

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.02.028

不同马铃薯基因型对根际细菌群落结构的影响

颜 朗¹, 张义正², 方志荣¹, 清 源¹, 黄 莓¹, 赖先军¹

(1. 西昌学院农业科学学院, 四川马铃薯高等学校重点实验室, 西昌 615000;

2. 四川大学生命科学学院 四川省分子生物学及生物技术重点实验室, 成都 610064)

摘 要: 本研究旨在从根际细菌群落结构的角度阐述不同马铃薯基因型对根际细菌菌群的影响,探讨高山地方种根际细菌菌群特性,挖掘可能对地方种定殖起关键作用的细菌类型. 本研究通过高通量测序数据对不同马铃薯基因型根际细菌 16S rRNA 基因进行操作分类单位(OTU)聚类,分析样品间细菌群落的多样性特征,并通过 OTU 丰度差异分析揭示引起基因型效应的根际细菌类型. 测序结果经质量控制,共获得 3 097 269 条高质量序列(Clean tags)并依据 97%的序列相似性聚类到 1 565 个有效 OTUs,品种间 OTU 种类相差不大. 群落多样性反映高山地方种乌洋芋和牛角芋根际细菌群落较其他基因型存在着显著差异. 乌洋芋和主栽品种米拉间 OTU 丰度分析表明乌洋芋中 55 个 OTU 丰度上调,143 个丰度下调,差异显著. 本研究表明,马铃薯根际细菌群落多样性受马铃薯基因型因素的影响,高山地方种相较于自育种和主栽种其根际细菌群落结构表现出显著的差异.

关键词: 马铃薯; 根际微生物; 群落多样性; 高通量测序; 高山地方种

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2020)02-0383-08

Effects of potato genotype on rhizosphere bacterial community structure

YAN Lang¹, ZHANG Yi-Zheng², FANG Zhi-Rong¹, QING Yuan¹, HUANG Mei¹, LAI Xian-Jun¹

1. College of Agriculture Science, Xichang College, Sichuan Key Laboratory of Potatoes, Xichang 615000, China;

2. Sichuan Key Laboratory of Molecular Biology & Biotechnology,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China

Abstract: This study aims to elucidate the effects of different potato genotypes on rhizosphere microbial communities from the perspective of rhizosphere bacterial community structure, and to explore the characteristics of rhizosphere bacterial communities in high-altitude landraces and to identify the bacterial category playing an important role in colonization. The high-throughput sequencing of rhizosphere bacterial 16S rRNA genes was used to cluster the operational taxonomic units (OTUs) and the diversity characteristics of bacterial communities. We also used differential analysis of the abundance of OTU to identify the category of rhizosphere microorganism related to the genotypic effect. The sequencing results were quality controlled, and a total of 3 097 269 clean tags were obtained and clustered to 1 565 effective OTUs based on 97% sequence similarity. Overall, the bacterial category across different cultivars was almost the same, while the high-altitude landraces Purple potatoes and Horn potatoes showed a significant difference in the diversity of the rhizosphere microbial community. The abundance of OTU analysis

收稿日期: 2019-05-22
基金项目: 四川省科技厅应用基础项目(2019YJ0546); 四川省教育厅重大培育项目(50160001); 西昌学院高层次人才引进科研启动项目(50180108,50190005); 西昌学院博士启动基金(2017BS12)
作者简介: 颜朗(1988-), 女, 副教授, 博士, 研究方向:微生物组学. E-mail: langyan0807@hotmail.com
通讯作者: 赖先军. E-mail: laixianj@hotmail.com

between purple potatoes and the main variety Mira showed that the abundance of 55 OTUs in purple potatoes was significantly up-regulated and 143 was down-regulated. This study demonstrated that the diversity of potato rhizosphere bacterial community was affected by potato genotype factors, and the rhizosphere bacterial community structure of alpine landraces showed significant differences compared with local-breeding and main varieties.

Keywords: Potato; Rhizosphere microbe; Community diversity; High-throughput sequencing; Alpine landraces

1 引言

植物依赖其根系和土壤微生物之间有益的相互作用来促进其营养吸收,根际是土壤-植物生态系统物质交换的活跃界面,根际微生物对促进作物生长、减少病原微生物侵害以及维持根际微生态平衡等具有重要作用^[1]. 根际微生物组被认为是植物的“第二基因组”,研究估算约有 $10^6 \sim 10^9$ cells/cm² 的微生物群落定殖^[2]. 特定的生态环境和植物类型条件下根际土壤中微生物群落结构差异使植物表现出特定的根际效应(Rhizosphere effect),根际效应直接影响着根际微生物的营养选择和富集^[3]. 在自然条件下,植物及多种生态因子复杂的多变性,使得不同植物甚至是同一物种的不同基因型间对根际微生物群落结构也有着不同的影响^[4]. 根际微生物组主要由植物体外部土壤中的微生物组合而成^[5]. 根据植物根际和内生微生物组的组成,已有研究提出植物可以分为两步组装它们的微生物组,第一步是将根系附近微生物召集到根表面区域,第二步才是进入根内部,这涉及到物种特异性的遗传因素. 虽然该模型尚未通过详细的动态研究获得直接的数据支持,但研究认为这是一个貌似有理的假设^[6]. 然而,我们至今对植物和土壤之间的关键屏障,也就是根际微生物的群落结构及其定殖因素仍然知之甚少,并且大多数作物中根际微生物的组成以及影响因素也都是未知的.

