江西农业大学学报　2025,47(5)　　http://xuebao.jxau.edu.cn
Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis　　https://doi.org/10.3724/aauj.2025107

于丽欣,李康琴,卢燕萍,等.感病前后栀子果微生物群落结构与多样性[J].江西农业大学学报,2025,47(5):1245-1256.
YU L X,LI K Q,LU Y P,et al.Microbial community structure and diversity of fructus gardenia before and after infection[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2025,47(5):1245-1256.

江西农业大学百廿华诞专刊特约稿

感病前后栀子果微生物群落结构与多样性

于丽欣[1],李康琴[1],卢燕萍[1,2],谢雄雄[1],邓绍勇[1*]

(1.江西省林业科学院,江西 南昌 330032;2.江西农业大学 园林与艺术学院,江西 南昌 330045)

摘要:【目的】探究栀子(*Gardenia jasminoides* J. Ellis)果实感病前后微生物群落结构差异,预测潜在致病菌。【方法】采用宏基因组技术,分析3种感病栀子果和健康果之间的微生物群落结构变化,并通过病原体数据库比对预测致病菌。【结果】(1)3种感病栀子果整体微生物群落整体多样性低于健康果,但其真菌群落丰度及物种数量明显上升,细菌/真菌群落丰度比值(B/F)下降。(2)在真菌水平上,子囊菌门(Ascomycota)在感病果与健康果中均占绝对优势,SC类疮痂病样品中柱隔孢属的*Ramularia collo-cygni*和镰刀菌属的*Fusarium torreyae*相对丰度明显高于其他样品,DR类干腐病样品中平脐疣孢属(*Zasmidium*)和篮状菌属(*Talaromyces*)相对丰度明显高于其他样品。(3)在细菌水平上,假单胞菌门(Pseudomonadota)在感病果与健康果内均占绝对优势,3种患病样品中甲基杆菌属相对丰度均明显高于健康样品,SC类疮痂病样品中还含有相对丰度较高的短短芽孢杆菌(*Brevibacillus parabrevis*)和解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。(4)与病原体-宿主互作数据库(PHI-base)和致病菌毒力因子数据库(VFDB)比对发现,烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、稻巨座壳菌(*Magnaporthe oryzae*)、禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、禾小球腔菌(*Zymoseptoria tritici*)和分散泛菌(*Pantoea dispersa*)及分散泛菌B(*Pantoea dispersa B*)可能是栀子果病的潜在病菌。【结论】栀子果感病与真菌相对丰度提高有关。有害菌*Ramularia collo-cygni*、*Fusarium torreyae*可能是栀子果疮痂病的病原菌,*Zasmidium cellare*可能是栀子果干腐病的病原菌。烟曲霉、稻巨座壳菌、禾谷镰刀菌、禾小球腔菌、分散泛菌和分散泛菌B为栀子果病潜在致病菌,短短芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌可能参与栀子果病的生物防治。

关键词:栀子;宏基因组;病果;群落结构
中图分类号:S567.1;S432.4　　**文献标志码:**A　　**开放科学(资源服务)标识码(OSID):**
文章编号:1000-2286(2025)05-1245-12
CSTR:32399.14.aauj.2025107

收稿日期:2025-04-17　　**修回日期:**2025-06-16
基金项目:国家自然科学基金项目(32060356)、江西省"科技+水利"联合计划项目(2022KSG01001)和中央财政林业科技推广示范项目(JXTG[2022]12号)
Project supported by the National Natural Science Foundation Project(32060356),Jiangxi Provincial Joint-plan Project of Science and Technology & Water Conservancy(2022KSG01001)and Central Fiscal Forestry Science and Technology Promotion Demonstration Project(JXTG[2022]12)

作者简介:于丽欣,研究实习员,orcid.org/0009-0007-7956-7171,yulixin0223@163.com;*通信作者:邓绍勇,研究员,博士;2005年本科毕业于江西农业大学林学专业;2012年硕士毕业于江西农业大学植物学专业;2015年博士毕业于南京林业大学植物学专业;江西省林业科学院领军人才;承担国家自然科学基金、江西省科技支撑计划、重点研发计划等科研项目10余项;获国家林草植物新品种权2项,省林木良种5项,完成的成果获江西省科技进步二等奖1项;参编论著5部,发表学术论文30余篇;主要从事中药资源与开发研究,orcid.org/0000-0002-5029-0152,jxforestry@163.com。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

Microbial community structure and diversity of fructus gardenia before and after infection

YU Lixin[1], LI Kangqin[1], LU Yanping[1,2], XIE Xiongxiong[1], DENG Shaoyong[1*]

(1.Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330032, China; 2.College of Landscape Architecture and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to investigate the microbial community structure variation between diseased and healthy *Gardenia jasminoides* fruits, and identify potential pathogens. [**Method**] Metagenome was employed to analyze microbial community structures in three types of infected fruits versus healthy controls. Pathogen prediction was conducted through alignment with PHI and VFDB databases. [**Result**] (1) The overall microbial community diversity of the three diseased Gardenia jasminoides fruit samples was lower than that of the healthy ones, However, the abundance and species number of the fungal community in them increased significantly, while the abundance ratio of bacterial to fungal communities (B/F) decreased. (2) At the fungal level, *Ascomycota* predominated in both diseased and healthy fruits. The relative abundance of *Ramularia collo-cygni* and *Fusarium torreyae* in scab (SC) samples was significantly higher than that in other samples. The relative abundance of *Zasmidium* and *Talaromyces* in dry rot (DR) samples was significantly higher than other samples. (3) At the bacteria level, *Pseudomonadota* was predominantly dominant in both infected and healthy fruits, and the *Methylobacterium* in the three diseased samples was relatively higher than that in the healthy samples. The samples of scab also contained high relative abundance of *Brevibacillus parabrevis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. (4) Comparison with the Pathogen-Host Interaction Database (PHI-base) and the Virulence Factor Database of Pathogenic Bacteria (VFDB) revealed that Aspergillus fumigatus, Magnaporthe oryzae, Fusarium graminearum, Zymoseptoria tritici, Pantoea dispersa, and Pantoea dispersa B may be potential pathogens of Gardenia jasminoides fruit disease. [**Conclusion**] Fungal abundance elevation correlates with Gardenia fruit disease. *R. collo-cygni* and *F. torreyae* are potential scab pathogens, while *Z. cellare* may cause gardenia fruit dry rot. *Aspergillus fumigatum*, *Macrophyllum oryzae*, *Fusarium graminis*, *Zymoseptoria tritici*, *Pantoea dispersa* and *Pantoea dispersa B* may be the candidate pathogens of gardenia fruit disease. *Brevibacillus parabrevis* and *Bacillus amyloliquefaciens* may be involved in the biological control of Gardenia fruit diseases.

