

方 宇,蔡永占,韩小女,等. 黑胫病对不同品种烟草根际土壤细菌群落的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(3):118-125.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.03.018

# 黑胫病对不同品种烟草根际土壤细菌群落的影响

方 宇<sup>1</sup>,蔡永占<sup>2</sup>,韩小女<sup>3</sup>,白 涛<sup>2</sup>,刘冬梅<sup>2</sup>,刘 舜<sup>2</sup>,王瑞宝<sup>2</sup>,郭永升<sup>2</sup>,陈小龙<sup>4</sup>,  
黄飞燕<sup>1</sup>,余 磊<sup>1</sup>,刘佳妮<sup>1</sup>

(1. 昆明学院/云南省都市特色农业工程技术研究中心,云南昆明 650214; 2. 云南省烟草公司曲靖市公司,云南曲靖 655002;  
3. 宣威市农业技术推广中心,云南曲靖 655499; 4. 河南中烟工业有限责任公司原料采购中心,河南郑州 450000)

**摘要:**为改善云南烟区烤烟品种分布及从土壤生防菌筛选等角度防治烟草黑胫病提供基础数据和理论依据,采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析了云南省主栽烤烟品种的烟株根际土壤细菌群落结构。研究显示,云 99、云 97、云 116、K326、云 105、云 87、红大、云 100 根际土壤细菌中 OTU 数从大到小依次为 2 677.33、2 604.00、2 575.50、2 472.00、2 459.00、2 440.33、2 388.00、2 373.33 个,且在云 100 中的特有 OTU 数最少,仅有 75 个;同时,根际土壤细菌的多样性和丰富度与烤烟品种抗性呈现正相关关系,其中 ACE 指数、Chao1 指数均在云 99、云 100 和红大中最低,Shannon 指数的范围在 9.041~9.558 之间,云 99 与云 97、云 87 存在显著差异( $P<0.05$ )。此外,不同烤烟品种根际土壤细菌组成无明显差异,主要由变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、泉古菌门(Crenarchaeota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、Myxococcota 组成,但菌属在不同品种根际土壤中的相对丰度差异较为明显,其中芽单胞菌属、朱氏杆菌属、*Pseudolabrys*、罗河杆菌属、戴氏菌属、寡养单胞菌属、副球菌属在抗性品种特异性聚集,而 RB41、乳杆菌属、*Romboutsia*、无色小杆菌属、类诺卡氏菌属在云 100 和红大感黑胫病品种中聚集。综上,不同品种根际土壤细菌的多样性和丰富度与品种抗性呈现正相关,在细菌结构上相似性较高,但不同抗性品种根际土壤分别富集了特定菌属,这些菌属对于品种抗性机制的影响还有待进一步研究。

**关键词:**烟草黑胫病;根际土壤;细菌群落;品种

**中图分类号:**S154.38<sup>+</sup>1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)03-0118-08

土壤微生物是土壤组成的重要成分,在土壤生态系统中发挥着重要作用,其在土壤中的分布特征和功能多样性一定程度上能够反映土壤质量。有研究指出,土壤中微生物菌群结构的失调将会极大增加作物感病概率<sup>[1]</sup>。植物土传病害的发生受到诸多因素影响,其中土壤微生物通过产生具有促进作物生长的植物生长激素以及具有抑制病原菌生长作用的抗病活性物质,一定程度上提高植物抗病性,而根际是作物与微生物相互作用较为频繁的区域,因此根际土壤微生物的结构组成、多样性以及

微生物营养获取方式等是植物土传病害发生的重要影响因素。烟草黑胫病是由烟草疫霉侵染所致的土传真菌性病害,在整个生育期中均能感病,其危害程度仅次于烟草病毒病,严重阻碍烟草产业的健康可持续发展。该病害主要以化学防治为主,但长期大量、不科学地使用化学药剂势必会造成一系列的负面影响,如病原菌抗性增强、农药残留、环境污染等问题日渐突出;此外,化学农药在抑制病原菌生长的同时也使得土壤中大量有益微生物菌群的多样性和丰富度降低,而抗病品种的选育与引进因其抗病、经济、安全、有效等优势已成为防治烟草黑胫病的有效途径。目前,我国抗黑胫病的品种有中烟 9203、革新 3 号、单育 3 号、豫烟 3 号等,中抗品种有 K326、K346、云 87、云 85 等<sup>[2]</sup>,而云南省曲靖烟区主要以 K326、云 116、云 87、云 105 等抗性品种为主。有研究表明,不同品种之间的根系分泌物、土壤酶活性也有所差异<sup>[3-4]</sup>,进而影响根际土壤微生物群落结构,而根际土壤微生物作为土壤-作物间养分转换的重要调节者,对植株的抗病性及生长

收稿日期:2022-04-07

基金项目:中国烟草总公司云南省公司科技项目(编号:2020530000242010);云南省科技厅高校联合专项重点项目(编号:2019FH001-008)。

作者简介:方 宇(1994—),男,安徽桐城人,硕士,主要从事作物健康栽培研究。E-mail:1570525197@qq.com。

通信作者:蔡永占,博士,农艺师,主要从事烟草病虫害绿色防控方向研究,E-mail:178244605@qq.com;刘佳妮,博士,副教授,主要从事烟草栽培与病虫害防控研究,E-mail:47067521@qq.com。

