

开放科学（资源服务）标识码（OSID）：



# 多效唑对杨梅土壤微生物及内生群落结构的影响

任海英<sup>1</sup>, 周慧敏<sup>1,3</sup>, 戚行江<sup>1</sup>, 郑锡良<sup>1</sup>, 俞浙萍<sup>1</sup>, 张淑文<sup>1</sup>, 王震铄<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310021; <sup>2</sup>中国农业大学植物保护学院, 北京 100193; <sup>3</sup>长江大学园艺园林学院, 湖北荆州 434023

**摘要:**【目的】多效唑常用在杨梅上用来催化花芽分化, 过量施用会使树势衰弱、叶片卷曲皱缩。研究过量多效唑对杨梅根围土和根表土的土壤酶活性以及杨梅树体微生物群落结构的影响, 为合理使用多效唑提供理论指导。【方法】1年生‘东魁’杨梅嫁接苗种植在经 150、300 和 600 mg·kg<sup>-1</sup> 多效唑处理的酸性红壤, 不施用多效唑为对照。检测根围土、根表土、根、枝和叶中多效唑的积累量, 测定土壤酶活性, 利用 Illumina MiSeq 高通量测序研究多效唑对根围土、根表土、根、枝和叶中微生物群落结构的影响。【结果】杨梅叶片积累多效唑量最多, 过氧化氢酶和磷酸酶活性显著降低, 蔗糖酶活性显著提高。高浓度多效唑处理下, 根围土的细菌多样性和丰富度明显降低, 真菌多样性和丰富度明显升高, 而根表土内的细菌多样性和丰富度明显升高、真菌多样性和丰富度明显降低, 根内细菌、枝内真菌的多样性和丰富度均明显降低。在细菌群落结构组成分析中, 施用多效唑后, 明显降低杨梅根以及根围、根表土壤中酸杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、绿弯菌门以及重要的生防类菌芽孢杆菌纲的相对丰度, 增加根围土壤和枝条样品中伯克霍尔德菌属的相对丰度; 而在真菌群落结构组成分析中, 施用多效唑后, 明显提高根围土壤和根表土壤的子囊菌门以及枝条叶片中外担菌纲的相对丰度, 明显降低根围土壤、根表土壤和根中担子菌门、伞菌纲以及枝条和叶片中青霉属的相对丰度。【结论】土壤施用多效唑后, 杨梅树体叶片残留量最多, 土壤过氧化氢酶、磷酸酶、蔗糖酶活性显著变化, 根围土、根表土、根、枝和叶中细菌、真菌丰富度和多样性发生显著变化。本研究结果可为合理施用多效唑和评价多效唑对果园土壤和杨梅树体生态系统的影响提供科学依据, 有利于指导多效唑的科学施用。

**关键词:** 杨梅; 多效唑; 土壤酶活性; 微生物群落

## Effects of Paclobutrazol on Soil and Endophytic Microbial Community Structure of Bayberry

REN HaiYing<sup>1</sup>, ZHOU HuiMin<sup>1,3</sup>, QI XingJiang<sup>1</sup>, ZHENG XiLiang<sup>1</sup>, YU ZhePing<sup>1</sup>, ZHANG ShuWen<sup>1</sup>, WANG ZhenShuo<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021; <sup>2</sup>College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193; <sup>3</sup>College of Horticulture and Landscape Architecture, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei

**Abstract:**【Objective】Paclobutrazol is commonly used to catalyze flower bud differentiation in bayberry, however, excessive application will weaken the vigor of the trees with curled and shrank leaves. The study focused on the influence of paclobutrazol overuse on the enzyme activities of the bulk and root surface soil as well as plant and soil microbial community structure of bayberry, which would provide the theoretical guidance for the rational use of paclobutrazol.【Method】The grafted seedlings of one-year-old bayberry cv. ‘Dongkui’ were planted in the acid red soil and treated with 150, 300 and 600 mg·kg<sup>-1</sup> paclobutrazol, and the control was treated with the same volume of water. The accumulation of paclobutrazol was measured in the bulk and root surface soil, as well as roots, twigs and leaves of bayberry. The influence of paclobutrazol on bayberry associated microbe was determined by examining the

收稿日期: 2021-02-26; 接受日期: 2021-05-20

基金项目: 浙江省科技厅重点研发计划 (2019C02038)、浙江省重点研发计划项目 (2020C02001, 2021C02009)

联系方式: 任海英, 0571-86410266, renhy@zaas.ac.cn。通信作者王震铄, E-mail: zhenswang@163.com

soil enzyme activities and the microbial community structure of bulk and root surface soil, roots, twigs and leaves by using Illumina MiSeq high-throughput sequencing. 【Result】The results showed that the most accumulation of paclobutrazol was in leaves, while the activities of catalase and phosphatase were significantly decreased, but the activities of invertase were significantly increased. The high concentration application of paclobutrazol significantly decreased diversity and richness of bacteria and increased the diversity and richness of fungi in bulk soil, which significantly increased the diversity and richness of bacteria and increased the diversity and richness fungi in surface root soil, while the diversity and richness of both root bacteria and branches fungi were significantly decreased. After the application of paclobutrazol, the relative abundance of Acidobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Chloroflexi and important biocontrol bacteria Bacilli in bayberry root, root bulk and root surface soil were significantly reduced, and those of *Burkholderia* in root bulk soil and twigs were increased in the bacterial community composition; the relative abundance of Ascomycota in root bulk soils and root surface soils, those of Exobasidiomycetes in twigs and leaves were significantly increased, and those of Basidiomycota and Agaricomycetes in root bulk soil, root surface soil and roots, and *Penicillium* in twigs and leaves were significantly decreased in the analysis of fungal community composition. 【Conclusion】The most residue was found in leaves of bayberry plant after soil application of paclobutrazol. The overuse of paclobutrazol caused a significant change in the activities of catalase, phosphatase and sucrase treated soils, as well as the richness and diversity of bacteria and fungi in the bulk and root surface soil, roots, branches and leaves of the bayberry trees. Overall, the results of this study not only gave an understanding on the influence of paclobutrazol on bayberry and orchard soil ecosystem, but also provided a theoretical basis for the rational application of paclobutrazol.

**Key words:** bayberry; paclobutrazol; soil enzyme activity; microbial community

## 0 引言

【研究意义】杨梅 (*Myrica rubra* Sieb Zucc.) 果实甜酸适口, 风味独特, 营养价值高, 全国栽培面积约 33.4 万 hm<sup>2</sup>, 年产量约 95 万 t, 经济效益显著<sup>[1-2]</sup>。

‘东魁’品种果个大, 商品性好, 栽培面积达到 70% 以上, 但是该品种生长旺盛、花芽分化困难, 常施用多效唑来控梢促花芽, 产业上常常出现多效唑施用过量导致杨梅叶间缩短、叶片卷曲、树体衰弱, 甚至引起树体早衰死亡<sup>[3-4]</sup>。开发出有效恢复早衰杨梅树势的技术, 成为产业的迫切需求。【前人研究进展】多效唑[Paclobutrazol, (2RS, 3RS)-1-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)戊烷-3-醇, PP333]在农业生产中发挥着重要的作用, 常用于促进开花和坐果、调节植物生长, 如矮化芍药<sup>[5]</sup>和小麦<sup>[6]</sup>, 提高玉米<sup>[7]</sup>、茶树种子和油料产量<sup>[8]</sup>, 降低番茄株高、提高光合速率、缩短果实的成熟时间<sup>[9-10]</sup>, 也常用于杨梅的促花<sup>[11]</sup>。多效唑在土壤残留期较长, 残留的多效唑会影响土壤生态系统的平衡<sup>[12-13]</sup>, 对杨梅的根际菌根有伤害作用, 同时降低菌丝的侵染能力<sup>[14]</sup>, 使用过量使杨梅叶片细胞紧缩、变小, 叶片皱缩, 秋梢抽发减少, 极易出现早衰现象<sup>[3]</sup>。微生物是土壤的重要组分, 其结构和多样性影响着土壤肥力、植物生长发育<sup>[15-16]</sup>、有机物分解和污染物降解等<sup>[17]</sup>, 重构土壤菌群结构是提高土壤肥力的重要措施<sup>[18-19]</sup>。内生菌是广泛存在于植物各组织器官中以宿主植物代谢物为营养物质的

一类微生物<sup>[20-21]</sup>, 促进植物吸收养分、生长加快、增强抗性<sup>[22-24]</sup>, 重金属污染和病原菌侵染等均可以改变内生菌群的群落结构<sup>[25-26]</sup>。但是多效唑对杨梅树体内生菌群和土壤微生物群落结构的作用未见报道。【本研究切入点】多效唑的推荐喷施浓度为 300—750 mg·L<sup>-1</sup>, 适宜喷施时期为 7 月上旬至 9 月下旬<sup>[11]</sup>, 但是在产业上农民往往土壤施用, 而且是多次施用, 连续土壤施用 300—400 mg·kg<sup>-1</sup> 的 PP333 会导致杨梅叶片和土壤中 PP333 的残留和积累, 使杨梅叶片畸形、树体早衰及死亡。明确多效唑对杨梅根围和根表土壤以及根、枝和叶的微生物群落影响将有助于开发恢复杨梅树势的技术措施。【拟解决的关键问题】本研究以‘东魁’杨梅为试材, 进行不同浓度多效唑处理, 对多效唑在杨梅树体根、枝、叶和土壤内的残留、土壤酶活性以及施用多效唑前后杨梅土壤及树体微生物多样性和群落结构的变化情况进行研究, 为开发恢复早衰杨梅树势的技术, 指导多效唑科学施用提供理论指导。

