

西红花球茎腐烂病根际菌群功能协同网络失衡的宏基因组解析及靶向SynComs设计

周桂芬¹, 万斌², 孙恒¹, 钱晓东^{2*}, 秦路平^{1*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 湖州市中心医院, 浙江 湖州 313000

摘要: **目的** 解析西红花 *Crocus sativus* 球茎腐烂病发生与根际微生物功能协同网络失衡的关联, 挖掘关键有益微生物, 为靶向合成微生物群落 (SynComs) 设计提供依据。 **方法** 采集健康与患病西红花根际土壤, 利用宏基因组测序解析微生物群落结构与功能, 通过多元统计分析鉴定差异物种及抗病功能通路。 **结果** 患病根际以尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 等病原菌异常增殖 (相对丰度之和达 21%) 为特征, 而芽孢杆菌属 *Bacillus*、木霉属 *Trichoderma* 等有益微生物丰度显著降低。健康根际则富集了与信号转导、抗菌物质 (如非核糖体肽) 生物合成、防御机制等相关的功能通路。物种-功能关联分析表明, 健康根际中的核心有益菌与这些抗病功能呈显著正相关, 形成一个潜在的“功能协同网络”, 该网络在病害状态下崩溃。 **结论** 球茎腐烂病的发生与根际微生物功能协同网络的失衡密切相关。揭示了健康根际中由核心有益微生物构成的功能协同网络, 为靶向重建该网络、设计多机制协同的 SynComs 生物防治策略提供了关键理论与资源。

关键词: 西红花; 球茎腐烂病; 根际微生物组; 功能协同网络; 合成微生物群落; 宏基因组学

中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)06-2316-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.06.025

Shotgun metagenomic decoding of impaired functional synergy in *Crocus sativus* rhizosphere microbiome during corm rot and targeted SynComs design

ZHOU Guifen¹, WAN Bin², SUN Heng¹, QIAN Xiaodong², QIN Luping¹

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China

Abstract: Objective To decipher the association between corm rot disease in *Crocus sativus* and the impairment of the functional synergistic network within the rhizosphere microbiome, and to identify core beneficial microorganisms, thereby providing a basis for the targeted design of synthetic microbial communities (SynComs). **Methods** Rhizosphere soil samples from healthy and diseased saffron plants were collected. Metagenomic sequencing was employed to analyze the microbial community structure and function, while multivariate statistical analyses were used to identify differentially enriched taxa and disease-resistant functional pathways. **Results** The diseased rhizosphere was characterized by the abnormal proliferation of pathogens such as *Fusarium oxysporum* (with a combined relative abundance of up to 21%), alongside a significant decrease in the abundance of beneficial microbes like *Bacillus* and *Trichoderma*. In contrast, the healthy rhizosphere was enriched with functional pathways related to signal transduction, biosynthesis of antimicrobial compounds (e.g., nonribosomal peptides), and defense mechanisms. Species-function correlation analysis revealed that the core beneficial microorganisms in the healthy rhizosphere were significantly positively correlated with these disease-resistant functions, forming a potential “functional synergistic network”, which collapsed under diseased conditions. **Conclusion** The occurrence of corm rot is closely related to the disruption of the functional synergistic network in the rhizosphere microbiome. This study reveals the functional synergistic network constituted by core beneficial microbes in the healthy rhizosphere, providing key theoretical foundations and microbial resources for targeted restoration of this network and the design of multi-mechanistic SynCom-based biocontrol strategies.

Key words: *Crocus sativus* L.; corm rot; rhizosphere microbiome; functional synergistic network; synthetic microbial communities (SynComs); metagenomics

收稿日期: 2025-11-02

基金项目: 浙江省基础公益研究计划资助项目 (LGN21H280001); 湖州市科学技术局公益性应用研究资助项目 (2023GY11); 中央引导地方科技发展资金项目 (2025ZY01023)

作者简介: 周桂芬, 副教授, 研究方向为生物/非生物胁迫对中药质量的影响。E-mail: 20011021@zcmu.edu.cn

*通信作者: 秦路平, 教授, 博士生导师, 从事中药资源品质评价与开发利用。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

钱晓东, 主任药师, 从事中药资源开发利用。E-mail: 13706522711@qq.com

西红花 *Crocus sativus* L.为鸢尾科番红花属多年生球茎类植物,是新“浙八味”珍稀药材,仅以其独特的3根红色柱头入药,具有活血化瘀、凉血解毒、解郁安神等功效^[1],同时也是全球最昂贵的香料和天然染料。然而,其产量极低,约需17万朵鲜花方能收获1 kg干柱头^[2],导致国内需求约80%依赖进口^[3]。受限于其三倍体不育特性,西红花仅能依赖球茎进行无性繁殖,致使球茎极易遭受土传病原菌侵染。其中,尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 引起的球茎腐烂病危害最为严重,发病率可高达50%^[4-5],造成产量与品质的严重损失,已成为制约产业可持续发展的核心瓶颈。

传统化学防治虽可短期控制病害,但长期使用易引发环境污染、病原菌抗性增强及土壤微生态失衡等问题^[6]。因此,开发环境友好、可持续的生物防治策略,已成为当前西红花产业健康发展的迫切需求。根际有益微生物在促进植物生长、改善土壤性质及防控土传病害方面潜力显著^[7-9]。例如丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)、假单胞菌属 *Pseudomonas* Migula、芽孢杆菌属 *Bacillus* 等植物根际促生菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR),可通过增强宿主营养吸收、诱导系统抗性 (induced systemic resistance, ISR) 以及分泌抗菌物质等机制提升植物抗病性^[10-13]。针对西红花球茎腐烂病,已有单一拮抗菌株 (如解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*^[14]、贝莱斯芽孢杆菌 *Bacillus velezensis*) 生防潜力的报道^[15]。然而,土壤微生物群落的高度复杂性与功能网络性决定了单一菌株策略常因生态位覆盖有限、功能单一及稳定性不足而效果欠佳。

合成微生物群落 (synthetic microbial communities, SynComs) 技术为突破上述瓶颈提供了新思路^[16-17]。SynComs 通过组合功能明确、互作协同的有益微生物,模拟或优化自然群落结构,整合多重抑菌机制 (如营养竞争、抗菌物质分泌、根际定植竞争及植物免疫激活等),在提升抑菌效果广谱性与稳定性方面优势显著。例如,绿木霉 *Trichoderma virens* 与贝莱斯芽孢杆菌 *B. velezensis* 的协同组合已被证实能更有效抑制土传病原菌^[18]。SynComs 成功的关键在于筛选具有协同抗病潜力的核心成员并解析其在群落中的功能角色与互作关系。宏基因组测序可直接对环境微生物总DNA进行高通量测序,全面解析物种组成与功能基因潜

