

DOI: 10.11766/trxb202308140224

吴微微, 韩雪, 王继朋, 孙年喜, 李勇. 种植年限对枳壳根际微生物群落和土壤性质的影响[J]. 土壤学报, 2024, 61 (6): 1729–1740.
WU Weiwei, HAN Xue, WANG Jipeng, SUN Nianxi, LI Yong. Alterations with Plantation Years of *Fructus aurantii* on Rhizosphere Microbiome and Soil Properties[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61 (6): 1729–1740.

种植年限对枳壳根际微生物群落和土壤性质的影响^{*}

吴微微¹, 韩 雪¹, 王继朋^{2†}, 孙年喜², 李 勇^{1†}

(1. 西南大学资源环境学院, 重庆 400715; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065)

摘 要: 根际微生物影响土壤养分的有效性与转化, 和植物的生长及健康密切相关。探讨不同种植年限枳壳根际微生物和土壤性质的变化, 可为枳壳的田间管理提供科学依据。采集重庆市种植 4、20 和 40 a 的枳壳根际土壤, 高通量测序技术分析不同种植年限土壤细菌和真菌多样性和群落结构变化规律, 进一步研究微生物群落与土壤性质的相关性。结果表明, 连续种植 40 a 枳壳的土壤有机质、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量显著高于 4 a 和 20 a, 而土壤 pH 则显著降低 ($P<0.05$)。随着种植年限增加, 细菌的多样性指数无明显变化, 而真菌的多样性和均匀度指数显著增加 ($P<0.05$)。主坐标分析显示, 种植 40 a 的枳壳根际土壤细菌和真菌群落结构和组成与其他年限显著不同。在门水平上, 优势细菌门为变形菌门、酸杆菌门、放线菌门和芽单胞菌门, 占总丰度的 61.07%~87.79%; 优势真菌门为子囊菌门和担子菌门, 占总丰度的 64.70%~85.75%。在属水平上, 随种植年限的增加, 40 年枳壳根际土壤有益细菌和真菌属丰度较第 4 年的显著减少 ($P<0.05$), 如鞘氨醇单胞菌属、苍白杆菌属、类诺卡氏菌属、假单胞菌属、毛孢子菌属和毛壳菌属, 分别下降了 51.21%、91.32%、78.60%、81.87%、70.58% 和 60.74%。此外, 致病菌属丰度显著增加, 如镰刀属、*Plectosphaerella* 属和 *Ilyonectria* 属分别增加了 117.6%、323.9% 和 1 631%。Mantel 分析表明, 土壤 pH 和营养因素是影响细菌和真菌群落组成的重要环境因子。枳壳长期种植会改变根际微生物群落结构和组成, 随着种植年限增加, 真菌的多样性指数显著增加, 有益的根际细菌和真菌属丰度减少, 而潜在的致病菌属丰度增加, 这可能是枳壳长期栽培长势变差和病害逐渐加重的主要原因。

关键词: 枳壳; 种植年限; 土壤养分; 高通量测序; 微生物群落

中图分类号: S567; S154.3; S153 **文献标志码:** A

Alterations with Plantation Years of *Fructus aurantii* on Rhizosphere Microbiome and Soil Properties

WU Weiwei¹, HAN Xue¹, WANG Jipeng^{2†}, SUN Nianxi², LI Yong^{1†}

(1. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

^{*} 国家重点研发计划项目 (SQ2020YFF0422412)、重庆市科技局激励项目 (cstc2020jxjl-jbky10001) 和重庆市技术创新与应用发展专项 (cstc2019jscx-gksbX0078) 共同资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. SQ2020YFF0422412), the Scholars Project of Chongqing Science and Technology Bureau (No. cstc2020jxjl-jbky10001), and the Key Project of Technological Innovation and Application Development in Chongqing (No. cstc2019jscx-gksbX0078)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wjp@cqacmm.com; liyongwf@swu.edu.cn

作者简介: 吴微微 (1994—), 女, 河南信阳人, 硕士研究生, 主要从事中药材栽培及其土壤微生物研究。E-mail: 3038210050@qq.com

收稿日期: 2023–08–14; 收到修改稿日期: 2023–11–21; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2024–04–08

Abstract: 【 Objectives 】 Rhizosphere microorganisms affect the availability and transformation of soil nutrients, which are closely related to the growth and health of plants. Changes in rhizosphere microorganisms with plantation years of *Fructus aurantii* were studied for better field *F. aurantii* management. 【 Methods 】 The rhizosphere soil samples of *F. aurantii* planted for 4 (Y4), 20 (Y20), and 40 (Y40) years in Chongqing were collected on 2020. The changes in diversity index and community composition structure of bacteria and fungi were analyzed by high-throughput sequencing technology, and the correlation between rhizosphere microbial community composition(bacterial and fungal)and soil properties was explored. 【 Results 】 Soil organic matter (SOM), total nitrogen (TN), available N (AN), available phosphorus (AP) and available potassium (AK), except pH, were significantly higher ($P < 0.05$) in Y40 than those under Y4 and Y20. The Shannon and Pielou indices of fungi were significantly increased with the increase in plantation age ($P < 0.05$), while those of bacteria had no significant changes. The principal coordinate analysis (PCoA) indicated that the rhizosphere bacterial and fungal community structures under Y40 significantly differed from those under Y4 and Y20. At the phylum level, the dominant bacteria phyla were Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria and Gemmatimonadetes, and their total relative abundance accounted for 61.07%–87.79%. Also the dominant fungal phyla were Ascomycota and Basidiomycota which accounted for 64.70–85.75%. At the genus level, the abundance of beneficial bacteria and fungi in rhizosphere soil under Y40 was significantly lower than those under Y4 ($P < 0.05$). For example, the abundance of *Sphingomonas*, *Ochrobactrum*, *Nocardioideis*, *Pseudomonas*, *Trichosporon* and *Chaetomium* were decreased by 51.21%, 91.32%, 78.60%, 81.87%, 70.58% and 60.74%, respectively. Furthermore, the abundance of pathogenic genera including *Fusarium*, *Plectosphaerella* and *Ilyonectria*, were significantly increased by 117.6%, 323.9% and 1631% under Y40 compared to Y4 ($P < 0.05$), respectively. The mantel analysis showed that soil pH and nutrient availability were the important abiotic factors influencing the composition of bacterial and fungal communities under different *F. Aurantii* planation years. 【 Conclusions 】 Long-term plantation of *F. Aurantii* altered soil bacterial and fungal community structures. Specifically, the fungal diversity index and the abundance of pathogenic fungi increased, while the abundance of beneficial microbes in the rhizosphere soil decreased. These alterations were the main reasons for inducing an aggravation of the related disease and then a worse plant growth with the increasing age of *F. Aurantii* plantation.

