

甘肃主产区黄芪根系细菌组成及与土壤环境因子的相关性研究

冷非凡, 崔兴帅, 赵涛涛, 王永刚*

兰州理工大学 生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050

摘要:目的 探究不同地区黄芪根系细菌群落组成和多样性差异及其与土壤环境因子的相关性, 以指导黄芪高产栽培。方法 采用高通量测序对陇西、渭源、岷县和漳县地区黄芪根际土壤和根内生细菌进行测序, 对比分析其群落结构和多样性差异, 并探究土壤理化因素与根系细菌群落的相关性。结果 黄芪根内生样本共获得 1 769 个 OTU, 其中 541 个 OTU 为共有, 根际土壤样本共获得 1 676 个 OTU, 其中 1 224 个 OTU 为共有。黄芪的根内生样本中丰度最高的细菌门为 Proteobacteria, 细菌属为 *Pseudomonas*, 根际土壤样本中丰度最高的细菌门为 Acidobacteria, 细菌属为 *Sphingomonas*。根内生细菌群落的网络复杂度和稳定性高于根际网络, 但根际细菌的生态位宽度高于根内。根内生细菌群落的形成更容易受随机过程的影响。总氮、速效氮、有机质、脲酶和过氧化氢酶是影响根系细菌群落组成和多样性的主要因素。结论 不同地区黄芪根系细菌群落组成和多样性存在差异, 且土壤理化对细菌群落影响较大, 为黄芪根系细菌资源挖掘和品质的提高提供一定的理论基础。

关键词: 黄芪; 高通量测序; 根系细菌; 微生物多样性; 土壤理化

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2025)10 - 3651 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.022

Root bacteria composition and correlation with soil environmental factors in main producing area of *Astragalus membranaceus* in Gansu Province

LENG Feifan, CUI Xingshuai, ZHAO Taotao, WANG Yonggang

School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China

Abstract: Objective To explore the differences of bacteria community composition and diversity in root system of *Astragalus membranaceus* in different areas and their correlation with soil environmental factors, so as to guide the high-yield cultivation of *A. membranaceus*. **Methods** The rhizosphere soil and endophytic bacteria of *A. membranaceus* in Longxi, Weiyuan, Minxian and Zhangxian were sequenced by high-throughput sequencing, and the differences of bacteria community structure and diversity were compared and analyzed. The correlation between soil physical and chemical factors and root bacteria community was explored. **Results** A total of 1 769 OTU were obtained from endophytic samples of *A. membranaceus*, in which 541 OTU were common, and 1 676 OTU were obtained from rhizosphere soil samples, in which 1 224 OTU were common. In the root endophytic samples of *A. membranaceus*, the highest abundance of bacteria phylum was Proteobacteria, bacteria genus was *Pseudomonas*, and the highest abundance of bacteria phylum in rhizosphere soil samples was Acidobacteria, bacteria genus was *Sphingomonas*. The network complexity and stability of the bacteria community in the root were higher than those in the rhizosphere network, but the niche breadth of the bacteria in the rhizosphere was higher than that in the root. The formation of bacteria community in roots is more easily affected by random processes. Total nitrogen (TN), available nitrogen (AN), soil organic matter (SOM), urease (URE) and catalase (CAT) are the main factors affecting the composition and diversity of root bacteria community. **Conclusion** There are differences in the composition and diversity of root bacteria community of *A. membranaceus* in different areas, and the soil physics and chemistry has a great influence on the bacteria community, which provides a theoretical basis for the subsequent exploitation of rhizosphere bacterial resources and the improvement of quality.

Key words: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge; high-throughput sequencing; root bacteria; microbial diversity; soil physicochemical properties

收稿日期: 2024-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32160066); 兰州理工大学青年人才计划 (2018)

作者简介: 冷非凡, 男, 博士, 副教授, 研究方向为植物与微生物互作。E-mail: lff0928@sina.com

*通信作者: 王永刚, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事微生物与植物互作机制研究。E-mail: 412316788@163.com

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根^[1]。黄芪作为传统的中药,为甘肃种植的大宗药材^[2]。其活性成分有黄酮类、多糖类、皂苷类等,具有保肝利尿、补气固表等功效^[3]。因此,它被广泛用于各种疾病的治疗,也可作为许多药物的原材料。

植物相关微生物包括内源微生物群落和土壤微生物群落。众所周知,细菌群落和土壤是生态环境的重要组成部分^[4],它们在植物生长中都起着至关重要的作用。然而,植物相关细菌和土壤的理化性质对植物生长的影响仍不清楚,各种因素之间的相互作用还有待进一步研究^[5-6]。可以对微生物的种类组成、定殖和多样性进行研究,以分析微生物与土壤的关系。不同的土壤类型会影响植物产量和微生物群落。长期绿肥轮作可以显著改变水稻根际周围的群落结构,增加植物生长促进根际细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)的丰度^[7]。细菌群落组成和多样性在森林演替的 3 个阶段之间发生了显著变化^[8]。然而,也有研究得出了不同的结论。尽管内生细菌图谱在不同的采样地点有所不同,但它是植物因素驱动的^[9]。

因此,为探究哪些因素驱动微生物群落的种类组成和多样性,首次对甘肃 4 地黄芪的根系微生物组成及土壤环境因子之间的关系进行了研究,以了解土壤-微生物之间的相互作用。本研究采用高通量测序方法对黄芪根际和根内细菌进行了测序,通过对不同地区土壤理化性质的测定,研究微生物、土壤等环境因子对黄芪生长的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

植物和土壤样本采集自甘肃省定西市的陇西、渭源、漳县和岷县 4 个不同地点的黄芪种植基地。采集时间为 2016 年 5 月,经兰州理工大学生命科学与工程学院制药工程系杨林副教授鉴定为黄芪属植物蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao。

1.2 样品处理

采样时,每个样地随机选取 3 个样方(5 m×5 m),每个样方随机设置 3 个重复,则共采集黄芪根际土壤 9×4 份,根 9×4 份。采样时先采用抖落法抖落松散的土壤,收集与根系表面黏附性较强的土壤作为

