

引文格式: 李俊逸, 矣晓翠, 刘福翠, 等. 马铃薯块茎蛾取食胁迫对马铃薯根际可培养细菌物种多样性和群体多度的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2024, 39(1): 44–53. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202303017](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202303017)

马铃薯块茎蛾取食胁迫对马铃薯根际可培养细菌物种多样性和群体多度的影响*

李俊逸[#], 矣晓翠[#], 刘福翠, 姚 遥, 祝春月, 刘一依, 尹丽肖, 肖关丽^{**}
(云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】通过根际可培养细菌多样性研究马铃薯对马铃薯块茎蛾 (*Phthorimaea operculella*) 取食胁迫的生理响应, 为植物—蛀食性害虫—根际微生物互作效应及马铃薯块茎蛾的防治提供科学依据。【方法】室内盆栽青薯9号马铃薯, 接种马铃薯块茎蛾3龄幼虫, 分别于取食胁迫3、7和14 d时对马铃薯根际土壤进行取样, 采用LB培养基分离培养根际土壤细菌, 结合细菌形态特征及16S rRNA测序法鉴定细菌种类, 分析可培养细菌的组成结构及多样性。【结果】马铃薯块茎蛾取食胁迫改变了马铃薯根际土壤细菌群落的组成结构及多样性, 其中, 胁迫3 d时马铃薯根际土壤细菌较对照多3种[海水罗塞略莫拉氏菌 (*Rosellomicrobium aquimaris*)、长孢黄色链霉菌 (*Streptomyces longisporoflavus*) 和阿尔及利亚微杆菌 (*Microbacterium algeriense*)]; 胁迫7 d时, 较对照多2种[稻壳罗塞略莫拉氏菌 (*R. oryzaecorticis*) 和马氏副球菌 (*Paracoccus marcusii*)]; 胁迫14 d时, 较对照多2种[产吡啶金黄杆菌 (*Chryseobacterium indologenes*) 和布鲁氏菌根瘤菌 (*Brucella rhizosphe*)]。马铃薯块茎蛾取食胁迫后马铃薯根际可培养细菌的相对多度发生变化, 其中在胁迫第3天变化程度达到最大。在取食胁迫3、7和14 d时, 放线菌门 (*Actinobacteria*) 细菌相对多度分别增加23.49%、12.56%和28.06%, 节杆菌属 (*Arthrobacter*) 相对多度分别增加103.50%、65.37%和28.57%。【结论】马铃薯块茎蛾取食胁迫可影响马铃薯根际细菌群落的物种组成结构及多样性, 其中节杆菌属细菌的相对多度明显增加。研究结果为马铃薯根际对害虫取食胁迫的响应及马铃薯根际功能细菌的筛选提供基础。

关键词: 马铃薯; 马铃薯块茎蛾; 生物胁迫; 根际细菌

中图分类号: S435.32 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X (2024) 01-0044-10

Effects of Feeding Stress of *Phthorimaea operculella* on Species Diversity and Abundance of Potato Rhizosphere Culturable Bacteria

LI Junyi, YI Xiaocui, LIU Fucui, YAO Yao, ZHU Chunyue,
LIU Yiyi, YIN Lixiao, XIAO Guanli

(College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] The physiological response of potato to the feeding stress of *Phthorimaea operculella* was studied through the diversity of rhizosphere culturable bacteria, so as to provide sc-

收稿日期: 2023-03-08

修回日期: 2024-01-11

网络首发日期: 2024-03-11

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (32360711, 31760519); 国家重点研发计划课题 (2021YFD1400705)。

作者简介: [#]对本文贡献等同, 为并列第一作者。李俊逸 (1997—), 男, 河南郑州人, 在读硕士研究生, 主要从事马铃薯抗虫生理研究。E-mail: junyi559@163.com; 矣晓翠 (2000—), 女, 云南昆明人, 在读硕士研究生, 主要从事马铃薯抗虫生理研究。E-mail: 1543284512@qq.com

^{**}通信作者 Corresponding author: 肖关丽 (1972—), 女, 云南昭通人, 博士, 教授, 主要从事作物栽培生理生态研究。E-mail: glxiao9@163.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240311.1043.001>



scientific basis for the interaction of plant-boring insect-rhizosphere microorganism and the management of *P. operculella*. [Methods] Indoor potted potato “Qingshu No.9” was inoculated with the 3rd instar *P. operculella* larvae of potato tuber moth. Soil samples were taken from the rhizosphere of potato under feeding stress for 3, 7 and 14 days, and soil bacteria were isolated and cultured on LB medium. Morphological characteristics and 16S rRNA sequencing were used to identify the species of bacteria, and the composition and diversity of culturable bacteria were analyzed. [Results] *P. operculella* feeding stress changed the composition and diversity of rhizosphere soil bacterial. For 3 days-feeding stress, three species of bacteria were specific compared with the control (*Rosellomorea aquimaris*, *Streptomyces longisporoflavus*, and *Microbacterium algeriense*); for 7 days-feeding stress, there were two species more than that of control (*R. oryzaecorticis* and *Paracoccus marcusii*); and for 14 days-feeding stress, there were two more species (*Chryseobacterium indologenes* and *Brucella rhizospha*). The relative abundance of rhizosphere soil culturable bacteria of potato changed after the feeding of *P. operculella*, and the greatest change was at 3 days-feeding stress. On the 3, 7, 14 days-feeding stress, the relative abundance of Actinomycete bacteria increased by 23.49%, 12.56% and 28.06%, respectively; and the relative abundance of *Arthrobacter* bacteria increased by 103.50%, 65.37% and 28.57%, respectively. [Conclusion] The feeding stress of *P. operculella* affects the species and diversity of the rhizosphere bacteria community of potato, and the relative abundance of bacteria in *Arthrobacter* increases obviously. The results provide a basis for the response of potato rhizosphere to pest feeding stress and the screening of functional bacteria in potato rhizosphere.