能,为挖掘生防资源、揭示群落功能网络提供了强大工具^[19-20]。

基于此,本研究提出核心问题,即西红花球茎腐烂病的发生是否与根际微生物群落特定的功能协同状态失衡直接相关。为此,本研究利用 Illumina NovaSeq 宏基因组技术,系统比较未种植土壤、健康植株根际土及患病植株根际土的微生物群落结构与功能。旨在揭示病害发生与根际菌群结构及功能失衡的内在联系,识别健康根际富集的核心有益微生物类群及其潜在抗病功能基因,解析有益微生物间潜在功能协同关系,为基于功能协同网络恢复的 SynComs 设计提供资源与依据。

1 材料与试剂

根际土壤样品于2020年3月(西红花球茎繁殖关键期)采自浙江省建德市三都西红花种植试验基地(29°32'34"N, 119°36'51"E)。E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek 公司,美国)用于提取土壤总DNA。NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit (Bio Scientific 公司,美国)用于文库构建。NovaSeq 6000 Reagent Kits (Illumina 公司,美国)用于上机测序。

2 方法

2.1 根际土壤样品的采集

取样品进行分组,包括未种植西红花土(空白组,距种植区约10 m)、健康植株(无球茎腐烂病症状)根际土(健康组)、患球茎腐烂病植株(茎部弯曲叶片黄化,球茎褐变腐烂)根际土(患病组)。采用多点混合取样法,空白组在选定区域内多点采集0~20 cm深度土壤。健康组和患病组:小心挖取选定植株,轻抖松散土壤,无菌毛刷收集紧密附着于须根表面(约2 mm内)的土壤作为根际土。每个生物学重复样品由5株同一状态植株的根际土等量混合或多点混合土样构成,每个处理组设3个独立生物学重复。样品过2 mm无菌筛去除杂质,分装后-80 °C保存。

2.2 宏基因组测序与生物信息学分析

E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek 公司,美国)提取土壤总DNA。测序文库由上海美吉生物医药科技有限公司 (Majorbio) 利用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit (Bio Scientific 公司,美国)构建。质检合格后,在 Illumina NovaSeq 平台进行双端测序 (PE150)。原始数据经 Fastp 质控 (去除接头、低质量序列,平均质量值 < 20 或含 N 碱基 > 5%) 获得高质量优化序列 (clean reads)。使用软件

MEGAHIT^[3] (<https://github.com/voutcn/megahit>, version 1.1.2) 对优化序列进行拼接组装 (kmer 设置参数为 k-min=47, k-max=97, k-step=10), 在拼接结果中筛选 ≥ 300 bp 的 contigs 作为最终的组装结果。使用 Prodigal 对拼接结果中的 contigs 进行 ORFs 预测。选择核酸长度 ≥ 100 bp 的基因, 并使用软件 Emboss 6.6.0 (<http://emboss.open-bio.org/>, V6.6.0) 将其翻译为氨基酸序列。用 CD-HIT (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>, version 4.6.1) 对所有样品预测出来的基因序列进行聚类 (序列相似性 $\geq 95\%$, 覆盖度 $\geq 90\%$), 每类取最长的基因作为代表序列, 构建非冗余基因集。使用 SOAPaligner 将各样本 clean reads 比对至非冗余基因集计算基因丰度。利用 DIAMOND 软件 (E 值 $< 1 \times 10^{-5}$) 将非冗余基因集分别比对至非冗余蛋白质序列数据库 (non-redundant protein sequence database, NR)、基因的进化谱系: 非监督直系同源群数据库 (evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups, eggNOG) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库进行物种与功能注释。所有生物信息学分析均在美吉生信云平台完成。

2.3 统计分析

基于 Bray-Curtis 距离矩阵进行主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA), 通过 ANOSIM 检验组间群落结构差异显著性 (999 次置换)。差异物种及功能标志物筛选采用 LEfSe 方法 (LDA Score > 3 , $P < 0.05$)。组间物种或功能通路丰度差异比较: 正态分布数据使用独立样本 t 检验, 非正态分布数据使用 Mann-Whitney U 检验; 多重比较经 Benjamini-Hochberg (BH) 法校正 FDR, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。微生物物种与功能通路间关联通过 Spearman 相关系数计算 ($|r| > 0.8$, $P < 0.05$), 并绘制相关性热图。所有统计分析在 R 语言环境中完成。

3 结果与分析

3.1 病原菌入侵导致根际微生物群落结构显著改变

宏基因组测序共获得 1.03 亿条高质量序列, 组装生成 1 458 837 条 contigs (长度 ≥ 300 bp, $N_{50} = 653$)。构建的非冗余基因集包含 1 718.5 万个微生物基因 (平均长度 439 bp)。物种注释涵盖细菌 (82 门、136 纲、253 目、474 科、1 921 属、13 033 种)

和真菌 (10 门、35 纲、76 目、153 科、257 属、443 种)。

基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 显示, 健康组、患病组与空白对照组的微生物群落结构差异显著 (ANOSIM, $R = 1$, $P < 0.01$; 图 1-A)。PC1 轴 (解释 87.31% 变异) 将 Bulk/健康组与患病组明显分离, PC2 轴 (解释 11.87% 变异) 进一步区分了空白组与健康组。这表明西红柿种植重塑土壤微生物群落, 而球茎腐烂病伴随更显著的群落紊乱。

