

研究报告

新疆鼠尾草内生细菌多样性及功能菌株筛选

张晓烨^{1,2}, 崔磊^{2,4}, 周德龙^{1,2}, 连海婷^{2,3}, 孙燕飞^{*1}, 李丽^{*2,3}

1 石河子大学 生命科学学院 新疆植物药资源利用教育部重点实验室 绿洲城镇与山盆系统生态兵团重点实验室, 新疆 石河子 832003

2 中国科学院新疆生态与地理研究所 新疆干旱区生物多样性保育与应用重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011

3 中国科学院新疆生态与地理研究所 干旱区生态安全与可持续发展重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011

4 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003

张晓烨, 崔磊, 周德龙, 连海婷, 孙燕飞, 李丽. 新疆鼠尾草内生细菌多样性及功能菌株筛选[J]. 微生物学通报, 2025, 52(5): 2123-2139.

ZHANG Xiaoye, CUI Lei, ZHOU Delong, LIAN Haiting, SUN Yanfei, LI Li. Diversity and functional strain screening of endophytic bacteria isolated from the medicinal plant *Salvia deserta* Schangin[J]. Microbiology China, 2025, 52(5): 2123-2139.

摘要:【背景】植物内生细菌与宿主植物长期共同进化的过程中, 能够与宿主植物形成互利共生的关系。植物生长环境的改变会影响植物内生细菌的种类、数量及分布, 而内生细菌具有增强植物抗病性、促进植物生长等作用。新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schangin)是一种具有多种药理活性的植物, 而有关新疆鼠尾草的内生细菌研究较少, 具有潜在的研究价值。【目的】探究新疆鼠尾草内生细菌的多样性并挖掘药用植物内生细菌资源。【方法】通过纯培养分离方法对3个地区药用植物新疆鼠尾草组织进行内生细菌的分离纯化, 基于16S rRNA基因序列分析探究3个地区新疆鼠尾草内生细菌的多样性; 对分离获得的部分菌株进行产酶、促生属性和拮抗能力的筛选。【结果】从新疆3个地区新疆鼠尾草中共分离获得386株内生细菌, 经鉴定隶属于3个门4个纲6个目14个科23个属70个种, 主要优势属为短小杆菌属(*Curtobacterium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和肠杆菌属(*Enterobacter*); 相对低海拔低降水量的新源地区新疆鼠尾草内生细菌物种多样性较昭苏和霍城地区更高; 新疆鼠尾草经80℃、1h处理后分离得到的放线菌门(*Actinomycetota*)高于常温处理, 并且属水平上的多样性有所提高; 共鉴定出68株菌具有溶磷能力, 80株菌具有固氮能力, 35株菌具有产铁载体能力, 47株菌可以产生蛋白酶, 57株菌可以产生纤维素酶; 拮抗试验表明有48株菌对苹果树腐烂病病原菌黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)有抑制效果, 有37株菌对番茄枯萎病病原菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)有抑制效果, 有20株菌对哈密瓜根腐病病原菌少根根霉(*Rhizopus arrhizus*)

资助项目: 第三次新疆综合科学考察项目(2022xjkk020605)

This work was supported by the Third Xinjiang Comprehensive Scientific Expedition (2022xjkk020605).

*Corresponding authors. E-mail: SUN Yanfei, 81711308@qq.com; LI Li, lili.bobo@outlook.com

Received: 2024-08-23; Accepted: 2024-12-02; Published online: 2024-12-20

有抑制效果。【结论】新疆鼠尾草内生细菌具有丰富的物种多样性,不同生境的新疆鼠尾草内生细菌丰度存在差异。部分新疆鼠尾草内生细菌在促生及抗真菌活性方面具有一定潜力。

关键词: 新疆鼠尾草; 内生细菌; 多样性; 促生功能; 抑真菌活性

Diversity and functional strain screening of endophytic bacteria isolated from the medicinal plant *Salvia deserta* Schangin

ZHANG Xiaoye^{1,2}, CUI Lei^{2,4}, ZHOU Delong^{1,2}, LIAN Haiting^{2,3}, SUN Yanfei^{*1}, LI Li^{*2,3}

1 Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resource and Utilization, Ministry of Education, Key Laboratory of Oasis Town and Mountain-basin System Ecology of Xinjiang Production and Construction Corps, College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang, China

2 Xinjiang Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Application in Arid Lands, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, Xinjiang, China

3 State Key Laboratory of Ecological Security and Sustainable Development in Arid Lands, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, Xinjiang, China

4 College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong, China

Abstract: [Background] Endophytic bacteria form a mutually beneficial symbiotic relationship with the host plant in the process of long-term co-evolution. The growth environment of plants will affect the species, number, and distribution of endophytic bacteria. Endophytic bacteria have the effects of enhancing plant resistance to diseases and promoting plant growth. *Salvia deserta* Schangin is a plant with a variety of pharmacological activities. However, there are few studies on the endophytic bacteria of *S. deserta* Schangin, which have a potential research value. [Objective] To explore the diversity of endophytic bacteria in *S. deserta* Schangin and explore the endophytic bacterial resources of medicinal plants. [Methods] The culture-dependent method was used to isolate endophytic bacteria of *S. deserta* Schangin growing in three regions. The diversity of endophytic bacteria was explored by 16S rRNA gene sequence analysis. Some of the isolated strains were characterized in terms of enzyme production, growth-promoting properties, and antifungal effect. [Results] A collection of 386 strains of endophytic bacteria were isolated from *S. deserta* Schangin, and they were identified as 70 species belonging to 23 genera, 14 families, 6 orders, 4 classes of 3 phyla. The dominant genera were *Curtobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, and *Enterobacter*. The diversity of endophytic bacteria of *S. deserta* Schangin in Xinyuan with lower altitude and precipitation was higher than that in Zhaosu and Huocheng. The *Actinomycetota* strains isolated from *S. deserta* Schangin samples treated at 80 °C for 1 h were more than those from the samples treated at room temperature, and the diversity of *S. deserta* Schangin at the genus level was significantly improved after the high temperature treatment of the plant samples. A total of 68, 80, 35, 47, and 57 strains were able to solubilize potassium, fix nitrogen, produce siderophores, produce protease, and produce cellulase, respectively. In addition, 48, 20, and 37 strains showed inhibitory effects on *Valsa mali*, *Rhizopus arrhizus*, and *Fusarium oxysporum*, respectively. [Conclusion] *S. deserta* Schangin harbors rich endophytic bacteria. The abundance of endophytic bacteria is different among hosts

in different habitats. Some endophytic bacteria have the potential of promoting plant growth and antifungal effect.

Keywords: *Salvia deserta* Schangin; endophytic bacteria; diversity; growth promotion; antifungal effect

药用植物内生细菌与寄主之间具有复杂且特殊的共生关系；药用植物广泛受益于内生细菌，而宿主植物为内生细菌提供稳定的生长环境^[1]。内生细菌能够促进寄主植物的生长，增强其对各种病原体和环境胁迫的抵抗能力；还可以调节具有重要药用价值的次级代谢产物的合成，产生各种生物学效应^[2]。近年来，越来越多具有良好抗菌和促生效果的内生细菌从药用植物中分离筛选得到。部分植物内生细菌可以通过固氮、溶磷、解钾、产生吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)、铁载体、氢氰酸(hydrogen cyanide, HCN)和氨对不同植物产生促生作用，这些性质被称为生长促进特性(plant growth promoting, PGP)^[3]。PGP 内生细菌可以通过对植株根形态的改变、渗透调节、磷酸盐铁载体产生的改善、溶解活性增强及气孔调节等^[4]对植物生长参数及化合物含量等生理参数产生积极影响，可作为提高农业可持续性的生物接种剂^[5]。基于以上的调节改善，这些促进植物生长的内生细菌还用于森林再生和受污染的土壤进行植物修复^[6]。作物病虫害是农业经济损失的最重要原因之一，药用植物内生细菌可以通过诱导植物产生抗性、与病原体争夺生态位、产生生物活性化合物以及重寄生作用等方式保护药用植物免受病原体的侵害^[7]。部分内生细菌还通过产生水解酶抑制病原体细胞壁的生长，如几丁质酶、半纤维素酶、纤维素酶和葡聚糖酶^[8]。另外，这些酶还可以降解有机质，促使根际土壤养分循环，同样达到促进植物生长的目的^[9]。因此，寻找一种新型的 PGP 内生细菌作为具有多种性状的生物接种剂在改善植物生长、生物防治及土壤修复的发展中具有重要意义。

