

夹竹桃丛枝部位内生菌群落结构与功能预测分析

王圣洁 王胜坤 吕子豪 孙战 周鹏 马海宾*

(中国林业科学研究院热带林业研究所 热带林业研究国家林业和草原局重点实验室, 广东 广州 510520)

摘要: 夹竹桃丛枝病 (*Nerium indicum* witches' broom disease) 是夹竹桃 *Nerium indicum* Mill. 的一种常见病害。为探究病原体对丛枝部位内生微生物群落结构、多样性和功能的影响, 以广东省广州市、东莞市和韶关市的夹竹桃为研究对象, 采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析健康样品和丛枝病样品韧皮部的内生微生物群落结构及多样性, 并预测其功能。结果表明: 相较于健康样品, 丛枝病样品韧皮部内生细菌的多样性和丰富度显著增加; 内生真菌的丰富度增加, 但多样性差异不显著。在健康样品韧皮部中, 优势的内生细菌为假单胞菌属 *Pseudomonas*, 而在丛枝病样品中, 甲基杆菌属 *Methylobacterium*、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* 和伯克霍尔德氏菌科 *Burkholderiaceae* 的内生细菌显著富集; 在丛枝病样品中, 弱寄生性病原真菌和腐生真菌在病害发生部位显著富集。研究结果为揭示夹竹桃丛枝病发生过程中内生微生物与病原的互作, 利用内生有益微生物开展精准防控提供了理论基础。

关键词: 夹竹桃; 丛枝病; 高通量测序; 群落结构; 多样性

中图分类号: S792.99; Q939.5 文献标识码: A 文章编号: 2097-5279(2026)01-0065-10

Diversity and functional analysis of endophytic microbial communities in witches' broom branches of *Nerium indicum*

Wang Shengjie Wang Shengkun Lyu Zihao Sun Zhan Zhou Peng Ma Haibin*

(Key Laboratory of State Forestry and Prairie Administration on Tropical Forestry Research, Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China)

Abstract: *Nerium indicum* witches' broom disease is a common disease of *Nerium indicum*. This study aims to investigate the impact of pathogenic on the endophytic microbial communities in the infected regions. Branches of *N. indicum* collected from Dongguan, Guangzhou, and Shaoguan in Guangdong Province were used in this study. Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was employed to analyze the composition and diversity of endophytic microbial communities in the phloem tissue of healthy samples and witches' broom-affected samples, and to predict their community functions. The results showed that, compared to healthy samples, the diversity and richness of endophytic bacteria increased significantly in the diseased samples, whereas the richness of endophytic fungi increased without a significant change in diversity. In the phloem of healthy samples, the dominant endophytic bacteria were *Pseudomonas*, whereas in diseased samples, *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, and *Burkholderiaceae* were significantly enriched. Additionally, in the diseased samples, weakly parasitic pathogenic fungi and saprophytic fungi showed a significant increase as the disease progressed. This work offers fundamental data for elucidating the interactions between pathogens and microorganisms during the development of witches' broom disease, and for developing precise control strategies utilizing beneficial endophytic microorganisms.

Keywords: *Nerium indicum*; witches' broom disease; high-throughput sequencing; community structure; diversity

夹竹桃为常绿直立大灌木。野生于伊朗、印度、尼泊尔等地, 现广植于全球热带地区。因其具有花大、艳丽、开花周期长、观赏效果佳等特点, 常在公园、风景区、道路旁或河、湖周围栽培。

丛枝病 (witches' broom disease) 是植物因病原物、病原体分泌物或激素刺激引发的形态异常现象, 属于植物病害中的畸形症状, 主要表现为隐芽大量萌发、节间缩短、枝叶细小并呈簇生帚状结构。其致

收稿日期: 2025-08-19; 修回日期: 2025-10-14。

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2019SY021); 林草科技创新发展与研究项目 (2025132055)。

* 通信作者: 马海宾 (E-mail: mahb@caf.ac.cn), 研究员。

引文格式: 王圣洁, 王胜坤, 吕子豪, 等. 2026. 夹竹桃丛枝部位内生菌群落结构与功能预测分析[J]. 树木医学, 3(1): 65-74.

Wang S J, Wang S K, Lv Z H, et al. 2026. Diversity and functional analysis of endophytic microbial communities in witches' broom branches of *Nerium indicum*[J]. Tree Health, 3(1): 65-74.

病病原包括植原体(曾称类菌原体)、真菌及病毒等,可通过昆虫媒介、嫁接或种子带毒传播,常导致花器变态或枝条枯死,严重时引发植株死亡(叶建仁和田呈明, 2024)。如常见的毛泡桐 *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud. 丛枝病、酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H.F.Chow 疯病等是由植原体引起的一类病害(黄静等, 2023; 徐启聪等, 2009); 苦竹 *Pleioblastus amarus* (Keng) P. C. Keng 丛枝病、可可 *Theobroma cacao* L. 丛枝病则是由真菌引起的一类病害(耿显胜等, 2020)。此外由蛀梢害虫引起的丛枝现象偶尔也会出现, 如松梢小卷蛾 *Rhyacionia pinicolana* (Doubleday) 引起华山松 *Pinus armandi* Franch. 局部丛枝等。这种丛枝的原理是蛀梢害虫蛀入主枝嫩梢后, 造成嫩梢枯顶, 迫使侧梢萌发, 而后害虫又蛀入侧梢内, 造成侧枝枯顶。经害虫反复危害又萌发之后, 将形成少量局部性丛枝(伍晓蕾等, 2003)。

夹竹桃丛枝病最初由刘仲健等(1984)对发生在广州地区的夹竹桃丛枝病进行了描述, 其典型症状为: 发病初期, 主梢生长停滞, 腋芽或侧枝大量萌发; 继而节间缩短、变粗, 在肿大的枝条基部抽出大量粗而短的丛生枝条, 形成典型的丛枝状。新长出的侧枝基部呈现肿大, 淡红色, 叶片变小黄化。枝干有肿瘤物, 皮层腐烂条状脱落, 呈溃疡状态; 部分枝条皱缩弯曲, 切开带病枝条可见水渍状的暗斑, 纤维束变黑、乳汁减少, 开花数量变少或不开花。症状出现通常是由顶梢或个别侧枝开始, 逐渐向各部位扩展。病害逐年加重, 导致植株生命力衰退, 生长受影响, 最后全株出现成丛枯枝, 严重的整枝枯死(图1)。

