

研究报告



盐爪爪根部微生物分布特征及盐浓度对碳源代谢分析的影响

陈禹竹^{1,2} 唐琦勇² 顾美英² 朱静² 刘晓静³ 崔卫东^{1,2} 张志东^{*1,2,3}

1 新疆大学生命科学与技术学院 新疆 乌鲁木齐 830046

2 新疆农业科学院微生物应用研究所 新疆特殊环境微生物实验室 新疆 乌鲁木齐 830091

3 新疆农业大学食品科学与药学院 新疆 乌鲁木齐 830052

摘要:【背景】耐盐植物盐爪爪广泛分布于盐碱荒漠区域,其根际存在明显的盐离子富集,形成“盐岛效应”,研究此过程中微生物如何演替和适应,对揭示盐爪爪根际微生物的分布及其耐盐特性、“盐岛”的形成具有重要科学意义。【目的】揭示盐爪爪根际、根区及其周围环境土壤中微生物分布特征,确定不同盐浓度处理对根际微生物 Biolog Eco 微平板碳源代谢多样性的影响。【方法】采用 Biolog Eco 微平板技术,对采自新疆和硕地区的盐爪爪根际、根区和环境土壤微生物碳源利用情况进行分析,并采用不同浓度 NaCl 溶液对盐爪爪根际土壤样品进行稀释加样,评估盐浓度对根际微生物活性及多样性分析的影响。【结果】样品微生物代谢活性总体呈现根际>根区>环境的趋势;随着与根部距离的增加,样品中利用氨基酸、胺类碳源微生物所占比例明显降低,而利用吐温 and 肝糖等多聚化合物类碳源微生物所占比例明显增加;多样性分析表明,随着与根部距离的增加,Shannon 指数(H')随之降低且存在明显差异。不同浓度 NaCl 溶液对采用 Biolog Eco 微平板技术分析盐爪爪根际微生物的代谢活性和代谢多样性有着明显的影响,其中采用 5% NaCl 溶液作为稀释加样液的根际微生物活性最高。【结论】盐爪爪根部微生物组成和分布有着明显的演变规律,且采用 Biolog Eco 微平板技术分析微生物代谢多样性时需进行培养条件的优化。

关键词: 盐爪爪, 盐浓度, Biolog Eco 微平板, 根际微生物, 群落分布

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31560034); Natural Science Foundation of Xinjiang Autonomous Region (2016D01A050); Xinjiang Autonomous Region Public Welfare Scientific Research Institutes Basic Scientific Research Business Funded Projects (KY2018011)

***Corresponding author:** Tel: 86-991-4520524; E-mail: zhangzheedong@sohu.com

Received: 04-01-2019; **Accepted:** 10-04-2019; **Published online:** 15-05-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31560034); 新疆自治区自然科学基金(2016D01A050); 新疆自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(KY2018011)

***通信作者:** Tel: 0991-4520524; E-mail: zhangzheedong@sohu.com

收稿日期: 2019-01-04; **接受日期:** 2019-04-10; **网络首发日期:** 2019-05-15

Microbial distribution characteristics around the roots of *Kalidium foliatum* and the effect of salt concentrations on microbial metabolism analysis

CHEN Yu-Zhu^{1,2} TANG Qi-Yong² GU Mei-Ying² ZHU Jing² LIU Xiao-Jing³
CUI Wei-Dong^{1,2} ZHANG Zhi-Dong^{*1,2,3}

1 College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046, China

2 Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Xinjiang Key Laboratory of Special Environmental Microbiology, Urumqi, Xinjiang 830091, China

3 College of Food Sciences and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China

Abstract: [Background] *Kalidium foliatum* are typical salt-tolerant plants widely distributed in saline-alkali desert areas. Salt accumulation constructed a salt island in the rhizosphere. There was rare investigation about how the microorganism succeed and adapted in the salt accumulation process. However, it was important to reveal the salt tolerance of *Kalidium foliatum* and formation of the salt island. [Objective] We analyzed the distribution characteristics of microorganism in soils of the rhizosphere, the root zone and the environment, and determined the effect of different salt concentration treatments on metabolic diversity of rhizosphere bacteria using Biolog Eco microplate. [Methods] Soils of the rhizosphere, the root zone and the environmental were sampled from Heshuo County, Xinjiang. The Biolog Eco microplate technique was used to analyze the utilization of microbial carbon sources. The rhizosphere soil samples were diluted by different NaCl concentrations, and then the dilution was taken to add into Biolog Eco microplates. The effect of the salt concentration on rhizosphere microbial activity and diversity was analyzed. [Results] Microbial metabolic activity of the samples showed a trend of the rhizosphere > the root zone > the environment. With the increase of distance from the root, the proportion of microorganisms using amino acids and amines as carbon sources decreased significantly, while the proportion of microorganisms using polymeric compound carbon sources increased significantly such as Tween, Glycogen and so on. Analysis of diversity showed that the Shannon index (*H*) decreased with significant difference. The significant effect of dilution solutions in different NaCl concentrations was observed on the metabolic activity and distribution of microbial community. And microbial activity of the rhizosphere was the highest at 5% NaCl solution as dilution solution. [Conclusion] The composition and distribution of microorganisms around the roots of *Kalidium foliatum* showed obvious evolution regularity. And it is necessary to optimize the cultivation condition using Biolog Eco microplate.

