

西洋参根腐病发生与根际土壤细菌群落结构变化关系研究

蒋景龙¹, 余 妙¹, 李 丽², 焦成瑾³, 徐 皓¹, 任绪明¹, 杨玲娟⁴

1. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000

2. 陕西省催化基础与应用重点实验室, 陕西 汉中 723000

3. 天水师范学院生物工程与技术学院, 甘肃 天水 741001

4. 天水师范学院化学工程与技术学院, 甘肃 天水 741001

摘要: **目的** 研究健康西洋参和患根腐病西洋参的根际土壤细菌群落结构变化, 为查明西洋参根腐病发生机制提供线索。**方法** 以未种过西洋参的土壤 (C 组)、4 年生健康参根际土壤 (N 组) 和 4 年生根腐病参根际土壤 (R 组) 为研究对象, 采用 Illumina Miseq 高通量测序技术分析了土壤细菌群落结构的变化。**结果** 9 个土壤样品基因组经 16 S 测序共获得有效序列 636 654 条, 用于物种分类的 OTUs 8 422 个, 涵盖了 42 门、106 纲、180 目、158 科、246 属。在门的水平上, 3 组细菌主要类群基本一致, 主要有变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 等, 但不同组中各类群相对丰度存在明显差异; 在属的水平上, 3 组细菌群落组成及相对丰度差别很大, 其中红游动菌属 *Rhodoplanes*、*Kaistobacter* 属、鞘脂菌属 *Sphingobium* 等可能是引起西洋参根腐病发生的关键菌群, 后续研究应重点关注。**结论** 西洋参根腐病株和健株根际土壤微生物组成具有显著性差异, 对于探究西洋参根腐病发生的微生态机制和改良种植西洋参土壤微生物具有理论指导作用。

关键词: 西洋参; 16 S rRNA 基因; 连作障碍; 微生物群落; 高通量测序

中图分类号: R282.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)18-4399-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.027

Relationship between occurrence of root-rot and changes of bacterial community structure in rhizosphere soil of *Panax quinquefolius*

JIANG Jing-long¹, YU Miao¹, LI Li², JIAO Cheng-jin³, XU Hao¹, REN Xu-ming¹, YANG Ling-juan⁴

1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China

2. Shaanxi Province Key Laboratory of Catalytic Foundation and Application, Hanzhong 723000, China

3. School of Bioengineering & Biotechnology, Tianshui Normal University, Tianshui 741001, China

4. School of Chemical Engineering & Technology, Tianshui Normal University, Tianshui 741001, China

Abstract: Objective In this paper, the changes of bacterial community structure in the rhizosphere soil of healthy and root-rot *Panax quinquefolius* were investigated to explore the occurrence mechanism of root-rot in *P. quinquefolius*. **Methods** The changes of bacterial communities structure in uncultivated soil (group C), rhizosphere soil of 4-year-old healthy ginseng (group N), and 4-year-old root-rot ginseng (group R) were analyzed by using the Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology. **Results** A total of 636 654 effective sequences and 8 422 OTUs were obtained from nine samples based on high-throughput sequencing of the 16S gene. Bacterial species detected in these samples covered 42 phyla, 106 classes, 180 orders, 158 families, and 246 genera. The main phylums were the same in the three groups, including *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, and *Chloroflexi* with significantly different relative abundance. At the genera level, the composition and relative abundance of the bacterial communities in the three groups are very different. Among them, *Rhodoplanes*, *kaistobacter*, and *Sphingobium* may be the key bacteria causing root rot of *P. quinquefolius* and should be focused in the further research. **Conclusion** There are significant differences in the bacterial community composition from the rhizosphere soil of healthy and root-rot *P. quinquefolius*. This finding plays a theoretical guiding role in exploring the micro-ecological mechanism of root-rot of *P. quinquefolius* and improving the soil microbial community during the cultivation of *P. quinquefolius*.

收稿日期: 2018-04-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31660153); 陕西理工大学科研基金项目 (SLGKY16-23); 陕西省科技统筹项目 (2015KTTSSF01-02)

作者简介: 蒋景龙 (1980—), 男, 硕士生导师, 副教授, 主要从事药用植物栽培生理生态方面的研究。E-mail: jiangjinglong511@163.com

Key words: *Panax quinquefolius* L.; 16 S rRNA gene; continuous cropping obstacle; microbial community; high-throughput sequencing

