

柴胡根际植物促生细菌与丛枝菌根真菌资源的挖掘及协同促生效应

余晶, 马亚秀, 曾静, 刘永俊*

兰州大学 生态学院, 甘肃 兰州

余晶, 马亚秀, 曾静, 刘永俊. 柴胡根际植物促生细菌与丛枝菌根真菌资源的挖掘及协同促生效应[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1929-1940.

YU Jing, MA Yaxiu, ZENG Jing, LIU Yongjun. Isolation of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi from the rhizosphere of *Bupleurum chinense* and characterization of their synergistic effects on plant growth[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1929-1940.

摘要: 【目的】根际微生物群落对植株生长发育和品质形成具有重要调控作用。因此, 本研究旨在系统分离柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)根际促生微生物资源, 评价其应用潜力, 为开发微生物菌肥、减少化肥和农药投入提供优良菌株。【方法】采用传统分离培养方法, 从柴胡根际分离鉴定植物根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)和丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF); 通过体外功能试验筛选高效 PGPR 菌株, 并在盆栽条件下评估 PGPR 和 AMF 的协同促生效应。【结果】从柴胡根际共分离获得 25 种 PGPR, 以及摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*)和幼套内养囊霉(*Entrophospora etunicata*) 2 种 AMF。PGPR 的功能筛选结果表明, 抗生素溶杆菌(*Lysobacter antibioticus*)、德国鳶尾假单胞菌(*Pseudomonas germanica*)、类棒杆菌红球菌(*Rhodococcus corynebacterioides*)和地钱甲基杆菌(*Methylobacterium marchantiae*)分别在吡啶乙酸分泌、有机磷溶解、无机磷溶解和固氮方面表现突出。盆栽试验显示, PGPR 和 AMF 联合接种显著促进柴胡植株生长、生物量积累和养分吸收, 其促生效应明显优于单一接种处理。【结论】本研究挖掘并鉴定了一些柴胡根际关键促生微生物资源, 明确了 PGPR 和 AMF 之间的协同促生效应, 为柴胡绿色高效栽培提供了可利用的菌剂资源和理论依据。

关键词: 药用植物; 根际微生物; 菌根真菌; 微生物接种; 生态种植

资助项目: 国家自然科学基金(W2512021, 32471674); 甘肃省自然科学基金(23JRRA1029); 舟曲县科技计划
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (W2512021, 32471674), the Natural Science Foundation of Gansu Province (23JRRA1029), and the Science and Technology Program of Zhouqu County.

*Corresponding author. E-mail: yjliu@lzu.edu.cn

Received: 2025-12-31; Accepted: 2026-02-09; Published online: 2026-02-13

Isolation of plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi from the rhizosphere of *Bupleurum chinense* and characterization of their synergistic effects on plant growth

YU Jing, MA Yaxiu, ZENG Jing, LIU Yongjun*

College of Ecology, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, China

Abstract: [Objective] The rhizosphere microbial community plays a critical role in plant growth, development, and quality formation. Therefore, this study systematically isolated plant growth-promoting microbial resources from the rhizosphere of *Bupleurum chinense* and evaluated their application potential, aiming to provide excellent strains for the development of microbial fertilizers to reduce the use of chemical fertilizers and pesticides. [Methods] Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were isolated and identified from the rhizosphere of *B. chinense* by the culture-dependent methods. Functional traits of PGPR strains were screened through *in vitro* assays, and the synergistic growth-promoting effects of PGPR and AMF were subsequently evaluated by a pot experiment. [Results] A total of 25 PGPR species and 2 AMF species (*Funneliformis mosseae* and *Entrophospora etunicata*) were isolated from the rhizosphere of *B. chinense*. Functional screening of PGPR revealed that *Lysobacter antibioticus*, *Pseudomonas germanica*, *Rhodococcus corynebacterioides*, and *Methylobacterium marchantiae* exhibited outstanding abilities in indole-3-acetic acid production, organic phosphorus solubilization, inorganic phosphorus solubilization, and nitrogen fixation, respectively. The pot experiment showed that co-inoculation with PGPR and AMF significantly enhanced the plant growth, biomass accumulation, and nutrient uptake of *B. chinense*, with plant growth-promoting effects markedly greater than single inoculation treatments. [Conclusion] This study isolated and identified some plant growth-promoting microorganisms from the rhizosphere of *B. chinense* and demonstrated the synergistic effects between PGPR and AMF, providing valuable microbial resources and theoretical bases for the sustainable cultivation of *B. chinense*.

Keywords: medicinal plants; rhizosphere microorganisms; mycorrhizal fungi; microbial inoculation; ecological cultivation

柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)是我国常用的大宗中药材,以干燥根入药,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气等功效,广泛应用于多种中成药和临床方剂中^[1]。近年来,随着野生柴胡资源持续减少以及市场需求快速增长,柴胡人工栽培面积不断扩大,产业化进程显著加快。然而,在集约化生产条件下,柴胡栽培普遍面临土壤退化、病虫害加剧、有益微生物丧失以

及多重生物和非生物胁迫叠加等问题,严重制约了植株生长、品质形成和产业可持续发展^[2-5]。

在国家大力推进中药材生态种植和绿色发展的背景下,依赖高投入化肥和农药的传统栽培模式已难以满足“化肥减施、提质增效”的政策要求^[6]。因此,将微生物技术这一关键生态调控手段引入柴胡栽培体系,被认为是推动柴胡产业高质量发展的重要途径之一^[7]。自然条件

下, 植物根系富集着复杂多样的促生微生物群落, 其中以植物根际促生细菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 和丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 最具代表性^[8-9]。这些微生物可通过分泌植物激素、溶磷、固氮以及改善根系吸收能力等多种途径, 促进植物生长发育、增强抗逆性, 并有助于活性成分积累, 在中药材生态化栽培中具有广阔应用前景^[10-11]。在此背景下, 挖掘柴胡根际有益微生物成为一个有前景的方向。尽管如此, 当前柴胡相关研究主要集中在种质资源评价、次生代谢产物解析及药理活性研究等方面, 而针对柴胡根际促生微生物资源的分离鉴定、功能筛选及应用潜力评估仍相对不足^[12-14]。尤其是 PGPR 和 AMF 在柴胡生长中的实际作用效果及其协同作用机制尚缺乏系统实验验证, 限制了微生物技术在柴胡生产实践中的推广应用。

