

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2023.06.001

苯醚甲环唑对感靶斑病烟叶叶际微生物群落多样性的影响

吴小军^{1,2}, 汪汉成², 林木森³, 彭丽娟¹,
蔡刘体², 陈兴江², 林丽^{1,2}, 郭涛^{2,4}

1. 贵州大学烟草学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省烟草科学研究院, 贵阳 550081;
3. 贵州烟草公司道真县公司, 贵州 道真 563500; 4. 长江大学 生命科学学院, 湖北 荆州 434025

摘要: 为了解感靶斑病烟叶叶际微生物群落在苯醚甲环唑处理后的变化规律, 本文采用高通量测序技术对苯醚甲环唑处理后不同时期感靶斑病烟叶与健康烟叶叶际微生物的群落结构和多样性进行分析。结果表明, 相较于处理前, 感病与健康烟叶叶际优势真菌属和细菌属的种类均增加, 优势真菌属均分布于担子菌门和子囊菌门, 优势细菌属均分布于变形菌门。在苯醚甲环唑(90 g/hm²)处理后1~18 d, 感病与健康烟叶叶际优势真菌属和细菌属相对丰度在不同时间点存在差异, 但整体变化趋势一致。在真菌方面, 亡隔菌属(*Thanatephorus*)相对丰度呈降低—增加—降低趋势; *Plectosphaerella*、*Sampaiozyma*、*Symmetrospora*、*Pleurotus* 和链隔孢属(*Alternaria*)相对丰度呈增加—降低趋势; 尾孢属(*Cercospora*)相对丰度呈降低趋势。在细菌方面, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和短小杆菌属(*Curtobacterium*)相对丰度呈增加—降低—增加—降低趋势; 甲基杆菌属(*Methylobacterium*)和泛菌属(*Pantoea*)相对丰度均呈增加—降低趋势。感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落的多样性和丰富度同步变化, 均整体呈增加—降低趋势, 感病与健康烟叶叶际真菌群落多样性和丰富度的差异逐渐缩小。综上, 苯醚甲环唑处理后感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落结构和多样性整体变化趋势相似, 且随时间延长感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落差异缩小。

关键词: 苯醚甲环唑; 烟草靶斑病; 叶际;

微生物群落; 多样性; 高通量测序

中图分类号: S154.3; S572

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2023)06-0001-12

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: 中国烟草总公司科技项目[110202101048(LS-08), 110202001035(LS-04)]; 国家自然科学基金(32160522, 31960550); 贵州省“百层次”创新型人才项目(黔科合平台人才-GCC[2022]028-1); 贵州省科技基金项目(黔科合基础-ZK[2021]重点036)。

作者简介: 吴小军, 硕士研究生, 主要从事植物保护研究。

通信作者: 汪汉成, 博士, 研究员; 共同通信作者: 林木森, 硕士, 农艺师。

Effect of Difenoconazole on the Diversity of Phyllosphere Microbial Communities of Leaf Infected with Tobacco Target Spot

WU Xiaojun^{1,2}, WANG Hancheng², LIN Musen³,
PENG Lijuan¹, CAI Liuti², CHEN Xingjiang²,
LIN Li^{1,2}, GUO Tao^{2,4}

1. College of Tobacco, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Guizhou Academy of Tobacco Science, Guiyang 550081, China

3. Daozhen Municipal Company of Guizhou Tobacco Company, Daozhen Guizhou 563500, China;

4. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou Hubei 434025, China

Abstract: In order to investigate the changing patterns of the phyllosphere microbial community of tobacco infected with tobacco target spot after difenoconazole treatment, this paper analyzed the community structure and diversity of phyllosphere microbial communities in diseased and healthy tobacco leaves at different periods after difenoconazole treatment by using high-throughput sequencing technology. The results showed that the number of dominant genera of fungi and bacterium increased in the diseased and healthy tobacco leaves compared to those before treatment. The dominant genera of fungi were distributed in Basidiomycota and Ascomycota, and the dominant genera of bacterium were distributed in Proteobacteria. The relative abundance of dominant genera of fungi and bacterium in the diseased and healthy tobacco leaves differed at different time points from 1 to 18 days after difenoconazole (90 g/hm²) treatment, but the overall trend was consistent. In the fungal community, the relative abundance was in a decreasing-increasing-decreasing trend for *Thanatephorus*, an increasing-decreasing trend for *Plectosphaerella*, *Sampaiozyma*, *Symmetrospora*, *Pleurotus* and *Alternaria*, and a decreasing trend for *Cercospora*. In the bacterial community, the relative abundance was in an increasing-decreasing-increasing-decreasing trend for *Pseudomonas*, *Sphingomonas* and *Curtobacterium*, and an increasing-decreasing trend for *Pantoea* and *Methylobacterium*. The diversity and richness of the phyllosphere fungal and bacterial communities of diseased and healthy tobacco leaves changed synchronously, with an overall increasing-decreasing trend, and the differences in the diversity and richness of the phyllosphere fungal communities of diseased and healthy tobacco gradually decreased. In summary, the overall changes in the structure and diversity of the phyllosphere fungal and bacterial communities in diseased and healthy tobacco were similar after difenoconazole treatment, and the differences in the phyllosphere fungal and bacterial communities between diseased and healthy tobacco decreased with the extension of time.

