

## 生物有机肥对黄芪品质和根际土壤细菌群落的影响

王文丽\*, 李娟, 赵旭

(甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 探究生物有机肥料 HZ-24 在黄芪道地产区提质增产的效果, 为生物有机肥料 HZ-24 在黄芪生产中的应用提供理论依据。应用蒙古黄芪为研究材料, 设置不施肥 (CK)、常规施肥 (T)、化肥整体减量 20% (J)、化肥整体减量 20%+ 生物有机肥料 HZ-24 (HZ) 4 个处理, 通过田间试验, 采用高通量测序、高效液相色谱法和常规化学分析法, 研究施用生物有机肥料 HZ-24 对黄芪根际土壤微生物群落结构、养分以及黄芪品质和产量的影响。结果表明: HZ 处理与 T 处理相比对黄芪的产量无显著影响, HZ 处理与 J 处理相比黄芪产量增加 7%; HZ 处理与 CK、T 和 J 处理相比黄芪根际土壤的有机质分别增加 11.92%、9.04% 和 8.96%, 铵态氮分别增加 51.37%、16.52% 和 27.5%, 有效磷分别增加 44.17%、18.92% 和 18.20%, 速效钾含量分别提高 21.88%、26.32% 和 18.63%; HZ 与 T 处理相比, 黄芪根中的甲苷含量提高 17.81%、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量提高 13.28%; HZ 与 CK 处理相比未知菌门 (unidentified\_Bacteri) 占比少 60.53%, HZ 与 T 处理相比绿弯菌门 (Chloroflexi) 占比少 14.88%。变形菌门中的 *Dongia* 属、*Ferruginibacter* 属、单胞菌属 (*Arenimonas*)、苯基杆菌属 (*Phenylbacterium*)、*Bryobacter* 属、红游动菌属 (*Rhodoplanes*)、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、溶杆菌属 (*Lysobacter*) 为 HZ 处理的优势菌属, 因此, 施用生物有机肥 HZ-24 可以显著改变黄芪根际土壤细菌群落结构, 改善黄芪根际土壤微生态环境, 增加黄芪根际土壤养分, 从而提高黄芪品质。

**关键词:** 黄芪; 土壤细菌群落; 生物有机肥料 HZ-24; 养分; 品质

黄芪为豆科多年生草本植物, 以根入药, 性温, 味甘, 补气固表, 是药用价值很高的中药材<sup>[1]</sup>。多糖、皂苷、黄酮是黄芪的主要药效成分<sup>[2]</sup>。甘肃省是我国黄芪主产区, 产量占全国黄芪总产量的 50% 以上<sup>[3]</sup>, 黄芪产业是甘肃省的支柱产业之一, 该产业的发展对振兴地方经济意义重大。近年来, 随着黄芪药材组分研究的深入, 黄芪的开发产品也随之增长, 市场需求量和种植面积不断扩大<sup>[4]</sup>, 因此, 在提高黄芪产量的同时, 提高其品质也至关重要, 寻找安全高效的肥料是改善作物品质的重要手段。

微生物是土壤生态系统的重要成员, 也是土壤养分重要的源和汇, 对土壤生态系统乃至整个生物

圈的物质循环、能量流动都起着独特的、重要的作用<sup>[5]</sup>。根际土壤微生物区系与植物根系的生长和代谢密切相关, 对植物营养元素的供给和植物健康的维持发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。土壤微生物群落结构多样性是反应土壤健康状态的重要指标, 微生物群落是土壤生态系统持续发挥作用的重要媒介<sup>[7]</sup>。陈慧<sup>[8]</sup>的研究表明, 地黄连作之后土壤中的根际微生态环境发生了重大变化, 微生物种类减少, 多样性水平下降, 特别是有益微生物的种类及其数量都大量降低, 群落结构发生倾斜导致地黄无法正常发育。而施用生物有机肥能明显促进作物生长, 改善土壤微生物区系<sup>[9]</sup>。施用微生物肥料可有效改善土壤性质, 提高土壤养分, 通过增加根系活力, 提高作物对营养元素的吸收利用来使作物增产及提高抗病性<sup>[10]</sup>。为了进一步明确生物有机肥料在黄芪道地产区提质增产效果, 本研究采用高通量测序和高效液相色谱法, 研究施用生物有机肥料 HZ-24 对黄芪根际土壤微生物群落结构、养分和品质的影响及关联度, 为生物有机肥料 HZ-24 在黄芪生产中的应用提供理论依据。

收稿日期: 2021-10-26; 录用日期: 2021-12-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0501401); 甘肃省农业科学院创新专项 (2017GAAS40)。

作者简介: 王文丽 (1968-), 研究员, 学士, 主要从事农业废弃资源肥料化利用技术研究。E-mail: wang\_wenli@sina.com.com。同时为通讯作者。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试黄芪种苗为蒙古黄芪, 种苗无病无虫、表皮光滑、分叉少、无破损, 长度在 25 cm 左右, 芦径粗 6 mm 左右。

供试黄芪生物有机肥料 HZ-24 由甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所农业微生物室研制, 该肥料含有机质  $513 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全氮  $2.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全磷  $4.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全钾  $13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 7.58、活菌数  $\geq 2.68 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  (假节杆菌 *Pseudarthrobacter* sp. DG-22)。氮肥使用市售的尿素; 磷肥使用市售的磷酸二铵。

供试地膜为宽 40 cm、厚 0.008 cm 的市售黑膜。

供试土壤的理化性质为有机质  $42.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全氮  $2.50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全磷  $1.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全钾  $34.70 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、碱解氮  $201.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、有效磷  $60.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效钾  $126 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 7.2。

### 1.2 试验设计

本试验在甘肃省定西市渭源县会川镇半阴坡村农户农田 ( $35.0387^\circ \text{ N}$ ,  $104.0556^\circ \text{ E}$ ) 进行。当地海拔 2450 m, 年平均气温  $5^\circ \text{ C}$ , 年平均降水量 566.4 mm, 无霜期 131 d。

试验采用随机区组设计, 共 4 个处理, 3 次重复。处理 1: 不施肥 (CK); 处理 2: 常规施肥 (T: N  $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + $\text{P}_2\text{O}_5$   $105 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ); 处理 3: 化肥减量 20% (J: N  $120 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + $\text{P}_2\text{O}_5$   $84 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ); 处理 4: 化肥减量 20%+生物有机肥料 HZ-24 (HZ: N  $120 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + $\text{P}_2\text{O}_5$   $84 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ +HZ-24  $2400 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )。

