

# 诱抗剂对太子参叶斑病防效及叶际真菌群落结构的影响

梁霜<sup>1</sup>, 何洁<sup>1</sup>, 赵致<sup>2</sup>, 李忠<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>贵州大学农学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州 贵阳

<sup>3</sup>贵州省农业微生物特色重点实验室, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年3月29日; 录用日期: 2022年6月2日; 发布日期: 2022年6月10日

## 摘要

叶斑病是太子参叶部主要真菌病害, 该病害的发生严重影响了太子参的品质及产量, 为安全有效防治该病害, 本研究通过施用诱抗剂及利用Illumina Miseq™高通量测序技术, 对诱抗剂的控病效果及叶际真菌群落结构进行研究。结果表明: 各诱抗剂处理对太子参叶斑病均有一定的防效, 最后1次施药后10 d, 草酸(CS)、芸苔素内脂(YT)及碧护(BH)处理的诱抗效果分别为72.69%、70.18%、39.79%。从供试样品中共获得88,276条有效序列, 经序列聚类分析获得993个OTUs, 涵盖了子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)等7个菌门、17纲、41目、78科、85属、86种的真菌, 各处理优势菌门均为子囊菌门(Ascomycota), 其次为担子菌门(Basidiomycota); 优势菌属为链格孢属(*Alternaria*), 其次为茎点霉属(*Phoma*)。与CK(清水对照)相比, YT、CS处理增加了*Cladosporium*、*Sarocladium*等有益菌属的相对丰度, 各诱抗剂处理均不同程度降低了叶斑病致病菌属*Alternaria*及*Phoma*的相对丰度。 $\alpha$ 多样性分析结果表明各处理间Shanno、Simpson及Chao指数虽没有显著性差异, 但与CK相比, 诱抗剂处理一定程度上增加了太子参叶际真菌群落的多样性及丰富度。研究结果表明喷施诱抗剂可改变太子参叶际真菌群落结构组成, 提高有益菌属含量, 为太子参叶斑病绿色防治提供一定的理论依据。

## 关键词

太子参叶斑病, 诱导抗病性, 高通量测序, 真菌群落多样性

## Effects of Inducers on the Control Efficacy of *Pseudostellaria heterophylla* Leaf Spot and Fungal Community Structure of the Phyllosphere

\*通讯作者。

Shuang Liang<sup>1</sup>, Jie He<sup>1</sup>, Zhi Zhao<sup>2</sup>, Zhong Li<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Guizhou Key Laboratory of Propagation and Cultivation on Medicinal Plants, Guiyang Guizhou

<sup>3</sup>Guizhou Provincial Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Guiyang Guizhou

Received: Mar. 29<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jun. 2<sup>nd</sup>, 2022; published: Jun. 10<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Leaf spot is the main fungal disease, which seriously affects the quality and yield of *Pseudostellaria heterophylla*. In order to control this disease safely and effectively, in this study, the inducers and Illumina Miseq™ high-throughput sequencing technology were used to study the control efficiency of the inducers and the leaf fungal community structure of the *Pseudostellaria heterophylla*. The results showed that: There was certain control efficiency on *Pseudostellaria heterophylla* leaf spot among all inducers treatments, and 10 days after the last application, the induced resistance effects of the treatments with Oxalic acid (CS), Brassinolide (YT) and Bihu (BH) were 72.69%, 70.18%, 39.79% respectively. A total of 993 OTUs were obtained by sequence cluster analysis in all samples, which were distributed in 7 phyla, including Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, etc, 17 classes, 41 phyla, 78 families, 85 genera, and 86 species. The dominant bacteria phyla in each treatment are Ascomycota, followed by Basidiomycota; the dominant genus is *Alternaria*, followed by *Phoma*. Compared with CK, YT and CS treatments increased the relative abundance of beneficial bacteria, such as *Cladosporium* and *Sarocladium*. Otherwise, various inducers treatments have reduced the relative abundance of pathogenic bacterias, like *Alternaria* and *Phoma*. The results of  $\alpha$  diversity analysis showed that although there were no significant differences in Shanno, Simpson and Chao indexes among the treatments, the inducers increased the diversity and richness of fungal community in the phyllosphere of *Pseudostellaria heterophylla* to a certain extent compared with CK. The research results showed that spraying inducers can change the composition of the fungal community structure in the leaf area of *Pseudostellaria heterophylla*, increasing the content of beneficial bacteria and providing a theoretical basis for the green control of *Pseudostellaria heterophylla* leaf spot.

