

## 研究报告

## 骆驼刺可培养内生细菌的分离及功能特性

木尼热·木塔力甫<sup>1,2</sup>, 叶艺洁<sup>2</sup>, 张芯语<sup>2</sup>, 艾尼江·尔斯满<sup>1</sup>, 张志东<sup>1</sup>, 王伟<sup>\*2</sup>, 楚敏<sup>\*1</sup>

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

2 新疆农业大学 食品科学与药学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052

木尼热·木塔力甫, 叶艺洁, 张芯语, 艾尼江·尔斯满, 张志东, 王伟, 楚敏. 骆驼刺可培养内生细菌的分离及功能特性[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 2857-2869.

Munire Mutalifu, YE Yijie, ZHANG Xinyu, Ainijiang Ersiman, ZHANG Zhidong, WANG Wei, CHU Min. Isolation and functional characterization of culturable endophytic bacteria from *Alhagi sparsifolia* Shap.[J]. Microbiology China, 2024, 51(8): 2857-2869.

**摘要:**【背景】植物内生菌与宿主存在长期协同演化, 是研究微生物多样性和适应性进化的宝库。骆驼刺(*Alhagi sparsifolia* Shap.)具有耐干旱、耐盐碱等极强的抗逆特性, 而有关骆驼刺内生菌的研究较少。【目的】解析骆驼刺可培养内生菌多样性, 评价菌株抗逆、促生特性。【方法】采用组织匀浆法和梯度稀释法分离纯化骆驼刺内生菌, 利用 16S rRNA 基因序列比对初步明确菌株的分类定位, 进一步测定菌株的抗逆、促生及抑菌功能特性。【结果】从骆驼刺中共分离获得了 14 株可培养内生细菌, 分属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)、短状杆菌属(*Brachybacterium*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、土壤芽孢杆菌属(*Solibacillus*)、谷氨酸杆菌属(*Glutamicibacter*)、亮杆菌属(*Leucobacter*)、短杆菌属(*Brevibacterium*)及不动杆菌属(*Acinetobacter*)这 9 个菌属, 其中芽孢杆菌属菌株所占比例最高(33.33%); 所获得的菌株表现出不同水平的抗逆、促生及抑菌特性, 其中 *Bacillus subtilis* L-1 展现出较强的抗逆特性, 可耐受 20% NaCl 及 20% 的 PEG6000 胁迫, 同时对 4 种病原细菌及 3 种病原真菌具有抑菌作用。【结论】骆驼刺内生细菌具有抗逆、促生及抑菌特性, 为进一步挖掘和利用相关内生菌资源提供了研究基础和科学依据。

**关键词:** 骆驼刺; 植物内生菌; 抗逆; 促生特性; 抑菌特性

资助项目: 新疆维吾尔自治区重点研发任务专项(2022B02053-3); 新疆农业科学院农业科技创新稳定支持专项(xjnkywdzc-2023005)

This work was supported by the Xinjiang Uygur Autonomous Region Key Research and Development Task Special Project (2022B02053-3), and the Xinjiang Academy of Agricultural Sciences Agricultural Science and Technology Innovation and Stability Support Special Project (xjnkywdzc-2023005).

\*Corresponding authors. E-mail: WANG Wei, ww2shz@163.com; CHU Min, chuliu2002@163.com

Received: 2023-10-12; Accepted: 2024-04-02; Published online: 2024-05-08

## Isolation and functional characterization of culturable endophytic bacteria from *Alhagi sparsifolia* Shap.

Munire Mutalifu<sup>1,2</sup>, YE Yijie<sup>2</sup>, ZHANG Xinyu<sup>2</sup>, Ainijiang Ersiman<sup>1</sup>, ZHANG Zhidong<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>\*2</sup>, CHU Min<sup>\*1</sup>

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

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

**Abstract:** [Background] Endophytes represent valuable resources for investigating microbial diversity and adaptive evolution, owing to their long-term co-evolutionary relationship with their hosts. *Alhagi sparsifolia* Shap. exhibits robust tolerance to stress conditions including drought and saline-alkali. However, the studies about the endophytes of *A. sparsifolia* remain limited. [Objective] To analyze the diversity of culturable endophytic bacteria and evaluate the stress tolerance and plant growth-promoting effects of the strains. [Methods] Endophytic bacteria were isolated from *A. sparsifolia* by the tissue homogenization and gradient dilution methods. The strains were identified by comparison of 16S rRNA gene sequences. Subsequently, we determined the stress tolerance, plant growth-promoting effects, and antimicrobial activities of the strains. [Results] A total of 14 culturable endophytic bacterial strains were isolated from *A. sparsifolia*, belonging to 9 genera (*Bacillus*, *Brachybacterium*, *Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Solibacillus*, *Glutamicibacter*, *Leucobacter*, *Brevibacterium*, and *Acinetobacter*), among which *Bacillus* was dominant (33.33%). These strains exhibited varying levels of stress tolerance, plant growth-promoting effects, and antimicrobial activities. Notably, *Bacillus subtilis* L-1 demonstrated strong tolerance to 20% NaCl solution and 20% PEG6000 and inhibitory effects on four pathogenic bacterial species and three pathogenic fungal species. [Conclusion] Our study revealed the stress tolerance, plant growth-promoting effects, and antimicrobial activities of culturable endophytic bacterial resources in *A. sparsifolia*. The findings provide a scientific basis for further exploration and utilization of these valuable resources.

**Keywords:** *Alhagi sparsifolia* Shap.; endophytic bacteria of plants; stress tolerance; growth-promoting properties; antimicrobial activity

植物内生菌是指生活史中某一阶段或整个阶段定殖在植物各组织器官或细胞间隙内的一类对植物不引起明显病害症状的微生物,包括内生细菌、放线菌和真菌等<sup>[1]</sup>。自1993年Stierle等<sup>[2]</sup>首次报道从太平洋紫杉树中分离出可产生紫杉醇的内生菌以来,植物内生菌的分离鉴定、适应与演替、功能代谢等已成为国内外微生物研究领域的重要热点之一。诸多研究

表明,内生菌与宿主植物在长期协同演化进化过程中逐渐形成了一种互利互惠的关系<sup>[3]</sup>,部分从荒漠植物中分离出的内生菌具有分泌生长素、产铁载体、ACC脱氨酶等多种功能,并可通过促进植物根部的发育,从而提高宿主生存能力<sup>[4-5]</sup>。

