

杨鑫,赖振光,樊吴静,等. 马铃薯疮痂病不同抗性品种发病与健康块茎内生细菌群落结构及多样性[J]. 江苏农业科学,2023,51(14):134-140.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.14.018

马铃薯疮痂病不同抗性品种发病与健康块茎内生细菌群落结构及多样性

杨鑫,赖振光,樊吴静,李丽淑,何虎翼,唐洲萍

(广西壮族自治区农业科学院经济作物研究所,广西南宁 530007)

摘要:采用 Illumina Miseq 测序技术对比分析马铃薯不同抗性品种发病与健康块茎内生细菌群落结构多样性和优势菌群的差异性。结果表明,病原菌侵染改变了内生细菌原有的群落结构组成和多样性特征,与健康块茎相比,易感病品种闽薯 2 号发病块茎内生细菌 Shannon 指数降低,独有 OTU 明显提高,抗病品种中薯 566 发病块茎内生细菌 Shannon 指数略有提高,独有 OTU 数量降低;不同品种发病和健康块茎门、属水平上的主要优势菌分别为变形菌门(Proteobacteria)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*);抗病品种块茎内生细菌多样性和有益微生物群落结构比易感病品种更丰富和稳定,闽薯 2 号发病块茎内生慢生根瘤菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)等有益菌群不同程度降低,而中薯 566 发病块茎有益微生物的相对丰度明显提高;放线菌属(*Actinobacteria*)是健康块茎的重要细菌类群,对拮抗内生菌的挖掘具有一定的指导意义。

关键词:马铃薯疮痂病;品种抗性;内生细菌;群体多样性;丰富度指数

中图分类号:S435.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)14-0134-07

冬作马铃薯作为广西优势产业,种植历史悠久,随着马铃薯主粮化战略启动实施,种植区域逐步扩展,由于带菌种薯的转移和栽培管理不当导致马铃薯种植地均有疮痂病发生,并呈逐年加重趋势。马铃薯疮痂病是由疮痂病链霉菌(*Streptomyces scabies*)引起的一种土传性和种传性病害^[1],疮痂病链霉菌的腐生性使其能在低温生存,温度升高恢复致病力,使其难以根治^[2],它主要危害块茎表皮,在薯块上形成凹陷或凸起的疮痂状斑块,严重影响薯块的外观品质和经济价值。目前主要依赖药剂防治,虽取得一定成效,但也存在较大弊端,如农药残留、病原菌抗药性及植物微生态环境失衡等。“以菌治菌”的生物防治方法因具有高效性、低成本、环境友好等特点,逐渐成为马铃薯疮痂病防治的热点

和趋势。

植物内生菌是指其生活史中的某一段时期生活在健康植物各组织器官的细胞间隙或者细胞内部,不引起宿主植株发生明显病害的一类微生物^[3-4]。植物内生菌长期定殖于植物组织内部并与之长期协同进化形成了互利共生的关系^[5],内生菌与植物共同组成一个复杂微生态系统,使其具有丰富物种多样性和特殊生物功能,对调节宿主体内的微生态平衡以及促进宿主植物健康生长发挥重要作用,是一类具有巨大应用潜能的新型生防资源^[6-7]。研究发现,植物内生菌的分布特征与其定殖宿主植物的种类或品种、部位以及生长的地理环境等因素紧密相关^[8]。不同抗性品种内生菌群落结构组成相似,但多样性特征存在较大差异,内生菌对寄主选择偏好性可能与寄主自身的生理结构、营养代谢途径以及其分泌的次生代谢产物有关^[9-10]。健康和感病植株内生菌存在明显差异,内生菌多样性、丰富度与植株健康水平密切相关,病原菌的入侵降低了植株对外源菌的选择性^[11-12]。

马铃薯不同品种对疮痂病具有不同的抗性^[13-15],这种抗性是否与抗感品种的内生细菌有关,以及抗、感品种是否存在内生菌多样性和种群结构的差异。为了解释这个科学问题,本研究采用 Illumina Miseq 测序技术对马铃薯抗疮痂病品种和

收稿日期:2022-09-07

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-09-ES19);广西自然科学基金(编号:2019GXNSFBA245095);广西农业科学院科技发展基金(编号:2021YM06)。

作者简介:杨鑫(1987—),女,广西防城人,硕士,助理研究员,从事马铃薯高产栽培技术研究,E-mail:yangxin122009@163.com;共同第一作者:赖振光(1976—),男,广西邕宁人,助理研究员,从事马铃薯等农作物栽培研究,E-mail:519229671@qq.com。

