



刘巍,王峥,冷伟峰,等.功能性微生物菌剂对花生根际微生物种群的影响[J].黑龙江农业科学,2020(6):98-102,103.

功能性微生物菌剂对花生根际微生物种群的影响

刘 巍,王 峥,冷伟峰,李洪顺,王子浩

(中化农业临沂研发中心,山东 临沂 264200)

摘要:为提高花生的产量和品质,对花生障碍地块进行微生物肥料施肥处理,对试验地块施肥前与施肥后进行取样,将样品通过 Illumina MiSeq 高通量测序,对去重复序列 ASVs/OTU 进行分析。结果表明:第一次取样样品 A(施肥前)与第二次取样样品 B(施肥后)属一级相对丰度,在施肥后下降。其中 *Candidatus solibacter*、*Mucilaginibacter*、*Holophaga* 等几个属相对丰度下降,而 *Conexibacter*、*Brevundimonas* 和 *Thermus* 相对丰度表现为增加;多样性指数分析表明,施肥前与施肥后根际微生物多样性存在显著差异,施肥后多样性指数下降;在属水平上,施肥前 *Mucilaginibacter*、*Haliangium* 占比较多,施肥后急剧减少,而 *Streptomyces*、*Brevundimonas* 则显著增加。在两组处理共有的属中 *Candidatus*、*Burkholderia*、*Bacillus* 和 *Granulicella* 占多数。综上所述,微生物肥料的施用对花生土壤有显著的影响,但微生物多样性施肥后有显著下降。

关键词:根际微生物群落;多样性;微生物菌剂;花生

在自然界中,任何植物个体都和其体内外的微生物群落存在着密切的关系,这些微生物群落对植物的生长发挥至关重要的作用。在农作物生长过程中,由于种植体系不合理,施肥不科学,导致根际土壤中微生物群落发生改变,会引起大量致病微生物的繁殖,侵染农作物,影响农作物果实的外观和品质,甚至引起农作物毁灭性死亡,造成巨大的经济损失。

花生是我国的重要油料作物之一,2018 年全国的种植面积为 461.9 万 hm^2 ,产量 1 733 万 t,其中河南种植区花生种植面积、产量占比分别约为 26% 和 33%^[1]。花生是河南重要的种植农作物,支撑着该区域经济的发展。由于花生的连年种植,导致该农作物发生连作障碍、土传病害等问题,包括青枯病、根腐病和花生白绢病等,严重制约着花生的产量和品质^[2]。目前缓解花生连作障碍和防控土传病害等问题的措施,主要通过增施功能性微生物菌剂,一方面增加有益微生物数量,改善土壤微生物态环境,抑制致病微生物的生长,提高土壤微生物活性、改善根际微生态环境^[3]。袁军^[4]通过成膜分析及电镜观察发现微生物菌剂定殖到植物根际后能分泌挥发性抗菌物质,能有效抑制尖孢镰刀菌的活性,增加细菌总数,以此影响土壤根际微生物群落结构。王小兵等^[5]通过 DGGE 图谱聚类分析和群落多样性分析证明,施

用有机肥添加有效菌剂有利于改善连作花生根际土壤微生物群落多样性。但是目前尚没有阐明功能性微生物菌剂对花生根际土壤的微生物群落的影响。本研究通过应用高通量测序技术对花生施加功能性微生物菌剂前后,引起花生根际微生物群落的变化,阐述功能性微生物菌剂对花生根际微生物种群的影响,探寻花生种植根际土壤连作障碍产生的限制因素,开发高效功能性微生物菌剂从而缓解花生种植的连作障碍,防控土传病害,提高花生的产量和品质。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地块位于花生连作障碍较严重的河南省正阳县熊寨镇魏庄村,供试土壤理化性质为:有机质 21.14 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,碱解氮 132.59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有效磷 24.39 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 176.29 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 微生物菌剂

通过前期实验室在土壤中分离筛选到的具有促生和拮抗功能的菌株,包括 KC(*Bacillus subtilis*)、CB(*Bacillus laterosporus*)、JDF(*Bacillus amyloliquefaciens*),形成复合微生物功能菌剂。通过菌株不同的浓度配比,形成两种复合菌剂,其中 JWL 号:1:11:1;JBW 号:21:11:3;选择无机肥 15-8-18 作常规处理,试验组添加菌剂终含量为 $0.5\times 10^7 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,都作为底肥沟施。

