

研究报告

盐生植物碱蓬二型果实表生细菌的群落组成及促生属性

谢远国[△] 王雅楠[△] 刘畅 王宏飞*

(辽宁师范大学生命科学学院 辽宁 大连 116081)

摘要:【背景】碱蓬(*Suaeda glauca* Bunge)主要生长于含盐碱土壤,具有果实(种子)二型现象,而种子栖居有众多微生物,它们对种子萌发和幼苗建成具有重要影响。【目的】对碱蓬异型果实表生细菌的群落组成及相关细菌的促生属性进行观察研究,探讨不同类型果实表生细菌的群落组成及相关细菌的促生功能属性是否存在差异。【方法】利用纯培养方法对碱蓬二型果实的表生可培养细菌进行分离纯化,基于16S rRNA基因序列分析初步确定分离菌株的系统发育地位,并对获得菌株进行固氮、溶磷、解钾、产铁及产IAA能力的定性检测。【结果】碱蓬二型果实具有不同的表生细菌群落组成及分布比例,A型果实表生细菌分属于3纲15属,其优势属组成主要是短小杆菌属(34.33%)、芽孢杆菌属(13.43%)和泛菌属(10.45%);B型果实表生细菌分属于4纲20属,其优势属组成主要是短小杆菌属(12.77%)、芽孢杆菌属(17.02%)和冰冻小杆菌属(14.89%)。碱蓬二型果实的表生细菌多样性指数也存在差异,A型果实的Shannon多样性指数、Margalef丰富度指数和Shannon均匀度指数显著低于B型果实;而A型果实的Berger-Parker优势度指数显著高于B型果实。碱蓬二型果实表生细菌在固氮、溶磷、解钾、产铁及产IAA能力等促生属性上的菌株分布比例存在不同变化趋势,A型和B型果实均具有较高比例固氮菌株及较低比例溶磷菌株;但在解钾菌株和产IAA菌株分布比例上具有不同变化趋势,A型果实的解钾菌株所占比例显著高于B型果实,而产IAA能力菌株所占比例显著低于B型果实。【结论】盐生植物碱蓬具有明显不同的2种类型果实,其不同类型果实具有不同的表生细菌群落组成及分布比例,且在促生功能菌株的分布上也存在不同变化趋势。

关键词:碱蓬, 果实二型性, 表生细菌, 群落组成, 促生属性

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31400009); Educational Department of Liaoning Province (L201683673); Guangdong Key Laboratory of Plant Resources (PlantKF01)

[△]These authors equally contributed to this work

*Corresponding author: Tel: 86-411-85827073; E-mail: whfei2008@126.com

Received: October 08, 2017; Accepted: December 07, 2017; Published online (www.cnki.net): January 08, 2018

基金项目: 国家自然科学基金(31400009); 辽宁省教育厅资助项目(L201683673); 广东省热带亚热带植物资源重点实验开放课题(PlantKF01)

[△]对本文贡献相同

*通信作者: Tel : 86-411-85827073 ; E-mail : whfei2008@126.com

收稿日期: 2017-10-08 ; 接受日期: 2017-12-07 ; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-01-08

The community composition and growth-promoting activities of the cultivable epiphytic bacteria from the dimorphic fruits of *Suaeda glauca* Bunge

XIE Yuan-Guo[△] WANG Ya-Nan[△] LIU Chang WANG Hong-Fei*

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116081, China)

Abstract: [Background] Seeds can harbor a lot of microorganisms and may influence a range of seed traits. The interactions between seed type and microorganisms are important for understanding seed germination and seedling growth. However, the interaction between different type seeds and seed-associated microorganisms in seed-heteromorphic plant is poor characterized. [Objective] To isolate and analyze community composition and growth-promoting activities of the epiphytic bacteria of two distinct types of fruits present on the same plant, *Suaeda glauca* Bunge., which mainly distributed in saline-alkaline soil. [Methods] Conventional culture dependent method was used to isolate the epiphytic bacteria from dimorphic fruits of *S. glauca*. The identification of the isolated strains was done based on 16S rRNA gene sequencing. The growth-promoting activities of isolated strains were also analyzed qualitatively. [Results] The epiphytic bacterial community composition of the type A fruits clearly differed from those of type B fruits. The results showed that, 67 epiphytic bacteria were isolated from type A fruits, which belonged to 3 classes, and 15 genus with *Curtobacterium* (34.33%), *Bacillus* (13.43%) and *Pantoea* (10.45%) as the most dominant genus; whereas 47 epiphytic bacteria were isolated from type B fruits, which belonged to 4 classes, 20 genus with *Curtobacterium* (12.77%), *Bacillus* (17.02%) and *Frigoribacterium* (14.89%) as the most dominant genus. The diversity of isolates were analyzed and compared using different diversity index, the shannon index, margalef index and evenness index which showed type A fruits were lower than those of type B fruits; but the Berger-Parker dominance index of type A fruits was higher than that of type B fruits. The percentage of the isolates with nitrogen-fixing, phosphate-solubilizing, potassium-dissolving, siderophore-producing and IAA-producing activity showed different changing trend in the dimorphic fruits of *S. glauca*. The high-proportioned nitrogen-fixing activity and the low-proportioned phosphate-solubilizing activity presented in strains which isolated from the type A and type B fruits of *S. glauca*. In addition, the percentage of potassium-dissolving activity in strains isolated from type A fruits showed higher than that of type B fruits, while the IAA-producing activity in strains isolated from type A fruits showed lower than that of type B fruits. [Conclusion] Our results show that the diversity, the community composition and growth-promoting activities of epiphytic bacterial communities in the dimorphic fruits of *S. glauca* are varies.

