

研究报告

蛇足石杉内生细菌的分离鉴定及其促生特性

吴晓东¹, 范存忠¹, 张志斌¹, 颜日明¹, 朱笃^{1,2}, 杨慧林^{*1}¹ 江西师范大学 生命科学学院 生物多样性保护与资源利用江西省重点实验室, 江西 南昌 330022² 江西科技师范大学 生命科学学院 江西省生物加工过程重点实验室, 江西 南昌 330013

吴晓东, 范存忠, 张志斌, 颜日明, 朱笃, 杨慧林. 蛇足石杉内生细菌的分离鉴定及其促生特性[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2570-2587.

WU Xiaodong, FAN Cunzhong, ZHANG Zhibin, YAN Riming, ZHU Du, YANG Huilin. Isolation, identification, and plant growth-promoting effect characterization of endophytic bacteria from *Huperzia serrata*[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2570-2587.

摘要:【背景】从植物中分离得到的内生细菌能产生多种多样的活性物质, 能够促进宿主植物的生长发育, 而目前对于珍稀野生药用植物蛇足石杉内生细菌分离及其促生功能的研究鲜见报道。【目的】从蛇足石杉中分离内生细菌并进行鉴定, 从中筛选出具有多种促生功能的菌株, 为蛇足石杉内生菌资源的开发利用提供参考。【方法】通过使用不同培养基对蛇足石杉不同组织部位的内生细菌进行分离, 再根据菌落形态特征及 16S rRNA 基因序列测序比对进行菌种鉴定及系统发育分析, 最后对菌株的固氮、溶磷、产铁载体、产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)这 4 种促生功能进行检测。【结果】从蛇足石杉根、茎、叶 3 种组织中共分离得到 168 株内生细菌, 在分类学上归属于 3 门 4 纲 5 目 6 科 16 属, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)占 55.95%, 类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)占 19.05%, 为优势菌属; 不同组织分离出的内生细菌数量与种类均有明显差异, 表现为根部>茎部>叶部; 从分离的内生细菌中筛选出 95 株具有固氮能力, 76 株具有溶磷能力, 23 株具有产铁载体能力, 81 株具有产 IAA 能力。【结论】从蛇足石杉分离的内生细菌具有丰富的物种多样性和促生功能, 分布具有明显的组织特异性, 并获得多株具有良好促生功能的菌株, 为进一步开发菌肥资源提供了新的菌株材料, 同时为进一步开发利用蛇足石杉内生菌资源奠定了基础。

关键词: 蛇足石杉; 内生细菌; 分离鉴定; 促生特性

资助项目: 国家自然科学基金(32260016); 江西师范大学研究生创新基金(YJS2023064)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32260016) and the Graduate Student Innovation Fund of Jiangxi Normal University (YJS2023064).

*Corresponding author. E-mail: yanghuilin123@163.com

Received: 2024-09-29; Accepted: 2024-12-04; Published online: 2024-12-27

Isolation, identification, and plant growth-promoting effect characterization of endophytic bacteria from *Huperzia serrata*

WU Xiaodong¹, FAN Cunzhong¹, ZHANG Zhibin¹, YAN Riming¹, ZHU Du^{1,2}, YANG Huilin^{*1}

1 Jiangxi Province Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Bioresource Utilization, College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, Jiangxi, China

2 Key Laboratory of Bioprocess Engineering of Jiangxi Province, College of Life Sciences, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, Jiangxi, China

Abstract: [Background] Endophytic bacteria isolated from plants can produce a variety of active substances, which can promote the growth and development of host plants. However, there are few reports on the isolation and plant growth-promoting effects of endophytic bacteria from the rare wild medicinal plant *Huperzia serrata*. [Objective] To isolate and identify the endophytic bacteria from *H. serrata*, and screen out the strains with a variety of plant growth-promoting effects, thus providing a reference for the development and utilization of the endophytic bacterial resources of this plant. [Methods] The endophytic bacteria from different tissue samples of *H. serrata* were isolated by different media, and then the strain identification and phylogenetic analysis were carried out according to the colony morphological characteristics and 16S rRNA sequence alignment. Finally, the plant growth-promoting effects of the strains, including nitrogen fixation, phosphorus solubilization, siderophore production, and indole-3-acetic acid (IAA) production, were measured. [Results] A total of 168 strains of endophytic bacteria were isolated from the roots, stems, and leaves of *H. serrata*, belonging to 16 genera, 6 families, 5 orders, 4 classes of 3 phyla. *Bacillus* (strains accounting for 55.95%) and *Paenibacillus* (19.05%) were the dominant genera. The number and species of endophytic bacteria isolated from different tissue samples were significantly different, following the trend of root>stem>leaf. Among the 168 strains, 95, 76, 23, and 81 strains were capable of fixing nitrogen, solubilizing phosphorus, producing siderophores, and producing IAA, respectively. [Conclusion] The endophytic bacteria isolated from *H. serrata* have high diversity and can promote plant growth, and their distribution presents obvious tissue specificity. A number of strains with excellent plant growth-promoting effects have been obtained, providing new strain materials for the development of microbial fertilizers and laying a foundation for the development and utilization of endophytic bacterial resources of *H. serrata*.

Keywords: *Huperzia serrata*; endophytic bacteria; isolation and identification; plant growth-promoting effect

蛇足石杉(*Huperzia serrata*), 又名千层塔、金不换, 为石松目(*Lycopodiales*)石杉科(*Huperiaceae*)石杉属(*Huperzia*)多年生蕨类植物^[1], 在我国主要分布于中亚热带和亚热带所在的地理区域^[2]。作为传统中草药, 蛇足石

杉全株皆可入药, 我国民间将其用于治疗跌打损伤、瘀血肿痛、毒虫叮咬、毒蛇咬伤和精神分裂等疾病^[3]。20 世纪 70 年代, 有研究发现其活性成分石杉碱甲(huperzine A, HupA)对乙酰胆碱酯酶有着强效抑制作用, 临床试验已证实

石杉碱甲对治疗重症肌无力和阿尔茨海默病具有很好的疗效^[4]。近年来,因其巨大利用价值,人们加强了对蛇足石杉的开发与利用,然而,由于需求量不断增长,采集与生产的规模日益扩大,其自然资源正逐渐减少;此外还存在植株生长缓慢、繁殖不易及生存环境恶化等不利因素,也导致其资源愈发匮乏^[5]。

植物内生菌(endophyte)是指那些在其部分或全部生活史中存活于健康植物组织内部,而不使宿主植物表现出明显外在病症的细菌或真菌^[6]。有研究表明,从植物中分离得到的内生细菌能产生多种多样的活性物质,并且能够促进宿主植物的生长发育,在医药业与农业生产中表现出巨大利用价值^[7]。在药用植物内生菌中,芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、纤维单胞菌属(*Cellulomonas*)、棒形杆菌属(*Clavibacter*)、短小杆菌属(*Curtobacterium*)和微小杆菌属(*Microbacterium*)都是常见的有定殖能力的内生细菌^[8],这些内生细菌可通过生物固氮、生成铁载体、溶解磷、合成特异酶或分泌植物生长素、细胞分裂素及赤霉素等能促进植物生长的物质,从而直接促进植物的生长发育^[9]。张晓等^[10]从东乡野生稻种子中分离出一株内生细菌唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia gladioli*) Fse32,其对多种植物病原菌均有抑制作用,并且具有多种促生活性,能够显著促进水稻种子萌发及植株生长。何勇^[11]从药用植物白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)中分离获得4株内生细菌,测定了其优良的促生效能,并验证了其发酵液对白术、烟草和玉米都具有显著的促生作用。黄淑芬等^[12]用不同培养基从药食两用植物九层塔(*Ocimum basilicum* L.)中分离得到多株具有不同促生功能的内生细菌,其中2株促生功能优良的菌株发酵液能够显著促进水稻种子萌发和水稻生长。因此,从药用植物中分离具有促生活性的内生细菌是一条可行之路,在农业与医药领域均具有较大的开发潜力。

目前,对于蛇足石杉内生菌的研究大多都集中于内生真菌及其次级代谢产物方面^[13],而关于内生细菌仅见几篇研究略有涉及^[14-18],这几篇研究侧重于蛇足石杉内生细菌的多样性及其对病原真菌的抑制活性,并未探究这些内生细菌对植物的促生作用。因此,目前对蛇足石杉内生细菌的促生活性方面研究较少。本研究从药用植物蛇足石杉中分离内生细菌并进行鉴定,以初步探究其可培养细菌群落分布结构,并检测内生细菌的4种促生能力,从而筛选出具有促生潜力的菌株,以期发现特色微生物资源,为进一步开发利用蛇足石杉内生菌资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品

蛇足石杉植株样本于2023年7月下旬采集自湖南省怀化市麻阳苗族自治县,连土采集健康植株后立刻放入保鲜袋中,低温保存,带回实验室后立即进行表面消毒与内生细菌分离。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

LB培养基、脑心浸液肉汤培养基(brain-heart infusion broth medium, BHI)、酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(yeast extract peptone dextrose medium, YPD)、高氏一号培养基及Ashby无氮培养基,青岛海博生物技术有限公司;蒙金娜无机磷培养基和蒙金娜有机磷培养基,广东中山百微生物技术有限公司;CAS检测培养基参考文献[19]配制;Modified King B无铁培养基(MKB, g/L):酪蛋白 5.0, $K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5, 甘油 15.0 mL, pH 7.2;Salkowski显色液参考文献[20]配制。L-色氨酸,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)标准品,细菌基因组DNA提取试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;2×Taq PCR Master Mix和通用引物27F、1492R,生工生物工程(上海)股份有限公司。

电子天平,SHIMADZU公司;自动灭菌锅,HIRAYAMA公司;洁净工作台,苏州安

泰空气技术有限公司; 恒温振荡器, 太仓市强乐实验设备有限公司; 电热恒温培养箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; 台式高速离心机, 生工生物工程(上海)股份有限公司; PCR 仪和凝胶成像仪, Bio-Rad 公司; 电泳仪, Life Technologies 公司; 酶标仪, 美谷分子仪器(上海)有限公司。

