

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2019.07.030

两种配方废弃菌棒堆肥中微生物多样性研究

代晓航^{1,2} 魏超^{1,2}

(1. 四川省农业科学院分析测试中心, 成都 610066; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(成都), 成都 610066)

摘要: 以废弃菌棒为主要原料, 添加牛粪和草炭, 进行堆肥发酵, 取腐熟完成后的2种肥料样品DNA, 采用16SrDNA V3+V4区和ITS2高通量测序方法, 研究不同配方粗制肥料中微生物多样性和群落结构的差异。结果表明, “牛粪+菌棒”制得的有机肥生物多样性高于“草炭+菌棒”, 且真菌差异大于细菌; “牛粪+菌棒”有机肥相对“草炭+菌棒”有机肥具有10个优势细菌属和6个真菌属, “草炭+菌棒”有机肥相对“牛粪+菌棒”有机肥具有14个优势细菌属和4个真菌属。两种配方堆肥制得的有机肥微生物群落结构无显著性差异。研究发现了多种具有农业价值的功能菌, 可为功能性微生物的开发利用提供科学依据。此外, 也发现一些潜在危害因子, 如黄曲霉和杂色曲霉亚种在“牛粪+菌棒”有机肥中丰度较高, 产生的黄曲霉毒素、杂曲霉毒素易造成农作物污染。

关键词: 菌棒; 有机肥; 微生物; 高通量测序

中图分类号: S144; X712 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2019)07-0275-06

Microbial Diversity in Composting of Two Formulated Waste Sticks

DAI Xiaohang^{1,2} WEI Chao^{1,2}

(1. Analysis and Testing Center, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

(2. Security Risk Assessment Laboratory (Chengdu), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610066, China)

Abstract: Based on the high-throughput DNA sequencing of Illumina, the microbial community composition of the compost of mushroom residue added with cow dung and turf as the nitrogen source was entirely clarified, respectively. The results showed that the biodiversity of organic manure produced by “cow dung + mushroom residue” was higher than that of “turf + mushroom residue”, and the fungal difference was greater than that of bacteria; compared with the compost of “turf + mushroom residue”, the compost of “cow dung + mushroom residue” had 10 dominant bacteria and six dominant fungi at genus level, at the same time, the compost of “turf + mushroom residue” had 14 dominant genus and four dominant fungal genus relative to “cattle manure + fungus”. Therefore, the microbial communities had no significant difference between two formula composts. At the same time, it was found that a variety of functional bacteria with agricultural value can provide a scientific basis for the development and utilization of functional microorganisms in the future, such as *Chaetomium*. In addition, some potential hazard factors, such as *Aspergillus flavus* and *Aspergillus subversicolor* were found to be highly abundant in the “cow dung + mushroom residue” organic fertilizer, which produced the toxin was likely to cause crop pollution. Agricultural producers and related management departments should pay attention to the risks.

Key words: mushroom residue; composting; microbial; high-throughput DNA sequencing

0 引言

食用菌作为我国的第五大农作物, 其产业发展已形成可持续性的趋势及特色, 至2015年, 其生产规模占世界产量的73.57%^[1-2]。食用菌产业有效

促进了中国贫困地区的脱贫致富, 在一定程度上解决了“三农”问题^[3]。随着食用菌产业的不断发展, 产生了大量的废弃菌棒, 随意丢弃的废弃菌棒, 将污染土壤和水体, 其对环境的影响不可低估。有机肥制作是将农业产物变废为宝的途径。废菌棒作为食

收稿日期: 2019-01-17 修回日期: 2019-02-26

基金项目: 国家食用菌产品质量安全风险专项(GJFP2019017)

作者简介: 代晓航(1981—), 女, 副研究员, 主要从事农产品、食品、农业环境中微生物研究, E-mail: 1016836084@qq.com

用菌种植后的废弃原料,在出菇后理化结构发生变化,呈疏松多孔结构,N、P、K含量变得更加丰富,更有利于农作物的生长,同时可增加土壤微生物多样性^[4-6]。以往对于农业废弃物堆肥微生物多样性研究多集中在秸秆、动物粪便、树叶等方面,而对废弃菌棒堆肥中微生物多样性研究较少^[7-9]。

高通量测序的方法目前已被广泛应用于水体、土壤、疾病等微生物群落的研究中,能更真实地揭示微生物群落的复杂性和多样性,对不可培养和痕量微生物的研究具有明显优势,同时可揭示种群差异、功能特点等重要信息^[10-12]。本实验以平菇菌渣为主要原料,以添加两种不同的辅料(牛粪、草炭)腐熟完成后的有机肥料为研究对象,采用高通量测序方法对样品中细菌、真菌多样性及差异进行研究,为提高以菌渣为主要原料生产的有机肥质量,以及后期肥料的使用提供相关依据和科学指导。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

