

胡椒枯萎病植株与健康植株根际土壤细菌群落结构差异性分析

和国优¹ 张义杰¹ 白来远² 鲁耀¹ 卢木朴² 王婧冉³ 王振充⁴ 瞿晓丽⁵ 孔垂思^{1*}

(¹云南省农业科学院农业环境与资源研究所 云南昆明 650205

²绿春县农业农村和科学技术局 云南绿春 662500

³昆明市晋城街道办事处城市管理综合服务中心(农科) 云南昆明 650605

⁴昆明学院 云南昆明 650205)

⁵云南省保山市隆阳区板桥镇农业综合服务中心 云南保山 678004)

摘 要: 胡椒是我国重要的热带经济作物,而枯萎病是其主要病害之一。为了深入探究云南省绿春县枯萎病频发的原因,分析根际土壤细菌群落结构及其与土壤环境因子的关联,并揭示健康与发病状态下的胡椒根际土壤细菌群落及环境因子的差异,采集健康和患枯萎病的胡椒植株根际土壤样本,通过16s扩增子测序技术和生物信息学方法,分析健康与患病样品间细菌群落多样性和组成变化,以及土壤环境因子与细菌群落的关联性。结果表明,患病植株根际土壤细菌群落的丰富度和多样性高于健康植株:在门水平上,患病植株根际土壤中放线菌门的相对丰度显著高于健康植株,但绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度与之相反;在属水平上,健康根际土壤中的嗜酸栖热菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、JG30a-KF-32、FCPS473相对丰度显著高于患病植株,患病的土微菌属、卢得曼氏菌属、鞘氨醇单胞属的相对丰度显著高于健康植株。LEfSe算法分析结果显示,健康与患病胡椒根际土壤所富集细菌差别较大;RDA分析表明,铵态氮、有机碳和脲酶活性是影响健康与患病胡椒根际细菌群落组成的关键因子。根际土壤细菌群落结构和环境因子与胡椒健康状态紧密相关,推测绿弯菌门和酸杆菌门等有益细菌门相对丰度显著减少和土壤酶活性的降低是导致枯萎病发生的关键因素,可为制定科学有效的防控策略提供理论基础。

关键词: 枯萎病;胡椒;根际细菌;土壤理化性质;多样性

Analysis of Differences in Bacterial Community Structure in Rhizosphere Soil Between Pepper Wilt Diseased Plants and Healthy Plants

基金项目: 云南省绿春县平河镇、半坡乡、骑马坝乡科技特派队(202304BI090032-7);云南省重大专项云南省高原特色经济作物专用生物肥料创制及应用(202202AE0910015)。

作者简介: 和国优(1994—),女,硕士,助理研究员,主要从事植物病害防控技术研究。E-mail: www1995hgy@163.com

***通信作者:** 孔垂思,博士,研究员,主要从事作物病害防控技术研究。E-mail: kcs@yaas.org.cn

HE Guoyou¹, ZHANG Yijie¹, BAI Laiyuan², LU Yao¹, LU Mupu², WANG Jingran³,
WANG Zhenchong⁴, QU Xiaoli³, KONG Chuisi^{1*}

⁽¹⁾Institute of Agricultural Environment and Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan;

⁽²⁾Agriculture, Rural Affairs and Science and Technology Bureau of Lvchun County, Lvchun 662500, Yunnan;

⁽³⁾Urban Management Comprehensive Service Center (Agricultural Science) of Jincheng Street Office, Kunming 650605, Yunnan;

⁽⁴⁾Kunming University, Kunming 650205, Yunnan;

⁽⁵⁾Agricultural Comprehensive Service Center of Banqiao Town of Longyang District, Baoshan 678004, Yunnan)

Abstract: Pepper wilt disease is the most common disease in pepper cultivation. This study aimed to provide new strategies for green and efficient prevention and control of pepper wilt disease by analyzing the differences in rhizosphere soil bacterial communities and soil environmental factors between healthy and diseased pepper plants. By collecting rhizosphere soil samples from healthy and diseased pepper plants, and using 16s amplicon sequencing technology and bioinformatics methods, the diversity and composition changes of bacterial communities between healthy and diseased samples, as well as the correlation between soil environmental factors and bacterial communities, were analyzed. The results showed that the richness and diversity of bacterial communities in the rhizosphere soil of diseased plants were higher than those of healthy plants. At the phylum level, the relative abundance of Actinobacteria in the rhizosphere soil of diseased plants was significantly higher than that of healthy plants, but the relative abundance of Chloroflexia and Acidobacteria was opposite. At the genus level, the relative abundance of *Acidothermus*, HSB-OF53-F07, *Acinetobacter*, JG30a-KF-32, and FCPS473 in rhizosphere soil of healthy plants was significantly higher than that in diseased plants. The relative abundance of *Pedomicrobium*, *Luedemannella* and *Sphingomonas* in diseased soil was significantly higher than that in healthy plants. The analysis results of LEfSe algorithm showed that there was a significant difference in the enrichment of bacteria in the rhizosphere soil of healthy and diseased pepper; RDA analysis showed that ammonium nitrogen, organic carbon and urease activity were key factors affecting the composition of bacterial communities in the rhizosphere of healthy and diseased pepper. The structure of rhizosphere soil bacterial communities and environmental factors were closely related to the health status of pepper. It was speculated that the significant reduction in the relative abundance of beneficial bacterial phyla such as Chloroflexia and Acidobacteria, as well as the decrease in soil enzyme activity, were key factors leading to the occurrence of wilt disease.

