



西瓜枯萎病抗感品种根际微生物群落特征差异及其与病害发生的关系

曾青^{1,2}, 刘四义¹, 向吉方^{3,4}, 梁志怀⁴, 翟常春⁵, 姚保民^{1,2}, 韩丽丽¹,
葛安辉^{1*}, 张丽梅^{1,2}

- 中国科学院生态环境研究中心 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085
- 中国科学院大学, 北京 100049
- 浏阳市社港镇重点项目建设服务中心, 湖南 长沙 410327
- 湖南省农业科学院 湖南省农业生物技术研究所, 湖南 长沙 410125
- 河北大学生命科学学院, 河北 保定 071002

曾青, 刘四义, 向吉方, 梁志怀, 翟常春, 姚保民, 韩丽丽, 葛安辉, 张丽梅. 西瓜枯萎病抗感品种根际微生物群落特征差异及其与病害发生的关系[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2882-2900.

ZENG Qing, LIU Siyi, XIANG Jifang, LIANG Zhihui, ZHAI Changchun, YAO Baomin, HAN Lili, GE Anhui, ZHANG Limei. Microbial communities in the rhizosphere of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt: differences and relationship with disease occurrence[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2882-2900.

摘要: 【目的】通过研究不同基因型作物根际微生物群落特征及其与土传病害发生的关系, 揭示根际微生物协助植物抵御土壤病原菌入侵的作用机制。【方法】以西瓜枯萎病感病品种“早佳8424”和抗病品种“西农8号”为研究对象, 在连作障碍严重的土壤中进行盆栽试验, 探讨了西瓜抗病品种根际微生物多样性和群落组成差异及其与土传病害发生的关系。【结果】与感病品种相比, 抗病品种发病程度和根际病原尖孢镰刀菌西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON)丰度显著下降。抗病品种根际细菌和真菌 α 多样性无显著差异, 但 β 多样性分异明显且其群落组成与 FON 丰度显著相关。差异分析进一步发现抗病品种根际富集了以放线菌门(*Actinobacteria*)和根瘤菌科(*Rhizobiaceae*)等为代表的潜在拮抗菌或有益菌。镰刀菌属(*Fusarium*)也在抗病品种根际显著富集, 但主要以未分类的镰刀菌(*unclassified Fusarium*)和腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)为主。此外, 抗病品种根际微生物共现网络具有较高的复杂性和稳定性, 节点平均度比感病品种增加了

资助项目: 井冈山农高区省级科技专项“揭榜挂帅”项目(20222-051244)

This work was supported by the “Unveiling the List of Hanging” Science and Technology Project of Jinggangshan Agricultural High-tech Industrial Demonstration Zone (20222-051244).

*Corresponding author. E-mail: ahge@cemps.ac.cn

Received: 2024-01-19; Accepted: 2024-04-26; Published online: 2024-05-08

18.18%，并且网络中节点和边以放线菌门为主。【结论】西瓜枯萎病抗病品种与感病品种具有显著不同的根际微生物群落组成，抗病品种根际富集的有益菌群和网络互作关系的强化有利于植物抵抗病原菌入侵。本研究通过解析不同基因型作物根际微生物与土传病害发生的关系，为精准调控作物根际微生物结构和功能防治土传病害提供了重要信息和理论依据。

关键词：西瓜枯萎病；抗病品种；放线菌；微生物共现网络

Microbial communities in the rhizosphere of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt: differences and relationship with disease occurrence

ZENG Qing^{1,2}, LIU Siyi¹, XIANG Jifang^{3,4}, LIANG Zhihui⁴, ZHAI Changchun⁵, YAO Baomin^{1,2}, HAN Lili¹, GE Anhui^{1*}, ZHANG Limei^{1,2}

1 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Key Project Construction Service Center of Shegang Town, Liuyang City, Changsha 410327, Hunan, China

4 Hunan Agricultural Biotechnology Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, Hunan, China

5 College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, Hebei, China

Abstract: [Objective] We compared the microbial communities in the rhizosphere of plants with different genotypes and explored the relationship between microbial community and soil-borne disease occurrence, aiming to reveal the underlying mechanisms by which rhizosphere microorganisms assist plants in defending against pathogen invasion. **[Methods]** A pot experiment was conducted with the soil experiencing severe continuous cropping obstacles to compare the microbial communities in the rhizosphere of a susceptible watermelon variety ‘zaojia 8424’ and a resistant variety ‘xinong 8’ to *Fusarium* wilt. Furthermore, the relationship between microbial community and the occurrence of *Fusarium* wilt was explored. **[Results]** The resistant watermelon variety exhibited significantly lower disease index and pathogen (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON) abundance than the susceptible watermelon variety. Although no significant difference was observed in the bacterial and fungal alpha diversity in the rhizosphere between resistant and susceptible varieties, the microbial beta diversity showcased significant difference between the two varieties. Moreover, both bacterial and fungal community composition was significantly correlated with pathogen abundance. Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) further revealed that the resistant watermelon variety enriched more potential antagonistic or plant growth-promoting taxa represented by *Actinobacteria* and *Rhizobiaceae* in the rhizosphere. Interestingly, *Fusarium* was also enriched

in the rhizosphere of the resistant variety, mainly composed of unclassified *Fusarium* and *F. solani*. Notably, the co-occurrence network of microorganisms in the rhizosphere of the resistant variety exhibited higher complexity and stability than that of the susceptible variety, with an increase of 18.18% in average degree and the nodes and edges dominated by *Actinobacteria*. **[Conclusion]** The watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt demonstrate different microbial community composition in the rhizosphere. The enrichment of beneficial microbial taxa and interconnected co-occurrence network of the resistant variety contribute to plant defense against the pathogen invasion. This study disentangles the relationship between rhizosphere microbial community and soil-borne disease occurrence, providing important information and a theoretical basis for preventing and managing soil-borne diseases.

Keywords: watermelon *Fusarium* wilt; resistant variety; *Actinobacteria*; microbial co-occurrence network

现代农业生产中单一品种高密度的重茬种植以及不合理的化肥、农药施用,造成土传病害(soil-borne diseases)频繁暴发^[1]。据报道,全球每年因土传病害导致的作物产量损失达20%–35%^[2]。在我国,温室大棚蔬菜和香蕉、甘蔗、烟草、西瓜等几十种经济作物均存在严重的土传病害,造成的损失达数百亿元,严重制约农业可持续发展^[3]。土传病害往往是生活在土壤中的病原物在条件适宜时侵染植物根部或茎部而发生的,导致植物迅速发病影响其正常生长甚至死亡^[1]。由于病原菌在土壤中具有较高的隐蔽性,化学农药对土传病害的防控效果有限,而且过量使用会对环境造成不利影响。因此,探索土传病害防控策略,对于减少化学农药使用,推动农业绿色发展至关重要。

土壤中栖居着丰富多样的微生物,除病原微生物外,绝大部分微生物是中性或有益的,它们在驱动元素循环、保持土壤肥力、促进植物生长等方面发挥着重要作用^[4]。植物可以分泌约11%–40%光合作用产物到土壤中,吸引多种微生物在根际定殖,因此根际是微生物活动的热区^[5–6]。土传病原菌需要首先在根际定殖才能继

续侵染宿主植物根系,因此根际微生物被认为是植物抵御病原菌入侵的“第一道防线”^[7]。然而,长期连作可能会导致根际微生物种群失衡,诱发病原菌的增殖和入侵并最终导致土传病害暴发。据报道,土传病害的暴发往往与病原菌丰度的大幅增加和根际微生物群落的剧烈变化有关^[8]。鉴于根际微生物的重要性,探明根际微生物群落与土传病害发生的关系有助于揭示土传病害防控的微生物机制。

根际微生物群落是植物、微生物及其所处的土壤环境之间相互作用和反馈的结果。植物自身在根际微生物群落的形成中发挥着关键作用,健康的植物根际往往具有更丰富的潜在拮抗微生物^[9],因此提高植物抗病性是防控土传病害的重要手段之一。抗性品种培育被认为是防治土传病害最有效、最经济、最可持续的途径之一^[1]。越来越多的研究表明,植物及与其共同生活的微生物群落形成了密不可分的“共生功能体”(holobiont),共同作用于植物适应性,这为传统的抗性育种提供了新的机遇^[10]。例如,菜豆(*Phaseolus vulgaris*)抗病品种富集了大量与植物促生和抗病有关的潜在有益微生物^[11]。在抗病水

稻种子中富集并能世代间传播的鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas melonis*) 通过分泌小分子物质氨基萘酸 (anthranilic acid) 帮助水稻抵御细菌性立枯病病原菌伯克霍尔德菌 (*Burkholderia plantarii*) 的入侵^[12]。因此, 通过作物育种构建免疫型根际微生态环境是减少化学农药使用的有效途径。

西瓜 [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai] 是全球范围内集约化种植的栽培水果, 由于连作障碍导致的枯萎病暴发, 严重影响其产量和品质^[13]。西瓜枯萎病主要由尖孢镰刀菌西瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON) 引起, 其主要通过破坏西瓜维管组织影响植株水分运输, 从而导致植株地上部分大面积萎蔫进而迅速死亡, 对西瓜种植业造成了严重的破坏^[9]。为探明不同基因型西瓜抗病能力及其与根际微生物的关系, 本研究以西瓜枯萎病感病品种“早佳 8424”和抗病品种“西农 8 号”为研究对象, 将 2 个品种种植于连作障碍严重的土壤中进行盆栽试验。通过根际微生物组扩增子测序分析, 结合西瓜抗感病表型数据和根际病原菌丰度, 研究了植物、病原菌和根际微生物群落之间的相互作用, 以期作为作物抗病品种培育防治土传病害提供科学依据和指导。

