



## 研究报告

## 枯草芽孢杆菌 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物对棉田土壤真菌多样性的影响

谢尔瓦尼木·阿不都艾尼<sup>Δ1</sup> 海孜尼姑力·努尔<sup>Δ1</sup> 赵歉歉<sup>1</sup> 李淑婷<sup>1</sup> 刘佳奇<sup>1</sup>  
赵和平<sup>2</sup> 赵惠新<sup>\*1</sup>

1 新疆师范大学生命科学学院 干旱区植物逆境生物学实验室 新疆 乌鲁木齐 830054

2 北京师范大学生命科学学院 抗性基因资源与分子发育北京市重点实验室 北京 100875

**摘要:**【背景】目前利用拮抗菌进行作物病害防治的研究较多,但拮抗菌次生代谢产物如何影响棉花根际土壤微生物群落相关的研究较少。【目的】探讨枯草芽孢杆菌 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物对棉田土壤真菌多样性的影响,为利用枯草芽孢杆菌 J-15 及其次生代谢产物防治棉花黄萎病的土壤微生物生态安全进行评估。【方法】以新疆北部玛纳斯地区棉田为土壤采样点,随机选取 10 个点进行采样后混合,经枯草芽孢杆菌 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物处理一定时间后,提取土样总 DNA,利用 Illumina HiSeq 高通量技术,对样品中真菌 ITS1-ITS2 区进行高通量测序,分析 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物处理对土样真菌多样性的影响。【结果】在 97%相似度水平下,处理 10、30 d 后,样品中真菌的 OTU 数量、Chao1 和 ACE 丰度指数均分别高于相同时间放置的未处理的对照组,而 Simpson 指数低于其对照组。从群落组成分析来看,与对照组相比,受 J-15 次生代谢产物处理的土壤样品,子囊菌门(*Ascomycota*)的盘菌属(*Tricharina*)和被孢霉门(*Mortierellomycota*)的被孢霉属(*Mortierella*)等优势真菌相对丰度提高,而丰度高于 1%的 2 类病原真菌轮枝孢属(*Verticillium*)、镰孢霉属(*Fusarium*)的丰度显著降低。【结论】J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物对棉田土壤真菌群落及丰度有显著影响,但不改变影响农业生产的土壤真菌群落的结构。

**关键词:** 枯草芽孢杆菌 J-15, 代谢产物, 抗大丽轮枝菌, 棉田土壤, 真菌多样性及丰度

**Foundation items:** Open Project of Key Laboratory in Xinjiang Uygur Autonomous Region (2020D0410); Teaching Research and Reform Project of Xinjiang Normal University (DJG2019-14); National Natural Science Foundation of China (U1703112); Research Projects of Universities in Xinjiang Uygur Autonomous Region (XJEDU20211023)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-991-4332417; E-mail: zhaohuixin101@sina.com

<sup>Δ</sup>These authors contributed equally to this work

**Received:** 19-09-2020; **Accepted:** 02-12-2020; **Published online:** 25-02-2021

**基金项目:** 新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2020D0410); 新疆师范大学教学研究与改革项目(DJG2019-14); 国家自然科学基金联合项目(U1703112); 新疆维吾尔自治区高校科研计划项目(XJEDU20211023)

**\*通信作者:** Tel: 0991-4332417; E-mail: zhaohuixin101@sina.com

<sup>Δ</sup>对本文贡献相同

**收稿日期:** 2020-09-19; **接受日期:** 2020-12-02; **网络首发日期:** 2021-02-25

## Effects of *Bacillus subtilis* J-15 secondary metabolites against *Verticillium dahliae* on diversity of soil fungi

Xieerwanimu·Abuduaini<sup>Δ1</sup> Haiziniguli·Nuer<sup>Δ1</sup> ZHAO Qianqian<sup>1</sup> LI Shuting<sup>1</sup>  
LIU Jiaqi<sup>1</sup> ZHAO Heping<sup>2</sup> ZHAO Huixin<sup>\*1</sup>

1 Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi, Xinjiang 830054, China

2 Beijing Key Laboratory of Gene Resource and Molecular Development, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

**Abstract: [Background]** There are many studies on the use of antagonistic bacteria to control crop diseases, but there are few studies on the effects of secondary metabolites of antagonistic bacteria on cotton rhizosphere soil microbial community. **[Objective]** To investigate the effects of *Verticillium dahliae* resistant metabolites of *Bacillus subtilis* J-15 on the diversity of soil fungi in cotton fields, and to evaluate the ecological security of soil microorganisms for controlling *Verticillium* wilt of cotton with *Bacillus subtilis* J-15 and its secondary metabolites. **[Methods]** The cotton field in Manas area of Northern Xinjiang was selected as the soil sampling point, and 10 sampling points were randomly selected for mixing. After treated with the substance that secondary metabolites of *Bacillus subtilis* J-15 against *Verticillium dahliae* for a certain time, the total DNA of soil sample was extracted, and then the ITS1–ITS2 region of fungi in the samples was used to sequence by Illumina HiSeq high-throughput technology, and the effects of the secondary metabolites of *Bacillus subtilis* J-15 against *Verticillium dahliae* on the diversity of soil fungi were analyzed. **[Results]** At the 97% similarity level, the OTU number, Chao1 and ACE abundance index of fungi in the samples after 10 and 30 d of treatment were higher than those of the untreated control group at the same time, while Simpson index was significantly lower than that of the control group. From the community composition analysis, compared with the control group, the relative abundance of dominant fungi in *Ascomycota* and *Mortierellomycota*, such as *Mortierella* and *Tricharina*, was significantly increased in soil samples treated with secondary metabolites of J-15, while the abundance of *Verticillium* and *Fusarium*, which were higher than 1%, were significantly lower. **[Conclusion]** Secondary metabolites of J-15 resistant to *Verticillium dahliae* had significant effect on soil fungal community and abundance in farmland, but did not change the structure of soil fungal community affecting agricultural production.