Keywords: potato; *Phthorimaea operculella*; biological stress; rhizobacteria

马铃薯块茎蛾 [*Phthorimaea operculella* (Zeller)] 隶属于鳞翅目 (Lepidoptera) 麦蛾科 (Gelechiidae), 是一种寡食性害虫, 也是世界范围内茄科 (Solanaceae) 作物的主要害虫^[1-4], 在田间取食马铃薯叶和茎, 可使马铃薯减产 20%~30%^[5]; 在储藏期, 钻蛀取食薯块, 引起马铃薯块茎干瘪或腐烂, 非低温储藏时马铃薯为害率高达 100%^[3, 6]。近年来, 随着气候环境条件及种植结构的变化, 该虫已成影响马铃薯生产的重要因素^[7-8], 使用化学农药仍是防治该虫的主要措施^[7, 9]。探索利用不同马铃薯品种对马铃薯块茎蛾的抗性及其胁迫响应调控该虫为害已引起许多学者的关注^[4-5, 10-12], 对于科学制定防控措施具有重要意义。

根际微生物在植物保护及植物生命活动中发挥着重要作用, 其组成结构及多度的变化能反映植物健康状况^[11-14]。不同植物的根际微生物群落组成结构不同, 且随着植物的生长发育, 根际微生物群落也随之发生变化。植物根际微生物除促进植物的正常生长发育、协助植物应对包括干旱、盐分、水、温度等非生物胁迫外^[15], 还诱导植物抵抗植物病原体和植食性昆虫等生物胁迫

迫^[13, 16-17]。MUKHTAR 等^[18]对盐水和非盐土壤样品进行高通量测序分析, 结果表明: 土壤盐度会影响根际微生物, 且放线菌在盐渍土样品中占主导地位, 蛋白杆菌在非盐渍土壤样品中占主导地位; GOODWIN^[19]研究指出: 多种人参根际微生物具有提高人参产量的潜力; 冯丹等^[20]研究表明: 蜡状芽孢杆菌 CLY07 对南方红豆杉有明显促生长作用, 能显著改善其幼苗生长状况, 提高养分代谢能力。植物—害虫—根际微生物互作是目前国际上研究的重点和热点^[11, 13], 监测健康和受胁迫根际的微生物群落种群和多度的变化过程, 通过合理补充微生物种群可以调节重要农作物微生态平衡, 实现单个或简单复配菌株无法实现的生态功能, 从而提高农作物的产量、质量及抗病虫害能力。植物根际微生物引起植物防御反应功能从而协助植物对抗咀嚼式昆虫或病原微生物危害的报道较多^[21-23], 一些有益根际微生物可以协助植物抵御病虫害胁迫, 如 MAO 等^[24]通过分析马铃薯黑胫病、疑似马铃薯黑胫病和健康环境马铃薯根际微生物, 发现马铃薯黑胫病与根际微生物种群的组成密切相关; IDRISI 等^[25]分离筛

选了不同地区的马铃薯块茎和根际微生物,发现有多种菌株对马铃薯黑胫病和块茎软腐病表现出不同程度的抑制作用;马铃薯地上叶片通过调节 MDA、 H_2O_2 和可溶性糖的含量以及 SOD 和 POD 活性对马铃薯块茎蛾取食胁迫表现出明显的生理响应^[5, 26]。

根际微生物在马铃薯抵御病虫害胁迫时发挥着重要作用^[4, 10],但目前鲜有关于蛀食性害虫取食胁迫后马铃薯根际细菌群落组成结构的研究,马铃薯根际细菌对马铃薯块茎蛾取食胁迫的响应尚不清楚。因此,本研究通过室内分离马铃薯块茎蛾取食胁迫后的马铃薯根际土壤,分析其中细菌微生物的组成结构和多样性,探究害虫取食胁迫对马铃薯根际细菌群落组成结构的影响,可为进一步筛选马铃薯根际有益微生物提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试马铃薯品种为青薯 9 号;供试马铃薯块茎蛾为云南农业大学植物保护学院昆虫学实验室长期饲养建立的稳定种群。

供试 LB 培养基:参考吕艳萍等^[27]的方法配制,配方包括胰蛋白胨 10 g,酵母提取物 5 g, NaCl 10 g,琼脂 15 g,水 1000 mL,调整 pH 值为 7.0~7.2。

主要试剂及仪器:细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), *Taq* PCR Mix (擎科生物科技有限公司); LDZX-0L-I 立式高压蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂)、2-16R 型离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司)、Mastercycler[®] nexus 型 PCR 仪(德国 Eppendorf 公司)和 DYY-2C 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品采集和处理

采用云南农业大学后山农田土壤进行室内盆栽(10 cm×20 cm)种植青薯 9 号马铃薯,待马铃薯第 5 枝侧枝长出时进行马铃薯块茎蛾胁迫试验。接虫前对马铃薯块茎蛾 3 龄幼虫进行饥饿处理 12 h,之后在马铃薯每一侧枝接种马铃薯块茎蛾 1 头,每株马铃薯接种 5 头,每组设置 3 个重复。取食胁迫 3、7 和 14 d 时,对接虫处理的马铃薯及空白对照组进行取样。

取样时将马铃薯整株挖出,抖落根际大块土壤,将马铃薯根收集到加有生理盐水 25 mL 的 50 mL 无菌离心管中,剧烈摇动 30 s,以 12377 r/min 离心 10 min,去除上清液;用无菌镊子去除根组织,沉淀即为根际土壤^[28];于-80℃冰箱中保存备用。

1.2.2 细菌分离培养和纯化

采用传统分离培养法进行分离培养。在超净工作台上称取马铃薯根际土样 1.0 g,加入含有无菌水 9 mL 的离心管中充分振荡稀释,得到 10^{-1} 土壤稀释液,并依次稀释至 10^{-4} 、 10^{-5} 和 10^{-6} ,每个梯度 3 个处理。用移液枪吸取土壤稀释液 50 μ L 涂布于 LB 培养基,再将 LB 培养基置于 28℃ 恒温培养箱中培养 2~3 d 后观察长出的菌落^[29],并每天定时观察菌落颜色、形态、表面光滑度等,用无菌接种环将所有菌落挑取在新的 LB 平板上进行纯化,反复纯化 2~3 次得到单菌落。

1.2.3 细菌菌种鉴定

形态学鉴定:观察并记录菌落的形状和颜色、细胞大小等培养性状,并使用革兰氏染色法对所分离的细菌进行染色观察,记录细胞的形态及革兰氏阴性或阳性。

分子鉴定:采用冻溶法^[30]提取所有分离纯化得到的根际土壤细菌菌株的基因组 DNA。分别从纯化的 LB 平板中挑取单菌落加入有无菌水 500 μ L 的 2 mL 无菌离心管中,充分振荡,直至菌体与水混匀,将混匀的菌悬液置于液氮冰冻 10 min,再沸水浴 5 min,于 12000 r/min 下离心 2 min,上清液即可作为 PCR 模板备用。反应体系为 25.0 μ L,包括细菌 16S rRNA 基因扩增通用引物 27F 和 1492R 各 1.0 μ L,细菌上清液 1.0 μ L, 2×*Taq* PCR Mastermix 12.5 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 仪设置反应条件:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 53℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 32 个循环; 72℃ 延伸 10 min。吸取 PCR 产物 3 μ L 进行凝胶电泳检测,将合格的 PCR 产物送至上海生物工程股份有限公司进行双向测序。使用 CExpress 软件对测序结果进行比对和拼接,再将拼接后的序列提交到 NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 查找相似性最高的典型菌株并下载序列;使用 MEGA 7 软件的邻位相连法和 Kimura 双参数校正模型构建系统发育树,以重复抽样 1000 次进行 Bootstrap 验证,分析评估系统进化树拓扑结

