



薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的分离鉴定与促生作用

余涵霞, 梁浩林, 王子轩, 杨晓宇, 李伟华*

华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东 广州 510631

余涵霞, 梁浩林, 王子轩, 杨晓宇, 李伟华. 薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的分离鉴定与促生作用. 微生物学报, 2022, 62(5): 1851–1863.

Yu Hanxia, Liang Haolin, Wang Zixuan, Yang Xiaoyu, Li Weihua. Isolation, identification and growth-promoting effects of culturable nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria in rhizosphere soil of *Mikania micrantha*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(5): 1851–1863.

摘要:【目的】固氮菌和氨化细菌是氮循环产生生物有效氮的关键起始环节, 直接影响了外来入侵植物的生长速度和扩散进程。然而, 关于典型入侵植物薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的研究尚未见报道, 这在很大程度上制约了我们对薇甘菊根际高效的氮素转化机制的深刻理解。【方法】采用传统平板涂布培养法对野外采集的薇甘菊根际土壤中的可培养固氮菌和氨化细菌进行了分离鉴定, 并进行了接种验证实验。【结果】结果表明, 入侵植物薇甘菊根际土壤中的固氮菌和氨化细菌的菌群密度显著高于两个本地伴生植物(火炭母和鸡屎藤), 其固氮效率及有机氮矿化效率也优于2个本地种; 系统发育分析表明: 薇甘菊根际的固氮菌菌株归类于5个属, 分别为伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、植物杆菌属(*Phytobacter*)、新肠杆菌属(*Kosakonia*)和根瘤菌属(*Rhizobium*); 氨化细菌归类于7个属, 分别为沙雷氏菌属(*Serratia*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、博德特氏菌属(*Bordetella*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*); 其中伯克霍尔德氏菌属与根瘤菌属是薇甘菊根际的优势固氮菌, 沙雷氏菌属是薇甘菊根际的优势氨化细菌。此外, 温室盆栽接种试验表明薇甘菊根际土壤的可培养固氮菌和氨化细菌对其幼苗生长具有显著的促进效应, 其中根瘤菌属菌株 YHAzMm-21 和苍白杆菌属菌株 YHAmMm-14 的促生效果最佳, 有望开发为微生物菌肥或工程微生物。【结论】薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的菌群密度及

基金项目: 国家自然科学基金(32172430)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (32172430)

*Corresponding author. E-mail: whli@senu.edu.cn

Received: 29 September 2021; Revised: 26 December 2021; Published online: 7 March 2022

其转化效率均优于本地种，并能促进自身生长。该研究明确了薇甘菊根际可培养菌群在氮循环中的贡献，并为筛选高效氮循环功能菌株提供了理想材料。

关键词：薇甘菊；可培养微生物；固氮菌；氨化细菌；促生作用

Isolation, identification and growth-promoting effects of culturable nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria in rhizosphere soil of *Mikania micrantha*

YU Hanxia, LIANG Haolin, WANG Zixuan, YANG Xiaoyu, LI Weihua*

Guangdong Provincial Key Laboratory of Biotechnology for Plant Development, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong, China

Abstract: [Objective] Nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria are the key initial links of nitrogen cycle to produce bioavailable nitrogen, which directly affect the growth and spread of invasive alien plants. However, the culturable nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria in the rhizosphere of typical invasive plant *Mikania micrantha* H.B.K. have been rarely reported, which restricts our understanding of the efficient nitrogen transformation mechanism therein. [Methods] The culturable nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria in the rhizosphere soil of *M. micrantha* were isolated and purified by traditional culture method, and the inoculation experiment was carried out for verification. [Results] The density and nitrogen transformation rate of nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria and their nitrogen fixation efficiency and organic nitrogen mineralization efficiency were all higher than those of two co-occurring native competitors, *Persicaria chinensis* and *Paederia scandens*. Phylogenetic tree indicated that the nitrogen-fixing bacterial strains in the rhizosphere of *M. micrantha* were classified into five genera, including *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Phytobacter*, *Kosakonia* and *Rhizobium*, and ammonifying bacterial strains fell into seven genera, including *Serratia*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Stenotrophomonas*, *Ochrobactrum* and *Chryseobacterium*. Both *Burkholderia* and *Rhizobium* of the nitrogen-fixing bacteria and *Serratia* of the ammonifying bacteria were the dominant functional bacteria of *M. micrantha*. The greenhouse pot experiments of inoculation with the culturable functional strains demonstrated that the two groups of bacteria significantly promoted the growth of *M. micrantha* seedlings. Amongst them *Rhizobium* YHAzMm-21 of nitrogen-fixing bacteria and *Ochrobactrum* YHAmMm-14 of ammonifying bacteria had the best growth-promoting effects, which were expected to be developed into microbial fertilizers or engineering microorganisms. [Conclusion] The density and nitrogen transformation efficiency of the culturable nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria in the rhizosphere soil of *M. micrantha* outweighed those of the native species, which promoted the plant growth. These results clarified the contribution of the culturable flora in the rhizosphere soil of *M. micrantha* to nitrogen cycle, and provided an ideal material for screening functional strains with high nitrogen cycle rates.

Keywords: *Mikania micrantha*; culturable microorganisms; nitrogen-fixing bacteria; ammonifying bacteria; growth-promoting effects

土壤氮循环作为陆地生态系统养分循环的重要组成部分,决定了氮单质和含氮化合物之间的相互转换,在维持全球生态系统健康与平衡等方面起着至关重要的作用^[1]。目前,外来入侵植物影响土壤氮循环的研究主要集中于通过比较外来植物与本地植物对土壤总氮含量、无机氮含量、固氮速率、氨化速率、硝化速率和反硝化速率影响的差异,以及对比研究外来入侵植物与本地植物的凋落物分解与养分释放的差异,进而阐述外来入侵植物对土壤氮循环的影响^[2-7]。多数研究认为,植物入侵加速了氮单质和有机氮的转化过程,凋落物分解加快,提高了氮的可利用性,植物入侵对土壤的影响正在形成一种正反馈调节效应^[7-11]。

氮是植物生长所必需的生命元素,通常植物在生长发育过程中吸收的氮要高于其他矿质元素,因而氮常成为限制植物生长的主要元素^[1]。土壤氮素的最初来源是通过固氮微生物的固氮作用(nitrogen fixation),将大气中的氮气转化成氨,从而驱动了氮养分循环。而有机氮必须在微生物的活动下逐渐矿化后,才能被植物利用。其中氨化作用(ammonification,在氨化细菌的作用下将有机氮转化为铵态氮)是矿化过程的第一步,其在矿化过程中产生的铵态氮是进一步进行硝化作用产生硝态氮的反应底物和唯一氮源^[1,12]。因此,固氮菌(nitrogen fixers)和氨化细菌(ammonifying bacteria)是氮循环产生生物有效氮(铵态氮和硝态氮)的关键起始环节,直接决定了氮素养分的可利用效率,从而影响了外来入侵植物的生长速度和扩散进程。此外,固氮菌和氨化细菌均具有多种促生作用,如分解蛋白质、解磷、解钾、产植物激素以及促进植物生长等^[13-18]。鉴于合成氮肥的高生产成本、高环境污染以及低利用效率(约33%)^[19],加强对入侵植物固氮菌和

