

DOI: 10.14188/j.ajsh.20250729001

连作温郁金和蓬莪术根茎内生细菌群落差异性分析

刘海蓉^{1,2}, 王德立^{2*}, 金自学³

1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;
2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所, 海南 海口 570311;
3. 海南渊源农业科技有限公司, 海南 海口 570126)

摘要: 为探究温郁金和蓬莪术抗连作障碍能力差异原因, 本研究以轮作和连作温郁金和蓬莪术根茎为材料, 采用高通量测序技术, 研究轮作和连作下温郁金和蓬莪术根茎内生细菌的群落差异。测序共获得 15 471 个可操作分类单元, 分属 38 门, 91 纲, 260 目, 539 科, 1 149 属。 α 多样性分析结果表明, 蓬莪术根茎内生细菌物种丰富度和多样性总体上高于温郁金, 连作降低了蓬莪术根茎内生菌丰富度和多样性, 而连作对温郁金根茎内生菌的影响恰恰相反。温郁金和蓬莪术根茎内生细菌群落结构存在差异, 且随着生长时间和连作年限的增加, 变形菌门在温郁金根茎中的相对丰度升高, 放线菌门相对丰度降低, 而蓬莪术相反。连作降低了蓬莪术中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属的相对丰度, 升高了鞘氨醇单胞菌属和链霉菌属的相对丰度; 而升高了温郁金根茎异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属和劳尔氏菌属的相对丰度, 降低了肠杆菌属的相对丰度。可见连作改变了蓬莪术和温郁金根茎内生细菌多样性和群落结构, 连作后, 蓬莪术根茎中相对丰度升高的优势菌属对连作障碍可能有拮抗作用。

关键词: 温郁金; 蓬莪术; 内生细菌; 连作障碍; 群落结构

中图分类号: Q94

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)06-0565-13

Differential analysis of endophytic bacterial communities in the rhizomes of continuous cropping of *Curcuma wenyujin* and *C. phaeocaulis*

Liu Hairong^{1,2}, Wang Deli^{2*}, Jin Zixue³

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193;
2. Hainan Branch of Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Haikou 570311, China;
3. Hainan Yuanyuan Agricultural Science and Technology Company Limited, Haikou 570126, China)

Abstract: To explore the reasons for the difference in the ability of *Curcuma wenyujin* and *C. phaeocaulis* to resist continuous cropping, the rhizomes of *C. wenyujin* and *C. phaeocaulis* were collected, high-throughput sequencing was employed to study the community differences of endophytic bacteria in rhizomes of *C. wenyujin* and *C. phaeocaulis*. A total of 15 471 operational taxonomic units (OTUs) were obtained from all samples, belonging to 38 phyla, 91 classes, 260 orders, 539 families, and 1 149 genera. Alpha diversity analysis showed that the species richness and diversity of endophytic bacteria in the rhizomes of *C. phaeocaulis* were generally higher than those of *C. wenyujin*. Continuous cropping reduced the richness and diversity of endophytic bacteria in the rhizomes of *C. phaeocaulis*, while opposite in the rhizomes of *C. wenyujin*. The endophytic bacterial community structure differed between *C. wenyujin* and *C. phaeocaulis*,

收稿日期: 2025-07-29 修回日期: 2025-09-05 接受日期: 2025-12-10

作者简介: 刘海蓉(2001-), 硕士生, 研究方向为药用植物栽培与新品种选育, E-mail: lhairong34@163.com

* 通信作者: 王德立(1979-), 研究员, 研究方向为药用植物栽培与新品种选育, E-mail: redai101@163.com

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2021-I2M-1-032); 海南省优秀人才团队项目(HNYT20240003)

引用格式: 刘海蓉, 王德立, 金自学. 连作温郁金和蓬莪术根茎内生细菌群落差异性分析[J]. 生物资源, 2025, 47(6): 565-577.

Liu Hairong, Wang Deli, Jin Zixue. Differential analysis of endophytic bacterial communities in the rhizomes of continuous cropping of *Curcuma wenyujin* and *C. phaeocaulis* [J]. Biotic Resources, 2025, 47(6): 565-577.

and with the increase of growth time and continuous cropping years, the relative abundance of Proteobacteria increased and Actinobacteria decreased in the rhizomes of *C. wenyujin*, while opposite in the rhizomes of *C. phaeocaulis*. Continuous cropping reduced the relative abundance of *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* in *C. phaeocaulis*, while increasing the relative abundance of *Sphingomonas* and *Streptomyces*. However, the relative abundance of *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, and *Ralstonia* in *C. wenyujin* increased, while decreasing the relative abundance of *Enterobacter*. It can be seen that continuous cropping changes the endophytic bacterial diversity and community structure of *C. phaeocaulis* and *C. wenyujin* rhizomes. After continuous cropping, the dominant bacterial genera with increased relative abundance in *C. phaeocaulis* rhizomes may have an antagonistic effect on the obstacles of continuous cropping.

Key words: *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling; *Curcuma phaeocaulis* Val.; endophytic bacteria; continuous cropping obstacles; community structure

0 引言

温郁金(*Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling),为姜科姜黄属多年生草本植物,是中国传统中药,根茎和块根皆可入药,是莪术、郁金和片姜黄的基源,温郁金根茎蒸或煮透干燥后为药材莪术,习称温莪术^[1]。温郁金的传统产区为浙江温州,国内贵州、海南、湖南等地皆有引种^[2]。但温郁金种植会受连作障碍影响造成减产^[3],生产上解决连作障碍的途径主要有轮作、间作、套作、土壤改良、培育新品种等。随着生物技术在农业上的不断应用,生物菌剂的施用、土壤熏蒸、生物质炭的施用及噬菌体疗法等新型方法也在防控连作障碍上发挥作用^[4]。受连作障碍影响,温郁金会出现植株矮小、叶片焦黄、须根腐烂、根茎分蘖减少等情况,严重影响产量;蓬莪术(*Curcuma phaeocaulis* Val.)具有较好的抗连作、抗倒伏、高产等特性,但蓬莪术根茎挥发油含量较低。植物内生菌(Endophyte)是生活在植物的组织和器官内部的真菌或细菌,不会引起植物排斥反应;植物内生菌可提高植物抗性,主要通过诱导抗性、生态位竞争和营养竞争、产生次生代谢物以及信号干扰抑制致病菌生长^[5]。轮作和施用生物菌肥可通过提高杭白菊内生菌多样性缓解连作障碍^[6]。关于温郁金内生菌研究较少,主要集中在温郁金内生菌药理活性方面,如温郁金内生真菌(*Chaetomium globosum*) L18^[7]、贝莱斯芽胞杆菌(*Bacillus velezensis*)^[8]具有抑菌作用,镰刀菌属、青霉属、毛壳菌属和头孢属具有抗炎、抗氧化活性^[9],以及草酸青霉(*Penicillium oxalicum*)产生大黄酚等次生代谢物^[10],对温郁金内生细菌的研究以及内生菌与连作障碍关联分析较少。因此,有必要探究连作对两种莪术根茎内生细菌群落结构的影响,从内生菌角度探讨温郁金和蓬莪术抗连作障碍能力差异的机制。

本研究采用高通量测序技术对连作和轮作两种

处理的温郁金和蓬莪术根茎内生细菌进行分析,比较两者在连作和轮作处理下内生细菌群落结构差异,探讨温郁金和蓬莪术优势内生细菌,为揭示温郁金连作障碍发生机制和温郁金有益菌开发利用提供了理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用材料为温郁金和蓬莪术。

