

武华周, 娄德钊, 涂娜娜, 等. 抗、感青枯病桑树根际细菌群落结构与多样性 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (9): 1004–1011.

WU H Z, LOU D Z, TU N N, et al. Rhizosphere Bacterial Community and Diversity at Fields of Wilt Resistant or Susceptible Mulberry Trees [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (9): 1004–1011.

抗、感青枯病桑树根际细菌群落结构与多样性

武华周¹, 娄德钊^{1,2}, 涂娜娜^{1,2}, 耿涛¹, 卢芙萍¹, 吉训聪^{3,4}, 王树昌^{1*}

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101; 2. 海南大学, 海南 海口 570228; 3. 海南省农业科学院植物保护研究所 海南 海口 571100; 4. 海南省植物病虫害防控重点实验室, 海南 海口 571100)

摘要:【目的】通过抗、感青枯病桑树根际土壤细菌群落结构与多样性分析, 阐明根际细菌群落与桑树抗、感青枯病的相关性。【方法】采用 Illumina MiSeq 测序技术对抗青枯病桑树基因型 (抗青 283×抗青 10) 和感病基因型 (桂桑优 62) 根际细菌的 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行扩增, 高通量测序后比较分析了其根际细菌群落结构与多样性。【结果】① 抗、感青枯病桑树根际土壤的优势菌门为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门和拟杆菌门, 优势菌属为 *MND1*、*Gaiella*、硝化螺菌属、*Haliangium* 和链霉菌属; ② 抗、感青枯病桑树根际土壤细菌群落 Alpha 多样性无显著差异, 但经 NMDS 排序, 则可显著区分 ($stress=0.005<0.05$), 其中抗性基因型根际土壤中具有重要作用的细菌类群较多, 包括: 硝化螺旋菌纲、酸杆菌纲、硝化螺旋菌目、索利氏菌目、酸杆菌目、硝化螺旋菌科、酸杆菌目未培养科、索利氏菌科 Subgroup 3 和 Subgroup 2 未培养科, 而敏感基因型桂桑优 62 根际重要作用的细菌类群则主要为 Ilumatobacteraceae 和 TRA3 20 Other 两个科。③ 抗、感青枯病桑树根际细菌差异 COG 类目为 763, 仅占 17.25%。【结论】抗、感青枯病桑树根际土壤细菌群落丰富度和多样性虽无显著差异, 但其重要作用的类群显著不同, 说明桑树根际土壤细菌群落结构可能与种质对青枯病的抗性具有相关性。本结果将为进一步研究桑树根际微生态特征、筛选有益功能菌株并用于桑青枯病的有效防控具有重要意义。

关键词: 桑树; 青枯病; Illumina 高通量测序; 细菌多样性; 群落结构

中图分类号: S 432

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 09-1004-08

Rhizosphere Bacterial Community and Diversity at Fields of Wilt Resistant or Susceptible Mulberry Trees

WU Huazhou¹, LOU Dezha^{1,2}, TU Nana^{1,2}, GENG Tao¹, LU Fuping¹, JI Xuncong^{3,4}, WANG Shuchang^{1*}

(1. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 3. Institute of Plant Protection, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571100, China; 4. Key Laboratory of Plant Disease and Pest Control of Hainan Province, Haikou, Hainan 571100, China)

Abstract: 【Objective】 Structure and diversity of rhizosphere bacterial communities at fields of mulberry trees resistant (QZ2K) or susceptible (QZ2G) to wilt disease were studied. 【Method】 The V3-V4 regions of 16S rRNA in rhizosphere bacteria were amplified and sequenced using high-throughput sequencing technology on Illumina MiSeq to determine the bacterial community structure, diversity, and functions. Results from the two field samples were compared. 【Result】 (1) At phylum and genus levels, the dominant rhizosphere bacteria were similar at QZ2K (Kangqing 283×Kangqing 10 mulberry field) and at QZ2G (Guisangyou 62 mulberry field). The phyla included Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, and Bacteroidetes, while the genera consisted of *MND1*, *Gaiella*, *Nitrospira*, *Haliangium*, and *Streptomyces*. (2) Although no significant difference in the alpha diversity of the bacteria communities at the two different fields, the NMDS ordination showed significant differences ($stress\ 0.005<0.05$). At QZ2K, the bacteria related to significant

收稿日期: 2020-08-10 初稿; 2020-09-08 修改稿

作者简介: 武华周 (1987-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 桑树栽培与育种 (E-mail: wuhuazhouaa@126.com)

* 通信作者: 王树昌 (1976-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 热带桑蚕技术 (E-mail: wangshuchang2001@163.com)

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项 (CARS-18-SYZ17); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (1630042019021); 中央引导地方科技发展专项 (ZY2018HN01)

metabolic functions were Nitrospira, Acidobacteriia, Nitrospirales, Solibacterales, Acidobacteriales, Nitrospiraceae, and the uncultured Acidobacteria, Solibacterales Subgroup 3, and Solibacterales Subgroup 2. At QZ2G, only Illumatobacteraceae and TRA3-20-other were identified. (3) According to the Wilcoxon signed rank test, the 763 different rhizosphere bacteria orthologs identified were only 17.25% of all COG orthologs on both fields. 【Conclusion】 There were no significant differences in the richness and diversity of rhizosphere bacteria community between the two fields. However, the bacteria associated with significant functions differed significantly between them, which could well be the species that made the difference in the occurrence of wilt disease on the mulberry plants. The information obtained in this study was of value for further studies on the microecological characteristics of mulberry rhizosphere as well as selection and application of functional bacteria for wilt control.