西洋参 *Panax quinquefolius* L. 为五加科人参属名贵中药材, 广泛应用于食品和药品领域。近年来, 随着西洋参产业的迅猛发展, 西洋参的市场需求日益增长^[1]。陕西省留坝县是中国西洋参四大产区之一, 西洋参种植是当地农业的支柱产业^[2-3]。然而, 西洋参栽培过程中存在严重的连作障碍问题, 连作病害加重导致其减产甚至绝收, 严重影响了西洋参的产量和质量^[4]。当地种植西洋参多采用和玉米轮作的方式, 轮作 8~10 年以上才能再种植西洋参, 而且轮作地再种植西洋参的 4 年中参根发病仍较为普遍, 主要为根腐病, 收获时西洋参根腐病的发生率最高可达 80%。连作障碍形成及加重的原因极其复杂, 近年来研究发现根际土壤微生物区系变化是影响西洋参连作障碍的重要因素^[5-6]。根际作为植物-土壤生态系统物质交换的一个界面, 是根系-土壤-微生物三者紧密结合及相互交流的场所^[7]。植物可以通过根系分泌某些化合物来吸引和选择性抑制某些微生物类群, 反之, 微生物类群的数量和多样性的改变也会影响土壤的微生态功能^[8]。傅佳等^[9-10]研究认为西洋参根际土壤中的细菌可能是土壤生态系统中贡献最大的类群, 它们对环境改变特别敏感, 比整个微生物群体更容易遭受土壤生态系统变化的影响。李勇等^[11]研究认为不同年限西洋参根际土及根围土中的微生物种群结构存在显著差异, 而且不同土壤样品中的微生物种群结构在一定程度上表现有根际效应。舒秀丽等^[12]和陈娟等^[13]研究发现, 在土壤中加入有益微生物制剂或土壤改良剂处理后, 病原菌的生长受到抑制, 而有效微生物菌群显著增加, 土壤微生物群落构成发生变化, 从而对西洋参连作障碍具有一定的缓解作用。目前, 有关西洋参根际土壤细菌种群的研究大多采用实验室培养、分离和鉴定的手段, 受培养方式的限制, 仅能对有限的细菌类别进行分析。高通量测序技术可以更加准确、全面地反映样本的微生物群落结构^[14-15]。本研究采用 Illumina Miseq 高通量测序技术对未种过西洋参的土壤、4 年生西洋参健株和根腐病株根际土壤细菌的组成及丰度变化进行研究, 为探讨西洋参根腐病的发生机制提供理论依据, 对西洋参种植的可持续发展具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 根际土壤样品采集

土壤样品于 2017 年 4 月份采集于陕西省汉中市留坝县河口石西洋参种植基地 (33°38'N, 106°43'E), 海拔高度为 1 701 m。样品分为 3 组: ①距离采参点约 50 m 未种过西洋参的土壤作为对照 (C1~3 组); ②4 年生的健康参根际土壤 (N1~3 组); ③4 年生的根腐病参根际土壤 (R1~3 组), 每组分别在不同位置采集 3 个样品作为实验重复。用五点取样法采集西洋参植株, 取 10 cm 左右根际周围土壤, 充分混匀装入无菌聚乙烯封口袋内, 低温运输至实验室, 在 4 °C 条件下贮藏。

1.2 土壤微生物总 DNA 提取和 PCR 扩增

采用 PowerSoil[®] DNA Isolation Kit (MOBIO, 美国) 提取土壤样品微生物总 DNA, 分别使用 UV-1200 紫外分光光度计 (上海美谱达公司) 和琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品的浓度与纯度。采用通用引物 338 F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806 R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16 S rRNA 的 V3~V4 区进行 PCR 扩增。PCR 扩增采用 NEB 公司的 Q5 高保真 DNA 聚合酶, PCR 扩增产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 并对目标片段进行切胶回收, 回收采用 AXYGEN 公司的凝胶回收试剂盒。

1.3 文库制备与上机测序

采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库, 构建好的文库经检测合格后, 使用 Illumina Miseq 平台测序, 委托上海派森诺生物科技股份有限公司完成。

1.4 数据分析

1.4.1 测序数据处理和 OTU (operational taxonomic units) 聚类分析 采用 Illumina MiSeq 平台对群落 DNA 片段进行双端 (Paired-end) 测序, 运用 QIIME 软件 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology, v1.8.0, <http://qiime.org/>) 识别疑问序列, 调用 USEARCH (v5.2.236, <http://www.drive5.com/usearch/>) 检查并剔除嵌合体序列, 获得每个样品的有效序列。调用 UCLUST 序列比对工具对前述获得的序列按 97% 的序列相似度进行归并和 OTU (operational taxonomic unit) 划分, 并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为该 OTU 的代表序列。将丰度值低于

全体样本测序总量 0.001% (十万分之一) 的 OTU 去除, 并将去除了稀有 OTU 的此丰度矩阵用于后续的一系列分析。

1.4.2 菌群组成分析和差异分析 使用 QIIME 软件和 R 软件, 获取每个样本在门和属水平的物种组成和丰度分布情况, 并绘制成柱状图。根据所有样本在属水平的物种组成及丰度信息, 选取丰度排名前 50 的属, 根据其在每个样本中的丰度信息, 从物种和样本 2 个层面进行聚类, 采用 R 软件制作热图。通过 R 软件, 对属水平的群落组成结构进行主成分分析 (PCA), 并且以二维图像描述样本间的自然分布特征。使用 Mothur 软件, 调用 Metastats^[16] 的统计学算法, 对门和属水平的各个分类单元在组之间的序列量 (即绝对丰度) 差异进行两两比较检验。

2 结果与分析

2.1 测序数据和 OTU 聚类分析

通过对土壤中 16 S rRNA 基因的 V3~V4 区进行测序, 去除低质量、Barcode 和引物序列后, 9 个样品得到有效序列总数为 636 654 条, 对有效序列进行聚类, C 组、N 组和 R 组中包含的 OTU 数目分别为 4 655、4 520 和 4 964 个。根据获得的 OTU 丰度矩阵, 通过韦恩图直观地呈现 3 组样品的 OTU 数目组成相似性及重叠情况 (图 1), 3 组样品共有的 OTU 数目为 1 581 个, C 组、N 组和 R 组特有的 OTU 数目分别为 1 649、1 509 和 1 128 个, 其余 OTU 为样品间两两共有的。N 组和 C 组共有的 OTU 最少。将序列进行随机抽样, 以抽到的序列数与它们所代表的 OTU 数目构建稀释性曲线, 如图 2 所示, 9 个样品的稀释曲线均趋于平缓, 说明继续增加测序的数量对产生的 OTU 数量的影响较少, 测序数量足够, 取样合理, 能够较真实地反映土壤样

