

不同样地白木香结香前后根际土壤细菌群落结构差异与土壤理化性质相关性研究

李 思^{1,2}, 徐诗涛^{1*}, 王德立^{2*}, 张梦真³, 李慧婷¹

1. 海南大学园艺学院, 海南海口 570228; 2. 中国医学科学院药用植物研究所海南分所, 海南海口 570311; 3. 海南梨香缘农林科技有限公司, 海南乐东 572543

摘 要: 为阐明白木香结香前后根际细菌群落差异, 并探讨与土壤理化性质的相关性。本研究采用高通量测序技术和生物信息学相关手段, 对海南省 3 个种植地(海口市文山村、临高东光农场、乐东抱伦农场)白木香结香前后根际土壤细菌群落组成和多特征进行分析, 并结合冗余分析对根际土壤理化性质与细菌群落进行相关性分析。结果表明: 3 个样地间共获得 7 944 402 条序列, 隶属于 51 个门, 151 个纲, 380 个目, 637 个科, 1296 个属, 2649 个种; 样地内结香前后细菌群落和多样性差异性不大, 样地间存在显著差异。3 个样地根际土壤细菌丰富度和多样性上均呈现为: LDJX>LDWJ>LGWJ>LGJX>WSWJ>WSJX。在群落结构上, 乐东样地与文山和临高样地群落结构存在显著差异。在门水平上, 乐东样地的优势细菌门为浮霉菌门(Planctomycetota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、疣微菌门(Verrucomicrobiota); 文山和临高样地的菌门为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、变形菌门(Proteobacteria)。在属水平上, 文山和临高的优势属为拟杆菌属(Bacteroides)、uncultured_bacterium_f Muribaculaceae、粪杆菌属(Faecalibacterium); 乐东优势属为未确定属(g_uncultured_f_Gemmataceae)、Candidatus_Udaeobacter 和拟杆菌属(Bacteroides)。对 RDA 分析发现, 不同样地间白木香根际土壤细菌群落受土壤理化因子的影响具有一定差异。全磷与细菌种群差异和多样性呈显著负相关, pH 与细菌种群差异和多样性呈显著正相关。该研究结果对白木香根际微生物互作关系研究具有参考价值, 对海南沉香产业发展具有指导意义。

关键词: 白木香; 根际土壤; 细菌多样性; 理化性质; 相关性

中图分类号: S154.3; S153; S567.19 **文献标志码:** A

Differences in Inter-root Soil Bacterial Community Structure and Soil Physicochemical Properties in Different Locations of *Aquilaria sinensis*

LI Si^{1,2}, XU Shitao^{1*}, WANG Deli^{2*}, ZHANG Mengzhen³, LI Huiting¹

1. College of Horticulture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Hainan Branch, Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Haikou, Hainan 570311, China; 3. Hainan Lixiangyuan Agroforestry Science and Technology Co., Ltd., Ledong, Hainan 572543, China

Abstract: To elucidate the differences in inter-root bacterial communities of *Aquilaria sinensis*, and to explore the correlation with soil physicochemical properties, we used the high-throughput sequencing technology and bioinformatics-related tools to analyze the composition and multi-characteristics of the inter-root soil bacterial community of *A. sinensis*. In three cultivation sites in Hainan province (Wenshan village, Haikou city, Dongguang farm, Lingao, and Baolun farm, Ledong), and combined with redundancy analysis to correlate the inter-root soil physicochemical proper-

收稿日期 2022-05-10; 修回日期 2022-12-10

基金项目 海南省自然科学基金高层次人才项目 (No. 321RC482); 海南省重点研发计划项目 (No. 203230108018, No. ZDYF 2022XDNY160)。

作者简介 李 思 (1998—), 女, 硕士, 研究方向: 热带园艺植物资源开发与利用。*通信作者 (Corresponding author): 徐诗涛 (XU Shitao), E-mail: xushitao@hainanu.edu.cn; 王德立 (WANG Deli), E-mail: redai101@163.com。

ties with the bacterial community. The results showed that a total of 7 944 402 sequences belonging to 51 phyla, 151 orders, 380 families, 637 families, 1296 genera and 2649 species were obtained among the sites; the variability of bacterial community and diversity of *A. sinensis* in the sample sites was not significant, and there were significant differences among the sample sites. The richness and diversity of inter-root soil bacteria in the sites were as follows: LDJX>LDWJ>LGWJ>LGJX>WSWJ>WSJX. In terms of community structure, the Ledong sample site differed significantly from the Wenshan and Lingao sample sites in terms of community structure. At the phylum level, the dominant bacterial phyla in Ledong were Planctomycetota, Chloroflexi, and Verrucomicrobiota; the dominant populations in Wenshan and Lingao were Firmicutes, Bacteroidota, and Proteobacteria. At the genus level, the dominant genera in Wenshan and Lingao were *Bacteroides*, *uncultured_bacterium_f_Muribaculaceae*, and *Faecalibacterium*; the dominant genera in Ledong were the unidentified genus (*g_uncultured_f_Gemmataceae*) genus, *Candidatus_Udaeobacter*, and *Bacteroides*. The RDA analysis revealed that the inter-rhizosphere soil bacterial community of *A. sinensis* was affected by soil physicochemical factors with some differences among different sites. Total phosphorus was significantly and negatively correlated with bacterial population differences and diversity, and pH was significantly and positively correlated with bacterial population differences and diversity. The results are valuable for studying the interactions of inter-root microorganisms of *A. sinensis*, and have certain guiding significance for the development of Hainan incense industry.

