响

Table 1 Effects of different fertilization treatments on alpha diversity index of potato root bacteria

Stage	Part	Groups	Chao1	Good's coverage	Observed species	PD whole tree	Shannon	Simpson	OTUs
Seedling stage	Roots	CK	4 591.75±277.36	0.92±0.00	2 827.26±232.62	216.33±14.91	9.32±0.64	0.99±0.00	2 840.40±104.19
		T	4 832.27±198.23	0.91±0.00	2 991.16±60.31	231.61±3.89	9.80±0.13	0.99±0.00	2 981.60±21.30
Tuber formation stage	Root surface	CK	4 039.35±670.53	0.92±0.01	2 374.34±486.02	190.59±30.20	8.24±1.27	0.96±0.03	2 365.00±215.28
		T	4 818.25±203.49*	0.91±0.05*	2 895.10±79.38*	223.63±5.11*	9.51±0.14	0.99±0.00	2 876.00±38.42
Tuber formation stage	Rhizosphere	CK	1 784.46±432.53	0.97±0.00	692.96±355.64	74.19±24.80	1.82±0.99	0.30±0.15	702.40±152.09
		T	2 092.15±230.35	0.96±0.00	924.52±125.02	97.59±9.97	2.11±0.23	0.33±0.54	907.60±57.73
	Roots	CK	4 591.75±277.36	0.91±0.04	2 827.26±232.62	216.33±14.91	9.32±0.64	0.98±0.08	2 907.60±102.29
		T	4 846.76±176.51	0.94±0.05	2 977.14±89.98	229.41±8.09	9.71±0.16	0.99±0.05	2 958.80±151.74
	Root surface	CK	2 083.60±324.51	0.96±0.00	865.54±166.53	90.96±14.09	1.90±0.36	0.28±0.05	2 620.20±58.51
		T	3 199.92±779.16*	0.94±0.01**	1 700.78±558.05*	149.92±34.58**	4.84±2.46*	0.63±0.21**	2 807.00±50.24*
Rhizosphere	CK	4 932.75±396.03	0.91±0.08	3 034.10±234.10	231.80±17.68	9.72±0.45	0.99±0.08	794.80±11.78	
	T	4 134.52±1 382.02	0.93±0.02	2 461.16±967.77	196.73±65.43	8.22±3.28	0.87±0.27	1 409.80±81.85**	

\*表示显著差异( $P<0.05$ ); \*\*表示极显著差异( $P<0.01$ )\* indicates significant difference ( $P<0.05$ ); \*\* indicates extremely significant difference ( $P<0.01$ ).

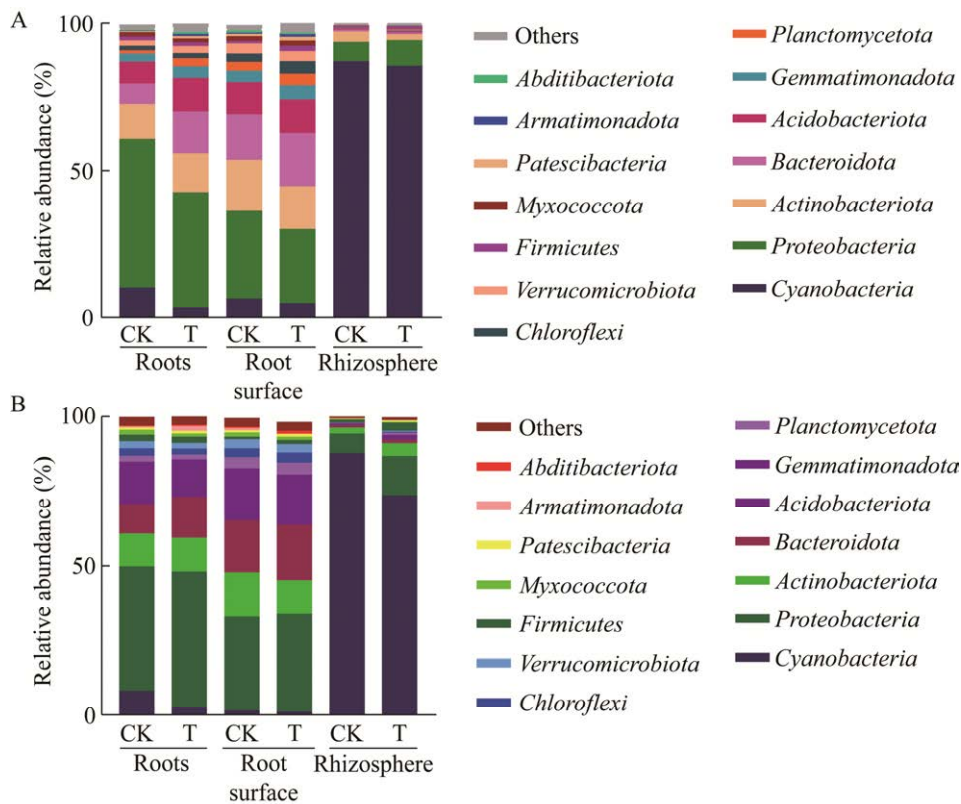


图 1 不同处理的马铃薯根系细菌群落在门水平上的相对丰度 A: 苗期. B: 块茎形成期

Figure 1 Relative abundance of potato root bacterial flora at phylum level in different treatments. A: The seedling stage. B: The tuber formation stage.

的相对丰度较对照组极显著降低 47.6% (图 4C), 而在块茎形成期, 根际中 *unidentified* 的相对丰度较对照组显著降低 15% (图 4D), 根内 *Sphingobium* 的相对丰度较对照组显著增加 182.6% (图 4E), 根表中 *uncultured* 的相对丰度较对照组极显著增加 34% (图 4F)。综上, 在属水平上, 施肥对马铃薯不同时期不同部位的根系细菌群落组成均有较显著影响。

#### 2.4 马铃薯根系细菌菌群基因功能分析

基于 PICRUSt2 开展细菌菌群功能预测, 利用 KEGG 数据库对测序数据比对, 共涉及六类可识别生物代谢通路, 包括代谢(metabolism)、遗传信息处理(genetic information processing)、环境信息处理(environmental information processing)、

