

DOI:10.11766/trxb202206030294

李昌骏, 李婷, 李露露, 缪利, 魏巍, 王芝奥. 生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性与微生物群落结构的影响[J]. 土壤学报, 2023,
LI Changjun, LI Ting[†], LI Lulu, MIAO Li, WEI Wei, WANG Zhiao. Effects of Potassium-Solubilizing Bacteria Loaded Biochar on Soil Enzyme
Activity and Microbial Community Structure [J]. Acta Pedologica Sinica, 2023,

生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性与微生物群落结构的影响^{*}

李昌骏, 李婷[†], 李露露, 缪利, 魏巍, 王芝奥

(四川农业大学资源学院, 成都 611130)

摘要: 为探究生物质炭负载解钾菌对土壤微生物特性的影响, 基于 5 个处理即空白 (CK)、施用化学钾肥 (KCl)、接种解钾菌 (KSB)、施用生物质炭 (BC)、施用生物质炭负载解钾菌 (BC-KSB) 的黑麦草盆栽耗竭试验, 分析不同处理下土壤酶和微生物群落结构的响应特征。结果表明, BC-KSB 相比其余施肥处理更有利于提高土壤脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶的活性, 同时也提高了土壤细菌的物种多样性与菌群丰富度, 并提高了土壤有益菌群 (绿弯菌门、放线菌门、芽孢杆菌属和慢生根瘤菌属) 的丰度, 抑制了土壤致病菌群 (变形菌门和罗河杆菌属) 的繁殖。各施肥处理相比 CK 均显著提升了黑麦草干物质量, 且以 BC-KSB 处理对黑麦草干物质量的提升最为显著。与 CK 和 KCl 相比, BC-KSB 能显著提高土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮、有机质、全氮和速效钾的含量 ($P < 0.05$)。冗余分析表明, 土壤有机质、速效钾、酸性磷酸酶、脲酶和微生物生物量氮是影响细菌群落结构的主要因子, 黑麦草的生长主要受伯克氏菌属和罗河杆菌属的影响较大。可见, BC-KSB 对黑麦草产量、土壤养分、土壤酶活性和细菌群落结构均产生了积极的影响, 对于改良土壤生态环境具有良好的效果。

关键词: 生物质炭; 解钾菌; 微生物群落; 土壤酶活性; 土壤养分

中图分类号: S154.3 文献标志码: A

Effects of Potassium-Solubilizing Bacteria Loaded Biochar on Soil Enzyme Activity and Microbial Community Structure

LI Changjun, LI Ting[†], LI Lulu, MIAO Li, WEI Wei, WANG Zhiao

(College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: **【Objective】** Biochar loaded bacteria is a practical application of microbial immobilization. Biochar is considered as the ideal carrier of microorganisms in recent years because of its large specific surface area, pore diameter and good absorbability. Biochar loaded with *Bacillus* and other exogenous functional microorganisms can increase crop yield, improve root activity, and improve soil enzyme and microbial activity. However, In the process of gradual potassium deficiency, it needs to be further explored that the impact of biochar-loaded potassium-solubilizing bacteria on soil enzyme activity and microbial community structure. Therefore, this paper aims to explore the effect of potassium-solubilizing bacteria-loaded biochar on soil microbial characteristics. **【Method】** Based on pot experiment with ryegrass and five treatments: control (CK), chemical potassium fertilizer

^{*} 四川省科技计划项目 (2021YJ0259)、国家重点研发计划 (2022YFD1901403) 和四川省科技创新 (苗子工程) 培育及小发明小创造项目 (2021094) 共同资助 Supported by the Applied Basic Research Program of Sichuan Province, China (No. 2021YJ0259), the National Key Research and Development Program of China (No. 2022YFD1901403), the Science and Technology Innovation (Miaozi Project) Cultivation and Small Invention and Small Creation Project of Sichuan Province, China (No.2021094)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: tingli121@sicau.edu.cn, lt_sicau@163.com

作者简介: 李昌骏 (2001—), 男, 四川邻水人, 硕士研究生, 主要从事土壤肥力研究。E-mail: lichangjunlcj123@163.com

收稿日期: 2022-06-03; 收到修改稿日期: 2023-01-03; 网络首发日期 (www.cnki.net):

(KCl), inoculation of potassium solubilizing bacteria (KSB), application of biochar (BC) and potassium solubilizing bacteria loaded biochar (BC-KSB), it was analyzed that the change characteristics of soil urease, acid phosphatase, invertase and catalase enzyme activities and microbial community structure, also the effects of biochar-loaded potassium solubilizing bacteria composite materials on soil nutrients, soil pH, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and ryegrass yield were discussed. 【Results】 The soil urease and acid phosphatase activity increased first and then decreased while the soil invertase and catalase activity decreased with an increase in the number of harvests for treatments with microbial agents or biochar. Compared with other fertilization treatments, BC-KSB was more conducive to the increase of soil urease, invertase, acid phosphatase and catalase activities. In terms of soil bacterial community, BC-KSB improved the species diversity and flora uniformity of soil bacteria, increased the abundance of soil beneficial bacteria (*Chloroflexi*, *Actinobacteriota*, *Bacillus* and *Bradyrhizobium*), and inhibited the reproduction of soil pathogenic bacteria (*Proteobacteria* and *Rhodobacteria*). Compared with CK, all fertilization treatments significantly increased the dry weight of ryegrass and BC-KSB treatment showed the largest increase. Also, compared with CK and KCl, BC-KSB treatment can significantly increase the contents of soil microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, organic matter, total nitrogen and available potassium. However, the content of soil total potassium and total phosphorus in different treatments showed no significant difference. Furthermore, BC significantly increased soil pH compared to other treatments. Redundancy analysis showed that soil organic matter, available potassium, acid phosphatase, urease and microbial biomass nitrogen were the main influencing factors of bacterial community structure, whereas the growth of ryegrass was mainly affected by *Burkholderia* and *Rhodobacteria*. 【Conclusion】 KSB loaded biochar has a positive impact on ryegrass yield, soil nutrients, soil enzyme activity, and bacterial community structure, which provides profound significance for fertilizing soil and improving soil ecological environment.

Key words: Biochar; Potassium solubilizing bacteria; Microbial community; Soil enzyme activities; Soil nutrients

钾是植物生长必需的营养元素, 其丰缺状况会对作物产量造成直接影响^[1]。施用化学钾肥是提高土壤钾素生物有效性的的重要途径, 但我国钾矿资源紧缺, 化学钾肥产量有限, 钾肥对外依存度高达 50% 以上^[2]。然而土壤中其实并不缺乏钾源, 我国土壤中全钾含量一般为 0.5 ~ 25 g·kg⁻¹, 但可供植物直接吸收利用的钾素仅占全钾的 1% ~ 2%^[3], 为改善该状况, 通常在土壤中接种解钾菌以提高土壤钾素生物有效性和促进作物生长^[4]。解钾菌不仅具有通过活化土壤生物酶类提高土壤速效养分的能力, 还能通过调节植物体内吲哚乙酸激素水平和养分供应途径直接对植物生长发挥促生作用, 也可通过活跃土壤微生物生态系统和拮抗作用来抵制病原菌对植物的危害而间接促进植物生长^[5]。然而, 单一地施用解钾菌进入土壤, 其存活率通常会大幅下降^[6]。生物质炭因其孔隙结构复杂、吸附力强、改良酸性土壤 pH、具有生物膜网络结构等特点被认为是解钾菌的最佳载体材料之一^[7]。因此, 研究二者的配合施用效果有益于缓解我国钾素供给压力, 为进一步利用土壤丰富的钾素资源、挖掘土壤供钾潜力提供一定的理论依据。