1.3 方法

1.3.1 试验设计 选用上述制备的肥料地块开展试验研究,处理组包括:CK(不施加肥料)、J(常

收稿日期:2020-03-16

第一作者:刘巍(1982-),男,硕士,工程师,从事农用微生物菌剂研究。E-mail:250478237@qq.com。

规肥料)、JWL(常规肥料+微生物菌剂)和JBW(常规肥料+微生物菌剂),每个处理各1小区,每个小区200 m²,肥料使用量按照50 kg·667 m²施用。

1.3.2 样品采集及测定 共2次取样,第一次在底肥施用前,第二次在花生收获前10 d。每个处理每次在同一位置取2个样品,即在花生茎下10 cm取10 g土送检。第一次取样后插小旗做好标记(CK1、J1、JBW1和JWL1),第二次取样在相同位置进行(标记为CK2、J2、JBW2和JWL2),4个处理共16个样品送检。

1.3.3 数据分析 土壤样品交由上海派诺森生物公司进行处理、DNA提取及Illumina MiSeq高通量测序。检测数据使用R x64 3.6.0进行相关分析。

2 结果与分析

2.1 各处理根际微生物分类单元变化

经测序得到的序列经DADA2方法主要进行去引物、质量过滤、去噪、拼接和去嵌合体等步骤。由此产生的每个去重的序列称为ASVs(amplicon sequence variants),或称为特征序列OTU(operational taxonomic units,对应于OTU代表序列),而这些序列在样本中的丰度表称为特征表(对应于OTU表)。通过对抽平后的ASV/OTU表格进行统计,可以获得每个样本中的微生物群落各分类水平的具体组成表。数据绘制成柱状图,以直观地展示不同样本各分类水平的分类单元数量,结果如图1所示。

