



## 微生物菌肥对寒地大豆根际土壤真菌多样性的影响

胡基华<sup>1</sup>, 张 焱<sup>1</sup>, 张淑梅<sup>1</sup>, 陈静宇<sup>1</sup>, 姜 威<sup>1</sup>, 曹 旭<sup>1</sup>, 李 晶<sup>1,2</sup>, 吴皓琼<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省科学院 微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150010; 2. 黑龙江省科学院 高技术研究院, 黑龙江 哈尔滨 150020)

**摘 要:**为了解决大豆种植过程中因过量施用化肥带来的土壤问题,从真菌多样性和组成结构角度评估微生物菌肥对大豆根际真菌群落的影响,本研究通过减施化肥配施微生物菌肥等不同处理,采用高通量测序技术研究大豆花期根际土壤真菌多样性和结构组成的变化。结果表明:子囊菌门(Ascomycota)、被孢霉菌门(Mortierellomycota)和担子菌门(Basidiomycota)为主要菌门,其中子囊菌门为主要优势菌类群。同一地块不同施肥方式,其根际真菌群落存在差异,减施化肥配施微生物复合菌肥可以有效降低镰刀菌属丰度,单施微生物菌肥可有效提高青霉属(*Penicillium*)和曲霉科(Aspergillaceae)丰度。综上,微生物菌肥可以增加有益菌丰度,减少病原菌丰度。

**关键词:**微生物菌肥;土壤微生物;根际真菌多样性;减施化肥;ITSrDNA

## Effects of Microbial Fertilizer on Fungal Diversity of Soybean Rhizosphere Soil in Cold Region

HU Ji-hua<sup>1</sup>, ZHANG Ye<sup>1</sup>, ZHANG Shu-mei<sup>1</sup>, CHEN Jing-yu<sup>1</sup>, JIANG Wei<sup>1</sup>, CAO Xu<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1,2</sup>, WU Hao-qiong<sup>1</sup>

(1. Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150010, China; 2. Institute of Advanced Technology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150020, China)

**Abstract:** In order to solve the soil problems caused by excessive application of chemical fertilizer in the process of soybean planting, and evaluate the impact of microbial bacterial fertilizer on soybean rhizosphere fungal community from fungal diversity and composition structure, this study studied the changes of fungal diversity and structural composition in soybean rhizosphere soil at flowering stage by reducing the application of chemical fertilizer and microbial bacterial fertilizer. The results showed that Ascomycota, Mortierellomycota and Basidiomycota were the main flora, and Ascomycota was the main dominant flora. There were differences in rhizosphere fungal communities in the same plot with different fertilization methods. Reducing chemical fertilizer combined with microbial compound bacterial fertilizer can effectively reduce the abundance of *Fusarium*, and applying microbial bacterial fertilizer alone can effectively improve the abundance of *Penicillium* and aspergillaceae. In conclusion, microbial fertilizer can increase the abundance of beneficial bacteria and reduce the abundance of pathogenic bacteria.

**Keywords:** Microbial fertilizer; Soil microbes; Rhizosphere fungal diversity; Reduced application of chemical fertilizers; ITSrDNA

大豆(*Glycine max*)是我国重要的油料和经济作物,在农业生产中占据重要地位,在蛋白质和油脂供给方面具有不可替代的作用,同时也是主要的饲料来源。黑龙江省是我国高油大豆主产区,年产量占全国总产量的40%,居全国之首<sup>[1]</sup>。近年来,随着大量施用化肥、农药和其它含有重金属的化学物质,土壤质量退化,种植地生物系统遭到干扰和损害,微生物群落失衡,一些致病菌如疫霉菌、镰刀菌的数量增多,引起大豆枯萎病、根腐病、大豆胞囊线虫、大豆菌核病等土传病害<sup>[2-5]</sup>。根际有害微生物对农作物的生长及产量都会造成严重的负面作用,因此,降低根际有害微生物的数量和活性是促进农作物生长和发育、提高农作物产量的有效措施<sup>[6]</sup>。

随着社会经济的发展,国家对生态环境、农产品质量和生物多样性等方面的重视程度逐渐

提高,化学肥料和农药减施增效等研发项目受到关注,这些都促进了新型肥料加快发展。微生物菌剂能够改善土壤质量,具有使用安全方便、不污染环境、促进碳氮循环<sup>[7]</sup>、提高化学肥料使用效率等优点<sup>[8]</sup>。微生物菌剂可以增加农作物根际微生物多样性和土壤中有益真菌如球毛壳菌(*Chaetomium*)、木霉属(*Trichoderma*)和被孢霉属(*Mortierella*)的数量,它们具有分解有机物、代谢次级产物、分解农药等诸多作用,已有研究证明泡囊-丛枝菌根真菌能促进大豆对氮、磷等元素的吸收和利用<sup>[9]</sup>。邱晓丽等<sup>[10]</sup>研究发现,微生物菌剂有助于提高土壤的生物活性,改善马铃薯的根际环境,进而提高马铃薯的根系活力,增加马铃薯的块茎产量。刘艳等<sup>[11]</sup>研究发现,微生物菌剂在一定程度上能增加土壤微生物的数量,促进玉米根系下扎,提高根系活力。姚延

收稿日期:2021-04-29

基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划(A19B105)。

第一作者:胡基华(1970—),女,博士,副研究员,主要从事生物防治研究。E-mail:158631375@qq.com。

通讯作者:吴皓琼(1968—),女,硕士,研究员,主要从事农业微生物基础应用研究。E-mail:wuhaoqiong@163.com。

轩等<sup>[12]</sup>研究发现微生物菌肥可以促进大豆根系生长发育,增强吸水能力,产量增长3%~10%左右。王胜华等<sup>[13]</sup>的研究表明,施加微生物菌肥的大豆荚数和百粒重明显超越了未施加菌肥的大豆。梁啸天等<sup>[14]</sup>研究表明施用微生物菌肥后,大豆的百粒重和单株粒重不同程度提高。

