

药用植物内生菌对宿主植物促生作用机制研究进展

黄雪珍¹, 赵龙飞^{*1,2}

1 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007

2 商丘师范学院生物与食品学院, 河南省特色微生物资源开发与应用工程研究中心, 河南 商丘 476000

黄雪珍, 赵龙飞. 药用植物内生菌对宿主植物促生作用机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1653-1665.

HUANG Xuezheng, ZHAO Longfei. Mechanism of endophytes of medicinal plants in promoting the growth of host plants[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1653-1665.

摘要: 植物内生菌是一类能够代谢产生新颖生物分子和多种酶类的重要微生物资源, 在农业、植保、制药等领域具有广阔的应用前景。了解内生菌与药用植物间相互关系是当前促进药用植物生长和提升药材品质的重要途径。植物内生菌资源具有丰富的多样性, 对宿主植物生长发挥着重要功能, 如固氮、溶磷、产生铁载体、分泌植物激素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、产生 ACC 脱氨酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase)、增强宿主抗逆性、产生次生代谢产物等。本文通过相关文献回顾, 聚焦内生菌与药用植物间的关系, 着重探讨药用植物内生菌对宿主植物的促生作用机制, 展望新技术在植物内生菌研究方面的应用, 以便有效利用分子手段阐明内生菌对药用植物的促生长作用, 为其在相关领域的应用提供理论参考。

关键词: 内生菌; 药用植物; 促生作用; 固氮; 溶磷; 铁载体; ACC 脱氨酶

Mechanism of endophytes of medicinal plants in promoting the growth of host plants

HUANG Xuezheng¹, ZHAO Longfei^{*1,2}

1 College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, Henan, China

2 Engineering Research Center of Development and Application of Characteristic Microbial Resources in Henan, College of Biology and Food, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, Henan, China

Abstract: Plant endophytes, important microbial resources that can produce novel biomolecules

资助项目: 国家自然科学基金(U1204301); 河南省自然科学基金(182300410069); 河南省重点研发与推广专项(212102310223)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (U1204301), the Natural Science Foundation of Henan Province (182300410069), and the Key Specialized Research and Development Program of Henan Province (212102310223).

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

Received: 2022-11-17; Accepted: 2023-02-15; Published online: 2023-03-09

and various enzymes through metabolism, have broad application prospects in such fields as agriculture, plant protection, and pharmaceutical industries. It is currently an important way to understand the relationships between endophytes and medicinal plants, for the improvement of both medicinal plants' growth and quality. Thanks to their rich diversity, plant endophytes play a variety of important roles in host plants' growth, such as nitrogen fixation, phosphorus solubilization, siderophore production, plant hormone IAA (indole-3-acetic acid) secretion, ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase production, stress resistance enhancement, and secondary metabolites production. Through a review of relevant literature, this paper focused on the relationship between endophytes and medicinal plants, mainly exploring the growth-promoting mechanism of endophytes of medicinal plants in host plants and envisioning the application of new techniques in the study of plant endophytes. This paper is expected to effectively elucidate the growth-promoting effect of endophytes on medicinal plants by adopting molecular means and to provide theoretical references for their applications in related fields.

Keywords: endophytes; medicinal plants; growth-promoting effect; nitrogen fixation; phosphate solubilization; siderophore; ACC deaminase

植物内生菌广泛存在于健康植物组织中,是与宿主植物和谐共生并对宿主不产生明显伤害的微生物类群,也是植物微生态系统的重要组成部分^[1]。在漫长的进化过程中,内生菌与宿主植物间形成了特殊的互惠互利关系^[2]。内生菌具有防病、固氮、溶磷、产生 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase, ACC 脱氨酶)、产生铁载体、产生挥发性有机物质(volatile organic compound, VOCs)、抑制病原真菌、诱导系统抗性、促进植物生长、增强宿主抗逆性及产生植物激素如吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)等生物学功能^[1]。内生菌通过促进宿主植物生长、提高宿主植物适应性、增强宿主植物对非生物和生物胁迫的耐受性、促进宿主植物次生代谢产物积累等方式,影响药用植物的产量和质量。目前,对植物内生菌功能的研究逐步成为微生物学、植物学、植物保护学、农学、生态学和中药资源学等学科领域的研究热点。对药用植物的研究大多数是对植物化学成分的研究^[2],徐亚军等^[3]分析了药用植物伤力草浸提液的最佳提取工艺对大

肠杆菌的抑菌效果,为伤力草资源的开发与利用提供理论依据。然而,关于药用植物内生菌资源对宿主植物影响的研究相对较薄弱。为了促进药材生产质量和发展无公害栽培,减少因滥用化肥和农药带来的农残及环境污染等问题,需要更好地了解内生菌资源与药用植物间的互作关系。本文结合目前国内外植物内生菌研究现状,综述植物内生菌与药用植物间的相互关系,探索内生菌资源对宿主植物的促生作用机制。

1 药用植物内生菌种类多样性

内生菌(endophyte)最早由德国科学家 de Barry 提出,是指生活在植物组织内的微生物,是用来区分那些附着于植物表面的附生菌(epiphyte)^[4]。在 1991 年, Petrini 认为内生菌是指在其生活史的一定阶段定殖于植物组织而不会对宿主植物造成明显伤害的微生物类群^[5],内生菌的分布和种群结构受宿主植物的遗传特性、健康状况及周围生态环境的影响,其分布广泛、种类丰富且具有功能多样性特点^[6]。

植物内生菌具有丰富的生物多样性, 内生菌种类多样性受到植物基因型、年龄、生理状态、季节、海拔、温度和湿度等环境因子的影响^[2]。绝大部分植物中都存在内生菌资源, 从一种植物中分离出的内生菌多达几十种甚至上百种^[7]。本课题组近 10 年来对山药、野生艾蒿、金银花^[8]、地黄、生力草等药用植物内生细菌资源开展了初步研究, 进一步印证了药用植物内生细菌资源的多样性。据估计, 内生菌种类超过一百多万种, 主要包括内生真菌、内生细菌和内生放线菌 3 大类。目前, 研究最多的是植物内生真菌, 主要包括子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和毛菌门(*Mucoromycota*), 其在镰刀菌属(*Fusarium*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、毛盘孢属(*Colletotrichum*)、青霉属(*Penicillium*)和赤霉菌属(*Gibberella*)等属中皆有分布^[9], 主要分布于植物的叶鞘、种子、花、茎、叶片和根等组织、器官的细胞或细胞间隙中^[10]。内生细菌中最常见的是变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和厚壁菌门(*Firmicutes*), 尤其是芽孢杆菌属(*Bacillus*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、泛菌属(*Pantoea*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)较为常见, 多分布于植物根部组织^[11]。内生放线菌多为链霉菌属(*Streptomyces*)、小单孢菌属(*Micromonospora*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)和甲基杆菌属(*Methylobacterium*)等, 是目前挖掘新生物活性物质的重要内生菌种类, 主要分布在药用植物的根和茎组织中^[12]。由此可见, 植物丰富的内生菌资源是天然微生物资源库, 从中挖掘优良菌株资源为拓展绿色环保菌肥和生防菌剂提供了新的思路。然而, 由于部分药用植物内生菌不能在人工培养基上生长, 且筛选效率

