

# 菘蓝内生细菌对其生长生理及药用品质的影响

胡雨沁<sup>1</sup>, 孙莉琼<sup>1</sup>, 李晓帆<sup>2</sup>, 杜岳阳<sup>2</sup>, 唐晓清<sup>1\*</sup>, 王康才<sup>1</sup>

1 南京农业大学 园艺学院, 江苏 南京

2 苏州聚鑫堂药业有限公司, 江苏 常熟

胡雨沁, 孙莉琼, 李晓帆, 杜岳阳, 唐晓清, 王康才. 菘蓝内生细菌对其生长生理及药用品质的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(10): 4488-4503.

HU Yuqin, SUN Liqiong, LI Xiaofan, DU Yueyang, TANG Xiaoping, WANG Kangcai. Effects of endophytic bacteria on the growth and medicinal quality of *Isatis indigotica* Fort.[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(10): 4488-4503.

**摘要:**【目的】从菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)根中分离内生菌, 研究内生菌对菘蓝生长生理及药用品质的影响, 为其栽培生产中微生物调控提供参考。【方法】选择相应的培养基分析内生菌的促生活性; 随后进行盆栽试验, 选取3株具促生作用的内生菌(*Bacillus* sp. BC00、*Bacillus* sp. BV11、*Pseudomonas* sp. PA28)单施菘蓝4次, 最后一次处理后不同时间测定叶片的相关生理指标, 并于采收期测定其根与叶的生长生理、活性成分等指标。【结果】各处理组菘蓝叶的光合色素含量、营养代谢酶活性在每个时间点均高于对照组。3株内生菌对其生长和生物量积累均有显著促进作用, 其中BC00对地上部分干重的促进效果最佳, 与对照相比提升了74.16%; BV11对地下部分干重的促进效果最显著, 与对照相比提升了216.02%。内生菌处理对其内源激素和可溶性物质含量有显著影响。3株内生菌对活性成分的影响各有不同, BC00与对照相比靛蓝和(R,S)-告依春含量分别增加了7.83%和5.64%; BV11的靛蓝和(R,S)-告依春含量略低于对照, 但处理组各指标成分的总活性生物量均显著高于对照。【结论】菘蓝内生细菌BC00、BV11和PA28对其生长生理及活性成分均有显著促进作用, 其中BC00的综合促进效果最佳, 为后期研发有利于菘蓝生长的微生物菌肥提供了依据。

**关键词:** 菘蓝; 内生细菌; 促生能力; 生长生理; 活性成分; 药用品质

资助项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(zyyzdxk-2023293); 企业合作项目-中药材种植技术与基地建设指导(20231020)

This work was supported by the State Administration of Traditional Chinese Medicine High-level Key Discipline Construction Project of Traditional Chinese Medicine (zyyzdxk-2023293) and the Enterprise Cooperation Project-Guidance on Planting Technology and Base Construction of Traditional Chinese Medicine (20231020).

\*Corresponding author. E-mail: xqtang@njau.edu.cn

Received: 2025-03-13; Accepted: 2025-04-23; Published online: 2025-05-26

## Effects of endophytic bacteria on the growth and medicinal quality of *Isatis indigotica* Fort.

HU Yuqin<sup>1</sup>, SUN Liqiong<sup>1</sup>, LI Xiaofan<sup>2</sup>, DU Yueyang<sup>2</sup>, TANG Xiaoqing<sup>1\*</sup>, WANG Kangcai<sup>1</sup>

1 College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China

2 Suzhou Juxintang Pharmaceutical Limited Company, Changshu, Jiangsu, China

**Abstract:** [Objective] We isolated endophytes from the roots of *Isatis indigotica* Fort. and investigated the effects of endophytes on the growth, physiology, and medicinal quality of *I. indigotica*, aiming to provide a reference for microbial regulation of the cultivation and production of this plant. [Methods] The relevant culture media were selected to analyze the plant growth-promoting activities of the endophytes. Three endophyte strains (*Bacillus* sp. BC00, *Bacillus* sp. BV11, and *Pseudomonas* sp. PA28) were selected and applied singly to *I. indigotica* four times. The physiological indexes of the leaves were measured at different time points after the last treatment, and the growth and physiological indexes and the content of active ingredients of the roots and the leaves were measured at the harvesting stage. [Results] The photosynthetic pigment content and nutrient-metabolizing enzyme activities of *I. indigotica* leaves in each treatment group were higher than those in the control group at each time point. The three strains of endophytic bacteria significantly promoted the growth and biomass accumulation of *I. indigotica*. Strain BC00 had the best promoting effect on the dry weight of the above-ground part, which was increased by 74.16% compared with that of the control. Strain BV11 had the most significant promoting effect on the dry weight of the below-ground part, which was increased by 216.02% compared that of the control. The treatments with endophytic bacteria significantly affected the content of endogenous hormones and soluble substances. The three strains of endophytic bacteria had different effects on the active ingredients. Compared with the control, strain BC00 increased the content of indigo and epigoitrin by 7.83% and 5.64%, respectively, while strain BV11 slightly decreased the content of indigo and epigoitrin. The total active biomass of each index ingredient in the strain treatments was significantly higher than that of the control. [Conclusion] The endophytic bacterial strains BC00, BV11, and PA28 had significant promoting effects on the growth, physiological indexes, and active ingredients of *I. indigotica*, and strain BC00 demonstrated the best comprehensive promoting effect. The findings provide a basis for the later development of microbial fertilizers conducive to the growth of *I. indigotica*.

**Keywords:** *Isatis indigotica*; endophytic bacteria; plant growth-promoting ability; growth and physiology; active ingredients; medicinal quality

为了满足中药材日益增长的需求,我国逐步形成了以集约化生产及长期连作为特征的栽培模式,导致化肥农药的过量使用与管理不当现象普遍存在<sup>[1]</sup>。在农业农村部推行“化学农药

减量增效行动”政策<sup>[2]</sup>以及中药生态农业理念兴起的背景下<sup>[3]</sup>,微生物菌肥的应用研究逐渐成为热点。微生物菌肥是一类基于益生菌的生命活动及其代谢产物,在作物生长发育过程中发挥

特殊功效的微生物产品<sup>[4]</sup>。它可以通过提供营养成分、调控激素水平、激活免疫系统、调节土壤微生物群落结构等达到增产增效的目的<sup>[5]</sup>。目前,微生物菌肥的开发主要集中在植物根际促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)<sup>[6]</sup>,部分植物内生菌的研究也较多,但对菘蓝内生菌的研究较少。因此,研究菘蓝内生菌的促生作用,为开发针对菘蓝的微生物菌肥提供参考,进一步推动中药材产业的健康发展具有重要意义。

菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)为十字花科菘蓝属二年生草本植物,性寒,味苦,具有清热解毒、凉血消斑、利咽止痛的功效<sup>[7]</sup>。菘蓝含有生物碱类、硫代葡萄糖苷类和木脂素类等活性成分,具有抗病毒、抗菌、抗氧化、抗炎、抗内毒素等药理作用<sup>[8-10]</sup>。然而,目前栽培菘蓝病虫害较为严重,且存在连作障碍,阻碍了其生长<sup>[11]</sup>。国内外对菘蓝的研究主要集中在化学成分、药理药效等方面,对促进生长方面的研究较少。作为植物微生态系统中的重要组分,内生菌普遍存在于健康植株体内,能与宿主植物形成互惠共生关系,通常不会引起明显危害<sup>[12]</sup>。本研究以菘蓝为试验材料,分离筛选出具有促进生长和活性成分合成作用的内生细菌,探讨内生促生菌对其生长生理及药用品质的影响,以期为研制新型微生物菌肥及研发绿色高质量种植技术奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

目标内生细菌分离自苏州聚鑫堂药业有限公司常熟尚湖中药材基地的菘蓝;供试植物材料菘蓝角果源于山东产区,经鉴定为十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)。

### 1.2 菌株分离筛选与鉴定

将采集的鲜菘蓝植株根部用自来水清洗干净,无菌滤纸吸除表面水分,接着用 75% 乙醇

浸泡 30 s,用无菌水冲洗 3 次,再用 5% 的次氯酸钠浸泡 5 min,用无菌水冲洗 3 次,留下最后一次冲洗的无菌水作为空白对照。在超净工作台上用无菌镊子挑取经预处理和表面灭菌的根放入无菌培养皿中,剥皮后用适量无菌水研磨,将研磨液与空白对照无菌水分别接入 LB 固体培养基中 28 °C 培养 3 d,若对照培养基中无菌株长出,则说明根表面处理完全,分离培养基中的菌株即为菘蓝根内生菌,之后挑取单菌落划线培养,并多次纯化<sup>[13]</sup>。接着使用 Ashby 培养基<sup>[14]</sup>、硅酸盐细菌培养基<sup>[15]</sup>、PKO 无机磷培养基、蒙金娜有机磷培养基<sup>[16]</sup>和 CAS 培养基<sup>[17]</sup>,分别测定内生菌株的固氮、解钾、溶磷及产铁载体能力;采用 Salkowski 比色法分析产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)能力<sup>[18]</sup>。

