

西红花根际可培养细菌菌群结构、多样性及分布规律

张家豪, 陆洁淼, 丁钰婷, 秦路平*, 朱 波*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

摘要: 目的 探讨西红花 *Crocus sativus* 根际可培养细菌菌群结构及其分布规律。方法 收集浙江建德、上海崇明、陕西澄城西红花球茎根际土, 用传统涂布法分离根际细菌, 分析根际细菌菌群结构、多样性及其与球茎生长性状、土壤理化因子间的相关性。结果 共分离得到西红花根际细菌 2450 株, 划分为 65 个分类单元, 归属到 4 个门, 6 个纲, 17 个科, 28 个属, 31 种; 其中最优势门为厚壁菌门 (Firmicutes, 相对频率为 66.76%), 最优势属为芽孢杆菌属 *Bacillus* (相对频率为 57.71%); 产地和土壤理化因子影响西红花根际细菌多样性和菌群结构, 陕西澄城 2 根际细菌多样性指数最高 ($H'=2.5901$), 土壤有效磷含量与多样性指数呈最大正相关 ($r=0.910$, $P<0.05$); 有机质与苍白杆菌属分离频率呈最大负相关 ($r=-0.956$, $P<0.01$); 球茎纵径与菌群多样性指数显著相关 ($r=-0.806$, $P<0.05$); 球茎鲜质量与根际细菌菌群结构显著相关, 其中球茎鲜质量与芽孢杆菌属分离频率呈最大正相关 ($r=0.793$, $P<0.05$)。结论 西红花根际可培养细菌资源丰富, 产地土壤理化因子、球茎鲜质量与西红花根际细菌菌群结构和多样性显著相关, 高丰度芽孢杆菌属可能对西红花球茎生长起有益作用。

关键词: 西红花; 根际细菌; 菌群结构; 多样性; 土壤理化因子

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)08-2499-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.08.027

Community, diversity and distribution of culturable bacteria in rhizosphere of *Crocus sativus*

ZHANG Jia-hao, LU Jie-miao, DING Yu-ting, QIN Lu-ping, ZHU Bo

School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

Abstract: Objective To explore the rhizospheric bacterial community of Xihonghua (*Crocus sativus*) and analyze their correlation with physical and chemical properties of *C. sativus* rhizospheric soil and growth characteristics of *C. sativus*. **Methods** Rhizospheric bacteria were isolated from *C. sativus* rhizospheric soil collected from Zhejiang Jiande, Shanghai Chongming, and Shaanxi Chengcheng by the traditional coating method. Diversity and bacterial community were analyzed and their correlation with habitat factors and growth characteristics were studied. **Results** A total of 2 450 strains of rhizospheric bacteria were isolated and divided into 65 taxa belonging to 4 phyla, 6 classes, 17 families, 28 genera, and 31 species. The most dominant phylum was Firmicutes (RF=66.76%) while the most dominant genus was *Bacillus* (RF=57.71%). Habitat and physical and chemical properties significantly correlation with the diversity and community of the rhizospheric bacteria in *C. sativus*. The diversity index of Shaanxi Chengcheng 2 ($H'=2.5901$) was the highest. The correlation coefficient of the diversity index with available phosphorus content shows a significant positive correlation ($r=0.910$, $P<0.05$). Organic matter is closely related to community structure, whose correlation coefficient with RF of *Ochrobactrum* is the largest ($r=-0.956$, $P<0.01$). The longitudinal diameter of *C. sativus* corm significantly correlation with the diversity index ($r=-0.806$, $P<0.05$). Corm fresh weight significantly correlation with the rhizospheric bacterial community. The corm fresh weight had the largest positive correlation with the RF of *Bacillus* ($r=0.793$, $P<0.05$). **Conclusion** There are abundant resources of culturable bacteria in the rhizosphere of *C. sativus*. Physical and chemical properties and corm fresh weight significantly correlation with the community and diversity of rhizospheric bacteria in *C. sativus*, and the higher abundance of *Bacillus* may play a beneficial role in *C. sativus* corm growth.