样品采集自四川某菌渣有机肥生产基地。堆肥为草垛式高温堆肥,高2.5 m,直径约5 m。废弃菌棒均先去菌袋等杂质,粉碎均匀后,分别添加两种类型的氮源(牛粪和草炭),调节至相同含水率和碳氮比,进行高温发酵,经过30 d左右即腐熟完成。分别在堆肥的底部(距底10 cm处)、中部(距顶1.2 m处)、顶部(距顶10 cm处),深度均为20~25 cm处随机取样,其中每个部位分别在堆肥的3个不同方向取样后混合为1个样品,即每个样品获得3个平行样,编号为NJ-1、NJ-2、NJ-3(菌棒+牛粪)、CJ-1、CJ-2、CJ-3(菌棒+草炭),样品名称编号前面加B,代表为细菌检测结果,样品名称编号前面加F,代表为真菌检测结果。样品去除杂质后封装于无菌袋中,-80℃保存,用于微生物分析。

1.2 样品DNA提取、PCR扩增及高通量测序

使用美国OMEGA公司E. Z. N. A试剂盒进行样品DNA提取(Omega Bio-tek, Norcross, GA, 美国),用带有barcode的特异引物扩增DNA样本中16S rDNA的V3+V4区和ITS2。16S引物序列为:341F, CCTACGGGNGGCWGCAG; 806R, GGACTACHVGGGTATCTAAT。ITS2引物序列为:ITS3_KY02F, GATGAAGAACYAGYRAA; ITS4R, TCCTCCGCTTATTGATATGC。扩增体系为:50 μL反应体系中包含5 μL的10×KOD Buffer, 5 μL的2.5 mmol/L dNTPs, 1.5 μL引物(5 μmol/L), 1 μL KOD聚合酶, 100 ng模版DNA。扩增条件为:95℃预变性2 min,随后98℃变性10 s,62℃退火30 s,

68℃延伸30 s,共27个循环,最后68℃延伸10 min。对扩增产物切胶回收,用QuantiFluor™荧光计进行定量。将纯化的扩增产物进行等量混合,连接测序接头,根据Illumina官方说明构建测序文库,HiSeq2500的PE250模式上机测序。

1.3 数据处理

1.3.1 N比例过高的序列去除

去除reads中N碱基占比超过10%的序列,去除低质量序列:去除质量值高于20的碱基数占碱基总数的百分比小于40%的reads。

1.3.2 Tags拼接

根据PE reads之间的重叠关系,使用FLASH(v1.2.11)将成对双端reads拼接为一条序列。拼接条件是最小匹配长度为10 bp,重叠区域允许的错配率为2%。拼接得到的序列称为Raw Tags。

1.3.3 Tags过滤

拼接得到的Raw Tags,需要经过更严格的过滤处理后,得到高质量的Tags数据(Clean Tags)。参照Qiime(v1.9.1)的Tags质量控制流程,进行如下操作:Tags截取,将Raw Tags从连续低质量值(默认质量阈值为小于等于3)碱基数达到设定长度(默认长度值为3)的第1个低质量碱基位点截断;Tags长度过滤,Tags经过截取后得到的Tags数据集,进一步过滤掉其中连续高质量碱基长度小于Tags长度75%的Tags。

1.3.4 Tags去嵌合体

经过以上处理后得到的Tags序列与数据库(Gold database r20110519)进行比对(UCHIME Algorithm)检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列,得到最终的有效数据(Effective Tags)。

1.4 数据分析

为了研究样品的物种组成多样性信息,用Uparse(Usearch v9.2.64)软件对所有样品的全部Effective Tags序列聚类。默认将97%的一致性(Identity)序列聚类成为OTUs(Operational taxonomic units)结果,并计算出每个OTU在各个样品中的Tags绝对丰度和相对信息,为后续的分析做准备。为了探明不同样本或者分组之间的OTUs的共有或者特有信息,根据OTU序列在各个样品中的分布情况,使用R语言的VennDiagram(v1.6.17)包和UpSetR(v1.3.3)包绘制韦恩图,并统计各个集合所包含的OTUs。稀释曲线(Rarefaction curve)用来评价测序量是否足以覆盖所有类群,并间接反映样品中物种的丰富程度。基于OTU列表的物种丰度信息,使用R语言的gmodels(v2.16.2)包开展主成分分析(Principal component analysis,PCA),PCA图中

