

生物菌剂对土壤微生物群落结构和功能的影响

沙月霞, 黄泽阳, 李云翔, 赵沛

引用本文:

沙月霞, 黄泽阳, 李云翔, 赵沛. 生物菌剂对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2752-2762.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1042>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响

兰玉书, 袁林, 杨刚, 程蓉, 石楷岐, 高本汗

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2743-2751 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0637>

生物炭原位添加对养殖池塘底泥中微生物群落结构的影响

赵汉胤, 陈潘毅, 唐欣哲, 陈以芹, 李娟英

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2770-2778 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0434>

纳米银对四种不同性质土壤微生物量及酶活性的影响

舒昆慧, 张丽, 伍玲丽, 司友斌, 刘沁雪

农业环境科学学报. 2018, 37(5): 907-914 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1325>

土壤灭菌方式对不同深度土壤养分和微生物群落结构的影响

陶禹, 李雪峰, 张竹青, 张清壮, 李鑫

农业环境科学学报. 2022, 41(3): 575-584 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0641>

不同麦秸还田模式对稻田土壤微生物活性和微生物群落组成的影响

王宁, 罗佳琳, 赵亚慧, 李勇, 于建光

农业环境科学学报. 2020, 39(1): 125-133 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0956>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

沙月霞, 黄泽阳, 李云翔, 等. 生物菌剂对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2752-2762.
SHA Y X, HUANG Z Y, LI Y X, et al. Impact of microbial agents on the structure and function of the soil microbial community[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(12): 2752-2762.



开放科学 OSID

生物菌剂对土壤微生物群落结构和功能的影响

沙月霞, 黄泽阳, 李云翔, 赵沛

(宁夏农林科学院植物保护研究所, 银川 750011)

摘要:为探明五谷丰素浸种联合微生物菌剂撒施对玉米田土壤微生物群落结构及功能基因的影响,利用宏基因组技术分析生物菌剂施用后土壤微生物群落结构、硝化功能微生物基因、碳水化合物酶(CAZy)及抗生素抗性基因(ARGs)的功能注释及多样性。结果表明:五谷丰素浸种联合微生物菌剂撒施后,土壤细菌中变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)的丰度增加,酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)和Candidatus Rokubacteria的丰度下降;古菌中奇古菌门(Thaumarchaeota)和广古菌门(Euryarchaeota)的丰度分别增加26.41%和9.09%;真菌中子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和壶菌门(Chytridiomycota)的丰度下降;芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)丰度降低了9.76%,芽孢杆菌(*Bacillus*)丰度增加0.77倍,亚硝化球菌(*Nitrososphaera*)、硝化螺菌属(*Nitrospira*)和氨氧化古菌(*Candidatus_Nitrosocosmicus*)的丰度增加20%以上;土壤微生物的多糖裂解酶(Polysaccharide Lyases, PLs)和碳水化合物结合结构(Carbohydrate-binding modules, CBMs)的丰度增加;杆菌肽(Bacitracin)基因丰度下降,氟喹诺酮(Fluoroquinolone)、氯霉素(Chloramphenicol)、氨基糖苷(Aminoglycoside)和 β -内酰胺(Beta-lactam)类ARGs的丰度增加;氨氧化微生物(AOA和AOB)和亚硝酸盐氧化微生物(NO₂)基因的丰度增加。PCA前两个主成分解释了98.78%的样本CAZy差异和59.33%的样本ARGs差异;NMDS和ANOSIM分析显示样本不同处理之间的CAZy和ARGs抗性基因存在差异。研究表明,五谷丰素浸种联合微生物菌剂撒施可以显著改变玉米田土壤微生物群落结构,增加硝化微生物丰度,优化土壤微生物CAZy比例,降低土壤ARGs中杆菌肽污染,改善玉米植株生长的土壤微生态环境。

关键词:生物菌剂;土壤微生物群落结构;碳水化合物酶(CAZy);抗生素抗性基因(ARGs);微生态调控作用

中图分类号:S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)12-2752-11 doi:10.11654/jaes.2022-1042

Impact of microbial agents on the structure and function of the soil microbial community

SHA Yuexia, HUANG Zeyang, LI Yunxiang, ZHAO Pei

(Institute of Plant Protection, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan 750011, China)

Abstract: This study explored the impact of microbial agents on the structure of the microbial community and functional genes in maize farmland. The metagenomic library was used to analyze the soil microbial community structure, gene abundance of nitrifying functional microorganisms, functional annotation and diversity of carbohydrate-active enzymes (CAZy) and antibiotic resistant genes (ARGs). The results indicated that the abundance of soil microorganisms Proteobacteria, Actinobacteria, and Firmicutes increased after soaking the seed in Wugufengsu and combining it with microbial agents. In addition, the abundance of Acidobacteriota, Gemmatimonadetes, Chloroflexi, and Candidatus Rokubacteria also decreased. The abundance of Thaumarchaeota and Euryarchaeota in archaea increased by 26.41% and 9.09%, and the abundance of Ascomycota, Basidiomycota and Chytridiomycota in fungi decreased. As for soil microbial genus, the relative

收稿日期:2022-10-18 录用日期:2022-11-15

作者简介:沙月霞(1974—),女,宁夏平罗人,博士研究生,从事植物病害生物防治及微生态学研究。E-mail:yuexiasha@126.com

基金项目:宁夏重点研发计划项目(2022BBF02031);国家重点研发计划项目(2017YFD0201606);宁夏青年拔尖人才培养工程

Project supported: The Key Research and Development Program of Ningxia, China (2022BBF02031); The National Key Research and Development Program of China (2017YFD0201606); The Young Top-notch Talent Training Project of Ningxia, China

abundance of *Gemmatimonas* decreased by 9.76%, the abundance of *Bacillus* increased by more than 0.77 times, and the abundances of *Nitrososphaera*, *Nitrospira* and *Candidatus_Nitrosocosmicus* increased by more than 20%. Following the application of a microbial agent, the abundance of polysaccharide lyases (PLs) and carbohydrate binding modules (CBMs) increased. Furthermore, the abundance of bacitracin in ARGs genes decreased while the abundance of fluoroquinolone, chloramphenicol, aminoglycoside, beta-lactam increased. In particular, the gene abundance of ammonia oxidizing microorganisms (AOA and AOB) and nitrite oxidizing microorganisms (NOB) increased. The first two main components of PCA explained 98.78% of the class level CAZy difference and 59.33% of the sample level ARGs difference. NMDS and ANOSIM analysis results showed that there were differences in CAZy and ARGs resistance genes across treatments. In conclusion, soaking the seeds in Wugufengsu and combining them with microbial agents has the potential to significantly change the structure of soil microbial community in maize, increase the gene abundance of nitrifying functional microorganisms, optimize the proportion of soil microbial in CAZy, reduce bacitracin pollution in ARGs, and improve the micro-ecological environment of maize plant growth.

