

中图分类号: S532; S435.32 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2024)01-0059-12
DOI: 10.19918/j.cnki.1672-3635.2024.01.009

土壤肥料

地质高背景区晚疫病马铃薯根际土壤细菌群落 对重金属胁迫的响应

刘芳¹, 刘鸿雁^{1,2*}, 王旭莲¹, 居贤杭¹, 李春燕¹, 赵群¹, 彭贵兰¹

(1. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 喀斯特地质资源与环境教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 探究地质高背景区重金属胁迫下晚疫病马铃薯根际土壤细菌群落变化及其影响因素, 对马铃薯安全生产具有重要意义。采集马铃薯(‘青薯9号’、‘威芋5号’和‘威芋3号’)健康植株和晚疫病发病植株根际土壤, 检测土壤pH、有机质和重金属含量, 用Illumina MiSeq高通量测序技术分析细菌群落; 采集马铃薯块茎, 测定重金属含量。试验区土壤Cd、Cr和Zn含量均值分别为2.14、170和220 mg/kg, Cd含量超过国家土壤质量标准风险管制值, Cr和Zn含量超筛选值。马铃薯块茎仅1个样品Cd含量为0.103 mg/kg, 超过国家食品安全限值标准。发病马铃薯根际土壤优势细菌门及其相对丰度主要为变形菌门(Proteobacteria)33.16%~39.09%、放线菌门(Actinobacteria)13.45%~17.11%; 优势菌属主要为鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)8.78%~12.30%、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)6.22%~7.61%, 发病植株优势菌相对丰度与健康植株存在差异。不同品种间细菌多样性与丰度不同, 马铃薯感染晚疫病后根际土壤细菌群落多样性升高, 细菌菌群丰度下降。主成分分析显示发病植株与健康植株细菌群落差异性贡献率为29.59%。冗余分析结果表明, 土壤重金属和pH显著影响土壤细菌群落组成和结构, 对优势菌群的影响尤为明显, 健康与发病植株间细菌群落的差异受土壤Pb、Cr胁迫的影响更大。因此, 地质高背景区重金属胁迫下马铃薯可实现安全生产, 染病马铃薯植株根际土壤细菌群落多样性降低, 丰富度上升, 土壤Pb、Cr通过改变根际土壤细菌群落有益菌类而影响晚疫病的发生和发展。

关键词: 喀斯特地质高背景区; 重金属; 马铃薯晚疫病; 土壤根际; 细菌群落

Response of Rhizosphere Bacterial Community of Potato Infected by Late Blight to Heavy Metal Stress in High Geological Background Area

LIU Fang¹, LIU Hongyan^{1,2*}, WANG Xulian¹, JU Xianhang¹, LI Chunyan¹, ZHAO Qun¹, PENG Guilan¹

(1. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China;

2. Key Laboratory of Karst Geological Resources and Environment, Ministry of Education, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: Exploring the changes in the bacterial community and its influencing factors in the rhizosphere soil of late blight-affected potatoes under heavy metal stress in a geologically high background area is crucial to guarantee the safety of potato production. Rhizosphere soil samples were collected from both healthy and late blight-diseased potato plants ('Qingshu 9', 'Weiyu 5' and 'Weiyu 3'). Subsequently, the soil pH, organic matter content and heavy metal

收稿日期: 2024-01-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(42067028); 贵州省科技计划项目(黔科合后补助[2020]3001)。

作者简介: 刘芳(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向为土壤重金属污染。

*通信作者(Corresponding author): 刘鸿雁, 博士, 教授, 研究方向为土壤环境与污染修复, E-mail: hylu@gzu.edu.cn。

concentrations were analyzed. The bacterial community was analyzed using Illumina MiSeq high-throughput sequencing, while the heavy metal content in the potato tubers was determined simultaneously. In the soil of the tested area, the mean concentrations of Cd, Cr and Zn were 2.14, 170 and 220 mg/kg, respectively. Cd levels exceeded the risk control threshold of the national soil quality standard, while Cr and Zn levels exceeded the screening values. Among the potato tuber samples, only one exhibited a Cd concentration of 0.103 mg/kg, exceeding the national food safety limit standard. The predominant bacterial phyla and their relative abundances in the rhizosphere soil of diseased potatoes were Proteobacteria (33.16%-39.09%) and Actinobacteria (13.45%-17.11%); the predominant bacteria were primarily *Sphingomonas* (8.78%-12.30%) and *Gemmatimonas* (6.22%-7.61%). The relative abundance of dominant bacteria differed in diseased plants compared to healthy plants, with variations observed among different plant varieties in terms of bacterial diversity and abundance. After potato late blight infection, there was an increase in the diversity of the bacterial community in the rhizosphere soil, while the abundance of the bacterial community decreased. Principal component analysis revealed that the contribution rate of bacterial community differences between diseased plants and healthy plants was 29.59%. The results of redundancy analysis indicated that soil heavy metals and pH had a significant impact on the composition and structure of the soil bacterial community, particularly on the dominant bacteria. The differences in the bacterial community between healthy and diseased plants were more influenced by soil stress from Pb and Cr. Therefore, potatoes could achieve safe production even under heavy metal stress in high geological background areas. In the rhizosphere soil of infected potato plants, the diversity of the bacterial community decreased while the richness increased. The occurrence and development of late blight were affected by soil Pb and Cr through alterations in the beneficial bacteria within the rhizosphere soil bacterial community.

Key Words: Karst geological high-background area; heavy metal; potato late blight; soil rhizosphere; bacterial community

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是茄科茄属一年生草本植物, 不仅是重要粮食作物, 还是重要经济作物^[1]。中国是全球最大马铃薯生产国, 贵州省种植面积和总产量均位居全国第二, 黔西北威宁县年种植面积在 10.24 万 hm^2 以上, 产量超 45.38 万 t。马铃薯晚疫病是由致病疫霉(*Phytophthora infestans*)引起的一类农作物病害, 致病疫霉具有易变性和快速进化的特点^[2]; 马铃薯生长发育中其块茎、叶、花蕾等均能感染晚疫病, 导致马铃薯生物量减少甚至绝产^[3]。世界马铃薯产区均有晚疫病发生, 中国西南地区属高发区域, 其中威宁县马铃薯晚疫病较为严重, 每年可造成约 10% 减产。黔西北是典型的喀斯特及玄武岩地质高背景区, 以镉(Cd)为主的土壤重金属背景值远高于全国平均值, 是全国农用地土壤重金属超标连片面积最大区域之一^[4], 有研究表明, 马铃薯生物可给性均与 Cd 污染浓度呈正相关, 食用 Cd 污染物

