

高产 IAA 抗旱菌株 SZF7 的培养条件优化及功能基因挖掘

林 宏¹, 黄玉莲^{1*}, 黄卫红¹, 李若雨¹, 薛喜枚², 张英娇³, 张秋芳^{1**}

1. 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建泉州 362000; 2. 中国科学院城市环境研究所, 福建厦门 361021; 3. 闽江学院地理与海洋学院, 福建福州 350108

摘 要: 作为一种非生物胁迫, 干旱导致经济作物产量和质量下降, 从而严重影响其经济效益, 因此, 一些能够替代化学抗旱制剂且对植物具有促生作用的功能微生物亟待发掘。本研究以武夷山茶园土壤细菌为研究对象, 筛选获得高分泌吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 能力的强抗旱菌株, 并对其进行最佳培养条件优化和全基因组测序分析。结果表明: 获得 1 株具有高分泌 IAA 能力的强抗旱菌株 SZF7, 其抗旱能力强于其他同批次筛选的菌株, 经鉴定 SZF7 为蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*); SZF7 分泌 IAA 的最佳培养条件为 pH 5.0、温度 37 °C 和培养时间 24 h, 且 pH 和温度对其 IAA 分泌量具有显著影响; SZF7 基因组的 COG 和 KEGG 代谢途径中, 参与生物代谢大类的基因数量分别占总功能基因的 47.96% 和 68.52%, 且其基因组包含 IAA、铁载体、非核糖体肽合成酶 (nonribosomal peptide synthetase, NRPS)、脂肽类化合物和嗜铁素等植物促生相关基因; SZF7 的 IAA 合成途径分别为由吲哚-3-丙酮酸脱羧酶催化的吲哚-3-丙酮酸途径和吲哚-3-甘油磷酸合成酶催化的色氨酸途径。本研究结果为抗旱促生菌剂在茶叶等经济作物生产上的应用提供科学依据。

关键词: 促生菌; 吲哚乙酸; 抗旱; 培养条件优化; 全基因组分析

中图分类号: S154.39 文献标志码: A

Optimization of Culture Conditions and Functional Gene Mining of High-yielding IAA Drought-resistant Strain SZF7

LIN Hong¹, HUANG Yulian^{1*}, HUANG Weihong¹, LI Ruoyu¹, XUE Ximei², ZHANG Yingjiao³, ZHANG Qiufang^{1**}

1. College of Oceanography and Food, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362000, China; 2. Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen, Fujian 361021, China; 3. College of Geography and Oceanography, Minjiang University, Fuzhou, Fujian 350108, China

Abstract: Drought resistant microbial preparations are beneficial soil microorganisms that produce plant growth hormone to enhance the drought tolerance of plants and promote plant growth, which is an ideal substitute for traditional chemical drought resistant preparations. In this study, the bacteria obtained in the soils of Wuyishan tea plantation were used as the research object to screen strains with the high secretion indole-3-acetic acid (IAA) ability and strong drought resistance, and the culture conditions optimization and whole genome sequencing analysis were also conducted. A strain SZF7 with high secreting IAA was obtained, which belonged to *Bacillus cereus*, which had stronger drought resistance than other strains. The optimal culture conditions for IAA secretion of SZF7 were pH 5.0 and 37 °C with 24 h incubation, and pH and temperature significantly affected on the IAA secretion. In the COG and KEGG metabolic pathways of SZF7 genome, the genes related to biological metabolism accounted for 47.96% and 68.52% of the total functional genes, respectively. The genes related to plant growth promotion included IAA, siderophore, non-ribosomal peptide synthase (NRPS), lipopeptide compounds and bacillibactin. There were two IAA synthesis pathways in SZF7, one of which was indole-3-pyruvate pathway mediated by indole-3-pyruvate decarboxylase, and the other was tryptamine

收稿日期 2024-10-19; 接受日期 2024-11-22

基金项目 福建省科技厅引导性项目 (No. 2020N0032, No. 2022N0026); 国家重点研发计划项目 (No. 2023YFD1701703)。

作者简介 林 宏 (1982—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 土壤微生物学; *同等贡献作者: 黄玉莲 (2002—), 女, 学士, 研究方向: 土壤微生物资源利用。**通信作者 (Corresponding author): 张秋芳 (ZHANG Qiufang), E-mail: qfzhang@163.com。

pathway mediated by indole-3-glycerol phosphate synthase. This study would provide a scientific basis for the application of drought-resistant and growth-promoting bacteria in the production of tea and other cash crops.

Keywords: growth-promoting bacteria; indole-3-acetic acid; drought resistance; optimization of culture conditions; whole genome analysis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.03.021

茶树[*Camellia sinensis* (L.)]广泛分布于中国热带和亚热带地区, 是重要的多年生特色经济作物之一^[1-2]。随着全球气温的不断上升, 高温、干旱等极端天气持续时间长, 使我国大部分茶园深受极端天气的危害, 尤其是作为世界乌龙茶发源地的武夷山^[3-4]。干旱致使茶树生长受到抑制, 对茶叶产量和质量都造成了不可逆转的伤害, 从而严重制约了武夷山及我国茶产业的进一步发展和经济效益的提高^[3]。因此, 除了关注茶树自身对于干旱胁迫的应对策略外, 根际微生物对提高茶树抗旱能力的研究已成为当前的研究热点^[3, 5]。