具有重要影响<sup>[5-6]</sup>。作物品种对根际土壤微生物群落结构的影响已在冬瓜、黄瓜、花生、苕麻等作物上得以证实<sup>[7-10]</sup>。王戈等以云 85、K326、红大等品种为材料,通过稀释平板法和 Biolog 方法研究不同烟草品种根际土壤微生物数量和群落功能多样性<sup>[11]</sup>;蔡秋华等采用相同方法对云 87、K326、红大不同生育期的根际微生物群落结构进行研究,结果发现,根际土壤中细菌、放线菌和微生物总量与品种抗性呈正相关,而真菌与抗性呈负相关<sup>[12]</sup>。前人研究大多采用传统可培养的方法进行,而土壤微生物大约只有 1% 可以通过传统培养法进行研究,绝大部分微生物不能被培养,因此采用传统可培养方法研究土壤微生物多样性具有一定的局限性,而使用高通量测序技术能够从待测土壤中直接获取各微生物 DNA 片段序列,并对其进行测序分析,能够比较直接、快速、准确地对土壤样品中的微生物种类与丰度进行测定,为土壤微生物多样性的研究提供更为便捷的方法,弥补其他土壤微生物分析方法的不足<sup>[13]</sup>。本研究采用高通量测序技术对云南烟区主栽烟草品种患黑胫病后的根际土壤微生物群落进行研究,从土壤微生态角度探究不同抗性烟草品种根际土壤微生物群落与烟草黑胫病发生的关系,以期揭示不同品种根际土壤细菌在黑胫病发生的微生态理论机制,为烟草黑胫病的生物防治以及品种抗性机制研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

试验位于云南省曲靖市宣威热水烟草品种试验地,试验地土壤类型为红壤,供试烤烟品种有云 97(A)、红花大金元(B)、K326(C)、云 105(D)、云 116(E)、云 100(F)、云 87(G)和云 99(K)。2019 年 7 月分别采集各品种的根际土壤,每品种选取 3 株具有典型烟草黑胫病症状的烟株,将植株连根拔起后去除植株根系主土壤,收集根系表面 2 mm 根际土壤,装入无菌自封袋中带回实验室去除根系及其他杂物,并分装于 50 mL 离心管中,置于 -80 ℃ 中冷冻保存,待用。

### 1.2 土壤 DNA 的提取与扩增

采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法对各品种烟株的根际土壤进行 DNA 提取,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,用无菌水将 DNA 稀释至 1 ng/μL 作为模板,选用特异性引物

341F(CCTAYGGGRBGCASCAG)和 806R(GGACTACNNGGTATCTAAT)对细菌进行 PCR 扩增,再用 2% 琼脂糖凝胶电泳对扩增产物质量进行检测,用 Qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物,用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 文库试剂盒进行文库构建,再经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,合格后用 NovaSeq6000 进行上机测序。

### 1.3 下机数据的质控与分析

剔除下机数据中的标签及引物序列,使用软件 FLASH(Version 1.2.7)进行序列拼接得到原始数据;参照软件 Qiime(Version 1.9.1)的 Tags 质量控制流程对序列进行过滤、去嵌合体序列得到有效序列,并计算文库覆盖率(Coverage)、Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数,对根际土壤微生物群落中的物种多样性和丰富度进行评价;利用软件 Uparse 在 97% 相似性水平上进行 OTU 聚类分析;利用 Mothur 方法和 SILVA 数据库进行物种注释,使用 Qiime 软件进行主成分分析,并利用 R 语言进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤样品测序深度验证

稀释曲线可以用来验证本次测序的深度是否合理,稀释曲线越平坦越代表此时测序量足以覆盖土壤样品的微生物种群,反映土壤样品种微生物的真实情况。由图 1 可知,随着序列数量的增加,细菌稀释曲线逐渐趋于平坦,曲线斜率不断减少,但最终并未进入到平台期,表明随着序列数的不断增加不会过多地产生新的物种,表明此次测序结果能够较为全面地反映各根际土壤样品中细菌群落与结构的真实情况,细菌群落置信区间较高,具有一定的研究意义。

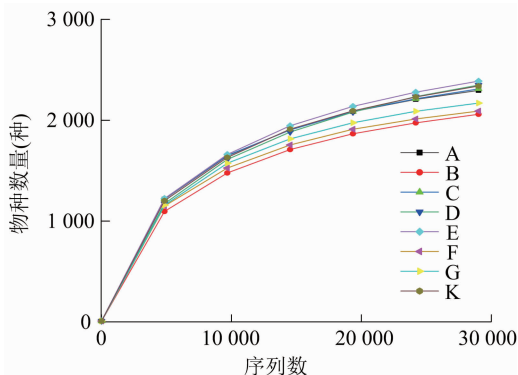


图1 细菌物种丰富度稀释曲线

### 2.2 细菌 OTU 丰度和 α 多样性

为了解烟草黑胫病对不同烟草品种根际土壤

细菌的 OTU 丰度和  $\alpha$  多样性指数的差异,分别对 OTU 丰度以及细菌群落的丰富度指数(ACE 指数、Chao1 指数)和多样性指数(Shannon 指数)进行方差分析,结果见表 1。各样品文库的覆盖率(coverage)均达到 0.97 以上,表明各土壤样品中绝大多数序列均被检出,能反映各根际土壤中微生物群落的真实分布情况,测序读长能进行后续分析。

从表 1 可以看出,OTU 丰度和  $\alpha$  多样性指数在部分品种间差异显著( $P < 0.05$ ),各品种的 OTU 丰度表现为云 99 > 云 97 > 云 116 > K326 > 云 105 > 云 87 > 红大 > 云 100,其中云 99 与红大、云 100 和云 87 差异显著,而其他处理间无显著差异。同时,从 Venn 图(图 2)可以看出,各品种烟草根际土壤细菌共有的 OTU 数为 1 198 个,特有 OTU 数在不同品种间差异大,其中云 87、云 105、云 99 品种特有的 OTU 数较多,分别为 185、177、167 个,而云 100 特有 OTU 数仅有 75 个。丰富度指数中,ACE 指数在 3 129.17 ~ 3 559.25 之间,数值由高到底依次为云 105 > 云 116 > 云 97 > 云 87 > K326 > 云 99 > 云 100 > 红大,红大与云 97、K326、云 105、云 116 和云 87 存在显著差异;Chao1 指数在 3 053.40 ~ 3 591.46 之间,从高到低依次为云 105 > 云 116 > 云 97 > K326 > 云 87 > 云 100 > 云 99 > 红大,其中红大、云 100、云 99 显著