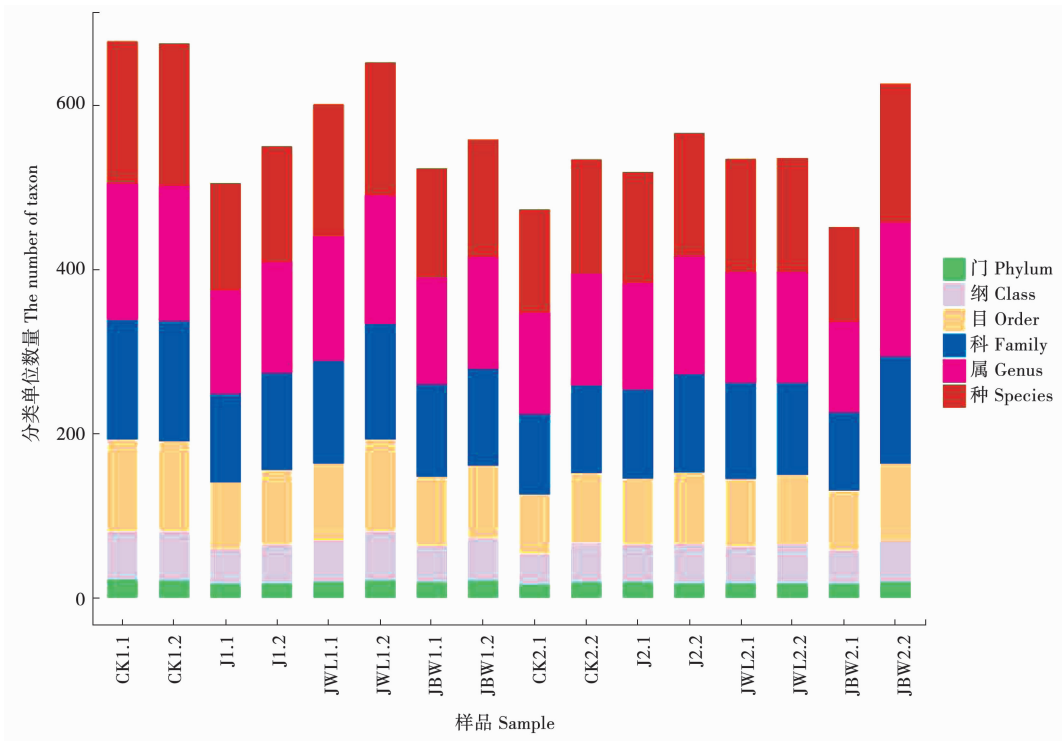


图1 不同处理的微生物分类单元

Fig.1 Taxon of rhizosphere microbe of different treatments

用肥前与用肥后的比较将在后面的分析中提到,方法是所有的样品分成两组(A,B),即用肥前一组用肥后一组,这样有足够的数据进行统计分析。从数值上看,表1所示中4个处理的施肥前分类单元都在施肥后发生变化,大多趋势都是减少,但有机无机处理分类单元数增加。

对第一次取样样品(施肥前)总体A与第二次取样样品总体B(施肥后)进行属一级相对丰度

的比较,结果如图2所示,可以看出属的丰度在施肥后整体表现为下降。尤其是红色 *Candidatus Solibacter*、紫色 *Mucilaginibacter*、黑色 *Holophaga* 等几个属,而 *Conexibacter*、*Brevundimonas* 和 *Thermus* 相对丰度表现为增加。其中,*Candidatus*、*Solibacter* 与土壤有机质的分解有关^[6-7], *Mucilaginibacter* 在多个植物根际微生物群落中占优势^[8]。样品B中的 *Aquicella* 属较施肥前的

A 样本也有相应降低,该菌属被认为包含致病菌^[9],*Legionellash* 属也可能包含危害人类健康的致病菌,感染的疾病被称为是军团菌感染^[10],

该属的相对丰度在 B 样品的土壤中也有相应降低。

表 1 不同处理的微生物分类单元数

Table 1 Number of taxon of rhizosphere microbe in different treatments

样品 Sample	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species
CK1.1	23	58	112	146	166	173
CK1.2	22	59	110	146	166	172
J1.1	18	42	81	108	126	130
J1.2	19	46	91	118	136	140
JWL1.1	20	50	94	125	152	160
JWL1.2	22	59	112	141	157	161
JBW1.1	20	44	84	112	130	133
JBW1.2	22	51	88	118	137	142
CK2.1	17	37	72	98	124	125
CK2.2	20	48	84	107	136	139
J2.1	20	45	81	108	130	135
J2.2	19	47	87	120	144	149
JWL2.1	19	44	82	117	135	138
JWL2.2	19	47	84	112	135	139
JBW2.1	18	40	73	95	111	115
JBW2.2	20	49	95	130	164	168