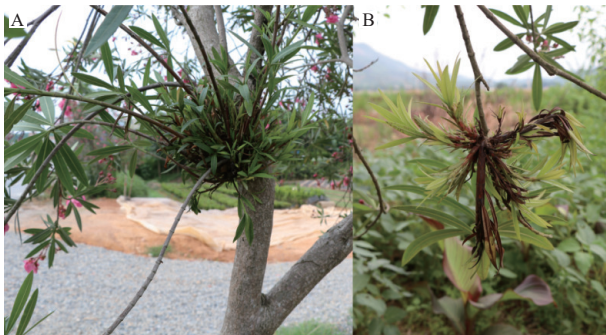


图1 夹竹桃丛枝病症状

Fig. 1 Symptoms of *Nerium indicum* witches' broom disease

根据笔者调查, 夹竹桃丛枝病在广东省不同地级市发病情况差异较大, 其中危害程度最严重的地区为韶关市翁源县, 发病率为 80.56%, 病情指数为 44.33; 其次为东莞市西南部, 发病率为 48.08%, 病情指数为 41.35; 广州市增城区的发病率为 33.33%, 病情

指数为 71.67。其他地区的发病情况都相对较轻, 夹竹桃丛枝病属于零星散发。经过进一步对不同地区的夹竹桃丛枝病致病菌的分离与验证, 认为葡萄座腔菌科真菌 *Cophinforma mamane* 菌株是夹竹桃丛枝的致病菌(Wang and Song, 2022)。

目前关于夹竹桃丛枝病的研究相对较少, 现有研究主要聚焦于病原体鉴定和致病机制解析, 而致病菌对丛枝部位内生微生物组成、多样性及群落功能的影响鲜有报道。通过分析病灶部位内生菌群的结构异质性, 可深入揭示病原侵染对宿主内生菌微生态的重塑效应, 发现具有生物防治潜力的关键菌群, 这对准确理解病原菌的致病机制, 有针对性制定病害防治策略具有一定的指导意义。因此, 本研究以广东省 3 个地级市夹竹桃丛枝病为研究对象, 通过高通量测序技术对比分析病健植株韧皮部内生菌群落结构与多样性, 旨在为夹竹桃丛枝病防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 样品采集与预处理

在广东省东莞市茶山镇(样品编号: NOW_DG)、广州市增城区(样品编号: NOW_GZ)和韶关市翁源县(样品编号: NOW_SG), 使用经灭菌处理的工具分别采集道路景观林带中夹竹桃丛枝病样品和健康对照样品(样品编号: NOH)各 3 份, 共 12 份。将采集样品的韧皮部作为试验样品, 对试验样品进行表面灭菌, 先用无菌水洗涤样品 30 s 后在 75% 乙醇中浸泡 2 min, 再用 2.5% NaClO 溶液浸泡 2 min 后转移至 75% 无菌乙醇中浸泡 30 s, 最后用无菌水冲洗 3 次。将表面无菌化的样品置于无菌 2 mL 离心管中, 放入冰盒保存并带回实验室。部分用于致病菌分离, 部分置于 -80 °C 冷冻保存。

1.2 样品总 DNA 提取, PCR 扩增及测序

根据 E.Z.N.A.[®] soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行微生物群落总基因组 DNA 抽提, 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的质量, 使用 NanoDrop2000(美国赛默飞公司)测定 DNA 浓度和纯度。

样品细菌 16S rDNA 的扩增区域为 16SV5-V7 区, 真菌 ITS rDNA 扩增区域为 ITS1-2 区, 分别使用细菌 16S rDNA 基因通用引物 799F(5' -AACMGGATTAGAT ACCCKG-3')-1193R(5' -ACGTCATCCCCACCTTCC-3')和真菌 ITS rDNA 通用引物 ITS1F(5' -CTTGGTC ATTTAGAGGAAGTAA-3')-ITS2R(5' -GCTGCGTT CTTCATCGATGC-3')进行 PCR 扩增。799F-1193R

引物 PCR 采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA 聚合酶, 反应体系 (20 μ L): 5 \times FastPfu Buffer 4 μ L、dNTPs (0.0025 mol/L) 2 μ L、上游和下游引物 (5 μ mol/L) 各 0.8 μ L、FastPfu 聚合酶 0.4 μ L、BSA 0.2 μ L、Template DNA 10 ng, 去离子水补足 20 μ L。ITS1F-ITS2R 引物 PCR 采用 TaKaRa Taq DNA 聚合酶, 反应体系 (20 μ L): 10 \times Buffer 2 μ L、dNTPs (0.0025 mol/L) 2 μ L、上游和下游引物 (5 μ mol/L) 各 0.8 μ L、rTaq 聚合酶 0.2 μ L、BSA 0.2 μ L、Template DNA 10 ng、去离子水补足 20 μ L。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 仪: ABI GeneAmp[®] 9700 型。使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒 (中国逾华) 进行回收产物纯化, 并用 Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) 对回收产物进行检测定量。

使用快速 DNA 测序试剂盒 (NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit) 对纯化后的 PCR 产物进行建库: 1) 接头连接; 2) 使用磁珠筛选去除接头自连片段; 3) 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; 4) 磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。利用 Illumina Nextseq2000 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.3 数据分析

使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.19.6) 软件对双端原始测序序列进行质控, 使用 FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.11) 软件进行拼接: 1) 过滤 reads 尾部质量值 20 以下的碱基, 设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后 50 bp 以下的 reads, 去除含 N 碱基的 reads; 2) 根据 PE reads 之间的 overlap 关系, 将对 reads 拼接 (merge) 成一条序列, 最小 overlap 长度为 10 bp; 3) 拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2, 筛选不符合序列; 4) 根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品, 并调整序列方向, barcode 允许的错配数为 0, 最大引物错配数为 2。使用 UPARSE v7.1 软件 (<http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对质控拼接后的序列进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU)

聚类并剔除嵌合体, 去除所有样品中注释到叶绿体和线粒体的序列。为了尽量减少测序深度对后续 Alpha 多样性和 Beta 多样性数据分析的影响, 将所有样本序列数抽平至 20 000, 抽平后, 每个样本的平均序列覆盖度 (Good's coverage) 仍可达 99.09%。利用 RDP classifier (http://rdp.cme.msu.edu/version_2.11) 比对 Silva 16S rRNA 基因数据库 (v138) 进行 OTU 物种分类学注释, 置信度阈值为 70%, 并在不同物种分类水平下统计每个样本的群落组成。使用 PICRUSt2 (version 2.2.0) 软件进行 16S 功能预测分析, 使用 FUNGuild 数据库进行真菌功能预测分析。

所有的数据分析均在美吉生物的桑格信息云平台 (<https://cloud.majorbio.com>) 上进行, 具体如下: 采用 mothur 软件 (<http://www.mothur.org/wiki/Calculators>) 计算 Alpha 多样性指数中的 Chao 1、Shannon 指数等, 并采用 Wilcoxon 秩和检验进行 Alpha 多样性的组间差异分析; 使用基于 bray-curtis 距离算法的 PCoA 分析 (主坐标分析) 检验样本间微生物群落结构的相似性, 并结合 PERMANOVA 非参数检验分析样本组间微生物群落结构差异是否显著; 用线性判断效应量分析 (Linear discriminant analysis Effect Size (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/LEfSe>)) (LDA > 2, $P < 0.05$) 确定不同组间从门到属水平丰度有显著差异的微生物类群。