Keywords: *Kalidium foliatum*, Salt concentration, Biolog Eco microplate, Rhizosphere microorganism, Community distribution

根际微生物是一类对植物根系有直接影响的土壤范围内生长繁殖的微生物,其与植物根系相互作用、相互促进,参与并担负着根际重要的生理过程,维系着根际的生态平衡^[1],是土壤与植物间物质交换活跃界面的重要成员^[2-3],具有多种生物功能^[4-5],是国内外微生物学研究的热点之一^[6-7]。盐爪爪[*Kalidium foliatum* (Pall.) Moq]为多年生藜科盐生植物,在我国新疆盐碱荒漠环境广泛分布^[8]。盐爪爪具有较好的耐盐特性,在其生长过程中,根

际土壤中多种离子浓度显著提高^[9],特别是对 Cl^- 和 Na^+ 具有较高的富集效果,盐分积累可在根际形成“盐岛”效应^[10-11]。在此过程中,环境微生物受根际分泌物的刺激和盐浓度影响,存在着微生物适应性和群落分布的演变。我们课题组通过传统培养方法对辐射污染区盐爪爪根际微生物进行了分析,发现盐爪爪根际存在大量耐盐微生物,且具有多种生物功能活性,但有关其根际、根区与环境土壤微生物群落分布和多样性演变的研究尚未开展,国内外

也鲜有报道。

Biolog Eco 微平板技术是根据环境微生物单一碳源利用活性和类型的不同分析微生物群体差异和多样性的方法^[12],其操作简单、灵敏度高、分辨力强、测定简便,被广泛应用于土壤、水体以及活性污泥等环境微生物生态研究中^[13]。在现有利用该技术的研究中,多数研究均采用操作指南推荐的方法进行培养分析,但由于环境样品种类繁多,样品中微生物的培养条件必然存在多样性,然而目前关于相关培养因素对微生物多样性影响的研究有限。

因此,本文以盐爪爪根系及环境土壤微生物为研究对象,开展了盐爪爪根际、根区及环境样品中微生物多样性及分布特征的分析,并开展了不同盐浓度样品稀释培养对盐爪爪根际微生物代谢特征的影响,为进一步解析盐爪爪根际微生物演变奠定理论依据,也为采用 Biolog Eco 微平板技术开展微生物代谢多样性研究方法学的优化提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

采样区域位于新疆和硕地区(N42°22'9.23", E87°26'5.74"),该地区属于暖温带大陆性气候,干旱少雨,光照充足,风沙较多,年平均气温 8.6 °C,极端最低气温-31.6 °C,极端最高气温 39.2 °C。

在采样区 100 m×100 m 的区域中,采用蛇形采样每隔 20 m 选一个点,共设计 7 个采样点,每个点采 3 株盐爪爪样品。盐爪爪采用垂直挖掘法,选择完整植株根部,采用抖落法抖落非根际土壤,收集作为根区土壤样品(RZS);利用无菌细毛刷轻刷根部收集根际土壤样品(RS);环境土壤样本选择采样周围 1 m 之内明显无植被覆盖区域,采用垂直挖掘法,收集地下 5 cm-30 cm 环境土壤样品(ES)^[14]。每个点样品分别通过去杂充分混匀作为一个样品分析,共计获得 20 个土壤样品,转移至无菌离心管中,于 4 °C 下保存备用^[15-16]。

1.2 主要试剂和仪器

氯化钠,天津市致远化学试剂有限公司。生化

培养箱,上海福玛实验设备有限公司;Biolog Eco 微平板和微生物自动鉴定系统,Biolog 公司。

1.3 土壤微生物群落碳源代谢利用测定

根际、根区及环境土壤微生物代谢特征分析采用 Biolog Eco 微平板推荐方法进行。分别称取各类土样 5 g,加入到装有 50 mL 灭菌的生理盐水中(加有少量玻璃珠),摇床上 200 r/min 振荡 30 min,使土壤充分混匀后静置 15 min,采用梯度稀释法将土壤悬液稀释至 10^{-3} ,备用。取上述土壤稀释液 100 μ L 接种到生态板中,并将接种好的 Biolog Eco 微平板放置于 28 °C 恒温培养 7 d,每隔 24 h 用 Biolog 细菌鉴定系统测定吸光值,用于后续数据分析^[17]。

样品土壤的理化信息: pH 8.8±1.4,全氮 1.26±0.08 mg/kg,有机质 12.3±0.15 g/kg,全盐 4.8±0.1 g/kg,有效磷 29.4±1.04 mg/kg,速效钾 417±16.3 mg/kg,电导率 1 610±42.1 μ S/cm。

