

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.54071

不同耐旱型马铃薯根际微生物对干旱的响应

姬炫彤^{1,2} 卞春松² 金黎平² 李 森¹ 秦军红^{2,*} 李广存^{2,*}

¹ 山西农业大学园艺学院, 山西太谷 030801; ² 蔬菜生物育种全国重点实验室 / 农业农村部薯类作物生物学和遗传育种重点实验室 / 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081

摘 要: 马铃薯是全球重要的粮食作物, 但其生长极易受到干旱胁迫的影响。干旱不仅会降低马铃薯产量, 还会改变其根际微生物群落结构, 进而影响植株的耐旱性和健康状况。本研究以耐旱型马铃薯 C93 和干旱敏感型马铃薯费乌瑞它(Favorita)为材料, 在防雨棚土栽条件下, 通过宏基因组测序, 解析了不同干旱梯度下根际微生物群落的结构与功能响应机制。结果表明, 随着干旱程度的增加, Favorita 的 α 多样性先降低后升高, 而 C93 的 α 多样性基本保持不变。变形菌门(30.44%~63.00%)和放线菌门为所有处理下的优势菌门, 但属水平组成呈现基因型特异性差异。C93 在重度干旱下富集溶杆菌属(10.16%)和鞘氨醇单胞菌属(6.37%), 而 Favorita 依赖诺卡氏菌属(8.29%)和链霉菌属。功能注释结果表明, 中度干旱胁迫条件下, ABC 转运蛋白通路在 C93 和 Favorita 应对干旱胁迫时具有重要作用, 而重度干旱胁迫条件下, Favorita 主要依赖 AMPK 信号通路, 而 C93 主要依赖 ABC 转运蛋白通路来缓解干旱胁迫。共现网络分析表明, C93 通过“核心菌群+功能枢纽”的协同互作模式增强网络稳定性, 而 Favorita 在干旱胁迫下网络模块化不足, 依赖单一菌群功能扩展, 导致长期抗逆性较弱。本研究初步揭示了马铃薯根际微生物调控抗旱的基因型特异性作用机制, 为抗旱菌剂开发及抗旱技术升级提供理论依据。

关键词: 马铃薯; 干旱; 宏基因组测序; 根际; 微生物群落功能

Responses of root-associated microorganisms of different drought-tolerant potato varieties to drought conditions

Ji Xuan-Tong^{1,2}, Bian Chun-Song², Jin Li-Ping², Li Sen¹, Qin Jun-Hong^{2,*}, and Li Guang-Cun^{2,*}

¹ College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi, China; ² National Key Laboratory of Vegetable Biotechnology Breeding / Key Laboratory of Biology and Genetic Breeding of Tuber Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Potato is a globally important food crop, but its growth is highly susceptible to drought stress. Drought not only reduces potato yield but also alters the structure of the rhizosphere microbial community, thereby affecting the plant's drought tolerance and overall health. In this study, metagenomic sequencing was conducted on the rhizosphere microbiota of the drought-tolerant potato genotype C93 and the drought-sensitive variety Favorita, grown under rain-proof shed soil conditions, to investigate their structural and functional responses under varying drought intensities. The results showed that as drought severity increased, the alpha diversity of Favorita first decreased and then increased, whereas the alpha diversity of C93 remained relatively stable. Proteobacteria (30.44%–63.00%) and Actinobacteria were the dominant phyla across all treatments, but genus-level composition exhibited genotype-specific differences. Under severe drought conditions, C93 enriched *Lysobacter* (10.16%) and *Sphingomonas* (6.37%), while Favorita was dominated by *Nocardia* (8.29%) and *Streptomyces*. Functional annotation revealed that under moderate drought stress, the ABC transporter pathway played a key role in both C93 and Favorita's responses. However, under severe drought, C93 primarily relied on the ABC transporter pathway, while Favorita depended on the AMPK signaling pathway to

本研究由国家自然科学基金青年基金项目(32301950)和国家重点研发计划项目(2023YFD1600605)资助。

This study was supported by the Youth Fund Project of National Natural Science Foundation of China (32301950) and the National Key R&D Program of China (2023YFD1600605).

* 通信作者(Corresponding authors): 李广存, E-mail: liguangcun@caas.cn; 秦军红, E-mail: qinjunhong@caas.cn

第一作者联系方式: E-mail: 1225699914@qq.com

Received (收稿日期): 2025-06-13; Accepted (接受日期): 2025-10-30; Published online (网络出版日期): 2025-11-07.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251106.1724.004>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

mitigate stress. Microbial network analysis further demonstrated that C93 maintained greater network stability through a cooperative interaction model involving a “core microbiota + functional hub”, whereas Favorita exhibited insufficient network modularity and relied on the expansion of single functional taxa, resulting in weaker long-term drought resilience. This study provides preliminary insights into genotype-specific mechanisms by which rhizosphere microorganisms regulate drought resistance in potato, offering a theoretical foundation for the development of drought-tolerant microbial agents and the advancement of drought-resilience technologies.

Keywords: potato; drought; metagenome sequencing; rhizosphere; function of microbial communities

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是全球第四大粮食作物,对于保障粮食安全、减轻贫困和推动农业经济发展具有重要意义。马铃薯对干旱胁迫高度敏感^[1],缺水可能会导致产量损失达 79%^[2]。干旱不仅会显著降低马铃薯的产量,还会影响其品质。研究表明,干旱胁迫会通过抑制植株光合作用、破坏水分平衡、诱导氧化胁迫和抑制养分吸收等来影响马铃薯的生长发育和生理代谢^[3]。

根际作为植物-土壤-微生物互作的关键部位,其微生态变化直接影响植物生理功能及抗逆能力。植物根系分泌物不仅是微生物种群密度与代谢活性的主要碳源,也是根际微生物群落结构与功能的重要调控因素^[4-6]。干旱胁迫下,根际微生物通过固氮解磷、合成铁载体、分泌 IAA 及 ACC 脱氨酶等系统性提升植物的营养获取、根系发育和胁迫耐受能力^[7]。宏基因组学研究揭示,马铃薯根际微生物群落在门水平上以变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和厚壁菌门为优势菌群,但这些类群的丰度分布对环境胁迫具有显著动态响应特征^[8-10]。基因型特异性抗旱机制与根际微生物群落的代谢调控网络密切相关。耐旱品种表现出更强的微生物网络稳定性和功能冗余度,在常规水分条件下可以招募放线菌门等耐旱菌群^[11];而敏感品种仅在胁迫后期通过被动选择招募耐旱微生物^[12]。关键功能菌属如链霉菌属通过抗生素合成与激素调控增强宿主抗旱性^[13],假单胞菌属则通过促进氮素吸收提升植物适应性^[14]。溶杆菌属的生物膜形成能力^[15]、诺卡氏菌属的碳氮代谢活性^[16]以及鞘氨醇单胞菌属的多环芳烃降解功能^[17],共同构建了根际微环境的生态屏障。这些功能菌属作为共现网络的枢纽节点,通过种间互作维持微生物网络的拓扑稳定性^[18]。

前人在马铃薯抗旱机制方面的研究主要集中在地上部分^[19-20],而地下部分研究主要集中在根系生理生态方面^[21],但在根际微生态方面的研究鲜见报道。因此,本研究以耐旱型 C93 与干旱敏感型 Favorita 为试验材料,初步解析不同耐旱基因型马

铃薯根际微生物群落组成、功能及互作模式对于干旱胁迫的响应,旨在为马铃薯抗旱菌剂的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与方法

本试验于 2023 年 5 月 6 日在河北省张家口市察北管理区国家马铃薯改良中心华北分中心(41°25'N, 114°56'E)防雨棚内开展,土壤为沙质土壤,防雨棚仅在下雨时关闭,其他时候打开,尽可能保持棚内气候条件与大田基本一致,马铃薯生长期棚内温度为 6~33℃,湿度为 22%~85%。以干旱敏感基因型费乌瑞它(Favorita, v1)^[22]和耐旱基因型 C93 (v2)^[23]为材料,设 3 种干旱胁迫处理,分别为充分灌溉(w1,即苗期、块茎形成期、块茎膨大期、淀粉积累期的土壤含水量分别为田间土壤最大持水量的 60%~65%、70%~75%、75%~80%、55%~60%)、中度干旱胁迫(w2,土壤含水量比 w1 每个生育期低 20%)、重度干旱胁迫(w3,土壤含水量比 w1 每个生育期低 40%)。株高 15 cm 左右时开始控水(6 月 26 日),当土壤深度 0~20 cm 的实际土壤含水量低于设定下限时开始灌溉。用 TDR 水分测定仪(TRIME-BT, IMKOMicrmodultechnik GmbH, 德国)测定土壤含水量,每 4 d 测一次,马铃薯生育期间各处理土壤含水量见附图 1。

