

胡子贤, 许 慧, 邓鹏飞, 等. 结香患根腐病植株根际土壤微生物群落组成与多样性[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(12): 2254-2265.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.12.008

结香患根腐病植株根际土壤微生物群落组成与多样性

胡子贤, 许 慧, 邓鹏飞, 王佳琪, 杜子滔, 徐小牛

(安徽农业大学林学与园林学院, 安徽 合肥 230036)

摘要: 根腐病是影响结香产业可持续发展的重要病害之一, 为了探明结香根腐病的发病机制, 筛选潜在病原菌, 研发有效防治药剂, 本研究以安徽省潜山市根腐病高发的结香林作为研究对象, 采用高通量测序技术(Illumina MiSeq), 分析和比较了结香健康植株和患病植株根际土壤理化性质、细菌和真菌的群落结构及多样性。结果表明, 患病植株根际土壤细菌和真菌丰富度指数(Chao1 指数)分别较健康植株显著降低 13.74% 和 45.83%, 细菌多样性(Shannon 指数)没有显著变化, 但真菌多样性(Shannon 指数)显著高于健康植株。与健康植株根际土壤相比, 患病植株根际土壤黏细菌属(*Byssovorax*)相对丰度显著增加($P < 0.05$), 真菌葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)和蜡壳耳目(*Sebacinales*)未定属相对丰度极显著增加($P < 0.01$)。患病植株根际土壤有机碳含量显著高于健康植株根际土壤。综上, 结香在感染根腐病后, 根际土壤细菌和真菌丰富度下降, 真菌群落多样性升高, 初步确定黏细菌属、葡萄座腔菌属和蜡壳耳目未定属菌可能是引起结香患根腐病的病原菌, 本研究结果为后续开展结香致病菌的分离和培养提供了候选菌群。

关键词: 结香; 根腐病; 根际土壤; 高通量测序; 细菌; 真菌; 多样性

中图分类号: S435.671 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)12-2254-12

Composition and diversity of microbial community in rhizosphere soil of *Edgeworthia chrysantha* Lindl. with root rot disease

HU Zixian, XU Hui, DENG Pengfei, WANG Jiaqi, DU Zitao, XU Xiaoniu

(School of Forestry & Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Root rot is one of the important diseases affecting the sustainable development of *Edgeworthia chrysantha* Lindl. industry. To explore the pathogenesis of root rot of *Edgeworthia chrysantha* Lindl., screen potential pathogens, and develop effective control agents, this study took the *Edgeworthia chrysantha* Lindl. forest with high incidence of root rot in Qianshan City, Anhui province as the research object, and used high-throughput sequencing technology (IlluminaMiSeq) to analyze and compare the rhizosphere soil physical and chemical properties, bacterial and fungal community structure and diversity of healthy plants and diseased plants. The results showed that compared with healthy plants, the bacterial richness index (Chao1 index) and fungal richness index (Chao1 index) in rhizosphere soil of diseased plants were significantly reduced by 13.74% and 45.83%, respectively, and the bacterial diversity (Shannon index) did not change significantly, but the fungal diversity (Shannon index) was significantly increased. Compared with the rhizosphere soil of healthy plants, the relative abundance of *Byssovorax* in the rhizosphere soil of diseased plants increased significantly ($P < 0.05$), and the relative abundance of *Botryo-*

收稿日期: 2023-12-28

基金项目: 安庆市科技攻关项目(KJ2021119); 潜山市林业科技创新项目(KJ20200439)

作者简介: 胡子贤(1993-), 男, 安徽马鞍山人, 硕士研究生, 研究方向为森林培育。(E-mail) 344106912@qq.com

通讯作者: 徐小牛, (E-mail) xnxu2007@ahau.edu.cn

duced by 13.74% and 45.83%, respectively, and the bacterial diversity (Shannon index) did not change significantly, but the fungal diversity (Shannon index) was significantly increased. Compared with the rhizosphere soil of healthy plants, the relative abundance of *Byssovorax* in the rhizosphere soil of diseased plants increased significantly ($P < 0.05$), and the relative abundance of *Botryo-*

sphaeria and *Sebacinales_unclassified* increased significantly ($P < 0.01$). The organic carbon content in rhizosphere soil of diseased plants was significantly higher than that of healthy plants. In summary, after the infection of root rot, the richness of bacteria and fungi in rhizosphere soil decreased, and the diversity of fungal community increased. It was preliminarily determined that *Byssovorax*, *Botryosphaeria* and *Sebacinales_unclassified* may be the pathogens causing root rot. The results of this study provide a candidate flora for the subsequent isolation and culture of pathogenic bacteria.

Key words: *Edgeworthia chrysantha* Lindl.; root rot; rhizosphere soil; high-throughput sequencing; bacteria; fungi; diversity

结香 (*Edgeworthia chrysantha* Lindl.) 是瑞香科 (Thymelaeaceae) 结香属 (*Edgeworthia*) 的一种落叶灌木, 别名三桠皮, 也叫黄瑞香和打结花, 在中国分布于河南、陕西及长江流域以南诸省(市), 安徽省大别山区的岳西、潜山、金寨和霍山等地有广泛种植^[1]。结香具有较高的药用价值, 其花有明目功效, 根和叶可治疗风湿性关节炎、腰痛和跌打损伤等^[2]。近年来, 随着种植规模的不断扩大, 结香病害发生越来越严重, 其中以根腐病最为常见^[3]。结香根腐病是由多种病原细菌或真菌引起的一种土传性病害, 该病造成根部腐烂, 使根部吸收养分和水分的功能逐渐丧失, 最后导致整株死亡, 严重发生时会导致大面积结香林枯萎, 对结香产业的可持续发展造成巨大影响。相关研究结果表明, 植物根腐病的病原菌种类主要有腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*)、尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 和立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 等^[4]。尖孢镰刀菌可致多种植物患根腐病, 陈玉涵等^[5]在患根腐病的山药中通过对病原菌进行分离和培养, 发现镰孢属真菌是导致陕西省榆林市山药患根腐病的主要病原菌种类。立枯丝核菌是丝核菌属真菌, 是一种常见的土传病原真菌, 可侵染多种作物, 如棉花、马铃薯、水稻和甜菜等^[6], 严重影响植株的健康生长。目前, 土传病害仍然是农业生产上的一个严重问题, 控制土传病害的传统方法是从土壤中找到病原菌并根除^[7]。例如引起烟草患青枯病的青枯雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*)^[8], 导致苜蓿患根腐病的尖孢镰刀菌^[9]以及引发花生患白绢病的齐整小核菌 (*Sclerotium rolfsii*)^[10]。

国内外对于根腐病的研究方法逐渐成熟, 如从芍药^[11]、丹参^[12]和大白菜^[13]等多种植物上对根腐病的病原菌进行分离、鉴定和防治。当前, 对结香的研究主要集中在生长特性、种质资源开发利用、生理生态特性等方面, 对于结香根腐病的研究尚未见报

道。土壤中微生物的多样性对维持土壤健康和质量至关重要。姬俊华等^[14]研究发现, 与健康牡丹相比, 患根腐病牡丹植株根部细菌和真菌的丰度均有下降趋势, 其中真菌群落的丰度显著降低, 在真菌功能预测中患病牡丹中腐生菌类群和病原菌类群都显著高于健康植株。韩凤等^[15]采用高通量测序技术研究发现, 根际土壤细菌群落结构和土壤酶活性的变化可能是导致多花黄精感染根腐病的重要原因。由此可见, 植物根腐病与土壤微生物多样性结构变化密切相关, 因此, 研究植物根际土壤微生物的变化, 对农业生产有重要的指导作用。