通信作者:李丽淑,博士,副研究员,主要从事马铃薯育种和栽培技术研究。E-mail:shukitty@126.com。

易感病品种、健康和发病块茎内生细菌的群落结构和多样性进行分析,探讨品种抗性与其内生细菌间存在的关系,旨在马铃薯内生细菌微生物信息系统构建、疮痂病拮抗菌的筛选和利用提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料及病原菌 供试品种有费乌瑞它、紫云 1 号、云薯 304、希森 6 号、闽薯 2 号、华薯 9 号、黔芋 8 号、中薯早 39、中薯 566,均为无疮痂病斑的原种一代,由中国农业科学院蔬菜研究所提供;供试病原菌株加利利疮痂链霉菌 (*Streptomyces galilaeus*),由内蒙古大学马铃薯工程技术研究中心提供。

1.1.2 供试培养基 OMA 培养基:20 g 燕麦粉,煮沸 20 min 后,经过 3 层纱布过滤,18 g 琼脂粉,混合后蒸馏水定容至 1 000 mL,pH 值调节到 7.0。

1.1.3 主要试剂和仪器 细菌基因组提取试剂盒,购自 OMEGA 公司;AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒,购自 AXYGEn 公司;QuantiFluor™ - ST 蓝色荧光定量系统,购自 Promega 公司;用 PacBio 构建文库和进行测序。

1.2 试验方法

1.2.1 不同抗性品种筛选

1.2.1.1 接种体的制备 供试菌株在燕麦培养基中 28 ℃ 培养 14 d,用无菌水冲洗菌株孢子并调节孢子悬浮液浓度为 10^6 CFU/mL,采用平板稀释涂布法确定孢子浓度。

1.2.1.2 播种与管理 盆栽试验前先进行种薯催芽、薯块消毒以及土壤灭菌,土壤与基质按 1:1 的比例混合后,在 1×10^5 Pa 条件下灭菌 30 min;每盆种植 1 个薯块,每个品种重复 4 次,分别于播种、播种后 4 周灌根接种 200 mL 菌悬液,对照处理浇入等量清水。播种后 30 d,根据植株的生长情况浇水,之后进入控水期,待植株出现缺水症状后再浇水以促进疮痂病的发生。田间试验采用单因素随机区组排列,试验地点为广西壮族自治区农业科学院里建科研基地,时间为 2021 年 11 月至 2022 年 3 月,每个品种设 3 次重复,小区面积为 18 m^2 ,单垄双行品字形的摆放方式播种,株行距为 $25 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$,种植密度为 4 500 株/ 667 m^2 。

1.2.1.3 收获与病情调查 90 d 后盆栽收获,将所有直径大于 0.75 cm 的块茎进行清洗,晾干后称质

量,统计每个品种的发病率、病情指数,以及每个块茎的病斑面积及块茎表面深度最大的病斑深度。根据邢莹莹的病斑分类方法^[14]计算每个植株中每一块茎的病斑面积等级(MA)、病斑深度等级(MD)、疮痂指数(scab indrx,SI), $SI = (MA \times MD) / 20 \times 100$;根据每个处理疮痂指数的平均值(MSI),将各品种分为 5 个等级:高抗, $0 < MSI \leq 6$;中抗, $6 < MSI \leq 15$;感病, $15 < MSI \leq 22$;易感, $22 < MSI \leq 30$;高感, $MSI > 30$ 。马铃薯成熟期,测定整个小区大、小薯质量,折算商品薯率和产量。

1.2.2 高通量分析不同抗性品种内生菌的多样性

1.2.2.1 样品表面消毒 取健康和发病(平均每个薯块发病等级 3 级)马铃薯块茎,洗净表皮,每个品种取 3 个大小均匀的薯块,用 1% 吐温 20 浸泡 1 min,2.5% 硫代硫酸钠浸泡 10 min,无菌水冲洗 3 遍,取出后浸入 10% 无菌碳酸氢钠溶液中 15 min 以破坏表面结构,无菌水冲洗 5 次,最后 1 遍无菌水洗涤液涂板检测无菌说明表面消毒有效。用无菌打孔器($d = 15 \text{ mm}$)从茎基部插入表面消毒好的薯块,取出样品,切成 5 mm 长小块,于超净工作台内自然风干,称取 1 g 于无菌研钵用液氮研磨成粉末,转至无菌离心管中。

1.2.2.2 基因组 DNA 提取及扩增测序 使用 DNA 提取试剂盒对样品进行总 DNA 提取,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 浓度和纯度。利用 16S rRNA 基因通用引物 799F(5′ - AACM GGATTAGATACCKG - 3′)和 1193R(5′ - ACGTCA TCCCCACCTTCC - 3′)对 V5 ~ V6 区域进行 PCR 扩增。PCR 反应体系和反应条件参考刘晓静等的方法^[15]。使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEn 公司)切胶回收 PCR 产物,经 Tris_HCl 洗脱,2% 琼脂糖电泳检测,将 PCR 产物用 QuantiFluor™ - ST 蓝色荧光定量系统进行定量检测。

1.2.2.3 Illumina PE250 文库构建、测序及数据处理 连接“Y”字形接头 - 使用磁珠筛选去除接头自连片段 - 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集 - 氢氧化钠变形,产生单链 DNA 片段。文库构建后利用 Illumina 公司的 Miseq PE250 进行高通量测序。将有效序列按 97% 的相似性聚类成为操作分类单元(operational taxonomic units,OTU),进行生物信息统计和物种分类学分析,计算样品多样性和优势物种丰度差异性。