试验小区面积  $16 \text{ m}^2$  ( $4 \text{ m} \times 4 \text{ m}$ ), 前茬作物为小麦。黄芪苗按行距 50 cm、株距 5 cm 进行露头膜下平栽, 栽培密度  $400002 \text{ 株} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。化肥在播前作为基肥一次性撒施后耙磨整地, 整个生长期不追肥。生物有机肥料 HZ-24 在黄芪移栽时撒施穴沟内, 然后平摆黄芪苗, 覆盖 5 cm 薄土、覆膜。

### 1.3 土壤样品采集与测定

基础土样于播种、施肥前采集, 采用“S”形采样方法, 采样深度 30 cm。黄芪根际土壤采用 Riley 等<sup>[11]</sup>的剥落分离法, 在黄芪盛花期取样, 每区采 10 株, 每处理 3 个重复。取样后将土样编号, 立即带回实验室过 4 mm 筛, 分 3 份, 分别在  $-80$ 、 $-20^\circ \text{ C}$  保存和风干。土壤理化性质测定按

照参考文献 [12] 进行: 有机质采用重铬酸钾氧化-外加热法; 全氮采用凯氏定氮法; 全磷采用氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法; 全钾采用氢氧化钠熔融-火焰光度法; 碱解氮采用碱解扩散法; 有效磷采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法; 速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法; 铵态氮和硝态氮采用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的氯化钙溶液浸提-流动注射分析仪测定; pH 采用电极电位法。

### 1.4 黄芪生长指标测定

分别用米尺和游标卡尺测定黄芪的株高、根长、芦头直径, 每小区测定 20 株。芦头直径是指黄芪主根顶端最粗的地方, 用十字交叉法测定, 取其平均值。将黄芪根洗净, 置于阴凉的通风处风干后称量, 测定黄芪根总干重。除去边行, 全区收获, 高压水冲洗干净, 风干, 称重, 测定小区产量。

### 1.5 黄芪甲苷含量和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定

按照《中国药典》(2015 版一部) 中的超高效液相色谱法 (UPLC) 测定黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量和甲苷含量。

### 1.6 土壤 DNA 提取及高通量测序

土壤 DNA 提取采用土壤总 DNA 提取试剂盒 PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO, 美国)。提取后的 DNA 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 超微量分光光度计进行纯度和浓度检测, 质检合格的样品交于测序公司进行 16S rDNA 扩增子测序 (诺禾致源, 北京)。使用 340F/805R 通用引物对 16S rDNA 基因的 V3 ~ V4 区进行扩增。利用 Illumina HiSeq PE250 测序平台, 采用双末端测序 (Paired-End) 的方法, 构建小片段文库。

### 1.7 数据处理

测序得到的原始数据 (row data) 存在一定比例的干扰数据 (dirty data), 为了使信息分析的结果更加准确可靠, 使用 SOAPdenovo 对原始数据进行拼接、过滤, 得到有效数据 (clean data), 然后对有效数据进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类 and 物种分类分析, 再对 OTU 进行丰度、多样性指数等分析, 同时对物种注释在各个分类水平上进行群落的统计分析。通过冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 揭示黄芪根际土壤细菌群落组成、结构、养分与品质和产量之间的关系。

采用 Excel 2010、SPSS 19.0 和 Qiime 1.9.1 对试验数据进行统计分析。利用 Uparse V7.0.1001 对测序数据进行聚类。采用 DPS 数据处理系统中的 Duncan 法进行方差分析和多重比较。利用 Excel 2010 作图。图表中数据为平均值 ± 标准差。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物有机肥料 HZ-24 对黄芪生长和产量的影响

由表 1 可知, 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的株高增加 11.96% ~ 15.99%, 但施用 HZ-24、化肥减量 20% 处理与常规施肥相比对黄芪的株高无显著影响; 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的茎叶干重增加 45.05% ~ 69.20%, 施用 HZ-24 与常规施肥相比对黄芪的茎叶干重无显著影响, 化肥减量 20% 处理与常规施肥相比, 黄芪的茎叶干重

减少 14.27%; 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的芦头直径增加 8.28% ~ 15.57%, 施用 HZ-24 与常规施肥相比对黄芪的芦头直径无显著影响, 化肥减量 20% 处理与常规施肥处理相比黄芪的芦头直径减少 6.31%; 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的根长增加 9.20% ~ 10.97%, 施用 HZ-24、化肥减量 20% 处理与常规施肥相比对黄芪的根长无显著影响; 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的根干重增加 12.51% ~ 40.64%, 施用 HZ-24 与常规施肥相比对黄芪的根干重无显著影响, 化肥减量 20% 处理与常规施肥相比, 黄芪的根干重减少 20.00%; 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的产量增加 18.26% ~ 26.89%, 施用 HZ-24 与常规施肥处理相比对黄芪的产量无显著影响, 化肥减量 20% 处理与常规施肥相比黄芪的根干重减少 6.80%。

表 1 HZ-24 对黄芪根部形态特征和产量的影响

处理	株高 (cm)	茎叶干重 (g·株 <sup>-1</sup> )	芦头直径 (mm)	根长 (cm)	根干重 (g·株 <sup>-1</sup> )	产量 (kg·hm <sup>-2</sup> )
CK	67.23 ± 3.26b	4.35 ± 0.14c	8.09 ± 0.03c	46.76 ± 1.91b	9.03 ± 0.06c	2975.41 ± 11.47c
T	77.98 ± 3.10a	7.36 ± 0.16a	9.35 ± 0.25a	51.30 ± 2.56a	12.70 ± 0.17a	3775.51 ± 10.78a
J	77.07 ± 2.84a	6.31 ± 0.13b	8.76 ± 0.48b	51.06 ± 1.91a	10.16 ± 0.09b	3518.75 ± 25.83b
HZ	75.27 ± 2.75a	7.30 ± 0.15a	9.21 ± 0.3ab	51.89 ± 1.70a	12.02 ± 0.12a	3765.31 ± 25.98a

注: 同列数据不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。下同。

### 2.2 生物有机肥料 HZ-24 对黄芪品质的影响

从图 1 可以看出, 施用 HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 黄芪的甲苷含量提高 15.82% ~ 45.76%, HZ-24 与常规施肥处理相比, 黄芪的甲苷含量提高 17.81%, 化

肥减量 20% 处理与常规施肥相比, 甲苷含量减少 6.39%, HZ-24 与化肥减量 20% 处理相比, 黄芪的甲苷含量提高 25.85%。

施用 HZ-24、常规施肥处理与无肥处理相比, 黄芪的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量分别提高 33.33%、

