

邹玲丽, 范一旋, 梁紫藤, 王璐瑶, 葛蕾, 王敏, 孙宇, 李鹏. 基因编辑水稻对根际细菌群落组成及潜在功能的影响[J]. 土壤学报, 2027,
ZOU Lingli, FAN Yixuan, LIANG Ziteng, WANG Luyao, GE Lei, WANG Min, SUN Yu, LI Peng. Effects of Gene-Edited Rice on the Composition
and Potential Functions of the Rhizosphere Bacterial Community[J]. Acta Pedologica Sinica, 2027,

基因编辑水稻对根际细菌群落组成及潜在功能的影响*

邹玲丽^{1, 2}, 范一旋^{1, 2}, 梁紫藤^{1, 2}, 王璐瑶³, 葛蕾⁴, 王敏^{5, 6}, 孙宇², 李鹏^{1, 2†}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海市农业科学院生物技术研究所, 上海 201106; 3. 华东理工大学药学院, 上海 200237; 4. 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240; 5. 济南天邦化工有限公司, 济南 251600; 6. 山东万豪作物科学有限公司, 济南 251600)

摘要: 规律成簇间隔短回文重复序列及其相关蛋白 (CRISPR/Cas) 系统介导的基因编辑技术已广泛应用于植物分子育种, 而由此引发的植物基因型变化对土壤细菌群落结构及潜在功能的影响是其环境安全评价的核心内容之一。以乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-CoA Carboxylase, ACCase) 基因编辑的抗除草剂水稻 SF24HI708 及其亲本黄华占 (HHZ) 为供试材料, 利用 16S rRNA 基因高通量测序技术解析了分蘖期与抽穗期根际土壤细菌群落结构及功能代谢通路。结果发现, 水稻基因型差异和生育期均未显著影响根际细菌 α 多样性指数, 包括基于丰度的覆盖估计指数 (ACE)、Chao1、香农以及辛普森指数, 但均显著改变其群落组成; 两种水稻在分蘖期和抽穗期的根际细菌群落构建模式均以随机过程为主导, 其中, 漂变及未归类过程贡献大于等于 68%; 群落关联网络分析显示, 基因编辑水稻根际细菌群落稳定性高于亲本。京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 功能分析显示, 与亲本相比, 基因编辑水稻在分蘖期鞘脂信号通路显著上调, 在抽穗期涉及脂质与多糖类物质的合成与降解代谢途径显著下调, 而与能量代谢及物质转运相关的关键通路显著上调。上述结果表明, 在本试验条件及试验年限内, 基因编辑水稻虽改变了根际土壤细菌群落组成及潜在功能通路, 但未导致 α 多样性指数下降和群落稳定性减弱, 未观察到其种植对根际微生态产生不利影响。

关键词: 基因编辑水稻; 耐除草剂; 细菌群落; 多样性; 稳定性

中图分类号: S123.7

文献标志码: A

Effects of Gene-Edited Rice on the Composition and Potential Functions of Rhizosphere Bacterial Community

ZOU Lingli^{1, 2}, FAN Yixuan^{1, 2}, LIANG Ziteng^{1, 2}, WANG Luyao³, GE Lei⁴, WANG Min^{5, 6}, SUN Yu², LI Peng^{1, 2†}

(1. School of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute of Biotechnology, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China; 3. School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 4. School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 5. Jinan Tianbang Chemical Co., Ltd., Jinan 251600, China; 6. Shandong Wanhao Crop Science Co., Ltd., Jinan 251600, China)

Abstract: 【Objective】 Clustered interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins (CRISPR/Cas)-mediated gene

*国家自然科学基金项目 (32471742)、上海市农业科学院卓越团队项目 (2022 (B-016)) 和生物育种重大专项项目 (2023ZD04062) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 32471742), the Outstanding Team Project of Shanghai Academy of Agricultural Sciences, China (No. 2022(B-016)), and the Major Special Program for Biological Breeding, China (No. 2023ZD04062)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: lipeng@saas.sh.cn

作者简介: 邹玲丽 (2001—), 女, 江西赣州人, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究。E-mail: 3490881370@qq.com

收稿日期: 2025-11-29; 收到修改稿日期: 2026-07-14; 网络首发日期 (www.cnki.net): 202 - -

editing technology has been widely applied in molecular plant breeding. However, the effects of genotypic variation induced by this technology on the structure and potential functions of soil bacterial communities constitute a central issue in environmental safety assessment. **【Method】** The herbicide-resistant gene-edited rice SF24HI708, carrying mutations in the Acetyl-CoA carboxylase (ACCase) gene and its parental cultivar Huanghuazhan (HHZ) were used as model plant materials. High-throughput sequencing of 16S rRNA genes was employed to characterize the structure and functional metabolic pathways of rhizosphere bacterial community at the tillering and heading stages. **【Result】** Neither genotype nor growth stage significantly affected the α -diversity indices of rhizosphere bacterial communities, including the abundance-based coverage estimator (ACE), Chao 1, Shannon and Simpson indices. However, both factors significantly altered community composition. In both rice lines, the assembly patterns of rhizosphere bacterial communities at the tillering and heading stages was predominantly governed by stochastic processes, with drift and other processes each contributing $\geq 68\%$. Co-occurrence network analysis further revealed that the rhizosphere bacterial community associated with the gene-edited rice exhibited higher stability than that of the parental cultivar. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) functional analysis showed that, compared with the parental cultivar, the sphingolipid signaling pathway was significantly upregulated in the gene-edited rice at the tillering stage. At the heading stage, metabolic pathways involved in the synthesis and degradation of lipids and polysaccharides were significantly downregulated, whereas key pathways related to energy metabolism and substance transport were significantly upregulated. **【Conclusion】** Although gene-edited rice changed the composition and potential functional pathways of the rhizosphere bacterial community, it did not lead to decreased alpha diversity indexes or weakened community stability, indicating that its cultivation had no adverse effects on rhizosphere microecology.

Key words: Gene-edited rice; Herbicide tolerance; Bacterial community; Diversity; Stability

近年来, 基因编辑技术在植物分子育种研究中得到广泛应用^[1], 规律成簇间隔短回文重复序列及其相关蛋白 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins, CRISPR/Cas) 及其衍生技术在特异性、效率与可扩展性方面的提升, 使得通过靶向改造植物内源基因以优化抗逆性、产量与品质成为现实^[2-3]。与传统杂交或转基因方法相比, 基因编辑通常引入点突变或精准碱基替换, 无需整合大段外源 DNA^[4], 使得基因编辑技术具备更高的靶向精度和更少的外源遗传负担, 这为新一代高效精准育种提供了强大工具。依托基因编辑技术为代表的生物育种作物已逐步进入规模化种植阶段^[5], 而基因编辑可能影响植物与土壤环境之间的相互作用^[6], 因此, 其潜在生态安全风险正引发学术界与社会各界的广泛关注。

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是全球主要粮食作物之一, 对粮食安全及农业可持续发展具有重要意义^[7]。水稻生产中杂草与作物的竞争是抑制作物生长、降低产量的关键因素, 化学除草是稻田杂草管理的主要措施^[8]。乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-CoA carboxylase, ACCase) 作为脂肪酸合成通路的关键限速酶, 是 ACCase 抑制类除草剂的主要作用靶点, 其位点突变可改变酶与除草剂的结合亲和力, 进而赋予作物除草剂抗性^[9]。Lv 等^[3]利用 CRISPR/Cas12i3 基因编辑技术对水稻进行高效基因组编辑, 筛选获得耐精喹禾灵和烯禾啉除草剂且农艺性状优良的水稻品系 SF24HI708。根际作为植物-土壤相互作用的关键界面, 其细菌群落在植物营养获取、有害生物抑制及土壤养分循环中发挥重要作用^[10], 其组成与丰度变化常被用于表征根际微生物生态变化的重要指标^[11]。Lian 等^[12]研究发现, 基因编辑水稻的根际土壤细菌群落组成发生显著改变。然而目前有关研究多集中于群落组成变化层面, 对土壤细菌群落多样性、稳定性及潜在功能仍缺乏系统评估, 因而难以为基因编辑水稻的微生态安全评价提供可比较的更直接证据。

