

研究报告

土壤熏蒸剂棉隆和生物菌肥对草莓连作土壤真菌多样性的影响

张庆华[△] 曾祥国[△] 韩永超 向发云 过聪 陈丰滢 顾玉成*

(湖北省农业科学院经济作物研究所 湖北 武汉 430064)

摘要:【背景】草莓是我国和世界上重要的园艺作物，主要采用一年一栽的栽培模式，导致连作现象普遍存在，其中真菌性病害引起的土传病害是草莓栽培中面临的一个主要问题。【目的】以草莓连作土壤为材料，探讨土壤熏蒸剂棉隆加生物菌肥对草莓连作土壤微生物真菌多样性的影响，以为草莓连作障碍治理提供理论依据。【方法】分别采集棉隆消毒前(A)、棉隆消毒后(B)、棉隆消毒后未添加生物菌肥(C1)和添加生物菌肥(C2)初花期的草莓连作土壤(或根际土壤)样本，提取DNA，通过PCR扩增建立文库，利用HiSeq 2500平台Illumina第二代高通量测序技术并结合相关生物信息学，分析土壤真菌ITS1区域的丰富度、多样性以及群落结构。【结果】从4个不同处理草莓连作土壤样本中获得了723个真菌OTU (Operational taxonomic unit)，其中子囊菌门和担子菌门均为优势真菌。多样性和丰富度研究发现，棉隆处理降低草莓连作土壤微生物丰富度和多样性；添加生物菌肥增加根际土壤生物丰富度，并降低其多样性。从门水平看，棉隆处理担子菌门真菌比例减少，子囊菌门真菌比例增加；添加生物菌肥处理两者比例均有增加。优势真菌群落分析表明棉隆消毒减少了枝顶孢属、曲霉属、管柄囊霉属、镰刀菌属、踝节菌属、链格孢属等真菌比例，增加了马拉色氏霉菌属、线孢虫草菌属、侧耳属等真菌比例；添加生物菌肥减少了管柄囊霉属、镰刀菌属、被孢菌属、轮枝菌属、隔指孢属等真菌比例，增加了曲霉属、青霉菌属、踝节菌属、简单壳菌属等真菌比例。【结论】采用棉隆消毒和生物菌肥处理草莓连作土壤可降低微生物真菌群落的多样性，并减少或灭杀土壤中的大部分致病菌属，增加有益菌属，起到有效防治草莓土传病害的作用。

关键词: 草莓，真菌，棉隆，生物菌肥

Foundation items: Agricultural Science and Technology Innovation Center Program of Hubei Province (2016-620-000-0001-0141); Competitive Nature Project of the Hubei Academy of Agricultural Sciences (2015jzxjh12); Youth Science Foundation of the Hubei Academy of Agricultural Sciences (2017NKYJJ12)

*Corresponding author: Tel: 86-27-87380926; E-mail: gych119@126.com

[△]These authors equally contributed to this work

Received: July 07, 2017; **Accepted:** November 27, 2017; **Published online** (www.cnki.net): December 07, 2017

基金项目: 湖北省农业科技创新中心资助项目(2016-620-000-0001-0141); 湖北省农业科学院竞争性计划项目(2015jzxjh12); 湖北省农业科学院青年科学基金(2017NKYJJ12)

*通信作者: Tel: 86-27-87380926; E-mail: gych119@126.com

[△]对本文贡献相同

收稿日期: 2017-07-07; 接受日期: 2017-11-27; 网络首发日期(www.cnki.net): 2017-12-07

Effects of dazomet fumigation and biological fertilizer on strawberry soil fungal diversity under replant conditions

ZHANG Qing-Hua[△] ZENG Xiang-Guo[△] HAN Yong-Chao XIANG Fa-Yun
GUO Cong CHEN Feng-Ying GU Yu-Cheng*

(Institute of Industrial Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430064, China)

Abstract: [Background] Strawberry is an important horticultural crops in our country and in the world, but mainly cultivated with annual cropping system in the strawberry area so as to cause continuous cropping phenomenon. Soil-borne disease caused by fungal disease is a major problem in strawberry cultivation. [Objective] Strawberry rhizosphere soils were used as material to explore effects of dazomet fumigation and biological fertilizer on strawberry soil fungal diversity under replant conditions, so as to provide theoretical basis for control of strawberry continuous cropping obstacle. [Methods] Replant soils before (A) or after dazomet fumigation (B) were collected, genomic DNA was extracted, and PCR amplification was made to establish libraries, as the same treatments with the soil samples at stage of flowering with dazomet fumigation (C1) or dazomet fumigation and biological fertilizer (C2). In this study, the fungal ITS1 region was sequenced by Illumina high-throughput sequencing technology on HiSeq 2500 platform, and related biological analysis was conducted to explore the changes of soil fungal abundances, diversities and structures. [Results] A total of 723 fungal OTUs were obtained from 4 strawberry rhizosphere soil samples, among them, Ascomycota and Basidiomycota were the dominant fungi. The fungal abundances and diversities of replant soils were decreased with dazomet fumigation, while the fungal abundances were increased and the fungal diversities were decreased with dazomet fumigation and biological fertilizer. At phylum level, the proportion of Basidiomycota was decreased and Ascomycota was increased with dazomet fumigation, while both of them were increased with dazomet fumigation and biological fertilizer. The analysis of dominant fungal community shows that the fungal proportions were decreased in terms of *Acremonium*, *Aspergillus*, *Funneliformis*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Alternaria* and increased in terms of *Malassezia*, *Ophiocordyceps*, *Pleurotus* with dazomet fumigation, while which were decreased in terms of *Funneliformis*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Lecanicillium*, *Dactylella* and increased in terms of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Simplicillium*. [Conclusion] In conclusion, fungal diversity was decreased, pathogenic fungals were limited and beneficial fungals were boosted with dazomet fumigation and biological fertilizer in strawberry cropping soil. Our results indicated a combination of dazomet fumigation and biological fertilizer could more effectively reduce the strawberry disease.

Keywords: Strawberry, Fungi, Dazomet, Biological fertilizer

草莓(*Fragaria×ananassa* Duch.)是蔷薇科草莓属多年生草本植物,是我国和世界上重要的园艺作物。草莓种植区主要采用一年一栽的栽培模式,由于耕地数量的限制,草莓连作现象十分普遍。连作栽培会造成植株生长发育不良,土传病害加重,产量与品质下降,给草莓生产带来巨大损失,严重阻碍了草莓产业的发展^[1],其中土传病害是草莓栽培中面临的一个主要问题^[2]。土壤消毒处理、生物菌

防治、有机肥防治等已被作为生产上控制土传病害的重要防治方法^[3]。

土壤熏蒸是生产上常用的土壤消毒方式,也是防治土传病害的重要措施^[4-6]。目前,棉隆作为一种高效、低毒、无残留的环保型广谱性综合土壤熏蒸消毒剂,已在草莓^[5]、苹果^[7]、生姜^[8]、番茄^[9]、黄瓜^[10]等作物的土传病害防治上广泛应用。棉隆施于潮湿的土壤中会分解成有毒的异硫氰酸甲酯、甲醛