根际土壤(距离根部 2.5 mm),最后收集根^[10]。将收集的样品放在无菌密封袋内,用冰袋保存运回实验室,并保藏在-20 ℃等待进一步分析。将每个样方的土壤混合作为一个复合样本,每个样方内的根混合作为一个混合样本。针对根际、根内 2 个处理,得到 8 组样本,即陇西根际、岷县根际、渭源根际、漳县根际、陇西根内、岷县根内、渭源根内、漳县根内,分别标记为 SLA、SMA、SWA、SZA、RLA、RMA、RWA、RZA。

2 方法

2.1 土壤理化分析

参考 Qi 等^[11]所描述的方法来确定土壤样品的化学性质,测定指标包括 pH 值、土壤有机质(soil organic matter, SOM)、全氮(total nitrogen, TN)、全磷(total phosphorus, TP)、全钾(total potassium, TK)、速效氮(available nitrogen, AN)、速效磷(available phosphorus, AP)、速效钾(available potassium, AK)、电导率(electrical conductivity, EC)、蛋白酶(protease, PRO)、尿酶(urease, URE)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和蔗糖酶(sucrase, SC)。

2.2 DNA 提取与 PCR 扩增

根据制造商的说明,使用 Power Soil® DNA 分离试剂盒(MP Biomedals, Solon, OH, 美国)从根部和土壤中提取总基因组 DNA。用通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增 16S rRNA 基因 V3~V4 区序列。聚合酶链式反应的总反应体积为 20 μL: 水 13.25 μL, 10×PCR *Ex Taq* Buffer 2.0 μL, DNA 模板(100 ng/mL) 0.5 μL, Primer 1(10 mmol/L) 1.0 μL, Primer 2(10 mmol/L) 1.0 μL, dNTPs 2.0 μL, *Ex Taq* DNA 聚合酶(5 U/mL) 0.25 μL。在 95 ℃ 预变性 5 min 后,95 ℃ 变性 30 s,58 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 6 s,共 35 个循环,然后在 72 ℃ 时终延伸 7 min。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳法纯化回收,委托北京百迈客生物科技有限公司进行文库构建和测序。

2.3 文库构建与生信分析

本研究中的生物信息学分析是在 Biomarker BioCloud 平台(<http://www.BioCloud.org>)中完成的。用 QIIME UCLUST^[12]模块对去噪后的序列进行聚类,相似度≥97%的标签被认为是 OTU(operational taxonomic unit)。通过搜索 Silva^[13]数据库(<http://www.arb-silva.de>),将分类分配给所有 OTU。

使用 Mothur 评估样本的 Alpha 多样性指数(Chao1、ACE、Shannon 和 Simpson) [14]。使用 QIIME[15]进行 Beta 多样性分析,比较不同样本物种多样性的相似性。

3 结果与分析

3.1 黄芪根际土壤的理化因子和酶活性

对不同地区黄芪根际土壤的理化性质和酶活性进行测定和分析,结果如表 1 所示,土壤的 5 个理化因子 (pH、AP、TP、TN、TK) 和 1 个酶活性

(CAT)差异不显著,理化性质差异主要表现在 EC、SOM、AN 和 AK 上,酶活性差异主要表现在 PRO、URE 和 SC。SMA 的土壤 EC 显著高于其余样本 ($P < 0.05$),达 300.43 $\mu\text{s}/\text{cm}$, SLA 的土壤 SOM 显著低于其余样本 ($P < 0.001$), SMA 的 AN 含量最高,达 161.1 mg/kg, SWA 的 AK 含量显著高于其余 3 地 ($P < 0.01$),达 408.93 mg/kg。土壤酶活性中, SZA 样本中的 URE 和 SC 活性显著高于其余样本 ($P < 0.05$)。

表 1 不同土壤样本理化指标 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Physical and chemical indexes of different soil samples ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

指标	SLA	SMA	SWA	SZA
EC/($\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$)	168.97 \pm 0.230b	300.43 \pm 99.531a	170.00 \pm 18.424b	154.63 \pm 50.251b
pH	7.61 \pm 0.170a	7.59 \pm 0.007a	7.65 \pm 0.028a	7.78 \pm 0.107a
SOM/%	1.87 \pm 0.614a	4.78 \pm 0.615b	5.14 \pm 0.301b	5.00 \pm 0.344b
AP/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	1.75 \pm 0.815b	3.27 \pm 3.533ab	7.16 \pm 1.681a	3.22 \pm 1.072ab
TP/%	0.13 \pm 0.176a	0.03 \pm 0.004a	0.05 \pm 0.014a	0.04 \pm 0.007a
TN/%	0.02 \pm 0.016a	0.008 \pm 0.005a	0.01 \pm 0.002a	0.018 \pm 0.001a
AN/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	87.22 \pm 7.654c	161.40 \pm 8.038a	131.25 \pm 16.386a	127.40 \pm 5.094b
TK/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	13.27 \pm 0.672a	12.39 \pm 1.185a	14.55 \pm 1.420a	14.58 \pm 1.859a
AK/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	310.89 \pm 60.769b	263.55 \pm 29.806b	408.93 \pm 59.063a	243.54 \pm 5.748b
PRO/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.06 \pm 0.001ab	0.00 \pm 0.002b	0.08 \pm 0.001a	0.04 \pm 0.025b
URE/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	3.85 \pm 1.188c	15.55 \pm 3.244b	16.94 \pm 6.123b	29.98 \pm 1.752a
CAT/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	1.00 \pm 0.042ab	0.90 \pm 0.078b	0.99 \pm 0.022ab	1.03 \pm 0.002a
SC/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	8.86 \pm 7.432b	12.12 \pm 6.117b	15.37 \pm 4.753b	29.98 \pm 1.430a

SLA-陇西黄芪根际土壤; SMA-岷县黄芪根际土壤; SWA-渭源黄芪根际土壤; SZA-漳县黄芪根际土壤; 同行中数值后面的不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 下表同。

SLA-A. *membranaceus* rhizosphere soil in Longxi County; SMA-A. *membranaceus* rhizosphere soil in Minxian County; SWA-A. *membranaceus* rhizosphere soil in Weiyuan County; SZA-A. *membranaceus* rhizosphere soil in Zhangxian County; Different lowercase letters after the values in the same row indicate significant differences $P < 0.05$; same as below.

