



研究报告

薄层菌 L28 的分离鉴定及其对马铃薯快繁苗生长的促进作用

路晓培 唐凯 李蘅 程永乐 杨杉杉 郭慧玲 郭惠琴 云欣悦 冯福应*

内蒙古农业大学生命科学学院 应用与环境微生物研究室 内蒙古 呼和浩特 010018

摘要:【背景】薄层菌(*Hymenobacter*)是不利生长环境(如营养贫瘠的荒漠土壤)中的优势细菌类群,目前对该类菌的研究集中于分离鉴定,尚无对植物促生相关的研究报道。【目的】从浑善达克荒漠土壤分离鉴定细菌,并分析菌株对马铃薯快繁苗生长的影响。【方法】基于选择性培养基,以涂布划线方法进行细菌的分离培养;扩增 16S rRNA 基因并测序,分析序列相似性和系统发育,并参考形态和生理生化特征对菌株进行初步分类鉴定;以选择性培养基或比色法等方法对纯培养物进行促生性状分析;采用 MS 固体培养基分析菌株对马铃薯快繁苗生长的影响。【结果】分离得到一株编号为 L28 的细菌,其 16S rRNA 基因序列与 *Hymenobacter koreensis* GYR3077^T 的相似性最高,为 96.46%;菌株 L28 具有固氮、解磷酸钙-磷、解植酸磷-磷、产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA) (7.51 mg/L)、产铁载体(*D/d* 为 2.47)和有 1-氨基环丙烷羧酸(1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶活性等多种植物促生特性;接种 L28 相比不接种显著提高了马铃薯快繁苗的节点数、株高、根长、茎长、根干重和茎干重(提高了 28.57%–234.94%);移栽后,接种菌株 L28 相比不接种显著提高了种薯数量和重量,分别提高了 40%和 181.87%。【结论】分离自浑善达克荒漠土壤的菌株 L28 属于 *Hymenobacter*, 具有多种植物促生特性,能显著促进马铃薯快繁苗生长及其移栽后种薯的形成,可作为植物促生菌种,在马铃薯生产中具有良好应用前景。

关键词: 薄层菌属, 马铃薯, 快繁苗, 植物促生特性

Foundation items: Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2019MS03011); Science and Technology Innovation-oriented Project of Inner Mongolia Autonomous Region (2017); Undergraduate Innovation and Entrepreneurship Training Program of Inner Mongolia Agricultural University (201710129009, 201910129006)

*Corresponding author: Tel: 86-471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

Received: 02-01-2020; Accepted: 25-02-2020; Published online: 28-05-2020

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2019MS03011); 内蒙古自治区科技创新引导项目(2017); 内蒙古农业大学大学生创新创业训练计划(201710129009, 201910129006)

*通信作者: Tel: 0471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

收稿日期: 2020-01-02; 接受日期: 2020-02-25; 网络首发日期: 2020-05-28

Isolation and identification of *Hymenobacter* sp. L28 for rapid propagation potato plantlet

LU Xiao-Pei TANG Kai LI Heng CHENG Yong-Le YANG Shan-Shan
GUO Hui-Ling GUO Hui-Qin YUN Xin-Yue FENG Fu-Ying*

Laboratory for Applied and Environmental Microbiology, College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010018, China