1.2 试验设计

试验地位于海南省临高县皇桐镇,该地区属热带季风海洋性气候,年平均气温 24.76 °C,年平均降水量 1 476.1 mm,土壤为红壤,土壤 pH 为 4~6。试验设 4 个处理:轮作温郁金、轮作蓬莪术、连作温郁金和连作蓬莪术。每小区起垄栽种,垄宽 80 cm,长为 20 m,行距为 80 cm,株距为 40 cm,覆土为 5 cm。实验地块分为轮作地块和连作地块,轮作地块前茬作物为田菁,连作地块前茬作物为温郁金或蓬莪术。2023 年 3 月在轮作地块和连作地块分别种植温郁金和蓬莪术,常规大田管理,同年 10 月采集 4 种处理的根茎,每种处理 3 次重复,去除须根和叶片杂质,洗去根茎表面泥土,用 75% 乙醇表面消毒后,装入无菌密封袋中,后置于液氮中速冻后保存于 -80 °C 中保存备用。所采根茎根据形态大小不同分为主根茎和侧根茎,主根茎通常呈卵圆形、长卵形、圆锥形或长纺锤形,着生于种茎上;侧根茎呈指状,着生于主根茎上,较主根茎形成晚。因连作温郁金和蓬莪术受连作障碍影响根茎生长不良,侧根茎几乎不发育,本研究未对主根茎和侧根茎区分取样。采集信息如表 1 所示。

1.3 样品 DNA 提取与测序

本研究对温郁金和蓬莪术根茎样品进行微生物多样性测序分析,对根茎样本进行 DNA 提取和检测,聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,

表1 采集信息
Table 1 Sampling information

样品编号	基原植物	采样部位	试验地情况
CW-C		根茎	连作
CWM-R	温郁金	主根茎	轮作
CWL-R		侧根茎	轮作
CP-C		根茎	连作
CPM-R	蓬莪术	主根茎	轮作
CPL-R		侧根茎	轮作

PCR)扩增与产物纯化,样品建库及上机测序。操作步骤:根据保守区设计得到引物 F: CA-DACTCCTACGGGAGGC, R: ATCCTGTTG-MTMTCCVCRC,在引物末端加上测序接头,进行PCR扩增,程序为95℃预变性5 min;95℃变性1 min,50℃退火1 min,72℃延伸1 min,35个循环;再72℃延伸7 min,4℃保存;对其产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库,建好的文库先进行文库质检,质检合格的文库采用双端测序方法对细菌的16s核糖体DNA v3+v4区用Illumina Novaseq 6000进行测序。

1.4 测序数据处理

使用 Trimmomatic v0.33、Cutadapt v1.9.1、USEARCH v10、UCHIME versio 8.1对原始测序序列进行低质量和长度过滤,得到高质量序列,再用 USEARCH v10.0/QIIME2 v2020.6将高质量序列进行聚类/去噪,划分操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)/学术分类单元(academic

taxonomic units, ASVs)。以 UNITE 为参考数据库使用朴素贝叶斯分类器对特征序列进行分类学注释,使用 QIIME 软件进行 Alpha 和 Beta 多样性分析;使用 Python LEfse 包做组间样品 LEfSe 分析。利用 R 语言绘制内生细菌稀释曲线、物种花瓣图、样本主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)图、样品各分类学水平下的群落结构图、物种丰度聚类热图。

2 结果与分析

2.1 测序概况分析

通过对18个样品进行高通量测序,获得的序列经过数据优化、拼接、过滤和质控后,共产生1 193 415条有效序列(Clean Reads),每个样品至少产生35 685条,平均产生66 301条。各样品稀释性曲线如图1所示,曲线逐渐趋于平坦说明测序数量接近饱和,满足数据分析要求。

2.2 内生细菌群落多样性分析

2.2.1 Alpha多样性分析

用 ACE 和 Chao1 指数衡量物种丰富度,用 Shannon 指数衡量物种多样性,指数值越大,说明样品的物种丰度和多样性越高。温郁金和蓬莪术根茎内生细菌 α-多样性指数,如表2所示。连作温郁金根茎内生细菌物种丰富度高于轮作,且轮作主、侧根茎无显著性差异;连作根茎物种多样性显著低于轮作侧根茎,而显著高于轮作主根茎(P<0.05)。连作蓬莪术根茎内生细菌物种丰富度和多样性均低于轮作根茎,且轮作主、侧根茎无显著差异。连作温郁

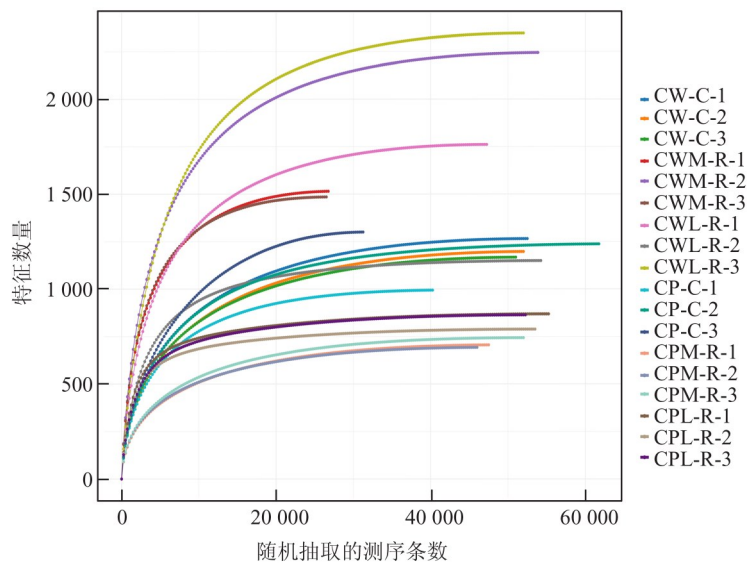


图1 内生细菌稀释性曲线

Figure 1 Endophytic bacterial rarefraction curves

金和蓬莪术根茎内生细菌物种丰富度和多样性无显著性差异;轮作蓬莪术主、侧根茎内生细菌物种多样性和丰富度均显著高于轮作温郁金($P < 0.05$)。

2.2.2 Beta多样性分析

PCoA分析是通过样品间的空间距离来反映样品组间群落结构的差异性,可用于评估两个种质不同根茎内生细菌群落结构的 β -多样性。基于bray curtis算法的PCoA分析结果显示,第一主坐标(PCoA1)解释了25.54%的群落差异,第二主坐标(PCoA2)解释了20.45%的群落差异。如图2所示,温郁金和蓬莪术内生细菌群落结构差异较大,CW-C、CWM-R和CWL-R三者间相似度更高,CPM-R和CPL-R两者间相似度更高,CP-C与其他处理差异性均较大。

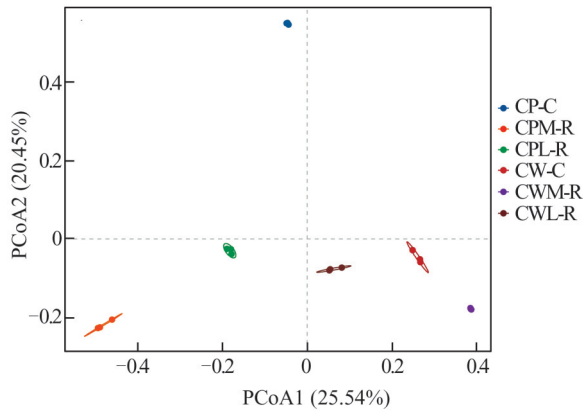


图2 内生细菌群落结构PCoA分析
Figure 2 PCoA analysis of endophytic bacterial community structure

