

东乡野生稻内生细菌 Fse32 拮抗作物病害真菌及对水稻的促生活性

张晓¹, 张志斌^{*1}, 谢晶¹, 汪涯², 付学琴¹, 江玉梅¹, 朱笃^{*1,2}

1 江西师范大学生命科学学院 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室, 江西 南昌 330022

2 江西科技师范大学生命科学学院, 江西 南昌 330013

张晓, 张志斌, 谢晶, 汪涯, 付学琴, 江玉梅, 朱笃. 东乡野生稻内生细菌 Fse32 拮抗作物病害真菌及对水稻的促生活性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4825-4838.

ZHANG Xiao, ZHANG Zhibin, XIE Jing, WANG Ya, FU Xueqin, JIANG Yumei, ZHU Du. Antagonism against crop pathogenic fungi and rice growth-promoting potential of endophytic bacterial Fse32 from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.)[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4825-4838.

摘要:【背景】植物种子是植物内生菌筛选的重要原料, 从中能够分离得到具有巨大应用价值的内生菌株。【目的】为发掘优良的种子内生细菌资源, 对分离自东乡野生稻种子的内生细菌 Fse32 进行鉴定并研究其抗病原真菌和促生活性。【方法】通过形态学观察、生理生化特征和 16S rRNA 基因序列分析进行菌种鉴定, 采用拮抗试验检测抑制病原真菌的活性, 通过促生能力测定试验、水稻种子萌发及盆栽试验评价该菌株的促生效果。【结果】内生细菌 Fse32 鉴定为唐菖蒲伯克霍尔德氏菌, 命名为 *Burkholderia gladioli* Fse32。拮抗试验结果显示, 菌株 Fse32 对禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、大豆核盘菌(*Sclerotinia libertiana*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)均有较好的抑制作用, 吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)产率为 17.95 mg/L, 能产铁载体, 其 A/A₀ 比值为 0.24, 溶解无机磷量为 339.07 mg/L。种子萌发及盆栽试验结果表明, 菌株 Fse32 能显著促进水稻种子萌发, 施用该菌后水稻幼苗株高、根长、干重和总叶绿素含量分别增长 7.9%、33.5%、108.9%和 68.9%。【结论】*Burkholderia gladioli* Fse32 是一株功能多样且高效的植物内生细菌, 具有很好的生物防治及促生应用前景。

关键词: 东乡野生稻; 内生细菌; 植物促生活性; 拮抗作用; 鉴定

资助项目: 国家自然科学基金(31760160, 31960078)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31760160, 31960078).

*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Zhibin, zzbio@163.com; ZHU Du, zhudu12@163.com

Received: 2023-03-31; Accepted: 2023-05-01; Published online: 2023-06-08

Antagonism against crop pathogenic fungi and rice growth-promoting potential of endophytic bacteria Fse32 from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.)

ZHANG Xiao¹, ZHANG Zhibin^{*1}, XIE Jing¹, WANG Ya², FU Xueqin¹, JIANG Yumei¹, ZHU Du^{*1,2}

1 Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources of Jiangxi Province, College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, Jiangxi, China

2 College of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, Jiangxi, China

Abstract: [Background] Plant seeds are important raw source for screening endophytic bacteria, from which the strains with great application values can be isolated. [Objective] To explore excellent endophyte resources from seeds, we identified the endophytic bacterial strain Fse32 isolated from the seeds of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and evaluated its resistance to pathogenic fungi and growth-promoting effects. [Methods] The isolated bacteria was identified based on morphological, physiological, and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence. The antagonistic experiment was carried out to determine the inhibitory activities on pathogenic fungi. The tests of growth promoting ability, rice seed germination and pot experiments were conducted to evaluate the growth-promoting effect of the strain. [Results] Endophytic bacteria Fse32 was identified as *Burkholderia gladioli* Fse32. The strain exhibited remarkable effectiveness against *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia libertiana*, *Fusarium oxysporum*, and *Phytophthora capsici*. Furthermore, Fse32 displayed excellent growth-promoting potential, the production of Indoleacetic acid (indole-3-acetic acid, IAA) at a yield of 17.95 mg/L, the capability of producing siderophores, with an A/A_r ratio of 0.24 and the inorganic phosphorus-solubilizing ability of 339.07 mg/L. The results of seed germination and pot experiments showed that strain Fse32 significantly promoted rice seed germination, and increased the plant height, root length, dry weight, and total chlorophyll content of rice seedlings by 7.9%, 33.5%, 108.9%, and 68.9% respectively. [Conclusion] *Burkholderia gladioli* Fse32 is an endophytic bacterium with diverse functions and high efficiency, demonstrating a promising prospect for biocontrol and growth promotion.

Keywords: *Oryza rufipogon*; endophytic bacteria; plant growth-promoting activities; antagonistic effect; identification

种子是植物系统发育过程中保持生命连续性的物质基础, 它包含植物有机体的各种遗传因子, 与植物生长繁殖密切相关^[1]。大量研究表明, 内生细菌在植物种子中广泛存在, 它们通过种子在植物世代之间以垂直传播的方式传

递, 不仅影响种子的活力和品质, 也与植物的生长发育及产量密切相关^[2-5]。从不同植物种子中分离出的泛菌属(*Pantoea*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)及伯克霍尔德氏菌属

(*Burkholderia*)等内生细菌显示出多种生物学功能^[6-7], 它们可以通过固氮、溶磷和产植物激素等直接方式促进植物生长, 还能够以合成次级代谢产物和分泌铁载体帮助植物抵抗病虫害等间接机制调节植物生长^[2,8-9]。

水稻(*Oryza sativa* L.)是全球主要的粮食作物, 而水稻种子在水稻生产中发挥重要作用, 它们能将一些特定内生菌群在世代之间连续传递, 从而直接或间接地影响水稻的生长发育及品质产量^[3,10-11]。目前对不同产地、不同品种、不同生长阶段的水稻种子内生细菌已有大量研究^[12-16], 初步认为 *Pantoea*、*Acinetobacter* 及 *Xanthomonas* 等属为水稻种子核心微生物, 其中许多具有促生抗病的潜能^[10,17], 能较好地促进水稻的生长发育^[18-19]。然而有关野生稻内生菌资源的报道主要为不同产地的野生稻内生细菌多样性和促生活性^[20-22], 很少有对野生稻种子内生细菌特性的研究。因此, 从野生稻种子中寻找具有促生抗病活性的内生细菌资源, 研究其与水稻种子之间的作用关系, 对水稻增产、病虫害防治具有十分积极的意义。

东乡野生稻(*Oryza rufipogon* Griff., 以下简称“东野”)为江西特有稻种且具有优良的抗病虫害、抗寒、耐旱、耐瘠等抗逆特性, 是重要的野生稻种质资源^[23]。前期对东野内生菌的研究发现, 东野优良的抗逆特性极有可能与其内生菌株有关^[24-25], 从东野的根际及组织内分离到多样性丰富的内生细菌, 并发现一些具有促生和抗病害特性的菌株^[26-27]。本研究以前期分离的东野种子内生细菌 Fse32 为研究对象^[28], 通过生理生化检测和 16S rRNA 基因序列分析对该菌株进行鉴定, 测定该菌株的促生潜能和对植物病原真菌的拮抗活性, 进一步通过水稻种子萌发和水稻盆栽试验检验其促生功效, 以期开发微生物菌剂提供有价值的菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 材 料