Abstract: [Background] *Hymenobacter* is dominant in bacteria in adverse environment (e.g. desert soil with nutrition poor). The research on this group has focused on the isolation and identification, yet until now there no the plant growth promotion is studied. [Objective] To isolate and identify bacteria from the soil of Desert Hunshandake, and evaluate the effect on the growth of potato rapid propagation plantlet. [Methods] On selective media, spread and streak plating was employed to isolate. For the primary taxonomic identification, 16S rRNA gene was PCR amplified and sequenced and the similarity and phylogeny were analyzed, combined with the basic morphological, physiobiochemical characteristics analysis. The plant growth-promoting traits were characterized on selective media or colorimetry. MS media was used to assay the effect on the growth of potato rapid propagation plantlet. [Results] A bacterial strain, designated as L28, was obtained in this study. Strain L28 showed the highest 16S rRNA gene sequence similarity of 96.46% with *Hymenobacter koreensis* GYR3077^T. The strain possessed multiple plant growth-promoting traits, including nitrogen fixation, Ca₃(PO₄)₂-P dissolving, phytate-P degrading, indole-3-acetic acid (IAA) producing (7.51 mg/L), siderophore producing ($D/d=2.47$) and 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase active. Compared to the uninoculated, the inoculation of L28 markedly increased the plantlet's node number, height, root length, stem length, dry weight of root, and dry weight of stem with the increments of 28.57%–234.94%; for transplanted plant, the inoculation of L28 significantly elevated the number and weight of potato tuber seed with the increments of 40% and 181.87%, respectively. [Conclusion] Bacterial isolate L28 from the soil of Desert Hunsandake belongs to the genus *Hymenobacter*, and has multiple plant growth promoting traits. The strain markedly promotes the growth of rapid propagation potato plantlet and the development of potato tuber. It can be used as a plant growth promoting agent and has important prospect in potato production.

Keywords: *Hymenobacter*, Potato, Rapid propagation plantlet, Plant growth-promoting traits

马铃薯是世界范围内广泛种植、粮菜兼用的作物, 其环境适应性强、块茎营养高、经济价值高^[1]。中国目前是全球最大的马铃薯生产国家^[2]。马铃薯作为继水稻、小麦和玉米之后的第四大主粮, 通过政策引导和提高生产技术可有效提升中国粮食的自给^[3]。种薯携带和土传的大量病害常导致产量和品质大幅降低, 成为马铃薯生产的最主要限制性问题; 通常采用优质和健康的种薯是解决这一问题、实现马铃薯生产可持续的最有效途径之一, 而克隆快繁技术可长期提供优质和健康的种薯^[4]。马铃薯快繁技术增产效果明显, 前景广阔^[5]。马铃薯快繁苗(试管苗)采用离体茎尖培

养, 之后进行亚克隆扩繁和移苗栽培来生产马铃薯种薯。然而, 离体茎尖培养或茎段扩繁过程中反复继代, 常会出现快繁苗生长缓慢、茎细和根不发达等发育不良问题, 这些问题使得快繁苗继代繁育周期延长和移栽后植株不生长、叶片脱落甚至死亡, 最终导致种薯产量低、质量差、生产成本增加^[4]。Tkachenko 等^[6]研究发现接种固氮螺菌(*Azospirillum*)促进了茎段扩繁快繁苗的生长, 提高了移苗成活率以及种薯的产量和品质。可见, 接种微生物可能是应对和解决马铃薯快繁过程中所存在问题的一种有效方式。

薄层菌(*Hymenobacter*)在空气、土壤和水体

环境中均存在,多分离于极端环境,如南极和沙漠土壤,具有较强的抗辐射或耐贫瘠等特性^[7]。然而,目前尚未见有关薄层菌具有植物促生作用的相关研究报道。

本研究筛选到一株编号为 L28 的薄层菌,其具有固氮以及其他多种植物促生性状且相关能力较强,能显著促进马铃薯茎段繁殖快繁苗茎粗、根长和节点数的增加,以及种薯产量的提高,这为该菌应用于马铃薯生产提供了理论依据和实践基础。

1 材料与方 法

1.1 马铃薯栽培品种

马铃薯茎段繁殖快繁苗由内蒙古农业大学园艺与植物保护学院赵君教授惠赠,品种为下坡地。

1.2 主要试剂和仪器

DL2000 DNA Marker, Biometra 公司。生物安全柜,苏州安泰空气技术有限公司;恒温光照培养箱,上海精宏实验设备有限公司;PCR 仪, Biometra 公司。

1.3 培养基

MS 培养基按 Murashige 等^[8]配制。无机磷培养基、LB 液体培养基、Ashby 培养基、R2A 培养基、DF 培养基和 ADF 培养基参照杨杉杉等^[9]配制。

1.4 细菌的初筛分离及纯化

将采集自浑善达克荒漠的生物土壤结皮样品进行梯度稀释,吸取稀释液涂布于 1/2 R2A 培养基(R2A 培养基的碳源水平降低一半),之后挑取单菌落反复划线至无杂菌长出。纯化后的菌置于灭菌的 40%甘油中,于-80 °C 保存。