使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)提取分离出内生菌株的染色体总 DNA,以菌株的总 DNA 为模板,使用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA G-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增,PCR 反应由北京擎科生物科技有限公司完成。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,切胶回收并将回收产物进行测序。测得菌株的 16S rRNA 基因序列基于 GenBank 数据库的 BLAST 功能对目标序列与数据库收录序列开展同源性分析,运用 MEGA 11 软件的 Kimura 2-parameter 模型计算 16S rRNA 基因相似性,并采用邻接法构建系统发育树。

### 1.3 菌悬液制备与盆栽试验设计

对目标内生细菌进行活化培养,将其接种至 LB 液体培养基,在 28 °C 恒温振荡培养箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司)中以 180 r/min 培养 72 h,4 000 r/min 离心 10 min 收集菌体,采用 PBS (pH 7.4)洗涤菌体 3 次<sup>[19]</sup>,然后以无菌水重悬至  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL,得单一菌悬液。

试验在南京农业大学园艺学院植物种植大

棚开展, 于 2024 年 4 月 6 日播种菘蓝, 基质为营养土、珍珠岩和蛭石(体积比为 5:3:2)<sup>[20]</sup>。共设置 4 个处理: 空白对照组(CK)不施加菌株, 实验组分别接种内生细菌 BC00、BV11、PA28。每个处理组 20 盆, 每盆定植 3 株, 分别于 6 月 1 日、7 月 4 日、8 月 2 日、9 月 17 日每株根灌菌悬液 10 mL, 对照组施加等量无菌水。

#### 1.4 光合色素测定

各处理组于各取样时间点(10、20、30、40、50 d)随机选取 3 株植株, 选择菘蓝由内至外第 3 轮功能叶片顶端 1/3 处, 采用乙醇提取法测定菘蓝叶片叶绿素 a、叶绿素 b 以及类胡萝卜素含量<sup>[21]</sup>。

#### 1.5 营养代谢关键酶活性测定

选取时间和叶片方式同 1.4 节, 使用菘蓝叶片蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)和硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)试剂盒(上海源叶生物科技有限公司)检测相应酶活性。

#### 1.6 光合参数测定

在天气晴朗、阳光充足的情况下, 于上午 9:00–11:00, 采用光合仪(LI-COR 公司)检测菘蓝自内向外展开第 3 轮功能叶片中上部的各项光合参数, 包括净光合速率(net photosynthetic rate,  $P_n$ )、气孔导度(stomatal conductance,  $G_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度(intercellular  $CO_2$  concentration,  $C_i$ )和蒸腾速率(transpiration rate,  $T_r$ ), 测定光照强度为  $1\ 200\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 每个处理重复 15 次。根据公式(1)计算水分利用率(water use efficiency, WUE)<sup>[22]</sup>。

$$\text{水分利用率} = \text{净光合速率} / \text{蒸腾速率} \quad (1)$$

#### 1.7 生长指标测定

于 11 月 28 日采收菘蓝, 随机选取植株留取鲜样于  $-80\ ^\circ\text{C}$  保存。测量其株高(基部到叶片顶端的长度)、叶片数、主根长、主根直径和侧根数, 称量地上部分鲜重和地下部分鲜重。置

于  $105\ ^\circ\text{C}$  烘箱中杀青 20 min, 随后  $60\ ^\circ\text{C}$  烘干至恒重, 称量地上部分和地下部分的干重, 并采用公式(2)计算根冠比。

$$\text{根冠比} = \text{地下部分干重} / \text{地上部分干重} \quad (2)$$

烘干后的叶和根分别粉碎后过 60 目筛, 备用<sup>[22]</sup>。

#### 1.8 可溶性物质含量测定

采用考马斯亮蓝 G-250 法<sup>[21]</sup>测定菘蓝叶和根可溶性蛋白含量。采用蒽酮比色法测定菘蓝叶和根可溶性糖和可溶性淀粉含量<sup>[23–24]</sup>。

#### 1.9 内源激素含量测定

采用酶联免疫法测定菘蓝叶和根吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、赤霉素(gibberellic acid 3,  $GA_3$ )、脱落酸(abscisic acid, ABA)和玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)的含量, ELISA 试剂盒购自上海源桔生物科技中心。

#### 1.10 活性成分含量测定

采用比色法测定总黄酮含量<sup>[25]</sup>。参照高效液相色谱法(《中国药典》通则 0512), 使用超高效液相色谱仪(Waters 公司)测定叶片中靛蓝、靛玉红含量以及根中(R,S)-告依春含量<sup>[7]</sup>, 并略作修改。分别以各标准物质峰面积( $Y$ )与含量( $X$ ,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )绘制标准曲线, 得到线性回归方程。(R,S)-告依春、靛蓝和靛玉红的回归方程分别为  $Y_1 = 114\ 606X_1 - 329\ 593$  ( $R^2 = 0.993$ ,  $n = 3$ , 线性范围为  $10 - 50\ \mu\text{g}/\text{mL}$ )、 $Y_2 = 53\ 275X_2 + 36\ 592$  ( $R^2 = 0.999\ 7$ ,  $n = 3$ , 线性范围为  $10 - 60\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ) 与  $Y_3 = 88\ 985X_3 + 11\ 542$  ( $R^2 = 0.999\ 4$ ,  $n = 3$ , 线性范围为  $2 - 40\ \mu\text{g}/\text{mL}$ )。

#### 1.11 相关性分析与综合分析

选取菘蓝的生理指标及其生长指标和活性成分, 采用 Pearson 相关系数分析方法进行相关性分析; 计算单株菘蓝地上、地下生物量与各自指标成分的乘积值, 综合分析 3 株内生菌是否促进其生长, 并筛选出优势内生菌。

#### 1.12 数据处理

数据采用 Microsoft Excel 2019 和 SPSS 27.0

进行统计分析, 利用 Duncan 新复极差法进行差异显著性检验, 显著水平为 0.05,  $P < 0.05$  表示有显著性差异, 使用 Origin 2024 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株鉴定及促生活性分析

经 16S rRNA 基因测序分析, 计算 16S rRNA 基因相似性, 并构建内生菌株的系统发育树(图 1)。菌株 BC00 与蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) RG04 的相似性为 100.00%, 菌株 BV11 与越南芽孢杆菌(*Bacillus vietnamensis*) KJ-W6 和 *B. vietnamensis* VITTJ10 的相似性分别为 99.05% 和 98.92%; 菌株 PA28 与阿根廷假单胞菌(*Pseudomonas argentinensis*) AFS086324 的相似性为 98.98%。结合系统发育树中的聚类关系, 3 株供试内生菌株初步鉴定为 *Bacillus* sp. BC00、

*Bacillus* sp. BV11 和 *Pseudomonas* sp. PA28 (菌株序列均已提交至 GenBank, 获得登录号分别为 PV249399、PV249400 和 PV249402)。

各内生菌株体外促生活性存在差异(表 1)。3 株内生细菌均具有固氮和产 IAA 的能力; BC00 兼具解钾、溶无机磷和产铁载体能力; BV11 兼具溶有机磷能力; PA28 兼具溶无机磷、溶有机磷和产铁载体能力。

### 2.2 菘蓝内生细菌对其叶片光合色素的影响

菘蓝内生细菌对其叶片光合色素含量有显著促进作用(图 2)。在各时间点, 各处理组对叶绿素 a 的促进作用趋势均为先上升后下降, 且在第 40 天影响最显著( $P < 0.05$ ); 各时间点 BC00 和 PA28 对叶绿素 b 的促进作用趋势均为先上升后

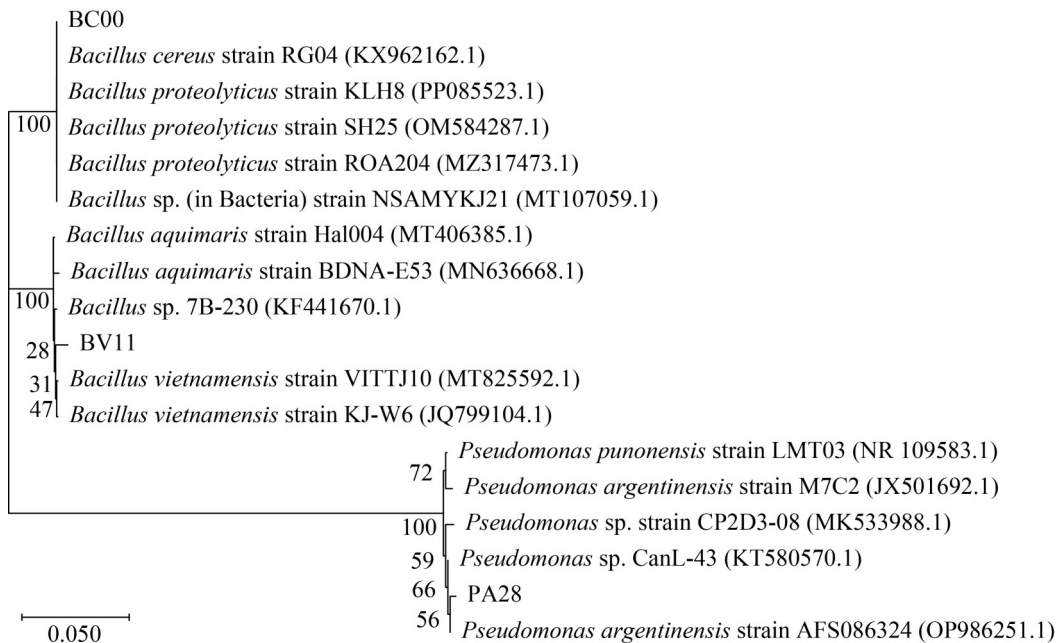


图1 内生菌株基于16S rRNA基因序列的系统发育树。分支长度表示基于邻接法计算得出的进化距离, 反映物种进化过程中积累的差异程度; 分支节点数值代表自展值, 用于评估分支的可信度。

Figure 1 Phylogenetic tree of endophytic strains based on 16S rRNA gene sequence. The branch length represents the evolutionary distance calculated by the neighbor-joining method, reflecting the degree of differences accumulated during species evolution; The numbers at the branch nodes represent bootstrap values, which are used to assess the credibility of the branches.