**Keywords:** *Bacillus subtilis* J-15, metabolites, against *Verticillium dahliae*, cotton soil, fungal diversity and abundance

新疆是我国最大的棉花种植区,棉花区位优势明显,年产量占全国六成以上。由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)引起的棉花黄萎病是新疆棉花生产上最具破坏性的土传病害之一<sup>[1]</sup>。目前,我国对棉花黄萎病的防治主要包括培育抗性品种、轮作倒茬、化学防治和生物防治<sup>[2-3]</sup>。针对土传病害的生物防治主要就是利用自然界中的有益微生物来防治各种病原微生物,其中在棉花黄萎病防治上应用较多的是芽孢杆菌、假单胞菌和木霉等<sup>[4-6]</sup>。

真菌是土壤微生物的重要组成部分,其群落结构的变化能够反映土壤微生态的状态及变化趋势<sup>[7]</sup>。近年来,农药、化肥等对农田土壤微生物群落结构及多样性影响的研究较多<sup>[8-9]</sup>,也有研究报道表明有些抗植物病原菌的生防菌及其代谢产物能够影响土壤微生物生态<sup>[10-17]</sup>。

前期研究发现,来源于新疆棉田土壤的枯草芽孢杆菌 J-15 发酵产物对实验室盆栽棉花黄萎病有良好的防治作用,平板对峙实验表明其大丽轮枝菌拮抗作用很强<sup>[18]</sup>。然而枯草芽孢杆菌 J-15 及其发

酵产物施入土壤后是否会对土壤中微生物群落结构及多样性有影响, 需要进一步研究。本文以分离于棉花根际土壤、对大丽轮枝菌有高效拮抗作用的枯草芽孢杆菌 J-15 次生代谢产物为材料, 在实验室模拟田间条件, 对棉田土壤进行处理, 采用高通量测序技术研究该代谢物对土壤真菌多样性和丰度的影响, 并分析其对大丽轮枝菌等几种病原真菌、相对丰度大于 1% 的毛壳(菌)属和被孢霉属等有益真菌的影响, 以期为开发利用枯草芽孢杆菌 J-15 及其抗真菌次生代谢产物奠定基础, 为其对土壤微生物生态的安全性评价提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试菌株及抗大丽轮枝菌次生代谢产物的制备

枯草芽孢杆菌 J-15: 新疆师范大学生物化学与分子生物学实验室从新疆和硕棉田棉花根际土壤分离、纯化、鉴定、保存的菌株<sup>[18]</sup>。

参照赵君洁<sup>[19]</sup>活性物质提取方法: 挑取枯草芽孢杆菌 J-15 单菌落接种于液体牛肉膏蛋白胨培养基中, 37 °C、180 r/min 振荡培养 18 h 后, 采用抽滤法去除菌体, 无菌发酵液中加盐酸调 pH 为 2.0, 置于 4 °C 处理 10 h, 12 000 r/min 离心 15 min 后取沉淀进行抗真菌活性检测, 作为枯草芽孢杆菌 J-15 抗真菌次生代谢产物(Secondary Metabolites of *Bacillus subtilis* J-15, SMs), 冷冻干燥备用。以蒸馏水为溶剂, 配制 0.3 mg/mL SMs 溶液备用, 该浓度相当于原发酵液中次生代谢产物的浓度。

#### 1.1.2 土壤样品的采集与处理

于 2017 年 3 月底在新疆玛纳斯棉田(2016 年种植棉花)采集土样。随机选取 10 个采样点, 避开棉花根际, 采集 5–20 cm 土层土壤。采样后将各样品混合、研磨、过 20 目筛网, 备用。参照赵勇等<sup>[20]</sup>的方法, 取 4 个纸杯, 底部钻孔, 加 100 g 土样, 采用底部吸水法添加 0.3 mg/mL SMs 溶液至土壤最大含水量, 并覆盖秸秆避免水分快速蒸

发, 在室温、黑暗静置, 分别于 0、10、30、60 d 时取样, 作为处理组, 分别编号为 SMs-0、SMs-10、SMs-30、SMs-60, 各组均设置 3 个重复; 另取相同的一组添加等量的去离子水作为对照组, 编号为 CK-0、CK-10、CK-30、CK-60, 各组均设置 3 个重复。

#### 1.1.3 主要试剂和仪器

土壤基因组提取试剂盒(Soil DNA Kit), 北京康维世纪生物科技有限公司; 2×Taq Master Mix, 天根生化科技(北京)有限公司。台式离心机, Thermo Fisher 公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司。

### 1.2 土壤样品总 DNA 的提取及高通量测序

使用 DNA 提取试剂盒并参照说明书进行总 DNA 的提取。采用琼脂糖凝胶电泳检测之后, 委托北京百迈客生物科技有限公司构建 DNA 文库, 并采用 Illumina HiSeq 2500 技术, 针对真菌的 ITS1–ITS2 区域进行高通量测序。

### 1.3 数据处理与分析

对测序结果进行 PE Reads 拼接(FLASH V1.2.7)、质量过滤(Trimmomatic V0.33)、去除嵌合体(UCHIME V4.2), 得到有效序列数据(Effective Tags)。进一步对有效序列进行聚类分析(UCLUST, V1.2.22), 在 Unite 真菌 ITS 数据库中进行比对。利用 Mothur V1.30 软件进行  $\alpha$  多样性指数分析, 包括 Chao1 丰富度估计量(Chao1 Richness Estimator)、ACE 丰富度估计量(ACE Richness Estimator)与辛普森多样性指数(Simpson Diversity Index)。针对 OTU 序列对应的物种分类信息, 利用 QIIME 在门、属分类水平上对实验组与对照组样品的微生物物种丰度及群落结构进行对比, 并利用 SPSS 软件和 SigmaPlot 12.0 软件进行数据整理和图标制作, 用 Duncan's 新复极差法进行显著性分析, 显著性水平设定为  $P < 0.05$ 。