普遍不高, 所以很多药用植物内生菌资源还未被发现。因此, 探索药用植物有益内生菌培养的检测标准, 有利于更好地开展内生菌株的分离筛选工作。随着相关生物技术的不断发展, 植物内生菌的人工培养基种类也在增多, 药用植物内生菌分离效率将会得到大大改善。

2 药用植物内生菌与宿主植物的互作关系

药用植物是中医药产业发展的基础, 其资源种类丰富、功能多样。随着人们对药用植物栽培、生长状况及各项功能的认识和利用, 已经引起相关专家的高度重视。药用植物原料的品质和产量在很大程度上受植物遗传背景、植物生存的生态生境和土壤养分等多种因素的影响。然而, 近年来研究者逐步发现植物内生菌通过与宿主植物间特定的互作关系, 通过构建根际微生物区系, 植物根部分泌的代谢物可促使植物生长和发生防御反应, 而细菌基因组特性决定其对宿主的适应性^[13]。随着现代分子检测手段的发展, 对植物内生菌的研究已然成为当前科技工作者关注的焦点, 必将对植物微生物生态系统的探究产生巨大的影响。植物内生菌生活在药用植物细胞间或细胞内, 对宿主植物不产生有害影响, 且具有促进宿主植物生长、产生抗氧化性化合物、增强宿主植物抗逆性等特性, 还可调节具有重要药用价值的次生代谢产物的合成, 产生各种生物学效应^[14]。除了上述植物内生菌对宿主植物的有益作用外, 宿主植物对内生菌也做出应答反应, 长期与内生菌形成和谐共生的互作关系。宿主-内生菌的关系可能因宿主和内生菌种类不同而出现差异, 内生菌在不同药用植物甚至不同组织中所起的作用不同, 两者的互作关系需要根据宿主的特性和

所处环境进行系统性的研究。

2.1 促进宿主植物生长

2.1.1 固氮作用

植物根际土壤里含有许多微生物,包括细菌、真菌和藻类等,超过 95%的细菌存在于植物根部,植物通过土壤细菌获得许多养分^[15]。氮是植物生长的主要营养元素之一,氮在大气中的含量占 78%,但其存在形式不能被植物直接利用,并且土壤里可用氮不能满足植物生长需求,土壤中有限的天然氮源供应限制了植物产量^[16]。植物生长摄取的氮主要是通过施用工业或化学氮肥来实现,这些含氮化合物以铵(NH_4^+)和硝酸盐(NO_3^+)形式添加到土壤中,长期偏施氮肥造成土壤物理结构性状恶化,而且生产化学肥料导致大气污染或水体环境污染,对人类生存环境和土壤微生态结构造成严重破坏^[17]。解决氮肥利用率低、减少氮肥施用量的生物固氮研究已成为近年全球农业与生物科学领域的一大研究热点问题^[18]。

生物固氮是固氮菌将大气中的氮固定为植物可以利用的氨,主要通过将二氮(N_2)还原为氨(NH_3),其在植物生态系统中发挥着关键作用^[19]。近年来,关于内生固氮菌种类的报道^[20]有固氮醋杆菌(*Gluconacetobacter diazotrophicus*)、塞鲁普蒂卡草螺菌(*Herbaspirillum seropedicae*)、固氮弧菌(*Azoarus*)、伯克霍尔德里氏菌(*Burkholderia*)、固氮螺菌(*Azospirillum*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)、肠杆菌(*Enterobacter*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、固氮根瘤菌(*Azorhizobium*)等属中的一些种类。Deng 等^[21]从药用植物苦马豆(*Sphaerophysa salsula*)根瘤中分离出内生短小芽胞杆菌(*Bacillus pumilus*) Qtx-10,从其基因组 DNA 中 PCR 扩增出与根瘤菌 *Rhizobium leguminosarum* Qtx-10-1 相同的 *nifH* 基因,接种试验表明提高幼苗鲜重

87.5%,茎高增加 89.4%,有助于增加豆科植物结瘤量和固氮量,可作为优良促植物生长菌株资源。门惠芹等^[22]从药用植物枸杞根际分离的内生固氮菌,可显著促进枸杞的生长、增加枸杞叶片的叶绿素含量并提高枸杞果实平均单果重。Nasla 等^[23]证实黑松幼苗在氮有限的环境中,接种 P2b-2R 内生重氮菌株后增强了幼苗固氮量和促进植株生长。Zhao 等^[11]从大豆根瘤中筛选出 6 株对植物病原菌具有拮抗活性的内生菌,其中 5 株具有固氮酶活性,而且从基因组 DNA 中 PCR 扩增出 *nifH* 基因,研究结果表明根瘤内生菌还具有促植物生长和抑制病原菌特性,为利用内生菌资源开发生物固氮菌剂和生防菌剂提供了新的思路。

2.1.2 溶磷作用

磷是植物生长和发育的必需营养素,也是限制作物产量的最重要元素之一,对植物的生长发挥着重要作用。溶磷细菌可以增加宿主植物对磷的吸收和利用^[24]。Zhao 等^[8]从药用植物苦豆子根瘤中分离出 48 株内生菌,从中筛选出 4 株对磷酸钙有溶磷作用,其中菌株 124 (巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium*)和 122 (多粘类芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa*)溶磷效果较好,接种试验结果表明显著增加了小麦幼苗干重和鲜重。溶磷巨大芽孢杆菌(*B. megaterium* var. *phosphaticum*)通过增强磷的营养刺激植物生长,增加氮、磷、钾和铁的吸收^[25]。芽孢杆菌是最显著的溶磷菌之一,通过合成植物生长激素和溶解磷酸盐对药用植物生长产生直接影响。张琳等^[26]通过试验筛选出 3 株(PN8、PN12、PN15)具有溶磷能力的内生菌,分别属于产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)、普城沙雷菌(*Serratia plymuthica*)和嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),对药用植物三七(*Panax notoginseng*)具有穿梭定殖和促生作用。