## 1 材料与方法

试验于 2018—2019 年在浙江农业科学院进行。

### 1.1 试验材料

试验所用的杨梅苗于 2018 年 4 月种植在玻璃温室内。选择体积为 30 cm×30 cm 的无纺布袋装满黄泥土(取自仙居荒山, 未种植过杨梅, 未使用过任何农业投入品), 根据杨梅出现叶片卷缩、叶间缩短的树体根围土壤多效唑残留量检测<sup>[4]</sup>以及土壤施用多效唑引

起杨梅树体危害的剂量报道<sup>[3]</sup>，配置多效唑浓度为 0 (P0)、150 (P150)、300 (P300) 和 600 (P600) mg·kg<sup>-1</sup> 的黄泥土，选择长势一致的 1 年生 ‘东魁’ 杨梅嫁接苗小心种植入袋内，每个处理梯度种植 15 棵苗，置入玻璃温室内，平均温度 25℃，以无多效唑的黄泥土种植的杨梅为对照，按常规方式管理，不施用其他肥料和农药。

## 1.2 取样方法

种植 6 个月后，最高浓度处理 P600 的叶片出现皱缩现象，采集距离主茎 10 cm 位置的土壤用于多效唑残留和土壤酶活性测定，采集根围土、根表土及叶片、枝条、树根等样品，迅速放入液氮中冷冻后置于 -80℃ 冰箱备用。距离顶端 3 片嫩叶以下的成熟叶片和对应位置的枝干用来检测多效唑的积累量。每 3 个叶片、3 根枝条或者树根为 1 次重复，每个处理均设 6 次重复。

在树冠滴水线位置 0—20 cm 土层内挖取直径 0.5—1.0 cm 的细根，用手轻轻抖动收集的样品即为根围土壤，把须根放入 50 mL PBS 中 150 r/min 摆床摇 30 min，然后 1 000 r/min 离心 5 min，收集土壤沉淀，晾干过 40 目筛网即为根表土<sup>[27]</sup>，每盆土算 1 个重复，每个处理均设 6 次重复。

## 1.3 多效唑残留量检测

对采集的杨梅枝条、叶片、根、根围土和根表土中的多效唑残留提取和检测参照赵锋等<sup>[28]</sup>的方法。

根围和根表土壤的多效唑提取方法：准确称取 10.0 g 土壤样品，加入 5 mL 去离子水和 20 mL 乙腈，涡旋 1 min，超声提取 20 min，4 500 r/min 离心 3 min，将上清液转入盛有 5 g NaCl 的具塞量筒中，余下的土样按上述提取方法第 2 次提取。将 2 次提取液合并转入盛有 5 g NaCl 的具塞量筒中，涡旋 2 min，静止 30 min，用移液管抽取上清液 20 mL 转入圆底烧瓶，旋转蒸发浓缩至干，用 2.5 mL 正己烷定容，0.45 μm 有机膜过滤于进样小瓶中保存，待测。

杨梅根、枝、叶多效唑提取方法：准确称取 5.0 g 已磨碎的匀质样品，加入乙腈溶液 10 mL，涡旋，加入 NaCl 1.5 g 静置 10 min，涡旋后 8 000 r/min，10 min 离心，取上清液备用。然后用 5 mL 甲醇和 5 mL 水预处理固相萃取柱，取上清液过柱，再用 5 mL 水和 5 mL 5% 甲醇淋洗萃取柱，弃去淋洗液，抽干小柱，5 mL 甲醇洗脱小柱，收集洗脱液，过 0.22 μm 滤膜，待测。

多效唑含量采用气相色谱-三重四级杆串联质谱仪 (GC-MS-MS) 测定。标准溶液：精确称取多效唑

标准品质量 0.0050 g (精确至 0.0001 g)，甲醇溶液溶解定容稀释至浓度分别为 0.20、0.50、1.00、2.00、5.00 和 10.00 μg·mL<sup>-1</sup>，过 0.22 μm 滤膜，待用。称取多效唑标准品，少量甲醇溶液溶解，用水分别稀释到 50、100、150、200、250 和 300 μg·mL<sup>-1</sup>，每个浓度的溶液 200 mL。色谱条件：流速 1 mL·min<sup>-1</sup>；温度 40℃；波长 220 nm；进样量 20 μL；色谱柱为 XBridge C18 色谱柱；流动相是乙腈：水=1 : 1 (体积比)。

## 1.4 土壤酶活性检测

土壤过氧化氢酶活性采用微量滴定法测定<sup>[29]</sup>，土壤磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法测定<sup>[30]</sup>，土壤蔗糖酶采用铜试剂定量法<sup>[31]</sup>，纤维素酶活性测定用 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[32]</sup>。每个样品技术重复 6 次，取平均值。

## 1.5 土壤基因组测序

P0 和 P600 处理的根围土壤 (分别记为 BS0、BSP)、根表 (分别记为 SF0、SFP) 和根 (分别记为 R0、RP)、枝 (分别记为 T0、TP)、叶 (分别记为 L0、LP) 样品的基因组测序委托上海欧易生物医学科技有限公司执行。采用 DNA 抽提试剂盒 (DNeasy PowerSoil Kit、QIAamp 96 PowerFecal QIAcube HT kit) 提取样本基因组 DNA，以稀释后的基因组 DNA 为模板，使用 Tks Gflex DNA Polymerase 高保真酶 (Takara，大连) 进行 PCR，使用带条形码 (Barcode) 的特异引物 343F-5'-TACGGRAGGCAGCAG-3' 和 798R-5'-AGGGTATCTAACCT-3'PCR 扩增细菌多样性对应区域 16SrRNA V3-V4 区<sup>[33]</sup>，ITS1F-5'-CTTGG TCATTTAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS2-5'-GCTGCGTT CTTCATCGATGC-3' 扩增真菌 ITS 多样性对应区域 ITS1 和 ITS2<sup>[34]</sup>，使用 Qubit dsDNA Assay Kit 定量后，PCR 产物等量混样，利用 Illumina MiSeqPE300 平台对 PCR 产物进行测序。采用 Illumina Miseq 对微生物多样性测序分析，使用 Vsearch 软件按照 97% 的相似度进行 OTU 分类，采用 RDP Classifier Naive Bayesian 对代表序列与数据库进行物种注释。

## 1.6 数据处理

本研究中 Alpha 多样性指数采用 Mothur 软件进行计算，包括 Chao1 指数和 Shannon 指数。Chao1 指数反应群落的丰富度，而 Shannon 指数反应群落的多样性。Beta 多样性分析利用 R3.5.1 语言进行，即主成分分析 (principal component analysis, PCA)。微生物群落结构柱形图使用 QIIME 软件绘制，用以呈现不同分类水平土壤微生物的群落结构组成和丰度分布<sup>[35]</sup>。采用

Excel 2010 作数据初步处理, 用 SPSS17.0 软件进行显著性检验, 采用 Duncan's 新复极差法 ( $\alpha=0.05$ )。

## 2 结果

### 2.1 多效唑在土壤及杨梅树体内的积累

P600 处理的叶片内积累的多效唑量最大, 达到

$7.83 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。P300 处理的叶片以及 P600 和 P300 处理的枝条内含量次之, 且三者没有显著性差异, 含量在  $2.59\text{--}3.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , P150 处理的叶片和枝条以及所有处理的根和土壤内积累量很少, 与对照没有显著性差异(表 1)。说明杨梅树体中叶片最容易积累多效唑, 枝条次之, 根最少。

表 1 不同多效唑用量在土壤及杨梅树体内的残留量

Table 1 The residues of paclobutrazol with different dosage in soil and bayberry

样品 Sample	处理 Treatment	残留量 Residues ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	样品 Sample	处理 Treatment	残留量 Residues ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
土壤 Soil	P0	0c	枝条 Twig	P0	0c
	P150	$0.39 \pm 0.11\text{c}$		P150	$0.01 \pm 0.00\text{c}$
	P300	$0.48 \pm 0.14\text{c}$		P300	$2.59 \pm 1.59\text{b}$
	P600	$0.93 \pm 0.47\text{c}$		P600	$3.97 \pm 0.57\text{b}$
根 Root	P0	0c	叶 Leaf	P0	0c
	P150	$0.17 \pm 0.07\text{c}$		P150	$0.39 \pm 0.33\text{c}$
	P300	$0.60 \pm 0.15\text{c}$		P300	$3.17 \pm 2.31\text{b}$
	P600	$0.93 \pm 0.21\text{c}$		P600	$7.83 \pm 2.65\text{a}$