选择相对丰度大于 1% 的属种中的病原真菌属及有益真菌属为对象, 进一步分析 SMs 处理对土壤中其丰度的影响。

2 结果与分析

2.1 测序数据统计及  $\alpha$  多样性分析

8 种处理的样品产生的原始序列质控后获得 ITS1-ITS2 区优化序列为 68 276–71 117 条,按照 97%相似性,分别聚成 155–230 个 OTU (表 1)。基于 OTU 数及相对丰度,对不同处理的土壤真菌进行多样性分析。施用 SMs 分别处理 10 d 和 30 d 后,土壤样品真菌的 OTU 数量、Chao1 指数、ACE 指数均显著高于对照组,而 Simpson 指数均分别低于对照组,表明 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物(SMs)处理棉田土壤 10–30 d 在一定程度上能提高土壤中真菌群落的丰度。

2.2 基于  $\beta$  多样性分析 SMs 处理对土壤真菌群落多样性的影响

对样本进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA),结果如图 1 所示,主成分 1 (PC1)和主成分 2 (PC2)占比分别为 46.33%和 30.02%,处理 10 d 和 30 d 时的对照组和处理组之间的相似性较低,菌群多样性差异较大;处理 0 d 和 60 d 时的对照组和处理组之间的相似性较高,菌群多样性差异较小,说明施用 SMs 处理对土壤中真菌多样性有一定的影响。

2.3 SMs 处理土壤不同时间真菌群体门水平的优势种群分析

根据各 OTU 中代表序列的物种注释结果,在门水平上对各处理样品真菌的丰度进行分析,所测土壤样品优势菌门(51.71%)均为子囊菌门(*Ascomycota*),其相对丰度在各样品中均占绝对优势。相较于对照样品,受 SMs 处理后,土壤中子囊菌门(*Ascomycota*)的丰度较对照组有提高趋势,尤其在处理 30 d 的样品中相对丰度较对照组明显提高;次优势菌(15.79%)被孢霉门(*Mortierellomycota*)的丰度受 SMs 处理后也明显上升,到了 30 d 及之后,处理组与对照组间的差异不显著;另外,SMs 处理初期对一些未知门的真菌相对丰度也有一定的影响,但处理 30 d 之后与对照组的丰度无显著性差异,说明 SMs 处理对土壤中真菌门水平上的群落结构及丰度有一定的影响(图 2)。

2.4 SMs 处理土壤不同时间真菌群体属水平的优势种群分析

在属水平上,被孢霉属(*Mortierella*)和盘菌属(*Tricharina*)在所有处理的土壤样品中相对丰度均占绝对优势。其中被孢霉属(*Mortierella*)在 SMs 处理初期的土壤中相对丰度有所上升,处理 30 d 后其

表 1 SMs 处理土壤不同时间的真菌丰度和多样性指数

Table 1 Fung abundance and diversity indexes of soil treated with SMs at different time

样品	分类单元	Chao 1 指数	ACE 指数	Simpson 指数	覆盖率
Sample	OTUs	Chao 1 index	ACE index	Simpson index	Coverage (%)
CK-0	209.00±34.83ab	227.28±4.79b	233.33±19.2b	0.06±0.002d	99.98
SMs-0	211.00±34.66ab	230.01±8.59b	232.5±2.17bc	0.06±0.002d	99.97
CK-10	155.00±4.36c	177.89±0.53e	175.7±0.47d	0.12±0.01a	99.98
SMs-10	230.00±27.49a	231.52±0.90b	240.7±1.06b	0.08±0.01bc	99.98
CK-30	174.67±9.51bc	186.50±1.28d	185.9±0.34d	0.12±0.01a	99.97
SMs-30	218.67±2.52ab	247.38±1.51a	253.2±0.96a	0.09±0.01b	99.96
CK-60	185.67±8.62abc	200.68±0.40c	220.7±0.47c	0.08±0.01bc	99.97
SMs-60	175.67±39.63bc	185.27±0.49d	186.1±0.4d	0.07±0.01cd	99.98

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ,  $n=3$ )  
Note: Different lowercases after data in the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ,  $n=3$ )

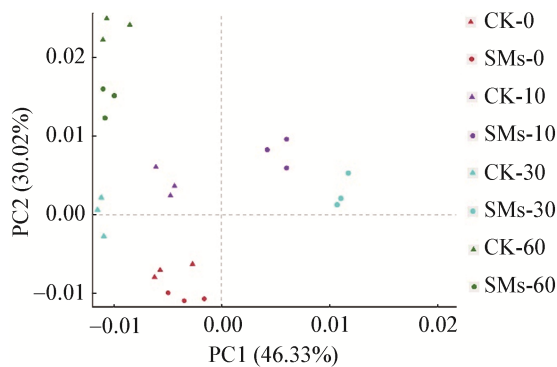
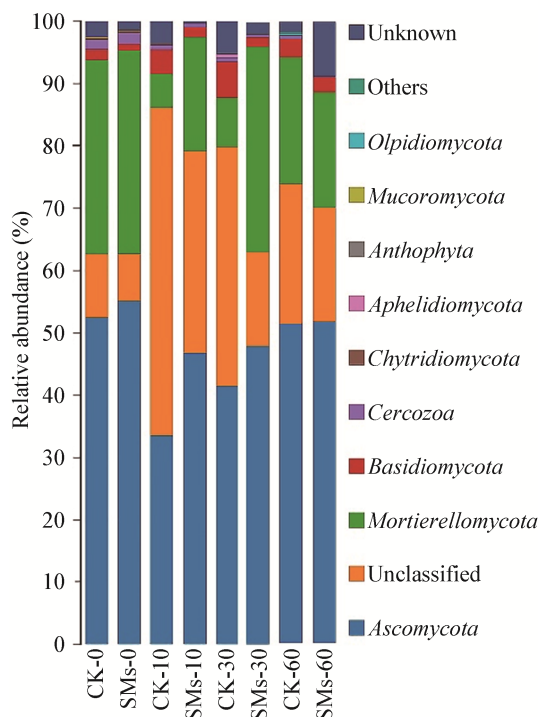
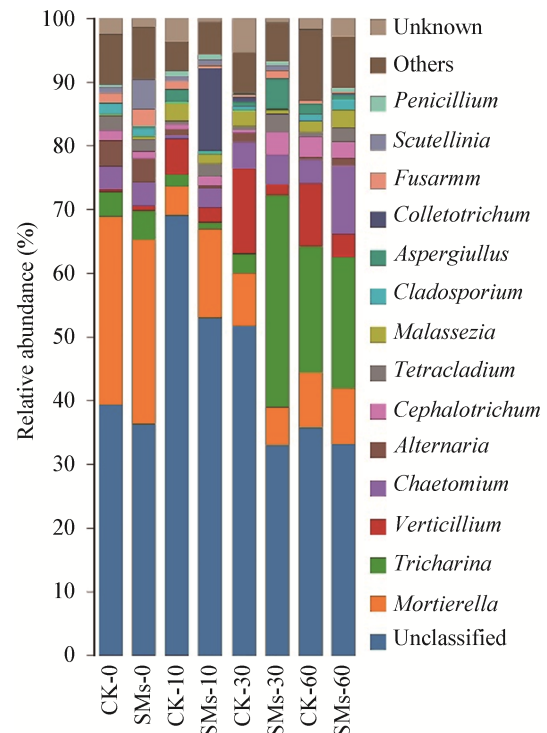