Key words: *Fructus aurantii*; Cropping years; Soil nutrient; High-throughput sequencing; Microbial community

枳壳 (*Fructus aurantii*, FA) 为芸香科柑橘属植物酸橙及其栽培变种的干燥未成熟果实, 是我国传统的大宗中药材, 主要分布于重庆、四川、江西和湖南等地区^[1-2]。枳壳植株为多年生乔木, 定植 6 年后进入盛果期, 可采果 40 年, 但随生长年限增加会出现土壤环境质量下降、树体衰退和土传病害加重等问题, 显著降低枳壳的产量和品质^[3-4], 制约了枳壳产业的可持续发展。

根际土壤微生物是土壤微生态的重要组成部分, 具有促进土壤中大量元素如 C、N、P、K 等物质的转化, 协助植物养分吸收, 提高植物抗病性等作用^[5-6]。同时, 根际土壤微生物多样性不仅代表微生物群落的稳定性, 还能反映出土壤的健康状况, 与土壤质量密切相关^[7]。土壤微生物研究已成为土壤研究中的一个热点。研究表明, 栽培年限变化对植物根际微生物群落多样性和结构组成均会产生较大影响。如宁夏枸杞根际土壤细菌群落不同年限

下变化不显著, 但真菌群落变化显著^[6]。柑橘种植年限过长会引起土壤微生物细菌与真菌结构失衡, 部分有益菌属丰度减少, 从而降低土壤养分的有效性和植物养分的吸收能力; 而病原真菌丰度增加, 提高植物患病的风险, 不利于植物生长^[4, 8]。不同连作年限百合土壤细菌多样性指数随种植年限显著上升, 真菌多样性显著下降^[9]。目前国内外对枳壳的研究主要集中在药用价值、药用有效成分和加工生产技术等方面^[1-2, 10]; 或是接种外源微生物如丛枝菌根真菌对枳壳生长的影响^[11], 从而寻找提高枳壳产量的方法。但对其根际微生物群落结构随种植年限的变化, 以及与土壤性质的相关性研究还少见报道。本研究采用高通量测序技术, 对不同年限下枳壳根际土壤微生物群落组成及多样性进行分析, 并测定土壤性质, 揭示影响土壤细菌和真菌群落的关键环境因子, 为枳壳的田间管理和土壤培育提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验地位于潼南区上和镇团山村重庆市中药研究院枳壳种植基地(30°07'N, 105°89'E), 属亚热带季风湿润气候, 四季分明, 雨量充沛, 年均降水量为 900~1 082 mm, 年均日照 1 091~1 228 h, 年均气温 17.9~22.8 °C, 无霜期 319~360 d, 枳壳栽培株行距 3 m × 3 m, 每公顷约 1 050 株。栽培土壤为红棕紫泥土, 适合枳壳生长, 在重庆当地有长期栽培的传统; 除施肥外, 枳壳的修枝、喷洒农药等病虫害管理均参照当地的常规管理模式进行。

枳壳园施肥分为基肥和追肥, 其中有有机肥 15 000 kg·hm⁻² (养分含量 2.0-1.4-1.8, 有机质 ≥ 40%)、复合肥 600 kg·hm⁻² (养分含量 15-10-10) 作为基肥, 在树冠流水线内外约 10 cm 处开相对环形沟 2 条, 8 月上旬采果后至 11 月上旬前混匀后施用, 同时用牡蛎粉 750 kg·hm⁻², 补充钙的同时调节土壤 pH; 3 月下旬枳壳萌芽追施尿素 300 kg·hm⁻²、磷酸一铵 150 kg·hm⁻² 和硫酸钾 75 kg·hm⁻², 6 月上旬枳壳结果旺长期追施尿素 150 kg·hm⁻²、硫酸钾 255 kg·hm⁻²。

1.2 土壤样本采集

于 2020 年 6 月下旬采集种植年限为 4 a、20 a、40 a 的枳壳根际土壤(分别用 Y4、Y20 和 Y40 表示)。分别选取有代表性的枳壳树, 沿着主干基部 10~50 cm 的范围内采用五点取样法采样, 除去地表凋落物及较大石块等杂物, 挖出 20 cm 左右深度土壤, 采用抖根法除去多余土壤, 收集紧密附着在根系上 0~2 mm 的土壤, 最后将样品混匀, 装入无菌样品袋, 并保存于冰盒迅速带回实验室, 每个处理 3 个重复。将取回的土壤样品分为两部分, 一部分暂存在 -80 °C 冰箱中用于后续 DNA 提取, 进行高通量测序; 另一部分土样置于室内室温下自然风干后, 除去大的石砾等, 研磨后分别过孔径为 1 mm、0.25 mm 和 0.15 mm 的标准筛, 用于土壤理化性质的测定。

1.3 土壤性质测定

土壤有机质 (Soil organic matter, SOM)、pH、全氮 (Total nitrogen, TN)、全钾 (Total potassium, TK)、全磷 (Total phosphorus, TP)、碱解氮 (Available

nitrogen, AN)、速效钾 (Available potassium, AK) 和有效磷 (Available phosphorus, AP) 测定均参考《土壤农化分析与环境监测》的相关标准方法^[12]。其中 SOM 采用重铬酸钾-浓硫酸消解-外加热法; pH 采用玻璃电极法 (土水比 1:2.5); TN 采用凯氏定氮法; TK 采用碱熔火焰光度法; TP 采用碱熔-钼蓝比色法; AN 采用碱解扩散法; AK 采用火焰光度法 (NH₄Ac); AP 采用钼锑抗比色法。

1.4 土壤总 DNA 提取、PCR 扩增及测序

采用 PowerSoil[®] DNA Isolation Kit 试剂盒抽提土壤微生物总 DNA, 使用琼脂糖凝胶 (1%) 电泳检测 DNA 的质量, 再使用 NanoDrop2000 测定 DNA 纯度和浓度。细菌 16S rRNA 基因中 V3+V4 区扩增引物是: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3', 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'; 真菌 ITS2 区扩增引物为: 5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3', 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'^[13]。使用 Phusion[®] 高保真 PCR 扩增组合对细菌和真菌序列进行 PCR 扩增, PCR 反应条件参考 Huang 等^[14]。随后对 PCR 产物进行定量、纯化和均一化最终形成测序文库, 质检合格的文库在 BioMarker 生物信息学技术有限公司 (中国北京) Illumina MiSeq 平台进行测序。原始序列已经上传到 NCBI 序列阅读档案 (SRA) 数据库, 登录号为 PRJNA1017124。

1.5 测序数据信息分析

首先对原始序列进行拼接 (FLASH, version 1.2.7), 质量过滤 (Trimmomatic, version 0.33), 去除嵌合体 (UCHIME, version 8.1), 得到可用于后续分析的 Tag 序列^[13, 15]。然后在相似性 97% 的水平上对 Tag 序列进行 OTU (Operational Taxonomic Units) 聚类, 可获得多个 OTUs。最后挑选出各个 OTUs 的代表序列, 基于 RDP Classifier (贝叶斯算法, 置信度阈值 0.8) 将细菌和真菌的代表序列分别与 Silva 128 数据库和 Unite 数据库 (Release 8.0, <https://unite.ut.ee/>) 进行比对物种注释^[16]。

利用 R 4.1.3 软件的 vegan 包对抽平后的测序数据进行 α 多样性指数计算和 β 多样性分析; linkET 包和 dplyr 包进行 Mantel 分析, psych 包计算 Spearman 相关性; ggplot2、patchwork 和 paletteer 等包进行可视化。采用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析 (ANOVA) 和 LSD 检验 ($P < 0.05$)。

2 结 果

2.1 不同种植年限枳壳根际土壤性质变化

由表 1 可知, 土壤 pH 随枳壳生长年限的增加而显著下降, Y40 组较 Y4 和 Y20 组分别降低了 1.03 和 0.87 ($P<0.05$)。土壤有机质、全氮和碱解氮含量随种植年限增加呈增加趋势, Y40 组分别较 Y4 和

Y20 组显著增加了 425.03%和 107.28% (有机质), 431.45%和 113.42%(全氮), 413.69%和 127.97%(碱解氮) ($P<0.05$)。Y40 组的土壤全磷、有效磷、全钾和速效钾含量均表现为 Y40 组显著高于 Y4 和 Y20 组 ($P<0.05$), 但在 Y4 组和 Y20 组间无显著差异。综上可知, 不同种植年限对土壤 pH、有机质、全氮和碱解氮含量影响显著。

表 1 不同种植年限枳壳土壤性质的变化

Table 1 Changes properties of *Fructus aurantii* soil in different planting years

年限 Year	pH	有机质 Organic matter/ (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮 Available N/ (mg·kg ⁻¹)	全磷 Total P/ (g·kg ⁻¹)	有效磷 Available P/ (mg·kg ⁻¹)	全钾 Total K/ (g·kg ⁻¹)	速效钾 Available K/ (mg·kg ⁻¹)
Y4	8.67±0.03a	7.45±1.05c	0.43±0.06c	49.1±9.4c	0.80±0.04b	5.36±2.70b	25.1±0.43b	615.0±59.2b
Y20	8.50±0.00b	18.87±1.98b	1.08±0.15b	110.7±11.2b	0.84±0.02b	5.83±1.57b	23.2±0.36b	661.7±44.8b
Y40	7.63±0.03c	39.11±1.49a	2.29±0.08a	252.4±15.4a	1.36±0.04a	205.87±5.22a	22.5±0.44a	2 766.7±30.0a

注: Y4: 种植 4 年; Y20: 种植 20 年; Y40: 种植 40 年; 表中数据为平均值 ± 标准误差 ($n=3$); 同一列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。Note: Y4, soil from cropping for 4 years; Y20, soil from cropping for 20 years; Y40, soil from cropping for 40 years. The value is the means ± standard error ($n=3$), and different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P<0.05$). The same below.