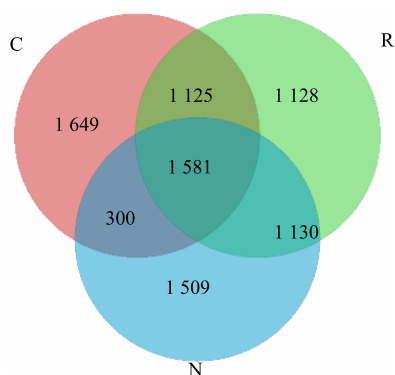


图 1 OTU 分布韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of distribution of OTUs

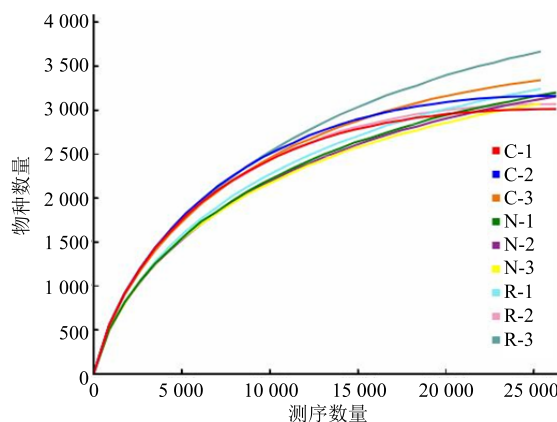


图 2 不同样本中 OTUs 稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of OTUs in different samples

品的细菌群落。

2.2 菌群结构组成变化

使用 QIIME 软件, 获取每个样品在门和属水平上的物种组成和丰度分布表, 以便直观查看各样品在门和属水平上的物种组成及其比例。9 个土样在门水平上共得到 42 个细菌类群, 图 3 展示的是最大丰度排名前 20 的物种相对丰度柱形图, 变形菌门 (Proteobacteria) 为 9 个土样中的优势菌种, 占细菌总数的 29.0%~39.8%, 其他优势菌群分别为放线菌门 (Actinobacteria, 10.8%~21.2%), 绿弯菌门 (Chloroflexi, 10.5%~17.3%), 酸杆菌门 (Acidobacteria, 9.1%~13.6%), 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes, 4.8%~9.4%), 硝化螺旋菌门 (Nitrospira, 1.0%~9.2%) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes, 2.5%~4.8%), 这与三七种植前后土壤细菌群落结构相似^[17], 其中 C 组硝化螺旋菌门和 WS3 丰度较 N 组和 R 组高, N 组蓝藻门 (Cyanobacteria) 丰度较 C 组和 R 组高, 西洋参种植前后及健株和根腐病株土壤中细菌群落组成与结构具有显著的不同。

9 个土样在属水平上共得到 246 个细菌类群, 丰度排名前 20 的物种见图 4, 从图 4 上可以看出, 3 组群落组成与结构具有明显的不同。C 组优势属为硝化螺旋菌属 *Nitrospira* Watson (1.8%)、*Kaistobacter* 属 (1.5%)、红游动菌属 *Rhodoplanes* Hiraishi & Ueda (1.4%)、节杆菌属 *Arthrobacter* Conn & Dimmick (0.9%) 和紫色杆菌属 *Janthinobacterium* De Ley (0.9%)。N 组优势属为红游动菌属 (5.5%)、*Kaistobacter* 属 (3.8%)、鞘脂菌属 *Sphingobium* Takeuchi

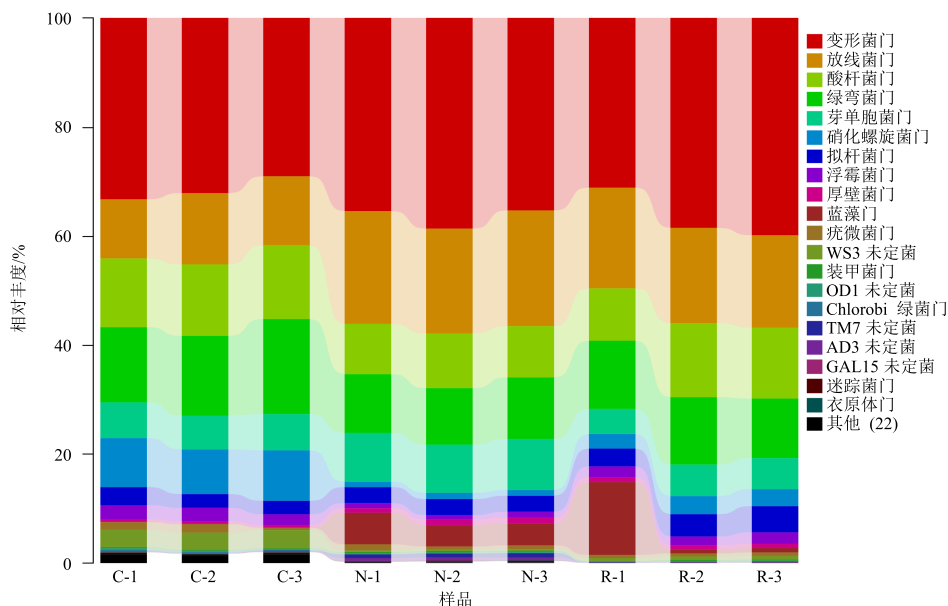


图 3 门水平上的物种相对丰度柱形图

Fig. 3 Relative abundance of species on level of phylum

(2.1%)、芽球菌属 *Blastococcus* Ahrens & Moll (1.0%) 和分枝杆菌属 *Mycobacterium* Lehmann & Neumann (0.9%)，其中红游动菌属、*Kaistobacter* 属和鞘脂菌属的丰度明显高于 C 组，而硝化螺旋菌属和节杆菌属的比例低于 C 组；R 组优势属为鞘脂菌属(4.0%)、红游动菌属(1.5%)、*Kaistobacter* 属(1.3%)、节杆菌属(1.0%)、土地杆菌属 *Pedobacter* Steyn (1.0%) 和 *Phenylobacterium* Lingens (0.9%)，鞘脂菌属的比例明显高于 C 组和

