

文章编号: 1674-7054(2019)02-0184-06

# 火龙果根际土壤微生物 2 种 DNA 提取方法的比较

陈弟<sup>1,2</sup> 李可增<sup>3</sup> 吴琼<sup>1</sup> 何应对<sup>1</sup> 殷晓敏<sup>1,2</sup>

(1. 中国热带农业科学院海口实验站,海口 571737; 2. 海南省香蕉遗传改良重点实验室,海口 571737;

3. 海南大学热带农林学院,海口 570102)

**摘要:** 为获得高质量的火龙果根际土壤微生物总 DNA, 比较了 CTAB-SDS 法和 SDS 法的提取效果。结果表明: 2 种提取方法均获得约 23.1 kb 的 DNA 片段。其中, CTAB-SDS 法获得的 DNA 提取上清液颜色为淡黄色, 提取总 DNA 的量为 7.4~7.7 mg·kg<sup>-1</sup>,  $OD_{260/280}$  值在 1.81~1.95 之间,  $OD_{260/230}$  值在 1.26~2.03 之间, DNA 平均质量浓度为 0.51 g·L<sup>-1</sup>。SDS 法获得的 DNA 提取上清液颜色为深棕黄色, 提取总 DNA 的量为 3.5~4.15 mg·kg<sup>-1</sup>,  $OD_{260/280}$  值在 1.52~1.68 之间,  $OD_{260/230}$  值在 1.35~1.53 之间, DNA 平均质量浓度为 0.075 g·L<sup>-1</sup>。可见, CTAB-SDS 法提取 DNA 的片段较完整, 纯度较高, 可直接用于后续实验操作, 更适用于火龙果根系土壤微生物总 DNA 的提取。

**关键词:** 火龙果; 根际土壤微生物; DNA; 提取方法

中图分类号: S 154.3

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2019.02.014

植物根际土壤是植物能量转换和物质代谢最活跃的部位之一<sup>[1]</sup>, 根际土壤微生物是根际土壤生态系统中具有生命力的群体, 有望作为 1 个生物指标, 其可以随寄主植物变更, 随四季寒热交替, 随耕作栽培措施改变而发生群落演替, 因此根际土壤微生物与植株互作机制成为目前的研究热点。火龙果 (*Hylocereus undatus* Britt.) 是一种重要的热带果树, 属于仙人掌科 (Cactaceae) 量天尺属 (*Hylocereus*) 的多肉植物<sup>[2]</sup>, 火龙果其叶片已退化, 光合作用功能由茎干承担, 因其具有独特的生理特征, 可以生长于热带沙漠地区, 植株无主根, 侧根大量分布在浅表土层。对火龙果土壤微生物组的研究, 将有助于对土壤微生物进行调控, 从而实现作物增产, 减少化肥与杀虫剂的农业投入。目前, 主要通过宏基因组测序、16S rDNA 测序、变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 或者限制性酶切片段多样性 (T-RFLP) 等分子生物学方法<sup>[1,3-4]</sup>, 来开展根际土壤微生物多样性及种群变化的研究, 其中, 最关键的步骤是在于根际土壤微生物总 DNA 提取的质量是否过关, 提取土壤微生物总 DNA 经过后续测序后, 是否能反应样品间微生物种群的显著差异性, 是否能体现出样品土壤的优势微生物种群。土壤成分较为复杂, 特别是土壤腐殖酸类物质会影响基因组抽提过程中的效果<sup>[5-7]</sup>, 及后续对土壤微生物群落结构的分析。国内外研究者对不同的土壤微生物 DNA 提取和纯化方法进行了比较研究<sup>[8-10]</sup>。但火龙果根系与根际微生物互作的土壤微生态研究未见报道。因此, 笔者比较了火龙果根际微生物 2 种 DNA 的提取方法, 试图找到一种简便、高效的火龙果根际土壤微生物 DNA 的提取方法, 旨在获取火龙果根际土壤微生物组较完整的生物学信息, 为开展火龙果根际土壤微生物多样性及功能等后续研究提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集 土壤样品采自海南省三亚市吉阳区火龙果园, 使用钻头长 25 cm, 直径为 38 mm

收稿日期: 2018-11-27

修回日期: 2019-04-08

基金项目: 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (1630092017004\_17CXTD-02)

作者简介: 陈弟 (1978-), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 作物遗传育种, E-mail: chendi209@163.com