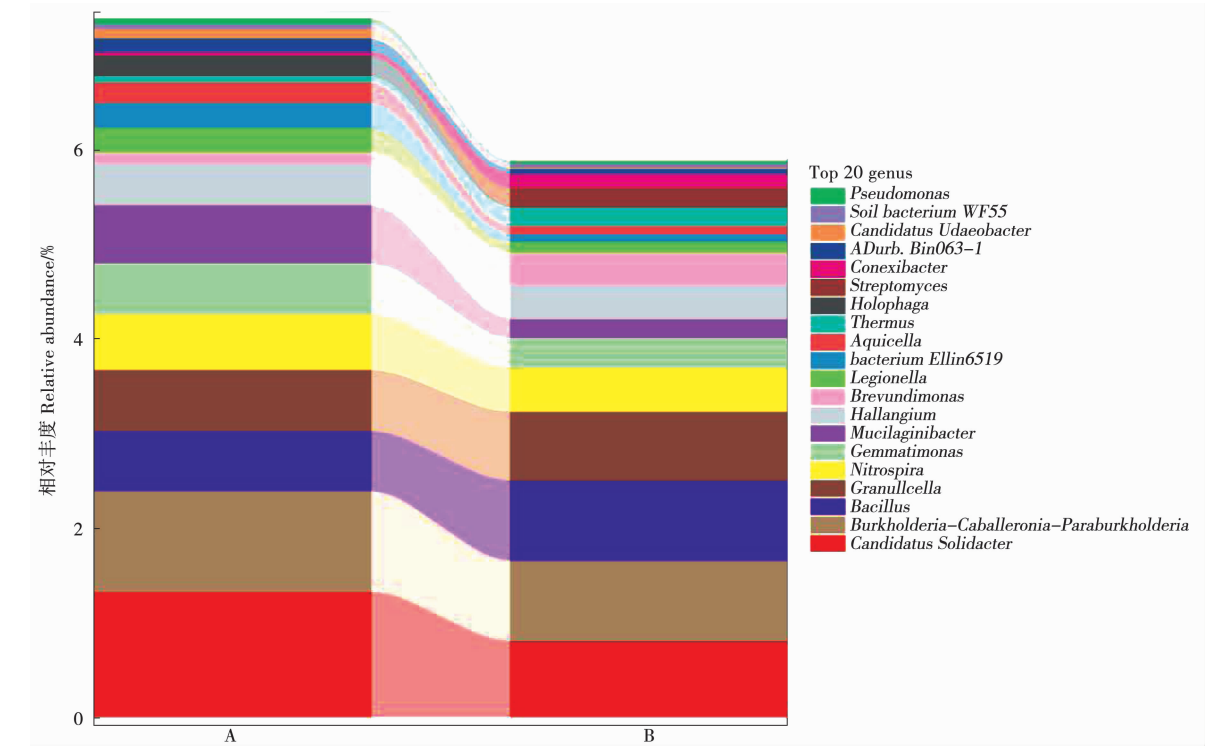


图 2 施肥前与施肥后属分类单元的变化
Fig. 2 Changes of genus taxon before and after fertilizing

2.2 两组样本根际微生物多样性的差异

不同样本组之间的多样性差异如图 3 所示，

Chao1 和 Shannon 多样性指数达到极显著差异，说明施肥前与施肥后根际微生物多样性存在显著

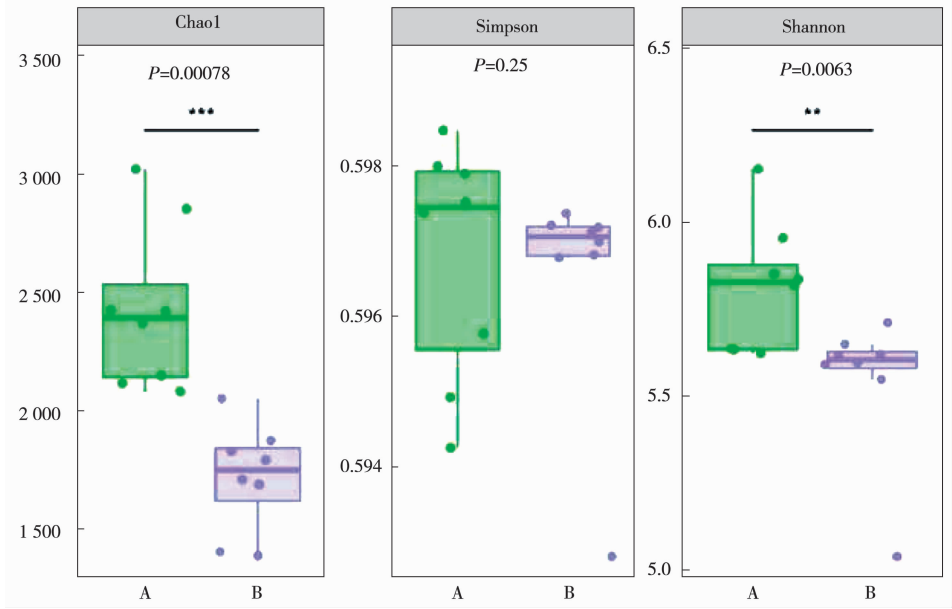
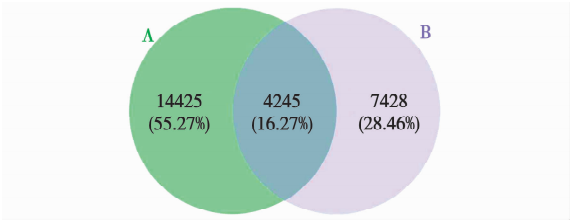