2 结果与分析

2.1 微生物宏基因组测序的质控及组装信息

通过 Illumina 测序平台获得宏基因组的原始序列数据, 经过质量控制和去宿主序列处理后, 共获得 300 622 和 890 786 条 16S/ITS rDNA 基因序列, 所有样品的平均长度分别为 376 bp 和 240 bp。每个样品获得的细菌 16S rDNA 序列数量从 10 609 到 46 100 不等, 每个样品获得的真菌 ITS rDNA 序列数量从 46 815 到 74 674 不等。基于 97% 的序列相似性进行聚类分析, 从所有样品中共获得 1 180 个细菌 OTU, 共注释到 32 门、78 纲、188 目、315 科、580 属; 获得 1 027 个真菌 OTU, 共注释到 5 门、29 纲、75 目、177 科、322 属 (表 1)。

2.2 内生微生物群落组成

利用夹竹桃健康样品和丛枝病样品内生微生物宏

表 1 宏基因组测序的质控及组装信息

Tab. 1 Overview of metagenomics sequencing quality control and assembly information

检测项目 Test items	有效序列/条 Reads num	OTU数目/个 OTU num	基于核糖体数据库的分类 Classification of Ribosomal Database Project				
			门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus
细菌 Bacteria	300 622	1 180	32	78	188	315	580
真菌 Fungus	890 786	1 027	5	29	75	177	322

基因组数据构建群落结构柱状图,结果显示在属水平上(图2),排名前5位的内生细菌依次为假单胞菌属 *Pseudomonas*、甲基杆菌属 *Methylobacterium*、罗尔斯通氏菌属 *Ralstonia*、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* 和放线链孢菌 *Actinomyces*。健康样品中假单胞菌属丰度占比为 83.20%,而从枝病样品中平均占比

仅为 0.77%,相对丰度显著降低;健康样品中甲基杆菌属相对丰度占比为 0.13%,丛枝病样品中平均占比为 12.89%,甲基杆菌属在丛枝病样品中显著富集。在内生真菌方面, *Cophinforma* 属真菌在丛枝病样品中平均占比为 44.35%,而在健康样品中不存在,而该菌正是夹竹桃丛枝病的致病菌。

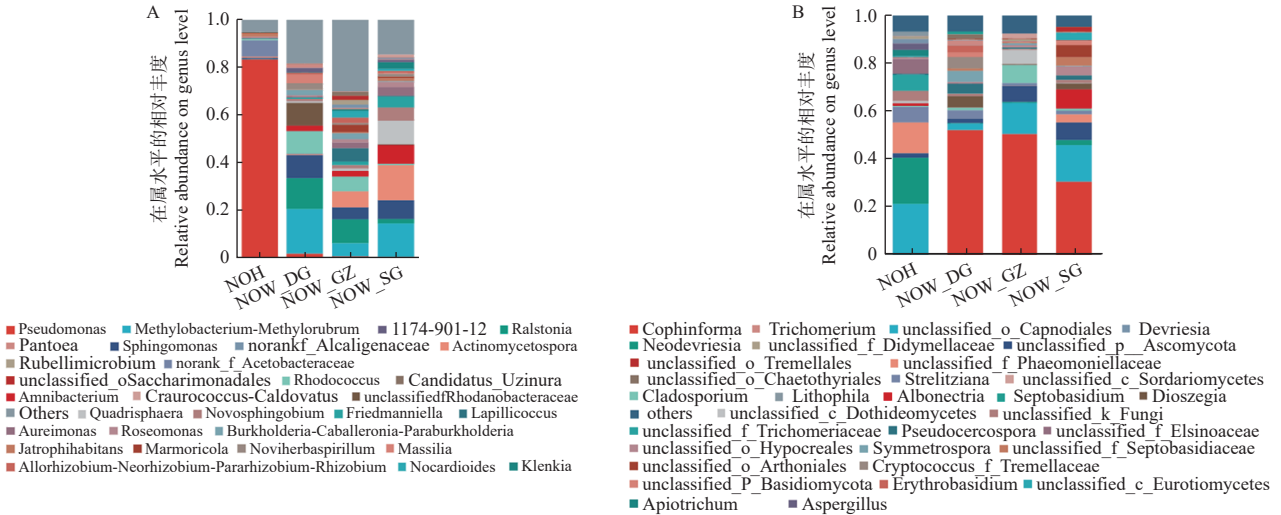


图2 内生微生物群落柱形分析
Fig. 2 Community bar-plot analysis of endogenous microbial

注: A. 细菌群落结构; B. 真菌群落结构。

Notes: A. Bacterial community; B. Fungal community.

通过 Venn 图分析可知,在属水平上(图3A),丛枝病样品中共同含有 48 种内生细菌,丰度占比排名前3的是新草螺菌属 *Noviherbaspirillum*、1174-901-12 和短小杆菌属 *Curtobacterium*;健康样品中特有 69 种内生细菌,丰度占比排名前5位的是解木聚糖温暖微菌属 *Tepidimicrobium*、芽孢杆菌属 *Bacillus*、嗜氢菌属 *Hydrogenophilus*、地芽孢杆菌属 *Geobacillus* 和中华芽

胞杆菌属 *Sinibacillus*。在属水平上(图3),丛枝病样品中共同含有 37 种内生真菌,其中葡萄座腔菌科真菌 *Cophinforma mamane*,占比最高为 89.25%;健康样品中特有 25 种内生真菌。

2.3 内生微生物群落多样性分析

内生细菌和真菌群落 α 多样性检测结果显示(图4),Chao1 指数和 Shannon 指数在健康样品和丛

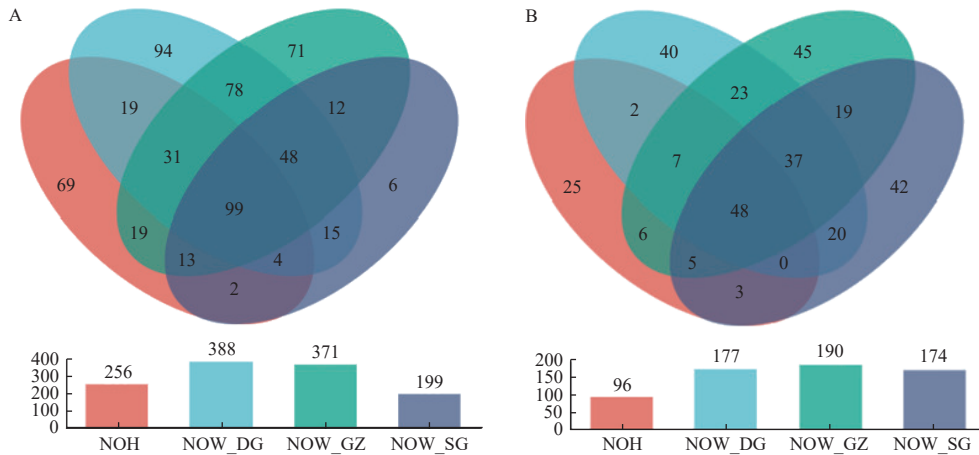


图3 细菌和真菌 Venn 图
Fig. 3 Venn diagram of bacterial and fungal

注: A. 细菌; B. 真菌。

Notes: A. Bacterial; B. Fungal.

