

付冰旭, 蔡元锋, 滕钊军, 夏围围, 贾仲君. 东北苏打盐碱地野生植物根际细菌群落特征及高通量培养[J]. 土壤学报, 2026,
FU Bingxu, CAI Yuanfeng, TENG Zhaojun, XIA Weiwei, JIA Zhongjun. Characterization and High-Throughput Cultivation of Rhizosphere
Bacteria from Wild Plants in Soda Saline-Alkali Soils of Northeast China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

东北苏打盐碱地野生植物根际细菌群落特征及高通量培养*

付冰旭^{1,2,3}, 蔡元锋^{2†}, 滕钊军^{1,2}, 夏围围¹, 贾仲君^{2,4}

(1. 南京信息工程大学生态与应用气象学院, 南京 210044; 2. 土壤与农业可持续发展全国重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 211135; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130102)

摘要: 根际细菌在植物抵御逆境胁迫、促进养分吸收过程中发挥着关键作用。然而, 目前关于苏打盐碱地植物根际细菌的群落结构特征及其可培养潜力尚不清楚。本研究在松嫩平原的大安、肇源、镇赉、通榆 4 个典型苏打盐碱地分布区采集碱蓬、芦苇、狗尾草等 7 种常见野生植物的根际土壤样品。通过 16S rRNA 基因高通量测序分析根际细菌的群落结构, 并利用 1/10 TSB 培养基开展根际细菌的高通量培养与鉴定, 评估不同类群的培养偏好特征。结果表明: 根际细菌的丰度在 1.79×10^9 至 1.24×10^{10} copies·g⁻¹ 之间, 不同植物根际细菌的多样性差异显著: 蒲公英根际细菌丰度与多样性均较高; 茵陈蒿根际细菌丰度低但多样性高; 车前草和芦苇的根际细菌丰度与多样性均较低。主成分分析表明, 不同野生植物根际细菌群落分异不显著, 而采样地点对根际细菌群落结构具有显著影响。不同植物根际优势细菌类群基本一致。变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高, 平均为 26.3%, 其次为放线菌门(Actinobacteria, 17.2%)和酸杆菌门(Acidobacteria, 11.3%)。优势属为节杆菌属(*Arthrobacter*)、微枝杆杆菌属(*Microvirga*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、沙壤土杆菌属(*Ramlibacter*)、斯克尔曼氏菌属(*Skermanella*)、红色杆菌属(*Rubrobacter*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和类诺卡氏菌属(*Nocardioide*)。高通量培养共获得 117 个纯菌 ASV, 隶属于 52 个属、4 个门。分离效率平均每 100 个阳性孔获得 3.1 个属和 7.1 个纯菌株。分离频率较高的类群为 Proteobacteria、Firmicutes 和 Actinobacteria 门, 以及假单胞菌(*Pseudomonas*)、赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus*)、红球菌(*Rhodococcus*)、湖沉积杆菌(*Limnobacter*)等属。根际中相对丰度前 8 位的属有 5 个成功获得纯培养。因此, 在东北苏打盐碱地较大地理尺度下, 采样位置而非植物类型是决定根际细菌分异的主要因素。尽管不同类群的培养偏好性差异很大, 高通量培养技术能有效获取大部分优势类群, 是盐碱地根际细菌资源挖掘的高效手段。

关键词: 苏打盐碱地; 根际细菌; 野生植物; 培养组学; 培养偏好

中图分类号: Q938; S154.36

文献标志码: A

Characterization and High-Throughput Cultivation of Rhizosphere Bacteria from Wild Plants in Soda Saline-Alkali Soils of Northeast China

FU Bingxu^{1,2,3}, CAI Yuanfeng^{2†}, TENG Zhaojun^{1,2}, XIA Weiwei¹, JIA Zhongjun^{2,4}

(1. School of Ecology and Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China)

* 国家重点研发计划项目(2022YFD1500203)和中国科学院战略性先导科技专项(XDA28020203, XDA28110100)资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No.2022YFD1500203), and the Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (Nos.XDA28020203, XDA28110100)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yfc@issas.ac.cn

作者简介: 付冰旭(2001-), 男, 安徽滁州人, 硕士研究生, 主要从事盐碱地促生菌多样性及分离培养研究。E-mail:

FBXssjszsdqn@163.com

收稿日期:2025-11-13; 收到修改稿日期:2026-04-30; 网络首发日期(www.cnki.net):

Abstract: 【Objective】 Rhizosphere bacteria play a key role in plant stress resistance and nutrient acquisition. However, the community structure and culturable potential of rhizosphere bacteria in soda saline-alkali soils remain poorly understood.

【Methods】 In this study, rhizosphere soil samples of seven common wild plant species (including *Suaeda glauca*, *Phragmites australis*, and *Setaria viridis*) were collected from four typical soda-saline-alkaline areas in the Songnen Plain: Da'an, Zhaoyuan, Zhenlai, and Tongyu. The bacterial community structure was analyzed by high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene, and high-throughput cultivation using 1/10 TSB medium was conducted to assess the cultivation preferences of different taxa. 【Results】 Results showed that rhizosphere bacterial abundance ranged from 1.79×10^9 to 1.24×10^{10} gene copies $\cdot g^{-1}$ dry soil, and significant differences in diversity were observed among plant species. *Taraxacum mongolicum* exhibited high abundance and high diversity; *Artemisia capillaris* had low abundance but high diversity; *Plantago asiatica* and *Phragmites australis* showed both low abundance and low diversity. Principal component analysis indicated that while the rhizosphere bacterial communities of different wild plants did not differ significantly, sampling location significantly influenced the rhizosphere bacterial community structure. The dominant bacterial taxa were generally consistent across plant species. At the phylum level, Proteobacteria were the most abundant (26.3%), followed by Actinobacteria (17.2%) and Acidobacteria (11.3%). The dominant genera included *Arthrobacter*, *Microvirga*, *Bacillus*, *Ramlibacter*, *Skermanella*, *Rubrobacter*, *Sphingomonas*, and *Nocardioides*. High-throughput cultivation yielded 117 pure bacterial ASVs, belonging to 52 genera and 4 phyla. The isolation efficiency averaged 3.1 genera and 7.1 pure strains per 100 positive wells. Frequently isolated taxa included the phyla Proteobacteria, Firmicutes, and Actinobacteria, and the genera *Pseudomonas*, *Lysinibacillus*, *Rhodococcus*, and *Limnobacter*. Notably, five of the top eight genera that were in relatively abundant in the rhizosphere were successfully cultured. 【Conclusion】 In conclusion, at a broad geographic scale in the Songnen Plain soda-saline-alkaline region, sampling location rather than plant species was the primary factor driving rhizosphere bacterial variation. Although different bacterial groups exhibited distinct cultivation preferences, high-throughput cultivation proved to be an effective method for capturing the most dominant taxa, demonstrating its utility for mining rhizobacterial resources in saline-alkaline soils.

Key words: Soda saline-alkali soils; Rhizosphere bacteria; Wild plants; Culturomics; Cultivation preference

中国东北松嫩平原作为世界三大苏打盐碱地分布区之一，盐碱地面积达 765 万 hm^2 ，该区域土壤盐分以碳酸钠 (Na_2CO_3) 和碳酸氢钠 ($NaHCO_3$) 为主，具有强碱性 ($pH > 8.5$)、高钠吸附比和结构不良等复合障碍特征，严重制约当地农业可持续发展^[1]。近年来，开发利用耐盐碱微生物资源，构建植物-土壤-微生物系统功能协同网络，已成为改良苏打盐碱地、提升土壤健康功能的新途径^[2-3]。系统评估苏打盐碱地中的微生物资源特征及其可培养性是实现该目标的重要基础。

随着高通量测序技术的广泛应用，松嫩平原苏打盐碱土壤微生物群落的多样性组成、优势类群及其环境驱动因子已有初步认识。研究表明，该区域优势细菌门类主要包括放线菌门 (Actinobacteria)、变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 等；常见优势属包括红球菌属 (*Rhodococcus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、类诺卡氏菌属 (*Nocardioides*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 和腈基降解菌属 (*Nitriliruptor*) 等，其群落结构与土壤 pH、电导率、有机质及盐分离子组成等环境因子显著相关^[4-7]。植物在长期适应盐碱胁迫的过程中，其根际可能富集了独特的耐盐碱微生物类群。相较于土体微生物，根际微生物在促进植物健康、增强养分吸收和提升抗逆能力等方面发挥关键作用，对揭示植物-微生物协同适应机制及挖掘抗逆促生菌株资源具有重要的科学与实践价值^[8-10]。目前，针对苏打盐碱土根际微生物的研究多集中于大豆、玉米等作物^[11]以及碱蓬、羊草等少数野生植物^[5]，且多数研究局限于单一试验点或盆栽控制性试验^[12-13]。总体而言，对于该区域不同地理位点及不同类型野生植物根际细菌的多样性、组成及地理分异特征仍缺乏系统性认知。

