

文章编号: 1674-7054(2022)05-0488-08



# 不同种植地胆木根际的细菌群落结构和多样性

陈燕艳<sup>1</sup>, 徐诗涛<sup>1</sup>, 王德立<sup>2</sup>, 王 军<sup>3</sup>, 周元元<sup>1</sup>, 侯祥文<sup>1</sup>

(1. 海南大学 园艺学院, 海口 570228; 2. 中国医学科学院 药用植物研究所海南分所, 海口 570311;  
3. 中国热带农业科学院 生物技术研究所, 海口 570216)

**摘要:** 为探明胆木根际主要细菌的群落结构和多样性, 明确细菌群落的结构和多样性与土壤理化性质的相关关系, 为后续开展不同种植区胆木促生根际细菌的分离筛选工作和为不同立地条件下胆木的质量评价奠定基础。采用高通量测序技术对5个种植区15份胆木的根际土壤样品进行分析, 采用Excel、DPS和SPSS 20.0软件对数据进行多重比较和相关性分析。结果表明: 15份土壤样品平均序列长度为414~418 bp, 样品DM4、DM7、DM10、DM12和DM14的平均细菌分类操作单元个数分别为1 084、1 012、1 109、870和997, 获得1 223个细菌分类操作单元; 从对样品的群落结构分析可知, 优势细菌门为Rokubacteria、WPS-2、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)等10个门。优势菌属为孢杆菌属(*Bacillus*)、酸杆菌属(*Acidobacter*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、*Gammaproteobacteria*、酸热菌属(*Acidothermus*), 以及未确定的菌属 *uncultured\_bacterium\_Subgroup\_2*、*Candidatus\_Udaeobacter*、*Candidatus\_Koribacter* 和 *AD3*; 从对样品的细菌多样性分析可知, 五指山的样品在物种丰度和多样性上均高于琼中县的样品; 从对样品的相关性分析可知, 土壤理化性质与优势菌门相关, 如有机质、速效钾、有效磷和碱解氮与厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)呈显著负相关, 与浮霉菌门(Planctomycetes)呈显著正相关; 湿度、有机质和速效钾对细菌物种丰度以及细菌多样性呈显著正相关, 温度和pH值呈显著负相关。五指山和琼中种植区胆木的主要群落结构组成大体上一致, 但所占丰度比不一样; 细菌的群落丰度和细菌多样性具有差异, 说明细菌群落丰度和细菌多样性与不同种植区相关, 且五指山样品的细菌群落丰度和细菌多样性均高于琼中地区; 土壤理化性质对根际细菌的主要菌门、细菌群落丰度和细菌多样性有影响。

**关键词:** 胆木; 根际土壤; 细菌多样性; 高通量测序; 土壤理化性质

**中图分类号:** Q 949.748.5; S 154.3 **文献标志码:** A

**引用格式:** 陈燕艳, 徐诗涛, 王德立, 等. 不同种植地胆木根际的细菌群落结构和多样性 [J]. 热带生物学报, 2022, 13(5): 488-495. DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2022.05.009

胆木 [*Nauclea officinalis* (Pierre ex Pitard) Merr. & Chun], 别名乌檀, 是茜草科乌檀属植物, 根据文献记载以枝、干、皮入药, 胆木化学成分主要包括生物碱<sup>[1]</sup>、萜类及酚酸类等<sup>[2]</sup>。胆木药用价值受到了关注, 目前已被开发成为浸膏糖浆<sup>[3]</sup>、饮片<sup>[4]</sup>、胶囊<sup>[5]</sup>和注射剂<sup>[6]</sup>等, 在临床医学上用于抗炎镇痛<sup>[7]</sup>、抑菌<sup>[8]</sup>和抗病毒<sup>[9]</sup>清热解毒、消肿止痛<sup>[10]</sup>等。胆木为多年生乔木, 野生胆木喜生长于高山

近顶或半腰荫蔽潮湿地带的杂木林中<sup>[11]</sup>, 在自然条件下生长缓慢, 成药年限长, 药用品质不佳, 而人工种植往往因缺少科学管理, 受到病害的干扰而导致植株早衰, 药材产量不高。因此, 有必要对胆木根系最直接的根际环境进行研究, 特别是在根际发育过程中有可能对胆木根系造成病害或促进根系发育的细菌进行鉴定。

植物在应对胁迫环境时根际微生物起到积极

收稿日期: 2021-12-13 修回日期: 2022-03-09

基金项目: 海南省自然科学基金(821RC1104)

第一作者: 陈燕艳(1996-), 女, 海南大学园艺学院2019级硕士研究生. E-mail: 15374586422@qq.com

通信作者: 徐诗涛(1968-), 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师. 研究方向: 热带植物资源保护与利用. E-mail: xutaohn@qq.com