Keywords: wilt disease; pepper; rhizosphere bacteria; soil physical and chemical properties; diversity

胡椒是我国重要的热带经济作物，常用作调昧香料或药材等，具有较高的经济价值和药用价值^[1]。我国胡椒主要分布在海南省和云南省，其种植面积和产量占全国的98%^[2]。近年来，云南省胡椒种植面积和产量均快速增长，截至2020年，云南胡椒种植面积约6万亩（1亩≈0.067hm²），产量约1071t，产值约4283万元^[3]。然而，随着胡椒种植年限的延长，病原菌的不断积累，胡椒枯萎病的发生日趋加重，造成巨大的经济损失。目前对胡椒的研

究主要集中在药用成分、果实品质和病原菌的分离鉴定等方面，而关于胡椒根际土壤细菌群落结构变化的相关报道较少。镰刀菌是枯萎病的主要病原菌，且分布范围较广，通常造成胡椒植株损失5%~15%，严重时导致胡椒植株整株枯萎死亡^[4]。镰刀菌是一类世界性分布的真菌，常引起枯萎病、茎腐病和花腐病等多种病害，研究表明，由于镰刀菌侵染，胡椒种植园的经济寿命从20年缩短至6~8年，造成椒农巨大的经济损失^[5]。自1988年首次明

确 *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (teleomorfo: *Nectria haematococca* f. sp. *Piperis*) 能够引起胡椒枯萎病以来^[6-8], 世界各地胡椒产区均有相关报道, 且不同国家和地区之间种类不尽相同。在国外引起胡椒枯萎病的病原菌主要有 *F. solani*、*F. oxysporum*、*F. proliferatum*、*F. eumartii*、*F. avenaceum*、*F. sulphureum*、*F. tabacinum* 和 *F. concentricum* 等^[9-11], 在国内引起胡椒枯萎病的病原菌主要有 *F. solani*、*F. oxysporum* Schl. f. sp. *piperis*^[12,4]。长期的单一连作会造成土壤质量下降, 改变微生物群落结构, 积累病原菌数量, 加剧病虫害的发生。另外, 土壤pH值、硝态氮等土壤化学性质也是影响土壤微生物群落变化的关键因素^[13-15]。针对胡椒枯萎病的发生及土壤细菌群落多样性变化未见相关报道, 因此, 分析根际土壤细菌群落和环境因子的变化与胡椒健康状态的关系, 揭示引起胡椒枯萎病发生的关键因子, 对指导胡椒高质量栽培具有重要意义。本研究以云南省胡椒种植历史悠久、连片种植面积最大的绿春县为研究对象, 借助高通量测序技术手段分析胡椒枯萎病的发生与根际土壤细菌群落和土壤环境因子间的互作机制, 为云南省胡椒枯萎病的防治技术和生防菌的筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 取样地概况及取样方法

取样地位于云南省红河哈尼族彝族自治州绿春县三猛乡, 三猛乡地处绿春县城东南部, 东经102°15'~102°30', 北纬22°47'~22°58', 气候属亚热带季风气候, 雨热同季, 干湿分明, 年平均气温为21.9℃, 基本全年无霜期, 年平均降水量2543.5mm^[16]。

选取胡椒枯萎病正在发病且症状明显的植株, 距主干10cm处挖20~30cm, 取出病根, 收集其根际土壤。选择距病株10m以上、长势较好且四周均无病株的健康胡椒树, 采样方法同上。每块地取5株健康胡椒根际土壤混为1份土样, 取5株枯萎病胡椒根际土壤混为1份土样, 从3块地中共取6份样品(健康和患病的各3份样品), 放在装有冰袋的盒子中并尽快带回实验室保存在-20℃低温冰箱中备用。把每个样品分成2份, 1份用于土壤DNA提取及

后续细菌16s测序(送上海美吉生物医药科技有限公司检测), 另一份用于土壤理化性质及酶活性的测定。

1.2 土壤环境因子测定方法

土壤测定指标: pH值、有机质、全氮、全磷、全钾、速效磷、速效钾、铵态氮、硝态氮、有机碳均参照《土壤农化分析》标准方法进行测定^[17]。

土壤酶活性测定: 土壤酶活性(土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶和酸性磷酸酶活性)采用上海美吉生物医药科技有限公司生产的酶活性检测试剂盒测定。

1.3 土壤DNA提取和高通量测序

土壤微生物DNA提取: 用Hi Pure Soil DNA Kits土壤DNA专用试剂盒进行土壤微生物基因组总DNA提取。完成16s区特定引物设计, 获得扩增片段350bp左右。加接头, 采用Illumina Nova-seq平台, 测序获得2×250bp的paired-end数据, 通过拼接, 得到较长序列后, 进行16s分析, 采用的引物为338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-TCGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[13,14,18]。

1.4 测序数据处理与分析

Illumina Nova-seq测序得到PE reads后进行样本拆分, 根据测序质量对双端Reads进行质控和过滤, 通过降噪方法优化数据, 以最小样本序列数进行抽平, 通过美吉生信云分析平台进行后续相关的数据分析^[19]。通过Excel软件对土壤理化性质、测序结果进行统计分析, 用SPSS 26软件对土壤环境因子、细菌Alpha多样性指数等进行配对样本t检验, 在分析描述数据时分别将配对样本组合为健康植株(HJ)、患病植株(HB)。

测序得到的原始数据进行拼接、去噪和过滤优化后, 进行聚类及物种分类分析、群落结构功能差异性分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 胡椒根际土壤细菌多样性分析

