

刺槐林魔芋健康高产的土壤微生态机制

何 斐¹, 张忠良², 刘列平³, 崔 鸣^{4,5}, 薛泉宏^{6*}

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨陵 712100; 2 西北农林科技大学 林学院, 陕西杨陵 712100; 3 陕西省岚皋县魔芋局, 陕西岚皋 725400; 4 陕西省安康市农业技术推广中心, 陕西安康 725000; 5 秦巴魔芋研究开发中心, 陕西安康 725000; 6 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西杨陵 712100)

摘 要:通过对刺槐林和农田魔芋健株根区、根表及根外土壤微生物区系及养分含量比较,探索刺槐林魔芋健康高产的土壤微生态机制。结果表明:(1)刺槐林魔芋根外和根表土壤细菌数量分别较农田增加 11.8% 和 588.9%, 根区土壤真菌数量较农田显著减少 74.4%。(2)刺槐林魔芋根区、根表及根外土壤中的有益优势微生物数量及其比例远高于农田魔芋,有害微生物数量远低于农田魔芋;在刺槐林魔芋根区、根表及根外土壤中,3 种优势细菌为放射型根瘤菌(*Rhizobium radiobacter*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)及摩氏假单胞菌(*Pseudomonas mosselii*),其中,根表土壤中放射型根瘤菌及苏云金芽孢杆菌数量分别为农田的 25.7 倍及 13.0 倍;2 种优势真菌为黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)和疣孢青霉(*Penicillium verruculosum*),1 种优势放线菌为绿淀粉酶链霉菌(*Streptomyces viridodiataticus*),其中刺槐林魔芋根表和根外土壤中黑附球菌数量分别较农田高 159.2% 和 120.3%;大量存在于刺槐林下魔芋根外土壤中的疣孢青霉、以及根区、根表、根外土壤中的绿淀粉酶链霉菌在农田魔芋相应部位均未检出。(3)刺槐林下魔芋根外、根区土壤有机质含量分别较农田显著增加 167.6%、39.6%,但速效 P、K 含量较农田分别显著降低 85.6%~91.3%、12.4%~13.0%。研究认为,刺槐林魔芋健康高产与其根区、根表及根外土壤中特有的有益优势微生物数量多、有害微生物数量少以及土壤有机质含量高密切相关。

关键词:魔芋;土壤微生态;微生物区系;刺槐林

中图分类号: Q948.12

文献标志码: A

Microecological Mechanism for Healthy Growth and Higher Yield of *Amorphophallus konjac* under Acacia Forest

HE Fei¹, ZHANG Zhongliang², LIU Lieping³, CUI Ming^{4,5}, XUE Quanhong^{6*}

(1 College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 Bureau of Konjac Langao, Langao, Shaanxi 725400, China; 4 Agricultural Technology Promotion Center in Ankang City, Ankang 725000, Shaanxi, China; 5 Qinba Moyu Research and Development Center, Ankang 725000, Shaanxi, China; 6 College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The aim of this research is to explore the microecological mechanism of healthy growth and higher yield of *Amorphophallus konjac* under acacia forest. The content of soil nutrition was measured by normal method. Dilution method was used to measure the number of bacteria(B), fungi(F) and actinomycetes(A) in the bulk, rhizosphere and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest and in the farmland. Dominant microorganisms were identified by molecular techniques. The results indicated that: (1) The number of bac-

收稿日期: 2014-08-28; 修改稿收到日期: 2015-01-08

基金项目: 国家林业局重点科技推广项目(魔芋产业化配套技术 2010-38); 财政部农业科技体系建设项目(XTG2013-36); 陕西省科学技术研究发展计划项目(2013K02-24)

作者简介: 何 斐(1988—), 女, 硕士, 主要从事微生物学研究。E-mail: hefei6000@163.com

* 通信作者: 薛泉宏, 教授, 博士生导师, 主要从事微生物资源利用研究。E-mail: xuequanhong@163.com

teria in the bulk and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest markedly increased by 11.8% and 588.9%, while the quantity of fungi in the rhizosphere soil significantly decreased by 74.4% compared with *A. konjac* in the farmland ($P < 0.05$). (2) The quantity and percent of beneficial microorganisms in the bulk, rhizosphere and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest were much higher than that of plants in the farmland, while the quantity and percent of harmful microorganisms were far lower than that of *A. konjac* in the farmland. In the bulk, rhizosphere and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest, three strains were dominant species, which included *Rhizobium radiobacter*, *Bacillus thuringiensis* and *Pseudomonas mosselii*. In the rhizoplane soil, the quantity of *Rhizobium radiobacter* and *Bacillus thuringiensis* were 25.7 and 13.0 times as many as the number of plants in the farmland. In addition, two fungi (*Epicoccum nigrum* and *Penicillium verruculosum*) and one actinomycete *Streptomyces viridodiastaticus* also were dominant microorganisms. And the quantity of dominant fungi *Epicoccum nigrum* in the rhizoplane and bulk soils of *A. konjac* under acacia forest were increased by 159.2% and 120.3% compared with the control group, respectively; while dominant species *Penicillium verruculosum* and *Streptomyces viridodiastaticus* were not detected in the corresponding soils of *A. konjac* in the farmland. Among which, *Penicillium verruculosum* was occurring widely in the bulk soil, and *S. viridodiastaticus* was abundant in the bulk, rhizosphere and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest. (3) Significant difference was observed in the nutrition content of soils under acacia forest and the control group. The content of organic matter in the bulk and rhizosphere soils of *A. konjac* under acacia forest markedly increased by 167.6% and 39.6%, while available P and K significantly decreased by 85.6% to 91.3% and 12.4% to 13.0%. It was suggested that healthy growth and higher yield of *A. konjac* under acacia forest was closely related to more certain beneficial dominant microorganisms and less harmful microbes in the bulk, rhizosphere and rhizoplane soils of *A. konjac* under acacia forest, as well as higher organic matter content.

