

DOI: 10.3969/j.issn.0488-5368.2025.03.016

· 植物保护 ·

哈茨木霉、贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂对玉米茎基腐病防效及根际微生物多样性影响

洪赫¹, 李蓉², 王艳斌², 张红娟², 刘杰辉², 赵芳², 王春静¹, 谢咸升²

(1. 山西农业大学植物保护学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西农业大学小麦研究所, 山西 临汾 041000)

摘要: 为探究哈茨木霉 (*Trichoderma harziensis*)、贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) PYB-17 菌剂对由禾谷镰孢菌 (*Fusarium graminearum*) 引起的玉米茎基腐病 (Maize stem rot) 防效及根际微生物多样性影响, 本研究采用盆栽试验对玉米进行人工接菌, 并设置单独施用 500 倍哈茨木霉粉剂、单独施用 500 倍贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂、混施 500 倍哈茨木霉粉剂与 500 倍贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂、清水对照处理, 重复 3 次。处理后 35 d 调查玉米茎基腐病病情指数, 计算防效。并利用 16S rRNA 和 ITS 测序, 分析各处理对根际微生物多样性影响。结果表明, 单独施用哈茨木霉粉剂、贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂对玉米茎基腐病防效分别为 63.86% 和 61.01%, 混施 500 倍哈茨木霉、贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂防治效果为 67.82%。混施两种菌剂对根际土壤细菌和真菌多样性影响较大, ASV 增加, Chao1 指数和 ACE 指数均明显高于清水对照, 特别是细菌中芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和真菌中木霉属 (*Trichoderma*)、毛壳菌属 (*Chaetomium*) 丰度显著增加, 说明施用哈茨木霉粉剂和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂后使根际土壤微生物种类更丰富, 提高了有益菌丰度。本研究为哈茨木霉、贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂防控玉米茎基腐病提供了依据。

关键词: 哈茨木霉; 贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17; 玉米茎基腐病; 防效; 微生物多样性

中图分类号: S154 文献标识码: A 文章编号: 0488-5368(2025)03-0087-11

Effects of *Trichoderma harziensis* and *Bacillus velezensis* PYB-17 Microbial Agents on Control of Maize Stem Rot and Rhizosphere Microbial Diversity

HONG He¹, LI Rong², WANG Yanbin², ZHANG Hongjuan², LIU Jiehui²,ZHAO Fang², WANG Chunjing¹, XIE Xiansheng²

(1. College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China;

2. Institute of Wheat Research, Shanxi Agricultural University, Linfen, Shanxi 041000, China)

Abstract: To investigate the efficacy of *Trichoderma harziensis* and *Bacillus velezensis* PYB-17 biocontrol agents against maize stem rot caused by *Fusarium graminearum* and their impact on rhizosphere microbial diversity, this study artificially inoculated potted maize and applied treatments of 500 times diluted *B. velezensis* PYB-17 wettable powder alone, a mixture of 500 times diluted *T. harziensis* powder and *B. Velezensis* PYB-17 wettable powder, and a water control, with each treatment repeated three times. Thirty-five days after treatment, the

收稿日期: 2024-04-03 修回日期: 2024-05-24

第一作者简介: 洪赫 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 植病生理与分子病理。

通信作者: 谢咸升。

maize stem rot disease index was surveyed and efficacy calculated. Using 16S rRNA and ITS sequencing, the impact of each treatment on rhizosphere microbial diversity was analyzed. The results showed that the efficacy of *T. harziensis* powder alone and *B. velezensis* PYB-17 wettable powder alone against maize stem rot was 59.40% and 55.44%, respectively. The combined application of both biocontrol agents at 500 times dilution had a control efficacy of 66.37%. The mixed application of the two biocontrol agents had a significant impact on the diversity of rhizosphere soil bacteria and fungi, with a reduced disease index. The mixed application of the two biocontrol agents had a significant impact on the diversity of rhizosphere soil bacteria and fungi, with an increase in ASV, and the Chao1 and ACE indices were significantly higher than those of the water control. Particularly, the abundance of *Bacillus* in bacteria and *Trichoderma* and *Chaetomium* in fungi significantly increased, indicating that applying *T. harziensis* powder and *B. velezensis* PYB-17 wettable powder enriched the variety of soil microbes in the rhizosphere and increased the abundance of beneficial microbes. This study provides a basis for the control of maize stem rot by *T. harziensis* and *B. velezensis* PYB-17 biocontrol agents.

Key words: *Trichoderma harziensis*; *Bacillus velezensis* PYB-17; Maize stem rot; Control effect; Microbial diversity

玉米是全球第一大种植作物,我国玉米种植面积大约占全球总面积的 21.76%,产量占全球总产量的 23.1%。近年来我国玉米播种面积和产量呈现逐年上升的趋势^[1],然而以禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)为主的玉米茎基腐病严重威胁了玉米的生产。目前,生产上常用化学种衣剂来防治这种病害^[2]。但化学农药的过量使用会导致病原菌的抗药性增加和防效降低,同时对环境和人畜健康造成严重威胁。土壤微生物种类繁多,是土壤中最活跃、最丰富的生物群落^[3,4],对陆地养分循环至关重要^[5]。这些微生物与植物根部营养关系密切^[6-8],能直接为植物提供无机营养(如氮、磷等矿物质元素)和有机营养(如氨基酸、维生素、生长素等),从而促进植物生长^[9,10],某些生防微生物还能抑制植物病害的发生。种植者可以通过改善施肥和耕作制度、引入生防微生物等措施来提高土壤生物多样性,恢复原有的微生物群落,从而有效解决作物连作障碍和土传病害等问题^[11]。

利用生防菌剂调控土壤微生物已成为一个国际研究热点。甄静等^[12]研究显示,施用复合菌剂 20 d 和 40 d 后,土壤微生物的平均每孔吸光值及 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数较对照有所提高。梁继华等人的研究^[13]表明,不同土壤改良剂的处理可以显著影响根际微生物,为玉米提供更适宜的生长环境,并增加土壤微生物数量。李海云等人的研究^[14]发现,施用复合微生物菌剂及施肥处理对玉米不同生育期根际土壤微生物群落有显著