的距离越近表明样品组成越相似。

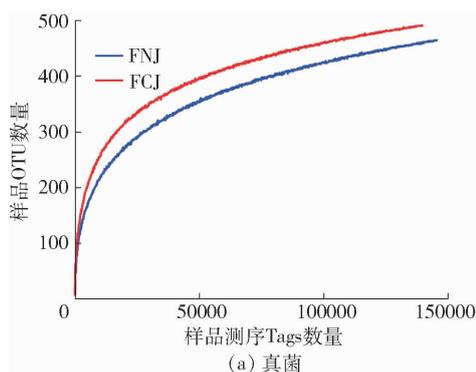
1.5 统计方法

不同配方有机肥能引起微生物 α 多样性差异。结合分组和采样信息,通过对两组间的 α 多样性进行假设检验,可以分析组间的物种多样性是否存在显著差异,从而初步判断驱动群落多样性变化的潜在因素等。本次研究使用 T-test 检验对 2 个组分(NJ 和 CJ, 每组 3 个重复样本)进行差异分析。 $P \leq 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示无显著性差异。

2 结果与分析

2.1 两组样品微生物多样性分析

通过对细菌 16S rDNA 的 V3 + V4 区测序,菌棒 +



草炭 (BCJ) 和菌棒 + 牛粪 (BNJ) 样品分别得到 134 419、125 507 条有效序列, 2 839、2 969 个细菌 OTU。通过对真菌 ITS rDNA 测序, FCJ 和 FNJ 样品分别得到了 164 946、148 903 条有效序列, 511、567 个真菌 OTU (表 1)。两组样品的稀释曲线见图 1。

表 1 两组样品测序结果

Tab. 1 Results of rarefaction curve of high-throughput DNA sequencing library

样品编号	有效序列数/条	OUT 数量	ACE 指数	Chao1 丰富度指数	Simpson 多样性指数	Shannon 多样性指数
BCJ	134 419	2 839	3 769	3 759	0.991	8.774
BNJ	125 507	2 969	3 963	3 890	0.987	8.422
FCJ	164 946	511	580	574	0.937	4.930
FNJ	148 903	567	593	598	0.943	5.302

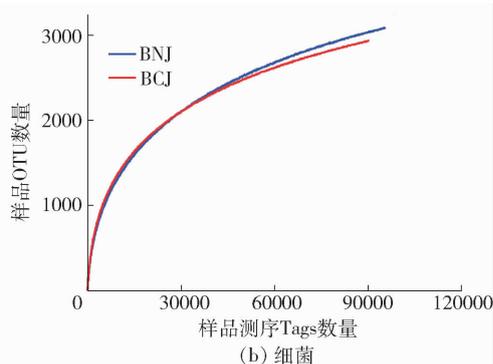


图 1 群落高通量测序稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curves of high-throughput DNA sequencing library of bacterial and eukaryotic microbial community

由图 1 可见,随着测序数据量的增加,分析得到的物种数量也逐渐增长,且稀释曲线已趋于平稳,说明测序基本已覆盖所有物种。另外可以看出,牛粪 + 菌棒配方有机肥中微生物物种丰富度高于草炭 + 菌棒配方有机肥,且这种差异在真菌中表现得更为明显。

表 1 中通过比较 2 个处理的多样性指数可以发现,添加牛粪堆肥处理的细菌群落的丰富度高于添加草炭堆肥处理,但均匀度低于添加草炭的堆肥。添加牛粪堆肥处理的真菌群落的丰富度、均匀度均高于添加草炭堆肥处理。

通过对两组样品间的 α 多样性进行假设检验,分析组间的物种多样性是否存在显著的差异,结果见表 2,牛粪 + 菌棒配方有机肥与草炭 + 菌棒配方有机肥群落结构无显著差异 (P 均大于 0.05)。

2.2 不同配方有机肥中微生物群落相似性分析

用于细菌分析的 6 份样品平均获得 OTU 2 904 条,涵盖了 6 门、10 纲、10 目、10 科、10 属, BNJ 和 BCJ 之间的共有 OTUs 有 2 042 条,而两组样品特有的 OTUs 分别为 927、797 条,用于真菌分析的 6 份样品平均获得 OTU 539 条,涵盖了 2 门、5 纲、6 目、

表 2 两组样品群落结构差异性分析结果

Tab. 2 Difference analysis results of community structure between two samples

样品比较	多样性指数	P
BCJ 和 BNJ	Chao1	0.116
BCJ 和 BNJ	ACE	0.054
BCJ 和 BNJ	Simpson	0.173
BCJ 和 BNJ	Shannon	0.142
FCJ 和 FNJ	Chao1	0.800
FCJ 和 FNJ	ACE	0.932
FCJ 和 FNJ	Simpson	0.733
FCJ 和 FNJ	Shannon	0.511

7 科、4 属。FNJ 和 FCJ 之间的共有 OTUs 有 350 条,而两组样品特有的 OTUs 分别为 217、161 条 (图 2)。

2.3 两种配方有机肥中群落差异分析

由图 3 可知,细菌 PCA1 和 PCA2 分别解释了样本 86.7% 和 9.5% 的方差信息。两者共计解释 96.2% 的样本信息。真菌 PCA1 和 PCA2 分别解释了样本 65.9% 和 27.5% 的方差信息。两者共计解释 93.4% 的样本信息。表明在这两个维度上能够反映样本的实际情况。同时,也可以看出, FNJ 组

