

梨杂种后代矮生与乔生株根系内生微生物群落多样性比较

陈修正,吴志蒙,刘正方,冯守千*

山东农业大学园艺科学与工程学院,山东 泰安 271018

摘要: 为探究梨树根系内生微生物的群落组成及其与寄主树型的相关性,该研究以7年生乔生和矮生梨树为研究对象,利用16S rRNA和ITS高通量测序技术对梨树杂种群体根系内生微生物的群落结构进行了分析。结果表明,矮生梨树群体根系内生细菌群落与树体高度、树干周长和直径呈显著相关,而乔生梨树群体在两者间则没有呈显著相关。矮生树群体根系内生细菌、真菌的共现网络比乔生树群体更为复杂。其中,矮生树群体主要富集了拟杆菌门、蓝细菌门等类群的细菌,乔生树群体主要富集了变形菌门等类群的细菌;矮生树群体主要富集了子囊菌门等类群的真菌,乔生树群体主要富集了担子菌门等类群的真菌。矮生与乔生梨树群体塑造了其各自独特的细菌与真菌微生物群落。

关键词: 梨树; 矮生; 乔生; 杂种群体; 微生物群落

中图分类号: S661.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2026)01-0066-11

Comparison of Root Endophytic Microbial Community Diversity Between Dwarf and Arborescent Progenies of Pear Hybrids

CHEN Xiu-zheng, WU Zhi-meng, LIU Zheng-fang, FENG Shou-qian*

College of Horticulture Science and Engineering/Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract: To investigate the composition of root endophytic microbial communities in pear trees and their correlation with host tree types, this study analyzes the root endophytic microbial community structure in 7-year-old arborescent and dwarf pear hybrid populations, using 16S rRNA and ITS high-throughput sequencing technologies. The results demonstrate that the root endophytic bacterial community in the dwarf pear population exhibits significant correlations with tree height, trunk circumference, and trunk diameter, whereas the arborescent pear population shows no such significant correlations. The co-occurrence networks of endophytic bacteria and fungi in the dwarf population are more complex than those in the arborescent population. Specifically, the dwarf population predominantly enriches bacterial taxa such as Bacteroidota and Cyanobacteria, while the arborescent population enriches bacterial taxa such as Proteobacteria. For fungi, the dwarf population mainly enriches fungal taxa such as Ascomycota, whereas the arborescent population enriches fungal taxa such as Basidiomycota. Both dwarf and arborescent pear populations shape their own distinct bacterial and fungal microbial communities.

Keywords: Pear trees; dwarf; arborescent; hybrid population; microbial community

梨属于蔷薇科梨亚科梨属(Rosaceae Pomaceae *Pyrus* L.)植物,为落叶乔木或灌木^[1]。梨在世界范围内广泛种植,深受消费者青睐。大多数梨品种树体高大,这给果园管理带来了各种挑战^[2]。随着生产技术的不断发展,矮化密植栽培成为梨树栽培的发展趋势,近年来国内诸多科研院所所在梨矮化砧木研究上取得了较大进展,但与国外相比仍然存在较大差距^[3]。因此,加快梨树矮化砧木的育种工作迫在眉睫。

植株矮化主要是由内源激素调控的细胞分裂与伸长引起,这些激素包括细胞分裂素、赤霉

素、生长素、脱落酸和油菜素甾醇等^[4-7]。其中,生长素(IAA)被认为是导致矮化的关键调控激素之一。关于矮化砧木的矮化机理,已有大量研究报告,首先,矮化砧木导致嫁接连接处维管系统连接不良,从而阻碍矿质元素和细胞分裂素(CTK)的向上运输^[8];其次,矮化砧木对土壤中水分和矿质养分的吸收能力较弱,难以充分供给接穗生长需求,导致整株呈现矮化表型。此外,矮化砧木茎秆会阻碍IAA的极性运输,这种运输障碍不仅抑制根系生长发育,还会减少CTK的生物合成,由于CTK向上运输量减少,接穗的正常生长

收稿日期: 2025-04-02

修回日期: 2025-12-26

基金项目: 山东省良种工程(2019LZGC008)

第1作者简介: 陈修正(1998-),男,硕士研究生,研究方向: 果树种质资源与育种。E-mail: czx981024@outlook.com

*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: shouqian.love@163.com

受到限制,最终导致植株矮化^[9-11]。研究表明,矮化影响植物对根际微生物群的选择,与野生型小麦相比,矮化品种表现出对赤霉素信号响应减弱的特点,矮化小麦赤霉素敏感性降低与根际微生物群落的变化相关:根周土壤相关细菌的定殖增加、具有促生功能的微生物类群显著减少,这表明赤霉素信号通路影响根系微生物的群落组成^[12]。

内生菌是指定殖于健康植物组织内部(包括细胞内或细胞间隙)且不引发明显病症的共生微生物群落,主要包括细菌和真菌两大类^[13]。这类微生物能够在其宿主植物活体组织中完成全部或部分生命周期,与宿主形成互利共生关系,其侵染过程通常不伴随显著的组织损伤或病理症状^[14]。近年来,植物内生菌因其独特的生物学特性受到广泛关注^[15-19],主要体现在以下方面:代谢产物多样,能够合成具有药理活性和农业应用价值的天然化合物^[20,21];生态功能显著,内生真菌可产生生物活性物质^[22-24]、促进宿主营养吸收与生长发育、增强抗逆能力^[25,26],并参与凋落物分解等生态过程^[27]。植物内生菌群落的组成受多维度因素调控,地理分布特征,气候环境条件、宿主遗传背景及微生物组间互作网络共同构成主要驱动因素^[19,28]。宿主植物的生理状态也会影响真菌内生群落的结构特征^[29]。在果树中,内生真菌生物群的组成因树种差异而不同^[30]。有研究表明,苹果不同砧木/接穗组合通过基因型特异性影响内生微生物群结构^[31]。在梨树中有研究报道,内生细菌群落中假单胞菌属和链养单胞菌属具有固氮与溶磷功能,暗示其在宿主营养代谢中的重要作用^[32]。

我们在育种过程中观察到同树龄的梨树杂种群体中出现了矮生与乔生的株高表型分化,但其根系内生微生物群落与这种差异的相关性仍然未知。本研究旨在研究梨树杂种群体内生微生物群落的分布,推测和阐明内生菌群落结构与杂种群体树型之间的相关性。本研究将为梨树杂种群体内生菌群落的研究提供一个视角,并为进一步开发利用这些群落提供有用的信息。