影响。杨春林等人发现^[15]哈茨木霉 UN-2 产 β -葡聚糖酶粗酶液对立枯丝核菌和禾谷丝核菌的菌丝生长和菌核萌发有明显的抑制作用。王馨芳等^[16]研究结果显示贝莱斯芽孢杆菌 BQ 对引起党参根腐病的尖孢镰孢菌 DS 菌丝生长和孢子萌发有明显抑制作用。因此,作为植物与土壤之间重要的媒介,根际土壤微生物在植物生长发育中扮演着重要角色^[17-21]。

本研究探讨了哈茨木霉粉剂和本实验室研制的以贝莱斯芽孢杆菌为主要成分的 PYB-17 可湿性粉剂对玉米茎基腐病的防治效果。通过施用这两种具有生防特性的微生物菌剂,并利用 16S rRNA 和 ITS 扩增子测序技术,分析了它们对玉米根际微生物多样性影响。明确了这些微生物菌剂对有益及有害群落的调控作用,为开发针对玉米茎基腐病的微生物菌剂提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

玉米品种为 MC220,由山西诚信种业集团馈赠。*F. graminearum* 由本实验室前期分离获得。哈茨木霉粉剂(1×10^9 CFU/g)购自山东绿陇生物科技有限公司。贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂(1.1×10^9 CFU/g,载体高岭土)由本实验室研制,前期研究^[22-24]表明,该芽孢杆菌具有生物防治特性。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验地点位于山西农业大学小麦研究所($36^{\circ}10'N$,东经 $111^{\circ}51'E$)温室内,光照

充足,室内平均气温 $28 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 40% ~ 50%。盆栽试验种植时间于 2023 年 6 月 2 日。试验设置 4 个处理:1 个对照组 CK(无菌水浸种)和 3 个处理组 H(哈茨木霉粉剂用无菌水稀释 500 倍浸种处理)、K(贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂用无菌水稀释 500 倍浸种处理)和 HK(哈茨木霉粉剂稀释 500 倍浸种处理+贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂稀释 500 倍浸种处理),每个处理重复 3 次。

禾谷镰孢菌在 PDA 培养基 28°C 黑暗条件下培养 3 d,从菌落边缘取直径 5 mm 的菌饼 3~5 块,接种至含 100 ml PDA 培养基的三角瓶中,以 28°C 、180 r/min 的条件震荡培养 5 d,并使用血球计数板计算孢子数。盆栽试验选用 12 个内径为 23.5 cm,高为 15 cm 的花盆,每个花盆填入土壤 3 500 g。在每个花盆中挖 10 个穴,每穴种植 1 粒玉米种子。种子表面消毒后,用温水浸泡 3 h,再放入 30°C 的培养箱中催芽 2 d 直至长出胚根。催芽后进行浸种播种,播种前全部穴施 5ml 禾谷镰孢菌 *F. graminearum* 发酵液,播种完成后盆栽表面覆盖一层薄土并浇水,使土壤完全湿润,然后等待出苗。

1.2.2 调查发病情况及土样采集 玉米出苗 35 d 调查玉米茎基腐病发病情况,统计病情指数,计算防效。病情指数 = $\Sigma(\text{各级病株数} \times \text{各级级数}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高级数}) \times 100$;防治效果 (%) = $(\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}) / \text{对照组病情指数} \times 100^{[25]}$ 。

2023 年 7 月 8 日,从每个处理组挑选 3 株生长情况相近的玉米,分别挖出其根部并收集根际土,使用 60 目筛进行筛分后,将细土混合均匀。将土样分成 3 份,每份装入 1 只离心管中,作为 1 个重复,形成每个处理三个重复,分别标记为 H(1,2,3)、K(1,2,3)、HK(1,2,3)和 CK(1,2,3)。然后,将其装入自封袋,密封并贴上相应的标签保存。最后,土壤样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行扩增子测序分析。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增和 Illumina MiSeq 测序

用 CTAB 法抽提根际土壤基因组 DNA 后,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。以制备好的 DNA 为模板,细菌用通用引物(V3-V4)338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),真菌用通用引物 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAG-

GAAGTAA-3')和 ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。采用 PCR 扩增试剂盒 KT121221 扩增土壤基因组 DNA,PCR 反应体系(20 μL):5 \times FastPfu Buffer(4 μL),2.5 mM dNTPs(2 μL),正、反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.8 μL ,Fast-Pfu Polymerase(0.4 μL),BSA(0.2 μL),DNA 模板 10 ng,水(1.8 μL)。PCR 反应条件:95 $^\circ\text{C}$ 3 min;95 $^\circ\text{C}$ 30 s,55 $^\circ\text{C}$ 30 s,72 $^\circ\text{C}$ 45 s,27 个循环;72 $^\circ\text{C}$ 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物,QuantiFluorTM-ST 蓝色荧光定量系统进行定量。MiSeq 文库构建和测序均在上海美吉医药科技有限公司 Illumina MiSeq PE300 平台完成。

1.4 数据处理与分析

使用 fastp 和 FLASH 软件优化测序数据。使用 Qiime2 软件对 ASV 进行物种分类学注释并利用 Mothur 计算各样本多样性指数。主坐标分析图、Venn 图以及两样本比较分析图利用 R 语言软件制作。使用 python 软件绘制群落 Bar 图和群落 Circos 图。采用 PICRUST2 和 FunGuild 软件预测功能分析。

2 结果与分析

2.1 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂对玉米茎基腐病防效

施用菌剂后 H、K、HK 处理组对玉米茎基腐病防效分别达到了 63.86%、61.01% 和 67.82%,其中 HK 处理组对玉米茎基腐病防效高于其它两组。相比对照组,玉米叶片长势旺盛,枯黄叶片较少,发病程度轻(图 1),说明两种菌剂混施对 *F. graminearum* 引起的玉米茎基腐病具有明显抑制作用。

表 1 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂在盆栽苗后 35 d 对玉米茎基腐病防效

处理	病情指数	防效/%
H	24.33 \pm 1.15 c	63.86 \pm 1.71 b
K	26.25 \pm 2.00 b	61.01 \pm 2.97 b
HK	21.67 \pm 1.15 d	67.82 \pm 1.72 a
CK	67.33 \pm 1.15 a	

