

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
51(6):811-818; 4 June 2011  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

# 香石竹设施栽培根际土壤微生物区系的 16S rRNA 系统遗传多样性

高旭红<sup>1</sup>, 何松涛<sup>2</sup>, 官会林<sup>1\*</sup>, 唐蜀昆<sup>2</sup>, 李文均<sup>2</sup>, 陈晓波<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 云南师范大学能源与环境科学学院, 昆明 650092

<sup>2</sup> 云南大学云南省微生物研究所, 昆明 650091

**摘要:**【目的】针对香石竹设施栽培土传病害的生物防治技术研究, 探讨其根际土壤微生物与枯萎病害的关联性。【方法】采集香石竹健康植株与枯萎病植株根际土壤, 采用不同培养基进行分离、纯化, 并对分离菌株提取基因组 DNA, 用其 16S rRNA 序列的通用引物进行 PCR 扩增, 进行 blast 同源分析。【结果】从采集样品中分离出的菌株分布于细菌域 (Bacteria) 中的 4 个门 (Phyla) 共 15 个属 (Genera), 其中从健康植株组土壤中培养出 65 株菌, 分布于 9 个属, 并以芽孢杆菌 (*Bacillus*)、链霉菌 (*Streptomyces*) 及孢霉菌 (*Mortierella*) 为优势菌群; 而枯萎病植株组土样共培养出 33 株菌, 分布于 12 个属, 并且寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*)、鞘氨醇杆菌 (*Sphingobacterium*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、金黄杆菌 (*Chryseobacterium*)、拟无枝菌酸菌 (*Amycolatopsis*) 及尖镰孢病原菌 (*Fusarium oxysporum*) 属的分离菌株仅从病株组土壤中分离到; 分离菌株同源性在 90% - 98% 的潜在新种 (potential novel species) 有 13 株。【结论】研究结果表明, 根际土壤中真菌数与总菌数的百分比或 *Bacillus* 类群多样性的丰度, 可作为评价区域香石竹种植土壤健康状况、栽培土壤演变及病害防治预测预报的参考指标。

**关键词:** 香石竹, 土壤微生物, 枯萎病害

**中图分类号:** Q938      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2011) 06-0811-08

香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L., 又名康乃馨 Carnation), 为世界四大切花之一, 在国际花卉市场中占有重要地位。香石竹土传病害在全世界所有香石竹生产区均有分布<sup>[1-2]</sup>, 在我国香石竹种植区也普遍发生, 危害较重, 其中香石竹枯萎病害是目前化学方法难以有效控制的主要土传病害<sup>[3-4]</sup>。随着设施种植年限的延长, 栽培土壤障碍因素日益突出, 香石竹枯萎病害的常年发病率, 重者达 70% - 80%, 严重制约着香石竹花卉产业的发展。

土传病害受土壤多种因素影响所致, 其中土壤微生物是影响土壤生态过程的一个重要因素<sup>[5-7]</sup>, 因而合理调控土壤微生物种群结构是解决目前在土壤病原微生物防治, 污染土壤的微生物恢复等难题的最有效和最具前景的手段之一<sup>[8]</sup>。近年来, 将土壤微生物群落结构组成作为土壤质量健康与否的敏感指标, 利用土壤微生物进行退化陆地生态系统的恢复等研究已备受关注<sup>[9-10]</sup>。目前国内外较多的研究侧重于对病原菌的分离鉴定、致病性测定及化

**基金项目:** 国家自然科学基金 (40861019); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2009ZX07102-004)

\* 通信作者。Tel: +86-871-5517125; Fax: +86-871-5517126; E-mail: ghl0871@yahoo.com.cn

**作者简介:** 高旭红 (1969-), 女, 新疆人, 博士, 副教授, 主要从事土壤微生物方向的科研和教学工作。E-mail: xhgao-ynu@tom.com

**收稿日期:** 2010-12-05; **修回日期:** 2011-03-21

学药剂或基因诱导抗菌体的研究防治等方面<sup>[11-14]</sup>,从植物根际土壤微生物群落组成及其差异来分析植物土传病害方面的研究鲜见报道。因此,本文针对香石竹设施栽培土传病害的生物防治技术,采用现代分子生物技术的研究方法,对比研究根际土壤微生物区系及多样性分布与枯萎病害的关联性,为土壤质量评价及枯萎病害土壤生物修复方面提供指导依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 土壤样品采集:**样品于2009年5月26日采集于江川种植基地的同一连体式设施大棚,采样区已连续种植香石竹7年,由于多年连作,土壤供肥性能及土传病害等障碍因素突出。江川种植基地均由公司统一经营管理,采样区种植品种均为 Marster,种植规格20 cm × 30 cm,灌溉水均引用地下水设施滴灌,土壤类型、施肥及病害防治等措施均相同,可视为非生物环境因素相同状态下的同地样本。按健康株组与枯萎病组(枯死)编号,分别采集植株根系附着土装入自封保鲜袋,样品编号为健康株组 YMJK41、YMJK42,枯萎病组 YMKW43、YMKW44,每组编号样本50-60株根系附着土混匀。