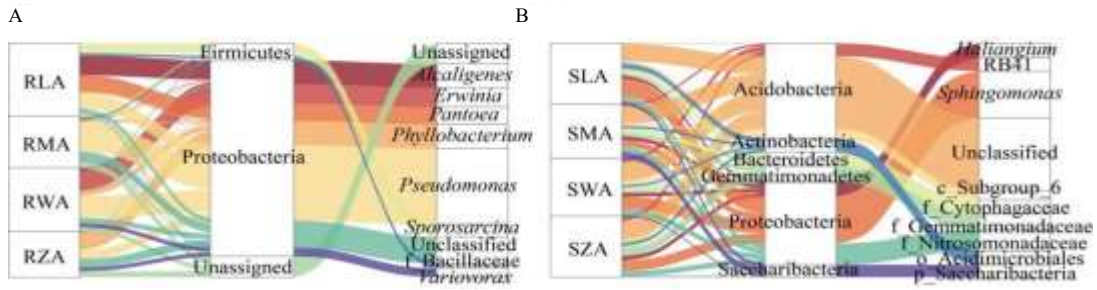
3.2 不同地区黄芪根系细菌群落组成

对 12 个黄芪根样品和 12 个根际土壤样品进行高通量测序,分别得到 5 769 711 和 907 204 对 reads,在 97%相似度水平下对 Tags 聚类,得到 OTU,并进行注释。结果显示(图 1),黄芪的根内生样本中丰度最高的细菌门为 Proteobacteria,其在 RLA、RMA、RWA、RZA 中的丰度分别为 69.14%、50.47%、71.10%和 47.44%,其次为 Firmicutes,丰度最高的细菌属为 *Pseudomonas*,其在 RLA、RMA、RWA、RZA 中的丰度分别为 18.58%、35.56%、27.00%和 10.64%。黄芪的根际土壤样本中丰度最高的细菌门为 Acidobacteria,其在 SLA、SMA、SWA、SZA 中的丰度分别为 15.39%、16.61%、20.69%和 20.63%,其次为 Proteobacteria,丰度最高的细菌属为 *Sphingomonas*,其在 SLA、SMA、SWA、SZA 中的丰度分别为 13.59%、4.93%、9.63%和 8.12%。

对不同样本的 OTU 进行 Venn 分析,结果显示(图 2-A、B)4 个地区的根样本中,共有 541 个 OTU, RLA 的特有 OTU 数仅为 13 个, RMA 的特有 OTU 数最多,为 235 个,4 个地区的根际土壤样本中,共有 OTU 数为 1 224。SWA 的特有 OTU 数仅为 2,包括 OTU 399 (*Arenibacter*) 和 OTU 881 (*Flavobacterium*)。对共有物种进行 Circos 分析,结果显示前 10 丰度的属水平物种在不同样本中的分布(图 2-C、D),根样本中丰度最高的共有属水平物种为 *Pseudomonas*,其在 RMA 中的比例最高,其次为 *Phyllobacterium* 在 RZA 中的比例最高,根际土壤样本中丰度最高的共有属水平物种为 *Sphingomonas*,其在 SLA 中的比例最高。

3.3 不同地区黄芪根系细菌多样性

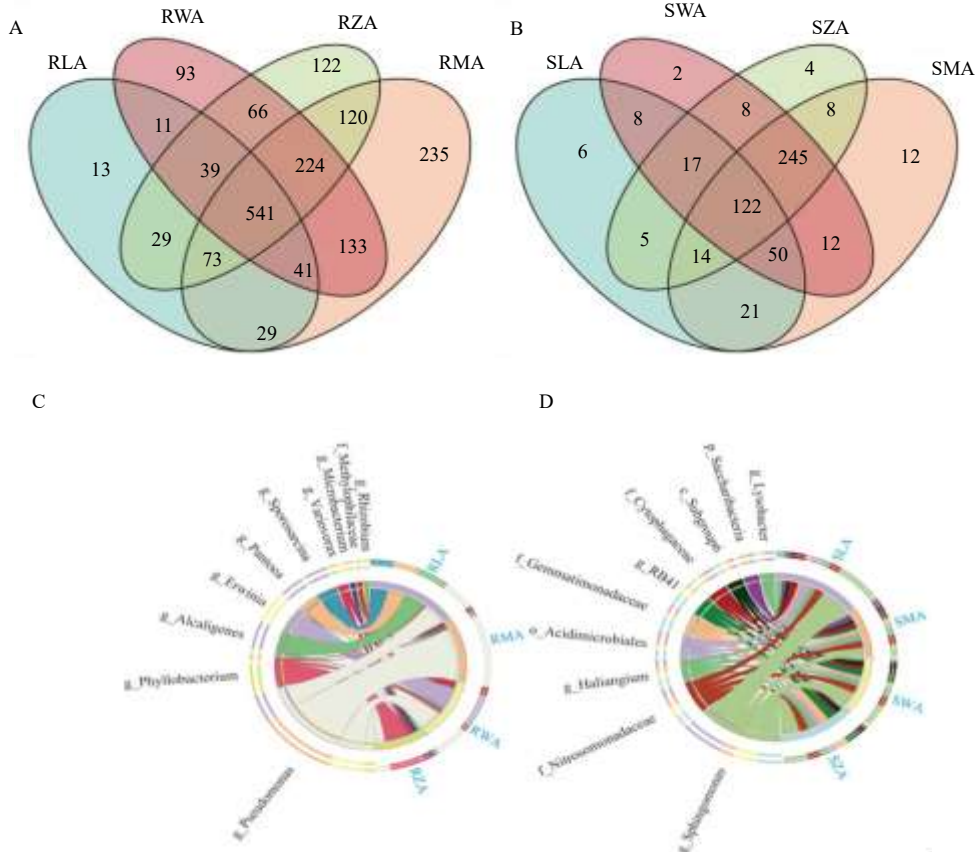
供试根样品和根际土壤的细菌 OTU、群落丰度指数 (ACE、Chao1) 和多样性指数 (Shannon、



A-根内生样本; B-根际土壤样本。
A-root endophytic samples; B-rhizosphere soil samples.