Keywords: *Suaeda glauca* Bunge, Fruit dimorphism, Epiphytic bacterium, Community composition, Growth-promoting characteristics

种子是植物重要的繁殖器官,也是多种有益细菌和病原菌的传递载体,其表面及内部蕴藏着多种微生物群落^[1-2],是构成植物种子际微生物的重要组分^[3]。研究表明植物种子际微生物与种子生理具有密切相关性,对种子健康^[4]及随后种子萌发和幼苗建立^[5]具有重要影响。目前,关于植物种子际微

生物的研究主要集中于水稻^[6-12]、玉米^[13]、菜豆^[14]、小麦^[15]等农作物种子,以及白皮锦鸡儿^[16]、豚草^[17]、诺尼^[18]和喜树^[19]等野生植物种子。众多研究表明种子际微生物组成受植物种子种类^[2]、宿主植物基因型^[20-21]的影响。然而这些研究均建立在目标植物仅具有单一种子生态位的基础上,对单个植

物体产生2种或多种不同形态、生理类型果实(种子),即所谓种子异型植物^[22]的2个或多个种子生态位相关微生物的研究至今尚无报道。

碱蓬(*Suaeda glauca* Bunge)是碱蓬属一年生草本植物,主要生长在海滨、荒地、渠岸、田边等含盐碱土壤。其果实为胞果,果皮膜质,包裹于花被内,果实成熟后花被片宿存,内含1粒种子,种子由宿存花被紧密包被,不易分离。碱蓬具有果实(种子)二型性,其一扁平,圆形,紧包于五角星形的花被内,另一呈球形,上端稍裸露,花被不呈五角星形^[23]。本研究主要利用纯培养分离方法分离碱蓬不同形态果实的表生细菌,探讨其表生细菌群体组成及多样性是否存在差异,并对其相关细菌的固氮、溶磷、解钾、产铁及产IAA能力进行定性鉴定,分析异型果实相关细菌类群在促生属性上是否也存在不同,为进一步理解种子-微生物的关系提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物

盐生植物碱蓬果实采集于辽宁省大连市营城子海滩(121°36'E, 38°99'N),果实成熟后,收获整株立即带回实验室进行果实类型划分及表生细菌分离。样品采集地点具有海洋性特点的暖温带大陆性季风气候,年平均气温10.5 °C,≥10 °C有效积温3 500–3 700 °C。年平均日照时数约2 500–2 900 h,无霜期180–200 d,降水量年均约550–950 mm,春季干燥少雨,季降水量为75–115 mm,占年降水量的10%。夏季潮湿多雨,季降水量为350–550 mm,占年降水量的60–70%,而且夜雨多于日雨。

1.1.2 主要试剂和仪器

细菌通用引物对27F/1492R,上海捷瑞生物工程有限公司合成;*Taq* DNA聚合酶、dNTPs,北京全式金生物技术有限公司;各种碳源、氮源、无机盐、铬天青S(CAS)、十六烷基三甲基溴化铵(HDTMA)、哌嗪二乙醇磺酸(PIPES)及琼脂等,生工生物工程(上海)股份有限公司;2216E培养基,

青岛海博生物技术有限公司。超净工作台,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;离心机,美国Thermo公司;PCR仪,美国Bio-Rad公司;电泳仪,北京六一生物科技有限公司;恒温培养箱,上海精宏实验设备有限公司。

1.1.3 分离培养基

采用5种分离培养基进行细菌菌株分离,如下:

(1) TWYE-1% NaCl培养基(g/L):酵母提取物0.25, K_2HPO_4 0.50,NaCl 10.00,琼脂15.00,pH 7.2。

(2) 草酸钠-酪蛋白水解氨基酸-1% NaCl培养基(g/L):草酸钠2.00,酪蛋白水解氨基酸0.50, K_2HPO_4 0.30,NaCl 10.00, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02, $CaCl_2$ 0.50,琼脂15.00,pH 7.2。

(3) 甘油-天冬酰胺-1% NaCl培养基(g/L):甘油10.00,L-天冬酰胺1.00,NaCl 10.00, K_2HPO_4 1.00,微量盐1.00 mL/L,琼脂15.00,pH 7.2。

(4) 1/5 2216E培养基(稀释5倍应用)。

(5) 1/5 LB-1% NaCl培养基(g/L):酵母提取物5.00,Tryptone 10.00,NaCl 10.00,琼脂15.00,pH 7.2。

以上每种培养基制板时加入制霉菌素(终浓度为50 mg/L),以抑制真菌生长。

1.1.4 纯化培养基

采用1/2 YIM38[#]培养基进行分离菌株纯化。

YIM38[#]培养基(g/L):葡萄糖4.00,酵母粉4.00,麦芽糖5.00,复合微生素微量,微量盐1.00 mL/L,琼脂15.00,pH 7.0–7.2。

1.1.5 促生属性定性鉴定培养基

(1) 无氮培养基(g/L):蔗糖10.00; K_2HPO_4 0.50; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.20;NaCl 0.20; $CaCO_3$ 1.00;琼脂15.00;pH 7.0–7.2。

(2) CAS检测培养基:称取0.012 g CAS溶于10 mL蒸馏水,与2 mL 1 mmol/L $FeCl_3$ 溶液混匀,得溶液a;称取0.015 g HDTMA溶于8 mL蒸馏水,得溶液b;然后将溶液a缓慢加入溶液b,充分混匀得染液c。将10×MM9盐溶液(Na_2HPO_4 30.00 g, KH_2PO_4 1.50 g,NaCl 2.50 g, NH_4Cl 5.00 g,蒸馏水

500 mL) 20 mL , 味嗪二乙醇磷酸(PIPES) 6.04 g 加入盛有150 mL 蒸馏水三角瓶 , 充分混匀 , 调pH值为6.8 , 加琼脂3.20 g , 得培养基d。将染液c、培养基d、1 mmol/L CaCl₂、1 mmol/L MgSO₄·7H₂O、20% 葡萄糖及10% 酪蛋白氨基酸分别灭菌(0.067 MPa , 20 min) , 置于50 °C烘箱保温待用。分别取上述1 mmol/L CaCl₂溶液0.2 mL , 1 mmol/L MgSO₄·7H₂O溶液4 mL , 20% 葡萄糖2 mL及10% 酪蛋白氨基酸6 mL加入培养基d , 然后再缓慢加入染液c , 充分混匀 , 不产生气泡 , 即得CAS检测培养基。

(3) 无机磷培养基(g/L) : 葡萄糖10.00 , Ca₃(PO₄)₂ 5.00 , MgCl₂·6H₂O 5.00 , MgSO₄·7H₂O 0.25 , KCl 0.20 , (NH₄)₂SO₄ 0.10 , 琼脂15.00 , pH 7.0~7.2。