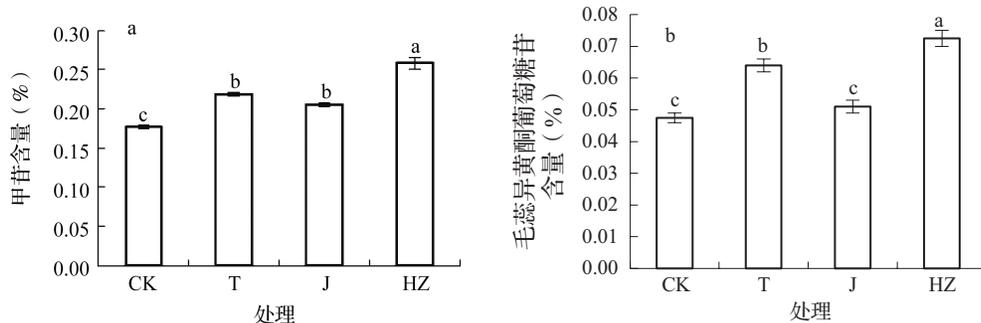


图 1 HZ-24 对黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的影响

注: 不同小写字母表示不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

52.08%，化肥减量 20% 处理与无肥处理相比，黄芪中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量无显著变化，HZ-24 与常规施肥处理相比，黄芪的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量提高 14.06%，化肥减量 20% 处理与常规施肥相比毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量减少 20.31%，HZ-24 与化肥减量 20% 处理相比黄芪的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量提高 43.14%。

### 2.3 生物有机肥料 HZ-24 对黄芪根际土壤养分的影响

由表 2 可知，施用 HZ-24 能显著增加黄芪根际土壤的有机质含量，HZ-24 与无肥、常规施肥和化肥减量 20% 处理相比，黄芪根际土壤的有机质分别增加 11.93%、9.05% 和 8.96%，其余各处理相比无差异；HZ-24、常规施肥和化肥减量 20% 处理与无肥处理相比，黄芪根际土壤的全氮分别增加 13.73%、6.00% 和 9.44%；HZ-24 与常规施肥、化肥减量 20% 处理相比，黄芪根际土壤的全氮分别增加 3.92%、7.29%，常规施肥与化肥减量 20% 处理相比无差异；HZ-24、常规施肥及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比黄芪根际土壤的铵态氮含量提高 18.72% ~ 51.37%，HZ-24

与常规施肥、化肥减量 20% 处理相比黄芪根际土壤的铵态氮分别提高 16.52%、27.5%，化肥减量 20% 与常规施肥处理相比黄芪根际土壤的铵态氮降低 8.61%；HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比黄芪根际土壤的硝态氮含量提高 5.75% ~ 24.64%，HZ-24 与常规施肥处理相比黄芪根际土壤的硝态氮降低 12.77%，与化肥减量 20% 处理相比无差异，化肥减量 20% 处理与常规施肥相比黄芪根际土壤的硝态氮降低 15.16%。

HZ-24、常规施肥处理及化肥减量 20% 处理与无肥处理相比黄芪根际土壤的有效磷含量提高 21.24% ~ 44.18%，HZ-24 与常规施肥、化肥减量 20% 处理相比黄芪根际土壤的有效磷分别增加 18.92%、18.21%，化肥减量 20% 处理与常规施肥相比黄芪根际土壤的有效磷无差异。

施用 HZ-24 可使黄芪根际土壤的速效钾含量显著提高，HZ-24 与无肥处理、常规施肥、化肥减量 20% 处理相比黄芪根际土壤的速效钾含量分别提高 21.88%、26.32%、18.63%，其余各处理相比黄芪根际土壤速效钾含量无差异。

表 2 HZ-24 对黄芪根际土壤养分的影响

处理	有机质 (g · kg <sup>-1</sup> )	全氮 (g · kg <sup>-1</sup> )	有效磷 (mg · kg <sup>-1</sup> )	速效钾 (mg · kg <sup>-1</sup> )	铵态氮 (mg · kg <sup>-1</sup> )	硝态氮 (mg · kg <sup>-1</sup> )
CK	39.31 ± 0.41b	2.33 ± 0.03c	40.97 ± 1.15c	85.33 ± 3.51b	4.38 ± 0.24c	9.74 ± 0.23c
T	40.35 ± 1.97b	2.55 ± 0.01b	49.67 ± 0.75b	82.33 ± 2.52b	5.69 ± 0.15b	12.14 ± 0.23a
J	40.38 ± 0.51b	2.47 ± 0.01b	49.97 ± 0.59b	87.67 ± 3.06b	5.20 ± 0.14b	10.30 ± 0.27b
HZ	44.00 ± 1.08a	2.65 ± 0.03a	59.07 ± 0.42a	104.00 ± 1.73a	6.63 ± 0.15a	10.59 ± 0.12b

### 2.4 生物有机肥料 HZ-24 对黄芪根际土壤细菌群落结构与组成的影响

从图 2 可知，4 个不同处理样本的遗传距离存在一定的差距，无肥处理聚为一类，常规施肥和化肥减量 20% 处理样本的遗传距离较近，聚为一类，HZ-24 处理单独聚为一类，由此说明，施用生物有机肥 HZ-24 显著改变了黄芪根际土壤细菌群落结构。

从黄芪根际土壤细菌的门水平（图 2）来看，在占比排前 10 的菌门中，HZ-24 与无肥处理相比厚壁菌门（Firmicutes）、芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）、放线菌门（Actinobacteria）占比分别多 82.15%、29.09%、12.91%，未知菌门（unidentified\_Bacteri）占比少 81.59%；HZ-24 与常规施肥

处理相比厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）占比分别多 60.70%、17.57%，未知菌门（unidentified\_Bacteri）、绿弯菌门（Chloroflexi）占比分别少 44.16%、14.88%；HZ-24 与化肥减量 20% 处理相比厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）占比分别多 49.87%、12.00%，其余各菌门占比差异不显著；化肥减量 20% 处理与无肥处理相比，芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）、厚壁菌门（Firmicutes）、放线菌门（Actinobacteria）占比分别多 67.24%、21.54%、17.04%，未知菌门（unidentified\_Bacteri）占比少 69.82%；化肥减量 20% 与常规施肥处理相比芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）占比多 28.98%，浮霉菌门（Planctomycetes）和

疣微菌门 (Verrucomicrobia) 占比分别少 19.76%、14.33%; 常规施肥与无肥处理相比, 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 占

比分别多 29.59% 和 22.83%, 未知菌门 (unidentified\_Bacteri)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 占比分别少 67.02%、19.23%。