2.3 内生细菌群落结构分析

本研究将所得序列以97%相似度进行OTU聚类,18个样本内生菌共鉴定得到38门,91纲,260目,539科,1149属,共计15471个OTUs。从根茎中获得的内生细菌OTUs数目如图3所示,其中6组样品中根茎内生细菌共有21个OTUs。

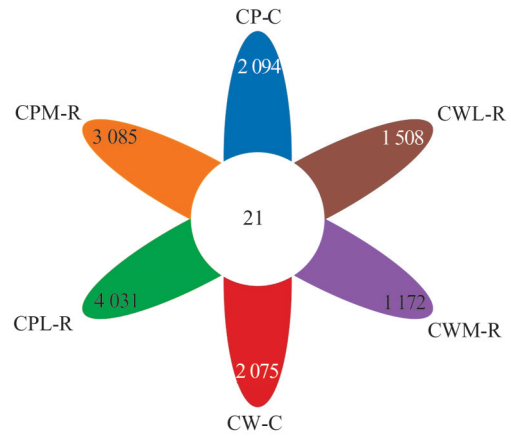


图3 OTU花瓣图

Figure 3 Flower plot of OTU

注:中心圆代表共有的OTUs数量,非重叠部分是各组特有的OTUs数量。

Note: The central circle represents the number of shared OTUs, and the non-overlapping part represents the number of unique OTUs of each group.

温郁金和蓬莪术根茎样品中细菌群落门水平上组成结构和丰度结果如图4。

温郁金和蓬莪术根茎共有优势细菌门为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、黏球菌门(Myxococcota)、厚壁菌门(Firmicutes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadota)等。温郁金和蓬莪术第一优势菌门均为变形菌门,且相对丰富度上温郁金高于蓬莪术,而在放线菌门丰富度上蓬莪术高于温郁金。轮作条件下,温郁金和蓬莪术的侧根茎内生菌的第一和第二优势菌门相同,均为变形菌门和拟杆菌门,温郁金变形菌门相对丰富度高于蓬莪术(CW 68.30%, CP 61.54%),蓬莪术拟杆菌门相对丰富度高于温郁金(CW 9.15%, CP 13.18%);同样为轮作条件下,温郁金和蓬莪术主根茎变形菌门的相对丰富度分别为75.25%和55.50%,温郁金主根茎的第二优势菌门为拟杆菌门(13.85%),蓬莪术主根茎的第二优势细

表2 内生细菌 α 多样性

Table 2 Alpha diversity of endophytic bacteria

样品	特征个数	ACE指数	Chao1指数	Shannon指数
CPMR	1 177±162ab	1 181±160ab	1 178±161ab	6.92±0.13d
CWM-R	714±27b	717±25b	715±26b	6.43±0.59e
CWL-R	841±45b	842±45b	841±45b	7.73±0.17c
CP-C	1 210±50ab	1 213±50ab	1 210±50ab	7.08±0.09d
CPM-R	1 748±430a	1 753±431a	1 748±430a	9.29±0.19a
CPL-R	1 752±599a	1 753±599a	1 752±599a	8.37±0.59b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lower case letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

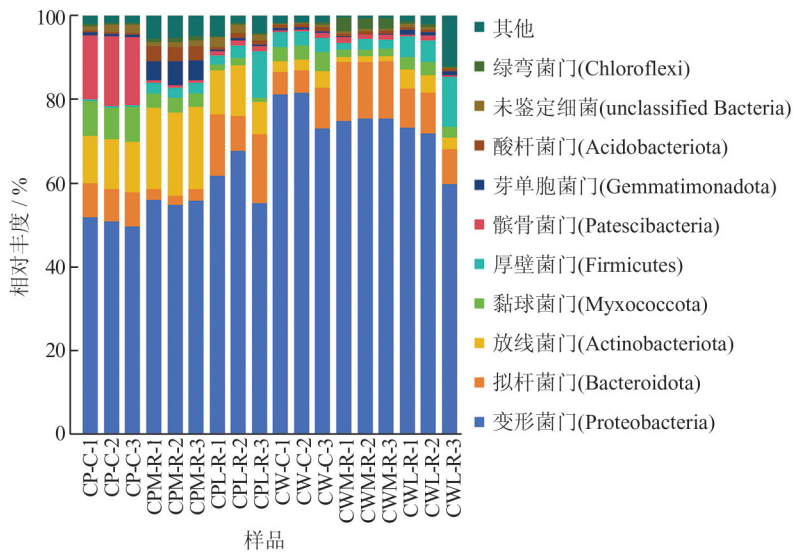


图4 门水平下内生细菌群落相对丰度

Figure 4 Relative abundance of endophytic bacterial communities on phylum level

菌门为放线菌门(19.70%)。连作条件下,温郁金和蓬莪术变形菌门相对丰富度分别为78.70和50.70%,温郁金根茎的第二优势菌门为拟杆菌门(6.74%),蓬莪术根茎的第二优势细菌门为骸骨菌门(Patescibacteria, 16.18%)。对于温郁金, CW-C、CWM-R和CWL-R三者的第一、第二优势菌门均为放线菌门和拟杆菌门;对于蓬莪术, CP-C、CPM-R和CPL-R三者变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰富度上变化趋势一样,均是CPL-R大于CP-C和CPM-R,并且三者富集有丰富的放线菌门细菌(CP-C 10.16%, CPM-R 19.70%, CPL-R 11.79%)。

温郁金和蓬莪术根茎样品中细菌群落属水平上

组成结构和丰度结果如图5。

由图5可知,温郁金和蓬莪术根茎共有内生细菌的优势菌属为异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)、鞘脂菌属(*Sphingobium*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、黄杆菌科未鉴定属(unclassified Xanthobacteraceae)。温郁金根茎第一优势菌属均为异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属,连作温郁金根茎以及轮作温郁金的主、侧根茎中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属的相对丰度分别为28.27%、15.84%和9.83%;连作温郁金根茎的第二优势菌属为无色杆菌属(*Achromobacter*, 4.51%),轮作温郁金的主根