氨化细菌的促生作用及其综合应用的研究将有助于我们选育优良氮功能菌株配制微生物菌肥或研制工程微生物处理种子以减少或消除对合成肥料的依赖^[20-21]。

薇甘菊(*Mikania micrantha* H.B.K.)是我国华南地区危害最为严重的外来入侵杂草,生长极其迅速,有“一分钟一英里杂草”之称^[22-23]。采用氮循环功能菌的特征引物对薇甘菊根际土壤微生物进行16S rDNA基因扩增测序,我们发现薇甘菊入侵后通过富集氮循环微生物提高了氮养分的可利用性,氮循环菌的物种多样性和功能是薇甘菊在与本地植物的养分竞争中获胜的重要原因^[11]。但有关薇甘菊根际可培养氮循环功能菌群的研究还比较有限,未见有薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的报道。因此,本研究通过分析薇甘菊根际可培养固氮菌和氨化细菌的菌群密度及其转化效率,试图进一步阐释薇甘菊根际高效的氮素转化机制;并通过对固氮菌和氨化细菌进行分离、纯化和分子鉴定,选用高效菌株进行了接种实验,以期对薇甘菊的综合利用(如微生物菌肥的菌株选育或研制工程微生物)提供参考。

1 材料与方法

1.1 野外样地概况及取样方法

野外样地位于广东省广州市从化太平镇东方夏湾拿流溪河河岸绿道内侧荔枝林附近(23°26'2" N, 113°28'9" E)。该地区属亚热带季风气候,年平均降水量为2 176.3 mm,年平均气温为21.2 °C,年平均日照时数1 175.0 h^[24]。在该地区选取薇甘菊单优种群(覆盖度80%–90%)作为样地,样地面积约300 m²,外形不规则。在样地中间采用“S”形路线选择5株薇甘菊,每株间隔3–4 m。取样时小心挖取薇甘菊的完整根系,采用“抖根法”采集根际土壤,将附在根系上

的土用毛刷刷下来,装袋、封口并做好标签。野外调查结果和我们的前期研究发现,本地植物火炭母[*Persicaria chinensis* (L.) H. Gross]和鸡矢藤[*Paederia scandens* (Lour.) Merr.]常与薇甘菊伴生,具有相同的生态位,但在生物量及其长势方面通常处于劣势,根际有效氮含量显著低于薇甘菊^[11]。为了进一步考察薇甘菊根际可培养微生物是否也占有优势,我们同时采集了本地植物火炭母和鸡矢藤的根际土壤作为对照,取样方法同薇甘菊。所有操作均使用无菌工具进行。土样采集后置于冰盒并在当天返回实验室过 2 mm 土筛,然后分别密封冷藏于 4 °C 冰箱内保存,于 1 周内开始微生物培养。

1.2 固氮菌与氨化细菌的分离与纯化

固氮菌的分离纯化:分别取薇甘菊、火炭母和鸡矢藤的根际土壤各 5 g 与 45 mL 富集培养液(配方:15 g 蔗糖、0.8 g KH_2PO_4 、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.2 g NaCl、1.0 g CaCO_3 、现配 10% 质量分数的钼酸钠、硼酸、硫酸锰、硫酸亚铁的水溶液各 1 mL、1 L 超纯水, pH 6.5–7.0)^[25]置于 150 mL 锥形瓶中于摇床振荡培养 7 d 后制成土壤悬液,然后取 5 mL 上述土壤悬液用 45 mL 灭菌水稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 备用。培养所用的培养基为海博生物公司合成的无氮培养基成品(配方:10 g 甘露醇、0.2 g KH_2PO_4 、0.2 g $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、5.0 g CaCO_3 、0.2 g NaCl、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、20 g 琼脂、1 L 超纯水, pH 7.0–7.2)。称取该药品 35.8 g,加热溶解于 1 L 超纯水中,分装,113 °C 高压灭菌 30 min,待培养基冷却到 40–50 °C 后加入 1 mL 的 50 mol/L 制霉菌素以抑制霉菌的生长,然后选取稀释度为 10^{-5} 和 10^{-6} 土壤悬液进行平板涂布,涂布后置于培养箱(RXZ 智能型,宁波江南仪器厂)中黑暗培养(培养条件为温度 28 °C,湿度 65%),5–10 d

后计数。挑取在涂布过程中得到的形态和大小不一致的固氮菌继续在上述的无氮培养基上连续划线 3 次,最后得到的单菌落就是分离纯化的固氮菌。

氨化细菌的分离纯化:分别取薇甘菊、火炭母和鸡矢藤的根际土壤各 5 g 与 45 mL 灭菌水制备成土壤悬液,然后取 5 mL 上述土壤悬液用 45 mL 灭菌水稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 备用。采用氨化细菌培养基进行培养^[26],具体操作为:在 1 L 超纯水中分别加入 5 g 蛋白胨、0.5 g KH_2PO_4 、0.5 g K_2HPO_4 、0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 20 g 琼脂, pH 7.0,分装,121 °C 高压灭菌 30 min,待培养基冷却到 40–50 °C 后加入 1 mL 的 50 mol/L 制霉菌素以抑制霉菌的生长,备用。然后选择稀释度为 10^{-3} 或 10^{-4} 土壤悬液进行平板涂布,涂布后置于培养箱(RXZ 智能型,宁波江南仪器厂)中黑暗培养(培养条件为温度 28 °C,湿度 65%),3–7 d 后计数。挑取在涂布过程中得到的形态和大小不一致的氨化细菌继续在上述氨化细菌培养基上连续划线 3 次,最后得到的单菌落就是分离纯化的氨化细菌。

1.3 固氮菌固氮效率与氨化细菌氨化效率的测定

选取上述分离纯化得到的固氮菌的每个单菌落分别加入盛有 25 mL 阿须贝培养液(配方:10 g 甘露醇、0.2 g KH_2PO_4 、0.1 g $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、5.0 g CaCO_3 、0.2 g NaCl、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、1 L 超纯水, pH 6.8–7.0, 121 °C 高压灭菌 30 min)的 150 mL 锥形瓶中,置于摇床振荡培养(150 r/min, 28 °C)^[26]。7 d 后,将菌悬液置于台式低速离心机(4–5,上海托莫斯科学仪器有限公司)中去除菌体(5 000 r/min 离心 10 min),取剩余的上清液用 TOC 分析仪(LI-8 100A, German Elementar Company)测定总氮(total nitrogen, TN)

浓度。空白对照为未加菌的阿须贝培养液,以增加的 TN 浓度大小来判断该固氮菌固氮效率的大小^[27]。

选取上述分离纯化得到的氨化细菌的每个单菌落分别加入盛有 25 mL 氨化细菌培养液(配方: 5 g 蛋白胨、0.5 g KH_2PO_4 、0.5 g K_2HPO_4 、0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、1 L 超纯水, pH 7.0)的 150 mL 锥形瓶中,置于摇床培养(150 r/min, 28 °C)。7 d 后,将菌悬液置于台式低速离心机(4-5, 上海托莫斯科学仪器有限公司)中去除菌体(5 000 r/min 离心 10 min),取剩余的上清液用流式分析仪(Proxima, Alliance instruments, France)测定铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)浓度。空白对照为未加菌的氨化细菌培养液,以增加的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度大小来判断该氨化细菌氨化效率的大小^[28]。