分蘖期和抽穗期是决定水稻群体结构、产量形成及养分利用效率的关键生育期^[13]。分蘖期水稻根系快速生长, 根系分泌物的组成与含量显著变化, 为根际细菌提供了丰富的碳源及信号物质, 促进细菌定殖^[14]; 抽穗期水稻由营养生长向生殖生长过渡, 光合产物向籽粒转运, 导致根际碳氮比及可溶性有机物组成发生改变^[14-15]。这些变化既反映了植物代谢与细菌响应的平衡关系, 也为评估基因编辑作物对根际生态系统的潜在影响提供了理想研究窗口。鉴于此, 本研究以分蘖期与抽穗期的基因编辑水稻及其亲本为研究对象, 采集其根际土壤样品, 基于 16S rRNA 基因高通量测序, 解析根际土壤细菌群落结构差异, 以评估群落多

样性变化,并结合组装过程分析细菌群落构建机制;进一步筛选差异标志菌群及差异物种,并构建共现网络识别核心物种、评价群落稳定性;最后采用基于系统发育推断的群落功能预测工具(Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States 2, PICRUSt2)预测代谢通路及功能酶基因丰度,阐明潜在功能差异。通过系统评估基因编辑水稻对根际细菌群落组成及潜在功能通路的影响,为其环境安全评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 水稻种植

供试基因编辑水稻品系 SF24HI708,是通过 CRISPR/Cas12i3 基因编辑技术对水稻品种黄华占(HHZ)的 *ACCase* 基因进行定点突变获得的耐除草剂水稻材料;该品系与其亲本黄华占均由本实验室保存。试验水稻于 2025 年 6 月 7 日在上海市农业科学院华漕院区实验大棚(31°13'18"N, 121°19'10"E)内种植,设置黄华占组(对照)与 SF24HI708 组(处理)。田间管理参照当地常规水稻栽培技术,大棚土壤为水稻土,试验土壤基础理化性质如下: pH 8.60, 有机碳 19.5 g·kg⁻¹, 全氮 1.66 g·kg⁻¹, 全磷 0.83 g·kg⁻¹, 铵态氮 10.5 mg·kg⁻¹, 硝态氮 124 mg·kg⁻¹, 亚硝态氮 0.44 mg·kg⁻¹。

1.2 水稻根际土壤采集

于分蘖期和抽穗期分别采集基因编辑水稻品系 SF24HI708 与黄华占(HHZ)的根际土壤样品,样品依次记为 SF_T(SF24HI708_分蘖期)、SF_H(SF24HI708_抽穗期)、HHZ_T(黄华占_分蘖期)和 HHZ_H(黄华占_抽穗期),每组设置 5 个生物学重复。首先清除植株根部表层的杂草,完整挖掘整株水稻根系后,轻轻抖落根部松散附着的非根际土壤;以距离根系表面约 2 mm 的紧密附着土壤作为根际土壤^[16],使用灭菌镊子小心刮取根表进行样品收集;收集的土壤样品经 2 mm 无菌筛过筛并充分混匀后,装入无菌自封袋;所有样品采集后立即带回实验室,于-80 °C 超低温冰箱中保存,用于后续分析。

1.3 微生物 DNA 提取和高通量测序

根际土壤微生物 DNA 提取参照李玉洁等^[17]的方法进行。委托上海美吉生物医药科技有限公司,基于 Illumina MiSeq PE300 或 NovaSeq PE250 平台,对 20 个土壤样品细菌 16S rRNA 基因进行扩增测序。采用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[18]引物对细菌 16S rRNA 基因 V3~V4 区进行扩增,PCR 扩增、文库构建及测序流程参照李玉洁等^[17]的方法执行。细菌原始测序数据已提交至美国国家生物技术信息中心(NCBI)的序列读取档案(SRA)数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>),登录号为 SRP641539。

1.4 数据分析

对获得的高质量序列进行去噪、聚类及特征序列构建,获得扩增子序列变异(Amplicon sequence variant, ASV)丰度矩阵,并基于该数据进行群落组成、多样性及功能预测分析。所有统计分析均在 R 3.3.1 平台上完成。利用 Mothur 软件计算群落 α 多样性指标,包括用于估计群落丰富度的 ACE(Abundance-based coverage estimator)指数、Chao1 指数和用于表征群落多样性的香农(Shannon)指数及辛普森(Simpson)指数^[19],并通过 Kruskal-Wallis 检验比较不同处理组间 α 多样差异。基于 Bray-Curtis 距离算法进行主坐标分析(PCoA),结合相似性分析(Analysis of similarities, ANOSIM)检验评估不同样本间群落结构差异。通过属水平群落丰度数据和系统发育树关系计算 β 平均最近类群距离(β MNTD),并通过零模型随机化分析获得 β 最近分类单元指数(β NTI),用于评价群落组装过程中的确定性与随机性贡献。当 β NTI>2 或 β NTI<-2 时,表明确定性过程占优势;当 $|\beta$ NTI|<2 时,则认为随机过程占主导。在此基础上,结合 β NTI 与基于 Bray-Curtis 距离计算的 Raup-Crick 指数(RCbray)值,将组装过程划为 5 个过程,包括同质选择(β NTI<-2)和异质选择(β NTI>2)等 2 个确定性过程以及扩散限制($|\beta$ NTI|<2 和 RCbray>0.95)、同质扩散($|\beta$ NTI|<2 和 RCbray<-0.95)和生态漂变(及其他)($|\beta$ NTI|<2 和 $|\text{RCbray}|<0.95$)等 3 个随机性过程^[20]。