新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schangin)是唇形科鼠尾草属多年生草本植物，又被称为新疆丹参^[10]。广泛分布于我国新疆北部海拔 270–1 850 m 的田野荒地、沟边、草地及林下^[11]。民间以全草入药主要用于清热解毒、止咳祛痰、消肿利尿^[12]。鼠尾草的药用特性源于它们能够产生多种具有生物活性的次级代谢产物的能力，其中许多在农业以及医疗方面的应用已被报道，如抗菌、杀虫、抗生素、抗肿瘤、抗病毒和抗氧化作用等，甚至还存在与其他植物的化感作用^[13]。由此可见，新疆鼠尾草具有较高的药用价值，但过度开采利用新疆鼠尾草药用植物资源存在破坏生态环境的风险。因此，开发与利用新疆鼠尾草内生细菌不仅具有重要的科学价值，还具有促进环境可持续性的潜力。综上所述，通过分析新疆鼠尾草内生细菌的多样性，以了解植物生境对新疆鼠尾草内生细菌的影响。通过对新疆鼠尾草内生细菌的研究，找到新的 PGP 或抗菌活性良好的菌株不仅为人类生产生活提供便利，还在一定程度上缓解生态压力。另外，有关新疆鼠尾草内生细菌多样性、内生细菌的抗逆、促生等功能的研究鲜有报道。本文首次通过比较 3 个地区内生菌多样性差异，探究植物生境对新疆鼠尾草内生细菌的影响。

本研究主要以 3 个地区的新疆鼠尾草为研究对象，分离纯化内生细菌，并通过 16S rRNA 基因序列进行系统分类学鉴定，分析了新疆鼠尾草内生细菌的多样性，旨在为后续植物内生菌的微生物资源开发与利用奠定基础；同时筛选出一批具有促生和抗菌能力的功能菌株，以期药用植物的综合利用与开发及工农业生产提供一定的技术支持和科学指导。

1 材料与方法

1.1 样品

新疆鼠尾草(*Salvia deserta* Schangin)植物样品于2022年6月采于新疆维吾尔自治区伊犁哈萨克自治州新源县、昭苏县和霍城县3个地区。3个采样点的地理数据和2022年前两季度的气象数据如表1所示。新源、霍城和昭苏分别位于伊犁河谷地区的东部、西北部和西南部。昭苏采样点海拔、降水量最高,新源采样点平均气温、最高气温最高,霍城采样点的最低气温相对较低。

哈密瓜根腐病病原菌少根根霉(*Rhizopus arrhizus*)、番茄枯萎病菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和苹果树腐烂病菌黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)由中国科学院新疆生态与地理研究所微生物实验室保存并提供。病原菌活化接种于PDA培养基上,28℃培养7d,待菌丝长满平板后转放至4℃保存备用。

1.2 培养基

纯化培养基为R2A培养基(g/L):酵母浸粉0.50,蛋白胨0.50,酪蛋白水解物0.50,葡萄糖0.50,可溶性淀粉0.50, K_2HPO_4 0.30, $MgSO_4$ 0.024, 丙酮酸钠0.30, 琼脂20.00。

筛选抗菌培养基为马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基(g/L):马铃薯(去皮)200.00,葡萄糖20.00,琼脂20.00。

分离培养基: M1 自制培养基:鼠尾草汁液(4 g 鼠尾草样品与1 000 mL 蒸馏水混合后,

121℃蒸煮20 min,并去除植物残渣),琼脂20 g。M2 Kusters 培养基(g/L):甘油10 mL,酪蛋白0.30, KNO_3 2.00, K_2HPO_4 2.00, 可溶性淀粉0.50, 天冬酰胺0.10, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, $CaCO_3$ 0.02, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, 琼脂20.00。M3 纤维素-脯氨酸培养基(g/L):纤维素微晶2.50, 丙酮酸钠2.00, 脯氨酸1.00, KNO_3 0.25, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.20, K_2HPO_4 0.20, $CaCl_2$ 0.50, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, 琼脂20.00。M4 酵母提取物培养基(g/L):酵母提取物0.25, K_2HPO_4 0.50, 琼脂20.00。M5 大豆酪蛋白琼脂培养基(g/L):色氨酸15.00, 大豆蛋白胨5.00, NaCl 5.00, 琼脂20.00。M6 放线菌分离琼脂培养基(g/L):酪蛋白酸钠2.000, 天冬酰胺0.100, 丙酸钠4.000, K_2HPO_4 0.500, $MgSO_4$ 0.100, $FeSO_4$ 0.001, 琼脂20.000, pH 8.1±0.2。M7 高氏一号培养基(g/L):可溶性淀粉20.00, KNO_3 1.00, K_2HPO_4 0.50, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.50, NaCl 0.50, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01, 琼脂20.00。M8 柠檬酸琼脂培养基(g/L):柠檬酸0.12, 柠檬酸铁铵0.12, $NaNO_3$ 1.50, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.40, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.10, $CaCl_2 \cdot H_2O$ 0.05, EDTA 0.02, Na_2CO_3 0.20, 琼脂20.00。M9 R2A 培养基(g/L):酵母浸粉0.50,蛋白胨0.50,酪蛋白水解物0.50,葡萄糖0.50,可溶性淀粉0.50, K_2HPO_4 0.30, $MgSO_4$ 0.024, 丙酮酸钠0.30, 琼脂20.00。M10 2216E 培养基(g/L):蛋白胨5.00,酵母粉1.00,柠檬酸铁0.10, NaCl 19.45, $MgCl_2$ 5.98, Na_2SO_4 3.24, $CaCl_2$ 21.80, KCl 0.55, $NaCO_3$ 0.16, KBr 0.08,

表1 样品编号及各采样点经纬气象信息

Table 1 Sample numbers and meteorological information of latitude and longitude of each sampling point

样品编号 Sampling code	采样地 Sampling site	经纬度 Latitude and longitude	海拔 Altitude (m)	平均气温 T_m (°C)	最高气温 T_{max} (°C)	最低气温 T_{min} (°C)	降水量 Precipitation (mm/d)
SWCXY	Xinyuan County, Yili, Xinjiang, China	43°25'41"N, 82°57'44"E	852.00	6.27	30.75	-22.52	43.88
SWCHC	Huocheng County, Yili, Xinjiang, China	44°26'31"N, 80°48'2"E	1 415.00	5.50	29.70	-24.50	60.91
SWCZS	Zhaosu County, Yili, Xinjiang, China	43°2'17"N, 80°58'49"E	1 722.00	1.50	24.65	-22.71	89.55

SrCl_2 0.034, H_3BO_3 0.022, $\text{Na}_2\text{O} \cdot n\text{SiO}_2$ 0.004, NaF 0.002 4, MH_4NO_3 0.001 6, Na_2HPO_4 0.008, 琼脂 15.00, pH 7.6 $\pm$ 0.2。

功能筛选培养基:

(1) 无机磷培养基(g/L): 葡萄糖 10.00, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.00, 酵母浸粉 0.50, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.50, NaCl 0.20, KCl 0.20, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.01, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.10, 琼脂 20.00, pH 7.0–7.2, 115 °C 灭菌 30 min。

(2) 无氮培养基(g/L): 甘露醇 10.00, CaCO_3 5.00, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.20, NaCl 0.20, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.20, KH_2PO_4 0.20, 琼脂 20.00, 121 °C 灭菌 15 min。

(3) 阿须贝氏培养基(g/L): 甘露醇 10.00, CaCO_3 5.00, NaCl 0.20, MgSO_4 0.20, KH_2PO_4 0.20, CaSO_4 0.10, 琼脂 20.00, 121 °C 灭菌 15 min。

(4) 铬天青(chrome azurol sulphonate, CAS)培养基: 用 10 mmol/L HCl 配制 10 mL 1 mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液后, 与 50 mL 1.21 mg/mL CAS 水溶液混合, 最后与 40 mL 1.82 mg/mL 十六烷基三甲基氯化铵(hexadecyltrimethylammonium chloride, HDTMA)水溶液缓慢混合, 得溶液 a。称取 K_2HPO_4 0.30 g, NaCl 0.50 g 和 NH_4Cl 1.00 g 配制 750 mL 盐溶液后加入哌嗪-1,4-二乙磺酸[piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid), PIPES] 30.40 g, 待其溶解后将 pH 值调至 6.8 并定容至 800 mL, 得溶液 b。称取葡萄糖 2.00 g, H_3BO_3 1.40 mg, 甘露醇 2.00 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.17 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 493.00 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.04 mg, CaCl_2 11.00 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.20 mg, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.00 mg 配制 70 mL 盐溶液, 得溶液 c。将 a、b、c 这 3 种溶液混合后加入琼脂 20.00 g, 121 °C 灭菌 20 min。待混合液冷却至 50 °C 后向其中加入 30 mL 过滤灭菌的 10% 的酪蛋白氨基酸, 充分混匀, 即得 CAS 检测培养基。

(5) 产纤维素酶培养基(g/L): 羧甲基纤维素钠(carboxymethyl cellulose Na, CMA-Na) 20.00, 蛋白胨 2.50, Na_2HPO_4 2.50, KH_2PO_4 1.40, 琼