1 材料与方法

1.1 供试土壤信息和盆栽试验设计

西瓜盆栽试验于湖南省长沙市湖南农业科学院高桥科研基地 (113°20'58"E, 28°28'54"N) 进行, 该地区属于亚热带季风气候, 年平均降水量为 1368 mm, 年平均气温 17.2 °C。盆栽供试土壤采自该地连作 5 年的西瓜病圃, 土壤类型为老成土 (ultisol)。选择西瓜枯萎病感病品种“早佳 8424” ('zaojia 8424', ZJ8424) 和抗病品种“西农 8 号” ('xinong 8', XN8) 进行盆栽试验, 每个处理 4 盆重复, 每盆装入 20 kg 供试土壤, 并于 2018 年

4 月下旬移栽西瓜幼苗, 每盆移栽 4 株。为模拟西瓜枯萎病发病条件, 盆栽试验置于日光温室大棚中进行。西瓜移栽前, 每盆施用 1.6 g 复合肥 (N:P₂O₅:K₂O=15:15:15) 作为底肥, 栽培期间管理措施保持一致。

1.2 枯萎病病情监测和根际土壤样品采集

西瓜幼苗移栽后于第 4 周发病稳定期观测并记录枯萎病病情指数, 西瓜根际土壤分别在第 4 周 (5 月 21 日) 和第 9 周 (6 月 23 日) 采用抖根法采集^[9]。每盆盆栽破坏性采集 2 株西瓜的根际土壤并均匀混合。取出约 50 g 土壤置于干冰中寄往实验室并在 -80 °C 冰箱内保存用于 DNA 提取。剩余土壤过 2 mm 筛, 置于 4 °C 冰箱保存用于土壤理化和基础呼吸分析。

1.3 根际土壤理化性质及基础呼吸测定

采用 1 mol/L 的 KCl 溶液浸提 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N, 并用连续流动分析仪 (SEAL Analytical 公司) 测定。采用 0.5 mol/L 的 K₂SO₄ 溶液提取土壤可溶性有机碳 (dissolved organic carbon, DOC), 并用总有机碳分析仪 (total organic carbon, TOC) 分析仪 (Analytik Jena 公司) 测定。土壤总碳 (total carbon, TC) 和总氮 (total nitrogen, TN) 采用元素分析仪 (Elementar 公司) 测定。土壤基础呼吸 (soil basal respiration, SBR) 速率采用微宇宙培养法测定^[9]。使用气相色谱 (Agilent 公司) 测定 CO₂ 浓度, 并计算单位时间内净 CO₂ 累积量作为土壤基础呼吸速率。

1.4 根际土壤 DNA 提取及病原菌定量检测

使用 DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN 公司) 从 0.5 g 土壤中提取根际土壤微生物总 DNA。使用 NanoDrop 分光光度计 (ThermoFisher Scientific 公司) 测定 DNA 的浓度和纯度。提取的 DNA 保存在 -80 °C 冰箱内用于下一步扩增和测序。

采用巢式 PCR 方法对病原菌 FON 进行实时

荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 检测(Bio-Rad 公司)^[14]。通过引物对 Fonq-F (5'-G TTGCTTACGGTTCTAACTGTGC-3') 和 Fonp1-R (5'-CTGGTACGGAATGGCCGATCAG-3') 进行第一轮预扩增。PCR 反应体系(20 μ L): 2 \times TransStart[®] Tip Green qPCR SuperMix 10 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L, DNA 模板 2.0 μ L, ddH₂O 7.0 μ L。第一轮 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 18 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。然后将第一轮预扩增得到的产物用引物对 Fonq-F 和 Fonq-R (5'-GGTACTTGGAAGGAATTGTGGG-3') 进行第二轮 PCR 扩增, 反应体系同上, 但 DNA 模板改为 2.0 μ L 第一轮扩增 PCR 产物。第二轮 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 33 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。为了减少因 DNA 提取过程造成的误差, 将 10 倍稀释梯度的 FON 孢子加入不含 FON 的土壤中, 采取同样的方法提取土壤 DNA 并进行 PCR 扩增。标准曲线的扩增效率为 93.2%, R^2 为 0.988。

1.5 根际土壤细菌和真菌群落扩增子测序及生物信息分析

选用引物对 799F (5'-AACMGGATTAGAT ACCCKG-3') 和 1115R (5'-AGGGTTGCGCTCGTT G-3')、fITS7 (5'-GTGARTCATCGAATCTTTG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATG-3') 分别对细菌 16S rRNA 基因 V5-V6 区和真菌 ITS2 区进行扩增^[15-16]。PCR 反应体系均为 25 μ L: 2 \times Premix *Ex Taq*[®] 12.5 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L) 各 0.5 μ L, DNA 模板 2.0 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。细菌 16S rRNA 基因 V5-V6 区 PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。真菌 ITS2 区扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C

变性 30 s, 56.5 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。得到的 PCR 产物使用纯化试剂盒(Axygen 公司)进行纯化。最后, 纯化后的细菌和真菌 PCR 产物分别以等物质的量浓度混合在一起, 构建文库后在 MiSeq PE250 测序仪(Illumina 公司)上进行高通量测序。

在 QIIME v1.9.0 软件平台对原始测序数据进行分析^[17]。首先将引物序列以及低质量序列(质量分数<30)末端去除。然后使用 USEARCH 将双端序列拼接成单条序列, 然后对这些序列进行质控(去除拼接后错误值大于 0.5 的序列)及去重^[18]。使用 UNOISE3 方法去除序列中的嵌合体并按照 100% 的序列相似度进行聚类以形成“零半径操作分类单元(zero-radius operational taxonomic units, ZOTUs)^[19]。使用 BLAST 算法将细菌和真菌 ZOTU 代表序列与细菌 SILVA (version_132)数据库和真菌 UNITE (version_7.2)数据库进行比对^[20-21]。去除非细菌和非真菌的 ZOTU 后, 将细菌和真菌每个样品获得的序列分别抽平至 11 555 条和 20 755 条, 生成供下游分析的 ZOTU 表。利用脚本 alpha_diversity.py 和 beta_diversity.py 分别计算微生物的 α 多样性(ZOTU 丰富度和 Shannon 指数)和 β 多样性(基于 Weighted UniFrac 距离)。利用脚本 nmds.py 进行非度量多维标度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析。细菌和真菌原始测序数据存储在微生物科学数据中心, 数据编号分别为 NMDC40050779-NMDC40050798 和 NMDC40050811-NMDC40050830。

1.6 微生物群落网络构建及可视化

综合 2 个取样时期, 利用 Cytoscape v3.7.1 中的 CoNet 插件在 ZOTU 水平上对根际土壤细菌和真菌群落进行共现网络分析^[22-23]。选择在全部分样品中均存在的核心 ZOTU 用于后续的网络

分析, 并采用 Pearson 相关分析、Spearman 相关分析、Bray-Curtis 相异性分析、Kullback-Leibler 相异性分析和 Mutual information 分析这 5 种方法计算配对关联得分^[22], 并取前 5% 的相关性进行进一步的分析。之后进行 100 次迭代的排列(permutation)以避免假阳性以及 1 000 次置换检验(bootstrap)将结果重新分布。最后使用 Brown 检验将这 5 种方法产生的 P 值合并, 并通过 Benjamini-Hochberg 方法进行多重检验校正($P < 0.05$)^[24]。利用 Gephi v0.9.2 将网络可视化, 并计算网络拓扑参数^[25]。

1.7 统计分析

土壤性质、枯萎病病情指数和病原菌丰度以及根际土壤微生物 α 多样性的单因素、双因素分析和差异显著性检验(Duncan, $P < 0.05$)采用 SPSS v24.0 软件进行。采用 vegan 包中的置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)检测采样时间和西瓜品种等因素对微生物群落组成影响的显著性。利用 vegan 包中的 Spearman 相关分析和 Mantel 检验分别计算微生物 α 多样性与 FON 丰度、微生物距离矩阵与 FON 距离矩阵的相关性。选取平均丰度大于 0.1% 的细菌属和真菌属进行线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)以识别感病品种和抗病品种根际土壤微生物标志物[Kruskal-Wallis 检验 $P < 0.05$, $\lg(\text{LDA score}) > 3.0$]。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质和基础呼吸速率

供试背景土壤的总碳和总氮含量分别为 14.72 g/kg 和 1.71 g/kg, 土壤 pH 值为 5.20。分别在西瓜苗移栽 4 周和 9 周后采集根际土壤, 并对根际土壤理化性质和基础呼吸速率进行了测定(图 1)。结果表明, 西瓜枯萎病抗病和感病品

种间根际土壤无机氮(铵态氮和硝态氮)和可溶性有机碳含量无显著变化(图 1A–1C)。然而, 与感病品种相比, 抗病品种根际土壤具有较高的基础呼吸速率, 在移栽 4 周和 9 周后呼吸速率分别增加了 106.32% 和 37.76% (图 1D, $P < 0.05$)。这些结果表明抗感病品种对根际微生物活性具有显著的影响。

2.2 西瓜枯萎病病情指数和病原菌丰度

西瓜移栽 2 周后出现枯萎病症状, 并在第 4 周时达到稳定期。通过对枯萎病病情指数进行统计后发现, 抗性品种的病情指数显著低于感病品种(图 2A), 这与其抗病性状相一致。基于病原菌 FON 丰度的双因素方差分析结果表明, 不同品种和采样时期显著影响了病原菌 FON 的丰度(图 2B, $P < 0.05$)。与枯萎病感病品种相比, 抗性品种根际的病原菌丰度较低, 特别是在生长后期(第 9 周)根际病原菌丰度降低至 62 600 copies/g 土壤, 而感病品种根际病原菌丰度达 1 430 000 copies/g 土壤(图 2B)。此外, 抗性品种根际病原菌丰度在生长后期与初始连作土壤病原菌丰度(57 400 copies/g 土壤)接近(图 2B), 表明种植抗性品种西瓜并未进一步富集病原菌, 这暗示着抗性品种根际微生物与病原菌存在一定的互作关系以维持植物健康。