Key words: *Crocus sativus* L.; rhizospheric bacteria; bacterial community; diversity; soil physicochemical properties

收稿日期: 2021-10-09

基金项目: 浙江中医药大学人才专项 (2021ZR09); 浙江省医药卫生科技青年创新人才支持计划项目 (2022RC052); 浙江省优势特色学科 (中药学) 开放基金资助项目 (ZYAOX2018018)

作者简介: 张家豪 (1996—), 男, 河北石家庄人, 硕士研究生, 研究方向为中药资源及品质评价。

*通信作者: 秦路平, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药资源及品质评价。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

朱 波, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为植物内生菌。E-mail: zhubo@zcmu.edu.cn

西红花系鸢尾科番红花属植物西红花 *Crocus sativus* L. 的干燥柱头, 具有活血化瘀、凉血解毒、解郁安神的功效, 可用于经闭癥瘕、产后瘀阻、温毒发斑、忧郁痞闷、惊悸发狂^[1]。现代药理学研究表明西红花具有抗血栓、抗抑郁、抗阿尔茨海默病等作用, 临床效果显著^[2-4]。

西红花植株是三倍体不育植株^[5], 只能通过西红花球茎无性繁殖, 一个西红花球茎只能开 4~6 朵花, 每采收 110 000~170 000 朵花才能收获 1 kg 干燥的西红花柱头^[6], 产量极低, 大量依赖进口。西红花球茎地下生长物候期为每年 11 月至翌年 5 月, 因此根际微生物对西红花球茎生长发育至关重要。已有研究表明, 根际细菌可以通过产生生长素、固氮、溶磷等作用^[7-9], 促进植物的生长、发育和代谢^[10], 韩丽珍等^[11]发现根际细菌 *Klebsiella* sp. P5 灌根可以增加花生幼苗鲜质量 35.12%。此外, 根际细菌多样性和菌群结构的改变可以影响宿主抗病性、抗非生物胁迫能力、生长和品质^[12-15], Hou 等^[14]研究发现根际施以 67 种核心菌群可以促进拟南芥在弱光条件下生长但不增强其抗病性, 施以 116 种其他菌群增强了拟南芥的抗病性但不调控其生长, 表明根际不同菌群结构的功能具有差异。分析根际微生物多样性和菌群结构与功能的关系对开发微生物资源, 保护药用植物资源具有长远意义。

本研究以西红花根际土为研究对象, 对西红花根际细菌进行分离、纯化与鉴定, 探讨菌群结构与多样性, 分析其与产地、球茎大小的相关性, 为后续筛选功能菌株菌群提供参考依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

西红花球茎采自浙江省建德市、上海市崇明区、陕西省澄城县, 各 2 组, 分别编号 1、2。经浙江中医药大学张巧艳教授鉴定为鸢尾科番红花 *C. sativus* L. 的球茎。

1.2 试剂与仪器

细菌基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]; 2×Taq Mix (+Dye) (莫纳生物科技有限公司); Regular Agarose G-10 (BIOWEST, 基因有限公司); DL2 000 DNA Marker [宝日医生物技术(北京)有限公司]。FA2204B 型万分之一电子天平(上海天美天平仪器有限公司); YP10002 型电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司); YXQ-LS-75S II 型立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司);

LM I-100 型霉菌培养箱(上海龙跃仪器设备有限公司); MC-100B 型立式恒温摇床(上海牟测仪器科技有限公司); GenoSens 1850 型凝胶成像分析系统(上海勤翔科学仪器有限公司); 1300 Series A2 型生物安全柜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Veriti 96 Well Thermal Cycler 型 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Centrifuge 5427R 型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); F-500 型火焰光度计(上海元析仪器有限公司); SpectraMax 190 型全波长酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

2 方法

2.1 土壤理化因子测定

按照吴恙等^[16]的方法, 取西红花球茎根际土。水土比 5:2, 以水为浸提剂, 采用 pH 计测定土壤 pH; 采用重铬酸钾容量法测定土壤有机质含量^[17]; 采用 Olsen 法测定土壤有效磷^[18]; 采用标准酸滴定法测定土壤碱解氮^[19]; 采用火焰光度计测定速效钾^[20]。