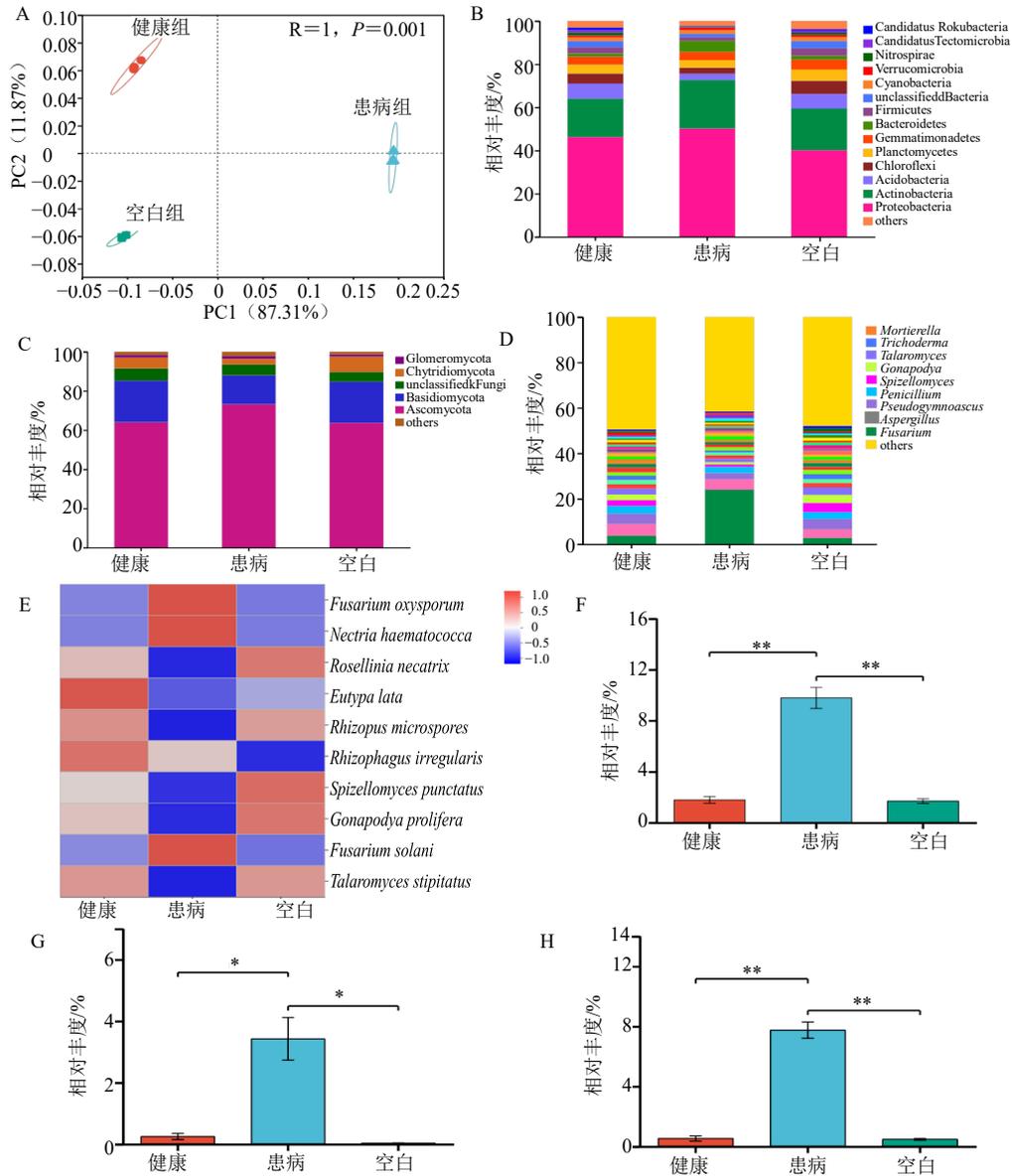
细菌群落 (图 1-B): 变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 为优势菌门, 其丰度之和占细菌总量的 60% 以上 (患病组 $> 70\%$)。与患病组相比, 健康组中酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度分别显著高出 2.5、1.7、1.8 倍; 而拟杆菌门 (Bacteroidetes) 在患病组中的丰度达到健康组的 3.6 倍。

真菌群落 (图 1-C): 子囊菌门 (Ascomycota) 和担子菌门 (Basidiomycota) 占主导 ($> 80\%$)。患病组中子囊菌门丰度最高 (含主要致病菌尖孢镰刀菌), 显著高于空白和健康组。患病组中担子菌门丰度最低, 健康组是其 1.44 倍。壶菌门 (Chytridiomycota) 在空白中丰度最高, 在患病组中最低 (健康组是其 1.9 倍)。属/种水平分析 (图 1-D~H) 显示关键致病菌在患病组的丰度显著增加: 镰刀菌属 *Fusarium* 占比高达 24%, 分别是空白组和健康组的 8.6 倍和 6.3 倍。其中, *Fusarium oxysporum* (*Fo*) 是患病组根际丰度最高的单一物种 (9.8%), 显著高于健康组 (1.77%) 和空白组 (1.67%) ($P < 0.01$, 图 1-F)。*Fusarium solani* (*Fs*, 图 1-G) 和 *Nectria haematococca* (图 1-H) 在患病组中的相对丰度分别是健康组的 14 倍和 15 倍。三者患病组的相对丰度之和高达 21%。与此相反, 潜在生防真菌属如木霉属 *Trichoderma* 和被孢霉属 *Mortierella* 在健康组和空白组中的丰度显著高于患病组 (健康组约为患病组的 2 倍, 图 1-D)。

上述结果表明, *Fo* 等病原菌入侵导致西红柿根际微生物群落结构显著改变, 表现为病原菌 (*Fo*、*Fs*) 过度增殖而潜在有益微生物 (如 *Trichoderma*、*Mortierella*) 丰度降低。

3.2 健康根际富集潜在生防菌群并与病原菌存在显著拮抗关系

LEfSe 分析 (LDA > 3 , $P < 0.05$) 鉴定健康组



A-基于总微生物群落 Bray-Curtis 距离的主坐标分析; B-细菌门水平相对丰度; C-真菌门水平相对丰度; D-真菌属水平(关键属)相对丰度; E-真菌种水平(丰度前 10)相对丰度; F-Fo 相对丰度; G-Fs 相对丰度; H-Nectria haematococca 相对丰度; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

A-principal coordinate analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distance of total microbial communities; B-relative abundance of bacterial communities at the phylum level; C-relative abundance of fungal communities at the phylum level; D-relative abundance of key fungal genera; E-relative abundance of top 10 fungal species; F-relative abundance of *Fusarium oxysporum*; G-relative abundance of *Fusarium solani*; H-relative abundance of *Nectria haematococca*; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

