



# 铁皮石斛抗逆、促生长菌的筛选及其特性分析

柳世敏<sup>1</sup>, 高园园<sup>2</sup>, 胡秀芳<sup>1</sup>

(1. 浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018; 2. 济宁市农业科学研究院, 山东济宁 272031)

**摘要:** 为筛选具有抗逆性及促生长潜能的微生物菌株, 从 4 个中国地理区域采集的铁皮石斛根、茎、叶中分离内生细菌, 模拟高温、干旱、酸性、寡营养和氧化胁迫条件进行筛选, 并通过测定吲哚乙酸合成、溶磷及产铁能力等来评估菌株的促生长能力。结果表明: 4 个地区分离得到 172 个菌株的生态位分布呈现组织特异性, 其中芽孢杆菌属在根际的定殖率为 51.16%; 21 个抗高温、干旱的菌株中, 芽孢杆菌属占比达 76.19%; 酸性、寡营养和氧化胁迫条件下获得 6 株抗逆能力较强菌株, 其中菌株 JHGO3 抗酸与抗寡营养最优; 菌株 JHGO3 显著富集并具有溶磷、产铁载体及产吲哚乙酸能力。该研究通过筛选具有缓解高温胁迫潜力的功能菌株, 为开发植物耐高温菌剂提供理论依据与菌种资源。

**关键词:** 铁皮石斛; 筛菌; 生态位分布; 高温干旱; 促生长

**中图分类号:** S567.23

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-3851(2025)11-0836-08

**引文格式:** 柳世敏, 高园园, 胡秀芳. 铁皮石斛抗逆、促生长菌的筛选及其特性分析[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2025, 53(6): 836-843.

**Reference Format:** LIU Shimin, GAO Yuanyuan, HU Xiufang. Screening and characteristic analysis of stress-resistant and growth-promoting bacteria in *Dendrobium officinale*[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2025, 53(6): 836-843.

## Screening and characteristic analysis of stress-resistant and growth-promoting bacteria in *Dendrobium officinale*

LIU Shimin<sup>1</sup>, GAO Yuanyuan<sup>2</sup>, HU Xiufang<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;  
2. Jining Academy of Agricultural Sciences, Jining 272031, China)

**Abstract:** To screen microbial strains with stress resistance and growth-promoting potential, endophytic bacteria were isolated from the roots, stems, and leaves of *Dendrobium officinale* collected from four geographical regions in China. These strains were subjected to simulated high-temperature, drought, acidic, oligotrophic, and oxidative stress conditions for screening. Their growth-promoting capabilities were evaluated by measuring indole-3-acetic acid (IAA) synthesis, phosphate solubilization, and siderophore production. Results revealed that the niche distribution of 172 isolated strains from the four regions exhibited tissue specificity, with *Bacillus* species colonizing 51.16% of the root. Among 21 high-temperature and drought-resistant strains, *Bacillus* accounted for 76.19%. Six strains with superior stress tolerance were identified under acidic, oligotrophic, and oxidative stress conditions, among which strain JHGO3 demonstrated optimal acid and oligotrophic resistance. Strain JHGO3 showed significant enrichment and possessed the abilities of phosphate solubilization, siderophore production, and indole-3-acetic acid production. By screening microbial strains demonstrating thermotolerance-enhancing capabilities, the research provides theoretical basis and strain repositories for the development of plant-tailored bioinoculants against thermal stress.

**Key words:** *Dendrobium officinale*; screening bacteria; ecological niche distribution; high temperature and drought; growth promotion

收稿日期: 2025-04-20 网络出版日期: 2025-06-26

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(2025KFKT09)

作者简介: 柳世敏(2000—), 女, 浙江绍兴人, 硕士研究生, 主要从事微生物与植物互作方面的研究。

通信作者: 胡秀芳, E-mail: huxiuf@zstu.edu.cn

## 0 引言

全球气候变化加剧极端高温频发,而高温会破坏植物膜系统稳定性、抑制酶活性及干扰次生代谢通路(如黄酮类化合物合成受阻),导致药用植物活性成分流失与产量下降<sup>[1]</sup>。铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是一种典型的温度敏感型药用植物,其生理代谢和活性成分合成对环境温度高度敏感。当气温超过 35 °C 时,叶片灼伤率骤增,光合作用明显受到抑制;持续高温(>40 °C)致使多糖合成酶活性降低 40%,最终产物含量显著低于《中国药典》标准<sup>[2]</sup>。更严重的是,高温引发的膜脂过氧化反应与炭疽病、白绢病等病害的协同爆发,导致 2022 年云南产区直接经济损失达 2.3 亿元。当前栽培技术体系面临着双重困境:大棚栽培虽能实现铁皮石斛的周年生产,但大棚内的高温环境(峰值达 45 °C)会加剧植株损伤,且伴随高昂成本(每亩 1.5 万~2.0 万元)与农药残留超标风险<sup>[3]</sup>;另一方面,仿野生栽培虽可维持多糖含量(40%~45%)及生态友好性,但长达 4~5 年的生长周期与 20.30% 的高温致死率<sup>[4]</sup>,严重制约了规模化生产。开发低成本、高效且可持续的抗高温的铁皮石斛栽培技术迫在眉睫,植物共生微生物为破解这一难题提供了新思路。