脂 20.00, pH 7.0–7.5, 121 °C 灭菌 15 min。

(6) 牛奶培养基: K_2HPO_4 0.40 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.20 g, 甘露醇 10.00 g, 酵母浸粉 3.00 g, 琼脂 15.00 g 配制 500 mL 溶液, 121 °C 灭菌 15 min 得溶液 I。称取 5% 脱脂奶粉 50.00 g 配制 500 mL 溶液, 110 °C 灭菌 15 min, 冷却至 40–50 °C 得溶液 II, 将溶液 I 和溶液 II 混匀得牛奶培养基。

1.3 主要试剂和仪器

PBS 缓冲液(g/L): NaCl 8.00, KCl 0.20, Na_2HPO_4 1.44, KH_2PO_4 0.24。

实验所需的仪器主要包括: 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 洁净工作台, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 立式压力蒸汽灭菌器, 上海普和希健康医疗器械有限公司; Chelex-100 树脂、PCR 仪、电泳仪, Bio-Rad 公司; 破碎机, 九阳股份有限公司; 旋涡振荡器, IKA 仪器设备有限公司。

1.4 植物样品的处理

将单株新疆鼠尾草植物样品去除枯萎组织并用清水洗去表面泥沙后, 将其分为 9–10 cm 小段, 再使用超声波清洗仪清洗直至水体澄清。于超净工作台内用 5% NaClO 消毒 3–5 min, 无菌水清洗 3 次, 随后使用 75% 乙醇消毒 5 min, 再用无菌水清洗 3 次。取最后一次清洗的无菌水 100 μL 涂布于 R2A 培养基上, 培养 2 d 后观察菌落生长情况, 以验证表面消毒是否彻底。将消毒好的植株小段用无菌剪刀剪去两头约 1 cm, 放置于带滤纸的无菌培养皿中自然晾干。晾干的植物小段于无菌离心管中 4 °C 保存。取灭菌完全的植株小段, 利用无菌破碎机粉碎为粉末后, 密封于无菌离心管中多份, 置于 -20 °C 保存备用。

1.5 鼠尾草内生细菌的分离纯化与菌种保藏

样品处理采用 2 种处理方法。处理一: 无菌条件下称取 2 g 植物样品加入灭菌研钵; 处理二: 无菌条件下称取 2 g 植物样品装入灭菌的

离心管中,放入烘箱 80 °C 处理 1 h 后加入灭菌研钵。2 种处理方式均向研钵中加入 18 mL 无菌 PBS 缓冲液进行充分研磨后静置取上清备用。

新疆鼠尾草内生细菌的分离:吸取 1 mL 处理一所得到的 PBS 缓冲溶液混合物与 9 mL 无菌水混合,梯度稀释至 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 共 3 个梯度悬浮液;吸取 1 mL 处理二所得到的 PBS 缓冲溶液混合物与 9 mL 无菌水混合,梯度稀释至 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 共 3 个梯度悬浮液。分别吸取各浓度梯度的菌悬液 80 μ L,于 10 种分离培养基上利用无菌涂布棒将菌悬液均匀涂布,置于 28 °C 恒温培养箱培养。每天观察并选取形态不同的单菌落,采用分区划线法纯化所分离出的细菌直至出现单菌落。新疆鼠尾草内生细菌的菌株保存:用无菌竹签挑取已纯化的内生细菌于 20% 的无菌甘油管保藏,保存在 -80 °C 备用。

1.6 鼠尾草内生细菌的鉴定

Chelex-100 法提取内生细菌基因组 DNA。挑取待测单菌落于 50 μ L 5%–10% Chelex-100 溶液中使用涡旋振荡器混匀,之后于 99 °C 裂解 10 min,使菌体细胞裂解释放 DNA,待其冷却至室温后利用迷你离心机低速离心 2 min,得到的上清液为 DNA 模板。获得 DNA 模板后立即进行 PCR 扩增 16S rRNA 基因。所用引物为细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTG ATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GCTTACCT TGTTACGACTT-3')。PCR 反应体系(25 μ L): DNA 模板 2 μ L, 2 $\times$ EasyTaq PCR SuperMix 12.5 μ L, 引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, ddH₂O 补足 25 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 56 °C 1 min, 72 °C 1 min, 36 个循环; 72 °C 10 min。使用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,当 DNA 长度约为 1 500 bp 则 PCR 产物合格。将 PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序并做拼接处理,将得到 16S rRNA 基因序列,与 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库进行比对,确定其分类地位。

1.7 鼠尾草促生功能内生细菌的筛选

溶磷作用、固氮作用和产铁载体能力菌株筛选办法参考 Liu 等^[14]的方法。溶磷作用菌株的筛选:将待测菌株接种于无机磷培养基上,28 °C 培养 3–5 d 观察菌株生长情况,若出现透明圈,则说明该菌株具有溶磷能力。固氮作用菌株的筛选:将待测菌株接种在无氮培养基和阿须贝氏培养基,28 °C 培养 3–5 d 观察其生长情况,若同时在 2 种培养基上生长,则说明该菌株具有固氮能力。产铁载体菌株的筛选:将菌株接种于 CAS 培养基,28 °C 培养 3–5 d 观察菌株生长情况,若出现橙色铁载体分泌圈,则说明该菌株具有产生铁载体能力。产纤维素酶菌株及产蛋白酶菌株的筛选参考 Li 等^[15]的方法。产纤维素酶菌株的筛选:将待测菌株接种于产纤维素酶培养基上,28 °C 培养 7 d 后,使用 5% 刚果红水溶液浸泡,若出现透明圈,则说明该菌株具有产纤维素酶能力。产蛋白酶菌株的筛选:将待测菌株接种于牛奶培养基上,28 °C 培养 7 d,若出现透明圈,则说明该菌株具有产蛋白酶能力。测量菌落半径和水解圈半径,计算产酶能力的大小:产酶能力=透明圈直径/菌株直径,测试实验重复 3 次,最终取平均值作为产酶能力强弱的指标。

1.8 鼠尾草内生细菌抗植物病原真菌活性

采用平板对峙培养法。利用打孔器取新鲜病原菌菌饼接种于 PDA 平板中央,用接种针挑取鼠尾草内生细菌点接在距平板中央 2.5 cm 处的 4 个角点上,于 28 °C 培养 7 d。可根据病原菌生长直径大小判断受试菌株对病原菌的抑制能力。

2 结果与分析

2.1 植物样品表面消毒效果检测

观察验证平板中无菌落长出,表明植物表面消毒彻底,后续实验所分离的细菌均来自植物组织内部,即均为新疆鼠尾草内生细菌。

2.2 新疆鼠尾草内生细菌分类鉴定及多样性结果分析

本研究从 3 个地区新疆鼠尾草中共分离获得 386 株细菌,经 16S rRNA 基因鉴定,分属于 3 个门 4 个纲 6 个目 14 个科 23 个属 70 个种(表 2)。基于 16S rRNA 基因的代表性序列构建系统发育树(图 1)。由图 2A 可以看出 386 株细菌主要分布在假单胞菌门(*Pseudomonadota*),占分离总菌株数的 41.97%;其次为放线菌门(*Actinomycetota*)和芽孢杆菌门(*Bacillota*)分别占 37.82%和 20.21%。由图 2B 所示,3 个地区新疆鼠尾草内生细菌优势属为短小杆菌属(*Curtobacterium*),占分离总菌株数的 23.58%;其次为假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属

(*Bacillus*)和肠杆菌属(*Enterobacter*),分别占 19.43%、15.80%和 13.47%。此外,还分离得到一些稀有属:类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、鸟氨酸微菌属(*Ornithinimicrobium*)、奥卡河小杆菌属(*Okibacterium*)、赖氨酸单胞菌属(*Lysinimonas*)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*)等在内的 9 个属,共占分离总菌株数的 4.16%。

从霍城地区分离得到新疆鼠尾草内生细菌 77 株,分属于 2 个门 3 个纲 4 个目 7 个科 9 个属。从昭苏地区分离得到新疆鼠尾草内生细菌 83 株,分属于 3 个门 3 个纲 5 个目 9 个科 12 个属。从新源地区分离得到新疆鼠尾草内生细菌 226 株,分属于 3 个门 3 个纲 4 个目 8 个科 15 个属。图 3A 从属水平分别展示了 3 个地区新疆鼠尾草内生

表 2 三个地区新疆鼠尾草内生细菌分类鉴定结果

Table 2 Classification and identification of endophytic bacteria in *Salvia deserta* Schangin in three regions