Key words: *Amorphophallus konjac*; soil microecology; microflora; acacia forest

魔芋 (*Amorphophallus konjac* K. Koch ex N. E. Br) 为天南星科多年生草本植物, 其块茎富含葡甘聚糖, 具有减脂通便等功效, 广泛应用于食品及化工等行业。随着魔芋产品需求量增加和连作面积扩大, 连作引起的魔芋软腐病及白绢病等日趋严重, 已造成魔芋减产甚至绝收。为了有效减轻魔芋病害, 充分利用安康林地资源, 和军^[1]、刘列平等^[2]连续多年进行了多种林地间作魔芋与农田玉米间作魔芋发病率与产量的比较研究, 发现刺槐林魔芋发病率低、产量高, 其产量较农田魔芋平均增加 71.9%。刺槐林魔芋健康高产、连作障碍较轻现象普遍存在, 且已作为高产栽培技术被采用^[3-4]。但目前对刺槐林魔芋的健康高产机制了解很少, 限制了刺槐林魔芋高产栽培技术水平提高及大面积推广。鉴于作物生长状况与其根区、根表土壤微生物及养分密切相关^[5-7], 且魔芋球茎营养丰富, 是土壤中各种微生物的良好营养源, 其表皮薄且易受损, 对土壤中病原微生物抵抗力差, 极易被侵染发生软腐病等病害, 进而累及地上叶片, 在短期内大量发病死亡, 即魔芋软腐病发生或健康高产的根源均决定于球茎及其根系周围土壤的健康状况^[8]。故对林地与农田魔芋根区、根表土壤微生态差异进行系统研究, 有望揭开刺槐

林魔芋健康高产的秘密。本研究拟从魔芋根区、根表土壤微生态角度探索刺槐林魔芋健康高产的机制, 旨在为刺槐林魔芋栽培技术水平提高及推广提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

采样区概况: 采样区岚皋县位于陕西省安康市西南部、大巴山北麓, 属北亚热带季风性气候, 年均气温 15.1℃, 年均降水量 1 058 mm, 全县 60% 以上行政村海拔为 800~1 300 m^[3]。

供试样品: 为有效减轻魔芋病害, 充分利用林地资源及遮荫, 选择刺槐林下套种魔芋 (称刺槐林魔芋) 和农田玉米下套种魔芋 (称农田魔芋)。其中, 刺槐林地海拔 650 m, 刺槐树龄 5 年, 株行距 1.5 m×2 m, 郁闭度 60%, 魔芋株行距 40 cm×40 cm。农田中玉米套种魔芋行数比例为玉米: 魔芋=1:2, 荫闭度 60%, 魔芋株行距 40 cm×40 cm。于 2011-08-19 在岚皋县蔺河乡立新村刺槐林下, 采集健康刺槐林魔芋全植株及其根区、根表及根外土壤; 同时采集相同生态条件下农田中与玉米间作的健康农田魔芋全植株及其根区、根表与根外土壤, 作为刺槐林魔芋

对照。将样品带回实验室参照周永强等^[9]方法及时分离。

培养基:牛肉膏蛋白胨、马铃薯蔗糖及高氏 1 号培养基^[10]。

1.2 方法

1.2.1 土壤微生物分离计数 采用稀释平板涂法分离计数微生物数量。细菌、真菌及放线菌分别采用牛肉膏蛋白胨、马铃薯蔗糖及高氏 1 号培养基,均设 3 个稀释度,每个稀释度重复 3 皿,28℃倒置培养,细菌 2 d,真菌 3 d,放线菌 8 d 后计数,同时挑取优势菌纯化后于斜面培养基保藏。

1.2.2 土壤 pH 及养分测定 使用 DELTA 320pH 计测定土壤 pH(水:土=5:1);重铬酸钾氧化-外加热法测定有机质含量;NH₄-N 采用 2 mol·L⁻¹ KCl 浸提,流动分析仪测定;速效 P 含量采用 0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 浸提,钼锑抗比色法测定;速效 K 含量采用 1 mol·L⁻¹ NH₄OAc 浸提,火焰光度法测定^[11]。

1.2.3 优势菌株鉴定 细菌、放线菌总 DNA 提取参照徐丽华等^[12-15]方法。均采用细菌 16S rRNA 通用引物 PA(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、PB(5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3')进行 PCR 扩增,得到 1.4~1.5 kb 片段。PCR 条件:94℃预变性 4 min,94℃变性 1 min,57℃退火 55 s,72℃延伸 2 min,变性至延伸 30 个循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。

真菌:参照文献[16~18]方法提取真菌总 DNA。采用真菌通用引物 ITS1、ITS4 对 rDNA-ITS 序列进行扩增(ITS1:5'-TCCGTAGGTGAAC-

CTGCGG-3';ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGAT-ATGC-3'),得到 400~500 bp 片段。PCR 反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,50℃退火 30 s,72℃延伸 40 s,变性至延伸 30 个循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。扩增产物送南京金斯瑞生物科技有限公司测序,采用 BLAST 方法和 CLUSTALX 2.0 软件将获得的序列与 NCBI 中高相似度序列进行同源性比对,Mega 5.0 软件中 Neighbor-Joining 法构建系统进化树。