Key words: Mulberry; bacterial wilt; Illumina high-throughput sequencing; bacterial diversity; community structure

0 引言

【研究意义】植物根际微生物对于植物生长、营养与健康有着深远的影响。植物根际包含有巨大数量微生物与无脊椎动物，被认为是地球上动态性最强、最有活力的一种界面^[1-2]。根际微生物的结构和丰度的改变是植物健康的重要预警器。已有研究表明植物在受到病虫害攻击时，会特异招募有益微生物，形成微生态系统-植物根部的“生物屏障”，达到阻止病原菌入侵的目的^[3]。在自然条件下，植物及多种生态因子复杂的多变性，使得不同植物或同一物种不同基因型的根际微生物群落结构不同^[4]。因此，研究植物不同基因型根际土壤的微生物结构和多样性对其抗病机制具有重要意义。【前人研究进展】研究表明每克植物的根部约含 10^{11} 个微生物细胞，可以提供巨大的潜在功能，被称为寄主植株的“额外”基因组^[5]。一是土壤微生物在营养元素循环、肥力提高、生态环境改善、植物生长发育、作物病虫害防治等方面具有重要作用^[6-7]。二是微生物影响植物生长健康，如根际微生物群落结构与土传病害的发生有一定内在联系，某些微生物代谢产物抑制植物的生长等^[8]。根际微生物在特定生态环境和植物类型存在的群落结构差异可促使植物产生特定的根际效应，根际效应直接影响着根际微生物的营养选择和富集^[9]。Kwak 等研究结果表明抗青枯病番茄 Hawaii 7996 可以富集更多的黄杆菌基因组，抑制青枯菌的生长^[5]。此外，小麦、水稻、西瓜、黄瓜等作物根际微生物与土传病害发生关系的研究也说明作物抗感品种间根际微生物群落结构存在差异^[10-11]。因此，在农业生产中客观分析根际土壤微生物多样性以及微生物群落结构特征对研究和控制土传病害有很好的帮助。【本研究切入点】由青枯菌 5 号小种引起的桑树青枯病是最主要的桑树细菌性病害之一，已成为制约我国蚕桑产业发展的重要因素^[12]。由于桑树青枯病很难防治，一旦爆发会造成严重的损失，当前疫区主要利用抗性品种进行防控^[13]。海

南目前主要栽培叶桑树品种有抗青 283×抗青 10、抗青 10、桂桑优 62 及其他嫁接苗等^[14]。前期调查发现，抗青 10、抗青 283×抗青 10 对青枯病抗性强，较少有发病，桂桑优 62 对青枯病抗性弱，在琼中地区多发病。这种差异与根际土壤微生物结构及多样性之间有何关系目前尚不清楚。【拟解决的关键问题】基于此，本研究对抗青枯病桑树种质抗青 283×抗青 10 和敏感种质桂桑优 62，采用 16S rRNA 高通量测序技术研究其根际细菌群落结构与多样性，拟找出抗、感桑树根际细菌群落的差异，为进一步研究桑树根际微生态特征、根际功能菌株的筛选和应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

抗青 283×抗青 10 杂交组合是湛江市蓖麻蚕科学研究所黄富等采用有性杂交、病地添菌、人工诱变等方法，于 1994 年 3 月 17 日通过广东省农作物品种审定委员会桑桑专业组的审定，对青枯病达到中抗水平^[15]。桂桑优 62 是广西壮族自治区蚕业技术推广总站 1995 年选育出的优良组合，于 2000 年通过广西农作物品种审定委员会审定，耐高温，适于珠江流域等热带、亚热带种植^[16]。桑树均为 2016 年种植，树龄为 3 年。

1.2 根际土壤样品的采集

样地位于海南省琼中县营根镇加钗农场品种示范基地 (N19.02'29", E109.47'22"; H: 306 m)，样地的土壤 pH 为 6.25，有机质 $39.63 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，铵态氮 $54.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，电导率 $605.00 \text{ us} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，盐分 $330.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，总溶解固体物 $300.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，全钾为 $24.77 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，全磷为 $1.37 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。2019 年 7 月采集根际土壤样品，在抗青 283×抗青 10 和桂桑优 62 种植行中随机选取 4 行，每行选取 5 株植株混合为一个样品，去除地表土壤后，取根际土壤样品，抗青 283×抗青 10 植株根际土壤样本编号为 QZ2K1、QZ2K2、

QZ2K3、QZ2K4，桂桑优 62 植株根际土壤样本编号为 QZ2G1、QZ2G2、QZ2G3、QZ2G4。所有样品置入冰盒，-80 ℃ 冰箱保存、备用。

1.3 土壤微生物 DNA 提取

取充分混匀的土壤样品 0.50 g，采用 DNeasy Power Soil Kit（100）试剂盒提取根际土壤 DNA。抽提 DNA 浓度和纯度利用 Nano Drop 2000 检测，要求 A 260 /A 280 值在 1.8~2.0。