注:H:施用 500 倍哈茨木霉粉剂;K:施用 500 倍贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂;HK:施用 500 倍哈茨木霉粉剂+500 倍贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂。

2.2 微生物群落注释及多样性分析

对采集的样品测序,所有样本覆盖率均在 98% 以上,各个样本稀释曲线接近平稳,表明测序深度已达到饱和,可反应样本的真实情况。细菌共获得 10 435 个 ASV,真菌共获得 451 个 ASV。物种注释结果显示,所有土壤样本中共检测出细菌门 30 个、纲 81 个、目 198 个、科 322 个、属 672 个。真菌门 6 个、纲 24 个、目 47 个、科 84 个、属 128 个。

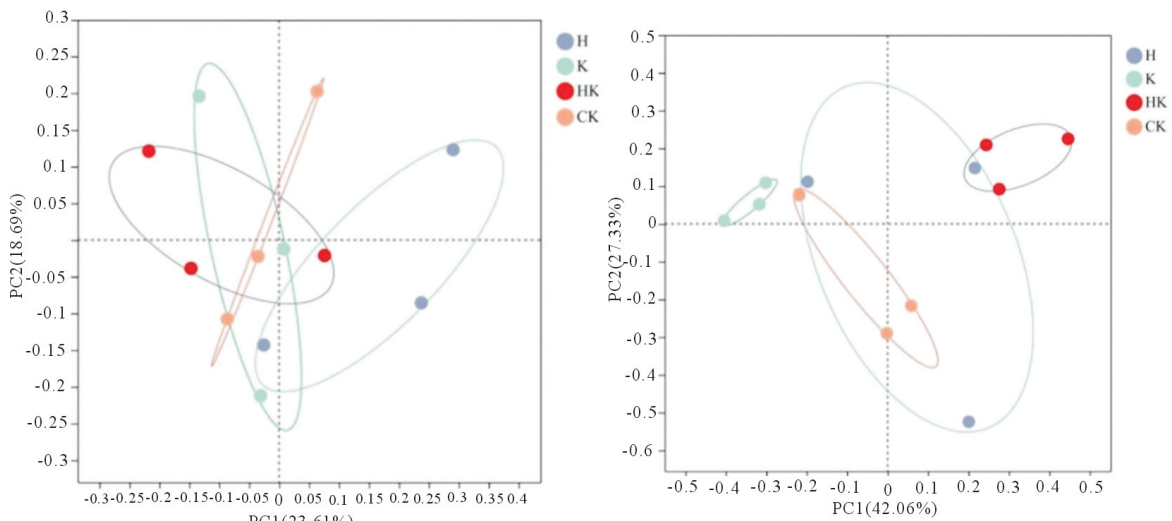
不同处理对玉米根际土壤微生物多样性的影响:Chao1 指数和 ACE 指数分析显示,PYB-17 可湿性粉剂中的贝莱斯芽孢杆菌可能抑制玉米根际土壤中其他细菌的生长,导致细菌数量减少。单独施用哈茨木霉粉剂对细菌和真菌数量无明显影响。哈茨木霉粉剂与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性

粉剂混施可增加玉米根际土壤中细菌和真菌数量,并促进土壤中有益菌数量的增加,这些有益菌可抑制 *F. graminearum* 的生长(表 2)。

采用主坐标分析法,首先对所选距离矩阵进行可视化处理,然后再基于属水平分析 4 组玉米根际土壤样本的细菌和真菌 Beta 多样性。分析显示,在细菌组中,各处理之间存在明显重合,与对照组相比,H、K、HK 处理组间差异性更明显。H 组与 K 组和 HK 相比,表现出负相关。在真菌组中,差异更大,K 组和 HK 组在 PC2 向量上呈正相关,在 PC1 向量上呈负相关,这表明 HK 处理在某些真菌的生态位竞争中取得了优势,而 H 处理则未显示出这一效果(图 1)。

表 2 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂不同处理下玉米根际土壤微生物 Alpha 多样性指数

微生物类别	土样组别	ASV 数目	Chao1 指数	ACE 指数	Shannon 指数
细菌	H	1 306.67±14.01 b	1 307.21±14.07 b	1 310.59±6.59 c	5.95±0.12 a
	K	1 157.00±32.36 c	1 160.30±32.09 c	1 167.63±22.39 d	5.57±0.06 c
	HK	1 420.67±29.30 a	1 443.50±35.85 a	1 464.07±17.30 a	5.74±0.13 bc
	CK	1 343.67±21.36 b	1 352.43±23.15 b	1 366.92±29.54 b	5.81±0.01 ab
真菌	H	67.33±2.89 b	67.33±2.89 b	67.33±2.89 b	1.70±0.10 ab
	K	75.33±4.16 b	75.33±4.16 b	75.33±4.16 b	1.54±0.10 b
	HK	92.67±5.86 a	92.67±5.86 a	92.67±5.86 a	1.98±0.30 a
	CK	72.00±2.65 b	72.00±2.65 b	72.00±2.65 b	1.95±0.09 a



注:表中数值均为(平均值±标准差),同列数值后不同字母表示不同土壤样本组间存在显著差异($P < 0.05$)。

图 1 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂不同处理下玉米根际土壤样本中细菌(A)和真菌(B)主坐标分析(PCoA)

2.3 物种 Venn 图分析

不同组别根际土壤样本中共有和独有 ASV 分析(图 2):4 组土壤样本中,细菌共有 ASV 数目为 403 个,具体到各处理组,CK、H、K、HK 组土样中细菌独有 ASV 数目分别为 2 325 个、2 226 个、1 760 个、2 562 个。真菌共有 ASV 数目为 35 个,各处理组 CK、H、K、HK 土样中真菌独有 ASV 数目

分别为 76 个、60 个、69 个、120 个。细菌特有 ASV 数目由多到少排序为 HK>CK>H>K,真菌特有 ASV 数目排序为 HK>CK>K>H。表明与对照组相比,施用哈茨木霉粉剂和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂的 H、K、HK 表现出显著差异,说明这些处理改变了玉米根际土壤的菌群结构。