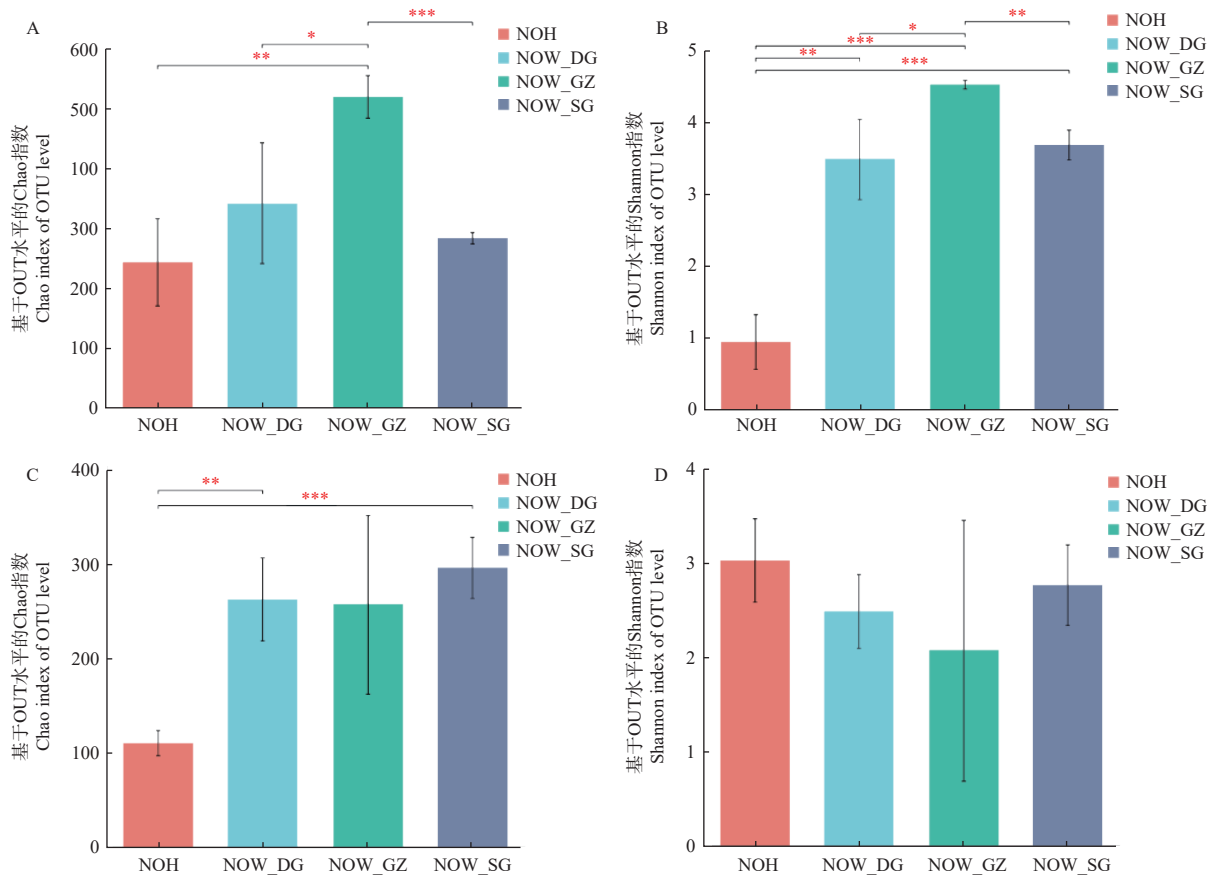


图4 群落中 OTU 的 Alpha 多样性指数

Fig. 4 Alpha diversity index of OTUs in the communities

注：A-B. 细菌群落；C-D. 真菌群落；*表示 $P < 0.05$ ；**表示 $P < 0.01$ ；***表示 $P < 0.001$ 。

Notes: A-B. Bacterial community; C-D. Fungal community; * indicates $P < 0.05$; ** indicates $P < 0.01$; *** indicates $P < 0.001$.

枝病样品之间存在显著差异。健康样品的 Chao1 指数和 Shannon 指数均显著低于丛枝病样品,说明健康样品韧皮部内生菌群落的丰富度和多样性较低,而丛枝病样品的内生菌群落更为复杂且物种多样性更高。具体表现为广州地区健康夹竹桃内生细菌 Chao1 指数极显著低于广州地区的丛枝病样品 ($P < 0.01$),说明健康样品与丛枝病样品的细菌群落丰富度差异较大;同样广州地区健康夹竹桃内生细菌 Shannon 指数极显著低于广州地区丛枝病样品 ($P < 0.01$),说明健康样品与丛枝病样品的细菌群落内多样性差异较大。广州地区健康夹竹桃韧皮部内生真菌 Chao1 指数比广州地区丛枝病样品低,说明健康夹竹桃内生真菌的群落丰富度低于丛枝病样品,健康样品与丛枝病样品的真菌群落丰富度差异较大;但内生真菌 Shannon 指数与 Chao1 指数表现相反,呈现出健康样品高于丛枝病样品的现象,但差异不显著 ($P > 0.05$)。

采用 PCoA 法对内生细菌和内生真菌群落进行主成分分析(图 5A、B),评估样品群落组成的相似性

或差异性。基于 bray-curtis 距离算法的 PCoA 分析结果显示,广州市、东莞市、韶关市丛枝病样品和广州地区健康样品分布在不同区域,表明丛枝病样品和健康样品间细菌和真菌群落组成和结构存在较大差异。细菌 PCoA 分析中,第一主坐标 PC1 与第二主坐标 PC2 的贡献率分别为 50.77% 和 17.41%,二者累积贡献率为 68.18%,这两个轴能够解释群落中大部分变异;真菌 PCoA 分析中,健康样品和丛枝病样品之间分布较远,差异显著,但不同地区丛枝病样品之间微生物群落结构相近,第一主坐标 PC1 与第二主坐标 PC2 的贡献率分别为 44.42% 和 23.92%,二者累计贡献率为 68.34%。总体而言,夹竹桃感染丛枝病后内生细菌和真菌群落结构均发生显著改变,说明病害可能导致特定微生物群落的重塑。

2.4 内生微生物主要差异物种分析

利用线性判断效应量分析(LEfSe)获得指示健康样品和丛枝病样品中具有统计学差异的微生物类群。在 $LDA > 2$ 下结果显示,共有 34 个细菌群落和 31 个真菌群落存在显著差异(图 6)。其中