细胞过程(cellular processes)、人类疾病(human diseases)和有机系统(organismal systems)。在苗期和块茎形成期的不同部位中, 代谢均表现为最主要功能, 其相对丰度为 81.22%–81.78% (图 5), 其中在苗期, 相较于未施肥组, 施肥组可以提高根际、根内的代谢的基因功能相对丰度, 并降低根表的代谢的基因功能相对丰度; 而在块茎形成期, 相较于未施肥组, 施肥组可以提高根内和根表的代谢的基因功能相对丰度, 并降低根际代谢的基因功能相对丰度(图 5)。

进一步对预测基因二级功能层开展分析, 共涉及氨基酸代谢(amino acid metabolism)、碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)等 39 类功能。进一步对相对丰度排名前 30 名的功能在对照组



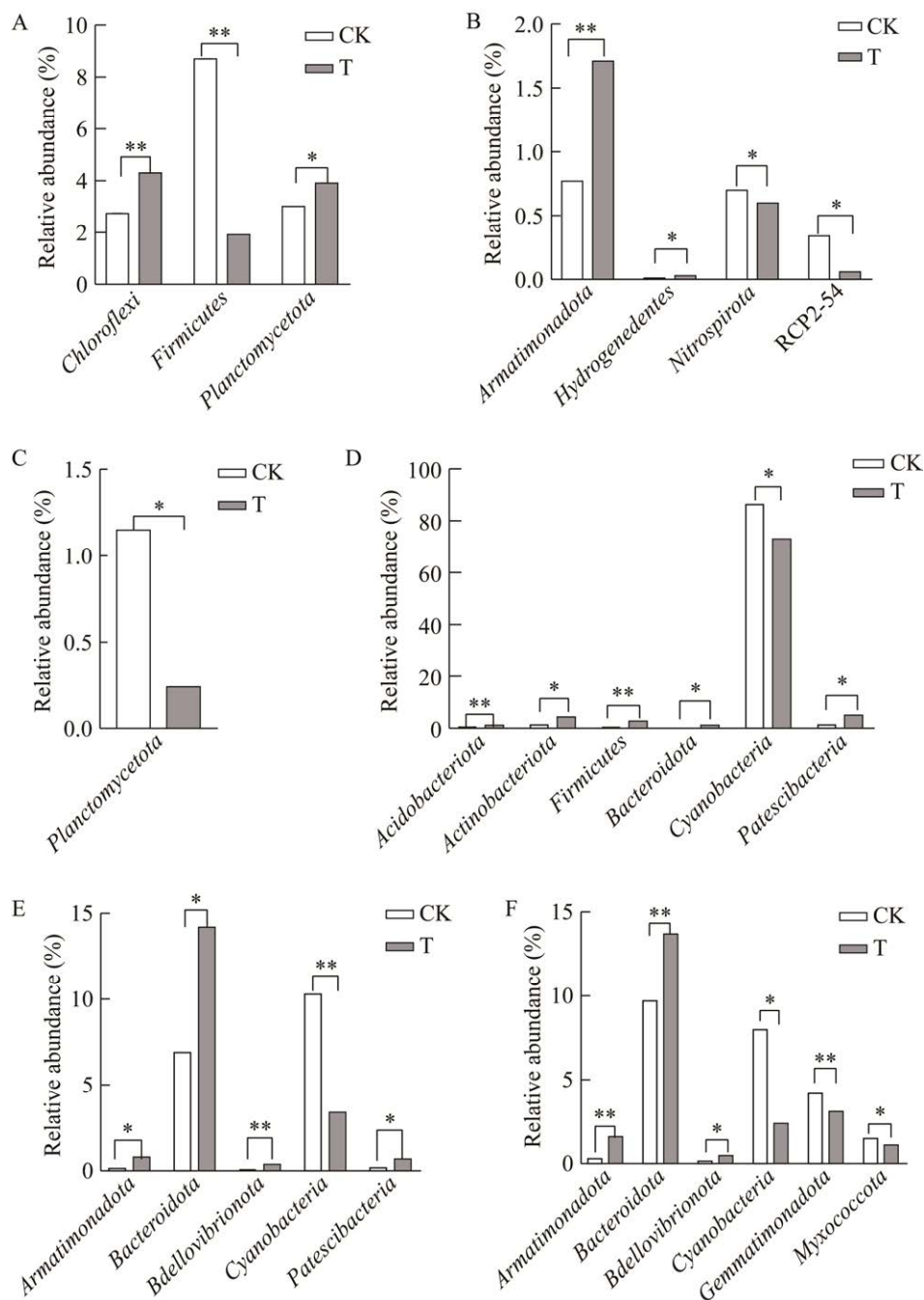


图2 在门水平上相对丰度变化有显著差异的菌群 A: 苗期根内细菌. B: 块茎形成期根内细菌. C: 苗期根际细菌. D: 块茎形成期根际细菌. E: 苗期根表细菌. F: 块茎形成期根表细菌

Figure 2 Flora with significant differences in relative abundance changes at phylum level. A: Bacteria in roots at seedling stage. B: Bacteria in roots at tuber formation stage. C: Rhizosphere bacteria in seedling stage. D: Rhizosphere bacteria in tuber formation stage. E: Root surface bacteria at seedling stage. F: Root surface bacteria in tuber formation stage. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .



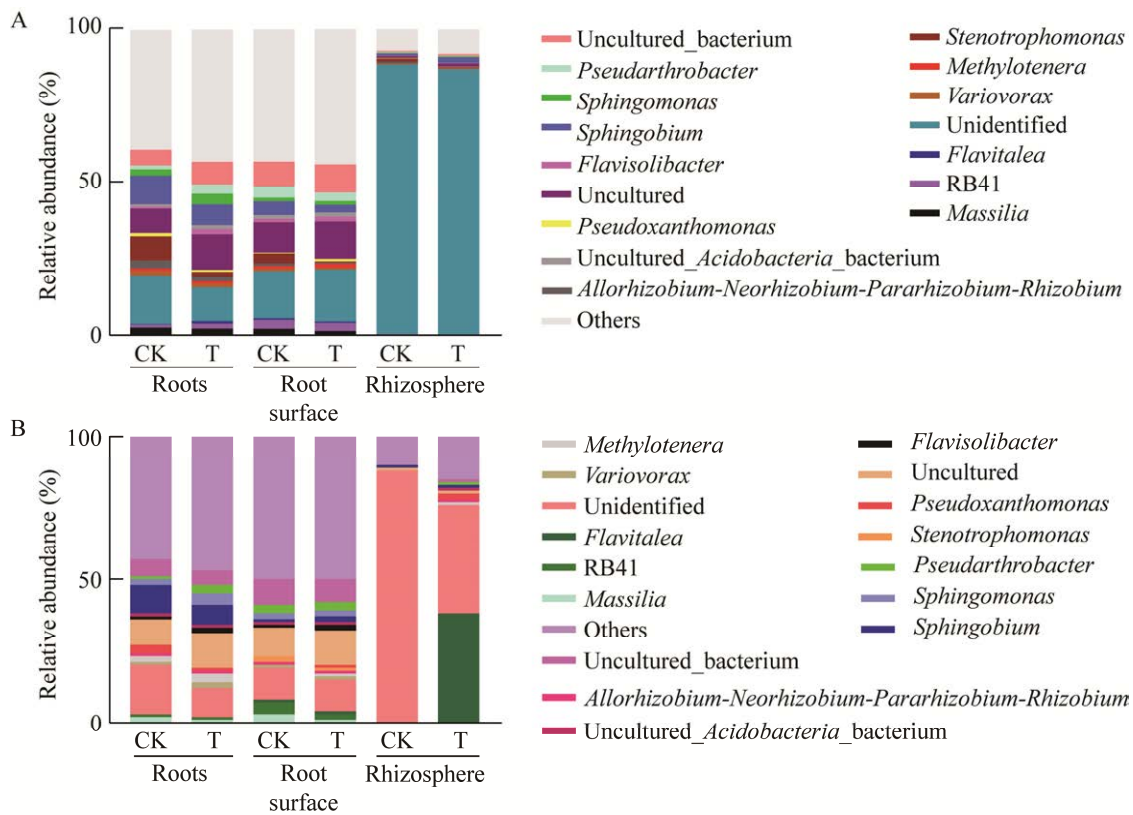


图 3 不同处理的马铃薯根系细菌群落在属水平上的相对丰度 A: 苗期. B: 块茎形成期

Figure 3 Relative abundance of potato root bacterial communities at genus level under different treatments. A: The seedling stage. B: The tuber formation.

和施肥组中的相对丰度进行比较发现,在两个时期不同部位中,碳水化合物代谢和氨基酸代谢的相对丰度均占比最大,介于 12.14%–13.45%和 11.75%–13.07%,且这两类二级功能均属于代谢(图 6A)。同时,碳水化合物代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素的代谢(metabolism of cofactors and vitamins)、萜类和聚酮类化合物的代谢(metabolism of terpenoids and polyketides)、其他氨基酸的代谢(metabolism of other amino acids)、脂质代谢(lipid metabolism)、外来生物的生物降解和代谢(xenobiotics biodegradation and metabolism)这 7 种功能在两个时期各部位中均有较大相对丰度占比,合计占 53.55%–54.77%,同时这 7 类二级功能也均属于代谢(图 6B)。

进一步对不同时期不同部位细菌群落的基因功能差异进行比较发现:在苗期,相较于未施肥组,施肥组根内碳水化合物代谢和复制与修复(replication and repair)的基因功能相对丰度分别显著增加 0.2%和 2.1%(图 7A),根表其他次级代谢物的生物合成(biosynthesis of other secondary metabolites)、糖类生物合成和代谢(glycan biosynthesis and metabolism)及复制与修复的基因功能相对丰度均分别极显著增加 4.3%、9.8%和 2.7%(图 7B),根际脂质代谢的基因功能相对丰度增加 2.2%,但尚未达到显著水平(图 7C)。