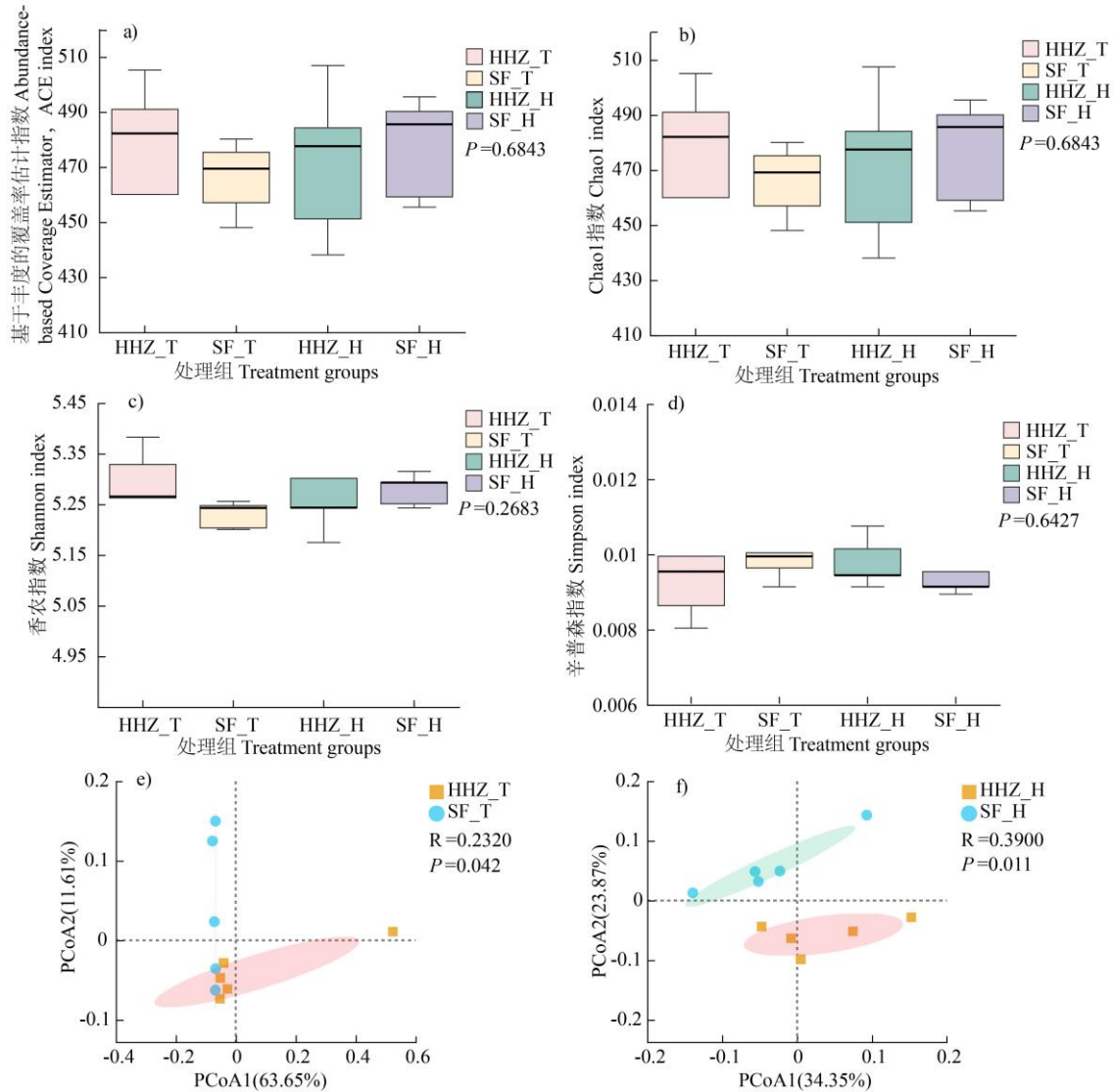
用线性判别分析效应量分析 (Linear Discriminant Analysis Effect Size, LEfSe) 筛选组间差异标志物种^[21], 基于严格的全组间两两比较策略 (All-against-all, more strict), 以 $P < 0.05$ 和线性判别分析得分 (LDA score) 大于 2.8 为筛选阈值, 筛选属水平差异标志物种, 结果以 LEfSe 多级物种层级树图形式呈现; 属水平的差异标志物种的 LDA 得分以条形图形式呈现, 显示单组 LDA 得分前 10 并删去未命名的物种; 采用 t 检验对两组间属水平上的差异物种进行显著性评价。为进一步分析黄华占和 SF24HI708 根际细菌群落在分蘖期和抽穗期的互作特征, 分别构建两个时期的相关性网络图。先通过 R 语言筛选属水平相对丰度大于等于 0.01% 的物种, 并计算物种之间的皮尔逊 (Pearson) 相关系数 (r) 和 P 值, 再利用 Gephi 软件构建相关性网络图, 并以 $P < 0.01$ 且 $|r| \geq 0.6$ 的相关关系反映细菌群落互作关系的复杂性和稳定性, 并识别核心物种。为加强差异标志物种与核心物种的综合分析, 进一步将 LEfSe 筛选得到的属水平差异标志物种与各组网络中依据网络度 (Degree) 值识别的核心物种进行同组同期对比, 分析二者的重叠关系。

为推断细菌群落的功能特征, 通过基于系统发育推断的群落功能预测工具 (PICRUST2)^[22]对细菌 16S rRNA 测序结果进行代谢功能和酶功能预测。将获得的 ASV 序列与参考数据库中的代表序列进行比对, 并基于系统发育信息推断基因家族的相对丰度。随后结合京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 功能数据库进行注释, 并将功能基因归类到不同的 KEGG 功能层级。在 KEGG 通路第二层级 (KEGG pathway level 2) 上计算各功能通路的相对丰度, 并通过 R 语言进行标准分数 (Standard score, Z-score) 的标准化处理, 再利用 Chiplot 在线平台 (<https://chiplot.online/>) 绘制气泡图; 在 KEGG 通路第三层级 (KEGG pathway level 3) 上计算各组通路丰度的相对百分比, 并选取 P 值前 20 的通路进行可视化分析, 以解析基因编辑水稻根际细菌群落的潜在代谢功能变化。采用 t 检验对相对丰度排名前 30 的细菌酶进行差异性分析。

2 结果

2.1 细菌群落结构与组装过程

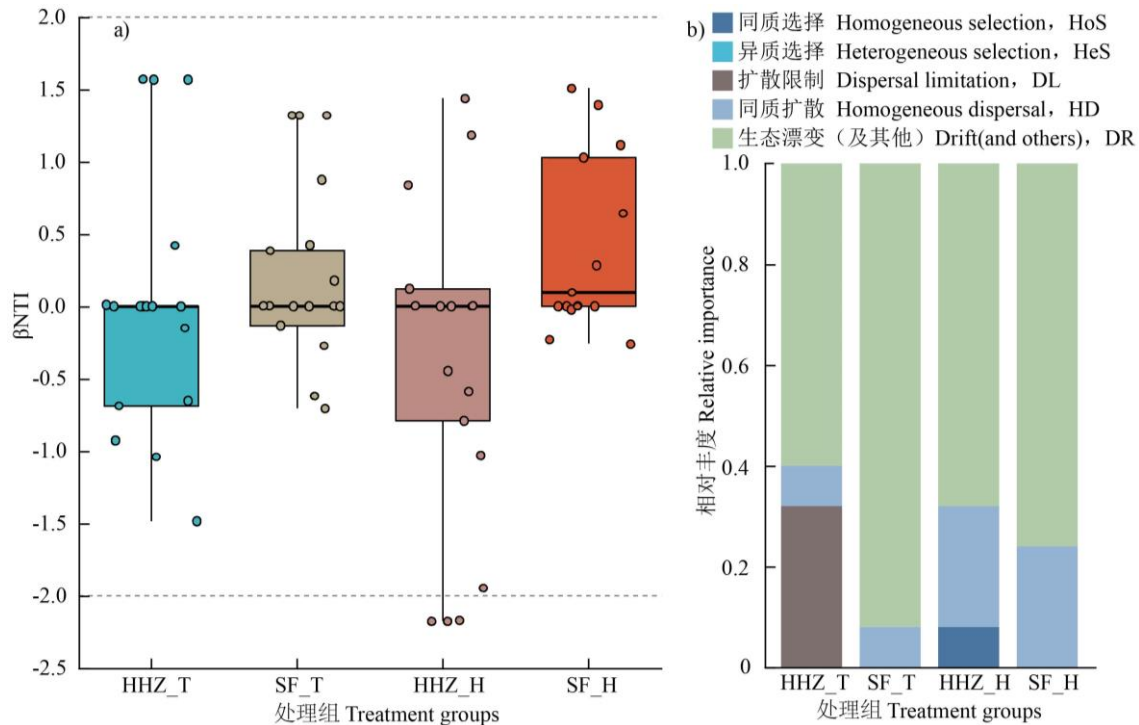
ACE (图 1a)、Chao1 (图 1b)、Shannon (图 1c) 及 Simpson 指数 (图 1d) 显示, 基因编辑水稻与其亲本根际土壤细菌多样性指数在分蘖期和抽穗期均无显著差异。主坐标分析 (PCoA) 结果表明, 基因编辑水稻与其亲本根际细菌群落组成在分蘖期 (图 1e) 和抽穗期 (图 1f) 均存在显著差异。 β NTI 零模型分析发现, 基因编辑水稻及其亲本根际土壤细菌群落组装过程均主要受随机过程驱动 (图 2a), 其中生态漂变及其他未明确归类过程在随机过程中占据主导地位, 贡献达到 68% 以上 (图 2b)。



注: HHZ_T, 黄华占_分蘖期; SF_T, SF24HI708_分蘖期; HHZ_H, 黄华占_抽穗期; SF_H, SF24HI708_抽穗期。下同。Note: HHZ_T, Huanghuazhan at the tillering stage; HHZ_H, Huanghuazhan at the heading stage; SF_T, SF24HI708 at the tillering stage; SF_H, SF24HI708 at the heading stage. The same below.