在微生物分离培养方面，基于传统稀释涂布平板技术，已从苏打盐碱土及其根际环境中分离出

多种功能微生物。这些菌株被证实具有渗透调节、离子稳态维持、植物促生及土壤改良等功能,成为盐碱地生物修复的重要种质资源^[14-17]。然而,传统方法流程繁琐,存在分离效率低、鉴定成本高、类群覆盖范围有限等问题^[18]。高通量培养技术(Culturomics)通过构建包含数千个微环境的培养体系和标准化鉴定流程,显著提升可培养微生物的覆盖度,为突破上述瓶颈提供了新路径。该技术已在人体微生物组^[19-20]和动物肠道及瘤胃微生物组^[21-22]研究中广泛应用,并表现出显著优势。然而,其在土壤微生物尤其是根际微生物的分离培养方面的应用仍相对有限。例如,在稻虾共作系统土壤细菌研究中,高通量培养所获得的细菌属的种类数量是传统方法的 2.3 倍以上^[23]。此外,研究显示拟南芥根际中相对丰度最高的 100 个 OTU 中,有 64% 通过高通量培养成功获得纯菌株^[24]。尽管如此,该技术对苏打盐碱土根际优势细菌类群的覆盖度与实际分离效率仍不明确,缺乏系统的实验数据支撑。

针对上述研究不足,本研究以东北苏打盐碱地的典型野生植物(包括碱蓬(*Suaeda glauca*)、车前草(*Plantago asiatica*)、芦苇(*Phragmites australis*)等)为研究对象,系统分析其根际细菌群落的丰度、多样性、组成与分异规律;同时运用高通量培养技术对根际细菌进行批量培养与鉴定,评估该技术在苏打盐碱土细菌资源挖掘中的适用性和效率,以期对苏打盐碱土功能微生物菌剂的开发提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 根际土壤样品描述

野生植物根际土壤样本于 2023 年 7 月采集自松嫩平原西部 4 个典型苏打盐碱土分布县(市):大安(DA: 45.50°N, 124.25°E)、通榆(TY: 44.13°N, 123.30°E)、镇赉(ZL: 45.85°N, 123.21°E)和肇源(ZY: 45.55°N, 125.05°E)。该区域属于温带半湿润大陆性季风气候,年均气温介于 3.9~5.7°C,年降水量为 500~600 mm,年蒸发量为 1 800~2 000 mm,土壤以黑钙土为主,质地为壤质黏土。所采集的野生植物根际土壤样品涵盖 4 个地点的 7 种植物,包括:车前草(CQC, 镇赉 2 份,大安 1 份)、狗尾草(*Setaria viridis*, GWC, 肇源 1 份,大安 1 份,通榆 3 份)、碱蓬(JP, 大安 1 份,通榆 1 份)、芦苇(LW, 大安 2 份,通榆 2 份,镇赉 2 份)、牛筋草(*Eleusine indica*, NJC, 肇源 1 份,大安 1 份,镇赉 2 份,通榆 2 份)、蒲公英(*Taraxacum mongolicum*, PGY, 大安 3 份,镇赉 2 份,通榆 2 份)和茵陈蒿(*Artemisia capillaris*, YCH, 通榆 1 份,镇赉 2 份,肇源 1 份,大安 3 份)。根际土采用抖根法收集,采集后于 4 °C 条件下保存备用。每份样品为 3 株同种植物的根际土壤混合物。由于根际土壤样本量有限,在完成细菌群落结构分析后,将同种植物剩余的根际土壤合并为一个混合样,用于土壤理化性质测定、细菌丰度分析及高通量培养。

1.2 根际土壤理化性质测定

测定的土壤理化指标包括:含水量(WC)、pH、总有机碳(TOC)、全氮(TN)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、有效磷(AP)、速效钾(AK)、溶解性有机碳(DOC)、微生物生物量碳(MBC)和微生物生物量氮(MBN)。土壤 WC 通过烘干法测定;pH 采用玻璃电极法测定(土水质量比为 1:2.5);TOC 采用重铬酸钾氧化法测定;TN 采用半微量凯氏定氮法测定; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 采用氯化钾浸提—靛酚蓝比色法测定;AP 采用碳酸氢钠浸提—比色法测定;AK 采用乙酸铵溶液浸提—火焰光度法测定;DOC 利用蒸馏水浸提—总有机碳分析仪法测定;MBC 和 MBN 均采用氯仿熏蒸提取法,其中 MBC 基于提取液有机碳计算,MBN 通过凯氏定氮法测定。

1.3 根际土壤细菌丰度及群落结构分析

采用 FastDNA Spin Kit for Soil (MP Bio, USA) 试剂盒提取土壤总 DNA,采用实时荧光定量 PCR (qPCR) 方法测定土壤中的细菌丰度。所用引物为 515F/907R^[25]。qPCR 反应体系为 20 μL ,

包括 1 μL DNA 模板, 前后引物各 0.5 μL , 10 μL 2 $\times$ ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix, 8 μL 无菌水。反应程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 随后进行 40 个循环的扩增 (95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s), 最后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 读取荧光信号。细菌丰度统一换算为每克干土基因拷贝数(copies $\cdot\text{g}^{-1}$ d.w.s)。土壤细菌的扩增子测序委托上海美吉生物医药科技有限公司进行。原始测序数据采用 QIIME 2 分析流程进行质量控制和物种注释, 最终获得扩增子序列变体 (ASV) 相对丰度组成表, 以供后续统计分析^[26]。

1.4 根际土壤细菌的高通量培养及鉴定

土壤悬液最适稀释度 (optimal dilution concentration, ODC) 的确定参考已有文献^[27]。简述如下: 称取 1.0 g 新鲜土壤样品, 置于 50 mL 无菌离心管中, 加入 50 mL 无菌去离子水, 盖紧管盖。随后将离心管置于恒温摇床中, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下振荡 60 min。振荡结束后, 将离心管垂直静置于实验台 30 min, 最后使用无菌移液器吸取液面下约 1 cm 处的上清液, 即可获得作为细菌种源的土壤悬液。随后构建 2 倍梯度浓度的培养体系: 分别将 330 μL 、170 μL 、83 μL 、41.6 μL 、20.8 μL 、10.4 μL 、5.2 μL 、2.6 μL 、1.3 μL 的土壤悬液加入 50 mL 1/10 的胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB, Difco, USA; pH 调至 8.0) 培养基中, 对应 150 $\times$ 至 38 400 $\times$ 共 9 个稀释度。分装至 96 孔细胞培养板, 每孔 160 μL , 每个稀释度设置 2 个重复培养板。用 Parafilm 膜封口后, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养 2 周。采用酶标仪 (SpectraMax M5, USA) 测定各孔在 600 nm 处的吸光值 (OD_{600}), 并同步观察浊度变化。阳性孔判定标准为 OD_{600} 值增量 ≥ 0.5 或者培养孔形成肉眼可辨的浑浊。若某一稀释度对应的阳性孔占比达 50% 左右, 则判定为该根际土的 ODC^[27]。基于每种根际土的 ODC, 使用 1/10 的 TSB 培养基分别配制 0.33 $\times$ ODC、1 $\times$ ODC 及 3 $\times$ ODC 的培养体系。每个稀释度的培养体系分装到 6 个 96 孔细胞培养板, 即每种野生植物根际土使用 18 块培养板进行培养。所有培养板在 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养 2 周后, 筛选出阳性孔占比在 30%~60% 之间的培养板用于后续的细菌高通量鉴定。

高通量鉴定流程如下: 从每个培养孔中取 10 μL 培养液转移至 96 孔 PCR 板, 加入 16.6 μL 碱性裂解液 (pH 12.8), 充分混合后于 PCR 仪中 95 $^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min, 随后立即加入 16.6 μL 中和缓冲液 (pH 5.5), 混匀后作为 DNA 模板。PCR 反应在新的 PCR 板中进行, 采用带特异性标签的引物 515F 与 907R 进行单轮扩增。反应体系为 30 μL , 包括 DNA 模板 3 μL 、前后引物各 0.6 μL 、Taq 酶预混液 (TaKaRa TaqTM Version 2.0, Takara Bio Inc.) 15 μL 以及无菌水 10.8 μL 。PCR 程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min, 随后进行 30 个循环的扩增 (94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min), 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。扩增完成后, 将同一块 96 孔板中的所有 PCR 产物于 15 mL 无菌离心管中混匀, 取 40 μL 进行电泳, 并使用 Takara MiniBEST 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (Ver.4.0) 进行回收。采用 NanoDrop One 超微量分光光度计测定 DNA 浓度。每个 96 孔板的 PCR 产物按 1 μg 取样, 合并后送上海美吉生物医药科技有限公司进行建库和测序, 测序通量 2 Gb。原始测序数据采用 mothur 软件进行拆分、质控、生成 ASV 相对丰度表以及物种分类^[28]。阳性孔的判定标准为测序总 reads 数 ≥ 50 , 纯菌孔的认定标准为单一 ASV 的占比超过 95%。

