

朱 丽,王庆莲,唐山远,等. 不同试剂处理对草莓植株生长及根际微生物群落结构的影响[J].江苏农业学报,2023,39(1):198-207.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.023

不同试剂处理对草莓植株生长及根际微生物群落结构的影响

朱 丽^{1,2,3}, 王庆莲^{1,4}, 唐山远⁴, 乔玉山², 顾闽峰³, 费月跃³, 王伟义³, 陈晓东¹, 赵密珍¹

(1.江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏 南京 210014; 2.南京农业大学园艺学院,江苏 南京 210095; 3.江苏沿海地区农业科学研究所新洋试验站,江苏 盐城 224049; 4.江苏省句容市白兔草莓研究院,江苏 句容 212400)

摘要: 本研究以草莓宁玉为试材,以施加清水为对照(CK),分析宁盾微生物菌剂(JN)、哈茨木霉菌剂(JH)2种微生物菌剂和代森锰锌(YS)、噁霉灵(YE)2种化学农药试剂对草莓植株生长及草莓根际微生物群落结构的影响。结果表明,JN处理的草莓植株在地上部生物量、根系生物量及总生物量等方面较CK、YS和YE处理组显著增加;在根系多酚氧化酶(PPO)活性和根系活力等生理生化特性上,JN处理也较CK和YE处理组显著提高。细菌16S rRNA和真菌内转录间隔区(ITS)对应基因测序结果显示,JN和JH处理的真菌Chao1指数和Shannon指数代表的根际基质真菌群落的丰富度和多样性指数较CK和YE处理显著减少。在门、属水平聚类分析中,JN和JH处理后的根际基质中变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)等有益菌门的菌群相对丰度较CK均有提高,芽孢杆菌属(*Bacillus*)等有益菌属的菌群相对丰度也高于CK和2种化学农药试剂处理。综上所述,与CK和2种化学农药试剂处理(YS、YE)比较,2种微生物菌剂处理(JN、JH)能有效促进草莓植株生长,其中宁盾微生物菌剂处理(JN)的表现最佳,并且2种微生物菌剂对草莓根际微生物群落结构也起到了一定的改善作用。

关键词: 草莓; 微生物菌剂; 化学药剂; 植株生长; 根际微生物

中图分类号: S668.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)01-0198-10

Effects of different reagent treatments on strawberry plant growth and rhizosphere microbial community structure

ZHU Li^{1,2,3}, WANG Qing-lian^{1,4}, TANG Shan-yuan⁴, QIAO Yu-shan², GU Min-feng³, FEI Yue-yue³, WANG Wei-yi³, CHEN Xiao-dong¹, ZHAO Mi-zhen¹

收稿日期:2022-03-03

基金项目:江苏现代农业产业技术体系建设项目[JATS(2021)424];
江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(20)2021];江苏省
省重点研发计划项目(BE2018389)

作者简介:朱 丽(1997-),女,安徽池州人,硕士,研究实习员,研究方向为蔬菜育种与抗逆栽培。(E-mail)13955415377@163.com

通讯作者:赵密珍,(E-mail)njzhaomz@163.com

(1. Institute of Pomology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Xinyang Experimental Station of Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Coastal Area, Yancheng 224049, China; 4. White Rabbit Strawberry Research Institute of Jurong City in Jiangsu Province, Jurong 212400, China)

Abstract: In this study, strawberry Ningyu was

used as the test material, and clear water was used as the control (CK) to analyze two microbial inoculants of Ningdun (JN) and *Trichoderma harzianum* (JH) and two chemical pesticide reagents of Mancozeb (YS) and Hymexazol (YE) on plant growth and microbial community structure in strawberry rhizosphere. The results showed that the aboveground biomass, root biomass and total biomass of strawberry plants under JN treatment increased significantly compared with CK, YS and YE treatment groups. The physiological and biochemical properties of root polyphenol oxidase (PPO) activity and root vigor were also significantly improved under JN treatment compared with CK and YE treatment groups. The results of bacterial 16S rRNA and fungal internal transcribed spacer (ITS) related gene sequencing showed that the richness and diversity indexes of the fungal community in the rhizosphere matrix represented by Chao1 index and Shannon index of the fungi under JN and JH treatments were significantly lower than those under CK and YE treatments. In the analysis of clustering at phylum and genus level, the relative abundance of beneficial bacteria such as Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria in the rhizosphere matrix of JN and JH treatments increased compared with CK, and the relative abundance of beneficial bacterium such as *Bacillus* was also higher than that of CK and two chemical pesticide reagent treatments. In conclusion, compared with CK and two chemical pesticide reagent treatments (YS, YE), two microbial inoculant treatments (JN, JH) can effectively promote the growth of strawberry plants, and Ningdun microbial inoculant treatment (JN) shows the best performance. The two microbial inoculants also play a certain role in improving the microbial community structure of strawberry rhizosphere.

Key words: strawberry; microbial agent; chemical pesticide; plant growth; rhizosphere microbe

草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.) 属蔷薇科草莓属多年生草本植物,其营养价值高,经济效益好,在国内外长期保持着大规模的种植面积^[1]。但草莓植株在生长过程中易受多种因素影响,其中种植土壤环境是一个重要的影响因素,除了土壤本身的理化性质外,土壤中的微生物也对植株生长起着至关重要的作用,有益微生物菌群可以调节土壤结构,分解营养元素,促进土壤养分的转化^[2-4]。而一旦微生物种群结构失衡、病原菌增多则会导致土壤质量下降和作物减产^[5]。因此,调节土壤微生物的数量和群落结构对草莓植株生长发育至关重要。