1.4 基因扩增与测序

Takara 公司的 Takara Ex Taq 高保真酶进行 PCR，利用 16S V3-V4 区域引物 343F 5'- TACGGRAGGC AGCAG -3'和 798R5'- AGGGTATCTAATCCT-3'扩增^[17]。PCR 扩增体系：25 μL 2x Premix Taq（Takara Biotechnology），引物各 1 μL（10 mmol·L⁻¹），DNA 模板 3 μL（20 ng·μL⁻¹），加 dd 水溶解定容至 50 μL。PCR 反应程序：预变性：94℃ 5 min；变性：94℃ 30 s，退火：52℃ 30 s，延伸 72℃ 30 s，30 个循环；延伸：72℃ 10 min。采样琼脂糖电泳检测，利用 Qubit 2.0 DNA 检测试剂盒精确定量回收产物并进行测序。

1.5 数据分析

使用 Trimmomatic（Version 0.35）软件对原始数据（raw data）质量部分剪切，拼接得到完整双端序列（paired end tags）。使用 QIIME 中的 Split

Libraries（Version 1.8.0）软件得到高质量序列（clean tags）。去除高质量序列中的嵌合体，得到优质序列（valid tags）。对质控得到的优质序列使用 Vsearch（Version 2.4.2）软件按照 97%的相似度进行 OTU 分类，以每个 OTU 中丰度最大序列为该 OTU 的代表序列，采用 RDP Naive Bayesian Classifier 分类算法进行注释。使用 BioVenn 在线软件进行 Venn 图绘制；使用 Excel 2013 和 SPSS 19.0 软件对相对丰度数据进行统计分析，绘制相对丰度柱状图；使用 Qiime 软件计算观测物种数、Chao1 指数（Chao1）、香农、辛普森、谱系多样性指数（PD whole tree）和文库覆盖率（Goods-coverage）等多样性指数，稀释曲线和 NMDS 图用 R 软件绘制。通过 LDA 对根际细菌群落进行 LEFSE 分析（LDA Score 2.5）寻找抗、感青枯病桑树根际土壤细菌群落差异类群；使用 PICRUST 软件，预测已知微生物基因功能的构成。

2 结果与分析

2.1 根际细菌群落测序结果分析

细菌 16S rRNA 高通量测序共获得优化序列 304 272 条，平均长度 431.48 bp（表 1）。8 个样本序列均超过 32 000 条 reads，样品测序深度都超过 94%，测序效果理想。

表 1 高通量测序数据概况
Table 1 Overview of high-throughput sequencing data

样品 Sample	高质量序列 Clean tags	优质序列 Valid tags	平均长度 /bp Valid mean length	测序深度指数/% Goods coverage
QZ2K.1	33 883	28 948	429	94.81
QZ2K.2	38 786	32 371	430	94.69
QZ2K.3	32 328	26 941	432	94.57
QZ2K.4	41 499	34 267	432	94.56
平均值 average	36 624.0	30 631.8	430.8	94.658
QZ2G.1	38 747	32 496	432	94.53
QZ2G.2	37 626	31 688	432	94.43
QZ2G.3	40 749	34 814	432	94.78
QZ2G.4	40 656	34 090	432	95.22
平均值 average	3 944.5	33 272.0	432.0	94.740

2.2 细菌群落组成比较

抗青枯病桑树样品共鉴定出细菌 28 个门、76 个纲、151 个目、230 个科、388 个属；易感青枯病桑树样品共鉴定出细菌 27 个门、73 个纲、147 个目、

225 个科、363 个属。根据 Venn 图可知，共有 OTUs 数为 2089 个，其中 QZ2K 特有的 OTUs 为 1113 个，QZ2G 为 898 个（图 1）。

桑树根际土壤样品中细菌群落门水平上组成结

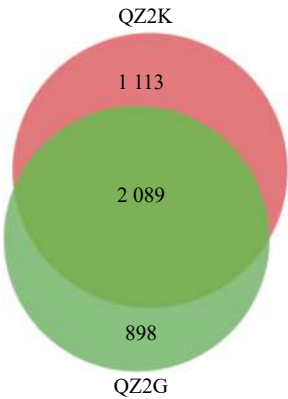


图 1 抗感青枯病桑树根际土壤细菌 OTUs 韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of bacteria OTUs in rhizosphere soils at QZ2K and QZ2G

构和丰度结果如图 2-A 根际土壤细菌主要分布在以下 15 个门：变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、厚壁菌门（Firmicutes）、硝化螺旋菌门（Nitrospirae）、匿杆菌门（Latescibacteria）、Entothaeonellaeota、Patescibacteria、河床菌门（Zixibacteria）、蓝细菌门（Cyanobacteria）、迷踪

菌门（Elusimicrobia）、绿弯菌门（Chloroflexi）、罗克菌门（Rokubacteria），其中变形菌门最为丰富，QZ2K 和 QZ2G 土样中相对丰度分别为 44.54%，46.23%，其次为放线菌门，QZ2K 和 QZ2G 土样中相对丰度分别为 23.01%，28.86%。其中 QZ2K 根际土样中酸杆菌门、芽单胞菌门、厚壁菌门、硝化螺旋菌门、Patescibacteria、河床菌门、蓝细菌门、罗克菌门的含量高于 QZ2G 根际土样的含量。