进行不同盐浓度对盐爪爪根际微生物活性及代谢多样性分析研究,确定不同的 NaCl 浓度,Biolog 的标准方法一般使用 0.85%的 NaCl 溶液。根据耐盐微生物的分类,一般认为 0-5%是轻度耐盐,5%-10%中度耐盐,10%-15%是高度耐盐,因此确定 0.85%、5%、10%和 15%的 NaCl 溶液浓度进行土壤样品的稀释,进而加样,其它方法同上。

1.4 数据处理

实验按 Biolog Eco 微平板上 31 种碳源的分子结构分为 6 大类,即碳水化合物类(Carbohydrates) 12 种、氨基酸类(Amino acids) 6 种、酸类(Acids) 5 种、酚类(Phenols) 2 种、多聚化合物类(Polymers) 4 种、胺类(Amines) 2 种,以此分析土壤微生物对不同类型碳源的利用情况^[18]。在 590 nm 波长下测定反应的 OD_{590} 值和菌体浓度的 OD_{590} 值,在 750 nm 测定菌体浓度的 OD_{750} 值,用 590 nm 与 750 nm 下吸光度的差值来表征代谢活性^[19],去除了微生物菌体自身的影响,当数值小于 0 时修正为 0。

微生物代谢总活性采用微平板孔中溶液吸光值平均颜色变化率(Average well color development, AWCD)进行分析,计算公式^[20]为:

$$AWCD = \sum \frac{(C_i - R)}{31}$$

式中, C_i 为各反应孔 OD_{590} 与 OD_{750} 的差值; R 为 Eco 微平板对照孔 A1 的 OD_{590} 与 OD_{750} 的差值。 $C_i - R$ 小于零的孔, 计算时记为零, 即: $C_i - R \geq 0$ 。

微生物群落多样性指数采用 Simpson、Shannon 和 McIntosh 指数来表征土壤微生物群落功能多样性。上述相关数据的处理和分析均采用 DPS 9.50 进行。

2 结果与分析

2.1 盐爪爪根部土壤微生物分布特征

2.1.1 不同样品的 AWCD 分析

分别对盐爪爪根际、根区和环境土壤样品进行 Biolog Eco 微平板实验, 并计算各时间点的 AWCD 值, 绘制平均颜色变化率的时间曲线, 如图 1 所示。由图 1 可知, 各样品的平均颜色变化率曲线均呈 S 形趋势, 实验进入 24 h 后各样品微生物生长呈现快速升高的趋势, 进入对数增长期; 进入 144 h 时各样品微生物生长趋势减缓。进一步对根际、根区和环境土壤微生物群落代谢活性分析发现, 根际土壤微生物活性明显高于其它样品, 总体呈现根际>根区>环境土壤的趋势。同时, 由图 1 可以看出, 在实验 120 h 时各样品微生物生长进入对数生长中后期, 且各样品间存在明显差异, 因此选用 120 h 时各样品微生物碳源利用情况进行代谢特征分析。

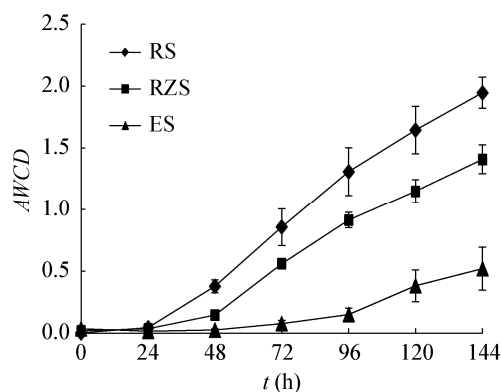


图 1 根部不同土壤样品微生物群落的平均颜色变化率
Figure 1 AWCD of soil samples microbial community from different regions of roots

2.1.2 微生物群落碳源利用类型分析

将 Biolog Eco 微平板上的 31 种碳源分为 6 类, 分析实验不同样品土壤微生物对其利用情况, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 不同样品土壤微生物对 6 类碳源利用差异明显, 总体呈现根际微生物>根区>环境土壤。具体来说, 根际土壤微生物在碳水化合物类、氨基酸类、酸类和胺类碳源利用方面均显著高于其它样品; 根际与环境土壤微生物在多聚物类碳源利用方面差异不显著, 但低于根区土壤; 而 3 种样品在酚类碳源利用方面差异不显著。

进一步分析各样品微生物对 6 类碳源的利用情况, 结果如图 3 所示。由图 3 可知, 各样品中微生物群落分布明显不同, 并存在一定变化趋势。随着与根的距离增加, 样品中利用氨基酸、胺类碳源微生物的活性明显降低, 而利用多聚物类碳源微生物的活性明显增加。根际土壤中利用酸类、碳水化合物类碳源微生物的活性高于其它样品, 根际与根区土壤中利用氨基酸类碳源微生物的活性