**1.1.2 主要试剂和仪器:**配制培养基试剂均为国产分析纯试剂。dNTPs、*Taq* 酶及扩增引物等购自上海生工生物工程技术有限公司。DNA Marker 购自宝生物工程(大连)有限公司。37℃ 恒温培养箱购自上海精宏试验设备有限公司。电泳仪购自 Bio-Rad 公司。PCR 仪购自德国 Biometra 公司。

### 1.2 分离培养基

采用的分离培养基为:高氏一号琼脂培养基;酵母-麦芽膏琼脂培养基(ISP 2);甘油-天门冬酰胺琼脂培养基(ISP 5);马铃薯浸汁培养基(PDA);pH 值为 7.2-7.5。

### 1.3 菌种分离

采用平板梯度稀释法,2.0 g 新鲜土样加入 20.0 mL 无菌水,室温,150 r/min 摇匀 30 min,使土样分散。取 1 mL 加入 9.0 mL 无菌水,连续稀释 2 次。取 0.20 μL 样品液均匀涂布在分离培养基上。28℃ 培养 30 d,同一土样的分离培养基根据菌落形态、大小、颜色去重复后,进行平板菌落计数、挑单菌落在

ISP 2 琼脂培养基上划线纯化,纯化后菌株用于后续实验。

### 1.4 分离菌株的基因组提取

**1.4.1 菌体总 DNA 的提取**参照徐平等<sup>[15]</sup>的方法进行。

**1.4.2 16S rRNA 基因扩增:**16S rRNA 基因扩增的正向引物:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA G -3';反向引物:5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 扩增条件:95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 1 min;55℃ 退火 1 min;72℃ 延伸 3 min(共 30 个循环);72℃ 后再延伸 10 min。

### 1.5 16S rRNA 基因测序及系统进化分析

16S rRNA 基因的 PCR 产物由北京三博远志生物技术有限责任公司完成测序,测序所得结果用 Blast 软件在 GenBank/EMBL/DDBJ 等数据库结合 the EzTaxon server 2.1 软件在其生效发表种数据库中进行相似性搜索。选取同源性比较高的典型菌株的 16S rRNA 基因序列作为参比对象,用 Clustal - X 软件进行多重序列比对,利用 MEGA 4.0 软件,采用邻接法(Neighbor Joining Method)进行聚类分析和系统进化树构建。

## 2 结果

### 2.1 香石竹根际土壤各类微生物区系差异

采用 PDA,ISP2,ISP 5 及高氏等培养基,分别对植株健康组和枯萎病组土壤中的微生物进行培养分离,经纯化、形态去重复后共分离到 109 株菌。不同培养基的出菌率差异不大,其中:ISP 2 培养基 30 株,ISP 5 培养基 25 株,PDA 培养基 28 株,高氏一号培养基 26 株。从表 1 看出:植株健康组 YMJK41 和 YMJK42 土壤中微生物总菌株数分别为 41 株、29 株,植株枯萎病组 YMJK43 和 YMJK44 土壤中的微生物总菌株数则分别为 32 株、7 株;从真菌、细菌与放线菌的分布比例来看,植株健康组土壤中真菌与总菌株比例均低于枯萎病株土壤,而放线菌占总菌株比例则相反,表现为植株健康组土壤高于枯萎病组土壤,而细菌占总菌株数比例总体差异不大。无论是健康植株还是枯萎病株土壤,其真菌种群均低于放线菌和细菌。因此,植株健康组与枯萎病组土壤中的三大类群微生物区系及其比例方面,均有不同程度的差异性。

表 1 香石竹植株健康组与枯萎病组根际土壤微生物群落差异

Table 1 The discrepancy of Microbial Populations in The Soil of Healthy and Blight Carnation Plants

