

甘蔗宿根矮化病感病与非感病株根际土壤 生物学性状及细菌群落结构特征

杨尚东^{1,2}, 郭霜¹, 任奎喻¹, 庞师婵¹, 张传进¹, 王帅帅¹, 谭宏伟^{2*}

(1 广西大学农学院, 广西南宁 530004; 2 广西农业科学院/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 广西南宁 530007)

摘要:【目的】比较甘蔗宿根矮化病 (ratoon stunting disease, RSD) 感病植株与非感病植株根际土壤的生物学性状及细菌群落结构特征, 旨在为构建甘蔗健康的根际微环境, 筛选高效 RSD 生防细菌提供参考。【方法】通过田间调查和实验室鉴定, 以甘蔗 RSD 感病植株为试材, 非感病植株为对照, 采集甘蔗 RSD 感病植株和非感病植株的根际土壤, 并基于传统和现代高通量测序技术, 分析了甘蔗 RSD 感病植株和非感病植株根际土壤的生物学性状和细菌群落结构特征。【结果】与甘蔗 RSD 非感病植株相比, 感病植株根际土壤中指示土壤肥力与健康状况的生物学性状指标 β -葡糖苷酶、磷酸酶和氨基酶活性, 以及微生物生物量碳、氮、磷显著降低; 同时, 指示细菌丰富度的 Chao1 指数和指示细菌多样性的 Shannon 指数显著下降。门分类水平与非感病甘蔗植株相比, RSD 感病植株根际土壤中 Proteobacteria (变形杆菌门)、Actinobacteria (放线菌门)、Gemmatimonadetes (芽单胞菌门) 和 Nitrospirae (硝化螺旋菌门) 等优势门类细菌占比呈倍级降低, 但 Chloroflexi (绿弯菌门)、Acidobacteria (酸杆菌门)、Firmicutes (厚壁菌门)、Cyanobacteria (蓝细菌门)、Planctomycetes (浮霉菌门)、Bacteroidetes (拟杆菌门) 等优势门类细菌占比呈倍级增加; 在属分类水平, 与非感病甘蔗植株相比, RSD 感病植株根际土壤中 *Xanthobacteraceae* (黄色杆菌属)、*Acidothermus*、*Gaiellales*、*Roseiflexus* (玫瑰菌属)、*Micromonosporaceae* (小单胞菌属) 和 *Nitrospira* (硝化螺旋菌属) 细菌占比呈倍级降低, 但 *Acidobacteria* (嗜酸菌属) 细菌及部分未知菌属却呈倍级提高。【结论】甘蔗 RSD 感病植株根际微环境中指示土壤肥力的生物学指标显著降低, 细菌丰富度和多样性显著下降, 部分优势细菌门属占比发生剧变可能是导致甘蔗 RSD 发生的重要原因。

关键词: 甘蔗; 宿根矮化病; 根际土壤; 生物学性状; 细菌群落结构

Soil biological properties and bacterial community structures in rhizosphere soil of canes infected and non-infected by ratoon stunting disease

YANG Shang-dong^{1,2}, GUO Shuang¹, REN Kui-yu¹, PANG Shi-chan¹, ZHANG Chuan-jin¹,
WANG Shuai-shuai¹, TAN Hong-wei^{2*}

(1 Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2 Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning 530007, China)

Abstract: 【Objectives】The biological properties and bacterial communities in the rhizosphere of canes infected and non-infected with ratoon stunting disease (RSD) were compared for effective bio-control of the RSD in sugarcanes. 【Methods】The cane plant and their rhizosphere soil were identified for infection of RSD firstly in lab. The cane plant and rhizosphere soil samples infected and non-infected by RSD were collected, respectively. The soil biological properties and bacterial community were determined by traditional and high throughput

收稿日期: 2018-12-03 接受日期: 2019-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760368); 广西壮族自治区农业科学院广西甘蔗遗传改良重点实验室开放课题 (16-K-04-01); 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室开放课题 (OSKL201506); 国家重点研发计划项目 (2018YFD0201100, 2018YFD0201103); 国家糖料产业技术体系岗位 (甘蔗宿根栽培) 2017—2020 (CARS-170206); 广西创新驱动发展专项 (桂科 AA17202042); 广西甘蔗产业创新团队甘蔗栽培岗位专家经费。