骆驼刺(*Alhagi sparsifolia* Shap.)是一种豆科草本植物<sup>[6]</sup>,主要分布于甘肃、新疆等沙荒

化、盐渍化平原荒漠地带，目前对骆驼刺的研究多为植物本身及提取物，而关于骆驼刺内生菌资源的研究较少。前人研究表明，骆驼刺提取物具有抑菌功效<sup>[7-8]</sup>，可能与内生菌有关。熊文娟等<sup>[9]</sup>从新疆克拉玛依盐碱戈壁植物骆驼刺中分离到一株曲霉菌(*Aspergillus* sp.) LTCY3，对多种病原细菌均有潜在抑菌活性。然而，有关骆驼刺内生菌的抗逆、促生等特性鲜有报道。

本研究对采自新疆维吾尔自治区吐鲁番市托克逊县干旱区的骆驼刺样品开展内生细菌分离培养，并对所获得菌株的耐盐、抗旱特性，以及固氮、溶磷、解钾等促生作用和抑菌特性进行测定，为进一步挖掘利用骆驼刺内生细菌提供研究基础和科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 样品

骆驼刺采自新疆维吾尔自治区吐鲁番市托克逊县(87°14'05"E, 41°21'14"N)，使用随机采样法，装入灭菌的牛皮纸袋内，编号记录，12 h内运回实验室于4 °C贮藏，并在48 h内开展相关表面消毒、研磨，以及内生菌的分离筛选等工作。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)，核桃腐烂病菌(*Cytospora chrysosperma*)均由新疆微生物资源保藏管理中心(Microbiological Culture Collection Center of Xinjiang, MCCCX)提供。

小麦(新春26)种子由新疆农业科学院粮食作物研究所提供。

### 1.2 培养基、主要试剂和仪器

MRS固体培养基、NA培养基、NB肉汤培

养基、R2A培养基、1/3 TSA培养基、PDA培养基均购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。解钾培养基、固氮菌用阿须贝氏(Ashby)培养基、蒙金娜有机磷培养基、无机磷培养基、CAS培养基参考文献<sup>[10]</sup>配制。

氯化钠、可溶性淀粉、硫酸镁、磷酸氢二钾和聚乙二醇(PEG) 6000，天津市致远化学试剂有限公司；牛肉膏，北京奥博星生物技术有限公司；羧甲基纤维素钠，天津永晟精细化工有限公司；硫酸亚铁，天津市北联精细化学品开发有限公司；2×*Taq* PCR Master Mix，北京鼎国昌盛生物技术有限公司。

淀粉酶检测培养基(g/L)：可溶性淀粉10.0，牛肉膏3.0，蛋白胨10.0，氯化钠5.0，琼脂15.0，pH 7.2–7.4。

蛋白酶检测培养基(g/L)：脱脂奶粉50.0，琼脂12.0，pH 7.2–7.4。

纤维素酶检测培养基(g/L)：羟甲基纤维素钠10.0，碳酸钠2.0，硫酸镁0.5，磷酸氢二钾1.0，硫酸亚铁0.01，氯化钾0.5，琼脂20.0，pH 7.2–7.4。

YMA基础培养基：甘露醇10.0，酵母粉1.0，磷酸氢二钾0.42，硫酸镁0.41，氯化钠0.1，pH 7.2–7.4。

自动高压灭菌锅，HIRAYAMA公司；超净工作台苏州安泰空气技术有限公司；生化培养箱，上海福玛实验设备有限公司；振荡培养箱，上海博讯实业有限公司医疗设备厂；高速冷冻离心机，Sigma公司；酶标仪，伯腾仪器有限公司。

### 1.3 内生菌的分离纯化

取整株骆驼刺用自来水冲洗表面的泥土和其他杂质后在干净的自来水中浸泡1 h。移入无菌超净工作台用无菌水冲洗5–6次，用75%乙醇漂洗3–5 min后用无菌水冲洗4次，用4%次氯酸钠漂洗3–5 min后用无菌水冲洗4次，用75%乙醇

漂洗1 min后用无菌水冲洗4次, 吸干水分, 保留最后一次清洗液用于消毒检验。

用无菌镊子取10.0 g骆驼刺植物样本, 加90 mL无菌水于无菌研钵中碾碎成匀浆, 分别稀释至 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 这3个浓度梯度的稀释液。分别移取稀释液100  $\mu$ L涂布于MRS、R2A、1/3 TSA、固氮菌用阿须贝氏(Ashby)培养基表面, 30  $^{\circ}$ C黑暗培养24–96 h, 定期观察, 挑取生长较好的单菌落接种至相应固体培养基上, 进行分离纯化。

#### 1.4 内生菌的分子生物学鉴定

从新鲜培养平板挑取适量菌苔, 采用菌落PCR方法<sup>[11]</sup>, 利用细菌16S rRNA基因通用引物27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行PCR扩增。PCR反应体系(30  $\mu$ L): 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 15  $\mu$ L, 27F、1492R引物(10  $\mu$ mol/L)各1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O补足至30  $\mu$ L。PCR反应条件: 95  $^{\circ}$ C 5 min; 94  $^{\circ}$ C 30 s; 54  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 1 min, 30个循环; 72  $^{\circ}$ C 10 min<sup>[10]</sup>。PCR产物经检测后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。所得序列经人工校正和拼接后, 上传至NCBI数据库进行同源性比对, 用MEGA 11软件构建系统发育树, 确定分离菌株的分类地位。

#### 1.5 菌株的抗逆特性测定

将分离纯化的菌株分别转接到含0%、10%、15%、20% NaCl的NA培养基上划线, 30  $^{\circ}$ C倒置培养3 d, 每个处理3个重复, 观察生长情况, 以确定菌株的耐盐程度<sup>[12]</sup>。

耐旱特性采用韩梅<sup>[13]</sup>的方法进行, 分别转接到含10%、15%、20% PEG6000的YMA液体培养基, 30  $^{\circ}$ C、150 r/min振荡培养3 d, 测定 $OD_{600}$ , 以不加PEG6000作为对照, 每个处理3个重复。

#### 1.6 菌株的产酶特性测定

将菌株分别接种至淀粉酶筛选培养基、CMC-Na培养基、蛋白酶筛选培养基, 37  $^{\circ}$ C恒温培养48 h。采用碘液对淀粉酶筛选培养基染色, 观察菌落周围颜色变化; 观察蛋白酶筛选培养基是否出现水解圈; 采用0.3 g/L刚果红染色法, 观察CMC-Na培养基中菌落周边水解圈情况。

