

设施生菜种植与 T1 菌肥处理对土壤微生物群落的影响

高逸¹ 杨悦¹ 易欣欣¹ 石延霞² 钟连全³ 徐全明³ 胡灿丽³ 高秀芝^{1*}

(1.北京农学院 食品质量安全北京实验室/农产品有害微生物及农残安全检测与控制北京市重点实验室/
微生物生态制剂关键技术开发北京市工程实验室/食品科学与工程学院,北京 102206;

2.中国农业科学院 蔬菜花卉研究所,北京 100081;

3.北京市昌平区种子管理站,102200)

摘要 为研究生菜的种植(种菜)与混合菌肥 T1 对设施生菜生长土壤中微生物结构影响,设计菌肥(T1)处理与空白对照处理,利用 16S rRNA 基因与 ITS 基因高通量测序解析生菜生长土壤中微生物的物种组成和结构,同时测定生菜产量及病株率。结果表明:1)种菜可以显著提高土壤中细菌与真菌 Shannon 指数,而 T1 处理不明显改变土壤中 Shannon 与 Sobs 指数。2)T1 处理降低由种菜提高的假霉样真菌属、烟草镰刀菌属、丝孢菌属与赤霉菌属在土壤中丰度,同时提高毛壳菌属、支顶孢菌属、粪壳菌目 Sordariales 中未分类属、鞘脂单胞菌科(Sphingomonadaceae)中未分类属、火丝菌科(Pyronemataceae)中未分类属与拟盐杆菌科(Halobacteroidaceae)中未分类属在土壤中丰度。3)种菜对土壤中细菌真菌 OTU 总量改变不明显,但 T1 处理可以明显改变土壤中真菌 OTU 总数。4)T1 处理后生菜产量增加 11%,生菜病株率降低 2.5%($P<0.05$)。因此,设施生菜种植时用 T1 菌肥处理,在不明显改变土壤微生物生物多样性情况下,能够富集部分有益菌属,改善土壤微生物结构,提高生菜产量,降低生菜病株率。

关键词 微生物群落结构; 生菜; 菌肥; 高通量测序

中图分类号 Q939.96

文章编号 1007-4333(2020)06-0057-10

文献标志码 A

Effects of greenhouse lettuce planting and T1 bacterial fertilizer treatment on soil microbial community

GAO Yi¹, YANG Yue¹, YI Xinxin¹, SHI Yanxia², ZHONG Lianquan³,
XU Quanming³, HU Canli³, GAO Xiuzhi^{1*}

(1. Beijing Laboratory of Food Quality and Safety/Beijing Key Laboratory of Agricultural Product Detection and Control of Spoilage Organisms and Pesticide Residue/Beijing Engineering Laboratory of Probiotics Key Technology Development/
Faculty of Food Science and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;

2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

3. Beijing Changping District Seed Management Station, Beijing 102200, China)

Abstract In order to study the effect of planting lettuce and bacterial fertilizer T1 on the microbial structure of soil for growing lettuce in greenhouse, the irrigated root treatment (T1) and blank control treatment were designed. The species composition and structure of lettuce soil microorganisms were analyzed by high-throughput sequencing of 16S rRNA gene and ITS gene, and lettuce yield and morbidity were determined. The result showed that: 1) Lettuce planting can significantly increase Shannon index of bacteria and fungi in CK soil. T1 treatment did not obviously change Shannon and Sobs indices in soil. 2) Lettuce planting increased the abundance of *Monographella* and reduced the abundance of *Bacillus* in the soil. After the T1 treatment, the abundance of *Pseudomonas*, *Monographella*,

收稿日期: 2019-10-18

基金项目: 北京市叶类蔬菜产业创新团队(BAIC07-2019)

第一作者: 高逸, 硕士研究生, E-mail: gao15901499854@163.com

通讯作者: 高秀芝, 副教授, 主要从事微生物与生物技术研究, E-mail: gxz@bua.edu.cn

Scedosporium and *Gibberella* in the soil reduced, and the abundance of *Chaetomium*, *Acremonium* Pyrenomataceae, Sordariales(unclassified), and Sphingomonadaceae (unclassified), Halobacteroidace (no rank) increased. 3) Lettuce planting did not obviously change the number of OTU of bacterial and fungi in the soil, but T1 treatment significantly changed the number of OTU of fungal in the soil. 4) After the T1 treatment, the yield of lettuce increased by 11%, and the morbidity of lettuce decreased by 2.5% ($P < 0.05$). The lettuce planting with T1 bacterial fertilizer for root irrigation enriched some beneficial microorganisms, improved soil microbial structure, promoted lettuce growth, increased lettuce yield, and reduced the morbidity of lettuce without changing the soil microbial diversity.

Keywords microbial community structure; lettuce; bacterial fertilizer; high-throughput sequencing

生菜又名叶用莴苣(*Lactuca sativa* L.),原产于欧洲,最早自东南沿海地区传入我国^[1]。随着消费者对鲜食生菜需求量增多,生菜的种植量增大,2015年叶类蔬菜总产量占蔬菜总产量的39.5%^[2]。为了增加生菜产量,过度使用化肥,造成土壤氮源过剩、肥力下降以及菌群失衡的后果^[3]。

为解决化学肥料过度使用对土壤造成的危害,微生物菌肥的研发成为研究热点^[4]。陈璐璐等^[5]研究表明芽孢杆菌对玉米纹枯病与番茄灰霉病等具有较好的抑制效果;吴越等^[6]研究发现枯草芽孢杆菌 HAINUP40 能分泌大分子蛋白质的抑菌活性物质。实际应用中地衣芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌均可以作为生物有机肥产品中主要功能菌^[7]。

上述研究表明芽孢杆菌(*Bacillus*)对大部分农作物具有促生效果,但是其对于生菜的促生效果和土壤的微生物结构变化及生菜的种植对土壤菌群的影响尚未见报道。因此,本研究拟以地衣芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌混合菌肥 T1 作为研究对象,设置种植生菜与不种植生菜不同处理,采用高通量技术对土壤微生物菌群变化进行分析,探究种植生菜对土壤菌群的影响以及 T1 在设施生菜种植过程中促生防病效果及其对土壤菌群结构的影响。