2 结果与分析

2.1 品种抗性鉴定

本研究采用大田试验观察产量性状,盆栽接菌进行抗性鉴定。试验结果表明,空白对照盆栽未感病,说明基质不含有疮痂病病菌,灭菌彻底。由表 1 可知,全部材料的平均疮痂指数(MSI)在 10.00 ~ 28.00 之间,紫云 1 号、中薯 566、希森 6 号、云薯 304

的 MSI 为 10.00 ~ 13.33,表现为中抗品种;费乌瑞它、黔芋 8 号、华薯 9 号、中薯早 39 的 MSI 为 15.11 ~ 19.24,表现为感病品种;闽薯 2 号的 MSI 为 28.00,表现为易感品种。通过抗性评价和产量性状可知,闽薯 2 号的疮痂指数显著高于中薯 566,在中抗品种中,中薯 566 的产量表现最好,因此,选择中抗病品种中薯 566 和易感病品种闽薯 2 号开展下一步试验。

表 1 不同马铃薯品种疮痂病抗性评价

品种	发病率 (%)	病情指数 (%)	平均疮痂指数	抗性级别	商品薯率 (%)	产量 (kg/hm ²)
中薯早 39	93.06 ± 3.67ab	55.28 ± 4.09ab	19.24 ± 2.12bc	感病	82.60 ± 0.42c	210.98 ± 2.08b
中薯 566	91.67 ± 8.33ab	60.00 ± 2.00ab	11.25 ± 0.72cd	中抗	87.02 ± 2.44abc	235.54 ± 2.74a
费乌瑞它	100.00 ± 0.00a	46.22 ± 3.47ab	15.11 ± 2.58bcd	感病	85.94 ± 1.81bc	231.28 ± 3.24a
希森 6 号	76.59 ± 3.53b	40.28 ± 1.69b	11.97 ± 1.91bcd	中抗	92.46 ± 0.75a	185.70 ± 2.86c
闽薯 2 号	100.00 ± 0.00a	84.22 ± 1.31a	28.00 ± 0.56a	易感	91.17 ± 0.02ab	248.04 ± 5.60a
华薯 9 号	100.00 ± 0.00a	63.33 ± 3.33ab	15.83 ± 0.83bcd	感病	92.67 ± 0.55a	196.96 ± 4.14bc
黔芋 8 号	80.65 ± 3.11ab	54.35 ± 3.97ab	15.54 ± 0.73bcd	感病	61.06 ± 0.33d	197.55 ± 4.63bc
紫云 1 号	94.44 ± 5.56ab	40.00 ± 5.09b	10.00 ± 1.27d	中抗	50.76 ± 0.23e	128.38 ± 1.18d
云薯 304	100.00 ± 0.00a	53.33 ± 8.82ab	13.33 ± 2.20bcd	中抗	54.24 ± 0.03e	93.97 ± 0.99e

注:同列数值后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

2.2 测序数据分析

以中抗病品种中薯 566 和易感病品种闽薯 2 号的健康、发病块茎为测序样品,原始数据经过优化处理后,处理 A、B 分别得到 31 050、40 692 条高质量序列片段,11 716 232、15 329 918 个碱基,序列平均长度均为 377 bp;处理 C 和处理 D 分别得到 47 864、43 344 条高质量序列片段,18 047 225、16 364 743 个碱基,序列平均长度分别为 377、378 bp(表 2)。Specaccum 物种累积曲线(图 1)反映,随着样本量的增加曲线逐步趋向平缓,说明抽样充分,可满足样品间细菌群落结构的对比分析。

2.3 OTU 聚类分析

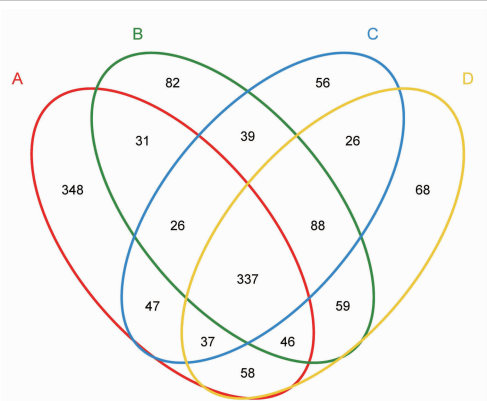
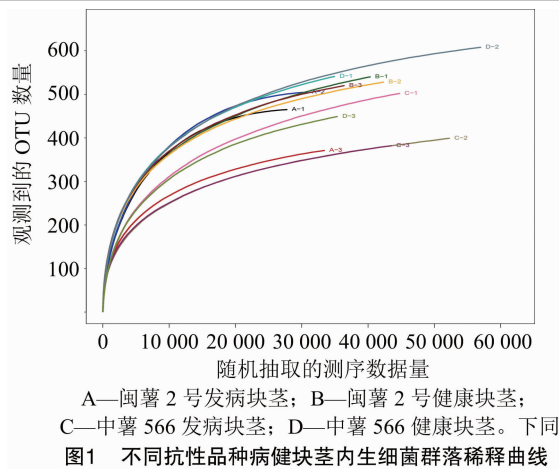
在 97% 相似度水平上对样品序列进行 OTU 聚类,处理 A 鉴定得到细菌属 8 个门,10 个纲,27 个目,43 个科,84 个属,107 个种,442 个 OTU;处理 B