同列数据上不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同

The different lowercase letters in the same column show significant difference at the level of 0.05. The same as below

### 2.2 土壤酶活性

过氧化氢酶广泛存在于土壤和生物体内, 能有效防止土壤代谢过程中产生的过氧化氢对生物体造成的毒害。P150 处理的土壤过氧化氢酶活性相比对照没有显著性差异, 但是 P300 和 P600 的过氧化氢酶活性显著降低, 分别降低 8.89% 和 14.44% (表 2)。说明高浓度多效唑处理后杨梅树体受到的过氧化氢毒害可能加重。

土壤中磷酸酶可参与土壤有机磷转化为无机磷, 积累的磷酸酶对土壤磷素的有效性具有重要作用。P150 处理的土壤磷酸酶活性相比对照没有显著性差异, 但是 P300 和 P600 的磷酸酶活性显著降低, 分别降低 76.89% 和 63.08% (表 2)。说明高浓度多效唑可能抑制杨梅对磷肥的吸收。

蔗糖酶是一种可以把土壤中高分子量蔗糖分子分解成能够被植物和土壤微生物吸收利用的葡萄糖和果糖的水解酶, 为土壤生物体提供充分能源, 其活性反映了土壤有机碳累积与分解转化的规律。P300 和 P600 处理的土壤蔗糖酶活性相比对照显著升高, 升高幅度在 59.80%—80.50%。说明高浓度的多效唑增强了杨梅对有机碳的分解转化能力。

纤维素酶催化土壤中的短物残体水解成纤维二糖, 纤维二糖再分解成葡萄糖, 是碳循环中的一个重要酶。施用多效唑土壤的纤维素酶活性相比对照差异显著, P300 处理的酶活性比对照显著升高 26.80%, 而 P150 和 P600 处理的土壤酶活性相比对照显著降低, 分别降低了 36.59% 和 48.78% (表 2)。说明多效唑浓度对纤维素酶活性影响没有明显的规律。

表 2 施用多效唑后杨梅土壤内活性酶的活性

Table 2 The soil enzymes activity of bayberry after the application of paclobutrazol

处理 Treatment	过氧化氢酶 Catalase ( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ )	磷酸酶 Phosphatase ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	蔗糖酶 Sucrase ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	纤维素酶 Cellulase ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
P0	$0.90 \pm 0.08\text{ab}$	$7.53 \pm 0.19\text{a}$	$0.87 \pm 0.09\text{b}$	$0.41 \pm 0.04\text{b}$
P150	$1.11 \pm 0.07\text{a}$	$6.16 \pm 0.23\text{a}$	$1.57 \pm 0.09\text{a}$	$0.26 \pm 0.03\text{c}$
P300	$0.82 \pm 0.08\text{b}$	$1.74 \pm 0.74\text{b}$	$1.41 \pm 0.11\text{a}$	$0.52 \pm 0.02\text{a}$
P600	$0.77 \pm 0.05\text{b}$	$2.78 \pm 0.75\text{b}$	$1.39 \pm 0.24\text{a}$	$0.21 \pm 0.03\text{c}$

### 2.3 Alpha 多样性分析

丰富度指数 Chao1 以及群落多样性指数 Shannon 数值越高，表明丰富度及多样性越高。多效唑施用后，根围土和根内的细菌 Chao1、Shannon 指数均明显下降，但是根表土的 Chao1 指数、Shannon 指数却明显升高。而枝条和叶片内的 Chao1 指数、Shannon 指数均较小，且施用前后没有明显差异或者差异较小（表 3）。根围土和叶片内的真菌 Chao1 指数以及根围土和根内的真菌 Shannon 指数明显升高，而根表土、根、枝的真菌 Chao1 指数以及根表土、枝的真菌 Shannon 指数明显降低（表 3）。说明杨梅施用多效唑后，根围土的细菌多样性和丰富度明显降低，真菌多样性和丰富度明显升高，而根表土内的细菌多样性和丰富度明显升高、真菌多样性和丰富度明显降低，根内的细菌多样性和丰富度以及枝内的真菌多样性和丰富度均明显降低，枝条和叶片内细菌相对数量较少。

### 2.4 Beta 多样性分析

通过分析不同样品的 OTU 组成可以反映样品间的差异和距离，如样品群落结构越相似，反映在 PCA 图中的距离越近（图 1）。由图 1-A 可知，多效唑处理过的根围土（BSP）、根表土（SFP）和根（RP）与对照根围土（BS0）、根表土（SF0）和根（R0）之间距离较远，而多效唑处理过的枝（TP）和叶（LP）与对照的枝（T0）和叶（L0）之间距离较近，细菌提取的 2 个主成分的贡献率分别为 34.36%、24.47%，杨梅

表 3 细菌和真菌 Alpha 多样性指数

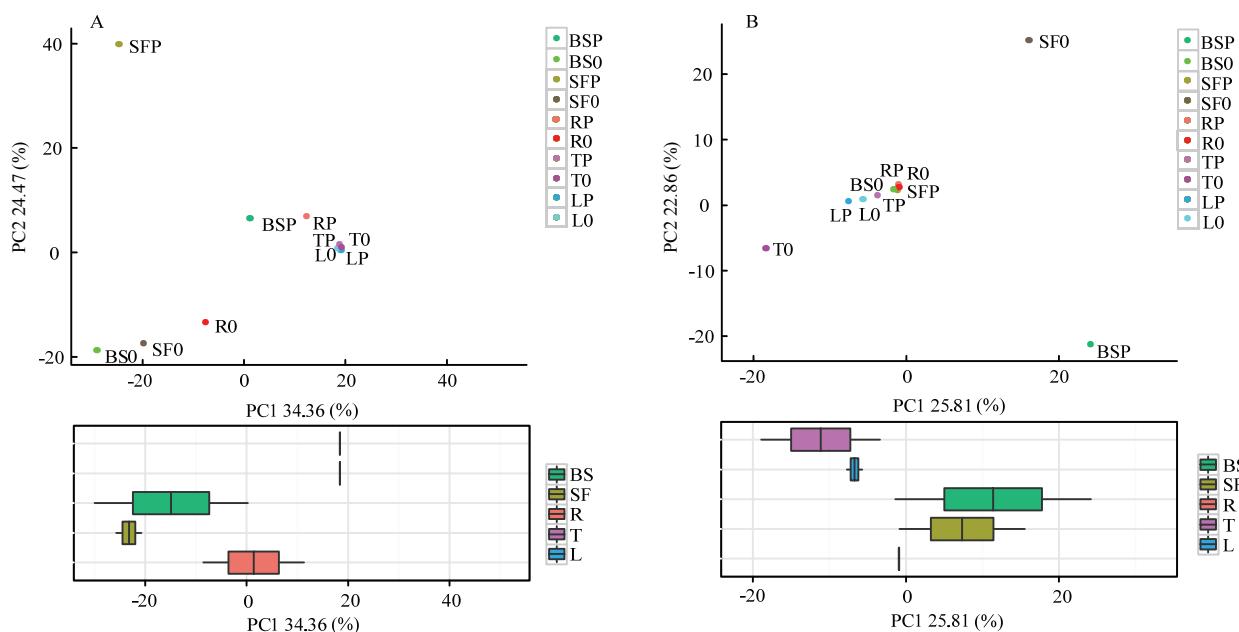
Table 3 Alpha diversity index of bacteria and fungi

样品 Sample	细菌 Bacteria		真菌 Fungi	
	Chao1	Shannon	Chao1	Shannon
SF0	901.79	7.44	232.11	3.68
SFP	918.46	8.28*	99.90#	1.02#
BS0	986.33	7.86	23.10	0.21
BSP	784.70#	7.25	200.39*	3.95*
R0	904.40	5.94	80.70	2.22
RP	615.38#	3.66#	63.03#	2.62*
T0	14.40	0.50	205.29	4.00
TP	7.80#	0.68*	93.47#	1.74#
L0	5.00	0.30	151.61	3.03
LP	5.00	0.39*	179.78*	3.00

#和\*分别表示多效唑处理与对照差异显著 ( $P < 0.05$ )

# and \* indicate that the Chao1 and Shannon in paclobutrazol treated trees was significantly different with control trees ( $P < 0.05$ ), respectively

与对照根围土（BS0）、根表土（SF0）、根（R0）之间距离较远，而多效唑处理过的枝（TP）和叶（LP）与对照的枝（T0）叶（L0）之间距离较近，细菌提取的 2 个主成分的贡献率分别为 34.36%、24.47%，杨梅



BS：根围土壤；SF：根表土壤；R：根；T：枝条；L：叶 BS: Bulk soil; SF: Root surface soil; R: Root; T: Twig; L: Leaves

图 1 细菌 (A) 及真菌 (B) 群落结构的 PCA 分析

Fig. 1 PCA analysis of bacterial (A) and fungal (B) community structure

根(R0和RP)主成分1轴的负轴、正轴均有分布, 根表土(SF0和SFP)及根围土(BS0和BSP)均分布在主成分1轴的负轴。表明在施用多效唑后, 根围土、根表土以及根中的细菌群落结构发生较大改变, 而枝和叶中细菌群落结构相似。