铁皮石斛作为兰科附生植物,其根际及组织内生菌群具有独特的功能多样性,已鉴定的优势菌群包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)等<sup>[5]</sup>。研究表明,这些菌株可通过多重机制增强宿主抗逆性:过分泌植物生长素、赤霉素和乙烯等激素,调节植物代谢<sup>[6]</sup>;芽孢杆菌通过产生茉莉酸和乙烯等信号分子,激活植物防御系统,如接种芽孢杆菌可诱导大豆根系中茉莉酸积累,增强抗病性和抗逆性<sup>[7]</sup>;分泌谷胱甘肽 S-转移酶和过氧化物酶,清除活性氧,维持细胞稳态,如 GD17 菌株可通过提升黄瓜幼苗抗氧化酶活性,降低丙二醛含量,增强抗旱能力<sup>[8]</sup>。真菌还可以通过形成共生菌根来增加铁皮石斛植株叶绿素和多糖的含量,改善渗透调节物质的产生、增强抗氧化酶的活性,从而增加其抗逆的能力,更好地适应外部环境的变化<sup>[9]</sup>。现有研究多聚焦单一菌株的功能,对高温适应性菌群的筛选标准及其协同抗逆机制研究仍不够深入。

本文以铁皮石斛为研究对象,通过多区域采样(湖州、金华、温州和安康)明确铁皮石斛内生菌群的

空间分布规律;通过构建高温及干旱的筛选体系获得抗逆菌株;系统评价菌株在酸、寡营养及氧化胁迫下抗逆与促生长能力,旨在筛选具有多重抗逆特性的功能菌株,为开发新型、高效的铁皮石斛微生物菌剂提供理论依据与菌种资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样本采集

于夏季,分别从浙江省湖州市、金华市、温州市和陕西省安康市的铁皮石斛种植基地,选取生长健康的 3 年生铁皮石斛作为分离抗逆内生细菌的样本。采集地点分别编号为 HZ、JH、WZ 和 SX,根据不同部位将根、茎、叶分别命名为 R、S 和 L;采集的铁皮石斛用流动自来水冲洗表面,将根、茎和叶分别存放于冰箱中 4 °C 冷藏备用。

#### 1.1.2 主要培养基

a)NB 培养基,配方如下:牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g 和氯化钠 5 g,ddH<sub>2</sub>O 定容至 1 L。

b)R2A 寡营养培养基,配方如下:酵母浸粉 0.50 g、胰蛋白胨 0.25 g、酸水解酪蛋白 0.50 g、葡萄糖 0.50 g、可溶性淀粉 0.50 g、丙酮酸钠 0.30 g、磷酸氢二钾 0.30 g 和硫酸镁 0.10 g,ddH<sub>2</sub>O 定容至 1 L。

c)CAS 培养基,配方如下:质量分数 20%蔗糖溶液 1 mL、质量分数 10%酸水解酪蛋白 3 mL、1 mmol/L 氯化钙 100 μL、0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 5 mL、CAS 染液 5 mL 和琼脂 18 g,ddH<sub>2</sub>O 定容至 1 L。

d)无机磷培养基,配方如下:甘露醇 10.00 g、NaCl 0.20 g、CaCO<sub>3</sub> 5.00 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.20 g 和琼脂 20.00 g,ddH<sub>2</sub>O 定容至 1 L。

e)有机磷培养基,配方如下:葡萄糖 10.00 g、硫酸铵 0.50 g、酵母浸粉 0.50 g、氯化钠 0.30 g、氯化钾 0.30 g、硫酸镁 0.30 g、硫酸亚铁 0.03 g、硫酸镁 0.03 g、卵磷脂 0.20 g、碳酸钙 1.00 g 和琼脂 15.00 g,ddH<sub>2</sub>O 定容至 1 L。

#### 1.2 铁皮石斛细菌分离及 16S rRNA 鉴定

铁皮石斛样本预处理:将铁皮石斛植株用流动自来水充分冲洗后,随机分为 3 组,每组 5 株,每个植株分别取相同数量的健康根、茎、叶,各组样本充分混匀;取样本用体积分数 75%乙醇浸泡 1 min,用质量分数 1.5%次氯酸钠浸泡 3 min,蒸馏水清洗 3 次后各取 0.1 g 置于研钵,研磨所得组织匀浆按

$10^{-5} \sim 10^{-7}$  梯度稀释涂布于 NB 及 R2A 固体培养基中, 30 °C 培养 48 h, 分离得内生菌; 分离所得的菌进一步分离、纯化, 并保存于  $-80$  °C 冰箱。

将所有分离纯化菌株, 分别接种于 NB 培养基 30 °C 培养 48 h, 以菌液为模板进行 PCR 扩增 16S rRNA 基因序列, 扩增引物为 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGTACCTTGTTAC GACTT-3')。取扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 测序结果与 GenBank 数据库进行同源性对比, 用邻接法构建系统发育树, 确定菌的种属特征。