Keywords: *Aquilaria sinensis*; rhizosphere soil; bacterial diversity; physicochemical properties; correlation

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.07.021

白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng.] 是瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 (*Aquilaria* Lam.) 植物, 又名土沉香、香材、牙香树等, 主要分布在广东、海南、广西、云南等地, 是我国中药沉香的唯一来源^[1]。白木香茎干受伤后可产生含树脂的木材即为沉香, 沉香不仅经济价值非常高, 还是我国濒危的药用植物, 具有治疗胸腹胀疼痛、胃寒、肾虚等疾病, 在现代药理中报道, 沉香具有镇静、抗炎、降血糖等广泛的药理作用^[2]。除药用价值以外, 还具有香料价值、文化价值和收藏价值等。

近年来, 国内外关于白木香微生物的研究热点主要集中在白木香内生菌的研究。黄雅丽等^[3]运用 T-RFLP 方法比较结香和非结香的白木香内生细菌, 发现白木香结香后细菌群落更为丰富, 表明结香前后内生细菌多样性和优势菌群有显著差异。陈瑶^[4]分析了奇楠沉香中不同结香时期心材内生真菌和内生细菌的群落结构和多样性, 结果表明, 不同结香时期的内生菌存在显著差异, 结香中、后期物种分布更为丰富。刘娟等^[5]对野生、栽培结香前后的山沉香细菌群落进行系统分析, 山沉香的结香部位较非结香部位具有更明显的物种多样性, 野生山沉香结香部位与其他样品细菌群落结构差距较大。有研究表明, 内生菌对植物的感染、孢子的萌发、生长繁殖、代谢等需要适宜的环境, 内生菌的种群结构也会受到植物所在的环境、药用植物的品种、产地和周围环境、

营养物质的影响^[6]。GAGNÉ 等^[7]认为大多数内生细菌来源于根际土壤, 所以根部的内生细菌含量最高, 越往植株上部数量越少。通过查阅文献发现关于沉香土壤根际微生物方面的研究较少, 如 NIMNOI 等^[8]对奇楠沉香 (*Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte) 在不同的采样点, 研究放线菌在采样点、季节多样性、群落结构的差异结果表明, 在雨季采样点物种多样性会增加, 表明季节环境变化可能也会使根际环境有较大差异, 对白木香结香和生长造成影响。CHHIPA 等^[9]从马来沉香 (*A. malaccensis* Lam.) 根际土壤和茎干中分离细菌和真菌群落, 并把筛选出来的优势菌群通过人工感染树木, 3 个月后采集样品, 用气相色谱法分析样品中的沉香螺旋醇 (agarospirol), 结果发现分离出的 31% 的细菌和 23% 的真菌能通过人工感染方法产生沉香螺旋醇, 与其他分离物相比, 细菌分散泛菌 (*Pantoea dispersa*) 和真菌青霉菌属 (*Penicillium polonicum*) 的感染率最高。

关于白木香营养代谢的研究较少, 王龙仁等^[10]探讨了人工结香初期营养代谢变化规律, 分析了结香前后白木香叶片和土壤中大量元素氮、磷、钾和微量元素含量变化, 结果表明, 环境因子与结香关系密切, 其中土壤因子交换性钙、交换性镁与沉香特征性成分呈不同程度的负相关。马惠芳等^[11]对白木香结香质量与环境因子的关系进行了研究, 结果表明结香质量相关性较高的因子为 pH、交换性钙和镁。王冉等^[12]对我国野生土沉香

的 4 个分布区（海南屯昌、广东陆河、广东东莞、海南临高）的土壤特性及营养进行分析，结果表明，不同分布区的同一土层土壤理化性质差异显著（ $P<0.05$ ）。

通过查阅大量文献发现，对于海南白木香结香前后根际土壤微生物细菌群落结构差异和土壤理化性质之间均无相关研究。基于此，针对海南本地种植白木香结香前后根际土壤微生物和土壤特性的研究具有一定的意义。本研究采用高通量测序技术分析 3 个不同种植地区白木香结香前后的根际土壤细菌群落结构，旨在系统了解其细菌多样性，探讨细菌群落对白木香结香前后的生长、土壤环境因子的关系，从而为海南白木香根际微生物互作等方面的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

3 个白木香试验样地均采用微创结香方法，结香时间均为 2020 年 5 月，结香地点分别位于海南省海口市文山村沉香文化产业园、临高县东光农场、乐东黎族自治县抱伦农场，取样地信息详见表 1。

表 1 取样地点和样品信息
Tab. 1 Sampling plot and sample information

取样地 Sampling site	样品代号 Sample code	经纬度 Longitude/ latitude	海拔 Altitude/m	土壤类型 Soil pattern
乐东	LD	18.62°N, 109.05°E	209	粘土壤
文山	WS	19.75°N, 110.33°E	15	赤红壤
临高	LG	19.80°N, 109.58°E	98	赤红壤

1.2 方法

1.2.1 土壤样品采集 试验样品于 2021 年 12 月 23 日，采用“S”型采样方法，将表 1 所述的 3 个样地中分别选取 18 个点，其中结香和未结香分别取 9 个点，每 9 个点充分混匀后平均分为 3 份，共采集 18 份白木香根际土样品，剔除杂物，挖出根部，采集 6~12 cm 的侧根系，轻抖根系，收集附着在根上的土壤。立即放入低温保温盒中，过 2 mm 筛后于-80℃的超低温冰箱保存，一部分用于土壤细菌群落高通量测序分析，其余的土阴干备用，用作土壤理化性质分析。

1.2.2 土壤理化性质测定 土壤性质的测定参考鲍士旦^[13]《土壤农化分析》中的测定方法，其中 pH 测定采用 pH 计（DELTA 320）；有机质采用

重铬酸钾容量法；全氮采用凯氏定氮法；碱解氮采用碱解扩散法；土壤全磷采用高氯酸-硫酸法；有效磷采用 NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法；速效钾采用原子吸收分光光度计法。