图 1 土壤细菌群落 α 多样性指数 (a~d) 及主坐标分析 (PCoA, e~f)

Fig. 1 Alpha diversity indices (a~d) and principal coordinate analysis (PCoA, e~f) of bacterial communities



注：每个处理包含 5 个生物学重复。图 a 中散点表示 β NTI 比较值，而非生物学重复数本身。Note: Each treatment included five bio-replicates.

The points shown in Figure a represent pairwise β NTI comparison values rather than the bio-replicates themselves.

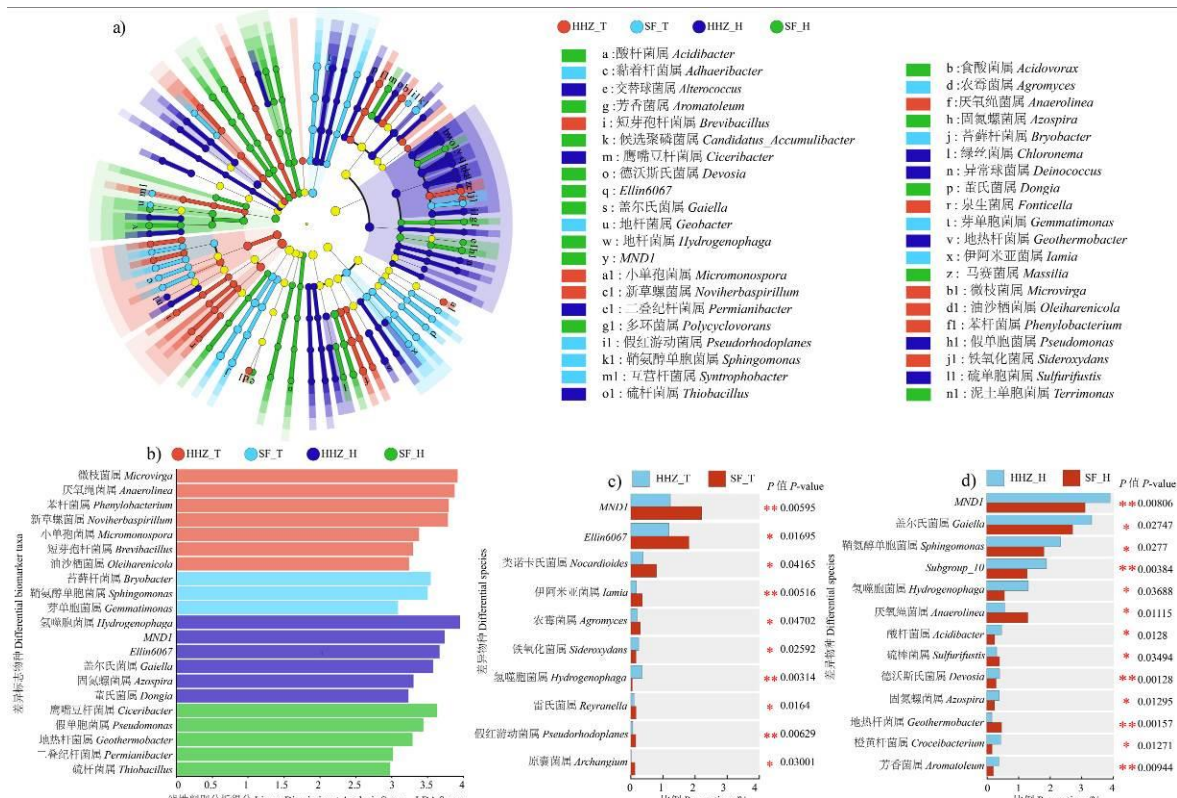
图 2 土壤细菌群落 β 最近分类单元指数 (β NTI) (a) 和不同生态过程对组装过程的贡献比例 (b)

Fig.2 The Beta-nearest taxon index (β NTI) values (a) and proportional contributions of various ecological processes to the assembly process (b) of soil bacterial communities

2.2 物种差异及群落关联网络评估

LEfSe 分析显示，根际土壤细菌群落不同处理组间形成了较为清晰的差异标志谱系，且在系统发育分支上呈现一定聚集性；不同处理组对应相对独立的特征菌群，基因型与生育时期共同驱动了根际土壤细菌群落的差异；共筛选到 41 个显著差异标志属，其中，SF24HI708 抽穗期 (SF_H) 富集的属最多 (图 3a)。结合 LDA 判别分析显示，SF24HI708 分蘖期 (SF_T) 的差异标志物种主要包括 *Bryobacter*、*Sphingomonas* 及 *Gemmatimonas*，而抽穗期 (SF_H) 的差异标志物种则以 *Ciceribacter*、*Pseudomonas*、*Geothermobacter*、*Permianibacter* 和 *Thiobacillus* 为主 (图 3b)，表明根际土壤差异标志物种随生育进程发生了明显替换。进一步比较显示 (图 3c~图 3d)，与黄华占 (HHZ) 相比，SF24HI708 分蘖期 (SF_T) 根际土壤中 *Nocardioides*、*Lamia*、*Agromyces* 及 *Reyranelia* 的相对丰度显著升高，而 *Sideroxydans* 与 *Hydrogenophaga* 的相对丰度显著降低；SF24HI708 抽穗期 (SF_H) 根际土壤中 *Anaerolinea* 和 *Sulfurifustis* 的相对丰度显著增加，*Gaiella*、*Hydrogenophaga* 及 *Acidibacter* 的相对丰度显著下降。