联系方式: 杨尚东 Tel: 0771-3235612, E-mail: ysd706@gxu.edu.cn

* 通信作者 谭宏伟 Tel: 0771-3186568, E-mail: hongwei_tan@163.com

sequencing techniques. 【 Results 】 Compared with healthy soil, the activities of β -glucosidase, phosphatase and aminopeptidase in RSD infected soils were significantly inhibited, and the contents of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus were significantly decreased, and the indexes of bacterial diversity and richness including Chao1, Shannon were significantly decreased as well. As for individual bacteria community on phylum level, the ratios of Proteobacteria, Actinobacteria, Gemmatimonadetes and Nitrospirae were all significantly decreased, while those of Chloroflexi, Acidobacteria, Firmicutes, Cyanobacteria, Planctomycetes and Bacteroidetes were significantly increased in rhizospheres of RSD infected canes. On genus level, the ratios of *Xanthobacteraceae*, *Acidothermus*, *Gaiellales*, *Roseiflexus*, *Micromonosporaceae* and *Nitrospira* were significantly decreased, while those of *Acidobacteria* and unclassified bacteria were significantly increased in rhizospheres of RSD infected canes. 【 Conclusions 】 In rhizosphere soils of RSD infected canes, the activities of important soil enzymes and microbial mass carbon, nitrogen and phosphorous contents are low, the diversity and the richness bacterial community are significantly decreased. On the phylum and genus levels, great variations in the abundance of the dominant bacteria have been confirmed.

Key words: sugarcane; ratoon stunting disease; rhizosphere soil; biological property; bacterial community structure

甘蔗是世界上最主要的糖料作物, 甘蔗糖约占世界食糖总产量的 75%, 而在我国则占到 90% 以上。广西是中国甘蔗的主要生产基地, 甘蔗种植面积占全国糖料生产面积的 54.6%, 生产的食糖占全国的 63.4%^[1]。我国蔗区 (尤其是广西、云南) 甘蔗病害病原种类复杂多样, 目前严重危害我国甘蔗生产的主要病害有宿根矮化病、黑穗病、病毒病、白叶病等^[2]。

甘蔗宿根矮化病 (ratoon stunting disease, RSD) 是一种普遍存在于蔗区的世界性病害^[3]。干旱条件下, 部分易感病品种的宿根蔗产量损失可达 50% 以上^[4]。其首次发现是 1944—1945 年在澳大利亚昆士兰的甘蔗品种 Q28 上^[5]。甘蔗宿根矮化病病原菌^[6]是 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), 寄生于蔗株的木质部导管中, 可以侵染甘蔗属所有已知品种, 但不侵染其他植物^[7]。Lxx 病原细菌特别细小, 分离、培养和检测都极其困难, 给研究带来很大难度^[8]。甘蔗感染宿根矮化病后, 植株矮化、蔗茎变细、生长缓慢、分蘖少, 一般可造成减产 12%~37%^[9]。由于 RSD 外部症状易与干旱、营养不良等症状混淆, 极易造成病害在田间蔓延, 而且 RSD 所造成的损失随着宿根年限的延长而增加, 对甘蔗生产危害极大^[10]。针对广西甘蔗主产区的调查发现, 9 个甘蔗主产区样品均检出 RSD, 2018 年和 2019 年榨季栽培面积达 673.1 万亩 (约 44.9 万 hm^2), 占比近 40% 的主栽品种新台糖 22 (ROC22) 发病严重, 检出率达 80.8%, 当前广西甘蔗 RSD 发病严重, 亟需推广绿色防控 RSD 技术和选育抗性强的品种。

因此, 本试验通过比较分析甘蔗 RSD 感病株和非感病植株根际土壤生物学性状与细菌群落结构特征, 探究 RSD 感病株根际微环境特点, 旨在为构建甘蔗根际健康微环境提供技术参数, 同时为筛选甘蔗 RSD 的生防细菌提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

甘蔗及土壤样品采集于本课题组长期定位试验区, 分别位于广西壮族自治区柳州市柳江区 (E 109°27' 06", N 24°43' 40") 和宾阳县廖平农场六大队 (E 108°99' 93", N 23°41' 07")。甘蔗品种均为 '桂糖 42 号 (GT42)'。两个定位试验区栽植的甘蔗均为三年宿根甘蔗, 为掌握宿根矮化病感病株根际土壤的生物学与细菌多样性特征, 两个定位试验区均采用相同的常规栽培技术进行管理。