1.2 生物量测定

在块茎形成期(7 月 14 日),于每个处理中随机选取 3 株,测定其整株生物量。取样后,迅速用水冲洗根部,去除表面附着的土壤及杂质,并用吸水纸轻轻吸干表面多余水分。随后,立即使用精度为 0.01 g 的电子天平对植株鲜样进行称重,记录所得数据,即为马铃薯生物量。

1.3 土壤样品采集和方法

在进行生物量取样的同时采集根际土壤^[24],样品用冰盒保存并运输至实验室后放于-80℃超低温冰箱暂存,待提取土壤 DNA。

1.4 土壤样品宏基因组测序分析

使用 E.Z.N.A. Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, 美国) 提取土壤微生物总 DNA。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳评估 DNA 完整性, 使用 Qubit 4.0 荧光定量仪 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 精确定量 DNA 浓度, 合格样本 (浓度 $\geq 20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, $A_{260}/A_{280} = 1.8 \sim 2.0$) 保存于 -20°C 备用。

采用 Covaris M220 超声波破碎仪 (Covaris, 美国) 将 DNA 随机打断至 300 bp 片段, 经末端修复、加 A 尾、连接 Illumina 测序接头后构建文库。文库质量经 Qubit 2.0 定量、Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, 美国) 片段分布检测及 qRT-PCR 定量验证 (有效浓度 $> 3 \text{ nmol L}^{-1}$), 合格文库按等摩尔浓度混合, 使用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行 PE150 双端测序。

1.5 数据分析

利用 Trimmomatic 软件^[25]去除接头序列和低质量读数 (包括质量值 $Q \leq 10$ 的碱基所占比例超过 50% 的读数)。原始数据经质控过滤后, 采用 MEGAHIT v1.2.9 进行序列组装, Prokka v1.14.6 完成基因注释。使用软件 QIIME 2 和 NMDS (Non-metric

Multidimensional Scaling) 降维及 ANOSIM 组间差异检验进行物种多样性分析。用 LEfSe (LDA Effect Size) 分析筛选组间差异标志物种 (LDA score > 3.0 , $P < 0.05$)。用 SPSS 27.0 (IBM, 美国) 进行单因素 (one-way ANOVA) 及双因素 (two-way ANOVA) 方差分析 ($P < 0.05$), 用 Origin 2024 (OriginLab, 美国) 和 R v4.3.1 (ggplot2、pheatmap 包) 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同基因型马铃薯根际微生物多样性和组成分析

经过宏基因组测序共获得 5,937,409 个开放阅读框 (open reading frame, ORF), 包括 4 个界、188 个门、429 个纲、677 个目、1207 个科、3615 个属和 17,394 个种。物种注释显示, 根际土壤样品中微生物主要以细菌为主, 占比超过 94.32% (图 1-A)。6 个处理中共鉴定到 18,252,880 个 OTU, 其中 w1v1 占 20.11%, w2v1 占 22.55%, w3v1 占 22.43%, w1v2 占 18.99%, w2v2 占 23.26%, w3v2 占 28.03%, 核心 OTU 数量为 244,126 (图 1-B)。

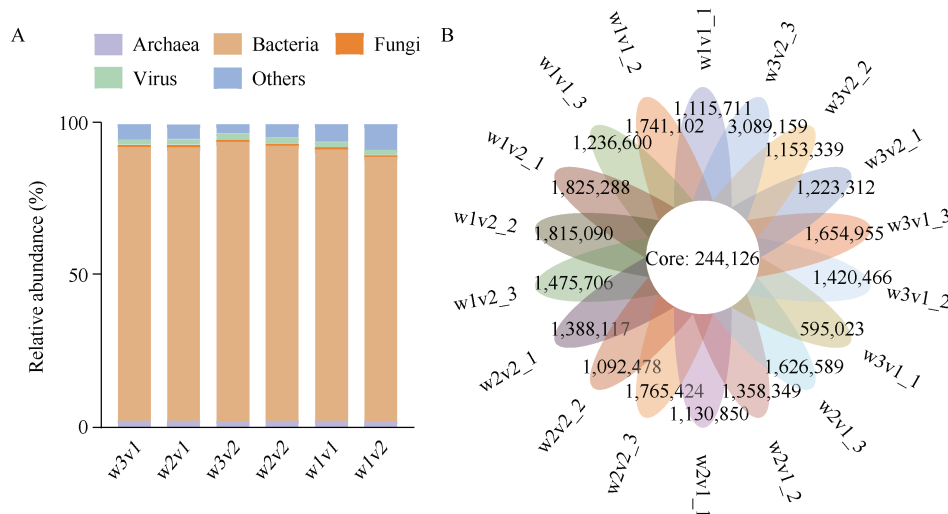


图 1 2 个不同耐旱型马铃薯在 3 个不同水分处理中根际土壤微生物的相对丰度与组成

Fig. 1 Relative abundance and composition of soil microorganisms in two different drought-tolerant potatoes under three water treatment levels

A: 2 个不同耐旱型马铃薯在 3 个不同水分处理中根际土壤微生物的相对丰度; B: 2 个不同耐旱型马铃薯在 3 个不同水分处理中根际微生物的组成。w1v1: 充分灌溉条件下的干旱敏感基因型费乌瑞它; w2v1: 中度干旱条件下的干旱敏感基因型费乌瑞它; w3v1: 重度干旱条件下的干旱敏感基因型费乌瑞它; w1v2: 充分灌溉条件下的抗旱基因型 C93; w2v2: 中度干旱条件下的抗旱基因型 C93; w3v2: 重度干旱条件下的抗旱基因型 C93。

A: relative abundance of soil microorganisms in the rhizosphere of two different drought-resistant potato varieties under three water treatments; B: composition of microorganisms in the rhizosphere of two different drought-resistant potato varieties under three water treatments. w1v1: drought-sensitive genotype Favorita under fully irrigated conditions; w2v1: drought-sensitive genotype Favorita under moderate drought conditions; w3v1: drought-sensitive genotype Favorita under severe drought conditions; w1v2: drought-resistant genotype C93 under fully irrigated conditions; w2v2: drought-resistant genotype C93 under moderate drought conditions; w3v2: drought-resistant genotype C93 under severe drought conditions.

不同干旱条件下微生物群落的组成在门和属水平上表现出明显差异。排名前 10 的门依次为变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门、Candidatus_Saccharibacteria、蓝藻细菌和浮霉菌门(图 2-A)。在所有处理组中,变形菌门均为优势菌门,其相对丰度在不同处理间差异较小。放线菌门在各处理中的相对丰度也较高,尤其是在充分灌溉条件下,其丰度显著增加。在相同干旱胁迫条件下,C93 和 Favorita 的微生物群落组成存在差异。在中度干旱条件下,Favorita 的放线菌门相对丰度显著高于 C93,而变形菌门的相对丰度则相反。重度干旱条件下,Favorita 的变形菌门相对丰度略高于 C93,而放线菌门的相对丰度则相反。

在属水平上,对 Favorita 而言,充分灌溉条件下

变形菌门相关属占主导地位,其中鞘氨醇单胞菌属丰度最高,达到 8.66%;中度干旱条件下,鞘氨醇单胞菌属和溶杆菌属的丰度较高,分别达到 7.51%和 10.39%;重度干旱条件下,诺卡氏菌属和溶杆菌属占较大比例,分别达到 8.29%和 10.20%;对 C93 而言,在充分灌溉下,溶杆菌属和鞘氨醇单胞菌属的丰度较高,分别达到 9.60%和 9.29%;在中度干旱条件下,诺卡氏菌属的丰度达到 16.24%;重度干旱条件下溶杆菌属和鞘氨醇单胞菌属的丰度较高,分别达到 10.16%和 6.37% (图 2-B)。在中度干旱条件下,C93 的溶杆菌属和诺卡氏菌属的丰度均显著高于 Favorita,而鞘氨醇单胞菌属的丰度则相反;在重度干旱条件下,Favorita 的鞘氨醇单胞菌属丰度显著高于 C93 (附图 2)。