由图1-B可知, 多效唑处理过的根围土(BSP)、根表土(SFP)、枝(TP)与对照根围土(BS0)、根表土(SF0)、枝(T0)之间距离较远, 显示明显的离分, 而多效唑处理过的根(RP)和叶(LP)与对照根(R0)、叶(L0)之间距离较近; 真菌提取的2个主成分的贡献率分别为25.81%、22.86%, 根围土(BS0和RP)及根表土(SF0和SFP)均分布在主成分1轴的正轴, 叶片(L0和LP)及枝条(T0和TP)均分布在主成分1轴的负轴。可见多效唑处理后, 根围土、根表土及杨梅树体枝条的真菌群落结构发生较大改变。

## 2.5 细菌群落结构组成分析

**2.5.1 门水平群落结构分析** 细菌门分类水平群落结构组成如图2-A所示, 在杨梅根以及根表、根围土壤中, 优势菌门(相对丰度>2%)主要有变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)。与对照相比, 施用多效唑后, 杨梅根以及根表、根围土壤变形菌门的相对丰度都分别提高了1.69倍、57.55%、50.16%; 酸杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、绿弯菌门的相对丰度都有所降低, 降低了8.76%—99.32%, 其中根、根表土中的厚壁菌门显著降低了99.32%、89.08%; 而拟杆菌门在杨梅根中的相对丰度降低了9.54%, 在根围、根表土壤中分别提高了1.45倍、3.96倍。可见施用多效唑明显提高了杨梅根以及根围、根表土壤中变形菌门的相对丰度, 而酸杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、绿弯菌门的相对丰度都明显降低; 在根围、根表土壤中拟杆菌门的相对丰度有明显升高, 而在杨梅根中与之相反。

叶片和枝条中由于细菌数量很少, 而枝条中优势菌门(相对丰度>2%)有变形菌门、酸杆菌门、放线菌门。施用多效唑后, 枝条中变形菌门相对丰度降低了77.78%, 酸杆菌门未检测到, 而放线菌门的相对丰度提高了1.22倍。可见多效唑处理后, 枝条中变形菌门的相对丰度有明显降低, 放线菌门相对丰度明显升高。

**2.5.2 纲水平群落结构分析** 细菌纲分类水平群落结构组成如图2-B所示, 在杨梅根以及根围、根

表土壤中, 优势菌纲(相对丰度>2%)主要有 $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、 $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、酸杆菌纲(*Acidobacteriia*)、放线菌纲(*Actinobacteria*)、芽孢杆菌纲(*Bacilli*)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*)和纤线杆菌纲(*Ktedonobacteria*)。与对照相比, 施用多效唑后, 杨梅根以及根表、根围土壤中 $\alpha$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲提高了19.25%—259.34%, 其中根部 $\gamma$ -变形菌纲增加最多; 酸杆菌纲、放线菌纲、芽孢杆菌纲、纤线杆菌纲降低了4.66%—99.44%, 其中根部芽孢杆菌纲降低最多; 而拟杆菌纲在根表、根围土壤中分别增加了1.4倍和4.55倍, 在根中降低了15.74%。因此, 施用多效唑后明显提高了杨梅根以及根表、根围土壤中 $\alpha$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲的相对丰度, 而重要的生防类菌芽孢杆菌纲在根中显著减少。

枝条中优势菌纲(相对丰度>2%)有 $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲、酸杆菌纲和放线菌纲。未施用多效唑时, 枝条中 $\alpha$ -变形菌纲、酸杆菌纲的相对丰度分别为3.33%、3.33%; 施用多效唑后, 枝条中 $\alpha$ -变形菌纲、酸杆菌纲均未检测到, 而 $\gamma$ -变形菌纲的相对丰度明显降低了72.22%, 放线菌纲增加了11.11%。说明施用多效唑可以明显降低枝条中 $\alpha$ -变形菌纲、酸杆菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲的相对丰度, 增加了放线菌纲相对丰度。

**2.5.3 属水平群落结构分析** 在杨梅根中, 优势菌属(相对丰度>2%)主要为乳球菌属(*Lactococcus*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、柄杆菌属(*Caulobacter*)。与对照相比, 施用多效唑后, 在根表土壤中优势菌属(相对丰度>2%)主要为乳球菌属、*Acidibacter*, 与对照相比, 施用多效唑后根表土壤中乳球菌属和*Acidibacter*属的相对丰度都分别降低了89.18%、37.71%。在根围土壤中, 优势菌属(相对丰度>2%)主要为乳球菌属和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*), 与对照相比, 施用多效唑处理后根围土壤中伯克霍尔德菌属的相对丰度明显增加了2.99倍, 而乳球菌属降低了72.32%, 其相对丰度明显降低; 杨梅根中乳球菌属、节杆菌属、柄杆菌属的相对丰度分别降低了99.96%、99.97%、99.05%。枝条中优势菌属(相对丰度>2%)为伯克霍尔德菌属和诺卡氏菌属(*Nocardia*), 施用多效唑后, 伯克霍尔德菌属的相对丰度相比对照增加了11.11%, 而诺卡氏菌属未检测到(图2-C)。由此可知, 施用多效唑后在根围土壤和枝条样品中可以明显增加伯克霍尔德菌属的相对丰度, 乳球菌属和诺卡氏菌的相对丰度分别在根围土壤和枝条样品中明显降低。

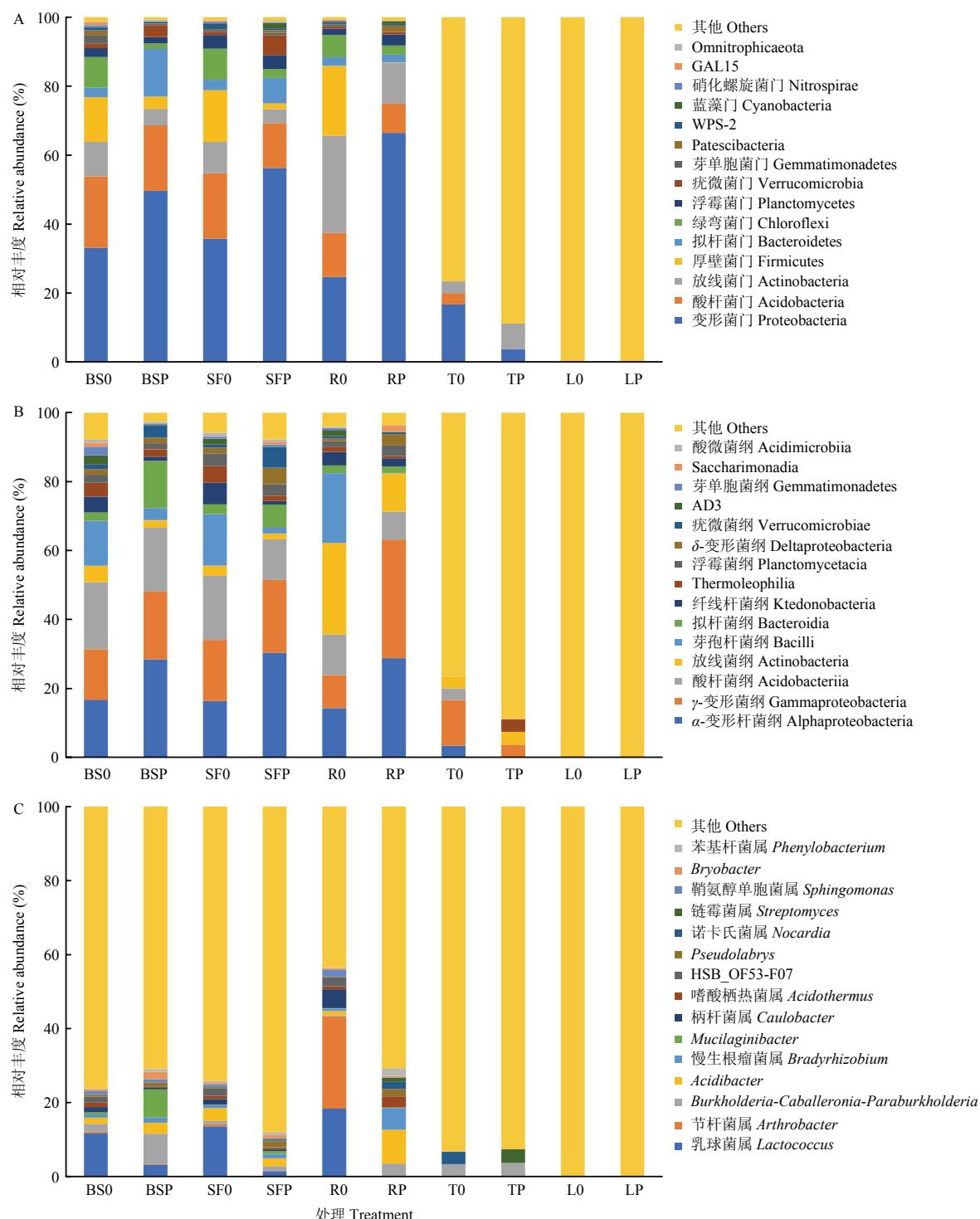


图2 细菌门(A)纲(B)属(C)水平相对丰度分布图

Fig. 2 The relative abundance distribution of bacterial at the phylum (A), class (B) and genus (C) level