高通量测序方法提供了根际微生物组的最新研究手段,最近越来越多的研究使用高通量测序来对不同植物(包括拟南芥、水稻和玉米)的细菌组提出了新的认识^[7-9]. 通过测序产生高覆盖深度的 16S rRNA 基因的测序数据,用以估计细菌群落的物种构成及其丰度,能够更加真实的揭示原位环境中细菌群落的多样性和复杂性,这些研究为探索植物微生物组的组成和结构以及影响它们的因素开辟了新的途径^[10]. 然而,这些研究仍处于初始阶段,迄今为止,不同基因型作物品种对根际微生物

活性及群落组成的作用研究甚少并且几个关键问题尚未得到解决,如作物基因型影响根际微生物群落的主要机制尚未知晓,基因型对根际微生物的影响是否与根系分泌物有关等问题值得研究.

马铃薯是四川凉山州广大彝区世代相传的主食作物,也是我国西南贫困山区脱贫致富的优势作物. 随着栽培面积的不断扩大和高效栽培发展的滞后,马铃薯逐渐遭遇幼苗生长发育不良、产量降低、畸形薯比例增高、病虫害严重等问题. 土壤中微生物种群变化直接或间接影响着土壤养分的吸收和转化,根际微生物种群结构的失衡是导致土壤质量下降、马铃薯等作物减产和病害发生的主要原因. 本文以马铃薯为研究对象,通过对不同马铃薯品种根际细菌 16S rRNA 基因的深度测序检测了超过 250 000 个操作分类单位(OTU),旨在揭示不同马铃薯基因型对根际细菌定殖的影响,以进一步探究马铃薯地下部分与微生物的互作关系.

2 材料与方法

2.1 材料

选取具有凉山特色的马铃薯高山地方种‘乌洋芋’、‘牛角洋芋’、西昌学院自育的高产品种‘西薯 1 号’、‘西薯 3 号’以及凉山州主栽品种‘青薯 9 号’和‘米拉’(图 1A).

2.2 方法

2.2.1 马铃薯盆栽试验及样品采集 进行自然条件下盆栽试验. 试验地点为四川省凉山彝族自治州普格县五道箐乡西昌学院马铃薯科研繁种基地(坐标:东经 102. 414 583,北纬 27. 643 844),试验时间为 2018 年 3~8 月. 试验地土质为轻质壤土,将基础土壤填装于口径 34 cm 的塑料盆钵中并以 75 g/m² 用量的有机肥作基肥施于 10 cm 以下处的土层中. 将不同品种的马铃薯种薯表面用无菌水冲洗干净,用 1%次氯酸钠溶液消毒 10 min,70%乙醇浸泡 30 s 后立刻除去乙醇,无菌水冲洗 5 次,避光晒干后播种. 每个品种设置 6 个生物学重复.

播种前采用多点混合采样法对基础土壤和有机肥料进行取样,至马铃薯收获期时对根际土壤进行取样.取样时,每个马铃薯品种随机选取 3 盆作为一个生物学重复,把马铃薯植株从盆钵中整株挖出,不要伤害根系,抖落根系土壤表层未分解的凋落物层后用无菌刷刷取根际区域约 1 mm 的紧密粘附在根表面的土壤.不同品种的 6 个生物学重复间单独刷取以避免样品污染.每个样品采集 5 g 左右的根际土壤并搜集至 50 mL 无菌离心管中,带回实验室过 2 mm 筛后分装至冻存管中,迅速置于液氮中冷冻 3~4 h,冰上备用或转移至-80 °C 长期保存.

2.2.2 样品总 DNA 提取与测序 根际细菌 DNA 提取采用美国 MOBIO 公司的 Power Soil DNA Isolation Kit 试剂盒进行.称取 0.5 g 保存于-80 °C 冰箱中的土壤样品,按试剂盒说明书过程提取总 DNA,通过超微量分光光度计(Nano-drop 2000)检测 DNA 浓度 ≥ 20 ng/mL,OD_{260/280}为 1.8~2.0,OD_{260/230}为 1.8~2.0 即为合格.提取的总 DNA 在-20 °C 条件下保存用于后续 PCR 扩增.用通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCA-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT)扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域,并采用 Illumina MiSeq 2×300 测序平台对 PCR 扩增产物进行双端测序.测序委托北京百迈客生物科技有限公司完成.