(4) 硝酸盐细菌培养基(g/L) : 蔗糖5.00 , Na₂HPO₄ 2.00 , MgSO₄·7H₂O 0.50 , FeCl₃ 0.01 , CaCO₃ 0.10 , 钾长石粉1.00 , 琼脂15.00 , pH 7.0~7.2。

(5) King-B 液体培养基(g/L) : 胶蛋白胨 20.00 , K₂HPO₄ 1.15 , MgSO₄·7H₂O 1.50 , 甘油 15.00 , L-色氨酸 0.50。

1.2 方法

1.2.1 碱蓬果实类型确定

随机选取20株大小不同的碱蓬植株收集果实 , 观察花被的发育状况及形态、种子形状、种皮颜色等。统计30粒不同类型果实的长度和宽度 , 计算平均值。测定不同类型果实的千粒重 , 重复3次 , 计算平均值。

1.2.2 异型果实表生细菌分离

碱蓬2种类型果实各称取1.00 g , 分别浸没于装有30 mL无菌水的三角瓶 , 37 °C、160 r/min培养1 h。在无菌操作台取溶液于10 mL无菌玻璃试管 , 再系列稀释10⁻¹、10⁻²和10⁻³ , 从中分别吸取100 μL于5种分离培养基均匀涂布 , 置于30 °C恒温培养箱中培养5 d。根据分离得到的菌落颜色、大小、形态等特征挑取不同菌落接种于1/2 YIM38[#]培养基进行纯化、去重。获得的纯菌株分别于1/2 YIM38[#]斜面室温保藏和20% 甘油管-80 °C保存。

1.2.3 菌株 16S rRNA 基因序列的扩增和鉴定

菌株总DNA的提取参照Chun等的方法^[24]进行。PCR扩增采用细菌16S rRNA基因通用引物27F (5'-CAGAGTTGATCCTGGCT-3')和1492R (5'-AG GAGGTGATCCAGCCGCA-3')。PCR 反应体系(50 μL):10×Buffer (含2.0 mmol/L MgCl₂) 5 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μL , 27F和1492R (10 mmol/L) 各0.5 μL , Taq酶5 (U/μL) 0.5 μL , 模板DNA 1 μL , ddH₂O 38.5 μL。反应条件 : 94 °C 5 min ; 94 °C 30 s , 55 °C 30 s , 72 °C 1 min , 32个循环 ; 72 °C 10 min。PCR产物用0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测 , 扩增片段约为1 500 bp , 送PCR产物至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。依照测序结果 , 通过EzBioCloud (www.ezbiocloud.net)数据库进行菌株鉴定 , 确定其分类地位。

1.2.4 异型果实表生细菌的多样性分析

采用Shannon多样性指数(H')和Margalef丰富度指数(D_{Mg})反映细菌群落组成的多样性 , 利用Shannon均匀度指数(E)和Berger-Parker优势度指数(d)反映细菌群落物种的分部均匀程度^[25]。其计算公式如下 :

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i ;$$

$$D_{Mg} = \frac{(S-1)}{\ln N} ;$$

$$E = \frac{H'}{\ln S} ;$$

$$d = \frac{n_{\max}}{N} .$$

公式中 : S 代表样品中表生细菌的物种数目 , N 代表样品中表生细菌的全部个体总数 , N_i 代表样品中属于种 i 的个体数目 , P_i 代表属于种 i 的个体在全部个体中的比例。

1.2.5 异型果实表生细菌促生属性鉴定

固氮活性和产铁能力的定性检测参照张越己等^[26]的方法。固氮活性检测 : 将菌株接种于无氮培养基 , 30 °C培养3~5 d观察其生长情况 , 并转接5次看是否生长。产铁活性检测 : 将菌株接种于CAS检测培养基 , 30 °C培养3~5 d , 观察有无形成

橙色铁载体分泌圈。溶磷活性、解钾活性和产IAA能力的定性检测参照胥婷等^[27]的方法。溶磷活性检测：将菌株接种于无机磷培养基，30 °C培养3–5 d，观察有无溶磷圈。解钾活性检测：将菌株接种于硝酸盐细菌培养基，30 °C培养3–5 d，观察有无解钾圈。产IAA能力定性检测：将菌株接种于King-B液体培养基，30 °C、160 r/min培养5 d，取其菌悬液1 mL置于螺口试管，同时加2 mL比色液(Salkowski比色液：50 mL 35% HClO₄+1 mL 0.5 mol/L FeCl₃·6H₂O)。将螺口试管置于室温下避光放置30 min后观察颜色变化，颜色变粉红者为阳性，表示能够分泌IAA，颜色越深表示分泌的强度越大；不变色为阴性，表示不能分泌IAA。

2 结果与分析

2.1 碱蓬果实类型

依据宿存花被的形状、种皮颜色及种子形状

可将碱蓬果实划分为A型和B型2种类型(表1和图1)。A型果实：宿存花被在果期变肥厚，具有隆脊，形成五角星状，其包被的种子扁平、圆形，种皮颜色黄褐色，其果实长度为0.37±0.01 mm，宽度为0.34±0.01 mm，千粒重为3.77±0.01 g；B型果实：宿存花被在果期不增厚，没有隆脊，仍为长圆状，其包被的种子球状，种皮颜色黑色，其果实长度为0.19±0.01 mm，宽度为0.17±0.01 mm，千粒重为2.97±0.05 g。

2.2 碱蓬异型果实可培养表生细菌的群落组成

利用5种分离培养基对碱蓬异型果实的表生细菌分别进行分离、纯化，并利用细菌16S rRNA基因通用引物扩增获取相应菌株的16S rRNA基因序列，通过EzBioCloud网站(www.ezbiocloud.net)与已知序列进行比对分析，碱蓬2种类型果实可培养表生细菌的数量和种群分布如表2所示。

表1 碱蓬的果实类型及特征

Table 1 Types and characteristics of *Suaeda glauca* Bunge fruit

果实类型	花被	种皮颜色	种子形状	长	宽	千粒重
Fruit type	Perianth	Color of seed coat	Seed shape	Length (mm)	Width (mm)	1 000 seeds weight (g)
A型	五角星状	黄褐色	扁圆状	0.37±0.01a	0.34±0.01a	3.77±0.01a
Type A	Pentagram	Yellowish-brown	Oblateness			
B型	长圆状	黑色	球状	0.19±0.01b	0.17±0.01b	2.97±0.05b
Type B	Oblong	Black	Spheroid			

注：同一列内不同的小写字母标记的值之间差异极显著($P<0.01$)。

Note: Different letters mean difference at $P<0.01$.