在块茎形成期,相较于未施肥组,施肥组根内氨基酸代谢的相对丰度极显著增加 1.5%(图 8A),根表萜类和聚酮类化合物的代谢和脂质代谢的

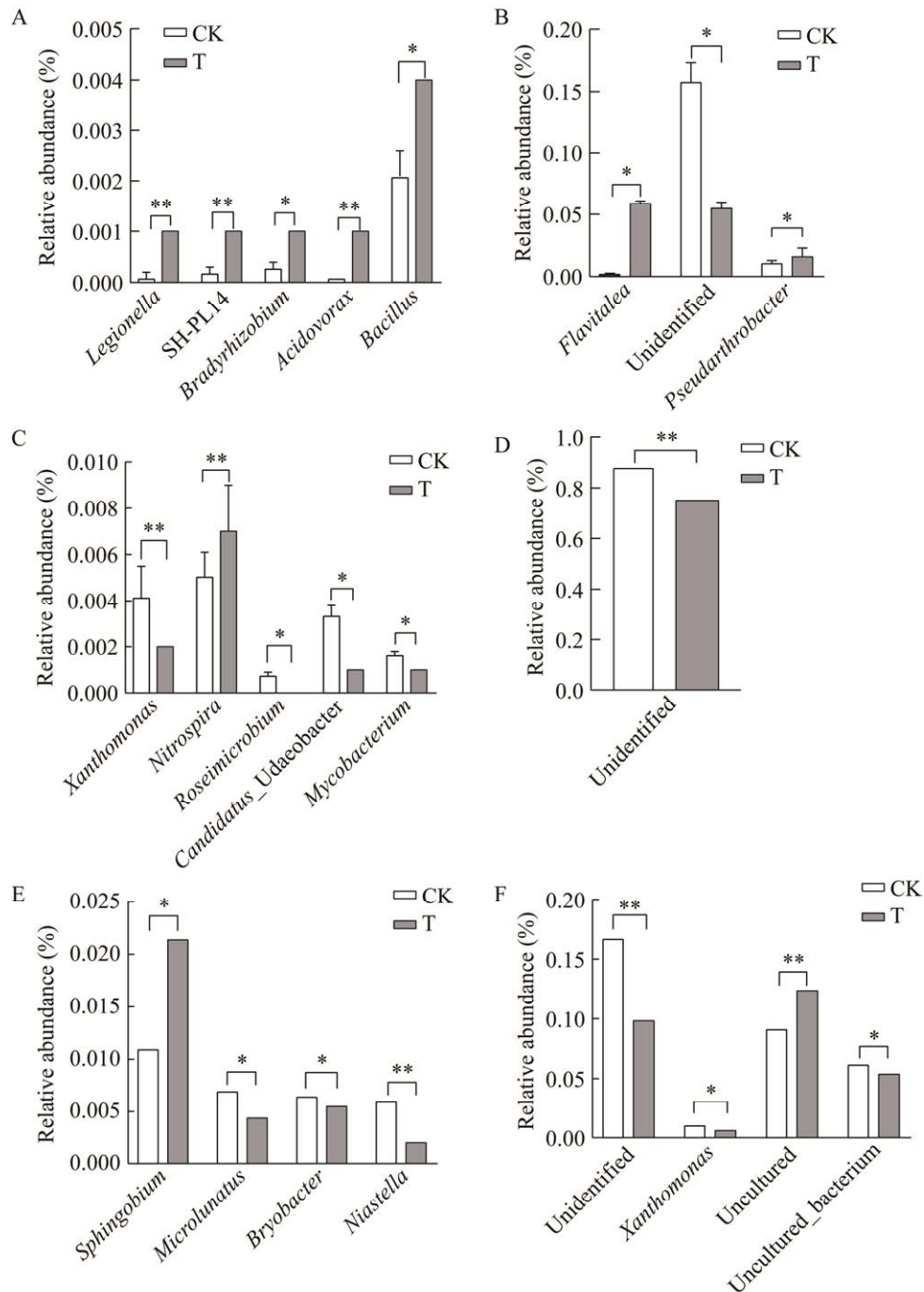


图4 在属水平上相对丰度变化有显著差异的菌群 A: 苗期根际细菌. B: 苗期根表细菌. C: 苗期根内细菌. D: 块茎形成期根际细菌. E: 块茎形成期根内细菌. F: 块茎形成期根表细菌

Figure 4 Bacterial groups with significant differences in relative abundance changes at the genus level. A: Rhizosphere bacteria at seedling stage. B: Root surface bacteria at seedling stage. C: Roots at seedling stage. D: Rhizosphere bacteria in tuber formation stage. E: Roots at tuber formation stage. F: Root surface bacteria in tuber formation stage. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

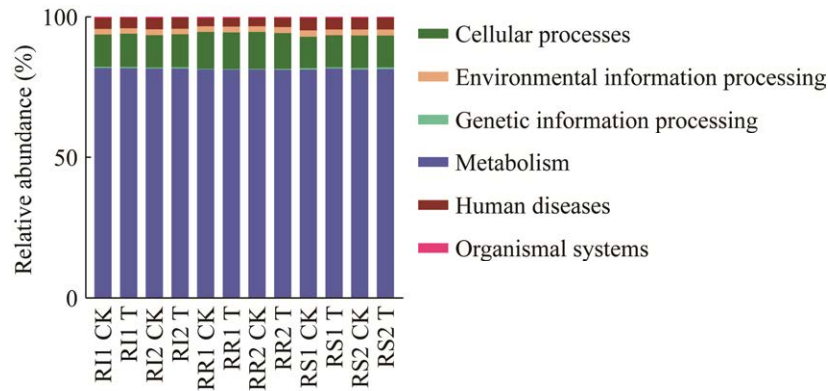
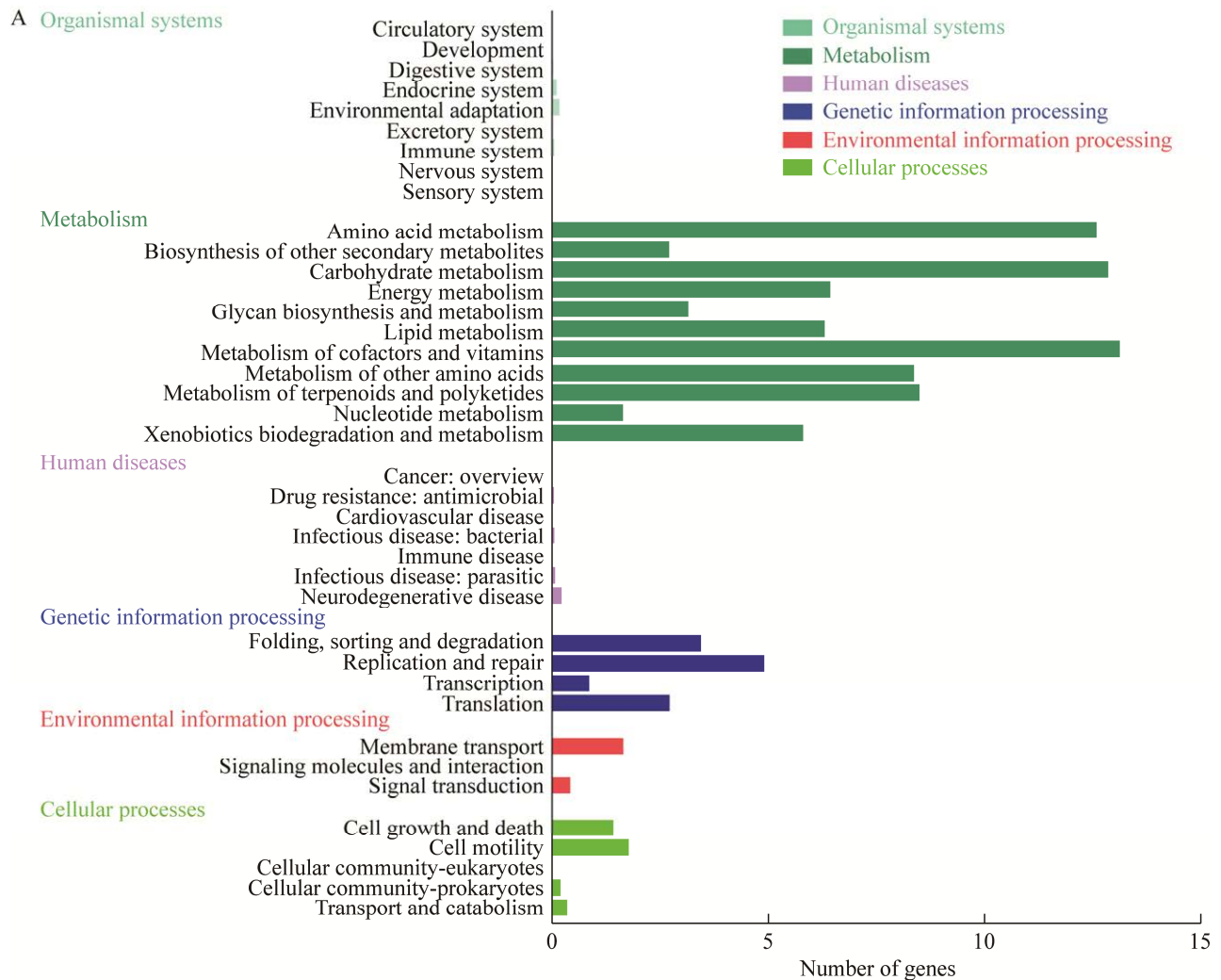