1 材料与方法

1.1 试验样本收集

采样地点位于山东省泰安市泰山区山东农

业大学园艺实验站(北纬 36°10'17.2128",东经 117°9'37.476")。于 2022 年 11 月 14 日采集根系和土壤样本,在实验站梨园随机选择野生秋子梨实生群体乔生树和矮生树,其中将树龄 7 年、株高低于 1.5 m 的实生树归为矮生组,将树龄 7 年、株高在 3 m 以上的实生树归为乔生组。每一棵树记为一个生物学重复,每组各 6 个生物学重复,共 12 个样本,所有样本均采用一致的肥水管理,其根周土壤基本情况见表 1。在树主干周围 50 cm 的范围内挖穴取样,使用 75% 乙醇消毒的剪刀采集须根样品于无菌塑料袋内,4 °C 保存并于 24 h 内处理。根系经自来水洗涤后,按 75% 乙醇洗涤 5 min、1% 次氯酸钠洗涤 5 min、75% 乙醇洗涤 30 s 的顺序对根系表面消毒,然后用无菌蒸馏水冲洗 3 次,晾干后,液氮研磨根系至粉末状,于 -80 °C 保存。

1.2 试验样本树体高度、直径、周长的测量

试验样本的树体高度使用塔尺进行测量。在距离地面 5 cm 处对树体主干的直径和周长进行测量,使用游标卡尺测量主干直径,使用皮尺测量主干周长。

1.3 DNA 扩增与高通量测序

根据制造商的说明,使用 FastDNA Spon Kit for Soil(MP, USA)提取根系总基因组 DNA。然后使用琼脂糖凝胶电泳检查 DNA。分离的 DNA 保存在 -80 °C 以待进一步分析。足够质量的 DNA 样本送至广东美格基因科技有限公司用于 PCR 扩增和高通量测序。使用细菌 16S rRNA 通用引物 515f(5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3')和 909r(5'-CCCCGYCAATTCMTTTRAGT-3')扩增内生细菌 V4V5-7 区段。选择真菌 ITS rRNA 通用引物 ITS1(5'-CTTGGTCAATTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2(5'-GCTGCGTTCTTCATC GATGC-3')扩增内生真菌 ITS1-2 区段。使用 Illumina MiSeq PE250 测序平台进行高通量测序。

1.4 数据处理和生物信息学分析

测序完成后,使用 Qiime2^[33]软件对下机数据进行剪接、生成 ASV(Amplicon Sequence Variants 扩增子序列变体)并降噪,构建稀释曲线和系统发育树,根据系统发育树进行抽平。细菌使用 SILVA 138 数据库(<https://www.arb-silva>。

表 1 样本土壤基本理化性质
Table 1 Basic physical and chemical properties of sample soil

样本 Sample	pH	有机质/(mg/kg) Organic matter	碱解氮/(mg/kg) Available nitrogen	有效磷/(mg/kg) Available phosphorus	有效钾/(mg/kg) Available potassium
矮生 1 Dwarf 1	7.81±0.08bcd	14.74±0.63d	8.72±0.17d	50.22±2.77def	169.58±1.58e
矮生 2 Dwarf 2	7.87±0.02bc	17.03±1.88c	12.12±0.25b	90.52±4.76a	166.85±1.58e
矮生 3 Dwarf 3	8.15±0.04a	7.95±0.46f	12.63±0.28a	40.17±3.54g	169.58±1.57e
矮生 4 Dwarf 4	7.73±0.01cde	21.96±0.20a	11.44±0.14c	62.29±3.98bc	169.58±1.57e
矮生 5 Dwarf 5	8.25±0.02a	14.23±0.57d	8.05±0.028e	46.89±2.89efg	163.21±1.58f
矮生 6 Dwarf 6	7.64±0.10ef	12.00±1.19e	11.46±0.15c	57.51±5.35cd	168.67±1.58e
乔生 1 Arborescent 1	7.33±0.06g	12.85±0.60de	5.25±0.19i	88.63±1.99a	195.08±2.73d
乔生 2 Arborescent 2	7.51±0.11f	19.16±0.77b	8.51±0.30d	44.07±4.43fg	207.83±1.58b
乔生 3 Arborescent 3	7.94±0.02b	14.70±0.95d	5.89±0.23h	71.12±9.08b	166.85±1.58e
乔生 4 Arborescent 4	7.53±0.07f	18.73±0.13b	6.55±0.18g	63.83±4.86bc	239.71±1.58a
乔生 5 Arborescent 5	7.63±0.04ef	13.43±0.66de	7.47±0.19f	85.56±1.69a	198.73±1.57c
乔生 6 Arborescent 6	7.70±0.14de	14.14±1.43d	7.35±0.07f	55.01±4.44cde	193.26±1.57d

注:同列数据后不同小写字母代表不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters after data in the same column indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$).

de/)进行序列比对和物种分类信息注释,真菌则使用 UNITE 9.0 数据库(<http://unite.ut.ee/>)。基于 Chao1、Shannon 和 Pielou 多样性指数在 ASV 水平上进行 Alpha 分析。在 ASV 水平上使用 Bray-Curtis 差异进行 Beta 分析,使用 R 中 vegan 包的“Adonis”函数进行方差分析的置换多元方差分析。线性判别分析效应值(LEfSe, the linear discriminant analysis effect size)分析使用在线网站 Galaxy (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/lefse/>)执行。DESeq2 分析使用 R 中 DESeq2 包进行分析。Mantel 检验使用 R 中 linkET 包进行分析可视化。基于相关性的微生物共存关系网络使用 Gephi 0.10.1 进行可视化。

2 结果

2.1 根系内生微生物与树型的相关性

通过 Mantel 检验,矮生梨树群体根系内生细菌群落与树体高度($R=0.535, P=0.001$)、树干周长($R=0.469, P=0.005$)和直径($R=0.408, P=0.013$)呈显著相关,而乔生梨树群体在两者间则没有显著相关关系($P>0.05$),其内生细菌群落与树体高度、树干周长和直径的相关系数分别为 0.085、0.177、0.222。对于根系内生真菌群落而言,不论是矮生梨树群体还是乔生梨树群体对于树型均没有显著相关(图 1A、B)。根系内生细菌群落差异 ASV 多数与树体高度、树干周长和直

径显著负相关,而内生真菌群落差异 ASV 与树体高度、树干周长和直径呈显著正相关和负相关的数量相当(图 1C、D)。

表 2 梨树杂种群体的树体高度、主干直径和周长
Table 2 Tree height, trunk diameter and trunk circumference of pear hybrid populations

样本 Sample	高度/cm Height	周长/cm Circumference	直径/cm Diameter
矮生 1 Dwarf 1	113.0	10.5	2.7
矮生 2 Dwarf 2	92.0	7.7	2.1
矮生 3 Dwarf 3	107.0	9.5	2.4
矮生 4 Dwarf 4	127.5	9.0	2.7
矮生 5 Dwarf 5	83.0	11.0	3.0
矮生 6 Dwarf 6	97.0	11.0	2.0
乔生 1 Arborescent 1	351.0	19.5	5.6
乔生 2 Arborescent 2	336.5	18.5	5.2
乔生 3 Arborescent 3	358.0	17.5	5.4
乔生 4 Arborescent 4	303.0	22.7	6.0
乔生 5 Arborescent 5	300.0	20.5	5.8
乔生 6 Arborescent 6	324.0	24.0	7.3