1 材料与方法

1.1 设施地点与生菜种植方案

生菜种植设施的地点位于北京市昌平区农作物品种试验展示基地,设施长 50 m,宽 8 m,设施土壤类型为沙壤土^[8]。设施中每畦长 6.5 m,宽 1.2 m,生菜种植的密度为 80 株/畦,株距 0.3 m×0.3 m。种植生菜前施用有机肥 16 kg/hm²,试验土壤基本理化指标:土壤碱解氮 142.91 mg/kg,土壤速效磷 261 mg/kg,土壤速效钾 302.15 mg/kg,pH 6.9。试验种植菜种为‘北生一号’(结球)。本次试验分为 2 组处理,空白对照处理组包括空白不种菜(CKW)、空白种菜(CKY);T1 处理组包括菌肥不种

菜(T1W)、菌肥种菜(T1Y)。共种植生菜 12 畦,1~4 畦依次为空白不种菜(CKW)、空白种菜(CKY)、菌肥不种菜(T1W)、菌肥种菜(T1Y),5~8 与 9~12 畦重复 2 次。试验于 2018 年 7 月 18 日播种,8 月 27 日定植,收获日期为 10 月 17 日。

1.2 记录病株与土壤采集

根据卢蝶等^[9]调查方法进行修改,对设施内栽培的生菜进行病害的持续调查记录:对患有链格孢属等真菌引起叶斑类病害植株记录,3 次重复,计算平均生菜病株率。计算公式:

$$\text{生菜病株率}/\% = (\text{病株率植株总数}/80) \times 100$$

试验土壤样品组别为(2018 年 10 月 17 日采样):空白对照处理包括空白不种菜(CKW)、空白种菜(CKY),T1 处理包括菌肥不种菜(T1W)、菌肥种菜(T1Y)。使用五点取样法对每一畦采集生菜根系附近土壤,每个组别取 3 个平行。样品采集后装入采样袋,编号标记,放入保温箱中带回试验室,置于 -40 °C 冰箱储藏备用^[10]。

1.3 生菜浇肥方案

生菜浇水采用滴灌处理,定植后每 20 d,在对生菜浇水的过程中向菌肥处理畦的水管中加入菌肥,每次施加菌肥 500 mL,25 min 滴灌结束后用清水冲洗浇水管 5 min。菌肥登记证号:微生物肥(2019)准字(7096)号,其中有效菌种为土壤中分离出具有促生防病功能的地衣芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌,有效活菌数浓度不低于 8.7 lg (CFU/mL)。

1.4 土壤微生物基因组 DNA 的提取与 PCR 扩增

土壤微生物 DNA 提取与扩增模板参考李存玉等^[11]、赵辉等^[12]的方法,使用 338F-806R 与 ITS1F-ITS2 引物模板。扩增后引物采用 Illumina MiSeq PE300 测序进行双向分析,委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.5 生菜样品产量测定

根据刘庆新等测定生菜产量方法做出修改^[13],每畦随机采收 9 株成熟的生菜,测定生菜重量,重复 3 次。

1.6 数据分析

使用 Excel 2007 整理各项结果与作图,采用 SPSS 16.0 进行差异性分析的比较 ($P < 0.05$),利用 R 语言绘制维恩图。

2 结果与分析

2.1 土壤样品中微生物多样性指数分析

所有样品中的真菌与细菌多样性指数如表 1 所

示;CKY 与 T1Y 的真菌、细菌 Shannon 指数分别高于 CKW 与 T1W,说明种植生菜可提高土壤中微生物多样性;经过 T1 处理土壤的 Shannon 指数介于 CKY 与 CKW 之间且无显著差异,说明 T1 处理可以一定程度降低的微生物多样性,但是与对照组无显著差异;4 个处理土壤样品中真菌与细菌的 Sobs 指数均无显著差异,说明种菜以及 T1 处理对土壤菌群微生物类群总数无明显影响。

表 1 各处理土壤样品中微生物多样性指数

Table 1 Microbial diversity indexes in the soil samples of different treatments

样品名称 Samples name	真菌 Fungus			细菌 Bacteria		
	观测到的 OTU 数	香农指数	覆盖率	观测到的 OTU 数	香农指数	覆盖率
	Sobs	Shannon	Coverage	Sobs	Shannon	Coverage
空白对照不种菜 CKW	379.3±43.1 a	3.07±0.13 b	1.00	2 636.1±41.3 a	6.69±0.09 ab	0.98
空白对照种菜 CKY	486.6±91.2 a	3.81±0.19 a	1.00	2 570.7±53.0 a	6.77±0.05 a	0.98
菌肥不种菜 T1W	402.3±37.5 a	3.19±0.47 b	1.00	2 637.7±50.1 a	6.59±0.06 b	0.98
菌肥种菜 T1Y	418.6±26.1 a	3.55±0.20 ab	1.00	2628.2±6.0 a	6.67±0.25 ab	0.98

注:表中同一列不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.2 真菌群落组成分析

土壤样品检测到真菌种类有 7 个门、23 个纲、28 个目、136 个科,共计 265 个属。除未知菌外,其余菌门依次为子囊菌门 (Ascomycota)、接合菌门 (Zygomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)。

土壤样品中各真菌门的丰度如表 2 所示:在空

白对照处理中子囊菌门丰度维持在 85.9% 左右,CKY 接合菌门丰度为 7.5%,CKW 为 9.5%,说明种菜后子囊菌门丰度无明显变化,降低了接合菌门丰度;在 T1Y 土壤中子囊菌门丰度为 79.5%,T1W 为 82.6%,T1Y 接合菌门丰度为 8.5%,T1W 为 11.0%,说明 T1 处理可以降低土壤中子囊菌门与接合菌门丰度。

表 2 各处理土壤样品中不同真菌菌门丰度

Table 2 Abundance of different phylum of fungu in the soil samples under different treatments %

样品 Samples	真菌菌门 Phylum of fungus				
	子囊菌门	接合菌门	担子菌门	壶菌门	其他菌门
	Ascomycota	Zygomycota	Basidiomycota	Chytridiomycota	Other
空白对照不种菜 CKW	85.6	9.5	1.2	0.4	3.2
空白对照种菜 CKY	85.9	7.5	1.5	2.8	2.3
菌肥不种菜 T1W	82.6	11.0	2.5	0.3	3.5
菌肥种菜 T1Y	79.5	8.5	4.3	5.3	2.3

在属分类水平上土壤样品中真菌群落结构如图 1 所示;CKW 土壤中假霉样真菌属 (*Pseudallescheria*) 丰度为 23.9%,CKY 为 11.5%,T1W 为 18.7%,

T1Y 为 10.8%,表明种菜降低了土壤中假霉样真菌属丰度,T1 处理进一步降低了假霉样真菌属丰度;CKW 土壤中毛壳菌属 (*Chaetomium*) 丰度为