图 5 细菌 PICRUSt2 功能预测相对丰度柱形图(一级功能层) RI1: 苗期根内. RI2: 块茎形成期根内. RR1: 苗期根际. RR2: 块茎形成期根际. RS1: 苗期根表. RS2: 块茎形成期根表. 下同

Figure 5 Spectral relative abundance of PICRUSt2-based predicted function for bacteria (hierarchy level 1). RI1: Roots at seedling stage. RI2: Roots at tuber formation stage. RR1: Rhizosphere at seedling stage. RR2: Rhizosphere at tuber formation stage. RS1: Root surface at seedling stage. RS2: Root surface in tuber formation stage. The same below.



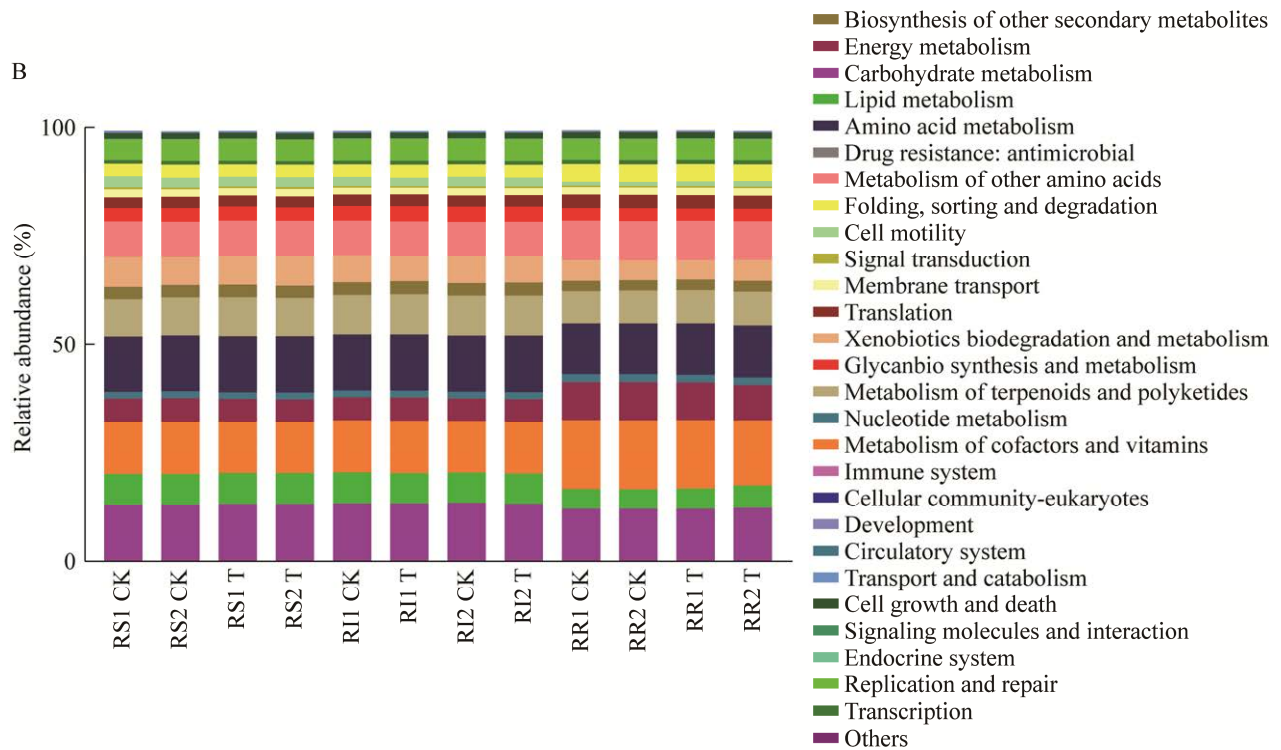


图 6 细菌 PICRUSt2 功能预测图(KEGG 二级通路) A: 细菌二级通路相对丰度对比. B: 细菌二级通路相对丰度占比柱状图

Figure 6 Bacterial PICRUSt2 function prediction map (KEGG secondary pathway). A: Abundance comparison of bacterial secondary pathways. B: Bacterial secondary pathway abundance ratio histogram.

相对丰度分别显著升高 1.7%和 1.8%，而转录(transcription)、折叠、分类与降解(folding sorting and degradation)和能量代谢(energy metabolism)的相对丰度分别显著降低 3.6%、3.5%和 3.5% (图 8B); 根际的萜类和聚酮类化合物的代谢和脂质代谢的相对丰度分别极显著升高 3.2%和 14.8%，而能量代谢、辅助因子和维生素的代谢及其他氨基酸的代谢的相对丰度分别显著降低 8.2%、5.0%和 2.3% (图 8C)。

### 3 讨论

近 10 年来中国农业活动中的养分利用效率逐渐提高<sup>[13]</sup>，但在农业生产活动中对于肥料的使用效率并不让人满意<sup>[14]</sup>。目前关于化学肥

料对马铃薯根系微生物群影响的研究也并不多见。因此，我们进行了这项研究，并探讨了化学肥料施用对马铃薯根系土壤细菌多样性、群落组成和功能的影响。施肥显著影响了马铃薯根系细菌群落的多样性和物种组成<sup>[15]</sup>。研究结果表明，马铃薯根内、根际和根表土壤的细菌群落多样性和相对丰度均不同程度地受到了施肥的影响，这一现象与 Wagg 等<sup>[16]</sup>的发现相似。Tang 等<sup>[17]</sup>的研究结果表明，化学肥料处理南方双季稻可以显著提高其土壤自养固氮菌和固氮酶活性( $P<0.05$ )，此结果与本研究类似。研究发现，苗期与块茎形成期这两个时期中，使用化学肥料提高了部分土壤固氮细菌的相对丰度，而马铃薯根系不同部位的固氮菌群均表现为优