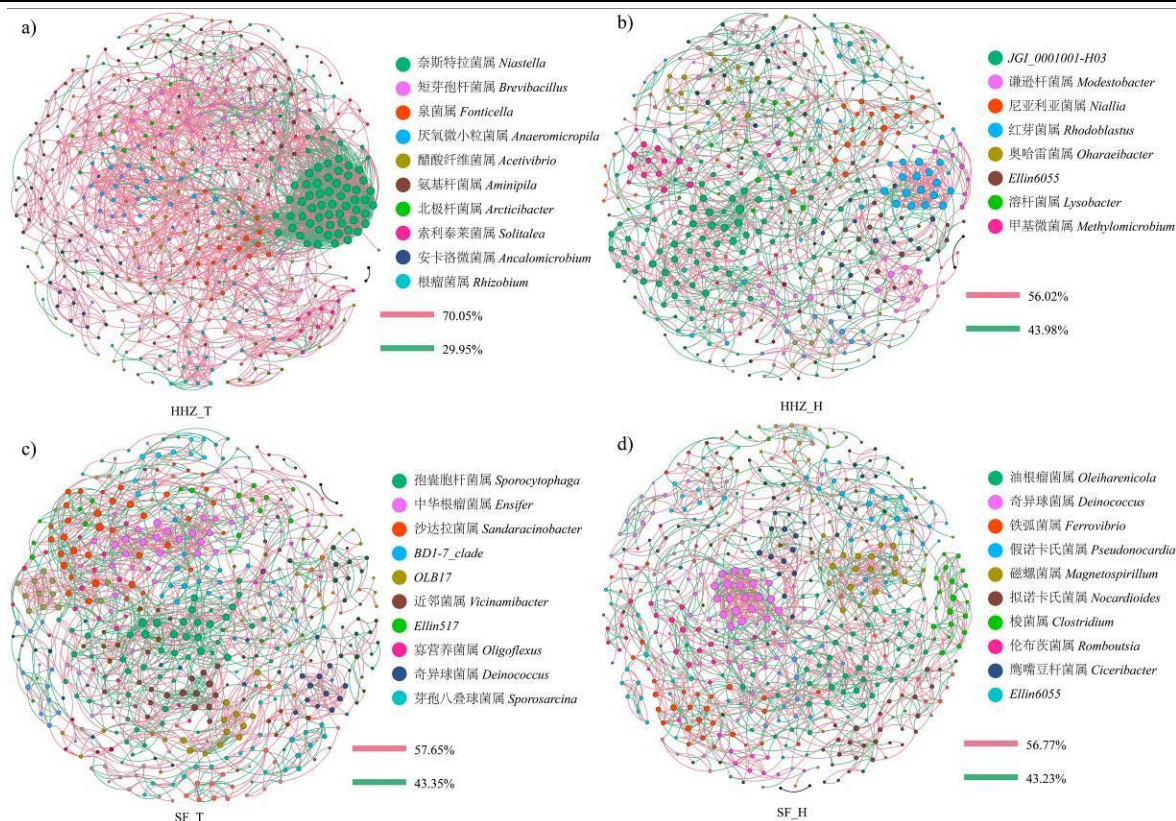
网络分析表明，细菌群落差异并不局限于物种组成变化，还体现在互作结构重组 (图 4)。所有分组样本的细菌互作主要以正相关关系为主，而关联网络分析中负相关比例与群落稳定性呈正相关，据此推测 SF24HI708 根际土壤细菌群落的稳定性高于黄华占。就分蘖期而言，以网络中边 (edge) 数量为代表的黄华占 (HHZ_T) 的网络结构最为复杂 (图 4a)，而 SF24HI708 (SF_T) 的负相关关系比例较高 (图 4c)；而在抽穗期，两个物种的负相关关系比例趋于接近 (图 4b，图 4d)。进一步依据 Degree 的大小识别各组网络的核心物种，发现不同物种不同时期的根际土壤细菌群落分别形成了各自特征性的网络核心菌群。与 LDA 得分分布柱状图 (图 3b) 对比发现，差异标志物种与核心物种存在部分重叠，仅分蘖期黄华占 (HHZ_T) 中的 *Brevibacillus* 和 *Fonticella* 同时属于差异标志物种和核心物种，而多数核心物种并非显著富集类群。



注: 图 a) 基于线性判别分析效应量 (LEfSe) 分析的进化分支图, 由内到外辐射的圆圈表示从门到属的分类级别, 在不同分类级别上的每一个圆圈代表该水平下的一个分类, 圆圈直径大小与相对丰度大小成正比; 无显著差异的物种统一着色为黄色, 差异物种跟随分组进行着色。图 b) 线性判别分析得分 (LDA score) 分布柱状图。图 c) ~图 d) 基因编辑水稻 SF24HI708 与其亲本水稻品种黄华占根际土壤细菌的差异物种 (*: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$)。Note: Fig. a) Evolutionary branch diagram based on linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis. The concentric circles radiating from the center to the periphery represent taxonomic levels from phylum to genus, and each circle at a given taxonomic level represents one taxon at that level. The diameter of each circle is proportional to its relative abundance. Taxa showing no significant differences are uniformly colored yellow, whereas differentially abundant taxa are colored according to their corresponding groups. Fig. b) Bar chart of linear discriminant analysis (LDA score). Fig. c) - Fig. d) Differentially abundant bacterial species in rhizosphere soil between SF24HI708 and Huanghuazhan (*: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$).

图 3 土壤细菌群落差异性

Fig. 3 Differential analysis of soil bacterial communities



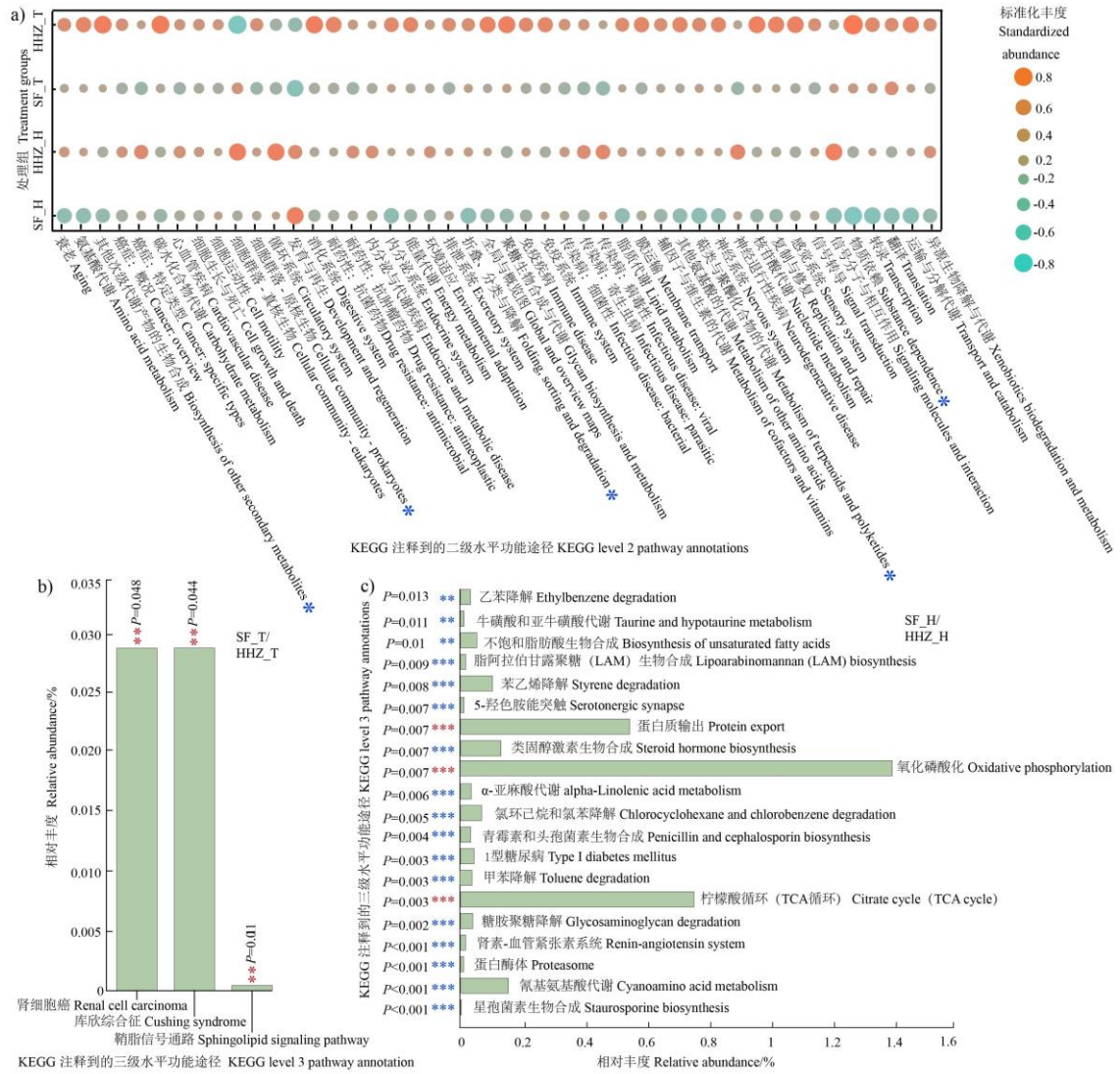
注：节点颜色代表不同模块，节点大小表示与其他节点相连的边的数量，越大的节点被视为网络中的核心类群，红色和绿色连线分别表示正相关和负相关。Note: Node colors represent different modules, and node size indicates the number of edges connected to each node; larger nodes are considered core taxa in the network. Red and green links indicate positive and negative correlations, respectively.