本研究采集安徽省潜山市结香根腐病发生区的根际土壤, 采用高通量测序技术对健康及患根腐病的结香根际土壤中细菌和真菌进行分析, 对比健康和患病植株根际土壤中细菌和真菌群落结构的差异, 探究土壤微生物多样性及组成变化, 并分析土壤理化性质, 筛选结香患根腐病的潜在病原菌, 为根腐病发病机制和研发防治药剂提供理论依据, 促进结香产业可持续发展。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地位于安徽省潜山市水吼镇结香栽培基地 (31°4'12"N, 116°46'12"E), 该基地建于 2015 年, 面积 350 hm², 平均海拔 400 m, 属亚热带季风气候, 四季分明, 光照充足, 气候温和, 年均气温 16.8 °C, 年均降水量 1 400 mm; 土壤多为红壤和黄棕壤; 结香株距 1 m, 行距 2.5 m, 株高 1~2 m。

1.2 土壤样品的采集与处理

病害调查与样本采集于 2022 年 8 月初进行, 根据结香根和叶的形态判断是否患根腐病, 选择 6 株健康植株和 6 株患病植株分别采集土壤样品, 健康植株随机选择, 一般距离患病植株 10 m 左右, 所有健康植株和患病植株均选自同一林分, 因此两类结

香植株生长的立地环境基本一致。确定采样植株后,每棵各取 2 份根际土壤,1 份用于微生物分析,另 1 份用于测定土壤理化性质,土壤样品去除植物残留物并做好标记,病株根际土样分别标记为 D1、D2、D3、D4、D5、D6,健康根际土样分别标记为 H1、H2、H3、H4、H5、H6。将样品放入保温箱中低温保存,并快速送回实验室。1 份土样经冷冻后快递至杭州联川生物技术股份有限公司进行 16S rDNA 和 ITS rDNA 高通量测序,另 1 份土样风干压碎后过孔径为 2 mm 筛去除杂质后用于土壤理化性质的测定。

1.3 土壤理化性质的测定

土壤电导率(EC)和 pH 分别用电导仪和 pH 计测定;土壤含水率(SWC)采用恒温烘干法测定;土壤中铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量使用 1 mol/L 的 KCl 溶液浸提,取上清液,用 FOSS 公司的 FIASStar 5000 连续流动注射分析仪测定;土壤中全磷(TP)含量用连续流动分析仪测定;土壤中全氮(TN)含量和有机碳(SOC)含量使用意大利 Vector 公司的 EA 3 000 元素分析仪测定。

1.4 土壤微生物 DNA 的提取与测序

选择 CTAB 法提取土壤微生物的总 DNA,通过琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 提取质量,同时采用紫外分光光度计对 DNA 进行定量。使用带 Barcode 的特异引物,细菌引物选择 341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')/805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')对 16 S rDNA 碱基序列的 V3~V4 高变区进行扩增,真菌引物选择 ITS-F(5'-GAACWCGCGGARGGATCA-3')/ITS-R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对 ITS 1~2 区进行 PCR 扩增。PCR 产物由 AMPure XT beads(美国贝克曼库尔特公司产品)纯化,Qubit(美国英杰生命技术有限公司产品)定量,将合格的文库按梯度稀释后,根据测序需要按相应比例混合,并经 NaOH 变性为单链后使用 NovaSeq 6000 测序仪进行 2×250 bp 的双端测序。

1.5 数据质控与统计分析

使用 Flash v 1.2.8 将每 1 对进行双端读序,根据重叠区拼接合并成一条更长的序列,之后去除嵌合体序列得到高质量的序列。通过 QIIME 2 软件分析流程,调用 DADA 2 对序列进行过滤和去噪,获得扩增子序列变体(ASV)特征序列及其丰度表格,然后采用物种分类学注释,细菌数据采用 SILVA 数据

库中的 NT-16S 数据库进行物种注释;真菌数据则采用 RDP 数据库中的 Unite 数据库进行物种分类学注释,并根据 ASV 特征丰度表对各物种在各样本中的丰度进行多样性分析和微生物群落差异性分析。

1.6 数据处理

本研究应用 QIIME 2 对微生物数据进行分析,应用 Excel 2016 和 Rv4.2.1 软件对土壤的理化性质、细菌和真菌的 α 多样性及 β 多样性进行分析,应用 SPSS 26.0 单因素方差法进行差异性比较,用 Kruskal-Wallis 非参数法检验显著性,并计算平均值和标准差,结香患病与健康植株根际土壤细菌和真菌物种差异性采用 Mann-Whitney U test 进行差异性检验。

2 结果与分析

2.1 土壤理化特性

土壤理化性质检测结果见表 1,结香患病植株根际土壤 SOC 含量显著高于健康植株根际土壤($P<0.05$),根际土壤 pH 值、TP 含量、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量、EC、SWC、TN 含量、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量、钾含量与健康植株根际土壤相比差异不显著。

表 1 结香患病植株与健康植株根际土壤的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

| 土壤理化性质 | 患病植株根际土壤 | 健康植株根际土壤 |
|--|--------------|-------------|
| pH | 4.84±0.34a | 5.32±0.49a |
| 电导率(EC, $\mu\text{S}/\text{cm}$) | 52.22±11.79a | 46.70±9.64a |
| 含水率(SWC, %) | 16.66±15.87a | 11.60±2.99a |
| 有机碳(SOC)含量(g/kg) | 15.53±9.18a | 8.79±5.16b |
| 全氮(TN)含量(g/kg) | 1.14±0.38a | 1.01±0.42a |
| 全磷(TP)含量(mg/kg) | 0.29±0.31a | 0.32±0.30a |
| 铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)含量(mg/kg) | 5.54±2.15a | 6.15±1.60a |
| 硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量(mg/kg) | 1.47±1.15a | 0.95±0.82a |
| 钾(K)含量(mg/kg) | 3.69±1.13a | 3.07±1.09a |

表中数值均为平均值±标准差,同行不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

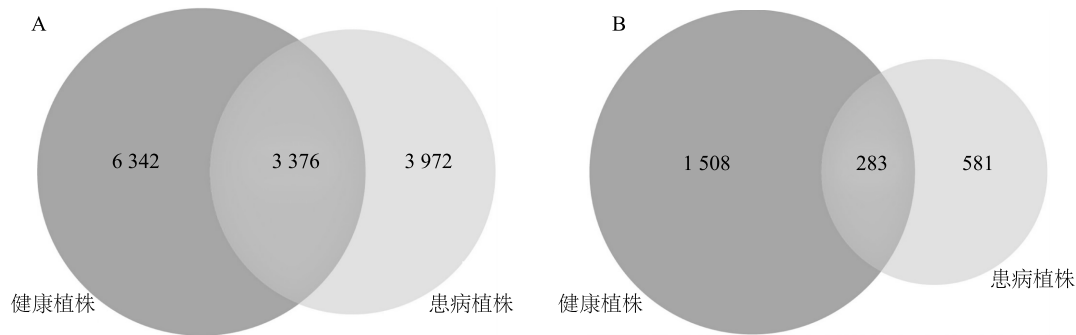
2.2 结香患病植株与健康植株根际土壤微生物多样性

对 12 份结香根际土壤样品 16 S rDNA 碱基序列的 V3~V4 高变区进行扩增后,共获得原始序列 1 007 922 个,其中有效总序列 850 590 个,总有效率