作物根际土壤中的真菌类群受到土壤养分、季节、植物生长时期等因素影响<sup>[15]</sup>,其较高的多样性和稳定的群落结构可以促进维持良好的土壤生态环境。目前,关于大豆根际真菌多样性以及群落结构的研究取得一定的进展,任氢欣等<sup>[7]</sup>对大豆生长期到收获期进行动态研究,发现真菌多样性和丰富度整体表现为逐渐增多,在收获期时达到较高。测序结果表明,担子菌门(Basidiomycota)和子囊菌门(Ascomycota)是大豆根际真菌群落的优势菌门,未鉴定分类(f\_unidentified\_Unclassified)和未分类(Unclassified)的两种菌属为大豆根际的优势菌属。燕红梅等<sup>[16]</sup>对木瓜、马蔺、葡萄、大豆、玉米等5种植物根际真菌群落的研究结果表明,子囊菌门为优势菌门,座囊菌纲和粪壳菌纲为优势菌纲。本研究通过减施化肥配施微生物菌肥,采用高通量测序技术对黑土大豆根际真菌群落结构和多样性进行研究,以期在实现黑土保护可持续发展的前提下为大豆田合理施肥、保证稳产增产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株包括解淀粉芽孢杆菌、胶冻样类芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌( $5 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>),由黑龙江省科学院微生物研究所生物工程重点实验室分离保存;福太尔微生物颗粒剂( $5 \times 10^8$  CFU·g<sup>-1</sup>)由黑龙江龙泰生物技术开发有限公司提供;大豆专用肥(N14-P24-K13)由同江市测土配方施肥配肥站提供。供试大豆品种为合农69。

1.2 试验设计

试验在黑龙江省同江市三村镇进行,土壤为地势平坦的草甸土,有机质含量35 g·kg<sup>-1</sup>,全氮154 mg·kg<sup>-1</sup>,土壤有效磷25 mg·kg<sup>-1</sup>,速效钾83.7 mg·kg<sup>-1</sup>,pH6.3,前茬作物为大豆。采用田间小区试验,每个小区20 m<sup>2</sup>,每个处理3次重复,随机排列。共设置6个处理,ck:空白对照(不施肥);cf:常规施大豆专用肥对照(施肥量20 g·m<sup>-2</sup>);cm:单施复合微生物菌肥颗粒剂(6 g·m<sup>-2</sup>);cfm:减肥15%化肥配施复合微生物菌肥颗粒剂(化肥/复合=17 g/6 g);cfb:减肥15%化肥配施福太尔颗粒剂(化肥/福太尔颗粒剂=17 g/6 g);b:单施福太尔颗粒剂(6 g·m<sup>-2</sup>),每个小区微生物菌剂用量120 g(6 g·m<sup>-2</sup>),随种子一

起下地,花期取土样。土壤样品采集方法:每个小区随机选取3株,在根际3~5 cm处取土样30 g,每个小区的3份土样混装在一个袋中,将土壤样品过80目筛,去除植物杂质,存放于-80℃超低温冰柜,备用。

1.3 方法

1.3.1 土壤微生物基因组DNA提取 微生物DNA的提取使用QIAamp DNA Mini kit(Qiagen)进行。抽提完成DNA用0.8%琼脂糖凝胶电泳进行分子大小判断,利用紫外分光光度计对DNA进行定量,样品质量以后续PCR是否能够扩增出有效的目标条带为准。

1.3.2 PCR扩增及测序 核糖体RNA(rRNA)含有多个保守区和高度可变的内转录间隔区(ITS),利用保守区域引物扩增rRNA基因的单个或多个ITS,然后测序分析微生物多样性<sup>[17]</sup>。由MiSeq测序读长的限制,为保证测序质量,最佳测序的插入片段范围是200~420 bp。ITS5F上游引物序列:GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG,ITS1R下游引物序列:GCTGCGTTCTTCATCGATGC。扩增结果进2%琼脂糖凝胶电泳,切取目的片段并用Axygen凝胶回收试剂盒回收。

1.3.3 对根际土壤真菌群落的分析 对ITS rRNA测序,对测序结果的序列过滤,设置25 bp为窗口长度,截除平均质量低于20的序列,长度低于原始read长度75%的reads,去除接头污染的reads,去除含N的reads,去除低复杂度reads;序列拼接使用软件FLASH(Fast Length Adjustment of Short reads, v1.2.11)<sup>[18]</sup>,利用重叠关系将双末端测序得到的成对reads组装成一条序列,得到高变区的Tags。按照微生物种群ITS rRNA相似度进行分类,使用USEARCH(v9.2.64)软件将拼接好的Tags聚类为OUT,利用UPARSE<sup>[19]</sup>在97%相似度得到代表序列,利用UCHIME(v4.2.40)采取比对方法(ITS嵌合体数据库:UNITE version7.1 20170628)去除PCR扩增产生的嵌合体,使用usearch\_global方法得到样品OUT丰度表,通过blast软件将OTU代表序列与数据库[ITS:UNITE(<https://unite.ut.ee>) version7.2 20171010]比对进行物种注释。