图1 碱蓬的果实类型

Figure 1 The types of *Suaeda glauca* fruit

表 2 碱蓬 A 型和 B 型 2 种类型果实可培养表生细菌的数量和种群分布

Table 2 Numbers and classification of epiphytic cultivable bacteria isolated from type A and type B fruits of *Suaeda glauca* Bunge

类群 Group	属 Genus	A 型果实 Type A	B 型果实 Type B
α 变形杆菌纲		0 (0.00%)	6 (12.77%)
Alphaproteobacteria	短波单胞菌属 <i>Brevundimonas</i>	—	1 (2.13%)
	副球菌属 <i>Paracoccus</i>	—	1 (2.13%)
	根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	—	1 (2.13%)
	鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	—	3 (6.38%)
γ 变形杆菌纲		17 (25.37%)	9 (19.15%)
Gammaproteobacteria	不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	1 (1.49%)	1 (2.13%)
	嗜盐单胞菌属 <i>Halomonas</i>	—	1 (2.13%)
	<i>Kushneria</i>	5 (7.46%)	3 (6.38%)
	泛菌属 <i>Pantoea</i>	7 (10.45%)	3 (6.38%)
	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	4 (5.97%)	1 (2.13%)
放线菌纲		39 (58.21%)	24 (51.06%)
Actinobacteria	马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>	1 (1.49%)	—
	壤霉菌属 <i>Agromyces</i>	—	1 (2.13%)
	<i>Aquipuribacter</i>	—	1 (2.13%)
	短小杆菌属 <i>Curtobacterium</i>	23 (34.33%)	6 (12.77%)
	冰冻小杆菌属 <i>Frigoribacterium</i>	5 (7.46%)	7 (14.89%)
	<i>Kineococcus</i>	4 (5.97%)	—
	微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	2 (2.99%)	3 (6.38%)
	微单胞菌属 <i>Micromonospora</i>	2 (2.99%)	2 (4.26%)
	分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	1 (1.49%)	1 (2.13%)
	拟诺卡氏菌属 <i>Nocardiopsis</i>	—	1 (2.13%)
	<i>Serinicoccus</i>	—	1 (2.13%)
	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	1 (1.49%)	1 (2.13%)
		11 (16.42%)	8 (17.02%)
芽孢杆菌纲			
Bacilli	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	9 (13.43%)	8 (17.02%)
	赖氨酸芽孢杆菌属 <i>Lysinibacillus</i>	1 (1.49%)	—
	类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i>	1 (1.49%)	—

注 : — : 无菌株。

Note: —: The strain is not present.

碱蓬 A 型果实分离获得细菌菌株 67 株 , 分属于 3 大类群 , 即 γ 变形杆菌纲(Gammaproteobacteria)、放线菌纲(Actinobacteria)和厚壁菌纲(Bacilli) , 其所占比例分别为 25.37%、58.21% 和 16.42% ; 在属的水平上 , 碱蓬 A 型果实的表生细菌分属于

15 个属 , 其中短小杆菌属(*Curtobacterium*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和泛菌属(*Pantoea*)为优势属 , 其所占比例分别为 34.33% 、 13.43% 和 10.45% ; 此外 , *Kushneria* (7.46%) 、冰冻小杆菌属(*Frigoribacterium*) (7.46%) 、假单胞菌属(*Pseudomonas*)

(5.97%)和 *Kineococcus* (5.97%)所占比例也都在5%以上。

B型果实分离获得47株细菌,分属于4大类群,即 α 变形杆菌纲(Alphaproteobacteria)、 γ 变形杆菌纲、放线菌纲和厚壁菌纲,其所占比例分别为12.77%、19.15%、51.06%和17.02%;碱蓬B型果实的表生细菌分属于20个属,其中短小杆菌属、芽孢杆菌属和冰冻小杆菌属为优势属,其所占比例分别为12.77%、17.02%和14.89%;另外,鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*) (6.38%)、*Kushneria* (6.38%)、泛菌属(6.38%)和微杆菌属(*Micromonospora*) (6.38%)所占比例也均在5%以上。

对比分析碱蓬不同类型果实分离的表生细菌数量和种群组成,在纲的水平上,碱蓬A型和B型果实均具有较高比例的放线菌纲细菌,所占比例均>50%,分别为58.21%和51.06%;但 α 变形杆菌纲细菌仅存在于B型果实中,其所占比例为12.77%。碱蓬A型和B型果实分离的表生细菌共有24个属,其中2种类型果实有11个共有属,A型果实有4个特有属,B型果实有9个特有属。可见碱蓬2种类型果实可培养表生细菌的种群组成及分布比例具有显著差异。

2.3 碱蓬异型果实可培养表生细菌多样性分析

定义以16S rRNA基因序列相似性低于98.65%作为不同操作分类单元(OTU)^[28]。碱蓬2种类型果实表生细菌的多样性分析结果如表3所示。B型果实的Shannon多样性指数、Margalef丰富度指数和Shannon均匀度指数分别是3.45、8.83和0.97,显著高于A型果实的相应指数,分别提高了1.09、1.24和1.05倍;但B型果实的Berger-Parker优势度指数显著低于A型果实,仅为A型果实的1/2。

2.4 碱蓬异型果实可培养表生细菌的促生功能鉴定分析

对果实分离获得表生细菌菌株的固氮活性、溶磷活性、解钾活性、产铁载体能力和产IAA能力进行定性检测,结果如图2所示。A型果实分离获得67株细菌,共鉴定出固氮菌株47株,溶磷菌株10株,解钾菌株40株,产铁载体菌株21株,产IAA菌株16株,分别占所分离菌株总数的70.15%、14.93%、59.70%、31.34%和23.88%;而B型果实分离获得47株细菌,共鉴定出固氮菌株29株,溶磷菌株3株,解钾菌株15株,产铁载体菌株13株,产IAA菌株21株,分别占所分离菌株总数的61.70%、6.38%、31.91%、27.66%和44.68%。

