

高铵胁迫下不同生态型水芹根际细菌和根系代谢物的差异响应

李韵涵^{1a,1b}, 孙林鹤^{1a,1b}, 邓阳阳^{1a,1b}, 刘凤军², 姚路路³, 李金凤^{1a,1b}, 常雅军^{1a,1b,①}, 姚东瑞^{1a,1b}

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园): a. 江苏省植物资源保护与利用重点实验室, b. 江苏省水生植物资源与水环境修复工程研究中心, 江苏 南京 210014; 2. 苏州市农业科学院, 江苏 苏州 215000; 3. 宿迁经济技术开发区渔樵种植专业合作社, 江苏 宿迁 223800]

摘要: 对高铵胁迫下耐铵型水芹(*Oenanthe javanica* (Blume) DC.)与铵敏感型水芹根际细菌及根系代谢物的差异响应进行比较。结果表明:高铵处理9 d促进耐铵型水芹叶片生长,而铵敏感型水芹叶片萎蔫甚至死亡。铵敏感型水芹较耐铵型水芹受到了更严重的氧化胁迫。高铵处理改变了水芹根际细菌群落结构,各生态型水芹根际细菌群落的 Margalef 丰富度指数的降幅在37%以上。高铵处理9 d,耐铵型水芹根际细菌群落中戴氏菌属(*Dyella*)丰度较对照组明显上升,且明显高于铵敏感型水芹;根瘤菌科(未分类)[*Rhizobiaceae* (unclassified)]丰度为对照组的20余倍。代谢组学分析结果显示:高铵处理12 h,耐铵型水芹根系谷胱甘肽代谢、氮代谢和双组分系统等通路显著上调($P<0.05$);高铵处理9 d,谷胱甘肽代谢、吡啶生物碱生物合成及氨基酸生物合成等通路显著上调。高铵处理12 h,铵敏感型水芹根系碳代谢相关的C₅支链二元酸代谢通路显著上调;高铵处理9 d,三羧酸循环等碳代谢通路显著下调。相关性分析结果显示:耐铵型水芹中三萜酸类、酚类及吡啶生物碱类化合物含量与根瘤菌科(未分类)、戴氏菌属等属的丰度呈正相关;铵敏感型水芹中鞘氨醇单胞菌科(未分类)[*Sphingomonadaceae* (unclassified)]丰度与4-乙基苯酚、松柏醛和秦皮乙素含量呈正相关,而与皂苷类化合物含量呈负相关。综上,耐铵型水芹通过协同增强氮碳代谢与抗氧化代谢缓解铵毒害,并借助根际细菌与根系代谢物的互作提升有益菌的丰度,从而适应高铵环境。

关键词: 水芹; 植物修复; 畜禽养殖废水; 高铵胁迫; 多组学

中图分类号: Q948.8; X52 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2026)03-0001-14

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2026.03.01

Differential responses of rhizosphere bacteria and root metabolites of different ecotypes of *Oenanthe javanica* under high ammonium stress LI Yunhan^{1a,1b}, SUN Linhe^{1a,1b}, DENG Yangyang^{1a,1b}, LIU Fengjun², YAO Lulu³, LI Jinfeng^{1a,1b}, CHANG Yajun^{1a,1b,①}, YAO Dongrui^{1a,1b}
[1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Science (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen): a. Jiangsu Key Laboratory for Conservation and Utilization of Plant Resources, b. Jiangsu Engineering Research Center of Aquatic Plant Resources and Water Environment Remediation, Nanjing 210014, China; 2. Suzhou Academy of Agricultural Sciences, Suzhou 215000, China; 3. Suqian Economic and Technological Development Zone Yuqiao Planting Professional Cooperative, Suqian 223800, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2026, 35(3): 1-14

Abstract: The differential responses of rhizosphere bacteria and root metabolites of ammonium-tolerant *Oenanthe javanica* (Blume) DC. with ammonium-sensitive *O. javanica* under high ammonium stress were

收稿日期: 2025-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(32000270); 苏北科技专项(HAQFM202004)

作者简介: 李韵涵(2001—),女,河北石家庄人,硕士研究生,主要从事水生植物生态治理方面的研究。

①通信作者 E-mail: changyj@cnbg.net

引用格式: 李韵涵, 孙林鹤, 邓阳阳, 等. 高铵胁迫下不同生态型水芹根际细菌和根系代谢物的差异响应[J]. 植物资源与环境学报, 2026, 35(3): 1-14.

compared. The results show that high ammonium treatment for 9 d promotes leaf growth of ammonium-tolerant *O. javanica*, while leaves of ammonium-sensitive *O. javanica* wither or even die. The ammonium-sensitive *O. javanica* suffers more severe oxidative stress than ammonium-tolerant *O. javanica*. High ammonium treatment alters the rhizosphere bacterial community structure of *O. javanica*, with the Margalef richness index of the rhizosphere bacterial community of each ecotype decreasing by more than 37%. After 9 d of high ammonium treatment, the abundance of *Dyella* in the rhizosphere bacterial community of ammonium-tolerant *O. javanica* increases obviously compared with the control group, and is obviously higher than that of ammonium-sensitive *O. javanica*; the abundance of Rhizobiaceae (unclassified) is more than 20 times that of the control group. The metabolomics analysis result shows that after 12 h of high ammonium treatment, pathways such as glutathione metabolism, nitrogen metabolism, and two-component system in the roots of ammonium-tolerant *O. javanica* are significantly upregulated ($P < 0.05$); after 9 d of high ammonium treatment, pathways such as glutathione metabolism, indole alkaloid biosynthesis, and biosynthesis of amino acids are significantly. After 12 h of high ammonium treatment, the C₅-branched dibasic acid metabolism pathway related to carbon metabolism in the roots of ammonium-sensitive *O. javanica* are significantly upregulated; after 9 d of high ammonium treatment, carbon metabolism pathways such as the tricarboxylic acid cycle are significantly downregulated. The correlation analysis result shows that the contents of triterpenoid acids, phenols, and indole alkaloids in ammonium-tolerant *O. javanica* are positively correlated with the abundance of genera such as Rhizobiaceae (unclassified) and *Dyella*; the abundance of Sphingomonadaceae (unclassified) in ammonium-sensitive *O. javanica* is positively correlated with the contents of 4-vinylphenol, coniferaldehyde, and esculetin, but negatively correlated with the contents of saponins. In conclusion, ammonium-tolerant *O. javanica* alleviates ammonium toxicity by synergistically enhancing nitrogen and carbon metabolism and antioxidant metabolism, and increases the abundance of beneficial bacteria through the interaction between rhizosphere bacteria and root metabolites, thereby adapting to high-ammonium environments.

Key words: *Oenanthe javanica* (Blume) DC.; phytoremediation; livestock wastewater; high-ammonium stress; multi-omics

畜牧业作为衔接粮食安全、生态可持续性与人类健康的关键环节,是中国农村经济的重要支柱产业^[1]。然而,集约化畜禽养殖带来的生态环境压力及其对行业可持续发展的制约日益凸显^[2]。《第二次全国污染源普查公报》数据显示:2017年,畜禽养殖业水污染物氨氮排放量达 1.109×10^5 t,占农业源水污染物氨氮排放量的51.30% (https://www.mee.gov.cn/home/ztbd/rdzl/wrypc/zlxz/202006/t20200616_784745.html)。因此,加强畜禽养殖废水污染防治已成为中国农村环境保护的紧迫任务。植物修复作为一种绿色、低成本的污染治理手段,通过植物吸收和同化将废水中的铵转化为生物量,从而降低铵污染,该技术因其环境友好和可持续性而受到广泛关注^[3]。然而中国畜禽养殖废水中氨氮质量浓度可达 $1\ 780\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,对绝大多数植物有明显毒害作用^[2]。植物修复在畜禽养殖废水处理中的应用面临耐高铵植物种类缺乏、植物生长受季节影响和修复后植物处理困难的问题^[4]。由此可见,筛选和培育耐高铵的常绿植物是实现畜禽养殖废水有效植物修复的关键。

水稻(*Oryza sativa* Linn.)在 $534.90\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 铵条

件下有明显的毒性反应^[5]; $400\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 铵条件下粉绿狐尾藻[*Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc.]死亡^[6];芦苇[*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.]在 $500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化铵中仅能维持生存^[7],上述常见水生植物均无法用于养殖废水植物修复。伞形科(Apiaceae)植物水芹[*Oenanthe javanica* (Blume) DC.]是一种在中国广泛栽培的多年生常绿蔬菜,兼具食用与药用价值^[8],可耐受高达 $1\ 886\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铵胁迫^[9]。Sun等^[10]进一步的研究证明:处理畜禽养殖废水的水芹可食用部分符合安全标准。基于较高的经济价值与突出的高铵耐受性,水芹不仅可作为畜禽养殖废水植物修复的优良材料,也为探究植物氮吸收和铵耐受机制提供了理想的研究体系^[11]。

植物生理特征与微生物功能的协调适应是农业生态系统高效获取氮素的关键^[12]。微生物群落通过生物固氮、氨氧化等过程,在植物根系与周围氮库之间构成动态交互界面,促进植物对氮的高效利用^[13]。这种植物-微生物互作体系体现了复杂的生态网络,维系着可持续的养分循环与生态系统生产力^[14]。然而,根际微生物是否参与水芹的高铵耐受性形成,以

及其在不同生态型水芹耐铵能力差异中的作用尚不清楚。此外,根系作为植物吸收与同化铵的主要场所,其在高铵胁迫下的代谢物变化可直接反映植物的耐铵能力^[15]。例如,维生素 B₆可通过缓解铵诱导的活性氧积累来增强植物耐铵性^[16];甘蔗(*Saccharum officinarum* Linn.)通过积累类黄酮、酚类等抗氧化代谢物减轻氧化损伤^[17]。多胺类化合物对植物生长及抗逆性有积极作用^[18];油菜素内酯能通过提高植物抗氧化能力增强其抗逆性^[19]。同时,植物根系代谢物与微生物密切相关,耐铵型水芹是否通过分泌特定代谢物以富集有益微生物类群,仍有待研究^[20]。