1.4 数据分析

采用Excel 2007和SPSS 17.0进行数据分析。

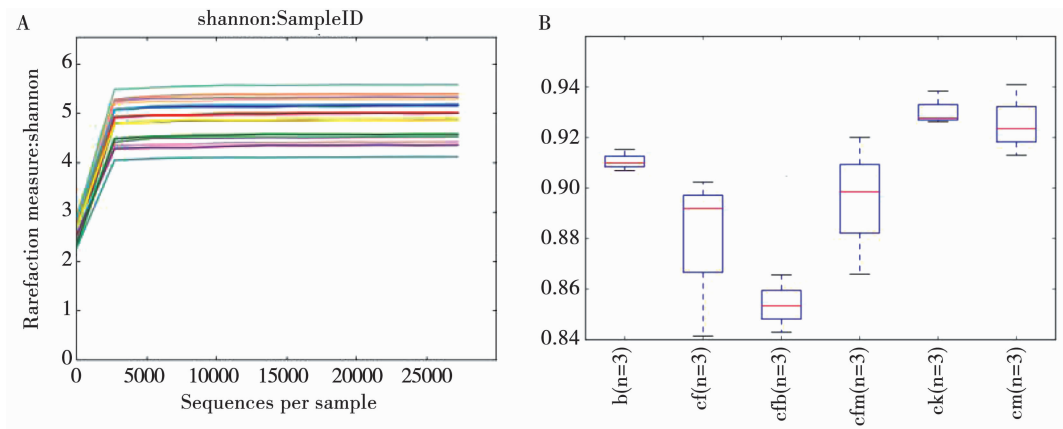
2 结果与分析

2.1 不同处理对大豆土壤真菌多样性和结构的影响

试验中的6组样品每组3个重复,共计18个样本,共获得537 398条高质量的ITS序列。平均每

个样品 29 855 条,Tag 平均长度为 220 bp。共产生 7 884 个 OTU,OTUs 丰富度稀释曲线分析表明本次测序结果良好,覆盖到土壤环境中大多数真菌物种(图 1 A)。真菌群落的 Alpha 多样性结果显示 ck 最高,其次是 cm、b、cfm 和 cf,cfb 处理最低(表 1,

图 1B);Simpson、Chao1 和 Observed Species 指数 ck 最高,分别为  $0.931 \pm 0.005$ , $507.565 \pm 24.389$  和  $456.567 \pm 5.705$  (表 1);cfm 处理的多样性指数 Simpson、Shannon 和丰富度 Chao1 指数最低,分别为  $0.854 \pm 0.009$ , $4.312 \pm 0.141$  和  $474.759 \pm 46.902$ 。



A. 稀释曲线;B. 各样本中的香农指数值。  
A. Dilution curve; B. Shannon index value in each sample.

图 1 样本中真菌群落物种多样性分析  
Fig. 1 The species diversity analysis of fungi communities in samples

表 1 Alpha 多样性指数  
Table 1 Alpha diversity index

处理 Treatment	丰富度指数 Richness index		多样性指数 Diversity index	
	Chao1	Observed species	Shannon	Simpson
b	477.240 ± 19.609 a	436.033 ± 11.585 a	5.052 ± 0.073 acd	0.911 ± 0.003 a
cf	483.857 ± 7.310 a	417.5 ± 10.130 a	4.598 ± 0.215 ab	0.879 ± 0.027 ab
cfb	474.759 ± 46.902 a	416.867 ± 42.660 a	4.312 ± 0.141 b	0.854 ± 0.009 b
cfm	474.873 ± 12.479 a	414.833 ± 1.879 a	4.845 ± 0.260 abc	0.895 ± 0.022 ab
ck	507.565 ± 24.389 a	456.567 ± 5.705 a	5.286 ± 0.083 cd	0.931 ± 0.005 a
cm	494.269 ± 22.985 a	451.467 ± 23.529 a	5.421 ± 0.109 d	0.926 ± 0.012 a

同列不同小写字母表示处理间存在显著差异( $P < 0.05$ )。  
Different lowercase in the same column indicate significant difference between treatments( $P < 0.05$ ).

2.2 大豆土壤真菌相似性分析

基于 OTU 样品的主成分分析结果表明,cm、cfm 和 b 土壤群落相似性较高,cfb 和 cf 土壤群落相似性较高,cm、cfm、b 与 cfb、cf 具有差异性。ck 与各处理土壤群落差异较大,真菌群落结构与其它 5 种处理明显分开(图 2)。聚类分析结果显示,cf 和 cfb 处理相似性高,cm 与 cfm 相似性较高,由此可见,在同一种地块,不同的施肥方式,其根际真菌群落存在差异,对土壤中真菌会产生一定的影响(图 3)。

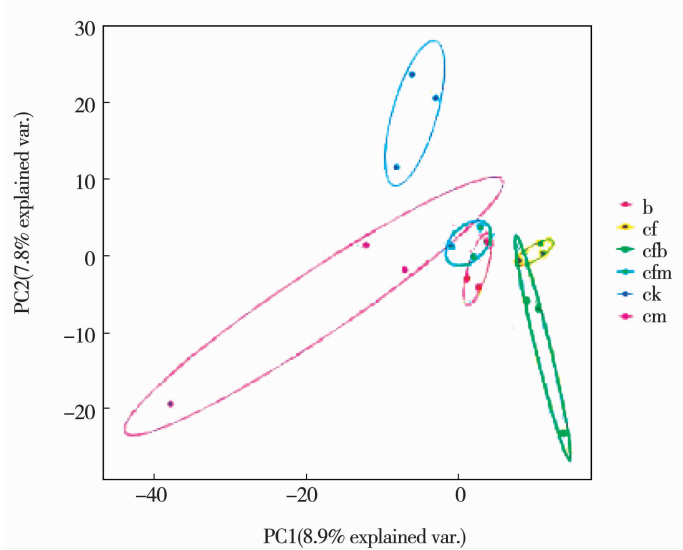
2.3 不同处理土壤真菌群落组成

不同处理及 ck 共产生 223 个 OTU,共注释到 15 个门、43 个纲、117 个目、220 个科和 355 个属。丰度大于 1% 的有 3 个门,分别是子囊菌门(Ascomycota, 70.17%)、被孢霉菌门(Mortierellomycota, 15.77%)和担子菌门(Basidiomycota,