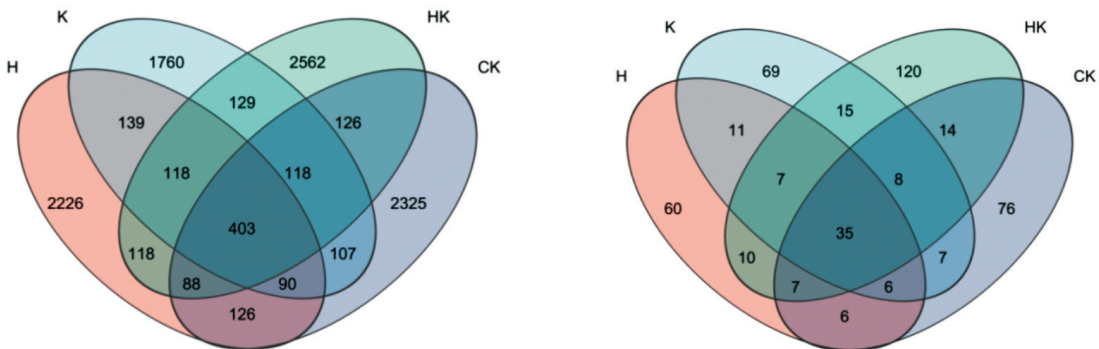


图 2 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂不同处理下玉米根际土壤样本中细菌(A)和真菌(B)基于 ASV 的韦恩图

2.4 微生物群落在属水平上的组成分析

玉米根际土壤样本中细菌和真菌在属水平上相对丰度分析(图 3A)表明:4 组样本中细菌相对丰度前 10 名包括芽孢杆菌属(*Bacillus*),假单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*), unclassified_f__Micrococaceae,根瘤菌属(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*), norank_f__Microscillaceae, 虚构芽孢杆菌属(*Fictibacillus*),寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*),德沃斯氏菌属(*Devosia*),短波单胞菌属(*Brevundimonas*),杜氏杆菌属(*Tumebacillus*)。芽孢杆菌属在 HK 处理组中相对丰度接近 18%,高于其它 3 组(CK, H, K)。芽孢杆菌属中的多粘芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌等,在植物根际可能发挥抵抗病原菌侵入的作用,有助于抑制玉米茎基腐病的发生。

在真菌中,相对丰度排名前 10 的类别包括曲霉属(*Aspergillus*),木霉属(*Trichoderma*),新赤壳属(*Neocosmospora*),镰孢菌属(*Fusarium*),青霉菌属(*Penicillium*),毛壳菌属(*Chaetomium*),帚枝霉属

(*Sarocladium*), 赤霉菌属(*Gibberella*),链格孢属(*Alternaria*),未分类的真菌。HK 处理组中,曲霉属的相对丰度显著下降,而木霉属和毛壳菌属的相对丰度分别约占 50%和 13%,明显高于其它 3 组。这表明木霉属和毛壳菌属可能具有抑制 *F. graminearum* 的作用。不同处理对菌群结构组成造成的差异中, HK 处理组对细菌和真菌影响最为显著(图 3B)。

通过 Circos 图,在属水平上描述了玉米茎基腐病根际土壤与菌群群落之间的关系(图 4),该图展示了不同菌剂处理后,玉米根际土壤中优势物种的分布比例。H 处理组中,假单胞菌属是主要的细菌属,占比达到 13%。在 K 和 HK 处理组中,芽孢杆菌属成为主要的细菌属,其占比分别为 8% 和 18%。对于真菌而言, K 处理组中曲霉属占据主导,比例高达 73%;而在 H 和 HK 处理组中,主要的真菌属为木霉属,其占比分别为 42% 和 55%。说明不同处理组对玉米根基土壤菌群主导属有明显差异。