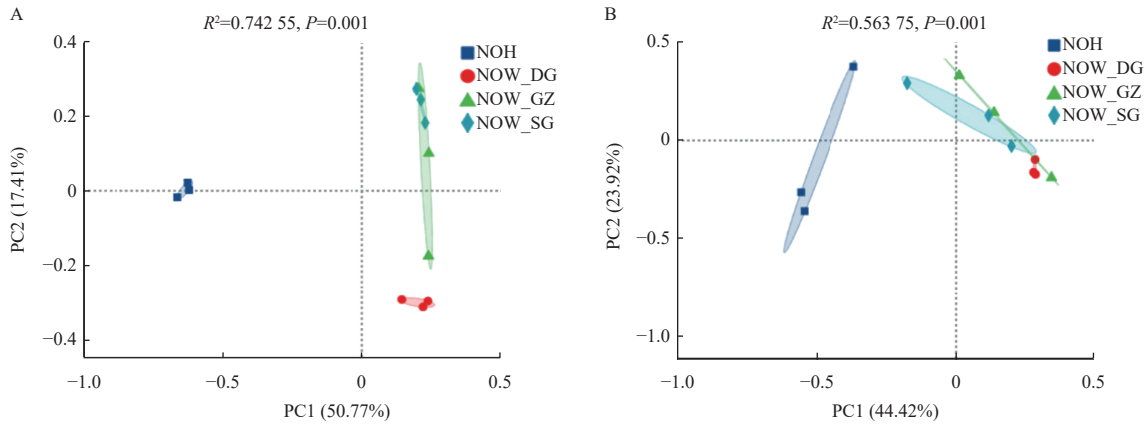
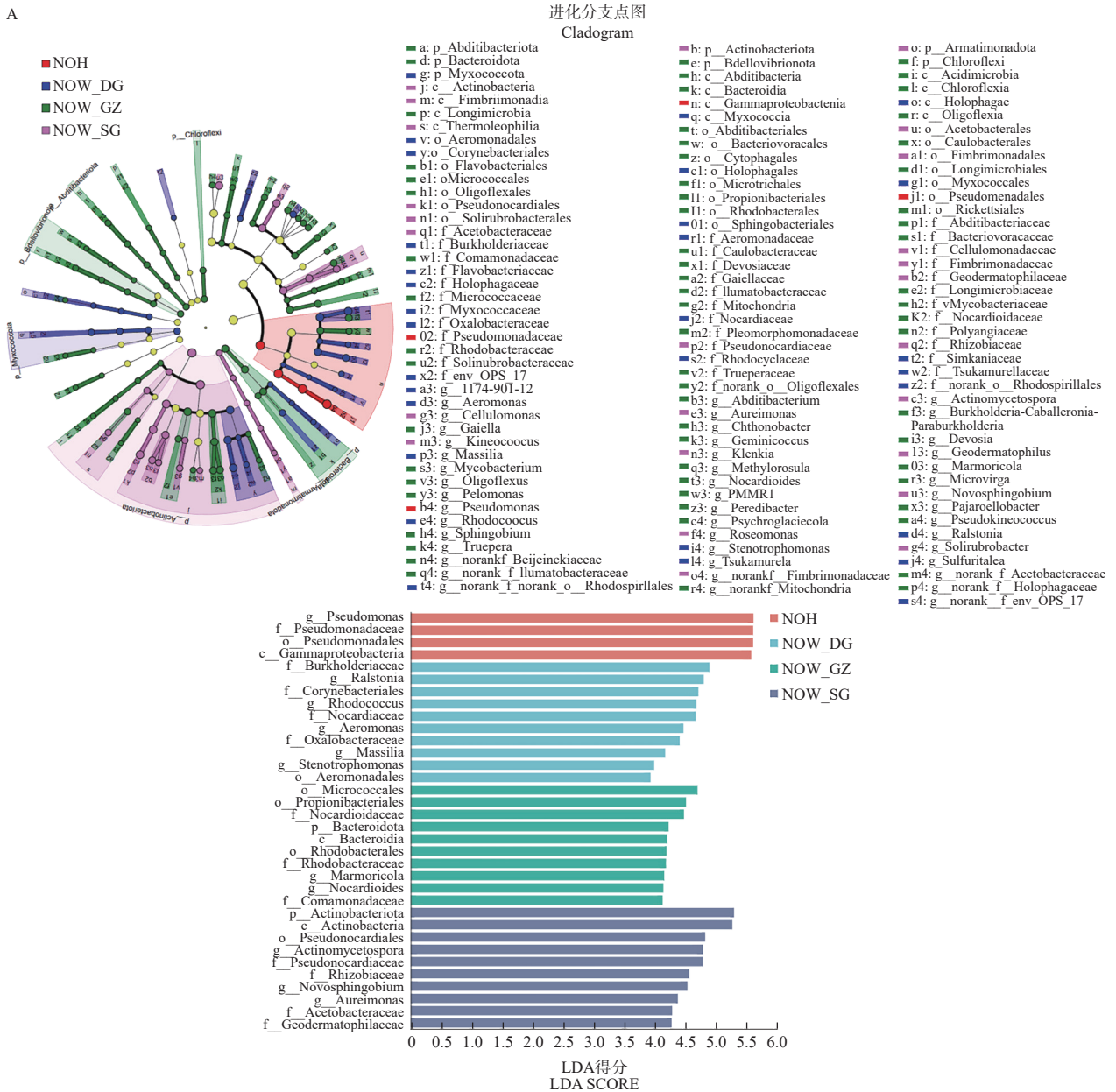


图5 在属水平上的 PCoA 分析
Fig.5 PCoA analysis on genus level

注: A. 细菌; B. 真菌。

Notes: A. Bacterial; B. Fungal.