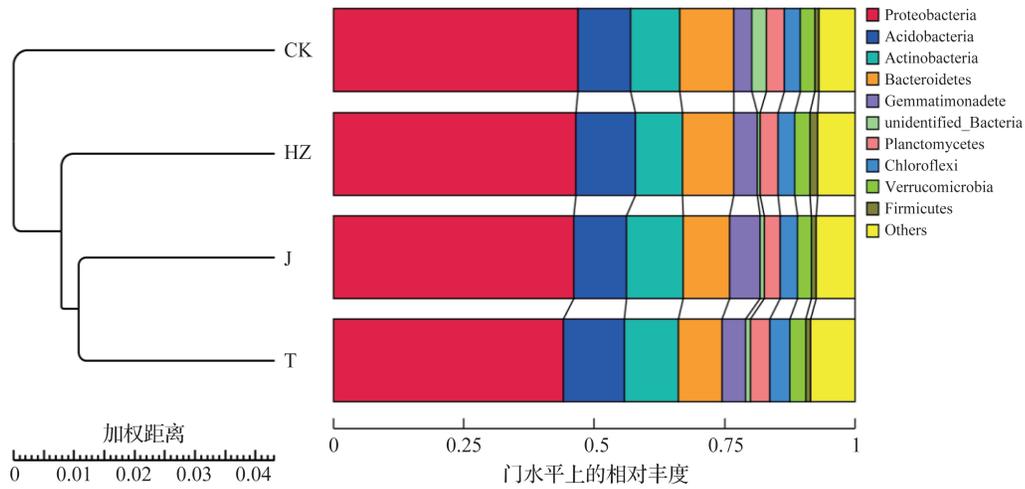


图 2 不同处理样本在门水平的 OTU 丰度聚类结果

注: Proteobacteria 变形菌门; Acidobacteria 酸杆菌门; Actinobacteria 放线菌门; Bacteroidetes 拟杆菌门; Gemmatimonadetes 芽单胞菌门; unidentified\_Bacteri 未知菌门; Planctomycetes 浮霉菌门; Chloroflexi 绿弯菌门; Verrucomicrobia 疣微菌门; Firmicutes 厚壁菌门; Others 其他菌门。

从黄芪根际土壤细菌的目水平 (图 3) 来看, 在占比排前 10 的菌目中, HZ-24 与无肥处理相比假单胞菌目 (Pseudomonadales) 占比少 45.89%, 未知菌目 (unidentified\_Bacteria) 占比少 81.69%, HZ-24 与常规施肥相比未知菌目 (unidentified\_Bacteria) 占比少 44.46%, 黄杆菌目 (Flavobacteriales) 占比多 31.82%, HZ-24 与化肥减量 20% 处理相比未知菌目 (unidentified\_Bacteria) 占比少 30.37%, 黄杆菌目 (Flavobacteriales)

占比多 31.89%; 常规施肥与无肥处理相比假单胞菌目 (Pseudomonadales)、未知菌目 (unidentified\_Bacteria)、黄杆菌目 (Flavobacteriales) 占比分别少 53.7%、67.04%、53.50%, 常规施肥与化肥减量 20% 处理相比假单胞菌目 (Pseudomonadales)、芽单胞菌目 (Gemmatimonadales) 占比分别少 28.66%、27.28%; 化肥减量 20% 处理与无肥处理相比, 假单胞菌目 (Pseudomonadales)、黄杆菌目 (Flavobacteriales)、未知菌目 (unidentified\_Bacte-

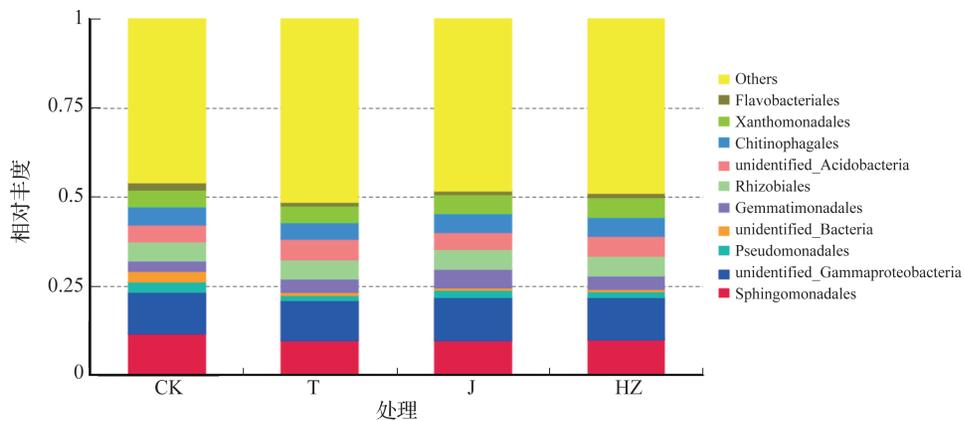


图 3 不同处理样本在目水平的微生物结构

注: Sphingomonadales 鞘脂单胞菌目; unidentified\_Gammaproteobacteria 未知丙型变形菌目; Pseudomonadales 假单胞菌目; unidentified\_Bacteria 未知菌目; Gemmatimonadales 芽单胞菌目; Rhizobiales 根瘤菌目; unidentified\_Acidobacteria 未知酸杆菌目; Chitinophagales 噬几丁质菌目; Xanthomonadales 黄单胞菌目; Flavobacteriales 黄杆菌目; Others 其他菌目。

ria) 占比分别少 35.1%、53.52%、73.71%，芽单胞菌目 (Gemmatimonadales) 占比多 74.25%。

从黄芪根际土壤细菌的属水平 (图 4) 分析, 不同处理黄芪根际土壤中优势菌属各不相同, 无肥对照中的优势菌属依次为地杆菌属 (*Pedobacter*)、金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、未知菌属 (*unidentified\_Bacteria*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、小梨形菌属 (*Pirellula*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)，这些优势菌属中有 44.4% 在拟杆菌门, 44.4% 在变形菌门; HZ-24 处理中的优势菌属依次为 *Dongia* 属、*Ferruginibacter* 属、单胞菌属 (*Arenimonas*)、苯基杆菌属 (*Phenylobacterium*)、*Bryobacter* 属、红游动菌属 (*Rhodoplanes*)、鞘脂菌属 (*Sphingobium*)、溶杆菌属 (*Lysobacter*)、未知的丙型变型菌属 (*unidentified\_Gammaproteobac-*

