

伊犁根际微生物分布与西贝素的相关性

潘惠霞* 程争鸣 牟书勇 齐晓玲 包群

(中国科学院新疆生态与地理研究所 中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: 分析了伊犁贝母不同生育期(返青期、显蕾期、盛花期和收获期)根际、非根际可培养土壤微生物动态变化,探讨了根际土壤微生物与西贝素含量之间的相关性。结果表明,在伊犁贝母的生长发育期,根际和非根际土壤微生物数量的分布规律是:细菌 > 放线菌 > 真菌。除了显蕾期非根际真菌数量大于根际以外,其他生长时期根际细菌、放线菌和真菌数量远远大于非根际,细菌根际效益明显。盛花期限根际土壤中细菌和真菌数量达到了最多。土壤真菌与西贝素含量呈极显著正相关。

关键词: 伊犁贝母, 根际微生物, 西贝素, 相关性

Distribution of Rhizosphere Soil Microbes of *Fritillaria pallidiflora* and Their Correlation with Imperialine Content

PAN Hui-Xia* CHENG Zheng-Ming MU Shu-Yong QI Xiao-Ling BAO Qun

(The Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Xinjiang Institute of Ecology and Geography Chinese Academy of Sciences, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Variation of rhizosphere and non-rhizosphere cultured soil microbes at the different growth stages of *Fritillaria pallidiflora* were analysed. The correlation of rhizosphere soil microbes with imperialine content were discussed. The results showed that the ecological distribution characteristics of rhizosphere and non-rhizosphere soil microbes at every growth stages (Re-greening stage, bud stage, full flowering stage and harvest-time) of *Fritillaria pallidiflora* were all bacteria > actinomycete > fungi. Only in bud stage, non-rhizosphere fungi number is more than rhizosphere's. At other stages rhizosphere bacteria, actinomycete and fungi were more than non-rhizosphere's. Especially, for bacteria, the rhizosphere effect of *Fritillaria pallidiflora* was obvious. Number of bacteria and fungi in the rhizosphere soil of full flowering stage are most in all stages. Soil fungi number had extremely marked positive correlation with imperialine content.

Keywords: *Fritillaria pallidiflora*, Rhizosphere microbes, Imperialine, Correlation

伊犁贝母(*Fritillaria Pallidiflora*)为百合科贝母属多年生草本药用植物,是与川贝、浙贝齐名的贵

重药材, 收载于中华人民共和国药典^[1]。它主产于新疆的天山北部和阿尔泰山西部, 以伊犁河两岸海拔

1000 m–1800 m 的湿润山地草原带和山地灌木林下分布最广^[2]。其以鳞茎入药, 味苦甘、性微寒, 是治疗肺热咳嗽、干咳少痰、阴虚劳嗽、咯痰带血、胸闷、胃溃疡、痢疮等的中药材^[3-4]。据全国中药材资源普查统计, 目前伊犁贝母野生资源减少, 市场紧缺、出口量大、远远满足不了国内外用户的需要, 因此, 积极引种驯化扩大栽培区对解决伊犁贝母的市场需求具有重要意义。

土壤微生物是土壤中最活跃的因子, 一方面是土壤天然有机体的转化者, 另一方面是土壤养分的源和库, 与植物营养和土壤肥力密切相关, 在土壤物质和能量循环转化过程中起着重要的作用^[5-6]。该群落能分解有机质, 具有矿化、固定养分等功能, 并通过形成能粘合团聚体的有机化合物利用菌丝将颗粒缠结在团聚体上来改变土壤结构^[7]。在植物的整个生长期, 根系进行着活跃的代谢作用, 向根外不断分泌有机物质, 这些分泌物是根际微生物的重要营养和能量来源^[8-9], 其成分和数量影响着根际微生物的种类和繁殖。根际微生物的数量、活性和群落结构及其变化会直接影响植物对水分和养分的吸收^[10]。因此, 植物、土壤和微生物之间存在着相互依赖、相互作用的复杂的三边关系^[11-12]。