Keywords: microbial agent; structure of soil microbial community; carbohydrate-active enzyme; antibiotic resistant gene; micro-ecological regulation

玉米是世界上重要的粮食作物、饲料作物和工业原料,高密度种植、化肥农药过量施用以及土壤盐渍化等导致玉米土壤中病原菌数量连年积累,致使根系生长的微生态环境失衡^[1-2]。茎基腐病是由多种病原菌复合侵染的系统性土传病害,也是危害玉米产量和品质的主要病害之一,一般可使玉米减产10%~25%,危害严重时玉米产量损失可超过80%^[3-4]。种植抗病品种和施用化学农药是生产上最常用的防治措施。随着生态环境保护和粮食安全日益受到重视,玉米茎基腐病的生物防治越来越受到学者们的关注。五谷丰素是由链霉菌(*Streptomyces* sp.)NEAU6代谢产物研制出的生物制剂,能促进种苗生长和提高抗倒伏能力^[5-6],是防治玉米茎基腐病的种衣剂。程星凯^[7]研究发现甲基营养型芽孢杆菌(*Bacillus methylotrophicus*)TA-1浸种可以有效预防玉米茎基腐病,并具有显著的促生作用。

土传病害常与土壤中病原菌数量积累较多、土壤微生态环境失衡和气候因子有关,因此,改善植株根系生长的土壤微生态环境、恢复土壤生态服务功能是防治土传病害的途径之一^[8]。CHEN等^[9]研发的棘孢木霉菌(*Trichoderma asperellum*)颗粒剂与化肥混合后于播种前施用可以改善土壤质量,有效预防玉米茎基腐病。土壤微生物参与物质循环,而微生物群落结构的变化会影响土壤健康状况。冯帅^[10]分离的施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)A1501可以改变玉米根际土壤细菌群落和固氮菌群落结构组成,优化土壤微生态环境。沙月霞等^[11]研制的微生物菌剂撒施可显著影响土壤细菌群落结构及多样性,降低pH值,增加有机质、全氮、速效钾含量,改善玉米农田土壤健康状况,有效预防玉米茎基腐病。

采用宏基因组测序技术探究生物菌剂对土壤微生物群落结构的影响报道较多。侯景清等^[12]发现乳酸菌复合制剂对盐碱地土壤微生物群落结构影响较大,可增加碳水化合物活性酶基因序列数目,降低土壤中毒素的基因序列数目。王启全^[13]研究了多环芳烃降解菌剂对参与土壤碳、氮、磷及硫元素循环过程的微生物酶功能基因的调控作用。目前利用宏基因组测序技术探索生物制剂对玉米田土壤微生物群落结构及功能基因的影响研究还未见报道。本课题组前期已探明了五谷丰素浸种联合微生物菌剂防治玉米茎基腐病的田间效果、促生增产效果,以及对土壤微生物量、生物酶活性的改善作用。本研究采用宏基因组测序技术,一方面研究五谷丰素浸种联合微生物菌剂撒施后宁夏玉米田土壤微生物群落的物种组成,特别明确其对土壤真菌、细菌和古菌类群的门和属水平丰度的影响,另一方面研究五谷丰素浸种联合微生物菌剂撒施后宁夏玉米土壤微生物功能注释及多样性,主要探明其对碳水化合物活性酶(Carbohydrate-active enzymes, CAZy)、抗生素抗性基因(Antibiotic resistant genes, ARGs)和硝化功能微生物基因的影响,为改善农田土壤微生态环境提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试验药剂及地点

试验药剂:微生物菌剂M1和M2是由枯草芽孢杆菌HR15、萎缩芽孢杆菌HR37和贝莱斯芽孢杆菌HR55等混合发酵粉剂(30%)、腐植酸(5%)、土壤调节剂(0.4%)、微量元素(0.6%)以及载体(64%)而成的微生物菌剂,其中M1载体为腐熟烘干羊粪,M2载体为鸡粪有机肥(包含有机碳25.5%、氮1.63%、磷

1.54%、钾0.85%)，该菌剂由宁夏农林科学院植物保护研究所研发；五谷丰素粉剂是由放线菌代谢产物制成的微生物菌剂(用于浸种或拌种)，由中国农业科学院植物保护研究所提供；20%噁霉灵可湿性粉剂由深圳诺普信生物技术有限公司生产；微生物菌剂MCK由雷邦斯生物技术(北京)有限公司生产。

试验材料为玉米，品种为粒隆915，由北京粒隆种业科技有限公司生产。

试验地点：2020年在宁夏回族自治区惠农区(106°45'57"E, 39°07'31"N)进行田间试验。试验土壤为草甸土，pH 8.71，碱解氮为96.1 mg·kg⁻¹，有机质为15.9 g·kg⁻¹，有效磷为33.7 mg·kg⁻¹，速效钾为173.7 mg·kg⁻¹，水溶性盐为9.24 g·kg⁻¹，Na⁺为3.97 cmol·kg⁻¹，Ca²⁺为2.22 cmol·kg⁻¹，Mg²⁺为2.51 cmol·kg⁻¹，Cl⁻为7.28 cmol·kg⁻¹，SO₄²⁻为5.51 cmol·kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验设置5个处理：EES，20%噁霉灵可湿性粉剂浸种24 h和土壤表面喷雾(EES-1、EES-2、EES-3)；CMCK，五谷丰素浸种24 h和微生物菌剂MCK在土壤表面撒施(CMCK-1、CMCK-2、CMCK-3)；CM2，五谷丰素浸种24 h和微生物菌剂M2在土壤表面撒施(CM2-1、CM2-2、CM2-3)；CM1，五谷丰素浸种24 h和微生物菌剂M1在土壤表面撒施(CM1-1、CM1-2、CM1-3)；CK，清水浸种24 h和土壤未采用任何药剂处理(CK-1、CK-2、CK-3)。

用4 L有效浓度为50 mg·L⁻¹的五谷丰素(纯度为58%)菌剂浸泡4 kg玉米种子，浸种24 h后晾干。20%噁霉灵可湿性粉剂按照推荐剂量浸种24 h后种子晾干备用。种植玉米前，将微生物菌剂M1、M2、MCK(600 kg·hm⁻²)均匀撒施于农田土壤表面，20%噁霉灵可湿性粉剂(推荐剂量)均匀喷施于土壤表面。然后将所有试验小区进行旋耕，深度约20 cm。每个处理4个重复小区，每个小区面积约70 m²，小区之间用宽度为1 m的田埂隔开。试验期间进行正常水肥管理和杀虫，不施用任何杀菌剂。

1.3 样本采集

2020年9月9日玉米蜡熟期采集田间土壤，每个小区按照对角线法采集5点样本，土样混合后装入自封袋；每个处理采集4份样本，然后将相同处理的4份样本混合均匀，分成3份，自封袋上作好标记。所有样本放入控温采样箱内(内有干冰)带回实验室，保存于-80℃冰箱待测。取土器直径为6 cm、长度为20 cm，采集的土壤样本距离玉米根茎部约15 cm，采样

深度为0~20 cm。

1.4 DNA提取、建库与宏基因组测序

利用E.Z.N.A.[®] Soil DNA Kit(Omega Bio-tek, 美国)试剂盒进行样品DNA抽提。完成基因组DNA抽提后，利用TBS-380检测DNA浓度，利用Nano-Drop200检测DNA纯度，利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性。通过Covaris M220(Gene基因有限公司, 中国)将DNA片段化，筛选约400 bp的片段，用于构建PE文库。使用NEXTFLEX[®] Rapid DNA-Seq(Bioo Scientific, 美国)建库，由上海美吉生物医药科技有限公司利用Illumina NovaSeq PE150(Illumina, 美国)测序平台进行宏基因组测序。

1.5 数据处理与分析

运用fastp(<https://github.com/OpenGene/fastp>)剪切reads 3'端和5'端的adapter序列，然后去除质量剪切长度小于50 bp、平均质量低于20和含N碱基的reads，保留高质量single-end reads与pair-end reads^[14]。利用Megahit(<https://github.com/voutcn/megahit>)软件对测序序列进行拼接，最短contig长度≥300 bp。采用MetaGene(<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>)软件对拼接contigs进行ORF预测，将长度≥100 bp的基因序列翻译为氨基酸序列，获得样本基因预测结果。使用CD-HIT软件(<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>)进行聚类(默认参数为90% identity, 90% coverage)，建立非冗余基因集，选取每类最长基因作为代表序列^[15]。运用SOAPaligner(<http://soap.genomics.org.cn/>)比对样品的高质量reads与非冗余基因集(默认参数为95% identity)，获得对应样品的基因丰度信息^[16]。

利用Diamond(<http://www.diamondsearch.org/index.php>, Version 0.8.35)(BLASTP比对参数设置期望值e-value为1e-5)统计物种分类学信息^[17]。运用CAZy数据库的对应工具hmmscan(<http://hmmer.janelia.org/search/hmmscan>)(比对参数设置期望值e-value为1e-5)统计碳水化合物活性酶注释信息。采用Diamond(<http://www.diamondsearch.org/index.php>)(BLASTP比对参数设置期望值e-value为1e-5)统计ARGs抗性功能注释信息。