1.2.4 数据处理 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,Duncan 法进行差异显著性检验($P<0.05$)。刺槐林魔芋各项指标较农田的增率均用 Δ CK% 表示,用公式(1)计算。供试样品中某种优势细菌数量占该样品中细菌总数的比例用 $P\%$ 表示,按公式(2)计算;某种优势真菌及放线菌所占比例计算与细菌相同。

$$\Delta\text{CK}\% = \frac{\text{刺槐林} - \text{农田}}{\text{农田}} \times 100 \quad (1)$$

$$P\% = \text{某种优势细菌数量 } N / \text{对应供试样品中细菌总数量} \times 100 \quad (2)$$

2 结果与分析

2.1 魔芋根域微生物区系

由表 1 可知,刺槐林魔芋根外土中细菌、真菌及放线菌数量与农田魔芋无明显差异,但刺槐林魔芋根区土中真菌数量较农田魔芋减少 74.4%;细菌和放线菌数量分别较农田魔芋减少 14.2%和 6.4%,但差异均不显著;刺槐林魔芋根表土壤细菌数量较农田魔芋增加 588.9%,放线菌数量显著减少 23.0%,

表 1 魔芋根区、根表及根外土壤微生物数量

Table 1 Microbial quantity in the rhizosphere, rhizoplane and bulk soils of *A. konjac*

样品 Sample		细菌 Bacteria /(10 ⁶ CFU·g ⁻¹)	真菌 Fungi /(10 ² CFU·g ⁻¹)	放线菌 Actinomycetes /(10 ⁴ CFU·g ⁻¹)
根外土壤 Bulk soil	农田 Farmland	38.80±0.1a	151.01±0.1a	304.02±0.5a
	刺槐林 Acacia	43.37±0.2a	223.50±0.5a	281.52±0.2a
	Δ CK%	11.8	48.0	-7.4
根区土壤 Rhizosphere soil	农田 Farmland	147.93±0.7a	855.17±0.2a	388.97±0.4a
	刺槐林 Acacia	126.90±0.2a	219.27±0.4b	364.00±0.2a
	Δ CK%	-14.2	-74.4	-6.4
根表土壤 Rhizoplane soil	农田 Farmland	387.07±0.2b	684.69±0.9a	2 601.35±1.9a
	刺槐林 Acacia	2 666.45±8.3a	773.60±0.6a	2 002.58±0.5b
	Δ CK%	588.9	13.0	-23.0

注: Δ CK%表示刺槐林魔芋各项指标较农田的增率;同列不同字母表示差异显著($P<0.05$);下同。

Note: Δ CK% indicated the increase rate between acacia forest and farmland; Values followed by different letters within the columns are significantly different at 0.05 level. The same as below.

但二者真菌数量无显著差异。

2.2 优势微生物

由表 2 可知,从魔芋根外、根区及根表土壤中共获得 17 株优势菌株,其中优势细菌和优势真菌各 6 株,优势放线菌 5 株。采用 16S rRNA 和 rDNA-ITS 基因序列分析技术对优势菌进行分子鉴定。

2.2.1 优势细菌 由表 3 可知,刺槐林地土壤与农田土壤中优势细菌不同。刺槐林魔芋根外土壤中各优势细菌数量与农田魔芋存在明显差异:其中,刺槐林魔芋根外土中放射型根瘤菌(*R. radiobacter*)和苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)数量分别较农田魔芋增加 140.5%和 28.3%;而产吡啶金黄杆菌(*C. indologenes*)、变形假单胞菌(*P. plecoglossicida*)及寡养食单胞菌(*S. pavanii*)分别较农田魔芋减少 100.0%、12.3%及 12.7%。

由表 3 可知,根区土壤中,刺槐林土壤与农田土壤中优势细菌数量也呈类似趋势:刺槐林魔芋根区土中苏云金芽孢杆菌和摩氏假单胞菌(*P. mosselii*)数量均高于农田魔芋,其中苏云金芽孢杆菌较农田高 107.4%,而产吡啶金黄杆菌、变形假单胞菌及寡养食单胞菌分别较农田魔芋减少 57.4%、83.1%及 100.0%。

从表 3 可知,4 株优势细菌数量在刺槐林魔芋与农田魔芋根表土中的差异更为明显:刺槐林魔芋根表土中放射型根瘤菌、苏云金芽孢杆菌数量分别

为农田魔芋根表土的 25.7、13.0 倍;摩氏假单胞菌在刺槐林魔芋根表土中数量高达 2.64×10^8 CFU · g⁻¹,但在农田魔芋根表土壤中未检出。表明优势细菌放射型根瘤菌、苏云金芽孢杆菌及摩氏假单胞菌的大量存在与维持刺槐林魔芋健康高产有关。产吡啶金黄杆菌在刺槐林下魔芋根表土中未检出,但在农田魔芋根表土中检出量为 3.52×10^7 CFU · g⁻¹。

从表 3 中 6 种优势细菌占细菌总数的比例来看,放射型根瘤菌、苏云金芽孢杆菌、摩氏假单胞菌在魔芋根表及根外土壤细菌总数中所占比例均表现为刺槐林大于农田魔芋的趋势。产吡啶金黄杆菌、变形假单胞菌、寡养食单胞菌在魔芋根区、根表及根外土壤细菌总数中所占比例均表现为农田魔芋大于刺槐林的趋势。

此外,从表 3 可知,刺槐林和农田魔芋根表土中 6 种优势细菌的总数量高于根区、根外土壤,其分别是根区土壤的 31.9 倍和 1.3 倍,根外土壤的 62.1 倍和 4.4 倍,表明根表土中优势细菌数量多,对魔芋生长的影响起关键作用。若优势菌为有益菌,则魔芋健康高产;若为有害菌,则多病低产。