在属水平上如图 2-B 所示，前十五的属分别为 MND1、Gaiella、硝化螺菌属（Nitrospira）、Haliangium、链霉菌属（Streptomyces）、类诺卡氏菌属（Nocardioides）、芽胞杆菌属（Bacillus）、拟杆菌属（Bacteroides）、Subgroup 10、Acidibacter、分支杆菌属（Mycobacterium）、土微菌属（Pedomicrobium）、Ellin6067、mle1-7、鞘氨醇单胞菌属（Sphingomonas）。芽胞杆菌属在 QZ2K 土样中占 1.76%，而在 QZ2G 土样中仅为 0.41%。另外，土微菌属、拟杆菌属、mle1-7、鞘氨醇单胞菌属、类诺卡氏菌属、硝化螺菌属在 QZ2K 土样中的含量也高于其在 QZ2G 土样中的含量。

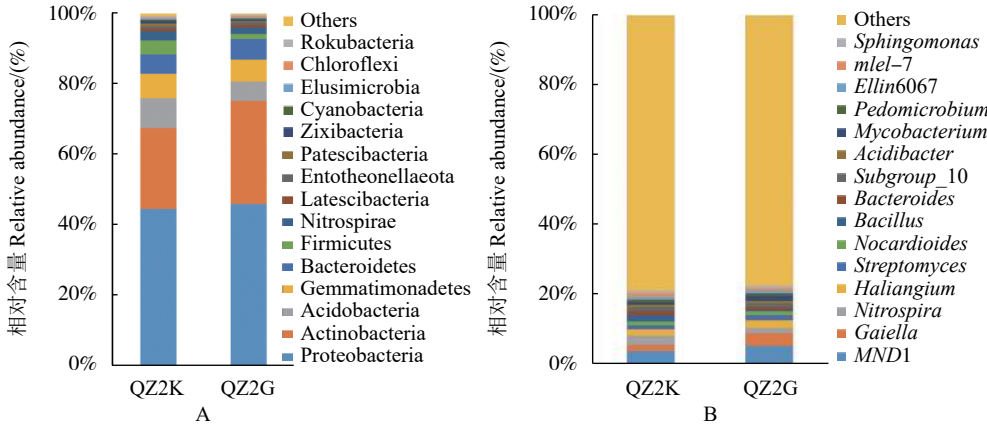


图 2 细菌群落门（A）和属（B）水平相对丰度

Fig. 2 Phylum (A) and genus (B) distributions of OTUs

2.3 群落多样性分析

2.3.1 Alpha 多样性 对抗、感桑树根际土壤细菌群落进行 6 种 α 多样性指数计算（表 2）。统计结果表

明，抗感桑树根际细菌群落的各个多样性指数均无显著性差异。谱系多样性指数、Chao1 指数和观测物种数在抗青枯病桑树 QZ2K 土样中高于感青枯病桑

表 2 抗感青枯病桑树根际土壤细菌 α 多样性指数（平均值 $\pm$ 标准误，n=4）
Table 2 Alpha diversity indices of bacteria in rhizosphere soils at QZ2K and QZ2G (Mean $\pm$ SE, n=4)

样品 Samples	谱系多样性指数 PD whole Tree	Chao1	文库覆盖率 (%) Goods coverage	观测物种数 Observed Species	香浓-威纳指数 Shannon-Wiener	辛普森指数 Simpson
QZ2K	84.97 $\pm$ 0.77	3 190.57 $\pm$ 22.48	0.95 $\pm$ 0.00	2 333.88 $\pm$ 40.49	9.51 $\pm$ 0.09	0.995 $\pm$ 0.001
QZ2G	82.86 $\pm$ 1.44	3 178.61 $\pm$ 87.45	0.95 $\pm$ 0.00	2 304.30 $\pm$ 49.58	9.65 $\pm$ 0.03	0.997 $\pm$ 0.001

树 QZ2G 土样。

2.3.2 Beta 多样性 Beta 多样性利用各样本序列间的进化关系及丰度信息来计算样本间距离，反映样本（组）间是否具有显著的微生物群落差异。基于加权 UniFrac 距离的非度量多维标定法（Non - Metric Multi - Dimensional Scaling, NMDS）来研究不同基因型根际细菌群落之间的分离模式考虑了分类群丰度，对稀有的分类群更敏感。如图 3 所示，在 UniFrac NMDS 中，stress=0.005<0.05，说明很好地将抗青枯病桑树根际土壤 QZ2K 与感青枯病桑树根际土壤 QZ2G 样本区分开来，表明桑树不同基因型根际细菌群落之间存在显著的差异。

2.4 抗感青枯病桑树根际优势细菌差异分析

使用 LEfSe 分析抗青 283×抗青 10 与桂桑优 62 根际土壤细菌群落中主要差异物种（LDA Score 预设置为 2.5，小于 2.5 视为没有显著差异）（图 4-A）。