根际促生菌 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) 是一类生存于植物根际土壤中通过产生植物必需激素或转化产生可溶性矿物质等直接或间接促进植物生长的有益微生物^[5]。其中, PGPR 分泌的吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 是一种天然生长素, 具有促生和抗旱等有益功能^[6-8]。植物根际的大部分 PGPR, 如芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、变形杆菌属 (*Proteus*) 等均可分泌 IAA^[9]。PGPR 的 IAA 合成途径中包括吲哚-3-丙酮酸和色氨酸等多种途径, 并且一种 PGPR 中可能同时存在多条合成途径^[10]。研究表明, 由吲哚-3-丙酮酸脱羧酶 (indole-3-pyruvate decarboxylase) 介导的吲哚-3-丙酮酸途径是大部分 PGPR 中最基本和最主要的 IAA 合成途径, 其次是由吲哚-3-甘油-磷酸合酶 (indole-3-glycerol phosphate synthase) 介导的色氨酸途径^[11]。IAA 通常作用于根际细胞壁, 促进植物根系生长, 从而提高植物水分吸收和土壤养分获取能力以应对干旱环境^[12]。如苏云金芽孢杆菌分泌的 IAA 有利于植物中钾和脯氨酸的积累, 从而促进其生长并缓解干旱胁迫^[7]; 黄精根际土壤中芽孢杆菌和葡萄球菌分泌的 IAA 均具有促进黄精种子萌发的效果^[13]。

鉴于高 IAA 分泌型 PGPR 对植物抗旱和生长的重要性, 开展抗旱促生菌的筛选、培养条件优化和功能基因挖掘, 对其在农业生产上的生物抗旱应用具有重要意义。本研究从武夷山茶园土壤

中分离获得的微生物中筛选出高分泌 IAA 的强抗旱菌株, 探究其最佳培养条件, 利用全基因组测序分析其相关功能基因和抗旱机理, 研究结果为促生菌剂在干旱农业生产上的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 由课题组筛选到的武夷山茶园根际土壤细菌 130 株^[14]。

1.1.2 主要试剂及培养基 聚乙二醇 (PEG 6000, 上海易恩化学技术有限公司); Salkowski 试剂 (7.9 mol/L H₂SO₄ 含 12 g/L FeCl₃)。培养基为 LB 培养基: 每升含胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, 氯化钠 10 g, pH 6.0, 固体培养基再加琼脂 20 g; 模拟干旱培养基: 于 LB 液体培养基中添加 PEG 6000 使其浓度达 25%^[15]。

1.2 方法

1.2.1 菌株分泌的 IAA 含量测定 菌株接种至 LB 液体培养基中, 于 37 ℃、150 r/min 条件下培养 24 h, 取菌液经 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液测定 IAA 含量。IAA 含量测定参考 GUSMIATY 等^[16]的方法略加改进, 即在上清液中加入 Salkowski 比色液于室温下暗培养 24 h 后呈粉红色, 使用分光光度计在 520 nm 波长下测量吸收值, 将获得的吸收值代入标准曲线计算 IAA 含量。

1.2.2 抗旱菌株的筛选 选取 1.2.1 中高分泌 IAA 能力的菌株进行培养, 取对数期的菌液为种子液, 以 1% 体积分数接种至添加 25%PEG 6000 (渗透压为 -0.735 MPa) 的 LB 培养基中, 在 37 ℃、150 r/min 条件下培养 24 h, 使用分光光度计在 600 nm 波长下测量菌液浓度, 同时使用无菌培养液作为空白对照, 以此条件模拟极端干旱胁迫环境下菌株的生长情况^[15]。即用 25%PEG 6000 模拟培养基培养后, 根据菌液的光密度 (OD₆₀₀) 值可以将菌株的抗旱能力分为高度敏感型 (OD₆₀₀ < 0.30)、敏感型 (0.30 ≤ OD₆₀₀ < 0.40)、耐受型 (0.40 ≤ OD₆₀₀ ≤ 0.50) 和完全耐受型 (OD₆₀₀ > 0.50)^[15]。

1.2.3 菌株培养条件的优化 以 1.2.1 与 1.2.2 为基础, 筛选出具有高抗旱能力的促生菌株 SZF7, 对该菌株进行促分泌 IAA 能力的培养条件优化。选取 pH、培养时间和温度 3 个因素不同水平分别对 SZF7 分泌 IAA 能力的影响进行研究。其中, pH 设置 4.5、5.0、5.5、6.0 共 4 个水平, 培养温度设置 28、31、34、37、40 °C 共 5 个水平, 培养时间设置 6、9、13、24、27、30 h 共 6 个水平。根据单因素试验结果, 进行 3 因子 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验, 即 pH (4.5、5.0、5.5)、温度 (34、37、40 °C) 和培养时间 (24、27、30 h), 以确定最佳培养条件组合。

1.2.4 菌株形态学和生物信息学分析 首先取菌株 SZF7 的纯培养物进行革兰氏染色后观察其形态。再将纯培养物送上海美吉生物医药科技有限公司, 构建 400 bp 的插入片段, 利用二代测序平台 Illumina 进行 PE150 (pair-end) 测序, 并将其组装得到多条基因组 scaffold。通过 MEGA 10.1.7 软件选择 NJ (neighbor-joining) 法构建系统进化树^[17], 利用 Gene Mark S 软件对基因组中存在的蛋白编码序列 (CDS) 进行预测, 采用 Diamond 软件对多类数据库注释进行分析比对, 以提供 NR、Swiss-Prot、P-fam、COG^[18]、GO 及 KEGG^[19] 的预测结果, 使用 antismash 网站^[20]进行次级代谢物合成基因簇的注释、分析和预测, 分析菌株潜在的合成次生代谢产物的能力。

1.3 数据处理

通过 Frequence 函数对不同菌株的 IAA 分泌能力进行分组分析, 使用 IBM SPSS Statistics 24 软件进行方差分析, 利用 Duncan's 检验法进行单因素的差异性分析, 利用 Origin 2024 软件进行数据整理和可视化。