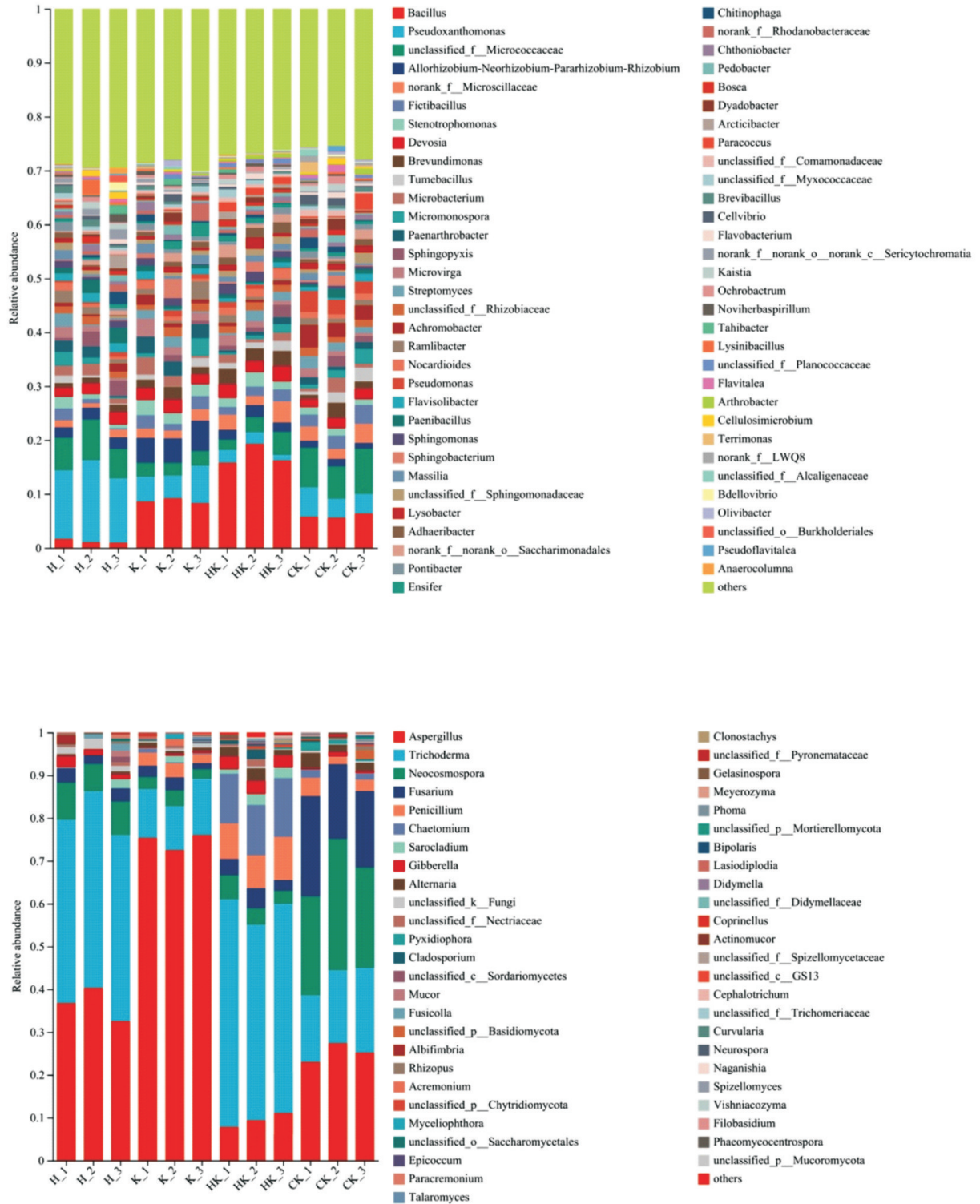


图 3 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂不同处理下玉米根际土壤样本中细菌 (A) 和真菌 (B) 在属水平上的相对丰度

2.5 微生物群落物种差异分析

在属水平上对玉米根际土壤样本进行了差异分析,特别是比较了 HK 处理组与 CK 对照组的细菌和真菌影响(置信区间为 95%, $P < 0.05$)(图 5)。结果显示,与 CK 组相比,HK 组在细菌属方面的差异较多,而在真菌属方面的差异较少。细菌中有 15 个属在 HK 与 CK 组显示出显著差异。丰度排名前 5 位的属包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)和链霉菌属(*Streptomyces*)。在 HK 组的丰度显著高于 CK 组;而 unclassified_f__Micrococcaceae、副球菌属(*Para-*

coccus)和杜氏杆菌属(*Tumebacillus*)在 HK 组的丰度显著低于 CK 组。在真菌方面,8 个属在两组间有差异,HK 组的帚枝霉属(*Sacrocladium*)、枝孢属(*Cladosporium*)、链格孢属(*Alternaria*)、青霉属(*Penicillium*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、木霉属(*Trichoderma*)在 HK 组的丰度显著高于 CK 组,而赤霉菌属(*Gibberella*)的丰度在两组间差异不大。通过比较玉米根际土壤中 HK 处理组与 CK 对照组的细菌和真菌群落差异,说明 HK 组在细菌属方面差异显著,而在真菌属方面差异较小。

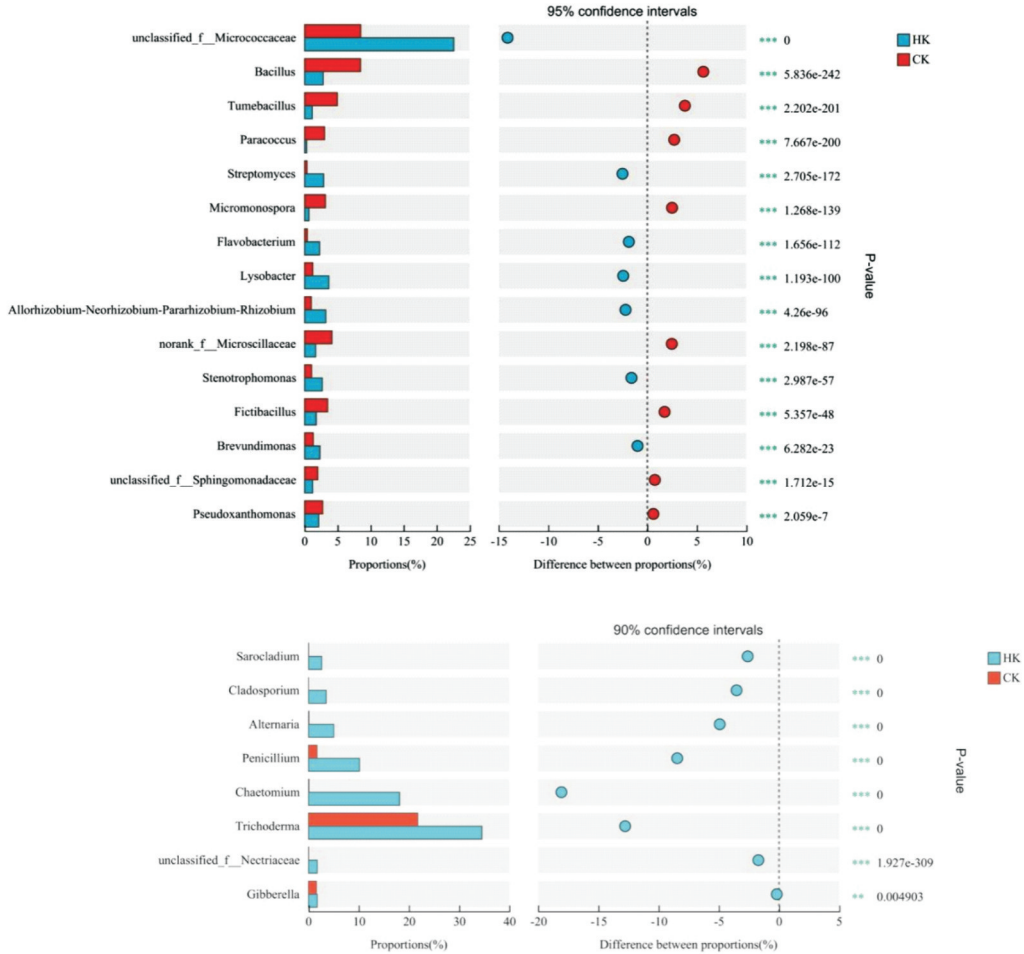


图 5 CK 对照组和 HK 处理组玉米土壤样本中细菌(A)和真菌(B)属丰度的 t-test 检验

2.6 细菌与真菌功能预测分析

基于 PICRUSt2 对细菌菌群功能的预测(图 6A)并通过 COG 数据库比对测序数据,涉及 23 种代谢途径。4 组玉米根际土样中的功能注释显示相似性,排名前 8 的代谢通路(丰度 $\geq 5\%$)包括: Function unknown,氨基酸转运与代谢(Amino acid transport and metabolism),能源生产和转换(Energy production and conversion)、碳水化合物运输与代谢(Carbohydrate transport and metabolism),有机离子运输和代谢(Inorganic ion transport and metabolism),翻译、核糖体结构和生物合成(Translation,

ribosomal structure and biogenesis),转录(Transcription),细胞壁膜/囊膜生物合成(Cell wall/membrane/envelope biogenesis)。