1.5 菌株的分类鉴定

1.5.1 形态学观察及生理生化特征鉴定

将分离纯化所得菌株在 1/2 R2A 平板上活化,28 °C 培养 3 d,观察菌落特征,进行革兰氏染色^[10];按照《常见细菌系统鉴定手册》^[11]分析

生理生化特征。

1.5.2 16S rRNA 基因扩增、序列分析和基因组测序

采用碱裂解法提取菌株 DNA,以菌株基因组 DNA 为模板,采用 27F (5'-AATAGTCGACATG GTGAGCAAGGGCGAG-3')和 1492R (5'-ATTGA GCTCGATCACTCTCGGCATGGAC-3')为引物,PCR 反应体系和反应条件参考杨鸿儒^[12]扩增 16S rRNA 基因。PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行纯化及测序。将所得序列在 NCBI 中以 BLASTn 在线进行分类分析并获取近缘模式种序列;之后基于 Neighbor-Joining 法,以默认模型和参数,利用 MEGA 10.0 软件中相关模块构建系统发育树。

1.6 植物促生性状分析

1.6.1 固氮、解磷能力的定性分析

参考文献[12],先将分离纯化所得菌株转接到 1/2 R2A 固体培养基上活化培养 24-48 h;挑选生长迅速、特征典型的单菌落划线接种到 Ashby 固体培养基上培养;然后再将在 Ashby 固体培养基上生长迅速的单菌落划线接种到无机磷和植酸磷固碳培养基培养。所有培养均于 28 °C 培养箱中进行,每种培养重复 3 次;培养 5 d 左右能在 Ashby 和解磷培养基上长出大量菌落的则初步视为具有固氮和解无机磷或植酸磷潜力。

1.6.2 分泌 IAA 能力的测定

参考 Glickmann 等^[13]对菌株产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)能力进行分析。

1.6.3 ACC 脱氨酶活性的定性分析

参考文献[9]对菌株 1-氨基环丙烷羧酸(1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶活性进行测定。

1.6.4 产铁载体能力的测定

参考文献[12]对菌株的产铁载体能力进行测定。

1.6.5 NH₃ 产生能力的测定

参照康贻军等^[14]的方法对菌株的产 NH₃ 能力

进行测定。

1.7 接种细菌对马铃薯生长的影响分析

参考 Murashige 等^[8]的方法进行快繁苗扩繁: 选择生长均匀一致的母苗(未接菌的、按常规繁育的), 切下最下端含一个茎节点的长度约 1 cm 的茎段。设置 2 个处理, 分别是接菌的处理(pL28)和不接菌的对照(CK), 每个处理各 5 个重复。

制备菌悬液: 参考 Tkachenko 等^[6], 在 28 °C、转速 160 r/min 下以 1/2 R2A 液体培养基培养 3 d, 菌液以 10 000×g 离心 10 min, 将收集到的菌体用生理盐水稀释制成菌悬液(菌浓度约为 5×10⁶ CFU/mL)。

接种菌悬液: 将 1 mL 菌悬液与 50 mL 未凝固的 MS 培养基(约 50 °C)混合均匀, 菌终浓度为 10⁵ CFU/mL, 迅速倒入到植物组织培养瓶(直径 10 cm, 高 15 cm)中; 待培养基凝固后, 将茎段插入培养基中, 置于 25 °C、光照强度 2 000 lx、光暗周期 16 h/8 h 条件下培养 25 d, 观测快繁苗的株高、根长、节点数、茎粗、根干重和茎干重。

移苗和盆栽: 将快繁苗取出(切取培养基, 保证根系完整), 埋入土壤中, 于 25–30 °C、光照强度 4 500 lx、光暗周期 16 h/8 h 条件下进行盆栽培养, 培养 60 d 时覆土(约 5 cm)一次, 培养 120 d 后测定株高、节点数、茎干重、根干重、种薯数量及种薯大小。扩繁快繁苗接菌处理 pL28 和不接菌处理 CK 盆栽各设 10 个重复。实验所用土壤取自内蒙古农业大学新校区校园试验田, 添加 1/5 体积的蛭石混合均匀, 以 1×10⁵ Pa 灭菌 30 min 后再次翻拌混合均匀后分装入盆。