2.1.1 Alpha多样性分析 由图1可知, 患病植株样品的细菌Ace指数和Shannon指数显著高于健康植株样品, 说明镰刀菌的侵染显著影响患枯萎病胡椒植株根际土壤细菌多样性。

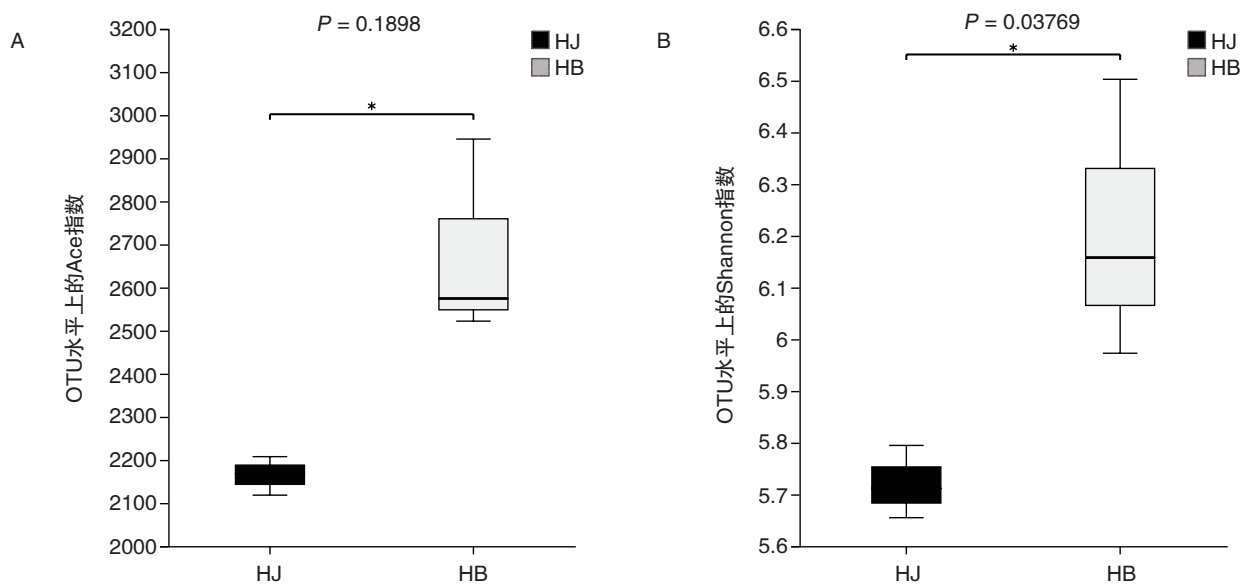


图1 Alpha多样性分析

注：A为Ace指数，B为Shannon指数；HJ为健康植株样品，HB为患病植株样品，下同

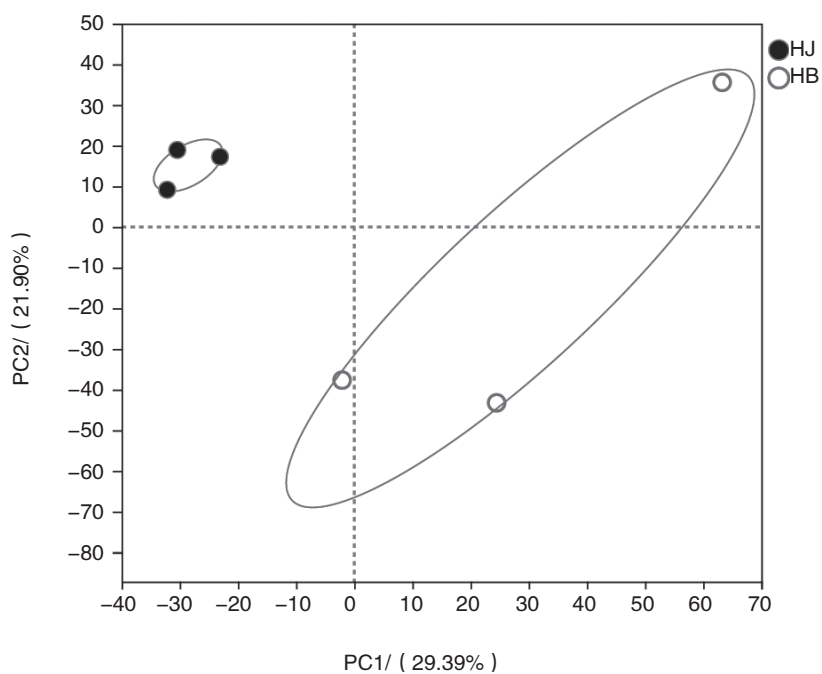


图2 基于OTU水平PCoA分析

2.1.2 Beta多样性分析 由图2可知，胡椒健康植株根际土壤与患病植株根际土壤无样本重叠，

健康植株根际土壤样品间物种组成较相似，但患病植株样品间物种组成差异明显。在PC1轴上检测到

根际土壤细菌群落差异的29.39%，在PC2轴上检测21.90%。

2.2 胡椒根际土壤细菌群落组成分析

2.2.1 OTU数目分析 由聚类分析可知（图3），健康植株根际土壤样品（HJ）特有934个OTUs，患病植株根际土壤样品（HB）特有1739个OTUs，两组共有的OTUs为2161个，说明枯萎病导致胡椒根际土壤细菌特有OTUs数量大幅增加。

2.2.2 门水平上细菌群落组成分析 门水平共检测到38个细菌门，由图4A可知，健康和患病样品的细菌平均相对丰度超过1%的均有12个门，其优势门为变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门，对应占比为27.06%~27.47%、17.86%~27.69%、13.44%~17.10%和15.54%~21.87%，相对丰度在1.0%~3.5%的门有芽单胞菌门、厚壁菌门、粘球菌门、髌骨细菌门、浮霉菌门、拟杆菌门、疣微菌门和蓝藻门。其中，健康植株的绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度显著高于患病植株的，患病植株的放线菌门显著高于健康植株的。

2.2.3 属水平上细菌群落组成分析 属水平上（图4B），被检测出的确定属有嗜酸栖热菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、慢生根瘤菌属、土微菌属、卢得曼氏菌属、JG30a-KF-32、MND1、苔藓杆菌属、FCPS473、鞘氨醇单胞属（相对丰度 >

0.1%），其中，健康植株根际土壤中的嗜酸栖热菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、JG30a-KF-32、FCPS473相对丰度显著高于患病植株的，患病植株的土微菌属、卢得曼氏菌属、苔藓杆菌属、鞘氨醇单胞属的相对丰度显著高于健康植株的。

综上，胡椒根际土壤中绿弯菌门和酸杆菌门、鞘氨醇单胞属、酸杆菌属等细菌相对丰度变化可能是引发胡椒枯萎病的关键菌群，放线菌门、土微菌属、卢得曼氏菌属、苔藓杆菌属、鞘氨醇单胞属在患病胡椒根际土壤中富集可能与诱抗性相关。

2.3 胡椒根际土壤细菌群落组成差异性分析

在门水平上（相对丰度 > 1%），放线菌门、粘球菌门、拟杆菌门、WPS-2、Methyloirabiolota门、迟杆菌门、德氏脱硫杆菌门和MBNT15在胡椒健康植株根际土壤与患病植株根际土壤间存在显著性差异（ $P < 0.05$ ）（图5）。