和硫化氢等物质,迅速扩散至土壤颗粒间,有效地杀灭土壤中各种线虫、病原菌、地下害虫及萌发的杂草种子,从而达到清洁土壤的效果。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,主要参与腐殖质的形成、有机质和养分转化与循环等生化过程,在土壤生态系统中有着非常重要的作用。土壤微生物数量变化会直接或间接影响土壤中养分的转化^[11]。微生物菌肥是一种新型环保生物肥料,含有多种高效活性有益微生物菌剂,能改善土壤微生物生态环境,其缓解连作障碍、促进作物生长的研究已有较多报道^[12-13]。“宝地生”KS100生物菌扩培剂是一种微生物菌肥,是经过发酵萃取而获得的包含多种土壤有益菌群,含有溶磷菌、解钾菌、放线菌、抗生素、硝化菌、光合菌、曲霉菌、链霉菌、活益真菌、活性酶及多元酵素群等,为土壤活化剂、改良剂;能促进土壤微生物代谢,建立优质的土壤环境,并改善产品品质。目前已有较多关于土壤熏蒸或添加生物菌肥影响土壤中微生物菌群变化的研究报道。孙军德等研究发现氯化苦熏蒸土壤可杀灭土壤微生物,对细菌、放线菌、真菌的杀灭率均在85%以上,有效地减少土传病害的病原数量,从而降低土传病害的感染率^[14]。土壤熏蒸与微生物有机肥联用可降低连作马铃薯生育期内主要致病菌(镰刀菌)的数量^[15]。黄瓜连作土壤中添加木霉菌剂为主的土壤添加剂后,土壤微生物多样性提高,且一些有益菌木霉、青霉等数量明显增加^[16]。棉隆与其他互补性药剂混合处理还可增加对土壤真菌的控制效果。棉隆与生化黄腐酸处理茄子设施土壤,其土壤真菌的多样性和丰富度最低,抑菌效果强于单用棉隆处理,且棉隆处理可有效抑制镰孢菌^[17]。棉隆熏蒸加海藻菌肥处理可有效减轻苹果连作障碍发生,使苹果连作土壤中微生物数量降低,细菌与真菌比值和放线菌与真菌比值增加,平邑甜茶幼苗植株长势增强^[7]。

迄今为止,关于草莓棉隆处理或添加微生物菌对缓解连作障碍的研究较多,但对草莓棉隆熏蒸处理和添加微生物菌肥引起土壤微生物群落多样性变化方面的研究还未见报道。草莓土传病害主要由

真菌性病害引起,如根腐病、黄萎病、枯萎病等,在草莓定植期和结果期会导致大面积死苗,造成严重经济损失^[18-19]。因此,本研究采用MiSeq高通量测序平台(第二代测序Illumina HiSeq 2500),选择棉隆与“宝地生”KS100生物菌扩培剂处理的草莓连作土壤,对其不同处理的土壤微生物群落及组成进行分析,探讨土壤真菌群落及组成的变化与土壤连作障碍之间的关系,以期明确棉隆与“宝地生”KS100生物菌扩培剂处理对草莓土壤真菌种群多样性的影响,为解决草莓连作障碍问题提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试98%棉隆微颗粒剂为南通思壮公司生产;“宝地生”KS100生物菌扩培剂为扬州博轩水产科技有限公司生产。供试草莓品种为“晶瑶”。供试土壤为砂壤土。

1.2 主要试剂和仪器

DNA快速抽提试剂盒,生工生物工程(上海)股份有限公司;PCR试剂:10×Buffer、*Q5Taq*酶、5×High GC Enhancer、dNTPs、2×Phusion HF MM, NEB(北京)有限公司。PCR仪,德国Eppendorf公司;测序平台Illumina HiSeq 2500。

1.3 试验设计

1.3.1 棉隆消毒处理

2015年试验在湖北省农业科学院草莓塑料大棚进行。选择已收获的上茬草莓地,清理干净植株残体,灌水使土壤含水量达到50%–70%,保持3–4 d。用旋耕机深翻耕土壤30–40 cm,细碎土粒,6月10日均匀撒施98%棉隆微颗粒剂(20 kg/667 m²),并用旋耕机混匀,然后用0.08 mm以上厚度的新膜迅速覆膜,覆膜熏蒸时间为60 d。熏蒸消毒结束后揭去薄膜,翻耕30 cm深度土层,通风敞气10 d。消毒前后进行土壤取样及测定分析,土样编号消毒前为A,消毒后为B。各个土壤处理采取5点取样法,并充分混匀,4℃保存3–7 d备测,用于土壤微生物分析。

1.3.2 生物菌处理

棉隆消毒后,将生物菌肥(“宝地生”KS100生物

菌扩培剂 1–2 kg/667 m²)加一定比例的红糖和水发酵后,与商品复合肥混合作底肥施用。对照仅添加商品复合肥未添加生物菌肥。于初花期进行添加或未添加生物菌肥的草莓根际土壤取样及测定分析,土样编号未添加生物菌肥为 C1,添加生物菌肥为 C2。各个土壤处理采取 5 点取样法,充分混匀后 4 °C 保存 3–7 d 备测,用于土壤微生物分析。

1.4 实验方法

1.4.1 土壤总 DNA 提取

充分混匀后的土样各取 0.50 g,使用土壤基因组 DNA 快速抽提试剂盒,并按说明书抽提并纯化土壤微生物基因组 DNA。每份样品进行 3 个重复,最终经合并后作为 PCR 扩增模板使用。

1.4.2 实验流程

提取样品总 DNA 后,设计真菌 ITS1 合成引物 (F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3', R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'),合成引物接头进行 PCR 扩增。反应体系为 50 μL: 10×Buffer 10 μL, 5 U/μL *Q5Taq* 酶 0.2 μL, 5×High GC Enhancer 10 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 1 μL, 10 μmol/L 引物各 1 μL, 样品 DNA 60 ng。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 94 °C 1 min, 50 °C 1 min, 72 °C 1 min, 15 个循环; 72 °C 7 min。将第一步 PCR 扩增产物进一步纯化后进行第二次 PCR 扩增。反应体系为 40 μL: 2×Phusion HF MM 20 μL, ddH₂O 8 μL, 10 μmol/L 引物各 1 μL, 第一步 PCR 扩增产物 10 μL。PCR 反应条件: 98 °C 30 s; 98 °C 10 s, 65 °C 30 s, 72 °C 30 s, 10 个循环; 72 °C 5 min。将第二次所有 PCR 扩增产物进行定量和均一化,形成测序文库,并将建好的文库进行文库质检,质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500 进行测序,由北京百迈克生物科技有限公司完成高通量测序和分析。

1.5 生物信息学分析方法

高通量测序原始数据经过拼接(FLASH)、质量过滤(Trimmomatic)、去除嵌合体,得到高质量的 Tags 序列。将相关序列提交 UNITE 数据库 (<http://unite.ut.ee/index.php>)进行 BLAST 同源比

对。在相似性 97%的水平上,与 RDP 数据库比对得到物种分类信息,并利用软件 Mothur 计算丰富度指数 Chao1 和 ACE,多样性指数 Simpson 和 Shannon。并用 Excel 和 SPSS 进行数据处理,利用 Excel 和 R 语言工具对样品物种组成及相对丰度统计结果绘制柱状图和 Venn 图。

2 结果与分析

2.1 土壤样品测序深度评估

4 个样品测序共获得 1 513 402 对 Reads,双端 Reads 拼接、过滤后共产生 498 277 条 Clean tags,聚类共得到 723 个 OTU (Operational taxonomic unit)。随机抽取测序序列,将抽取到的序列数与它们所能代表的 OTU 的数目构建曲线,在 97%相似度水平下,统计各样品代表物种的 OTU 数目,并利用 OTU 聚类制作各样品的稀释曲线图,由图 1 可知,真菌曲线逐渐趋向平坦,说明测序数据合理。