2.2 球茎生长性状的测定

用直尺测量西红花球茎纵径、横径, 用电子天平测量西红花球茎鲜质量。按照球茎鲜质量进行编号如下: 浙江建德 1 (球茎鲜质量<25 g)、浙江建德 2 (球茎鲜质量>30 g)、上海崇明 1 (球茎鲜质量<25 g)、上海崇明 2 (球茎鲜质量>25 g)、陕西澄城 1 (球茎鲜质量<10 g)、陕西澄城 2 (球茎鲜质量>15 g), 每组 50 个。

2.3 根际细菌的分离与纯化

用无菌水将根际土配制成 0.1~10⁻⁶ 浓度梯度的混悬液, 涂布于培养基上分离根际细菌^[21], NA 培养基用于分离普通细菌, 改良高氏 1 号培养基用于分离放线菌。

2.4 细菌 16S 分子鉴定

将分离得到的单一菌株通过单菌落形态特征包括形态、颜色、干湿、凹凸等, 进行分类。以天根试剂盒提取细菌 DNA。采用 16S rDNA 通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 采用 50 μL 体系, 包括 25 μL 2×Taq Mix, 21 μL ddH₂O, 2 μL 模板 DNA, 上下游引物各 1 μL^[22]。扩增结果经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 由生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列测定。测序结果于 NCBI 进行 BLAST 比对, 采用 MEGA 7 软件建立系统发育树, 确定分离菌株的分类地位。

2.5 根际细菌多样性及组成分析

分离频率以相对频率 (relative frequency, RF) 表示, 具体为分离到的某细菌的菌株数占分离到总菌株数的百分数。优势菌群通过 Camargo 指数 (1/S) 确定, 如果某一菌群的相对频率 $> 1/S$, 则该菌群为优势菌群^[23]。采用 Shannon-Wiener 指数 (H') 分析根际细菌的生物多样性^[24]。采用 Pielou 均匀度指数 (J) 分析不同物种分布的均匀程度^[25]。采用 Maragalef 指数 (R) 来评价物种丰富度^[26]。

2.6 数据分析

采用 SPSS 软件对西红花生境因子、球茎生长性状与根际细菌 RF、多样性进行皮尔逊相关性分析, 结果以相关系数 (r) 表示。

3 结果与分析

3.1 西红花根际土壤理化因子

不同产地西红花根际土壤理化因子存在差异 ($P < 0.05$) (表 1)。供试西红花根际土壤碱解氮变幅为 77.011~245.431 mg/kg, 其中浙江建德 2 碱解氮含量最大, 达 245.431 mg/kg, 陕西澄城 1 球茎最小, 质量分数仅为 77.011 mg/kg。土壤速效钾平均值为 354.299 mg/kg, 变幅为 76.448~878.290 mg/kg, 变幅较大, 浙江建德 1 速效钾含量 (878.290 mg/kg) 数值最大, 上海崇明 1 速效钾含量 (76.448 mg/kg) 数值最小, 浙江建德 1 速效钾含量约为上海崇明 1 含量的 11.5 倍。土壤 pH 变幅为 5.20~8.33, 变幅较小, 其中陕西澄城 1 的 pH 数值最大, 达 8.33。

表 1 不同产地西红花根际土壤理化因子 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Physical and chemical properties of *C. sativus* rhizospheric soil from different habitats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

采集地点	pH	有机质/(g·kg ⁻¹)	有效磷/(mg·kg ⁻¹)	碱解氮/(mg·kg ⁻¹)	速效钾/(mg·kg ⁻¹)
浙江建德 1	5.20±0.13	19.134±1.092	26.072±0.416	200.949±5.910	878.290±15.559
浙江建德 2	6.22±0.15	21.489±0.629	12.215±0.862	245.431±12.552	611.921±8.063
上海崇明 1	7.62±0.06	22.172±0.087	25.625±0.850	156.363±10.018	76.448±5.227
上海崇明 2	8.05±0.12	24.100±0.209	33.087±1.018	113.663±5.992	83.183±7.686
陕西澄城 1	8.33±0.06	11.371±0.078	51.220±1.296	77.011±7.998	231.828±10.952
陕西澄城 2	8.32±0.03	11.251±0.083	55.390±1.275	127.017±8.351	244.125±10.596

