

甘蔗植株茎部内生细菌群落组成对不同配方缓释肥的响应

肖 健^{1,3}, 梁 闾², 杨尚东^{1*}, 谭宏伟^{2*}

1. 广西大学农学院, 广西南宁 530004; 2. 广西农业科学院/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 广西南宁 530007; 3. 湖南大学生物学院隆平分院, 湖南长沙 410125

摘 要: 解析甘蔗植株茎部内生细菌群落组成对不同缓释肥的响应, 旨在筛选科学的甘蔗专用缓释肥配方与用量, 为进一步推广应用缓释肥提供理论依据和技术支撑。采用高通量测序技术, 分析常规施肥 (CK) 和不同配方缓释肥处理 (A~F) 甘蔗植株茎部内生细菌群落组成变化。与 CK 相比, 添加长效剂 (235 g/t) 和增效剂 (3 g/t 和 18 g/t) 的缓释肥处理均显著提高甘蔗植株茎部内生细菌的多样性, 且除添加长效剂的缓释肥 C 处理 (235 g/t) 之外, 施用其他配方缓释肥未能提升植株茎部内生细菌的丰富度; 草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 细菌是 CK 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 生孢噬纤维菌属 (*Sporocytophaga*) 和纤维弧菌属 (*Cellvibrio*) 是添加长效剂缓释肥 A 处理 (125 g/t) 甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 添加长效剂的缓释肥 B 处理 (150 g/t) 甘蔗植株茎部未发现特有的优势内生细菌属; *norank_f_SC-I-84*、*norank_f_Neisseriaceae*、*norank_f_JG30-KF-AS9* 和马赛菌属 (*Massilia*) 细菌是添加长效剂缓释肥 C 处理 (235 g/t) 甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) 和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 细菌是添加增效剂缓释肥 D 处理 (3 g/t) 甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 克劳氏菌属 (*Cloacibacterium*) 细菌是添加增效剂缓释肥 E 处理 (8 g/t) 甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; *unclassified_f_Burkholderiaceae*、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、异样根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)、*Corynebacterium_1* 和金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*) 细菌是添加增效剂缓释肥 F 处理 (18 g/t) 甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属。基因功能预测结果显示, 施用不同配方缓释肥处理没有显著改变甘蔗植株茎部内生细菌的主体功能。与 CK 相比, 施用添加长效剂 (235 g/t), 以及增效剂 (3 g/t 和 18 g/t) 用量的缓释肥处理能显著提高甘蔗植株茎部内生细菌多样性, 除添加长效剂的缓释肥 C 处理 (235 g/t) 之外, 施用其他配方缓释肥均未能显著提升甘蔗植株茎部内生细菌的丰富度; 同时, 除添加长效剂的缓释肥 B 处理 (150 g/t) 外, 其余缓释肥处理的甘蔗植株茎部均富集各自特有的优势内生细菌属, 虽然施用缓释肥未能显著改变甘蔗植株茎部内生细菌的主体功能, 但大部分缓释肥处理 (B~F) 均有助于提升甘蔗植株的抗逆能力。其中, 基于甘蔗植株茎部内生细菌群落组成与功能而言, 添加了长效剂的缓释肥 C 处理 (235 g/t) 对甘蔗植株具有最佳的促生和抗逆效果。

关键词: 甘蔗; 缓释肥; 内生细菌; 高通量测序

中图分类号: S566.1 文献标识码: A

Response of Endophytic Bacterial Community Compositions in Stems of Sugarcanes under Different Slow-release Fertilizer Applications

XIAO Jian^{1,3}, LIANG Tian², YANG Shangdong^{1*}, TAN Hongwei^{2*}

1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China; 2. Guangxi Academy of Agricultural Sciences / Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530007, China; 3. Longping Branch, College of Biology, Hunan University, Changsha, Hunan 410125

收稿日期 2022-06-14; 修回日期 2022-08-04

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2020YFD10006005); FAO 项目 (FAO/CPR/3804); 国家糖料产业技术体系岗位 (甘蔗宿根栽培) 2017—2020 (No. CARS170206)。

作者简介 肖 健 (1997—), 男, 博士研究生, 研究方向: 生物学; *通信作者 (Corresponding author): 杨尚东 (YANG Shangdong), E-mail: ysd706@gxu.edu.cn; 谭宏伟 (TAN Hongwei), E-mail: hongwei_tan@163.com。

Abstract: To select suitable slow-release fertilizers for sugarcane productions the endophytic bacterial community structure in the stems of sugarcane under different slow-release fertilizer applications were analyzed. Based on high-throughput sequencing techniques, the endophytic bacterial community structure in the stems of sugarcane among conventional fertilization (CK) and different slow-release fertilizers (A–F treatments) were analyzed. In comparison with CK, the diversity of the endophytic bacteria in the stems of sugarcane was significantly increased by adding long-acting agent (235 g/t) and synergist (3 g/t and 18 g/t), but the richness of the endophytic bacteria in the stems of sugarcane was not significantly improved by slow-release fertilizer applications except adding long-acting agent (235 g/t) treatment C. Meanwhile, *Herbaspirillum* was the specific endophytic dominant bacterial genus in CK. *Sporocytophaga* and *Cellvibrio* were the unique endophytic dominant bacterial genera in the slow-release fertilizer adding long-acting agent (125 g/t) treatment A. However, no specific endophytic dominant bacterial genera could be found in the slow-release fertilizer adding long-acting agent (150 g/t) treatment B. *Norank_f__SC-I-84*, *norank_f__Neisseriaceae*, *norank_f__JG30-KF-AS9* and *Massilia* were the specific endophytic dominant bacterial genera in the slow-release fertilizer adding long-acting agent (235 g/t) treatment C. *Brevundimonas*, *Enterobacter*, *Staphylococcus* were the unique endophytic dominant bacterial genera in the slow-release fertilizer adding synergist (3 g/t) treatment D. *Cloacibacterium* was the specific endophytic dominant bacterial genus in the slow-release fertilizer adding synergist (8 g/t) treatment E. And *unclassified_f__Burkholderiaceae*, *Paenibacillus*, *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, *Corynebacterium_1*, *Chryseobacterium* were the specific endophytic dominant bacterial genera in the slow-release fertilizer of adding synergist (18 g/t) treatment F. Furthermore, the functions of the endophytic bacteria in the stems of sugarcane did not show significantly different between CK and applications of slow-release fertilizer treatments. In comparison with CK, the diversity of the endophytic bacteria in the stems of sugarcane was significantly increased by adding long-acting agent (235 g/t) and synergist (3 g/t and 18 g/t), but the richness only could be significantly improved by application with slow-release fertilizer adding with long-acting agent (235 g/t) treatment C. Except of slow-release fertilizers + long-term agent (150 g/t) treatment B, specific endophytic bacterial genera in the stems of sugarcane all could be detected under slow-release fertilizer applications. Although the whole functions of the endophytic bacteria in the stems of sugarcane were not significantly altered by slow-release fertilizer applications, higher stress resistant abilities could be concluded in sugarcane under most of slow-release fertilizer applications (B–F treatments). Among them, the highest promotion and stress resistant effect on sugarcane growth was the slow-release fertilizer + 235 g/t long-acting agent treatment (C) according to the composition and function of endophytic bacteria in stems of sugarcane.

Keywords: sugarcane; slow-release fertilizer; endophytic bacteria; high-throughput sequencing

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.019

甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 作为一种重要的糖料作物, 在世界各地被用作生物燃料和可再生生物能源^[1]。中国是世界第三大甘蔗生产国, 自 1993 年以来, 广西一直是中国最大的甘蔗生产和制糖省份^[2]。由于甘蔗的生育期长达一年以上, 使用常规化肥 (尿素等) 和复合肥等化学肥料, 需要在 7 月前再追肥 2~3 次才能满足甘蔗的生长需求^[3]。同时, 甘蔗仅追施常规化学肥料, 会导致甘蔗生长后期养分供应不足, 亦会出现甘蔗含糖量及产量偏低等问题, 还会导致土壤肥力下降和生态环境污染^[4]。过度使用化肥, 不仅对土壤生态环境产生负面影响, 还会破坏陆地和水生生态系统的功能^[5]。此外, 由于近年来劳动力成本较高, 如何减少化肥的投入和劳动力成本是我国甘蔗生产的迫切需求。缓释肥不仅能有效满足甘蔗对养分的需求, 而且有助于节约甘蔗生产的人工成本。肖健等^[1]研究发现施肥不仅会影响甘蔗

根系内生细菌群落结构, 还会影响甘蔗根系内生细菌的代谢功能。开展不同配方缓释肥处理后甘蔗植株茎部内生细菌群落组成分析, 不仅有助于筛选科学的甘蔗专用缓释肥配方和用量, 还有利于甘蔗实际生产中缓释肥的科学合理应用。