金艳丽等^[27]从药用植物当归(*Angelica sinensis*)和羌活(*Notopterygium incisum*)根系分别筛选出内生菌 *Pseudomonas thivervalensis* MDP-8 和 *Pseudomonas grimontii* WQP-5, 溶解有机磷量均超过 400 $\mu\text{g/mL}$, 可见这 2 株菌具有良好溶解有机磷潜力。综上所述, 目前筛选溶磷特性优良菌株中假单胞菌属、芽孢杆菌属占比较大, 是主要溶磷优势菌属^[27], 它们作为重要的内生微生物资源, 具有较强的环境适应能力和优良促生特性, 可作为微生物菌肥潜在资源。然而, 这些研究仅对筛选溶磷特性菌株进行初步探索, 后续需要进一步对菌株的促生机理进行深入研究, 通过基因工程等分子技术对菌株改造, 从而提高溶磷效果和促生效果。

2.1.3 产铁载体

铁是植物和微生物生长过程中不可或缺的元素, 由于其在自然条件下溶解度很低, 难以被植物吸收。因此, 铁作为植物生长过程中的重要元素之一^[28]。铁载体通过增加矿物质对细菌的可用性直接刺激其他抗菌化合物的生物合成, 从而抑制病原微生物(如尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 和茄子枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* Matuo et Ishigami Schlecht.)生长, 作为诱导宿主抗性的诱抗因子, 铁载体在保护作物免受植物病原体侵害方面发挥着重要作用^[29]。张琳等^[26]从药用植物三七中分离的 2 株内生菌(PN8、PN15)具有产生铁载体和多种水解酶特性。Zhao 等^[8]从药用植物苦豆子根瘤中分离了 2 株内生菌(122 和 124), 它们具有产生铁载体能力, 接种试验结果表明与对照相比明显促进了小麦株高、根长、鲜重和干重。Zhao 等^[11]从大豆根瘤中分离出内生菌 276 株, 其中抑制病原菌活性在 76% 以上的有 6 株, 均具有产生铁载体能力, 它们分布在 5 个属, 即 *Enterobacter*、*Acinetobacter*、*Pseudomonas*、

Ochrobactrum 和 *Bacillus*, 研究结果表明, 产生铁载体和抑制病原菌(大豆疫霉病 *Phytophthora sojae*)呈显著正相关, 且促进大豆幼苗生长。Deng 等^[21]从药用植物苦马豆(*Sphaerophysa salsula*)根瘤中分离出 11 株产生铁载体的内生菌, 分布在 9 个属, 即 *Staphylococcus*、*Lysinibacillus*、*Bacillus*、*Paracoccus*、*Streptomyces*、*Nocardia*、*Mycobacterium*、*Paenibacillus* 和 *Pseudomonas*, 其中 6 株菌表现出抗病原真菌活性。内生菌(Qtx-10、Gt-10)接种试验结果表明, 能有效促进苦马豆植株生长^[21]。综上所述, 内生菌产生铁载体不仅给宿主植物提供生长所需的铁元素, 还可抑制部分植物病原菌的生长。因此, 进一步挖掘能够代谢产生铁载体的药用植物内生菌资源, 用于研发抑制病原菌的生物防治剂具有潜在实用价值。

2.1.4 分泌植物激素

植物激素在调节植物生理过程中起着至关重要的作用。大多数从宿主植物根系分离的内生菌产生植物激素, 内生菌通过激活某些酶和基因的表达来促进宿主植物的生长。内生菌产生植物激素如 IAA、吲哚-3-乙腈(indole-3-acetonitrile)和细胞分裂素(cytokinin)等直接促进宿主植物的适应性和生长^[30]。其促生机理与植物激素密切相关, 其中研究最多的是 IAA, 它是调节植物生长的重要信号物质, 调控细胞伸长、促进维管组织发育等。杜佳慧等^[31]从药用植物多花黄精(*Polygonatum multiflorum* L.)根部筛选出 2 株具有稳定高产 IAA 的内生细菌 HNC2 (芽孢杆菌属 *Bacillus*)和 HPB1 (葡萄球菌属 *Staphylococcus*), 产生 IAA 的量分别为 4.833 mg/L 和 4.608 mg/L, 试验结果表明对黄精种子萌发均具有促生长作用。康慧颖等^[32]从药用植物苜蓿(*Medicago sativa*)组织内分离到产生 IAA 的菌株 ASR16 和 ALR33, 分别属于成团泛菌

(*Pantoea vagans*) 和短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*), 对紫花苜蓿均有明显促生作用。Deng 等^[21]从药用植物苦马豆根瘤中分离出 2 株产生 IAA 的内生菌(Qtx-10 和 Gzn-9-1), 接种试验结果表明提高了苦马豆苗子的鲜重。赵龙飞等^[14]从药用植物地黄(*Rehmannia glutinosa*)块中分离 IAA 产量在 1.322 mg/L 以上的有 7 株菌, 其中菠萝泛菌(*Pantoea ananatis*) DH92 产生 IAA 的量最多, 为 34.696 mg/L; 此外, 该菌株对棉花枯萎病菌具有拮抗活性, 对棉花具有促进生长特性; 但从药用植物地黄(*R. glutinosa*)根块中分离出菠萝泛菌 *P. ananatis* DH92 还未见报道, 需要对该菌株从基因组学层面深入研究, 为进一步开发生物防治剂提供理论基础。

2.1.5 ACC 脱氨酶活性

1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, ACC)脱氨酶活性的植物根际促生菌, 通过分解合成乙烯的直接前体物 ACC, 将其裂解成 α -丁酮酸和氨, 使植物体内乙烯的含量保持在合适水平, 缓解乙烯对植物的伤害^[33]。ACC 脱氨酶可以促进植物生长、提升植物抗逆性和环境修复并延缓植物衰老^[34], 进而提高作物的产量和品质。近年来, 关于 ACC 脱氨酶活性的研究已经成为植物内生菌、根际内生菌及促植物生长菌株研究的热点问题。赵龙飞等^[14]从药用植物地黄块茎中筛选棉花枯萎病菌拮抗内生细菌, 菌株 DH92 (枯萎病菌拮抗内生细菌 *P. ananatis*) 的 ACC 脱氨酶活性最高, 为 118.612 $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$, 盆栽结果表明, ACC 脱氨酶高产菌株 DH92 具有促进植物生长的特性, 对植株病原菌防治效果最好; 而本课题组前期从大豆根瘤中分离的具 ACC 脱氨酶活性菌株 DD132, 其酶活力最高为 15.71 $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$ ^[35]。比较发现, 地黄内生菌产生 ACC 脱氨酶活力比大豆根瘤内生菌高出 6.6 倍, 明显高于国外