目前常用化学性杀菌剂对草莓生长进行调控,研究发现,代森锰锌和恶霉灵对防治草莓枯萎病和根腐病效果理想^[6-7],通过吞噬与抑制病菌,能有效地控制部分病害的发生。除了对作物本身进行病害效应研究外,在类似报道中,闫雷等^[8]还针对农药对土壤菌群的调控做了进一步的试验,结果显示,高浓度化学农药对土壤细菌有一定的影响,在化学农药诱导下有增加土壤细菌新种群和提高细菌群落多样性的现象,土壤环境调控得到了一定改善。

近年来,有益微生物菌剂使用得较多,利用有益微生物菌株调控土壤菌群结构也成为一种有效手段。微生物调控产生的负面影响小,主要通过生物分解或者代谢方式改善土壤环境,减少了污染物转移等有害影响。有报道显示,芽孢杆菌^[9]和木霉菌^[10]可通过抑制病菌繁衍、调节土壤微生物群落结构来防治草莓

土传病害的发生^[11],并且可促进植株残体分解,使土壤养分得到补充,促进植株根系营养吸收,达到促进植株生长的效果^[12-13]。在一定程度上,杀菌型化学农药和微生物菌剂均起到有效防治草莓土传病害的作用,但目前尚未报道涉及两者对基质栽培草莓的根际微生物群落多样性影响的对比研究。

本试验分别向草莓苗施加清水、宁盾微生物菌剂、哈茨木霉菌剂 2 种微生物菌剂和代森锰锌、恶霉灵 2 种化学农药试剂,利用 PacBio 平台对草莓根际基质中的微生物进行测序,结合生物信息分析结果,探讨不同试剂处理对基质栽培草莓生长性状及根际微生物群落结构的影响,阐释微生物菌剂和化学农药试剂的微生态调控机制,为草莓生长发育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2020 年 6 月 22 日在江苏省农业科学院的单层塑料大棚中进行。选择由江苏省农业科学院果树研究所提供的无明显病害、长势基本一致的宁玉草莓匍匐茎苗为试验对象。栽培基质为商品混合基质,购于江苏兴农基质科技有限公司,主要成分为草炭、蛭石和珍珠岩。

宁盾微生物菌剂(A型)购于南京农大生物源农药创制有限公司,有效成分为芽孢杆菌(1 ml 活菌数 $\geq 2.0 \times 10^9$ CFU),剂型为液态;哈茨木霉菌购于美国拜沃股份有限公司,有效成分含量为 1 g 3×10^8

CFU,剂型为可湿性粉剂;代森锰锌购于北京中保绿农科技集团有限公司,有效成分含量为 80%,剂型为可湿性粉剂;噁霉灵购于天津市绿亨化工有限公司,有效成分含量为 70%,剂型为可湿性粉剂。

1.2 试验设计

试验共设计 5 个处理,如表 1 所示,分别于 6 月 29 日、7 月 14 日进行微生物菌剂和化学农药试剂的浇灌处理。试验处理前将草莓匍匐茎扦插于 24 孔穴盘中,每个处理设置 6 个穴盘。肥水管理同日常。

表 1 不同微生物菌剂和化学农药试剂处理的配方

Table 1 Formulation of different microbial agents and chemical pesticide reagents

处理	实施方法
对照(CK)	每株苗浇灌清水 100 ml
宁盾微生物菌剂(JN)	试剂为微生物菌剂,200 ml 乳剂用清水稀释 100 倍灌根,每株苗浇灌 100 ml
哈茨木霉菌剂(JH)	试剂为微生物菌剂,6 g 粉剂用清水稀释 3 000 倍灌根,每株苗浇灌 100 ml
代森锰锌(YS)	试剂为化学农药试剂,50 g 粉剂用清水稀释 400 倍灌根,每株苗浇灌 100 ml
噁霉灵(YE)	试剂为化学农药试剂,10 ml 乳剂用清水稀释 4 000 倍灌根,每株苗灌根 100 ml

在 2020 年 9 月 8 日-10 月 12 日取样与测定,每个处理随机取样本 15 株,每 5 株重复 1 次,设 3 次生物学重复。所采样品为各处理相同部位的根系,样品采集后拍照,置于-80 ℃冰箱中备用。采集根际土时先抖掉根系周围比较松散的基质土,然后用小刷将与根系紧密结合的基质土刷下来进行收集,每 5 株混匀作为一个样本,设 3 个生物学重复,存于冰盒(4 ℃)中,立即转移到实验室,置于-80 ℃冰箱中冷冻^[14]。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 植株生理性状的测定 参照文献[15]测定植株相关生理性状,地上部生物量的测定:取植株根茎连接处以上部分,用千分之一天平进行称量,单位为 g;根系生物量的测定:取植株根茎连接处以下部分,用千分之一天平进行称量,单位为 g;单株根长的测定:使用直尺测量植株茎部中间位置到根尾部的距离,单位为 cm。

1.3.2 基因组 DNA 的提取、PCR 扩增和测序 采用十六烷基三甲基溴化铵法(CTAB)对样本的基因组 DNA 进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳检测

DNA 的纯度和浓度,取适量的样品于离心管中,使用无菌水稀释样品至 1 ng/μl。以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据选择的测序区域,使用带 Barcode 的特异引物、New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶对细菌 16S rRNA 和真菌内转录间隔区(ITS)基因全长进行 PCR 扩增。PCR 扩增程序:98 ℃预变性 1 min;98 ℃变性 10 s,50 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,30 个循环;72 ℃延伸 5 min。PCR 产物使用 2%的琼脂糖凝胶进行电泳检测,使用 QIAGEN 公司提供的胶回收试剂盒回收纯化产物。使用 DNA 黏合酶将测序接头连接在扩增好的 DNA 片段两端,使用 AMPure PB 磁珠对 DNA 片段进行纯化选择,构建 SMRT Bell 文库。构建好的文库经 Qubit 浓度定量,并利用 Agilent 2100 检测插入片段大小,随后用 PacBio 平台进行测序^[16-18]。测序工作由天津诺禾致源生物信息科技有限公司完成。