2.2.2 优势真菌 由表 4 可知,刺槐林与农田魔芋根外、根区及根表土中各优势真菌数量差异均呈现相同趋势:即在刺槐林魔芋根区、根表及根外土壤中,优势真菌黑附球菌(*E. nigrum*)、疣孢青霉(*P. verruculosum*)数量远高于农田魔芋;而在农田魔芋根

表 2 魔芋根区、根表及根外土壤优势微生物

Table 2 Dominant microorganisms in the rhizosphere, rhizoplane and bulk soils of *A. konjac*

类型 Style	最相近菌株 Closest known relative strain	相似度 Identity/%	GenBank 登录号 GenBank accession No.
细菌 Bacteria	放射型根瘤菌 <i>Rhizobium radiobacter</i>	100.0	KJ145860
	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	100.0	KJ145859
	摩氏假单胞菌 <i>Pseudomonas mosselii</i>	99.1	KJ145858
	产吡啶金黄杆菌 <i>Chryseobacterium indologenes</i>	98.6	KJ145857
	变形假单胞菌 <i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	99.4	KJ145856
	寡养食单胞菌 <i>Stenotrophomonas pavanii</i>	99.5	KJ145862
真菌 Fungi	疣孢青霉 <i>Penicillium verruculosum</i>	99.4	KJ145890
	黑附球菌 <i>Epicoccum nigrum</i>	99.6	KJ145880
	烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>	100.0	KJ145881
	腐皮镰刀菌 <i>Fusarium solani</i>	100.0	KJ145882
	变灰青霉 <i>Penicillium canescens</i>	100.0	KJ145885
	尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	100.0	KJ145886
放线菌 Actinomycetes	绿淀粉酶链霉菌 <i>Streptomyces viridodiataticus</i>	100.0	KJ145872
	黄暗色链霉菌 <i>Streptomyces xanthophaeus</i>	99.9	KJ145871
	纤维素链霉菌 <i>Streptomyces cellulosae</i>	99.8	KJ145875
	疮疥链霉菌 <i>Streptomyces scabiei</i>	99.9	KJ145877
	淀粉酶产色链霉菌 <i>Streptomyces diastatochromogenes</i>	99.1	KJ145874

表 3 魔芋根区、根表及根外土壤优势细菌数量和比例

Table 3 Quantity and percent of dominant bacteria in the rhizosphere, rhizoplane and bulk soils of *A. konjac*

样品 Sample	优势细菌 Dominant bacterium	数量 Quantity/(10 ⁶ CFU · g ⁻¹)			比例 Percent/%		
		农田 Farmland	刺槐林 Acacia	△ CK%	农田 Farmland	刺槐林 Acacia	△ CK%
根区土壤 Rhizosphere soil	放射型根瘤菌 <i>R. radiobacter</i>	35.8	25.6	-28.5	24.2	20.2	-16.5
	苏云金芽孢杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	6.8	14.1	107.4	4.6	11.1	141.3
	摩氏假单胞菌 <i>P. mosselii</i>	0.0	2.2	—	0.0	1.7	—
	产吡啶金杆菌 <i>C. indologenes</i>	29.6	12.6	-57.4	20.0	9.9	-50.5
	变形假单胞菌 <i>P. plecoglossicida</i>	16.0	2.7	-83.1	10.8	2.1	-80.6
	寡养食单胞菌 <i>S. pavanii</i>	1.2	0.0	-100.0	0.8	0.0	-100.0
	合计 Total	89.4	57.2	-36.0	60.4	45.0	-25.5
根表土壤 Rhizoplane soil	放射型根瘤菌 <i>R. radiobacter</i>	39.1	1 005.3	2 471.1	10.1	37.7	273.3
	苏云金芽孢杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	43.0	557.3	1 196.0	11.1	20.9	88.3
	摩氏假单胞菌 <i>P. mosselii</i>	0.0	264.0	—	0.0	9.9	—
	产吡啶金杆菌 <i>C. indologenes</i>	35.2	0.0	-100.0	9.1	0.0	-100.0
	合计 Total	117.3	1 826.6	1 457.2	30.3	58.6	93.4
根外土壤 Bulk soil	放射型根瘤菌 <i>R. radiobacter</i>	3.7	8.9	140.5	9.5	20.5	115.8
	苏云金芽孢杆菌 <i>B. thuringiensis</i>	4.6	5.9	28.3	11.9	13.7	15.1
	产吡啶金杆菌 <i>C. indologenes</i>	1.9	0.0	-100.0	4.8	0.0	-100.0
	变形假单胞菌 <i>P. plecoglossicida</i>	6.5	5.7	-12.3	16.7	13.1	-21.6
	寡养食单胞菌 <i>S. pavanii</i>	10.2	8.9	-12.7	26.2	20.5	-21.8
	合计 Total	26.9	29.4	25.3	69.1	67.8	-1.9

表 4 魔芋根区、根表及根外土壤优势真菌数量和比例

Table 4 Quantity and percent of dominant fungi in the rhizosphere, rhizoplane and bulk soils of *A. konjac*