Key words: difenoconazole; tobacco target spot; phyllosphere; microbial community; diversity; high-throughput sequencing

烟草在贵州省是一种重要经济作物。近年来,由瓜亡氏革菌(*Thanatephorus cucumeris*)引起的烟草靶斑病(tobacco target spot)已成为贵州省大部分烟叶产区主要真菌性叶部病害^[1-2]。该病害具有侵染性强、传播快和为害重等特点,一旦大规模暴发,可造成经济损失达80%以上^[3]。当前,在烟叶生产上针对烟草靶斑病的防治主要是在未发病前或发病初期喷施保护性药剂^[4]。苯醚甲环唑(Difenoconazole)是一种广谱、高效和低毒的内吸性杀菌剂,其作用机理为抑制病原

菌细胞麦角甾醇的生物合成,破坏其细胞膜结构与功能,对担子菌门和子囊菌门中的多种病原菌均有较强的杀菌效果,具备保护和治疗的双重作用^[5-6]。目前,有关苯醚甲环唑防治烟草靶斑病的研究已有报道。尹秀娟等^[7]采用菌丝生长速率法测定了苯醚甲环唑对烟草靶斑病菌的 EC_{50} 值为 20.169 mg/L。孙美丽等^[8]通过开展田间试验发现苯醚甲环唑对烟草靶斑病具有较好防效,可作为防控优选药剂。然而,当前关于应用苯醚甲环唑防控烟草靶斑病研究多是基于病情指数进行宏观分析,而苯醚甲环唑施用后一定时期内烟草叶际微生物群落结构变化规律尚不清楚。

近年来,随着高通量测序技术的发展,烟草叶斑类病害发生与叶际微生物间的关系引起了关注。孙美丽等^[9]的研究发现烟叶感染烟草靶斑病后其叶际真菌群落丰富度和多样性均降低,叶际优势真菌为亡革菌属(*Thanatephorus*)。Dai 等^[10]的研究发现感赤星病烟叶叶际优势真菌为链格孢属(*Alternaria*),且烟叶叶际真菌群落在一定时期内呈复杂动态变化。在病害防治过程中,化学药剂的施用同样也是通过抑制病原菌改善叶结菌群结构从而达到防控目的。Chen 等^[11]的研究表明在喷施菌核净后烟叶叶际鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)和寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)相对丰度降低。Sun 等^[12]的研究发现在施用噁菌酯后感靶斑病烟叶叶际真菌和细菌多样性和丰富度均增加。为了解感靶斑病烟叶叶际微生物群落在苯醚甲环唑处理后的时序变化规律,本文采用高通量测序技术测定苯醚甲环唑施用后不同时期感靶斑病与健康烟叶叶际微生物的群落结构和多样性,从微观层面了解感靶斑病烟叶与健康烟叶叶际微生物群落对苯醚甲环唑处理的响应规律,以为烟草靶斑病的精准化学防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试烟草品种为“云烟 87”。供试药剂为 10% 苯醚甲环唑 WG,购自浙江一帆生物公司。DNA 提取试剂盒(Fast DNA[®] Spin Kit for Soil),由 MP Biomedicals 生物医学公司生产;QIAquick 胶回收试剂盒(货号:28704)由 Qiagen 公司(德国)生产;Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒(货号:4471252)由 Thermo Fisher Scientific 公司(美国)生产。

1.2 试验设计

试验在贵州省毕节市金沙县烟区进行,选取感染烟草靶斑病严重的烟田划分 3 个小区,每个小区内 80 株烟,小区间设保护行。使用背负式喷雾器对小区内烟株正、反叶面进行均匀喷施,以见药液均匀分布至烟叶正反面为准,10% 苯醚甲环唑制剂的用量为 90 g/hm²,用水量为 900 L/hm²。于施药前 0 d 及施药后 1 d,3 d,9 d,18 d 在各小区内随机选取健康和零星病斑烟叶,用经消毒的剪刀剪取健康和单个病斑烟叶组织样品(10 g),分别装入 50 mL 无菌离心管中。分别设置感病(QBSL)与健康(QJSL)2 组处理,每处理 3 个重复(表 1),样品采集后放入低温保存箱,并迅速带回实验室-80 ℃ 保存备用。因后期大部分发病烟叶被抢烤,可供采集样品的叶片数量有限,药后 9 d,18 d 的感病样品只有一个重复。

表 1 样品采集信息

取样时间	感病烟叶		健康烟叶	
	样品组	样品编号	样品组	样品编号
处理前 0 d	QBSL1	QBSL11, QBSL12, QBSL13	QJSL1	QJSL11, QJSL12, QJSL13
处理后 1 d	QBSL2	QBSL21, QBSL22, QBSL23	QJSL2	QJSL21, QJSL22, QJSL23
处理后 3 d	QBSL3	QBSL31, QBSL32, QBSL33	QJSL3	QJSL31, QJSL32, QJSL33
处理后 9 d	QBSL4	QBSL4	QJSL4	QJSL41, QJSL42, QJSL43
处理后 18 d	QBSL5	QBSL5	QJSL5	QJSL51, QJSL52, QJSL53

1.3 DNA 提取、扩增及测序分析

参照 DNA 提取试剂盒(Fast DNA[®] Spin Kit for Soil)说明对样品中微生物基因组 DNA 进行提取, 分别用 2% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 定性和定量检测提取的 DNA 纯度和浓度, 使用无菌水稀释样本至 1 ng/ μ L. 以此为模板, 使用引物 ITS1-1F-R (5'-GCTGCGTTCT-TCATCGATGC-3') 和 ITS1-5F-F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') 对样品真菌 ITS1 区域进行扩增, 使用细菌引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 和 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 对样品细菌 V4 区域进行扩增. 样品真、细菌 PCR 扩增体系及反应程序参照 Sun 等^[12] 的方法进行, 用 QIAquick 胶回收试剂盒回收扩增产物. 使用 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒构建文库, 采用 IlluminaMiSeq 测序平台对 PCR 扩增产物进行双端测序分析, 此过程由北京诺和致源科技股份有限公司完成.

1.4 数据处理及统计分析

测序数据经质控过滤, 得到所有样本全部 Effective Tags, 利用 Uparse 算法 (Uparse v7.0.1001, <http://www.drive5.com/uparse/>) 以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs (Operational Taxonomic Units)^[12], 使用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 分别将样品中真、细菌与 Unit (v7.2) 和 SSUrRNA 数据库比对注释, 统计各样本在门、属水平群落组成, 计算真菌与细菌 Alpha 多样性指数, 进行 Alpha 和 Beta 多样性分析. 使用 Excel 2019 和 DPS 7.5 对数据进行统计和显著性差异分析, 利用 R 软件绘制样品真菌与细菌的 OTU 分布 Venn 图、花瓣图、物种积累箱型图、Alpha 多样性差异箱型图、Beta 多样性差异 NMDS 图.