LEfSe算法分析结果显示24个细菌进化支在所测样品中存在显著差异，LDA阈值为4，健康植株根际土壤样品富集19个细菌进化支，患病植株土壤样品富集5个细菌进化支（图6）。健康胡椒根际土壤中富集Ktedonobacteria（从纲到目）、绿弯菌门、Acidobacteriae（从纲到属）、KF-JG30-C25（从科到属）、JG30-KF-AS9（从目到属）、AD3（从纲到属），而患病的富集放线菌门、Alphaproteobacteria（纲）、Thermoleophilia

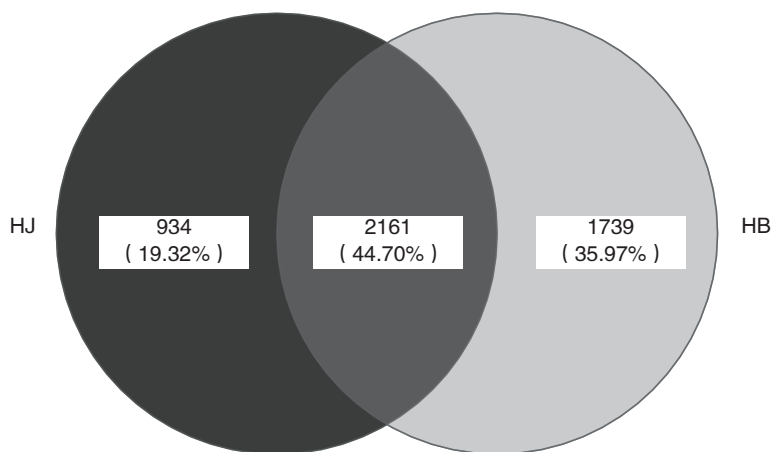


图3 健康（HJ）与患枯萎病（HB）胡椒植株根围土壤细菌数目维恩图

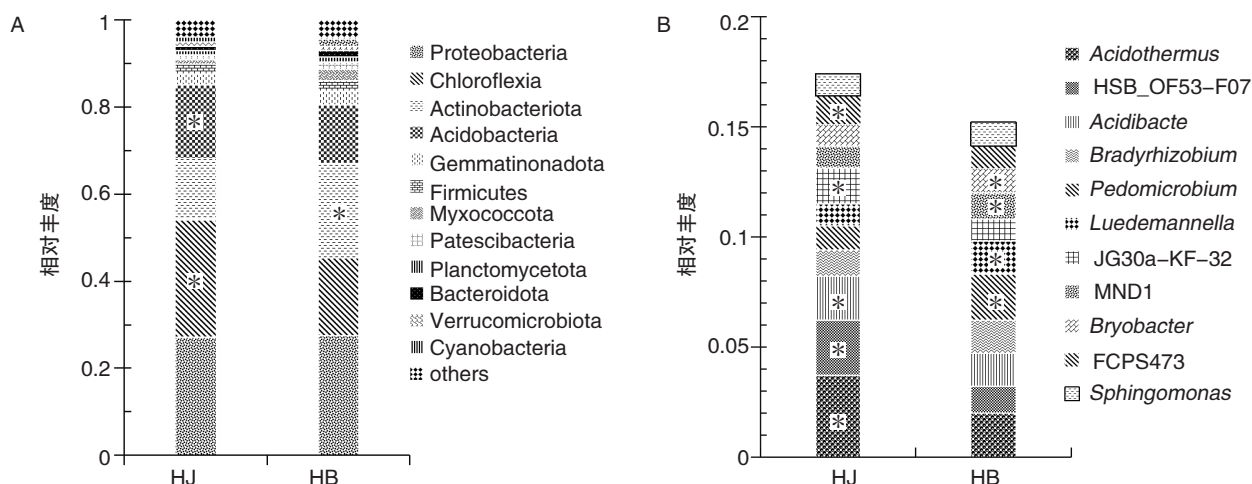


图4 门 (A)、属 (B) 水平上细菌群落相对丰度

注: Proteobacteria变形菌门; Chloroflexia绿弯菌门; Actinobacteriota放线菌门; Acidobacteria酸杆菌门; Gemmatimonadota芽单胞菌门; Firmicutes厚壁菌门; Myxococcota粘球菌门; Patescibacteria骸骨细菌门; Planctomycetota浮霉菌门; Bacteroidota拟杆菌门; Verrucomicrobiota疣微菌门; Cyanobacteria蓝藻门; *Acidothermus*嗜酸栖热菌属; *Acidibacte*酸杆菌属; *Bradyrhizobium*慢生根瘤菌属; *Pedomicrobium*土微菌属; *Luedemannella*卢得曼氏菌属; *Bryobacter*苔藓杆菌属; *Sphingomonas*鞘氨醇单胞属, 下同。*表示在0.05水平上, 健康植株与患病植株相比较在相同门(属)上差异显著 ($P < 0.05$)

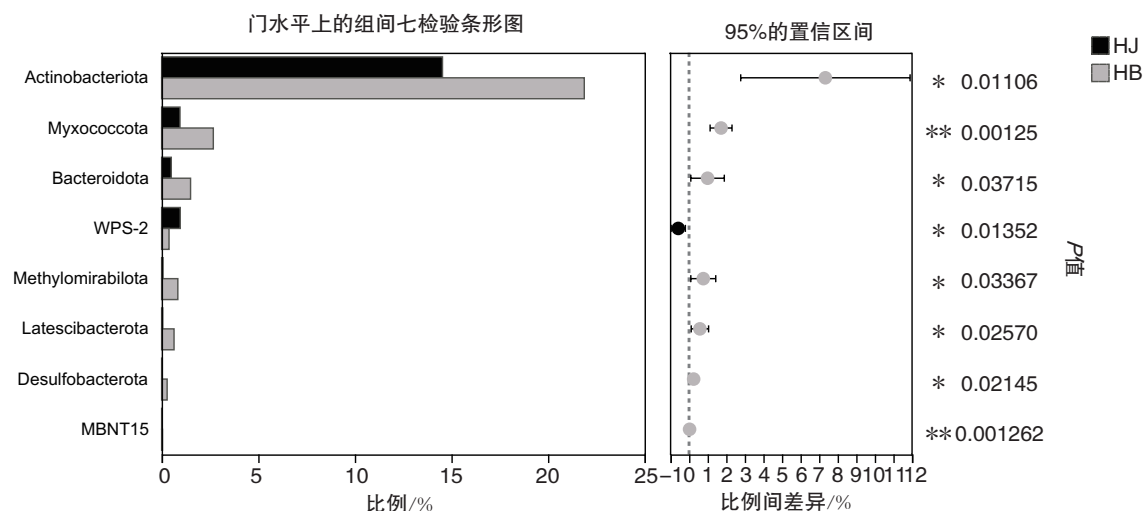


图5 门分类水平上的细菌差异分析

注: *表示差异性显著 ($P < 0.05$); **表示差异性极显著 ($P < 0.01$)