### 1.3 抗逆菌株筛选与特性分析

#### 1.3.1 抗逆菌株的梯度胁迫筛选

以 NB 为基础培养基, 设置 6 种胁迫条件进行培养, 具体方法参考文献[10], 分别为: 高温胁迫(45 °C, 72 h); 干旱胁迫(质量浓度 40、80、120、160、200 g/L 和 240 g/L 的 PEG6000 的 NB 培养基); 氧化胁迫(含 5、10、15、20、25、30、35 mmol/L 和 40 mmol/L 的  $H_2O_2$  的 NB 培养基); 寡营养胁迫(R2A 母液浓度、 $2 \times$  稀释液、 $5 \times$  稀释液、 $10 \times$  稀释液)和酸胁迫(pH 值 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5 和 6.0 的 NB 培养基), 以  $OD_{600}$  下降率  $\leq 50\%$  作为抗逆性评价标准<sup>[11]</sup>。

将待测菌株接种于 NB 液体培养基, 30 °C、180 r/min 震荡培养 24 h, 菌液用 NB 液体培养基调至  $OD_{600}$  为 1.0, 在 96 孔板中每孔加入 190  $\mu$ L 胁迫培养基, 接种 10  $\mu$ L 菌液; 除高温组 45 °C 培养 72 h 外, 其他处理组均置于 30 °C 培养 48 h, 采用酶标仪测定各个菌的  $OD_{600}$  值, 选择在 4 种及以上胁迫条件下生长量  $> 0.3$  的菌株进入后续测试。

#### 1.3.2 复合胁迫下对抗逆菌群富集的影响的测定

各菌株在模拟自然环境的高温、干旱和酸性复合胁迫条件下进行筛选, 具体方法参考文献[12]。将各个菌株分别接种于 NB 液体培养基, 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 菌液用 NB 液体培养基调至  $OD_{600}$  为 1.0, 等比例混合, 按照体积分数 2% 的接种量将混合菌液接种到酸性(pH 值 4.0~6.0)和干旱(PEG6000 添加量为质量浓度 0~200 g/L)胁迫液体培养基中, 45 °C、培养 48 h, 并将菌液进行  $10^{-3} \sim 10^{-6}$  梯度稀释, 涂布于 NB 平板, 培养 48 h 后统计各菌株的单菌落数占比, 进一步确定优势高抗逆菌株。

#### 1.3.3 抗逆菌株的促生长活性分析

将待测菌株制备成菌液, 待测菌株在平板上划

线纯化后, 挑取单菌落接种于 NB 液体培养基中, 30 °C, 200 r/min 培养 24 h; 将菌液用 NB 液体培养基稀释至  $OD_{600}$  为 1.0, 产吲哚乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)、溶磷、铁载体功能检测按照文献[9]进行。

a) IAA 合成能力: 取菌液接种于含 L-色氨酸的 LB 培养液中, 30 °C, 200 r/min 培养 48 h; 菌悬液 10000 r/min 离心 10 min, 取上清加入等体积 Salkowski 比色液, 避光静置 30 min 后, 观察其颜色变化, 并检测其在 530 nm 处吸光值, 制备 IAA 标准溶液, 绘制标准曲线以计算 IAA 的含量。

b) 溶磷及铁载体合成能力: 在无机磷固体培养基、有机磷固体培养基和 CAS 固体培养基上放置灭菌后的滤纸片, 分别吸取 10  $\mu$ L 菌液至滤纸片上, 于 30 °C 恒温培养箱倒置培养 48~72 h, 对菌落及其透明圈直径进行测量。溶磷指数(Phosphate solubilization index, PSI)为透明圈直径/菌落直径,  $PSI \geq 1.50$  为高效溶磷<sup>[13]</sup>; 铁载体活性指数(Siderophore activity index, SI)为(透明圈直径-菌落直径)/菌落直径,  $SI \geq 1.00$  则菌株铁载体分泌能力强。

## 2 结果与讨论

### 2.1 内生菌分离及其地理与组织分布特征

从浙江湖州、金华和温州以及陕西安康 4 个地区的铁皮石斛根、茎、叶中共分离获得 172 株内生细菌, 菌株数量分布如图 1 所示。图 1 表明: 不同地区和器官的铁皮石斛样本中分离的菌株数存在显著的差异。金华地区分离菌株数最多(50 株, 占比 29.07%), 温州最少(36 株, 20.93%); 在组织分布上, 茎部为菌株富集热点(68 株, 39.53%), 显著高于根部(65 株, 37.79%)和叶部(39 株, 22.67%); 金华样本中根际和茎部菌株占比最高(44.00%, 38.00%), 而温州样本根、茎、叶分离菌株数趋近均衡(33.33%、36.11%和 30.56%)。