2.3 根际微生物多样性及其与病原菌丰度的关系

原始高通量测序数据经过质量控制后, 细菌和真菌分别获得了 2 439 个和 600 个 ZOTUs。双因素方差分析结果显示, 抗感病品种间根际微生物的 α 多样性(ZOTU 丰富度和香农指数)无显著变化(图 3)。采样时期对细菌 α 多样性也无显著影响(图 3A, $P > 0.05$), 但真菌 α 多样性在植物生长后期显著降低(图 3B, $P < 0.05$)。基于 Weighted UniFrac 距离的 NMDS 方法对根际微生物的 β 多样性进行降维分析发现, 根际微生物 β 多样性和

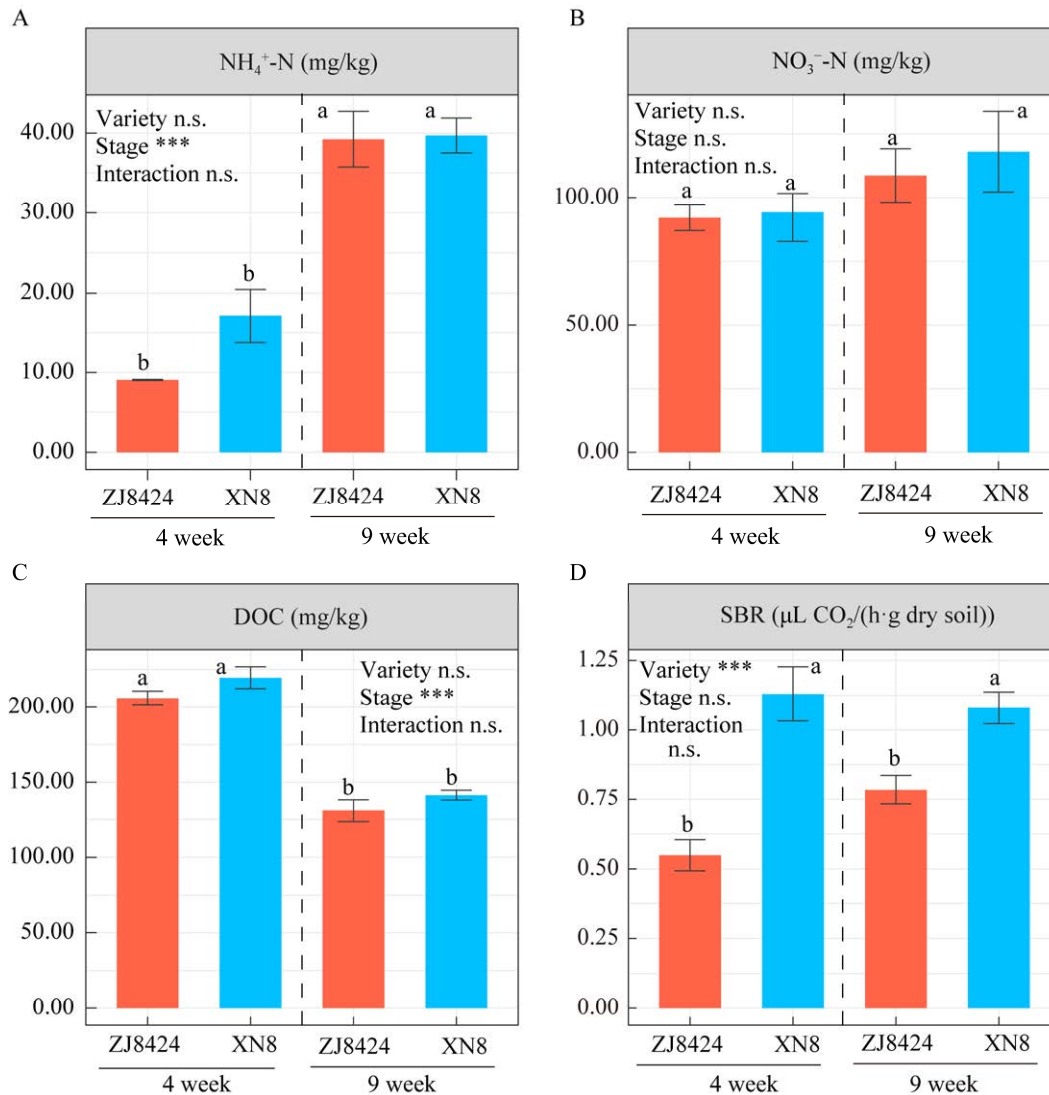


图 1 不同时期西瓜枯萎病抗感病品种根际土壤性质差异 方差分析检验了品种(variety)、时期(stage)及其交互作用(interaction)等因素对土壤性质的影响。A: 铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)含量。B: 硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量。C: 可溶性有机碳(DOC)含量。D: 土壤基础呼吸速率(SBR)。ZJ8424 表示感病品种; XN8 表示抗病品种。4 week 和 9 week 分别表示西瓜苗移栽后第 4 周和第 9 周。星号(*)代表品种、时期及其交互作用影响的显著性水平(***: $P<0.001$); “n.s.”代表无显著影响。不同字母代表在 $P<0.05$ 水平上差异显著。误差条表示 4 个重复的标准误差

Figure 1 Rhizosphere soil properties in watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt at different sampling stages. The results (P -values) of two-way ANOVAs show the effects of variety, stage, and their interaction on soil properties. A: Ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) content. B: Nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) content. C: Dissolved organic carbon (DOC) content. D: Soil basal respiration rate (SBR). ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety. 4 week and 9 week indicate the 4th and 9th weeks after transplanting watermelon seedlings, respectively. The asterisks (*) indicate the significant effects of variety, stage, and their interaction (***: $P<0.001$); The “n.s.” represents the non-significant effect ($P>0.05$). Different letters indicate significant difference among different groups at $P<0.05$. The error bar shows the standard error of four replicate pots.

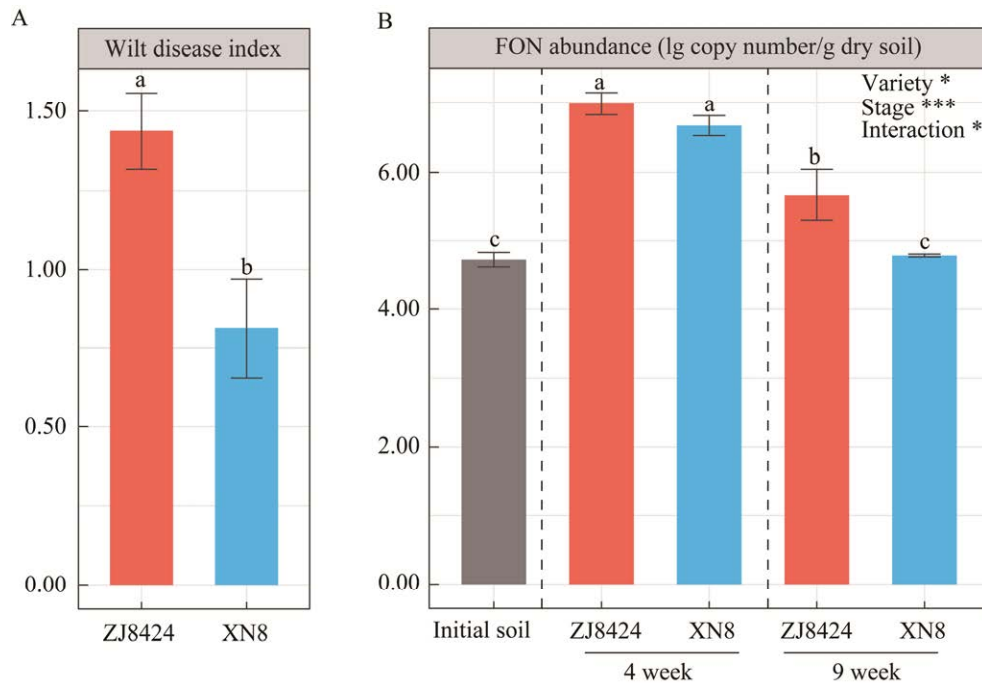


图 2 不同时期西瓜枯萎病抗感品种病情指数和根际土壤病原菌数量 A: 抗感病品种西瓜枯萎病病情指数. B: 初始土壤和不同时期下抗感病品种西瓜根际土壤中病原体 FON 丰度. 枯萎病病情指数在第 4 周进行统计. ZJ8424 代表感病品种; XN8 代表抗病品种. Initial soil 代表试验前初始土壤. 4 week 和 9 week 分别表示西瓜苗移栽后第 4 周和第 9 周. 星号(*)代表品种、时期及其交互作用影响的显著性水平(*: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$). 不同字母代表在 $P < 0.05$ 水平上差异显著. 误差条表示 4 个重复的标准误差

Figure 2 Disease index and the abundance of pathogen FON in watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt at different sampling stages. A: Disease index of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt. B: The abundance of pathogen FON in rhizosphere soil of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt at different sampling stages. Wilt disease incidence was assessed at the 4th week. ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety. 4 week and 9 week indicate the 4th and 9th weeks after transplanting watermelon seedlings, respectively. The asterisks (*) indicate the significant effects of variety, stage, and their interaction (*: $P < 0.05$, ***: $P < 0.001$). Different letters indicate significant difference among different groups at $P < 0.05$. The error bar shows the standard error of four replicate pots.