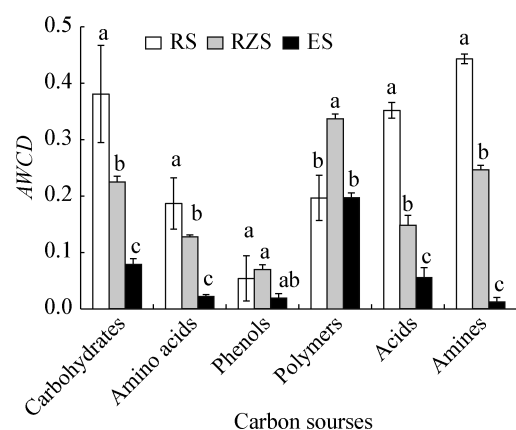


图 2 不同土壤样品的微生物群落对 6 类碳源的相对利用情况

Figure 2 Relative utilization of microbial community to six types of carbon sources in different soil samples

注: 不同小写字母(a-c)表示不同土壤样品微生物群落对同一类碳源的利用在 0.05 水平上差异显著。

Note: Different lower letters (a-c) indicate statistically differences of the utilization of microbial community to same type of carbon source by different soil samples at 0.05 probability level.

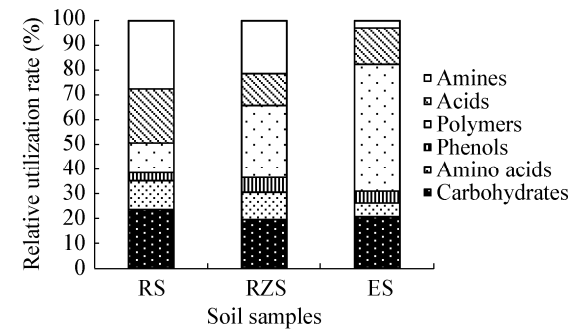


图 3 不同土壤样品的土壤微生物群落对 6 类碳源利用活性

Figure 3 Relative utilization rate of soil microbial community to six types of carbon sources in different soil samples

相当，但高于环境样品；3 种样品利用酚类微生物的活性差异不明显。

2.1.3 微生物群落代谢多样性分析

分别采用 Shannon 指数(*H*)评估物种的丰富度，Simpson 指数(*D*)评估某些最常见种的优势度，McIntosh 指数(*U*)评估群落物种均匀度，以反映各样品土壤微生物群落功能多样性。结果如表 1 所示，各样品间 McIntosh 指数(*U*)和 Simpson 指数(*D*)差异均不显著，而随着与根的距离增加，Shannon 指数(*H*)随着降低，存在明显差异。表明土壤样品的微生物中优势种群变化和均匀度变化差异不显著，而微生物的多样性变化随着与根距离的增加而降低。

2.1.4 不同土样微生物群落主成分分析

对所有根际、根区和环境土壤微生物 31 种碳源的利用情况进行主成分分析，所得结果如图 4 所示，PC1 (主成分 1)和 PC2 (主成分 2)分别解释

变量方差的 37.5%和 24.1%，PC1 和 PC2 的累计贡献率为 61.6%，可以解释分异的大部分信息。不同土壤样品在 PC 轴上出现了明显的分化，根际多分布于第一、四象限，根区分布于第一、三和四象限，而环境土壤分布于第二、三象限，从整体上看，根际、根区和环境土壤微生物群落在坐标体系中的分布有着明显的差异。

进一步将主成分得分系数与不同碳源 *AWCD* 值进行相关分析，结果如表 2 所示，31 种碳源中，与 PC1 相关性强的有 16 种，它们分别属于碳水化合物类的 D-木糖、D-半乳糖醛酸、 α -D-葡萄糖-1-磷酸、 α -D-乳糖和 D,L- α -磷酸甘油，氨基酸类的 L-精氨酸、L-天门冬酰胺、L-苯基丙氨酸和甘氨酸-L-谷氨酸，酸类的 γ -羟丁酸、衣康酸和 D-苹果酸，酚类的 2-羟基苯甲酸和 4-羟基苯甲酸，多聚物类的肝糖，以及胺类的腐胺，说明这些碳源使不同的土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC1 上差异显著，决定 PC1 的分异。与 PC2 相关强的有 5 种，分别属于碳水化合物类的 N-乙酰-D-葡萄糖胺和 α -D-葡萄糖-1-磷酸，氨基酸类的 L-苏氨酸，酸类的 α -丁酮酸，以及胺类的苯乙胺，说明这些碳源使不同的土壤微生物群落代谢功能多样性在 PC2 上差异显著，决定 PC2 的分异。

2.2 不同盐浓度对微生物代谢多样性分析的影响

2.2.1 不同盐浓度稀释上样对盐爪爪根际微生物代谢活性的影响

实验对采集根际样品中微生物在不同 NaCl 浓度下的代谢活性进行了分析，结果如图 5 所示。由

表 1 不同土壤样品微生物群落的多样性指数

Table 1 Microbial community functional diversity indices in different samples

样品 Samples	平均吸光度 <i>AWCD</i>	优势度指数 Simpson (<i>D</i>)	丰富度指数 Shannon (<i>H</i>)	均匀性指数 McIntosh (<i>U</i>)
根际 RS	1.94±0.01Aa	1.00±0.03Aa	3.99±0.16Aa	1.02±0.065Aa
根区 RZS	1.41±0.07Aba	1.12±0.07Aa	3.67±0.26ABab	1.24±0.14Aa
环境 ES	0.52±0.03Bb	1.18±0.11Aa	3.16±0.19Bb	1.31±0.19Aa

注：A 和 B 表示在 0.01 水平上差异极显著；a 和 b 表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: A and B indicate extremely significant differences at 0.01 probability level; a and b indicate significant differences at 0.05 probability level.