会危害人体健康^[5]。

根际微生物参与养分循环和有机质分解, 在根际微环境中发挥重要作用, 对植物抗逆性^[6-8]、生长发育及适应各种环境胁迫具有重要作用^[9]。研究表明, 染病后作物土壤根际微生物与健康植株有较大差异^[10], 且重金属与土壤微生物的数量和群落多样性密切相关^[11]。谢朝等^[12]通过盆栽试验证明当 Cd 浓度介于 10~100 mg/kg, 随 Cd 浓度增加, 马铃薯根部土壤微生物多样性相应减少。任益等^[13]研究地质高背景区马铃薯根际土壤真菌群落, 结果表明马铃薯晚疫病降低真菌多样性但提高其丰富度; 且 Cd 和 pH 是引起马铃薯根际真菌群落组成变化的环境因素之一。细菌在土壤中数量庞大, 利用植物根系释放的养分与植物建立共生关系。通过植物释放的多种化合物, 即根系分泌物作为细菌的食物来源, 对植物生长产生影响^[14,15]。研究表明^[16-20], 许多菌种如粘杆菌、芽孢

杆菌、假单胞杆菌、链霉菌, 均可在抵御外界环境因素影响时, 保护植物免受病害侵染, 且抑菌功效比真菌、放线菌更为有效, 在预防和降低马铃薯晚疫病等相关卵菌病害方面起重要作用。本试验选择在黔西北地质高背景区采集‘青薯9号’‘威芋5号’‘威芋3号’健康与发病马铃薯块茎及其根际土壤, 通过分析重金属含量及土壤微生物16S rRNA高通量测序结果, 研究地质高背景区重金属胁迫对马铃薯晚疫病发生与发展影响, 这对区域受污染耕地安全利用及保障农产品质量安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本试验于2020年在贵州省毕节市威宁县草海镇进行, 海拔2 150 m(图1), 调查当地主栽马铃薯品种晚疫病发病率分别为: ‘青薯9号’5%,

‘威芋5号’13%和‘威芋3号’21%。根际土壤样品采集时期为马铃薯块茎膨大期, 块茎样品采集期为成熟期。随机选取5株马铃薯植株, 用抖土法采集须根1 mm范围的根际土壤为一混合样, 编号为健康植株根际土壤: G1(‘青薯9号’)、G2(‘威芋5号’)、G3(‘威芋3号’), 晚疫病发病植株根际土壤: G4(‘青薯9号’)、G5(‘威芋5号’)、G6(‘威芋3号’), 每个样品5次重复。将土壤样品均匀混合后分两部分, 一部分放入无菌聚乙烯袋中并密封保存, 置于-20℃冰箱中冷藏, 用于微生物多样性测序分析; 另一部分经风干、磨细、过筛, 用于土壤重金属和基本理化性质测定。记录每个采样点经纬度, 在相同位置采集马铃薯块茎, 5株马铃薯为一个混合样, 每组样品5次重复, 将块茎放入牛皮纸袋, 进行15 min的105~110℃环境杀青处理。在70~90℃环境烘干至重量稳定, 待用于后续测试。

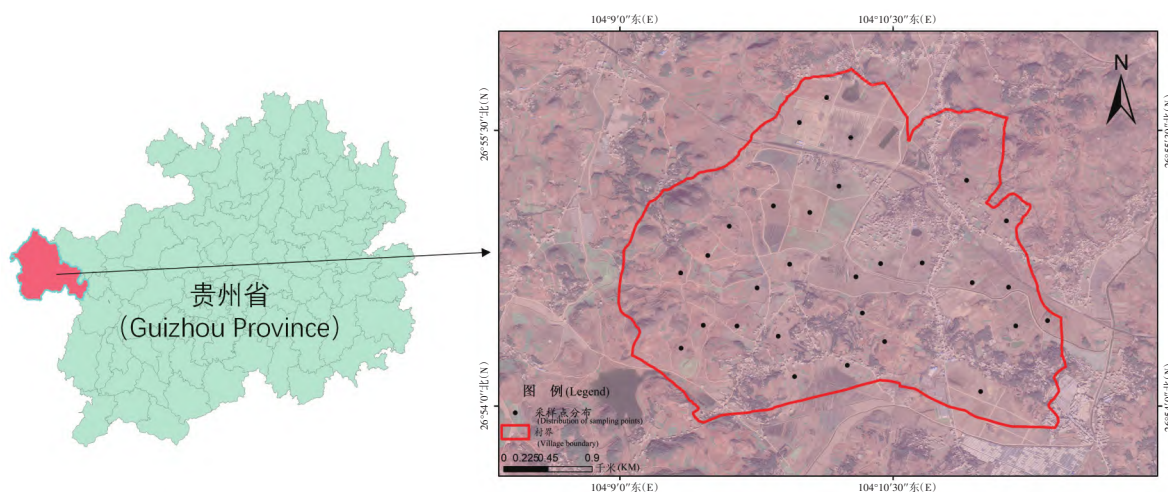


图1 采样点位示意图

Figure 1 Schematic diagram of sampling site

1.2 马铃薯块茎及土壤重金属的测定

称取0.3 g(精确至0.000 1 g)马铃薯块茎, 将样品加入6 mL HNO₃进行预处理, 再加入2 mL H₂O₂, 在高温下进行消化反应8 h, 以将植物中有机质分解为无机盐, 将消解液转移并过滤, 取10 mL稀释后的滤液使用电感耦合等离子体质谱仪(Inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-

MS)测定镉(Cd)含量^[21]。每批样品分析均采取质量控制措施, 包括使用空白样品和平行样品。

土壤中总镉(Cd)含量测定方法为: 使用HNO₃和HF对样品进行预处理, 加入HClO₄进行消解^[22], 将有机质分解为无机盐。将土壤提取液转化为离子状态, 并通过质谱仪的分析, 测定其中Cd含量。土壤pH使用电位法进行测定。土壤有

机质含量采用重铬酸钾氧化法进行测定^[23]。

1.3 土壤细菌群落总DNA提取、PCR扩增及高通量测序

通过采用美国MOBIO公司PowerSoil® DNA Isolation Kit试剂盒,从土壤样本中获取DNA,并将其存放在-20℃环境储存,后续进行PCR扩增。利用引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'),通过琼脂糖凝胶电泳技术扩增16S rRNA片段,经纯化处理后,样品高效分离。使用Illumina HiSeq测序技术可准确测序PCR扩增结果。

1.4 测序数据处理与分析

采用Illumina MiSeq 2500测序平台,利用FLASH v1.2.7软件和Trimmomatic v0.33软件,将多种不同的样本Raw tags信息组合,构建出系列拼接序列作原始Tags数据(Clean tags)。使用UCHIME v4.2软件,精确识别出嵌入序列,获取更加优秀的Tags信息,以达成较好结果。