2.2 Alpha 多样性分析

采用 Chao 1、Shannon、Pielou 等指数评价梨树杂种群体样本根系内生细菌和真菌微生物群落的 Alpha 多样性。杂种群体根系内生细菌群落中,矮生树群体 Chao 1 指数显著高于乔生树群体($P<0.05$),而 Shannon 指数和 Pielou 指数在矮生树群体与乔生树群体之间没有显著差异

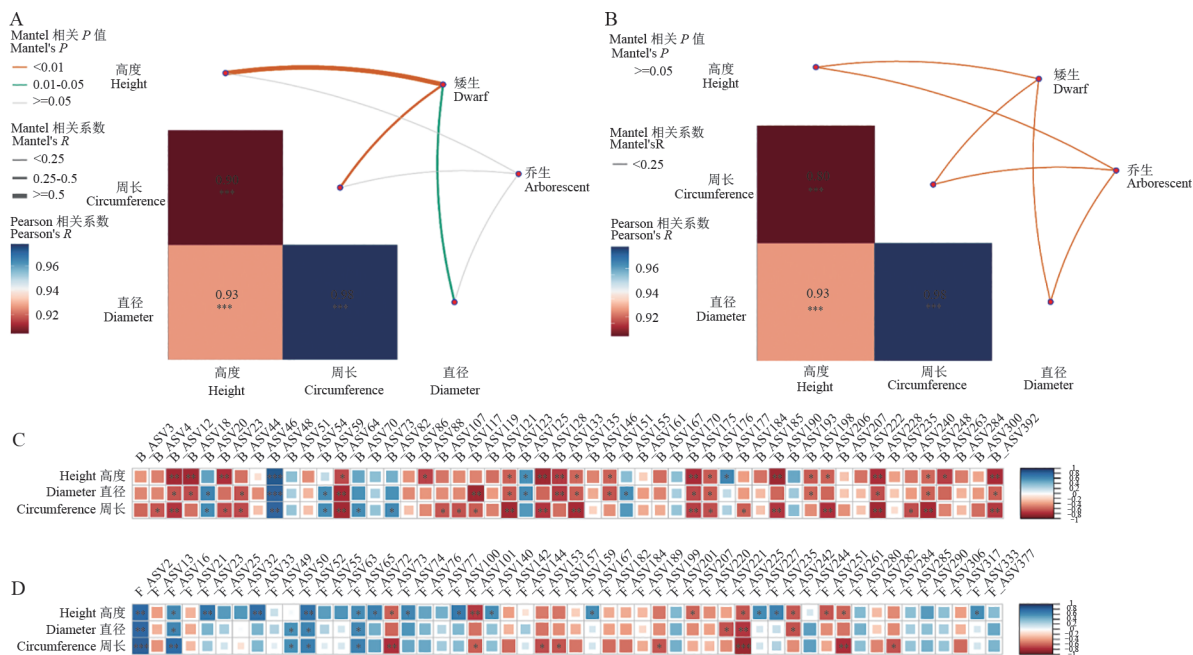


图 1 Mantel 检验与相关性分析

Fig. 1 Mantel test and correlation analysis

注:梨树杂种群体根系内生细菌群落(A)和真菌群落(B)与树体高度、树干周长和直径的Mantel检验。梨树杂种群体根系内生细菌群落差异ASV(C)和真菌群落差异ASV(D)与树体高度、树干周长和直径的相关性分析。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Note: Mantel test of endophytic bacterial community(A)and fungal community(B)in root system of pear hybrid population in relation to tree height, trunk circumference and diameter. Correlation analysis of endophytic bacterial community difference ASV(C)and fungal community difference ASV(D)with tree height, trunk circumference and diameter in the root system of pear tree hybrid population. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

($P > 0.05$),说明矮生树根系内生细菌群落丰富度显著高于乔生树根系内生细菌群落,而在多样性和均匀度上两者之间没有显著差异(图2A)。在根系内生真菌群落中,矮生树群体与乔生树群体之间,Chao 1 指数、Shannon 指数、Pielou 指数均没有显著差异($P > 0.05$),说明矮生树群体与乔生树群体根系内生真菌群落在丰富度、多样性和均匀度上没有显著差异(图2B)。

2.3 Beta 多样性分析

通过主坐标分析(PCoA)和多元方差分析(Adonis)来评估梨树杂种群体样本根系内生细菌和真菌微生物群落的相似性。在内生细菌群落的ASV水平,PC1解释了总变化的57%,PC2解释了22%,并且样本根据表型分组形成了明显的聚类,这表明矮生树与乔生树的细菌群落结构组成差异明显。内生真菌群落的ASV水平的总解释率为36%,聚类区间存在大部分重叠,这表明内生真菌群落样本分布距离较近,群落结构组成相似。梨树杂种群体的差异是影响根系内生细菌群落组成(Adonis, $R^2=0.437$, $P=0.005$)

(图2C)和真菌群落组成(Adonis, $R^2=0.141$, $P=0.04$)(图2D)的主要因素。

2.4 杂种梨树群体根系内生细菌、真菌群落物种组成

利用16S序列进行物种注释,杂种梨树群体根系内生细菌相对丰度排在前十的优势菌门有变形菌门(Proteobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、浮霉菌门(Planctomycetota)、黏菌门(Myxococcota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、Patescibacteria、厚壁菌门(Firmicutes)、酸杆菌门(Acidobacteriota)。其中变形菌门(Proteobacteria)和蓝细菌门(Cyanobacteria)的相对丰度最高(图3, A)。在属水平上,相对丰度较高的为线粒体(Mitochondria)、蓝细菌属(Chloroplast)、链霉菌属(Streptomyces)、酸化杆菌属(Acinetobacter)、不动杆菌属(Acidibacter)等(图3C)。

利用ITS序列进行物种注释,杂种梨树群体根系内生真菌在门水平上相对丰度较高的为子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门