表3 碱蓬A型和B型2种类型果实可培养表生细菌菌群多样性、丰富度、均匀度和优势度指数

Table 3 The diversity index, richness, evenness and dominance index of epiphytic cultivable bacterial communities from type A and type B fruits of *Suaeda glauca* Bunge

多样性分析 Diversity analysis	A型果实 Type A	B型果实 Type B
多样性指数 Diversity index		
Shannon多样性指数 Shannon index (H')	3.16	3.45
丰富度指数 Richness index		
Margalef丰富度指数 Margalef index (D_{Mg})	7.13	8.83
均匀度与优势度指数 Evenness and dominance index		
Shannon均匀度指数 Shannon evenness (E)	0.92	0.97
Berger-Parker优势度指数 Berger-Parker dominance index (d)	0.12	0.06

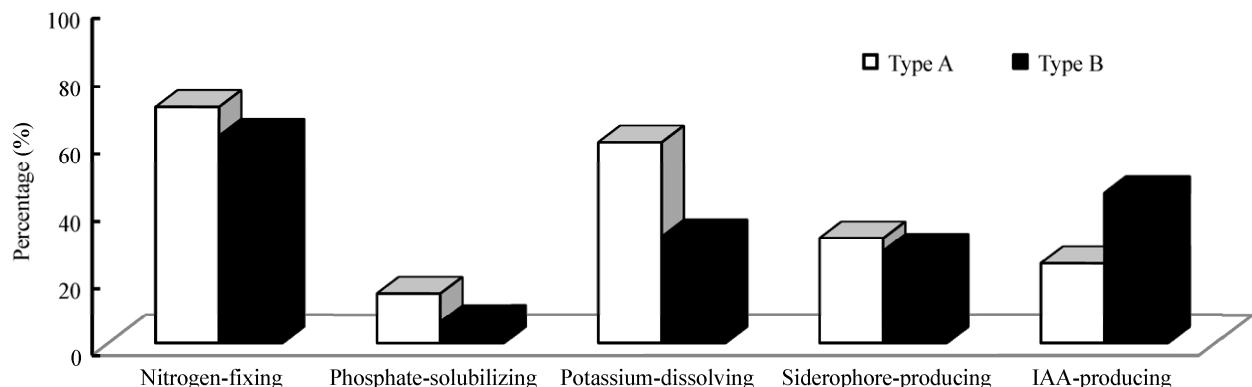


图 2 碱蓬异型果实表生细菌功能菌株的分布比例

Figure 2 The distribution of functional strains of epiphytic bacteria from type A and type B fruits of *Suaeda glauca* Bunge

综合分析表明 2 种类型果实的表生细菌均具有较高比例的固氮菌株和较低比例的溶磷菌株；固氮和产铁载体菌株所占比例相当，差异不大；而解钾和产 IAA 能力菌株在分布上具有显著变化趋势。A 型果实分离菌株中解钾菌株所占比例显著高于 B 型果实，是 B 型果实的 1.87 倍；而 B 型果实分离菌株中产 IAA 能力菌株所占比例显著高于 A 型果实，是 A 型果实的 1.81 倍。

2.5 具有潜在应用价值的功能菌株

利用 5 种分离培养基，碱蓬异型果实共分离获得 114 株细菌，其中 14 株同时具有 4 种或 4 种以上的促生功能属性(表 4)。其中 10 株来源于 A 型果实，4 株来源于 B 型果实。4 株菌株(LNNU507、LNNU509、LNNU546、LNNU563)属于泛菌属，4 株(LNNU550、LNNU551、LNNU552、LNNU586)属于假单胞菌属，2 株(LNNU508、LNNU562)属于短小杆菌属，2 株(LNNU523、LNNU569)属于芽孢杆菌属，1 株(LNNU589)属于不动杆菌属(*Acinetobacter*)，1 株(LNNU598)属于微杆菌属。

3 讨论与结论

3.1 异型果实对表生细菌群体组成的影响

盐生植物碱蓬产生 A 型和 B 型 2 种类型果实，它们在宿存花被特征、种子形状、种皮颜色和种子大小上存在显著差异，而且碱蓬异型果实表面具有丰

富的表生细菌，表生细菌类群主要分属于变形菌门、厚壁菌门和放线菌门，与 *Spinaciaoleracea* 种际细菌群体组成^[29]一致。碱蓬 A 型果实表生细菌分属于 3 大类群，即 γ 变形杆菌纲、放线菌纲和厚壁菌纲，含 15 属，其中短小杆菌属(34.33%)、芽孢杆菌属(13.43%)和泛菌属(10.45%)为优势属；B 型果实表生细菌分属于 4 大类群，即 α 变形杆菌纲、 γ 变形杆菌纲、放线菌纲和厚壁菌纲，含 20 属，其中短小杆菌属(12.77%)、芽孢杆菌属(17.02%)和冰冻小杆菌属(14.89%)为优势属。2 种类型果实具有不同的表生细菌群落组成和分布比例，可能与 2 种类型果实种子营养成分上的差异有关。宋以刚等^[30]研究发现 *Suaeda aralocaspica* 的 A 型种子(棕色)可溶性糖、可溶性蛋白、全氮、全磷及 K^+ 、 Na^+ 、 K^+/Na^+ 和 Mg^{2+}/Na^+ 含量都显著高于 B 型种子(黑色)。Fernandez 等^[31]研究也表明微生物生存环境中可利用营养物质的量是引起系统中优势菌群组成变化的重要因素。因此，碱蓬 A 型果实为细菌定殖提供了富营养生态位，产生富集效应，从而利于短小杆菌属的定殖和生存；而 B 型果实相对处于贫营养生态位，利于不同类型细菌的定殖，其优势属所占比例相差不大(12.77%–17.00%)。类似结果也存在于植物叶际生态位，单个植物种在叶表面依据叶部特征，例如角质层结构和组成、叶片年龄、化学组成、挥发性有机组分等选择不同细菌群体^[32–33]。