2.2 不同种植年限枳壳根际土壤物种多样性变化

通过对枳壳土壤样本基于细菌 16SrRNA 和真菌 ITS 基因的高通量测序可知, 9 个土壤样本共获得细菌有效序列 664 242 条, 按照相似性 97% 的水平对序列进行 OTU 聚类, OTU 总数为 13 007; 而真菌所有样本的有效序列为 706 583 条, OTU 总数是 4 445。细菌所有样本的覆盖率在 99.55%以上, 真菌基因文库覆盖率达 99.91%(表 2), 说明测序结果有较好代表性, 能真实反映样本信息。

不同种植年限枳壳土壤微生物群落多样性的变化如表 2 所示, 细菌多样性分析结果显示, 各组的 Shannon 指数无显著差异, Chao1 指数呈先增加后降

低的趋势, 在 Y20 组最大, 表明种植 20 年的枳壳根际土壤细菌丰富度最高, 随种植年限继续延长, 其丰富度开始有明显下降。Pielou 指数随年限增加呈降低的趋势, 表明细菌分布均匀度随种植年限增加开始减少。真菌多样性分析结果表明, 各组的 Chao1 指数无显著差异, 表明根际真菌丰富度受种植年限影响不大, 但 Y40 组 Shannon 和 Pielou 指数均最高, 与 Y4 组、Y20 组存在显著差异 ($P<0.05$), 表明根际真菌多样性随种植年限增加而增加。

2.3 不同种植年限枳壳土壤微生物群落结构变化

基于 bray-curtis 算法, 利用主坐标 (Principal Co-ordinates Analysis, PCoA) 进行基于 OTU 水平

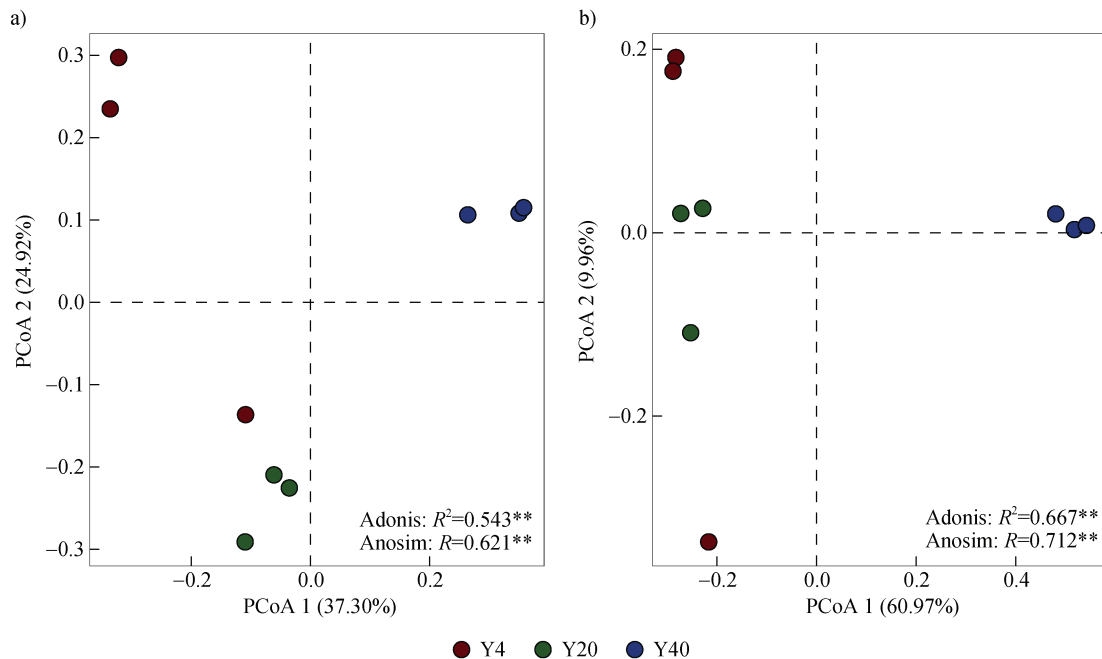
表 2 不同种植年限土壤微生物群落的多样性指数变化

Table 2 Change of diversity index of soil microbial community under planting years

年限 Year	细菌 Bacteria				真菌 Fungi			
	多样性	均匀度	丰富度	覆盖率	多样性	均匀度	丰富度	覆盖率
	Shannon	Pielou	Chao1	Coverage/%	Shannon	Pielou	Chao1	Coverage/%
Y4	8.77±0.20a	0.88±0.01a	1 359.3±211.0b	99.66	5.94±0.13b	0.94±0.03b	768.7 ±100.4a	99.91
Y20	9.30±0.14a	0.87±0.01ab	1 852.4±83.5a	99.58	6.28±0.07b	0.99±0.01b	656.6±60.1a	99.95
Y40	8.73±0.17a	0.84±0.01b	1 546.5±50.6ab	99.55	6.70±0.11a	1.14±0.01a	566.1±19.7a	99.89

的微生物群落组成相似性分析。结果表明，细菌和真菌两主坐标 PC1 轴和 PC2 轴分别共解释 62.22% 和 70.93% 的样本信息（图 1）。同时，经 ADONIS 检验表明，不同种植年限枳壳土壤的微生物群落结构具有显著差异（细菌： $R^2 = 0.543$, $P = 0.005$ ；真菌： $R^2 = 0.667$, $P = 0.004$ ），Y40 组与 Y4 组、Y20 组土壤细菌和真菌的物种差异均较大，在图中样本

被明显分开，表明 Y40 组细菌和真菌群落结构相比其他组发生了明显变化。对土壤真菌而言，Y4 组和 Y20 组的样本距离相对较近，说明其物种组成具有一定的相似性。此外，基于相似性（Analysis of similarities, ANOSIM）分析，发现不同种植年限下土壤细菌（ $R = 0.621$, $P = 0.004$ ）和真菌（ $R = 0.712$, $P = 0.008$ ）群落分组解释率较高。



注：4 年、20 年和 40 年根际微生物群落结构之间的差异及分组解释率分别用置换多元方差（ADONIS）检验和相似性分析（ANOSIM）获得，*和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。Note: The significant differences between soil microbial community in Y4, Y20 and Y40, and the grouping interpretation rates were obtained by Permutational multivariate analysis of variance (ADONIS) test and similarity analysis (ANOSIM), respectively. The significant differences are marked with * and ** at the levels of $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

图 1 不同种植年限土壤细菌 (a) 和真菌 (b) 群落的主坐标分析

Fig. 1 PCoA analysis of soil bacterial (a) and fungal (b) communities in different planting years