8.5%,CKY为7.6%,而T1Y中丰度为11.2%,T1W为9.7%,表明种菜降低了土壤中毛壳菌属丰度,而T1处理提高了土壤中毛壳菌属丰度;CKW土壤中火丝菌科(Pyrenomataceae)中未分类属丰度为13.2%,CKY为3.6%,在T1W中丰度为11.6%,T1Y为8.0%,说明种菜可以明显降低土壤中其丰度,而T1处理可以改善种菜带来的不良影响;CKW土壤中粪壳菌目中未分类属丰度为1.5%,CKY为4.5%,在T1Y中为7.1%,T1W为12.5%,说明种菜可以提高土壤中粪壳菌目中未分类属丰度,T1处理进一步提高了土壤中粪壳菌目丰度;CKW土壤与

T1W土壤中烟草镰刀菌属(*Monographella*)丰度<0.1%,但是在CKY中丰度为7.2%,T1Y中为2%,说明种菜可以提高土壤中烟草镰刀菌属丰度,而T1处理降低烟草镰刀菌属丰度;CKW土壤与CKY土壤中支顶孢菌属(*Acremonium*)丰度<1%(约为0.8),在T1W中为4.0%,T1Y中为1.6%,说明T1处理提高了土壤中支顶孢菌属丰度;在CKY土壤中丝孢菌属(*Sedosporium*)与赤霉菌属(*Gibberella*)分别为5.0%与1.5%,CKW、T1Y和T1W中丰度均<0.1%,说明T1处理能有效降低土壤中丝孢菌属与赤霉菌属的丰度。

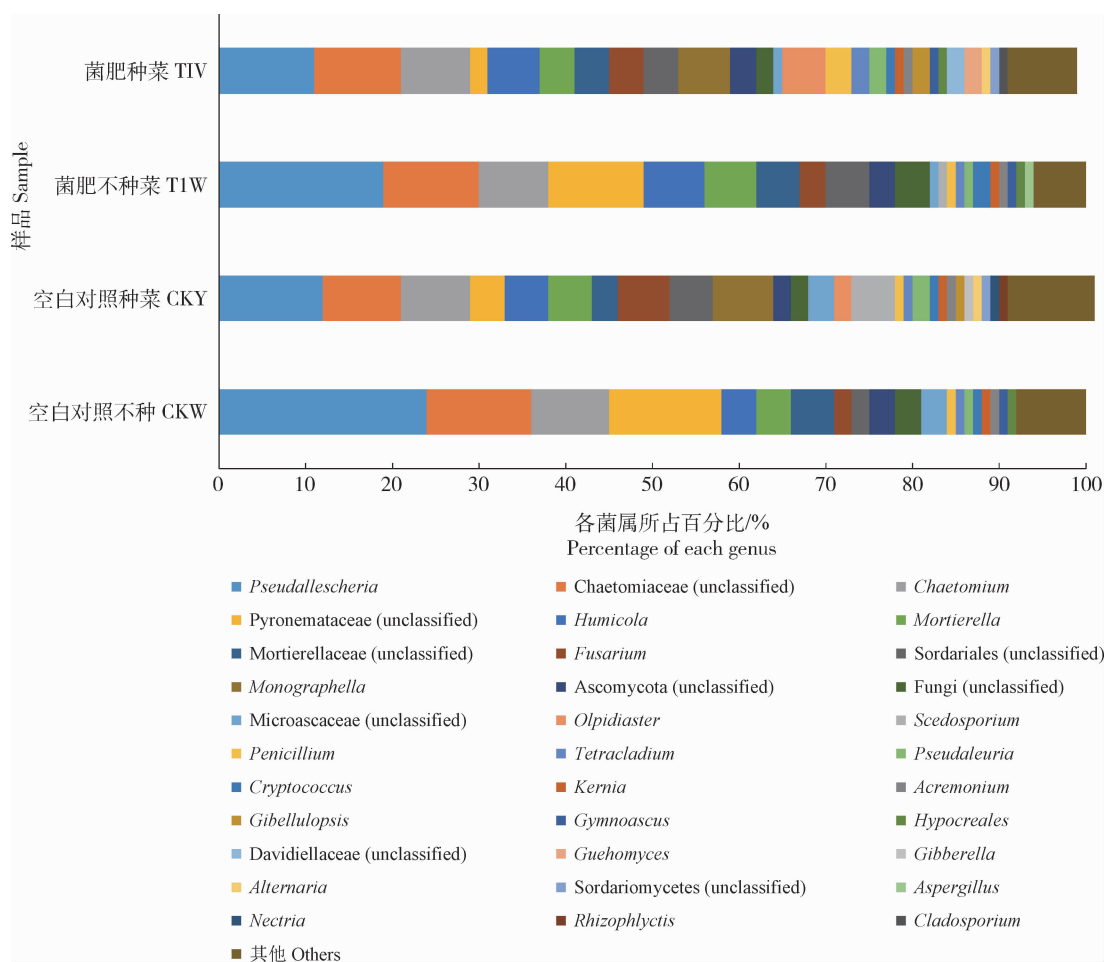


图1 各土壤样品在属分类水平上真菌群落结构

Fig.1 Fungal community structure of each soil sample at the genus classification level

2.3 细菌群落组成分析

土壤样品检测到细菌种类有34个门、78个纲、189个目、378个科、共计749个属。土壤样品细菌门水平丰度如表3所示:CKW土壤中变形菌门丰度为28.1%,CKY为30.5%,T1W中为30.1%,

T1Y为32.4%,说明种菜提高土壤中变形菌门的丰度,而T1处理可以进一步提高变形菌门丰度;CKW土壤中厚壁菌门丰度为12.8%,CKY为10.1%,T1W中为13.4%,T1Y为13.0%,说明种菜降低了厚壁菌门在土壤中的丰度,而T1处理提

高了土壤中厚壁菌门丰度；CKW 土壤中绿弯菌门的丰度为 14.9%，CKY 为 13.5%，T1W 中丰度为 13.9%，T1Y 为 12.1%，CKW 土壤酸杆菌门丰度为 13.6%，CKY 为 8.7%，T1W 为 10.3%，T1Y 为 8.0%，说明种菜降低了土壤中绿弯菌门与醋杆菌门的丰度，而 T1 处理进一步降低了土壤中绿弯菌门与醋杆菌门的丰度。