土壤酶是一种生物催化剂, 是土壤肥力和土壤养分循环的重要表征指标^[8]。当前, 较多采用蔗糖酶、脲酶和酸性磷酸酶活性分别表征土壤碳、氮和磷养分的循环与供应状况, 过氧化氢酶分解产生的水和氧可供土壤生命体 (包括微生物) 所需^[9]。接种解钾菌菌株因其可提高植物根系活力从而可显著提高土壤脲酶、酸性磷酸酶、转化酶和多酚氧化酶等的活性^[10]。生物质炭则因其特殊的理化性质、较大的比表面积及多孔结构可以为微生物生存与繁殖提供良好的栖息环境, 使得参与养分循环的土壤酶量也相应增加, 从而提高酶活性, 但其颗粒表面的-COOH、-OH 等官能团也能够改变酶的官能团结构或活性位点从而降低酶活性^[11]。土壤微生物是根际生态系统中最为活跃的部分, 其在土壤养分形成、转化和循环方面发挥重要作用, 也是影响根际土壤钾素周转的重要因素之一^[12]。外源功能微生物的施用虽然会改善土壤微生态环境, 但会与土著微生物竞争营养物质和生态位, 且该竞争在土壤营养物质缺乏的条件下越发激烈^[13], 从而导致微生物群落结构发生变化。同时, 微生物群落结构对生物质炭施入的响应由于受其制备原材料、制备温度、施用量和土壤本身性质的影响也有所不同^[14]。据统计, 全国 23% 的耕地严重缺钾, 土壤钾素匮乏已成为限制作物产量和品质的影响因子之一^[15], 而在钾素逐渐匮乏过程中外源功能微生物和生物质炭的施用对土壤酶活性与微生物群落结构的影响尚未可知, 因此, 研究生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性和微生物群落结构的影响有利于反映钾素耗竭过程中土壤肥力高低、生化过程强度和土壤微生态系统稳定性的动态变化状况。

基于此,本研究基于黑麦草盆栽耗竭试验,提出如下科学假设:(1)生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性会有明显的促进作用;(2)生物质炭负载解钾菌会对土壤细菌群落和土壤养分产生积极的影响。针对上述科学假设,拟采用高通量测序技术探究在土壤钾素逐渐匮乏过程中二者施用对土壤细菌群落的影响,进而通过冗余分析探究土壤酶活性、黑麦草产量、土壤化学和生物性质与土壤细菌群落的相关性,以期功能性微生物与生物质炭的维护和改善土壤生态系统功能提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试土壤:2020年3月于雅安市老板山农田区域(29°58'12"N,102°58'34"E)采集酸性紫色土,其基本理化性质与巍巍等^[16]一致。

供试微生物:由茶园根际土壤分离纯化,经生理生化特性检测,16S rRNA 序列分析比对,确定该菌种为微嗜酸寡养单孢菌(*Stenotrophomonas* sp. Ab27),属革兰氏阴性菌,该菌株已送往中国典型培养物保存中心保存(保藏编号:CCTCC No: 2021355)。

供试黑麦草:品种为进口多年生黑麦草(*Lolium perenne* L.)。种子于40℃温水搅拌浸泡过夜,去除上层干瘪种子,加入3%的H₂O₂浸泡0.5 h,洗净并称取1.4 g置于培养皿中,于25℃培养箱培养48 h后进行移栽。

供试生物质炭:采购自浙江长三角聚农业科技开发有限公司,采用玉米秸秆在厌氧环境以450~500℃,烧制2 h。其pH为9.58,全磷6.43 g·kg⁻¹,全钾8.38 g·kg⁻¹,碱解氮60.3 mg·kg⁻¹,有效磷130.2 mg·kg⁻¹,速效钾326.5 mg·kg⁻¹;生物质炭表面元素组成采用飞纳台式扫描电镜能谱一体机(Phenom-world B.V./Phenom Prox,荷兰)测定,其元素组成为C 76.72%、O 15.78%、N 4.73%、P 2.5%、K 0.05%、S 0.22%。

供试肥料:尿素(N 46.2%)、过磷酸钙(P₂O₅ 12%)和氯化钾(K₂O 60%)。

生物质炭负载解钾菌复合材料:生物质炭与LB液体培养基以1:100(w/v)的比例混合后,将微嗜酸寡养单孢菌(*Stenotrophomonas* sp. Ab27)接入溶源性培养基(LB培养基)进行活化,然后按照接种量与液体培养基以1:20(v/v)的比例进行培养,培养12 h后,用磷酸盐缓冲液(0.01 mol·L⁻¹, pH 7.2)洗涤、离心,再冷冻干燥,得到生物质炭负载解钾菌的复合材料。

1.2 试验设计

本研究设空白(CK)、施用化学钾肥(KCl)、接种解钾菌(KSB)、施用生物质炭(BC)、施用生物质炭负载解钾菌(BC-KSB)5个处理。CK处理为不施钾肥的空白对照,KCl处理施加0.4 g氯化钾,KSB处理施加20 mL的解钾菌液(1×10⁹ cfu·mL⁻¹),BC处理施加20 g生物质炭,BC-KSB处理施加20 g生物质炭负载解钾菌复合材料(1×10⁹ cfu·g⁻¹),除KSB处理外,其余四个处理均施加20 mL灭菌后的解钾菌液,每个处理三次重复。采用塑料桶(直径15 cm,高度15 cm)种植黑麦草,每桶装2 kg风干土,连续种植5茬,每茬在种植前均会施加基准计量的氮磷肥(N 0.40 g·pot⁻¹、P₂O₅ 0.3 g·pot⁻¹)。生长期定期浇无菌水,保持土壤水分在田间持水量的75%左右,大棚培养温度保持在10~30℃之间。在每茬种植30 d后进行收获,测定黑麦草干物质量,并采集15 g盆栽土壤,在手动移除土壤中的植物碎屑和残根后进行土壤酶活性的测定。第五茬黑麦草收获后的土样不仅测定其土壤酶活性,同时还测定土壤基本理化性质,另有部分储存于4℃冰箱送往上海凌恩生物科技有限公司进行高通量测序。

1.3 土壤样品分析测定

每茬收集的土样采用靛酚蓝比色法、磷酸苯二钠比色法、3,5-二硝基水杨酸比色法和高锰酸钾滴定法分别测定其脲酶、酸性磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性^[17];土壤化学性质参照鲍士旦^[18]的方法,微生物生物量碳和微生物生物量氮采用氯仿熏蒸-K₂SO₄提取法(FE)测定^[19]。

1.4 DNA 提取与 PCR 扩增

使用E.Z.N.A.® Soil DNA Kit(Omega Bio-tek, Norcross, GA,美国)试剂盒提取样本微生物总DNA,1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA。细菌群落结构采用16S rRNA全长通用引物27F

5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3'和 1492R5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3'进行 PCR 扩增^[20]。20 μL 反应体系包括: 5 \times 高保真缓冲液 4 μL , dNTPs 2 μL , 正反向引物 0.8 μL , 高保真 DNA 聚合酶 0.4 μL , DNA 模板 10 ng, 补双蒸水至 20 μL 。PCR 扩增程序包括: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 25 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。PCR 产物经过纯化回收、质量检测合格后委托上海凌恩生物科技有限公司完成建库及测序工作。