2 结果与分析

2.1 菌株的 IAA 含量

根据 130 株菌株的 IAA 分泌能力可将其分为 3 组, IAA 分泌能力较低的共 6 株, 占 4.615%, IAA 含量在 2.69~4.97 mg/L 之间; IAA 分泌能力一般的共 82 株, 占 63.077%, IAA 含量在 5.09~8.81 mg/L 之间; IAA 分泌能力强的共 42 株, 占 32.308%, IAA 含量在 9.02~21.91 mg/L 之间。

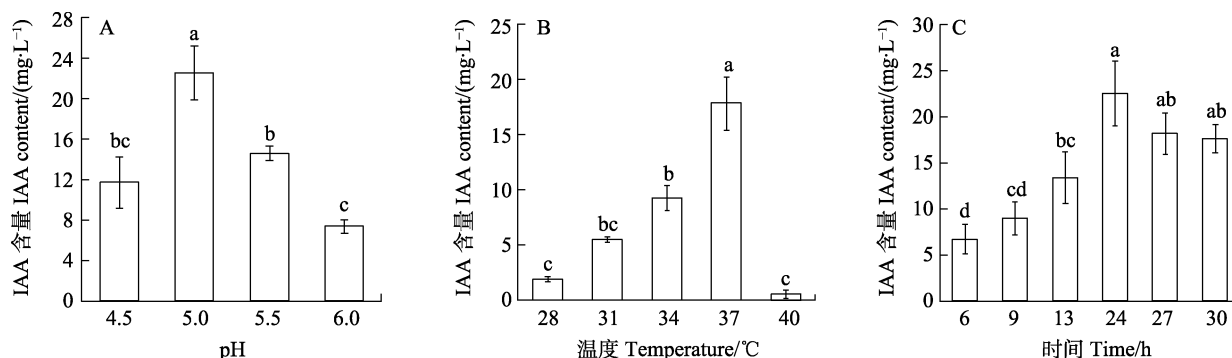
2.2 强抗旱菌株的筛选

从 IAA 分泌能力强的 42 株菌株中筛选到 7 株强抗旱能力菌株: SX-MWS5、HHG-GS4、TM 1200m5、HCQT1、NLK11、WQH3、SZF7, 在 25%PEG 6000 模拟干旱条件下菌液的 OD₆₀₀ 值分别为 0.75、0.90、1.00、1.02、1.14、1.16、1.20, 均大于 0.50, 表明这些菌株的抗旱能力均为完全耐受型。其中菌株 SZF7 的 OD₆₀₀ 值最高, 后续试验以该菌株作为研究对象作进一步研究。

2.3 SZF7 菌株的培养条件优化

2.3.1 单因素试验 SZF7 的 IAA 分泌量随着 pH 的升高呈现先增后减的趋势, pH 为 5.0 时, IAA 分泌量最高, 而 pH 为 6.0 时则最低 (图 1A)。在温度为 28~37 °C 时, SZF7 的 IAA 分泌量呈线性增加, 37 °C 时的 IAA 分泌量显著高于其他温度, 而 40 °C 时 IAA 分泌量骤减 (图 1B)。SZF7 的 IAA 分泌量随着培养时间的延长呈现先增后减的趋势, 在 24 h 时达到最高值, 而后进入平台期 (图 1C)。

2.3.2 正交试验 由表 1 可知, 3 个因素对 SZF7 IAA 分泌量的影响顺序为温度 (B) > pH (A) > 时间 (C)。正交试验表明, SZF7 分泌 IAA 的最佳培养条件为 A₂B₂C₁, 即 pH 为 5.0、温度为 37 °C、培养时间为 24 h。多因素方差分析结果如表 2 所



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 1 pH、温度和培养时间对 SZF7 分泌 IAA 的影响

Fig. 1 Effect of pH, temperature and incubation time on IAA secretion by SZF7

表 1 SZF7 分泌 IAA 培养优化的正交试验结果
Tab. 1 Results of orthogonal experimental for optimal IAA secretion culture of SZF7

编号 No.	A pH	B 温度 Temperature/℃	C 时间 Time/h	IAA 含量 IAA content/ (mg·L ⁻¹)
1	3	1	3	10.87±1.10
2	1	3	2	5.66±0.37
3	3	3	1	7.01±1.15
4	1	2	3	11.88±1.71
5	2	3	3	8.37±0.57
6	3	2	2	11.35±1.30
7	2	1	2	9.31±0.78
8	2	2	1	21.29±1.82
9	1	1	1	5.87±0.37
K ₁	23.40	26.04	34.17	
K ₂	38.97	46.25	28.06	
K ₃	30.97	21.04	31.11	
k ₁	7.80	8.68	11.39	
k ₂	12.97	15.42	9.35	
k ₃	10.32	7.01	10.37	
R	5.18	8.40	2.04	
因素主次		B>A>C		
最优水平	A ₂	B ₂	C ₁	

表 2 正交试验结果多因素方差分析
Tab. 2 Results of orthogonal experiment multivariate analysis of variance

方差来源 Source of variance	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F	P
校正模型	0.086	6	0.008	18.151	0.001
A	0.011	2	0.006	13.286	0.001
B	0.033	2	0.016	39.116	0.001
C	0.002	2	0.001	2.050	0.155
误差	0.008	20			
总和	0.054	26			

示，pH（A）和温度（B）均显著影响 SZF7 菌株的 IAA 分泌量（ $P<0.05$ ）。

2.4 SZF7 菌株的形态学观察和进化树分析

革兰氏染色结果显示，SZF7 菌体呈杆状，紫色，判断为革兰氏阳性菌（图 2）。通过与数据库比对，选择在种属水平上最接近的 19 株菌与 SZF7 构建系统进化树，由图 3 得知，SZF7 与 *Bacillus cereus* AQ 的相似度为 99.70%。



图 2 SZF7 革兰氏染色镜检图（1000×）
Fig. 2 Microscopic map of the Gram of SZF7 stain (1000×)