#### 1.7 菌株的促生特性测定及功能验证

将纯化后的菌株点接种于无机磷培养基、蒙金娜有机磷培养基、固氮菌用阿须贝氏(Ashby)培养基、解钾细菌培养基和CAS培养基中, 于30  $^{\circ}$ C恒温培养3–7 d, 观察菌落周围是否出现水解圈, 以判断该菌株有无相关特性<sup>[14]</sup>。

利用双层滤纸法测定菌株对小麦的耐盐促生效果<sup>[15]</sup>。将待测菌株接种于NB培养基, 30  $^{\circ}$ C、150 r/min振荡培养12 h制备菌液并稀释至 $OD_{600}$ 为0.02备用。选取大小一致饱满的新春26小麦种子, 用无菌水清洗4–5次后用3%的NaClO消毒2 min, 最后用无菌水冲洗3次。取表面消毒后的种子浸泡于菌悬液4 h后, 置于放有双层滤纸和15 mL 1.5% NaCl溶液的培养皿中。每个平皿放置20粒小麦种子, 室温放置6 d, 测定小麦种子的发芽率及根长。发芽率用公式(1)计算。

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{总发芽种子数}}{\text{种子总数}} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.8 菌株的抑菌特性测定

采用菌落对峙法检测菌株的抑菌活性<sup>[16]</sup>。取大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)等新鲜斜面接种至NB培养基, 30  $^{\circ}$ C、150 r/min振荡培养18 h。培养液稀释浓度至 $OD_{600}$ 为0.2左右; 取稀释菌液100  $\mu$ L涂布至NA培养基后, 取待测菌株

接种至平皿中；接种棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)和核桃腐烂病菌(*Cytospora chrysosperma*)等菌饼于PDA培养皿中，并挑取待测菌株接种至平皿中，于30 °C恒温培养箱中培养3–5 d，观察抑菌圈大小。

采用发酵液扩散法检测内生菌抑制病原真菌的能力。将待测菌株接种至NB培养基，30 °C、150 r/min振荡培养12 h后4 °C、5 000 r/min离心10 min，取上清并用0.22 μm无菌滤膜过滤，制备无菌发酵液备用。接种棉花枯萎病菌、西瓜枯萎病菌和核桃腐烂病菌等菌饼置于培养皿中；分别在距离中心2 cm处打4个0.8 cm孔，取70 μL发酵上清液加入孔中，于30 °C培养5–7 d<sup>[17]</sup>。抑菌率用公式(2)计算。

抑菌率(%)=

$$\frac{\text{空白对照组半径} - \text{实验菌株组半径}}{\text{空白对照组半径}} \times 100 \quad (2)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的分离鉴定结果

采用组织匀浆法和梯度稀释法对骆驼刺内生细菌进行分离，共获得14株内生细菌，菌株16S rRNA基因序列经NCBI数据库比对鉴定其分类地位。14株内生细菌分属于3个门5个目9个属14个种，分别为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、短状杆菌属(*Brachybacterium*)、棒杆菌属(*Corynebacterium*)、土壤芽孢杆菌属(*Solibacillus*)、谷氨酸杆菌属(*Glutamicibacter*)、亮杆菌属(*Leucobacter*)、短杆菌属(*Brevibacterium*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)，其中芽孢杆菌属所占比例最高(33.33%)，共5株，其次为微杆菌属(13.33%)共2株，其余菌属各1株，所获菌株均为已知菌株，分别为：*Bacillus subtilis* L-1、*Corynebacterium callunae* L-3、*Brachybacterium*

*phenoliresistens* L-5、*Solibacillus silvestris* L-6、*Glutamicibacter mishrai* L-7、*Bacillus coreaensis* L-8、*Leucobacter insecticola* L-9、*Microbacterium saperdae* L-11、*Bacillus pumilus* L-12、*Acinetobacter radioresistens* L-13、*Bacillus rugosus* L-14、*Brevibacterium sediminis* L-15、*Microbacterium resistens* L-16和*Bacillus cabrialesii* L-17。对14株内生菌的16S rRNA基因序列进行BLAST比对，采用MEGA 11.0构建系统发育树，结果如图1所示。

### 2.2 菌株的抗逆特性

进一步对14株骆驼刺内生菌抗逆特性进行分析，结果如表1所示，所有菌株具有良好的抗旱特性。当PEG6000浓度为15%时所有菌株可以生长，当浓度达到20%时，仍有大部分菌株生长，其中菌株L-1、L-17仍能较好生长，表现出极强的抗旱特性。

在耐盐特性方面，所有菌株均可在3%的NaCl条件下生长，部分菌株如L-1、L-8、L-14、L-15在20%的NaCl条件下仍能生长，表现出极强的耐盐特性。

### 2.3 菌株的促生特性及功能验证

将菌株分别接种于无机磷培养基、有机磷培养基、CAS培养基、解钾培养基及阿须贝氏培养基，观察菌株相应培养基上的透明圈和变色情况。结果如表2所示，初步获得10株菌株在不同程度上具有促生特性。分别有9株菌在CAS培养基周围产生较明显橙黄色晕圈，有9株内生细菌表现出较好的固氮能力，8株菌具有解无机磷能力，5株菌具有解有机磷能力，获得2株具有解钾能力的菌株。其中菌株L-1都具备以上促生特性。

