

植物根围微生物分子生物学研究方法进展

杨晓峰, 吕杰, 马媛

(新疆大学 资源与环境科学学院, 绿洲生态教育部共建重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要:植物根围微生物是指在植物根系直接影响的土壤范围内生长繁殖的微生物。根围微生物研究对微生物生态学具有十分重要的意义。现对根围微生物多样性研究的克隆文库、分子指纹图谱技术、实时定量 PCR 技术、宏基因组文库、转录组合蛋白组分析等主要方法进行了综述;并对根围微生物研究的领域加以阐述与展望。

关键词:根围微生物;分子生态学;研究方法;克隆文库;基因组学

中图分类号:Q 943.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0202-05

分子生态学是近年来兴起的一门交叉学科,是将分子生物学的研究方法融入传统生态学研究领域。目前分子生态学更多的是作为微生物学的一个领域—微生物分子生态学,以分子生物学技术为工具来研究特定环境中的微生物区系的组成、结构、功能以及适应性等分子机制,从而在宏观层次上揭示微生物群落演变的规律,反映生态环境与微生物群落之间的相互作用^[1-2]。

植物根围微生物是指在植物根系直接影响的土壤范围内生长繁殖的微生物,包含细菌、放线菌、真菌、藻类和原生动物等。王海鸥等^[3]研究显示,根围微生物与植物共生并相互影响,微生物将土壤中大分子难溶物转化为小分子可溶物为植物生长提供养料,同时分泌生长激素等促进植物生长。植物将光合产物以根系分泌物和植物残体形式释放到土壤,供给土壤微生物生长与繁殖。因此植物根围微生物与植物的关系,可为农业生产、植物保护、植被恢复等提供参考。此外微生物还通过对重金属吸附和转化、促进植物对重金属的吸收等途径来修复被重金属污染的土壤。

在分子生物学未引进微生物分子生态学研究之前,根围微生物多样性的研究多采用可培养的方法,根据根围微生物在不同种类培养基上的生长形态和生理生化特性对其进行分类,并根据相同菌落数进行不同种类微

生物多样性的统计。但这种可培养的方法无法反映出占环境微生物中绝大多数的微生物的信息,因为可培养微生物只占全体微生物的 1%~10% 左右^[4-5]。为了充分认识环境当中这些不可培养微生物,20 世纪 70 年代,多种免培养的新方法和新技术逐渐建立。应用这些免培养的分子生态学新技术,可以不用对环境当中的微生物菌株进行分离纯化,而是直接提取环境微生物的基因组,并以其为研究对象对环境微生物多样性进行研究,应用这些免培养的新方法可以获得环境微生物的绝大多数信息。

该文对根围微生物多样性研究的克隆文库、分子指纹图谱技术、实时定量 PCR 技术、宏基因组文库、转录组合蛋白组分析等主要方法进行了综述;并对根围微生物研究的领域加以阐述与展望。

1 根围微生物研究方法

1.1 克隆文库

克隆文库法是微生物生态学研究广泛使用的一种鉴定方法。该方法基于 PCR (Polymerase Chain Reaction) 扩增技术,以环境样本 DNA 为模板,以通用引物将环境样本中需要分析的微生物的特异基因片段扩增出来,并进行测序分析。测序获得的序列存放在核糖体数据库项目(RDP)和 GenBank 数据库中。克隆文库法可用于环境中微生物多样性分析以及微生物系统发育关系的研究^[6-8]。张守印等^[9]通过对脆弱类杆菌建立 16S rRNA 基因克隆文库,将序列与数据库进行比对分析,发现 16S rRNA 基因序列分析是一种较好的细菌菌群分析方法,它可以同时检出多种细菌,并能对混合细菌标本进行菌群相对定量,反映菌群中各种细菌的相对丰度,但不能准确定量菌群中各种细菌的数量。赵志祥等^[10]通过 16S rDNA 克隆文库技术分析温室黄瓜根围

第一作者简介:杨晓峰(1990-),男,新疆人,硕士研究生,研究方向为分子生态学。

责任作者:马媛(1977-),女,新疆人,副教授,现主要从事干旱区生态学与分子生态学和极端环境微生物等研究工作。E-mail: xjm-ayuan@sina.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31060086);新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2011211B11);新疆绿洲生态(教育部省部共建)重点实验室开放课题资助项目(XJDX0206-2011-03)。