Soil samples	Strains Number			Total Number	Percentage %		
	Fungi	Bacteria	Actinomyces		Fungi	Bacteria	Actinomyces
YMJK41	9	28	4	41	9.76	21.95	68.29
YMJK42	12	16	1	29	3.45	41.38	55.17
YMKW43	15	13	4	32	12.50	46.88	40.62
YMKW44	3	2	2	7	28.57	42.86	28.57

## 2.2 基于 16S rRNA 基因系统进化的细菌群落区系分析

对已分离得到的形态去重复的 109 株菌进行 16(18)S rRNA 基因测序, 剔除重复序列, 构建基于 16S rRNA 基因的系统进化树(图 1)。结果表明, 已分离的 98 株菌(不含真菌株)分布于细菌域中的 4 个门共 15 个属, 并且植株健康组与枯萎病组土壤中的细菌群落区系组成具有明显差异(表 2)。其中, 从植株健康组 YMJK41 和 YMJK42 土壤中分离的菌株主要分布于放线菌门 *Actinobacteria* 中的 *Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Agromyces*, *Microbacterium*, *Nocardioideis*, *Arthrobacter* 和壁厚菌门 *Firmicutes* 中的 *Bacillus*, *Paenibacillus*, 没有分离到变形杆菌门 *Proteobacteria* 和拟杆菌门 *Bacteroidetes* 的菌株; 而从枯萎病组 YMJK43 和 YMJK44 土壤中分离菌株主要分布于放线菌门

*Actinobacteria* 中的 *Streptomyces*, *Amycolatopsis*, *Microbacterium*, *Arthrobacter* 和壁厚菌门 *Firmicutes* 中的 *Paenibacillus*, 变形杆菌门 *Proteobacteria* 中的 *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* 和拟杆菌门 *Bacteroidetes* 中的 *Chryseobacterium*, *Sphingobacterium* 菌株。因此, 植株健康组与枯萎病组土壤中的细菌群落区系组成差异主要体现在: (1) 壁厚菌门 *Firmicutes* 中的 *Bacillus*, *Paenibacillus* 菌株是健康组土壤中的特有类群; (2) 变形杆菌门 *Proteobacteria* 中的 *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* 和拟杆菌门 *Bacteroidetes* 中的 *Chryseobacterium*, *Sphingobacterium* 菌株是枯萎病组土壤中的特有类群。(3) 链霉菌 *Streptomyces* 在健康组和枯萎病组土壤中的分布差异性不大, 但其多样性上反映出健康组土壤比枯萎病组土壤丰富。

表 2 香石竹健康组与枯萎病组根际土壤微生物菌株差异

Table 2 The Discrepancy of Microbial Strains in The Soil of Healthy and Blight Carnation Plants

Soil samples	Dereplicated strains by morphology			Dereplicated strains by 16(18)S rRNA gene similarity (strains/genera)		
	Bacteria	Actinomyces	Fungi	Bacteria	Actinomyces	Fungi
YMJK41	9	28	4	7/1	19/6	2/2
YMJK42	12	16	1	7/3	11/3	1/1
YMKW43	15	13	4	6/5	10/4	3/3
YMKW44	3	2	2	3/1	2/1	2/2

## 2.3 香石竹根际土壤原核生物区系属间差异

进一步统计分析发现: 植株健康组与枯萎病组土壤, 在根系原核微生物区系属间具有明显差异(表 3), 其中植株健康组土样培养出 65 株菌, 来源于 9 属; 而枯萎病株组土样共培养出 33 株菌(不含真菌), 来源于 12 属。在植株健康组土壤中以芽孢杆菌 (*Bacillus*)、链霉菌 (*Streptomyces*) 及孢霉菌 (*Mortierella*) 为优势菌群; 在枯萎病株组土壤中, 寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*) 鞘氨醇杆菌 (*Sphingobacterium*) 及尖镰孢菌 (*Fusarium*) 种类较

多, 植株健康组土壤与枯萎病组土壤中的放线菌门各类群的差异较大。

## 2.4 香石竹根际土壤微生物区系种间差异

通过提取连接扩增片段的载体测序后, 进行 blast 同源分析, 将同源性大于 98% 的菌株, 暂定为与其最相似的种, 而同源性小于 98% 而大于 90% 的菌株, 暂定为潜在新种。从表 4 看出: 在植株健康组土壤中发现与 *Bacillus edaphicus*, *Aeromonas sobria*, *Bacillus pumilus* 最相近的 3 株分离菌株, 其 16S rRNA 基因同源性低于 98%, 为潜在新种, 在枯萎病

