



微生物学通报

Microbiology China

ISSN 0253-2654, CN 11-1996/Q

《微生物学通报》网络首发论文

题目: 顽拗性猪油果种子可培养内生菌群结构及其促生长功能分析
作者: 耿树存, 胡红艳, 樊玉坤, 兰芹英, 杨明挚
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.240
收稿日期: 2025-03-07
网络首发日期: 2025-05-07
引用格式: 耿树存, 胡红艳, 樊玉坤, 兰芹英, 杨明挚. 顽拗性猪油果种子可培养内生菌群结构及其促生长功能分析[J/OL]. 微生物学通报. <https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.240>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

DOI: 10.13344/j.microbiol.china.240

顽拗性猪油果种子可培养内生菌群结构及其促生长功能分析

耿树存¹, 胡红艳², 樊玉坤³, 兰芹英^{3*}, 杨明挚^{1*}

1. 云南大学生态与环境学院, 云南 昆明 650504;

2. 云南大学国际河流与生态安全研究院, 云南 昆明 650500;

3. 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 西双版纳 666303;

摘要: 【背景】植物内生菌与宿主间存在多种有益相互作用。【目的】为探讨典型顽拗性猪油果 (*Pentadesma butyracea* Sabine) 种子内生菌群及其功能特征。【方法】本文利用培养法研究了萌发前和萌发后种子的可培养内生菌群, 并分析了所分离的内生细菌的促植物生长特性。【结果】与萌发前种子相比萌发后种子中可培养内生细菌的多样性 (Shannon 指数) 明显增加, 而内生真菌的多样性降低。芽孢杆菌 (*Bacillus*)、布鲁氏菌 (*Brucella*)、嵌合杆菌 (*Chimaeribacter*) 等属的内生细菌只在萌发前种子中分离到, 而假单胞菌 (*Pseudomonas*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*)、产碱杆菌 (*Alcaligenes*) 等属的内生细菌只在萌发后的种子中分离到。寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 的内生细菌在萌发前后的种子中都有较高丰度的分布。此外, 萌发前猪油果种子以拟盘多毛孢 (*Neopestalotiopsis*)、镰孢菌 (*Fusarium*)、孢拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis*) 等属的内生真菌为主, 而萌发后的种子内生真菌主要为中国异枝顶孢属 (*Xenoacremonium*)、*Pseudocosmospora*、*Aureobasidium* 等。促生长功能鉴定结果发现猪油果种子中具有溶磷功能菌株 5 株, 固氮功能菌株 5 株, 产铁载体能力的菌株 7 株, 其中 5 株细菌既具有溶磷又具有固氮能力。促生长实验结果表明, 同时具有溶磷和固氮功能的菌株 PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 能明显促进猪油果种子组织块的萌发。【结论】研究结果揭示了种子萌发前后可培养内生菌群间的差异, 筛选出了多株具有促生功能的内生细菌, 为深入揭示顽拗性种子的内生菌群特征和发掘功能性内生菌资源提供了思路。

关键词: 猪油果; 种子内生菌; 顽拗性种子; 促生长细菌; 功能鉴定

Microbiota structure and plant growth-promoting effects of culturable endophytes in recalcitrant seeds of *Pentadesma butyracea* Sabine

GENG Shucun¹, HU Hongyan², FAN Yukun³, LAN Qinying^{3*}, YANG Mingzhi^{1*}

1 School of Ecology and Environmental Science, Yunnan University, Kunming 650504, Yunnan, China

2 Institute of International Rivers and Eco-security, Yunnan University, Kunming 650500, Yunnan, China

3 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Xishuangbanna 666303, Yunnan, China

Abstract: [Background] Plant endophytes and their hosts engage in diverse mutualistic interactions. [Objective] To investigate the composition and functional characteristics of endophytes in typical recalcitrant seeds of *Pentadesma butyracea* Sabine (Pb). [Methods] We

资助项目: 国家自然科学基金(32360255, 32471746); 云南省重大科技专项计划(202102AE090042); 云南省科技厅-云南大学“双一流”建设联合基金(2019FY003024); 云南大学研究生科研创新基金研究生科研创新基金

Supported by the National Natural Science Foundation of China (32360255, 32471746); the Yunnan Provincial Key Science and Technology Special Project (202102AE090042); and the Joint Fund for "Double First Class" Construction between Yunnan Provincial Department of Science and Technology and Yunnan University (2019FY003024); Yunnan University Postgraduate Research Innovation Fund.

*Corresponding author. E-mail: lqy@xtbg.org.cn; yangmzh@ynu.edu.cn.

Received: 2025-03-07; Accepted: 2025-04-11;

employed the culture method to study the culturable endophytes in pre- and post-germination Pb seeds and examined the plant growth-promoting effects of the isolated endophytes. **[Results]** Compared with pre-germination seeds, the post-germination seeds exhibited significantly increased diversity (Shannon index) of endophytic bacteria and decreased diversity of endophytic fungi. The endophytic bacterial genera such as *Bacillus*, *Brucella*, and *Chimaeribacte* were isolated only from pre-germination seeds, whereas genera such as *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, and *Alcaligenes* were isolated only from post-germination seeds. Endophytic bacteria of *Stenotrophomonas* demonstrated high abundance in both pre- and post-germination seeds. The endophytic fungi in pre-germination seeds were dominated by *Neopestalotiopsis*, *Fusarium*, and *Pestalotiopsis*, while those in post-germination seeds were dominated by *Xenocrematium*, *Pseudocosmospora*, and *Aureobasidium*. Among the endophytic bacteria isolated from Pb seeds, we identified five strains with phosphorus-solubilizing ability, five strains with nitrogen-fixing ability, and seven strains with siderophore-producing function, of which five bacterial strains have both phosphorus-solubilizing and nitrogen-fixing abilities. Strain PBS3-48 (*Stenotrophomonas*), with both phosphorus-solubilizing and nitrogen-fixing functions, promoted the germination of Pb seed tissue blocks. **[Conclusion]** The results reveal significant disparities in the culturable endophytic microbiota between pre- and post-germination seeds, and multiple endophytic bacterial strains exhibiting plant growth-promoting effects are successfully isolated. This study provides insights into the characterization of endophytic microbiota in recalcitrant seeds and lays the groundwork for targeted exploration of functional endophyte resources.