低于其他各处理。多样性指数中的 Shannon 指数范围在 9.041 ~ 9.558 之间,由高到低依次为云 99 > K326 > 云 116 > 云 105 > 红大 > 云 100 > 云 97 > 云 87,云 99 与云 97、云 87 存在显著差异。由上述分析可知,云 105、云 116、云 97、K326 品种烟草的根际土壤微生物丰富度较高,而在红大品种中较低;而多样性指数则在云 99 品种中较高,在云 87 中较低,表明不同烟草品种患黑胥病后其根际细菌的响应程度有所差异,但从总趋势来看对烟草黑胥病具有一定抗性的品种中,其细菌丰富度和多样性要高于感病品种。

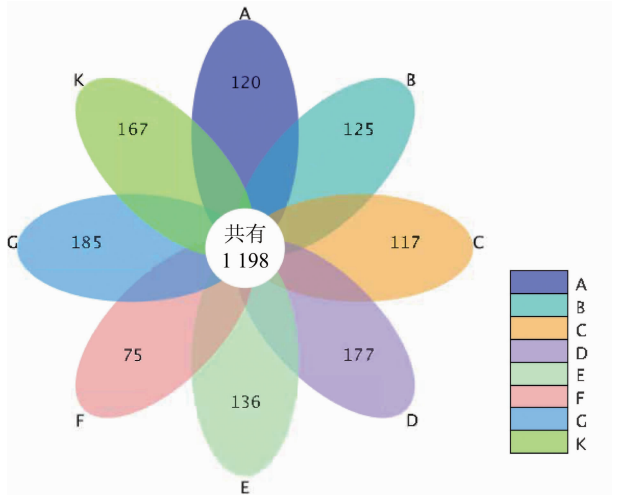


图2 根际土壤细菌 OTU 韦恩图

表 1 不同样品土壤细菌群落的多样性指数

样品	OTU 丰度	$\alpha$ 多样性指数			覆盖率
		ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	
云 97	2 604.00 $\pm$ 46.92ab	3 537.39 $\pm$ 51.62a	3 517.34 $\pm$ 31.32a	9.287 $\pm$ 0.005b	0.984 0
红大	2 388.00 $\pm$ 93.18b	3 129.17 $\pm$ 74.23b	3 053.40 $\pm$ 1.60c	9.381 $\pm$ 0.002ab	0.984 7
K326	2 472.00 $\pm$ 50.81ab	3 444.23 $\pm$ 70.69a	3 494.85 $\pm$ 0.49a	9.480 $\pm$ 0.041ab	0.982 7
云 105	2 459.00 $\pm$ 31.18ab	3 559.25 $\pm$ 73.79a	3 591.46 $\pm$ 37.10a	9.390 $\pm$ 0.006ab	0.978 7
云 116	2 575.50 $\pm$ 0.87ab	3 537.50 $\pm$ 27.67a	3 578.66 $\pm$ 37.430a	9.439 $\pm$ 0.067ab	0.979 7
云 100	2 373.33 $\pm$ 77.92b	3 311.01 $\pm$ 122.14ab	3 268.13 $\pm$ 123.73b	9.377 $\pm$ 0.080ab	0.986 3
云 87	2 440.33 $\pm$ 56.30b	3 507.34 $\pm$ 107.98a	3 472.57 $\pm$ 71.79a	9.041 $\pm$ 0.129c	0.985 7
云 99	2 677.33 $\pm$ 123.10a	3 420.14 $\pm$ 158.34ab	3 208.49 $\pm$ 113.76bc	9.558 $\pm$ 0.076a	0.980 7

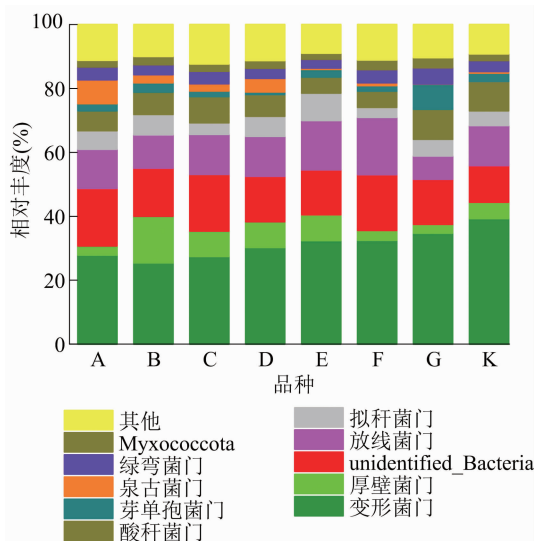
注:同列数据后标有不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

2.3 细菌群落组成与结构分析

2.3.1 门水平上细菌群落组成 对患黑胥病后不同烟草品种的根际土壤细菌进行测序,共获得 2 300 个 OTU,进一步对其进行注释后共检测到 63 个门、148 个纲、335 个目、457 个科、781 个属、409 个种。在门水平上,选取相对丰度排名前 10 的细菌门绘制门水平相对丰度图(图 3)。由图 3 可知,不同品种烟草根际土壤细菌群落中丰度相对较高的有变形菌

门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、泉古菌门(Crenarchaeota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、Myxococcota。不同处理间细菌门组成无明显差异,但相对丰度组成差异明显,其中变形菌门在不同处理中的相对丰度均较大,在云 97、红大、K326、云 105、云 116、云 100、云 87 及云 99 中的相对丰度依