1.2.3 土壤细菌 DNA 提取及测序 采用 CTAB 法对各地区白木香结香前后根际土壤微生物组样本进行总 DNA 的提取，并通过琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量，同时采用紫外分光光度计对 DNA 进行定量^[14]。对 16S rRNA 基因的 V3~V4 高变区片段引物（341F 5'-CCTACGG-GNGGCWGCAG-3'）和（805R 5'-GACTACHVG-GGTATCTAATCC-3'）进行 PCR 扩增。PCR 反应体系：12.5 μL Phusion Hot start flex 2X Master Mix，正反引物 2.5 μL，基因组总 DNA 50 ng，加入 ddH₂O 至反应体系为 25 μL^[15]。PCR 反应条件：98℃ 40 s；98℃ 10 s；54℃ 30 s，35 个循环；72℃ 10 min。每个样本 3 个重复，PCR 扩增产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。采用 AMPure XT beads 回收试剂盒，对纯化后的 PCR 产物使用 Agilent Bioanalyzer 2100（Agilent, CA, USA）和 Illumina（Kapa Biosciences, Woburn, MA, USA）的文库定量试剂盒进行评估，合格的文库浓度应在 2 nmol/L 以上。将合格的样品上机测序，根据所需测序量按相应比例混合，并经 NaOH 变性为单链进行上机测序；使用 NovaSeq 6000 测序仪进行 2×150 bp 的双端测序，相应试剂为 NovaSeq 6000 SP Reagent Kit (500 cycles)。

1.3 数据处理

使用 Cutadapt（v1.9）软件对测序得到的 raw reads 进行过滤；使用 Fqtrim 软件进行引物序列的识别与去除，得到不包含引物序列的高质量 Reads；通过 Vsearch（v2.3.4）软件，重叠对每个样品高质量的 reads 进行拼接，得到的拼接序列即 clean reads；基于得到的 ASV（feature）特征序列和丰度表格进行 Alpha 多样性分析和 Beta 多样性分析。采用 Excel、DPS、SPSS 20.0 软件进行多重比较和相关性分析，利用 Canoco 5 软件冗余分析土壤化学指标与细菌群落的关系。

2 结果与分析

2.1 根际土壤理化性质分析

对 3 个不同样地的白木香结香前后根际土壤分析发现，3 个采样点的土壤大量元素含量存在显著差异。由表 2 可知，不同种植地之间，临高

样地全氮、有效氮、有效磷含量显著高于乐东和文山,且有机质含量最为丰富,为 47.00(结香后)和 55.17(未结香),文山取样地全磷含量最高,显著高于乐东和临高样地。同一样地内,临高样地未结香速效钾含量高于结香,文山样地结香有机质、有效氮含量高于未结香,乐东未结香中的有效磷含量高于结香。3 个样地土壤均为酸性,土壤 pH 范围为 4.12~5.48,由高到低依次为 LDJX(乐东结香)>LDWJ(乐东未结香)>LGJX(临高结香)>WSJX(文山结香)>LGWJ(临高未结香)>WSWJ(文山未结香),乐东样地土壤 pH 最高,其次为临高、文山(表 2)。

表 2 不同样地白木香结香前后根际土壤基本理化性质
Tab. 2 Basic physicochemical properties of inter-root soil in different locations of *A. sinensis*

样品代号 Sample code	pH	有机质 NOM/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	全磷 TP/(g·kg ⁻¹)	有效氮 AN/(mg·kg ⁻¹)	有效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK/(mg·kg ⁻¹)
LDJX	5.48±0.74 ^a	18.30±1.79 ^b	0.49±0.009 ^c	0.64±0.08 ^c	46.28±3.37 ^b	0.72±0.01 ^c	138.74±4.31 ^b
LDWJ	5.13±0.21 ^{ab}	23.30±4.45 ^b	0.48±0.002 ^c	0.72±0.06 ^c	48.61±0.67 ^b	0.84±0.13 ^c	90.26±3.00 ^{bc}
WSJX	4.33±0.15 ^{bcd}	25.80±5.04 ^b	0.45±0.006 ^d	2.83±0.26 ^b	40.83±2.33 ^c	0.89±0.08 ^c	132.87±21.17 ^b
WSWJ	4.12±0.23 ^d	13.70±1.05 ^b	0.42±0.007 ^c	3.95±0.37 ^a	20.61±1.78 ^d	0.08±0.01 ^d	120.19±10.48 ^b
LGJX	4.85±0.12 ^{abc}	47.00±9.68 ^a	0.76±0.009 ^b	0.85±0.19 ^c	67.67±1.17 ^a	8.49±0.34 ^a	64.87±4.30 ^c
LGWJ	4.21±0.36 ^{cd}	55.17±15.77 ^a	0.82±0.0059 ^a	0.73±0.05 ^c	68.06±5.26 ^a	7.62±0.23 ^a	174.10±32.15 ^a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference (P<0.05).