1.5 根际细菌代表菌株的耐盐碱能力测定

选取优势属的代表菌株在不同盐度和碱度下进行培养, 以评估其耐盐碱能力。以 1/10 的 TSB 液体培养基为基础, 分别设置不同 NaCl 浓度 (0.5%、1.0%、2.0% 和 3.0%) 以及不同 pH (7、8、9 和 10) 的培养处理。将供试菌株接种至上述培养基中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 1 周后, 采用酶标仪测定培养液在 600 nm 处的吸光值 (OD_{600}), 以表征菌株在不同盐碱条件下的生长情况。各培养处理均设置 3 个重复, 根据 1 周后培养液 OD_{600} 值的增量对菌株生长状态进行分级: OD_{600} 增量 >0.3 记为“++”, 表示生长正常; OD_{600} 增量在 0.1~0.3 之间记为“+”, 表示生长受抑制; OD_{600} 增量 <0.1 记为“-”, 表示无法生长。

1.6 统计分析

基于 ASV 相对丰度表, 利用 R 软件中的 vegan 包^[29]进行土壤细菌的群落多样性分析, 分别计

算 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数及 Simpson 多样性指数, 以综合评估细菌群落的物种丰富度与均匀度, 揭示不同植物根际细菌群落结构差异。细菌丰度和多样性指数与理化因子的相关性采用 Pearson 相关性分析。PCA 图通过 R 语言中的 ggplot2 包完成绘制^[30]。本研究采用了三种基于 Bray-Curtis 距离矩阵的非参数多元统计方法, 即 PERMANOVA、ANOSIM 和 MRPP 检验不同组别间微生物群落结构的差异, 并通过 999 次置换检验来评估显著性。使用 Origin 软件绘制细菌门和属水平的物种相对丰度堆叠图。高通量培养结果的统计分析流程如下: 根据 ASV 表, 使用 R 语言筛选获得纯菌孔的数量、纯菌孔占比、纯菌分离效率(每 100 个阳性孔获得的纯菌种类数)以及纯菌 ASV 种类等信息。为评估野生植物根际不同细菌类群的培养偏好, 本研究引入培养偏好系数(Cultivation Bias Coefficient, CBC)这一指标, 将其定义为各分类单元在纯培养物中的分离频率与其在原始土壤群落中相对丰度的比值。

2 结果

2.1 土壤理化性质

各野生植物根际土壤的理化性质如表 1 所示, 不同样本在 pH、含水量、养分含量及微生物活性等方面均表现出明显差异。不同样本间 pH 跨度较大, 从车前草的 7.81 到芦苇的 10.38, 反映出不同野生植物对碱性环境的适应范围存在差异。在养分含量方面, 狗尾草根际土壤的 TOC ($29.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 TN ($1.73 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 均最高; 而碱蓬和牛筋草的对应指标较低。狗尾草的 AP ($42.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 AK ($504 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 也显著高于其他样本, 而牛筋草的 AK 最低 ($168 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。此外, 车前草根际土壤的 DOC 高达 $121 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 远高于其他样本; 其 MBC 和 MBN 也最高。

表 1 野生植物根际土壤基本理化性质

Table 1 Basic physicochemical properties of wild plant rhizosphere soils

土壤来源 Soil source	pH	含水量 WC/%	总有机碳 TOC/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 TN/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	硝态氮 NO_3^- - N/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	铵态氮 NH_4^+ - N/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
CQC	7.81	16.81	14.5	0.546	16.7	19.5
GWC	8.09	21.75	29.6	1.73	15.0	2.22
JP	9.46	15.44	5.34	0.494	3.50	58.6
LW	10.38	17.16	9.90	0.859	0.48	34.2
NJC	8.45	12.52	4.20	0.370	0.734	32.9
PGY	7.87	16.87	13.7	1.04	10.5	6.20
YCH	8.66	20.43	13.3	1.14	8.16	25.4
土壤来源 Soil source	有效磷 AP/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾 AK/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	溶解性有机碳 DOC/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	微生物生物量 碳 MBC/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	微生物生物量氮 MBN/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	
CQC	8.26	282	121	326	54.5	
GWC	42.4	504	102	278	43.3	
JP	5.67	218	63.4	171	28.9	
LW	6.37	292	75.8	171	23.0	
NJC	2.29	194	49.7	132	22.7	
PGY	15.9	278	95.2	243	34.4	
YCH	29.5	337	68.7	270	42.5	

注：土壤来源代码由植物中文名称的汉语拼音首字母按顺序组合而成。CQC，车前草；GWC，狗尾草；JP，碱蓬；LW，芦苇；NJC，牛筋草；PGY，蒲公英；YCH，茵陈蒿。Note: The soil source code is formed by concatenating the first letters of the Pinyin syllables of the plant's Chinese name. The Latin names corresponding to these plants are listed as follows: CQC, *Plantago asiatica*; GWC, *Setaria viridis*; JP, *Suaeda glauca*; LW, *Phragmites australis*; NJC, *Eleusine indica*; PGY, *Taraxacum mongolicum*; YCH, *Artemisia capillaris*.

2.2 根际土壤细菌组成特征

不同野生植物根际土壤中的细菌丰度存在显著差异(表 2), 在 $1.79 \times 10^9 \sim 1.24 \times 10^{10} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d.w.s}$ 之间。蒲公英 (1.24×10^{10}) 和牛筋草 (1.16×10^{10}) 根际土壤细菌丰度最高; 狗尾草 (7.63×10^9) 和碱蓬 (7.40×10^9) 居中; 而芦苇 (2.71×10^9)、车前草 (2.36×10^9) 和茵陈蒿 (1.79×10^9) 最低, 较最高组低约一个数量级。细菌群落多样性指数分析结果显示(表 2), 茵陈蒿根际细菌的丰富度最高(ACE 指数: 934.68 ± 319.10 ; Chao1 指数: 942.63 ± 312.57)。狗尾草 (0.97 ± 0.01)、蒲公英 (0.98 ± 0.01) 和茵陈蒿 (0.97 ± 0.01) 的 Simpson 多样性指数显著高于碱蓬 (0.92 ± 0.02) 与芦苇 (0.93 ± 0.02) ($P < 0.01$)。蒲公英 (7.09 ± 0.15) 的 Shannon 多样性显著高于碱蓬 (5.65 ± 0.21) 和芦苇 (6.03 ± 0.18) ($P < 0.001$)。综合来看, 茵陈蒿、蒲公英和狗尾草的根际细菌多样性较高, 车前草、芦苇和碱蓬的根际细菌多样性较低, 而牛筋草处于中等水平。根据采样地点对根际细菌多样性指数进行分析, ACE 和 Chao1 指数在 DA 采样点最高(分别为 1100.74 ± 380.46 和 1111.12 ± 383.75), 并显著高于 TY、ZL 和 ZY ($P < 0.05$)。Simpson 指数在 DA (0.97 ± 0.03) 和 ZY (0.98 ± 0.01) 处最高, 且显著高于 TY 和 ZL。Shannon 指数由高至低依次为 DA (7.16 ± 0.80) > ZY (6.84 ± 0.73) > TY (6.39 ± 0.90) > ZL (5.98 ± 0.71), 其中 DA 显著高于 TY 和 ZL, ZL 显著低于其他三个地点。DA 的丰富度(ACE、Chao1 指数)和 Shannon 多样性最高, 显著高于其他三个地点; ZY 的群落均匀度(Simpson 指数)最高, 但丰富度较低; ZL 的多样性最低。相关性分析结果表明, 根际细菌丰度与根际土壤理化因子无显著相关性, 而 Shannon 指数与 TN, Simpson 指数与 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 AP, 以及 Chao1 指数与 MBC 之间均呈显著负相关 ($P < 0.05$)。

表 2 野生植物根际土壤细菌丰度及多样性指数

Table 2 Bacterial abundance and diversity indices of wild grass rhizosphere soils