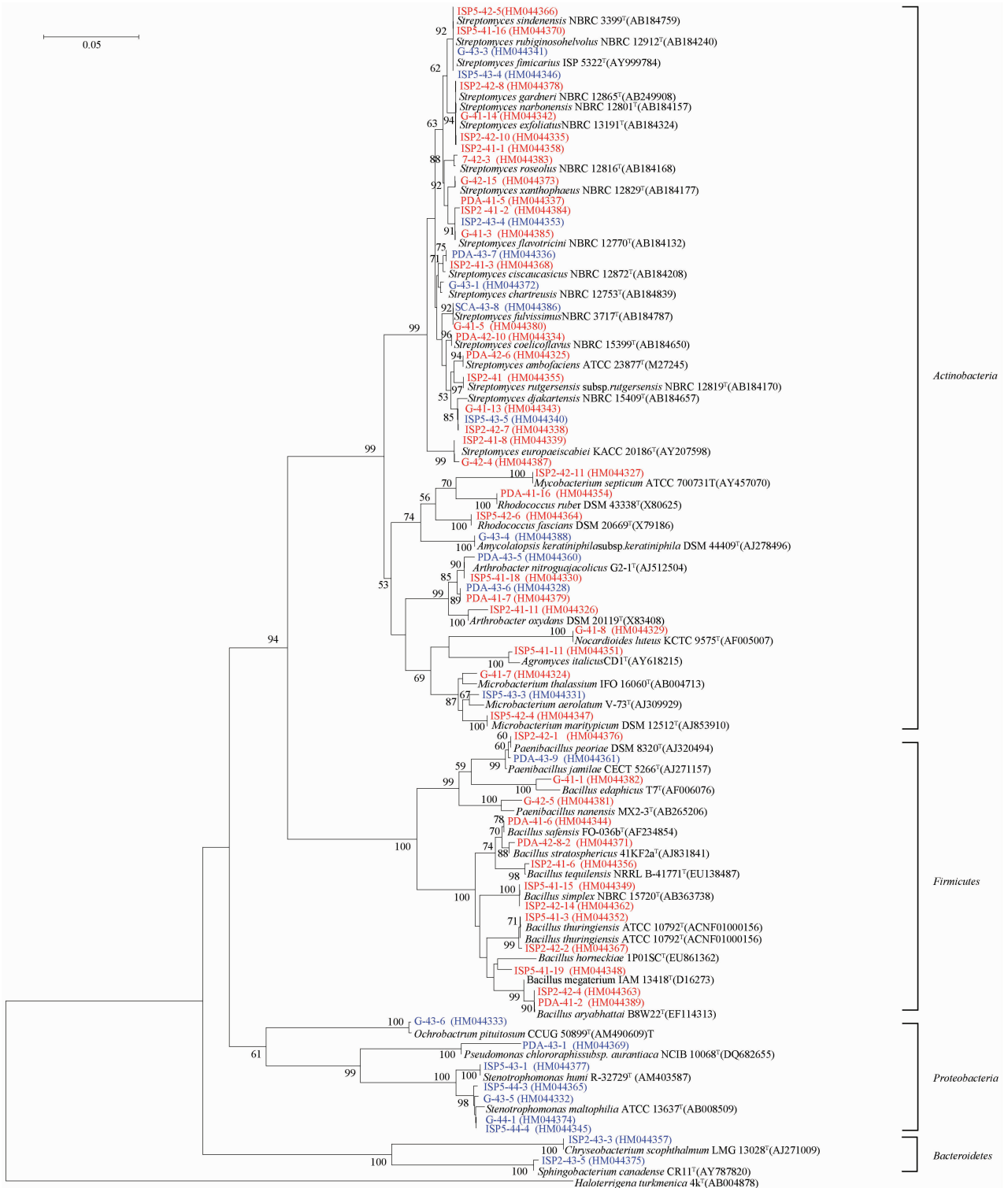


图1 香石竹健康植株与枯萎病植株根际土壤细菌群落基于16S rRNA基因序列的系统发育树

Fig. 1 Neighbour-joining tree constructed showing the phylogenetic relationships among actinobacterial 16S rRNA gene sequences (partial clone sequences, 640 bp) obtained from the soil samples from root area of healthy and fusarium wilt carnation plants in green-house and their closely related sequences downloaded from GenBank. All of bootstrap values over 50 are shown based on neighbour-joining analyses of 1000 resamples data sets. Bar, 0.05 sequence divergence. The sequence of *Haloterrigena turkmenica* 4Kt (AB004878) was used as outgroup. Note; red mark indicated strains from the rhizosphere of healthy plants; blue mark indicated strains from the rhizosphere of blight plants.