2.2 根际土壤细菌群落丰度、多样性和结构差异

对 18 个土壤样本采用 Illumina Miseq 高通量测序后,细菌测定的有效序列条数为 8 763 911 条,去掉低质量的序列后得到优化序列为 7 944 402 条,平均长度约为 252.8 bp。18 个土壤的优化序列、OTU 数量及多样性指示,各类样品文库的覆盖率为 98%,表明白木香土样中基因序列的检出概率较高,本次测序结果能够充分反映 3 个样地白木香结香前后根际土壤微生物的真实情况。白木香根际土壤多样性的相关指标见表 3,对 Simpson 指数、Chao1 指数、谱系多样性(phylogenetic diversity, PD)整树指数、Shannnon 指数对比发现,白木香结香前后根际土中细菌丰度由高到低依次为:LDJX>LDWJ>LGWJ>LGJX>WSWJ>WSJX;表明不同样地结香和未结香之间差异较大,乐东样地细菌丰度和多样性显著高于文山和临高。对比同一样地内,结香和未结香细菌群落之间差异较小。文山、临高样地间结香前比结香后根际土壤细菌群落的群落更为丰富,乐东样地的结香前比结香后细菌的群落更丰富。

2.3 根际土壤细菌群落结构门水平上分类

分别对 3 个样地白木香结香前和结香后根际土壤的细菌群落结构特征进行分析,结果发现土壤细菌 OTUs 共 26 097 条,分属于 51 个门,151

表 3 不同样地白木香结香前后根际土壤细菌 Alpha 多样性分析

Tab. 3 Analysis of Alpha diversity of rhizosphere soil bacterial in different planting areas of *A. sinensis*

样品代号 Sample codes	物种丰度 OTUs	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannnon 指数 Shannnon index	PD 指数 PD_whole_tree
LDJX	8029	9918.000	0.999	11.832	323.428
LDWJ	6930	8958.000	0.998	11.584	314.344
WSJX	819	776.000	0.949	6.208	53.105
WSWJ	856	847.333	0.949	6.081	39.794
LGJX	892	798.667	0.976	7.236	48.764
LGWJ	1174	903.333	0.977	7.361	45.931

个纲,380 个目,637 个科,1296 个属,2649 个种。以下百分比数据表示前者为结香,后者为未结香,在门水平上,相对丰度较高的分别为厚壁菌门(Firmicutes, 16.11%, 15.96%)、拟杆菌门(Bacteroidota, 13.28%, 14.35%)、变形菌门(Proteobacteria, 4.12%, 3.92%)、浮霉菌门(Planctomycetota, 3.35%, 3.67%)、疣微菌门(Verrucomicrobiota, 2.71%, 3.35%)、放线菌门(Actinobacteriota, 3.52%, 2.29%)、酸杆菌门(Acidobacteriota, 2.21%, 2.15%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 1.63%, 1.44%)和脱硫杆菌门(Desulfobacterota, 0.55%, 0.50%),粘球菌门(Myxococcota, 0.45%, 0.38%)。从图 1 可知,

厚壁菌门 (Firmicutes) 为临高、文山的第一优势类群, 丰度分别为 25.27%、22.26% 和 24.51%、27.41%, 其他优势菌门为拟杆菌门 (Bacteroidota)、变形菌门 (Proteobacteria)、浮游菌门 (Planctomycetota) 和疣微菌门 (Verrucomicrobiota); 乐东第一优势细菌门为浮霉菌门 (Planctomycetota), 为 47.36%, 51.81%, 乐东地区其他优势菌门为绿弯菌门 (Chloroflexi)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、放线菌门 (Actinobacteriota) 和变形菌门 (Proteobacteria)。研究表明, 不同样地间, 白木香结香前后的根际细菌群落存在差异; 同一样地内, 白木香结香前后的根际细菌群落无显著差异。

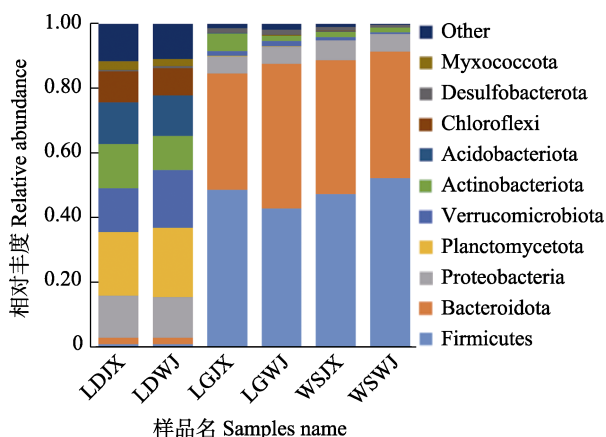


图 1 门水平细菌群落组成相对丰度变化

Fig. 1 Relative abundance of bacterial community composition at phylum level

2.4 根际土壤细菌群落在属水平的丰度变化

不同白木香种植样地结香前后的根际土壤细菌属分类水平如图 2 所示, 通过群落组成分析、物种和样本间相似性的丰度进行聚类, 发现拟杆菌属 (*Bacteroides*, 3.73%, 11.61%)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*, 1.98%, 5.85%), *uncultured_bacterium_f* Muribaculaceae (1.48%, 4.63%), *Candidatus_Udaeobacter* (0.78%, 2.70%), 未确定属 (*g_uncultured_f_Gemmataceae*, 0.86%, 2.64%), 未确定属 (*g_norank_f_Lachnospiraceae*, 0.81%, 2.34%), 毛螺菌属 (*Lachnospira* 0.75%, 2.22%), 罗氏菌属 (*Roseburia*, 0.57%, 1.73%), 巨单胞菌属 (*Megamonas*, 0.31%, 1.05%), 乳杆菌属 (*Lactobacillus*, 0.19%, 0.92%) 为白木香结香前后根际土壤中优势细菌属。不同样地间白木香结香前后根际土在细菌属分类水平中各有