图 1 不同样本的门和属优势物种的分布

Fig. 1 Distribution of dominant species at phyla and genera level in different samples



A-根内细菌 Venn 图; B-根际土壤细菌 Venn 图; C-共有 OTU 在根内细菌中的分布; D-共有 OTU 在根际土壤细菌中的分布。
A-Venn diagram of root endophytic bacteria; B-Venn diagram of rhizosphere soil bacteria; C-distribution of common OTU in root endophytic bacteria; D-distribution of common OTU in rhizosphere soil bacteria.

图 2 不同样本的 OTU 分布

Fig. 2 OTU distribution of different samples

Simpson) 见表 2、3。在所有样本中, 根际土壤细菌的 Simpson 指数、根内生细菌的 Simpson 指数和 Shannon 指数无显著差异。根样本中, RMA 的 OTU、ACE 和 Chao1 指数最高, 表明该样本的物种数最高, RZA 的 Simpson 指数最低, 而 Shannon 指数最高, 表明该样本的群落多样性最高。同样, 在根际

土壤样本中, 发现 SMA 的物种数最高, SZA 的群落多样性最高。基于 Bray-Curtis 距离, 对不同地区黄芪的根和根际土壤样本进行 NMDS 分析(图 3), 分析结果表明, 不同地区的根内生细菌群落组成差异不显著 ($P>0.05$), 而根际土壤细菌群落组成具有显著差异 ($P<0.001$)。

表 2 根内生细菌 α 多样性

Table 2 Alpha diversity of bacteria in root endophytic samples

样本	RLA	RMA	RWA	RZA
OTU	422 ± 170b	805.00 ± 70a	691 ± 64a	739 ± 111a
ACE	516.81 ± 108.91b	852.68 ± 118.79a	705.59 ± 67.33ab	771.65 ± 128.15a
Chao1	509.00 ± 120.70b	852.30 ± 113.29a	718.46 ± 59.77a	779.64 ± 135.52a
Simpson	0.350 ± 0.10a	0.24 ± 0.34a	0.26 ± 0.20a	0.10 ± 0.09a
Shannon	1.81 ± 0.25a	3.20 ± 1.53a	2.76 ± 0.81a	3.72 ± 0.88a

表 3 根际土壤细菌 α 多样性

Table 3 Alpha diversity of bacteria in rhizosphere soil samples

样本	SLA	SMA	SWA	SZA
OTU	1 159 ± 83b	1 449.00 ± 24a	1 383 ± 95a	1 429 ± 19a
ACE	1 232.39 ± 86.76b	1 515.29 ± 36.38a	1 436.70 ± 73.51a	1 481.24 ± 8.05a
Chao1	1 251.23 ± 88.97b	1 544.63 ± 43.41a	1 457.29 ± 68.10a	1 508.43 ± 4.37a
Simpson	0.01 ± 0.00a	0.006 ± 0.000a	0.008 ± 0.000a	0.006 ± 0.000a
Shannon	5.75 ± 0.08b	6.17 ± 0.20a	6.13 ± 0.20a	6.21 ± 0.04a

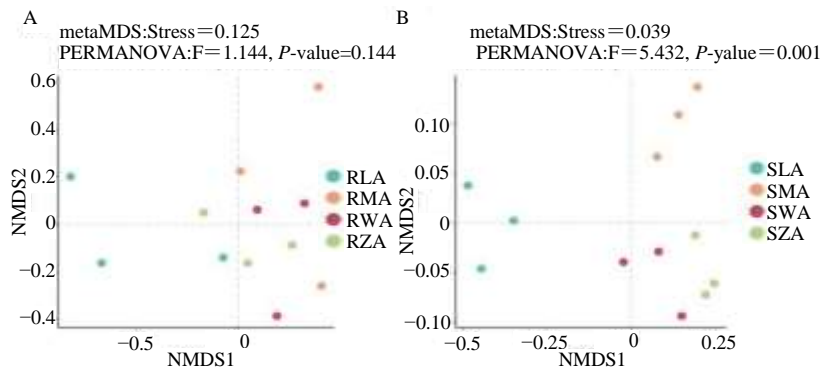


图 3 根内 (A) 和根际土壤 (B) 细菌 NMDS 分析

Fig. 3 NMDS analysis of bacteria in root endosphere (A) and rhizosphere soil (B)

3.4 不同地区黄芪根系细菌群落组装

基于随机矩阵理论分别对根内和根际土壤细菌构建分子生态网络，结果显示 2 个生态位的拓扑结构和网络有很大差异（表 4 和图 4）。总节点数在根内最低（94），根际土壤中最高（166），而总边数则在根内最高（498），根际土壤中最低（239）。根网络的平均程度和平均聚类系数最高，平均路径距离和模块化程度最低，表明其网络结构稳定，相关性强，分布集中，具有大量的共生类群。正相关在所有网络中占主导地位，但根际土壤网络中的负相关比例大于根网络。根和根际土壤网络中，大多数节点以 Proteobacteria 为主，而 Firmicutes 和 Chlorobi 较少。模块中心在根网络中仅以 Proteobacteria 为代表，在根际土壤网络中以 Actinobacteria 和 Nitrospirae 为代表。Proteobacteria、Acidobacteria 和 Bacteroidetes 在复杂的根际土壤网络中扮演连接点