经内生细菌处理后的小麦(新春26)在1.5% NaCl浸泡种子萌发结果表明(表3)，相较于对照组，有12株菌能够显著提高发芽率，其中菌株L-5

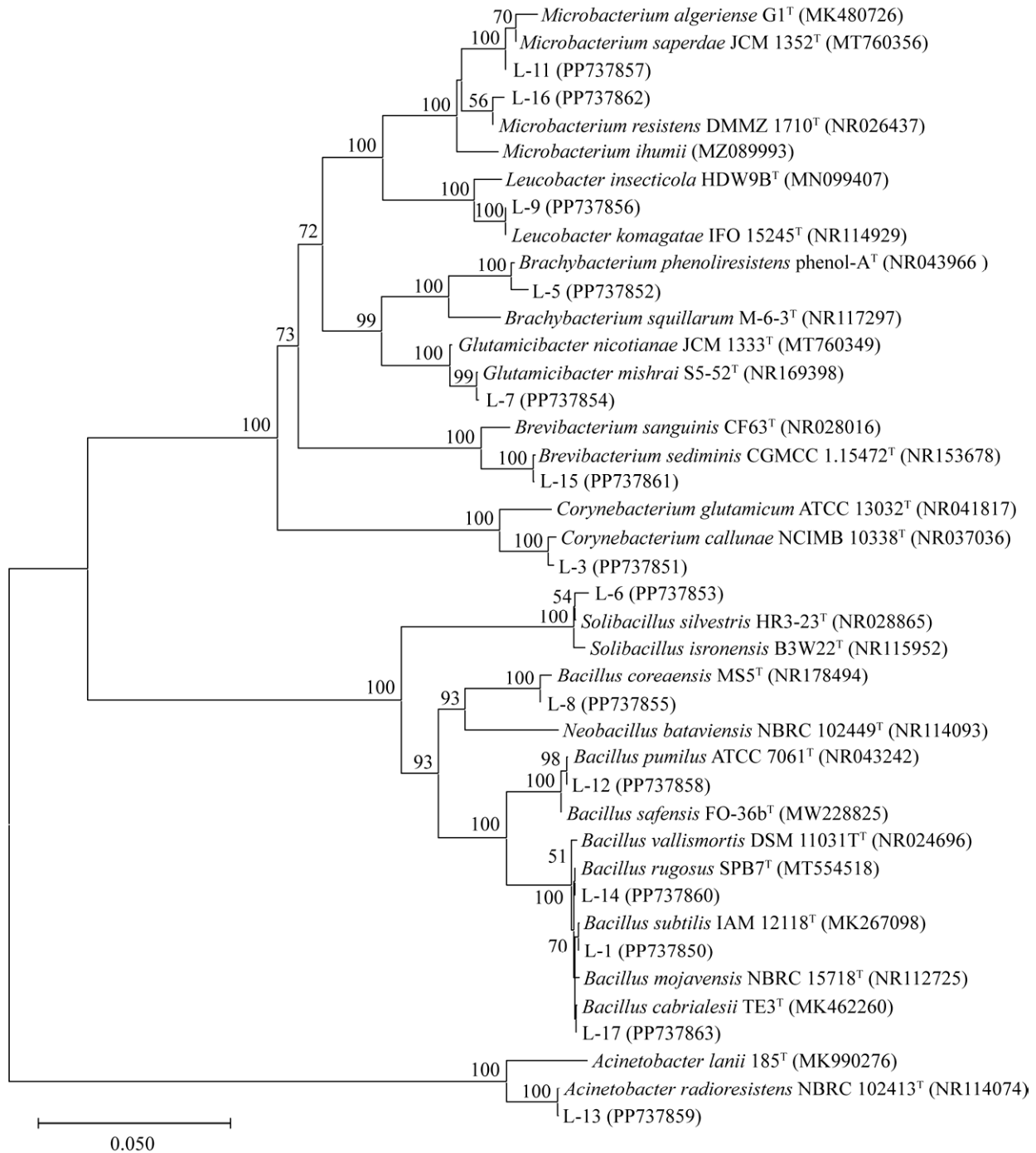


图 1 基于骆驼刺内生菌 16S rRNA 基因序列的邻接法构建的系统发育树 括号中的序号为菌株的 GenBank 登录号; 标尺 0.050 代表序列偏差值; 分支点上的数字代表计算 1 000 次聚类到一起的几率

Figure 1 Phylogenetic tree constructed by neighbor-joining method based on the 16S rRNA gene sequence of *Alhagi sparsifolia* Shap. endophytic bacteria. The serial number in brackets is the GenBank accession number of the strain; the value of 0.050 represents the sequence deviation value; The number at the node means the percentage of occurrence in 1 000 boot-strapped trees.

表 1 内生细菌的抗逆特性

Table 1 Resistance properties of endophytic bacteria

Strain	PEG6000			NaCl	
	10%	15%	20%	3%	20%
<i>Bacillus subtilis</i> L-1	++	++	++	++	+
<i>Corynebacterium callunae</i> L-3	++	+	-	+	-
<i>Brachybacterium phenoliresistens</i> L-5	++	+	-	+	-
<i>Solibacillus silvestris</i> L-6	++	+	-	+	-
<i>Glutamicibacter mishrai</i> L-7	++	+	+	+	-
<i>Bacillus coreaensis</i> L-8	++	+	+	+	+
<i>Leucobacter insecticola</i> L-9	++	+	+	+	-
<i>Microbacterium saperdae</i> L-11	++	+	+	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> L-12	++	+	+	+	-
<i>Acinetobacter radioresistens</i> L-13	++	+	-	+	-
<i>Bacillus rugosus</i> L-14	++	+	+	+	+
<i>Brevibacterium sediminis</i> L-15	++	+	-	++	+
<i>Microbacterium resistens</i> L-16	++	+	-	+	-
<i>Bacillus cabrialesii</i> L-17	++	++	++	++	-

+: Growth, ++: Vigorous growth; -: No growth.

表 2 部分内生细菌的促生特性

Table 2 Probiotic properties of some endophytic bacteria

Strain	Organophosphorus dissolution	Inorganic phosphorus dissolution	Nitrogen fixation	Potassium dissolution	Iron carrier
<i>Bacillus subtilis</i> L-1	+	+	+	+	+
<i>Corynebacterium callunae</i> L-3	+	+	+	-	+
<i>Brachybacterium phenoliresistens</i> L-5	-	-	+	+	+
<i>Microbacterium saperdae</i> L-11	-	+	+	-	+
<i>Bacillus pumilus</i> L-12	-	+	+	-	+
<i>Acinetobacter radioresistens</i> L-13	+	+	+	-	+
<i>Bacillus rugosus</i> L-14	+	+	+	-	+
<i>Brevibacterium sediminis</i> L-15	-	+	+	-	+
<i>Microbacterium resistens</i> L-16	-	+	-	-	-
<i>Bacillus cabrialesii</i> L-17	+	-	+	-	+

+: Positive; -: Negative. The same below.

处理的发芽率最高为95%，提高了40%。6株菌株处理的芽长及根长显著提高，其中菌株L-5处理组芽长最高为1.10 cm，芽长提高了129.17%；菌株L-11处理组根长最高为2.10 cm，提高了43.84%。

## 2.4 菌株的产酶特性

进一步对14株骆驼刺内生菌产酶特性进行分析，结果如表4所示。不同细菌的产酶能力存在差异。结果表明，7株菌具有产蛋白酶能力，

其中主要以芽孢杆菌属为主，5株菌具有产淀粉酶能力，3株菌具有产纤维素酶能力。

## 2.5 菌株的抑菌特性

通过内生菌与病原菌株拮抗分析(表5)，共获得5株拮抗菌株。在抑制细菌方面，5株菌均对金黄色葡萄球菌有抑制作用，而仅有1株菌对枯草芽孢杆菌有抑制作用；在拮抗真菌方面，有4株内生菌对核桃腐烂病菌和棉花枯萎病菌均