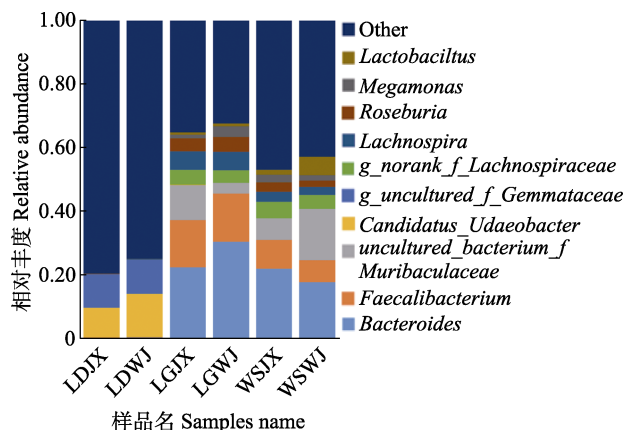


图 2 属水平细菌群落组成相对丰度变化

Fig. 2 Relative abundance of bacterial community composition at genus level

差异, 在属分类水平上拟杆菌属 (*Bacteroides*) 为临高和文山优势细菌属, 分别为 22.17%、17.86% 和 22.57%、30.53%。*g_uncultured_f_Gemmataceae* 属为乐东的优势细菌属丰度值为 (10.40%, 10.71%); 其中未结香优势属的相对丰度均高于结香。

2.5 根际土壤细菌 Bata 多样性分析

对测序结果的主坐标分析 (principal coordinate analysis, PCoA) 发现, 文山和临高样地白木香结香前后根际土壤细菌结构较为相似, 但乐东样地白木香结香前后根际土壤细菌结构与临高和文山样地相比差异较大, 说明同个样地内结香前后差异不大 (图 3), 但不同样地间差异显著。

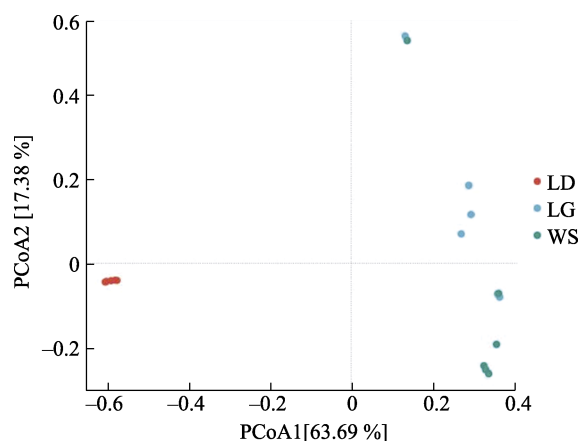


图 3 不同样地白木香结香前后根际土壤细菌群落 PCoA 分析

Fig. 3 PCoA analysis of inter-root soil bacterial communities of *A. sinensis* at different locations

2.6 根际土壤细菌群多样性指数与土壤理化指标的 Pearson 相关分析

由表 4 可知, pH 与 Shannnon 指数、Simpson

指数、Chao1 指数、PD 指数呈极显著正相关 ($P<0.01$); 全磷与 Shannon 指数、Simpson 指数呈极显著负相关 ($P<0.01$), 与 Chao1 指数、PD 指数呈显著负相关 ($P<0.05$); 有效磷与 PD 指数呈显著负相关。表明 pH、全磷等土壤理化指标对白木香根际土壤主要细菌种群丰度和多样性的影响比较显著。

表 4 不同样地白木香结香前后根际土壤细菌多样性与土壤理化性质的相关性分析
Tab. 4 Correlation analysis between bacterial diversity and physicochemical properties

指标 Indicators	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	PD 指数 PD_whole_tree
pH	0.690**	0.592**	0.672**	0.656**
速效钾	-0.115	-0.159	-0.078	-0.082
全磷	-0.635**	-0.696**	-0.512*	-0.492*
全氮	-0.165	0.177	-0.354	-0.380
有效氮	0.138	0.400	-0.055	-0.078
有效磷	-0.277	0.086	-0.464	-0.488*
有机质	-0.251	0.041	-0.417	-0.436

注: *表示显著相关 ($P<0.05$), **表示极显著相关 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

2.7 细菌群落结构与土壤环境因子的冗余分析 (RDA)

白木香种植样地土壤细菌属水平群落与土壤理化性质的冗余分析 (RDA) 结果排序见图 4, 分析结果显示, 第一主轴和第二主轴对细菌相对方差的解释比例分别为 93.86%和 4.46%, 二者共解释 98.32%的方差变化。土壤理化性质与细菌群落 RDA 分析表明, 乐东地区受土壤理化因子的影响与另外 2 个产地区别较大, pH 对乐东细菌影响较大, pH 与总氮 (TN)、有效磷 (AP)、有机质 (OM)、有效氮 (AN) 呈正相关关系; 与变形菌门 (Proteobacteria)、浮游菌门 (Planctomycetota)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、粘球菌门 (Myxococcota) 呈显著正相关; TP (全磷) 对临高和文山样地土壤细菌影响较大, 全磷与 pH、全氮、有效氮、有效磷呈负相关, 与厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidota) 呈正相关, 与变形菌门 (Proteobacteria)、浮游菌门 (Planctomycetota)、疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、

放线菌门 (Actinobacteriota)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、Myxococcota 呈负相关。

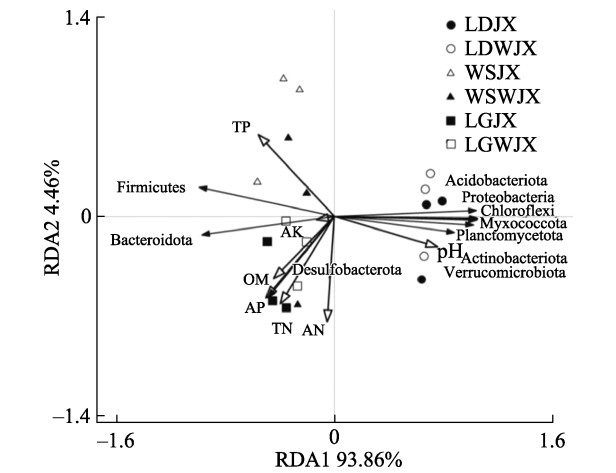


图 4 不同样地白木香结香前后根际土壤细菌门类群落与土壤理化指标的冗余分析

Fig. 4 Redundancy analysis of rhizosphere soil bacteria taxonomic communities and soil phylum taxa I and chemical indexes of *A. sinensis* at different locations