## Keywords

*Pseudostellaria heterophylla* Leaf Spot, Induced Disease Resistance, High Throughput Sequencing, Diversity of Fungal Communities

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

太子参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax] 又名孩儿参、米参、童参等, 系石竹科 (Caryo phllaceae) 孩儿参属 (*Pseudostellaria*) 植物 [1], 为我国 1 种传统中药材, 有益气健脾、润肺生津的功效 [2]。叶斑病是太子参叶部主要真菌病害之一, 近年来, 由于规模化种植该病害发生较为严重, 研究表明贵州省余庆县 5 月份田间病株率高达 100%, 6 月初病情指数达 83.5% [3], 施秉县田间发病率达 80% 以上 [4], 产量损失达 50%。目前太子参叶斑病主要以化学防治为主, 但不同地区报道的病原菌有所不同, 增加了对该病害的防治难度。据报道, 太子参叶斑病病原菌有茎点霉属真菌 *Phoma* sp. [5]、叶点霉属真菌 *Phyllosticta*

*commonsii* [6]、壳针孢属真菌 *Septoria* sp. [7]、壳二孢属真菌 *Ascochyta versabilis* [8]。本项目组前期研究贵州省施秉县太子参叶斑病的优势病原菌为链格孢(*Alteraria* spp.)，由于叶斑病病原菌种类较多，常用的化学药剂难以奏效，此外长期使用化学药剂会产生抗药性、环境污染等问题，甚至影响环境微生物的平衡[9]，因此寻求新的防治方法势在必行。相关研究表明病原菌的侵入通常会导致叶际微生物群落结构发生改变，而叶际微生物群落结构的稳定直接影响着植物健康[10]，近年来高通量测序技术被广泛应用于探究病害和微生物群落多样性的研究中[11] [12]，为植物病害防治提供了新的思路。有研究报道人为施加农药或微生物会改变植物叶际微生物群落结构组成[13]，而施加化学农药对植物叶际微生物影响较大[14]，杜威[15]等研究表明喷施化学农药不仅对叶际微生物影响较大，且会降低水稻叶片的抗氧化酶活性，而微生物菌剂对环境的兼容性良好，研究更为广泛，李审微等[16]研究表明枯草芽孢杆菌 M-23 能增加叶际有益菌的比例，降低柑橘砂皮病的病情指数；张春怡等[17]研究表明土壤消毒结合微生物菌剂能改变土壤真菌群落结构使茄子黄萎病得到有效防控。植物免疫诱抗剂作为生物防治的 1 种，其主要通过激发植物自身的免疫系统增强抗病和抗逆能力[18]，由于诱抗剂不直接作用于病原菌，对于诱抗剂的喷施会对植物微生物的群落结构组成产生怎样的影响尚不明确。本研究在前期试验基础上，通过田间小区试验，探究了 3 种诱抗剂对太子参叶斑病的田间控病效果，并利用 Illumina Miseq™ 高通量测序技术分析诱抗剂处理后对太子参叶际真菌群落结构的影响，为诱抗剂控制太子参叶斑病的微生态机制提供参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 供试作物、菌株及诱抗剂

供试植物为太子参(*Pseudostellaria heterophylla*)“施太 1 号”；供试病原菌为太子参叶斑病病原菌链格孢(*Alteraria tenuissima*)，由前期试验分离保存；芸苔素内脂(0.01 的可溶性液剂)购自河南中浪农业科技有限公司，草酸(分析纯)购自天津市化工三厂有限公司，碧护(0.136%赤·吲乙·芸苔)购自德国阿格福莱农林环境生物技术股份有限公司。前期试验表明芸苔素内脂、草酸在一定浓度下对链格孢(*Alteraria tenuissima*)的菌丝生长及孢子萌发均无显著抑制作用，碧护有一定的抑制作用，但抑制率较低。

### 2.2. 试验设计及样品采集

试验地位于贵州省施秉县云台山太子参种植基地，海拔 670 m，土壤肥力中等，前作为太子参。在前期试验基础上，试验地设置 4 个处理，分别为草酸 0.4 g/L (CS)、芸苔素内脂 1000 倍液(YT)、碧护 20,000 倍液(BH)、以及清水作为对照，每处理约 8 m<sup>2</sup>，各区组随机排列，每处理设置 3 次重复。于 2020 年 3 月 25 日第 1 次施药，以后每隔 7 d 施药 1 次，连续 3 次，各处理均为叶正反面均匀喷施，试验期间供试小区未使用任何杀菌(虫)剂。分别于最后 1 次施药后 10 d、20 d、35 d 进行田间叶斑病病害调查，每处理调查 3 个点，每个点调查 60 株，记录总叶数和各级病叶数，计算病情指数及诱抗效果。分别于最后 1 次施药后 10 d、20 d、35 d 采集各处理叶片，分别将 CS、YT、BH 及 CK 处理(以三个时间段分别编号为 CK1、CK2、CK3；YT1、YT2、YT3；CS1、CS2、CS3；BH1、BH2、BH3)的样本送至北京诺禾致源股份有限公司进行高通量测序。采集方法为剪刀经酒精消毒后随机采集各处理的病叶，每个处理 4 个重复，装入灭菌采样袋中立即放入液氮中速冻，立即带回实验室放入-80℃冰箱内备用。

太子参叶斑病分级标准：0 级：无病斑；1 级：病斑小而少，病斑面积占整个叶片面积的 5% 以下；3 级：病斑小而多，或大而少，病斑面积占整个叶片面积的 6%~10%；5 级：病斑大而较多，病斑面积占整个叶片面积的 11%~20%；7 级：病斑大而多，或多个病斑连成大病斑，病斑面积占整个叶片面积的 21%~50%；9 级：病斑面积占整个叶片面积的 51% 以上。