表3 内生菌处理对小麦(新春 26)促生功能

Table 3 Endophytic bacterial treatments on wheat (Xinchun 26) growth-promoting functions

Strain	Germination rate (%)	Bud length (cm)	Root length (cm)
CK	55	0.48±0.15bcd	1.46±0.27cd
<i>Bacillus subtilis</i> L-1	80	0.74±0.18bcd	1.88±0.27ab
<i>Corynebacterium callunae</i> L-3	70	0.78±0.33bc	1.58±0.15bcd
<i>Brachybacterium phenoliresistens</i> L-5	95	1.10±0.16a	1.94±0.23ab
<i>Solibacillus silvestris</i> L-6	45	0.40±0.19d	1.32±0.13d
<i>Glutamicibacter mishrai</i> L-7	50	0.46±0.11cd	1.40±0.21d
<i>Bacillus coreaensis</i> L-8	60	0.44±0.17cd	1.34±0.25d
<i>Leucobacter insecticola</i> L-9	65	0.42±0.08d	1.38±0.19d
<i>Microbacterium saperdae</i> L-11	85	0.70±0.23bcd	2.10±0.44abc
<i>Bacillus pumilus</i> L-12	75	0.72±0.26bcd	1.82±0.31bcd
<i>Acinetobacter radioresistens</i> L-13	70	0.68±0.33bcd	1.70±0.19ab
<i>Bacillus rugosus</i> L-14	80	0.82±0.48ab	1.86±0.22bcd
<i>Brevibacterium sediminis</i> L-15	65	0.74±0.18bcd	1.68±0.33bcd
<i>Microbacterium resistens</i> L-16	70	0.67±0.10bcd	1.63±0.24bcd
<i>Bacillus cabrialesii</i> L-17	80	0.75±0.21bcd	1.93±0.31ab

表中数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ). 下同

The data in the table is the mean±standard deviation. Different lowercase letters at the same row indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

表4 部分内生细菌的产酶活性

Table 4 Enzyme-producing activity of some endophytic bacteria

Strain	Amylase	Protease	Cellulase
<i>Bacillus subtilis</i> L-1	+	+	+
<i>Bacillus coreaensis</i> L-8	+	+	+
<i>Microbacterium saperdae</i> L-11	-	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> L-12	+	+	+
<i>Acinetobacter radioresistens</i> L-13	-	+	-
<i>Bacillus rugosus</i> L-14	+	+	-
<i>Bacillus cabrialesii</i> L-17	+	+	-

表5 部分内生细菌的抑菌特性

Table 5 Bacteriostatic properties of some endophytic bacteria (inhibition zone diameter, cm)

Pathogenic bacteria	Strain L-1	Strain L-8	Strain L-12	Strain L-14	Strain L-17
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0	1.57±0.12a	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.42±0.40a	1.14±0.65b	1.18±0.12b	1.42±0.45a	1.42±0.40a
<i>Escherichia coli</i>	1.60±0.56a	0	0	1.45±1.14b	1.60±0.56a
<i>Candida albicans</i>	1.64±0.93a	0	0	1.63±0.40a	0
<i>Cytospora chrysosperma</i>	1.43±0.15b	2.20±0.46a	0	1.67±0.15b	1.80±0.2ab
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	1.43±0.15b	0	1.93±0.06a	1.83±0.25a	0
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	2.53±0.15a	2.33±0.25ab	2.07±0.35b	1.60±0.10c	0



具有拮抗作用,有3株内生菌西瓜枯萎病菌具有拮抗作用。通过观察菌株发酵液对病原真菌的抑菌特性(图2),发现菌株L-1和L-14对核桃腐烂病菌、西瓜枯萎病菌和棉花枯萎病菌均展现出较好的抑菌特性,抑菌率在51.50%–84.00%(表6)。

### 3 讨论

近年来,国内外已从不同植物中分离得到大量内生菌,往往表现出不同种类、不同地域的植物内生菌资源存在差异<sup>[18]</sup>。目前关于骆驼刺内生菌资源相关研究较为有限。2006年,陈卫民<sup>[19]</sup>首次对西北荒漠地区骆驼刺根瘤菌进行了分离筛选,所获菌株主要由中华根瘤菌属(*Sinorhizobium*)、根瘤菌属(*Sinorhizobium*)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)和慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*)组成。马燕等<sup>[20]</sup>利用LB、TSA和R2A这3种培养基从骆驼刺种子中分离到17株内生细菌,其

中芽孢杆菌菌株最多,也分离到葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、马西利亚菌属(*Massilia*)和副球菌属(*Paracoccus*)等菌株。张晓波等<sup>[21]</sup>从新疆克拉玛依盐碱戈壁的骆驼刺中分离到葡萄球菌属、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、芽胞八叠球菌属(*Sporosarcina*)等14个属的内生菌,其中葡萄球菌属和芽孢杆菌属为优势菌属。其后,该团队进一步从吐鲁番淖毛湖骆驼刺分离获得70株细菌,主要归属于*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Firmicutes*和*Proteobacteria*这4个门,其中*Firmicutes*的芽孢杆菌占绝对优势<sup>[22]</sup>。本实验从托克逊县骆驼刺样品中共获得14株内生细菌,归3个门5个目9个属14个种,芽孢杆菌属菌株数量较多,其次为微杆菌属菌株,该结果与马燕等<sup>[20]</sup>和张晓波等<sup>[21]</sup>研究结果相似,但未分离到马西利亚菌属、芽胞八叠球菌属等菌株;与辛凯芸<sup>[23]</sup>从新疆骆驼刺的根、茎、叶组织分离的