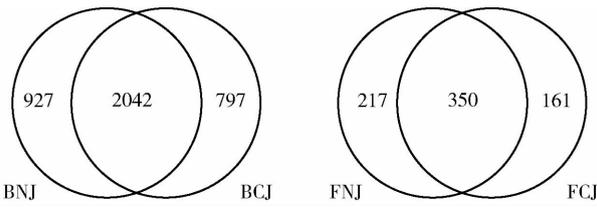


图2 两种配方肥料中细菌和真菌群落 OTU 的维恩图

Fig.2 Venn diagram of bacterial and eukaryotic microbial OTUs among two treatments

内, FNJ-1 距组内另外两个样品偏离较大, 这可能

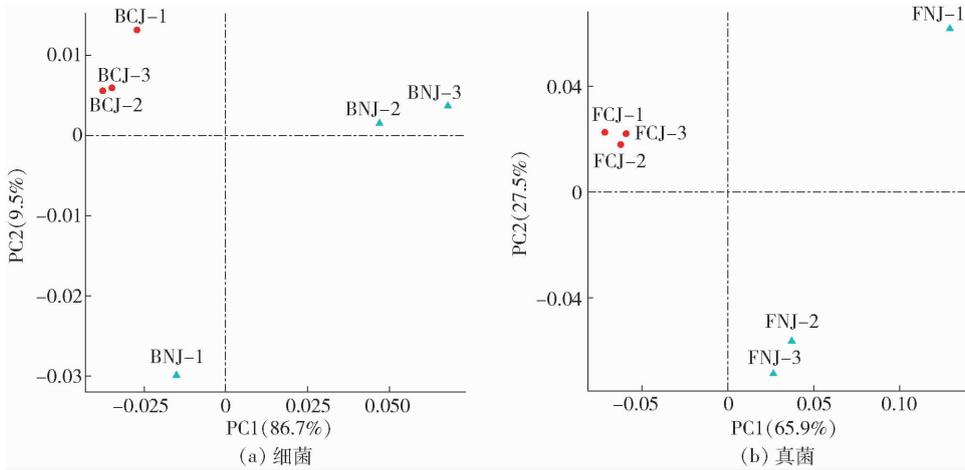


图3 群落主成分分析

Fig.3 Principal components analysis of bacterial and fungi communities

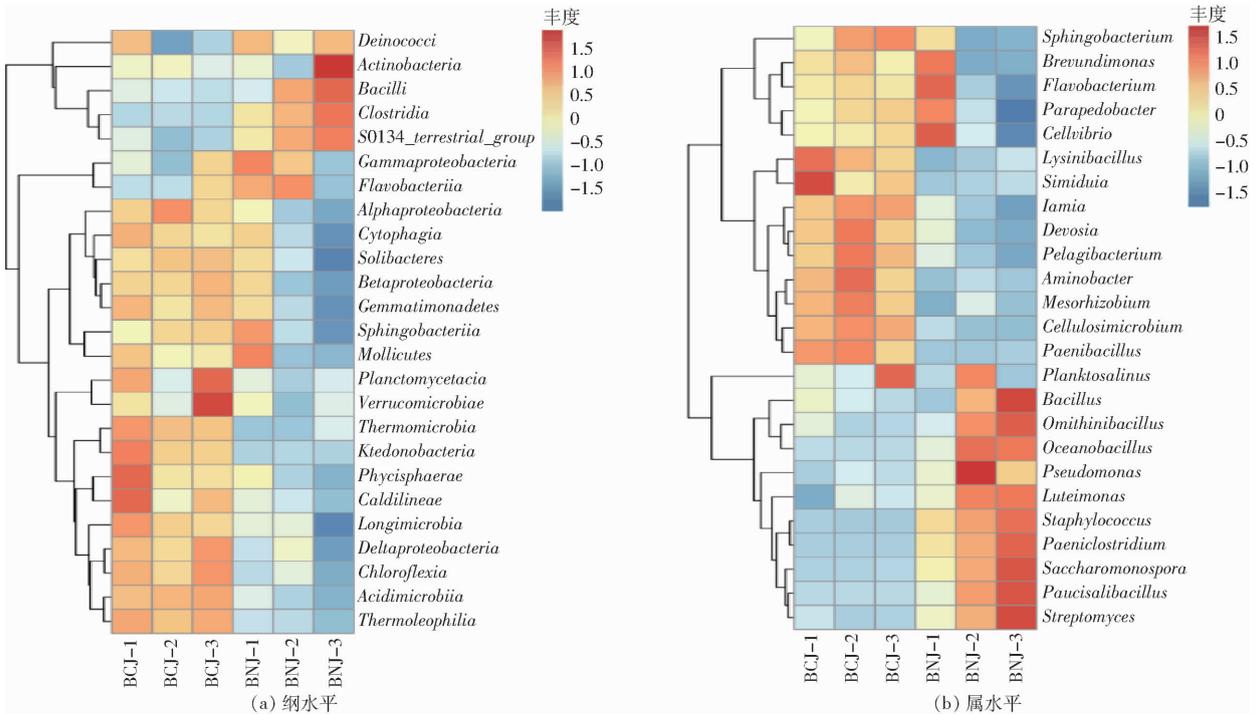


图4 群落物种相对丰度聚类图

Fig.4 Relative abundance of bacterial community species clustering figures at class and genus level

在纲水平上, BNJ 相对于 BCJ 有 3 个优势菌纲, 分别为 *Bacilli*、*Clostridia*、*S0134_terrestrial_group*。BCJ 相对 BNJ 有 18 个优势菌纲, 分别为

跟样品均匀性有关, 两组样品间的群落差异分析主要参考 FNJ-2 和 FNJ-3。

根据物种分类的表达谱数据, 采用热图来展示不同的物种在各样品间的表达情况, 同时根据热图上的聚类关系, 也可以反映样本关系。为了减少噪声数据的影响, 挑选了至少一个样本的相对丰度达到 0.1% 以上, 同时相对总丰度在前 25 的物种进行热图分析, 见图 4、5。热图中每列代表一个样本; 每行代表一个分类水平; 颜色从红到蓝表示丰度从高到低。

Alphaproteobacteria、*Cytophagia*、*Solibacteres*、*Betaproteobacteria*、*Gemmatimonadetes*、*Sphingobacteriia*、*Mollicutes*、*Planctomycetacia*、