N 组，占主要优势，而 *Kaistobacter* 属、红游动菌属的比例明显低于 N 组。

2.3 菌群聚类分析

使用 R 软件，将属水平的群落组成数据根据分类单元的丰度分布加以聚类，根据聚类结果对分类单元和样品分别排序，并通过热图呈现。通过聚类，可以将高丰度和低丰度的分类单元区分，并以颜色梯度反映样品之间的群落组成相似度。丰度前 50 位的属聚类热图见图 5，细菌群落根据进化关系聚

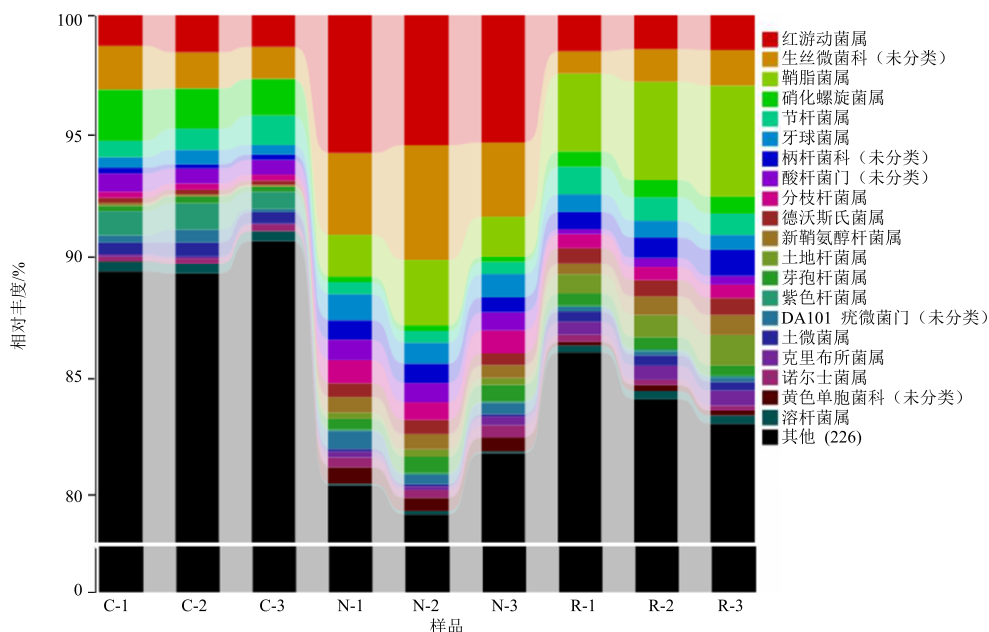
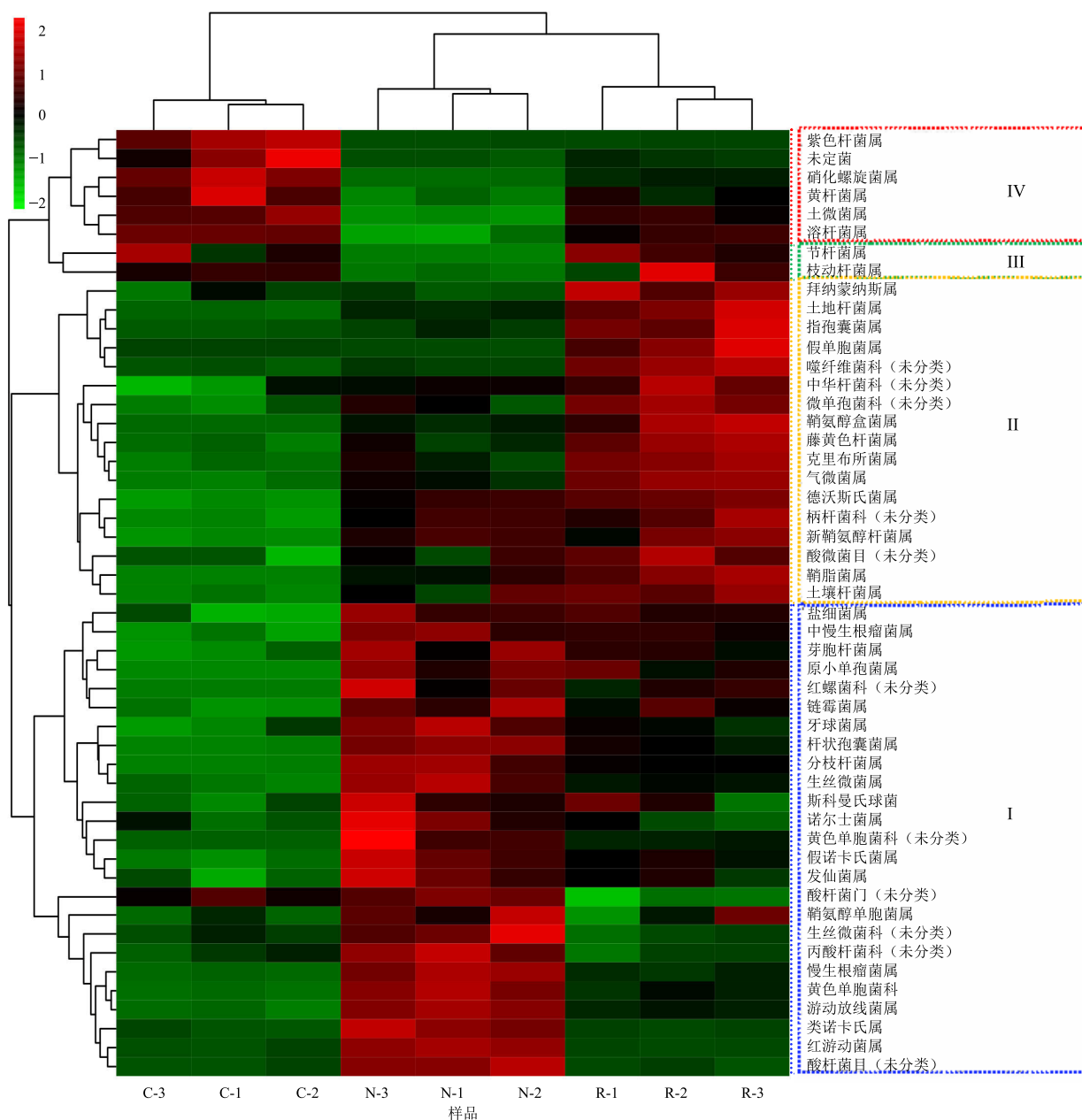