1.3.3 根系相关抗氧化酶活性和丙二醛含量、根系活力的测定 过氧化物酶(POD)活性、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、多酚氧化酶(PPO)活性和丙二醛(MDA)含量均采用上海索莱宝生物科技有限公司提供的检测试剂盒进行测定。根系活力采用上海源叶生物科技有限公司提供的检测试剂盒进行测定。

1.4 数据分析

利用 Uparse 软件^[19]、Qiime 软件^[20]进行测序分析。采用 Excel 2016 软件整理数据,使用 SPSS 21.0 软件对相关数据进行单因素方差分析。用 Adobe Photoshop CS6 辅助图片整理。

2 结果与分析

2.1 不同处理对草莓植株生物量及根长的影响

由表 2 可知,JN 处理的单株草莓总生物量、地上部生物量和根系生物量均较 CK 显著增加,单株根长与 CK 差异不显著;与 YS 和 YE 处理相比,JN 和 JH 处理的植株单株总生物量、地上部生物量和根系生物量均有显著提高。而 YS 和 YE 处理的植株单株总生物量和地上部生物量较 CK 显著减少,YS 处理的单株根系生物量也较 CK 显著减少。所有处理中,JN 处理的单株草莓总生物量、地上部生物量、根系生物量和单株根长值最大,长势表现最优。

表 2 不同处理对草莓植株生物量及根长的影响

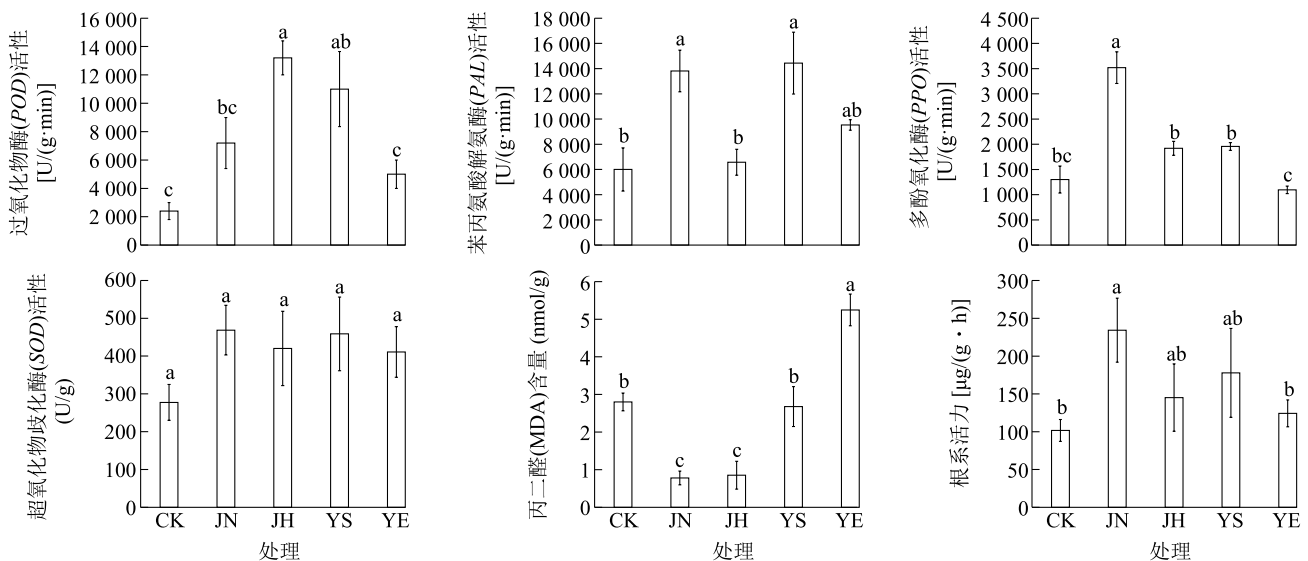
Table 2 Effects of different treatments on strawberry plant biomass and root length

处理	单株总生物量(g)	单株地上部生物量(g)	单株根系生物量(g)	根长(cm)
CK	10.12±1.72b	7.54±1.45b	2.58±0.27b	12.89±0.38a
JN	13.71±0.78a	9.80±0.67a	3.91±0.28a	13.46±0.32a
JH	10.20±1.25b	6.77±1.26b	3.43±0.58a	11.67±1.47a
YS	6.27±0.22c	4.62±0.10c	1.64±0.31c	12.92±0.57a
YE	6.79±0.52c	4.43±0.54c	2.36±0.36b	12.33±2.32a

CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。每一列数据后标有不同小写字母表示不同处理之间存在显著差异 ($P<0.05$)。

2.2 不同处理对草莓根系活力、根系抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

由图 1 可知,与 CK 相比,JN 处理的草莓根系活力、根系 PAL 和 PPO 活性显著提高,MDA 含量显著降低。JH 处理的根系 POD 活性比 CK 显著升高,MDA 含量比 CK 显著降低。JN 处理的 PPO 活性较 YS 处理显著增加,MDA 含量显著低于 YS 处理。同时 JN 处理的根系活力和 PPO 活性分别较 YE 处理显著提高,MDA 含量较 YE 处理显著减少。说明,JN 处理后草莓根系抗氧化酶活性整体表现最佳。



CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。不同小写字母表示不同处理之间存在显著差异 ($P<0.05$)。

图 1 不同处理对草莓根系活力、根系抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

Fig.1 Effect of different treatments on strawberry root vitality, root antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content