## 2.6 真菌群落结构组成分析

2.6.1 门水平群落结构分析 在真菌门分类水平中(图3-A)，优势菌门(相对丰度>2%)仅有子囊菌

门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)。与对照相比，施用多效唑处理后，根表、根围土壤中子囊菌门的相对丰度分别提高了26.74%、6.64倍，可见

根围土壤中子囊菌门的相对丰度有明显的提高; 而根表、根围土壤中的担子菌门分别降低了 83.55%、63.73%, 根中子囊菌门、担子菌门的相对丰度分别降

低了 8.09%、97.78%。叶片和枝条中子囊菌门的相对丰度分别降低了 7.74%、63.74%, 担子菌门分别提高了 9.67% 和 16 倍。说明施用多效唑后, 根围土壤和根

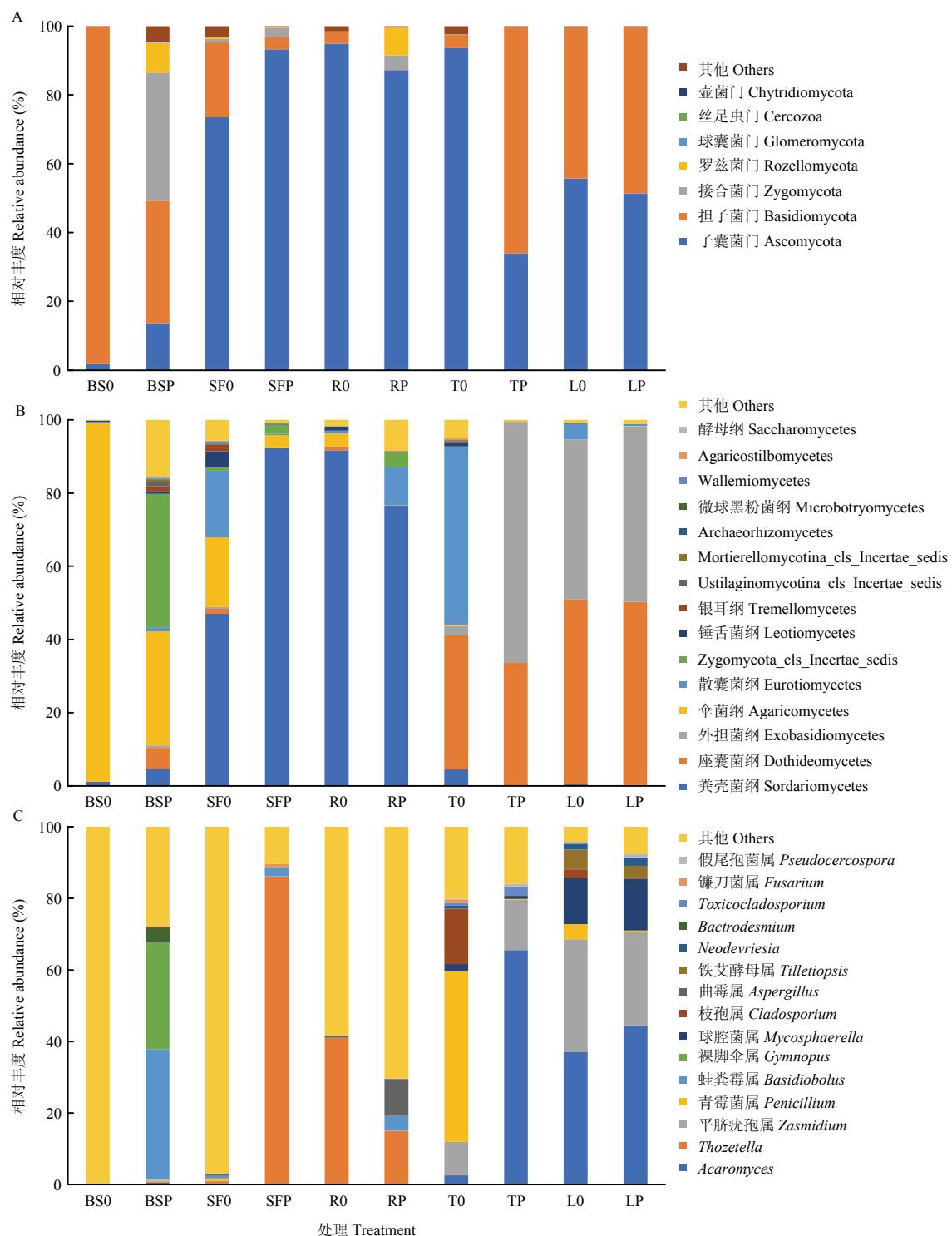


图 3 真菌门 (A) 纲 (B) 属 (C) 水平相对丰度分布图

Fig. 3 The relative abundance distribution of fungal at the phylum (A), class (B) and genus (C) level

表土壤的子囊菌门相对含量升高，但是根、枝和叶相对含量降低；根围土壤、根表土壤和根内担子菌门的相对含量显著降低，而枝和叶的担子菌门相对含量显著升高。

**2.6.2 纲水平群落结构分析** 在真菌纲分类水平中（图 3-B），根围土中优势菌纲（相对丰度 $>2\%$ ）仅有伞菌纲（Agaricomycetes），与对照相比，多效唑处理后其相对丰度明显降低了 68.17%。在根表土中优势菌纲（相对丰度 $>2\%$ ）有粪壳菌纲（Sordariomycetes）、伞菌纲（Agaricomycetes）、散囊菌纲（Eurotiomycetes）、锤舌菌纲（Leotiomycetes），多效唑处理后，粪壳菌纲的相对丰度相比对照提高了 96.28%，而伞菌纲、散囊菌纲、锤舌菌纲的相对丰度分别降低了 81.56%、97.93%、96.19%。在杨梅根中，优势菌纲（相对丰度 $>2\%$ ）有粪壳菌纲、伞菌纲，与对照相比，多效唑处理后杨梅根中粪壳菌纲、伞菌纲的相对丰度分别降低了 16.49%、98.74%。在枝条中，优势菌纲（相对丰度 $>2\%$ ）有粪壳菌纲、座囊菌纲（Dothideomycetes）、外担菌纲（Exobasidiomycetes）、散囊菌纲，与对照相比，多效唑处理后粪壳菌纲、座囊菌纲、散囊菌纲的相对丰度都分别降低了 99.60%、8.37%、99.54%，外担菌纲的相对丰度提高了 24.33 倍。在叶片中，优势菌纲（相对丰度 $>2\%$ ）有座囊菌纲、外担菌纲，多效唑处理后，座囊菌纲的相对丰度相比对照降低了 0.98%，而外担菌纲的相对丰度提高了 10.08%。总体来说，施用多效唑后，根围土、根表土和根中的伞菌纲相对含量均明显降低，而枝和叶中座囊菌纲相对含量显著降低，外担菌纲显著升高。

**2.6.3 属水平群落结构分析** 在真菌属分类水平中（图 3-C），在根围土中优势菌属（相对丰度 $>2\%$ ）有蛙粪霉属（*Basidiobolus*）、裸脚伞属（*Gymnopus*），与对照相比，多效唑处理后蛙粪霉属、裸脚伞属的相对丰度提高了 36.49 倍、29.62 倍。在根表土中，优势菌属（相对丰度 $>2\%$ ）有 *Thozetella*，多效唑处理后，*Thozetella* 属的相对丰度相比对照提高了 176.85 倍。杨梅根中优势菌属（相对丰度 $>2\%$ ）有 *Thozetella*，多效唑处理后，*Thozetella* 属的相对丰度相比对照降低了 63.57%。在枝条中，优势菌属（相对丰度 $>2\%$ ）有 *Acaromyces*、平脐孢属（*Zasmidium*）、青霉属（*Penicillium*）、球腔菌属（*Mycosphaerella*）、枝孢属（*Cladosporium*），与对照相比，多效唑处理后的 *Acaromyces*、平脐孢属相对丰度分别提高了

24.46 倍、51.11%，青霉属、球腔菌属、枝孢属分别降低了 99.53%、78.22%、99.30%，其相对丰度都有明显的降低。叶片中的优势菌属（相对丰度 $>2\%$ ）有 *Acaromyces*、平脐孢属、青霉属、球腔菌属、铁艾酵母属（*Tilletiopsis*），多效唑处理后，*Acaromyces*、球腔菌属的相对丰度相比对照分别提高了 20.04%、13.46%，平脐孢属、青霉属、铁艾酵母属的相对丰度都分别降低了 17.05%、90.19%、42.07%。由此可知，多效唑的施用使根围土、根表土和根内的属变化趋势不一致，而枝和叶片条 *Acaromyces* 的相对含量显著升高，青霉属的相对含量显著降低。