通信作者: 殷晓敏 (1983-), 女, 副研究员, 硕士, 研究方向: 作物病害的生物防治, E-mail: yinxm8303@126.com

的土壤取样器,采集土壤样品 3 份。采集深度 5~10 cm 的土样 1~2 kg,装于塑料袋,带回实验室后过筛。土样分 3 份,1 份用于土壤含水量、pH 值和土样理化性质测定,样品测定在 1 周内进行;另 1 份用于土壤微生物 DNA 提取;1 份保存于 -70 °C 冰箱,备用。

1.2 土壤样品的理化性质测定 对采集回实验室的土样进行 pH 和含水量的测定。从表 1 可见 3 个土壤样品的 pH 为 4.34~4.56、含水量为 13.74%~15.15%。结果表明,火龙果园植株根际土壤 pH 值和含水量基本趋于一致,可减少土壤对提取方法的影响。

表 1 供试土样的理化性质

Tab. 1 Physical and chemical properties of soil samples tested

| 土样编号<br>Sample code | 取样地点<br>Sampling spot | 取样日期<br>Sampling time | 土壤类型<br>Soil type | 土壤含水量/%<br>Soil moisture content | 土壤 pH<br>Soil acidity |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------------|
| 1                   | 三亚市吉阳区                | 2018-04-09            | 红壤                | 13.74                            | 4.34                  |
| 2                   | 三亚市吉阳区                | 2018-04-09            | 红壤                | 14.42                            | 4.37                  |
| 3                   | 三亚市吉阳区                | 2018-04-09            | 红壤                | 15.15                            | 4.56                  |

### 1.3 土壤微生物 DNA 提取

1.3.1 CTAB-SDS 提取法<sup>[11]</sup> (1) 称取 10 g 土样于 50 mL 离心管中,加入 18.5 mL SDS 裂解液(0.25 mol·L<sup>-1</sup> NaCl 0.1 mol·L<sup>-1</sup> EDTA  $\rho$ =4% SDS) 和 1.5 mL 5 mol·L<sup>-1</sup> 异硫氰酸胍,于混匀仪上涡旋 1.5 min。(2) 在恒温水浴中(68 °C) 温育 1 h,每隔 10~15 min 轻轻颠倒几下,常温下 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,将上清液移入另一个干净的 50 mL 离心管。(3) 上清液加入 0.125 倍体积的 5 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸钾和 0.42 倍的  $\rho$ =40% PEG-8000,于 -20 °C 下沉淀 1 h,常温解冻后室温 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min。(4) 弃离心管里的液体,往离心管加 18 mL 2×CTAB( $w$ =2% CTAB, 1.4 mol·L<sup>-1</sup> NaCl 0.1 mol·L<sup>-1</sup> EDTA) 溶解沉淀,于恒温水浴锅中 68 °C 温育 25 min,直至沉淀完全溶解,加等体积预冷的  $V_{\text{Tris平衡酚}}:V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=25:24:1$  混匀后于 4 °C 下 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min。如果上清液不太干净可加等体积的  $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=24:1$  再抽提 1 次,4 °C 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min。(5) 在 DNA 上清液中加入 0.7 倍体积的异丙醇,于 -20 °C 静置过夜。(6) 室温解冻后,于 4 °C 14 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 25 min。倒空液体,用预冷的  $\rho$ =70% 酒精清洗 2~3 次,自然风干,加 200  $\mu$ L 的 TE 溶解 DNA。