表1 内生菌株的体外促生活性

Table 1 *In vitro* life-promoting activity of endophytic strains

Strain	Nitrogen fixation	Potassium dissolution	Inorganic phosphorus dissolution	Organic phosphorus dissolution	Fe <sup>3+</sup> production	IAA production
BC00	+	+	+	-	+	+
BV11	+	-	-	+	-	+
PA28	+	-	+	+	+	+

+表示阳性反应；-表示阴性反应。

+: Indicates a positive reaction; -: Indicates a negative reaction.

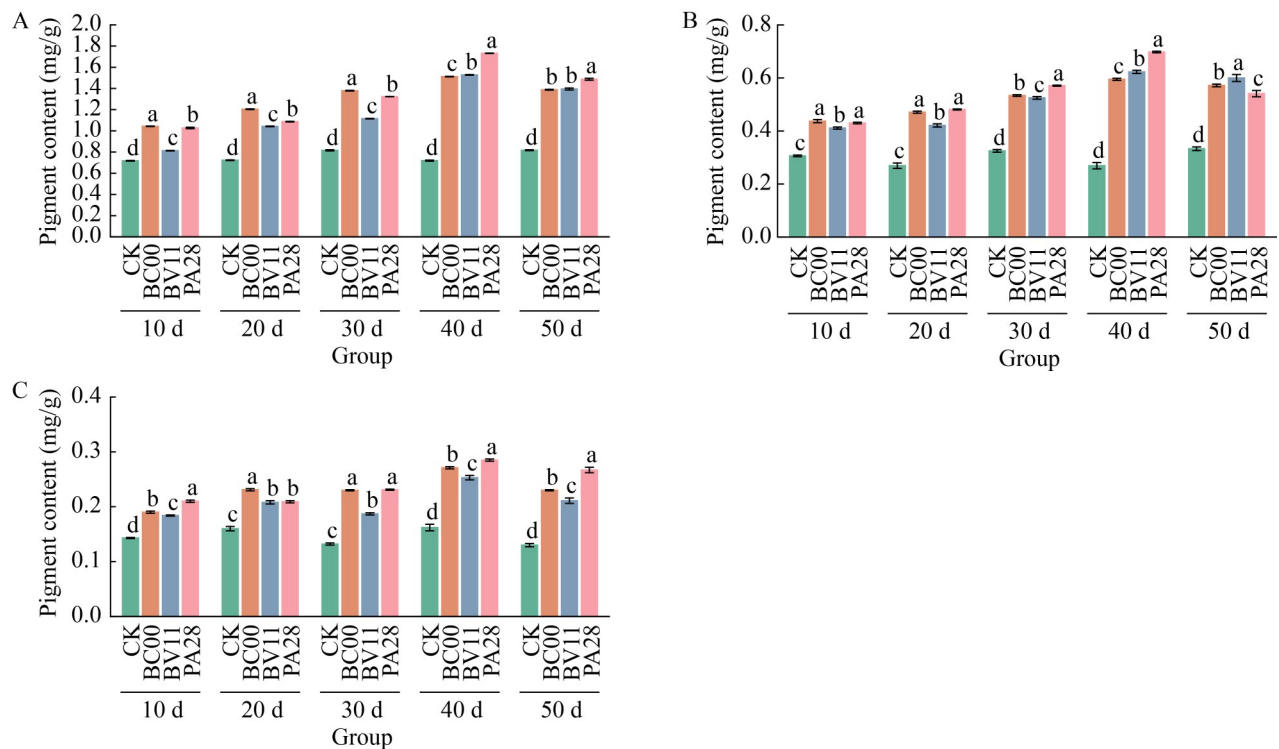


图2 不同内生菌处理后不同时间点菘蓝叶的光合色素含量(n=3)。A: 叶绿素a; B: 叶绿素b; C: 类胡萝卜素。不同颜色表示不同内生菌处理组; 不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Figure 2 Photosynthetic pigment content of *Isatis indigotica* leaves at different times after treatment with different endophytic bacteria (n=3). A: Chlorophyll a; B: Chlorophyll b; C: Carotenoids. Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences among treatments (P<0.05).

下降, 且在第 40 天影响最显著(P<0.05), BV11 在处理 30–50 d 呈上升后下降的趋势; 在各时间点, BC00 和 PA28 对类胡萝卜素的促进作用整体趋势为先上升后下降, 且在第 40 天影响最显著(P<0.05), BV11 呈上升-下降-上升-下降的趋势。综合分析内生细菌对总叶绿素含量的促

进作用(图 3), 处理后第 40 天促进效果最佳(P<0.05), 各处理组与 CK 相比分别提升了 2.13 倍、2.18 倍和 2.46 倍。

### 2.3 菘蓝内生细菌对其叶片营养代谢关键酶活性的影响

菘蓝内生细菌能显著提升其叶片相关营养

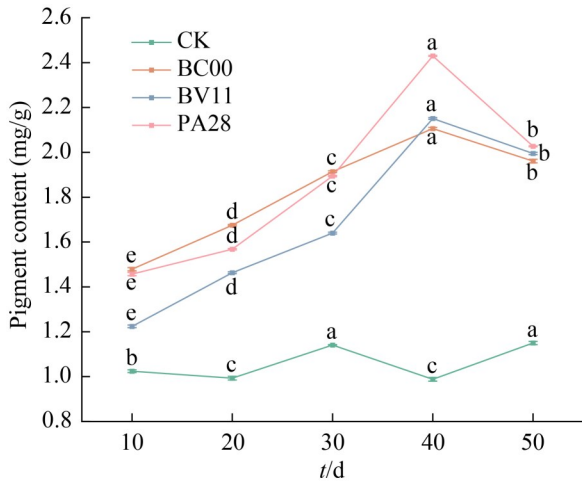


图3 不同内生菌处理后菘蓝的总叶绿素含量动态趋势( $n=3$ )。不同颜色表示不同内生菌处理组;不同小写字母表示组内差异显著( $P<0.05$ )。

Figure 3 The dynamic trend of total chlorophyll content of *Isatis indigotica* after treatment with different endophytic bacteria ( $n=3$ ). Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences within the group ( $P<0.05$ ).

代谢关键酶活性(图 4)。各处理组 SPS、NR 和 ACP 活性在最后一次处理后的各时间点均强于对照; BC00 和 PA28 的 SPS 活性在第 10 天分别提升了 3.67 倍和 5.25 倍;各处理组 NR 活性在第 30 天分别提升了 10.53 倍、5.26 倍和 4.80 倍; BV11 在处理第 50 天对 ACP 活性影响效果最显著( $P<0.05$ ), 提升了 1.71 倍。在各时间点, 各处理组的 NR 活性整体趋势均为下降后上升; BC00 对 SPS 活性影响整体趋势为先上升后下降; BV11 和 PA28 处理后对 ACP 活性影响均呈下降-上升-下降的趋势, 与 CK 趋势一致。

#### 2.4 菘蓝内生细菌对其光合参数的影响

菘蓝内生细菌能促进光合作用(表 2)。各处理组  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  和 WUE 均显著高于对照( $P<0.05$ ), 而  $C_i$  均显著低于对照( $P<0.05$ ); 其中, 除 WUE 为 PA28 处理组最高外, 其余光合参数均为 BV11 影响最显著( $P<0.05$ )。