在属分类水平上土壤样品中细菌群落结构如图 2 所示；CKW 土壤中酸杆菌(Acidobacteria)中未分类属丰度为 9.7%，CKY 为 5.6%，T1W 中丰度为 6.8%，T1Y 为 4.4%，说明种菜降低土壤中酸杆菌丰度，T1 处理进一步降低了其丰度；CKW 土壤

中芽孢杆菌属(*Bacillus*)丰度为 4.7%，CKY 为 3.3%，T1W 中丰度为 5.0%，T1Y 为 4.6%，说明种菜降低了芽孢杆菌属丰度，T1 处理提高了土壤中芽孢杆菌属丰度；CKW 土壤中硝化螺菌属(*Nitrospira*)丰度为 2.4%，CKY 为 1.3%，T1W 为 1.8%，T1Y 为 1.5%，说明种菜降低了土壤中硝化螺菌属丰度，T1 处理可以改善种菜带来的负面影响；CKW 土壤中鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)丰度为 2.7%，CKY 为 2.4%，T1W 为 3.5%，T1Y 为 3.3%，说明种菜降低了土壤中鞘氨醇单胞菌属丰度，而 T1 处理能提高土壤中鞘氨醇单胞菌属丰度。

表 3 各处理土壤样品中不同细菌菌门占比

Table 3 Proportion of different phylum of bacteria in the soil samples with different treatments

样品 Sample	变形 菌门 Proteob- acteria	放线 菌门 Actinob- acteria	绿弯 菌门 Chlor- oflexi	厚壁 菌门 Firmi- cutes	酸杆 菌门 Acidob- acteria	芽单胞 菌门 Gemmati- monadetes	拟杆 菌门 Bacter- oidetes	硝化螺 旋菌门 Nitrospi- rae	浮霉 菌门 Plancto- mycetes	蓝细 菌门 Cyanob- acteria	其他 菌门 Other
空白对照不种菜 CKW	28.1	17.6	14.9	12.8	13.6	4.1	1.8	2.3	1.3	0.4	2.8
空白对照种菜 CKY	30.5	25.3	13.5	10.1	8.7	3.1	2.0	1.2	1.1	1.7	2.3
菌肥不种菜 T1W	30.1	20.2	13.9	13.4	10.2	3.7	2.1	1.8	1.0	0.5	2.2
菌肥种菜 T1Y	32.4	21.9	12.1	13.0	8	3.5	2.8	1.5	0.9	1.0	2.0

2.4 OTU 聚类分析

对所有土壤样品进行 OTU 分析得到图 3，可以看出：细菌、真菌共有 OTU 比例分别为 71.50%与 30.60%；CKY 与 CKW 土壤中细菌、真菌共有 OTU 占比为 82.1%与 48.0%；T1Y 与 T1W 为 83.1%与 52.0%；CKY 与 T1Y 为 85.5%与 54.2%；CKW 与 T1W 为 87.1%与 55.5%。以上结果表明 4 个处理的土壤中真菌群落结构差异较大，细菌差异较小。

细菌与真菌特有 OTU 数量分析得出：CKY 样品中细菌、真菌特有 OTU 占总 OTU 为 1.2%与 18.4%，CKW 为 1.6%与 5.0%，T1Y 为 0.9%与 4.5%，T1W 为 0.7%与 8.6%，说明 4 个土壤样品的细菌群落结构无明显变化，而 T1 处理明显改变

了土壤的真菌群落结构。

2.5 LEfSe 多级物种差异分析

组间样品真菌菌群差异性分析结果显示 T1Y 的土壤富集了 17 个真菌种属，分别为假霉样真菌(*Pseudallescheria*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、被孢霉科(Mortierellaceae)中未分类属、小包脚菇属(*Volvariella*)、丝壳属(*Kernia*)、裸囊菌属(*Gymnoascus*)、*Arachnomycetes*、*Stephanonectria*、*Cystolepiota*、粪盘菌科(Ascobolaceae)中未分类属、沃德霉属(*Wardomyces*)、Spizellomycetaceae 中未分类属、Onygenaceae 中未分类属、Gymnoascaceae 中未分类属、*Remersonia*、毛球壳属(*Zygopleurage*)、小囊菌属(*Microascus*)。