为 84.39%。在对土壤样品基因序列的 ITS 1 和 ITS 2 区进行扩增后,共获得原始序列961 575个,其中有效总序列922 123个,总效率为 95.90%。

Venn 图分析结果(图 1)显示,健康结香根际土壤样本中细菌和真菌数量分别为9 718个和1 791个

OTU,特有细菌和真菌数量分别为6 432个和1 508个 OTU;患病结香根际土壤样本中细菌和真菌数量分别为7 348个和 864 个 OTU,特有细菌和真菌数量分别为3 972个和 581 个 OTU。



A:OTU 水平细菌群落 Venn 图;B:OTU 水平真菌群落 Venn 图。

图 1 结香健康植株和患病植株根际土壤细菌和真菌数量

Fig.1 The number of bacteria and fungi in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

α 多样性指数表明,患病植株根际土壤细菌 Observed-OTU 和 Chao1 指数较健康植株根际土壤显著降低 13.76% 和 13.74% ($P<0.05$),而 Shannon、Simpson 和 Goods-coverage 指数两者间均无显著差异(表 2)。患病植株根际土壤真菌 Observed-

OTU 和 Chao1 指数较健康植株根际土壤显著降低 45.75% 和 45.83% ($P<0.05$),Shannon 指数显著提高了 3.7%,Simpson 和 Goods-coverage 指数两者间均无显著性差异。

表 2 结香患病植株和健康植株根际土壤细菌和真菌 α 多样性指数

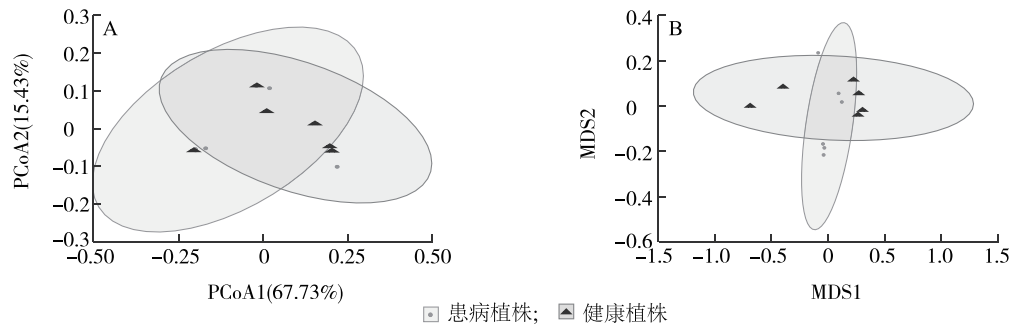
Table 2 The α diversity index of bacteria and fungi in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

| α 多样性指数 | 细菌 | | 真菌 | |
|----------------|------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|
| | 患病植株根际土壤 | 健康植株根际土壤 | 患病植株根际土壤 | 健康植株根际土壤 |
| Observed-OTU | 1 811.33 \pm 441.07b | 2 100.33 \pm 511.53a | 237.33 \pm 78.96b | 437.50 \pm 339.18a |
| Shannon | 9.59 \pm 0.68a | 9.98 \pm 0.59a | 5.03 \pm 1.29a | 4.85 \pm 2.44b |
| Simpson | 0.99 \pm 0a | 0.99 \pm 0a | 0.89 \pm 0.11a | 0.86 \pm 0.16a |
| Chao1 | 1 819.99 \pm 440.45b | 2 109.83 \pm 515.75a | 241.96 \pm 82.39b | 446.66 \pm 347.64a |
| Goods-coverage | 0.99 \pm 0a | 0.99 \pm 0a | 0.65 \pm 0.19a | 0.61 \pm 0.14a |

表中数值均为平均值 \pm 标准差,同行不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

基于 Weighted-unifrac 的主坐标分析(PCoA)结果显示(图 2A),PCoA1 和 PCoA2 解释率分别为 67.73%、15.43%,共同解释了 83.16% 的差异。从样点分布来看,健康植株根际土壤细菌群落与患病植株根际土壤细菌群落空间分布较为离散且重合率不大,说明两者根际土壤细菌群落可能存在差异性。基于 OTU 水平的非度量多维尺度(NMDS)分析结果(图 2B)显示,患病植株根际土

壤真菌群落与健康植株根际土壤真菌群落没有明显聚集,真菌群落空间分布较均匀,无重叠现象,表明患病植株根际土壤真菌群落与健康植株根际土壤真菌群落可能存在差异性。对患病植株和健康植株根际土壤细菌和真菌群落组成进行组间差别分析(ANOSIM)和多元方差分析(ADONIS)(表 3),细菌群落总体组成没有显著变化,而真菌群落总体组成有显著变化($P<0.05$)。



A: 土壤细菌群落基于 Weighted-unifrac 距离的主坐标分析; B: 土壤真菌群落 NMDS 分析。

图 2 结香患病植株与健康植株根际土壤细菌群落基于 Weighted-unifrac 距离的主坐标分析和真菌群落 NMDS 分析

Fig.2 Principal coordinate analysis of bacterial community based on Weighted-unifrac distance and NMDS analysis of fungal community in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

表 3 结香患病植株和健康植株根际土壤细菌和真菌群落组成差异分析

Table 3 Analysis of differences in bacterial and fungal community composition in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

| 类别 | 组间差别分析 (ANOSIM) | | 多元方差分析 (ADONIS) | | |
|----|-----------------|----------|-----------------------|----------|----------|
| | <i>R</i> | <i>P</i> | <i>R</i> ² | <i>F</i> | <i>P</i> |
| 细菌 | 0.067 | 0.184 | 0.105 | 1.18 | 0.237 |
| 真菌 | 0.252 | 0.032 | 0.165 | 1.98 | 0.025 |

R: 组间样品差异与组内样品差异的差值; *R*²: 不同分组对样品差异的解释度; *F*: 组间方差和组内方差的比值; *P*: 差异显著性系数, 如 *P* < 0.05 表示结香健康植株和患病植株根际土壤菌群之间存在显著性差异。

2.3 结香患病植株与健康植株根际土壤微生物群落结构组成

2.3.1 根际土壤细菌群落结构组成 在门水平上 (图 3 A), 结香健康植株与患病植株根际土壤主要优势细菌门 (平均相对丰度 > 6%) 为: 变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota), 这 5 个细菌门在健康植株和患病植株根际土壤中占比达 80% 以上。在属水平上 (图 3 B), 结香健康植株与患病植株根际土壤细菌主要优势属 (平均相对丰度 > 2%) 有 8 个, 分别为 Subgroup_2 未定属、酸杆菌目 (Acidobacteriales) 未定属、芽单胞菌科 (Gemmatimonadaceae) 未定属、AD3 纲未定属、Elsterales 目未定属、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria) 未定属、伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia caballeronia paraburkholderia*)、嗜酸杆菌属 (*Acidibacter*)。

对前 14 优势细菌属相对丰度进行单因素方差分析和两两比较 (图 4 A), 结果显示健康植株根际土壤中芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*)、KF-JG30-B3 未定属、S085 未定属、黄色单胞菌目 (Xanthomonadales) 未定属、CCD24 未定属、Rhizobiales_Incertae_Sedis 未定属、SWB02 属、Subgroup_11 未定属、农霉菌属 (*Agromyces*)、多囊菌属 (*Polyangium*)、DS-100 未定属、厌氧绳菌纲 (Anaerolineae) 未定属、*Abditibacterium* 属相对丰度显著大于患根腐病植株根际土壤; 患根腐病植株根际土壤黏细菌属 (*Byssovorax*) 相对丰度是健康植株根际土壤的 2.67 倍。