收稿日期:2014-03-25

土壤细菌多样性发现,与裸地土壤细菌 16S *r*DNA 文库相比较,温室黄瓜根围土壤细菌多样性降低,这与温室多年连作同种蔬菜相关。

1.2 分子指纹图谱技术

变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE),末端限制性片段长度多态性(Terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)和单链构象多态性(Single-strand conformation polymorphism, SSCP)是根围微生物研究中最常用的 3 种技术。DGGE 基于双链 DNA 片段在变性梯度电泳过程中时序性解链而导致的不同碱基排列的 DNA 片段有效分离^[11]。T-RFLP 由于限制性内切酶位点的差异造成获得的末端片段长度大小不同,不同长度的末端限制性片段代表不同的微生物,这些末端带有荧光标记的片段可以用来反映微生物菌落的组成情况^[12]。SSCP 技术分离片段基于单链 DNA 空间构象差异造成在非变性聚丙烯酰胺凝胶上流动性不同^[13]。

实践证明,基于以上 3 种方法揭示环境微生物多样性时,3 个指纹图谱技术同样适用于由于环境差异造成的环境微生物群落结构。尽管具有相同性能,但这 3 种方法各自具有自己的优点及缺点。T-RFLP 适合于高通量分析,由输出的峰值可以估计不同 OTU(Operation taxonomic unit)的相对丰度,但由于需要一个限制性内切酶消化步骤,所以 T-RFLP 输出的所有峰不可能代表样本中所有目标微生物的种类。DGGE 和 SSCP 方法的优点是都可用凝胶分离不同遗传单元,可直观的比较不同样本的微生物多样性差异,但通量较小。而且在 SSCP 分析中单链 DNA 在电泳过程中还可以重新退火^[14]。

以上这 3 种方法已成功地应用于根围研究。Sliwinski 等^[15]利用 SSCP 分析各种陆生植物根围及背景土古菌群落,发现陆生植物根围古菌群落显著区别于背景土古菌群落,并且根围微生物群落由植物种类和土壤类型决定。DGGE 是最广泛使用的研究根围微生物遗传多样性的指纹图谱方法,已被用来研究各种不同的根围微生物技术如动态的产甲烷古菌的群落在日本水稻土相关的科学问题。Costa 等^[16]研究发现假单胞菌的群落结构关系在根围拮抗潜力和高 CO₂ 浓度下对草原微生物结构多样性的影响。指纹图谱的方法被越来越多地用于 DNA 和 RNA 水平的差异研究概况,同时,为了获得功能与群落多样性之间联系的知识。大多数研究已经使用 *r*RNA 基因为标记基因,有些研究使用固氮酶基因(*nifH*)和基因转录,并利用 T-RFLP 技术研究不同水稻品种对根围固氮酶基因表达的影响^[17]。T-RFLP 技术还被应用于研究由细菌组成的土壤及耕地根围的“经典”研究。应当指出的是,基于 PCR 扩增的

指纹图谱技术不能提供均匀度和丰富度的菌群多样性参数,原因是由于 PCR 扩增如果超过指数扩增期后所有片段的扩增效率是相同,条带的明暗程度就不能反映不同微生物的相对丰度。

1.3 实时定量 PCR 技术

在研究根围微生物的研究中,不仅需要知道微生物的种类,有时会更关心不同种类微生物的相对丰度。而大多数研究方法都是基于 PCR 反应的,PCR 扩增的产物仍然只能定性研究。直到最近基于定量 PCR 的方法被引进微生物分子生态学的研究,并引入到根围微生物的研究中,包括 MPN-PCR,竞争性 PCR,以及实时定量荧光 PCR (real-time quantitative PCR)。其中实时定量荧光 PCR 是最有效的从环境样品中定量基因的方法。实时定量荧光 PCR 是在 PCR 反应体系中加入荧光基团,在 PCR 指数扩增期通过连续监测荧光信号强弱的变化来即时测定特异性产物的量,并据此推断目的基因的初始量,不需要取出 PCR 产物进行分离。