Keywords: *Pentadesma butyracea* Sabine; seed endophytes; recalcitrant seeds; plant growth-promoting bacteria; function identification

种子是植物最重要的繁殖器官^[1],也是多种种传内生菌 (seed-borne endophytes) 的载体^[2]。种子携带的部分内生菌可以通过种子垂直传递到下一代,并在子代植株相关微生物群落的组装和生长发育中发挥重要作用^[3,4]。近年来,随着内生菌分离和检测技术的发展,已从多种植物种子中分离出大量的内生细菌^[5]和内生真菌^[6,7]。研究表明,接种内生菌能有效提高种子萌发率和幼苗成活率^[8,9]。内生菌通过产生吲哚乙酸 (Indole acetic acid, IAA)、赤霉素 (Gibberelin, GA) 等植物激素;分泌纤维素酶、蛋白酶等水解酶^[10,11]、合成抗菌肽^[11]、生物碱等次生代谢产物^[12]等多种机制促进植物生长。在生态修复领域,种子内生菌也展现出巨大应用潜力。例如,耐盐内生菌可提高植物在盐碱地的存活率^[13],重金属耐受菌可促进植物在污染土壤中的生长^[14]。此外,某些内生菌还能通过诱导系统抗性 (induced systemic resistance, ISR) 增强植物对病原菌的抵抗力^[15]。基于这些特性,种子内生菌已被广泛应用于退化生态系统的修复和农业可持续发展实践中^[16,17]。

猪油果 (*Pentadesma butyracea* Sabine) 是藤黄科猪油果属的常绿乔木,分布于西非至中非热带雨林及河岸森林^[18],其果实富含油脂,油脂以硬脂酸和油酸为主,其理化特性与乳木果油相似,但抗氧化性和稳定性更优,常用于制成食用黄油和化妆品的原料^[19],在当地的农村经济中发挥着重要作用。除种子富含油脂外,猪油果的茎皮、叶和根中含有多种生物活性成分,包括黄酮类、咕吨酮类及三萜类化合物,具有抗肿瘤、抗氧化、抗疟、抗菌、抗炎、雌激素调节及抗雄激素等多种药理活性^[20-27],但相关的生态研究表明,由于气候和人类土地利用的变化,猪油果在贝宁、多哥等地的野生种群呈现衰退趋势,其自然再生能力受到果实过度采集的显著影响^[28]。猪油果种子是典型的顽拗性种子,种子储藏时不能忍受过分的低温和干燥^[29]。种子没有胚芽、子叶等种子结构的分化。除种皮外,可根据颜色分为内外两层,外层为浅粉色,内层为浅黄色。

目前,关于猪油果的研究主要集中在其生态学^[30]、药用价值^[31]、经济价值^[32,33]及其生化和工业应用^[34]等领域。关于顽拗性种子具有高萌发率及其与内生菌群之间潜在的生理生态机制,目前尚未有研究报道。本文基于内生菌与宿主植物的多种有益相互作用,应用微生物学相关技术探究顽拗性猪油果种子的可培养内生菌群结构及其促生长特性。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选取位于中国云南省西双版纳傣族自治州勐腊县勐仑镇西双版纳热带植物园(东经 101°25", 北纬 21°41", 属热带高原季风气候, 年均温 21 °C-22 °C 之间, 年均降雨量 400 mm, 海拔约 570 m) 中的未萌发的猪油果种子和萌发后长出成熟叶片(株高约 40 cm) 的猪油果种子为研究对象。

1.2 培养基

牛肉膏固体培养基^[35] (g/L) ;

PDA 固体培养基^[35] (g/L) :

阿须贝无氮培养基 (g/L) : 参照徐云龙等^[36]进行改进。用葡萄糖替换甘露醇, 用硫酸钾代替硫酸钙, 硫酸钾用量改为 0.20;

溶磷培养基 (g/L) : 参照张凤麟等^[37]进行改进。硫酸铵 0.50, 七水硫酸镁 0.30, 氯化钠 0.30, 氯化钾 0.30, 七水硫酸亚铁 0.03, 四水硫酸锰 0.03, 磷酸钙 5.00;

钾盐培养基 (g/L) : 参照唐小飞^[38]进行改进。葡萄糖 10.00, 硫酸铵 0.50, 七水硫酸镁 0.30, 氯化钠 0.30, 磷酸氢二钠 0.20, 七水硫酸亚铁 0.03, 四水硫酸锰 0.03, 磷酸钙 0.10, 钾长石粉:7.50, 琼脂 18.00, pH6.8-7.2;

无钾培养基 (g/L) : 参照唐小飞^[38]进行改进。葡萄糖 10.00, 硫酸铵 0.50, 七水硫酸镁 0.30, 氯化钠 0.30, 磷酸氢二钠 0.20, 七水硫酸亚铁 0.03, 四水硫酸锰 0.03, 磷酸钙 0.10, 琼脂 18.00, pH6.8-7.2;

Cas (Chrome Azurol S) 培养基 (g/L) : CAS 检测培养基 10.78。

1.3 主要试剂和仪器

DNA 提取试剂盒, 北京擎科生物科技股份有限公司; 高速离心机, 上海凌仪生物科技有限公司; PCR 仪, 江苏肯尔菲实验仪器贸易有限公司; 超净工作台, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; 电热恒温培养箱, 太仓市实验设备厂; 血球计数板, 上海市求精生化试剂仪器有限公司; 显微镜, 北京瞬显恒业科技有限公司; CAS 检测培养基, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。