笔者通过预实验对收集的13份水芹材料进行铵耐受性鉴定,筛选出耐铵型和铵敏感型水芹。其中,耐铵型水芹品种‘梅南水芹’(‘Meinan Shuiqin’)和‘宜兴尖叶’(‘Yixing Jianye’)在1 200 mg·L⁻¹氯化铵下可存活12 d以上,而铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’(‘Liyang Baiqin’)和‘北联实心芹’(‘Beilian Shixinqin’)在9 d时死亡。本研究通过比较这2类水芹在高铵胁迫下的生长表现、根际细菌群落结构及根系代谢物组成,阐明水芹高铵耐受性与根际细菌及根系代谢物之间的联系,以期深化对水芹耐铵机制的理解,并为优化氮肥使用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试耐铵型水芹品种‘梅南水芹’(MS)和‘宜兴尖叶’(YJ)以及铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’(LB)和‘北联实心芹’(BS)采自苏州市农业科学院苗圃,种植于江苏省中国科学院植物研究所温室。选取生长状况良好、大小基本一致的水芹进行实验。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 实验于温度25℃、光照度5 000 lx、光照时间14 h·d⁻¹的培养室中进行^[21]。每个水芹品种随机取6株,分别置于盛有2 L纯水的烧杯中,每个烧杯1株,饥饿处理5 d^[21-22]。饥饿处理后,对照组(CK)每个烧杯添加2 L含10 mg·L⁻¹氯化铵和882 mg·L⁻¹缺氮Hoagland的培养液;高铵组(HN)每个烧杯添加2 L含1 200 mg·L⁻¹氯化铵和882 mg·L⁻¹缺氮Hoagland的培养液。对照组和高铵组各3株,作为3个生物学重复。培养9 d,观察水芹叶片生长状况并拍照。

1.2.2 抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量检测 于处理3、6和9 d取样,每个处理每次取3株水芹。每株取根系样品0.1 g,立即用液氮速冻。分别使用江苏晶美生物科技有限公司生产的植物超氧化物歧化酶(SOD)ELISA科研试剂盒、植物过氧化氢酶(CAT)ELISA科研试剂盒及植物丙二醛(MDA)ELISA科研试剂盒测定SOD、CAT活性及MDA含量。

1.2.3 根际细菌取样及检测 于处理9 d取根际细菌样品。每株称取根系0.5 g,置于50 mL无菌离心管中,加入无菌磷酸盐缓冲溶液(PBS)(pH 7.0)50 mL,于25℃、180 r·min⁻¹摇床中孵育20 min。取出根系重复上述步骤1次,之后将根系再次浸入无菌PBS,超声(240 W、25℃)清洗10 min。合并2次振荡孵育及1次超声清洗所得的洗涤液,经孔径0.22 μm滤膜抽滤后,滤膜立即用液氮速冻,于-80℃保存,干冰条件下寄送至武汉贝纳科技有限公司进行16S rRNA扩增子测序。测序流程如下:使用PureLink微生物组DNA纯化试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)提取总DNA,使用Nanodrop 2000分光光度计(美国Bio-Rad Laboratories公司)定量,通过质量体积分数1.2%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量。针对细菌16S rRNA基因V4区,使用带Barcode的特异引物F515(5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3')和R806(5'-GGACTAAHVGGGTWTCTAAT-3')进行PCR扩增^[23]。PCR反应在Bio-Rad T100™热循环仪(美国Bio-Rad Laboratories公司)中进行。反应体系总体积50 μL:2×Phusion High-Fidelity PCR Master Mix(美国Thermo Fisher Scientific公司)(含热启动Taq DNA聚合酶、dNTPs及优化缓冲液)25 μL,10 μmol·L⁻¹上游和下游引物各2 μL,10 ng·μL⁻¹DNA模板2 μL,无菌去离子水补足体积。反应程序:94℃预变性3 min;94℃变性45 s、50℃退火60 s、72℃延伸90 s,35个循环;72℃终延伸10 min。对扩增产物进行磁珠纯化:取25 μL PCR产物,加入20 μL磁珠(南京诺唯赞生物科技股份有限公司),充分混匀后置于磁力架吸附5 min;弃上清液,加入20 μL磁珠洗涤液(南京诺唯赞生物科技股份有限公司),混匀后再次吸附5 min;弃上清液,加入200 μL体积分数80%乙醇,反向置于磁力架上吸附;弃乙醇,室温干燥5 min至磁珠出现裂痕,加入25 μL Elution Buffer洗脱;磁力架吸附5 min后转移上清液至洁净离心管保存。纯化后的扩增产物使用

Quant-iT PicoGreen dsDNA 检测试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)在 FLx800 Fluorescence Microplate reader (BioTek) (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)上进行实时荧光定量 PCR。实时荧光定量 PCR 反应体系总体积 20.0 μL , 包含 2 \times SYBR[®] Green qPCR Master Mix(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)(含热启动 *Taq* DNA 聚合酶、*dNTPs*、 MgCl_2 及 SYBR[®] Green I 荧光染料)10.0 μL , 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 上游和下游引物各 0.4 μL , 10 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ cDNA 模板 2.0 μL , 无菌去离子水补足体积。以无菌去离子水替代模板作为无模板阴性对照,检测试剂及环境的污染情况。所有加样操作在冰上进行。反应在 ABI StepOnePlus[™] 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)中进行,扩增程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,40 个循环。循环结束后进行溶解曲线分析:95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,然后以 0.3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{s}^{-1}$ 的升温速率升温至 95 $^{\circ}\text{C}$,连续采集荧光信号,以生成溶解曲线,评估扩增产物的特异性。实验数据通过 StepOne[™] 软件(v2.3)进行分析,根据标准曲线计算绝对拷贝数。随后使用 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit(美国 Illumina 公司)构建测序文库,包括末端修复、3'端加 A、接头连接及文库扩增。文库经 Quant-iT PicoGreen dsDNA 检测试剂盒在 Promega QuantiFluor 系统(美国 Promega 公司)上定量,质检合格后于 NovaSeq 测序平台(美国 Illumina 公司)进行双端测序。

1.2.4 根系代谢物取样及检测 于处理 12 h 及 9 d 取样,每个处理每次取 3 株水芹。每株取根系样品 0.3 g,立即用液氮速冻,并保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,后续送至武汉贝纳科技有限公司进行代谢物提取与检测。具体流程如下:样品经冷冻干燥机冻干后,用匀浆机在频率 60 Hz 下研磨 30 s,制成细粉。称取样品细粉 25 mg,加入 1 000 μL 、-40 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的提取液[$V(\text{甲醇}) : V(\text{乙腈}) : V(\text{超纯水}) = 2 : 2 : 1$,含同位素内标]。在匀浆机中以频率 35 Hz 匀浆 4 min,随后转入冰水浴中超声(240 W)5 min;此步骤重复 3 次。匀浆后于-40 $^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h,取 300 μL 上清液加入 96 孔过滤板,安装于正压装置,在 41 368.56 Pa 压力下过滤 3 min。另取等量上清液混合制备质量控制样品。代谢物检测使用 Vanquish 超高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),通过 Phenomenex Kinetex C₁₈ 液相色谱柱(2.1 mm \times 50 mm,2.6 μm)对

目标化合物进行分离。流动相 A 为体积分数 0.01% 乙酸-水溶液,流动相 B 为异丙醇-乙腈溶液(体积比 1 : 1)。柱温 4 $^{\circ}\text{C}$,进样体积 2 μL 。使用 Orbitrap Exploris 120 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),在 Xcalibur 软件控制下采集一级和二级质谱数据。主要参数:鞘气流量 50 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,辅助气流量 15 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,毛细管温度 320 $^{\circ}\text{C}$,一级分辨率为 60 000,二级分辨率为 15 000,碰撞能量为阶梯式(20、30、40 eV),喷雾电压为正模式 3.8 kV 或负模式-3.4 kV。甲醇、乙腈、乙酸和异丙醇均为色谱纯。

1.3 数据统计和分析

利用 IBM SPSS Statistics 25 软件对抗氧化酶活性及 MDA 含量进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并采用最小显著差异(LSD)法进行事后多重比较。细菌 16S rRNA 测序原始数据经 fastq 软件质控后,依据 Index 与 Barcode 信息进行文库与样本拆分,并去除 Barcode 序列。利用 QIIME 1.9.1 软件中的 dada2 插件对序列进行降噪,用 deblur 去除冗余并生成操作分类单元(OTU)聚类表。根据该聚类表统计每个样本中各 OTU 的序列数,即为细菌的丰度,再利用 feature-classifier classify-sklearn 模块对物种进行注释。对注释结果进行 α 多样性分析,参照张睿洋等^[24]的方法计算 Margalef 丰富度指数(R)、Shannon 多样性指数(H)、Inverse-Simpson 指数(InvSimpson)和 Pielou 均匀度指数(J)。 β 多样性分析包括计算 Jaccard 相似性指数(C_j)、Sørensen 相似性指数(C_s)和 Cody 指数(β_c),并基于 OTU 聚类表,利用 R 4.3.2 语言的 vegan 包进行主坐标分析(PCoA),使用 ggplot2 包进行可视化。代谢组原始数据经 ProteoWizard(V3.0.24054)软件转成 mzXML 格式后,使用武汉贝纳科技有限公司自主编写的 R 包,结合 in-house database 及 BT-Plant(V1.1)数据库进行代谢物鉴定、代谢物含量计算及差异代谢物筛选。代谢组与根际细菌联合分析使用 R 包 MixOmics 完成。输入数据为根际细菌属水平丰度与根系差异代谢物含量,行代表样本,列代表特征。数据经 scale 函数标准化并检查缺失值后,通过 tune.spls 和 tune.rcc 函数分别优化 PLS 参数(keepX 和 keepY)及典型相关分析的正则化参数(lambda)。采用基于 Pearson 相关系数的正则化协方差矩阵方法,结合对角加载正则化与奇异值分解计算典型相关系数,最终利用 cim 函数绘制聚类热图展示根系差异代谢物含量与根际细菌属