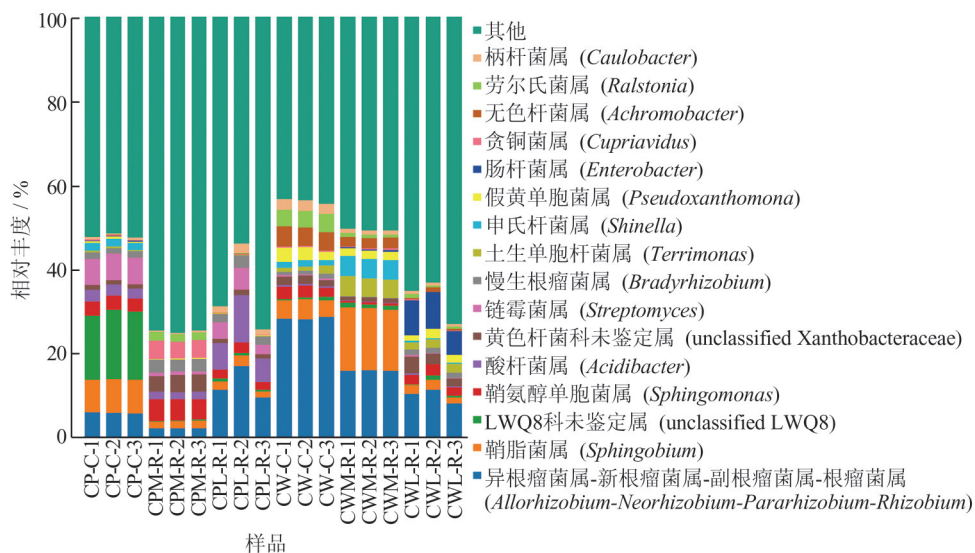


图5 属水平下内生细菌群落相对丰度

Figure 5 Relative abundance of endophytic bacterial communities on genus level

茎的第二优势菌属为鞘脂菌属(14.80%),轮作温郁金的侧根茎的第二优势菌属为肠杆菌属(*Enterobacter*, 7.61%)。连作蓬莪术根茎的第一、第二优势菌属为LWQ8科未鉴定属(15.96%)和鞘脂菌属(7.99%),轮作蓬莪术主根茎的第一、第二优势菌属为鞘氨醇单胞菌属(4.99%)和贪铜菌属(*Cupriavidus*, 4.13%),轮作蓬莪术侧根茎的第一、第二优势菌属为异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属(12.51%)和酸杆菌属(*Acidibacter*, 7.75%)。轮作条件下,温郁金和蓬莪术侧根茎的内生菌属群落结构较为相似,在异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属、鞘氨醇单胞菌属和鞘脂菌属的相对丰富度上相似;但温郁金中肠杆菌属、土生单胞菌属(*Terrimonas*)和假黄单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*)的相对丰度较高,蓬莪术中酸杆菌属和链霉菌属(*Streptomyces*)的相对丰度较高。同样为轮作条件下,温郁金和蓬莪术主根茎内生菌群落结构差异较大,温郁金主根茎中在异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属、鞘脂菌属、申氏杆菌属(*Shinella*)、土生单胞菌属、无色杆菌属、假黄单胞菌属等的丰富度上高于蓬莪术,而蓬莪术中鞘氨醇单胞菌属、贪铜菌属、硝化螺菌属(*Nitrospira*)、酸杆菌属、链霉菌属等的丰富度较高。连作条件下,温郁金和蓬莪术根茎内生菌群落结构差异较大,温郁金根茎中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属、无色杆菌属、劳尔氏菌属(*Ralstonia*)、假黄单胞菌属、柄杆菌属(*Caulobacter*)和土生单胞菌属等的丰富度高于蓬莪术,而蓬莪术较温郁金在LWQ8科未鉴定属、链霉菌属、酸杆菌属等的丰富度上较高。总体而言,温郁金根茎中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属丰富度高于蓬莪术,温郁金根茎特有优势菌属为土生单胞菌属和假黄单胞菌属,蓬莪术根茎特有优势菌属为酸杆菌属和链霉菌属。

2.4 内生细菌群落结构热图分析

对温郁金和蓬莪术根茎内生细菌测序所得的OTU结果在属水平上进行分类,并利用相对丰度信息绘制热图,选取在属水平上前100的物种进行聚类分析,如图6所示。

由图6可知,从聚类结果看,CPM-R独立为一类,CP-C和CPL-R聚为一类,CW-C和CWM-R聚为一类后再与CWL-R聚为一类。

2.5 内生细菌群落差异性分析

从图7可以看出,连作温郁金根茎在丰度上有显著性差异的细菌为毛螺菌科(Lachnospiraceae)、异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属未

鉴定种、根瘤菌科(Rhizobiaceae)、无色杆菌属未鉴定种、劳尔氏菌属未鉴定种、假黄单胞菌属;轮作温郁金主根茎在丰度上有显著性差异的细菌为土生单胞菌属未鉴定种、玫瑰弯菌科(Roseiflexaceae)未鉴定种、苯基杆菌属(*Phenylobacterium*)未鉴定种、鞘脂菌属未鉴定种、鞘氨醇单胞菌科未鉴定种、贪嗜菌属未鉴定种和红环菌科未鉴定种;轮作温郁金侧根茎在丰度上有显著性差异的细菌为肠杆菌属未鉴定种和别样海源菌属(*Aliidiomarina*)未鉴定种;连作蓬莪术根茎在丰度上有显著性差异的细菌为链霉菌属未鉴定种、噬纤维菌目(Cytophagales)、Sandaracinaceae、LWQ8科未鉴定种和unclassified *Roseateles*;轮作蓬莪术主根茎在丰度上有显著性差异的细菌为盖勒氏菌目未鉴定种、固定杆菌属(*Conexibacter*)未鉴定种、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae)未鉴定属、硝化螺菌属未鉴定种、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)未鉴定种、黄色杆菌科(Xanthobacteraceae)未鉴定属、鞘氨醇单胞菌属未鉴定种、贪铜菌属未鉴定种、*Ellin6067*属未鉴定种和SC I 84科未鉴定种;轮作蓬莪术侧根茎在丰度上有显著性差异的细菌为*Puia dinghuensis*、酸杆菌属未鉴定种和假单胞菌属(*Pseudomonas*)未鉴定种。

2.6 内生细菌群落功能预测

本研究用PICRUST2软件对莪术根茎内生细菌进行功能预测,如图8所示,温郁金和蓬莪术根茎内生细菌群落对应的COG类目排名前10的相同,分别为氨基酸转运和代谢,能量产生与转换,翻译、核糖体结构和生物合成,翻译,细胞壁/细胞膜/膜结构的生物合成,碳水化合物的运输和代谢,无机离子转运与代谢,辅酶转运与代谢,复制、重建和修复,信号转导机制(不包括通用功能和未知功能)。

3 讨论与结论

温郁金在生产上受连作障碍影响严重,目前关于温郁金连作障碍的研究主要集中在微生物方面,如温郁金连作会使土壤有害微生物的积累增加^[11],而在种植过程中发现蓬莪术具有抗连作、抗倒伏等特性,与温郁金相比两者抗性相距较大,本文从内生菌角度探究两者抗性差异原因。内生细菌与植物共同生长,在促进植物生长、增强植物抗逆性等方面起着重要作用^[12],如内生细菌贝莱斯芽胞杆菌和短小芽胞杆菌能显著促进薏苡生长^[13],内生菌可通过分泌代谢物抑制植物病原菌^[14];内生菌还可以影响植物次生代谢物的积累,如银杏叶片内生细菌假单胞菌等与黄酮醇苷呈显著正相关^[15]。在本研究中,蓬