(纲)、Rhizobiales (目) 和 Micromonosporales (目)。结果说明, 健康与患病胡椒根际土壤所富集细菌差别较大, 这有可能与胡椒枯萎病的发生密

切相关。

2.4 相关性分析

2.4.1 胡椒根际土壤环境因子差异 测定结果

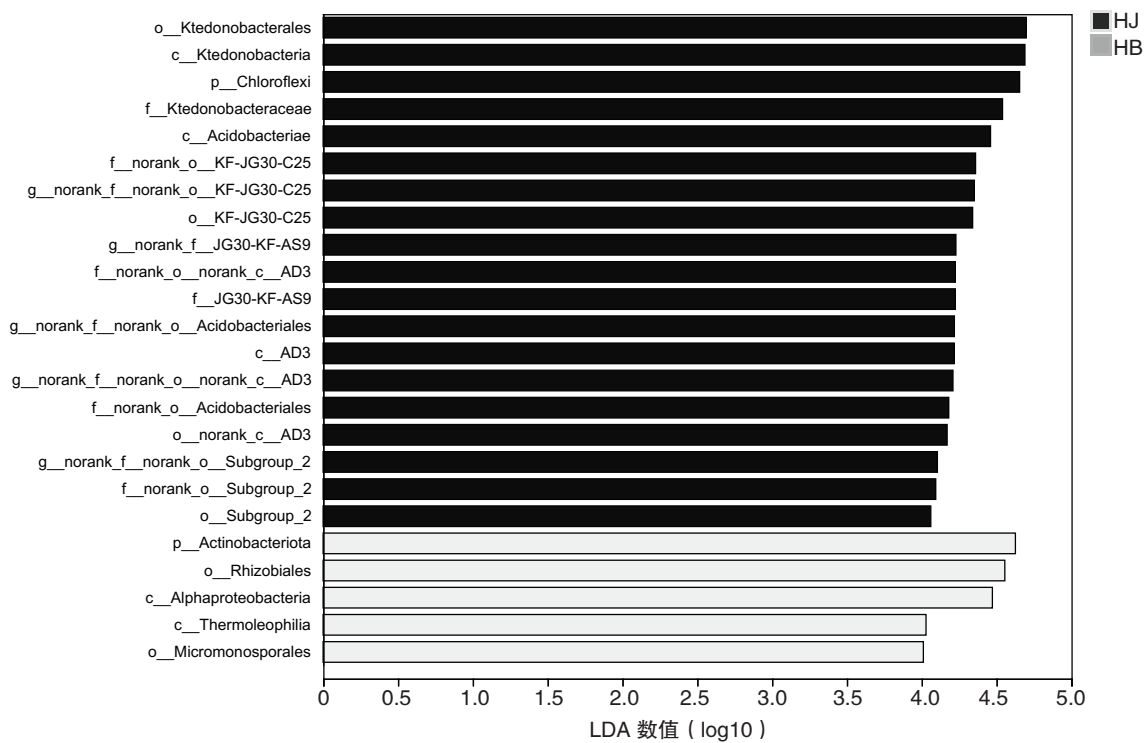


图6 健康 (HJ) 和患病 (HB) 植株根际土壤细菌LDA分析

注：纵坐标中小写字母p、c、o、f、g为分类水平，分别代表门、纲、目、科和属水平

表1 胡椒根际土壤环境因子

指标	健康植株 (HJ)	患病植株 (HB)
pH值	5.33 ± 0.12a	4.77 ± 0.21a
全氮/(g/kg)	1.85 ± 0.10a	1.50 ± 0.13a
全磷/(g/kg)	0.58 ± 0.03a	0.52 ± 0.02a
全钾/(g/kg)	13.70 ± 2.17a	11.50 ± 0.30a
有机碳/(g/kg)	1.89 ± 0.08a	1.50 ± 0.44a
速效磷/(g/kg)	23.37 ± 3.44a	15.67 ± 5.13b
速效钾/(g/kg)	46.00 ± 3.00a	41.79 ± 0.27a
铵态氮/(g/kg)	1.00 ± 0.09b	2.12 ± 0.23a
硝态氮/(g/kg)	5.83 ± 1.50a	3.63 ± 0.10a
脲酶/[mg/(d · g)]	233.41 ± 5.86a	148.35 ± 18.39b
过氧化氢酶/[mg/(d · g)]	303.28 ± 55.11a	166.06 ± 69.29b
蔗糖酶/[mg/(d · g)]	20.30 ± 0.65a	13.48 ± 0.55b
酸性磷酸酶/[mg/(d · g)]	321.64 ± 112.84a	124.68 ± 27.71b

注：同一行不同小写字母表示差异显著 (P < 0.05)

(表1)显示,健康植株土壤样本的pH值、全氮、全磷、全钾、有机碳、速效钾和硝态氮均高于患病的样本,但二者差异不显著;速效磷含量和脲酶、过氧化氢酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶活性均显著高于患病的($P < 0.05$)。患病的铵态氮含量显著高于健康的($P < 0.05$)。

RDA分析发现健康与患病胡椒根际土壤细菌群落存在明显分化。两个RDA轴解释各土壤理化因子对胡椒根际土壤细菌群落结构总变异的85.50%(图7A),影响程度由强到弱依次为铵态氮、有机碳、速效钾、pH值、速效磷。两个RDA轴解释各土壤酶活性对胡椒根际土壤细菌群落结构总变异的71.56%(图7B),影响程度由强到弱为脲酶、过氧化氢酶、蔗糖酶、酸性磷酸酶。分析表明,铵态氮、有机碳和脲酶活性是影响健康与患病胡椒根际细菌群落组成的重要土壤因子。