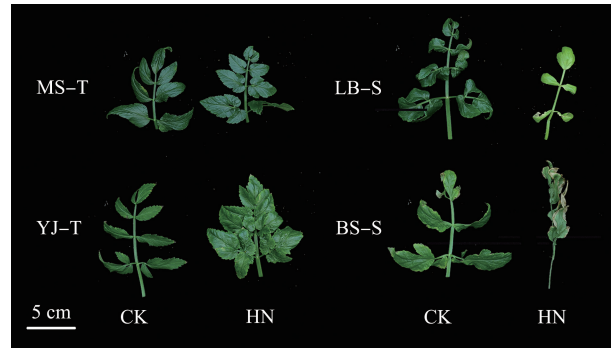
水平丰度之间的相关性。

2 结果和分析

2.1 高铵胁迫下不同生态型水芹叶片生长状况及根系抗氧化酶活性和丙二醛(MDA)含量

形态学观察结果(图1)显示:与对照组相比,高铵处理9 d,2个耐铵型水芹品种叶片增大,而铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’叶片萎缩黄化,‘北联实心芹’叶片萎蔫甚至死亡。抗氧化酶活性和MDA含量测定结果(表1)表明:与对照组相比,耐铵型水芹品种‘梅南水芹’根系的超氧化物歧化酶(SOD)活性在高铵处理3和9 d时显著升高($P<0.05$),过氧化氢酶(CAT)活性则在高铵处理9 d时显著升高;‘宜兴尖叶’根系的CAT活性在高铵处理6 d时极显著升高($P<0.01$)。相比之下,铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’根系的SOD活性在高铵处理9 d时极显著升高,CAT活性在高铵处理3和6 d时分别显著和极显著升高;‘北联实心芹’根系的SOD活性在高铵处理3和9 d时极显著升高,CAT活性在高铵处理6和9 d

时极显著升高,MDA含量在高铵处理3、6和9 d时均显著升高。以上结果表明铵敏感型水芹较耐铵型水芹在高铵处理下表现出更明显的形态损伤与抗氧化酶应答反应,为进一步解析不同生态型水芹对高铵胁迫的差异响应提供了适宜的研究材料。



CK: 对照 The control; HN: 高铵 High ammonium. MS: ‘梅南水芹’ ‘Meinan Shuiqin’; YJ: ‘宜兴尖叶’ ‘Yixing Jianye’; LB: ‘溧阳白芹’ ‘Liyang Baiqin’; BS: ‘北联实心芹’ ‘Beilian Shixinqin’. T: 耐铵型 Ammonium-tolerant type; S: 铵敏感型 Ammonium-sensitive type.

图1 高铵处理9 d不同生态型水芹叶片生长状况
Fig. 1 Leaf growth status of different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d

表1 高铵处理下不同生态型水芹根系的抗氧化酶活性和丙二醛含量($\bar{x}\pm SD$)¹⁾

Table 1 Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde content in roots of different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. under high ammonium treatment ($\bar{x}\pm SD$)¹⁾

组别 Group	不同处理时间的SOD活性/(U·mL ⁻¹) SOD activity at different treatment times			不同处理时间的CAT活性/(U·mL ⁻¹) CAT activity at different treatment times			不同处理时间的MDA含量/(nmol·L ⁻¹) MDA content at different treatment times		
	3 d	6 d	9 d	3 d	6 d	9 d	3 d	6 d	9 d
CK-MS-T	2 005.14±309.06	2 113.05±195.13	2 118.45±221.69	2.22±0.95	2.62±0.46	1.85±0.61	0.65±0.21	0.30±0.15	0.29±0.18
HN-MS-T	2 595.93±228.95 *	2 585.14±206.01	2 916.96±316.66 *	2.35±0.46	2.75±0.54	3.76±0.32 *	0.80±0.09	0.65±0.44	0.54±0.15
CK-YJ-T	2 466.45±322.33	2 512.31±840.62	2 334.26±465.12	2.16±0.65	1.85±0.21	2.22±0.08	0.48±0.15	0.36±0.15	0.60±0.22
HN-YJ-T	2 695.75±514.99	2 795.56±664.96	2 711.93±275.32	2.04±0.28	3.55±1.12 **	2.47±1.25	0.64±0.28	0.63±0.26	0.64±0.22
CK-LB-S	2 722.72±125.90	2 291.10±254.94	2 512.31±275.52	1.94±0.40	1.73±0.62	2.42±0.61	0.58±0.24	0.35±0.07	0.45±0.11
HN-LB-S	2 782.07±187.07	2 887.28±497.66	3 515.84±652.38 **	3.38±0.06 *	4.03±0.69 **	4.10±0.44	0.71±0.33	0.77±0.20	0.72±0.07
CK-BS-S	1 813.61±304.57	2 177.80±203.19	2 075.28±171.30	2.06±0.20	2.35±0.80	2.22±0.59	0.42±0.07	0.32±0.05	0.31±0.09
HN-BS-S	2 896.72±143.07 **	2 985.75±257.52	3 054.54±251.80 **	3.25±1.70	4.47±0.71 **	5.09±0.37 **	0.52±0.13 *	0.78±0.38 *	0.71±0.20 *

¹⁾ CK: 对照 The control; HN: 高铵 High ammonium. MS: ‘梅南水芹’ ‘Meinan Shuiqin’; YJ: ‘宜兴尖叶’ ‘Yixing Jianye’; LB: ‘溧阳白芹’ ‘Liyang Baiqin’; BS: ‘北联实心芹’ ‘Beilian Shixinqin’. T: 耐铵型 Ammonium-tolerant type; S: 铵敏感型 Ammonium-sensitive type. SOD: 超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase; CAT: 过氧化氢酶 Catalase; MDA: 丙二醛 Malondialdehyde. * 和 ** 分别表示同一水芹品种在对照组与高铵组间差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$) * and ** indicate the significant ($P<0.05$) and highly significant ($P<0.01$) differences between the control group and the high ammonium group for the same *Oenanthe javanica* (Blume) DC. cultivar, respectively.

2.2 高铵胁迫下不同生态型水芹根际细菌多样性

高铵处理9 d,对不同生态型水芹进行根际细菌16S rRNA分析,所有样本的goods_coverage指数均为1.00,表明测序深度足以覆盖群落多样性,数据可靠。 α 多样性分析结果(表2)显示:与对照组相比,高铵组‘梅南水芹’、‘宜兴尖叶’、‘溧阳白芹’和‘北联实心芹’根际细菌群落的Marglef丰富度指数(R)、

Shannon多样性指数(H)和Pielou均匀度指数(J)均下降。其中,4个水芹品种根际细菌群落的 R 值均极其显著降低($P<0.001$),降幅分别为37.24%、55.28%、42.83%和39.74%;‘宜兴尖叶’和‘溧阳白芹’根际细菌群落的 H 值显著降低($P<0.05$);仅‘宜兴尖叶’根际细菌群落的 J 值显著降低。与对照组相比,高铵组耐铵型水芹品种‘梅南水芹’根际细菌群落的

表2 高铵处理9 d 不同生态型水芹根际细菌群落的 α 多样性指数($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 2 α -diversity indexes of rhizosphere bacterial communities of different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

组别 Group	R	H	InvSimpson	J
CK-MS-T	28.09±4.07	3.25±1.51	4.65±4.11	0.46±0.20
HN-MS-T	17.63±2.62 ***	2.85±0.50	7.04±3.59	0.44±0.07
CK-YJ-T	34.37±3.29	4.40±0.92	12.66±3.96	0.61±0.12
HN-YJ-T	15.37±2.90 ***	2.63±0.71 *	4.89±2.49	0.41±0.10 *
CK-LB-S	31.29±0.44	4.01±0.48	16.30±7.28	0.57±0.07
HN-LB-S	17.89±0.98 ***	2.59±0.54 *	5.89±3.44 **	0.40±0.08
CK-BS-S	25.97±0.55	3.96±0.26	17.81±2.45	0.57±0.03
HN-BS-S	15.65±1.55 ***	3.15±0.14	9.54±2.19 *	0.48±0.02

¹⁾ CK: 对照 The control; HN: 高铵 High ammonium. MS: ‘梅南水芹’ ‘Meinan Shuiqin’; YJ: ‘宜兴尖叶’ ‘Yixing Jianye’; LB: ‘溧阳白芹’ ‘Liyang Baiqin’; BS: ‘北联实心芹’ ‘Beilian Shixinqin’; T: 耐铵型 Ammonium-tolerant type; S: 铵敏感型 Ammonium-sensitive type. R: Margalef 丰富度指数 Margalef richness index; H: Shannon 多样性指数 Shannon diversity index; InvSimpson: Inverse-Simpson 指数 Inverse-Simpson index; J: Pielou 均匀度指数 Pielou's evenness index. *, ** 和 *** 分别表示同一水芹品种在对照组与高铵组间差异显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$) 和极其显著 ($P<0.001$)。*, **, and *** indicate the significant ($P<0.05$), highly significant ($P<0.01$), and very highly significant ($P<0.001$) differences between the control group and the high ammonium group for the same *Oenanthe javanica* (Blume) DC. cultivar, respectively.

