

曹毅,李娟,曾陨涛,等. 2 株烟草根际芽孢杆菌的分子鉴定及抗菌促生作用[J]. 江苏农业科学,2021,49(21):241-247.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.21.040

2 株烟草根际芽孢杆菌的分子鉴定及抗菌促生作用

曹毅¹,李娟^{1,2},曾陨涛³,陆宁¹,杨冬梅¹,商胜华¹

(1. 贵州省烟草科学研究院,贵州贵阳 550081; 2. 云南农业大学烟草学院,云南昆明 650201;

3. 中国烟草总公司贵州省公司,贵州贵阳 550004)

摘要:为探究分离自烟草根际的 2 株芽孢杆菌的种类及其抑菌促生特性,利用 16S rDNA 和 *gyrB* 基因序列分析法,将菌株 YC2006 和 YC2008 分别鉴定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。菌株对烟草赤星病原 (*Alternaria alternata*)、烟草黑胫病原 (*Phytophthora parasitica*) 和烟草立枯病 (*Rhizoctonia solani*) 病原均具有明显的抑制作用,对烟草立枯病原的抑制率分别达到 60.35% 和 68.08%。菌液浸种处理可显著提高烟草种子发芽势,在育苗基质中添加菌剂可显著提高烟苗的株高、茎围、最大叶面积、地上部鲜质量、地下部鲜质量、总根长和总根表面积。2 株芽孢杆菌对烟草主要真菌病原具有拮抗活性,同时兼具促进种子萌发和烟苗生长的作用,具有良好的研究开发应用前景。

关键词:芽孢杆菌;烟草;*gyrB* 基因;抑菌活性;促生作用

中图分类号:S182;S572.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)21-0241-06

烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 是我国广泛种植的重要茄科经济作物,烟草病害严重影响烟叶产质量,常年造成的平均产量损失达 10% 左右^[1],一直是制约烟草生产的主要因素之一,而随着气候、耕作制度和栽培方式的变化,烟草病原种类及其危害程度呈增加和上升趋势。长期以来,作物病害主要依赖化学药剂,由此导致的药害^[2]、农药残留、病原耐/抗药性、生态环境影响等问题逐年凸显,利用微生物制剂或其他环境友好措施控制作物病害受到各方广泛关注。在各类生防微生物资源中,芽孢杆菌由于种类多样、遗传稳定、环境抗逆性强^[3],可通过改善植物营养物质吸收、产生激素、诱导抗性和抑制病原生长等方式直接或间接促进植物生长、防治病害^[4],国内外研究者利用芽孢杆菌已开发出多种对植物病原具有防治效果的生物菌剂^[5],并在作物病害防治中不断发展和应用^[6]。

利用微生物防治作物病害虽已取得较大的进展,但在实际生产实践中,由于外源生防菌在目标作物根系中定殖力低、土壤抑菌作用、施用成本等因素的影响,生防制剂往往防效低且不稳定,筛选

根际定殖能力强的菌株资源并研究适合作物生产特点的施用方法对提高生防菌剂施用效果具有重要意义。前人研究表明,利用有益微生物处理烟草种子,可明显提高种子发芽势、生长势和种子活力,促进烟苗生长,增加其抗逆和抗病性^[7];微生物添加进育苗基质中,可改善其结构与理化性质^[8],提高养分供应能力,进而促进植物生长^[9];同时,菌剂可在植物幼苗根部优先形成“生物屏障”^[10],维持根际微生物群落平衡并抵御病原攻击^[11-12]。烟草育苗集约化程度高,在种子萌发、育苗阶段使用微生物菌剂具有经济和高效率的特点,规模化推广应用潜力大。目前,针对烟草和烟叶生产特点开发的微生物菌剂较少,以高效土著菌株为核心的烟用菌剂及配套使用技术仍较缺乏。

本研究以前期分离获得的 2 株烟草根际芽孢杆菌 YC2006 和 YC2008 为材料,采用 16S rDNA 和 *gyrB* 基因 (DNA 促旋酶 B 亚单位基因) 序列分析法对菌株进行鉴定,通过室内和温室试验评估 2 株芽孢杆菌的抗菌和促生能力,以期为烟草抗病促生菌剂的开发应用提供支撑。

1 材料与方法

1.1 供试菌株、培养基和烟草品种

试验所用烟草黑胫病菌 (*Phytophthora parasitica*)、烟草赤星病菌 (*Alternaria alternata*)、烟

收稿日期:2021-03-05

基金项目:国家自然科学基金(编号:31660544);中国烟草总公司贵州省公司项目(编号:201603_2021XM12)。

作者简介:曹毅(1982—),男,云南会泽人,博士,副研究员,从事微生物和植物保护研究。E-mail:yicao1001@163.com。

草立枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)、芽孢杆菌 YC2006 和 YC2008 均由贵州省烟草科学研究院微生物实验室分离并保存, LB 培养基和 PDA 培养基分别用于芽孢杆菌的活化和病原真菌培养, 试验用烟草品种为 K326, 对照为枯草芽孢杆菌可湿性粉剂(云南星耀生物制品有限公司提供)。