SYBR 荧光染料和 TaqMan 探针是实时定量 PCR 常用的 2 种方法。在 PCR 反应体系中,加入过量 SYBR 荧光染料,SYBR 染料可插入到双链 DNA 小沟中发射荧光信号,荧光信号强度是游离的染料的 100 倍,因此非常适合扩增产物的检测。但 PCR 扩增过程中引物二聚体会影响定量的结果,因此,在实时定量之前要对 PCR 的反应体系进行优化。而 TaqMan 探针依赖与靶序列的特异性杂交,并依赖于 Taq DNA 聚合酶的核酸外切酶活性^[18-19]。该探针为一寡核苷酸,两端分别标记 1 个报告荧光基团和 1 个淬灭荧光基团。当探针完整时,发射光谱由荧光团淬灭剂淬灭,无荧光检测。PCR 扩增时,Taq 酶的 5'-3'外切酶活性将探针酶切降解,使报告荧光基团和淬灭荧光基团分离,从而荧光监测系统可接收到荧光信号,即每扩增 1 条 DNA 链,就有 1 个荧光分子形成,因此荧光信号形成与 PCR 产物的形成成正比。

实时定量 PCR 与普通 PCR 具有相同的缺点,如引物的特异性,以及扩增基因的扩增效率。然而,实时定量 PCR 技术的改进解决了诸如模板杂质及扩增效率低等问题,使得该技术成为一种简单快捷研究土壤和根围微生物的工具。

1.4 宏基因组文库

土壤中可培养微生物仅占土壤微生物的一小部分,而土壤绝大多数不可培养微生物信息也尤为重要。现代高通量测序技术使人们不仅限于研究特定的基因,而是可获得宏基因的全部信息。

常规宏基因组文库构建利用温和的方法提取环境样本基因组 DNA,获得插入片段为 40~50 kb,库容为 150 000 的宏基因组文库,相当于 1 500 个大肠杆菌基因

组大小。在研究根围土壤样品中宏基因组时,为了保证所有基因在文库中至少出现一次,文库要包含 200 万个这样的克隆^[20]。该宏基因组技术不仅能更好研究环境样本微生物的种类组成,还可以揭示其生态学功能。Mirete 等^[21]已成功将宏基因组 DNA 文库应用于适应矿上酸性污染物植物根围微生物的构建,并筛选到镍抗性基因。

常规宏基因组文库的构建与筛选存在缺陷,因此使得应用该技术进行研究无法全面获得功能基因组信息。在此背景下,随技术的发展二代测序技术部分替代了常规宏基因组文库的功能。第 2 代测序技术的核心思想是边合成边测序(Sequencing by Synthesis),即通过捕捉新合成的末端的标记来确定 DNA 的序列,现有的技术平台主要包括 Roche/454 FLX、Illumina/Solexa Genome Analyzer 和 Applied Biosystems SOLID system。

这 3 个技术平台各有优点,Solexa 测序通量较大,运行成本低,在数据量相同的情况下,成本只有 454 测序的 1/10,但测序读长只有 80~120 bp;454 FLX 的测序片段比较长,高质量的读长能达到 400~500 bp^[22];SOLID 测序的准确度高,原始碱基数据的准确度大于 99.94%,而在 15 倍覆盖率时的准确度可以达到 99.999%。目前二代测序技术也已经应用于根围微生物的研究当中。

1.5 转录组和蛋白质组分析

转录组是指某个物种或特定细胞在某一生理功能时间下,细胞内所有转录的 mRNA 产物的集合,是连接基因组遗传信息与生物功能蛋白质组必然的纽带。转录水平的调控是目前研究最多的,也是生物体最重要的调控方式。相对于传统芯片而言,转录组测序应用范围广,无需预先设计探针或了解物种的基因信息,即可对目标物种进行转录组测序,能够提供更精确的数字化信号,更高的检测通量以及更广泛的检测范围,同时能发现新的转录本,预测新的基因,检测可变剪切,SNPs,融合基因等,是目前深入研究基因组复杂性的强大工具。

蛋白质组指由 1 个基因组或 1 个细胞、组织表达的所有蛋白质。在转录时,1 个基因可以多种 mRNA 形式剪接,1 个蛋白质组不是 1 个基因组的直接产物,蛋白质组中蛋白质的数目有时可以超过基因组的数目。再有就是 mRNA 完成翻译任务后就会被降解,因此有些基因 mRNA 难以分离,而其翻译产物有时相对稳定。因此蛋白质组是基因组和转录组研究的一个有效补充。目前分析蛋白质组使用高分辨率的二维聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,通过蛋白质等电点和分子量不同进行分离,分离的蛋白质点随后进行质谱分析及生物信息学的比对。