内生细菌 Fse32 分离自东乡野生稻种子^[28]。病原真菌禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、大豆核盘菌(*Sclerotinia libertiana*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*)均由江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室提供。

水稻种子为协青早 B, 由江西省农业科学院提供。

PCR 常规操作试剂和酶, 大连 TaKaRa 公司; PCR 扩增试剂, 北京天根生化科技有限公司; 细菌通用引物, 生工生物工程(上海)股份公司; 细菌基因组提取试剂盒、色氨酸和卵磷脂, 北京索莱宝科技有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。

全自动灭菌锅、生化培养箱, 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司; 紫外超净工作台, 苏州净化设备有限公司; 回旋式恒温摇床, 上海智城分析仪器制造有限公司; 高速冷冻离心机, 湖南湘仪实验仪器开发有限公司; 酶标仪, 美谷分子仪器有限公司; PCR 仪和凝胶成像系统, Bio-Rad 公司。

马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose agar, PDA)参照文献^[25]配制; LB 培养基和牛肉膏蛋白胨培养基(beef extract peptone medium, BPM)参照文献^[28]配制; 含 100 mg/L 色氨酸的 King 氏液体培养基参照文献^[29]配制; CAS 培养基参照文献^[30]配制。蒙金娜无机磷培养基(g/L): 葡萄糖 10.0, 硫酸铵 0.5, 酵母浸粉 0.5, 氯化钠 0.3, 氯化钾 0.3, 硫酸镁 0.3, 硫酸亚铁 0.03, 硫酸锰 0.03, 磷酸三钙 5.0, 固体培养基中加入

琼脂 15.0, pH 7.2–7.4。蒙金娜有机磷培养基: 将蒙金娜无机磷培养基中 5.0 g/L 的磷酸三钙替换为 2.0 g/L 的卵磷脂, 固体培养基中加入 15.0 g/L 琼脂, pH 7.2–7.4。

1.2 内生细菌 Fse32 的鉴定

1.2.1 菌株的形态特征和生理生化性质测定

菌株 Fse32 在 BPM 培养基上 28 °C 培养 24 h, 观察菌落形态、大小及边缘特征, 同时参照文献[31]进行革兰氏染色以及生理生化特征试验。

1.2.2 菌株 16S rRNA 基因测序及系统发育树分析

根据细菌基因组提取试剂盒说明书提取菌株 Fse32 基因组 DNA。利用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') PCR 扩增 16S rRNA 基因序列。PCR 反应体系(50 μ L): 2 \times Taq PCR Master Mix 25 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L)各 1 μ L, 模板 DNA (25 ng/ μ L) 1 μ L, ddH₂O 22 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。回收 PCR 产物后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。利用 NCBI BLAST 程序将测序结果与 GenBank 数据库中已知序列进行同源性比对, 使用 MEGA 7.0 软件以 neighbour-joining 法构建系统发育树, 确定该菌株的分类地位。

1.3 内生细菌 Fse32 拮抗病原真菌的测定

采用平板对峙培养法^[32]测定抑菌效果。将纯化后菌株 Fse32 点接在直径为 90 mm 的 PDA 平板一端, 病原真菌块接在另一端, 每种菌重复 3 次, 置于 28 °C 培养箱培养。当对照组病原真菌长至培养皿边缘时, 观察试验组有无抑菌带, 经图像分析软件^[33]测量试验组抑菌圈面积(S)和对照组菌落面积(s), 计算比值(S/s)后得到抑制率。

1.4 内生细菌 Fse32 促生性能分析

采用 Salkowski 比色法^[29]进行细菌产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的测定, CAS 平板法^[30]测定细菌产铁载体的能力。通过蒙金娜无机磷与蒙金娜有机磷固体平板测定菌株溶解无机磷和有机磷的能力^[34], 钼锑抗比色法^[35]定量测定菌株发酵过程中无机磷及有机磷溶解后磷含量的变化, 同时测定不同时间的菌液 pH 值。每组试验重复 3 次。

1.5 菌株 Fse32 对水稻的促生试验

1.5.1 种子萌发试验

水稻种子在 75%酒精中浸泡 5 min, 用无菌水冲洗 3 次后转移至 2%次氯酸钠溶液中再浸泡 1–2 min, 最后用无菌水冲洗 5 次晾干达到表面消毒的效果。将菌株 Fse32 接种到 LB 液体培养基中, 30 °C、200 r/min 振荡培养过夜, 8 000 r/min 离心 10 min 后收集获得菌体, 用无菌水将菌体调节成浓度约为 10⁶ CFU/mL 的菌悬液。再将表面消毒的水稻种子浸泡在菌悬液中 12 h 后, 取出放到铺有滤纸的无菌培养皿中, 每皿 50 粒种子, 加入无菌水保持培养皿中的湿度, 置于 28 °C 培养箱中培养 72 h, 计算种子发芽率及芽长, 用无菌水处理的水稻作为空白对照, 每组试验重复 3 次。

1.5.2 盆栽试验

将发芽的幼苗转至填满石英砂的塑料盆中育苗, 水稻生长过程中浇灌自来水和 Hoagland's 营养液, 移栽 20 d 后检测幼苗苗高、根长、总生物量, 采用 Porra 法^[36]测定水稻叶片的叶绿素含量。

1.6 统计分析

采用 Microsoft Excel 2016 软件对试验数据进行分析, 图表中数据为平均值 \pm 标准差, 使用 *t* 检验比较两组数据间的差异。利用 Origin 2018 软件作图。

2 结果与分析

2.1 菌株 Fse32 的鉴定

2.1.1 菌体形态特征和生理生化性质

菌株 Fse32 在牛肉膏蛋白胨固体培养基上生长呈圆形乳白色菌落, 边缘整齐, 表面湿润光滑, 革兰氏染色为阴性, 细胞呈短杆状, 有鞭毛, 具备一定的运动能力。生理生化试验结果显示, 菌株 Fse32 甲基红反应、VP 反应、硝酸盐还原反应均为阴性, 明胶液化、纤维素水解、接触酶测定、氧化酶反应呈阳性, 不产生 H₂S, 不能使淀粉水解, 能较好地利用甘露糖、蔗糖、葡萄糖和 D-果糖。

2.1.2 分子生物学鉴定及系统发育分析

利用引物 27F 和 1492R 对基因组进行 PCR 扩增, 电泳回收送公司测序得到 1 500 bp 序列, 其基因序列的 GenBank 登录号为 KJ733884.1。

将该序列与 GenBank 中的已有相应序列进行同源性比对, 结果显示其与唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia gladioli*)相似性为 100%。采用 neighbor-joining 法构建菌株 Fse32 与相关菌株的 16S rRNA 基因序列系统发育树(图 1), 分析结果显示该菌株与唐菖蒲伯克霍尔德氏菌相似性达到 99%。综合菌株 Fse32 培养特征、生理生化特征及 16S rRNA 基因序列系统发育分析结果, 鉴定为唐菖蒲伯克霍尔德氏菌, 命名为 *Burkholderia gladioli* Fse32。