Keywords: *Gardenia jasminoids* J. Ellis; metagenome; diseased fruit; community structure

【研究意义】中药材栀子是茜草科栀子属栀子(*Gardenia jasminoides* J. Ellis)晒干的成熟果实,是我国大宗药材,有重要药用、色素[1]和油用价值[2]。栀子具有较强的抗逆性,在亚洲广泛分布,国内江西、湖南、福建有大量种植。江西作为栀子中药材道地产区,其主产区樟树市2022年栀子种植面积达0.77万hm^2,全产业链产值约10亿元,经济效益显著。栀子近年价格稳步升高,市场前景良好,种植面积不断扩大,但栀子病害制约了产业的快速发展,栀子果实感病直接导致栀子减产减收,而喷洒传统化学药剂可能带来农药残留问题[3],降低药材品质。【前人研究进展】目前,栀子病害研究主要集中于发病枝叶和根系的病原菌鉴定及化学防治,生物防治研究较少。罗光明等[4]鉴定栀子叶片炭疽病病原菌为茎点霉菌*Phoma* sp.,并明确多菌灵的抑菌效果最好,半数效应浓度为0.65 mg/L。董艳凯等[5]鉴定栀子叶片褐斑病病原菌为葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*),黄雪顺等[6]鉴定栀子叶斑病病原菌为拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis* Steyaert)真菌,而秦恩华等[7]鉴定叶斑病病原菌为栀子生叶点霉(*Phyllosticta gardenciicolla*)。刘培培[8]鉴定栀子叶枯病病原菌为链格孢菌(*Alternaria alternata*)、细极链格孢(*Alternaria tenuissima*)和拟茎点霉(*Phomopsis* sp.)。微生物与寄主植物是一种共生互作关系,植物为微生物提供场所和养分,通过释放生化物富集生防菌协同参与抵抗病原微生物,利用生防菌进行生物防治,不仅可以减少化学农药对环境的污染和作物农药残留,还能提高作物产量和品质[9-11]。研究植物生长环境中的微生物组成有利于了解植

物感病的病原菌和挖掘潜在生防菌,而目前通过实验室培养得到的微生物仅是环境总微生物量的1%[12]。宏基因组技术可以摆脱传统方法对不可培养的微生物的研究局限,直接从环境样本中提取DNA进行建库和测序,更真实地反映环境中微生物群落的信息[13-14]。张进强等[15]利用宏基因组技术对天麻种植不同年份后土壤微生物组成进行分析,发现*Ilyonectria cyclaminicola*是天麻真菌病害主要病原菌之一,为天麻连作病害防治提供理论依据。袁青松等[16]研究了太子参枯萎病根际和根区土壤微生物组成和功能,发现土壤中富集了禾谷镰刀菌、土赤壳菌等病原菌,而降低了木霉菌等有益真菌。刘润[17]研究表明,随着芍药白粉病病害等级提高,叶际菌物群落中白粉菌属相对丰度也逐步提高;进一步微生物互作分析发现,青霉菌和曲霉菌不仅与白粉菌具有显著相关性,还与多项抗氧化酶系统的生理指标有显著正向相关性,推测青霉菌和曲霉菌可能成为芍药对抗逆境的有益菌株。

【本研究切入点】目前,关于栀子果实病害研究还未见报道,利用宏基因组测序技术可以一次性获得果实样品中可能的致病物基因组序列,有利于病原检测和生物防治研究。【拟解决的关键问题】本研究以健康生长和感病栀子果为对象,利用宏基因组测序技术,分析健康果与感病果微生物群落结构及多样性,并通过与病原体数据库比对,推测栀子果实患病的潜在致病菌,为研究栀子果病发生机理及生物防治提供理论支撑。

1　材料与方法

1.1　样品采集

健康和感病栀子果实均采自江西省樟树市黄栀子种植区。2024年11月,随机选择生长状况相似的栀子采集不同感病阶段果实与健康果实分别放入无菌自封袋。共发现3种感病栀子果实(图1),第一类果实表面结痂(scab,SC,编号T1);第二类果实表面腐烂干枯(dry rot,DR,编号T2~T4);第三类果实开裂腐烂(fruit cracking,FC,编号T5~T6),对照组为健康栀子果实(health,HE,编号CK)。样品采集后放入低温保存箱,迅速带回实验室,置于-80 ℃冰箱保存,备用。



图1　感病栀子果症状

Fig.1　Symptoms of infected *Gardenia* fruit

1.2 总 DNA 提取及测序

将自封袋内的栀子果剪为 1 cm×1 cm 小块后混合。采用 E.Z.N.A™ Soil DNA Kit 试剂盒（Omega Bio-tek，Norcross，GA，U.S.），按说明书抽提全基因组 DNA，用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性，采用高灵敏度双链 DNA 试剂盒在 Qubit 荧光计（Thermo Fisher Scientific）上检测 DNA 浓度，$OD_{260/280}$=1.8~2.2，$OD_{260/230}$≥2.0 的用于构建测序文库。宏基因组文库按照标准基因组 DNA 文库制备程序制备，宏基因组散弹枪测序文库在上海凌恩生物科技有限公司构建并测序。

1.3 数据统计及分析

对下机原始序列使用 Trimmomatic 软件进行数据质控，对原始序列进行去接头、质量剪切以及去除污染等优化处理；然后使用 Megahit 和 Prodigal 软件对优质序列进行拼接组装和基因预测；使用 diamond 软件对得到的预测基因中的微生物序列进行 NR 物种分类，并使用 diamond 等软件将预测基因与 PHI-base，VFDB 等数据库进行比对。使用 Excel 2021 软件进行数据整理，使用 R 语言工具和 Origin8.0 绘制相关图表。基因丰度计算使用 Salmon（https://github.com/COMBINE-lab/salmon），计算公式如下：

$$\mathrm{TPM} = \frac{N_i/L_i \times 10^6}{\mathrm{sum}\left(N_1/L_1 + N_2/L_2 + \cdots + N_n/L_n\right)} \tag{1}$$

式（1）中：N_i 为比对到第 i 个基因的 reads 数；L_i 为第 i 个基因的长度；sum（$N_1/L_1+N_2/L_2+\cdots+N_n/L_n$）为所有（$n$ 个）基因按长度进行标准化之后数值的和。

2 结果与分析

2.1 测序数据质量分析

质控后，各样品平均高质量序列条数占原始序列 93.4%，各样品在 91.3%~95.2% 范围内；高质量序列条数平均为 1.0×10^8 条，最小为 9.4×10^7 条，最大为 1.1×10^8 条；各样品序列 Q_{20} 平均为 98.6%（98.1%~99.2%），Q_{30} 平均为 96.4%（95.6%~97.2%），GC 含量平均为 41.0%（36.7%~46.4%），说明测序结果质量高，数据可用于后续分析。