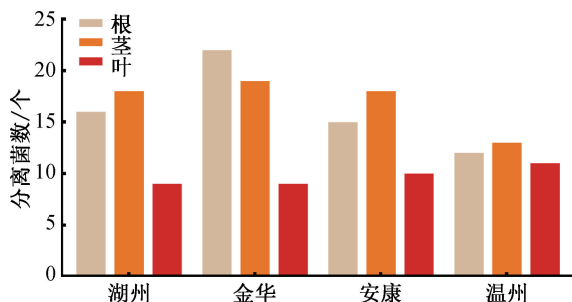


图 1 不同地区铁皮石斛分离菌株的分布柱状图

172 株内生细菌的 16S rRNA 基因序列的测序结果如图 2 所示。图 2 表明:172 株菌分属于 4 门、21 属,其中厚壁菌门(Firmicutes)占比达 71.51%(其中 *Bacillus* 占 51.16%),变形菌门(Proteobacteria)占比 19.77% 和放线菌门(Actinobacteria)占比 8.14%;*Bacillus* 作为绝对优势属在 4 个地区的分布不同,在温州地区各组织部位均显著富集(53.85%~72.30%),安康地区茎部显著富集(42.31%);假单胞菌属(*Pseudomonas*)与鞘氨醇单

胞菌属(*Sphingomonas*)仅在金华样本中检出(占比分别为 50.00%和 100.00%);伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)主要分离自湖州地区茎部(47.06%),短小杆菌属主要分离自金华地区茎部(38.46%);分离菌株还包括 *PaeniBacillus*、*Pseudomonas* 和 *Sphingomonas*,从金华样本分离到 8 株 *PaeniBacillus*,占所有样本的 66.67%,2 株 *Pseudomonas* 和 *Sphingomonas*,占所有样本的 50.00%和 100.00%。

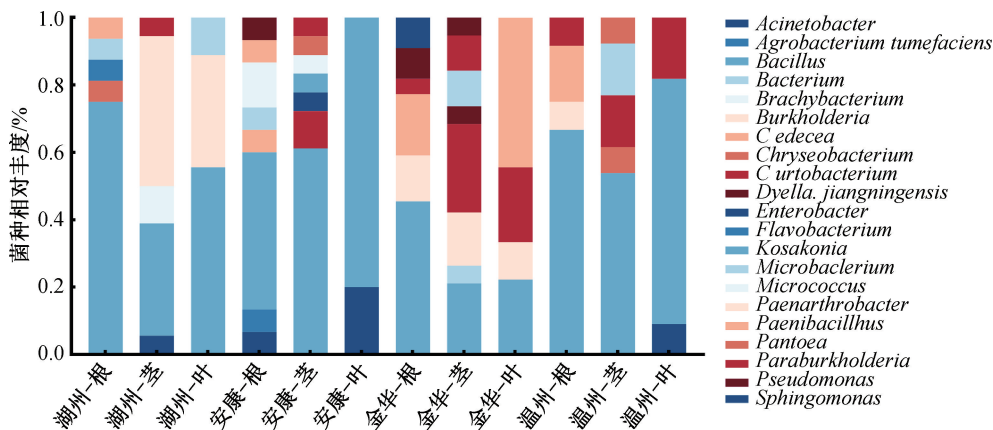


图 2 不同地区铁皮石斛分离菌株的属水平相对丰度堆积图

## 2.2 内生菌在不同胁迫下抗逆表现

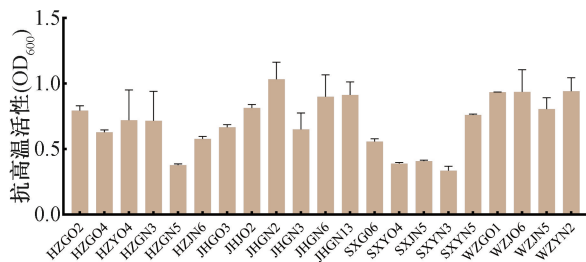
### 2.2.1 高温及干旱胁迫

以高温胁迫(45 °C 培养 72 h,  $OD_{600} > 0.30$ )和干旱胁迫(质量浓度 200 g/L 的 PEG6000,  $OD_{600} > 0.30$ )为筛选条件,从 172 株菌中筛选出 21 株高温和干旱双抗菌株,结果如图 3 所示。由图 3 可知:湖州与金华样本中分离到的抗逆菌株占比最高(28.57%),安康(23.81%),温州(19.05%);金华(29.1°N)与温州(27.9°N)样本中高温抗性菌占比较高安康(32.5°N)抗高温菌株少 4.76%,与张小燕等<sup>[14]</sup>发现的纬度影响内生菌响应的现象一致,可能与低纬度菌群长期暴露于高温环境相关,*Bacillus* 占比 76.19%,其孢子形成能力可增强高温耐受性<sup>[15]</sup>;在 45 °C 胁迫条件下,分离自金华和温州的菌株抗逆性较强,在高温胁迫下生长量达到 0.80 及以上,菌株 JHGN2 表现最佳( $OD_{600} = 1.03$ );在干旱胁迫下,菌株 JHGN13、SXGO6、WZJN5 和 JHGN3 表现最优,总生长量累积达到 4.00 及以上,具有较强抗干旱活性。