1.8 统计分析

用 Excel 和 SPSS V15.0 软件进行数据的统计分析, 以 K-S 结果为准, 对数据进行正态分布分析后选用单因素方差分析(one-way ANOVA)和显著极差法(significant difference, SD), 显著差异水平 0.05 用小写字母表示。

2 结果与分析

2.1 菌株 L28 的分类鉴定

2.1.1 形态学观察

分离得到一株细菌, 编号为 L28, 其细胞呈杆状, 细胞大小为(0.68–0.81)×(1.12–1.21) μm, 专性好氧, 革兰氏阴性(G⁻); 28 °C 下于 R2A 培养基上培养 48 h 后, 菌落形态特征为圆形、边缘光滑、表面湿润、颜色为淡粉色。

2.1.2 L28 的基础生理生化特征

基础生理生化特征(表 1)表明: 菌株 L28 有较宽泛的生长温度范围(4–39 °C), 有较窄的盐度耐受范围(NaCl, 0%–0.5%), pH 6.2–8.0 为生长适应范围; 不能水解明胶, 硝酸还原酶呈阳性。

2.1.3 16S rRNA 基因序列及其系统发育分析

测序所得菌株 L28 的 16S rRNA 基因片段长度为 1 241 bp, 该序列与模式种 *Hymenobacter koreensis* GYR3077^T 的相似性最高, 为 96.46%。菌株 L28 的 16S rRNA 基因在 GenBank 的登录号为 MN826717。系统发育分析结果(图 1)表明, 菌

表 1 菌株 L28 的基础生理生化特征

Table 1 Basic physiological and biochemical characteristics of strain L28

特征 Characteristics	实验结果 Results
精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	–
脲酶 Urease	–
七叶灵水解 Aesculin hydrolysis	+
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
明胶水解 Hydrolysis of gelatin	–
麦芽糖 Maltose	+
乙酰葡萄糖胺 Acetylglucosamine	+
阿拉伯糖 Arabinose	W
甘露糖 Mannose	W
β-半乳糖苷酶 β-galactoglycase	+
pH (optimum)	6.2–8.0 (7.0)
NaCl range (optimum) (% W/V)	0–0.5 (0)
Temperature range (optimum) (°C)	4–39 (25)

注: +: 阳性或能够利用; -: 阴性或不能利用; W: 弱阳性。
Note: +: Positive (growth or reaction); -: Negative (no growth or no reaction); W: Weakly positive.