作用<sup>[12]</sup>,有益微生物能提升植物抗旱能力<sup>[13-14]</sup>进而提高植物在环境胁迫下的生存能力,但在根际有害微生物使植株发生病害(比如线虫影响植物根系生理活性,进而影响根系水分和无机盐摄取)时可导致植株死亡<sup>[15]</sup>。不同微生物种类、数量以及其优势生理类群对植物生长过程中土壤有效养分的转化和吸收、植物病原菌的活性及其造成的病害均有一定影响<sup>[16]</sup>。微生物可帮助其寄生的植物抵御病害、增强抗逆性、同化和运输养分<sup>[17]</sup>、促进生长等<sup>[18]</sup>,反过来植物凋落物和植物根际分泌物为根际土壤微生物提供营养。植物根系对根际微生物群落构建也具有选择性<sup>[19]</sup>,其对根际微生物群落的营养选择与富集作用使得植物和微生物协同进化<sup>[20]</sup>,导致根际微生物群落组成结构、群落丰度和多样性产生差异。不仅如此,植物根际分泌物及植物凋落物在很大程度上影响着林下土壤的理化性质。已有学者认为土壤理化性质与土壤微生物群落结构、群落丰度和多样性构建十分密切<sup>[21]</sup>。植物通过向土壤输入凋落物和根际分泌物,以及其吸收土壤养分的形式等方式影响土壤的理化性质<sup>[22]</sup>。植被类型、土壤有机质、土壤元素、温度、水分、pH 值影响着根际微生物的群落结构和微生物的多样性<sup>[23]</sup>。土壤微生物是植物—土壤系统中

比较活跃的组成成分;土壤微生物多样性代表着微生物群落的稳定性。根际微生物群落与土壤环境构建的相互关系可为植物营养环境的稳定性调控机制提供重要的理论依据<sup>[24]</sup>。高通量测序技术可快速对微生物进行有效鉴定,从而被广泛应用于微生物研究领域。本研究以五指山和琼中不同种植区的胆木根际土为样本,通过对其理化性质进行分析比较,并基于 Illumina HiSeq 高通量测序技术对样本细菌多样性进行比较分析,为后续开展不同种植区胆木促生根际细菌的分离筛选工作和为不同立地条件下胆木的质量评价奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 样地状况** 样品 DM4、DM7、DM10、DM12 和 DM14 分别采自海南省五指山市畅好乡什哈村(东经 109.29°,北纬 18.40°)、海南省琼中黎族自治县上安乡长征八队(东经 109.50°,北纬 18.52°)、五指山市水满乡(东经 109.29°,北纬 18.40°)、海南省琼中自治县猫尾村领头十五队(东经 109.56°,北纬 19.05°)、海南省五指山市锦绣花园绿洲岛大酒店旁(东经 109.30°,北纬 18.45°)。样地根际土的理化性质含量见表 1。

表 1 根际土的理化性质

| 样品   | 湿度   | 温度/°C      | pH         | 有机质/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 速效钾/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 碱解氮/(g·kg <sup>-1</sup> ) |
|------|------|------------|------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| DM4  | 0.5a | 26.2±0.2ab | 4.3±0.06b  | 28.34±0.58ab              | 0.29±0.02ab               | 35±0.2ab                   | 0.68±0.06ab               |
| DM7  | 0.5a | 26.7±0.3a  | 4.72±0.08a | 24.95±1.37b               | 0.22±0.02b                | 26±0.1bc                   | 0.65±0.02ab               |
| DM10 | 0.5a | 26.3±0.6b  | 4.38±0.08b | 30.71±1.10a               | 0.32±0.03a                | 37±0.2a                    | 0.74±0.03a                |
| DM12 | 0.4a | 26.3±0.2a  | 4.78±0.02a | 24.22±1.05b               | 0.23±0.03b                | 26±0.2bc                   | 0.61±0.08b                |
| DM14 | 0.5a | 26.2±0.7ab | 4.37±0.08b | 26.94±0.84ab              | 0.29±0.02ab               | 28±0.1ab                   | 0.71±0.03ab               |

注:不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

**1.2 材料的采集** 采用“S”形混合采样法,于各胆木种植地距离胆木树干 10~20 cm 处的根系比较发达的地方挖开,将粘附在根系的土壤抖落,剔除石块和植物根系,取土,从每个种植地取 9 个点,每个样地取土样 2 g,并混合均匀,分为 3 个平行装入已灭菌的离心管,并迅速置于冰盒或液氮罐中保存运回,一部分用于细菌检测,同时将其中一部分土壤带回实验室自然阴干,碾碎后过 0.074 mm 筛,用于 pH 值和有机质等土壤指标的测定。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 样品理化性质的测定方法** 采用 NaHCO<sub>3</sub>-

浸提-钼锑抗比色法测定有效磷<sup>[25]</sup>;采用碱解扩散法测定碱解氮<sup>[26]</sup>;采用原子吸收分光光度计测定速效钾<sup>[27]</sup>;采用重铬酸钾容量法测有机质<sup>[28]</sup>;采用 pH 计(DELTA 320)测定 pH<sup>[29]</sup>;土样湿度和温度使用土壤温度湿度测试仪(特安斯 TASI)测量。将土壤温度湿度测试仪器开关打开,设置温度和湿度的参数,将探针头插入距离树干 30~50 cm 处根系比较发达的地方,深度 20 cm,待仪器数据稳定后读数,重复 3 次。经纬度通过奥维定位仪获得。