9.40%),未分类物种(3.13%),其中子囊菌门为主要优势菌类群(图 4 A)。纲水平大于 1% 的有 9 个,分别是 Sordariomycetes (38.97%)、Mortierellomycetes (15.78%)、散囊菌纲(Eurotiomycetes, 15.05%)、锤舌菌纲(Leotiomycetes, 8.96%)、伞菌纲(Agaricomycetes, 4.89%)、银耳纲(Tremellomycetes, 4.27%)、座囊菌纲(Dothideomycetes, 4.09%)、未分类物种(3.13%)和 Ascomycota\_cls\_Incertae\_sedis(1.56%)(图 4 B);科水平大于 1% 的有 6 个,分别是 Sordariomycetes/其他孢子菌(18.31%)、被子植物科(Mortierellaceae, 15.76%)、曲霉科(Aspergillaceae, 13.77%)、毛壳菌科(Chaetomiaceae, 7.93%)、半边莲科(Plectosphaerellaceae, 3.44%)和假半夏科(Pseudeurotiaceae, 2.76%)(图 4 C)。属水平有 18 个优势种群分别为孢子菌属(Sordar-iomycetes, 18.32%)、Mortierella

(15.76%)、杏霉属 *Penicillium* (13.46%)、梭孢壳属 (*Thielavia*, 4.49%)、*Lectera* (2.72%)、*Humicola* (2.34%)、*Helotiales* (2.34%)、*Saitozyma* (2.28%)、假裸囊菌属 (*Pseudogymnoascus*, 2.20%)、*Thelebolus* (2.18%)、树孢菌 (*Trechispora*, 1.98%)、毛霉菌属

(*Trichocladium*, 1.41%)、格孢腔菌 (*Pleosporales*, 1.38%)、黑孢壳属 (*Melanospor*, 1.35%) 和 *Acremonium* (1.26%) (图 4 D)。科和属水平仍有一部分真菌不能鉴定归类(图 4 C 和 D)。



坐标轴 PC1、PC2 的数值为总体差异的解释率;图中点代表样品,颜色代表分组;距离越近的点代表样本间相似度越高。

The values of the coordinate axes PC1 and PC2 are the explanation rate of the overall difference; The dots in the figure represent the samples, the colors represent the groups; The closer the distance, the higher the similarity between samples.