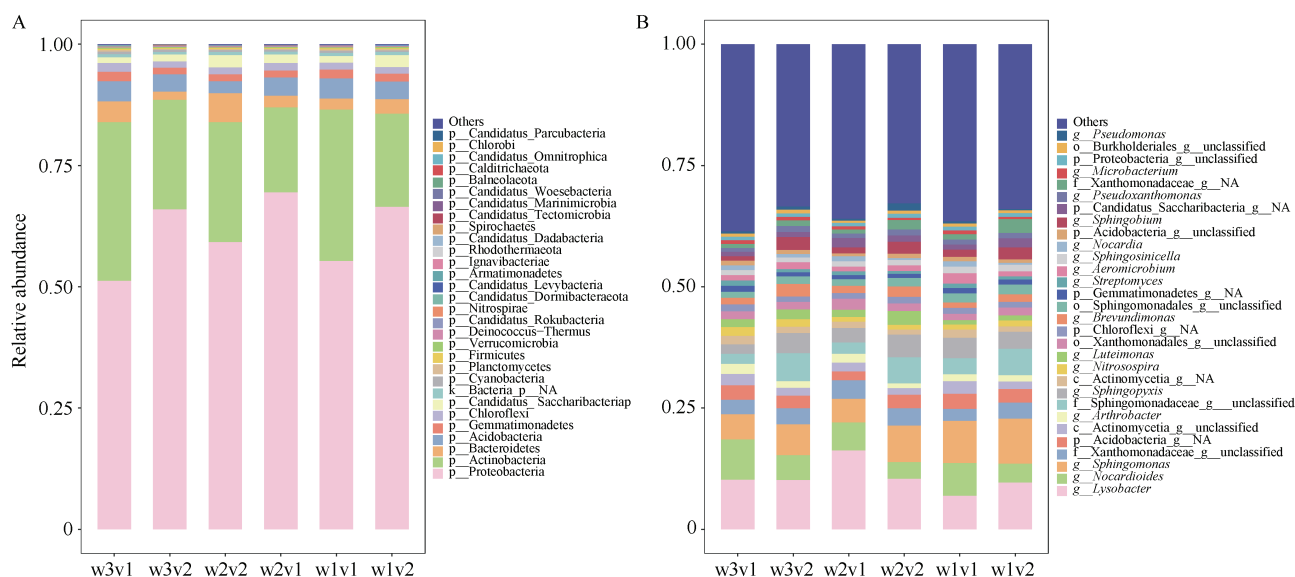


图 2 门水平(A)和属水平(B)下物种分布柱状图

Fig. 2 Bar chart of species distribution at phylum level (A) and genus level (B)

处理同图 1。p 代表门分类, c 代表纲分类, o 代表目分类, f 代表科分类, g 代表属分类。

Treatments are the same as those given in Fig. 1. “p” represents phylum, “c” represents class, “o” represents order, “f” represents family, and “g” represents genus.

α 多样性表明, 不同处理在 Shannon、Simpson、InvSimpson 指数上呈现差异化特征(表 1)。随着干旱胁迫程度的增加, Favorita 的 α 多样性先降低后升高, 且重度干旱下的 Shannon 指数显著高于其他处理 ($P < 0.05$); 但 C93 的 Shannon 指数基本保持不变。所有处理组的 Simpson 指数均为 0.99, 表明微生物群落中优势类群占据较高比例。Favorita 在重度干旱胁迫下 InvSimpson 指数显著升高 (111.17 ± 7.74), 较对照组增加 6.8% ($P < 0.05$), 说明其微生物群落在极端胁迫下可能通过物种丰度再分配提升了均匀性,

或部分稀有物种丰度增加; C93 的 InvSimpson 指数在干旱胁迫下波动较小 (83.91 ± 1.17 至 85.37 ± 19.45), 表现出更强的群落结构稳定性, 其物种组成受环境扰动的影响较小。多维尺度分析(non-metric multi-dimensional scaling, NMDS)结果表明, 干旱胁迫与马铃薯基因型均对根际微生物群落有显著影响。在门水平上(图 3-A), 与充分灌溉相比, 中度干旱和重度干旱处理下, Favorita 和 C93 之间的样本点分离明显, 同一基因型在不同胁迫程度下的样本点分布也有明显变化, Favorita 在不同胁迫程度的样本点分离

程度随干旱强度增加而扩大,充分灌溉和重度干旱样本点间距大于充分灌溉和中度干旱样本点的间距,C93 的样本点分布相对紧凑,充分灌溉和中度干旱的样本点部分重叠,但重度干旱的样本点明显向右上方偏移,表明干旱胁迫改变了门水平的微生物群落组成。在属水平上(图 3-B),尽管部分处理组存在一定重叠,但总体而言,随干旱胁迫的增加,Favorita 和 C93 样本点分布存在差异,说明干旱胁迫同样会改变马铃薯根际微生物在属水平上的群落组成。

表 1 不同干旱胁迫条件下 2 个不同基因型马铃薯根际微生物群落的 α 多样性指数比较
Table 1 Comparison of α -diversity indices of rhizosphere microbial communities of two potato genotypes under different drought stress conditions

处理组 Group	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Invsimpson 指数 Invsimpson index
w1v1	5.99±0.07 b	0.99±0.00 a	104.14±7.31 b
w1v2	5.84±0.02 a	0.99±0.00 a	83.91±1.17 a
w2v1	5.80±0.12 a	0.99±0.00 a	82.19±7.70 a
w2v2	5.91±0.18 a	0.99±0.00 a	85.37±19.45 a
w3v1	6.10±0.05 b	0.99±0.00 a	111.17±7.74 b
w3v2	5.84±0.12 a	0.99±0.00 a	84.88±8.01 a

处理同图 1。不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。
Treatments are the same as those given in Fig. 1. Different letters indicate significant differences between groups ($P < 0.05$).

2.2 不同基因型马铃薯根际微生物的 LEfSe 分析

LEfSe (LDA effect size)分析结果表明,不同处理组存在特异性微生物(biomarker) (图 4 和附表 1)。不同干旱条件下,2 个不同耐旱型马铃薯(v1 和 v2)根际微生物群落的 LDA 得分越高,表示该类群在相应条件下的相对丰度差异越显著。对 Favorita 而言,诺卡氏菌属为重度干旱条件下的 biomarker,其相对丰度达 8.29%,较充分灌溉处理提升 2.3 倍;鞘氨醇单胞菌为中度干旱条件下的 biomarker,相对丰度为 7.51%;对 C93 而言,鞘氨醇单胞菌为充分灌溉条件下的 biomarker,相对丰度为 9.29%;溶杆菌属为中度干旱条件下的 biomarker,其相对丰度达 16.24%,较同处理下的 Favorita 高 56%;此外,C93 在重度干旱下未出现新的优势标志菌属,但溶杆菌属的相对丰度仍维持在 10.16% (附表 2)。

2.3 不同基因型马铃薯根际微生物群落的 KEGG 分析

为研究干旱胁迫下根际微生物群落的功能变化,采用 KEGG (京都基因与基因组百科全书) level-3 术语对其功能进行了比较分析。在 6 个处理中,代谢类微生物功能基因最多,超过 49.59% (表 2)。

对 6 个处理组土壤微生物群落的前 30 条 KEGG 通路进行分析发现(图 5),6 个处理组的土壤微生物

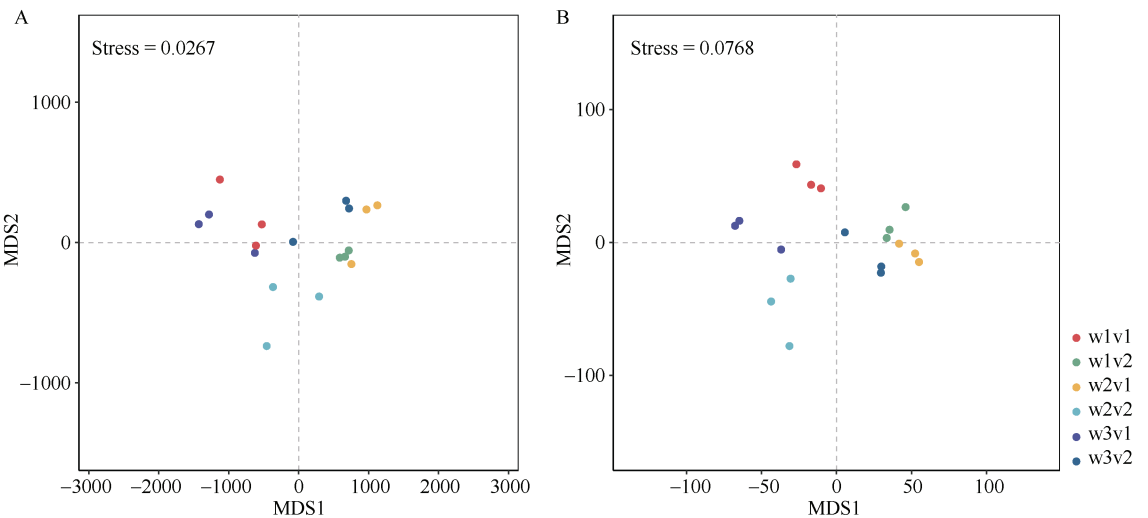


图 3 在门水平(A)和属水平(B)采用 NMDS 进行分类
Fig. 3 Classification using NMDS at the phylum level (A) and genus level (B)