**1.3.2 建库与测序方法** 委托百迈客生物技术有限公司对不同种植区胆木根际土壤样品的总 DNA

进行提取,并进行PCR、产物回收、样品建库及上机测序。操作步骤:根据保守区设计得到引物338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3',806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3',在引物末端加上测序接头,进行PCR扩增,反应条件为95℃预变性5min,95℃变性30s,50℃退火30s,72℃延伸1min,共30个循环,再72℃延伸5min,最后4℃保存。对扩增产物进行纯化、定量和均一化,构建样品的cDNA文库,并进行文库质检,合格的文库采用双端测序的方法对土壤细菌的16S rRNA V3+V4区用Illumina HiSeq 2500进行测序。

**1.4 数据处理** 使用R软件(VennDiagram)进行细菌分类操作单元划分和分类鉴定,使用Mothur软件计算细菌物种丰度和多样性。采用Excel、DPS数据分析和SPSS20.0软件进行多重比较和相关性分析。

## 2 结果与分析

**2.1 土壤样品测序质量的评估** 15份样品平均序列长度在414~418bp之间。DM4、DM7、DM10、DM12和DM14组平均细菌分类操作单元个数分别为1084、870、1109、997和1012。5组样品共获得1223个细菌分类操作单元,用在97%相似性水平下的聚类细菌分类操作单元制作各样品的稀释曲线(Rarefaction Curve),可作为对各样本测序量是否充分的判断,曲线急剧上升表明测序量不足。由图1可知,细菌曲线逐渐趋向平坦,说明测序数量合理,可进行数据分析。

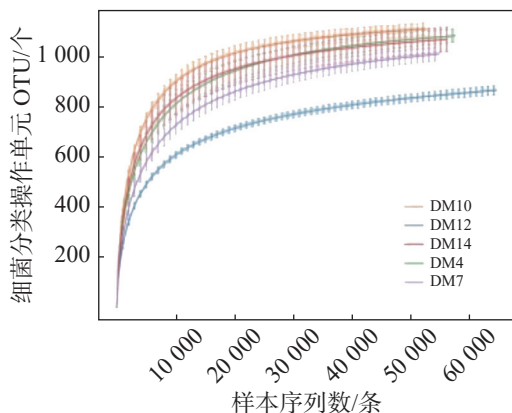


图1 不同种植地胆木根际土壤样品稀释曲线

## 2.2 不同胆木种植区土壤根际土的细菌结构

### 2.2.1 不同胆木种植地土壤根际土在门水平上的细菌结构

由图2可知,胆木根际土壤的优势细菌门为 Rokubacteria、WPS-2、芽单胞菌门

(Gemmatimonadetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)等10个细菌门。DM4、DM14第一优势菌门为变形菌门,其相对丰度分别为34.81%、32.86%;MD7和DM12的第一优势菌门为放线菌门,其相对丰度分别为35.64%和33.65%;DM10第一优势菌门是酸杆菌门,相对丰度为27.6%;MD7和DM10的第二优势菌门为变形菌门,是DM4和DM14的第一优势菌门,其相对丰度分别为19.14%和26.43%;DM4、DM12和DM14的第二优势菌门是酸杆菌门,也是DM10的第一优势菌门,其相对丰度分别22.62%、27.65%和25.39%。

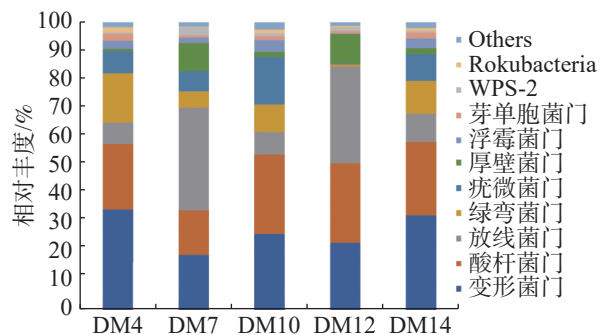


图2 不同种植区根际土在门水平上的细菌组成

不同颜色的柱状图代表不同的细菌物种;为使视图效果最佳,只显示丰度水平前10位的物种,并将其他物种合并为其他,下同。

### 2.2.2 不同胆木种植区土壤根际土在属水平上的细菌结构

如图3可知,5组样品优势菌属有芽孢杆菌属(*Bacillus*)、酸杆菌属(*Acidobacter*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、*Gammaproteobacteria*、热酸菌属(*Acidothermus*)、以及未确定的菌属 *uncultured\_bacterium\_Subgroup\_2*、*Candidatus\_Udaeobacter*、*Candidatus\_Koribacter* 和 *AD3*。种植区为琼中的DM7和DM12第一优势菌属均为链霉菌属,相对丰度分别为12.42%和14.83%。种植区为五指山的DM4和DM14第一优势菌属是未确定的菌属 *uncultured\_bacterium\_Subgroup\_2*,相对丰度分别14.46%和13.46%;种植区为五指山的DM10的第一优势菌属为未确定菌属 *Candidatus\_Udaeobacter*,相对丰度为11.82%,次优势菌属是五指山的DM4和DM14的第一优势菌属即 *uncultured\_bacterium\_Subgroup\_2*,相对