图 1 主成分(PCA)分析

Figure 1 The principle component analysis

图 2 SMs 处理土壤不同时间真菌门水平上的相对丰度  
Figure 2 Relative abundances of fungi at phylum in soil treated with SMs at different times

丰度与对照组无显著差异,这与在门水平上被孢霉门(*Mortierellomycota*)的变化趋势一致;另外,盘菌属(*Tricharina*)在处理 30 d 的土壤中相对丰度较对照组仍明显提高,表明 SMs 对盘菌属(*Tricharina*)丰度的影响是土壤子囊菌门(*Ascomycota*)丰度提高的重要原因(图 3)。

图 3 SMs 处理土壤不同时间真菌属水平上的相对丰度  
Figure 3 Relative abundances of fungi at genus in soil treated with SMs at different times

## 2.5 SMs 处理土壤不同时间真菌属水平聚类分析

选取丰度排名前 20 的属,按照上述各组样品间真菌物种丰度相似性进行聚类分析,生成聚类热图,直观反映 SMs 处理不同时间的土壤在属水平上真菌群落组成的相似性和差异性。结果如图 4 所示,横向代表不同样品,纵坐标表示丰度排名前 20 的属,从纵向比较可以看出受 SMs 处理 0 d 和 60 d 的优势属较多、复杂度较高,真菌群落的多样性较高;从横向看,除 0 d 外,各个样品的优势属各不相同,不同时间段的样品差异性较大,各取样时间段的对照组与 SMs 处理组更为相似,说明 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物处理土壤可以在一定程度上提高真菌群落的多样性和丰度。

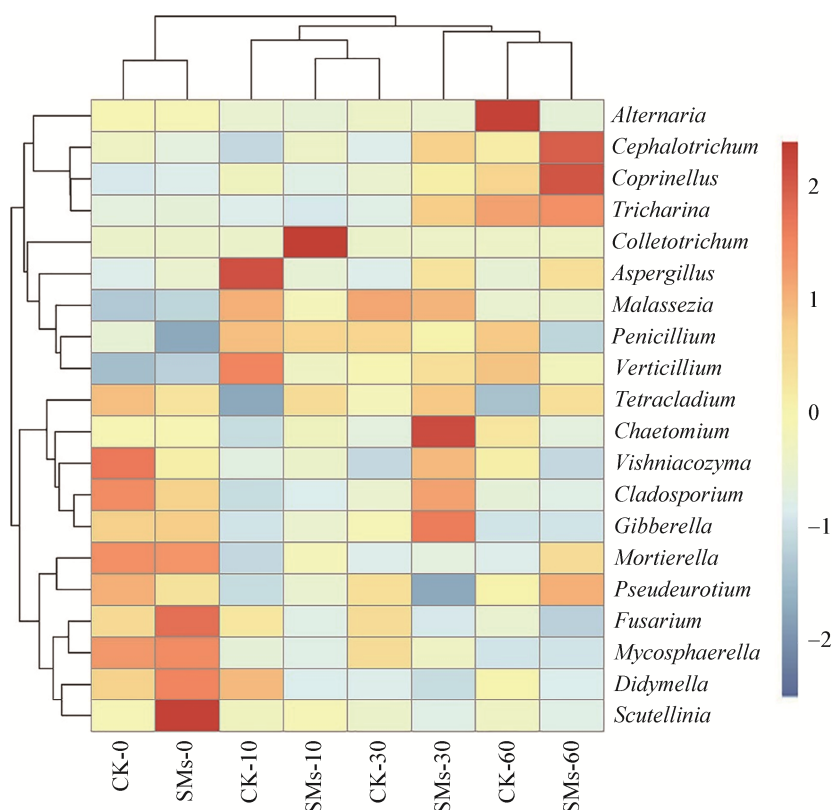


图4 SMs处理土壤不同时间真菌属水平聚类分析

Figure 4 Cluster analysis of fungi genus in soil treated with SMs at different times

## 2.6 SMs处理对土壤中重要病原真菌的影响

选择在属水平上相对丰度大于1%的几类病原真菌,分析SMs处理对其丰度的影响。结果如图5所示,与对照相比,SMs处理后链格孢属(*Alternaria*)、头束霉属(*Cephalotrichum*)、枝孢属(*Cladosporium*)、镰孢霉属(*Fusarium*)、鳞斑霉属(*Malassezia*)、轮枝孢属(*Verticillium*)等作物病原真菌的丰度均下降,其中处理10 d和30 d对枝孢属(*Cladosporium*)和鳞斑霉属(*Malassezia*)的相对丰度影响最显著;处理10 d和60 d后轮枝孢属(*Verticillium*)的相对丰度显著下降。