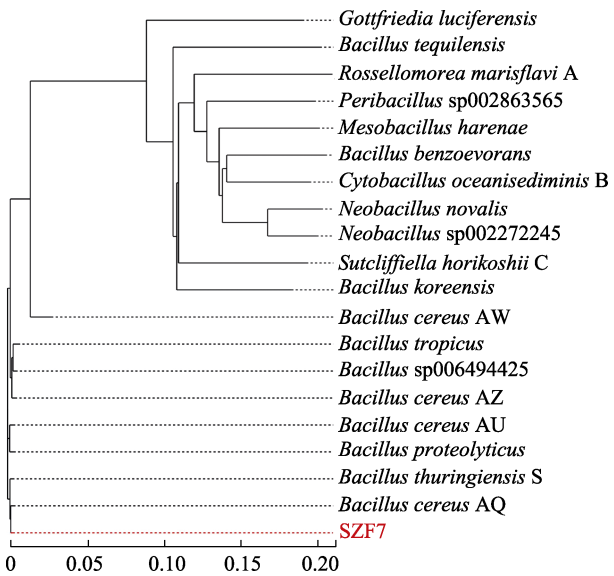


图 3 SZF7 的基因组系统进化树
Fig. 3 Genome phylogenetic tree of SZF7

2.5 SZF7 菌株的全基因组测序分析

基于全基因组测序，分析得到 SZF7 菌株的基因组大小为 6 136 427 bp，共有 64 个 scaffold，其中，最大的 scaffold 长度为 896 672 bp，N50 为 246 917 bp，基因 GC 含量为 34.75%。这些参数表明样品测序质量较高，结果可靠。

2.5.1 COG 代谢途径 SZF7 菌株基因组在 COG 数据库中注释到的功能基因数量为 5132 个，划分为 23 个功能组（图 4）。其中数量前 5 位的功能基因类型依次为一般功能预测（general function prediction only, R）、转录（transcription, K）、氨基酸运输和代谢（amino acid transport and metabolism, E）、细胞壁/膜/被膜的生物合成（cell wall/ membrane/envelope biogenesis, M）、碳水化合物运输和

代谢 (carbohydrate transport and metabolism, G)。

SZF7 的 COG 代谢通路中参与生物代谢大类的基因类型(占比)有:氨基酸运输和代谢(amino acid transport and metabolism, E, 8.89%)、碳水化合物运输和代谢(carbohydrate transport and metabolism, G, 6.33%)、辅酶运输和代谢(coenzyme transport and metabolism, H, 5.75%)、信号传导与代谢(signal transduction mechanisms, T, 5.67%)、无机离子转运和代谢(inorganic ion transport and metabolism, P, 5.07%)、能量产生与转化(energy

production and conversion, C, 4.33%)、脂质运输和代谢(lipid transport and metabolism, I, 3.78%)、防御代谢(defense mechanisms, V, 3.45%)、核苷酸转运和代谢(nucleotide transport and metabolism, F, 2.90%)、次级代谢物合成转运分解和代谢(secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism, Q, 1.79%), 这些生物代谢相关功能基因在总功能基因中的占比达 47.96%。表明 SZF7 菌株中存在丰富的生物代谢相关基因和蛋白, 具有强大的生物代谢潜能。

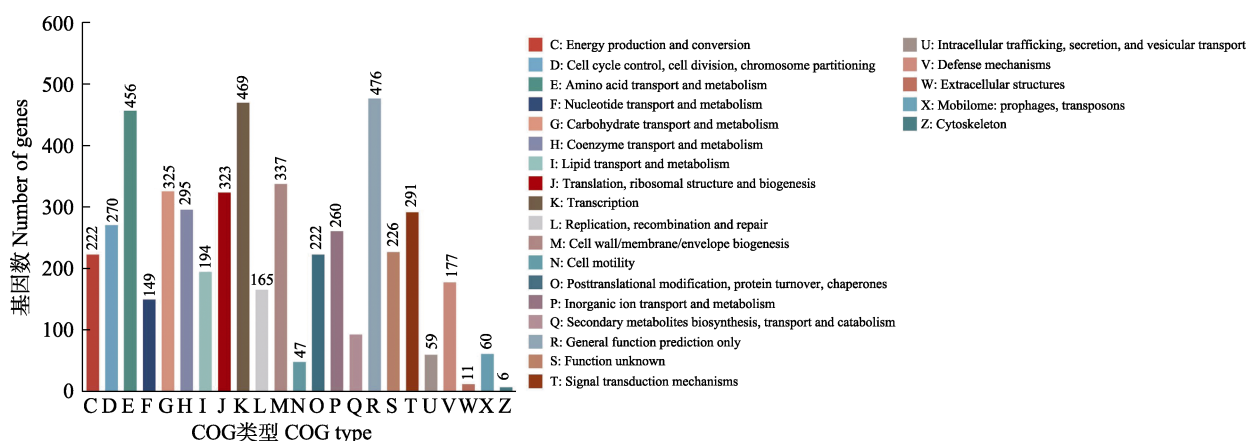


图 4 SZF7 基因组 COG 代谢功能分类

Fig. 4 COG classification of metabolic functions of SZF7 genome

2.5.2 KEGG 代谢途径 SZF7 菌株的基因组在 KEGG 数据库中注释到 4523 个功能基因, 划分为 6 个功能组: 细胞过程 (cellular processes)、环境信息处理 (environmental information processing)、遗传信息处理 (genetic information processing)、人类疾病 (human diseases)、代谢 (metabolism)、有机系统 (organismal systems) (图 5)。