2.2 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性指某个群落或生境内部种的多样性，主要有物种丰富度指数（Species richness）、香农指数（Shannon index）和辛普森指数（Simpson index）等。Richness 指数统计丰度大于 0 的物种数，不考虑它们的丰度，值越大表明群落中物种种类越丰富；Shannon 指数是根据群落中每个物种的个体数与总个体数之比计算出的一个综合数值，值越高，群落物种多样性越丰富，且物种间的分布越均匀；Simpson 指数反映的是群落中随机取 2 个个体属于同一物种的概率，指数越高，说明物种间的差异越大，多样性越丰富。由表 1 可知，SC 类疮痂病栀子果菌群种类较健康样品种明显增多，但其群落多样性降低，且分布不均匀；而 DR 类干腐病及 FC 类裂果病样品菌群 3 种指数均低于健康样品，说明其感病后菌群群落丰富度和多样性均有所下降。

表 1 微生物群落 α 多样性指数分析

Tab.1 Alpha dicersity indices of microbial community

类别 Sort	样本 Sample	属 Genus			种 Species		
		Richness	Shannon	Simpson	Richness	Shannon	Simpson
HE	CK	1 343.00	6.10	0.96	2 298.00	6.89	0.97
SC	T1	1 980.00	4.08	0.87	5 813.00	5.93	0.94
DR	T2	1 028.00	4.40	0.78	2 111.00	5.32	0.80
	T3	527.00	2.05	0.44	1 086.00	4.92	0.91
	T4	1 448.00	5.63	0.93	2 785.00	6.93	0.96
	平均（T2~T4）	1 001.00	4.02	0.72	1 994.00	5.73	0.89
FC	T5	809.00	5.00	0.91	1 522.00	6.64	0.96
	T6	526.00	5.31	0.91	932.00	5.76	0.92
	平均（T5~T6）	667.50	5.16	0.91	1 227.00	6.20	0.94

2.3　感病前后栀子果实微生物组成

由表2可知,3种感病栀子果样品中真菌的基因丰度均远高于HE类健康样品,感病后B/F比值(细菌与真菌比值)下降。其中SC类疮痂病栀子样品中细菌和病毒基因丰度高于健康样品,而DR类干腐病样品和FC类裂果病样品中基因丰度低于健康样品。

表2　受害果实和正常果实微生物群落基因丰度

Tab.2　Abundance of microbial communities in diseased fruits and normal fruits

类别 Sort	样本 Sample	真菌 Fungi	细菌 Bacteria	病毒 Viruses
HE	CK	6 061.32	309 682.66	3 606.66
SC	T1	191 457.96	610 261.78	9 186.01
DR	T2	293 473.74	49 070.05	1 012.14
	T3	775 003.77	653.95	13.25
	T4	188 024.33	96 224.18	631.90
	平均(T2~T4)	418 833.95	48 649.39	552.43
FC	T5	165 916.28	88 896.87	2 634.84
	T6	89 034.58	55 068.81	68.21
	平均(T5~T6)	127 475.43	71 982.84	1 351.53

2.4　感病前后栀子果实的真菌群落组成及结构分析

由表3可知,栀子病果真菌种类数量在各分类水平上比健康果均有所上升。其中,SC类疮痂病栀子果实增加了5个门,29个纲,84个目,240个科,470个属,1 190个种,基因丰度高30.59倍;DR类干腐病栀子果实增加了4个门,29个纲,92个目,268个科,522个属,1 212个种,基因丰度高68.10倍;FC类裂果病栀子果实增加了4个门,22个纲,63个目,172个科,285个属,572个种,基因丰度高20.03倍。由图2a可知,感病前后栀子果实各样品中有53个共有属,健康栀子果中没有特有真菌属,SC、DR和FC类病果分别特有18个、13个和12个真菌属。

表3　受害果实和正常果实不同分类水平真菌群落数量

Tab.3　Number of fungal communities at different taxonomic levels in diseased fruits and normal fruits

类别 Sort	样本 Sample	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	基因丰度 TPM
HE	CK	3	17	42	63	78	93	6 061
SC	T1	8	46	126	303	548	1 283	191 458
DR	T2	6	44	132	332	603	1 286	293 474
	T3	6	48	137	341	635	1 435	775 004
	T4	8	46	133	320	563	1 195	188 024
	平均(T2~4)	7	46	134	331	600	1 305	418 834
FC	T5	7	42	118	270	424	823	165 916
	T6	7	35	92	200	301	506	89 035
	平均(T5~6)	7	39	105	235	363	665	127 476

栀子果门水平上的真菌群落组成及相对丰度如图3a所示,相对丰度前2位的真菌门为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota),两者相对丰度之和大于50%,占绝对优势。其中,HE类健康样品中的相对丰度分别为75.33%、23.09%,SC类疮痂病样品中的相对丰度分别为83.15%、16.80%,DR类干腐病样品中的相对丰度分别为92.36%、7.34%,FC类裂果病样品中的相对丰度分别为55.09%、18.74%。

在属水平上(图3b),SC类疮痂病样品中镰刀菌属(*Fusarium*)、柱隔孢属(*Ramularia*)和*Meira*相对丰度分别为26.23%、25.85%、15.05%,高于健康和另2种感病样品;DR类干腐病样品中篮状菌属

(*Talaromyces*)和平脐疣孢属(*Zasmidium*)平均相对丰度分别为31.07%、25.51%,高于健康和另2种感病样品;FC类裂果病样品中真菌属分布较均匀,其中*Meira*平均相对丰度为10.42%,与HE类健康样品种相差不大。

在种水平上(图3c),SC类疮痂病样品中主要为天鹅颈柱隔孢(*Ramularia collo-cygni*)、榧木镰刀菌(*Fusarium torreyae*)、*Meira miltonrushii*和*Zasmidium cellare*,相对丰度分别为25.85%、17.83%、14.83%、14.65%,前3种真菌相对丰度高于健康及另2种感病样品,而平脐疣孢属的*Zasmidium cellare*相对丰度低于DR类干腐病样品;DR类干腐病样品中主要为*Zasmidium cellare*,其相对丰度为25.51%,其次为篮状菌属的*Talaromyces atroroseus*、*Talaromyces pinophilus*和柄篮状菌(*Talaromyces stipitatus*)等相对丰度和为30%左右;FC类裂果病样品中,角膜条微孢虫(*Vittaforma corneae*)平均丰度最高,为21.58%;其次为*Meira miltonrushii*,平均丰度为10.13%,但与HE类健康样品中差别不大。FC类裂果病T5与T6样品中真菌组成及丰度差异大,推测真菌可能不是裂果的病因,而是发病后影响不同植株的真菌群落结构。