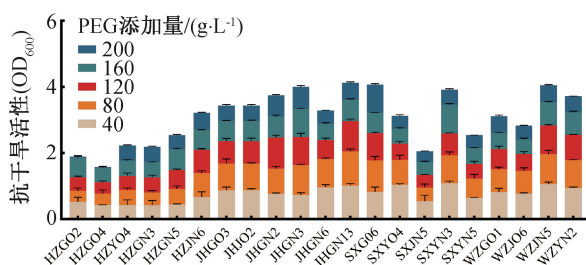
### 2.2.2 酸性、寡营养和氧化胁迫

图 4 为 21 株筛选菌株在酸性环境、寡营养条件和氧化胁迫下生长量。由图 4(a)可知:在酸性胁迫

条件下,菌株 JHGO3 总生长量明显高于其他菌株( $OD_{600} = 5.80$ ),在 pH 值 4.0 时仍维持较高生长量( $OD_{600} = 0.96$ ),表现出强抗酸性;菌株 HZGN5、HZGO4、WZJN5 和 HZGO2 等 9 株菌的累积生长量均较高( $OD_{600} = 3.00$ ),菌株 JHGN2( $OD_{600} = 1.35$ )与 WZGO3( $OD_{600} = 1.16$ )的累积生长量最低。



(a) 在 45 °C 下 21 个菌株生长量



(b) 不同质量浓度 PEG6000 下 21 个菌株生长量

图 3 21 株抗逆菌在 45 °C 与干旱条件下生物量的柱状图

由图 4(b)可知:在寡营养胁迫条件下,菌株 JHGO3、HZJN6、SXJN5 和 WZJO6 抗寡营养能力最强,其累积生长量均高于 1.05,在 10 倍稀释 R2A 环境下,菌株 JHGO3 仍保持较高生长量 ( $OD_{600} = 0.41$ ),是菌株 WZYN2 增长量的 395.23%。

由图 4(c)可知:在氧化胁迫条件下,当  $H_2O_2$  浓度由 0 增加至 20 mmol/L 时,菌株 SXYN5 具有较强抗氧化能力,生长速率仅下降 17.05%,累积生长量达到 3.70;菌株 HZJN6、HZGN5 在氧化胁迫下仍可以保持良好生长速率,累积生长量可以达到 2.50 以上;当  $H_2O_2$  浓度达到 35 mmol/L 时,菌株 HZJN6 和 SXYN5 仍能持续增加 0.31~0.35 的生长量。综上所述,菌株 JHGO3 抗酸( $OD_{600} = 5.80$ )和抗寡营养( $OD_{600} = 2.35$ )能力最强,菌株 HZGN5 抗酸( $OD_{600} = 3.43$ )和抗氧化( $OD_{600} = 5.59$ );其他 4 个菌株 HZJN6、SXJN5、WZJO6 和 SXGO6 均具有 2 种较强的抗性。

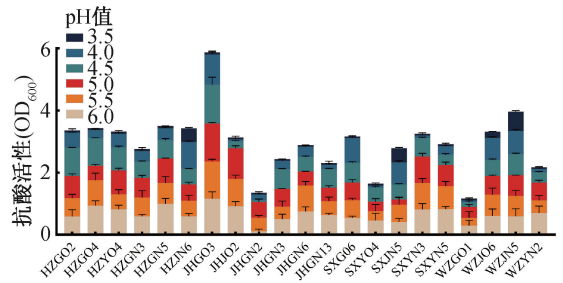
### 2.2.3 抗逆菌株种属分布和进化枝特征

由表 1 可知:21 株菌中 *Bacillus* 占比最高 (76.19%),*Curtobacterium* 占比 9.52%,*PaeniBacillus*、*Burkholderia*、*Pantoea* 和 *Brachybacillus* 属占比最低 (各 4.76%);52.38% 的菌株来自根部,茎部与叶部占比均为 23.81%,根部的 *Bacillus* 是抗高温和抗旱的主要菌种资源。

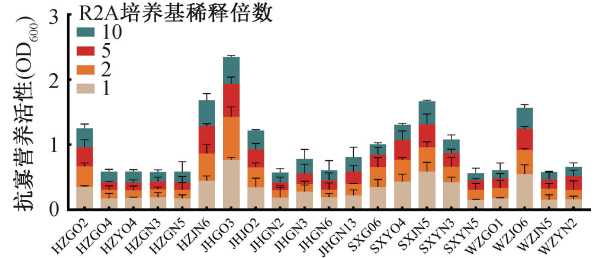
表 1 21 株抗逆菌的种属分布

菌名	种属	相似度/%	菌名	种属	相似度/%
HZGO2	<i>Brachybacillus sp.</i>	100	JHGN13	<i>B. cereus</i>	100
HZGO4	<i>B. subtilis</i>	100	SXGO6	<i>B. cereus</i>	99
HZYO4	<i>B. cereus</i>	99	SXYO4	<i>B. cereus</i>	98
HZGN3	<i>B. velezensis</i>	100	SXJN5	<i>B. megaterium</i>	100
HZGN5	<i>B. cereus</i>	100	SXYN3	<i>B. subtilis</i>	100
HZJN6	<i>Burkholderia gladioli</i>	100	SXYN5	<i>B. subtilis</i>	99
JHGO3	<i>B. megaterium</i>	100	WZGO1	<i>Curtobacterium</i>	98
JHJO2	<i>Curtobacterium</i>	98	WZJO6	<i>Bacillus</i>	99
JHGN2	<i>B. cereus</i>	97	WZJN5	<i>Pantoea dispersa</i>	100
JHGN3	<i>VirgiBacillus halophilus</i>	100	WZYN2	<i>B. tequilensis</i>	100
JHGN6	<i>B. thuringiensis</i>	98			