报道的 5–10 $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$ ^[36]。张琳等^[26]从药用植物三七(*Panax notoginseng*)中分离的内生菌 PN12 具有较高的 ACC 脱氨酶活性(6.79 U/mL), 16S rRNA 基因测序结果表明该菌株属于普城沙雷氏菌(*Serratia plymuthica*), 该菌株对促进宿主植物生长发育起到重要作用。邓超等^[37]研究发现施用含 ACC 脱氨酶的不同 PGPR 菌株, 其中菌株 BG 可以使药用植物重瓣百合鲜切花的保鲜效果最为明显, 能较好地维持切花的外观观赏品质, 且能有效延缓切花的衰老进程。李茜等^[38]从药用植物螃蟹脚(*Viscum liquidambaricolum* Hayata)中筛选出 12 株具 ACC 脱氨酶活性(在 20 nmol/mg 以上)的菌株, 分别属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)、短小杆菌属(*Curtobacterium*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、细杆菌属(*Microbacterium*)、代尔夫特菌属(*Delftia*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)和马赛菌属(*Massilia*)等, 菌株 SWFU34 ACC 脱氨酶活性最高, 为 1.320 1 U/mg, 其中 3 株菌成功克隆了 *acdS* 基因, 其片段长度均为 1 017 bp, 编码 338 aa, 该基因具有较高的保守性^[38]。由此可见, 从不同植物中筛选具有 ACC 脱氨酶活性的优势菌属具有一定的差异性。纵观国内外研究, 药用植物中蕴藏丰富的 ACC 脱氨酶活性的内生细菌资源, 目前对具有 ACC 脱氨酶活性植物内生细菌的相关研究主要集中于促进植物生长、增强植物抗性等, 这为下一步开发生物菌肥提供研究基础, 但对药用植物内生菌 ACC 脱氨酶基因的表达及与宿主间互作关系还需要深入研究。

2.2 增强宿主植物抗逆性

植物在生长过程中经受不良环境威胁, 包括生物胁迫和非生物胁迫; 生物胁迫主要是一些病原菌、昆虫等对植物本身的伤害; 非生物胁迫主要是由于干旱、盐碱和重金属等导致宿

主植物营养流失、代谢紊乱等损害^[39]。治理病虫害的传统方法是喷施化学农药来降低生物胁迫危害,但施用农药造成环境污染、破坏土壤微生态平衡、导致农药残留等问题。干旱、盐碱胁迫和重金属污染给植物同样带来严重伤害,这些问题均已成为生态学、植物学、植物保护学、微生物学关注的焦点^[40]。目前,生物修复具有成本低廉、环境友好、有效缓解土壤盐渍化状况等优点。利用具有生物修复和促生功能的内生菌资源提高宿主植物生物胁迫和非生物胁迫的抗性,已经引起研究者的高度重视^[41]。徐亚军等^[42]对药用植物野生艾蒿(*Artemisia argyi*)内生菌的研究表明,内生菌产生的挥发性气体或者分泌的化学物质对病原菌菌丝有明显抑制作用。赵龙飞等^[14]从药用植物地黄块茎中分离的内生菌 DH9 和 DH92,它们对棉花枯萎病菌具有较强拮抗作用,抑菌率均在 31.00%以上,其中 DH92 抑制率最高,为 32.20%;盆栽接种处理结果表明整体发病率和病情指数均降低,植株发病率均小于 32%,防治效果在 75%以上。以上试验^[11]表明,许多植物内生菌能够抑制病原菌引起的植物病害的发生,通过竞争生态位和营养位置来抑制致病菌的生长,通过诱导宿主系统抗性(induction of systemic resistance, ISR)抑制病原菌的生长,还可通过群体效应信号干扰并抑制致病菌的生长^[43]。课题组利用内生菌资源修复盐胁迫已开展相关研究^[40],从大豆根瘤内筛选的内生枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 127 和解蛋白芽孢杆菌(*Bacillus Proteolytic*) 133,盐胁迫下接种内生菌可使大豆幼苗体内 SOD 和 POD 活性不同程度变化,表明接种内生菌 127 和 133 均可提高大豆幼苗的耐盐性,对盐胁迫环境的大豆幼苗具有修复作用。Khin 等^[44]研究表明内生菌可以通过调节植物膜透性、提高光合作用、减少离子毒害以及改善植物激素

代谢等方式来缓解植物盐害。纵观国内外报道,多数是筛选出植物优良内生菌株,盆栽接种试验验证内生菌对植物的修复效果,但是对药用植物内生菌资源的开发与利用还需进一步深入研究。

2.3 促进宿主植物产生次生代谢产物

次生代谢产物(secondary metabolites)是植物在其生长发育和对环境的适应过程中产生的一类小分子有机化合物,如生物碱、黄酮类、萜类、有机酸等,这类小分子有机化合物在植物生长发育过程中起着不可替代的作用;内生菌可以直接参与药用植物次生代谢产物的合成,也可诱导药用植物形成次生代谢产物^[45]。内生菌长期生活在宿主植物细胞内与细胞间,与宿主植物长期进化过程中形成与宿主代谢类似的特殊次生代谢产物,这些代谢产物可能是宿主植物次生代谢产物关键酶的别构激活剂,可以激活关键酶活性^[46]。此外,内生菌还可促进宿主植物产生具有抗氧化、抗高胆固醇、抗糖尿病、抗癌活性的化合物,是当前药用成分研究与生产的热点,内生菌对宿主植物还具有毒性作用或抑制作用^[47],内生菌影响宿主植物代谢的同时,药用植物本身也会对内生菌产生耐受反应,与内生菌形成共生体^[48],互惠互利长期存在。选用合适的内生菌作用于药用植物,可以提高其次生代谢产物的含量,对于濒危药用植物的保护以及新药物的合成与开发具有重要意义。但是目前对内生菌如何促进药用植物产生代谢产物的机制还不是很清楚,还需要从转录组学、代谢组学的角度开展研究,以充分发挥植物与微生物之间的有益协作关系。

3 内生菌研究方法

目前,对药用植物内生菌的研究仍处于对不同药用植物内生菌的分离、筛选及次生代谢

产物药效成分和药理活性阶段。新研究技术手段,如宏基因组学、DNA 稳定同位素探测技术(DNA-based stable isotope probing, DNA-SIP)^[49]、现代色谱技术、高通量测序技术^[50]、基因芯片技术、原子追踪技术、蛋白芯片技术、人工构建合成群落(synthetic microbial communities, SynComs)^[51]、宿主相关定量分析(host-associated quantitative abundance profiling, HA-QAP)^[52]等的不断出现,对研究药用植物内生菌群落、特定菌种资源、次生代谢产物、内生菌与植物互作效应等提供了技术借鉴。

宏基因组学通过混合样品宏基因组 DNA 提取、文库构建、基因筛选和生物信息学分析等揭示微生物的多样性和功能^[53],在挖掘利用未培养微生物资源及筛选新颖生物活性物质方面具有很大潜力。陈倩倩等^[54]对药用植物金线莲(*Anoectochilus roxburghii*)根部富集的内生菌进行探索,提取混合内生菌样品宏基因组 DNA,并对宏基因组 DNA 纯化,揭示了金线莲根部主要内生菌种类。