门	纲	目	科	属	种	菌株
Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Strain
<i>Actinomycetota</i>	<i>Actinomycetota</i>	<i>Micrococcales</i>	<i>Microbacteriaceae</i>	<i>Curtobacterium</i>	3	91
				<i>Frigoribacterium</i>	2	9
				<i>Labeledella</i>	4	8
				<i>Lysinimonas</i>	1	1
				<i>Microbacterium</i>	7	23
				<i>Okibacterium</i>	1	1
				<i>Plantibacter</i>	1	5
				<i>Micrococcaceae</i>	1	2
				<i>Paenarthrobacter</i>	1	5
				<i>Ornithinimicrobiaceae</i>	1	1
<i>Bacillota</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	7	61
				<i>Priestia</i>	2	5
				<i>Exiguobacterium</i>	2	8
			<i>Bacillales</i>	<i>Paenibacillus</i>	1	1
			<i>Paenibacillaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	2	3
			<i>Lactobacillales</i>	<i>Enterococcaceae</i>	2	3
<i>Pseudomonadota</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Hyphomicrobiales</i>	<i>Brucellaceae</i>	<i>Brucella</i>	1	1
			<i>Phyllobacteriaceae</i>	<i>Phyllobacterium</i>	2	2
			<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>	6	52
			<i>Erwiniaceae</i>	<i>Erwinia</i>	2	13
			<i>Pantoea</i>	<i>Pantoea</i>	3	10
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Hafniaceae</i>	<i>Hafnia</i>	2	4
			<i>Yersiniaceae</i>	<i>Rahnella</i>	2	5
			<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	16	75



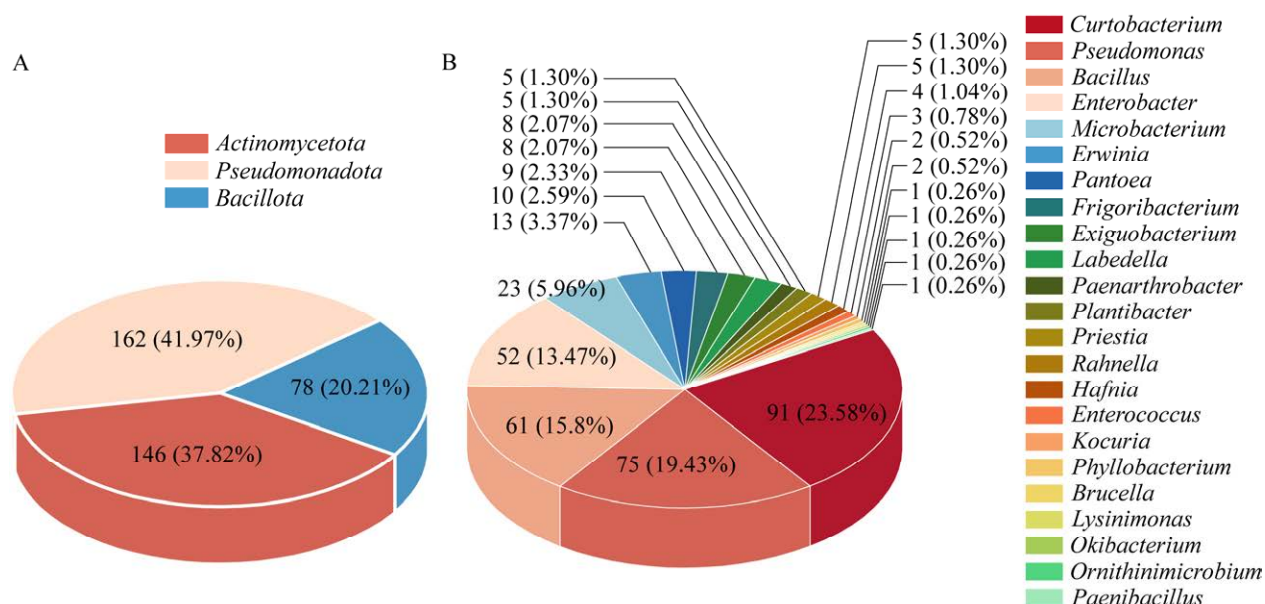


图 2 三个地区新疆鼠尾草内生细菌门水平分布图(A)和属水平分布图(B)

Figure 2 Phylum distribution (A) and genus distribution (B) of endophytic bacteria in *Salvia deserta* Schangin in three regions.

细菌的优势菌。霍城地区新疆鼠尾草优势属为 *Pseudomonas*, 占 42.86%, 其次为 *Bacillus* 占 32.47%; 昭苏地区新疆鼠尾草的优势属为 *Pseudomonas*, 占 36.14%, 其次为 *Enterobacter*, 占 19.28%; 新源地区新疆鼠尾草优势属为 *Curtobacterium*, 占 37.17%, 其次为 *Enterobacter* 和 *Bacillus*, 分别占 15.93% 和 13.72%。根据新疆鼠尾草内生细菌属水平多样性分析, 按 3 个地区分组绘制韦恩图(图 3B)。3 个地区新疆鼠尾草内生细菌存在 *Bacillus*、*Pseudomonas*、欧文氏菌属(*Erwinia*)和普里斯特氏菌属(*Priestia*) 4 个共有属; 霍城地区新疆鼠尾草内生细菌存在布鲁氏菌属(*Brucella*)、*Phyllobacterium* 和微小杆菌属(*Exiguobacterium*) 3 个特有属; 昭苏地区新疆鼠尾草内生细菌存在 *Paenibacillus*、肠球菌属(*Enterococcus*)和考克氏菌属(*Kocuria*) 3 个特有属; 新源地区新疆鼠尾草内生细菌有寒冷小杆菌属(*Frigoribacterium*)、哈夫尼菌属(*Hafnia*)、纳比德氏菌属(*Labeledella*)、类节杆菌属(*Paenarthrobacter*)等 8 个特有属。

根据表 3 合计可知, 从新疆鼠尾草样品中

共获得 386 株内生细菌, 其总体优势度指数为 0.141 9, 香农指数为 2.316 0, 均匀度指数为 0.440 8, 丰富度指数为 3.694 0, 辛普森指数为 0.858 1。新源地区分离得到新疆鼠尾草优势度指数为 0.195 8, 香农指数为 2.031 0, 均匀度指数为 0.508 3, 丰富度指数为 2.583 0, 辛普森指数为 0.804 2; 昭苏地区分离得到新疆鼠尾草优势度指数为 0.189 2, 香农指数为 2.007 0, 均匀度指数为 0.619 9, 丰富度指数为 2.489 0, 辛普森指数为 0.810 8; 霍城地区分离得到新疆鼠尾草优势度指数为 0.287 4, 香农指数为 1.565 0, 均匀度指数为 0.531 2, 丰富度指数为 1.842 0, 辛普森指数为 0.712 6。

优势度指数反映群落中优势种的相对丰富度, 优势度指数越高, 说明群落中某些物种占主导地位, 3 个地区中霍城地区的新疆鼠尾草内生细菌优势度要高于昭苏和新源地区。均匀度指数反应物种分布均匀性, 均匀度指数接近 1 时, 表明所有物种分布更均匀, 昭苏地区新疆鼠尾草内生细菌均匀度较霍城和新源地区更高。丰富度指数反应群落中物种的数量, 丰富

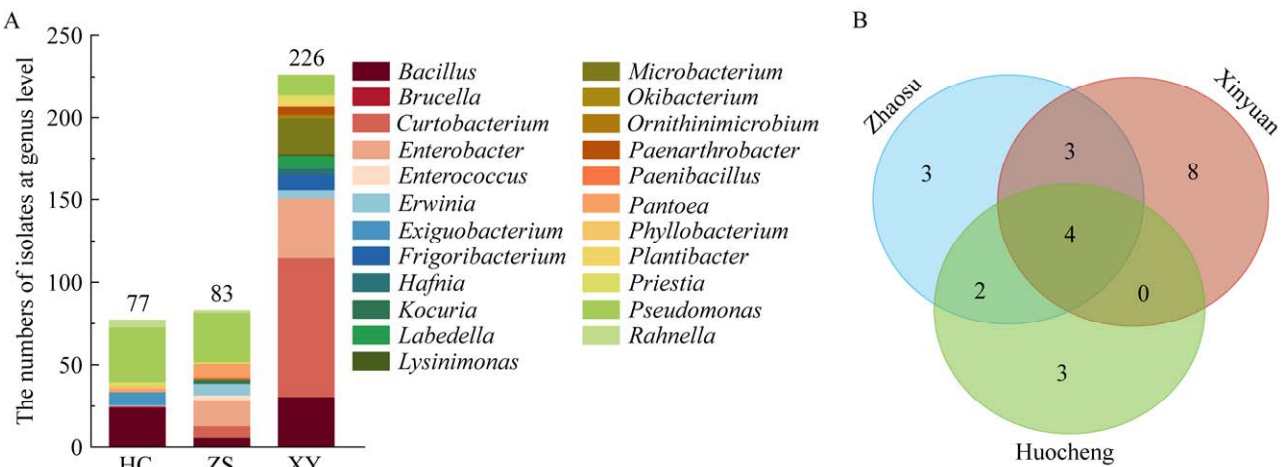


图 3 三个地区新疆鼠尾草内生细菌多样性比较(A)及属水平相对多样性分布韦恩图(B) HC: 霍城地区; ZS: 昭苏地区; XY: 新源地区。

Figure 3 Diversity comparison of endophytic bacteria from *Salvia deserta* Schangin in three regions (A) and venn diagram of genus relative diversity distribution (B). HC: Huocheng; ZS: Zhaosu; XY: Xinyuan.