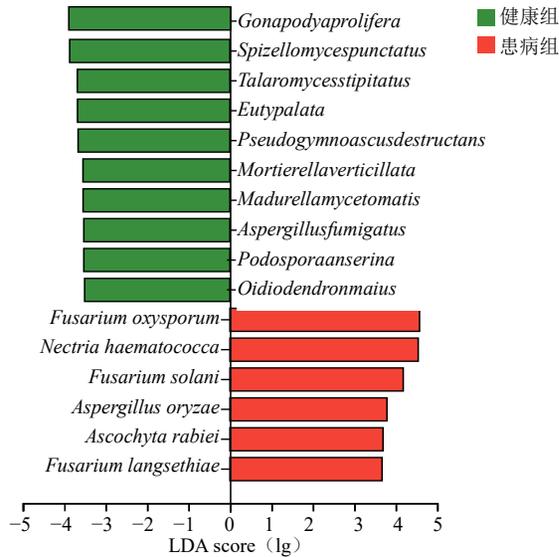
图 1 健康与患病西红花根际微生物群落结构

Fig. 1 Structure of rhizosphere microbial communities in healthy and diseased *Crocus sativus*

与患病组在属/种水平的核心差异微生物。真菌群落中(图 2 和图 3-A),健康组显著富集 49 个物种,包括多种已知生防真菌,如轮叶被孢霉 *Mortierella verticillata*、深绿木霉 *Trichoderma atroviride* 和哈茨木霉 *Trichoderma harzianum*。患病组显著富集 27 个物种,丰度及 LDA 值前 3 的是 *Fo*、*Nectria haematococca* 和 *Fs*。细菌群落中(图 3-B),健康组

显著富集 51 个物种,涵盖多个具有生防潜力类群,如芽孢杆菌属 *Bacillus*、假单胞菌属 *Pseudomonas*、硝化螺菌属 *Nitospira* 及类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*。

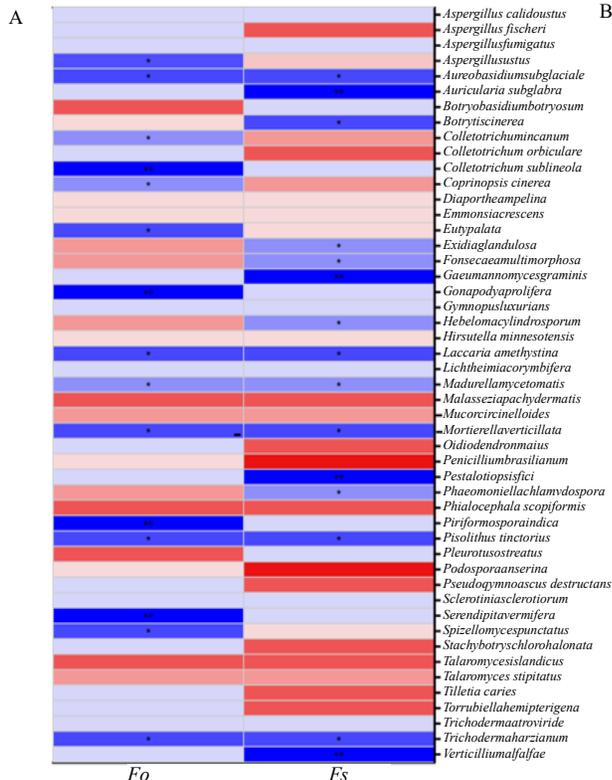
为探究健康组富集的微生物与主要病原菌 *Fo* 和 *Fs* 的关系,进行了 Spearman 相关性分析 ($|r| > 0.8$, $P < 0.05$) (图 3)。



红色条形代表在患病组显著富集的物种，绿色条形代表在健康组显著富集的物种；仅显示 LDA 得分>3 的物种。
Red bars represent species significantly enriched in the Diseased group, green bars represent species significantly enriched in the Healthy group; Only species with LDA score >3 are shown.

图2 健康组与患病组根际真菌群落 LEfSe 差异分析

Fig. 2 LEfSe analysis of differentially abundant species in fungal communities of healthy and diseased groups



A-真菌; B-细菌; 红色标注物种同时与 Fo 和 Fs 呈显著负相关，颜色深浅表示相关系数 (r) 大小，*P<0.05 **P<0.01。

A-fungi; B-bacteria; species marked in red show significant negative correlations with both Fo and Fs; Color intensity represents the Spearman correlation coefficient (r); *P<0.05 **P<0.01.

图3 健康组富集物种与 Fo 及 Fs 的 Spearman 相关性热图

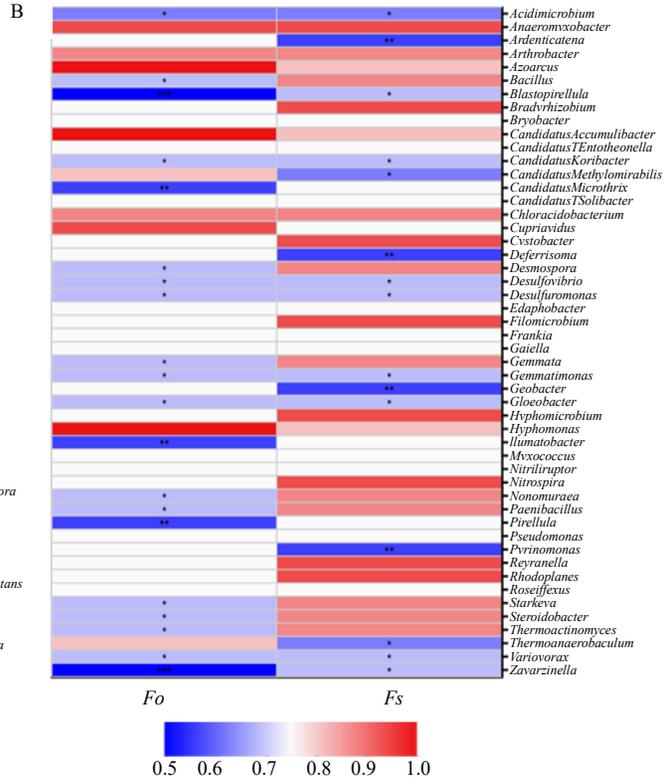
Fig. 3 Spearman correlations heatmap between enriched species in healthy group and pathogens Fo and Fs

真菌拮抗 (图 3-A): 15 个健康组富集真菌与 Fo 呈显著负相关, 包括 *Mortierella verticillata*、*Trichoderma harzianum*、*Trichoderma atroviride* 等。其中, *Trichoderma harzianum* 等 6 个物种 (图中红色标注) 同时与 Fo 和 Fs 呈显著负相关。细菌拮抗 (图 3-B): 20 个健康组富集细菌与 Fo 呈显著负相关, 涉及 *Bacillus*、*Paenibacillus*、*Pseudomonas*、*Gemmatimonas*、*Steroidobacter* 等属。其中, 9 个物种 (图中红色标注) 同时与 Fo 和 Fs 均呈显著负相关。