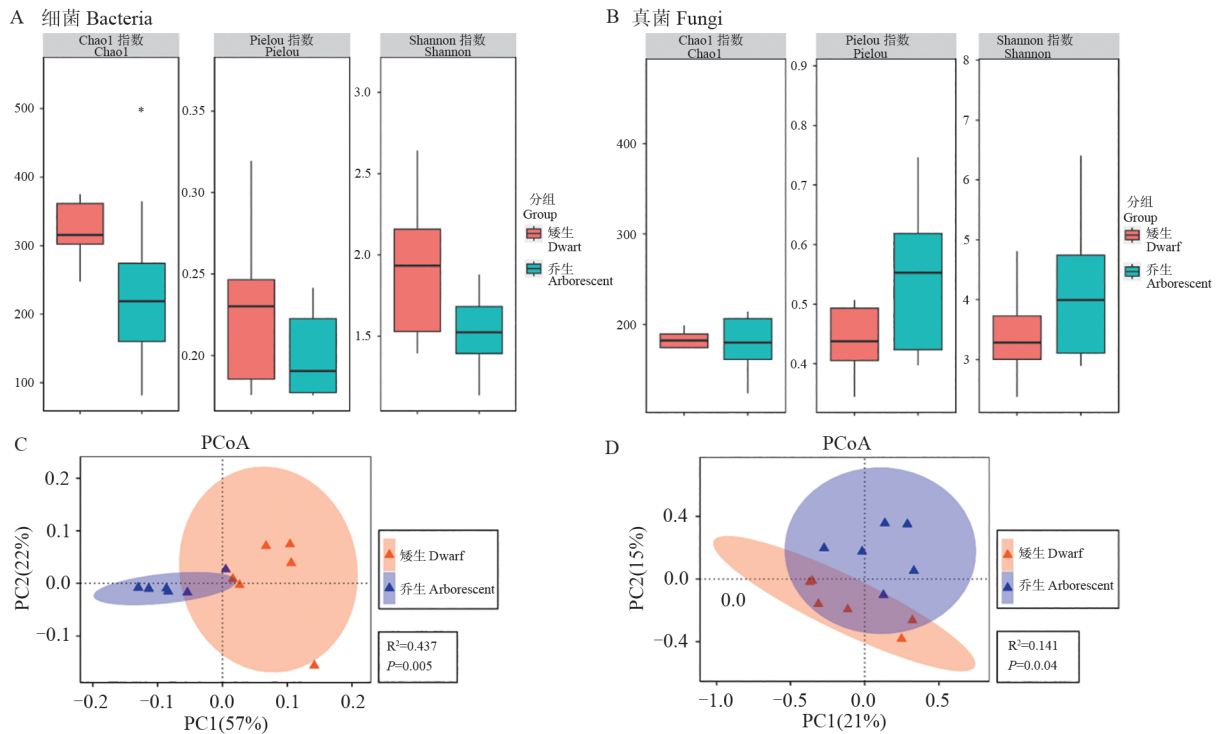


图 2 Alpha 多样性与 Beta 多样性分析

Fig. 2 Alpha diversity and Beta diversity analysis

注:梨树杂种群体根系内生细菌群落(A)和真菌群落(B)的Alpha多样性分析,包括 Chao1 指数、Shannon 指数和 Pielou 指数。梨树杂种群体根系内生细菌群落(C)和真菌群落(D)的主坐标分析 PCoA。* $P < 0.05$ 。

Note: Alpha diversity analysis of endophytic bacterial community (A) and fungal community (B) in root system of pear hybrid population including Chao1 index, Shannon index and Pielou index. Principal coordinate analysis PCoA of endophytic bacterial community (C) and fungal community (D) in the root system of pear tree hybrid population. * $P < 0.05$.

(Basidiomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、霉菌门(Mortierellomycota)等,其中子囊菌门(Ascomycota)在所有样本中相对丰度均较高,担子菌门(Basidiomycota)在所有样本中占有较高相对丰度并且在矮生树样本中的相对丰度高于在乔生树样本中的相对丰度(图 3B)。在属水平上,相对丰度的前十个属中有 5 个未注释到的属,其中 3 个属于子囊菌门(Ascomycota) 2 个属于担子菌门(Basidiomycota),镰刀菌属(*Fusarium*)在乔生树群体中具有比在矮生树群体中更高的相对丰度,其余属在样本中均缺少一致规律(图 3D)。

2.5 矮生树群体与乔生树群体根系内生微生物差异类群

通过 LEfSe 分析对矮生树群体与乔生树群体根系内生微生物群落的差异类群进行了进一步鉴别。在内生细菌群落中,富集到了 25 个差异属,其中 20 个分布在矮生树群体中,5 个分布在乔生树群体;在矮生树群体中主要富集了拟杆

菌门(Bacteroidota)、蓝菌门(Cyanobacteria)等类群的细菌,在乔生树群体中主要富集了变形菌门(Proteobacteria)等类群的细菌(图 4A)。在内生真菌群落中,富集到了 8 个差异属,其中 3 个分布在矮生树群体中,5 个分布在乔生树群体;在矮生树群体中主要富集了子囊菌门(Ascomycota)等类群的真菌,在乔生树群体中主要富集了担子菌门(Basidiomycota)等类群的真菌(图 4B)。

通过 DESeq2 差异分析,可以筛选出 ASV 水平上矮生树群体和乔生树群体之间根系内生微生物群落的差异类群。在内生细菌的所有样本数据中,共筛选出 12 个显著富集(“enriched”)的 ASV 和 40 个显著下降(“depleted”)的 ASV,这些差异 ASV 大多数属于变形菌门;内生真菌的所有样本数据中,共筛选出 30 个显著富集(“enriched”)的 ASV 和 22 个显著下降(“depleted”)的 ASV(图 4C、D),其中富集的 ASV 多数属于子囊菌门和担子菌门,下降的 ASV 多数来自子囊菌门和球囊菌门。