2.4 不同种植年限枳壳土壤微生物群落组成变化

枳壳根际土壤细菌共检测到 28 门、84 纲、189 目、308 科、540 属，其中，变形菌门（Proteobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）和芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）为优势菌门（平均相对丰度 $> 5\%$ ），平均相对丰度分别为 34.20%、27.67%、7.88%、5.65%，占总丰度的 61.07%~87.79%。真菌 12 门、34 纲、80 目、152 科、314 属，优势真菌门是子囊菌门（Ascomycota）和担子菌门（Basidiomycota），平均相对丰度分别为 59.54%、18.87%，占总丰度的 64.70%~85.75%。

不同年限根际土壤微生物群落组成存在一定差

异（图 2）。其中，Y40 的放线菌门和芽单胞菌门的相对丰度显著低于 Y4，分别下降了 59.51% 和 47.68%（ $P < 0.05$ ）。Y40 中子囊菌门的相对丰度显著低于 Y4，下降了 39.49%，但 Y40 中的担子菌门和被孢霉门（Mortierellomycota）显著高于 Y4，分别增加了 93.68% 和 279.9%（ $P < 0.05$ ）。

枳壳土壤样品平均相对丰度 $> 1\%$ 优势细菌属为鞘氨醇单胞菌属、MND1、Haliangium、Candidatus_Udaeobacter、硝化螺菌属（Nitrospira）、Bryobacter、RB41，占总丰度的 6.95%~16.51%。其中，Y40 组鞘氨醇单胞菌属的相对丰度显著低于 Y4 组，降低了 51.21%。优势真菌属为镰刀菌属、被孢霉属

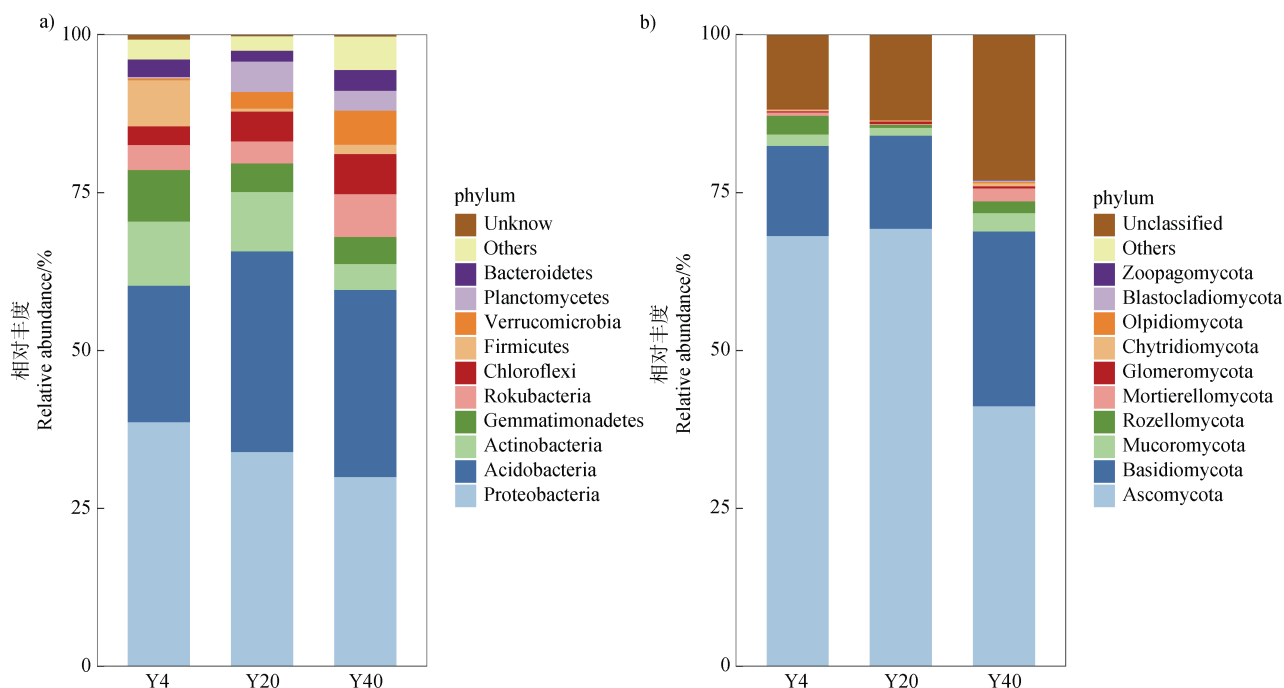


图 2 不同种植年限土壤细菌 (a) 和真菌 (b) 群落组成门水平变化 (前 10)

Fig. 2 Changes of soil bacterial (a) and fungal (b) communities composition at the phylum level (Top 10) in different planting years

(*Mortierella*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、*Apiotrichum*、*Saitozyma*、链格孢属, 占总丰度的 7.99%~25.56%。其中, Y40 组镰刀菌属相对丰度显著高于 Y4 组, 高出 117.6% ($P<0.05$), 但链格孢属的相对丰度则显著低于 Y4, 降低了 73.49% ($P<0.05$)。

此外, 进一步统计分析表明 (表 3), 在平均相对丰度为 0.05%~1%之间的细菌和真菌属中, 有 19 个细菌属和 16 个真菌属发生显著变化。其中, Y40 组苍白杆菌属、假单胞菌属、*Pseudolabrys*、根瘤菌属 (*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)、类诺卡氏属、假诺卡氏菌属、*Microvirga*、*Marmoricola* 属的相对丰度显著低于 Y4 组, 下降了 91.32%、81.87%、92.81%、66.96%、78.60%、96.37%、70.37% 和 81.67% ($P<0.05$)。真菌属中, Y40 组的 *Plectosphaerella*、*Ilyonectria* 属的相对丰度显著高于 Y4 组的, 高出 323.9%、1631% ($P<0.05$); 但毛孢子菌属、*Iodophanus*、毛壳菌属、*Tomentella*、*Acrophialophora*、*Preussia*、*Mycothermus*、*Geminibasidium*、*Clavulinopsis*、*Paraphoma*、*Hirsutella* 属的相对丰度则显著低于 Y4 组, 降低了 70.58%、99.86%、60.74%、77.78%、99.86%、93.24%、91.01%、99.55%, 且 *Geminibasidium*、*Clavulinopsis*、*Hirsutella* 属在 Y40 组的相对丰度为 0% ($P<0.05$)。

因此, Y40 组有益细菌和真菌属的相对丰度显著下降, 但有害菌属相对丰度显著增加。

2.5 枳壳根际土壤微生物群落与土壤环境因子的关联性

采用 Mantel test 来评估土壤环境因子对 OTU 水平上细菌和真菌群落组成的影响, 并对土壤环境因子进行 Spearman 相关性分析。结果如图 3 所示, pH 与全钾呈极显著正相关, 与有机质、全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾呈极显著负相关 ($P<0.01$)。有机质与全钾呈极显著负相关 ($P<0.01$), 与全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾呈显著正相关 ($P<0.05$)。全氮与全钾呈极显著负相关, 与碱解氮、有效磷和速效钾呈极显著正相关 ($P<0.01$)。碱解氮与全磷、有效磷和速效钾呈显著正相关 ($P<0.05$)。细菌和真菌群落与土壤 pH、有机质、全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾呈显著正相关 ($P<0.05$)。

在 Mantel 分析的基础上, 进一步筛选出对细菌和真菌群落影响显著的土壤环境因子进行优势菌群的相关性分析, 结果显示, 在细菌群落中 (图 4a), 芽单胞菌门和鞘氨醇单胞菌属与有机质、全氮、碱解氮和速效钾显著负相关; 而与 pH 显著正相关 ($P<0.05$)。 *Candidatus_Udaeobacter* 属与有机质、全