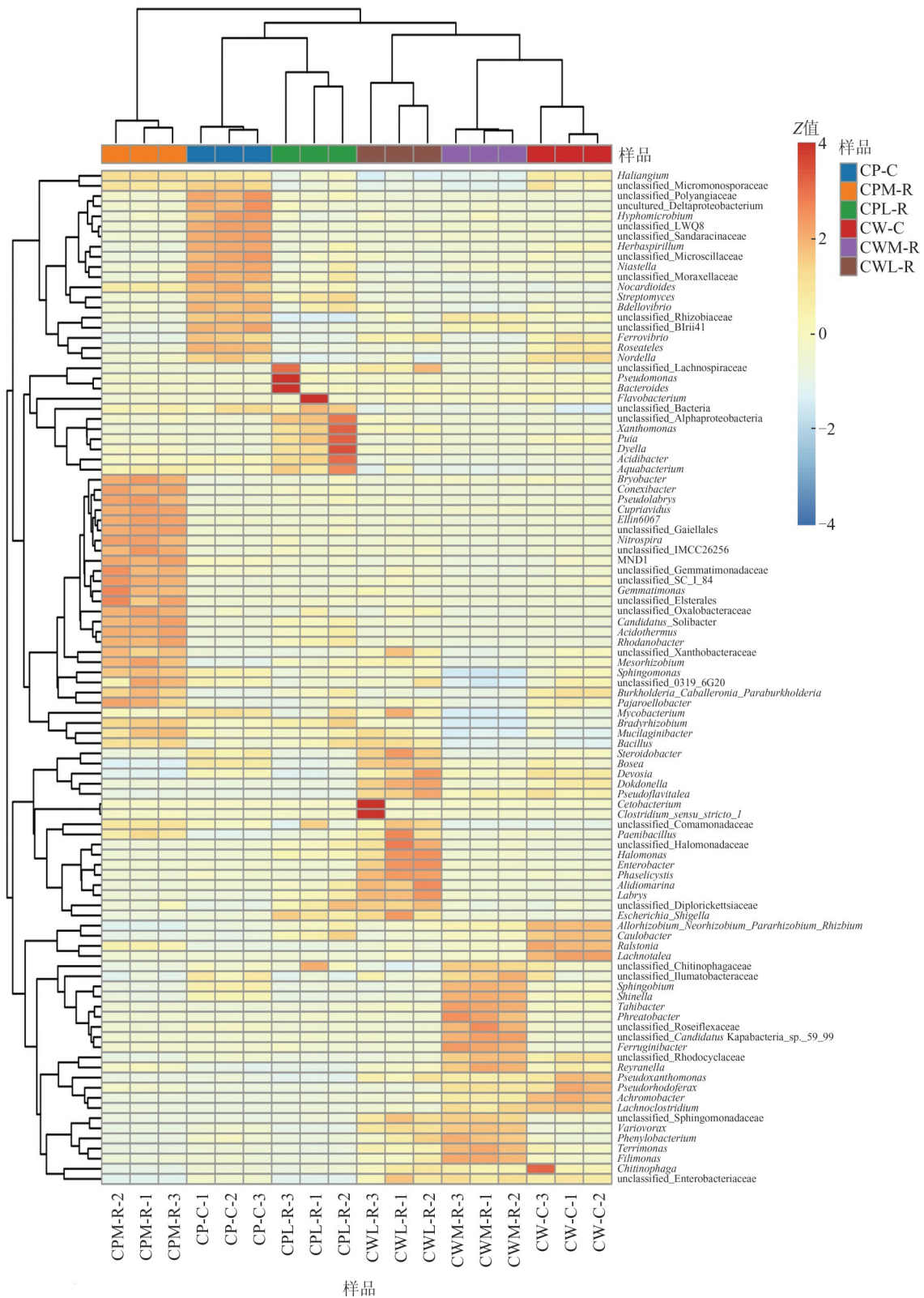


图6 内生细菌群落在属水平上的群落结构分布热图

Figure 6 Heatmap analysis on endophytic bacterial communities at genus level

我术和温郁金根茎中均有丰富的内生细菌,总体上蓬莪术根茎内生细菌群落多样性和丰富度高于温郁金,与轮作相比,连作提高了温郁金根茎内生菌丰富

度,降低了蓬莪术丰富度和多样性,这与前人已有报道相似^[6]。

蓬莪术和温郁金根茎内生细菌群落结构随生长

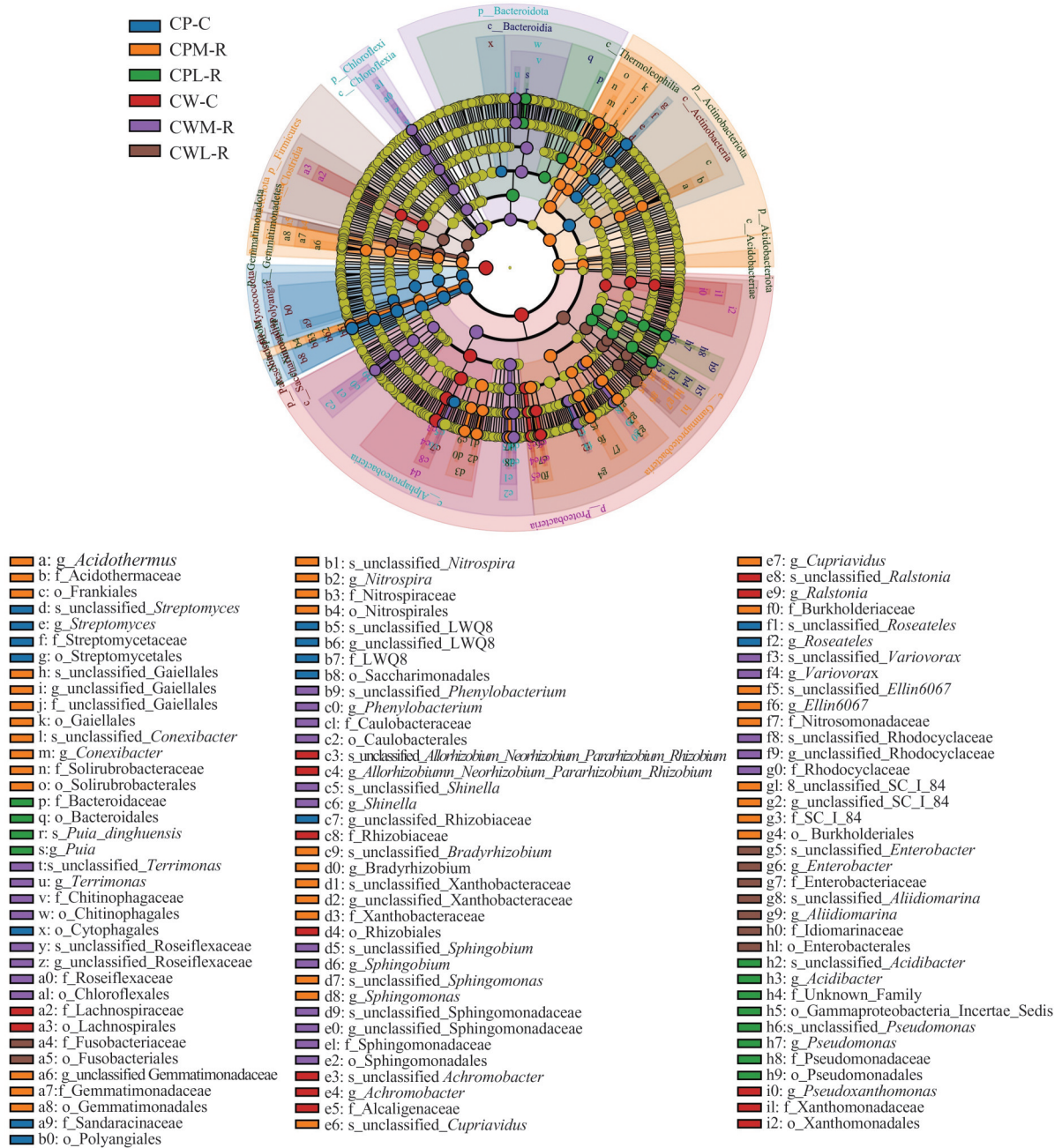


图7 LEfSe分析进化分支图
Figure 7 LEfSe analysis of endophytic bacteria

时间增加和连作而变化,门水平上,蓬莪术中的变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门相对丰富度降低,放线菌门相对丰富度升高,温郁金根茎中变形菌门相对丰富度升高,放线菌门相对丰富度降低。杨鑫等^[16]的研究中也有类似结果,马铃薯感病品种发病后块茎内生细菌的变形菌门相对丰度升高,而抗病品种相反。在属水平上,蓬莪术根茎中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属-酸杆菌属和柄杆菌属相对丰富度降低,鞘氨醇单胞菌属升高,温郁金根茎中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属和无色杆菌属相对丰富度升高,肠杆菌属等降低。在