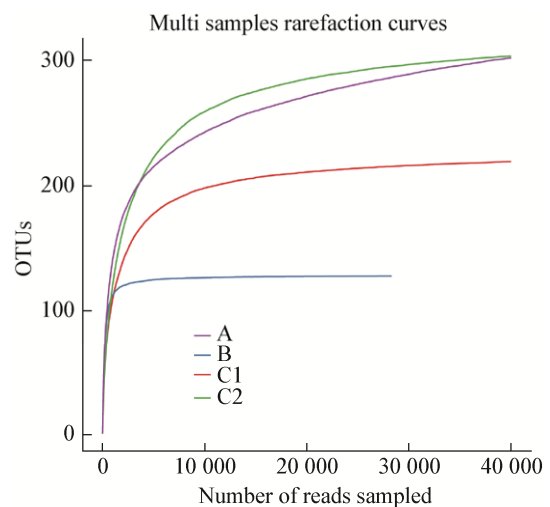


图 1 土壤样品真菌多样品稀释曲线

Figure 1 Fungal rarefaction curves of different soil samples

注: A: 棉隆消毒前土壤; B: 棉隆消毒后土壤; C1: 棉隆消毒后初花期土壤; C2: 棉隆消毒后添加生物菌肥初花期土壤。以下图中为相同表示。

Note: A: Soil before dazomet fumigation; B: Soil after dazomet fumigation; C1: Soil in the term of flowering after dazomet fumigation; C2: Soil in the term of flowering after dazomet fumigation and biological bacterial fertilizer. The same presentation is applied in the follow figures.

2.2 土壤真菌群落丰富度和多样性分析

ACE 指数和 Chao1 指数可反映群落物种丰富度, 由表 1 可知, B 土壤中的真菌 ACE 指数和 Chao1 指数较 A 分别降低了 63.27% 和 62.98%。C2 土壤中真菌 ACE 指数和 Chao1 指数较 C1 分别增加了 46.56% 和 41.11%。结果显示, 棉隆消毒降低了土壤真菌群落物种丰富度, 添加生物菌肥增加了土壤真菌群落物种丰富度。

Simpson 指数和 Shannon 指数可反映群落物种多样性, 由表 1 可知 B 土壤中的真菌 Simpson 指数和 Shannon 指数较 A 分别降低了 3.65% 和 0.87%。C2 土壤中真菌 Simpson 指数较 C1 增加了 76.66%, Shannon 指数降低了 8.10%。结果显示, 棉隆消毒和添加生物菌肥均导致土壤微生物真菌多样性产生较大差异, 棉隆消毒处理后真菌多样性降低, 特别是添加生物菌肥后初花期土壤真菌多样性进一步降低。

2.3 土壤真菌类群分析

在 97% 的相似度下, 得到每个样品的 OTU 个数, 如表 1 所示, 消毒前后土壤中分别获得 325 (A)、128 (B) 个真菌 OTU。消毒后添加生物菌肥初花期草莓根际土壤中分别获得 236 (C1)、340 (C2) 个真菌 OTU。利用 Venn 图可以直观表现各样品间 OTU 重叠情况, 并反应出不同处理样品间共有和特有的 OTU 数目。结合 OTU 所代表的物种, 可以找到不同处理土壤环境的核心微生物。从图 2 可看出, 不同处理样品间共有的真菌 OTU 数目为 43 个, 主要

表 1 不同处理土壤真菌群落丰富度和多样性指数

Table 1 OTUs' abundance and diversity of soil fungi communities of different treatments

土样编号 Soil sample No.	OTUs	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannon 指数 Shannon index
A	325	349.31	345.78	0.032 8	4.141 9
B	128	128.29	128.00	0.031 6	4.105 9
C1	236	269.92	258.67	0.060 4	3.599 9
C2	340	395.60	365.00	0.106 7	3.308 5

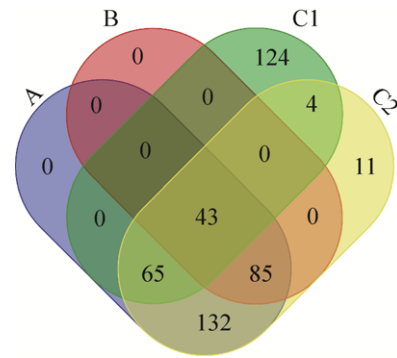


图 2 不同处理土壤真菌 Venn 图

Figure 2 Venn diagrams of fungal community of different treatments

共有物种分别属于座囊菌纲(Dothideomycetes)、散囊菌纲(Eurotiomycetes)、子囊菌纲(Sordariomycetes)、伞菌纲(Agaricomycetes)、球囊菌纲(Glomeromycetes)等。各个处理之间也存在差异, C2 土壤包含 A 土壤全部真菌 OTU, 而 A 土壤包含 B 土壤全部真菌 OTU; C1 土壤出现较多新真菌物种, C2 土壤仅有少量新真菌物种。说明棉隆消毒后对草莓连作土壤群落种类影响显著, 而添加生物菌肥可以稳定草莓连作土壤群落种类。

2.4 土壤真菌群落组成分析

从门分类水平看, 4 个不同处理草莓土壤(或根际土壤)中检测出的真菌主要来自 4 个门, 包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、接合菌门(Zygomycota)、球囊菌门(Glomeromycota) (图 3)。

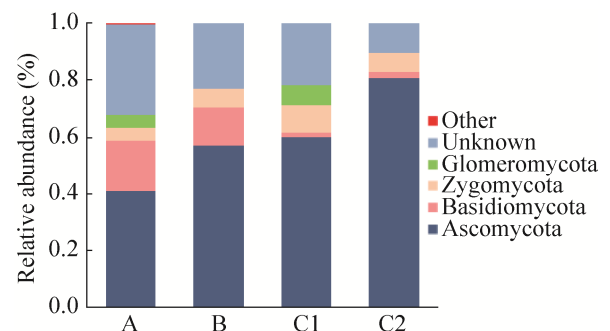


图 3 不同处理土壤微生物群落各门真菌种类组成分析

Figure 3 Composition of different phyla of soil fungi communities of different treatments

其中, 优势菌群为子囊菌门和担子菌门。在 4 个不同处理草莓土壤(或根际土壤)中, 这两种真菌分别占其真菌群落的 58.79% (A)、70.34% (B)、61.76% (C1)、82.80% (C2)。与 A 比较, B 子囊菌门明显增加, 担子菌门减少。C2 和 C1 子囊菌门较 B 增加, C2 较 C1 增加更多; 担子菌门急剧下降, C2 较 C1 下降较少。分类地位尚不明确或尚未鉴定的真菌比例在棉隆消毒后减少, 在添加生物菌肥后减少更多。以上结果显示, 棉隆消毒使草莓根际土壤的子

囊菌门真菌增加, 担子菌门真菌减少; 生物菌肥使草莓根际土壤的子囊菌门和担子菌门真菌增加。说明, 通过棉隆消毒及添加生物菌肥, 土壤(或根际土壤)微生物生态系统中真菌门类组成比例发生了显著的变化。

对以确定分类地位至属的真菌分析, 共有 77 个属, 不同处理样品土壤真菌群落的组成比例同样发生明显变化(表 2)。从不同处理样品中真菌属水平上的热图和聚类分析可以看出(图 4), A 显著高于其

表 2 不同处理土壤真菌在门和属水平上的丰度变化

Table 2 Changes in relative abundance of fungi communities at the phyla and genera level of different treatments