处理同图 1。Stress 用于衡量数据在低维空间(通常是二维或三维)中的投影与原始高维数据之间的拟合程度,数值越小,拟合程度越好。当 $Stress < 0.05$ 时,二维投影对原始数据的拟合非常好,图形能很精准反映样本间真实关系,结果高度可信。
Treatments are the same as those given in Fig. 1. “Stress” measures the goodness-of-fit of the low-dimensional projection (typically 2D or 3D) to the original high-dimensional data; lower values indicate better fit. When $Stress < 0.05$, the 2D projection accurately reflects the true relationships among samples, and results are considered highly reliable.

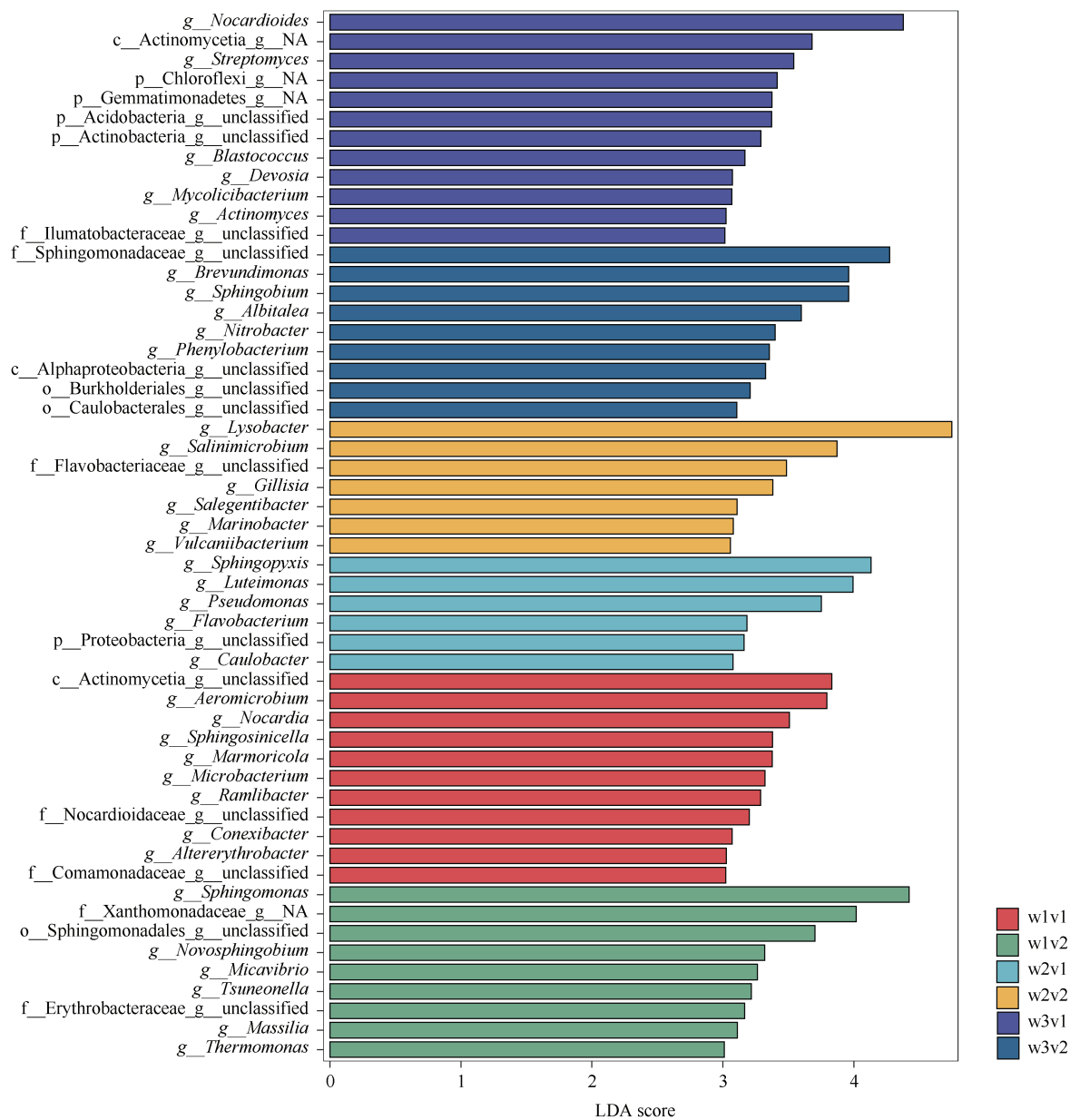


图 4 不同干旱胁迫下 2 个耐旱型马铃薯品种根际微生物群落的 LDA 得分分布图

Fig. 4 Distribution of LDA scores of rhizosphere microbial communities in two drought-tolerant potato varieties under different drought stresses

处理同图 1。p 代表门分类, c 代表纲分类, o 代表目分类, f 代表科分类, g 代表属分类。

Treatments are the same as those given in Fig. 1. “p” represents phylum, “c” represents class, “o” represents order, “f” represents family, and “g” represents genus.

表 2 不同干旱胁迫下 2 种不同基因型马铃薯根际微生物功能通路相对丰度分布

Table 2 Relative abundance distribution (%) of functional pathways of rhizosphere microorganisms in two potato genotypes under different drought stress conditions

KEGG	w1v1	w1v2	w2v1	w2v2	w3v1	w3v2
细胞过程 Cellular processes	9.19	9.34	9.77	9.32	9.41	9.26
环境信息处理 Environmental information processing	12.05	12.59	12.07	12.21	12.36	11.97
遗传信息处理 Genetic information processing	15.90	16.36	16.19	16.46	16.13	16.42
人类疾病 Human disease	6.12	6.26	6.43	6.35	6.12	6.27
新陈代谢 Metabolism	50.29	49.79	50.19	49.57	49.90	50.63
有机系统 Organic system	6.45	5.67	5.36	6.09	6.08	5.45