1.5 数据处理与分析

1.5.1 土壤微生物高通量测序与分析 原始数据已上传至美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库(SRA accession number: PRJNA876764)。使用 SMRT Link Analysis 软件 6.0 版处理 PacBio 原始 reads, 以获得环形一致性序列(CCS)reads: 参数设置最小通过次数为 3, 最小预测准确度为 0.99。原始 reads 通过 SMRT Portal 处理, 以筛选序列的长度 (<800 或 >2 500 bp) 和质量。通过去除 barcode、引物序列、嵌合体 and 包含 10 个连续的相同碱基的序列进行进一步过滤。使用 UPARSE 将分类操作单元 (OTU) 以 98.65% 的相似性阈值聚类, 并使用 UCHIME 去除嵌合序列。RDP Classifier 对 Silva Release138.1 16S rRNA 数据库使用 70% 的置信度阈值分析每个 16S rRNA 基因序列的系统发育关系。进行物种组成分析和 α 多样性分析前, 以最低的 OTU 序列数组别为标准进行抽平处理。

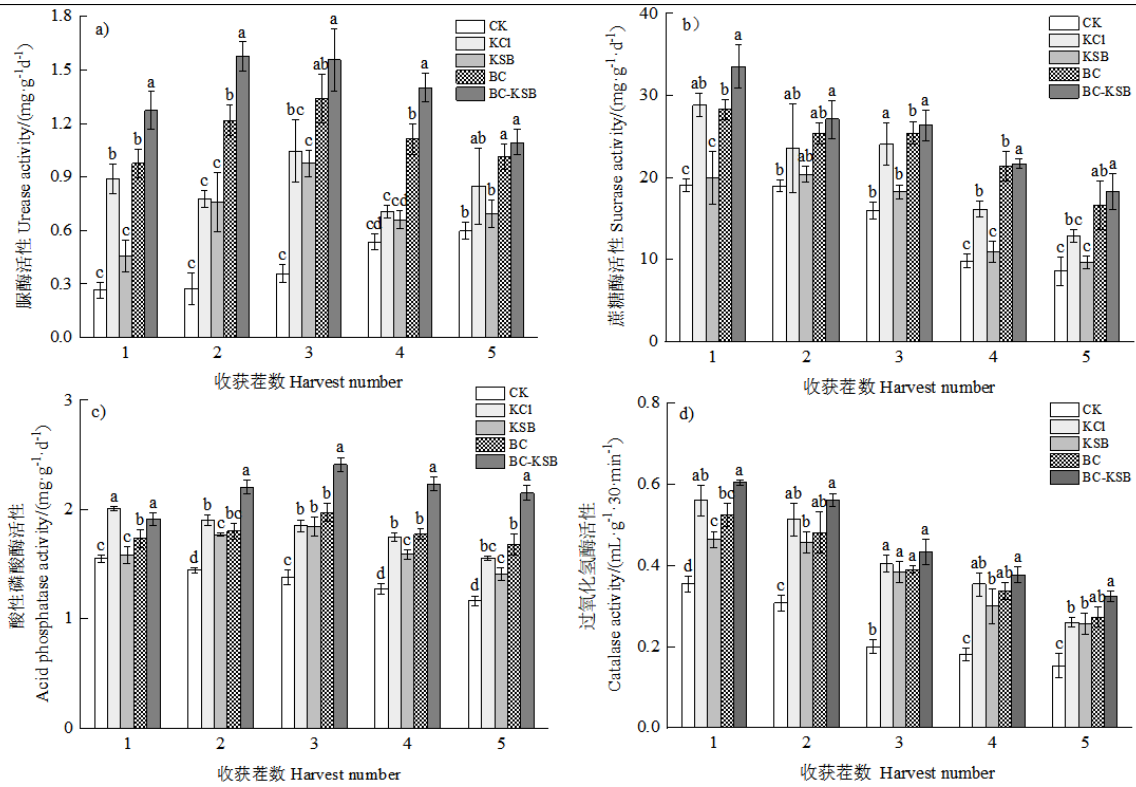
1.5.2 α 多样性指数计算 基于高通量测序的 OTU 数据, 使用 Mothur v1.35.1 计算细菌 α 多样性指数, 利用香农 (Shannon) 指数和辛普森 (Simpson) 指数表征细菌的群落多样性, 香农指数越高, 微生物多样性越高; 辛普森指数越高, 微生物多样性越低; 利用 Chao1 指数和多度覆盖的物种估计量 (abundance-based coverage estimator, ACE) 指数表征细菌的群落丰富度, Chao1 指数值越高代表群落物种越丰富, ACE 指数是利用稀有物种估算物种多样性的指数, 其值越高代表群落物种种类越丰富。以上多样性指数的计算参照何芝等^[21]的方法。

1.5.3 作图与分析 利用 MeA 绘制热图, 利用 Origin2022 进行冗余分析 (RDA) 和绘图, 采用 SPSS16.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 统计学检验方法采用邓肯 (Duncan) 检验法 ($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性的影响

不同处理下土壤脲酶活性整体上随着种植茬数的增加表现出先增后减的变化规律 (图 1a)。与 CK、KCl 和 KSB 处理相比, BC-KSB 处理土壤脲酶活性在连作五茬中均显著提升 (82.68%~475.86%) ($P < 0.05$), 但与 BC 处理无显著差异。对于土壤酸性磷酸酶活性 (图 1c), BC-KSB 处理相比 CK、KSB 和 BC 处理, 其在连作五茬中均可显著提高土壤酸性磷酸酶活性 (23.25%~85.07%) ($P < 0.05$), 但从第二茬开始其酸性磷酸酶活性才显著高于 KCl 处理 ($P < 0.05$)。土壤蔗糖酶活性和土壤过氧化氢酶活性在种植过程中的变化特征相似, 均随种植茬数的增加而降低 (图 1b, 图 1d), BC-KSB 处理相比 CK 处理显著提升了土壤蔗糖酶和过氧化氢酶活性 ($P < 0.05$), 但与 KCl、KSB 和 BC 处理相比无显著差异。总之, BC 和 KSB 配施更有利于土壤酶活性的提高。



注: CK: 不施钾肥的空白对照; KCl: 化学钾肥; KSB: 接种解钾菌; BC: 施加生物质炭; BC-KSB: 施用生物质炭负载解钾菌复合材料。
图中不同小写字母代表相同茬数不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: CK: control; KCl: chemical potassium fertilizer; KSB: inoculation of potassium solubilizing bacteria; BC: application of biochar; BC-KSB: application of potassium solubilizing bacteria loaded biochar composite. Different small letters in the figure indicate significant differences among different treatments with the same number of harvest ($P < 0.05$). The same below.