2.4.2 健康与枯萎病患胡椒植株根际土壤细菌群落和环境因子之间的相关性 相关性热图结果(图8)显示,健康与枯萎病患胡椒根际土壤细菌群落受到环境因子的影响。属水平上,*Bradyrhizobium*和*Conexibacter*与铵态氮、蔗

糖酶、速效钾含量呈显著正相关,*Conexibacter*与硝态氮、酸性磷酸酶、pH值含量呈显著正相关,*Sphingomonadaceae*与速效磷含量呈显著正相关,IS-44与C含量呈显著正相关。

3 讨论

3.1 根际土壤理化性状、酶活性对胡椒枯萎病发生的响应

土壤微生物是维持土壤生态系统平衡和养分转化的主要驱动力,而土壤酶活性、土壤理化性质和微生物群落结构三者之间相互作用、相互制约,对土壤生态系统的平衡发挥了极其重要的作用^[20,21],且这三者的变化对病害的发生及蔓延有较大的影响^[15]。在本研究中发现,胡椒健康土壤的pH值、全氮、全磷、全钾、有机碳、速效钾和硝态氮均高于病株,但二者间差异不显著,健康植株根际土壤中的速效磷、脲酶、过氧化氢酶、蔗糖酶和酸性磷酸酶显著高于患病植株土壤($P < 0.05$),这结果与白菜根肿病研究结果基本一致^[19]。推测其原因可能为胡椒患枯萎病后根系受损,水分与养分吸收功能减弱,而钾能促进蛋白质、糖、淀粉的合成和运

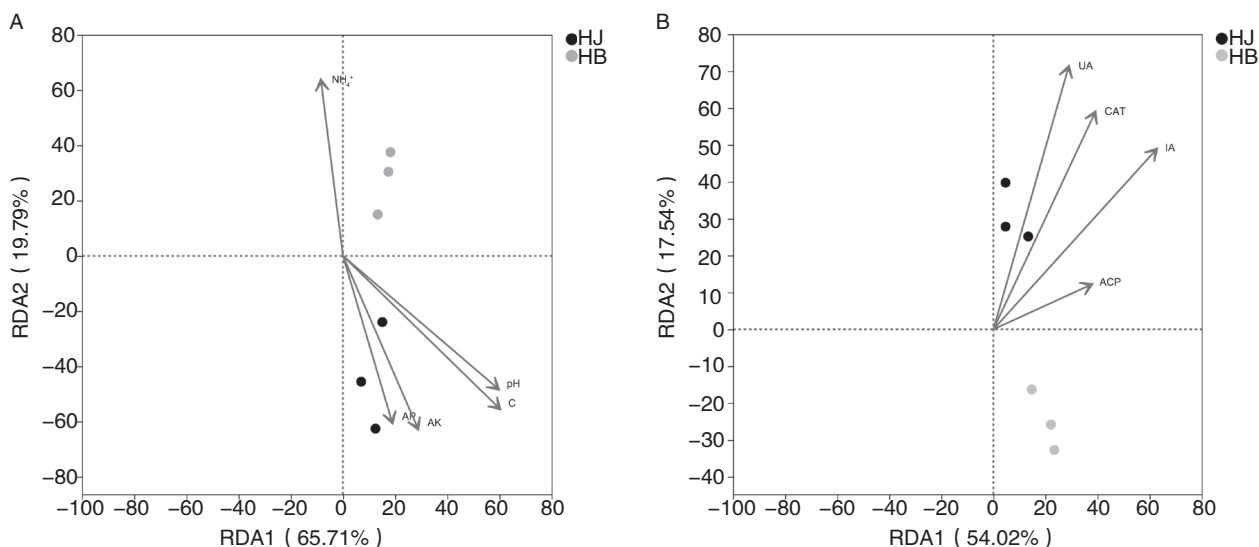


图7 经VIF筛选后的土壤环境因子与细菌群落冗余分析

注: NH_4^+ : 铵态氮; C: 有机碳; AP: 速效磷; AK: 速效钾; pH: pH值; IA: 蔗糖酶; UA: 脲酶; CAT: 过氧化氢酶; ACP: 酸性磷酸酶, 下同