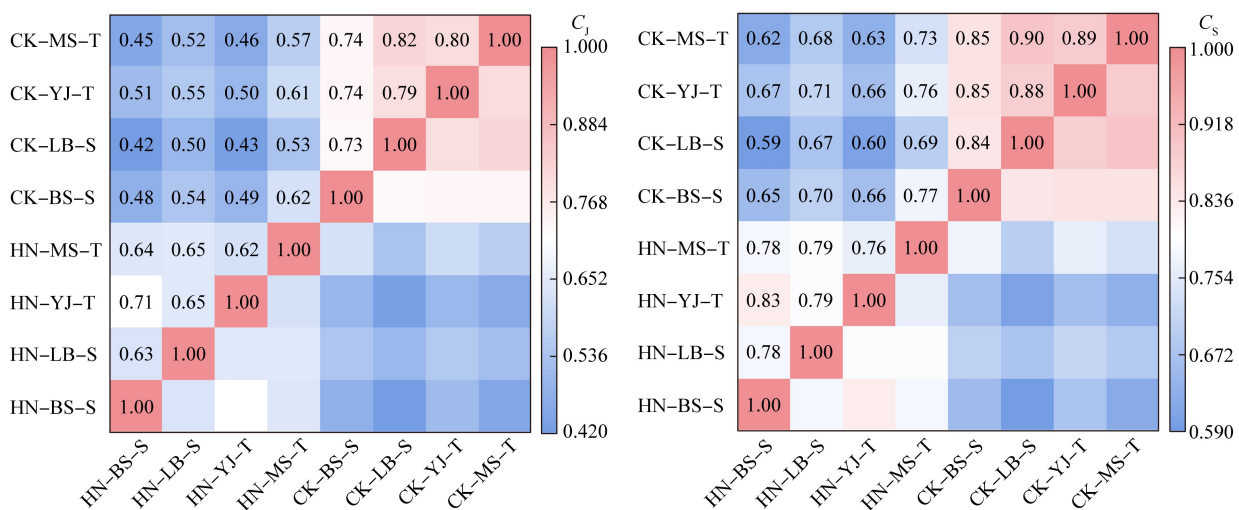
Inverse-Simpson 指数 (InvSimpson) 有所升高, 而‘宜兴尖叶’的 InvSimpson 值有所降低, 但差异均不显著; 2 个铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’和‘北联实心芹’根际细菌群落的 InvSimpson 值分别极显著 ($P<0.01$) 和显著降低。总体上看, 高铵胁迫显著降低了水芹根际细菌的丰富度, 且铵敏感型水芹根际细菌群落的物种多样性受影响更为明显。

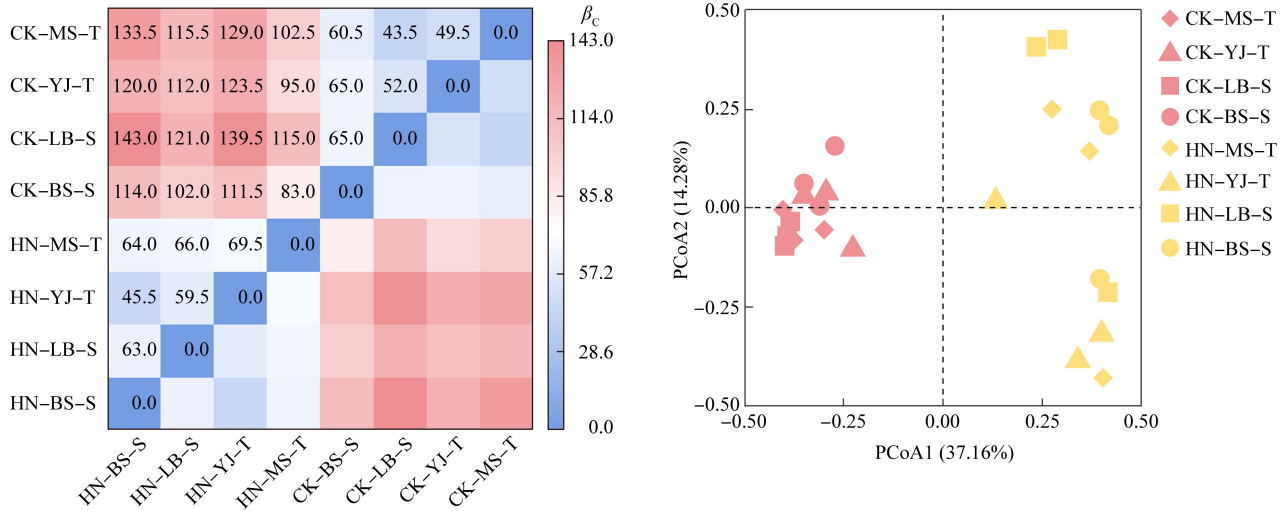
β 多样性分析结果 (图 2) 显示: 对照组和高铵组不同水芹品种根际细菌群落间的 Jaccard 相似性指数 (C_j) 分别介于 0.73~0.82 和 0.62~0.71 之间,

Sørensen 相似性指数 (C_s) 分别介于 0.84~0.90 和 0.76~0.83 之间, 说明各组内根际细菌组成相似性较高。而对照组与高铵组间同一水芹品种根际细菌群落的相似性明显降低, 其中‘北联实心芹’根际细菌群落的 C_j 值仅为 0.48, 其 C_s 值也最低 (0.65)。对照组和高铵组不同水芹品种根际细菌群落间的 Cody 指数 (β_c) 分别为 43.5~65.0 和 45.5~69.5; 而对照组与高铵组间同一水芹品种根际细菌群落的 β_c 值则大幅上升至 102.5~123.5, 表明高铵引起了明显的细菌种类替换。主坐标分析结果进一步显示对照组与高铵组分别聚类且明显分离。综上, 相较于不同生态型水芹, 高铵对水芹根际细菌群落结构的影响更大。

2.3 高铵胁迫下不同生态型水芹根际细菌组成

结果 (图 3) 显示: 水芹根际丰度前 20 的细菌均属变形菌门。高铵处理 9 d, 水芹根际细菌属水平丰度较对照组出现明显变化, 耐铵型水芹仍表现出对特定细菌的特异性富集。与对照组相比, 高铵组不同生态型水芹根际草酸杆菌科 (未分类) [Oxalobacteraceae (unclassified)]、红杆菌科 (未分类) [Rhodobacteraceae (unclassified)]、根瘤菌科 (未分类) [Rhizobiaceae (unclassified)] 及戴氏菌属 (*Dyella*) 等属的丰度均有所上升。其中, 耐铵型水芹根际戴氏菌属的丰度明显高于铵敏感型水芹。高铵组耐铵型水芹品种‘梅南水芹’和‘宜兴尖叶’根际根瘤菌科 (未分类) 的丰度急剧上升, 分别为对照组的 24.17 和 20.46 倍; 而铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’和‘北联实心芹’根际根瘤菌科 (未分类) 的丰度增幅相对较小, 分别为对照组的 11.74 和 3.74 倍。铵敏感型水芹根际 $g_$

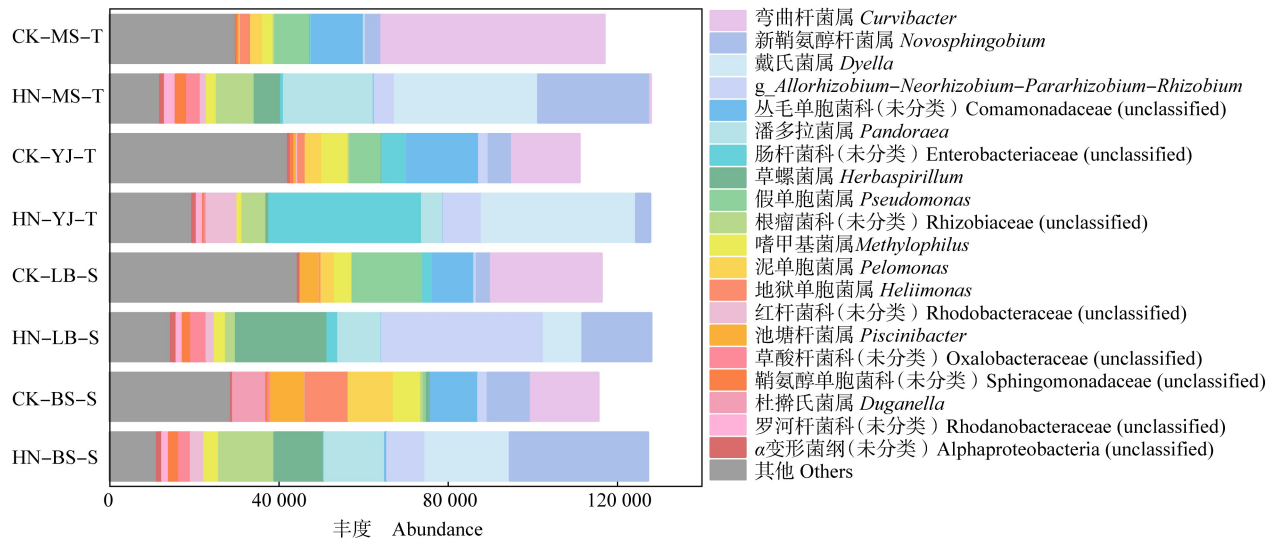




CK: 对照 The control; HN: 高铵 High ammonium. MS: ‘梅南水芹’ ‘Meinan Shuiqin’; YJ: ‘宜兴尖叶’ ‘Yixing Jianye’; LB: ‘溧阳白芹’ ‘Liyang Baiqin’; BS: ‘北联实心芹’ ‘Beilian Shixinqin’. T: 耐铵型 Ammonium-tolerant type; S: 铵敏感型 Ammonium-sensitive type. C_j : Jaccard 相似性指数 Jaccard similarity index; C_s : Sørensen 相似性指数 Sørensen similarity index; β_C : Cody 指数 Cody index. 括号中百分数为主成分解释变量的比例 The percentages in parentheses represent the proportion of variance explained by the principal component.

图 2 高铵处理 9 d 不同生态型水芹根际细菌群落的 β 多样性指数和主坐标分析 (PCoA) 结果

Fig. 2 β -diversity indexes and principal coordinate analysis (PCoA) result of rhizosphere bacterial communities of different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d



CK: 对照 The control; HN: 高铵 High ammonium. MS: ‘梅南水芹’ ‘Meinan Shuiqin’; YJ: ‘宜兴尖叶’ ‘Yixing Jianye’; LB: ‘溧阳白芹’ ‘Liyang Baiqin’; BS: ‘北联实心芹’ ‘Beilian Shixinqin’. T: 耐铵型 Ammonium-tolerant type; S: 铵敏感型 Ammonium-sensitive type.