构的稳定性。

1.3 数据统计与分析

根据培养基上培养菌株的数量,并依据细菌形态学和分子学鉴定结果去除、整合重复的细菌菌株,按公式计算各菌株的相对多度:相对多度=单个菌株的菌落数/总菌落数 $\times 100\%$ 。采用 Origin 2021 进行相对多度绘图。

2 结果与分析

2.1 马铃薯根际土壤可培养细菌的种类组成

根据菌落形态特征及鉴定结果去除重复菌株,得到马铃薯根际细菌菌株 24 株(表 1),分属于 4 门 11 科 15 属 22 种。胁迫 3 d 时,马铃薯根际土壤细菌有 8 种,分别为滋养节杆菌(*Arthrobacter pascens*)、大洋沉积物纤维芽孢杆菌(*Cytobacillus oceanisediminis*)、硝基愈创木胶类节杆菌(*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*)、菜豆萎蔫病菌(*Curtobacterium flaccumfaciens*)、稻壳罗塞略莫拉氏菌(*Rosellomorea oryzaecorticis*)、海水罗塞略莫拉氏菌(*R. aquimaris*)、长孢黄色链霉菌(*Streptomyces longisporoflavus*)和阿尔及利亚微杆菌(*Microbacterium algeriense*),其中处理组特有菌株为海水罗塞略莫拉氏菌、长孢黄色链霉菌和阿尔及利亚微杆菌;胁迫 7 d 时,马铃薯根际土壤细菌有 8 种,分别为滋养节杆菌、硝基愈创木胶类节杆菌、菜豆萎蔫病菌、稻壳罗塞略莫拉氏菌、马氏副球菌(*Paracoccus marcusii*)、加德那氏链霉菌(*Streptomyces gardneri*)、叶片微杆菌(*M. foliorum*)和布鲁氏菌根瘤菌(*Brucella rhizopha*),其中处理组特有菌株为稻壳罗塞略莫拉氏菌和马氏副球菌;胁迫 14 d 时,马铃薯根际土壤细菌有 7 种,分别为滋养节杆菌、硝基愈创木胶类节杆菌、菜豆萎蔫病菌、产吡啶金黄杆菌(*Chryseobacterium indologenes*)、长孢黄色链霉菌、布鲁氏菌根瘤菌和阿氏普里斯特氏菌(*Priestia aryabhattai*),其中处理组特有菌株为产吡啶金黄杆菌和布鲁氏菌根瘤菌。

2.2 马铃薯根际可培养细菌的系统发育树

由图 1 可知:系统发育树可聚为 4 大支,第 1 大支由放线菌门(Actinobacteria)短杆菌属(*Brevibacterium*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、细杆菌属(*Microbacterium*)、类节杆菌属(*Paenarthrobacter*)、

短小杆菌属(*Curtobacterium*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)组成,第 2 大支由厚壁菌门(Firmicutes)细胞杆菌属(*Cytobacillus*)、*Rosellomorea*和芽孢杆菌属(*Bacillus*)组成,第 3 大支由变形菌门(Proteobacteria)产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、生丝菌属(*Hyphomicrobiales*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)和副球菌属(*Paracoccus*)组成,拟杆菌门(Bacteroidetes)金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)为第 4 大支。其中, M1 和 M4 分别与其模式菌株聚为 1 小支后再聚为 1 大支, M2 和 M8 分别与其模式菌株聚为 1 小支后再聚为 1 大支,说明它们虽然不属于同一属但 2 种菌之间亲缘关系较近; M12、M18 和 M17 分别与其模式菌株聚为 1 小支后再聚为 1 大支,说明根际可培养细菌中的这些链霉菌属菌株亲缘关系较近。

2.3 马铃薯块茎蛾取食胁迫下马铃薯根际细菌的相对多度

由图 2 可知:在门水平上,随着马铃薯块茎蛾胁迫时间的延长,根际细菌主要优势菌门均为放线菌门、变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门。与对照组相比,取食胁迫 3、7 和 14 d 时放线菌门细菌相对多度分别增加 23.49%、12.56% 和 28.06%,其中在胁迫第 3 天时放线菌门细菌相对多度最高。

在科水平上,马铃薯块茎蛾取食胁迫影响了马铃薯根际可培养细菌的相对多度和多样性(图 3)。与对照组相比,马铃薯块茎蛾胁迫后马铃薯根际细菌中微球菌科(Micrococcaceae)的相对多度增加,取食胁迫 3、7 和 14 d 时分别增加 84.31%、70.78% 和 80.02%;微杆菌科(Microbacteriaceae)的相对多度在胁迫 3 和 7 d 时分别减少 59.20% 和 35.20%。此外,马铃薯根际可培养细菌在科水平上的菌株多样性受马铃薯块茎蛾取食胁迫的影响有所降低,在处理第 3 天时效果最为明显,随着胁迫时间的延长,该影响逐渐趋于平缓。

在属水平上,马铃薯块茎蛾取食胁迫改变了马铃薯根际细菌的优势菌属(图 4)。与对照组相比,取食胁迫后马铃薯根际细菌中节杆菌属的相对多度增加,在胁迫 3、7 和 14 d 时分别增加 103.50%、65.37% 和 28.57%;短小杆菌属的相对多度在胁迫 3 和 7 d 时分别减少 69.49% 和 32.03%,在胁迫 14 d 时增加 63.64%。此外,取食胁迫降低了马铃薯根际细菌在属水平上的细菌多样性。