1.3.2 SDS 提取法<sup>[12]</sup> (1) 称取 5 g 土样于研钵中,加少许液氮并迅速研磨。液氮即将挥发完时再倒入适量液氮,继续研磨,重复 3~4 次。使土壤颗粒研磨成粉末状,并达到使部分细菌细胞壁破裂的目的。(2) 将研磨好的土壤转移到 50 mL 干净的离心管,加入 13.5 mL DNA 提取液(0.1 mol·L<sup>-1</sup> Tris·HCl 0.1 mol·L<sup>-1</sup> EDTA 0.1 mol·L<sup>-1</sup> Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 mol·L<sup>-1</sup> NaCl  $\rho$ =1% CTAB pH8.0) 混合,再加入 50  $\mu$ L 蛋白酶 K(20 g·L<sup>-1</sup>),于 37 °C 摇床上 225 r·min<sup>-1</sup> 摇动 30 min。(3) 加 1.5 mL  $w$ =20% 的 SDS,恒温水浴锅中 65 °C 水浴 2 h,每 10~15 min 轻轻颠倒数下,室温 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,收集上清液,转移至干净的 50 mL 离心管中。(4) 在沉淀中加入 4.5 mL DNA 提取液和 0.5 mL  $w$ =20% SDS,混匀仪上涡旋 10 s,于恒温水浴锅中 65 °C 再水浴 20 min,室温 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,合并 2 次上清液。(5) 在合并的上清液中加入等体积预冷的  $V_{\text{Tris平衡酚}}:V_{\text{异戊醇}}=1:1$  混合,轻轻摇匀后,于 4 °C 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,上清液转至新的离心管,加等体积预冷的  $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{异戊醇}}=24:1$  混匀,4 °C 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min。(6) 吸取水相转移至另一个干净的 50 mL 离心管中,加 0.7 倍体积的异丙醇(7 mL),-20 °C 静置过夜。(7) 室温解冻后,于 4 °C 14 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 25 min。倒空液体,用预冷的  $\rho$ =70% 酒精清洗 2~3 次,自然风干,加 200  $\mu$ L 的 TE 溶解 DNA。

1.4 火龙果根际土壤 DNA 纯度测定 使用 NanoDrop 2000 软件测定土壤 DNA 在 280、260、230 nm 处的 OD 值,软件检测得出 DNA 的质量浓度(单位为 g·L<sup>-1</sup>),得出每克干土提取的 DNA 量。并根据  $OD_{260/280}$ 、 $OD_{260/230}$  值评价 DNA 纯度<sup>[14]</sup>。

1.5 火龙果根际土壤细菌多样性分析 基于上述方法提取根际土壤微生物宏基因组 DNA,委托华大基因公司,对根际基因组的细菌 16S rDNA V3 区进行扩增并测序,分析火龙果根际细菌多样性。

## 2 结果与分析

**2.1 DNA 提取上清液的颜色** 从图 1 可见,CTAB-SDS 法提取的 DNA 上清液颜色较淡,为淡黄色; SDS 法提取的 DNA 上清液颜色较深,为深棕黄色。通过比较 2 种方法提取 DNA 提取液的颜色,可知 CTAB-SDS 提取法提取的上清液杂质较少;而 SDS 提取法提取的上清液颜色较深,原因可能是其中含有较多的腐殖酸、酚类化合物等杂质<sup>[5]</sup>。

**2.2 土壤微生物总 DNA 提取方法的比较** 对同一土壤样品分别用 2 种不同的方法提取总 DNA。制作  $w = 0.8\%$  的低熔点琼脂糖胶,在  $1 \times \text{TAE}$  缓冲液中进行电泳检测,制胶时使用小孔梳,每条泳道里加  $6 \mu\text{L}$  DNA,结果如图 1 所示。从图 1 可以看出 2 种方法提取的 DNA 约为 23.1 kb,足以用于后续的实验。SDS 法提取的 DNA 电泳条带亮度较弱,是因为提取的 DNA 量较少及 DNA 中含有腐殖酸等杂质导致部分 DNA 降解<sup>[6]</sup>。

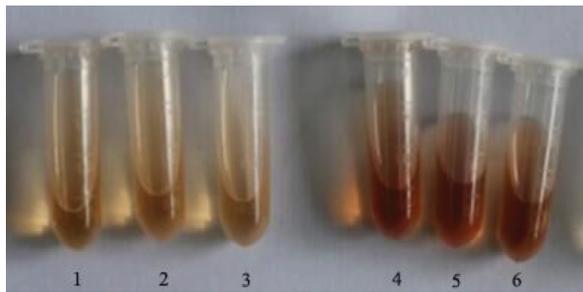


图 1 不同 DNA 提取方法过程中 DNA 上清液颜色比较 1~3:CTAB-SDS 法提取的 DNA 上清液;4~6:SDS 法提取的 DNA 上清液

Fig.1 Color comparison of DNA supernatants of soil microbes extracted by different DNA extraction methods  
1-3: The DNA supernatant extracted by CTAB-SDS method;  
4-6: The DNA supernatant extracted by SDS method