表 3 不同采样地新疆鼠尾草内生细菌多样性比较

Table 3 Diversity comparison of endophytic bacteria from *Salvia deserta* Schangin in different areas

不同指标 Index	采样地 Sample area			合计 Total
	霍城 Huocheng	昭苏 Zhaosu	新源 Xinyuan	
门 Phylum	2	3	3	3
纲 Class	3	3	3	4
目 Order	4	5	4	6
科 Family	7	9	8	14
属 Genus	9	12	15	23
菌株数 Strains	77	83	226	386
优势度指数 Dominance index	0.287 4	0.189 2	0.195 8	0.141 9
均匀度指数 Evenness index	0.531 2	0.619 9	0.508 3	0.440 8
丰富度指数 Richness index	1.842 0	2.489 0	2.583 0	3.694 0
辛普森指数 Simpson index	0.712 6	0.810 8	0.804 2	0.858 1
香农指数 Shannon index	1.565 0	2.007 0	2.031 0	2.316 0

度指数越高,表明群落中物种数目越多,新源地区新疆鼠尾草内生细菌丰富度要高于霍城和昭苏地区。辛普森指数反映群落的多样性,辛普森指数越低,表明群落多样性越高,霍城地区新疆鼠尾草内生细菌群落多样性较昭苏和新源地区更低。香农指数结合了群落的丰富度和均匀度,香农指数越高,表明群落中物种多样性越高,并且物种分布更均匀。新源地区新疆鼠尾草内生细菌香农指数要高于霍城和昭

苏地区。

2.3 两种处理分离新疆鼠尾草内生细菌效果比较

常温处理和 80 °C处理 1 h 分别分离得到 217 和 169 株新疆鼠尾草内生细菌。常温处理共获得 217 株,分属于 3 个门 4 个纲 6 个目 12 个科 16 个属和 58 个种,其优势属为 *Bacillus*、*Curtobacterium*、*Enterobacter* 和 *Pseudomonas*。而 80 °C处理 1 h 共获得 169 株,分属于 3 个门

3 个纲 4 个目 8 个科 17 个属和 45 个种, 其优势属为 *Curtobacterium*、*Enterobacter* 和 *Pseudomonas*。2 种处理得到 11 个相同属, 30 个相同种; 80 °C 处理较常温处理多出 6 个属 8 个种, 并且主要集中于放线菌门。根据图 4 可看出霍城地区和昭苏地区新疆鼠尾草经过 80 °C 处理 1 h 后内生细菌芽孢杆菌属的数量明显下降, 新源地区新疆鼠尾草经过 80 °C 处理 1 h 后分离得到的放线菌门占该地区处理总数的 69%, 高于常温处理, 并且属水平上的多样性明显有所提高。综上所述, 80 °C 处理 1 h 后得到内生细菌数量相对常温处理有所降低, 但放线菌门菌株在属水平上得到提升。

2.4 十种培养基分离新疆鼠尾草内生细菌效果比较

为比较不同培养基对于新疆鼠尾草内生细菌的分离效果, 对每种分离培养基中分离到的内生细菌种类和数量进行统计。统计结果如图 5 所示, M7 培养基分离到 14 个属的内生细菌, M3 和 M4 培养基分别分离到 13 个属的内生细菌,

M8 培养基中分离到 12 个属的内生细菌, M9 和 M10 培养基中分别分离到了 11 个属的内生细菌。由此可判断 M7 培养基分离到的内生细菌多样性最为丰富, 分离效果较为理想, 其次为 M3 和 M4 培养基。从分离内生细菌数量来看, M7 培养基分离到 47 株内生细菌, M2 和 M10 培养基分别分离到 46 株内生细菌, M4 培养基分离到 42 株内生细菌。由此可判断 10 种培养基处理下 M7 分离得到的菌株最多, 其次是 M2 和 M10。综合考虑每种培养基分离到的内生细菌的种类和数量, M7 培养基最为适合分离新疆鼠尾草内生细菌, M4 与 M10 也较适用于分离新疆鼠尾草内生细菌。

2.5 新疆鼠尾草内生细菌促生功能及抗菌活性结果

根据菌株种类不同或同种但分离来源不同的原则, 从新疆鼠尾草分离获得的 386 株内生细菌中挑选出 92 株内生细菌进行溶磷活性、固氮活性、产铁载体能力、产纤维素酶和蛋白酶能力的定性检测, 结果如图 6 所示。本研究共

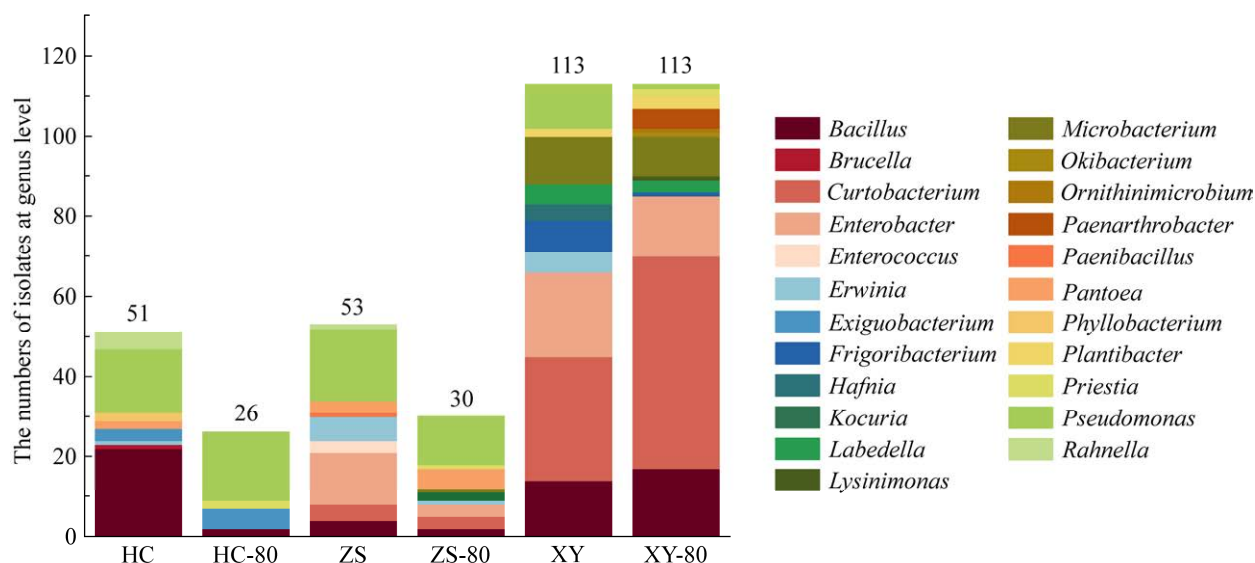


图 4 两种处理方法对新疆鼠尾草内生细菌分离效果比较 HC: 霍城地区; ZS: 昭苏地区; XY: 新源地区; 80 为经过 80 °C 处理。

Figure 4 Comparison of the isolation effect of endophytic bacterial from *Salvia desert* Schangin using two treatments. HC: Huocheng; ZS: Zhaosu; XY: Xinyuan; 80: Treated at 80 °C.

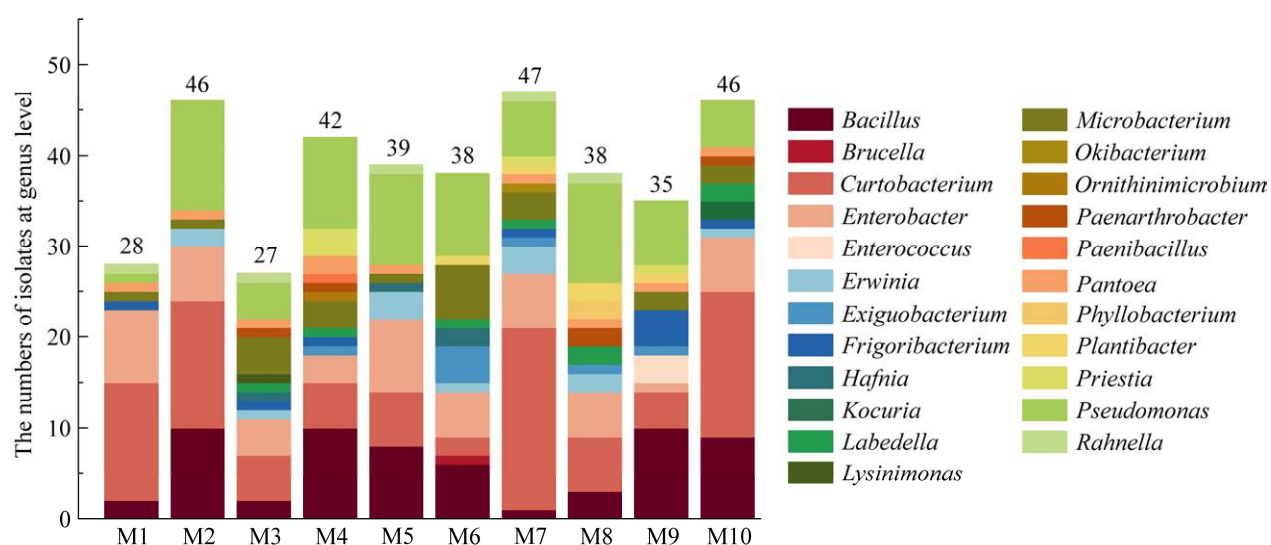


图5 不同培养基对新疆鼠尾草内生细菌分离效果的比较 M1-M10: 分离培养基编号。

Figure 5 Comparison of the isolation effect of endophytic bacteria from *Salvia desert* Schangin using different medium. M1-M10: The number of the isolation medium.