次为 27.87%、25.42%、27.44%、30.24%、32.43%、32.51%、34.75% 和 39.29%；厚壁菌门在红大、K326、云 105、云 116 中的相对丰度较大,均达到 6% 以上;放线菌门在云 87 中的相对丰度最低,仅有 7.28%,而在云 100 中最高,达到 17.90%,其他各品种中其相对丰度均在 10.39% ~ 15.43% 之间;拟杆菌门、酸杆菌门、绿弯菌门以及 Myxococcota 门在各处理中均有分布,且相对丰度无明显差异;芽单胞菌门在品种云 87 中相对丰度较高(7.83%),而泉古菌门则在品种云 97、红大、K326、云 105 中的相对丰度较高,相对丰度依次为 7.52%、2.57%、2.26%、4.27%。由此可见,不同品种烟草患黑胫病后其根际土壤细菌群落分布存在一定差异,变形菌门和放线菌门相对丰度较高,其次为酸杆菌门、厚壁菌门和拟杆菌门。



Unidentified Bacteria 表示没有注释到的细菌

图3 门水平上细菌群落结构

**2.3.2 属水平上细菌群落组成** 由图 4 可知,在属水平上不同品种的根际土壤细菌相对丰度差异较大,通过准确注释的已知菌属,其相对丰度占比依次为乳杆菌属 (*Lactobacillus*) (0.21% ~ 6.45%)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) (4.10% ~ 13.79%)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) (0.001% ~ 2.570%)、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*) (0.64% ~ 6.21%)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) (0.038% ~ 1.670%)、梭菌属 (*Clostridium\_sensu\_stricto\_1*) (0.04% ~ 1.79%)、副球菌属 (*Paracoccus*) (0.02% ~ 1.50%)、*Romboutsia* (0.07% ~ 1.44%)、*Bryobacter* (1.01% ~ 2.90%)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*) (0.00 ~ 1.04%)、*Ramlibacter* (0.31% ~ 2.11%)、节

杆菌属 (*Arthrobacter*) (0.85% ~ 2.02%)、拟杆菌属 (*Bacteroides*) (0.02% ~ 0.96%)、*Escherichia - Shigella* (0.01% ~ 0.91%)、布劳特氏菌属 (*Blautia*) (0.08% ~ 0.65%)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) (0.02% ~ 0.67%)、*Haliangium* (0.67% ~ 1.50%)、杜氏杆菌属 (*Dubosiella*) (0.008% ~ 0.620%)。其中,鞘氨醇单胞菌属在各品种中均表现出较高的丰度,平均为 6.76%,且在云 87 中相对丰度最高,达到 13.79%,为各品种的优势细菌属;乳杆菌属主要集中在红大、K326、云 105、云 116 品种中,其相对丰度分别为 6.45%、2.35%、3.51%、4.82%;不动杆菌属、寡养单胞菌属、梭菌属、副球菌属、棒杆菌属仅在品种云 99 中出现明显分布,其相对丰度分别为 2.57%、1.66%、1.79%、1.50%、1.04%;拟杆菌属在各品种中的相对丰度较低,仅在品种云 105 中分布较为明显,丰度为 0.96%;布劳特氏菌属仅在红大、云 105 中相对丰度较高,同时杜氏杆菌属在红大中的相对丰度明显高于其他烟草品种。同时,从图 4 可以看出,红大、云 87、云 99 的已知菌属相对丰度明显高于其他处理,而云 97、云 100 的相对丰度较低,且云 87、云 97、云 100 的菌群种类明显少于其他处理,这与多样性指数分析的结果一致。综合各处理数据发现,鞘氨醇单胞菌属、乳杆菌属、芽单胞菌属、*Bryobacter* 为不同品种烟草根际土壤细菌的优势菌属。

由图 5 可知,不同处理样品在属水平上经聚类后主要分为两大类群,第 1 类群包括云 97、红大、K326、云 105、云 116、云 100,且云 97、红大样品距离更近,进一步聚成一类;第 2 类群包括云 87、云 99 这 2 个土壤样品。在各土壤样品中相对丰度较高的属有鞘氨醇单胞菌属、乳杆菌属、芽单胞菌属、*Bryobacter*、*MND1*、节杆菌属、*Haliangium*、*RB41*、*Skermanella*、*Bradyrhizobium* 属、*Gaiella*、鞘脂菌属 *Sphingobium*、*Ramlibacter*、*Lysobacter*、土壤红杆菌属 *Solirubrobacter* 等,这 15 个菌属的平均相对丰度之和占根际土壤细菌总丰度的 23% 以上,是根际土壤细菌的主要优势菌属。各样品细菌群落大致分为 6 簇,拟杆菌属、*Escherichia - Shigella*、*RB41* 和 *Skermanella* 属聚成一组;乳杆菌属、*Romboutsia*、鞘脂菌属、朱氏杆菌属 *Chujaibacter* 聚成一组;*Lysobacter*、*Clostridium\_sensu\_stricto\_1* 等 6 个菌属聚成一组;*Bryobacter*、芽单胞菌属等 8 个菌属聚成一组;*Haliangium*、*MND1*、*Gaiella* 等 8 个属聚成一组;



*Pseudolabrys*、*Bradyrhizobium* 等 5 个属聚成一组。不同样品属级聚类结果显示,不同品种烟草患黑胥病后其根际土壤细菌群落结构和相对丰度存在显著差异,罗河杆菌属 *Rhodanobacter*、戴氏菌属 *Dyella* 的高丰度主要存在于云 116 中,无色小杆菌属 *Achromobacter*、类诺卡氏菌属 *Nocardioide*s 高丰度主要存在于云 100 中,拟杆菌属和 *Escherichia - Shigella* 高丰度主要存在于品种云 105 中,朱氏杆菌和 *Pseudolabrys* 分别在品种 K326 和云 97 中富集较为明显,而 RB41、乳杆菌属和 *Romboutsia* 高丰度富