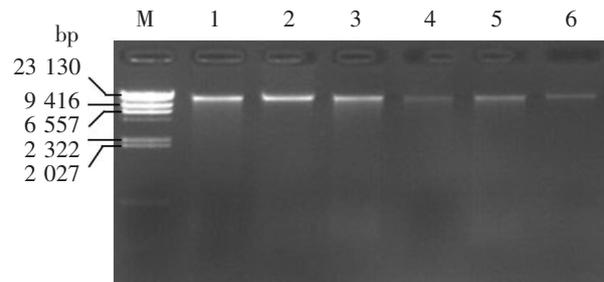


图 2 不同提取方法提取总 DNA 片段  
M: $\lambda$ -DNA/Hind III;1~3:CTAB-SDS 法提取总 DNA 片段;  
4~6:SDS 法提取总 DNA 片段

Fig.2 Total DNA fragment extracted by different extraction methods  
M: $\lambda$ -DNA/Hind III; 1-3:Total DNA fragment extracted by CTAB-SDS methods; 4-6:Total DNA fragment extracted by SDS methods

**2.3 不同提取方法 DNA 提取量和纯度的比较** 由表 2 可知,CTAB-SDS 法提取总 DNA 的量为  $7.4 \sim 7.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $OD_{260/280}$  值为  $1.81 \sim 1.95$ ,  $OD_{260/230}$  值为  $1.26 \sim 2.03$ , 计算得出 DNA 平均质量浓度为  $0.51 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。SDS 法提取总 DNA 的量为  $(3.5 \sim 4.15) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $OD_{260/280}$  值在  $1.52 \sim 1.68$  之间,  $OD_{260/230}$  值在  $1.35 \sim 1.53$  之间。计算得出 DNA 平均质量浓度为  $0.075 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从表 2 得出,CTAB-SDS 法  $OD_{260/230}$  比值比 SDS 法的比值高,提取 DNA 的  $OD_{260/280}$  值约为 1.8,表明去除了大量蛋白质和酚类物质;  $OD_{260/230}$  值约为 1.9,表明提取 DNA 中污染的腐殖酸类物质较少,所抽提的 DNA 具有较高的质量。因土壤中含有大量的腐殖酸,从土壤提取的 DNA 会有腐殖酸杂质,SDS 法由于纯度不够,所以算出的产量可能会出现误差。

表 2 2 种方法提取 DNA 的提取量和纯度

Tab.2 The amount and purity of DNA extracted from soil microbes by two methods

| 样品<br>编号 | CTAB-SDS       |                |   |  | SDS            |                |   |  |
|----------|----------------|----------------|---|--|----------------|----------------|---|--|
|          | $OD_{260/230}$ | $OD_{260/280}$ | DNA 质量浓度/<br>( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | DNA 提取量/<br>( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | $OD_{260/230}$ | $OD_{260/280}$ | DNA 质量浓度/<br>( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | DNA 提取量/<br>( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) |
| 1        | 2.03           | 1.95           | 0.154   | 7.7  | 1.35           | 1.68           | 0.083   | 4.15   |
| 2        | 1.91           | 1.87           | 0.152   | 7.6  | 1.42           | 1.63           | 0.072   | 3.6  |
| 3        | 1.26           | 1.81           | 0.148   | 7.4  | 1.53           | 1.52           | 0.07  | 3.5  |

注: DNA 量为每克干土提取量

Note: The amount of DNA indicated the amount of DNA of microbes extracted from dry soil per gram

2.4 火龙果根际微生物多样性分析 将获得的根际土壤微生物宏基因组 DNA 委托华大基因公司,对根际基因组的细菌 16S rDNA V3 区进行扩增并测序,分析火龙果根际细菌多样性。结果表明(图 3),火龙果根际微生物种群,在门水平上健康植株根际优势微生物种群有 Proteobacteria(变形菌门),Firmicutes(厚壁菌门),Actinobacteria(放线菌门),Acidobacteria(酸杆菌门),Planctomycetes(浮霉菌门),Crenarchaeota(泉古菌门),Chloroflexi(绿弯菌门),Nitrospirae(硝化螺旋菌门),Verrucomicrobia(疣微菌门),Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)。其中 Proteobacteria 丰度达 39.53%,Firmicutes 丰度达 21.15%,Acidobacteria 丰度达 12.36%。火龙果健康植株根际土壤科水平上优势种群有:假单胞菌科(Pseudomonadaceae)、芽胞杆菌科(Bacillaceae)、类诺卡氏菌科(Nocardiodaceae)、芽苔科(Gemmataceae)、链球菌科(Streptococcaceae)。其中 Pseudomonadaceae 丰度达 38.29%,Bacillaceae 丰度达 20.39%,Nocardiodaceae 丰度达 3.40%。