图 3 高铵处理 9 d 不同生态型水芹丰度前 20 的根际细菌属水平组成堆积图

Fig. 3 Stacked bar chart of genus-level composition of the top 20 abundant rhizosphere bacteria in different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d

Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium 和草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 的丰度增幅较大。与对照组相比,高铵组‘宜兴尖叶’根际新鞘氨醇杆菌属 (*Novosphingobium*) 的丰度略有下降,而其余 3 个水芹品种根际新鞘氨醇杆菌属的丰度则明显上升;4 个水

芹品种根际弯曲杆菌属 (*Curvibacter*)、丛毛单胞菌科 (未分类) [*Comamonadaceae* (unclassified)] 和嗜甲基菌属 (*Methylophilus*) 的丰度均下降,其中,弯曲杆菌属、丛毛单胞菌科 (未分类) 的降幅较大。以上结果表明高铵胁迫下耐铵型水芹能够特异地富集戴氏

菌属和根瘤菌科(未分类)相关菌属。

2.4 高铵胁迫下不同生态型水芹根系差异代谢物

高铵处理 12 h 和 9 d 不同生态型水芹根系差异

代谢物富集通路分别见表 3 和表 4。由表 3 可见:高铵处理 12 h,耐铵型水芹显著上调($P<0.05$)的差异代谢物有 *L*-焦谷氨酸和谷氨酰胺。这些代谢物主要

表 3 高铵处理 12 h 不同生态型水芹根系差异代谢物富集通路

Table 3 Enrichment pathways of root differential metabolites in different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 12 h

通路 Pathway	调节 Regulation	P 值 P value	差异代谢物 Differential metabolite
耐铵型水芹 Ammonium-tolerant <i>O. javanica</i>			
谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	上调 Up	0.009	<i>L</i> -焦谷氨酸 <i>L</i> -pyroglutamic acid
氮代谢 Nitrogen metabolism	上调 Up	0.009	谷氨酰胺 Glutamine
维生素 B ₆ 代谢 Vitamin B ₆ metabolism	上调 Up	0.018	谷氨酰胺 Glutamine
精氨酸生物合成 Arginine biosynthesis	上调 Up	0.044	谷氨酰胺 Glutamine
嘧啶代谢 Pyrimidine metabolism	上调 Up	0.044	谷氨酰胺 Glutamine
双组分系统 Two-component system	上调 Up	0.044	谷氨酰胺 Glutamine
丁酸代谢 Butanoate metabolism	下调 Down	0.006	2,3-丁二酮 Diacetyl, γ 氨基丁酸 4-aminobutyric acid
铵敏感型水芹 Ammonium-sensitive <i>O. javanica</i>			
C ₅ 支链二元酸代谢 C ₅ -branched dibasic acid metabolism	上调 Up	<0.001	柠康酸 Citraconic acid, 衣康酸 Itaconic acid
亚油酸代谢 Linoleic acid metabolism	下调 Down	0.001	9-oxo-10(<i>E</i>), 12(<i>E</i>)-octadecadienoic acid, (10 <i>E</i> , 12 <i>Z</i>)-9-(hydroperoxyl)-10, 12-octadecadienoic acid
半胱氨酸与甲硫氨酸代谢 Cysteine and methionine metabolism	下调 Down	0.008	2-氨基丁酸 2-aminobutyric acid, 5'-脱氧-5'-甲硫腺苷 5'-methylthioadenosine

表 4 高铵处理 9 d 不同生态型水芹根系差异代谢物富集通路

Table 4 Enrichment pathways of root differential metabolites in different ecotypes of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d

通路 Pathway	调节 Regulation	P 值 P value	差异代谢物 Differential metabolite
耐铵型水芹 Ammonium-tolerant <i>O. javanica</i>			
谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	上调 Up	0.022	<i>L</i> -焦谷氨酸 <i>L</i> -pyroglutamic acid
生物素代谢 Biotin metabolism	上调 Up	0.022	庚二酸 Pimelic acid
星形孢菌素生物合成 Staurosporine biosynthesis	上调 Up	0.044	色氨酸 Tryptophan
吲哚生物碱生物合成 Indole alkaloid biosynthesis	上调 Up	0.044	色氨酸 Tryptophan
氨基酸生物合成 Biosynthesis of amino acids	上调 Up	0.047	色氨酸 Tryptophan, <i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -谷氨酸 <i>N</i> -acetylglutamic acid
丙酸代谢 Propanoate metabolism	下调 Down	0.005	丙酮醛 Pyruvaldehyde, 3-羟基丙酸 3-hydroxypropionic acid
甘油酯代谢 Glycerolipid metabolism	下调 Down	0.010	1-磷酸葡萄糖 Glucose 1-phosphate, 二羟丙酮 Dihydroxyacetone
嘌呤代谢 Purine metabolism	下调 Down	0.025	脱氧鸟苷 Deoxyguanosine, 腺苷 Adenosine
核苷酸代谢 Nucleotide metabolism	下调 Down	0.045	脱氧鸟苷 Deoxyguanosine, 腺苷 Adenosine
cGMP-PKG 信号通路 cGMP-PKG signaling pathway	下调 Down	0.045	腺苷 Adenosine
铵敏感型水芹 Ammonium-sensitive <i>O. javanica</i>			
三羧酸循环 Tricarboxylic acid cycle	下调 Down	0.005	柠檬酸 Citric acid, α -酮戊二酸 α -ketoglutaric acid, 苹果酸 Malic acid, 异柠檬酸 Isocitric acid
C ₅ 支链二元酸代谢 C ₅ -branched dibasic acid metabolism	下调 Down	0.005	衣康酸 Itaconic acid, 柠康酸 Citraconic acid, α -酮戊二酸 α -ketoglutaric acid, 2-亚甲基-4-氧代戊二酸 2-methylene-4-oxopentanedioic acid
丁酸代谢 Butanoate metabolism	下调 Down	0.012	2,3-丁二酮 Diacetyl, 马来酸 Maleic acid, α -酮戊二酸 α -ketoglutaric acid, γ 氨基丁酸 4-aminobutyric acid
氨基苯甲酸降解 Aminobenzoate degradation	下调 Down	0.022	扁桃酸 Mandelic acid, 4-羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid, 苯酚 Phenol, 香草酸 Vanillic acid, 对硝基苯酚 4-nitrophenol
乙醛酸和二羧酸代谢 Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	下调 Down	0.025	柠檬酸 Citric acid, α -酮戊二酸 α -ketoglutaric acid, 苹果酸 Malic acid, 异柠檬酸 Isocitric acid
其他碳固定通路 Other carbon fixation pathways	下调 Down	0.025	柠檬酸 Citric acid, α -酮戊二酸 α -ketoglutaric acid, 苹果酸 Malic acid, 异柠檬酸 Isocitric acid

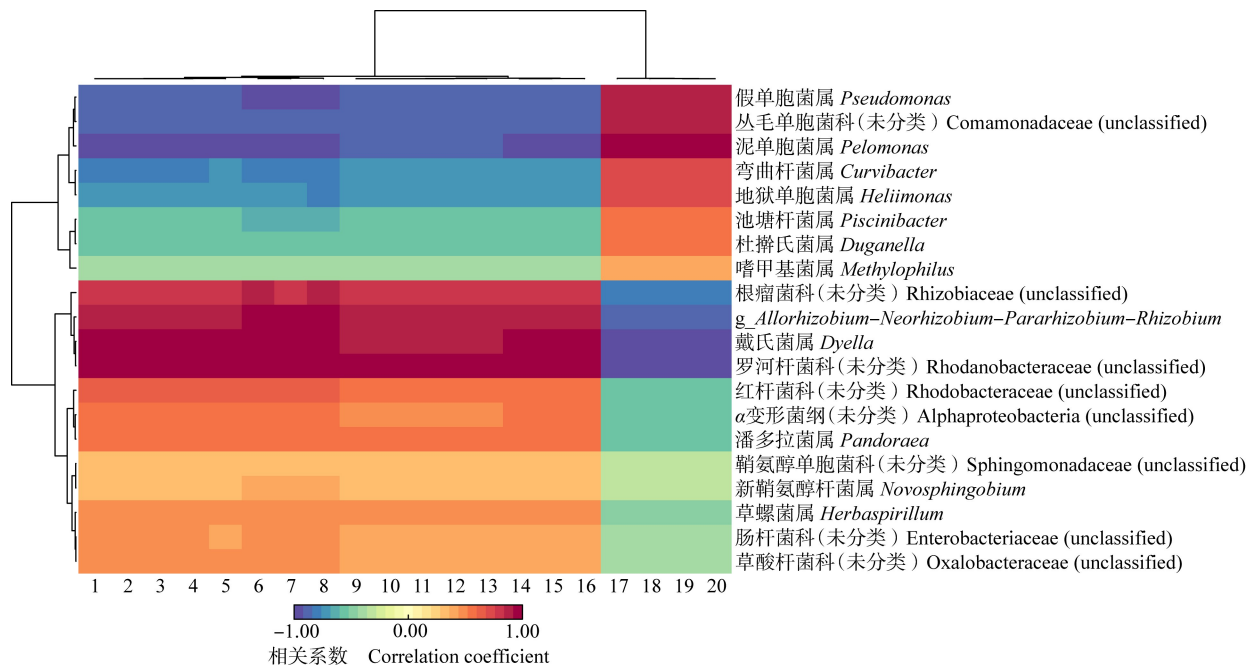
富集于谷胱甘肽代谢、氮代谢、维生素 B₆ 代谢、精氨酸生物合成、嘧啶代谢、双组分系统通路。其中,谷氨酰胺被富集于包括氮代谢在内的 5 个通路中。相比之下,铵敏感型水芹显著上调的仅 C₅ 支链二元酸代谢通路,包括柠康酸和衣康酸 2 个差异代谢物。显著下调的通路有亚油酸代谢以及半胱氨酸与甲硫氨酸代谢,包括 9-oxo-10(E), 12(E)-octadecadienoic acid、(10E, 12Z)-9-(hydroperoxyl)-10, 12-octadecadienoic acid、2-氨基丁酸和 5'-脱氧-5'-甲硫腺苷。以上结果表明,在高铵胁迫初期,耐铵型水芹能更快激活谷胱甘肽相关的免疫应激反应同时提高氮同化速率,从而减轻高铵造成的生理损伤。

由表 4 可见:高铵处理 9 d,耐铵型水芹根系差异代谢物在抗氧化相关的谷胱甘肽代谢通路显著上调,此外生物素代谢、星形孢菌素生物合成、吡啶生物碱生物合成及氨基酸生物合成通路同样显著上调,而丙酸代谢、甘油酯代谢、嘌呤代谢、核苷酸代谢和 cGMP-PKG 信号通路则出现显著下调。而铵敏感型

水芹未富集到显著上调的通路,显著下调的通路主要与碳代谢相关,如三羧酸循环、乙醛酸和二羧酸代谢等通路,包含参与碳代谢的重要化合物柠檬酸、 α -酮戊二酸、苹果酸和异柠檬酸。以上结果表明:长期高铵胁迫下,耐铵型水芹仍能维持铵的吸收与同化代谢活性;而铵敏感型水芹的碳代谢过程显著减弱,这可能与其根系活力下降乃至死亡密切相关。