*teria*)、未知的硝化螺旋菌属 (*unidentified\_Nitrospiraceae*)，这些优势菌属 70% 在变形菌门; 化肥减量 20% 的处理中优势菌属依次为 *Pseudolabrys* 属、*Methylotenera* 属、*Flavisolibacter* 属、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*)、*Solirubrobacter* 属、类诺卡氏菌属 (*Nocardioides*)、芽球菌属 (*Blastococcus*)、慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、未知的变型菌属 (*unidentified\_Gammaproteobacteria*)，这些优势菌属有 44.4% 在变形菌门中, 33.3% 在放线菌门中; 常规施肥处理中的优势菌属依次为未知酸杆菌属 (*unidentified\_Acidobacteria*)、*Candidatus\_Udaeobacter* 属、新鞘氨醇杆菌属 (*Novosphingobium*)、*Haliangium* 属、*Reyranelia* 属、*Gaiella* 属、未知的硝化螺旋菌 (*unidentified\_Nitrospiraceae*)、*Chthoniobacter* 属，这些优势菌属有 37.5% 在变形菌门中, 25% 在疣微菌门中, 12.5% 在酸杆菌门中。

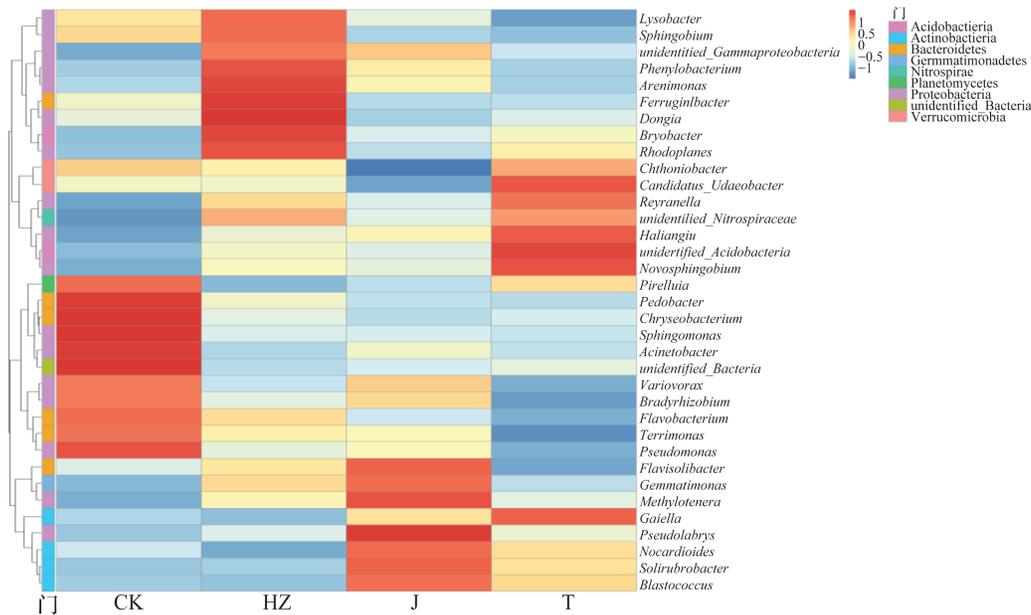


图 4 不同处理样本中优势菌属的相对丰度

### 2.5 黄芪根际土壤细菌群落特征、养分含量与其品质和产量的相关性分析

由相关性分析结果 (图 5) 可以看出, 黄芪根际土壤细菌群落的物种数 (Observed-species)、Shannon 指数、Simpson 指数、Chao1 指数、ACE 指数均与产量、甲苷含量、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量、黄芪根际土壤中的有机质、全氮、铵态氮、硝态氮、有效磷含量呈正相关; Simpson 指数、Chao1

指数、ACE 指数与黄芪根际土壤中的速效钾含量呈正相关; 文库覆盖度 (Goods coverage) 除与产量呈正相关外, 与黄芪甲苷含量、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量及黄芪根际土壤中的有机质、全氮、铵态氮、硝态氮、有效磷、速效钾含量均呈负相关; 谱系多样性 (PD-whole-tree) 除与黄芪根际土壤有机质、硝态氮含量呈正相关, 与产量、黄芪甲苷含量、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量、黄芪根际土壤中的全氮、

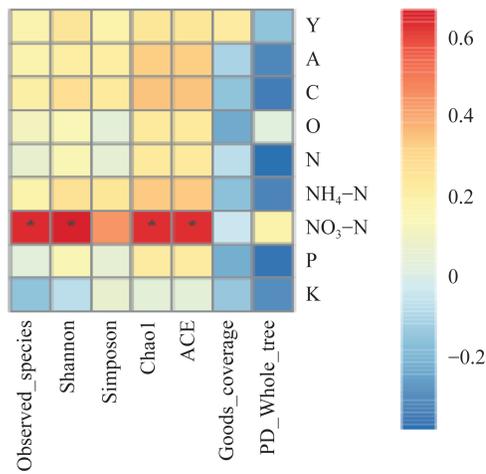


图5 细菌群落  $\alpha$  多样性指数与产量、品质及根际土壤养分的相关性

注: PD\_Whole\_tree 谱系多样性; goods coverage 文库覆盖度; ACEACE 指数; Observed\_species 物种数; Y: 产量; A: 黄芪甲苷含量; C: 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量; O: 有机质; N: 全氮; NH<sub>4</sub>-N: 铵态氮 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N); NO<sub>3</sub>-N: 硝态氮 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N); P: 有效磷; K: 速效钾。

铵态氮、有效磷、速效钾含量均呈负相关, 物种数、Shannon 指数与黄芪根际土壤中的速效钾含量也呈负相关。

选取不同处理黄芪根际土壤细菌属, 进行冗余分析 (RDA), 分析不同处理黄芪根际土壤细菌优势种群与根际土壤养分、产量及品质之间的关系, 结果 (图 6) 表明, 黄芪产量、甲苷含量、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量、黄芪根际土壤中的有机质、全氮、铵态氮、有效磷、速效钾含量均与 RDA1 和 RDA2 呈正相关, 黄芪根际土壤中的硝态氮含量与 RDA1 和 RDA2 呈负相关, 在这 9 个因素中, 优势种群对黄芪根际土壤中的速效钾含量影响最大, 其次为黄芪中的甲苷含量, 再次为黄芪根际土壤中的有效磷和有机质含量, 并且芽单胞菌属、未知的酸杆菌属和单胞菌属与黄芪产量、甲苷含量、毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量、黄芪根际土壤中的有机质、全氮、铵态氮、有效磷、速效钾含量均呈正相关, 鞘氨醇单胞菌属、未知的拟杆菌属、不动杆菌