2 结果与分析

2.1 OTU 聚类分析

Venn 图分析结果表明, 在苯醚甲环唑处理前后 0~18 d, 健康烟叶叶际真菌和细菌群落共有的 OTU 种类均高于感病烟叶, 感病与健康烟叶叶际真菌群落共有的 OTU 数分别为 5 种和 12 种 (图 1-A, B), 叶际细菌群落共有的 OTU 数分别为 17 种和 20 种 (图 1-D, E). 感病与健康烟叶叶际共有的核心真菌属为亡隔菌属和 *Sampaiozyma*; 共有的核心细菌属为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌属和甲基杆菌属 (*Methylobacterium*) 等. 健康烟叶叶际特有的真菌属为枝孢霉属 (*Cladosporium*)、链格孢属和茎点霉属 (*Phoma*) 等; 特有的细菌属为泛菌属 (*Pantoea*) 和短小杆菌属 (*Curtobacterium*). 药剂处理 0 d (处理前), 1 d, 3 d, 9 d 和 18 d, 健康烟叶叶际真菌群落特有 OTU 数目分别为 7 种, 15 种, 9 种, 5 种和 4 种, 细菌群落特有 OTU

数目分别为 12 种, 63 种, 84 种, 9 种和 19 种; 感病烟叶叶际真菌群落特有 OTU 数目分别为 0 种, 4 种, 3 种, 0 种和 12 种, 细菌群落特有 OTU 数目分别 28 种, 33 种, 110 种, 0 种和 282 种(图 1-C、F). 苯醚甲环唑处理后随时间延长, 感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落特有的 OTU 数目均呈现先增加后降低趋势.

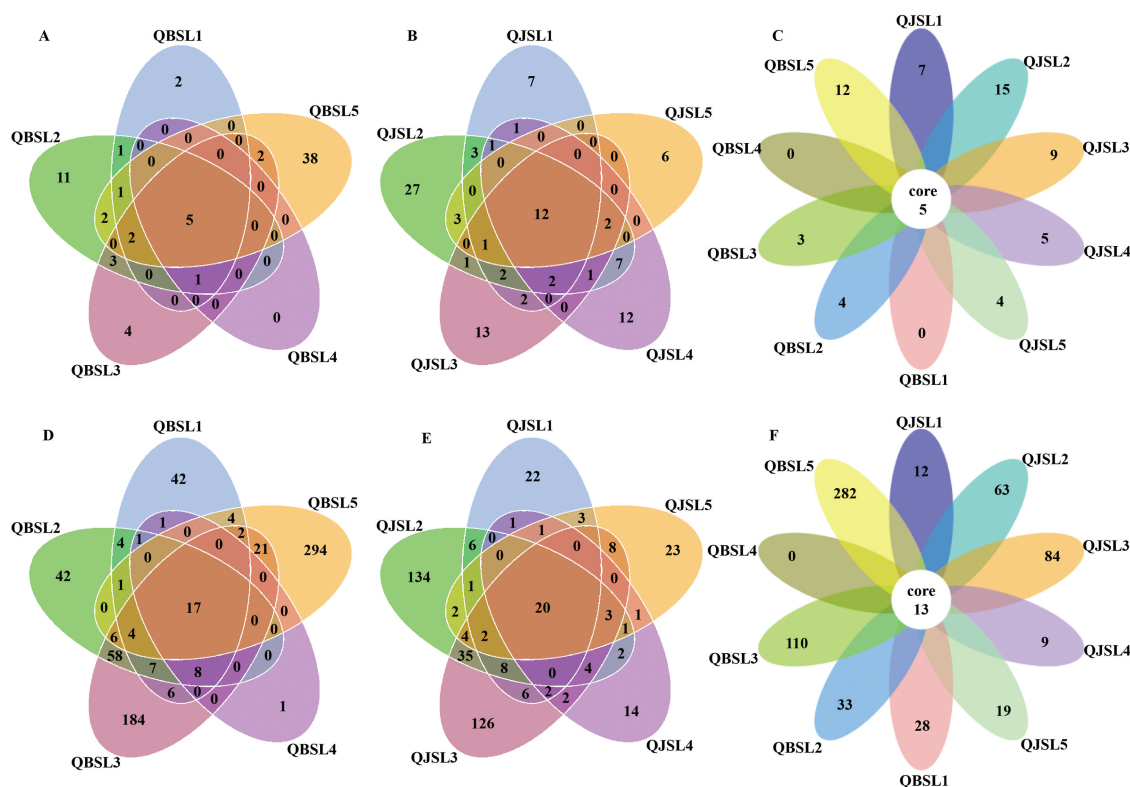


图 1 烟叶叶际真菌(A, B, C)和细菌(D, E, F)OTU 分布变化 Venn 图和花瓣图

2.2 苯醚甲环唑处理后不同时期烟叶叶际真菌和细菌群落结构变化

2.2.1 门水平群落结构变化

烟叶叶际真菌和细菌门水平群落结构如表 2 所示, 在苯醚甲环唑处理前 0 d, 感病与健康烟叶叶际优势真菌和细菌种类一致, 其差异主要体现在相对丰度上. 感病与健康烟叶叶际优势真菌均为担子菌门(Basidiomycota, 88.81%和 57.09%)和子囊菌门(Ascomycota, 1.00%和 12.31%); 优势细菌均为变形菌门(Proteobacteria, 26.77%和 7.92%)和厚壁菌门(Firmicutes, 1.82%和 0.75%). 在处理 1~18 d, 感病与健康烟叶叶际优势真菌种类不变, 但相对丰度发生变化, 感病与健康烟叶叶际优势真菌仍为担子菌门(48.23%和 20.12%)和子囊菌门(11.04%和 6.37%); 感病与健康烟叶叶际优势细菌种类与相对丰度均发生变化, 感病烟叶叶际优势细菌为变形菌门(10.53%)、放线菌门(Actinobacteria, 2.26%)和厚壁菌门(1.28%), 健康烟叶叶际优势细菌为变形菌门(70.12%)和厚壁菌门(1.21%), 其中, 感病烟叶叶际变形菌门相对丰度显著低于健康烟叶.