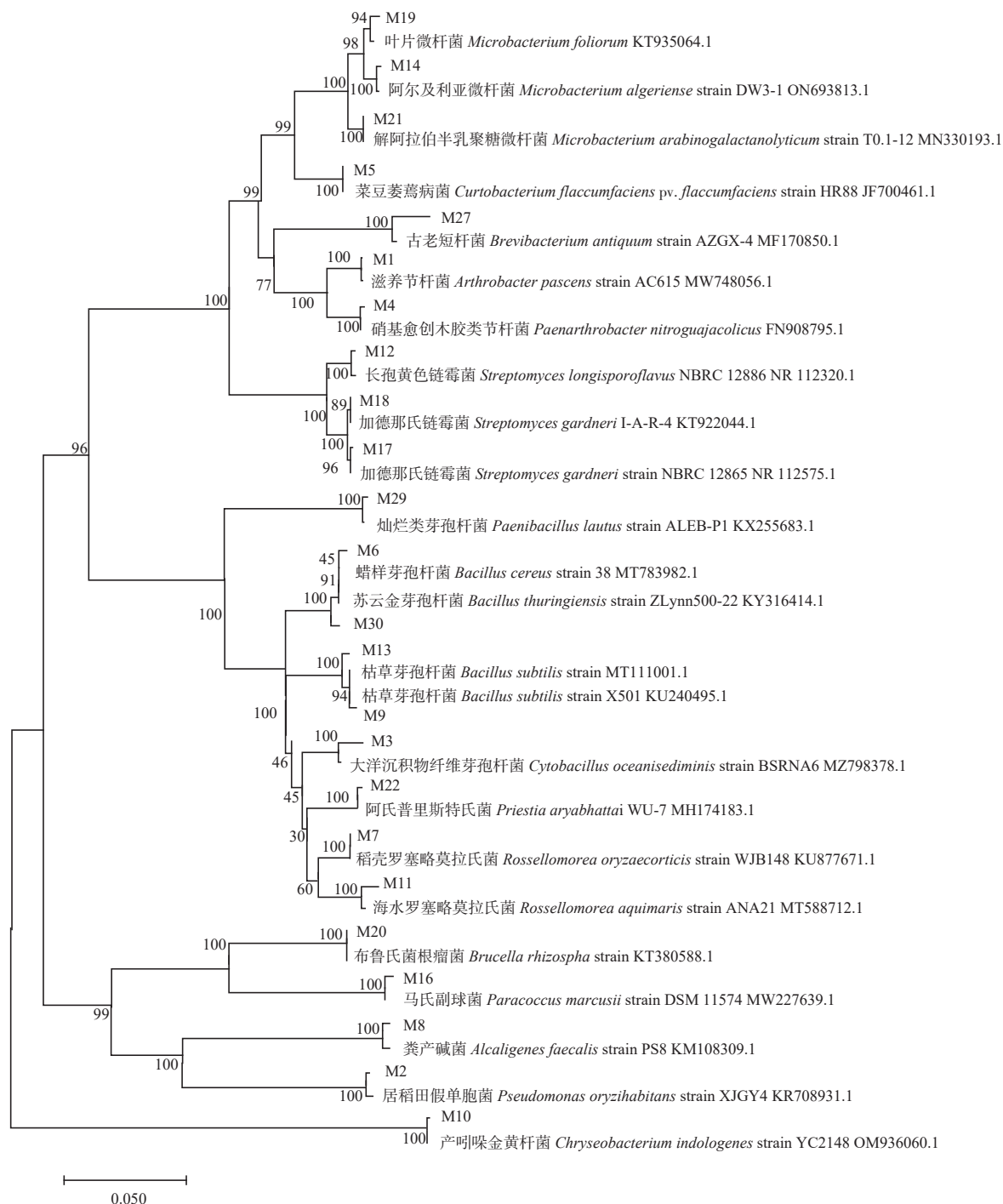
表 1 马铃薯根际细菌菌落形态及种类组成

Tab. 1 Morphology and species composition of potato rhizosphere bacterial colonies