鉴定出 35 株菌具有产铁载体能力, 68 株菌具有溶磷能力, 80 株菌具有固氮能力, 47 株菌可以产蛋白酶, 57 株菌可以产纤维素酶, 分别占检测菌株的 38.04%、73.92%、86.96%、51.09% 和 61.96%。在检测的 21 个属中, 共有 11 个属检测到产铁载体活性, 14 个属检测到溶磷活性, 19 个属检测到固氮活性, 12 个属检测到产蛋白酶活性, 16 个属检测到产纤维素酶活性。综上所述可得, 所检测的新疆鼠尾草内生菌具有固氮能力的菌株占比较多, 而具有产铁载体能力的菌株相对较少。

图 7 为新疆鼠尾草内生细菌促生、产酶活性韦恩图和拮抗病原菌活性韦恩图。采用平板对峙法对 92 株内生细菌对 3 种植物病原菌进行拮抗功能检测, 根据抗菌结果显示, 有 48 株菌抗 *Valsa mali*, 37 株菌抗 *Fusarium oxysporum*, 20 株菌抗 *Rhizopus arrhizus*, 分别占检测菌株的 52.17%、40.22% 和 21.74%。

在拮抗和功能菌株筛选中, 同时具有溶磷、固氮、产铁载体、产蛋白酶和产纤维素酶功能的菌株共有 7 株, 分别是芽孢杆菌属的 P1S375、P1S620、P1S447, 布鲁氏菌属 (*Brucella*) 的

P21S515, 欧文氏菌属的 P1S362, 以及泛菌属 (*Pantoea*) 的 P1S289、P1S570; 对 3 种植物病原菌均存在抗性的菌株有 18 株, 分别是芽孢杆菌属的 P1S375、P1S558、P1S498、P1S479、P1S620、P1S36、P1S447, 肠杆菌属的 P1S442、P1S361、P1S302、P1S322、P1S424、P1S518、P1S321, 微小杆菌属的 P1S325, 哈夫尼菌属的 P1S266, 泛菌属的 P1S570、P1S587。分离得到 4 株兼具促生和拮抗病原菌功能的菌株, 菌株 P1S375、P1S620 和 P1S447 属于芽孢杆菌属, 菌株 P1S570 属于泛菌属。

3 讨论

3.1 不同来源地的新疆鼠尾草内生细菌多样性存在差异

为研究药用植物内生细菌的功能开发与其资源现状, 国内外已从不同药用植物中分离得到内生细菌, 并对其多样性及功能进行研究。目前对于新疆鼠尾草内生细菌的研究较少。本研究首次以新疆 3 个地区的药用植物新疆鼠尾草为研究对象, 利用 2 种样品处理方法和 10 种分离培养基对内生细菌进行了分离, 探究了不

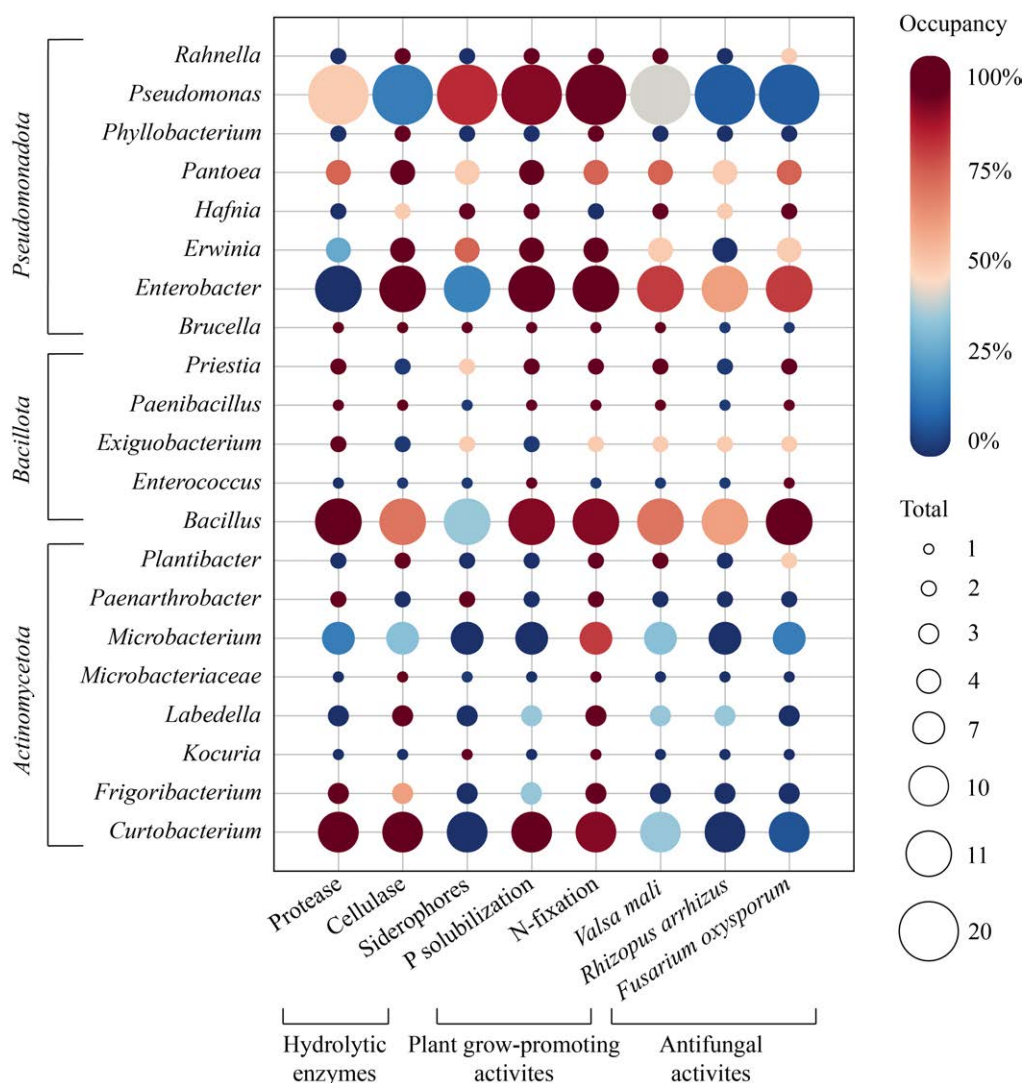


图 6 新疆鼠尾草内生细菌产酶、促生和拮抗活性统计图 图中圆圈的大小代表属水平上用于活性检测的菌株个数，圆圈颜色代表阳性结果菌株所占检测菌株的比例。

Figure 6 Statistics of hydrolytic enzyme-producing, plant growth-promoting and antifungal activities of endophytic bacteria of *Salvia desert* Schangin. The size of circle represents the number of active detection strains in genus, the color of circle represents the positive result in proportion to the strains of testing strains.

