

文章编号: 2096-1618(2024)03-0308-05

气象因子与根系微生物对魔芋套作的协同作用研究

李永红¹, 吴杨¹, 卢秋云¹, 姜学峰¹, 周雅丽²

(1. 成都信息工程大学电子工程学院, 四川 成都 610225; 2. 美姑县教育体育和科学技术局, 四川 凉山 616457)

摘要:为明确魔芋等作物生长过程中的细菌种类、微生物多样性的分布特点,更好地研究作物生长过程中有益细菌与气象因子共同发挥作用,有效促进作物的生长或抑制植物病害的发生,采集四川省美姑县主要种植基地的魔芋、花椒和玉米套作地的土壤作为样本,选择具有代表性的10块种植地土壤样本作为研究对象,进行分离鉴定。研究不同的气象因素和根系微生物的协同作用,通过拟合曲线证明,魔芋套作生长发育过程中,根系微生物的丰度分布有明显的时间节律,表现出规律性的变化。利用微生物的抗干旱、解磷、增强植物抵御病原菌等特性,为发现适宜的风速、土壤温度和土壤湿度可以调控根系中的微生物群落提供理论依据。

关键词:有益细菌;气象因子;根系微生物;时间节律

中图分类号:P49

文献标志码:A

doi:10.16836/j.cnki.jcuit.2024.03.007

0 引言

微生物群落数量和组成很大程度上取决于环境等因素,气候变化引起的环境变化导致各种微生物数量和种类的变化。随着温度变化,地球上的某些区域温度越来越适宜微生物的生存或繁殖,加快了特定微生物种群数量的增长。例如,一些温度、湿度偏高地区的土壤中会出现胡萝卜软腐欧文氏菌,气候变化时可以发现其数量会显著增加,从而使魔芋等作物出现软腐病的症状^[1]。胡萝卜软腐欧文氏菌等一些病菌对于气温的升高与湿度的增加非常敏感,之前生长在比较狭窄的环境下,通过极快的繁殖速率,该类病菌的种群数量就会在气象因子不利的情况下急剧增加。所以,根系微生物的多样性对维持植物生态系统的动态平衡和调节土壤功能有重要意义^[2],联系气象因子与根系微生物的相互关系,调控气象因子以改变根系微生物的丰度占比,利用有益微生物来调节植物生长发育。

1 材料与方法

1.1 实验地基本情况

研究地位于中国四川凉山彝族自治州东北部美姑县,研究区域范围地处东经102°53'~103°21',北纬28°02'~28°54',为花椒魔芋、花椒和玉米套作地。在四川省科技厅项目《立体生态农业时间节律智能系统研发及种养循环示范应用》的支持下,建立美姑气象

实验观测站,见图1。开展农业农田气候监测,系统主要由多种传感器组成,包括温度、湿度和风速传感器等。该监测系统可以对农田环境中的温湿度和风速等气象环境进行实时监测,科学指导农业生产以及实现精准化农业管理。同时,可以结合检测到的气象数据与根系微生物的改变进行推演,总结气象因子对微生物的影响以及对作物带来的作用。



图1 美姑气象实验观测站及数据界面图

1.2 实验材料及提取方法

1.2.1 样本DNA提取

根据E. Z. N. A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)说明书进行微生物群落总基因组DNA抽提,使用基因组DNA提取试剂盒(美国Omega公司)提取样品基因组DNA。使用琼脂糖凝胶电泳法^[3]来检测DNA完整性,DNA电泳检测图见图2。

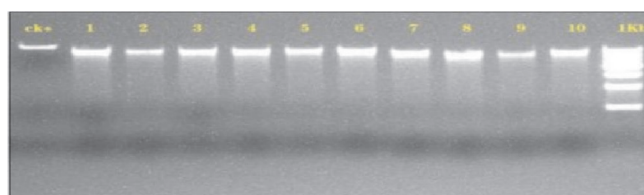


图2 DNA电泳检测图

收稿日期:2023-10-21

基金项目:四川省科技厅资助项目(2021YFN0133)