1.4 材料表面消毒及接种

采摘健康的成熟猪油果果实, 用手术剪破开果皮, 将种子完整取出。将种子放置于流水下冲洗 30 min, 去除表面附着的灰尘及部分环境微生物, 取无菌滤纸吸干种子表面水分, 放置于无菌操作台中按以下流程进行表面消毒: 75%酒精浸泡 5 min, 无菌水冲洗 2-3 次, 0.1% 升汞浸泡 10 min, 无菌水冲洗 5 次。无菌滤纸吸干表面水分, 取最后一次漂洗种子的无菌水 100 μ L 涂布于 PDA 和牛肉膏固体培养基上, 用于检验表面消毒的彻底性。分离内生菌采用组织贴片法, 将表面消毒后的种子置于超净工作台中去除种皮, 使用无菌剪刀剪成大小相近的小块, 接种在 PDA 培养基(真菌)和牛肉膏蛋白胨培养基(细菌)上, 每个平板上贴 9 个大小相近的组织块。每种培养基 15 个重复。将接种完的培养皿倒置培养于 25 °C 恒温培

养箱中培养 72 h, 从第 3 天开始选取平板上不同形态特征的单菌落进行纯化后, 将形态学上存在差异的内生细菌通过 16S rRNA 方法进行分子生物学鉴定, 内生真菌通过扩增 ITS 序列进行鉴定。

1.5 内生菌的分子鉴定

使用 CTAB 法提取分离到的内生菌基因组 DNA, 细菌采用通用引物 (由北京擎科生物有限公司合成) 27F (5'-AGTTTGATCMTGG-CTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCT-TGTTACGACT-3'), 真菌使用引物 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'), 对提取的内生菌 DNA 进行 PCR 扩增。25 μ L PCR 扩增体系: 2 $\times$ Taq PCR Mixture 22 μ L (2mmol/L), 上下引物各 1 μ L (10 μ mol/L), DNA 模板 1 μ L。内生细菌 PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 50 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 循环次数为 33 次, 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 停止反应。内生真菌 PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 54 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 循环次数为 35 次, 72 $^{\circ}$ C 充分延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 停止反应。1%的琼脂凝胶糖电泳检测 PCR 扩增产物, 将检测合格的菌株送往上海生工生物工程有限公司进行测序, 测序结果在 NCBI 文库中进行比对, 确定各分离菌株分类地位。内生细菌菌株间的进化树和聚类分析使用建树软件 MAGE 11 完成, 比对方法选择 clustal W, 建树方法 neighbor-joining, 设定 bootstrap 为 1000。

1.6 猪油果种子内生细菌促生长能力鉴定

固氮活性检测^[39]: 使用经过高温灭菌的接种环将活化后的内生细菌接种于阿须贝无氮培养基平板上, 在每个平板上接种 3 个点。菌株于 25 $^{\circ}$ C 下培养 7 d 后观察菌株能否正常生长并形成透明圈, 正常生长的菌株再次接种到阿须贝无氮培养基上 25 $^{\circ}$ C 继续培养 7 d, 观察菌株是否持续具有固定氮元素的能力。每个菌株接种 3 个培养基作为重复。测量固氮菌圈直径 D 与菌落直径 d , 用 D/d 比值来衡量菌株固氮能力, 比值越大, 固氮能力越强。

溶磷能力检测^[37]: 使用经过高温灭菌的接种环将活化后的内生细菌接种于难溶性无机磷盐培养基上, 每个平板上接种 3 个点。菌株于 25 $^{\circ}$ C 下培养 7 d 后观察是否能在难溶性无机磷盐培养基上正常生长并形成水解圈, 将产生水解圈的菌株再次接种到难溶性无机磷盐培养基上 25 $^{\circ}$ C 继续培养 7 d, 观察菌株是否持续具有溶解难溶性无机磷的能力。每个菌株接种 3 个培养基作为重复。测量溶磷圈直径 D 与菌落直径 d , 用 D/d 比值来衡量菌株溶磷能力, 比值越大, 溶磷能力越强。

解钾功能分析^[37]: 使用经过高温灭菌的接种环将活化后的细菌接种于钾盐培养基平板上, 每个平板上接种 3 个点。菌株于 25 $^{\circ}$ C 下培养 7 d 后观察菌株的生长情况, 将在钾盐培养基上生长良好的菌株再次接种到钾盐培养基及无钾培养基上, 比较 2 种培养基上菌株的生长情况, 以筛选在无钾培养基上无法正常生长, 但在含钾盐培养基上继续生长良好的菌株, 这样的菌株即为具有溶解钾能力的菌株。每个菌株接种 3 个培养基作为重复。

产铁载体能力鉴定^[37]: 使用经过高温灭菌的接种环将活化后的细菌接种于 Cas 培养基平板上, 每个平板上接种 3 个点。菌株于 25 $^{\circ}$ C 下培养 7 d 后观察菌株的生长情况, 能够在 Cas 检测培养基上生长并形成黄色或橙色环的菌株即为具有产生铁载体能力的菌株。每个菌株接种 3 个培养基作为重复。测量黄色菌圈直径 D 与菌落直径 d , 用 D/d 比值来衡量菌株产

铁载体能力，比值越大，产铁载体能力越强。

1.7 促生长内生细菌对猪油果种子萌发的影响

试验称量 100 g 珍珠岩装入 250 mL 的组培瓶中，加入 50 mL 无菌水后拧紧盖子放入高压蒸汽灭菌锅中 121 °C 灭菌 20 min。选取在功能鉴定中具有较强溶磷、固氮功能的 3 株内生细菌菌株接种于牛肉膏液体培养基中，置于 35 °C 摇床中 180 r/min 培养 48 h，4 °C、8 000 r/min 离心收集菌体沉淀，加入无菌水重悬，调节菌悬液浓度为 1.5×10^8 CFU/mL。取表面消毒后切块的猪油果种子组织块浸入提前制备好的菌悬液中，约 10 s，在每个组培瓶中呈环形均匀地点入 3 粒猪油果种子组织块，每组设置 5 个重复。CK 组处理为表面消毒切块后浸入无菌水中。将组培瓶放入 25 °C 的恒温温室培养，光照时长 12 h/d。15 d 后开始统计猪油果种子组织块的萌发情况，评价优势内生菌的促生效果。具体统计测定猪油果种子组织块的发芽率和发芽势。