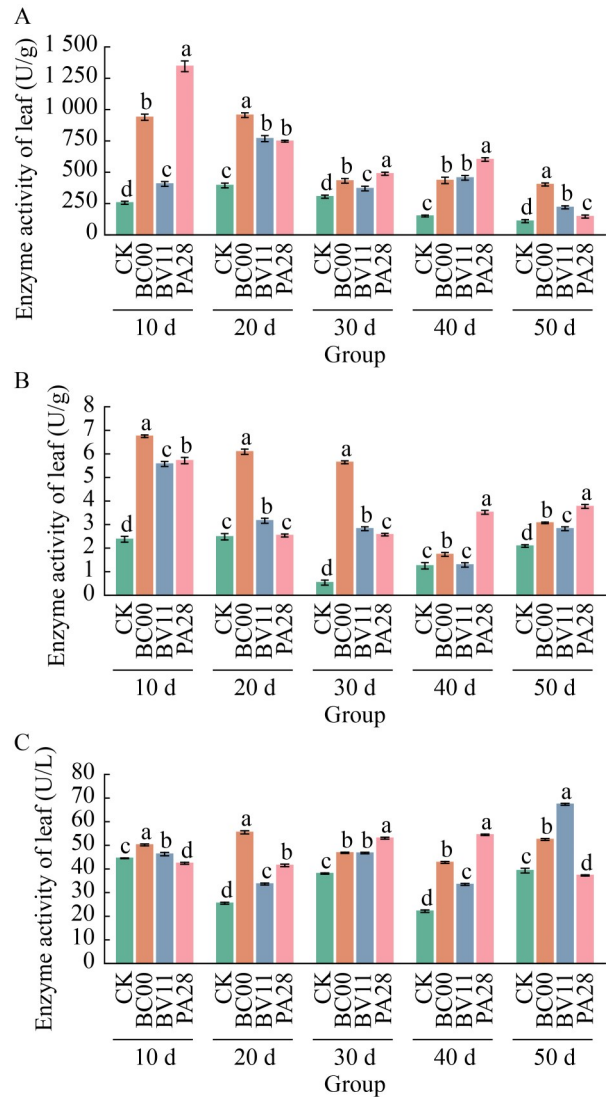


图4 不同内生菌处理后不同时间点菘蓝叶的营养代谢关键酶活性( $n=3$ )。A: 蔗糖磷酸合成酶; B: 硝酸还原酶; C: 酸性磷酸酶。不同颜色表示不同内生菌处理组;不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Figure 4 The key enzyme activities of nutrient metabolism in leaves of *Isatis indigotica* at different times after treatment with different endophytic bacteria ( $n=3$ ). A: Sucrose phosphate synthase; B: Nitrate reductase; C: Acid phosphatase. Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).

## 2.5 菘蓝内生细菌对其生长指标的影响

菘蓝内生细菌对其生长性状有显著促进作用(表 3)。各处理组株高、叶片数、主根长、主根直径均显著高于对照( $P<0.05$ )；其中，BC00 对株高和主根直径的促进效果最佳，分别提升了 35.68% 和 62.53%；BV11 对主根长的促进效果最明显，提升了 23.93%；PA28 对叶片数的促进效果最显著，提升了 74.55%。侧根数处理组与对照组之间并无显著差异。

菘蓝内生细菌对其生物量积累的促进作用显著(表 4)。各处理组的地上部分鲜重、地下部分鲜重、单株鲜重、地上部分干重、地下部分干重、单株干重和根冠比均显著高于对照( $P<0.05$ )。其中，BC00 对地上部分鲜重、单株鲜重和地上部分干重的促进效果最佳，分别提升了 121.15%、88.71% 和 74.16%；BV11 对地下部分鲜重、地下部分干重、单株干重和根冠比促进

效果最显著，分别提升了 68.67%、216.02%、129.35%、141.53%。在内生菌处理组中，BV11 对根冠比的影响最显著，对菘蓝地下部分的影响大于地上部分；BC00 的根冠比较小，其对菘蓝地上部分的影响大于地下部分。

## 2.6 菘蓝内生细菌对其可溶性物质的影响

不同内生细菌处理下可溶性物质含量变化不同(图 5)。各处理组中，BC00 和 BV11 处理的菘蓝叶的可溶性蛋白、可溶性糖和可溶性淀粉含量均显著高于对照组( $P<0.05$ )，BC00 处理较 CK 分别提升了 49.89%、14.30% 和 18.94%，BV11 处理较 CK 分别提升了 48.25%、14.41% 和 60.24%。PA28 处理后菘蓝叶的可溶性蛋白含量较 CK 提升了 23.86%，但可溶性淀粉含量无显著差异。在各处理组中，菘蓝根的可溶性蛋白和可溶性淀粉含量均显著高于对照组( $P<0.05$ )，BC00 处理较 CK 分别提升了 37.01% 和 46.24%，BV11 处理较 CK

表2 不同内生菌处理对菘蓝光合参数的影响

Table 2 Effects of different endophytic bacteria treatments on photosynthetic parameters of *Isatis indigotica* (mean±SD, n=15)

Treatment	Photosynthetic rate ( $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ )	Stomatal conductance ( $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ )	Intercellular CO <sub>2</sub> concentration ( $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ )	Transpiration rate ( $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ )	Water use efficiency ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ )
CK	3.298±0.007d	0.018±0.002d	354.260±2.312a	1.106±0.003d	2.981±0.011d
BC00	5.728±0.088b	0.065±0.003b	318.403±1.079c	1.732±0.025b	3.308±0.058b
BV11	6.454±0.032a	0.096±0.004a	314.708±1.040d	2.022±0.068a	3.195±0.099c
PA28	5.313±0.028c	0.034±0.004c	326.353±1.165b	1.384±0.013c	3.840±0.038a

不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).

表3 不同内生菌处理下对菘蓝生长性状的影响

Table 3 Effects of different endophytic bacteria treatments on growth traits of *Isatis indigotica* (mean±SD, n=10)

Treatment	Plant height (cm)	Number of blades	Main root length (cm)	Main root diameter (mm)	Number of lateral roots
CK	9.97±0.61c	11.00±1.41c	10.95±0.73c	9.42±0.93b	4.70±1.16a
BC00	15.50±1.59a	17.40±1.43b	12.65±0.40b	15.31±1.69a	4.80±1.99a
BV11	13.64±0.51b	18.30±1.25ab	13.57±0.36a	13.92±1.01a	5.70±2.00a
PA28	14.29±1.06b	19.20±1.69a	13.38±0.53a	15.03±2.44a	5.60±1.07a

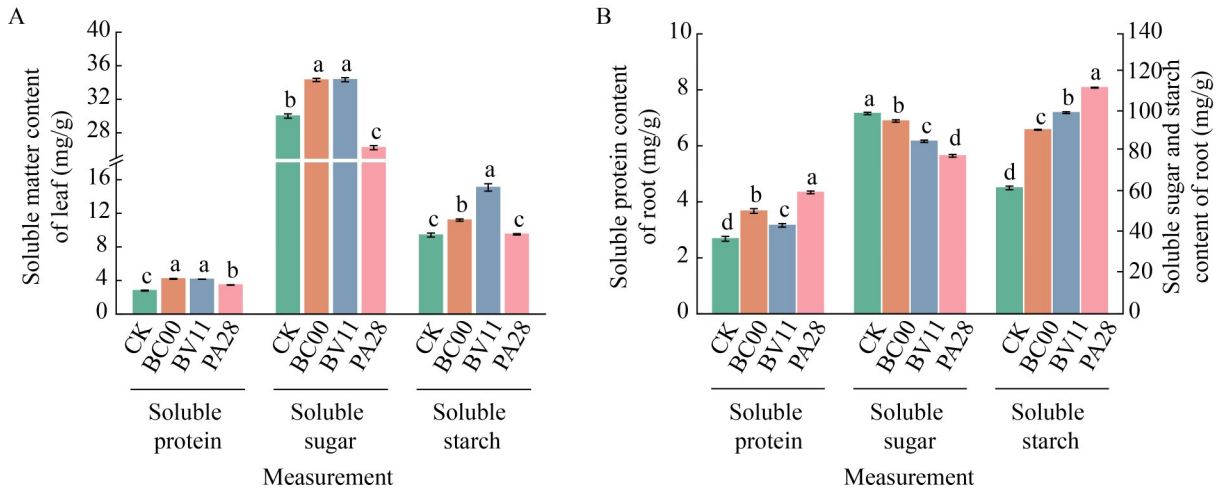
不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).

表4 不同内生菌处理下对单株菘蓝生物量积累的影响

Table 4 Effects of different endophytic bacteria treatments on biomass accumulation of single plant of *Isatis indigotica* (mean±SD, n=10)

Treatment	Shoot fresh weight (g)	Root fresh weight (g)	Fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Dry weight (g)	Root-shoot ratio
CK	8.18±1.10c	12.64±1.21b	20.82±1.40c	1.78±0.23c	2.06±0.17d	3.85±0.25c	1.18±0.20d
BC00	18.09±1.24a	21.20±1.34a	39.29±2.01a	3.10±0.20a	5.56±0.23c	8.66±0.32ab	1.80±0.13c
BV11	13.38±1.52b	21.32±1.04a	34.71±1.90b	2.31±0.26b	6.51±0.28a	8.83±0.39a	2.85±0.37a
PA28	17.69±0.74a	20.22±0.90a	37.91±1.51a	2.38±0.10b	5.95±0.27b	8.32±0.34b	2.50±0.10b

不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).图5 不同内生菌处理下菘蓝的可溶性物质含量( $n=3$ )。A: 菘蓝叶; B: 菘蓝根。不同颜色表示不同内生菌处理组; 不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。Figure 5 Soluble substance content of *Isatis indigotica* under different endophytic bacteria treatments ( $n=3$ ). A: *I. indigotica* leaf; B: *I. indigotica* root. Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).