其中, 参与生物代谢相关的基因类型(占比)有全局和概述图谱(global and overview maps, 27.57%)、碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism, 8.69%)、氨基酸代谢(amino acid metabolism, 7.30%)、辅助因子和维生素代谢(metabolism of cofactors and vitamins, 5.68%)、能量代谢(energy metabolism, 3.89%)、核苷酸代谢(nucleotide metabolism, 2.90%)、其他氨基酸代谢(metabolism of other amino acids, 2.81%)、脂质代谢(lipid metabolism, 2.72%)、聚糖生物合成和代谢(glycan biosynthesis and metabolism, 2.43%)、其他次级代谢物生物合成(biosynthesis of other secondary metabolites, 1.86%)、异性生物

质降解和代谢(xenobiotics biodegradation and metabolism, 1.72%)、萜类和聚酮类代谢(metabolism of terpenoids and polyketides, 0.95%)。这些功能基因数量明显高于其他类型功能基因, 占总功能基因数量的 68.52%。表明 SZF7 具有较强的代谢产物合成能力。

2.5.3 次级代谢合成基因簇分析 由表 3 可知, 预测到 17 个次级代谢产物合成基因簇, 其中, Cluster9、Cluster12 和 Cluster14 基因簇与已知的基因簇序列相似度高达 100%, 表明 SZF7 具备产生铁载体和非核糖体肽合成酶(nonribosomal peptide synthetase, NRPS)的潜在能力。此外, 还有 6 个基因簇与已知基因簇的相似度介于 17%~46%之间, 这些基因簇涉及脂肽类化合物、嗜铁素、钼辅因子以及羊毛硫细菌素等相关基因的合成。

