

西山产柴胡根际细菌的分离与鉴定

郭 权^{1,2}, 王 艳^{1,2}, 范北笙¹, 吕蕊花⁴, 冯 昭⁴, 焦红红^{3,5}, 张 岗^{1,2,3}, 李依民^{1,2,3*}

1. 陕西中医药大学药学院/陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046
2. 陕西中医药大学 陕西省中医药管理局“秦药”研发重点实验室, 陕西 西安 712046
3. 陕西中医药大学 省部共建特色秦药资源研究开发国家重点实验室, 陕西 咸阳 712083
4. 陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 西安 712046
5. 陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 陕西 西安 712046

摘 要: **目的** 揭示道地产区宝鸡西山产柴胡 *Bupleurum chinense* 植物根际土壤细菌的群落结构和多样性, 为解析西山产柴胡的道地性和生态种植提供一定理论基础。**方法** 采用 16S rDNA 微生物扩增子测序初步确定根际细菌的群落组成, 利用稀释分离法对根际土进行分离纯化并提取细菌 DNA 进行分子鉴定。**结果** 16S rDNA 微生物扩增子测序结果显示样品质量总体良好。属水平上丰度前 10 的分别是盖亚女神菌属 *Gaiella*、未命名蓝细菌属 *unidentified_Cyanobacteria*、海无柄孢囊黏细菌属 *Haliangium*、土壤红杆菌属 *Solirubrobacter*、假节杆菌属 *Pseudarthrobacter*、出芽菌属 *Gemmata*、芽生球菌属 *Blastococcus*、类诺卡氏菌属 *Nocardioideis*、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*、芽单苞菌属 *Gemmatimonas*, 除土壤红杆菌属外其余均属于有益菌。代谢通路预测结果显示分布于 6 大类: Cellular Processes、Environmental Information Processes、Genetic information processe、Human disease、Metabolism、Organismal-system。共分离到 16 株根际细菌, 鉴定后发现均属于芽孢杆菌属, 可鉴定到种水平的有漳州芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、沙福芽孢杆菌和嗜气芽胞杆菌 4 种。**结论** 阐明了西山产柴胡根际细菌群落的组成情况, 物种丰富度较高且个体分布也相对均匀。在属水平上丰度排名前 10 的多数为有益菌, 并且成功分离得到 16 株芽孢杆菌属细菌, 可为西山柴胡的生态种植提供理论基础。

关键词: 柴胡; 根际细菌; 16S rDNA; 扩增子测序; 细菌群落

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2025)08 - 2936 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.027

Isolation and characterization of rhizosphere bacteria of *Bupleurum chinense* produced in Xishan

GUO Quan^{1,2}, WANG Yan^{1,2}, FAN Beisheng¹, LYU Ruihua⁴, FENG Zhao⁴, JIAO Honghong^{3,5}, ZHANG Gang^{1,2,3}, LI Yimin^{1,2,3}

1. Engineering Research Center for Application and Development of Chinese Herbal Medicines in Qinling, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China
2. Key Laboratory for Research and Development of "Qin Medicine" of Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China
3. State Key Laboratory of Research and Development of Characteristic Qin Medicine Resources, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China
4. College of Medical Technology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China
5. Provincial and Ministerial Co-construction Collaborative Innovation Center of Shaanxi Traditional Chinese Medicine Resource Industrialization, Xi'an 712046, China

收稿日期: 2024-10-01

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2022SF-542); 咸阳市重点研发计划 (L2023-ZDYF-SF-017); 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (L2024-QCY-ZYYJJQ-X49); 陕西中医药大学科技创新团队项目 (2019-QN01)

作者简介: 郭 权, 男, 硕士, 从事中药资源与分子生药学研究。E-mail: 13484626838@163.com

*通信作者: 李依民, 女, 副教授, 从事中药资源与分子生药学研究。E-mail: 2051058@sntcm.edu.cn

Abstract: Objective To elucidate the community structure and diversity of soil bacteria in the rhizosphere zone of *Bupleurum chinense* in Xishan region of Baoji City, aiming to establish a theoretical foundation for the ecological cultivation of *B. chinense*. **Methods** 16S rDNA microbial amplicon sequencing was initially employed to preliminarily ascertain the community composition of rhizosphere bacteria, the dilution isolation method was used for the isolation and purification of inter-root soil and followed by the subsequent extraction of bacterial DNA for molecular identification. **Results** The sequencing of 16S rDNA microbial amplicons demonstrated consistently high sample quality. The top ten most abundant genera at the genus level were *Gaiella*, *unidentified_Cyanobacteria*, *Haliangium*, *Solirubrobacter*, *Pseudarthrobacter*, *Gemmata*, *Blastococcus*, *Nocardioides*, *Sphingomonas* and *Gemmatimonas*. All of these genera were beneficial except for *Solirubrobacter*. Metabolic pathway predictions exhibited distribution across six categories: Cellular processes, Environmental information processes, Genetic information processes, Human disease, Metabolism, and Organismal-system. In total, 16 rhizosphere bacterial strains were isolated and identified as members of the genus *Bacillus*. Among them, four species could be classified at the species level including *B. zhangzhouensis*, *B. shortus*, *B. schoenophorus* and *B. aerophilus*. **Conclusion** The present study provides a comprehensive characterization of the rhizosphere bacterial community in Xishan region, which exhibits high species richness and relatively homogeneous individual fractions. Moreover, a majority of the top ten genera in terms of abundance were identified as beneficial bacteria. Additionally, 16 strains belonging to the *Bacillus* genus were successfully isolated, thereby establishing a theoretical foundation for the ecologically cultivation practices in Xishan region. **Key words:** *Bupleurum chinense* DC.; rhizosphere bacteria; 16S rDNA; amplicon sequencing; bacterial community