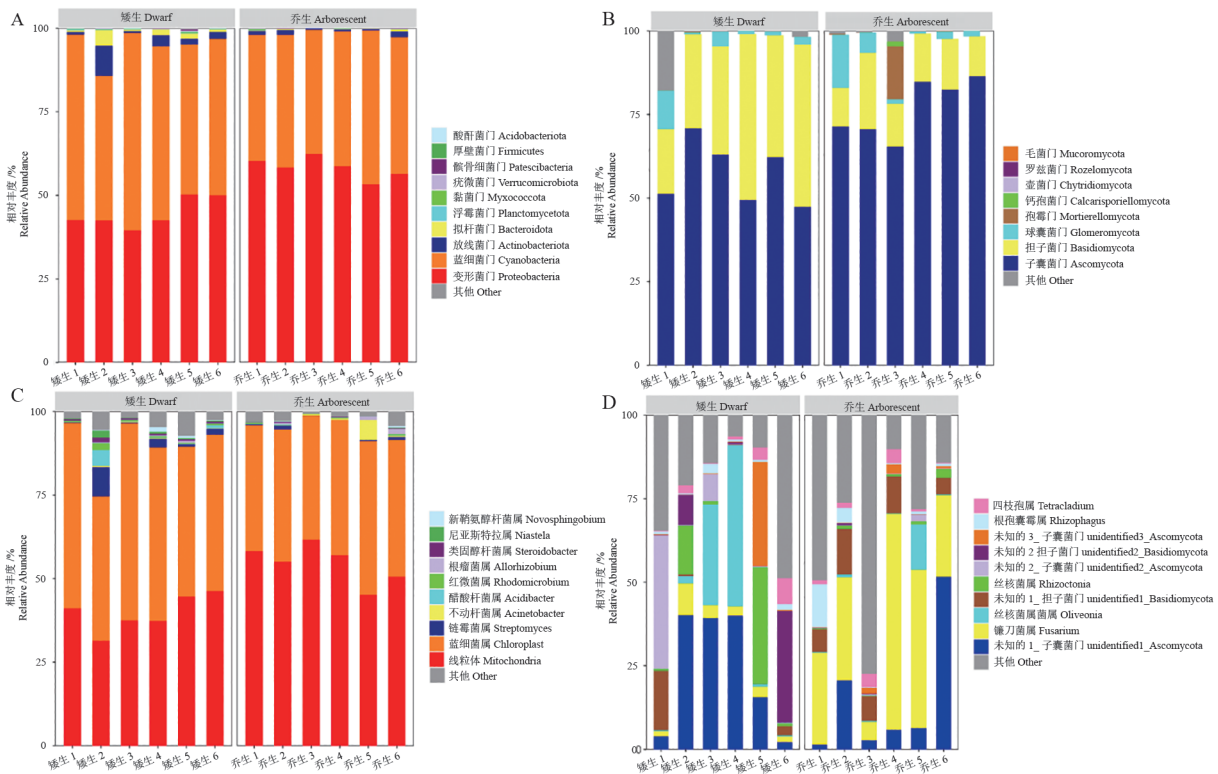


图 3 根系内生微生物物种组成

Fig. 3 Species composition of root endophytic microorganisms

注:梨树杂种群体根系内生细菌在门水平(A)和属水平(C)的相对丰度;内生真菌在门水平(B)和属水平(D)的相对丰度。

Note: Relative abundance of endophytic bacteria at the phylum level (A) and genus level (C); and endophytic fungi at the phylum level (B) and genus level (D) in the root system of a hybrid population of pear trees.

2.6 根系内生细菌及内生真菌共现网络

对于内生细菌网络,矮生树群体的节点数、边数、平均度、模块化程度均比乔生树群体高,这表明矮生树群体根系内生细菌网络是一个高度结构化、强相关、复杂的网络。并且从矮生树群体(1.06)到乔生树群体(4.12),正、负连接边的比值升高,表明矮生树群体根系内微生物群落的竞争连接更强。而内生真菌网络,矮生树群体的节点数、边数、平均度等比乔生树群体高,这表明矮生树群体根系内生真菌网络比乔生树群体更为复杂。矮生树群体内生细菌网络模块化(6.251)显著高于乔生树群体(0.77),而矮生树群体内生真菌网络模块化程度(1.99)比乔生树群体内生真菌网络的模块化程度(3.233)低,这表明内生细菌群落在矮生树群体根系中具有高度的模块化结构,而内生真菌群落则在乔生树群体根系中更具模块化特征(图 5A、B)。

3 讨论

检测植物内生细菌时,测序的引物选择尤为重要,因为植物的线粒体 16S rRNA、叶绿体 16S rRNA 与细菌的 16S rRNA 在全长上表现出较高的序列同源性,并且保守区具有更高的序列同源性,在从植物样本中提取细菌 DNA 时,植物 DNA 可能会被共提取^[34]。本研究采用了微生物组研究中最常用的引物 515f/909r 扩增内生细菌的 V4V5-7 区段,我们通过微生物群落物种组成分析发现,在属水平上注释到较高丰度的线粒体(Mitochondria),说明使用这对引物扩增在一定程度上受到植物源 DNA 的干扰。有研究表明,采用引物 799f/1193r 扩增可以降低检测植物内生细菌时来源于植物的干扰^[35],但部分细菌(例如鞘氨醇单孢菌科等)的丰度检测会存在较大偏差^[36]。