细菌线性判别分析 (LEfSe) 结果 (图 5 A) 显示, 在预设值为 3.0 时, 健康植株与患根腐病植株根际土壤中细菌丰度具有差异性的有芽单胞菌属、芽单胞菌属未定种、小单孢菌目 (Micromonosporales)、小单孢菌科 (Micromonosporaceae) 和游动放线菌属 (*Actinoplanes*); 而患根腐病植株根际土壤中细菌丰度与健康植株根际土壤相比具有差异性的有慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、慢生根瘤菌科 (Bradyrhizobiaceae)。这些差异性细菌可能是患病植株和健康植株根际土壤微生物群落的关键菌群。

2.3.2 根际土壤真菌群落结构组成 在门水平上 (图 6 A), 结香植株根际土壤主要优势真菌门为: 子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)、接合菌门 (Zygomycota) 和球囊菌门 (Glomeromycota)。在健康植株根际土壤中, 这 5 个真菌门平均相对丰度分别为 77.34%、10.69%、4.28%、2.58% 和 1.49%, 而患根腐病植株

根际土壤中这 5 个真菌门平均相对丰度分别为 60.03%、16.54%、5.29%、1.84% 和 3.82%。在属水平上(图 6B),健康植株根际土壤主要优势真菌属有 6 个(平均相对丰度>4%),分别为棍孢属(*Clavisporea*)、假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)、念珠菌属(*Candida*)、子囊菌门未定属、伞菌纲(*Agaricomycetes*)未定属、小丛壳属(*Glomerella*)。患病植株根际

土壤优势属有 4 个(平均相对丰度>5%),分别为葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)、子囊菌门未定属、壶菌门(*Chytridiomycota*)未定属、蜡壳耳目(*Sebacinales*)未定属。

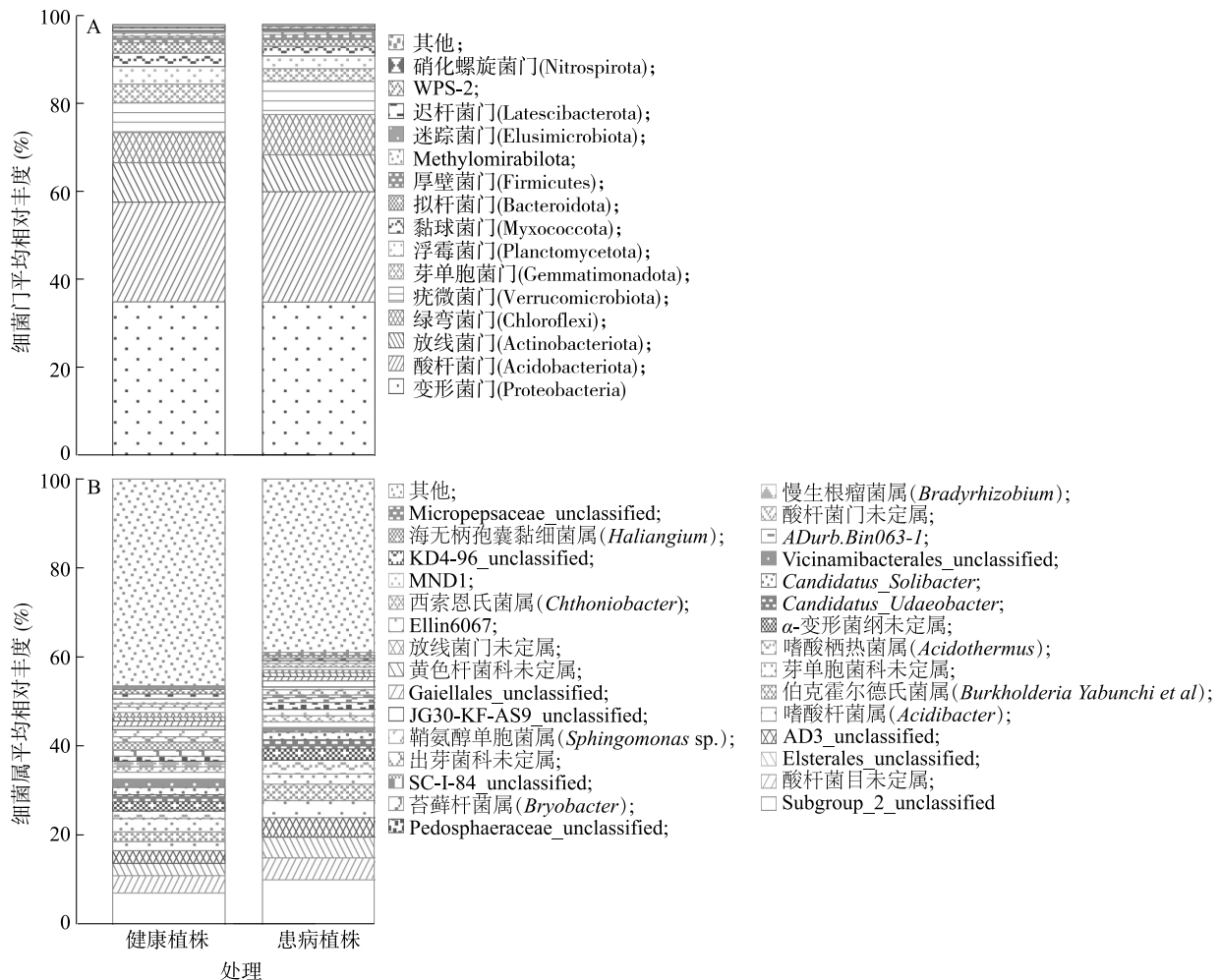


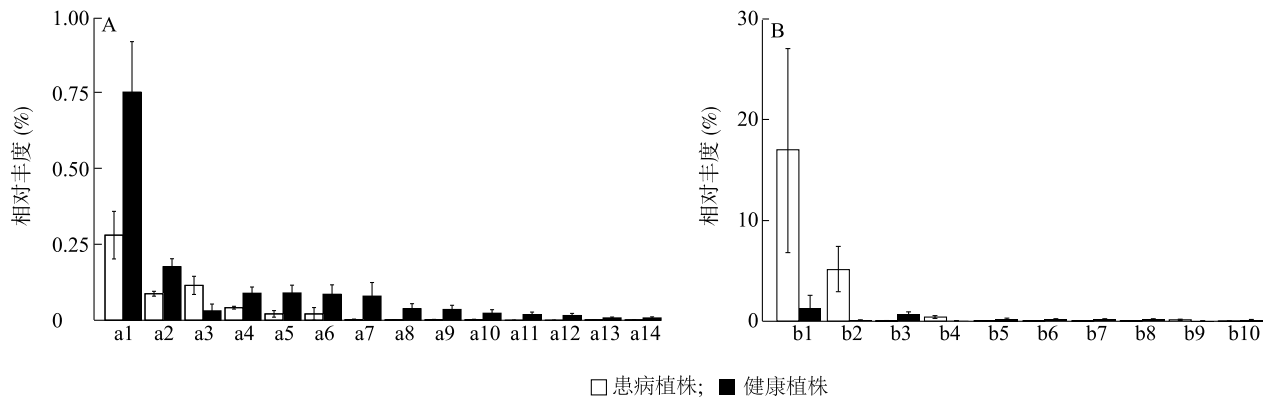
图 3 结香健康植株和患病植株根际土壤细菌门水平和属水平平均相对丰度

Fig.3 Mean relative abundance of bacteria at phylum and genus levels in rhizosphere soil of healthy and diseased *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