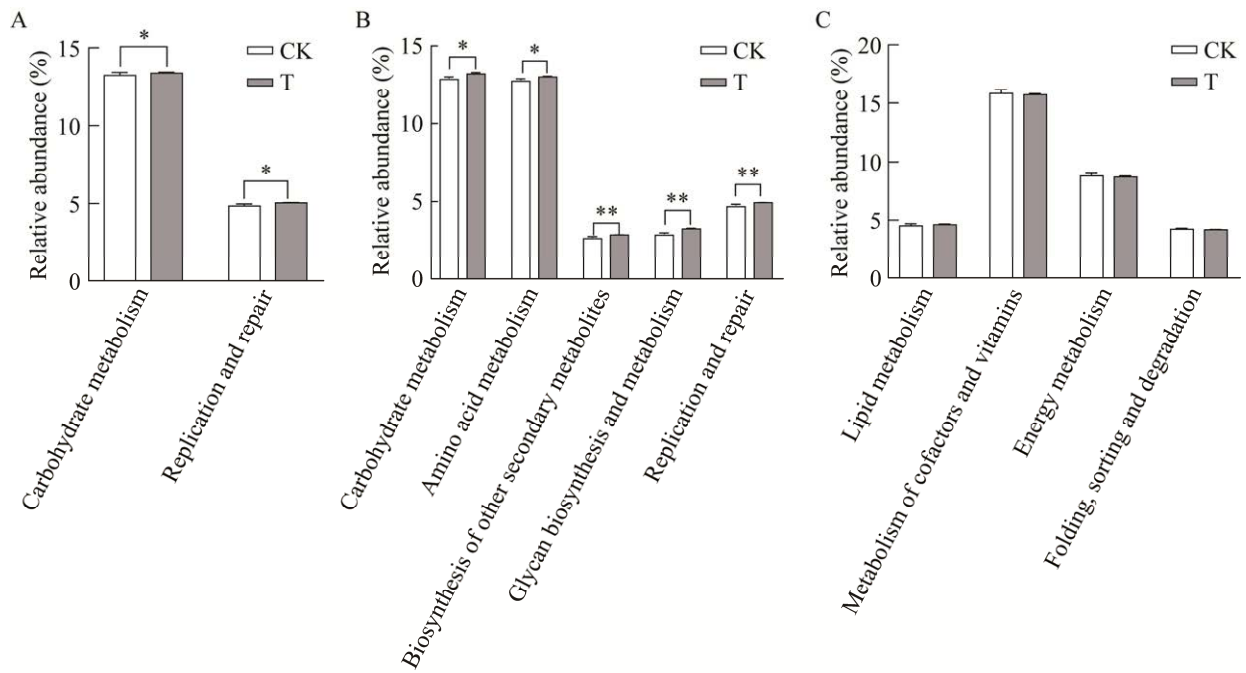


图7 苗期不同部位细菌群落的基因功能差异 A: 根内. B: 根表. C: 根际

Figure 7 Gene function differences of bacterial communities in different parts of seedling stage. A: Roots. B: Root surface. C: Rhizosphere. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

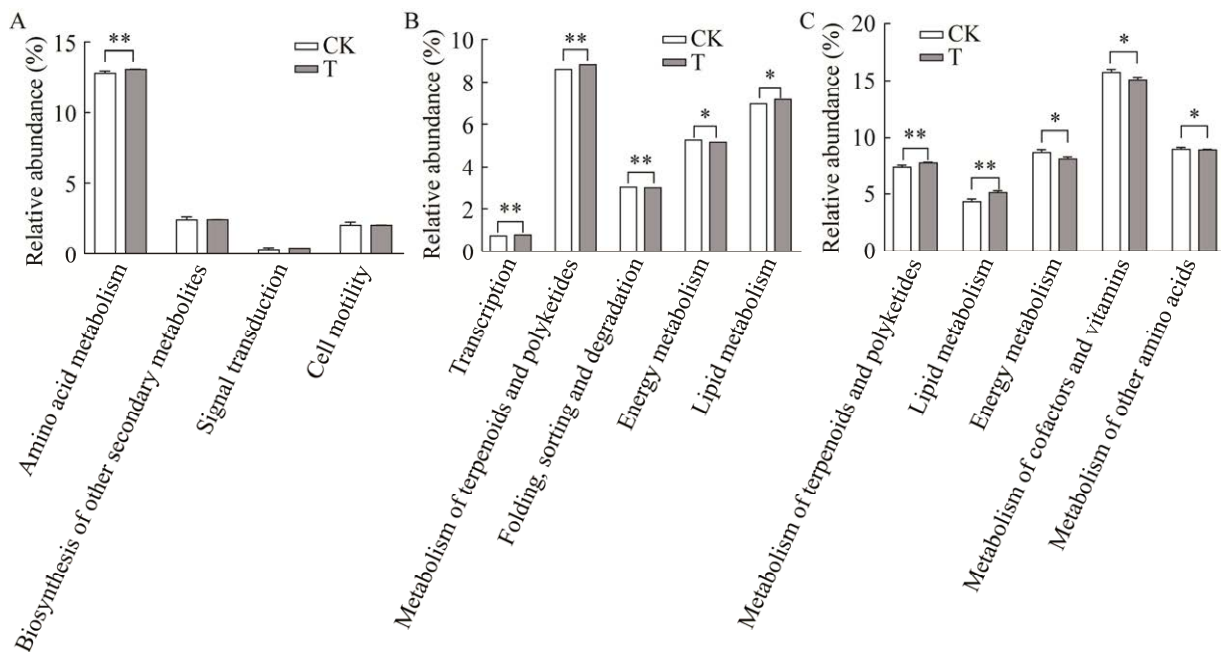


图8 块茎形成期不同部位细菌群落的基因功能差异 A: 根内. B: 根表. C: 根际

Figure 8 Gene function differences of bacterial communities at different parts of tuber formation. A: Roots. B: Root surface. C: Rhizosphere. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .



势菌群, 这些菌群是根系中物质交换和能量转化的主要驱动者, 参与根系中有机质的分解<sup>[18]</sup>。土壤本身并不能显著影响细菌群落多样性或细菌门相对丰度, 施肥可以增加土壤细菌的多样性和相对丰度<sup>[19]</sup>。毕明丽等<sup>[20]</sup>的试验发现在农田处理下施肥增加了微生物生物量, 不同处理间氨氧化细菌群落结构差异显著, 同时施肥处理显著增加了氨氧化细菌多样性。与上述的研究结果类似, 马铃薯根系土壤细菌群落多样性与土壤化学肥料含量在一定范围内呈显著正相关, 这一研究结论也与本研究结果符合。在苗期与块茎形成期马铃薯根内、根际和根表细菌群落  $\alpha$  多样性指数均有不同程度的增加, 产生这种变化的原因可能是因为土壤对微生物功能的影响, 主要体现在促进或抑制了土壤微生物呼吸和改变了固氮类群等方面<sup>[21]</sup>。此外施肥处理还显著提高了土壤细菌如 *Actinomycetes* 的生物量, 这种转变的原因可能是氮沉降导致土壤酸化, 保持了土壤养分以及改变了地下碳氮的分配格局<sup>[22]</sup>。

为进一步探讨化学肥料对根系细菌群落的影响, 分别寻找不同处理组中不同部位细菌生物标志物和基因功能差异贡献。马铃薯根系土壤中显著富集大量 *Acidovorax*, 这种细菌与关于氢营养反硝化的研究可能具有相关性<sup>[23]</sup>。此外, 营养氢反硝化环境具有高度选择性, 微生物相互作用可能促进了马铃薯根系相关酶的活性, 从而促进了微量元素的摄取和利用<sup>[24]</sup>。此外与对照组相比, 处理组中 *Sphingobium* 的增加可以通过微生物群落的协同作用促进农药的生物降解, 并促进其他有效微生物增殖所需的底物<sup>[25]</sup>。此外, 本研究还发现各施肥处理组间微生物指标差异显著, 说明化学肥料处理很可能通过改造根际土壤微环境加快根际微生物群落的选择, 这种影响很可能与马铃薯释放的化学分泌物有关<sup>[16]</sup>。有研究发现 *Firmicutes* 和酸骨菌门

(*Patescibacteria*)与土壤氮含量呈正相关, 这表明施肥能够提高马铃薯根际块茎形成期土壤氮含量, 从而促进土壤氮的循环与转化<sup>[26]</sup>。*Actinobacteriota* 会促进土壤中对农作物有益的微生物的活动, 并且在代谢活动中释放多种物质刺激植物细胞生长和分裂, 而 *Acidobacteria* 能降解植物残体, 参与铁循环, 产生土壤活性代谢产物<sup>[27]</sup>, 因此, 施肥后这两种菌门相对丰度的增加可以促进土壤细菌群落向有益的方向发展, 提高土壤活性。

施肥后马铃薯根际细菌群落变化对马铃薯品质有较显著影响, 其原因可能是通过增强马铃薯的抗氧化酶活性和水分利用效率等增加作物产量<sup>[6]</sup>。此外土壤中拟杆菌门和放线菌门的相对丰度可能影响马铃薯产量<sup>[28]</sup>。本研究利用 16S rRNA 基因高通量测序手段, 对张家口马铃薯常规施肥与未施肥的土壤根系微生物等进行分析, 对寒温带地区马铃薯产业的发展提供了科学指导。同时响应国家农业绿色发展的号召, 合理利用化肥, 促进了马铃薯的生长及产量, 推动了现代农业绿色发展。但仍需对马铃薯的品质变化进一步具体研究。

## 4 结论

本文研究了不同时期化肥施用对马铃薯土壤中根系微生物群的影响。

(1) 以张家口地区为例的寒温带干旱性气候下, 在马铃薯生长过程中, 施肥对其根际的细菌群落相对丰度和根际细菌群落的多样性均有明显促进作用, 即施肥后的马铃薯对其周围土壤微生物活性与种类均有明显的上升趋势。

(2) 马铃薯生长过程中, 其附近土壤中的细菌群落分布状况具有显著的差异性: 根际处土壤的优势菌群为 *Cyanobacteria*, 而根表、根内处土壤的优势菌群为 *Proteobacteria*, 以其二者组成的根际细菌核心群落极容易受化肥使用的

影响, 有利于马铃薯的生长发育。

(3) 在马铃薯根系细菌的基因功能中, 与代谢过程有关的功能对施肥有一定的响应关系。施肥可以不同程度地影响马铃薯根系各部位细菌代谢过程, 从而通过影响功能微生物的群落结构和功能基因使其朝着代谢更旺盛的方向发展。