鉴定得到细菌 11 个门,17 个纲,41 个目,64 个科,134 个属,172 个种,493 个 OTU;处理 C 鉴定得到细菌 9 个门,14 个纲,34 个目,56 个科,105 个属,135 个种,375 个 OTU;处理 D 鉴定得到细菌 9 个门,15 个纲,33 个目,60 个科,125 个属,163 个种,476 个 OTU(表 2)。结果表明,发病块茎 OTU 总量比健康块茎低,中薯 566 发病和健康块茎 OTU 总量均比闽薯 2 号少;与闽薯 2 号相比,中薯 566 发病后块茎 OTU 总量明显降低。

Venn 图能直观展示不同样本中共有和独有的 OTU(图 2),在属和 OTU 水平下,4 个样本块茎内生细菌共有 337 个 OTU,主要属包括慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、中慢生根瘤菌属(*Mesonrhizobium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*)、嗜甲基菌属(*Methylophilus*)、

表 2 不同抗性品种病健块茎内生细菌群落不同分类水平数量

处理	数量(个)							序列数	碱基数 (bp)	平均序列长度 (bp)
	门	纲	目	科	属	种	OTU			
A	8	10	27	43	84	107	442	31 050	11 716 232	377.396 7
B	11	17	41	64	134	172	493	40 692	15 329 918	376.756 7
C	9	14	34	56	105	135	375	47 864	18 047 225	377.003 3
D	9	15	33	60	125	163	476	43 344	16 364 743	377.576 7



沙雷氏菌属(*Serratia*)等;处理 A 和处理 B 共有 440 个 OTU,处理 A 和处理 C 共有 447 个 OTU,处理 C 和处理 D 共有 488 个 OTU,处理 B 和处理 D 共有 530 个 OTU。处理 A 独有 OTU 个数为 348,主要有变形杆菌属(*Proteobacteria*)、香味菌属(*Myroides*)、根瘤菌属(*Allorhizobium*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、鞘脂杆菌属(*Sphingobacterium*)、鞘氨醇杆菌属(*Chitinophaga*)、根瘤菌属(*Allorhizobium*)、新鞘酯菌属(*Novosphingobium*)等;处理 B 独有的 OTU 个数为 82,主要属包括伯克氏菌属(*Burkholderia*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、原小单胞菌属(*Promicromonospora*)、不黏柄菌属(*Asticcacaulis*)、细链孢菌属(*Catenulispora*)等;处理 C 独有的 OTU 个数为 56,主要属包括 *Hermiiniimonas*、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、根瘤菌属、拟杆菌属(*Bacteroides*)、赖氏菌属(*Leifsonia*)等;处理 D 独有的 OTU 个数为 68,主要属包括玫瑰单胞菌属(*Roseomonas*)、根瘤菌属、气微菌属(*Aeromicrobium*)、耐重金属中慢生根瘤菌(*Alsobacter*)、类诺卡氏属(*Actinoplanes*)等。结果表明,不同抗性品种健康块茎共有的 OTU 数量比发病块茎多;闽薯 2 号发病块茎独有 OTU 数量比健康块茎明显提高,中薯 566 发病块茎独有 OTU 数量比健

康块茎少。

2.4 内生菌 α 多样性分析

α 多样性可以反映微生物群落的丰度和多样性。Chao、Richness 指数反映样品细菌群落物种的丰富度;Shannon、Simpson 指数代表细菌群落多样性;ACE、Evenness 指数表示样品细菌群落均匀度。其中,Simpson 指数越大,说明群落多样性越低,其余指数值越大,说明相应的群落丰富度、多样性和均匀度越高。

由表 3 可知,各处理样品测序深度均达到 0.99,表明测序结果合理。处理 B 和处理 D 的丰富度指数 Chao、Richness 分别比处理 A 和处理 C 高,处理 A 的多样性指数 Shannon 比处理 B 低,处理 C 的多样性指数 Shannon 比处理 D 高。由此可知,不同抗性品种发病块茎内生细菌丰富度比健康块茎降低,闽薯 2 号发病块茎内生细菌多样性指数降低,中薯 566 发病块茎内生细菌多样性比健康块茎有所提高。