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC.及狭叶柴胡 *B. scorzonrifolium* Willd.的干燥根,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气的功效^[1]。柴胡以“茈胡”首载于《神农本草经》列为上品^[2]。研究表明柴胡主要含有皂苷、挥发油、黄酮、多糖及炔类等化学成分,具有解热、抗肿瘤、抗炎、抗抑郁、免疫调节及保肝护肝等药理作用^[3-4]。

陕西自古以来就是柴胡的主产区以及道地产区,《图经本草》^[5]中记载:“柴胡,生弘农山谷及冤句。今关陕、江湖间近道皆有之,以银州者为胜”,其中关陕就是今陕西地区。陕西省宝鸡市陈仓区生产的柴胡,俗称“西山柴胡”,品质好,被评为“十大秦药”之一^[6],2024年西山柴胡被国家知识产权局认定为国家地理标志保护产品。柴胡作为多年生药材,根腐病已经成为影响柴胡品质的重要因素,严重影响柴胡产业的健康发展^[7]。已知根腐病由病原真菌镰刀菌导致,而土壤中常具有可拮抗病原真菌的有益细菌,这些有益细菌成为生物防治的物质基础。因此了解西山柴胡根际土壤细菌群落组成,分离鉴定出有益细菌对柴胡产业的高质量发展具有重要意义。

根际微生物被称为植物的第2基因组,能在进化过程中与植物形成功能丰富的共生体^[8]。植物与根际微生物通常是相互作用的,植物的根际分泌物可重塑微生物群落^[9],也可改变根际微生物的多样性根际微生物^[10]。药用植物通过根系分泌向周围环境释放多糖、氨基酸、有机酸、酚酸、皂苷

等化感物质,这些物质作为信号分子或营养物质,影响土壤微生物在药用植物根际定殖^[11]。黄酮类化合物可优先吸引气单胞菌 H1,而气单胞菌 H1 可增强植物的脱水抗性^[12]。西洋参根系分泌物中的皂苷类成分可以显著抑制立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*、茄病镰刀菌 *Fusarium solani*、尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 和毁灭柱孢菌 *Cylindrocarpon destructans* 西洋参病原菌的生长^[13]。接种丛枝菌根真菌 (*Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, AMF) 对甘草、麦冬的生长发育均有不同程度的促进作用^[14-15]。接种根际促生菌有助于提高藏红花的产量和品质^[16]。根际微生物对植物的影响是多方面的,可通过多种方式参与药用植物的生长发育、代谢过程及活性成分的积累,从而在药用植物的养分吸收和利用、土传病害防治、非生物胁迫应激等方面起至关重要的作用^[17-18]。张小霞等^[19]从怪柳根际土壤中筛选出一株细菌菌株 *Bachu* 26,其对植物幼苗具有显著的耐盐碱促生效果。关雪梅等^[20]从人参根际土壤中分离鉴定出 17 株具有溶磷、固氮等生物功能的根际细菌,这些菌株可促进人参的生长发育,具有潜在的应用价值。本研究以西山柴胡根际土壤为实验材料,分离根际细菌,通过分子生物学技术对部分细菌进行鉴定,为筛选柴胡根际促生细菌奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

柴胡根际土壤样品于 2023 年 11 月采集于

陕西省宝鸡市陈仓区西山拓石镇柴胡种植基地，种植的柴胡由陕西中医药大学药学院王继涛高级实验师鉴定为两年生柴胡 *B. chinense* DC.。采用五点取样法，将土壤整块挖出，抖落松散土壤，收集紧密附着于柴胡根表面土壤，采集通过 20 目筛以去除杂质。筛选后的土壤样本被重新混合分装至 4 支无菌试管中，得到 4 个生物学重复，液氮速冻后 -80 °C 进行冷冻保存，供后续研究使用。