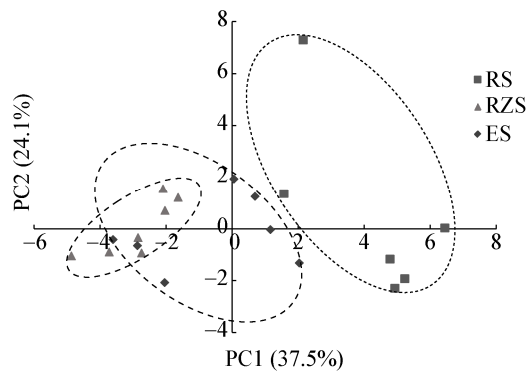


图 4 不同土壤样品微生物群落主成分分析
Figure 4 Principal component analysis of microbial community of different soil samples

表 2 PC1 和 PC2 贡献率较高的部分碳源

Table 2 The carbon source with high contribution rate for PC1 and PC2

碳源类型 Carbon source		PC1	PC2
碳水化合物类 Carbohydrates	D-半乳糖酸- γ -内脂 D-galactonic acid- γ -lactone	0.38	0.51*
	D-木糖 D-xylose	0.75**	-0.16
	D-半乳糖醛酸 D-galacturonic acid	0.57**	-0.34
	N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-acetyl-D-glucosamine	0.35	0.68**
	D-葡萄糖胺酸 D-glucosaminic acid	0.41*	0.1
	D-纤维二糖 D-cellobiose	0.51*	-0.24
	α -D-葡萄糖-1-磷酸 α -D-glucose-1-phosphate	0.65**	0.59**
	α -D-乳糖 α -D-lactose	0.56**	0.09
	D,L- α -磷酸甘油 D,L- α -glycerol phosphate	0.82**	-0.19
氨基酸类 Amino acids	L-精氨酸 L-arginine	0.63**	0.28
	L-天门冬酰胺 L-asparagine	0.76**	-0.26
	L-苯基丙氨酸 L-phenylalanine	0.55**	0.2
	L-丝氨酸 L-serine	0.44*	-0.01
	L-苏氨酸 L-threonine	0.32	0.53**
	甘氨酸-L-谷氨酸 Glycyl-L-glutamic acid	0.74**	-0.45*
酸类 Acids	丙酮酸甲酯 Pyruvic acid methyl ester	0.45*	0.32
	γ -羟丁酸 γ -hydroxybutyric acid	0.78**	-0.16
	衣康酸 Itaconic acid	0.64**	-0.21
	α -丁酮酸 α -ketobutyric acid	0.23	0.71**
	D-苹果酸 D-malic acid	0.84**	-0.12
	2-羟基苯甲酸 2-hydroxy benzoic acid	0.68**	-0.25
酚类 Phenols	4-羟基苯甲酸 4-hydroxy benzoic acid	0.60**	-0.17
	多聚物 Polymers		
	吐温-40 Tween-40	0.48*	-0.22
	吐温-80 Tween-80	0.35	0.42*
	肝糖 Glycogen	0.55**	0.31
胺类 Amines	苯乙胺 Phenylethyl-amine	0.21	0.67**
	腐胺 Putrescine	0.79**	-0.23

注：*：相关性较强；**：相关性很强。

Note: *: A little strong correlation; **: Strong correlation.

图 5 可知, 盐爪爪根际微生物在不同 NaCl 浓度下的 *AWCD* 值变化存在明显不同, 其中 5% NaCl 浓度下根际微生物碳源代谢活性最高, 高于使用传统生理盐水, 而过高的 NaCl 浓度会抑制根际微生物的代谢, 其中 15% NaCl 浓度几乎完全抑制了根际微生物对碳源的利用。

2.2.2 盐浓度对盐爪爪根际碳源利用微生物分布的影响

实验对根际样品中微生物在不同 NaCl 浓度下的不同类别碳源利用情况进行了分析, 结果如图 6 所示。由图 6 可知, 不同 NaCl 浓度下, 样品对

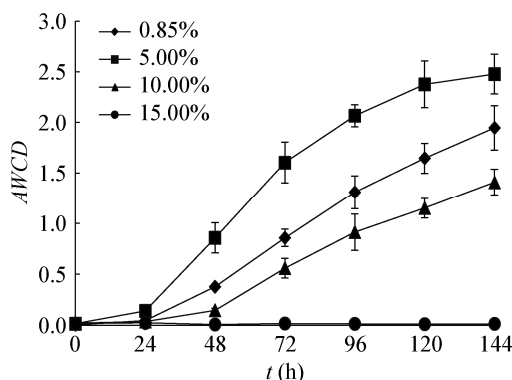


图 5 不同盐浓度下的盐爪爪根际微生物平均颜色变化率

Figure 5 AWCD of rhizosphere microorganisms in *Kalidium foliatum* under different salt concentrations