门 Pyla	属 Genera	丰度 Abundance (%)			
		A	B	C1	C2
子囊菌门		40.91	57.25	60.12	80.94
Ascomycota	枝顶孢属 <i>Acremonium</i>	7.02	0.46	0.53	0.09
	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	1.77	0.45	0.56	26.65
	镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	4.76	3.64	3.01	0.53
	青霉菌属 <i>Penicillium</i>	0.89	2.13	0.26	5.49
	踝节菌属 <i>Talaromyces</i>	2.68	0.73	0.12	17.33
	链格孢属 <i>Alternaria</i>	1.19	0.00	0.02	0.10
	轮枝菌属 <i>Lecanicillium</i>	0.36	0.00	9.17	1.79
	简单壳菌属 <i>Simplicillium</i>	0.26	0.00	0.56	2.61
	隔指孢属 <i>Dactylella</i>	0.00	0.00	6.01	0.03
	线孢虫草菌属 <i>Ophiocordyceps</i>	0.00	1.48	0.00	0.00
	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	0.07	0.73	0.00	0.00
	小戴卫霉属 <i>Davidiella</i>	0.04	0.34	0.00	0.00
	翅枝孢霉属 <i>Rachicladosporium</i>	0.03	0.76	0.01	0.00
	类树枝绿壳属 <i>Ramichloridium</i>	0.00	0.49	0.00	0.00
	树粉孢属 <i>Oidiodendron</i>	0.00	0.00	0.00	0.05
	假散囊菌属 <i>Pseudeurotium</i>	0.04	0.21	0.06	0.06
	假裸囊菌属 <i>Pseudogymnoascus</i>	0.00	0.24	0.02	0.12
	异茎点霉属 <i>Paraphoma</i>	0.00	0.30	0.00	0.05
	黑团孢霉属 <i>Periconia</i>	0.60	0.00	0.03	0.01
	茎点霉属 <i>Phoma</i>	0.27	0.53	0.35	0.08
	壳多孢属 <i>Stagonospora</i>	0.02	0.00	0.00	0.05
	小球腔菌属 <i>Leptosphaeria</i>	0.15	0.00	0.04	0.00
	新刺毛茎点霉属 <i>Neosetophoma</i>	0.14	0.00	0.15	0.08
	线孢小球腔菌属 <i>Ophiosphaerella</i>	0.00	0.34	0.00	0.01
	弯孢属 <i>Curvularia</i>	0.24	0.00	0.00	0.15
	杯梗壳属 <i>Cyphellophora</i>	0.00	0.18	0.00	0.04
	毛发壳菌属 <i>Capronia</i>	0.00	0.00	0.00	0.01
	外宽皿菌属 <i>Exophiala</i>	0.00	0.00	0.00	0.07
	嗜热子囊属 <i>Thermoascus</i>	0.01	0.00	0.00	0.14
	拟青霉属 <i>Paecilomyces</i>	0.00	0.00	0.10	0.00

(待续)

(续表 2)					
	拟节霉属 <i>Arthrospis</i>	0.00	0.00	0.93	0.00
	金孢囊菌属 <i>Chrysosporium</i>	0.00	0.00	0.00	0.14
	色串孢属 <i>Torula</i>	0.48	0.00	0.00	0.05
	单囊白粉菌属 <i>Podosphaera</i>	0.00	0.00	0.15	0.00
	层杯菌属 <i>Hymenoscyphus</i>	0.04	0.47	0.00	0.02
	小毛盘菌属 <i>Cistella</i>	0.00	0.00	0.02	0.01
	泼氏盘菌属 <i>Potebniamyces</i>	0.10	0.99	0.04	0.04
	小帽孢霉属 <i>Pilidium</i>	0.64	0.00	0.18	0.07
	四枝孢菌属 <i>Tetracladium</i>	0.10	0.38	0.05	0.10
	念珠菌属 <i>Candida</i>	0.00	0.51	0.01	0.00
	毛孢壳属 <i>Coniochaeta</i>	0.00	0.00	0.00	0.06
	暗枝顶孢壳属 <i>Phaeoacremonium</i>	0.03	0.00	0.02	0.41
	螺旋聚孢霉属 <i>Clonostachys</i>	0.00	0.00	0.68	0.01
	绿僵菌属 <i>Metarhizium</i>	0.00	0.32	0.00	0.00
	普可尼亚属 <i>Pochonia</i>	0.01	0.00	0.00	0.03
	侧齿霉属 <i>Engyodontium</i>	0.00	0.00	0.00	0.06
	木霉属 <i>Trichoderma</i>	0.10	0.59	0.00	0.00
	泥赤丛壳菌属 <i>Ilyonectria</i>	0.35	0.23	0.00	0.40
	星漆孢菌属 <i>Myrothecium</i>	0.24	0.42	0.00	0.10
	单端孢霉属 <i>Trichothecium</i>	0.06	0.00	0.00	0.00
	大团囊虫草菌属 <i>Elaphocordyceps</i>	0.00	0.28	0.00	0.00
	紫尾霉属 <i>Purpureocillium</i>	0.05	0.00	0.05	0.66
	蚁丘壳菌属 <i>Myrmecridium</i>	0.00	0.00	0.06	0.07
	赛多孢子菌属 <i>Scedosporium</i>	0.00	0.00	0.02	0.00
	毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>	0.00	0.00	0.00	0.00
	腐殖霉属 <i>Humicola</i>	0.11	0.70	0.00	0.15
	柄孢壳属 <i>Zopfiella</i>	0.02	0.00	0.00	0.26
	脉孢菌属 <i>Neurospora</i>	0.00	0.25	0.00	0.01
担子菌门		17.88	13.09	1.64	1.86
Basidiomycota	马拉色氏霉属 <i>Malassezia</i>	1.74	6.38	0.85	0.66
	丝核菌属 <i>Rhizoctonia</i>	2.86	0.73	0.00	0.07
	侧耳属 <i>Pleurotus</i>	0.00	3.02	0.00	0.00
	珊瑚菌属 <i>Clavaria</i>	0.00	0.35	0.00	0.01
	湿盖伞属 <i>Hygrocybe</i>	0.01	0.00	0.03	0.16
	肉丝耳属 <i>Serendipita</i>	0.44	0.14	0.00	0.00
	掷孢酵母属 <i>Sporobolomyces</i>	0.00	0.00	0.00	0.04
	囊丝担子菌属 <i>Cystofilobasidium</i>	0.00	0.00	0.16	0.07
	古河菌属 <i>Guehomyces</i>	0.02	0.00	0.00	0.00
	隐球酵母菌属 <i>Cryptococcus</i>	0.11	0.36	0.21	0.08
	毛孢耳属 <i>Trichosporon</i>	0.00	0.00	0.00	0.04
	假酵母状菌属 <i>Pseudozyma</i>	0.18	0.00	0.08	0.08
	节担菌属 <i>Wallemia</i>	0.11	0.63	0.06	0.16
球囊菌门		4.56	0.15	6.92	0.13
Glomeromycota	管柄囊霉属 <i>Funneliformis</i>	4.56	0.15	6.53	0.04
	噬根球囊霉属 <i>Rhizophagus</i>	0.00	0.00	0.40	0.09
接合菌门		4.72	6.71	9.60	6.59
Zygomycota	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	4.72	6.71	9.60	6.59
其他 Other		31.93	22.81	21.72	10.48