对数据质控后,使用Usearch软件将Tags以97%高相关性进行聚合,形成完整OTU,利用Silva(细菌)分布式文本,为其做详尽分类解析。使用QIIME软件计算Alpha多样性指数和Beta多样性指数,计算Shannon指数、Simpson指数、Chao1指数、ACE指数等。为研究不同品种马铃薯根际土壤细菌群落结构差异,利用R语言中的Principal Coordinates Analysis(PCoA)进行分析;使用R语言中冗余分析(RDA)研究环境因子与细菌门水平群落结构之间相关性。通过这些分析,探索并解释不同生物多样性指数、样品之间的差异以及环境因子对细菌群落结构的影响。

土壤理化性质及重金属含量测定数据利用Microsoft Excel 2021软件进行统计处理,使用IBM SPSS Statistics 23.0软件进行方差检验分析。

2 结果与分析

2.1 地质高背景区土壤及马铃薯块茎重金属累积特征

试验区土壤pH在4.50~5.78间(表1),土壤酸化严重,有机质含量均值为31.6 g/kg,肥力中等。

土壤重金属含量均值为: Cd(2.14 mg/kg)、As(42.0 mg/kg)、Pb(59.2 mg/kg)、Cr(170 mg/kg)、Ni(72.2 mg/kg)、Zn(220 mg/kg),均高于贵州省土壤背景值,且Cd、Cr、Ni和Zn含量超过国家农用地土壤环境质量标准的风险筛选值,其中,Cd含量超过风险管制值。相对应的马铃薯块茎重金属含量(表2)均值分别为Cd(0.062 mg/kg)、As(0.003 mg/kg)、Pb(0.049 mg/kg)、Cr(0.081 mg/kg),均低于食品安全国家标准(GB 2762—2022)。仅G6中一个马铃薯块茎Cd含量为0.103 mg/kg,超过食品安全国家标准(Cd 0.1 mg/kg),超标率为6.67%,超标倍数在限值的2倍以内,为轻度超标,符合《“十四五”土壤、地下水和农村生态环境保护规划》中受污染耕地安全利用率达到93%的规定。在地质高背景区重金属污染土壤上可实现马铃薯安全生产。

2.2 马铃薯根际土壤细菌群落组成特征

2.2.1 马铃薯根际土壤细菌群落在门水平上的优势菌群及其相对丰度

从马铃薯根际土壤细菌群落在门水平上的相对丰度比例(图2)可知,在门水平上,晚疫病染病植株根际优势菌群及其相对丰度分别为变形菌门(Proteobacteria)33.16%~39.09%,放线菌门(Actinobacteria)13.45%~17.11%,酸杆菌门(Acidobacteria)11.97%~17.59%,芽单胞菌门(一类革兰氏阴性细菌)(Gemmatimonadetes)9.30%~12.05%和绿弯菌门(Chloroflexi)7.06%~9.92%。健康马铃薯根际优势细菌群落与染病植株基本一致,但在相对丰度上有所差异,染病后马铃薯根际细菌群落相对丰度增加的菌门有:酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和浮霉菌门(Planctomycetes)。酸杆菌门(Acidobacteria)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)分别增加1.18%~7.64%和1.59%~7.36%。相对丰度较小的疣微菌门(Verrucomicrobia)和浮霉菌门(Planctomycetes)在发病植株中均有增加,分别增加0.55%~2.05%和1.19%~1.64%。染病后马铃薯根际细菌群落相对丰度降低的菌门为放线菌门(Actinobacteria),其相对丰度降低幅度为10.07%~15.06%。

表1 试验区土壤重金属含量及评价

Table 1 Soil heavy metal content and evaluation in the tested area

项目 Item	青薯9号 (G1) Qingshu 9	青薯9号 (G4) Qingshu 9	威芋5号 (G2) Weiyu 5	威芋5号 (G5) Weiyu 5	威芋3号 (G3) Weiyu 3	威芋3号 (G6) Weiyu 3	贵州省背景值 ^[24] Background value of Guizhou Province	风险筛选值 Risk screening value	风险管制值 Risk control value
Cd(mg/kg)	2.67±0.22a	1.75±0.13d	2.29±0.22b	1.87±0.09cd	2.04±0.16bcd	2.20±0.46bc	0.695	0.3	1.5
As(mg/kg)	47.1±1.60b	42.9±1.86c	49.6±0.92a	41.7±1.49c	31.6±2.09e	38.7±0.74d	20	55	250
Pb(mg/kg)	51.3±1.94c	66.3±2.35a	46.8±1.13d	66.1±2.33a	57.0±6.74b	67.8±2.24a	35.2	70	400
Cr(mg/kg)	172±6.29b	200±13.6a	152±12.3c	182±10.0b	141±16.6c	172±7.14b	95.9	150	800
Ni(mg/kg)	89.0±4.91a	76.7±5.74b	82.4±6.51b	66.4±3.19c	57.1±4.97d	61.7±3.94cd	39.1	60	
Zn(mg/kg)	244±8.49a	225±10.8b	225±14.0b	220±7.73b	180±21.4c	223±11.0b	86.9	200	
Mn(mg/kg)	944±106a	527±64.7b	611±56.0b	537±74.1b	823±118a	814±197a			
pH	4.79±0.1cd	5.10±0.19bc	5.78±0.14a	4.50±0.12d	5.32±0.59b	4.94±0.33bc			
SOM(g/kg)	22.4±6.07c	33.8±7.79b	22.4±10.9c	31.5±0.88b	45.9±3.89a	34.5±4.00b			

注：误差值表示标准差。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)，多重比较采用新复极差法(Duncan's new multiple range test, MRT)。下同。

Note: The error value represents the standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$), as tested using Duncan's new multiple range test (MRT). The same below.

表2 试验区马铃薯块茎重金属含量及评价

Table 2 Potato tuber heavy metal content and evaluation in the tested area

项目 Item	Cd(mg/kg)	As(mg/kg)	Pb(mg/kg)	Cr(mg/kg)	Zn(mg/kg)
G1	0.061±0.001a	0.002±0.002c	0.010±0.014b	0.074±0.012b	0.171±0.011ab
G2	0.059±0.001a	0.002±0.002c	0.011±0.025b	0.081±0.008b	0.170±0.010ab
G3	0.068±0.023a	0.002±0.002c	0.061±0.082ab	0.053±0.030b	0.175±0.008a
G4	0.057±0.001a	0.003±0.001bc	0.127±0.020a	0.061±0.059b	0.171±0.014ab
G5	0.058±0.001a	0.005±0.001a	0.014±0.008b	0.054±0.054b	0.172±0.006ab
G6	0.068±0.032 a	0.004±0.001ab	0.070±0.053ab	0.162±0.076a	0.159±0.006b
食品安全国家标准(GB 2762—2022) National food safety standards	0.1	0.5	0.2	0.5	
超标率(%) Excessive rate	6.67	0	0	0	

注：G1、G2、G3分别表示‘青薯9号’‘威芋5号’‘威芋3号’马铃薯健康植株，G4、G5、G6分别对应其发病植株。下同。

Note: G1, G2 and G3 refer to the healthy potato plants of 'Qingshu 9', 'Weiyu 5' and 'Weiyu 3', respectively; and G4, G5 and G6 correspond to their diseased plants, respectively. The same below.