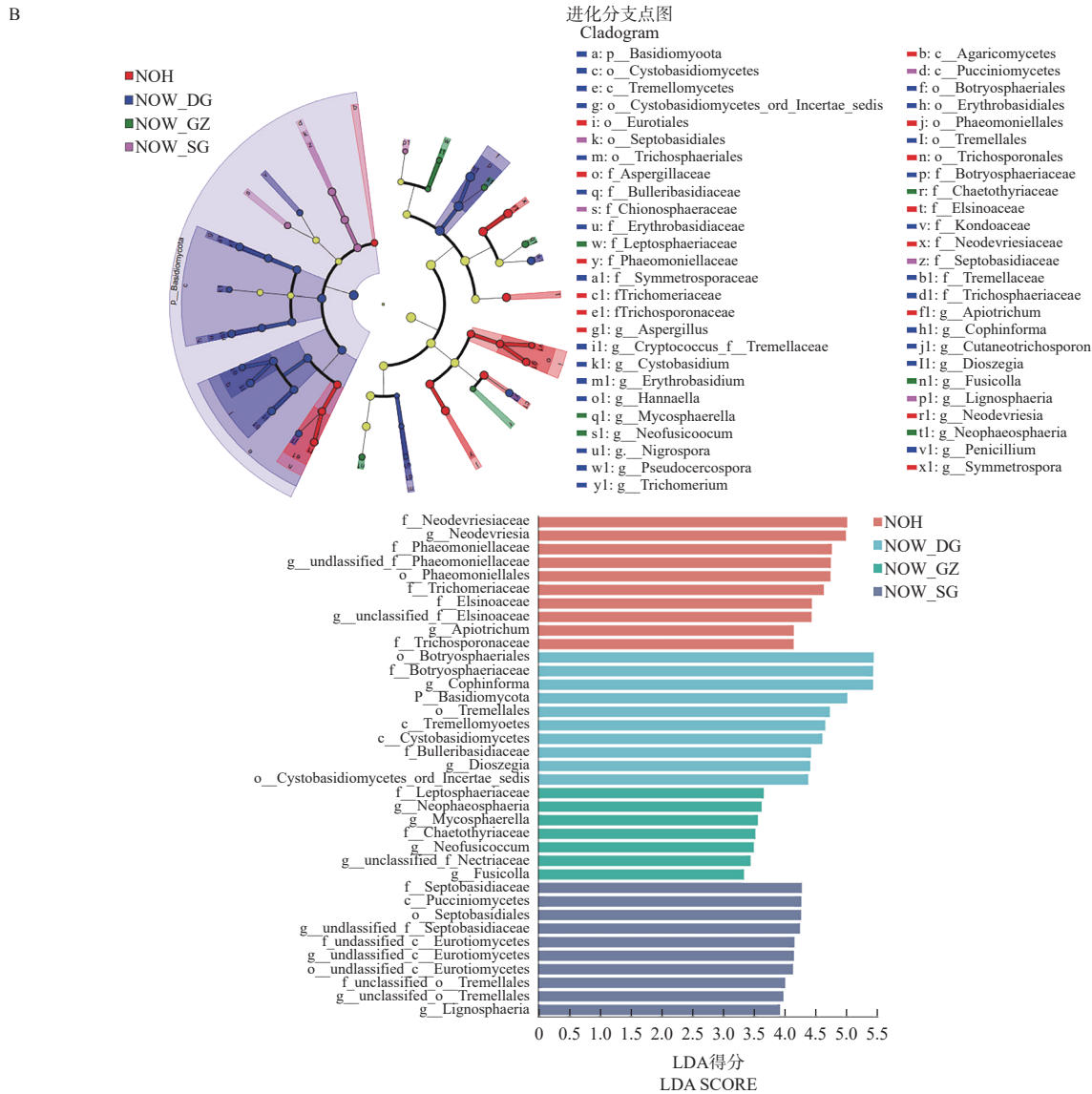


图 6 内生微生物群落 LefSe 差异分析及 LDA 判别柱形图
 Fig. 6 LefSe multilevel species hierarchical tree diagram and LDA discrimin bar chart of endophyte

注: A. 细菌; B. 真菌。

Notes: A. Bacterial; B. Fungal.

在健康样品中显著富集的细菌群落有假单胞菌目 Pseudomonadales、变形菌纲 Gammaproteobacteria, 而在丛枝病样品中显著富集的细菌群落有伯克氏菌科 Burkholderiaceae、罗尔斯通菌属 *Ralstonia*、棒杆菌目 Corynebacteriales、红球菌属 *Rhodococcus*、放线菌门 Actinobacteria、诺卡氏菌科 Nocardiaceae、微球菌目 Micrococcales、丙酸杆菌目 Propionibacteriales、类诺卡氏菌科 Nocardoidaceae、假诺卡氏菌目 Pseudonocardiales、放线链孢菌属 *Actinomycespora* (图 6A)。

真菌群落结构的 LefSe 分析结果显示, 在健康样品中显著富集的真菌群落有新德弗里斯菌科 Neodevriesiaceae、散囊菌科 Phacomoniellaceae、毛壳菌科 Trichomeriaceae。而在丛枝病样品中显著富集的真

菌群落有葡萄座腔菌目 Botryosphaeriales、银耳目 Tremellales、囊担菌目 Cystobasidiales 等 (图 6B)。

2.5 内生微生物群落的功能预测

基于 PICRUSt2(version 2.2.0) 软件, 对所有样品的细菌群落进行功能预测分析 (图 7)。结果显示, 夹竹桃内生细菌群落主要参与的功能有能量转化与利用 (Energy production and conversion)、氨基酸的转运与代谢 (Amino acid transport and metabolism)、碳水化合物的运输与代谢 (Carbohydrate transport and metabolism)、辅酶的运输与代谢 (Coenzyme transport and metabolism)、脂质运输与代谢 (Lipid transport and metabolism)、细胞壁/膜/包膜的生物合成 (Cell wall/membrane/envelope biogenesis) 等过程。健康样品和丛枝病样品相比, 微

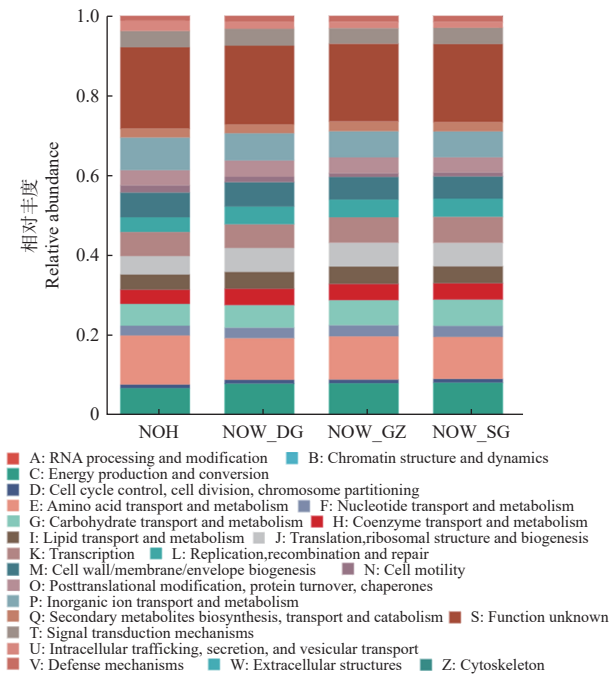


图7 内生细菌 COG 功能分类

Fig. 7 COG functional classification of endogenous bacteria

生物群落结构和多样性具有差异,但在各功能类群上无显著差异。这是由于不同细菌在功能上存在互补,即虽然细菌种类不一致但功能可能一致,从而导致在功能预测中出现各功能类群差异不显著的情况。

通过比对 FUNGuild 数据库对健康样品和丛枝病样品中内生真菌类群的功能进行预测(图8)。结果显示,各样品均存在一定比例的未分类功能群落(unknown),在健康样品中主要功能集中在植物病原腐生菌(Plant Pathogen-Undefined Saprotroph)、植物病原菌(Plant Pathogen)和附生功能菌(Epiphyte)。而在丛枝病样品中植物病原腐生菌(Plant Pathogen-Undefined Saprotroph)显著减少,植物病原菌(Plant Pathogen)显著增加,附生功能菌(Epiphyte)几乎消失。夹竹桃丛枝病原菌在丛枝部位的富集,抢占了该区域的生态位,抑制其他腐生菌和附生菌的定殖。