使用Excel 2016计算土壤微生物群落门和属水平的物种组成，统计碳水化合物酶类和ARGs的比例。利用DPS 18.1进行统计分析，计算平均值±标准误(SE)，显著性分析采用最小显著差数法(Least significant ranges, LSD)。

2 结果与分析

2.1 序列组装

对15个样品的reads进行过滤处理,共获得1 356 052 816条clean reads,每个样品的reads数目范围为83 928 522~107 437 926。对contigs进行评估发现,contigs长度的平均N50及平均N90分别为566 bp与399 bp。共获得19 251 162个ORFs,每个样本的ORFs平均长度为403 bp。样本的序列组装和基因预测结果说明测序结果较好,序列长度可以用于下一步分析。对15个玉米土壤微生物群落样本的contigs进行物种注释,共获得15 632个物种,其中细菌占主导地位的95.21%,古菌和病毒分别占4.24%和0.04%,真核生物(包括真菌)的比例只有0.32%,没有分类注释信息的占比为0.19%。

2.2 生物菌剂施用对玉米田土壤微生物群落多样性及结构的影响

2.2.1 对土壤微生物群落多样性的影响

通过主坐标(PCoA)分析,发现不同处理的土壤微生物群落多样性在门水平上差异较明显(图1)。PCoA的前3个主成分共解释了88.98%的群落差异,其中轴I、轴II和轴III分别为66.50%、16.80%和5.68%,5个处理的微生物群落在门水平上分布比较分散。Beta分析结果说明施用生物菌剂对玉米土壤微生物群落门水平影响较大。

图2显示了生物菌剂施用对属水平的玉米田土壤微生物群落β-多样性的影响。PCoA的前3个主成分共解释了83.53%的群落差异,其中轴I、轴II和轴III分别为57.68%、16.26%和9.59%,属水平上的不同

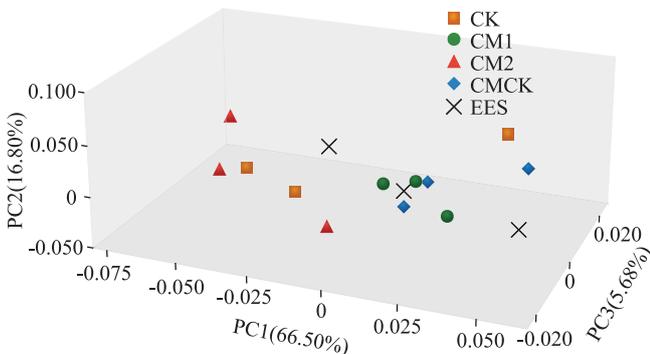


图1 生物菌剂对玉米田土壤微生物群落β-多样性的影响(门水平)

Figure 1 Impact of microbial agents on β-diversity of soil bacterial groups in maize field (phylum level)

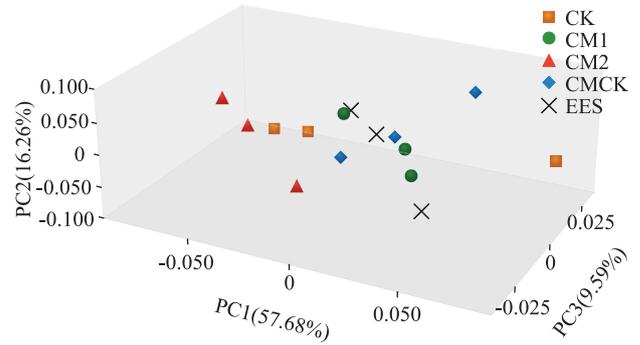


图2 生物菌剂对玉米田土壤微生物群落β-多样性的影响(属水平)

Figure 2 Impact of microbial agents on β-diversity of soil bacterial groups in maize field (genus level)

处理微生物群落分布在不同象限,表明生物菌剂施用对属水平的玉米土壤微生物群落多样性影响较大。

2.2.2 对土壤微生物群落门水平的影响

土壤细菌在土壤微生物群落中占据主导地位,玉米田土壤细菌群落中相对丰度>5%的优势菌门主要包括变形菌门(Proteobacteria, 32.59%)、放线菌门(Actinobacteria, 20.91%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 10.82%)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes, 6.45%)。图3表明,与CK相比,4组处理对相对丰度>1%的土壤细菌门丰度的影响主要表现在变形菌门、放线菌门、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)的相对丰度增加。生物菌剂(CM1和CM2)处理下变形菌门、放线菌门和厚壁菌门丰度平均分别增加2.58%、4.84%和39.90%,酸杆菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门(Chloroflexi)和Candidatus Rokubacteria丰度平均分别下降9.97%、7.71%、13.53%和3.60%。土壤微生物群落中有2.71%的细菌无法分类。

古菌在土壤微生物群落中的比例为4.24%,奇古菌门(Thaumarchaeota)在土壤微生物群落中的比例为3.43%,广古菌门(Euryarchaeota)的比例为0.55%,泉古菌门(Crenarchaeota)的比例为0.09%,深古菌门(Candidatus_Bathyarchaeota)的占比<0.01%。CM1、CM2、CMCK和EES处理后,土壤中的奇古菌门丰度分别增加了16.28%、36.54%、8.31%和9.06%;CM1和CM2处理使广古菌门丰度降低9.09%,CMCK和EES处理的广古菌门丰度没有变化;泉古菌门和深古菌门丰度没有变化。比较15个样本的古菌类群(图4)发现,奇古菌门基因拷贝数量在古菌类群中占据主导地

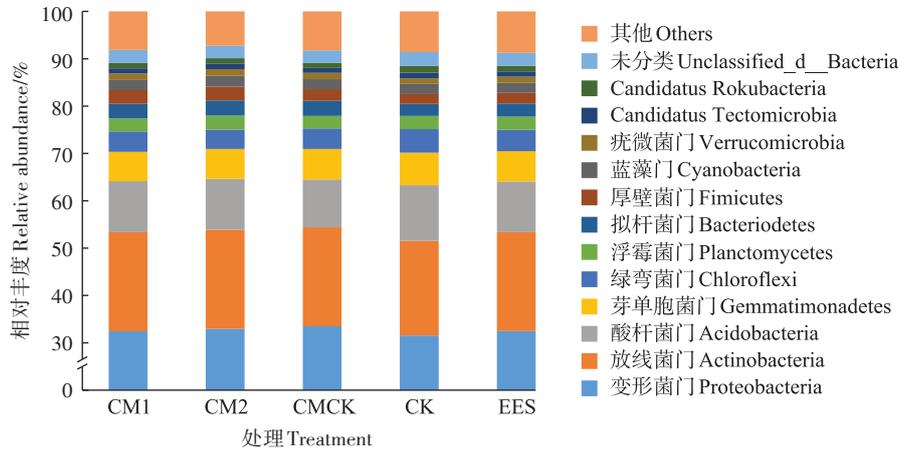


图3 生物菌剂对玉米田土壤细菌类群门丰度的影响(相对丰度>1%)

Figure 3 Impact of microbial agents on phylum abundance of soil bacterial groups in maize field(Relative abundance above 1%)

位,达到80.74%,其中亚硝化球菌(*Nitrososphaera*)是最优势菌群,在古菌类群中占比为70.14%,其次为氨氧化古菌(*Candidatus_Nitrosocosmicus*,21.07%)。广古菌门(*Euryarchaeota*,13.20%)、泉古菌门(*Crenarchaeota*,2.08%)和深古菌门(*Candidatus_Bathyarchaeota*,1.54%)也是古菌类群的优势菌门,洛基古菌门(*Candidatus_Lokiarchaeota*)占古菌类群约0.09%,未分类古菌的占比为2.04%。