图 1 不同施肥处理下土壤酶活性随收获茬数的动态变化

Fig. 1 Dynamic change characteristics of soil enzyme activity with the harvest number under different fertilization treatments

2.2 生物质炭负载解钾菌对细菌 α 多样性的影响

土壤细菌 α 多样性指数中仅辛普森指数在各处理中差异显著 ($P < 0.05$, 表 1)。KSB 处理的辛普森指数最高而香农指数最低, 说明 KSB 相比其他处理会导致细菌群落多样性的降低。BC 处理香农指数最高并且提升了 ACE 指数, 说明生物质炭的施用可提高细菌群落的多样性和物种的丰度。BC-KSB 处理 Chao1 指数和 ACE 指数最高且香农指数最大, 表明 BC-KSB 处理下土壤细菌群落丰富度最高且可提高细菌群落多样性。

表 1 不同施肥处理下土壤细菌 α 多样性指数

Table 1 The α diversity index of soil bacteria under different fertilization treatments

处理 Treatment	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index
CK	9.80±0.45a	0.0054±0.0017ab	3 349±1 360a	3 321±274.1a
KCl	9.76±0.81a	0.0050±0.0022ab	3 249±789.0a	3 485±721.0a
KSB	9.36±0.37a	0.0101±0.0051a	2 710±46.09a	3 725±161.7a
BC	10.23±0.46a	0.0028±0.0009b	3 200±186.1a	3 965±176.3a
BC-KSB	10.09±0.27a	0.0036±0.0006ab	4 061±847.5a	4 303±1 267a

注: ACE: 多度覆盖的物种估计量。同列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: ACE: abundance-based coverage estimator. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among different treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.3 生物质炭负载解钾菌对土壤微生物组成的影响

解钾菌和生物质炭施用会导致土壤微生物组成发生改变(图2)。在不同施肥处理的土壤中共检测出29个细菌门,其中相对丰度均大于1%的共有细菌门15个。以共有的优势菌门(相对丰度大于3%)进行分析,CK和KCl处理各细菌门类相对丰度较为一致。KSB处理相较于CK和KCl处理增加了酸杆菌门(Acidobacteriota)和WPS-2的相对丰度,同时也降低了变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteriota)和浮霉菌门(Planctomycetota)的相对丰度。BC和BC-KSB处理相较于CK和KCl处理,提高了绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteriota)和浮霉菌门(Planctomycetota)的相对丰度,但也降低了变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteriota)和WPS-2的相对丰度。

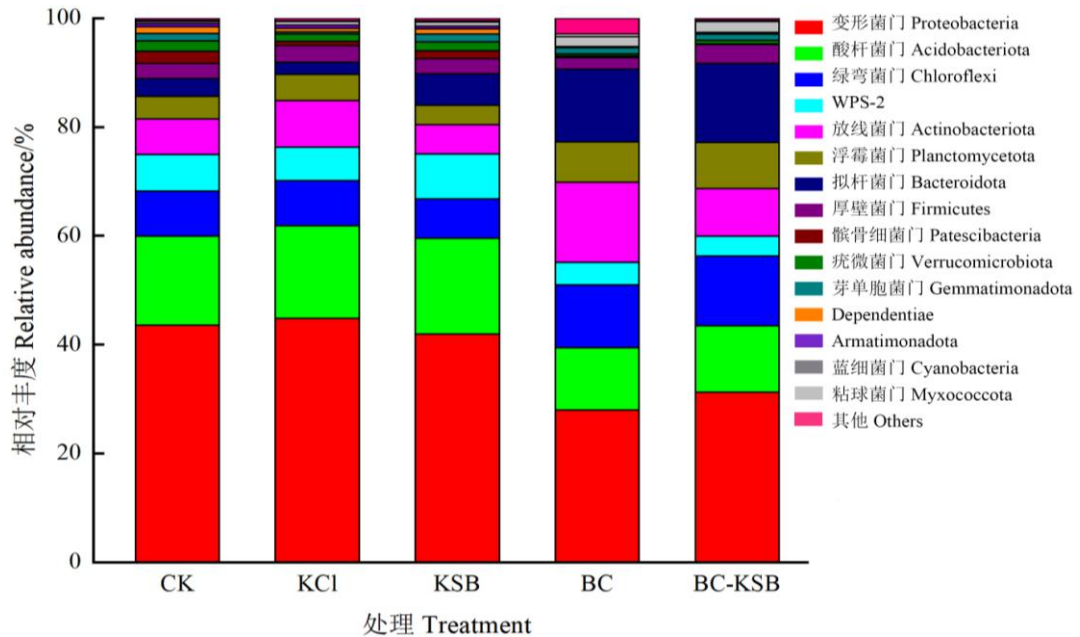


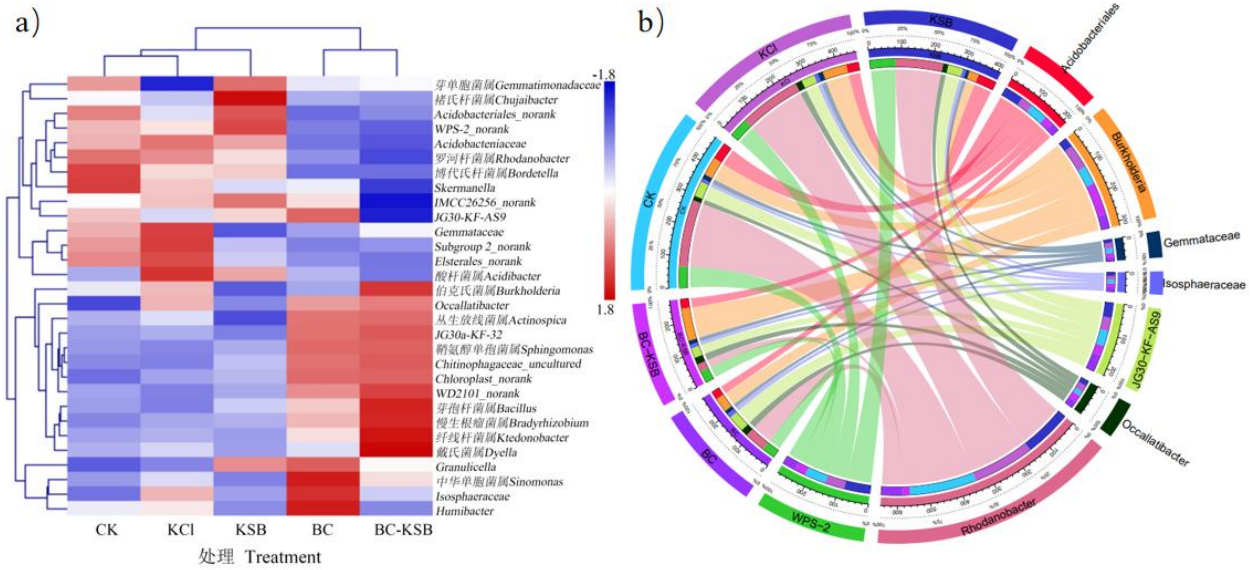
图2 不同施肥处理在门水平上对土壤细菌群落组成的影响

Fig. 2 Effect of different fertilization treatments on soil bacterial community composition at the level of phylum

2.4 生物质炭负载解钾菌对土壤微生物群落结构的影响

根据细菌属水平的丰度结果,采用Z-score标准化方法对丰度排名前30的菌属进行归一化处理并绘制了土壤细菌属水平群落结构组成热图(图3a)。结果表明,不同处理相比CK均对土壤细菌群落造成不同程度的扰动,土壤细菌群落结构发生了变化,其中KSB处理明显增加了鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)和IMCC26256菌属等的丰度,相对降低了罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)等的丰度;BC和BC-KSB处理明显增加芽孢杆菌属(*Bacillus*)和慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)等土壤优势菌属的丰度,相对降低了罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)和酸杆菌属(*Acidobacteriales*)等土壤优势菌属的丰度。