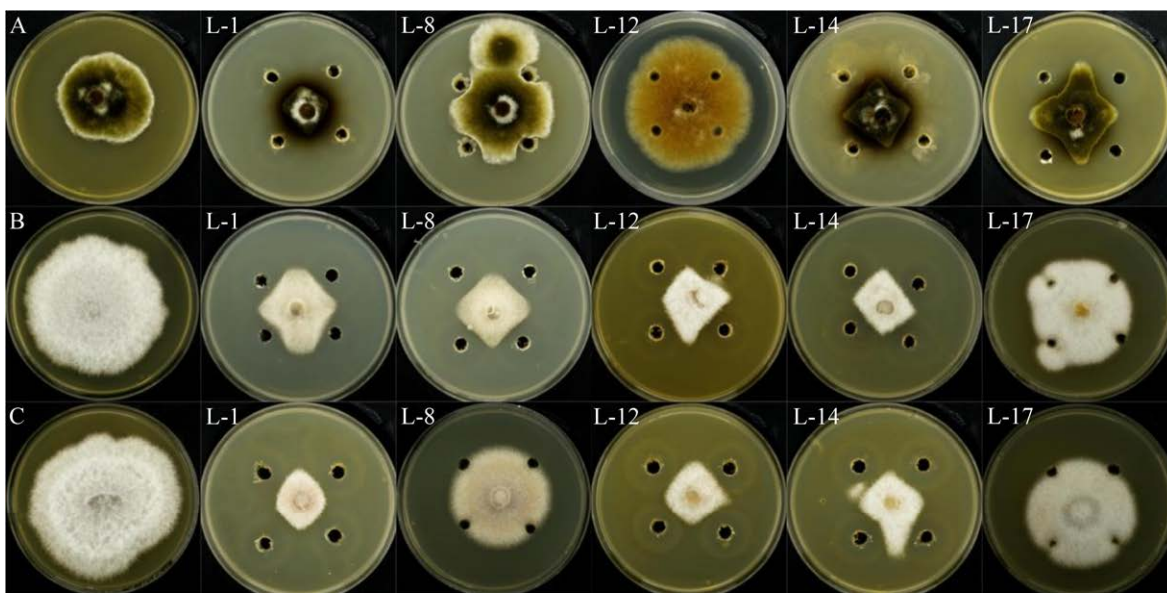


图2 菌株发酵上清液对病原真菌的抑菌效果 A–C 分别为抑制核桃腐烂病菌、西瓜枯萎病菌及棉花枯萎病菌

Figure 2 Inhibitory effect of fermentation supernatants of strains on pathogenic fungi. A–C are inhibited *Cytospora chrysosperma*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* pathogenic fungi, respectively.

表6 拮抗菌对供试的3种病原真菌的抑菌率  
Table 6 Inhibitory rates of antagonistic bacteria against three pathogenic fungi tested (%)

Strain	<i>Cytospora chrysosperma</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>
<i>Bacillus subtilis</i> L-1	84.00	51.50	67.00
<i>Bacillus coreaensis</i> L-8	73.48	57.00	0.00
<i>Bacillus pumilus</i> L-12	0.00	52.00	65.00
<i>Bacillus rugosus</i> L-14	74.35	59.00	61.50

内生菌存在明显差异, 主要以肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 和假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*) 菌株数量最多。另外, 本研究分离的土壤芽孢杆菌属 (*Solibacillus*) 和谷氨酸杆菌属 (*Glutamicibacter*) 等菌株鲜见从骆驼刺中分离报道, 进一步表明不同区域来源的骆驼刺、不同组织部位及不同的筛选方法会对骆驼刺内生菌的筛选产生明显影响。

骆驼刺具有较强的抗寒、抗旱、耐盐等抗逆特性<sup>[24-25]</sup>, 能够在盐碱荒漠中良好生长。相关研究表明, 植物内生微生物长期与植物共同进化, 与宿主植物建立了密切的共生关系, 参与了植物的众多生命过程, 能提高植物对恶劣环境的适应性<sup>[26-27]</sup>。辛凯芸<sup>[23]</sup>研究发现骆驼刺内生菌 *Enterobacter* sp.、*Klebsiella* sp.、*Pantoea alhagi*、*Pseudomonas* sp. 和 *Siccibacter* sp. 等菌株能有效提高小麦的抗旱促生作用。本研究发现所获得骆驼刺内生细菌均表现出较好的耐盐性和抗旱性, 其中, 菌株 *B. subtilis* L-1 展现出极强的抗逆性, 可在 20% NaCl 或 20% 的 PEG6000 胁迫条件下良好生长; 通过菌株处理小麦 (新春 26) 在 1.5% NaCl 溶液的种子萌发试验, 结果显示 10 株以上具有较好的耐盐促生效果, 特别是 *Brevibacterium sediminis* L-5 促生效果显著, 与

Chopra 等<sup>[28]</sup> 利用 *Brevibacterium sediminis* A6 进行水稻促生试验结果相类似。另外, *B. subtilis* L-1 也表现出良好的解有机磷和无机磷、固氮、解钾和产铁载体能力和小麦耐盐促生效果。现有研究表明, 枯草芽孢杆菌分布广泛, 从植物根际和体内均有分离报道, 并广泛应用于植物抗逆<sup>[29]</sup>、防病<sup>[30-31]</sup> 和促生<sup>[32]</sup> 等功能菌剂的研发, 为进一步利用骆驼刺内生菌丰富的抗逆促生菌资源开展相关菌剂开发提供了前期基础。

另外, 本研究也获得了 5 株具有拮抗作用的菌株, 它们表现出不同的抑制病原菌的特性, 其中 *B. subtilis* L-1 及 *B. rugosus* L-14 表现出了广谱抗病原细菌及真菌的作用, 尤其是对棉花枯萎病、西瓜枯萎病和核桃腐烂病菌等病株真菌均具有较好的抑制能力, 抑菌率在 51.50%–84.00%。其中, 菌株 *B. rugosus* 自 2021 年<sup>[33]</sup> 首次从海绵中分离并鉴定命名, 已发现该菌可代谢产生抗菌剂二酮哌嗪类, 可同时用于烟草黑胫病、根腐病、立枯病、赤星病、炭疽病、灰霉病的防治, 与现有杀菌剂无交互抗药性, 展现了良好的农业生防应用前景。徐杰等<sup>[34]</sup> 筛选的 *Bacillus rugosus* 对香蕉枯萎病菌 (*Banana wilt disease*) 具有良好的生防效果, 且该拮抗菌对香蕉炭疽病菌 (*Colletotrichum musae*)、葡萄座腔菌 (*Botryosphaeria dothidea*) 等 7 种病原真菌均有拮抗活性。同时, 多株骆驼刺内生菌具有产蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶能力, 展现出骆驼刺内生菌丰富的功能活性, 为进一步开发和利用相关菌株提供了研究基础。

## 4 结论

本研究获得骆驼刺内生细菌 14 株, 分属于 3 个门 5 个目 9 个属, 其中芽孢杆菌属为优势菌属; 所获得菌株表现出不同水平的抗逆、促生及抑菌等特性, 其中菌株 L-1 展现出较强的抗逆

特性,可耐受20% NaCl和20% PEG6000的胁迫,并对多种病原细菌及真菌具有抑菌作用。本研究结果进一步丰富了骆驼刺内生细菌资源多样性,为骆驼刺内生细菌资源的开发利用奠定了理论基础。