图 3 施肥前与施肥后多样性分析

Fig. 3 Diversity analysis before and after fertilizing

差异,施肥后多样性指数下降。Simpson、Chao1 指数和 Shannon 指数可反映群落物种多样性，Simpson 指数没有达到极显著差异。

不同样本组之间通过韦恩图呈现基于 OTU 的差异,其中 A、B 两组有 16.27% 的相似 OTU 序列,而 A 组中有 55.27% 的独特序列,施肥后特征序列变为 28.46%(图 4)。基于韦恩图进一步分析 A、B 两组的门和属的差异情况,如图 5 所示。门水平上,Proteobacteria、Bacteroidetes 相对



注:每个椭圆代表一个样本(组),椭圆间的重叠区域指示样本(组)间的共有 ASV/OTU,每个区块的数字指示该区块所包含的 ASV/OTU 的数目。

图 4 施肥前与施肥后韦恩图

Fig. 4 Wayne map before and after fertilizing

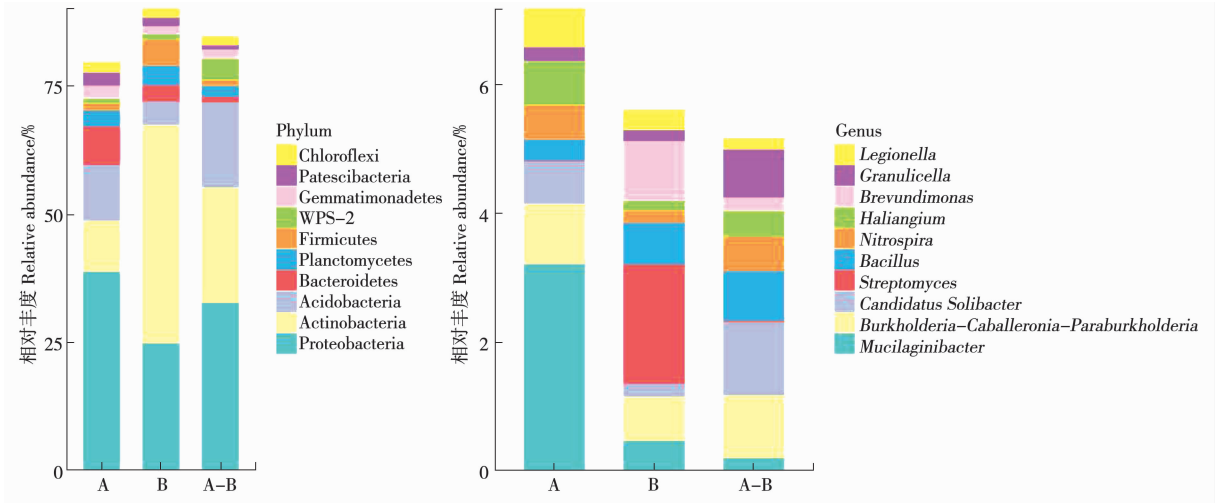


图 5 基于韦恩图的施肥前与施肥后的门和属分类单元相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of phylum and genus taxon before and after fertilizing based on Wayne analysis

丰度降低, *Actinobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Firmicutes* 相对丰度增加;在属水平上,施肥前 *Mucilaginibacter* 和 *Haliangium* 占比较多,施肥后急剧减少,而 *Streptomyces* 和 *Brevundimonas* 则显著增加。在两组处理共有的属中 *Candidatus*、*Burkholderia*、*Bacillus* 和 *Granulicella* 占多数。