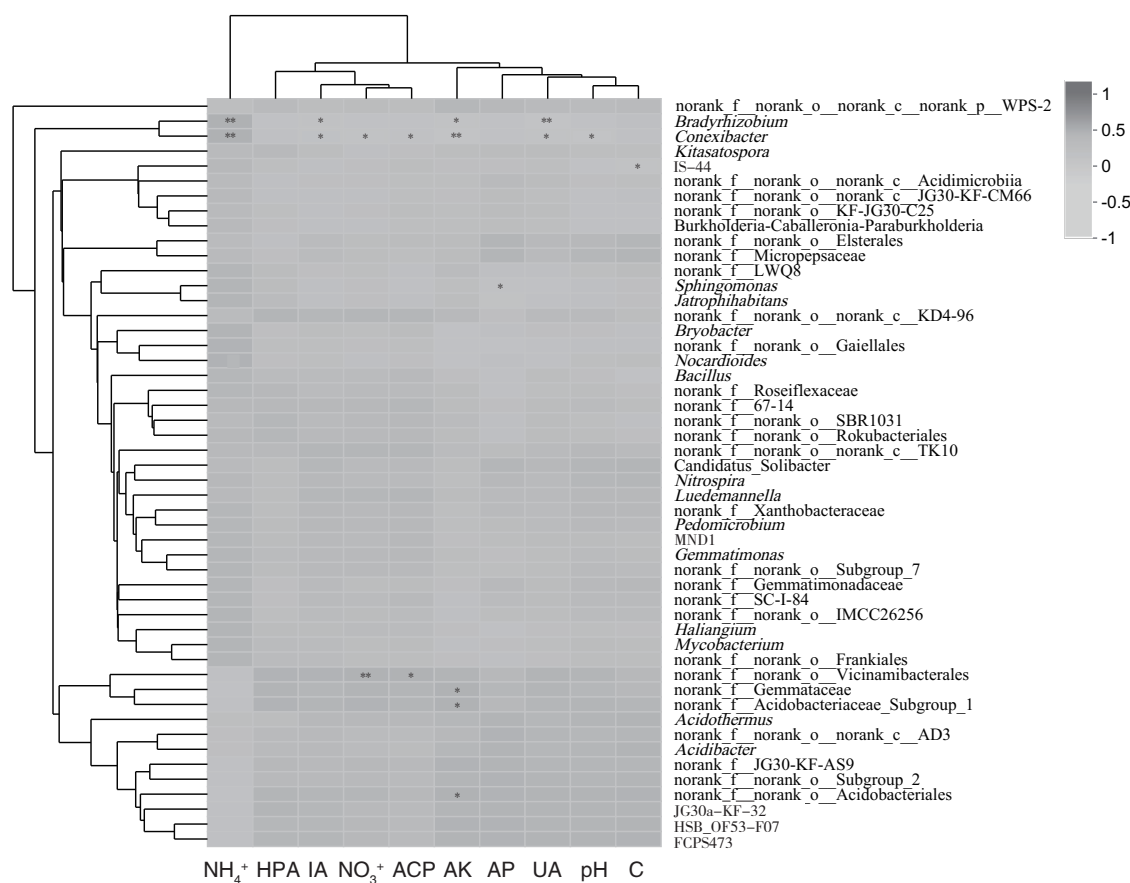


图8 优势菌细菌属相对丰度与土壤环境因子相关性热图

注：*表示相关性显著 ($P < 0.05$)，**表示相关性极显著 ($P < 0.01$)

输，协调碳氮代谢，这一现象对提高作物抗性具有重要意义^[13,14]。宝童曦等和周登博等认为土壤中铵态氮含量的高低会影响土传真菌病害的发生^[22,23]。本研究中胡椒枯萎病土壤的铵态氮含量显著高于健康植株的土壤 ($P < 0.05$)，这可能是植株与根际土壤间的反馈调节机制，通过提高铵态氮含量来抵抗病害的发生。土壤酶活性影响有机质的分解与养分循环过程，对作物生长及抗病性上有重要作用^[24]，在本试验中发现，健康植株的土壤酶活性显著高于患病的，这与前人在三七和白芍根腐病上的研究结果基本一致^[25,13]。另外有研究表明过氧化物酶能消除过氧化氢、醛类等物质的毒害作用，磷酸酶与根际微生物群落结构和组成变化密切相关^[26,14]。因此本研究推测土壤营养成分的流失和酶

活性的变化是导致胡椒枯萎病发生的关键因素。

3.2 根际土壤微生物对胡椒枯萎病发生的响应

作物与根际微生物之间是互为制约或依存关系，尤其是根际微生物的种类、数量可直接影响植物根系生长及土壤肥力，而根际微生物又受植物根系的影响^[27,28]。Srivastava等研究发现病原菌的侵染会改变植物生理，从而影响根际微生物群落的组成^[29]。本研究发现患病植株土壤样本和健康植株土壤样本二者间的细菌群落组成和多样性存在显著差异。枯萎病植株根际土壤的细菌Alpha多样性指数显著高于健康的，OTUs数也显著高于健康的，这与雷美玲研究柑橘黄龙病的结果相似，这表明病原菌的侵染可能会破坏作物根际土壤细菌群落的生

态平衡,导致个别细菌数量异常增加或减少,从而建立新的菌群平衡,但这种变化可能存在持续性^[30]。因此,需要进一步了解枯萎病与根际土壤细菌群落之间的调节机制。研究结果显示,患病植株与健康植株的根际土壤优势物种组成相同,但优势物种的相对含量存在差异,这与番华彩等研究的香蕉枯萎病有相同结果^[31]。胡椒根际土壤优势门为变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门,其中,健康植株根际土壤的绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度显著高于患病的,但患病植株根际土壤的放线菌门显著高于健康植株的,这可能是由于胡椒受到病原菌的侵染后启动防御系统,释放出某些特殊的化学物质或根系分泌物来募集根际有益微生物增强植株对病原菌的抵抗力。属水平上,胡椒根际土壤优势菌属为嗜酸栖热酸菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、慢生根瘤菌属、土微菌属、卢得曼氏菌属等,其中,健康植株根际土壤中的嗜酸栖热酸菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、JG30a-KF-32、FCPS473相对丰度显著高于患病的,患病植株的土微菌属、卢得曼氏菌属、鞘氨醇单胞菌属的相对丰度显著高于健康的。研究表明,鞘氨醇单胞菌能够耐受贫瘠和恶劣环境,其特殊的代谢调控机制能抵抗外界不利的环境变化,并降解土壤中的有毒物质^[32,14]。胡椒受枯萎病的危害后,土壤养分失衡、性质恶化,可能激发土微菌属、鞘氨醇单胞菌等有益菌的防御机制和生物代谢,使其相对丰度增加。

3.3 环境因子对环境根际微生物的影响

RDA分析结果显示,铵态氮、有机碳和脲酶活性对细菌群落变化影响最大,酸性磷酸酶对群落的影响最小。有机碳、蔗糖酶和脲酶对健康根际土壤细菌的影响最大,且与健康根际土壤细菌群落变化呈正相关性,与患病根际土壤细菌群落变化呈负相关。在连作栽培模式下,病原菌的侵染导致土壤理化性质发生显著变化,根际土壤细菌的生长和代谢活动受到干扰,从而打破根际土壤微生态平衡。这种变化导致有害微生物和致病菌的数量增加,对植物健康构成更为严重的威胁。本研究发现,胡椒根际土壤的关键营养元素和生物活性指标均发生显著变化,这与张英英等关于连作对特殊药材根系微生态影响的研究结果基本一致^[15]。因此,应采取有效