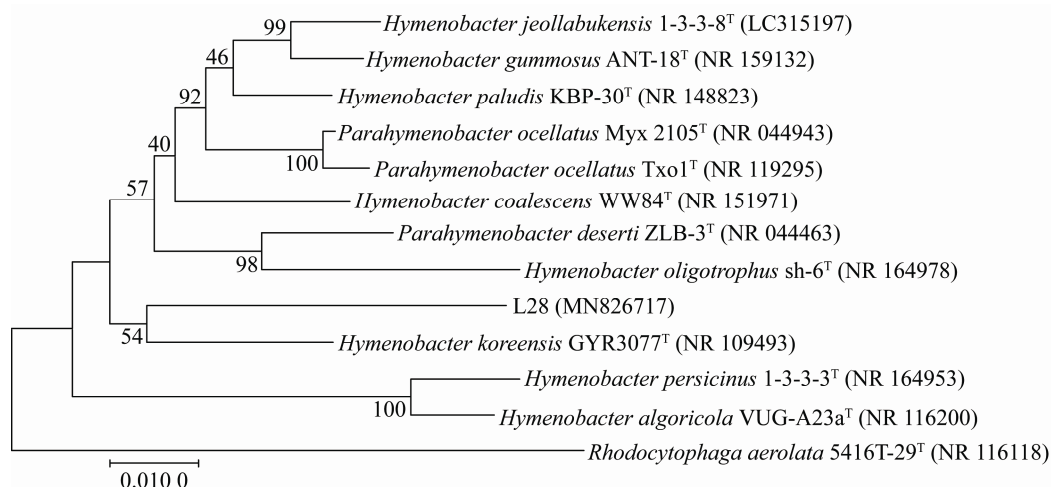


图 1 菌株 L28 基于 16S rRNA 基因的系统发育进化树

Figure 1 Phylogeny tree of strain L28 based on 16S rRNA genes

注：括号中的序号代表序列的 GenBank 登录号；分支点处仅显示大于 50% 的节点值(1 000 次重复抽样的百分比)；0.010 0 标尺代表序列间分歧度；使用 *Rhodocytophaga aerolata* 5416T-29^T (NR 116118) 为外类群；图中 *Parahymenobacter* 的种为尚未被国际原核生物系统学委员会承认的分类命名。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Bootstrap values higher than 50% are shown at branching points (expressed as percentages of 1 000 replications); Bar 0.010 0 represents sequence divergence; Using *Rhodocytophaga aerolata* 5416T-29^T (NR 116118) as the outgroup; Species of *Parahymenobacter* yet unauthorized so far by the International Committee on Systematics of Prokaryotes.

株 L28 处于独立的分支，且与已知的近缘种进化距离较远，表明菌株 L28 可能代表着 *Hymenobacter* 属的一个新种。

2.2 菌株 L28 促生性状分析

菌株 L28 能在选择性的固氮 Ashby 培养基和以 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 或植酸磷为唯一磷源的固体培养基上生长迅速，表明其具有较强的固氮、解无机磷—— $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 和有机磷——植酸磷的能力；菌株 L28 可产 IAA，培养后菌液中 IAA 浓度可达 7.51 mg/L；有 ACC 脱氨酶活性；产铁载体能力较强(橙色晕圈直径与菌落直径比值 D/d 为 2.47)；不具有产 NH_3 的能力。可见，菌株 L28 是具有多种植物促生性状且相关能力较强的菌株。

2.3 菌株 L28 促进马铃薯快繁苗生长的效果

接种菌株 L28 能显著促进培养于组培瓶里的马铃薯快繁苗的生长(图 2, 表 2)：pL28 (接种菌株 L28)处理相比 CK (未接菌的对照)的株高、根长、节点数、茎粗、根干重和茎干重分别增加 79.47%、36.03%、28.57%、31.73%、234.94%、



图 2 培养于组培瓶的马铃薯快繁苗生长性状

Figure 2 Profile of rapid propagation potato plantlets grown in tissue-culture bottle

注：CK 和 pL28 分别代表未接种和接种 L28 的处理。

Note: CK and pL28 represent the nothing-inoculated and strain L28-inoculated, respectively.

表 2 接种菌株 L28 对培养于组培瓶的马铃薯快繁苗生长的影响

Table 2 Effects of L28 inoculation on the growth of rapid propagation potato plantlets grown in tissue-culture bottle

指标 Index	CK	pL28
株高 Plant height (cm)	4.75±1.35b	8.53±1.43a
根长 Root length (cm)	5.86±0.98b	7.98±1.35a
节点数 Node number	7±0.71b	9±1.22a
茎粗 Stem diameter (mm)	1.06±0.06b	1.40±0.12a
根干重 Root dry weight (g)	0.004 15±0.005b	0.013 9±0.003a
茎干重 Stem dry weight (g)	0.016±0.006b	0.019 6±0.004a

注: CK 和 pL28 分别代表未接种和接种 L28 的处理; 表中数据为重复处理的平均值±标准误差; 数据符合 $P=0.2>0.05$, 服从正态分布; 小写字母代表 0.05 差异显著性水平。

Note: CK and pL28 represent the nothing-inoculated and strain L28-inoculated, respectively; Data are presented as Mean±SD; The normal distribution for the data was tested with P value=0.2>0.05, following normal distribution; The lowercase letters indicate significant difference at the level of 0.05.