DNA 稳定同位素探测技术(DNA-SIP)是通过标记底物微生物的 DNA 和磷脂等中的 ¹³C、¹⁵N、¹⁸O 等,分析药用植物与内生菌之间的互作效应,通过富集和测序鉴定同位素标记 DNA,可获得参与代谢该标记底物的微生物类群。王辛辛等^[55]利用 DNA-SIP 技术解析了特定底物诱导的微生物响应,从而阐明了真菌和细菌微生物底物利用特征具有特异性。

现代色谱技术是检测微量成分和含量的常用技术之一,气相色谱法可以检测药用植物不同部位中激素的含量;柱层析、波谱分析及高效液相色谱法可以分离纯化内生菌次生代谢产物,通过色谱峰也可得到其相应的纯度。杨水萌^[56]通过分段式静态顶空技术结合气相色谱-质谱技术分别对白芨等 13 种不同的药用植物的

花、叶等组织中挥发性次级代谢产物进行分析,结果显示不同植物的不同部位释放的挥发性成分种类组成和含量存在一定差异,具有较明显的科属和种类特异性。这为检测内生菌、药用植物产生代谢产物和次级代谢产物提供了技术参考。

高通量测序技术是一种新兴的分子生物学技术,具有分辨水平高、无须培养、对大规模基因序列直接测序等特点,该技术可对环境微生物的群落结构和多样性深入分析。通常采用第二代测序技术在非培养条件下对植物内生菌的 16S rRNA 基因进行扩增测序,进而确定细菌群落种类组成和多样性。李丽等^[57]利用高通量测序技术对西洋参(*Panax quinquefolius*)根际土壤微生物群落结构和多样性进行研究分析,发现土壤中的 *Sphingomonas*、*Bacillus* 和 *Gemmatimonas* 对西洋参的生长具有促进作用。程济南等^[58]对 5 个不同地区的瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)根部内生菌进行高通量测序,结果显示根内真菌主要以子囊菌门为主,根内检测到的 25 个细菌门主要是以蓝细菌、变形菌门和放线菌门为主。该技术为分析药用植物内生菌群落结构和多样性特征提供了技术手段。

基因芯片技术主要是利用基因探针及核酸杂交技术,将已知序列的核酸片段固定在物体上成为基因探针,结合碱基互补配对原则和荧光标记法,将已被标记的基因探针与待测的核酸片段进行杂交,通过检测荧光信号的有无测定靶基因的具体信息^[59]。该方法可对药用植物内生菌进行基因鉴定,从而确定其分属种类,这为药用植物内生菌多样性及种属鉴定提供了参考。

人工构建合成群落(SynComs)是人为地将多个种类、功能等明确的不同微生物在特定条件下以确定的比例进行混合,获得稳定且功能

明确的微生物群落, 在促进植物生长、养分吸收、抵御逆境胁迫等方面具有重要作用^[60]。目前, SynComs 技术在拟南芥、水稻、玉米、番茄等植物生长、养分吸收和病害防控上已展开广泛研究。SynComs 能实现比单一菌株更高效、更稳定的功能, 可以解析微生物与微生物间的相互作用, 阐明微生物群落与植物养分吸收、抵抗逆境胁迫等方面的互作机制。Zhang 等^[51]从籼稻和粳稻的根系分离出 1 079 株细菌进行纯培养, 设计人工重组群落, 验证了籼稻富集菌比粳稻富集菌具有明显的生长促进作用。该研究发现了植物基因型和根系微生物之间互作关系, 将为改善作物氮利用的育种策略提供有用信息。

以上代表性研究技术和方法仅仅为植物内生菌群落多样性研究以及内生菌与宿主组织互作探讨提供了思路和借鉴, 未来药用植物内生菌的研究应综合应用高通量测序技术、组合化学、分子生物学等技术手段, 建立药用植物内生菌种资源库, 充分利用有益菌种开展药用植物种植和培育以及药用植物资源保护工作, 提高天然产物的质量和产量。研究表明^[61], 生活在真核生物内部的微生物群是宿主健康的驱动力。微生物群可通过增强植物免疫力、获取营养物质和增强对环境胁迫的耐受性, 大大扩展其基因组能力, 但如何利用这些技术有效探索药用植物与内生菌资源间的关系是目前亟待解决的问题。

4 展望

近年来, 人们逐渐认识到内生菌通过特定方式与宿主相互作用, 在影响生药产量和品质方面发挥着重要作用。内生菌能够促进宿主植物产生次生代谢产物, 是由于基因重组使内生菌产生与宿主相同的信息传导通路, 从而合成

与宿主类似的次生代谢产物, 它们影响着药用植物的“道地性”^[62], 需要进一步了解内生菌与药用植物间的特殊关系, 以促进药用植物生长, 使其成为道地药材的地域性标签。植物与一系列微生物资源, 如内生微生物、根际微生物和菌根微生物建立内在关系, 微生物因其已证实的作用引起科学界广泛关注。内生菌促进植物生长, 最大限度地保护植物免受病原真菌的侵害, 从而增强宿主对胁迫的抵抗力^[63], 并可刺激某些生物活性物质的合成。内生菌不仅作为生产无公害农药微生物的来源, 还可以促进宿主植物产生一些重要的抗人类疾病药物, 具有很高的开发利用价值。目前, 内生菌的作用机理采用基因组学、转录组学、蛋白组学、次生代谢组学等“组学”方法相结合, 推动了基因、转录、表达和代谢产物形成等各层次对内生菌-植物互作的全面认识, 为研究微生物与药用植物间的关系以及探索植物内生菌资源对宿主植物影响的机理起着重要作用。

REFERENCES

- [1] 赵龙飞, 徐亚军, 常佳丽, 李全芬, 杨静雅, 欧启凡, 杨梦冉. 大豆根瘤内抗棉花枯萎病菌株的筛选及其防病试验[J]. 微生物学报, 2017, 57(5): 710-723.
ZHAO LF, XU YJ, CHANG JL, LI QF, YANG JY, OU QF, YANG MR. Screening endophytic bacteria from soybean root nodules to inhibit *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2017, 57(5): 710-723 (in Chinese).
- [2] JIA M, CHEN L, XIN HL, ZHENG CJ, RAHMAN K, HAN T, QIN LP. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 906.
- [3] 徐亚军, 赵龙飞, 符可, 望子龙, 秦丁梅, 王子秋, 许明晨, 袁菲菲. 响应面法分析药用植物伤力草浸提液对大肠杆菌抑制效果[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 169-173.
XU YJ, ZHAO LF, FU K, WANG ZL, QIN DM, WANG ZQ, XU MC, YUAN FF. Inhibitory effects of water extracts of medicinal plant Shangli grass on *Escherichia coli* by response surface analysis[J]. China Brewing, 2022, 41(5): 169-173 (in Chinese).