2.5 内生菌群落组成和结构分析

分别对 4 组样品门、纲、目、科、属水平的群落结构进行分析。由图 3 可知,不同样品内生细菌共鉴定出 5 个门类,依次为变形菌门(*Proteobacteria*, 73% ~ 93%)、放线菌门(*Actinobacteriota*, 3% ~ 17%)、拟杆菌门(*Bacteroidota*, 4% ~ 12%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 1% ~ 2%),其他占 1% 左右。不同抗

表 3 不同抗性品种病健块茎内生细菌 α 多样性指数分析

处理	丰富度指数		多样性指数		均匀度指数		测序深度
	Chao	Richness	Shannon	Simpson	ACE	Evenness	
A	464 ± 26.85a	447 ± 39.72a	4.96 ± 0.27a	0.10 ± 0.03a	475 ± 24.56a	0.53 ± 0.02a	0.999 ± 0.000a
B	616 ± 9.95a	529 ± 5.81a	5.40 ± 0.03a	0.08 ± 0.01a	619 ± 14.97a	0.47 ± 0.00a	0.997 ± 0.000a
C	531 ± 48.40a	428 ± 37.49a	4.70 ± 4.70a	0.11 ± 0.03a	528 ± 50.56a	0.45 ± 0.04a	0.998 ± 0.000a
D	612 ± 44.89a	533 ± 46.09a	4.58 ± 0.36a	0.16 ± 0.05a	621 ± 46.10a	0.48 ± 0.03a	0.997 ± 0.000a

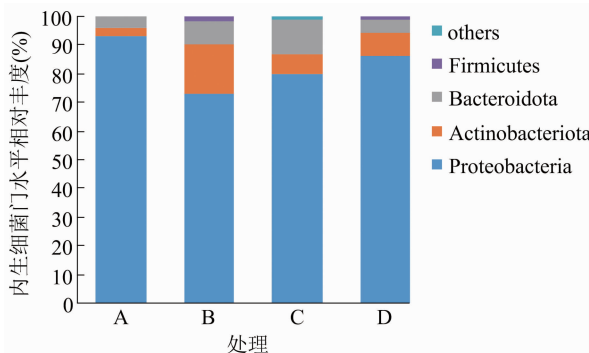


图3 不同抗病性健马铃薯块茎内生细菌门水平菌群分布

性品种内生细菌群落门水平上的组成相似,但丰度占比不同:处理 A 变形菌门占比最大,为 93%,分别比处理 B 和处理 C 提高了 27.40% 和 16.25%;放线菌门在处理 B 中占比最大,为 17%,处理 A 放线菌门相对丰度比处理 B 降低了 82.35%;拟杆菌门在处理 C 中占比最大,为 12%,比处理 D 提高了 200%。

由图 4 可知,属水平上,可归类的微生物群落有慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、生根根瘤菌属 (*Mesorhizobium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、叶杆菌属 (*Phyllobacterium*)、金黄杆菌属 (*Phyllobacterium*)、红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*) 等 30 个

菌属。不同处理主要的优势菌属均为慢生根瘤菌属,优势菌属组成、相对丰度与品种抗性、健康程度不同而有所差异。处理 A 的优势菌属主要有慢生根瘤菌属 (17.91%)、沙雷氏菌属 (12.49%)、生根根瘤菌属 (12.27%)、叶杆菌属 (5.40%);处理 B 主要菌属有慢生根瘤菌属 (20.04%)、假单胞菌属 (14.25%)、原小单胞菌属 (*Promicromonospora*, 9.42%)、黄杆菌属 (5.95%);处理 C 主要菌属有慢生根瘤菌属 (11.77%)、黄杆菌属 (11.16%)、嗜甲基菌属 (*Methylophilus*, 10.77%)、假单胞菌属 (9.70%)、生根根瘤菌属 (8.97%);处理 D 主要菌属为慢生根瘤菌属 (36.80%)、生根根瘤菌属 (16.68%)、叶杆菌属 (11.13%)、金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*, 4.83%)、红假单胞菌属 (4.67%)。处理 A 慢生根瘤菌属占比比处理 B 降低 2.13%,处理 C 慢生根瘤菌属、生根根瘤菌属占比分别比处理 D 降低 25.03%、7.71%;处理 A 假单胞菌属、黄杆菌属占比分别比处理 B 降低了 12.25%、3.77%,而处理 C 假单胞菌属、黄杆菌属占比分别是处理 D 的 6.9、25.5 倍;处理 A 的沙雷氏菌属相对丰度比处理 B 明显提高。