图 2 基于 OTU 的样品 PCA 分析

Fig. 2 The PCA analysis of samples based on OTU

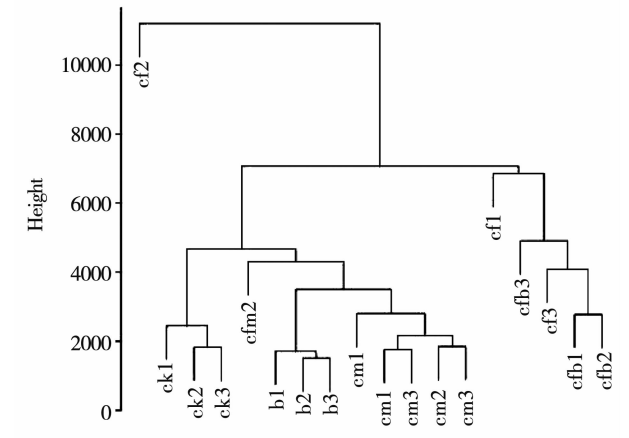


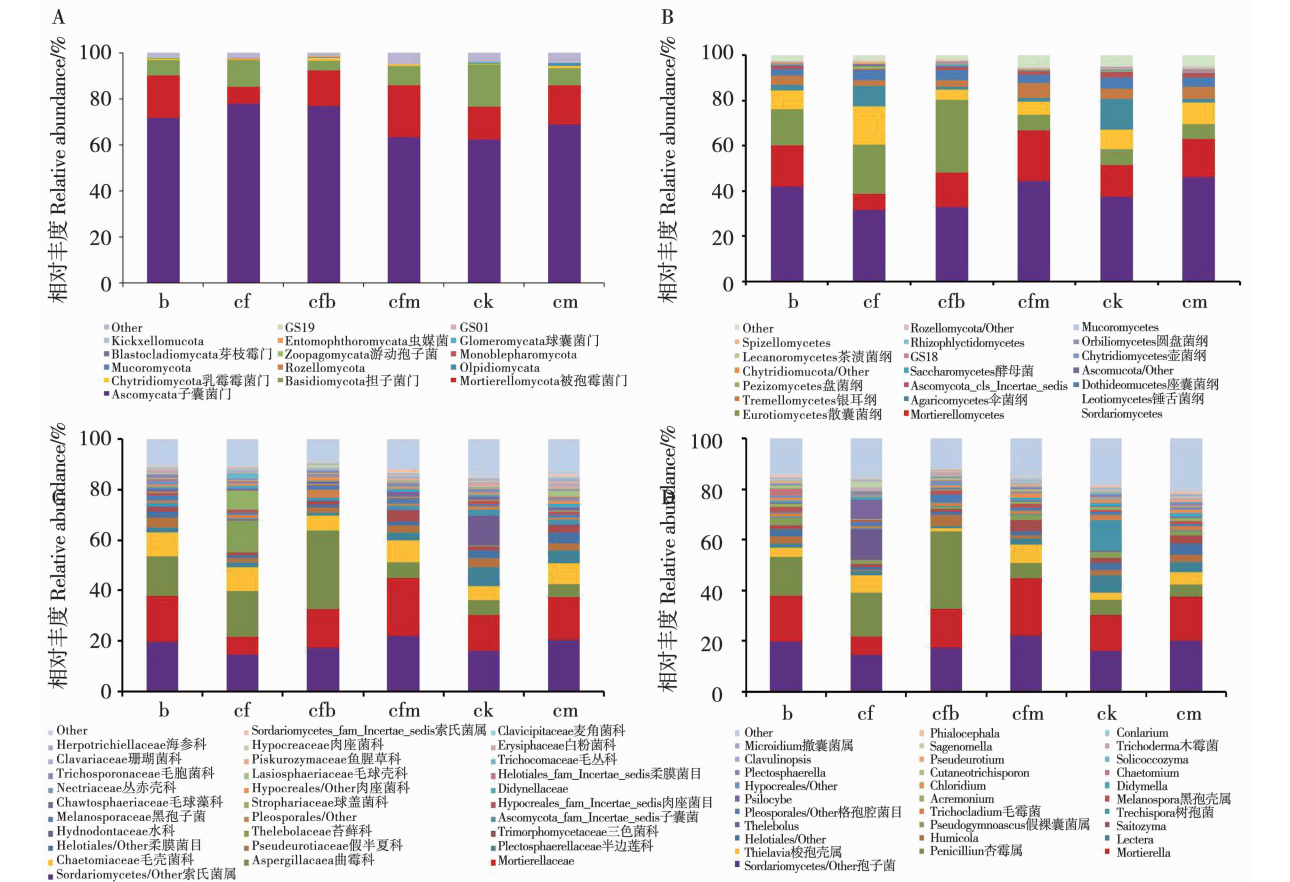
图 3 根际真菌 DGGE 图谱聚类分析

Fig. 3 The cluster analysis of rhizosphere fungi DGGE profiles

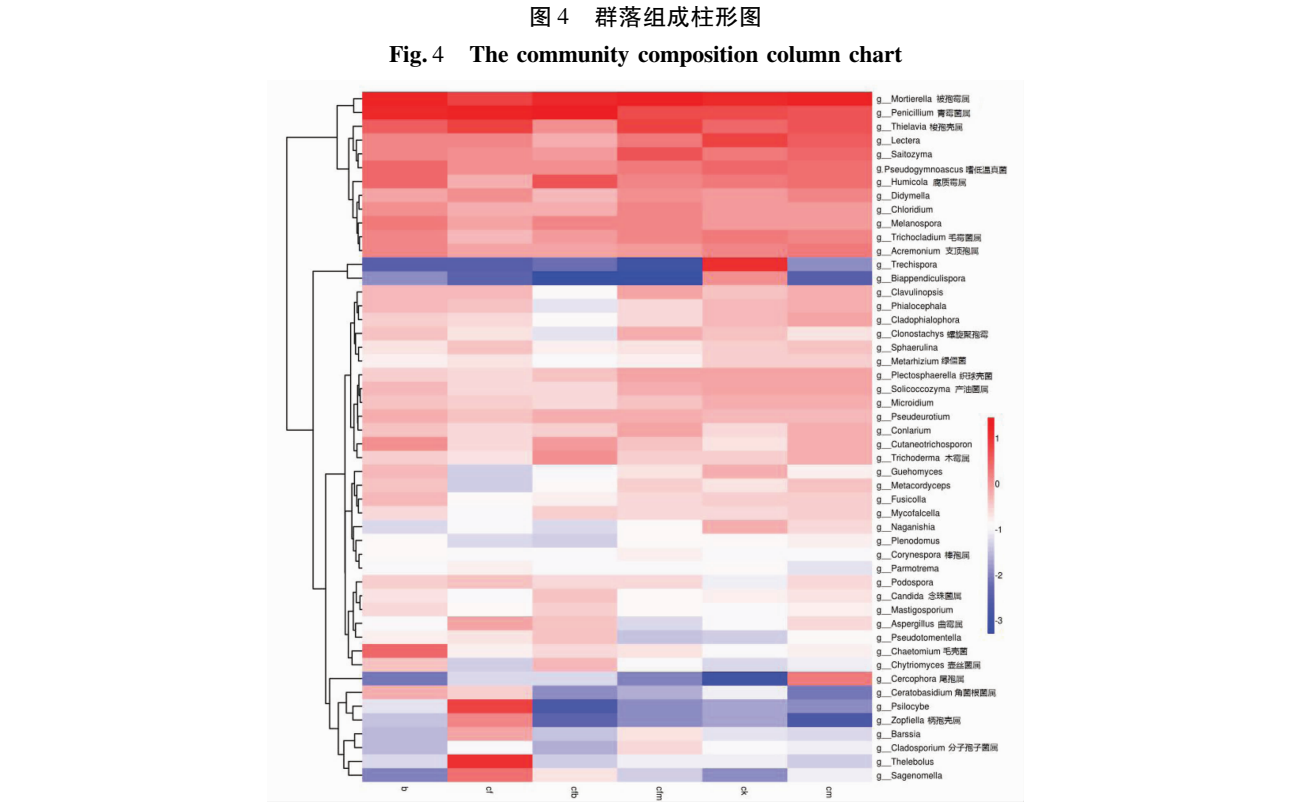
2.4 样本间差异分析

样品丰度相似性聚类的分析热图显示,被孢霉属 (*Mortierella*)、青霉菌属 (*Penicillium*)、梭孢壳属 (*Thielavia*)、*Lectera*、*Saitozyma*、嗜低温菌 (*Pseudogymnoascus*)、腐质霉属 (*Humicola*)、*Didymella*、*Chloridium*、*Melanospora*、毛霉菌属 (*Trichocladium*)、支顶孢属 (*Acremonium*) 在几种处理和 ck 中丰度都较高。孢霉属 (*Mortierella*) 和青霉菌属 (*Penicillium*) 丰度值最高;ck 组粗糙孔菌属

(*Trechispora*) 和 *Biappendiculispora* 属与种群丰度明显高于其它几种处理;只施用化肥根际土壤中 *Thelebolus*、*Psilocybe*、*Sagenomella*、柄孢壳属 (*Zopfiella*) 和 *Barssia* 5 个属高于其它几组样品(图 5)。几种处理下镰刀菌属 OUT 丰度按从高到低排序排列为:cm > ck > b > cfb > cfm > cf(图 6)。结果表明单施微生物肥料并不能有效降低镰刀菌的丰度,与化肥一起施用效果要好于单独施用。



A. 门水平;B. 纲水平;C. 科水平;D. 属水平。  
A. Phylum level;B. Class level;C. Family level;D. Genus level.



红色代表高丰度,蓝色代表低丰度。  
Red represents high abundance and blue represents low abundance.  
图 5 属水平物种丰度聚类热图  
Fig. 5 The species abundance cluster heat map in genus level