3.2 西红花球茎生长性状

不同产地西红花生长性状存在差异 ($P < 0.05$) (表 2)。供试西红花球茎鲜质量变幅为 8.50~32.05 g, 平均鲜质量为 21.17 g, 其中浙江建德 2 球茎鲜质量数值最大, 达 32.05 g, 陕西澄城 1 球茎最小, 平均鲜质量仅为 8.90 g。球茎横径平均值为 3.88 cm, 变幅为 2.90~4.59 cm, 变幅较大, 上海崇明 2 球茎横径 (4.59 cm) 数值最大, 陕西澄城 1 球茎横径 (2.90 cm) 数值最小, 上海崇明 2 横径约为陕西澄城 1 横径的 1.6 倍。球茎纵径变幅为 1.90~3.07 cm, 平均值为 2.55 cm, 其中浙江建德 2 的纵径数值最大, 达

3.07 cm。

3.3 根际细菌的纯化与鉴定

共分离得到西红花根际细菌 2450 株, 其中 NA 培养基共分离得到根际细菌 1274 株, 改良高氏一号培养基共分离得到根际细菌 1176 株。将上述根际细菌划分为 275 个形态型。鉴定为 65 个分类单元, 归属于 4 个门, 6 个纲, 8 个目, 17 个科, 28 个属, 31 种 (图 1)。其中厚壁菌门 (Firmicutes) 占比最大, RF 为 66.76%, 变形菌门 (Proteobacteria) 次之, RF 达 25.27%, 65 个细菌的 16S 序列均已提交到 GenBank 数据库, 序列号为 MZ026391~MZ026455。

3.4 产地和土壤理化因子与细菌菌群结构和多样性的相关性分析

产地与土壤理化因子影响西红花根际细菌多样性及菌群结构, 多样性指数最高的为陕西澄城 ($H' = 2.5617$), 上海崇明 ($H' = 2.1751$) 次之, 最低的为浙江建德 ($H' = 1.9874$), 见表 3。土壤理化因子与西红花根际细菌多样性显著相关, 其中多样性指数与土壤有效磷含量呈最大正相关 ($r = 0.910, P < 0.05$) (表 4); 上海崇明和浙江建德的优势门为厚壁菌门, 而陕西澄城优势门为

表 2 西红花球茎生长性状 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Growth characteristics of *C. sativus* corm ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

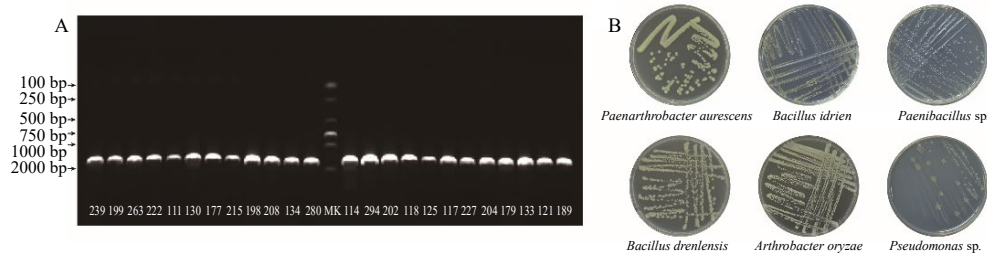
产地	横径/cm	纵径/cm	鲜质量/g
浙江建德 1	3.62±0.31 ^c	2.55±0.21 ^c	17.39±3.42 ^c
上海崇明 1	4.03±0.16 ^b	2.52±0.15 ^c	21.82±2.04 ^b
陕西澄城 1	2.90±0.26 ^d	1.90±0.20 ^e	8.50±1.93 ^d
浙江建德 2	4.50±0.28 ^a	3.07±0.36 ^a	32.05±5.75 ^a
上海崇明 2	4.59±0.19 ^a	2.93±0.19 ^b	31.07±1.44 ^a
陕西澄城 2	3.64±0.23 ^c	2.30±0.25 ^d	16.20±2.68 ^c