本研究以柴胡根际微生物为研究对象, 采用平板分离培养和单孢扩繁技术分别获取柴胡根际 PGPR 和 AMF 菌株, 并分别通过 16S rRNA 基因和 SSU-ITS-LSU rRNA 基因序列分析进行分子鉴定; 进一步通过体外功能筛选, 遴选具有显著吡啶乙酸分泌、溶磷和固氮能力的优良 PGPR 菌株; 最后, 在温室盆栽条件下系统评估优良 PGPR 和 AMF 对柴胡生长和养分吸收的促生效应。本研究旨在为柴胡生态种植发掘高效的微生物菌剂资源, 并为柴胡产业绿色可持续发展提供理论依据和技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 样品采集

本研究于 2023 年 7 月在甘肃省甘南藏族自治州舟曲县的 3 个典型柴胡种植区共采集 15 份生长 2 年的人工栽培柴胡根际土壤, 用于促生微生物的分离与培养。每个种植区随机选取 5 个地块, 在每个地块中随机选取 4-5 株生长健壮、无明显病害的柴胡植株, 去除表层浮土后

将植株连根挖出, 并在低温条件下运回实验室。随后, 采用无菌毛刷轻刷根系表面, 收集距离根部约 2 mm 范围内的附着土壤作为根际土样, 用于 PGPR 的分离培养; 其余土壤作为根围土样, 用于 AMF 的分离与扩繁。

1.2 PGPR 的分离培养

PGPR 的分离培养采用多种选择性和功能性培养基, 包括金氏 B 培养基 (King's B medium)^[15]、蒙金娜有机磷培养基 (McHKNH_a organic phosphorus agar medium)^[16]、国际植物研究所磷酸盐生长培养基 (national botanical research institute's phosphate growth medium)^[17] 和无氮培养基 (nitrogen free medium)^[18]。

针对每份根际土壤样品, 称取 5 g 土样加入到含 45 mL 无菌生理盐水的三角瓶中, 28 °C、180 r/min 振荡 30 min, 使土壤充分分散, 制备 10⁻¹ 稀释的土壤菌悬液。随后取 1 mL 菌悬液加入到 9 mL 无菌生理盐水中, 依次进行 10 倍梯度稀释, 获得 10⁻² 和 10⁻³ 稀释液。取 100 μL 10⁻³ 稀释液, 分别涂布于金氏 B 培养基、蒙金娜有机磷培养基、国际植物研究所磷酸盐生长培养基和无氮培养基上, 每个样品设 3 个平行重复, 于 28 °C 恒温培养箱中培养 5-7 d。培养结束后, 根据菌落颜色、形态、大小及表面特征进行初步分离, 并通过反复划线纯化 3-4 次, 直至获得形态稳定的纯培养菌株。

1.3 AMF 的分离培养

针对每一份根围土壤样品, 称取 50 g 土样, 采用蔗糖梯度离心法分离 AMF 孢子^[19]。将同一采样点分离获得的孢子合并后, 在体视显微镜下根据孢子大小、颜色和形态特征进行形态聚类。随后, 选取各形态类型的单个孢子, 接种于 2 周龄无菌高粱幼苗 (*Sorghum bicolor* L.) 根系, 并用无菌滤纸包裹, 移栽至装有灭菌基质的花盆中央 (容量 500 mL)。栽培基质由沙子与沸石按 1:1 混合组成, 经 121 °C 灭菌 75 min, 间隔 24 h 重复灭菌 1 次。在每个花盆滤纸周围播

种经表面消毒并露白的高粱和苜蓿(*Medicago sativa* L.)种子,于温室条件下进行单孢扩繁培养。每种孢子形态设置3-8个重复。温室培养条件:光强约为10 340 lx,光暗周期为16 h光照/8 h黑暗,昼夜温度为25 °C(光照期)/20 °C(黑暗期)。培养期间,每3-4 d浇灌1次蒸馏水,每2周施加1次低磷Hoagland营养液(P浓度为0.5 mmol/L)。培养4个月后停止浇水,自然干燥2周,剪除地上部分收集植物根系和盆栽基质。取30 g混匀基质样品,采用蔗糖梯度离心法检测AMF孢子形成情况,当观察到大量新生孢子时判定培养成功,将用于后续分子鉴定及多孢扩繁。

1.4 菌株的分子生物学鉴定

PGPR菌株的分子鉴定以16S rRNA基因为目标序列。采用无菌枪头挑取单个PGPR菌落,置于含10 μL无菌ddH₂O的离心管中,在80 °C水浴中热裂解15 min,随后低速离心,取上清液作为PCR扩增的DNA模板。PCR扩增使用细菌通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGC TCAG-3')和1492R(5'-GGTTACCTGTTCAG CTT-3')^[20]。PCR反应体系(20 μL):Taq Mix 10 μL,上、下游引物(5 μmol/L)各1 μL, DNA模板1 μL, ddH₂O补足20 μL。PCR扩增程序:94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 共30个循环; 72 °C 10 min。

针对成功扩繁的AMF纯培养菌株,采用AMF特异性引物组合SSUmAf-LSUmAr和SSUmCf-LSUmBr^[21]对SSU-ITS-LSU rRNA基因片段进行巢式PCR扩增。这2对引物均为混合引物,其中SSUmAf(SSUmAf1、SSUmAf2)与LSUmAr(LSUMAr1-LSUmAr4)用于第一轮PCR,SSUmCf(SSUmCf1-SSUmCf3)和LSUmBr(LSUMBr1-LSUmBr5)用于第二轮PCR。AMF孢子DNA的提取方法、PCR反应体系及扩增程序均参照刘佳美的方法^[22]。

PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测确认后,送至生工生物工程(上海)股份有限公司

进行测序。获得的序列在NCBI数据库中进行BLAST比对(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),下载与目标序列相似性最高的已知物种作为参考序列。随后,利用IQ-TREE v1.6.12软件^[23],在最佳替代模型下构建最大似然系统发育树,以确定柴胡根际可培养促生微生物的分类地位。所有获得的序列均已提交至GenBank数据库并获得登录号。

1.5 PGPR菌株的功能潜力测定

吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)分泌能力测定:将初筛获得的具有潜在IAA分泌能力的PGPR菌株接种于金氏B液体培养基中,在28 °C、180 r/min培养24 h;培养结束后,采用Salkowski比色法测定上清液中IAA含量^[24]。解磷能力测定:将初筛获得的具有潜在有机磷或无机磷溶解能力的菌株分别点接于蒙金娜有机磷培养基和国际植物研究所磷酸盐生长培养基上,在28 °C培养7 d;培养结束后,测定菌落直径(*d*)和溶磷圈直径(*D*),并以溶磷指数 $[(D/d) \times 100\%]$ 评价菌株的磷溶解能力^[25];鉴于大部分无机磷菌株在固体培养基上未形成明显透明圈,进而采用钼锑抗比色法进行定量测定^[26]。固氮能力测定:将初筛获得的具有潜在固氮能力的菌株接种于含5 mL半固体无氮培养基的培养瓶中,在28 °C培养48 h;随后,使用无菌注射器抽取培养瓶内1 mL气体,并注入等体积乙炔气体,继续培养48 h;培养结束后,取100 μL瓶内气体注入气相色谱仪,采用乙炔还原法测定菌株固氮酶活性^[27]。上述各项功能测定均设置3个生物学重复。

1.6 柴胡根际促生菌对柴胡的促生作用

为评估优良PGPR和AMF对柴胡生长的促进效应,在温室条件下开展微生物接种试验。试验设置4个处理:未接种对照、单接PGPR、单接AMF以及PGPR和AMF联合接种,每个处理设置6个重复,共24盆。

盆栽基质为采自柴胡种植区的林下山地表

层土壤, 未经灭菌处理, 每盆装填 1.3 kg 土壤。PGPR 接种物由 1.5 节筛选获得的 4 株高效 PGPR 组成, 分别代表 IAA 分泌、解有机磷、解无机磷和固氮能力最强的菌株。各菌株经摇瓶扩大培养后 4 000 r/min 离心 10 min 收集菌体, 使用无菌水洗涤并重悬, 将菌液浓度统一调整至 1×10^8 CFU/mL, 按等体积混合制备 PGPR 复合接种液。PGPR 处理组按 10 mL/盆施加接种液, 对照处理施加等体积无菌水。

AMF 接种物由分离纯化获得的 AMF 菌株分别经扩大培养后混合制备(培养方法同 1.3 节, 接种物为单孢诱导培养成功的 AMF 培养物, 花盆容积 3 L)。根据基质中孢子密度按比例混合, 制备 AMF 复合菌剂。AMF 处理每盆施加约 1 000 个 AMF 孢子, 其中每种 AMF 孢子各约 500 个。对照处理每盆加入等量经灭菌处理的 AMF 菌剂, 并额外补加 100 mL AMF 菌剂滤液(水:菌剂=2:1, 经 38 μ m 孔径筛过滤以去除 AMF 孢子), 以排除非 AMF 微生物的影响。

柴胡种子经表面消毒后催芽并播种于花盆中, 出苗 2 周后每盆保留 10 株幼苗。花盆在温室内随机摆放并进行常规水分管理。植物生长 16 周后收获柴胡植株。地上部分于 80 $^{\circ}$ C 烘干至恒重, 称重后粉碎用于测定地上组织氮、磷浓度。根系洗净后使用扫描仪(Epson 公司)成像, 并利用 WinRHIZO Pro v.2020 软件(Regent Instruments Inc. 公司)分析根系性状, 随后烘干测定地下生物量。

1.7 数据处理

本研究所有数据的统计分析作图均在 R v4.2.3 软件中完成, 采用 stats 包进行单因素方差分析, 检验不同 PGPR 菌株在 IAA 分泌、解磷和固氮能力, 以及不同接种处理下柴胡生物量、根系性状和组织氮、磷浓度的差异, 并使用 agricolae 包进行 Tukey's HSD 事后多重比较。所有统计检验的显著性水平均设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 柴胡根际促生菌的分离培养及分子鉴定

利用 4 种选择性培养基, 从柴胡根际土壤中共分离获得 28 株 PGPR。基于 16S rRNA 基因序列的分子鉴定和系统发育分析, 这些菌株共隶属于 25 个物种(图 1)。在功能类型上, 分离菌株中 IAA 分泌菌有 8 种, 溶解有机磷菌有 7 种, 溶解无机磷菌有 6 种, 固氮菌有 7 种。在门水平, 分离获得的 PGPR 主要隶属于放线菌门(*Actinomycetota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)和芽孢杆菌门(*Bacillota*), 分别占总分离菌株的 46.43%、39.29% 和 14.28%。在属水平, 链霉菌属(*Streptomyces*)占优势地位, 占 PGPR 总分离菌株的 21.43%, 其次为无氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*), 占比为 10.72%。

在柴胡根际土壤中共观察到 7 类典型的 AMF 孢子形态类型。通过单孢扩繁技术成功分离获得 7 个 AMF 纯培养物。基于 SSU-ITS-LSU rRNA 基因序列的分子鉴定结果表明, 这些纯培养物属于 2 种 AMF, 分别为摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*)和幼套内养囊霉(*Entrophospora etunicata*) (图 2)。