病情指数： $\sum(\text{病级叶数} \times \text{代表数值}) / \text{叶数总和} \times \text{发病最重级的代表值} \times 100$ 。

诱导效果： $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$ 。

## 2.3. 诱抗剂对太子参病叶真菌群落结构的影响

### 2.3.1. 样品 DNA 的提取及 PCR 扩增

采用 CTAB 法提取样品总基因组 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的浓度(A260/A280 值在 1.8~2.0 间), 根据浓度用无菌水稀释至  $1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。采用 ITS 引物 515F(5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应总体系为 30  $\mu\text{L}$ : 包括 2  $\times$  Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 15  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 3  $\mu\text{L}$ , gDNA (1  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) 2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 补足到 30  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增条件为 98 $^{\circ}\text{C}$  预变性 1 min; 98 $^{\circ}\text{C}$  变性 10 S, 50 $^{\circ}\text{C}$  退火 30 S, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 S, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。反应结束后用 GeneJET 胶回收试剂盒纯化产物。利用 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒进行文库构建并使用 IonS5XL 测序系统进行上机测序等操作(以上步骤均由北京诺禾致源科技股份有限公司完成)。

### 2.3.2. 下机数据质控与统计分析

将下机数据导出 fastq 文件, 为原始数据(Raw Reads)。根据 barcode 序列对各样本数据进行区分, 其中 barcode 序列的允许错配数为 0, 最大引物错配数为 2。然后用 Cutadapt 质控软件(V1.9.1, <http://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>) 对数据进行质控, 使用 UCHIME (UCHIME Algorithm, [http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime\\_algo.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)) 进行嵌合体过滤得到有效数据。用 Uparse (version v7.0.1001) 对所有样本的 Effective Tags 以 97% 的一致性(Identity) 进行 OTUs (Operational Taxonomic Units) 聚类, 用 Mothur 方法与 SILVA (<http://www.arb-silva.de/>) 的 SSUrRNA 数据库对 OTUs 的代表序列进行物种注释分析(设定阈值为 0.8~1), 得到每个样品的 OTUs 和分类谱系的基本分析结果, 再使用 Qiime 软件(Version 1.9.1) 对 OTUs 进行丰度、Alpha 多样性指数等分析, 同时对物种注释在各个分类水平上进行群落结构的统计分析[19]。以上分析均在北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

## 2.4. 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2007 软件对高通量测序数据进行整理, 将其复制至 SPASS20.0 软件数据处理窗口利用 Duncan 新复极差法进行单因素方差分析, 显著水平  $P < 0.05$ 。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 供试诱抗剂对太子参叶斑病田间控治效果

最后 1 次施药后 10 d, 与 CK 相比, 各诱抗剂处理均降低了太子参叶斑病的病情指数, 其中 CS 处理诱抗效果最高, 达 72.69%, 其次为 YT 处理, 诱抗效果为 70.18%, BH 处理的诱抗效果低于 40%, 因此未列入第 2 次田间调查。最后 1 次施药后 20 d, 各处理诱抗效果均有所下降, 其中 CS 处理其诱抗效果下降了 7.27%, YT 处理诱抗效果下降了 2.47%。最后 1 次施药后 35 d, 各处理诱抗效果均低于 30% (见表 1)。

### 3.2. 测序数据统计及 $\alpha$ 多样性分析

数据经处理后, 平均每样品测得 90,385 条 tags, 经过质控平均得到 88,276 条有效数据, 质控有效数据量达 64,878, 序列经过过滤拼接, 去除疑问序列及错误序列, 将相似度大于 97% 的序列归为同一分类操作单元, 共获得 993 个 OTUs, 这些 OTUs 对应的菌群涉及 7 个门、17 个纲、41 个目、78 个科、85 个属、86 个种的真菌, 各样品 OTU 数目在各分类单元的分布情况见表 2。

**Table 1.** Field control effect of the attractants used in the experiment on leaf spot of *Pseudostellaria heterophylla*  
**表 1.** 供试诱抗剂对太子参叶斑病的田间防治效果

处理	最后 1 次施药后 10 d		最后 1 次施药后 20 d		最后 1 次施药后 35 d	
	病情指数	诱抗效果(%)	病情指数	诱抗效果(%)	病情指数	诱抗效果(%)
CK	5.17	-	6.42	-	8.62	-
YT	1.54	70.18	2.07	67.71	6.49	24.70
CS	1.41	72.69	2.22	65.42	7.13	13.38
BH	2.98	42.36	-	-	-	-