利用 FUNGuild 对玉米根际土壤真菌群落功能进行预测(图 6B),发现有 8 种营养类型,且在 4 组样本中的丰度存在较大差异。未定义腐生生物(Undefined Saprotroph)在 H 和 K 组中大量富集,其丰度接近 90%。按丰度排序,动物病原-内生菌-地衣寄生虫-植物病原-土壤腐生-木材腐生(Animal Pathogen - Endophyte - Lichen Parasite - Plant Pathogen - Soil Saprotroph - Wood Saprotroph)在 4 组

样本中的排序为 CK>K>H>HK。其他营养类型包括动物病原体-粪腐生-内生菌-附生菌-植物腐生-木材腐生(Animal Pathogen-Dung Saprotroph-Endophyte-Epiphyte-Plant Saprotroph-Wood Saprotroph)、动物病原-内生菌-植物病原-木材腐生(Animal Pathogen-Endophyte-Plant Pathogen-Wood Saprotroph)、动物病原-内生菌-地衣寄生虫-植物病

原-木材腐生(Animal Pathogen-Endophyte-Lichen Parasite-Plant Pathogen-Wood Saprotroph)、others 在 4 组样本中的排序普遍为 HK>CK>K>H。HK 组特别富集了大量的腐生生物、寄生菌和动植物病原体相关功能基因。表明哈茨木霉和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 能有效减少玉米根际土壤中病原菌的相对丰度。

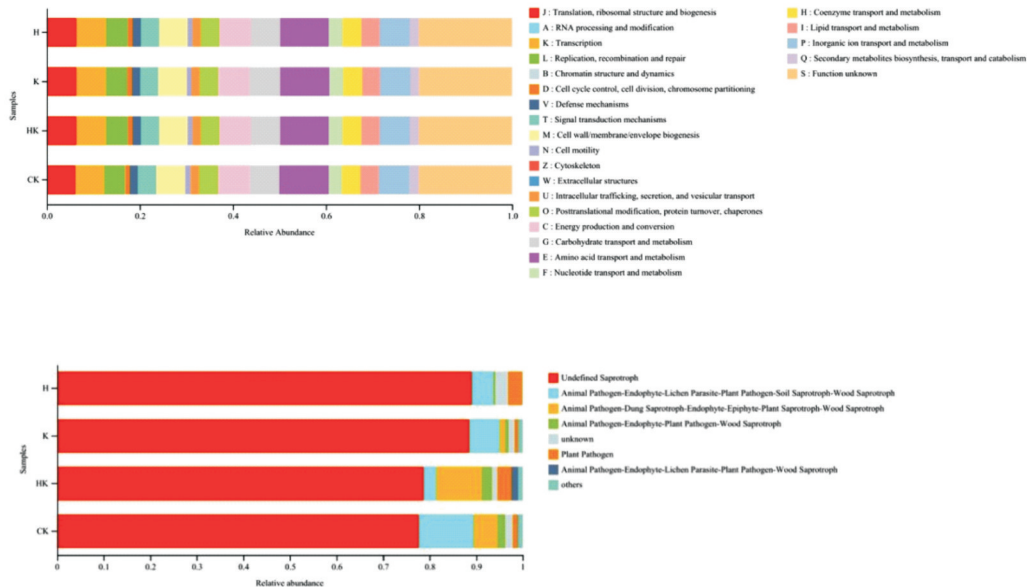


图 6 哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂不同处理下玉米根际土壤样本中细菌(A)与真菌(B)功能预测分析

3 结论与讨论

本研究旨在探讨哈茨木霉与贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂混合使用对玉米茎基腐病的防治效果,并分析其对根际微生物多样性的影响。结果显示,500 倍稀释的哈茨木霉粉剂、贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂的混合使用,对 *F. graminearum* 引起的玉米茎基腐病具有最佳抑制效果,防效达 67.82%。哈茨木霉具有快速生长和强大的适应能力,能通过占据根部空间改变土壤中微生物多样性,进而有效抑制玉米茎基腐病^[26,27]。同时,芽孢杆菌在控制由 *F. graminearum* 引起的病害中的应用日益广泛。例如,任璐等^[28]将贝莱斯芽孢杆菌与耐盐芽孢杆菌混合,制成生物种衣剂,对玉米茎基腐病的防治效果可达 68.89%。微生物菌剂可通过改善根际微生物多样性,间接增强作物抗病性^[29]。通过对盆栽玉米根际土壤细菌和真菌群落的 alpha 多样性分析,本研究发现,不论是混合施用还是单独施用两种菌剂,都能改变土壤中的菌群结构。其中,单独使用贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂对土壤中其它细菌生长有一定的影响,而

哈茨木霉和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂的混合使用则显著提高了土壤中细菌和真菌的丰度。

微生物群落组成分析表明,K 组土壤的主导细菌属为芽孢杆菌属和根瘤菌属,主导真菌属为曲霉属和木霉属。H 组的主导细菌属包括假单胞菌属和 unclassified_f__Micrococcaceae,主导真菌属为曲霉属和木霉属。HK 处理组的主导细菌属为芽孢杆菌属和 norank_f__Microscillaceae,主导真菌属为木霉属和毛壳菌属。佟昀铮等^[26]表明研究显示,生防木霉菌对禾谷镰孢产生抑制作用;冯超红等人^[30]表明毛壳菌属的球毛壳菌 YY-11 对禾谷镰孢菌有一定抑制作用。这与本试验研究结果一致。与 CK 组比较,HK 组的细菌和真菌属中有 7 个属的丰度显著高于 CK 组。这些主导菌属能改善土壤理化性质,有固氮、促氮作用,并具有诱导植物免疫的多重功能^[31]。芽孢杆菌属的细菌通过代谢产生具有抗菌活性的酯肽,抑制病原体生长^[32];并能产生挥发性物质,干扰植物病原菌生长^[33]。根瘤菌属作为解磷细菌,促进植物次生代谢的累积^[34,35]。假单胞菌属与氮素循环紧密相关,能高效降解木质纤维素,具有强氧化力^[36]。曲霉属和