1.2 仪器

HFsafe-1200-LC 型生物安全柜（上海力申有限公司）；K5800 型自动检测超微量分光光度计（北京凯奥科技发展有限公司）；SPX-250-GB 型智能光照培养箱（上海跃进有限公司）；ZOPW-70 型全温振荡培养箱（天津博莱特仪器设备有限公司）；BIO.KONT 型革兰染色液（深圳康泰生物制品股份有限公司）；DNA 提取试剂盒（山东思科捷生物技术有限公司）。

2 方法

2.1 根际土壤微生物 DNA 提取、测序及数据处理

采用 CTAB 法提取细菌基因组 DNA，琼脂糖凝胶电泳鉴定纯度和浓度。用无菌水将样品 DNA 稀释至 1 ng/μL。随后，将稀释后的基因组 DNA 作为模板，用 16S V4 区引物（515F 和 806R）进行 PCR 扩增。采用新英格兰生物实验室（New England Biolabs）Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix、GC 缓冲液和高效酶进行 PCR，以确保准确扩增。PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶上进行电泳分析，合格 PCR 产物经磁珠纯化，酶标定量。将等浓度的 PCR 产物混合后进行琼脂糖凝胶电泳，采用 Qiagen 公司的凝胶回收试剂盒回收目的条带。文库使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 制备，并使用 Qubit 和 qRT-PCR 进行定量。通过文库鉴定后，使用 Nova Seq 6000 进行机器测序。

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据，截去 Barcode 和引物序列。使用 fastp（v0.22.0，<https://github.com/OpenGene/fastp>）对原始 reads 进行过滤得到高质量 reads，过滤方法为自动检测并去除接头序列；去除 N 碱基数量为 15 或以上的 reads；去除低质量碱基（质量值 ≤ 20）占比超过 50% 的 reads；4 碱基窗口区间内平均质量 20 的删除；删除尾部

的 polyG；删除长度低于 150 bp 的 reads。高质量双端 reads 再使用 FLASH（v1.2.11，<http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>）拼接，得到高质量的 Tags 数据（Clean Tags）。Tags 序列通过 vsearch（v2.22.1，<https://github.com/torognes/vsearch/>）与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列，并最终去除其中的嵌合体序列，得到最终的有效数据（Effective Tags）对 ASV 序列进行物种注释，用 Mothur（v1.48）方法与 SILVA138.1（<http://www.arb-silva.de/>）的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析（设定阈值为 0.8~1.0），获得分类学信息并分别在门（phylum）和属（genus）分类水平统计各样本的群落组成。使用 MAFFT（v7.520，<https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>）软件进行快速多序列比对，得到所有扩增子序列变体（amplicon sequence variant，ASV）系统发生关系。最后以样本中数据量最少的为标准进行均一化处理。

2.2 根际细菌的分离与形态学鉴定

精确称取 1 g 柴胡根际土壤，无菌水定容至 100 mL，于 28 °C、150 r/min 的条件充分震荡 15~20 min 后静置 5 min 备用。根际土壤液按 10 倍梯度稀释分别为 1.0、0.1、0.01 mg/mL，吸取 100 μL 稀释液于 Luria-Bertani（LB）培养基上，涂抹均匀，于 28 °C 培养箱中培养 3~5 d，观察菌落形态。将上述菌落形态各不相同的菌株，挑出单菌落，分别划线于 LB 培养基中，28 °C 下培养 24 h。分别划线并重复操作 3 次以上，挑选出形态明显且长势良好的单菌落，采用三区划线法进行平板划线纯化，最后用 25% 甘油保藏法进行菌种保藏，用于后续的分子生物学鉴定。

2.3 根际细菌的分子鉴定

DNA 提取采用 Plant DNA kit 试剂盒（TIANGEN 公司，中国），按照说明书操作。16S rDNA 的 PCR 扩增使用通用引物（27-F：AGAG-TTTGATCCTGGCTCAG；1492-R：GGTTACCT-TGTTACGACTT）。反应体系 20 μL：包括 10 μL TB Green® Premix Ex Taq™ II（Tli RNaseH Plus）（2×）、Forward/Reverse Primer 各 1 μL、2 μL DNA 模板、6 μL ddH₂O。PCR 扩增条件：94 °C 预变性 3 min；94 °C 变性 6 s，52 °C 退火 15 s，72 °C 延伸 30 s，35 循环；72 °C 延伸 10 min。

将 PCR 产物送往上海生工生物工程股份有

限公司测序。将细菌的 16S rDNA 全长序列与 NCBI 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 的细菌的 16S rDNA 序列进行比对, 进行分子鉴定。从 NCBI 数据库 (www.ncbi.nlm.nih.gov) 中检索相关菌株的 16S rDNA 序列, 并使用 ClustalX 1.81 程序进行比对。

3 结果与分析

3.1 样品测序

根际土壤微生物样品原始测序的双端 reads 分别有 60 817、106 755、106 660、97 870 条, 过滤嵌合体后, 最终用于后续分析的 Tags 序列分别有 50 522、85 504、77 094、76 441 条, 其中最长的有效序列为 435, 最短的为 163, 平均长度为 253。有效序列中 GC 碱基的含量在 58.32%~58.49%。样品质量总体良好, 适合进