表2 烟叶叶际优势真菌和细菌门水平相对丰度

%

物种门		处理前 0 d		处理后 1~18 d	
		QBSL	QJSL	QBSL	QJSL
真菌	担子菌门	88.81±14.86a	57.09±39.97a	48.23±33.43a	20.12±7.39a
	子囊菌门	1.00±1.08a	12.31±18.47a	11.04±16.41a	6.37±3.18a
细菌	变形菌门	26.77±18.64a	7.92±1.17a	10.53±5.34b	70.12±10.49a
	厚壁菌门	1.82±1.70a	0.75±0.93a	1.28±0.95a	1.21±1.17a
	放线菌门	0.50±0.80a	0.08±0.04a	2.26±1.87a	0.40±0.35a

注:同列数据后小写字母不同表示差异有统计学意义($p<0.05$).

2.2.2 属水平群落结构变化

烟叶叶际真菌和细菌属水平群落结构如表3所示,在属水平,在处理前0 d,感病与健康烟叶叶际优势真菌和细菌的种类与相对丰度均存在差异.感病烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属(88.18%),优势细菌为假单胞菌属(14.95%)、甲基杆菌属(4.44%)和鞘氨醇单胞菌属(1.94%).健康烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属(54.85%)和尾孢属(*Cercospora*, 6.34%),优势细菌为甲基杆菌属(4.55%)和鞘氨醇单胞菌属(1.14%).在处理后0~18 d,感病与健康烟叶叶际优势真菌和细菌的种类均增加.感病烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属(40.95%)、小不整球壳属(*Plectosphaerella*, 1.77%)、*Sampaiozyma* (1.40%)、侧耳属(*Pleurotus*, 1.15%)、*Symmetrospora* (2.95%)和链隔孢属(1.43%);优势细菌为假单胞菌属(26.15%)、甲基杆菌属(21.55%)、泛菌属(3.23%),鞘氨醇单胞菌属(3.05%)和短小杆菌属(1.13%).健康烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属(13.68%)、侧耳属(*Pleurotus*, 2.27%)、*Symmetrospora* (1.90%)、*Sampaiozyma* (1.37%)和链隔孢属(1.28%);优势细菌为假单胞菌属(2.59%)和甲基杆菌属(3.41%),其中,感病烟叶叶际泛菌属相对丰度显著高于健康烟叶.

此外,为了进一步研究烟叶叶际真菌和细菌属水平物种的系统进化关系,本文通过多序列比对得到 top100 属的代表序列构建的系统发育树.如图2所示,药剂处理前后烟叶叶际存在的优势真菌主要分布于担子菌门和子囊菌门,优势细菌主要分布于变形菌门.在真菌群落中,属于担子菌门的优势真菌分别为亡隔菌属、*Sampaiozyma*、*Pleurotus* 和 *Symmetrospora*, 其中亡隔菌属为各样品中绝对优势菌属;属于子囊菌门的优势真菌分别为链隔孢属、*Plectosphaerella* 和尾孢属.在细菌群落中,所有优势细菌均属于变形菌门.

表3 烟叶叶际优势真菌和细菌属水平相对丰度

%

物种属		处理前 0 d		处理后 1~18 d	
		QBSL	QJSL	QBSL	QJSL
真菌	亡隔菌属	88.18±15.62a	54.85±41.94a	40.95±39.42a	13.68±8.01a
	尾孢属	0.00±0.00a	6.34±10.67a	0.00±0.00a	0.37±0.59a
	小不整球壳属	0.62±0.78a	0.87±1.51a	1.77±2.31a	0.56±0.52a
	侧耳属	0.00±0.00a	0.00±0.00a	1.15±2.22a	2.27±0.16a
	<i>Symmetrospora</i>	0.25±0.43a	0.25±0.22a	2.95±4.32a	1.90±0.78a
	<i>Sampaiozyma</i>	0.25±0.43a	0.75±0.37a	1.40±1.67a	1.37±1.00a
	链隔孢属	0.00±0.00a	0.50±0.86a	1.43±2.54a	1.28±0.27a
	细菌	假单胞菌属	14.95±14.51a	0.51±0.35a	26.15±28.45a
甲基杆菌属		4.94±6.84a	4.55±1.12a	21.55±16.47a	3.41±1.45a
泛菌属		0.21±0.28a	0.02±0.04a	3.23±1.28a	0.54±0.31b
鞘氨醇单胞菌属		1.94±2.12a	1.14±0.43a	3.05±5.52a	0.28±0.29a
短小杆菌属		0.36±0.60a	0.01±0.02a	1.13±1.61a	0.11±0.12a

注:同列数据后小写字母不同表示差异有统计学意义($p<0.05$).