样品 Sample	优势真菌 Dominant fungus	数量 Quantity/(10 ² CFU · g ⁻¹)			比例 Percent/%		
		农田 Farmland	刺槐林 Acacia	△ CK%	农田 Farmland	刺槐林 Acacia	△ CK%
根区土壤 Rhizosphere soil	黑附球菌 <i>E. nigrum</i>	0.0	19.3	—	0.0	8.8	—
	烟曲霉 <i>A. fumigatus</i>	18.0	1.1	-93.9	2.1	0.5	-76.2
	腐皮镰刀菌 <i>F. solani</i>	18.0	4.0	-77.8	2.1	1.8	-14.3
	变灰青霉 <i>P. canescens</i>	62.4	0.0	-100.0	7.3	0.0	-100.0
	合计 Total	98.4	24.4	-75.2	11.5	11.1	-3.5
根表土壤 Rhizoplane soil	黑附球菌 <i>E. nigrum</i>	19.1	49.5	159.2	3.1	6.4	106.5
	烟曲霉 <i>A. fumigatus</i>	48.6	0.0	-100.0	7.9	0.0	-100.0
	腐皮镰刀菌 <i>F. solani</i>	3.7	0.0	-100.0	0.6	0.0	-100.0
	变灰青霉 <i>P. canescens</i>	35.0	0.0	-100.0	5.7	0.0	-100.0
	尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>	38.7	17.8	-54.0	6.3	2.3	-63.5
	合计 Total	145.1	67.3	-53.6	23.6	8.7	-63.1
根外土壤 Bulk soil	黑附球菌 <i>E. nigrum</i>	5.9	13.0	120.3	3.9	5.8	48.7
	疣孢青霉 <i>P. verruculosum</i>	0.0	80.5	—	0.0	36.0	—
	烟曲霉 <i>A. fumigatus</i>	27.5	0.0	-100.0	18.2	0.0	-100.0
	腐皮镰刀菌 <i>F. solani</i>	3.9	0.0	-100.0	2.6	0.0	-100.0
	变灰青霉 <i>P. canescens</i>	11.8	0.0	-100.0	7.8	0.0	-100.0
	合计 Total	49.1	93.5	90.4	32.5	41.8	28.6

区、根表及根外土壤中,腐皮镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、变灰青霉(*P. canescen*)及烟曲霉(*A. fumigatus*)数量均高于刺槐林。结果表明,优势真菌黑附球菌、疣孢青霉的存在与维持魔芋健康生长有关,其余 4 种真菌中的腐皮镰刀菌(*F. solani*)和尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)则是已知

病原菌。

从优势真菌占真菌总数的比例来看,刺槐林和农田魔芋根外、根区及根表土壤优势真菌所占比例的高低与二者数量的大小趋势一致。

2.2.3 优势放线菌 由表 5 可知,在根外土中,刺槐林魔芋根外土中优势放线菌绿淀粉酶链霉菌(*S. viridodiatstaticus*)和淀粉酶产色链霉菌(*S. diastatochromogenes*)数量均为 1.07×10^5 CFU · g⁻¹,而这两种菌在农田魔芋根外土壤中均未检出。根外土壤中优势放线菌疮疥链霉菌(*S. scabiei*)的数量呈现农田大于刺槐林的趋势。根区土壤中,优势放线菌绿淀粉酶链霉菌和疮疥链霉菌在刺槐林和农田魔芋根区土壤中的数量差异与根外土壤中呈现类似趋势:即绿淀粉酶链霉菌的数量表现为刺槐林大于农田;而疮疥链霉菌的数量表现为农田魔芋大于刺槐林的趋势。与根外土壤趋势相反,优势放线菌淀粉酶产色链霉菌的数量在根区土壤中表现为农田魔芋大于刺槐林。

由表 5 可知,根表土壤中,4 种优势放线菌的数量表现出明显的规律性:即黄暗色链霉菌(*S. xanthophaeus*)、纤维素链霉菌(*S. cellulosa*)及疮疥链霉菌(*S. scabiei*)数量呈现农田魔芋大于刺槐林的趋势;而绿淀粉酶链霉菌的数量在根表土中与其根外、根区土中的规律一致,即刺槐林数量较多,但农田魔芋根表土中未检出。

从优势放线菌占放线菌总数的比例来看,刺槐林与农田魔芋根外、根区及根表土壤优势放线菌所占比例的高低与二者数量大小一致。

2.3 魔芋根区土壤养分含量

由表 6 可知,刺槐林魔芋根区土壤有机质和铵态氮含量分别较农田显著提高 39.6%和 14.0%,但速效磷和速效钾含量分别较农田显著降低91.3%和 13.0%。刺槐林魔芋根区土壤 pH 与对照无明显差异。此外,刺槐林魔芋根外土壤 pH 和有机质含量分别较农田显著增加 25.5%和 167.6%,但铵态氮、速效磷及速效钾含量均显著低于农田,降幅分别为

表 5 魔芋根区、根表及根外土壤优势放线菌数量和比例

Table 5 Quantity and percent of dominant actinomycetes in the rhizosphere, rhizoplane and bulk soils of *A. konjac*

样品 Sample	优势放线菌 Dominant actinomycete	数量 Quantity/(10 ⁴ · g ⁻¹)			比例 Percent/%		
		农田 Farmland	刺槐林 Acacia	Δ CK%	农田 Farmland	刺槐林 Acacia	Δ CK%
根区土壤 Rhizosphere soil	绿淀粉酶链霉菌 <i>S. viridodiatstaticus</i>	0.0	16.0	—	0.0	4.4	—
	疮疥链霉菌 <i>S. scabiei</i>	28.8	0.0	—100.0	7.4	0.0	—100.0
	淀粉酶产色链霉菌 <i>S. diastatochromogenes</i>	4.7	0.0	—100.0	1.2	0.0	—100.0
	合计 Total	33.5	16.0	—52.2	8.6	4.4	—48.8
根表土壤 Rhizoplane soil	绿淀粉酶链霉菌 <i>S. viridodiatstaticus</i>	0.0	492.6	—	0.0	24.6	—
	黄暗色链霉菌 <i>S. xanthophaeus</i>	75.4	0.0	—100.0	2.9	0.0	—100.0
	纤维素链霉菌 <i>S. cellulosa</i>	387.6	0.0	—100.0	14.9	0.0	—100.0
	疮疥链霉菌 <i>S. scabiei</i>	156.1	12.0	—92.3	6.0	0.6	—90.0
	合计 Total	619.1	504.6	—18.5	23.8	25.2	5.9
根外土壤 Bulk soil	绿淀粉酶链霉菌 <i>S. viridodiatstaticus</i>	0.0	10.7	—	0.0	3.8	—
	疮疥链霉菌 <i>S. scabiei</i>	17.0	9.9	—41.8	5.6	3.5	—37.5
	淀粉酶产色链霉菌 <i>S. diastatochromogenes</i>	0.0	10.7	—	0.0	3.8	—
	合计 Total	17.0	31.3	84.1	5.6	11.1	98.2