采样时分别在两区域选取 2 个地块, 共 4 个地块, 每个地块随机选取甘蔗植株 9~10 株, 共 37 株, 连根挖取后带回实验室。柳州市柳江区的定位试验地土壤 pH 6.02、有机质 28.05 g/kg、全氮 1.86 g/kg、全磷 0.51 g/kg、全钾 14.57 g/kg、速效磷 28.2 mg/kg、速效钾 87.3 mg/kg; 宾阳县试验地土壤 pH 5.69、有机质 20.5 g/kg、全氮 1.02 g/kg、全磷 0.57 g/kg、全钾 14.0 g/kg、速效磷 13.4 mg/kg、速效钾 53.6 mg/kg。

甘蔗植株 RSD 鉴定由广西壮族自治区农业科学院甘蔗研究所重点实验室完成。甘蔗根际土壤采用

抖根法^[11]收集于无菌袋中,平均分为2份,一份放置于4℃冰箱中冷藏,用于生物学性状分析;另一份放于-80℃保存,用于细菌群落结构分析。

1.2 土壤生物学性状分析

土壤中C、N、P循环相关酶 β -葡糖苷酶(β -glucosidase)活性测定采用Hayano^[12]的方法;氨肽酶(Aminopeptidases)活性测定采用Ladd^[13]的方法;磷酸酶(Phosphatase)活性测定采用Tabatabai等^[14]的方法。土壤微生物生物量碳、氮和磷测定采用氯仿熏蒸提取—容量分析法^[15]、茚三酮比色法^[16]和磷钼蓝比色法^[17]。

1.3 土壤细菌多样性分析

土壤细菌多样性分析由上海美吉生物医药科技有限公司测序完成,测序具体类型与序列如表1。测序具体流程如下。

DNA抽提和PCR扩增:根据E.Z.N.A.®soil试剂盒(OmegaBio-tek, Norcross, GA, US)说明书进行总DNA抽提,DNA浓度和纯度利用NanoDrop2000进行检测,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA提取质量;用338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')引物对V3~V4可变区进行PCR扩增,扩增程序为95℃预变性3min,27个循环(95℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸30s),最后72℃延伸10min(PCR仪:ABI GeneAmp®9700型)。扩增体系为20 μ L,4 μ L 5'FastPfu缓冲液,2 μ L 2.5mmol/L dNTPs,0.8 μ L引物(5 μ mol/L),0.4 μ L FastPfu聚合酶;10ng DNA模板。

Illumina Miseq 测序:使用2%琼脂糖凝胶回收PCR产物,利用Axy Prep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA)进行纯化,Tris-HCl洗脱,2%琼脂糖电泳检测。利用QuantiFluor™-ST(Promega, USA)进行检测定量。根据Illumina MiSeq平台(Illumina, San Diego, USA)标准操作规程将纯化后的扩增片段构建PE2*300的文库。

构建文库步骤:1)连接“Y”字形接头;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)氢氧化钠变性,产生单链DNA片段。

利用Illumina公司的Miseq PE300平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据上传至NCBI数据库中比对。

2 结果与分析

2.1 感病与非感病植株根际土壤生物学性状特征比较

由表2可知,RSD感病株根际土壤中涉及土壤碳、氮、磷循环相关酶(β -葡糖苷酶、氨肽酶、磷酸酶)的活性均显著低于非感病株。其中,非感病株根际土壤中 β -葡糖苷酶、氨肽酶和磷酸酶活性分别为RSD感病株的2.67倍、1.44倍和4.17倍。另一方面,非感病株根际土壤中微生物生物量碳、氮、磷的变化表现出与土壤酶活性变化一致的趋势,同样显著高于RSD感病株,其数值分别是对应感病株的1.37、1.96和5.08倍。这一结果表明甘蔗根际土壤肥力下降、根际微环境质量劣化可能是导致甘蔗抗性下降、感染RSD的原因之一。