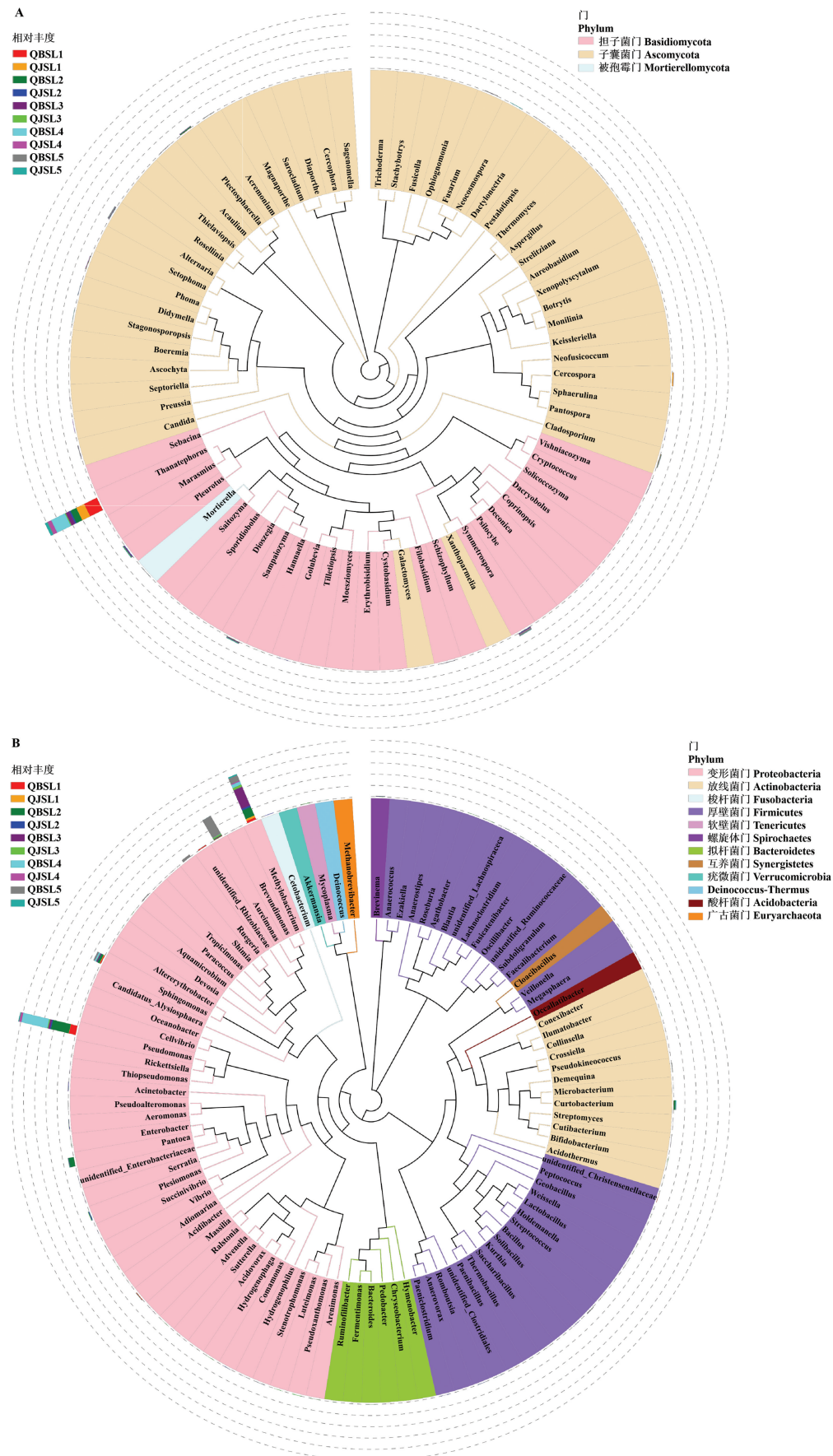


图 2 烟叶叶际真菌(A)和细菌(B)系统发育树图(属水平)

2.2.3 烟叶叶际优势真菌和细菌相对丰度变化

在属水平上,在药剂处理后1~18 d内,感病与健康烟叶叶际优势真菌和细菌相对丰度随处理时间的延长呈不规则变化,达到最大值的时间点存在差异,但整体变化趋势相似(图3).在真菌群落中,感病与健康烟叶叶际存在的优势真菌属按照变化规律可分为3类,其中,亡隔菌属为一类,相对丰度呈降低—增加—降低趋势;*Plectosphaerella*、*Sampaiozyma*、*Symmetrospora*、*Pleurotus*和链隔孢属为一类,相对丰度呈增加—降低趋势;尾孢属为一类,相对丰度呈降低趋势.在细菌群落中,感病与健康烟叶叶际存在的优势细菌属按照变化规律可分为2类,其中,假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属和短小杆菌属为一类,相对丰度呈增加—降低—增加—降低趋势;甲基杆菌属和泛菌属为一类,相对丰度均呈增加—降低趋势.