1.3 植物组织表面消毒

首先对蛇足石杉植物样本进行表面灭菌处理: 先用自来水反复冲洗, 以去掉植物表面的尘土, 再用 75%乙醇处理 3 min, 无菌水清洗后用 1%汞溶液处理 5 min, 最后用无菌蒸馏水冲洗 4–5 遍以除去残留。取适量最后一次冲洗水涂布在 LB、BHI、YPD 和高氏一号 4 种不同空白固体培养基上进行培养, 通过观察是否有菌长出验证表面消毒是否彻底。

1.4 内生细菌的分离纯化

立刻处理经表面消毒后的植物组织, 将根和茎用无菌刀片切成 0.5 cm 长, 将叶片切成 0.5 cm² 大小的方块切片, 分别接种于 4 种不同固体培养基(LB、BHI、YPD 和高氏一号), 37 °C 培养, 每天观测并记录植物组织周围的内生细菌菌落生长情况。待菌落生长到一定规模后, 挑取不同形态特征的单菌落进行纯化培养。重复挑取菌落进行培养, 直至获得纯培养物。然后按照不同分离部位及分离顺序对纯化后菌株进行编号。分离得到的不同内生细菌菌株接种至 LB 固体斜面试管中 4 °C 短期保存, 或制成 25% 的甘油悬浮液于 -80 °C 长期保存。

1.5 菌种鉴定与系统发育分析

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取各菌株 DNA, 使用原核生物 16S rRNA 基因的保守序列通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTG GCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTAC GACTT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(50 μL): 2×Taq PCR Master Mix 25 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μL、DNA 模板 1 μL, ddH₂O 22 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 次循环; 72 °C

10 min。通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的片段长度和纯度, 将片段大小正确、条带明亮且清晰的样品送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将所得测序结果用 NCBI 中的 BLAST 程序与 GenBank 数据库中的已知序列进行同源性分析, 运用 MEGA 11 软件以 neighbour-joining 法构建系统发育树, 并利用在线工具 tvBOT 对其加以美化^[21], 以确定内生细菌的分类地位。

1.6 菌株促生特性检测

1.6.1 固氮能力的检测

参考文献[22]的方法对分离出的内生细菌进行固氮检测。将活化好的菌株接种到 LB 液体培养基, 37 °C、180 r/min 培养 1 d 后按照 2% 接种量把菌悬液接种到液体 Ashby 无氮培养基中再培养 3–4 d。经培养后培养基变浑浊即为阳性, 表明该菌株具备固氮能力。将具有固氮能力的菌株接种在固体 Ashby 无氮培养基上连续进行 3 次继代培养, 若在第 3 次继代培养时仍然能够生长即可认为该菌株具有稳定的固氮能力。

1.6.2 溶磷能力的检测

参考张晓等^[10]和韦双等^[23]的方法进行内生细菌的溶磷能力检测: 采用点接法将内生细菌菌株接种于蒙金娜无机磷和蒙金娜有机磷固体培养基, 37 °C 倒置培养 5 d 观察是否有透明溶磷圈的出现来判断菌株是否具有溶解无机磷和有机磷的能力; 测量溶磷圈直径(D)与菌落直径(d), 根据 D/d 的比值大小初步判断菌株的溶磷效果。

1.6.3 产铁载体能力的检测

定性检测^[19]: 将分离得到的内生细菌菌株点接种于 LB 固体培养基上, 于 37 °C 条件下培养 2 d。待灭菌后的 CAS 检测培养基冷却至 40 °C 左右时, 将其按照每个平板 10 mL 倒入 LB 固体培养基中, 放置 1 h 后观察每个平板中菌落周围是否出现黄色或橙红色晕圈, 若出现, 则可初步判断该菌株具有产铁载体的能力。

定量检测^[24]: 将菌株接种于 LB 固体培养基上, 37 °C 培养 1–2 d 后转接于 MKB 液体培养基中, 37 °C、180 r/min 培养 2 d 后 8 000 r/min 离心 5 min 得到上清液。将待测上清液和 CAS 检测培养基 1:1 进行混合, 混匀静置 1 h 后检测其 630 nm 处吸光度 A 。另取未接种的 MKB 液体培养基作为空白对照, 采用同样的方法测定其吸光度作为参比值 A_0 。菌株铁载体合成率的计算公式为: $Su=(A-A_0)/A_0 \times 100\%$ 。

1.6.4 产 IAA 能力的检测

参照周益帆等^[25]的方法进行产 IAA 菌株的定性检测: 将活化后的内生细菌接种于 LB 液体培养基(添加 200 mg/L 的 L-色氨酸)中, 37 °C、180 r/min 振荡培养 2 d, 最后 8 000 r/min 离心 5 min 得到上清液。以 50 mg/L IAA 标准液作为阳性对照, 以未接菌的 LB 液体培养基(添加 200 mg/L 的 L-色氨酸)为阴性对照, 取发酵后的上清液吸入白色陶瓷板孔中, 并同时加入等量的 Salkowski 显色液进行显色反应。把白色陶瓷板放置在室温且避光的条件下 30 min, 若颜色变为红色, 则表明该菌株能够产生 IAA。

定量检测: 配制浓度依次为 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液, 并按体积比 1:1 与 Salkowski 显色液混合, 室温避光放置 30 min, 以蒸馏水为空白对照, 测其 530 nm 处吸光值, 建立标准曲线。取上述菌株发酵上清液按照同样的方法进行显色, 以未接菌的 LB 液体培养基(添加 200 mg/L 的 L-色氨酸)为空白对照, 测量其 530 nm 处吸光值, 根据标准曲线计算相应菌株 IAA 产量。

1.7 数据处理与分析

利用 Excel 2019、SPSS 20 软件对数据进行分析 and 处理。图表中数据均为平均值 $\pm$ 标准差。

2 结果与分析

2.1 蛇足石杉内生细菌的分离鉴定结果

从蛇足石杉根、茎、叶 3 种组织中共分离得到 168 株内生细菌, 将从蛇足石杉根部组织

分离出的菌株编号为 HsRF01–HsRF78, 从蛇足石杉茎部组织分离出的菌株编号为 HsSF01–HsSF47, 从蛇足石杉叶部组织分离出的菌株编号为 HsLF01–HsLF43。通过形态学观察和分子生物学鉴定确定其种属, 结果显示, 蛇足石杉内生细菌在分类学上归属于 3 门 4 纲 5 目 6 科 16 属。其中芽孢杆菌属(*Bacillus*) 94 株占 55.95%, 类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*) 32 株占 19.05%, 为优势菌属; 此外, 其余菌属的种类和数量分布为: 近芽孢杆菌属(*Peribacillus*) 7 株, 新颖芽孢杆菌属(*Neobacillus*) 6 株, 泛菌属(*Pantoea*) 5 株, 秀彻氏杆菌属(*Shouchella*)和赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)各 4 株, 泡状芽孢杆菌属(*Cytobacillus*)和克雷伯氏菌属(*Klebsiella*) 3 株, 短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、普里斯特氏菌属(*Priestia*)及嗜冷芽孢杆菌属(*Psychrobacillus*)各 2 株, 无色杆菌属(*Achromobacter*)、伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)、伪芽孢杆菌属(*Fictibacillus*)及小单孢菌属(*Micromonospora*)各 1 株, 为不占优势的菌属。

2.2 内生细菌系统发育分析

将分离得到的 168 株蛇足石杉内生细菌 16S rRNA 基因测序结果与 GenBank 数据库中已有序列进行 BLAST 比对, 寻找其最相似菌株; 并将 16S rRNA 基因的测序结果提交到国家微生物科学数据中心(NMDC)的核酸序列数据库中, 以获得序列登录号。最后运用 MEGA 11 软件对所得菌株及其相似菌株进行系统发育分析(图 1)。依据系统发育树的结果来判定菌株归属。

2.3 不同组织内生细菌数量与种类分析

如图 2 所示, 从蛇足石杉不同组织内分离得到的内生细菌数量及种类存在差异: 从根部组织中分离的内生细菌有 78 株(HsRF01–HsRF78), 隶属于 12 个菌属, 其中芽孢杆菌属 41 株(占 52.56%)和类芽孢杆菌属 18 株(占 23.08%)为优势菌属, 此外, 赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*) 4 株、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*) 2 株、伪芽孢杆菌属 1 株及小单孢菌属 1 株, 为根部组织