缓释肥是近年来发展起来的一种新型肥料, 它不仅能使养分在较长时间内缓慢释放, 符合作物的生理养分需求, 而且还能通过减少肥料总量和施用量来提高肥料利用率^[6-8]。此外, 由于缓释肥的氮素释放速率更接近植物生理功能对氮素的需求。因此, 缓释肥有望成为常规肥料的替代品^[9]。研究发现, 与施用常规肥料相比, 施用缓释肥不仅可以减少土壤中的残留养分, 还可以提高作物产量和经济效益^[10-11]。现阶段, 缓释肥已经开始应用于桃树^[12]、榉栎^[13]、烟草^[14]、蔬菜^[15]、水稻^[16]、玉米^[17]、甘蔗^[4]等经济作物的生产和种植。ZHANG 等^[15]研究发现, 在镉污染的土壤中,

缓释肥可以提高蔬菜产量,还能降低小白菜的镉浓度。DONG 等^[18]还发现,施用缓释肥可以减少稻田中的氮淋失。目前为止,虽然已有众多关于缓释肥应用于甘蔗生产的研究报道,但大部分涉及甘蔗缓释肥的研究主要集中在对甘蔗产量和质量的影响等方面^[19-20]。另一方面,植物内生细菌与宿主植物关系密切^[21],还在一定程度上具有指示植株健康生长以及抗性大小的作用^[22]。研究发现,内生细菌具有溶磷、解钾、固氮等作用以及产生铁载体、抗菌活性物质和植物生长激素等作用,具有促进宿主植物生长、营养物质积累和提高抗逆(抗病虫害、高温、盐碱或干旱等)功能^[1]。

虽然目前不同施肥技术对作物内生细菌的影响已有研究,但缓释肥对甘蔗内生细菌群落结构的研究仍鲜见报道。为此,本研究分析不同配方缓释肥处理甘蔗植株茎部内生细菌群落组成,探究不同配方缓释肥对甘蔗生长、健康状况以及抗性的影响,旨在筛选科学的甘蔗专用缓释肥配方与用量,为甘蔗生产中科学合理地应用缓释肥提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验地概况 试验地为广西农业科学院甘蔗研究所隆安试验基地(107°52'36"E, 22°37'02"N)。土壤类型为黄壤土,地势平坦,排灌条件良好,前茬作物为甘蔗。供试土壤基本理化性质如下:pH 5.7,有机质含量 17.6 g/kg,全氮含量 0.92 g/kg,全磷含量 0.62 g/kg,全钾含量 8.9 g/kg,碱解氮含量 85 mg/kg,速效磷含量 35.3 mg/kg;速效钾含量 125 mg/kg。

1.1.2 试验材料 供试甘蔗品种为‘桂糖 42 号’,由广西农业科学院甘蔗研究所选育;供试肥料为采用硫酸脲技术生产的 42%甘蔗专用缓释肥,N-P-K 含量为 20-7-15,由广西农业科学院甘蔗研究所提供,共有 6 个配方,其中配方 A、B、C 分别添加长效剂(双氰胺)120、150、235 g/t,配方 D、E、F 分别添加增效剂(腐植酸)3、8、18 kg/t;45%复合肥(N-P-K 含量为 15-15-15)、过磷酸钙、氯化钾和尿素均为国产,购于当地农资市场。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验开始于 2016 年,以常规施肥(CK)为对照,即:施 45%复合肥 1800 kg/hm²(其中基肥 300 kg/hm²,拔节肥 1500 kg/hm²),

过磷酸钙 750 kg/hm²作为基肥,氯化钾(3 次施用)375 kg/hm²,尿素(3 次施用)375 kg/hm²。分别设置 6 个不同配方缓释肥处理,A:缓释肥 2250 kg/hm²+长效剂 125 g/t;B:缓释肥 2250 kg/hm²+长效剂 150 g/t;C:缓释肥 2250 kg/hm²+长效剂 235 g/t;D:缓释肥 2250 kg/hm²+增效剂 3 g/t;E:缓释肥 2250 kg/hm²+增效剂 8 g/t;F:缓释肥 2250 kg/hm²+增效剂 18 g/t。

上述处理除施肥量不同外,其余田间管理措施(如灌溉和除草等)均相同。每种施肥模式作为 1 个试验处理,共 7 个处理,每个处理 3 个重复,共 21 个试验小区,每个小区 5 行,长 10 m,宽 1.2 m,小区面积 60 m²。

此外,下种量为 105 000 芽/hm²,选择无病虫害、蔗茎均匀、蔗芽饱满的茎种按双行品字形进行摆种,盖 3~5 cm 厚细泥、覆盖地膜。当年 3 月种植甘蔗,5 月上中旬施分蘖肥,5 月下旬至 6 月中旬施拔节肥,翌年 1—2 月采收。后续每年的施肥试验处理及田间管理措施均与 2016 年一致。

1.2.2 样品采集 试验处理的第 4 年(2019 年)10 月上旬随机采集甘蔗样品。参照 YANG 等^[23]的方法采集样品,具体操作如下:于各施肥处理下,使用 75%乙醇喷洒消毒后的铁铲,随机选取 3 株长势一致的甘蔗植株,然后以蔗茎为中心(直径约 60 cm)挖深度约 40 cm,形成疏松、环形的根际圈。然后手握植株茎基部用力将整个植株连根带土拔起,抖掉附着在根部的土壤,标记后装入无菌密封袋放入带有冰袋的冰盒,带回实验室。

参照 DI 等^[24]的方法对茎部进行消毒处理。使用无菌水冲洗植株表面,用软毛刷轻轻擦拭 2 min,去除表面杂质和附着物,用无菌纸擦干,去除水分;然后用 75%乙醇喷洒消毒后的剪刀采集植株茎部样品,用无菌水洗涤样品 0.5 min,接着在 75%乙醇中洗涤 1 min,再用 1% NaClO 溶液洗涤 3 min,最后使用无菌水洗涤植物组织 0.5 min,即视为对植物组织表面进行无菌化处理。为确定外植体表面杀菌的成功与否,将洗净茎部的 100 μL 水置于 Luria-Bertani (LB)琼脂平板(NaCl 10 g/L,细菌用胰蛋白酶 5 g/L,酵母提取物 5 g/L,琼脂 20 g/L)上,25 °C 培养 7 d。若平板中未见菌落,则证实已彻底消毒。将表面无菌化的甘蔗茎部样片用于茎部内生细菌检测分析。

1.2.3 植株茎部内生细菌群落结构分析 由上海美吉生物医药科技有限公司完成植株茎部样品总

DNA 提取、PCR 扩增和序列测定。测序流程如下: 使用 FastDNA Spin Kit 试剂盒 (MP Biomedicals, USA) 对甘蔗植株茎部进行总 DNA 抽提, 并使用 NanoDrop2000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, USA) 检测 DNA 浓度和纯度, 以提取的茎部内生细菌 DNA 为模板, 选择 799F (5'-AACMGGATTAGATACCKG-3') 和 1392R (5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3') 引物对 V5~V7 可变区进行第 1 轮 PCR 扩增, 选择 799F (5'-AACMGGATTAGATACCKG-3') 和 1193R (5'-ACGT-CATCCCCACCTTCC-3') 引物对 V5~V7 可变区进行第 2 轮 PCR 扩增; 然后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosci-ences, Union City, CA, USA) 进行回收产物纯化, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus Fluorometer (Promega, USA) 对回收产物进行定量检测; 使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库; 最后利用 Illumina 公司的 MiseqPE300 平台进行测序。参照肖健等^[1]的研究方法对测序数据进行处理和分析。

1.3 数据处理

使用 Mothur (v.1.30.2) 软件计算细菌群落的 Alpha 多样性。选择相似度为 97% 的 OTU 表, 并使用 R 语言 (v.3.3.1) 工具进行细菌群落组成分析和维恩图分析, 并进行统计和绘图。使用 LEfSe 软件对样品按照基于分类学组成的不同分组条件进行线性判别分析 (LDA), 以确定对样品划分有明显差异影响的群组。使用 BugBase 工具对微生物组进行表型预测。使用 PICRUST (v.1.1.0) 软件对 OTU 丰度表进行标准化, 然后根据 KEGG 数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, 京都基因和基因组百科全书, <http://www.genome.jp/kegg/>) 计算各功能类别的丰度。

数据采用 Excel 2019 软件进行计算, 采用 IBM SPSS Statistics 21 统计软件进行方差分析, 采用 Duncan's 法和秩和检验进行显著性检验 ($P < 0.05$), 并利用上海美吉生物医药科技有限公司的 I-sanger 云数据分析平台进行在线数据分析。数据以平均数±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 施用不同配方甘蔗专用缓释肥甘蔗茎部内生细菌多样性分析