Alpha 多样性用于分析样品内(within-community)的微生物群落多样性, 包括 Shannon、Simpson、Ace 指数和 Chao 指数。其中 Shannon、Simpson 为多样性指数, 反映种群的多样性; Ace、Chao 为丰富度指数, 用于反映种群的丰富度, 各数值越大, 说明其相应的群落丰富度、均匀度和多样性越高。在最后 1 次施药后 10 d, 与 CK 相比, 各诱抗剂处理的多样性指数与丰富度指数均没有显著性差异, 表明诱抗剂处理对太子参叶际真菌群落结构没有显著性影响, 其中 CS 处理的多样性指数最高, 表明该时间段 CS 处理下真菌群落多样性最高, 分布最均匀; CK 的丰富度指数最高, 表明该时间段 CK 处理物种最丰富; 最后 1 次施药后 20 d CK 处理的多样性指数和丰富度指数均最高; 最后 1 次施药后 35 d BH、YT 处理的多样性指数高于 CK; YT、CS 处理的丰富度指数高于 CK (见表 3), 但处理间均没有显著性差异。综合来看诱抗剂处理与 CK 相比没有显著性差异, 但一定程度上增加了物种多样性及丰富度。各处理覆盖度指数(Coverage index)均到达了 0.999 以上, 表明测序结果合理。

**Table 2.** The number of taxons at different levels of phyllosphere fungi community in *Pseudostellaria heterophylla* by different treatments

**表 2.** 各处理太子参叶际真菌群落各级别分类单元数量

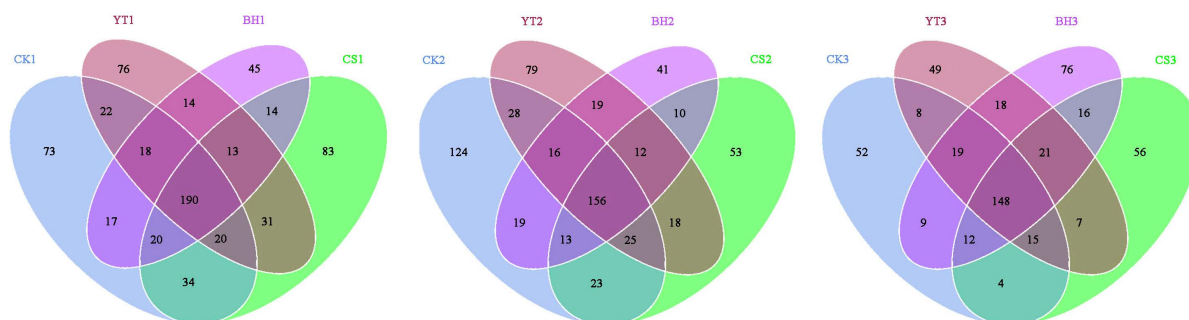
组别	门	纲	目	科	属	种	分类操作单元(OTUs)
CK1	5	14	33	65	85	77	279
YT1	7	17	39	73	37	77	250
CS1	6	15	36	73	41	88	259
BH1	6	13	33	58	36	74	220
CK2	6	16	41	78	61	86	288
YT2	7	17	41	64	37	73	239
CS2	6	16	37	68	41	66	234
BH2	6	15	32	58	36	66	213
CK3	6	12	33	55	44	53	203
YT3	6	15	39	61	36	63	220
CS3	6	15	34	60	40	59	214
BH3	5	16	37	70	36	68	232

**Table 3.** Alpha diversity index between different groups of fungi community (OTU level)  
**表 3.** 不同组别真菌群落 Alpha 多样性指数(OTU level)

组别	多样性指数		丰富度指数		覆盖度(%)
	Shannon	Simpson	Chao	AC	
CK1	3.845 ± 0.426a	0.856 ± 0.071a	252.002 ± 41.394a	252.501 ± 40.856a	0.999
CS1	3.932 ± 0.187a	0.886 ± 0.018a	240.183 ± 49.469a	241.938 ± 53.095a	0.999
YT1	3.236 ± 0.496a	0.771 ± 0.084a	232.301 ± 50.472a	236.518 ± 49.813a	1
BH1	3.236 ± 0.497a	0.759 ± 0.174a	199.479 ± 45.183a	204.529 ± 47.027a	0.999
CK2	3.454 ± 0.733a	0.81 ± 0.146a	299.125 ± 56.354a	237.532 ± 56.785a	1
CS2	2.697 ± 0.559a	0.657 ± 0.146a	179.941 ± 27.082a	186.464 ± 26.931ab	0.999
YT2	3.218 ± 0.322a	0.789 ± 0.325a	200.796 ± 28.571a	207.407 ± 28.616ab	0.999
BH2	2.614 ± 0.662a	0.636 ± 0.178a	170.468 ± 17.297a	175.325 ± 15.674b	1
CK3	2.848 ± 0.2a	0.724 ± 0.055a	172.466 ± 12.218a	177.641 ± 10.332a	0.999
CS3	2.693 ± 0.262a	0.673 ± 0.092a	182.475 ± 35.639a	182.571 ± 32.001a	0.999
YT3	3.114 ± 0.712a	0.763 ± 0.134a	185.324 ± 20.034a	188.048 ± 17.375a	1
BH3	3.131 ± 0.255a	0.782 ± 0.045a	193.799 ± 49.757a	198.017 ± 48.296a	0.999