蓬莪术和温郁金根茎中的异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属相对丰富度较高,但相对丰富度上变化相反。根瘤菌属在南阳艾^[17]和苹果砧木 T337^[18]中作为优势内生菌出现。根瘤菌在豆科植物发挥固氮作用,对于非豆科植物也有类似作用,从参薯(*Dioscorea alata* L.)根中异根瘤菌属-新根瘤菌属-副根瘤菌属-根瘤菌属分支发现的一些共生固氮细菌,可以帮助参薯从大气中获得氮^[19-20]。酸杆菌属主要在酸性环境中发现^[21-23],如在矿山坑湖中分离出的嗜酸 γ -变形杆菌菌株 MCF85 为还原铁嗜酸杆菌(*A. ferrireducens*)^[24],但缺少关于酸杆菌属

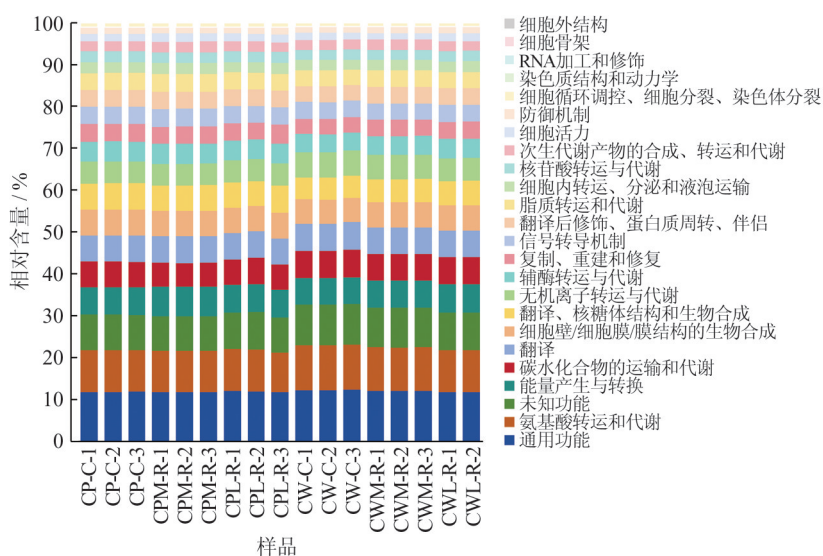


图8 内生细菌 COG 功能丰度图

Figure 8 COG functional abundance of endophytic bacteria

对植株生长影响的报道。柄杆菌属中的某些细菌具有提高拟南芥、西瓜属和玉米植株生物量的潜力^[25-28]。部分鞘氨醇单胞菌属细菌可以通过产生植物生长激素、固氮及溶解磷酸盐促进植物生长^[29]。无色杆菌属细菌既可以促进植株生长,如拮抗香蕉枯萎病^[30]和常见豆根腐病^[31],但也会引起植物发病,如引起细菌性茎、叶疫病^[32]和生姜枯萎病^[33]。从田菁根际土壤分离到的肠杆菌 N102 可以改善玉米的盐胁迫^[34]。此外,连作明显升高了蓬莪术根茎中 unclassified LWQ8 和链霉菌属的相对丰富度,同时也明显升高了温郁金根茎中劳尔氏菌属的相对丰富度。LWQ 科属骸骨菌门细菌,骸骨菌门可在宿主放线菌上作为附生菌生长,但目前对骸骨菌门在生态系统中的作用了解甚少^[35-36]。放线菌为常见的生防菌,可制约病原真菌繁殖,其中链霉菌属细菌具有潜在刺激植物生长作用,可通过分泌次生代谢产物拮抗病原真菌^[37-40]。劳尔氏菌属中的 *R. solanacearum* 为常见病原菌,可侵染茄科作物引起青枯病^[41]和温郁金细菌性枯萎病^[42]。

蓬莪术和温郁金根茎中差异内生细菌也值得关注。蓬莪术根茎中特有优势菌属为链霉菌属和酸杆菌属,固定杆菌属和贪铜菌属为轮作蓬莪术主根茎的差异菌属, Li 等^[43] 研究认为土壤微生物氮的利用可能与固定杆菌属、酸杆菌属等的富集有关,贪嗜菌属细菌 (*Cupriavidus basilensis*) B-8 具解硫酸盐木质素的特性^[44],但固定杆菌属和贪铜菌属细菌对植株生长的影响有待进一步研究。鼎湖山浦氏杆菌 (*Puia dinghuensis*)、假单胞菌属是轮作蓬莪术侧根茎的差异细菌,鼎湖山浦氏杆菌为革兰氏阴性菌^[45];

假单胞菌属为常见促生菌,在生物防治和促进植物生长有重要作用^[46]。温郁金根茎中特有优势菌属为假单胞菌属和土单胞菌属。假单胞菌属细菌墨西哥假单胞菌只在温郁金根茎中检出,研究发现其对上海青^[47]、构树^[48]和绿豆^[49]等的生长有促进作用。土生单胞菌属为拟杆菌门细菌,植物中的拟杆菌门细菌在植株磷吸收上发挥重要作用^[50],但土生单胞菌属细菌在植物生长方面的研究较少^[51-52]。贪嗜菌属为轮作温郁金主根茎的差异菌属,贪嗜菌可拮抗采后黄瓜灰霉病^[53],可作为高效固氮解磷菌^[54],但也有些菌株会抑制植株生长^[55]。

温郁金和蓬莪术根茎内生细菌在群落多样性和结构上差异明显,总体上蓬莪术根茎内生菌群落多样性和丰富度高于温郁金,连作对两者内生菌群落多样性和结构影响不同,连作提高了温郁金根茎内生菌丰富度,降低了蓬莪术丰富度和多样性,连作后蓬莪术根茎中相对丰富度升高的优势菌可能与其抗连作障碍有关。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [2] 张玉秀, 刘杨, 刘培卫, 等. 不同产地温莪术遗传多样性及亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(8): 2845-2850.
Zhang Y X, Liu Y, Liu P W, et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship of *Curcuma wenyujin* from