土壤真菌在土壤微生物群落中所占的比例非常低,15组样本检测到9个真菌门,1个未分类(图5)。子囊菌门(*Ascomycota*)占真菌类群主导地位,为64.54%,CM1、CM2、CMCK和EES处理后土壤中子囊

菌门丰度分别下降2.77%、1.52%、4.76%和1.73%;担子菌门(*Basidiomycota*)在真菌类群中的占比为20.36%,CM1和CM2处理后土壤中担子菌门丰度分别降低2.68%和2.20%,CMCK和EES处理后担子菌门丰度分别增加16.53%和3.26%。壶菌门(*Chytridiomycota*)占真菌类群的比例为4.47%,CM1、CM2和EES处理后丰度下降约6.21%,CMCK处理后丰度不变。球囊菌门(*Glomeromycota*)的占比为2.08%,4个处理的丰度均较CK增加。大约有6.17%的真菌无法

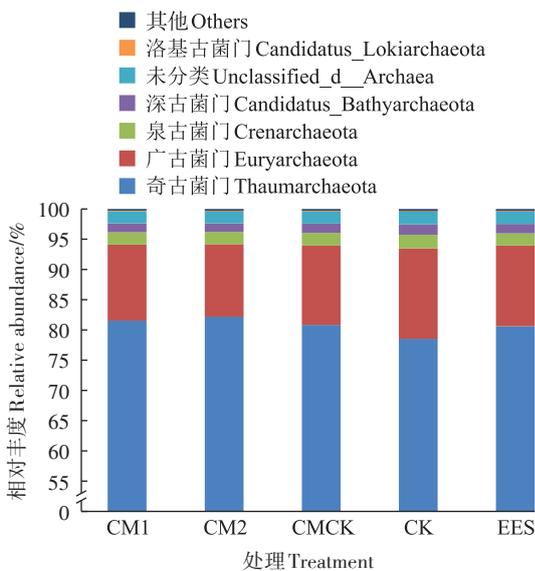


图4 生物菌剂对玉米田土壤古菌类群门丰度的影响

Figure 4 Impact of microbial agents on phylum abundance of soil archaeal groups in maize field

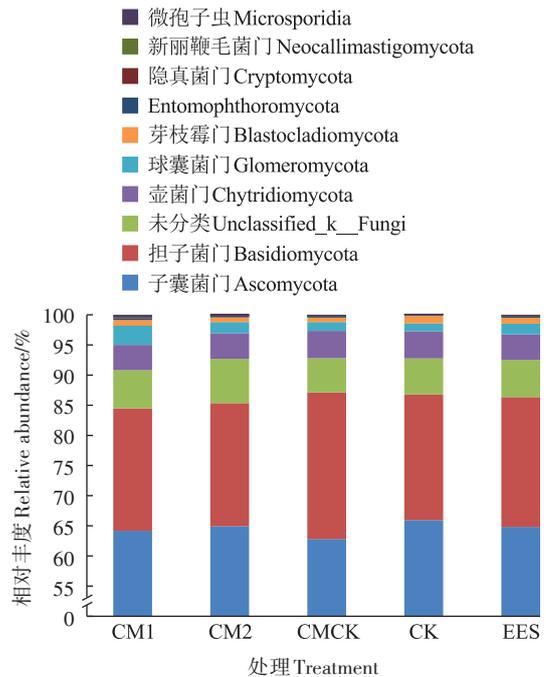


图5 生物菌剂对玉米田土壤真菌类群门丰度的影响

Figure 5 Impact of microbial agents on phylum abundance of soil fungal groups in maize field

分类。

2.2.3 对土壤微生物群落属水平的影响

所有样本的土壤微生物群落中相对丰度>1%的属有13个(图6),主要包括芽单胞菌属(*Gemmatimonas*, 3.45%)、*Gemmatirosa* (2.99%)、土壤红杆菌属(*Sollrubrobacter*, 2.57%)、亚硝化球菌属(*Nitrososphaera*, 2.45%)、类诺卡氏菌属(*Nocardioides*, 2.40%)、*Pyrinomonas* (1.92%)、链霉菌属(*Streptomyces*, 1.57%)、*Conexibacter* (1.19%)、硝化螺菌属(*Nitrospira*, 1.18%)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, 1.16%)、念珠菌固体杆菌属(*Candidatus-Solibacter*, 1.15%)、慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*, 1.10%)和 *Candidatus-Entotheonella* (1.14%),有14.35%的微生物属无法分类,氨氧化古菌属(*Candidatus-Nitrosocosmicus*, 0.75%)、芽孢杆菌属(*Bacillus*, 0.42%)和假单胞菌属(*Pseudomonas*, 0.37%)在土壤微生物群落中的占比比较低。

图6表明生物菌剂施用对玉米田土壤微生物群落属水平的组成影响比较大,CM1、CM2、CMCK和EES处理使芽单胞菌属丰度降低了6.50%,但增加了土壤红杆菌属、亚硝化球菌属、类诺卡氏菌属、*Pyrinomonas*、链霉菌属、硝化螺菌属、鞘氨醇单胞菌属、氨氧化古菌属、芽孢杆菌属和假单胞菌属的丰度。CM1、CM2和CMCK处理后土壤中芽孢杆菌属丰度分别是CK的1.77、1.86倍和0.86倍,EES处理后的丰度没有变化;CM1、CM2和EES处理后假单胞菌属丰度分别增加了8.57%、11.43%和2.86%;CM1和CM2处

理后链霉菌属丰度增加了14.44%,类诺卡氏菌属丰度增加了6.87%。结果说明生物菌剂施用可以增加生防菌的丰度,且效果优于化学农药处理。

2.3 生物菌剂施用对玉米田土壤微生物物种功能基因的影响

所有样品的 contigs 通过基因预测,获得非冗余开放阅读框(ORFs)7 383 980个,其中228 171个ORFs预测为CAZy,997个ORFs预测为ARGs。

CAZy可以降解、修饰及生产糖苷键。图7显示,

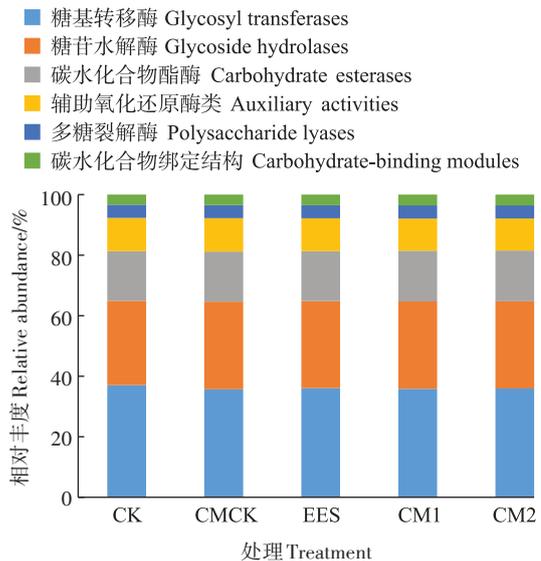


图7 生物菌剂对玉米田土壤微生物CAZy功能基因的影响
Figure 7 Impact of microbial agents on the CAZy composition of soil microorganisms in maize field