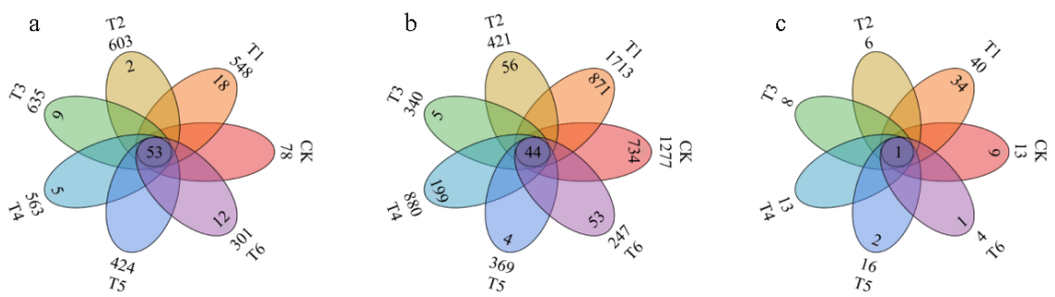


图2 受害果实和正常果实真菌(a)、细菌(b)和病毒(c)属分布

Fig.2 Venn diagrans of genus distribution of fungi(a),bacteria(b)and virus(c)in diseased fruits and normal fruits

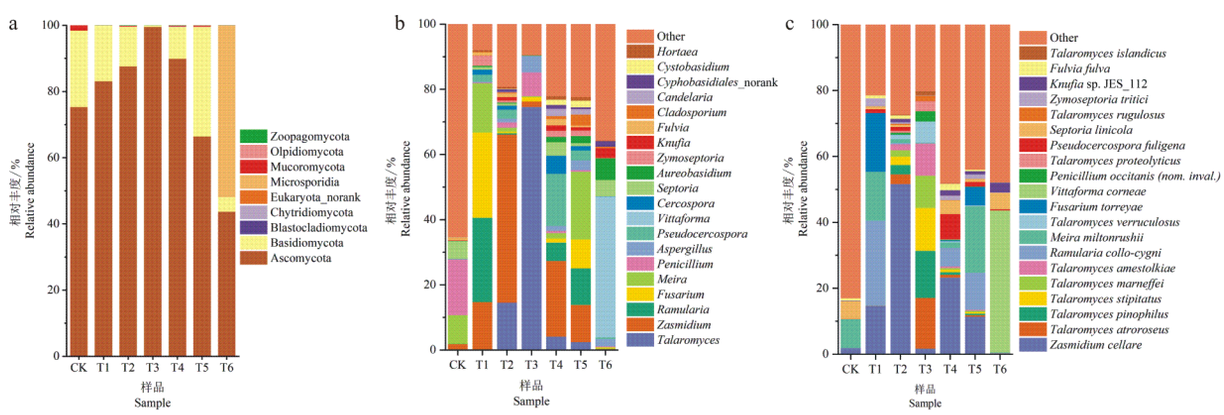


图3 栀子果中真菌门(a)、属(b)和种(c)水平的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of fungi at phyla(a),genus(b)and species(c)levels in *Gardenia* fruit

2.5 感病前后栀子果实的细菌群落组成及结构分析

由表4可知,SC类疮痂病栀子细菌种类数量在门水平上减少了4个门,在除门水平外的各分类水平上比健康果有所上升,增加了11个纲,42个目,99个科,436个属,3 154个种,基因丰度高97.06%;而DR类干腐病及FC类裂果病栀子果细菌种类数量在各分类水平上比健康果有所下降,DR类减少了15个门,39个纲,120个目,229个科,730个属,1 254个种,基因丰度低5.37倍;FC类裂果病栀子果减少了28个门,65个纲,278个目,325个科,969个属,1 682个种,基因丰度低3.30倍。由图2b可知,感病前后栀子果实各样品中有44个共有属,健康栀子果中特有734个细菌属,SC、DR和FC类感病果分别特有871个、260个和57个细菌属。

栀子果门水平上的细菌群落组成及相对丰度如图4a所示,HE类健康样品中主要为假单胞菌门(Pseudomonadota)、放线菌门(Actinomycetota)和拟杆菌门(Bacteroidota),相对丰度分别为56.67%、

11.85%、10.95%;SC 类疮痂病样品中主要为假单胞菌门和芽孢杆菌门(Bacillota),相对丰度分别为59.53%、39.17%;DR 类干腐病样品中主要为假单胞菌门、放线菌门和黏细菌门(Myxococcota),相对丰度分别为 77.38%、4.70%、4.61%;FC 类裂果病样品中主要为假单胞菌门、放线菌门和芽孢杆菌门,相对丰度分别为 74.20%、11.29%、6.54%。

各样品总相对丰度前 3 位的门分别为假单胞菌门、芽孢杆菌门和放线菌门。假单胞菌门在各类样品中均是优势菌门,在 DR 类干腐病和 FC 类裂果病样品中平均相对丰度相似,在 HE 类健康和 SC 类疮痂病样品中相对丰度相似。

在属水平上(图 4b),HE 类健康样品中主要为下水道球菌属(*Amaricoccus*)、鼠尾菌属(*Muricauda*)和慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*),相对丰度分别为 10.14%、9.14%、8.33%,而在感病样品中丰度均小于 3%;SC 类疮痂病样品中主要为甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*),相对丰度分别为 34.46%、28.75%、9.47%,甲基杆菌属在 3 种感病样品中有着较高的丰度,短芽孢杆菌属和芽孢杆菌属相对丰度明显高于健康和其他感病样品;DR 类干腐病样品中主要为甲基杆菌属、*Lichenihabitans* 和 *Methyloversatilis*,相对丰度分别为 22.44%、16.79%、15.08%;FC 类裂果病样品中主要细菌属与 DR 类相似,为甲基杆菌属、*Lichenihabitans* 和 *Methyloversatilis*,相对丰度分别为 29.12%、12.94%、5.04%。

在种水平上(图 4c),HE 类健康样品中主要为 *Muricauda maritima*、慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium* sp.),相对丰度分别为 9.07%、6.64%;SC 类疮痂病样品中主要为短短芽孢杆菌(*Brevibacillus parabrevis*)、藤泽甲基杆菌(*Methylobacterium fujisawaense*)和解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),相对丰度分别为 27.79%、7.65%、6.73%;DR 类干腐病样品中主要为 *Lichenihabitans* sp. 和 *Methyloversatilis discipulorum*_A,相对丰度分别为 10.40%、9.44%;FC 类裂果病样品中主要为 *Lichenihabitans* sp.,相对丰度为 8.00%。

表 4　受害果实和正常果实不同分类水平细菌群落数量

Tab.4　Number of bacteria communities at different taxonomic levels in diseased fruits and normal fruits

类别 Sort	样本 Sample	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	基因丰度 TPM
HE	CK	51	106	269	469	1 277	2 269	309 683
SC	T1	47	117	301	568	1 713	5 423	610 262
DR	T2	24	44	106	169	421	829	49070
	T3	31	48	101	157	340	625	654
	T4	53	109	240	395	880	1 590	96 224
	平均(T2~T4)	36	67	149	240	547	1 015	48 649
FC	T5	29	56	118	184	369	668	88 897
	T6	16	26	64	104	247	506	55 069
	平均(T5~T6)	23	41	91	144	308	587	71 983