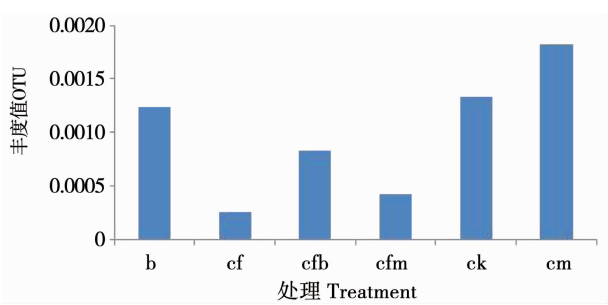
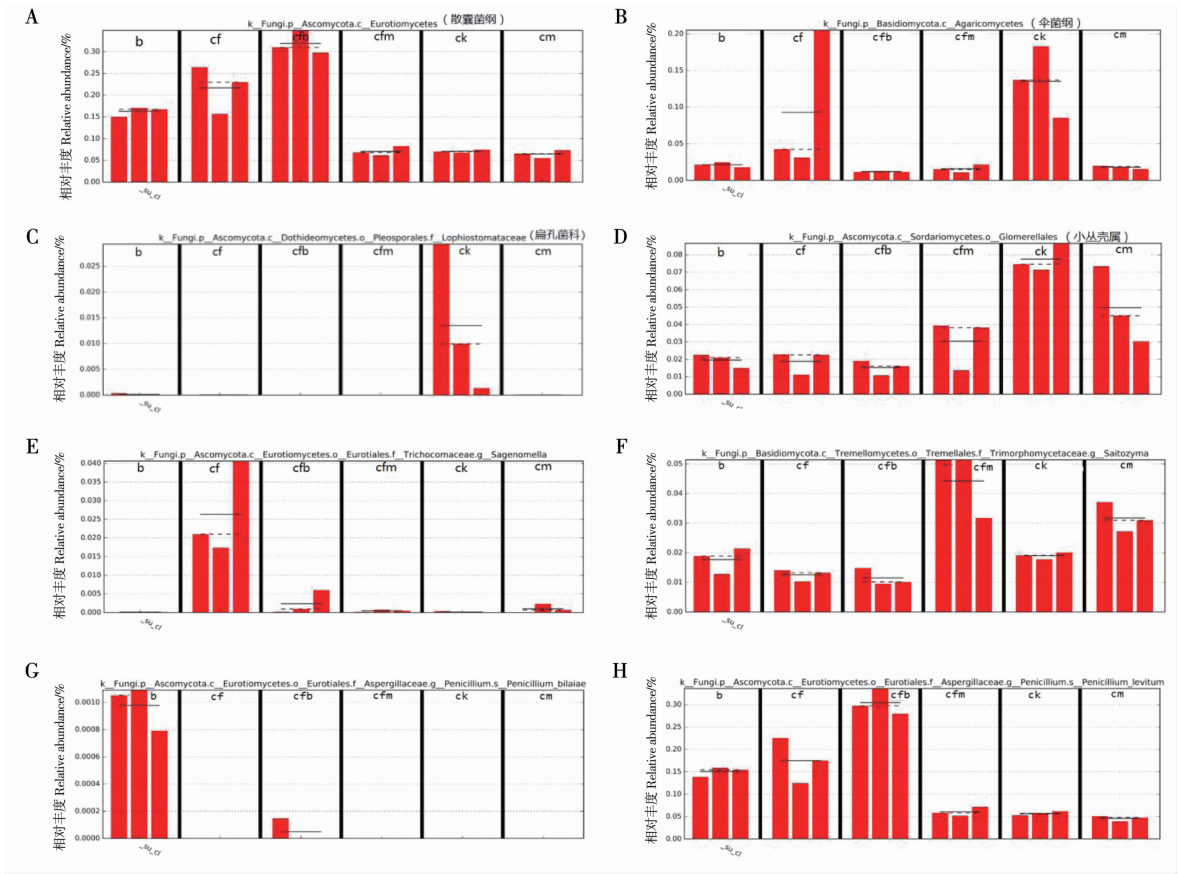


图 6 不同处理镰刀菌丰度比较

Fig.6 The comparison of *Fusarium* abundance in different treatments

根据 LEfSe 分析结果,散囊菌纲 (Eurotiomycetes) 含量 cfb 处理丰度最高,cfm、ck 和 cm 处理差异不明显,低于 cfb、cf 和 b (图 7A); 伞菌纲 (Agaricomycetes) ck 丰度最高, b、cfb、cfm 和 cm 处理差异不明显 (图 7B); 扁孔菌科 (Lophiostomataceae) ck 丰度最高,其它 5 种处理无丰度 (图 7C)。小丛壳属 (*Glomerellales*) ck 丰度最高,cfm 和 cm 丰度相似高于 b、cf 和 cfb 处理,差异

不明显,b、cf 和 cfb 丰度相似差异不明显 (图 7D)。Trichocomaceae 在 cf 处理丰度明显高于其它处理和空白 (图 7E);Saitozyma 在 cfm 处理丰度高,其次是 cm 处理,b、cf、cfb 和 ck 丰度相似差异不明显 (图 7F);青霉属 (*Penicillium*) b 处理丰度相对高于其它几种处理 (图 7G);Levitium 在 cfb 处理丰度最高, b 和cf 处理丰度相近,cfm、ck 和 cm 处理丰度相近 (图 7H)。



实线为相对丰度平均值,虚线为相对丰度中值,每个柱代表各个组中的各个样本的相对丰度。

The solid line is the average value of the relative abundance and the dotted line is the median value of the relative abundance. Each column represents the relative abundance of each sample in each group.