- [4] YADAV G, MEENA M. Bioprospecting of endophytes in medicinal plants of Thar Desert: an attractive resource for biopharmaceuticals[J]. *Biotechnology Reports*, 2021, 345(12): 89-92.
- [5] PETRINI O. *Fungal Endophytes of Tree Leaves*[M]. Heidelberg: Springer-Verlag, 1991: 179-196.
- [6] SANTOYO G, MORENO-HAGELSIEB G, DELC OROZCO-MOSQUEDA M, GLICK BR. Plant growth-promoting bacterial endophytes[J]. *Microbiological Research*, 2016, 183: 92-99.
- [7] 王玉芬. 植物内生菌的研究进展[J]. *现代园艺*, 2019(11): 23-24.
WANG YF. Research progress of endophytic bacteria in plants[J]. *Xiandai Horticulture*, 2019(11): 23-24 (in Chinese).
- [8] ZHAO LF, XU YJ, LAI XH, SHAN CJ, DENG ZS, JI YL. Screening and characterization of endophytic *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from medicinal plant *Lonicera japonica* for use as potential plant growth promoters[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2015, 46(4): 977-989.
- [9] LARRAN S, PERELLÓ A, SIMÓN MR, MORENO V. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, 23(4): 565-572.
- [10] BHAGAT J, KAUR A, SHARMA M, SAXENA AK, CHADHA BS. Molecular and functional characterization of endophytic fungi from traditional medicinal plants[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(3): 963-971.
- [11] ZHAO LF, XU YJ, LAI XH. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2018, 49(2): 269-278.
- [12] 封明, 刘文杰, 苏誉, 王楠, 毛瑜, 张新国, 张继. 植物内生放线菌多样性及其活性代谢产物的研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2021, 41(4): 64-73.
FENG M, LIU WJ, SU Y, WANG N, MAO Y, ZHANG XG, ZHANG J. Advances in diversity of plant endophytic actinomycetes and their active metabolites[J]. *Journal of Microbiology*, 2021, 41(4): 64-73 (in Chinese).
- [13] HU LF, ROBERT CAM, CADOT S, ZHANG X, YE M, LI BB, MANZO D, CHERVET N, STEINGER T, van der HEIJDEN MGA, SCHLAEPPI K, ERB M. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 2738.
- [14] 赵龙飞, 徐亚军, 邓振山, 赖心河, 周金源, 马素珍, 符可, 周璞, 朱艳芳. 拮抗棉花枯萎病菌的地黄内生细菌筛选、鉴定和促生潜能[J]. *微生物学报*, 2021, 61(8): 2338-2357.
ZHAO LF, XU YJ, DENG ZS, LAI XH, ZHOU JY, MA SZ, FU K, ZHOU P, ZHU YF. Screening, identification and growth-promoting of antagonistic endophytic bacteria associated with *Rehmannia glutinosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(8): 2338-2357 (in Chinese).
- [15] 张典利, 孟臻, 亓文哲, 乔康. 植物根际促生菌的研究与应用现状[J]. *世界农药*, 2018, 40(6): 37-43.
ZHANG DL, MENG Z, QI WZ, QIAO K. The research and application status of plant growth promoting rhizobacteria[J]. *World Pesticides*, 2018, 40(6): 37-43 (in Chinese).
- [16] SHABANAMOL AS, DIVYA AK, GEORGE ATK, RISHAD KS, SREEKUMAR TS, JISHA MS. Characterization and *in planta* nitrogen fixation of plant growth promoting endophytic diazotrophic *Lysinibacillus sphaericus* isolated from rice (*Oryza sativa*)[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2018, 102: 46-54.
- [17] DAWE D, DOBERMANN A, MOYA P, ABDULRACHMAN S, SINGH B, LAL P, LI SY, LIN B, PANAUULLAH G, SARIAM O, SINGH Y, SWARUP A, TAN PS, ZHEN QX. How widespread are yield declines in long-term rice experiments in Asia?[J]. *Field Crops Research*, 2000, 66(2): 175-193.
- [18] REINHOLD-HUREK B, HUREK T. Living inside plants: bacterial endophytes[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, 14(4): 435-443.
- [19] SÁNCHEZ-CRUZ R, TPIA VÁZQUEZ I, ALBERTO BATISTA-GARCÍA R, MÉNDEZ-SANTIAGO EW, del RAYO SÁNCHEZ-CARBENTE M, LEIJA A, LIRA-RUAN V, HERNÁNDEZ G, WONG-VILLARREAL A, FOLCH-MALLOL JL. Isolation and characterization of endophytes from nodules of *Mimosa pudica* with biotechnological potential[J]. *Microbiological Research*, 2019, 218: 76-86.
- [20] 杨波, 陈晏, 李霞, 任承钢, 戴传超. 植物内生菌促进宿主氮吸收与代谢研究进展[J]. *生态学报*, 2013, 33(9): 2656-2664.
YANG B, CHEN Y, LI X, REN CG, DAI CC. Research progress on endophyte-promoted plant nitrogen assimilation and metabolism[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(9): 2656-2664 (in Chinese).
- [21] DENG ZS, KONG ZY, ZHANG BC, ZHAO LF.