### 3.3. 不同样品真菌物种 Venn 图分析

Venn 图(见图 1)直观地展现了不同处理样品间共有的和特有的 OTU 数量, 特有的 OTU 数量越多, 表明该处理下群落结构越丰富, 于最后 1 次施药后 10 d, CS 处理特有的 OTU 数最多, 为 83, 表明该时间段内, CS 处理特有的微生物种类最多, 物种群落结构最丰富; 最后 1 次施药后 20 d, CK2 处理特有的 OTU 最多, 为 124; 最后 1 次施药后 35 d, BH、CS 处理特有的 OTU 均高于 CK, 预示着该时间段诱抗剂处理含有较多的特有微生物种类, 物种更为丰富。



**Figure 1.** Venn diagram showing the unique and shared OTU among the different samples  
**图 1.** 维恩图显示了特有的和共有的 OTU

### 3.4. 不同诱抗剂处理对太子参叶际真菌群落结构的影响

各处理不同时间段在门水平上真菌群落组成差异明显(见图 2), 共检测到 8 个菌门, 包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、毛霉菌门(Mucoromycota)、Mortierellomycota、Monoblepharomycota、Olpidiomycota、Rozellomycota, 其中占主要地位的为 Ascomycota

和 Basidiomycota, 对比诱抗剂处理和 CK 处理的样品真菌群落组成, 整体上看没有明显影响, 但在各菌门中所占比例不一。最后 1 次施药后 10 d、20 d, CK 的 Ascomycota 含量均最高, 相对丰度分别为 56.79%、65.04%, 最后 1 次施药后 35 d CS3 的 Ascomycota 含量最高, 为 78.91%, 3 个时间段 BH 处理的 Ascomycota 含量均最低; 最后 1 次施药后 10 d CS1 的 Basidiomycota 丰度最高, 为 39.36%, 20 d 时 YT2 的 Basidiomycota 的相对丰度最高, 为 22.26%, 35 d 时 BH3 的 Basidiomycota 相对丰度最高, 为 7.84%。

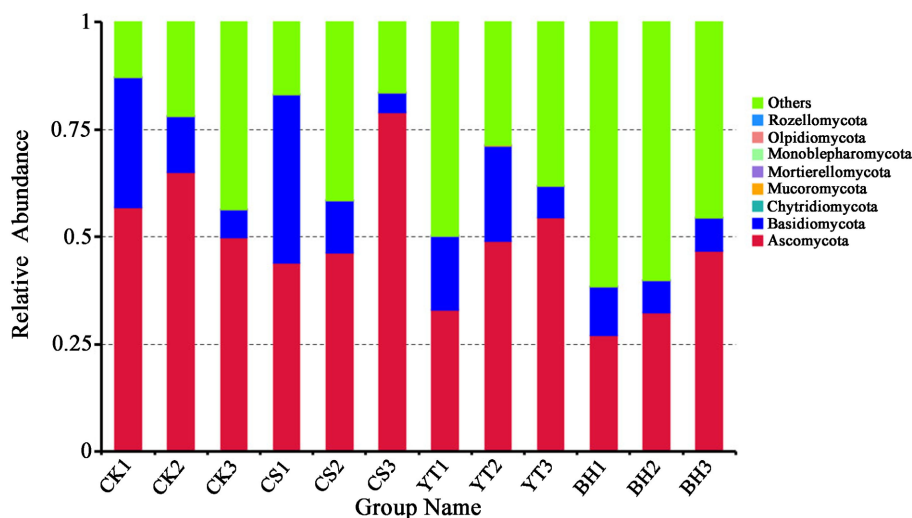


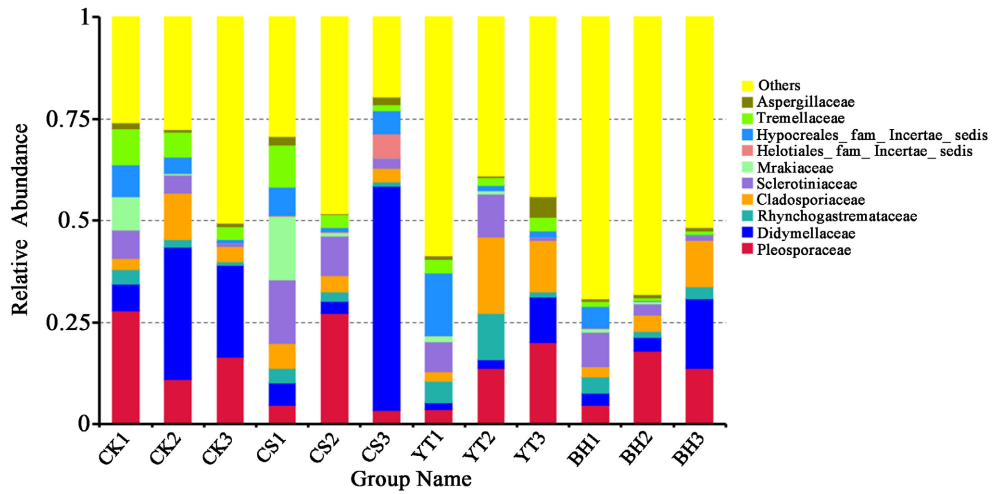
Figure 2. Relative abundance at gate level of different groups