2.5.4 IAA 合成途径相关基因分析 如表 4 所示, 通过对菌株相关基因进行注释分析发现, SZF7 中包含由 *ipdC* 基因编码的吡啶-3-丙酮酸脱羧酶, 该酶通过吡啶-3-丙酮酸途径催化 IAA 合

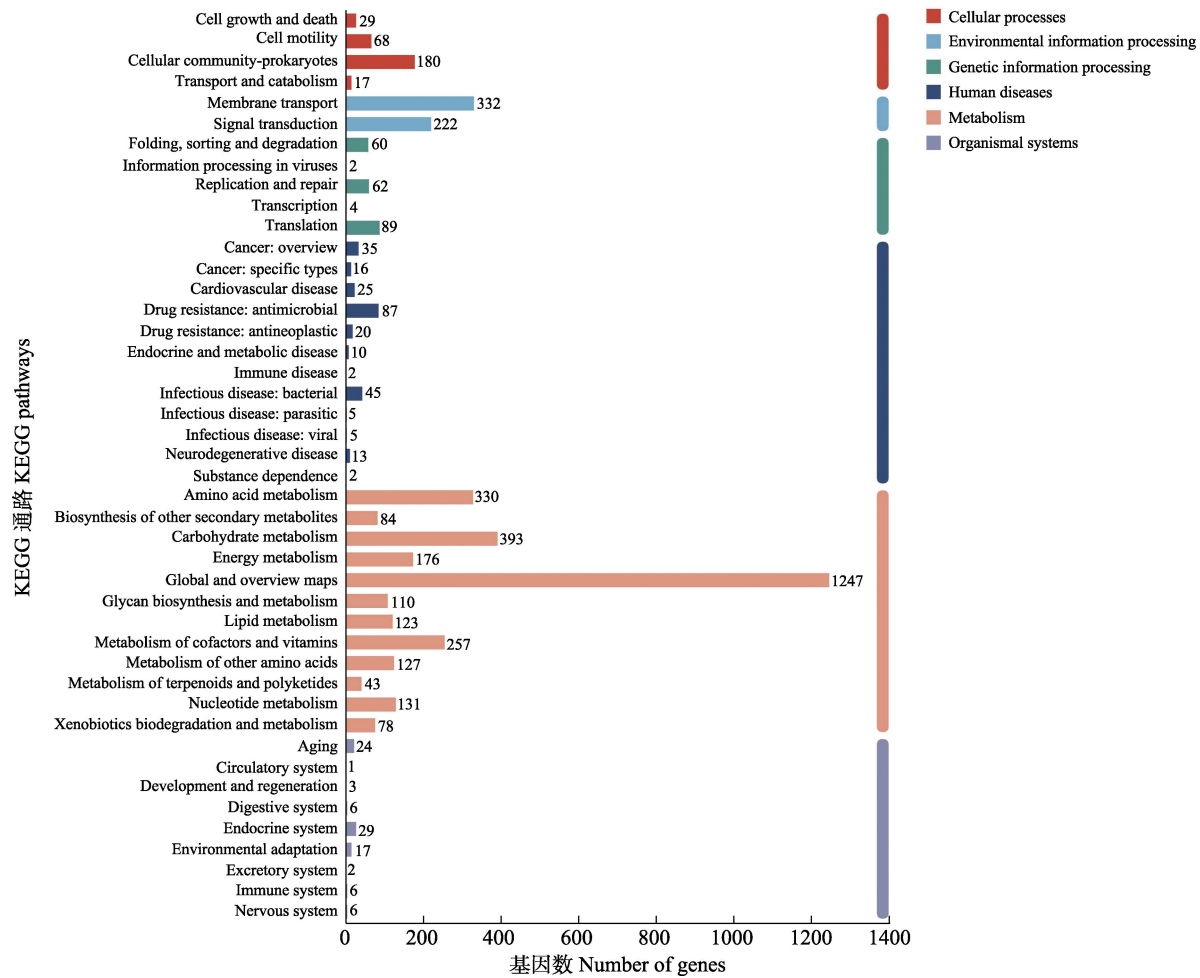


图 5 SZF7 基因组 KEGG 代谢通路分类

Fig. 5 KEGG classification of metabolic pathways of SZF7 genome

表 3 SZF7 基因组中预测到的生物合成基因簇

Tab. 3 Predicted biosynthetic gene clusters in the SZF7 genome

编号 No.	基因簇类型 Gene cluster type	基因位置 Gene position	最相似基因簇 Similar gene cluster	相似度 Similarity/%
Cluster1	RiPP-like	365 954~375 294	—	—
Cluster2	RiPP-like	474 966~485 305	—	—
Cluster3	betalactone	543 197~568 436	fengycin	40
Cluster4	NRPS	588 964~638 848	—	—
Cluster5	NRPS	719 791~766 949	bacillibactin	46
Cluster6	LAP	166 923~190 430	—	—
Cluster7	NRPS-like	94 096~137 669	—	—
Cluster8	terpene	52 560~74 414	molybdenum cofactor	17
Cluster9	siderophore	58 471~72 179	petrobactin	100
Cluster10	ladderane	79 824~122 281	S-layer glycan	26
Cluster11	lanthipeptide-class-i	72 228~96 628	subtilomycin	33
Cluster12	NRPS	47 065~94 664	thuricin	100
Cluster13	lassopeptide	98 526~116 920	—	—
Cluster14	NRPS-like	11 750~33 574	anabaenopeptinNZ857/nostamide A	100
Cluster15	RRE-containing	9997~25 834	—	—
Cluster16	NRPS	1~20 314	—	—
Cluster17	NRPS-like	1~3316	puwainaphycin F/minutissamide A/minutissamide B/minutissamide C/minutissamide D	23

注：—表示未知。

Note: — indicates an unknown.

表 4 SZF7 相关目标基因信息
Tab. 4 Informations about target genes related to SZF7

基因编号 Gene No.	基因名称 Gene name	基因位置 Gene position	描述 Description	蛋白质序列长度 Protein sequence length/aa	核苷酸序列长度 Nucleotide sequence length/bp
Gene0666	<i>ipdC</i>	Scaffold1: 640 590~642 266	indole-3-pyruvate de- carboxylase	558	1677
Gene3593	<i>trpC</i>	Scaffold8: 192 856~193 617	indole-3-glycerol phosphate synthase	253	762

成; 以及由 *trpC* 基因编码的吲哚-3-甘油磷酸合成酶, 该酶通过色胺酸途径催化 IAA 合成。说明 SZF7 存在高效的 IAA 合成途径, 具有高分泌 IAA 的潜在能力。

3 讨论

抗旱微生物制剂是利用具有植物促生和抗旱功能的微生物协助植物应对干旱胁迫的一类生物制品^[21]。抗旱功能微生物一方面通过分泌 IAA 等生长素以促进植物生长发育, 另一方面通过诱导植物生理和生化等方面的变化来增强其抵御干旱的能力或提高其干旱胁迫后的恢复能力, 从多方面协助植物抵御干旱胁迫^[22], 具有生产成本低、可持续发展和对环境友好等优势, 可作为化学抗旱制剂的理想替代品^[21]。

本研究从武夷山茶园土壤中筛选出 1 株高 IAA 分泌的抗旱细菌 SZF7, 经分子生物学鉴定表明其为蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)。IAA 分泌型菌株通过调节植物根系分布、促进侧根的发育和加强细胞中水分运输等方式来维持根系充足的水分^[23-25], SZF7 的高 IAA 分泌活性可能是促进其抗旱能力的重要因素。SZF7 在 25%PEG 6000 模拟干旱条件下的 OD₆₀₀ 值高达 1.20, 抗旱能力为完全耐受型, 该菌株的抗旱能力与孙亚钦等^[26]从玉米根际土壤中筛选获得的抗旱菌株相当。然而, 由于不同菌株的生理特性等方面具有差异, 其分泌 IAA 的最佳培养条件往往不同, 如特基拉芽孢杆菌 (*B. tequilensis*) 分泌 IAA 的最适培养条件是 pH 8.0、30 ℃ 条件下经 20 h 摇床培养^[27], 弯曲芽孢杆菌 (*B. flexus*) 分泌 IAA 的最适培养条件是 30 ℃ 下经 44 h 摇床培养^[28]。而本研究获得的芽孢杆菌 SZF7 分泌 IAA 的最佳培养条件是 pH 为 5.0、温度为 37 ℃、培养时间为 24 h, 且各因素对分泌 IAA 影响顺序依次为温度、pH 和时间, 其中 pH 和温度对 SZF7 菌株的 IAA 分泌能力具有显著影响。

IAA 分泌型菌株的抗旱机理主要是诱导胁迫相关基因的转录和产生特异蛋白来调控细胞内稳态, 从而促进植株对干旱环境的耐受性^[24-25, 29]。全基因组分析表明, SZF7 与代谢相关的功能基因数量占据优势, 表明其具有较强的代谢能力。此外, SZF7 具有铁载体、NRPS、脂肽类化合物、嗜铁素、钼辅因子和羊毛硫细菌素等次级代谢产物合成基因簇。NRPS 介导了多种有益代谢产物的合成, 对促生菌的生防功能至关重要^[30]。铁载体能够促进大豆、玉米和连香树等植物根系的水分吸收和生长发育^[31-33]。脂肽类化合物和嗜铁素也是促进植物生长的相关因子^[30]。SZF7 存在 2 条合成 IAA 的代谢途径, 分别为吲哚-3-丙酮酸脱羧酶介导的吲哚-3-丙酮酸途径和吲哚-3-甘油磷酸合成酶介导的色胺酸途径。这 2 条高效合成途径合成的大量 IAA 有利于植物招募有益菌群和提高抗旱能力^[29-30]。研究结果表明, SZF7 是一株抗旱功能明显的高 IAA 分泌芽孢杆菌, 该菌株具有丰富的生物代谢功能基因, 且存在高效的 IAA 合成途径, 在植物抗旱促生方面具有良好的应用前景。

参考文献

[1] 李鑫, 张丽平, 张兰, 颜鹏韩, 文炎. 茶园高温干旱灾害防控技术[J]. 中国茶叶, 2018, 40(7): 38-41.
LI X, ZHANG L P, ZHANG L, YAN P H, WEN Y. High temperature and drought disaster prevention and control technology in tea garden[J]. China Tea, 2018, 40(7): 38-41. (in Chinese)

[2] HAN Z, XU P, LI Z, LIN H, ZHU C, WANG J Y, ZOU J W. Microbial diversity and the abundance of keystone species drive the response of soil multifunctionality to organic substitution and biochar amendment in a tea plantation[J]. Global Change Biology Bioenergy, 2022, 14: 481-495.