通信作者:吴杨. E-mail:839764461@qq.com

实验前的准备工作:将试样放于冰上溶化,搅拌均匀,离心后取出适量的试样用于测定。使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的质量,测定条件:5 V/cm 电压、20 min。最后,使用 NanoDrop2000 (美国 Thermo Scientific 公司)测定 DNA 浓度和纯度。

1.2.2 PCR 扩增

以样本提取到的 DNA 为实验模板,采用含有 Barcode 序列的上游引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCAG-3') 和下游引物 806R (5'-GGACTACH-VGGGTWTCTAAT-3')^[4]对基因可变区进行 PCR 扩增。扩增步骤包括:95 ℃ 预变性 3 min,27 个循环(95 ℃ 变性30 s,55 ℃ 退火30 s,72 ℃ 延伸30 s),然后72 ℃ 稳定延伸10 min,最后在 4℃ 进行保存(PCR 仪:ABI Gene-

Amp® 9700 型)。使用2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒(PCR Clean-Up Kit,中国逾华)进行回收产物纯化,并用 Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) 对回收产物进行检测定量。

2 结果与分析

2.1 根系微生物的多样性作用

2022 年 5 月 1-8 日对实验地进行气象数据监测并提取土壤样本,将土壤样本送至上海美吉生物公司进行样本提取,确定不同组间从门到属水平丰度显著差异的微生物类群。不同类群微生物的丰度见表 1。

表 1 2022 年 5 月 1-8 日不同类群微生物的丰度表

微生物类群	5 月 8 日	5 月 8 日晚	5 月 7 日	5 月 6 日	5 月 5 日	5 月 4 日	5 月 3 日	5 月 2 日	5 月 1 日	5 月 1 日晚
放线菌门	0.269	0.192	0.187	0.141	0.165	0.299	0.315	0.170	0.194	0.201
酸杆菌门	0.100	0.254	0.230	0.239	0.165	0.137	0.112	0.235	0.192	0.224
芽孢杆菌属	0.067	0.025	0.022	0.037	0.038	0.041	0.036	0.006	0.009	0.005
醋酸菌属	0.025	0.070	0.086	0.069	0.050	0.022	0.034	0.069	0.050	0.057
节杆菌属	0.040	0.011	0.016	0.007	0.006	0.015	0.040	0.025	0.036	0.025

2.1.1 根系微生物群落对环境干扰的抵抗力和恢复力差异

通过提取样本 DNA,发现根系微生物群落中不同门水平细菌因生存策略的差异,对脱水和复湿的响应截然相反,导致微生物丰度的占比出现差异。在魔芋套作的微生物测定中得到丰度占比较高的放线菌门(Actinobacteriota)与酸杆菌门(Acidobacteriota),其中放线菌门对干旱的抵抗力较强而恢复力较弱,酸杆菌门对干旱的抵抗力较弱而恢复力较强,这两种菌门在植物生长中相互作用,提高对环境干扰的抵抗力。酸杆菌门还能分泌有机酸,提高植物抗病力。如果能将这些拮抗菌种植在农田里,那么这些拮抗菌就会产生抑制病害的物质,从而降低对农药的需求。

2.1.2 根系微生物富含营养元素,能促进魔芋等植物生长

土壤中的矿质元素含量约为95%~98%,是植物在生长发育过程中非常重要的成分^[5]。研究发现,根系微生物对难溶性矿物中的养分释放有促进作用。土壤存在着丰富的解钾、解磷细菌,这些细菌可以释放出钾、磷于土壤中被植物所吸收。根系微生物中含有多种解磷微生物,包括在实验土壤中测定得到的丰度比约为0.0286的芽孢杆菌属(Bacillus)^[6],都能促进魔芋、玉米和花椒的生长发育。醋酸菌属(Vicinamibacterales)对魔芋等固氮植物生长有极大的好处,因为醋酸菌还包括很多营养元素,如糖分、葡萄糖、乳酸、醋酸等,不但能让种植的魔芋、玉米和花椒植物更好生长,还能让这些固氮植物生长速度更快。