选择在不同处理土壤样品中相对丰度均超过1%的土壤细菌优势属进行具体分析,包括8种:罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、酸杆菌属(*Acidobacteriales*)和*Occallatibacter*菌属、*Gemmataceae*菌属和*Isosphaeraceae*菌属、JG30-KF-AS9菌属和WPS-2菌属。具体而言,不同施肥处理均促使土壤罗河杆菌属的相对丰度发生了明显的下降(图3b),其下降幅度为:BC-KSB>BC>KSB。酸杆菌属和WPS-2菌属相对丰度的演变趋势较为一致,均为KSB处理高于CK,但其余三个处理低于CK。不同处理下伯克氏菌属的相对丰度则为:BC-KSB>KCl>CK>BC>KSB。JG30-KF-AS9菌属相对丰度在BC处理最高,在BC-KSB处理最低。*Isosphaeraceae*菌属和*Occallatibacter*菌属的相对丰度演变趋势较为一致,均为BC和BC-KSB处理的相对丰度最高。*Gemmataceae*菌属相对丰度在KCl处理中最高,其次表现为:BC-KSB>BC>KSB。



注: 图 a) 排名前 30 细菌优势属在不同施肥处理下的丰度聚类热图; 图 b) 不同施肥处理与细菌优势属的物种对应关系图。Note: Figure a) abundance clustering heat map of the top 30 bacterial dominant genera under different fertilization treatments; Figure b) corresponding relationship between different fertilization treatments and species of bacterial dominant genera.

图 3 生物质炭负载解钾菌对土壤微生物群落结构的影响

Fig. 3 Effects of potassium solubilizing bacteria loaded biochar on soil microbial community structure

2.5 生物质炭负载解钾菌对黑麦草产量和土壤生物与化学性质的影响

各施肥处理相比 CK 均显著提升了黑麦草干物质质量 ($P < 0.05$), 但以 BC-KSB 处理对黑麦草产量的提升最大 (表 2)。相比 CK 和 KCl 处理, BC 处理显著提高了土壤 pH ($P < 0.05$), 但与 KSB 和 BC-KSB 处理无显著差异; KSB 处理显著提高了有机质的含量 ($P < 0.05$), 相比 CK 和 KCl 处理增幅分别为 75.40% 和 62.96%; BC 和 BC-KSB 处理均能显著提高有机质、全氮、速效钾、微生物生物量碳和微生物生物量氮的含量 ($P < 0.05$); 但土壤全钾和全磷含量在各施肥处理间无显著差异。

表 2 不同施肥处理下第五茬黑麦草干物质质量和土壤生物与化学性质

Table 2 Dry weight of ryegrass and soil biological and chemical properties of the fifth crop under different fertilization treatments

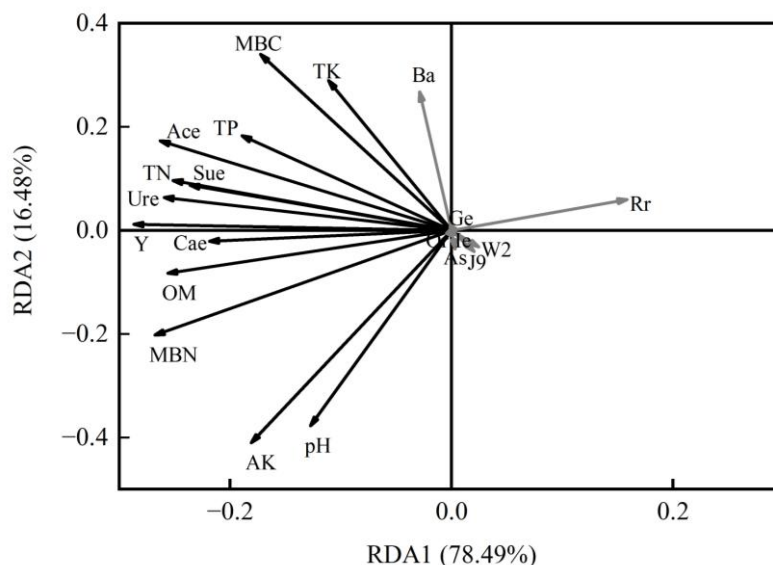
处 理 Treatme nt	Y / g	pH	OM / (g·kg ⁻¹)	TN / (g·kg ⁻¹)	TP / (g·kg ⁻¹)	TK / (g·kg ⁻¹)	AK / (mg·kg ⁻¹)	MBC / (mg·kg ⁻¹)	MBN / (mg·kg ⁻¹)
CK	0.42±0.01e	4.32±0.16b	3.54±0.31c	0.88±0.06c	0.31±0.01a	5.79±0.01a	7.13±1.39c	53.87±6.21c	13.72±1.08c
KCl	0.68±0.01d	4.24±0.01b	3.81±0.51c	0.89±0.07c	0.32±0.03a	6.11±1.34a	10.37±0.02bc	71.63±6.47bc	18.92±2.32b
KSB	0.94±0.03c	4.47±0.22ab	6.20±0.36b	0.98±0.04bc	0.31±0.07a	6.17±0.51a	13.71±1.41b	69.49±3.79bc	19.92±2.48b
BC	1.68±0.07b	4.59±0.09a	7.00±1.22b	1.03±0.05b	0.34±0.01a	5.87±0.90a	26.63±5.08a	86.96±13.83ab	27.39±2.11a
BC-KSB	2.14±0.16a	4.46±0.07ab	11.35±1.89a	1.18±0.05a	0.38±0.02a	6.63±0.45a	15.72±4.24b	104.3±11.77a	30.19±2.51a

注: Y: 黑麦草干物质质量; pH: 土壤酸碱度; OM: 有机质; TN: 全氮; TP: 全磷; TK: 全钾; AK: 速效钾; MBC: 微生物生物量碳; MBN: 微生物生物量氮。下同。Note: Y: Dry biomass of ryegrass; pH: Soil pH; OM: Organic matter; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; TK: Total potassium; AK: Available potassium; MBC: microbial biomass carbon; MBN: microbial biomass nitrogen. The same below.

2.6 土壤酶活性、土壤生物与化学性质和黑麦草产量与土壤细菌群落结构的关系

利用冗余分析探讨了最后一茬 13 种环境因子 (脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶、微生物生物

量碳、微生物生物量氮、pH、有机质、全氮、全磷、全钾、速效钾和黑麦草干物质量)与土壤细菌优势属的关系。结果(图4)表明,RDA的前两个轴分别解释了总方差的78.49%和16.48%,共解释了94.97%,说明RDA分析结果可靠。有机质、速效钾、脲酶、酸性磷酸酶和微生物生物量氮是影响细菌属水平的主要环境因子,有机质、速效钾、脲酶和酸性磷酸酶与伯克氏菌属呈正相关,与罗河杆菌属呈负相关;微生物生物量氮与伯克氏菌属和罗河杆菌属均呈负相关,其余细菌优势属对土壤化学与生物性质响应不同且较弱。同时,分析结果也表明,黑麦草的生长主要受伯克氏菌属和罗河杆菌属的影响较大。



注: Ace: 酸性磷酸酶; Sue: 过氧化氢酶; Ure: 脲酶; Cae: 蔗糖酶; Rr: 罗河杆菌属; Ba: 伯克氏菌属; As: 酸杆菌属; Or: *Occallatibacter* 菌属; Ge: *Gemmataceae* 菌属; Ie: *Isosphaeraceae* 菌属; J9: JG30-KF-AS9 菌属; W2: WPS-2_norank 菌属。黑色线条代表环境影响因子,灰色线条代表微生物物种。Note: Ace: Acid phosphatase; Sue: Sucrase; Ure: Urease; Cae: Catalase; Rr: *Rhodanobacter*; Ba: *Burkholderia*; As: *Acidobacteriales*; Or: *Occallatibacter*; Ge: *Gemmataceae*; Ie: *Isosphaeraceae*; J9: JG30-KF-AS9; W2: WPS-2_norank. Black lines indicate environmental impact factors, gray lines indicate microbial species.