[3] 肖黄巧, 邵明宇, 石玉玲, 揭雨成. 高温干旱条件下生长调节剂对茶叶生长的影响[J/OL]. 分子植物育种, 1-13. (2023-06-27)[2024-10-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230626.1635.014.html>.

- XIAO H Q, SHAO M Y, SHI Y L, JIE Y C. Effects of growth regulators on tea growth under high temperature and drought conditions[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 1-13. (2023-06-27)[2024-10-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230626.1635.014.html>. (in Chinese)
- [4] 何辰宇, 李蓓蓓, 杨菲. 高温干旱对茶叶生产的影响及应对措施[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(4): 215-217.
- HE C Y, LI B B, YANG F. Effects and countermeasures of high temperature and drought on tea production[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(4): 215-217. (in Chinese)
- [5] 张典利, 孟臻, 亓文哲, 乔康. 植物根际促生菌的研究与应用现状[J]. *世界农药*, 2018, 40(6): 37-43, 50.
- ZHANG D L, MENG Z, QI W Z, QIAO K. The research and application status of plant growth promoting rhizobacteria[J]. *World Pesticide*, 2018, 40(6): 37-43, 50. (in Chinese)
- [6] RAUT V, SHAIKH I, NAPHADE B, PRASHAR K, ADHAPURE N. Plant growth promotion using microbial IAA producers in conjunction with azolla: a novel approach[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2017, 4(1): 1-11.
- [7] ARMADA E, ROLDÁN A, AZCON R. Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native *Lavandula* and *Salvia* plants species under drought conditions in natural arid soil[J]. *Microbial Ecology*, 2014, 67(2): 410-420.
- [8] 黄妍, 吴迪. 微生物合成吲哚乙酸及其对植物作用的研究进展[J]. *浙江农业科学*, 2024, 65(11): 2659-2664.
- HUANG Y, WU D. Research progress on microbial synthesis of indole-3-acetic acid and its effects on plants[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2024, 65(11): 2659-2664. (in Chinese)
- [9] DA SILVA M J C, JUNIOR S F P, JUNIOR K F, NASCIMENTO V X, DE MEDEIROS A S, DA SILVA S J C, DE SOUSA ALVES M M, ANA A E G S. IAA production of indigenous isolate of plant growth promoting rhizobacteria in the presence of tryptophan[J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2020, 14(3): 537-544.
- [10] 王立娟, 杨义琳, 高慧鑫, 张延妍, 何艳慧, 武占省, 卢华丹. 假单胞菌 Rs-198 的 IAA 合成途径分析[J]. *生物加工过程*, 2024, 22(1): 17-24.
- WANG L J, YANG Y L, GAO H X, ZHANG Y Y, HE Y H, WU Z S, LU H D. Analysis of indole acetic acid (IAA) synthesis pathway in *Pseudomonas putida* Rs-198[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2024, 22(1): 17-24. (in Chinese)
- [11] 王冬云. 枯草芽孢杆菌 8-32 菌株促生作用及吲哚乙酸 (IAA)合成途径解析[D]. 保定: 河北农业大学, 2023.
- WANG D Y. Growth promotion of *Bacillus subtilis* strains 8-32 and analysis of indoleacetic acid (IAA) synthesis pathway[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [12] 曹亚静, 赵美丞, 郑春燕, 朱峰. 根际微生物介导的植物响应干旱胁迫机制研究进展[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2023, 31(8): 1330-1342.
- CAO Y J, ZHAO M C, ZHENG C Y, ZHU F. Rhizosphere microorganisms-mediated plant responses to drought stress[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2023, 31(8): 1330-1342. (in Chinese)
- [13] 杜佳慧, 徐伟芳, 杨晓冬, 谭松, 尹登科, 刘园旭. 多花黄精产吲哚乙酸内生菌的分离筛选及其对黄精种子萌发的影响[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(12): 223-232.
- DU J H, XU W F, YANG X D, TAN S, YI D K, LIU Y X. Isolation and screening of endophytes producing indole acetic acid from *Polygonatum cyrtoneura* Hua. and its effect on seed germination of *Polygonatum*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2022, 38(12): 223-232. (in Chinese)
- [14] 陈小尘, 徐金荣, 高培妍, 罗正朵, 郑智胜, 吴宝川, 周艳, 黄兆斌, 陈洪彬, 张秋芳. 老枞根际放线菌鉴定及其对可可毛色二孢抑制效果的初步研究[J]. *福建农业学报*, 2023, 38(9): 1103-1111.
- CHEN X C, XU J R, GAO P Y, LUO Z D, ZHENG Z S, WU B C, ZHOU Y, HUANG Z B, CHEN H B, ZHANG Q F. Identification and inhibitory effect on *Lasiodiplodia theobromae* of actinomycetes in *Camellia sinensis* rhizosphere soil[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38(9): 1103-1111. (in Chinese)
- [15] SUSILOWATI A, PUSPITA A A, YUNUS A. Drought resistant of bacteria producing exopolysaccharide and IAA in rhizosphere of soybean plant (*Glycine max*) in Wonogiri Regency Central Java Indonesia[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2018, 142(1): 012058.
- [16] GUSMIATY, RESTU M, BACHTIAR B, LAREKENG S H. Gibberellin and IAA production by rhizobacteria from various private forest[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, 270(1): 012018.
- [17] TELLES G P, ARAÚJO G S, WALTER M E M T, BRIGIDO M M, ALMEIDA N F. Live neighbor-joining[J]. *BMC Bioinformatics*, 2018, 19(1): 172.
- [18] JENSEN L J, JULIEN P, KUHN M, VON MERING C, MULLER J, DOERKS T, BORK P. eggNOG: automated construction and annotation of orthologous groups of genes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36: D250-D254.
- [19] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [20] BLIN K, WOLF T, CHEVRETTE M G, LU X W,