2.3 不同处理的草莓根际基质细菌、真菌群落丰富度和多样性指数变化

群落物种的丰富度主要以 Chao1 指数和 Ace 指数为代表。由表 3 可知,各处理之间的草莓根际基质的细菌群落 Chao1 指数和 Ace 指数均无显著差异。

由表 4 可知,4 种试剂处理后的草莓根际基质的真菌群落 Chao1 指数相较于 CK 均有一定程度减小,其中 JN、JH 和 YS 处理均显著低于 CK,但 YE 处理与 CK 无显著差异。微生物菌剂与化学农药试剂处理对比分析,JN 和 JH 处理的真菌群落 Chao1 指数稍高于 YS 处理,却显著低于 YE 处理。YE 处理的草莓根际基质真菌群落 Ace 指数与 CK 无显著差异,而 JN、JH

和 YS 处理的真菌群落 Ace 指数相较于 CK 均有减小,其中 YS 处理的真菌群落 Ace 指数显著低于 CK。同时 JN 和 JH 处理的真菌群落 Ace 指数高于 YS 处理,却显著低于 YE 处理。说明,根际基质细菌和真菌群落丰富度的变化因施加的试剂不同而出现不同的差异,2 种化学农药试剂对基质细菌和真菌群落丰富度的影响不一致,有增有减,而施加 2 种微生物菌剂后基质细菌和真菌群落丰富度均表现减少。

群落物种的多样性主要通过 Simpson 指数和 Shannon 指数反映。由表 3 得出,5 种处理的草莓根际基质的细菌 Simpson 指数和 Shannon 指数之间均无显著差异。

由表 4 可知,YE 处理的草莓根际基质真菌群落

Simpson 指数和 Shannon 指数分别较 CK 有所增加,其中 YE 处理的 Shannon 指数显著高于 CK。然而 JN 和 JH 处理的根际基质真菌群落 Simpson 指数和 Shannon 指数较 CK 均有减小,并且 JN 和 JH 处理的 Shannon 指数与 CK 存在显著差异;同时 JN 和 JH 处理的根际基质真菌群落 Simpson 指数和 Shannon 指

数较 YE 处理均显著降低。由此得出,施加不同微生物菌剂和化学农药试剂对根际基质细菌群落多样性无显著影响,但对根际基质真菌群落多样性有一定程度的影响,施加个别的化学农药试剂可增加基质真菌群落多样性,而施加微生物菌剂却会相应减小基质真菌多样性。

表 3 不同处理后的草莓根际基质细菌群落丰富度和多样性指数变化

Table 3 Changes in the abundance indexes and diversity indexes of bacterial communities in strawberry rhizosphere substrates after different treatments

处理	丰富度指数		多样性指数	
	Chao1 指数	Ace 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
CK	1 102.38±281.22a	1 150.52±243.13a	0.95±0.03a	6.83±0.70a
JN	977.45±169.56a	1 041.80±173.72a	0.94±0.02a	6.71±0.35a
JH	841.39±434.18a	887.30±173.72a	0.96±0.02a	6.97±0.34a
YS	872.25±422.93a	890.16±428.15a	0.97±0.01a	7.00±0.59a
YE	1 143.57±329.01a	1 267.91±414.18a	0.94±0.05a	7.23±0.91a

CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。每一列数据后不同小写字母表示不同处理之间存在显著差异 ($P<0.05$)。

表 4 不同处理后的草莓根际基质真菌群落丰富度和多样性指数变化

Table 4 Changes in the abundance indexes and diversity indexes of fungal communities in strawberry rhizosphere substrates after different treatments

处理	丰富度指数		多样性指数	
	Chao1 指数	Ace 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
CK	476.90±352.28a	382.60±161.42ab	0.85±0.05ab	4.74±0.40b
JN	265.48±10.27b	291.14±19.58bc	0.76±0.03b	3.79±0.11c
JH	238.80±58.31b	253.23±65.77bc	0.79±0.11b	3.91±0.53c
YS	199.02±24.13b	209.42±16.80c	0.81±0.09bc	3.58±0.30c
YE	445.56±48.61a	473.36±39.87a	0.96±0.02a	6.03±0.39a

CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。每一列数据后不同小写字母表示不同处理之间存在显著差异 ($P<0.05$)。

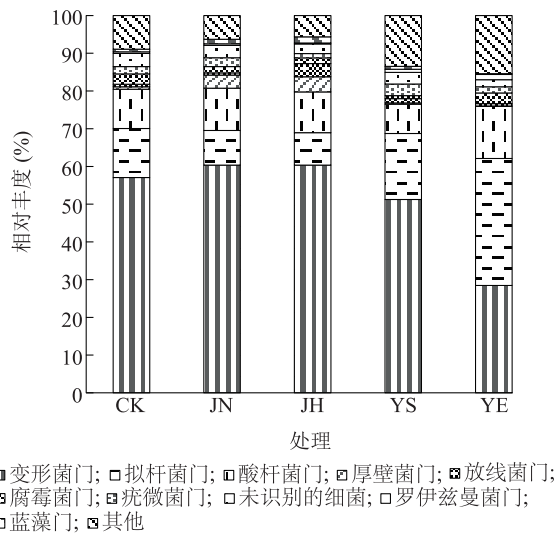
2.4 不同处理后的草莓根际基质微生物群落门、属分类水平上的组成

测序结果显示,草莓根际基质细菌在门的分类水平上主要检测出 9 个门(图 2),分属变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、腐霉菌门(Planctomycetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、罗伊兹曼菌门(Candidatus_Roizmanbacteria)和蓝藻门(Cyanobacteria),还有未识别的细菌(Undefined_Bacteria)。其中,变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、腐霉菌门和疣微菌门为草莓根际基质的优势菌门。这些细菌的菌群相对丰度占 CK 和 4 种处理的草莓根际基质细菌菌群总相对