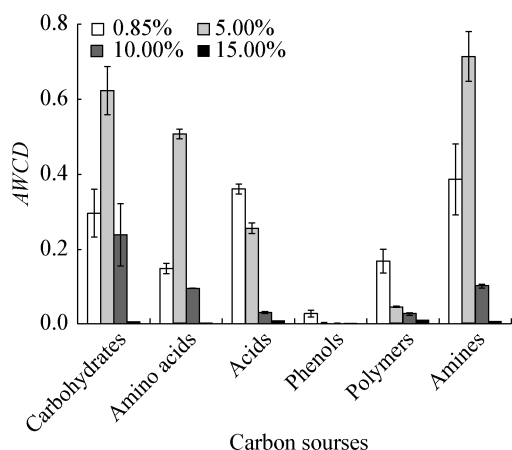


图 6 不同盐浓度下的土壤微生物群落对 6 类碳源相对利用情况

Figure 6 Relative utilization of six types of carbon sources by soil microbial community under different salt concentrations

6 类碳源利用差异明显。总体利用活性呈现为 5% NaCl > 0.85% NaCl > 10% NaCl > 15% NaCl, 其中 5% NaCl 浓度下根际微生物对碳水化合物类、氨基酸类和胺类碳源的利用显著高于其它浓度, 0.85% NaCl 浓度下根际微生物对酸类、酚类和多聚物类碳源的利用明显高于其它浓度。

由于 15% NaCl 下微生物代谢活性过低, 进一步分析不同盐浓度下的样品对 6 类碳源的代谢活性时, 仅对其它样品进行分析, 结果如图 7 所示。由图 7 可知, 不同盐浓度下的样品对 6 类碳源的利用所占比例存在明显的差异。随着盐浓度的增加,

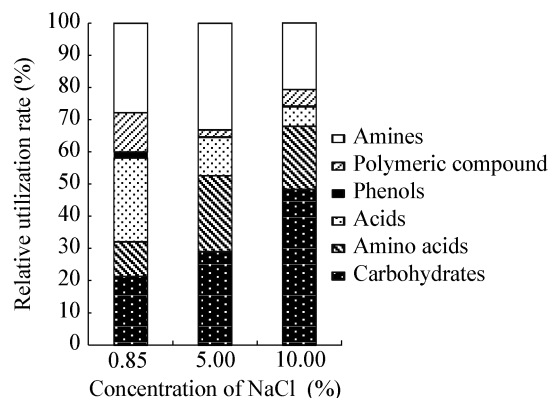


图 7 不同盐浓度下的土壤微生物群落对 6 类碳源的利用活性

Figure 7 Relative utilization rate of soil microbial community to six types of carbon sources under different salt concentrations

样品中利用碳水化合物类碳源微生物活性逐渐增加, 而利用酸类碳源微生物活性逐渐下降。5% NaCl 浓度下, 胺类、氨基酸类碳源的利用微生物活性明显高于其它浓度, 而多聚物类和酚类的活性明显小于其它浓度。

3 讨论与结论

利用 Biolog Eco 微平板开展微生物代谢多样性研究, 因其操作简单、快速, 具有灵敏度高、分辨力强的特点, 已成为微生物生态研究的重要方法之一。本研究采用 Biolog Eco 微平板技术对盐爪爪根际、根区和环境土壤微生物的多样性进行了研究。结果表明, 根际土壤微生物代谢活性明显高于其它样品, 且微生物活性总体呈现根际 > 根区 > 环境的趋势, 这可能与根系会分泌更多的根系分泌物有关, 这些分泌物会促进根部微生物的生长繁殖, 达到一个互利的过程^[21], 这与此前报道的根际微生物的数量显著高于环境样品的结论一致^[22]。不同碳源利用微生物群落所占比例分析表明, 随着与根际距离的增加, 样品中利用氨基酸、胺类碳源微生物所占比例明显降低, 而利用多聚化合物类碳源微生物所占比例明显增加, 根际土壤中利用酸类、碳水化合物类碳源微生物所占比例高于其它样品, 而与根区土壤中利用氨基酸类碳源微生物所占比

例相当,但高于环境样品。进一步通过主成分分析及相关碳源的关系分析表明,碳水化合物、酸类、氨基酸类碳源也是主要影响微生物群落分布的主要因素。这一结果可能与植物根系分泌的主要化合物有关,一般而言,根系分泌物主要由糖类、酸类和氨基酸类物质组成,这些物质均易被微生物生长利用^[23],但是不同植被根系分泌物可能存在不同,也会导致不同碳源利用微生物种群增加^[24]。多样性指数分析表明,随着与根的距离增加,各样品 McIntosh 指数(U)和 Simpson 指数(D)差异不显著,而 Shannon 指数(H)随着降低且存在明显差异,表明土壤样品的微生物中优势种群变化和均匀度变化差异不显著,而微生物的多样性变化随着与根距离的增加而降低,进一步表明根际分泌物对盐爪爪根区微生物的演变有着重要的影响。