同生态地理环境及分离方式对所分离得到的菌株丰度的影响。

本研究共获得 386 株纯培养物，经鉴定分属于 3 个门 4 个纲 6 个目 14 个科和 23 个属，其中优势属为短小杆菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属和肠杆菌属，这一结果与前人从刺山柑 (*Capparis spinosa*)^[16]、葛根 (*Pueraria montana*)^[17]、鼓槌石斛 (*Dendrobium chrysotoxum*)^[18] 等药用植

物中分离得到的内生菌结果类似。细菌内生菌群落受到生物和非生物因素的影响，这些因素塑造了它们的物种组成、群落结构、多样性和功能^[19]。新源地区、昭苏地区和霍城地区分别分离得到新疆鼠尾草内生细菌 226 株、83 株和 77 株，分别属于 15、12 和 9 属。三地区内生细菌的多样性和优势菌种均存在差异。新源地区优势度指数较霍城和昭苏地区更高，其主要

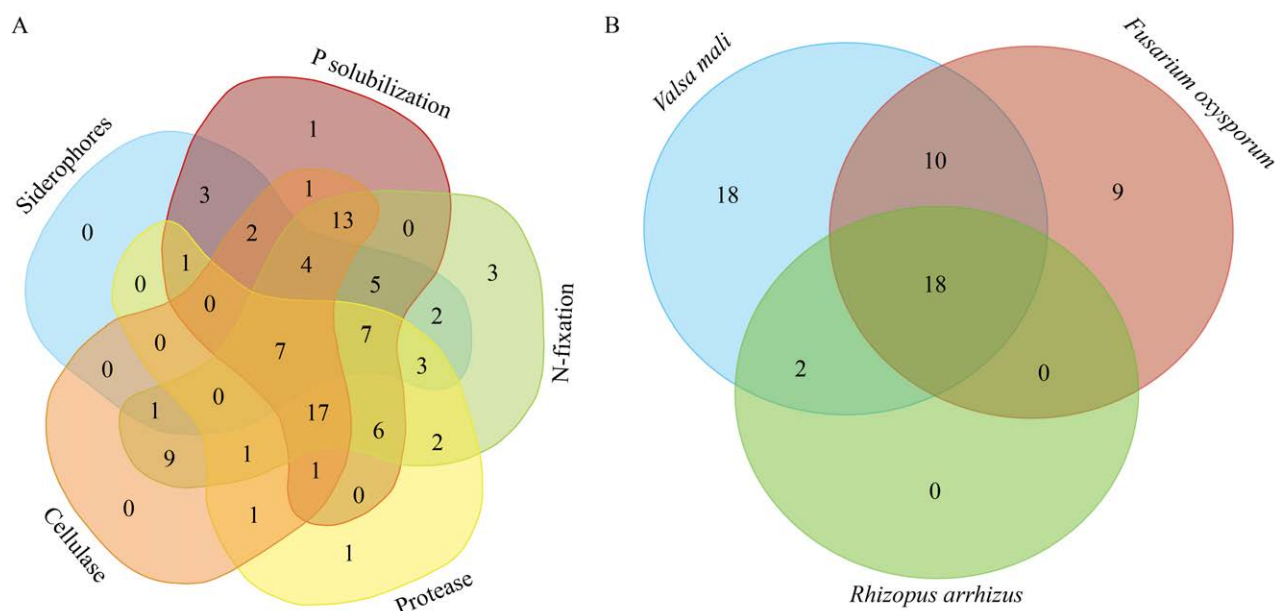


图 7 新疆鼠尾草内生细菌促生、产酶活性韦恩图(A)和拮抗病原菌活性韦恩图(B)

Figure 7 Venn diagram of endophytic bacteria promoting growth and enzyme-producing activity of *Salvia desert Schangin* (A) and antagonistic pathogenic activity of *Salvia desert Schangin* (B).

优势菌集中于假单胞菌属(*Pseudomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)。与新疆地区相比霍城地区海拔更高,说明部分微生物无法适应高海拔地区环境。张丹丹等^[20]在珠穆朗玛峰北坡的研究中发现,细菌和真菌的丰度随海拔增加而降低,与海拔高度呈显著负相关。可能随着海拔的升高,微生物的生物量和多样性通常会降低。新疆地区较其他 2 个地区海拔较低,这可能引起该地区新疆鼠尾草内生细菌丰度高的原因。另外,微杆菌属(*Microbacterium*)、短小杆菌属(*Curtobacterium*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)数量在霍城和昭苏两地较新疆大幅度减小,认为这 3 个属的内生真菌对海拔变化更为敏感。3 个地区降水量与新疆鼠尾草内生菌的多样性呈现负相关关系,认为存在该种现象的原因是降水量的变化与当地土壤中的有机碳和全氮含量有关。衡涛^[21]的研究表明降水量的变化对当地土壤中的有机碳和全氮含量呈现负相关关系,在含有丰富有机碳和全氮环境中的植物更有利于内生细菌的生长。另外,除受海拔与降水量变

化以外,环境温度也有可能是引起新疆鼠尾草内生细菌多样性变化的原因之一。相较于昭苏地区,昭苏地区的低气温环境也可能限制了芽孢杆菌属(*Bacillus*)的生长,但欧文氏菌属(*Erwinia*)和泛菌属(*Pantoea*)数量有所提升。由此可见内生细菌的群落结构会受到外部环境的影响,如海拔、经纬度、降水量、土壤条件及环境温度等。植物内生细菌的群落结果会随着植物生长环境变化而变化,这也可能是维持植物适应生长环境的策略之一。

从特定植物组织中分离的内生菌数量和多样性因生长培养基的选择及分离方法条件而异,因为没有特定培养基和生长条件可以满足所有细菌的营养和生长要求^[22]。为了尽可能多地分离到不同种的内生细菌,本实验采用 2 种植物处理方法和 10 种分离培养基对新疆鼠尾草内生细菌进行分离。从利用常温处理所分离得到的新疆鼠尾草内生细菌在数量上虽高于高温处理,但经过高温处理后分离得到的放线菌门占比有所提高,并且属水平上的多样性有明

显提高。认为其主要原因可能是高温条件不利于敏感菌株的生存,导致无法分离;但高温环境会促进某些耐热内生细菌的生长,从而在分离过程中更容易被检测到。通过对 10 种分离培养基分离效果的对比发现高氏一号培养基、酵母提取物培养基及 2216E 对新疆鼠尾草内生菌具有较好的分离效果。

3.2 新疆鼠尾草内生细菌具有促生功能及抗菌活性

药用植物的质量和产量受到环境因素的显著影响,人们已认识到药用植物会受到一部分特定内生细菌的强烈影响^[23]。内生细菌可以通过固氮、溶磷、产生植物激素等方法促进植物生长。另外,植物内生细菌还可以通过占据生态位,自身产生或诱导植物产生具有抗菌活性的次生代谢物而达到抑制病原菌的目的。本研究通过对分离得到的 92 株新疆鼠尾草内生细菌进行产酶、促生和拮抗活性的筛选。实验结果显示,具有促生活性的菌株主要集中在芽孢杆菌属和泛菌属,具有抗 3 种植物病原菌的菌株主要集中在芽孢杆菌属、肠杆菌属和泛菌属。芽孢杆菌属 P1S375、P1S620、P1S447 和泛菌属 P1S570 同时具有促生及生防功能。芽孢杆菌属可以产生许多种类抗生素或抗生素代谢物,对致病性微生物有拮抗作用,并且对人畜无害,常被应用于农业、工业、医药等领域,是 PGP 内生细菌中的常见菌株^[24]。据报道,泛菌属的细菌广泛分布在稻田环境中,并且具有相互矛盾的作用^[25]。一些菌株通过固氮、磷酸盐溶解、植物生理变化、铁载体、胞外多糖以及植物激素等物质促进水稻生长,并通过诱导抗性、竞争病原菌养分和空间以及产生多种抗生素保护水稻免受病原体感染或非生物胁迫,但其他菌株会通过细菌运动、群体感应相关信号分子和一系列细胞壁降解酶对水稻表现出毒力,甚至导致严重的水稻病害。一种从骆驼刺(*Alhagi sparsifolia* Shap.)的叶中分离出来的新型泛菌属菌株 LTYR-11ZT 表现出多种 PGP 特性^[26]。冯

维维等^[27]从盐生药用植物中华补血草内生及根际中分离到的内生细菌具有固氮、溶磷功能特性。李艳等^[28]从五味子根际土壤分离纯化可培养细菌,筛选出的居泉沙雷氏菌(*Serratia fonticola*)可促进五味子幼苗的生长。梁文超等^[29]的研究中,从紫花苜蓿根际土中分离得到的假单胞菌属 S10B9 对紫花苜蓿镰刀根腐病原菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)、轮枝镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)和层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)均有明显的抑制作用。

近几年人们对新疆鼠尾草内生细菌在增强植物抗病性、促进植物生长及天然药物资源开发等方面鲜有研究。本研究对新疆 3 个地区的新疆鼠尾草内生细菌多样性以及在植物抗病和促生方面进行了研究,但对其作用机理以及在抗生素、抗肿瘤、抗病毒和抗氧化等医药应用方面的开发还有待进一步探索。

4 结论

本研究共获得 386 株纯培养物,经鉴定分属于 3 个门 4 个纲 6 个目 14 个科和 23 个属,主要优势属为短小杆菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属和肠杆菌属。3 个地区内生细菌的群落结构受到海拔、降水量及环境温度外部环境的影响,相较而言,低海拔和低降水的新源新疆鼠尾草内生细菌多样性更高。80 °C 处理 1 h 对所分离菌株得到的放线菌门占比有所提高,并且属水平上的多样性明显提高。不同的菌株在促生和抗逆功能方面有着不同的特性。芽孢杆菌属 P1S375、P1S620、P1S447 和泛菌属 P1S570 同时具有促生及生防功能。本研究结果丰富了新疆鼠尾草内生菌的资源多样性,为新疆鼠尾草内生细菌的开发利用奠定了基础。