集在红大品种中,在品种云 87 中主要富集了芽单胞菌属、*JG30a - KF - 32* 等 8 种菌属,品种云 99 中主要富集了 *Clostridium\_sensu\_stricto\_1*、寡养单胞菌属、副球菌属等 6 种菌属。

2.4 细菌群落组成的层级聚类及 PCoA 分析

为明确患黑胥病后不同烟草品种根际土壤之间微生物结构组成差异,对不同处理根际土壤进行  $\beta$  多样性分析。基于 Weighted Unifrac 距离算法在 OTU 水平上对各根际土壤真菌群落进行样本层级聚类,结果如图 6 所示。云 97、云 100、云 87 这 3 个

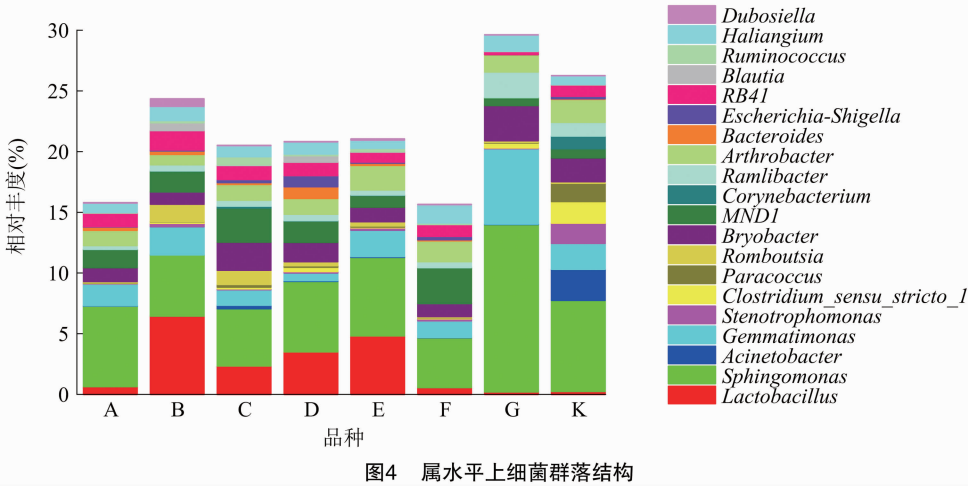


图4 属水平上细菌群落结构

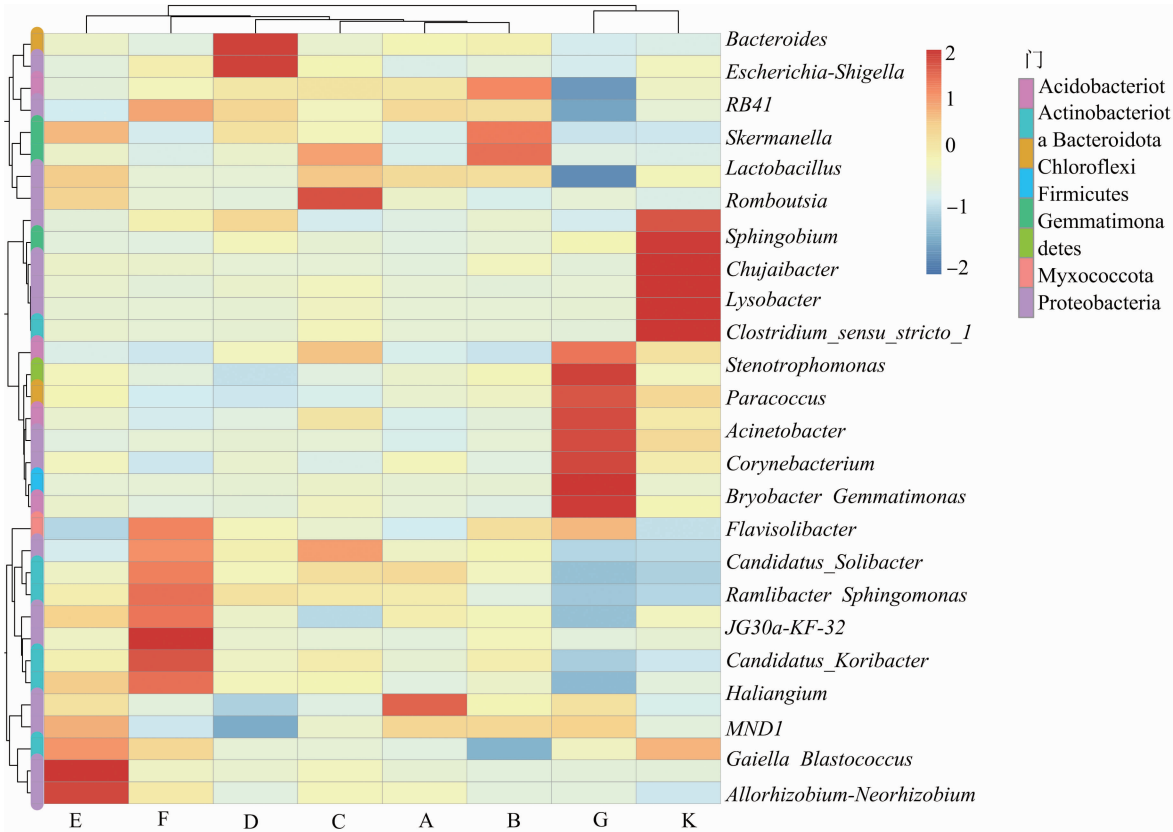


图5 属水平上根际土壤细菌群落分布热图

品种中的所有样品均能聚成各自分支,表明云 97、云 100、云 87 的 3 个样品中组内样品差异较小,细菌群落结构组成相似,而红大、K326、云 105、云 116、云 99 品种中的 3 个样品未能聚成一支,说明该品种各样品间的根际细菌结构存在一定差异。