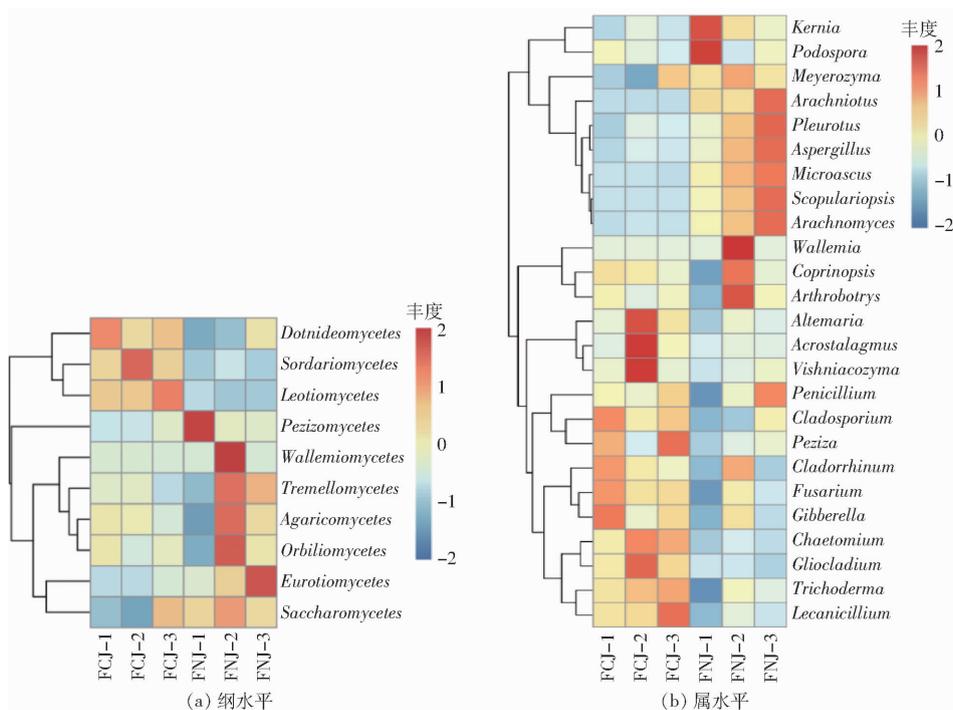


图 5 真菌在纲和属水平上的分类

Fig. 5 Relative abundance of eukaryotic community species clustering figures at class and genus level

Verrucomicrobia、*Thermomicrobia*、*Ktedonobacteria*、*Phycisphaerae*、*Caldilineae*、*Longimicrobia*、*Deltaproteobacteria*、*Chloroflexia*、*Acidimicrobiia*、*Thermoleophilia*。属水平上, BNJ 相对于 BCJ 有 10 个优势菌属, 分别为 *Bacillus*、*Ornithinibacillus*、*Oceanbacillus*、*Pseudomonas*、*Lutoimonas*、*Staphylococcus*、*Paeniclostridium*、*Saccharomonospora*、*Paucisalibacillus*、*Streptomyces*。BCJ 相对于 BNJ 有 14 个优势菌属, 分别为鞘脂杆菌属 (*Sphingobacterium*)、*Brevundimonas*、*Flavobacterium*、*Parapedobacter*、*Collvibrio*、*Lysinibacillus*、*Simiduia*、*Iamia*、德沃斯氏菌属 *Devosia*、海洋杆菌属 *Pelagibacterium*、*Aminobacter*、*Mesorhizobium* 中生根瘤菌、*Cellulosimicrobium*、类芽孢杆菌 *Paenibacillus*。