3 讨论

植物不同器官的外部 and 内部栖居着数量庞大且种类繁多的微生物,这些微生物及其遗传信息和代谢产物等共同组成了植物微生物组(Turner et al., 2013; Li et al., 2024)。植物微生物组对植物健康起到至关重要的作用,如提高植物养分利用率、帮助植物对抗非生物胁迫、抑制植物病害发生等(曾青等, 2023)。近年来,随着高通量测序和微生物互作研究方法的发展,病原菌入侵对植物微生物组结构的影响逐步被揭示,包括寄主微生物组结构多样性变化、

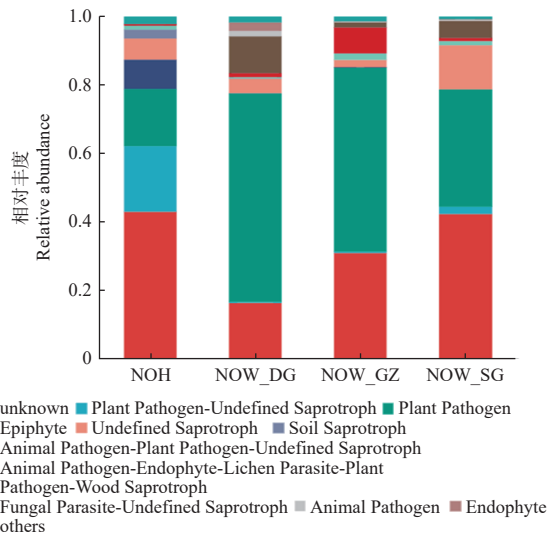


图8 基于 FUNGuild 预测真菌功能群

Fig. 8 Variations in composition of fungal functional groups inferred by FUNGuild

植物发病状态下的核心微生物组成及其功能的验证(陈招荣等, 2023; 李明家等, 2025),在病害发展过程中,病原菌入侵会重新编程寄主的代谢,引起寄主植物微生物组多样性的改变,进入一种失调状态,进而导致植株对病害的易感性增强。然而病害发生时生物多样性的降低或升高并不是一成不变的,不同病原菌感染引起多样性变化有所差异,这取决于环境背景、植物生理变化、微生物组组成、病原菌感染阶段发展等多种因素的综合作用(Trivedi et al., 2020)。研究结果显示,相较于健康样品,丛枝病样品的内生细菌在丰富度和多样性都显著的增加,一方面是病原菌引起的韧皮部发育变化,肿大的组织为细菌提供了更好的生长环境,另一方面也有可能植物通过一系列生理生化的响应,富集抑制病原菌生长或侵染的有益微生物以提高自身抗性,这一机制被称为“呼救假说”(Wang et al., 2022)。

相较于内生细菌多样性的增加,真菌微生物多样性(Shannon 指数)在健康样品和丛枝病样品之间并没有显著的差异,但健康样品中真菌的丰富度(Chao1 指数)仍低于丛枝病样品。这是由于病原菌入侵诱导的微生物组重构不仅包含有益微生物的富集,也会引发潜在机会病原菌或“病原菌帮手”的增殖。“病原菌帮手”微生物通过营养供给、微环境调节、促进病原菌孢子萌发等方式与病原菌形成互惠关系,加剧微生物组失衡并促进病害发展(Li et al., 2022)。本研究的丛枝病样品中,除了大量富集了致病菌 *Cophinforma mamane* 之外,葡萄座腔菌目 Botryosphaeriales、银耳目 Tremellales、囊担菌目

Cystobasidiales 等致病菌或者腐生菌同样获得了大量繁殖的机会 (Gardner, 1997; Pfeilmeier et al., 2024)。

内生微生物被称为植物抵抗病害的第2道防线, 有益微生物可通过抢夺养分、空间等资源, 扩大自身生态位以阻碍病原菌生长。研究的健康样品中, 假单胞菌属 *Pseudomonas* 丰度占比为 83.20%, 而从枝中平均占比仅为 0.77%, 相对丰度极大降低。假单胞菌属是1种常见的生防细菌, 可以分泌铁载体竞争性结合环境中病原菌所需的铁元素, 在铁元素匮乏的环境中限制病原菌生长 (Wang et al., 2024)。这也符合微生物组通过营养阻断的作用机制, 降低病原菌的定殖能力, 即“定殖抗性”的概念 (夏正俊等, 1996; 梁志怀等, 2009), 假单胞菌作为1种生防潜力菌, 在预防夹竹桃丛枝病中可能具有良好的应用前景。丛枝病样品中被招募的伯克霍尔德菌科 Burkholderiaceae、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* 和甲基杆菌属 *Methylobacterium* 也具有类似的潜力, 这些可以按照合成菌群 (SynCom) 的方式进行研究, 在将来防治夹竹桃丛枝病上发挥作用 (马白鸽等, 2023; Matsumoto et al., 2021; Xu et al., 2025)。

微生物组成员间通过复杂的互作 (包括竞争拮抗和协作互助) 共同调控植物病害的发生发展。植物病害可以改变寄主微生物组的结构, 微生物与微生物之间的互作模式具有高度复杂性和多样性 (Ruan et al., 2024)。尽管微生物组中的许多微生物可以帮助植物抵御病原菌入侵, 提高植物抗病能力, 但其中也包含潜在的病原菌。当植物的免疫状态或环境条件发生改变时, 潜在病原菌则会突破微生物组的平衡制约, 迅速增殖并引发病害。厘清复杂的微生物互作关系、识别潜在有益微生物和致病微生物, 精准设计高效人工合成菌群, 将为精准防控植物病害提供理论依据。

4 结论

本研究基于高通量测序技术探究了致病菌对夹竹桃丛枝部位内生微生物组成、多样性、群落功能的影响。研究表明致病菌显著改变夹竹桃丛枝韧皮部内生细菌的群落结构, 健康样品以假单胞菌属 *Pseudomonas* 为主, 而从枝病样品中甲基杆菌属 *Methylobacterium*、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* 和伯克霍尔德氏菌科 Burkholderiaceae 等具有生防潜力的细菌富集。结果表明, 夹竹桃会通过招募有益内生细菌来增强抗病性。此外, 致病菌也导致内生真菌丰富度增加, 特别是非致病性病原真菌和腐生真菌

在丛枝病样品中富集, 可能与组织微环境的改变, 如坏死组织增多有关。研究明确了致病菌入侵下夹竹桃丛枝部位内生微生物组的响应机制, 为揭示夹竹桃内生微生物在丛枝病发生过程中病原与微生物的互作, 以及利用内生有益微生物开展精准防控提供了基础。