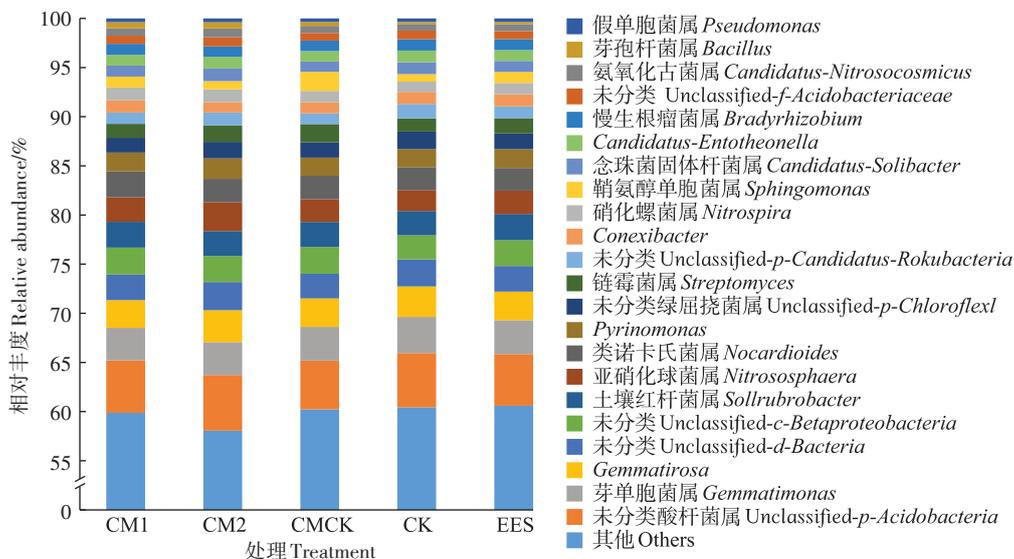


图6 生物菌剂对玉米田土壤微生物群落属水平丰度的影响

Figure 6 Impact of microbial agents on genus abundance of soil microbial community in maize field

CM1 和 CM2 处理后土壤微生物的多糖裂解酶 (Polysaccharide lyases, PLs) 和碳水化合物结合结构 (Carbohydrate-binding modules, CBMs) 基因丰度增加, CMCK 和 EES 处理组 2 种酶的基因丰度下降。样本中不同 CAZy 的占比发生较大变化, 糖基转移酶 (Glycosyl transferases, GTs) 和辅助氧化还原酶类 (Auxiliary activities, AAs) 的占比下降, 糖苷水解酶 (Glycoside hydrolases, GHs)、碳水化合物酯酶 (Carbohydrate esterases, CEs) 和碳水化合物结合结构的占比增加, 多糖裂解酶的占比没有发生变化 ($P>0.05$)。

土壤微生物拥有丰富多样的抗药性和 ARGs, 微生物的抗药性和 ARGs 对公共健康的威胁已成为全球亟待解决的难题。图 8 显示, 5 组样本的玉米农田土壤中 ARGs 基因丰度的变化较大; CM1、CM2、CMCK 和 EES 处理后的杆菌肽 (Bacitracin) 基因丰度较 CK 分别下降了 5.43%、2.22%、4.76% 和 2.96%; 氟喹诺酮 (Fluoroquinolone)、氯霉素 (Chloramphenicol)、氨基糖苷 (Aminoglycoside) 和 β -内酰胺 (Beta-lactam) 类 ARGs 基因丰度增加。

硝化微生物包括氨氧化微生物 (AOA 和 AOB) 和亚硝酸盐氧化微生物 (NOB)。表 1 表明, 样本土壤中硝化微生物占总体微生物的比例为 3.845%~4.701%; 不同处理的 AOA 硝化细菌基因丰度增加; 3 个生物菌剂处理增加了 AOB 和 NOB 的硝化细菌基因丰度, 而化学农药 EES 处理降低了 AOB 和 NOB 的硝化细菌基因丰度。CM1 和 CM2 处理的硝化微生物分别增加了

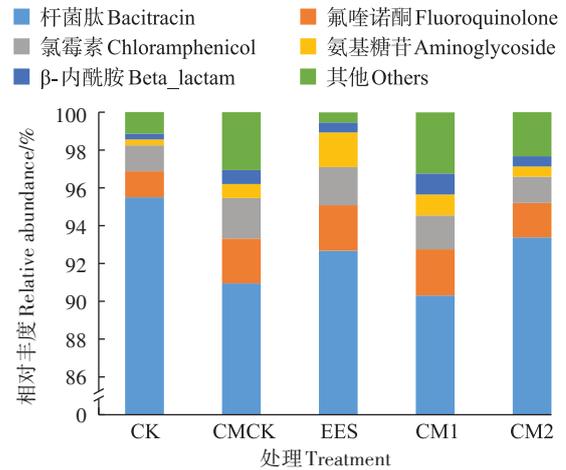


图 8 生物菌剂对玉米田土壤微生物中 ARGs 组成的影响
Figure 8 Impact of microbial agents on the ARGs composition of soil microorganisms in maize field

10.61% 和 21.95%。结果说明生物菌剂处理可以提高土壤硝化微生物参与氮素循环的能力, 增加土壤氮营养水平, 而化学农药则会降低氮素营养水平。

2.4 生物菌剂施用后玉米田土壤微生物群落的主成分分析 (PCA)

在纲水平下, PCA 分析前两个主成了解释了 98.78% 的样本 CAZy 差异, 其中 PC1 和 PC2 分别解释了 95.61% 和 3.17% (图 9)。通过 NMDS 分析发现, 5 组样本土壤中 CAZy 分布差异比较明显 (tress: 0.001)。ANOSIM 分析表明, CAZy 的组间有较大差异 ($R=0.26, P=0.02$)。

表 1 生物菌剂对玉米田土壤硝化微生物基因丰度的影响 (%)

Table 1 Impact of microbial agents on the gene abundance of nitrifying microorganisms in maize field (%)

功能分组 Functional group	属水平 Genus level	CK	CMCK	EES	CM1	CM2
氨氧化古菌 AOA	<i>Nitrosopumilus</i>	0.028c	0.029bc	0.029bc	0.031b	0.037a
	<i>Nitrososphaera</i>	2.130d	2.320c	2.370c	2.510b	2.940a
小计 Subtotal		2.158d	2.349c	2.399c	2.541b	2.977a
氨氧化细菌 AOB	<i>Nitrosospira</i>	0.129ab	0.128ab	0.117b	0.132a	0.136 a
	<i>Nitrosomonas</i>	0.071b	0.081a	0.069c	0.081a	0.082a
	<i>Nitrosococcus</i>	0.130a	0.134a	0.128a	0.132a	0.137a
小计 Subtotal		0.330b	0.343a	0.314c	0.345a	0.355a
硝化细菌 NOB	<i>Nitrobacter</i>	0.042b	0.076a	0.045b	0.046b	0.047b
	<i>Nitrococcu</i>	0.030a	0.028a	0.029a	0.030a	0.030a
	<i>Nitrospina</i>	0.049b	0.052a	0.044c	0.053a	0.051a
	<i>Nitrospira</i>	1.236a	1.241a	1.141b	1.249a	1.241a
小计 Subtotal		1.357b	1.397a	1.259c	1.378b	1.369b
合计 Total		3.845d	4.089b	3.972c	4.264b	4.701a

注: 同行不同小写字母表示处理间差异显著 (最小显著差异法 LSD, $P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in a line indicate significant differences among treatments using LSD test at $P<0.05$.