“菌棒 + 牛粪”配方的有机肥中芽孢杆菌 (*Bacillus*) 丰度更高。有机肥中的芽孢杆菌在土壤中可以起到增加有益微生物种类, 加速和促进其他微生物对有机质累积和磷素循环过程的作用, 同时, 许多芽孢杆菌能分泌大量的酶和抗生素, 有效控制多种植物病害^[13-14]。高丰度的链霉菌属可产生多种活性物质如抗生素、杀虫剂、除草剂、植物生长促进剂^[15]。

“菌棒 + 草炭”配方的有机肥中的优势菌属, 鞘脂杆菌属 (*Sphingobacterium*) 能降解芳香族污染物, 如多环芳香烃类物质^[16-17]。这些菌可降解土壤中有机污染物和肥料中有机物, 从而减少污染物危害, 促进植物的生长。类芽孢杆菌属、耐热芽孢杆菌和梭

菌属数量的增加, 则有助于降解肥料中的有机物, 改变土壤微生物种群结构, 增加了微生物多样性^[18-20]。

纲水平上, FNJ 相对于 FCJ 有 3 种优势真菌, 分别为 *Eurotiomycetes*、*Saccharomycetes*、*Tremellomycetes*。FCJ 相对于 FNJ 也有 3 种优势真菌, 分别为 *Dothideomycetes*、*Sordariomycetes*、*Leotiomycetes*。属水平上, FNJ 相对于 FCJ 中优势真菌属有 6 种, 分别为 *Arachniotus*、*Pleurotus*、*Aspergillus*、*Microascus*、*Scopulariopsis*、*Arachnomyces*。FCJ 相对于 FNJ 有 4 种优势真菌属, 分别为 *Chaetomium*、*Gliocladium*、*Trichoderma*、*Lecanicillium*。

“菌棒 + 牛粪”配方有机肥中优势菌 *Arachniotus* 是一种白腐菌, 可用于提高纤维饲料的营养价值, 特别是与固态发酵技术相结合, 已被用于许多废物的经济利用^[21]。*Aspergillus* (曲霉属) 也是 FNJ 中的优势菌属, 但从种水平热图 (图 6) 来看, 曲霉属中

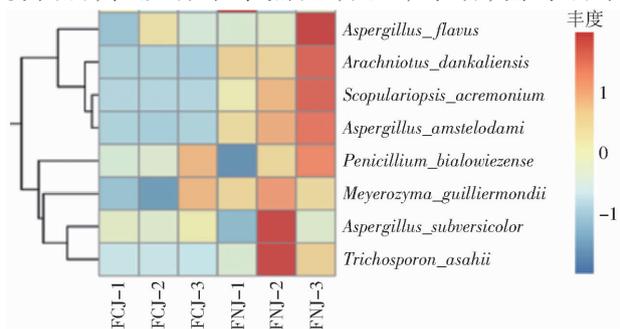


图 6 FNJ 中优势真菌在种水平上的分类

Fig. 6 Relative abundance of eukaryotic community species clustering figure at species level

Aspergillus flavus (黄曲霉) 和 *Aspergillus subversicolor* (杂色曲霉亚种) 丰度较高, 黄曲霉有 30% ~ 60% 的菌株会产生毒素, 杂曲霉毒素主要由杂色曲霉产生。有研究表明, 一些农作物易受到来自土壤毒素的污染, 例如土壤就被认为是花生黄曲霉菌的主要来源, 花生荚果中的黄曲霉菌与土壤中的黄曲霉菌有直接联系^[22-23]。

“菌棒 + 草炭” 配方有机肥中的优势菌 *Chaetomium* (毛壳属真菌) 能够产生大量的纤维素酶, 同时还可以降解纤维素和木质素等大分子难降解有机物, 具有拮抗土壤中某些微生物的作用^[24]。*Gliocladium* (粉红粘帚霉)、*Trichoderma* (木霉菌)、*Lecanicillium* (蜡蚧轮枝菌) 都是重要的生防菌。