84.75%, 差异达到了显著水平($P<0.05$)。

另外, pL28 所繁育出的快繁苗在移苗后盆栽马铃薯苗相比 CK 的株高、节点数、根茎干重以及种薯的数量和重量均有提高(图 3 和表 3), 分别提高了 4.97%、8.77%、6.62%、53.10%、40%、181.87%, 其中种薯的数量和重量差异都达到了显著水平($P<0.05$)。

3 讨论

目前已报道的 *Hymenobacter* 种有 65 个^[15], 其中很多是分离于有较强逆境胁迫(如干旱、低温、重金属和紫外辐射等)的环境, 具有抗氧化和耐贫瘠的特点^[16]。本研究从浑善达克荒漠中分离纯化到一株细菌 L28, 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育分析表明该菌株与 *Hymenobacter* 的成员最近缘(图 1), 细胞和菌落形态以及基础生理生化特征(表 1)也与近缘种 *Hymenobacter koreensis* GYR3077^T 等相近^[17]。但 16S rRNA 基因序列与最近缘的序列相似性低于经典的细菌种分类的 Cutoff 值(97%); 基础生理生化特征中也存在一些差异(如菌株 L28 不能水解明胶, 而其他种可以); 特别是菌株 L28 具有多种植物促生特性且促生能力较强, 如固氮等, 这在其他种中尚无明确报道。

激素是调控克隆植物发育的重要物质^[18]。生长素(如 IAA)可调控植物细胞的分裂, 促进植物根系发育; ACC 脱氨酶可降解乙烯合成前体, 抑制乙烯的产生而防止植物老化死亡, 有助于植物抵抗逆境、促进生长^[19]。真菌常是农业生产和生态系统中最主要的植物病原微生物^[20]。铁载体除了像固



图 3 马铃薯快繁苗盆栽生长性状

Figure 3 Profile of rapid propagation potato plantlets planted in pot

注: CK 和 pL28 分别代表未接种和接种 L28 的处理。

Note: CK and pL28 represent the nothing-inoculated and strain L28-inoculated, respectively.

表 3 菌株 L28 接种对移栽马铃薯快繁苗生长的影响

Table 3 Effects of L28 inoculation on the growth of rapid propagation potato plantlets planted in pot

指标 Index	CK	pL28
株高 Plant height (cm)	14.57±2.07a	15.3±3.14a
节点数 Node number	14.25±1.08a	15.5±3.35a
根干重 Root dry weight (g)	0.151±0.13a	0.161±0.05a
茎干重 Stem dry weight (g)	0.113±0.09b	0.173±0.15a
种薯数量 Number of potato	5±1b	7±1a
种薯重量 Potato weight (g)	0.193±0.95b	0.544±0.25a

注: CK 和 pL28 分别代表未接种和接种 L28 的处理; 表中数据为重复处理的平均值±标准误差; 数据符合 $P=0.2>0.05$, 服从正态分布; 上标小写字母代表 0.05 差异显著性水平。

Note: CK and pL28 represent the nothing-inoculated and strain L28-inoculated, respectively; Data are presented as Mean±SD; The normal distribution for the data was tested with P -value=0.2>0.05, following normal distribution; The superscript lowercase letters indicate significant difference at the level of 0.05.

氮和解磷功能可增加对植物铁的供给外, 还因其螯合铁离子后不能被真菌吸收而具有了抑制植物病原真菌的能力^[21]。矿物质营养, 如氮素形态和水平对马铃薯快繁苗等的生长发育有重要影响^[22-23]。本研究从浑善达克荒漠分离得到的菌株 L28 在相应选择性培养基上生长迅速、菌量多, 具有较强的固氮潜力及解磷和产铁载体等能力, 可能是其适应荒漠土壤营养贫瘠的表型特征之一; 但菌株 L28 不具有产 NH_3 能力, 不能分泌 NH_3 直接提升环境氮素水平, 而其他能力, 特别是产植物激素 IAA 和具有 ACC 脱氨酶活性, 也使其具有了促进植物生长的潜力。目前尚未见 *Hymenobacter* 菌促进植物生长的相关研究报道。

在自然环境中, 根际微生物在确保植物良好生长发育中起关键作用^[24]。但传统观点认为以植物组织进行离体培养快繁苗时有微生物的存在是有害的, 要进行无菌操作; 而快繁苗从无菌环境移栽到土壤中时易受生物和非生物胁迫影响, 环境适应性差而使生长发育不良, 甚至死亡^[25]。研究表明, 在组织培养时接种合适的微生物会促进快繁苗生长, 提高育苗质量, 使移栽成活率提高, 也使得最终产量和品质提升^[6,24-26], 应用潜力巨大^[27]。以快繁苗繁育脱毒高质的种薯是当前马铃薯生产中常用的技术^[28], 相关技术还有许多