图 4 土壤细菌群落关联网络分析 (a. HHZ_T, b. HHZ_H, c. SF_T, d. SF_H)

Fig. 4 Association networks analysis of soil bacterial communities (a. HHZ_T, b. HHZ_H, c. SF_T, d. SF_H)

2.3 细菌群落潜在功能

PICRUSt2 功能预测显示，与黄华占相比，SF24HI708 根际土壤细菌群落的潜在功能变化具有显著的阶段性特征，即分蘖期变化有限，抽穗期表现出更为广泛的功能重塑(图 5, 图 6)。分蘖期(SF_T_vs_HHZ_T)在 KEGG 二级功能分类水平上各代谢通路丰度无显著差异(图 5a)，仅在 KEGG 三级水平上(图 5b)和与能量代谢相关功能酶(图 6)上表现出鞘脂信号通路、过氧化物氧化酶(EC: 1.11.1.15)与 NADH: 泛醌还原酶(H⁺转运)(EC: 1.6.5.3)丰度显著上调。相比之下，抽穗期(SF_H_vs_HHZ_H)的功能差异明显增强，在二级水平上表现为次级代谢、萜类和聚酮化合物代谢及细胞群落-原核生物等功能丰度显著下调(图 5a)，在三级水平上进一步表现为脂质与多糖合成降解相关通路(糖胺聚糖降解、 α -亚麻酸代谢及不饱和脂肪酸生物合成等)丰度显著降低，而三羧酸循环(TCA 循环)、氧化磷酸化及蛋白质输出等能量代谢与物质转运关键通路丰度显著上调(图 5c)。关键酶的变化结果进一步印证了该趋势，主要表现为能量代谢[琥珀酸脱氢酶(醌)(EC: 1.3.5.1)与富马酸还原酶(喹啉)(EC: 1.3.5.4)]、物质合成与转化[磷酸核糖甲酰甘氨酸合成酶(EC: 6.3.5.3)与乙酰辅酶 A 羧化酶(EC: 6.4.1.2)]及 DNA 修复[DNA-(脱嘌呤或脱嘧啶位点)裂解酶(EC: 4.2.99.18)与 DNA 依赖性 DNA 聚合酶(EC: 2.7.7.7)]三大核心代谢通路的功能酶显著降低(图 6)。



注：图 a) 组间 KEGG 二级水平代谢途径差异分析，分蘖期无显著差异，星号表示抽穗期显著差异的代谢途径。图 b) 分蘖期 KEGG 三级水平代谢途径差异分析。图 c) 抽穗期 KEGG 三级水平代谢途径差异分析。相对丰度显著升高和显著降低的条目分别以红色和蓝色星号标注 (*: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$)。下同。Note: Fig. a) Inter-group Differential Analysis of KEGG Level 2 Metabolic Pathways; Metabolic pathways showing no significant differences at the tillering stage; asterisks indicate pathways that differed significantly at the heading stage. Fig. b) Differential analysis of KEGG Level 3 metabolic pathways during the tillering stage. Fig. c) Differential analysis of KEGG Level 3 metabolic pathways during the heading stage. Entries with significantly increased relative abundance are marked with red asterisks, while those with significantly decreased relative abundance are marked with blue asterisks (*: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$). The same below.

图 5 土壤细菌群落京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 代谢通路差异分析

Fig. 5 Differential analysis of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) metabolic pathways of soil bacterial communities

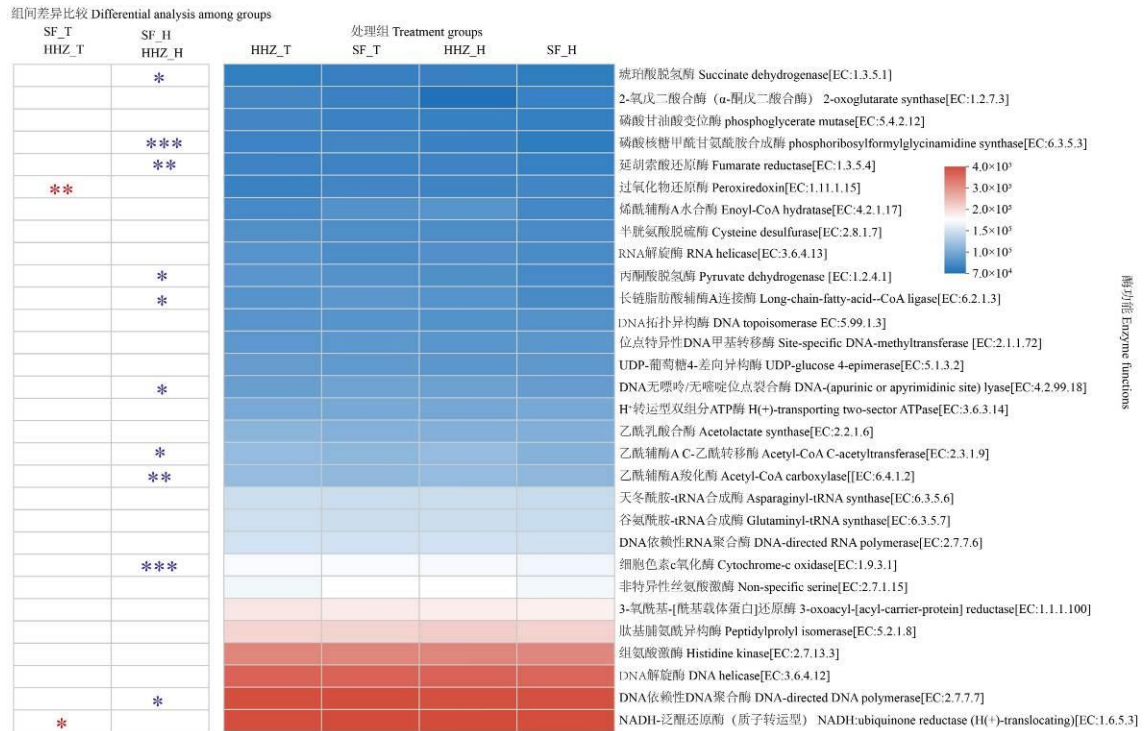


图 6 土壤细菌功能酶相对丰度分布

Fig. 6 Relative abundance of functional enzymes of soil bacteria

3 讨论

3.1 基因编辑水稻对根际细菌群落多样性与稳定性的影响

细菌群落的多样性与稳定性是转基因、基因编辑等生物育种作物环境安全评价的核心内容^[23-24]。Lian 等^[12]研究发现,对水稻品种中花 11 和黄华占进行基因编辑后,其根际土壤细菌群落组成发生显著改变。本研究中,SF24HI708 显著改变了根际土壤细菌群落结构,但未显著影响其 α 多样性(图 1)。已有研究表明,水稻基因型对根际微生物的影响通常优先影响优势类群或特定功能类群的相对丰度,从而改变群落结构,对整体多样性水平的影响相对有限^[25]。共现网络分析中 SF24HI708 根际土壤细菌共现网络的负相关关系比例显著升高(图 4c),细菌群落共现网络中负相关关系的占比越高越有助于提升群落网络的稳定性^[26]。基于此,本研究推测种植该基因编辑水稻可增强根际细菌网络稳定性,进而提高应对环境变化的能力。