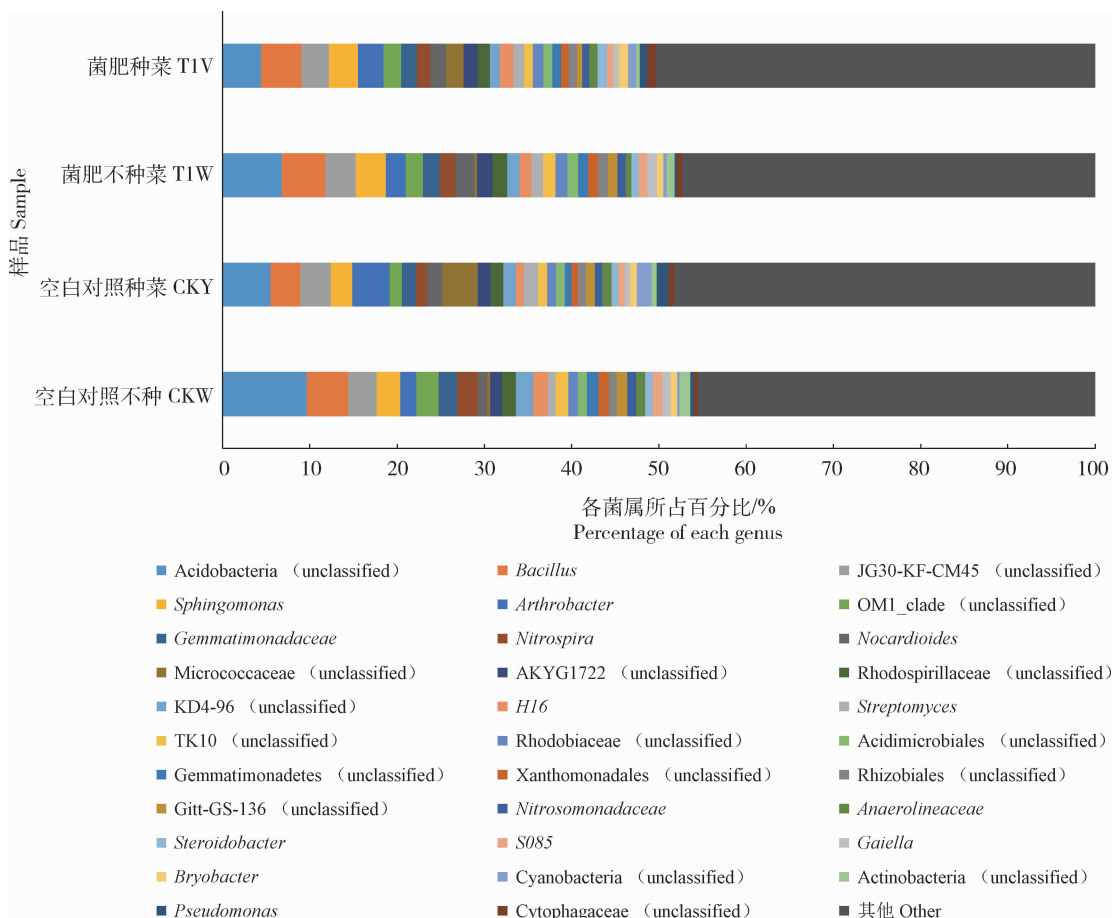
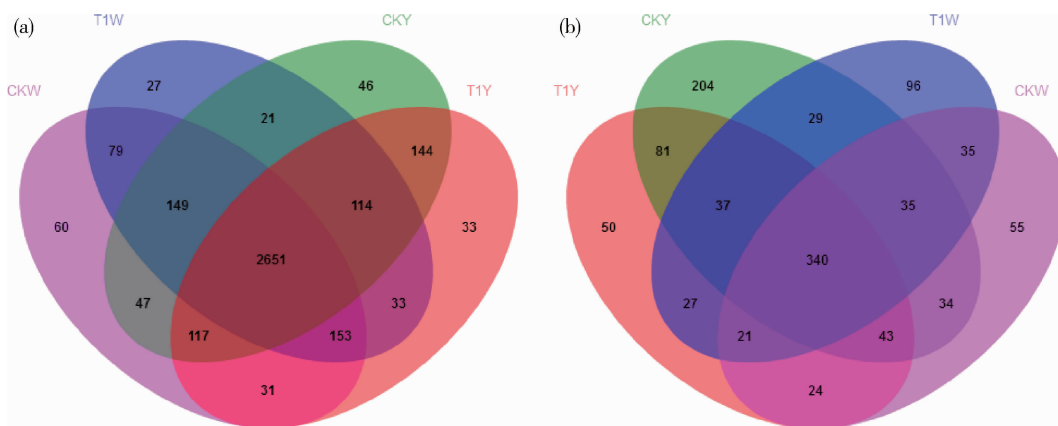


图2 各土壤样品在属分类水平上细菌群落结构

Fig. 2 Bacterial community structure of each soil sample at the genus classification level



(a)细菌韦恩图;(b)真菌韦恩图。图中数字代表其区域中OTU数目。

(a) Bacteria Venn diagram; (b) Fungus Venn diagram. The number in the figure represents the number of OTUs in its area.

图3 土壤样品中微生物多样性的相关性分析韦恩图

Fig. 3 Venn diagram showing the shared eukaryotes OTUs

CKY 的土壤富集了 10 个真菌种属,分别为明梭孢属(*Monographella*)、赤霉属(*Gibberella*)、小羊蹄菌属(*Microdochium*)、Plectosphaerellaceae 中

未分类属、Helotiales 中未分类属、Eurotiales 中未分类属、棒孢属(*Corynespora*)、黄丝曲霉属(*Talaromyces*)、木霉属(*Trichoderma*)、*Hannaella*。

组间样品细菌菌群差异性分析结果显示 T1Y 处理的土壤富集了 17 个细菌种属, 分别为芽孢菌属 (*Bacillus*)、H16、OM1_clade 中未分类属、农杆菌 (*Planifilum*)、ABS_19、微枝形杆菌属 (*Microvirga*)、*Bryobacter*、Rhodobiaceae 中未分类属、AKYG1722 中未分类属、Ardenticatenales 中未分类属、木洞菌属 (*Woodsholea*)、*Bacilli* 中未分类属、Xanthomonadales 中未分类属、Planococcaceae 中未分类属、*Pontibacter*、*Haliangium*、太平洋海洋杆菌属 (*Oceanobacillus*)、Halobacteroidaceae 中未分类属、Sphingomonadaceae 中未分类属。

CKY 处理的土壤富集了细菌 15 个属, 分别为微球菌科 (Micrococcaceae) 中未分类属、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、蓝细菌 (Cyanobacteria) 中未分类属、Gitt_GS_136 中未分类属、JG30_KF_AS9 中未分类属、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、气微菌属 (*Aeromicrobium*)、*Paenarthrobacter*、微杆菌科 (Microbacteriaceae) 中未分类属、*Kribbella*、慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium*)、Blastocatellaceae 中未分类属、TK10 中未分类属、KCM_B_15 中未分类属、副球菌 (*Rhizomicrobium*)。

2.6 生菜产量及生菜病株率

生菜产量与病株率如表 4 所示, T1Y 相比 CKY 产量提高了 11%, 病株率下降了 2.5%。

表 4 生菜产量与病株率

Table 4 Lettuce yield and morbidity

样品	病株率/%	产量/(kg/hm ²)
Sample	Morbidity	Yield
空白对照种菜 CKY	6.25±0.11 a	6 159.1±452.1 b
菌肥种菜 T1Y	3.75±0.04 b	6 868.5±711.5 a

注: 表中同一列不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column in the table indicate significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论与结论

作物种植过程中施用菌肥可以改变土壤微生物多样性, 计思贵^[14]发现施用枯草芽孢杆菌菌肥可以提高烟草根际土壤细菌群落多样性; Wang 等^[15]发现对苹果树施加菌肥可以提高苹果根部土壤细菌丰度, 富集红螺菌、变形菌等。也有文献报道通过用解淀粉芽孢杆菌菌剂 FH-1 处理水稻, 降低了水稻根

部土壤的微生物 α 多样性^[16]。

本次试验中, CKY 相比 CKW, Shannon 指数显著提高, 说明种菜可以提高土壤微生物多样性。而施加菌肥后, T1Y 相比 CKY 的 Shannon 指数平均值上存在一定减小, 但是无显著差异, 且 4 个处理土壤样品的 Sobs 指数无显著差异, 分析可能由于本次试验采用结球生菜生长周期短, 菌肥对土壤作用时间短, 导致土壤微生物结构改变不明显。