2.2 拮抗植物病原真菌的测定结果

采用平板对峙法测定菌株 Fse32 对多种植物病原真菌的抑制效果, 结果显示菌株 Fse32 对禾谷镰刀菌、水稻纹枯病菌、核盘菌、大豆核盘菌、尖孢镰刀菌和辣椒疫霉病菌这 6 种病原真菌均有不同程度的抑制作用, 其中对核盘

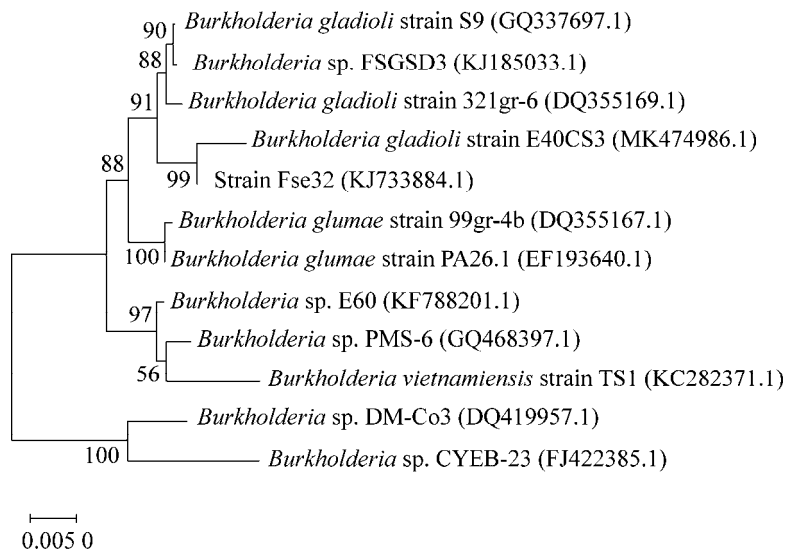


图 1 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 Fse32 的系统发育树 括号中的序号为菌株的 GenBank 登录号; 分支点上的数字为 1 000 次 bootstrap 分析所得百分比, 仅显示大于 50% 的值; 标尺代表 0.5% 的序列进化差异

Figure 1 Phylogenetic tree of strain Fse32 based on 16S rRNA gene sequence. Serial number in parentheses: GenBank accession number of the strain. The number on the branch point: the percentage obtained by 1 000 bootstrap analysis, and only the value greater than 50% is displayed; Ruler: 0.5% of sequence evolutionary differences.

菌、尖孢镰刀菌和辣椒疫霉病菌抑制效果较明显(图 2A), 通过测量面积、计算比值(S/s)得到的抑制率分别为 41.5%、48.9%和 41.2% (图 2B)。这些病原真菌对小麦、水稻、大豆、芝麻和辣椒等多种农作物有致病作用, 而内生细菌 Fse32 具有较为优良的拮抗病原真菌的效果, 这说明菌株 Fse32 具有良好的生物防治应用潜能。

2.3 菌株 Fse32 促生特性

经 Salkowski 比色法对菌株 Fse32 产 IAA 能力进行检测, 颜色显示为粉红色(图 3A), 说明该菌株能够分泌 IAA, 在 530nm 处检测其吸光值为 0.089, 代入 IAA 标准曲线($y=203.77x-0.1844$, $R^2=0.9969$)计算分泌 IAA 能力为 (17.95 ± 0.02) mg/L。CAS 平板上恒温培养 120 h 检测该菌株产铁载体情况, 图 3B 显示在平板菌落周围形成了明亮的橙红色晕圈, 定量检测 A/A_0 比值达到 0.24, 表明其具有产较高浓度铁

载体的能力。

使用蒙金娜无机磷与蒙金娜有机磷固体平板检测菌株溶磷能力, 从图 3C、3D 可知, 菌株 Fse32 具有溶解无机磷 $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ 和有机磷(卵磷脂)的能力, 溶磷圈直径(D)与菌落直径(d)的比值(D/d)分别为 1.61 和 1.83。钼锑抗比色法测定菌株发酵过程中无机磷及有机磷含量的变化, 同时测定 pH 的变化。结果如图 4 所示, 菌株在蒙金娜无机磷培养基中培养 72 h 时测定的溶磷量最高, 为 (339.07 ± 8.89) mg/L, pH 值为 5.0; 溶磷量变化为先升高后稳定, pH 则呈现先下降后稳定。然而通过蒙金娜有机磷培养基得到的可溶性磷测定值较低, 为 0.604 mg/L, 与有机磷平板检测效果不太相符。这是因为溶解而变透明的圈只能表明培养基上原本浑浊的卵磷脂水解, 并不一定证明卵磷脂分子上的磷酸根被水解下来; 另外, 卵磷脂水解后成为脂肪

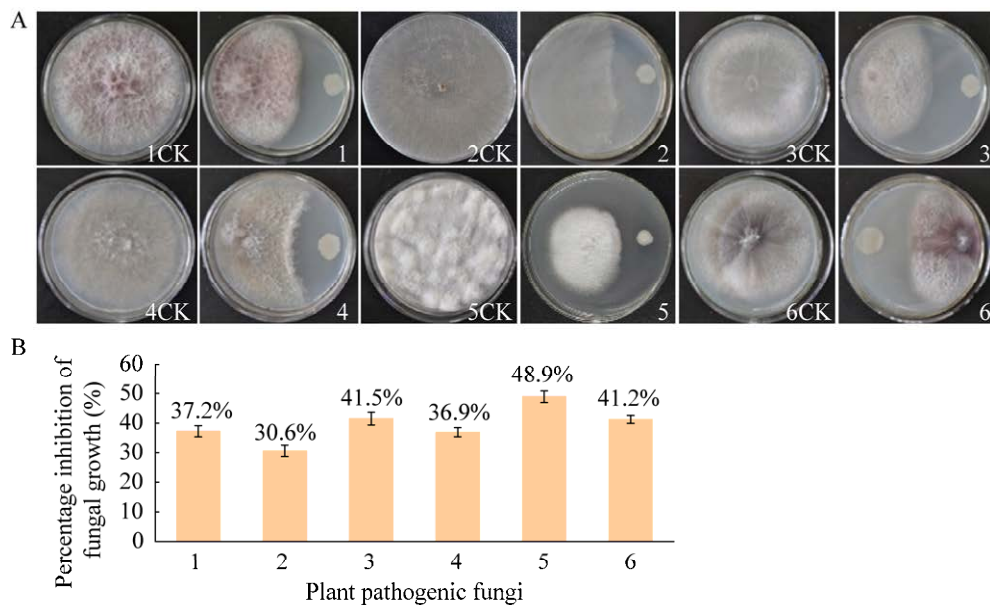


图 2 菌株 Fse32 对 6 种植物病原真菌的抑制作用 A: 具体抑制效果. B: 对 6 种真菌的抑制率. 1: 禾谷镰刀菌; 2: 水稻纹枯病菌; 3: 核盘菌; 4: 大豆核盘菌; 5: 尖孢镰刀菌; 6: 辣椒疫霉病菌

Figure 2 Inhibitory effect of strain Fse32 on 6 plant pathogenic fungi. A: Specific inhibitory effect. B: Inhibition rate to 6 kinds of fungi. 1: *Fusarium graminearum*; 2: *Rhizoctonia solani*; 3: *Sclerotinia sclerotiorum*; 4: *Sclerotinia libertiana*; 5: *Fusarium oxysporum*; 6: *Phytophthora capsici*.