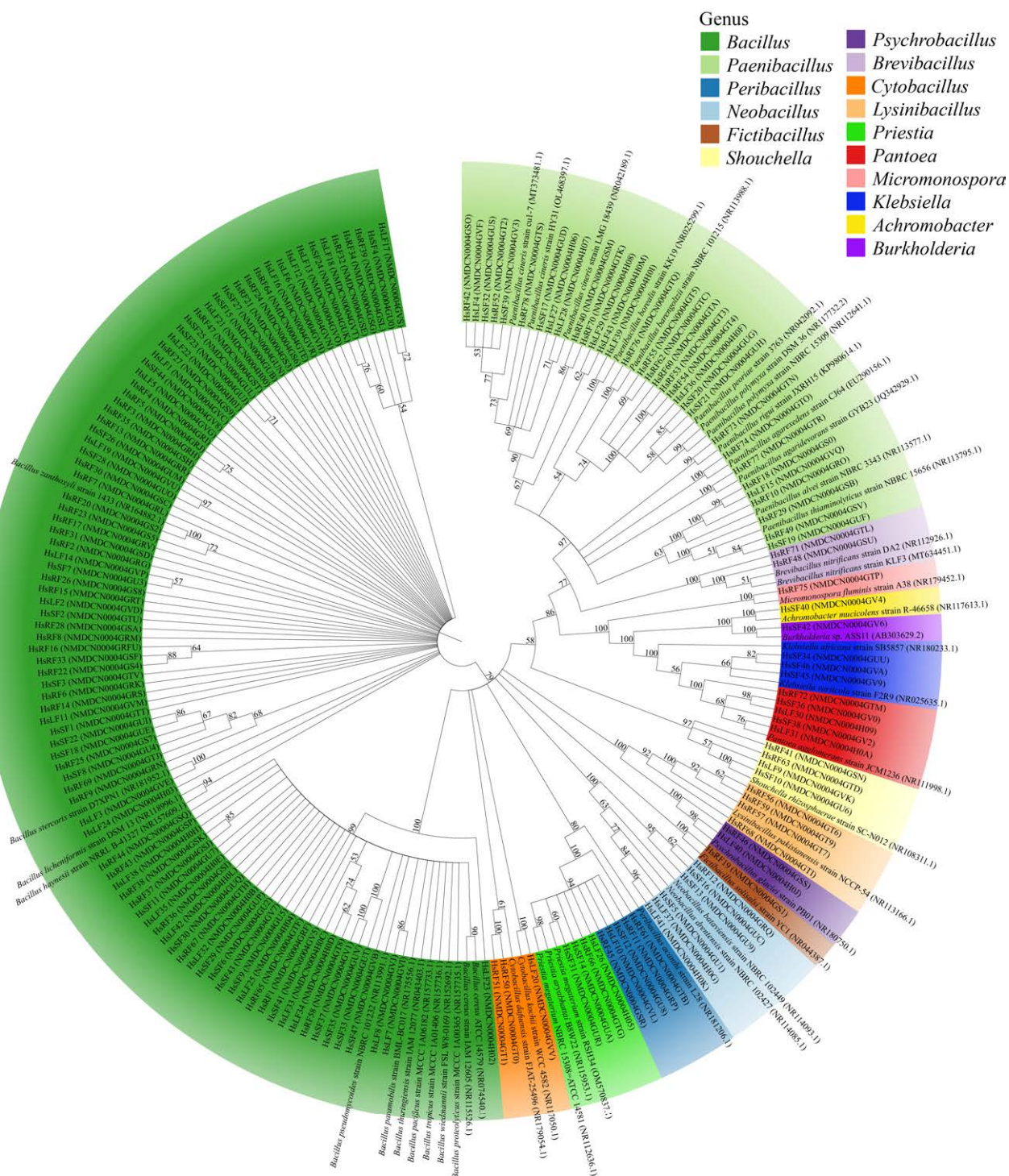


图1 蛇足石杉内生细菌基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树 括号内序号为序列登录号; 分支点上的数字表示1000次重复后得到的自展值。

Figure 1 The phylogenetic tree constructed by endophytic bacteria of *H. serrata* based on 16S rRNA gene sequences. The sequence number in parentheses is the serial accession number; The number on the branch point indicates bootstrap values obtained after 1000 replicates.

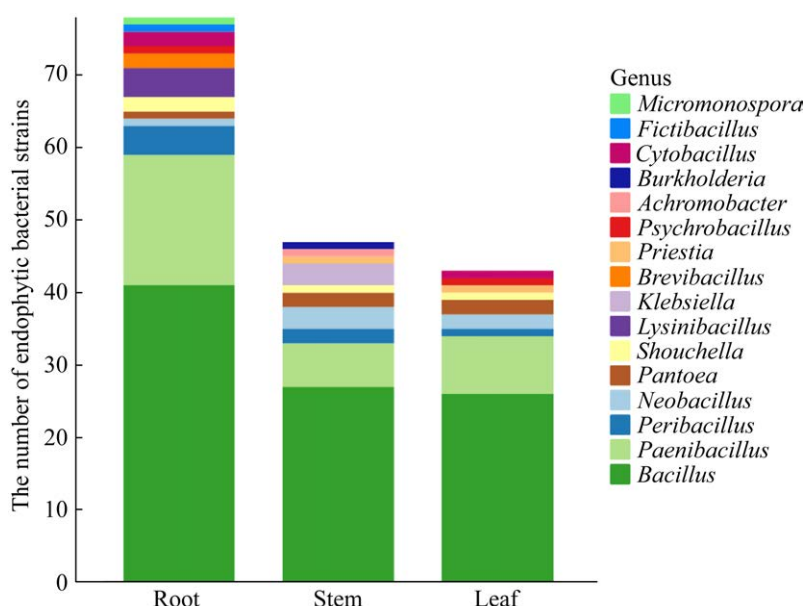


图2 蛇足石杉不同组织部位分离内生细菌数量及菌属分布

Figure 2 The number and genus distribution of endophytic bacteria isolated from different tissue parts of *H. serrata*.

分离的特有菌属；从茎部组织中分离的内生细菌有 47 株(HsSF01–HsSF47)，隶属于 10 个菌属，其中芽孢杆菌属 27 株(占 57.45%)和类芽孢杆菌属 6 株(占 12.77%)为优势菌属，此外，克雷伯氏菌属 3 株、无色杆菌属 1 株及伯克霍尔德氏菌属 1 株，为茎部组织分离的特有菌属；从叶部组织中分离的内生细菌有 43 株(HsLF01–HsLF43)，隶属于 9 个菌属，其中芽孢杆菌属 26 株(占 60.47%)和类芽孢杆菌 8 株(占 18.60%)为优势菌属，没有叶部组织分离特有菌属。蛇足石杉不同组织分离的内生细菌菌株数量与种类都存在明显差异，均表现为根部>茎部>叶部。

2.4 内生细菌的促生特性分析

2.4.1 固氮能力分析

对 168 株内生细菌菌株进行活化后，将其接种于 Ashby 无氮培养基中予以培养。培养结果表明，有 95 株能够在 Ashby 固体培养基上生长，表明它们具有固氮能力(表 1)，占有菌株的 56.55%。这 95 株菌分属于 14 个菌属，其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)

占据优势地位，分别有 43 株(占比 45.26%)和 24 株(占比 25.26%)。在固氮能力方面表现较强的菌株有 4 株，分别是 HsRF12、HsRF70、HsRF71 及 HsSF13，它们均能够在 Ashby 固体培养基上生长出极为明显的菌落。

2.4.2 溶磷能力分析

通过蒙金娜无机磷和有机磷固体培养基进行菌株溶磷能力的初步检测，结果显示：168 株蛇足石杉内生细菌中，有 33 株菌(19.64%)能够溶解无机磷，有 60 株菌(35.71%)能够溶解有机磷，其中 17 株菌(10.12%)既能够溶解无机磷，又能够溶解有机磷。部分菌株在检测平板上出现溶磷圈如图 3A 所示。通过测量溶磷圈直径 D 与菌落直径 d ，再计算比值 D/d 初步判断菌株溶磷能力的强弱，结果见表 2。在这些菌株中，溶无机磷能力最强的菌株为 HsLF10，其 D/d 比值为 1.673，其次还有 2 株溶无机磷能力较强的菌株 HsSF02 和 HsSF03，其 D/d 比值分别为 1.659 和 1.662；溶有机磷能力最强的菌株为 HsSF36，其 D/d 比值为 2.118，其次是菌株 HsLF39，其 D/d 比值为 1.959。在 76 株具有溶

表 1 内生细菌菌株固氮作用

Table 1 Nitrogen fixation of endophytic bacterial strains

Strain	Genus	Nitrogen fixation	Strain	Genus	Nitrogen fixation	Strain	Genus	Nitrogen fixation
HsRF01	<i>Bacillus</i>	++	HsRF58	<i>Bacillus</i>	+	HsSF36	<i>Pantoea</i>	+
HsRF02	<i>Bacillus</i>	+	HsRF59	<i>Lysinibacillus</i>	+	HsSF38	<i>Pantoea</i>	+
HsRF06	<i>Bacillus</i>	+	HsRF62	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF39	<i>Paenibacillus</i>	+
HsRF08	<i>Bacillus</i>	+	HsRF63	<i>Shouchella</i>	+	HsSF40	<i>Achromobacter</i>	+
HsRF12	<i>Neobacillus</i>	+++	HsRF65	<i>Bacillus</i>	++	HsSF42	<i>Burkholderia</i>	+
HsRF14	<i>Bacillus</i>	+	HsRF66	<i>Priestia</i>	+	HsSF43	<i>Bacillus</i>	+
HsRF16	<i>Bacillus</i>	+	HsRF67	<i>Bacillus</i>	+	HsSF44	<i>Bacillus</i>	+
HsRF18	<i>Paenibacillus</i>	++	HsRF70	<i>Paenibacillus</i>	+++	HsSF46	<i>Klebsiella</i>	++
HsRF19	<i>Fictibacillus</i>	+	HsRF71	<i>Brevibacillus</i>	+++	HsLF03	<i>Bacillus</i>	++
HsRF21	<i>Bacillus</i>	++	HsRF72	<i>Pantoea</i>	++	HsLF04	<i>Paenibacillus</i>	+
HsRF22	<i>Bacillus</i>	+	HsRF73	<i>Paenibacillus</i>	++	HsLF05	<i>Bacillus</i>	++
HsRF27	<i>Bacillus</i>	+	HsRF76	<i>Paenibacillus</i>	+	HsLF07	<i>Bacillus</i>	+
HsRF29	<i>Paenibacillus</i>	++	HsRF77	<i>Paenibacillus</i>	++	HsLF08	<i>Bacillus</i>	+
HsRF30	<i>Bacillus</i>	++	HsSF01	<i>Bacillus</i>	+	HsLF09	<i>Shouchella</i>	+
HsRF34	<i>Bacillus</i>	+	HsSF06	<i>Bacillus</i>	+	HsLF10	<i>Peribacillus</i>	+
HsRF35	<i>Bacillus</i>	+	HsSF09	<i>Bacillus</i>	++	HsLF15	<i>Paenibacillus</i>	++
HsRF36	<i>Bacillus</i>	+	HsSF10	<i>Shouchella</i>	+	HsLF23	<i>Bacillus</i>	++
HsRF37	<i>Bacillus</i>	++	HsSF12	<i>Peribacillus</i>	+	HsLF25	<i>Bacillus</i>	+
HsRF38	<i>Bacillus</i>	++	HsSF13	<i>Neobacillus</i>	+++	HsLF28	<i>Paenibacillus</i>	+
HsRF40	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF14	<i>Priestia</i>	+	HsLF29	<i>Paenibacillus</i>	++
HsRF43	<i>Bacillus</i>	++	HsSF18	<i>Bacillus</i>	++	HsLF30	<i>Pantoea</i>	++
HsRF44	<i>Bacillus</i>	+	HsSF19	<i>Paenibacillus</i>	++	HsLF31	<i>Pantoea</i>	+
HsRF45	<i>Peribacillus</i>	+	HsSF20	<i>Paenibacillus</i>	++	HsLF32	<i>Bacillus</i>	+
HsRF46	<i>Psychrobacillus</i>	++	HsSF21	<i>Paenibacillus</i>	++	HsLF33	<i>Bacillus</i>	+
HsRF48	<i>Brevibacillus</i>	++	HsSF24	<i>Bacillus</i>	++	HsLF34	<i>Bacillus</i>	++
HsRF49	<i>Paenibacillus</i>	+	HsSF28	<i>Bacillus</i>	+	HsLF35	<i>Bacillus</i>	++
HsRF50	<i>Cytobacillus</i>	++	HsSF29	<i>Bacillus</i>	+	HsLF36	<i>Paenibacillus</i>	+
HsRF52	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF30	<i>Bacillus</i>	++	HsLF40	<i>Psychrobacillus</i>	++
HsRF53	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF31	<i>Priestia</i>	+	HsLF41	<i>Neobacillus</i>	++
HsRF54	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF32	<i>Paenibacillus</i>	+	HsLF42	<i>Bacillus</i>	+
HsRF55	<i>Paenibacillus</i>	++	HsSF33	<i>Bacillus</i>	++	HsLF43	<i>Paenibacillus</i>	+
HsRF57	<i>Lysinibacillus</i>	++	HsSF35	<i>Bacillus</i>	++			