发芽率 = (50 d 种子发芽数 / 种子总数) × 100 %

发芽势 = (30 d 种子发芽数 / 种子总数) × 100 %

1.8 数据处理

使用 Excel 2018 软件计算数据的平均值和标准差，用 SPSS 27 软件进行单因素方差分析 (ANOVA)，检验方差齐性后使用 Duncan 氏新复极差法 (Duncan's new multiple range test) 比较组间差异，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 萌发前和萌发后可培养内生细菌多样性

在萌发前与萌发后猪油果种子中共分离到 70 株可培养内生细菌，其中萌发前猪油果种子中分离到 20 株 (PBS1-1-PBS1-20)，萌发后猪油果种子中分离到 50 株 (PBS3-1-PBS3-50)。通过 16S rRNA 基因序列比对，70 株内生细菌归类为 25 个 OTU，16 个属 (表 1)。其中，猪油果萌发前种子中分离得到的 20 株内生细菌归类为 11 个 OTU，萌发后的种子中分离得到的 50 株内生细菌归类为 18 个 OTU，萌发前和萌发后种子中有 4 个共有 OTU，归类为两个属，分别是 *Erwinia* (OTU1)、*Stenotrophomonas* (OTU4、OTU15 和 OTU16) (表 1)。

表 1 猪油果种子可培养内生细菌归类

Table 1 Classification of culturable endophytic bacteria in Pb seeds.

OTU 编号 OTU number	属名 Generic name	菌株编号(登录号) Strain number (Accession number)	相对丰度 Relative abundance (%)	
			萌发前 Pre-germination	萌发后 Post-germination
OTU1	<i>Erwinia</i>	PBS1-12(PQ614749); PBS1-13(PQ578347); PBS3-1(PQ586494); PBS3-3(PQ586496); PBS3-7(PQ586500); PBS3-12(PQ586504); PBS3-27(PQ586517)	10.00%	10.00%
OTU2	<i>Pantoea</i>	PBS3-2(PQ586495); PBS3-4(PQ586497); PBS3-5(PQ586498); PBS3-6(PQ586499); PBS3-8(PQ586501); PBS3-9(PQ586502); PBS3-11(PQ586503)	0	14.00%
OTU3	<i>Pseudomonas</i>	PBS3-49(PQ586533)	0	2.00%
OTU4	<i>Stenotrophomonas</i>	PBS1-16(PQ578350); PBS3-13(PQ586505); PBS3-14(PQ586506); PBS3-15(PQ586507); PBS3-17(PQ586509); PBS3-19(PQ586511); PBS3-21(PQ586513); PBS3-25(PQ586515); PBS3-30(PQ586520); PBS3-32(PQ586521);	5.00%	38.00%

		PBS3-33(PQ586522); PBS3-38(PQ586524); PBS3-39(PQ586525); PBS3-41(PQ586527); PBS3-43(PQ586529); PBS3-44(PQ586530); PBS3-46(PQ586531); PBS3-47(PQ586532); PBS3-48(PQ614748); PBS3-50(PQ586535)		
OTU5	<i>Acinetobacter</i>	PBS3-18(PQ586510)	0	2.00%
OTU6	<i>Alcaligenes</i>	PBS3-20(PQ586512)	0	2.00%
OTU7	<i>Acinetobacter</i>	PBS3-24(PQ586514)	0	2.00%
OTU8	<i>Burkholderia</i>	PBS3-26(PQ586516)	0	2.00%
OTU9	<i>Alcaligenes</i>	PBS3-28(PQ586518)	0	2.00%
OTU10	<i>Bacillus</i>	PBS1-18(PQ578352)	5.00%	0
OTU11	<i>Serratia</i>	PBS3-36(PQ586523)	0	2.00%
OTU12	<i>Sanguibacter</i>	PBS3-40(PQ586526)	0	2.00%
OTU13	<i>Sphingobacterium</i>	PBS3-29(PQ586519)	0	2.00%
OTU14	<i>Providencia</i>	PBS3-23(PQ625855)	0	2.00%
OTU15	<i>Stenotrophomonas</i>	PBS1-5(PQ578340); PBS1-6(PQ578341); PBS1-7(PQ578342); PBS1-17(PQ578351); PBS1-20(PQ578354); PBS3-22(PQ614746);	25.00%	2.00%
OTU16	<i>Stenotrophomonas</i>	PBS1-15(PQ578349); PBS3-16(PQ586508); PBS3-42(PQ586528); PBS3-45(PQ586534);	5.00%	6.00%
OTU17	<i>Bacillus</i>	PBS1-1(PQ578336)	5.00%	0
OTU18	<i>Serratia</i>	PBS1-2(PQ578337); PBS1-4(PQ578339); PBS1-8(PQ578343); PBS1-9(PQ578344)	20.00%	0
OTU19	<i>Serratia</i>	PBS1-19(PQ578353)	5.00%	0
OTU20	<i>Brucella</i>	PBS1-3(PQ578338)	5.00%	0
OTU21	<i>Chimaeribacter</i>	PBS1-10(PQ578345); PBS1-14 (PQ578348)	10.00%	0
OTU22	<i>Rahnella</i>	PBS1-11(PQ578346)	5.00%	0
OTU23	<i>Sphingobacterium</i>	PBS3-35(PQ625853); PBS3-37 (PQ625854)	0	4.00%
OTU24	<i>Providencia</i>	PBS3-31(PQ614747)	0%	2.00%
OTU25	unclassified <i>Pseudomonas</i> sp.	PBS3-10; PBS3-34	0	4.00%