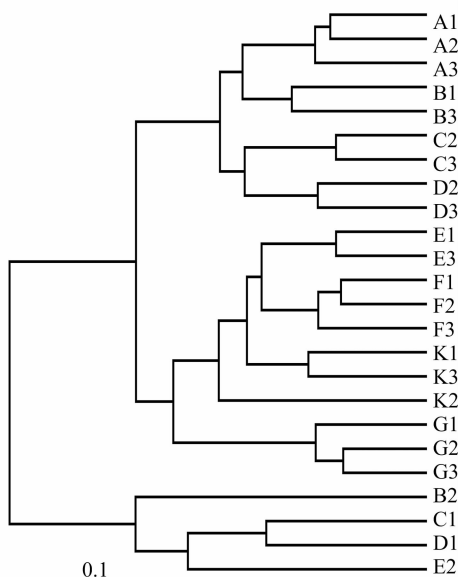


图6 OUT 水平上样本层级聚类分析

为进一步说明不同品种根际土壤中细菌群落结构的样品差异,在 OTU 水平上对各品种样品进行 PCoA 分析(图 7),PC1 和 PC2 对各样品的差异性贡献率分别为 36.02% 和 24.72%,两者总计可解释全部根际土壤样品的 60.74%,所有样品主要聚集在第二、第三象限,部分样品分布于第一象限,进一步分析发现,在 PC2 的作用下,将云 97、红大、K326、云 105 样品区分在 PC2 的正值区域,而将云 116、云 100、云 87、云 99 区分在 PC2 的负值区域;其中,云 97、云 100、云 87、云 99 中的 3 个样品均能聚集在一起,表明组内各样品差异较小,而云 116、云 100、云 99 品种间距离较近,表明 3 个品种根际土壤细菌结构组成相似,这与层级聚类结果一致。另外,红大和云 105 品种中的 3 个样品距离较远,表明组内差异较大。不同品种中 3 个样品有的密集聚集,有的较分散,说明各品种样品间的主坐标差异较为显著,不同品种的根际土壤细菌结构发生了显著变化,可能因为受到了品种和黑胫病侵染。

### 3 讨论

烤烟作为云南省重要的经济类作物,在农业生产中发挥着重要作用。近年来,由于土地资源匱

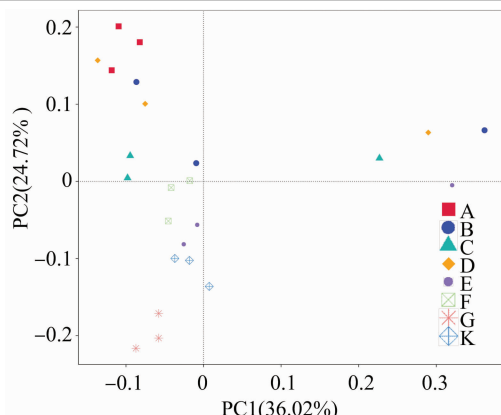


图7 OUT 水平样品 PCoA 分析

乏,土地流转困难等原因导致烟草连作问题突出,烟草黑胫病发生日趋严重,给当地的经济造成了巨大的损失,同时引起土壤质量的持续恶化<sup>[14-15]</sup>。随着烟草产业朝着健康可持续方向发展要求的提出,化学防治方法已经不能完全满足目前的发展需求,而抗病品种的选育与引进因其具有抗病、经济、安全、有效等优势而成为防治烟草黑胫病的有效途径。长期以来,抗病品种极大地改善了烟草的生长发育,降低了病害的发生,显著提高了烟叶品质 and 经济效益。前人的大量研究主要集中在品种抗性、烟叶品质、适应性等方面,而关于不同品种对烤烟植株根际微生物的研究较少<sup>[16-18]</sup>。而土壤微生物是土壤中最活跃的生物体,是连接土壤与作物之间的重要纽带,对土壤肥力的形成、作物的营养吸收、抗逆性的提高以及维持土壤平衡等方面具有重要的作用,在一定程度上能够反映土壤环境的变化,对植物的生长发育、病害的发生和土壤修复等方面产生重要影响<sup>[19-20]</sup>。

本研究结果显示,不同品种间  $\alpha$  多样性指数存在一定差异,其中 ACE 指数与 Chao1 指数的变化趋势无明显差异,均在云 105 中最高,在红大中最低,且云 105 的 ACE 指数、Chao1 指数是红大的 1.14、1.18 倍;而 Shannon 指数在云 99 中最高,为 9.558,在云 87 中数值最低,仅有 9.041;此外,不同品种间的细菌群落 OTU 数也有所差异,在云 99 中 OTU 数最多,在红大和云 100 中数目较低,总体趋势具体表现为对烟草黑胫病具有一定抗性的品种中,其细菌丰富度和多样性要高于感病品种,这与陈康丽等人在研究不同冬瓜品种对疫病抗性的同时并分析了其根际土壤微生物数量,发现不同冬瓜品种的根际土壤微生物量与品种抗性之间存在显著正相关的结论<sup>[7]</sup>类似。同时蔡秋华等以对青枯病和黑胫病不

同抗性品种为材料,研究了其根际土壤微生物数量也得出了一致的结论<sup>[12]</sup>。不同品种间根际土壤微生物的差异可能与其根系分泌物密切相关,大量研究表明,烟草根系分泌物的组成与含量因品种不同而呈现出一定的差异,在抗黑胫病品种中主要以酸类、酯类和丁香酚等物质为主,而在感病品种中则以 4-叔丁基苯酚和 2,4-二叔丁基苯酚为主<sup>[2]</sup>。在作物生长过程中,根系分泌物与根际微生物之间的相互作用是一个重要的过程,根系分泌物及其各级代谢产物对根际微生物的组成与结构产生重要的影响<sup>[21]</sup>。这可能是引起不同品种根际土壤微生物丰富度与多样性产生差异的重要原因,且根际土壤细菌多样性、丰富度越高,微生物竞争愈激烈,进而有利于抑制病原微生物繁殖,减少病害发生。