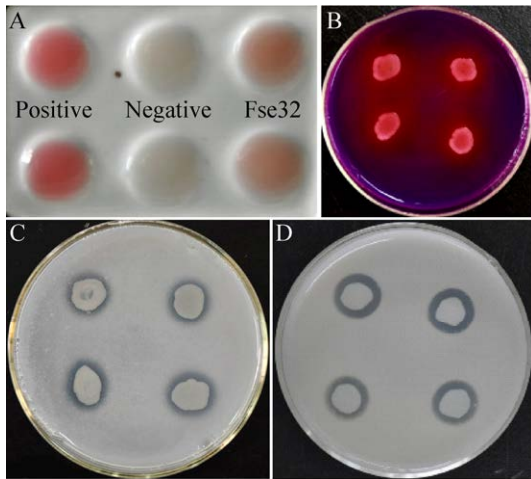


图 3 菌株 Fse32 促生能力的测定 A: IAA. B: 铁载体. C: 无机磷溶磷圈. D: 有机磷溶磷圈
Figure 3 The determination of growth promoting ability of strain Fse32. A: IAA. B: Siderophores. C: Inorganic phosphorus dissolving circle. D: Organic phosphorus dissolving circle.

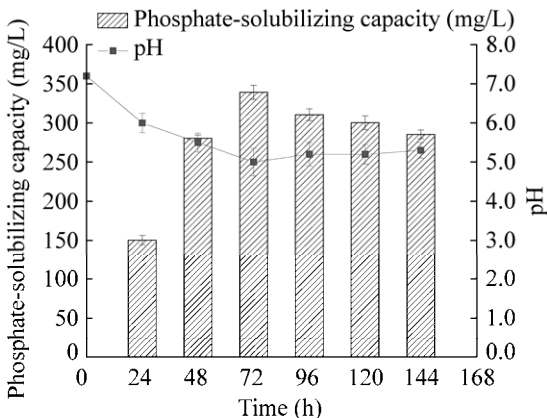


图 4 培养期间 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 培养基中磷酸盐溶解能力和 pH 的动态变化
Figure 4 Dynamic changes of phosphate dissolution capacity and pH in $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ culture medium during culture period.

酸或其他脂溶性物质, 其中的可溶性磷即便被水解释放, 也可能立刻再次被细菌吸收, 所以两种试验的结果会有较大的差异。

2.4 Fse32 对水稻种子萌发及幼苗生长的影响

种子萌发试验结果见图 5, 在水稻种子萌

发过程中, 接种菌株 Fse32 的水稻种子出芽率为 94%, 而空白组的出芽率为 82%, 且菌株 Fse32 显示出具有明显的促进水稻幼芽生长的效果 ($P < 0.01$), 增长率为 41.6%, 证明该菌株具有良好的促进水稻萌发的作用。

将生长 7 d 的水稻幼苗移栽至石英砂基质中, 浇灌 Hoagland's 营养液培养 20 d, 接菌 Fse32 的水稻幼苗生长状况更好(图 6A), 水稻幼苗的株高和根系与对照相比都有明显的区别, 对根系的发育促进效果更为明显(图 6B)。分别对水稻幼苗的株高、根长、植株干重和总叶绿素含量进行测定, 结果显示接种菌株 Fse32 处理的水稻幼苗株高为 29.17 cm, 根长为 10.2 cm, 植株干重为 147.74 g, 总叶绿素含量为 2.45 mg/g, 与对照组水稻幼苗的株高、根长、干重和总叶绿素含量相比分别增加 7.9%、33.5%、108.9%和 68.9%, 对根系、生物量和总叶绿素含量影响极为显著 ($P < 0.01$)。结果表明菌株 Fse32 具有提高水稻幼苗光合作用和摄取营养物质的能力, 从而使得水稻生物量显著增加。

3 讨论与结论

植物种子蕴含丰富的内生细菌资源, 从文献报道可知植物种子内生细菌主要包括微球菌属 (*Micrococcus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、甲基细菌属 (*Methylobacterium*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、泛菌属 (*Pantoea*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、短小杆菌属 (*Curtobacterium*) 和伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia*) 等优势菌属^[6-7,10], 它们具有促进植物生长和拮抗真菌性病害等功能^[9,37-39]。本研究从东乡野生稻种子中分离出内生菌株 Fse32, 通过初步形态观察和生理生化特征试验, 结合 16S rRNA 基因序列的系统发育分析将菌株 Fse32 鉴定为唐菖蒲

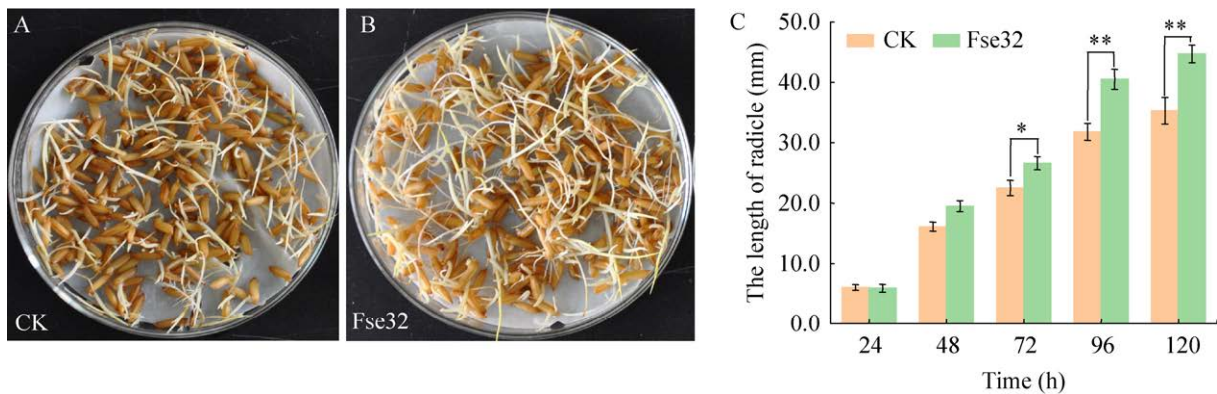


图5 内生细菌 Fse32 对水稻种子萌发幼芽生长的影响 A: 无菌水处理 72 h 水稻幼芽长度. B: Fse32 处理 72 h 水稻幼芽长度. C: 不同处理下水稻种子幼芽长度随时间的变化. * 和 ** 代表在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平的显著性差异

Figure 5 Effect of endophytic bacteria strain Fse32 on the radicle length of rice. A: The radicle length of rice treated without strain Fse32 at 72 h. B: The radicle length of rice treated with strain Fse32 at 72 h. C: The time course of radicle length in different treatment. * indicates significant differences at $P < 0.05$, ** indicates significant differences at $P < 0.01$.