3个品种之间根际优势菌群及其丰度差异不明显(图2A)。“威芋5号”马铃薯其酸骨细菌门(Patescibacteria)晚疫病植株(7.85%)较正常植株(0.77%)的相对丰度增加7.08个百分点，但另外两品种植株中并未表现出该趋势。拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度在“威芋5号”晚疫病

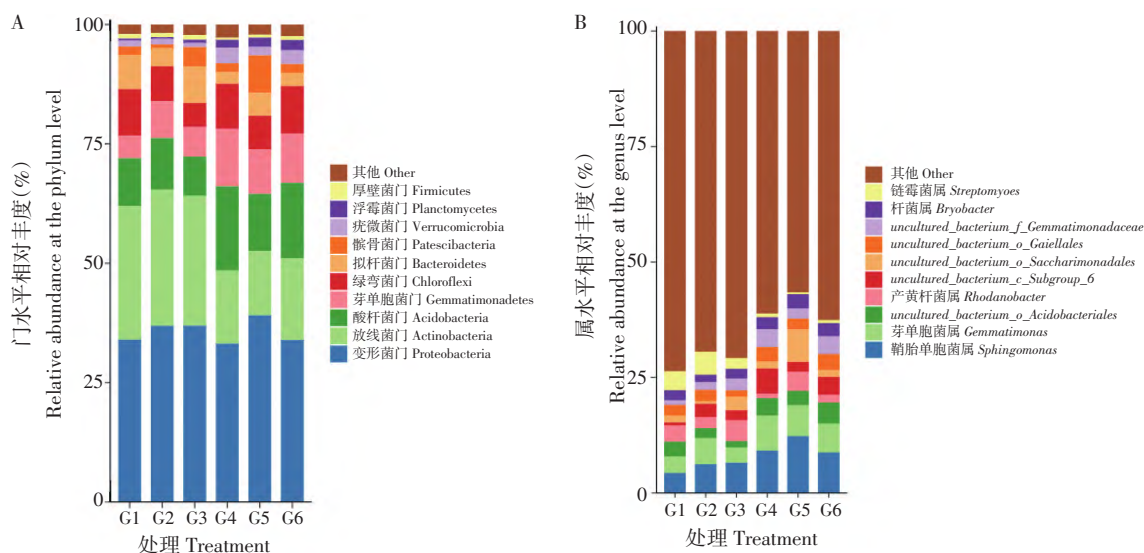
植株与健康植株间差异不明显，而在另两个马铃薯品种中，拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度均表现为发病植株(2.45%~2.68%)较健康植株(7.20%~7.65%)下降4.75~4.95个百分点。马铃薯品种不同，晚疫病对其微生物群落的影响也不同。

2.2.2 马铃薯根际土壤细菌群落在属水平上的优势菌群及其相对丰度

从马铃薯根际土壤细菌群落在属水平上的相对丰度(图2B)可见,晚疫病染病植株的优势菌属及其相对丰度分别为:鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*) 8.78%~12.30%,芽单胞菌属(*Gemmatimonas*) 6.22%~7.61%, *uncultured_bacterium_o_Acidobacterium* 3.05%~4.58%, *uncultured_bacterium_c_Subgroup_6* 2.09%~5.44%, *uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* 2.02%~3.87%和杆菌属(*Bryobacter*) 2.62%~3.10%。在健康植株根际细菌群落中相对丰度较低的*uncultured_bacterium_c_Subgroup_6*和*uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae*在其发病植株中分别增加1.95%、1.52%,芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)表现为马铃薯发病植株的相对丰度高于健康植株2.64%。而健康植株根际优势菌属的链霉菌属

(*Streptomyces*)与产黄杆菌属(*Rhodanobacter*)在发病植株中分别下降3.20%、1.23%。以上结果表明马铃薯感染晚疫病后,其细菌群落发生明显变化。

与健康植株相比,3个品种发病植株细菌属相对丰度趋于一致(图2B),鞘脂单胞菌属、芽单胞菌属、*uncultured_bacterium_o_Acidobacteriales*、*uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae*、杆菌属增加0.56%~6.10%,而*Streptomyces*相对丰度降低1.67%~4.60%。*uncultured_bacterium_c_Subgroup_6*与*uncultured_bacterium_o_Gaiellales*相对丰度在‘威芋5号’分别降低0.75%和0.13%,在‘青薯9号’与‘威芋3号’则增加1.76%~4.84%、0.81%~2.07%。‘威芋5号’产黄杆菌属(*Rhodanobacter*)相对丰度增加1.76%,‘青薯9号’与‘威芋3号’相对丰度降低2.56%~2.89%。由此表明马铃薯品种不同,微生物细菌组成相对丰度不同。



注: A. 门水平; B. 属水平。G1、G2、G3分别表示‘青薯9号’‘威芋5号’‘威芋3号’马铃薯健康植株, G4、G5、G6分别对应其发病植株。下同。

Note: A. Phylum; B. Genus. G1, G2 and G3 refer to the healthy potato plants of 'Qingshu 9', 'Weiyu 5' and 'Weiyu 3', respectively, and G4, G5 and G6 correspond to their diseased plants, respectively. The same below.

图2 不同品种马铃薯晚疫病与健康植株根际细菌相对丰度

Figure 2 Relative abundance of diseased and healthy potato plant root bacteria of different varieties

2.3 马铃薯根际土壤细菌多样性分析

2.3.1 细菌基因序列与 Alpha 多样性分析

经16S序列测定,共获得2 352 936对双端序列,其中有2 113 297条序列是有效序列数

(Effective tags)。随着测序量不断提升,物种数量稳步上升,表明测序精细程度达到预期水平。此外, DNA 文库覆盖面积超过99%,表明测序结果可准确反应样本细菌群落结构和多样性(图3A)。

晚疫病对马铃薯根际土壤细菌的物种组成和均匀度产生影响,相较于健康植株土壤,晚疫病马铃薯根际土壤中的细菌物种更多。根际土壤的微生物多样性表现为曲线更宽、更平坦(图3B),表明染病植株根际土壤细菌组成更为丰富且均匀。在健康马铃薯根际土壤中,微生物组成和均匀

度排序为‘威芋3号’>‘威芋5号’>‘青薯9号’;而在染病马铃薯根际土壤中,微生物组成和均匀度排序为‘青薯9号’>‘威芋3号’>‘威芋5号’。晚疫病的发生使这3个品种的马铃薯根际土壤细菌组成和均匀度提高,其中‘青薯9号’根际土壤细菌丰富度增加明显。