1.4 固氮菌与氨化细菌的系统发育分析

固氮菌与氨化细菌的测序工作由上海派森诺生物科技股份有限公司完成。试验采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技北京有限公司)提取纯化后的单菌落菌株的基因组 DNA,然后采用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-CTACGGCTACCTTGTTACGA-3')进行 PCR 扩增。反应体系为(25.0 μL): 基因组 DNA (5 ng/ μL) 1.0 μL , 5 \times Q5 Reaction Buffer 5.0 μL , Q5 聚合酶 0.25 μL , 5 \times Q5 High GC Enhancer 5.0 μL , dNTPs (10 mmol/L) 2.0 μL , 27F 引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 1.0 μL , 1492R 引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 1.0 μL , ddH₂O 8.75 μL 。扩增程序为: 98 °C 3 min; 98 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 90 s, 26 个循环; 72 °C 5 min 反应完成之后取 3 μL 进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测,以确认 PCR 扩增片段。PCR 产物用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收,最后取各个菌种纯化后的 PCR 产物使用测序仪 ABI3730-XL (Applied Biosystems, USA)进行

DNA 测序。所得序列(已上传至 GenBank 数据库,固氮细菌: PRJNA766784 和氨化细菌: PRJNA766792)使用 EzBioCloud 数据库进行 BLAST 同源性搜索,并用核糖体在线归类系统进行属水平的归类;然后在该数据库中下载已经被鉴定到种的相似性最高的序列,通过多重比对后运用软件 MEGA 5.0 通过 neighbor-joining 的方法构建系统发育树来表示菌种的进化历程和亲缘关系,从而得到各菌株在分类学上的分类地位。

1.5 固氮菌与氨化细菌对薇甘菊幼苗生长的影响

将薇甘菊种子置于 1%次氯酸钠中浸泡 15 min,再用无菌水洗涤 3 次,放在已铺有 2 层滤纸的培养皿上,在培养箱(RXZ 智能型,宁波江南仪器厂)中连续培养 3 d,培养条件为昼/夜温度 30 °C/23 °C,湿度 65%,光照和黑暗各 12 h。然后将已萌发的种子转移至盛有无菌营养土(121 °C 高压灭菌 30 min)的育苗盘中,置于培养箱(RXZ 智能型,宁波江南仪器厂)中连续培养 4 个月,培养条件为昼/夜温度 30 °C/23 °C,湿度 65%,光照和黑暗各 12 h。选取高约 10 cm 长势一致的健康薇甘菊幼苗备用。

选取已经过菌种鉴定且固氮效率或氨化效率较高的 7 个菌株进行接种。其中 3 株固氮菌分别是:根瘤菌属 *Rhizobium*-YHAzMm-21 [固氮效率为(80.73 \pm 4.39) TN mg/L]、伯克霍尔德氏菌属 *Burkholderia*-YHAzMm-22 [固氮效率为(57.53 \pm 1.03) TN mg/L]和根瘤菌属 *Rhizobium*-YHAzMm-28 [固氮效率为(55.73 \pm 1.24) TN mg/L]; 4 株氨化细菌分别是寡养单胞菌属 *Stenotrophomonas*-YHAmMm-13 [氨化效率为(110.31 \pm 3.7) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ mg/L]、苍白杆菌属 *Ochrobactrum*-YHAmMm-14 [氨化效率为(153.34 \pm 4.68) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ mg/L]、假单胞菌属 *Pseudomonas*-YHAmMm-19 [氨化效率

为 $(105.47 \pm 7.15) \text{ NH}_4^+\text{-N mg/L}$]和不动杆菌属 *Acinetobacter*-YHAMm-24 [氨化效率为 $(113.94 \pm 1.15) \text{ NH}_4^+\text{-N mg/L}$]。将固氮菌和氨化细菌分别置于盛有阿须贝培养液和氨化细菌培养液的三角瓶中培养。在摇床中培养(150 r/min、28 °C) 12 h, 收集菌液后于 5 000 r/min 进行离心, 离心时间为 15 min, 倒去上清液, 加入无菌水并重新悬浮菌体, 再离心, 洗去培养液; 然后用紫外分光光度计(UV-2450, 日本岛津)测上述菌液的 OD_{600} 值, 接着将上述菌液用无菌水稀释至 OD_{600} 为 0.5, 即得到菌液中的菌群密度约 10^8 CFU/mL 的固氮菌或氨化细菌富集液^[29]。

将上述培养好的薇甘菊幼苗移栽至盛有蛭石的塑料杯(直径 9 cm、高 15 cm)中进行培养。蛭石为无菌干燥蛭石(121 °C 湿热灭菌 20 min), 每杯盛放 150 g, 每杯种一株薇甘菊。另外添加 5 g 无菌胰蛋白胨(紫外灭菌 30 min)作为氨化细菌分解作用的有机氮源以用于测定氨化作用, 用于测定固氮菌固氮作用的培养基则不添加胰蛋白胨。吸取 5 mL 固氮菌或氨化细菌菌液添加于靠近薇甘菊幼苗根部的蛭石中, 以不添加菌液作

为对照, 然后各自加 40 mL 缺氮的霍格兰营养液^[30], 每个处理 3 或 5 个重复。将上述材料置于温室中, 于自然条件下培养 1 个月, 每隔 2 d 添加 40 mL 缺氮的霍格兰营养液。培养 1 个月, 收获薇甘菊根、茎、叶生物量, 测量主根的最长根长和株高, 各部分生物量于烘箱中 70 °C 烘至恒重。

1.6 数据的统计与分析

采用 SPSS 18.0 软件(SPSS Inc., USA)进行统计分析。对试验各样品的土壤微生物菌群密度以及植物的主根长、主茎长和生物量等指标进行单因素方差分析, 采用 Duncan 法进行多重比较, 图表中以不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。使用 Origin 8.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 可培养固氮菌与氨化细菌菌群密度及氮转化效率

薇甘菊根际土壤中可培养固氮菌和氨化细菌的菌群密度均显著高于 2 个本地伴生种(图 1)。此外, 分别从薇甘菊、火炭母和鸡矢藤的根际土壤中分离纯化得到 28、6 和 0 株固氮菌

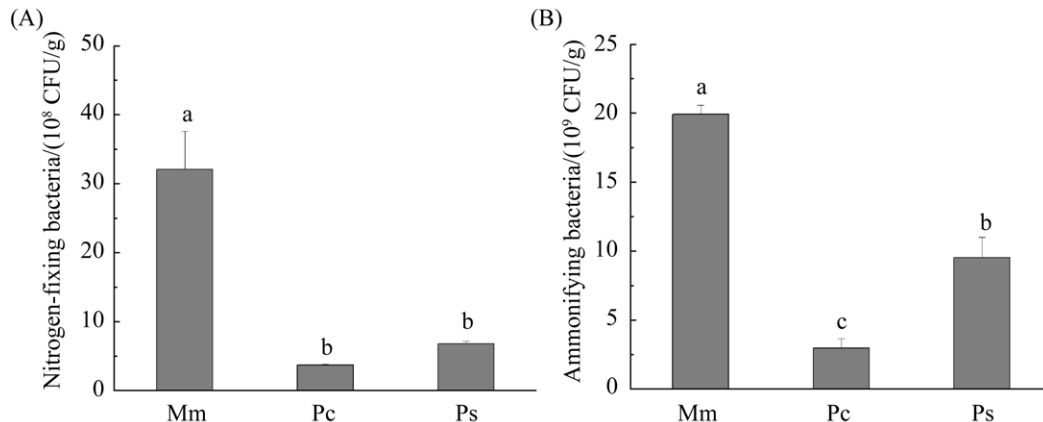


图 1 薇甘菊及其两个伴生种根际土壤中可培养固氮菌(A)和氨化细菌(B)的菌群密度(AV±SE, n=5)

Figure 1 Density of cultural nitrogen-fixing bacteria (A) and ammonifying bacteria (B) in the soil of *M. micrantha* rhizosphere and its two companions (AV±SE, n=5). Mm: *M. micrantha*; Pc: *P. chinensis*; Ps: *P. scandens*. Different letters above bar plots indicate significant differences (Duncan-test, $P < 0.05$).