来源 Source		细菌丰度 Bacterial abundance (16S rRNA gene copies $\cdot \text{g}^{-1}$)	ACE 指数	Chao1 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
			ACE index	Chao1 index	Simpson index	Shannon index
植物类 型 Plant species	CQC	$2.36 \times 10^9 \text{c}$	$670.97 \pm 345.58 \text{d}$	$672.30 \pm 345.15 \text{d}$	$0.95 \pm 0.03 \text{b}$	$6.31 \pm 0.93 \text{c}$
	GWC	$7.60 \times 10^9 \text{b}$	$863.01 \pm 428.20 \text{b}$	$877.43 \pm 433.88 \text{b}$	$0.97 \pm 0.02 \text{a}$	$6.89 \pm 0.92 \text{b}$
	JP	$7.40 \times 10^9 \text{b}$	$538.62 \pm 439.53 \text{e}$	$545.04 \pm 449.07 \text{e}$	$0.92 \pm 0.04 \text{c}$	$5.65 \pm 1.17 \text{d}$
	LW	$2.71 \times 10^9 \text{c}$	$689.54 \pm 438.91 \text{c}$	$698.55 \pm 446.28 \text{c}$	$0.93 \pm 0.06 \text{c}$	$6.03 \pm 1.41 \text{c}$
	NJC	$1.16 \times 10^{10} \text{a}$	$781.39 \pm 413.15 \text{b}$	$793.14 \pm 414.38 \text{b}$	$0.96 \pm 0.02 \text{a}$	$6.56 \pm 0.74 \text{b}$
	PGY	$1.24 \times 10^{10} \text{a}$	$908.79 \pm 417.62 \text{a}$	$917.14 \pm 425.57 \text{a}$	$0.98 \pm 0.01 \text{a}$	$7.09 \pm 0.45 \text{a}$
	YCH	$1.79 \times 10^9 \text{c}$	$934.68 \pm 319.10 \text{a}$	$942.63 \pm 312.57 \text{a}$	$0.97 \pm 0.02 \text{a}$	$6.68 \pm 0.69 \text{b}$
采样地 点 Sampling site	DA	\	$1100.74 \pm 380.46 \text{a}$	$1111.12 \pm 383.75 \text{a}$	$7.16 \pm 0.8 \text{a}$	$0.97 \pm 0.03 \text{a}$
	TY	\	$702.73 \pm 305.46 \text{b}$	$711.64 \pm 310.5 \text{b}$	$6.39 \pm 0.9 \text{b}$	$0.95 \pm 0.04 \text{b}$
	ZL	\	$622.32 \pm 326.56 \text{b}$	$629.55 \pm 327.55 \text{b}$	$5.98 \pm 0.71 \text{c}$	$0.94 \pm 0.03 \text{b}$
	ZY	\	$657.61 \pm 200.12 \text{b}$	$668.53 \pm 212.33 \text{b}$	$6.84 \pm 0.73 \text{ab}$	$0.98 \pm 0.01 \text{a}$

注：同列不同字母表示不同样本间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Letters within the same column indicate significant differences between different samples.

主成分分析 (PCA) 结果显示, 来自不同采样点的同一种野生植物根际土壤的细菌群落结构变异很大, PERMANOVA ($P=0.530$)、ANOSIM ($P=0.811$) 及 MRPP 检验 ($P=0.749$) 结果均显示植物类型组间差异不显著, 因此不同野生植物根际细菌群落间并未出现明显的分化。而根据采样地点分组的 PCA 散点图可以看出, 来自大安 (DA) 的野生植物根际土壤样本明显聚为一簇, 而其他 3 个位点的野生植物根际土壤样本聚为另一簇 (图 1)。PERMANOVA 检验显示采样地点这一分组因素解释了 16.35% 的变异, 且达到显著水平 ($P=0.004$), ANOSIM 检验的 R 值为 0.2668 ($P=0.001$), MRPP 检验同样证实了组间差异的显著性 ($P=0.003$)。基于 Bray-Curtis 距离的组间距离均值 (0.6695) 明显高于组内距离均值 (0.6074), 且采样点大安 (DA) 与其他 3 个采样点间均存在显著差异。这些结果表明, 相较于植物类型, 采样地点对根际细菌群落结构的影响更大。

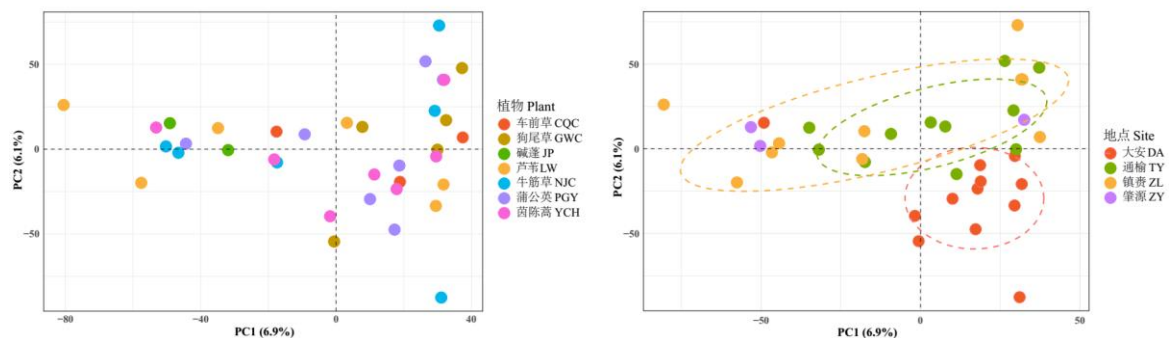


图 1 野生植物根际土壤细菌群落结构的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis (PCA) of wild plant rhizosphere soils bacterial community structure

基于 16SrRNA 基因扩增子测序分析, 本研究揭示了 7 种野生植物根际土壤细菌在门 (phylum) 和属 (genus) 水平的群落组成特征。在门水平上, 不同植物根际的优势细菌类群 (Top 10) 基本一致, 但个别门的相对丰度存在较大差异 (图 2a)。Proteobacteria 在所有样品中均占主导地位, 平均相对丰度为 26.3%。其次为放线菌门 (Actinobacteria, 17.2%) 和酸杆菌门 (Acidobacteria, 11.3%)。其余主要菌门包括绿弯菌门 (Chloroflexi)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和浮霉菌门 (Planctomycetes), 平均相对丰度在 5.3%~9.5% 之间。芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、黏细菌门 (Myxococcota) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia), 相对丰度较低, 在 1.3%~4.7% 之间。部分植物根际土壤中特定菌门表现出明显的丰度差异。碱蓬根际中 Actinobacteria 和 Acidobacteria 的相对丰度较总体平均值低约 5%。蒲公英根际中 Firmicutes 比例最高 (10.8%), 而碱蓬和茵陈蒿根际土壤中拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的占比均在 13.5% 左右, 显著高于其他植物。此外, 这些样本中还检测到硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、蓝藻门 (Cyanobacteria) 等 38 个低丰度门类, 其相对丰度均低于 0.7%。尽管这些类群丰度较低, 但其潜在的生态功能不容忽视。例如, 硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 是土壤中重要的硝化细菌, 其硝化功能可能对根际氮循环和植物氮供应产生关键影响。

在属水平上 (图 2b), 7 种植物根际土壤中共检测到 1437 个细菌类群, 平均相对丰度前 20 的属在不同样本中的占比为 17.1%~31.6%。其中包括 8 个已知属, 分别为 *Arthrobacter*、微枝形杆菌属 (*Microvirga*)、*Bacillus*、沙壤土杆菌属 (*Ramlibacter*)、斯克尔曼氏菌属 (*Skermanella*)、红色杆菌属 (*Rubrobacter*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 和 *Nocardioides*, 它们的平均相对丰度在 0.8%~2.6% 之间。其余 12 个优势类群仅能注释到科或更高分类水平, 表明苏打盐碱土植物根际土壤中仍存在大量未被充分认识的细菌类群。进一步分析发现, 部分植物根际土壤中特定菌属表现出显著富集。例如, 狗尾草根际中 *Arthrobacter* 相对丰度达 4.6%, 芦苇根际中 *Bacillus* 为 2.9%, 茵陈蒿根际中未分类 Longimicrobiaceae 科相对丰度为 3.2%, 这些数值均高于其他植物根际中的相应类群。

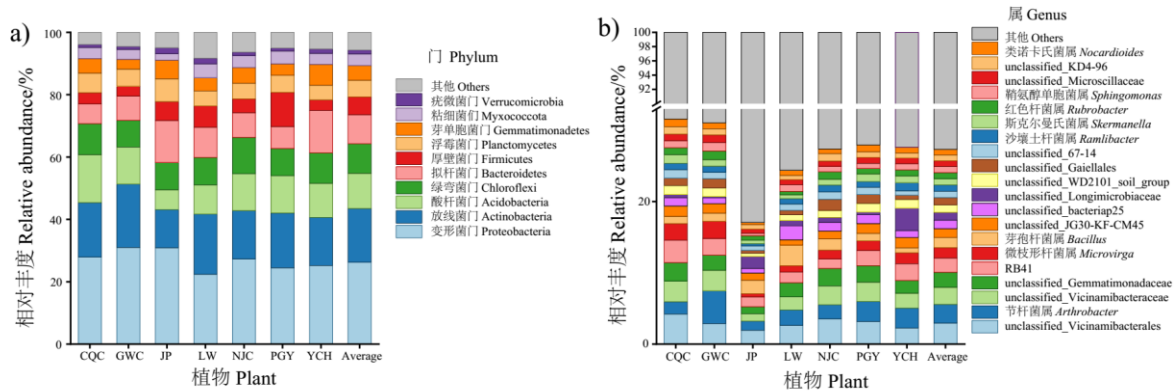


图 2 不同野生植物根际土壤中的优势细菌门 (a) 和属 (b)

Fig. 2 Dominant bacterial phyla (a) and genera (b) in rhizosphere soils of different wild plants