1.2 主要真菌病原拮抗活性测定

用平板对峙培养法测定经活化的 YC2006 和 YC2008 对烟草黑胫病、赤星病菌和立枯病等主要真菌病害病原菌的拮抗活性, 挑取经 LB 平板活化的单菌落接种于 LB 液体培养基中, 摇床振荡培养(28 ℃, 180 r/min) 2 d 得到培养液, 吸取 50 μL 培养液缓慢滴入无菌空白滤纸片(索莱宝)中, 于 PDA 平板中接入直径 6 mm 新鲜培养的病原菌菌饼, 距菌饼约 2.5 cm 处等距放入含菌滤纸片, 以未接菌的 LB 培养液为对照, 3 次重复, 28 ℃ 培养箱中培养 5~7 d 后, 测量病原菌菌落直径, 计算抑制率:

抑制率 = (1 - 接种处理病原菌菌落直径 / 不接种处理病原菌菌落直径) × 100%。

1.3 菌株 *gyrB* 基因和 16S rDNA 序列分析

菌株基因组 DNA 采用试剂盒 (DNeasy UltraClean Microbial Kit, Qiagen) 并按说明书方法提取, 引物由上海英骏生物技术有限公司合成: 27F (5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3') / 1492R (5' - GGTTACCTTGTACGACTT - 3'), UP-1 (5' - GAAGTCATCATGACCGTTCTGCAYGCNGGNGNA ARTTYGA - 3') / UP-2r (5' - AGCAGGGTACGGAT GTGCGAGCCRTCACRTTCNGCRTCNGTCAT - 3'), 分别用于菌株 16S rDNA 和 *gyrB* 基因^[13] 的扩增; PCR 扩增体系为 50 μL (GoTaq™ Green Master Mix 25 μL, 27F/UP-1 1 μL, 1492R/UP-2r 1 μL, 模板 5 μL, 无核酸酶去离子水 18 μL)。16S rDNA 基因扩增程序为: 94 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 30 s, 65 ℃ 退火 40 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 共 35 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min; *gyrB* 扩增条件: 94 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 1 min, 60 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 2 min, 共 35 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min。

扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序, 利用中间引物 UP-1s (5' - GAAGTCATCATGACCGTT CTGCA - 3') 和 UP-2rs (5' - AGCAGGGTACGGATG TCGGAGCC - 3') 测通 *gyrB* 基因全长, 测序拼接序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对, 下载同源性在

99% 以上的序列, 利用 Mega X 软件包进行多重序列比对, 采用邻接法 (Neighbor - Joining, Bootstrap value = 1 000) 构建系统发育树。

1.4 烟草种子萌发相关指标测定

取活化的菌株, 接入种子培养基中, 37 ℃、200 r/min 培养 24 h 后, 制得种子液; 以 5% 接种量将种子液接种到 2 L 发酵培养基中, 30 ℃ 条件下发酵 48 h, 将菌株发酵液与适量 CaCO₃ 混合, 喷雾干燥后获得初制菌剂。利用平板稀释法^[14] 测定含菌量, 菌液 YC2006 和 YC2008 的浓度分别约为 4.04 × 10¹⁰ CFU/mL 和 1.83 × 10¹¹ CFU/mL。将菌液浓度与对照商品化菌剂浓度调至 1 × 10⁹ CFU/mL, 备用。

选取烟草种子 (K326) 放于试验设置的菌剂溶液中浸种 2 h, 分别以清水和商品化枯草芽孢杆菌可湿性粉剂为对照, 共 11 个处理 (表 1); 浸种后, 种子置于铺有灭菌滤纸的灭菌培养皿中, 加入灭菌清水保湿, 每皿放置 30 粒种子, 每个处理重复 3 次。25 ℃、光照 16 h/d 的人工气候室培养, 从种子置床之日起每天定时 (早: 09:00, 晚: 18:00) 开盖通气 2 次, 加入灭菌清水, 保证发芽床湿润。萌发指标以种子露白为准。种子萌发后逐日记录发芽数量, 共记录 10 d, 测定并计算种子萌发指标。

发芽率 = (萌发结束时已发芽种子数 / 供试种子总数) × 100% ;