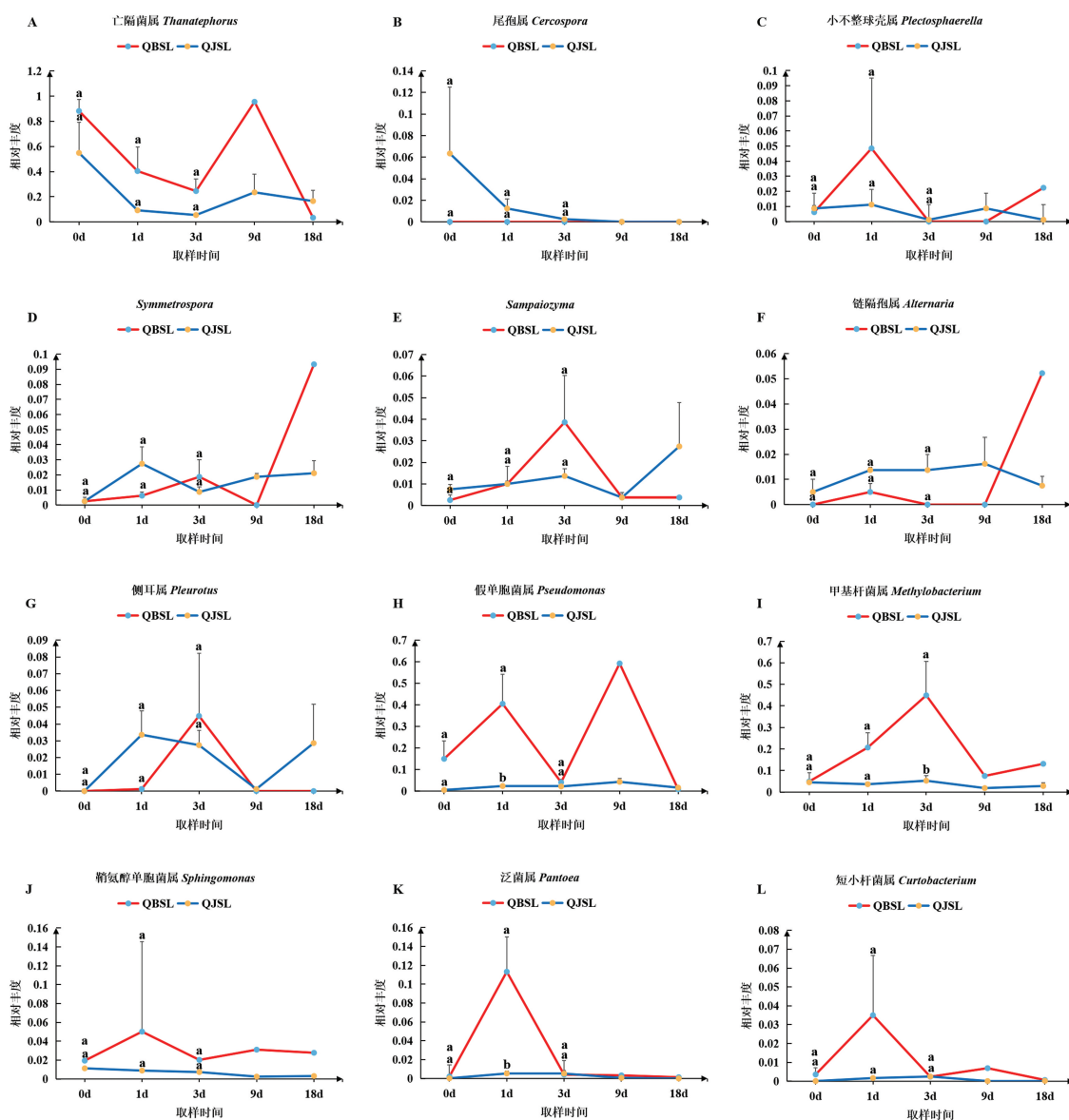
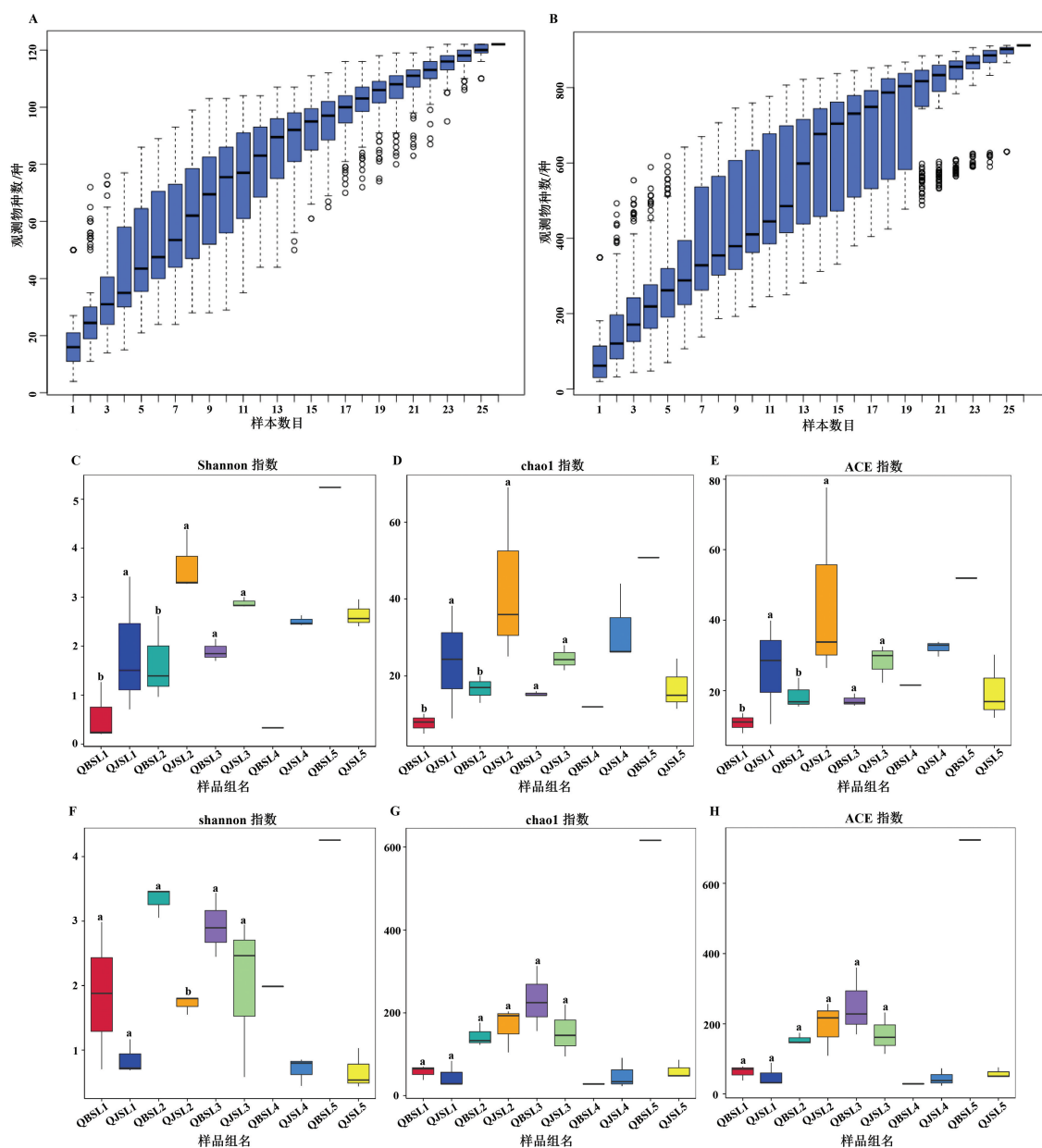


图3 烟叶叶际优势真菌(A-G)和细菌(H-L)属在不同时期相对丰度变化折线图

2.3 苯醚甲环唑处理后不同时期烟叶叶际真菌和细菌群落多样性变化

2.3.1 烟叶叶际真菌和细菌群落 Alpha 多样性变化

由图 4 可知,本次测序分析中,在样本量达到 25 时,观测到的真菌和细菌 OTU 数目分别达 120 种和 800 种,此时,箱形图位置趋于平缓,表明抽样充分,可有效预测物种丰富度.在处理前 0 d,感病烟叶叶际真菌群落多样性和丰富度均显著低于健康部位,细菌则相反,感病烟叶叶际细菌群落多样性和丰富度高于健康烟叶,但差异不显著.在处理后 1~18 d,感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落的多样性和丰富度均整体呈增加—降低趋势.在同一取样时期,感病烟叶叶际真菌群落的多样性和丰富度均低于健康烟叶,感病烟叶叶际细菌多样性均高于健康烟叶,其中,在处理后 1 d,感病烟叶叶际真菌群落的多样性和丰富度指数均显著低于健康烟叶,叶际细菌群落的丰富度指数低于健康烟叶,但差异不显著.