以 Shannon 指数指示内生细菌的多样性,

Chao1 和 Ace 指数指示内生细菌的丰富度。Shannon、Chao1 和 Ace 指数越大, 说明样品的物种多样性和丰富度越高。由表 1 可知, 与 CK 相比, 缓释肥 C、D、F 处理均显著提高了甘蔗茎部内生细菌的多样性, 缓释肥 A、E 处理则显著降低了甘蔗植株茎部内生细菌的多样性, 缓释肥 B 处理与 CK 之间无显著性差异; 此外, 甘蔗植株茎部内生细菌丰富度, 除缓释肥 A 和 B 处理显著降低外, 其余处理与常规施肥之间均无显著性差异。

表 1 施用不同缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌 Alpha 多样性

Tab. 1 Alpha diversity of endophytic bacteria in stem of sugarcane under different slow-release fertilizer applications

处理 Treatment	香农指数 Shannon index	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index
A	1.05±0.22 ^c	187.97±34.18 ^c	175.58±29.81 ^c
B	1.31±0.59 ^{bc}	191.55±49.45 ^c	193.54±56.52 ^c
C	4.32±0.80 ^a	463.91±27.65 ^a	434.04±59.41 ^a
D	4.29±0.28 ^a	269.80±82.58 ^{bc}	271.31±88.19 ^{bc}
E	0.76±0.01 ^c	265.69±62.26 ^{bc}	264.59±56.56 ^{bc}
F	3.80±0.09 ^a	361.07±33.06 ^{ab}	303.65±38.28 ^{abc}
CK	2.22±0.21 ^b	395.24±162.73 ^{ab}	380.39±168.44 ^{ab}

注: 同列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference among different treatments ($P < 0.05$).

基于 OTU 水平的主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 发现 (图 1), PC1 的解释度为 49.14%, PC2 的解释度为 13.48%, PC1 和 PC2 的总和大于 50%, 说明坐标轴对内生细菌群落结构总体解释度较好。结果表明, 不同缓释肥处理下, 甘蔗植株茎部内生细菌群落结构之间存在显著差异 ($P < 0.05$), 但每组样品聚类在一起, 组间群落结构差异相对较小。

2.2 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部群落组成分析

2.2.1 内生细菌门分类水平组成 门分类水平方面, 不同缓释肥 A、B、C、D、E、F 和 CK 处理下, 甘蔗植株茎部中相对丰度大于 1% 的优势内生细菌门分类水平数量分别为 4、4、6、5、5、6、3 个 (图 2)。其中, 放线菌门 (Actinobacteria)、变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 是 7 个处理所共有的优势细菌门。CK 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小排

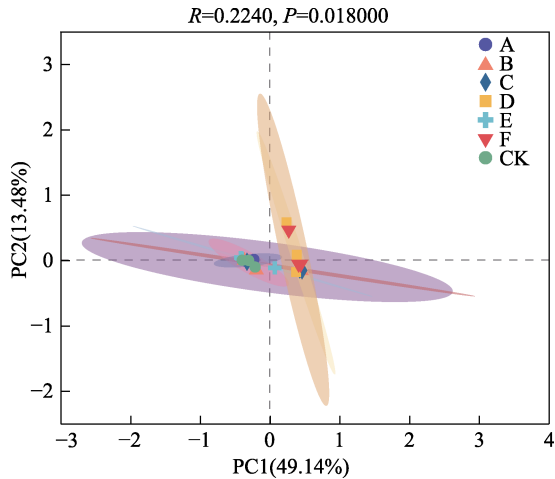


图 1 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌的 PCoA 分析 (OTU 水平)

Fig. 1 PCoA analysis of endophytic bacteria in stems of sugarcane under different slow-release fertilizer applications at OTU level

序依次为: 放线菌门 (Actinobacteria, 79.03%)、变形菌门 (Proteobacteria, 16.41%) 和厚壁菌门 (Firmicutes, 2.27%); 缓释肥 A 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小排序依次为: 放线菌门 (Actinobacteria, 73.76%)、变形菌门 (Proteobacteria, 13.39%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 9.94%) 和厚壁菌门 (Firmicutes, 2.67%); 缓释肥 B 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小排序依次为: 放线菌门 (Actinobacteria, 57.01%)、变形菌门 (Proteobacteria, 35.20%)、厚壁菌门 (Firmicutes, 4.74%) 和酸杆菌门 (Acidobacteria, 1.34%); 缓释肥 C 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小排序依次为: 放线菌门 (Actinobacteria, 37.89%)、变形菌门 (Proteobacteria, 50.87%)、厚壁菌门 (Firmicutes, 2.93%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 2.26%)、酸杆菌门 (Acidobacteria, 2.05%)、绿弯菌门 (Chloroflexi, 1.82%) 和其他门类 (others, 2.18%); 缓释肥 D 处理下, 甘蔗植株茎部内生细菌优势细菌门分类相对丰度大小顺序依次为: 变形菌门 (Proteobacteria, 71.66%)、放线菌门 (Actinobacteria, 13.82%)、厚壁菌门 (Firmicutes, 8.95%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 2.91%) 和酸杆菌门 (Acidobacteria, 1.20%); 缓释肥 E 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小顺序依次为: 放线菌门 (Actinobacteria, 75.89%), 变形菌门 (Proteobacteria, 16.79%), 拟杆菌门

(Bacteroidetes, 3.55%), 厚壁菌门 (Firmicutes, 1.72%) 和酸杆菌门 (Acidobacteria, 1.28%); 缓释肥 F 处理下, 甘蔗植株茎部内生优势细菌门分类相对丰度大小顺序依次为: 变形菌门 (Proteobacteria, 67.15%), 放线菌门 (Actinobacteria, 17.65%), 厚壁菌门 (Firmicutes, 9.27%), 拟杆菌门 (Bacteroidetes, 2.17%), 酸杆菌门 (Acidobacteria, 1.83%) 和绿弯菌门 (Chloroflexi, 1.11%)。

上述结果表明, 与 CK 处理相比, 虽然不同配方缓释肥处理均不同程度地降低了放线菌门 (Actinobacteria) 细菌的相对丰度, 但也不同程度地增加了其他优势内生细菌门的数量。

2.2.2 内生细菌属分类水平组成 属分类水平方面, 不同配方缓释肥处理下, 甘蔗植株茎部中相对丰度大于 1% 的优势细菌属分类数量及丰度见图 3。其中, 6 种不同缓释肥配方 (A~F) 和 CK 处理下, 优势细菌属的数量分别为 9、6、12、13、6、13 和 4 个。

CK 处理下, 甘蔗植株茎部优势内生细菌优势菌属相对丰度大小顺序依次分别为: 雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 71.12%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 6.77%)、草螺菌属 (*Herbaspirillum*, 3.03%)、*unclassified_f_Microbacteriaceae* (1.87%) 和其他 (others, 11.06%); 缓释肥 A 处理下, 甘蔗植株茎部优势内生细菌优势菌属相对丰度大小顺序依次分别为: 雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 70.22%)、生孢噬纤维菌属 (*Sporocytophaga*, 7.28%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 5.43%)、芽孢八叠球菌属 (*Sporosarcina*, 1.79%)、*unclassified_f_Microbacteriaceae* (1.52%)、红球菌属 (*Rhodococcus*, 1.22%)、纤维弧菌属 (*Cellvibrio*, 1.13%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 1.11%)、泛菌属 (*Pantoea*, 1.03%) 和其他 (others, 6.20%); 缓释肥 B 处理下, 甘蔗植株茎部优势内生细菌属的相对丰度大小顺序依次为: 雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 50.40%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-P araburkholderia*, 24.32%)、芽孢八叠球菌属 (*Sporosarcina*, 3.35%)、红球菌属 (*Rhodococcus*, 1.68%)、泛菌属 (*Pantoea*, 1.51%)、*unclassified_f_Microbacteriaceae* (1.02%) 和其他 (others, 12.70%); 缓释肥 C 处理下, 甘蔗植株茎部优势内生细菌属的相对丰度大小顺序依次为: 雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 26.23%)、伯克霍尔德