图4 土壤细菌群落与土壤生物和化学性质的冗余分析(RDA)

Fig. 4 Redundancy analysis (RDA) of soil bacterial community and soil biological and chemical properties

3 讨论

3.1 生物质炭负载解钾菌的施用有利于土壤酶活性的提升

土壤酶活性强弱可反映土壤生化过程强度^[8]。研究结果表明,单施解钾菌会提高土壤脲酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶的活性(图1),这可能是因为解钾菌具有生物防治的作用,施用后一方面可以抑制作物病虫害、诱导植物系统产生抗性,同时还可改善微生物根际区系和提高植物根系活力,产生更多的酶进入土壤,从而提高土壤酶活性^[22]。本研究中解钾菌的施入会降低罗河杆菌属(致病菌)和变形菌门(包含大量致病菌)相对丰度的结果(图2和图3)也证实了这一点。生物质炭的施用增加了所有酶的活性(图1),这与Duan等^[23]的研究一致。但也有研究发现,生物质炭施入土壤会造成土壤酶活性的降低。刘遵奇等^[24]研究发现逐年施加生物质炭降低了土壤脲酶和过氧化氢酶活性。冯爱青等^[25]研究发现施加黑炭抑制了过氧化氢酶和中性磷酸酶活性。这可能与生物质炭特殊的理化性质有关,生物质炭丰富的孔隙结构能够储存大量的水分和养分,为微生物提供了良好的生存环境,促进了微生物活性,提高酶活性;也由于其具有强力吸附性,掩盖酶促反应位点,从而降低酶活性^[12]。本研究结果表明,生物质炭负载解钾菌对4种土壤酶活性提升最大(图1),这说明生物质炭负载解钾菌对土壤酶活性的提升具有协同作用。相关学者对生物质炭和外源功能微生物的研究也证实了两者配施会对土壤酶活性产生积极的协同作用,如Heidari等^[26]研究发现,施用牛粪生物质炭和溶磷菌处理对红花的脱氢酶和脲酶活性具有明显的提升作用。Cui等^[27]研究发现生物质炭与复合

有效微生物的联合添加对土壤蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶具有显著的改善作用。这可能是由于生物质炭能够吸附反应底物,提高酶活性,而外源功能微生物施入土壤会改变土壤的微生态环境,进而影响土壤酶活性。

3.2 生物质炭负载解钾菌对土壤微生物多样性的影响

土壤是微生物的生活场所,土壤养分的丰缺状况会影响土壤细菌多样性。本研究发现 KSB 处理降低了物种的丰富度,却增加了菌群的均匀度(表 1)。这可能是由于 KSB 的施入会与土著微生物发生竞争,这种竞争随着营养物质的匮乏而变得更为激烈^[13],从而导致竞争双方中一方的丰度减少甚至消失。同时,本研究表明,施加生物质炭可以提高细菌的 α 多样性和菌群丰富度(表 1),这与 Yao 等^[28]研究结果一致。生物质炭对于细菌 α 多样性具有重要作用,其表面分布有能够吸附容易矿化有机碳和 NH_4^+ 的官能团,从而为微生物提供了丰富的能源,并且生物质炭本身富含碳元素,适量的外部碳源能刺激细菌的生长和繁殖^[29]。此外,本研究还表明 BC-KSB 处理对土壤细菌 α 多样性表现出积极的促进作用(表 1),这可能与生物质炭本身所含丰富的营养物质有关,在营养物质充足的情况下, KSB 与土壤微生物的竞争作用减弱,对土壤微生物的积极影响放大。

3.3 土壤细菌群落结构对生物质炭负载解钾菌的响应

微生物群落的相对丰度、微生物量的变化以及土壤中的特殊微生物类群(指示生物)可用来间接反映土壤微生态系统的稳定性。本研究添加的微嗜酸寡养单孢菌属于变形菌门(Proteobacteria),变形菌门为本研究土壤中最优势菌门,但 KSB 和生物质炭的单独施用均降低了变形菌门的相对丰度(图 2)。变形菌门是最大的细菌门类,包含大肠杆菌、沙门氏菌以及霍乱弧菌等诸多病原菌,其相对丰度下降可能是由于生物质炭会通过增加其他与变形菌门有竞争关系的微生物群落数量来降低变形菌门的丰度;此外,变形菌门与土壤 pH 具有很强的相关性^[30],本研究土壤为酸性紫色土,对土壤理化性质的测定结果表明,施加 KSB 和生物质炭均造成了土壤 pH 的升高(表 2),因此,也有可能是土壤 pH 的变化导致了变形菌门相对丰度的降低。绿弯菌门包含热微菌和光合细菌,在高温环境中可利用氧气生长繁衍,在无氧环境中也可利用光进行光合作用,具有较好的生物解磷作用^[31]。放线菌门具有生物解磷和固定氮素的作用,也有研究表明其丰度的增加可抑制病害的发生,促进土壤养分循环^[32]。本研究中 BC 和 BC-KSB 处理均提高了绿弯菌门和放线菌门的相对丰度,而 KSB 处理却降低了二者的相对丰度(图 2)。说明单施生物质炭和生物质炭与解钾菌的配施均可提高土壤生物解磷作用、固碳和固氮能力,并且减小土壤致病菌对植物的威胁,而 KSB 可能正如前文所言,在营养条件缺乏的条件下,其与绿弯菌门和放线菌门的竞争导致了两者的丰度下降。酸杆菌门适宜生活在酸性贫瘠环境,BC 处理和 BC-KSB 处理均降低了酸杆菌门的相对丰度(图 2),这可能与生物质炭含有丰富的养分和对土壤 pH 提升作用有关^[12],同时,土壤酸杆菌门相对丰度下降使得其他细菌门竞争压力减小,有助于提高其他细菌门相对丰度。值得注意的是,本文高通量测序中并未检测出施加的微嗜酸寡养单孢菌,但施加 KSB 的处理对该土壤细菌微生物群落结构造成了明显的影响(图 3a),这可能是 KSB 的施加虽然对土壤微生态产生了积极的影响,但由于土壤 pH 等化学性质的变化和连作次数的增加,施加进去的 KSB 数量逐渐减少直至消失。因此,为了提高 KSB 的存活率,应该在每茬结束后,下一茬种植前补充施加一定数量的 KSB,以更好地探究 KSB 对土壤微生物多样性和群落结构的影响。