菌株 strain	革兰氏染色 Gram stain	细胞形状 cell morphology	菌落特征 colony characteristics	高相似度菌株 (相似度/%) the most similar strain (identity)	登录号 accession No.
M1*	+	短杆状 short rod-shaped	白色, 边缘不规则, 不透明, 表面湿润 white, irregular edges, opaque, moist surface	滋养节杆菌 <i>Arthrobacter pascens</i> (99.43)	MW748056.1
M2	-	短杆状 short rod-shaped	圆形, 白色, 边缘不规则, 半透明, 表面湿润 round, white, irregular edges, translucent, moist surface	居稻田假单胞菌 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> (99.51)	KR708931.1
M3*	+	杆状 rod-shaped	黄褐色, 边缘不规则, 不透明, 表面湿润 tawny, irregular edges, opaque, moist surface	大洋沉积物纤维芽孢杆菌 <i>Cytobacillus oceanisediminis</i> (98.39)	MZ798378.1
M4*	+	杆状 rod-shaped	白色, 边缘不规则, 不透明, 表面干燥 white, irregular edges, opaque, dry surface	硝基愈创木胶类节杆菌 <i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> (99.29)	FN908795.1
M5*	+	杆状 rod-shaped	白色, 边缘规则, 不透明, 表面干燥 white, regular edges, opaque, dry surface	菜豆萎蔫病菌 <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> (99.86)	JF700461.1
M6	+	杆状 rod-shaped	白色, 边缘规则, 不透明, 表面干燥 white, regular edges, opaque, dry surface	蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i> (99.10)	MT783982.1
M7*	+	杆状 rod-shaped	圆形, 白色, 边缘不规则, 不透明, 表面干燥 round, white, irregular edges, opaque, dry surface	稻壳罗塞略莫拉氏菌 <i>Rosellomorea oryzaecorticis</i> (99.45)	KU877671.1
M8	-	杆状 rod-shaped	圆形外圈白色、中间粉色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 the round outer ring is white, the middle is pink; regular edges, opaque, moist surface	粪产碱菌 <i>Alcaligenes faecalis</i> (98.12)	KM108309.1
M9	+	短杆状 short rod-shaped	白色, 边缘规则, 不透明, 表面干燥 white, regular edges, opaque, dry surface	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> (99.76)	KU240495.1
M10	-	短杆状 short rod-shaped	橘黄色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 orange, regular edges, opaque, moist surface	产吡啶金黄杆菌 <i>Chryseobacterium indologenes</i> (99.71)	OM936060.1
M11**	+	杆状 rod-shaped	圆形, 白色, 边缘不规则, 不透明, 表面湿润 round, white, irregular edges, opaque, moist surface	海水罗塞略莫拉氏菌 <i>Rosellomorea aquimaris</i> (98.33)	MT588712.1
M12*	+	杆状 rod-shaped	橘黄色, 边缘不规则, 不透明, 表面干燥 orange, irregular edges, opaque, dry surface	长孢黄色链霉菌 <i>Streptomyces longisporoflavus</i> (98.72)	NR_112320.1
M13	+	杆状 rod-shaped	边缘白色、中间粉色, 边缘规则, 不透明, 表面干燥 white edges, pink in the middle; regular edges, opaque, dry surface	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> (99.72)	MT111001.1
M14**	+	杆状 rod-shaped	黄色, 边缘规则, 半透明, 表面湿润 yellow, regular edges, translucent, moist surface	阿尔及利亚微杆菌 <i>Microbacterium algeriense</i> (99.22)	ON693813.1
M16**	-	杆状 rod-shaped	橘黄色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 orange, regular edges, opaque, moist surface	马氏副球菌 <i>Paracoccus marcusii</i> (99.33)	MW227639.1
M17**	+	短杆状 short rod-shaped	白色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 white, regular edges, opaque, moist surface	加德那氏链霉菌 <i>Streptomyces gardneri</i> (99.09)	NR_112575.1
M18*	+	杆状 rod-shaped	白色, 边缘不规则, 透明, 表面湿润 white, irregular edges, transparent, moist surface	加德那氏链霉菌 <i>Streptomyces gardneri</i> (99.72)	KT922044.1
M19*	+	杆状 rod-shaped	粉色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 pink, regular edges, opaque, moist surface	叶片微杆菌 <i>Microbacterium foliorum</i> (98.04)	KT935064.1
M20*	-	杆状 rod-shaped	粉色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 pink, regular edges, opaque, moist surface	布鲁氏菌根瘤菌 <i>Brucella rhizospha</i> (98.98)	KT380588.1
M21	+	杆状 rod-shaped	粉色, 边缘规则, 不透明, 表面湿润 pink, regular edges, opaque, moist surface	解阿拉伯半乳糖微杆菌 <i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i> (99.35)	MN330193.1
M22*	+	杆状 rod-shaped	白色, 边缘规则, 不透明, 表面干燥 white, regular edges, opaque, dry surface	阿氏普里斯特氏菌 <i>Priestia aryabhatai</i> (99.10)	MH174183.1
M27	+	短杆状 short rod-shaped	白色, 边缘不规则, 不透明, 表面湿润 white, irregular edges, opaque, moist surface	古老短杆菌 <i>Brevibacterium antiquum</i> (96.21)	MF170850.1
M29	-	杆状 rod-shaped	白色、中间淡黄色, 边缘不规则, 不透明, 表面湿润 white, yellowish in the middle; irregular edges, opaque, moist surface	灿烂类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus lautus</i> (98.82)	KX255683.1
M30	+	杆状 rod-shaped	黄褐色, 边缘不规则, 不透明, 表面干燥 tawny, irregular edges, opaque, dry surface	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i> (99.45)	KY316414.1

注: “*”为处理组中的菌株, “**”为处理组独有的菌株; +. 革兰氏阳性, -. 革兰氏阴性; 登录号为典型菌株登录号。

Note: “*” indicates the strain appears in the treatment group, “**” indicates the strain unique to the treatment group; +. Gram positive; -. Gram negative; the accession number is the typical strain accession number.



注: M1 等为菌株编号。

Note: M1 and others are strain number.

图 1 基于 16S rRNA 序列构建马铃薯根际可培养细菌系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of culturable rhizosphere bacteria under normal potato growth based on 16S rRNA sequence

综上所述, 马铃薯块茎蛾取食胁迫第 3 天时马铃薯根际细菌相对多度变化最明显, 随着处理时间的延长, 影响效果逐渐减弱; 胁迫 14 d 时, 马铃薯块茎蛾取食胁迫与对照组之间的差异最小。

3 讨论

根际是植物与土壤接触的直接区域, 生存着大量的微生物和无脊椎动物, 其环境具有高度复杂的特点。植物根系通过分泌物吸引大量特定的

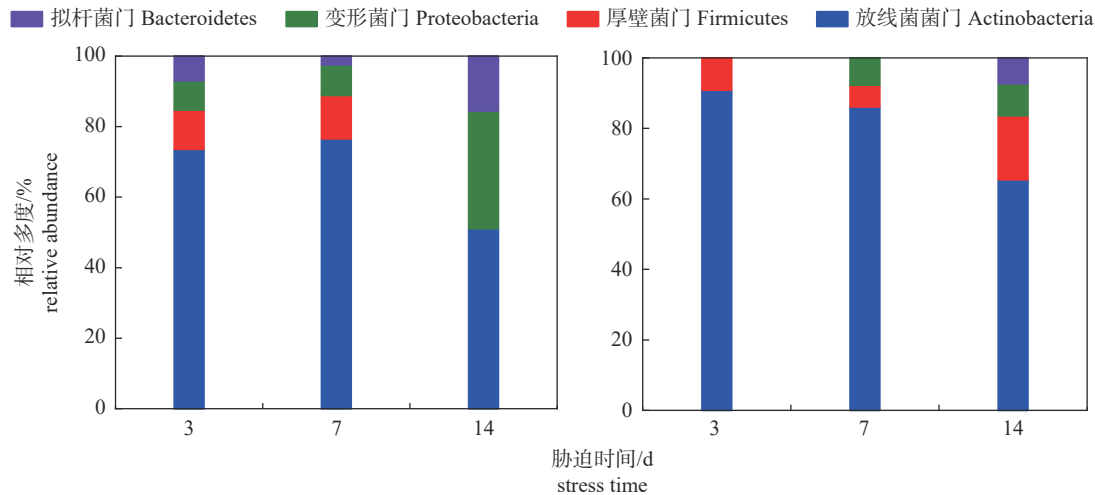


图 2 对照组 (左) 和处理组 (右) 马铃薯根际细菌在门水平上的相对多度

Fig. 2 Relative abundance of potato rhizosphere bacteria at the phylum level in control group (left) and treatment group (right)