表 6 魔芋根区及根外土壤养分含量

Table 6 Soil nutrition contents in the rhizosphere and bulk soils of *A. konjac*

样品 Sample		pH	有机质 Organic matter /(g · kg ⁻¹)	速效养分 Available nutrient/(mg · kg ⁻¹)		
				NH ₄ -N	P	K
根外土壤 Bulk soil	农田 Farmland	6.15±0.0b	13.13±0.1b	5.95±0.0a	14.62±0.8a	82.47±6.1a
	刺槐林 Acacia	7.72±0.0a	35.13±4.1a	3.33±0.1b	2.10±0.1b	72.24±0.1b
	ΔCK%	25.5	167.6	-44.0	-85.6	-12.4
根区土壤 Rhizosphere soil	农田 Farmland	7.50±0.0a	23.35±1.4b	4.14±0.0b	23.43±2.0a	89.86±13.8a
	刺槐林 Acacia	7.59±0.0a	32.59±2.3a	4.72±0.1a	2.05±0.1b	78.18±2.3b
	ΔCK%	1.2	39.6	14.0	-91.3	-13.0

44.0%、85.6%及12.4%。

3 讨 论

魔芋健康高产与其根际微生态系统中微生物群落结构密切相关。但目前对魔芋根际土壤微生态研究很少^[19],尚无对刺槐林魔芋根区、根表土壤微生态特性的系统研究,难以对刺槐林魔芋健康高产现象作出解释,限制了对刺槐林魔芋健康高产栽培技术的深入研究及对刺槐林下土壤资源的高效利用。

本研究发现,刺槐林魔芋根区、根表及根外土壤微生物区系与农田存在显著差异:(1)刺槐林魔芋根区土壤真菌数量远低于农田,根表土壤细菌数量远高于农田。(2)刺槐林魔芋根表、根外土壤中的优势细菌均为放射型根瘤菌和苏云金芽孢杆菌,根区土壤中为苏云金芽孢杆菌和摩氏假单胞菌,刺槐林魔芋根表土壤中放射型根瘤菌数量约为农田的26倍,而农田魔芋根表、根外及根区土壤中上述3种细菌数量很少或未检出。(3)刺槐林魔芋根外、根区及根表土中各优势真菌黑附球菌数量远高于农田,根外土壤中疣孢青霉数量远高于农田;而在农田魔芋根区、根表及根外土壤中,腐皮镰刀菌、尖孢镰刀菌、烟曲霉及变灰青霉数量均高于刺槐林。(4)刺槐林魔芋根外、根区及根表土中各优势放线菌为绿淀粉酶链霉菌,而农田土壤未检出该菌。刺槐林土壤中大量存在的3种优势细菌、3种优势真菌和1种优势放线菌可能是刺槐林魔芋健康高产的主要原因之一,农田土壤中大量存在的4种优势真菌是农田魔芋多病低产的主要原因之一。

已有研究^[20-25]支持了上述推论。在上述刺槐林土壤优势微生物中,2种优势细菌及2种优势真菌具有抑菌或促生效应。其中放射型根瘤菌具有广谱抑菌活性,能抑制番茄青枯雷尔氏菌、西瓜果斑病菌及棉花黄萎病大丽轮枝菌,尤其对西瓜果斑病菌具有极好的抑菌效果,抑菌圈直径高达53.0 mm^[20];放射型根瘤菌还能产生具有促生活性的代谢产物,其无细胞发酵滤液以及细胞悬液均能显著促进甜瓜幼苗生长^[21]。苏云金芽孢杆菌是目前世界上应用范围最广、效果最好的绿色环保型微生物杀虫剂,其胞内毒蛋白对多种害虫有杀灭作用^[22-23]。该菌数量多,可能通过减少魔芋根区、根表土壤害虫数量及害虫对魔芋根系侵害减轻病原微生物侵染,降低软腐病发病率。放射型根瘤菌和苏云金芽孢杆菌能产生抗菌活性物质,抑制魔芋软腐病原菌生长,在盆栽条件下亦有一定的防病促生作用(拟另文报道)。疣孢

青霉对真菌性番茄早疫病菌、苹果干腐病菌及苹果腐烂病菌的抑菌率高达80%以上^[24]。黑附球菌是防治作物病害较理想的生防菌^[25]。这4种优势菌在刺槐林下魔芋根区、根表及根外土壤中数量较多,对抑制土壤中有害微生物生长,增强魔芋抗病性及促进魔芋生长有益。

此外,在刺槐林下魔芋根区、根表及根外土壤中,优势细菌摩氏假单胞菌和优势放线菌绿淀粉酶链霉菌数量较多,但在农田魔芋根区、根表及根外土壤中未检出,表明这两株菌也可能与刺槐林魔芋健康高产有关。但目前尚无这2种菌的防病促生或抑菌功能的报道,其对刺槐林魔芋健康高产的影响尚待进一步研究。