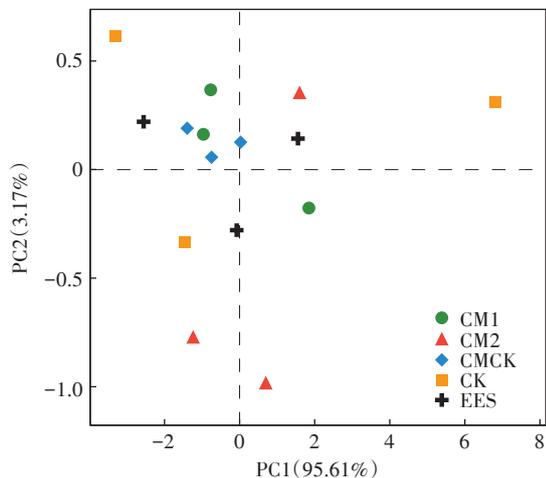


图9 玉米田土壤微生物 CAZy 的主成分分析

Figure 9 The principal components analysis of CAZy of soil microorganisms in maize field

PCA 分析中前两个主成了解释了 59.33% 的样本 ARGs 差异,其中 PC1 和 PC2 分别解释了 41.13% 和 18.20% (图 10)。通过 NMDS 分析发现,5 组样本土壤中 ARGs 呈现明显的分布差异 (stress: 0.029)。ANOSIM 分析表明,5 组 ARGs 抗性基因之间差异明显 ($R=0.15, P=0.012$)。

3 讨论

土壤微生物具有矿化有机质、形成腐殖质、促进土壤养分循环、修复污染土壤等生态服务功能^[18-19],是衡量土壤肥力和土壤质量健康的指标之一^[20]。土壤微生物常受到肥料、化学农药、种植物种及模式、土

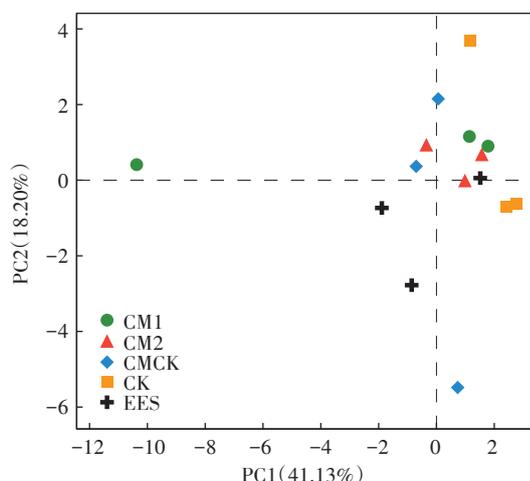


图10 玉米田土壤微生物 ARGs 的主成分分析

Figure 10 The principal components analysis of ARGs of soil microorganisms in maize field

壤养分状况等因子影响^[21-22]。土壤细菌群落优势菌门主要是变形菌门、放线菌门和酸杆菌门^[23]。变形菌门属于富营养菌群,在营养丰富的土壤中会迅速繁殖;绿弯菌门的耐胁迫能力较强,适宜在养分贫瘠的土壤环境中繁殖^[24]。溶磷菌肥施用可以显著降低玉米土壤厚壁菌门丰度^[25]。单凯等^[26]和许艳蕊等^[27]的研究发现使它隆处理的玉米非根际土壤中酸杆菌门和绿弯菌门丰度增加,变形菌门和放线菌门丰度降低。本研究的五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 或 M2 撒施增加了玉米土壤中变形菌门、放线菌门和厚壁菌门丰度,降低了酸杆菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门丰度。这一研究结果与溶磷菌肥的研究结果有相似之处,而与除草剂使它隆的研究结果差异较大。这可能是由于溶磷菌肥与生物菌剂都属于微生物产品,一方面促进了土壤中部分有益微生物生长、抑制了有害微生物的生长,另一方面改善了土壤理化性质、土壤酶活性,提高了土壤微生物量^[11]和土壤肥力,适合富营养菌群(变形菌门)生长,而不利于耐胁迫菌群(绿弯菌门)生长。另外,生物菌剂的功能菌株是芽孢杆菌,其施入土壤后直接影响了土壤中芽孢杆菌的相对丰度和基因功能。微生物菌剂 M1 和 M2 载体的营养成分存在差异,因此也会引起 2 个处理的细菌门和属组成结构发生变化。CM1 和 CM2 处理增加了土壤红杆菌属、类诺卡氏菌属、链霉菌、鞘氨醇单胞菌属、芽孢杆菌和假单胞菌的丰度。研究报道显示,鞘氨醇单胞菌属常用于有机磷农药污染和石油污染土壤的生物修复^[28],类诺卡氏菌属^[29]、链霉菌^[30]、芽孢杆菌^[31]和假单胞菌^[32]中很多微生物具有生防和促生效果。芽孢杆菌可以分解土壤有机质,其分解过程中产生的有机酸能够中和土壤中的盐碱,从而降低盐渍化的危害^[33-34]。因此,CM1 和 CM2 处理可以增强玉米田土壤微生物的生态服务功能,有利于玉米根系土壤健康。

土壤古菌参与土壤元素转化,特别是在氮和碳的地球化学循环中发挥重要作用,对陆地生态系统的影响至关重要^[35-37]。厌氧条件下的有机物通过产甲烷古菌产生甲烷气体,硝化作用的氨氧化过程则需要氨氧化古菌^[38-39]。亚硝化球菌、硝化螺菌属和氨氧化古菌是促进土壤氮素转化的重要微生物,五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 或 M2 撒施增加了玉米田土壤中氨氧化微生物(AOA 和 AOB)和亚硝酸盐氧化微生物(NO₂)的基因丰度,特别是亚硝化球菌、硝化螺菌属和氨氧化古菌的基因丰度,从而可增加土壤全氮和硝态氮含量^[9],提高土壤肥力,改善土壤质量。

土壤微生物群落之间因为争夺营养而存在一定的竞争关系,某些菌群会优先占据营养或生殖位点等资源,那些无法竞争到营养的菌群的生长会受到抑制^[40]。生物菌剂施用后可能增强了土壤细菌和古菌对碳、氮等养分的竞争,从而促进了细菌和古菌的生长,降低了部分真菌对养分的竞争,使此类真菌的生长受到了抑制。土壤真菌群落优势菌门为子囊菌门,外源投入物可以显著影响真菌门丰度^[41]。由于有机肥比秸秆更易被降解,子囊菌门对配施有机肥的环境喜好性更强,故在配施有机肥模式中子囊菌门的相对丰度更高。施用菌渣有机肥显著增加了土壤中毛霉门丰度,降低了子囊菌门、担子菌门、被孢霉门和壶菌门丰度^[42]。木霉菌施用可以降低盐碱地玉米土壤中子囊菌门和球菌门丰度,增加接合菌门和担子菌门丰度^[43]。五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 或 M2 撒施后,玉米土壤中子囊菌门、担子菌门和壶菌门丰度下降,腐生物质的分解增加,促进了土壤养分循环。微生物菌剂 M1 或 M2 对镰刀菌、立枯丝核菌等多种植物病原菌有显著拮抗作用,可以抑制土壤中致病菌的丰度,降低土传病害的危害^[44]。

CAZy 在细菌和真菌等生物体生命活动过程中均具有重要作用^[45-46],其参与糖类物质的合成和降解过程,具有维持自然界物质循环的生态功能^[47]。微生物的 CAZy 可降解植物细胞壁,进而可降解木质纤维素^[48]。DAI 等^[49]采用宏基因组技术研究发现,在牦牛瘤胃木质纤维素降解过程中,具有水解酶活力的蛋白质来自 GH5、GH9、GH10 等糖苷水解酶家族。五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 或 M2 撒施处理后土壤微生物的多糖裂解酶和碳水化合物结合结构丰度增加,不同 CAZy 的占比发生较大变化。CAZy 基因丰度增加有利于加速玉米田土壤中木质纤维素的降解过程并改善土壤生物酶活性。土壤生物酶检测也证实这一结论,五谷丰素浸种联合菌剂 M1 或 M2 撒施显著增加土壤中碱性磷酸酶、脲酶、蛋白酶、多酚氧化酶活性(待发表)。ARGs 引起的微生物耐药性是人类面临的最紧迫的问题之一,粪肥施用等举措加速了土壤环境中 ARGs 的扩散和传播^[50-51]。土壤中 ARGs 的分布与微生物群落结构密切相关,土壤细菌群落结构对土壤 ARGs 组成的影响最大,其中拟杆菌门和厚壁菌门之间关系最为密切^[52]。土壤养分和土壤中基因水平转移也是主要影响因素^[53]。谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 或 M2 撒施处理后土壤中杆菌肽和四环素基因丰度下降。由此推测,生物菌剂处理土壤可以降低