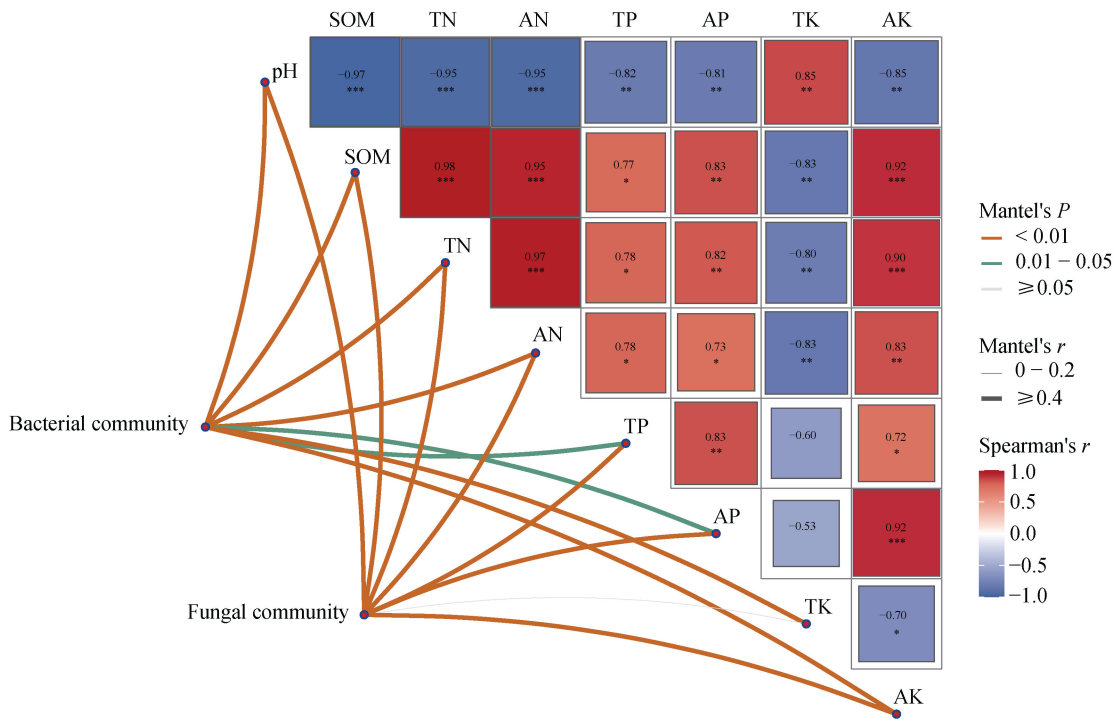
表 3 枳壳根际土壤微生物群落相对丰度在属水平上的变化

Table 3 Relative abundance of soil microbial communities in the rhizosphere of *Fructus aurantii* at the genus level

属别 Genus	分类 Taxonomy	相对丰度 Relative abundance/%		
		Y4	Y20	Y40
细菌属 Bacteria genus	鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	3.19±0.28a	1.88±0.11b	1.56±0.27b
	<i>Dongia</i>	1.15±0.22a	1.34±0.02a	0.30±0.01b
	<i>Steroidobacter</i>	0.67±0.22b	1.37±0.16a	0.38±0.04b
	苍白杆菌属 <i>Ochrobactrum</i>	1.48±0.33a	0.21±0.08b	0.13±0.04b
	<i>Subgroup_10</i>	0.71±0.25a	0.76±0.09a	0.15±0.05b
	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.09±0.18a	0.13±0.06b	0.20±0.02b
	<i>Candidatus_Solibacter</i>	0.22±0.11b	0.27±0.06b	0.86±0.16a
	<i>Pseudolabrys</i>	0.57±0.22a	0.10±0.03b	0.04±0.01b
	<i>Allorhizobium-Neorhizobium</i>	0.34±0.09a	0.24±0.04ab	0.11±0.02b
	<i>-Pararhizobium-Rhizobium</i>			
	<i>Christensenellaceae_R-7_group</i>	0.67±0.31a	0.01±0.00b	0.00±0.00b
	<i>Candidatus_Alysiosphaera</i>	0.27±0.03a	0.29±0.04a	0.04±0.02b
	<i>Solirubrobacter</i>	0.19±0.06ab	0.33±0.05a	0.06±0.02b
	类诺卡氏菌属 <i>Nocardioidea</i>	0.27±0.10a	0.12±0.01ab	0.06±0.01b
	假诺卡氏菌属 <i>Pseudonocardia</i>	0.30±0.08a	0.11±0.03b	0.01±0.00b
	<i>Microvirga</i>	0.19±0.05a	0.13±0.04ab	0.06±0.01a
	分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	0.03±0.03b	0.16±0.01a	0.12±0.00a
	<i>Roseburia</i>	0.06±0.03b	0.01±0.00b	0.15±0.03a
	<i>Oerskovia</i>	0.01±0.01b	0.02±0.01b	0.16±0.02a
	<i>Adhaeribacter</i>	0.01±0.01b	0.09±0.03a	0.09±0.02a
真菌属 Fungi genus	<i>Marmoricola</i>	0.12±0.03a	0.05±0.01b	0.02±0.00b
	镰刀属 <i>Fusarium</i>	4.25±1.91b	6.16±1.14ab	9.25±0.45a
	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	1.94±1.27ab	1.15±0.26b	4.79±0.62a
	<i>Apiotrichum</i>	0.02±0.02b	0.05±0.03b	5.12±1.58a
	链格孢属 <i>Alternaria</i>	1.74±0.33a	1.13±0.17ab	0.46±0.21b
	毛孢子菌属 <i>Trichosporon</i>	1.37±0.34a	0.98±0.11ab	0.40±0.28b
	<i>Candida</i>	0.26±0.08b	0.18±0.04b	1.43±0.13a
	<i>Exophiala</i>	0.04±0.02b	0.10±0.07b	1.27±0.21a
	<i>Plectosphaerella</i>	0.18±0.02b	0.25±0.08b	0.76±0.14a
	<i>Iodophanus</i>	0.35±0.08a	0.45±0.03a	0.00±0.00b
	毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>	0.35±0.02a	0.28±0.02ab	0.14±0.09b
	<i>Tomentella</i>	0.34±0.08a	0.35±0.07a	0.08±0.08b
	<i>Ilyonectria</i>	0.03±0.03b	0.04±0.03b	0.55±0.03a
	<i>Acrophialophora</i>	0.36±0.08a	0.24±0.11ab	0.00±0.00b
	葡萄穗霉属 <i>Stachybotrys</i>	0.19±0.09ab	0.33±0.07a	0.04±0.04b

续表

属别 Genus	分类 Taxonomy	相对丰度 Relative abundance/%		
		Y4	Y20	Y40
真菌属 Fungi genus	<i>Trichothecium</i>	0.25±0.06a	0.27±0.03b	0.00±0.00b
	<i>Preussia</i>	0.34±0.09a	0.14±0.08ab	0.02±0.02b
	<i>Ceratobasidium</i>	0.09±0.02ab	0.39±0.18a	0.00±0.00b
	<i>Mycothermus</i>	0.27±0.10a	0.15±0.05ab	0.02±0.02b
	<i>Geminibasidium</i>	0.17±0.01a	0.09±0.03b	0.00±0.00c
	<i>Clavulinopsis</i>	0.12±0.04a	0.10±0.03ab	0.00±0.00b
	<i>Paraphoma</i>	0.11±0.04a	0.05±0.02ab	0.00±0.00b
	<i>Hirsutella</i>	0.14±0.03a	0.02±0.02b	0.00±0.00b