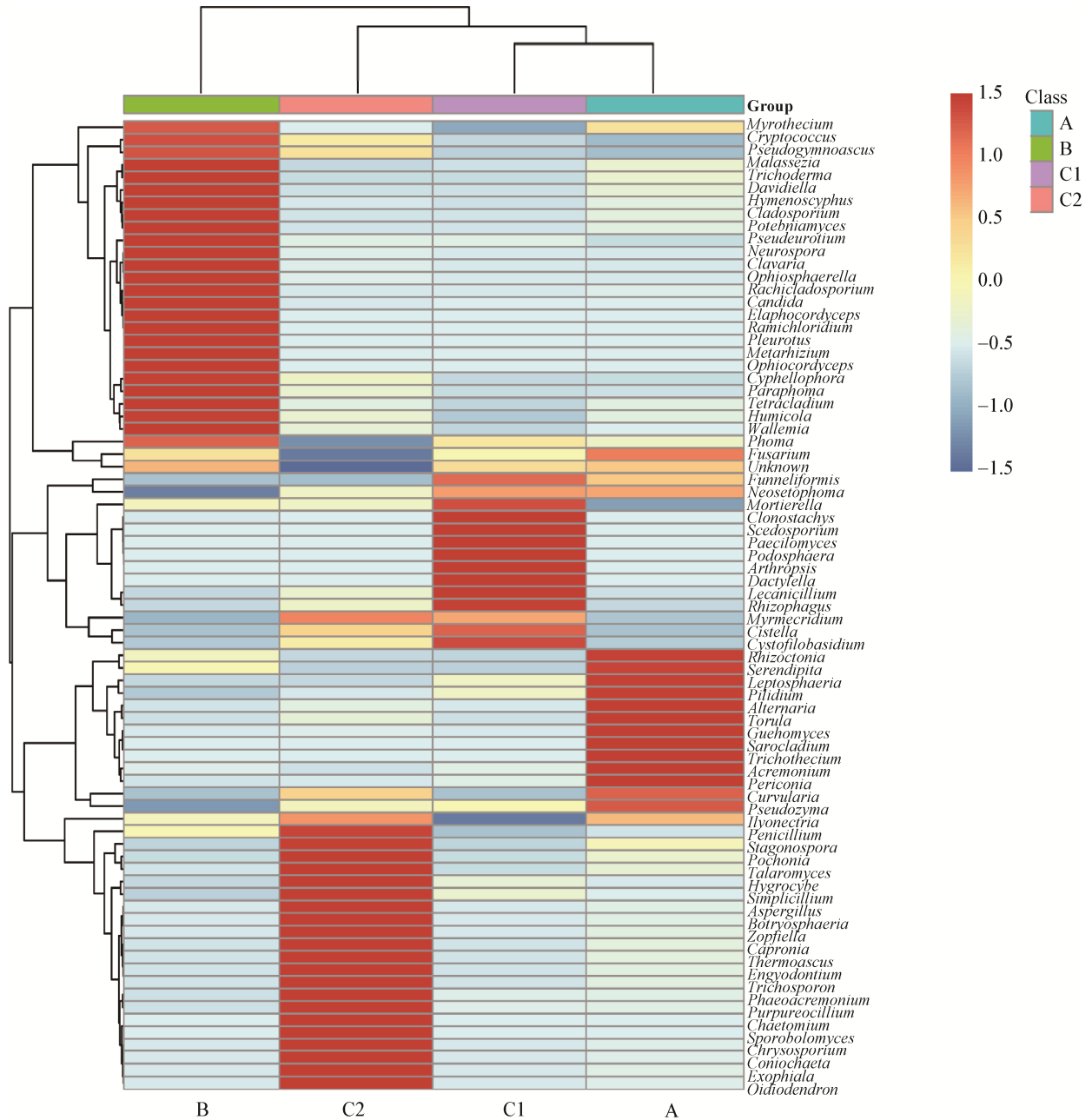


图 4 属水平上的热图和聚类树分析

Figure 4 Heatmap and clustering tree analysis of dominant genera

他处理的真菌群落有 14 个属, B 显著高于其他处理的真菌群落有 27 个属, C1 显著高于其他处理的真菌群落有 12 个属, C2 显著高于其他处理的真菌群落有 24 个属。不同处理样品中真菌群落组成可分为三类, A 与 C1 聚为第一类, C2 为第二类, B 为第三类, 说明 A 群落组成与 C1 最接近。

2.5 土壤优势真菌群落分析

按丰度>1%作为优势菌群标准, 土壤消毒前(A)、土壤消毒后(B)、消毒后未添加生物菌(C1)和消毒后添加生物菌(C2)分别有 11、10、12、12 种真菌优势菌属, 优势菌属占对应处理整个真菌群落的比例分别为 29.95%、24.97%、37.22%和 61.90%。

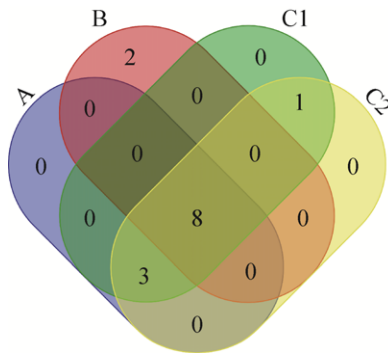


图 5 不同处理土壤优势真菌 Venn 图

Figure 5 Venn diagrams of dominant fungal community of different treatments

分析>1%优势真菌群落可知(图 5), 4 个处理含有 8 个共同真菌群落, 分别是枝顶孢属(*Acremonium*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、管柄囊霉属(*Funneliformis*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、马拉色氏霉菌属(*Malassezia*)、被孢霉属(*Mortierella*)、青霉菌属(*Penicillium*)、踝节菌属(*Talaromyces*); A、C1 和 C2 中含有 3 个共同真菌群落, 分别是链格孢属(*Alternaria*)、轮枝菌属(*Lecanicillium*)、简单壳菌属(*Simplicillium*); C1 和 C2 中共有 1 共同真菌群落, 为隔指孢属(*Dactylella*); B 独自含有 2 个真菌群落线虫草菌属(*Ophiocordyceps*)、侧耳属(*Pleurotus*)。在图 6 中, 与 A 相比, B 草莓土壤真菌群落组成发生显著改变, 其中马拉色氏霉菌属、被孢霉属、青霉菌属、线虫草属、侧耳属增加; 支顶孢属、曲霉菌属、管柄囊霉属、镰刀菌属、踝节菌属、链格孢属减少。与 C1 相比, C2 的草莓根际土壤真菌中曲霉菌属、踝节菌属、青霉菌属、简单壳菌属增加; 管柄囊霉属、赤霉菌属、被孢霉属、轮枝菌属、隔指孢属下降。结果显示, 棉隆消毒可灭杀土壤中链格孢属、轮枝菌属、简单壳菌属真菌, 并促进侧耳属和线虫草属真菌生长; 添加生物菌肥可增加曲霉菌属、踝节菌属、青霉菌属、简单壳菌属真菌, 减少管柄囊霉属、被孢霉属、轮枝菌属、隔指孢属真菌。