木霉属的次生代谢物能抑制有害菌增强植物对病害的抵抗力^[37]。毛壳菌属的次生代谢产物通过产生挥发性化合物,影响植物生长^[38]。

基于 PICRUST2 功能预测分析,4 个处理组均参与了 23 种相同的代谢途径,涉及氨基酸合成、能量生产和转换以及碳水化合物的代谢。这些代谢产物是维持微生物群落结构变化的关键因素^[39],显示出哈茨木霉粉剂和 PYB-17 可湿性粉剂对根际土壤微生物细菌的代谢途径影响不显著。基于 FUNGuild 真菌功能预测分析,与 CK 对照组对比,H 处理组中的 Undefined Saprotroph 和 Plant Pathogen 丰度较高;K 处理组土壤中仅 Undefined Saprotroph 丰度高于 CK 对照组;而 HK 处理组土壤中多种生态功能群的丰度显著高于对照组。病原菌通过损害宿主细胞获取营养,影响植物生长。相较于 CK 对照组,H、K、HK 处理组中病原菌的丰度降低,表明哈茨木霉菌剂和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂可以有效减少玉米根际土壤中病原菌的相对丰度,从而有助于防治玉米茎基腐病的发生。

植物病害生物防治与土壤微生物群体的相互作用密切。随着微生物菌剂开发利用的进步,其在抑制病原菌、促进植物生长及改善土壤环境方面的应用成效日益明显。一些微生物菌剂通过影响根内、根际微生物来抑制病害发生。席娇等^[40]研究娄彻氏链霉菌 D47 菌剂能显著降低列当寄生病害发生率,并对向日葵根际微生物群落造成显著影响。周皓等^[41]发现,混合菌剂的应用不仅改良了加工番茄的部分性状,提高了果实品质,还改变了土壤微生物群落结构。王丽花等^[42]发现 300 倍木霉菌可湿性粉剂的应用显著影响了土壤中真菌和根内微生物多样性,并对月季霜霉病防效达 87.35%。上述研究均表明微生物菌剂能改变根际土壤微生物组成,为植物提供更有利的生长条件,与本研究的結果相似。哈茨木霉粉剂和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 可湿性粉剂作为生物活体农药,具有多样的作用机制和较小的诱导病菌产生抗性的压力。它们能定殖根际,具有良好的持效性。然而,其田间应用效果受多种环境因素如温度、湿度、pH、紫外线、农药残留等的影响而变得不稳定^[43],需要更高的环境适应性。因此,进一步研究这些环境因素对哈茨木霉和贝莱斯芽孢杆菌 PYB-17 菌剂防治玉米茎基腐病效果的影响,对于提供科学的应用指导至关重要。

参 考 文 献:

- [1] Prudence D S, Olalekan A A, Emmanuel F A, *et al.* Maize rhizosphere modulates the microbiome diversity and community structure to enhance plant health [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2023, 30 (1): 103-109.
- [2] 曹堃程, 张大琪, 方文生, 等. 土传病害防治技术进展及面临的挑战 [J]. 植物保护, 2023, 49 (5): 260-269.
- [3] 焦硕, 戚杰军, 刘纪爱, 等. 旱区土壤微生物组与土壤健康评价 [J]. 土壤学报, 2023, 60 (5): 1350-1362.
- [4] Locey K J, Lennon J T. Scaling laws predict global microbial diversity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113 (21): 5970-5975.
- [5] XIONG Jin Bo, PENG Fei, SUN Huai Bo, *et al.* Divergent responses of soil fungi functional groups to short-term warming [J]. Microbial Ecology, 2014, 68 (4): 890-890.
- [6] 张昊, 姜娜, 樊林染, 等. 长期养分添加对贝加尔针茅草原土壤微生物群落的影响 [J]. 生态学报, 2024, 44 (3): 1130-1139.
- [7] MA Si Yuan, LIN Yu Bin, QIN Yong Qiang, *et al.* Microbial diversity characteristics of areca palm rhizosphere soil at different growth stages [J]. Plants, 2021, 10 (12): 2706-2706.
- [8] BI Bo Yuan, WANG Kun, ZHANG He, *et al.* Plants use rhizosphere metabolites to regulate soil microbial diversity [J]. Land Degradation Development, 2021, 32 (18): 5267-5280.
- [9] 向春雨, 罗栋源, 郭莉, 等. 植物-微生物联合修复化学退化土壤研究进展 [J]. 土壤通报, 2024, 55 (1): 288-300.
- [10] WANG Yi Zhe, ZHANG Han Feng, ZHANG Yu Ping, *et al.* Crop rotation-driven changes in rhizosphere metabolite profiles regulate soil microbial diversity and functional capacity [J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 2023 (358): 108716.
- [11] Pal K K, Dey R. Interlinking soil microbial diversity and rhizodeposition for enhancing nutrient uptake and productivity [J]. Indian Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 35 (3): 360-364.
- [12] 甄静, 杜志敏, 李冠杰, 等. 复合菌剂对玉米秸秆的降解及土壤微生物多样性的影响 [J]. 河南农业大学学报, 2019, 53 (5): 791-798+830.
- [13] 梁继华, 黄白红, 田学辉, 等. 不同土壤改良剂对玉米产量及根际土壤微生物和酶活性的影响 [J]. 山东农业科学, 2022, 54 (1): 80-85.
- [14] 李海云, 姚拓, 师尚礼, 等. 复合菌剂对玉米根际土壤酶活性和微生物数量的影响 [J]. 草原与草坪, 2018, 38 (6): 19-26.
- [15] 杨春林, 席亚东, 胡强, 等. 哈茨木霉 UN-2 β -葡聚糖酶诱导及对水稻纹枯病的抑菌防病作用 [J]. 西南