2.2 PGPR 的性能及优良菌株筛选

所有 IAA 分泌菌株均检测到 IAA 产生能力, 其分泌浓度范围为 5.96–30.90 μ g/mL (表 1)。其中, 抗生素溶杆菌(*Lysobacter antibioticus*) K-7 的 IAA 分泌能力最强。解有机磷菌株的溶磷指数介于 110.67%–239.00% 之间, 德国鸢尾假单胞菌(*Pseudomonas germanica*) M-7 表现出最高的有机磷溶解能力(表 1)。无机磷溶解菌培养液中的可溶性磷浓度为 0.49–0.98 μ g/mL, 其中类棒杆菌红球菌(*Rhodococcus corynebacterioides*) N-8 表现出较强的无机磷溶解能力(表 1)。乙炔还原实验结果显示, 所有候选固氮菌株均检测到乙炔还原活性, 乙烯生成速率介于 0.71–8.19 nmol C₂H₄/(h·mL)之间(表 1)。其中, 地钱甲基杆菌

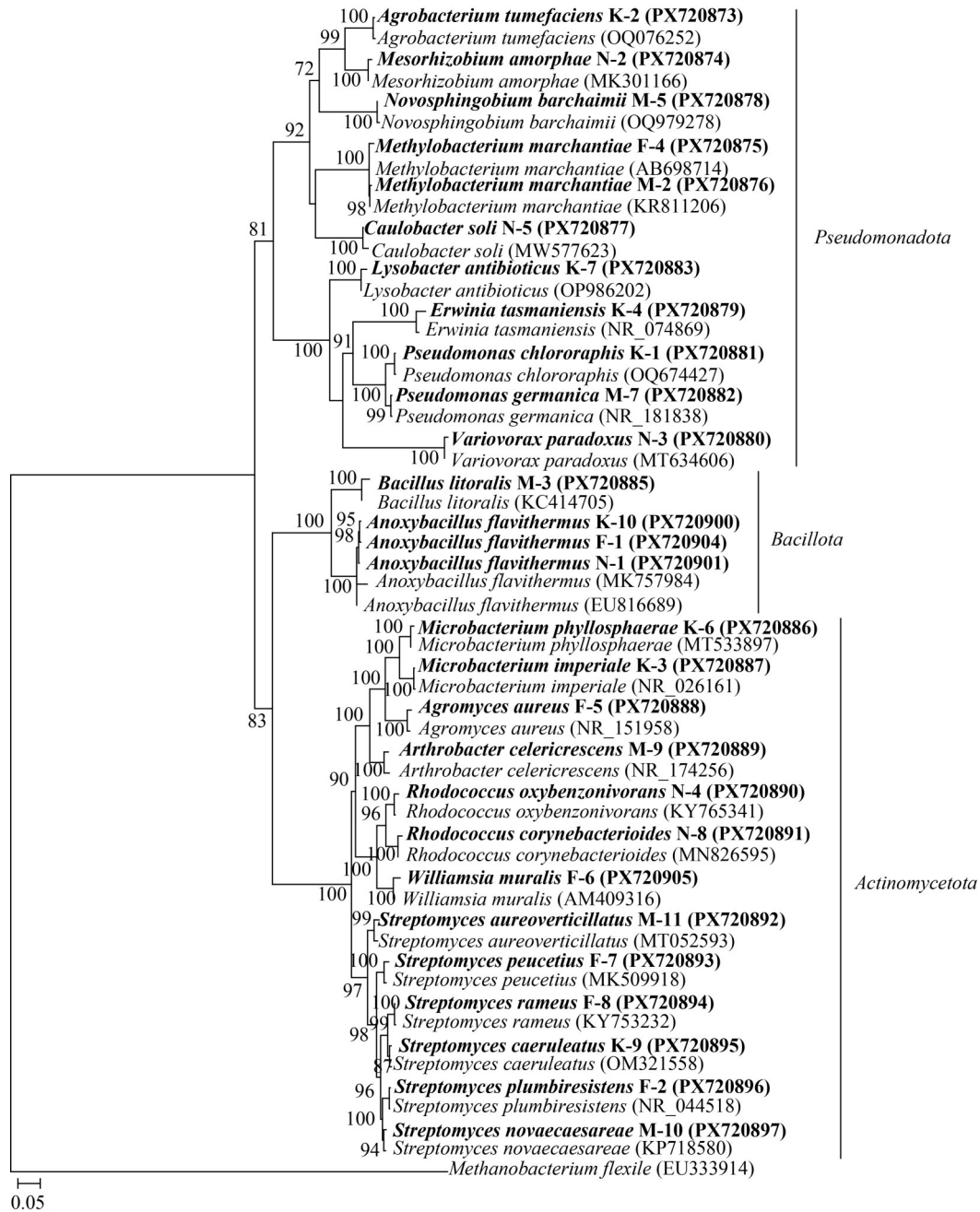


图1 本研究获得的柴胡根际促生细菌基于16S rRNA基因序列构建的最大似然系统发育树

Figure 1 The maximum-likelihood phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of plant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of *Bupleurum chinense*. The species names and strain numbers in bold correspond to those obtained in this study, with species names representing the molecularly identified species and K-2, N-2, etc. referring to the strain numbers. The GenBank accession numbers are shown in parentheses. Numbers at the nodes indicate bootstrap support values, and the scale bar represents 0.05 nucleotide substitutions per site. The vertical line area on the right side of the phylogenetic tree indicates the categories of each terminal branch at the phylum level.