根际细菌群落的变异并非单纯体现在组成差异,其背后是群落构建过程中多种生态过程共同调控的结果,而细菌群落的构建同时受确定性过程与随机性过程的共同驱动^[27-28]。在本研究中,SF24HI708 及其亲本黄华占根际土壤细菌群落的构建主要受随机过程调控,其中,生态漂变及其他过程在随机过程中起主导作用(图 2)。上述结果表明,群落结构的形成与演替可能主要受细菌个体随机增殖或死亡差异的影响,而非依赖环境条件或生物间相互作用。Zhong 等^[29]分析了非根际土壤、根际、根表与根内细菌多样性、群落组成、群落组装及共发生网络特征,发现在区域尺度下根际细菌群落组装主要受确定性过程中的变量选择调控。与之不同,Fan 等^[30]与 Wang 等^[31]的研究表明,由非根际土壤向小麦或油松根际环境过渡时,扩散限制对细菌群落组装的影响逐渐增强。这种差异可能与试验环境有关,水稻种植于大棚可控环境中,土壤养分供应充足,pH 及养分分布均一,为细菌生长提供了稳定且适宜的生境,进而减弱了环境筛选与生物互作对群落结构的塑造作用。这种相对稳定的环境条件可能弱化了根系分泌物的筛选效应^[30],使生态漂变在群落组装过程中的相对贡献更为突出。

3.2 基因编辑水稻对根际细菌潜在功能和代谢通路的影响

ACCCase 是脂肪酸合成通路的关键酶,其位点突变除影响除草剂结合外,还可能引起基因编辑作物脂类代谢与膜脂组成的改变,从而影响细胞膜特性、根系生理状态及根际分泌物组成^[32]。结合本研究观测到的差异物种与代谢通路变化(图 3c~图 3d,图 5 及图 6),推测 SF24HI708 的根际细菌响应可能遵循植物代谢改变-根际环境重塑-群落与功能重组的调控过程^[33]。分蘖期 SF24HI708 (SF_T) 根际土壤中 *Nocardioides* 的相对丰度显著高于黄华占 (HHZ_T) (图 3c),同时鞘脂信号通路丰度显著上调(图 5b)。Vasileva-Tonkova 和 Gesheva^[34]证实,该菌能够利用正石蜡为碳源并合成糖脂类物质,且糖脂及相关脂类代谢产物可参与细胞膜脂的组成与信号分子的调控过程^[35]。据此推测,在分蘖期根系快速生长、根系分泌物释放量增加的条件下, SF24HI708 根际环境可能更有利于脂类相关底物的利用及脂类代谢过程的进行,从而促进 *Nocardioides* 相对丰度的提升,并伴随脂类相关功能模块的表达变化。抽穗期 SF24HI708 (SF_H) 根际土壤中 *Anaerolinea* 的相对丰度显著高于黄华占 (HHZ_H) (图 3d),并伴随 TCA 循环、氧化磷酸化等能量代谢通路的丰度显著升高(图 5c)。研究表明, *Anaerolinea* 能够分解多糖,且代谢活动与呼吸及能量转换密切相关^[36]。抽穗期中 *Anaerolinea* 的相对富集与能量代谢通路增强在生态功能上呈现一致性(图 3d 及图 5c),表明 SF24HI708 对根际细菌群落潜在功能的影响,可能通过调节与碳源转化和呼吸代谢密切相关的关键类群丰度,进一步驱动能量代谢相关通路的重组。此外, SF_H 中 *Hydrogenophaga* 的相对丰度显著低于 HHZ_H (图 3d)。基于 KEGG 基因组功能注释结果, *Hydrogenophaga* 参与不饱和脂肪酸合成,且作为细菌群落中的优势物种,其丰度变化可能与不饱和脂肪酸合成通路的显著差异有关(图 5c)。上述结果表明,与黄华占相比, SF24HI708 根际细菌群落中特定物种的相对丰度变化及相关潜在功能通路的重塑,表现出群落组成与功能特征的协同响应^[37]。

不同编辑靶点所对应的植物性状变化(如提高产量^[38]、抗虫性^[39]、耐旱性^[40]等)存在显著差异,根际细菌群落的响应机制也因此表现出不一致性。已有研究发现,基因编辑引起的盐胁迫适应性、氮素状态及相关代谢物谱的变化可能在特定条件下显著改变根际细菌群落结构^[41]。在本研究中, ACCCase 基因的编辑更可能引发脂类代谢层面的变化,与此一致, SF24HI708 中 α 多样性虽未发生显著变化(图 1a~图 1d),但群落组成、物种互作关系及潜在功能发生改变(图 1e~图 1f,图 4~图 6),表明基因编辑效应主要表现为特定细菌类群的变化及其相关功能通路的调整。此外,本研究的试验种植年限相对有限,主要反映了特定种植阶段基因编辑对根际细菌群落的影响,尚难充分揭示长期种植过程中植物性状变化与根际细菌群落之间可能形成的适应性响应。需要强调的是,在更复杂的田间条件下细菌群落的响应强度及驱动过程可能与本研究结果有所不同^[42],由此可见,根际细菌群落对不同类型的基因编辑作物的响应存在差异,难以通过单一机制或结论加以概括。基于此,结合我国农业农村部颁布的《农业转基因生物安全评价管理办法》^[43]中遵循个案审查原则和分级分阶段管理思路,建议对各类基因编辑作物开展独立、系统的安全性评估。

4 结 论

基因编辑引起的水稻基因型变化虽未显著改变根际细菌群落的 α 多样性指数,但使其群落组成发生显著变化。水稻根际细菌群落构建以随机过程为主导,且基因编辑水稻根际细菌的共现网络表现出更高的稳定性,在关键生育期重塑了与脂质代谢、能量代谢及信号传导相关的功能通路。总体而言,基因编辑水稻未对根际土壤细菌群落的多样性和稳定性产生负面影响。

参考文献 (References)

- [1] Gao C X. Genome engineering for crop improvement and future agriculture[J]. Cell, 2021, 184(6): 1621-1635.
- [2] Atia M, Jiang W J, Sedeek K, et al. Crop bioengineering via gene editing: Reshaping the future of agriculture[J]. Plant Cell Reports, 2024, 43(4): 98.
- [3] Lv P, Su F, Chen F Y, et al. Genome editing in rice using CRISPR/Cas12i3[J]. Plant Biotechnology Journal, 2024, 22(2): 379-385.
- [4] Ahmad A, Jamil A, Munawar N. GMOs or non-GMOs? The CRISPR conundrum[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1232938.
- [5] Zheng H G, Zhao J J, Qin X J, et al. Overview of the global crop seed industry and strategic thinking on its development in China[J]. Strategic