2.6 组间内生菌优势物种差异分析

利用 LEfSe 分析方法进行病健马铃薯块茎内生菌差异显著性分析。图 5 - A 为聚类树,图 5 - B 是

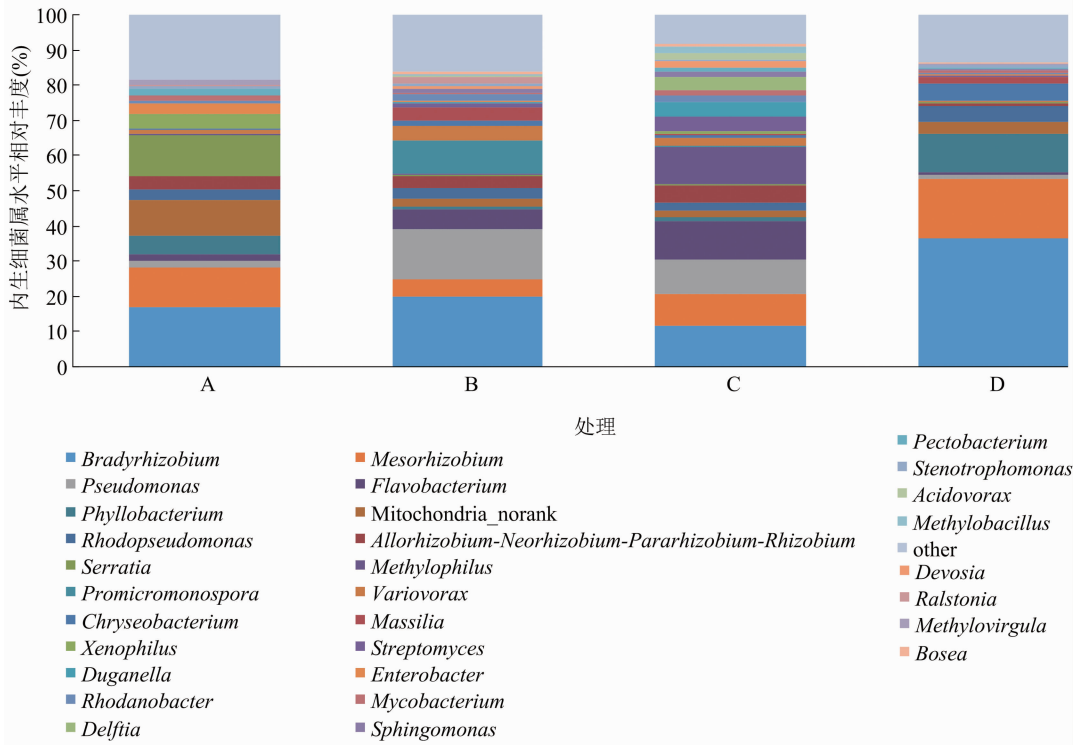


图4 不同抗性品种病健马铃薯块茎内生细菌属水平菌群分布

通过线性判别分析(LDA)分析2个组别当中有显著作用的微生物类群获得的LDA分值图。由LDA值分布可知,B组物种丰度最高,为物种差异组。放线菌门(Actinobacteriota)、放线菌纲(Actinobacteria)、Thermoleophilia、微球菌目(Micrococcales)、假诺卡式目(Pseudonocardiales)、丙酸杆菌目(Propionibacteriales)、原小单胞菌属(Promicromonosporaceae)、假诺卡式属(Pseudonocardiaceae)以及厚壁菌门(Firmicutes)芽孢杆菌纲(Bacilli)芽孢杆菌目(Bacillales)芽孢杆菌

属(*Bacillus*)均是B组中起重要作用的微生物类群,其中放线菌属(*Actinobacteria*)对其影响程度最大。结合进化分支图(图5-A)可知,变形菌门(Proteobacteria)、丙型变形菌纲(Gammaproteobacteria)、伯克霍尔德氏菌目(Burkholderiales)、丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)、*Xenophilus*是A组中的差异微生物类群;放线菌门(Actinobacteriota)、放线菌纲(Actinobacteria)、微球菌目(Micrococcales)、微球菌科(Micrococcaceae)是D组中的差异微生物类群。