该结果表明健康根际富集的部分微生物类群与主要病原菌 (Fo 和 Fs) 存在显著拮抗关系, 提示其可能具有抑制多种关键病原菌的潜力。

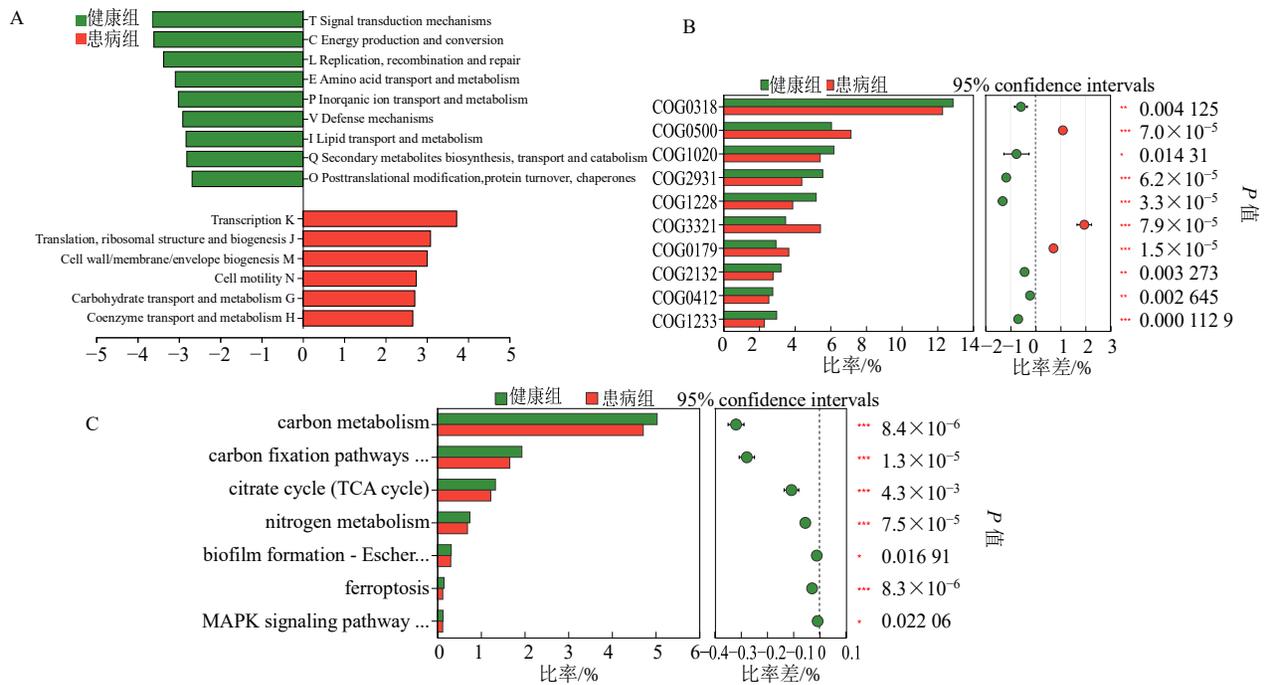
3.3 健康根际微生物群落富集潜在抗病相关功能通路

基于 COG 和 KEGG 数据库的功能差异分析显示, 健康组根际微生物群落显著富集于抗病潜在相关的功能通路 (图 4)。COG 功能 (图 4-A、B), LEfSe 分析 (LDA>2.5, P<0.05) 显示, 健康组在多个功能类别基因丰度显著高于患病组, 包括信号转导机制 (signal transduction mechanisms); 次生



B-细菌; 红色标注物种同时与 Fo 和 Fs 呈显著负相关，颜色深浅表示相关系数 (r) 大小，*P<0.05 **P<0.01。

B-bacteria; species marked in red show significant negative correlations with both Fo and Fs; Color intensity represents the Spearman correlation coefficient (r); *P<0.05 **P<0.01.



A-COG 功能类别 LEfSe 分析 (LDA>2.5, P<0.05); B-次生代谢通路差异 COG 基因表达 (关键基因 COG1020/NRPS 红色标注); C-KEGG 通路水平差异 (Welch 检验, P<0.05)。

A-LEfSe analysis of COG functional categories (LDA > 2.5, P < 0.05); B-expression of differential COG genes in secondary metabolite pathways (key gene COG1020/NRPS highlighted with red); C-differences at KEGG pathway level (Welch test, P < 0.05).

图 4 健康组与患病组根际微生物功能差异分析

Fig. 4 Differential functional analysis of rhizosphere microbiomes in healthy and diseased groups

代谢物生物合成、转运与分解(secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism); 防御机制(defense mechanisms)。在次生代谢相关 126 个差异 COG 基因中,健康组高表达基因占比 70.6%(89 个)。参与非核糖体肽和聚酮合成的非核糖体肽合成酶(COG1020/NRPS)被显著富集(图 4-B 红色标注)。

KEGG 通路(图 4-C)中, Welch 检验(P<0.05)显示健康组富集以下途径包括(1)基础代谢功能:碳代谢(carbon metabolism)、原核生物碳固定途径(carbon fixation pathways in prokaryotes)、三羧酸循环(TCA cycle)、氮代谢(nitrogen metabolism)。(2)防御与定植相关功能:生物膜形成(biofilm formation)、MAPK 植物信号通路(MAPK signaling pathway plant)。(3)次生代谢物合成:II型聚酮产物生物合成(biosynthesis of type II polyketide products)。