近年来, 虽然国内外学者在根际微生物结构研究方面开展了许多工作, 但在根际微生物影响药用植物品质及药材道地性方面的研究和报道较少^[13]。因此, 本文利用微生物学研究道地药材——人工种植伊犁贝母不同生长发育期根际微生物种群结构的变化规律, 同时在研究中将这种差异与伊犁贝母有效成分相比较, 从根际微生物的角度揭示道地药材的科学内涵, 指导道地药材的生产实践, 为通过调控药用植物根际有益微生物实现药材的优质提供可靠的科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集

分别在人工种植伊犁贝母的不同生育期(返青期、显蕾期、盛花期和收获期)将 5 cm–10 cm 根系带土挖出, 收集距根 0–0.5 cm 范围内土壤作为根际土样^[14], 其余的为非根际土壤样品, 每个时期取 3 个点, 每点取样后分别将根际与非根际、非根际土壤样品等量混合, 根际和非根际土壤样品均用于微生物种群数量的测定。

1.2 土壤微生物种群数量的分析方法

土壤微生物数量的测定用稀释平板法^[15], 细菌、放线菌和真菌分别用牛肉膏蛋白胨培养基、淀粉琼脂培养基和马丁氏培养基培养, 每种菌的每个稀释各设 3 个平行重复, 细菌置 37°C 培养 24–48 h, 放线菌和真菌置 24°C 培养 72–120 h 后计算每克干土中各类微生物的数量。

1.3 西贝素含量的测定

分别在伊犁贝母生长的显蕾期、盛花期和收获期采集其球茎, 采用蒸发光散射检测法进行西贝素含量的测定^[16], 该项测定由新疆大学测试分析中心完成。

1.4 根际土壤微生物与西贝素含量的相关性分析

应用 SPSS13.0 (Chicago, IL, USA) 软件对数据进行分析。分析中采用 SPSS13.0 中的皮尔逊 (Pearson) 相关分析法进行两尾测验, **和*分别表示两变量在 0.01 和 0.5 水平上达到了显著相关; *表示显著相关, **表示极显著相关; $n = 3$ 。

2 结果与分析

2.1 伊犁贝母不同生育期根际和非根际土壤细菌的变化特征

从图1可见伊犁贝母从返青期一直到盛花期细菌数量不管是根际还是非根际都呈现增加趋势, 盛花期达到最多, 到收获期(成熟期)时均有所减少。从根际而言, 返青期到显蕾期细菌数量增加幅度为 175.8%, 从显蕾期到盛花期增加 115.6%, 盛花期到收获期减少 8.0%; 非根际返青期到显蕾期增加幅度为 36.0%, 从显蕾期到盛花期增加 42.4%, 盛花期到

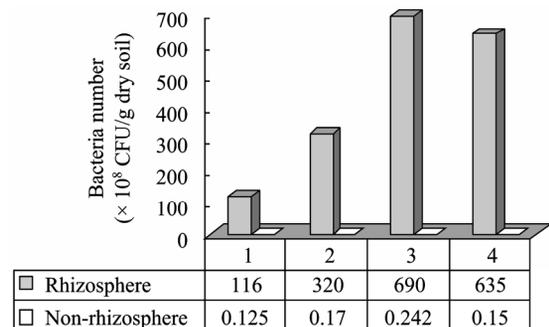


图1 根际和非根际土壤细菌的分布特征

Fig. 1 The distribution characteristics of the rhizosphere and non-rhizosphere soil bacteria

Note: 1: Re-greening stage; 2: Bud stage; 3: Full flowering stage; 4: Harvest-time.

收获期减少了38.0%。进一步表明根际细菌数量返青期到显蕾期增加速率最快, 非根际细菌数量显蕾期到盛花期增加速率最快, 各生长时期根际与非根际细菌数量变化规律相同。同时可见伊犁贝母生长的各个阶段, 根际细菌数量均远远大于非根际, 随着生长发育成熟根际效应(R/S)越来越明显。