发芽势: 从种子置于培养箱开始至第 3 天, 统计发芽种子数占供试种子总数的百分率。

表 1 供试菌剂及处理浓度

菌株	菌剂浓度	处理编号	菌株	菌剂浓度	处理编号
YC2006	0.5%	T1	混合(1:1)	0.5%	T7
YC2006	1.0%	T2	混合(1:1)	1.0%	T8
YC2006	2.0%	T3	混合(1:1)	2.0%	T9
YC2008	0.5%	T4	CK1	清水	T10
YC2008	1.0%	T5	CK2(商品枯草芽孢杆菌制剂)	1.0%	T11
YC2008	2.0%	T6			

1.5 烟草幼苗农艺性状测定

在前期试验基础上, 设 5 个处理组, 处理 A: 每 100 g 育苗基质中拌入 0.5 g 枯草芽孢杆菌 YC2006; 处理 B: 每 100 g 育苗基质中拌入 2 g 解淀粉芽孢杆菌 YC2008; 处理 C: 每 100 g 常规育苗基质中拌入 1:1 (质量比) 的 1 g 芽孢杆菌 YC2006、YC2008; 处理 D: 空白对照, 育苗基质中不拌入芽孢杆菌 (CK1); 处理 E: 每 100 g 育苗基质中拌入 0.5 g

商品化枯草芽孢杆菌(CK2)。将种子分别播于试验设置的不同基质中,放置于人工气候室培养,培养环境设为温度 25 ℃/18 ℃(昼/夜),光照 16 h/d,相对湿度 75%。播种 45 d 后,参照标准 YC/T 142—2010^[15],对烟苗株高、茎围、地上部鲜质量、地下部鲜质量、地上部干质量、地下部干质量及最大叶面积等指标进行测定,根系指标采用根系扫描仪(型号:EPSON 1680)及其配套的 WinRhizo Pro 5.0 根系分析软件测定^[16]。

1.6 统计分析

采用 SPSS 19.0 软件进行差异显著性分析。

表 2 菌株对病原真菌生长的抑制作用

病原真菌	YC2006			YC2008		
	对照菌落直径(cm)	处理菌落直径(cm)	抑制率(%)	对照菌落直径(cm)	处理菌落直径(cm)	抑制率(%)
烟草疫霉	4.26 ± 0.29b	2.38 ± 0.17b	44.13b	4.26 ± 0.29b	2.74 ± 0.19a	35.68c
链格孢菌	5.32 ± 0.57b	2.70 ± 0.06b	49.25b	5.32 ± 0.57b	2.32 ± 0.06b	56.39b
立枯丝核菌	8.02 ± 0.31a	3.18 ± 0.07a	60.35a	8.02 ± 0.31a	2.56 ± 0.10ab	68.08a

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下表同。

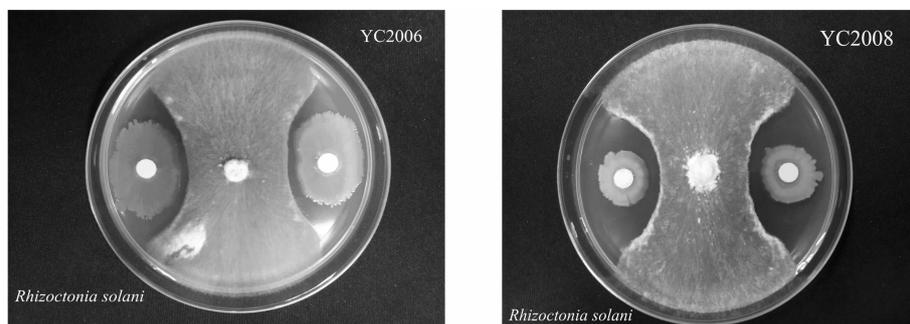


图 1 菌株 YC2006 和 YC2008 对烟草立枯病菌的平板抑制效果

2.2 菌株 16S rDNA 和 gyrB 基因序列系统发育分析

菌株 YC2006 和 YC2008 的 16S rDNA 基因测序结果经序列拼接后,长度分别为 1 420 bp 和 1 410 bp,采用 NJ 法分别构建 2 株菌的 16S rRNA 基因序列系统发育树,结果见图 2 和图 3。从 16S rRNA 基因序列系统发育树看,菌株 YC2006 和 YC2008 与临近的几株芽孢杆菌亲缘关系较为接近,初步将 YC2006 和 YC2008 归为芽孢杆菌属。

菌株 YC2006 的 gyrB 基因测序结果拼接后获得 1 160 bp 长度的序列,与 GenBank 中已报道的多株枯草芽孢杆菌的 gyrB 基因序列同源性较高,序列相似性均达 99.5% 以上,采用 NJ 法构建基于 gyrB 基因序列系统发育树(图 4),从 gyrB 基因序列系统发育树分析,菌株 YC2006 与枯草芽孢杆菌 G2 菌株