作者贡献声明

张焯焯、崔磊:研究概念生成,实验方法设计,实际研究,论文初稿撰写;周德龙、连海

婷：数据整理与管理，实验数据分析，实验结果可视化；孙燕飞、李丽：研究课题监管与指导，研究资金获取，论文审阅与修订。

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] SENTHILKUMAR M, ANANDHAM R, MADHAIYAN M, VENKATESWARAN V, SA TM. Endophytic bacteria: perspectives and applications in agricultural crop production[M]//Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011: 61-96.
- [2] 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.
- [3] DEVI KA, PANDEY P, SHARMA GD. Plant growth-promoting endophyte *Serratia marcescens* AL2-16 enhances the growth of *Achyranthes aspera* L., a medicinal plant[J]. *HAYATI Journal of Biosciences*, 2016, 23(4): 173-180.
- [4] ZHU YL. Isolation and identification of *Ammodendron bifolium* endophytic bacteria and the action mechanism of selected isolates-induced seed germination and their effects on host osmotic-stress tolerance[J]. *Archives of Microbiology*, 2019, 201(4): 431-442.
- [5] SHARMA B, NEGI R, KOUR H, RAMNIWAS S, KUMAR S, RUSTAGI S, SINGH S, KOUR D, YADAV AN, AHLUWALIA AS. Isolation and characterization of endophytic bacteria from medicinal plants (*Berberis aristata* and *Xanthium strumarium*) for Rosemary plant growth promotion[J]. *Vegetos*, 2024, 37(2): 749-756.
- [6] HUANG HM, ZHAO YL, FAN L, JIN Q, YANG GY, XU ZG. Improvement of manganese phytoremediation by *Broussonetia papyrifera* with two plant growth promoting (PGP) *Bacillus* species[J]. *Chemosphere*, 2020, 260: 127614.
- [7] LACAVA PT, AZEVEDO JL. Biological control of insect-pest and diseases by endophytes[M]//Advances in Endophytic Research. New Delhi: Springer India, 2013: 231-256.
- [8] DING CH, JIANG ZQ, LI XT, LI LT, KUSAKABE I. High activity xylanase production by *Streptomyces olivaceoviridis* E-86[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2004, 20(1): 7-10.
- [9] KAVAMURA VN, SANTOS SN, Da SILVA JL, PARMA MM, LUCIANA APARECIDA Á, VISCONTI A, ZUCCHI TD, TAKETANI RG, ANDREOTE FD, de MELO IS. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought[J]. *Microbiological Research*, 2013, 168(4): 183-191.
- [10] TEZUKA Y, KASIMU R, LI JX, BASNET P, TANAKA K, NAMBA T, KADOTA S. Constituents of roots of *Salvia deserta* Schang. (Xinjiang-Danshen)[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1998, 46(1): 107-112.
- [11] 王颖莉, 郝近大, 李旻辉. 鼠尾草属中药材基原考证[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(6): 1140-1143.
- WANG YL, HAO JD, LI MH. Herbal textural and original plants research on medicines from *Salvia* in China[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(6): 1140-1143 (in Chinese).
- [12] 王晓梅, 王新玲, 李敏, 胡君萍, 王小青, 热娜·卡斯木. 新疆鼠尾草中酚酸类化学成分的研究[J]. *华西药理学杂志*, 2016, 31(6): 614-616.
- WANG XM, WANG XL, LI M, HU JP, WANG XQ, RENAKASIMU. Study on the constituents of salvianolic acid from *Salvia deserta*[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, 31(6): 614-616 (in Chinese).
- [13] JASSBI AR, ZARE S, FIRUZI O, XIAO JB. Bioactive phytochemicals from shoots and roots of *Salvia* species[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2016, 15(5): 829-867.
- [14] LIU YH, GUO JW, LI L, ASEM MD, ZHANG YG, MOHAMAD OA, SALAM N, LI WJ. Endophytic bacteria associated with endangered plant *Ferula sinkiangensis* K. M. Shen in an arid land: diversity and plant growth-promoting traits[J]. *Journal of Arid Land*, 2017, 9(3): 432-445.
- [15] LI L, MOHAMAD OAA, MA JB, FRIEL AD, SU YG, WANG Y, MUSA Z, LIU YH, HEDLUND BP, LI WJ. Synergistic plant-microbe interactions between endophytic bacterial communities and the medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis* F[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2018, 111(10): 1735-1748.
- [16] 吕佩, 王新绘, 刘晓颖, 耿美菊. 药用植物刺山柑不同部位细菌群落结构及其多样性[J]. *微生物学报*, 2023, 63(10): 3939-3954.
- LÜ P, WANG XH, LIU XY, GENG MJ. Bacterial diversity and communities in different parts of the medicinal plant *Capparis spinosa* L.[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(10): 3939-3954 (in Chinese).
- [17] 黄小茜, 陈翰, 李发活, 梁任繁, 肖冬, 何龙飞, 王爱勤. 广西葛根内生细菌的分离鉴定及其促生特性[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(5): 2017-2028.
- HUANG XX, CHEN H, LI FH, LIANG RF, XIAO D, HE LF, WANG AQ. Endophytic bacteria from *Pueraria montana* var. *lobata* in Guangxi: isolation, identification, and characterization of plant growth-promoting effect[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(5): 2017-2028 (in Chinese).
- [18] 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).
- [19] WALITANG DI, KIM CG, KIM K, KANG Y, KIM YK, SA TM. The influence of host genotype and salt stress on the seed endophytic community of salt-sensitive and salt-tolerant rice cultivars[J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 51.
- [20] 张丹丹, 张丽梅, 沈菊培, 旺姆. 珠穆朗玛峰不同海拔梯度上土壤细菌和真菌群落变化特征[J]. 生态学报, 2018, 38(7): 2247-2261.
- ZHANG DD, ZHANG LM, SHEN JP, WANGMU. Soil bacterial and fungal community succession along an altitude gradient on Mount Qomolangma[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(7): 2247-2261 (in Chinese).
- [21] 衡涛. 高寒草甸土壤碳和氮及微生物生物量碳和氮对温度和降水量变化的响应[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2011.
- HENG T. The responses of soil C and N, microbial biomass C or N under alpine meadow of Qinghai-Xizang plateau to changing in temperature and precipitation[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2011 (in Chinese).
- [22] EEVERS N, GIELEN M, SÁNCHEZ-LÓPEZ A, JASPERS S, WHITE JC, VANGRONVELD J, WEYENS N. Optimization of isolation and cultivation of bacterial endophytes through addition of plant extract to nutrient media[J]. Microbial Biotechnology, 2015, 8(4): 707-715.
- [23] EK-RAMOS MJ, GOMEZ-FLORES R, OROZCO-FLORES AA, RODRÍGUEZ-PADILLA C, GONZÁLEZ-OCHOA G, TAMEZ-GUERRA P. Bioactive products from plant-endophytic gram-positive bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 463.
- [24] 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).
- [25] LV LQ, LUO JY, AHMED T, ZAKI HEM, TIAN Y, SHAHID MS, CHEN JP, LI B. Beneficial effect and potential risk of *Pantoea* on rice production[J]. Plants, 2022, 11(19): 2608.
- [26] CHEN CQ, XIN KY, LIU H, CHENG JL, SHEN XH, WANG Y, ZHANG L. *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 41564.
- [27] 冯维维, 武美贤, 司雨婷, 邢珂, 秦盛, 蒋继宏, 彭学. 中华补血草内生与根际具 ACC 脱氨酶活性细菌的筛选及其生物多样性[J]. 微生物学报, 2016, 56(4): 719-728.
- FENG WW, WU MX, SI YT, XING K, QIN S, JIANG JH, PENG X. Screening and biodiversity of endophytic and rhizosphere bacteria containing ACC deaminase from halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(4): 719-728 (in Chinese).
- [28] 李艳, 宋天骄, 徐腾起, 吴巧露, 林雁冰. 五味子根际促生菌的筛选[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(10): 145-154.
- LI Y, SONG TJ, XU TQ, WU QL, LIN YB. Screening rhizosphere growth-promoting bacteria from *Schisandra chinensis*[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2024, 52(10): 145-154 (in Chinese).
- [29] 梁文超, 韩冰, 蒋惠婷, 任乃芃, 刘香萍. 假单胞菌属 S10B9 菌株对紫花苜蓿镰刀菌根腐病的生防作用[J]. 草原与草坪, 2023, 43(6): 1-8.
- LIANG WC, HAN B, JIANG HT, REN NP, LIU XP. Biocontrol effect of *Pseudomonas* S10B9 on *Fusarium* root rot of alfalfa[J]. Grassland and Turf, 2023, 43(6): 1-8 (in Chinese).