2.2 伊犁贝母不同生育期根际和非根际土壤真菌的分布特征

从图 2 可以看出, 真菌在伊犁贝母根际和非根际土壤中的分布变化规律与细菌有所不同。在生长发育的 4 个时期中, 根际土壤真菌数量呈现波浪式的变化, 盛花期达到最多; 非根际土壤真菌数量从返青期到显蕾期增加, 显蕾期到收获期呈现逐渐下降趋势, 显蕾期最多, 收获期最少。除了显蕾期外其他生长时期根际土壤真菌数量大于非根际, 盛花期根际与非根际真菌数量差异最大, 根际效应明显。在伊犁贝母生长的整个周期中, 真菌数量变化多样。

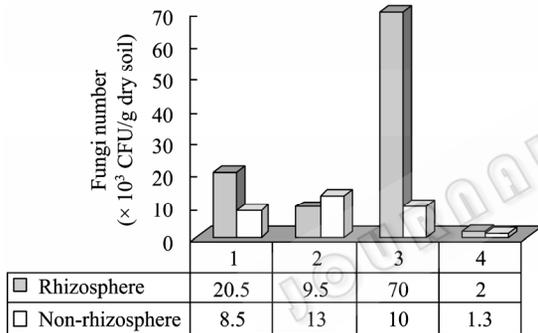


图 2 根际和非根际土壤真菌的分布特征
Fig. 2 The distribution characteristics of the rhizosphere and non-rhizosphere soil fungi
 Note: 1: Re-greening stage; 2: Bud stage; 3: Full flowering stage; 4: Harvest-time.

2.3 伊犁贝母不同生育期根际和非根际土壤放线菌的分布特征

从图 3 可见, 在伊犁贝母生长的初期即返青期和显蕾期根际土壤放线菌的数量明显少于盛花期和收获期。从显蕾期到盛花期由 5.55×10^6 CFU/g 干土增加到 60.7×10^6 CFU/g 干土, 增加了 10.09 倍, 这与根际土壤细菌和真菌的分布特征不同, 收获期时数量达到最多。盛花期和收获期根际放线菌数量是非根际的 45 倍以上, 非根际土壤放线菌在伊犁贝母生长过程中数量变化不太明显, 可见根际土壤放线菌在伊犁贝母生长后期很活跃。

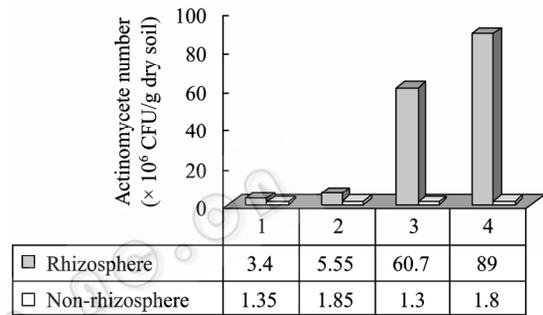


图 3 根际和非根际土壤放线菌的分布特征
Fig. 3 The distribution characteristics of the rhizosphere and non-rhizosphere soil actinomycete
 Note: 1: Re-greening stage; 2: Bud stage; 3: Flowering stage; 4: Harvest-time.

2.4 伊犁贝母不同生育期根围土壤微生物主要类群的组成变化

从图 4(A-D)可见, 伊犁贝母生长的各生育期主要类群微生物数量分布的共同特点为: 细菌 > 放线菌 > 真菌, 细菌数量占 3 类微生物的 99.86% 以上, 放线菌 < 0.15%, 真菌 < 0.001%。

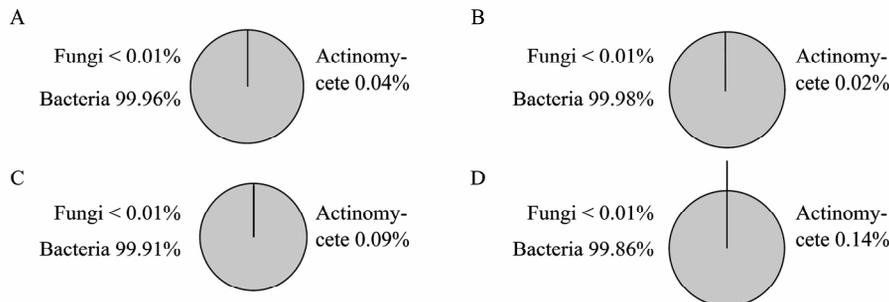


图 4 伊犁贝母不同生长时期根围微生物主要类群变化
Fig. 4 Changes of main soil microbial groups in different growth stages of *Fritillaria pallidiflora*
 Note: A: Greening stage; B: Bud stage; C: Full flowering Stage; D: Harvest-time.