2 结果与分析

2.1 菌株对主要烟草病原真菌的室内拮抗活性的影响

平板对峙试验结果表明(表 2),YC2006 和 YC2008 菌株对病原菌菌丝的生长具有抑制作用,对 2 种病原菌的抑制率达 45% 以上,芽孢杆菌 YC2006 和 YC2008 对烟草立枯丝核菌的抑制率最为明显,分别达 60.35% 和 68.08%;其次为赤星病菌(链格孢菌)和黑胫病菌(烟草疫霉)(图 1)。

聚为一支,有较近的亲缘关系,可信度 97%,结合 16S rRNA 基因的系统发育分析,将 YC2006 鉴定为枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*);同样的方法,菌株 YC2008 的 gyrB 基因(1 170 bp)与多株解淀粉芽孢杆菌的 gyrB 基因序列同源性较高,序列相似性均达 99% 以上,系统发育树(图 5)表明菌株 YC2008 与解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*, AB829604)聚为一簇,有较近的亲缘关系,结合 16S rRNA 基因的系统发育分析,将 YC2008 鉴定为解淀粉芽孢杆菌。

2.3 菌株对烟草种子萌发的影响

室内种子发芽试验结果(表 3)显示,种子经不同浓度的芽孢杆菌液浸泡处理后,YC2006 0.5% 处理发芽率显著高于对照制剂;各处理发芽势显著提高,表明本试验菌剂处理可加快烟草种子的萌发进程,烟草出苗快而整齐。