本次试验中, 共检测到真菌 7 个门, T1 处理降低了子囊菌门 (Ascomycota) 与接合菌门 (Zygomycota) 丰度, 其中寄生型子囊菌门可引起植物病害^[17], 接合菌门中毛霉目与植物病害直接相关^[18]。土壤样品共检测到真菌 265 个属, T1Y 样品优势菌属 (丰度占比 > 2%) 有假霉样真菌属 (*Pseudallescheria*)、毛壳菌属 (*Chaetomium*)、毛壳科 (Chaetomiaceae) 中未分类属、火丝菌科 (Pyronemataceae) 中未分类属等 13 种, 这与王超的研究结果基本一致^[19]。

T1 处理相比空白对照处理降低了假霉样真菌属、烟草镰刀菌属、丝孢菌属与赤霉菌属在土壤中丰度。其中假霉样真菌属直接接触人体可能导致人体感染^[20]。烟草镰刀菌属、丝孢菌属与赤霉菌属是植物的致病菌, 可导致生菜霉腐病与根腐病^[21]。

T1 处理相比空白对照处理增加了毛壳菌属、支顶孢菌属、粪壳菌目 (Sordariales) 中未分类属与火丝菌科中未分类属在土壤中丰度。其中毛壳菌属丰度的增加, 能够促进生菜吸收土壤中氮磷元素, 加速生菜生长^[22]; 火丝菌科部分种类与高等植物共生形成菌根, 部分具有分解木质纤维素的能力^[23]; 粪壳菌目具有降解腐烂有机质及纤维素的作用^[24], 有助于提高土壤肥力, 进而促进生菜生长; 支顶孢菌属细菌经常用于生物防治, 能降低生菜发病几率^[25]。

土壤样品共检测到细菌 34 个门, 种菜提高土壤中变形菌门 (Proteobacteria) 的丰度, 而 T1 处理可以进一步提高变形菌门丰度, 变形菌门具有多种生理和代谢途径, 利于氮、磷、钾元素的循环^[26], 提高土壤肥力, 利于植物生长; T1 处理提高土壤中厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度, 厚壁菌门可以降解土壤中难溶化合物、降解原油, 固定空气中氮、防治植物病虫害^[27]。

土壤样品共检测到细菌 749 个属, 其中 T1Y 的优势菌属是醋杆菌属 (*Acidobacteria*)、芽孢杆菌属、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、节杆菌属、JG30-KF-CM45 中未分类属、OM1_clade 中未分类属、微

球菌科(Micrococcaceae)中未分类属,与 Shen 等^[28]人研究结果相符。

T1 处理不同程度地提高了芽孢杆菌、硝化螺菌与鞘氨醇单胞菌在土壤中丰度。芽孢杆菌作为植物根际促生细菌(PGPR)具有改善土壤肥力、抑制土传病原体、提高抗病能力、促进植物生长、增加作物产量的作用^[29];硝化细菌通过硝化作用为作物生长提供氮素营养^[30];鞘氨醇单胞菌属可以降解由杀虫剂农药产生的芳香族污染物,并合成具有抗菌效果的胞外生物高聚物^[31]。

LEfSe 分析显示:T1Y 相比 CKY 富集了真菌、细菌各 17 个种属,可以看出,T1 处理对土壤真菌菌群结构有更明显的影响,与 OTU 分析相符。T1Y 样品土壤中富集芽孢菌属、毛壳菌属、鞘脂单胞菌科中未分类属、拟盐杆菌科中未分类属,它们可以通过以下途径促进作物生长:(1)分泌抑菌物质,抑制病害微生物生长,间接促进作物生长^[32];(2)降解芳香化合物并产生 GA、IAA 促进作物生长^[33];(3)提高植物防御酶活性,增加生物和非生物胁迫耐受^[34]。丝孢菌属、赤霉菌属、烟草镰刀菌属这些有害真菌与克雷伯菌属(*Kribbella*)有害细菌在 CKY 土壤样品中富集,这些有害菌属的富集可导致生菜染病或停止生长。

本次试验条件下 T1Y 相比 CKY,产量提升 11.0%,病株率降低 2.5%。这与赵柏霞、李凤霞、刘雪娇以及赵惠施用芽孢杆菌提升樱桃、花椰菜、大豆与番茄的产量,并且有效防治大豆与番茄病害的结论一致^[35-38]。

在设施生菜种植时灌根 T1 菌肥,能够降低土壤中由种菜而提高的假霜样真菌属、烟草镰刀菌属、丝孢菌属、赤霉菌属与醋杆菌门等不利于生菜生长或对人体有害的微生物丰度,且富集毛壳菌属、支顶孢菌属、芽孢杆菌、硝化螺菌、鞘氨醇单胞菌等有益生菜生长的微生物,起到改善土壤微生物结构的作用,同时提高生菜产量,降低生菜患叶斑病几率。

参考文献 References

[1] Kaliora A, Batzaki C, Christea M, Kalogeropoulos N. Nutritional evaluation and functional properties of traditional composite salad dishes [J]. *Food Science and Technology*, 2015, 62(1): 755-782

[2] 杨鑫,穆月英,王晓东.北京市蔬菜生产及其特征分析[J].中国农学通报,2016,32(13):182-190

Yang X, Mu Y Y, Wang X D. Vegetable production characteristics in Beijing [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(13): 182-190 (in Chinese)

[3] 高彦林.微生物肥料“宁盾”大田示范推广研究[D].南京:南京农业大学,2015

Gao Y L. Field demonstration of microbial fertilizer “Ningdun” [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015 (in Chinese)

[4] 谢明杰,程爱华,曹文伟.我国微生物肥料的研究进展及发展趋势[J].微生物学杂志,2000(4):42-45

Xie M J, Cheng A H, Cao W W. Research progress and development trend of microbial fertilizer in China [J]. *Journal of Microbiology*, 2000(4): 42-45 (in Chinese)

[5] 陈璐璐.玉米纹枯病生防细菌的分离鉴定及应用[D].湖北:华中农业大学,2015

Chen L L. Isolation, identification and application of biocontrol bacteria against corn sheath blight [D]. Hubei: Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese)

[6] 吴越,王世锋,陈鑫,任竹玲,李安,周永灿,涂志刚,郭伟良,孙云,蔡岩.枯草芽孢杆菌 HAINUP40 的培养条件及其抑菌物质分析.基因组学与应用生物学.(2019-12-04)http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190315.1021.002.html