方面可以改进和提高^[29-30]。目前仅有 *Azosprillum brasilense* 被报道接种于组培阶段的马铃薯快繁苗, 促进了快繁苗根系更长、节点数增加^[6]。类似地, 本研究接种菌株 L28 于组培阶段的马铃薯快繁苗同样显著提高了快繁苗的根长、节点数, 此外还使得其茎粗和地上地下生物量(干重)明显增加(图 2, 表 2); 移栽后快速适应环境(数据未列: 3-5 d, 为对照的一半), 种薯的数量和重量都大幅提高(图 3, 表 3)。马铃薯快繁苗茎段繁殖中每个茎段需含至少 1 个节点, 节点数的增加显然会提高繁殖量, 提升繁殖速率和效率, 促进节点数的效果也意味着移栽后可能产生更多匍匐茎, 增加种薯形成几率; 而根长和茎粗是提高移栽成活率及后续稳定生长的基础^[6]。本研究并未对接种后菌株 L28 在马铃薯苗上的定殖作分析, 但菌株 L28 具有较强的多种植物促生特性可能会改变快繁苗培养环境。例如, 可能通过合成 IAA 刺激马铃薯快繁苗生根, 促进营养吸收, 以及 ACC 脱氨酶的作用降低乙烯对生长的抑制等, 而最终表现为对快繁苗生长的促进; 然而移栽后的接种则还有可能与菌株 L28 的固氮和解磷功能及提升土壤中氮和磷的营养供给有关。但是, 菌株 L28 促进马铃薯快繁苗生长和种薯形成的具体机制还有待进一步的深入研究和探讨。

4 结论

菌株 L28 可能为 *Hymenobacter* 属的一个新种, 具有固氮、解磷酸钙-磷、解植酸磷-磷、产 IAA、产铁载体、有 ACC 脱氨酶活性等多种植物促生特性, 可显著促进组培阶段马铃薯快繁苗生长以及提高移栽后种薯形成数量和重量。总之, 菌株 L28 可作为植物促生菌种, 在马铃薯生产中具有良好的应用前景。