图 7 组间差异微生物群落相对丰度直方图

Fig.7 The histogram of relative abundance of microbial community differences between groups

3 讨 论

国内外许多研究已证明,生防菌在防治植物病害和提高作物产量方面具有很好的作用效果<sup>[20-21]</sup>,根际真菌在植物生长和健康方面具有非常重要的作用<sup>[22-23]</sup>,然而由于分离和培养技术的限制,对根际真菌群落、多样性及功能仍缺乏认识<sup>[3]</sup>。燕红梅等<sup>[16]</sup>对马蔺、葡萄、大豆和玉米等5种植物根际真菌研究发现,优势菌门为子囊菌门,本研究结果与其相同,但是属水平不同,这也进一步表明根际真菌群落及其生态功能受到植物的生活周期或类型的影响。本研究中根际真菌未鉴定的门水平真菌(p\_unidentified\_k\_Fungi)占总序列的3.13%,纲水平子囊门未鉴定的真菌(c\_unidentified\_p\_Ascomycota)占0.34%;科水平植子囊门(Sordariomycetes)未鉴定的真菌占18.32%,锤舌菌科(Helotiales)占2.34%。可见利用高通量测序技术将会发现更多未分类的物种,能更准确地揭示微生物的群落组成,而这些未准确分类的微生物也会随着新技术的更新和研究被认知。

Heatmap 热图分析属水平结果显示 *Trechispora* 和 *Biappendiculispora* 两个属 ck 处理的丰度高于其它几个处理;毛壳菌属(*Chaetomium*) b 处理丰度要高于其它几个处理和 ck,此菌以产生丰富的降解纤维素酶和具有生理活性的次生代谢产物而著称,能对多种植物的根部、叶部、枝干等多种病害的病原菌产生抑制作用<sup>[24]</sup>,是一种能产生抗生物质、抑制植物病原菌生长并产生酶或其他代谢产物,诱导植物产生抗病性、促进植物生长的植物病害广谱生物防治真菌<sup>[25]</sup>。角菌根菌属(*Ceratobasidium*)、*Psilocybe*、柄孢壳属(*Zopfiella*)、*Barssia*、分子孢子菌属(*Cladosporium*)、*Thelebolus* 和 *Sagenomella* 几个属 cf 处理丰度高于其它处理。针对能引起枯萎病的镰刀菌分析结果显示,cf 处理的根际丰度最低,施用微生物菌肥和 ck 丰度较高,减施化肥配施微生物菌肥可以抑制该菌的丰度,说明改善土壤环境可以有效抑制镰刀菌。LEfSe 结果显示 b、cf 和 cfb 处理的散囊菌纲丰度高于其它处理和 ck;b 处理青霉属(*Penicillium*)、曲霉科(*Aspergillaceae*)的丰度高于 ck 和其它几种处理,这两种菌是常见的腐生菌。已有很多研究发现这些真菌具有生防、降解有机物、促植物生长等功能<sup>[26]</sup>,这也进一步证明微生物菌肥可以有效改良土壤状况,增加有益真菌的含量<sup>[27]</sup>。伞菌纲(*Agaricomycetes*)、扁孔菌科

(*Lophiostomataceae*) 和小丛壳属(*Glomerellales*) ck 与其它处理差异明显,丰度明显高于其它几种处理。由此可见,减施化肥配施微生物菌肥可以改变根际真菌丰度,这些差异对大豆生长发育及产量的影响以及对土壤进行修复的机理还需要进一步深入研究。

4 结 论

减施化肥配施微生物菌肥和微生物复合菌肥对大豆根际的微生物真菌群落具有调节作用,二者结合施用可以调节土壤中真菌多样性指数,对镰刀菌属抑制作用好于单施微生物菌肥。

参考文献

[1] 陈雪丽,王玉峰,李伟群,等. 黑土区连作大豆根际微生物群落结构的动态变化[J]. 大豆科学, 2018, 37(5):748-755. (Chen X L, Wang Y F, Li W Q, et al. Dynamic evolution of microbial community in the rhizosphere of continuous cropping of soybean in black soil[J]. Soybean Science, 2018, 37(5): 748-755.)

[2] 蔡柏岩,王丽阳,胡维,等. 连作大豆苗期根际土壤根腐病原真菌菌群结构分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(32): 92-98. (Cai B Y, Wang L Y, Hu W, et al. Analysis of community structure of root rot pathogenic fungi in seeding stage of soybean continuous cropping[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(32):92-98.)

[3] 韩晓增,许艳丽. 大豆连作减产主要障碍因素的研究 I. 连作大豆根系腐解物的障碍效应[J]. 大豆科学,1998,17(3): 207-211. (Han X Z, Xu Y L. A study of main factors causing yield decrease of continuous cropping soybean I. Effects of decomposing matters of roots continuous cropping soybean[J]. Soybean Science, 1998, 17(3): 207-211.)

[4] 郭荣君,刘杏忠,杨怀文. 大豆根际细菌 I. 拮抗大豆根腐病菌研究[J]. 大豆科学, 1998, 17(1): 53-58. (Guo R J, Liu X Z, Yang H W. Antagonistic effect of soybean rhizosphere bacteria I. Against soybean root rot [J]. Soybean Science, 1998, 17(1): 53-58.)

[5] 成璐,董铮,李魏,等. 大豆根腐病研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(8): 58-62. (Cheng Y, Dong Z, Li W, et al. Research progress of soybean root rot [J]. Chinese Agronomic Bulletin, 2016, 32(8): 58-62.)

[6] 方静,赵小庆,史功赋,等. 农作物根际微生物的研究进展[J]. 北方农业学报, 2019,47(4): 102-107. ( Fang J, Zhao X Q, Shi G F, et al. Research progress on rhizosphere micro-organisms of crops[J]. Journal of Northern Agriculture, 2019, 47(4): 102-107.)

[7] 任氢欣,曾齐,张必弦,等. 基于高通量测序的大豆根际真菌群落动态变化分析[J]. 分子植物育种,2021,19(14):4836-

4845. (Ren Q X, Zeng Q, Zhang B X, et al. Dynamic changes of rhizospheric fungal community in different growth stages of soybean based on high-throughput sequencing[J]. Molecular Plant Breeding, 2021,19(14):4836-4845.)