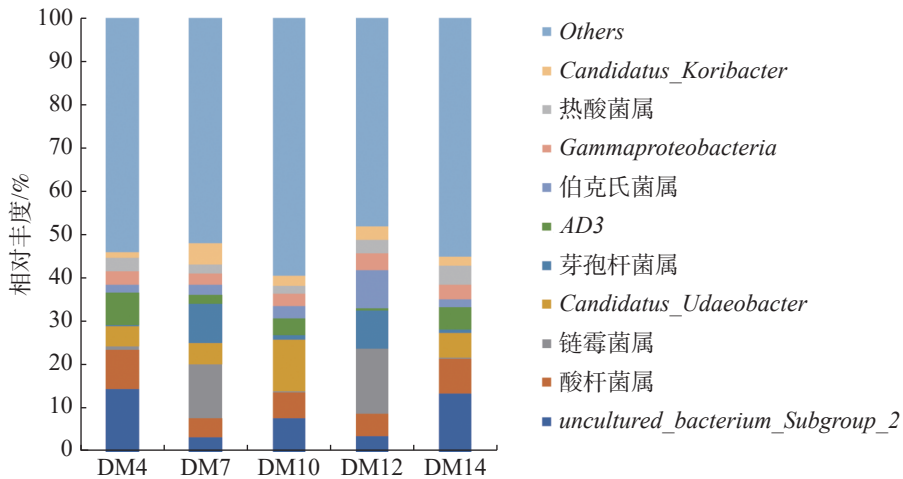


图 3 不同种植区根际土在属水平上的细菌组成

丰度为 7.79%; DM4和 DM14 的第二优势菌属是酸杆菌属, 相对丰度分别为 9.09% 和 7.92%; DM12 的第二优势菌属是伯克氏菌属, 其相对丰度为 9.02%, DM7 第二优势菌属是芽孢杆菌属, 其相对丰度为 9.01%。

**2.3 不同胆木种植地土壤的细菌群落结构、丰度与多样性分析** 用 Chao1 和 Ace 指数衡量物种丰度, 用 Shannon 和 Simpson 指数衡量物种多样性, 指数值越大, 说明样品的物种丰度和多样性越

高。此外还统计了覆盖率(Coverage), 其数值越高, 则样本中物种被测出的概率越高。5 个不同种植区的胆木根际土壤的细菌多样性分析结果(表 2)显示, 种植区为五指山的 DM4、DM10、DM14 的物种丰度和多样性均高于种植区为琼中县的 DM7 和 DM12, 其中 5 个种植区中的物种丰度和多样性最高为五指山水满乡根际土壤 DM10, 最低为琼中县 DM12 样品。

表 2 不同种植区胆木根际土细菌的多样性

| 97%相似水平指标   | DM4            | DM7            | DM10           | DM12           | DM14           |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ACE指数       | 1 130±21a      | 1 077±16a      | 1 137±18a      | 953±25b        | 1 117±30a      |
| Chao1指数     | 1 145±22a      | 1 091±17ab     | 1 153±16a      | 987±29b        | 1 134±28a      |
| Simpson 指数  | 0.99±0.00ab    | 0.96±0.01bc    | 0.99±0.01a     | 0.96±0.00c     | 0.99±0.00ab    |
| Shannon 指数  | 7.91±0.18ab    | 7.0±0.33bc     | 8.3±0.16a      | 6.7±0.19bc     | 7.93±0.2ab     |
| Coverage覆盖率 | 0.998±0.000 2a | 0.998±0.000 2a | 0.999±0.000 2a | 0.998±0.000 2a | 0.999±0.000 1a |

**2.4 样品相关性分析**

**2.4.1 主要细菌门的细菌丰度与土壤理化性质的相关性** 5 个种植区胆木根际土壤理化性质与根际细菌的主要菌门的相关性分析结果(表 3)表明, 湿度、温度、pH 值、有机质含量、速效钾含量、有效磷含量和碱解氮含量对根际土壤中大多数主要细菌门有影响。土壤湿度与放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)的细菌丰度呈极显著负相关, 与 Rokubacteria 细菌丰度呈极显著正相关, 与酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)的细菌丰度呈显著正相

关。温度与疣微菌门(Verrucomicrobia)的细菌丰度呈极负相关, 与厚壁菌门(Firmicutes)的细菌丰度呈显著负相关, 与放线菌门(Actinobacteria)的细菌丰度呈显著正相关关系。pH 值与放线菌门(Actinobacteria)的细菌丰度呈极显著正相关关系, 与 Rokubacteria 的细菌丰度呈极负相关, 与酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)的细菌丰度呈显著负相关关系。有机质、速效钾、有效磷和碱解氮等的含量与厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)的细菌丰度均呈显著负相关关系, 其中, 速效钾与厚壁菌门