- different habitats by ISSR[J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2020, 22(8): 2845-2850.
- [3] 陈康, 刘德军, 李敏, 等. 温郁金传统种植中存在的问题与分析[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(11): 2689-2691.
- Chen K, Liu D J, Li M, et al. Problems and analysis on the traditional planting of *Wenyujin* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2007, 18(11): 2689-2691.
- [4] 苏浩, 张锐澎, 吴思炫, 等. 连作障碍产生机理及防控现状[J]. *土壤*, 2024, 56(2): 242-254.
- Su H, Zhang R P, Wu S X, et al. Mechanisms of continuous cropping obstacles and current situation of prevention and control[J]. *Soils*, 2024, 56(2): 242-254.
- [5] 尹雁玲, 蔡然, 张功良, 等. 植物内生菌增强植物对生物胁迫抗性的研究进展[J]. *广西植物*, 2023, 43(2): 212-220.
- Yin Y L, Cai R, Zhang G L, et al. Research progress on the function of plant endophytes in enhancing plant resistance to biological stresses [J]. *Guihaia*, 2023, 43(2): 212-220.
- [6] 彭三妹, 王博林, 徐建中, 等. 不同条件下连作杭白菊内生菌群的 T-RFLP 分析[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(24): 4763-4768.
- Peng S M, Wang B L, Xu J Z, et al. Effect of different treatment on endophytic bacterial communities in continuous cropping of *Chrysanthemum morifolium* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(24): 4763-4768.
- [7] 王艳红, 吴晓民, 朱艳萍, 等. 温郁金内生真菌 *Chaetomium globosum* L18 对植物病原菌的抑菌谱及拮抗机理[J]. *生态学报*, 2012, 32(7): 2040-2046.
- Wang Y H, Wu X M, Zhu Y P, et al. Inhibition effects and mechanisms of the endophytic fungus *Chaetomium globosum* L18 from *Curcuma wenyujin* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(7): 2040-2046.
- [8] 曾欣, 张亚惠, 迟惠荣, 等. 温郁金内生拮抗细菌 B-11 的分离及其抑菌活性[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(5): 1018-1029.
- Zeng X, Zhang Y H, Chi H R, et al. Antimicrobial activity of endophytic bacterium strain B-11 isolated from *Curcuma wenyujin* [J]. *Microbiology China*, 2019, 46(5): 1018-1029.
- [9] 王艳红, 朱艳萍, 杨信东, 等. 温郁金抗炎抗氧化活性内生真菌的筛选[J]. *药物评价研究*, 2013, 36(2): 90-94.
- Wang Y H, Zhu Y P, Yang X D, et al. Screening of endophytic fungi from *Curcuma wenyujin* with anti-inflammatory and anti-oxidant activities [J]. *Drug Evaluation Research*, 2013, 36(2): 90-94.
- [10] 王艳红, 吴晓民, 杨信东, 等. 温郁金内生真菌 E8 菌株的鉴定及次生代谢产物的研究[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 770-774.
- Wang Y H, Wu X M, Yang X D, et al. Studies on identification and secondary metabolites of endophytic fungi strain E8 from *Curcuma wenyujin* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(6): 770-774.
- [11] 管艳辉, 金自学, 徐朗, 等. 温郁金连作和熏蒸处理土壤微生物种群数量分析[J]. *广东农业科学*, 2024, 51(6): 96-108.
- Guan Y H, Jin Z X, Xu L, et al. Analysis of the microbial communities and populations in soils with continuous cropping of *Curcuma wenyujin* and fumigation [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2024, 51(6): 96-108.
- [12] 刘迎雪, 赵滢, 张宝香, 等. 植物内生细菌来源及生物学功能研究进展[J]. *特产研究*, 2020, 42(4): 60-67.
- Liu Y X, Zhao Y, Zhang B X, et al. Research progress on the source and biological function of plant endophytic bacteria [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2020, 42(4): 60-67.
- [13] 普凤雅, 谷书杰, 何永宏, 等. 溶磷内生菌的筛选鉴定及其对薏苡生长发育的影响[J]. *福建农业学报*, 2022, 37(7): 946-953.
- Pu F Y, Gu S J, He Y H, et al. Identification and characterization of phosphate-solubilizing endophytes in *Coix lacryma-jobi* L [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37(7): 946-953.
- [14] 陈旭丽, 王立平, 吴耽, 等. 骨碎补内生菌 *Lecanicillium* sp. GZWMJZ-847 中 3 个新 3-氢化萘特特拉姆酸衍生物[J]. *中草药*, 2023, 54(13): 4096-4103.
- Chen X L, Wang L P, Wu D, et al. Three new 3-decalinoyltetramic acids produced by endophyte *Lecanicillium* sp. GZWMJZ-847 from *Drynariae Rhizoma* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(13): 4096-4103.
- [15] 陈冉, 张艳欣, 王丹丹. 基于高通量测序与 UPLC-Q-TOF/MS 技术的不同产地银杏叶内生菌与其主要化学成分相关性探究[J]. *中国现代中药*, 2021, 23(12): 2096-2106.
- Chen R, Zhang Y X, Wang D D. Correlation between diversity of endophytic bacteria and fungi in *Ginkgo biloba* leaves from different areas and their main chemical components based on high-throughput sequencing and UPLC-Q-TOF/MS technology [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2021, 23(12): 2096-2106.
- [16] 杨鑫, 赖振光, 樊吴静, 等. 马铃薯疮痂病不同抗性品

- 种发病与健康块茎内生细菌群落结构及多样性[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(14): 134-140.
- Yang X, Lai Z G, Fan W J, et al. Community structure and diversity of endophytic bacteria in healthy and morbidity tubers with different resistance to potato scab [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51 (14) : 134-140.
- [17] 李孟芝, 李超, 崔占虎, 等. 南阳艾内生菌与关键次生代谢产物的相关性探究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 26(5): 1202-1212.
- Li M Z, Li C, Cui Z H, et al. Endophytes of Nanyang mugwort (*Artemisia argyi*) and correlation between key communities and secondary metabolites[J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2024, 26 (5) : 1202-1212.
- [18] 程欢, 张东华, 张俊忠, 等. 苹果砧木 T337 不同组织内生菌群落及其功能预测[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(14): 144-154.
- Cheng H, Zhang D H, Zhang J Z, et al. Endophytic microbial community analysis and function prediction in different tissue parts of apple rootstock T337[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(14): 144-154.
- [19] Takada K, Kikuno H, Babil P, et al. Water yam (*Dioscorea alata* L.) is able to grow in low fertile soil conditions [J]. Tropical Agriculture and Development, 2017, 61(1): 8-14.
- [20] Idowu A P, Yamamoto K, Koizumi T, et al. Changes in the rhizosphere and root-associated bacteria community of white Guinea yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) impacted by genotype and nitrogen fertilization [J]. Heliyon, 2024, 10(12): e33169.
- [21] Zhang R, Liu W C, Liu Y, et al. Impacts of anthropogenic disturbances on microbial community of coastal waters in Shenzhen, South China [J]. Ecotoxicology, 2021, 30(8): 1652-1661.
- [22] Ettamimi S, Carlier J D, Cox C J, et al. A meta-taxonomic investigation of the prokaryotic diversity of water bodies impacted by acid mine drainage from the São Domingos mine in southern Portugal [J]. Extremophiles, 2019, 23(6): 821-834.
- [23] Chen H Y, Xiao T F, Ning Z P, et al. *In-situ* remediation of acid mine drainage from abandoned coal mine by filed pilot-scale passive treatment system: performance and response of microbial communities to low pH and elevated Fe [J]. Bioresource Technology, 2020, 317: 123985.
- [24] Falagán C, Barrie Johnson D. *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gammaproteobacterium [J]. Extremophiles, 2014, 18(6): 1067-1073.
- [25] Berrios L. The genus *Caulobacter* and its role in plant microbiomes [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2022, 38(3): 43-61.
- [26] Luo D X, Langendries S, Mendez S G, et al. Plant growth promotion driven by a novel *Caulobacter* strain [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2019, 32 (9): 1162-1174.
- [27] Yang E D, Sun L N, Ding X Y, et al. Complete genome sequence of *Caulobacter flavus* RHGG3^T, a type species of the genus *Caulobacter* with plant growth-promoting traits and heavy metal resistance [J]. 3 Biotech, 2019, 9(2): 42-62.
- [28] Cotta S R, Dias A F, Seldin L, et al. The diversity and abundance of phytase genes (β -propeller phytases) in bacterial communities of the maize rhizosphere [J]. Letters in Applied Microbiology, 2016, 62 (3) : 264-268.
- [29] 刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 等. 鞘氨醇单胞菌的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2738-2752.
- Liu H, Wei L L, Zhu L F, et al. Research progress of *Sphingomonas* [J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2738-2752.
- [30] Chowhan P, Swarnakar S, Chakraborty A P. New report of endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* from root tissue of *Musa* spp. [J]. Molecular Biology Reports, 2023, 50(11): 9179-9190.
- [31] Mohamadpoor M, Amini J, Ashengroph M, et al. Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans* strain CTA8689 against common bean root rot [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2022, 117: 101769.
- [32] Oksel C, Avin F A, Liyanapathirana P, et al. First report of *Achromobacter xylosoxidans* causing bacterial stem and leaf blight on *Cyrilla arida* in Tennessee and the United States [J]. Plant Disease, 2024, 108(4): 1094-1121.
- [33] Hua Y, Zheng Z J, Wang J F, et al. First report of wilt disease of ginger caused by *Achromobacter xylosoxidans* in China [J]. Plant Disease, 2024, 108 (3) : 778-791.
- [34] 王艳霞, 解志红, 张蕾, 等. 田菁根际促生菌的筛选及其促生耐盐效果 [J]. 微生物学报, 2020, 60(5): 1023-1035.
- Wang Y X, Xie Z H, Zhang L, et al. Screening of plant growth promoting and salt tolerant rhizobacteria in *Sesbania cannabina* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(5): 1023-1035.