Wu Y, Wang S F, Chen X, Ren Z L, Li A, Zhou Y C, Tu Z G, Guo W L, Sun Y, Cai Y. Fermentation conditions and preliminary study on antibacterial properties of *Bacillus subtilis* HAINUP40 [J/OL]. *Genomics and Applied Biology*. (2019-12-04) http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1369.Q.20190315.1021.002.html (in Chinese)

[7] 马鸣超,姜昕,曹凤明,李俊.生物有机肥生产菌种安全分析及管控对策研究[J].农产品质量与安全,2019(6):57-61

Ma M C, Jiang X, Cao F M, Li J. Risk analysis and management measure on microorganism in microbial organic fertilizers [J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2019 (6): 57-61 (in Chinese)

[8] 钟连全,王立府,齐长红.浅谈昌平草莓种苗繁殖技术[C]//草莓研究进展(三).北京:第六届全国草莓大会,2009:259-262

Zhong L Q, Wang L F, Qi C H. Talking about the propagation technology of strawberry seedlings in Changping [C]. In: *Strawberry Research Progress* (3). Beijing: Chinese Horticultural Society, 2009: 259-262 (in Chinese)

[9] 卢蝶,褚明昕,陈笑瑜,韩莹琰,尚巧霞.黑龙江省部分地区稻瘟病菌致病性分析及鉴别体系优化[J].植物保护,2018,44(4):167-170,193.

Lu D, C M X, Chen X Y, H Y, S Q X. Disease investigation and pathogen identification on different varieties of lettuce in Changping, Beijing [J]. *Plant Protection*, 2018, 44(4): 167-170, 193 (in Chinese)

[10] 中国科学院南京土壤研究所.土壤理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1978

- Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. *Soil physical and chemical analysis* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1978 (in Chinese)
- [11] 李存玉, 徐永江, 柳学周, 杨洪军, 史宝, 史学营, 朱学武. 池塘和工厂化养殖牙鲆肠道菌群结构的比较分析[J]. 水产学报, 2015, 39(2): 245-255
- Li C Y, Xu Y J, Liu X Z, Yang H J, Shi B, Shi X Y, Zhu X W. Comparative analysis of composition, diversity and origin of intestinal bacterial community in pond-and indoor tank-culture Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(2): 245-255 (in Chinese)
- [12] 赵辉, 李世国, 孙红炜, 李凡, 田晓燕, 颜世磊, 路兴波. 玉米叶面微生物 DNA 提取方法及 PCR 引物的筛选[J]. 山东农业科学, 2012, 44(2): 9-14
- Zhao H, Li S G, Sun H W, Li F, Tian X Y, Yan S L, Lu X B. Screening of DNA extraction methods and PCR primers for microorganisms from *Maize Leaves* [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2012, 44(2): 9-14 (in Chinese)
- [13] 刘庆鑫, 方慧, 李宗耕, 杨其长, 魏灵玲, 程瑞锋. 自然光植物工厂多层立体栽培补光对生菜产量和品质的影响[J]. 中国农业大学学报, 2019, 24(1): 92-99
- Liu H X, Fang H, Li Z G, Li Z G, Yang Q C, Wei L L, Cheng R F. Effects of increased stereo multi-layer artificial light in natural light plant factory on yield and quality of lettuce [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2019, 24(1): 92-99 (in Chinese)
- [14] 计思贵. 枯草芽孢杆菌菌剂对烟草根际土壤细菌群落的影响 [C]//中国烟草学会 2016 年度优秀论文汇编烟草农业主题. 北京:中国烟草学会, 2016: 970-979
- Ji S G. Impact of biocontrol agent *Bacillus subtilis* on bacterial communities in tobacco rhizospheric soil [C]. In: *China Tobacco Society 2016 Excellent Paper Collection-Tobacco Agriculture Theme*. Beijing: Tobacco Society, 2016: 970-979 (in Chinese)
- [15] Wang L, Li J, Yang F, Yao Y E, Waseem R, Huang Q W, Shen Q R. Application of bioorganic fertilizer significantly increased apple yields and shaped bacterial community structure in orchard soil [J]. *Microbial ecology*, 2017, 73(2): 1-13
- [16] 李晴晴, 徐松, 赵维, 杨榕, 赵思崎, 黄志勇, 王敬敬. 根际微生物组介导的解淀粉芽孢杆菌 FH-1 对水稻的促生机制[J]. 微生物学报, 2019, 59(12): 2410-2426
- Li Q Q, Xu S, Zhao W, Yang R, Zhao S Q, Huang Z Y, Wang J J. Rhizosphere microbiome-mediated growth promoting mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* FH-1 to rice [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(12): 2410-2426 (in Chinese)
- [17] 谢联辉, 林奇英, 徐学荣. 植病经济与病害生态治理[J]. 中国农业大学学报, 2005(4): 39-42
- Xie L H, Lin Q Y, Xu X R. Plant disease economy and ecologic management of plant diseases [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2005(4): 39-42 (in Chinese)
- [18] 曹焯程, 刘晓漫, 郭美霞, 王秋霞, 李园, 欧阳灿彬, 颜冬冬. 作物土传病害的危害及防治技术[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 6-16
- Cao Y C, Liu X M, Guo M X, Wang Q X, Li Y, Ou Y C B, Yan D D. Incidences of soil-borne diseases and control measures [J]. *Plant Protection*, 2017, 43(2): 6-16 (in Chinese)
- [19] 王超, 李刚, 黄思杰, 张弛, 田伟, 田然, 王磊, 席运官. 枯草芽孢杆菌菌肥对有机冬瓜根区土壤微生态的影响[J]. 微生物学通报, 2019, 46(3): 563-576
- Wang C, Li G, Huang S J, Zhang C, Tian W, Tian R, Wang L, Xi Y G. Effect of *Bacillus subtilis* microbial fertilizer on root-zone soil microbial ecology of organic Chinese watermelon [J]. *Microbiology China*, 2019, 46(3): 563-576 (in Chinese)
- [20] 赵小东. 波氏假霉样真菌和假霉样真菌病[J]. 国外医学. 1996(5): 282-285
- Zhao X D. *Pseudomonas*-like fungi and *Pseudomycin*-like fungal diseases [J]. *International Journal of Dermatology and Venereology*, 1996(5): 282-285 (in Chinese)
- [21] 陈长卿, 褚逸轩, 谢昭, 曹哲铭, 姜云, 隋策, 高洁. 生物杀菌剂对烟草镰刀菌根腐病的防治效果及农艺性状的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(6): 41-46
- Chen C Q, Zhu Y X, Xie S, Cao Z M, Jiang Y, Sui C, Gao J. Control effect of biological fungicides on tobacco fusarium root rot and influence on agronomic traits of tobacco [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2019, 47(6): 41-46 (in Chinese)
- [22] 张素平, 田叶韩, 王建明, 何邦令, 李明潭, 高克祥. 毛壳菌肥对黄瓜生长、产量和品质及氮磷钾吸收的影响[J]. 中国农学通报, 2017, 33(11): 35-42
- Zhang S P, Tian Y H, Wang J M, He B L, Li M T, Gao K X. Effect of *Chaetomium* fungal fertilizer on growth, production, quality of cucumber and its absorption of Nitrogen, Phosphorus and Kalium [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2017, 33(11): 35-42 (in Chinese)
- [23] 庄文颖. 中国真菌志[M]. 北京:科学出版社, 2014
- Zhuang W Y. *Chinese fungus* [M]. Beijing: Science Press, 2014 (in Chinese)
- [24] Shanthiyaa V, Saravanakumar D, Rajendran L, Karthikeyan G, Prabakar K, Raguchander T. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease [J]. *Crop Prot*, 2013, 25: 33-38
- [25] 袁小凤, 彭三妹, 王博林, 丁志山. 利用 DGGE 和 454 测序研究不同浙贝母种源对根际土壤真菌群落的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4304-4310
- Yuan X F, Peng S M, Wang B L, Ding Z S. Differences of fungal diversity and structure in rhizosphere of *Fritillaria thunbergii* from different provenances [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(22): 4304-4310 (in Chinese)