分别提升了 17.91% 和 59.83%，PA28 处理较 CK 分别提升了 61.90% 和 79.69%；而各处理组的可溶性糖含量均显著低于对照组( $P<0.05$ )。

## 2.7 菘蓝内生细菌对其内源激素的影响

菘蓝内生细菌显著影响其根与叶的内源激素含量(图 6)。在各处理组中，叶和根 ABA 含量均显著低于对照( $P<0.05$ )，而菘蓝叶的 IAA 含量均显著高于对照( $P<0.05$ )。BC00 对菘蓝叶的 GA<sub>3</sub> 和 ZR 含量有显著促进作用( $P<0.05$ )。BC00 和 PA28 对菘蓝根的内源激素含量均有显著促进作用( $P<0.05$ )；在各处理组中 GA<sub>3</sub> 含量均显著高于对照( $P<0.05$ )，且 BC00 和 PA28 对 ZR 含量均有显著促进作用( $P<0.05$ )。

## 2.8 菘蓝内生细菌对其活性成分的影响

菘蓝内生细菌显著影响其活性成分的合成(图 7)。在各处理组中菘蓝叶和根的总黄酮含量均显著高于对照( $P<0.05$ )，且 BC00 的促进效果最显著。BC00 对菘蓝叶靛蓝含量和菘蓝根 (R, S)-告依春含量有显著促进作用( $P<0.05$ )，分别较 CK 增加了 7.83% 和 5.64%。PA28 处理后靛蓝

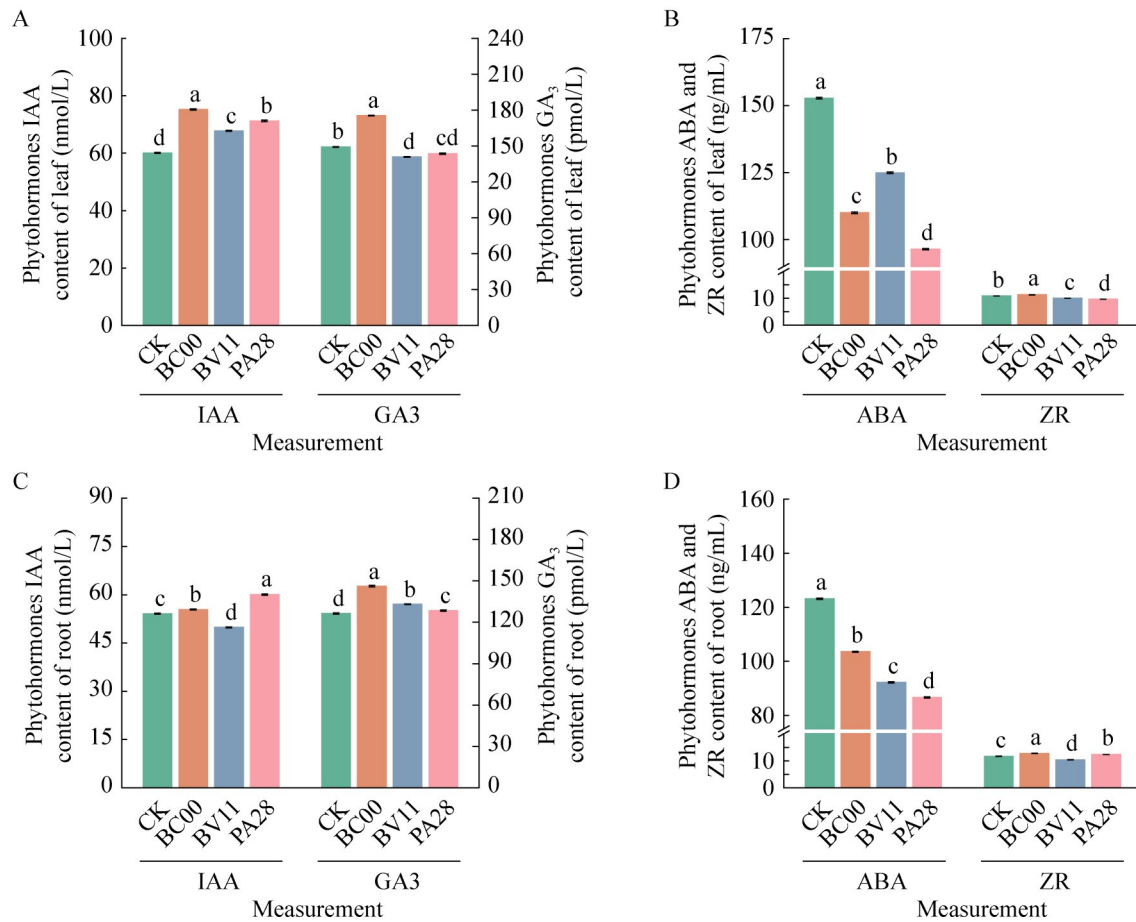


图6 不同内生菌处理下菘蓝的内源激素含量( $n=3$ )。A: 菘蓝叶IAA、GA<sub>3</sub>含量; B: 菘蓝叶ABA、ZR含量; C: 菘蓝根IAA、GA<sub>3</sub>含量; D: 菘蓝根ABA、ZR含量。不同颜色表示不同内生菌处理组; 不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

Figure 6 Endogenous hormone content of *Isatis indigotica* under different endophytic bacteria treatments ( $n=3$ ). A: IAA, GA<sub>3</sub> contents in *I. indigotica* leaves; B: ABA, ZR contents in *I. indigotica* leaves; C: IAA, GA<sub>3</sub> contents in *I. indigotica* root; D: ABA, ZR contents in *I. indigotica* root. Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P < 0.05$ ).

含量和(*R,S*)-告依春含量分别较 CK 提升了 3.17% 和 2.68%。各处理组菘蓝叶靛玉红含量均略低于对照组( $P < 0.05$ )。

## 2.9 相关性分析与综合分析

选取菘蓝总叶绿素含量、净光合速率、营养关键酶活性、内源激素含量, 以及主根直径、地上地下部分干重、总黄酮含量和各指标成分含量进行相关性分析(图 8)。总叶绿素含量与主根直径和地下部分干重呈显著正相关( $P < 0.05$ ),

净光合速率与地下部分干重呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 表明内生菌通过促进叶绿素合成积极参与光合作用促进菘蓝生长。SPS 活性与根总黄酮含量呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 表明内生菌通过作用于碳代谢为植物提供碳骨架, 促进根部活性成分的合成。菘蓝叶 IAA 含量与主根直径和叶总黄酮含量呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 菘蓝根 GA<sub>3</sub> 含量与根总黄酮含量呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 菘蓝根 ABA 含量与靛玉红含量呈显著正相关( $P < 0.05$ ),

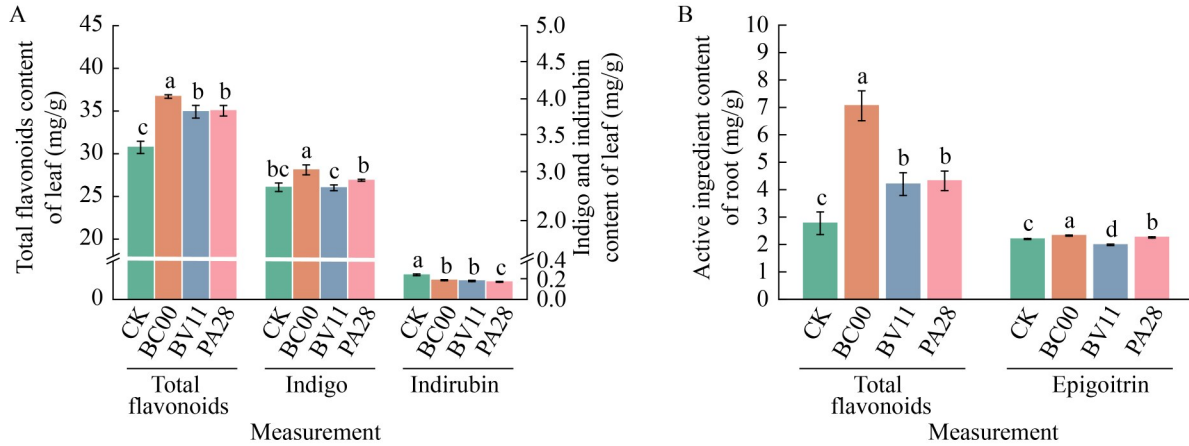


图7 不同内生菌处理下菘蓝的活性成分含量(n=3)。A: 菘蓝叶; B: 菘蓝根。不同颜色表示不同内生菌处理组; 不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Figure 7 Contents of active components in *Isatis indigotica* under different endophytic bacteria treatments (n=3). A: *I. indigotica* leaf; B: *I. indigotica* root. Different colors indicate different endophytic bacteria treatment groups; Different lowercase letters indicate significant differences among treatments (P<0.05).