2.5 相关性分析

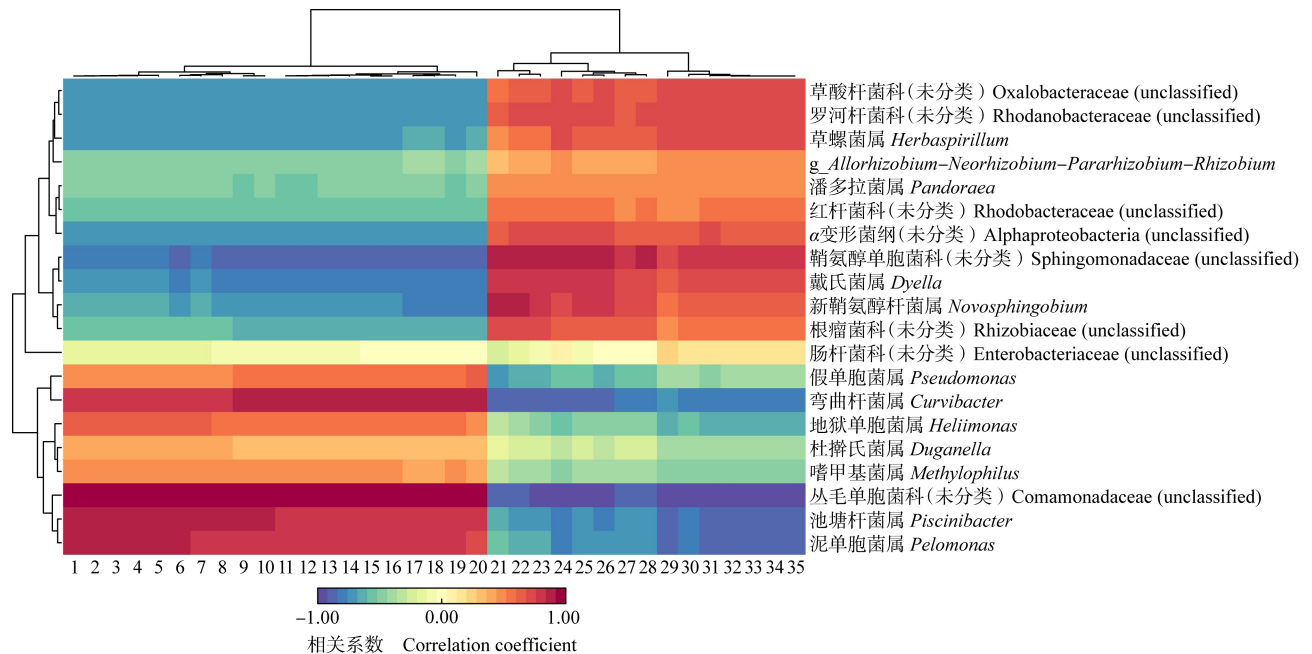
高铵处理 9 d 耐铵型和铵敏感型水芹的根系差异代谢物含量与丰度前 20 的根际细菌属水平丰度的相关性分析结果分别见图 4 和图 5。结果显示:与铵敏感型水芹相比较,耐铵型水芹根系合成了更多参与根际细菌调控的化合物,这些化合物主要包括 3 类:三萜酸类,如 3-表齐墩果酸、 β -乳香酸和熊果酸;酚类,包括 Norcapsaicin、Kievitone hydrate 和 Leucadenone D;吡啶生物碱类,如异长春花苷内酰胺。以上代谢物含量均与根瘤菌科(未分类)、g-*Allorhizobium*-*Neorhizobium*-*Pararhizobium*-*Rhizobium*、戴氏菌属、



1: 腺嘌呤 Adenine; 2: 石松佛利星碱 Lycoflexine; 3: L-焦谷氨酸 Pyroglutamic acid; 4: 二甲双酮 Dimethadione; 5: 4-氧化-9,11,13,15-十八碳四烯酸 4-oxo-9,11,13,15-octadecatetraenoic acid; 6: 异长春花苷内酰胺 Strictosamide; 7: 十一酰胆碱[M] Undecanoylcholine [M]; 8: Norcapsaicin; 9: 3-表齐墩果酸 3-epioleanolic acid; 10: β -乳香酸 β -boswellic acid; 11: 熊果酸 Ursolic acid; 12: Kievitone hydrate; 13: 异金雀花素-2"-O-葡萄糖苷 Isoscaparin-2"-O-glucoside; 14: Dodeca-3,6,9-trienoylcarnitine; 15: 1-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-2-(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-docosahexaenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine; 16: Leucadenone D; 17: 棕榈油酸 Cis-9-palmitoleic acid; 18: 核黄素 Riboflavin; 19: 脱氧鸟苷 Deoxyguanosine; 20: 腺苷 Adenosine.

图 4 高铵处理 9 d 耐铵型水芹根系差异代谢物含量与丰度前 20 的根际细菌属水平丰度的相关性热图

Fig. 4 Heatmap of the correlation between the contents of differential metabolites in the roots of ammonium-tolerant *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d and the abundance of the top 20 abundant rhizosphere bacteria at the genus level



1: 银莲花苷 Tarasaponin VI; 2: 地肤子皂苷 Ic Momordin Ic; 3: (10E,12Z)-9-(hydroperoxyl)-10,12-octadecadienoic acid; 4: 1-(9Z,12Z,15Z-octadecatrienoyl)-3-O- β -D-galactosyl-sn-glycerol; 5: 9-氧代壬酸 9-oxo-nonanoic acid; 6: 千金藤素 Cepharanthine; 7: Licoricesaponin B₂; 8: Sterebin D; 9: 异泽兰黄素 Eupatilin; 10: 积雪草苷 Asiaticoside; 11: 2-亚甲基-4-氧化戊二酸 2-methylene-4-oxo-pentanedioic acid; 12: (-)-表儿茶精五乙酸酯 Epicatechin pentaacetate; 13: 十一烯酸 10-undecenoic acid; 14: Speciosine; 15: 1-palmitoyl-2-vernoloyl-phosphatidylcholine; 16: 2,5-二特丁基对苯二酚 2,5-di-tert-butylhydroquinone; 17: Soyasapogenol B base+O-HexA+HexA+dHex; 18: 3-羟基月桂酸 3-hydroxylauric acid; 19: Veranisatin C; 20: 2'-羟基苯乙酮 2'-Hydroxyacetophenone; 21: 地奥司明 Diosmin; 22: Dihydropanaxacol; 23: 3-[(1-羧基乙烯基)氧基]苯甲酸 3-(1-carboxyvinyl)oxy benzoic acid; 24: 4-乙烯基苯酚 4-vinylphenol; 25: 巴卡丁 III Baccatin III; 26: (-)-古豆醇碱(-)-hygroline; 27: Flavanone base+6O; 28: 松柏醛 Coniferaldehyde; 29: 石松佛利星碱 Lycoflexine; 30: 16-羟基-10-氧代十六烷酸 16-hydroxy-10-oxohexadecanoic acid; 31: 闹羊花毒素 V Rhodojaponin V; 32: 4,7-二羟基香豆素 4,7-dihydroxychromen-2-one; 33: 秦皮乙素 Esculetin; 34: 5,7-二羟基色原酮 5,7-dihydroxychromone; 35: 5,7-二羟基香豆素 5,7-dihydroxycoumarin.

图5 高铵处理9 d 铵敏感型水芹根系差异代谢物含量与丰度前20的根际细菌属水平丰度的相关性热图

Fig. 5 Heatmap of the correlation between the contents of differential metabolites in the roots of ammonium-sensitive *Oenanthe javanica* (Blume) DC. treated with high ammonium for 9 d and the abundance of the top 20 abundant rhizosphere bacteria at the genus level

罗河杆菌科(未分类) [Rhodanobacteraceae (unclassified)] 丰度呈正相关,且相关系数在0.76以上。

由图5可见:铵敏感型水芹中,4-乙烯基苯酚、松柏醛和秦皮乙素含量与根瘤菌科(未分类)、鞘氨醇单胞菌科(未分类) [Sphingomonadaceae (unclassified)] 等属的丰度呈正相关,而与弯曲杆菌属、丛毛单胞菌科(未分类) 丰度呈负相关。此外,皂苷类化合物如银莲花苷、地肤子皂苷 Ic 和积雪草苷含量则与鞘氨醇单胞菌科(未分类) 丰度呈负相关。

3 讨论和结论

3.1 不同生态型水芹耐铵能力差异在表型及抗氧化酶活性中的表现

同一物种不同生态型往往对外界环境表现出不

同的适应性。韩庆芬等^[25] 通过分析拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 体内游离铵含量与地上部分鲜质量间的关系,筛选出耐铵型和铵敏感型拟南芥,并揭示了拟南芥通过提高谷氨酰胺合成酶活性快速同化游离铵,从而缓解铵毒害。王金珠等^[26] 认为,不同生态型杜梨 (*Pyrus betulifolia* Bunge) 对铁的吸收能力存在差异。张进强等^[27] 的研究结果表明:不同生态型天麻 [*Gastrodia elata* Bl.] 对块茎腐烂病抗性的差异可能与基因表达模式及次生代谢物的差异相关。铵敏感型水芹在高铵胁迫下叶片萎蔫甚至死亡,而耐铵型水芹叶片生长受高铵促进。

非生物胁迫下活性氧的产生能改变蛋白质构象、损坏细胞膜系统,对植物生长发育造成严重影响^[28]。抗氧化系统通过清除植物体内积累的活性氧减轻细胞损伤^[29]。总体上看,高铵组铵敏感型水芹抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量较对照组大幅升高,而

耐铵型水芹这些指标变化相对较小。Batool 等^[30]认为,干旱使马铃薯 (*Solanum tuberosum* Linn.) 抗氧化酶活性升高,而施用枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 可进一步提高抗氧化酶活性,缓解马铃薯受到的胁迫。Ilyas 等^[31]也认为干旱胁迫使小麦 (*Triticum aestivum* Linn.) 抗氧化酶活性升高。高铵处理不同生态型水芹的表型、抗氧化酶活性及 MDA 含量变化,证实预实验筛选的耐铵型水芹品种‘梅南水芹’和‘宜兴尖叶’与铵敏感型水芹品种‘溧阳白芹’和‘北联实心芹’对高铵胁迫存在差异反应。