同时,考虑到盐爪爪的离子岛效应会促进根际盐度的迁移,盐的浓度会增加,势必增加耐盐微生物的数量和种类,此前也发现盐爪爪根际存在着大量的耐盐微生物^[25]。本文开展了样品稀释和培养溶液的 NaCl 浓度对盐爪爪根际微生物多样性影响的研究,结果发现不同 NaCl 浓度培养条件下,微生物代谢活性和微生物群落组成存在着明显差异,在 5% NaCl 土壤稀释和 Biolog Eco 微平板培养液下盐爪爪根际微生物代谢活性最高,表明盐爪爪根际存在丰富的中度适盐菌。目前,国内外在使用 Biolog Eco 微平板时常通过产品说明书开展,很少考虑样品来源的特性及培养条件对微生物培养的影响,如酸度、离子浓度、温度等因素。党雯等^[26]研究发现不同的样品预处理方法在测定结果上存在着差异;贾夏等^[27]发现 Biolog Eco 微平板培养时间对环境微生物群落多样性指数、6 类碳源的利用率和主成分分析等结果产生明显影响。本研究发现土壤微生物稀释和培养盐浓度对采用 Biolog Eco 微平板技术分析也有着重要的影响,进一步证实了不同的培养条件会对样品微生物代谢活性产生明显的影响,为进一步开展相关 Biolog Eco 微平板培养条件的优化提供了科学依据。

REFERENCES

- [1] Chen WL, Li J, Zhu HH, et al. A review of the regulation of plant root system architecture by rhizosphere microorganisms[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(17): 5285-5297 (in Chinese)
陈伟立, 李娟, 朱红惠, 等. 根际微生物调控植物根系构型研究进展[J]. 生态学报, 2016, 36(17): 5285-5297
- [2] Xu WJ, Jin XD, Yang QS. Research progress on factors influencing plant rhizosphere microorganism[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(5): 6-12 (in Chinese)
徐文静, 靳晓东, 杨秋生. 植物根际微生物的影响因素研究进展[J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 6-12
- [3] Barea JM, Pozo MJ, Azcón R, et al. Microbial co-operation in the rhizosphere[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(417): 1761-1778
- [4] Lu YH, Zhang FS. The advances in rhizosphere microbiology[J]. Soils, 2006, 38(2): 113-121 (in Chinese)
陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展[J]. 土壤, 2006, 38(2): 113-121
- [5] Chen ZY, Ma J, Lai HY, et al. Research advances in the mechanisms of plant root systems disturbance in rhizosphere micro-environment[J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(2): 524-529 (in Chinese)
陈智裕, 马静, 赖华燕, 等. 植物根系对根际微环境扰动机制研究进展[J]. 生态学杂志, 2017, 36(2): 524-529
- [6] Correa-Galeote D, Bedmar EJ, Fernández-González AJ, et al. Bacterial communities in the rhizosphere of amilaceous maize (*Zea mays* L.) as assessed by pyrosequencing[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1016
- [7] Singh A, Sarma BK, Upadhyay RS, et al. Compatible rhizosphere microbes mediated alleviation of biotic stress in chickpea through enhanced antioxidant and phenylpropanoid activities[J]. Microbiological Research, 2013, 168(1): 33-40
- [8] Wang XJ, Yang D, Yi FY, et al. Research progress on the halophyte *Kalidium foliatum* and its resources characteristics[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2015, 36(5): 64-67 (in Chinese)
王晓娟, 杨鼎, 伊风艳, 等. 盐生植物盐爪爪的资源特点及研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2015, 36(5): 64-67
- [9] Yi LP, Ma J, Li Y. Soil salt and nutrient concentration in the rhizosphere of desert halophytes[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(9): 3565-3571 (in Chinese)
弋良朋, 马健, 李彦. 荒漠盐生植物根际土壤盐分和养分特征[J]. 生态学报, 2007, 27(9): 3565-3571
- [10] Yang RR, Zeng YL. Physiological characteristics of the halophytic plant *Kalidium foliatum* to salt stress[J]. Guihaia, 2015, 35(3): 366-372 (in Chinese)
杨瑞瑞, 曾幼玲. 盐生植物盐爪爪的耐盐生理特性探讨[J]. 广西植物, 2015, 35(3): 366-372
- [11] Zhao CC, Xie XZ, Hou WT, et al. The physiological characteristics of *Kalidium foliatum* in response to the salt stress at Chaidamu Basin[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2018, 32(3): 187-191 (in Chinese)