## REFERENCES

- [1] AKTER S, HUQ MA. *Luteibacter pinisoli* sp. nov., a casein degrading bacterium isolated from rhizospheric soil of *Pinus koraiensis*[J]. Archives of Microbiology, 2018, 200(7): 1017-1023.
- [2] STIERLE A, STROBEL G, STIERLE D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. Science, 1993, 260(5105): 214-216.
- [3] ETESAMI H, ALIKHANI HA, HOSSEINI HM. Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents[J]. MethodsX, 2015, 2: 72-78.
- [4] CHEN CQ, XIN KY, LIU H, CHENG JL, SHEN XH, WANG Y, ZHANG L. Author Correction: *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 8160.
- [5] 尤梦瑶, 万璐, 闫佳佳, 张赫, 郑春英. 甘草内生菌研究概况[J]. 中国农学通报, 2022, 38(26): 20-26. YOU MY, WAN L, YAN JJ, ZHANG H, ZHENG CY. Research progress on endophytes from *Glycyrrhiza uralensis*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(26): 20-26 (in Chinese).
- [6] WEI F, YANG XZ, PANG KJ, TANG H. Traditional uses, chemistry, pharmacology, toxicology and quality control of *Alhagi sparsifolia* Shap.: a review[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 761811.
- [7] 夏提古丽·阿不利孜, 魏鸿雁, 贾晓光, 徐晓琴, 石磊岭, 马晓玲. 骆驼刺提取物抑制肠蠕动的研究[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(2): 161-163. Xiaticuli·Abulizi, WEI HY, JIA XG, XU XQ, SHI LL, MA XL. Study on the inhibition effects of *Alhagi pseudalhagi* extract on intestinal peristalsis[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2013, 28(2): 161-163 (in Chinese).
- [8] 应璐, 蒋慧. 骆驼刺源产乳酸的嗜酸乳杆菌分离鉴定及菌种特性[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 355-356. YING L, JIANG H. Isolation, identification and characteristics of *Lactobacillus acidophilus* producing lactic acid from *Alhagi*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(4): 355-356 (in Chinese).
- [9] 熊文娟, 张晓波, 宫海燕, 马燕, 杨珊珊, 郑倩, 陈锋, 孙玉萍. 骆驼刺内生真菌的分离、鉴定与抑菌活性初筛[J]. 生物资源, 2021, 43(5): 505-511. XIONG WJ, ZHANG XB, GONG HY, MA Y, YANG SS, ZHENG Q, CHEN F, SUN YP. Isolation, identification and primary screening of antibacterial activity of endophytic fungi of *Alhagi sparsifolia* Shap.[J]. Biotic Resources, 2021, 43(5): 505-511 (in Chinese).
- [10] 罗丽静. 广西甘蔗野生种质内生细菌及蔗豆间作内生根瘤菌的分离与鉴定[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2014. LUO LJ. Isolation and identification of endophytic bacteria in Guangxi sugarcane wild germplasms and endogenous rhizobia in sugarcane intercropping beans[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2014 (in Chinese).
- [11] 柏晓玉, 何子璇, 李雪, 朱静, 顾美英, 唐琦勇, 朱艳蕾, 张志东. 库木塔格沙漠土壤细菌多样性及具有群体感应抑制活性放线菌筛选[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4770-4783. BAI XY, HE ZX, LI X, ZHU J, GU MY, TANG QY, ZHU YL, ZHANG ZD. Bacterial diversity in the soil from Kumutag Desert and screening of actinomycetes with quorum sensing inhibitory activity[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4770-4783 (in Chinese).
- [12] FANG BZ, HAN MX, JIAO JY, XIE YG, ZHANG XT, LIU L, ZHANG ZT, XIAO M, LI WJ. *Streptomyces cavernae* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a Karst cave sediment sample[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(1): 120-125.
- [13] 韩梅. 蚕豆根瘤菌耐旱耐盐碱性研究[J]. 青海大学学报, 2019, 37(4): 35-41. HAN M. Drought and saline tolerance of *Vicia faba* rhizobium[J]. Journal of Qinghai University, 2019, 37(4): 35-41 (in Chinese).
- [14] 陈腊, 米国华, 李可可, 邵慧, 胡栋, 杨俊鹏, 隋新华, 陈文新. 多功能植物根际促生菌对东北黑土区玉米的促生效果[J]. 应用生态学报, 2020, 31(8): 2759-2766. CHEN L, MI GH, LI KK, SHAO H, HU D, YANG JP, SUI XH, CHEN WX. Effects of multifunctional plant rhizosphere promoting bacteria on maize growth in