表 3 主要菌门的细菌丰度与土壤理化性质的相关性分析

| 细菌                      | 湿度      | 温度      | pH      | 有机质    | 速效钾     | 有效磷    | 碱解氮    |
|-------------------------|---------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|
| 酸杆菌门(Acidobacteria)     | 0.85*   | -0.390  | -0.85*  | 0.500  | 0.700   | 0.470  | 0.510  |
| 变形菌门(Proteobacteria)    | 0.400   | -0.410  | -0.300  | 0.360  | 0.500   | 0.360  | 0.240  |
| 放线菌门(Actinobacteria)    | -1.00** | 0.81*   | 0.99**  | -0.87* | -0.96** | -0.85* | -0.87* |
| 绿弯菌门(Chloroflexi)       | 0.85*   | -0.520  | -0.90*  | 0.660  | 0.7200  | 0.630  | 0.670  |
| 疣微菌门(Verrucomicrobia)   | 0.710   | -0.94** | -0.710  | 0.90*  | 0.810   | 0.90*  | 0.95** |
| 厚壁菌门(Firmicutes)        | -0.99** | 0.790   | 1.00**  | -0.86* | -0.94** | -0.84* | -0.87* |
| 浮霉菌门(Planctomycetes)    | 0.88*   | -0.90*  | -0.89*  | 0.90*  | 0.89*   | 0.89*  | 0.99** |
| 芽单胞菌门(Gemmatimonadetes) | 0.85*   | -0.390  | -0.88*  | 0.500  | 0.670   | 0.460  | 0.550  |
| WS-2                    | -0.780  | 0.410   | 0.740   | -0.470 | -0.690  | -0.450 | -0.440 |
| Rokubacteria            | 0.92**  | -0.660  | -0.92** | 0.780  | 0.88*   | 0.750  | 0.680  |

注: \*表示在5%水平上显著相关, \*\*表示在1%水平上显著相关。下同。

(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)的细菌丰度呈极显著负相关,与浮霉菌门(Planctomycetes)的细菌丰度呈显著正相关;速效钾与厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)的细菌丰度呈极显著负相关,碱解氮与浮霉菌门(Planctomycetes)和疣微菌门(Verrucomicrobia)的细菌丰度呈积极显著正相关。所有土壤理化性质测量指标与变形菌门(Proteobacteria)和WS-2的细菌丰度无显著相关。

#### 2.4.2 细菌群落的丰度、多样性与土壤理化性质的相关性

由表4可知,湿度、温度、pH、有机质

含量和速效钾含量、有效磷含量和碱解氮含量对根际土壤中主要细菌的物种丰度和多样性均有影响。湿度、有机质含量和速效钾含量对细菌物种丰度以及细菌多样性均呈显著正相关,其中,湿度和有机质对细菌物种的丰度和多样性均呈极显著正相关。温度、pH对细菌物种的丰度和多样性呈显著负相关,其中pH对细菌物种的丰度和多样性呈极显著负相关。此外,速效钾含量和细菌物种丰度呈显著正相关;碱解氮含量、有效磷含量和细菌多样性呈显著正相关。

表 4 细菌多样性与土壤理化性质的相关性分析

| 指标        | 湿度     | 温度      | pH      | 有机质含量  | 速效钾含量  | 有效磷含量  | 碱解氮含量 |
|-----------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|-------|
| ACE指数     | 0.74** | -0.59*  | -0.71** | 0.72** | 0.54*  | 0.3600 | 0.49  |
| Chao1指数   | 0.74** | -0.60*  | -0.70** | 0.71** | 0.55*  | 0.3500 | 0.44  |
| Cimpon指数  | 0.85** | -0.66** | -0.72** | 0.88** | 0.68** | 0.60*  | 0.59* |
| Shannon指数 | 0.85** | -0.71** | -0.74** | 0.86** | 0.66** | 0.4900 | 0.59* |

### 3 讨论

#### 3.1 根际土壤理化性质与微生物差异的影响因素

关于土壤理化性质和微生物差异的研究,杨承栋等<sup>[30]</sup>认为在不同树龄的土壤中,有机质、速效钾、有效磷、速效氮等的含量具有差异,从幼龄林至中龄林呈下降趋势;从中龄林至成熟林土壤中有机质和速效钾的含量呈上升趋势,有效磷和碱解氮的含量变化无明显规律性,根际和非根际微生物的种类和数量均存在差异;并认为这与种植

区有关,在不同的土壤母质、土壤微生物和气候类型的共同作用下,土壤有机质的分解,土壤养分元素的有效性以及养分元素在土壤生成过程中的释放和迁移导致土壤理化性质的差异,适宜的土壤理化性质提供给微生物良好的生活环境,相对不好的土壤环境微生物的数量和多样性随之减少。此外,土壤理化性质和微生物的差异还有海拔高度的影响<sup>[31]</sup>,说明造成土壤理化性质与微生物的差异的因素是复杂的,而不是单一的某个因素<sup>[32]</sup>。笔者在对5个胆木种植区的土壤理化性质分析中发

现, 样品间湿度无显著差异, 含水量都较高, 保持在 40%~55%; 种植区琼中的 2 组样品的温度和 pH 都高于种植区五指山的样品; 5 组样品的温度均保持在 26 °C 左右, pH 均为酸性。笔者分析了 5 个胆木种植区的土壤理化性质形成原因, 认为各组样品地处海南降水丰富的种植区, pH 值偏酸性可能是由于降水多导致盐基饱和度降低造成的。笔者在对 5 个胆木种植区的细菌分析中发现, 5 个种植区的细菌数量和多样性有差异, 五指山样品的细菌数量和细菌多样性相对于琼中样品更加丰富一些, 而同个市县的样品间也存在差异。笔者认为这是因为 5 个种植区所处地理环境、气候条件、海拔高度、土壤环境的差异造成的。