3 讨论

3 个样地间白木香结香前后根际土样细菌多样性高低顺序依次为: 乐东>临高>文山, 这表明在根际细菌优势种群受环境影响较大, 乐东样地位于海南西南部, 地处热带, 温度较高, 降水少, 湿度偏低但坡度、坡向变化较大, 海拔较高; 文山和临高样地位于海南北部和西北部, 降雨量多, 湿度大, 坡度平缓。推测温度和湿度可能是影响细菌种群多样性的主要因子。其中, 赵建琪等^[16]对鼎湖山南亚热带季风常绿阔叶林为研究对象, 采用磷脂脂肪酸 (PLFA) 方法并结合土壤理化性质的监测, 探究气温上升对土壤微生物群落的影响, 结果表明增温显著改变了土壤微生物群落结构, 使细菌相对丰度显著增加。罗达等^[17]以南亚热带格木、马尾松人工纯林及二者混交林林地土壤为对象, 研究结果显示旱季土壤微生物的 PLFAs 总量及各菌群的 PLFAs 量显著高于雨季。也有研究表明, 海拔地形也是影响条件之一, 地形对土壤理化性质的影响比较明显, 海拔、气候、坡向等微地形条件对土壤质地影响较大^[17]。海拔的变化会造成物种丰富度的不同及土壤性质的差异, 对微生物群落产生影响^[18]。而样地内结香前后细菌多样性差异不显著, 表明结香处理对根际土壤细菌种群影响较小。有研究发现药用植物的有效成分是长时间的合成和积累, 与生态环境密切相

关, 相同的药用植物因生长环境不同, 其体内次生代谢物累积的过程会产生影响, 进而改变次生代谢产物的成分和含量, 影响药材的品质^[16]。对细菌群落结构分析发现, 文山和临高的土壤细菌群落结构较为接近, 优势细菌门为厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门, 而乐东的优势菌门为浮游菌门、绿弯菌门和疣微菌门。其次, 白木香根际土壤细菌占比较大的是厚壁菌门和变形菌门, 相对丰度分别为 32.10% 和 7.98%。而变形菌门和厚壁菌门为药用植物根际微生物主要类群, 并且有助于药用植物质量和产量的提高^[19], 但变形菌门和酸杆菌门因其不同的生活方式, 常被用作衡量土壤营养状况的指标^[20]。而酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 细菌在酸性土壤环境中丰度较高^[21-22], 其原因可能由于酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 细菌是嗜酸性细菌, 酸性土壤环境有利于其生理活动^[23]。但在特定的土壤环境里, 变形菌门 (*Proteobacteria*) 细菌和放线菌门 (*Actinobacteria*) 细菌的丰度会随着酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 细菌的丰度增多而下降^[24], 因此, 可以解释文山与临高种植地的酸杆菌门较少。在属水平上, 结香和未结香细菌的丰度存在差异, 未结香细菌优势属相对丰度高于结香, 可能是结香后白木香产生应激反应作用对根际土壤细菌群落产生了影响, 导致结香后细菌群落丰度低于未结香。

根际土壤微生物的群落结构受多种因素的影响, 如植物种类、生长阶段、健康状况, 另外, 土壤理化性质对微生物群落也具有重要的影响, 如土壤营养状况、pH、温度等^[25-26]。而理化性质是一个关键的调节因素, 土壤理化性质与植物的根系发育、营养吸收^[27]和根际土壤微生物群落的组成^[6]有着密切的联系。通过研究白木香土壤根际微生物细菌群落的分布和多样性与环境因子之间的关系发现, 全磷与 pH 影响最为显著, 二者之间呈负相关。土壤 pH 是影响细菌群落分布的关键因素, 与土壤细菌多样性指数和主要菌门呈显著正相关, 但与厚壁菌门、拟杆菌门呈显著负相关。有研究也表明土壤微生物群落组成和土壤 pH 高度相关^[28-29], 土壤 pH 通过影响土壤理化性质及土壤基质组成来影响土壤细菌生物活性^[30]。BARDGETT 等^[31]和 HGBERG 等^[32]研究表明, 细菌群落结构量会随着 pH 的增加而增加, 与本研究结论相符; 表明土壤 pH 也会间接影响细菌群落结构, 影响养分供应, 特别是根部渗出物的数

量与组成。本研究中土壤全磷也是影响细菌群落多样性的一个主要因子与细菌多样性指数和主要菌门呈显著负相关; 研究表明, 土壤中的磷元素多以不溶或难溶复杂化合物的方式存在, 只有 20% 能被植物吸收利用, 是限制植物生长的关键元素之一^[33]。土壤解磷微生物, 如假单胞菌属、芽孢杆菌属、曲霉属以及青霉属等, 能够通过溶解或矿化过程释放土壤全磷中的有机磷和无机磷供植物吸收, 同时增强土壤微生物的固氮效率, 促进植物生长^[33]。LIU 等^[34]研究发现, 土壤磷含量在较老的森林土壤中是影响微生物群落结构的重要环境因子。CLEVELAND 等^[35]研究也表明, 在热带雨林里土壤磷的含量是影响土壤微生物群落结构的主要驱动因子。由此可见, 植物生长的环境、土壤的性质是影响白木香根际细菌群落的主要因素, 这些因素可能通过影响白木香根际细菌群落, 间接作用于白木香树体生长及沉香的形成。本研究通过根际环境差异探讨了土壤细菌多样性与土壤理化性质的关系, 为全面掌握土壤微生物与沉香结香的关系, 需在今后的深入开展土壤真菌、植物营养等方面的研究, 以实现沉香的快速形成与品质提升。