2.3 根际细菌的高通量培养结果

不同野生植物根际土壤的最适稀释度显著不同, 其范围介于 600×和 38 400×之间, 反映出各植物根际土壤中的可培养细菌数量存在较大差别。通过高通量培养, 共获得 1656 个阳性孔, 其中 310 个鉴定为纯菌孔, 占阳性孔总数的 18.7%。进一步分析表明, 这些纯菌株对应 117 种 ASV, 隶属于 52 个属 (表 3)。不同野生植物样品间纯菌孔占比差异明显, 狗尾草的纯菌孔占比最低 (3.0%), 而蒲公英则高达 74.0%。本研究以每 100 个阳性孔中获得的纯菌 ASV 及属的数量来表征细菌的分离效率。总体来看, ASV 水平的平均分离效率为 7.1, 属水平为 3.1。蒲公英和牛筋草根际细菌的分离效率最高, 在 ASV 水平分别为 35.1 和 24.6; 而狗尾草的分离效率最低, 平均每 100 个阳性孔仅能得到 1.7 种 ASV。

表 3 根际细菌高通量培养的基本信息

Table 3 Basic information of high-throughput cultivation for rhizosphere bacteria

土壤来源 Soil source	阳性孔数量 Number of positive wells	纯菌孔数量 Number of pure bacteria wells	纯菌孔占比/ Pure bacteria well ratio/ %	纯菌 ASV 种类 Pure ASV types	属数量 Genus number	ASV 分离 效率 ASV isolation efficiency*	Genus 分离 效率 Genus isolation efficiency*
LW	227	22	9.7	4	3	1.8	1.3
NJC	248	120	48.4	61	33	24.6	13.3
PGY	77	57	74.0	27	17	35.1	22.1
YCH	431	38	8.8	17	9	3.9	2.1
GWC	236	7	3.0	4	3	1.7	1.3
CQC	405	50	12.3	19	10	4.7	2.5
JP	92	16	17.3	5	5	5.4	5.4
总体 Total	1656	310	18.7	117	52	7.1	3.1

注: *分离效率指每 100 个阳性培养孔中, 分离得到的不同 ASV 或菌属平均数量。Note: *Isolation efficiency is defined as the average number of distinct ASV or genera obtained per 100 positive culture wells.

从 7 种野生植物根际中成功分离培养的细菌主要归属于 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes* 和 *Bacteroidetes* 4 个门,在所有野生植物根际中的平均分离频率分别为 48.1%、37.1%、11.6%和 2.9%。而 *Candidatus_Saccharibacteria* 门仅在牛筋草样品中分离到 1 株。各细菌门在不同植物根际中的分离频率存在明显差异,表现出一定的宿主偏好性。*Proteobacteria* 在所有 7 种植物根际中均有分离,其中在芦苇和碱蓬根际中的分离频率最高,分别达 86.4%和 100%; *Actinobacteria* 分离自 3 种植物根际,主要来自牛筋草(56.7%)和车前草(58.0%); *Firmicutes* 分离自 4 种植物根际,主要来自狗尾草(85.7%)和茵陈蒿(68.4%); *Bacteroidetes* 仅在牛筋草和蒲公英根际中分离,分离频率分别为 5.8%和 3.5%。

在属水平上,共鉴定出 52 个类群,其中 46 个为已知属,另有 6 个类群目前仅能归类至科或更高分类水平。从分布范围看,其中 33 个属仅分离自 1 种植物,15 个属同时来自两种植物,赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、柄杆菌属(*Caulobacter*) 在 3 种植物中均有分离,而 *Pseudomonas* 是唯一在 4 种植物中均被分离到的属。分离频率最高的前 10 个属为 *Pseudomonas*、*Lysinibacillus*、*Rhodococcus*、湖沉积杆菌属(*Limnobacter*)、噬氢菌属(*Hydrogenophaga*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、类诺卡氏菌属(*Nocardioide*)、假黄色单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*)、食酸菌属(*Acidovorax*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*),分离频率在 2.8%到 23.74%之间。不同植物根际中的高频分离属差异明显:芦苇根际以 *Pseudomonas* 为主,分离频率高达 81.8%;牛筋草根际中以 *Nocardioide* (分离频率 25.0%)、*Mycobacterium* (分离频率 10.8%) 和溶杆菌属(*Lysobacter*) (分离频率 10%) 为主。蒲公英根际中以 *Acidovorax* (21.1%) 和 *Pseudoxanthomonas* (17.5%) 为主;茵陈蒿根际中以 *Paenibacillus*、*Pseudomonas* 和 *Lysinibacillus* 为主,分离频率均高于 21.1%;狗尾草根际中 *Lysinibacillus* 分离频率达 71.4%;车前草根际以 *Rhodococcus* 和 *Limnobacter* 为主,分离频率分别为 36.0%和 20.0%;碱蓬根际中 *Pseudomonas* 的分离频率为 43.8%。

2.4 根际细菌代表菌株的耐盐碱能力

本研究选取优势属的代表菌株,对其耐盐碱能力进行了初步筛查(表 4)。结果显示,不同属的菌株在盐碱胁迫条件下的生长存在显著差异。在不同 pH 条件下,各代表菌株呈现明显的生长分化。*Rhodococcus*、*Hydrogenophaga*、*Limnobacter* 和 *Mycobacterium* 等 4 个属的代表菌株在 pH 7~10 的范围内均能正常生长,说明其具有较强的耐碱能力;而 *Lysinibacillus*、*Pseudomonas*、*Pseudoxanthomonas*、*Paenibacillus*、*Nocardioide* 和 *Acidovorax* 这 6 个属的代表菌株在 pH 9 及以上时生长受到一定的抑制,其耐碱能力一般。

在 0.5%~3.0% 的盐度范围内,各个属的代表菌株也呈现出不同的耐受能力。*Rhodococcus*、*Hydrogenophaga*、*Pseudoxanthomonas* 和 *Limnobacter* 这 4 个属的代表菌株在设置的所有盐度下均能正常生长,表现出较强的耐盐能力;而 *Pseudomonas*、*Paenibacillus*、*Nocardioide*、*Mycobacterium* 和 *Acidovorax* 等 5 个属的代表菌株在盐度高于 2.0% 时生长受到抑制或无法生长;*Lysinibacillus* 仅能在 0.5% 盐度下保持正常生长,盐度升高时生长受到抑制。综合耐盐与耐碱能力筛查结果,不同优势属代表菌株的耐盐碱能力差异明显,其中 *Rhodococcus*、*Hydrogenophaga* 和 *Limnobacter* 等 3 个属的代表菌株耐盐碱能力最强。

表 4 代表菌株在不同盐碱度培养基中的生长情况

Table 4 Growth of representative strains in media with different saline-alkaline levels

属 Genus	碱度 Alkalinity				盐度(氯化钠含量) Salinity (NaCl content)			
	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10	0.5%	1.0%	2.0%	3.0%
<i>Rhodococcus</i>	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Hydrogenophaga</i>	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Lysinibacillus</i>	++	++	+	+	++	+	+	+

<i>Pseudomonas</i>	++	++	+	+	++	++	+	+
<i>Pseudoxanthomonas</i>	++	++	+	+	++	++	++	++
<i>Paenibacillus</i>	++	++	+	+	++	++	+	+
<i>Nocardioides</i>	++	++	+	+	++	++	+	+
<i>Limnobacter</i>	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Mycobacterium</i>	++	++	++	++	++	++	+	+
<i>Acidovorax</i>	++	++	+	+	++	++	-	-

注：OD₆₀₀ 增量>0.3 记为“++”，表示生长正常；OD₆₀₀ 增量在 0.1~0.3 之间记为“+”，表示生长受抑制；OD₆₀₀ 增量<0.1 记为“-”，表示无法生长。Note: An OD₆₀₀ increase >0.3 is recorded as “++”, indicating normal growth; an OD₆₀₀ increase between 0.1 and 0.3 is recorded as “+”, indicating growth inhibition; an OD₆₀₀ increase <0.1 is recorded as “-”, indicating no growth.

2.5 根际细菌的培养偏好性

对 7 种野生植物根际细菌的门水平和属水平的培养偏好系数（CBC）分析表明（图 3），本研究采用的培养体系对不同细菌类型表现出不同的培养偏好。在门水平上，Proteobacteria 在各样本的 CBC 值介于 0.5 至 4.0 之间；Firmicutes 的 CBC 值跨度最大，范围为 0.5~27.4，其中狗尾草根际样本最高；Actinobacteria 的 CBC 值相对稳定，在 1.8~3.9 之间；而 Bacteroidetes 的 CBC 值均低于 1，表明该培养体系对该门类的培养偏好性较低。由于在所有根际土壤样本中均未检测到 Candidatus_Saccharibacteria 门，本研究获得的 1 株该门细菌可能源于偶然性。其他优势门未获得纯培养菌株。

在属水平上，细菌类群的 CBC 值呈现更为显著的分化。在根际土壤中相对丰度位列前 8 位的已知属中，有 5 个成功获得纯培养：分别为 *Arthrobacter*（CBC 5.2）、*Bacillus*（4.0）、*Ramlibacter*（0.9）、*Sphingomonas*（0.9）和 *Nocardioides*（5.6~23.6），但这些优势类群的 CBC 值远低于根际中的部分低丰度类群。例如，*Pseudomonas* 尽管在根际中的相对丰度不足 0.24%，其 CBC 值却介于 10.1 至 241.7 之间；*Lysinibacillus* 在根际中的相对丰度低于 0.1%，而 CBC 值均高于 557.9；提西耶氏菌属（*Tissierella*）的相对丰度低于 0.01%，但 CBC 值最高达 2272.8；*Limnobacter* 的相对丰度低于 0.05%，其 CBC 值分别为 365.2 和 818.0。以上结果表明，采用本研究的培养体系可以获得苏打盐碱土植物根际中的部分优势类群，但对某些低丰度细菌类群具有更强的分离能力。