**3.2 土壤理化性质与细菌物种结构、物种丰度和多样性的关系** 在研究土壤理化性质与人工林细菌多样性时, 丁新景等<sup>[33]</sup>认为含水量、碱解氮含量、有效磷含量、速效钾含量和有机质含量与根际土壤细菌多样性相关关系显著, pH 与细菌多样性指数无显著相关关系。侯建伟等<sup>[34]</sup>在对花椒根区土壤细菌群落结构研究中认为土壤 pH、碳氮比、碱解氮、有效磷和速效钾总共解释了 83.3% 的群落变化。本研究中, 5 个不同的胆木种植区样品的湿度、温度、pH 值、有机质含量、速效钾含量、有效磷含量和碱解氮含量对根际土壤中主要细菌物种的结构丰度以及细菌多样性均有影响; 在 10 种优势门类细菌中, 占绝对优势的菌门是变形菌门, 但变形菌门类细菌未与土壤理化性质指标呈显著相关关系。宋春丽等<sup>[35]</sup>认为变形菌门为优势菌门可能与其生态位宽度较大、受环境影响较小有关。在本研究中, Rokubacteria、芽单胞菌门、浮霉菌门、厚壁菌门、疣微菌门、绿弯菌门、放线菌门、变形菌门、酸杆菌门等细菌门与 1~3 种土壤理化性质指标呈极显著相关。本研究中变形菌门和酸杆菌门、放线菌门细菌的物种丰度高于其他细菌门的, 这与 PENG 等<sup>[36]</sup>和 ZHOU 等<sup>[37]</sup>研究结果一致, 而 Rokubacteria、芽单胞菌门、浮霉菌门、厚壁菌门、疣微菌门、绿弯菌门、变形菌门受到多种土壤环境因素限制, 生长受到抑制, 丰度较小<sup>[38]</sup>。在一定范围内 pH 值与酸杆菌门总丰度呈反比, 酸杆菌门细菌在酸性土壤环境中丰度较高<sup>[39-40]</sup>, 而随着 pH 值的升高其生长受到抑制, 丰度降低<sup>[41]</sup>, 究其原因, 可能是由于酸杆菌门细菌是

嗜酸性细菌, 酸性土壤环境有利于细菌的生理活动<sup>[42]</sup>。在特定的土壤环境里, 变形菌门细菌和放线菌门细菌的丰度会随着酸杆菌门细菌的丰度增多而下降<sup>[43]</sup>, 但在本研究中是细菌的结构丰度与其共同生活细菌种群类别相关; 对细菌的物种丰度与多样性的研究表明, 土壤细菌多样性与土壤理化性质密切相关<sup>[44-46]</sup>。本研究结果发现, 5 个不同胆木种植区土壤的湿度、温度、有机质含量和速效钾含量对细菌的物种丰度及多样性呈显著正相关, 其中, 湿度和有机质含量对细菌的物种丰度和多样性呈极显著正相关关系; 温度和 pH 值对细菌的物种丰度和多样性呈显著负相关关系, 其中 pH 值呈极显著负相关。此外, 速效钾含量对 ACE 和 Chao1 指数, 碱解氮含量对 Cimpson 和 Shannon 指数, 有效磷含量对 Cimpson 指数均呈显著正相关。

## 4 结 论

(1)五指山样品 DM4、DM10 和 DM14 的平均细菌分类操作单元个数分别为 1084、1109 和 1012, 琼中样品 DM7 和 DM12 的平均细菌分类操作单元个数分别为 870、997, 五指山的平均细菌分类操作单元个数高于琼中。

(2)五指山和琼中 5 组样品的优势菌门组成主要是 Rokubacteria、WPS-2、芽单胞菌门、浮霉菌门、厚壁菌门、疣微菌门、绿弯菌门、放线菌门、变形菌门、酸杆菌门等 10 个细菌门。

(3)五指山和琼中 5 组样品主要优势菌属有芽孢杆菌属、酸杆菌属、链霉菌属、伯克氏菌属、*Gammaproteobacteria*、热酸菌属、及未确定的菌属 *uncultured\_bacterium\_Subgroup\_2*、*Candidatus\_Udaeobacter*、*Candidatus\_Koribacter* 和 AD3 等 10 个细菌属。

(4)土壤的理化性质影响细菌的优势菌门、相对丰度和多样性, 如土壤湿度与放线菌门和厚壁菌门的细菌丰度呈极显著负相关, 与 Rokubacteria 的细菌丰度呈极显著正相关; 湿度、有机质含量和速效钾含量对细菌物种丰度以及细菌多样性呈显著正相关。

## 参考文献:

- [1] 马雅鑫, 胡镜清. 胆木的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(7): 3079-3082.
- [2] TAO J Y, DAI S J, ZHAO F, et al. New ursane-type