土壤微生物大多数都为非培养微生物,转录组和蛋白质组技术的引入可以极大的揭示众多非培养微生物

的生态学功能。

2 根围微生物研究的领域

2.1 根围微生物营养元素来源

当土壤缺乏某种营养物质时,根围微生物会做出响应以驱动营养物质的循环,针对这些变化的微生物可以进行驱动这些营养物质基因的研究,以此筛选出的相应基因和菌株可以用于农业生产。植物根际分泌物是植物幼苗根围微生物碳源的主要来源,小麦在短时间内接受碳饥饿处理后,其根际分泌物单糖含量相对于氨基酸和有机酸显著下降^[23]。Puglisi 等^[24]用 *lux* 基因标记的 *Pseudomonas* 检测植物根部碳源物质的分泌及根围微生物碳的利用过程。

氮和磷在土壤及对根围微生物(包括报告菌株荧光假单胞杆菌)都具有重要的意义,Standing 等^[25]在利用大麦草进行土壤修复以改变接种的假单胞杆菌生境的实验中,发现大麦草纤维素降解会引起土壤当中氮的缺乏,磷与这一过程并无关联。第一次证明了土壤中由于微生物的作用而导致的营养元素利用不均衡现象。

2.2 芳香族化合物的降解

芳香族化合物进入生态系统后经食物链富集后,对哺乳类动物及人类有致癌、致畸、致突变的“三致”作用,生物毒性最大。其中大部分的芳香族污染物最终都会进入土壤,主要由微生物通过代谢作用或者共代谢作用降解这些有机污染物。例如 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)的降解实验,Hay 等^[26]发现降解 2,4-D 的土壤微生物为 *Cupriavidus necator* JMP134 菌株,该菌株含有 2,4-D 的降解质粒 pJP4,其上含有 2 个 *tfd* 基因的基因簇 Rregulatory-D_{II}C_{II}E_{II}F_{II} 和 Tregulatory-C_ID_IE_IF_I。这 2 个基因簇公共参与 2,4-D 的开环降解过程,降解终产物进入 TCA 循环。而多氯联苯(PCB),是由 *Ralstonia*, *Burkholderia* 和 *Pseudomonas* 多种土壤细菌参加降解,其初始降解步骤是由 *bphA* 基因编码的联苯双加氧酶进行催化的,然后由不同的微生物进行共代谢并最终降解。

2.3 细胞间的相互作用

根围微生物的研究中,包括植物与细菌、真菌与细菌及细菌间的相互作用,如豆科植物可以通过其根部分泌的黄酮类化合物激活根瘤菌的 *nod* 基因。Bolanos 等^[27]将 *lacZ* 基因与 *nodC* 进行连锁以观察来源于豆科植物的 6 种不同黄酮类化合物是如何激活 *nod* 基因。这种报告技术越来越多的应用于调节根围微生物生长的新信号物质的研究当中。目前还经常将假单胞杆菌作为报告菌株,研究植物病原真菌与植物之间的相互作用信号物质。此外,植物根围细菌来源的群体感应信号分子能诱导与调控植物的抗病性与生长发育。Steidle 等^[28]构建了含有 *gfp* 基因的 AHL(N-acyl-L-homoserine

lactone)敏感的恶臭假单胞菌,研究番茄根围土壤中微生物群落产生 AHL 的情况。Elasri 等^[29]报道植物根围约 40% 的假单胞杆菌均产生的 AHL 分子,作为细菌细胞间的群体感应信号分子。然而 AHL 分子在根围微生物间生态学功能仍需要深入的研究。

3 结语

新的分子生态学的方法使研究摆脱了微生物培养的限制,比可培养技术更加全面的揭示环境中微生物的信息。但目前缺少纯培养菌株的状态下,研究微生物功能时存在一定困难。随着好的培养方法的快速发展,更多的非培养菌株获得纯培养,因此今后的研究应该是多方法相互结合,在保证试验的同时获得更多的信息。在过去 20 年左右的时间里,根际研究已经取得了巨大进步,人们利用荧光显微镜可以对单细胞进行研究,并对微生物群落结构和功能进行分子分析。目前宏基因组测序技术使人们对环境微生物群落及功能基因有了进一步的了解。通过对微生物特征序列和功能基因片段的比对,人们有可能揭示微生物群落多样性与功能多样性之间的联系,并对其生态学功能进行合理推理。今后随着从蛋白质组学、宏基因组学和代谢组获得的数据量的不断增加,可进一步通过系统生物学的方法研究这些信息并在有机体或群落构建代谢和调控网络。