2.2 感病与非感病植株根际土壤细菌群落的丰富度和多样性

基于云分析平台,计算出各个样品的丰富度和多样性指数,选取Chao1指数指示细菌丰富度,Shannon和Simpson指数指示细菌多样性。Chao1、Shannon指数越大,Simpson指数越小,说明样品的物种丰富度和多样性越高^[18]。

由表3可知,未感病植株根际土壤中细菌的丰富度Chao1指数和多样性Shannon指数均显著高于宿根矮化病感病植株,细菌多样性Simpson指数显著低于感病植株。表明甘蔗RSD感病株根际土壤中细菌丰富度和多样性均显著低于未感病植株。

2.3 感病与非感病植株根际土壤细菌门分类水平组成

RSD感病株和非感病株根际土壤中分离出的优

表1 测序区域与引物序列名称

Table 1 The name of sequence type and primer sequence

测序区域 Sequencing region	引物名称 Prime name	引物序列 Prime Sequence	测序平台 Sequencing platform	长度 Length
细菌 16S rRNA 基因	338F	5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'	Miseq ^[17-20]	311 bp
	806R	5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'		

表 2 RSD 感病株和未感病株根际土壤酶活性及微生物生物量的比较

Table 2 Comparison of soil enzyme activities and microbial biomass in rhizosphere soil between RSD infected and non-infected sugarcanes

根际土壤 Rhizosphere soil	β -葡萄糖苷酶 β -glucosidase [nmol/(g·min), 30℃]	氨基酶 Aminopeptidase [nmol/(g·min), 30℃]	磷酸酶 Phosphatase [nmol/(g·min), 30℃]	微生物量碳 (mg/kg) Microbial biomass C	微生物量氮 (mg/kg) Microbial biomass N	微生物量磷 (mg/kg) Microbial biomass P
未感病株 Non-infected	0.32 ± 0.03 a	8.94 ± 0.61 a	0.25 ± 0.07 a	428.7 ± 11.2 a	134.2 ± 2.44 a	75.8 ± 1.70 a
感病株 Infected	0.12 ± 0.02 b	6.19 ± 0.56 b	0.06 ± 0.01b	312.4 ± 3.52 b	68.4 ± 1.24 b	14.9 ± 2.31 b

注 (Note): 数据为平均值 ± 标准差; 数值后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the table are means ± SD; values followed by different letters mean significant difference between treatments at $P < 0.05$ level.

表 3 RSD 感病株和非感病株根际土壤细菌多样性指数

Table 3 Diversity index of bacteria in rhizosphere soils of RSD infected and non-infected sugarcanes

根际土壤 Rhizosphere soil	OTU 数量 OTUs	Chao1 指数 Chao 1 index	香浓指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
未感病株 Non-infected	3628 ± 215 a	4531.47 ± 309 a	6.28 ± 0.75 a	0.0082 b
感病株 Infected	2796 ± 139 b	4283.46 ± 388 b	5.83 ± 0.48 b	0.0152 a

注 (Note): 数据为平均值 ± 标准差; 数值后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the table are means ± SD; values followed by different letters mean significant difference between treatments at $P < 0.05$ level.

势细菌门有 11 个, 各个细菌门在总细菌门群落中的占比见图 1。RSD 感病株和未感病株根际土壤中细菌的优势细菌门类及占比分别为: Proteobacteria (变形杆菌门) 16.36% 和 33.99%, Chloroflexi (绿弯菌门) 33.90% 和 13.87%, Actinobacteria (放线菌门) 14.88% 和 34.05%, Acidobacteria (酸杆菌门) 15.39% 和 5.96%, Firmicutes (厚壁菌门) 5.79% 和 2.31%, Gemmatimonadetes (芽单胞菌门) 1.88% 和 3.45%, Nitrospirae (硝化螺旋菌门) 1.40% 和 3.21%, Cyanobacteria (蓝细菌门) 3.18% 和 0.75%, Planctomycetes (浮霉菌门) 2.63% 和 0.06%, Bacteroidetes (拟杆菌门) 1.48% 和 0.07%。由上述分析结果可知, 甘蔗感染宿根矮化病后, 其根际土壤细菌占比呈倍数降低的优势门类主要有 Proteobacteria (变形杆菌门)、Actinobacteria (放线菌门)、Gemmatimonadetes (芽单胞菌门) 和 Nitrospirae (硝化螺旋菌门); 而占比呈倍数增加的优势菌门主要有 Chloroflexi (绿弯菌门)、Acidobacteria (酸杆菌门)、Firmicutes (厚壁菌门)、Cyanobacteria (蓝细菌门)、Planctomycetes (浮霉菌门) 和 Bacteroidetes (拟杆菌门)。RSD 感病株根际土壤中优势细菌门占比发生变化, 使甘蔗未感病植株根际土壤微生物群落中存在的拮抗关系平衡遭到破坏, 可能是导致甘蔗植株抗性减弱, 从而感染 RSD 的主要原因。