3 讨论与结论

目前, 作物连作障碍发生的原因主要来自土壤

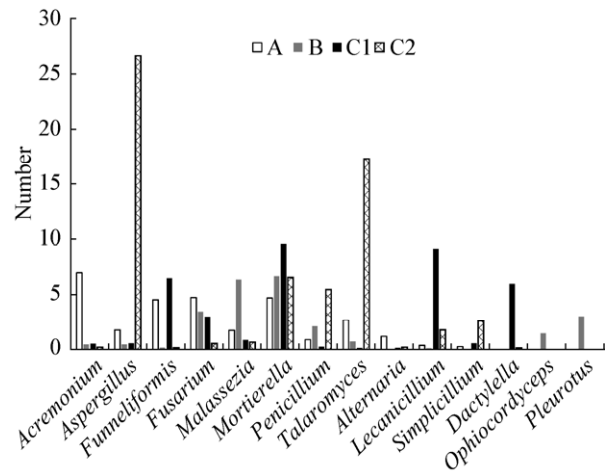


图 6 不同处理土壤优势真菌群落种类组成分析

Figure 6 Composition of dominant fungal community of different treatments

中的病原菌、自毒物质等, 其中微生物种群结构失衡是导致土壤质量下降和作物减产的重要原因之一^[20-21]。在健康的土壤生态系统中, 有益微生物和有害微生物的种类和数量会保持一种动态平衡状态, 同一种作物长期连作将导致某些特定微生物富集, 土传病原菌丰度增加, 同时有益菌种类和丰度减少^[22-23]。因此, 合理有效抑制土传病原菌并重建土壤健康的微生物区系是目前连作障碍研究中需要解决的重要科学问题。

本研究发现, 棉隆消毒后土壤真菌群落丰度及其生物多样性均下降, 真菌群落组成也发生明显变化, 如镰刀菌属、枝顶孢属、链格孢属丰度下降。研究报道, 镰刀菌属真菌是植物最重要的致病菌之一, 会使植物萎蔫, 引发根腐等腐烂病, 严重减产, 造成重大的经济损失^[24]。从草莓根腐病和枯萎病中已分离鉴定的病原真菌就有尖孢镰刀菌^[25-26]。枝顶孢属真菌会引起草莓死秧, 是草莓根腐病的主要病原菌之一^[27]。链格孢属真菌广泛分布于土壤和腐烂有机物中, 兼有寄生和腐生性, 并产生多种有毒代谢产物链格毒素, 这些毒素是危害植物的主要致病因子。在草莓黑斑病中已分离到簇生链格孢

(*Alternaria fasciculata*)^[28]。棉隆消毒土壤中还检测到管柄囊霉属、踝节菌属真菌比例也大幅度下降。据报道, 管柄囊霉属是一类丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)真菌, 而 AM 真菌可与植物根系形成共生关系^[29-30], 接种 AM 真菌后连作草莓^[31]、西瓜^[32]、苹果^[33]的连作障碍减轻; 踝节菌属真菌是土壤或腐烂有机物中重要的一类抗生真菌, 可产生山梨酸等代谢物, 常被作为生物防治剂用于防治黄萎病、菌核病等^[34]。说明棉隆消毒可杀死或抑制草莓连作土壤中管柄囊霉属、踝节菌属等有益真菌, 这与之前的研究结果一致。熏蒸剂具有广谱性, 在杀死有害微生物的同时, 也会破坏有益微生物菌群, 从而导致微生物群落结构发生显著改变, 土壤微生物区系失衡^[35-36]。同时我们也注意到, 棉隆消毒后未加生物菌肥的初花期草莓根际土壤(C1)中微生物真菌群落丰度较消毒后土壤(B)显著增加, 逐渐接近消毒前(A), 且轮枝菌属、镰刀菌属、链格孢属等含量增加。轮枝菌属大丽轮枝菌(*Verticilliumdahliae*)和黑白轮枝菌(*Valboatum*)会引起多种作物的黄萎病, 在我国常作为进境植物检疫对象^[37]; 镰刀菌属和链格孢属也是引起植物破坏性病害的主要病原真菌^[24,28]。说明棉隆消毒虽然能在短期内大量抑制或杀死土壤中的致病微生物, 但其灭杀效果的持效性较短, 因此仅采用棉隆熏蒸并不能有效地解决草莓连作障碍。

有研究发现, 同一类型化学熏蒸剂连续频繁地在同一地块上使用, 其对土传病害的控制作用会显著下降^[38]。也有很多学者试图通过添加针对性的拮抗菌和其它有益生物菌肥来调节土壤微生物区系, 克服连作障碍, 但耗时长且田间效果不稳定^[39-40]。因此, 国内外学者已经尝试采用土壤消毒和生物防治技术联合使用的方式开展土传病害治理研究^[41-42]。本研究采用棉隆消毒和添加生物菌肥相结合的方式防治草莓土传病害, 发现棉隆消毒后, 添加生物菌肥的初花期草莓根际土壤(C2)中轮枝菌属、镰刀菌属含量较未添加生物菌肥的草莓初花期根际土壤(C1)减少, 踝节菌属、曲霉属、青霉菌

属、简单壳菌属含量增加, 而且添加生物菌肥的初花期草莓根际土壤(C2)中微生物菌落的组成更趋向于曲霉属、踝节菌属、被孢霉属、青霉菌属、拟青霉属等优势真菌群落, 其群落多样性也进一步下降。已有研究显示, 目前从青霉属和曲霉属中已分离出 9 种不同抗真菌肽, 且这些抗真菌肽对植物致病真菌均有明显的拮抗作用^[43-44]。简单壳菌属是一类重要的线虫病原真菌, 其代谢产物具有杀虫活性和促进作物生长的作用, 可有效防治植物病原线虫^[45]。说明添加生物菌肥能够明显调节土壤微生物群落组成, 并能抑制或灭杀致病真菌及增加有益真菌。同时我们也发现, 添加生物菌肥初花期草莓根际土壤(C2)微生物丰富度与消毒前(A)差异不大, 说明添加生物菌肥可能是仅通过调节土壤微生物的群落组成减轻土传病害, 并不会显著影响草莓种植地土壤生物群落种类。本研究中生物菌肥“宝地生”SK-100 是一种含有多种微生物的复合菌群, 添加生物菌肥的初花期草莓根际土壤(C2)中曲霉属、踝节菌属、被孢霉属、青霉菌属、拟青霉属真菌丰度明显高于未添加生物菌肥的 C1 根际土壤, 尤其是曲霉属和踝节菌属分别达到了 26.65% 和 17.33%, 但这些丰度显著增加的真菌群落在防治草莓土壤连作障碍中的作用还需后期实验进一步验证。

综上所述, 棉隆消毒能有效抑制或杀死土壤中的致病真菌, 使真菌种类大量减少; 添加生物菌肥后, 根际土壤真菌群落组成逐渐恢复, 且益生菌群增加, 致病菌群减少。这可能是由于棉隆消毒处理导致土壤处于一种暂时性的“真空”状态, 此时再将生物菌施入土壤中, 则可以促进生物菌在植物根际和土壤中定殖。有学者认为, 熏蒸可以为生防菌创造有利的土壤环境, 使其具有更强的竞争力和有机质分解利用能力; 且添加的生防菌会在植物生长初期就快速大量增殖, 其生防潜能可充分发挥^[46]。说明采用棉隆和添加生物菌肥相结合的方式可为草莓根际系微生物提供更有利的生长环境, 也为土传病害的有效防治和生物菌肥高效利用提供理论依据。