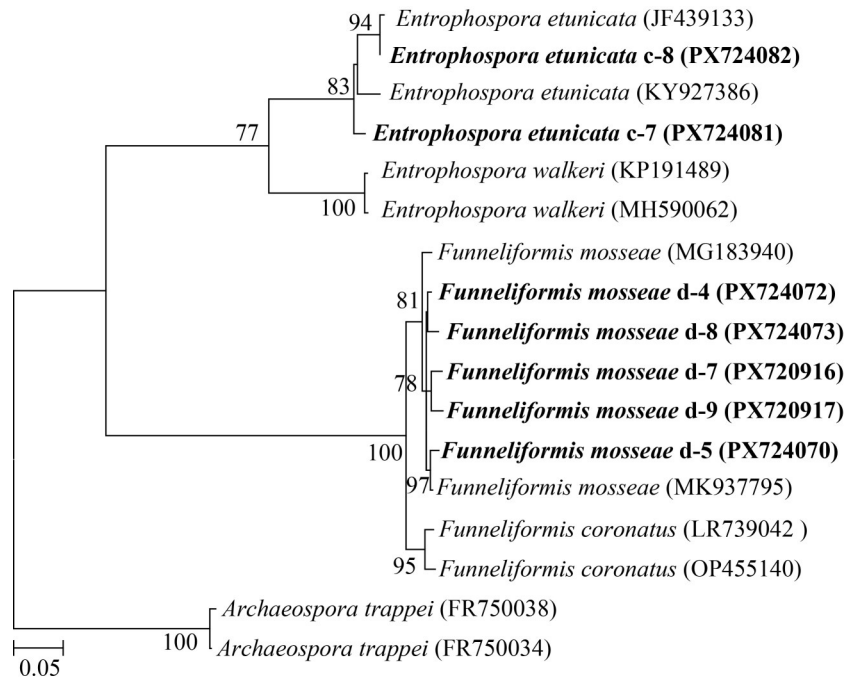


图2 本研究获得的柴胡根际AMF基于SSU-ITS-LSU区段序列构建的最大似然系统发育树

Figure 2 The maximum-likelihood phylogenetic tree based on the SSU-ITS-LSU sequences of AMF isolated from the rhizosphere of *Bupleurum chinense*. The species names and strain numbers in bold correspond to those obtained in this study, with species names representing the molecularly identified species and c-8, c-7, etc. referring to the strain numbers. The GenBank accession numbers are shown in parentheses. Numbers at the nodes indicate bootstrap support values, and the scale bar represents 0.05 nucleotide substitutions per site.

(*Methylobacterium marchantiae*) F-4 的乙炔还原活性最高, 表明其具有较强的潜在固氮能力。

综合各菌株在 IAA 分泌、解磷及固氮相关功能指标上的表现, 最终筛选出抗生素溶杆菌 (*Lysobacter antibioticus*) K-7、德国鸢尾假单胞菌 (*Pseudomonas germanica*) M-7、类棒杆菌红球菌 (*Rhodococcus corynebacterioides*) N-8 和地钱甲基杆菌 (*Methylobacterium marchantiae*) F-4 作为促生功能潜力较强的 PGPR 菌株, 用于后续柴胡促生效应的评价。

2.3 柴胡根际促生菌对柴胡的协同促生作用

单独接种 PGPR 或 AMF 均轻微促进柴胡生长, 但对地上、地下及总生物量的提升未达到

显著水平(图 3A–3C)。然而, PGPR 和 AMF 联合接种显著提高了柴胡地上、地下和总生物量, 相较于对照, 增幅分别为 95.28%、505.38% 和 167.19%, 其中对地下生物量的促进效应尤为显著(图 3A–3C)。联合接种显著改变了柴胡的生物量分配和根系构型, 表现为柴胡根冠比上升而比根长下降(图 3D、3E)。在养分吸收方面, 联合接种显著提高了柴胡组织磷浓度, 从而导致地上部组织氮磷比显著降低(图 3F)。

3 讨论与结论

本研究以药用植物柴胡为研究对象, 采用传统微生物培养技术对其根际促生微生物进行系统分离与鉴定, 共获得 25 种 PGPR 和 2 种 AMF。分离获得的 PGPR 隶属于 3 门 17 属, 表

表1 柴胡根际促生细菌的性能评估

Table 1 Functional characterization of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from the rhizosphere of *Bupleurum chinense*

PGPR performance parameters	Strains	Results	
IAA concentration ($\mu\text{g/mL}$)	K-1 (<i>Pseudomonas chlororaphis</i>)	5.96 \pm 0.16b	
	K-2 (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)	6.85 \pm 0.44b	
	K-3 (<i>Microbacterium imperiale</i>)	25.80 \pm 2.33ab	
	K-4 (<i>Erwinia tasmaniensis</i>)	12.70 \pm 0.37ab	
	K-6 (<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>)	21.34 \pm 0.63ab	
	<u>K-7 (<i>Lysobacter antibioticus</i>)</u>	<u>30.90\pm1.00a</u>	
	K-9 (<i>Streptomyces caeruleatus</i>)	16.42 \pm 2.87ab	
	K-10 (<i>Anoxybacillus flavithermus</i>)	10.04 \pm 1.56ab	
	Organic P solubilization index (%)	M-2 (<i>Methylobacterium marchantiae</i>)	118.67 \pm 4.10ab
		M-3 (<i>Bacillus litoralis</i>)	119.00 \pm 5.00ab
M-5 (<i>Novosphingobium barchaimii</i>)		120.67 \pm 5.81ab	
<u>M-7 (<i>Pseudomonas germanica</i>)</u>		<u>239.00\pm10.03a</u>	
M-9 (<i>Arthrobacter celericrescens</i>)		125.33 \pm 5.78ab	
M-10 (<i>Streptomyces novaecaesareae</i>)		144.33 \pm 8.09ab	
M-11 (<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>)		110.67 \pm 0.33b	
Inorganic P concentration ($\mu\text{g/mL}$)	N-1 (<i>Anoxybacillus flavithermus</i>)	0.60 \pm 0.05bc	
	N-2 (<i>Mesorhizobium amorphae</i>)	0.49 \pm 0.02c	
	N-3 (<i>Variovorax paradoxus</i>)	0.72 \pm 0.03bc	
	N-4 (<i>Rhodococcus oxybenzonivorans</i>)	0.84 \pm 0.05ab	
	N-5 (<i>Caulobacter soli</i>)	0.78 \pm 0.03ab	
	<u>N-8 (<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>)</u>	<u>0.98\pm0.04a</u>	
	Acetylene reduction activity [nmol C ₂ H ₄ / (h·mL)]	F-1 (<i>Anoxybacillus flavithermus</i>)	0.81 \pm 0.07b
		F-2 (<i>Streptomyces plumbiresistens</i>)	2.93 \pm 0.16b
<u>F-4 (<i>Methylobacterium marchantiae</i>)</u>		<u>8.19\pm1.58a</u>	
F-5 (<i>Agromyces aureus</i>)		3.37 \pm 1.29b	
F-6 (<i>Williamsia muralis</i>)		2.25 \pm 1.27b	
F-7 (<i>Streptomyces peucetius</i>)		0.75 \pm 0.02b	
F-8 (<i>Streptomyces rameus</i>)		0.71 \pm 0.12b	

The performance parameters of each strain are shown as the mean \pm SE. Within the same functional group, different lowercase letters indicate significant differences among strains ($P<0.05$). The strains with the highest functional activities in each group are shown by underlining.