4 结论

(1) 3 个样地内结香前后细菌群落和多样性差异性不大, 样地间存在显著差异。细菌丰富度和多样性上由高到低依次为: LDJX>LDWJ>LGWJ>LGJX>WSWJ>WSJX。

(2) 在群落结构上, 样地间存在显著差异。在门水平上, 文山和临高土壤细菌群落结构较为接近, 其优势细菌门为厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门。而乐东的优势菌门为浮游菌门、绿弯菌门和疣微菌门。

(3) 通过冗余分析表明, 土壤理化性质对细菌群落分布具有影响, 其中 pH 和全磷是影响细菌群落分布的主要驱动因子。全磷与厚壁菌门、拟杆菌门呈显著正相关; pH 与变形菌门、浮游菌门、疣微菌门、放线菌门、绿弯菌门、*Myxococcot* 呈显著正相关。

(4) 环境因素、地形及海拔等因素会对微生物细菌群落造成一定的影响。该研究结果将为进一步深入探讨白木香栽培营养精细管理、根际微生物互作及先进结香技术开发等方面研究奠定基础, 为推动海南沉香产业的健康、持续和快速发展

展提供支撑。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志委员会. 中国植物志: 第 51 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
Chinese Flora Committee, Chinese Academy of Sciences. Flora of China: Volume 51[M]. Beijing: Science Press, 1995. (in Chinese)
- [2] 王灿红, 郭鹏, 王帅, 彭德乾, 弓宝, 魏建和. 沉香药用记载、临床应用及药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(10): 1082-1083.
WANG C H, GUO P, WANG S, PENG D Q, GONG B, WEI J H. Research progress on medicinal records, clinical applications and pharmacological effects of agarwood[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2016, 30(10): 1082-1083. (in Chinese)
- [3] 黄雅丽, 邝枣园, 宋梦微, 张韧. 结香与未结香白木香内生细菌群落结构及变化[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 63-67.
HUANG Y L, KUANG Z Y, SONG M W, ZHANG R. Community structure and difference of endophytic bacteria in *Aquilaria*[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 40(1): 63-67. (in Chinese)
- [4] 陈瑶. 奇楠沉香内生菌多样性对结香进程的响应[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020.
CHEN Y. Response of endophyte diversity in *Aquilaria sinensis* to the process of agarwood formation[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2020. (in Chinese)
- [5] 刘娟, 高佳琪, 陈苏依勒, 蒋超, 袁媛, 焦顺刚, 孟虎彪, 柴兴云, 黄璐琦. 山沉香结香前后细菌群落结构与多样性分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(15): 3651-3658.
LIU J, GAO J Q, CHEN S Y L, JIANG C, YUAN Y, JIAO S G, MENG H B, CHAI X Y, HUANG L Q. Analysis of bacterial community structure and diversity during mountain-agarwood formation[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(15): 3651-3658. (in Chinese)
- [6] 李萍, 史荣久, 赵峰, 于景华, 崔晓阳, 胡金贵, 张颖. 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.
LI P, SHI R J, ZHAO F, YU J H, CUI X Y, HU J G, ZHANG Y. Soil bacterial community structure and predicted functions in the larch forest during succession at the Greater Khingan Mountains of Northeast China[J]. Journal of Applied Ecology, 2019, 30(1): 95-107. (in Chinese)
- [7] GAGNÉ S, RICHARD C, ROUSSEAU H, ANTOUN H. Xylem-residing bacteria in alfalfa roots[J]. Canadian Journal of Microbiology, 33(11): 996-1000.
- [8] NIMNOI P, PONGSILP N, LUMYONG S. Actinobacterial community and diversity in rhizosphere soils of *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec assessed by RT-PCR and PCR-DGGE[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2011, 39(4/6): 509-519.
- [9] CHHIPA H, KAUSHIK N. Fungal and bacterial diversity isolated from *Aquilaria malaccensis* tree and soil, induces agarospirol formation within 3 months after artificial infection[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1286.
- [10] 王龙仁, 曾军, 刘双龙, 王雅丽, 孙会举, 王熙, 杨福孙, 戴好富. 白木香人工结香初期营养元素及叶片叶绿素含量的变化[J]. 热带生物学报, 2021, 12(3): 326-332.
WANG L R, ZENG J, LIU S L, WANG Y L, SUN H J, WANG X, YANG F S, DAI H F. The changes of nutrient and leaf chlorophyll contents of *Aquilaria sinensis* at the early agarwood inducing stage[J]. Chinese Journal of Tropical Biology, 2021, 12(3): 326-332. (in Chinese)
- [11] 马惠芬, 郑科, 王卫斌, 肖支叶, 华梅, 谷丽萍. 环境因子对白木香结香质量的影响[J]. 西部林业科学, 2018, 47(6): 136-140.
MA H F, ZHENG K, WANG W B, XIAO Z Y, HUA M, GU L P. The effect of environmental factors on the quality of *Aquilaria sinensis* agarwood formation[J]. Western Forestry Science, 2018, 47(6): 136-140. (in Chinese)
- [12] 王冉, 何茜, 丁晓纲, 李吉跃, 张方秋, 潘文. 珍贵树种土沉香生长环境的土壤特性与营养特性分析[J]. 生态环境学报, 2012, 21(4): 666-672.
WANG R, HE Q, DING X G, LI J Y, ZHANG F Q, PAN W. Analysis of soil characteristics and nutritional characteristics of the growth environment of Agarwood, a precious tree species[J]. Journal of Ecological Environment, 2012, 21(4): 666-672. (in Chinese)
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO S D. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000. (in Chinese)
- [14] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, HOLMES S P. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis[J]. The ISME Journal, 2017, 11(12): 2639-2643.
- [15] BOKULICH N A, KAEHLER B D, RIDEOUT J R, DILLON M, BOLYEN E, KNIGHT R, HUTTLEY G, CAPORASO G. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 1-17.
- [16] 赵建琪, 吴建平, 张慧玲, 熊鑫. 增温对南亚热带季风常绿阔叶林土壤微生物群落的影响[J]. 生态环境学报, 2019, 28(5): 881-889.
ZHAO J Q, WU J P, ZHANG H L, XIONG X. Effects of