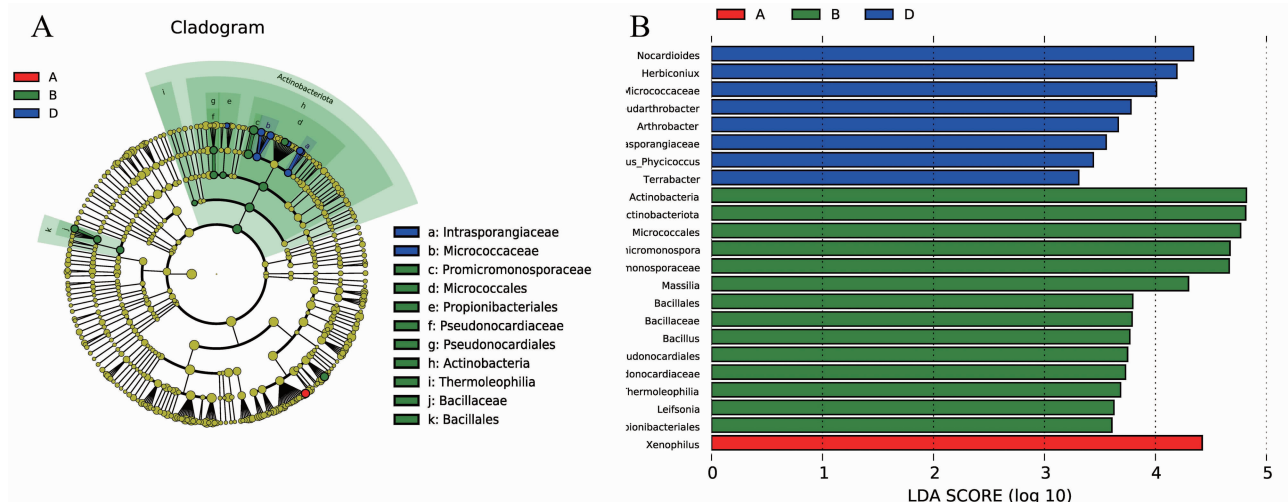


图5 LDA得分与物种分支进化

3 讨论与结论

植物内生菌广泛分布在植物体内,种类繁多,具有丰富的种群生物多样性,其种类组成及结构变化受到植物自身生长状况以及外界环境的影响^[16-17]。本研究通过OTU聚类和 α 多样性分析可知,病原菌的侵染明显改变了内生细菌群落结构,不同抗性品种发病块茎内生细菌OTU数量、菌群种类和丰富度指数均比健康块茎低;易感病品种闽薯2号发病块茎独有OTU比健康块茎明显提高,多样性指数降低,其变化规律与前人的研究结果^[18-19]存在差异,可能是由于病原菌侵染诱导植株产生了大量次级代谢产物,造成马铃薯块茎内生细菌生存条件发生变化从而某一类型致病菌或者病原菌单一大量定殖,抑制其他种类微生物生长繁殖。而中抗病品种中薯566发病块茎独有OTU数量比健康块茎少,多样性指数变化幅度小。这与李佳等的研究结果相似,抗病品种中丰富的内生细菌以及病原菌侵染后仍可以维持较稳定的内生细菌多样性,从而

加强了抗性品种对致病菌的抗性,并对植株起到一定的保护作用^[20-21]。

不同抗性品种内生细菌优势菌门为变形菌门,变形菌门是在植物体内发现的最广泛的一个细菌菌门,其物种和遗传多样性极为丰富,广泛用于植物病虫害防治和生物固氮等方面^[22]。病原菌侵染后,不同抗性品种发病块茎放线菌门相对丰度均比健康块茎呈现不同程度降低,这与王庆华等的研究结果相似,病原菌通过改变优势微生物的群落多样性,破坏了内生菌原有的生态平衡位点,为自身创造了更有利的生存环境^[23]。中薯566发病块茎拟杆菌门相对丰度比健康块茎提高了200%,拟杆菌门细菌大多与致病菌相关^[24],中薯566拟杆菌门大量增加可能与致病菌侵染有关。

属水平上,不同处理的主要优势菌属为慢生根瘤菌属,次优势菌属因不同品种和有无感病情况表现出丰富的多样性,其中,中薯566病、健优势菌群种类和相对丰度均比闽薯2号多;闽薯2号发病块茎内生慢生根瘤菌属、假单胞菌属、黄杆菌属等有

益菌群相对丰度不同程度降低,而中薯 566 相应有益微生物明显提高。这与前人的研究结果相似,一些促生菌和拮抗菌属在抗病品种病株中分布较多,可能与抗病品种内生菌受到外界病原菌侵染之后,会主动形成防御反应有关,通过增加自身群落数量和多样性以竞争和拮抗的方式抑制病原菌的生长繁殖^[25-28]。闽薯 2 号发病块茎沙雷氏菌属相对丰度比健康块茎明显提高,沙雷氏菌是一类重要的生防菌,能分泌多种抗生性代谢产物,能有效抑制不同植物病原真菌的生长^[29],关于发病块茎沙雷氏菌属丰度提高的具体原因有待进一步研究。