+++：生长很明显；++：生长明显；+：生长较明显。

+++：Growth is very obvious；++：Growth is obvious；+：Growth is relatively obvious.

磷能力的菌株中，归属于类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)的菌株最多，有26株(34.21%)，其次是芽孢杆菌属(*Bacillus*)有22株(28.95%)，表明这2个菌属的菌株具有溶磷能力的潜力比较大。

另外，所分离得到的5株泛菌属(*Pantoea*)菌株都具有不同程度的固氮作用和溶磷能力，其中菌株 HsSF36 的溶有机磷能力是所有菌株中最强的，可初步表明该菌属具有优良的促生特性。

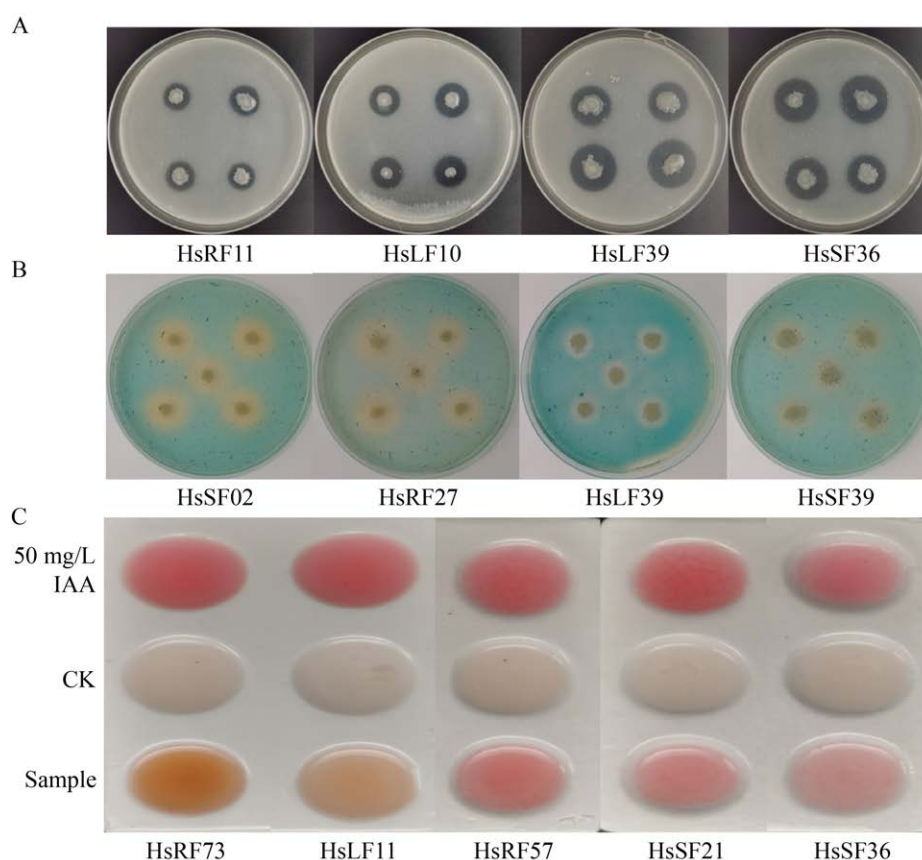


图3 蛇足石杉内生细菌不同促生特性定性检测 A: 溶磷; B: 产铁载体; C: 产 IAA。

Figure 3 Qualitative detection of different growth-promoting effects of endophytic bacteria isolated from *H. serrata*. A: phosphorus solubilization; B: Siderophore production; C: IAA production.

2.4.3 产铁载体能力分析

通过 CAS 检测培养基初步检测结果显示, 分离得到的 168 株蛇足石杉内生细菌中有 23 株菌株 (13.69%) 的菌落周围出现橘黄色晕圈 (图 3B), 说明这些菌株具有产生铁载体的能力。随后对这些菌株进行产铁载体定量测定, 结果 (表 3) 显示, 各菌株的铁载体合成率在 0.36%–77.01% 之间, 存在显著性差异。菌株 HsSF02 的铁载体合成率最高, 为 77.01%, 说明其产铁载体能力最强; 其次为菌株 HsRF14、HsRF20、HsRF27、HsSF44、HsLF19 和 HsLF40 等, 它们的铁载体合成率均在 70% 左右, 说明具有较强的产铁载体能力。在这些具有产铁载体能力的菌株中, 有 12 株归属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 占 52.17%, 并且其铁载体合成率大多数都较高, 可初步表

明这个菌属产铁载体促生特性的潜力较大。

2.4.4 产 IAA 能力分析

产 IAA 初步检测结果显示, 分离到的 168 株内生细菌中有 81 株菌 (48.21%) 发酵液与 Salkowski 显色液混合后在白陶瓷板上呈现粉红色 (图 3C), 说明这些菌株具有产 IAA 的促生特性。之后根据 IAA 标准溶液的浓度与对应的 OD_{530} 计算出 IAA 标准曲线为: $y=0.0175x+0.0634$, 其 R^2 值为 0.9901。对初筛后的 81 株菌进一步开展产 IAA 定量检测, 结果见表 4, 这 81 株菌都能检测到产 IAA, 其产量在 3.42–16.03 mg/L 之间。其中产量最高的菌株为 HsRF57, 其 IAA 产量为 16.03 mg/L。在这些能产 IAA 的菌株中, 归属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的菌株最多 (39 株, 占 48.15%), 其次为类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 有

表 2 内生细菌菌株溶磷能力测定
Table 2 Determination of phosphorus solubilization capacity of endophytic bacterial strains

Strain	Genus	Inorganic phosphorus solubility (D/d)	Organophosphorus solubility (D/d)	Strain	Genus	Inorganic phosphorus solubility (D/d)	Organophosphorus solubility (D/d)
HsRF11	<i>Peribacillus</i>	—	1.369±0.091efg	HsSF19	<i>Paenibacillus</i>	—	1.096±0.016klmn
HsRF12	<i>Neobacillus</i>	—	1.164±0.045ijklmn	HsSF20	<i>Paenibacillus</i>	—	1.118±0.040ijklmn
HsRF20	<i>Bacillus</i>	—	1.223±0.055ghijkl	HsSF21	<i>Paenibacillus</i>	—	1.111±0.033ijklmn
HsRF29	<i>Paenibacillus</i>	—	1.330±0.211efgh	HsSF22	<i>Bacillus</i>	—	1.266±0.093fghij
HsRF40	<i>Paenibacillus</i>	1.094±0.039fg	1.032±0.017mn	HsSF26	<i>Bacillus</i>	—	1.292±0.068efghi
HsRF41	<i>Shouchella</i>	—	1.162±0.154ijklmn	HsSF32	<i>Paenibacillus</i>	1.055±0.016g	—
HsRF42	<i>Paenibacillus</i>	1.061±0.024g	1.035±0.012mn	HsSF36	<i>Pantoea</i>	1.100±0.023fg	2.118±0.404a
HsRF49	<i>Paenibacillus</i>	—	1.240±0.052ghijk	HsSF38	<i>Pantoea</i>	—	1.229±0.048ghijkl
HsRF51	<i>Bacillus</i>	—	1.095±0.027klmn	HsSF39	<i>Paenibacillus</i>	—	1.115±0.044ijklmn
HsRF52	<i>Paenibacillus</i>	—	1.030±0.016mn	HsSF42	<i>Burkholderia</i>	—	1.020±0.008n
HsRF53	<i>Paenibacillus</i>	—	1.040±0.016mn	HsSF45	<i>Klebsiella</i>	1.218±0.318defg	1.670±0.076c
HsRF54	<i>Paenibacillus</i>	—	1.050±0.021mn	HsSF46	<i>Klebsiella</i>	1.078±0.035fg	1.656±0.118c
HsRF55	<i>Paenibacillus</i>	—	1.050±0.011mn	HsLF01	<i>Bacillus</i>	1.135±0.050fg	—
HsRF57	<i>Lysinibacillus</i>	—	1.073±0.028klmn	HsLF02	<i>Bacillus</i>	1.142±0.030fg	—
HsRF60	<i>Paenibacillus</i>	—	1.022±0.005n	HsLF03	<i>Bacillus</i>	1.333±0.037cde	—
HsRF61	<i>Peribacillus</i>	—	1.078±0.012klmn	HsLF04	<i>Paenibacillus</i>	1.364±0.087cde	1.119±0.054ijklmn
HsRF62	<i>Paenibacillus</i>	—	1.087±0.040klmn	HsLF05	<i>Bacillus</i>	1.124±0.038fg	—
HsRF63	<i>Shouchella</i>	—	1.197±0.013hijklm	HsLF06	<i>Bacillus</i>	1.598±0.058a	—
HsRF65	<i>Bacillus</i>	—	1.044±0.009mn	HsLF09	<i>Shouchella</i>	—	1.411±0.223ef
HsRF66	<i>Peribacillus</i>	—	1.044±0.006mn	HsLF10	<i>Peribacillus</i>	1.673±0.137a	1.337±0.054efgh
HsRF70	<i>Paenibacillus</i>	1.077±0.015fg	—	HsLF11	<i>Bacillus</i>	1.145±0.059fg	—
HsRF71	<i>Brevibacillus</i>	—	1.112±0.003ijklmn	HsLF12	<i>Bacillus</i>	1.325±0.058cde	—
HsRF72	<i>Pantoea</i>	1.109±0.017fg	1.019±0.006n	HsLF21	<i>Bacillus</i>	1.218±0.082defg	—
HsRF73	<i>Paenibacillus</i>	—	1.079±0.018klmn	HsLF22	<i>Bacillus</i>	1.388±0.162bcd	—