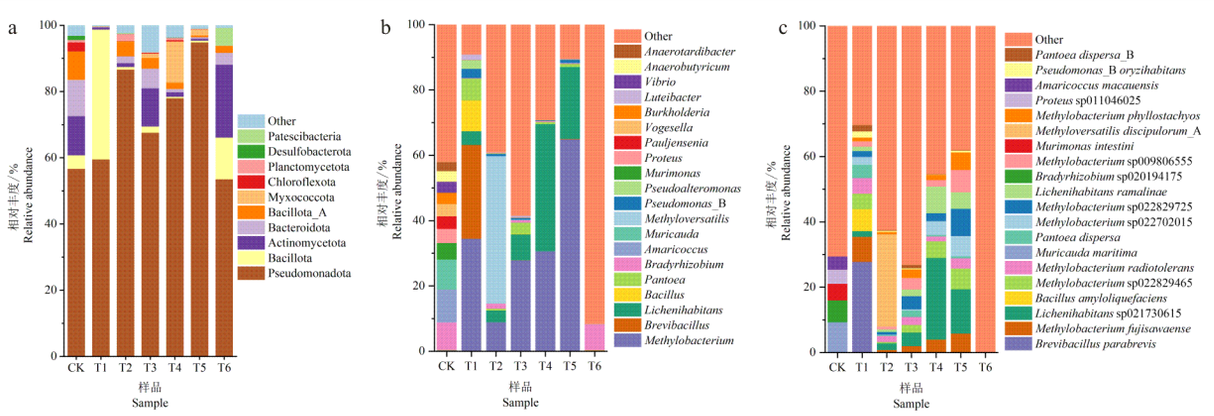


图 4　栀子果中细菌门(a)、属(b)和种(c)水平的相对丰度

Fig.4　Relative abundance of bacteria at phyla(a), genus(b)and species(c)levels in *Gardenia* fruit

2.6 感病前后栀子果实的病毒群落组成及结构分析

由表5可知，SC类疮痂病栀子果病毒种类数量在多分类水平上比健康果有所上升，增加了2个纲，3个目，5个科，27个属，88个种，基因丰度高1.55倍；而DR类干腐病及FC类裂果病栀子果病毒种类数量在多分类水平上比健康果有所下降，DR类减少了3个门，3个纲，2个目，3个科，4个属，89个种，基因丰度低5.53倍；FC类裂果病栀子果减少了2个门，2个纲，1个目，2个科，3个属，基因丰度低1.67倍。由图2c可知，感病前后栀子果各样品中有44个共有属，健康栀子果中特有9个病毒属，DR类感病果没有特有属，SC和FC类感病果分别特有34个和3个病毒属。

由图5a可知，病毒门相对丰度的前5位分别为尾噬菌体门（Uroviricota）、核质病毒门（Nucleocytoviricota）、未定名病毒门（Viruses_norank）、霍夫奈病毒门（Hofneiviricota）和酶录转逆病毒门（Artverviricota），但在感病前后栀子果中群落组成及相对丰度差异较大。其中，HE类健康样品中未定名病毒门的相对丰度为71.76%，而在感病样品中平均丰度低于5%；SC类疮痂病样品中尾噬菌体门和核质病毒门的相对丰度分别为69.46%、29.48%，占绝对优势；DR类干腐病样品中酶录转逆病毒门和尾噬菌体门的平均相对丰度分别为64.64%、27.32%；FC类裂果病样品中尾噬菌体门、核质病毒门和酶录转逆病毒门的平均相对丰度分别为50.41%、21.53%、19.55%。

在属水平上（图5b），HE类健康样品中主要为病毒未定名属（*Viruses*_norank）和丝状病毒未定名属（*Ascovirus*），相对丰度分别为71.76%、12.25%，在感病样品中平均丰度低于5%；SC类疮痂病样品中主要为有尾噬菌体未定名属（*Caudoviricetes*_norank）和囊泡病毒属（*Ascovirus*），相对丰度分别为63.15%、29.47%；DR类干腐病样品中转座病毒属（*Metavirus*）、脑池内A颗粒（*Intracisternal A-particles*）和有尾噬菌体未定名属的平均相对丰度分别为30.47%、24.04%、23.66%；FC类裂果病样品中丙型反录病毒属（*Gammaretrovirus*）、有尾噬菌体未定名属的平均相对丰度分别为16.44%、14.79%。

在种水平上（图5c），感病前后栀子果中群落组成及相对丰度差异较大。其中，HE类健康样品中*Circular genetic element* sp.和*Inoviridae* sp.相对丰度为71.53%、12.25%，而在感病样品中平均丰度低于5%；SC类疮痂病样品中未培养的尾状病毒噬菌体（*uncultured Caudovirales phage*）、绿芽荚膜病毒3i（*Heliothis virescens ascovirus* 3i）和囊泡病毒TnAV2a（*Ascovirus* TnAV2a）为特有病毒种，相对丰度分别为13.92%、15.05%、14.42%。

表5 受害果实和正常果实不同分类水平病毒群落数量

Tab.5 Number of virus communities at different taxonomic levels in diseased fruits and normal fruits

类别 Sort	样本 Sample	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	基因丰度 TPM
HE	CK	6	6	6	9	13	15	3 607
SC	T1	6	8	9	14	40	103	9 186
DR	T2	2	2	2	5	6	9	1 012
	T3	3	3	3	6	8	12	13
	T4	4	4	6	8	13	22	632
	平均（T2~T4）	3	3	4	6	9	14	552
FC	T5	5	5	7	10	16	31	2 635
	T6	3	3	3	3	4	9	68
	平均（T5~T6）	4	4	5	7	10	20	1 352

2.7 栀子果微生物功能注释

2.7.1 PHI-base病原与宿主互作数据库注释

将获得基因的蛋白序列在PHI-base数据库中进行同源性比对，结果如图6所示，感病栀子果中烟曲霉（*Aspergillus fumigatus*）、稻巨座壳菌（*Magnaporthe oryzae*）、禾谷镰刀菌（*Fusarium graminearum*）和禾小球腔菌（*Zymoseptoria tritici*）丰度明显高于健康样品。