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

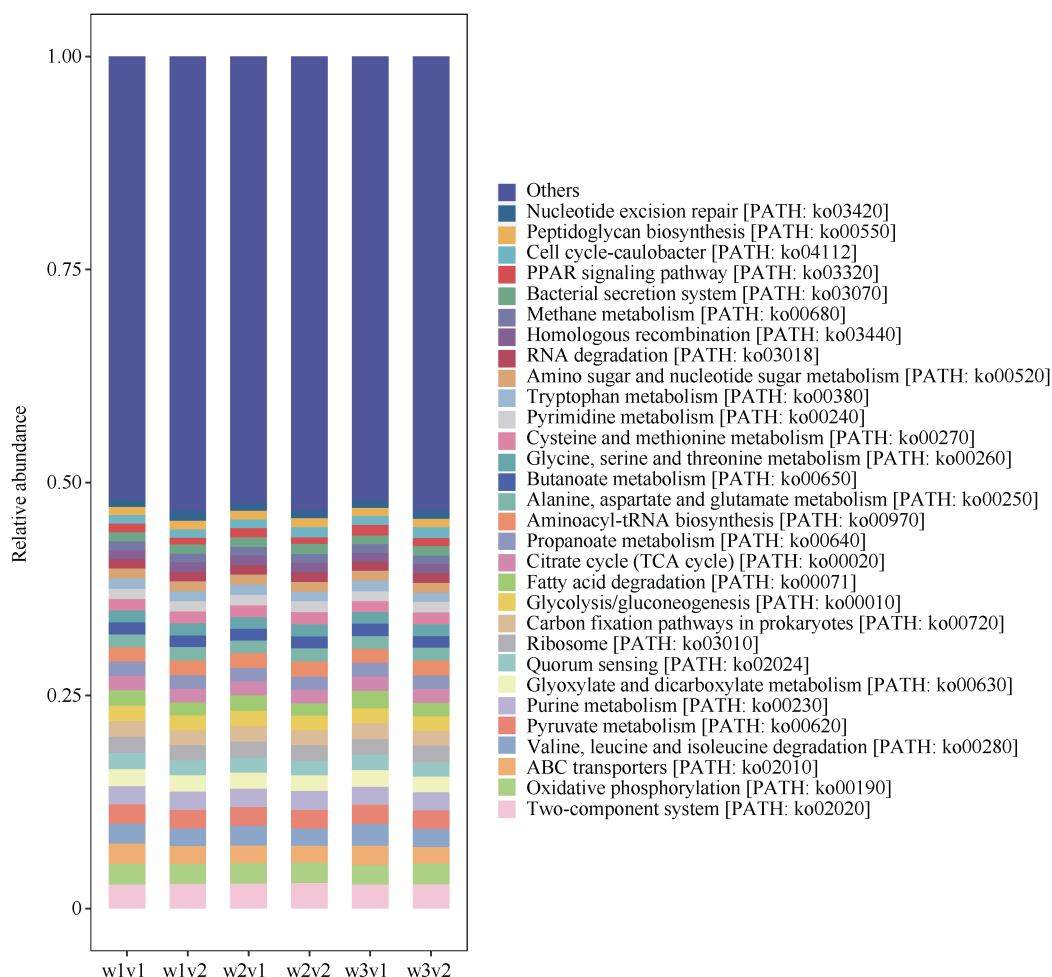


图 5 不同干旱胁迫与马铃薯品种组合处理下根际微生物 KEGG 代谢通路前 30 丰度分布

Fig. 5 Distribution of the top 30 most abundant KEGG metabolic pathways of rhizosphere microorganisms under different combinations of water stress and potato varieties

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

群落的 KEGG 通路主要集中于代谢调控、遗传信息处理及环境适应相关功能。其中, 代谢相关通路包括能量代谢(ko00190、ko00010、ko00020)、氨基酸代谢(ko00280、ko00380、ko00270)、核苷酸与辅因子代谢(ko00230、ko00240、ko00520)和脂类与有机酸代谢(ko00640、ko00650、ko00710), 环境信息处理相关通路包括双组分系统(ko02020)、群体感应(ko02024)和 ABC 转运蛋白(ko02010), 遗传信息处理相关通路包括核糖体(ko03010)、氨酰-tRNA 生物合成(ko00970)、同源重组(ko03440)与核苷酸切除修复(ko03420)。值得注意的是, TCA 循环(tricarboxylic acid cycle)、氧化磷酸化与糖酵解富集, 以及双组分系统、群体感应与 ABC 转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABC)的富集表明微生物对胁迫环境存在适应性。

ANOVA 分析表明(图 6), 相同水分条件下

Favorita 和 C93 根际微生物代谢通路存在显著差异。充分灌溉条件下 Favorita 的 ABC 转运蛋白通路($P < 0.05$)与脂肪细胞因子信号通路($P < 0.05$)相对丰度均显著高于 C93, 而 AMPK 信号通路(AMP-activated protein kinase, AMPK)无显著差异; 中度干旱条件下 2 个基因型各代谢通路差异均不显著; 重度干旱条件下 Favorita 的 ABC 转运蛋白通路($P < 0.05$)与 AMPK 信号通路($P < 0.05$)相对丰度均显著高于 C93, 而脂肪细胞因子信号通路无显著差异。说明敏感基因型通过上调部分代谢通路应对胁迫, 而抗旱基因型则相反。同一基因型在不同水分条件下的代谢通路也存在显著差异。对于 Favorita 而言, 中度干旱条件下, ABC 转运蛋白通路和脂肪细胞因子信号通路的相对丰度与充分灌溉条件下差异显著, 而重度干旱条件下 AMPK 信号通路的相对丰度显著高于充分灌溉条件下, 但与重度干旱条件下差异不显著。

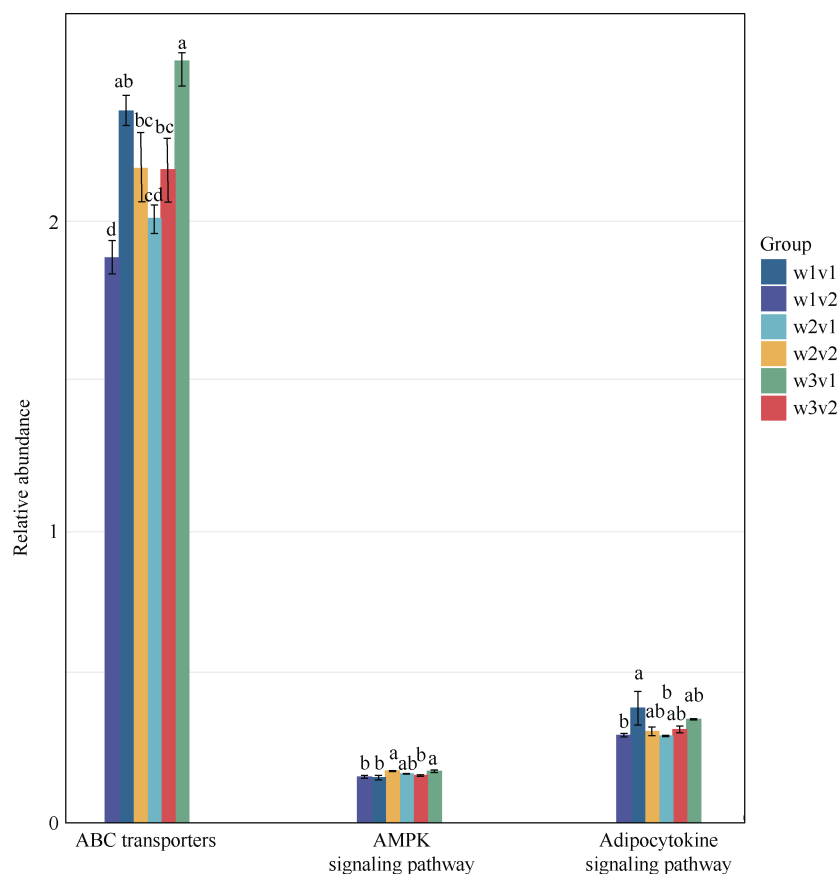


图 6 不同干旱胁迫与马铃薯品种组合下根际微生物的显著富集通路

Fig. 6 Significantly enriched pathways of rhizosphere microorganisms under different combinations of water stress and potato cultivars

处理同图 1。误差线表示标准差；处理组均值多重比较采用 Tukey 检验，不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Treatments are the same as those given in Fig. 1. Error bars represent standard deviations. Multiple comparisons of group means were performed using Tukey's test; different letters indicate significant differences between groups ($P < 0.05$).

对于 C93 而言，中度干旱和重度干旱条件下 ABC 转运蛋白通路和 AMPK 信号通路的相对丰度均显著高于充分灌溉条件 ($P < 0.05$)；且前者在重度干旱条件下也显著高于充分灌溉。脂肪细胞因子信号通路在 3 个水分条件下均无显著差异。由此可见，中度干旱条件下，ABC 转运蛋白通路在 2 个基因型应对干旱胁迫时具有重要作用，而重度干旱胁迫条件下，Favorita 主要依赖 AMPK 信号通路，而 C93 主要依赖 ABC 转运蛋白通路来缓解干旱胁迫。

2.4 不同基因型马铃薯根际微生物的网络分析

不同干旱条件下的微生物共现网络显示，C93 与 Favorita 根际微生物网络的结构不同(图 7)。在充分灌溉条件下(图 7-A, D)，C93 的网络复杂度显著高于 Favorita，表现为更高的总边数(120 vs 78)、平均度(11.43 vs 7.09)及网络密度(0.5273 vs 0.3376)；在中度干旱条件下(图 7-B, E)，随着干旱胁迫加剧，C93 的正负链接数(63 vs 44)、总边数(126 vs 88)、平

均度(11.45 vs 8.00)、网络密度(0.5523 vs 0.3731)均高于 Favorita (附表 3)，表明 C93 可能通过增强微生物间的拮抗或协作形成高密度互作网络，例如溶杆菌属作为核心枢纽连接多菌属；而在重度干旱条件下(图 7-C, F)，C93 的正负链接数、总边数、平均度及网络密度均低于 Favorita (附表 3)，说明 C93 可能通过关键功能菌属(例如鞘氨醇单胞菌属的丰度下降)减少能量消耗。综上所述，干旱胁迫可能通过改变微生物互作强度(正/负链接)和网络密度来影响群落结构。