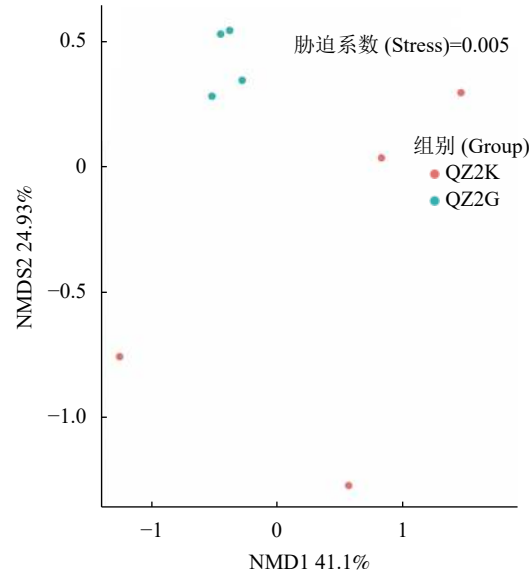


图 3 抗感青枯病桑树根际土壤细菌 NMDS 分析
Fig. 3 Non-Metric Multi-dimensional scaling by UUF metric

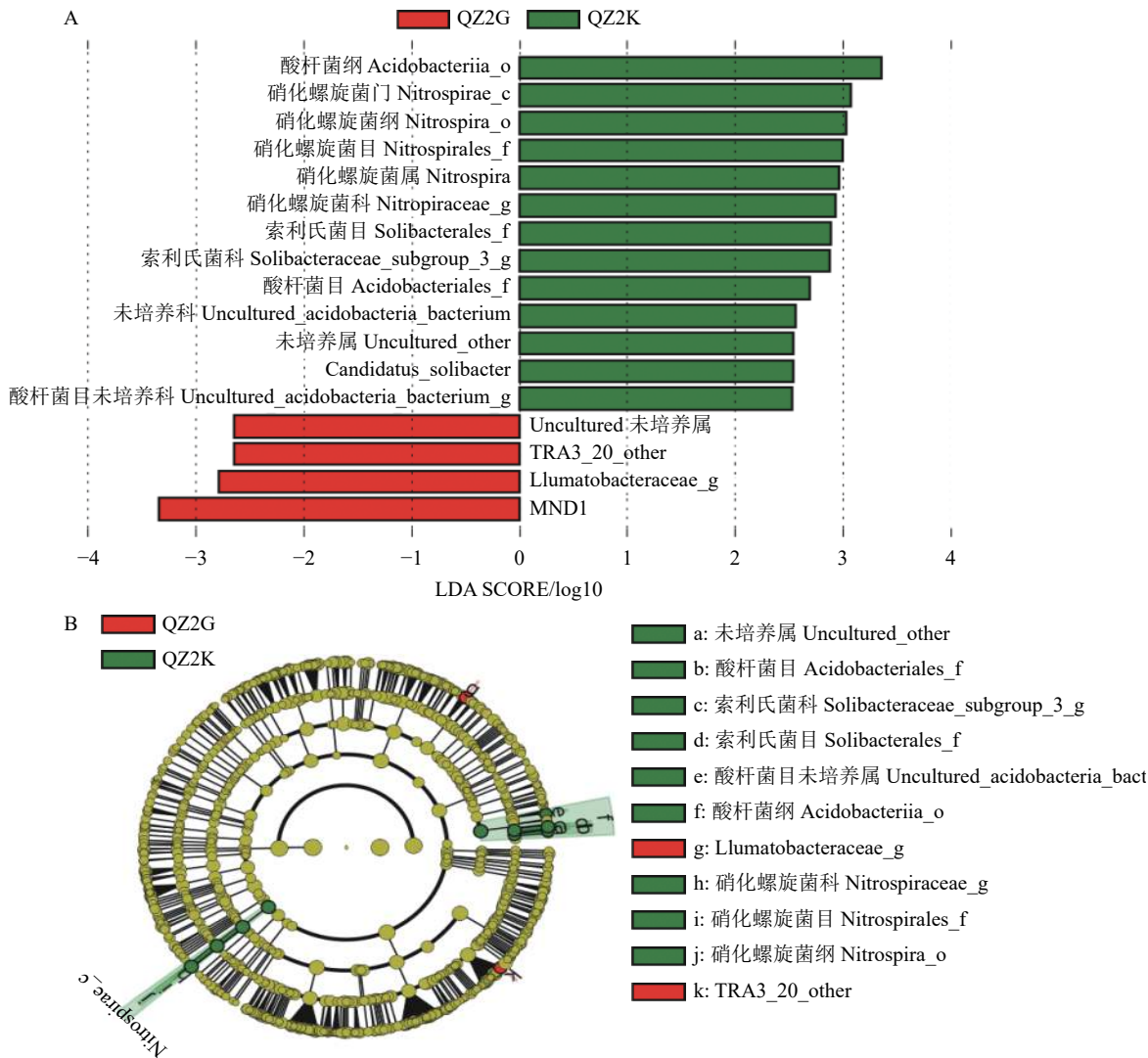


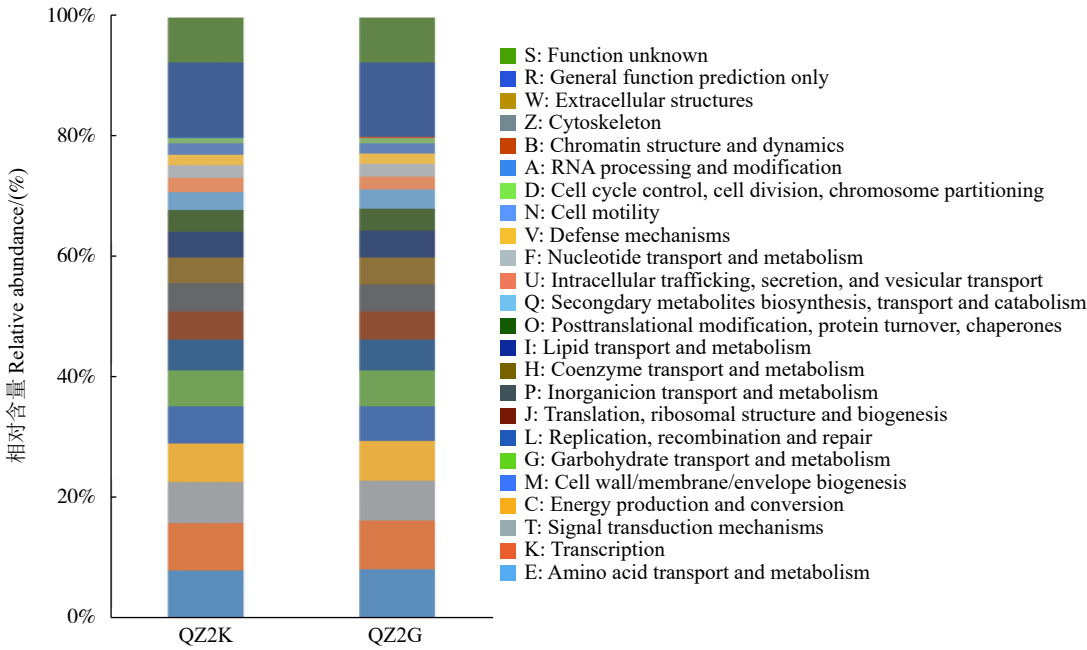
图 4 抗感青枯病桑树根际土壤细菌 LEfSe 分析
Fig. 4 LEfSe analysis on bacteria in rhizosphere soils at QZ2K and QZ2G

结果表明，酸杆菌纲（Acidobacteriia）、硝化螺旋菌门、硝化螺旋菌纲（Nitrospira）、硝化螺旋菌目（Nitrospirales）、硝化螺旋菌属（Nitrospira）、硝化螺旋菌科（Nitrospiraceae）、索利氏菌目、索利氏菌科（Subgroup 3）、酸杆菌目（Acidobacteriales）、Subgroup 2 未培养科未培养属、酸杆菌目未培养科、Candidatus Solibacter、Subgroup 2 未培养科这几类菌群在抗青 283×抗青 10 根际的相对丰度均显著高于桂桑优 62 根际，抗青 283×抗青 10 根际酸杆菌纲 LDA 值最大，桂桑优 62 根际 MND1 LDA 值最大，说明这两个类菌群的差异最大。从图 4-B 中可以看出抗青 283×抗青 10 根际重要作用的细菌类群包括：硝化螺旋菌纲、酸杆菌纲、硝化螺旋菌目、索利氏菌目、酸杆菌目、硝化螺旋菌科、酸杆菌目未

培养科、索利氏菌科（Subgroup 3）和 Subgroup 2 未培养科；而桂桑优 62 根际重要作用的细菌类群 Ilumato-bacteraceae 和 TRA3 20 Other 两个科。

2.5 抗感青枯病桑树根际细菌群功能分析

基于 16S rDNA 序列的 PICRUST 功能预测（图 5），抗青 283×抗青 10 和桑优 62 的根际细菌群落对应的 COG 类目排名前 10 的相同，分别为氨基酸运输与代谢（E）、转录（K）、信号转导机制（T）、能量产生与转化（C）、细胞壁/膜/包膜生物发生（M）、碳水化合物运输与代谢（G）、复制，重组和修复（Lr）、翻译，核糖体结构和生物源（J）、无机分子运输与代谢（P）、辅酶运输与代谢（H）（不包括未知功能和通用功能）；两组根据 Wilcoxon 算法差异 COG 类目为 763，仅占有 COG 类目的 17.25%。



注：A: RNA 加工与修饰; B: 染色体结构与动态; C: 能量产生与转化; D: 细胞周期控制，细胞分裂，染色体分裂; E: 氨基酸转运与代谢; F: 核