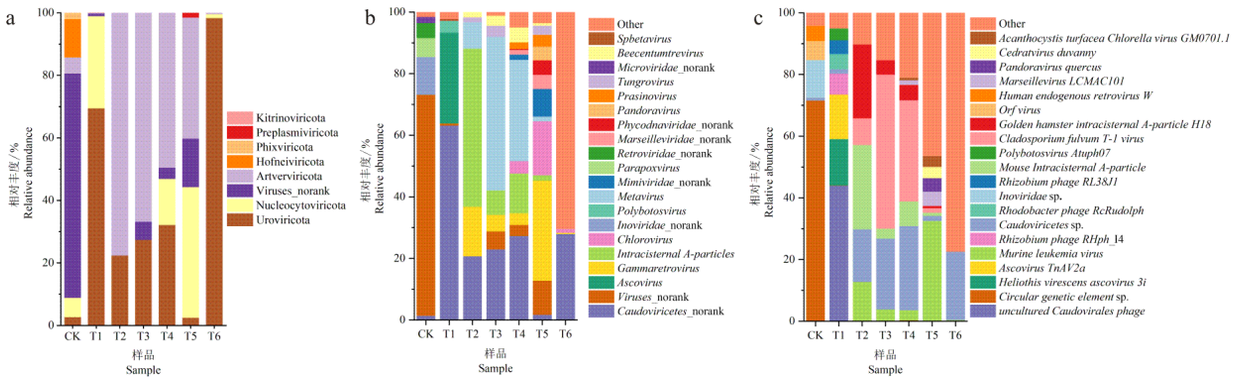


图5　栀子果中病毒门(a)、属(b)和种(c)水平的相对丰度

Fig.5　Relative abundance of virus at phyla(a), genus(b)and species(c)levels in *Gardenia* fruit

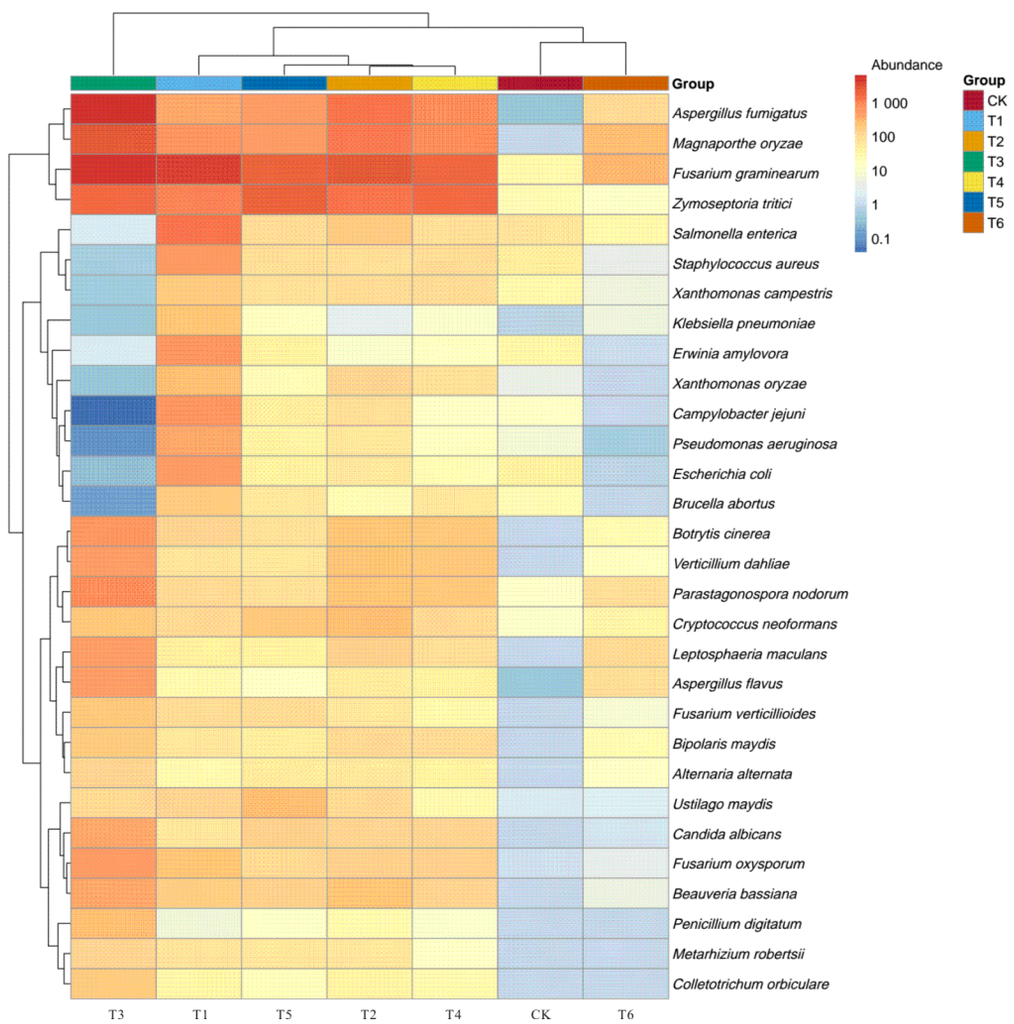


图6　病原体种类丰度分析

Fig.6　Heat map of pathogen kind abundance

2.7.2　VFDB毒力因子功能注释

将获得基因的蛋白序列在VFDB数据库中进行同源性比对,统计各样品的基因数量及功能注释信息(表6)。7个样品中共比对鉴定出117个致病菌的477个毒力因子基因,其中HE类健康样品中毒力基因丰度前3的致病菌为*Amaricoccus solimangrovi*、成晶节杆菌B(*Arthrobacter*_F *crystallopoietes*_B)和*Amaricoccus macauensis*,相对丰度分别为30.97%、17.08%和10.45%,而这3种致病菌在感病栀子果中相对丰度均低于1%。

SC类疮痂病样品中毒力基因丰度前3的致病菌为分散泛菌(*Pantoea dispersa*)、短短芽孢杆菌和分散

泛菌 B(*Pantoea dispersa* B),其相对丰度分别为 25.11%、11.99% 和 11.51%,均高于健康及另 2 种感病果实,分散泛菌在 DR 类和 FC 类病果中也有发现。其中短短芽孢杆菌是烟草黑胫病病菌烟草疫霉菌(*Phytophthora nicotianae*)的一种生防菌[18]。

DR 类干腐病样品中毒力基因丰度前 3 的致病菌为 *Methyloversatilis discipulorum*、*Lichenihabitans* sp. 和 *Lichenihabitans minor*,其相对丰度分别为 28.35%、12.32% 和 8.85%。*Methyloversatilis discipulorum* 相对丰度高于健康及另 2 种感病果实,*Lichenihabitans* 高于健康果实而与另两类丰度相似,前者为红环菌科下的甲基营养型菌[19],后者为根瘤菌目下的地衣内生菌[20],均未有植物致病报道。

FC 类干腐病样品中毒力基因丰度前 4 的致病菌为 *Lichenihabitans* sp.、甲基杆菌(*Methylobacterium* sp.)、分散泛菌 B 和分散泛菌,其相对丰度分别为 11.83%、10.69%、10.58% 和 10.52%,均高于健康果实。