本研究还发现,在农田魔芋根区、根表及根外土壤中,优势真菌为腐皮镰刀菌、尖孢镰刀菌及烟曲霉;优势细菌为产吡啶金杆菌和变形假单胞菌;优势放线菌为疮痂链霉菌。这些优势菌数量远高于刺槐林土壤。这6种菌的大量存在与农田魔芋软腐病发病率高、产量低有关。已有研究^[26-33]也支持了该推论。其中,腐皮镰刀菌是一类分布广泛的植物病原菌,可侵染辣椒、马铃薯、黄瓜等,导致作物地下根腐、地上枯萎等病害发生^[26-27]。尖孢镰刀菌是引起甘蔗、黄瓜等作物枯萎病的主要致病菌^[28-32]。疮痂链霉菌是引起马铃薯疮痂病的植物源病原菌^[33]。即这3种菌的有害作用是确定的。烟曲霉为人类真菌性疾病的致病菌^[34],该菌也可产生一些抑制免疫反应的真菌毒素如烟曲霉素、烟曲霉酸及内毒素等^[35]。产吡啶金杆菌是人类疾病的致病菌^[36]。变形假单胞菌是鱼类败血症致病菌^[37]。但这3种优势菌对植物有无致病性尚无报道。

此外,寡养食单胞菌、变灰青霉、淀粉酶产色链霉菌、黄暗色链霉菌、纤维素链霉菌在农田魔芋根区、根表及根外土壤中数量较多,但目前尚无这些菌的致病性或影响根系吸收功能的报道,其对魔芋生长有何影响尚待进一步研究。

本研究还发现,刺槐林土壤速效NPK、有机质及pH与农田存在显著差异。其中刺槐林根外土壤有机质含量远高于农田,速效NPK则远低于农田。魔芋根区土壤与之类似。该现象表明,与土壤微生物数量种类及土壤有机质相比,土壤速效NPK对魔芋健康高产的影响较小。

综上所述,刺槐林魔芋健康高产的微生态机制为:(1)土壤具有健康有益的微生物区系。(2)土壤有机质含量高。刺槐的枯枝落叶及根系分泌物可能

是土壤中有益优势微生物大量繁殖的主要原因,但该推测尚待进一步研究证实。

本研究通过对比刺槐林与农田魔芋根区、根表、

根外土壤微生物区系及养分差异,首次揭示了刺槐林魔芋健康高产的微生态机制,该结果可为刺槐林魔芋健康高产栽培研究提供理论依据。

参考文献:

- [1] HE J(和 军),WEI L Y(魏凌云),ZHOU L J(周立军). Effect of intercropping pattern and woodland type on *Konjac* disease and yield [J]. *Shaanxi Forest Science and Technology*(陕西林业科技),2012,(3):37—38,41(in Chinese).
- [2] LIU L P(刘列平),ZHENG M(郑 敏),ZOU A(邹 安),*et al.* Effect of intercropping pattern on disease and yield of *Amorphophallus konjac* [J]. *Forest By-Product and Speciality in China*(中国林副特产),2012,5:58—59(in Chinese).
- [3] ZHANG ZH L(张忠良),LIU L P(刘列平),ZHENG M(郑 敏). Cultivation techniques of *Amorphophallus rivieri* under *Robinia pseud-oacacia* forest [J]. *Northern Horticulture*(北方园艺),2012,13:148—150(in Chinese).
- [4] CUI M(崔 鸣). Practice and understanding of *Amorphophallus konjac* understory planting [J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*(陕西农业科学),2012,3:157—159.
- [5] WIELAND G,NEUMANN R,BACKHAUS H. Variation of microbial communities in soil, rhizosphere, and rhizoplane in response to crop species, soil type, and crop development [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(12): 5 849—5 854.
- [6] HAMEL C, VUJANOVIC V, JEANNOTTE R, *et al.* Negative feedback on a perennial crop: *Fusarium* crown and root rot of asparagus is related to changes in soil microbial community structure [J]. *Plant and Soil*, 2005, **268**(1): 75—87.
- [7] WANG L N(王玲娜), XUE Q H(薛泉宏), TANG M(唐 明), *et al.* Microbial ecological study about the root-zone soil of the healthy and diseased celery plant in Inner Mongolia [J]. *Journal of Northwest A&F University*(Nat. Sci. Edi.)(西北农林科技大学学报·自然科学版), 2010, **38**(8): 167—181, 172(in Chinese).
- [8] WU J P, DIAO Y, GU Y C, *et al.* Infection pathways of soft rot pathogens on *Amorphophallus konjac* [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2010, **4**(14): 1 495—1 499.
- [9] ZHOU Y Q(周永强), XUE Q H(薛泉宏), YANG B(杨 斌), *et al.* Adjusted effect of inoculating with biocontrol actinomycetes on microbial flora of watermelon rooting zone [J]. *Journal of Northwest A&F University*(Nat. Sci. Edi.)(西北农林科技大学学报·自然科学版), 2008, **36**(4): 143—150(in Chinese).
- [10] 程丽娟, 薛泉宏, 来航线. 微生物学实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 等. 放线菌系统学-原理方法及实践 [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [13] SAITO H, MIURA K I. Preparation of transforming deoxyribonucleic acid by phenol treatment [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section on Nucleic Acids and Related Subjects*, 1963, **72**: 619—629.
- [14] EI KARKOURI A, EI HASSANI F Z, EI MZIBRI M, *et al.* Isolation and identification of an actinomycete strain with a biocontrol effect on the phytopathogenic *Erwinia chrysanthemi* 3937^Ⅷ responsible for soft rot disease [J]. *Annals of Microbiology*, 2010, **60**: 263—268.
- [15] INTRA B, MUNGUNTISUK I, NIHIRA T, *et al.* Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum* spp., the causative agent of anthracnose disease [J]. *BMC Research Notes*, 2011, **4**: 98.
- [16] SAGHAI M A, SOLIMAN K M, JORGENSEN R A, *et al.* Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics [J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, **81**: 8 014—8 018.
- [17] SUN G Y(孙广宇), ZHANG Y M(张雅梅), ZHANG R(张 荣). Sequence comparison and phylogenetic analysis of BRN1 gene from *Exserohilum* species [J]. *Mycosystema*(菌物学报), 2004, **23**(4): 480—486(in Chinese).
- [18] INGLE A, INGLE R. Isolation and Identification of *Fusarium oxysporum* infecting *Musa* plants in Maharashtra region and their molecular characterization [J]. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 2013, **4**: 28—34.
- [19] JIA G M(贾国梅), LÜ H SH(吕红胜), TANG Q ZH(唐巧珍), *et al.* Effect of *Konjac* on soil microbial community composition [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*(安徽农业科学), 2008, **36**(21): 9 176—9 178(in Chinese).
- [20] ZHU Y J(朱育菁), CHEN L(陈 璐), LAN J L(蓝江林), *et al.* Isolation, identification and the biocontrol potential of endophyte in *theasienensis*(*Camellia sinensis*) [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University*(Nat. Sci. Edi.)(福建农林大学学报·自然科学版), 2009, **38**(2): 129—134(in Chinese).