的农业管理措施(如轮作、生物防治等),以维护根际微生态平衡,促进植物健康生长。

4 结论

胡椒枯萎病植株和健康植株的根际土壤细菌群落结构在一定程度上具有同源性,但部分菌群在健康与患病植株根际土壤中的相对丰度具有显著差异。门水平上,健康植株根际土壤的绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度显著高于患病的,患病植株的放线菌门显著高于健康的。属水平上,健康植株根际土壤中的嗜酸栖热酸菌属、HSB_OF53-F07、酸杆菌属、JG30a-KF-32、FCPS473相对丰度显著高于患病的,患病植株的土微菌属、卢得曼氏菌属、鞘氨醇单胞菌属的相对丰度显著高于健康的。胡椒根际土壤中的细菌群落结构深受土壤环境因子的调控,其中,铵态氮、有机碳以及脲酶活性是影响其组成的关键因子。☞

参考文献

- [1] 郑维全,杨建峰,鱼欢,等.我国胡椒产业现状与创新发展探析[J].热带农业科学,2017,12:102-108.
- [2] 曾小红,李光辉,王小芳,等.中国胡椒生产和贸易发展分析[J].热带农业科学,2023,9:108-113.
- [3] 沈绍斌.胡椒-云南省特色产业[J].中国农村科技,2020,9:74-75.
- [4] 崔昌华,郑服丛,贺春萍,等.海南胡椒主要真菌病害调查与病原鉴定[J].安徽农业科学,2011,6:3355-3358.
- [5] Tan WJ, Thanh TAV, Rafael ES, et al. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with *Fusarium* wilt disease of *Piper nigrum* L. in Northwestern region of Sarawak[J]. Malaysian Journal of Microbiology,2021,2:17.
- [6] Salgado G, Filgueirai O, Tremacoldi C, et al. Susceptibility of in vitro black pepper plant to the filtrate from a *Fusarium solani* f.sp. *piperis* culture[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture,2016,127:263-268.
- [7] Shahanzi S, Meon S, Vadmalai G, et al. Genetic diversity of *fusarium solani* isolates from black Pepper (*Piper nigrum* L.) in Malaysia by ISSR marker[J]. Tropical Agricultural Science,2014,37(3):363-374.

- [8] Akinsami OADA. Phytophythora disease management[J]. Australian Macademia Society News Bulletin,2009,36(1):32.
- [9] Zakaria SNS, Noor NM, Rami NB, et al. Preliminary identification of new fungal pathogen isolated from black pepper disease[J]. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,2022,1059(1):012067.
- [10] Okungboa WAFI, Shittu HO. Fusarium wilts: An overview[J]. Environ. Res. J.,2012,6(2):83-102.
- [11] Desuoza CRB, Santa BAB, Dossantos RC, et al. Identification of sequences expressed during compatible black pepper *Fusarium solani* f. sp. *piperis* interaction[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2011,33(6):2553-2560.
- [12] 桑利伟,谭乐和,刘爱勤,等.海南省胡椒主要病害现状初步调查[J].植物保护,2010,36(5):133-137,148.
- [13] 张英英,吴之涛,杨宪忠,等.白芍根腐病病株与健株根际土壤微生物群落及酶活性变化分析[J].西南农业学报,2023,37(1):109-118.
- [14] 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质分析[J].生物技术通报,2022,2:67-74.
- [15] 张英英,魏玉杰,吴之涛,等.不同种植年限对特殊药材土壤化学性质和微生物多样性的影响[J].干旱地区农业研究,2023,41(1):150-159.
- [16] 张春林,严文伟,朱权.绿春县三猛乡胡椒种植技术[J].云南农业科技,2018,2:34-35.
- [17] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000
- [18] 李华伟,罗文彬,许国春,等.基于高通量测序的福建北部马铃薯晚疫病株根际土壤细菌群落分析[J].微生物学通报,2022,49(3):1017-1029.
- [19] 张智浩,邓毅书,聂强,等.白菜健康株与根肿病患植株的土壤微生物群落和功能差异[J].中国生态农业学报(中英文),2023,31(4):530-542.
- [20] Shen ZZ, Penton CR, Lv NN, et al. Banana Fusarium wilt disease incidence is influenced by shifts of soil microbial communities under different monoculture spans[J]. Microbial Ecology,2018,75(3):739-750.
- [21] 彭木,向智文,周防震,等.碱蓬属植物对根际土壤理化性质和酶活性的影响[J].东北林业大学学报,2023,2:104-110.
- [22] 宝童曦,高正锋,徐丝,等.不同氮素形态对比对烟草青枯病发生及土壤细菌群落的影响[J].南方农业学报,2023,8:2207-2217.
- [23] 周登博,井涛,陈宇丰,等.土壤微生物多样性研究方法及其在土传病害防治中的应用展望[J].热带农业科学,2018,2:79-86,112.
- [24] 王豪吉,施梦馨,徐应焱,等.生物炭与有机肥配施对耕地红壤酶活性及作物产量的影响[J].云南师范大学学报(自然科学版),2021,41(1):56-63.
- [25] 王豪吉,官会林,王勇,等.自然林下与田间根腐三七根际微生物群落特征及比较分析[J].微生物学通报,2023,5:1988-2001.
- [26] 谭军,周冀衡,李强,等.氮素形态对烟草黑胫病发生的影响[J].中国烟草科学,2017,4:80-85.
- [27] 高鑫媛,赵红玲,白茹玥,等.北苍术枯萎病植株根际土壤真菌群落多样性分析[J].西南农业学报,2022,4:812-821.
- [28] 张玲艳,李灿,王宏权,等.成龄胶园间作砂仁对根际和非根际土壤微生物数量的影响[J].中国热带农业,2023,3:38-42,32.
- [29] Srivastava AK, Das AK, Jagannadham PTK, et al. Bioprospecting microbiome for soil and plant health management amidst huanglongbing threat in citrus: A review[J]. Frontiers in Plant Science,2022,13:858842.
- [30] 雷美玲,饶文华,胡进锋,等.黄龙病患病芦柑根际土壤细菌群落组成与多样性特征[J].生物技术通报,2024,2:266-276.
- [31] 番华彩,魏微,曾莉,等.香蕉枯萎病和健康植株根际土壤细菌群落结构差异对比分析[J].西南农业学报,2021,34(9):1885-1891.
- [32] Zhao N, Mao XX, Zhang MS, et al. Response of soil microbial communities to continuously monocropped cucumber under greenhouse conditions in a calcareous soil of North China[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020,20(5):2446-2459.