对前 10 个优势真菌属相对丰度进行单因素方差分析和两两比较(图 4B)可见,患病植株根际土壤葡萄座腔菌属和蜡壳耳目未定属相对丰度是健康植株根际土壤的 12.89 倍和 127.25 倍,差异均达极显著水平($P<0.01$);根内球囊霉属(*Rhizopagus*)和假霉样真菌属(*Pseudallescheria*)相对丰度显著高于健康植株根际土壤($P<$

0.05)。而健康植株根际土壤中刺毛四枝孢属(*Tetracladium*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)、Thyridariaceae 未定属、根生壶菌属(*Rhizophydium*)、*Polyschema* 和 *Rhizopycnis* 相对丰度显著高于患病植株根际土壤($P<0.05$)。

LEfSe 差异分析结果显示(图 5B),在预设值为 3.0 时,健康植株与患根腐病植株相比根际土壤中



a1: 芽单胞菌属; a2: KF-JG30-B3 未定属; a3: 黏细菌属; a4: S085 未定属; a5: 黄色单胞菌目未定属; a6: CCD24 未定属; a7: Rhizobiales_Incertae_Sedis 未定属; a8: SWB02; a9: Subgroup_11 未定属; a10: 农霉菌属; a11: 多囊菌属; a12: DS-100 未定属; a13: 厌氧绳菌纲未定属; a14: *Abditibacterium*; b1: 葡萄座腔菌属; b2: 蜡壳耳目未定属; b3: 刺毛四枝孢属; b4: 根内球囊霉属; b5: 亚隔孢壳属; b6: Thyrideriaceae 未定属; b7: 根生壶菌属; b8: *Polyschema*; b9: 假霉样真菌属; b10: *Rhizopycnis*。

图 4 结香患病植株和健康植株根际土壤细菌 (A) 和真菌 (B) 在属水平上相对丰度差异性比较

Fig.4 Comparison of relative abundance of bacteria (A) and fungi (B) at genus level in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

真菌丰度具有差异性的有子囊菌门 (Ascomycota)、小丛壳属 (*Glomerella*) 未定种、煤炱目 (Capnodiales)、柔膜菌目 (Helotiales) 未定科、刺毛四枝孢 (*Tetracladium*)、叉四枝孢 (*Tetracladium_furcatum*)、外担菌纲 (Exobasidiomycetes)、海球壳菌科 (Halosphaeriaceae)、土隐球菌 (*Cryptococcus_terreus*)、曲霉菌属 (*Aspergillus*)、拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis*) 未定种、棉革菌属 (*Tomentella*) 和 *Metulocladosporiella*。而患病植株与健康植株相比根际土壤中真菌丰度具有差异性的有波氏假阿利什菌 (*Pseudallescheria_angusta*)、假霉样真菌属 (*Pseudallescheria*)、*Mortierella_macrocytis*、*Rhizophagus*、蜡伞科 (Hygrophoraceae)、腐皮镰刀菌 (*Fusarium_solani*)、散囊菌纲 (Eurotiomycetes)、刺盾炱菌目 (Chaetothyriales)、蜡壳耳目 (Sebacinales)、蜡壳耳目 (Sebacinales) 未定种、蜡壳耳目 (Sebacinales) 未定属、蜡壳耳目 (Sebacinales) 未定科、*Lasiodiplodia_iraniensis*、葡萄座腔菌属 (*Botryosphaeria*)。上述类群可能是与结香根腐病发生关联程度较大的核心真菌。

2.4 土壤微生物与土壤理化指标的 RDA 分析

细菌与土壤理化指标的 RDA 分析结果 (图 7A) 显示, RDA1 解释率为 65.62%, RDA2 的解释率为 7.70%, 共同解释了 73.32% 的物种-环境变异累积比, 结香植株根际土壤中 AP 和 TP 与芽单胞菌科未定属呈正相关, TN 与酸杆菌目未定属、

伯克霍尔德氏菌属等 6 种细菌属呈正相关, SOC 与 α -变形菌纲未定属、酸栖热菌属 (*Acidothermus*) 等 9 种细菌属呈正相关, EC 和 K 与图中所有细菌属均呈正相关。

真菌与土壤理化指标的 RDA 分析结果 (图 7B) 显示, RDA1 解释率为 21.60%, RDA2 的解释率为 20.49%, 共同解释了 42.09% 的物种-环境变异累积比。结香植株根际土壤 pH 与伞菌纲未定属、子囊菌门未定属等呈正相关, AP 与壶菌门未定属、葡萄座腔菌属等 4 个真菌属呈正相关, TP 和 TN 与葡萄座腔菌属、壶菌门未定属等 3 个真菌属呈正相关, EC 与念珠菌属、棍孢属等 6 个真菌属呈正相关, K 与假裸囊菌属、棍孢属等 6 个真菌属呈正相关, SOC 与双担菌属 (*Geminibasidium*)、子囊菌门未定属等 6 个真菌属呈正相关。

3 讨论与结论

结香根腐病发生后, 患病植株根际土壤细菌和真菌丰富度较健康植株根际土壤显著降低, 细菌多样性没有显著变化, 但真菌多样性显著高于健康植株根际土壤。与健康植株根际土壤相比, 患病植株根际土壤黏细菌属相对丰度显著升高; 真菌葡萄座腔菌属和蜡壳耳目未定属相对丰度极显著升高。在土壤理化特性方面, 患病植株根际土壤有机碳含量显著高于健康植株根际土壤。