表4 具有潜在应用价值的功能菌株及其促生属性

Table 4 The functional bacteria with great applied potential and their growth-promoting characteristics

菌株编号 No. of isolate	属 Genus	分离 来源 Source	固氮 Nitrogen-fixing	溶磷 Phosphate-solubilizing	解钾 Potassium-dissolving	产铁 Siderophore-producing	产IAA IAA-producing
LNNU507	<i>Pantoea</i>	A型	-	+	+	+	++
LNNU508	<i>Curtobacterium</i>	A型	+	+	+	+	-
LNNU509	<i>Pantoea</i>	A型	-	+	+	+	++
LNNU523	<i>Bacillus</i>	A型	+	+	+	+	++
LNNU546	<i>Pantoea</i>	A型	+	-	+	+	++
LNNU550	<i>Pseudomonas</i>	A型	+	+	+	+	+
LNNU551	<i>Pseudomonas</i>	A型	+	+	+	+	+
LNNU552	<i>Pseudomonas</i>	A型	+	+	+	+	++
LNNU562	<i>Curtobacterium</i>	A型	+	-	+	+	+++
LNNU563	<i>Pantoea</i>	A型	+	+	+	+	+
LNNU569	<i>Bacillus</i>	B型	+	+	+	-	+++
LNNU586	<i>Pseudomonas</i>	B型	+	+	+	+	+
LNNU589	<i>Acinetobacter</i>	B型	+	-	+	+	++
LNNU598	<i>Microbacterium</i>	B型	+	-	+	+	++

注：-：阴性；+：活性一般；++：活性较高；+++：活性高。

Note: -: Negative; +: Moderate activity; ++: High activity; +++: Very high activity.

3.2 异型果实对表生细菌多样性指数的影响

物种多样性指数是物种丰富度和均匀度的函数，不同多样性指数的差别在于对这2个变量赋予的权重不同^[34]。通过多种方式综合评价物种多样性，可有效避免单一指数评价的偏颇。本文采用Shannon多样性指数、Margalef丰富度指数和Shannon均匀度指数及Berger-Parker优势度指数综合评价碱蓬2种类型果实表生细菌的多样性，碱蓬2种类型果实的Shannon多样性指数为3.16–3.45，高于东乡野生稻根际可培养细菌多样性指数(2.04–2.74)^[35]，表明碱蓬果实(种子)生态位具有丰富的细菌类群多样性。对碱蓬2种类型果实表生细菌多样性指数进行比较分析，碱蓬B型果实的Shannon多样性指数、Margalef丰富度指数和

Shannon均匀度指数显著高于A型果实。这可能与2种类型果实为微生物生存、定殖提供的不同营养生态位有关。类似结果在循环水系统黏泥细菌群落结构多样性分析中也存在，贫营养下黏泥中细菌群落多样性显著高于富营养黏泥^[36]。A型果实的Berger-Parker优势度指数显著高于B型果实，大约是2倍左右。这是因为A型果实具有高比例的短小杆菌属物种，且多分布于*Curtobacterium herbarum*(8株)、*C. pusillum*(5株)、*C. citreum*(5株)和*C. flaccumfaciens*(4株)；而B型果实短小杆菌属物种的所占比例仅为A型果实的1/2，且优势物种最多只有3株，仅分布于*C. flaccumfaciens*(3株)。

3.3 异型果实对表生细菌促生属性分布的影响

种子相关微生物在种子保存和萌发过程中具

有重要作用。当种子开始萌发时,其吸水、分泌渗出物、吸引细菌,而细菌定植于种子际、根际和幼苗,能够直接或间接促进植物生长和健康^[1]。直接促进机制包括固氮、营养代谢(溶磷,产铁)、产生生长激素(生长素,细胞分裂素)等^[37]。本文研究发现碱蓬二型果实表生细菌在固氮、溶磷、解钾、产铁载体及产IAA能力等促生属性上的分布比例有不同变化趋势,A型果实具有固氮、溶磷、解钾、产铁载体和产IAA能力的菌株分别占A型果实所分离菌株总数的70.15%、14.93%、59.70%、31.34%和23.88%;而B型果实具有固氮、溶磷、解钾、产铁载体和产IAA能力的菌株分别占B型果实所分离菌株总数的61.70%、6.38%、31.91%、27.66%和44.68%。表明A型和B型果实均具有较高比例固氮菌株及较低比例溶磷菌株;2种类型果实具相似比例的产铁载体菌株,但解钾菌株和产IAA菌株分布比例具有不同变化趋势;A型果实解钾菌株所占比例显著高于B型果实,而产IAA能力菌株所占比例显著低于B型果实。这可能与碱蓬果实的未来生长发育有关,杨帆等^[38]研究发现*Suaeda corniculata*产生2种类型种子,A型(棕色)种子不休眠,吸水更快,萌发率显著高于B型(黑色)种子,B型种子具有浅度的生理休眠。本研究发现碱蓬A型果实的种子不休眠,可快速萌发,而B型果实的种子休眠(数据未发表),A型果实具有较高比例的固氮和解钾菌株,有利于萌发后幼苗的生长和种群建立。Jha等^[39]研究发现在盐碱条件下解钾细菌可诱导植物生长,通过提高植物生理活性和抗氧化酶活性而防止植物受盐胁迫伤害。B型果实具有较高比例产IAA菌株,有利于后期B型果实种子休眠的打破,Tsavkelova等^[40]研究表明利用产IAA根际细菌*Sphingomonas* sp. 和*Mycobacterium* sp. 接种*Dendrobium moschatum*的种子,可显著提高种子萌发率。此外,在本研究分离获得的114株细菌中,筛选出同时具有4种或4种以上促生功能属性的菌株14株,其中10株来源于A型果实,4株来源于B型果实,表明碱蓬A型果实具有较高比例具促生

功能活性的菌株,且主要分布于泛菌属和假单胞菌属。Truyens等^[5]研究表明在不适宜或者严酷环境条件下接种源自种子的细菌可改善植物生长,如种植细菌*Pseudomonas* sp. SENDO 2、*Acinetobacter* sp. SENDO 1和*Bacillus* sp. SENDO 6可改善仙人掌的生长^[41]。因此,对于这部分功能活性菌株在逆境条件下对碱蓬种子萌发和幼苗生长的影响还有待进一步研究验证。