2.1.3 根系微生物提高植物抵抗病原菌的侵害降低

魔芋软腐病发生的风险

土壤中既有有益的微生物,也有致病菌和病虫害的出现。植物体表皮存在的微生物不仅可以让植物变得更加健壮,还可以起到很好的保护作用。植物根系中的微生物可以寄生或定殖于植物根部,为植物提供一道天然的屏障,阻止病害的发生^[7]。根系微生物可依靠产生水杨酸、抗菌素、嗜铁素、诱导植物产生 ISR(induced systemic resistance)等机制来提高植物抗病性^[8]。在实验样本的土壤中测得的芽孢杆菌属(Bacillus)与节杆菌属(Arthrobacter)的丰度约为0.02,两种菌属具有协助植物抵抗疾病的潜能^[9],该菌种在植物根部定殖后,不但能提高作物的生长发育,而且能诱导 ISR 的合成,抵抗胡萝卜软腐病果胶杆菌等病原菌的侵染^[10],降低魔芋软腐病发生风险,实现安全种植。

2.2 气象因子与根系微生物的相互作用

通过 PCR 扩增结果发现,PCR 产物目的条带大小正确,浓度合适,均未出现软腐病病状。从病害发生的季节上看,一般是在炎热、潮湿、闷热的夏季和秋季,其他季节鲜有发生。因此,软腐病的发生与温度湿度有关,即当有病原菌的时候,温度超过30 ℃,湿度超过80%,都易发生软腐病。

将实验气象站检测到的气象数据与测得的微生物群落丰度做对比分析。风速变化趋势稳定,风速基本维持在0.9 m/s左右,对微生物群落的丰度影响相对较小。但在 5 月 1 日晚出现暴雨天气,导致土壤温度极低、土壤湿度较高。魔芋球茎发育最适土壤温度为 25 ℃ 左右,5 月 8 日的土壤温度与此适宜温度最接近,

测得的芽孢杆菌属与节杆菌属的丰度是最高的,芽孢杆菌属与节杆菌属具有解磷富含营养元素和抵抗病原菌的作用,所以魔芋等作物在此土壤温度的条件下最适宜生长。温度对微生物丰度影响的折线图见图 3。

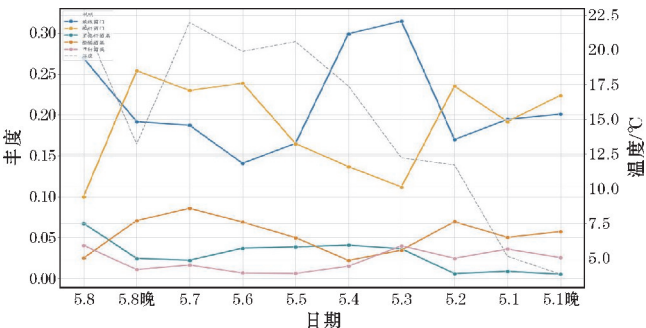


图 3 温度对微生物丰度影响的折线图

放线菌门与酸杆菌对高湿和高旱的响应强烈。在 5 月 1 日晚和 8 日晚,监测到的湿度相比其他日明显较高,而测得的酸杆菌门的丰度占比也显著增多。这是因为根际土壤状况因水分含量的增多造成酸杆菌门的增加,酸杆菌门的增加是为了防止水分过多造成病菌滋生而导致的植物叶片腐烂、枯萎等问题。同时,与正常土壤作物适宜生长土壤湿度 35% ~ 70% 相比,5 月 1 日晚的湿度超出 19.5%,芽孢杆菌属的丰度急剧下降,作物的抗病性能减弱,这就解释了为什么高温高湿是魔芋产生软腐病的主要原因。湿度对微生物丰度