初始非根际土壤间在 NMDS1 轴存在显著分异 (图 4, $P < 0.001$), 表明植物根际对微生物具有强烈的选择效应。进一步通过 PERMANOVA 检验发现品种对根际微生物群落 β 多样性具有显著的影响 (图 4, $P < 0.01$), 其中细菌受到的影响大于真菌 (细菌: $R^2 = 0.209$; 真菌: $R^2 = 0.119$) (图 4)。同时, 采样时间也显著影响了根际细菌和真菌群

落的 β 多样性 (图 4, $P < 0.05$)。

细菌和真菌 α 多样性 (香农指数) 与病原菌 FON 丰度的 Spearman 相关性结果显示, 细菌 α 多样性与病原菌丰度无相关性, 而真菌 α 多样性与病原菌丰度仅存在微弱正相关 (表 1, $P = 0.046$)。同时, Mantel 分析结果显示, 细菌和真菌群落 β 多样性与病原菌存在显著的相关性

(表 1, 细菌: Mantel's $r=0.343$, $P=0.001$; 真菌: Mantel's $r=0.281$, $P=0.005$)。这些结果表明, 与根际微生物 α 多样性相比, β 多样性(群落组成)

与病原菌的丰度具有更强的相关性, 暗示某些微生物类群可能在与病原菌互作过程中起到关键作用。

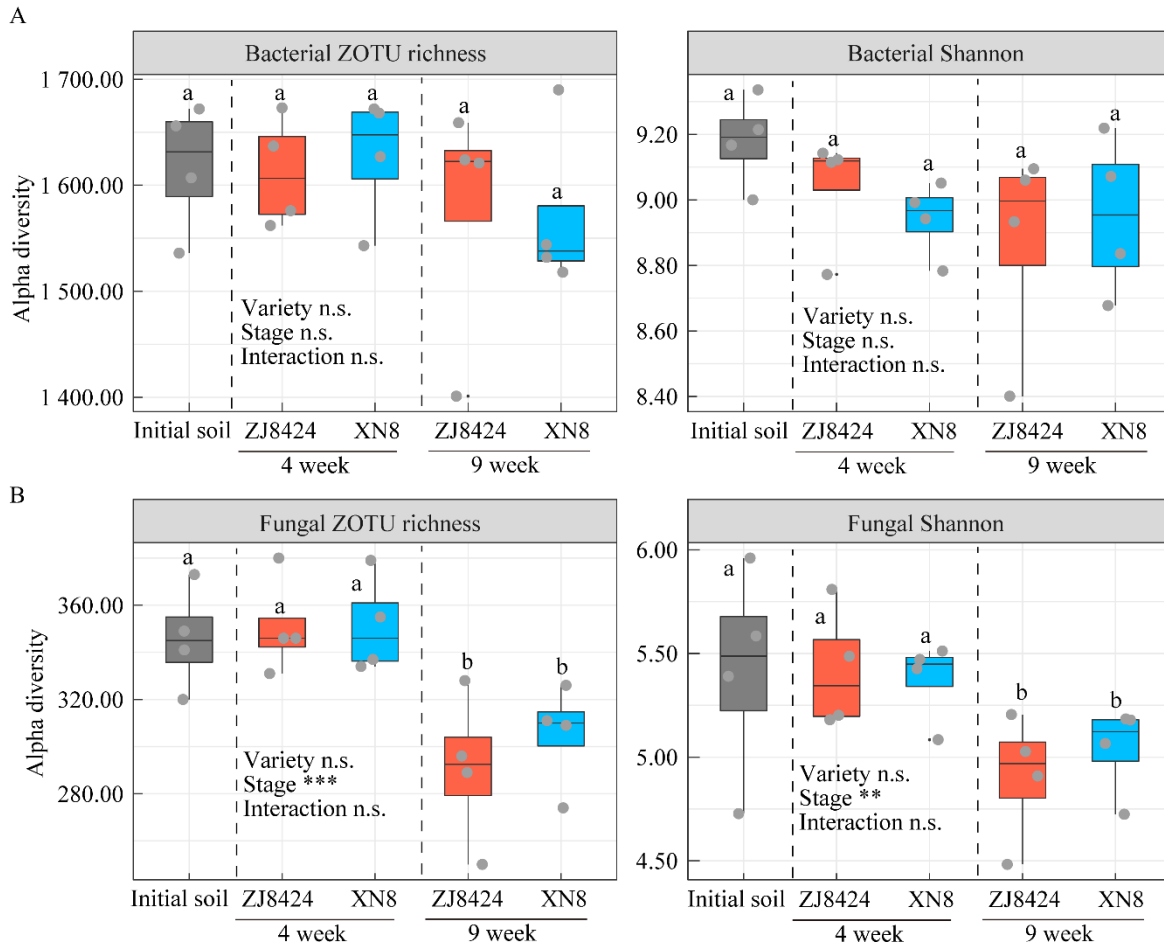


图 3 不同时期西瓜枯萎病抗感品种根际土壤细菌(A)和真菌(B) α 多样性(基于 ZOTU 丰富度和 Shannon 指数) ZJ8424 代表感病品种; XN8 代表抗病品种. Initial soil 代表试验前初始土壤. 4 week 和 9 week 分别表示西瓜苗移栽后第 4 周和第 9 周. 星号(*)代表品种、时期及其交互作用影响的显著性水平 (**: $P<0.01$; ***: $P<0.001$); “n.s.”代表无显著影响. 不同字母代表在 $P<0.05$ 水平上差异显著

Figure 3 The bacterial (A) and fungal (B) alpha diversity in rhizosphere soil of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt (based on ZOTU richness and Shannon index) at different growth stages. ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety. 4 week and 9 week indicate the 4th and 9th weeks after transplanting watermelon seedlings, respectively. The asterisks (*) indicate the significant effects of variety, stage, and their interaction (**: $P<0.01$; ***: $P<0.001$); The “n.s.” represents the non-significant effect ($P>0.05$). Different letters indicate significant difference among different groups at $P<0.05$.

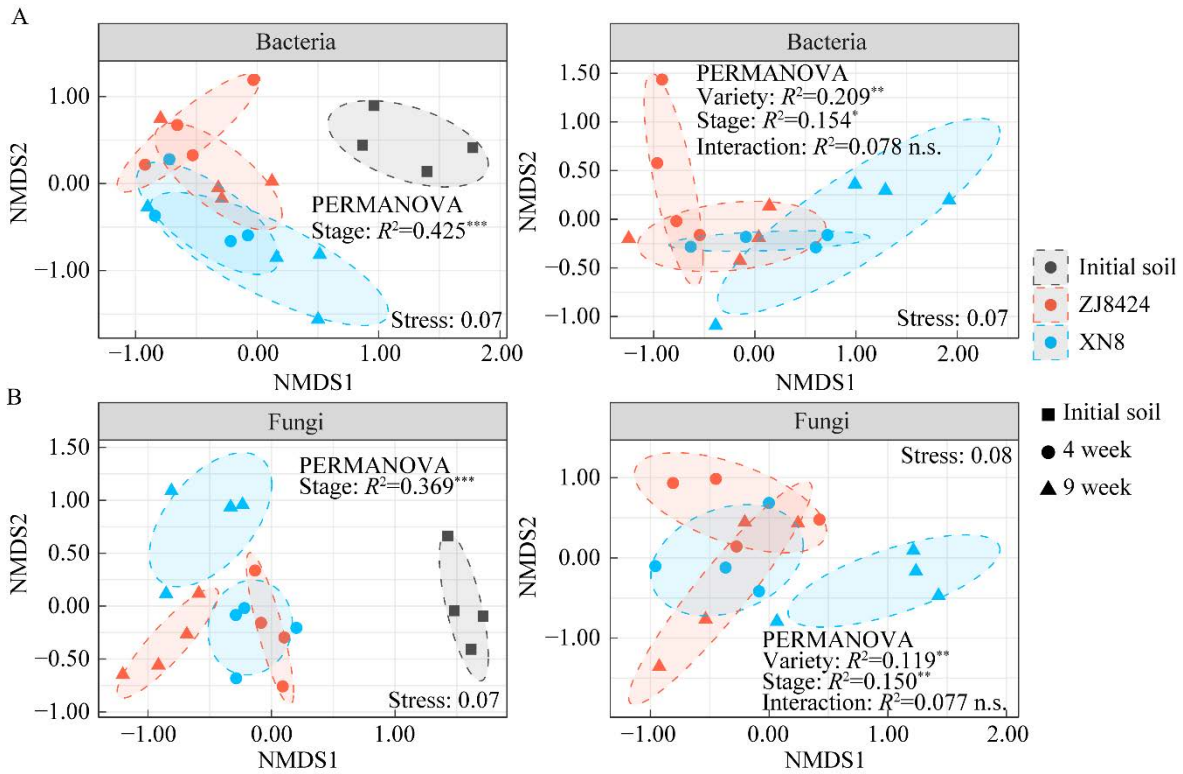


图 4 西瓜枯萎病抗感品种西瓜根际土壤细菌(A)和真菌(B) β 多样性差异(基于 Weighted UniFrac 距离的 NMDS 分析和 PERMANOVA 检验) ZJ8424 代表感病品种; XN8 代表抗病品种. Initial soil 代表试验前初始土壤. 图 A 和图 B 的左侧图表示包括初始土壤在内的 β 多样性, 右侧图不包括初始土壤. 点的颜色和形状代表不同品种和时期. 星号(*)代表品种、时期及其交互作用影响的显著性水平(*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$); “n.s.”代表无显著影响

Figure 4 The bacterial (A) and fungal (B) beta diversity in rhizosphere soil of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt (non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis and permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) test based on Weighted UniFrac distance). ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety. The left panels of figures A and B represent the β -diversity including the initial soil samples, and the right panels do not include the initial soil. The different colors and shapes represent the different varieties and sampling stages, respectively. The asterisks (*) indicate the significant effects of variety, stage, and their interaction (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$); The “n.s.” represents the non-significant effect ($P > 0.05$).