行后续的生物信息学分析, 见表 1。

3.2 样本 α 多样性分析

α 多样性是指一个特定区域或生态系统内的多样性, 是反映丰富度和均匀度的综合指标。 α 多样性主要与 2 个因素有关: 一是种类数目, 即丰富度; 二是多样性, 群落中个体分配上的均匀性。群落丰富度主要取决于 Chao1 指数和 ACE 指数, 群落多样性主要取决于 Shannon 指数和 Simpson 指数。本实验中的 4 个根际微生物样本, Chao1 指数在 5 355.726~8 898.18, ACE 指数在 5 490.34~10 143.19, 表明群落具有较高的物种丰富度; Shannon 指数在 7.726~7.992, Simpson 指数在 0.998~0.999, 反映出本试验的西山柴胡的根际细菌群落不仅物种种类丰富, 而且物种间的个体分布也相对均匀 (表 2)。

表 1 数据预处理统计

Table 1 Data preprocessing statistics

指标	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
原始序列	60 817	106 755	106 660	97 870
清晰序列	60 484	105 994	105 945	97 278
有效序列	50 522	85 504	77 094	76 441
清晰序列比例/%	83.07	80.09	72.28	78.10
有效碱基数/nt	12 800 206	21 659 955	19 531 239	19 368 258
最短序列长度	209	163	163	174
最长序列长度	286	431	418	435
平均序列长度	253	253	253	253
质量值 Q_{20} 合格率/%	99.51	99.51	99.49	99.59
质量值 Q_{30} 合格率/%	98.11	98.06	98.02	98.39
GC 碱基含量/%	58.32	58.49	58.48	58.45

表 2 基于 ASV 的 α 多样性统计

Table 2 Alpha diversity statistics based on ASV

样品	ASV 数目	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	ACE 指数
1	5 325	7.692	0.998	5 355.726	5 490.340
2	6 927	7.863	0.999	8 564.864	9 625.397
3	7 513	7.992	0.999	8 898.180	10 143.190
4	6 814	7.726	0.998	7 884.958	8 841.010

3.3 根际细菌群落组成分析

为了挖掘西山柴胡根际细菌的群落组成以及不同群落的丰度情况, 根据物种注释结果, 筛选出每个样本在门和属分类水平上最大丰度排名前 10 的物种。在门水平上丰度前 10 的分别是变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、

放线菌门 (Actinobacteria)、放线菌门 (Actinobacteriap_unidentified_Bacteria)、出芽单孢菌门 (Gemmatimonadota)、浮霉状菌门 (Planctomycetes)、泉古菌门 (Crenarchaeota)、浮霉状菌门 (Planctomycetota)、黏球菌门 (Myxococcota), 具体见图 1-a。

在属水平上丰度前 10 的分别是盖亚女神菌

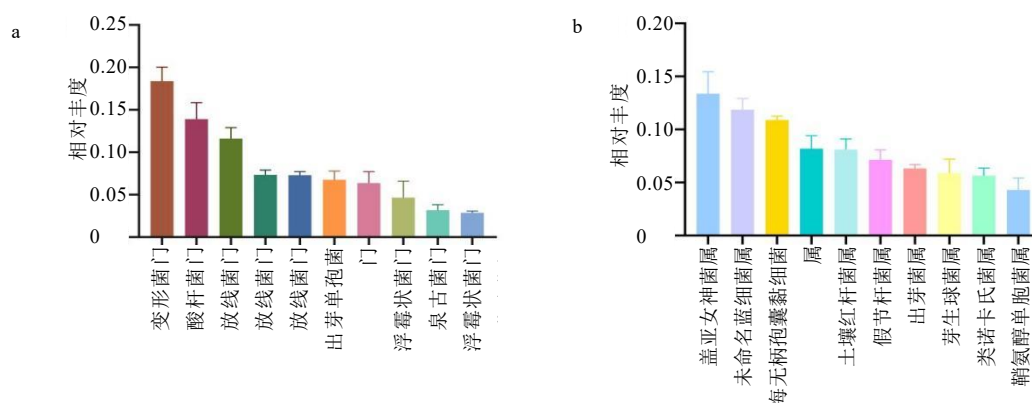


图 1 根际细菌门 (a) 和属 (b) 水平前 10 相对丰度直方图

Fig. 1 Histogram of relative abundance of top 10 rhizosphere bacteria at phylum (a) and genus (b) level

属 *Gaiella* ; 未命名蓝细菌属 *unidentified_Cyanobacteria*; 海无柄孢囊黏细菌属 *Haliangium*; 土壤红杆菌属 *Solirubrobacter*; 假节杆菌属 *Pseudarthrobacter*; 出芽菌属 *Gemmata*; 芽生球菌属 *Blastococcus*; 类诺卡氏菌属 *Nocardioides*; 鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*; 芽单苞菌属 *Gemmatimonas* (图 1-b)。