(待续)

(续表 2)

Strain	Genus affiliation	Inorganic phosphorus solubility (<i>D/d</i>)	Organophosphorus solubility (<i>D/d</i>)	Strain	Genus affiliation	Inorganic phosphorus solubility (<i>D/d</i>)	Organophosphorus solubility (<i>D/d</i>)
HsRF75	<i>Micromonospora</i>	–	1.59±0.118cd	HsLF23	<i>Bacillus</i>	1.355±0.087cde	1.146±0.074ijklmn
HsRF77	<i>Paenibacillus</i>	–	1.063±0.013lmn	HsLF24	<i>Bacillus</i>	1.259±0.099cdef	–
HsRF78	<i>Paenibacillus</i>	1.083±0.022fg	1.033±0.004mn	HsLF26	<i>Priestia</i>	1.191±0.062efg	1.188±0.046hijklmn
HsSF01	<i>Bacillus</i>	1.547±0.133ab	–	HsLF27	<i>Paenibacillus</i>	1.086±0.016fg	1.141±0.060ijklmn
HsSF02	<i>Bacillus</i>	1.659±0.089a	–	HsLF28	<i>Paenibacillus</i>	–	1.290±0.080efghi
HsSF03	<i>Bacillus</i>	1.662±0.032a	–	HsLF29	<i>Paenibacillus</i>	–	1.099±0.035klmn
HsSF05	<i>Neobacillus</i>	–	1.093±0.047klmn	HsLF30	<i>Pantoea</i>	1.408±0.362bc	1.042±0.009mn
HsSF08	<i>Bacillus</i>	–	1.167±0.066ijklmn	HsLF31	<i>Pantoea</i>	1.371±0.028cde	1.138±0.058ijklmn
HsSF10	<i>Shouchella</i>	–	1.360±0.079efg	HsLF33	<i>Bacillus</i>	1.086±0.016fg	–
HsSF12	<i>Peribacillus</i>	–	1.074±0.032klmn	HsLF37	<i>Neobacillus</i>	–	1.043±0.003mn
HsSF14	<i>Peribacillus</i>	–	1.168±0.031ijklmn	HsLF39	<i>Paenibacillus</i>	1.341±0.184cde	1.959±0.291b
HsSF16	<i>Neobacillus</i>	–	1.159±0.081ijklmn	HsLF40	<i>Psychrobacillus</i>	–	1.574±0.134cd
HsSF17	<i>Paenibacillus</i>	–	1.072±0.024lmn	HsLF41	<i>Neobacillus</i>	1.127±0.062fg	1.434±0.169de
HsSF18	<i>Bacillus</i>	–	1.149±0.074ijklmn	HsLF43	<i>Paenibacillus</i>	1.136±0.066fg	1.062±0.019lmn

–: 菌株无相应溶磷能力。同一列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

–: The strain does not have the corresponding phosphorus-solubilizing ability. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

表 3 内生细菌菌株产铁载体能力测定

Table 3 Determination of siderophore production capacity of endophytic bacteria stains

Strain	Genus	Siderophore synthesis rate Su (%)	Strain	Genus	Siderophore synthesis rate Su (%)
HsRF03	<i>Bacillus</i>	44.59±0.20g	HsRF51	<i>Bacillus</i>	11.77±0.13k
HsRF10	<i>Paenibacillus</i>	6.41±0.21l	HsSF02	<i>Bacillus</i>	77.01±1.29a
HsRF14	<i>Bacillus</i>	70.23±0.08d	HsSF28	<i>Bacillus</i>	19.30±0.85j
HsRF19	<i>Fictibacillus</i>	23.71±0.16i	HsSF38	<i>Pantoea</i>	24.54±0.24i
HsRF20	<i>Bacillus</i>	72.19±0.13c	HsSF39	<i>Paenibacillus</i>	52.30±0.32f
HsRF26	<i>Bacillus</i>	1.57±0.21mn	HsSF42	<i>Burkholderia</i>	2.49±0.17m
HsRF27	<i>Bacillus</i>	73.59±0.55bc	HsSF44	<i>Bacillus</i>	74.49±0.22b
HsRF28	<i>Bacillus</i>	69.46±0.24d	HsSF46	<i>Klebsiella</i>	43.79±0.24g
HsRF32	<i>Bacillus</i>	63.07±0.34e	HsLF19	<i>Bacillus</i>	73.52±0.94bc
HsRF42	<i>Paenibacillus</i>	0.36±0.02n	HsLF39	<i>Paenibacillus</i>	39.24±0.47h
HsRF46	<i>Psychrobacillus</i>	10.59±0.56k	HsLF40	<i>Psychrobacillus</i>	70.42±0.25d
HsRF48	<i>Brevibacillus</i>	2.64±0.23m			

表 4 内生细菌菌株产吲哚乙酸能力

Table 4 Indole-3-acetic acid (IAA) production capacity assay of endophytic bacterial strains

Strain	Genus	IAA yield (mg/L)	Strain	Genus	IAA yield (mg/L)	Strain	Genus	IAA yield (mg/L)
HsRF01	<i>Bacillus</i>	5.25±0.12	HsRF59	<i>Lysinibacillus</i>	9.01±0.50	HsSF32	<i>Paenibacillus</i>	5.71±0.14
HsRF05	<i>Bacillus</i>	4.85±0.09	HsRF61	<i>Peribacillus</i>	12.15±0.15	HsSF35	<i>Bacillus</i>	9.56±0.03
HsRF09	<i>Bacillus</i>	8.76±0.14	HsRF63	<i>Shouchella</i>	11.37±0.53	HsSF36	<i>Pantoea</i>	9.84±0.54
HsRF10	<i>Paenibacillus</i>	10.05±0.14	HsRF64	<i>Bacillus</i>	5.69±0.11	HsSF38	<i>Pantoea</i>	4.53±0.03
HsRF14	<i>Bacillus</i>	7.69±0.06	HsRF65	<i>Bacillus</i>	7.01±0.65	HsSF39	<i>Paenibacillus</i>	5.29±0.35
HsRF15	<i>Bacillus</i>	6.51±0.52	HsRF66	<i>Peribacillus</i>	7.04±0.14	HsSF40	<i>Achromobacter</i>	6.45±0.14
HsRF16	<i>Bacillus</i>	8.76±0.34	HsRF67	<i>Bacillus</i>	4.21±0.11	HsSF44	<i>Bacillus</i>	8.15±0.15
HsRF18	<i>Paenibacillus</i>	8.57±0.18	HsRF68	<i>Lysinibacillus</i>	8.91±0.27	HsSF45	<i>Klebsiella</i>	6.47±0.27
HsRF19	<i>Fictibacillus</i>	8.53±0.07	HsRF69	<i>Bacillus</i>	11.44±0.78	HsLF06	<i>Bacillus</i>	7.60±0.24
HsRF20	<i>Bacillus</i>	6.91±0.12	HsRF70	<i>Paenibacillus</i>	5.06±0.11	HsLF07	<i>Bacillus</i>	10.93±1.20
HsRF24	<i>Bacillus</i>	9.27±0.17	HsRF71	<i>Brevibacillus</i>	9.48±0.26	HsLF10	<i>Peribacillus</i>	9.94±0.24
HsRF25	<i>Bacillus</i>	5.50±0.12	HsRF72	<i>Pantoea</i>	9.67±0.61	HsLF11	<i>Bacillus</i>	10.22±1.20
HsRF27	<i>Bacillus</i>	6.28±0.23	HsRF73	<i>Paenibacillus</i>	13.37±0.78	HsLF12	<i>Bacillus</i>	6.03±0.17
HsRF29	<i>Paenibacillus</i>	7.62±0.20	HsRF76	<i>Paenibacillus</i>	9.94±0.49	HsLF13	<i>Bacillus</i>	9.63±0.50
HsRF32	<i>Bacillus</i>	5.01±0.10	HsRF78	<i>Paenibacillus</i>	8.53±0.35	HsLF15	<i>Paenibacillus</i>	6.42±0.14
HsRF35	<i>Bacillus</i>	5.62±0.42	HsSF05	<i>Neobacillus</i>	7.08±0.22	HsLF16	<i>Bacillus</i>	8.30±0.20
HsRF36	<i>Bacillus</i>	4.05±0.09	HsSF06	<i>Bacillus</i>	3.42±0.14	HsLF17	<i>Bacillus</i>	7.02±0.48
HsRF37	<i>Bacillus</i>	11.90±1.13	HsSF07	<i>Bacillus</i>	8.09±0.11	HsLF18	<i>Bacillus</i>	7.77±0.33
HsRF40	<i>Paenibacillus</i>	11.14±0.12	HsSF09	<i>Bacillus</i>	8.02±0.26	HsLF22	<i>Bacillus</i>	7.08±0.84
HsRF42	<i>Paenibacillus</i>	9.35±0.56	HsSF10	<i>Shouchella</i>	4.55±0.73	HsLF23	<i>Bacillus</i>	7.37±0.12
HsRF43	<i>Bacillus</i>	8.61±0.45	HsSF13	<i>Neobacillus</i>	5.01±0.06	HsLF28	<i>Paenibacillus</i>	9.79±0.35
HsRF44	<i>Bacillus</i>	5.20±0.22	HsSF16	<i>Neobacillus</i>	5.73±1.08	HsLF30	<i>Pantoea</i>	4.22±0.34
HsRF45	<i>Peribacillus</i>	9.79±0.20	HsSF19	<i>Paenibacillus</i>	4.13±0.42	HsLF31	<i>Pantoea</i>	6.11±0.09
HsRF49	<i>Paenibacillus</i>	7.31±0.13	HsSF21	<i>Paenibacillus</i>	12.05±0.48	HsLF33	<i>Bacillus</i>	5.58±0.15
HsRF52	<i>Paenibacillus</i>	13.39±0.32	HsSF27	<i>Bacillus</i>	8.13±0.18	HsLF36	<i>Paenibacillus</i>	6.09±0.30
HsRF57	<i>Lysinibacillus</i>	16.03±0.69	HsSF30	<i>Bacillus</i>	6.26±0.21	HsLF37	<i>Neobacillus</i>	5.92±0.15
HsRF58	<i>Bacillus</i>	8.36±0.92	HsSF31	<i>Priestia</i>	3.50±0.38	HsLF43	<i>Paenibacillus</i>	8.21±0.15