组土壤中发现与 *Sphingobacterium multivorum*、*Pseudomonas chlororaphis* 最相近的 2 株分离菌株,其 16S rRNA 基因同源性也低于 98%,为潜在新种(新种鉴定实验研究另文发表)。在健康植株土壤中芽孢杆菌和链霉菌为优势菌群,而寡养单胞菌、鞘氨醇杆菌、假单胞菌、金黄杆菌、拟无枝菌酸菌及尖镰孢病原菌属的分离菌株仅在病株组土壤中分离到;金黄节杆菌(*Arthrobacter aurescens*),高加索山链霉菌(*Streptomyces ciscaucasicus*),极暗黄链霉菌(*Streptomyces fulvissimus*),烯霉素链霉菌(*Streptomyces lienomycini*),小链霉菌(*Streptomyces parvus*)等,在健康株和枯萎病株土壤中的变化差异不明显;无论是健康植株还是枯萎病株土壤,其真菌的种群数均较少,健康植株土壤中的真菌主要是高山被孢霉(*Mortierella alpina*)和枝孢芽枝菌(*Cladosporium cladosporioides*),种群相对少而且菌种单一。病害植株土壤中的真菌种群和菌种都相对比较丰富,除了高山被孢霉(*Mortierella alpina*),主要是尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*),还发现了爪哇正青霉(*Eupenicillium javanicum*)和芳香顶孢霉(*Acremonium alternatum*)。

表 3 香石竹健康组与枯萎病组根际土壤细菌的属间差异

Table 3 The Discrepancy among Genus of Bacteria in The Soil of Healthy and Blight Carnation Plant

Genera	Healthy soil	Blight soil
<i>Aeromonas</i>	2	0
<i>Agromyces</i>	2	0
<i>Amycolatopsis</i>	0	1
<i>Arthrobacter</i>	2	2
<i>Bacillus</i>	15	1
<i>Chryseobacterium</i>	0	3
<i>Microbacterium</i>	3	1
<i>Nocardioides</i>	3	0
<i>Ochrobactrum</i>	0	1
<i>Paenibacillus</i>	4	1
<i>Pseudomonas</i>	0	2
<i>Rhodococcus</i>	2	0
<i>Sphingobacterium</i>	0	3
<i>Stenotrophomonas</i>	0	9
<i>Streptomyces</i>	32	9
Total	65 Strain /9 genera	33 Strain /12genera

本研究中,除了上述的微生物 16S rRNA 基因的同源性比较以外,我们还使用生态学多样性统计工具 R-2.10.1 中的 vegan packages1.17-1 的 PCA<sup>[16]</sup>,比较分析了原核微生物类群多样性分布差

异(图 2)。图中红色标记的 *Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardioides*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Agromyces*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Chryseobacterium*, *Sphingobacterium* 是健康植株和枯萎病株土壤中分离得到的菌株各个属,其中 41 与 42 是健康植株组土壤,43 与 44 是枯萎病植株组的土壤。从横坐标 PC1 分析结果显示,其信息贡献率为 57%,健康组与枯萎病组间土壤微生物多样性分布具有极显著的差异性( $p < 0.01$ ),差异率为 66.7%;从纵坐标 PC2 分析结果显示,其信息贡献率为 50%,健康植株组 41 与 42 土样之间微生物多样性分布差异不明显( $p > 0.05$ ),差异率为 36.6%,枯萎病组土样 43 与 44 之间的微生物多样性分布差异也不明显( $p > 0.05$ ),差异率也为 36.6%。因此,健康组和枯萎病组土样中分离得到的微生物类群多样性组成及其区系分布均有明显变化差异。