(共 37 株), 通过测算这些固氮菌培养液中增加的 TN 含量可以看出薇甘菊根际土壤可培养固氮菌具有更强的固氮效率(表 1)。另外, 分别从薇甘菊、火炭母、鸡矢藤的根际土壤中分离纯化得到 46、8 和 4 株氨化细菌, 通过测算这些氨化细菌培养液中增加的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量可以看出薇甘菊根际土壤可培养的氨化细菌具有更强的氨化效率(表 1)。

2.2 薇甘菊根际可培养固氮菌与氨化细菌的系统发育分析

选取来自薇甘菊根际土壤中的 28 株固氮菌和 22 株氨化效率较高的氨化细菌进行菌种鉴定和测序, 共得到 22 株固氮菌和 19 株氨化细菌的序列。通过相似性比对得出, 薇甘菊根际 22 株固氮菌归类于 5 个属(图 2), 分别是根瘤菌属 (*Rhizobium*) 9 株、伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)

表 1 可培养固氮菌的固氮效率和氨化细菌的氨化效率(n=3)

Table 1 Nitrogen fixation efficiency of cultural nitrogen-fixing bacteria and ammoniaification efficiency of cultural ammonifying bacteria (n=3)

Soil samples	TN/(mg/L)					$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{mg/L})$				
	20-40	40-60	60-80	80-100	Total	0-50	50-100	100-150	150-200	Total
<i>M. micrantha</i>	23	4	0	1	28	0	24	20	2	46
<i>P. chinensis</i>	5	0	1	0	6	0	6	2	0	8
<i>P. scandens</i>	0	0	0	0	0	1	3	0	0	4

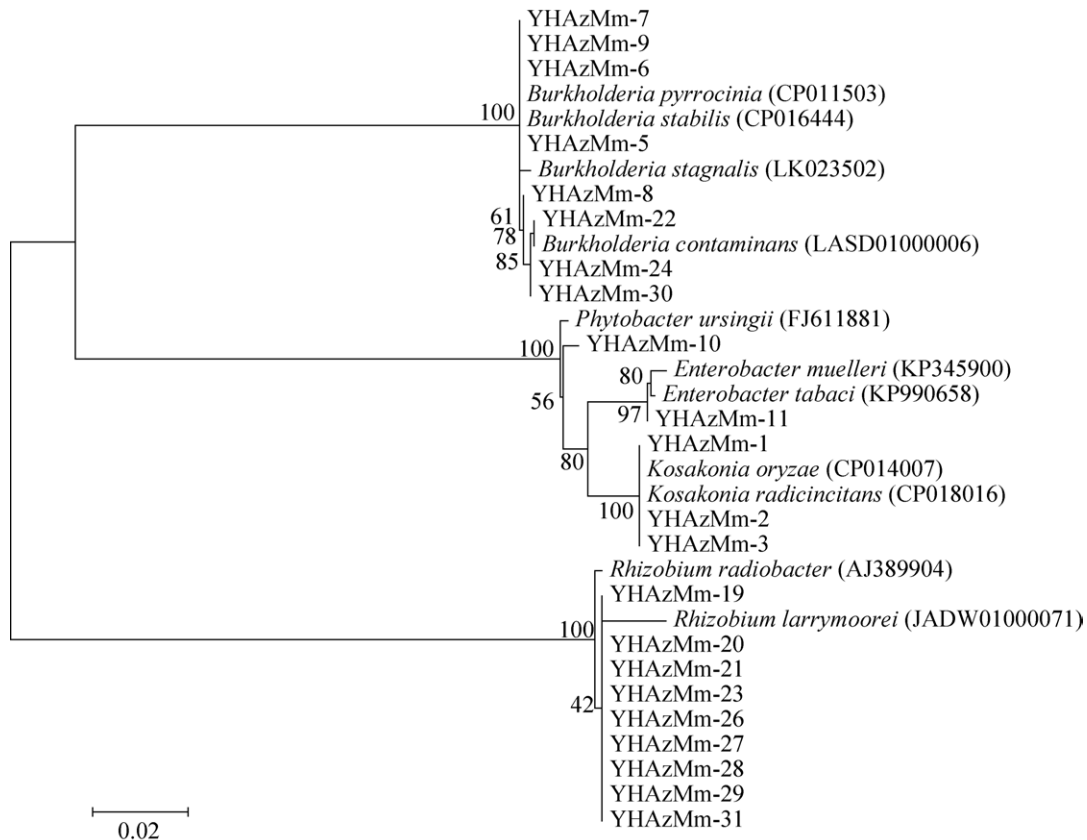


图 2 固氮菌的系统发育分析图

Figure 2 Phylogenetic tree chart of nitrogen-fixing bacteria. Numbers at each branch point indicated the percentage supported by bootstrap values based on 1 000 replications. GenBank accession numbers were shown in the parentheses. Bar: 0.02 sequence divergence.

8 株、肠杆菌属(*Enterobacter*) 1 株、植物杆菌属(*Phytobacter*) 1 株和新肠杆菌属(*Kosakonia*) 3 株;其中根瘤菌属和伯克霍尔德氏菌属是这些固氮菌的优势属,分别占了 40.91%和 36.36%。薇甘菊根际土壤 19 株氨化细菌共归类到 7 个属(图 3),分别是沙雷氏菌属(*Serratia*) 9 株、寡养

单胞菌属(*Stenotrophomonas*) 3 株、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*) 3 株、不动杆菌属(*Acinetobacter*) 1 株、假单胞菌属(*Pseudomonas*) 1 株、博德特氏菌属(*Bordetella*) 1 株以及金黄杆菌属(*Chryseobacterium*) 1 株;其中沙雷氏菌属是这些氨化细菌的优势属,占 47.37%。