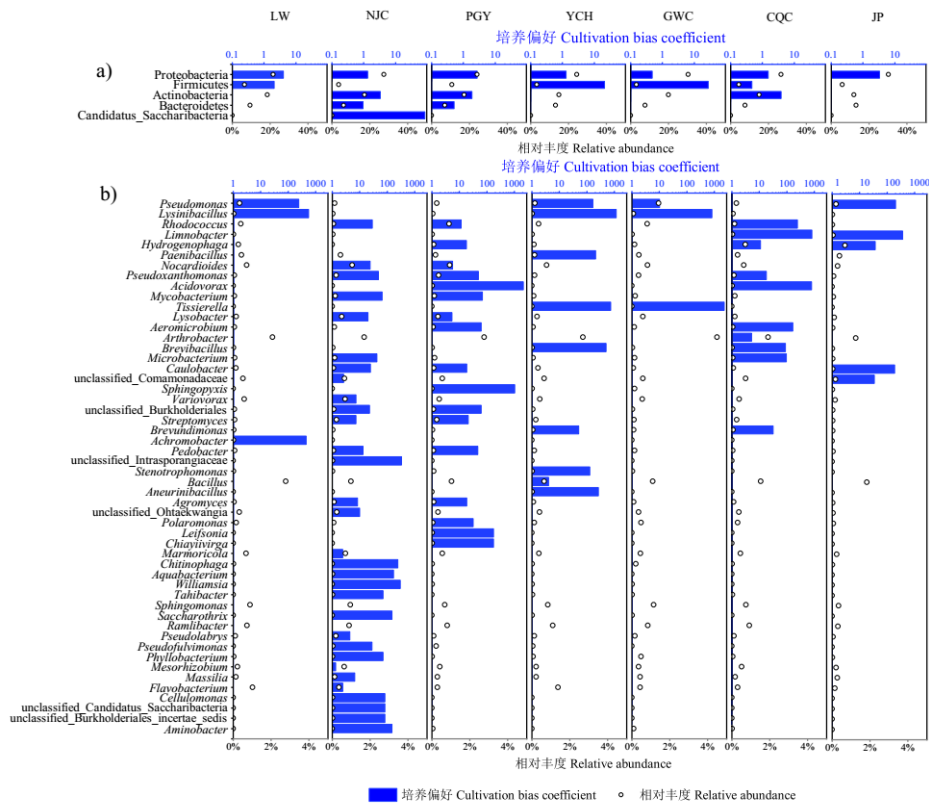


图3 高通量培养获得的细菌的培养偏好系数及其在根际中的相对丰度 (a. 门水平, b. 属水平)

Fig. 3 Cultivation Bias Coefficient (CBC) of the bacteria obtained from high-throughput cultivation and their relative abundance in the rhizosphere (a. Phylum level, b. Genus level)

3 讨论

3.1 野生植物根际微生物组成特征及优势类型

本研究表明,苏打盐碱土不同野生植物根际细菌的丰度介于 1.79×10^9 至 1.24×10^{10} copies $\cdot$ g $^{-1}$ d.w.s, 跨度约一个数量级。进一步结合细菌 α 多样性分析发现,不同植物根际呈现出多样的群落特征:蒲公英根际细菌丰度较高,且 Shannon 和 Simpson 指数均处于较高水平;茵陈蒿根际细菌丰度虽低,但 Shannon 指数较高, Simpson 指数亦处于较高水平;车前草和芦苇根际细菌的丰度、Shannon 和 Simpson 指数均较低。这种差异模式体现了植物物种对根际微生物群落组装的特异性影响。研究表明,不同植物在根系分泌物种类和数量上的差异选择性地塑造了不同的根际微生物区系^[31-33]。除植物类型外,采样地点的不同也造成了根际细菌多样性的差异(表2),表明土壤理化性质也是影响细菌多样性的重要因素。本研究发现,根际细菌 α 多样性与根际土壤的 TN、NO $_3^-$ -N、AP 和 MBC 等因子存在显著相关关系。结合表1和表2可见,不同样本在 pH、氮素形态、有效磷及微生物量碳等方面存在明显差异,同时大安(DA)与镇赉(ZL)等不同采样点在 Shannon 和 Simpson 指数上也表现出显著差异,这说明不同采样地点在土壤 pH 和养分状况方面的差异影响了根际细菌的群落组成。对根际细菌 β 多样性的分析结果也表明,相较于植物类型,采样地点对根际细菌群落结构的影响更为显著(图1)。关于根际微生物群落构建的主导因素,学界存在不同观点。有研究表明植物物种身份是解释根际细菌群落变异的关键因素,且亲缘关系较近的植物拥有更相似的微生物组^[34]。植物通

过对土壤微生物群落的选择作用形成特有的根际微生物群落^[24]。不过,大量研究支持根际微生物群落结构受植物种类和土壤类型的共同影响^[31,35]。Bulgarelli 等^[36]提出了根际微生物组装配的“两步选择”模型:首先由土壤提供微生物库,然后由植物以基因型依赖的方式从该库中进行选择性富集。然而,也有研究表明土壤采样地点对根际微生物组成的影响远大于植物类型的影响^[37]。综上所述,植物根际微生物群落的差异不仅反映了物种特异性适应,也与土壤理化性质和植物-微生物互作策略密切相关。植物与土壤环境因素的相对重要性可能最终取决于研究的地理尺度,本研究在松嫩平原区域尺度下的结果表明,采样位置对根际细菌群落结构的影响较植物类型更为突出。值得注意的是,与以农作物或人工植被为对象的研究不同,本研究聚焦于自然演替的野生植物根际细菌群落,这类植物长期暴露于苏打盐碱胁迫环境,其根际可能富集更具耐盐碱潜力的微生物类群,因此本研究对于挖掘新型耐盐碱微生物资源提供了新的视角。

从具体的细菌类群来看,松嫩平原野生植物根际细菌在门水平上的优势类群与该地区盐碱土中的基本一致,但相对丰度差异较大。已有研究显示,该地区多个采样点的 21 份盐碱荒地土壤中,Actinobacteria 平均占比最高(47.3%),Proteobacteria 次之(30.3%),两者合计占总细菌群落的 77.6%^[4]。相对于碱斑土壤,碱蓬和羊草根际中 Proteobacteria 的占比明显上升,而 Actinobacteria 占比下降^[5]。对大庆不同土地利用方式下土壤细菌群落的分析也呈现类似规律:两处盐碱荒草地中 Actinobacteria 的占比超过 55.0%,Proteobacteria 低于 20%;而邻近农田中 Proteobacteria 的占比增加至 30%以上,Actinobacteria 则降至 40%以下^[6]。大安地区的相关研究同样表明,盐碱荒地在开垦为农田后,Proteobacteria 的占比大幅提高,Actinobacteria 的占比则明显降低^[38]。本研究涉及的野生植物根际土壤中 Proteobacteria 和 Actinobacteria 占比分别为 26.3%和 17.2% (图 2),其优势度明显低于盐碱荒地。考虑到采样区域主要位于盐碱农田周边,这些野生植物根际细菌优势门类的组成模式更接近于农田土壤。在属水平上,根际优势类群主要包括 *Arthrobacter*、*Microvirga* 和 *Bacillus* 等,其平均相对丰度均在 1.4%以上。有研究表明这三个属是盐碱地改良为农田后富集程度较高的优势属^[38]。其中,*Arthrobacter* 和 *Bacillus* 是根际中常见的固氮菌,且作为重要的植物根际促生菌,它们还能通过分泌嗜铁素、产生植物激素(如吲哚乙酸)、解磷解钾等多种方式促进植物生长并增强其抗逆性^[39]。而 *Microvirga* 作为多种植物根际中的核心物种^[40],在协助植物抗逆和促生等方面发挥重要作用,如增强植物的耐旱性和耐盐性^[41-42]。

3.2 高通量培养对细菌类群的覆盖度及偏好性

理论上,若土壤悬液中的细胞达到完全分散,在最适稀释度下进行高通量培养,大部分阳性孔应来源于单个细胞。然而,本研究共获得 1 656 个阳性孔,不同植物样品间纯菌孔的占比在 3.0%~74.0%之间,平均为 18.7% (表 3)。推测部分样品中细菌细胞和根际土壤颗粒结合紧密,尽管在 180 r·min⁻¹ 条件下振荡 60 min,悬液中的大部分细菌细胞仍未达到理想的单细胞状态。因此,即使经过充分的梯度稀释,多数阳性孔中仍为多个细菌细胞的混合培养状态。由此可见,获取适用于高通量培养的土壤细菌单细胞悬液,仍是未来方法优化的关键方向。目前常见的土壤细胞分离策略包括超声、涡旋、搅拌等物理方法,以及使用吐温-20、脱氧胆酸钠、焦磷酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、多糖水解酶等化学或生物分散剂。这些方法有助于破坏细胞和土壤颗粒之间的氢键以及细胞外聚合物,从而提升土壤细胞的提取效率^[43-44]。然而,多数研究旨在获取完整细胞用于后续的杂交试验,虽有个别报道指出所获细胞悬液可用于单细胞分选和培养,但其实际效果尚未得到系统评估^[45-46]。