在萌发前与萌发后猪油果种子中共分离到 39 株可培养内生真菌，其中萌发前猪油果种子中分离到 8 株 (FPBS1-1-FPBS1-8)，萌发后猪油果种子中分离到 31 株 (FPBS3-1-FPBS3-31)。通过基因序列比对，39 株内生真菌归类为 8 个 OTU，7 个属 (表 2)。其中，萌发前猪油果种子中分离得到的 8 株内生真菌归类为 4 个 OTU，萌发后的种子中分离得到的 31 株内生真菌归类为 4 个 OTU (表 2)。

表 2 猪油果种子可培养内生真菌归类

Table 2 Classification of culturable endophytic fungi from Pb seeds

OTU 编号 OTU number	属名 Generic name	菌株编号(登录号) Strain number (Accession number)	相对丰度 Relative abundance (%)	
			萌发前 Pre-germination	萌发后 Post-germination
OTU1	<i>Fusarium</i>	FPBS1-7(PQ849079); FPBS1-8(PQ849080)	29.00%	0
OTU2	<i>Neopestalotiopsis</i>	FPBS1-6(PQ849078)	14.00%	0
OTU3	<i>Neopestalotiopsis</i>	FPBS1-1(PQ849073); FPBS1-3(PQ849075); FPBS1-4(PQ849076)	43.00%	0
OTU4	<i>Pestalotiopsis</i>	FPBS1-2(PQ849074); FPBS1-5(PQ849077)	14.00%	0

OTU5	<i>Xenoacremonium</i>	FPBS3-1(PQ849081); FPBS3-2(PQ849082); FPBS3-3(PQ849083); FPBS3-4(PQ849084); FPBS3-5(PQ849085); FPBS3-6(PQ849086); FPBS3-7(PQ849087); FPBS3-8(PQ849088); FPBS3-9(PQ849089); FPBS3-11(PQ849091); FPBS3-12(PQ849092); FPBS3-13(PQ849093); FPBS3-14(PQ849094); FPBS3-15(PQ849095); FPBS3-16(PQ849096); FPBS3-18(PQ849098); FPBS3-19(PQ849099); FPBS3-20(PQ849100); FPBS3-21(PQ849101); FPBS3-25(PQ849105); FPBS3-26(PQ849106); FPBS3-28(PQ849108); FPBS3-31(PQ849111)	0	74.00%
OTU6	<i>Pseudocosmospora</i>	FPBS3-22(PQ849102); FPBS3-23(PQ849103); FPBS3-24(PQ849104); FPBS3-27(PQ849107); FPBS3-29(PQ849109); FPBS3-30(PQ849110)	0	19.00%
OTU7	<i>Aureobasidium</i>	FPBS3-10(PQ849090)	0	3.00%
OTU8	<i>Nectriaceae</i>	FPBS3-17(PQ849097)	0	3.00%

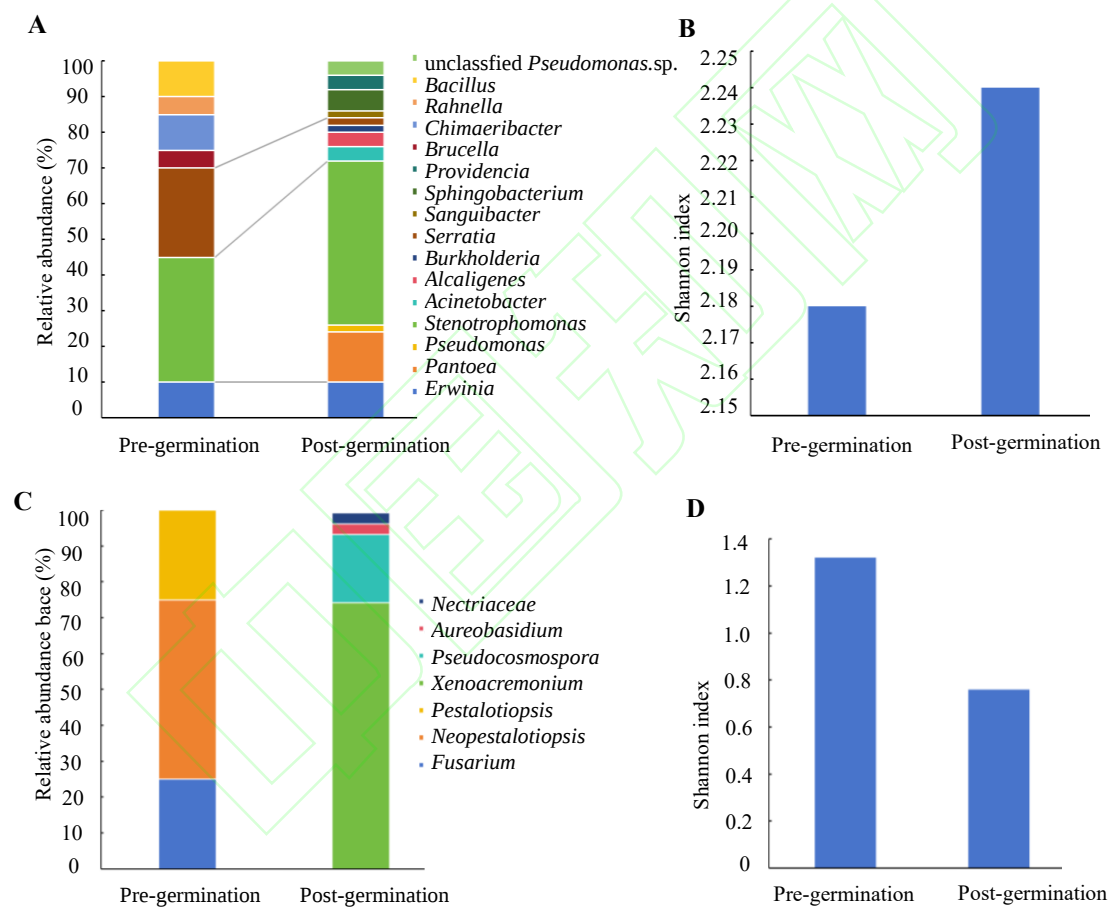


图1 猪油果种子萌发前后内生菌多样性及其组成 A: 萌发前与萌发后猪油果种子中可培养内生细菌组成及相对丰度; B: 萌发前与萌发后猪油果种子内生细菌的 Shannon 指数; C: 萌发前与萌发后猪油果种子中可培养内生真菌组成及相对丰度; D: 萌发前与萌发后猪油果种子内生真菌的 Shannon 指数

Figure 1 Diversity and composition of endophytes before and after germination of Pb seeds. A: Composition and relative abundance of culturable endophytic bacteria in Pb seeds before and after germination; B: Shannon index of endophytic bacteria in Pb seeds before and after germination; C: Composition and relative abundance of culturable endophytic fungi in Pb seeds before and after germination; D: Shannon index of endophytic fungi in Pb seeds before and after germination.