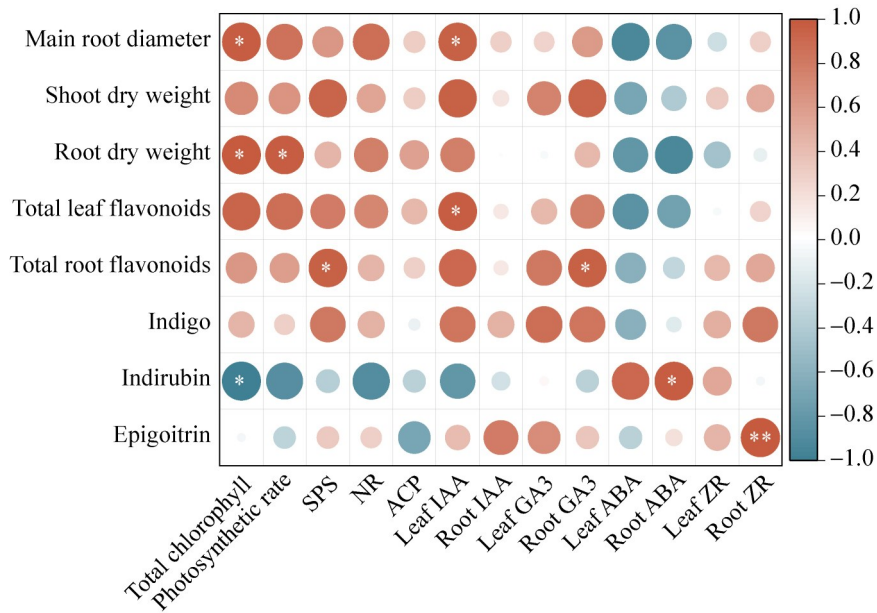


图8 菘蓝生理指标与其生长指标、活性成分的相关性分析。颜色代表Pearson相关系数, 橙色表示正相关, 蓝色表示负相关, 颜色深浅反映相关性强度(见右侧颜色标尺); \*: P≤0.05 (变量之间的相关性在统计学上显著); \*\*: P≤0.01 (变量之间的相关性在统计学上极显著)。

Figure 8 Correlation analysis of physiological indexes, growth indexes and active components of *Isatis indigotica*. The color represents Pearson correlation coefficient, orange represents positive correlation, blue represents negative correlation, and the color depth reflects the correlation intensity (see the right color ruler); \*: P≤0.05, the correlation between variables was statistically significant; \*\*: P≤0.01, the correlation between variables was statistically significant.

菘蓝根 ZR 含量与(R,S)-告依春含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 表明内生菌通过调节植物激素的合成, 促进菘蓝生长和活性成分的合成。

计算单株菘蓝总活性生物量(单株指标成分含量×生物量), 3 株内生菌处理组与对照组相比分别提升了 127.97%、96.73% 和 105.65%, 可见 BC00 对菘蓝综合促进效果最佳(表 5)。

### 3 讨论与结论

药用植物内生菌的研究日益受到广泛关注。在白及、党参、亳菊、丹参等药用植物中已经分离筛选出一些具促生作用的内生细菌, 多为芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*); 在菘蓝内生菌研究中已分离出对 3 种常见植物病原菌有拮抗活性的内生细菌, 初步鉴定为库克菌属 (*Kocuria*)、微杆菌属 (*Microbacterium*) 和短状杆菌属 (*Brachybacterium*)<sup>[13]</sup>。然而, 目前关于菘蓝内生菌的促生和促进活性成分合成的研究却鲜有报道。

#### 3.1 植物光合生理对其内生菌的响应

叶绿素是一类参与光合作用的色素, 其含量的高低直接影响植物的光合作用性能。例如, 芽孢杆菌 J2 侵染可使滇重楼光合色素含量增加、光合效率提高<sup>[26]</sup>。本研究中内生细菌处理显著促进光合色素含量升高, 光合作用也较对照有所提高, 总体上 BC00 和 PA28 的促进效果更显著。可溶性蛋白是合成酶的主要成分, 调控植物多种生理生化代谢过程; 可溶性糖是植物体

内重要的能量储备, 参与多种生理过程, 如能量代谢、渗透调节、信号传递等; 可溶性淀粉是植物储存能量的主要形式。毛竹内生细菌芽孢杆菌 BD24-2、假单胞菌 TD33-1 和假单胞菌 RD7-4 处理对其可溶性糖和可溶性淀粉含量积累均显著增加<sup>[27]</sup>; 绿豆接种具有耐盐潜力的内生细菌假单胞菌 TMB6, 其可溶性蛋白含量显著提高<sup>[28]</sup>。本研究中 3 株内生菌对菘蓝叶的可溶性糖, 以及叶和根的可溶性蛋白、可溶性淀粉均有促进作用, 总体上 BV11 对菘蓝叶的促进效果更显著, PA28 对根的促进效果更显著, 但内生菌对菘蓝根可溶性糖均有抑制作用。推测可能是因为可溶性糖是淀粉合成的底物, 淀粉和可溶性糖含量之间存在一定的关系。研究指出, 淀粉含量与可溶性糖含量呈一定负相关关系<sup>[29-30]</sup>。

#### 3.2 植物营养代谢关键酶对其内生菌的响应

SPS 是植物体内控制蔗糖合成的关键酶, 调控光合产物分配, 将光合产物转化为蔗糖; 党参接种内生细菌假单胞菌 RHBA17 后, 其蔗糖磷酸合成酶活性显著升高<sup>[31]</sup>。NR 是高等植物氮吸收过程中的关键限速酶, 通过调节硝酸盐的还原进而调控氮代谢, 并影响光合碳代谢, 调节叶绿素和 IAA 等激素的合成; ACP 可促进有机磷的水解, 调控磷代谢, 并具有能量传递、信号传导和调控生长发育的功效。非盐胁迫和盐胁迫下的金合欢受其内生菌枯草芽孢杆菌处理后, 硝酸还原酶和酸性磷酸酶活性均可显著提高<sup>[32]</sup>。本研究发现, 内生细菌处理可显著提

表5 单株菘蓝总活性生物量

Table 5 Total active biomass of single plant of *Isatis indigotica* (mean±SD, n=3)

Treatment	Total epigoitrin (mg)	Total indigo (mg)	Total indirubin (mg)	Total active ingredient (mg)
CK	4.532±0.041c	5.158±0.100d	0.567±0.015b	10.258±0.104d
BC00	12.922±0.108b	9.687±0.202a	0.776±0.010a	23.385±0.102a
BV11	12.944±0.169b	6.681±0.087c	0.556±0.007c	20.181±0.083c
PA28	13.439±0.143a	7.115±0.028b	0.542±0.010d	21.096±0.164b

不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P<0.05$ ).

高菘蓝生长过程中碳氮磷代谢所需的关键酶 SPS、NR、ACP 的活性, 其中 BC00 和 PA28 的促进效果更显著。

### 3.3 植物内源激素对其内生菌的响应

内生菌可以通过产生生长调节剂物质、分泌植物激素和提高宿主植物某些生理活性指标促进植物生长<sup>[33]</sup>。IAA 能促进植物生长, 低浓度时能促进根系发育; GA<sub>3</sub> 能促进植物的生长发育; ABA 主要作用是抑制植物生长并调控气孔的关闭; ZR 能延缓衰老, 抑制叶绿素降解。例如, 芽孢杆菌 LZR216 通过调节 IAA 的合成使植物生长能力增强<sup>[34]</sup>; 贝莱斯芽孢杆菌使小麦叶片的 GAs 浓度增加 54%<sup>[35]</sup>; 丹参内生细菌苏云金芽孢杆菌 NB49 和 Bt12 对其玉米素(zeatin, ZT)的积累有一定促进作用, 对 ABA 有一定抑制作用<sup>[6]</sup>。本研究中, 3 株内生菌对 ABA 的含量均为抑制作用, 但对 IAA、GA<sub>3</sub> 和 ZR 含量既有促进也有抑制, BC00 对菘蓝叶和根的 IAA、GA<sub>3</sub> 和 ZR 含量均为促进作用, 且效果显著, BV11 除了促进菘蓝根 GA<sub>3</sub> 含量增长外, 其他均为抑制作用, PA28 对菘蓝根的 IAA、GA<sub>3</sub> 和 ZR 含量以及菘蓝叶 IAA 均为促进作用, 其他为抑制作用。内生菌对不同植物激素的影响存在差异可能是因为内生菌是通过调节植物内源激素的比例而实现对植物生理代谢过程的调控<sup>[36]</sup>。

### 3.4 植物生长与活性成分对其内生菌的响应

中药材内生菌是一类在农林、工业、医药及生态等方面极具应用前景的新型微生物资源<sup>[37-38]</sup>。具有促生功能的菌株数量丰富多样, 它们主要通过溶磷、固氮、解钾、产生植物激素、产生铁载体等机制促进植物生长<sup>[39]</sup>。接种枯草芽孢杆菌 IGPEB 34 和短芽孢杆菌 IGPEB 37 显著提高了生姜植物的生长(株高、叶数、叶长和叶宽等)<sup>[40]</sup>。本研究中菘蓝的主根长度与直径、干鲜重等表型指标在 3 株内生细菌处理后