2.4 感病株与非感病植株根际土壤细菌属分类水平组成

在属分类水平发现, RSD 感病植株和非感病植株根际土壤中的优势菌群 (图 2) 有: JG37-AG-4、Xanthobacteraceae (黄色杆菌属)、Acidothermus、JG30-KF-AS9、Acidobacteria (嗜酸菌属)、Gaiellales、Roseiflexus (玫瑰菌属)、Micromonosporaceae (小单孢菌属)、Nitrospira (硝化螺旋菌属)、Acidobacteriaceae_Subgroup。其中, RSD 感病株根际土壤中细菌优势菌属及其占比分别为 JG37-AG-4 (13.56%)、Xanthobacteraceae (黄色杆菌属 1.13%)、Acidothermus (2.95%)、JG30-KF-AS9 (5.97%)、Acidobacteria (嗜酸菌属 4.63%)、Gaiellales (1.11%)、Roseiflexus (玫瑰菌属 1.37%)、Micromonosporaceae (小单孢菌属 1.17%)、Nitrospira (硝化螺旋菌属 1.40%)、Acidobacteriaceae_Subgroup (3.88%)。RSD 非感病植株根际土壤中细菌优势菌属主要有 JG37-AG-4 (4.49%)、Xanthobacteraceae (黄色杆菌属 10.55%)、Acidothermus (5.96%)、JG30-KF-AS9 (1.35%)、Acidobacteria (嗜酸菌属 1.11%)、Gaiellales (4.50%)、Roseiflexus (玫瑰菌属 3.50%)、Micromonosporaceae (小单孢菌属 3.50%)、Nitrospira (硝化螺旋菌属 3.20%)、Acidobacteriaceae_Subgroup (0.35%)。

同样地, RSD 感病植株根际土壤中优势细菌属

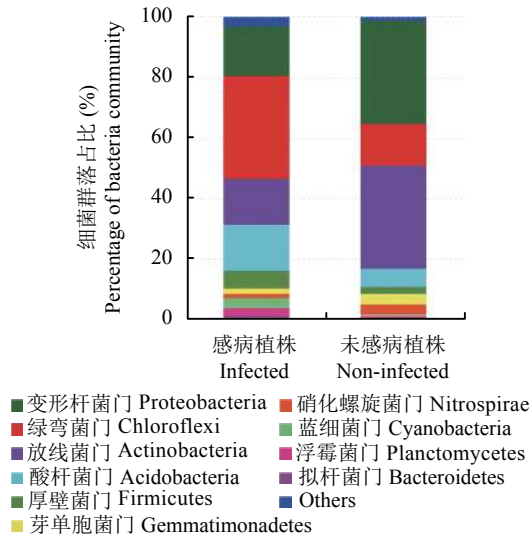


图 1 RSD 感病株和非感病株根际土壤细菌门分类水平组成

Fig. 1 Bacterial community composition in rhizosphere soil of RSD infected and non-infected sugarcanes at the phylum level

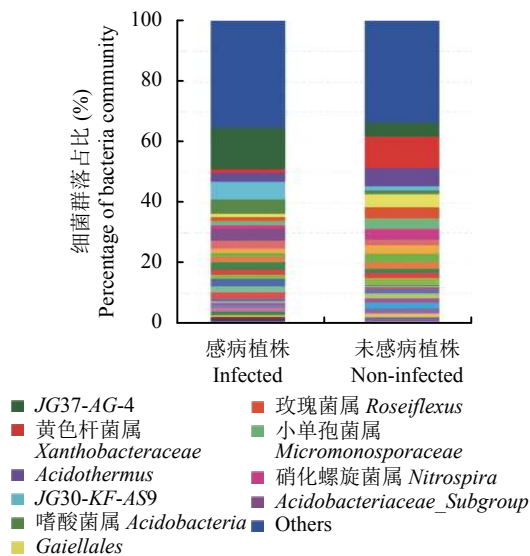


图 2 宿根矮化病感病和非感病植株根际土壤细菌属分类水平组成

Fig. 2 Bacterial community structure in rhizosphere soil of RSD infected and non-infected sugarcanes at the genus level