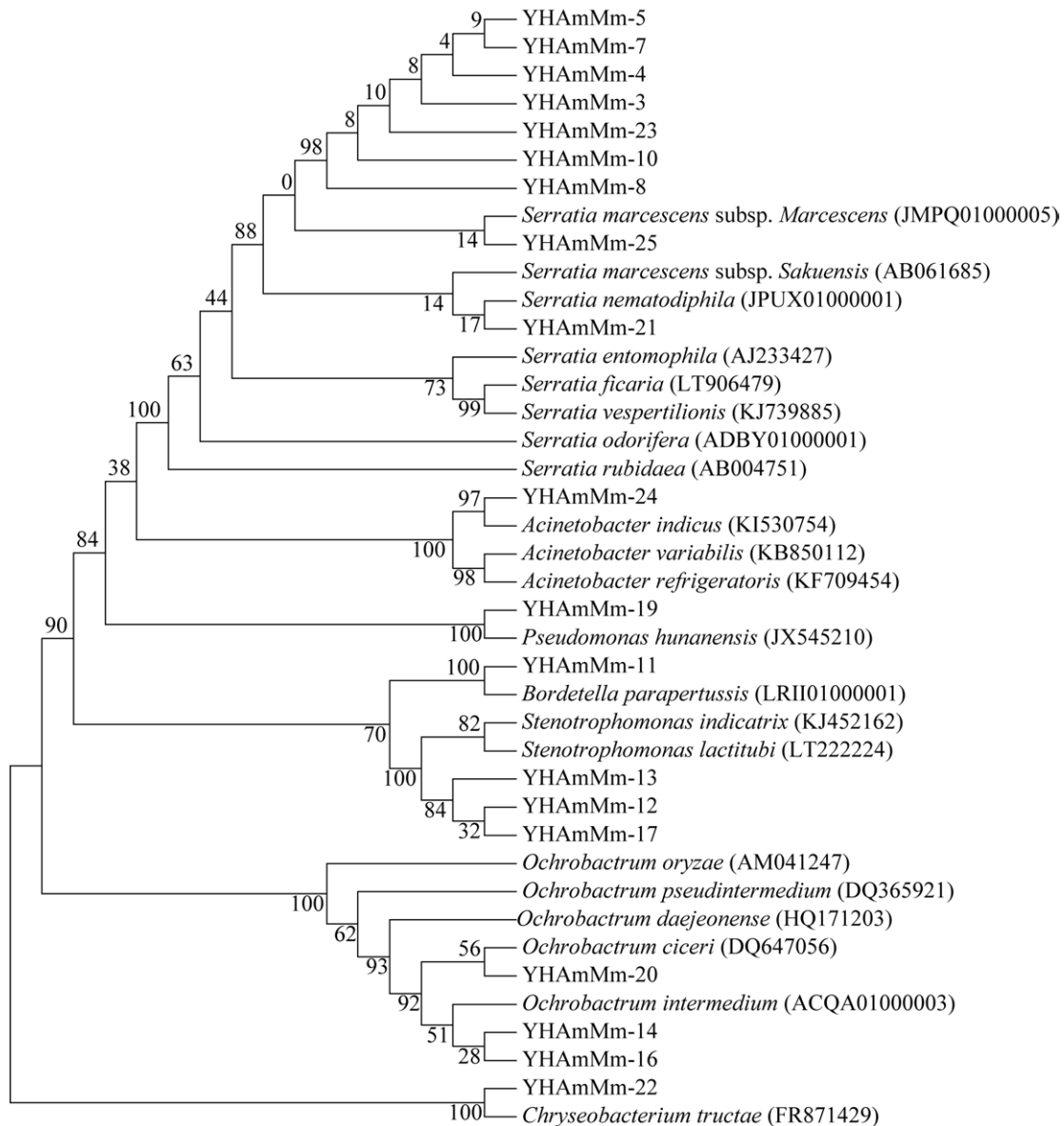


图 3 氨化细菌的系统发育分析图

Figure 3 Phylogenetic tree chart of ammonifying bacteria. Numbers at each branch point indicated the percentage supported by bootstrap values based on 1 000 replications. GenBank accession numbers were shown in the parentheses. Bar: 0.02 sequence divergence.

2.3 薇甘菊根际固氮菌与氨化细菌对薇甘菊幼苗的促生效应

接种实验结果表明, 3 株固氮菌菌株和 4 株氨化细菌菌株均对薇甘菊幼苗具有较强的促生作用(图 4)。除主根长没有显著变化外, 接种固氮菌(根瘤菌属 YHAzMm-21、伯克霍尔德氏菌属 YHAzMm-22 和根瘤菌属 YHAzMm-28)后, 与不接种相比, 薇甘菊幼苗的主茎长和生物量(包括根、茎、叶、地上部分和整株)均显著增加, 特别

是主茎长和茎生物量的增加幅度最大, 为未接种的 2.24–3.65 倍; 其中接种固氮菌根瘤菌属 YHAzMm-21 的促生效果最显著(表 2)。此外, 接种氨化细菌(寡养单胞菌属 YHAmMm-13、苍白杆菌属 YHAmMm-14、假单胞菌属 YHAmMm-19 和不动杆菌属 YHAmMm-24)后薇甘菊幼苗的所有生长指标均显著增加, 增加幅度为 0.15–2.15 倍; 其中接种氨化细菌 YHAmMm-14 的促生效果最显著, 各生长指标的增加幅度为 1.01–1.65 倍(表 2)。

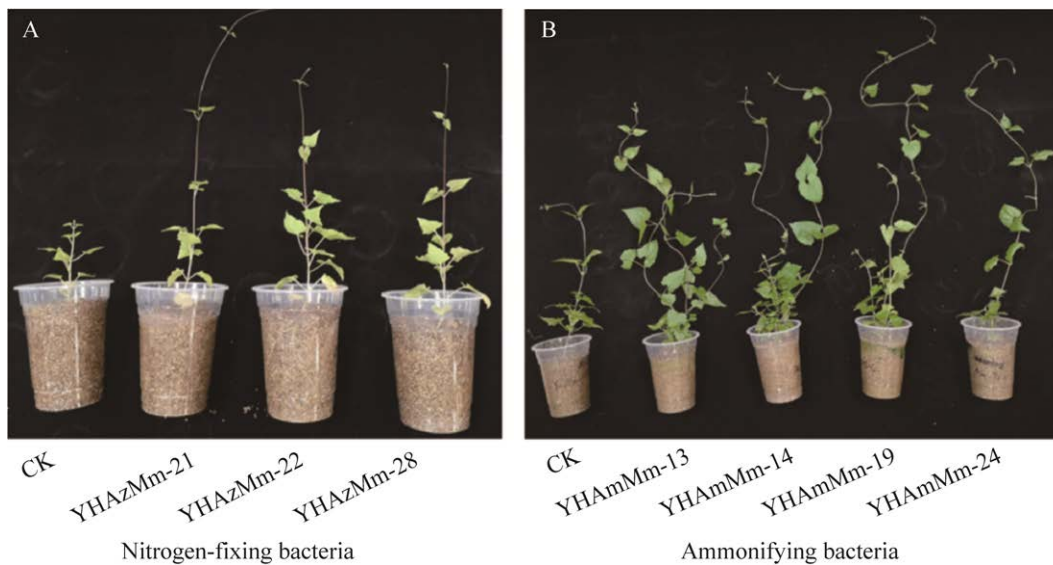


图 4 固氮菌(A)和氨化细菌(B)对薇甘菊幼苗的促生效应(n=6)

Figure 4 Positive effect of nitrogen-fixing bacteria (A) and ammonifying bacteria (B) on *M. micrantha* seedlings growth (n=6).