19株(占23.46%),另外,所分离得到的5株泛菌属(*Pantoea*)菌株均检测出具有产IAA能力。

3 讨论

植物内生菌是存在于植物体内的一类极为重要的微生物资源,其对植物的生长发育有着重要的调控作用,在多数情形下与宿主植物处于互惠共生的关系;内生细菌对宿主植物有着广泛的生物学影响,宿主植物的优良性状与内生细菌的功能密切相关^[26]。因此,深入探究植物内生细菌的种类丰富性及生物学功能具有重要意义。

3.1 关于蛇足石杉内生细菌分离与鉴定研究

许多药用植物内生细菌的分布特征已有较广泛研究,然而,关于蛇足石杉内生细菌群落的研究却很少^[13],对于可培养细菌方面,孙红敏等^[16]使用10种培养基从四川省和福建省采集的蛇足石杉植株分离出356株内生细菌,隶属于放线菌门(*Actinomycetota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和变形菌门(*Proteobacteria*)的26科41属,还发现来源于蛇足石杉地上和地下部位的菌株数目、多样性指数等无明显差异。另外,樊仕鹏^[17]使用2种培养基分离出142株内生细菌,但并未对所有菌株进行鉴定,也就无法对内生细菌种群分布进行分析。本研究通过纯培养方法从蛇足石杉不同组织部位分离出168株内生细菌,分属于3门6科14属,表明蛇足石杉内生细菌具有丰富的物种多样性。其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)为优势菌属,与已报道的白术、石斛、重楼等药用植物内生细菌优势菌群结果相近^[7,27-28]。然而这个结果与孙红敏等^[16]截然不同,虽然其也分离得到这2个菌属的内生细菌,但并不是优势菌属,其分离出的内生细菌大部分属于放线菌门,由于采样地及分离使用的培养基并不相同,本研究的结果与其并不冲突,反而可以互作补充,更好地阐明蛇足

石杉内生细菌的分布情况。芽孢杆菌是一类好氧和兼性厌氧、产生抗逆性内生孢子的革兰氏阳性杆状或球状细菌,其广泛应用于农业、工业、医疗及科学研究等众多方面,可作为生物肥料、生物农药、生物酶制剂等产品创造巨大经济价值^[29]。类似地,类芽孢杆菌也在植物病害防治、环境治理及医药等领域具有巨大应用价值^[30],本研究从蛇足石杉中分离出众多芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属菌株,这两类细菌在后续促生功能检测中也表现出良好性状,说明这些菌株中很可能具有潜在应用功能,值得进一步开展研究。此外,本研究分离到的 *Peribacillus*、*Cytobacillus* 和 *Shouchella* 是近几年新分类的菌属,对其的研究报道较为少见,丰富了植物内生可培养细菌范畴。

另一方面,使用非培养法对蛇足石杉内生细菌群落进行研究的报道也比较少,樊仕鹏^[17]利用高通量测序技术分析千层塔不同组织部位的内生细菌组成及多样性,通过划分 OTU 将其归属到12门25纲83目141科289属,多样性指数表明叶组织中总内生细菌的多样性和丰富度均高于茎,并且均明显高于根。类似地, Pan 等^[18]也运用高通量测序技术研究了3年人工培养的石杉根、茎和叶中内生细菌的组成和多样性,划分 OTU 属于12门和289属,发现根中的细菌丰富度和多样性显著低于叶和茎。本研究通过纯培养法分离得到的内生细菌种群分布状况与上述研究完全不同,不管种类还是数量都呈现出根>茎>叶的状况,符合大部分药用植物组织内生细菌的分布规律,然而只分离出3门6科16属的168株内生细菌,无论是菌株数量还是种类都不如同类研究,这种情形或许是因为在分离过程中所运用的培养基、消毒手段、培养条件、宿主植物的生长阶段及生存环境等因素不同,从而对内生细菌的分离种类和数量造成了不同程度的影响^[31]。

3.2 蛇足石杉内生细菌的促生功能

药用植物内生细菌具有丰富多样的生物学

作用,包括抗肿瘤、抑菌、促生和病虫害防治等众多功能^[7]。有研究表明,在促生方面,内生细菌能促进植物的生长发育,其中一种机制是内生细菌通过生物固氮、产生铁载体、溶磷、合成特异酶或分泌产生植物生长素、细胞分裂素及赤霉素等能促进植物生长的物质,直接促进植物的生长发育^[32]。但目前并无蛇足石杉内生细菌促生功能相关方面的研究报道,因而本研究对分离出的蛇足石杉内生细菌进行了固氮、溶磷、产铁载体及产 IAA 这 4 个方面的促生功能检测。

植物内生固氮菌是一类能够与宿主植物联合固氮并且定殖于植物体内的微生物,它们能够进入宿主植物体内定殖,直接或者间接为植物生长提供所需的氮源^[33]。研究人员针对各类植物中的内生固氮菌及其固氮能力展开研究后发现,许多植物中内生固氮菌的比例较高。刘丽辉等^[34]从景天科多肉药用植物落地生根(*Bryophyllum pinnatum*)中筛选分离到 26 株内生固氮菌,隶属于 4 属的 5 个菌种,具有丰富的遗传多样性和促生特性。而董萌等^[35]从不同生长时期水稻根系中分离出 30 株内生固氮菌,其中 2 株菌对水稻苗期有明显促生作用。本研究初步筛选出 95 株蛇足石杉内生固氮菌,占总内生细菌的 56.55%,其中 2 株 *Neobacillus* 菌株 HsRF12 和 HsSF13、1 株类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)菌株 HsRF70 以及 1 株短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)菌株 HsRF71 表现出较强的固氮能力。虽然本研究通过无氮培养基初筛出较高比例的内生固氮菌,但只能对内生细菌有无固氮能力作初步判断,结果可靠性不强,后续应通过乙炔还原法测定固氮酶活性及固氮酶 *nifH* 基因检测来进一步确认菌株的固氮能力。

磷素是植物生长发育过程中必不可少的重要营养物质,对植物的生长发育和品质提高有重要意义;溶磷微生物可以将土壤中难溶性磷转化成植物能够吸收利用的可溶性磷,因而众多研究者致力于筛选出高效溶磷微生物,并将

其应用于农业生产中^[36]。研究者从大戟属药用植物地锦草(*Euphorbia humifusa*)中分离出 133 株内生细菌,其中 19 株具有溶磷能力^[22]。而本研究初步筛选出 33 株溶无机磷菌和 60 株溶有机磷菌,其中 5 株菌表现出较强的溶磷能力。但通过溶磷圈法只能初步判断菌株是否具有溶磷能力,很容易出现假阴性结果,应通过液体培养法对菌株溶磷能力进一步进行检测和定量^[37],以增加结果的可靠性。

植物内生细菌具有丰富的嗜铁菌资源,其通过分泌铁载体影响环境中的铁、锌等金属离子转化迁移,从而促进寄主植物的铁吸收^[38]。李庆懋等^[38]从 4 种野生稻中分离筛选出 128 株具有产铁载体能力的内生细菌,其中 82 株为高产菌株,并最终筛选出 5 株最优高效菌株能够明显促进水稻铁吸收。本研究从蛇足石杉中分离筛选出 23 株产铁载体菌,其中有 7 株菌的铁载体合成率大于 70%,为高产菌株,值得进一步探究其促进植物铁吸收的作用。此外,铁载体根据化学性质的差异可分为氧肟酸盐、儿茶酚盐和羧酸盐三类,不同菌株分泌的铁载体存在差异,研究清楚其分泌铁载体所属类型以及转运调控机制,有助于将其应用于石油或重金属污染等环境修复领域^[39],本研究分离出的高产菌株可作为研究材料,探究其在环境修复领域的应用,发挥更大作用。

IAA 作为一种植物生长激素,能够对植物细胞分裂及相关基因表达进行调控,进而促进植物生长,在农业生产中被广泛运用,具有重要意义^[40]。许多研究者从根际土壤或植物组织中分离到多种多样的产 IAA 菌株。罗兴等^[41]从传统中草药乌头(*Aconitum carmichaelii* Debeaux)中分离筛选出 24 株产 IAA 内生细菌,其分泌 IAA 的值为 21.39–84.43 mg/L,最终筛选出 3 株对水稻种子萌发和幼苗生长有显著促生作用的菌株,分别为假单胞菌、芽孢杆菌和克雷伯氏菌。而本研究也从传统中草药蛇足石杉中分离出 81 株产 IAA 内生细菌,但其 IAA 产量远低