- triterpene with NO production suppressing activity from *Nauclea officinalis* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2012, 14(2): 97 – 104.
- [3] 刘腾, 常艳璐, 王斌. 胆木浸膏糖浆的药理作用与临床应用研究进展[J]. *药品评价*, 2020, 17(16): 14 – 17.
- [4] 姜燕, 刘艳丽. 胆木饮片及其三种不同制剂的质量分析研究[J]. *中国药事*, 2012, 26(4): 368 – 369.
- [5] 黄有兴, 刘春. HPLC法测定胆木浸膏胶囊中异长春花苷内酰胺的含量[J]. *中国热带医学*, 2008, 8(12): 2245 – 2246.
- [6] 孟玲娟. 胆木注射液治疗小儿急性上呼吸道感染疗效观察[J]. *河北中医*, 2009, 31(8): 1213 – 1214.
- [7] LIU Q L, CHEN A H, TANG J Y, et al. A new indole alkaloid with anti-inflammatory activity from *Nauclea officinalis* [J]. *Natural Product Research*, 2017, 31(18): 1 – 6.
- [8] XUAN W D, BIAN J, CHEN H S. Alkaloidal constituents of *Nauclea officinalis* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2007, 12(2): 170 – 173.
- [9] 姜燕, 刘艳丽, 吕恂琪, 等. 胆木及其制剂的研究现状[J]. *中国药师*, 2012, 15(8): 1196 – 1198.
- [10] 曾祥全, 黄国宁. 胆木造林技术总结[J]. *热带林业*, 2010, 38(2): 24 – 26.
- [11] 张志远, 林秋梅, 赖潜, 等. 海南黎药胆木引种栽培技术研究[J]. *山西中医学院学报*, 2010, 11(5): 68 – 71.
- [12] ZHAO K, ZHOU B, WANZHENG M A, et al. The influence of different environmental stresses on root-exuded organic acids: A review [J]. *Soils*, 2016, 48(2): 235 – 240.
- [13] 庞志强, 余迪求. 干旱胁迫下的植物根系-微生物互作体系及其应用[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(2): 109 – 126.
- [14] 韩丽珍, 刘畅, 周静. 接种促生菌对花生根际土壤微生物及营养元素的影响[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(7): 3065 – 3073.
- [15] 杨珍, 戴传超, 王兴祥, 等. 作物土传真菌病害发生的根际微生物机制研究进展[J]. *土壤学报*, 2019, 56(1): 12 – 22.
- [16] 胡小加. 根际微生物与植物营养[J]. *中国油料作物学报*, 1999, 21(3): 77 – 79.
- [17] RYAN R P, KIERAN G, ASHLEY F, et al. Bacterial endophytes: recent developments and applications [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2010, 278(1): 1 – 9.
- [18] LUGTENBERG B, KAMILOVA F. Plant-growth-promoting rhizobacteria [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63(1): 541 – 556.
- [19] SASSE J, MARTINOIA E, NORTHEN T. Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome. [J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(1): 25.
- [20] 江琳琳. 生物炭对土壤微生物多样性和群落结构的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [21] 刘根林. 一种富含S氨基酸转基因大豆根际土壤理化性质与微生物群落多样性显著相关的确定方法: CN102994634A[P]. 2012 – 10 – 19.
- [22] 杨光菲. 改变碳输入方式对气候过渡带不同林型土壤微生物群落结构的影响[D]. 郑州: 河南大学, 2019.
- [23] 周永娜, 乔沙沙, 刘晋仙, 等. 庞泉沟自然保护区华北落叶松与桦树林土壤微生物群落结构[J]. *应用与环境生物学报*, 2017(3): 114 – 120.
- [24] BRAY R, KURTZ L. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils [J]. *Soil Science*, 1945, 59(1): 39 – 45.
- [25] 邢晓丽, 岳志红, 陈瑞鸽, 等. 土壤有效磷测定方法及注意事项[J]. *河南农业*, 2011(4): 48 – 49.
- [26] 安家琦, 范鹏志, 张钰, 等. 用原子吸收分光光度计测定土壤速效钾含量[J]. *农业工程技术*, 2019, 40(11): 46 – 47.
- [27] 钱宝, 刘凌, 肖潇. 土壤有机质测定方法对比分析[J]. *河海大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(1): 34 – 38.
- [28] 高飞, 李昌伟, 于跃跃, 等. 改进电位法测定土壤pH方法的探讨[J]. *中国农技推广*, 2014, 30(7): 41 – 43.
- [29] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996.
- [30] 杨承栋, 焦如珍. 杉木人工林根际土壤性质变化的研究[J]. *林业科学*, 1999, 35(6): 2 – 9.
- [31] 王宁, 杨雪, 李世兰, 等. 不同海拔红松混交林土壤微生物量碳、氮的生长季动态[J]. *林业科学*, 2016, 52(1): 9.
- [32] 翁贤权, 苏惠琴, 连华森, 等. 一代杉木人工林(29年生)土壤肥力特性研究[J]. *森林与环境学报*, 2001, 21(4): 367 – 370.
- [33] 丁新景, 敬如岩, 黄雅丽, 等. 基于高通量测序的4种不同树种人工林根际土壤细菌结构及多样性[J]. *林业科学*, 2018, 54(1): 81 – 89.
- [34] 侯建伟, 邢存芳, 邓晓梅, 等. pH对花椒根区土壤细菌群落结构的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2020, 48(5): 115 – 122.
- [35] 宋春丽. 冰缘植物联合细菌空间分布特征及其与环境之间的关系[D]. 兰州: 兰州大学, 2012.
- [36] PENG J A, ZHOU S, XIAO K A, et al. Diversity of bacteria in cloud water collected at a National Atmospheric Monitoring Station in Southern China [J]. *Atmospheric Research*, 2019, 218: 176 – 182.
- [37] ZHOU Z, SHUANG Z, TONG L. Difference in protective effects of farmland shelterbelts with different structures of tree species [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2009, 37(10): 13 – 15.
- [38] 李海云, 姚拓, 张建贵, 等. 东祁连山退化高寒草地土壤细菌群落与土壤环境因子间的相互关系[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(11): 3793 – 3801.
- [39] DHARMESH S, KOICHI T, MINCHEOL K, et al. A hump-backed trend in bacterial diversity with elevation on Mount Fuji, Japan [J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2): 429 – 437.
- [40] FIERER N, BRADFORD M A, JACKSON R B. Toward an ecological classification of soil bacteria [J]. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354 – 1364.
- [41] MNNIST M K, MARJA T, HGGBLOM M M. Bacterial communities in arctic fields of finnish lapland are