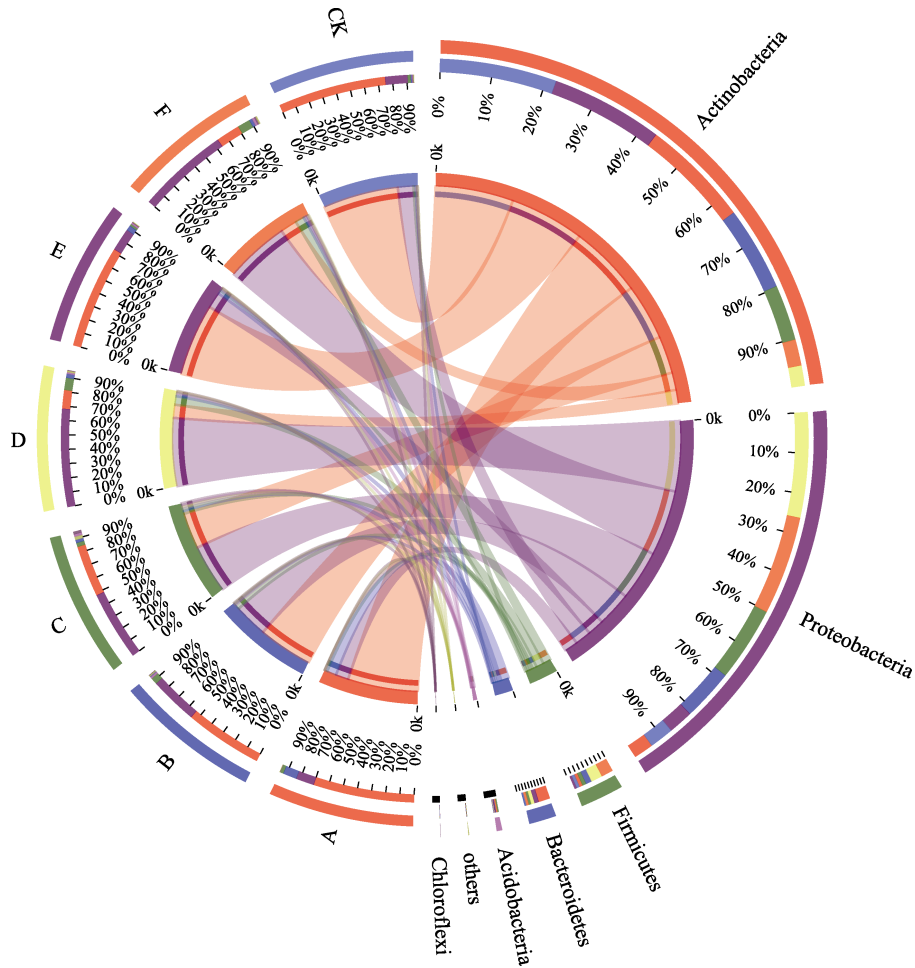


图 2 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌门分类水平组成

Fig. 2 Compositions of endophytic bacteria in stems of sugarcanes under different slow-release fertilizer applications at phylum level

氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 26.02%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 1.87%)、费氏丙酸杆菌属 (*Cutibacterium*, 1.75%)、泛菌属 (*Pantoea*, 1.48%)、马赛菌属 (*Massilia*, 1.40%)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 1.32%)、红球菌属 (*Rhodococcus*, 1.24%)、*norank_f_SC-I-84* (1.19%)、*norank_f_Neisseriaceae* (1.08%)、*norank_f_JG30-KF-AS9* (1.07%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 1.05%) 和其他 (others, 28.66%)；缓释肥 D 处理下，甘蔗植株茎部优势内生细菌属的相对丰度大小顺序依次为：假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 28.88%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 18.47%)、泛菌属 (*Pantoea*, 4.72%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 3.33%)、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*, 2.83%)、雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 2.32%)、劳尔氏菌属 (*Ralstonia*, 1.85%)、红球菌属 (*Rhodococcus*, 1.84%)、芽孢八

叠球菌属 (*Sporosarcina*, 1.76%)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 1.49%)、费氏丙酸杆菌属 (*Cutibacterium*, 1.20%)、肠杆菌属 (*Enterobacter*, 1.16%)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*, 1.12%) 和其他 (others, 25.20%)；缓释肥 E 处理下，甘蔗植株茎部优势内生细菌属的相对丰度大小顺序依次为：雷弗松氏菌属 (*Leifsonia*, 68.95%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 5.17%)、克劳斯氏菌属 (*Cloacibacterium*, 2.66%)、劳尔氏菌属 (*Ralstonia*, 2.33%)、*unclassified_f_Microbacteriaceae* (1.81%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 1.07%) 和其他 (others, 12.20%)；缓释肥 F 处理下，甘蔗植株茎部优势内生细菌属的相对丰度占比大小顺序依次为：泛菌属 (*Pantoea*, 27.98%)、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, 12.47%)、劳尔氏菌属 (*Ralstonia*, 8.40%)、红球菌属 (*Rhodococcus*,

6.70%)、芽孢八叠球菌属 (*Sporosarcina*, 3.54%)、*unclassified_f__Burkholderiaceae* (3.27%)、异样根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, 2.76%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 2.12%)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*, 2.02%)、费氏丙酸杆菌属 (*Cutibacterium*, 1.57%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 1.32%)、*Corynebacterium_1* (1.30%)、金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*, 1.19%) 和其他 (others, 21.42%)。

草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 是 CK 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 生孢噬纤维菌属 (*Sporocytophaga*) 和纤维弧菌属 (*Cellvibrio*) 是缓释肥 A 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 缓释肥 B 处理下甘蔗植株茎部无特有的优势内生细菌属; *norank_f__SC- I-84*、*norank_f__*

Neisseriaceae、*norank_f__JG30- KF-AS9* 和马赛菌属 (*Massilia*) 是缓释肥 C 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) 和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 是缓释肥 D 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; 克劳斯氏菌属 (*Cloacibacterium*) 是缓释肥 E 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; *unclassified_f__Burkholderiaceae*、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、异样根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)、*Corynebacterium_1*、金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*) 是缓释肥 F 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属。

另一方面, 与 CK 处理相比, 虽然不同缓释肥处理均不同程度地降低了雷弗松氏菌属

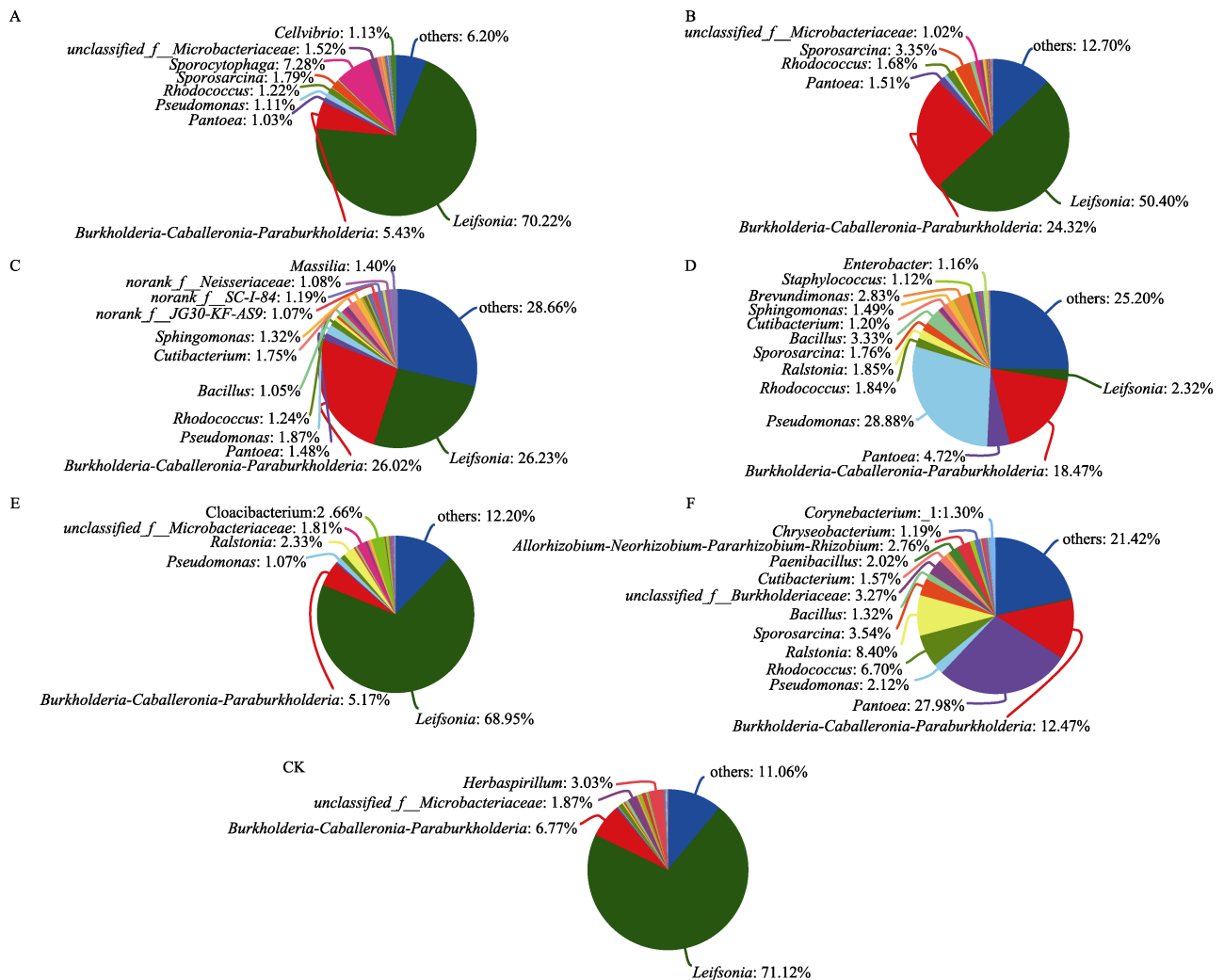


图 3 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌属分类水平组成

Fig. 3 Compositions of endophytic bacteria in stems of sugarcanes under different slow-release fertilizer applications at genus level