有显著提高, BC00 更利于地上部分的生长, BV11 则更利于根的生长。内生菌可诱导中药材活性成分的合成, 如接种白术内生细菌芽孢杆菌 AMR83 和假单胞菌 ALEB7B 分别可以显著提高其挥发油含量和增强其倍半萜类化合物的积累<sup>[41-42]</sup>; 菘蓝深色有隔内生菌(dark septate endophytes, DSE)提高了干旱胁迫下其根内(R,S)-告依春含量<sup>[43]</sup>。本研究中 3 株内生菌均提高了菘蓝叶靛蓝、根(R,S)-告依春、叶和根总黄酮含量, 以 BC00 最显著; 而其叶内靛玉红含量均略低于对照组, 靛蓝和靛玉红为同分异构体, 有共同的前体物质靛红烷和吡啶<sup>[44]</sup>, 靛玉红含量均略低于对照, 推测内生菌处理后前体物质更多地转化为靛蓝; 但综合分析生物量与指标成分含量后发现, 内生菌处理后菘蓝单株总活性生物量有显著提升, 表明 3 株内生菌皆有利于菘蓝的生长与药用品质的提升。

综合分析发现, 内生菌处理提高 NR 活性参与氮代谢, 进一步调控叶绿素和 IAA 的合成, 提高光合速率促进植物生长。高浓度的 IAA 可能会抑制根系的发育, 但本研究中处理组根系部分生长状况和生物量积累均高于对照组, 表明 IAA 含量并未达到最适浓度。内生菌处理抑制 ABA 的合成, 调控气孔的张开, 同时促进 ZR 的合成, 抑制叶绿素的降解, 进而提高光合速率促进植物生长发育。相关性分析显示, ABA 含量与靛玉红含量呈正相关。有研究使用 ABA 处理菘蓝组培苗, 发现随着时间的延长靛玉红含量表现出逐渐增加的趋势<sup>[45]</sup>。

## 4 结论

本研究从菘蓝根中分离筛选的内生细菌(*Bacillus* sp. BC00、*Bacillus* sp. BV11、*Pseudomonas* sp. PA28)具有良好的促生活性。它们通过调控菘蓝的生理过程影响其生长, 并能进一步促进叶和根活性成分含量积累, 其中以 *Bacillus* sp. BC00 的促进效果最佳。本研究为后期研制有益于菘蓝的微生物菌肥奠定了理论基

础。后续可在分子层面深入分析优势内生细菌调控菘蓝初生与次生代谢的机制, 同时也可开展这3种内生菌复合处理对大田菘蓝生长影响的研究。

## 作者贡献声明

胡雨沁: 试验研究、数据收集、数据分析和论文撰写; 孙莉琼: 试验指导和数据监管; 李晓帆: 提供技术支持; 杜岳阳: 协助试验操作; 唐晓清: 获取基金、提出概念和试验指导; 王康才: 协助指导试验与论文审阅。

## 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] 仝倩倩, 祝英, 崔得领, 赵毅, 陈玉坤, 王治业, 熊友才. 我国微生物肥料发展现状及在蔬菜生产中的应用[J]. 中国土壤与肥料, 2022(4): 259-266. TONG QQ, ZHU Y, CUI DL, ZHAO Y, CHEN YK, WANG ZY, XIONG YC. The development status of microbial fertilizer in China and its application in vegetable planting[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022(4): 259-266 (in Chinese).
- [2] 农业部. 关于印发《到2020年化肥使用量零增长行动方案》和《到2020年农药使用量零增长行动方案》的通知[EB/OL]. (2015-02-17) [2023-08-18]. [http://www.moa.gov.cn/nybg/b/2015/san/201711/t20171129\\_5923401.htm](http://www.moa.gov.cn/nybg/b/2015/san/201711/t20171129_5923401.htm) vk\_sa=1024320u.
- [3] 郭兰萍, 吕朝耕, 王红阳, 康传志, 王升, 万修福, 张小波, 何雅莉, 黄璐琦. 中药生态农业与几种相关现代农业及GAP的关系[J]. 中国现代中药, 2018, 20(10): 1179-1188. GUO LP, LÜ CG, WANG HY, KANG CZ, WANG S, WAN XF, ZHANG XB, HE YL, HUANG LQ. Relationship between ecological agriculture of Chinese material medica and several modern agriculture and GAP[J]. Modern Chinese Medicine, 2018, 20(10): 1179-1188 (in Chinese).
- [4] 罗洋, 周萌, 满百膺, 柴圣雪, 何亚文. 我国微生物菌肥发展现状及在中药材种植中的应用[J]. 中国土壤与肥料, 2024(11): 222-230. LUO Y, ZHOU M, MAN BY, CHAI SX, HE YW. Status quo of microbial fertilizer in China and application in Chinese medicinal herb cultivation[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2024(11): 222-230 (in Chinese).
- [5] 赖锬阳, 肖建才, 王红阳, 邱金镇, 万修福, 闫滨滨, 康传志, 孙楷, 张燕, 郭兰萍. 微生物菌肥调控药用植物品质形成的作用机制及应用与展望[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(4): 912-923. LAI KY, XIAO JC, WANG HY, QIU JZ, WAN XF, YAN BB, KANG CZ, SUN K, ZHANG Y, GUO LP. Mechanism and application prospects of microbial fertilizers in regulating quality formation of medicinal plants[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(4): 912-923 (in Chinese).
- [6] 马召, 李晓帆, 孙莉琼, 黄智, 许垒, 鲁霆, 唐晓清, 王康才. 三株丹参根内生细菌对宿主生长及药用品质的影响[J]. 草业学报, 2025, 34(4): 175-188. MA Z, LI XF, SUN LQ, HUANG Z, XU L, LU T, TANG XQ, WANG KC. Effects of three endophytic bacteria in the roots of *Salvia miltiorrhiza* on host growth and medicinal quality[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(4): 175-188 (in Chinese).
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 22-23, 214-215.
- [8] 付照羽, 冯治朋, 韩颜超, 姚振林, 陈文雪, 杨树林, 吴相周. 板蓝根研究进展[J]. 现代农业科技, 2023(14): 41-45. FU ZY, FENG ZP, HAN YC, YAO ZL, CHEN WX, YANG SL, WU XZ. Research progress on *Radix isatidis*[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2023(14): 41-45 (in Chinese).
- [9] 聂黎行, 王馨平, 黄烈岩, 钱秀玉, 李翔, 康帅, 戴忠, 马双成. 板蓝根化学成分信息库的构建[J]. 中国药学杂志, 2022, 57(6): 428-452. NIE LX, WANG XP, HUANG LY, QIAN XY, LI X, KANG S, DAI Z, MA SC. Construction of information bank of chemical components in *isatidis Radix*[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2022, 57(6): 428-452 (in Chinese).
- [10] 袁铭铭, 张文, 熊晓丽, 钟瑞建, 吴良发. 大青叶的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药品评价, 2022, 19(16): 1019-1022. YUAN MM, ZHANG W, XIONG XL, ZHONG RJ, WU LF. Advances in study of chemical constituents and pharmacological effects of *isatidis folium*[J]. Drug Evaluation, 2022, 19(16): 1019-1022 (in Chinese).
- [11] 高丽华. 板蓝根高产规范化栽培技术研究[J]. 农业开发与装备, 2023(7): 170-171.
- [12] 赵飞龙, 徐亚军, 常佳丽, 李全芬, 杨静雅, 欧启凡, 杨梦冉. 大豆根瘤内抗棉花枯萎病菌株的筛选及其防病试验[J]. 微生物学报, 2017, 57(5): 710-723. ZHAO LF, XU YJ, CHANG JL, LI QF, YANG JY, OU QF, YANG MR. Screening endophytic bacteria from soybean root nodules to inhibit *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2017, 57(5): 710-723 (in Chinese).
- [13] 王霞, 薛林贵, 张晓华, 何小燕, 范桃桃, 尚海. 菘蓝内生细菌的分离、筛选和鉴定[J]. 生物技术通报, 2018, 34(3): 163-169. WANG X, XUE LG, ZHANG XH, HE XY, FAN TT, SHANG H. Isolation, screening and identification of endophytic bacteria from *Isatis indigotica*[J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(3): 163-169 (in Chinese).
- [14] 高沙尔·卡依尔哈力, 热子亚·麦麦吐逊, 祖丽皮亚·玉努斯. 地锦草内生细菌多样性、拮抗及促生特性测定[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 392-406.