图 4 属水平上的物种相对丰度柱形图

Fig. 4 Relative abundance of species on level of genus



同一行中颜色的深浅表示该菌属在不同样品中的比例差别

The color intensity in same line represents the proportion discrepancy of bacteria in the different samples

图 5 基于样品丰度前 50 的细菌物种丰度聚类热图

Fig. 5 Cluster heat map analysis of bacteria community based on top 50 genera

类为两大分支，其中 C 组 3 个样品聚为一支，N 组和 R 组 6 个样品聚为另一支，说明 R 组和 N 组的细菌群落结构与 C 组的差异较大。纵向 OTU 间根据变化趋势的类型可以分为 4 类，以芽球菌属、红游动菌属和分枝杆菌属为代表的菌群 (I) 在 3 个组的丰度大小为 N 组 > R 组 > C 组；以鞘脂菌属、气微菌属和德沃斯氏菌属为代表的菌群 (II) 在 3 个组的丰度大小为 R 组 > N 组 > C 组；以节杆菌属和

枝动杆菌属所在的菌群 (III) 在 3 个组的丰度大小为 R 组 > C 组 > N 组；以硝化螺旋菌属、土微菌属和溶杆菌属为代表的菌群 (IV) 3 个组的丰度大小为 C 组 > R 组 > N 组。PCA 分析见图 6，西洋参根际土壤细菌结构组成发生了明显变化，PC1 能解释 58.07% 的细菌群落变化，PC2 能解释 22.5% 的细菌群落变化，PC1 能很明显地将 3 个组的细菌群落结构分开来，这表明不同分组的土壤细菌群落组成

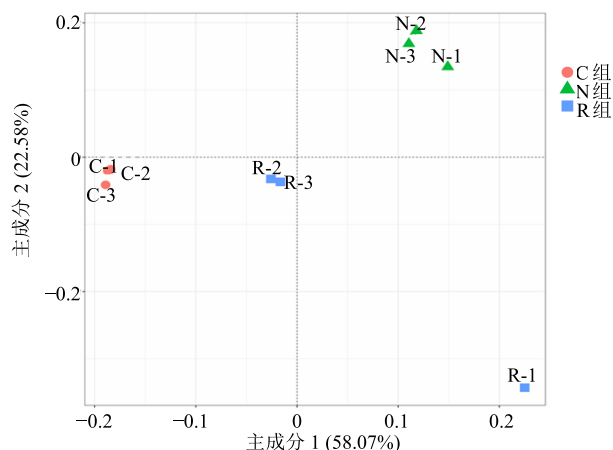


图 6 各土壤样品细菌群落的 PCA 图

Fig. 6 Principal component analysis of bacteria communities in each soil sample

差别明显。可见除了 R-1 样品距离较远外, 其他 8 个样品分别按组别表现出明显的组内聚集, 显示同组的土壤样品具有相似的细菌群落结构, R 组(R-2、R-3)分别与 C 组和 N 组距离较近, 但 C 组与 N 组距离较远, 说明 R 组与 C 组、R 组与 N 组样品的细菌群落结构分别具有较高的相似性, 而 N 组与 C 组样品的细菌群落结构具有较低的相似性, 这与 OTU 分析结果一致。

2.4 菌群结构的差异分析

为了进一步探究各组细菌群落结构之间的关系, 使用 Mothur 软件, 对门和属水平的各个分类单元在组之间的序列量(即绝对丰度)差异进行两两比较检验, 在门和属水平上, N 组与 C 组、R 组与 C 组、R 组与 N 组之间有显著性差异的分类单元分别为 9 和 93 个、6 和 80 个、8 和 73 个, N 组与 C 组之间有显著性差异 ($P < 0.05$) 的分类单元多于 R 组与 C 组、R 组与 N 组, 与 OTU 分析结果一致。门和属水平组间差异显著 ($P < 0.05$) 的前 20 个分类单元的丰度分布图见图 7。