REFERENCES

- [1] Shi BS, Guo RF, Yin JF, et al. Effects of three drugs on the physiological and biochemical characters of strawberry[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24(S1): 38-41 (in Chinese)
史宝胜, 郭润芳, 尹家凤, 等. 3种防治剂对重茬大棚草莓生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(S1): 38-41
- [2] Cao KQ, Wang ST. Autotoxicity and soil sickness of strawberry (*Fragaria×ananassa*)[J]. Allelopathy Journal, 2007, 20(1): 103-114
- [3] Cota LV, Maffia LA, Mizubuti ESG, et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions[J]. Biological Control, 2008, 46(3): 515-522
- [4] Yao SR, Merwin IA, Abawi GS, et al. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(3): 587-599
- [5] Meszka B, Malusà E. Effects of soil disinfection on health status, growth and yield of strawberry stock plants[J]. Crop Protection, 2014, 63: 113-119
- [6] Yang GL, Tong J, Zhang L, et al. Effects of fumigation sterilization to potato growth and soil microorganism of the continuous cropping soils[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2012, 33(1): 36-40,56 (in Chinese)
杨桂丽, 童娟, 张丽, 等. 熏蒸灭菌对连作马铃薯生长发育及土壤微生物的影响[J]. 农业科学研究, 2012, 33(1): 36-40,56
- [7] Liu ET, Li YY, Hu YL, et al. Effects of dazomet on edaphon and growth of *Malus hupehensis* rehd. under continuous apple cropping[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(4): 847-852 (in Chinese)
刘恩太, 李园园, 胡艳丽, 等. 棉隆对苹果连作土壤微生物及平邑甜茶幼苗生长的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(4): 847-852
- [8] Yang XN, Gao DL, Han J, et al. Toxicity of dazomet and chloropicrin to soil-borne pathogens of ginger[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2011, 13(3): 331-334 (in Chinese)
杨晓楠, 高德良, 韩君, 等. 棉隆及氯化苦对几种生姜土传病原物的毒力[J]. 农药学报, 2011, 13(3): 331-334
- [9] Zhang Z, Peng DL, Huang WK, et al. Effects of nematicide treatment in combination with solarization on management of the root-knot nematodes on tomato[J]. Plant Protection, 2011, 37(3): 161-164 (in Chinese)
张卓, 彭德良, 黄文坤, 等. 土壤药剂处理结合阳光消毒防治番茄根结线虫技术评价[J]. 植物保护, 2011, 37(3): 161-164
- [10] Cao AC, Guo MX, Yan DD, et al. Effects and economic benefit analysis of control cucumber root-knot nematodes by different fumigant treatments[J]. China Vegetables, 2011, 1(22/24): 118-121 (in Chinese)
曹劫程, 郭美霞, 颜冬冬, 等. 不同熏蒸剂处理防治黄瓜根结线虫效果及经济效益分析[J]. 中国蔬菜, 2011, 1(22/24): 118-121
- [11] Zhou C, Li XB, Yang MK, et al. Dynamic change of soil microorganisms and soil nutrition at different growing stage of winter wheat[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008, 17(3): 113-116,128 (in Chinese)
周陈, 李许滨, 杨明开, 等. 冬小麦不同生育期土壤微生物及养分动态变化[J]. 西北农业学报, 2008, 17(3): 113-116,128
- [12] Yuan YJ, Hu J, Ling N, et al. Effects and mechanisms of application with different bio-organic fertilizers in controlling *Fusarium* wilt of cucumber[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(2): 372-379 (in Chinese)
袁玉娟, 胡江, 凌宁, 等. 施用不同生物有机肥对连作黄瓜枯萎病防治效果及其机理初探[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 372-379
- [13] Liu SM, Zhou DM, Yang JH, et al. Control effect of composite biological agent on *Verticillium* wilt in strawberry in fields[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2010, 26(4): 501-503 (in Chinese)
刘苏闽, 周冬梅, 杨敬辉, 等. 复合菌剂对草莓黄萎病的田间防治效果[J]. 中国生物防治, 2010, 26(4): 501-503
- [14] Sun JD, Zhao CY, Qu BC, et al. Effects of chloropicrin suffocating on soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2005, 36(2): 283-285 (in Chinese)
孙军德, 赵春燕, 曲宝成, 等. 氯化苦熏蒸土壤对微生物种群数量的影响[J]. 土壤通报, 2005, 36(2): 283-285
- [15] Liu C, Xiang L, Wang S, et al. Effects of dazomet fumigation and seaweed biologic fertilizer on the *Malus hupehensis* seedlings and soil microbial quantity under replant conditions[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(10): 1995-2002 (in Chinese)
刘超, 相立, 王森, 等. 土壤熏蒸剂棉隆加海藻菌肥对苹果连作土微生物及平邑甜茶生长的影响[J]. 园艺学报, 2016, 43(10): 1995-2002
- [16] Hao YJ, Wei J, Liu CY, et al. Effects of biological soil amendment reducing on replant diseases of cucumber[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2009, 24(4): 231-234 (in Chinese)
郝永娟, 魏军, 刘春艳, 等. 生物土壤添加剂减轻黄瓜连作障碍的微生物效应[J]. 华北农学报, 2009, 24(4): 231-234
- [17] Hu L, Yang W, Xu J, et al. Effect of dazomet and biotechnology fulvic acid treatment on fungal diversity in greenhouse soil[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2014, 45(2): 217-220 (in Chinese)
胡兰, 杨威, 徐婧, 等. 棉隆与生化黄腐酸对设施土壤真菌多样性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2014, 45(2): 217-220
- [18] Shen GH, Xue QH, Zhang J, et al. Screening, identification and biocontrol potential of antagonistic fungi against strawberry root rot and plant growth promotion[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(22): 4612-4626 (in Chinese)
申光辉, 薛泉宏, 张晶, 等. 草莓根腐病拮抗真菌筛选鉴定及其防病促生作用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(22): 4612-4626
- [19] Ma BH, Zhen WC, Cao KQ, et al. A primary study on effect of VAM fungi to strawberry and *Verticillium* wilt[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2004, 27(4): 71-73 (in Chinese)