- 赵串串, 谢昕志, 侯文涛, 等. 柴达木盆地盐爪爪生理特性对盐胁迫的响应研究[J]. 干旱区资源与环境, 2018, 32(3): 187-191
- [12] Xi JY, Hu HY, Qian Y. Application of Biolog system in the study of microbial community[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2003, 43(1): 138-141 (in Chinese)
席劲瑛, 胡洪营, 钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用[J]. 微生物学报, 2003, 43(1): 138-141
- [13] Li SH, Liu KX, Liao ZW. Method for simplification of characteristic carbon sources for Biolog analysis of soil microbial community and its application[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(3): 523-528 (in Chinese)
李胜华, 刘可星, 廖宗文. 特征碳源简化土壤微生物 Biolog 测定的方法及应用[J]. 中国农业科学, 2010, 43(3): 523-528
- [14] Gong XF, Zhu Y, Peng YN, et al. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi distributions, soil nutrients and enzyme activities in rhizosphere soil at different growth stages of *Angelica sinensis*[J]. Microbiology China, 2017, 44(11): 2596-2605 (in Chinese)
巩晓芳, 祝英, 彭铁楠, 等. 当归不同生长时期根际丛枝真菌分布及土壤养分和酶活性的动态变化[J]. 微生物学通报, 2017, 44(11): 2596-2605
- [15] Yaqoob C, Awan HA, Maqbool A, et al. Microbial diversity of the rhizosphere of *Kochia (Kochia indica)* growing under saline conditions[J]. Pakistan Journal of Botany, 2013, 45(S1): 59-65
- [16] Yang Y, Liu BR. Distribution of soil nutrient and microbial biomass in rhizosphere versus non-rhizosphere area of different plant species in desertified steppe[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(22): 7562-7570 (in Chinese)
杨阳, 刘秉儒. 荒漠草原不同植物根际与非根际土壤养分及微生物量分布特征[J]. 生态学报, 2015, 35(22): 7562-7570
- [17] Classen AT, Boyle SI, Haskins KE, et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 44(3): 319-328
- [18] Li MZ, Zhang Y, Mei RW, et al. Analysis of microbial community functional diversity of activated sludge by Biolog ECO method[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 39(6): 55-58,100 (in Chinese)
李明智, 张宇, 梅荣武, 等. Biolog ECO 分析活性污泥微生物功能多样性特征[J]. 环境科学与技术, 2016, 39(6): 55-58,100
- [19] Tian YN, Wang HQ. Application of Biolog to study of environmental microbial function diversity[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 34(3): 50-57 (in Chinese)
田雅楠, 王红旗. Biolog 法在环境微生物功能多样性研究中的应用[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(3): 50-57
- [20] Wang Q, Dai JL, Wu DQ, et al. Statistical analysis of data from BIOLOG method in the study of microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(3): 817-823 (in Chinese)
王强, 戴九兰, 吴大千, 等. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析[J]. 生态学报, 2010, 30(3): 817-823
- [21] Zhu LX, Zhang JE, Liu WG. Review of studies on interactions between root exudates and rhizospheric microorganisms[J]. Ecology and Environment, 2003, 12(1): 102-105 (in Chinese)
朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 102-105
- [22] Zhou WJ, Lü DG, Qin SJ. Research progress in interaction between plant and rhizosphere microorganism[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2016, 38(3): 253-260 (in Chinese)
周文杰, 吕德国, 秦嗣军. 植物与根际微生物相互作用关系研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2016, 38(3): 253-260
- [23] Dai YT, Hou XY, Yan ZJ, et al. Rhizosphere microbial functional diversity affected by vegetation restoration in the Hobq Sand Land, Inner Mongolia, China[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(10): 56-65 (in Chinese)
戴雅婷, 侯向阳, 闫志坚, 等. 库布齐沙地两种植被恢复类型根际土壤微生物群落功能多样性研究[J]. 草业学报, 2016, 25(10): 56-65
- [24] Yang ML, Zhang X, Wang SM, et al. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in Yumin safflower[J]. Microbiology China, 2018, 45(11): 2429-2438 (in Chinese)
杨美玲, 张霞, 王绍明, 等. 基于高通量测序的裕民红花根际土壤细菌群落特征分析[J]. 微生物学通报, 2018, 45(11): 2429-2438
- [25] Muniremu-Alimujiang, Chu M, Tang QY, et al. Community composition and functional characteristics of bacteria in the rhizosphere of *Kalidium foliatum* from the radiation polluted area[J]. Microbiology China, 2018, 45(7): 1416-1425 (in Chinese)
木尼热木·阿力木江, 楚敏, 唐琦勇, 等. 辐射污染区盐爪爪根际可培养细菌群落组成及功能特性[J]. 微生物学通报, 2018, 45(7): 1416-1425
- [26] Dang W, Gao CH, Zhang Q, et al. Screening of preprocessing methods of Biolog for soil microbial community functional diversity[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(2): 153-158 (in Chinese)
党雯, 郜春花, 张强, 等. Biolog 法测定土壤微生物群落功能多样性预处理方法的筛选[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 153-158
- [27] Jia X, Dong SM, Zhou CJ. Effects of Biolog Eco-plates incubation time on analysis results in microbial ecology researches[J]. Journal of Basic Science and Engineering, 2013, 21(1): 10-19 (in Chinese)
贾夏, 董岁明, 周春娟. 微生物生态研究中 Biolog Eco 微平板培养时间对分析结果的影响[J]. 应用基础与工程科学学报, 2013, 21(1): 10-19