酸转运与代谢; G: 碳水化合物的运输与代谢; H: 酶运输与代谢; I: 脂质运输与代谢; J: 翻译，核糖体结构和生物发生; K: 转录; L: 复制，重组和
修复; M: 细胞壁/膜/包膜生物发生; N: 细胞运动; O: 翻译后修饰，蛋白质更新，伴侣; P: 无机离子的运输与代谢; Q: 次生代谢产物的生物合成，
转运和分解代谢; R: 仅通用功能预测; S: 未知功能; T: 信号转导机制; U: 细胞内运输，分泌和囊泡运输; V: 防御机制; W: 细胞外结构; Z: 细胞骨架。
Note: A: RNA processing and modification; B: Chromatin structure and dynamics; C: Energy production and conversion; D: Cell cycle control, cell
division, and chromosome partitioning; E: Amino acid transport and metabolism; F: Nucleotide transport and metabolism; G: Carbohydrate transport and
metabolism; H: Coenzyme transport and metabolism; I: Lipid transport and metabolism; J: Translation, ribosomal structure and biogenesis;
K: Transcription; L: Replication, recombination, and repair; M: Cell wall/membrane/envelope biogenesis; N: Cell motility; O: Posttranslational
modification, protein turnover, and chaperones; P: Inorganic ion transport and metabolism; Q: Secondary metabolites biosynthesis, transport, and
catabolism; R: General function prediction only; S: Function unknown; T: Signal transduction mechanisms; U: Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport;
V: Defense mechanisms; W: Extracellular structures; Z: Cytoskeleton.