(*Leifsonia*) 与 *unclassified_f_Microbacteriaceae* 属内生细菌的相对丰度, 但也不同程度地增加了其他优势内生细菌属的数量。

2.3 施用不同配方甘蔗专用缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌 LEfSe 分析

物种进化分支图从内圈到外圈依次展示了样本群落中从门到属的所有等级关系, 以及各分类单元在不同模式间的差异情况。通过 LDA 值分布柱状图 (筛选标准为 $P < 0.05$, $LDA\ score > 2.0$), 可以发现不同施肥处理下的主要细菌类群。由图 4 可知, 门分类水平, 7 个不同施肥处理下甘蔗植株茎部均未发现具有显著差异的优势内生细菌门类; 属分类水平, 劳尔氏菌属 (*Ralstonia*) 细菌

是缓释肥 F 处理下甘蔗植株茎部具有显著优势的内生细菌属; *unclassified_f_Microbacteriaceae* 细菌是 CK 处理下甘蔗植株茎部具有显著优势的内生细菌属; 此外, 其他缓释肥处理下, 甘蔗植株茎部均未发现具有显著优势的内生细菌属。

2.4 施用不同配方甘蔗专用缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌 Venn 分析

由 Venn 图 (图 5) 可知, 在属分类水平上, 6 种不同配方缓释肥配方 (A~F) 和 CK 处理下, 甘蔗植株茎部内生细菌属的总数量分别为 187、212、358、275、233、253、285 个; 其中, 共有的内生细菌属数量为 84 个, 特有的内生细菌属数量分别为 18、11、59、38、16、20 个; 在种

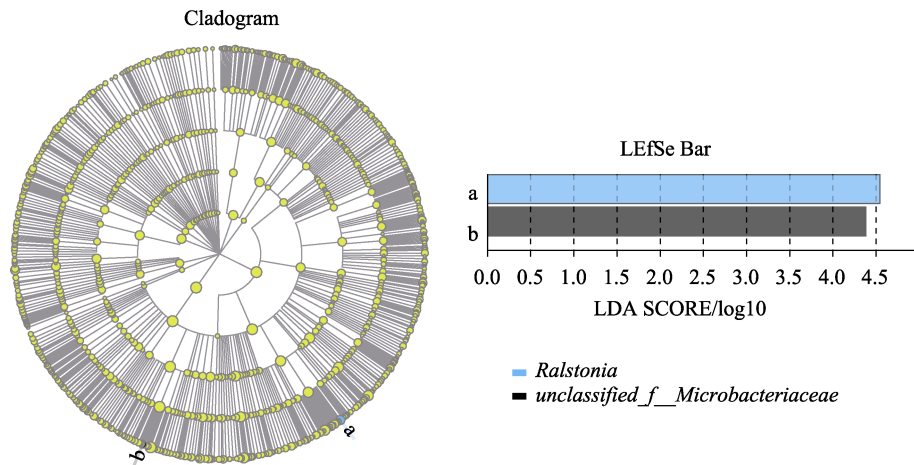


图 4 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌 LEfSe 分析 (LDA 阈值为 2.0)

Fig. 4 LEfSe analysis of endophytic bacteria in stems of sugarcane under different slow-release fertilizer applications (LDA score=2.0)

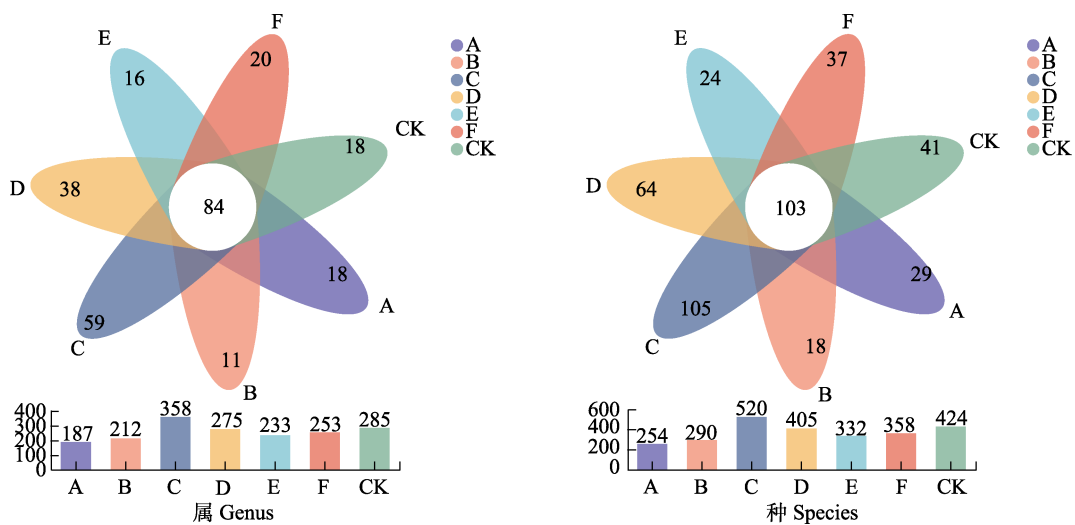


图 5 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌属和种分类水平 Venn 图

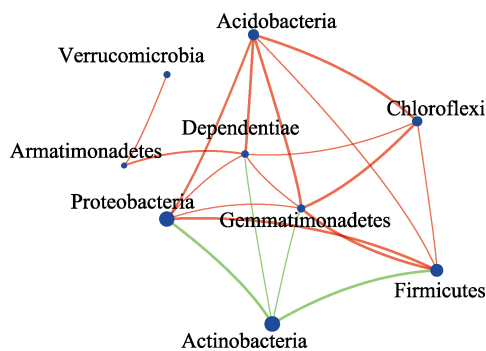
Fig. 5 Venn diagram of endophytic bacteria in stems of sugarcane at genus and species levels under different slow-release fertilizer applications

分类水平上, 6 种不同缓释肥配方 (A~F) 和 CK 处理下, 甘蔗植株茎部内生细菌种的总数量分别为 254、290、520、405、332、358、424 个, 其中, 7 种不同施肥处理下甘蔗植株茎部内生细菌共有的菌种为 103 个, 特有的内生细菌种分别为 29、18、105、64、24、37、41 个。

上述结果表明, 与 CK 相比, 无论是属或种分类水平, 除缓释肥 C 处理外, 其余缓释肥处理均不同程度地降低了甘蔗植株茎部内生细菌属、种分类水平的数量, 说明缓释肥 C 处理有助于提升甘蔗植株茎部内生细菌属、种分类水平数量。

2.5 Network 网络分析

在门分类水平上, 选取丰度前十的优势细菌门计算 Spearman 系数绘制网络图 (图 6), 反映不同施肥处理下甘蔗植株茎部内生细菌门之间的相互作用。由图 6 可知, 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和 Dependientiae 门内生细菌, 与其他门类内生细菌之间联系密切; 其中, 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 内生细菌与变形菌门 (Proteobacteria)、Dependentiae、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 内生细菌之间呈正相关, 与放线菌门 (Actinobacteria) 内生细菌之间呈负相关; Dependientiae 门内生细菌与变形菌门 (Proteobacteria)、装甲菌门 (Armatimonadetes)、酸杆菌门 (Acidobacteria) 和绿弯菌门



节点大小表示物种丰度大小, 红色表示正相关, 绿色表示负相关; 线的粗细表示相关系数的大小, 线越粗, 表示物种之间的相关性越高; 线越多, 表示该物种与其他物种之间的联系越密切。

Node size indicates species abundance, red indicates positive correlation, green indicates negative correlation; The thickness of the line indicates the size of the correlation coefficient. The thicker the line, the higher the correlation between species; The more lines, the closer the relationship between the species and other species.