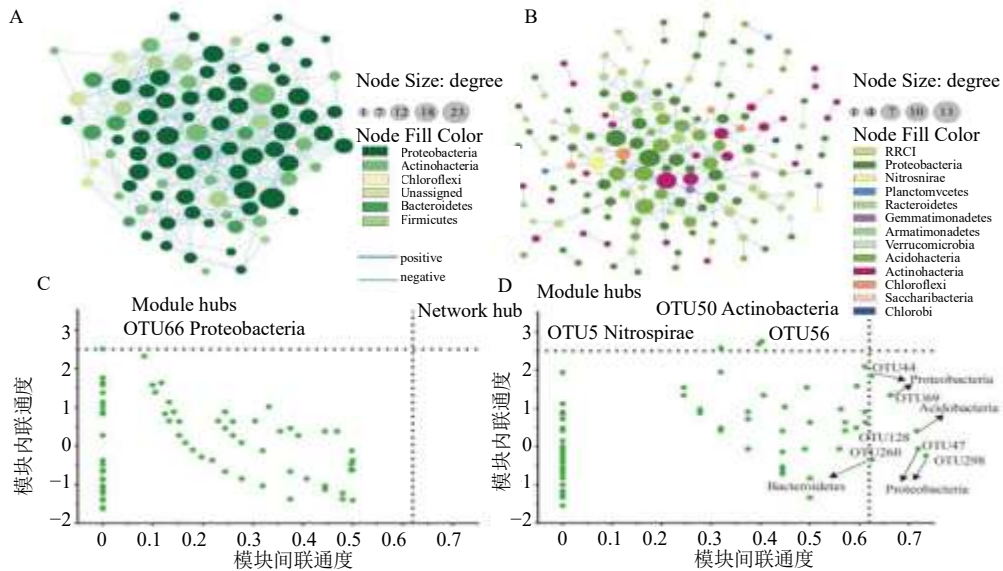
的角色，在不同的生态位还有各种不断变化的细菌分类群。

中性群落模型分别解释了根内和根际土壤 2 个生态位的细菌群落变化的 41.7% 和 19.1%（图 5-A、B），表明随机过程对根内细菌群落的形成的影响大于对根际土壤。细菌类群在根内 ($N_m=2\ 387$) 少于根际土壤 ($N_m=5\ 381$)，由于根样品的 OTU 数为 1 769，根际土壤样品的 OTU 数为 1 676，因此估计 m 值在根内为 1.35，在根际土壤中为 3.21，结果表明细菌群落的物种扩散在根内低于根际土壤。此外，本研究使用 OTUs，分别对 4 个地区黄芪的根内和根际土壤中的细菌的平均生态位宽度进行计算（图 5-C 和 D），结果显示同地区的根际土壤中的细菌平均生态位宽度高于根内细菌，而且陇西和漳县地区样本的细菌平均生态位宽度要高于其余地区样本的。

表 4 网络拓扑结构

Table 4 Network topology

生态	节点	连接	幂律拟合优度 (R^2)	平均程度	平均聚类系数	平均路径距离	模块化程度
根内	94	498	0.036	10.596	0.358	2.487	0.319
根际土壤	166	239	0.897	2.88	0.159	4.366	0.647

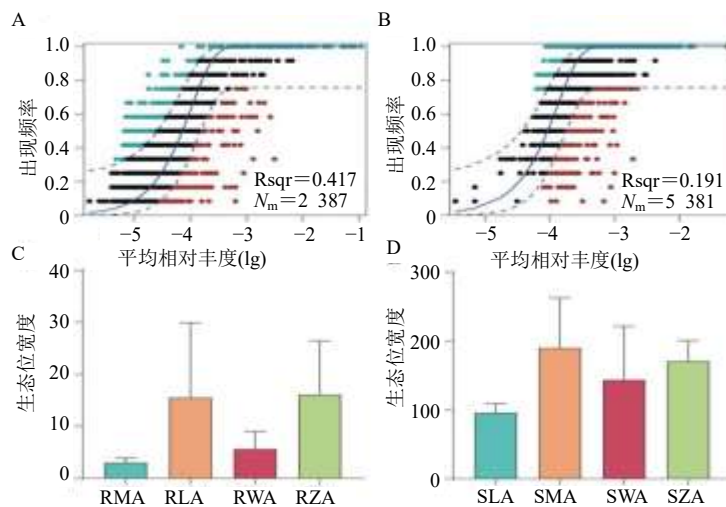


A-根内细菌共现网络; B-根际土壤细菌共现网络; C-根内细菌拓扑角色的 Z-P 图; D-根际土壤细菌拓扑角色的 Z-P 图。

A-co-occurrence network of root endophytic bacteria; B-co-occurrence network of rhizosphere soil bacteria; C-Z-P diagram of topological roles of root endophytic bacteria; D-Z-P diagram of topological roles of rhizosphere soil bacteria.

图 4 根内和根际土壤细菌的分子生态网络分析

Fig. 4 Molecular ecological network analysis of bacteria in root endosphere and rhizosphere soil



A-中性群落模型对根内细菌群落组装过程分析的拟合; B-中性群落模型对根际土壤细菌群落组装过程分析的拟合; C-根内细菌生态位宽度; D-根际土壤细菌生态位宽度。

A-fitting of root endophytic bacterial community assembly process analysis by neutral community model; B-fitting of rhizosphere soil bacterial community assembly process analysis by neutral community model; C-niche breadth of root endophytic bacteria; D-niche breadth of rhizosphere soil bacteria.

图 5 根内和根际土壤细菌群落组装和生态位宽度

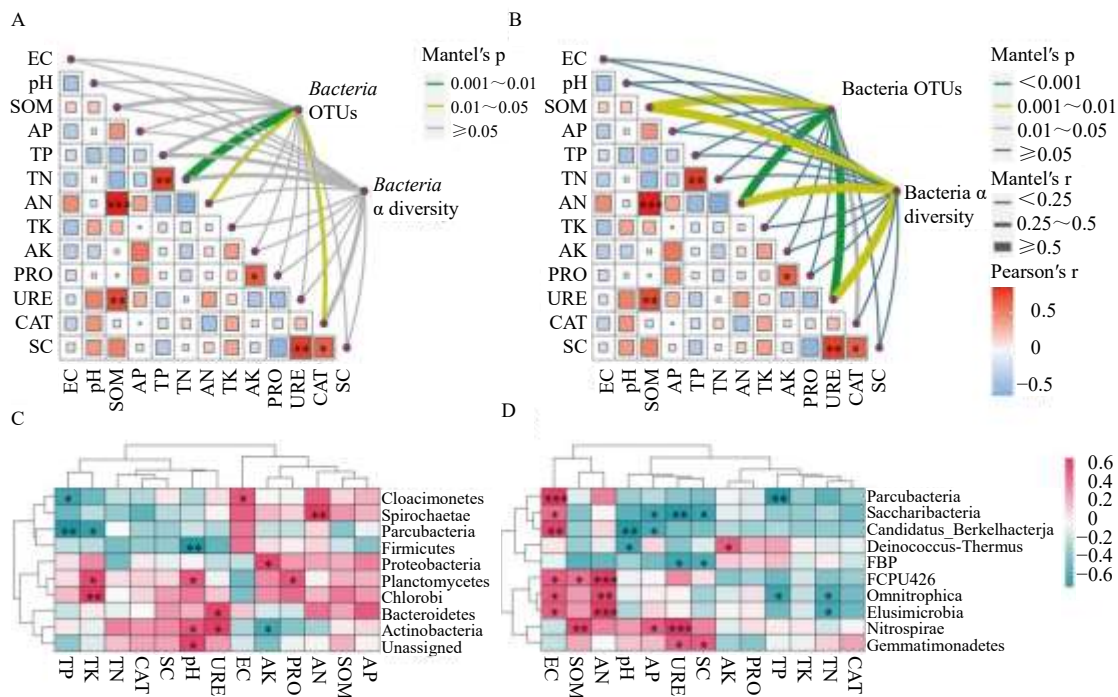
Fig. 5 Bacterial community assembly and niche breadth in root endosphere and rhizosphere soil