- 农业学报,2024,37(1):119-127.
- [16] 王馨芳,张婉霞,史美玲,等. 贝莱斯芽孢杆菌 BQ 对党参根腐病病原菌抑制效应初探[J]. 寒旱农业科学,2024,3(2):167-173+197.
- [17] Tom L, Morgane O, Lionel L, *et al.* Can soil microbial diversity influence plant metabolites and life history traits of a rhizophagous insect? A demonstration in oil-seed rape [J]. *Insect science*, 2017, 24 (6): 1 045-1 056.
- [18] Rania A B A, Hayfa K J, Fakher A, *et al.* A three-year study of comparative effects of four organic amendments on soil health dynamics, tomatoproduction, and rhizosphere microbial community [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2023, 54 (17): 2 439-2 458.
- [19] HAO Feng Jiao, ChEN Shu Ning, YUAN Hui Zhu, *et al.* Effects of rhizosphere microorganisms on the uptake and translocation of organic compounds in maize seedlings[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2023, 71(18):6 830-6 837.
- [20] 杏朝辉. 不同叶面肥营养调控下黄芪根际土壤微生物群落结构和功能多样性研究[D]. 保定:河北大学,2022:2-3.
- [21] Chekwube M E, Oluranti O B. The influence of soil fertilization on the distribution and diversity of phosphorus cycling genes and microbes community of maize rhizosphere using shotgun metagenomics [J]. *Genes*, 2021,12(7):1 022.
- [22] 马爽. 贝莱斯芽孢杆菌 K-9 的筛选及其对马铃薯疮痂病生防机制的研究[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学,2023.
- [23] 罗利艳,江志阳,孙翠焕,等. 贝莱斯芽孢杆菌 TMQ-KSL-1 分离鉴定及其发酵液对番茄根结线虫的生防作用[J/OL]. *微生物学杂志*,2024(5):1-9.
- [24] 许磊磊,白晓丽,李哲斐. 黄芪根腐病拮抗菌的筛选及生防机制[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2024,60(2):77-85.
- [25] 石洁,孙世贤,王晓鸣,等. 玉米抗病虫鉴定技术规范(第7部分:镰孢茎腐病)[S]. 石家庄:河北省农林科学院植物保护研究所,2016.
- [26] 佟昀铮,于汇琳,潘洪玉,等. 玉米茎腐病生防菌哈茨木霉 CCTH-2 鉴定及其生物学特性[J]. *华北农学报*,2022,37(S1):309-317.
- [27] 邓开英,凌宁,张鹏,等. 专用生物有机肥对营养钵西瓜苗生长和根际微生物区系的影响[J]. *南京农业大学学报*,2013,36(2):103-109.
- [28] 任璐,田舒媛,吕红,等. 芽孢杆菌种衣剂对玉米茎基腐病的防治效果及对玉米的促生作用[J]. *植物保护学报*,2023,50(5):1 358-1 367.
- [29] 张娜,朱艳,肖娴,等. 沼泽红假单胞菌与枯草芽孢杆菌混施对水稻根域细菌多样性与功能的影响[J]. *植物营养与肥科学报*,2022,28(1):58-71.
- [30] 冯超红,李丽娟,张姣姣,等. 球毛壳菌促生防病机制及应用研究进展[J]. *中国生物防治学报*,2023,39(4):961-969.
- [31] 李雨欣,戴欣宇,曹雪梅,等. 生防菌在植物病害领域的研究进展[J]. *湖南生态科学学报*,2023,10(2):109-116.
- [32] 杨冰娟,陶睿泽,林丽,等. 芽孢杆菌抑制玉米茎腐病菌禾谷镰孢菌和拟轮枝镰孢菌的研究进展[J]. *江苏农业科学*,2023,51(12):42-49.
- [33] 黄伟,张丽娟,王宁,等. 芽孢杆菌属挥发性物质及其在植物病害防治中的应用研究进展[J]. *中国植保导刊*,2021,41(9):30-36.
- [34] Tapia-García E Y, Arroyo-Herrera I, Rojas-Rojas F U, *et al.* *Paraburkholderia lycopersici* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from rhizoplane of *Lycopersicon esculentum* Mill. var. *Saladette* in Mexico[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2020, 43 (6): 126 133.
- [35] 朱宇锟,胡昕然,林志艺,等. 植物根际促生菌的促生机理与影响因素[J]. *四川农业科技*,2023(7):80-84.
- [36] 杨丽洁,贾仲君. “99%难培养”微生物的概念与初步评价:以固氮菌为例[J]. *微生物学报*,2021,61(4):903-922.
- [37] 李阔,王红阳,郭秀芝,等. 木霉属真菌诱导根及根茎类中药材抗根腐病的研究及应用进展[J]. *中国中药杂志*,2023,48(18):4 942-4 949.
- [38] 李江,靳艳玲,赵海,等. 根际促生菌对植物生长的影响及其作用机制[J]. *黑龙江农业科学*,2023,(10):132-137.
- [39] 黄子粤,刘文君,覃仁柳,等. 不同品种南瓜内生细菌多样性及 PICRUSt 基因功能预测分析[J]. *中国农业科学*,2021,54(18):4 018-4 032.
- [40] 席娇,徐腾起,刘玉涛,等. *Streptomyces rochei* D74 菌剂对向日葵、列当及其根际微生物的影响[J]. *微生物学报*,2023,63(2):745-759.
- [41] 周皓,范永斌,姚楠,等. 混合菌剂施用对加工番茄生长及根际功能性微生物群落的影响[J]. *微生物学通报*,2023,50(12):5 363-5 375.
- [42] 王丽花,杨秀梅,张艺萍,等. 木霉菌对切花月季根际、根内微生物多样性影响及霜霉病防效的研究[J]. *中国农学通报*,2023,39(10):69-78.
- [43] 赵永田,马悦,SHETH Sujitraj,等. 我国茶树叶部主要真菌病害绿色防控现状与展望[J]. *植物保护*, 2023,49(5):133-144+166.