### 3 讨论

近几年,对农业耕作土壤微生物区系变化及其污染土壤微生物修复方面研究,国内外已有较多的研究报道<sup>[17-19]</sup>。但从土壤微生物多样性组成差异变化方面,来反映土壤质量健康状况方面的研究鲜见报道。因此,通过研究,本文得到以下推论或结论供商榷:香石竹栽培的土壤质量健康与否及土传枯萎病害的发生蔓延,与该区域土壤原核微生物种群变化具有密切的关联性。研究发现:香石竹植株健康组和枯萎病组土壤中的原核微生物群落组成、种群比例及其种群多样性分布等,均有不同程度的差异(表 1,表 2);植株健康组土壤比枯萎病组土壤中的原核微生物多样性(特别是放线菌类群)更为丰富(显著度  $p < 0.01$ ),特别是链霉菌(*Streptomyces*)和芽孢杆菌 *Bacillus* 两个类群上差异较大(表 3,表 4),植株健康组土壤中以芽孢杆菌(*Bacillus*)及链霉菌(*Streptomyces*)为优势菌群,而枯萎病株组土壤中以寡养单胞菌(*Stenotrophomonas*)、鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium*)及尖镰孢菌(*Fusarium*)种类较多;无论是健康组还是枯萎病组土壤,*Bacillus* 的多样性分布和放线菌门各个属的多样性分布呈正相关关系,它们之间存在相互促进生长的协作关系。较

表 4 香石竹健康组与枯萎病组根际土壤微生物区系种间差异

Table 4 The Discrepancy among Species of microbes in The Soil of Healthy and Blight Carnation Plant

Closest type strain			Healthy soil	Blight soil
Species	Chinese name	Similarity %		
<i>Aeromonas sobria</i>	温和气单胞菌	90.0	1	0
<i>Agromyces italicus</i>	意大利壤霉菌	99.0	1	0
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	东方拟无枝酸菌	99.0	0	1
<i>Arthrobacter oxydans</i>	氧化节杆菌	99.0	1	0
<i>Arthrobacter aurescens</i>	金黄节杆菌	99.0	1	1
<i>Arthrobacter boritolterans</i>	耐压节杆菌	99.0	0	1
<i>Bacillus cereus</i>	蜡状芽孢杆菌	99.0	4	0
<i>Bacillus edaphicus</i>	土壤芽孢杆菌	97.6	1	0
<i>Bacillus flexus</i>	弯曲芽孢杆菌	99.0	1	0
<i>Bacillus megaterium</i>	巨大芽孢杆菌	99.7	3	1
<i>Bacillus pumilus</i>	短小芽孢杆菌	100	2	0
<i>Bacillus simplex</i>	简单芽孢杆菌	100	3	0
<i>Bacillus subtilis</i>	枯草芽孢杆菌	100	1	0
<i>Chryseobacterium cophthalmum</i>	比目鱼金黄杆菌	98.6	0	3
<i>Microbacterium oxydans</i>	氧化微杆菌	99.0	1	0
<i>Microbacterium shrimpcida</i>	杀虾微杆菌	98.0	0	1
<i>Microbacterium thalassium</i>	海水微杆菌	98.0	1	0
<i>Nocardioides albus</i>	白色类诺卡氏菌	100	2	0
<i>Nocardioides fulvus</i>	暗黄类诺卡氏菌	100	1	0
<i>Ochrobactrum intermedium</i>	降烟碱苍白杆菌	99.0	0	1
<i>Paenibacillus nanensis</i>	南松类芽孢菌	97.0	1	0
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	多粘类芽孢杆菌	99.0	3	1
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	绿针假单胞菌	97.0	0	2
<i>Rhodococcus fascians</i>	香豌豆束茎病菌	99.0	1	0
<i>Rhodococcus ruber</i>	红树林细菌	100	1	0
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	多食鞘氨醇杆菌	99.0	0	4
<i>Stenotrophomonas humi</i>	人源寡养单胞菌	99.0	0	4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	嗜麦芽寡养单胞菌	100	0	5
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	生二素链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces bottropensis</i>	波卓链霉菌	100	2	0
<i>Streptomyces ciscaucasicus</i>	高加索山链霉菌	99.0	1	1
<i>Streptomyces coelicoflavus</i>	天蓝黄链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces exfoliatus</i>	脱叶链霉菌	100	3	0
<i>Streptomyces flavofuscus</i>	黄色链霉菌	100	0	1
<i>Streptomyces flavotricini</i>	黄三素链霉菌	100	2	1
<i>Streptomyces fulvissimus</i>	极暗黄链霉菌	99.0	1	1
<i>Streptomyces gardneri</i>	加得链霉菌	99.0	2	0
<i>Streptomyces gougerotii</i>	谷氏链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces lienomycini</i>	烯霉素链霉菌	100	3	2
<i>Streptomyces mediolani</i>	梅久兰链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces parvus</i>	小链霉菌	100	2	2
<i>Streptomyces polychromogenes</i>	多色生链霉菌	99.0	2	0
<i>Streptomyces scabrisporus</i>	稍粗糙孢链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces spororaveus</i>	碳孢链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces tendae</i>	唐德链霉菌	99.0	2	0
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	热羧链霉菌	100	1	0
<i>Streptomyces venezuelae</i>	委内瑞拉链霉菌	99.0	1	0
<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	绿色产色链霉菌	99.0	0	1
<i>Streptomyces xanthophaeus</i>	黄素链霉菌	100	2	0
<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	沙阿霉素链霉菌	99.0	2	0
<i>Mortierella alpina</i>	高山被孢霉	99.0	5	1
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	枝孢芽枝菌(病原菌)	99.0	1	0
<i>Acremonium alternatum</i>	芳香顶孢霉(病原菌)	100	0	1
<i>Eupenicillium javanicum</i>	爪哇正青霉	99.0	0	1
<i>Fusarium oxysporum</i>	尖镰孢菌(病原菌)	100	0	2