根际土壤微生物主要分布在植物根系周围,对作物的生长、病害的发生具有重要作用,根际土壤微生物在土壤中的群落结构和组成易受到耕作方式、施肥方式以及作物种类和品种等多种因素的影响<sup>[22]</sup>。其他作物的不同品种对根际土壤微生物群落结构的影响前人已有研究,刘洪等以对甜菜根腐病具有不同抗性的甜菜品种为材料研究了不同品种甜菜根际微生物群落组成,结果发现,不同品种间根际微生物群落结构存在一定差异,在抗性品种中主要聚集了假单胞菌属、节杆菌属、芽孢杆菌属等有益细菌,而在感病品种中则主要聚集了以尖孢镰刀菌为主的多数病原菌<sup>[23]</sup>;赵卫松等研究了抗、感棉花黄萎病品种的根际土壤细菌发现,在花铃期不同阶段抗、感病品种间微生物群落组成存在显著差异,门水平上感病品种中放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门、拟杆菌门等的平均相对丰度低于抗病品种,属水平上鞘氨醇单胞菌属、芽单胞菌属、芽球菌属等也低于抗病品种<sup>[24]</sup>。本研究在 OTU 水平上对不同烟草品种患病烟株根际土壤进行层级聚类分析和 PCoA 分析发现,不同品种根际土壤微生物的群落结构存在显著差异,这也进一步证实了烟草品种的不同会引起根际土壤微生物群落结构的改变。在门分类水平上,各品种根际土壤微生物的菌门组成相似,主要有变形菌门、厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、泉古菌门、绿弯菌门等,变形菌门和放线菌门相对丰度较高,其次为酸杆菌门、厚壁菌门和拟杆菌门,这与向立刚等得出的上述菌门为烟株根际土壤细菌主要菌门的结果<sup>[25]</sup>一致。不同烟草品种根际微生物的差异主要

体现在各菌门的平均相对丰度上,其中变形菌门在各品种中均有分布,且相对丰度较大,是各品种根际土壤的最优势菌门,但在红大中的相对丰度较低;而拟杆菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和 *Myxococcota* 在各品种根际土壤中均有分布,且相对丰度无显著差异,除此外其余各菌门在各品种中均表现出一定差异。变形菌门是广泛存在于土壤中的一种细菌菌门,且大多数为革兰氏阴性菌,主要参与了土壤固氮,本研究中各处理变形菌门的相对丰度均较高,而在感病品种红大中的相对丰度较其他品种要低,变形菌门相对丰度低将会影响作物养分的吸收,抑制作物的生长,增加感病几率,这可能是该品种易感黑胫病的原因之一<sup>[26]</sup>。属水平上,鞘氨醇单胞菌属在各品种根际土壤中均呈现明显富集,且抗性品种中的相对丰度高于感病品种,云 87 中相对丰度显著高于其他品种。有研究表明,鞘氨醇单胞菌属在提高作物耐铬方面具有重要作用,能够显著影响植物与抗重金属胁迫相关酶的活性<sup>[27]</sup>。也有研究表明,鞘氨醇单胞菌属能够在植物根际附近分泌糖类物质,促进植物生长,但该菌的具体功能还有待进一步分析<sup>[28]</sup>。乳杆菌属为优势菌属,其相对丰度在各品种中基本呈现出抗病 > 感病的规律,乳杆菌属隶属于厚壁菌门,该属中多数细菌对土壤、水体等环境中的重金属具有一定的吸附作用,近年来关于其在重金属污染治理方面的研究较多,贾原博等从内蒙古包头重金属污染地区的土样中分离得到了清酒乳杆菌、植物乳杆菌等 13 株对重金属铅具有较强修复功能的细菌<sup>[29-30]</sup>,这类菌属的富集有利于缓解重金属对于烟株的危害,在一定程度促进植株生长。鞘氨醇单胞菌属和乳杆菌属的大量富集可能与试验地块土壤重金属污染有关,这与云南土壤重金属污染现状相契合。此外,抗性不同的品种根际土壤细菌群落分布存在较大差异,芽单胞菌属、朱氏杆菌、*Pseudolabrys*、罗河杆菌属、戴氏菌属、寡养单胞菌属、副球菌属等在抗性品种中特异性聚集,芽单胞菌属和副球菌属在缓解重金属和抗生素复合污染等方面发挥着重要作用,能够有效改善耕作土壤环境,促进作物生长,增加作物抗逆性<sup>[31-32]</sup>;寡养单胞菌属中部分菌种能够在根际土壤中分泌相关抗真菌类物质,合成抗病相关胞外酶,提高植株抗病性,同时还能够分泌植物生长激素,促进作物生长<sup>[33]</sup>。而 *RB41*、乳杆菌属、*Romboutsia*、无色小杆菌属、类诺卡氏菌属在云 100 和红大感黑胫病品

种中出现聚集,但这些菌属在感病品种中聚集的具体原因还有待进一步研究。

## 4 结论

本研究利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对云南省不同抗性水平烟草品种的根际土壤细菌进行了分析。结果表明,不同抗性品种根际细菌多样性和丰富度具体表现为对烟草黑胫病具有一定抗性的品种中,其细菌丰富度和多样性要高于感病品种;而在细菌群落结构上,各品种主要优势菌组成无显著差异,但菌属在各品种根际土壤中的相对丰度差异显著,芽单胞菌属、朱氏杆菌、*Pseudolabrys*、罗河杆菌属、戴氏菌属、寡养单胞菌属、副球菌属、*RB41*、乳杆菌属、*Romboutsia*、无色小杆菌属、类诺卡氏菌属在抗/感病品种根际土壤中差异较大。