## REFERENCES

- [1] FAN Z, LI R, GUAN E, CHEN HQ, ZHAO XN, WEI GH, SHU DT. Fertilization regimes affect crop yields through changes of diazotrophic community and gene abundance in soil aggregation[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 866: 161359.
- [2] SHAKOOR A, BOSCH-SERRA ÀD, ALBERDI JRO, HERRERO C. Seven years of pig slurry fertilization: impacts on soil chemical properties and the element content of winter barley plants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(49): 74655-74668.
- [3] 李明智, 张宇, 梅荣武, 韦彦斐, 王慧荣, 陈潜, 楼继锋, 厉林聪. Biolog ECO 分析活性污泥微生物功能多样性特征[J]. *环境科学与技术*, 2016, 39(6): 55-58, 100.
- LI MZ, ZHANG Y, MEI RW, WEI YF, WANG HR, CHEN Q, LOU JF, LI LC. Analysis of microbial community functional diversity of activated sludge by biolog ECO method[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 39(6): 55-58, 100 (in Chinese).
- [4] JING JY, CONG WF, BEZEMER TM. Legacies at work: plant-soil-microbiome interactions underpinning agricultural sustainability[J]. *Trends in Plant Science*, 2022, 27(8): 781-792.
- [5] WANG C, MA HY, FENG ZH, YAN ZX, SONG BL, WANG JL, ZHENG YY, HAO WP, ZHANG WY, YAO MJ, WANG YS. Integrated organic and inorganic fertilization and reduced irrigation altered prokaryotic microbial community and diversity in different compartments of wheat root zone contributing to improved nitrogen uptake and wheat yield[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 842: 156952.
- [6] de VRIES FT, GRIFFITHS RI, KNIGHT CG, NICOLITCH O, WILLIAMS A. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production[J]. *Science*, 2020, 368(6488): 270-274.
- [7] LIU YH, CHU G, STIRLING E, ZHANG HQ, CHEN S, XU CM, ZHANG XF, GE TD, WANG DY. Nitrogen fertilization modulates rice seed endophytic microbiomes and grain quality[J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 857(Pt 2): 159181.
- [8] 阎佩云. 土壤微生物在植物营养促进作用中的改善作用[J]. *吉林农业*, 2019(9): 73.
- YAN PY. Improvement of soil microorganisms in plant nutrition promotion[J]. *Jilin Nongye*, 2019(9): 73 (in Chinese).
- [9] KANG A, ZHANG N, XUN WB, DONG XY, XIAO M, LIU ZH, XU ZH, FENG HC, ZOU JW, SHEN QR, ZHANG RF. Nitrogen fertilization modulates beneficial rhizosphere interactions through signaling effect of nitric oxide[J]. *Plant Physiology*, 2022, 188(2): 1129-1140.
- [10] JOHNSON CM, AUAT CHEEIN F. Machinery for potato harvesting: a state-of-the-art review[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1156734.
- [11] WANG ZJ, LIU H, ZENG FK, YANG YC, XU D, ZHAO YC, LIU XF, KAUR L, LIU G, SINGH J. Potato processing industry in China: current scenario, future trends and global impact[J]. *Potato Research*, 2023, 66(2): 543-562.
- [12] 张伟. 不同播种方式及种植密度对马铃薯种薯生产的影响[J]. *种子科技*, 2020, 38(20): 20-21.
- ZHANG W. Effects of different sowing methods and planting density on potato seed production[J]. *Seed Science & Technology*, 2020, 38(20): 20-21 (in Chinese).
- [13] SARKAR D, SANKAR A, DEVIKA OS, SINGH S, SHIKHA PARIHAR M, RAKSHIT A, SAYYED RZ, GAFUR A, ANSARI MJ, DANISH S, FAHAD S, DATTA R. Optimizing nutrient use efficiency, productivity, energetics, and economics of red cabbage following mineral fertilization and biopriming with compatible rhizosphere microbes[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 15680.
- [14] SÁNCHEZ-MONTESINOS B, DIÁNEZ F, MORENO-GAVIRA A, GEA FJ, SANTOS M. Plant growth promotion and biocontrol of *Pythium ultimum* by saline tolerant *Trichoderma* isolates under salinity stress[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(11): 2053.
- [15] 熊惘梓, 钞亚鹏, 赵盼, 宋双伟, 石莹莹, 莫乘宝, 仲乃琴. 不同生境马铃薯根际土壤细菌多样性分析[J]. *微生物学报*, 2020, 60(11): 2434-2449.
- XIONG MZ, CHAO YP, ZHAO P, SONG SW, SHI YY, MO CB, ZHONG NQ. Comparison of bacterial diversity in rhizosphere soil of potato in different



- habitats[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(11): 2434-2449 (in Chinese).
- [16] WAGG C, SCHLAEPI K, BANERJEE S, KURAMAE EE, van der HEIJDEN MGA. Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4841.
- [17] TANG HM, LI C, SHI LH, XIAO XP, CHENG KK, WEN L, LI WY. Effect of different long-term fertilizer managements on soil nitrogen fixing bacteria community in a double-cropping rice paddy field of Southern China[J]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0256754.
- [18] 王亚, 冯发运, 葛静, 李勇, 余向阳. 植物根系分泌物对土壤污染修复的作用及影响机理[J]. *生态学报*, 2022, 42(3): 829-842.
- WANG Y, FENG FY, GE J, LI Y, YU XY. Effects and mechanisms of plant root exudates on soil remediation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(3): 829-842 (in Chinese).
- [19] 吴希慧, 王蕊, 高长青, 高胜, 杜兰兰, ASIF K, MILON B, 郭胜利. 土地利用驱动的土壤性状变化影响微生物群落结构和功能[J]. *生态学报*, 2021, 41(20): 7989-8002.
- WU XH, WANG R, GAO CQ, GAO S, DU LL, ASIF K, MILON B, GUO SL. Variations of soil properties effect on microbial community structure and functional structure under land uses[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(20): 7989-8002 (in Chinese).
- [20] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 周桦, 沈善敏. 施肥和土壤管理对土壤微生物生物量碳、氮和群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(1): 32-42.
- BI ML, YU WT, JIANG ZS, ZHOU H, SHEN SM. Effects of fertilization and soil management on microbial biomass and community[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(1): 32-42 (in Chinese).
- [21] RACZKA NC, PIÑEIRO J, TFAILY MM, CHU RK, LIPTON MS, PASA-TOLIC L, MORRISSEY E, BRZOSTEK E. Interactions between microbial diversity and substrate chemistry determine the fate of carbon in soil[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 19320.
- [22] 胡月华. 化肥减量与生物有机肥配施对土壤质量变化及马铃薯产量与品质的影响[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(19): 204-210.
- HU YH. Effects of combined application of chemical fertilizer reduction and bio-organic fertilizer on soil quality change and potato yield and quality[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(19): 204-210 (in Chinese).
- [23] DU J, LIU Y, ZHU HH. Genome-based analyses of the genus *Acidovorax*: proposal of the two novel genera *Paracidovorax* Gen. nov., *Paenacidovorax* Gen. nov. and the reclassification of *Acidovorax antarcticus* as *Comamonas antarctica* comb. nov. and emended description of the genus *Acidovorax*[J]. *Archives of Microbiology*, 2023, 205(1): 42.
- [24] ZHALNINA K, LOUIE KB, HAO Z, MANSOORI N, Da ROCHA UN, SHI SJ, CHO H, KARAOZ U, LOQUÉ D, BOWEN BP, FIRESTONE MK, NORTHEN TR, BRODIE EL. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(4): 470-480.
- [25] BOSS BL, WANEES AE, ZASLOW SJ, NORMILE TG, IZQUIERDO JA. Comparative genomics of the plant-growth promoting bacterium *Sphingobium* sp. strain AEW4 isolated from the rhizosphere of the beachgrass *Ammophila breviligulata*[J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 1-14.
- [26] LEE SM, KONG HG, SONG GC, RYU CM. Disruption of *Firmicutes* and *Actinobacteria* abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(1): 330-347.
- [27] GLICK BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications[J]. *Scientifica*, 2012, 2012: 963401.
- [28] REN N, WANG Y, YE YL, ZHAO YN, HUANG YF, FU W, CHU X. Effects of continuous nitrogen fertilizer application on the diversity and composition of rhizosphere soil bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1948.