本研究通过高通量培养和鉴定共获得 310 个纯菌孔,对应 5 个门(含 1 个暂定门)及 52 个属的细菌类群(表 3),其中 22 个属(占 42%)仅来源于单一培养孔,反映出该方法具有较高的类群覆盖度,而传统人工挑选方法则难以捕获此类低频率菌株。已有研究表明,基于高通量培养的测序方法所鉴定到的细菌属数量分别为传统涂布法的 2.3 倍、划线法的 4 倍^[23]。从来源植物

样品看, 33 个属仅来源于一种植物, 15 个属来源于两种植物, 说明植物类型对分离菌株的多样性具有显著影响。例如, 蒲公英根际细菌的分离效率在属水平达 22.1, 而狗尾草仅 1.3, 尽管两者根际细菌的多样性指数差异不大(表 2)。

在门水平上, 所获得的纯菌主要为根际中的优势类群。Proteobacteria 和 Actinobacteria 的分离频率最高, 二者在所有纯菌株中的占比分别为 48.1%和 37.1%, 均高于其在根际中的占比(26.3%和 17.2%)。因此, 在多数根际样品中, 这两类菌的培养偏好系数(CBC)均大于 1。Firmicutes 的 CBC 值最高可达 27.4(图 3), 表明本研究所用的 1/10 TSB 培养基对上述三个优势菌门具有明显的培养偏好, 这种培养偏好性对于挖掘盐碱地微生物资源具有重要的启示: 一方面, 该培养体系能够高效富集易于培养且具备促生、抗逆等潜在功能的菌种资源(例如 *Pseudomonas* 和 *Bacillus* 等常见类群); 另一方面, 基于单一培养基的高通量培养策略可能使分离出的微生物类群集中于少数几个门, 从而系统地遗漏那些具有特殊营养需求或生长缓慢的稀有或难培养类群。尽管如此, 高通量培养的优势不仅在于提高“可培养细菌”的获得效率, 也为耐盐碱微生物资源的开发和应用提供了丰富的菌株储备, 使得“可培养细菌”进一步区分为“具有耐盐碱潜力的可培养细菌”。相比之下, Bacteroidetes 在两个根际样品中的 CBC 值均低于 1, 表明该培养体系对其培养偏好较低。在属水平上, 本研究成功分离出相对丰度前 8 位的已知属中的 5 个, 包括 *Arthrobacter*、*Bacillus* 和 *Nocardioides* 等常见的功能菌属, 尽管它们的 CBC 值远低于 *Pseudomonas*、*Lysinibacillus* 和 *Tissierella* 等非优势属。

研究表明, 在目前有效命名的共约 14 000 种细菌和古菌中, 约 97%的物种属于 Bacteroidetes、Proteobacteria、Firmicutes 和 Actinobacteria, 说明现有的大部分培养方法对这四个门存在明显的偏好性^[18]。对盐碱土细菌的分离培养研究也显示所获菌株基本归属于这几个门类^[14, 17, 47]。从微生物应用的角度看, 这些门类的细菌易于培养和扩繁, 是开发微生物菌剂的理想材料。然而, 从全面挖掘微生物资源的角度看, 本研究采用的高通量培养技术仍具有一定的局限性。例如, 在根际环境中占比约 10%的 Acidobacteria 和 Chloroflexi 等寡营养细菌类群未能在本研究中获得纯培养。这两类微生物通常具有生长缓慢、营养需求特殊、对富集培养基敏感等特点, 以 1/10 TSB 为基础的培养体系难以支持此类微生物的生长, 这反映出本研究采用的高通量培养技术及体系在覆盖细菌类群多样性方面的固有限制。为提高此类微生物的分离成功率, 可尝试优化培养策略, 如使用低浓度碳源培养基、延长培养时间、添加土壤浸提液或特定信号分子等, 以更好地模拟其自然生境中的生长条件^[48-49]。但值得指出的是, 对于这类难培养微生物, 仅靠培养基的优化往往难以实现规模化分离与应用。因此, 未来在开发盐碱地微生物资源时, 可考虑将传统培养策略与培养组学、微流控培养以及原位功能调控相结合, 从而在高效获取易培养功能菌株的同时, 也能通过非培养手段发掘并利用那些难培养微生物的潜在生态功能。对于本研究已获得的可培养菌株, 后续可结合耐盐碱能力初筛结果, 优先选择 *Rhodococcus*、*Hydrogenophaga* 和 *Limnobacter* 等常见促生属中耐受性较强的代表菌株, 进一步在室内模拟苏打盐碱胁迫环境(基于典型区域的 $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ 浓度), 开展植物接种试验。植物可选择当地优势野生植物(如碱蓬、羊草等)和粮食作物(如水稻、玉米、高粱等), 从植物生物量、根系形态、叶绿素含量及渗透调节物质积累水平等多个指标评价代表菌株对植物生长的影响, 从而验证其潜在的促生和抗逆功能。

4 结 论

本研究系统解析了松嫩平原苏打盐碱地 7 种典型野生植物根际土壤细菌群落特征及其可培养性。发现根际细菌的丰度范围为 1.79×10^9 至 1.24×10^{10} copies·g⁻¹ d.w.s。不同植物根际细菌呈现不同的多样性模式: 包括高丰度高多样性、低丰度高多样性以及低丰度低多样性。根际细菌的优势

类群基本一致, 优势门为 Proteobacteria 和 Actinobacteria, 优势属为 *Arthrobacter*、*Microvirga*、*Bacillus* 等。植物类型对根际细菌群落 β 多样性影响不显著, 而采样位置的影响更大。高通量培养时分离频率较高的门为 Proteobacteria 和 Actinobacteria, 较高的属为 *Pseudomonas*、*Lysinibacillus* 和 *Tissierella*。根际前 8 个优势属有 5 个获得了纯培养。综上, 本研究表明在区域尺度上, 苏打盐碱土不同植物根际细菌的优势类群组成相似, 群落结构主要受地理位置的调控。尽管不同细菌类群间存在显著的培养偏好差异, 高通量培养技术仍能有效获取大部分原位优势菌群, 并为后续耐盐碱功能菌株的筛选与应用提供丰富的菌株资源, 表明高通量培养技术是盐碱地根际细菌资源挖掘的高效手段。

参考文献 (References)

- [1] Li X J. The alkali-saline land and agricultural sustainable development of the western Songnen Plain in China[J]. Scientia Geographica Sinica, 2000, 20(1): 51-55. [李秀军. 松嫩平原西部土地盐碱化与农业可持续发展[J]. 地理科学, 2000, 20(1): 51-55.]
- [2] Sun R B, Zhang F L, Zong J W, et al. Research progress on the role of microorganisms in the remediation of saline-alkali land[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2025, 52(2): 14-30. [孙瑞波, 章凤玲, 宗静雯, 等. 微生物在盐碱地改良中的作用研究进展[J]. 广东农业科学, 2025, 52(2): 14-30.]
- [3] Cao X F, Sun B, Chen H B, et al. Approaches and research progresses of marginal land productivity expansion and ecological benefit improvement in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2021, 36(3): 336-348. [曹晓风, 孙波, 陈化榜, 等. 我国边际土地产能扩增和生态效益提升的途径与研究进展[J]. 中国科学院院刊, 2021, 36(3): 336-348.]
- [4] Qiu D C, Liao Z Y, Xing Q H, et al. The correlation analyses between bacterial community and the crucial environmental factors in saline-alkali soil of Songnen Plain[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2037-2049. [仇大成, 廖子亚, 邢庆花, 等. 松嫩平原盐碱土细菌群落结构及环境互馈关系[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2037-2049.]
- [5] Yang S, Yu B Q, Hu X Y, et al. Response of microbial community to vegetation succession in soda saline-alkali soil in Northeast China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2019, 50(3): 632-640. [杨赛, 俞冰倩, 胡信玉, 等. 东北苏打盐碱土壤微生物群落对植被进展演替的响应[J]. 土壤通报, 2019, 50(3): 632-640.]
- [6] Peng M, Jia H B, Wang Q Y. The effect of land use on bacterial communities in saline-alkali soil[J]. Current Microbiology, 2017, 74(3): 325-333.
- [7] Yang H T, Leng X Y, Shi C F. Research progress on bacterial communities in saline-alkali soil[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 44(6): 230-236. [杨惠婷, 冷小云, 石春芳. 盐碱化土壤细菌群落研究进展[J]. 环境科学与技术, 2021, 44(6): 230-236.]
- [8] Dai R, Zhang J Y, Liu F, et al. Crop root bacterial and viral genomes reveal unexplored species and microbiome patterns[J]. Cell, 2025, 188(9): 2521-2539.e22.
- [9] Liu Y P, Shu X, Chen L, et al. Plant commensal type VII secretion system causes iron leakage from roots to promote colonization[J]. Nature Microbiology, 2023, 8(8): 1434-1449.
- [10] Shen J B, Bai Y, Wei Z, et al. Rhizobiont: An interdisciplinary innovation and perspective for harmonizing resources, environment, and food security[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(4): 805-813. [申建波, 白洋, 韦中, 等. 根际生命共同体: 协调资源、环境和粮食安全的学术思路与交叉创新[J]. 土壤学报, 2021, 58(4): 805-813.]
- [11] Wang L N, Wang D, Ren C M, et al. Influence of corn-soybean rotation on microbial community structure and function in rhizosphere soil of salt-alkali crops[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2025, 53(14): 264-270. [王丽娜, 王迪, 任翠梅, 等. 玉米一大豆轮作对苏打盐碱作物根际土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(14): 264-270.]
- [12] Liu F M, Liu J, Yu H J, et al. Effects of nitrogen fertilizer types on enzyme activities and bacterial communities related to nitrogen cycle in soda saline-alkaline paddy rhizosphere soil[J]. Southwest China Journal of Agricultural