在门水平上, N 组和 R 组的放线菌门和厚壁菌门 (Firmicutes) 的丰度显著 ($P < 0.05$) 高于 C 组, 而纤维杆菌门 (Fibrobacteres) 和硝化螺旋菌门的丰度显著 ($P < 0.05$) 低于 C 组; 衣原体门 (Chlamydiae) 和芽单胞菌门在 N 组的丰度显著高于 C 组 ($P < 0.05$), 但在 R 组的丰度显著低于 C 组 ($P < 0.05$); N 组酸杆菌门的丰度显著低于 C 组 ($P < 0.05$), 蓝藻门的丰度显著高于 C 组 ($P < 0.05$), 但二者在 R 组的丰度和 C 组差异不显著 ($P > 0.05$)。R 组的硝化螺旋菌门和浮霉菌门 (Planctomycetes) 的丰度显

著高于 N 组 ($P < 0.05$), 而 FBP、芽单胞菌门、衣原体门、柔膜菌门 (Tenericutes)、放线菌门和迷踪菌门 (Elusimicrobia) 的丰度显著低于 N 组 ($P < 0.05$)。

在属水平上, 有显著性差异 ($P < 0.05$) 的排名前 20 的分类单元中, N 组和 R 组的无色杆菌属 *Achromobacter* Yabuuchi & Yano 的丰度均显著 ($P < 0.05$) 高于 C 组, 而 *Adhaeribacter* Rickard、厌氧黏细菌属 *Anaeromyxobacter* Sanford、溶杆菌属 *Lysobacter* Christensen & Cook 和硝化螺旋菌属的丰度均显著低于 C 组 ($P < 0.05$); 气微菌属 *Aeromicrobium* Miller, Woese & Brenner、德沃斯氏菌属 *Devosia* Nakagawa、*Dyadobacter* Chelius & Triplett、克里布所菌属 *Kribbella* Park、藤黄色杆菌属 *Luteibacter* Johansen、鞘氨醇杆菌属 *Sphingobacterium* Yabuuchi 和鞘脂菌属在 N 组的丰度高于 C 组, 但不显著 ($P > 0.05$), 而在 R 组的丰度显著高于 C 组 ($P < 0.05$); 食碱菌属 *Alcanivorax* Yakimov、*Edaphobacter* Koch、*Fluviicola* O'Sullivan、地嗜皮菌属 *Geodermatophilus* Luedemann、*Rhodanobacter* Nalin 和杆状孢囊菌属 *Virgisporangium* Tamura 在 N 组的丰度显著 ($P < 0.05$) 高于 C 组, 但在 R 组的丰度和 C 组差异不显著 ($P > 0.05$); 枝动杆菌属 *Mycoplana* Gray & Thornton 在 N 组的丰度显著低于 C 组 ($P < 0.05$), 但在 R 组的丰度和 C 组差异不显著 ($P > 0.05$)。R 组的硝化螺旋菌属、鞘氨醇杆菌属、无色杆菌属、*Dyadobacter* 和溶杆菌属的丰度显著高于 N 组 ($P < 0.05$), 而食碱菌属、生孢噬纤维菌属 *Sporocytophaga* Stanier、*Fluviicola* O'Sullivan、*Edaphobacter* Koch 和地嗜皮菌属的丰度显著低于 N 组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

土壤微生物种群的变化打破了根际微生态系统功能, 对土壤中病原菌的存活具有重要影响, 表现为病原微生物数量增加, 而有益微生物数量下降, 土壤微生物区系异常是连作障碍的主要原因^[18-19]。本研究结果表明在门的水平上, 西洋参根际土壤与未种西洋参的土壤主要类群基本一致, 但不同门的相对丰度明显不同。

变形菌门、放线菌门、酸杆菌门和绿弯菌门为优势菌种, 9 个土样中分布最多的为变形菌门, 该结果与先前研究结果相一致^[20-21]。本研究中优势属红游动菌属、*Dokdonella* 和 *Kaistobacter* 属在健株土