3.2 根际细菌对不同生态型水芹耐铵能力的影响

α 多样性分析结果表明:高铵胁迫极其显著降低 ($P < 0.001$) 了水芹根际细菌群落的 Margalef 丰富度指数,并引起 Shannon 多样性指数的不同程度地下降。这可能是由于高铵环境所伴随的高渗透压超出了部分细菌的耐受范围,从而导致群落丰富度降低^[32]。高铵胁迫下,耐铵型水芹富集了更多的戴氏菌属及根瘤菌科(未分类)细菌。戴氏菌属作为一种吩嗪类次级代谢产物产生菌,能够抑制病原菌生长,且其丰度通常与环境中的铵水平呈正相关^[33]。根瘤菌科中则存在已知的高铵同化菌株,如 Sasaki 等^[34]从养殖废水中分离得到该科成员。耐铵型水芹可能通过富集这类有益菌及高铵同化细菌,增强其在高铵环境中的适应能力。高铵组耐铵型和铵敏感型水芹根际弯曲杆菌属、丛毛单胞菌科(未分类)和嗜甲基菌属的丰度均较对照组降低,这可能由于环境与生理机制的共同作用;细胞内铵积累可干扰质子梯度及关键酶活性,从而抑制微生物生长^[35];高浓度铵输入常通过植物吸收及氮转化过程引起根际环境酸化,进而改变微生物生态位,导致部分微生物因环境变化而死亡^[36];依赖甲烷氧化产物生长的嗜甲基菌属可能因上游甲烷氧化受抑制而丰度下降^[37]。高铵胁迫下,4个水芹品种根际丰度较高的菌属属于变形菌门。该门虽然包含大量参与氮循环的菌种,但多数菌株本身并不耐受高铵环境^[38]。水芹在高铵胁迫下仍能维持该类菌属的丰度,推测其根系代谢物在一定程度上缓解了高铵胁迫效应^[14]。

3.3 根系代谢物对不同生态型水芹耐铵能力的影响

在高铵胁迫初期(12 h),耐铵型水芹的氮代谢、精氨酸生物合成通路及抵御氧化损伤的谷胱甘肽代谢和维生素 B₆ 代谢等通路显著上调 ($P < 0.05$)。其中,被富集于5个通路的谷氨酰胺的显著上调尤为关

键,表明耐铵型水芹在谷氨酰胺合成酶催化下具有更高的铵同化效率^[39]。高铵处理9 d,耐铵型水芹谷胱甘肽代谢通路仍然显著上调,氨基酸生物合成通路显著上调,说明其仍能持续高效地同化铵并清除活性氧,体现了对高铵环境的长期适应。被富集于谷胱甘肽代谢的 L-焦谷氨酸可增强植物在胁迫下的抗氧化系统,如外源施加 L-焦谷氨酸使玉米 (*Zea mays* Linn.) 幼苗在干旱下的抗氧化能力提高^[40]。而铵敏感型水芹在高铵胁迫初期显著上调的通路较少,对高铵的响应不足可能导致其遭受更严重的生理胁迫。至胁迫后期,铵敏感型水芹根系的差异代谢物富集通路则普遍显著下调,且主要集中于碳代谢相关通路。三羧酸循环是植物中心碳代谢途径的关键组成部分,其可通过对进入各代谢途径的碳通量来调节细胞内外稳态^[41]。高铵组铵敏感型水芹三羧酸循环通路关键化合物柠檬酸、 α -酮戊二酸、苹果酸和异柠檬酸的含量较对照组显著下调,这可能与其根系衰退或死亡密切相关^[42]。以上结果表明耐铵型水芹通过以下协同机制缓解解毒害:首先,通过谷氨酰胺合成酶将铵同化为谷氨酰胺,进而合成多种氨基酸,实现铵的高效固定^[43];其次,维持碳代谢通量可为氨基酸合成提供充足的碳骨架和能量,这一策略与水生植物粉绿狐尾藻的解铵毒机制相一致,后者通过促进 α -酮戊二酸的生成推动谷氨酸-谷氨酰胺转化^[8];再次,通过谷胱甘肽代谢维持活性氧平衡^[44],并通过维生素 B₆ 合成减少氧化损伤^[16]。

3.4 根际细菌与根系代谢物的互作对不同生态型水芹耐铵能力的影响

根系代谢物可选择性塑造根际微生物群落^[13]。通过根系差异代谢物与根际细菌的相关性分析,筛选出可能与变形菌门富集相关的根系代谢物。Huang 等^[45]研究认为,拟南芥根系中的三萜酸类化合物可促进变形菌门细菌的增殖;Gómez-Acata 等^[46]的研究结果显示:向活性污泥中添加酚类化合物可使变形菌门丰度提升 94%;Bi 等^[22]指出,根瘤菌目 (Rhizobiales) 能够主动降解酚类化合物,这可能是其在水芹根际富集的原因之一。此外,生物碱类化合物可通过提高特定有益细菌的活性及调节定殖模式来激发根际微生物群的功能^[47]。与铵敏感型水芹相比较,耐铵型水芹根系分泌了更多的三萜酸类、酚类及吲哚生物碱类化合物,这些化合物可能提升了变形菌门中有益细菌的生存竞争力。高铵组铵敏感型水芹

根际鞘氨醇单胞菌科(未分类)丰度较对照组上升,苯丙烷合成通路的中间代谢物4-乙炔基苯酚、松柏醛及秦皮乙素与鞘氨醇单胞菌科(未分类)丰度呈正相关。其中,4-乙炔基苯酚具有抑制细胞周期的功能^[48]。Castaldi等^[49]研究发现鞘氨醇单胞菌科能够降解多种木质素衍生芳香化合物及酚类化合物,这可能导致苯丙烷类合成前体的积累。此外,Nakayasu等^[50]证实鞘氨醇单胞菌科细菌还具备降解皂苷的能力,这可能是铵敏感型水芹根系中皂苷类化合物含量与鞘氨醇单胞菌科(未分类)丰度之间呈负相关的原因。

3.5 结论与展望

耐铵型水芹通过协同调节氮碳代谢与抗氧化防御系统适应高铵环境。一方面,其通过提升氮代谢通量与碳骨架供应,高效同化铵并减少体内游离铵积累;另一方面,通过增强谷胱甘肽等抗氧化代谢物的合成,缓解高铵诱导的氧化损伤。此外,耐铵型水芹根系分泌的三萜酸类、酚类及吲哚生物碱类化合物,可能促进了根际变形菌门有益菌的定殖与富集,进而通过植物-微生物互作增强其对高铵胁迫的整体适应性。

近年来,随着高通量测序与高分辨质谱等技术的快速发展,转录组学、代谢组学、微生物组学等多组学分析手段日趋成熟,已广泛应用于植物生长发育、逆境响应、代谢调控及根际微生态互作等研究领域^[51]。在铵毒害及非生物胁迫相关研究中,Li等^[52]通过代谢组与转录组揭示了高铵条件下欧洲油菜(*Brassica napus* Linn.)的毒性反应,包括碳氮代谢失衡,损害光系统并产生活性氧;Jiang等^[53]通过代谢组和转录组揭示了大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]种子中黄酮类化合物的积累提高了色素形成效率和非生物胁迫抗性;Esposito等^[54]通过代谢组与微生物组相结合的方法揭示了盐胁迫诱导植物根际细菌群落的变化,脂质氧合酶可能具有帮助植物应对压力的作用。在高铵胁迫下,耐铵型水芹根系中三萜酸类、酚类及吲哚生物碱类等代谢物含量与戴氏菌属和根瘤菌科(未分类)等的丰度呈正相关,二者间的互作关系可进一步通过根系转录组数据阐明。目前已有通过转录组、代谢物与微生物联合分析推进对植物-微生物互作的理解,并利用有益的互作促进植物生长、提高生产力^[55]。Huang等^[45]通过转录组、代谢组与根际微生物组的关联分析解析了在拟南芥根部表达的特化三

萜类生物合成代谢网络,以及此网络合成的多种三萜对不同细菌菌株生长的调节作用。Cai等^[56]通过转录组、代谢组与根际微生物群落分析,揭示铵转运蛋白(AMT)基因通过调控根系代谢物重塑根际微生物群落,进而协同调控大豆的防御信号、植物激素通路、木质素合成及重金属解毒等分子网络,增强大豆在镉胁迫下的铵吸收与耐受性。未来可通过结合转录组与代谢组等多组学手段,系统解析不同生态型水芹在高铵胁迫下的基因调控网络,并构建根系代谢物、根际微生物和宿主转录响应的多层互作模型,进一步明确其耐铵的关键遗传与代谢基础,从而阐明耐铵型水芹如何通过主动调控根系分泌物组成实现与有益微生物的互惠共生,为开发基于根际微生物组调控的作物耐铵改良技术提供基础。

参考文献:

- [1] DENG L W, ZHENG D, ZHANG J N, et al. Treatment and utilization of swine wastewater: a review on technologies in full-scale application [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 880: 163223.
- [2] 燕翔, 吴生平, 王都留, 等. 畜禽养殖业废水危害及处理技术研究进展[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2021(15): 36-39.
- [3] KUMAR YADAV K, GUPTA N, KUMAR A, et al. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: a review on application and future prospects [J]. *Ecological Engineering*, 2018, 120: 274-298.
- [4] WANG J Y, DELAVAR M A. Techno-economic analysis of phytoremediation: a strategic rethinking [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 902: 165949.
- [5] ZHANG X J, LIU H, ZHANG S J, et al. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ alleviates iron deficiency in rice seedlings under calcareous conditions [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 12712.
- [6] GAO J Q, LIU L N, MA N, et al. Effect of ammonia stress on carbon metabolism in tolerant aquatic plant-*Myriophyllum aquaticum* [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114412.
- [7] 朱士江, 贵树彪, 徐文, 等. 4种挺水植物在高浓度氮磷污染条件下耐受性试验研究[J]. *中国农村水利水电*, 2022(2): 34-38.
- [8] KUMAR R, SINGH P. Assessment of antibacterial, antioxidant, cytotoxic properties and chemical composition of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. essential oil [J]. *Journal of Herbal Medicine*, 2025, 49: 100982.
- [9] SUN L H, WANG W, LIU F J, et al. Differences in nitrogen and phosphorus removal under different temperatures in *Oenanthe javanica* cultivars [J]. *Agriculture*, 2022, 12(10): 1602.
- [10] SUN L H, ZHAO H J, LIU J X, et al. A new green model for the bioremediation and resource utilization of livestock wastewater [J].