- Sciences, 2025, 38(8): 1726-1734. [刘泮漫, 刘杰, 于洪久, 等. 不同种类氮肥对苏打盐碱稻田根际土壤氮循环酶活性及细菌群落特征的影响[J]. 西南农业学报, 2025, 38(8): 1726-1734.]
- [13] Ding X, Ma Y, Tang Y X, et al. Effects of different soybean cultivars on soil physicochemical properties and bacterial community structure in soda saline-alkaline soil[J]. Chinese Journal of Ecology, 2026, 45(5): 1524-1532. [丁绪, 马悦, 唐钰鑫, 等. 不同大豆品种对苏打盐碱地土壤理化性质及细菌群落结构的影响[J]. 生态学杂志, 2026, 45(5): 1524-1532.]
- [14] Liu X P, Zang S Y, Zhi G, et al. Isolation for plant-growth promoting halotolerant bacteria from alkali-saline soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(3): 567-576. [柳鑫鹏, 臧淑英, 智刚, 等. 盐碱土耐盐碱细菌筛选及其植物促生能力研究[J]. 土壤通报, 2022, 53(3): 567-576.]
- [15] Wang F T, Wang Y, Sun Y, et al. Isolation and identification of saline-alkali tolerant *Aspergillus terreus* SYAT-1 and its activities against plant pathogenic fungi[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(2): 203-210. [王凤婷, 王岩, 孙颖, 等. 耐盐碱土曲霉 SYAT-1 的分离鉴定及抑制植物病原真菌特性研究[J]. 生物技术通报, 2023, 39(2): 203-210.]
- [16] Zhang F P, Lin Z W, Zhang Z N, et al. From saline-alkali soil in Daqing and the identification of *Bacillus spp*[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2011, 23(5): 6-8. [张飞鹏, 林志伟, 张振南, 等. 大庆盐碱土中微生物的分离及芽孢杆菌的鉴定[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2011, 23(5): 6-8.]
- [17] Pan Y Y, Huang H P, Meng J, et al. Biodiversity of culturable halotolerant and halophilic bacteria isolated from saline-alkaline soils in Songnen Plain[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(10): 1187-1194. [潘媛媛, 黄海鹏, 孟婧, 等. 松嫩平原盐碱地中耐(嗜)盐菌的生物多样性[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1187-1194.]
- [18] Lewis W H, Tahon G, Geesink P, et al. Innovations to culturing the uncultured microbial majority[J]. Nature Reviews Microbiology, 2021, 19(4): 225-240.
- [19] Bilen M, Dufour J C, Lagier J C, et al. The contribution of culturomics to the repertoire of isolated human bacterial and archaeal species[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 94.
- [20] Lagier J C, Dubourg G, Million M, et al. Culturing the human microbiota and culturomics[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(9): 540-550.
- [21] Qiu F, Han Y X, Wei Q L, et al. Research progress of culturomics application in animal gut microbes[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2023, 50(2): 598-605. [邱菲, 韩依辛, 魏琦麟, 等. 培养组学在动物肠道微生物应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(2): 598-605.]
- [22] Fan D K, Zhang J X, Fu Y Z, et al. Research progress of ruminant microbial culturomics[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2024, 55(1): 51-58. [范定坤, 张吉贤, 付域泽, 等. 反刍动物瘤胃微生物培养组学研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(1): 51-58.]
- [23] Song L L, Sun W X, Jiao K X, et al. Comparison of soil bacterial communities in rice-crayfish cocropping based on high-throughput culturable method[J]. Journal of Nanjing Normal University(Natural Science Edition), 2024, 47(1): 57-67. [宋蕾蕾, 孙文晓, 焦可欣, 等. 基于高通量培养分析稻虾共作模式土壤的细菌群落[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 2024, 47(1): 57-67.]
- [24] Bai Y, Müller D B, Srinivas G, et al. Functional overlap of the *Arabidopsis* leaf and root microbiota[J]. Nature, 2015, 528(7582): 364-369.
- [25] Stubner S. Enumeration of 16S rDNA of *Desulfotomaculum* lineage 1 in rice field soil by real-time PCR with SybrGreen™ detection[J]. Journal of Microbiological Methods, 2002, 50(2): 155-164.
- [26] Bolyen E, Rideout J R, Dillon M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(8): 852-857.
- [27] Zhang J Y, Liu Y X, Guo X X, et al. High-throughput cultivation and identification of bacteria from the plant root microbiota[J]. Nature Protocols, 2021, 16(2): 988-1012.
- [28] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community -

supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537-7541.

[29] Oksanen J, Kindt R, Legendre P, et al. The vegan package. *Community ecology package*, 2007. 10: 631-637.

[30] Gómez-Rubio V. ggplot2-elegant graphics for data analysis[J]. *Journal of Statistical Software*, 2017, 77: 1-3.

[31] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 68(1): 1-13.

[32] Bais H P, Weir T L, Perry L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 233-266.

[33] Vives-Peris V, de Ollas C, Gómez-Cadenas A, et al. Root exudates: From plant to rhizosphere and beyond[J]. *Plant Cell Reports*, 2020, 39(1): 3-17.

[34] Fitzpatrick C R, Copeland J, Wang P W, et al. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species[J]. *PNAS*, 2018, 115(6): E1157-E1165.

[35] Marschner P, Yang C H, Lieberei R, et al. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(11): 1437-1445.

[36] Bulgarelli D, Schlaeppli K, Spaepen S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64: 807-838.

[37] Singh B K, Munro S, Potts J M, et al. Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 36(2/3): 147-155.

[38] Gao W, Xu J S, Zhao J, et al. Prokaryotic community assembly after 40 years of soda solonch restoration by natural grassland and reclaimed farmland[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2020, 100: 103213.

[39] Hu H Y, Li H, Hao M M, et al. Nitrogen fixation and crop productivity enhancements co-driven by intercrop root exudates and key rhizosphere bacteria[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2021, 58(10): 2243-2255.

[40] Wang Y C, Luo X H, Yue M, et al. Rhizosphere keystone microbiomes promote invasive plant growth under PLA and PVC microplastic stress: A comparative study with native species[J]. *Environmental Science & Technology*, 2025, 59(38): 20201-20215.

[41] Cueva-Yesquén L G, Goulart M C, Attili de Angelis D, et al. Multiple plant growth-promotion traits in endophytic bacteria retrieved in the vegetative stage from passionflower[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 11: 621740.

[42] Maphosa S, Steyn M, Lebre P H, et al. Rhizosphere bacterial communities of Namib Desert plant species: Evidence of specialised plant-microbe associations[J]. *Microbiological Research*, 2025, 293: 128076.

[43] Eichorst S A, Strasser F, Woyke T, et al. Advancements in the application of NanoSIMS and Raman microspectroscopy to investigate the activity of microbial cells in soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(10): fiv106.

[44] Ouyang Y, Chen D M, Fu Y, et al. Direct cell extraction from fresh and stored soil samples: Impact on microbial viability and community compositions[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2021, 155: 108178.

[45] Pratscher J. Extraction of microbial cells from environmental samples for FISH approaches[M]//*Fluorescence In-Situ Hybridization (FISH) for Microbial Cells*. New York, NY: Springer US, 2021: 291-299.

[46] Zhang R, Luo L, Wang S H, et al. Screening and functional analysis of alkalitolerant microorganisms in carbonate-saline-alkali ponds in Northeast China[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2022, 35(6): 75-81. [张瑞, 罗亮, 王世会, 等. 东北碳酸盐型盐碱池塘耐(嗜)碱微生物的筛选及功能分析[J]. *水产学杂志*, 2022, 35(6): 75-81.]

[47] Davis K E R, Joseph S J, Janssen P H. Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(2): 826-834.

[48] Pham V H T, Kim J. Cultivation of unculturable soil bacteria[J]. *Trends in Biotechnology*, 2012, 30(9): 475-484.

(责任编辑: 檀满枝)