影响的折线图见图 4。

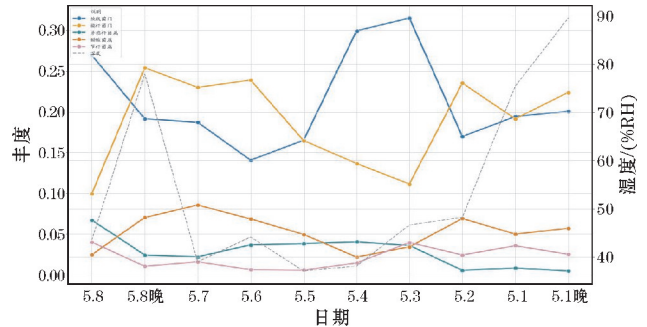


图 4 湿度对微生物丰度影响的折线图

2.3 时间节律

在对根系微生物与时间的数据分析时,需要通过已有数据来证明根系微生物的分布存在时间节律。使用拟合曲线公式,将一系列的数据拟成平滑的曲线,以便观察两组数据之间的内在联系,了解数据之间的变化趋势,更好地把握实际现象。在一些复杂的数据模型中,数据维度很多,数据之间的关系很复杂,可能会用到深度学习的算法。但是在一些简单的数据模型中,数据之间有很明显的相关性,就可以使用简单的曲线拟合来预测未来的数据。使用拟合曲线公式,将 5 月 1-8 日的微生物丰度数据拟合成曲线图,观察微生物丰度是否存在时间节律关系。微生物与时间的拟合曲线图见图 5。