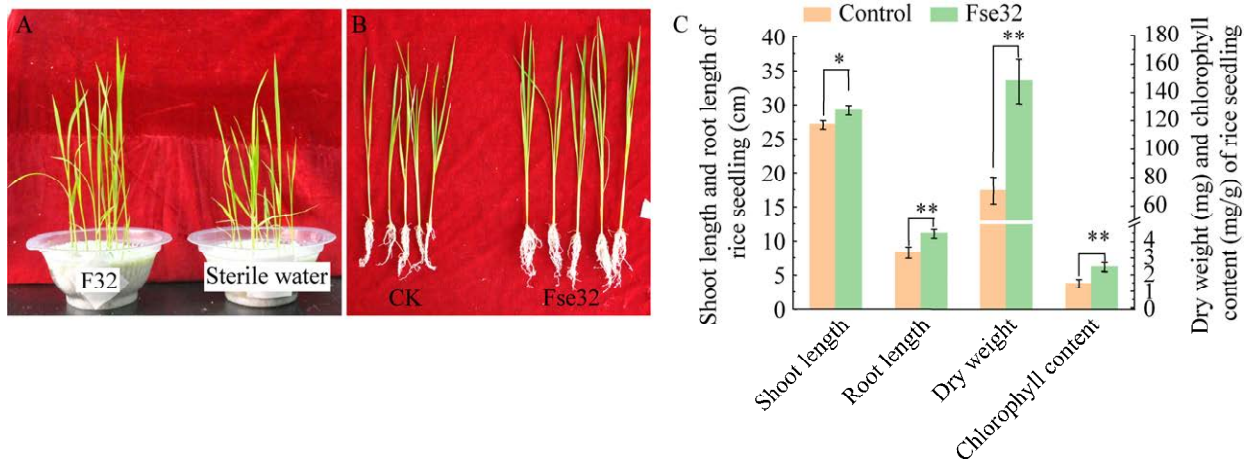


图6 接种 Fse32 对培养 20 d 水稻秧苗生长指标的影响 A: 水稻幼苗盆栽试验. B: 接菌对水稻幼苗和根系的影响. C: 培养 20 d 水稻幼苗株高、根长、干重和叶绿素的变化

Figure 6 Effect of inoculation with Fse32 on rice seedling growth indexes after 20 days of culture. A: Pot experiment of rice seedlings. B: Effect of inoculation on rice seedlings and roots. C: Plant height, root length, dry weight and chlorophyll of rice seedlings after 20 days of culture.

尔德氏菌，命名为 *Burkholderia gladioli* Fse32。伯克霍尔德氏菌属是一类分布广泛、功能多样的细菌，它们具有生物固氮、解磷、产生植物激素和抗菌等多种促生功能^[40-42]，近年来有关唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的研究主要集中在生物

防治方面发挥的作用，Sarli 等^[43]在南极地区发现的唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 MB39 对青霉和菜豆壳孢菌具备有效的拮抗活性，能显著改变病原真菌的菌丝结构；Cui 等^[44]从甘蔗叶片中分离的内生唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 CGB10 伯

克霍表现出对真菌病原体丝状生长的强抑制活性; Ahmad 等^[45]研究发现藏红花内生唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 E39CS3 能为宿主植物提供尖孢镰孢球茎腐烂病的抗性; 而 Lin 等^[46]从水稻幼苗中分离出一株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 BBB-01 能够释放二甲基二硫和 2,5-二甲基呋喃, 对植物病原真菌有一定的抑制活性。本文分离的水稻种子内生唐菖蒲伯克霍尔德氏菌株 Fse32 也同样表现出较强的抑制农作物病原真菌的作用, 对禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、大豆核盘菌(*Sclerotinia libertiana*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*) 和辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*) 均有较为明显的抑制活性。

另外, 菌株 Fse32 能够分泌 IAA, 产量为 (17.95 ± 0.02) mg/L, 与之前报道的 *Burkholderia* sp. 产 IAA 能力相近^[47]。IAA 是最常见的天然植物激素, 广泛存在于各种植物和微生物中, 起到促进植物生长的作用。伯克霍尔德氏菌已被报道可以通过产生 IAA 来促进植株的生长^[48], 也能够将可能造成植物生长受到抑制的过量外源 IAA 分解, 改善植物的生长状态^[49]。同时, 本研究中菌株 Fse32 在分泌铁载体的 CAS 平板上能够正常生长并产生较大的橙红色晕圈, 定量检测 A/A_r 比值达到 0.24, 说明该菌株可以分泌较高浓度的铁载体。相关研究表明, 内生细菌抑制病原真菌主要包含两个途径, 一是产生具备抗菌活性的各类物质, 二是与病原菌产生生存竞争, 吸收环境中生存必需的元素如铁、磷等表现出对病原菌的抑制效果^[50-51]。结合菌株 Fse32 分泌铁载体能力分析, 它对病原真菌表现出明显的抑制活性是由于吸收铁元素导致生存竞争或者产生抗菌活性物质还需进一步研究。

溶磷菌是一类利用代谢过程中产生的酸或者酶将环境中的难溶性磷化合物转化成可溶性磷的微生物, 不同溶磷微生物的溶磷能力各有不同^[52]。本研究分离的菌株 Fse32 能在无机磷 $[Ca_3(PO_4)_2]$ 和有机磷(卵磷脂)为唯一磷源条件下正常生长, 溶磷圈直径(D)与菌落直径(d)的比值(D/d)分别为 1.61 和 1.83。根据溶磷菌溶磷圈 D/d 值范围介于 1.00–2.00, 判定菌株 Fse32 属于溶磷能力中等菌株^[53]。在液体培养中, 72 h 时菌株 Fse32 对 $Ca_3(PO_4)_2$ 的溶磷量达到最大, 为 339.07 mg/L, 与分离自烟草根际的多种伯克霍尔德氏菌^[54]相比, 菌株 Fse32 普遍高于这些菌株 30–80 mg/L。本研究中, 菌株 Fse32 在培养过程中对无机磷的溶解量与培养液 pH 之间呈负相关关系, 菌株 Fse32 在蒙金娜无机磷培养基中 pH 值由初始 7.0 下降到 5.0, 而溶磷量上升, 已有研究表明无机磷溶解的机制主要是菌体在培养过程中产生柠檬酸、草酸、葡萄糖酸、苹果酸、琥珀酸、乙酸和乳酸等有机酸促进无机磷的溶解, 培养液酸碱度的变化与溶磷能力之间存在一定的相关性, 溶磷量随 pH 值的下降而进一步增加^[55-56]。另外, 菌株 Fse32 溶解无机磷能力明显高于有机磷, 一方面是由于不同磷源物质的溶解程度不一以及微生物对不同结构含磷化学物质的亲和能力不同^[57], 另一方面可能是因为菌株对不同磷源物质的利用具有选择性。