- International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(16): 8634.
- [11] 曹开银,丁海涛,邓超,等.湿地水生植物对富营养化水体的净化效果研究[J].生物学杂志,2019,36(1):39-42.
- [12] BELL C W, ASAO S, CALDERON F, et al. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 85: 170-182.
- [13] CANTAREL A A M, POMMIER T, DESCLOS-THEVENIAU M, et al. Using plant traits to explain plant-microbe relationships involved in nitrogen acquisition[J]. Ecology, 2015, 96(3): 788-799.
- [14] XIONG Q Q, HU J L, WEI H Y, et al. Relationship between plant roots, rhizosphere microorganisms, and nitrogen and its special focus on rice[J]. Agriculture, 2021, 11(3): 234.
- [15] HU J L, ZHENG Q M, NEUHÄUSER B, et al. Superior glucose metabolism supports NH_4^+ assimilation in wheat to improve ammonium tolerance[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1339105.
- [16] LIU Y, MANIERO R A, GIEHL R F H, et al. PDX1.1-dependent biosynthesis of vitamin B₆ protects roots from ammonium-induced oxidative stress[J]. Molecular Plant, 2022, 15(5): 820-839.
- [17] ZHAN J, ZHOU Y F, YANG L S, et al. Low ammonium and high nitrate input improves nitrogen use efficiency and growth in sugarcane through coordinated reprogramming of nitrogen and carbon metabolism[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 229: 110354.
- [18] CHAN D D, SHAO Q S, YIN L H, et al. Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses[J]. Frontier in Plant Science, 2019, 9: 1945.
- [19] 闫艳华,段玉溪,杨阳.油菜素内酯浸种对盐胁迫谷子萌发的影响及其生理机制[J].江苏农业科学,2025,53(11):44-50.
- [20] FAN X Y, GE A H, QI S S, et al. Root exudates and microbial metabolites: signals and nutrients in plant-microbe interactions[J]. Science China-Life Sciences, 2025, 68(8): 2290-2302.
- [21] 刘芳宇,孙林鹤,常雅军,等.不同营养条件对凤眼蓝生长及根际微生物群落的影响[J].植物资源与环境学报,2024,33(1):14-25.
- [22] BI X Q, ZHANG Z Q, DU X M, et al. Isoflavone phytoalexins in root exudates participate in mediating the resistance of common bean *Phaseolus vulgaris* to *Phytophthora sojae*[J]. Plant Pathology, 2023, 72(1): 120-129.
- [23] GREGORY CAPORASO J, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(Suppl. 1): 4516-4522.
- [24] 张睿洋,王忠武,韩国栋,等.短花针茅荒漠草原 α 多样性对绵羊载畜率的响应[J].生态学报,2017,37(3):906-914.
- [25] 韩庆芬,陈海飞,张振华.不同生态型拟南芥耐铵毒害差异的生理机制[J].植物营养与肥科学报,2019,25(7):1185-1193.
- [26] 王金珠,王子东,刘建龙,等.不同生态型杜梨对缺铁胁迫的生理响应及耐缺铁性评价[J].果树学报,2023,40(2):262-273.
- [27] 张进强,袁青松,欧阳臻,等.不同生态型天麻块茎腐烂病抗性差异分析[J].中国中药杂志,2022,47(9):2281-2287.
- [28] HASANUZZAMAN M, BHUYAN M H M B, ZULFIQAR F, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator[J]. Antioxidants, 2020, 9(8): 681.
- [29] ZHANG R Y, WANG Y, WANG X X, et al. Differential responses of microstructure, antioxidant defense, and plant hormone signaling regulation in potato (*Solanum tuberosum* L.) under drought, alkaline salt, and combined stresses[J]. Scientia Horticulturae, 2025, 314: 114014.
- [30] BATOOL T, ALI S, SELEIMAN M F, et al. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 16975.
- [31] ILYAS N, MUMTAZ K, AKHTAR N, et al. Exopolysaccharides producing bacteria for the amelioration of drought stress in wheat[J]. Sustainability, 2020, 12(21): 8876.
- [32] ADAMS M. Ammonia-stressed anaerobic digestion: sensitivity dynamics of key syntrophic interactions and methanogenic pathways: a review[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 371: 123183.
- [33] DAR D, THOMASHOW L S, WELLER D M, et al. Global landscape of phenazine biosynthesis and biodegradation reveals species-specific colonization patterns in agricultural soils and crop microbiomes[J]. eLife, 2020, 9: e59726.
- [34] SASAKI H, NONAKA J, SASAKI T, et al. Ammonia removal from livestock wastewater by ammonia-assimilating microorganisms immobilized in polyvinyl alcohol[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2007, 34(2): 105-110.
- [35] CAICEDO J R, VAN DER STEEN N P, ARCE O, et al. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*)[J]. Water Research, 2000, 34(15): 3829-3835.
- [36] LIANG H Y, WANG Y R, QUAN X Q, et al. Ammonium and nitrate nitrogen alter bacterial community in the rhizospheres and root surfaces with seedling growth of two tree species[J]. Forests, 2024, 15(12): 2218.
- [37] HO A, MENDES L W, LEE H J, et al. Response of a methane-driven interaction network to stressor intensification[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(10): faa180.
- [38] KALAMARAS S D, CHRISTOU M L, TZENOS C A, et al. Investigation of the critical biomass of acclimated microbial communities to high ammonia concentrations for a successful

- bioaugmentation of biogas anaerobic reactors with ammonia inhibition[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(7): 1710.
- [39] FORTUNATO S, NIGRO D, LASORELLA C, et al. The role of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) in the improvement of nitrogen use efficiency in cereals [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(12): 1771.
- [40] JIMÉNEZ-ARIAS D, HERNÁNDIZ A E, MORALES-SIERRA S, et al. Applying biostimulants to combat water deficit in crop plants: research and debate[J]. *Agronomy*, 2022, 12(3): 571.
- [41] 董文科, 张玉娟, 马晖玲, 等. 植物中心碳代谢途径参与生长发育及逆境胁迫响应的研究进展[J]. *草业科学*, 2025, 42(7): 1709-1720.
- [42] 王建荷, 王娟娟, 庞海龙, 等. 细胞外ATP参与调节抗霉素A诱导的植物细胞死亡[J]. *植物生理学报*, 2021, 57(4): 838-846.
- [43] 徐洪超, 王增雪, 逢洪波, 等. 氮处理对高粱氮代谢相关基因 *NR*、*GS*、*GOGAT* 表达的影响[J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(3): 79-83.
- [44] 孙铭, 王丽, 孙新朝, 等. 谷胱甘肽(GSH)参与植物种子活力调控的研究进展[J]. *草地学报*, 2025, 33(11): 3495-3504.
- [45] HUANG A C, JIANG T, LIU Y X, et al. A specialized metabolic network selectively modulates *Arabidopsis* root microbiota [J]. *Science*, 2019, 364: eaau6389.
- [46] GÓMEZ-ACATA S, ESQUIVEL-RÍOS I, PÉREZ-SANDOVAL M V, et al. Bacterial community structure within an activated sludge reactor added with phenolic compounds[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(8): 3405-3414.
- [47] SHIMASAKI T, NAKANO R T. Alkaloids as mediators in plant-microbe interactions: metabolism and role in the rhizosphere[J]. *Plant Biotechnology*, 2025, 42(3): 243-250.
- [48] LEUNG H W, KO C H, YUE G G L, et al. The natural agent 4-vinylphenol targets metastasis and stemness features in breast cancer stem-like cells [J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2018, 82(2): 185-197.
- [49] CASTALDI V, WICAKSONO W A, DE FILIPPIS F, et al. Prosystemin-derived signals: bridging leaf microbiome dynamics and defense activation[PP/OL]. *bioRxiv* (2025-04-05) [2026-04-16]. <https://doi.org/10.1101/2025.04.05.646382>.
- [50] NAKAYASU M, TAKAMATSU K, KANAI K, et al. Tomato root-associated *Sphingobium* harbors genes for catabolizing toxic steroidal glycoalkaloids[J]. *mBio*, 2023, 14(5): e0059923.
- [51] 朱诗凡, 武金月, 梁夏, 等. 多组学技术在园艺植物抗旱研究中的应用[J]. *浙江农林大学学报*, 2025, 42(5): 875-887.
- [52] LI S, YAN L, RIAZ M, et al. Integrated transcriptome and metabolome analysis reveals the physiological and molecular responses of allotetraploid rapeseed to ammonium toxicity [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 189: 104550.
- [53] JIANG L, YANG X F, GAO X W, et al. Multiomics analyses reveal the dual role of flavonoids in pigmentation and abiotic stress tolerance of soybean seeds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(6): 3231-3243.
- [54] ESPOSITO A, SCALA V, VITALI F, et al. Exploring the root-associated bacterial community of tomato plants in response to salt stress[J]. *Agriculture*, 2025, 15(6): 624.
- [55] JYOTI P, BHARDWAJ J, KAUSHAL G, et al. Advancing our understanding of plant-microbe interactions through integrating multiomics and stable isotopes for sustainable agriculture[J]. *ACS Agricultural Science and Technology*, 2025, 5(7): 1225-1237.
- [56] CAI Z D, YU T B, TAN W Y, et al. *GmAMT2.1/2.2*-dependent ammonium nitrogen and metabolites shape rhizosphere microbiome assembly to mitigate cadmium toxicity [J]. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2024, 10: 60.

(责任编辑: 张明霞)

《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流、充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据——数字化期刊群”和“中文科技期刊数据库”等网络文献资源数据库,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权转让费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章收编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《植物资源与环境学报》的投稿网址为 <https://zwzy.jib.ac.cn>;联系电话:025-84347014;E-mail:zwzybjb@163.com;QQ:2219161478。

《植物资源与环境学报》编辑部
2026-05