图 5 抗感青枯病桑树根际细菌预测得到的 COG 相对丰度
Fig. 5 Relative abundance of COG at QZ2K and QZ2G

3 讨论与结论

植物对青枯病的抗性是由数量性状基因介导

的，但植物对其表型是可变的，并受环境因素影响，其中植物根际微生物在抗青枯病上具有重要作用^[5, 7]。本研究发现抗青 283×抗青 10 根际细菌在

门、纲、目、科、属和 OTU 分类水平均略高于桂桑优 62 根际细菌群落,但对根际细菌物种多样性分析结果表明两种桑树根际细菌群落多样性差异不显著。这可能是因为两种基因型桑树种植在同一样地,管理方式一致,土壤在根系细菌组装过程中占主导地位。在门水平,变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、厚壁菌门等为根际土壤的优势菌门,分别占抗青 283×抗青 10 和桂桑优 62 根际细菌总体的 92.15%、94.27%。结果与邱洁等研究 3 个品种桑树(粤椹大 10、嘉陵 30 号和红果 1 号)根际细菌结构基本一致^[18]。在属水平,主要分布在 *MND1*、*Gaiella*、硝化螺菌属、*Haliangium* 等 15 个属,但抗、感桑树根际各属含量有差异,抗青 283×抗青 10 根际细菌在放线菌的类诺卡氏菌属和芽胞杆菌属均高于桂桑优 62 根际细菌。邱洁等对 3 种桑树根际细菌研究也发现,随着分类的细化,不同的桑树品种对细菌群落组成和分布的影响越大,在科属水平上差异更明显^[18]。

进一步基于加权 UniFrac 距离的非度量多维标定法 Beta 多样性分析,抗青 283×抗青 10 和桂桑优 62 的根际细菌群落可以显著区分开来。说明抗感桑树根际分别富集了不同的优势细菌菌群,可能是基因型通过植物差异生长性能、凋落物和根系分泌物等影响植物根际微生物群组装。通过 LDA Score 进行 LEfSe 分析,发现抗、感青枯病桑树根际重要作用的微生物类群存在差异。类诺卡氏菌属、芽胞杆菌属、鞘氨醇单胞菌属在抗性品种根际丰度也更高。研究表明类诺卡氏菌属和芽胞杆菌属分别属于放线菌和芽胞杆菌,是生防菌,通常代表土壤的健康状况对植物病害具有防病作用^[19-20]。研究表明鞘脂单胞菌科(*Sphingomonadaceae*)在具有抑病性的烟草根际土壤中具有普遍存在的特征^[18,21],鞘脂单胞菌科的某些菌株也被报道与根部固氮作用密切相关^[22],因此,鞘氨醇单胞菌属也可能与植物对病原体攻击的抵抗力有关。抗青枯病桑树根际土壤富集了更多的类诺卡氏菌属、芽胞杆菌属、鞘氨醇单胞菌属,可能对其抵抗青枯病有关,这有待于研究证实。

本研究利用 Illumina 高通量测序技术对抗感青枯病桑树的根际土壤样品进行了测序分析,同一地点抗、感青枯病桑树根际细菌群落多样性差异不显著,但其重要的细菌类群存在差异,抗青枯病桑树根际土壤富集了更多的类诺卡氏菌属、芽胞杆菌属、鞘氨醇单胞菌属等生防菌,这为进一步研究桑树青枯病的防治奠定了基础。有研究发现品种抗性

差异可能通过根系分泌物对病原菌的化感作用差异来体现^[23],根系分泌物通过刺激特定微生物的生长,富集特定微生物,在植物-微生物和微生物-微生物相互作用中发挥重要作用^[24-26]。因此,为阐明抗感病桑树根际微生物差异的机制及原因,尚需进一步对抗、感青枯病桑树种质根系分泌物组分、含量差异及其对土壤微生物的影响作进一步测定分析。

参考文献:

- [1] XIONG W, SONG Y Q, YANG K M, et al. Rhizosphere protists are key determinants of plant health [J]. *Microbiome*, 2020, 8: 27.
- [2] RODRIGUEZ P A, ROTHBALLER M, CHOWDHURY S P, et al. Systems biology of plant-microbiome interactions [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12 (6): 804-821.
- [3] BERENDSEN R L, VISMANS G, YU K, et al. Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium [J]. *The ISME Journal*, 2018, 12 (6): 1496-1507.
- [4] ROUT M E, SOUTHWORTH D. The root microbiome influences scales from molecules to ecosystems: The unseen majority! [J]. *American Journal of Botany*, 2013, 100 (9): 1689-1691.
- [5] KWAK M J, KONG H G, CHOI K, et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato [J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36 (11): 1100-1109.
- [6] ROLFE S A, GRIFFITHS J, TON J. Crying out for help with root exudates: adaptive mechanisms by which stressed plants assemble health-promoting soil microbiomes [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 49: 73-82.
- [7] WEI Z, GU Y A, FRIMAN V P, et al. Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health [J]. *Science Advances*, 2019, 5 (9): eaaw0759.
- [8] 颜朗, 张义正, 方志荣, 等. 不同马铃薯基因型对根际细菌群落结构的影响 [J]. 四川大学学报(自然科学版), 2020, 57 (2): 383-390.
YAN L, ZHANG Y Z, FANG Z R, et al. Effects of potato genotype on rhizosphere bacterial community structure [J]. *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)*, 2020, 57 (2): 383-390. (in Chinese)
- [9] LAREEN A, BURTON F, SCHÄFER P. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes [J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90 (6): 575-587.
- [10] 蔡秋华, 左进香, 李忠环, 等. 抗性烤烟品种根际微生物数量及功能多样性差异 [J]. 应用生态学报, 2015, 26 (12): 3766-3772.
CAI Q H, ZUO J, LI Z H, et al. Difference of rhizosphere microbe quantity and functional diversity among three flue-cured tobacco cultivars with different resistance [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26 (12): 3766-3772. (in Chinese)
- [11] MENDES L W, RAAIJMAKERS J M, DE HOLLANDER M, et al. Influence of resistance breeding in common bean on rhizosphere

- microbiome composition and function [J]. *The ISME Journal*, 2018, 12 (1) : 212–224.
- [12] 曹梦琪. 桑树青枯病病原菌的分离鉴定及其活体检测方法的建立 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2017.
- CAO M Q. Isolation, Identification and Establishment of Viable Cells Detection of the Pathogen of Mulberry Bacterial Wilt [D]. *Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology*, 2017. (in Chinese).
- [13] 李磊. 华南地区桑树青枯病原菌的收集鉴定及侵染机制的初步研究 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2017.
- LI L. Collecting for identification of the pathogen of Mulberry Wilt Disease in South China and a preliminary study on the mechanism of infection [D]. Guangzhou: Jiangsu University of Science and Technology, 2017. (in Chinese).
- [14] 王树昌, 耿涛, 黄华平. 海南蚕桑 [M]. 海口: 南海出版公司, 2017: 68–80.
- [15] 黄富, 张伟国, 黄胜, 等. 桑树抗青283×抗青10杂交组合的育成 [J]. 广东蚕业, 2006, 4 (4) : 24–28.
- HUANG F, ZHANG WG, HUANG S, et al. Breeding of mulberry Kangqing 283 × Kangqing 10 [J]. *Guangdong Sericulture*, 2006, 4 (4) : 24–28. (in Chinese)
- [16] 朱方荣. 桂桑优62和桂桑优12的特点及栽培 [J]. 广西农业科学, 2001 (4) : 199.
- ZHU F R. Characteristics and cultivation of Guisangyou 62 and Guisangyou 12 [J]. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2001 (4) : 199. (in Chinese)
- [17] NOSSA C W. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16 (33) : 4135.
- [18] 邱洁, 徐丽丽, 钱叶, 等. 不同品种桑树根际土壤细菌群落及土壤理化性质的研究 [J]. 蚕业科学, 2017, 43 (4) : 568–576.
- QIU J, XU L L, QIAN Y, et al. An investigation on rhizospheric bacterial community and soil physical and chemical properties of different mulberry varieties [J]. *Acta Sericologica Sinica*, 2017, 43 (4) : 568–576. (in Chinese)
- [19] BHATTI A A, HAQ S, BHAT R A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 111: 458–467.
- [20] 向立刚, 周浩, 汪汉成. 健康与感染青枯病烟株根际土壤与茎秆细菌群落结构与多样性 [J]. 微生物学报, 2019, 59 (10) : 1984–1999.
- XIANG LG, ZHOU H, WANG H C. Bacterial community structure and diversity of rhizosphere soil and stem of healthy and bacterial wilt tobacco plants [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59 (10) : 1984–1999. (in Chinese)
- [21] KYSELKOVÁ M, KOPECKÝ J, FRAPOLLI M, et al. Comparison of rhizobacterial community composition in soil suppressive or conducive to tobacco black root rot disease [J]. *The ISME Journal*, 2009, 3 (10) : 1127–1138.
- [22] ADHIKARI T B, JOSEPH C M, YANG G P, et al. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47 (10) : 916–924.
- [23] HUANG A C, JIANG T, LIU Y X, et al. A specialized metabolic network selectively modulates *Arabidopsis* root microbiota [J]. *Science*, 2019, 364 (6440) : 1–9.
- [24] COTTON T E A, PÉTRIACQ P, CAMERON D D, et al. Metabolic regulation of the maize rhizobiome by benzoxazinoids [J]. *The ISME Journal*, 2019, 13 (7) : 1647–1658.
- [25] BULGARELLI D, ROTT M, SCHLAEPI K, et al. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota [J]. *Nature*, 2012, 488 (7409) : 91–95.
- [26] VÍCTOR J C, JUAN P J, VIVIANE C, et al. Pathogen-induced activation of disease - suppressive functions in the endophytic root microbiome [J]. *Science*, 2019, 366 (6465) : 606–612.

(责任编辑：林海清)