图 6 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌门分类水平网络分析

Fig. 6 Network analysis of endophytic bacteria in stems of sugarcanes under different slow-release fertilizer treatments

(Chloroflexi) 内生细菌之间呈正相关, 但与放线菌门 (Actinobacteria) 呈负相关; 此外, 放线菌门 (Actinobacteria) 内生细菌还与变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 呈负相关。

2.6 功能预测分析

BugBase 是一个可以识别微生物组样本中存在的高水平表型, 并能够进行表型预测的微生物组分析工具。基于 BugBase 分析发现, 不同配方缓释肥处理下, 甘蔗植株茎部内生细菌表型包括: 兼性厌氧性 (facultatively anaerobic)、厌氧性 (anaerobic)、形成生物膜 (forms biofilms)、移动元件 (contains mobile elements)、革兰氏阳性 (gram positive)、潜在致病性 (potentially pathogenic)、需氧性 (aerobic)、革兰氏阴性 (gram negative) 和胁迫耐受 (stress tolerant) 等九大类 (图 7)。与 CK 相比, 除缓释肥 A 处理外, 其余缓释肥处理下革兰氏阳性 (Gram positive) 和兼性厌氧性 (facultatively anaerobic) 细菌丰度占比均不同程度地低于 CK 处理; 此外, 除缓释肥 A 处理外, 其余缓释肥处理下, 革兰氏阴性 (gram negative)、需氧性 (aerobic)、潜在致病性 (potentially pathogenic)、胁迫耐受 (stress tolerant) 移动元件 (contains mobile elements)、形成生物膜 (forms biofilms)、厌氧性 (anaerobic) 等细菌丰度均不同程度地高于常规施肥 (CK) 处理。

但采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多组比

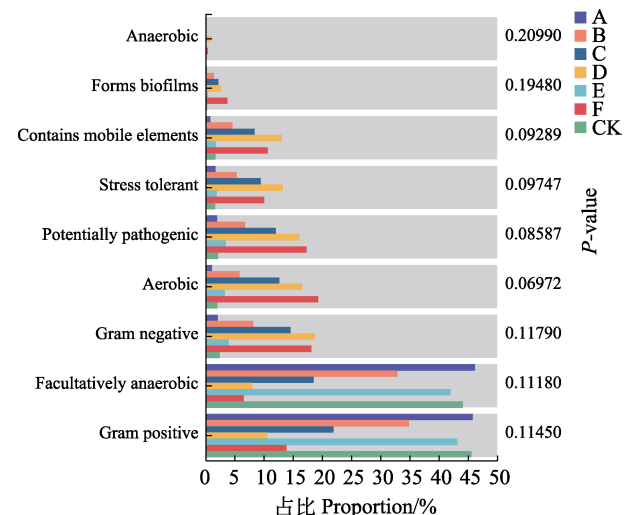


图 7 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌 BugBase 表型预测

Fig. 7 Endophytic bacterial community phenotypes under different slow-release fertilizer applications by BugBase predicted analysis

较，以及使用 FDR 对 P 值进行校正，然后使用 Tukey-kramer 进行 Post-hoc 检验，结果显示，上述 9 类不同表型细菌丰度占比在不同施肥处理中均不存在显著差异。

另一方面，比对 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库发现，不同缓释肥和常规施肥处理下，甘蔗植株茎部内生细菌的一级功能层共有 6 类生物代谢通路，分别为：细胞过程 (cellular processes)、环境信息处理 (environmental information processing)、遗传信息处理 (genetic information processing)、人类疾病 (human diseases)、代谢 (metabolism) 和有机系统 (organismal systems)。采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多组比较，结果显示，与 CK 相比，6 类代谢通路丰度在 7 种不同施肥处理间均无显著差异 (图 8A)。此外，不同缓释肥和常规施肥处理下甘蔗植株茎部内生细菌基因二级功能层主要由发育 (development)、细胞群落—真核生物 (cellular community - eukaryotes)、信号分子与相互作用 (signaling molecules and interaction)、细胞活性 (cell motility) 和核苷酸代谢 (nucleotide metabolism) 等 46 个子功能组成。采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多组比较，结果显示，与 CK 相比，46 类代谢通路丰度在 7 种不同施肥处理间亦均无显著差异 (图 8B)。这一现象表明，虽然不同缓释肥处理一定程度上改变了甘蔗植株茎部内生细菌的功能，但并没有导致甘蔗植株茎部内生细菌主体功能发生显著变化。

3 讨论

微生物是生态系统中功能活跃，开发潜力最大、最宝贵、最丰富的生物资源库^[25]。根际微生物与作物健康密切相关，其群落结构的变化将直接影响到作物的生长，而内生细菌除了具有防控病害发生的功能之外，还具有促进植物生长的作用^[22]。已有研究证实，无论是根际或内生微生物，群落结构越丰富，物种越均匀，多样性越丰富时，对抗病原菌的综合能力越强^[26-27]。

前人研究发现，不同施肥处理能不同程度地改变甘蔗植株根系内生细菌的丰富度和多样性^[1]。本研究也发现，与 CK 相比，不同配方缓释肥处理同样不同程度地改变了甘蔗植株茎部内生细菌的多样性和丰富度，其中缓释肥 C 处理的提升效果最显著。

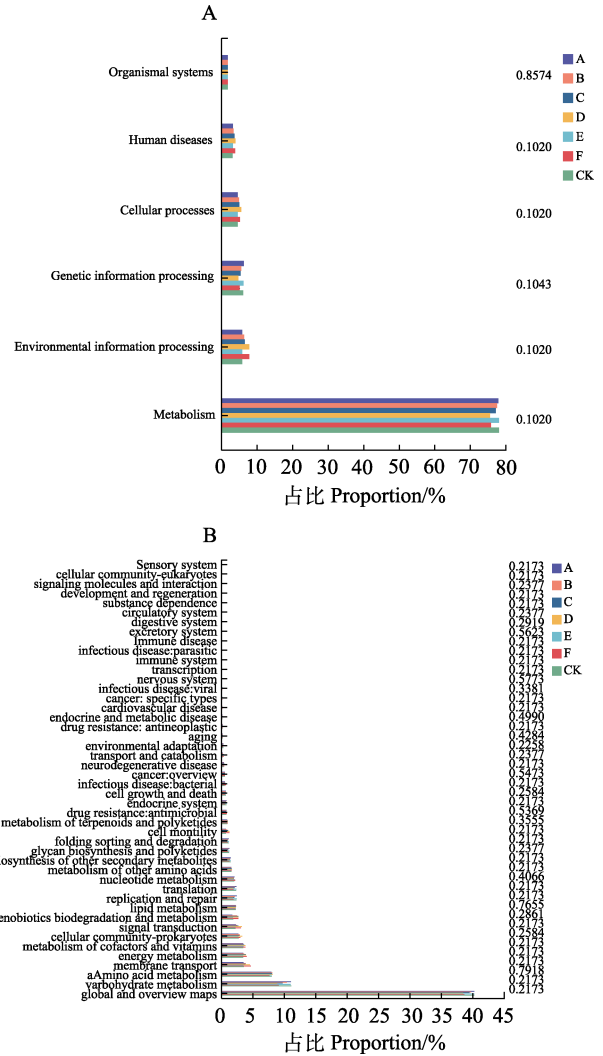


图 8 施用不同配方缓释肥甘蔗植株茎部内生细菌一级 (A) 和二级 (B) 功能层预测功能基因的相对丰度
Fig. 8 Relative abundance of endophytic bacterial functions in stems of sugarcane at primary (A) and secondly (B) functional levels under different slow-release fertilizer applications

在门分类水平上，放线菌门 (Actinobacteria)，变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 均为不同施肥处理共有的优势内生细菌门类；与常规施肥相比，不同配方缓释肥处理均不同程度地增加了优势内生细菌门类数量，其中缓释肥 C 和 F 处理的优势内生细菌门类数量最多。已有研究已证实，植物内生放线菌不仅具有拮抗宿主植物病原菌的作用，而且可以产生植物激素和铁载体，进而促进宿主植物的生长。此外，植物内生放线菌还可以侵染宿主植物的根，形成根瘤并进行生物固氮^[22, 28]。表明不同配方缓释肥处理并不会导致具有促生功能的放线菌门细菌缺失。

在属分类水平上，与 CK 相比，不同配方缓

释肥处理均不同程度地增加了甘蔗植株茎部优势内生细菌属的数量,其中缓释肥 C、D、F 处理增加数量最多;草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 是 CK 处理下甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属;生孢噬纤维菌属 (*Sporocytophaga*) 和纤维弧菌属 (*Cellvibrio*) 是缓释肥 A 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属;缓释肥 B 处理甘蔗植株茎部无特有的优势内生细菌属; *norank_f__SC-I-84*、*norank_f__Neisseriaceae*、*norank_f__JG30-KF-AS9* 和马赛菌属 (*Massilia*) 是缓释肥 C 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属;短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) 和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 是缓释肥 D 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属;克劳斯氏菌属 (*Cloacibacterium*) 是缓释肥 E 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属; *unclassified_f__Burkholderiaceae*、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、异样根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)、*Corynebacterium_1* 和金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*) 是缓释肥 F 处理甘蔗植株茎部特有的优势内生细菌属。