- [35] Wang Y X, Gallagher L A, Andrade P A, et al. Genetic manipulation of *Patescibacteria* provides mechanistic insights into microbial dark matter and the epibiotic lifestyle[J]. *Cell*, 2023, 186(22): 4803-4817. e13.
- [36] Vigneron A, Cruaud P, Guyoneaud R, et al. Into the darkness of the microbial dark matter *in situ* activities through expression profiles of *Patescibacteria* populations [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1073483.
- [37] Viaene T, Langendries S, Beirinckx S, et al. *Streptomyces* as a plant's best friend?[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(8): 119-131.
- [38] Brzezinska M S, Jankiewicz U, Kalwasińska A, et al. Characterization of chitinase from *Streptomyces luridiscabiei* U05 and its antagonist potential against fungal plant pathogens[J]. *Journal of Phytopathology*, 2019, 167(7/8): 404-412.
- [39] Louvriot F, Abdelrahman O, Abou-Mansour E, et al. Oligomycin-producing *Streptomyces* sp. newly isolated from Swiss soils efficiently protect *Arabidopsis thaliana* against *Botrytis cinerea* [J]. *mSphere*, 2024, 9(7): e0066723.
- [40] Lai J H, Peng W W, Song S L, et al. Transcriptome analysis reveals the inhibitory mechanism of 3, 4-Dimethoxyphenol from *Streptomyces albidoflavus* strain ML27 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2024, 202: 105913.
- [41] 桑素玲, 王振宇, 李绍建, 等. 河南省花生青枯病菌的分子鉴定及其生物学特性研究[J]. *河南农业科学*, 2024, 53(4): 102-110.
- Sang S L, Wang Z Y, Li S J, et al. Molecular identification and biological characterization of *Ralstonia solanacearum* infecting peanuts in Henan Province[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2024, 53(4): 102-110.
- [42] 冯林, 周铨, 陈卫良, 等. 防控温郁金细菌性枯萎病的生物有机肥研制与应用[J]. *浙江农业学报*, 2023, 35(3): 630-638.
- Feng L, Zhou Q, Chen W L, et al. Development and application of bio-organic fertilizers for prevention and control of bacterial wilt of *Curcuma wenyujin*[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, 35(3): 630-638.
- [43] Li S, Zhong L R, Zhang B W, et al. Microplastics induced the differential responses of microbial-driven soil carbon and nitrogen cycles under warming[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 465: 133141.
- [44] Shi Y, Chai L Y, Tang C J, et al. Characterization and genomic analysis of kraft lignin biodegradation by the beta-proteobacterium *Cupriavidus basilensis* B-8[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6(1): 56-74.
- [45] Lv Y Y, Gao Z H, Xia F, et al. *Puia dinghuensis* gen. nov., sp. nov., isolated from monsoon evergreen broad-leaved forest soil[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(11): 4639-4645.
- [46] Santoyo G, del Carmen Orozco-Mosqueda M, Govindappa M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2012, 22(8): 855-872.
- [47] 田菊. 促生菌 *Pseudoxanthomonas mexicana* RRS21 对上海青菜营养品质及农药残留的改善作用研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
- Tian J. Study on the improvement effect of *Pseudoxanthomonas mexicana* RRS21 on the nutritional quality and pesticide residues of Shanghai green vegetables [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023.
- [48] 甘肃省科学院生物研究所. 一株墨西哥假黄单胞菌及其在促进杂交构树繁育中的应用: CN113025523A [P]. 2021-06-25.
- Institute of Biology, Gansu Academy of Sciences. New *Pseudoxanthomonas mexicana* used for inhibiting potato early blight and root rot of hybrid *Broussonetia papyrifera*, and promoting plant breeding, rooting of plant cuttings and plant nitrogen fixation: CN113025523A [P]. 2021-06-25.
- [49] Ul Huda N, Tanvir R, Bada, et al. Arsenic-resistant plant growth promoting *Pseudoxanthomonas mexicana* S254 and *Stenotrophomonas maltophilia* S255 isolated from agriculture soil contaminated by industrial effluent [J]. *Sustainability*, 2022, 14(17).
- [50] Lidbury I D E A, Borsetto C, Murphy A R J, et al. Niche-adaptation in plant-associated *Bacteroidetes* favours specialisation in organic phosphorus mineralisation [J]. *The ISME Journal*, 2021, 15: 1040-1055.
- [51] Jiang W K, Lu M Y, Cui M D, et al. *Terrimonas soli* sp. nov., isolated from farmland soil[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(3): 819-823.
- [52] Kim S J, Cho H, Ahn J H, et al. *Terrimonas terrae* sp. nov., isolated from the rhizosphere of a tomato plant [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(8): 3105-3110.
- [53] Yang B Y, Li Z L, Ding Y, et al. Effect of *Ginkgo biloba* endophytic bacterium *Variovorax* sp. R1 on the

- biological control of postharvest cucumber gray mold and related physiological mechanisms [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2023, 167(2): 271-284.
- [54] 姜瑛, 吴越, 王国文, 等. 一株固氮解磷菌的筛选鉴定及其对花生的促生作用研究[J]. *土壤*, 2015, 47(4): 698-703.
- Jiang Y, Wu Y, Wang G W, et al. Plant growth-promoting bacterium *Variovorax* sp. JX14 from calcareous alluvial soil: characterization and growth promotion on peanuts[J]. *Soils*, 2015, 47(4): 698-703.
- [55] Berrios L, Ely B. Plant growth enhancement is not a conserved feature in the *Caulobacter* genus [J]. *Plant and Soil*, 2020, 449(1): 81-95.