表 6 受害果实和正常果实毒力因子基因丰度

Tab.6 Abundance of toxin factor genes in diseased fruits and normal fruits

致病菌 Pathogens	HE	SC	DR	FC
Amaricoccus solimangrovi	51.79	0.12	0.41	<0.01
成晶节杆菌 B *Arthrobacter*_F *crystallopoietes*_B	28.55	0.11	0.32	<0.01
Amaricoccus macauensis	17.48	<0.01	<0.01	<0.01
分散泛菌 *Pantoea dispersa*	0.32	579.18	4.21	10.52
短短芽孢杆菌 *Brevibacillus parabrevis*	<0.01	276.61	<0.01	<0.01
分散泛菌 B *Pantoea dispersa*_B	0.45	265.59	8.40	10.58
Methyloversatilis discipulorum	0.54	0.41	28.35	<0.01
Lichenihabitans sp. 021730615	<0.01	14.73	12.32	11.83
Lichenihabitans minor	<0.01	9.98	8.85	<0.01
甲基杆菌 *Methylobacterium* sp. 009806555	0.44	38.40	3.72	10.69
其他 Other	68.07	1 145.41	60.45	49.01
合计 Total	167.20	2 306.87	123.31	92.63

3 讨论与结论

本研究通过宏基因组测序技术,分析了栀子健康果实和 3 种感病果实的微生物群落组成及结构差异,并利用数据库进行功能注释和致病菌预测。3 种栀子感病果与健康果相比,微生物群落多样性降低,真菌群落丰度及物种数量明显上升,B/F 比值降低。在感病果与健康果样品中子囊菌门真菌均占绝对优势。SC 类患疮痂病样品中柱隔孢属的 *Ramularia collo-cygni* 和镰刀菌属的 *Fusarium torreyae* 相对丰度明显高于健康及其他感病样品,前者导致大麦患叶斑病[21],后者导致花椒患溃疡病[22]。DR 类患干腐病样品中平脐疣孢属和篮状菌属相对丰度明显高于健康及其他感病样品。

在感病果与健康果样品中假单胞菌门细菌均占绝对优势,其次为放线菌门和芽孢杆菌门。甲基杆菌属在 3 种患病样品中有着较高的丰度,明显高于健康样品。SC 类疮痂病样品中短短芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌相对丰度明显高于健康及其他感病样品,前者能产生多种抗菌活性物质[23],后者能破坏镰刀菌属的尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)菌丝形态并干扰其生理代谢[24]。

感病前后栀子果中病毒群落组成及相对丰度差异较大。SC 类疮痂病样品中病毒主要为尾噬菌体门和核质病毒门,DR 类干腐病样品中病毒主要为酶录转逆病毒门和尾噬菌体门,FC 类裂果病样品中病毒主要为尾噬菌体门、核质病毒门和酶录转逆病毒门。SC 类疮痂病样品中未培养的尾状病毒噬菌体、绿芽荚膜病毒 3i 和囊泡病毒 TnAV2a 为特有病毒种。

与 PHI-base 数据库比对发现,烟曲霉、稻巨座壳菌、禾谷镰刀菌和禾小球腔菌可能是栀子果感病的潜在致病菌,其中烟曲霉常见于腐败的有机物中,可致人肺部感染;稻巨座壳菌俗称稻瘟病菌,造成水稻、小麦等叶瘟、谷粒瘟和穗颈瘟等,危害严重时可减产约 1/2[25];禾谷镰刀菌是小麦赤霉病病原菌,不仅导致产量下降,还会在谷粒中留下人畜有害的真菌毒素,而禾小球腔菌通过影响植物的代谢途径抑制免疫反应,并改变植物的微生物群落,使得植物更容易感染致病菌[26]。与 VFDB 数据库比对发现,

分散泛菌和分散泛菌 B 在三类感病样品中毒力基因丰度均高于健康样品,研究发现分散泛菌可引起玉米褐腐病、香蕉腐烂病、水稻叶枯病等病害[27],推测分散泛菌和分散泛菌 B 可能也是栀子果感病潜在致病菌。

综上所述,在感病果与健康果中子囊菌门真菌和假单胞菌门细菌均占绝对优势。3 种感病栀子果微生物群落整体多样性降低,但真菌群落丰度及物种数量上升,B/F 比值下降。柱隔孢属的 *Ramularia collo-cygni* 和镰刀菌属的 *Fusarium torreyae* 相对丰度提高可能导致栀子果感疮痂病,短短芽孢杆菌及解淀粉芽孢杆菌可能对栀子果感病菌有拮抗作用。*Zasmidium cellare* 相对丰度提高可能导致栀子果干腐病的发生。烟曲霉、稻巨座壳菌、禾谷镰刀菌、禾小球腔菌、分散泛菌和分散泛菌 B 是栀子果病的潜在致病菌。

致谢:江西省林业科学院基础研究与科技成果转化专项(2025522803)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

参考文献 References:

[1] 邓绍勇,杨欢,朱培林,等.栀子栽培品种与近缘种的数量分类[J].江西农业大学学报,2020,42(1):92-100.
DENG S Y,YANG H,ZHU P L,et al.Numerical taxonomy of cultivars and their related wild species in the genus *Gardenia* [J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2020,42(1):92-100.

[2] 成向荣,周俊宏,陈永辉,等.山栀子幼苗表型可塑性对不同光环境的响应[J].江西农业大学学报,2016,38(1):180-186.
CHENG X R,ZHOU J H,CHEN Y H,et al.Effects of light intensity on phenotypic plasticityof *Gardenia jasminoides* seedlings [J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2016,38(1):180-186.

[3] 李海源,李娟,胡妍月,等.猕猴桃褐斑病田间发生特点及药剂防治技术研究[J].江西农业大学学报,2024,46(6):1478-1487.
LI H Y,LI J,HU Y Y,et al.Study on occurrence and fungicide control techniques of kiwifruit brown leaf spot disease in field [J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2024,46(6):1478-1487.

[4] 罗光明,董艳凯,龚雨虹,等.栀子炭疽病病原菌鉴定及抑菌药剂筛选[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(19):32-36.
LUO G M,DONG Y K,GONG Y H,et al.Identification of *Gardenia jasminoides* anthracnose pathogen and screening of its antibiotics agents[J].Chinese journal of experimental traditional medical formulae,2016,22(19):32-36.

[5] 董艳凯,朱玉野,胡燕珍,等.栀子褐斑病病原菌鉴定及寄主范围测定[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(23):35-39.
DONG Y K,ZHU Y Y,HU Y Z,et al.Pathogen identification and determination of host range for *Gardenia jasminoides* brown spot[J].Chinese journal of experimental traditional medical formulae,2016,22(23):35-39.

[6] 黄学顺,付艳平,秦乐业,等.栀子叶斑病及其病原的鉴定[J].华中农业大学学报,2006,25(1):21-25.
HUANG X S,FU Y P,QIN L Y,et al.The leaf spot on *Gardenia jasminoides* and identification of its pathogen[J].Journal of Huazhong agricultural university,2006,25(1):21-25.

[7] 秦恩华,刘永清.栀子叶斑病病原的分离鉴定及其防治[J].湖北民族学院学报(自然科学版),2007,25(3):353-356.
QIN E H,LIU Y Q.Isolation and identification of pathogenic fungi for leaf blotch of *Gardenia* and its pesticides screening [J].Journal of Hubei institute for nationalities(natural science edition),2007,25(3):353-356.