3.4 根际细菌代谢通路预测

将 16S 微生物测序数据与 KEGG 数据库进行

比对发现, 代谢通路分布于 10 大类 (图 2): cellular processes (含 5 个功能分类)、Environmental Information processes (12)、Genetic information processes (3)、Human disease (10)、Metabolism (11)、Organismal-systems (3)。主要存在于 metabolism 和 Environmental information processes 2 大类中。Metabolism 中糖代谢 (carbohydrate metabolism) 丰度最高, 其次是氨基酸代谢 (amino acid metabolism)、能量代谢 (energy metabolism)、辅助

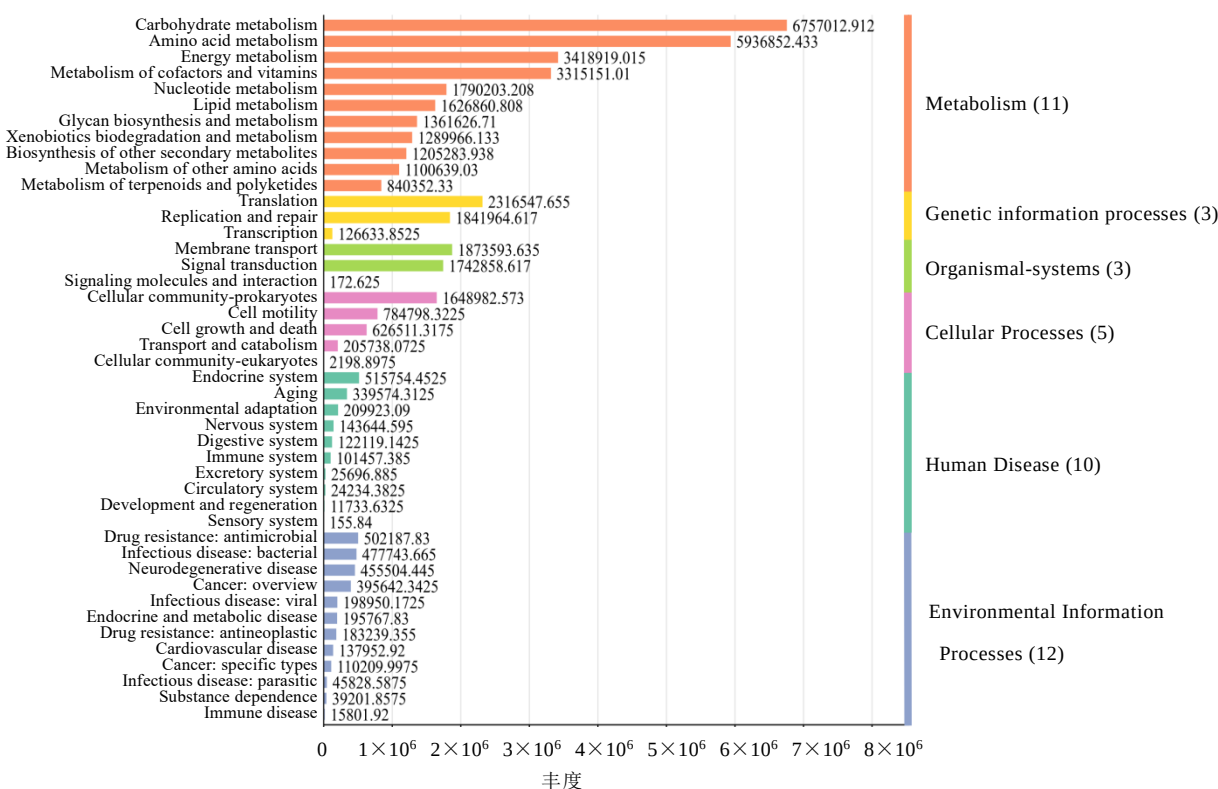


图 2 基于 ASV 的 PICRUSt2 二级分类丰度柱形图

Fig. 2 ASV-based PICRUSt2 secondary classification abundance histograms

因子和维生素代谢 (metabolism of cofactors and vitamins), 虽然 Environmental information processes 的通路数量最多, 但总体丰度低于 Metabolism 的丰度。这可能意味着在柴胡根际微生物群落中, 代谢活动相较于环境信息处理更为活跃。根系分泌物可以调控根际微生物的组成, 而微生物的代谢活动又可以反过来影响根系分泌物形成一种动态的互作关系。16S 测序数据与 KEGG 数据库的比对分析不仅可揭示柴胡根际微生物群落的代谢功能特征, 也可为进一步研究柴胡与其根际细菌的互作关系提供数据支持。

3.5 根际细菌的分离纯化

从西山柴胡根际土壤中共分离到 16 株细菌菌株 (图 3), 柴胡根际土壤细菌分离结果显示, 大多数可分离细菌呈现浅黄白色。革兰氏染色结果表明可培养的细菌均为阳性菌, 多为杆状少数为短棒状。

3.6 根际细菌分子生物学鉴定

本研究共分离 16 株细菌, 将测序结果进行比对发现, 所分离的细菌均为芽孢杆菌属, 可鉴定到种的共有 4 种分别为漳州芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、沙福芽孢杆菌、嗜气芽孢杆菌 (表 3)。这可能与芽孢杆菌属强大的生存能力和广泛的环境适应性有关。



a~p-同表 3。
a—p-same as table 3.