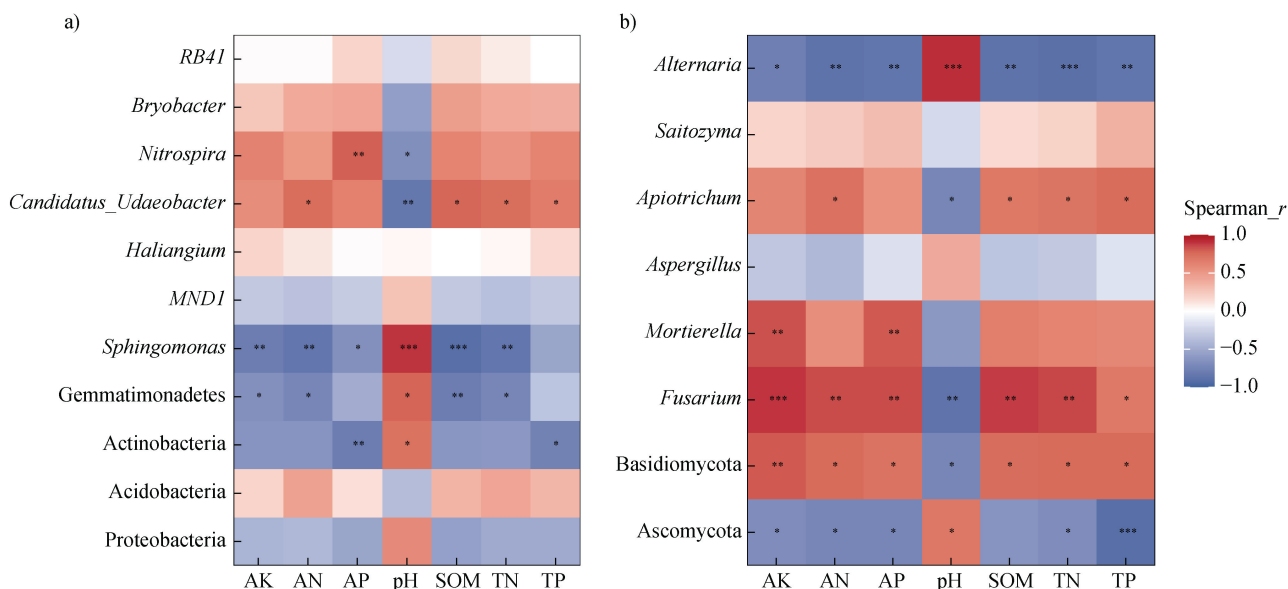
注：线条的粗细代表 Mantel 相关 r 值；线条颜色代表 Mantel 相关 P 值，热图颜色代表 Spearman 相关系数，并用数值进行表示，Spearman 显著性的差异在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 的水平上分别用*、**和***标注。Note: The thickness of the line represents the related r value of Mantel; The line color represents Mantel correlation P value, and the heat map color represents Spearman correlation coefficient, which is expressed by numerical values. The significant differences of Spearman are marked with *, ** and *** at the levels of $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively.

图 3 土壤微生物群落与土壤环境因子的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis between microbial community and soil environment factors

氮、全磷和碱解氮显著正相关，而与 pH 显著负相关 ($P<0.05$)。在真菌群落中 (图 4b)，子囊菌门与全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾显著负相关；而与 pH 显著正相关 ($P<0.05$)。担子菌门与有机质、全氮、碱解氮、速效钾和有效磷显著正相关；而与

pH 显著负相关 ($P<0.05$)。镰刀菌属和 *Apiotrichum* 属与有机质、全氮和碱解氮显著正相关，而与 pH 显著负相关 ($P<0.05$)。链格孢属与有机质、全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾显著负相关，而与 pH 显著正相关 ($P<0.05$)。



注：热图中红色和蓝色分别表示正相关和负相关关系，显著相关性在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 的水平分别用*、**、***标注。
Note: The red or blue color in the heatmap indicates a positive or negative correlation, respectively. The sign of *, ** and *** indicates significant correlation at $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively.

图 4 土壤细菌 (a) 和真菌 (b) 群落与土壤环境因子的相关性热图

Fig. 4 Correlation heatmap between soil environment factors and soil bacterial (a) and fungal (b) communities

3 讨论

3.1 不同种植年限枳壳根际土壤性质的变化

土壤养分含量状况直接影响枳壳的生长发育及产量和品质的提高^[4]。本研究显示，第 40 年枳壳根际土壤有机质、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾含量最高，显著高于其他种植年限，但土壤 pH 最低，其变化规律与李晶晶和续勇波^[9]的研究结果相一致。一方面因为长期大量地施肥，枳壳施肥量超过了消耗量，造成养分在土壤中的积累，同时随着化学肥料用量增加，土壤 pH 下降。另一方面，在枳壳的长期种植过程中，有机酸和酚酸等根系分泌物在土壤中不断积累，也会导致 pH 的下降。此外，与《全国第二次土壤普查养分分级标准》^[17]相比，第 40 年枳壳土壤的有效磷和速效钾含量远高于一级水平，这与目前磷肥和钾肥的用量过高有关。

3.2 不同种植年限枳壳根际土壤多样性和群落组成的变化

土壤微生物多样性通常被认为是评估土壤健康状况的重要参数之一。对种植不同年限的枳壳根际微生物群落高通量测序发现，细菌的多样性无显著变化，这与姚泽秀等^[18]在茶树研究中发现随种植年

限的增加，其细菌多样性呈下降趋势不同，但与纳小凡等^[6]发现宁夏枸杞根际土壤细菌多样性随种植年限增加而无显著变化相一致。细菌的丰富度随种植年限的延长呈先增加后降低的趋势，在第 20 年最高。而真菌多样性和均匀度在枳壳第 40 年中较其他年限均显著升高，与冼康华等^[19]发现的不同种植年限华重楼根际土壤真菌多样性变化相似，表明随生长年限增加，枳壳根际土壤中真菌多样性的增加，使得土壤的微生态发生变化。

植物根际土壤微生物群落的动态平衡是保证植物健康发育的重要因素^[15]。本研究表明，枳壳种植不同年限后，根际土壤细菌和真菌群落组成发生了显著变化。同时，PCoA 分析和 ADONIS 结果显示不同种植年限间土壤细菌和真菌群落结构存在显著差异，说明种植年限显著影响了枳壳土壤微生物群落结构。

在细菌门水平上，随着年限的增加，放线菌门和芽单胞菌门丰度呈下降趋势，有研究表明放线菌门是碱性土壤中的优势类群，在土壤养分循环、病害防治、促进植物生长等方面发挥重要作用^[20]，其在第 40 年丰度显著下降，可能不利于枳壳后期的生长。从真菌门水平可以看出，子囊菌门和担子菌门是枳壳土壤中的两大优势菌门，这与朱书红等^[21]在