2.2.3 数据质控与分析 高通量测序得到的原始数据进行数据质控(Trimmomatic 软件, version 0.33)和软件拼接(FLASH 软件, version 1.2.11)^[11-12],过滤掉低质量的 Reads 序列并将得到的双端序列数据拼接成一条序列 Tags,同时对拼接效果进行质控,主要包括去除低质量 Tags 和去嵌合体(UCH-IME 软件, version 8.1)^[13].将有效 Tags 按照相似性 $\geq 97\%$ 序列聚类成为单元(USEARCH 软件, version 10.0)^[14],1 个操作分类单元为 1 个 OTU (Operational Taxonomic Units),以测序所有序列数的 0.005%作为阈值过滤 OTU^[15].使用 R/Bio-Conductor 包 edgeR 中 trimmed mean of M values (TMM) 方法对 OTU 矩阵进行均一化^[16].基于 Silva(细菌)分类学数据库对 OTU 进行分类学注释(RDP Classifier 软件, version 2.2,置信度阈值为 0.8)^[17-18],得到每个 OTU 对应的物种分类信息,进而在各水平统计各样品群落组成.

使用 QIIME 软件进行单样品组成 Alpha 多样性分析,计算样品的 Coverage、Chao1、ACE、Simpson、Shannon 指数等^[19].其中 Chao1 和 ACE 丰富度估计量度量了样本中的菌群丰度, Simpson 和 Shannon 指数度量了样本中菌群的多样性. Simpson 指数值越小,说明群落多样性越高, Shannon 指数越大说明群落多样性越高. Coverage 则反映测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况,其数值越高表明样本中序列被测出的概率越高.样本相关性分析中 statistic 为 R 值,范围为-1 到 1.如果 R 值越接近 1,说明样本间 OTU 种类和丰度呈现高度正相关.使用 R 包 Ape 中的 pcoa() 函数进行样本间主坐标分析(PCoA).PCoA 分析基于由样本组成计算得到的距离矩阵进行特征向量降维排序,从均一化的 OTU 矩阵中计算加权和未加权的 UniFrac 距离矩阵,其中加权考虑物种的丰度,未加权则没有对物种丰度进行加权处理.

3 结果与分析

3.1 不同基因型样本根际细菌群落组成

共计采集样品 36 个,细菌 16S rRNA 基因测序共获得 3 542 568 对双端序列(Reads),经 Reads 拼接过滤后得到 3 097 269 条高质量序列(Clean tags),每个样本中 Clean tags 数在 65 081~89 830 之间;质控后的序列依据 97%的序列相似性聚类获得细菌 OTU 数 1 565 个(不同样本和重复间取并集所得),其中播种前的基础土样和肥料中 OUT 数据量分别在 1 159~1 191 之间和 52~57 之间,收获期不同品种马铃薯根际土壤中有效 OTU 数量在 1 357~1 514 个之间(图 1B).使用 M 值方法对每个样本中得到的 OTU 数量进行标准化.所有样本中 OTU 的覆盖率均 $>99\%$,认为该测序量能够反映样本中细菌群落的真实情况(表 1).将不同样本生物学重复间的 OTU 数据合并后进行细菌群落特异性分析显示,所有样本中共有 OTU 仅 4 个,而肥料中特异性 OTU 为 26 个,占肥料总 OTU 数的 47%,表明肥料中大量细菌菌群并未形成优势种群残留于收获期根际土壤中.基础土壤中特异性富集的 OTU 数为 5 个,另在牛角洋芋发现 10 个特异性 OTU,乌洋芋和西薯 3 号中发现 8 个,其余品种中各发现 1 个(图 1C).若仅统计 6 个马铃薯品种中根际细菌群落特异性,则品种间共有 OTU 为 1 000 个,品种间 OTU 种类相差不大.