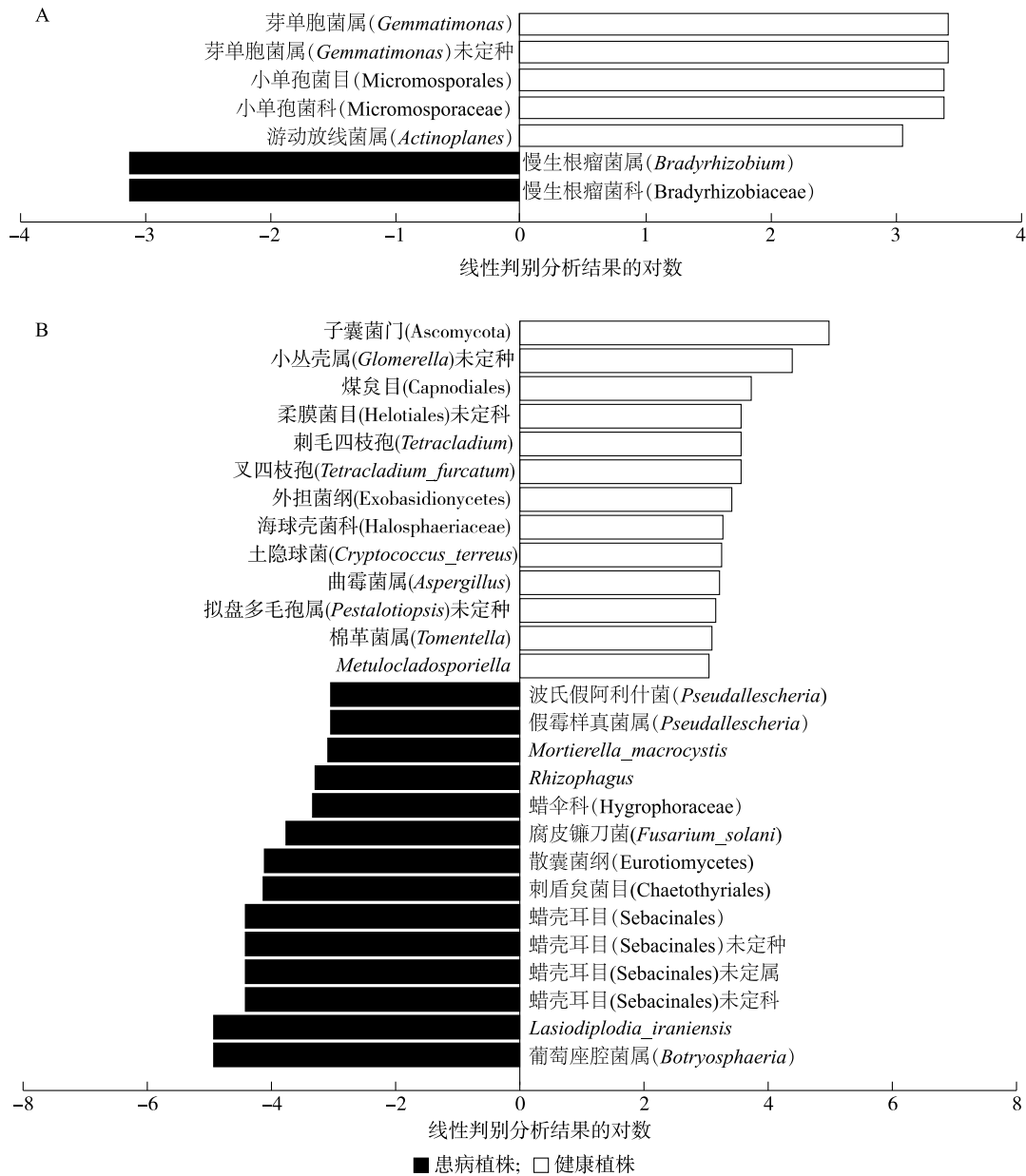


图5 结香患病和健康植株根际土壤细菌(A)和真菌(B)LEfSe差异性分析

Fig.5 LEfSe difference analysis of bacteria (A) and fungi (B) in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

3.1 结香根腐病对根际土壤细菌和真菌群落多样性的影响

微生物在土壤生态系统中扮演着重要角色,长期受到病原菌侵染会导致植物根际土壤微生物多样性发生变化^[16]。本研究中患根腐病结香植株根际土壤真菌多样性显著高于健康结香植株根际土壤,但是细菌多样性没有显著变化。赵林艳等^[17]研究发现患根腐病的白及病株根际土壤真菌 α 多样性

呈升高趋势;刘艳等^[18]也发现患根腐病毛茛黄根际土壤真菌多样性显著高于健康植株根际土壤;Yang等^[19]研究表明土壤微生物多样性对烟草枯萎病的发生有较大影响。这些研究结果与本研究结果相一致,可能是由于土壤特异微生物如拮抗微生物和病原微生物的变化导致微生物群落不平衡,土壤微生物群落结构多样性及其活动与植物的土传病害关系密切^[20]。