丰度的 80%以上。与 CK 相比, JN 和 JH 处理后,根际基质微生物中变形菌门、厚壁菌门和放线菌门等的菌群相对丰度增加,并且 JN 和 JH 处理的根际基质微生物中的厚壁菌门菌群相对丰度高于 2 种化学农药试剂处理,另外 JH 处理的放线菌门的菌群相对丰度也较 2 种化学农药试剂处理高,表现有益菌门增多的现象。YS 和 YE 处理后,拟杆菌门和罗伊兹曼菌门等门水平的菌群相对丰度较 CK 有所增加,变形菌门、厚壁菌门的菌群相对丰度出现降低。

同时我们还检测了草莓根际基质真菌在门分类水平上的组成,结果(图 3)显示,主要检测出罗兹菌门(Rozellomycota)、子囊菌门(Ascomycota)、单胞菌门(Aphelidiomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门

(Chytridiomycota)、球藻门(Glomeromycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、毛霉菌门(Mucoromycota)和Fungi_phy_Incertae_sedis在内的9个门,另还有未分类的真菌(Unclassified_Fungi)。其中,优势菌门为罗兹菌门、子囊菌门、担子菌门和Fungi_phy_Incertae_sedis,未分类的真菌也占较大比例,这些真菌的菌群相对丰度占CK和4种处理的草莓根际基质真菌菌群总相对丰度的97%以上。分析草莓根际基质土的真菌结构分布发现,罗兹菌门和担子菌门的菌群相对丰度随着几种试剂的添加分别较CK有所增加(YS除外),而子囊菌门的菌群相对丰度随着试剂的添加则表现减少的现象,但这几个菌门的相对丰度在不同试剂处理之间无较大变化。从图3中还可以看出,与CK对比,未分类的真菌菌群相对丰度随化学农药试剂的添加而增多。表明,随着不同微生物菌剂和化学农药试剂的施入,草莓根际基质的生态系统中细菌和真菌群落各门类的菌群相对丰度会发生明显变化。

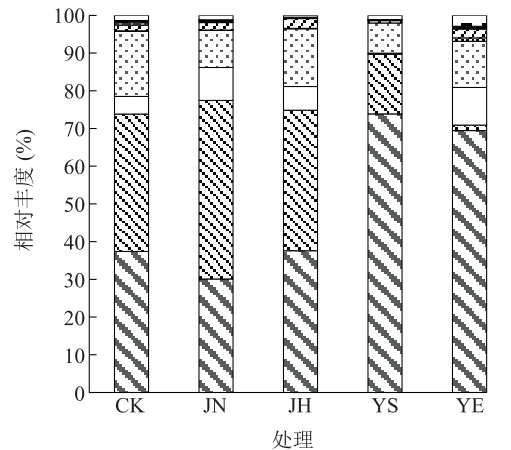


CK、JN、JH、YS、YE 处理见表1。

图2 不同处理后的草莓根际基质细菌门水平的物种相对丰度

Fig.2 Species relative abundance of bacteria at phylum level in strawberry rhizosphere matrix after different treatments

从图4可以看出,在不同试剂处理下,草莓根际基质中属水平的细菌菌群的相对丰度发生了一些改变。在属的分类水平上,JN和JH处理的草莓根际基质中菌群的相对丰度较CK增加的有芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、*Pseudolabrys*、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和假氨基酸杆菌属



CK、JN、JH、YS、YE 处理见表1。

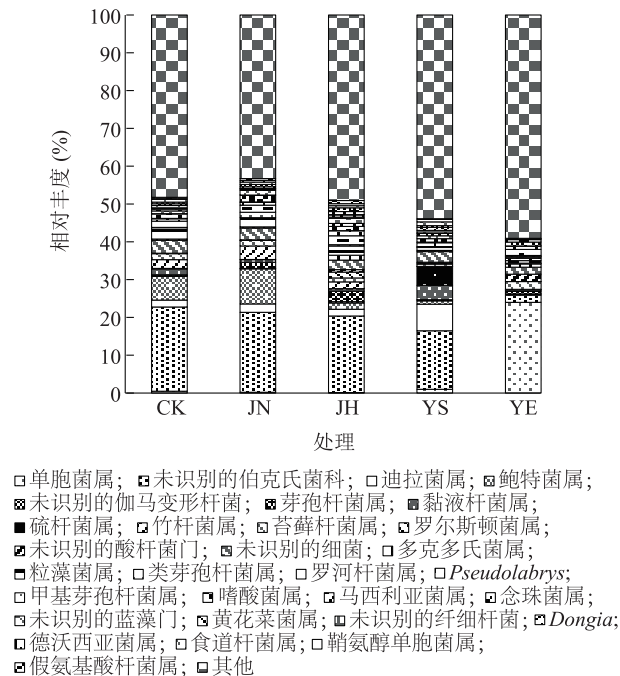
图3 不同处理后的草莓根际基质真菌门水平的物种相对丰度

Fig.3 Species relative abundance of fungi at phylum level in strawberry rhizosphere matrix after different treatments

(*Pseudaminobacter*);而菌群的相对丰度较CK减少的有硫杆菌属(*Thiobacillus*)和甲基芽孢杆菌属(*Methylobacillus*)。YS和YE处理的草莓根际基质中菌群的相对丰度较CK增加的主要为单胞菌属(*Terrimonas*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和*Dongia*;菌群相对丰度较CK减少的为鲍特菌属(*Bordetella*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、竹杆菌属(*Chujaibacter*)、粒藻菌属(*Granulicella*)、罗河杆菌属(*Rhodanobacter*)、食道杆菌属(*Edaphobacter*)和假氨基酸杆菌属(*Pseudaminobacter*)。