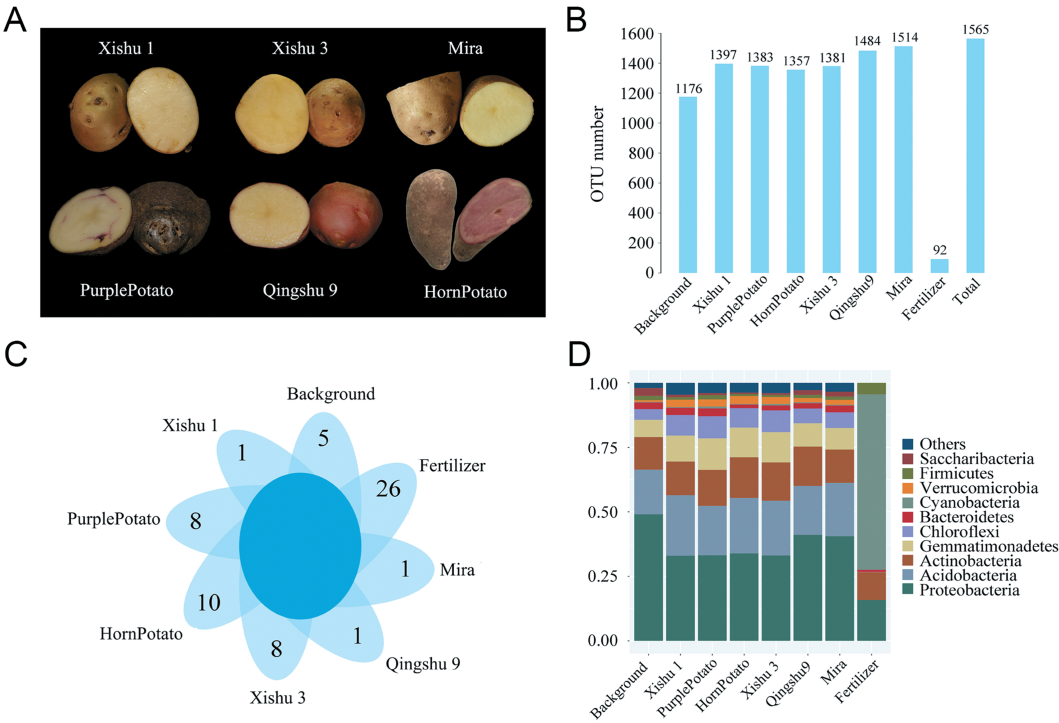


图 1 不同基因型马铃薯根际细菌菌群组成

(A)不同马铃薯试验材料表型示意图;(B)不同样本根际细菌总 OTU 数量;(C) 不同样本间特异性根际细菌 OTU 数量;(D)不同样本根际细菌菌门相对丰度

Fig. 1 Rhizosphere bacterial composition among different potato genotypes

(A) Phenotypes of different potato materials. (B) Total number of OTUs in rhizosphere microbiome among different samples. (C) Specific OTUs in rhizosphere microbiome among different samples. (D) Relative abundances of bacterial phyla among different samples

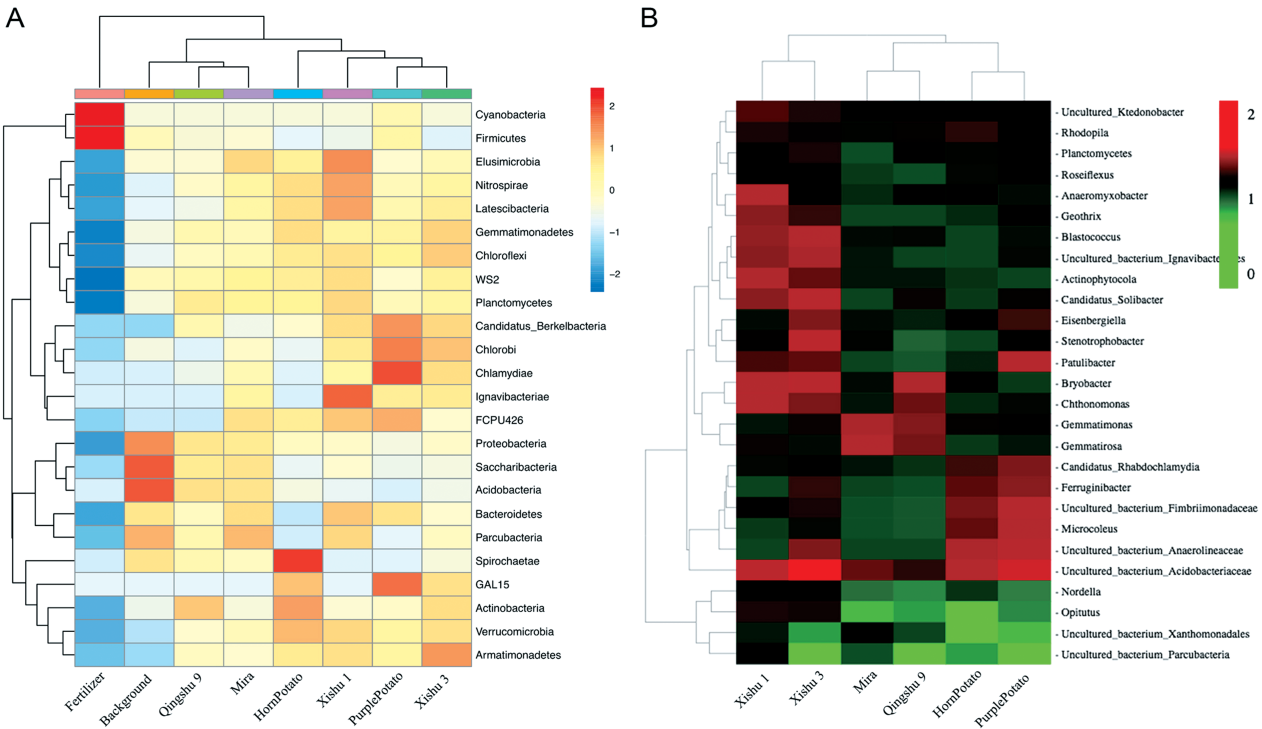


图 2 不同马铃薯基因型根际细菌群落物种分布热图

(A)所有样品间细菌菌门水平物种分布;(B)仅马铃薯根际样品间细菌菌属水平物种分布

Fig. 2 The Heatmap of relative abundance about rhizosphere microbiome among different potato genotypes