表 1 基于 Spearman 相关和 Mantel 检验的微生物群落多样性和组成与 FON 丰度相关性

Table 1 The correlation between microbial community and FON abundance based on Spearman correlation (between Shannon index and FON abundance) and Mantel test (between microbial dissimilarity matrix and FON dissimilarity matrix)

Microbial taxa	Diversity		Composition	
	Spearman's ρ	P	Mantel's r	P
Bacteria	0.090	0.741	0.343	0.001
Fungi	0.512	0.046	0.281	0.005

2.4 根际微生物群落组成和差异物种分析

在门水平上, 西瓜根际细菌主要由 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*)、 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 和酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 等组成, 分别占细菌序列的 36.26%、11.61%、18.68% 和 14.75% (图 5A)。差异分析 (LEfSe) 结果表明, 抗病品种根际富集的细菌类群主要属于放线菌门 (图 6A)。特别地, 链霉菌科 (*Streptomycetaceae*)、类诺卡氏菌科

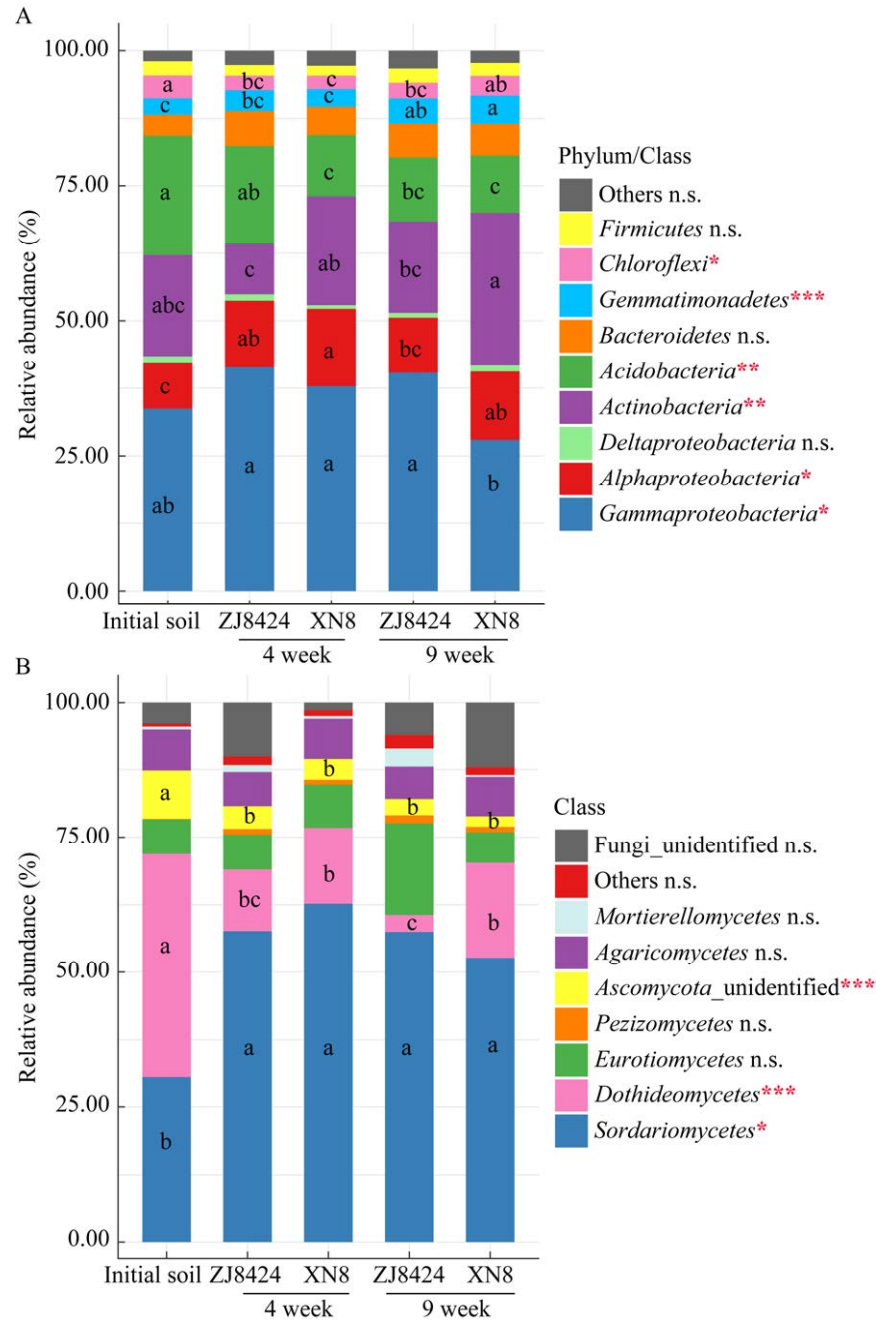
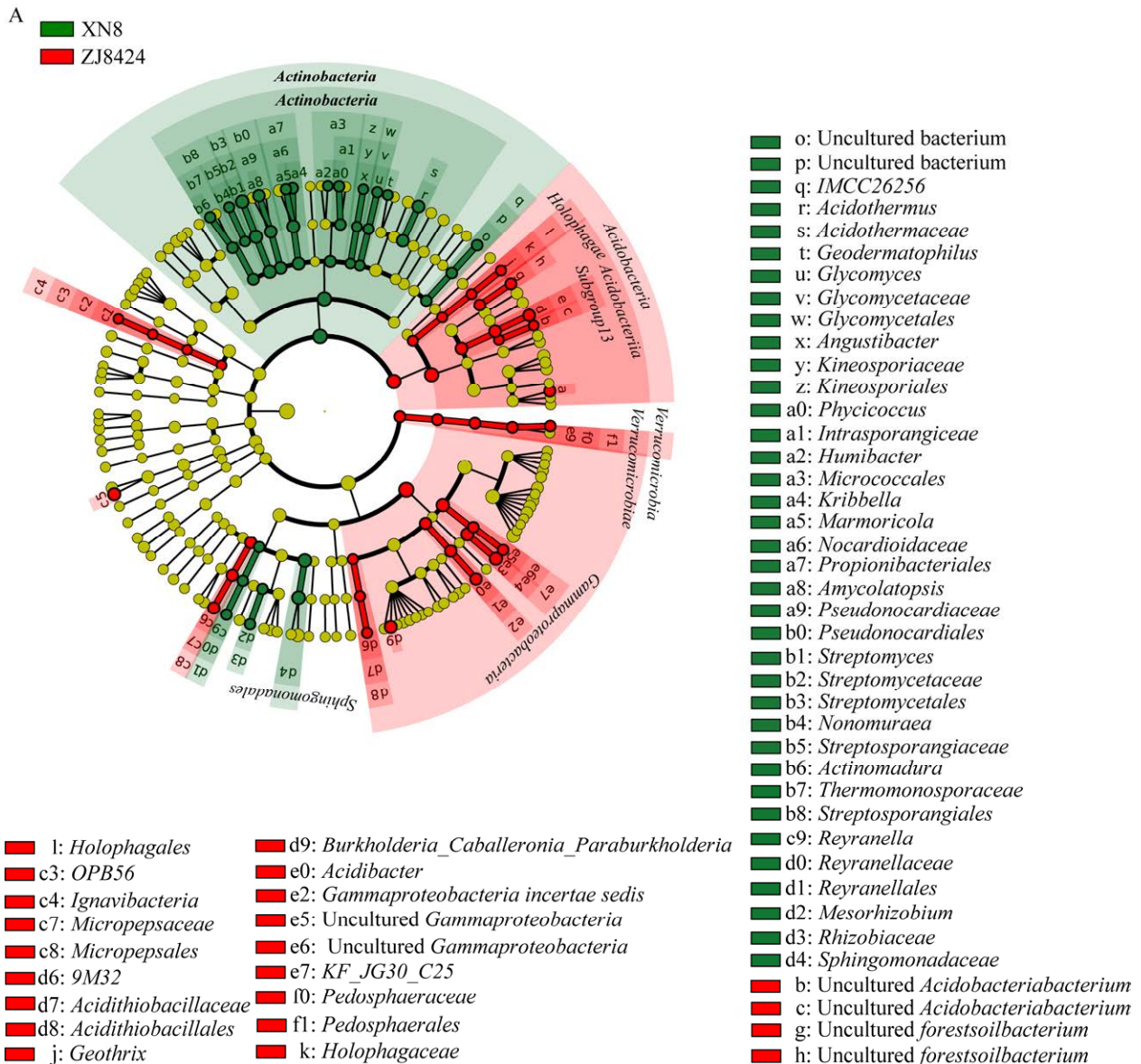


图 5 不同时期西瓜抗感病品种根际土壤细菌(A)和真菌(B)群落组成(相对丰度>1%)。细菌类群在门水平上进行分析(变形菌门细分为 α -变形菌纲、 γ -变形菌纲和 δ -变形菌纲),真菌群落在纲水平上进行分析。ZJ8424代表感病品种;XN8代表抗病品种。Initial soil代表试验前初始土壤。星号(*)代表品种、时期及其交互作用影响的显著性水平(*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$);“n.s.”代表无显著影响。不同字母代表在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。Figure 5 Community composition of bacteria (A) and fungi (B) in rhizosphere soil of watermelon varieties resistant and susceptible to *Fusarium* wilt at different growth stage (relative abundance >1%). Bacterial taxa were analyzed at the phylum level (*Proteobacteria* were further divided into *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, and *Deltaproteobacteria*), and fungal communities were analyzed at the class level. ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety. The asterisks (*) indicate the significant effects of variety, stage, and their interaction (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$); The “n.s.” represents the non-significant effect ($P > 0.05$). Different letters indicate significant difference among different groups at $P < 0.05$.