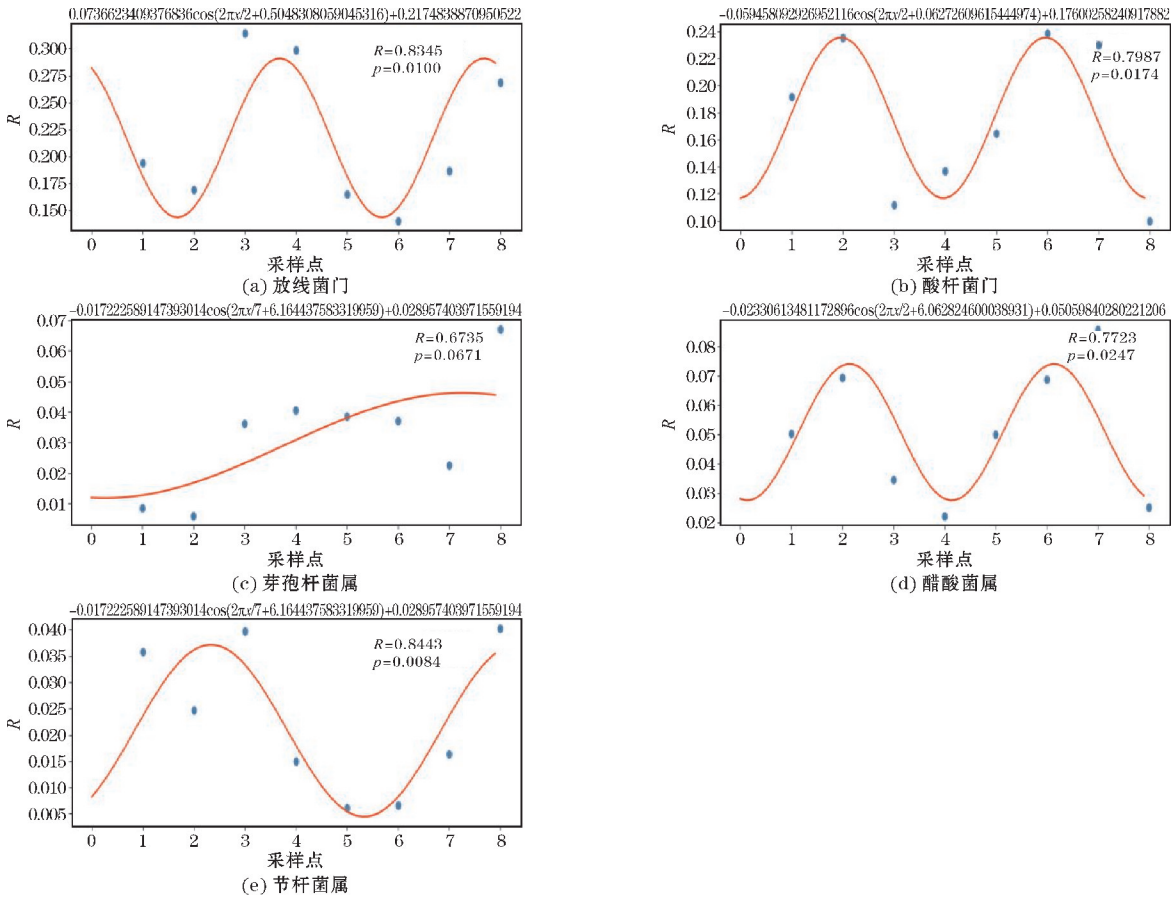


图 5 微生物与时间的拟合曲线图

数据拟合后的效果由两个参数来衡量:一个是 R ($0 \sim 1$, 越大相关性越高), 另一个是 p 值 (< 0.05 代表存在节律性)。假如一次拟合后, 数据波动大幅下降, 就可以说这个拟合可以很好地解释数据趋势, 而这个数据波动下降的比例就是 R^2 。最小二乘法的基本思想是让拟合后的数据点同原数据之间的残差平方和最小, 而 R 的计算是根据拟合前后的残差平方和的求根计算出来的。 p 值是事件的差异概率: 当前事件发生的概率、同当前事件发生概率相同的事件概率以及小于当前事件发生概率的事件概率。若 p 值 < 0.05 , 是统计学上的小概率事件, 所以不太可能是偶尔发生的随机事件, 而是拟合有统计学意义, 代表存在节律性。从微生物与时间的拟合曲线结果来看, R 均在 $0 \sim 1$, 且相关性很高。并且, 5 组拟合曲线中有 4 组 p 值 < 0.05 , 代表监测的根系微生物在这 8 d 是存在时间节律的。

3 讨论与结论

气象因子对魔芋套作生长的影响体现在风速、土壤温度和湿度等多个方面, 这些因素的平衡至关重要。不同根系微生物类群对作物生长产生的影响也各不相同, 微生物的抗干旱、解磷、增强植物抵御病原菌等一系列特性, 对植物的生长和发育起到了积极的作用。实验发现, 土壤温度湿度超出植物生长的适宜范围, 会影响芽孢杆菌与节杆菌等有益菌在土壤中的丰度占比, 进而影响魔芋套作等植物的生长发育^[11-13]。并通过拟合曲线证明, 在作物生长发育过程中, 根系微生物的丰度分布有明显的时间节律, 表现出规律性的变化。

因此, 在进行植物栽培抚育时, 可以根据植物的需要, 提供适宜的环境条件, 进而调控根系中的微生物群落中有益菌的丰度, 创造一个优质的生长环境^[14-15]。比如, 在魔芋生产上, 通过开沟排湿与高厢垄作等农事操作, 保持田间通透性, 降低田间湿度, 可以有效减少有害微生物胡萝卜软腐欧文氏菌, 增加有益微生物芽孢杆菌与节杆菌的丰度, 降低魔芋软腐病发生风险, 实现安全种植。微生物与气象因子的协同作用机制非常复杂且多元化, 进一步研究深化对该机制的认识, 有助于更好地了解生态系统和环境的变化。未来的研究还需要探讨微生物对于环境的适应性机制, 以及它们适应变化和干扰的可塑性机制。通过对微生物与气象因子协同作用的研究, 能够更好地揭示和保护生态系统的运行机制, 实现可持续发展。

参考文献:

- [1] 陈娜. 魔芋、玉米间作对根际土壤中微生物的影响初探[J]. 南方农业, 2022, 16(24): 13-16.
- [2] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, et al. Microbial diversity and soil functions [J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 655-670.
- [3] 谢婉玉, 陈娜, 王永明, 等. 秸秆还田种类对稻田 N_{20} 排放及硝化反硝化微生物的影响[J]. 土壤, 2022, 54(4): 769-778.
- [4] Liu C, Zhao D, Ma W, et al. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [5] 史功赋, 赵小庆, 方静, 等. 土壤微生物在植物生长发育中的作用及应用前景[J]. 北方农业学报, 2019, 47(4): 108-114.
- [6] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. 土壤肥料, 2001(3): 7-11.
- [7] Jin T, Wang Y, Huang Y Y, et al. Taxonomic structure and functional association of foxtail millet root microbiome[J]. GigaScience, 2017, 6(10): 1-12.
- [8] 田婧, 李邵, 马宁, 等. 植物根际促生菌作用机理研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(10): 1-2.
- [9] Compant S, Clement C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo and endo sphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010, 42(5): 669-678.
- [10] Sumayo M, Hahm M S, Ghim S Y. Determinants of plant growth-promoting *Ochrobactrum lupini* KUDC1013 involved in induction of systemic resistance against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in tobacco leaves[J]. Plant Pathology Journal, 2013, 29(2): 174-181.
- [11] Huang M Y, Gu W J, Zhan F B, et al. Identification and fermentation of antagonistic bacterium against *Ralstonia solanacearum* [J]. Microbiology China, 2011, 38(2): 214-220.
- [12] Wei Z, Yang X M, Yin S X, et al. Efficacy of *Bacillus*-fortified organic fertilizer in controlling bacterial wilt of tomato in the field[J]. Applied

Soil Ecology,2011,48(2):152–159.

[13] Hu W M,Samac D,Liu X Z,et al. Microbialcommunities in the cysts of soybean cyst nematode affected by tillage and biocide in a suppressive soil [J]. Applied Soil Ecology,2017,119:396–406.

[14] Wu K, Yuan S F, Wang L L, et al. Effects of bioorganic fertilizer plus soil amendment on the-

control of tobacco bacterial wilt and composition of soil bacterial communities [J]. Biology and Fertility of Soils,2014,50(6):961–971.

[15] Mark M. Manipulation of rhizosphere bacterial communities to induce suppressive soils [J]. Journal of Nematology,2007,39(3):213–220.

A Study on the Joint Effect of Meteorological Factors and Root Microorganisms on Konjac Set Crops

LI Yonghong¹, WU Yang¹, LU Qiuyun¹, JIANG Xuefeng¹, ZHOU Yali²

(1. College of Electronic Engineering, Chengdu University of Information Technology,Chengdu 610225,China;2. Meigu County Bureau of Education,Sports,Science and Technology,Liangshan Yi Autonomous Prefecture,LiangShan 616457,China)

Abstract:To clarify the distribution characteristics of bacterial species and microbial diversity during the growth process of konjac and other crops, and to better study the process of crop growth in which these beneficial bacteria and meteorological factors can play a role together to effectively promote the growth of crops or inhibit the occurrence of plant diseases. Soil from konjac, pepper, and corn set crops in the main planting bases of Meigu County, Sichuan Province was collected as samples, and soil samples from 10 representative planting sites were selected as investigation and research objects for isolation and identification. The synergistic effects of different meteorological factors and root microorganisms were investigated, and it was proved by fitting curves that the abundance distribution of root microorganisms in the growth and development process of konjac intercropping had an obvious time rhythm and showed regular changes. Utilizing a series of properties of microorganisms, such as anti-drought, phosphorus solubilization, and enhancement of plant resistance to pathogenic bacteria, we provide a theoretical basis for the discovery that suitable wind speed, soil temperature and soil moisture can regulate the microbial community in the root system.

Keywords:beneficial bacteria;meteorological factors;root microorganisms;pace of time