明柴胡根际可培养促生细菌在系统发育组成上具有较高多样性。在本研究中，链霉菌属 (*Streptomyces* spp.) 和无氧芽孢杆菌属

(*Anoxybacillus* spp.)的菌株分离频率较高，是主要优势类群。已有研究表明，这2个属的微生物在多种植物根际中普遍具有促生潜力，可通

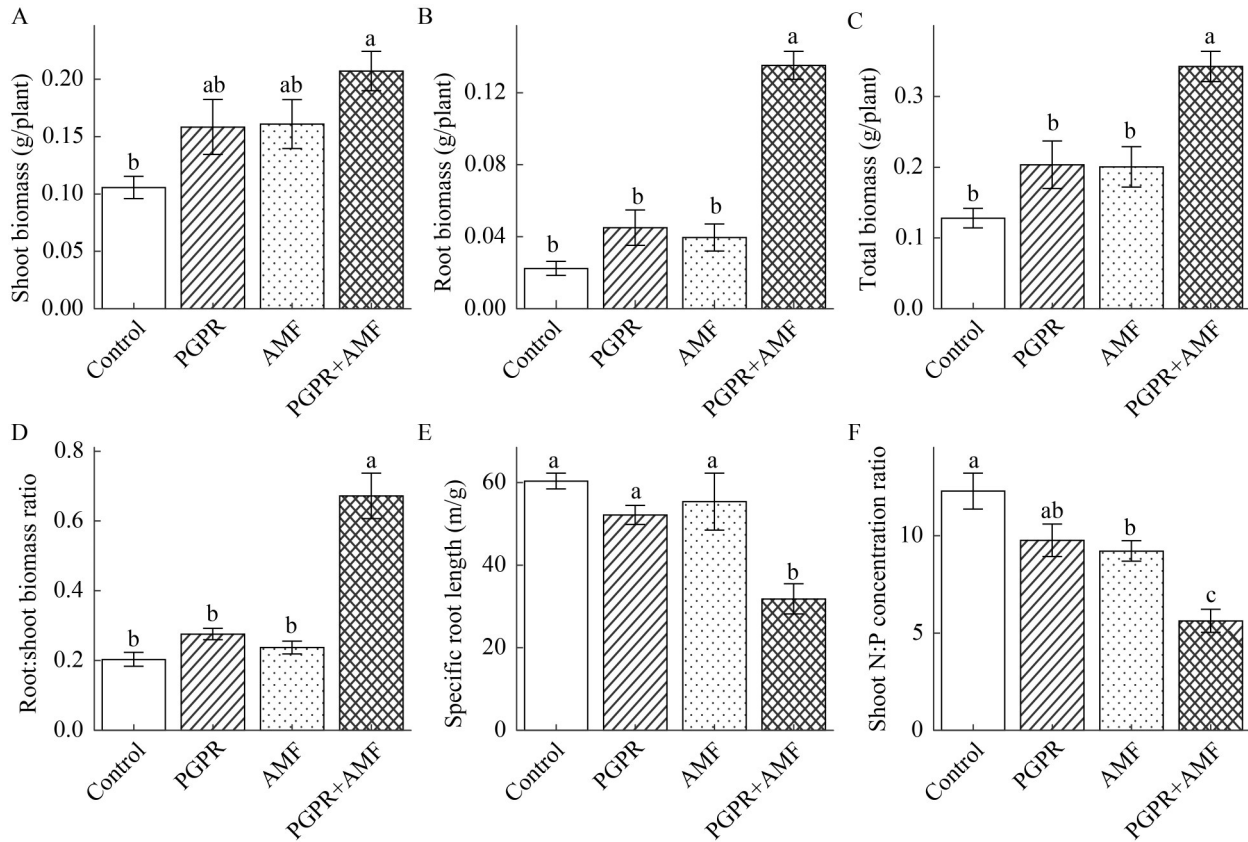


图3 接种根际促生微生物对柴胡生物量、根冠比、比根长和地上组织氮磷比的影响

Figure 3 Effects of rhizosphere microbial inoculation on the biomass, root:shoot biomass ratio, specific root length, and shoot N:P concentration ratio of *Bupleurum chinense*. Control, PGPR, AMF, and PGPR+AMF represent non-inoculated, PGPR inoculated, AMF inoculated, and PGPR and AMF co-inoculated treatments, respectively. Values are presented as mean±SE. Different letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

过改善养分供应、分泌促生物质或抑制病原微生物来促进植物生长^[28-29]。

本研究发现, 抗生素溶杆菌 (*Lysobacter antibioticus*) K-7、德国鸢尾假单胞菌 (*Pseudomonas germanica*) M-7、类棒杆菌红球菌 (*Rhodococcus corynebacterioides*) N-8 和地钱甲基杆菌 (*Methylobacterium marchantiae*) F-4 分别在 IAA 分泌、有机磷溶解、无机磷溶解和固氮能力方面表现最为突出, 显示出良好的植物促生潜力。关于这些优势 PGPR 菌株的功能特性, 已有部分研究报道了其促生作用及应用价值。例如, Daid 等^[30]研究表明, 抗生素溶杆菌

(*Lysobacter antibioticus*) 具有 IAA 合成、溶磷及纤维素水解等多种功能, 能够显著促进玉米 (*Zea mays* L.) 生长并提高田间产量。假单胞菌属 (*Pseudomonas* spp.) 中的多种菌株已被证实具备有机磷矿化或无机磷溶解能力^[31], 然而关于德国鸢尾假单胞菌 (*Pseudomonas germanica*) 溶磷作用的研究迄今尚未见报道。本研究证实该菌株具有较强的有机磷溶解能力, 暗示其可能通过分泌磷酸酶等途径参与有机磷的转化, 其具体作用机理仍有待深入阐明。此外, Khan 等^[32]发现, 类棒杆菌红球菌 (*Rhodococcus corynebacterioides*) 可通过提升红树林幼苗 (*Avicennia marina*) 根际土