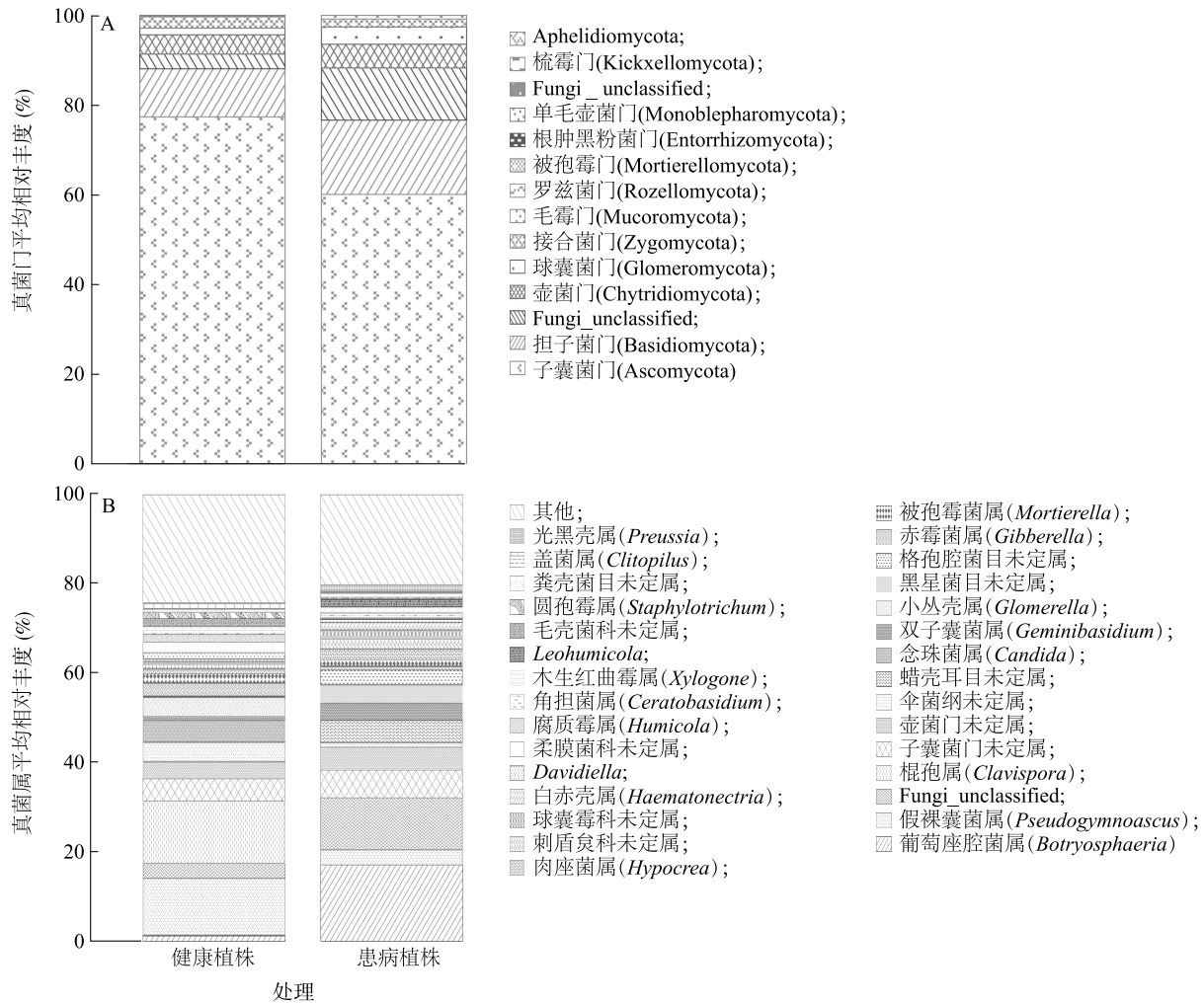


图 6 结香患病植株和健康植株根际土壤真菌门水平和属水平平均相对丰度

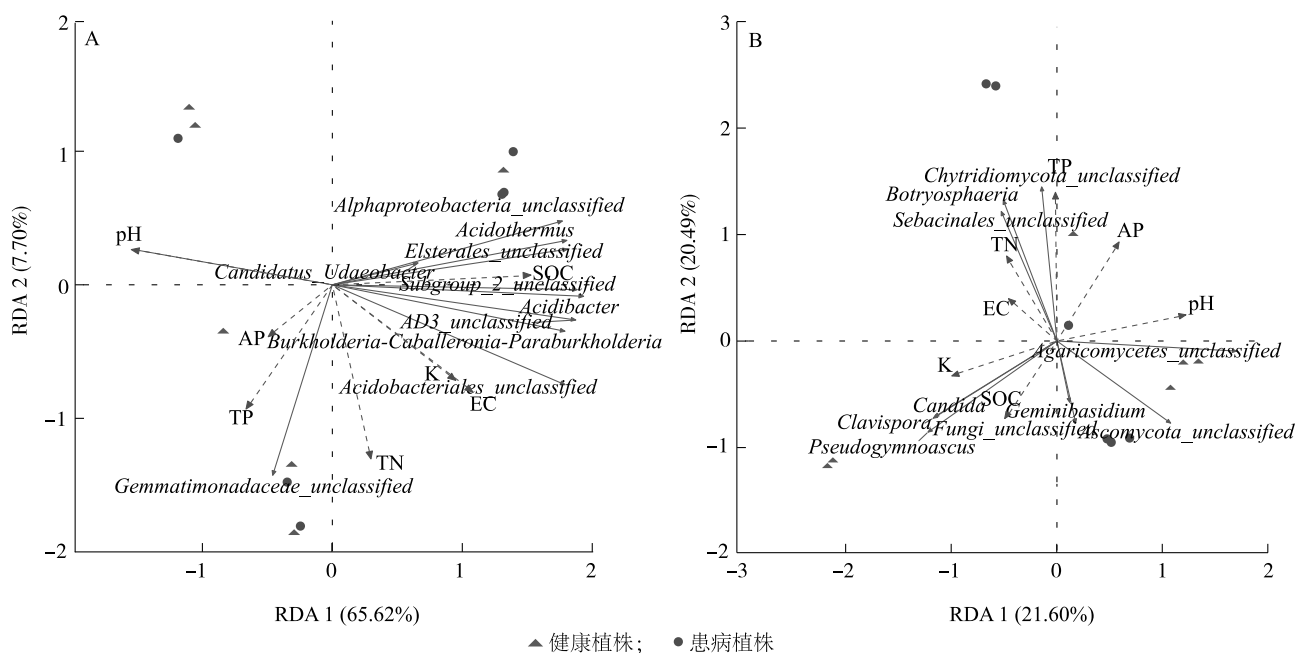
Fig.6 The average relative abundance of fungi at phylum and genus levels in rhizosphere soil of diseased and healthy *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

3.2 结香根腐病对根际土壤细菌和真菌群落结构的影响

在门水平上,结香健康植株和患病植株根际土壤中细菌和真菌优势门类组成基本相同,但患病植株根际土壤子囊菌门平均相对丰度有所减少。文永均等^[21]研究发现,三七在患根腐病后根际土壤子囊菌门平均丰度要低于健康植株根际土壤;余妙等^[22]也发现患根腐病的西洋参根际土壤子囊菌门的丰度相较健康植株根际土壤显著降低,这些研究结果与本研究结果相一致。本研究中患病结香植株根际土壤子囊菌门相对丰度比健康植株根际土壤低 17.31%。子囊菌门相关微生物在土壤中扮演分解者的重要角色,在土壤有机

物分解过程中发挥着重要作用^[23],若其相对丰度过低,土壤有机物分解会变慢,可能影响植物根系对养分的吸收,导致抗病性下降。

在属水平上,结香健康植株和患病植株根际土壤细菌和真菌菌群之间存在显著差异,黏细菌属在患病结香植株根际土壤中相对丰度较健康结香植株根际土壤显著增加,葡萄座腔菌属和蜡壳耳目未定属在患病结香植株根际土壤中相对丰度较健康结香植株根际土壤极显著增加,说明这些菌群可能是造成结香患根腐病的关键菌群。相关研究表明,植物纤维素会被黏细菌属细菌分解^[24],植物抗病性减弱与其纤维含量减少有关^[25]。林马水等^[26]在患干腐病山核桃的木质部



图中虚线箭头代表土壤环境因子,实线箭头代表细菌(A)和真菌(B)群落;箭头线之间的夹角代表相关性,小于 90° 表示二者为正相关关系,角度越小相关性越高。

图7 结香植株根际土壤细菌(A)和真菌(B)群落与环境因子的RDA图

Fig.7 RDA plots of bacterial (A) and fungal (B) communities and environmental factors in rhizosphere soil of *Edgeworthia chrysantha* Lindl. plants

中发现黏细菌属是优势菌属,说明黏细菌属在土壤中相对丰度过高可能会分解植物根系组织中的纤维素,而纤维素是植物细胞壁的主要成分,细胞损伤会对植物健康造成影响,可能会增加植株的发病率。由此推断黏细菌属细菌可能是导致结香患根腐病的致病菌之一。Slippers 等^[27]研究结果表明葡萄座腔菌属真菌是木本植物中最广泛和常见的真菌病原体之一,王璠等^[28]研究发现,葡萄座腔菌属能造成多种林木发生病害,引起枝叶枯萎,是多种果树常见的病原菌。由此推测葡萄座腔菌属相对丰度的升高导致结香根腐病发生,树势衰弱。唐燕静等^[29]研究发现,蜡壳耳目真菌能与植物体现出较高的相互作用,该类真菌受植物种类、营养类型、地理环境等多种因素影响,因此推测蜡壳耳目真菌可能与结香植株根际土壤内的某些致病菌产生相互作用,加剧结香根腐病的发生。腐皮镰刀菌是导致多种植物患根腐病的主要病原菌,如在黄精^[30]和大豆^[31]等患根腐病植株根际土壤中均发现镰刀菌的存在。杨瑾等^[32]从丹参患根腐病植株中分离出层出镰刀菌(*Fusarium proliferans*)。

3.3 土壤理化性质与结香根腐病的联系

植物的健康与其生长的土壤条件密切相关,土壤理化性质决定着植物的生长发育状况。土壤 pH 会对土壤微生物群落产生一定的影响^[33]。本研究中患根腐病结香植株根际土壤 pH 低于健康植株根际土壤,这与前人研究结果一致^[34-35],说明调控土壤 pH 对维持土壤中病原菌和有益菌的平衡至关重要。土壤 pH 下降会影响和改变土壤微生物的多样性^[36]。刘钺^[37]的研究结果认为根腐病的发生不仅会造成甘蔗根系腐烂,而且会导致其根系中养分流失,从而导致患病甘蔗植株根际土壤养分含量比健康甘蔗植株根际土壤要高。本研究结果表明,患病

结香植株根际土壤有机碳含量显著高于健康结香植株根际土壤,这可能与患病结香植株根际土壤特性及微生物群落结构的变化有关,土壤 pH 下降会抑制相关微生物的活性,动植物残体的分解速率被削弱,导致患病植株根际土壤有机碳含量升高。