图 3 根际细菌分离纯化及革兰染色

Fig. 3 Isolation and purification and Gram staining of rhizosphere bacteria

表 3 供试细菌菌株的 Biolog 测定结果

Table 3 Biolog test results of test bacterial strains

组别	学名	分类级别	序列覆盖率/%	序列长度/bp	GenBank 注册号
a	短小芽孢杆菌	种	99	1 447	KY621527.1
b	嗜气芽孢杆菌	种	99	1 177	KP940381.1
c	漳州芽孢杆菌	种	100	1 029	OP984781.1
d	芽孢杆菌属	属	99	1 448	MZ461802.1
e	芽孢杆菌属	属	100	1 457	MT310682.1
f	芽孢杆菌属	属	100	1 491	MH801101.1
g	芽孢杆菌属	属	99	1 452	OQ876206.1
h	短小芽孢杆菌	种	99	1 460	MN704531.1
i	沙福芽孢杆菌	种	99	1 449	KC172049.1
j	沙福芽孢杆菌	种	100	1 169	OR880332.1
k	沙福芽孢杆菌	种	99	1 441	MK748241.1
l	短小芽孢杆菌	种	98	1 217	OR244400.1
m	芽孢杆菌属	属	98	1 448	EU520307.1
n	芽孢杆菌属	属	99	1 194	MF993492.1
o	芽孢杆菌属	属	94	1 520	JX266326.1
p	沙福芽孢杆菌	种	99	1 446	PP325788.1

4 讨论

土壤微生物系是地球上系统生物多样性最为丰富的环境。根际是丰富多样微生物的家园,其中许多微生物通过抑制病原入侵和从土壤中获取养分使植物受益。了解根际微生物组的分类和功能成分以操纵它们以实现可持续的生态系统功能至关重要。16S 测序结果表明,西山柴胡根际优势细菌为盖亚女神菌属 *Gaiella*、未命名蓝细菌属 *unidentified_Cyanobacteria*、海无柄孢囊黏细菌属 *Haliangium*、土壤红杆菌属 *Solirubrobacter*, 而 Liu 等^[21]对柴胡根际细菌研究发现优势菌群为假节杆菌属 *Pseudarthrobacter*, 这可能与采样时间和地点有关。土壤微生物功能具有多样性^[22]。特基拉芽孢杆菌 *B. tequilensis*、分散泛菌 *Pantoea dispersa* 和变形假单胞杆菌 *Pseudomonas plecoglossicida* 复合菌液可显著促进花生的生长发育, 提高发芽率、根系生长、根瘤数量以及叶片光合效率^[23]。*Haliangium* 作为有益根际细菌, 可以提高脲酶活性和土壤养分^[24], 丛枝菌根真菌与 *Solirubrobacter*、*Pseudomonas* 和 *Talaromyces* 等属形成超共体促进养分获取^[25]。鞘氨单胞菌 *Sphingomonas* sp. (PAH02) 可促进水稻根际土壤核心微生物群的形成, 同时降低成熟期稻米中镉和菲的含量^[26]。吴微微等^[27]对不同种植年限枳壳的根际微生物进行测序发现, 枳壳根际微生物群落结构和组成随着种植年限而发生变化。对不同种植年限银柴胡 *Stellaria dichotoma* L. 的根际微生物群进行测序发现, 随银柴胡种植年限延长, 细菌丰富度变化较小, 多样性升高, 而真菌的丰富度和多样性均升高^[28], 这与枳壳的研究结果相似。连作及轮作对党参根际微生物的研究发现与连作相比, 变形菌门、酸杆菌门是党参轮作组根际土壤优势菌群^[29]。了解植物根际微生物群落结构与组成, 不仅可以有针对性的预防植物的土传病害, 并且可以为柴胡生态种植提供理论基础。

对西山柴胡根际细菌分离纯化发现, 可分离培养的细菌均为革兰氏阳性菌。未分离培养出部分柴胡根际优势细菌(变形菌门、酸杆菌门)。土壤中微生物数量十分丰富^[30], 这些微生物具有不同的生理代谢特性, 其底物偏好性、生长速率、平均代时和环境适应能力各不相同, 很难通过统一的标准方法同时获得所有微生物。而本实验只