综上所述,盐生植物碱蓬异型果实具有不同的表生细菌群落组成、物种构成比例,以及不同比例的促生功能属性菌株,这可能与碱蓬异型果实不同的生态适应策略密切相关。由于传统纯培养方法在研究植物相关细菌的种群组成及多样性上具有一定局限^[42],我们将进一步利用免培养方法研究碱蓬异型果实相关细菌的群落组成及多样性,以期全面了解碱蓬异型果实的相关微生物信息及功能作用。

REFERENCES

- Nelson EB. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere[J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42: 271-309
- Zou YY, Liu Y, Wang JH, et al. Advances in plant seed-associated microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(10): 2906-2914 (in Chinese)
邹媛媛, 刘洋, 王建华, 等. 种子微生物生态学研究进展[J]. 生态学报, 2011, 31(10): 2906-2914
- Liu L, Liu Y, Qiu FB, et al. Advances of studies onmicro-ecology in the spermosphere[J]. Microbiology China, 2008, 35(11): 1811-1816 (in Chinese)
刘琳, 刘洋, 邱服斌, 等. 植物种子际微生态学研究进展[J]. 微生物学通报, 2008, 35(11): 1811-1816
- Grum M, Camloh M, Rudolph K, et al. Elimination of bean seed-borne bacteria by thermotherapy and meristem culture[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1998, 52(1/2): 79-82
- Truyens S, Weyens N, Cuypers A, et al. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants[J]. Environmental Microbiology Reports, 2015, 7(1): 40-50
- Shahzad R, Waqas M, Khan AL, et al. Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 106: 236-243
- Ruiza D, Agaras B, de Werrab P, et al. Characterization and Screening of plant probiotic traits of bacteria isolated from rice seeds cultivated in Argentina[J]. The Journal of Microbiology,

- 2011, 49(6): 902-912
- [8] Bertani I, Abruscato P, Piffanelli P, et al. Rice bacterial endophytes: isolation of a collection, identification of beneficial strains and microbiome analysis[J]. Environmental Microbiology Reports, 2016, 8(3): 388-398
- [9] Zou YY, Liu L, Liu Y, et al. Diversity of indigenous bacterial communities in *Oryza sativa* seeds of different varieties[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2012, 36(8): 880-890 (in Chinese)
邹媛媛, 刘琳, 刘洋, 等. 不同水稻品种种子固有细菌群落的多样性[J]. 植物生态学报, 2012, 36(8): 880-890
- [10] Wang WP, Li NN, Li N, et al. Diversity of endophytic bacterial communities in seeds of super hybrid rice Shenliangyou 5814 by traditional microbial culture technique[J]. Hybrid Rice, 2016, 31(4): 61-66 (in Chinese)
王伟平, 李南南, 黎妮, 等. 基于微生物分离培养的超级杂交水稻深两优 5814 种子内生细菌多样性研究[J]. 杂交水稻, 2016, 31(4): 61-66
- [11] Zou YY, Liu Y, Zhao L, et al. Research on the diversity of indigenous bacterial community in the seeds of two rice varieties with different disease-resistance[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18(4): 9-16 (in Chinese)
邹媛媛, 刘洋, 赵亮, 等. 两种抗病性不同的水稻种子固有细菌群落的多样性研究[J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(4): 9-16
- [12] Jiang XY, Gao JS, Xu FH, et al. Diversity of endophytic bacteria in rice seeds and their secretion of indole acetic acid[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2013, 53(3): 269-275 (in Chinese)
姜晓宇, 高菊生, 徐凤花, 等. 水稻种子内生细菌多样性及其分泌植物生长素能力的测定[J]. 微生物学报, 2013, 53(3): 269-275
- [13] Liu Y, Zuo S, Zou YY, et al. Diversity of endophytic bacterial communities in seeds of hybrid maize (*Zea mays* L., Nongda108) and their parental lines[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(23): 4763-4771 (in Chinese)
刘洋, 左山, 邹媛媛, 等. 杂交玉米农大 108 及其亲本种子内生细菌群落的多样性[J]. 中国农业科学, 2011, 44(23): 4763-4771
- [14] López-López A, Rogel MA, Ormeño-Orrillo E, et al. *Phaseolus vulgaris* seed-borne endophytic community with novel bacterial species such as *Rhizobium endophyticum* sp. nov.[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2010, 33(6): 322-327
- [15] Herrera SD, Grossi C, Zawoznik M, et al. Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum*[J]. Microbiological Research, 2016, 186-187: 37-43
- [16] Shi XH, Cheng C, Li YQ, et al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from the seed of *Caragana leucophloea* Pojark[J]. Microbiology China, 2016, 43(1): 164-171 (in Chinese)
时晓寒, 程聪, 李玉倩, 等. 白皮锦鸡儿种子内生细菌的分布与分离鉴定[J]. 微生物学通报, 2016, 43(1): 164-171
- [17] Li SF, Wang GH, Rao JM, et al. Effects of endophytic fungi from common ragweed on seed germination and seedling development of its host plant[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(21): 7011-7022 (in Chinese)
李绍锋, 王国红, 饶佳媚, 等. 豚草种带内生真菌及其对种子发芽和幼苗生长的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(21): 7011-7022
- [18] Cheng C, Liu Y, Cao YH, et al. Separation and screening of endophytic bacteria in Xisha wild Noni (*Morinda citrifolia* L.) seed[J]. Biotechnology Bulletin, 2013(9): 142-145 (in Chinese)
程池, 刘洋, 曹艳花, 等. 西沙野生诺尼种子内生细菌的分离与筛选[J]. 生物技术通报, 2013(9): 142-145
- [19] Yao XL, Kang QJ, Xiong SZ, et al. Isolation and identification of endophytic actinomycetes from the seeds of *Camptotheca acuminata* Decne. and isolation of antimicrobial substances from those endophytic actinomycetes[J]. Microbiology China, 2014, 41(6): 1109-1120 (in Chinese)
姚晓玲, 康前进, 熊顺子, 等. 喜树种子内生放线菌的分离鉴定及抗菌活性物质初分离[J]. 微生物学通报, 2014, 41(6): 1109-1120
- [20] Liu Y, Zuo S, Xu LW, et al. Study on diversity of endophytic bacterial communities in seeds of hybrid maize and their parental lines[J]. Archives of Microbiology, 2012, 194(12): 1001-1012
- [21] Li NN, Li N, Zhao R, et al. Diversity of endophytic bacterial communities in parental seeds of outstanding hybrid rice (*Oryza sativa* L.) in the milk[J]. Journal of Microbiology, 2017, 37(2): 20-25 (in Chinese)
李南南, 黎妮, 赵燃, 等. 优异杂交水稻亲本灌浆期种子内生细菌多样性研究[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(2): 20-25
- [22] Imbert E. Ecological consequences and ontogeny of seed heteromorphism[J]. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2002, 5(1): 13-36
- [23] Liu SE. Flora of Northeast Herbaceous Plant 2[M]. Beijing: Science Press, 1959 (in Chinese)
刘慎谔. 东北草本植物志第二卷[M]. 北京: 科学出版社, 1959
- [24] Chun J, Goodfellow M. A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(2): 240-245
- [25] Xu XW, Wu M, Dilbar T, et al. Halophilic archaea diversity of Aibi lake and Yiwu lake in Xinjiang[J]. Biodiversity Science, 2006, 14(4): 359-362 (in Chinese)
许学伟, 吴敏, 迪丽拜尔·托乎提, 等. 新疆艾比湖和伊吾湖可培养嗜盐古菌多样性[J]. 生物多样性, 2006, 14(4): 359-362
- [26] Zhang YJ, Qin S, Bian GK, et al. Isolation, screening and phylogenetic analysis of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase from *Jatropha curcas* L.[J]. Microbiology China, 2012, 39(7): 901-911 (in Chinese)
张越己, 秦盛, 卞光凯, 等. 具有 ACC 脱氨酶活性的麻疯树根际促生菌(PGPR)的分离筛选及系统发育分析[J]. 微生物学通报, 2012, 39(7): 901-911
- [27] Xu T, Yang LQ, Song Y, et al. Endophytic bacterial community structure and function of *Stipa* roots from different types of steppes in northern China[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015,