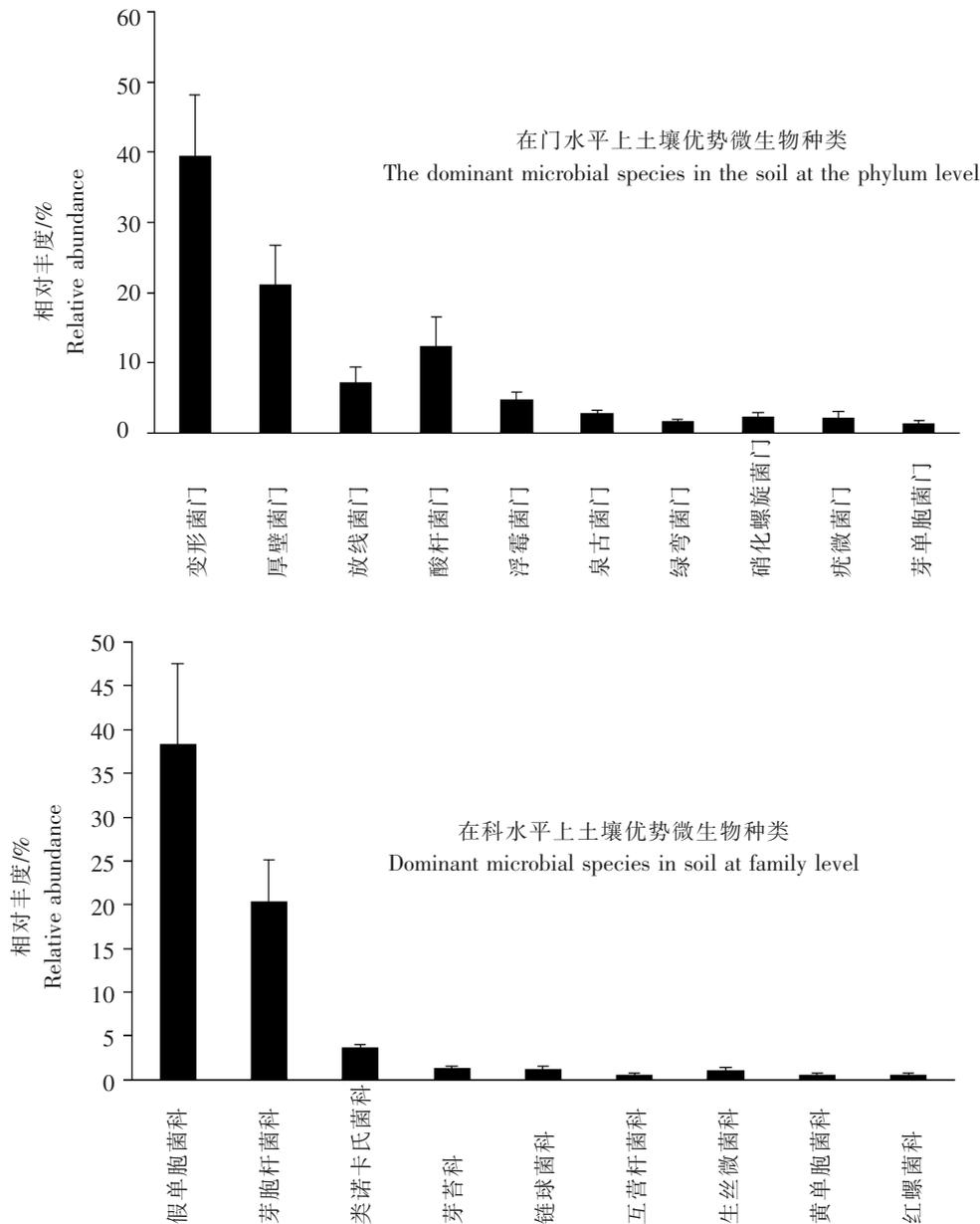


图 3 火龙果根际微生物多样性分析  
Fig.3 Analysis of microbial diversity in rhizosphere of pitaya fruit