- stable but highly pH-dependent [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2010, 59(2): 452 – 465.
- [42] 陈永华, 吴晓芙, 陈明利, 等. 人工湿地污水处理系统中植物套种模式根际微生物多样性研究[J]. *环境科学*, 2011, 32(8): 2397 – 2402.
- [43] 刘彩霞, 董玉红, 焦如珍. 森林土壤中酸杆菌门多样性研究进展[J]. *世界林业研究*, 2016, 29(6): 17 – 22.
- [44] 李萍, 史荣久, 赵峰, 等. 大兴安岭落叶松林不同演替阶段土壤细菌群落结构与功能潜势[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(1): 95 – 107.
- [45] 隋心, 张荣涛, 钟海秀, 等. 利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究[J]. *土壤*, 2015, 47(5): 919 – 925.
- [46] 苗菁, 宗万松, 吕敏, 等. 基于高通量测序技术研究土壤细菌对盐生植被演替的响应[J]. *土壤通报*, 2018, 49(3): 602 – 608.

## Bacterial community structure and diversity in the rhizosphere of *Nauclea officinalis* in different plantations

CHEN Yanyan<sup>1</sup>, XU Shitao<sup>1</sup>, WANG Deli<sup>2</sup>, WANG Jun<sup>3</sup>, ZHOU Yuanyuan<sup>1</sup>, HOU Xiangwen<sup>1</sup>

(1. School of Horticulture, Hainan University, Haikou 570228, Hainan; 2. Hainan Branch, Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Haikou, Hainan 570311; 3. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 570216, China)

**Abstract:** An attempt was made to understand the main bacterial community structure and bacterial diversity in the rhizosphere of *Nauclea officinalis* to clarify the relationship between its community structure and bacterial diversity and soil physicochemical properties for further isolation and screening of rhizosphere growth-promoting bacteria in different planting areas. Fifteen rhizosphere soil samples from 5 planting areas under *N. officinalis* were analyzed by high-throughput sequencing technology. Multiple comparisons and correlation analysis were performed on the data using Excel, DPS and SPSS20.0 software. The results showed that the average sequence length of the 15 soil samples was 414–418 bp. The average operational taxonomic unit (OTU) numbers of samples DM4, DM7, DM10, DM12 and DM14 were 1084, 1012, 1109, 870 and 997, respectively, and 1223 bacterial taxa were obtained. The sample community structure analysis showed that there were 10 dominant bacterial phyla, such as Rokoacteria, WPS-2, Gemmatimonadetes. The dominant genera were *Bacillus*, *Acidobacter*, *Streptomyces*, *Burkholderia*, *Gammaproteobacteria*, *Acidophilus*, and the unidentified genera *Candidatus*, *Udaeobacter*, and *AD3*. The diversity analysis of the bacteria from the samples showed that the species abundance and diversity of the bacteria were higher in the samples from Wuzhishan city than in the samples from Qiongzong county. The sample correlation analysis showed that soil physicochemical properties were related to dominant bacteria. For instance, organic matter, available potassium, available phosphorus and alkali-hydrolyzable nitrogen were negatively correlated significantly with Firmicutes and Proteobacteria, and positively significantly with Planctomycetes. Humidity, organic matter, available potassium were positively significantly while the temperature and pH were negatively significantly with the species abundance and diversity of the bacteria. The composition of the main community structure in the *N. officinalis* plantations in Wuzhishan and Qiongzong is generally the same, but different in abundance ratios. The bacterial community abundance and bacterial diversity were different in these two areas, indicating that the bacterial community abundance and bacterial diversity are different in different planting areas. Moreover, the bacterial community abundance and bacterial diversity in the samples from Wuzhishan were higher than those from Qiongzong. The soil physicochemical properties had an impact on the main phyla, bacterial community abundance and bacterial diversity of rhizosphere bacteria.

**Keywords:** *Nauclea officinalis*; rhizosphere soil; bacterial diversity; high-throughput sequencing; soil physical and chemical properties