3 结束语

选取的“菌棒 + 草炭”和“菌棒 + 牛粪”两种配方堆肥制得的有机肥微生物群落结构无显著性差异, 优势菌种类有一定的差异, 但功能差异不大, 均可在农业灌溉中起到增加土壤微生物多样性、促进植物生长的作用。研究发现了多种具有农业价值的功能菌, 可为功能性微生物的开发利用提供科学依据。另外, 也发现一些潜在危害因子, 如黄曲霉和杂色曲霉亚种在“牛粪 + 菌棒”有机肥中丰度较高, 产生的黄曲霉毒素、杂曲霉毒素易造成农作物污染。因此, 在生产和施用有机肥时, 应考虑产毒真菌带入的风险。

参 考 文 献

- [1] 张金霞, 陈强, 黄晨阳, 等. 食用菌产业发展历史、现状与趋势[J]. 菌物学报, 2015, 34(4): 524 - 540. ZHANG Jinxia, CHEN Qiang, HUANG Chenyang, et al. History, current situation and trend of edible mushroom industry development[J]. *Mycosystema*, 2015, 34(4): 524 - 540. (in Chinese)
- [2] 吕雄华, 王芳. 我国食用菌出口结构对其贸易竞争力指数的灰色动态模型分析[J]. 广东农业科学, 2017, 44(4): 159 - 162. LÜ Xionghua, WANG Fang. Analysis of China's mushroom export structure versus its trade competitiveness index with grey dynamic models[J]. *Guangdong Agricultural Science*, 2017, 44(4): 159 - 162. (in Chinese)
- [3] 张平, 郑志安, 赵祖松颖. 我国食用菌产业发展变化及对策分析[J]. 北方园艺, 2017(22): 167 - 174. ZHANG Ping, ZHENG Zhian, ZHAO Zusongying, et al. Development and countermeasures of edible fungi industry in China[J]. *Norther Horticulture*, 2017(22): 167 - 174. (in Chinese)
- [4] 邓媛方. 蘑菇废弃菌棒和猪粪混合厌氧发酵特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012. DENG Yuanfang. Research on anaerobic co-digestion of mushroom cultivation wastes and pig manure[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2012. (in Chinese)
- [5] 熊小兴, 王飞, 李小毛. 菇渣发酵有机肥在小白菜上的应用试验[J]. 江西农业学报, 2009, 21(7): 100 - 101. XIONG Xiaoxing, WANG Fei, LI Xiaomao. Application of fermented mushroom dregs in pakchoi[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(7): 100 - 101. (in Chinese)
- [6] 徐剑波, 胡庆存. 香菇废弃菌棒作葡萄园基肥施用效果研究[J]. 现代农业科技, 2014(6): 236 - 237. XU Jianbo, HU Qingcun. Study on the effect of applying mushroom waste stick to the base fertilizer of vineyard[J]. *Modern Agricultural Technology*, 2014(6): 236 - 237. (in Chinese)
- [7] 朱琳, 曾椿淋, 高凤, 等. 水稻秸秆堆肥制备粗制肥料中微生物多样性研究[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(7): 228 - 234. ZHU Lin, ZENG Chunlin, GAO Feng, et al. Characteristic analysis of microbial diversity in crud fertilizer form compost of rice straw[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49(7): 228 - 234. http://www.j-csam.org/jesam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20180727&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.07.027. (in Chinese)
- [8] 陈竞, 代金平, 冯蕾, 等. 几种配方制备有机肥菌群分析及其育苗效果评价[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(6): 1099 - 1107. CHEN Jing, DAI Jinping, FENG Lei, et al. Preliminary analysis of several kinds of formulated organic fertilizer flora and their effects evaluation[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2017, 54(6): 1099 - 1107. (in Chinese)
- [9] LIU Ling, WANG Shuqi, GUO Xiaoping, et al. Succession and diversity of microorganisms and their association with physicochemical properties during green waste thermophilic composting[J]. *Waste Management*, 2018, 73: 101 - 112.
- [10] SHOKRALLA S, SPALL J L, GIBSON J F, et al. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(8): 1794 - 1805.
- [11] 丁建莉, 姜昕, 关大伟, 等. 东北黑土微生物群落对长期施肥及作物的响应[J]. 中国农业科学, 2016, 49(22): 4408 - 4418. DING Jianli, JIANG Xin, GUAN Dawei, et al. Responses of micropopulation in black soil of northeast China to long-term fertilization and crops[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(22): 4408 - 4418. (in Chinese)
- [12] JOICE D C, DEBORA C C, GILDA A F. Subgingival microbiota dysbiosis in systemic lupus erythematosus: association with periodontal status[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 34.
- [13] 林先贵, 冯有智. 潮土农田微生物研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 416 - 434. LIN Xiangui, FENG Youzhi. Research progresses of farmland microorganisms in fluvo-aquic soil of China[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2016, 24(4): 416 - 434. (in Chinese)