图 2. 不同组别门水平上的相对丰度

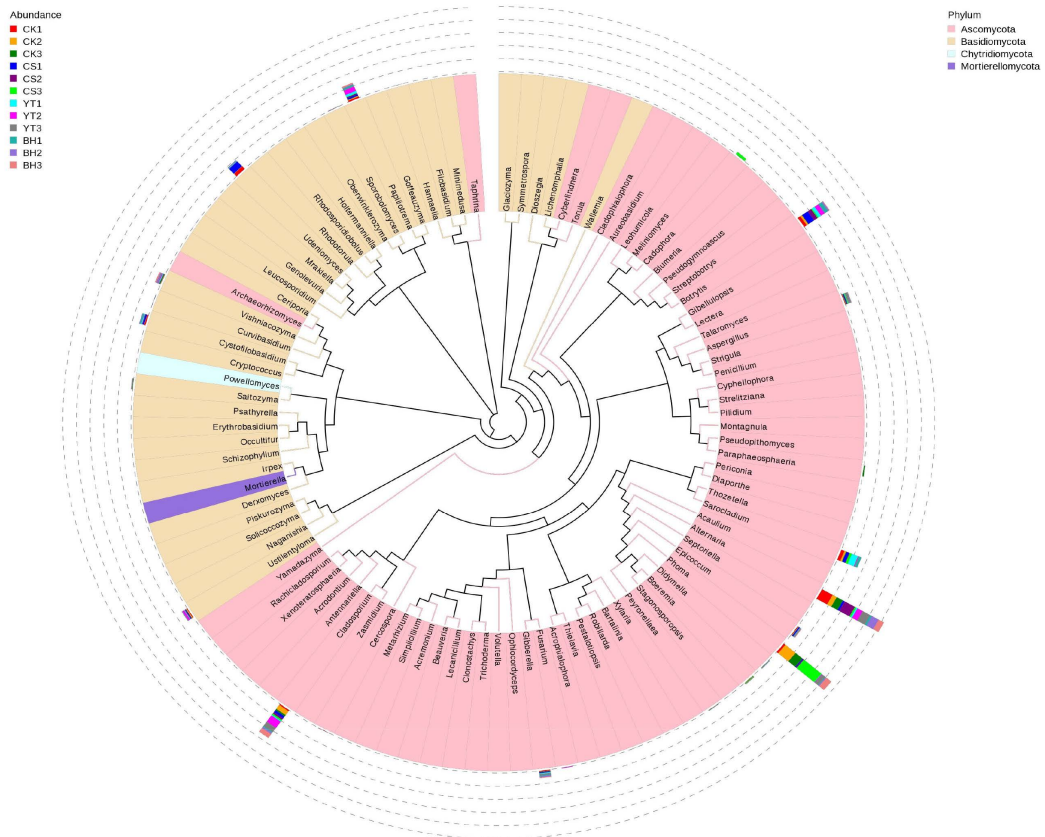
属水平上, 相对丰度处于前 10 的属有链格孢属(*Alternaria*)、茎点霉属(*Phoma*)、*Papiliotrema*、枝孢属(*Cladosporium*)、葡萄孢属(*Botrytis*)、*Udeniomyces*、*Cadophora*、帚枝霉属(*Sarocladium*)、隐球酵母属(*Cryptococcus*)、曲霉属(*Aspergillus*) (图 3), 各属在不同处理中均有分布, 但所占比例不同。最后 1 次施药后 10 d CK1 的优势菌属为 *Alternaria*, 相对丰度为 27.97%, 其次为 *Cryptococcus* (8.98%); YT1 与 CK1 相比有所差异, 优势菌属为 *Sarocladium*, 相对丰度为 15.28%, 其次为 *Botrytis* (7.32%); CS1 的优势菌属为 *Botrytis*, 相对丰度为 15.74%, 其次为 *Udeniomyces* (15.58%); BH1 的优势菌属为 *Botrytis* (8.44%)、其次为 *Sarocladium* (5.35%)。最后 1 次施药后 20 d, 以 *Alternaria* 含量变化较大, CS2、BH2 的优势菌属变为 *Alternaria*, 且含量较第 1 时间段增加, 相对丰度分别为 27.15%、17.92%, 其 *Phoma* 含量变化不大。YT2 处理的优势菌属为 *Cladosporium* (18.74%), 其次为 *Alternaria* (13.78%)。CK2 的优势菌属为 *Phoma*, 相对丰度为 30.84%。最后 1 次施药后 35 d 各处理的优势菌属变化较为明显, CK3、CS3、BH3 的优势菌属均为 *Phoma*, 相对丰度分别为 20.87%、53.12%、14.72%, YT3 的优势菌属为 *Alternaria* (19.97%), 其次为 *Cladosporium* (12.78%), 其他各属在各样品中的含量均较低, 相对丰度在 0.03%~5.88%之间。为了进一步研究属水平物种的系统进化关系, 通过多序列比对得到 top 100 属的代表序列构建的系统发育树, 可更加直观地看出各个菌门中优势菌属情况(见图 4)。