[8] 武兴友. 微生物菌肥对农业生产的影响及研究趋势分析[J]. 中国果菜, 2018, 38(4): 9-11, 15. (Wu X Y. Analysis of the effect on microbial fertilizer on agricultural production and research trends[J]. China Fruit & Vegetable, 2018, 38(4): 9-11, 15.)

[9] 陈锡时, 华秀英, 江小波. 在不灭菌土壤条件下 VA 菌根对大豆生长的效应[J]. 土壤通报, 1993(3): 140-143. (Chen X S, Hua X Y, Jiang X B. Effect of VA mycorrhiza on soybean growth in non sterile soil[J]. Soil Bulletin, 1993(3):140-143.)

[10] 邱晓丽, 周洋子, 董莉, 等. 生物有机肥对马铃薯根际土壤生物活性及根系活力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(3): 162-169. (Qiu X L, Zhou Y Z, Dong L, et al. Effects of bio-organic fertilizer on potato rhizosphere soil biological activity and root activity[J]. Agricultural Research in Arid Areas, 2019, 37(3): 162-169.)

[11] 刘艳, 李波, 隗英华, 等. 生物有机肥对盐碱地玉米渗透调节物质及土壤微生物的影响[J]. 西南农业学报, 2018, 31(5): 1013-1018. (Liu Y, Li B, Jun Y H, et al. Effects of bio organic fertilizer on maize osmotic adjustment substances and soil microorganisms in saline alkali land[J]. Southwest Agricultural Journal, 2018, 31(5): 1013-1018.)

[12] 姚延轩, 接伟光, 胡崴, 等. 微生物菌肥对大豆生长发育及根际土壤性质的影响综述[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(20): 21-24,38. (Yao Y X, Jie W G, Hu W, et al. Research progress on the effects of microbial fertilizer on the growth and development of soybean and the properties of rhizosphere soil [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(20): 21-24,38.)

[13] 王胜华, 张凤品. 壮园生态肥在大豆上的试验初报[J]. 中国农业信息, 2013(6): 111-112. (Wang S H, Zhang F P. Preliminary report on the application of Zhuangyuan ecological fertilizer on soybean [J]. China Agricultural Information, 2013(6): 111-112.)

[14] 梁啸天, 蒋高明. 不同叶面肥对夏大豆主要农艺性状的影响[J]. 山东农业科学, 2016, 48(8): 85-88. (Liang X T, Jiang G M. Effects of different foliar fertilizers on main agronomic traits of summer soybean[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2016, 48(8): 85-88.)

[15] Schmidt R, Mitchell J, Scow K. Cover cropping and no-till increase diversity and symbiotroph; Saprotroph ratios of soil fungal communities [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 129: 99-109.

[16] 燕红梅, 张欣钰, 檀文君, 等. 5 种植物根际真菌群落结构与多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 364-369. (Yan H M, Zhang X Y, Tan W J, et al. Biodiversity and composition of rhizosphere fungal communities associated with five plant species[J]. Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(2): 364-369.)

[17] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, et al. PCR protocols: A guide to methods and applications. London: Academic Press, 1990: 315-322.

[18] Kriventseva E V, Servant F, Apweiler R. Improvements to CluSTr: The database of SWISS-PROT + TrEMBL protein clusters [J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31(1): 388-389.

[19] Boeckmann B, Bairoch A, Apweiler R, et al. The SWISS-PROT protein knowledgebase and its supplement TrEMBL in 2003 [J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31(1): 365-370.

[20] Kanchalee J, Joseph W K. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases[J]. Biological Control, 2002, 24:285-291.

[21] Zhang S A, Reddy M S, Kloepper J W. Development of assays for assessing induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco[J]. Biological Control, 2002, 23: 79-86.

[22] 陈雪丽, 李伟群, 王英, 等. 黑土区连作大豆根际土壤氨氧化古菌群落结构特征及其驱动因子分析[J]. 大豆科学, 2016, 35(4): 620-625. (Chen X L, Li W Q, Wang Y, et al. Characterization of ammonia oxidizing archaea community and its driving factors in the rhizosphere of continuous cropping soybean in black soil[J]. Soybean Science, 2016, 35(4): 620-625.)

[23] 张建峰, 吉丽, 蔺朝龙, 等. 盐碱胁迫下大豆根际土壤真菌多样性分析[J]. 福建农业学报, 2017, 32(10): 1130-1134. (Zhang J F, Ji L, Lin C L, et al. Fungal diversity in rhizosphere soil of soybean fields under salt-alkali stress [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(10): 1130-1134.)

[24] 谭悠久, 钟娟, 周金燕, 等. 毛壳菌产抗真菌活性物质菌株的筛选与鉴定[J]. 西南农业学报, 2010, 28(4): 1128-1131. (Tan Y J, Zhong J, Zhou J Y, et al. Screening and identification of chaetomium strains with anti-plant pathogenic fungi activity[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 28(4): 1128-1131.)

[25] 金红星, 杨谦. 球毛壳菌部分表达序列标签的生物信息分析[J]. 高技术通讯, 2004, 14(7): 34-37. (Jin H X, Yang Q. Bioinformatics analysis of partially expressed sequence tags of chaetomium globosum[J]. High-Tech Communications, 2004, 14(7): 34-37.)

[26] Hashem M, Moharam A M, Zaied A A. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp [J]. Crop Protection, 2010, 29(10):1111-1117.

[27] 郑昕雨, 赵昌博, 智中正, 等. 化肥减施对日光温室黄瓜生长和土壤肥力的影响[J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(6): 1151-1157. (Zheng X Y, Zhao C B, Zhi Z Z, et al. Effect of reduced application of chemical fertilizers on cucumber growth and soil fertility in solar greenhouse [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2020, 42(6): 1151-1157.)