2.5 伊犁贝母根际和非根际土壤微生物主要类群的组成变化

从图5可见,在伊犁贝母整个生长过程中,根际和非根际各类微生物的组成有所差异,根际和非根际土壤细菌分别占3类微生物的99.9%和91.0%,根际和非根际放线菌分别占3类微生物的0.1%和8.8%;根际和非根际真菌均小于0.1%。

2.6 伊犁贝母生长发育期根际土壤微生物与西贝素含量相关性分析

从表1可见,土壤中细菌、放线菌和真菌与西贝素含量呈正相关,土壤真菌与西贝素含量呈极显著正相关, $P < 0.01$,二者之间的相关系数高达1.0,表明微生物尤其是真菌对伊犁贝母生长过程中西贝素含量的积累可能起着较为重要的作用。

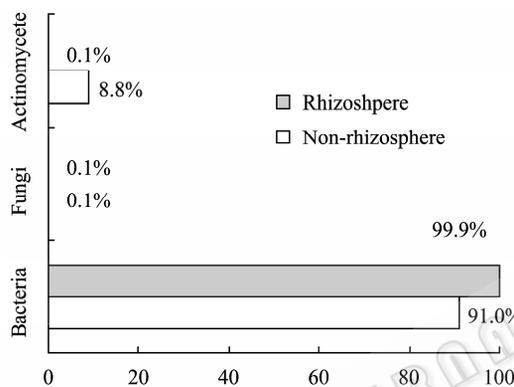


图5 根际和非根际土壤微生物主要类群的变化特征
Fig. 5 The change characteristics of the rhizosphere and non-hizosphere main soil microbial groups

表1 伊犁贝母生长发育期土壤微生物与西贝素含量的相关性

Table 1 Correlation of soil microbes with imperialine content at the growth stages of *Fritillaria pallidiflora*

因子 Factor	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycete
真菌 Fungi	0.708		
放线菌 Actinomycete	0.892	0.311	
西贝素 Imperialin	0.717	1.000**	0.323

注:分析中采用SPSS13.0中的皮尔逊(Pearson)相关分析法进行两尾测验,**和*:分别表示两变量在0.01和0.05水平上达到了显著相关;*:显著相关;** :极显著相关; $n = 3$ 。

Note: The method of pearson correlation in SPSS13.0 software was used to 2-tailed exam; **: Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed); *: Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed); * and **: Positive correlation and extremely marked positive correlation respectively; $n = 3$.

3 结论与讨论

本文的研究结果表明,在伊犁贝母生长发育过程中,根际和非根际土壤微生物数量的分布规律均是:细菌 > 放线菌 > 真菌,细菌数量占3类微生物的99.86%以上,放线菌 < 0.15%,真菌 < 0.001%。这一规律与李琼芳在药用植物麦冬根际微生物区系动态研究的结果基本一致^[10],对贝母研究报道本文还是第一次。在伊犁贝母生长的各个时期细菌、真菌和放线菌在不同生长时期的变化特征各有差异,盛花期根际土壤中细菌和真菌数量达到了最多。

从不同类群的微生物空间分布特点看,已有报道表明,根际是土壤微生物生长、繁殖和代谢特别旺盛的区域,由于存在高浓度的根系分泌物,所以根际微生物的数量很大,活性很强,根际效应明显^[17-18],非根际土壤距根越远植物的根分泌物就越少,供给微生物的营养物质也就越少,本研究的结果证明了这一点:除了显蕾期非根际真菌数量大于根际以外(原因有待进一步探讨),其他生长时期根际各类微生物的数量远远大于非根际,细菌和放线菌的根际效应(R/S)表现在收获期,而真菌的根际效应表现在盛花期,进一步说明真菌在伊犁贝母生长发育过程中的重要作用。