于同类研究,这可能与蛇足石杉自身生长缓慢,无须太多生长激素促进有关。

总的来看,本研究从蛇足石杉分离出的168株内生细菌中有89株菌同时具有2种或多种促生作用,表现出不错的体外促生性状,说明这些内生细菌可能通过固氮、溶磷、产铁载体及产IAA等多种途径促进宿主植物蛇足石杉的生长发育,具有良好的促生潜力。检测出具有多种促生能力的菌株多数为芽孢杆菌属,其次为类芽孢杆菌属,这2个菌属是许多植物内生菌的优势菌属,并且已有许多研究报道从不同植物分离出的芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属菌株具有优良的促生活性^[42]。另外,研究发现泛菌属(*Pantoea*)、伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)是常见的解磷内生细菌^[43],本研究中分离出的5株泛菌属和1株伯克霍尔德氏菌属菌株表现出不同程度的固氮、溶磷、产铁载体及产IAA等促生活性,经鉴定后这5株泛菌属菌株均为成团泛菌(*Pantoea agglomerans*),相似的是,刘佳等^[44]从水稻中分离出一株成团泛菌HAUM1对其宿主植物具有明显促生作用。从蛇足石杉内生细菌中初步筛选出的这些菌株具有不错的促生潜力,后续可进行接种或盆栽试验,进一步筛选出能够明显促进植物生长的菌株,使其成为微生物菌肥或促生菌株等应用于农业的微生物资源。

3.3 蛇足石杉内生细菌的其他生物学作用

对于蛇足石杉内生细菌抑菌的生物学作用也有研究报道,曾庆桂等^[14]从蛇足石杉叶片中分离得到1株对多种植物病原真菌有强拮抗作用的伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia* sp.) H-6;陈旭玉等^[15]从蛇足石杉植株中分离出36株内生细菌,筛选出2株对香蕉炭疽病菌有抑制作用的菌株并鉴定为*Burkholderia*。这说明蛇足石杉中分离出的*Burkholderia*内生细菌可能能够帮助宿主抵御外源植物病原菌的侵染。本研究也从蛇足石杉茎部分离出1株*Burkholderia*内生细菌

HsSF42,初步检测其具有固氮、溶有机磷和产铁载体等促生能力,但并没有对其进行进一步的生物功能研究,如抑制植物病原菌对峙检测,可检测其是否也具有相似抑菌活性,以及是否具有生防潜力。另外,因内生菌可产生与宿主植物相同或相似的生物活性物质,药用植物内生细菌所产生的活性成分深受研究者的重视,众多研究已从药用植物内生细菌中发现了诸多具有活性作用的新物质,这些物质在医药业、农业等领域展现出了重要的经济价值。虽然目前筛选出的能发酵产生石杉碱甲的蛇足石杉内生菌都是内生真菌,但樊仕鹏^[17]从千层塔中分离出142株内生细菌,并从中筛选到1株能产石杉碱甲前体物质石杉碱乙的内生细菌克吕沃尔氏菌(*Kluyvera* sp.) S1026。那么,本研究分离出的内生细菌是否也能产生与宿主植物蛇足石杉相同或相似的活性物质,这有待于进一步研究。总之,对于蛇足石杉分离内生细菌仍有许多值得我们进一步挖掘研究的地方。

4 结论

本研究从蛇足石杉根、茎、叶3种组织中共分离得到168株内生细菌,在分类学上归属于3门4纲5目6科16属,其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)占55.95%,类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)占19.05%,为优势菌属;不同组织分离出的内生细菌数量与种类均有明显差异,表现为根部>茎部>叶部;从分离得到的内生细菌中初步筛选出具有固氮能力的菌株95株,具有溶磷能力的菌株76株,具有产铁载体能力的菌株23株,具有产IAA能力的菌株81株,同时具有2种或多种促生能力的菌株89株。

作者贡献声明

吴晓东:负责研究背景调研,实验方法设计,具体实验执行,实验数据分析,论文初稿撰写及修改;范存忠:实验数据校对,实验结果可视化;张志斌:参与实验设计及数据处理;

颜日明：参与实验设计及数据处理；朱笃：实验设计指导，实验结果审查；杨慧林：研究构思者和负责人，指导实验设计、数据分析和论文写作，并负责论文修改和定稿。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 杨纯瑜. 中国石松目植物的分类系统[J]. 军事医学科学院院刊, 1990, 14(4): 269-275.
YANG CY. The classification system of *Lycopodiales* from China[J]. Bulletin of the Academy of Military Medical Sciences, 1990, 14(4): 269-275 (in Chinese).
- [2] 吴荭, 庄平, 冯正波, 张超, 靳昌伟. 中国蛇足石杉资源调查与评估[J]. 自然资源学报, 2005, 20(1): 59-67.
WU H, ZHUANG P, FENG ZB, ZHANG C, JIN CW. Resource investigation and assessment of *Huperzia serrata*[J]. Journal of Natural Resources, 2005, 20(1): 59-67 (in Chinese).
- [3] 蔡龚莉, 方帅, 张起辉. 蛇足石杉的药学研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(5): 931-939, 831.
CAI GL, FANG S, ZHANG QH. Review on pharmaceutical study of *Huperzia serrata*[J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(5): 931-939, 831 (in Chinese).
- [4] KIM THU D, VUI DT, NGOC HUYEN NT, DUYEN DK, TUNG BT. The use of *Huperzia* species for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 2019. DOI: 10.1515/jbcpp-2019-0159.
- [5] 马英姿, 刘江海, 张家玲. 林下珍稀药用植物蛇足石杉繁殖的研究进展[J]. 经济林研究, 2016, 34(2): 162-166.
MA YZ, LIU JH, ZHANG JL. Advance in research on propagation of a rare medicinal plant of *Huperzia serrata*[J]. Non-wood Forest Research, 2016, 34(2): 162-166 (in Chinese).
- [6] 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌研究新进展[J]. 植物学报, 2001, 43(9): 881-892.
ZOU WX, TAN RX. Recent advances on endophyte research[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2001, 43(9): 881-892 (in Chinese).
- [7] 吕艳娜, 孙小萌, 赵芮, 李文静, 刘晓晶, 蒲高忠. 药用植物内生细菌多样性及其生物学作用[J]. 中国野生植物资源, 2017, 36(6): 45-49.
LÜ YN, SUN XM, ZHAO R, LI WJ, LIU XJ, PU GZ. Diversity and biological effects of endophytic bacteria in medicinal plants[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2017, 36(6): 45-49 (in Chinese).
- [8] GOLINSKA P, WYPIJ M, AGARKAR G, RATHOD D, DAHM H, RAI M. Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2015, 108(2): 267-289.
- [9] WU W, CHEN WH, LIU SY, WU JJ, ZHU YT, QIN LP, ZHU B. Beneficial relationships between endophytic bacteria and medicinal plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 646146.
- [10] 张晓, 张志斌, 谢晶, 汪涯, 付学琴, 江玉梅, 朱笃. 东乡野生稻内生细菌 Fse32 拮抗作物病害真菌及对水稻的促生活性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4825-4838.
ZHANG X, ZHANG ZB, XIE J, WANG Y, FU XQ, JIANG YM, ZHU D. Antagonism against crop pathogenic fungi and rice growth-promoting potential of endophytic bacteria Fse32 from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.)[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4825-4838 (in Chinese).
- [11] 何勇. 白术内生细菌中促生菌的分离、鉴定及促生作用研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2023.
HE Y. Isolation, identification and growth promoting effect of endophytic bacteria from *Atractylodes macrocephala* Koidz.[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [12] 黄淑芬, 常华瑜, 顾李成, 宋旭, 江宝茹, 谭志远, 彭桂香. 九层塔内生细菌系统发育分析及生物学功能[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(1): 96-105.
HUANG SF, CHANG HY, GU LC, SONG X, JIANG BR, TAN ZY, PENG GX. Diversity of endophyte isolated from *Ocimum basilicum* L. and its biological function[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(1): 96-105 (in Chinese).
- [13] 唐承晨, 张纯, 王吉永, 王莉莉, 胡之璧, 黎万奎. 药用植物蛇足石杉内生菌研究进展[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(7): 13-19.
TANG CC, ZHANG C, WANG JY, WANG LL, HU ZB, LI WK. Research progress on endophytes of medicinal plant *Huperzia serrata*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(7): 13-19 (in Chinese).
- [14] 曾庆桂, 朱笃, 颜日明, 朱飞, 王志兴. 一株拮抗真菌的蛇足石杉内生细菌分离鉴定及培养条件优化[J]. 微生物学通报, 2008, 35(4): 512-518.
ZENG QG, ZHU D, YAN RM, ZHU F, WANG ZX. Isolation and identification of endophytic bacteria H-6 with high antifungal activity from *Huperzia serrata*[J]. Microbiology China, 2008, 35(4): 512-518 (in Chinese).
- [15] 陈旭玉, 甘炳春. 香蕉炭疽病拮抗细菌的分离和初步鉴定[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(5): 48-51.
CHEN XY, GAN BC. Isolation and identification of antagonistic bacteria strain inhibiting against banana anthracnose[J]. Journal of Microbiology, 2010, 30(5): 48-51 (in Chinese).
- [16] 孙红敏, 魏玉珍, 方晓梅, 余利岩, 张玉琴. 蛇足石杉内生细菌多样性[J]. 微生物学报, 2016, 56(4): 614-628.
SUN HM, WEI YZ, FANG XM, YU LY, ZHANG YQ. Diversity of endophytic bacteria isolated from *Huperzia serrata*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(4): 614-628 (in Chinese).
- [17] 樊仕鹏. 千层塔内生菌的多样性分析及产石杉碱乙内生细菌 S1026 的发酵条件优化[D]. 武汉: 中南民族大学, 2021.
FAN SP. Diversity analysis of endophytes of *Huperzia serrata* and optimization of fermentation conditions of endophytic bacterium S1026 producing huperzine B[D]. Wuhan: South-central University for Nationalities, 2021 (in Chinese).