REFERENCES

- [1] Bamberg J, Greenway G. Nutritional and economic prospects for expanded potato outlets[J]. *American Journal of Potato Research*, 2019, 96(2): 206-215
- [2] FAO. FAOSTAT online database[EB/OL]. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>
- [3] Wang N, Reidsma P, Pronk AA, et al. Can potato add to China's food self-sufficiency? The scope for increasing potato production in China[J]. *European Journal of Agronomy*, 2018, 101: 20-29
- [4] Awati R, Bhattacharya A, Char B. Rapid multiplication technique for production of high-quality seed potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers[J]. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 2019, 7(1): 1-5
- [5] Yang MJ. Study on technology of amputated production technology on potato tissue cultivated seeding[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2012 (in Chinese)
杨美军. 马铃薯组培苗切段扩繁原原种技术研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2012
- [6] Tkachenko OV, Evseeva NV, Boikova NV, et al. Improved potato microclonal reproduction with the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum*[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(3): 1167-1174
- [7] Terashima M, Ohashi K, Takasuka TE, et al. Antarctic heterotrophic bacterium *Hymenobacter nivis* P3^T displays light-enhanced growth and expresses putative photoactive proteins[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2019, 11(2): 227-235
- [8] Murashige T, Skoog G. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures[J]. *Physiologia Plantarum*, 1962, 15(3): 473-497
- [9] Yang SS, Li GG, Zhang SN, et al. Isolation and identification of *Pseudomonas* sp. BP16 and its plant growth-promoting traits and effects[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(10): 2121-2130 (in Chinese)
杨杉杉, 李国光, 张胜男, 等. 假单胞菌 BP16 的分离鉴定及其植物促生性状和效应[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(10): 2121-2130
- [10] Ren XZ. Classification and Identification of Plant Pathogenic Bacteria[M]. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press, 1994: 5 (in Chinese)
任欣正. 植物病原细菌的分类和鉴定[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 5
- [11] Dong XZ, Cai MY. Common Bacterial System Identification Manual[M]. Beijing: Science Press, 2001: 169 (in Chinese)
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 169
- [12] Yang HR. Diversity and community structure of rhizospheric bacteria associated with desert shrubs in the western Ordos[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agriculture University, 2016 (in Chinese)
杨鸿儒. 西鄂尔多斯荒漠灌木根际细菌多样性和群落结构的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2016
- [13] Glickmann E, Dessaux YA. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(2): 793-796
- [14] Kang YJ, Cheng J, Mei LJ, et al. Screening and identification of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 853-861 (in Chinese)
康贻军, 程洁, 梅丽娟, 等. 植物根际促生菌的筛选及鉴定[J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 853-861
- [15] LPSN. LPSNSTAT online database[DB/OL]. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, 1997. <http://www.bacterio.net/hymenobacter.html>
- [16] Marizcurrena JJ, Herrera LM, Costabile A, et al. Validating biochemical features at the genome level in the Antarctic bacterium *Hymenobacter* sp. strain UV11[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2019, 366(14): fnz177
- [17] Liang YG, Tang K, Wang Y, et al. *Hymenobacter crusticola* sp. nov., isolated from biological soil crust[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 69(2): 547-551
- [18] Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N. An introduction to plant tissue culture: advances and perspectives[A]//Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N. *Plant Cell Culture Protocols*[M]. New York, NY: Humana Press, 2018: 3-13
- [19] Glick BR. Stress control and ACC deaminase[A]//Lugtenberg B. *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*[M]. Cham: Springer, 2015: 257-264
- [20] Trivedi P, Delgado-Baquerizo M, Trivedi C, et al. Keystone microbial taxa regulate the invasion of a fungal pathogen in agro-ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 111: 10-14
- [21] Fatima N, Javid K, Lahmo K, et al. Siderophore in fungal physiology and virulence[J]. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2017, 6(5): 1073-1080

- [22] Dobránszki J, Tábori KM. Influence of nitrogen supply of potato plantlets on *in vitro* tuberization pattern under inductive and non-inductive conditions[J]. Potato Research, 2010, 53(2): 121-127
- [23] Gao Y, Qin YL, Fan MS. Potato tuber forming and growth influenced by nitrogen[J]. Crops, 2012(6): 14-18 (in Chinese)
高媛, 秦永林, 樊明寿. 马铃薯块茎形成的氮素营养调控[J]. 作物杂志, 2012(6): 14-18
- [24] Cordier C, Lemoine MC, Lemanceau P, et al. The beneficial rhizosphere: a necessary strategy for microplant production[J]. Acta Horticulturae, 2000, 530: 259-268
- [25] Vestberg M, Kukkonen S, Saari K, et al. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry[J]. Applied Soil Ecology, 2004, 27(3): 243-258
- [26] Vettori L, Russo A, Felici C, et al. Improving micropropagation: effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on acclimatization of rootstocks of fruit tree[J]. Journal of Plant Interactions, 2010, 5(4): 249-259
- [27] Orlikowska T, Nowak K, Reed B. Bacteria in the plant tissue culture environment[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2017, 128(3): 487-508
- [28] Wang XY, Guo S, Tian HX. Techniques for high efficient multiplication of plantlets *in vitro*[J]. Chinese Potato Journal, 2004, 18(4): 216-217 (in Chinese)
王秀英, 郭尚, 田宏先. 马铃薯脱毒试管苗多次繁殖技术的应用[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(4): 216-217
- [29] Hamza EM. Improvement of potato micropropagation and microtubers formation as affected by nanoparticles[J]. Middle East Journal of Agriculture Research, 2019, 8(2): 525-532
- [30] Feng J, Cao LL, Wang Y, et al. Application of sugar-free micropropagation on potato seedlings rapid propagation[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(6): 62-69 (in Chinese)
冯洁, 曹琳琳, 王越, 等. 无糖组织培养技术在马铃薯种苗快繁中的应用[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(6): 62-69