## 参考文献:

- [1] 朱金峰,樊祖清,陈启龙,等. 不同连作年限对烟草根际土壤微生物区系的影响[J]. 北方农业学报,2019,47(1):42-48.
- [2] 邱文龙. 不同品种烟草根系分泌物的组分分析与抗黑胫病的关系[D]. 泰安:山东农业大学,2014:1-60.
- [3] 肖玉洁,李泽明,易鹏飞,等. 不同品种烟草响应低温胁迫生理生化差异分析[J]. 分子植物育种,2019,17(4):1346-1351.
- [4] 董 艳,董 坤,郑 毅,等. 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对枯萎病菌的化感作用及根系分泌物组分分析[J]. 中国生态农业学报,2014,22(3):292-299.
- [5] 刘艳霞,李 雨,李 想,等. 烤烟根际土壤微生物对根系酚酸类物质的响应[J]. 植物营养与肥料学报,2019,25(8):1373-1382.
- [6] Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, et al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth - promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review[J]. Biology and Fertility of Soils,2015,51(4):403-415.
- [7] 陈康丽,曾莉莎,周海琪,等. 不同冬瓜品种对疫病的抗性与根际土壤微生物数量的关系[J]. 中国瓜菜,2021,34(6):33-38.
- [8] 王有为. 不同黄瓜品种根际土壤微生物及其拮抗黄瓜枯萎病菌的差异研究[D]. 泰安:山东农业大学,2021:1-54.
- [9] 倪进然. 不同环境下花生品种间根际微生物组学差异研究[D]. 扬州:扬州大学,2020:1-41.
- [10] 苏小惠,白玉超,余 玮,等. 不同芝麻品种根际微生物多样性群落结构分析[J]. 中国麻业科学,2019,41(3):114-121.
- [11] 王 戈,杨焕文,赵正雄,等. 不同抗性烤烟品种根际微生物数量及多样性差异研究[J]. 植物营养与肥料学报,2012,18(2):451-458.
- [12] 蔡秋华,左进香,李忠环,等. 抗性烤烟品种根际微生物数量及功能多样性差异[J]. 应用生态学报,2015,26(12):3766-3772.
- [13] 陈慧清,李晓晨,于学峰,等. 土壤生态系统微生物多样性技术

- 研究进展[J]. 地球与环境,2018,46(2):204-209.
- [14] 马文富,邓小鹏,杜杏蓉,等. 连作年限对植烟土壤化学特性及烟叶产质量的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2021,36(6):993-999.
- [15] 代方秀,杜杏蓉,李运国,等. 烤烟连作下不同植烟土壤化学性状与酶活性变化及其相关性[J]. 江苏农业科学,2021,49(16):233-239.
- [16] 刘昆霖,蔡宏杰,刘艳华,等. 2 个烤烟品种在不同典型产区的生长、产量及品质差异分析[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2022,53(1):109-114.
- [17] 曹景林,程君奇,李亚培,等. 烤烟新品种鄂烤 2 号的选育与评价[J]. 烟草科技,2018,51(5):15-23.
- [18] 何永宏,曾乙心,刘 林,等. 温度和品种抗性对烟草青枯病潜育期的影响[J]. 烟草科技,2017,50(6):16-20,32.
- [19] 朱永官,彭静静,韦 中,等. 土壤微生物组与土壤健康[J]. 中国科学(生命科学),2021,51(1):1-11.
- [20] 胡骞予,蔡永占,韩小女,等. 健康与感染黑胫病烟株根际土壤细菌群落结构与多样性[J]. 福建农业学报,2022,37(2):233-239.
- [21] 王延平,王华田. 植物根分泌的化感物质及其在土壤中的环境行为[J]. 土壤通报,2010,41(2):501-507.
- [22] 董 静,邢锦城,温祝桂,等. 苏北滩涂盐碱地 3 种典型盐生植物根际土壤细菌多样性及群落结构分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(8):212-218.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 向立刚,汪汉成,郭 华,等. 健康与感染黑胫病烟株根际土壤与茎秆细菌群落结构与多样性[J]. 中国烟草学报,2020,26(1):100-108.
- [26] 张亚培,章嫣芸,李梅梅,等. 变形菌多重耐药性与整合子相关性分析[J]. 中国抗生素杂志,2015,40(2):141-144.
- [27] 张 颖,杨 悦,韦庆慧,等. 鞘氨醇单胞菌的特性及应用研究进展[J]. 化学与生物工程,2021,38(3):6-13.
- [28] 汪娅婷,付丽娜,姬海海,等. 基于高通量测序技术研究云南玉米根际微生物群落多样性[J]. 江西农业大学学报,2019,41(3):491-500.
- [29] 贾原博,赵晓峰,贺 敏,等. 耐受重金属铅乳酸菌的分离筛选及鉴定[J]. 食品工业科技,2016,37(22):244-247,253.
- [30] 蒲俊华,孔令武,刘茵茵,等. 抗重金属乳酸菌的研究进展[J]. 动物营养学报,2019,31(4):1485-1490.
- [31] 宋晓军. 苹果根际微生物群落结构分析及苹果根际促生细菌的筛选[D]. 泰安:山东农业大学,2017:1-80.
- [32] 朱晓慧,刘 虹,郭茹鑫,等. 黑土微生物群落对副球菌属(*Paracoccus* sp.) QD15-1 修复邻苯二甲酸二甲酯污染土壤的响应[J]. 环境污染与防治,2020,42(2):182-186.
- [33] 邓 阳,姜竹鸣,张玉琴. 寡养单胞菌属细菌的研究进展[J]. 生物资源,2021,43(1):1-9.