在我们的研究中根系内生细菌群落分为 25 个门,以变形菌门和蓝细菌门为主;内生真菌

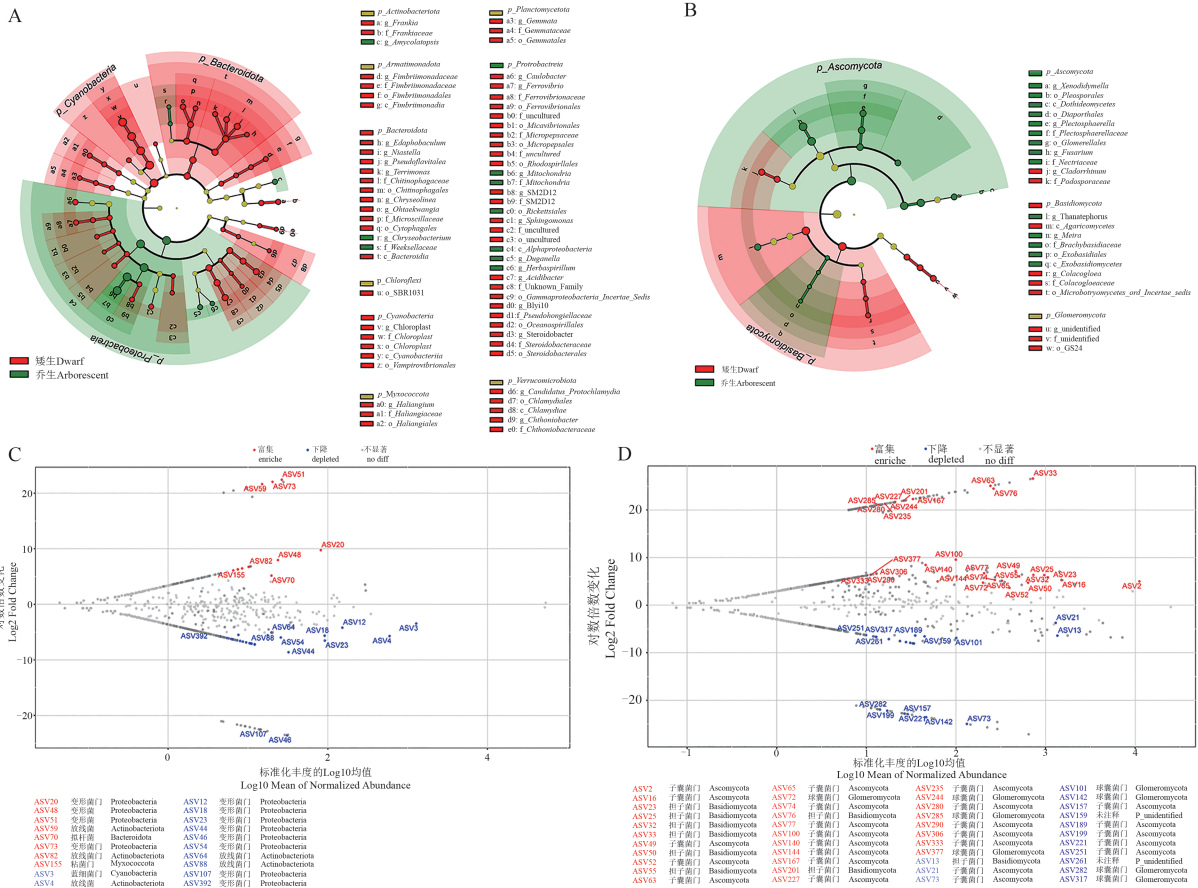


图 4 差异物种分析

Fig. 4 Analysis of differential species

注:梨树矮生树群体与乔生树群体通过LefSe差异分析筛选内生细菌群落(A)和内生真菌群落(B)中的差异类群,红色为在矮生树群体中显著富集微生物,绿色为在乔生树群体中显著富集微生物;通过DESeq2差异分析,筛选出根系内生细菌群落(C)和内生真菌群落(D)在ASV水平上的差异类群。

Note: Differential taxa in the endophytic bacterial community (A) and endophytic fungal community (B) were screened by LefSe difference analysis between the dwarf and arborescent populations of pear trees, with microorganisms significantly enriched in the dwarf population in red, and those significantly enriched in the arborescent population in green; root endophytic bacterial community (C) and endophytic fungal community (D) were screened for differential taxa at the ASV level by DESeq2 analysis of variance.

群落分为9个门,以子囊菌门和担子菌门为主。在内生细菌群落中,富集到了25个差异属,在矮生树群体中主要富集了拟杆菌门(Bacteroidota)、蓝细菌门(Cyanobacteria)等类群的细菌。蓝细菌是广泛传播的具有光合作用能力的革兰氏阴性细菌,在氮循环中发挥重要作用,对许多植物的健康和生长至关重要[37],而且蓝细菌是一种环境友好的生物肥料来源[38]。固氮蓝细菌能够与多种植物形成共生关系,如小麦和马铃薯[37, 39]。有研究表明与叶片相关的重氮营养型细菌群落主要属于蓝细菌,蓝细菌可以为雨林生态系统提供重要的氮输入[40]。在互花米草(Spartina alterniflora)的根平面细菌群落以及

挪威云杉的树皮、茎、针和根组织中也发现了蓝细菌[41]。蓝细菌在梨中的功能作用有待进一步研究。在内生真菌群落中,富集到了8个差异属,在矮生树群体中主要富集了子囊菌门(Ascomycota)等类群的真菌,在乔生树群体中主要富集了担子菌门(Basidiomycota)等类群的真菌。内生真菌群落在杂种梨树群体中富集的差异种类在数量上远远小于细菌群落,并且由于真菌物种注释信息库的不完善,在属水平上无法确认多数真菌的物种信息,对于内生真菌群落的研究仍然可以深入挖掘。

杂种实生后代群体株高表型的分化受到多种因素影响,包括遗传背景、栽培管理、环境胁迫

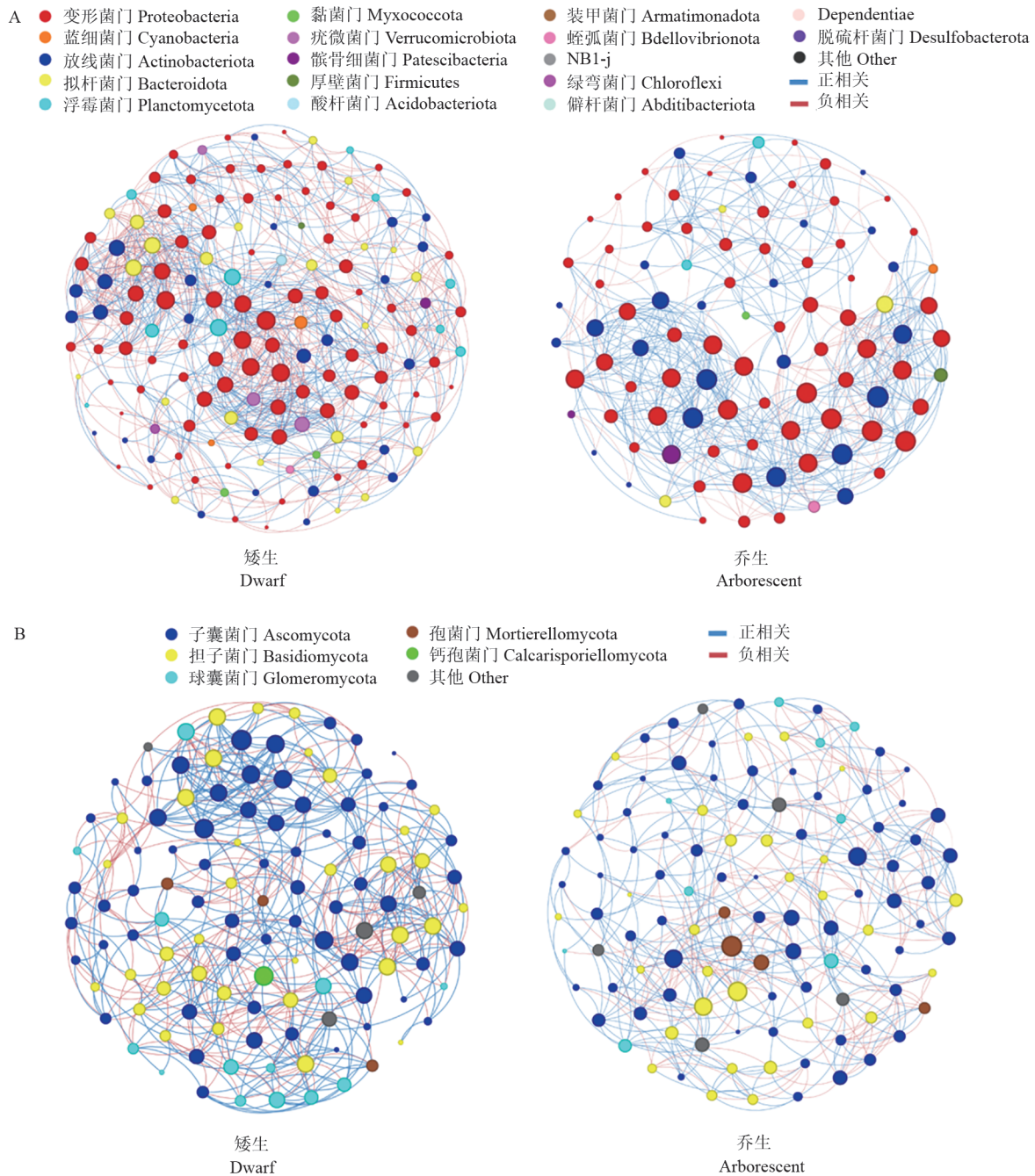


图 5 根系内生微生物群落共现网络

Fig. 5 Co-occurrence network of root endophytic microbial communities

注:(A)为矮生杂种群体和乔生杂种群体根系内生细菌在门水平上的共现网络,(B)为矮生杂种群体和乔生杂种群体根系内生真菌在门水平上的共现网络。

Note: (A) Co-occurrence network of root endophytic bacteria at the phylum level for the dwarf hybrid and arborescent hybrid populations, and (B) co-occurrence network of root endophytic fungi at the phylum level for the dwarf hybrid and arborescent hybrid populations.