表 2 固氮菌和氨化细菌对薇甘菊幼苗生长的影响(AV±SE, n=5)

Table 2 Effect of nitrogen-fixing bacteria and ammonifying bacteria on the growth of *M. micrantha* seedlings (AV±SE, n=5)

Microflora		The main root length/cm	Main stem length/cm	Root biomass/mg	Stem biomass/mg	Leaf biomass/mg	Aboveground biomass/mg	Total biomass /mg
Nitrogen-fixing bacteria	CK	27.96±1.56a	9.12±0.55c	109.40±3.66c	25.00±2.61c	93.80±3.67c	118.80±5.34d	228.20±8.53c
	YHAzMm-21	26.66±1.79a	29.52±1.15b	210.40±9.63a	114.40±6.14a	205.80±21.98a	320.20±23.38a	530.60±31.30a
	YHAzMm-22	25.20±1.70a	42.42±4.18a	148.60±8.28b	109.80±5.62a	158.00±10.47b	267.80±9.20b	416.40±17.13b
	YHAzMm-28	28.56±2.04a	39.90±2.15a	148.20±3.98b	77.20±1.62b	144.40±9.44b	221.60±8.93c	369.80±11.51b
Ammonifying bacteria	CK	6.30±0.42c	40.53±2.15c	89.00±5.51d	187.00±8.19c	380.00±20.23e	567.00±26.65e	656.00±29.44e
	YHAmMm-13	11.10±0.55b	127.63±13.32a	148.33±7.17c	412.67±12.84a	682.00±20.65c	1094.67±23.21c	1243.00±27.39c
	YHAmMm-14	13.60±0.51a	81.27±3.55b	235.67±9.70a	435.33±14.38a	863.67±5.04a	1299.00±16.64a	1534.67±26.34a
	YHAmMm-19	12.33±1.18ab	68.87±1.98b	196.67±7.51b	432.00±13.53a	763.67±16.95b	1195.67±22.66b	1392.33±17.91b
	YHAmMm-24	11.33±0.23b	73.80±6.87b	156.33±4.33c	295.00±6.08b	436.67±7.31d	731.67±12.72d	888.00±9.07d

Data with different letters in the same column within the same microflora indicate significant difference (Duncan-test, $P < 0.05$).

3 讨论

3.1 薇甘菊根际土壤固氮菌和氨化细菌的菌群密度及其转化效率

外来植物对土壤氮循环及氮有效性的影响是其成功入侵或进一步扩张的重要原因^[31]。通过整合 107 篇相关研究文献发现,与未入侵区域相比,外来植物入侵地土壤的 TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、无机氮与微生物生物量氮均显著增加,且增幅为(50±14)%–(470±115)%^[31]。我们最新的研究表明,入侵植物薇甘菊根际土壤中的 NH₄⁺-N 含量和 NO₃⁻-N 含量显著高于 2 个本地植物(鸡屎藤和火炭母),其氮循环速率也显著高于本地种和薇甘菊未入侵土壤,其主要原因是土壤中微生物活性和数量的增加^[11]。本研究发现,与本地植物(鸡屎藤和火炭母)相比,入侵植物薇甘菊根际土壤中可培养的固氮菌和氨化细菌菌群密度显著增加(图 1),并具有较高的固氮效率和氨化效率(表 1),这为可培养菌群在氮循环中的贡献提供了依据。这些结果表明,薇甘菊成功入侵后通过富集固氮细菌和氨化细菌,将空气中的游离氮以及土壤中固持的有机氮转化成植物可直接吸收利用的有效氮,可能是薇甘菊在与本地植物的养分竞争中获胜的重要原因^[11,32]。

3.2 薇甘菊根际土壤固氮菌和氨化细菌的促生效应

植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是指定殖在植物根际并且接种后能够促进植物生长的一类细菌总称,具有活化养分和分泌植物激素等能力^[33]。有研究表明,PGPR 在各种植物根系中广泛分布,且约有 20 多个属具备防病促生的生态潜能,例如假单胞菌属(*Pseudomonas*)、伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、慢生根

瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)和沙雷氏菌属(*Serratia*)等等^[34]。本研究中系统发育分析表明,薇甘菊根际的固氮菌共归类于伯克霍尔德氏菌属、肠杆菌属、植物杆菌属、新肠杆菌属和根瘤菌属这 5 个属,并且伯克霍尔德氏菌属与根瘤菌属是优势属,约共占了 80%(图 2)。大多数研究表明,伯克霍尔德氏菌属、植物杆菌属、新肠杆菌属和根瘤菌属均具有固氮能力^[16,18,35–37],对植物生长具有促进作用,如促进拟南芥、玉米和水稻的生长^[38–41]。而本研究的接种试验也证明了分离自薇甘菊根际土壤的伯克霍尔德氏菌属(1 株)与根瘤菌属(2 株)均对薇甘菊幼苗生长具有显著的促进效应(图 4,表 2)。这与 Lu 等^[15]研究发现接种伯克霍尔德氏菌属的菌株 *Burkholderia pyrrocinia* 后植物的生长和固氮效率显著提高以及段佳丽等^[42]研究表明放射型根瘤菌 *Rhizobium radiobacter* 可能有益于丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的生长和抗病虫能力的结果相一致。并且本试验中分离到的根瘤菌属菌株 YHAzMm-21 的促生效果最好,有望开发成为可施性微生物菌肥。

本研究的系统发育树还显示,分离自薇甘菊根际的氨化细菌归类到沙雷氏菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、博德特氏菌属、寡养单胞菌属、苍白杆菌属及金黄杆菌属这 7 个属(图 3)。这些菌属大部分具有 PGPR 所具备的促生特性,如溶磷、抗菌、固氮、抗镉和降解有机物等^[19–20,42–46],能够促进植物生长^[47–48]。例如 Dastager 等研究发现,从森林土壤中分离得到的沙雷氏菌属的菌株 *Serratia nematodiphila* 具有多种植物促生特性(如能溶解磷酸盐、促进根系的生长发育和促进养分吸收等)^[13]。本试验中挑取的 4 株分别来自不动杆菌属、假单胞菌属、寡养单胞菌属和苍白杆菌属的氨化细菌菌株均显著促进了薇甘菊幼苗的生长(图 4,表 2)。这与王样庭等和 Pascon

等研究发现不动杆菌属中的菌株 *Acinetobacter indicus* 和 *Acinetobacter variabilis* 具有解磷、分解有机物和促进植物生长的能力一致^[49-50]。值得注意的是, 氨化细菌的苍白杆菌属 YHAmMm-14 在进行试验的 4 个菌株中促生效果最佳, 有望开发为微生物菌肥。

总的来说, 与本地伴生植物相比, 入侵植物薇甘菊根际土壤具有更高的氮循环功能菌(固氮菌和氨化细菌)菌群密度和较高的氮转化效率。其次, 分离自薇甘菊根际土壤的固氮菌和氨化细菌对其幼苗生长具有显著的促进效应, 其中固氮菌的伯克霍尔德氏菌属与根瘤菌属和氨化细菌的沙雷氏菌属是促进薇甘菊生长的优势菌属。最重要的是, 我们分离出 2 株促生效果最佳的菌株: 根瘤菌属菌株 YHAzMm-21 和苍白杆菌属菌株 YHAmMm-14。该结果为薇甘菊的综合利用(如微生物菌肥的菌株选育或研制工程微生物)提供了新的思路。