在属水平上，萌发前猪油果种子中的优势内生细菌属主要是寡养单胞菌属（*Stenotrophomonas*）和沙雷氏菌属（*Serratia*），相对丰度分别为 35.00%和 25.00%。萌发后种子中寡养单胞菌属（*Stenotrophomonas*）、泛菌属（*Pantoea*）和欧文氏菌属（*Erwinia*）优势度较高，相对丰度分别为 46.00%、14.00%和 10.00%（表 1；图 1A）。寡养单胞菌属（*Stenotrophomonas*）、欧文氏菌属（*Erwinia*）、沙雷氏菌属（*Serratia*）3 个属为萌发前后均能分离到的共有属（图 1A）。在属水平上，萌发前种子中仅分离到 3 个内生真菌属，分别是拟盘多毛孢属（*Neopestalotiopsis*）、镰孢菌属（*Fusarium*）和孢拟盘多毛孢属（*Pestalotiopsis*），相对丰度分别为 50.00%、25.00%和 25.00%。萌发后的种子中仅分离得到 4 个内生真菌属，其中，中国异枝顶孢属（*Xenoacremonium*）和 *Pseudocosmospora* 相对丰度较高，相对丰度分别为 74.19%和 19.00%（表 2；图 1C）。萌发后猪油果种子内生细菌多样性(Shannon 指数)大于萌发前种子(图 1B)，萌发后猪油果种子内生真菌多样性(Shannon 指数)小于萌发前种子（图 1D），表明随着种子萌发，种子中的可培养内生细菌种类的丰富度和物种分布的均一度都显著增加，而内生真菌却有所降低。

2.2 猪油果种子内生细菌促生长特性分析

从萌发前猪油果种子中鉴定到 2 株内生细菌 PBS1-4 (*Serratia*) 和 PBS1-12 (*Erwinia*)，萌发后的猪油果种子中鉴定到 3 株内生细菌 PBS3-13 (*Stenotrophomonas*)、PBS3-35 (*Sphingobacterium*) 和 PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 具有溶解难溶无机磷盐的功能。其中，萌发前种子中分离菌株 PBS1-12 (*Erwinia*) 溶磷能力最强 ($D/d=3.07$)（表 3）。

从萌发前猪油果种子中鉴定到 2 株内生细菌 PBS1-4 (*Serratia*)、PBS1-12 (*Erwinia*)，萌发后的猪油果种子中鉴定到 3 株内生细菌 PBS3-13 (*Stenotrophomonas*)、PBS3-35 (*Sphingobacterium*)、PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 具有固氮功能。其中，萌发前种子中菌株 PBS1-4 (*Serratia*) 固氮能力最强， D/d 为 3.25（表 3）。

从萌发前猪油果种子中鉴定到 5 株内生细菌 PBS1-1 (*Bacillus*)、PBS1-3 (*Brucella*)、PBS1-5 (*Stenotrophomonas*)、PBS1-8 (*Serratia*)、PBS1-18 (*Bacillus*)，萌发后的猪油果种子中鉴定到 2 株内生细菌 PBS3-23 (*Providencia*)、PBS3-43 (*Stenotrophomonas*) 具有产铁载体功能。其中，萌发前种子中菌株 PBS1-8 (*Serratia*) 产铁载体能力最强（表 3）。

猪油果种子内存在多种具有促生功能的内生菌，其中 PBS1-4 (*Serratia*)、PBS1-12 (*Erwinia*)、PBS3-13 (*Stenotrophomonas*)、PBS3-35 (*Sphingobacterium*)、PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 等菌株同时具有溶磷和固氮功能（表 3）。本次研究中未筛选到具有解钾能力的内生细菌。

表 3 猪油果种子可培养内生细菌菌株的促生长功能

Table 3 The growth promoting effects of culturable endophytic bacteria strains from Pb seeds.

菌株编号 Strain number	溶磷 Phosphate-dissolving	固氮 Nitrogen fixation	解钾 Potassium solubilization	产铁载体 Siderophore production
PBS1-1	-	-	-	1.44±0.10cd
PBS1-3	-	-	-	1.46±0.25cd
PBS1-4	1.97±0.20b	3.25±0.68a	-	-
PBS1-5	-	-	-	1.70±0.15c
PBS1-8	-	-	-	2.42±0.20a
PBS1-12	3.07±0.75a	2.46±0.53b	-	-

PBS1-18	-	-	-	2.07 ± 0.22b
PBS3-13	1.52 ± 0.27b	1.35 ± 0.82c	-	-
PBS3-23	-	-	-	1.40 ± 0.14d
PBS3-35	1.45 ± 0.12b	1.36 ± 0.13c	-	-
PBS3-43	-	-	-	1.46 ± 0.40cd
PBS3-48	1.48 ± 0.34b	2.39 ± 0.50b	-	-

注：表中数据为平均数 ± 标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$) ;
-: 无促生特性。

Data in the table are mean ± SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference in Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$). -: having no growth-promoting property.