3.5 不同地区黄芪根系细菌与土壤环境因子相关性

基于 Mantel test 分析根际土壤理化因子分别与根内和根际土壤细菌之间的相关性 (图 6-A、B), 结果显示 TN 与 TP 呈显著负相关, SOM 与 AN 和 URE 呈显著正相关, SC 与 URE 和 CAT 呈显著正相关, 此外 TN、AN 和 CAT 与根内细菌丰度呈显著正相关, SOM、AN 和 URE 与根际土壤细菌丰度和多样性均呈显著正相关。选择门水平前 10 丰度的细菌物种, 探究其与根际土壤理化因子的相关性 (图 6-C、D), 结果显示根内细菌 Spirochaetae 与 AN 呈显著正相关 ($P < 0.01$), Chlorobi 与 TK 呈显著正相关 ($P < 0.01$), Parcubacteria 与 TP 呈显著负相关 ($P < 0.01$), Firmicutes 与 pH 呈显著负相关 ($P < 0.01$), 根际土壤细菌 *Omnitrophica* 和 *Elusimicrobia* 与 AN 呈显著正相关 ($P < 0.01$), Nitrospirae 与 SOM 和 URE 呈显著正相关 ($P < 0.01$), Saccharibacteria 与 URE 呈显著负相关。而后基于物种丰度的距离与上述显著理化因子进行相关性分析 (图 7), 结果显示 TN 与根内细菌丰度的距离的相关性最强, AN 与根际土壤细菌丰度的距离的相关性最强。

4 讨论

研究表明, 植物根际作为一个动态环境, 土壤理化和植物种类决定作物根系的微生物群落结构, 同时根系微生物之间相互制约、彼此依赖, 与周围环境因子相互作用^[16-17]。土壤理化性质表明农业土壤的健康状况。本研究结果表明, 不同地区的黄芪根际土壤理化性质差异主要表现在 EC、SOM、AN 和 AK, 酶活性差异主要表现在 PRO、URE 和 SC。EC 和 AN 是影响土壤氮素矿化和硝化作用的主要因素^[18], 本研究结果显示他们之间呈正相关, 这可能也是 SMA 的 EC 和 AN 含量较高的原因。土壤酶主要由土壤微生物和植物根系产生^[19], SZA 的酶活性普遍高于其他地区样本, 可能与其较高的微生物丰度和群落多样性有关, 先前研究表明, 土壤酶活性受根系直接作用 (分泌外源酶) 和间接作用 (影响根际微生物群落) 的影响^[20]。此外, 微生物数量的增加, 加速土壤有机质的腐殖, 增强微生物对碳氮的利用, 导致土壤中碳氮含量减少, 进而限制土壤中 PRO、URE 和 SC 等的酶活性^[21]。SMA 土壤的 pH 最低, 可能与其中较高含量的氮元素有关, 有研究表明施氮处理显著降低了土壤的酸碱度^[22]。



A、C-根内细菌; B、D-根际土壤细菌。
A,C-root endophytic bacteria; B, D-rhizosphere soil bacteria.

图 6 细菌组成与根际土壤环境因子的相关性

Fig. 6 Correlation between bacteria composition and rhizosphere soil environmental factors

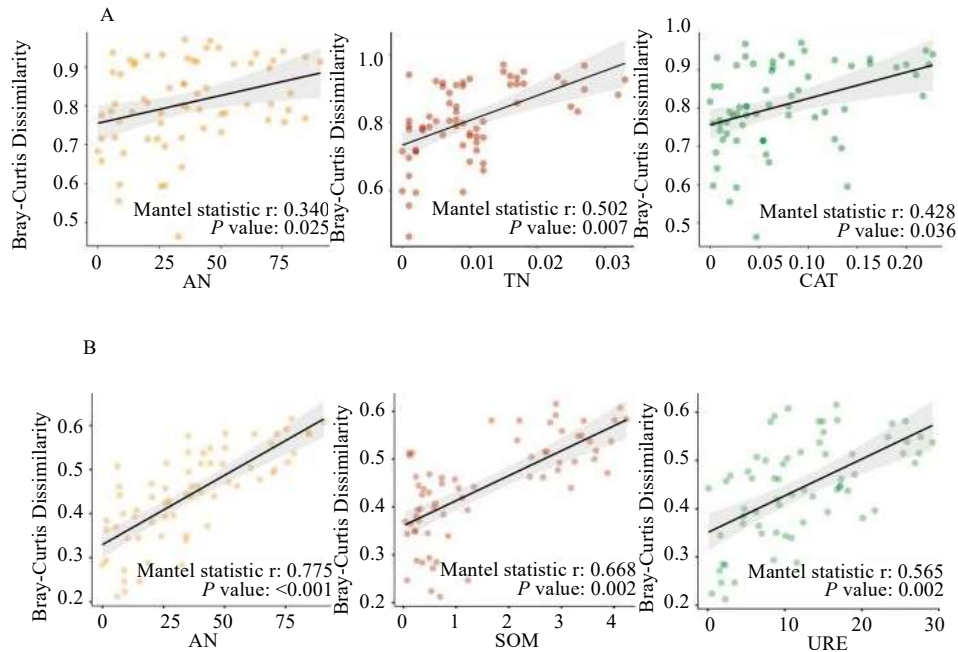


图7 根内 (A) 与根际土壤细菌 (B) 组成与关键环境因子的相关性

Fig. 7 Correlation between bacteria composition and key environmental factors of root (A) endosphere and rhizosphere soil (B)