不同字母表示差异显著, $P < 0.05$

Different letters denote significant differences, $P < 0.05$

厚壁菌门和变形菌门；上海崇明 2 的芽孢杆菌属 RF 值约为陕西澄城 2 的 2.1 倍（表 3）。土壤理化因子方面，有效磷含量与根际细菌菌群结构最

密切，其与芽孢杆菌属 RF 呈最大负相关（ $r=-0.914$ ， $P<0.05$ ），与微杆菌属 RF 呈最大正相关（ $r=0.962$ ， $P<0.01$ ）（表 4）。



MK-Marker, 条带下方为菌株编号

MK-Marker, below the bands are strain number

图 1 根际细菌 16S rDNA 序列电泳图 (A) 与分离得到的部分根际细菌 (B)

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of 16S rDNA sequence of Rhizospheric bacteria (A) and Some rhizospheric bacteria isolated (B)

表 3 不同产地西红花根际细菌高分离频率属及多样性比较

Table 3 Comparison of high RF and diversity of *C. sativus* rhizospheric bacteria from different habits

产地	分离频率 (RF>5%)	H'	J	R
浙江建德 1	芽孢杆菌属 (65.46%)、类芽孢杆菌属 (18.18%)、假单胞菌属 (7.27%)	1.841 9	0.718 1	2.994 5
上海崇明 1	芽孢杆菌属 (66.67%)、赖氨酸芽孢杆菌属 (7.02%)、类芽孢杆菌属 (7.02%)	2.114 3	0.705 8	4.699 4
陕西澄城 1	芽孢杆菌属 (45.63%)、苍白杆菌属 (32.04%)、微杆菌属 (8.74%)	2.361 6	0.788 3	4.099 5
浙江建德 2	芽孢杆菌属 (75.00%)、赖氨酸芽孢杆菌属 (10.71%)、类芽孢杆菌属 (5.36%)	1.724 3	0.693 9	2.732 7
上海崇明 2	芽孢杆菌属 (73.33%)、农杆菌属 (8.89%)	1.869 6	0.708 4	3.415 1
陕西澄城 2	芽孢杆菌属 (35.00%)、苍白杆菌属 (28.33%)、微杆菌属 (10.00%)、无色杆菌属 (8.33%)	2.590 1	0.850 8	4.904 9

表 4 西红花根际细菌多样性、菌群结构与土壤理化因子、球茎大小的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of *C. sativus* rhizospheric bacterial diversity and community with physical and chemical properties and growth characteristics

指标	相关系数							
	pH	有机质	有效磷	碱解氮	速效钾	鲜质量	横径	纵径
芽孢杆菌属	-0.535	0.951**	-0.914*	0.581	0.221	0.793*	0.752*	0.823*
苍白杆菌属	0.619	-0.956**	0.900*	-0.666	0.280	-0.767*	-0.773*	-0.832*
类芽孢杆菌属	-0.880*	0.463	-0.582	0.585	0.719	0.125	0.132	0.312
微杆菌属	0.827*	-0.794	0.962**	-0.822*	0.549	-0.578	-0.546	-0.692
赖氨酸芽孢杆菌属	-0.577	0.518	-0.861*	0.854*	0.375	0.523	0.475	0.573
无色杆菌属	0.249	-0.744	0.625	-0.124	0.052	-0.380	-0.335	-0.359
农杆菌属	0.423	0.593	-0.087	-0.302	-0.627	0.611	0.653	0.477
<i>Leclercia</i> 属	0.606	0.213	0.190	-0.691	-0.756	-0.030	-0.018	-0.190
寡养单胞菌属	0.724	-0.501	0.641	-0.401	-0.545	-0.094	-0.030	-0.212
假单胞菌属	-0.604	-0.201	0.058	0.279	0.711	-0.321	-0.283	-0.122
H'	0.712	-0.843*	0.910*	-0.682	-0.478	-0.724	-0.658	-0.806*
J	0.561	-0.917*	0.916*	-0.564	-0.234	-0.677	-0.634	-0.713
R	0.737	-0.503	0.689	-0.617	-0.690	-0.513	-0.404	-0.627