干旱胁迫对马铃薯生物量的影响呈现显著基因型特异性(图 8)。随着干旱程度增加，2 个基因型马铃薯生物量的降幅也增加。重度干旱条件下，Favorita 和 C93 的生物量较充分灌溉极显著降低 ($P < 0.01$)，分别降低 32.05% 和 24.69%；中度干旱条件下二者的生物量降幅相近且无显著差异，说明重度干旱条件下 Favorita 受干旱影响导致生物量下降更明显，C93

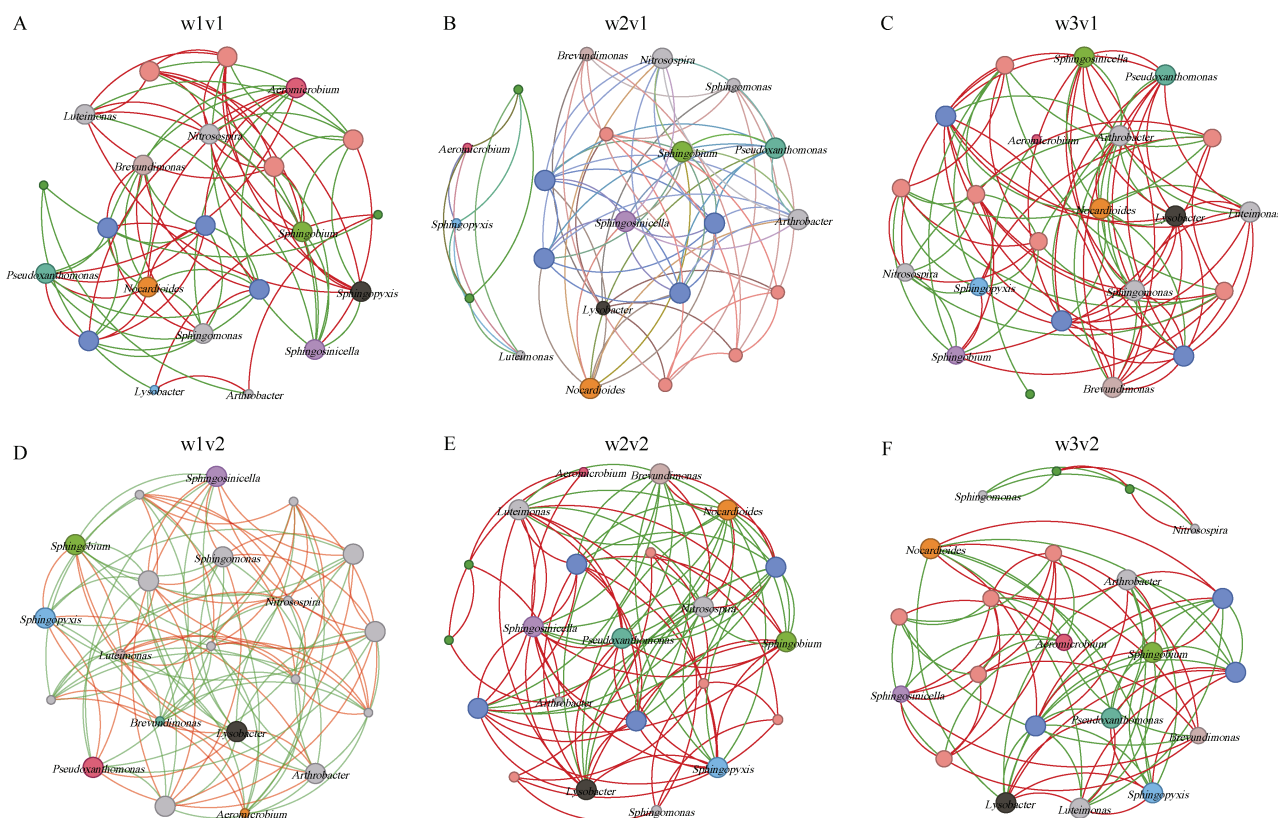


图 7 Favorita 和 C93 在不同干旱条件下的网络共现图

Fig. 7 Network co-occurrence plots of Favorita and C93 under different drought conditions

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

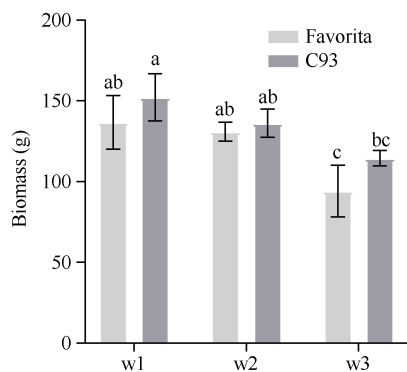


图 8 不同干旱胁迫下 Favorita 与 C93 的生物量比较

Fig. 8 Comparison of biomass of Favorita and C93 under different drought stresses

处理同图 1。不同小写字母表示处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。Treatments are the same as those given in Fig. 1. Different lower-case letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

生物量稳定性相对更好, 体现出不同基因型马铃薯在应对重度干旱胁迫时存在差异, 耐旱基因型 C93 具有相对更优的干旱适应表现。

3 讨论

干旱胁迫影响植物的生理代谢与根际微生物生态平

衡, 而根际微生物群落在植物适应逆境过程中扮演着关键角色。本研究通过宏基因组测序分析, 初步解析了耐旱型马铃薯 C93 与干旱敏感型 Favorita 根际微生物群落对干旱胁迫的响应差异, 揭示了基因型特异性调控微生物互作网络的抗旱机制。

3.1 敏感型通过群落重组实现短期适应干旱, 耐旱型通过核心菌群的功能冗余响应干旱

α 多样性分析表明, 耐旱型 C93 通过维持核心菌群稳定性 (Shannon 指数 $5.84 \pm 0.02 \sim 5.91 \pm 0.18$) 实现群落结构稳定, 而敏感型 Favorita 在重度干旱下通过物种重组 (Shannon 指数 6.10 ± 0.05 , $P < 0.05$) 表现出更强的群落弹性。对 Invsimpson 指数的进一步分析显示, Favorita 通过物种丰度再分配来提升群落均匀性 (111.17 ± 7.74 , 较对照增加 6.8%), 这可能与其宿主根系分泌物变化驱动的生态位分化密切相关^[26]; 而 C93 的 Invsimpson 指数波动极小 ($83.91 \pm 1.17 \sim 85.37 \pm 19.45$), 体现其核心菌群对环境扰动的高耐受性, 符合“优势类群主导假说”^[27]。本研究中, 变形菌门在 2 种基因型马铃薯根际中均占据主导地位 (相对丰度 30.44%~63.00%), 与前人对拟南芥的研

究结果一致^[28], 表明变形菌门在植物根际生态中具有普适性功能。然而, 在属水平上, 不同基因型马铃薯的微生物群落组成呈现出显著差异。耐旱型 C93 在重度干旱下富集溶杆菌属(10.16%)和鞘氨醇单胞菌属(6.37%)来抵御干旱胁迫, 而敏感型 Favorita 则依赖诺卡氏菌属(8.29%)和链霉菌属的短期富集。这一结果与 Gao 等^[11]提出的“核心菌群+功能枢纽”模型相吻合: 耐旱基因型通过稳定富集具有协同功能的关键菌属, 形成冗余性更强的微生物网络, 从而增强抗逆性; 而敏感基因型的微生物群落动态波动较大, 依赖胁迫诱导的单一菌群功能扩展, 导致长期稳定性不足。