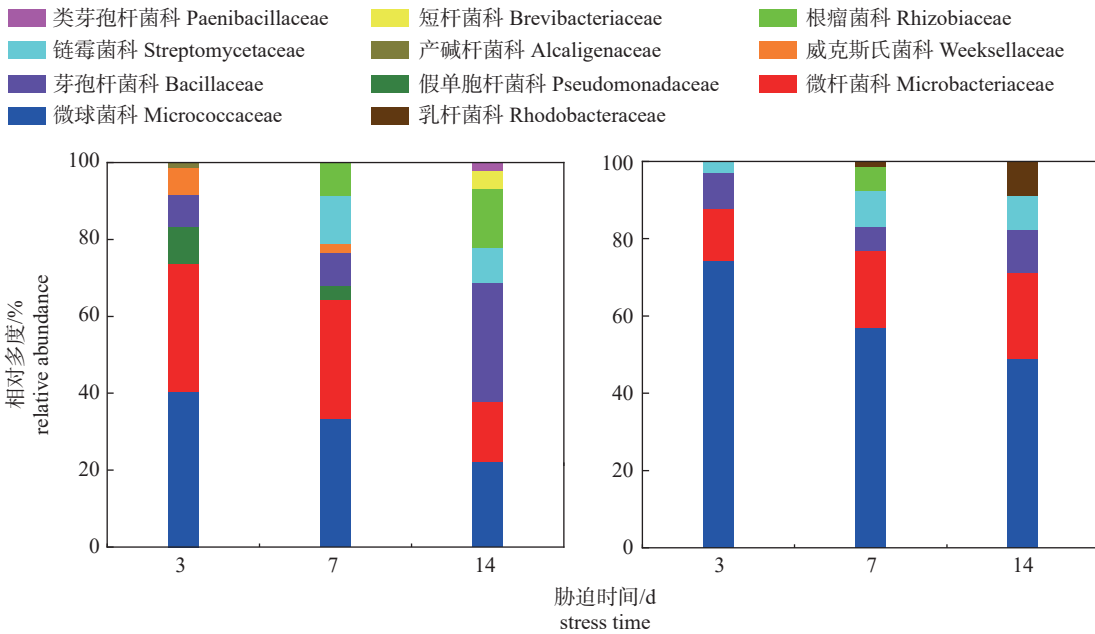


图 3 对照组 (左) 和处理组 (右) 马铃薯根际细菌在科水平上的相对多度

Fig. 3 Relative abundance of potato rhizosphere bacteria at the family level in control group (left) and treatment group (right)

土壤微生物，了解根际生态独特的动态变化过程有助于更好地进行马铃薯田间栽培管理^[31]。本研究发现：马铃薯块茎蛾胁迫后，马铃薯根际细菌优势菌门均为放线菌门、厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门。高天鹏等^[32]以碱蓬和骆驼蓬为试验材料，通过高通量测序技术分析可知：植物根际细菌中变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和酸杆菌门为优势菌门；王莉莉等^[33]发现：干旱胁迫前后，马铃薯冀张薯 8 号和夏波蒂苗期根际细菌优势菌门均为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门

和拟杆菌门；李华伟等^[34]对闽薯 2 号的研究显示：晚疫病改变了马铃薯根际细菌的相对多度，但对其组成结构影响不大，本研究也得到相似结果。可见，马铃薯块茎蛾取食胁迫后，马铃薯根际微生物主要组成趋于一致，但相对多度存在差异，反映了马铃薯对马铃薯块茎蛾取食危害的胁迫响应与其他植物相近，但相对多度的差异是否也是马铃薯对块茎蛾的抗性机理之一还需要进一步研究。此外，本研究仅测定了马铃薯根际可培养细菌组成结构及多样性的变化，其根际不可培

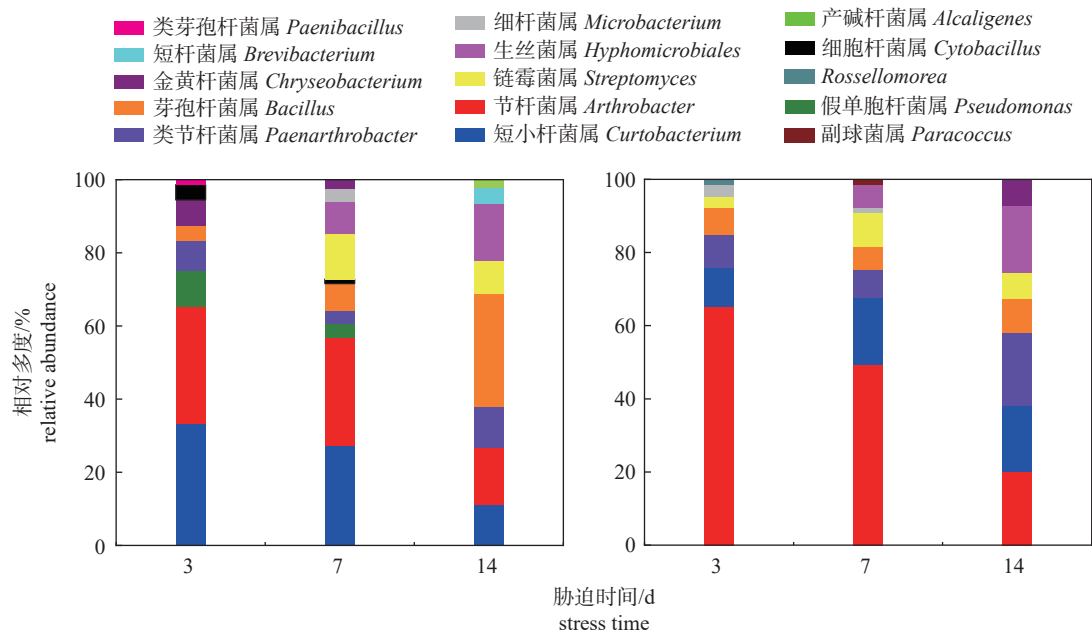


图 4 对照组 (左) 和处理组 (右) 马铃薯根际细菌在属水平上的相对多度

Fig. 4 Relative abundance of potato rhizosphere bacteria at the genus level in control group (left) and treatment group (right)

养细菌组成结构及多样性的变化也有待进一步研究。

有研究指出:放线菌门细菌是田间土壤中的典型有益细菌种群,其含有大量的植物促生功能菌和病原拮抗菌,为植物获取生长发育所需的营养物质提高了效率,对植物生长起促进作用,同时还能抑制土传病原微生物侵染,在生物防治方面有大量的应用^[35-37]。本研究中,马铃薯块茎蛾取食胁迫增加了根际细菌中放线菌门的相对多度,但随着处理时间的延长,放线菌门相对多度的增加效果逐渐减弱,这可能是马铃薯植株在受到害虫胁迫时,通过某种途径捕获了对植物有促生作用的放线菌门菌株,从而提高了马铃薯对马铃薯块茎蛾取食胁迫的抗性。从马铃薯块茎蛾取食胁迫下马铃薯根际土壤中可培养细菌的属水平看,正常生长和马铃薯害虫胁迫后的马铃薯根际可培养细菌的组成和相对多度均存在明显差异,说明马铃薯块茎蛾胁迫对其产生了影响。有研究指出:根系分泌物是植物调控根际微生物组成结构的主要方式^[38-39],而生物胁迫又会使植物向根际土壤中释放多种生物活性化合物来抵御食草动物侵害^[40],推测马铃薯块茎蛾的取食胁迫影响了马铃薯根系分泌物,从而进一步改变了其根际微生物的组成结构。