- Insights into non-symbiotic plant growth promotion bacteria associated with nodules of *Sphaerophysa salsula* growing in northwestern China[J]. Archives of Microbiology, 2020, 202(2): 399-409.
- [22] 门惠芹, 王亚军, 安巍, 罗青. 固氮菌对枸杞生长发育的影响[J]. 北方园艺, 2015(15): 150-152.
MEN HQ, WANG YJ, AN W, LUO Q. Effect of *Azotobacter* inoculating on the growth and development of wolfberry[J]. Northern Horticulture, 2015(15): 150-152 (in Chinese).
- [23] NASLA M.R.F, WELIKALA N. Isolation and partial characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from selected rice cultivars[J]. University of Kelaniya Sri Lanka, 2016: 1-12.
- [24] 杨海霞, 刘希旻, 潘奕臣, 赵香林, 黄海东. 耐盐碱溶磷菌 Y2R2 的分离鉴定及溶磷特性[J]. 生物技术通报, 2020, 36(10): 127-134.
YANG HX, LIU XM, PAN YC, ZHAO XL, HUANG HD. Isolation, identification and characterization of salt-alkali-tolerant and phosphorus-dissolving bacterium Y2R2[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(10): 127-134 (in Chinese).
- [25] 李宁, 王珊珊, 马丽丽, 刘耀辉, 修玉冰, 李新华, 项国栋, 胡冬南, 郭晓敏, 张文元. 两株高效溶磷菌的溶磷能力及其对玉米生长和红壤磷素形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(2): 275-283.
LI N, WANG SS, MA LL, LIU YH, XIU YB, LI XH, XIANG GD, HU DN, GUO XM, ZHANG WY. Phosphate-solubilizing capacity of two bacteria strains and its effect on maize growth and the phosphorus fractions in red soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021, 27(2): 275-283 (in Chinese).
- [26] 张琳, 陈彦宏, 王雪妍, 解晓彤, 李亚静, 金朝霞. 三七植物内生细菌的促生作用[J]. 大连工业大学学报, 2018, 37(4): 244-248.
ZHANG L, CHEN YH, WANG XY, XIE XT, LI YJ, JIN ZX. The growth-promoting function of endophytic bacteria from *Panax notoginseng*[J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2018, 37(4): 244-248 (in Chinese).
- [27] 金艳丽, 兰晓君, 姚拓, 丁小琴. 当归和羌活根际促生菌筛选及特性研究[J]. 中国农业科技导报, 2021. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2021.0534.
JIN YL, LAN XJ, YAO T, DING XQ. Screening and characteristic study of *Angelica sinensis* and *Notopterygium incisum* rhizosphere growth-promoting bacteria[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2021. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2021.0534 (in Chinese).
- [28] 金杰人, 鲁凯珩, 肖明. 荧光假单胞菌的应用与展望[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2019, 48(5): 526-535.
JIN JR, LU KH, XIAO M. Application and prospect of *Pseudomonas fluorescens*[J]. Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences), 2019, 48(5): 526-535 (in Chinese).
- [29] 殷奥杰, 王齐, 葛森森, 鲁统壮, 任丽英. 微生物铁载体的应用研究进展[J]. 环境保护与循环经济, 2021, 41(7): 20-24.
YIN AJ, WANG Q, GE MM, LU TZ, REN LY. Progress in the application of microbial siderophore research[J]. Environmental Protection and Circular Economy, 2021, 41(7): 20-24 (in Chinese).
- [30] JAHN L, HOFMANN U, LUDWIG-MÜLLER J. Indole-3-acetic acid is synthesized by the endophyte *Cyanodermella asteris* via a tryptophan-dependent and-independent way and mediates the interaction with a non-host plant[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(5): 2651.
- [31] 杜佳慧, 徐伟芳, 杨晓冬, 谭松, 尹登科, 刘园旭. 多花黄精产吲哚乙酸内生菌的分离筛选及其对黄精种子萌发的影响[J]. 生物技术通报, 2022, 38(12): 223-232.
DU JH, XU WF, YANG XD, TAN S, YIN DK, LIU YX. Isolation and screening of endophytes producing indole acetic acid from *Polygonatum cyrtoneura* Hua. and its effect on seed germination of *Polygonatum*[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(12): 223-232 (in Chinese).
- [32] 康慧颖, 王伟, 刘佳莉, 程园园, 郭长虹, 郭东林. 两株具促生作用的苜蓿内生菌的分离纯化与鉴定[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 280-288.
KANG HY, WANG W, LIU JL, CHENG YY, GUO CH, GUO DL. Isolation and identification of two plant-growth promoting endophytes from alfalfa[J]. Microbiology China, 2015, 42(2): 280-288 (in Chinese).
- [33] 李玲, 沈琼雯, 庞祥宇, 王倩, 韦植元, 曹迅, 邓年方, 李有志. 贵州喀斯特地区具 ACC 脱氨酶活性细菌的分离和鉴定[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(4): 1495-1505.
LI L, SHEN QW, PANG XY, WANG Q, WEI ZY, CAO X, DENG NF, LI YZ. Isolation and identification of bacteria with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity in Karst soil from Guizhou[J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(4): 1495-1505 (in Chinese).
- [34] 费诗莹, 张敏, 王迎, 杨苗, 余旋. 具有 ACC 脱氨酶活性的红枣根际促生菌株的分离筛选及其促生效果研究[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(6): 140-146.

- FEI SX, ZHANG M, WANG Y, YANG M, YU X. Isolation, screening and promoting effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase from Jujube[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(6): 140-146 (in Chinese).
- [35] 赵龙飞, 徐亚军, 常佳丽, 李敏, 张艳玲, 党永杰, 王梦思, 程亚稳, 张斌月. 具 ACC 脱氨酶活性大豆根瘤内生菌的筛选、抗性及其促生作用[J]. 微生物学报, 2016, 56(6): 1009-1021.
- ZHAO LF, XU YJ, CHANG JL, LI M, ZHANG YL, DANG YJ, WANG MS, CHENG YW, ZHANG BY. Screening, resistance and growth-promoting effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity isolated from soybean nodules[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(6): 1009-1021 (in Chinese).
- [36] BELIMOV AA, DODD IC, SAFRONOVA VI, HONTZEAS N, DAVIES WJ. *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(6): 1485-1495.
- [37] 邓超, 邓洁, 黄美娟, 黄海泉. 含 ACC 脱氨酶的植物根际促生细菌菌株对重瓣百合‘Belonica’采后品质及生理特性的影响[J]. 北方园艺, 2019(12): 63-67.
- DENG C, DENG J, HUANG MJ, HUANG HQ. Effect of PGPR strain containing ACC deaminase on post-harvest physiological characteristics of cut lily ‘Belonica’[J]. Northern Horticulture, 2019(12): 63-67 (in Chinese).
- [38] 李茜, 傅培龙, 贾颜, 李文祥, 王梦雨, 黄海泉, 黄美娟. 含 ACC 脱氨酶的螃蟹脚内生细菌筛选及其 *acdS* 基因克隆与分析[J]. 分子植物育种, 2021 [2021-12-27]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211227.1337.010.html>.
- LI Q, FU PL, JIA Y, LI WX, WANG MY, HUANG HQ, HUANG MJ. Screening of endophytic bacteria from *Viscum liquidambaricolum* containing ACC deaminase and cloning and analysis of *acdS* gene[J]. Molecular Plant Breeding, 2021 [2021-12-27]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20211227.1337.010.html> (in Chinese).
- [39] 徐静, 王超. 内生真菌提高植物抗逆性的研究进展[J]. 山东化工, 2021, 50(20): 58-59.
- XU J, WANG C. Research progress of endophytic fungi in enhancing stress resistance of plants[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(20): 58-59 (in Chinese).
- [40] 赵龙飞, 徐亚军, 邵璇, 杨静雅. 两株内生芽孢杆菌对盐胁迫下大豆幼苗超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(5): 1664-1677.
- ZHAO LF, XU YJ, SHAO X, YANG JY. Two endophytic *Bacillus* strains from soybean nodules affect superoxide dismutase and peroxidase activities in soybean seedlings under salt stress[J]. Microbiology China, 2022, 49(5): 1664-1677 (in Chinese).
- [41] FARRAR K, BRYANT D, COPE-SELBY N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops[J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(9): 1193-1206.
- [42] 徐亚军, 赵龙飞, 陈普, 蒋晓瑞, 韦革宏. 植物病原菌拮抗性野生艾蒿内生菌的分离、筛选和鉴定[J]. 生态学报, 2013, 33(12): 3697-3705.
- XU YJ, ZHAO LF, CHEN P, JIANG XR, WEI GH. Isolation, screening and characterization of phytopathogen antagonistic endophytes from wild *Artemisia argyi*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(12): 3697-3705 (in Chinese).
- [43] 尹雁玲, 蔡然, 张功良, 杨彦涛, 刘兴宇, 沈锡辉. 植物内生菌增强植物对生物胁迫抗性的研究进展[J]. 广西植物, 2022 [2022-09-27]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20220923.1405.004.html>.
- YIN YL, CAI R, ZHANG GL, YANG YT, LIU XY, SHEN XH. Progress in the function of endophytes in enhancing plant resistance to stresses[J]. Guihaia, 2022 [2022-09-27]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20220923.1405.004.html> (in Chinese).
- [44] KHIN THUZARWIN, FUKUYO TANAKA, KEIKIOKAZAKI, YOSHINARIOHWAKI. The ACC deaminase expressing endophyte *Pseudomonas* spp. enhances NaCl stress tolerance by reducing stress-related ethylene production, resulting in improved growth, photosynthetic performance, and ionic balance in tomato plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 127: 599-607.
- [45] PALANICHAMY P, KRISHNAMOORTHY G, KANNAN S, MARUDHAMUTHU M. Bioactive potential of secondary metabolites derived from medicinal plant endophytes[J]. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2018, 5(4): 303-312.
- [46] VENUGOPALAN A, SRIVASTAVA S. Endophytes as *in vitro* production platforms of high value plant secondary metabolites[J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6): 873-887.
- [47] MOHAMMED SI, PATIL MP, PATIL RH, LAXMINARAYAN MAHESHWARI V. Endophytes: Potential Source of Therapeutically Important Secondary Metabolites of Plant Origin[M]. Endophytes:

- Crop Productivity and Protection, 2017: 213-237.
- [48] 邢来君, 李明春, 喻其林. 普通真菌学[M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2020: 2-6.
- XING LJ, LI MC, YU QL. General Mycology[M]. 3rd edition. Beijing: Higher Education Press, 2020: 2-6 (in Chinese).
- [49] WANG QF, MA MC, JIANG X, ZHOU BK, GUAN DW, CAO FM, CHEN SF, LI J. Long-term N fertilization altered ^{13}C -labeled fungal community composition but not diversity in wheat rhizosphere of Chinese black soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135: 117-126.
- [50] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(2): 231-248.
- LIU JW, LI XZ, YAO MJ. Research Progress on Assembly of plant rhizosphere microbial community[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(2): 231-248 (in Chinese).
- [51] ZHANG JY, LIU YX, ZHANG N, HU B, JIN T, XU HR, QIN Y, YAN PX, ZHANG XN, GUO XX, HUI J, CAO SY, WANG X, WANG C, WANG H, QU BY, FAN GY, YUAN LX, GARRIDO-OTER R, CHU CC, BAI Y. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(6): 676-684.
- [52] TKACZ A, HORTALA M, POOLE PS. Absolute quantitation of microbiota abundance in environmental samples[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 110.
- [53] GEWIN V. Genomics: discovery in the dirt[J]. Nature, 2006, 439(7075): 384-386.
- [54] 陈倩倩, 刘波, 关雄, 唐建阳. 金线莲根部内生菌多样性宏基因组的分析[J]. 农业生物技术学报, 2014, 22(11): 1441-1446.
- CHEN QQ, LIU B, GUAN X, TANG JY. Analysis of *Anoectochilus roxburghii* root microbial diversity by metagenomic technology[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2014, 22(11): 1441-1446 (in Chinese).
- [55] 王辛辛, 刘岩, 张威, 周旭辉, 何红波, 张旭东. 基于稳定性同位素核酸探针技术的红壤微生物底物利用策略研究[J]. 土壤学报, 2022, 59(1): 274-284.
- WANG XX, LIU Y, ZHANG W, ZHOU XH, HE HB, ZHANG XD. Strategies for soil microbes utilizing exogenous substrates in ultisol based on nucleic acid stable isotope probing technique[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(1): 274-284 (in Chinese).
- [56] 杨水萌. 十三种药用植物挥发性成分的 SHS/GC-MS 研究[D]. 西安: 西北大学硕士学位论文, 2018.
- YANG SM. Study on the volatile components of thirteen medicinal plants by SHS/GC-MS[D]. Xi'an: Master's Thesis of Northwest University, 2018 (in Chinese).
- [57] 李丽, 蒋景龙. 基于高通量测序的西洋参根际土壤细菌群落分析[J]. 中药材, 2019, 42(1): 7-12.
- LI L, JIANG JL. Bacterial community analysis of *Panax quinquefolium* rhizosphere soil by high-throughput sequencing technology[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2019, 42(1): 7-12 (in Chinese).
- [58] 程济南, 金辉, 许忠祥, 张金林, 杨晓燕, 柳皓月, 许欣欣, 闵灯, 秦波. 高通量测序分析甘肃高寒草原瑞香狼毒根内生菌群落结构特征研究[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3520-3531.
- CHENG JN, JIN H, XU ZX, ZHANG JL, YANG XY, LIU HY, XU XX, MIN D, QIN B. High throughput sequencing analysis of *Stellera chamaejasme* L. root endophytic microorganisms in Gansu alpine grassland[J]. Microbiology China, 2021, 48(10): 3520-3531 (in Chinese).
- [59] 李筱乐. 基因芯片技术在生物研究中的应用进展[J]. 知识文库, 2020(5): 134-135.
- LI YL. Application progress of gene chip technology in biological research[J]. Knowledge library, 2020(5): 134-135 (in Chinese).
- [60] 穆朋, 金桥, 刘政波, 邓云泽, 刘宁. 合成微生物群落构建技术在药用植物栽培领域的应用[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2506-2516.
- MU P, JIN Q, LIU ZB, DENG YZ, LIU N. Application on construction technology of synthetic microbial communities in field of medicinal plant cultivation[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(8): 2506-2516 (in Chinese).
- [61] RAAIJMAKERS JM, KIERS ET. Rewilding plant microbiomes[J]. Science, 2022, 378(6620): 599-600.
- [62] STROBEL G, DAISY B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR, 2003, 67(4): 491-502.
- [63] KHAMWAN S, BOONLUE S, RIDDECH N, JOGLOY S, MONGKOLTHANARUK W. Characterization of endophytic bacteria and their response to plant growth promotion in *Helianthus tuberosus* L.[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2018, 13: 153-159.