3.2 敏感型通过 AMPK 维持细胞稳态, 抗旱型通过 ABC 转运蛋白持续作用响应干旱

马铃薯根际微生物代谢通路对干旱胁迫的响应因基因型和胁迫程度而异。相同水分条件下, 基因型间代谢通路的模式存在显著差异。功能注释分析表明, 敏感基因型倾向于通过上调特定代谢通路应对胁迫, 而抗旱基因型则展现出反向调控模式。中度干旱条件下 2 种基因型均未表现显著通路差异, 这可能与植物保守性胁迫缓冲机制有关。渗透调节物质(如脯氨酸)的快速积累和基础抗氧化防御系统(如 SOD 酶活性)的激活^[29], 可能在短期胁迫中形成“同质化”响应, 这一现象与 Wang 等^[30]在巨桉中观察到的跨基因型保守适应策略相呼应。然而, 在中度干旱条件下 C93 通过显著上调 ABC 转运蛋白通路($P < 0.05$)建立早期防御, 而 Favorita 却呈现相反趋势。这种分化与锦鸡儿属植物在干旱区进化出的适应性策略高度一致——通过增强 ABC 转运蛋白介导的 ABA 运输促进气孔关闭^[31], 推测 C93 可能也有类似的环境适应机制。重度干旱胁迫下, Favorita 在 AMPK 信号通路($P < 0.05$)的显著上调, 这与 GSK3 类激酶调控抗氧化防护酶活性的机制高度吻合——AMPK 通路的激活可增强 SOD 等抗氧化酶活性, 减轻氧化损伤^[32]; 而 C93 则持续依赖 ABC 转运蛋白通路($P < 0.05$), 这与拟南芥 ABCG25 在干旱后期维持 ABA 运输的功能一致^[33]。随着干旱胁迫加剧, Favorita 在重度干旱条件下显著依赖 AMPK 信号通路, 而 C93 则持续增强 ABC 转运蛋白通路的活性。这一现象可能反映了基因型间能量调控机制的差异。AMPK 作为细胞能量传感器, 其激活可能通过调控碳代谢、脂质合成等途径优化能量分配, 帮助 Favorita 适应严重水分亏缺^[34]; 而

C93 对 ABC 转运蛋白的持续作用则表明其可能通过强化物质运输效率来应对极端胁迫, 这种策略或与其遗传背景中 ABC 转运蛋白家族基因的特异性表达调控有关^[31]。

3.3 敏感型因网络模块化不足和单菌群依赖导致抗逆性脆弱, 耐旱型通过核心菌群的枢纽调控和网络动态优化维持系统稳定性

微生物共现网络分析揭示了 2 种基因型马铃薯根际互作模式的显著差异。耐旱型 C93 在充分灌溉与中度干旱条件下表现出更高的网络复杂度(总边数 120 vs 78; 平均度 11.43 vs 7.09), 其核心菌群(如溶杆菌属)通过正负链接协同调控网络稳定性。例如, 溶杆菌属作为“功能枢纽”连接多个菌属, 可能通过分泌抗生素或激素信号协调种间互作^[13], 从而增强群落的抗干扰能力。此外, 已有研究证实, 微生物能够通过调节植物激素的合成、转运及信号传导等过程, 提升植物的抗旱能力^[35]。而在重度干旱下, C93 网络密度的适度降低(总边数减少至 88)可能通过精简关键功能菌群减少能量消耗。相反, Favorita 的网络结构在胁迫下呈现脆弱性: 中度干旱时正负链接数激增但模块化程度低, 导致网络鲁棒性下降; 重度干旱时依赖链霉菌属的单菌群功能扩展, 缺乏核心菌群的协同支撑。这种动态特征与 Gao 等^[11]对小麦根际微生物网络的研究结果相似, 表明网络结构的复杂性是评价植物抗逆能力的重要指标。

4 结论

耐旱型 C93 通过招募溶杆菌属、鞘氨醇单胞菌属等功能菌群, 形成高度协作的微生物网络, 实现长期抗旱性与产量稳定性的平衡。相比之下, 干旱敏感型 Favorita 的被动响应模式提示, 胁迫诱导的微生物重组可能不足以弥补基因型本身的抗逆缺陷。研究结果可为马铃薯抗旱育种与抗旱技术升级提供理论依据。

References

- [1] Schafleitner R, Gutierrez Rosales R O, Gaudin A, et al. Capturing candidate drought tolerance traits in two native Andean potato clones by transcription profiling of field grown plants under water stress. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45: 673–690.
- [2] Luitel B P, Khatri B B, Choudhary D, et al. Growth and yield characters of potato genotypes grown in drought and irrigated conditions of Nepal. *Int J Appl Sci Biotechnol*, 2015, 3: 513–519.

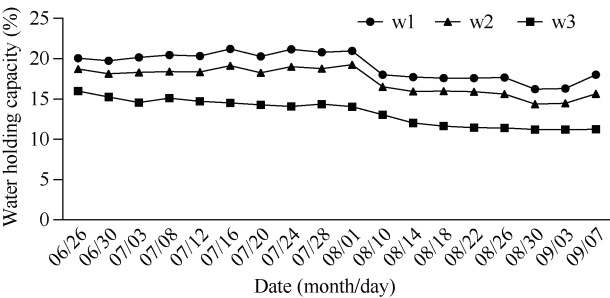
- [3] Obidiegwu J E, Bryan G J, Jones H G, et al. Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 542.
- [4] Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 807–838.
- [5] Bulgarelli D, Garrido-Oter R, Münch P C, et al. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell Host Microbe*, 2015, 17: 392–403.
- [6] Schlaeppi K, Dombrowski N, Oter R G, et al. Quantitative divergence of the bacterial root microbiota in *Arabidopsis thaliana* relatives. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 585–592.
- [7] Sun Y M, Guo J J, Alejandro Jose Mur L, et al. Nitrogen starvation modulates the sensitivity of rhizobacterial community to drought stress in *Stevia rebaudiana*. *J Environ Manag*, 2024, 354: 120486.
- [8] Lundberg D S, Lebeis S L, Paredes S H, et al. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, 2012, 488: 86–90.
- [9] Liu F, Hewezi T, Lebeis S L, et al. Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly. *BMC Microbiol*, 2019, 19: 201.
- [10] Li J J, Yang L, Mao S L, et al. Assembly and enrichment of rhizosphere and bulk soil microbiomes in *Robinia pseudoacacia* plantations during long-term vegetation restoration. *Appl Soil Ecol*, 2023, 187: 104835.
- [11] Gao C, Xu L, Montoya L, et al. Co-occurrence networks reveal more complexity than community composition in resistance and resilience of microbial communities. *Nat Commun*, 2022, 13: 3867.
- [12] Fang J, Shi G F, Wei S L, et al. Drought sensitivity of spring wheat cultivars shapes rhizosphere microbial community patterns in response to drought. *Plants*, 2023, 12: 3650.
- [13] Chen Y L, Sun C Y, Yan Y X, et al. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on maize rhizosphere microbiome stability under moderate drought conditions. *Microbiol Res*, 2025, 290: 127957.
- [14] Kong X G, Guo Z A, Yao Y, et al. Acetic acid alters rhizosphere microbes and metabolic composition to improve willows drought resistance. *Sci Total Environ*, 2022, 844: 157132.
- [15] Geng H H, Wang F, Yan C C, et al. Rhizosphere microbial community composition and survival strategies in oligotrophic and metal (loid) contaminated iron tailings areas. *J Hazard Mater*, 2022, 436: 129045.
- [16] 牛鸿宇, 郭佳源, 陈勃智, 等. 降解吡啶复合菌系 MD1 的筛选、降解特性及代谢途径. *微生物学报*, 2023, 63: 4330–4343.
- Niu H Y, Guo J Y, Chen B Z, et al. Screening, degradation characteristics, and metabolic pathway of an efficient pyridine-degrading bacterial consortium MD1. *Acta Microbiol Sin*, 2023, 63: 4330–4343 (in Chinese with English abstract).
- [17] 雷欢. 一株鞘氨醇单胞菌对多环芳烃的降解特性及非降解途径研究. 厦门大学硕士学位论文, 福建厦门, 2008.
- Lei H. Study on the Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Degradation by *Sphingomonas* Strains and the Degradation Pathway of Phenanthrene. MS Thesis of Xiamen University, Xiamen, Fujian, China, 2008 (in Chinese with English abstract).
- [18] Yan Z H, Jin H, Yang X Y, et al. Effect of rhizosphere soil microbial communities and environmental factors on growth and the active ingredients of *Angelica sinensis* in Gansu province, China. *Folia Microbiol*, 2025, 70: 673–687.
- [19] Lyu Z Y, Zhang H, Huang Y, et al. Drought priming at seedling stage improves photosynthetic performance and yield of potato exposed to a short-term drought stress. *J Plant Physiol*, 2024, 292: 154157.
- [20] Zheng H, Ma J, Huang W L, et al. Physiological and comparative transcriptome analysis reveals the mechanism by which exogenous 24-epibrassinolide application enhances drought resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Antioxidants*, 2022, 11: 1701.
- [21] Qin T Y, Ali K, Wang Y H, et al. Global transcriptome and co-expression network analyses reveal cultivar-specific molecular signatures associated with different rooting depth responses to drought stress in potato. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1007866.
- [22] 邓珍, 徐建飞, 段绍光, 等. PEG-8000 模拟干旱胁迫对 11 个马铃薯品种的组培苗生长指标的影响. *华北农学报*, 2014, 29(5): 99–106.
- Deng Z, Xu J F, Duan S G, et al. Effect on growth indicators of 11 potato cultivars in vitro under PEG-8000 stress. *Acta Agric Boreali-Sin*, 2014, 29(5): 99–106 (in Chinese with English abstract).
- [23] Qin J H, Zhang T T, Meng L L, et al. Evaluation of drought tolerance in exotic potato germplasm. *J Plant Genet Resour*, 2019, 20: 574–582.
- [24] Qin J H, Dodd I C, Bian C S, et al. Deficit irrigation differentially modulates rhizosphere microbial community and metabolites of two potato genotypes differing in drought tolerance. *J Environ Manag*, 2025, 373: 123836.
- [25] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, 30: 2114–2120.
- [26] Badri D V, Vivanco J M. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell Environ*, 2009, 32: 666–681.
- [27] Stegen J C, Lin X J, Fredrickson J K, et al. Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them. *ISME J*, 2013, 7: 2069–2079.
- [28] Alwutayd K M, Rawat A A, Sheikh A H, et al. Microbe-induced drought tolerance by ABA-mediated root architecture and epigenetic reprogramming. *EMBO Rep*, 2023, 24: e56754.
- [29] Du L Y, Huang X L, Ding L, et al. TaERF87 and TaAKS1 synergistically regulate TaP₅CS₁/TaP₅CR₁-mediated proline biosynthesis to enhance drought tolerance in wheat. *New Phytol*, 2023, 237: 232–250.
- [30] Wang S J, Xie X N, Che X R, et al. Host- and virus-induced gene silencing of *HOG1-MAPK* cascade genes in *Rhizophagus irregularis* inhibit arbuscule development and reduce resistance of plants to drought stress. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21: 866–883.
- [31] Yao G Q, Nie Z F, Turner N C, et al. Combined high leaf hydraulic safety and efficiency provides drought tolerance in *Caragana* species adapted to low mean annual precipitation. *New Phytol*, 2021, 229: 230–244.
- [32] Xiang Y, Liu W J, Niu Y X, et al. The maize GSK3-like kinase