在属分类水平上,罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)为最优势菌属,罗河杆菌属归属于变形菌门,本研究表明,生物质炭和 KSB 均可抑制罗河杆菌属的相对丰度,其相对丰度按 KSB、BC、BC-KSB 处理的顺序梯度下降(图 3b)。相关研究表明,罗河杆菌属是一种植物病原菌,田程等^[33]研究发现罗河杆菌属与西瓜枯萎病的发生呈正相关。说明 KSB 和生物质炭的施用可降低病原菌的相对丰度,并且二者配施效果最好。伯克氏菌属(*Burkholderia*)具有影响植物激素水平进而刺激作物生长的功能,并且具有共生固氮能力,但有研究表明伯克氏菌属也包括有致病菌种,会造成洋葱腐烂,观赏性花卉出现根腐烂、叶斑和花枯萎等症状,如 Padhi 等^[34]通过对柑橘黄龙病的研究,结果发现伯克氏菌在健康树根中的含量较染病的根中低。本研究细菌丰度聚类热图结果表明,生物质炭和解钾菌的单施和配施均会降低伯克氏菌属的相对丰度(图 3a),并且二者单施也会降低其相对丰度,但是二者混施却会增加其相对丰度(图 3b)。这可能是由于生物质炭与解钾菌的配施虽然提高了伯克氏菌属中具有固氮功能菌株的活性,但抑制了伯克氏菌属中致病菌株的活性,因而整体上仍降低了伯克氏菌属的相对丰度。本研究也发现生物质炭与解钾菌的配施会提高土壤中芽孢杆菌属和慢生根瘤菌属的丰度(图 3b),芽孢杆菌属具有解磷解钾的能力,是一种重要的有益微生物,能增强植物抵御

外界环境变化的能力^[35]。慢生根瘤菌属具有共生固氮能力，能促进作物的根系生长和发育^[36]。综上，生物质炭与解钾菌的配合施用能促进土壤有益菌群的繁殖而抑制致病菌群的繁殖。

3.4 土壤生物和化学性质与细菌群落结构的关系

土壤为微生物群落生长繁殖提供微环境，其理化性质又间接影响土壤微生物群落结构的组成^[37]。生物质炭负载解钾菌可显著提高有机质、速效钾和微生物生物量氮的含量（表 2），本研究通过 RDA 分析表明，细菌群落结构与有机质、速效钾、脲酶、酸性磷酸酶和微生物生物量氮密切相关（图 4）。有机质、速效钾和酸性磷酸酶是土壤细菌群落的主要驱动因子（图 4），这与已有研究^[38]相一致。酸性磷酸酶和脲酶分别是磷和氮相关的水解酶，二者与土壤速效养分有很强的相关性，土壤养分状况又会直接影响微生物活性。微生物生物量氮是土壤氮库活跃的生物组分，直接驱动微生物参与氮养分循环。土壤 pH 在本研究中对土壤细菌群落影响不明显（图 4），这可能是因为施肥处理在整个种植周期未造成土壤 pH 发生较大改变，本研究中除 BC 处理土壤 pH 显著提高，其余处理之间均无显著差异（表 2）也证实此观点。

4 结论

与空白对照相比，单施生物质炭和解钾菌均可明显提高土壤蔗糖酶、脲酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶活性，而生物质炭负载解钾菌可显著提高该四种酶的活性。同时，生物质炭负载解钾菌也可提高土壤微生物的多样性与均匀度，对土壤细菌群落造成影响，提高土壤有益菌群（绿弯菌门、放线菌门、芽孢杆菌属和慢生根瘤菌属）的丰度，抑制土壤有害菌群的繁殖（变形菌门和罗河杆菌属），显著提高黑麦草产量、微生物生物量碳、微生物生物量氮、有机质、全氮和速效钾含量。冗余分析表明有机质、速效钾、微生物生物量氮、酸性磷酸酶和脲酶是影响土壤细菌群落结构的主要限制因子。可见，生物质炭负载解钾菌对于培肥土壤、改良土壤生态系统具有积极的意义，可以更好地推动生物有机肥的开发利用。

参考文献 (References)

- [1] Zhang H, Tan C, Zhou X Y, et al. Study on application effects of N, P and K fertilizers on sweet potato and abundance-deficiency indexes of regional soil nutrients in middle and lower reaches of Yangtze River[J]. *Soils*, 2022, 54(4): 676-681.[张辉, 谭诚, 周晓月, 等. 长江中下游甘薯氮磷钾肥施用效果与区域土壤养分丰缺指标研究[J]. *土壤*, 2022, 54(4): 676-681.]
- [2] Zhou Y, Wu N, Sun X H, et al. Development history of China's potash fertilizer import and export trade and analysis on the situation in recent years[J]. *Phosphate & Compound Fertilizer*, 2020, 35(9): 1-7.[周月, 武娜, 孙小虹, 等. 我国钾肥进出口贸易发展历程及近年来情况分析[J]. *磷肥与复肥*, 2020, 35(9): 1-7.]
- [3] Wang F, Lin C, Li Q H, et al. Increase effect of potassium supply and balance of yellow paddy soils through long-term different fertilization modes[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23(3): 669-677.[王飞, 林诚, 李清华, 等. 不同施肥措施提高南方黄泥田供钾能力及钾素平衡的作用[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(3): 669-677.]
- [4] Han M, Zhu X Y, Chen G W, et al. Advances on potassium-solubilizing bacteria and their microscopic potassium solubilizing mechanisms[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(2): 334-348.[韩苗, 朱晓艳, 陈国炜, 等. 解钾菌及其释钾微观机制的研究进展[J]. *土壤学报*, 2022, 59(2): 334-348.]
- [5] Chandrakala C, Voleti S R, Bandeppa S, et al. Silicate solubilization and plant growth promoting potential of *Rhizobium* sp. isolated from rice rhizosphere[J]. *Silicon*, 2019, 11(6): 2895-2906.
- [6] Wang X M. Production of biochar-based potassium-released fertilizer and its application on agriculture[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.[王潇敏. 生物质炭基解钾菌肥的试制及其在农业中的应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.]
- [7] Ajeng A A, Abdullah R, Ling T C, et al. Adhesion of *Bacillus salmalaya* and *Bacillus amyloliquefaciens* on oil palm kernel shell biochar: A physicochemical approach[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(1): 107115.
- [8] Duan Y N, Liu E T, Chen X S, et al. Effects of freezing-thawing on soil microbial quantities and enzymatic activities of old apple orchards[J]. *Soils*, 2021, 53(1): 125-132.[段亚楠, 刘恩太, 陈学森, 等. 冻融对老龄苹果园土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. *土壤*, 2021, 53(1): 125-132.]