SMA 土壤中 SOM 含量较高, 可能与其变形菌门物种丰度较高有关, 有研究表明, 变形菌门偏好在养分含量高的土壤环境中生存, 且与土壤有机质和全氮含量有关^[16]。SWA 的氮磷钾含量相对高于其他地区样本, 尤其是 AK 含量在 4 个地区的样本中最高, 可能与其较高的有机质含量有关, 有机质为植物提供了土壤代谢能力和养分循环变化的指标^[23], 并与土壤微生物丰度和群落组成有关^[24]。

有研究表明主要微生物的相对丰度分布在根际土壤和植物中是十分相似的^[25], 根际微生物的群落结构变异明显低于植物内生微生物群落^[26]。本研究发现根际土壤的优势微生物几乎包含全部的黄芪内生菌群的优势物种, 而且根际土壤中菌群的多样性和丰富度多于植物内生菌群。Yuan 等^[27]发现根际土壤中 OTUs 显著多于根内的, 2 个生态位微生物菌群通过影响养分吸收和胁迫耐受性显著影响植物生长发育。还有报道表明从根内到根际土壤, 微生物的丰富度和多样性逐渐增加, 并且根内的微生物密度普遍低于根际土壤^[28]。可能是由于根际产生的生物活性代谢物对土壤微生物群落产生更显著的影响^[29], 导致根际菌群丰富度和多样性的差异。本研究结果显示在门水平, 黄芪根际土壤和内生菌群共有细菌优势物种为 Proteobacteria, 这类细菌可

以利用根际土壤中的碳源与黄芪形成共生关系, 促进黄芪的生长^[30]。先前有研究表明, 对 9 种不同植物的土壤微生物进行测序, 结果发现其根际优势微生物菌群为 Proteobacteria, 而同一科植物表现出相似的微生物组成^[31]。属水平的黄芪根内优势细菌为 *Pseudomonas*, 有研究报道其为三七根腐病的主要病原菌属^[32], 这可能会造成后期黄芪根腐病害。根际土壤优势细菌为 *Sphingomonas*, 其能够提高植物抗逆性, 被视为植物益生菌^[33]。这些根际微生物可能影响黄芪生命活动和调节土壤养分, 进而影响黄芪活性成分的含量, 改变黄芪产量和品质^[2]。

共现网络可以探索生态过程的作用和在塑造土壤菌群中的历史影响并解释整体共现模式^[34]。通过随机矩阵理论构建分子生态网络, 结果发现根际土壤细菌群落的总节点和总边数高于根内细菌群落, 尤其是正相关边数, 说明根际土壤细菌群落之间有更强的协同关系。先前研究表明, 具有较高平均聚类系数和平均度, 较短的平均路径长度的复杂网络比简单网络更具有稳定性和生态抗性^[35], 这在本研究中根内细菌网络表现得更为明显。随机组装过程在低多样性群落中占主导地位, 其导致了更高的网络复杂性, 具有更多的物种竞争, 从而降低了系统发育多样性^[36]。

土壤理化性质与植物根系微生物群落结构和植物生长密切相关。本研究结果显示,氮元素对黄芪根际土壤和根内生细菌群落组成和多样性影响显著,先前研究表明氮元素驱动果园根际土壤丰富和稀有细菌群落的结构和组成^[37]。*Elusimicrobia* 和 *Nitrospirae* 作为稀有细菌,在促进林地土壤养分循环和多功能性方面有着重要作用^[38],在本研究中其与氮和有机质含量呈正相关。氮和磷的有效性将影响土壤本身和根部细菌共生体的出现,一些研究发现,高粱在低氮胁迫下会招募特定细菌物种来降低群落多样性^[39],这与本研究结果相似。*Chlorobi*、*Nitrospirae* 和 *Planctomycetes* 属于低营养群,它们在营养不良的条件下生长速度较慢^[40]。本研究显示 *Chlorobi* 和 *Planctomycetes* 与 TK 呈显著正相关, *Nitrospirae* 与 SOM 呈显著正相关,这与 Yang 等^[41]在与互花米草相关的研究中有相似的结果。*Actinobacteria* 与 URE 呈显著正相关,有研究表明, *Proteobacteria* 和 *Actinobacteria* 通过产生抗生素、生长调节剂和水解酶等活性物质,有效调节土壤微生物区系,改善土壤环境,诱导植物产生抗性,以达到控制植物病害,提高产量的作用^[42]。综上,本研究对不同地区黄芪的根系微生物和土壤理化性质差异进行分析,揭示了显著影响黄芪根系微生物的土壤环境因子,为后续研究黄芪根系促生菌群提供理论基础,以提高其药用价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 123.
- [2] 牟建平, 滕宝霞, 史中飞, 等. 基于高通量测序考察甘肃黄芪种植区根际土壤微生物群落结构及多样性 [J]. 中国野生植物资源, 2022, 41(3): 15-24.
- [3] 姜辉, 顾胜龙, 张玉婷, 等. 黄芪化学成分和药理作用研究进展 [J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(5): 93-96.
- [4] 刘诗蓉, 王红兰, 孙辉, 等. 半夏连作对根际土壤微生物群落的影响研究 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1148-1155.
- [5] Hamonts K, Bissett A, MacDonald B C T, et al. Effects of ecological restoration on soil microbial diversity in a temperate grassy woodland [J]. *Appl Soil Ecol*, 2017, 117/118: 117-128.
- [6] Hamel C, Gan Y T, Sokolski S, et al. High frequency cropping of pulses modifies soil nitrogen level and the rhizosphere bacterial microbiome in 4-year rotation systems of the semiarid prairie [J]. *Appl Soil Ecol*, 2018, 126: 47-56.
- [7] Zhang X X, Zhang R J, Gao J S, et al. Thirty-one years of rice-rice-green manure rotations shape the rhizosphere microbial community and enrich beneficial bacteria [J]. *Soil Biol Biochem*, 2017, 104: 208-217.
- [8] Cai Z, Zhang Y H, Yang C, et al. Land-use type strongly shapes community composition, but not always diversity of soil microbes in tropical China [J]. *Catena*, 2018, 165: 369-380.
- [9] Mitter E K, de Freitas J R, Germida J J. Bacterial root microbiome of plants growing in oil sands reclamation covers [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 849.
- [10] Dong Y M, Gao M L, Qiu W W, et al. Effect of microplastics and arsenic on nutrients and microorganisms in rice rhizosphere soil [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 211: 111899.
- [11] Qi Y B, Chen T, Pu J, et al. Response of soil physical, chemical and microbial biomass properties to land use changes in fixed desertified land [J]. *Catena*, 2018, 160: 339-344.
- [12] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [13] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: D590-D596.
- [14] 曾广娟, 冯阳, 吴舒, 等. 基于高通量测序的有机种植蔬菜地土壤微生物多样性分析 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(9): 2403-2414.
- [15] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nat Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [16] 洗康华, 苏江, 付传明, 等. 不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2087-2098.
- [17] 韩雨潼, 岳增良, 张国印, 等. 不同种植年限羊肚菌根际土壤真菌多样性及代谢通路 [J]. 江苏农业科学, 2023, 51(3): 212-218.
- [18] 黄容, 谢一平, 陈玉蓝, 等. 水分条件对不同类型土壤氮矿化及酶活性的影响 [J]. 土壤, 2022, 54(5): 950-957.
- [19] Gianfreda L. Enzymes of importance to rhizosphere processes [J]. *J Soil Sci Plant Nutr*, 2015, 23: 356.
- [20] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, et al. Ecoenzymatic stoichiometry and microbial nutrient limitation in rhizosphere soil in the arid area of the northern Loess Plateau, China [J]. *Soil Biol Biochem*, 2018, 116: 11-21.