## 2.7 SMs处理对土壤中优势有益真菌的影响

选择在属水平上相对丰度大于1%的毛壳(菌)属(*Chaetomium*)和被孢霉属(*Mortierella*)这2种优势有益真菌属,分析SMs处理对其丰度的影响。结果如图6所示,相较于对照组,SMs处理10 d后毛壳菌属(*Chaetomium*)的相对丰度显著上升;处理10 d

后被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度有显著上升,处理时间再延长则差异不显著。

## 3 讨论与结论

众多研究表明,采用拮抗菌防治植物病害具有良好的效果<sup>[21-22]</sup>,但是不同的外来微生物对土壤微生态具有一定的影响,使用生防菌之前有必要检测其对土壤微生态的影响<sup>[11-12]</sup>。土壤微生物多样性是评价群落特征和稳定性的重要指标,能反映生态系统的功能演变及环境的变化,一般来说,微生物多样性越好,土壤生物活性越强,越有利于植物生长<sup>[20]</sup>。本研究选用的农田土壤样品,子囊菌门(*Ascomycota*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)三大类真菌的相对丰度在其真菌群里中占绝对优势,这与前人报道的子囊菌门是土壤中的优势真菌类群的结果<sup>[23-24]</sup>相一致。子囊菌门(*Ascomycota*)的真菌能够分解土壤中动植物残体,

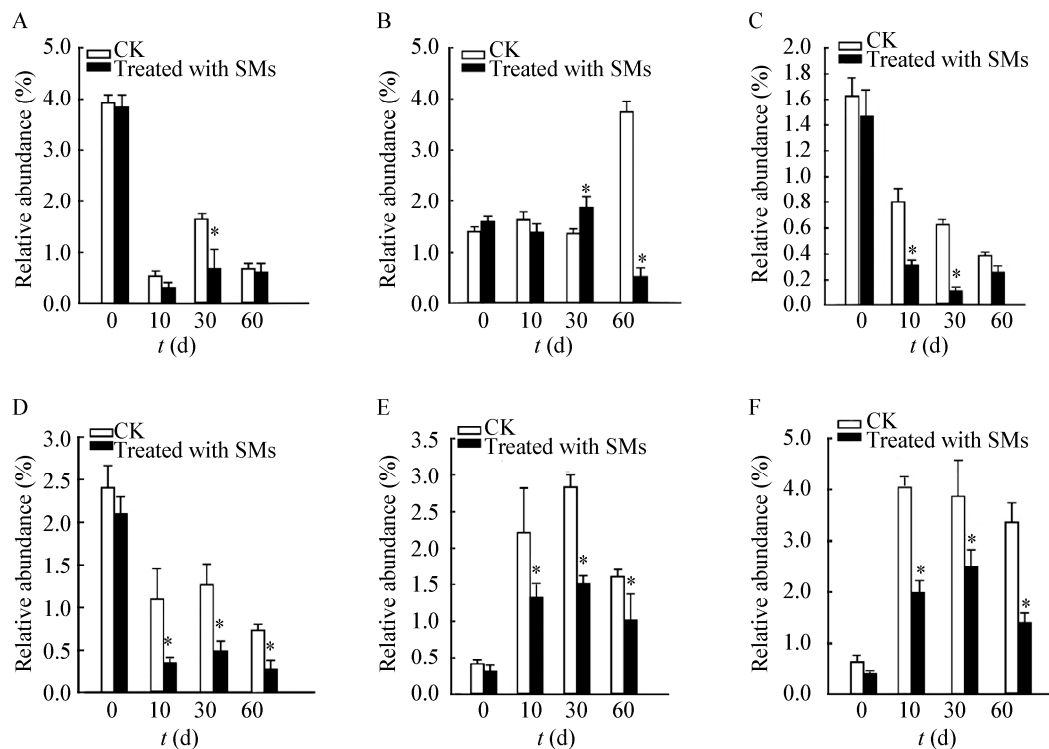


图 5 SMs 处理不同时间对土壤中病原真菌属丰度的影响

Figure 5 Effects of SMs treatment at different time on the abundance of pathogenic fungi in soil

注: A: 链格孢属; B: 头束霉; C: 枝孢属; D: 镰孢霉属; E: 鳞斑霉属; F: 轮枝孢属。\*: 相同时间的处理组与对照组间差异显著( $P < 0.05$ ,  $n=3$ )

Note: A: *Alternaria*; B: *Cephalotrichum*; C: *Cladosporium*; D: *Fusarium*; E: *Malassezia*; F: *Verticillium*. \*: There was significant difference between the treatment group and the control group at the same time ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ )

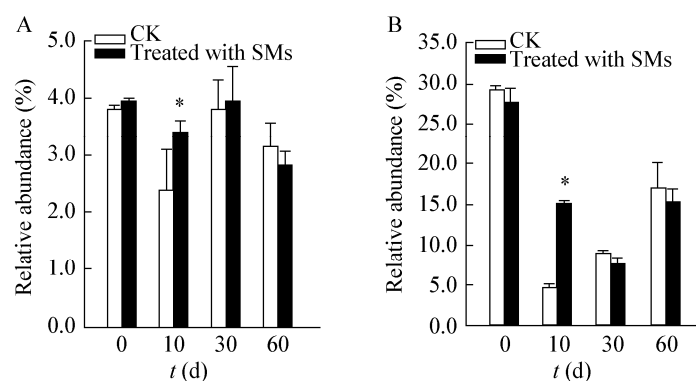


图 6 SMs 处理不同时间对土壤中 2 种优势有益真菌属丰度的影响

Figure 6 Effects of different time of SMs treatment on the abundance of two beneficial fungi in soil

注: A: 毛壳(菌)属; B: 被孢霉属。\*: 相同时间的处理组与对照组间差异显著( $P < 0.05$ ,  $n=3$ )

Note: A: *Chaetomium*; B: *Mortierella*. \*: There was significant difference between the treatment group and the control group at the same time ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ )

在土壤微生态中占有重要地位。SMs 处理土壤后, 子囊菌门(*Ascomycota*)的相对丰度有所上升; 被孢霉门(*Mortierellomycota*)的相对丰度初期有所上升, 后期影响不大; 其中盘菌属(*Tricharina*)的相对丰度在处理初期迅速提高, 可能是优势真菌子囊菌门(*Ascomycota*)的相对丰度升高的重要因素。另外, SMs 处理后, 土壤中相对丰度大于 1% 的病原真菌丰度均有下降, 其中枝孢属(*Cladosporium*)和鳞斑霉属(*Malassezia*)的相对丰度与对照组相比显著下降, 这与周晓芬等<sup>[25-26]</sup>施肥可减少致病菌的数量从而减轻土传性植物病害这一研究结果类似。毛壳菌属(*Chaetomium*)在自然界广泛存在, 并对许多植物病原菌具有抑制作用, 具有潜在的生防作用<sup>[27-28]</sup>, SMs 处理土壤 10 d 后土壤中毛壳菌属(*Chaetomium*)的相对丰度显著上升, 处理 60 d 后有所下降。被孢霉属(*Mortierella*)可以用于生产多不饱和脂肪酸<sup>[29]</sup>, 也对有些作物病原菌具有抑制作用<sup>[30]</sup>, SMs 处理土壤 10 d 后对被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度有显著上升, 这与李双喜等<sup>[31]</sup>有机肥的施用能够增加土壤中有益菌群数量的研究结果类似。

已有研究表明, 棉花黄萎病的发生能够引起其根际土壤中真菌的富集, 土壤中真菌数量、病原真菌种类均明显增加<sup>[32-33]</sup>。从本次研究结果可见, J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物 SMs 处理土壤, 虽然真菌群落的丰度显著上升, 但病原真菌枝孢属(*Cladosporium*)和鳞斑霉属(*Malassezia*)的相对丰度显著降低, 而有益真菌毛壳菌属(*Chaetomium*)和被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度显著上升。初步证明 SMs 能使土壤中优势真菌相对丰度明显上升、病原真菌相对丰度减少, 从而达到拮抗大丽轮枝菌防治棉花黄萎病的效果。

不同时间对照组样品的真菌种类及丰度也有一定差异。如门水平上的优势菌子囊菌门(*Ascomycota*)和被孢霉门(*Mortierellomycota*)在对照组 10–30 d 时的含量比 0 d 时显著下降了, 而未知菌门显著增高了; 再如, 属水平上的优势菌属被孢霉属(*Mortierella*)在对照组 10–60 d 时的含量比 0 d

时显著下降了, 盘菌属(*Tricharina*)也是先明显下降、60 d 后才显著增多。这可能是因为对照组吸水处理后土壤中原本处于休眠状态的真菌被活化而进一步繁殖, 增加了真菌群落丰度; 相当于同一时间的处理组, 优势菌子囊菌门(*Ascomycota*)含量仍显著高于所对应的对照组, 而致病菌轮枝孢属(*Verticillium*)含量则明显低于所对应的对照组。

生防菌对土壤真菌群落结构的影响存在复杂的机制, 一方面可能通过分泌拮抗活性物质或分泌益生活性物质来影响土壤微生物群落生态, 另外通过对营养素(包括铁)和生存空间竞争影响微生物丰度, 但不同的芽孢杆菌具有不同的代谢物质、机制以及不同的作用。目前, 研究发现枯草芽孢杆菌能产生的影响土壤微生物多样性的常见代谢产物包括表面活性素、伊枯草菌素、芬芥素等抗真菌活性物质, 其中最常见的是伊枯草菌素<sup>[34-35]</sup>。然而本文实验材料枯草芽孢杆菌 J-15 从基因组分析来看, 有 43 个抗菌相关的基因, 包括与生物膜形成、几丁质酶和铁载体合成等功能基因, 以及抗霉枯草菌素操纵子, 但不含有最常见的伊枯草菌素的完整操纵子<sup>[36]</sup>。推测枯草芽孢杆菌 J-15 的代谢产物对土壤微生物多样性的影响可能与抗霉枯草菌素等有关, 该代谢产物中是否存在促进一些真菌生长的组分, 以及其影响土壤微生物丰度的具体机制还需要进一步深入研究。

基于以上分析, 说明枯草芽孢杆菌 J-15 抗大丽轮枝菌次生代谢产物虽然对棉田土壤真菌群落结构及多样性具有一些影响, 但并不改变影响农业生产的土壤真菌群落结构, 为开发利用枯草芽孢杆菌 J-15 进行农业病毒防治提供了依据。

## REFERENCES

- [1] Liu HY, Wang W, Zhang RF, Wu G, Yao J. Occurrence research of cotton *Verticillium* wilt and the phylogenetic evolution analysis of *Verticillium dahliae* in Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2015, 52(1): 65-71 (in Chinese)  
刘海洋, 王伟, 张仁福, 武刚, 姚举. 新疆棉花黄萎病发生调查及病原菌系统进化分析[J]. 新疆农业科学, 2015,