参考文献

- [1] Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16 (5): 263–276.
- [2] Hawkes CV, Wren IF, Herman DJ, Firestone MK. Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecology Letters*, 2005, 8(9): 976–985.
- [3] Liao CZ, Peng RH, Luo YQ, Zhou XH, Wu XW, Fang CM, Chen JK, Li B. Altered ecosystem carbon and nitrogen cycles by plant invasion: a meta-analysis. *New Phytologist*, 2008, 177(3): 706–714.
- [4] Chen BM, Peng SL, Ni GY. Effects of the invasive plant *Mikania micrantha* H.B.K. on soil nitrogen availability through allelopathy in South China. *Biological Invasions*, 2009, 11(6): 1291–1299.
- [5] Stark JM, Norton JM. The invasive annual cheatgrass increases nitrogen availability in 24-year-old replicated field plots. *Oecologia*, 2015, 177(3): 799–809.
- [6] McLeod ML, Cleveland CC, Lekberg Y, Maron JL, Philippot L, Bru D, Callaway RM. Exotic invasive plants increase productivity, abundance of ammonia-oxidizing bacteria and nitrogen availability in intermountain grasslands. *Journal of Ecology*, 2016, 104(4): 994–1002.
- [7] Yu HX, Le Roux JJ, Jiang ZY, Sun F, Peng CL, Li WH. Soil nitrogen dynamics and competition during plant invasion: insights from *Mikania micrantha* invasions in China. *New Phytologist*, 2021, 229(6): 3440–3452.
- [8] Chen BM, Peng SL, D'Antonio CM, Li DJ, Ren WT. Non-additive effects on decomposition from mixing litter of the invasive *Mikania micrantha* H.B.K. with native plants. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66289.
- [9] Jo I, Fridley JD, Frank DA. Invasive plants accelerate nitrogen cycling: evidence from experimental woody monocultures. *Journal of Ecology*, 2017, 105(4): 1105–1110.
- [10] 陈宝明, 韦慧杰, 陈伟彬, 朱政财, 原亚茹, 张永隆, 蓝志刚. 外来入侵植物对土壤氮转化主要过程及相关微生物的影响. *植物生态学报*, 2018, 42(11): 1071–1081.
Chen BM, Wei HJ, Chen WB, Zhu ZC, Yuan YR, Zhang YL, Lan ZG. Effects of plant invasion on soil nitrogen transformation processes and its associated microbial. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2018, 42(11): 1071–1081. (in Chinese)
- [11] Liu B, Yan J, Li W, Yin L, Li P, Yu H, Xing L, Cai M, Wang H, Zhao M, Zheng J, Sun F, Wang Z, Jiang Z, Ou Q, Li S, Qu L, Zhang Q, Zheng Y, Qiao X, Xi Y, Zhang Y, Jiang F, Huang C, Liu C, Ren Y, Wang S, Liu H, Guo J, Wang H, Dong H, Peng C, Qian W, Fan W, Wan F. *Mikania micrantha* genome provides insights into the molecular mechanism of rapid growth. *Nature Communications*, 2020, 11: 340.
- [12] 赵彤, 蒋跃利, 闫浩, 黄懿梅. 土壤氨化过程中微生物作用研究进展. *应用与环境生物学报*, 2014, 20(2): 315–321.
Zhao T, Jiang YL, Yan H, Huang YM. Research advances on microbial function in soil ammonifying process. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2014, 20(2): 315–321. (in Chinese)
- [13] Dastager SG, Deepa CK, Pandey A. Potential plant growth-promoting activity of *Serratia nematodiphila* NII-0928 on black pepper (*Piper nigrum* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(2): 259–265.
- [14] Meng XF, Bertani I, Abbruscato P, Piffanelli P, Licastro D, Wang CH, Venturi V. Draft genome sequence of rice endophyte-associated isolate *Kosakonia oryzae* KO348. *Genome Announcements*, 2015, 3(3): e00594–15.
- [15] Lu JK, Yang FC, Wang SK, Ma HB, Liang JF, Chen YL. Co-existence of rhizobia and diverse non-rhizobial bacteria in the rhizosphere and nodules of *Dalbergia odorifera* seedlings inoculated with *Bradyrhizobium*

- elkanii*, *Rhizobium multihospitium*-like and *Burkholderia pyrrocinia*-like strains. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2255.
- [16] Pillonetto M, Arend LN, Faoro H, D’Espindula HRS, Blom J, Smits THM, Mira MT, Rezzonico F. Emended description of the genus *Phytobacter*, its type species *Phytobacter diazotrophicus* (Zhang 2008) and description of *Phytobacter ursingii* sp. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(1): 176–184.
- [17] Tsegaye B, Balomajumder C, Roy P. Biodegradation of wheat straw by *Ochrobactrum oryzae* BMP03 and *Bacillus* sp. BMP01 bacteria to enhance biofuel production by increasing total reducing sugars yield. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(30): 30585–30596.
- [18] Priyanka R, Nakkeeran S. *Ochrobactrum ciceri* mediated induction of defence genes and antifungal metabolites enhance the biocontrol efficacy for the management of *Botrytis* leaf blight of *Lilium* under protected conditions. *Journal of Plant Pathology*, 2019, 101(2): 323–337.
- [19] Quan Z, Zhang X, Davidson EA, Zhu FF, Li SL, Zhao XH, Chen X, Zhang LM, He JZ, Wei WX, Fang YT. Fates and use efficiency of nitrogen fertilizer in maize cropping systems and their responses to technologies and management practices: a global analysis on field ¹⁵N tracer studies. *Earth's Future*, 2021, 9(5): e2020EF001514.
- [20] 王连林, 张志成, 商立军, 陈铁成. 新型微生物功能菌剂的筛选与功能菌肥的研制. *化肥工业*, 2019, 46(3): 6–9, 47.
Wang LL, Zhang ZC, Shang LJ, Chen TC. Screening of new microbial functional bacterial agents and development of functional bacterial fertilizer. *Chemical Fertilizer Industry*, 2019, 46(3): 6–9, 47. (in Chinese)
- [21] 陈家欣, 谈慧娟, 林楠, 谭诗琳, 郑海彬, 曾晓燕, 袁红旭, 卢冬梅. 南海东海岛近海固氮细菌多样性及对菜心的促生作用. *微生物学报*, 2020, 60(2): 359–370.
Chen JX, Tan HJ, Lin N, Tan SL, Zheng HB, Zeng XY, Yuan HX, Lu DM. Diversity and growth promotion of nitrogen-fixing bacteria isolated from the offshore of Donghai Island in the South China Sea. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(2): 359–370. (in Chinese)
- [22] Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M. 100 of the world’s worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Auckland, New Zealand: The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 2000.
- [23] Day MD, Clements DR, Gile C, Senaratne WKAD, Shen SC, Weston LA, Zhang FD. Biology and impacts of Pacific Islands invasive species. 13. *Mikania micrantha* Kunth (*Asteraceae*). *Pacific Science*, 2016, 70(3): 257–285.
- [24] 刘介东, 李凤玲, 张朝旺, 钟超奇, 徐东山. 从化市太平镇森林植物资源调查. *广东林业科技*, 2014, 30(4): 53–57.
Liu JD, Li FL, Zhang CW, Zhong CQ, Xu DS. Investigation on forest plant resource in taiping town of Conghua. *Guangdong Forestry Science and Technology*, 2014, 30(4): 53–57. (in Chinese)
- [25] 杨从发, 王淑军, 陈静, 许兴友. 自生固氮菌的分离鉴定. *淮海工学院学报: 自然科学版*, 1999, 8(3): 56–58.
Yang CF, Wang SJ, Chen J, Xu XY. The isolation and identification of abiogenous *Azotobacter*. *Journal of Huaihai Institute of Technology*, 1999, 8(3): 56–58. (in Chinese)
- [26] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [28] 马悦欣, 邵华, 刘长发, Schneider Oliver, 晏再生, 尹丽丽, 孙丽丽. 牙鲆海水循环养殖系统生物膜上 3 种细菌的数量与代谢活性. *中国水产科学*, 2009, 16(1): 97–103.
Ma YX, Shao H, Liu CF, Oliver S, Yan ZS, Yin LL, Sun LL. Metabolic responses and quantitative counts of heterotrophic bacteria, ammonifiers and nitrifiers in moving bed biofilter biofilms in a marine recirculating aquaculture system. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(1): 97–103. (in Chinese)
- [29] Meena VS, Maurya BR, Verma JP, Aeron A, Kumar A, Kim K, Bajpai VK. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and K-release dynamics from waste *Mica*. *Ecological Engineering*, 2015, 81: 340–347.
- [30] 叶冰竹, 施晟璐, 张润枝, 聂鹏卿, 唐晓清, 王康才. 缺氮和复氮处理对菘蓝幼苗生长及部分生理生化指标的影响. *植物资源与环境学报*, 2015, 24(4): 83–88.
Ye BZ, Shi SL, Zhang RZ, Nie PQ, Tang XQ, Wang KC. Effects of nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments on growth and some physiological and biochemical indexes of *Isatis indigotica* seedlings. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2015, 24(4): 83–88. (in Chinese)
- [31] 许浩, 胡朝臣, 许士麒, 孙新超, 刘学炎. 外来植物入侵对土壤氮有效性的影响. *植物生态学报*, 2018, 42(11): 1120–1130.
Xu H, Hu CC, Xu SQ, Sun XC, Liu XY. Effects of exotic plant invasion on soil nitrogen availability.