- 34(11): 3101-3110 (in Chinese)
胥婷, 杨丽强, 宋宇, 等. 不同草原类型针茅根部可培养内生细菌群落结构及其功能[J]. 生态学杂志, 2015, 34(11): 3101-3110
- [28] Kim M, Oh HS, Park SC, et al. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of Prokaryotes[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(2): 346-351
- [29] Lopez-Velasco G, Carder PA, Welbaum GE, et al. Diversity of the spinach (*Spinacia oleracea*) spermophore and phyllosphere bacterial communities[J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 346(2): 146-154
- [30] Song YG, Li L, Zhang XM, et al. Differences of seed coat structure and ions content between dimorphic seeds of *Borszczowia aralocaspica*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2012, 32(3): 290-295 (in Chinese)
宋以刚, 李利, 张希明, 等. 异子蓬二型性种子的种皮结构及离子含量差异[J]. 植物研究, 2012, 32(3): 290-295
- [31] Fernandez AS, Hashsham SA, Dollhopf SL, et al. Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(9): 4058-4067
- [32] Redford AJ, Bowers RM, Knight R, et al. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(11): 2885-2893
- [33] Kim M, Singh D, Lai-Hoe A, et al. Distinctive phyllosphere bacterial communities in tropical trees[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(3): 674-681
- [34] Ma KP, Huang JH, Yu SL, et al. Plant community diversity in Dongling mountain, Beijing, China: II. Species richness, evenness and species diversities[J]. Acta Ecologica Sinica, 1995, 15(3): 268-277 (in Chinese)
马克平, 黄建辉, 于顺利, 等. 北京东灵山地区植物群落多样性的研究 II 丰富度、均匀度和物种多样性指数[J]. 生态学报, 1995, 15(3): 268-277
- [35] Luo F, Wang Y, Zeng QG, et al. Diversity and plant growth promoting activities of the cultivable rhizobacteria of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*)[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(4): 476-484 (in Chinese)
罗菲, 汪涯, 曾庆桂, 等. 东乡野生稻根际可培养细菌多样性及其植物促活性分析[J]. 生物多样性, 2011, 19(4): 476-484
- [36] Ma T, Liu F, Zhao CC, et al. Analysis of bacterial community diversity of biofouling in recirculating cooling water system by using PCR-DGGE[J]. Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section), 2011, 27(3): 493-500 (in Chinese)
马涛, 刘芳, 赵朝成, 等. 循环水系统黏泥细菌群落结构多样性的PCR-DGGE分析[J]. 石油学报(石油加工), 2011, 27(3): 493-500
- [37] Weyens N, Van Der Lelie D, Taghavi S, et al. Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(2): 248-254
- [38] Yang F, Cao DC, Yang XJ, et al. Adaptive strategies of dimorphic seeds of the desert halophyte *Suaeda corniculata* in saline habitat[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2012, 36(8): 781-790 (in Chinese)
杨帆, 曹德昌, 杨学军, 等. 盐生植物角果碱蓬种子二型性对环境的适应策略[J]. 植物生态学报, 2012, 36(8): 781-790
- [39] Jha Y, Subramanian RB. Regulation of plant physiology and antioxidant enzymes for alleviating salinity stress by potassium-mobilizing bacteria[A]/Meena VS, Maurya BR, Verma JP, et al. Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture[M]. New Delhi: Springer, 2016, DOI: 10.1007/978-81-322-2776-2_11
- [40] Tsavkelova EA, Cherdynseva TA, Klimova SY, et al. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin[J]. Archives of Microbiology, 2007, 188(6): 655-664
- [41] 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
- [42] Chen ZB, Xia ZY, Lei LP, et al. Diversity of cultivable endophytic bacteria isolated from tobacco[J]. Microbiology China, 2011, 38(9): 1347-1354 (in Chinese)
陈泽斌, 夏振远, 雷丽萍, 等. 烟草可培养内生细菌的分离及多样性分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(9): 1347-1354