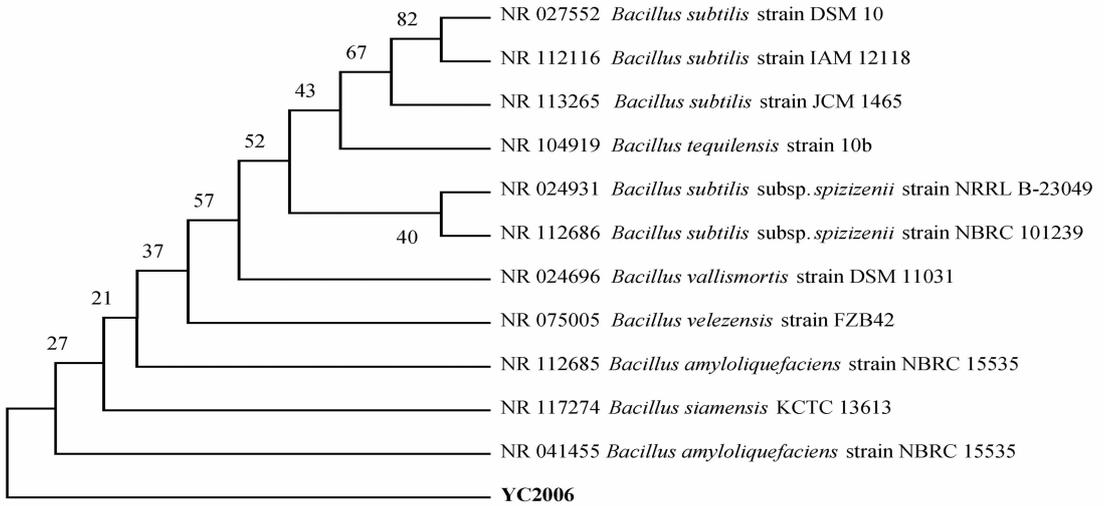


图2 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 YC2006 的系统发育树

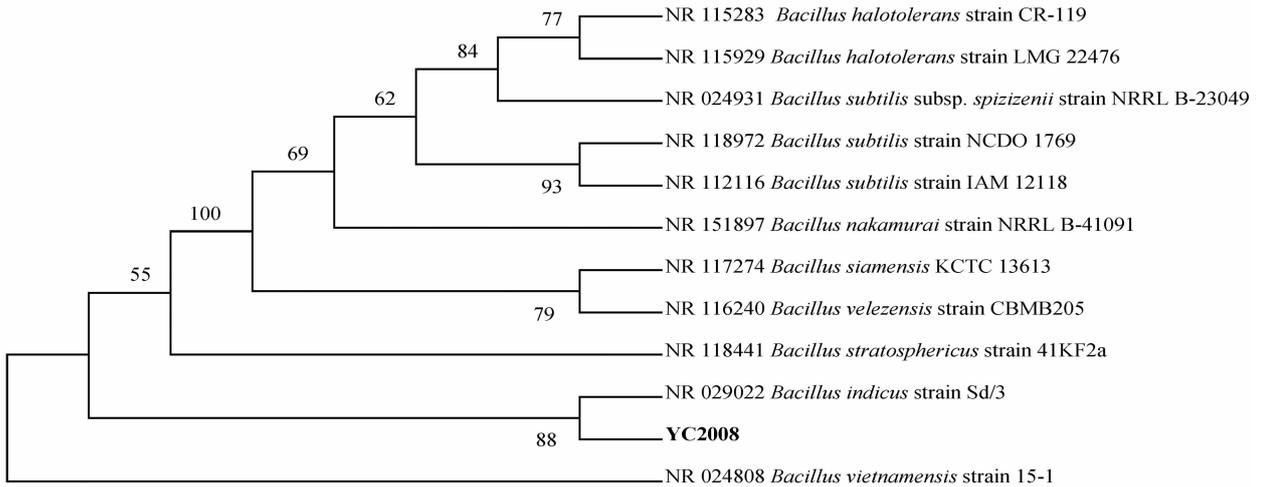


图3 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 YC2008 的系统发育树

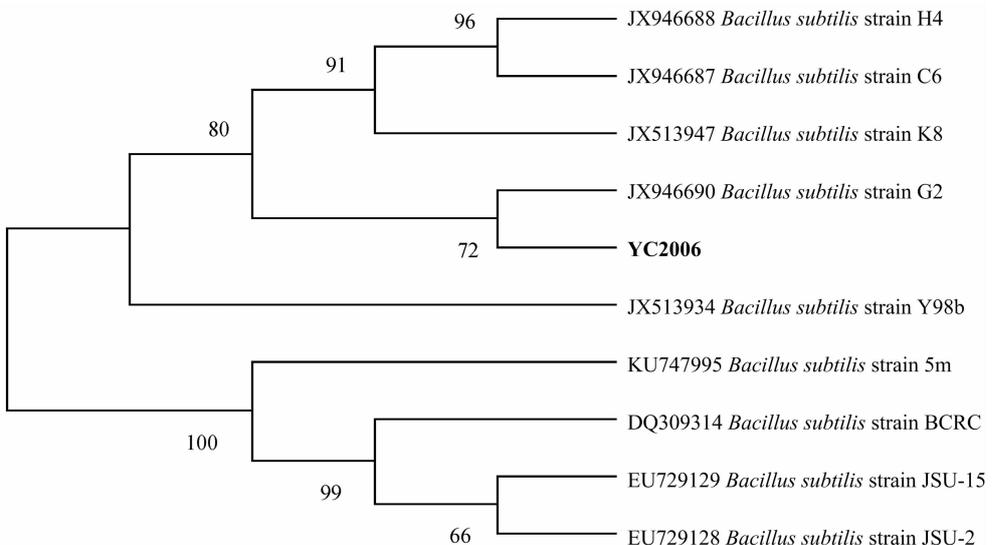


图4 基于 gyrB 基因序列构建的菌株 YC2006 的系统发育树

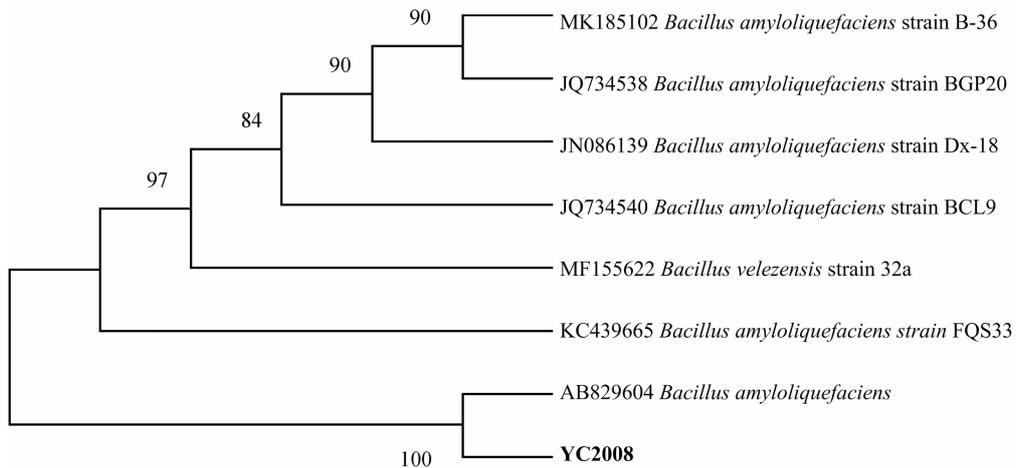
图5 基于 *gyrB* 基因序列构建的菌株 YC2008 的系统发育树

表3 菌剂处理对烟草种子发芽的影响

处理	发芽势 (%)	发芽率 (%)
T1	51.11 ± 5.09a	98.89 ± 1.92a
T2	36.67 ± 8.82bc	90.00 ± 3.33bcd
T3	34.44 ± 8.39bc	87.78 ± 1.92d
T4	40.00 ± 5.77b	88.89 ± 3.85cd
T5	35.56 ± 3.85bc	90.00 ± 3.33bcd
T6	37.78 ± 3.85bc	96.67 ± 3.33ab
T7	30.00 ± 3.33cd	95.56 ± 1.92abc
T8	28.89 ± 3.85cd	97.78 ± 1.92a
T9	21.11 ± 5.09d	94.44 ± 5.09abcd
CK1 (清水)	5.56 ± 1.92e	93.33 ± 6.67abcd
CK2 (枯草芽孢杆菌制剂)	2.22 ± 1.92e	90.00 ± 3.33bcd