综上所述,与健康结香植株相比,结香植株感染根腐病后根际土壤细菌和真菌丰度显著下降,真菌群落多样性(Shannon 指数)显著升高,而细菌群落多样性(Shannon 指数)没有显著变化。通过物种差异性分析初步确定引起结香根腐病的病原细菌可能为黏细菌属菌,病原真菌可能为葡萄座腔菌属菌和蜡壳耳目未定属菌以及常见致病菌腐皮镰刀菌。病原菌数量的积累、微生物群落结构的变化和土壤理化性质的改变可能是导致结香患根腐病的主要原因。后续研究应重点开展结香根部致病菌的分离和纯化以确定致病菌,同时筛选结香根腐病的拮抗菌,研发防治药剂,为结香根腐病的绿色防控提供科学依据。

参考文献:

- [1] 陈银华,吴华芬,曹鹏飞,等. 结香多糖的提取工艺[J]. 浙江农业科学,2022,63(3):592-598.
- [2] 华文礼. 优良经济植物结香的栽培和效益分析[J]. 经济林研究,2000,18(3):45-46.
- [3] CORRADO C, MINCUZZI A, SCHENA L, et al. First report of collar and root rot caused by *Phytophthora nicotianae* on *Lycium barbarum*[J]. Journal of Plant Pathology,2018,100:361.
- [4] 李 晖,李国英,付建红,等. 新疆枸杞烂根病原的鉴定[J]. 植物保护学报,1998,25(3):253-257.
- [5] 陈玉涵,马心瑶,田夏夏,等. 陕西榆林山药根腐病病原菌的分离与鉴定[J]. 西北农业学报,2022,31(11):1521-1533.
- [6] 骆 丹,田 慧,张彩霞,等. 植物立枯丝核菌根腐病研究进展[J]. 中国植保导刊,2020,40(3):23-31.
- [7] DAGUERRE Y, SIEGEL K, EDEL-HERMANN V, et al. Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens: a review[J]. Fungal Biology Reviews,2014,28(4):97-125.
- [8] 何子康,张纪利,聂锦瑶,等. 土壤中青枯病菌快速检测方法的建立与应用[J]. 中国植保导刊,2022,42(8):5-9,14.
- [9] 支旭欣,张 帆,杨青川,等. 紫花苜蓿镰刀菌根腐病抗病种质资源筛选[J]. 中国草地学报,2022,44(4):104-112.
- [10] 周 锋,周育栋,张艳彤,等. 花生白绢病菌的生物学特性及其对杀菌剂敏感性研究[J]. 中国植保导刊,2022,42(9):19-23.
- [11] 马娅楠,李继平,郑 果,等. 赤芍根腐病原菌鉴定及生物学特性[J]. 西北农业学报,2023,32(9):1486-1494.
- [12] 孟静静,崔文宁,王 茜,等. 衡水湖黄顶菊对丹参根腐病菌的抑制效应研究[J]. 现代农业科技,2023(17):104-106,112.
- [13] 宋雨萌,刘文杰,宗 茂,等. 青岛胶州大白菜根腐病原菌鉴定及其生物防治[J]. 山东农业科学,2023,55(9):148-153.
- [14] 姬俊华,杨瑞先,刘 萍,等. 牡丹根腐病病原菌和健株根内微生物菌群的差异[J]. 河南农业科学,2022,51(11):98-108.
- [15] 韩 凤,章文伟,李巧玲,等. 多花黄精根腐病对根际土壤细菌微生物生态的影响[J]. 现代中药研究与实践,2022,36(5):6-11.
- [16] 赵卫松,郭庆港,苏振贺,等. 马铃薯健株与黄萎病株根际土壤真菌群落结构及其对碳源利用特征[J]. 中国农业科学,2021,54(2):296-309.
- [17] 赵林艳,官会林,向 萍,等. 白及根腐病植株根际土壤微生物群落组成特征分析[J]. 生物技术通报,2022,38(2):67-74.
- [18] 刘 艳,卢圣鄂,卓 维,等. 毛茛黄根腐病根际土壤微生物群落结构及多样性[J]. 中国野生植物资源,2023,42(4):50-55,69.
- [19] YANG H, LI J, XIAO Y, et al. An integrated insight into the relationship between soil microbial community and tobacco bacterial wilt disease[J]. Frontiers in Microbiology,2017,8:2179.
- [20] BAKKER M G, GLOVER J D, MAI J G, et al. Plant community effects on the diversity and pathogen suppressive activity of soil *Streptomyces*[J]. Applied Soil Ecology,2010,46(1):35-42.
- [21] 文永均,黄 璜,马中刚,等. Illumina 高通量测序分析健康三七与患根腐病三七根际土和根内生真菌多样性[J]. 食品与发酵科技,2020,56(6):22-30.
- [22] 余 妙,蒋景龙,任绪明,等. 西洋参根腐病发生与根际真菌群落变化关系研究[J]. 中国中药杂志,2018,43(10):2038-2047.
- [23] FABIOLA B, LAMIA B, BERNARD N, et al. Impact of wheat straw decomposition on successional patterns of soil microbial community structure[J]. Soil Biology and Biochemistry,2008,41(2):262-275.
- [24] 朱 斌. 黏细菌 NUST03 的生物学特性和吸附重金属性质及其胞外活性物质的研究[D]. 南京:南京理工大学,2003.
- [25] 孙 丽. 水稻蔗糖转化酶 *GIF1* 调控抗病性的机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2012.
- [26] 林马水,张 媚,柴莺飞,等. 干腐病发病与健康山核桃树体 pH 值、养分与细菌多样性差异[J]. 农业生物技术学报,2019,27(2):248-259.
- [27] SLIPPERS B, WINGFIELD M J. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact[J]. Fungal Biological Reviews,2007,21:90-106.
- [28] 王 璠,黄俊斌,李国怀. 葡萄座腔菌属(*Botryosphaeria*)引起的果树病害及研究进展[J]. 植物保护,2013,39(6):7-13.
- [29] 唐燕静,郭顺星,陈 娟. 兰科植物与菌根真菌专一性研究进展[J]. 首都师范大学学报(自然科学版),2021,42(3):63-74.
- [30] 卢圣鄂,肖 波,任凤鸣,等. 基于 Illumina Miseq 分析黄精根腐病根际土壤真菌群落结构及多样性[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2021,23(1):13-19.
- [31] 王 芳,于 璐,齐泽铮,等. 大豆镰刀菌根腐病拮抗菌的筛选及生防效果[J]. 生物技术通报,2024,40(7):216-225.

- [32] 杨 瑾,文 艺,高素霞,等. 河南产区丹参根腐病病原鉴定[J]. 河南农业科学,2021,50(10):92-98.
- [33] LAUBER C L, HAMADY M, KNIGHT R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. Applied and Environmental Microbiology,2009,75(15):5111-5120.
- [34] 高鑫媛,赵红玲,白茹玥,等. 北苍术根腐病植株根际土壤真菌群落多样性分析[J]. 西南农业学报,2022,35(4):812-821.
- [35] GAITNIEKS T, KLAVINA D, MUIZNIEKS I, et al. Impact of Heterobasidion root-rot on fine root morphology and associated fungi in *Picea abies* stands on peat soils[J]. Mycorrhiza, 2016, 26(5):465-473.
- [36] HARTMAN W H, RICHARDSON C J, VILGALYS R, et al. Environmental and anthropogenic controls over bacterial communities in wetland soils[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(46):17842-17847.
- [37] 刘 钺. 甘蔗根腐病对根际微生态的影响及其病原菌的拮抗细菌筛选鉴定[D]. 南宁:广西大学,2022.

(责任编辑:黄克玲)