不同样品标示的小写字母不同表示差异有统计学意义($p < 0.05$).

图 4 烟叶叶际真菌(A, C, D, E)和细菌(B, F, G, H)群落物种积累和 Alpha 多样性箱型图

2.3.2 不同时期烟叶叶际真菌和细菌群落 β 多样性变化

苯醚甲环唑处理前后0~18 d内,在真菌群落中,除QBSL3外,感病与健康烟叶叶际真菌群落整体相互重叠.在细菌群落中,感病与健康烟叶叶际细菌群落不同取样时期无重叠,在同一取样时期烟叶感病与健康烟叶叶际细菌群落相互重叠.表明在苯醚甲环唑处理前后0~18 d内,感病与健康烟叶叶际真菌群落间整体无明显差异,感病与健康烟叶叶际真菌群落随时间延长无明显变化;感病与健康烟叶叶际细菌群落间无明显差异,但感病与健康烟叶叶际细菌群落随时间延长同步变化(图5).

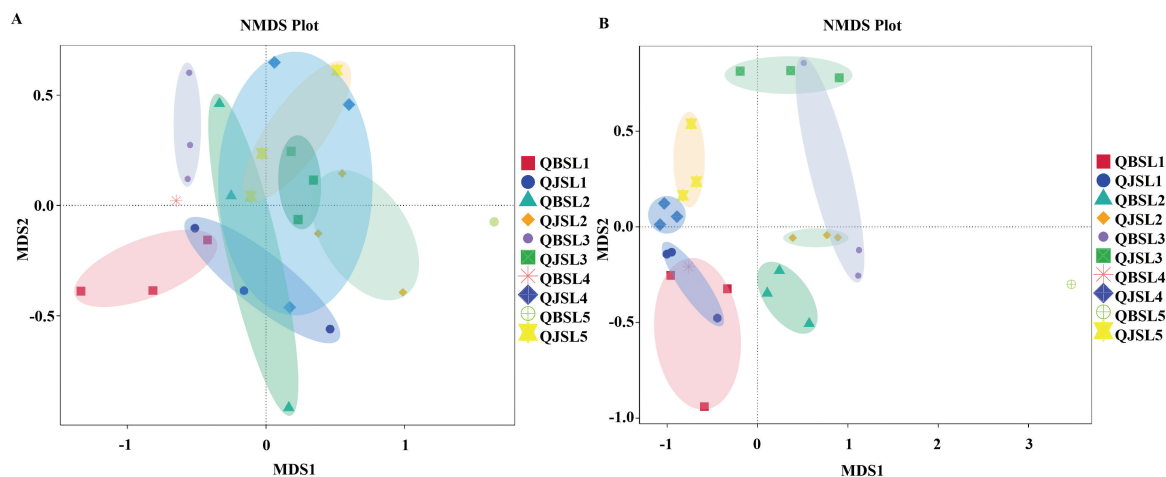


图5 烟叶叶际真菌(A)和细菌(B)群落分布 NMDS 图

3 讨论与结论

叶际微生物与寄主植物间存在复杂的关系,在植物的生长发育中发挥着重要作用,有益的微生物菌群结构能对寄主植物起到一定保护作用^[13]. 本研究发现,在苯醚甲环唑处理前,感病烟叶叶际真菌多样性和丰富度均低于健康健康,细菌则相反,感病烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属,优势细菌为假单胞菌属、甲基杆菌属和鞘氨醇单胞菌属,健康烟叶叶际优势真菌为亡隔菌属和尾孢属,优势细菌为甲基杆菌属和鞘氨醇单胞菌属,与孙美丽等^[9]报道感靶斑病烟叶叶际真菌群落多样性降低、优势真菌为亡隔菌属的研究结果基本一致,表明烟叶感染靶斑后亡隔菌属大量增殖,致使其叶际真菌多样性降低. 感病与健康烟叶叶际存在的优势真菌均属于担子菌门和子囊菌门,在苯醚甲环唑处理后,感病与健康烟叶叶际担子菌门和子囊菌门相对丰度均降低,进一步验证了苯醚甲环唑对担子菌门和子囊菌门中的多种真菌的强抑制效果^[14],但具体种类还有待进一步研究.

叶际微生物与寄主植物间相互作用形成复杂且相对稳定的微生物群落结构,农药的施用会改变叶际微生物菌群结构和多样性^[15]. 微生物对农药存在选择性,在农药处理后,一部分微生物会被抑制数量减少,一部分微生物能够利用农药作为营养物质大量繁殖^[16]. 苯醚甲环唑处理后1~18 d,感病与健康烟叶叶际真菌和细菌群落的多样性和丰富度的变化趋势一致,均整体呈增加—降低趋势,与刘亭亭等^[17]报道波尔多液处理后感赤星病烟叶叶际真菌和细菌群落多样性和丰富度变化情况类似. 高多样性和丰富度的叶际微生物有利于维持植物叶际微生态的稳

定^[18]. 因此, 推测苯醚甲环唑可通过增加烟叶叶际真菌和细菌群落多样性和丰富度来延缓病情.