2.3 Pb 种子促生长内生细菌的系统学分析

对 Pb 种子中分离鉴定的内生细菌构建基于 16S rDNA 序列的系统发育树。结果发现：具有溶磷功能的 Pb 种子内生菌菌株同时也具有固氮功能，主要分布于沙雷氏菌属 (*Serratia*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、*Sphingobacterium*、欧文氏菌属 (*Erwinia*)；具有产铁载体功能的 Pb 种子内生细菌菌株主要为芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、普罗菲登斯菌属 (*Providencia*)、布氏杆菌属 (*Brucella*) 的细菌。沙雷氏菌属 (*Serratia*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 中可以分离到同时具有溶磷、固氮和产铁载体功能的 Pb 种子内生细菌 (图 2)。

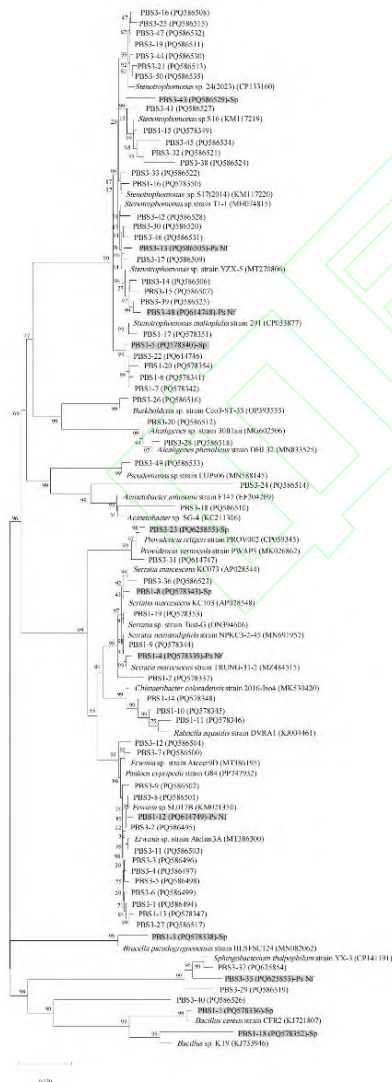


图 2 猪油果种子内生细菌基于 16S rRNA 序列的系统发育树 注：分支点上的数字为自展值，表示检验计算的进化树分支可信度；括号内为菌株的 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中的序列登录号；刻度 0.050 代表该长度下的进化距离，图中加深灰色阴影菌株表示经检验具有促生功能的菌株；Ps：菌株具有溶磷能力，Nf：菌株具有固氮能力，Sp：菌株具有产铁载体能力。

Figure 2 Phylogenetic Tree of Endophytic Bacteria 16S rRNA of Pb seeds. Numbers at branch nodes indicate bootstrap values reflecting the reliability of phylogenetic tree topology. Accession numbers in parentheses correspond to 16S rRNA gene sequences deposited in GenBank. The scale bar (0.050) represents evolutionary distance per nucleotide substitution. Strains highlighted with dark gray shading exhibit experimentally validated plant growth-promoting functions. Functional annotations: Ps(Phosphate solubilization), Nf(Nitrogen fixation), Sp(Siderophore production).

2.4 促生长内生细菌对 Pb 种子萌发的影响

选取具有促生长效应的 3 株 Pb 种子内生细菌菌株处理 Pb 种子组织块,发现具有溶磷、固氮功能的内生细菌菌株 PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 能明显提高 Pb 种子组织块的萌发率和发芽势，与对照组相比分别提高了 17.24%和 2.85%。但与对照组相比较该菌株对 Pb 种子萌发的促进效应未达到显著水平（表 4）

表 4 促生长内生细菌对 Pb 种子种子组织块萌发的影响

Table 4 Effect of growth-promoting endophytic bacteria on Pb seed germination

菌株编号	平均发芽率 (%)	平均发芽势 (%)
Strain number	Average germination rate (%)	Average germination potential (%)
CK	38.09 ±35.64a	23.81 ±37.09a
PBS1-4	33.00 ±23.57a	13.00 ±18.26a
PBS1-12	33.33 ±40.82a	20.00 ±29.82a
PBS3-48	53.33 ±18.26a	26.66 ±14.91a

注：表中数据为平均数±标准差。同列相同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异不显著 ($P>0.05$)。Data in the table are mean±SE. The same lowercase letters in the same column showed no significant difference by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

植物内生菌可以通过多种机制促进种子萌发和生长，例如：调节植物激素平衡^[40]、改善种子水分吸收^[41]、增强抗逆性^[42,43]和招募有益微生物^[40]等。基于猪油果种子的顽拗性，以萌发前与萌发后的猪油果种子为研究材料，系统探究其内生菌群落结构。实验结果显示：猪油果种子中内生细菌群落结构丰富，萌发前和萌发后的种子中可培养内生菌种类和数量均存在较大差异。在种子萌发前后分离到的内生细菌中，拉恩氏菌属、*Chimaeribacter*、布氏杆菌属、芽孢杆菌属等 4 个属仅分布在萌发前种子中；假单胞菌属、不动杆菌属、产碱杆菌属、伯克霍尔德菌属、*Sanguibacter*、泛菌属、鞘氨醇杆菌属、普罗维登斯菌属等 8 个属仅分布在萌发后的种子中。值得注意的是，萌发前后种子中可培养内生真菌组成完全不同，由萌发前的拟盘多毛孢属、镰孢菌属、孢拟盘多毛孢属转变为中国异枝顶孢属、*Pseudocosmospora* 等。Shannon 指数结果表明萌发后种子中的可培养内生细菌种类、数量和分布地均一度增多，可能是随着种子萌发，根系分泌物如糖类、氨基酸、黄酮等物质能够招募特定细菌类群^[44,45]，使得菌群的 Shannon 指数增加，同时有利于形成适合幼苗生长的根际微环境，促进根系发育以及幼苗获取养分^[44,46]。萌发后种子中可培养内生真菌的 Shannon 指数降低，可能是由于萌发后植物优先招募互利共生真菌，通过关键

功能类群维持生态功能,从而导致其他真菌类群丰度和均一度下降,在本研究中,种子萌发后, *Xenoacremonium* 的内生真菌在菌群中占有极大的优势,推测其可能是维持菌群功能的关键类群。