使用 Luria-Bertani (LB) 一种培养基进行分离纯化, 这可能是未分离出变形菌门、酸杆菌门的主要原因。其中酸杆菌门为低营养细菌, 其特征是生长速度慢, 偏好营养有限的环境^[31], 而变形菌门被归类为在营养丰富的条件下茁壮成长的多种营养细菌^[32]。如生长温度、抗生素、pH 值等因素都是决定能否培养成功的关键因素^[33-35]。

芽孢杆菌属广泛存在于植物内部组织和根际土壤中, 在生物防治和生物肥料中具有重要的应用价值^[36]。本研究通过对分离出一株柴胡根际细菌进行测序并构建进化树发现, 该菌株属于芽孢杆菌属。李勇等^[37]鉴定出北京地区柴胡根腐病原菌为尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*。姜峰等^[38]鉴定出唐山地区柴胡根腐病原菌为腐皮镰刀菌 *F. solani*。芽孢杆菌 (C17fengycin B) 通过影响活性氧积累、线粒体功能等方面抑制尖孢镰刀菌 (FJAT-31362) 的生长^[39]。接种芽孢杆菌 PM31 可显著降低腐皮镰刀菌 *F. solani* 导致马铃薯植株萎蔫、烂根、失绿和坏死的发生率^[40]。芽孢杆菌既可作为杀菌剂防治植物中的病害, 也可作为植物生长调节剂促进植物生长^[41]。本研究分离鉴定出的芽孢杆菌可能在拮抗柴胡病原菌方面存在一定作用, 还需要进一步研究。并可在多菌种组合菌剂、化学药剂与生防药剂复合菌剂方面深入研究, 以扩展芽孢杆菌的功能, 为其进一步在柴胡种植中的应用奠定基础。

本研究以西山柴胡根际土为实验材料, 使用高通量测序手段检测柴胡根际细菌群落结构, 并对根际细菌代谢通路进行预测。同时对柴胡根际土的细菌进行分离和鉴定, 以期柴胡根生态种植提供理论基础。

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]. 一部. 2020: 293.
- [2] 清·顾观光辑. 杨鹏举校注. 神农本草经 [M]. 第 3 版. 北京: 学苑出版社, 2007: 144.
- [3] 贾云鹏, 杨晓军, 王超, 等. 北柴胡根部的化学成分研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 402-408.
- [4] Yao R Y, Zou Y F, Chen X F. Traditional use, pharmacology, toxicology, and quality control of species in genus *Bupleurum* L. [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(4):245-255.
- [5] 宋·苏颂撰, 胡乃长辑注, 王致谱辑注, 蔡景峰省定. 图经本草 (辑复本) [M]. 福州: 福建科技