### 3 讨论

多效唑抑制杨梅的营养生长，这与抑制马铃薯的生长<sup>[36]</sup>相一致。本研究结果显示多效唑在杨梅根围土、根表土以及根、枝、叶内均有残留，叶片内残留量最大，枝条次之，根内积累量较少，与土壤内的残留量相当，叶片内高残留量可能是引起叶片皱缩的主要原因。

土壤酶活性可以反映土壤质量和养分状况<sup>[37]</sup>。前人研究发现施用生物型肥料、微生物菌剂可显著提高土壤中脲酶、蔗糖酶和磷酸酶的酶活性<sup>[38-39]</sup>。本研究发现高浓度多效唑处理的土壤磷酸酶活性相比对照显著降低，这可能是因为多效唑对磷酸酶相关合成菌株具有抑制作用，说明多效唑可能抑制杨梅对磷肥的吸收，这与施用生物型肥料、微生物菌剂可显著提高土壤中磷酸酶的酶活性结果相反<sup>[38-39]</sup>，施用生物型肥料和微生物菌剂可以改良多效唑施用过多的土壤。多效唑处理后的土壤蔗糖酶活性相比对照显著升高，说明多效唑浓度大时增强了杨梅对有机碳的分解转化能力，这与施用生物型肥料、微生物菌剂可显著提高土壤中蔗糖酶活性相一致<sup>[38-39]</sup>。

多效唑使用浓度的不同会影响土壤菌群结构的  $\alpha$  多样性指数<sup>[40]</sup>。本研究结果表明，施用多效唑后杨梅根围土的细菌多样性和丰富度明显降低，真菌多样性和丰富度明显升高；而根表土内的细菌多样性和丰富度明显升高，真菌多样性和丰富度明显降低，这可能是多效唑的施用影响了土壤中的菌群结构，与前人研究结果相似。

植物的生长环境和细菌群落结构相互影响，生物有机肥料施用后细菌群落结构的优势菌群大多都为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门等<sup>[18,41-42]</sup>。在细菌群落结构组成分析中发现，优势菌门有变形菌

门、酸杆菌门、放线菌门等, 这与前人研究结果一致。杨梅根围、根表土壤和根中的变形菌门相对丰度最高, 且都在施用多效唑处理后有不同程度的增加。变形菌大多为革兰氏阴性菌, 其中许多细菌负责固氮, 可增加土壤中的氮素营养, 所以变形菌的增加可能促进植物生长<sup>[43]</sup>。而在杨梅叶片和枝条中, 放线菌门的相对丰度明显降低。放线菌可以抑制植物病害的发生, 放线菌含量的降低可能会使病原菌更容易侵染植物<sup>[12]</sup>, 这可能是杨梅施用多效唑后抗病性降低的原因之一。杨梅根以及根表、根围土壤中的优势菌纲主要有  $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲、酸杆菌纲, 这与朱英波等<sup>[44]</sup>研究黑龙江大豆田土壤细菌中的优势类群有  $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲及酸杆菌群等结果相一致。 $\alpha$ -变形菌纲属于变形菌门的一个纲, 是陆地土壤中的优势菌群<sup>[45]</sup>,  $\gamma$ -变形菌包括很多动植物病原菌, 同时也存在很多抑制植物致病菌的有益菌<sup>[44]</sup>。本研究中施用多效唑后明显提高了杨梅根中  $\gamma$ -变形菌纲的相对丰度, 杨梅根中的  $\gamma$ -变形菌纲很可能是有害菌, 需要进一步研究其生物学功能。很多芽孢杆菌属、假单胞菌属能抑制土传病害, 促进植物生长, 施用多效唑导致根围、根表土的芽孢杆菌属、假单胞菌属等种类显著减少, 这可能造成土壤中有害菌大量繁殖, 对杨梅的生长不利, 使树体抗病性降低, 与前人研究结果一致<sup>[46]</sup>。

植物生长环境和真菌群落结构相互影响, 子囊菌和担子菌是土壤中重要的分解者, 子囊菌门真菌大多数为腐生菌, 多进行腐生或寄生, 也包括多种病原菌和有害菌属<sup>[47-48]</sup>。本研究中, 多效唑处理明显提高了根围和根表土壤中子囊菌门的相对丰度, 可能会引起杨梅病害的发生。优势菌纲主要有粪壳菌纲、伞菌纲、散囊菌纲、座囊菌纲等, 这与木瓜、马蔺、葡萄、大豆、玉米<sup>[49]</sup>和黄土高原不同种植类型梯田之间<sup>[50]</sup>土壤真菌纲相似。多效唑的施用使根围和根表土壤及杨梅根、枝、叶的真菌菌群结构和数量发生了明显的变化, 明显降低了叶片及枝条中青霉属的相对丰度, 有研究表明, 青霉菌包含的菌株多数为致病菌<sup>[51]</sup>, 所以多效唑的施用可能会减少由青霉菌引起的杨梅病害。多效唑的施用改变了杨梅根围、根表土壤及树体的核心菌群, 其对杨梅的生长以及抗病功能的影响需要进一步深入研究。

## 4 结论

施用多效唑后, 梅叶片中积累多效唑含量最大,

显著降低了土壤中过氧化氢酶、磷酸酶活性, 提高了蔗糖酶活性; 提高了根表土的细菌多样性, 降低了根围土和根的细菌多样性, 而根围土真菌多样性丰富度明显升高, 根表土内真菌多样性和丰富度明显降低, 根内生细菌多样性、丰富度和枝内生真菌多样性及丰富度均明显降低。在细菌群落结构中, 施用多效唑后, 提高了杨梅根以及根围、根表土壤中变形菌门的相对丰度, 而放线菌门、厚壁菌门都明显降低, 枝条、叶片与之相反; 明显提高了杨梅根内生  $\gamma$ -变形菌纲的相对丰度以及根围土壤中伯克霍尔德菌属的相对丰度。在真菌群落结构中, 施用多效唑后, 根围土中子囊菌门、枝条中担子菌门、根表土中粪壳菌纲、枝条中外担菌纲, 根表土中 *Thozetella* 的相对丰度均明显提高, 而根中的粪壳菌纲, 根围土中的伞菌纲, 枝条中青霉属以及 *Cladosporium* 都出现明显降低。研究结果对评价多效唑对土壤及杨梅树体微生物生态系统的影响有重要的指导意义, 有利于指导科学施用多效唑, 为开发有效恢复多效唑过量施用引起的杨梅树势早衰技术提供了菌株和理论基础。

## 参考文献 References

- [1] REN H Y, YU H Y, ZHANG S W, LIANG S M, ZHENG X L, ZHANG S J, YAO P, ZHENG H K, QI X J. Genome sequencing provides insights into the evolution and antioxidant activity of Chinese bayberry. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 458.
- [2] 俞建忠, 陈列忠, 侯佳音, 俞瑞鲜, 胡秀卿, 赵学平. 吡唑醚菌酯在杨梅和土壤中的残留及消解动态. *农药学学报*, 2020, 22(5): 857-863.  
YU J Z, CHEN L Z, HOU J Y, YU R X, HU X Q, ZHAO X P. Residue and dissipation dynamics of pyraclostrobin in waxberry (*Myrica rubra*) and soil. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2020, 22(5): 857-863. (in Chinese)
- [3] 陈方永, 倪海枝, 王引, 任正初. 多效唑对东魁杨梅生长与结果的影响. *生态毒理学报*, 2011, 6(6): 661-666.  
CHEN F Y, NI H Z, WANG Y, REN Z C. Effect of paclobutrazol (PP333) on growth and fruiting of Dongkui bayberry (*Myrica rubra*). *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(6): 661-666. (in Chinese)
- [4] 何桂娥, 徐春燕, 何凤杰. 多效唑过度使用对杨梅树体早衰的影响. *浙江柑橘*, 2014, 31(2): 33-35.  
HE G E, XU C Y, HE F J. Effect of paclobutrazol on premature senescence of bayberry. *Zhejiang Citrus*, 2014, 31(2): 33-35. (in Chinese)