3 结论

根际微生物群落结构及多样性分析逐渐成为评价微生物菌剂及微生物肥料功能的技术手段之一。研究者的关注点不单聚焦作物的产量和品质,同时也着眼于根际微生态的变化。江其朋^[11]在研究烟草根际微生物种群与青枯病的关系时发现,青枯雷尔氏菌与 *Mucilaginibacter* 的丰度正相关。本研究中,施肥后样品组 *Mucilaginibacter* 丰度下降,间接表明施肥后土壤微生物种群向着积极的微生态方向发展,而 *Aquicella*、*Legionella* 属的相应减少则直接说明土壤中的致病菌丰度减少。同时,本文分析表明 *Actinobacteria*、*Firmicutes* 门在施肥后相对丰度增加,表现为对应的 *Streptomyces* 和 *Bacillus* 属相对丰度增加,作为放线菌和芽孢杆菌属被认为是土壤中有益微生物,这两个属的增加能一定程度上抑制花生诸多土传病害的扩展,促进花生的生长及抗病、和抗逆水平。*Brevundimonas* 属于变形菌门,变形菌在维持土壤生态系统功能中扮演着重要的角色,为整个系统的氮素以及能量的循环提供帮助。变形菌门中的部分菌群能够降解复杂化合物,在营养物质丰富的土壤中丰度较高^[12]。本研究中 *Proteobacteria* 虽然有所降低,但 *Brevundimonas* 属有相对增加。

从整个生长期看,花生根际微生物群落多样性在后期有所下降。Yuan 等^[13]的研究表明拟南芥根系会根据自身生长的需要选择特定的微生物,不同的生长时期拟南芥根系选择不同的微生物,高通量测序表明,苗期与营养生长期、成熟期,拟南芥根系的微生物群落有显著差异,苗期相对丰度小区后期。本研究两次取样说明花生根系在不同时期会有不同的微生物群落存在,但后期的相对丰度小于前期。可能是由于两个研究的试验环境和条件不同,本研究是在土壤的原生环境中,

而 Yuan 等^[13]的研究是在室内的无菌环境中利用土壤悬液进行的。花生收获后测产,CK、J、JBW 和 JWL 平共处 4 个处理产量分别是 202, 228, 245 和 246 kg·667 m⁻²,从产量和微生物多样性中还难以发现两者的联系。一方面是由于取样数较少的原因,另一方面还应在生长期进行取样,以证明不同时期根际微生物多样性与花生生长的关系。后续试验应增加足够的取样数量,以及在生长期选择取样。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国统计局. 年度数据[EB/OL]. 2020-03-12. <http://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=E0103>,
- [2] Li X, Ding C, Zhang T, et al. Fungal pathogen accumulation at the expense of plant—beneficial fungi as a consequence of consecutive peanut monoculturing[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 11-18.
- [3] 刘金光, 李孝刚, 王兴祥. 连续施用有机肥对连作花生根际微生物种群和酶活性的影响[J]. *土壤*, 2018, 50(2): 305-311.
- [4] 袁军. 解淀粉芽孢杆菌 NJN-6 拮抗物质的分离鉴定及对土壤微生物区系的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [5] 王小兵, 骆永明, 刘五星, 等. 红壤连作花生不同生育期根际微生物区系变化研究[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2011, 32(4): 23-27, 38.
- [6] Sultan M, Schulz M H, Richard H, et al. A global view of gene activity and alternative splicing by deep sequencing of the human transcriptome[J]. *Science*, 2008, 321(5891): 956-960.
- [7] 杜思瑶, 于淼, 刘芳华, 等. 设施种植模式对土壤细菌多样性及群落结构的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2017, 25(11): 1615-1625.
- [8] 柴阳阳. DBP 对蔬菜叶际、根际微生物和内生菌群落结构的影响[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2018.
- [9] 郝海婷, 王若愚, 赵霞, 等. 基于高通量测序技术的堆肥对兰州百合根际微生物多样性的影响[J]. *西北农业学报*, 2017, 26(3): 437-447.
- [10] 陈悦, 沈健民, 何智纯, 等. 上海地区军团菌感染和环境污染状况的调查[J]. *上海预防医学杂志*, 2000(7): 305-306.
- [11] 江其朋. 烟草根际不同土层细菌种群多样性及其与青枯病发生的关系研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [12] 高雪峰, 韩国栋, 张国刚. 短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成及结构[J]. *生态学报*, 2017, 37(15): 5129-5136.
- [13] Yuan J, Chaparro J M, Manter D K, et al. Roots from distinct plant developmental stages are capable of rapidly selecting their own microbiome with OTU the influence of environmental and soil edaphic factors[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 89: 206-209.