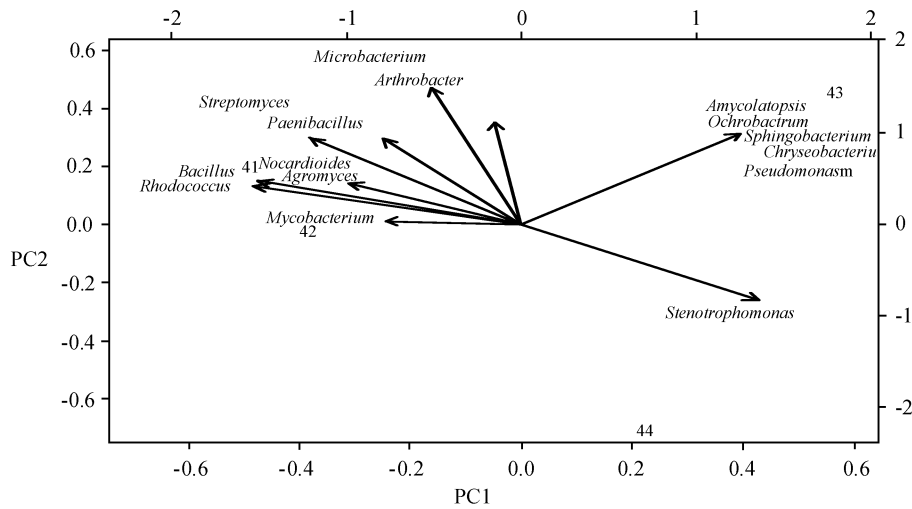


图 2 香石竹植株土壤样品中原核生物类群分布的 PCA 分析 (选择贡献率在 50% 以上的分离菌株各属进行 PCA 分析)

Fig. 2 The PCA analysis of distribution of prokaryotic microbe groups in carnation soil samples. The rates of strains selected for PCA analysis was more than for 50% in all the isolated microbe.

高的放线菌各个类群的多样性能够促进 *Bacillus* 类群的丰富度。当然 *Bacillus* 属类群与放线菌门各属之间如何互相促进生长, 以及 *Bacillus* 和放线菌门各个属如何协作抑制香石竹枯萎病原菌等问题则有待于进一步研究。

因此, 香石竹设施栽培根际土壤微生物区系变化, 影响着栽培土壤质量的安全性, 根际土壤中微生物群落组成比例, 特别是真菌数与总菌数的百分比或 *Bacillus* 类群多样性的丰度, 可作为评价区域香石竹种植土壤健康状况及病害防治预报的参考指标。