- [18] PAN WJ, MIAO LY, FAN SP, LV PW, LIN AH, GENG H, SONG FJ, ZHANG P. New insights into the composition and diversity of endophytic bacteria in cultivated *Huperzia serrata*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2023, 69(8): 321-327.
- [19] 王卫星, 周晓伦, 李忠玲, 王明鹏, 王卫卫. CAS 平板覆盖法检测氢化细菌铁载体[J]. 微生物学通报, 2014, 41(8): 1692-1697.
WANG WX, ZHOU XL, LI ZL, WANG MP, WANG WW. Detection of siderophore production from hydrogen-oxidizing bacteria with CAS overlay plate method[J]. Microbiology China, 2014, 41(8): 1692-1697 (in Chinese).
- [20] 张志斌, 朱晓滢, 刘婷婷, 张晓, 杨慧林, 颜日明, 朱笃. 高产吡啶乙酸东乡野生稻内生微杆菌 Klspl18 分离及鉴定[J]. 微生物学报, 2022, 62(11): 4108-4121.
ZHANG ZB, ZHU XT, LIU TT, ZHANG X, YANG HL, YAN RM, ZHU D. Isolation and identification of a novel IAA high-producing endophytic strain Klspl18 from *Oryza rufipogon*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(11): 4108-4121 (in Chinese).
- [21] XIE JM, CHEN YR, CAI GJ, CAI RL, HU Z, WANG H. Tree visualization by one table (tvBOT): a web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(W1): W587-W592.
- [22] 高沙尔·卡依尔哈力, 热子亚·麦麦吐逊, 祖丽皮亚·玉努斯. 地锦草内生细菌多样性、拮抗及促生特性测定[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 392-406.
Gaoshar-Kayierhali, Raziye-Memettursun, Zulfiya-Yunus. Endophytic bacteria from *Euphorbia humifusa*: diversity, antagonism and growth-promoting activities[J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 392-406 (in Chinese).
- [23] 韦双, 韩小美, 杨伟, 李万年, 杨梅. 望天树人工林根际溶磷细菌的筛选及溶磷特性[J]. 北京林业大学学报, 2023, 45(3): 79-92.
WEI S, HAN XM, HUANG W, LI WN, YANG M. Screening and characteristics of phosphorus solubilizing bacteria in the rhizosphere of *Parashorea chinensis* plantation[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2023, 45(3): 79-92 (in Chinese).
- [24] 许佳露, 张平, 李美芳, 廖柏寒, 彭佩钦, 李靖, 梅金星. 产铁载体菌株的分离、培养条件优化及初步应用[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1004-1016.
XU JL, ZHANG P, LI MF, LIAO BH, PENG PQ, LI J, MEI JX. Isolation, culture condition optimization, and preliminary application of siderophore-producing strains[J]. Microbiology China, 2022, 49(3): 1004-1016 (in Chinese).
- [25] 周益帆, 王金斌, 何川, 岳童, 白寅霜, 李庆伟, 唐雪明, 杨焱, 蒋玮, 黄艳娜. 一株产吡啶乙酸的 *Bacillus velezensis* JB0319 的筛选、鉴定及其促生作用[J]. 土壤通报, 2024, 55(1): 173-183.
ZHOU YF, WANG JB, HE C, YUE T, BAI YS, LI QW, TANG XM, YANG Y, JIANG W, HUANG YN. Screening, identification and growth promotion of a strain of *Bacillus velezensis* JB0319 producing indoleacetic acid[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(1): 173-183 (in Chinese).
- [26] 罗茗月, 路雪君, 廖晓兰. 植物内生细菌的应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2010(7): 11-12, 16.
LUO MY, LU XJ, LIAO XL. Research advances on application of endophytic bacteria[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2010(7): 11-12, 16 (in Chinese).
- [27] 魏娟, 何冬旭, 李国红, 张梁. 云南重楼内生细菌的分离鉴定及系统发育树分析[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(2): 165-169.
WEI J, HE DX, LI GH, ZHANG L. Isolation and identification of endophytic bacteria in *Paris polyphylla* Smith var. *Yunnanensis* (Franch) and phylogenetic analysis[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2015, 34(2): 165-169 (in Chinese).
- [28] 杨绍周, 吴毅歆, 邵德林, 朱隆华, 何月秋. 鼓槌石斛内生细菌分离、鉴定及功能分析[J]. 中国农学通报, 2014, 30(25): 171-176.
YANG SZ, WU YX, SHAO DL, ZHU LH, HE YQ. Isolation, identification and functional analyses of endophytic bacteria from *Dendrobium chrysotoxum*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(25): 171-176 (in Chinese).
- [29] 徐靖, 牛邦彦, 张亚南, 魏海雷, 张晓霞, 高森. 芽孢杆菌属 *Bacillus* 分类学研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2022(12): 225-237.
XU J, NIU BY, ZHANG YN, WEI HL, ZHANG XX, GAO M. Advances in taxonomy of genus *Bacillus*[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022(12): 225-237 (in Chinese).
- [30] 鲁红学, 周焱. 类芽孢杆菌在植物病害防治和环境治理中的应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(30): 13244-13247.
LU HX, ZHOU Y. Research advances in application of *Paenibacillus* in plant disease control and environment control[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(30): 13244-13247 (in Chinese).
- [31] 黄丽丽, 乔宏萍, 康振生. 植物内生细菌及其在农业方面的应用研究[J]. 临沂师范学院学报, 2006, 28(6): 63-68.
HUANG LL, QIAO HP, KANG ZS. Endophytic bacteria of plant and their application in agriculture[J]. Journal of Linyi University, 2006, 28(6): 63-68 (in Chinese).
- [32] 卢镇岳, 杨新芳, 冯永君. 植物内生细菌的分离、分类、定殖与应用[J]. 生命科学, 2006, 18(1): 90-94.
LU ZY, YANG XF, FENG YJ. Endophytic bacteria: separation, classification, colonization and application[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2006, 18(1): 90-94 (in Chinese).
- [33] 王玉虎, 赵明敏, 郑红丽. 植物内生固氮菌及其固氮机理研究进展[J]. 生物技术进展, 2022, 12(1): 17-26.
WANG YH, ZHAO MM, ZHENG HL. Research progress on plant endophytic nitrogen-fixing bacteria and their nitrogen fixation mechanism[J]. Current Biotechnology, 2022, 12(1): 17-26 (in Chinese).
- [34] 刘丽辉, 彭桂香, 黄淑芬, 王祖城, 庭友卫, 谭志远. 落地生根内生固氮菌多样性和促生特性[J]. 微生物学通报, 2019, 46(10): 2538-2547.
LIU LH, PENG GX, HUANG SF, WANG ZC, TING YW, TAN ZY. Diversity and growth promotion of endophytic diazotrophic bacteria isolated from *Bryophyllum pinnatum*[J]. Microbiology China, 2019, 46(10): 2538-2547 (in Chinese).
- [35] 董萌, 施龙清, 解振兴, 连玲, 吴春珠, 张居念, 张数标, 姜照伟. 水稻根系内生固氮菌的分离鉴定及其促生作用研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2023, 51(1): 31-39.

- DONG M, SHI LQ, XIE ZX, LIAN L, WU CZ, ZHANG JN, ZHANG SB, JIANG ZW. Isolation, identification and growth promotion of endophytic nitrogen fixing bacteria from rice roots[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2023, 51(1): 31-39 (in Chinese).
- [36] 吕俊, 王晓娅. 溶磷微生物及其对植物促生作用的研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2023(1): 231-239.
LÜ J, WANG XY. Research progress on phosphorus-solubilizing microorganisms and their effects on plant growth[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2023(1): 231-239 (in Chinese).
- [37] 薛应钰, 叶巍, 杨树, 李培, 徐秉良. 一株溶磷菌的分离鉴定及溶磷促生作用[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(4): 253-262.
XUE YY, YE W, YANG S, LI P, XU BL. Isolation and identification of P-dissolving fungi strain and its effects on phosphate-solubilizing and plant growth promotion[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2019, 37(4): 253-262 (in Chinese).
- [38] 李庆懋, 彭聪归, 齐笑含, 刘兴蕾, 李臻园, 李沁妍, 黄立钰. 促进水稻铁素吸收的野生稻内生细菌优良菌株的筛选与鉴定[J]. 生物技术通报, 2024, 40(8): 255-263.
LI QM, PENG CG, QI XH, LIU XL, LI ZY, LI QY, HUANG LY. Screening and identification of excellent strains of endophytic bacteria promoting rice iron absorption from wild rice[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(8): 255-263 (in Chinese).
- [39] 董子阳, 胡佳杰, 胡宝兰. 微生物铁载体转运调控机制及其在环境污染修复中的应用[J]. 生物工程学报, 2019, 35(11): 2189-2200.
DONG ZY, HU JJ, HU BL. Regulation of microbial siderophore transport and its application in environmental remediation[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019, 35(11): 2189-2200 (in Chinese).
- [40] 黄妍, 吴迪. 微生物合成吲哚乙酸及其对植物作用的研究进展[J]. 浙江农业科学, 2024, 65(11): 2659-2664.
HUANG Y, WU D. Research progress on microbial synthesis of indole-3-acetic acid and its effects on plants[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(11): 2659-2664 (in Chinese).
- [41] 罗兴, 邹兰, 吴清山, 张要朋, 巫荣星, 王茜, 熊伟, 戴维, 叶坤浩, 黄晶. 乌头产吲哚乙酸内生细菌遗传多样性、抗逆性及其对水稻幼苗生长的影响[J]. 微生物学报, 2022, 62(4): 1485-1500.
LUO X, ZOU L, WU QS, ZHANG YP, WU RX, WANG Q, XIONG W, DAI W, YE KH, HUANG J. Genetic diversity, stress resistance, and effect on rice seedling growth of indoleacetic acid-producing endophytic bacteria isolated from *Aconitum carmichaelii* Debeaux[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(4): 1485-1500 (in Chinese).
- [42] 喻江, 于镇华, 刘晓冰, 王光华. 植物根组织内生细菌多样性及其促生作用[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13): 169-175.
YU J, YU ZH, LIU XB, WANG GH. Diversity and growth promoting effects of endophytic bacteria in plant roots[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(13): 169-175 (in Chinese).
- [43] PUENTE ME, LI CY, BASHAN Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of *Cactus seedlings*[J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(3): 402-408.
- [44] 刘佳, 林会, 赵斌. 内生成团泛菌 HAUM1 对宿主水稻的定殖及促生作用[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(23): 4820-4824.
LIU J, LIN H, ZHAO B. Colonization and growth-promoting properties of endophytic bacteria *Pantoea agglomerans* strain HAUM1 to host rice[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(23): 4820-4824 (in Chinese).