(*Nocardioideae*)、糖霉菌科(*Glycomycetaceae*)、酸热菌科(*Acidothermaceae*)等属于放线菌门的类群在抗病品种根际显著富集(图 6A)。此外,根瘤菌科(*Rhizobiaceae*)和鞘氨醇单胞菌科(*Sphingomonadaceae*)等属于 α -变形菌纲的类群也在抗病品种根际富集。然而,感病品种根际主要富集了属于酸杆菌门的 *Subgroup 13* 目和全噬菌目(*Holophagales*)以及属于 γ -变形菌纲的酸硫杆菌目(*Acidithiobacillales*)等细菌类群(图 6A)。

根际真菌主要由属于子囊菌门(*Ascomycota*)

的粪壳菌纲(*Sordariomycetes*)、座囊菌纲(*Dothideomycetes*)、散囊菌纲(*Eurotiomycetes*)和属于担子菌门(*Basidiomycota*)的伞菌纲(*Agaricomycetes*)以及属于被孢霉门(*Mortierellomycota*)的被孢霉纲(*Mortierellomycetes*)组成(图 5B)。LEfSe 分析结果表明,座囊菌纲主要在抗病品种根际富集(图 6B)。镰刀菌属(*Fusarium*)是抗病品种的生物标志物,其主要由未分类的镰刀菌(*unidentified Fusarium*)和腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)组成(图 6C)。此外,包括木霉菌属(*Trichoderma*)在内



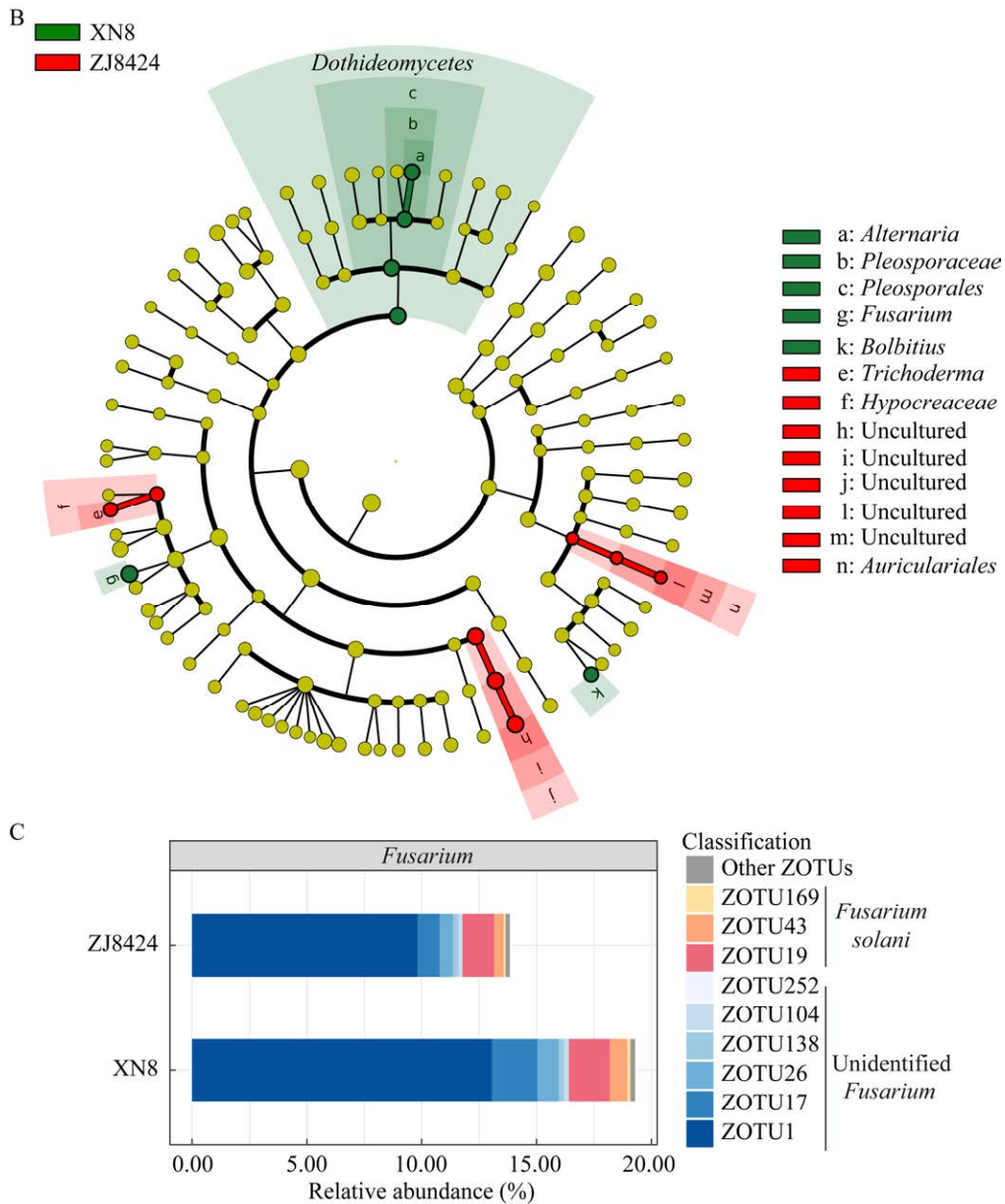


图 6 西瓜枯萎病抗感病品种根际土壤微生物标志物分析(基于属水平上的 LEfSe 分析) A: 西瓜枯萎病抗感病品种根际土壤细菌标志物. B: 西瓜枯萎病抗感病品种根际土壤真菌标志物. C: 所有属于镰刀菌属的 ZOTUs 组成及其在西瓜抗感病品种根际土壤中的相对丰度. 该分析综合了第 4 周和第 9 周 2 个取样时期的样品. ZJ8424 代表感病品种; XN8 代表抗病品种

Figure 6 Biomarkers of microbial taxa in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt identified by LEfSe analysis at the genus level. A: Bacterial biomarkers in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. B: Fungal biomarkers in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. C: The relative abundance of all *Fusarium*-affiliating ZOTUs in the rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. The analysis integrated samples from both the 4th week and 9th week. ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety.

的肉座菌科(*Hypocreaceae*)是感病品种根际的生物标志物(图 6B)。

2.5 细菌-真菌共现网络分析

进一步在 ZOTU 水平上构建微生物(细菌和真菌)共现网络以探究抗感病品种根际潜在的微

生物相互作用。总的来说,抗病品种根际的微生物网络具有较高的复杂度,节点数、边数和平均度比感病品种分别增加了 9.07%、28.77%和 18.18% (图 7A、7B)。另外,放线菌门是抗病植物根际共现网络的主要类群,其占比明显高于

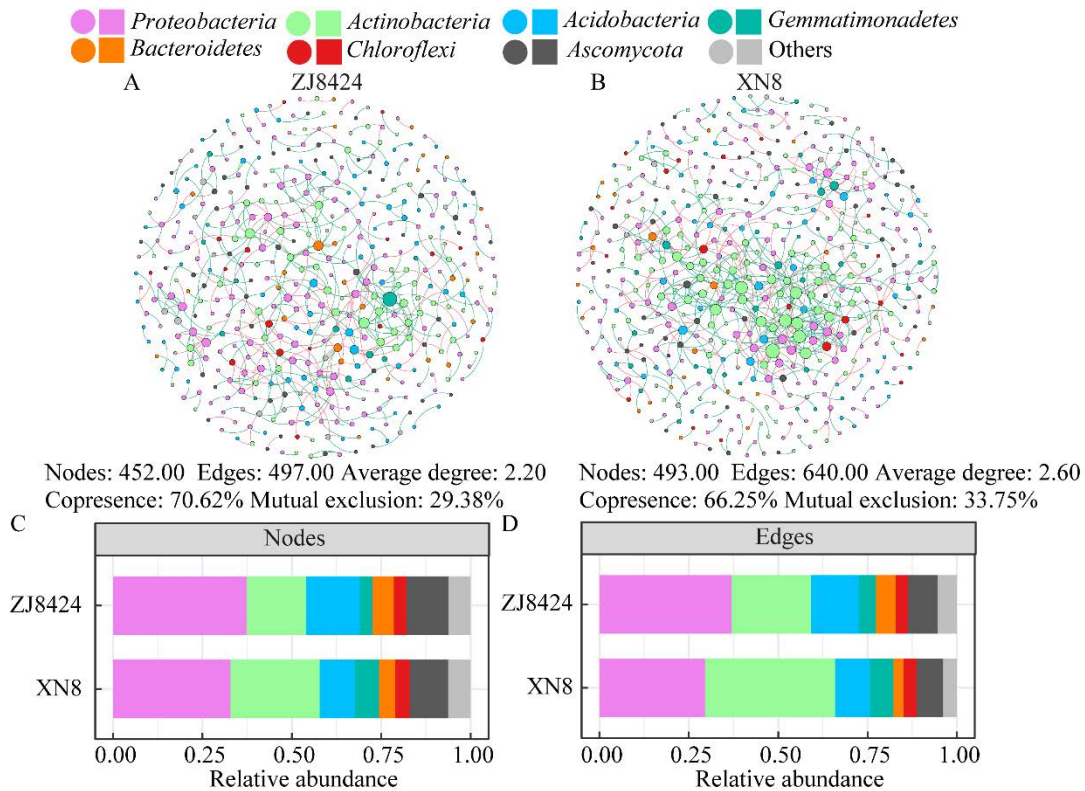


图 7 西瓜抗感病品种根际土壤细菌和真菌共现网络差异 A: 西瓜感病品种根际土壤细菌和真菌共现网络. B: 西瓜抗病品种根际土壤细菌和真菌共现网络. C: 西瓜抗感病品种根际土壤细菌和真菌共现网络节点所属主要微生物类群的相对丰度. D: 西瓜抗感病品种根际土壤细菌和真菌共现网络边所属主要微生物类群的相对丰度. 通过计算网络中属于特定微生物类群的节点或边数量占该网络中总的节点或边数量的比例以确定不同微生物门在网络节点或边中的相对丰度. 不同颜色代表不同微生物门. 节点大小与连接度成正比. 绿色连线代表正相关, 红色连线代表负相关. ZJ8424 代表感病品种, XN8 代表抗病品种

Figure 7 Visualized networks of bacterial and fungal co-occurrence patterns in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. A: Visualized networks of bacterial and fungal co-occurrence patterns in rhizosphere soil of the susceptible variety. B: Visualized networks of bacterial and fungal co-occurrence patterns in rhizosphere soil of the resistant variety. C: The relative abundance of major microbial taxa to which nodes belong in the co-occurrence network in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. D: The relative abundance of major microbial taxa to which edges belong in the co-occurrence network in rhizosphere soil of watermelon varieties susceptible and resistant to *Fusarium* wilt. The relative abundance of different microbial taxa in network nodes or edges is determined by calculating the proportion of nodes or edges belonging to specific microbial taxa in the total number of nodes or edges in the network. The different color represents bacterial and fungal taxa at phylum level. Node size is proportional to the degree of connection. The edges in green and red represent co-occurrence and mutual exclusion patterns among taxa, respectively. ZJ8424 represents the susceptible variety, and XN8 represents the resistant variety.