- black soil areas in Northeast China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(8): 2759-2766 (in Chinese).
- [15] 林国钦, 张婷, 左杰, 何锦欣, 蓝灿华, 田宝玉. 产 IAA 根内生菌的分离鉴定及对小麦促生效果[J]. 福建农业科技, 2022, 53(4): 10-17.  
LIN GQ, ZHANG T, ZUO J, HE JX, LAN CH, TIAN BY. Isolation and identification of IAA-producing endophytic bacteria and its growth-promoting effect on the growth of wheat[J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2022, 53(4): 10-17 (in Chinese).
- [16] 郑佩瑶, 田羽, 王娟, 邓丽, 肖丹, 刘建蕊, 韩雨霏, 李祝. 金黄色葡萄球菌拮抗细菌的分离鉴定及拮抗活性分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(11): 61-66.  
ZHENG PY, TIAN Y, WANG J, DENG L, XIAO D, LIU JR, HAN YF, LI Z. Isolation and identification of antagonistic bacteria and analysis of antagonistic activity against *Staphylococcus aureus*[J]. China Brewing, 2023, 42(11): 61-66 (in Chinese).
- [17] 付亚娟, 许笑晴, 范佳宁, 樊双虎, 韩卉, 侯晓强. 拮抗黄曲霉大花杓兰内生细菌的筛选及抑菌研究[J]. 食品与发酵工业, 2023. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037588.  
FU YJ, XU XQ, FAN JN, FAN SH, HAN H, HOU XQ. Screening of endophytic bacteria from *Cypripedium macranthum* and antifungal activity against *Aspergillus flavus*[J]. Food and Fermentation Industries, 2023. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037588 (in Chinese).
- [18] 童文君, 张礼, 薛庆云, 侯北伟, 丁小余. 不同产地美花石斛内生细菌分离及促生潜力比较[J]. 植物资源与环境学报, 2014, 23(1): 16-23.  
TONG WJ, ZHANG L, XUE QY, HOU BW, DING XY. Isolation of endophytic bacteria in *Dendrobium loddigesii* collected from different locations and comparison on their plant-growth-promoting potential[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2014, 23(1): 16-23 (in Chinese).
- [19] 陈卫民. 西北荒漠地区骆驼刺根瘤菌多样性及其系统发育研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2006.  
CHEN WM. Diversity and phylogeny of rhizobia isolated from *Alhagi* in the Northwestern desert of China[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2006 (in Chinese).
- [20] 马燕, 张晓波, 熊文娟, 杨珊珊, 郑倩, 陈锋, 孙玉萍. 三种培养基分离骆驼刺内生细菌效果初探[J]. 新疆医学, 2019, 49(7): 712-714.  
MA Y, ZHANG XB, XIONG WJ, YANG SS, ZHENG Q, CHEN F, SUN YP. Preliminary study on the effects of three kinds of culture media on the isolation of endophytic bacteria from *Alhagi*[J]. Xinjiang Medical Journal, 2019, 49(7): 712-714 (in Chinese).
- [21] 张晓波, 马燕, 熊文娟, 郑倩, 魏婕, 陈锋, 刘素辉, 孙玉萍. 盐碱戈壁药用植物骆驼刺内生菌的分离、培养与鉴定[J]. 生物资源, 2019, 41(1): 53-60.  
ZHANG XB, MA Y, XIONG WJ, ZHENG Q, WEI J, CHEN F, LIU SH, SUN YP. Isolation and identification of endophyte from *Alhagi sparsifolia* Shap. in Xinjiang Gobi Desert area[J]. Biotic Resources, 2019, 41(1): 53-60 (in Chinese).
- [22] 张晓波. 新疆骆驼刺内生细菌多样性分析、新种鉴定及抗性菌株基因组学分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学博士学位论文, 2021.  
ZHANG XB. Diversity analysis of endophytic bacteria of *Alhagi sparsifolia* in Xinjiang, identification of novel species and genomic studies of the antibacterial strains[D]. Urumqi: Doctoral Dissertation of Xinjiang Medical University, 2021 (in Chinese).
- [23] 辛凯芸. 西北荒漠骆驼刺促生抗旱内生细菌分离筛选及功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2017.  
XIN KY. Isolation, screening and functional analysis of endophytic bacteria with ability to improve plant growth and drought tolerance from *Alhagi sparsifolia*[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2017 (in Chinese).
- [24] MEHNAZ S, WESELOWSKI B, LAZAROVITS G. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(3): 620-624.
- [25] 尹辉, 张波, 荆瑞雪, 曾凡江, 牟书勇. 干旱区不同地理种群骆驼刺元素组成及表面结构特征的对比研究[J]. 生态学报, 2019, 39(18): 6745-6752.  
YIN H, ZHANG B, JING RX, ZENG FJ, MU SY. Elemental compositions and surface structures of *Alhagi sparsifolia* Shap. in different geographical populations in arid zone[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18): 6745-6752 (in Chinese).
- [26] 吴玥. 浅析植物内生细菌研究进展[J]. 农业科技与信息, 2023(9): 117-121.  
WU Y. Research progress of endophytic bacteria in plants[J]. Agricultural Science-Technology and Information, 2023(9): 117-121 (in Chinese).
- [27] 王丽娟, 徐莲, 孙纪全, 吴晓磊. 骆驼刺根际细菌的植物促生能力[J]. 应用与环境生物学报, 2017, 23(4):

- 628-634.  
WANG LJ, XU L, SUN JQ, WU XL. Culturable bacteria in the rhizosphere of *Alhagi sparsifolia* and their plant growth-promoting ability[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2017, 23(4): 628-634 (in Chinese).
- [28] CHOPRA A, KUMAR VANDANA U, RAHI P, SATPUTE S, MAZUMDER PB. Plant growth promoting potential of *Brevibacterium sediminis* A6 isolated from the tea rhizosphere of Assam, India[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2020, 27: 101610.
- [29] 李安, 舒健虹, 刘晓霞, 蒙正兵, 王小利, 赵德刚. 干旱胁迫下枯草芽孢杆菌对玉米种子抗旱性及生理指标的影响[J]. 作物杂志, 2021(6): 217-223.  
LI A, SHU JH, LIU XX, MENG ZB, WANG XL, ZHAO DG. Effects of *Bacillus subtilis* on drought resistance and physiological indexes of maize seeds under drought stress[J]. Crops, 2021(6): 217-223 (in Chinese).
- [30] 郭金鹏, 刘晓昌, 仝赞华, 郭荣君, 潘洪玉. 芽孢杆菌 HSY-8-1 对植物病原真菌的抑制及其抑菌产物特性[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(1): 29-33, 50.  
GUO JP, LIU XC, TONG ZH, GUO RJ, PAN HY. Antagonism of *Bacillus* sp. HSY-8-1 against plant pathogens and properties of its anti-fungal substance[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2010, 32(1): 29-33, 50 (in Chinese).
- [31] DAWUT M, ABLIZ A, GHOPUR W, BEHTI P, OBULKHASIM B, MIJIT G. Biocontrol potentiality of active ingredients from endophytic *Bacillus subtilis* isolated from *Alhagi pseudalhagi* Desv. on maize spot diseases[J]. Journal of Plant Pathology & Microbiology, 2016, 7(11): 382.
- [32] 林英, 司春灿, 黄莉萍, 黄云祥, 廖瑜璐. 香樟根际促生菌的筛选与促生特性研究[J]. 北方园艺, 2019(4): 59-64.  
LIN Y, SI CC, HUANG LP, HUANG YX, LIAO YL. Isolation and promoting characteristics of the rhizospheric bacteria of *Cinnamomum camphora*[J]. Northern Horticulture, 2019(4): 59-64 (in Chinese).
- [33] BHATTACHARYA D, de LOS SANTOS VILLALOBOS S, RUIZ VV, SELVIN J, MUKHERJEE J. *Bacillus rugosus* sp. nov. producer of a diketopiperazine antimicrobial, isolated from marine sponge *Spongia officinalis* L.[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2020, 113(11): 1675-1687.
- [34] 徐杰, 农婉晴, 张耀芳, 覃天涵, 杨金新, 黄文善, 朱英芝. *Bacillus rugosus* 对香蕉枯萎病的防治及促生效果[J]. 分子植物育种, 2023. <http://link.cnki.net/urlid/46.1068.s.20231025.1308.006>.  
XU J, NONG XQ, ZHANG YF, QIN TH, YANG JX, HUANG WS, ZHU YZ. Biological control effect of *Bacillus rugosus* on banana wilt disease[J]. Molecular Plant Breeding, 2023. <http://link.cnki.net/urlid/46.1068.s.20231025.1308.006> (in Chinese).