已有研究表明:节杆菌属的多种菌株对植物

生长有促生作用。VANISSA 等^[41]研究表明:对玉米接种节杆菌属细菌后,限制了植物对钠离子的吸收,增加了对钾离子的吸收,促进了植株生长;KIM 等^[42]研究表明:土壤节杆菌属细菌增强了水稻的耐寒性。本研究中,马铃薯块茎蛾取食胁迫使马铃薯根际细菌中节杆菌属相对多度明显增加,随着处理时间的延长,增加的节杆菌属相对多度逐渐降低,这可能是马铃薯植株在受到马铃薯块茎蛾取食胁迫后吸引了具有促生作用的根际节杆菌属来抵御胁迫,增强了对马铃薯块茎蛾取食胁迫的抗性。植物根际中放线菌门和节杆菌属菌株对增强植物抗逆性及促生作用的机制值得深入研究。

4 结论

马铃薯块茎蛾取食胁迫后,马铃薯植株根际可培养细菌的组成结构及物种多样性与正常生长的植株有明显差异,改变了放线菌门和节杆菌属菌株的相对多度。研究结果为系统研究马铃薯—根际细菌—马铃薯块茎蛾的互作关系及马铃薯抗虫机理提供了依据。

[参考文献]

[1] 王文倩,常吕恕,杨金睿,等. 番茄潜叶蛾与马铃薯块茎蛾形态特征及为害症状的比较[J]. 植物保护, 2022,

- 48(4): 245. DOI: [10.16688/j.zwbh.2021335](https://doi.org/10.16688/j.zwbh.2021335).
- [2] YAN J J, ZHANG M D, ALI A, et al. Optimization and field evaluation of sex-pheromone of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae)[J]. Pest Management Science, 2022, 78(9): 3903. DOI: [10.1002/ps.6725](https://doi.org/10.1002/ps.6725).
 - [3] RONDON S I. The potato tuberworm: a literature review of its biology, ecology, and control[J]. American Journal of Potato Research, 2010, 87(2): 149. DOI: [10.1007/s12230-009-9123-x](https://doi.org/10.1007/s12230-009-9123-x).
 - [4] 杨淼, 肖关丽, 郑亚强, 等. 马铃薯对马铃薯块茎蛾取食危害的生理响应[J]. 南方农业学报, 2020, 51(4): 844. DOI: [10.3969/j.issn.2095-1191.2020.04.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-1191.2020.04.015).
 - [5] 张梦迪, 闫俊杰, 高玉林. 马铃薯块茎蛾对不同品种马铃薯块茎的适应性分析[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 536. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2021.03.008](https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2021.03.008).
 - [6] 杜霞, 刘霞, 周文武. 马铃薯块茎蛾生物防治研究进展与展望[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(1): 60. DOI: [10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.01.019](https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.01.019).
 - [7] 闫俊杰, 张梦迪, 高玉林. 马铃薯块茎蛾生物学、生态学与综合治理[J]. 昆虫学报, 2019, 62(12): 1469. DOI: [10.16380/j.kcxb.2019.12.012](https://doi.org/10.16380/j.kcxb.2019.12.012).
 - [8] RONDON S I. Decoding *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the new age of change[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(2): 316. DOI: [10.1016/s2095-3119\(19\)62740-1](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62740-1).
 - [9] 高玉林. 马铃薯块茎蛾绿色防控技术[J]. 中国农业科学, 2021, 54(3): 533. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2021.03.007](https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2021.03.007).
 - [10] WANG D L, WANG Q Y, SUN X, et al. Potato tuberworm *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechioidea) leaf infestation affects performance of conspecific larvae on harvested tubers by inducing chemical defenses[J]. Insects, 2020, 11(9): 633. DOI: [10.3390/insects11090633](https://doi.org/10.3390/insects11090633).
 - [11] 王端, 姚香梅, 叶健. 根际微生物—植物—病毒—介体昆虫多元互作研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(2): 54. DOI: [10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-1080](https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017-1080).
 - [12] 付小猛, 毛加梅, 杨虹霞, 等. 果树根际微生物研究综述[J]. 中国果树, 2021(11): 5. DOI: [10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2021.11.002](https://doi.org/10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2021.11.002).
 - [13] AZIZ M, NADIPALLI R K, XIE X, et al. Augmenting sulfur metabolism and herbivore defense in Arabidopsis by bacterial volatile signaling[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 458. DOI: [10.3389/fpls.2016.00458](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00458).
 - [14] ZELICOURT X, AL-YOUSIF M, HERIBERT H. Rhizosphere microbes as essential partners for plant stress tolerance[J]. Molecular Plant, 2013, 2(6): 242. DOI: [10.1093/mp/sst028](https://doi.org/10.1093/mp/sst028).
 - [15] MENDES R, GARBEVA P, RAAIJMAKERS J M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(5): 634. DOI: [10.1111/1574-6976.12028](https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028).
 - [16] BAZANY K E, WANG J T, DELGADO-BAQUIREZO M, et al. Water deficit affects inter-kingdom microbial connections in plant rhizosphere[J]. Environmental Microbiology, 2022, 24(8): 3722. DOI: [10.1111/1462-2920.16031](https://doi.org/10.1111/1462-2920.16031).
 - [17] 杨阳, 姚槐应. 间作下根际微生物控制土传病害的研究进展[J]. 武汉工程大学学报, 2021, 43(4): 381. DOI: [10.19843/j.cnki.CN42-1779/TQ.202101007](https://doi.org/10.19843/j.cnki.CN42-1779/TQ.202101007).
 - [18] MUKHTAR S, MIRZA B S, MEHNAZ S, et al. Impact of soil salinity on the microbial structure of halophyte rhizosphere microbiome[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2018, 34(9): 136. DOI: [10.1007/s11274-018-2509-5](https://doi.org/10.1007/s11274-018-2509-5).
 - [19] GOODWIN P H. The phizosphere microbiome of ginseng[J]. Microorganisms, 2022, 10(6): 1152. DOI: [10.3390/microorganisms10061152](https://doi.org/10.3390/microorganisms10061152).
 - [20] 冯丹, 曹永清, 刘艳, 等. 南方红豆杉根际促生细菌蜡状芽孢杆菌CLY07的接种效应[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2022, 42(1): 30. DOI: [10.11929/j.swfu.202009028](https://doi.org/10.11929/j.swfu.202009028).
 - [21] YU K, PIETERSE C M J, BAKKER P A H M, et al. Beneficial microbes going underground of root immunity[J]. Plant Cell & Environment, 2019, 42(10): 2860. DOI: [10.1111/pce.13632](https://doi.org/10.1111/pce.13632).
 - [22] LEE J H, ANDERSON A J, KIM Y C. Root-associated bacteria are biocontrol agents for multiple plant pests[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 1053. DOI: [10.3390/microorganisms10051053](https://doi.org/10.3390/microorganisms10051053).
 - [23] MUKHTAR S, MEHNAZ S, MALIK K A. Comparative study of the rhizosphere and root endosphere microbiomes of Cholistan desert plants[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 618742. DOI: [10.3389/fmicb.2021.618742](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.618742).
 - [24] MAO L T, CHEN Z G, XU L X, et al. Rhizosphere microbiota compositional changes reflect potato blackleg disease[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 140: 11. DOI: [10.1016/j.apsoil.2019.03.024](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.03.024).
 - [25] IDRISSE N S, OUARZANE A, ELOUAZNI L, et al. Exploring rhizosphere and potato microbiome as potential antagonist to control blackleg and potato soft rot diseases in Morocco[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2021, 31(1): 41. DOI: [10.1186/s41938-021-00387-5](https://doi.org/10.1186/s41938-021-00387-5).
 - [26] QUANDAHOR P, GOU Y P, LIN C Y, et al. Comparison of root tolerance to drought and aphid (*Myzus persicae* Sulzer) resistance among different potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 628. DOI: [10.1038/s41598-020-79766-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-79766-1).
 - [27] 昌艳萍, 田其凡, 郭欣, 等. 蜗牛肠道细菌及其纤维素酶性质[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2017, 37(4): 400. DOI: [10.3969/j.issn.1000-1565.2017.04.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-1565.2017.04.011).
 - [28] AMPRAYN K O, ROSE M T, KECSKES M, et al. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 61: 295. DOI: [10.1016/j.apsoil.2012.03.001](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.03.001).