- Study of CAE, 2021, 23(4): 45-55. [郑怀国, 赵静娟, 秦晓婧, 等. 全球作物种业发展概况及对我国种业发展的战略思考[J]. 中国工程科学, 2021, 23(4): 45-55.]
- [6] Eckerstorfer M F, Dolezel M, Engelhard M, et al. Recommendations for the assessment of potential environmental effects of genome-editing applications in plants in the EU[J]. *Plants*, 2023, 12(9): 1764.
- [7] Mohidem N A, Hashim N, Shamsudin R, et al. Rice for food security: Revisiting its production, diversity, rice milling process and nutrient content[J]. *Agriculture*, 2022, 12(6): 741.
- [8] Yakadri M, Suvidh M S, Vaishnav S. A review on integrated weed management in transplanted rice[J]. *International Journal of Plant & Soil Science*, 2022, 34(22): 238-247.
- [9] Wang Y, Wang R H, Feng L Y, et al. Research progress of crop resistance to ACCase-inhibitor-like herbicides[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(8): 13-23. [王瑶, 王荣焕, 冯铃洋, 等. 作物抗 ACCase 抑制剂类除草剂研究进展[J]. 生物技术通报, 2024, 40(8): 13-23.]
- [10] Robert C A M, Himmighofen P, McLaughlin S, et al. Environmental and biological drivers of root exudation[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2025, 76: 317-339.
- [11] Kong Y L, Qin H, Zhu C Q, et al. Research progress on the mechanism by which soil microorganisms affect soil health[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(2): 331-347. [孔亚丽, 秦华, 朱春权, 等. 土壤微生物影响土壤健康的作用机制研究进展[J]. 土壤学报, 2024, 61(2): 331-347.]
- [12] Lian T X, Huang Y Y, Xie X N, et al. Rice SST variation shapes the rhizosphere bacterial community, conferring tolerance to salt stress through regulating soil metabolites[J]. *mSystems*, 2020, 5(6): DOI: 10.1128/MSYSTEMS.00721-20.
- [13] Dong H Y, Sun H Y, Chen C L, et al. Compositional shifts and assembly in rhizosphere-associated fungal microbiota throughout the life cycle of Japonica rice under increased nitrogen fertilization[J]. *Rice*, 2023, 16(1): 34.
- [14] Dondjou D T, Diedhiou A G, Mbodj D, et al. Rice developmental stages modulate rhizosphere bacteria and Archaea co-occurrence and sensitivity to long-term inorganic fertilization in a West African Sahelian agro-ecosystem[J]. *Environmental Microbiome*, 2023, 18(1): 42.
- [15] Shi Q, Wang F F, Xu W H, et al. Differences of rhizosphere and root nodule microorganisms between early and late maturing varieties of *Phaseolus vulgaris* in Northeast China and nitrogen-fixing capacity of rhizobia[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(2): 567-581. [石晴, 汪芳芳, 徐伟慧, 等. 东北早晚熟菜豆根际与根瘤微生物差异及根瘤菌固氮能力[J]. 微生物学报, 2025, 65(2): 567-581.]
- [16] Ge L, Wang L Y, Guo G Q, et al. Effects of Bt and Bar transformation on microbial community composition and potential functions in different tissues of rice plants[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(5): 1607-1625. [葛蕾, 王璐瑶, 郭官清, 等. Bt 和 Bar 基因转化对水稻不同组织生态位微生物群落组成及潜在功能影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(5): 1607-1625.]
- [17] Li Y J, Ge L, Hu C, et al. The response of soil fungal communities and potential functions to the application of exogenous Bt toxins[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(3): 848-861. [李玉洁, 葛蕾, 胡聪, 等. 土壤真菌群落和潜在功能对施加外源 Bt 毒素的响应[J]. 土壤学报, 2024, 61(3): 848-861.]
- [18] Xu N, Tan G C, Wang H Y, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8.
- [19] Cui Z J, Li R, Li F, et al. Structural characteristics and diversity of the rhizosphere bacterial communities of wild *Fritillaria przewalskii* Maxim. in the northeastern Tibetan Plateau[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1070815.
- [20] Dini-Andreote F, Stegen J C, van Elsland J D, et al. Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): E1326-E1332.
- [21] Segata N, Izard J, Waldron L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [22] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6): 685-688.
- [23] Ge L, Mao C J, Wu Y F, et al. Soil nutrient cycling and microbiome responses to Bt rice cultivation[J]. *Plant and Soil*, 2025, 509(1): 221-236.
- [24] Kawall K, Cotter J, Then C. Broadening the GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in agriculture[J]. *Environmental Sciences Europe*, 2020, 32(1): 106.
- [25] Shenton M, Iwamoto C, Kurata N, et al. Effect of wild and cultivated rice genotypes on rhizosphere bacterial community composition[J]. *Rice*, 2016, 9(1): 42.
- [26] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability[J]. *Science*, 2015, 350(6261): 663-666.

- [27] Li P, Dong J Y, Yang S F, et al. Impact of β -carotene transgenic rice with four synthetic genes on rhizosphere enzyme activities and bacterial communities at different growth stages[J]. European Journal of Soil Biology, 2014, 65: 40-46.
- [28] Li P, Wu G G, Li Y J, et al. Long-term rice-crayfish-turtle co-culture maintains high crop yields by improving soil health and increasing soil microbial community stability[J]. Geoderma, 2022, 413: 115745.
- [29] Zhong Y, Sorensen P O, Zhu G Y, et al. Differential microbial assembly processes and co-occurrence networks in the soil-root continuum along an environmental gradient[J]. iMeta, 2022, 1(2): e18.
- [30] Fan K K, Weisenhorn P, Gilbert J A, et al. Soil pH correlates with the co-occurrence and assemblage process of diazotrophic communities in rhizosphere and bulk soils of wheat fields[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 121: 185-192.
- [31] Wang Y, Dong L G, Zhang M, et al. Dynamic microbial community composition, co-occurrence patterns and assembly in rhizosphere and bulk soils along a coniferous plantation chronosequence[J]. Catena, 2023, 223: 106914.
- [32] Vila-Aiub M M, Yu Q, Han H P, et al. Effect of herbicide resistance endowing Ile-1781-Leu and Asp-2078-Gly ACCase gene mutations on ACCase kinetics and growth traits in *Lolium rigidum*[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(15): 4711-4718.
- [33] Zhalnina K, Louie K B, Hao Z, et al. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. Nature Microbiology, 2018, 3(4): 470-480.
- [34] Vasileva-Tonkova E, Gesheva V. Glycolipids produced by Antarctic *Nocardioides* sp. during growth on n-paraffin[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(7): 2387-2391.
- [35] Hanafusa K, Hotta T, Iwabuchi K. Glycolipids: Linchpins in the organization and function of membrane microdomains[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 589799.
- [36] Payne P E, Knobbe L N, Chanton P, et al. Uncovering novel functions of the enigmatic, abundant, and active *Anaerolineae* in a salt marsh ecosystem[J]. mSystems, 2025, 10(1): e01162-24.
- [37] Wang L Y, Liang Z T, Liang J G, et al. Multi-omics reveals taxonomic and functional adaptations of soil microbiota to Bt toxin exposure[J]. Journal of Hazardous Materials, 2026, 503: 141175.
- [38] Li M R, Li X X, Zhou Z J, et al. Reassessment of the four yield-related genes Gn1a, DEP1, GS3 and IPA1 in rice using a CRISPR/Cas9 system[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 377.
- [39] Tyagi S, Kesiraju K, Saakre M, et al. Genome editing for resistance to insect pests: An emerging tool for crop improvement[J]. ACS Omega, 2020, 5(33): 20674-20683.
- [40] Usman B, Nawaz G, Zhao N, et al. Precise editing of the *OsPYL9* gene by RNA-guided Cas9 nuclease confers enhanced drought tolerance and grain yield in rice (*Oryza sativa* L.) by regulating circadian rhythm and abiotic stress responsive proteins[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(21): 7854.
- [41] Caicedo H H, Hashimoto D A, Caicedo J C, et al. Overcoming barriers to early disease intervention[J]. Nature Biotechnology, 2020, 38(6): 669-673.
- [42] Galindo-Castañeda T, Hartmann M, Lynch J P. Location: Root architecture structures rhizosphere microbial associations[J]. Journal of Experimental Botany, 2024, 75(2): 594-604.
- [43] Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Order of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China (No. 2 of 2022): Decision of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on Revising the Measures for the Safety Assessment of Agricultural Genetically Modified Organisms and Other Regulations[Z]. 2022-01-21. [中华人民共和国农业农村部. 中华人民共和国农业农村部令(2022 年第 2 号), 农业农村部关于修改《农业转基因生物安全评价管理办法》等规章的决定[Z]. 2022-01-21.]

(责任编辑: 陈荣府)