(A) Relative abundance of bacterial community at phyla-level among all samples. (B) Relative abundance of rhizosphere bacterial community at genus-level

经注释后的细菌种类相对丰度比例图显示(图 1D),品种间主要根际细菌群落种类趋于一致,群落丰度水平 Top 5 的菌门分别是变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes). 值得注意的是,肥料中占绝大多数的蓝藻(Cyanobacteria)在马铃薯收获期的根际细菌中丰度锐减,几乎无法存活,类似的情况还有厚壁菌门(Firmicutes). 图 2A 显示了样品中的物种分布丰度的聚类情况,将高丰度和低丰度的细菌群落分块聚集,通过颜色梯度及相似程度来反映多个样品群落组成的相似性和差异性. 除了上述肥料中的特异性菌群特征外,基础土壤中的酸杆菌门(Acidobacteria)和 Saccharibacteria 特异性显著富集,表明这两类存在于基础土壤中的菌群在马铃薯生长过程中丰度降低. 同样,在收获期乌洋芋和牛角洋芋中分别发现衣原体门(Chlamydiae)和螺旋体门(Spirochaetae)呈现特异性显著富集. 另外,有 389 个 OTU 在基础土壤和肥料中均未富集,但富集在马铃薯收获期根际细菌样本中. 对这些 OTU 进行注释和富集分析后发现,这部分新出现的细菌种类呈现分块聚集,以芽球菌属(Blastococcus)为代表的 5 个分类群特异性富集在西薯 1 号和西薯 3 号;以芽单胞菌属(Gemmatimonas)为代表的 2 个分类群在青薯 9 号和米拉中丰度较高;而以鞘藻属(Microcoleus)为代表的 6 个分类群在地方品种乌洋芋和牛角洋芋中呈现高丰度(图 2B).

3.2 不同基因型马铃薯根际细菌的群落多样性

为了分析在平行条件下根际细菌群落结构是否受到马铃薯基因型的影响,我们对收获期马铃薯根际细菌样本间 OTU 丰度的相关性进行了统计(图 3),以皮尔森相关性系数 R 判定两两样本间相关强度,结果表明,6 个马铃薯品种根际细菌群落两两间都具有显著的正相关性,青薯 9 号($R=0.853, P<2.2e-16$)和米拉($R=0.872, P<2.2e-16$)中的根际细菌丰度与基础土壤之间呈现显著正相关,而其他马铃薯品种与基础土壤之间并无显著相关性,即青薯 9 号和米拉品种的根际细菌群落受基础土壤细菌群落的影响更大. 另外,所有马铃薯根际细菌和肥料细菌群落均无相关性.

Alpha(α)多样性能够反映样品内部物种丰度及物种多样性,是用来衡量微生物群落丰富度和均匀度的综合指标. 不同马铃薯基因型根际细菌群落丰度及多样性指数见表 1. 由表可知在平行处理

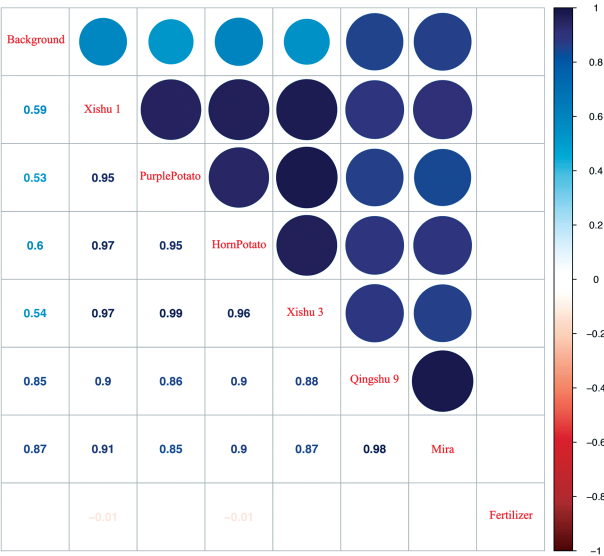


图 3 不同马铃薯基因型根际细菌群落相关性分析
Fig. 3 Correlation analysis of rhizosphere microbiome between different potato genotypes

下,牛角洋芋根际细菌群落 ACE 指数和 Chao1 指数最低,表明其群落丰度最低;乌洋芋根际细菌群落中 Shannon 指数最低,表明该基因型样本根际细菌多样性最低. 等级丰度曲线解释了样本中所含物种的丰富度和均匀度. 由图 4 可知,不同基因型马铃薯根际细菌群落组成丰富度从大到小排列为:米拉>青薯 9 号>西薯 1 号>西薯 3 号>牛角洋芋>乌洋芋. 值得注意的是,从群落物种组成的均匀度可以看出,乌洋芋和牛角洋芋根际细菌样本的均匀程度高于其他基因型. T 检验和 ANOVA 方差分析同时表明,乌洋芋和其他品种的根际细菌群落间存在着显著的多样性差异(T 检验: $P=2.73e-3\sim 4.4e-2$;ANOVA: $P=1.86e-3\sim 1.53e-2$).