- [21] 邢学霞, 付迪, 黎建强, 等. 凋落物输入变化对云南松林土壤微生物数量和酶活性的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2023, 51(3): 62-70.
- [22] 贺佩, 李悦, 江明兢, 等. 连续氮添加14年对温带典型草原土壤碳氮组分及物理结构的影响 [J]. 生态学报, 2021, 41(5): 1808-1823.
- [23] Saha S, Prakash V, Kundu S, *et al.* Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean-wheat system in N-W Himalaya [J]. *Eur J Soil Biol*, 2008, 44(3): 309-315.
- [24] An S S, Huang Y M, Zheng F L. Evaluation of soil microbial indices along a revegetation chronosequence in grassland soils on the Loess Plateau, Northwest China [J]. *Appl Soil Ecol*, 2009, 41(3): 286-292.
- [25] Trivedi P, Leach J E, Tringe S G, *et al.* Plant-microbiome interactions: From community assembly to plant health [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18(11): 607-621.
- [26] Beckers B, De Beeck M O, Weyens N, *et al.* Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees [J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 25.
- [27] Yuan Z S, Liu F, He S B, *et al.* Community structure and diversity characteristics of rhizosphere and root endophytic bacterial community in different *Acacia* species [J]. *PLoS One*, 2022, 17(1): e0262909.
- [28] Yamamoto K, Shiwa Y, Ishige T, *et al.* Bacterial diversity associated with the rhizosphere and endosphere of two halophytes: *Glaux maritima* and *Salicornia europaea* [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2878.
- [29] Bi B Y, Wang K, Zhang H, *et al.* Plants use rhizosphere metabolites to regulate soil microbial diversity [J]. *Land Degrad Dev*, 2021, 32(18): 5267-5280.
- [30] 李冰圳, 李国斌, 苏优拉, 等. 蒙古黄芪不同生育期黄酮类成分积累及其根际微生物多样性研究 [J]. 西北植物学报, 2020, 40(05): 828-837.
- [31] 杜滢鑫, 谢宝明, 蔡洪生, 等. 大庆盐碱地九种植物根际土壤微生物群落结构及功能多样性 [J]. 生态学报, 2016, 36(3): 740-747.
- [32] 缪作清, 李世东, 刘杏忠, 等. 三七根腐病原研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1371-1378.
- [33] 陈冬梅, 柯文辉, 陈兰兰, 等. 连作对白肋烟根际土壤细菌群落多样性的影响 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(7): 1751-1758.
- [34] Banerjee S, Baah-Acheamfour M, Carlyle C N, *et al.* Determinants of bacterial communities in Canadian agroforestry systems [J]. *Environ Microbiol*, 2016, 18(6): 1805-1816.
- [35] Gao D M, An D M, Liu J Y, *et al.* Wheat cover crop alters soil microbial community and increases cucumber yield under different potassium regimes [J]. *Eur J Agron*, 2022, 139: 126567.
- [36] Jiao S, Chen W M, Wei G H. Linking phylogenetic niche conservatism to soil archaeal biogeography, community assembly and species coexistence [J]. *Glob Ecol Biogeogr*, 2021, 30(7): 1488-1501.
- [37] Zhao Z Y, Ma Y T, Feng T Y, *et al.* Assembly processes of abundant and rare microbial communities in orchard soil under a cover crop at different periods [J]. *Geoderma*, 2022, 406: 115543.
- [38] Xu H D, Yu M K, Cheng X R. Abundant fungal and rare bacterial taxa jointly reveal soil nutrient cycling and multifunctionality in uneven-aged mixed plantations [J]. *Ecol Indic*, 2021, 129: 107932.
- [39] Wu A L, Jiao X Y, Wang J S, *et al.* *Sorghum* rhizosphere effects reduced soil bacterial diversity by recruiting specific bacterial species under low nitrogen stress [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 770: 144742.
- [40] Nie Y X, Wang M C, Zhang W, *et al.* Ammonium nitrogen content is a dominant predictor of bacterial community composition in an acidic forest soil with exogenous nitrogen enrichment [J]. *Sci Total Environ*, 2018, 624: 407-415.
- [41] Yang W, Jeelani N, Zhu Z H, *et al.* Alterations in soil bacterial community in relation to *Spartina alterniflora* Loisel. invasion chronosequence in the eastern Chinese coastal wetlands [J]. *Appl Soil Ecol*, 2019, 135: 38-43.
- [42] 王勇, 何舒, 熊冰杰, 等. 不同栽培模式对人参根际土壤微生物多样性的影响研究 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5303-5310.

[责任编辑 时圣明]