#### 4. 讨论

近年来, 植物免疫诱抗剂在植物病害的防控上取得了较大进展, 主要集中于诱抗剂的筛选[20]、诱抗剂诱导抗病性的生理生化机制和分子机制等方面的研究[21] [22], 而对于诱抗剂是否会影响植物叶际真菌群落结构的组成还尚未清楚。本研究在前期基础上选择了 3 种诱抗剂进行研究, 田间病害调查结果显示



**Figure 3.** Relative abundances of different groups of genera  
**图 3.** 不同组别属水平上的相对丰度



**Figure 4.** Phylogenetic tree of top 100 genera  
**图 4.** 前 100 属水平物种系统发育树

这 3 种诱抗剂对太子参叶斑病均有一定的控制效果，以草酸 0.4 g/L 及芸苔素内脂 1000 倍液处理效果最好，碧护 20,000 倍液处理较差，最后 1 次施药后 10 d 其诱抗效果分别为 72.69%、70.18%、39.79%。高通量测序结果中，Alpha 多样性指数表明最后 1 次施药后 10 d，CS 的物种多样性指数高于 CK，说明喷



施草酸后增加了太子参叶面物种多样性,最后 1 次施药后 20 d 各处理物种多样性及丰富度指数均低于 CK,可能的原因是突然大量喷施刺激物,影响了一些微生物在叶面的定植,导致其物种数目降低,该结果与 Zhang 等[23]喷施生防菌后相似。最后 1 次施药后 35 d,约为 5 月中旬,是太子参叶斑病发病高峰期,各处理的物种多样性及丰富度均高于 CK,表明诱抗剂处理能有效调节太子参叶面群落结构组成,增加真菌群落丰富度和多样性。

物种群落组成结果表明子囊菌门及担子菌门是各处理共有的优势菌门,与大多植物叶斑类病害结构相似,如新疆枣黑斑病、烟草赤星病等[10] [24],其中子囊菌门真菌常引起植物根腐、茎腐、果(穗)腐、枝枯和叶斑等病害[25]。与 CK 相比,本研究中诱抗剂处理在最后 1 次施药后 10 d、20 d 均不同程度降低了子囊菌门的相对丰度。在属水平上, *Alternaria* 和 *Phoma* 为优势菌属,且均可引起多种植物的叶斑病,其中茎点霉属是太子参叶斑病的致病菌,本研究前期多次分离鉴定贵州省施秉县太子参叶斑病为链格孢属真菌,期间并未分离到茎点霉属真菌,表明链格孢属真菌为该地的优势菌株。在最后 1 次施药后 10 d, CK1 的 *Alternaria* 含量显著高于其他处理,相对丰度为 27.97%, YT1、CS1、BH1 相对丰度均低于 5%。CS1 的 *Cladosporium*、*Udeniomyces*、*Cryptococcus* 相对丰度均高于其他处理,据研究表明这几种属 1 般不侵染植物引起病害,其中 *Cladosporium* 还能促进植物生长[26],且对其他植物内生真菌有拮抗作用[27], YT1 的 *Sarocladium*、*Papiliotrema* 含量最高,经研究表明 *Sarocladium* 能防治多种农林害虫,也是 1 种抑制多种植物病原真菌生长的拮抗真菌[28],而 *Papiliotrema* 大多为有益菌。在最后 1 次施药后 20 d, CK2 的 *Alternaria* 含量较 CK1 有所降低,而 *Phoma* 含量增加到 30.84%,其他各处理 *Phoma* 含量均低于 3%,表明各处理降低了 *Phoma* 的含量,可能是由于诱抗剂的喷施抑制了茎点霉菌的生长。最后 1 次施药后 35 d,太子参叶斑病达到发病高峰期, YT3 的 *Alternaria* 含量最高,达 19.97%,其次为 CK3, CS3 的 *Phoma* 含量最高,为 53.12%,且 CS3、YT3、BH3 处理的 *Phoma* 含量增加,可能的原因是各处理药效降低,也有可能是该属真菌主要在太子参叶斑病发病后期在叶片定植。

本项研究结果表明诱抗剂能降低太子参叶斑病的病情指数,且能改变叶面真菌群落结构,能增加某些有益菌属的含量,降低致病菌属含量,但其诱抗剂防治太子参叶斑病的机理是否与其叶面真菌群落结构的改变有着直接的联系还需要进一步进行研究。此外诱抗剂的诱导抗病机理是由多种因素共同决定的,下一步有待于完善对细菌群落结构的改变以及分子机理等方面的研究。