表 1 样本 Alpha 多样性指数统计
Tab. 1 Statistics of microbial Alpha diversity index in the soil samples

Sample	OTU	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	Coverage /%
Background	1 176	1 226.39	1 147.41	0.005 1	6.11	99.7
Xishu1	1 397	1 414.91	1 435.51	0.006 1	6.23	99.84
PurplePotato	1 383	1 409.41	1 416.26	0.022 7	5.64	99.81
HornPotato	1 357	1 393.70	1 408.66	0.006 3	6.14	99.72
Xishu3	1 381	1 401.08	1 421.47	0.008 4	6.08	99.87
Qingshu9	1 484	1 501.01	1 511.24	0.005 5	6.34	99.81
Mira	1 514	1 517.43	1 519.52	0.004 6	6.41	99.94
Fertilizer	55	153.708 4	128.14	0.488 2	1.28	99.96

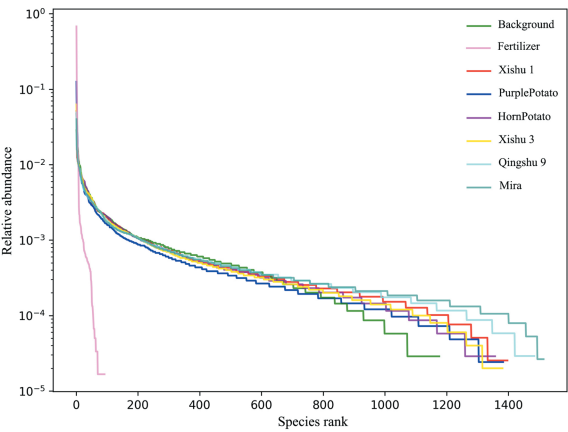


图 4 不同马铃薯基因型根际细菌等级丰度曲线
Fig. 4 Rank-abundance distribution curve of rhizosphere microbiome of different potato genotypes

我们进一步通过加权和未加权 UniFrac 距离的无约束主坐标分析(PCoAs)来研究不同基因型根际细菌群落之间的分离模式. UniFrac 距离基于群落间的分类相关性,其中加权 UniFrac(WUF)度量考虑了分类群丰度,而未加权的 UniFrac(UUF)则没有,因此对稀有的分类群更敏感.如图 5 所示,在 UUF PCoA 中,第一主要坐标揭示了样本间 84.78% 的差异并将基础土壤与马铃薯收获期根际土壤样本区分开来,同时米拉和青薯 9 号与其余马铃薯品种相区隔,表明这两个基因型样本根际细菌群落变异程度较其余基因型更小.同时,第二主要坐标揭示了样本间 9.66% 的差异并将乌洋芋和其他基因型区分开.通过 UUF 距离的置换多变量方差分析(PERMANOVA)支持了 PCoA 结果($P<0.001$),表明马铃薯不同基因型根际细菌群落之间存在显著的变异.

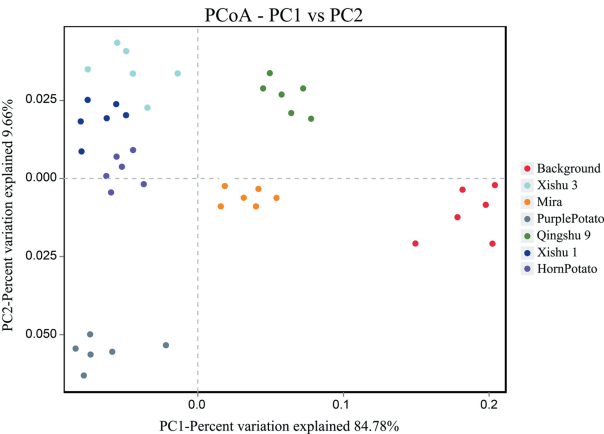


图 5 基于未加权的 UniFrac(UUF)距离的主坐标分析(PCoA)
Fig. 5 Principal coordinates analysis (PCoA) using UUF metric