- 10.1016/j.apsoil.2011.11.009.
- [29] 郭晓农, 张妍, 董江陵, 等. 蒲公英根际微生物分离及生化初步鉴定[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2021, 42(1): 38. DOI: [10.14084/j.cnki.cn62-1188/n.2021.01.007](https://doi.org/10.14084/j.cnki.cn62-1188/n.2021.01.007).
- [30] 云飞, 梁林, 鲍彦彬, 等. 阳性与阴性细菌基因组DNA提取方法的优化[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(10): 98. DOI: [10.3969/j.issn.0517-6611.2021.10.026](https://doi.org/10.3969/j.issn.0517-6611.2021.10.026).
- [31] JAIN A, CHAKRABORTY J, DAS S. Underlying mechanism of plant-microbe crosstalk in shaping microbial ecology of the rhizosphere[J]. Acta Physiological Plantarum, 2020, 42(1): 8. DOI: [10.1007/s11738-019-3000-0](https://doi.org/10.1007/s11738-019-3000-0).
- [32] 高天鹏, 万子栋, 付靖雯, 等. 重金属污染对金川矿区原生植物根际细菌群落的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2020, 56(4): 493. DOI: [10.13885/j.issn.0455-2059.2020.04.009](https://doi.org/10.13885/j.issn.0455-2059.2020.04.009).
- [33] 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干旱胁迫的响应[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(6): 58. DOI: [10.13304/j.nykjdb.2021.0692](https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2021.0692).
- [34] 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): 1017. DOI: [10.13344/j.microbiol.china.210532](https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.210532).
- [35] EBRAHIMI-ZARANDI M, RISEH R S, TARKKA M T. Actinobacteria as effective biocontrol agents against plant pathogens, an overview on their role in eliciting plant defense[J]. Microorganisms, 2022, 10(9): 1739. DOI: [10.3390/microorganisms10091739](https://doi.org/10.3390/microorganisms10091739).
- [36] 刘金光, 李孝刚, 王兴祥. 连续施用有机肥对连作花生根际微生物种群和酶活性的影响[J]. 土壤, 2018, 50(2): 305. DOI: [10.13758/j.cnki.tr.2018.02.012](https://doi.org/10.13758/j.cnki.tr.2018.02.012).
- [37] 钟丽伟, 谭鸿升, 陈泽斌, 等. 根际微生物防治土传病害的研究进展[J]. 昆明学院学报, 2022, 44(3): 75. DOI: [10.14091/j.cnki.kmxyxb.2022.03.015](https://doi.org/10.14091/j.cnki.kmxyxb.2022.03.015).
- [38] 丁娜, 林华, 张学洪, 等. 植物根系分泌物与根际微生物交互作用机制研究进展[J]. 土壤通报, 2022, 53(5): 1212. DOI: [10.19336/j.cnki.trtb.2021122602](https://doi.org/10.19336/j.cnki.trtb.2021122602).
- [39] 周远锋, 冯瑞, 汤利. 根系分泌物介导的间作防控土传病害作用机制研究进展[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(2): 353. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202209044](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202209044).
- [40] 毛梦雪, 朱峰. 根系分泌物介导植物抗逆性研究进展与展望[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2021, 29(10): 1649. DOI: [10.13930/j.cnki.cjea.210328](https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.210328).
- [41] VANISSA T T G, BERGER B, PATZ S, et al. The response of maize to inoculation with *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. in phosphorus-deficient, salinity-affected soil[J]. Microorganisms, 2020, 8(7): 1005. DOI: [10.3390/microorganisms8071005](https://doi.org/10.3390/microorganisms8071005).
- [42] KIM S Y, KIM J S, CHO W, et al. A cold-shock protein from the south pole-dwelling soil bacterium *Arthrobacter* sp. confers cold tolerance to rice[J]. Genes, 2021, 12(10): 1589. DOI: [10.3390/genes12101589](https://doi.org/10.3390/genes12101589).

责任编辑: 何馨成