ZmSK1 negatively regulates drought tolerance by phosphorylating the transcription factor ZmCPP2. *Plant Cell*, 2025, 37: koaf032.

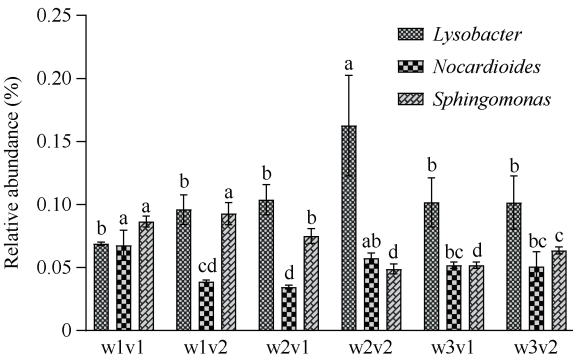
[33] Yang Q, Deng X J, Liu T, et al. Absciscic acid root-to-shoot translocation by transporter AtABCG25 mediates stomatal movements in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2024, 195: 671–684.

[34] Hardie D G, Ross F A, Hawley S A. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 251–262.

[35] Bittencourt P P, Alves A F, Ferreira M B, et al. Mechanisms and applications of bacterial inoculants in plant drought stress tolerance. *Microorganisms*, 2023, 11: 502.



附图 1 防雨棚的实际含水量
Fig. S1 Shows the actual soil moisture content under the soil planting condition of the rain shelter
w1: 充分灌溉; w2: 中度干旱胁迫; w3: 重度干旱胁迫。w1: full irrigation; w2: moderate drought stress; w3: severe drought stress.



附图 2 属水平下 2 个不同耐旱型马铃薯在不同干旱胁迫下的显著性分析
Fig. S2 Significance analysis of two different drought-tolerant potatoes under different drought stresses at the genus level
处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

附表 1 不同干旱条件下, 2 个不同耐旱型马铃薯根际微生物群落的线性判别分析(LDA)得分表(LDA > 3.5)
Table S1 Linear discriminant analysis (LDA) score table of rhizosphere microbial communities of two different drought-tolerant potato types under different drought conditions (LDA > 3.5)

属名 Genus	处理组 Group	丰度 Abundance	LDA 得分 LDA score
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	w2v1	4.67	4.13
溶杆菌属 <i>Lysobacter</i>	w2v2	5.21	4.75
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	w2v1	4.18	3.75
诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	w3v1	4.04	3.51
盐微菌属 <i>Halomicrobium</i>	w2v2	4.24	3.87
气微菌属 <i>Aeromicrobium</i>	w3v1	4.33	3.79
阿尔比塔莱菌属 <i>Albitalella</i>	w1v2	3.96	3.60
诺卡菌属 <i>Nocardia</i>	w1v1	4.92	4.38
鞘氨醇单胞菌科未分类 <i>Mycoplasma</i>	w1v2	4.76	4.27
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	w1v1	4.05	3.54

(续附表 1)

属名 Genus	处理组 Group	丰度 Abundance	LDA 得分 LDA score
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	w1v2	4.42	3.96
短波单胞菌属 <i>Brevundimonas</i>	w1v2	4.42	3.96
放线菌纲未分类 Actinobacteria	w1v1	4.25	3.68
黄单胞菌科未分类 Pseudomonas	w3v2	4.46	4.02
黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i>	w2v1	4.45	3.99
放线菌纲未分类 Actinobacteria	w3v1	4.42	3.83
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	w3v2	4.97	4.42
鞘氨醇单胞菌目未分类 Myxococcus	w3v2	4.30	3.70

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

附表 2 各处理组属水平微生物相对丰度前 10 的菌属分布

Table S2 Distribution of the top ten relative abundance of microorganisms at the genus level in each treatment group (%)

处理组 Group	w1v1	w1v2	w2v1	w2v2	w3v1	w3v2
溶杆菌属 <i>Lysobacter</i>	6.90	9.60	10.39	16.24	10.20	10.16
诺卡菌属 <i>Nocardia</i>	6.75	3.90	3.46	5.73	8.29	5.07
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	8.66	9.29	7.51	4.90	5.19	6.37
黄单胞菌科未分类 Xanthomonadaceae	2.48	3.30	3.57	3.82	3.01	3.32
酸杆菌门未命名 Acidobacteria	3.11	2.76	2.77	1.80	3.00	2.59
放线菌纲未分类 Actinobacteria	2.61	1.57	1.36	1.82	2.32	1.63
节杆菌属 <i>Arthrobacter</i>	1.40	1.34	1.02	1.85	2.08	1.34
鞘氨醇单胞菌科未分类 Sphingomonadaceae	3.33	5.46	5.32	2.33	2.06	5.80
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	4.21	3.48	4.70	2.96	1.93	4.12
放线菌纲未命名 Actinobacteria	1.71	1.10	1.02	1.31	1.79	1.30

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.

附表 3 不同处理组根际微生物共现网络拓扑参数分析

Table S3 Analysis of topological parameters of rhizosphere microbial co-occurrence network in different treatment groups

处理组 Group	节点数 Nodes	正链接数 Positive connection	负链接数 Negative connection	总边数 Total edges	平均度 Average degree	网络密度 Network density	模块数量 Number of models	最大度节点 Node with the highest degree
w1v1	22	41	37	78	7.09	0.3376	3	17 (节点 n0–n17, 共 18 个节点) 17 (nodes n0–n17, a total of 18 nodes)
w1v2	21	63	57	120	11.43	0.5273	2	10 (节点 n0–n10, 共 11 个节点) 10 (nodes n0–n10, a total of 11 nodes)
w2v1	22	44	44	88	8.00	0.3731	3	9 (节点 n0–n9, 共 10 个节点) 9 (nodes n0–n9, a total of 10 nodes)
w2v2	22	63	63	126	11.45	0.5523	3	12 (节点 n0–n12, 共 13 个节点) 12 (nodes n0–n12, a total of 13 nodes)
w3v1	22	63	63	126	11.45	0.5455	3	10 (节点 n0–n10, 共 11 个节点) 10 (nodes n0–n10, a total of 11 nodes)
w3v2	22	56	56	112	10.18	0.4747	3	9 (节点 n0–n9, 共 10 个节点) 9 (nodes n0–n9, a total of 10 nodes)

处理同图 1。Treatments are the same as those given in Fig. 1.