3.3 受马铃薯基因型影响的根际细菌菌群

为了揭示马铃薯根际细菌群落中是哪些 OTU 造成了基因型效应,我们在乌洋芋和米拉两个品种间进行了 OTU 丰度分析.利用 fold change(FC)表示样本间 OTU 丰度的差异倍数,并以 $\log_2$ FC 缩小差异特别大的和差异比较小之间的差距,以 T 检验衡量样本间差异的显著性.我们在乌洋芋和米拉根际细菌样本间发现 198 个群落丰度具有显著差异的 OTU($P<0.001$),这些受马铃薯基因型影响的 OTU 具体表现为乌洋芋中 55 个 OTU 丰度上调,143 个丰度下调.经 OTU 注释后我们通过二项式分布检验(binomial test)对这些差异 OTU 是否显著富集到某一类进行了分析($P<1e-8$).结果表明,乌洋芋中受基因型影响根际细菌丰度上调的 OTU 主要显著富集在微杆菌科(Pseudonocardiaceae,放线菌门)、纤线杆菌科(Ktedonobacterales,绿弯菌门)、梭菌科(Clostridiaceae,厚壁菌门)、毛螺菌科(Lachnospiraceae,厚壁菌门)、硝化链球菌科(Peptostreptococcaceae,厚壁菌门)、高温放线菌科(Thermoactinomycetaceae,厚壁菌门)、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae,芽单胞菌门)、浮霉菌科(Phycisphaeraceae,浮霉菌门);同时,在对照米拉中受基因型影响根际细菌丰度上调的 OTU 则显著富集在酸杆菌科(Acidobacteriaceae,酸杆菌门)、Chitinophagaceae(无中文名,拟杆菌门)、鞘脂杆菌科(Sphingobacteriaceae,拟杆菌门)、Roseiflexaceae(无中文名,绿弯菌门)、球形杆菌科(Sphaerobacteraceae,绿弯菌门)、柄杆菌科(Caulobacteraceae,变形菌门)、黄单胞菌科(Xanthomonadaceae,变形菌门).

4 讨论

根际是一个独特的环境,是受植物根系和根系分泌物直接影响的薄层土壤,植物和土壤微生物在这里发生着广泛且复杂的相互作用.根际是微生物定殖和发挥活性的重要区域,根际中的微生物类群复杂,对宿主植物的生长发挥着重要的影响^[20-21].植物根系与根际微生物之间的互作是特异的并处于共进化的压力下^[22].一方面根际微生物可以协助宿主植物抑制土传病害,提高养分的有效性和吸收,促进植物生长,反过来,植物为根际微生物提供根系分泌物作为生长基质与信号分子^[23].其中,同种作物不同品种或基因型的根际微生物群落间是

否存在着定殖差异,这可能关系到不同种质的土壤适应性问题,因此更具研究价值.相关研究中得出的结论具有一定的差异,玉米中的研究发现品种形态学之间的差异可能会导致根际微生物性质和群落组成的分异^[24].Bouffaud 等的研究表明玉米根际细菌群落组成明显依赖于玉米品种基因型,且主要表现于某些 β 变形菌属和特定的伯克氏菌属上的改变^[25].有研究者对 4 个大豆品种采用磷脂脂肪酸(PLFA)法分析了不同基因型对根际微生物区系的影响后发现其中两个品种对根际微生物群落结构的影响差异明显^[26].然而在水稻中,有研究团队先后在两篇论文中报道不同的水稻基因型间对根系微生物群落差异有显著的影响,这种变异主要是在水稻内生菌群落($P=0.001$),而根际群落的影响不显著($P=0.191$)^[9,27].同时,水稻中也有其他研究认为水稻的基因型与其种子的固有细菌群落具有一定的相关性,且这种相关性在细菌的优势种群中表现得较为明显^[28].目前对于基因型影响作物根际微生物种群结构的机制尚无定论,但作者认为基因型对微生物群体的影响与不同品种根基分泌物类型不同有关.由于根系不断向生长介质中分泌大量的有机物质,植物根系分泌物成为了根际微生物的主要营养来源和能源物质,对于根际微生物的数量和组成具有重要的影响.如有研究表明,不同基因型小麦苗期根系分泌物对根际反硝化细菌生长量和反硝化细菌活性均有不同程度的影响,根系分泌物中氨基酸总量高的小麦基因型其根际反硝化细菌的生长量和活性均呈现较高水平^[29].因此,在今后的研究中应重点关注作物根系分泌物与根际微生物间的互作关系及相互影响.

凉山地区具有悠久的马铃薯种植历史和得天独厚的自然条件:日照充足、气候冷凉、昼夜温差大、降水集中、雨热同季,同时马铃薯种质资源十分丰富,特别是高山彝区群众世代主食马铃薯,保留着性状独特且多样性丰富的地方品种.本研究中所采用的乌洋芋和牛角洋芋均为凉山州布拖县采哈乡来源的高山地方种,具有鲜明的性状特征和其他推广品种无法比拟的品质,主要表现为皮薄、质嫩、淀粉含量高、口感好、耐贮存.同时,以乌洋芋为代表的特色地方种对气候、土壤和肥料都有着特殊的要求,这也导致了这些种质资源一旦离开其原有生长条件后就会出现产量降低和品质退化^[30].本研究发现,乌洋芋和牛角洋芋的根际细菌群落虽然在

群落组成上与其他自育品种和广推品种相似,品种间具有高度的相关性,但是在群落丰度和均匀度上表现出显著的差异.同时,本研究通过差异分析挖掘乌洋芋与广栽品种米拉之间出现显著丰度差异的根际细菌类群,也是可能对特色地方种定殖起关键作用的细菌类型.其中在乌洋芋中显著性差异富集的土壤红色杆杆菌(*Solirubrobacter*)和 *Ferruginibacter* 菌已被研究认为是具有改善作物农艺性状的根际促生菌^[31].这对于下一步开发针对地方种的专用生物菌肥和生物农药具有指导意义,为马铃薯特色地方种的土壤环境改良实现优质种质资源广谱性种植奠定基础.