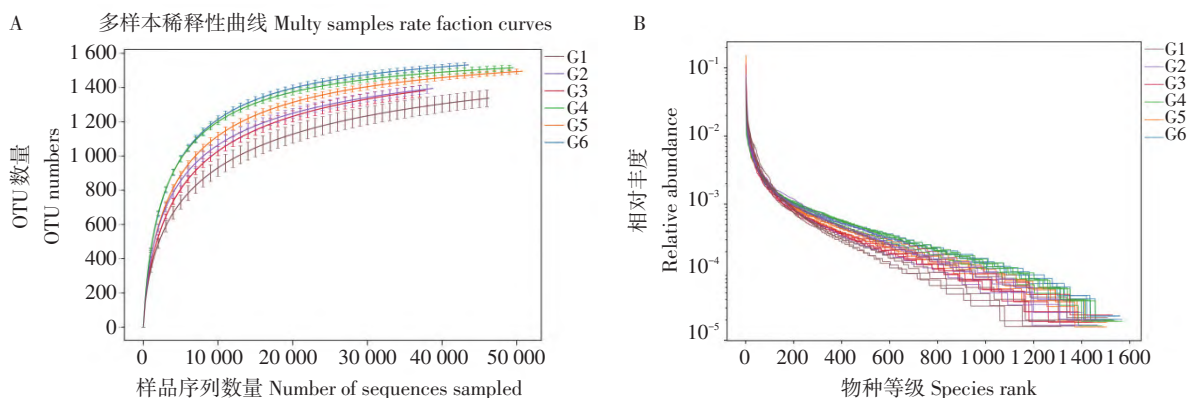


图3 土壤细菌稀释曲线(a)与土壤细菌等级丰度(b)

Figure 3 Dilution curve of soil bacteria (a) and soil bacterial grade abundance (b)

Alpha (α) 可用来衡量样本中物种的丰富程度, Chao1 和 ACE 可用来评估样本中菌群数量, Simpson 和 Shannon 指数可用来表征样本中菌群多样性和分布情况。由马铃薯晚疫病植株根际细菌丰富度指数和多样性指数可知(图4), 根际细菌 ACE 指数和 Chao1 指数在‘威芋3号’发病植株(1 598.77、1 619.52)最高, 且显著高于健康植株(1 524.92、1 549.28), 另外两个品种虽然都表现为发病植株的 ACE 指数和 Chao1 指数高于健康植株, 但未达显著性差异($P>0.05$), 马铃薯晚疫病显著增加‘威芋3号’品种根际细菌菌群丰富度(图4A)。根际细菌 Simpson 指数在‘青薯9号’发病植株(0.008 6)最小, 但与其健康植株间并未达显著性差异($P>0.05$), 而‘威芋5号’发病植株(0.017 0) Simpson 指数显著高于健康植株(0.009 8), 马铃薯晚疫病显著降低‘威芋5号’根际细菌多样性。就 Shannon 指数来说, ‘青薯9号’以及‘威芋3号’都表现为发病植株(6.15、6.09)显著高于健康植株(5.58、5.55), 马铃薯晚疫病显著增加‘青薯9号’‘威芋3号’根际细菌群落多样性(图4B)。

2.3.2 细菌群落 Beta 多样性分析

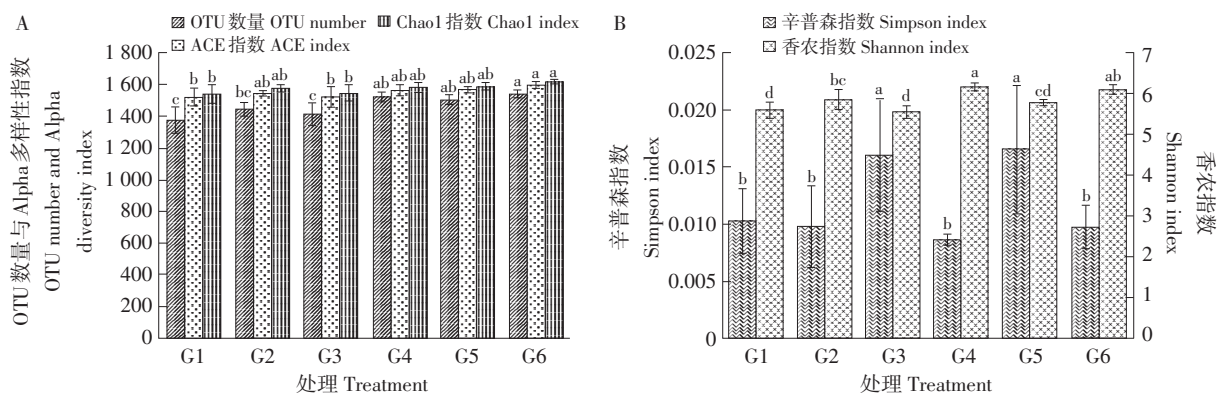
通过主坐标分析研究马铃薯晚疫病发病植株根际与健康植株根际细菌群落之间差异性(图5)。第一主坐标揭示了样本间 29.59% 的差异并将马铃薯晚疫病植株根际与健康植株根际区分, 同时马铃薯晚疫病不同品种间根际细菌群落变异程度较马铃薯健康植株变异程度更小。第二主坐标揭示了样本间 23.88% 的差异并分别将马铃薯晚疫病植株与健康植株条件下的不同品种分开。马铃薯健康植株‘威芋5号’与‘威芋3号’之间根际细菌群落组成较‘威芋5号’与‘青薯9号’之间更相似, 差异更小。而马铃薯发病植株中‘威芋5号’与‘威芋3号’‘青薯9号’总体上被区分, ‘威芋3号’与‘青薯9号’根际细菌群落组成相似。综上, 马铃薯晚疫病严重影响品种间根际微生物细菌群落组成。

2.4 环境因子对马铃薯根际细菌群落影响分析

利用冗余分析(RDA)进一步解析重金属胁迫下马铃薯根际土壤细菌群落的组成与结构特征和环境因子之间的关系。由马铃薯根际细菌群落与

环境因子冗余分析解释度(表3)可知,不同品种马铃薯根际土壤细菌的丰度与根际土壤中除有机质 SOM($P=0.070\ 0$)外的环境因子均具有显著相关性($P<0.05$)。土壤重金属含量及理化性质为环境变量,细菌属为物种信息,RDA分析结果显示(图6A),环境因子对马铃薯根际土壤细菌群落结构的前两个排序轴分别解释了总变异的30.59%和20.39%,土壤重金属及理化性质均与细菌群落之间存在相关性。对马铃薯根际土壤细菌群落结构造成影响的主要环境因子及其解释度分别为Pb(79.69%)、Cr(60.79%)和Zn(56.16%),其次是pH、Cd和Ni。马铃薯健康植株根际土壤细菌群