草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 属于革兰氏阴性 β -变形菌群^[29],大多数草螺菌具有固氮或产生植物激素的功能^[30];生孢噬纤维菌属 (*Sporocytophaga*) 和纤维弧菌属 (*Cellvibrio*) 都是纤维素降解菌^[31-32],其中生孢噬纤维菌能高效降解纤维素,同时还能生产多糖等生物活性物质^[32];马赛菌属 (*Massilia*) 具有土壤修复和改良(防治土传病害和杀灭线虫、耐受多种重金属、降解多环芳烃菲和氯乙酰胺类除草剂、溶磷功能);产酶功能(甘露聚糖酶、淀粉酶、纤维素酶等多糖水解酶);产生次生代谢产物(紫色杆菌素和聚羟基烷酸酯)等功能和作用^[33];谷青等^[34]研究发现,短波单胞菌属能够降解微囊藻毒素;类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 具有固氮^[35]、产脂肪酶^[36]和甲壳素酶^[37]等功能;金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*) 具有降解邻苯二甲酸二丁酯类化合物的功能,在生物修复方面具有良好的应用前景^[38]。上述结果表明,不同配方缓释肥处理,均有助于甘蔗植株茎部富集更多有益功能的内生细菌属类,从而有助于促进甘蔗植株生长和提高植株抗性。

另外,不同配方缓释肥处理甘蔗植株茎部内生细菌基因一级功能层和二级功能层代谢通路与

常规施肥之间均无显著差异。表明不同缓释肥处理虽然改变了甘蔗植株茎部内生细菌的群落结构组成,但并没有显著改变甘蔗植株茎部内生细菌的主体功能。基于 BugBase 表型预测还发现,除缓释肥 A 处理外,其余不同配方缓释肥处理 (B~F) 的甘蔗植株茎部胁迫耐受 (stress tolerant)、生物膜形成 (forms biofilms) 等功能细菌丰度均高于 CK;与之相反常规施肥甘蔗植株茎部兼性厌氧性 (facultatively anaerobic) 功能细菌丰度高于缓释肥处理 (B~F)。研究结果表明,除缓释肥 A 处理外,其余配方缓释肥处理均有助于提升甘蔗植株的抗逆能力。

综上所述,与 CK 相比,施用添加长效剂 (235 g/t) 以及增效剂 (3、18 g/t) 的缓释肥处理有助于显著提高甘蔗植株茎部内生细菌多样性,而施用不同配方缓释肥均未显著提升甘蔗植株茎部内生细菌的丰富度;同时,除添加长效剂 (150 g/t) 的缓释肥 B 处理外,其余缓释肥处理甘蔗植株茎部均富集了各自特有的优势内生细菌属,虽然施用缓释肥未显著改变甘蔗植株茎部内生细菌的主体功能,但大部分缓释肥处理 (B~F) 均有助于提升甘蔗植株的抗逆能力。其中,基于甘蔗植株茎部内生细菌群落组成与功能而言,添加了长效剂 (235 g/t) 的缓释肥 C 处理对甘蔗植株具有最佳的促生和抗逆效果。

参考文献

- [1] 肖健,陈思宇,孙妍,杨尚东,谭宏伟. 不同施肥水平下甘蔗植株根系内生细菌群落结构特征[J]. 作物学报, 2022, 48(5): 1222-1234.
XIAO J, CHEN S Y, SUN Y, YANG S D, TAN H W. Characteristics of endophytic bacterial community structure in roots of sugarcane under different fertilizer applications[J]. Acta Agronomica Sinica, 2022, 48(5): 1222-1234. (in Chinese)
- [2] LI Y R. China: an emerging sugar super power[J]. Sugar Tech, 2004, 6(4): 213-227.
- [3] 谢如林,谭宏伟,黄美福,周柳强,黄金生. 高产甘蔗的植物营养特征研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(3): 828-831.
XIE R L, TAN H W, HUANG M F, ZHOU L Q, HUANG J S. Study of plant nutritional characteristic of high yield sugarcane[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 23(3): 828-831. (in Chinese)
- [4] 梁阔,杨尚东,何为中,谭宏伟. 新植蔗一次性施用甘蔗

- 专用缓释肥的效果[J]. 南方农业学报, 2020, 51(3): 552-557.
- LIANG T, YANG S D, HE W Z, TAN H W. Effects of special slow-release fertilizer for newly planted sugarcanes with one time application method[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(3): 552-557. (in Chinese)
- [5] ROBERTSON G P, VITOUSEK P M. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource[J]. Annual Review of Environment and Resources, 2009, 34(1): 97-125.
- [6] TIMILSENA Y P, ADHIKARI R, CASEY P, MUSTER T, GILL H, ADHIKARI B. Enhanced efficiency fertilisers: a review of formulation and nutrient release patterns[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(6): 1131-1142.
- [7] GENG J B, MA Q, ZHANG M, LI C L, LIU Z G, LYU X X, ZHENG W K. Synchronized relationships between nitrogen release of controlled release nitrogen fertilizers and nitrogen requirements of cotton[J]. Field Crops Research, 2015, 184: 9-16.
- [8] ZHENG W K, ZHANG M, LIU Z G, ZHOU H Y, LU H, ZHANG W T, YANG Y C, LI C L, CHEN B C. Combining controlled-release urea and normal urea to improve the nitrogen use efficiency and yield under wheat-maize double cropping system[J]. Field Crops Research, 2016, 197: 52-62.
- [9] SHAVIV A. Advances in controlled-release fertilizers[J]. Advances in Agronomy, 2001, 71: 1-49.
- [10] YANG X Y, GENG J B, LI C L, ZHANG M, TIAN X F. Cumulative release characteristics of controlled-release nitrogen and potassium fertilizers and their effects on soil fertility, and cotton growth[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 39030.
- [11] GAO X, LI C L, ZHANG M, WANG R, CHEN B C. Controlled release urea improved the nitrogen use efficiency, yield and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.) on silt loamy soil[J]. Field Crops Research, 2015, 181: 60-68.
- [12] 丁志磊, 李元, 蒋翔, 祖艳群. 不同缓释肥施用比例对桃树—大豆间作农田地表径流氮、磷流失及土壤养分的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(3): 301-305.
- DING Z L, LI Y, JIANG X, ZU Y Q. Effects of different proportions of slow-release fertilizer on nitrogen and phosphorus loss from surface runoff and soil nutrients in peach-soybean intercropping system[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2015, 29(3): 301-305. (in Chinese)
- [13] 姚光刚, 李国雷, 郑永林, 薛敦孟, 李世安, 袁启华. 缓释肥施用量对榿栎容器苗苗木质量的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(1): 69-75.
- YAO G G, LI G L, ZHENG Y L, XUE D M, LI S A, YUAN Q H. Effects of slow-release fertilizer rate on the quality of *Quercus aliena* container seedlings[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2019, 43(1): 69-75. (in Chinese)
- [14] 朱亚, 赵永平, 郑仕伟, 杨攀, 赵盟. 缓释肥与叶面肥配施对烟草生长发育和光合特性的影响[J]. 江西农业学报, 2018, 30(6): 67-70.
- ZHU Y, ZHAO Y P, ZHENG S W, YANG P, ZHAO M. Effects of combined application of slow-release fertilizer and foliage fertilizer on growth, development and photosynthetic characteristics of tobacco plants[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30(6): 67-70. (in Chinese)
- [15] ZHANG R R, LIU Y, XUE W L, CHEN R X, DU S T, JIN C W. Slow-release nitrogen fertilizers can improve yield and reduce Cd concentration in pakchoi (*Brassica chinensis* L.) grown in Cd-contaminated soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(24): 25074-25083.
- [16] 王文丽, 姜彩霞, 王一斐, 周江明, 王晓东. 缓释肥减量施用对春优 927 产量及经济效益的影响[J]. 中国稻米, 2019, 25(1): 97-99.
- WANG W L, JIANG C X, WANG Y F, ZHOU J M, WANG X D. Effects of slow release fertilizer reduction on yield and benefit of Chunyou 927[J]. China Rice, 2019, 25(1): 97-99. (in Chinese)
- [17] 赵蒙, 曾科, 姚元林, 张敏, 杜林岚, 田玉华, 胡建民, 尹斌. 聚脲甲醛缓释肥对太湖稻麦轮作体系氮挥发及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(1): 55-63.
- ZHAO M, ZENG K, YAO Y L, ZHANG M, DU L L, TIAN Y H, HU J M, YIN B. Effects of polyurea-formaldehyde on ammonia volatilization and yields under rice - wheat rotation in Taihu region[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2019, 25(1): 55-63. (in Chinese)
- [18] DONG D, WANG C, VAN ZWIETEN L, WANG H L, JIANG P K, ZHOU M M, WU W X. An effective biochar-based slow-release fertilizer for reducing nitrogen loss in paddy fields[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20: 3027-3040.
- [19] 许树宁, 许卫安, 杨先进, 梁阡, 王维赞, 郑苏林, 黄建光. 缓释复合肥不同施用次数对甘蔗产量及蔗糖分的影响[J]. 甘蔗糖业, 2016(4): 37-41.
- XU S N, XU W A, YANG X J, LIANG T, WANG W Z, ZHENG S L, HUANG J G. Different applications of slow-release compound fertilizer to cane yield and sucrose content[J]. Sugarcane and Canesugar, 2016(4): 37-41. (in Chinese)
- [20] 廖青, 江泽普, 邢颖, 杨绍铿, 陈桂芬, 梁潘霞, 蒙炎成. 缓释肥和专用肥对甘蔗产量和品质的影响[J]. 广西糖业, 2017(1): 10-14.
- LIAO Q, JIANG Z P, XING Y, YANG S E, CHEN G F, LIANG P X, MENG Y C. Effects of fertilizing slow - release fertilizer and sugarcane on yield and quality of sugarcane[J].