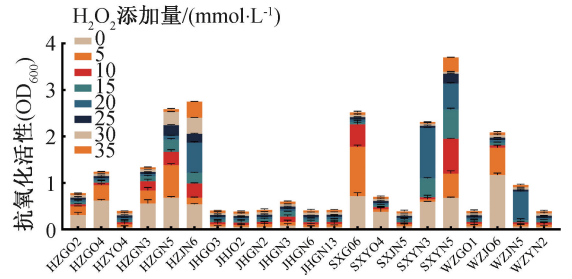
对 21 株菌的 16S rRNA 序列通过近邻法进行系统发育分析,结果如图 5 所示。由图 5 可知:菌株 SXJN5 和 JHGO3 遗传背景高度相似,可能属于同一属或种;菌株 HZGO2、HZJN6 和 WZJN5 分支较长,与其他菌株遗传差异显著,可能为不同功能类群;菌株 SXJN5 和 JHGO3 与 *B. megaterium* 间的分支极短 (100.00%),遗传相似度极高,*B.*



(a) 不同pH值下21个菌株生长量



(b) 梯度稀释培养基下21个菌株生长量



(c) 梯度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>添加量下21个菌株生长量

图 4 21 株抗逆菌在酸性、寡营养及氧化胁迫下生长量的柱状图

*megaterium* PQ813777 等菌已被证实是具有较强抗逆能力且有溶磷功能,推测菌株 SXJN5 和 JHGO3 可能也具有抗逆及促生功能。

### 2.3 抗逆菌株在复合胁迫下富集情况

图 6 为 21 株抗逆菌株在高温、干旱及酸性胁迫条件下的生长竞争优势的结果。由图 6(a)显示:主要优势菌为 *Bacillus*,其菌落数在 pH 值为 6.0 时,随着

PEG6000 添加量的增加而缓慢减少;高温条件下,没有添加 PEG6000 的固体培养基上,单菌落数为 24

个;PEG6000 添加量增加到 150 g/L 时,单菌落数为 22 个;PEG6000 添加量为 200 g/L 时下降 54.60%。

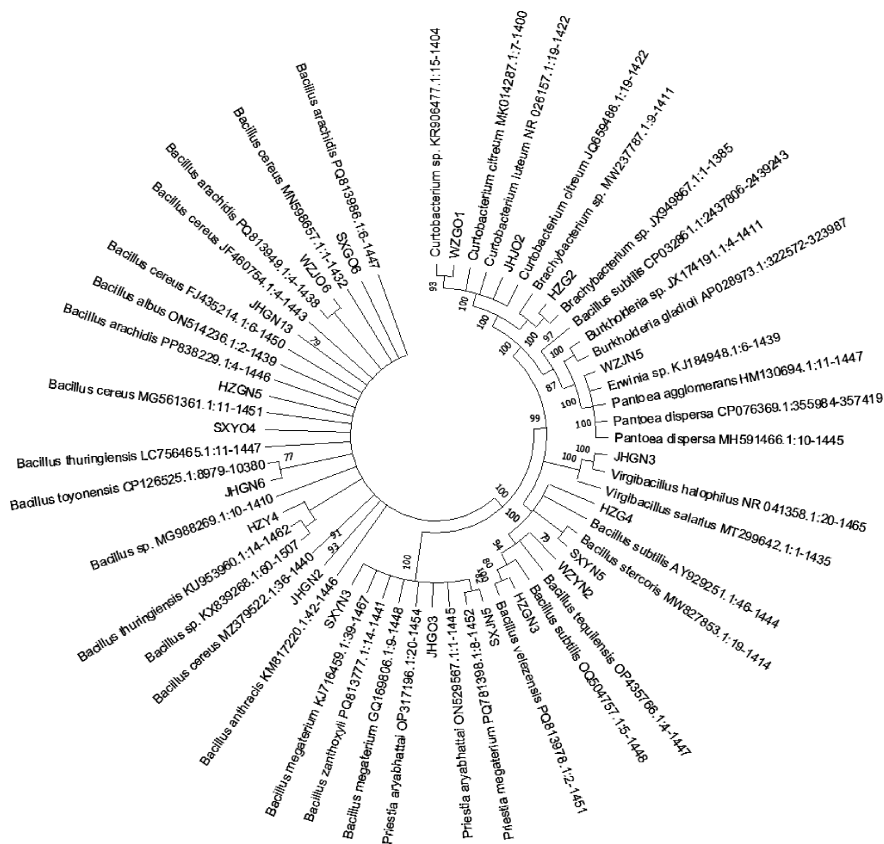
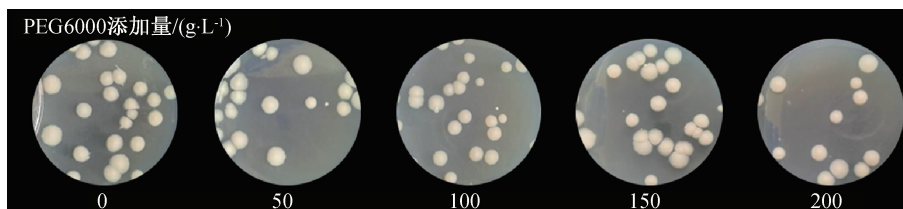
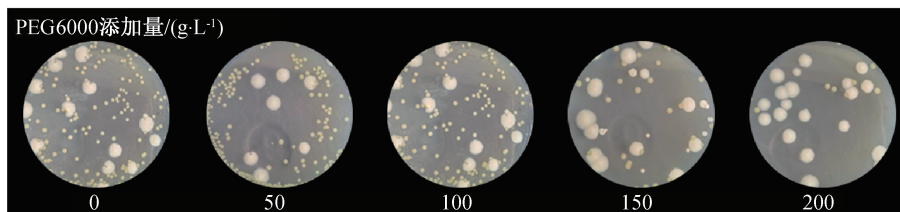