低土壤中杆菌肽和四环素的污染,有利于土壤健康。

4 结论

(1) 五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 和 M2 增加玉米田土壤细菌的变形菌门、放线菌门和厚壁菌门丰度,降低酸杆菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门丰度,增加土壤古菌的奇古菌门和广古菌门丰度,降低土壤真菌的子囊菌门、担子菌门和壶菌门丰度。

(2) 五谷丰素浸种联合微生物菌剂 M1 和 M2 降低玉米田土壤的芽单胞菌属丰度,增加芽孢杆菌属、假单胞菌属、类诺卡氏菌属、链霉菌属、亚硝化球菌属、硝化螺菌属和氨氧化古菌属丰度。

(3) 生物菌剂施用增加玉米田土壤微生物的多糖裂解酶和碳水化合物结合结构基因丰度,降低杆菌肽和四环素基因丰度,增加氟喹诺酮、氯霉素、氨基糖苷和 β -内酰胺类等抗生素抗性基因丰度。

(4) 生物菌剂施用可以增加玉米田土壤中氨氧化微生物(AOA 和 AOB)和亚硝酸盐氧化微生物(NO₃⁻)的基因丰度,提高土壤硝化微生物参与氮素循环的能力,增加土壤氮营养水平。

参考文献:

- [1] 马海霞,张丽丽,孙晓萌,等.基于宏组学方法认识微生物群落及其功能[J].微生物学通报,2015,42(5):902-912. MA H X, ZHANG L L, SUN X M, et al. Understanding microbial communities and their functions by meta-omics approaches[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(5):902-912.
- [2] BAI R, WANG J T, DENG Y, et al. Microbial community and functional structure significantly varied among distinct types of paddy soils but responded differently along gradients of soil depth layers[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:945.
- [3] 沙月霞,李明洋,伍顺华,等.微生物菌剂拌土对盐碱地玉米茎基腐病的预防及促生效果[J].中国农学通报,2021,37(5):75-82. SHA Y X, LI M Y, WU S H, et al. Microbial agents mixed with saline-alkaline soil: Effect of prevention of stem basal rot and growth-promoting on maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(5):75-82.
- [4] 沙月霞,沈瑞清.微生物菌剂浸种联合生物菌肥防控玉米茎腐病的应用效果[J].玉米科学,2022,33(3):156-161. SHA Y X, SHEN R Q. Efficacy of soaking seed in microbial agent and combined with microbial fertilizer in integrated control of maize stalk rot[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2022, 33(3):156-161.
- [5] 徐密林.五谷丰素对玉米生长发育及产量的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2018. XU M L. Effects of Wugufengsu on growth and yield of maize[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.
- [6] 沙月霞,朱建祥,马洪涛,等.五谷丰素浸种对玉米茎基腐病的防控效果和促生作用[J].宁夏农林科技,2022,63(5):5-8,12. SHA Y X, ZHU J X, MA H T, et al. Control effect of seed soaked by Wugufeng-

- su on maize disease and growth promotion[J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2022, 63(5):5-8, 12.
- [7] 程星凯. 甲基营养型芽孢杆菌TA-1的分离鉴定及其对玉米茎基腐病的防效评价[D]. 泰安:山东农业大学, 2018. CHENG X K. Isolation and identification of *Bacillus methylotrophicus* TA-1 and its biocontrol effects on maize stalk rot[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2018.
- [8] 张美存, 程田, 多立安, 等. 微生物菌剂对草坪植物高羊茅生长与土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2017, 37(14):4763-4769. ZHANG M C, CHENG T, DUO L A, et al. Effects of microbial agents on the growth of turfgrass *Festuca arundinacea* and soil enzyme activity[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(14):4763-4769.
- [9] CHEN J, DOU K, GAO Y D, et al. Mechanism and application of *Trichoderma* spp. in biological control of corn diseases[J]. *Mycosystema*, 2014, 33(6):1154-1167.
- [10] 冯帅. 固氮施氏假单胞菌A1501-玉米根际联合固氮作用及其微生物群落分析[D]. 绵阳:西南科技大学, 2014. FENG S. Biological nitrogen fixation of *Pseudomonas stutzeri* A1501 associated with maize and microbial community analysis[D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2014.
- [11] 沙月霞, 王晨曦, 邢敏, 等. 微生物菌剂拌土对玉米农田土壤细菌群落多样性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(5):138-142, 146. SHA Y X, WANG C X, XING M, et al. Effect of clay treated by microbial agents on soil bacterial community diversity of maize field[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(5):138-142, 146.
- [12] 侯景清, 王旭, 陈玉海, 等. 乳酸菌复合制剂对盐碱地改良及土壤微生物群落的影响[J]. *南方农业学报*, 2019, 50(4):710-718. HOU J Q, WANG X, CHEN Y H, et al. Effects of lactic acid bacteria compound preparation on improvement of saline-alkali soil and soil microbial community[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(4):710-718.
- [13] 王启全. 生物炭及降解菌剂对污染土壤微生物及功能基因的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2019. WANG Q Q. Effects of biochar and degrading microbial agents on contaminated soil microorganisms and functional genes[D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2019.
- [14] URITSKIY G V, DIRUGGIERO J, TAYLOR J. MetaWRAP: A flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1):158.
- [15] LI W, GODZIK A. Cd-hit: A fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences[J]. *Bioinformatics*, 2006, 22(13):1658-1659.
- [16] PATRO R, DUGGAL G, LOVE M I, et al. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(4):417-419.
- [17] WOOD D E, SALZBERG S L. Kraken: Ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(3):R46.
- [18] DORAN J W, SARRANTONIO M, LIEBIG M A. Soil health and sustainability[J]. *Advances in Agronomy*, 1996, 56:1-54.
- [19] KOKALIS-BURELLE N, MCSORLEY R, WANG K H, et al. Rhizosphere microorganisms affected by soil solarization and cover cropping in *Capsicum annuum* and *Phaseolus lunatus* agroecosystems[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 119:64-71.
- [20] 武琳慧, 邵玉琴, 鲁横银, 等. 乌梁素海湿地过渡带土壤微生物类群数量与分布特征[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(4):759-764. WU L H, SHAO Y Q, LU J Y, et al. Soil microbes and their distribution in Wuliangsuhai wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4):759-764.
- [21] 陈坤, 徐晓楠, 彭靖, 等. 生物炭及炭基肥对土壤微生物群落结构的影响[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(10):1920-1930. CHEN K, XU X N, PENG J, et al. Effects of biochar and biochar-based fertilizer on soil microbial community structure[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(10):1920-1930.
- [22] 吕宁, 石磊, 刘海燕, 等. 生物药剂滴施对棉花黄萎病及根际土壤微生物数量和多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(2):602-614. LÜ N, SHI L, LIU H Y, et al. Effects of biological agent driping on cotton *Verticillium* wilt and rhizosphere soil microorganism[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(2):602-614.
- [23] 韩亚飞, 伊文慧, 王文波, 等. 基于高通量测序技术的连作杨树人工林土壤细菌多样性研究[J]. *山东大学学报(理学版)*, 2014, 49(5):1-6. HAN Y F, YI W H, WANG W B, et al. Soil bacteria diversity in continuous cropping poplar plantation by high throughput sequencing[J]. *Journal of Shandong University (Natural Science)*, 2014, 49(5):1-6.
- [24] HUANG Q, WANG J L, WANG C, et al. The 19-years inorganic fertilization increased bacterial diversity and altered bacterial community composition and potential functions in a paddy soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 144:60-67.
- [25] 陈莎莎, 孙敏, 王文超, 等. 溶磷真菌固体发酵菌肥对玉米生长及根际细菌群落结构的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(9):1910-1917. CHEN S S, SUN M, WANG W C, et al. Effects of solid biofertilizers of phosphate-solubilizing fungi on maize growth and the bacterial community structure in rhizospheres[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(9):1910-1917.
- [26] 单凯, 王春蕾, 方志军, 等. “使它隆”对玉米根部不同微生物环境细菌群落多样性的影响[J]. *微生物学报*, 2019, 59(3):510-522. SHAN K, WANG C L, FANG Z J, et al. Effects of “Starane” on the diversity of bacterial communities in different micro-environment of maize roots[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(3):510-522.
- [27] 许艳蕊, 方志军, 卢晓平, 等. 基于高通量测序技术分析使它隆对玉米土壤细菌多样性的影响[J]. *微生物学报*, 2017, 57(7):985-993. XU Y R, FANG Z J, LU X P, et al. Effects of Starane on maize soil bacterial diversity analyzed by high-throughput sequencing technology[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(7):985-993.
- [28] 张云龙. 矿区复垦土壤功能菌株:鞘氨醇单胞菌的筛选及功能分析[D]. 太原:山西大学, 2021. ZHANG Y L. Screening and functional analysis of *Sphingomonas*, a functional strain of reclaimed soil in mining areas[D]. Taiyuan:Shanxi University, 2021.
- [29] 雒晓芳, 陈俊楠, 田丹妮, 等. 白色类诺卡氏菌的分离鉴定及其抗菌活性初探[J]. *中国酿造*, 2015, 34(10):58-61. LUO X F, CHEN J N, TIAN D N, et al. Separation and identification of *Nocardioides albus* and preliminary research on its antibacterial activity[J]. *China*