盆栽试验在研究作物生长规律时可以对影响作物生长的因素进行调控, 是一种广泛应用于作物科学研究的试验方法。本研究通过盆栽试验证实了菌株 Fse32 对水稻种子萌发及幼苗生长的促生作用。在水稻种子萌发过程中, 试验组水稻幼芽出芽率为 94.8%, 而空白组的出芽率为 83.1%, 同时接种菌株 Fse32 的水稻幼芽增长率为 41.6%, 表明该菌株具有显著的

促进水稻幼芽生长的效果($P<0.01$)。将水稻幼苗移栽培养 20 d, 对两组水稻幼苗的株高、根长、植株干重和总叶绿素含量进行测定, 试验组幼苗生长发育明显优于空白组, 除株高外, 根系长度、植株干重和总叶绿素含量都显著提高($P<0.01$)。表明在水稻幼苗的生长过程中, 接菌 Fse32 能提高水稻幼苗的光合作用和摄取各种养分的能力, 从而显著促进水稻生物量的增加, 与相关研究伯克霍尔德氏菌通过提高宿主叶绿素含量和促进根系生长等方式从而对宿主产生促生效果^[58-59]相符。今后应对菌株 Fse32 采取毒理学试验评价其生物安全性, 田间试验进一步研究其促生与防治效益, 从而促进水稻种子内生菌在实际农作生产中的后续推广。

综上所述, 本研究鉴定东野内生细菌 Fse32 为唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia gladioli*), 该菌对禾谷镰刀菌、水稻纹枯病菌、核盘菌、大豆核盘菌、尖孢镰刀菌和辣椒疫霉病菌 6 种病原真菌有不同程度的抑制效果, IAA 产生量为 17.95 mg/L, 能分泌较高含量的铁载体, 且对无机磷和有机磷溶解有中等效果, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 和卵磷脂的溶磷量可达 339.07 mg/L 和 0.604 mg/L, 同时盆栽试验证明能对水稻种子萌发和幼苗生长起到显著的促生效果。上述结果表明东野稻种内生细菌 Fes32 兼具植物促生和农作物病原真菌生物防治的效果, 是一株功能丰富、效果优良、可用于微生物菌肥研发领域的天然优质菌种资源。

REFERENCES

- [1] DAHAL P, BRADFORD KJ. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential[J]. Seed Science Research, 1994, 4(2): 71-80.
- [2] AFZAL I, SHINWARI ZK, SIKANDAR S, SHAHZAD S. Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants[J]. Microbiological Research, 2019, 221: 36-49.
- [3] WALITANG DI, KIM CG, JEON S, KANG Y, SA TM. Conservation and transmission of seed bacterial endophytes across generations following crossbreeding and repeated inbreeding of rice at different geographic locations[J]. Microbiology Open, 2019, 8(3): e00662.
- [4] COPE-SELBY N, COOKSON A, SQUANCE M, DONNISON I, FLAVELL R, FARRAR K. Endophytic bacteria in *Miscanthus* seed: implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding[J]. GCB Bioenergy, 2017, 9(1): 57-77.
- [5] SHADE A, JACQUES MA, BARRET M. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017, 37: 15-22.
- [6] 范雨, 唐小乐, 刘庆华, 尹春英. 木本植物种子内生菌研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(5): 1375-1383.
- FAN Y, TANG XL, LIU QH, YIN CY. Advances in the study of endophytes in woody plant seeds[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2022, 28(5): 1375-1383 (in Chinese).
- [7] 龙锡, 严希, 洪佳丽, 梁宗锁, 陈海敏. 植物种子内生菌的研究进展[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(8): 1319-1324.
- LONG X, YAN X, HONG JL, LIANG ZS, CHEN HM. Research progress of endophytic bacteria in plant seeds[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2016, 57(8): 1319-1324 (in Chinese).
- [8] MARAG PS, SUMAN A. Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth promoting traits in hybrid and composite maize (*Zea mays* L.)[J]. Microbiological Research, 2018, 214: 101-113.
- [9] KRISHNAMOORTHY A, AGARWAL T, KOTAMREDDY JNR, BHATTACHARYA R, MITRA A, MAITI TK, MAITI MK. Impact of seed-transmitted endophytic bacteria on intra- and inter-cultivar plant growth promotion modulated by certain sets of metabolites in rice crop[J]. Microbiological Research, 2020, 241: 126582.

- [10] 王志山, 黎妮, 王伟平, 刘洋. 水稻种子内生细菌研究进展[J]. 生物技术通报, 2022, 38(1): 236-246.
WANG ZS, LI N, WANG WP, LIU Y. Research progress in endophytic bacteria in rice seeds[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(1): 236-246 (in Chinese).
- [11] LIU Y, XU PP, YANG FZ, LI M, YAN H, LI N, ZHANG XX, WANG WP. Composition and diversity of endophytic bacterial community in seeds of super hybrid rice 'Shenliangyou 5814' (*Oryza sativa* L.) and its parental lines[J]. Plant Growth Regulation, 2019, 87(2): 257-266 (in Chinese).
- [12] 李南南, 黎妮, 曹艳花, 张欣, 肖明, 刘洋, 王伟平. 3个杂交水稻亲本成熟期种子内生细菌多样性研究[J]. 食品科学技术学报, 2017, 35(4): 56-64.
LI NN, LI N, CAO YH, ZHANG X, XIAO M, LIU Y, WANG WP. Diversity of endophytic bacterial communities in three parental seeds of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) at maturity stage[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 35(4): 56-64 (in Chinese).
- [13] 李南南, 黎妮, 赵燃, 袁隆平, 肖明, 刘洋, 王伟平. 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.
LI NN, LI N, ZHAO R, YUAN LP, XIAO M, LIU Y, WANG WP. 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).
- [14] 邹媛媛, 刘琳, 刘洋, 赵亮, 邓启云, 吴俊, 庄文, 宋未. 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.
ZOU YY, LIU L, LIU Y, ZHAO L, DENG QY, WU J, ZHUANG W, SONG W. 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).
- [15] 刘洋, 赵燃, 黎妮, 曹艳花, 张超, 白飞荣, 张欣, 袁隆平, 王伟平, 程池. 超级杂交水稻种子内生细菌群落结构及其多样性[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(1): 31-36.
LIU Y, ZHAO R, LI N, CAO YH, ZHANG C, BAI FR, ZHANG X, YUAN LP, WANG WP, CHENG C. Diversity of endophytic bacterial communities in seeds of super hybrid rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(1): 31-36 (in Chinese).
- [16] 郭鹤宝, 何山文, 王星, 章俊, 张晓霞. 水稻种子内生泛菌(*Pantoea* spp.)系统发育多样性及其促生功能[J]. 微生物学报, 2019, 59(12): 2285-2295.
GUO HB, HE SW, WANG X, ZHANG J, ZHANG XX. Phylogenetic diversity and plant growth-promoting characteristics of endophytic *Pantoea* spp. in rice seeds[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(12): 2285-2295 (in Chinese).
- [17] 姜晓宇, 高菊生, 徐凤花, 曹艳花, 唐雪, 张晓霞. 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.
JIANG XY, GAO JS, XU FH, CAO YH, TANG X, ZHANG XX. 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).
- [18] VERMA SK, KINGSLEY K, IRIZARRY I, BERGEN M, KHARWAR RN, WHITE JF Jr. Seed-vectored endophytic bacteria modulate development of rice seedlings[J]. Journal of Applied Microbiology, 2017, 122(6): 1680-1691.
- [19] WALITANG DI, KIM K, MADHAIYAN M, KIM YK, KANG Y, SA TM. Characterizing endophytic competence and plant growth promotion of bacterial endophytes inhabiting the seed endosphere of rice[J]. BMC Microbiology, 2017, 17(1): 209.
- [20] 邵晨, 黄淑芬, 胡莉, 王增, 曹玉琳, 谭志远. 尼瓦拉野生稻内生菌多样性和促生作用[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24(1): 33-38.
GAO C, HUANG SF, HU L, WANG Z, CAO YL, TAN ZY. Diversity and plant growth promotion of endophytic bacteria isolated from *Oryza nivara*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2018, 24(1): 33-38 (in Chinese).
- [21] 谭志远, 彭桂香, 徐培智, 艾绍英, 唐拴虎, 张国霞, 曾凤云. 普通野生稻(*Oryza rufipogon*)内生固氮菌多样性及高固氮酶活性[J]. 科学通报, 2009, 54(13): 1885-1893.
TAN ZY, PENG GX, XU PZ, AI SY, TANG SH, ZHANG GX, ZENG FY. Diversity and high nitrogenase activity of endophytic nitrogen-fixing bacteria in *Oryza rufipogon*[J]. Chinese Science Bulletin, 2009, 54(13): 1885-1893 (in Chinese).