- water and nitrogen regulation[J]. Transactions of the CSAE,2012,28(2):72-76. (in Chinese)
- [26] 李迪秦,龚湛武,李玉辉,等.复合生物有机肥对烤烟光合生理特性及土壤微生物的影响[J].中国农业科技导报,2017,19(9):109-116.
LI Diqin, GONG Zhanwu, LI Yuhui, et al. Effects of compound bio-organic fertilizer on flue-cured tobacco photosynthetic physiological characters & soil microbes[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2017,19(9):109-116. (in Chinese)
- [27] 杨芳芳,李彩凤,刘丹,等.有机肥对混合盐碱胁迫甜菜光合特性及产量的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2018,47(4):1-8.
YANG Fangfang, LI Caifeng, LIU Dan, et al. Effects of organic fertilizer on photosynthetic characteristics and yield of sugar beet under mixed salined alkali stress[J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2018,47(4):1-8. (in Chinese)
- [28] 陈娜.微生物有机肥对枸杞荧光参数和生长结实及土壤养分的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2013.
CHEN Na. Effects of organic fertilizer and biogas slurry on lycium barbarum chlorophyll fluorescence parameters, growth and soil nutrient[D]. Lanzhou:Gansu Agricultural University,2013. (in Chinese)
- [29] 赵隽,董树亭,刘鹏.有机无机肥长期定位配施对冬小麦群体光合特性及籽粒产量的影响[J].应用生态学报,2015,26(8):2362-2370.
ZHAO Jun, DONG Shuting, LIU Peng. Effects of long-term mixed application of organic and inorganic fertilizers on canopy apparent photosynthesis and yield of winter wheat[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2015,26(8):2362-2370. (in Chinese)
- [30] 梁和钦,李富山,张翰君,等.复合微生物有机肥在红心火龙果上的施用效果试验[J].安徽农学通报,2018,25(1):54-56.
LIANG Heqin, LI Fushan, ZHANG Hanjun, et al. Effect of compound microbial organic fertilizer on red pitaya[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2018,25(1):54-56. (in Chinese)
- [31] 张建国,聂俊华,杜振宇.复合生物有机肥在烤烟生产中的应用研究[J].植物营养与肥料学报,2004,10(4):424-428.
ZHANG Jianguo, NIE Junhua, DU Zhenyu. Response of flue-cured tobacco to compound bio-organic fertilizer[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2004,10(4):424-428. (in Chinese)

(上接第280页)

- [14] TAN S Y, JIANG Y, SONG S, et al. Two *Bacillus Myloliqefaciens* strains isolated using the competitive tomato root enrichment method and their effects on suppressing *Ralstonia solanacearum* and promoting tomato plant growth[J]. Crop Prot, 2013, 43: 134-140.
- [15] OLUWASEYI S O. Streptomyces: implications and interactions in plant growth promotion[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2019,103(3):1179-1188.
- [16] WANG J, LIANG J, GAO S. Biodegradation of lignin monomers vanillic, p-Coumaric, and Syringic Acid by the bacterial strain, *Sphingobacterium* sp. HY-H[J]. Current Microbiology,2018,75(9):1156-1164.
- [17] STORY S P, KLINE E L, HUGHES T A, et al. Degradation of aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis* strain EPA505[J]. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2004, 47: 168-176.
- [18] HARTMANN M, FREY B, MAYER J, et al. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming [J]. ISME Journal, 2015, 9(5): 1177-1194.
- [19] RYCKEBOER J R, MERGAERT J, VAES K, et al. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes[J]. Annals of Microbiology, 2003, 53(4): 349-410.
- [20] WATANABE K, NAGAO N, YAMAMOTO S, et al. *Thermobacillus composti* sp. nov, a moderately thermophilic bacterium isolated from a composting reactor[J]. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2007, 57(7): 1473-1477.
- [21] SHAUKAT S, BAJWA M A, WAQAR M A, et al. Production, optimization, purification and characterization of glucomalylase from *Arachniotus* sp[J]. Chem. Soc. Pak.,2006,28:368-373.
- [22] 张初署.中国四个生态区花生土壤中黄曲霉菌分布、产毒特征及遗传多样性研究[D].北京:中国农业科学院,2013.
ZHANG Chushu. Study on the distribution, aflatoxin production and genetic diversity of *Aspergillus flavus* in soils of peanut fields in four agroecological zones of China[D]. Beijing:Chinese Academy of Agricultural Sciences,2013. (in Chinese)
- [23] JURJEVIE Z, PETERSON S W, SOLFRIZZO M, et al. Sterigmatocystin production by nine newly described *Aspergillus* species in section *Versicolores* grown on two different media[J]. Mycotoxin Research,2013, 29(3): 141-145.
- [24] YUE Haimei, WANG Mu, GONG Wenfeng, et al. The screening and identification of the biological control fungi *Chaetomium* spp against wheat common root rot[J]. FEMS Microbiol. Letter,2018, 365(22). <http://doi.org/10.1093/femsle/fny242>.