*表示显著相关, $P<0.05$ ** $P<0.01$

significant correlations are marked with *, $P<0.05$ ** $P<0.01$

3.5 球茎大小与细菌菌群结构和多样性的相关性分析

球茎大小与根际细菌菌群结构和多样性显著相关。球茎纵径与多样性指数 H' 呈现显著负相关 ($r=-0.806$, $P<0.05$)。在相同产地中, 浙江建德 1 的类芽孢杆菌属占比约为浙江建德 2 的 3.4 倍 (表 3)。陕西澄城 1 的优势属为芽孢杆菌属、苍白杆菌属、微杆菌属, 其中苍白杆菌属在西红花根际细菌中的分布与鲜质量呈现显著负相关 ($r=-0.767$, $P<0.05$)。浙江建德 2 和上海崇明 2 的优势属为芽孢杆菌属, 共同优势属芽孢杆菌属在浙江建德 2 的 RF 约为陕西澄城 1 的 1.6 倍, 芽孢杆菌属在西红花根际细菌中的分布与西红花球茎鲜质量呈显著正相关 ($r=0.793$, $P<0.05$) (表 4)。

4 讨论

西红花根际可培养细菌资源丰富, 共分离出 2 450 株细菌, 归属于 4 个门, 6 个纲, 8 个目, 17 个科, 28 个属, 31 种, 其中厚壁菌门分离频率最高, 主要以芽孢杆菌属为主, 这与姜午春^[27]分离根际细菌的结果一致。变形菌门细菌中分离频率最高的属为寡养单胞菌属, 该属细菌目前已被报道具有抗病、促生等功能^[28]。此外, 本研究所得 28 个属, 其中 *Cytobacillus* 属为一年内刚建立的属^[29], 仅作为植物内生细菌被分离^[30]。其余属皆已有在土壤中分离的报道, 其中芽孢杆菌属、假单胞菌属为常见根际细菌^[31-32], 有固氮、溶磷、促生等作用^[33-35]。本研究鉴定到种水平的细菌共 31 种, 其中 4 种为首次从土壤中分离得到, 分别是 *Agrococcus versicolor*、*Cytobacillus firmus*、*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*、*Sphingobacterium puteale*, 其中 *Agrococcus versicolor* 仅作为一种叶际放线菌从土豆的叶际被分离得到^[36]。此外, 本研究首次从土壤中分离得到细菌 *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, 该菌被报道对西红柿具有较好的促生作用^[37]。

产地对西红花根际细菌菌群结构和多样性存在影响, 多样性指数: 陕西澄城>上海崇明>浙江建德, 陕西澄城多样性指数最高, 且苍白杆菌属和微杆菌属 RF 高于其他产地, 为陕西澄城独有优势属。邹立思等^[38]采用磷脂脂肪酸技术分析了不同产地太子参根际微生物, 报道不同产地的太子参根际微生物含量及群落结构存在较大差异。土壤理化因子与西红花根际细菌菌群结构和多样性显著相关, 在本研究中, 分析结果显示芽孢杆菌属与有效磷含量

存在负相关, 可能是芽孢杆菌属细菌具有促进西红花根系吸收磷元素的功能, 刘鹏^[38]研究发现, 解淀粉芽孢杆菌一定程度上增加植物对磷的吸收, 增加植株生物量。此外, 本研究数据显示速效钾与根际微生物结构没有明显相关性, 这与王文铜^[39]对花生根际细菌 16S rDNA 文库进行典范对应分析 (canonical correspondence analysis, CCA) 和冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 的结果一致。