参 考 文 献

- 陈招荣, 刘新悦, 赵欣迪, 等. 2023. 植物内生菌群落组成及其功能研究进展[J]. 生命科学, 35(2): 132–139.
- Chen Z R, Liu X Y, Zhao X D, et al. 2023. Research progress on community composition and function of endophytes in plants[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 35(2): 132–139. (in Chinese)
- 耿显胜, 舒金平, 盛建立, 等. 2020. 非刚竹属5种竹子丛枝病原菌的分离和鉴定[J]. 林业科学, 56(3): 82–89.
- Geng X S, Shu J P, Sheng J L, et al. 2020. Isolation and identification of the pathogens causing witches' broom disease of five bamboo species of non-*Phyllostachys*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 56(3): 82–89. (in Chinese)
- 黄静, 李焯桢, 范国强. 2023. 泡桐丛枝病对内生真菌群落及其结构的影响[J]. 河南农业大学学报, 57(5): 776–783.
- Huang J, Li X Z, Fan G Q. 2023. Effects of *Paulownia* witches' broom disease on fungal endophytes community and structure[J]. Journal of Henan Agricultural University, 57(5): 776–783. (in Chinese)
- 李明家, 尹家康, 津田贤一, 等. 2025. 竞争与协作: 植物病害发生过程中的微生物-微生物互作[J]. 植物病理学报, 55(4): 922–936.
- Li M J, Yin J K, TSUDA Kenichi, et al. 2025. Competition and cooperation in microbe-microbe interactions during plant disease development[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 55(4): 922–936. (in Chinese)
- 梁志怀, 魏林, 陈玉荣, 等. 2009. 哈茨木霉在水稻体内的定殖及其对水稻纹枯病抗性的影响[J]. 中国生物防治, 25(2): 143–147.
- Liang Z H, Wei L, Chen Y R, et al. 2009. Colonization of *Trichoderma hazianum* in rice tissue and its effects on rice resistance against sheath blight[J]. Chinese Journal of Biological Control, 25(2): 143–147. (in Chinese)
- 刘仲健, 张景宁, 冼秀琼. 1984. 夹竹桃丛枝病研究初探[J]. 广东园林, 6(1): 39, 52–54.
- Liu Z J, Zhang J N, Xian X Q. 1984. Preliminary study on witches' broom disease of oleander[J]. Journal of Guangdong Landscape Architecture, 6(1): 39, 52–54. (in Chinese)
- 马白鸽, 魏喜红, 孟祥佳, 等. 2023. 伯克霍尔德氏菌在植物病害生物防治中的研究进展[J]. 农业研究与应用, 36(3): 1–8.
- Ma B G, Wei X H, Meng X J, et al. 2023. Advancements in study on *Burkholderia* for plant disease biocontrol[J]. Agricultural Research and Application, 36(3): 1–8. (in Chinese)
- 伍晓蕾, 张俊伟, 甘云浩. 2003. 华山松丛枝病初步研究[J]. 西南林学院学报, 23(2): 68–70.
- Wu X Q, Zhang J W, Gan Y H. 2003. A preliminary study on *Pinus armandii* witches' Broom in Yunnan[J]. Journal of Southwest Forestry College, 23(2): 68–70. (in Chinese)
- 夏正俊, 顾本康, 吴嵩民. 1996. 植物内生及根际土壤细菌诱导棉花对大

- 丽轮枝菌抗性的研究[J]. 中国生物防治, 12(1): 7–10.
- Xia Z J, Gu B K, Wu A M. 1996. Studies on induced resistance of cotton plants against *Verticillium dahliae* by endophytic and rhizosphere bacteria[J]. Chinese Journal of Biological Control, 12(1): 7–10. (in Chinese)
- 徐启聪, 田国忠, 王振亮, 等. 2009. 中国各地不同枣树品种上枣疯病病原体的 PCR 检测及分子变异分析[J]. 微生物学报, 49(11): 1510–1519.
- Xu Q C, Tian G Z, Wang Z L, et al. 2009. Molecular detection and variability of jujube witches'-broom phytoplasmas from different cultivars in various regions of China[J]. Acta Microbiologica Sinica, 49(11): 1510–1519. (in Chinese)
- 叶建仁, 田呈明. 2024. 林木病理学[M]. 4 版. 北京: 中国林业出版社.
- Ye J R, Tian C M. 2024. Forest Pathology[M]. 4th ed. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- 曾青, 熊超, 尹梅, 等. 2023. 植物微生物组生态功能与群落构建过程研究进展[J]. 生物多样性, 31(4): 186–202.
- Zeng Q, Xiong C, Yin M, et al. 2023. Research progress on ecological functions and community assembly of plant microbiomes[J]. Biodiversity Science, 31(4): 186–202. (in Chinese)
- Gardner D E. 1997. *Botryosphaeria mamane* sp. nov. associated with witches'-brooms on the endemic forest tree *Sophora chrysophylla* in Hawaii[J]. Mycologia, 89(2): 298–303.
- Li M, Pommier T, Yin Y, et al. 2022. Indirect reduction of *Ralstonia solanacearum* via pathogen helper inhibition[J]. The ISME Journal, 16(3): 868–875.
- Li X F, Zheng X, Yadav N, et al. 2024. Rational management of the plant microbiome for the Second Green Revolution[J]. Plant Communications, 5(4): 100812.
- Matsumoto H, Fan X Y, Wang Y, et al. 2021. Bacterial seed endophyte shapes disease resistance in rice[J]. Nature Plants, 7(1): 60–72.
- Pfeilmeier S, Werz A, Ote M, et al. 2024. Leaf microbiome dysbiosis triggered by T2SS-dependent enzyme secretion from opportunistic *Xanthomonas* pathogens[J]. Nature Microbiology, 9(1): 136–149.
- Ruan Z P, Chen K, Cao W M, et al. 2024. Engineering natural microbiomes toward enhanced bioremediation by microbiome modeling[J]. Nature Communications, 15: 4694.
- Trivedi P, Leach J E, Tringe S G, et al. 2020. Plant-microbiome interactions: From community assembly to plant health[J]. Nature Reviews Microbiology, 18(11): 607–621.
- Turner T R, James E K, Poole P S. 2013. The plant microbiome[J]. Genome Biology, 14(6): 209.
- Wang N Q, Wang T Q, Chen Y, et al. 2024. Microbiome convergence enables siderophore-secreting-rhizobacteria to improve iron nutrition and yield of peanut intercropped with maize[J]. Nature Communications, 15: 839.
- Wang S J, Wang S K, Li M, et al. 2022. Combined transcriptome and metabolome analysis of *Nerium indicum* L. elaborates the key pathways that are activated in response to witches' broom disease[J]. BMC Plant Biology, 22(1): 291.
- Wang Z H, Song Y. 2022. Toward understanding the genetic bases underlying plant-mediated “cry for help” to the microbiota[J]. iMeta, 1(1): e8.
- Xu X M, Dinesen C, Pioppi A, et al. 2025. Composing a microbial symphony: Synthetic communities for promoting plant growth[J]. Trends in Microbiology, 33(7): 738–751.