这些功能模块在健康组的富集,提示健康根际微生物群落具有更强的整体代谢活性和潜在抗病能力。值得注意的是,健康组中显著富集的 *Bacillus*

和 *Pseudomonas* 成员通常是 NRPS 和聚酮类抗生素的潜在生产者。

3.4 核心潜在生防微生物与抗病功能存在关联

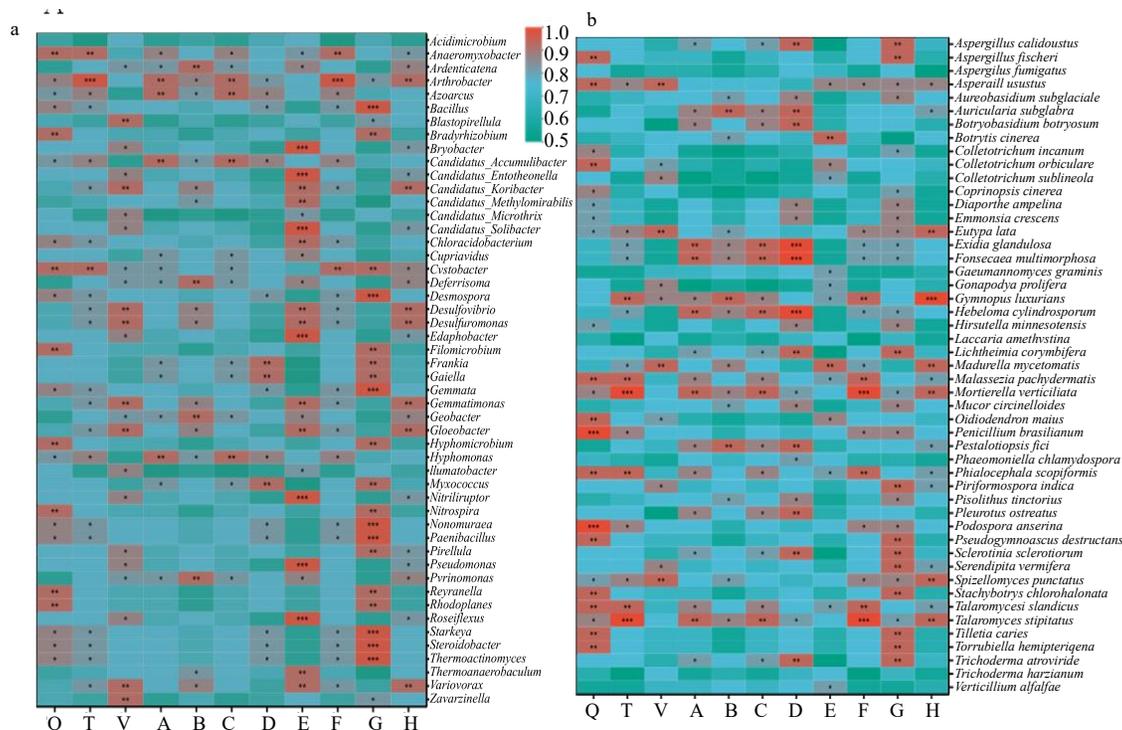
为探究健康根际富集的差异微生物与关键潜在抗病功能(COG/KEGG 富集通路)的关系,进行了 Spearman 相关性分析(图 5)。结果显示,部分核心微生物与特定功能存在显著正相关。

3.4.1 芽孢杆菌属 *Bacillus* 在 COG 层面,显著关联信号转导(T)、次生代谢物合成与转运(Q)。在 KEGG 通路中,主要关联氮代谢(D)和 MAPK 信号转导(G)。该属成员与高丰度的非核糖体肽合成酶(COG1020)存在关联。

3.4.2 假单胞菌属 *Pseudomonas* 除参与部分与芽孢杆菌重叠的 COG 功能外,特异性关联生物膜形成(E)和 II 型聚酮生物合成(H)通路。

3.4.3 类芽孢杆菌属 *Paenibacillus* 其功能关联与芽孢杆菌有重叠,尤其在 COG 防御机制(V)和 KEGG 基础代谢方面。

3.4.4 轮叶被孢霉 *Mortierella verticillate* 同时显著关联 COG 功能(信号转导 T、次生代谢物合成



a-细菌; b-真菌 (* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$), 功能通路代码: A-碳代谢, B-原核生物碳固定途径, C-三羧酸循环 (TCA 循环), D-氮代谢, E-生物膜形成, F-铁死亡, G-MAPK 信号通路-植物, H-II 型聚酮产物生物合成, Q-次生代谢物生物合成、转运和分解代谢, T-信号转导机制, V-防御机制。

a-bacteria; b-fungi. (* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$), A-carbon metabolism; B-carbon fixation pathways in prokaryotes; C-citrate cycle (TCA cycle); D-nitrogen metabolism; E-biofilm formation; F-ferroptosis; G-MAPK signaling pathway plant; H-biosynthesis of type II polyketide products; Q-secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism; T-signal transduction mechanisms; V-defense mechanisms.

图 5 健康根际富集差异物种与关键抗病功能 (COG/KEGG) 的 Spearman 相关性热图

Fig. 5 Spearman correlation heatmap between enriched differential species and key disease-resistant functions (COG/KEGG) in healthy rhizosphere

Q)及多种 KEGG 通路(含碳氮代谢、MAPK 信号)。
3.4.5 深绿木霉 *Trichoderma atroviride* 主要显著关联 KEGG 通路(碳代谢 A、三羧酸循环 C、氮代谢 D 及 MAPK 信号通路 G)。

这些关联性分析结果提示,健康西红花根际富集的有益微生物(如 *Bacillus*、*Paenibacillus*、*Pseudomonas*、*Mortierella verticillata*、*Trichoderma atroviride*)与多种潜在抗病功能存在密切联系,共同形成一个潜在的“功能协同网络”。在病害样本中,这些微生物丰度降低的同时,其相关的功能通路丰度也显著下降,表明该联系网络在病害状态下显著减弱。

4 讨论

本研究通过宏基因组技术,揭示了西红花球茎腐烂病发生时根际微生物群落发生的显著结构变化和特征:以 *Fo* 为主导,伴随 *Fs* 及血红丛赤壳菌 *Nectria haematococca* 丰度剧增的复合病原菌

群落扩张,同时伴随着潜在有益微生物(如 *Bacillus*、*Paenibacillus*、*Pseudomonas*、*Mortierella*、*Trichoderma*)的减少以及多种潜在抗病功能通路丰度的降低。相关性分析进一步提示健康根际中这些有益微生物与关键功能通路之间存在显著正相关关系,共同构成了一个潜在的“功能协同网络”,而该网络在病害样本中显著减弱。这为理解球茎腐烂病的微生态机制及开发基于 SynComs 的生防策略提供了新的视角和依据。

4.1 根际生态失衡与潜在功能网络减弱:病害发生的关键关联

本研究数据清晰地表明,健康与患病西红花根际微生物群落结构存在显著差异(图 1-A),患病根际以镰刀菌属(尤其是 *Fo* 和 *Fs*)及 *N. haematococca* 的异常增殖为标志,而多种潜在有益微生物则显著减少(图 1-D~H; 图 2)。功能分析进一步显示,健康根际富集了涉及信号转导、次生代谢物(特别