- Brewing, 2015, 34(10):58-61.
- [30] FENG S, TANG S C, JIAN Y F, et al. Complete genome sequence data of a novel *Streptomyces* sp. strain A2-16, a potential biological control agent for potato late blight[J]. *Plant Disease*, 2022, 106(2):723-726.
- [31] SHA Y X, ZENG Q C, SUI S T. Screening and application of *Bacillus* strains isolated from nonrhizospheric rice soil for the biocontrol of rice blast[J]. *Plant Pathology Journal*, 2020, 36(3):231-243.
- [32] 沙月霞, 黄泽阳, 马瑞. 嗜碱假单胞菌Ej2对稻瘟病的防治效果及对水稻内源激素的影响[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(2):320-328. SHA Y X, HUANG Z Y, MA R. Control efficacy of *Pseudomonas alcaliphila* strain Ej2 against rice blast and its effect on endogenous hormones in rice[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(2):320-328.
- [33] 柴晓彤, 顾金凤, 毛亮, 等. 微生物菌肥对盐渍化土壤中盐分离子及有机质含量的影响[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2017(1):78-84. CHAI X T, GU J F, MAO L, et al. Effect of microbial fertilizer on contents of salt ions and organic matter in saline soil[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science)*, 2017(1):78-84.
- [34] ADEKUNLE V A J, DAFIEWHARE H B, AJIBODE O F. Microbial population and diversity as influenced by soil pH and organic matter in different forest ecosystems[J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2005, 8:1478-1484.
- [35] ERKEL C, KUBE M, REINHARDT R, et al. Genome of rice cluster I archaeal key methane producers in the rice rhizosphere[J]. *Science*, 2006, 313(5785):370-372.
- [36] SHIMIZU S, UPADHYE R, ISHIJIMA Y, et al. *Methanosarcina horonobensis* sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from a deep subsurface miocene formation[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61:2503-2507.
- [37] YASGIRO Y, SAKAI S, EHARA M, et al. *Methanoregula formicica* sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from methanogenic sludge[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61:53-59.
- [38] KONNEKE M, BERNHARD A E, TORRE J R, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. *Nature*, 2005, 437(7058):543-546.
- [39] HATZENPICHLER R, LEBEDEVA E V, SPIECK E, et al. A moderately thermophilic ammonia oxidizing crenarchaeote from a hot spring[J]. *PNAS*, 2008, 105(6):2134-2139.
- [40] 刘纪爱, 束爱萍, 刘光荣, 等. 施肥影响土壤性状和微生物组的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(9):21-28. LIU J A, SHU A P, LIU G R, et al. Research progress on effect of fertilization on soil properties and microbiome[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(9):21-28.
- [41] 燕红梅, 张欣钰, 檀文君, 等. 5种植物根际真菌群落结构与多样性[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(2):364-369. YAN H M, ZHANG X Y, TAN W J, et al. Biodiversity and composition of rhizosphere fungal communities associated with five plant species[J]. *Chinese Journal Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(2):364-369.
- [42] 彭小武, 丁丽, 张琳, 等. 抗生素菌渣有机肥对玉米土壤真菌群落结构和功能类群的影响[J]. *中国资源综合利用*, 2020, 38(10):1-11. PENG X W, DING L, ZHANG L, et al. The effect of antibiotic residue organic fertilizer on the community structure and functional groups of corn soil fungi[J]. *China Resources Comprehensive Utilization*, 2020, 38(10):1-11.
- [43] 付健. 木霉菌提高玉米耐盐碱机理及其对根际土壤微生物多样性的影响[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学, 2017. FU J. *Trichoderma asperellum* to improve the saline-alkaline tolerance mechanisms of maize and its influence on soil microbial diversity[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2017.
- [44] 沙月霞, 邢敏, 李明洋, 等. 微生物菌剂拌土对玉米茎基腐病的预防和促生效果[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(4):141-144. SHA Y X, XING M, LI M Y, et al. Preventive and promoting efficacy of microbial agents mixed with soil against the maize stem basal rot in Ningxia[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(4):141-144.
- [45] 韩长志, 祝友朋, 许僖. 枯草芽孢杆菌XF-1的碳水化合物活性酶类(CAZymes)蛋白预测与遗传关系分析[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(3):95-100. HAN C Z, ZHU Y P, XU X. Prediction for CAZymes proteins from *Bacillus subtilis* XF-1 genome[J]. *Journal of Henan Normal University(Science Edition)*, 2018, 46(3):95-100.
- [46] 韩长志, 许僖. 禾谷炭疽菌碳水化合物酶类蛋白注释及其理化性质分析[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 45(3):48-52. HAN C Z, XU X. Prediction for CAZymes proteins from *Colletotrichum graminicola* genome[J]. *Henan Normal University(Science Edition)*, 2017, 45(3):48-52.
- [47] STAFFORD G P, FREY A M, SATUR M J. Periodontal pathogen CAZymes: Host-pathogen biology, biochemistry and biotechnological exploitation[J]. *Journal of Oral Microbiology*, 2017, 9:1325208.
- [48] SISTA KAMESHWAR A K, QIN W. Comparative study of genome-wide plant biomass-degrading CAZymes in white rot, brown rot and soft rot fungi[J]. *Mycology*, 2017, 9(12):1-13.
- [49] DAI X, ZHU Y, LUO Y, et al. Metagenomic insights into the fibrolytic microbiome in yak rumen[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e40430.
- [50] 苑学霞, 梁京芸, 范丽霞, 等. 粪肥施用土壤抗生素抗性基因来源、转移及影响因素[J]. *土壤学报*, 2020, 57(1):36-47. YUAN X X, LIANG J Y, FAN L X, et al. Effects of manure application on source and transport of antibiotic resistant genes in soil and their affecting factors[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(1):36-47.
- [51] 李毅, 张利环, 冯焱, 等. 基于宏基因组技术解析南极不同纬度地区土壤抗生素抗性基因的分布与迁移[J]. *微生物学报*, 2021, 61(11):3744-3756. LI Y, ZHANG L H, FENG Y, et al. Deciphering distribution and migration of soil antibiotic resistance genes in different latitude regions of Antarctica by metagenomics[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(11):3744-3756.
- [52] ZHAO Y, SU J Q, AN X L, et al. Feed additives shift gut microbiota and enrich antibiotic resistance in swine gut[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 621:1224-1232.
- [53] UDIKVIC-KOLIC N, WICHMANN F, BRODERICK N A, et al. Bloom of resident antibiotic resistant bacterial in soil following manure fertilization[J]. *PNAS*, 2014, 111(42):15202-15207.

(责任编辑:李丹)