- [5] 董志君, 张建军, 范永明, 陈莉祺, 朱炜, 于晓南. 3 种植物生长延缓剂对盆栽芍药的矮化效应. 东北林业大学学报, 2020, 48(9): 62-66.
- DONG Z J, ZHANG J J, FAN Y M, CHEN L Q, ZHU W, YU X N. Dwarfing effects of paclobutrazol, uniconazole and chlormequat on potted *Paeonia lactiflora*. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48(9): 62-66. (in Chinese)
- [6] 孔德真, 聂迎彬, 桑伟, 徐红军, 刘鹏鹏, 穆培源, 田笑明. 多效唑、矮壮素对杂交小麦及其亲本矮化效应的研究. 中国农学通报, 2018, 34(35): 1-6.
- KONG D Z, NIE Y B, SANG W, XU H J, LIU P P, MU P Y, TIAN X M. Paclobutrazol and chlormequat: The dwarfing effect on hybrid wheat and its parents. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2018, 34(35): 1-6. (in Chinese)
- [7] KAMRAN M, SU W N, AHMAD I, MENG X P, CUI W W, ZHANG X D, MOU S W, KHAN A, HAN Q F, LIU T N. Application of paclobutrazol affect maize grain yield by regulating root morphological and physiological characteristics under a semi-arid region. Scientific Reports, 2018, 8(1): 4818.
- [8] KUMAR S, GHATTY S, SATYANARAYANA J, GUHA A, CHAITANYA B, REDDY A R. Paclobutrazol treatment as a potential strategy for higher seed and oil yield in field-grown *Camelina sativa* L. Crantz. BMC Research Notes, 2012, 5: 137.
- [9] PAL S, ZHAO J, KHAN A, YADAV N S, BATUSHANSKY A, BARAK S, REWALD B, FAIT A, LAZAROVITCH N, RACHMILEVITCH S. Paclobutrazol induces tolerance in tomato to deficit irrigation through diversified effects on plant morphology, physiology and metabolism. Science Reports, 2016, 6: 39321.
- [10] CHEN S, WANG X J, TAN G F, ZHOU W Q, WANG G L. Gibberellin and the plant growth retardant Paclobutrazol altered fruit shape and ripening in tomato. Protoplasma, 2020, 257(3): 853-861.
- [11] 鲍雨林, 尚为民, 沈青山, 吴相祝, 陈宝福. 叶面喷施多效唑对杨梅幼树生长和结果的影响. 中国果树, 1994(2): 20-21.
- BAO Y L, SHANG W M, SHEN Q S, WU X Z, CHEN B F. Effect of paclobutrazole on the growth and results of young bayberry trees. China Fruits, 1994(2): 20-21. (in Chinese)
- [12] 靳晓拓, 周彦好, 夏杨荣畅, 陈丽君, 李涛, 赵洪伟. 多效唑对芒果园土壤细菌多样性的影响及 PICRUSt 基因功能预测分析. 热带作物学报, 2019, 40(4): 807-814.
- JIN X T, ZHOU Y Y, XIA Y R C, CHEN L J, LI T, ZHAO H W. Effects of paclobutrazol on soil bacterial diversity in mango orchard and PICRUSt-based predicted metagenomic analysis. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(4): 807-814. (in Chinese)
- [13] KUO J, WANG Y W, CHEN M, FUH G, LIN C H. The effect of paclobutrazol on soil bacterial composition across three consecutive flowering stages of mung bean. Folia Microbiologica, 2019, 64(2): 197-205.
- [14] 任海英, 方丽, 李岗, 王康强, 王汉荣. 多效唑、硼砂和 10 种农药对地表球囊霉菌根侵染能力的影响. 浙江农业科学, 2011, 52(6): 1345-1347.
- REN H Y, FANG L, LI G, WANG K Q, WANG H R. Effects of paclobutrazol, borax and 10 kinds of pesticides on the infection ability of glomus mycorrhiza. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2011, 52(6): 1345-1347. (in Chinese)
- [15] 熊润梓, 钟亚鹏, 赵盼, 宋双伟, 石莹莹, 莫乘宝, 仲乃琴. 不同生境马铃薯根际土壤细菌多样性分析. 微生物学报, 2020, 60(11): 2434-2449.
- XIONG M Z, CHAO Y P, ZHAO P, SONG S W, SHI Y Y, MO C B, ZHONG N Q. Comparison of bacterial diversity in rhizosphere soil of potato in different habitats. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(11): 2434-2449. (in Chinese)
- [16] 袁仁文, 刘琳, 张蕊, 范淑英. 植物根际分泌物与土壤微生物互作关系的机制研究进展. 中国农学通报, 2020, 36(2): 26-35.
- YUAN R W, LIU L, ZHANG R, FAN S Y. The interaction mechanism between plant rhizosphere secretion and soil microbe: A review. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(2): 26-35. (in Chinese)
- [17] GONÇALVES I C R, ARAÚJO A S F, CARVALHO E M S, CARNEIRO R F V. Effect of paclobutrazol on microbial biomass, respiration and cellulose decomposition in soil. European Journal of Soil Biology, 2009, 45(3): 235-238.
- [18] 包明, 何红霞, 马小龙, 王朝辉, 邱炜红. 化学氮肥与绿肥对麦田土壤细菌多样性和功能的影响. 土壤学报, 2018, 55(3): 734-743.
- BAO M, HE H X, MA X L, WANG Z H, QIU W H. Effects of chemical nitrogen fertilizer and green manure on diversity and functions of soil bacteria in wheat field. Acta Pedologica Sinica, 2018, 55(3): 734-743. (in Chinese)
- [19] 吕宁, 石磊, 刘海燕, 司爱君, 李全胜, 张国丽, 陈云. 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. 应用生态学报, 2019, 30(2): 602-614.
- LÜ N, SHI L, LIU H Y, SI A J, LI Q S, ZHANG G L, CHEN Y.

- Effects of biological agent dripping on cotton *Verticillium* wilt and rhizosphere soil microorganism. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(2): 602-614. (in Chinese)
- [20] 高红, 盛剑, 白旭, 康宝铃, 孙欢欢, 孙海峰, 曹秋芬. 浑源黄芪内生细菌的菌群组成及其功能. 微生物学报, 2020, 60(8): 1638-1647.
- GAO H, SHENG J, BAI X, KANG B L, SUN H H, SUN H F, CAO Q F. Composition and function of endophytic bacteria residing the root tissue of *Astragalus mongolicus* in Hunyuan. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(8): 1638-1647. (in Chinese)
- [21] 张爱梅, 郭保民, 韩雪英, 李曦冉. 两种不同生境中国沙棘种子内生细菌的多样性. 生态学报, 2020, 40(15): 5247-5257.
- ZHANG A M, GUO B M, HAN X Y, LI X R. Diversity of endophytic bacteria in seeds of *Hippophae rhamnoides* subsp. sinensis in two different habitats. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(15): 5247-5257. (in Chinese)
- [22] 邢颖, 张莘, 郝志鹏, 赵正雄, 于有志, 陈保冬. 烟草内生菌资源及其应用研究进展. 微生物学通报, 2015, 42(2): 411-419.
- XING Y, ZHANG X, HAO Z P, ZHAO Z X, YU Y Z, CHEN B D. Biodiversity of endophytes in tobacco plants and their potential application-A mini review. Microbiology China, 2015, 42(2): 411-419. (in Chinese)
- [23] LOPES R, TSUI S, GONÇALVES P J R O, DE QUEIROZ M V. A look into a multifunctional toolbox: Endophytic *Bacillus* species provide broad and underexploited benefits for plants. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2018, 34(7): 94.
- [24] SUN W H, XIONG Z, CHU L, LI W, SOARES M A, WHITE J F, LI H Y. Bacterial communities of three plant species from Pb-Zn contaminated sites and plant-growth promotional benefits of endophytic *Microbacterium* sp. (strain BXGe71). Journal of Hazardous Materials, 2019, 370: 225-231.
- [25] PIETRO-SOUZA W, MELLO I S, VENDRUSCULLO S J, SILVA G F D, CUNHA C N D, WHITE J F, SOARES M A. Endophytic fungal communities of *Polygonum acuminatum* and *Aeschynomene fluminensis* are influenced by soil mercury contamination. PLoS ONE, 2017, 12(7): e0182017.
- [26] TAN Y, CUI Y S, LI H Y, KUANG A X, LI X R, WEI Y L, JI X L. Diversity and composition of rhizospheric soil and root endogenous bacteria in *Panax notoginseng* during continuous cropping practices. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(4): 337-344.
- [27] 段春梅, 薛泉宏, 呼世斌, 赵娟, 魏样, 王玲娜, 申光辉, 陈秦. 连作黄瓜枯萎病株、健株根域土壤微生物生态研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(4): 143-150.
- DUAN C M, XUE Q H, HU S B, ZHAO J, WEI Y, WANG L N, SHEN G H, CHEN Q. Microbial ecology of *Fusarium* wilt infected and healthy cucumber plant in root zone of continuous cropping soil. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2010, 38(4): 143-150. (in Chinese)
- [28] 赵锋, 李光耀, 黄璐璐, 李远富, 顾燕萍, 李雪生, 谭辉华. 多效唑在花生和土壤中的残留分析及消解动态. 南方农业学报, 2017, 48(8): 1421-1426.
- ZHAO F, LI G Y, HUANG L L, LI Y F, GU Y P, LI X S, TAN H H. Residues and degradation dynamics of paclobutrazol in peanut and soil. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(8): 1421-1426. (in Chinese)
- [29] 徐忠山, 刘景辉, 逯晓萍, 陈晓晶, 张博文, 张兴隆, 周祎, 杨彦明. 施用有机肥提高黑土土壤酶活性、增加细菌数量及种类多样性. 中国土壤与肥料, 2020(4): 50-55.
- XU Z S, LIU J H, LU X P, CHEN X J, ZHANG B W, ZHANG X L, ZHOU Y, YANG Y M. The application of organic fertilizer improves the activity of the soil enzyme, increases the number and the species variety of bacteria in black soil. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2020(4): 50-55. (in Chinese)
- [30] 吴济南, 王丽玲, 王惟帅, 杜慧玲. 尿素与多效唑配施对苯磺隆胁迫下土壤酶活性的影响. 中国水土保持科学, 2011, 9(4): 110-116.
- WU J N, WANG L L, WANG W S, DU H L. Effect of combined application of urea and paclobutrazol on soil enzyme activity under tribenuron-methyl stress. Science of Soil and Water Conservation, 2011, 9(4): 110-116. (in Chinese)
- [31] 黄冬芬, 郁恒福, 刘国道, 白昌军. 铝和镉及其复合污染对砖红壤酶活性的影响. 热带作物学报, 2013, 34(12): 2413-2418.
- HUANG D F, HUAN H F, LIU G D, BAI C J. The influence of aluminum and cadmium pollution on soil enzyme activities in a latosol. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(12): 2413-2418. (in Chinese)
- [32] 孙锋, 赵灿灿, 李江涛, 陈思宇, 谷艳芳. 与碳氮循环相关的土壤酶活性对施用氮磷肥的响应. 环境科学学报, 2014, 34(4): 1016-1023.
- SUN F, ZHAO C C, LI J T, CHEN S Y, GU Y F. Response of soil enzyme activities in soil carbon and nitrogen cycles to the application of nitrogen and phosphate fertilizer. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(4): 1016-1023. (in Chinese)