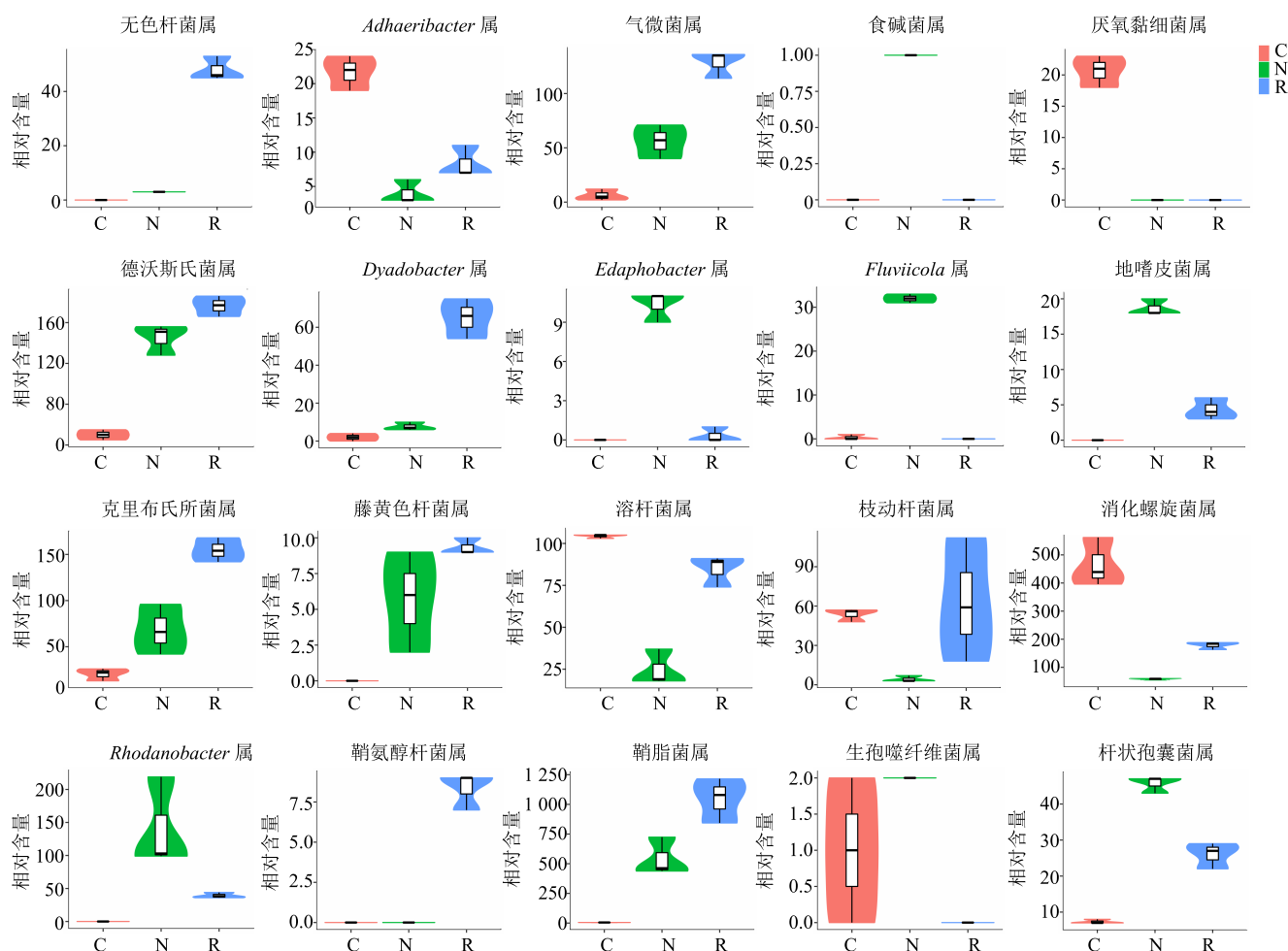


图 7 门和属水平组间差异最显著的前 20 个分类单元的丰度分布

Fig. 7 Abundance distribution of top 20 taxa with most significant differences on sample groups at phylum and genera level

样所占比例较病株土样分别高 72.7%、66.7% 和 65.8%，其中红游动菌属和 *Kaistobacter* 属都属 α -变形菌纲、根瘤菌目 (*Rhizobiales*)、生丝微菌科 (*Hyphomicrobiaceae*)、*Dokdonella* 属 γ -变形菌纲。差异分析结果显示，西洋参病株根际土样的硝化螺旋菌门和浮霉菌门丰度显著高于健株根际土样 ($P < 0.05$)，而 FBP、芽单胞菌门、衣原体门、柔膜菌门、放线菌门和迷踪菌门的丰度显著低于健株根际土样 ($P < 0.05$)。

在属的水平上，3 个组优势属的相对丰度差别明显，西洋参健株土样红游动菌属和 *Kaistobacter* 属相对丰度较高，而病株土样是鞘脂菌属相对丰度最高，未种西洋参的土样硝化螺旋菌属的相对丰度最高。差异分析结果显示，西洋参病株根际土样的硝化螺旋菌属、鞘氨醇杆菌属、无色杆菌属、*Dyadobacter*、溶杆菌属等的丰度显著高于健株根际土样 ($P < 0.05$)，而食碱菌属、生孢噬纤维菌属、

Fluvicola、*Edaphobacter* 和地嗜皮菌属等的丰度显著低于健株根际土样 ($P < 0.05$)。红游动菌属细菌在黑暗厌氧条件下可以完成反硝化过程进行脱氮，最佳生长方式为利用有机物进行光合异养生长，其生长受土壤理化性质影响^[15]。许艳蕊等^[22]研究发现玉米根际土壤中，红游动菌属相对丰度最高，这可能与西洋参农业生产中，采用和玉米轮作的种植方式有关。

三七长期连作过程导致其易于受到各种土壤病原菌或线虫的侵染，对于土壤致病细菌的研究表明三七根腐病主要病原细菌为假单胞属细菌 *Pseudomonas*^[23]。鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* sp. 能够提高植物抗逆性，被视为植物益生菌^[24]。近年来研究表明芽孢杆菌属 *Bacillus* Cohn 是健康西洋参内生菌和根际土壤中的优势属，对西洋参根腐病菌有抑制作用^[25-28]，而且芽孢杆菌属中的枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 能够产生对植物病

原菌有良好抗性的脂肽类和硫醚类抗生素等,在病虫害的生物防治研究过程中受到很大关注。本研究发现西洋参病株土样较健株土样假单胞菌属细菌所占比例高 70%,鞘氨醇单胞菌属和芽孢杆菌属所占比例分别为 33.3%和 16.7%,说明有益细菌数量与植株生长状况密切相关,这与先前研究结果相一致。