图5显示,不同处理后的草莓根际基质的真菌菌群的相对丰度在属的分类水平上也发生了变化。与CK相比,JN和JH处理的草莓根际基质中真菌群落相对丰度增加的为星毛齿革菌属(*Asteronema*)、斜盖伞属(*Clitopilus*);真菌群落相对丰度减少的为纤毛虫属(*Ciliophora*)、篮状菌属(*Talaromyces*)、孢子丝菌属(*Sporothrix*)、*Oidiodendron*、莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*)、假散囊菌属(*Pseudeurotium*)、马利亚霉菌属(*Mariannaea*)、*Coniochaeta*和*Sakaguchia*。与CK比较,木霉菌属(*Trichoderma*)的菌群相对丰度在JN处理后减少,在JH处理后增加。YS和YE处理的草莓根际基质中真菌群落相对丰度较CK增加的有丝衣霉属(*Byssoschlamys*)和莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*)等;真菌群落相对丰度较CK减少的有星毛齿革菌属(*Asteronema*)、青霉菌属(*Penicilli-*

um)、纤毛虫属(*Ciliophora*)、木霉菌属(*Trichoderma*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、孢子丝菌属(*Sporothrix*)、念珠菌属(*Candida*)、马利亚霉菌属(*Marianaea*)、*Sakaguchia*。



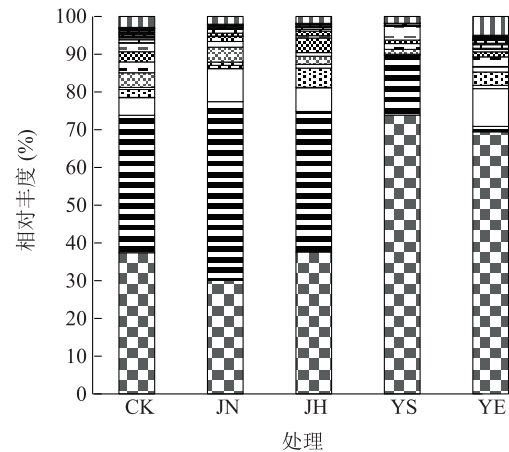
CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。

图 4 不同处理后的草莓根际基质细菌属水平的物种相对丰度

Fig.4 Species relative abundance of bacteria at genus level in strawberry rhizosphere matrix after different treatments

2.5 不同处理的草莓根际基质细菌、真菌类群分析

由表 5 可知,CK、JN、JH、YS 和 YE 处理的根际基质分别获得 1 396 个、1 283 个、1 284 个、1 163 个和 1 666 个细菌操作分类单元(OTU)以及 443 个、383 个、353 个、247 个和 599 个真菌 OTU,各处理间均有差异,除 YE 处理,其他几种处理的细菌、真菌 OTU 个数较 CK 均有所降低,微生物菌剂处理的 OTU 个数比 YS 处理高。处理间还有重叠情况,表明它们存在共有的 OTU 数量,通过物种分析,可以识别出不同处理的根际核心微生物^[21]。分析测序结果得知,5 种处理之间共有的细菌 OTU 数量为 267 个,代表的物种分别属于放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)等;共有的真菌 OTU 数量为 58 个,主要共有物种分别属于子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和罗兹菌门(*Rozellomycota*)等。



CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。

图 5 不同处理后的草莓根际基质真菌属水平的物种相对丰度

Fig.5 Species relative abundance of fungi at genus level in strawberry rhizosphere matrix after different treatments

表 5 不同处理后的草莓根际基质样本测序获得的细菌、真菌操作分类单元(OTU)序列读数

Table 5 Number of bacterial and fungal operational taxonomic units (OTU) sequence reads obtained from sequencing of strawberry rhizosphere matrix samples after different treatments

处理	细菌 16S rRNA 操作分类单元(OTU)个数	真菌内转录间隔区(ITS) OTU 个数
CK	1 396	443
JN	1 283	383
JH	1 284	353
YS	1 163	247
YE	1 666	599
共有的	267	58

CK、JN、JH、YS、YE 处理见表 1。

3 讨论

土壤微生物作为土壤中重要的生命有机体,是土壤生态系统重要的组成部分,其中微生物数量、多样性变化和群落结构皆是影响土壤质量的关键因素,它们的敏感程度与土壤健康状况密切相关。研

究结果表明,人为地向土壤输入大量外源物质,可造成土壤微生物群落发生变化^[22]。本试验分析宁盾微生物菌剂(JN)、哈茨木霉菌剂(JH)2种微生物菌剂和保护型化学杀菌剂代森锰锌(YS)、内吸型化学杀菌剂噁霉灵(YE)2种化学农药试剂对草莓根际基质微生物的影响,借助微生态理论为草莓生长调控提供一定的参考。

对植株生长状况分析得出,与化学农药试剂处理相比,微生物菌剂处理的草莓生理指标具有明显的优势,其中JN处理后的植株茎叶生长表现最佳。前人研究结果表明,有益微生物菌群能够帮助和改善土壤理化性状和微生态区系,使得土壤中酶的活性增强,养分转化率提高^[23],因此植株的生长状态能得到有效改善。在根系抗性指标中,JN处理后的草莓根系抗氧化酶活性和根系活力较CK和YE处理均得到提高,推测是由于微生物菌剂处理的基质有益微生物群体增多,抑制了部分有害菌群,改善了基质生态环境,所以根系生长佳,表现出较好的抗逆潜力。