- warming on soil microbial communities of a subtropical monsoon evergreen broad-leaved forest in southern China[J]. Ecology and Environment Sciences, 2019, 28(5): 881-889. (in Chinese)
- [17] 罗达, 唐敬超, 刘世荣. 南亚热带乡土树种人工纯林及混交林土壤微生物群落结构[J]. 应用生态学报, 2014, 25(9): 2543-2550.
- LUO D, TANG J C, LIU S R. Soil microbial community structure of monoculture and mixed plantation stands of native tree species in south subtropical China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(9): 2543-2550. (in Chinese)
- [18] TANG M, LI L, WANG X, YOU J, LI J N, CHEN X. Elevational is the main factor controlling the soil microbial community structure in alpine tundra of the Changbai Mountain[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-15.
- [19] 林生, 庄家强, 陈婷, 张爱加, 周明明, 林文雄. 不同年限茶树根际土壤微生物群落 PLFA 生物标记多样性分析[J]. 生态学杂志, 2013, 32(1): 64-71.
- LIN S, ZHUANG J Q, CHEN T, ZHANG A J, ZHOU M M, LIN W X. Microbial diversity in rhizosphere soils of different planting year tea trees: an analysis with phospholipid fatty acid biomarkers[J]. Journal of Ecology, 2013, 32(1): 64-71. (in Chinese)
- [20] SINGH D, TAKAHASHI K, KIM M, CHUN J, M S. A hump-backed trend in bacterial diversity with elevation on mount Fuji, Japan[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(2): 429-437.
- [21] FIERER N, BRADFORD M A, JACKSON R B. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. Ecology, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [22] MNNIST M K, MARJA T, HGGBLUM M M. Bacterial communities in arctic fields of Finnish Lapland are stable but highly pH-dependent[J]. Fems Microbiology Ecology, 2010(2): 452-465.
- [23] 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.
- LIU C X, DONG Y H, JIAO R Z. Research progress in acidobacteria diversity in forest soil[J]. World Forestry Research, 2016, 29(6): 17-22. (in Chinese)
- [24] LLADÓ S, LOPEZ-MONDEJAR R, BALDRIAN P. Drivers of microbial community structure in forest soils[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(10): 4331-4338.
- [25] LU H, LASHARI M S, LIU X, JI H, LI L, ZHENG J, PAN G. Changes in soil microbial community structure and enzyme activity with amendment of biochar-manure compost and pyrolytic solution in a saline soil from Central China[J]. European Journal of Soil Biology, 2015, 70: 67-76.
- [26] KOLB E, LEGUE V, BOGEAT-TRIBOULOT M B. Physical root-soil interactions[J]. Physical Biology, 2017, 14(6): 65004.
- [27] XUE P P, CARRILLO Y, PINO V, MINASNY B, MCBRATNEY A. Soil properties drive microbial community structure in a large scale transect in South East-ern Australia[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 11725.
- [28] CAMBI M, PAFFETTI D, VETTORI C, PICCHIO R, VENANZI R, MARCHI E. Assessment of the impact of forest harvesting operations on the physical parameters and microbiological components on a Mediterranean sandy soil in an Italian stone pine stand[J]. European Journal of Forest Research, 2017, 136(2): 205-215.
- [29] GANTAR M, KERBY N W, OBREHT P R. Colonization of Wheat (*Triticum vulgare* L.) by N₂-Fixing cyanobacteria: I. a survey of soil cyanobacterial isolates forming associations with roots[J]. New Phytologist, 1991, 118(3): 477-483.
- [30] FIERER N, JACKSON R B. From the cover: the diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(3): 626-631.
- [31] BARDGETT R D, FRANKLAND J, WHITTAKER J. The effects of agricultural management on the soil biota of some upland grasslands[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1993, 45(1/2): 25-45.
- [32] HGBERG M N, HGBERG P, MYROLD D D. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three?[J]. Oecologia, 2007, 150(4): 590-601.
- [33] VASSILEVA M, SERRANO M, BRAVO V, JURADO E, NIKOLAEVA I, MARTOS V, VASSILEV N. Multifunctional properties of phosphate-solubilizing microorganisms grown on agro-industrial wastes in fermentation and soil conditions[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85(5): 1287-1299.
- [34] LIU L, GUNDERSEN P, ZHANG T, MO J M. Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in three forest types in tropical China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 44(1): 31-38.
- [35] CLEVELAND C C, TOWNSEND A R, SCHMIDT S K. Phosphorus limitation of microbial processes in moist tropical forests: evidence from short-term laboratory incubations and field studies[J]. Ecosystems, 2002, 5(7): 680-691.