## 参考文献

- [ 1 ] Garibaldi A, Gullino ML. Fusarium wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. *Acta horticulturae*, 1987, (216): 45-54.
- [ 2 ] Tramie R, Pinnate JC, Metay C. Epide miology of fusarium wilt during propagation of carnation. *Acta horticulturae*, 1983, (141): 71-77.
- [ 3 ] 王国良, 任善于, 应兴德. 香石竹萎蔫病原的初步研究. *植物病理学报 (Acta Phytopathologic Sinica INICA)*, 1998, 28(1): 61-65.
- [ 4 ] 李淑芬, 吴志红. 花卉土壤传染病防治. *云南农业 (Yunnan Agriculture)*, 2002, 10: 14-15.
- [ 5 ] Balsler T, Kinzig A, Firestone M. The functional consequences of biodiversity. In: Kinzig A, Pacala S and Tilman D eds. *The Functional Consequences of Biodiversity*. Princeton: Princeton University Press, 2002, 265-290.
- [ 6 ] Cavigelli M A, Robertson GP. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem. *Ecology (Washington D C)*, 2000, 81: 1402-1414.
- [ 7 ] Noah F, Joshua PS, Patricia AH. Variations in microbial community composition through twosoil depth profiles. *Soil Biol. Biochem*, 2003, 35(1): 167-176.
- [ 8 ] 胡亚林, 汪思龙, 颜绍旭. 影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展. *土壤通报 (Chinese Journal of Soil Science)*, 2006, 37(1): 170-175.
- [ 9 ] Van Bruggen AHC, Semenov AM. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15: 13-24.
- [ 10 ] 张炳欣, 张平, 陈晓斌. 影响引入微生物根部定殖的因素. *应用生态学报 (Chinese Journal of Applied Ecology)*, 2000, 11(6): 951-953.
- [ 11 ] 李艳琼, 杨根华, 孔宝华, 陈海如, 杨洋川. 云南香石竹立枯病原的鉴定及致病性研究. *植物病理学报 (Acta Phytopathologic Sinica)*, 2008, 38(2): 199-202.
- [ 12 ] 王继华, 熊丽, 瞿素萍. 香石竹不同品种对镰刀菌枯萎病的抗性评价. *植物保护 (Plant Protection)*, 2005, 31(1): 34-37.
- [ 13 ] 王辉, 孔宝华, 李凡, 范静华, 陈海如, 杨洋川. 香石竹枯萎病菌的生物学特性研究. *植物保护 (Plant Protection)*, 2007, 33(1): 68-71.
- [ 14 ] 余义勋, 刘娟旭, 包满珠. 香石竹植株再生及基因工程研究进展. *植物学通报 (Chinese Bulletin of Botany)*, 2006, 23(1): 23-28.

- [15] 徐平, 李文均, 徐丽华, 姜成林. 微波法快速提取放线菌基因组 DNA. *微生物学通报 (Microbiology)*, 2003, 30(4): 82-84.
- [16] Jari Oksanen, F. Guillaume Blanchet. Community Ecology Package, Package 'vegan', Version 1.17-1. 2010, 2: 75-76.
- [17] 官会林, 杨建忠, 陈煜君, 崔秀明, 王勇, 张云峰. 三七设施栽培根际微生物菌群变化及其与三七根腐病的相关性研究. *土壤 (Soils)*, 2010, 42(3): 378-384.
- [18] 江欢欢, 程凯, 杨兴明, 徐阳春, 沈其荣, 沈标. 辣椒青枯病拮抗菌的筛选及其生物防治效应. *土壤学报 (Acta Pedologica Sinica)*, 2010, 47(6): 1225-1230.
- [19] Mirik M, Aysan Y, Cnar Q. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2008, 32(5): 381-390.

## Distribution of microbes and their hereditary diversity in the rhizosphere of carnation in greenhouse

Xuhong Gao<sup>1</sup>, Songtao He<sup>2</sup>, Huilin Guan<sup>1\*</sup>, Shukun Tang<sup>2</sup>, Wenjun Li<sup>2</sup>, Xiaobo Chen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Energy and Environment Science college, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China

<sup>2</sup> Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

**Abstract:** [ **Objective** ] To investigate the relationship between microbial community and the blight diseases in rhizosphere of carnation for biological control. [ **Methods** ] Bacterial strains isolated from the rhizosphere of healthy and blight carnation plants in greenhouse were replicated by morphology and 16S rRNA gene similarity, and investigated by using phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequence alignments. [ **Results** ] Isolates belonged to 4 phyla of bacteria, 65 isolates from the samples of healthy carnation plants belonged to 9 genera and *Bacillus*, *Streptomyces*, *Mortierella* were the dominant bacteria. However, 33 isolates from the samples of blight carnation plants belonged to 12 genera and *Stenotrophomonas*, *Sphingobacterium*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Amycolatopsis* and *Fusarium* were only isolated from the sample of blight carnation plants. At least 13 isolates should represent potential novel species based on lower similarities of 16 S rRNA gene (90% - 98%). [ **Conclusion** ] The result showed that either the percentage of the fungus in the total strains or the abundance of *Bacillus* groups in the total strains can be the referential targets to evaluate whether the carnation soil would be healthy for the carnational growth or lead to fusarium wilt diseases, accurately forecasting potential risks of the disease.

**Keywords:** carnation, soil microbes, blight diseases

(本文责编: 张晓丽)