参考文献

- [1] 吴作军,卢滇楠,张敏莲,等. 微生物分子生态学技术及其在石油污染土壤修复中的应用现状与展望[J]. 化工进展,2010,29(5):789-795.
- [2] Louise M D, Gwyn S G, John H, et al. Management influences no soil microbial communities and their function in botanically diverse hay meadows of northern England and Wales[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 253-263.
- [3] 王海鸥,徐海洋,钟广蓉,等. 根际微生物对植物修复重金属污染土壤作用的研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(30):14832-14834.
- [4] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiol Rev, 1995, 59(1):143-169.
- [5] Handelsman J, Rondon M R, Brady S F, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products[J]. Chem Biol, 1998, 5(10):245-249.
- [6] Head I M, Saunders J R, Pickup R W. Microbial evolution, diversity, and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms[J]. Microbial Ecology, 1998, 35(1):1-21.
- [7] Brambilla E, Hippe H, Hagelstein A, et al. 16S rDNA diversity of cultured and uncultured prokaryotes of a mat sample from Lake Fryxell, McMurdo Dry Valleys, Antarctica[J]. Extremophiles, 2001, 5(1):23-33.
- [8] Baker G C, Gaffar S, Cowan D A, et al. Bacterial community analysis of Indonesian hot springs [J]. FEMS Microbiology Letters, 2001, 200(1): 103-109.
- [9] 张守印,郭学青,李振军,等. 16 S rRNA 基因克隆文库用于菌群分析的效能研究和评价[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(16):1549-1552.
- [10] 赵志祥,罗坤,陈国华,等. 结合宏基因组末端随机测序和 16S rDNA 技术分析温室黄瓜根围土壤细菌多样性[J]. 生态学报, 2010, 30(14): 3849-3857.
- [11] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes encoding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59:695-700.
- [12] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, et al. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63:4516-4522.
- [13] Schwieger F, Tebbe C C. A new approach to utilize PCR-single-strand-conformation polymorphism for 16s rRNA gene-based microbial community analysis[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64:4870-4876.
- [14] Nocker A, Burr M, Camper A K. Genotypic microbial community profiling: A critical technical review[J]. Microb Ecol, 2007, 54:276-289.
- [15] Sliwinski M K, Goodman R M. Comparison of crenarchaeal consortia inhabiting the rhizosphere of diverse terrestrial plants with those in bulk soil in native environments[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70:1821-1826.
- [16] Costa R, Gomes N C M, Krogerrecklenfort E, et al. Pseudomonas community structure and antagonistic potential in the rhizosphere: insights gained by combining phylogenetic and functional gene-based analyses [J]. Environ Microbiol, 2007(9):2260-2273.
- [17] Knauth S, Hurek T, Brar D, et al. Influence of different Oryzacultivars on expression of nifH gene pools in roots of rice[J]. Environ Microbiol, 2005 (70):1725-1733.
- [18] Heid CA, Stevens J, Livak K J, et al. Real time quantitative PCR[J]. Genome Res, 1996(6):986-994.
- [19] Wilhelm J, Pingoud A. Real-time polymerase chain reaction[J]. Chem Biol, 2003(4):1120-1128.
- [20] Ginolhac A, Jarrin C, Gillet B, et al. Phylogenetic analysis of polyketide synthase I domains from soil metagenomic libraries allows selection of promising clones[J]. Application Environ Microbiol, 2004, 70:5522-5527.
- [21] Mirete S, de Figueras C G, Gonzalez-Pastor J E. Novel nickel resistance genes from the rhizosphere metagenome of plants adapted to acid mine drainage[J]. Application Environ Microbiol, 2007, 73:6001-6011.
- [22] Margulies M, Egholm M, Altman W E, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors[J]. Nature, 2005, 437:376-380.
- [23] Yeomans C, Porteous F, Paterson E, et al. Assessment of flux-marked Pseudomonas fluorescens for reporting on organic carbon compounds[J]. FEMS Microbiol Lett, 1999, 176:79-83.
- [24] Puglisi E, Fragoulis G, Del Re A A M, et al. Carbon deposition in soil rhizosphere following amendments with compost and its soluble fractions, as evaluated by combined soil-plant rhizobox and reporter gene systems[J]. Chemosphere, 2008, 73:1292-1299.
- [25] Standing D, Meharg A A, Killham K A. tripartite microbial reporter gene system for real-time assays of soil nutrient status[J]. FEMS Microbiol Lett, 2003, 220:35-39.
- [26] Hay A G, Rice J F, Applegate B M, et al. A bioluminescent whole-cell reporter for detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenol in soil[J]. Application Environ Microbiol, 2000, 66:4589-4594.
- [27] Bolanos Vasquez M C, Warner D. Effects of Rhizobium tropici, R. etli, and R. Leguminosarum bv phaseolionod gene-inducing flavonoids in root exudates of Phaseolus vulgaris[J]. Mol Plant Microbe Interact, 1997, 10: 339-346.