2.4 菌株对烟草幼苗农艺性状的影响

由表4可知,处理A、B、C对烟草株高有促进作用,分别比清水对照提高了188%、103%、30%;各处理间茎围无显著差异,最大叶面积比对照提高了101.30%、36.46%、0.84%,处理A、B地上部鲜质量分别比对照提高了85.14%、40.09%;各处理地下部鲜质量分别比对照提高了136.36%、203.03%、69.70%。

由表5可知,处理A的平均根系直径、总根体积与对照相比差异显著,总根长和总根表面积均显著高于对照,与无菌清水对照相比,分别提高了41.75%和38.95%。经0.5% YC2006处理过的烟草根长和根系表面积均高于对照,根系更为发达。

表4 基质添加菌剂对烟草幼苗生长的影响

处理	株高 (cm)	茎围 (cm)	最大叶面积 (cm ²)	地上部鲜质量 (g)	地上部干质量 (g)	地下部鲜质量 (g)	地下部干质量 (g)
A	2.22 ± 0.44a	1.11 ± 0.33a	52.78 ± 9.91a	4.11 ± 1.05a	0.36	0.78 ± 0.44a	0.028
B	1.56 ± 0.53ab	1.00 ± 0.06a	35.78 ± 6.01b	3.11 ± 0.93b	0.25	1.00 ± 0.50a	0.026
C	1.00 ± 0.01b	1.00 ± 0.04a	26.44 ± 2.79c	2.22 ± 0.44c	0.12	0.56 ± 0.53a	0.017
D	0.77 ± 0.44b	1.22 ± 0.43a	26.22 ± 3.42c	2.22 ± 0.44c	0.11	0.33 ± 0.50b	0.014
E	0.89 ± 0.33b	1.12 ± 0.31a	32.56 ± 7.35bc	2.56 ± 0.73bc	0.12	0.56 ± 0.53a	0.017

表5 基质添加菌剂对烟草幼苗根系生长的影响

处理	总根长 (cm)	总根表面积 (cm ²)	平均根系直径 (mm)	总根体积 (cm ³)
A	212.78 ± 27.82a	32.89 ± 3.51a	0.33 ± 0.167a	0.41 ± 0.06a
B	188.44 ± 14.96ab	30.78 ± 2.78ab	0.67 ± 0.167a	0.40 ± 0.03a
C	164.89 ± 8.24b	24.22 ± 1.29b	0.22 ± 0.147a	0.28 ± 0.05a
D	150.11 ± 12.47b	23.67 ± 7.21b	0.44 ± 0.176a	0.31 ± 0.02a
E	124.00 ± 6.90b	19.33 ± 3.57b	0.44 ± 0.176a	0.24 ± 0.01a

3 结论与讨论

16S rDNA 基因序列因其高度的保守性而被广泛用于细菌分子鉴定,但对近缘种常常难以区分鉴别。*gyrB* 基因存在于所有细菌中,其分子进化速率大于16S rDNA 基因,且不同种细菌的 *gyrB* 基因存在较大差异,常作为用芽孢杆菌种水平鉴定的靶标基因^[17],本研究同时根据16S rDNA 和 *gyrB* 序列和

系统发育分析结果,将菌株 YC2006 和 YC2008 初步鉴定为枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 和解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*)。烟草立枯病、黑胫病和赤星病是当前烟草育苗和大田生长期的主要真菌性病害,本研究对菌株抑菌活性测试发现,菌株 YC2006 和 YC2008 对供试的 3 种病原菌均有不同程度的抑制活性,抑制活性强度以立枯病病原最为明显,烟草大田期靶斑病病原与立枯病病原属同种不同融合群,推测本试验菌株也可抑制烟草靶斑病病原,菌株抑菌谱等相关试验有待进一步开展,以明确其抗病应用范围。室内种子萌发试验和温室幼苗盆栽试验结果显示,高浓度的菌株对烟草种子萌发和幼苗生长有抑制现象,与杨晓云等发现高浓度解淀粉芽孢杆菌 B1619 发酵液对番茄种子萌发和幼苗植株生长有抑制作用结果相似,表明在实际应用中明确生防菌株浓度施用范围十分重要,同时还需对加工工艺、剂型等下游技术开展研究,以便更好地发挥出生防菌的生防作用^[18]。