占比发生显著变化。与非感病植株相比，RSD 感病植株根际土壤中 *Xanthobacteraceae* (黄色杆菌属)、*Acidotherrmus*、*Gaiellales*、*Roseiflexus* (玫瑰菌属)、*Micromonosporaceae* (小单孢菌属) 和 *Nitrospira* (硝化螺旋菌属) 等优势细菌属占比呈倍数降低；但 *Acidobacteria* (嗜酸菌属) 细菌及部分未知菌属占比呈倍数提高。RSD 感病植株根际土壤中优势细菌在属

分类水平上表现出与门分类水平相同的变化趋势。由此推测，甘蔗根际土壤中优势细菌群落结构变化可能是导致甘蔗植株抗性减弱，从而导致感染 RSD 的重要原因。

3 讨论

土壤微生物与植物在根际微环境中进行着复杂频繁的互作^[19-20]。根际微生物与植物之间有着密切的关系，对植物生长具有十分重要的作用，同时对植物生产力以及农业生态系统功能都有着显著的作用^[21]。

研究表明，土壤微生物活性及群落结构变化可敏感地反映土壤生态系统的质量和健康状况^[22]。而土壤酶参与土壤中几乎所有的有机物质和营养元素的循环^[23]，其活性大小不仅能指示土壤生态系统功能变化的多样性和稳定性^[24]，亦是评价土壤健康和肥力水平的重要指标^[25]。本试验结果发现，RSD 感病株根际土壤中 β -葡糖苷酶、氨基酶、磷酸酶活性显著低于非感病株，这一现象不仅表明 RSD 感病株根际土壤肥力下降、质量劣化，而且也说明设法提高甘蔗根际土壤肥力、维护根际土壤微环境的健康状况，可能有助于防控甘蔗 RSD 的发生与蔓延。另外，土壤微生物生物量同样是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产力的一个重要指标^[26]。本试验中 RSD 感病株根际土壤微生物生物量碳、氮、磷呈现出与土壤酶活性一致的变化趋势，同样显著地低于相应的非感病株根际土壤。这表明甘蔗 RSD 的发生与根际土壤肥力下降、质量劣质化紧密相关。

利用高通量研究技术，分析 RSD 感病植株与非感病植株根际土壤微生物群落结构，发现 RSD 感病植株根际土壤中细菌多样性指数、丰富度指数均显著低于非感病植株。杨尚东等^[20]曾发现，番茄青枯病感病植株与非感病植株相比，根际细菌多样性亦不同程度地降低。由此推测，甘蔗 RSD、番茄青枯病等病害的发生与蔓延可能与作物根际土壤细菌多样性下降密切相关。此外，基于门 (phylum) 分类水平发现，与非感病植株相比，RSD 感病植株根际土壤中优势细菌门类占比发生显著变化。其中，*Proteobacteria* (变形杆菌门)、*Actinobacteria* (放线菌门)、*Gemmatimonadetes* (芽单胞菌门) 和 *Nitrospirae* (硝化螺旋菌门) 等优势门类细菌占比呈倍数降低，与之相反，*Chloroflexi* (绿弯菌门)、*Acidobacteria* (酸杆菌门)、*Firmicutes* (厚壁菌门)、*Cyanobacteria* (蓝细

菌门)、Planctomycetes(浮霉菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)等优势门类细菌占比呈倍数增加;属分类水平, RSD 感病植株根际土壤中 *Xanthobacteraceae*(黄色杆菌属)、*Acidothermus*、*Gaiellales*、*Roseiflexus*(玫瑰菌属)、*Micromonosporaceae*(小单孢菌属)和 *Nitrospira*(硝化螺旋菌属)细菌占比呈倍数降低, 但 *Acidobacteria*(嗜酸菌属)细菌及部分未知菌属呈倍数提高。RSD 感病植株根际土壤中优势细菌无论在门分类水平上, 还是属分类水平上均表现出类似的变化趋势, 即: 优势菌门或菌属的占比虽然有部分提高, 但亦有部分优势菌门或菌属降低, 非感病植株根际土壤中更为多样的细菌, 以及更为丰富和均匀的优势细菌属可能是其没有感病的重要原因。