基于三阶段 DEA 模型的农超对接效率研究

郎 镐¹, 刘天军²

(1. 西北农林科技大学 经济管理学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学 西部农村发展研究中心, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:运用三阶段 DEA(数据包络分析)模型对我国河北省 2012 年农超对接效率进行了实证研究。结果表明:城市化水平、乡村就业人口平均受教育年限和财政支农可以提高农超对接效率,是其有利因素;自然灾害是其不利因素。河北省各地区按纯技术效率和规模效率可划分为 4 种不同类型,各地区应该就管理水平和经营规模两方面进行改善,从而提高农超对接效率。

关键词:农超对接效率;三阶段 DEA 模型;纯技术效率;规模效率

中图分类号:F 304.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0206-05

我国是农业大国,中央政府就如何提高鲜活农产品流通效率这一问题给予了高度重视。农超对接是一种已经在海外被普遍使用的农产品生产销售模式,这种模式能够大量减少农产品流通环节,在保证农产品新鲜度的同时,降低农产品流通成本,从而促进农产品的销售^[1]。随着我国各地区龙头企业、农民专业合作社和大型连锁超市的快速发展,我国大部分地区的农产品已经

拥有了从产地直接进入超市的基本条件^[2]。因此,从 2008 年底在全国范围内大力推行农超对接试点工作,截止到 2012 年底,农超对接的试点工作范围已经覆盖全国 17 个省,建设有 400 多个“农超对接”项目,大力支持各连锁超市与农产品产地建立“农超对接”合作模式,从而形成长期、稳定的产销关系^[3]。农超对接模式的推广,对我国农产品现代流通体系的完善,农民收入的增加和城乡统筹一体化的发展具有重要作用^[4]。

虽然我国农超对接已经取得了积极的成果,它在保障农户利益、降低农产品中间流通费用、保证农产品市场供应等方面的突出表现得到了一致认可,但其推广体系尚不成熟,对“农超对接”模式效率方面研究还很少^[5]。所以现选取河北省(全国第一批农超对接试点省份)作为研究对象,对其“农超对接”模式效率进行了实证研究

第一作者简介:郎镐(1991-),男,四川江油人,硕士研究生,研究方向为区域规划与产业发展。E-mail: noliel3@126.com.

责任作者:刘天军(1974-),男,安徽宣城人,副教授,博士生导师,研究方向为农业技术经济及项目管理。E-mail: ltj168168@126.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(71173176)。

收稿日期:2014-03-13

[28] Steidle A, Sigl K, Schuegger R, et al. Visualization of N-acylhomoserine lactone-mediated cell-cell communication between bacteria colonizing the tomato rhizosphere[J]. Application Environ Microbiol, 2001, 67: 5761-5770.

[29] Elasri M, Delorme S, Lemanceau P, et al. Acyl-homoserine lactone

production is more common among plant-associated *Pseudomonas* spp. than among soilborne *Pseudomonas* spp[J]. Application Environ Microbiol, 2001, 67: 1198-1209.

Progress of Molecular Biology Research Methods in Rhizosphere Microorganisms

YANG Xiao-feng, LV Jie, MA Yuan

(Xinjiang Key Laboratory of Oasis Ecology, Ministry of Education, College of Resource and Environment Sciences, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046)

Abstract: Plant *Rhizosphere* microorganisms refers to the direct influence of plant roots in soil microbial growth and reproduction range. *Rhizosphere* microbial research is of great significance for microbial ecology. The main method of clone libraries now *Rhizosphere* microbial diversity research, molecular fingerprinting techniques, quantitative real-time PCR technology, metagenomic library, a combination of proteomic analysis of transcription were reviewed, and the field research and *Rhizosphere* microorganisms were elaborated and prospected.

Key words: *Rhizosphere* microorganisms; molecular ecology; research methods; clone library; genomics