是 NRPS 和 II 型聚酮) 合成、防御机制、生物膜形成、植物 MAPK 信号以及基础碳氮代谢等多种通路 (图 4)。尤为重要的是, 物种-功能关联分析 (图 5) 揭示健康根际富集的特定微生物类群 (如 *Bacillus*、*Paenibacillus*、*Pseudomonas*、*Mortierella verticillata*、*Trichoderma atroviride*) 与这些潜在抗病功能存在显著正相关。基于此, 本课题组提出一个解释健康根际可能具有更强抗病能力的理论框架: 即这些关联共同构成了一个潜在的“功能协同网络”。在此框架下: *Bacillus* 和 *Pseudomonas* 等细菌 (图 3-B、图 5-A) 因其与 NRPS (合成抗菌肽) 和 II 型聚酮合成通路的强关联 (图 4-B、C, 图 5-A), 可能在直接拮抗病原菌方面发挥关键作用。这与大量研究认为它们此类抗生素重要生产者的观点一致。*Mortierella verticillata* 同时与信号转导 (包括 MAPK 植物信号通路) 及基础代谢通路显著关联 (图 4-C, 图 5-B), 提示其可能在感知信号、激活植物防御反应 (如 ISR) 以及提供代谢支持方面具有作用。*Trichoderma atroviride* 主要与基础碳氮代谢及 MAPK 信号通路关联 (图 4-C, 图 5-B), 提示其可能为微生物群落和植物提供重要的代谢支持, 并可能参与防御信号的传导。该属真菌兼具生防和促生功能已被广泛认知。

因此, 球茎腐烂病的爆发, 不仅与病原菌 (*Fo*、*Fs*) 的入侵和增殖直接相关, 更密切关联于根际微生物群落结构的失衡 (有益菌减少, 病原菌激增) 及其所伴随的潜在功能协同网络的显著减弱 (关键微生物减少导致其关联功能丰度降低)。病原菌的爆发性增殖 (图 1-F~H) 加剧了这种失衡和功能减弱; 反过来, 功能网络的减弱削弱了根际固有的抑菌潜力和植物防御支持能力, 为病原菌创造了更有利的环境。本研究首次从微生态群落结构与功能关联的角度, 为理解球茎腐烂病的发生机制提供了宏基因组学证据。

4.2 复合病原菌威胁与广谱拮抗微生物资源的识别

本研究不仅确认了 *Fo* 和 *Fs* 在西红柿球茎腐烂病中的重要作用, 还首次通过宏基因组学观察到 *N. haematococca* 在病株根际高达健康组 15 倍的异常富集 (图 1-H)。该菌在大豆中是已知的茎腐病病原菌^[21]。虽然其在西红柿中的单独致病性及其与 *Fo/Fs* 的互作关系尚需通过柯赫氏法则和共接种实验严格验证, 但其在病株根际的显著富集强烈提示它可能参与了病害进程或受益于病害导致的微环

境变化。面对潜在的复合病原威胁, 发掘具有广谱拮抗能力的生防资源尤为重要。本研究通过 Spearman 相关性分析 (图 3), 识别出如哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* 等能同时与 *Fo* 和 *Fs* 呈显著负相关的微生物。这些微生物作为未来 SynComs 的候选成员, 因其潜在的广谱拮抗特性, 可能在应对复合病原挑战和增强群落稳定性方面具有优势。

4.3 基于多维度筛选标准的靶向 SynComs 设计

基于本研究的核心发现, 健康根际中存在由特定有益微生物通过功能互补构成的“协同网络”, 提出一个基于多维度、可量化标准的 SynComs 设计框架。该框架旨在将宏基因组学揭示的相关性, 转化为可操作的菌株筛选体系, 为后续合成群落的构建提供精确指导。候选菌株的递进式筛选标准如下:

(1) 生态关联性: 候选微生物必须在健康西红柿根际中显著富集 (LEfSe 分析, $LDA > 3$, $P < 0.05$), 确保其对宿主植物及根际环境具有天然的适应性。(2) 病原拮抗潜力: 候选微生物应与关键病原菌 (*Fo*、*Fs*) 存在显著的负相关关系 (Spearman 相关性分析, $|r| > 0.8$, $P < 0.05$), 从生态互作层面提示其潜在的拮抗能力。(3) 功能互补性: 候选微生物应与一个或多个关键抗病功能通路存在显著正相关 (Spearman, $r > 0.8$, $P < 0.05$)。

根据其关联的核心功能, 将其划分为不同的功能模块。(1) 直接抑菌模块: 优先选择与抗菌物质合成通路 (如非核糖体肽合成酶 COG1020/NRPS、II 型聚酮生物合成) 强相关的菌株, 预期通过产生抗生素直接抑制病原菌。(2) 防御激活与代谢支持模块: 优先选择与植物防御信号通路 (如 MAPK 信号) 及基础代谢通路 (碳、氮代谢) 强相关的微生物, 预期通过激活植物系统抗性 (ISR) 和改善根际营养来间接提升植物健康。(3) 培养可行性与广谱性: 在满足上述标准的基础上, 优先选择已被广泛报道、易于分离培养的, 以确保 SynComs 构建的实践可行性。同时, 优先考虑能同时与多种病原菌 (*Fo* 和 *Fs*) 呈显著负相关的“广谱拮抗者”, 以增强群落应对复合病原威胁的稳健性。

根据上述标准, 构建了一个核心 SynComs 候选库 (表 1), 明确了每个候选者的筛选依据与预期功能角色。本框架倡导跨域组合 (细菌与真菌结合) 与功能模块化的设计理念。相较于传统单一菌株或随机组合策略, 此基于多维度标准的靶向设计具备以下理论优势。(1) 克服功能单一性: 通过组合不

表 1 靶向 SynComs 候选菌株筛选依据与功能模块划分

Table 1 Screening criteria and functional module classification of targeted SynComs candidate strains

候选菌株	生态关联性 (健康根际富集)	病原拮抗性 (与 Fo/Fs 负相关)	核心关联功能 (功能模块)	培养可行性
<i>Bacillus</i> spp.	是	是 (Fo, Fs)	NRPS、信号转导、氮代谢 (直接抑菌)	高
<i>Pseudomonas</i> spp.	是	是 (Fo, Fs)	II型聚酮、生物膜形成 (直接抑菌)	高
<i>Paenibacillus</i> spp.	是	是 (Fo, Fs)	防御机制、基础代谢 (直接抑菌/支持)	高
<i>Trichoderma harzianum</i>	是	是 (Fo, Fs)	碳氮代谢、MAPK信号 (防御激活/支持)	高
<i>Mortierella verticillata</i>	是	是 (Fo)	信号转导、MAPK信号、碳氮代谢 (防御激活/支持)	中-高