- [22] 刘丽辉, 蒋慧敏, 区宇程, 谭志远, 彭桂香. 南方野生稻内生细菌的分离鉴定及促生作用[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(5): 1051-1058.
LIU LH, JIANG HM, OU YC, TAN ZY, PENG GX. Identification and growth promotion of endophytic bacteria isolated from *Oryza meridionalis*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(5): 1051-1058 (in Chinese).
- [23] 毛一剑, 李三峰, 吴荣梁, 王跃星, 李春生. 东乡野生稻研究进展及育种利用策略[J]. 中国稻米, 2022, 28(3): 6-9, 19.
MAO YJ, LI SF, WU RL, WANG YX, LI CS. Research progress of Dongxiang wild rice and utilization strategy in rice breeding[J]. China Rice, 2022, 28(3): 6-9, 19 (in Chinese).
- [24] WANG Y, GAO BL, LI XX, ZHANG ZB, YAN RM, YANG HL, ZHU D. Phylogenetic diversity of culturable endophytic fungi in Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff), detection of polyketide synthase gene and their antagonistic activity analysis[J]. Fungal Biology, 2015, 119(11): 1032-1045.
- [25] 张志斌, 邓映明, 熊瑶瑶, 汪涯, 颜日明, 朱笃. 东乡野生稻内生放线菌分离及菌株 S123 次级代谢产物分析[J]. 微生物学通报, 2015, 42(9): 1662-1670.
ZHANG ZB, DENG YM, XIONG YY, WANG Y, YAN RM, ZHU D. Isolation of endophytic actinomycetes from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*) and analysis of secondary metabolite of active strain S123[J]. Microbiology China, 2015, 42(9): 1662-1670 (in Chinese).
- [26] ZENG QG, LUO F, ZHANG ZB, YAN RM, ZHU D. Phosphate solubilizing rhizosphere bacterial T21 isolated from Dongxiang wild rice species promotes cultivated rice growth[J]. Applied Mechanics and Materials, 2011, 108: 167-175.
- [27] 陈志远, 刘珺, 杨星鹏, 刘梦, 汪涯, 张志斌, 朱笃. 东乡野生稻可培养内生细菌群落组成及多样性[J]. 生物多样性, 2019, 27(12): 1320-1329.
CHEN ZY, LIU J, YANG XP, LIU M, WANG Y, ZHANG ZB, ZHU D. Community composition and diversity of cultivable endophytic bacteria isolated from Dongxiang wild rice[J]. Biodiversity Science, 2019, 27(12): 1320-1329 (in Chinese).
- [28] ZHANG ZB, LIU TT, ZHANG X, XIE J, WANG Y, YAN RM, JIANG YM, ZHU D. Cultivable endophytic bacteria in seeds of Dongxiang wild rice and their role in plant-growth promotion[J]. Diversity, 2021, 13(12): 665.
- [29] GORDON SA, WEBER RP. Colorimetric estimation of indoleacetic acid[J]. Plant Physiology, 1951, 26(1): 192-195.
- [30] 王平, 董飏, 李卓棣, 胡正嘉. 小麦根圈细菌铁载体的检测[J]. 微生物学通报, 1994, 21(6): 323-326.
WANG P, DONG B, LI FD, HU ZJ. Detection and determination of the siderophores produced by wheat rhizobacteria[J]. Microbiology China, 1994, 21(6): 323-326 (in Chinese).
- [31] 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.
DONG XZ, CAI MY. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [32] 曾庆桂, 颜日明, 张志斌, 朱笃. 1 株羊蹄强拮抗内生芽孢杆菌 H-g 的分离鉴定[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2011, 35(1): 41-44.
ZENG QG, YAN RM, ZHANG ZB, ZHU D. Isolation and identification for endophytic bacteria H-g with high antifungal activity from *Radix Rumicis Japonici*[J]. Journal of Jiangxi Normal University (Natural Sciences Edition), 2011, 35(1): 41-44 (in Chinese).
- [33] 辛在海, 王国雷. 抑菌圈自动测量系统及其在抗生素效价评价中的应用[J]. 中国医疗设备, 2011, 26(8): 109-111.
XIN ZH, WANG GL. Inhibition zone automatic measurement system and its application in antibiotic potency evaluation[J]. China Medical Devices, 2011, 26(8): 109-111 (in Chinese).
- [34] 田宏, 李凤霞, 张德罡, 姚拓. 草坪草溶磷菌筛选及溶磷能力的初步研究[J]. 草业科学, 2005, 22(10): 92-96.
TIAN H, LI FX, ZHANG DG, YAO T. Primary research on isolation and ability of phosphorus-solubilizing of turf phosphorus-solubilizing bacteria[J]. Pratacultural Science, 2005, 22(10): 92-96 (in Chinese).
- [35] 叶祥盛, 童军, 赵竹青. 流动注射分析法与钼锑抗比色法分析土壤有效磷含量的比较[J]. 河北农业科学, 2011, 15(1): 160-164.
YE XS, TONG J, ZHAO ZQ. Detection of soil available phosphorus content by flow injection analysis method and Mo-Sb antispotrophotography method[J]. Journal of