- [26] 刘东国, 吴云青, 段学辉. 联合生物加工产纤维素乙醇中真菌的开发与应用[J]. 化工进展, 2018, 37(9): 3568-3576
Liu G D, Wu Q Y, Duan X H. Development and application of fungi in cellulosic ethanol production via consolidated bioprocessing [J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2018, 37(9): 3568-3576 (in Chinese)
- [27] 宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 梁峰. 云南和西藏四处热泉中的厚壁菌门多样性[J]. 生物技术, 2015, 25(5): 481-486, 436
Song Z Q, Wang L, Liu X H, Liang F. Diversities of Firmicutes in four hot springs in Yunnan and Tibet [J]. *Biotechnology*, 2015, 25(5): 481-486, 436 (in Chinese)
- [28] Shen Z Z, Wang B B, Lv N N, Sun Y F, Jiang X Y, Li R, Ruan Y Z, Shen Q R. Effect of the combination of bio-organic fertiliser with *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 on the control of banana fusarium wilt disease, crop production and banana rhizosphere culturable microflora [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2015, 25(6): 716-731
- [29] 戴梅, 王洪娴, 殷元元, 武侠, 王森焱, 刘润进. 丛枝菌根真菌与根围促生细菌相互作用的效应与机制[J]. 生态学报, 2008(6): 2854-2860
Dai M, Wang H X, Ying Y Y, Wu X, Wang M Y, Liu R J. Effects and mechanisms of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008(6): 2854-2860 (in Chinese)
- [30] 吴沿友, 张颖, 朱咏莉, 刘荣成. 泉州湾河口湿地土壤硝化细菌的数量变化[J]. 地球与环境, 2012, 40(4): 473-478
Wu Y Y, Zhang Y, Zhu Y L, Liu R C. Quantitative change of nitrifying bacteria at Quanzhou bay estuary wetland[J]. *Earth and Environment*, 2012, 40(4): 473-478 (in Chinese)
- [31] 苟敏, 曲媛媛, 杨桦, 周集体, 李昂, 关晓燕, 艾芳芳. 鞘氨醇单胞菌: 降解芳香化化合物的新型微生物资源[J]. 应用与环境生物学报, 2008(2): 276-282
Gou M, Qu Y Y, Yang H, Zhou J T, Li A, Guan X Y, Ai F F. *Sphingomonas* sp.: a novel microbial resource for biodegradation of aromatic compounds[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008(2): 276-282 (in Chinese)
- [32] 赵君洁. 棉花黄萎病拮抗芽孢菌的筛选及其活性物质研究[D]. 新疆: 新疆师范大学, 2017
Zhao J J. Screening of antagonistic *Bacillus* sp. against cotton verticillium wilt and its active substances [D]. Xinjiang: Xinjiang Normal University, 2017 (in Chinese)
- [33] Khan A, Waqas M, Kang S M, AlHarrasi A, Hussain J, AlRawahi A, AlKhiziri S, Ullah I, Ali L, Jung H Y. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(8): 689-695
- [34] 黄晓丽. 毛壳菌(*Chaetomium* spp.)生防菌株的筛选及其生物防治机制研究[D]. 四川: 四川农业大学, 2009
Huang X L. Screening of biocontrol strains of *Chaetomium* spp. and its biological control mechanism [D]. Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2009 (in Chinese)
- [35] 赵柏霞, 潘凤荣, 王薇, 孟春玲, 张晓松, 刘智强, 刘红霞, 韩晓日. 生物菌剂对樱桃的促生效应及根际细菌群落的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(3): 286-292
Zhao B X, Pan F R, Wang W, Meng C L, Zhang X S, Liu Z Q, Liu H X, Han X R. Effects of biological agent on promoting mahaleb growth and rhizospheric bacterial community [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2018, 49(3): 286-292 (in Chinese)
- [36] 李凤霞, 赵营. 氮肥减量配施微生物菌剂对灌淤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
Li F X, 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)
- [37] 刘雪娇, 李红亚, 李术娜, 朱宝成, 高同国. 贝莱斯芽孢杆菌 3A3-15 生防和促生机制[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2019, 39(3): 302-310
Liu X J, Li H Y, Li S N, Zhu B C, Gao T G. Biocontrol and growth promotion mechanisms of *Bacillus velezensis* 3A3-15 [J]. *Journal of Hebei University (Natural Science Edition)*, 2019, 39(3): 302-310 (in Chinese)
- [38] 赵惠, 范海燕, 赵丹, 赵迪, 王媛媛, 朱晓峰, 段玉玺, 陈立杰. 芽孢杆菌 Sneb709 控制番茄根结线虫病及其促生效果研究[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(7): 13-19
Zhao H, Fan H Y, Zhao D, Zhao D, Wang Y Y, Zhu X F, Duan Y X, Chen L J. Controlling efficiency of *Bacillus* Sneb709 against root-knot nematode and its growth-promoting effect on tomato [J]. *China Plant Protection*, 2018, 38(7): 13-19 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东