不同种植年限甜龙竹土壤优势真菌门的研究结果相一致。它们被视为土壤中的分解者,在养分循环和能量流动中具有重要作用^[21]。其中,担子菌门的相对丰度在第40年最高,与其倾向于生活在高营养的土壤生态系统中有关^[22],与相关性分析结果相一致。而子囊菌门第40年的丰度最低,为41.22%,可能与土壤酸碱度变化有关;再加上担子菌门等其他菌门的大量繁殖,共同限制了子囊菌门真菌的繁殖^[21-22]。在对细菌和真菌属水平分析发现,随着年限的增加,第40年根际土壤有益细菌和真菌属的相对丰度比第4年显著减少,可能是由于枳壳有机酸和酚酸等根系分泌物在土壤中不断积累所导致环境的变化,一些微生物不能适应这种变化从而减少。如具有促进植物对激素、生物碱合成以及氮代谢等作用的 *Pseudolabrys* 属^[23],降低了92.81%;具有溶磷、产铁载体和固氮能力的类诺卡氏菌属^[24],降低了78.60%;苍白杆菌属^[25]成员能产生吲哚乙酸(IAA)和ACC脱氢酶,从而促进植物的生长,降低了91.32%;鞘氨醇单胞菌属和假诺卡氏菌属是促进植物生长的有益菌。其中,鞘氨醇单胞菌属能产生IAA并诱导根系生长^[26];假诺卡氏菌属参与土壤养分循环和氮的转化^[27],这两个菌属分别下降了51.21%和96.37%;具有生防、溶磷和固氮作用,增强寄主抗病性,促进生长的假单胞菌属^[28],下降了81.87%。真菌属中的毛壳菌属^[29]成员对多种植物病原菌表现出潜在的生物防治作用,如苹果树腐烂病菌和杨树腐烂病菌等,降低了60.74%;*Tomentella* 属^[30]可与多种植物形成外生菌根,促进植物生长,提高植物的抗病性和抗逆性,降低了77.78%;具有产生铁载体、纤维素酶和蛋白酶能力的毛孢子菌属^[31],降低了70.58%;*Acrophialophora* 属^[32]具有增强植物的抗氧化酶活性,诱导植物产生系统防御反应,还能产生纤维素酶和果胶酶,从而有助于植株的生长发育,降低了99.86%;*Geminibasidium* 属^[33]具有分解和释放土壤中矿质养分的能力,提高土壤有效养分的含量,在土壤生态系统中发挥着重要作用,在40年降低至0%。此外,种植40年的枳壳显著增加了对植物生长不利的镰刀属、*Plectosphaerella* 和 *Ilyonectria* 属的相对丰度。研究表明,镰刀属的成员可引起多种植物的根腐病发生,影响全球不同气候地区作物,如尖孢镰刀菌引起香榧^[34]根腐病的发生、芳香镰刀菌为平贝母鳞茎腐烂致病菌^[35],丰度增加了117.6%。*Plectosphaerella* 属也可引起多种植物患

病,如该属可使菊花的茎部腐烂^[36]、地黄地下根部萎蔫^[37],丰度增加了323.9%。*Ilyonectria* 属可引发西洋参锈腐病^[38],丰度增加了1631%。因此,枳壳种植年限增加后土壤pH值降低,微生物群落结构失衡,有益微生物丰度降低和致病微生物丰度的增加,这是造成枳壳生长不良的关键。

3.3 不同种植年限枳壳根际土壤微生物群落与土壤性质的关联性

土壤理化性质对土壤微生物群落有显著影响,其中pH常被认为是显著影响土壤微生物群落组成的重要环境因子^[7]。在本研究中,长期种植枳壳使得土壤pH降低,显著影响土壤中细菌和真菌群落的相对丰度。经过相关性分析显示,优势放线菌门、芽单胞菌门、子囊菌门和担子菌门与pH显著相关,pH能影响土壤中细菌和真菌群落的丰度和多样性。此外,本研究发现除pH之外,其他土壤环境因子如有机质、全氮、全磷、碱解氮、速效钾和有效磷也是决定枳壳根际土壤细菌和真菌群落组成的重要因素。

在本研究中,土壤环境因子与细菌和真菌群落结构间存在相互促进或抑制的关系,不同种植年限枳壳根际土壤细菌和真菌群落的改变与土壤性质之间具有不同程度的关联性。鞘氨醇单胞菌属与土壤的有机质、全氮、碱解氮、有效磷和速效钾呈显著负相关,表明土壤有效养分含量的增加不利于鞘氨醇单胞菌属的生长,印证了其丰度在第40年最低。*Candidatus_Udaeobacter* 属和镰刀菌属与土壤pH呈显著负相关,说明pH的下降会增加镰刀菌属的丰度,与第40年土壤pH最低但镰刀菌属丰度最高的结果相一致。综上所述,由种植年限引起土壤养分含量变化是推动土壤细菌和真菌群落变化的重要原因之一。

4 结 论

随种植年限增加,枳壳根际土壤细菌多样性无显著变化,土壤真菌多样性和均匀度显著增加,鞘氨醇单胞菌属、苍白杆菌属、假诺卡氏菌属、毛孢子菌属和毛壳菌属等有益菌属相对丰度显著降低,而镰刀属、*Plectosphaerella* 和 *Ilyonectria* 属等有害真菌属相对丰度显著增加,是造成枳壳产量和品质降低的原因之一。枳壳连续种植40年后,土壤pH显著低于其他种植年限,pH、有机质、全氮、碱解氮、全磷、有效磷和速效钾是影响枳壳土壤微生物群落组成的重要环境因子。

参考文献 (References)

- [1] Wang H, Zhong G Y, Zhang S W, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of zhiquiao (*Fructus aurantii*) and predictive analysis on quality markers [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2022, 40 (9): 184—194. [王慧, 钟国跃, 张寿文, 等. 枳壳化学成分、药理作用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40 (9): 184—194.]
- [2] Xi L, Jia H, Yong B, et al. A preliminary study on *Fructus aurantii* extract against hepatocarcinoma via glycolysis and PD-1/PD-L1 pathway[J]. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine, 2022, 2: 100051-100059.
- [3] Zhou Y Z, Yi J P, Yang H, et al. Overwintering sites and gardening technologies of Citrus disease and pest[J]. Hubei Plant Protection, 2021 (6): 61—64. [周玉枝, 易继平, 杨辉, 等. 柑橘病虫害越冬场所及清园技术[J]. 湖北植保, 2021 (6): 61—64.]
- [4] Chang J W, Wu W M, Zhu Y C, et al. Relationship among Citrus growth soil nutrients and microbial communities[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53 (6): 1386—1394. [常健玮, 吴文明, 朱一成, 等. 柑橘生长与土壤养分及微生物群落的关系研究[J]. 土壤通报, 2022, 53 (6): 1386—1394.]
- [5] Jun Y, Tao W, He Z, et al. Predicting disease occurrence with high accuracy based on soil macroecological patterns of *Fusarium* wilt[J]. The ISME Journal, 2020, 14 (12): 2936—2950.
- [6] Na X F, Zheng G Q, Peng L, et al. Microbial biodiversity in rhizosphere of *Lycium barbarum* L. relative to cultivation history[J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, 53 (1): 241—252. [纳小凡, 郑国琦, 彭励, 等. 不同种植年限宁夏枸杞根际微生物多样性变化[J]. 土壤学报, 2016, 53 (1): 241—252.]
- [7] Li X, Xun R M, Chen D, et al. Correlation of bacterial community with soil physicochemical properties and enzyme activities in rhizosphere soil under different cultivation years of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mey.) [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2022, 28 (2): 313—324. [李茜, 徐瑞蔓, 陈迪, 等. 不同栽培年限人参根际土壤细菌群落与土壤理化性质和酶活性的相关性[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28 (2): 313—324.]
- [8] Li Y C, Li Z, Li Z W, et al. Variations of rhizosphere bacterial communities in Tea (*Camellia sinensis* L.) continuous cropping soil by high-throughput pyrosequencing approach[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 121 (3): 787—799.
- [9] Li J J, Xu Y B. Effects of continuous cropping years of Lily on soil microbial diversities under greenhouse cultivation[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2020, 51 (2): 343—351. [李晶晶, 续勇波. 连作年限对设施百合土壤微生物多样性的影响[J]. 土壤通报, 2020, 51 (2): 343—351.]
- [10] Jin Q L, Lu J, Gao R H, et al. Systematically deciphering the pharmacological mechanism of *Fructus aurantii* via network pharmacology[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021: 6236135.
- [11] Wang C H. Effect of AM fungi spore density and host planting density on the growth of trifoliate orange seedlings[D]. Chongqing: Southwest University, 2008. [王春华. 丛枝菌根真菌菌剂浓度与盆苗密度对枳壳育苗效应的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.]
- [12] Yang J H, Wang C L, Dai H L. Soil agrochemical analysis and environmental monitoring[M]. Beijing: China Land Press, 2008. [杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测[M]. 北京: 中国大地出版社, 2008.]
- [13] Li J, Chen X Z, Li S, et al. Variations of rhizospheric soil microbial communities in response to continuous *Andrographis paniculata* cropping practices[J]. Botanical studies, 2020, 61 (1): 18.
- [14] Huang W J, Sun D L, Fu J T, et al. Effects of continuous sugar beet cropping on rhizospheric microbial communities[J]. Genes, 2020, 11 (1): 13.
- [15] Xie T P, Zhang J, Liu N, et al. Changes in rhizosphere soil enzymatic activities and microbial communities across growth stages of *Angelica sinensis*[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54 (1): 138—150. [谢田朋, 张建, 柳娜, 等. 当归不同生长时期根际土壤酶活性及微生物群落结构变化[J]. 土壤通报, 2023, 54 (1): 138—150.]
- [16] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. Naï ve bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73 (16): 5261—5267.
- [17] National Soil Survey Center. Soils in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998. [全国土壤调查办公室. 中国土壤[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.]
- [18] Yao Z X, Li Y C, Li Y F, et al. Effects of different tea plantation ages on soil microbial community structure and diversity[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31 (8): 2749—2758. [姚泽秀, 李永春, 李永夫, 等. 植茶年限对土壤微生物群落结构及多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31 (8): 2749—2758.]
- [19] Xian K H, Su J, Fu C M, et al. Microbial diversity in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis* in different growth years[J]. Guihaia, 2022, 42 (12): 2087—2098. [洗康华, 苏江, 付传明, 等. 不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究[J]. 广西植物, 2022, 42 (12): 2087—2098.]
- [20] Muangham S, Pathom W, Duangmal K. Melanogenic actinomycetes from rhizosphere soil antagonistic activity against *Xanthomonas oryzae* and plant-growth-promoting traits[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2015, 61 (2): 164—170.
- [21] Zhu S H, Hui C M, Zhao X T, et al. Effects of different planting years of *Dendrocalamus brandisii* on soil fungal