植物叶际微生物来源广泛, 各菌属间通过竞争、拮抗和共生等策略抵御病原菌侵染, 维持宿主植物叶际微生态平衡^[19]. 前人研究发现烟叶叶际存在的优势真菌主要为小不整球壳属、枝孢霉属和尾孢属等, 优势细菌主要为假单胞菌属、泛菌属和鞘氨醇单胞菌属等^[20-22]. 部分有益菌定殖于烟叶叶际与病原菌竞争生态位和有限的营养物质, 从而对病原菌起到一定抑制作用; 此外, 部分优势菌还存在特殊的功能, 如假单胞菌属^[23]具有生防作用, 鞘氨醇单胞菌属^[15]在抗环境胁迫和抵御病原菌方面具有潜在的促进作用. 高通量测序结果表明, 苯醚甲环唑处理后1~18 d内, 感病与健康烟叶叶际优势真菌属和细菌属整体变化趋势一致; 优势真菌属按照变化规律可分为3类, 亡隔菌属相对丰度呈降低—增加—降低趋势, 小不整球壳属、*Sampaiozyma*、*Symmetrospora*、*Pleurotus*和链隔孢属相对丰度均呈增加—降低趋势, 尾孢属相对丰度呈降低趋势, 优势细菌属可分为2类, 假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属和短小杆菌属相对丰度呈增加—降低—增加—降低趋势, 甲基杆菌属和泛菌属相对丰度均呈增加—降低趋势. 与Sun等^[12]发现施用啞菌酯后短期内感靶斑病烟叶叶际真菌群落中亡隔菌属相对丰度降低、*Sampaiozyma*和*Plectosphaerella*相对丰度增加, 叶际细菌群落中鞘氨醇单胞菌属相对丰度降低、甲基杆菌属和泛菌属相对丰度均增加的结果类似, 说明苯醚甲环唑可有效抑制病原菌增值, 同时改善感靶斑病烟叶叶际微生物群落结构, 可尝试在生产上推广使用.

参考文献:

- [1] 邱梦娟, 黎妍妍, 徐婷婷, 等. 湖北省烟草靶斑病病原鉴定及其菌丝融合群遗传分化研究 [J]. 中国烟草科学, 2022, 43(5): 50-55.
- [2] 苏燕妮, 董雪, 赵艳琴, 等. 东北地区烟草靶斑病菌(*Rhizoctonia solani*)融合群、致病力分化及品种抗病性研究 [J]. 植物保护, 2016, 42(1): 170-174.
- [3] 孙宏宇. 烟草靶斑病发生及防治技术研究进展 [J]. 中国植保导刊, 2015, 35(7): 23-26.
- [4] 彭友兵. 烟草靶斑病的绿色防控策略及建议 [J]. 植物医生, 2020, 33(6): 34-36.
- [5] 常哈拿, 占浩鑫, 张琳, 等. 东北地区人参炭疽菌对苯醚甲环唑和戊唑醇的敏感性及其田间抗性监测 [J]. 植物病理学报, 2023, 19(5): 1-15.
- [6] 喻敏, 杨艳, 李文, 等. 苯醚甲环唑复配型杀虫剂研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2023, 29(2): 94-96.
- [7] 尹秀娟, 肖艳松, 李思军, 等. 防治烟草靶斑病复配增效配方筛选及田间防效 [J]. 农药, 2022, 61(6): 453-457.
- [8] 孙美丽, 汪汉成, 郭沫言, 等. 4种杀菌剂对烟草靶斑病菌的抑菌活性 [J]. 贵州农业科学, 2022, 50(9): 62-68.
- [9] 孙美丽, 史彩华, 肖本青, 等. 烟草靶斑病叶际微生物群落结构与多样性分析 [J]. 烟草科技, 2023, 56(4): 1-9.
- [10] DAI Y F, WU X M, WANG H C, et al. Spatio-Temporal Variation in the Phyllospheric Microbial Biodiversity of *Alternaria alternata*-Infected Tobacco Foliage [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 920109.
- [11] CHEN X, WICAKSONO W A, BERGG, et al. Bacterial Communities in the Plant Phyllosphere Harbour Distinct Responders to a Broad-Spectrum Pesticide [J]. Science of the Total Environment, 2021, 751: 141799.
- [12] SUN M L, WANG H C, SHI C H, et al. Effect of Azoxystrobin on Tobacco Leaf Microbial Composition and Diversity [J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 13: 1101039.
- [13] 杨宽, 王慧玲, 叶坤浩, 等. 叶际微生物及与植物互作研究进展 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(1): 155-164.
- [14] 付刘元, 陈金鹏, 王栓, 等. 禾谷镰孢菌对苯醚甲环唑的敏感性基线及与其他杀菌剂敏感性的相关性分析 [J]. 农药学报, 2021, 23(4): 694-702.

- [15] 刘宇星, 董醇波, 邵秋雨, 等. 叶际微生物与植物健康研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2022, 42(2): 88-98.
- [16] 李娜. 乌头叶面微生物区系与乌头霜霉病的相关性研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [17] 刘亭亭, 汪汉成, 孙美丽, 等. 波尔多液对烟草叶际微生物群落结构与代谢功能的影响 [J]. 农药学学报, 2022, 24(6): 1446-1455.
- [18] RASTOGI G, SBODIO A, TECH J J, et al. Leaf Microbiota in an Agroecosystem: Spatiotemporal Variation in Bacterial Community Composition on Field-Grown Lettuce [J]. The ISME Journal, 2012, 6(10): 1812-1822.
- [19] INNEREBNER G, KNIEF C, VORHOLT J A. Protection of *Arabidopsis Thaliana* Against Leaf-Pathogenic *Pseudomonas Syringae* by *Sphingomonas* Strains in a Controlled Model System [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(10): 3202-3210.
- [20] 刘畅, 汪汉成, 谢红炼, 等. 感染赤星病烟草叶际细菌的多样性分析 [J]. 烟草科技, 2020, 53(2): 8-14.
- [21] 刘亭亭, 曾陨涛, 汪汉成, 等. 赤星病发生期不同成熟度烟叶叶际微生物代谢与群落结构 [J]. 中国烟草科学, 2021, 42(6): 22-29.
- [22] CHEN Q L, CAI L, WANG H C, et al. Fungal Composition and Diversity of the Tobacco Leaf Phyllosphere during Curing of Leaves [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 554051.
- [23] 邱薇, 刘磊, 康杰, 等. 假单胞菌属双组分信号转导系统调控吩嗪生物合成研究进展 [J]. 微生物学通报, 2022, 49(1): 352-362.

责任编辑 王新娟