微生物促进植物生长一般可归纳为:一是通过其生长繁殖及代谢活动产物,促进土壤养分合成、分解与转化,供植物生长利用,如芽孢杆菌代谢产生生长激素等促进植物吸收水分和养分物质,直接促进植物生长^[19];二是通过营养竞争、产生抑菌物质抑制有害微生物的生长,维持根系微生态平衡,减少病原菌的侵染而间接促进植物生长。吴亚胜等研究发现,在育苗基质中添加丛枝菌根真菌,菌根侵染率明显提高,对辣椒幼苗的生长表现出显著的促进作用^[20];多黏类芽孢杆菌 CF05 发酵液对番茄幼苗有明显的促生效果,鲜质量增加 272.0%,干质量增加 266.7%^[21]。本研究在育苗基质中添加枯草芽孢杆菌 YC2006、解淀粉芽孢杆菌 YC2008 表现出了显著的烟苗促生活性,添加 0.5% YC2006,烟苗株高、最大叶面积、地上/地下部鲜质量、总根长和总根表面积较商品化的枯草芽孢杆菌菌剂分别提高了 149.44%、62.1%、60.55%、39.29%、71.60% 和 70.15%,菌株促生机理值得进一步研究。生防菌施用后,稳定的定殖能力是其发挥生防、促生作用的关键因素^[22],本试验菌株为烟草根际分离所得,可能更适合在根际定殖并发挥作用,菌株 YC2006 和 YC2008 可通过拌种、基质添加等使用方式促进烟草生长,同时,菌株对烟草主要真菌病原具有明显的抑制作用,可作为优良的菌种材料用于烟草专用微生物种衣剂、微生物菌剂和菌肥的开发。

参考文献:

- [1] 朱贤朝. 中国烟草病害[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [2] Tunsagool P, Leelasuphakul W, Jaresithikhunchai J, et al. Targeted transcriptional and proteomic studies explicate specific roles of *Bacillus subtilis* iturin A, fengycin, and surfactin on elicitation of defensive systems in mandarin fruit during stress[J]. PLoS One, 2019, 14(5): e0217202.
- [3] 千慧敏, 赵辉, 刘新涛, 等. 生防细菌 PA2101 和 PG3402 抑菌和促生特性的研究[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(1): 135 - 144.
- [4] Wagi S, Ahmed A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA[J]. PeerJ, 2019, 7: e7258.
- [5] 荆卓琼, 郭致杰, 徐生军, 等. 解淀粉芽孢杆菌 HZ-6-3 的筛选鉴定及其防治番茄灰霉病效果的评价[J]. 草业学报, 2020, 29(2): 31 - 41.
- [6] Pandey C, Bajpai V K, Negi Y K, et al. Effect of plant growth promoting *Bacillus* spp. on nutritional properties of *Amaranthus hypochondriacus* grains[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018, 25(6): 1066 - 1071.
- [7] Aydinoglu B, Shabani A, Safavi S M. Impact of priming on seed germination, seedling growth and gene expression in common vetch under salinity stress[J]. Cellular and Molecular Biology, 2019, 65(3): 18 - 24.
- [8] 侯乐梅, 孟瑞青, 卮兰春, 等. 不同微生物菌剂对基质酶活性和番茄产量及品质的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(8): 2520 - 2526.
- [9] 吕伟生, 黄国强, 邵正英, 等. 接种菌剂腐熟稻草育秧基质提高机插秧苗素质及产量[J]. 农业工程学报, 2017, 33(11): 195 - 202.
- [10] 张明宇, 刘高峰, 李小龙, 等. 施用生物有机肥对烟草根际土壤微生物区系的影响[J]. 河南农业大学学报, 2020, 54(2): 317 - 325.
- [11] Asari S, Tarkowskú D, Rolčik J, et al. Analysis of plant growth - promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant[J]. Planta, 2017, 245(1): 15 - 30.
- [12] Asari S, Matzén S, Petersen M, et al. Multiple effects of *Bacillus amyloliquefaciens* volatile compounds: plant growth promotion and growth inhibition of phytopathogens[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(6): fiw070.
- [13] Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(3): 1104 - 1109.
- [14] 豆雅楠, 牛世全, 豆建涛, 等. 芽孢杆菌拮抗苹果树腐烂病菌的筛选、鉴定及抑菌活性初探[J]. 微生物学通报, 2018, 45(12): 2684 - 2694.
- [15] 国家烟草专卖局. 烟草农艺性状调查测量方法: YC/T 142—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [16] 王亚男, 程立娟, 周启星. 鸢尾对石油烃污染土壤的修复以及根

陈弘扬,邹宏光,方兵,等. 基于套合模型的土壤有机质空间尺度效应分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(21):247-252.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.21.041