- 术出版社, 1988: 98-99.
- [6] 魏华, 董能峰, 肖瑜, 等. 宝鸡市陈仓区柴胡种植及产业调查分析 [J]. 中国林副特产, 2023(5): 15-18.
- [7] 项福星, 周世杰, 朱小青, 等. 柴胡根腐病病原菌及其防治方法的研究进展 [J]. 园艺与种苗, 2023, 43(5): 26-28.
- [8] Feng H C, Fu R X, Luo J Y, *et al.* Listening to plant's Esperanto via root exudates: Reprogramming the functional expression of plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *New Phytol*, 2023, 239(6): 2307-2319.
- [9] Yu Y, Zhou Y, Janssens I A, *et al.* Divergent rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial structure and function in long-term warmed steppe due to altered root exudation [J]. *Glob Chang Biol*, 2024, 30(1): e17111.
- [10] Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? [J]. *Trends Plant Sci*, 2018, 23(1): 25-41.
- [11] 孟缘, 付心雨, 鞠吉东, 等. 根际微生物介导药用植物-土壤负反馈形成连作障碍的作用机制 [J]. 科技导报, 2023, 41(16): 82-88.
- [12] 黄文静, 谢兴亮, 盛艳梅. 毛蕊花糖苷药理作用及其制剂研发进展 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8256-8268.
- [13] He D X, Singh S K, Peng L, *et al.* Flavonoid-attracted *Aeromonas* sp. from the *Arabidopsis* root microbiome enhances plant dehydration resistance [J]. *ISME J*, 2022, 16(11): 2622-2632.
- [14] 焦晓林, 杜静, 毕晓宝, 等. 西洋参中酚酸及皂苷成分对病原菌的作用 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(17): 105-110.
- [15] 范继红, 毕红艳, 邹原东, 等. 丛枝菌根对甘草幼苗生长及抗性的影响 [J]. 北方园艺, 2017(10): 145-149.
- [16] 赵乐, 王雷. 不同丛枝菌根真菌 (AMF) 接种量对麦冬幼苗根系活力及生长特性的影响 [J]. 北方园艺, 2024(9): 41-46.
- [17] Chamkhi I, Sbabou L, Aurag J. Improved growth and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) in the field conditions through inoculation with selected native plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) [J]. *Ind Crops Prod*, 2023, 197: 116606.
- [18] 祝蕾, 严辉, 刘培, 等. 药用植物根际微生物对其品质形成的影响及其作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 4064-4073.
- [19] 张小霞, 陈筱玥, 王秋云, 等. 怪柳根际一株盐单胞菌 Bachu 26 的分离、鉴定及其盐胁迫下的促生作用研究 [J]. 微生物学报, 2024, 64(2): 607-622.
- [20] 关雪梅, 刘思雨, 王义, 等. 人参根际 PGPR 的分离鉴定及其促生效果 [J]. 吉林农业大学学报, 2023, 45(6): 716-724.
- [21] Liu L, Cao H L, Geng Y N, *et al.* Response of soil microecology to different cropping practice under *Bupleurum chinense* cultivation [J]. *BMC Microbiol*, 2022, 22(1): 223.
- [22] Xiong C, Lu Y H. Microbiomes in agroecosystem: Diversity, function and assembly mechanisms [J]. *Environ Microbiol Rep*, 2022, 14(6): 833-849.
- [23] 于宏, 王孟亮, 刘希建, 等. 花生根际促生复合菌剂对连作花生生理生化指标和根际细菌群落的影响 [J]. 微生物学报, 2024, 64(4): 1233-1248.
- [24] Mu M Q, Wang Z C, Chen Z R, *et al.* Physiological characteristics, rhizosphere soil properties, and root-related microbial communities of *Trifolium repens* L. in response to Pb toxicity [J]. *Sci Total Environ*, 2024, 907: 167871.
- [25] Jeewani P H, Luo Y, Yu G H, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi and goethite promote carbon sequestration via hyphal-aggregate mineral interactions [J]. *Soil Biol Biochem*, 2021, 162: 108417.
- [26] Yi S W, Zhu Z N, Li F, *et al.* Metagenomic and proteomic insights into the self-adaptive cell surface hydrophobicity of *Sphingomonas* sp. strain PAH02 reducing the migration of cadmium-phenanthrene co-pollutant in rice [J]. *Environ Microbiol*, 2024, 26(1): e16577.
- [27] 吴微微, 韩雪, 王继朋, 等. 种植年限对枳壳根际微生物群落和土壤性质的影响 [J]. 土壤学报, 2024, 77(3): 1-13.
- [28] 冯璐, 李振凯, 王红, 等. 不同种植年限银柴胡根际微生物群落结构变化 [J]. 微生物学通报, 2024, 51(4): 1-23.
- [29] 陈臻, 曾翠云, 张永合, 等. 连作及轮作对党参根际微生物多样性的影响 [J]. 中药材, 2023, 46(4): 823-828.
- [30] 文昌丽, 曹伟伟, 唐雪莲, 等. 基于高通量测序的连续传代富集土壤可培养菌菌群变化规律研究 [J]. 生态与农村环境学报, 2023, 39(1): 123-135.
- [31] 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.
- [32] Fierer N, Lauber C L, Ramirez K S, *et al.* Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen

- gradients [J]. *ISME J*, 2012, 6(5): 1007-1017.
- [33] Sauer D B, Wang D N. Predicting the optimal growth temperatures of prokaryotes using only genome derived features [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(18): 3224-3231.
- [34] Su M, Satola S W, Read T D. Genome-based prediction of bacterial antibiotic resistance [J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(3): e01405-e01418.
- [35] 郎咸勇, 张锦华, 刘宝生. 培养基高压蒸气灭菌后 pH 值的变化及其对细菌生长的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医: 上半月, 2016(4): 30-33.
- [36] 徐皓, 彭雪, 郭二丹, 等. 芽孢杆菌对延胡索生长及质量标志物的影响 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35(4): 985-988.
- [37] 李勇, 刘时轮, 杨成民, 等. 北京地区柴胡根腐病的病原菌鉴定 [J]. 植物病理学报, 2009, 39(3): 314-317.
- [38] 姜峰, 马艳芝, 客绍英, 等. 唐山地区柴胡根腐病原菌分离鉴定及生物学特性研究 [J]. 河北农业科学, 2017, 21(3): 45-50.
- [39] Deng Y J, Chen Z, Chen Y P, *et al.* Lipopeptide C₁₇ fengycin B exhibits a novel antifungal mechanism by triggering metacaspase-dependent apoptosis in *Fusarium oxysporum* [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(14): 7943-7953.
- [40] Mehmood S, Khatoon Z, Amna, *et al.* *Bacillus* sp. PM31 harboring various plant growth-promoting activities regulates *Fusarium* dry rot and wilt tolerance in potato [J]. *Arch Agron Soil Sci*, 2023, 69(2): 197-211.
- [41] 马佳, 李颖, 胡栋, 等. 芽孢杆菌生物防治作用机理与应用研究进展 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 639-648.

[责任编辑 时圣明]