- 马宝红, 甄文超, 曹克强, 等. VAM 真菌对草莓促生、防草莓黄萎病效应初探[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(4): 71-73
- [20] Qiao PL, Wu FZ, Zhou XG. Effects of continuous cropping on soil microbe communities and enzyme activity[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2013, 44(5): 524-530 (in Chinese)
乔蓬蕾, 吴凤芝, 周新刚. 连作对作物根际土壤微生物菌群及酶活性影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(5): 524-530
- [21] He WS. Soil problems and countermeasure in facility agriculture in China[J]. Soils, 2004, 36(3): 235-242 (in Chinese)
何文寿. 设施农业中存在的土壤障碍及其对策研究进展[J]. 土壤, 2004, 36(3): 235-242
- [22] Wu FZ, Zhao FY, Liu YY. On the reasons of continuous cropping obstacles in vegetable facility gardening[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2000, 31(3): 241-247 (in Chinese)
吴凤芝, 赵凤艳, 刘元英. 设施蔬菜连作障碍原因综合分析与防治措施[J]. 东北农业大学学报, 2000, 31(3): 241-247
- [23] Xiong W, Zhao QY, Zhao J, et al. Different continuous cropping spans significantly affect microbial community membership and structure in a vanilla-grown soil as revealed by deep pyrosequencing[J]. Microbial Ecology, 2015, 70(1): 209-218
- [24] Zhang XM. History and current research on taxonomy of the genus *Fusarium*[J]. Journal of Fungal Research, 2005, 3(2): 59-62 (in Chinese)
张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状[J]. 菌物研究, 2005, 3(2): 59-62
- [25] Zeng FC, Huang Y, Zhao YQ, et al. Biological characteristics of strawberry *Fusarium* wilt[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2006, 24(2): 156-160 (in Chinese)
曾富春, 黄云, 赵艳琴, 等. 草莓枯萎病菌的生物学特性[J]. 四川农业大学学报, 2006, 24(2): 156-160
- [26] Koike ST, Kirkpatrick SC, Gordon TR. *Fusarium* wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in California[J]. Plant Disease, 2009, 93(10): 1077
- [27] Chen Y, Wang SX, Wei YM, et al. Studies on isolation, identification and biological characteristics of pathogenic fungus strain C16-4 of strawberry root rot[J]. Journal of Fruit Science, 2012, 29(4): 638-643 (in Chinese)
陈瑶, 王树雪, 魏艳敏, 等. 草莓根腐病菌 C16-4 的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 果树学报, 2012, 29(4): 638-643
- [28] Wan ZX, Qiang S, Li YH. Study on the status quo of *Alternaria alternata* specific toxins[J]. Journal of Hubei Institute for Nationalities (Natural Sciences), 2001, 19(4): 19-22 (in Chinese)
万佐玺, 强胜, 李扬汉. 链格孢菌寄主选择性毒素的研究现状[J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2001, 19(4): 19-22
- [29] Whiteside MD, Garcia MO, Treseder KK. Amino acid uptake in arbuscular mycorrhizal plants[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47643
- [30] Robinson-Boyer L, Grzyb I, Jeffries P. Shifting the balance from qualitative to quantitative analysis of arbuscular mycorrhizal communities in field soils[J]. Fungal Ecology, 2009, 2(1): 1-9
- [31] Qi GH, Chen GL, Lv GY, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the yield and quality of strawberry grown in replanted soil[J]. Journal of Fruit Science, 2001, 18(6): 341-344 (in Chinese)
齐国辉, 陈贵林, 吕桂云, 等. 丛枝菌根真菌对重茬草莓产量和品质的影响[J]. 果树学报, 2001, 18(6): 341-344
- [32] Han YN, Bi MG, Liu RJ, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on growth and *Fusarium* wilt of watermelon seedlings in continuous cropping soils[J]. Northern Horticulture, 2013, 37(13): 150-153 (in Chinese)
韩亚楠, 毕美光, 刘润进, 等. AM 真菌对连作西瓜生长及其枯萎病的影响[J]. 北方园艺, 2013, 37(13): 150-153
- [33] Raj H, Sharma SD. Integration of soil solarization and chemical sterilization with beneficial microorganisms for the control of white root rot and growth of nursery apple[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 119(2): 126-131
- [34] Marois JJ, Fravel DR, Papavizas GC. Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere and its interaction with *Verticillium dahliae*[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1984, 16(4): 387-390
- [35] Ladd JN, Brisbane PG, Butler JHA, et al. Studies on soil fumigation—III: effects on enzyme activities, bacterial numbers and extractable ninhydrin reactive compounds[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1976, 8(4): 255-260
- [36] Jawson MD, Franzluebbers AJ, Galusha DK, et al. Soil Fumigation within monoculture and rotations: response of corn and mycorrhizae[J]. Agronomy Journal, 1993, 85(6): 1174-1180
- [37] Duan WJ, Guo LX, Zhang XL, et al. Distinction of *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum* from other allied species[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2013, 43(3): 274-285 (in Chinese)
段维军, 郭立新, 张祥林, 等. 检疫性轮枝菌及其近似种的鉴定[J]. 植物病理学报, 2013, 43(3): 274-285
- [38] Di Primo P, Gamliel A, Austerweil M, et al. Accelerated degradation of metam-sodium and dazomet in soil: characterization and consequences for pathogen control[J]. Crop Protection, 2003, 22(4): 635-646
- [39] Zhang RF, Shen QR. Characterization of the microbial flora and management to induce the disease suppressive soil[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2012, 35(5): 125-132 (in Chinese)
张瑞福, 沈其荣. 抑病型土壤的微生物区系特征及调控[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(5): 125-132
- [40] Bonanomi G, Antignani V, Capodilupo M, et al. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(2): 136-144
- [41] Ślusarski C, Pietr SJ. Combined application of dazomet and *Trichoderma asperellum* as an efficient alternative to methyl bromide in controlling the soil-borne disease complex of bell pepper[J]. Crop Protection, 2009, 28(8): 668-674
- [42] Gu ZR, Cheng HB, Ma CZ, et al. The multiplication of *Bacillus subtilis* G3^{str} in the soil fumigated with organic-sulfur fumigant and its inhibition against phytopathogenic fungi[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2006, 22(3): 202-206 (in Chinese)

- 顾真荣, 程洪斌, 马承铸, 等. 枯草芽孢杆菌 G3sm 菌株在有机硫熏蒸土壤中的繁殖及其对病原真菌的抑制作用[J]. 中国生物防治学报, 2006, 22(3): 202-206
- [43] Kovács L, Virágh M, Takó M, et al. Isolation and characterization of *Neosartorya fischeri* antifungal protein (NFAP)[J]. Peptides, 2011, 32(8): 1724-1731
- [44] Skouri-Gargouri H, Ali MB, Gargouri A. Molecular cloning, structural analysis and modelling of the AcAFP antifungal peptide from *Aspergillus clavatus*[J]. Peptides, 2009, 30(10): 1798-1804
- [45] Zhao D, Liu B, Wang YY, et al. Screening for nematicidal activities of *Beauveria bassiana* and associated fungus using culture filtrate[J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7(11): 974-978
- [46] de Cal A, Martinez-Treceño A, Lopez-Aranda JM, et al. Chemical alternatives to methyl bromide in Spanish strawberry nurseries[J]. Plant Disease, 2004, 88(2): 210-214

2018年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(3-1)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
1	首届病毒基因组生物信息学培训班	中国微生物学会病毒学专业委员会	1月12-14日	40	山东泰安	吴莹
2	2018年全国重症休克与脓毒症学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	3月9-11日	700	广东广州	刘志锋 13711598120
3	特殊病原菌检测论坛	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	3月17-18日	100	重庆	沈定霞 13911861076
4	全国感染免疫高峰论坛及第五届四川临床微生物学术会议	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	4月14日	50	四川江油	刘诗颖
5	21世纪第六届人兽共患病病原学学术研讨会	中国微生物学会人兽共患病病原学专业委员会	4月	150	湖南岳阳	蒋毅
6	高等级病原实验室生物安全培训	中国微生物学会微生物生物安全专业委员会	4月	150	北京	贾晓娟 010-64806013
7	病原微生物检测技术和产业发展论坛暨生物安全培训会议	中国微生物学会微生物生物安全专业委员会	5月	500	北京	贾晓娟 010-64806013
8	第十二届中日病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	5月	300	湖北武汉	吴莹
9	The 2nd International Conference "Insects to feed the world"	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5月	400	湖北武汉	蔡珉敏 cmm114@mail.hzau.edu.cn
10	微生物与感染诊断学习班	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	5月18日	50	陕西西安	赵雅
11	第二届中国生物诊断高峰论坛	中国微生物学会生物制品专业委员会	6月	500	待定	毛群颖 18810054059
12	中日韩酱业论坛	中国微生物学会酿造分会	6月8日	150	河北保定	鲁绯
13	第七届地质微生物学研讨会	中国微生物学会地质微生物学专业委员会	6月7-9日	400	上海	侯卫国 18210227195
14	第九届传染病防控基础研究与应用技术论坛	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	6月	700	内蒙古海拉尔	吕相征 13693022236
15	中-日-韩酶工程学术会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	6月30日-7月2日	200	日本京都	欧阳浩森 010-64807420