落在抗性高的‘青薯9号’与抗性中等的‘威芋5号’中主要受Cd影响,而抗性低的‘威芋3号’与pH呈正相关,但染病植株根际土壤细菌中,3个品种均主要受Pr、Cr影响。如图6B所示,鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)与Pb、Cr呈显著正相关,*uncultured_bacterium_o_Acidobacterium*、*uncultured_bacterium_o_Gaiellales*、杆菌属(*Bryobacter*)与Cr、Zn呈显著正相关。总体来看,不同品种马铃薯根际细菌群落组成和结构受环境因素的影响较大,土壤酸度大,重金属Pb、Cr含量高导致根际细菌有益菌群减少,有害菌群增加,导致‘威芋3号’发病率高。



注:不同字母表示不同马铃薯处理间根际土壤细菌 α 多样性指数差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters indicate significant differences among Alpha diversity index of rhizosphere soil bacteria of different potato treatments ($P<0.05$).

图4 马铃薯根际细菌Alpha(α)多样性指数统计

Figure 4 Statistical analysis of Alpha (α) diversity index of potato rhizosphere bacteria

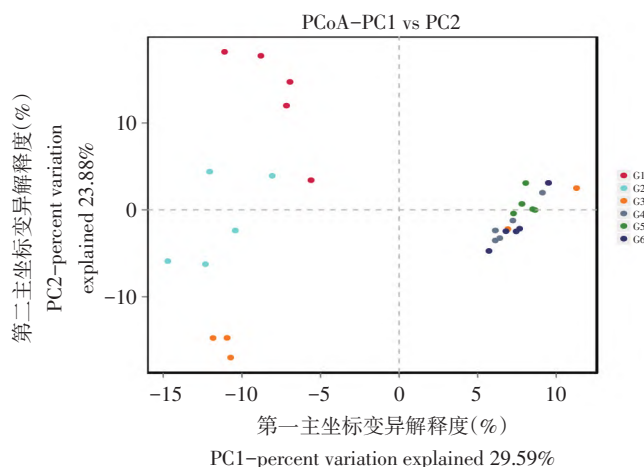


图5 不同品种马铃薯根际土壤OTU水平主成分分析

Figure 5 Principal component analysis of OTU level in rhizosphere soil of different potato varieties

表3 不同品种马铃薯根际细菌群落组成与环境因子冗余分析解释度

Table 3 Interpretation of redundancy analysis of rhizosphere bacterial community composition and environmental factors in different potato varieties

变量 Variable	总解释度(%) Total interpretation	P值 P value
Pb	79.69	0.000 5
Cr	60.79	0.000 5
Zn	56.16	0.000 5
Cd	38.30	0.002 0
Ni	34.73	0.004 5
Fe	25.89	0.019 5
As	25.13	0.022 0
Mn	20.98	0.045 0
pH	49.87	0.000 5
SOM	18.08	0.070 0

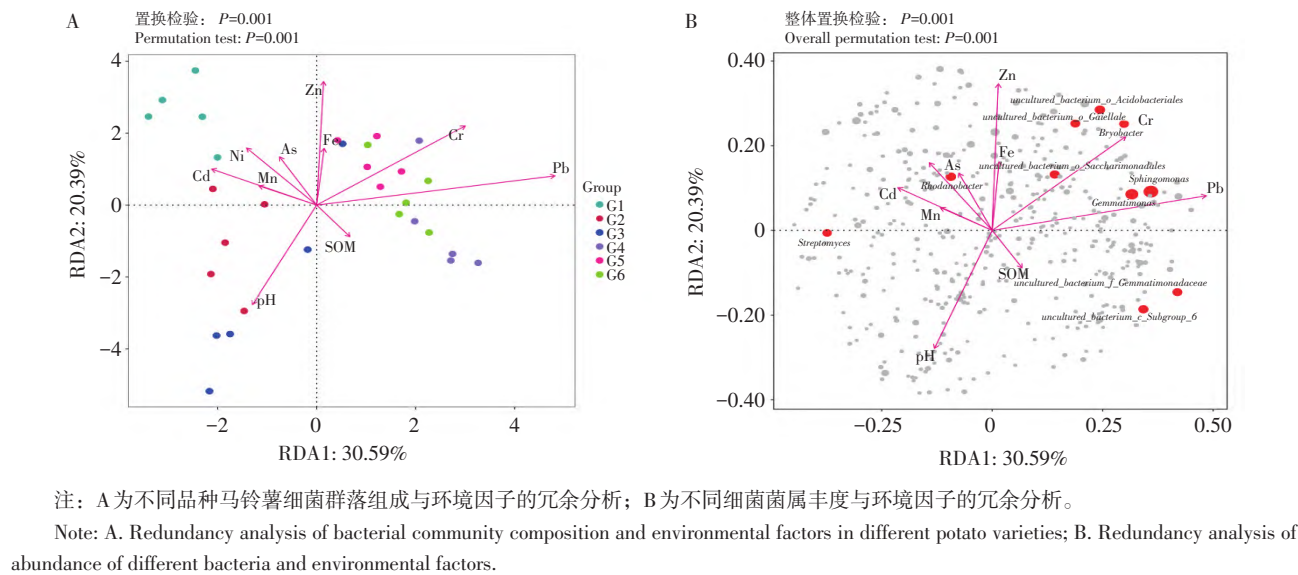


图6 不同细菌群落与环境因子的冗余(RDA)分析

Figure 6 Redundancy analysis (RDA) of different bacterial communities and environmental factors

3 讨论

3.1 宿主基因型对马铃薯根际土壤细菌群落及晚疫病发生影响

植物根际微生物群落组成的决定因素是宿主区室、环境因素和宿主基因型^[25]。有研究表明,植物基因型是影响植物抗病性重要因素之一^[26],且同一物种不同基因型作物根际土壤微生物群落

结构有一定差异^[27]。根据颜朗等^[28]研究,凉山地区各基因型马铃薯中菌类大多呈现相似特征,以变形菌、酸球菌、放线菌和芽孢杆菌相对丰度为高。但属水平上丰度区别较为明显,‘青薯9号’和‘米拉’优势菌属为芽单胞菌属,而鞘藻属是‘乌洋芋’和‘牛角洋芋’优势菌属,引起变化的原因可能与根际分泌物有关。前人对不同抗病性甜菜品种研究表明^[29],根际土壤细菌群落多样具有显著