与甘蔗 RSD 非感病植株相比, 感病植株根际土壤微环境不仅呈现肥力下降, 细菌多样性和丰富度的下降趋势, 而且不同分类水平上, 优势细菌群落结构出现门、属分类水平上的剧变, 鉴于此, 研究如何构建稳定的甘蔗根际土壤微环境, 提高或维护甘蔗根际土壤肥力及微生物多样性丰富的根际微环境, 会有助于生态防控 RSD 的发生与蔓延。

4 结论

甘蔗 RSD 感病植株根际土壤中指示土壤肥力状况的生物学指标包括酶活性和微生物生物量碳、氮、磷显著降低, 细菌丰富度和多样性指数显著下降。

从门分类水平比较, RSD 感病植株根际土壤中 Proteobacteria(变形杆菌门)、Actinobacteria(放线菌门)、Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)、Nitrospirae(硝化螺旋菌门)等优势门类细菌占比呈倍级降低, 而 Chloroflexi(绿弯菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Cyanobacteria(蓝细菌门)、Planctomycetes(浮霉菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)等优势门类细菌占比呈倍级增加。从属分类水平比较, RSD 感病植株根际土壤中 *Xanthobacteraceae*(黄色杆菌属)、*Acidothermus*、*Gaiellales*、*Roseiflexus*(玫瑰菌属)、*Micromonosporaceae*(小单孢菌属)和 *Nitrospira*(硝化螺旋菌属)细菌占比呈倍级降低, 而 *Acidobacteria*(嗜酸菌属)细菌及部分未知菌属却呈倍级提高。

致谢: 感谢广西农业科学院甘蔗研究所覃振强博士和张小秋博士在甘蔗根际土壤样品采集以及甘蔗植株宿根矮化病株的鉴定方面给予的帮助。

参 考 文 献:

- [1] 李杨瑞. 现代甘蔗学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
Li Y R. Modern sugarcane science[M]. China Agriculture Press, 2010.
- [2] 李文凤. 甘蔗种苗传播病害病原检测与分子鉴定[A]. 中国植物病理学会. 2016 年学术年会论文集[C]. 中国植物病理学会, 2016.
Li W F. Pathogen detection and molecular identification of sugarcane seedling transmission diseases[A]. Chinese Plant Pathology Society, Proceedings of 2016 Annual Academic Conference[C]. Chinese Plant Pathology Society, 2016.
- [3] 郭莺, 汪文华, 刘黎卿, 等. 甘蔗宿根矮化病多克隆抗体和免疫磁珠的制备[J]. 生物技术通报, 2018, 34(6): 79–83.
Guo Y, Wang W H, Liu L Q, et al. Preparation of polyclonal antibody against ratoon stunting disease and its immunomagnetic beads[J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(6): 79–83.
- [4] 陈明辉, 杨丽涛, 谢晓娜, 等. 甘蔗宿根矮化病研究进展[J]. 南方农业学报, 2011, 42(3): 280–283.
Chen M H, Yang L T, Xie X N, et al. Research advances in ratoon stunting disease of sugarcane[J]. Southern Journal of Agricultural Sciences, 2011, 42(3): 280–283.
- [5] Davis M J, Gillaspie A G, Harris R W, et al. Ratoon stunting disease of sugarcane: Isolation of the causal bacterium[J]. Science, 1980, 210(4476): 1365–1367.
- [6] 张小秋. 宿根矮化病病原菌特性及其侵染后的甘蔗生理和基因差异表达[D]. 南宁: 广西大学博士学位论文, 2017.
Zhang X Q. Characteristics of leifsonia xyli subsp. xyli and influences of its inoculation on physiology and gene expressions in sugarcane[D]. Nanning: PhD Dissertation of Guangxi University, 2017.
- [7] Rao G P, Singh M, Singh H N. Alternative hosts of sugarcane diseases[J]. Sugar Cane, 1990, 2(2): 77–81.
- [8] 张荣跃, 李文凤, 黄应昆, 等. PCR检测甘蔗宿根矮化病研究简述[J]. 中国糖料, 2014, (3): 69–70.
Zhang R Y, Li W F, Huang Y K, et al. Review of PCR detection for ratoon stunting disease in sugarcane[J]. Chinese Sugar, 2014, (3): 69–70.
- [9] 韦金菊, 宋修鹏, 黄伟华, 等. 广西主要蔗区甘蔗宿根矮化病调查[J]. 南方农业学报, 2017, 48(7): 1216–1219.
Wei J J, Song X P, Huang W H, et al. Investigation on sugarcane ratoon stunting disease in main sugarcane area of Guangxi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(7): 1216–1219.
- [10] James G. A review of ratoon stunting disease[J]. Sugar Cane, 1997, (4): 9–14.
- [11] 赵久成. 嫁接对西瓜根际土壤微生物多样性及生物学性状的影响[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2014.
Zhao J C. Effects of grafting on soil microbial diversity and biological properties in rhizosphere of watermelon[D]. Nanning: MS Thesis of Guangxi University, 2014.
- [12] Hayano K A method for the determination of β -glucosidase activity in soil[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 1973, 19(2): 103–108.
- [13] Ladd J N. Properties of proteolytic enzymes extracted from soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1972, 4(2): 227–237.
- [14] Tabatabai M A, Bremner J M. Use of P-nitrophenyl phosphate for