放线菌是一类重要的生防微生物,由于其代谢类型和代谢产物十分丰富,从中分离获得的链霉素、阿维菌素、春雷霉素和井冈霉素等农用抗生素在病虫害防治中占具重要地位^[30]。本研究发现,放线菌属是健康块茎的重要细菌类群,对马铃薯疮痂病拮抗内生菌的挖掘具有一定指导作用。隶属于伯克霍尔德氏菌目丛毛单胞菌科的 *Xenophilus* 细菌是健康和发病块茎间重要差异的微生物标识,*Xenophilus* 可能是潜在的新物种,与块茎发病的关系有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Wanner L A. A patchwork of *Streptomyces* species isolated from potato common scab lesions in North America[J]. American Journal of Potato Research, 2009, 86(4): 247–264.
- [2] Santos – Cervantes M E, Felix – Gastelum R, Herrera – Rodríguez G, et al. Characterization, pathogenicity and chemical control of *Streptomyces acidiscabies* associated to potato common scab [J]. American Journal of Potato Research, 2017, 94(1): 14–25.
- [3] Barraquio W L, Revilla L, Ladha J K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice[J]. Plant and Soil, 1997, 194(1): 15–24.
- [4] Wilson D. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition[J]. Oikos, 1995, 73(2): 274–276.
- [5] 陈丽莹, 方荣祥, 吴建祥, 等. 植物内生细菌测定方法的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1105–1119.
- [6] 靳 锦, 赵 庆, 张晓梅, 等. 植物内生菌活性代谢产物最新研究进展[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(3): 103–113.
- [7] 薛莲英, 杨智宇, 李天芳, 等. 植物内生菌生物学功能及 microRNA 对植物 – 内生菌互作的影响[J]. 福建农业学报, 2022, 37(2): 267–272.
- [8] 张芳芳, 宋希强, 朱国鹏. 不同生境下五唇兰根部可培养内生细菌多样性研究[J]. 植物科学学报, 2016, 34(1): 135–142.
- [9] 吴燕燕, 徐伟芳, 罗 琴, 等. Illumina MiSeq 高通量测序分析不同品种桑树内生细菌多样性[J]. 蚕学通讯, 2018, 38(3): 1–10.
- [10] Lamb T G, Tonkyn D W, Kluepfel D A. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1996, 42(11): 1112–1120.
- [11] 熊大维, 金丹凤, 顾斌涛, 等. 柑橘黄龙病赣南脐橙内生菌群结构分析[J]. 微生物学通报, 2017, 44(3): 631–638.
- [12] 张晨智, 张 旭, 陈抒瑶, 等. 健康与发病香蕉植株内生细菌菌群差异[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(2): 284–291.
- [13] 赵远征, 徐利敏, 聂峰杰, 等. 不同马铃薯品种抗疮痂病的田间鉴定与评价[J]. 北方农业学报, 2020, 48(1): 81–86.
- [14] 邢莹莹. 黑龙江省部分地区马铃薯疮痂病原鉴定及主栽品种的抗性评价[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.
- [15] 刘晓静, 朱 静, 楚 敏, 等. 库车小白杏采后内生细菌群落代谢特征及结构组成的变化[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 141–146.
- [16] 古丽尼沙·沙依木, 张志东, 杨 波, 等. 不同品种苹果树内生细菌群落多样性及功能[J]. 微生物学通报, 2020, 47(2): 500–511.
- [17] Gong B, Yao X H, Zhang Y Q, et al. A cultured endophyte community is associated with the plant *Clerodendrum inerme* and antifungal activity[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(2): 6084–6093.
- [18] 向立刚, 周 浩, 汪汉成, 等. 健康与感染青枯病烟株根际土壤与茎秆细菌群落结构与多样性[J]. 微生物学报, 2019, 59(10): 1984–1999.
- [19] 彭芳芳, 魏召新, 李勋兰, 等. 基于高通量测序分析感染菌核病和健康桑果内生菌群落结构及多样性[J]. 食品科学, 2021, 42(20): 61–68.
- [20] 李 佳, 王中康, 谢 攀, 等. 长春花内生细菌多样性与柑橘黄龙病菌的相关性[J]. 微生物学报, 2012, 52(4): 489–497.
- [21] 许 乐, 阮小蕾, 李冬丽, 等. 对枯萎病不同抗性的香蕉品种的内生细菌多样性及群落结构[J]. 微生物学通报, 2012, 39(9): 1250–1259.
- [22] 李亮亮, 雷 高, 李 磊, 等. 基于高通量测序分析花生不同器官内生细菌群落多样性[J]. 花生学报, 2021, 50(2): 1–7, 20.
- [23] 王庆华, 付学松, 田叶韩, 等. 致病性镰孢菌入侵对土壤微生物群落和功能的影响[J]. 山东农业科学, 2021, 53(11): 56–62.
- [24] 罗路云, 张 卓, 金德才, 等. 南瓜白粉病不同病情等级下叶际细菌群落结构和多样性[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5): 688–695.
- [25] 熊炯梓, 赵亚鹏, 赵 盼, 等. 不同生境马铃薯根际土壤细菌多样性分析[J]. 微生物学报, 2020, 60(11): 2434–2449.
- [26] 高 萍, 李 芳, 郭艳娥, 等. 丛枝菌根真菌和根瘤菌防控植物真菌病害的研究进展[J]. 草地学报, 2017, 25(2): 236–242.
- [27] 沈红玲, 梁红丽, 达晓玉, 等. 百脉根根瘤内根瘤菌与假单胞菌的多样性分析[J]. 塔里木大学学报, 2022, 34(1): 1–10.
- [28] 王梦颖, 周登博, 井 涛, 等. 不同品种香蕉内生菌分离及广谱拮抗菌的筛选[J]. 生物技术通报, 2014(8): 138–145.
- [29] 白腾飞, 刘月芹. 沙雷氏菌抗生性次级代谢产物合成机制[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(4): 115–119.
- [30] 樊炳君, 曹艳茹, 赵洪莹, 等. 特殊生境放线菌在植物病害防治中的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(2): 1–4, 14.