- [21] DUAN J L, LI X J, GAO J M, *et al.* Isolation and identification of endophytic bacteria from root tissues of *Salvia miltiorrhiza* Bge. and determination of their bioactivities[J]. *Annals of Microbiology*, 2013, 63: 1 501—1 512.
- [22] LI Y P(李怡萍), LIANG G M(梁革梅), WU J X(仵均祥), *et al.* Progress in insecticidal mechanism of Bt and resistance mechanism of pest insect to Bt[J]. *Journal of Northwest A&F University* (Nat. Sci. Edi.) (西北农林科技大学学报·自然科学版), 2010, 38(9): 118—128(in Chinese).
- [23] LIU SH Q(刘石泉), SHAN SH P(单世平), XIA L Q(夏立秋). Advances on high performance insecticide of *Bacillus thuringiensis*[J]. *Microbiology* (微生物学通报), 2008, 35(7): 1 091—1 095(in Chinese).
- [24] 李 川. 白魔芋种子发芽过程中的生理生化研究[M]. 重庆: 西南大学, 2006.
- [25] TIAN X L(田雪亮), LIU M T(刘鸣韬), YANG J R(杨家荣). Seed germination and growth of various resistant cucumber seedlings under *Fusarium oxysporum* crude toxin stress[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报), 2008, 16(6): 1 495—1 498(in Chinese).
- [26] DE OLIVEIRA V C, COSTA J L S. Restriction analysis of rDNA(ARDRA) can differentiate *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* from *F. solani* f. sp. *glycines*[J]. *Fitopatologia Brasileira*, 2002, 27: 631—634.
- [27] POLTRONIERI L S, TRINIDAD D R, ALBUQUERQUE F C, *et al.* Incidence of *Fusarium solani* in annulled in the state of Pará, Brazil [J]. *Fitopatologia Brasileira*, 2002, 27: 544.
- [28] RAGAB M M, ASHOUR A M A, ABDEL-KADER M M, *et al.* In vitro evaluation of some fungicides alternatives against *Fusarium oxysporum* the causal of wilt disease of pepper (*Capsicum annum* L.) [J]. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 2012, 2: 70—77.
- [29] KOSURI N R, GROVE M D, YATES SG, *et al.* Response of cattle to mycotoxins of *Fusarium tricinctum* isolated from corn and fescue [J]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1970, 157: 938—940.
- [30] ZHANG SH M(张淑梅), ZHAO X Y(赵晓宇), ZHANG X CH(张先成), *et al.* Molecular detection of *Fusarium oxysporum* in cucumber, watermelon and melon[J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2010, 40(6): 636—641(in Chinese).
- [31] WU F ZH(吴凤芝), WANG X ZH(王学征), PAN K(潘 凯). Effects of wheat and soybean stubbles on soil microbial ecological characteristics in cucumber field[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2008, 19(4): 794—798(in Chinese).
- [32] LIANG J G(梁建根), ZHANG B X(张炳欣), YU J Q(喻景权), *et al.* Population fluctuation of main pathogens and their antagonistic bacteria in cucumber rhizosphere[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, 16(5): 911—914(in Chinese).
- [33] PARK J I, JUNG H J, BAE Y H, *et al.* Antimicrobial activity against potato common scab (*Streptomyces scabiei*) of green manure crop extracts[J]. *Korean Journal of Plant Resources*, 2011, 24: 622—627.
- [34] JIA ZH Y(贾震宇), LI D D(李德东), JIANG Y Y(姜远英), *et al.* Key virulence factors of *Aspergillus fumigatus*: an update[J]. *Chinese Journal of Mycology* (中国真菌学杂志), 2013, 8(4): 241—245(in Chinese).
- [35] TOMEE J F C, KAUFFMAN H F. Putative virulence factors of *Aspergillus fumigatus* [J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2000, 30(3): 476—484.
- [36] KODAMA Y, NISHIMURA M, NAKASHIMA K, *et al.* Central intravenous catheter-related bacteremia due to *Chryseobacterium indologenes* after cord blood transplantation[J]. *The Japanese Journal of Clinical Hematology*, 2013, 54: 305—310.
- [37] NISHIMORI E, KITA-TSUKAMOTO K, WAKABAYASHI H. *Pseudomonas plecoglossicida* sp. Nov., the causative agent of bacterial haemorrhagic ascites of ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50: 83—89.

(编辑: 潘新社)