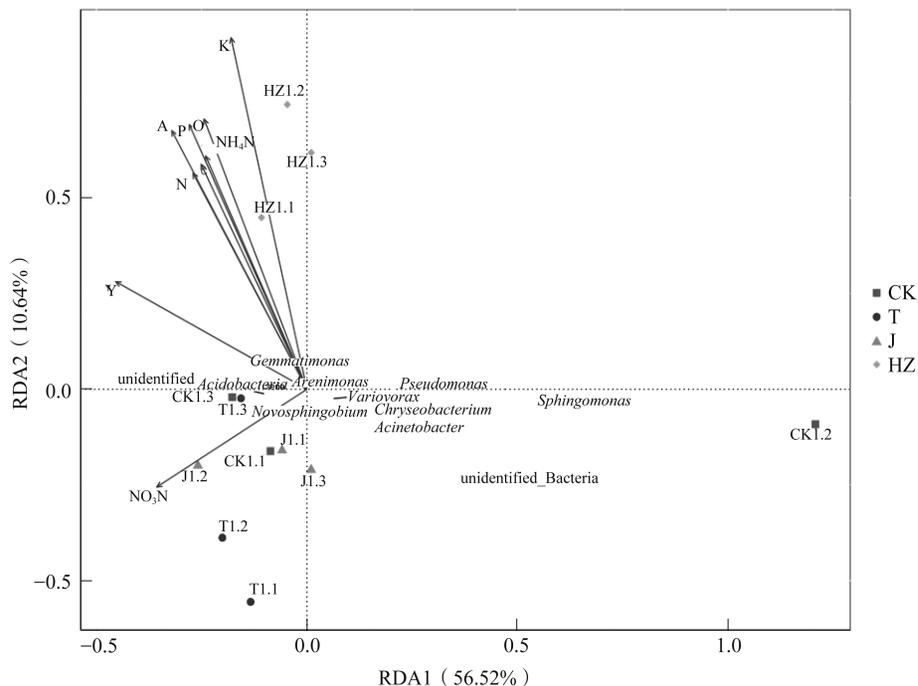


图6 不同处理土壤细菌属水平相对丰度与产量、品质及根际土壤养分的冗余分析

属、金黄杆菌属、假单胞菌属及贪噬菌属与其呈负相关, 新鞘氨醇杆菌属与黄芪根际土壤中硝态氮含量呈正相关。两个排序轴共解释了细菌群落结构 67.16% 的变异, 其中第 1 轴解释了 56.52% 的变异。

### 3 讨论

#### 3.1 HZ-24 对黄芪土壤养分、产量和品质的影响

生物有机肥施入土壤后可以增加土壤有机质含量, 改变土壤的物理性状, 减少营养元素的固定和损失<sup>[13]</sup>。土壤中的营养元素能够影响植物根

系营养及生理代谢活动,促进植物的生长,同时影响药用植物化学成分积累,最终影响中药材品质<sup>[14]</sup>。本研究中施用HZ-24可使黄芪根际土壤中的有机质、有效磷、速效钾及铵态氮含量显著提高,有利于黄芪生长营养元素的供应,为产量获得打好基础。施用生物有机肥可以持续稳定的提高作物产量<sup>[10]</sup>。张雪艳等<sup>[15]</sup>研究表明,黄瓜育苗中施入2%~8%的生物有机肥料,可以促进黄瓜根系发育,显著提高黄瓜植株的鲜质量和干质量;生物有机肥料对西兰花的品质有极显著地提高,且能提高花球产量,从而提高西兰花的经济效益<sup>[16]</sup>,徐超<sup>[17]</sup>的研究也表明,单施生物有机肥和生物有机肥料与化肥配施均能提高库尔勒香梨果实中的可溶性糖和Vc含量。邱黛玉等<sup>[18]</sup>研究表明,高效有机肥可明显增加当归的鲜、干芦头径和主身径,明显改善当归的商品性状,提高当归产量。杨庆珍等<sup>[19]</sup>研究表明,土壤中的有效磷含量与黄芪甲苷含量呈显著正相关。本研究与上述研究亦有相似结果,化肥减量20%增施生物有机肥料HZ-24与常规施肥相比产量相同,但能显著提高黄芪中的甲苷含量和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量,其原因是HZ-24中丰富的有机物为功能微生物在黄芪根际土壤中的大量增殖提供了物质保障,同时,增殖后的功能菌定殖在黄芪根际形成优势菌群,向黄芪根际土壤生态系统内分泌各种代谢产物,从而刺激黄芪生长,发挥良好的促生效果,进而形成优良品质。

### 3.2 HZ-24对黄芪根际土壤细菌群落结构的影响

土壤微生物群落的增长主要是由其中细菌的变化而引起的,增施有机肥料可以增加土壤中的微生物数量<sup>[20]</sup>。长期单施化肥不利于土壤微生物生长,化肥配施有机肥可以增加土壤微生物类群,是一种理想的施肥方式,生态环境效果高于单纯施用化肥<sup>[21]</sup>。张奇等<sup>[22]</sup>研究表明,在黄泛冲积区贫瘠土壤上每公顷施用2250 kg及以上的生物有机肥料可显著改变土壤微生物种群结构,邓开英等<sup>[23]</sup>研究表明,专用生物有机肥料应用在西瓜育苗钵中能显著改善西瓜根际土壤微生物区系,增强西瓜根系发育,促进西瓜苗健壮生长。施用生物有机肥料能提高烟草根际土壤微生物多样性,土壤中可培养微生物的总量、细菌、真菌数量升高,真菌占比降低<sup>[24]</sup>。本研究中黄芪在化肥减量20%条件下增施生物有机肥料HZ-24与常规施肥相比,黄芪根际土壤微生物群落结构和种群发生显著改变,厚

壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)占比显著增多,绿弯菌门(Chloroflexi)、未知菌目(unidentified\_Bacteria)占比减少,而且变形菌门中的Dongia属、Ferruginibacter属、单胞菌属(Arenimonas)、苯基杆菌属(Phenylobacterium)、Bryobacter属、红游动菌属(Rhodoplanes)、鞘脂菌属(Sphingobium)、溶杆菌属(Lysobacter)为该处理下的优势菌属,放线菌门中的慢生根瘤菌属也显著增多,优化了黄芪根际土壤微生态。HZ-24与无肥处理相比黄芪根际土壤微生物群落结构和种群也明显不同,厚壁菌门(Firmicutes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、放线菌门(Actinobacteria)占比显著增多,而无肥处理下的拟杆菌门中的地杆菌属(Pedobacter)、金黄杆菌属(Chryseobacterium)为其优势菌属,慢生根瘤菌属( Bradyrhizobium)也显著多于HZ-24处理,陈懿等<sup>[25]</sup>的研究结果亦证明了这一点,烤烟施碳基有机肥土壤拟杆菌门(Bacteroidetes)相对丰度提高,Latescibacteria菌门相对丰度降低,土壤细菌、真菌群落结构及多样性发生变化,施碳基有机肥优化了烤烟土壤生态。造成不同处理之间黄芪根际土壤细菌群落结构差异的缘由是由养分差异引起的,氮肥水平高的处理慢生根瘤菌属明显减少,生物有机肥中含有大量的有机质和腐植酸,可为土壤生物创造良好的微生态环境,从而有效增加微生物群落,施用生物有机肥不但能增加土壤养分,同时也为微生物提供了充足的碳源,有利于微生物的生长<sup>[26]</sup>。HZ-24中丰富的有机质亦是造成与单施化肥和无肥处理黄芪根际微生物群落结构差异的另一个重要原因。

### 3.3 不同施肥条件下黄芪根际土壤细菌群落特征对黄芪品质、产量及土壤养分的影响

化肥与有机肥配施的农田管理模式会产生较高的土壤微生物多样性,有利于提高土壤质量并增加作物产量<sup>[27-28]</sup>,如果大量施用化肥可能导致微生物氨氧化作用加强,硝态氮淋溶造成地下水污染<sup>[29]</sup>,长期高强度的农用化学品投入极易降低土壤微生物群落多样性,导致微生物功能丧失,进一步影响土壤质量,使得土壤障碍频发<sup>[30]</sup>。罗蓉等<sup>[31]</sup>研究发现,土壤微生物群落结构与土壤pH值、全氮、速效磷含量呈显著正相关,土壤养分特征的变化与土壤微生物群落结构的变化密切相关。HZ-24中的假节杆菌有可能会激发黄芪根际土著微生物群落发生变化,从而改变根际土壤生化特性,

黄芪施用生物有机肥 HZ-24 后, 其根际土壤的养分、黄芪产量、甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量均与根际土壤细菌  $\alpha$  多样性指数呈正相关, 同时, HZ-24 也改变了黄芪根际细菌群落结构, 而细菌群落结构对黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量和黄芪产量影响最大, 优势菌属中芽单胞菌属、未知的酸杆菌属、单胞菌属与黄芪产量、品质及根际土壤中多数养分含量均呈正相关。HZ-24 中富含有机质, 有机质显著影响细菌属水平群落组成<sup>[32]</sup>, 该处理的优势菌属多为固氮菌和降解菌, 苯基杆菌属为固氮菌<sup>[33]</sup>, 红游动菌属具有脱氮作用, 是具有降解有机物及一些难以生物降解的含氮化合物功能菌<sup>[34]</sup>, 鞘脂菌属能降解土壤中的异丙隆等大分子有机物<sup>[35]</sup>, 鞘脂单胞菌属具有固氮和脱氮特征, 在维持氮平衡方面起重要作用<sup>[36]</sup>, 而常规施肥处理中的优势菌属为酸杆菌属, 当土壤中酸杆菌为优势菌时土壤 pH 值越低, 香蕉枯萎病的发病率越高<sup>[37]</sup>。因此, 施用 HZ-24 实现了黄芪根际土壤微生物生态平衡, 激发了土壤有益微生物活性, 促进了黄芪根系营养的供应和吸收, 从而提高产量和品质。

#### 4 结论

在甘肃高寒阴湿区栽培黄芪, 化肥整体减量 20% 配施 2400 kg · hm<sup>-2</sup> 生物有机肥料 HZ-24, 较常规施肥黄芪根中的甲苷含量提高 17.81%, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量提高 13.28%, 同时产量与常规施肥相当; 施用生物有机肥 HZ-24 能显著增加黄芪根际土壤的有机质、有效磷、速效钾、铵态氮含量, HZ-24 与常规施肥相比, 黄芪根际土壤的有机质、有效磷、速效钾、铵态氮含量分别增加 9.04%、18.92%、26.32%、16.52%; 施用生物有机肥 HZ-24 可以显著改变黄芪根际土壤细菌群落结构与优势种群。综上, 化肥减量 20% 配施生物有机肥 HZ-24 栽培黄芪是一种较好的提质增效施肥措施, 施用该肥能通过改变黄芪根际土壤微生态环境, 增加黄芪根际土壤养分, 提高产品品质, 有广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 赵庆芳, 张艳芳, 李巧峡. 黄芪根腐病病原的显微及超微结构研究 [J]. 西北师范大学学报 (自然科学版), 2012, 48 (5): 84-88.
- [2] 乔宏兴, 史洪涛, 王永芬, 等. 黄芪-枯草芽孢杆菌复合发酵制剂对肉鸡生产性能及免疫功能的影响 [J]. 中国兽医学报, 2015, 35 (7): 1181-1186.
- [3] 陈泰祥, 王艳, 陈秀蓉, 等. 甘肃省黄芪霜霉病原鉴定及田间药效试验 [J]. 中药材, 2013, 36 (10): 1560-1563.
- [4] 秦梦, 田伟, 张益铭, 等. 不同施肥配比对黄芪产量和多糖含量的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42 (1): 148-151.
- [5] 张清敏, 刘曼, 周湘婷. 微生物肥料在土壤生态修复中的作用 [J]. 农业环境科学学报, 2006, 25 (增刊): 283-284.
- [6] 张瑞福, 沈其荣. 抑病型土壤的微生物区系特征及调控 [J]. 南京农业大学学报, 2012, 35 (5): 125-132.
- [7] Laurent P, Jos M R, Philippe L, et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere [J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11 (11): 789-99.
- [8] 陈慧. 地黄连作对土壤微生物的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [9] 高雪莲, 邓开英, 张鹏, 等. 不同生物有机肥对甜瓜土传枯萎病防治效果及对根际土壤微生物区系的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2012, 35 (6): 55-60.
- [10] 王立刚, 李维炯, 邱建军, 等. 生物有机肥对作物生长、土壤肥力及产量的效应研究 [J]. 土壤肥料, 2004 (5): 12-16.
- [11] Riley D, Barber S A. Salt accumulation at the soybean root-soil interface [J]. Soil Science Society of America Journal, 1970, 34: 154-155.
- [12] 鲍士旦. 土壤农业化学分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [13] 徐福乐, 纵明, 杨峰, 等. 生物有机肥的肥效及作用机理 [J]. 耕作与栽培, 2005 (6): 8-9.
- [14] 顾志荣, 师富贵, 金岩. 土壤无机元素与中药品质关系研究进展 [J]. 广东微量元素科学, 2013, 20 (11): 18-22.
- [15] 张雪艳, 田蕾, 高艳明, 等. 生物有机肥对黄瓜幼苗生长、基质环境以及幼苗根系特征的影响 [J]. 农业工程学报, 2013, 29 (1): 117-125.
- [16] 杨眉, 于凤泉, 李志强, 等. 生物肥对西兰花产量及品质的影响 [J]. 北方园艺, 2010 (3): 24-25.
- [17] 徐超. 生物有机肥对库尔勒香梨产量和品质及土壤肥力的影响 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016.
- [18] 邱黛玉, 蒯海明, 张延红, 等. 高效有机肥对当归增产效应的研究 [J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40 (1): 49-52.
- [19] 杨庆珍, 王增绘, 付娟, 等. 黄芪化学成分与生态因子的相关性 [J]. 应用生态学报, 2015, 26 (3): 732-738.
- [20] Rui T, Yong C L, Steven A W, et al. Supplementing chemical fertilizer with an organic component increases soil biological function and quality [J]. Applied Soil Ecology, 2015 (96): 42-51.
- [21] 刘骅, 林英华, 张云舒, 等. 长期施肥对灰漠土生物群落和酶活性的影响 [J]. 生态学报, 2008, 28 (8): 3898-3904.
- [22] 张奇, 张振华, 卢信. 生物有机肥施用对黄泛冲积区贫瘠土壤养分、酶和微生物多样性的影响 [J]. 江苏农业学报, 2020, 36 (2): 325-335.
- [23] 邓开英, 凌宁, 张鹏, 等. 专用生物有机肥对营养钵西瓜