- community[J]. Environmental Science, 2023, 44 (6): 3408—3417. [朱书红, 辉朝茂, 赵秀婷, 等. 甜龙竹不同种植年限对土壤真菌群落的影响[J]. 环境科学, 2023, 44 (6): 3408—3417.]
- [22] Yang W, Jeelani N, Xia L, et al. Soil fungal communities vary with invasion by the exotic *Spartina alternifolia* Loisel. in coastal salt marshes of eastern China[J]. Plant and Soil, 2019, 442: 215—232.
- [23] Lai B C, Dai R Q, Wu Z Q, et al. Bacterial diversities in rhizosphere soils at sites of healthy and fusarium wilt infected chili plants[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2019, 34 (9): 1073—1080. [赖宝春, 戴瑞卿, 吴振强, 等. 辣椒健康植株与患枯萎病植株根际土壤细菌群落多样性的比较研究[J]. 福建农业学报, 2019, 34 (9): 1073—1080.]
- [24] Xiao J, Huang X D, Lin G Y, et al. Comparison on soil biological properties and bacterial community structures in rhizospheres between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt[J]. Acta Sericologica Sinica, 2021, 47 (2): 138—146. [肖健, 黄小丹, 林刚云, 等. 青枯病易感和钝感桑树根际土壤生物学性状及细菌群落结构比较[J]. 蚕业科学, 2021, 47 (2): 138—146.]
- [25] Yao Y N, Feng Y Q, Geng J J, et al. Control efficacy of *Ochrobactrum pseudogrignone* A-29 against southern root-knot nematode and its identification[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38 (2): 367—373. [姚亚楠, 丰叶青, 耿晶晶, 等. 假格里尼翁苍白杆菌 A-29 对南方根结线虫的防治效果及其鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38 (2): 367—373.]
- [26] Shen Y, Zhao J Y, Ren T B, Liu G S. Correlation between soil microbial communities and tobacco aroma in the presence of different fertilizers[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 151 (C): 112454—112462.
- [27] Yang Z Q, Cheng X Y, Wang H M, et al. Environmental driving mechanisms and community assembly process of bacterial communities in the Luohandu cave, Guilin, Guangxi Province, China[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61 (12): 4118—4136. [杨梓琪, 程晓钰, 王红梅, 等. 桂林罗汉肚洞细菌群落的环境驱动机制及群落构建过程[J]. 微生物学报, 2021, 61 (12): 4118—4136.]
- [28] Thakur R, Srivastava S, Yadav S. Multitrait *Pseudomonas* sp. isolated from the rhizosphere of *Bergenii ciliata* acts as a growth-promoting bioinoculant for plants[J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2023, 7: 1097587—1097599.
- [29] Liao H J, Zhang Z B, Jiang Y M, et al. Biocontrol potential of *Chaetomium globosum* against plant pathogenic fungi and root-knot nematodes: A review[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34 (6): 1076—1089. [廖宏娟, 张志斌, 江玉梅, 等. 球毛壳菌对植物病原真菌和根结线虫的生物防治潜力[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34 (6): 1076—1089.]
- [30] Zhang J, Xu M, Wen C Y, et al. Effects of fire on the community of ectomycorrhizal fungi of *Pinus massoniana* in central Guizhou, Southwest China[J]. Mycosystema, 2022, 41 (9): 1430—1440. [张姣, 徐明, 文春玉, 等. 黔中地区火灾对马尾松外生菌根真菌群落的影响[J]. 菌物学报, 2022, 41 (9): 1430—1440.]
- [31] Kumla J, Nundaeng S, Suwannarach N, et al. Evaluation of multifarious plant growth promoting trials of yeast isolated from the soil of Assam tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) plantations in Northern Thailand[J]. Microorganisms, 2020, 8: 1168.
- [32] Daroodi Z, Taheri P, Tarighi S. Direct antagonistic activity and tomato resistance induction of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani*[J]. Biological Control, 2021, 160: 104696.
- [33] Wang S N. The mechanism of soil microbial communities diversity on the continuous cropping of flue-cured tobacco in the mountainous areas of southwest China[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2021. [王胜男. 西南山区烤烟连作对土壤微生物多样性的影响及机制研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2021.]
- [34] Feng Y X, Hu Y Y, Wu J S, et al. Change in microbial communities, soil enzyme and metabolic activity in a *Torreya grandis* plantation in response to root rot disease[J]. Forest Ecology and Management, 2019, 432: 932—941.
- [35] Wang S, Li X M, Liu C L, et al. Identification of the pathogen of the bulb rot of *Fritilaria ussuriensis* and screening of the fungicides[J]. Plant Protection, 2020, 46 (6): 65—70. [王爽, 李新民, 刘春来, 等. 平贝母鳞茎腐烂病原菌鉴定和药剂筛选[J]. 植物保护, 2020, 46 (6): 65—70.]
- [36] Raimondo M L, Carlucci A. Characterization and pathogenicity assessment of *Plectosphaerella* species associated with stunting disease on tomato and pepper crops in Italy[J]. Plant Pathology, 2018, 67 (3): 626—641.
- [37] Dou T, Cai Y B, Gong M Q, et al. Identification of the pathogen causing *Rehmannia glutinosa* wilt and screening of fungicides[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2022, 52 (4): 638—647. [窦涛, 蔡玉彪, 龚梦强, 等. 地黄萎蔫病病原菌的鉴定及防治药剂筛选[J]. 植物病理学报, 2022, 52 (4): 638—647.]
- [38] Shao H H, Zhang X M, Liu Z Q, et al. Biological characteristics and fungicide sensitivity of four *Ilyonectria* species causing root rot on American ginseng[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2022, 52 (2): 215—222. [邵慧慧, 张西梅, 刘紫祺, 等. 引起西洋参锈腐病的 *Ilyonectria* 属 4 种病原菌的生物学特性及其对不同杀菌剂的敏感性[J]. 植物病理学报, 2022, 52 (2): 215—222.]