- Chinese Journal of Plant Ecology*, 2018, 42(11): 1120–1130. (in Chinese)
- [32] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法. 北京: 科学出版社, 2008.
- [33] Malik KA, Bilal R, Mehnaz S, Rasul G, Mirza MS, Ali S. Association of nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. Opportunities for biological nitrogen fixation in rice and other non-legumes. Dordrecht: Springer Netherlands, 1997: 37–44.
- [34] O’Sullivan DJ, O’Gara F. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Reviews*, 1992, 56(4): 662–676.
- [35] Lee YN, Koo CD. Identification of bacteria isolated from diseased Neungee mushroom, *Sarcodon aspratus*. *Journal of Basic Microbiology*, 2007, 47(1): 31–39.
- [36] Peng GX, Zhang W, Luo HF, Xie HW, Lai WH, Tan ZY. *Enterobacter oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the wild rice species *Oryza latifolia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(Pt 7): 1650–1655.
- [37] Gosal SK, Saroa GS, Vikal Y, Cameotra SS, Pathania N, Bhanot A. Isolation and molecular characterisation of diazotrophic growth-promoting bacteria from wheat rhizospheric soils of Punjab. *Soil Research*, 2011, 49(8): 725.
- [38] 程杰杰, 殷超凡, 萨尔山别克·热阿合曼, 孙帅欣, 陈云鹏. 固氮菌 *Kosakonia radicincitans* GXGL-4A 对玉米和水稻的促生作用及其根际定殖动态. 江苏农业科学, 2018, 46(2): 33–37.
Cheng JJ, Yin CF, Salsanbuick Z, Sun SX, Chen YP. Growth-promoting effect of nitrogen-fixing bacteria *Kosakonia radicincitans* GXGL-4A on maize and rice and its rhizosphere colonization dynamics. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(2): 33–37. (in Chinese)
- [39] Bergottini VM, Filippidou S, Junier T, Johnson S, Chain PS, Otegui MB, Zapata PD, Junier P. Genome sequence of *Kosakonia radicincitans* strain YD4, a plant growth-promoting rhizobacterium isolated from yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. hill.). *Genome Announcements*, 2015, 3(2): e00239–e00215.
- [40] Witzel K, Strehmel N, Baldermann S, Neugart S, Becker Y, Becker M, Berger B, Scheel D, Grosch R, Schreiner M, Ruppel S. *Arabidopsis thaliana* root and root exudate metabolism is altered by the growth-promoting bacterium *Kosakonia radicincitans* DSM 16656^T. *Plant and Soil*, 2017, 419(1/2): 557–573.
- [41] Witzel K, Üstün S, Schreiner M, Grosch R, Börnke F, Ruppel S. A proteomic approach suggests unbalanced proteasome functioning induced by the growth-promoting bacterium *Kosakonia radicincitans* in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 661.
- [42] 段佳丽, 薛泉宏, 舒志明, 王东胜, 何斐. 放线菌 Act12 与腐植酸钾配施对丹参生长及其根域微生态的影响. 生态学报, 2015, 35(6): 1807–1819.
Duan JL, Xue QH, Shu ZM, Wang DS, He F. Effects of combined application of actinomycetes Act12 bio-control agents and potassium humate on growth and microbial flora in rooting zone of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(6): 1807–1819. (in Chinese)
- [43] Berne C, Montjarret B, Guounti Y, Garcia D. Tributyl phosphate degradation by *Serratia odorifera*. *Biotechnology Letters*, 2004, 26(8): 681–686.
- [44] Gao J, Li BY, Wang HH, Liu ZQ. *Pseudomonas hunanensis* sp. nov., isolated from soil subjected to long-term manganese pollution. *Current Microbiology*, 2014, 69(1): 19–24.
- [45] Nalini S, Parthasarathi R. Production and characterization of rhamnolipids produced by *Serratia rubidaea* SNAU02 under solid-state fermentation and its application as biocontrol agent. *Bioresource Technology*, 2014, 173: 231–238.
- [46] Gondil VS, Asif M, Bhalla TC. Optimization of physicochemical parameters influencing the production of prodigiosin from *Serratia nematodiphila* RL2 and exploring its antibacterial activity. *3 Biotech*, 2017, 7(5): 338.
- [47] Faisal M, Hasnain S. Growth stimulatory effect of *Ochrobactrum intermedium* and *Bacillus cereus* on *Vigna radiata* plants. *Letters in Applied Microbiology*, 2006, 43(4): 461–466.
- [48] Lafi FF, Alam I, Geurts R, Bisseling T, Bajic VB, Hirt H, Saad MM. Draft genome sequence of *Ochrobactrum intermedium* strain SA148, a plant growth-promoting desert rhizobacterium. *Genome Announcements*, 2017, 5(9): e01707–e01716.
- [49] 王祥庭, 陈玲, 王陶, 李文, 李同祥, 刘洵. 牛蒡根际土壤解磷菌的筛选、鉴定及生长特性. 河南农业科学, 2018, 47(10): 57–63.
Wang YT, Chen L, Wang T, Li W, Li TX, Liu X. Screening and identification of phosphate-solubilizing bacteria from *Arctium lappa* rhizosphere soil and its growth characteristics. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2018, 47(10): 57–63. (in Chinese)
- [50] Pascon RC, Bergamo RF, Spinelli RX, De Souza ED, Assis DM, Juliano L, Vallim MA. Amyolytic microorganism from são Paulo zoo composting: isolation, identification, and amylase production. *Enzyme Research*, 2011, 2011: 679624.

(本文责编 李磊)