- 52(1): 65-71
- [2] Zhang HT, Yu PP, H-Abudula, Xu TM, G-Mijit. Characteristics and identification of an antagonistic XJUL -6 against cotton *Verticillium* wilt[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2007, 47(6): 1084-1087 (in Chinese)  
张洪涛, 于频频, 艾山江·阿布都拉, 徐田枚, 吾甫尔·米吉提. 棉花黄萎病高效拮抗菌 XJUL-6 的筛选鉴定及其特性研究[J]. 微生物学报, 2007, 47(6): 1084-1087
- [3] Ma ZB, Yan GT, Liu GZ, Huo XN, Jia WH. Advances in control techniques of cotton *Verticillium* wilt[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2012, 41(2): 12-17 (in Chinese)  
马宗斌, 严根土, 刘桂珍, 霍晓妮, 贾文华. 棉花黄萎病防治技术研究进展[J]. 河南农业科学, 2012, 41(2): 12-17
- [4] Li SQ, Zhang N, Zhang ZH, Luo J, Shen B, Zhang RF, Shen QR. Antagonist *Bacillus subtilis* HJ5 controls *Verticillium* wilt of cotton by root colonization and biofilm formation[J]. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(3): 295-303
- [5] Erdogan O, Benlioglu K. Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by the use of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field conditions[J]. Biological Control, 2010, 53(1): 39-45
- [6] Zhang HJ, Li ZF. Inhibition mechanism and control efficiency of *Trichoderma viride* GY20 against cotton *Verticillium dahliae* in greenhouse[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2011, 23(7): 127-128, 132 (in Chinese)  
张海军, 李泽方. 绿色木霉 GY20 对棉花黄萎病菌的抑制机理及温室防效[J]. 江西农业学报, 2011, 23(7): 127-128, 132
- [7] Bragazza L, Bardgett RD, Mitchell EAD, Buttler A. Linking soil microbial communities to vascular plant abundance along a climate gradient[J]. New Phytologist, 2015, 205(3): 1175-1182
- [8] Wang AY, Chen J, Crowley DE. Changes in metabolic and structural diversity of a soil bacterial community in response to cadmium toxicity[J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 39(6): 452-456
- [9] Trevors JT. Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soils[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1998, 101(1): 45-67
- [10] Jiang ZQ, Guo JH. Hazard analysis of the impact of bio-controlling microbes on soil micro-ecosystem[J]. Journal of Microbiology, 2006, 26(1): 85-88 (in Chinese)  
蒋志强, 郭坚华. 生防菌对土壤微生态影响的风险评估[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(1): 85-88
- [11] Liu HL. Security determination of biocontrol strain SF-1 on maize[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2011(4): 74-75 (in Chinese)  
刘洪亮. 生防菌株 SF-1 对玉米安全性的测定[J]. 黑龙江农业科学, 2011(4): 74-75
- [12] Zhu WJ, Wang N, Yu XP, Wang W. Effects of the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2P24 on microbial community diversity in the melon rhizosphere[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(7): 1389-1396 (in Chinese)  
朱伟杰, 王楠, 郁雪平, 王伟. 生防菌 *Pseudomonas fluorescens* 2P24 对甜瓜根围土壤微生物的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(7): 1389-1396
- [13] Wu XZ, Wang Y. Research of bio-organic fertilizer on prevention of tobacco bacterial wilt and its effects on soil microbial diversity[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2019(4): 193-199 (in Chinese)  
吴晓宗, 王岩. 生物有机肥防治烟草青枯病及对土壤微生物多样性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019(4): 193-199
- [14] Wan TT, Zhao HH, Wang W. Effects of the biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* SN16-1 on the rhizosphere bacterial community and growth of tomato[J]. Journal of Phytopathology, 2018, 166(5): 324-332
- [15] Liu K, Ji QR, Chen J, Liang YX, Hu YM, Hu YL. Effect of *Streptomyces alfalfae* XY25<sup>T</sup> application on physicochemical properties and microflora in clubroot-diseased soil[J]. Microbiology China, 2020, 47(1): 97-108 (in Chinese)  
柳凯, 季倩茹, 陈静, 梁运祥, 胡咏梅, 胡远亮. 施用 *Streptomyces alfalfae* XY25<sup>T</sup> 对根肿病土壤性质及微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(1): 97-108
- [16] Li QS, Sun GQ, Liang F, Wang GD, Xie ZM, Chen Y. Effect of water dispersible granule H14 on occurrence of cotton *Verticillium* wilt and soil bacterial community[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2020, 29(3): 451-460 (in Chinese)  
李全胜, 孙国清, 梁飞, 王国栋, 谢宗铭, 陈云. 水分散粒剂 H14 对棉花黄萎病发生及土壤细菌群落的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29(3): 451-460
- [17] Ma HY, Huang YY, Liu SY, Xu BX, Huang YL, Fan FC, Jia ZH, Song SS. Effects of microbial agents on nutrient and bacterial community diversity in rhizosphere soil of eggplant cultivated in facilities[J]. Microbiology China, 2020, 47(1): 140-150 (in Chinese)  
马慧媛, 黄媛媛, 刘胜尧, 徐炳雪, 黄亚丽, 范凤翠, 贾振华, 宋水山. 微生物菌剂施用对设施茄子根际土壤养分和细菌群落多样性的影响[J]. 微生物学通报, 2020, 47(1): 140-150
- [18] Zhao JJ, Zeng WJ, Li YH, Ge FW, Du Y, Yuan LL, Zhao QQ, Wang M, Xie HT, Bai RX, et al. Isolation and