- [33] NOSSA C W, OBERDORF W E, YANG LY, AAS J A, PASTER B J, DESANTIS T Z, BRODIE E L, MALAMUD D, POLES M A, PEI Z H. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16(33): 4135-4144.
- [34] MUKHERJEE P K, CHANDRA J, RETUERTO M, SIKARODI M, BROWN R E, JUREVIC R, SALATA R A, LEDERMAN M M, GILLEVET P M, GHANNOUM M A. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: Identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(3): e1003996.
- [35] 赵峥, 褚长彬, 周德平, 王庆峰, 吴淑杭. 葡萄废果酵素肥对葡萄园土壤细菌多样性的影响. *果树学报*, 2020, 37(8): 1207-1217.  
ZHAO Z, CHU C B, ZHOU D P, WANG Q F, WU S H. Effects of ferment fertilizer from waste grape berry on soil bacterial diversity in vineyards. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(8): 1207-1217. (in Chinese)
- [36] JIANG X L, WANG Y N, XIE H, LI R Q, WEI J L, LIU Y. Environmental behavior of paclobutrazol in soil and its toxicity on potato and taro plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(26): 27385-27395.
- [37] 杜林森, 唐美铃, 祝贞科, 魏亮, 魏晓梦, 周萍, 葛体达, 王久荣, 邹冬生, 吴金水. 长期施肥对不同深度稻田土壤碳氮水解酶活性的影响特征. *环境科学*, 2018, 39(8): 3901-3909.  
DU L S, TANG M L, ZHU Z K, WEI L, WEI X M, ZHOU P, GE T D, WANG J R, ZOU D S, WU J S. Effects of long-term fertilization on enzyme activities in profile of paddy soil profiles. *Environmental Science*, 2018, 39(8): 3901-3909. (in Chinese)
- [38] 李娟, 王文丽, 赵旭. 生物肥料对当归生长及土壤酶活性、微生物多样性的影响. *广东农业科学*, 2020, 47(6): 39-46.  
LI J, WANG W L, ZHAO X. Effects of biological fertilizers on *Angelica sinensis* growth and soil enzyme activity and microbial diversity. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(6): 39-46. (in Chinese)
- [39] 于会丽, 徐国益, 路绪强, 长俊杰, 邵微, 任言, 邓云, 司鹏. 微生物菌剂对连作西瓜土壤微环境及果实品质的影响. *果树学报*, 2020, 37(7): 1025-1035.  
YU H L, XU G Y, LU X Q, ZHANG J J, SHAO W, REN Y, DENG Y, SI P. Effects of microbial agents on soil microenvironment and fruit quality of watermelon under continuous cropping. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(7): 1025-1035. (in Chinese)
- [40] 袁志华, 程波, 常玉海, 马兴. 15%多效唑可湿性粉剂对土壤微生物多样性的影响研究. *农业环境科学学报*, 2008, 27(5): 1848-1852.  
YUAN Z H, CHENG B, CHANG Y H, MA X. Influence of paclobutrazol on microbial diversity in soil. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5): 1848-1852. (in Chinese)
- [41] 孟会生, 洪坚平, 杨毅, 王向英, 李廷亮, 栗丽. 配施磷细菌肥对复垦土壤细菌多样性及磷有效性的影响. *应用生态学报*, 2016, 27(9): 3016-3022.  
MENG H S, HONG J P, YANG Y, WANG X Y, LI T L, LI L. Effect of applying phosphorus bacteria fertilizer on bacterial diversity and phosphorus availability in reclaimed soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(9): 3016-3022. (in Chinese)
- [42] 袁红朝, 吴昊, 葛体达, 李科林, 吴金水, 王久荣. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(6): 1807-1813.  
YUAN H Z, WU H, GE T D, LI K L, WU J S, WANG J R. Effects of long-term fertilization on bacterial and archaeal diversity and community structure within subtropical red paddy soils. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(6): 1807-1813. (in Chinese)
- [43] 宋宇, 王鹏, 韦月平. 不同稻田共作模式对土壤细菌群落结构的影响. *西北农业学报*, 2020, 29(2): 216-223.  
SONG Y, WANG P, WEI Y P. Effects of different co-cultivation patterns of rice field on soil bacterial communities structure. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2020, 29(2): 216-223. (in Chinese)
- [44] 朱英波, 史凤玉, 张瑞敬, 武云鹏. 黑龙江大豆轮作和连作土壤细菌群落多样性比较. *植物保护学报*, 2014, 41(4): 403-409.  
ZHU Y B, SHI F Y, ZHANG R J, WU Y P. Comparison of bacterial diversity in rotational and continuous soybean cropping soils in Heilongjiang. *Journal of Plant Protection*, 2014, 41(4): 403-409. (in Chinese)
- [45] 朱琳, 曾椿淋, 李雨青, 俞冰倩, 高凤, 魏巍, 许艳丽. 基于高通量测序的大豆连作土壤细菌群落多样性分析. *大豆科学*, 2017, 36(3): 419-424.  
ZHU L, ZENG C L, LI Y Q, YU B Q, GAO F, WEI W, XU Y L. The characteristic of bacterial community diversity in soybean field with continuous cropping based on the high-throughput sequencing. *Soybean Science*, 2017, 36(3): 419-424. (in Chinese)
- [46] 葛应兰, 孙廷. 马铃薯根际与非根际土壤微生物群落结构及多样性特征. *生态环境学报*, 2020, 29(1): 141-148.  
GE Y L, SUN T. Soil microbial community structure and diversity of potato in rhizosphere and non-rhizosphere soil. *Ecology and*

- Environmental Sciences, 2020, 29(1): 141-148. (in Chinese)
- [47] 谢玉清, 茅军, 王玮, 张志东, 朱静, 顾美英, 唐琦勇, 宋素琴, 黄伟, 王博, 张丽娟. 大蒜根腐病根际土壤真菌群落结构及多样性分析. 中国农学通报, 2020, 36(13): 145-153.
- XIE Y Q, MAO J, WANG W, ZHANG Z D, ZHU J, GU M Y, TANG Q Y, SONG S Q, HUANG W, WANG B, ZHANG L J. Structures and biodiversity of fungal communities in rhizosphere soil of root rot diseased garlic. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(13): 145-153. (in Chinese)
- [48] 苏小惠, 白玉超, 余玮, 杨瑞芳, 崔丹丹, 李林林, 王继龙, 崔国贤. 不同苎麻品种根际微生物多样性群落结构分析. 中国麻业科学, 2019, 41(3): 114-121.
- SU X H, BAI Y C, SHE W, YANG R F, CUI D D, LI L L, WANG J L, CUI G X. Microbial community structures and diversities in different ramie varieties rhizosphere soils. Plant Fiber Sciences in China, 2019, 41(3): 114-121. (in Chinese)
- [49] 燕红梅, 张欣钰, 檀文君, 陈卫民. 5 种植物根际真菌群落结构与多样性. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 364-369.
- YAN H M, ZHANG X Y, TAN W J, CHEN W M. Biodiversity and composition of rhizosphere fungal communities associated with five plant species. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(2): 364-369. (in Chinese)
- [50] 肖礼, 黄懿梅, 赵俊峰, 周俊英, 郭泽慧, 刘洋. 土壤真菌组成对黄土高原梯田种植类型的响应. 中国环境科学, 2017, 37(8): 3151-3158.
- XIAO L, HUANG Y M, ZHAO J F, ZHOU J Y, GUO Z H, LIU Y. High-throughput sequencing revealed soil fungal communities under three terrace agrotypes on the loess plateau. China Environmental Science, 2017, 37(8): 3151-3158. (in Chinese)
- [51] 李晶晶, 续勇波. 连作年限对设施百合土壤微生物多样性的影响. 土壤通报, 2020, 51(2): 343-351.
- LI J J, XU Y B. Effects of continuous cropping years of lily on soil microbial diversities under greenhouse cultivation. Chinese Journal of Soil Science, 2020, 51(2): 343-351. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)