### 3 讨论

植物根际土壤(Rhizosphere soil)是指粘附在植物根系表面的土壤。在以往的研究中大多采用抖落法取植物根系表层1~2 mm土壤<sup>[15]</sup>。由于土壤本身及其中微生物的复杂性,采用常规分析微生物的方法如平板计数、生物量测定等方法准确性受到了很大的限制。从土壤微生物群体提取基因组DNA的角度来研究其多样性及功能是一种可行的方法<sup>[16]</sup>。提取微生物组总DNA是从DNA的角度分析土壤微生物的关键一步。随着科学技术的发展,DNA提取方法有很多。但从土壤中提取微生物总DNA的方法主要分为2大类<sup>[17-18]</sup>:一类为直接提取法——直接将样品悬浮在DNA缓冲液中进行处理,使土壤中微生物体直接裂解,再提取DNA。另一类为间接提取法——首先除去土壤等杂质,通过不同的离心速度使细胞和土壤分离开来,然后用对细胞进行抽提,提取出土壤微生物总DNA。一般第1类方法提取效率比较高。从土壤中提取DNA可分为2个过程,使在土壤中菌体细胞的裂解和粗DNA的提取及粗DNA的纯化。粗DNA的提取和纯化均有各种各样的方法,有些研究者应用物理法使菌体破碎,如超声波破碎等,但此种方法得到的片段较小。选用哪一种方法的组合,需要根据实验的要求来选择。在预实验时,笔者尝试过采用试剂盒法提取土壤DNA,此法需要原始土壤量为0.5 g,结果显示,DNA严重条带弥散,提取量较少,无法计算得率。后续实验笔者采用的2种DNA提取方法均是直接提取法,需要的土壤量为(5~10) g,因为直接提取法操作简单、提取量高,但在提DNA过程中也会提取到样品中的其他杂质,如腐殖酸、酚类化合物等。提取方法的效率对于后续研究是非常重要的,CTAB-SDS法和SDS选取的土壤原始量多,对土壤微生物种类多样性和丰富性更具有代表性,更能全面包含微生物生物学信息。所以,笔者认为,从土壤中提取微生物总DNA的理想方法是:该方法能获取完整片段、纯度高的DNA,对不同环境土壤微生物均能提取DNA,且提取的DNA能包含着大多数土壤微生物的信息量。

本研究比较了2种常用的DNA提取方法,其中,采用CTAB-SDS法能获得约23.1 kb的DNA,提取总DNA的量为(7.4~7.7) mg·kg<sup>-1</sup>。这一结果与张瑞福等<sup>[9]</sup>报道的DNA提取量基本一致,且DNA的纯度较高,片段较完整,可直接用于后续的操作;土壤高质量基因组DNA,OD<sub>260/280</sub>值为1.8,样品中如果含有蛋白质及苯酚,OD<sub>260/280</sub>比值会明显下降<sup>[15]</sup>。而较纯净的核酸OD<sub>260/230</sub>的比值大于2.0。笔者采用的2种DNA提取方法与刘峰<sup>[12]</sup>在提取量和纯度上都有差异,可能与土壤矿物类型、质地、含水量及pH值等有关。关于另一种土壤微生物提取方法SDS法,获得的总DNA的效果不够理想,提取的DNA纯度不够,可能是腐殖酸污染严重,如用于后续研究需纯化后方可操作。对于火龙果园土壤微生物DNA的提取,CTAB-SDS法比SDS法提取的效果好,提取DNA的片段较完整,纯度较高,结合细菌16S rDNA测序结果表明,该方法可直接用于后续实验操作,更适用于火龙果根系土壤微生物总DNA的提取,为后续土壤微生物多样性及种群变化研究奠定了基础。

### 参考文献:

- [1] VIGDIS T, LISE O. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems [J]. *Ecology and industrial microbiology*, 2002 (5): 240-245.
- [2] 张秋芳, 张美寿. 火龙果的特点与引种技术 [J]. *福建果树*, 1999, 110(4): 45.
- [3] 孔维栋, 朱永官, 傅伯杰, 等. 农业土壤微生物基因与群落多样性研究进展 [J]. *生态学报*, 2004, 24(12): 2894-2900.
- [4] STEFFAN R J, ATLAS R M. DNA amplification to enhance detection of genetically engineered bacteria in environmental sample [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1988, 54: 2185-2191.
- [5] OGRAM A, SAYLER G S, BARKAY T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1987, 7(2): 57-66.
- [6] PORTEOUS L A, ARMSTRONG J L. Recovery of bulk DNA from soil by a rapid, small-scale extraction method [J]. *Current Microbiology*, 1991, 22: 345-348.
- [7] TEBBE C C, VAHJEN W. Interference of humic acid and DNA extracted directly from Soil in detection and transformation of recombinant DNA from bacteria and a yeast [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1993, 59: 2657-2665.