- Hebei Agricultural Sciences, 2011, 15(1): 160-164 (in Chinese).
- [36] PORRA RJ. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*[J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 73(1): 149-156.
- [37] CHERIF-SILINI H, THISSERA B, BOUKET AC, SAADAOUI N, SILINI A, EHELLI M, ALENEZI FN, VALLAT A, LUPTAKOVA L, YAHIAOUI B, CHERRAD S, VACHER S, RATEB ME, BELBAHRI L. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): 3989.
- [38] SHAHZAD R, BILAL S, IMRAN M, LATIF KHAN A, ALOSAIMI AA, AL-SHWYEH HA, ALMAHASHEER H, REHMAN S, LEE IJ. Amelioration of heavy metal stress by endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 in rice by regulating metabolic changes: potential for bacterial bioremediation[J]. *Biochemical Journal*, 2019, 476(21): 3385-3400.
- [39] WHITE JF, KINGSLEY KI, KOWALSKI KP, IRIZARRY I, MICCI A, SOARES MA, BERGEN MS. Disease protection and allelopathic interactions of seed-transmitted endophytic pseudomonads of invasive reed grass (*Phragmites australis*)[J]. *Plant and Soil*, 2018, 422(1): 195-208.
- [40] COMPANT S, NOWAK J, COENYE T, CLÉMENT C, AIT BARKA E. Diversity and occurrence of *Burkholderia* spp. in the natural environment[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, 32(4): 607-626.
- [41] 吴丽娟, 韩聪, 王惠梅, 王磊, 鄂志国. 伯克霍尔德氏菌 JP2-270 抗水稻纹枯病菌机理的初步研究[J]. *中国生物防治学报*, 2022, 38(1): 230-241.
- WU LJ, HAN C, WANG HM, WANG L, E ZG. Study on the resistance mechanism of *Burkholderia* sp. JP2-270 against rice sheath blight[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(1): 230-241 (in Chinese).
- [42] PAUNGFUO-LONHIENNE C, LONHIENNE TGA, YEOH YK, WEBB RI, LAKSHMANAN P, CHAN CX, LIM PE, RAGAN MA, SCHMIDT S, HUGENHOLTZ P. A new species of *Burkholderia* isolated from sugarcane roots promotes plant growth[J]. *Microbial Biotechnology*, 2014, 7(2): 142-154.
- [43] SARLI DA, SÁNCHEZ LA, DELGADO OD. *Burkholderia gladioli* MB39 an Antarctic strain as a biocontrol agent[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(6): 2332-2344.
- [44] CUI GB, YIN K, LIN NQ, LIANG ML, HUANG CW, CHANG CQ, XI PG, DENG Y. *Burkholderia gladioli* CGB10: a novel strain biocontrolling the sugarcane smut disease[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(12): 1943.
- [45] AHMAD T, BASHIR A, FAROOQ S, RIYAZ-UL-HASSAN S. *Burkholderia gladioli* E39CS3, an endophyte of *Crocus sativus* Linn., induces host resistance against corm-rot caused by *Fusarium oxysporum*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(1): 495-508.
- [46] LIN YT, LEE CC, LEU WM, WU JJ, HUANG YC, MENG M. Fungicidal activity of volatile organic compounds emitted by *Burkholderia gladioli* strain BBB-01[J]. *Molecules*, 2021, 26(3): 745.
- [47] 刘婉慧, 陈飞飞, 叶建仁, 王朝恩, 康熠, 付欢欢. 吡咯伯克霍尔德氏菌 JK-SH007 吡啶-3-乙酰胺 IAA 合成功能及其依赖途径鉴定[J]. *林业科学*, 2019, 55(9): 121-129.
- LIU WH, CHEN FF, YE JR, WANG CE, KANG Y, FU HH. Identification of indole-3-acetamide IAA synthesis function and its dependent pathway in *Burkholderia pyrrocinia* JK-SH007[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2019, 55(9): 121-129 (in Chinese).
- [48] de ANDRADE FM, de ASSIS PEREIRA T, SOUZA TP, GUIMARÃES PHS, DANIEL MARTINS A, SCHWAN RF, PASQUAL M, DÓRIA J. Beneficial effects of inoculation of growth-promoting bacteria in strawberry[J]. *Microbiological Research*, 2019, 223/224/225: 120-128.
- [49] ZÚÑIGA A, POUPIN MJ, DONOSO R, LEDGER T, GUILIANI N, GUTIÉRREZ RA, GONZÁLEZ B. Quorum sensing and indole-3-acetic acid degradation play a role in colonization and plant growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by *Burkholderia phytofirmans* PsJN[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(5): 546-553.
- [50] FGAIER H, EBERL HJ. Antagonistic control of microbial pathogens under iron limitations by siderophore producing bacteria in a chemostat setup[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2011, 273(1): 103-114.
- [51] BUTAITÈ E, BAUMGARTNER M, WYDER S,

- KÜMMERLI R. Siderophore cheating and cheating resistance shape competition for iron in soil and freshwater *Pseudomonas* communities[J]. Nature Communications, 2017, 8: 414.
- [52] RAWAT P, DAS S, SHANKHDHAR D, SHANKHDHAR SC. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2021, 21(1): 49-68.
- [53] 祁娟, 师尚礼. 不同品种紫花苜蓿种子内生根瘤菌溶磷和分泌生长素能力[J]. 草原与草坪, 2006, 26(5): 18-20, 25.
- QI J, SHI SL. Preliminary study on the ability of phosphorus-solubilizing and IAA-secreting of endogenous rhizobia in seeds of different alfalfa varieties[J]. Grassland and Turf, 2006, 26(5): 18-20, 25 (in Chinese).
- [54] 刘春菊, 杜传印, 梁子敬, 张德珍, 刘爱新, 于金凤. 烟草根际溶磷细菌的筛选鉴定及抑菌促生效果研究[J]. 中国烟草科学, 2020, 41(1): 9-15, 29.
- LIU CJ, DU CY, LIANG ZJ, ZHANG DZ, LIU AX, YU JF. Screening and identification of phosphorus-solubilizing bacteria in tobacco rhizosphere and their antibacterial and growth-promoting effects[J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41(1): 9-15, 29 (in Chinese).
- [55] SESHADRI S, IGNACIMUTHU S, LAKSHMINARASIMHAN C. Effect of nitrogen and carbon sources on the inorganic phosphate solubilization by different *Aspergillus niger* strains[J]. Chemical Engineering Communications, 2004, 191(8): 1043-1052.
- [56] CHEN YP, REKHA PD, ARUN AB, SHEN FT, LAI WA, YOUNG CC. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 34(1): 33-41.
- [57] RODRÍGUEZ H, FRAGA R, GONZALEZ T, BASHAN Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria[J]. Plant and Soil, 2006, 287(1): 15-21.
- [58] HAN LZ, ZHANG H, XU Y, LI Y, ZHOU J. Biological characteristics and salt-tolerant plant growth-promoting effects of an ACC deaminase-producing *Burkholderia pyrrocinia* strain isolated from the tea rhizosphere[J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(5): 2279-2290.
- [59] HWANG HH, CHIEN PR, HUANG FC, HUNG SH, KUO CH, DENG WL, CHIANG EP I, HUANG CC. A plant endophytic bacterium, *Burkholderia seminalis* strain 869T2, promotes plant growth in *Arabidopsis*, pak choi, Chinese amaranth, lettuces, and other vegetables[J]. Microorganisms, 2021, 9(8): 1703.