- assay of soil phosphatase activity[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1969, 1(4): 301–307.
- [15] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19(6): 703–707.
- [16] Joergensen R G, Brookes P C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1990, 22: 1023–1027.
- [17] 吴金水, 肖和艾, 陈桂秋, 等. 旱地土壤微生物磷测定方法研究[J]. *土壤学报*, 2003, 40(1): 70–78.
Wu J S, Xiao H A, Chen G Q, *et al.* Measurement of microbial biomass-P in upland soils in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(1): 70–78.
- [18] Grice E A, Kong H H, Conlan S, *et al.* Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome[J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1190–1192.
- [19] Bainard L D, Koch A M, Gordon A M, Klironomos J N. Growth response of crops to soil microbial communities from conventional monocropping and tree-based intercropping systems[J]. *Plant and Soil*, 2013, 363(1–2): 345–356.
- [20] 杨尚东, 赵久成, 郭伊娟, 等. 番茄青枯病感病植株和健康植株根际土壤细菌群落结构的初步分析[J]. *中国蔬菜*, 2014, (8): 25–29.
Yang S D, Zhao J C, Guo Y J, *et al.* Characterization of soil bacterial community structures in rhizosphere of tomatoes infected with bacterial wilt and its non-infected plants[J]. *Chinese Vegetables*, 2014, (8): 25–29.
- [21] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境*, 2003, (1): 102–105.
Zhu L X, Zhang J E, Liu W G. Review of interactions between root exudates and rhizosphere microorganisms[J]. *Ecological Environment*, 2003, (1): 102–105.
- [22] 钟文辉, 蔡祖聪. 土壤管理措施及环境因素对土壤微生物多样性影响研究进展[J]. *生物多样性*, 2004, 12(4): 456–465.
Zhong W H, Cai Z C. Effect of soil management practices and environmental factors on soil microbial diversity: a review[J]. *Biodiversity Science*, 2004, 12(4): 456–465.
- [23] 杨宁, 杨满元, 雷玉兰, 等. 衡阳紫色土丘陵坡地土壤酶活性对植被恢复的响应[J]. *生态环境学报*, 2014, 23(4): 575–580.
Yang N, Yang M Y, Lei Y L, *et al.* Response of soil enzyme activities to re-vegetation on sloping-land with purple soils in Hengyang of Hunan province[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23(4): 575–580.
- [24] Sowerb Y A, Emmet T B, Beie R C, *et al.* Microbial community changes in health and soil communities along a geographical gradient: Interaction with climate change manipulations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37: 1805–1813.
- [25] Ahamadou B, Huang Q, Chen W, *et al.* Microcalorimetric assessment of microbial activity in long-term fertilization experimental soils of Southern China[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2009, 70(2): 186–195.
- [26] Powlson D S, Brookes P C, Christensen B T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19(2): 159–164.