- SCHWALEN C J, KAUTSAR S A, DURAN H G S, DE LOS SANTOS E L C, KIM H U, NAVE M, DICKSCHAT J S, MITCHELL D A, SHELEST E, BREITLING R, TAKANO E, SLEE S Y, WEBER T, MEDEMA M H. antiSMASH 4.0-improvements in chemistry prediction and gene cluster boundary identification[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(W1): W36-W41.
- [21] BASHAN Y, DE-BASHAN L E, PRABHU S R, HERNANDEZ J P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998—2013)[J]. *Plant and Soil*, 2014, 378(1/2): 1-33.
- [22] 李冬, 王卫雄. 植物抗旱菌群的应用及其潜在抗旱机制综述[J]. *现代农业科技*, 2023(18): 93-100, 103.
LI D, WANG W X. Application of drought-resistant microbial community in plants and their potential drought-resistant mechanisms[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2023(18): 93-100, 103. (in Chinese)
- [23] 王一腾, 钱怡雯, 刁琦, 骆晶晶, 季翠, 王依嘉, 姜雪婷, 何琳燕. 耐旱菌研究热点变迁及其提高植物耐旱性的机制[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(11): 4370-4382.
WANG Y T, QIAN Y W, DIAO Q, LUO J J, JI C, WANG Y J, JIANG X T, HE L Y. Drought-tolerant microorganisms: changes in research hotspots and mechanisms of improving plant drought tolerance[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(11): 4370-4382. (in Chinese)
- [24] HA-TRAN D M, NGUYEN T T M, HUNG S H, HUANG E, HUANG C C. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: a review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(6): 3154.
- [25] ETESAMI H, MAHESHWARI D K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 225-246.
- [26] 孙亚钦, 张书红, 张影, 刘星, 吴大付, 刘永卓, 王菲. 玉米根际解磷解钾细菌的筛选、鉴定及其生态适应性研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2023, 51(12): 111-119, 142.
SUN Y Q, ZHANG S H, ZHANG Y, LIU X, WU D F, LIU Y Z, WANG F. Isolation, identification and ecological adaptability of phosphate-and potassium-solubilizing bacteria in maize rhizosphere[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2023, 51(12): 111-119, 142. (in Chinese)
- [27] 张东艳, 刘晔, 吴越, 王国文, 万兵兵, 姜瑛. 花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. *中国油料作物学报*, 2016, 38(1): 104-110.
- ZHANG D Y, LIU Y, WU Y, WANG G W, WAN B B, JIANG Y. Isolation and identification of IAA-producing strains from peanut rhizosphere and its promoting effects on peanut growth[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2016, 38(1): 104-110. (in Chinese)
- [28] 吴翔, 甘炳成, 黄忠乾, 彭卫红. 一株产 IAA 菌株的筛选、鉴定及培养条件优化[J]. *四川农业大学学报*, 2014, 32(4): 432-435, 461.
WU X, GAN B C, HUANG Z Q, PENG W H. Screening and identification of a IAA biosynthesis strain and optimization of its culture conditions[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2014, 32(4): 432-435, 461. (in Chinese)
- [29] 李源源, 赵霞, 岳靓, 邱阳. 干旱胁迫下植物根系分泌物与根际微生物相互作用的研究进展与展望[J]. *干旱气象*, 2024, 42(3): 325-337.
LI Y Y, ZHAO X, YUE L, QIU Y. Research progress and prospect on the interaction between plant root exudates and rhizosphere microorganisms under drought stress[J]. *Journal of Arid Meteorology*, 2024, 42(3): 325-337. (in Chinese)
- [30] 康慎敏, 武瑞赟, 穆文强, 尚庆茂, 李平兰. 优良植物根际促生菌的筛选及其生物学特性[J]. *中国农业大学学报*, 2023, 28(3): 137-152.
KANG S M, WU R Y, MU W Q, SHANG Q M, LI P L. Isolation and biological characteristics investigation of superior plant growth promoting rhizobacteria[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(3): 137-152. (in Chinese)
- [31] 晋婷婷, 曹永清, 李云玲, 白凤麟, 白变霞, 任嘉红, 孟静, 李琳, 王莹. 一株连香树根际促生细菌 LWK2 的分离鉴定及其全基因组序列分析[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(5): 1917-1940.
JIN T T, CAO Y Q, LI Y L, BAI F L, BAI B X, REN J H, MENG J, LI L, WANG Y. Isolation, identification, and whole-genome sequence analysis of a plant growth-promoting bacterium LWK2 from *Cercidiphyllum japonicum* rhizosphere[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(5): 1917-1940. (in Chinese)
- [32] 王芳, 于璐, 齐泽铮, 周长军, 于吉东. 大豆镰刀菌根腐病拮抗菌的筛选及生防效果[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(7): 216-225.
WANG F, YU L, QI Z Z, ZHOU C J, YU J D. Screening and biocontrol effect of antagonistic bacteria against soybean root rot[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(7): 216-225. (in Chinese)
- [33] ZAREI T, MORADI A, KAZEMEINI S A, AKHGAR A, RAHI A A. The role of ACC deaminase producing bacteria in improving sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*) productivity under limited availability of irrigation water[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 20361.