植物与根际微生物存在着互利共惠的关系, 一方面, 植物通过招募有益的微生物, 促进自身生长发育、提高对病原菌与非生物胁迫的抗性, 另一方面, 植物为微生物提供根际共生的栖息场所, 并通过释放不同的根系分泌物为微生物提供营养, 影响着根际微生物菌群结构与分布^[41-42]。本研究表明西红花球茎大小与根际细菌菌群结构密切相关, 芽孢杆菌属在西红花根际细菌中的分布与球茎鲜质量呈现正相关, 表明高丰度的芽孢杆菌属细菌可能对西红花球茎生长有益。众多研究也表明芽孢杆菌属细菌具有促生功能, 如枯草芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌和多粘类芽孢杆菌皆被报道有促生作用, 其主要促生机理通过产生植物激素促进植物生长^[33, 43-45]。陆续对得到的根际细菌进行了功能筛选, 并获得了一批功能菌株, 如筛选得到的 3 株根际细菌 SR163、SR253、SR375 对拟南芥有较好的促生作用, 其他功能筛选正在进行中。本研究为根际细菌菌群优化、土壤修复及药用植物共生微生物资源开发提供了参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 134-135.
- [2] Ahn J H, Hu Y, Hernandez M, et al. Crocetin inhibits beta-amyloid fibrillization and stabilizes beta-amyloid oligomers [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(1): 79-83.
- [3] Akhondzadeh S, Tahmacebi-Pour N, Noorbala A A, et al. *Crocus sativus* L. in the treatment of mild to moderate depression: A double-blind, randomized and placebo-controlled trial [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(2): 148-151.
- [4] 徐沁蕾, 钱之玉. 西红花酸抗凝血和抗血栓形成作用的实验研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(1): 89-91.
- [5] 张汉明, 张芝玉. 番红花花粉的形态和活性观察 [J]. *西北植物学报*, 1990, 10(3): 176-179, 238.
- [6] 姚冲, 刘兵兵, 周桂芬, 等. 影响西红花产量和品质的

- 诸因素研究进展 [J]. 中药材, 2017, 40(3): 738-743.
- [7] 赵柏霞, 闫建芳, 夏国芳, 等. 马哈利樱桃根际产吡啶乙酸细菌多样性及产素能力研究 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 169-172.
- [8] 孟宪法. 滩涂植物菊芋根际固氮菌群落分析及其内生细菌作用机制 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015: 41.
- [9] 张扬, 郭春兰, 陈伏生, 等. 毛竹根际 2 株溶解磷钾促生细菌的筛选鉴定 [J]. 江西农业大学学报, 2018, 40(4): 759-768.
- [10] Dhawi F, Datta R, Ramakrishna W. Mycorrhiza and PGPB modulate maize biomass, nutrient uptake and metabolic pathways in maize grown in mining-impacted soil [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2015, 97: 390-399.
- [11] 韩丽珍, 刘畅, 邓兆辉, 等. 茶树根际细菌菌株对种子萌发及幼苗生长的促生效应及机制初探 [J]. 种子, 2019, 38(12): 41-47.
- [12] Wang T J, Su N N, Lei P, *et al.* Community structure of heavy metal immobilized bacteria in the lettuce (*Lactuca sativa* L.) rhizosphere in soil polluted by heavy metals and its effects on reducing heavy metal accumulation in lettuce [J]. *Huanjing Kexue*, 2019, 40(11): 5133-5141.
- [13] Dai L X, Zhang G C, Yu Z P, *et al.* Effect of drought stress and developmental stages on microbial community structure and diversity in peanut rhizosphere soil [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): E2265.
- [14] Hou S J, Thiergart T, Vannier N, *et al.* A microbiota-root-shoot circuit favours *Arabidopsis* growth over defence under suboptimal light [J]. *Nat Plants*, 2021, 7(8): 1078-1092.
- [15] Ji W, Han K, Cai Y H, *et al.* Characterization of rhizosphere bacterial community and berry quality of Hutai No.8 (*Vitis vinifera* L.) with different ages, and their relations [J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(10): 4532-4539.
- [16] Zheng Y, Gong X. Niche differentiation rather than biogeography shapes the diversity and composition of microbiome of *Cycas panzhihuaensis* [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 152.
- [17] 吴恙, 陈江. 重铬酸钾容量法测定土壤有机质-加热法研究 [J]. 中国高新技术企业, 2016(26): 11-12.
- [18] 张飞龙. Olsen 法测定土壤中有效磷的方法优化及检测研究 [J]. 西藏农业科技, 2016, 38(4): 33-37.
- [19] 戴域, 李守权, 罗浩. 正交实验法优化土壤碱解氮最佳测定方法 [J]. 广州化工, 2020, 48(13): 54-57.
- [20] 孙兰香. 乙酸铵浸提: 火焰光度计法测定土壤速效钾 [J]. 现代农业科技, 2008(17): 199.
- [21] 詹伟. 金钗石斛根际土壤细菌和放线菌分离及抑菌活性研究 [D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2016: 10.
- [22] 杨阳, 李茜茜, 唐藕凤, 等. 延胡索块茎中内生真菌菌群结构及其与延胡索乙素含量的相关性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1901-1908.
- [23] 高微微, 郭顺星. 内生真菌菌丝及代谢物对铁皮石斛及金线莲生长的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 2001, 23(6): 556-559.
- [24] 杨岳, 闫伟, 魏杰. 内蒙古地区白桦根围土壤外生菌根真菌群落结构 [J]. 菌物学报, 2018, 37(3): 294-304.
- [25] Pielou E C. The measurement of diversity in different types of biological collections [J]. *J Theor Biol*, 1966, 13: 131-144.
- [26] 金鑫, 李孝敬, 黄艺伟, 等. 不同年份三七根际土壤中真菌的分离鉴定及其多样性的比较 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 314-317.
- [27] 姜午春. 富营养条件下红树林土壤微生物多样性及功能基因研究 [D]. 汉中: 陕西理工大学, 2018: 21.
- [28] 邓阳, 姜竹鸣, 张玉琴. 寡养单胞菌属细菌的研究进展 [J]. 生物资源, 2021, 43(1): 1-9.
- [29] Patel S, Gupta R S. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2020, 70(1): 406-438.
- [30] Sudarsan S, Kumar Shankar M, Kumar Belagal Motatis A, *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles by *cytobacillus firmus* isolated from the stem bark of *Terminalia arjuna* and their antimicrobial activity [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 259.
- [31] 赵娟, 刘涛, 潘磊, 等. 元阳梯田地方水稻品种根部内生菌及根际微生物的分离与鉴定 [J]. 应用生态学报, 2015, 26(12): 3737-3745.
- [32] 刘炜, 郭羿宏, 张瑞杰, 等. 北京市白河湿地香蒲根际土壤细菌多样性 [J]. 湿地科学, 2016, 14(5): 740-749.
- [33] 赵青云, 赵秋芳, 王辉, 等. 根际促生菌 *Bacillus subtilis*-IVI 在香草兰上的应用效果研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(2): 535-540.
- [34] 任建国, 王俊丽. 太子参土壤固氮菌与解钾菌的分离、筛选及鉴定 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2015, 40(2): 59-65.
- [35] 宫安东, 朱梓钰, 路亚南, 等. 吡咯伯克霍尔德菌 WY6-5 的溶磷、抑菌与促玉米生长作用研究 [J]. 中国农业科学, 2019, 52(9): 1574-1586.
- [36] Behrendt U, Schumann P, Ulrich A. *Agrococcus versicolor* sp. nov., an actinobacterium associated with the phyllosphere of potato plants [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008, 58(Pt 12): 2833-2838.