- [9] Wang G S, Gao Q, Yang Y F, et al. Soil enzymes as indicators of soil function: A step toward greater realism in microbial ecological modeling[J]. *Global Change Biology*, 2021, 28(5): 1935-1950.
- [10] Hu T, Gu J, Zhen L S, et al. Influences of potassium solubilizing bacteria and K-feldspar on enzyme activities and metabolic activities of the bacterial communities in kiwifruit planting soil[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2021, 67(3): 106-113.
- [11] Wang C Y, Wu C C, Cao X, et al. Effects of biochar on soil nutrition and microbial community diversity under continuous cultivated cucumber soils in greenhouse[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(4): 1359-1366.[王彩云, 武春成, 曹霞, 等. 生物炭对温室黄瓜不同连作年限土壤养分和微生物群落多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(4): 1359-1366.]
- [12] Etesami H, Emami S, Alikhani H A. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth and future prospects: A review[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2017, 17(4): 897-911
- [13] Welbaum G E, Sturz A V, Dong Z M, et al. Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2004, 23(2): 175-193.
- [14] Liang J, Tang S Q, Gong J L, et al. Responses of enzymatic activity and microbial communities to biochar/compost amendment in sulfamethoxazole polluted wetland soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 385: 121533.
- [15] Yuan W, Wang Z Y, Ma X C, et al. Effect of double-season rice straw returning to the field and reducing potassium fertilizer on rice growth and yield[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2021(5): 83-88.[袁伟, 王子阳, 马贤超, 等. 双季稻秸秆还田下减施钾肥对水稻生长和产量的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2021(5): 83-88.]
- [16] Wei W, Li T, Zhang T R, et al. Effect of biochar immobilized raoultella ornithinolytica on the availability of phosphorus and potassium in purplish soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2021, 52(6): 1330-1338.[魏巍, 李婷, 张廷锐, 等. 生物炭固定解鸟氨酸拉乌尔菌对紫色土磷钾有效性的影响[J]. *土壤通报*, 2021, 52(6): 1330-1338.]
- [17] Guan S Y. Soil enzyme and its research method[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274-323.[关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-323.]
- [18] Bao S D. Soil and agro-chemistry analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 25-114.[鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-114.]
- [19] Xu J S, Su X, Jia Z P, et al. Effects of warming on soil nitrogen transformation rates, microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activity in crust-covered soil system[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(3): 788-797.[徐军山, 苏雪, 贾志鹏, 等. 增温对结皮土壤系统氮转化速率及微生物生物量碳氮与酶活性的影响[J]. *土壤学报*, 2021, 58(3): 788-797.]
- [20] Wu Y N, Feng K, Li S Z, et al. In-silico evaluation and improvement on 16S/18S/ITS primers for amplicon high-throughput sequencing[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2897-2912.[吴悦妮, 冯凯, 厉舒祯, 等. 16S/18S/ITS 扩增子高通量测序引物的生物信息学评估和改进[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(9): 2897-2912.]
- [21] He Z, Zhao T T, Xing Z L, et al. Analysis of bacterial community composition in landfill cover soil[J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(12): 3744-3753.[何芝, 赵天涛, 邢志林, 等. 典型生活垃圾填埋场覆盖土微生物群落分析[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(12): 3744-3753.]
- [22] Lu K H, Jin Q, Cao Q, et al. Effects of different microbial agents on tomato quality and soil enzyme activity[J]. *Journal of Shanghai Normal University(Natural Sciences)*, 2019, 48(2): 197-206.[鲁凯珩, 金清, 曹沁, 等. 不同微生物菌剂对田间西红柿品质以及土壤酶活性的影响[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 48(2): 197-206.]
- [23] Duan Y M, Awasthi, M K, Wu H H, et al. Biochar regulates bacterial-fungal diversity and associated enzymatic activity during sheep manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 346: 126647.
- [24] Liu Z Q, Lan Y, Yang T X, et al. Effect of biochar application pattern on soil fertility and enzyme activity under limited fertilization conditions[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2020, 37(4): 544-551.[刘遵奇, 兰宇, 杨铁鑫, 等. 减肥条件下生物质炭施用方式对土壤肥力及酶活性的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2020, 37(4): 544-551.]
- [25] Feng A Q, Zhang M, Li C L, et al. Effects of straw and straw biochar on wheat nutrient uptake and enzyme activity in brown soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15): 5269-5277.[冯爱青, 张民, 李成亮, 等. 秸秆及秸秆黑炭对小麦养分吸收及棕壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2015, 35(15): 5269-5277.]
- [26] Heidari E, Mohammadi K, Pasari B, et al. Combining the phosphate solubilizing microorganisms with biochar types in order to improve safflower yield and soil enzyme activity[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 66(2): 255-267.

- [27] Cui Q, Xia J B, Peng L, et al. Positive effects on alfalfa productivity and soil nutrient status in coastal wetlands driven by biochar and microorganisms mixtures[J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2022, 9: 798520.
- [28] Yao Q, Liu J J, Yu Z H, et al. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 56-67.
- [29] Yin Q Y, Li X, Wang D, et al. Effects of continuous application of biochar for 4 years on soil bacterial diversity and community structure[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2021, 55(4): 752-760, 775.[殷全玉, 李想, 王典, 等. 连续4年施用生物炭对土壤细菌多样性及其群落结构的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2021, 55(4): 752-760, 775.]
- [30] Huang J Q, Ye J, Li Y C, et al. Effect of biochar on bacterial community structure of pig manure composting[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(5): 1477-1491.[黄家庆, 叶菁, 李艳春, 等. 生物炭对猪粪堆肥过程中细菌群落结构的影响[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(5): 1477-1491.]
- [31] Kragelund C, Levantesi C, Borger A, et al. Identity, abundance and ecophysiology of filamentous Chloroflexi species present in activated sludge treatment plants[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(3): 671-682.
- [32] Li F, Zhou F Y, Zhang G Z, et al. Impacts of growth-promoting bacteria on root bacterial community of tomato in substrate culture[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(2): 583-597.[李凤, 周方园, 张广志, 等. 促生菌对基质栽培番茄根系细菌群落的影响[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(2): 583-597.]
- [33] Tian C, Qiu T, Zhu F Y, et al. Calcium oxide regulation of fusarium wilt and rhizosphere bacterial community[J]. *Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences)*, 2018, 44(6): 620-624.[田程, 邱婷, 朱菲莹, 等. 氧化钙对西瓜枯萎病及根际细菌群落的调控[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2018, 44(6): 620-624.]
- [34] Padhi E M T, Maharaj N, Lin S Y, et al. Metabolome and microbiome signatures in the roots of citrus affected by huanglongbing[J]. *Phytopathology*, 2019, 109(12): 2022-2032.
- [35] Chen J Z, Huang X L, Liu J M, et al. Dominant microbial community in rhizosphere affecting active components of *Cinnamomum migao* at different ripening stages and their response to soil properties[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(10): 1779-1791.[陈敬忠, 黄小龙, 刘济明, 等. 影响不同果期米槁主要成分的根际优势微生物群落及其对土壤性质的响应[J]. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(10): 1779-1791.]
- [36] Yu H X, Liang H L, Wang Z X, et al. Isolation, identification and growth-promoting effects of cultivable nitrogen fixing bacteria and ammonifying bacteria in rhizosphere soil of *Mikania micrantha*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(5): 1851-1863.[余涵霞, 梁浩林, 王子轩, 等. 薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的分离鉴定与促生作用[J]. *微生物学报*, 2022, 62(5): 1851-1863.]
- [37] Li S J, Wang F X, Cong W Q, et al. Microbial community structure and environmental response of desert soil in Hexi Corridor[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(6): 1718-1728.[李善家, 王福祥, 从文倩, 等. 河西走廊荒漠土壤微生物群落结构及环境响应[J]. *土壤学报*, 2022, 59(6): 1718-1728.]
- [38] Yang X, Liu H L, Huang Y Y, et al. Effects of application of organic-inorganic compound fertilizers on microbial communities and enzyme activities in tropical paddy soil[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(4): 619-629.[杨旭, 刘海林, 黄艳艳, 等. 有机无机复混肥施用量对热带水稻土微生物群落和酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(4): 619-629.]

(责任编辑: 陈荣府)