- 苗生长和根际微生物区系的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2013, 36 (2): 103-109.
- [24] 黄媛媛, 马慧媛, 黄亚丽, 等. 生物有机肥和化肥配施对冬小麦产量及土壤生物指标的影响 [J]. 华北农学报, 2019, 34 (6): 160-169.
- [25] 陈懿, 吴春, 李彩斌, 等. 炭基肥对植烟黄壤细菌、真菌群落结构和多样性的影响 [J]. 微生物学报, 2020, 60 (4): 653-666.
- [26] 王华, 牛德奎, 胡冬南, 等. 不同肥料对油茶林土壤氮素含量、微生物群落及其功能的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20 (6): 1468-1476.
- [27] Birkhofer K, Bezemer T M. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40 (9): 2297-2308.
- [28] Gamini S. Collapse of beneficial microbial communities and deterioration of soil health: a cause for reduced crop productivity [J]. Current Science, 2009, 96 (5): 633.
- [29] Papatheodorou E M, Efthimiadou E, Stamou G P. Functional diversity of soil bacteria as affected by management practices and phenological stage of *Phaseolus vulgaris* [J]. European Journal of Soil Biology, 2008, 44 (4): 429-436.
- [30] Lupwayi N Z, Rice W A, Clayton G W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30 (13): 1733-1741.
- [31] 罗蓉, 杨苗, 余旋, 等. 沙棘人工林土壤微生物群落结构及酶活性的季节变化 [J]. 应用生态学报, 2018, 29 (4): 1163-1169.
- [32] 林洪鑫, 袁展汽, 肖运萍, 等. 施氮和间作花生对木薯根际土壤细菌群落结构的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2020 (4): 56-65.
- [33] Oh Y S, Roh D H. *Phenylobacterium muchangponense* sp. Nov., isolated from beach soil, and emended description of the genus *Phenylobacterium* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62: 977-983.
- [34] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析 [J]. 环境科学, 2016, 37 (7): 2652-2658.
- [35] 孙纪全, 梁斌, 黄星. *Phingobium* 属细菌土壤中降解异丙隆的特性 [J]. 土壤学报, 2011, 48 (2): 383-388.
- [36] 梁志婷, 邓建强, 王自奎, 等. 陇东旱塬区不同粮草轮作模式下土壤细菌群落组成特征 [J]. 草业学报, 2017, 26 (8): 180-191.
- [37] 乔帆, 陈汉清, 畅文军, 等. 菜籽饼肥对香蕉枯萎病的防效及其对土壤细菌的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 26 (4): 1702-1710.

### The effects of biological organic fertilizer on crop quality and rhizosphere soil bacteria community of *Astragalus mongholicus* Bunge

WANG Wen-li\*, LI Juan, ZHAO Xu (Institute of Soil, Fertilizer and Water-saving Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou Gansu 730070)

**Abstract:** To investigate the effects of the biological organic fertilizer HZ-24 on enhancement of quantity and quality of *A. mongholicus*' original habitats, and provided theoretical basis for the application of biological organic fertilizer HZ-24 on *A. mongholicus* crop production. Four treatments were test on *Astragalus mongholicus* Bunge in field trials: no fertilizer (CK); chemical fertilizer (T); 20% reduced chemical fertilizer (J); 20% reduced chemical fertilizer+biological organic fertilizer HZ-24 (HZ). High-throughput sequencing, HPLC and routine chemical methods were conducted to analyze the effects of HZ-24 on rhizosphere microbiology community and related nutrients of *A. mongholicus*, and the influences of the crop quality and yield. As the results showed, the yield of HZ treatment had no significant difference from T, on the other hand, the yield of HZ increased 7% compared with J. The enhancements of HZ in contrast with CK, T, J on organic mass of rhizosphere soil were 11.92%, 9.04%, 8.96%; the ammonium nitrogen content were 51.37%, 16.52%, 27.5%; the available phosphorus were 44.17%, 18.92%, 18.20%; and on the available potassium were 21.88%, 26.32%, 18.63%, respectively. The concentration of Astragaloside IV in the root of *A. mongholicus* were 17.81% higher in HZ treatment than in that T, and the concentration of Calycosin were 13.28% higher. The unidentified\_Bacteri in the rhizosphere in HZ group were 60.53% less than CK, and the Chloroflexi was 14.88% less in HZ group than T. *Dongia*, *Ferruginibacter*, *Ferruginibacter*, *Phenylobacterium*, *Bryobacter*, *Rhodoplanes*, *Lysobacter* from Proteobacteria were the dominant genus in HZ treatment groups. In conclusion, the rhizosphere soil bacterial community was significantly altered by the utilization of HZ-24, and the rhizosphere microecosystem and soil nutrients were also changed to better condition, thus, it improved the crop quality of *A. mongholicus*.

**Key words:** *A. mongholicus*; soil bacterial community; biological organic fertilizer HZ-24; nutrient; quality