- [37] Riva V, Mapelli F, Dragonetti G, *et al.* Bacterial inoculants mitigating water scarcity in tomato: The importance of long-term *in vivo* experiments [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 675552.
- [38] 邹立思, 马阳, 侯娅, 等. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)技术的不同产地太子参根际土壤微生物群落结构多样性分析 [J]. 中药材, 2018, 41(5): 1054-1060.
- [39] 刘鹏. 根际磷养分和解淀粉芽孢杆菌对春玉米生长及磷吸收的影响 [D]. 长春: 吉林大学, 2013: 42.
- [40] 王文铜. 花生根际土壤细菌群落结构分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2012: 49.
- [41] Zhalnina K, Louie K B, Hao Z, *et al.* Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly [J]. *Nat Microbiol*, 2018, 3(4): 470-480.
- [42] 张连娟, 沙本才, 龙光强, 等. 药用植物与微生物互利共生关系的研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(10): 1750-1757.
- [43] Kour R, Ambardar S, Vakhlu J. Plant growth promoting bacteria associated with corm of *Crocus sativus* during three growth stages [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2018, 67(5): 458-464.
- [44] 郭芳芳, 谢镇, 卢鹏, 等. 一株多粘类芽孢杆菌的鉴定及其生防促生效果初步测定 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 489-496.
- [45] 杨晓云, 陈志谊, 蒋盼盼, 等. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 对番茄的促生作用 [J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(3): 349-356.

[责任编辑 时圣明]