测序结果表明,微生物菌剂和化学农药试剂对草莓根际基质的细菌和真菌群落多样性变化均有一定影响。从微生物群落的丰富度和多样性指数分析,经过JN处理的细菌群落的Chao1指数、Ace指数、Simpson指数和Shannon指数较CK均有降低趋势,但无明显差异,表明细菌群落的丰富度和多样性指数受试剂影响较小;而在真菌检测结果中,JN处理的真菌群落的丰富度和多样性指数与CK、YE处理相比均出现下降现象。JN处理后的根系微生物主要成分为芽孢杆菌类细菌,有文献报道芽孢杆菌能抑制一些危害性菌株生长繁衍^[24],测定结果也表明,JN处理的植株长势茁壮,因此真菌群落丰富度和多样性指数减少是合理的和可能的。这与王超等^[25]施加枯草芽孢杆菌菌肥能改变有机冬瓜根区土壤微生态,一定程度地降低真菌群落多样性和丰富度并减少了根区土壤特有细菌和真菌群落丰富度的结果相似。JH处理后,细菌群落的丰富度和多样性指数变化也与其他处理无显著差异,但真菌群落的丰富度和多样性指数较CK均呈现下降的趋势,推测是由于哈茨木霉菌中的木霉菌株能迅速繁衍生长,占领微生物生存空间,与病原菌相比具有明显的生长优势,使其他微生物生长受抑制,进而减少其他微生物比例。古丽君等^[26]的研究结果表明,将生防

木霉菌施入草坪土壤中,木霉菌能够明显引起微生物群落结构的改变,抑制病原菌生存,土壤微生物群落的丰富度与多样性指数表现出一定程度的下降。本研究发现,YS处理后根际基质的真菌群落丰富度和多样性指数也较CK有明显降低,但与2种微生物菌剂处理相比差异不显著,而YE处理的真菌群落的丰富度和多样性指数却较2种微生物菌剂处理表现出增多的趋势。查阅资料得知,代森锰锌为保护型化学杀菌剂,施用在植物本体或周围环境,可抑制病原孢子萌发或杀死萌发的病原孢子,保护植物免受其害,因此代森锰锌处理后的微生物群落的丰富度与多样性指数相对CK处理组下降(除细菌群落的多样性指数)。而噁霉灵为内吸型化学杀菌剂,主要通过植物的叶、茎、根部进入植物体,从而起到杀菌的作用,根际周围微生物生存状态良好,微生物群落的丰富度与多样性指数则相对提高。由以上综合分析得出,微生物菌剂有通过有益菌抑制有害微生物的繁衍来改善根系微生物区系环境的潜能,而部分化学农药试剂是通过进入植株内部进行杀菌,其功能实现方式不同,根际基质的微生物群落的丰富度和多样性指数也存在差异,因此可以解释向基质中施入部分化学农药试剂后对应的根际基质的微生物群落丰富度与多样性指数比微生物菌剂处理高的现象,研究结果正与之呼应。

门水平物种分布分析结果显示,施用JN和JH后,细菌菌门中变形菌门、厚壁菌门和放线菌门的菌群相对丰度较CK得到提高,Chen等^[27]研究发现,厚壁菌门可以抵抗干旱和极端环境,放线菌门有吸收营养物质的能力,2种有益菌门对植物生长具有较大的生防潜力。从草莓长势可以看出,2种微生物菌剂对草莓植株表现出较好的促生改善作用。前人已有研究报道证明,微生物菌剂的施用可以促进有益菌的增殖^[25,28],本试验结果与之呼应。在施用2种化学农药试剂后,拟杆菌门的菌群相对丰度均较CK提高,而有益菌株则相对减少。对真菌菌门的菌群相对丰度的检测结果显示,4种试剂均提高了罗兹菌门、担子菌门的菌群相对丰度,尤其2种化学农药试剂处理较CK和微生物菌剂处理均有增加效果,担子菌有引发植物的锈病^[29]、黑粉病^[30]等病害的可能,大多专化性强,是判断根际土壤环境优劣的主要指标^[31]。在属水平中,检测发现2种微生物菌剂处理后的芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属等细菌属

的菌群相对丰度较 CK 有明显增加,2 种化学农药试剂处理的类芽孢杆菌的菌群相对丰度较 CK 有所提高,而芽孢杆菌属降低。微生物菌剂和化学农药试剂处理后植株的表现说明芽孢杆菌属能够产生抵抗不利条件的芽孢,有利于提高植物抗逆性,并且类芽孢杆菌也有防治病害生物的潜能。邱光等^[32]还进行过相关的研究试验,发现利用解淀粉芽孢杆菌 B1619 在草莓上的试验能有效改善土壤微生物环境,增强草莓抗病性。进一步调查得知,芽孢杆菌和木霉菌还能够与土壤中的微生物产生互作反应,使得土壤中营养增加,进而改善土壤理化结构^[33-34,23],这可以解释微生物菌剂处理后的草莓整体生长势较化学农药试剂处理有所增强的现象。

综上所述,4 种试剂对草莓生长状况和基质微生物结构均有一定影响,其中宁盾微生物菌剂(JN)和哈茨木霉菌剂(JH)处理后的草莓植株整体生长势优势明显,尤其宁盾处理的综合效果更优,二者处理后的基质微生物群落丰富度和多样性指数虽有所降低,但对促进草莓植株生长、增加种植基质土的有益菌数量有所帮助,微生物群落结构得到一定改善,有利于草莓植株生长。另外,微生物菌剂是活性生物制剂,易受温度、湿度和 pH 值等多种外界因素的影响,所以后期试验还需要进一步探究微生物的最适生长环境。

参考文献:

- [1] 王鸣谦,薛莉,赵珺,等.世界草莓生产及贸易现状[J].中国果树,2021(2):104-108.
- [2] 傅佳,李先思,傅俊范.重茬种植西洋参对其根区土壤微生物与土壤理化性质影响[J].微生物学杂志,2009,29(2):63-66.
- [3] 周陈,李许,杨明开,等.冬小麦不同生育期土壤微生物及养分动态变化[J].西北农业学报,2008,17(3):113-116.
- [4] 赵帆,赵密珍,王钰,等.不同连作年限草莓根际细菌和真菌多样性变化[J].微生物学通报,2017,44(6):1377-1386.
- [5] 毛宁,刘倩.生物有机肥对草莓种植土壤微生物群落及草莓品质的影响[J].石河子科技,2020(4):1-2,22.
- [6] 伊海静,陈艳,刘正坪,等.草莓枯萎病菌的分离鉴定及防治药剂筛选[J].西北农业学报,2016,25(4):626-635.
- [7] 周丽霞,董俊祝,徐建广,等.草莓重茬地根腐病防治药剂筛选试验[J].安徽农学通报,2016,22(15):60-61.
- [8] 闫雷,于森,张景欣,等.三种杀菌剂对土壤细菌群落多样性影响[J].东北农业大学学报,2013,44(8):29-33.
- [9] 刘刚,杨雪,梅雪然,等.枯草芽孢杆菌 Loq18 抗菌蛋白的分离纯化及其对灰葡萄孢的抑制活性[J].四川师范大学学报(自然科学版),2015,38(1):119-125.
- [10] 司铃铃,徐晓娜.园艺植物真菌病害的分离及木霉对其防治效果的研究[J].现代园艺,2020,43(21):57-58.
- [11] 张鹤,杜国栋,宋亚楠,等.防治草莓根腐病的木霉菌筛选、鉴定及其防病效果[J].沈阳农业大学学报,2015,46(6):654-660.
- [12] 沈婷,杨华,戴乐天,等.吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*) B04 固体菌剂对草莓生长及果实品质影响的研究[J].农业资源与环境学报,2016,33(1):49-54.
- [13] 雷白时,王笑颖,姜军坡,等.草莓根腐病生防芽孢杆菌的筛选鉴定与盆栽防效试验[J].河北农业大学学报,2016,39(3):19-22.
- [14] 宋延静,马兰,李萌,等.黄河三角洲芦苇根际固氮微生物的空间分布特征[J].河南农业大学学报,2020,54(6):1026-1032,1040.
- [15] 孙树兴.园艺研究法[M].1版.北京:中国农业大学出版社,1996.
- [16] DESANTIS T Z J, HUGENHOLTZ P, KELLER K, et al. NAST: a multiple sequence alignment server for comparative analysis of 16S rRNA genes[J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34: 394-399.
- [17] BRIAN D O, NICHOLAS H B, ADAM M P. Interactive metagenomic visualization in a web browser[J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12: 385.
- [18] LI B, ZHANG X X, GUO F, et al. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis[J]. Water Research, 2013, 47(13): 4207-4216.
- [19] EDGAR R C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput[J]. Nucleic Acids Research, 2004, 32(5): 1792-1797.
- [20] WHITE J R, NAGARAJAN N, POP M. Statistical methods for detecting differentially abundant features in clinical metagenomic samples[J]. PLoS Computational Biology, 2009, 5(4): 1-11.
- [21] 赵帆,赵密珍,王钰,等.基于高通量测序研究草莓根际微生物群落结构和多样性[J].土壤,2019,51(1):51-60.
- [22] 张凯煜,谷洁,王小娟,等.微生物有机肥对樱桃园土壤细菌群落的影响[J].中国环境科学,2019,39(3):1245-1252.
- [23] 李金,李丹丹,黄凤智.微生物菌剂对草莓苗生长的影响试验[J].农业工程技术,2018(1):18.
- [24] DAWAR S, WAHAB S, TARIQ M, et al. Application of *Bacillus* species in the control of root rot diseases of crop plants[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2010, 43(4): 412-418.
- [25] 王超,李刚,黄思杰,等.枯草芽孢杆菌菌肥对有机冬瓜根区土壤微生态的影响[J].微生物学通报,2019,46(3):563-576.
- [26] 古丽君,徐秉良,梁巧兰,等.生防木霉对草坪土壤微生物区系的影响及定殖能力研究[J].草业学报,2013,22(3):321-326.

- [27] CHEN S N, GU J, GAO H, et al. Effect of microbial fertilizer on microbial activity and microbial community diversity in the rhizosphere of wheat growing on the Loess Plateau[J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5(2): 137-143.
- [28] RICARDO A, CHRISTOPHER D, CHRISTOPHER M M F. Analogous wheat root rhizosphere microbial successions in field and greenhouse trials in the presence of biocontrol agents *Paenibacillus peoriae* SP9 and *Streptomyces fulvissimus* FU14 [J]. Molecular Plants Pathology, 2020, 21(5): 622-635.
- [29] 黄莉群,张克瑜,董佳玉,等. 玉米南方锈病菌和普通锈病菌的快速区分方法[J]. 植物保护学报, 2020, 47(6): 1385-1386.
- [30] 蒋钰琪,舒新月,郑爱萍,等. 水稻与稻粒黑粉病菌互作分子机制研究进展[J]. 生物技术通报, 2021, 37(9): 248-254.
- [31] WANG X, FANG L C, BEIYUAN J Z, et al. Improvement of alfalfa resistance against Cd stress through rhizobia and arbuscular mycorrhiza fungi co-inoculation in Cd-contaminated soil[J]. Environmental Pollution, 2021, 277: 116758.
- [32] 邱 光,张新风,李建伟,等. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 对草莓保苗促生效果[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(4): 98-100.
- [33] 何 森,谢 东,宋美玲,等. 离子型稀土矿植物根际促生芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. 江西理工大学学报, 2021, 42(1): 52-58.
- [34] 顾建芹,顾晓雯,黄 蕾. 木霉菌剂对玉米产量与土壤养分的影响[J]. 上海农业科技, 2021(1): 108-109.

(责任编辑:陈海霞)