张崎峰. 黑河地区玉米产业发展现状及对策[J]. 黑龙江农业科学, 2020(6):103-106.

黑河地区玉米产业发展现状及对策

张崎峰

(黑龙江省农业科学院 黑河分院, 黑龙江 黑河 164300)

摘要:黑河地区自 2008-2018 年, 玉米产业发展迅速。本文通过分析黑河地区玉米产业发展现状, 深入解析了玉米面积变化的原因, 针对在生产中遇到的实际问题, 如气候条件制约、品种选择不当、秸秆处理困难、产品转化率低, 初步分析其原因并提出相应的对策和措施, 包括使用降解地膜、不同积温地区推荐适宜品种、促进种养加综合型产业发展、科研和推广部门统一协作等建议。

关键词:寒地玉米; 镰刀弯地区; 种植结构

黑河市位于黑龙江省东北部, 属寒温带大陆性季风气候, 年平均气温 $-2 \sim 1^{\circ}\text{C}$, 有效积温 $1\,800 \sim 2\,450^{\circ}\text{C}$, 年平均降水 $450 \sim 650\text{ mm}$, 无霜期 $80 \sim 130\text{ d}$, 年日照 $2\,450 \sim 2\,800\text{ h}$, 雨热同期, 昼夜温差达 $10 \sim 18^{\circ}\text{C}$ 。地域辽阔, 自然生态保护良好。面积达 687.26 万 hm^2 , 占全省的 15.1% 。暗棕壤、黑土、草甸土占 90% 以上, 土壤自然肥力

较高, 有机质含量在 $5\% \sim 7\%$, 适合麦豆薯等作物生长。全市总耕地面积 148.88 万 hm^2 , 其中, 第三积温带 8.53 万 hm^2 , 第四积温带 69.09 万 hm^2 , 第五积温带 38.26 万 hm^2 , 第六积温带 2.20 万 hm^2 ; 境内有 26 个国营农场、4 个劳改农场和 27 个林场^[1]。黑河地区 2008-2018 年, 玉米产业飞速发展, 玉米的种植面积阶梯式增长, 当地的种植结构也随之发生了改变, 同时也面临一系列的问题, 本文通过分析玉米面积变化的原因, 针对在生产中遇到的问题提出相应的对策和措施, 以期促进玉米产业持续稳定协调地发展。

收稿日期: 2020-02-19

基金项目: 国家玉米产业技术体系资金资助项目 (CARS-02-02A)。

第一作者: 张崎峰 (1983-), 男, 硕士, 助理研究员, 从事玉米抗病育种和耕作栽培研究。E-mail: hhqf83@163.com。

Effects of Functional Microbial Inoculum on Peanut Rhizosphere Microbial Community

LIU Wei, WANG Zhemg, LENG Wei-feng, LI Hong-shun, WANG Zi-hao

(Linyi Research and Development Center of Sinochem Agriculture, Linyi 264200, China)

Abstract: In order to improve the yield and quality of peanut, the field trial was conducted at the peanut soil with biofertilizer. Samples acquired before and after planting were sequenced by high-throughput sequencing Illumina MiSeq method. All the ASVs/OTU were analyzed. The results indicated that, compared with sample A, the relative abundance of sample B was decreasing, especially for the *Candidatus solibacter* and *Mucilaginibacter*, *Holophaga*. But *Conexibacter*, *Brevundimonas* and *Thermus* was increasing. The diversity index analysis showed there was a significant difference between the rhizosphere microbial diversity before and after fertilizing, and the diversity index decreased after fertilizing. At the genus level, the proportion of *Mucilaginibacter* and *Haliangium* were getting higher before fertilizing, but decreased sharply after fertilizing, while the relative abundance of *Streptomyces* and *Brevundimonas* increased significantly. *Candidatus*, *Burkholderia*, *Bacillus* and *Granulicella* were the most common genera in the two groups A and B. So the application of microbial fertilizer had a significant impact on microbial community of peanut soil, but the microbial diversity decreased significantly after fertilizing with the microbial fertilizer.

Keywords: rhizosphere microbial community; diversity; microbial inoculum; peanut