西洋参患根腐病与其根际土壤微生物区系变化有一定相关性,其中土壤致病菌的数量是西洋参连作障碍形成的关键因素。西洋参在生长过程中对其根际土壤细菌群落结构的组成及分布有很大影响,西洋参根腐病株根际土壤有益菌数量较少,病原菌大量滋生,而西洋参健株根际土壤中却聚集较多的有益菌,本研究中优势属红游动菌属和 *Kaistobacter* 属在西洋参健株根际土样中的丰度显著高于病株根际土样,而且这 2 个属在亲缘关系上接近,后续研究应重点关注。鞘脂菌属是病株土样中相对丰度最高的属,同时,食碱菌属、生孢噬纤维菌属、硝化螺旋菌属、鞘氨醇杆菌属和无色杆菌属等是西洋参根腐病株和健株土样中差异最显著的属,这几个属的细菌可能对西洋参根腐病的发生具有重要意义,后续研究应重点关注。

参考文献

- [1] Zou L Q, Kuang X J, Sun C. Advances in transcriptomic studies and ginsenoside biosynthesis of American ginseng [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(2): 116-122.
- [2] 李 丽, 蒋景龙. 西洋参化感自毒作用与连作障碍研究进展 [J/OL]. 分子植物育种, 2018-03-05. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20171207.1317.002.html>.
- [3] 王 欢, 曾凡琳, 谢彩香. 西洋参 UPLC-UV-ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 143-148.
- [4] 任绪明, 蒋景龙, 余 妙, 等. 西洋参根腐病与三七素积累之间关系 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 42-46.
- [5] 王 苗, 孙 燕, 刘清梅, 等. 西洋参连作障碍产生原因及生物防治概述 [J]. 中药材, 2016, 39(11): 2665-2667.
- [6] 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, doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20180307.006.
- [7] Wang Y, Wang P. Study on the change and allelopathy effect of Boju continuous cropping rhizosphere environment [J]. *Agr Food Ind Tech*, 2017, 28(3): 109-113.
- [8] Abed R M M, Al-Kharusi S, Gkorezis P, et al. Bacterial communities in the rhizosphere of *Phragmites australis* from an oil-polluted wetland [J]. *Arch Agron Soil Sci*, 2018, 64(3): 360-370.
- [9] 傅 佳, 李先恩, 傅俊范. 西洋参生长过程中土壤微生物区系的动态变化 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(9): 371-375.
- [10] 傅 佳, 李先恩, 傅俊范. 重茬种植西洋参对其根区土壤微生物与土壤理化性质影响 [J]. 微生物学杂志, 2009, 29(2): 63-66.
- [11] 李 勇, 应益昕, 赵东岳, 等. 人参及西洋参栽培土壤微生物种群遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 中草药, 2010 (11): 1871-1875.
- [12] 舒秀丽, 赵 柳, 孙学振, 等. 不同土壤改良剂处理对连作西洋参根际微生物数量, 土壤酶活性及产量的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(6): 1289-1294.
- [13] 陈 娟, 张雪松, 杨家学, 等. 连作西洋参根际真菌群落差异及其在土壤药剂处理后的初步分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3531-3535.
- [14] 曹 荣, 刘 淇, 赵 玲, 等. 基于高通量测序的牡蛎冷藏过程中微生物群落分析 [J]. 农业工程学报, 2016, 32(20): 275-280.
- [15] 孙 海, 王秋霞, 张春阁, 等. 不同树叶凋落物对人参土壤理化性质及微生物群落结构的影响 [J]. 生态学报, 2018, 38(10): 1-14.
- [16] White J R, Nagarajan N, Pop M. Statistical methods for detecting differentially abundant features in clinical metagenomic samples [J]. *PLoS Comput Biol*, 2009, 5(4): e1000352.
- [17] 谭 勇, 崔尹瞻, 季秀玲, 等. 三七种植前后土壤细菌群落结构与多样性分析 [J]. 昆明理工大学学报: 自然科学版, 2016, 41(6): 92-99.
- [18] Fu H, Zhang G, Zhang F, et al. Effects of continuous tomato monoculture on soil microbial properties and enzyme activities in a solar greenhouse [J]. *Sustainability*, 2017, 9(2): 1-14.
- [19] Qin S, Yeboah S, Cao L, et al. Breaking continuous potato cropping with legumes improves soil microbial communities, enzyme activities and tuber yield [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0175934.
- [20] Huang J, Hu B, Qi K, et al. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in a subalpine spruce plantation [J]. *Eur J Soil Biol*, 2016, 72: 35-41.
- [21] Tan Y, Cui Y, Li H, et al. Rhizospheric soil and root endogenous fungal diversity and composition in response

- to continuous *Panax notoginseng* cropping practices [J]. *Microbiol Res*, 2017, 194: 10-19.
- [22] 许艳蕊, 方志军, 卢晓平, 等. 基于高通量测序技术分析使它隆对玉米土壤细菌多样性的影响 [J]. 微生物学报, 2017, 57(7): 985-993.
- [23] 缪作清, 李世东, 刘杏忠, 等. 三七根腐病病原研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1371-1378.
- [24] 陈冬梅, 柯文辉, 陈兰兰, 等. 连作对白肋烟根际土壤细菌群落多样性的影响 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(7): 1751-1758.
- [25] 田 苗, 房敏峰, 黄建新. 根际土壤微生物变化对西洋参种植的影响 [J]. 生物学杂志, 2011, 28(5): 38-41.
- [26] 林红梅, 施建飞, 李岳桦, 等. 西洋参病原菌拮抗细菌的分离筛选与鉴定 [J]. 吉林农业科学, 2013, 38(6): 62-65.
- [27] 刘学周, 李绍宾, 赵智灵, 等. 西洋参内生菌株的分离及拮抗活性菌株的筛选和鉴定 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3332-3336.
- [28] 刘学周, 赵智灵, 李绍宾, 等. 西洋参内生菌群落结构与多样性 [J]. 微生物学报, 2015, 55(3): 330-340.