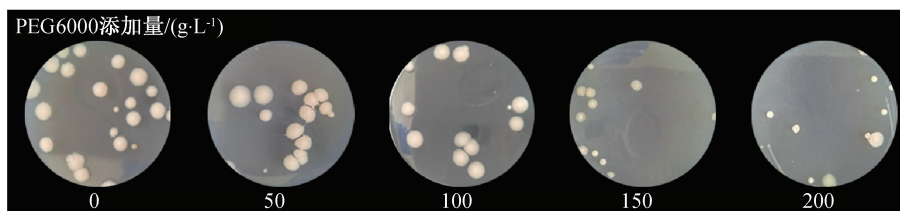
图 5 基于 21 株抗逆菌的系统发育树



(a) pH值6.0



(b) pH值5.0



(c) pH值4.0

图 6 21 株抗逆菌在高温、干旱及酸性环境下共培养的菌落分布图

由图 6(b)可知:在 pH 值为 5.0 时,PEG6000 添加量 0~100 g/L 的高温环境下,菌株 WZJN5 (*Pantoea*)均呈现为显著富集,菌落数分别为 128、114 和 92。当 PEG6000 添加量增加到 150 mg/L 及以上时,*Pantoea* 的菌落数占比锐减,最终仍表现为 *Bacillus* 菌落占据优势地位。

由图 6(c)可以看出:在 pH 值为 4.0 时,菌株的生长受到显著抑制。在 PEG6000 添加量为 0 的高温条件下,单菌落数为 20 个;当 PEG6000 添加量增加到 150 mg/L 及以上时,单菌落数量锐减 70.00%。

对 2 株菌的菌落形态及 16S rRNA 基因序列进行比对分析。由图 6~7 可知:*Pantoea* 在平板培养基上的个体偏小,边缘整齐规则,且表面光滑圆润,呈现淡黄色,与 *Pantoea* WZJN5 在平板上的菌落特征相同;*B. megaterium* 菌落较大,边缘呈现褶皱,表面干燥粗糙,中心略微隆起,边缘较薄,该菌形态特征与 *B. megaterium* JHGO3 相同。

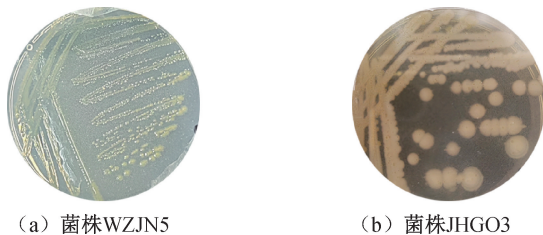


图 7 2 株菌的菌落特征图

## 2.4 抗逆菌株的促生长活性

图 8 为菌株 *B. megaterium* JHGO3 促生长活性测定的结果。由图 8 可知:菌株 JHGO3 溶磷能力(有机磷,无机磷)较强,PSI 分别为 2.10 和 1.96,均大于 1.50,表明该菌株具有分泌有机酸或磷酸酶的能力,可将难溶性磷转化为可溶性磷;菌株 JHGO3 的 SI 指数为 1.07,表明其具有分泌铁载体的能力,能够整合环境中的  $Fe^{3+}$ ;菌株 JHGO3 还可产生 IAA(质量浓度 16.58 ng/g)。

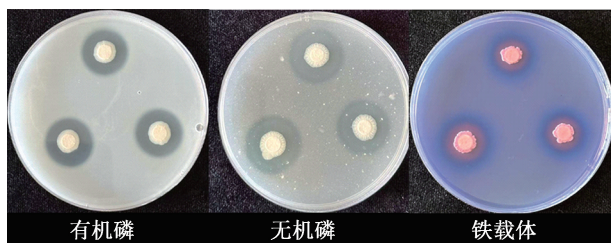


图 8 菌株 JHGO3 的促生活性平板检测对比图

## 3 结论

本文在 4 个区域采集的铁皮石斛样品中进行内

生菌分离纯化与 16S rRNA 基因鉴定,在高温、干旱、酸性、寡营养及氧化等胁迫条件下,筛选抗逆、促生长的优势菌株,并测定铁皮石斛内生菌的生态分布特征与功能特性,主要结论如下:

a) 芽孢杆菌属(*Bacillus*)为跨地区优势菌属,占比高达 51.16%,在金华和安康地区根部显著富集(45.45%和 42.31%),温州茎部 *Bacillus* 富集率高达 72.30%,明确 *Bacillus* 在不同地理区域、不同组织部位的富集差异。

b) 获得 21 株高温和干旱双抗菌株,其中 *Bacillus* 占比 76.19%;筛选出 6 株在酸性、寡营养和氧化胁迫下表现优异的菌株,其中菌株 JHGO3 抗酸与抗寡营养最优:在 pH 值 4.0 时生长量达  $OD_{600} = 0.96$ ,在 10 倍稀释 R2A 培养基中生长量为  $OD_{600} = 0.41$ 。

c) 菌株 JHGO3 具有高抗逆能力(干旱  $OD_{600} = 4.0$ ,酸性  $OD_{600} = 5.80$ )的同时具有高效溶磷能力( $PSI_{有机磷} = 2.10$ ,  $PSI_{无机磷} = 1.96$ )、产铁载体能力( $SI = 1.07$ ),IAA 产量质量浓度 16.58 ng/g,为开发环境友好型、多功能复合微生物菌剂提供了菌种资源和理论依据。

## 参考文献:

- [1] 王伟杰,徐东川,张秀如,等. 环境胁迫对黄芩次生代谢产物的影响[J]. 湖北农业科学, 2023, 62(4):114-117.
- [2] Rawat N, Singla-Pareek S L, Pareek A. Membrane dynamics during individual and combined abiotic stresses in plants and tools to study the same[J]. Physiologia Plantarum, 2021, 171(4):653-676.
- [3] 竺利红,李孝辉,施跃峰. 芽孢杆菌 SM905 的鉴定及其对铁皮石斛胶孢炭疽菌的抑菌活性研究[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2): 469-475.
- [4] 王娅妮,丁巧林,胡秋涛,等. 铁皮石斛近野生活树附生栽培技术研究[J]. 浙江林业科技, 2024, 44(1):65-71.
- [5] 张妃,冯乃宪,宾慧,等. 内生菌定殖、促生及降低作物有机污染的机理研究(I): 定殖与促生[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8):1619-1628.
- [6] 伍国强,于祖隆,魏明. PGPR 调控植物响应逆境胁迫的作用机制[J]. 草业学报, 2024, 33(6):203-218.
- [7] 温宏伟,杨斌,王东胜. 植物根际促生菌促进小麦生长及提高其抗旱性的研究进展[J]. 核农学报, 2021, 35(9):2194-2203.
- [8] 王琪,胡哲,富薇,等. 伯克霍尔德氏菌 GD17 对黄瓜幼苗耐干旱的调节[J]. 生物技术通报, 2023, 39(3):163-175.
- [9] 余宇潇,郑培华,王河川,等. 铁皮石斛接种菌根真菌的生理效应研究[J]. 东南园艺, 2024, 12(2):117-124.
- [10] 张爱静,李琳琼,朱蕾,等. 热胁迫和培养温度对大肠杆菌抗热性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(22):75-80.

- [11] 罗艳菊, 谢林艳, 吴昊, 等. 甘蔗耐旱内生菌的筛选、鉴定及功能研究[J]. 福建农业学报, 2023, 38(7):873-881.
- [12] 刘婕, 骆文琪, 明立伟, 等. 干旱胁迫下两种芽孢杆菌对玉米幼苗促生作用研究[J]. 干旱地区农业研究, 2024, 42(3):35-43.
- [13] 王宏燕, 韩凯鑫, 冯丽荣, 等. 耐盐解磷菌筛选鉴定及生理特性研究[J]. 东北农业大学学报, 2023, 54(5): 28-37.
- [14] 张小燕, Alison K S W, Tadashi K, 等. 两种红树植物不同种源幼苗对模拟高温热浪的光合生理响应差异[J]. 植物科学学报, 2021, 39(4):424-432.
- [15] 张天宇, 吕风至, 桂萌, 等. 细菌芽孢萌发分子机制研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(23):240-251.

## 团队介绍

胡秀芳学术团队专注于资源微生物的研究、开发及应用,致力于通过绿色生物技术解决农业生产中的连作障碍、病害及逆境胁迫等问题。团队在国家 863 科技计划项目、国家自然科学基金、浙江省科技厅重点研发项目、浙江省自然科学基金的支持下,经过多年攻关,开发了微生物资源快速挖掘和高通量筛选技术,获得了 100 多株多功能微生物资源,系统阐明了微生物与植株协同抗病、抗逆的机制,开发了针对连作障碍、多种细菌性和真菌性病害、高温和低温抗逆的微生物菌剂,为铁皮石斛等特色经济植物的绿色种植提供了关键技术支撑。团队获浙江省科技进步奖三等奖和浙江省高校优秀科研成果一等奖;在 *MPMI*、*Plant Disease*、*AMB* 等期刊发表论文 50 多篇,参编 3 部专著或教材,授权发明专利 10 多项。

(责任编辑:张会巍)