[8] 刘培培.栀子叶枯病诱导的生理响应及转录调控研究[D].南昌:江西中医药大学,2020.
LIU P P.Physiological responses and transcriptional regulation induced by gardenia leaf blight[D].Nanchang:Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine,2020.

[9] 程亮,游春平,肖爱萍.拮抗细菌的研究进展[J].江西农业大学学报,2003,25(5):732-737.
CHENG L,YOU C P,XIAO A P.Advance in the study on antagonistic bacteria[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2003,25(5):732-737.

[10] 陆洪省,张雪,高宇婷,等.哈茨木霉SKD-ZX-1的鉴定、发酵及其生防效果[J].生物技术通报,2019,35(11):132-140.
LU H S,ZHANG X,GAO Y T,et al.Identification,fermentation and biocontrol efficiency of *Trichoderma harzianum* SKD-ZX-1[J].Biotechnology bulletin,2019,35(11):132-140.

[11] PIMENTEL M F,ARNÃO E,WARNER A J,et al.*Trichoderma* isolates inhibit *Fusarium virguliforme* growth,reduce root rot,and induce defense-related genes on soybean seedlings[J].Plant disease,2020,104:1949-1959.

[12] 肖汇川,李韦瑶,崔国文,等.宏基因组学在草地土壤微生物研究中的应用[J].草学,2022(6):1-11.
XIAO H C,LI W Y,CUI G W,et al.Application of metagenomics in grassland soil microorganism research[J].Journal of

grassland and forage science,2022(6):1-11.

[13] 欧阳月,张志锋.宏基因组技术在中药材质量研究中的应用现状[J].中国中药杂志,2022,47(23):6271-6277.
OUYANG Y,ZHANG Z F.Application status of metagenomics in quality research of traditional Chinese medicinal materials [J].China journal of Chinese materia medica,2022,47(23):6271-6277.

[14] 高云云,杨海飞,吕虎杰,等.微生物组分析方法与功能挖掘[J].生物技术通报,2024,40(10):98-107.
GAO Y Y,YANG H F,LYU H J,et al.Analytical approaches and functional insights for microbiome studies[J].Biotechnology bulletin,2024,40(10):98-107.

[15] 张进强,唐鑫,郭兰萍,等.天麻连作障碍与土赤壳属真菌的关联分析及改善措施[J].中国中药杂志,2022,47(9):2296-2303.
ZHANG J Q,TANG X,GUO L P,et al.Correlation analysis between continuous cropping obstacle of *Gastrodia elata* and *Ilyonectria* fungi and relieving strategy[J].China journal of Chinese materia medica,2022,47(9):2296-2303.

[16] 袁青松,高彦平,郭兰萍,等.太子参枯萎病对土壤微生物组成和功能的影响[J].北方园艺,2024(23):73-82.
YUAN Q S,GAO Y P,GUO L P,et al.Effects of fusarium wilt on soil microbial structure and function of *Pseudostellaria heterophylla*[J].Northern horticulture,2024(23):73-82.

[17] 刘闰.芍药白粉菌与寄主及叶际微生物群落的互作关系分析[D].哈尔滨:东北林业大学,2022.
LIU R.Physiological response of the powdery mildew on *Paeonia lactiflora* Pall. and analysis on the interaction relationship of phyllosphere microbial community[D].Harbin:Northeast Forestry University,2022.

[18] 韦玉倩,马桂妹,刘剑金,等.拮抗烟草疫霉菌的趋化性内生细菌筛选及其对烟草黑胫病的防效[J].云南大学学报(自然科学版),2023,45(2):531-537.
WEI Y Q,MA G M,LIU J J,et al.Screening of chemotactic endophytic bacteria against *Phytophthora nicotianae* and their control effect on tobacco black shank[J].Journal of Yunnan university(natural science edition),2023,45(2):531-537.

[19] SMALLEY N E,TAIPALE S,MARCO P D,et al.Functional and genomic diversity of methylotrophic *Rhodocyclaceae*:description of *Methyloversatilis discipulorum* sp. nov.[J].International journal of systematic and evolutionary microbiology,2015,65:2227-2233.

[20] PANKRATOV T A,GROUZDEV D S,PATUTINA E O,et al.*Lichenibacterium ramalinae* gen. nov,sp. nov.,*Lichenibacterium minor* sp. nov.,the first endophytic,*beta*-carotene producing bacterial representatives from lichen thalli and the proposal of the new family *Lichenibacteriaceae* within the order *Rhizobiales*[J].Antonie van leeuwenhoek,2020,113:477-489.

[21] KACZMAREK M,PIOTROWSKA M J,FOUNTAINE J M,et al.Infection strategy of *Ramularia collo-cygni* and development of ramularia leaf spot on barley and alternative graminaceous hosts[J].Plant pathology,2017,66:45-55.

[22] ZHOU X,DONNELL K O,AOKI T,et al.Two novel *Fusarium* species that cause canker disease of prickly ash(*Zanthoxylum bungeanum*)in northern China form a novel clade with *Fusarium torreyae*[J].Mycologia,2016,108(4):668-81.

[23] 杜杰,雷平,张亮,等.短短芽孢杆菌TetR基因家族的鉴定及表达模式分析[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2022,48(3):282-288.
DU J,LEI P,ZHANG L,et al.Identification and expression analysis of TetR gene family of *Brevibacillus brevis*[J].Journal of Hunan agricultural university(natural sciences),2022,48(3):282-288.

[24] 刘苗姣,林素坤,刘蓉,等.解淀粉芽胞杆菌HN11结合烟渣有机肥对草莓根腐病的生防效应[J].中国生物防治学报,2025,41(1):143-155.
LIU M J,LIN S K,LIU R,et al.Biocontrol effects of *Bacillus amyloliquefaciens* HN11 in combination with tobacco waste organic fertilizers on strawberry root rot[J].Chinese journal of biological control,2025,41(1):143-155.

[25] 高秀琴.14-3-3蛋白PARylation调控稻瘟病菌致病性的分子机制研究[D].福州:福建农林大学,2024.
GAO X Q.PARylation of 14-3-3 proteins is required for the virulence of *Magnaporthe oryzae*[D].Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University,2024.

[26] SEYBOLD H,DEMETROWITSCH T J,HASSANI M A,et al.A fungal pathogen induces systemic susceptibility and systemic shifts in wheat metabolome and microbiome composition[J].Nature communications,2020,11(1):1910

[27] 吴之涛,常浩,李文学,等.一种玉米种子细菌性病原菌的鉴定及其防治药剂筛选[J].西北农业学报,2022,31(5):663-671.
WU Z T,CHANG H,LI W X,et al.Identification of aacterial pathogen of maize seeds and screening of its control agents[J].Acta agriculturae boreali-occidentalis Sinica,2022,31(5):663-671.

(责任编辑:刘玉香)