- [8] 张瑞福, 曹慧, 崔中利, 等. 土壤微生物总 DNA 的提取和纯化[J]. 微生物学报, 2003, 43(2): 276–282.
- [9] HEUER H, KRSEK M, BAKER P, et al. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rDNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients [J]. Appl Environ Microbiol, 1997(7). DOI: 10.1089/oli.1.1997.7.439.
- [10] NIEMI R M, HEISKANEN I, WALLENIUS K, et al. Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia [J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, 45: 155–165.
- [11] 刘峰. 红树林可培养微生物活性评价和土壤宏基因组文库构建及生物活性筛选[D]. 儋州: 华南热带农业大学, 2006.
- [12] ZHOU J, BRUNS M A, TIEDJE J M. DNA recovery from soils of diverse composition [J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(2): 316–322.
- [13] 宋培勇. 从土壤中提取 DNA 方法比较[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(1): 109–112.
- [14] 陈旭玉, 周亚奎, 郑服从. 橡胶林土壤微生物 2 种 DNA 提取方法的比较[J]. 热带农业科学, 2008, 28(3): 41–43.
- [15] LAURAG G L, JAMES R, DANA J, et al. Comparison of methods of DNA extraction from stream sediments [J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 59: 1141–1143.
- [16] TSAI Y L, OLSON B H. Rapid method for separation of bacterial DNA from humic substances in sediments for polymerase chain reaction [J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57: 1070–1074.
- [17] JACOBSEN C S, RASMUSSEN O F. Development and application of a new method to extract bacterial DNA from soil based on separation of bacteria from soil with cation-exchange resin [J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58: 2458–2462.
- [18] LIESACK W, STACKEBTANDT E. Occurrence of novel groups of the domain bacteria as revealed by analysis of genetic material isolated from an Australian terrestrial environment [J]. J Bacteriol, 1992, 17(4): 5072–5078.

## Comparison of Two Extraction Methods in Extraction of Total DNA from Soil Microbes in the Rhizosphere of Pitaya

CHEN Di<sup>1,2</sup>, LI Kezeng<sup>1</sup>, WU Qiong<sup>1</sup>, HE Yindui<sup>1</sup>, YIN Xiaomin<sup>1,2</sup>

(1. Haikou Experimental Station, CATAS, Haikou, Hainan 570102, China;

2. Hainan Key Laboratory of Banana Genetic Improvement, CATAS, Haikou, Hainan 570102, China;

3. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570102, China)

**Abstract:** In order to obtain the total DNA of the soil microbes in the rhizosphere of pitaya (*Hylocereus undatus* Britt.), two methods, CTAB-SDS and SDS, were used to compare their extraction effect in extraction time, color of DNA supernatant in the extraction process, and total DNA extraction amount and purity after extraction. The results showed that both methods produced DNA fragments with about 23.1 kb. With the CTAB-SDS method the color of the supernatant was light yellow; the total amount of DNA extracted was (7.4 ~ 7.7) mg · kg<sup>-1</sup>; the  $OD_{260/280}$  value was between 1.81 and 1.95, and the  $OD_{260/230}$  value was between 1.26 and 2.03; the average DNA concentration was 0.51 g · L<sup>-1</sup>. With the SDS method the color of the supernatant was dark brown-yellow, and the total amount of DNA extracted was (3.5 ~ 4.15) mg · kg<sup>-1</sup>; the  $OD_{260/280}$  value was between 1.52 and 1.68, and the  $OD_{260/230}$  value was between 1.35 and 1.53; the average DNA concentration was 0.075 g · L<sup>-1</sup>. It was hence concluded that the fragment extracted by the CTAB-SDS method was relatively complete and highly pure, which could be directly used for subsequent experimental operation, and was more suitable for the extraction of total DNA from soil microbes in the rhizosphere of pitaya.

**Keywords:** Pitaya; rhizospheric soil microbes; DNA; extraction method

(责任编辑: 潘学峰)