等。试验样本均在同一果园进行相同的肥水管理,我们认为基因型的差异是株高表型分化的关键因素。有关矮生西洋梨的研究表明,矮生性状是一个受显性基因控制的质量性状,并将该基因

定名为 *PcDw*^[42]。最近有研究表明,GA2ox 家族基因在梨的矮生中发挥重要作用^[43]。由于矮生与乔生表型的分化,间接影响了根系对于微生物的招募^[44]。我们在研究中发现矮生梨树群体根

系内生细菌群落和真菌群落相较于乔生梨树群体更为复杂,并且我们在对于差异 ASV 的分析中发现在矮生梨树群体根系内生细菌群落中的富集了具有潜在促生功能的细菌,例如鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)^[45-47]、柄杆菌属 (*Caulobacter*)^[48]、丰祐菌属 (*Opiritatus*)^[49]。在根系内生真菌群落中我们也观察到一些具有能够加强植物防御、增强植物生长类似潜在功能的真菌,例如梨形孢属 (*Serendipita*)^[50]在乔生梨树群体根系内富集。土壤是植物内生微生物群落的最重要贡献者,贡献了超过三分之二的细菌和真菌多样性,土壤微生物群首先聚集在植物根际,在特异性选择下被吸收到根系中^[51]。矮生树样本根周土壤的 pH、碱解氮、有效钾与乔生树样本存在明显差异(表 1),土壤理化性质的差异会影响根周土壤和根际的微生物群落组成,从而影响定殖于根系的微生物类群,同时根系募集的内生微生物与根际微生物也会影响根周的土壤理化性质^[52,53]。我们推测在根系内生微生物群落形成过程中,矮生群体和乔生群体对于内生微生物的招募存在选择偏好,对于矮生梨树群体来说,偏向招募具有促生功能的细菌在根内定殖,通过细菌分泌的生长素、赤霉素等植物激素来促进根系生长和提早结束童期;对于乔生梨树群体而言,则偏向招募具有增加树体防御和分泌抗生素等功能的细菌和真菌。通过高通量测序技术可以观测到矮生梨树群体和乔生梨树群体在招募微生物上的差异,但这些具有潜在促生功能的微生物是否在根内发挥相应的功能,仍然需要通过分离鉴定进行验证。

4 结论

梨树矮生与乔生杂种群体分别塑造了其各自独特的细菌与真菌微生物群落,矮生梨树群体根系内生细菌群落与树体高度、树干周长和直径呈显著相关,而乔生梨树群体在两者间则没有呈显著相关。矮生树群体主要富集了拟杆菌门、蓝细菌门等类群的细菌,乔生树群体主要富集了变形菌门等类群的细菌;矮生树群体主要富集了子囊菌门等类群的真菌,乔生树群体主要富集了担子菌门等类群的真菌。矮生树群体根系内生细菌、真菌的共现网络比乔生树群体更为复杂。

致谢:感谢山东农业大学生命科学学院高峰教授、史文宪副教授对本研究的实验设计和分析方法提供指导与帮助。

参考文献

- [1] 冀明辉,李龙飞,高丽娟,等.梨砧木研究进展[J].河北农业科学,2022,26(01):76-80+97.
- [2] Xiao Y, Sha G, Wang D, et al. PbXND1 results in a xylem-deficient dwarf phenotype through interaction with PbTCP4 in pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23 (15):8699.
- [3] 叶宇.梨矮化砧木自根苗繁育技术优化[D].北京:中国农业科学院,2023.
- [4] Michalczuk L. Indole-3-acetic acid level in wood, bark and cambial sap of apple rootstocks differing in growth vigour[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2002, 24(2):131-136.
- [5] Ma Y, Xue H, Zhang L, et al. Involvement of auxin and brassinosteroid in dwarfism of autotetraploid apple (*Malus × domestica*) [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 26719.
- [6] Foster T M, Mcatee P A, Waite C N, et al. Apple dwarfing rootstocks exhibit an imbalance in carbohydrate allocation and reduced cell growth and metabolism[J]. Horticulture Research, 2017, 4:17009.
- [7] Zheng X, Zhao Y, Shan D, et al. MdWRKY9 overexpression confers intensive dwarfing in the M26 rootstock of apple by directly inhibiting brassinosteroid synthetase MdDWF4 expression[J]. New Phytologist, 2018, 217(3):1086-1098.
- [8] Song C, Zhang D, Zhang J, et al. Expression analysis of key auxin synthesis, transport, and metabolism genes in different young dwarfing apple trees[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(2):43.
- [9] Gan Z, Wang Y, Wu T, et al. MdPIN1b encodes a putative auxin efflux carrier and has different expression patterns in BC and M9 apple rootstocks [J]. Plant Molecular Biology, 2018, 96(4):353-365.
- [10] Li H L, Zhang H, Yu C, et al. Possible roles of auxin and zeatin for initiating the dwarfing effect of M9 used as apple rootstock or interstock[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(1):235-244.
- [11] Zheng X, Zhang H, Xiao Y, et al. Deletion in the promoter of PcPIN-L affects the polar auxin transport in dwarf pear (*Pyrus communis* L.) [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):18645.