感病品种根际微生物网络,而酸杆菌门与变形菌门呈现相反的趋势。这与差异分析的结果一致,表明放线菌门主导了抗病品种根际微生物潜在互作模式(图 7C、7D)。

3 讨论

3.1 西瓜抗感病基因型影响根际微生物群落多样性和共现网络

根际微生物作为植物防御的“第一道防线”,植物能够通过根系分泌物或者免疫系统招募植物促生和病原体拮抗微生物以重塑根际微生物组来保护自身免受侵袭^[9,26]。本研究采用高通量测序结合植物抗感病表型观测和根际病原菌定量的方法,利用镰刀菌土传病害发生严重的温室大棚土壤进行盆栽试验,对不同品种根际土壤理化生物学特征以及根际微生物组进行了比较研究。结果表明,抗病品种具有较低的枯萎病发病程度,并显著降低了根际病原菌 FON 丰度,这与其感病表型相一致;同时,抗感病品种根际微生物活性和群落组成存在显著差异。这些结果进一步证实了根际微生物可能通过与病原菌以及宿主植物互作在根际免疫系统中发挥着“生物屏障”的重要作用以维持植物健康^[27-28]。此外, Mantel 和 Spearman 相关分析结果表明,根际细菌和真菌群落组成与 FON 丰度呈显著相关,而真菌 α 多样性与 FON 丰度仅存在微弱正相关,表明根际微生物群落组成比 α 多样性在病害发生的过程中更加重要。类似地,近期研究发现微生物群落组成而非多样性在维持农田生态系统多重功能中发挥重要作用,这可能是由于特定类群在其中发挥了关键作用^[29]。

不同根际微生物类群间相互作用,形成高度连接和动态的网络关系以适应环境变化和维持宿主功能^[30]。在本研究中,与感病品种相比,抗病品种根际具有更高的微生物网络复杂性、节

点平均度和负相互作用比例。类似地,在镰刀菌抑病性土壤和未连作土壤中也观察到高度连接的微生物关联网络^[11,31-32]。同时,有研究指出微生物群落稳定性与网络复杂性和高比例的负相互作用正相关^[33],这说明抗病品种根际微生物群落可能更为稳定。较高的微生物网络复杂性能够提高宿主抗性,也是生态系统稳定性和功能维持的重要特征之一^[34-35]。抗病品种根际较高的网络复杂性和稳定性可能有利于维持微生物间的相互作用,提高资源竞争能力,从而提高宿主植物对包括病原体入侵在内的生物胁迫的抗性。

3.2 抗病品种根际富集的关键微生物类群影响枯萎病发生

揭示与病原菌抑制相关的关键微生物对于指导土传病害的生物防治策略具有重要意义。差异分析结果发现,抗病品种显著富集了放线菌门(包括链霉菌科、类诺卡氏菌科和糖霉菌科)和 α -变形菌纲(包括根瘤菌科和鞘氨醇单胞菌科)。链霉菌通常被认为具有拮抗作用,可以通过分泌抗真菌化合物并在植物根系定殖从而赋予植物抗病能力和对胁迫环境的适应性^[36]。据统计,链霉菌产生的抗生素种类约为微生物产生的抗生素总量的 90%^[37]。Cha 等研究报道了土壤链霉菌菌株 S4-7 产生的一种硫肽类抗生素介导了其对抗孢镰刀菌的抑制作用^[38]。除分泌抗生素外,链霉菌还可通过合成裂解酶破坏病原菌细胞壁而产生拮抗作用。例如,从水稻中分离出来的内生放线菌米修链霉菌(*Streptomyces misionensis*)具有纤维素酶和蛋白酶活性,同时可产生植物生长促进剂,如铁载体、吲哚乙酸和 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶,有效抑制了稻瘟病病原真菌(*Magnaporthe oryzae*)菌丝生长^[39]。近期的研究发现在西瓜长期连作土壤中应用不吸水链霉菌(*Streptomyces ahyscopicus*) 769 菌株发酵产物,通过丰富有益微生物类群并诱导植物防御机

制以降低枯萎病发病率^[40]。本研究进一步发现放线菌是抗病品种根际微生物共现网络中的关键类群,表明抗病品种根际土壤中富集的放线菌类群可能作为关键物种驱动着根际微生物群落构建以抵御病原菌入侵。此外,根瘤菌等一些属于 α -变形菌纲的微生物类群,作为被广泛报道的植物促生菌,能够通过产生辅酶、类胡萝卜素等次级代谢产物从而有助于植物养分吸收和病原菌抑制^[41],本研究中抗病品种根际土壤中根瘤菌科较高的相对丰度代表了根际稳定的潜在共生关系。鞘氨醇单胞菌是已知的烃类降解菌,与植物根系分泌物的利用密切相关^[42]。然而,酸杆菌门则呈现相反的趋势,在感病品种根际中富集,并在感病品种根际微生物共现网络中发挥重要作用。酸杆菌是土壤中的耐酸类群,也是一类寡营养的微生物^[43],其在感病品种根际的富集表明感病品种根际分泌物数量和质量较低。这些结果都说明了抗病品种对镰刀菌 FON 具有明显的抑制作用,其抗病表型的体现伴随着根际微生物群落的改变和有益微生物的富集。

另外,尽管抗病品种根际土壤中病原镰刀菌 FON 的丰度显著降低,但抗病品种根际中镰刀菌属的相对丰度却高于感病品种,并且主要以腐皮镰刀菌和未分类的镰刀菌为代表。这与之前的研究类似,与发病植物相比,健康西瓜根际镰刀菌属比例明显升高,并且主要以轮枝镰刀菌(*F. verticillioides*)和腐皮镰刀菌为代表^[9]。由于西瓜枯萎病病原菌具有小种专化性,因此不同的尖孢镰刀菌专化型或者不同的镰刀菌种通常不会引起西瓜发病^[44]。此外,之前的报道发现从抑病土壤中分离出来的非致病镰刀菌可以与病原菌争夺营养或生态位并诱导植物系统抗性,可以作为生防菌发挥功能^[44-45]。因此,存在于抗病品种根际的非 FON 镰刀菌可能通过发挥拮抗作用从而阻止病原菌的定殖。除拮抗作用外,在特定条件下病

原菌还可作为有益微生物促进植物养分吸收,如缺磷条件下植物病原真菌炭疽菌(*Colletotrichum tofieldiae*)在拟南芥根上定殖,从而将大量磷酸盐转移到嫩枝上为植物提供磷素,但不导致病害发生^[46]。然而,这些物种如何引起宿主植物的不同反应以及它们如何与不同植物相互作用的机制仍有待探索。综上所述,我们的结果揭示了抗病品种可能通过显著提高植物根际微生物的活性,重塑更紧密的微生物关联网络,丰富有益微生物类群,从而赋予植物更强的抗病性。

4 结论

本研究利用高通量测序技术对西瓜枯萎病抗感品种根际微生物群落进行了比较研究,揭示了土传病害抗感品种植物根际土壤具有截然不同的微生物群落组成和共现网络互作关系。通过明确植物基因型影响病害发生的规律及其与微生物群落之间的关系,进一步探讨了放线菌、根瘤菌和非 FON 镰刀菌等抗病品种根际富集的关键微生物类群在植物抵御病原菌侵染过程中的潜在作用。相关研究结果从植物-病原菌-有益微生物互作角度为通过作物抗病品种培育防治土传病害提供了重要依据,未来需要结合培养组学进一步探索抗病品种富集的关键微生物类群与抗病表型之间的因果关系及其互作机制。

参考文献

- [1] 黄新琦, 蔡祖聪. 土壤微生物与作物土传病害控制[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32(6): 593-600.
HUANG XQ, CAI ZC. Soil microbes and control of soil-borne diseases[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2017, 32(6): 593-600 (in Chinese).
- [2] TRIVEDI P, DELGADO-BAQUERIZO M, TRIVEDI C, HAMONTS K, ANDERSON IC, SINGH BK. Keystone microbial taxa regulate the invasion of a fungal pathogen in agro-ecosystems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 111: 10-14.