## 参考文献

- [1] 周丹,程搏幸,丁波.太子参真菌病害和防治研究进展[J].中国植保导刊,2020,40(9):23-27+32.
- [2] 肖培根,李大鹏,杨世林.新编中药志(第一卷)[M].北京:化学工业出版社,2002:191-193.
- [3] 李大庆,秦治勇,王黔云.余庆县太子参叶斑病发生规律及防治技术[J].耕作与栽培,2014(3):45-46+60.
- [4] 龙光泉,马登慧,夏忠敏,邵昌余.施秉县太子参主要病虫害的发生规律与防治对策[J].耕作与栽培,2013(2):46+55.
- [5] 王宗华,唐景章,吴石金,巫靖辉,张居念,王宝华.福建柘荣太子参发生一种严重的新病害[J].植物病理学报,1997(2):81.
- [6] 温学森,霍德兰,赵华英.太子参常见病害及其防治[J].中药材,2003,26(4):243-245.
- [7] 徐宏辉.太子参叶斑病发生规律及防治措施[J].植物医生,2007,20(2):27-28.
- [8] 李树江,周雪林,杨友联.太子参叶斑病病原菌鉴定及防治药剂筛选[J].植物保护,2018,44(3):182-185.
- [9] 周娜,胡军华,姚廷山,王雪莲,王娟,彭风格,等.柑橘种质抗柑橘蒂腐病菌扩展能力的评价[J].园艺学报,2015,42(1):1889-1898.
- [10] 向立刚,汪汉成,郑苹,蔡刘体,余知和.赤星病烤后烟叶内生及叶际真菌分析[J].中国烟草学报,2020,26(4):93-100.
- [11] 战斌慧,周雪平.高通量测序技术在植物及昆虫病毒检测中的应用[J].植物保护,2018,44(5):120-126+167.

- [12] Yu, M., Jiang, J.L., Ren, X.M., *et al.* (2018) Research on Relationship between Occurrence of Root Rot and Changes of Fungal Communities in Rhizosphere of *Panax quinquefolius*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **43**, 2038-2047.
- [13] 高爽, 刘笑尘, 董铮, 刘茂炎, 戴良英. 叶际微生物及其与外界互作研究进展[J]. 植物科学学报, 2016, 34(4): 654-661.
- [14] 谢兰芬, 何鹏飞, 吴毅歆, 刘春明, 肖春, 何月秋. 解淀粉芽孢杆菌 B9601-Y2 对玉米叶际微生物群落的影响[J]. 玉米科学, 2018, 26(2): 149-155.
- [15] 杜威, 江萍, 王彦苏, 吕立新, 王宏伟, 卜元卿, 等. 白僵菌施加对水稻三种抗氧化酶活力及叶际微生物多样性的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(23):6975-6984. <https://doi.org/10.5846/stxb201303050350>
- [16] 李审微, 洪艳云, 李新文, 何可佳, 戴良英, 卢晓鹏, 等. 枯草芽孢杆菌 M-23 对柑橘砂皮病防效及柑橘叶际细菌群落多样性的影响[J]. 南方农业学报, 2020, 51(7): 1699-1705.
- [17] 张春怡, 曲红云, 桑平, 牟尧, 吴昊磊, 李淑敏, 等. 土壤消毒结合微生物菌剂防控茄子黄萎病及对根际真菌群落结构的影响[J]. 北方园艺, 2020(7): 27-35.
- [18] 肖文斐, 忻雅, 裘劫人, 应武, 马华升, 王汉荣, 等. 免疫诱抗剂保康灵 1 号诱导水稻、葡萄抗病性效果评价[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(11): 1965-1967.
- [19] 刘畅, 汪汉成, 谢红炼, 陈乾丽, 余知和, 孙光军. 感赤星病烟叶的真菌群落结构分析[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(7): 54-59.
- [20] 康静, 柯希望, 申永强, 殷丽华, 徐晓丹, 左豫虎. 小豆抗锈病诱抗剂的筛选[J]. 植物病理学报, 2019, 49(6): 871-875.
- [21] 朱路路. 几种化学诱抗剂对番茄白粉病抗性的研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [22] 岳子石, 宋晓斌, 王方, 张丹. 3 种抗性诱抗剂诱导枣树抗缩果病的研究[J]. 西北林学院学报, 2016, 31(1): 153-157.
- [23] Zhang, B.G., Bai, Z.H., Hoefel, D., Tang, L., Yang, Z., Zhuang, G., *et al.* (2008) Assessing The impact of the Biological Control Agent *Bacillus Thuringiensis* on the Indigenous Microbial Community within the pepper Plant Phyllosphere. *FEMS Microbiology Letters*, **284**, 102-108. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01178.x>
- [24] 刘晓勤, 张锐利. 新疆红枣黑斑病根际土壤真菌群落组成及多样性的分析[J]. 北方园艺, 2020(14): 94-102.
- [25] 张艳敏. 云南省部分观赏植物叶面病原真菌的多样性调查和系统学研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012.
- [26] 周丽思, 唐坤, 郭顺星. 内生真菌枝孢属 *Cladosporium* sp. 对丹参生长和丹酚酸含量的影响[J]. 菌物学报, 2018, 37(1): 95-101.
- [27] Gange, A.C., Dey, S., Currie, A.F. and Sutton, B.C. (2007) Site and Species-Specific Differences in Endophyte Occurrence in Two Gerbaceous Plants. *Journal of Ecology*, **95**, 614-622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01245.x>
- [28] Xiang, L.B., Gong, S.J., Yang, L.J., Hao, J.J., Xue, M.F., Zeng, F.S., *et al.* (2016) Biocontrol Potential of Endophytic Fungi in Medicinal Plants from Wuhan Botanical Garden in China. *Biological Control*, **94**, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.002>