- Guangxi Sugar Industry, 2017(1): 10-14. (in Chinese)
- [21] 苟琪, 吕燕, 张涛, 李靖宇, 赵会君, 刘建利. 宁夏枸杞叶不同生长期内生细菌群落动态及其影响因素[J]. 生态学杂志, 2020, 39(8): 2593-2601.
GOU Q, LYU Y, ZHANG T, LI J Y, ZHAO H J, LIU J L. Dynamics and influencing factors of endophytic bacterial community in leaves of *Lycium barbarum* during different growth periods[J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 39(8): 2593-2601. (in Chinese)
- [22] 肖健, 陈思宇, 孙妍, 杨尚东, 谭宏伟. 甘蔗间作不同豆科作物对甘蔗植株内生细菌多样性的影响[J]. 热带作物学报, 2021, 42(11): 3188-3198.
XIAO J, CHEN S Y, SUN Y, YANG S D, TAN H W. Effect of intercropping with different legume crops on endophytic bacterial diversity of sugarcane[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(11): 3188-3198. (in Chinese)
- [23] YANG S D, XIAO J, LIANG T, HE W Z, TAN H W. Response of soil biological properties and bacterial diversity to different levels of nitrogen application in sugarcane fields[J]. AMB Express, 2021, 11(1): 172.
- [24] DI Y N, KUI L, SINGH P, LIU L F, XIE L Y, HE L L, LI F S. Identification and characterization of *Bacillus subtilis* B9: a diazotrophic plant growth-promoting endophytic bacterium isolated from sugarcane root[J/OL]. Journal of Plant Growth Regulation, 2022. [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10653-x>.
- [25] 肖健, 孙妍, 陈思宇, 任奎瑜, 杨尚东, 唐小付. 南方果园蚁巢土壤微生物群落结构特征分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(6): 1604-1614.
XIAO J, SUN Y, CHEN S Y, REN K Y, YANG S D, TANG X F. Characteristics of soil microbial community structure in ant nests in orchards in southern China[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(6): 1604-1614. (in Chinese)
- [26] 杨尚东, 任奎瑜, 谭宏伟. 甘蔗宿根矮化病感病与非感病植株养分含量、根系生长及内生细菌群落的差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(9): 1591-1599.
YANG S D, REN K Y, TAN H W. Differences in plant nutrient content, root growth and endophytic bacterial community between infected and non-infected sugarcane by ratoon stunting disease[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2020, 26(9): 1591-1599. (in Chinese)
- [27] 杨尚东, 郭霜, 任奎瑜, 庞师婵, 张传进, 王帅帅, 谭宏伟. 甘蔗宿根矮化病感病与非感病株根际土壤生物学性状及细菌群落结构特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(6): 910-916.
YANG S D, GUO S, REN K Y, PANG S C, ZHANG C J, WANG S S, TAN H W. Soil biological properties and bacterial community structures in rhizosphere soil of canes infected and non-infected by ratoon stunting disease[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2019, 25(6): 910-916. (in Chinese)
- [28] 冯天祥, 王玲, 陈海敏, 盛清, 左锐, 谢文杰. 植物内生放线菌功能及生物活性物质研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2015, 35(4): 98-106.
FENG T X, WANG L, CHEN H M, SHENG Q, ZUO R, XIE W J. Research advances on function and bioactive substances of endophytic actinomycetes[J]. China Biotechnology, 2015, 35(4): 98-106. (in Chinese)
- [29] TULESKI T R, KIMBALL J, DO AMARAL F P, PEREIRA T P, TADRA-SFEIR M Z, DE OLIVEIRA PEDROSA F, DE SOUZA E M, BALINT-KURTI P, MONTEIRO R A, STACEY G. *Herbaspirillum rubrisubalbicans* as a phytopathogenic model to study the immune system of *Sorghum bicolor*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2020, 33(2): 235-246.
- [30] 刘伟林, 占桂婷, 王婷, 程伟, 尤恒, 李珂, 徐萧, 丁坤明, 饶辉福, 张君岱, 程长松, 李亚东, 李洋, 吴文华, 王行国. 草螺菌 *Herbaspirillum* sp. WT00F 的生理生化性质和促生作用研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2017, 39(3): 291-298, 304.
LIU W L, ZHAN G T, WANG T, CHENG W, YOU H, LI K, XU X, DING K M, RAO H F, ZHANG J D, CHENG C S, LI Y D, LI Y, WU W H, WANG X G. Physicochemical properties and growth promoting effects of *Herbaspirillum* sp. WT00F[J]. Journal of Hubei University (Natural Science), 2017, 39(3): 291-298, 304. (in Chinese)
- [31] 赵天涛, 胡庆梅, 张丽杰, 全学军. 一株从矿化垃圾中分离的纤维弧菌[J]. 重庆理工大学学报(自然科学), 2011, 25(6): 1-5.
ZHAO T T, HU Q M, ZHANG L J, QUAN X J. A new strain of *Cellvibrio* sp. isolated from aged-refuse[J]. Journal of Chongqing University of Technology (Natural Science), 2011, 25(6): 1-5. (in Chinese)
- [32] 温佳慧, 晏煜煜, 谭韩涵, 蔡瀚峰, 刘凯, 宫春杰. 生孢噬纤维菌研究进展[J]. 山东化工, 2019, 48(1): 46-48.
WEN J H, YAN Y Y, TAN H H, CAI H F, LIU K, GONG C J. Research progress on the cellulose - degradation of sporocytophaga[J]. Shandong Chemical Industry, 2019, 48(1): 46-48. (in Chinese)
- [33] 杨恩东, 崔丹曦, 汪维云. 马赛菌属细菌研究进展. 微生物学通报[J], 2019, 46(6): 1537-1548.
YANG E D, CUI D X, WANG W Y. Research progress on the genus *Massilia*[J]. Microbiology China, 2019, 46(6): 1537-1548. (in Chinese)
- [34] 谷青, 赵琪, 史全良. 一株降解微囊藻毒素的缺陷短波单胞菌的分离鉴定及降解特性研究[J]. 环境科学学报, 2017,

- 37(1): 201-206.
- GU Q, ZHAO Q, SHI Q L. Isolation, identification and characterization of a novel microcystin-degrading bacterium[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(1): 201-206. (in Chinese)
- [35] NIU X B, YANG H, SUN J G, CHEN Q, WANG Y J, XU B L, ZHANG X X, GAO M. Characterizations of three diazotrophic *Paenibacillus* spp. and their effect on Chinese pakchoi yield and soil enzyme activities[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(7): 1213-1223.
- [36] GAO J X, QU X Y, XU P, ZONG M H, LOU W. Cloning, overexpression, and characterization of a novel organic solvent-tolerant lipase from *Paenibacillus pasadenensis* CS0611[J]. *Chinese Journal of Catalysis*, 2018, 39(5): 937-945.
- [37] GUO X X, XU P, ZONG M H, LOU W Y. Purification and characterization of alkaline chitinase from *Paenibacillus pasadenensis* CS0611[J]. *Chinese Journal of Catalysis*, 2017, 38(4): 665-672.
- [38] 范思艺, 陈芳艳, 唐玉斌, 孙怡涵. 1株金黄杆菌的分离鉴定及其对 DBP 的降解特性[J]. *环境科学与技术*, 2018, 41(S1): 41-46.
- FAN S Y, CHEN F Y, TANG Y B, SUN Y H. Isolation, identification of a *Chryseobacterium* strain and its degradation characteristics for DBP[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 41(S1): 41-46. (in Chinese)