- [3] 韦中, 宋宇琦, 熊武, 徐阳春, 沈其荣. 土壤原生动物: 研究方法及其在土传病害防控中的作用[J]. 土壤学报, 2021, 58(1): 14-22.
WEI Z, SONG YQ, XIONG W, XU YC, SHEN QR. Soil *Protozoa*: research methods and roles in the biocontrol of soil-borne diseases[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(1): 14-22 (in Chinese).
- [4] 朱永官, 彭静静, 韦中, 沈其荣, 张福锁. 土壤微生物组与土壤健康[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(1): 1-11.
ZHU YG, PENG JJ, WEI Z, SHEN QR, ZHANG FS. Linking the soil microbiome to soil health[J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2021, 51(1): 1-11 (in Chinese).
- [5] ZHALNINA K, LOUIE KB, HAO Z, MANSOORI N, da ROCHA UN, SHI SJ, CHO H, KARAOZ U, LOQUÉ D, BOWEN BP, FIRESTONE MK, NORTHERN TR, BRODIE EL. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3: 470-480.
- [6] PHILIPPOT L, RAAIJMAKERS JM, LEMANCEAU P, van der PUTTEN WH. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 789-799.
- [7] CARRIÓN VJ, PEREZ-JARAMILLO J, CORDOVEZ V, TRACANNA V, de HOLLANDER M, RUIZ-BUCK D, MENDES LW, van IJCKEN WJF, GOMEZ-EXPOSITO R, ELSAYED SS, MOHANRAJU P, ARIFAH A, van der OOST J, PAULSON JN, MENDES R, van WEZEL GP, MEDEMA MH, RAAIJMAKERS JM. Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome[J]. *Science*, 2019, 366(6465): 606-612.
- [8] 曾青, 熊超, 尹梅, 葛安辉, 韩丽丽, 张丽梅. 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, 2023, 31(4): 22667.
ZENG Q, XIONG C, YIN M, GE AH, HAN LL, ZHANG LM. Research progress on ecological functions and community assembly of plant microbiomes[J]. *Biodiversity Science*, 2023, 31(4): 22667 (in Chinese).
- [9] GE AH, LIANG ZH, XIAO JL, ZHANG Y, ZENG Q, XIONG C, HAN LL, WANG JT, ZHANG LM. Microbial assembly and association network in watermelon rhizosphere after soil fumigation for *Fusarium* wilt control[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 312: 107336.
- [10] SANCHEZ-CAÑIZARES C, JORRÍN B, POOLE PS, TKACZ A. Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 38: 188-196.
- [11] MENDES LW, MENDES R, RAAIJMAKERS JM, TSAI SM. Breeding for soil-borne pathogen resistance impacts active rhizosphere microbiome of common bean[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(12): 3038-3042.
- [12] MATSUMOTO H, FAN XY, WANG Y, KUSSTATSCHER P, DUAN J, WU SL, CHEN SL, QIAO K, WANG YL, MA B, ZHU GN, HASHIDOKO Y, BERG G, CERNAVA T, WANG MC. Bacterial seed endophyte shapes disease resistance in rice[J]. *Nature Plants*, 2021, 7(1): 60-72.
- [13] SONG Y, LING N, MA JH, WANG JC, ZHU C, RAZA W, SHEN YF, HUANG QW, SHEN QR. Grafting resulted in a distinct proteomic profile of watermelon root exudates relative to the un-grafted watermelon and the rootstock plant[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2016, 35(3): 778-791.
- [14] 肖姬玲, 张屹, 李基光, 朱菲莹, 魏林, 梁志怀. 实时荧光定量 PCR 检测土壤西瓜枯萎病菌体系的建立[J]. 植物保护学报, 2018, 45(4): 921-922.
XIAO JL, ZHANG Y, LI JG, ZHU FY, WEI L, LIANG ZH. Establishment of real-time PCR system for quantitatively detecting *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soil[J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45(4): 921-922 (in Chinese).
- [15] IHRMARK K, BÖDEKER ITM, CRUZ-MARTINEZ K, FRIBERG H, KUBARTOVA A, SCHENCK J, STRID Y, STENLID J, BRANDSTRÖM-DURLING M, CLEMMENSEN KE, LINDAHL BD. New primers to amplify the fungal ITS2 region: evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 82(3): 666-677.
- [16] LAFOREST-LAPOINTE I, PAQUETTE A, MESSIER C, KEMBEL SW. Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships[J]. *Nature*, 2017, 546: 145-147.
- [17] CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, PEÑA AG, GOODRICH JK, GORDON JI, HUTTLEY GA, KELLEY ST, KNIGHTS D, KOENIG JE, LEY RE, LOZUPONE CA, McDONALD D, MUEGGE BD, PIRRUNG M, REEDER J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.

- [18] EDGAR RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [19] EDGAR RC. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing[J]. *bioRxiv*, 2016. DOI: 10.1101/081257.
- [20] PRUESSE E, QUAST C, KNITTEL K, FUCHS BM, LUDWIG W, PEPLIES J, GLÖCKNER FO. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(21): 7188-7196.
- [21] KÖLJALG U, LARSSON KH, ABARENKOV K, NILSSON RH, ALEXANDER IJ, EBERHARDT U, ERLAND S, HØILAND K, KJØLLER R, LARSSON E, PENNANEN T, SEN R, TAYLOR AFS, TEDERSOO L, VRÅLSTAD T, URSING BM. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi[J]. *The New Phytologist*, 2005, 166(3): 1063-1068.
- [22] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, BALIGA NS, WANG JT, RAMAGE D, AMIN ND, SCHWIKOWSKI B, IDEKER T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [23] FAUST K, RAES J. Microbial interactions: from networks to models[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10: 538-550.
- [24] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [25] BASTIAN M, HEYMANN S, JACOMY M. Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks[C]. *Proceedings of the third International Conference on Weblogs and Social Media*, 2009, 3(1): 361-362.
- [26] STRINGLIS IA, YU K, FEUSSNER K, de JONGE R, van BENTUM S, van VERK MC, BERENDSEN RL, BAKKER PAHM, FEUSSNER I, PIETERSE CMJ. MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(22): E5213-E5222.
- [27] KWAK MJ, KONG HG, CHOI K, KWON SK, SONG JY, LEE J, LEE PA, CHOI SY, SEO M, LEE HJ, JUNG EJ, PARK H, ROY N, KIM H, LEE MM, RUBIN EM, LEE SW, KIM JF. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36: 1100-1109.
- [28] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231-248. LIU JW, LI XZ, YAO MJ. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 231-248 (in Chinese).
- [29] ZENG Q, YIN M, FU LB, SINGH BK, LIU SY, CHEN H, GE AH, HAN LL, ZHANG LM. Green manure substitution for potassium fertilizer promotes agro-ecosystem multifunctionality via triggering interactions among soil, plant and rhizosphere microbiome[J]. *Plant and Soil*, 2023, 498: 431-450.
- [30] HASSANI MA, DURÁN P, HACQUARD S. Microbial interactions within the plant holobiont[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 58.
- [31] XIONG W, LI R, REN Y, LIU C, ZHAO QY, WU HS, JOUSSET A, SHEN QR. Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla *Fusarium* wilt disease[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107: 198-207.
- [32] CHEN S, QI GF, LUO T, ZHANG HC, JIANG QK, WANG R, ZHAO XY. Continuous-cropping tobacco caused variance of chemical properties and structure of bacterial network in soils[J]. *Land Degradation & Development*, 2018, 29(11): 4106-4120.
- [33] YUAN MM, GUO X, WU LW, ZHANG Y, XIAO NJ, NING DL, SHI Z, ZHOU XS, WU LY, YANG YF, TIEDJE JM, ZHOU JZ. Climate warming enhances microbial network complexity and stability[J]. *Nature Climate Change*, 2021, 11: 343-348.
- [34] GAO C, XU L, MONTOYA L, MADERA M, HOLLINGSWORTH J, CHEN L, PURDOM E, SINGAN V, VOGEL J, HUTMACHER RB, DAHLBERG JA, COLEMAN-DERR D, LEMAUX PG, TAYLOR JW. Co-occurrence networks reveal more complexity than community composition in resistance and resilience of microbial communities[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 3867.
- [35] CHEN WQ, WANG JY, CHEN X, MENG ZX, XU R, DUOJI DZ, ZHANG JH, HE J, WANG ZG, CHEN J, LIU KX, HU TM, ZHANG YJ. Soil microbial network

- complexity predicts ecosystem function along elevation gradients on the Tibetan Plateau[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 172: 108766.
- [36] VIAENE T, LANGENDRIES S, BEIRINCKX S, MAES M, GOORMACHTIG S. *Streptomyces* as a plant's best friend?[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(8): fiw119.
- [37] 崔熙雯, 林小锐, 李家兵, 张虹, 韩永和. 抗逆放线菌的多样性、功能特性及其在环境修复中的应用[J]. *微生物学报*, 2023, 63(5): 1930-1943.
CUI XW, LIN XR, LI JB, ZHANG H, HAN YH. Diversity, functional characteristics, and environmental remediation potential of stress-tolerant actinomycetes[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(5): 1930-1943 (in Chinese).
- [38] CHA JY, HAN S, HONG HJ, CHO H, KIM D, KWON Y, KWON SK, CRÜSEMANN M, LEE YB, KIM JF, GIAEVER G, NISLOW C, MOORE BS, THOMASHOW LS, WELLER DM, KWAK YS. Microbial and biochemical basis of a *Fusarium* wilt-suppressive soil[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(1): 119-129.
- [39] 王真真, 徐婷, 袁珊珊, 廖红东, 杨远柱, 曾夏冬, 李燕, 胡小淳, 柳倩, 曾嘉锐, 朱咏华, 刘选明. 水稻内生放线菌 OsiRt-1 的分离鉴定及对稻瘟病的防治作用[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(5): 1009-1018.
WANG ZZ, XU T, YUAN SS, LIAO HD, YANG YZ, ZENG XD, LI Y, HU XC, LIU Q, ZENG JR, ZHU YH, LIU XM. Identification of an endophytic actinomyce OsiRt-1 isolated from rice and its effect against rice blast disease[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(5): 1009-1018 (in Chinese).
- [40] GE AH, LI QY, LIU HW, ZHANG ZK, LU Y, LIANG ZH, SINGH BK, HAN LL, XIANG JF, XIAO JL, LIU SY, ZHANG LM. *Streptomyces*-triggered coordination between rhizosphere microbiomes and plant transcriptome enables watermelon *Fusarium* wilt resistance[J]. *Microbial Biotechnology*, 2024, 17(3): e14435.
- [41] KUKLINSKY-SOBRAL J, ARAÚJO WL, MENDES R, GERALDI IO, PIZZIRANI-KLEINER AA, AZEVEDO JL. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion[J]. *Environmental Microbiology*, 2004, 6(12): 1244-1251.
- [42] FESTA S, MACCHI M, CORTÉS F, MORELLI IS, COPPOTELLI BM. Monitoring the impact of bioaugmentation with a PAH-degrading strain on different soil microbiomes using pyrosequencing[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(8): fiw125.
- [43] LIU JJ, SUI YY, YU ZH, YAO Q, SHI Y, CHU HY, JIN J, LIU XB, WANG GH. Diversity and distribution patterns of acidobacterial communities in the black soil zone of Northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95: 212-222.
- [44] 高晓敏, 王据钢, 马立国, 云兴福. 尖孢镰刀菌致病机理和化感作用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(10): 2143-2148.
GAO XM, WANG JG, MA LG, YUN XF. Research advances on the mechanism of pathogenesis and allelopathy of *Fusarium oxysporium*[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(10): 2143-2148 (in Chinese).
- [45] SAJEENA A, NAIR DS, SREEPAVAN K. Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* as a biocontrol agent[J]. *Indian Phytopathology*, 2020, 73(2): 177-183.
- [46] HIRUMA K, GERLACH N, SACRISTÁN S, NAKANO RT, HACQUARD S, KRACHER B, NEUMANN U, RAMÍREZ D, BUCHER M, O'CONNELL RJ, SCHULZE-LEFERT P. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent[J]. *Cell*, 2016, 165(2): 464-474.