参考文献:

- [1] Li J G, Ren G D, Jia Z J, *et al.* Composition and activity of rhizosphere microbial communities associated with healthy and diseased greenhouse tomatoes [J]. *Plant Soil*, 2014, 380: 337.
- [2] Massart S, Martinez-Medina M, Jijakli M H. Biological control in the microbiome era: challenges and opportunities [J]. *Biol Control*, 2015, 89: 98.
- [3] Lareen A, Burton F, Schäfer P. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes [J]. *Plant Mol Biol*, 2016, 90: 575.
- [4] Rout M E, Southworth D. The root microbiome influences scales from molecules to ecosystems: The unseen majority [J]. *Am J Bot*, 2013, 100: 1689.
- [5] Dominguez-Bello M G, Costello E K, Contreras M, Magris M, *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 11971.
- [6] Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, *et al.* Structure and functions of the bacterial microbiota of plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 807.
- [7] Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, *et al.* Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota [J]. *Nature*, 2012, 488: 91.
- [8] Peiffer J A, Spor A, Koren O, *et al.* Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 6548.
- [9] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, *et al.* Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice [J]. *Proc Natl Acad Sci*

USA,2015, 112: 911.

[10] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞馥. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用[J]. 微生物学报, 2011, 51: 445.

[11] Mago T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics,2011, 27: 2957.

[12] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. Bioinformatics,2014, 30: 2114.

[13] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, *et al.* UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. Bioinformatics,2011, 27: 2194.

[14] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nat Methods,2013, 10: 996.

[15] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, *et al.* Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing [J]. Nat Methods,2013, 10: 57.

[16] Robinson M D, McCarthy D J, Smyth G K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data [J]. Bioinformatics,2010, 26: 139.

[17] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 41: 590.

[18] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Appl Environ Microbiol,2007, 73: 5261.

[19] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nat Methods, 2010, 7: 335.

[20] 陈诚, 赵珂, 李小林, 等. 镍矿区紫茎泽兰根际及内生细菌多样性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2015, 52: 1387.

[21] 张瀚能, 张金羽, 刘茂柯, 等. 川楝内生放线菌多样性及群落结构研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2016, 53: 1391.

[22] Staley C, Ferrieri A P, Tfaily M M, *et al.* Diurnal cycling of rhizosphere bacterial communities is associated with shifts in carbon metabolism [J]. Microbiome,2017, 5: 65.

[23] Levy A, Gonzalez I S, Mittelviehhaus M, *et al.* Genomic features of bacterial adaptation to plants [J]. Nat Genet, 2018, 50: 138.

[24] 陈林, 张佳宝. 玉米品种对根际微生物特性的影响[J]. 中国农学通报, 2014, 30: 62.

[25] Bouffaud M L, Kyselková M, Gouesnard B, *et al.* Is diversification history of maize influencing selection of soil bacteria by roots? [J] Mol Ecol,2012, 21: 195.

[26] 钱秋平, 杨统一, 程林润, 等. 不同大豆品种对根际土壤微生物群落影响的差异[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2010, 34: 1.

[27] Edwards J A, Santos-Medellin C M, Liechty Z S, *et al.* Compositional shifts in root-associated bacterial and archaeal microbiota track the plant life cycle in field-grown rice [J]. PLoS Biol, 2018, 16: e2003862.

[28] 邹媛媛, 刘琳, 赵亮, 等. 不同水稻品种种子固有细菌群落的多样性[J]. 植物生态学报, 2012, 36: 880.

[29] 李振高, 李良谟, 潘映华, 等. 小麦根系分泌物对根际反硝化细菌的影响[J]. 土壤学报, 1995, 32: 408.

[30] 李佩华, 蔡光泽, 王安虎, 等. 高山乌洋芋特色种质资源生产性能研究及运用[J]. 种子, 2009, 28: 65.

[31] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Senthilkumar M, *et al.* *Arachidicoccus rhizosphaerae* gen. nov., sp. nov., a plant-growth-promoting bacterium in the family Chitinophagaceae isolated from rhizosphere soil [J]. Int J Syst Evol Microbiol,2015, 65: 578.

引用本文格式:

中 文: 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: 383.

英 文: Yan L, Zhang Y Z, Fang Z R, *et al.* Effects of potato genotype on rhizosphere bacterial community structure [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2020, 57: 383.