同功能模块的成员,模拟并重建健康根际的“功能协同网络”,实现多重抗病机制的协同增效。(2)提升生态位适应性:跨域组合有助于覆盖更广泛的根际生态位,减少成员间对相同资源的直接竞争,从而提高 SynComs 的整体定殖成功率与稳定性。(3)增强设计的目的性:基于明确的生态与功能数据筛选成员,使 SynComs 设计从“经验”驱动转向“理论”驱动,显著提升了设计的科学性与可预测性。

该策略为西红柿球茎腐烂病的绿色防控提供了一个从理论到实践的清晰蓝图。其有效性将通过后续严格的梯级实验进行验证。

4.4 研究局限与未来展望

本研究存在一定局限性,同时也指明了未来的研究方向。(1)新识别富集菌的致病性验证: *Nectria haematococca* 在西红柿中的确切致病性及其与 Fo、Fs 的互作关系,需通过柯赫氏法则和共接种实验进行系统验证。(2)从相关到因果的机制验证:本研究揭示的微生物-功能关联性属于相关关系。未来需首先从健康西红柿根际中分离培养表 1 所列的核心可培养候选菌株,进而通过纯培养和共培养实验,研究其单一及组合下的抗菌物质分泌、功能基因表达及其对病原菌的直接抑制效果,以确立因果关系。(3) SynComs 构效关系的梯级验证:将基于本框架筛选出的菌株,构建成不同的 SynComs 配方。通过离体拮抗实验→盆栽防病试验→田间试验的梯级验证体系,系统性评估其防控球茎腐烂病的实际效果。(4)植物-微生物互作的分子机制解析:利用分子植物病理学手段,深入研究 SynComs 中关键成员(如 *Mortierella verticillata*)激活植物防御反应(如 MAPK 信号通路、系统抗性 ISR)的具体分子机制,从宿主层面阐明其协同防病的原理。

通过深化对复合病原互作机制的理解、验证功能协同网络的具体作用机制、以及推进 SynComs 的

构效关系研究,将有力推动基于根际微生态精准调控的绿色防控技术在西红柿产业中的实际应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 138-139.
- [2] Frusciant S, Diretto G, Bruno M, et al. Novel carotenoid cleavage dioxygenase catalyzes the first dedicated step in saffron crocin biosynthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(33): 12246-12251.
- [3] 周琳, 吴立峰, 王桢, 等. 长三角地区西红柿良种繁育与高效栽培技术 [J]. *现代农业科技*, 2025(5): 208-211.
- [4] 邱谷丰, 任廷丹, 王强, 等. 氯氟醚菌唑对西红柿球茎腐烂病原菌尖孢镰刀菌的生物活性 [J]. *农药学报*, 2023, 25(4): 850-857.
- [5] Hu S, Wang X X, Sun W J, et al. In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against pathogenic fungi of saffron (*Crocus sativus* L.) [J]. *Pathogens*, 2021, 10(11): 1423.
- [6] Sharma A, Gupta V, Jamwal G, et al. Harnessing microbial consortia for sustainable management of corm rot of saffron [J]. *J Basic Microbiol*, 2025, 65(9): e70009.
- [7] Thepbandit W, Athinuwat D. Rhizosphere microorganisms supply availability of soil nutrients and induce plant defense [J]. *Microorganisms*, 2024, 12(3): 558.
- [8] de L Valente I, Wancura J H C, Zobot G L, et al. Endophytic and rhizospheric microorganisms: An alternative for sustainable, organic, and regenerative bioinput formulations for modern agriculture [J]. *Microorganisms*, 2025, 13(4): 813.
- [9] Duret M, Wallner A, Buée M, et al. Rhizosphere microbiome assembly, drivers and functions in perennial ligneous plant health [J]. *Microbiol Res*, 2024, 287: 127860.
- [10] Wahab A, Batool F, Abdi G, et al. Role of plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture:

- Addressing environmental and biological challenges [J]. *J Plant Physiol*, 2025, 307: 154455.
- [11] Kumari R, Pandey E, Bushra S, *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) induced protection: A plant immunity perspective [J]. *Physiol Plant*, 2024, 176(5): e14495.
- [12] Umer M, Anwar N, Mubeen M, *et al.* Roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth and disease management for sustainable agriculture [J]. *Front Microbiol*, 2025, 16: 1616273.
- [13] Wang H, Chen Y L. Protecting plants from pathogens through arbuscular mycorrhiza: Role of fungal diversity [J]. *Microbiol Res*, 2024, 289: 127919.
- [14] 吴李芳. 西红柿球茎腐烂病的致病菌鉴定及其生防菌解淀粉芽孢杆菌 C612 的筛选和应用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [15] Guo Y Q, Tian L, Zhu X Y, *et al.* Antagonism of *Bacillus velezensis* ZGE166 against the pathogenic fungi causing corm rot disease in saffron (*Crocus sativus* L.) [J]. *Microb Ecol*, 2025, 88(1): 40.
- [16] Tang Z R, Tan W B, Li R, *et al.* Advances in rhizosphere microbiome and rhizosphere immunity effect: A review [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(24): 14707-14721.
- [17] Wang Z, Hu X H, Solanki M K, *et al.* A synthetic microbial community of plant core microbiome can be a potential biocontrol tool [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(13): 5030-5041.
- [18] Izquierdo-García L F, González-Almario A, Cotes A M, *et al.* *Trichoderma virens* GI006 and *Bacillus velezensis* Bs006: A compatible interaction controlling *Fusarium* wilt of cape gooseberry [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 6857.
- [19] Durand K, Ogier J C, Nam K. The evaluation of shotgun sequencing and rpoB metabarcoding for taxonomic profiling of bacterial communities [J]. *BMC Microbiol*, 2025, 25(1): 413.
- [20] Ren H L, Hong H L, Zha B R, *et al.* Soybean productivity can be enhanced by understanding rhizosphere microbiota: Evidence from metagenomics analysis from diverse agroecosystems [J]. *Microbiome*, 2025, 13(1): 105.
- [21] Gai Y, Pan R, Xu D, *et al.* First report of *Nectria haematococca* causing stem rot of soybean in China [J]. *Plant Dis*, 2012, 96(3): 457.

[责任编辑 时圣明]