差异性, 抗病性低和发病的植株根际周围聚集更多有害细菌。在棉花中, 感病品种黄萎病的发生程度与土壤中病原菌数量呈正相关^[30]。水稻中抗条斑病品种‘CG2’的根际土壤细菌数量和种类与感病品种相比, 细菌群落结构多样性更为丰富^[31]。本研究通过 16S rRNA 高通量测序研究在重金属污染土壤中, 不同晚疫病抗性马铃薯根际微生物群落的多样性和结构变化, 在细菌群落组成上, 不同抗病性品种马铃薯健株和病株根际土壤细菌类群组成相似, 但马铃薯发生晚疫病后根际细菌群落组成及多样性变化存在显著的品种差异。抗病性高的‘青薯9号’与抗病性中等的‘威芋5号’发病植株有益菌属鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)相对丰度高于抗病性弱的‘威芋3号’。‘威芋5号’晚疫病植株拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、产黄杆菌属(*Rhodanobacter*)的相对丰度高于健康植株, 而在另外两个马铃薯品种中, 均表现为发病植株较健康植株明显下降, 说明宿主基因型不同导致作物根际土壤细菌群落组成有细微差别, 但不是引起晚疫病发生发展的主要因素。

3.2 晚疫病对马铃薯根际土壤细菌群落组成及多样性影响

李华伟等^[3]研究发现受晚疫病侵袭的马铃薯植株, 其根部土壤细菌多样性明显低于未受影响植株, 这表明随着晚疫病发展, 该区域土壤环境也会受到严重影响, 导致该区域细菌多样性大幅降低。杨尚东等^[32]观察番茄感染青枯病后, 发现受影响的根部土壤微生物组成比正常的更加复杂, 其中细菌、真菌以及放线菌数量均明显增加。推测这一病害发生可能是发病番茄根部土壤微生物组成发生明显变化。健康植株根际土壤中细菌的种群水平高于发病植株根际土壤, 在茄科作物番茄^[33,34]及非茄科作物黄瓜^[35]中也一样。本研究结果表明, 马铃薯健康植株与发病植株根际土壤细菌群落结构组成无明显差异, 晚疫病马铃薯根际土壤细菌优势菌门主要是芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*), 鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽

单胞属(*Gemmatimonas*)为晚疫病马铃薯根际细菌的优势菌属。发病马铃薯群落多样性低于健康马铃薯, 表明晚疫病导致根际土壤微生物多样性发生变化, 且对土壤细菌多样性呈显著影响, 均与前人研究结果具有一致性。本研究发病马铃薯根际土壤细菌群落 ACE、Shannon 和 Chao1 指数均高于健康植株, 同时细菌群落丰富度也高于健康植株, 但有益菌属链霉菌(*Streptomyces*)相对丰度在健康植株根际土壤中大于发病植株, 显著提高马铃薯对晚疫病抗性。

3.3 环境因子对晚疫病马铃薯根际土壤细菌群落组成影响

已有研究表明植物根际土壤细菌作为植物-土壤生态系统重要组成, 对重金属污染有指示作用, 其特点有新陈代谢迅速、群落结构变化复杂等^[36,37]; 且在一定含量范围内重金属胁迫促进植物根系分泌^[38,39]。本研究通过对微生物组成与环境因子冗余相关分析得到, Pb、Cr、Zn 和 pH 是影响根际细菌群落组成的主要环境因子。马铃薯染病植株根际土壤细菌结构组成相似, 3 个品种均受 Pr、Cr 影响, 说明在地质高背景区, 不同品种晚疫病马铃薯群落组成差异不大。有学者对马铃薯细菌群落的起源进行研究, 结果表明马铃薯块茎细菌群落主要来源于土壤, 与品种关系不大^[40]。有研究表明, 对不同马铃薯根际细菌群落探讨时, 将同一栽培品种生长在两个不同的时间和地块中, 田间效应高于品种效应^[41]; 不同品种马铃薯根际细菌群落结构组成, 主要取决于土壤类型^[42]。在 Pb 和 Cr 胁迫下, 鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)和芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)丰度增高, 抗逆性增强。王继玥等^[43]研究在 Pb(600 mg/kg)污染情况下, 细菌多样性最高, 且鞘脂单胞菌属为优势菌属, 表明作物根际细菌群落对不同 Pb 含量适应性不同。在 Cr 胁迫下, 白雪^[44]等研究发现厚壁菌门中的芽孢杆菌属(*Bacillus*)、放线菌门中的链霉菌属(*Streptomyces*), 具备较强的耐受 Cr 能力, 同时可还原 Cr(VI)以减轻 Cr 的毒性作用。因此 Cr 抑制了较为敏感细菌的生长且耐性较强的菌群得以富集。谷子根际土壤中细菌群落的组成结构与多样

性发生显著变化,这可能与植物根际细菌对Cr的响应有关。杨芬^[45]对江桑树圃土壤细菌研究表明,Zn为100和1 000 mg/kg处理2个月的样品相似度高于0.6,得出锌浓度是影响土壤微生物群落结构的主要环境因子之一,这与本研究一致。除重金属Pb、Cr和Zn外,土壤pH也是影响细菌群落丰度的重要环境因子,强酸环境下优势菌落丰度显著下降。

综上,马铃薯感染晚疫病后根际土壤细菌群落多样性降低,但细菌菌群丰度上升,优势菌链霉菌属(*Streptomyces*)丰度较健康植株急剧降低,植株抗病能力下降。在土壤Pb、Cr胁迫下,马铃薯根际土壤细菌群落中优势菌鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)丰度增加,表现出感染晚疫病后抗性增强的趋势。地质高背景区,重金属Pb、Cr显著影响根际土壤细菌群落的结构和组成,降低植株的抗病性,是诱发晚疫病的重要原因。

[参 考 文 献]