- Gaohaer·Kayierhali, Raziye·Memettursun, Zulfiya·Yunus. Endophytic bacteria from *Euphorbia humifusa*: diversity, antagonism and growth-promoting activities[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(2): 392-406 (in Chinese).
- [15] 吴红艳, 于淼, 冯健, 王智学, 冯敏. 土壤中解钾菌 K02 的筛选、鉴定及培养条件优化[J]. *微生物学杂志*, 2020, 40(4): 60-65.
- WU HY, YU M, FENG J, WANG ZX, FENG M. Screening, identification and culture condition optimization of potassium-soluble bacteria K02 in soil[J]. *Journal of Microbiology*, 2020, 40(4): 60-65 (in Chinese).
- [16] 漫静, 唐波, 邓波, 李佳欢, 何玉娟, 张佳良. 羊草根际促生菌的分离筛选及促生作用研究[J]. *草业学报*, 2021, 30(1): 59-71.
- MAN J, TANG B, DENG B, LI JH, HE YJ, ZHANG JL. Isolation, screening and beneficial effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in the rhizosphere of *Leymus chinensis*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(1): 59-71 (in Chinese).
- [17] 向益青, 廖海浪, 李娜, 钟芙蓉, 彭茂瑶, 马云桐. 黄连种子内生细菌的分离鉴定及功能验证[J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(2): 191-199.
- XIANG YQ, LIAO HL, LI N, ZHONG FR, PENG MY, MA YT. Isolation, identification and functional verification of bacteria from seeds of *Coptis chinensis*[J]. *Natural Product Research and Development*, 2023, 35(2): 191-199 (in Chinese).
- [18] 张东艳, 刘晔, 吴越, 王国文, 万兵兵, 姜琰. 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 DY, LIU Y, WU Y, WANG GW, WAN BB, 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).
- [19] 李旖曦, 陈涵冰, 王耀强, 张虹, 张勇, 韩永和. 耐砷促生菌对超富集植物蜈蚣草砷吸收及根际微生物群落的调控作用[J]. *微生物学报*, 2023, 63(6): 2401-2414.
- LI YX, CHEN HB, WANG YQ, ZHANG H, ZHANG Y, HAN YH. Effects of arsenic-tolerant growth-promoting bacteria on arsenic uptake and rhizosphere microbial community of hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(6): 2401-2414 (in Chinese).
- [20] 师进霖, 李军萍, 杜秀虹, 姜跃丽. 不同基质对菘蓝幼苗生长的影响[J]. *北方园艺*, 2010(6): 209-210.
- SHI JL, LI JP, DU XH, JIANG YL. Effects of different substrate on *Isatis indigotica* Fort. seedling growth[J]. *Northern Horticulture*, 2010(6): 209-210 (in Chinese).
- [21] 王学奎. 植物生理学实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- WANG XK. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment[M]. 2nd edition. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [22] 鲍婷婷, 孙莉琼, 李晓帆, 李宇峰, 唐晓清, 王康才. 4种根际促生菌对菘蓝生长与生理的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47(5): 854-863.
- BAO TT, SUN LQ, LI XF, LI YF, TANG XQ, WANG KC. Effects of four plant growth-promoting rhizobacteria on growth and physiology of *Isatis indigotica*[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2024, 47(5): 854-863 (in Chinese).
- [23] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- ZHANG ZL, QU WJ, LI XF. Experimental Guidance of Plant Physiology[M]. 4th edition. Beijing: Higher Education Press, 2009 (in Chinese).
- [24] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- GAO JF. Experimental Guidance for Plant Physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [25] 关佳莉, 王刚, 陈曦, 张梦蕊, 缪雨静, 唐晓清. 氮营养对苗期菘蓝生长及活性成分的影响[J]. *生态学杂志*, 2018, 37(8): 2331-2338.
- GUAN JL, WANG G, CHEN X, ZHANG MR, MIAO YJ, TANG XQ. Effects of nitrogen nutrition on the growth and active components of *Isatis indigotica* Fort. seedlings[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2018, 37(8): 2331-2338 (in Chinese).
- [26] LIU T, LIAO QH, YU FQ, ZI SH, TIAN SH, FAN LY. Plant growth-promoting activities of bacterial endophytes isolated from the medicinal plant Pairs *Polyphylla* var. *Yunnanensis*[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2021, 38(1): 15.
- [27] ZHAO AS, DING XC, HUANG MC, CHENG YJ. Bioprospecting plant-growth-promoting endophytic bacteria isolated from moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) shoots[J]. *Forests*, 2023, 14(10): 2061.
- [28] ZAHRA ST, TARIQ M, ABDULLAH M, ZAFAR M, YASMEEN T, SHAHID MS, ZAKI HEM, ALI A. Probing the potential of salinity-tolerant endophytic bacteria to improve the growth of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek][J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1149004.
- [29] 陈洋, 赵宏伟. 春玉米籽粒可溶性糖积累规律及其与淀粉含量的关系[J]. *黑龙江农业科学*, 2007(2): 9-12.
- CHEN Y, ZHAO HW. Accumulation regularity of soluble sugar in gains of spring maize and its relation with starch content[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2007(2): 9-12 (in Chinese).
- [30] 许森, 王永梅, 赵亚特, 赵文婷, 张启堂, 傅玉凡. 甘薯薯块生长过程中可溶性糖与淀粉质量分数的变化及其相关性分析[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2011, 33(10): 31-36.
- XU S, WANG YM, ZHAO YT, ZHAO WT, ZHANG QT, FU YF. Changes in soluble sugar and starch contents in sweet potato storage roots of during plant growth and the relationship between them[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science)*, 2011, 33(10): 31-36 (in Chinese).
- [31] ZHU N, MENG TT, LI SW, YU CQ, TANG D, WANG YG, LENG FF, MA JZ. Improved growth and metabolite accumulation in *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. by inoculation with the endophytic *Geobacillus* sp. RHBA19 and *Pseudomonas fluorescens* RHBA17[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 274: 153718.
- [32] HASHEM A, ABD ALLAH EF, ALQARAWI AA, AL-HUQAIL AA, WIRTH S, EGAMBERDIEVA D. The

- interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1089.
- [33] 杨立军, 李少刚, 曹倩, 黄豫皖, 陈琼, 汪金萍. 植物内生菌促生机制及应用研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2024, 52(9): 35-41.  
YANG LJ, LI SG, CAO Q, HUANG YW, CHEN Q, WANG JP. Research progress on growth promoting mechanism and application of plant endogenous bacteria[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, 52(9): 35-41 (in Chinese).
- [34] WANG JF, ZHANG YQ, LI Y, WANG XM, NAN WB, HU YF, ZHANG H, ZHAO CZ, WANG F, LI P, SHI HY, BI YR. Endophytic microbes *Bacillus* sp. LZR216-regulated root development is dependent on polar auxin transport in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Plant Cell Reports*, 2015, 34(6): 1075-1087.
- [35] AFZAL A, BAHADER S, UL HASSAN T, NAZ I, DIN AU. Rock phosphate solubilization by plant growth-promoting *Bacillus velezensis* and its impact on wheat growth and yield[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2023, 40(2): 131-142.
- [36] AROCA R, RUIZ-LOZANO JM, ZAMARREÑO ÁM, PAZ JA, GARCÍA-MINA JM, POZO MJ, LÓPEZ-RÁEZ JA. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(1): 47-55.
- [37] GOLINSKA P, WYPIJ M, AGARKAR G, RATHOD D, DAHM H, RAI M. Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2015, 108(2): 267-289.
- [38] CUI JL, GUO TT, CHAO JB, WANG ML, WANG JH. Potential of the endophytic fungus *Phialocephala fortinii* Rac56 found in *Rhodiola* plants to produce salidroside and *p*-tyrosol[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 502.
- [39] 潘晓曦, 张淋淋, 关一鸣, 张悦, 王秋霞. 植物内生促生菌多样性及促生作用研究进展[J/OL]. *特产研究*, 2024: 1-8. (2024-07-29). <https://link.cnki.net/doi/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.134>.  
PAN XX, ZHANG LL, GUAN YM, ZHANG Y, WANG QX. Research progress on diversity and growth promoting effects of plant growth promoting endophytes[J/OL]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2024: 1-8. (2024-07-29). <https://link.cnki.net/doi/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.134> (in Chinese).
- [40] JABBOROVA D, DAVRANOV K, JABBAROV Z, ENAKIEV Y, ABDRAKHMANOV T, DATTA R, SINGH S, JAHAN MS, ERCISLI S, SINGH N. Impact of growth-promoting endophytic bacteria on ginger plant growth[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2024: 1-10.
- [41] 阳湖荣, 陈飘雪, 戴传超. 白术内生细菌分离与促生活性[J]. *生态学杂志*, 2019, 38(12): 3680-3688.  
YANG HR, CHEN PX, DAI CC. Isolation and plant-growth-promoting ability of endophytic bacteria in *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2019, 38(12): 3680-3688 (in Chinese).
- [42] ZHOU JY, SUN K, CHEN F, YUAN J, LI X, DAI CC. Endophytic *Pseudomonas* induces metabolic flux changes that enhance medicinal sesquiterpenoid accumulation in *Atractylodes lancea*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 130: 473-481.
- [43] LI WY, YAO JJ, HE C, REN YF, ZHAO LL, HE XL. The synergy of dark septate endophytes and organic residue on *Isatis indigotica* growth and active ingredients accumulation under drought stress[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 203: 117147.
- [44] 杨明, 刘泽玉, 苏柘僮, 邹文铨. “蓝”类植物中的前体物质转化为“靛”的机制探讨[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(7): 928-931.  
YANG M, LIU ZY, SU ZT, ZOU WQ. Study on mechanism of precursors transforming into indigo and indirubin in blue-Genera plants[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2010, 35(7): 928-931 (in Chinese).
- [45] 周西坤, 俞嘉宁, 王剑, 杨根生, 陈雅男. 不同处理下菘蓝苗中 IAA 和靛玉红含量分析及合成部位研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2007, 25(5): 160-164.  
ZHOU XK, YU JN, WANG J, YANG GS, CHEN YN. Analysis of content and synthesis position of IAA and indirubin in *Isatis indigotica* Fort. seedlings with different treatments[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2007, 25(5): 160-164 (in Chinese).