- identification of antagonistic *Bacillus* spp. against *Verticillium dahliae*: the antibacterial properties of two strains[J]. Journal of Beijing Normal University (Natural Science), 2017, 53(3): 294-300 (in Chinese)
- 赵君洁, 曾卫军, 李艳红, 葛风伟, 杜钰, 袁琳琳, 赵歉歉, 王敏, 谢红桃, 白若翔, 等. 大丽轮枝菌拮抗芽孢菌株的分离、鉴定及两株菌抑菌特性研究[J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2017, 53(3): 294-300
- [19] Zhao JJ. Screening, identification and characterization of the antifungal substance of antagonistic *Bacillus* against *Verticillium dahliae*[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Normal University, 2017 (in Chinese)
- 赵君洁. 棉花黄萎病拮抗芽孢菌的筛选及其活性物质研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆师范大学硕士学位论文, 2017
- [20] Zhao Y, Li W, Zhou ZH, Zhang XJ, Pan YJ, Zhao LP. Changes of microbial community structure in straw amended soil[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 2005, 24(6): 1114-1118 (in Chinese)
- 赵勇, 李武, 周志华, 张晓君, 潘迎捷, 赵立平. 秸秆还田后土壤微生物群落结构变化的初步研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1114-1118
- [21] He K, Shi WH, Li ZL. Advances in control of plant soil-borne disease by bio-organic fertilizer[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(6): 1-5 (in Chinese)
- 何凯, 石纹豪, 李振轮. 生物有机肥防治植物土传病害研究进展[J]. 河南农业科学, 2014, 43(6): 1-5
- [22] Li JH, Cai HS, Shang J, Chu GX, Wei CZ, Wang F, Ding L, Yang XM, Shen QR. Effects of controlling to cotton *Verticillium* wilt with bio-organic fertilizer in Xinjiang[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2010, 33(6): 50-54 (in Chinese)
- 李俊华, 蔡和森, 尚杰, 褚贵新, 危常州, 王飞, 丁雷, 杨兴明, 沈其荣. 生物有机肥对新疆棉花黄萎病防治的生物效应[J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(6): 50-54
- [23] He JZ, Zheng Y, Chen CR, He YQ, Zhang LM. Microbial composition and diversity of an upland red soil under long-term fertilization treatments as revealed by culture-dependent and culture-independent approaches[J]. Journal of Soils and Sediments, 2008, 8(5): 349-358
- [24] Mouhamadou B, Puissant J, Personeni E, Desclos-Theveniau M, Kastl EM, Schlöter M, Zinger L, Roy J, Geremia RA, Lavorel S. Effects of two grass species on the composition of soil fungal communities[J]. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(8): 1131-1139
- [25] Zhou XF, Yang JF. The effects of different fertilization and EM microbial agent on the problem of the continuous cote planting[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2004, 8(4): 89-92 (in Chinese)
- 周晓芬, 杨军芳. 不同施肥措施及 EM 菌剂对大棚黄瓜连作障碍的防治效果[J]. 河北农业科学, 2004, 8(4): 89-92
- [26] Na XF, Zheng GQ, Peng L, Lei CY, Yang HY, Ma Y, Zhao Q, Shi SF. Microbial biodiversity in rhizosphere of *Lycium barbarum* L. relative to cultivation history[J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, 53(1): 241-252 (in Chinese)
- 纳小凡, 郑国琦, 彭励, 雷川怡, 杨红艳, 马玉, 赵强, 石硕硕. 不同种植年限宁夏枸杞根际微生物多样性变化[J]. 土壤学报, 2016, 53(1): 241-252
- [27] Fischer SG, Lerman LS. Length-independent separation of DNA restriction fragments in two-dimensional gel electrophoresis[J]. Cell, 1979, 16(1): 191-200
- [28] Huang XL. Screens biocontrol strains from *Chaetomium* spp. and studies on biocontrol mechanisms of *Chaetomium* spp.[D]. Yaan: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2009 (in Chinese)
- 黄晓丽. 毛壳菌(*Chaetomium* spp.)生防菌株的筛选及其生物防治机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2009
- [29] Jin H. A preliminary research on the quorum-sensing of filamentous *Mortierella*[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong University of Science and Technology, 2016 (in Chinese)
- 金航. 丝状真菌被孢霉生长群体感应的初步研究[D]. 武汉: 华中科技大学硕士学位论文, 2016
- [30] Yu BH, Xu H, Zhang CB. Identification of fungi from *Cordyceps sinensis* and its antibacterial activity[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016, 22(8): 36-40 (in Chinese)
- 于帮红, 徐慧, 张传博. 一株冬虫夏草来源真菌的鉴定及抑菌活性检测[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(8): 36-40
- [31] Li SX, Shen QR, Zheng XQ, Zhu YY, Yuan DW, Zhang JQ, Lv WG. Effect of organic microbe fertilizer application on watermelon growth and soil microorganisms under continuous mono-cropping[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(2): 169-174 (in Chinese)
- 李双喜, 沈其荣, 郑宪清, 朱毅勇, 袁大伟, 张娟琴, 吕卫光. 施用微生物有机肥对连作条件下西瓜的生物效应及土壤生物性状的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(2): 169-174
- [32] Gu MY, Xu WL, Mao J, Liang Z, Song SQ, Huo XD. Rhizosphere soil microbial ecological characteristics of infected cotton plants by *Verticillium* wilt in Xinjiang[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2009, 18(2):

276-279 (in Chinese)

顾美英, 徐万里, 茆军, 梁智, 宋素琴, 霍向东. 新疆棉花黄萎病发病株根际土壤微生物生态特征[J]. 西北农业学报, 2009, 18(2): 276-279

[33] Luan FG, Wang L, Liu YN, Lou YY, Zhang HY, Zhang LL. Analysis of culturable fungal diversity in rhizosphere soil of healthy and diseased cotton in Southern Xinjiang[J]. African Journal of Microbiology Research, 2012, 6(47): 7357-7364

[34] Chen XM. Activity detection and fermentation conditions optimization of lipopeptide antibiotics synthesized by biocontrol *Bacillus subtilis* Z-14[D]. Baoding: Master's Thesis of Hebei Agricultural University, 2019 (in Chinese)  
陈晓萌. 生防 *Bacillus subtilis* Z-14 合成脂肽抗生素活性检测及发酵条件优化[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位

论文, 2019.

[35] Yunnan University. Compound for inhibiting fungus spore germination in soil and its use: CN, 200510010691.4[P]. 2005-10-18 (in Chinese)

云南大学. 一种抑制土壤中真菌孢子萌发的化合物及其应用: 中国, 200510010691.4[P]. 2005-10-18

[36] Wu MJ. Sequencing and functional annotation of the whole genome of *Bacillus* sp. strain BS-Z15 and optimization of fermentation conditions[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Normal University, 2019 (in Chinese)

吴梦君. 枯草芽孢杆菌 BS-Z15 全基因组分析及其次级代谢产物发酵条件的优化[D]. 乌鲁木齐: 新疆师范大学硕士学位论文, 2019

## 稿件书写规范

### 专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: (1) 我刊要求作者投稿时在正文前写上主要作者专业和研究背景的简介, 并指出自己的工作(已发表的文章)在综述中的体现, 同时请在稿件中用不同颜色标出来。(2) 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。