壤中磷酸酶活性改善土壤养分循环, 从而促进幼苗在柴油胁迫条件下的生长。晁红军等^[33]的研究表明, 许多甲基杆菌(*Methylobacterium* spp.) 能够以 N₂ 作为氮源, 具有固氮潜力。本研究中分离获得的地钱甲基杆菌(*Methylobacterium marchantiae*) 同样表现出较强的固氮能力, 并兼具有机磷溶解功能, 显示出其在养分受限土壤条件下的潜在应用价值。

大量研究表明, 单独接种 PGPR 或 AMF 可显著促进玉米、藏红花(*Crocus sativus* L.)、棉花(*Gossypium hirsutum* L.) 等植物的生长^[30,34-35]。在本研究中, 尽管单独接种 PGPR 或 AMF 略微促进了柴胡的生长, 但未达到统计显著水平, 这可能与柴胡的特定生理特点或土壤条件有关(本研究使用的是未灭菌的林地土)。尽管如此, 当 PGPR 和 AMF 联合接种时柴胡的总生物量相较于未接种处理增幅达 1.67 倍, 地下生物量的增幅更高达 5.05 倍, 表明这两类促生菌之间存在明显的协同增效作用。Duan 等^[36]提出的植物-AMF-细菌三界互作连续体理论认为, AMF 通过菌丝网络为细菌提供植物源碳, 而细菌则通过分泌胞外酶促进养分转化, 从而协同提升植物生产力和系统稳定性。Zhang 等^[37]证实, AMF 可选择性招募菌根辅助细菌, 通过促进 AMF 菌丝定殖间接增强植物对磷素的获取, 且联合接种的促生效应显著优于单一接种。此外, Wang 等^[38]的研究表明, PGPR 可诱导植物根系类黄酮的积累, 而类黄酮已被证明能够促进 AMF 孢子萌发及菌丝在根系中的定殖。因此, PGPR 可能通过调控根系分泌物组成间接促进 AMF 的定殖过程。本研究还发现, PGPR 和 AMF 联合接种显著改变了柴胡根系的形态特征, 表现为比根长降低; 该结果与 de Vries 等^[39]的研究一致, 反映了在有益微生物参与下, 植物根系由“资源获取型”向“资源保守型”策略转变的过程, 也暗示了在联合接种情况下植物的养分限制得到了很大程度的缓解。由于本研究的 PGPR 为各种功能细菌的混合菌剂, 到底是哪类

或哪种细菌和 AMF 具有显著的协同增效作用仍有待进一步阐明。

综上所述, 本研究对柴胡根际 PGPR 和 AMF 进行了同步分离与鉴定, 获得了 25 种 PGPR 和 2 种 AMF 纯培养菌株, 并筛选出 4 株具有较强促生潜力的 PGPR 菌株。盆栽试验进一步证实, PGPR 和 AMF 联合接种能够协同促进柴胡生长和养分吸收。本研究为利用微生物技术改善柴胡生长、推动其生态化栽培提供了重要的菌种资源和理论依据。未来研究应进一步从温室条件拓展至田间尺度, 开发适宜田间应用的 PGPR-AMF 复合菌剂, 并结合基因组学、转录组学和代谢组学等多组学手段, 深入解析微生物调控柴胡生长的分子机制, 为柴胡的可持续生产提供更加坚实的理论基础和技术支撑。

作者贡献声明

余晶: 论文撰写, 数据收集及分析; 马亚秀: 论文修改, 数据收集; 曾静: 论文修改; 刘永俊: 实验与论文指导、修改润色, 获取基金。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典—一部: 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 293-293.
- [2] Lv GS, Li ZH, Zhao ZY, Liu HL, Li L, Li MH. The factors affecting the development of medicinal plants from a value chain perspective[J]. *Planta*, 2024, 259(5): 108.
- [3] Zhang Z, Wei JH, Yang CM, Chen HQ, Sui C, Gao ZH. First report of *Alternaria* leaf blight on *Bupleurum chinense* caused by *Alternaria alternata* in China[J]. *Plant Disease*, 2010, 94(7): 918.
- [4] Liu L, Cao HL, Geng YN, Zhang QF, Bu X, Gao DM. Response of soil microecology to different cropping practice under *Bupleurum chinense* cultivation[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22: 223.
- [5] Yadav P, Ansari MW, Saini S, Punia S, Kaula BC, Rani V, Gill SS, Tuteja N. Review and future prospects on the impact of abiotic stresses and tolerance strategies in medicinal and aromatic plants[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2024, 47(3): 683-701.