基于套合模型的土壤有机质空间尺度效应分析

陈弘扬¹, 邹宏光¹, 方兵¹, 周鹏飞¹, 庄红娟¹, 宋强¹, 杨斌², 张世文¹

(1. 安徽理工大学地球与环境学院, 安徽淮南 232001; 2. 安徽理工大学空间信息与测绘工程学院, 安徽淮南 232001)

摘要:为了探索土壤有机质含量在空间分布上的特征,更好地服务于土地生产力和土壤肥力评价,以北京市平谷区西北部桃园为研究对象,通过地统计学方法分析了土壤有机质空间尺度效应。结果表明,指数模型对土壤有机质含量拟合效果最佳,各尺度上的样点数据均符合正态分布,其空间结构对空间尺度的依赖性较明显;理论半方差变异函数 I 值和 $(Z^* - Z)^2$ 检验表明, L 尺度下普通克里格法预测效果比套合模型法好,在 M、S 尺度下结果刚好相反;土壤有机质含量在空间分布上呈集中连片的趋势,有机质含量低值主要集中在研究区的西南部和中东部区域,有机质高值主要分布在北部和南部的少部分区域。因此,在采样密度较大的尺度下基于多尺度套合法针对土壤有机质空间变异进行研究,使得插值结果达到更高的可靠性,可为制定土壤肥力评价方案提供科学的指导。

关键词:土壤有机质;尺度效应;空间变异;套合模型

中图分类号:S153.6⁺21 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)21-0247-06

土壤是地表上体系最庞杂,功能最多样的生态系统之一;土壤有机质是以多种形式和状态存在于土壤中的含碳有机化合物,是土壤系统的不可或缺的关键成分^[1]。明确土壤有机质含量的动态变化,采用合适的方法掌握其空间分布规律,是土地生产力和土壤肥力评价的关键^[2]。

目前,应用地统计学方法来研究土壤关键指标空间变异特征是土壤特性研究的热点^[3]。学者对土壤关键指标的空间结构开展大量研究,如利用普通克里格法分析了新疆伊犁地区^[4]、兰州市某典型生态区^[5]、山东半岛东部地区^[6]、意大利农牧交错

带^[7]内土壤属性的空间分布特征,但有学者指出普通克里格法对土壤有机质含量的插值效果并不是很好^[8]。与此同时,有研究指出所选择的空间尺度是目前多数涉及有机质空间变异研究的前提^[9-10],少有研究专门论述同一研究区域、不同空间尺度上的土壤特征变异规律。部分研究探讨了不同空间尺度的土壤特征变异特征,并对尺度效应进行了验证^[11-12],但是缺乏更加深入研究,有必要对土壤有机质含量处于连续空间的变异特征进行更多的研究,使土壤空间管理达到更高的要求。

本研究重点对各个尺度下的土壤有机质空间变异结构特征进行了分析,在研究过程中提出多尺度套合模型,并将其应用到了黄淮海平原典型农业区的研究中,以期有效地揭示果园中有机质含量的空间分布特征,为土地生产力和土壤肥力评价提供科学依据。

收稿日期:2021-02-24

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFD030080104)。

作者简介:陈弘扬(1996—),男,安徽合肥人,硕士研究生,主要从事土壤肥力相关研究。E-mail:136960529@qq.com。

通信作者:张世文,博士,教授,博士生导师,主要从事土壤过程量化相关研究。E-mail:mamin1190@126.com。

系代谢分析[J]. 环境科学,2016,37(4):1531-1538.

[17] 贾慧慧,谢心悦,潘园园,等. 芽胞杆菌 BJ-6 的鉴定及对甜瓜细菌性果斑病的防治[J]. 微生物学报,2020,60(5):982-991.

[18] 杨晓云,陈志谊,蒋盼盼,等. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 对番茄的促生作用[J]. 中国生物防治学报,2016,32(3):349-356.

[19] 张荣胜,戴秀华,刘永锋,等. 解淀粉芽孢杆菌 Lx-11 的促水稻生长作用及促生长物质分析[J]. 核农学报,2018,32(6):1230-1238.

[20] 吴亚胜,王其传,祁红英,等. 育苗基质中添加丛枝菌根真菌菌

剂对辣椒幼苗生长和光合参数的影响[J]. 蔬菜,2018(7):12-16.

[21] 郭芳芳,谢镇,卢鹏,等. 一株多粘类芽孢杆菌的鉴定及其生防促生效果初步测定[J]. 中国生物防治学报,2014,30(4):489-496.

[22] Martins S J, Medeiros F, Lakshmanan V, et al. Impact of seed exudates on growth and biofilm formation of *Bacillus amyloliquefaciens* ALB629 in common bean [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:2631.