- [1] Joshi M, Fogelman E, Belausov E, *et al.* Potato root system development and factors that determine its architecture [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 205: 113–123.
- [2] 王艳平, 谢婉莹, 陈佳, 等. 马铃薯晚疫病综合防治措施 [J]. *中国马铃薯*, 2023, 37(2): 158–166.
- [3] 李华伟, 罗文彬, 许国春, 等. 基于高通量测序的福建北部马铃薯晚疫病株根际土壤细菌群落分析 [J]. *微生物学通报*, 2022, 49(3): 13.
- [4] 简槐良, 刘鸿雁, 梅雪, 等. 地质高背景区外源污染叠加条件下大白菜对Cd、Pb、Zn累积途径探究 [J]. *环境科学*, 2023, 44(8): 4448–4457.
- [5] 张洁, 刘克, 何雪, 等. 不同土壤镉污染下马铃薯的生物可给性及其对人体的健康风险评价 [J]. *中国马铃薯*, 2021, 35(6): 544–553.
- [6] Zhang L, Zhang J, Wei Y, *et al.* Microbiome-wide association studies reveal correlations between the structure and metabolism of the rhizosphere microbiome and disease resistance in cassava [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(4): 689–701.
- [7] Hou S, Thiergart T, Vannier N, *et al.* A microbiota-root-shoot circuit favours *Arabidopsis* growth over defence under suboptimal light [J]. *Nature Plants*, 2021, 7(8): 1078–1092.
- [8] 王莉莉, 殷丛培, 李峰, 等. 马铃薯根际土壤细菌群落结构及其对于旱胁迫的响应 [J]. *中国农业科技导报*, 2022, 24(6): 58–69.
- [9] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellín C, *et al.* Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(8): E911–E920.
- [10] Yang H, Li J, Xiao Y, *et al.* An integrated insight into the relationship between soil microbial community and tobacco bacterial wilt disease [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2179.
- [11] Jiva J, Giridhar R, Anas A, *et al.* Heavy metal pollution exerts reduction/adaptation in the diversity and enzyme expression profile of heterotrophic bacteria in Cochin estuary, India [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(10): 2775–2780.
- [12] 谢朝, 付天岭, 何腾兵, 等. Cd胁迫对马铃薯根际土壤细菌群落组成及多样性的影响 [J]. *河南农业科学*, 2020, 49(6): 48–58.
- [13] 任益, 刘鸿雁, 吴龙华, 等. 黔西北土壤重金属高背景区晚疫病马铃薯根际土壤真菌群落特征 [J]. *生态学杂志*, 2023, 42(9): 2148–2155.
- [14] Hunziker L, Bönisch D, Groenhagen U, *et al.* *Pseudomonas* strains naturally associated with potato plants produce volatiles with high potential for inhibition of *Phytophthora infestans* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(3): 821–830.
- [15] Marschner H. Plant-soil relationships: Acquisition of mineral nutrients by roots from soils [J]. *Plant growth*, 1991(43): 125–155.
- [16] 武志华, 郭维维, 董晔, 等. 抗马铃薯晚疫病菌的粘细菌菌株X6-II-1的分离鉴定、拮抗活性及发酵条件的优化 [J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(9): 1467–1479.
- [17] 武志华, 赵璞钰, 丁一秀, 等. 致病疫霉拮抗菌株B25-I-3的鉴定及其次级代谢产物 [J]. *微生物学通报*, 2020, 47(11): 3586–3599.
- [18] Van Der Voort M, Meijer H J G, Schmidt Y, *et al.* Genome mining and metabolic profiling of the rhizosphere bacterium *Pseudomonas* sp. SH-C52 for antimicrobial compounds [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 693.
- [19] Caulier S, Gillis A, Colau G, *et al.* Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against

- Phytophthora infestans* and other potato pathogens [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 143.
- [20] 田甲佳, 刘良燕. 马铃薯主要真菌病害及防治方法研究进展 [J]. 中国马铃薯, 2021, 35(5): 444–455.
- [21] 徐悦. ICP-MS法测定连云港市区农田土壤中六种重金属元素试验初报 [J]. 南方农业, 2019, 13(18): 189–190.
- [22] 王旭莲, 刘鸿雁, 周显勇, 等. 地质高背景区马铃薯安全生产的土壤镉风险阈值 [J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 355–363.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [24] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 329–493.
- [25] Lebeis S L, Paredes S H, Lundberg D S, *et al.* Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa [J]. *Science*, 2015, 349(6250): 860–864.
- [26] Berendsen R L, Vismans G, Yu K, *et al.* Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium [J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(6): 1496–1507.
- [27] Rout M E, Southworth D. The root microbiome influences scales from molecules to ecosystems: the unseen majority [J]. *American Journal of Botany*, 2013, 100(9): 1689–1691.
- [28] 颜朗, 张义正, 方志荣, 等. 不同马铃薯基因型对根际细菌群落结构的影响 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57(2): 383–390.
- [29] 刘洪, 董元华, 隋跃宇, 等. 甜菜抗病品种产生抗性的土壤微生物机理 [J]. 中国农学通报, 2021, 37(15): 78–86.
- [30] 赵卫松, 郭庆港, 李社增, 等. 花铃期棉花黄萎病抗病与感病品种对土壤细菌群落结构的影响 [J]. 中国农业科学, 2020, 53(5): 942–954.
- [31] 杨俊, 王星, 付丽娜, 等. 水稻条斑病抗感品种根际微生物群落结构和功能分析 [J]. 生态科学, 2019, 38(1): 17–25.
- [32] 杨尚东, 赵久成, 郭伊娟, 等. 番茄青枯病患病植株和健康植株根际土壤细菌群落结构的初步分析 [J]. 中国蔬菜, 2014(8): 25–29.
- [33] Manikandan R, Karthikeyan G, Raguchander T. Soil proteomics for exploitation of microbial diversity in *Fusarium* wilt infected and healthy rhizosphere soils of tomato [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2017, 100: 185–193.
- [34] 汪涛. 茄科砧木根际菌群移植对番茄青枯病及根际微生物区系的影响研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [35] 崔凯. 甲基硫菌灵及其代谢物多菌灵防控黄瓜枯萎病发生的根际微生物效应 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- [36] Yu Z Q. Microbial remediation of heavy metal (loid) contaminated soil: a review [J]. *Agricultural Science and Technology*, 2016, 17(1): 85–91.
- [37] 李小林, 颜森, 张小平, 等. 铅锌矿区重金属污染对微生物数量及放线菌群落结构的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(3): 468–475.
- [38] 刁展. 外源重金属对不同类型土壤养分及微生物活性的影响 [D]. 陕西: 西北农林科技大学, 2016.
- [39] 胡永浩, 段星星, 夏昭德, 等. 玉米根际土壤细菌群落对不同程度镉污染的响应: 以甘肃省白银市四龙镇地区为例 [J]. 现代地质, 2023, 37(3): 758–766.
- [40] Buchholz F, Antonielli L, Kosti T, *et al.* The bacterial community in potato is recruited from soil and partly inherited across generations [J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(11): e0223691.
- [41] Rasche F, Verania Hödl, Poll C, *et al.* Rhizosphere bacteria affected by transgenic potatoes with antibacterial activities compared with the effects of soil, wild-type potatoes, vegetation stage and pathogen exposure [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010(2): 219–235.
- [42] İnceoğlu O, Salles J F, Elsas J D V. Soil and cultivar type shape the bacterial community in the potato rhizosphere [J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2): 460–470.
- [43] 王继玥, 刘燕, 刘勇, 等. 基于高通量测序检测Pb污染对三叶草根际土壤细菌多样性的影响 [J]. 环境科学研究, 2018, 31(1): 102–110.
- [44] 白雪, 李玉靖, 景秀清, 等. 谷子及其根际土壤微生物群落对铬胁迫的响应机制 [J]. 植物生态学报, 2023, 47(3): 418–433.
- [45] 杨芬. 锌对土壤菌群及抗生素抗性水平转移有关基因的影响 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2017.