- [12] Kavamura V N, Robinson R J, Hughes D, et al. Wheat dwarfing influences selection of the rhizosphere microbiome[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):1452.
- [13] Nair D N, Padmavathy S. Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans [J]. *The Scientific World Journal*, 2014, 22:250693.
- [14] Kumala S, Siswanto E B. Isolation and screening of endophytic microbes from morinda citrifolia and their ability to produce anti-microbial substances[J]. *Microbiology Indonesia*, 2007, 1:9-9.
- [15] Porras-Alfaro A, Bayman P. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49:291-315.
- [16] Turner T R, James E K, Poole P S. The plant microbiome[J]. *Genome Biology* 2013, 14:209.
- [17] Vandenkoornhuysen P, Quaiser A, Duhamel M, et al. The importance of the microbiome of the plant holobiont[J]. *New Phytologist*, 2015, 206(4): 1196-1206.
- [18] Berg G, Rybakova D, Grube M, et al. The plant microbiome explored: implications for experimental botany[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(4):995-1002.
- [19] Muller D B, Vogel C, Bai Y, et al. The plant microbiota: systems-level Insights and Perspectives[J]. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50:211-234.
- [20] Carvalho T L, Ballesteros H G, Thiebaut F, et al. Nice to meet you: genetic, epigenetic and metabolic controls of plant perception of beneficial associative and endophytic diazotrophic bacteria in non-leguminous plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6):561-574.
- [21] Kovalchuk A, Mukrimin M, Zeng Z, et al. Mycobiome analysis of asymptomatic and symptomatic Norway spruce trees naturally infected by the conifer pathogens *Heterobasidion* spp[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2018, 10(5):532-541.
- [22] Xu J, Ebada S S, Proksch P. Pestalotiopsis a highly creative genus: chemistry and bioactivity of secondary metabolites[J]. *Fungal Diversity*, 2010, 44(1):15-31.
- [23] Tejesvi M V, Kajula M, Mattila S, et al. Bioactivity and genetic diversity of endophytic fungi in *Rhododendron tomentosum* Harmaja[J]. *Fungal Diversity*, 2011, 47(1): 97-107.
- [24] Chen L, Zhang Q Y, Jia M, et al. Endophytic fungi with antitumor activities: Their occurrence and anticancer compounds[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2016, 42(3):454-473.
- [25] Saikkonen K, Saari S, Helander M. Defensive mutualism between plants and endophytic fungi?[J]. *Fungal Diversity*, 2010, 41(1):101-113.
- [26] Yuan Y, Feng H, Wang L, et al. Potential of endophytic fungi isolated from cotton roots for biological control against verticillium wilt disease[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1):e0170557.
- [27] Purahong W, Hyde K D. Effects of fungal endophytes on grass and non-grass litter decomposition rates[J]. *Fungal Diversity*, 2010, 47(1):1-7.
- [28] Vepstaite-Monstavičė I, Lukša J, Stanevičienė R, et al. Distribution of apple and blackcurrant microbiota in Lithuania and the Czech Republic[J]. *Microbiological Research*, 2018, 206:1-8.
- [29] Giordano L, Gonthier P, Varese G C, et al. Mycobiota inhabiting sapwood of healthy and declining Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees in the Alps[J]. *Fungal Diversity*, 2009, 38:69-83.
- [30] Hortov Á B, Novotný D. Endophytic fungi in branches of sour cherry trees: a preliminary study[J]. *Czech Mycology*, 2011, 63(1):77-82.
- [31] Liu J, Abdelfattah A, Norelli J, et al. Apple endophytic microbiota of different rootstock/scion combinations suggests a genotype-specific influence[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1):18.
- [32] Liaqat F, Eltem R. Identification and characterization of endophytic bacteria isolated from in vitro cultures of peach and pear rootstocks[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(2):120.
- [33] Bolyen E, Rideout J R, Dillon M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(8):852-857.
- [34] Dyall S D, Brown M T, Johnson P J. Ancient invasions: from endosymbionts to organelles[J]. *Science*, 2004, 304(5668):253-257.
- [35] Wang F, Men X, Zhang G, et al. Assessment of 16S rRNA gene primers for studying bacterial community structure and function of aging flue-cured tobaccos [J]. *AMB Express*, 2018, 8(1):182.
- [36] He J, Zhou T, Shen X, et al. Primer selection impacts the evaluation of microecological patterns in environmental microbiomes[J]. *iMeta*, 2023, 2(4):e135.
- [37] Ringelberg D, Foley K, Reynolds C M. Bacterial endophyte communities of two wheatgrass varieties following propagation in different growing media[J].

- Canadian Journal of Microbiology,2012,58(1):67-80.
- [38] Singh J S, Kumar A, Rai A N, et al. Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016,7:529.
- [39] Gantar M, Rowell P, Kerby N W, et al. Role of extracellular polysaccharide in the colonization of wheat (*Triticum vulgare* L.) roots by N-fixing cyanobacteria[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995,19:41-48.
- [40] Furnkranz M, Wanek W, Richter A, et al. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica[J]. *The ISME Journal* 2008,2(5):561-570.
- [41] Hong Y, Liao D, Hu A, et al. Diversity of endophytic and rhizoplane bacterial communities associated with exotic *Spartina alterniflora* and native mangrove using Illumina amplicon sequencing[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2015,61(10):723-733.
- [42] Wang C, Tian Y, Buck E J, et al. Genetic mapping of PcDw determining pear dwarf trait[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science J Amer Soc Hort Sci*, 2011,136(1):48-53.
- [43] 吝茹雪,王 斐,张艳杰,等. 梨矮生相关基因转录组筛选与功能分析[J]. *园艺学报*, 2025,52(03):545-560.
- [44] Kavamura V N, Robinson R J, Hughes D, et al. Wheat dwarfing influences selection of the rhizosphere microbiome[J]. *Scientific Reports*, 2020,10(1):1452.
- [45] Khan A L, Waqas M, Kang S M, et al. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(8): 689-695.
- [46] Luo Y, Wang F, Huang Y, et al. *Sphingomonas* sp. Cra20 increases plant growth rate and alters rhizosphere microbial community structure of *Arabidopsis thaliana* under drought stress[J]. *Front Microbiol*, 2019,10:1221.
- [47] Yang S, Zhang X, Cao Z, et al. Growth-promoting *Sphingomonas paucimobilis* ZJSH1 associated with *Dendrobium officinale* through phytohormone production and nitrogen fixation[J]. *Microb Biotechnol*, 2014, 7(6):611-620.
- [48] Kalam S, Basu A, Ahmad I, et al. Recent understanding of soil acidobacteria and their ecological significance: A critical review[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 580024.
- [49] Bünger W, Jiang X, Müller J, et al. Novel cultivated endophytic Verrucomicrobia reveal deep-rooting traits of bacteria to associate with plants[J]. *Scientific Reports*, 2020,10(1):8692.
- [50] Ray P, Guo Y, Chi M H, et al. Serendipita fungi modulate the switchgrass root transcriptome to circumvent host defenses and establish a symbiotic relationship[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2021,34(10):1128-1142.
- [51] Banerjee S, Van Der Heijden M G A. Soil microbiomes and one health[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2023,21(1):6-20.
- [52] Chai X, Wang X, Pi Y, et al. Nitrate transporter MdNRT2.4 interacts with rhizosphere bacteria to enhance nitrate uptake in apple rootstocks[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022,73(18):6490-6504.
- [53] Liu Q, Cheng L, Nian H, et al. Linking plant functional genes to rhizosphere microbes: a review[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023,21(5):902-917.