通过伊犁贝母生长发育期根际土壤微生物与西贝素含量相关性的分析阐明:土壤中细菌、放线菌和真菌与西贝素含量呈正相关,土壤真菌与西贝素含量呈极显著正相关,此结果是本研究的新发现,因此,进一步开发伊犁贝母根际有益真菌资源对于提高其品质具有较为重要的科学意义和潜在的应用价值。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典一部. 北京: 化学工业出版社, 2005(25): 95.
- [2] 常维春, 刘兴权, 刘鹏举. 伊贝母引种栽培技术. 特产研究, 1991(4): 42-45.
- [3] 林国华, 林可钦. 浅谈五种贝母的应用区别. 实用中医药杂志, 2003, 19(8): 446.
- [4] 贾廷耀, 丁惠宾. 伊贝母组织培养中次生代谢产物的研究. 西北植物学报, 1999, 19(1): 127-131.

- [5] 靳正忠, 雷加强, 徐新文, 等. 塔里木沙漠公路防护林区土壤微生物的立地条件效应. *土壤通报*, 2008, **39**(2): 287-291.
- [6] Loranger MG, Barthes L, Gastine A, *et al.* Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006(38): 2336-2343.
- [7] 郑艳. 中药材的地道性与根际土壤微生物. *现代中药研究与实践*, 2007, **21**(6): 60-63.
- [8] Inderji T, Westion LA. Root exudates: an overview. *Ecological Studies*, 2003(168): 235-256.
- [9] Ikryl Z, Vancura V. Root exudates of plants 4. Wheat root exudation as dependent on growth concentration gradient of the exudates and the presence of bacteria. *Plant and Soil*, 1980(57): 69-83.
- [10] 李琼芳. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究. *土壤通报*, 2006, **37**(3): 563-565.
- [11] 王茹华, 张启发, 周宝利, 等. 浅析植物根分泌物与根际微生物的相互作用关系. *土壤通报*, 2007, **38**(1): 167-172.
- [12] Morganj AW, Bending GD, White PJ. Biological cost and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(417): 1729-1739.
- [13] 江曙, 短金殿, 钱大玮. 根际微生物对药材地道性的影响. *土壤*, 2009, **41**(3): 344-349.
- [14] 张美俊, 杨武德, 李燕娥. 不同生育期转 Bt 基因棉种植对根际土壤微生物的影响. *植物生理学报*, 2008, **32**(1): 197-208.
- [15] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. *土壤微生物研究法*. 北京: 科学出版社, 1985: 40-176.
- [16] 岳斌, 张明. 蒸发光检测器测定贝母类药材中西贝素的含量. *陕西中医学院学报*, 2006, **29**(3): 56-57.
- [17] Inbar E, Green SJ, Hadar Y, *et al.* Competing factors of compost concentration and proximity to root affect the distribution of *Streptomyces*. *Microbiological Ecology*, 2005(50): 73-81.
- [18] 孙晓棠, 王燕, 龙良鲲. 番茄根际微生物种群动态变化及多样性. *微生物学通报*, 2008, **35**(11): 1744-1749.

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 是中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办, 国内外公开发行, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 基础微生物学研究; 农业微生物学研究; 工业微生物学研究; 医学微生物学研究; 食品微生物学研究; 环境微生物学研究; 微生物功能基因组研究; 微生物蛋白组学研究; 微生物模式菌株研究; 微生物工程与药物研究; 微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 2000 年再获中国科学院优秀期刊三等奖, 2001 年被选入新闻出版署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版, 由双月刊改为月刊, 更换了彩色封面, 纸张改用铜版纸, 由原来的小 16 开本改为标准大 16 开本(210×297), 发表周期缩短, 内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买, 2010 年的每册定价为 48 元, 全年 576 元, 我们将按期免费邮寄。

另, 本刊编辑部现存有少量过期期刊, 如有需要者可直接与编辑部联系, 款到即免费寄上。(请事先与编辑部联系, 获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址: (100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部
Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; bjb@im.ac.cn; http://journals.im.ac.cn
国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: BM413