- [6] 康传志, 刘思奇, 韩邦兴, 周涛, 王晓, 刘大会, 杨野, 郭兰萍. 中药生态农业的发展目标及策略[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(1): 42-47.
Kang CZ, Liu SQ, Han BX, Zhou T, Wang X, Liu DH, Yang Y, Guo LP. Development goals and strategies of ecological agriculture of Chinese materia Medica[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025, 50(1): 42-47 (in Chinese).
- [7] Compant S, Cassan F, Kostić T, Johnson L, Brader G, Trognitz F, Sessitsch A. Harnessing the plant microbiome for sustainable crop production[J]. Nature Reviews Microbiology, 2025, 23(1): 9-23.
- [8] Lugtenberg B, Kamilova F. Plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 2009, 63: 541-556.
- [9] Smith SE, Read D. Mycorrhizal Symbiosis[M]. London: Academic Press, 2008: 13-41.
- [10] De Andrade LA, Santos CHB, Frezarin ET, Sales LR, Rigobelo EC. Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production[J]. Microorganisms, 2023, 11(4): 1088.
- [11] Smith SE, Smith FA. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales[J]. Annual Review of Plant Biology, 2011, 62: 227-250.
- [12] 武娜, 马潇, 杨玲霞, 罗兴平. 柴胡药用植物资源研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(21): 61-70.
Wu N, Ma X, Yang LX, Luo XP. Research progress on medical plant resources of *Bupleurum chinense*[J]. Chinese Journal of Ethnopharmacology, 2023, 32(21): 61-70 (in Chinese).
- [13] Xiao ZY, Liu Y, Sun YP, Liu Y, Yang BY, Kuang HX. A new alkaloid from the aerial parts of *Bupleurum chinense* DC.[J]. Chemistry & Biodiversity, 2020, 17(3): e1900697.
- [14] Wang XM, Li SS, Yu JY, Wang WL, Du ZQ, Gao SC, Ma Y, Tang RX, Liu T, Ma SP, Fu Q, Deng XY. Saikosaponin B2 ameliorates depression-induced microglia activation by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation and ER stress[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 316: 116729.
- [15] Klopper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Nature, 1980, 286(5776): 885-886.
- [16] Sperber JI. Solution of mineral phosphates by soil bacteria[J]. Nature, 1957, 180(4593): 994-995.
- [17] Nautiyal CS. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms[J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 170(1): 265-270.
- [18] Dobereiner J, Marriell IE, Nery M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1976, 22(10): 1464-1473.
- [19] Brundrett M, Melville L, Peterson L. Practical Methods in Mycorrhiza Research[M]. Canada: Mycologue publications, 1994: 36-39.
- [20] Lane DJ. 16S/23S rRNA Sequencing. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics[M]. New York : John Wiley & Sons, 1991: 115-175.
- [21] Krüger M, Stockinger H, Krüger C, Schüßler A. DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 2009, 183(1): 212-223.
- [22] 刘佳美. 青藏高原AM真菌孢子的密度、种类资源及萌发研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2024.
Liu JM. The density, species resources, and germination of arbuscular mycorrhizal fungal spores on the Xizang Plateau[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2024 (in Chinese).
- [23] Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 32(1): 268-274.
- [24] Rahman A, Sitepu IR, Tang SY, Hashidoko Y. Salkowski's reagent test as a primary screening index for functionalities of rhizobacteria isolated from wild dipterocarp saplings growing naturally on medium-strongly acidic tropical peat soil[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2010, 74(11): 2202-2208.
- [25] 冯哲叶, 陈莎莎, 王文超, 杨华, 邓照亮, 李真, 王世梅, 徐阳春. 几株溶磷细菌的筛选和鉴定及其溶磷效果[J]. 南京农业大学学报, 2017, 40(5): 842-849.
Feng ZY, Chen SS, Wang WC, Yang H, Deng ZL, Li Z, Wang SM, Xu YC. Screening and identification of several phosphate-solubilizing bacteria and effect of their P-solubility[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2017, 40(5): 842-849 (in Chinese).
- [26] Gupta R, Singal R, Shankar A, Kuhad RC, Saxena RK. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 1994, 40(3): 255-260.
- [27] Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation[J]. Plant Physiology, 1968, 43(8): 1185-1207.
- [28] Nazari MT, Schommer VA, Braun JCA, dos Santos LF, Lopes ST, Simon V, Machado BS, Ferrari V, Colla LM, Piccin JS. Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents[J]. Rhizosphere, 2023, 27: 100741.
- [29] Da Rosa DF, Macedo AJ. The genus *Anoxybacillus*: an emerging and versatile source of valuable biotechnological products[J]. Extremophiles, 2023, 27(3): 22.
- [30] Dai ZL, Ahmed W, Yang J, Yao XY, Zhang JH, Wei LF, Ji GH. Seed coat treatment by plant-growth-promoting rhizobacteria *Lysobacter antibioticus* 13-6 enhances maize yield and changes rhizosphere bacterial communities[J]. Biology and Fertility of Soils, 2023, 59(3): 317-331.
- [31] Alori ET, Glick BR, Babalola OO. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 971.
- [32] Khan AL, Numan M, Bilal S, Asaf S, Crafword K, Imran M, Al-Harrasi A, Al-Sabahi JN, Rehman NU, A-Rawahi A, Lee IJ. Mangrove's rhizospheric engineering with bacterial inoculation improve degradation of diesel contamination[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 423: 127046.

- [33] 晁红军, 宋修鹏, 孙继华, 申佩弘, 武波. 甲基营养菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(11): 1727-1737.
Chao HJ, Song XP, Sun JH, Shen PH, Wu B. Advances in methylotrophy[J]. *Microbiology China*, 2009, 36(11): 1727-1737 (in Chinese).
- [34] Chamkhi I, Sbabou L, Aurag J. Improved growth and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) in the field conditions through inoculation with selected native plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 197: 116606.
- [35] Peng ZC, Zulfiqar T, Yang HC, Wang M, Zhang FH. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on photosynthetic characteristics of cotton seedlings under saline-alkali stress[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 8633.
- [36] Duan SL, Feng G, Limpens E, Bonfante P, Xie XN, Zhang L. Cross-kingdom nutrient exchange in the plant-arbuscular mycorrhizal fungus-bacterium continuum[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2024, 22(12): 773-790.
- [37] Zhang CF, van der Heijden MGA, Dodds BK, Nguyen TB, Spooren J, Valzano-Held A, Cosme M, Berendsen RL. Correction: a tripartite bacterial-fungal-plant symbiosis in the mycorrhiza-shaped microbiome drives plant growth and mycorrhization[J]. *Microbiome*, 2024, 12: 30.
- [38] Wang LX, Chen MX, Lam PY, Dini-Andreote F, Dai L, Wei Z. Multifaceted roles of flavonoids mediating plant-microbe interactions[J]. *Microbiome*, 2022, 10: 233.
- [39] De Vries J, Evers JB, Kuyper TW, van Ruijven J, Mommer L. Mycorrhizal associations change root functionality: a 3D modelling study on competitive interactions between plants for light and nutrients[J]. *New Phytologist*, 2021, 231(3): 1171-1182.