对萌发前后猪油果种子内生菌群中的差异内生菌功能特点进行分析,已有研究对萌发前种子中特有的内生细菌芽孢杆菌和水生拉恩菌进行了报道。Gagne-bourgue 等^[47]的研究显示芽孢杆菌具有产 IAA、细胞分裂素和溶磷特性特征,对种子萌发和生长具有促进作用。本研究中分离出的芽孢杆菌仅具有产铁载体能力。Truyens 等^[17]指出芽孢杆菌属细菌在休眠期可以通过可产生抗菌化合物抑制病原真菌或细菌的定殖,保护种子免受病原侵害。本研究中分离出的芽孢杆菌仅具有产铁载体能力,说明菌株功能可能存在物种或生态位特异性分化。水生拉恩菌在本研究中未表现出溶磷或固氮能力, NI 等^[48]研究发现菌株 *Rahnella aquatilis* MEM40 具有高效溶磷与固氮的能力,可显著提升土壤中作物生长所需的有效磷和氮含量,促进植物生长。LI 等^[49]开发了水生拉恩菌的多形态应用体系,发现菌株 *Rahnella aquatilis* ZF7 制成培养液、菌悬液或发酵产物后,可以刺激植物生长代谢,提高作物产量与品质。梁婧等^[50]揭示了水生拉恩菌的分子作用机制,研究发现 *Rahnella aquatilis* 菌株可以通过产生吡咯喹啉奎宁、吲哚-3-乙酸和抗菌物质来促进植物生长并且抑制根茎发生疾病,实现促生与病害防控双重效应。尽管本研究中在萌发前种子中分离到的特有内生细菌芽孢杆菌和水生拉恩菌在纯培养条件下均未显示出溶磷、固氮功能,但其在自然群落中可能通过功能冗余或协同作用维持生态功能。萌发后种子中特有的泛菌属细菌能通过多种机制促进植物生长^[51-55],泛菌属细菌不仅具有固氮和促生功能,还在一定程度上对植物病原菌具有生防作用。例如:Dutkiewicz 等^[56]的研究中指出菌株 *Pantoea agglomerans* 通过多维度机制协同促进作物生长并防控真菌病害。一方面该菌株可以通过固氮、产植物激素 (IAA)、分泌有机酸溶解土壤中难溶性磷酸盐,释放植物可利用的磷等方式,显著提高水稻、小麦产量;另一方面,通过分泌抗生素、与病原菌竞争生态位和营养资源以及诱导植物系统抗性 (ISR) 等方式直接或间接抑制真菌菌丝生长及孢子萌发,增强宿主对真菌侵染的防御反应,降低病原菌定殖能力。本研究分离的 *Pantoea cypripedii* 菌株未表现出明显的促生特性。此外,萌发后种子中特有的伯克霍尔德菌也有相关研究证明其能够稳定定殖于土壤中,并通过提高土壤磷有效性、增强微生物活性及促进养分吸收等方式,显著促进水稻生长^[57]。Bevivino 等^[58]的研究发现菌株 *Burkholderia fungorum* UFLA 04-155 在自然条件下对菜豆生长具有明确促生潜力,其通过营养元素活化与根瘤发育协同提升宿主适应性。有研究显示,接种罗维登斯菌属 *Providencia rettgeri* 后,黄豆的平均发芽率、胚轴长度和胚根长度分别增长了 5.40%、19.40%和 20.30%,表明该菌对种子萌发有显著促进作用^[59]。本研究中分离得到的 *Pantoea cypripedii*、伯克霍尔德菌、*Providencia rettgeri* 等菌株虽在促生功能检测中未表现出明显的促生特性,但结合前人研究,由于其在种子萌发前并未分离检测到,推测其可能是种子在萌发过程中招募来的有益菌,以其他方式在种子萌发过程中起到积极作用。关于种子萌发前的优势内生真菌 *Fusarium proliferatum* 是一类具有多种功能的菌株。例如:Sztejnberg 等^[60]称菌株 *F. proliferatum* 可用于防治由霜霉属、疫霉属和盘梗霉属等病原体引发的植物病害,KIM 等^[61,62]从土壤樱桃根中分离的增殖镰刀菌 *F. proliferatum* KGL0401 菌株中鉴定出的赤霉素生物合成基因 *ggs-2*,该基因可显著提高包括赤霉素的产量,对促进植物生长、种子萌发、茎秆伸

长、叶片发育、诱导开花及调控果实发育等起积极作用。本实验在萌发前种子中分离得到的内生真菌 *Pestalotiopsis microspora* 也已有相关报道。从红豆杉中分离得到的该种内生真菌进行发酵培养,发现其具有产生的单体化合物 HDS-1 表现出较强的赤霉素协同增效活性,并且在对中华蚊母树种子的萌发具有促进作用^[63]。萌发后种子中特有的优势菌属 *Xenoacremonia* 属于 Nectriaceae 科,但鲜有报道^[64],目前关于 *Xenoacremonia* 的报道主要集中在菌株 *Xenoacremonium sinensis* 的次级代谢产物及其生物活性方面的研究^[65]。

针对萌发前后种子共有的内生菌属的分析发现,欧文氏菌属、沙雷氏菌属、寡养单胞菌属在萌发前与萌发后的种子中均有分布,但其相对丰度随种子发育阶段而变化。这表明即使在同一生境下,种子不同发育阶段的内生菌群落组成依然存在显著差异,这与 Mano 等研究水稻成熟过程中根、叶中内生细菌动态变化的结果一致^[66]。促生特性研究表明猪油果种子内存在多种促生内生菌,其中部分内生细菌同时具有多种促生功能,如菌株 PBS1-4、PBS1-12、PBS3-13、PBS3-35、PBS3-48 等同时具有溶磷和固氮功能。菌株 PBS1-1、PBS1-3、PBS1-5、PBS1-18、PBS3-23、PBS3-43 等则具有产铁载体功能,且具有产铁载体功能的内生细菌主要分布在萌发前种子中。研究表明,产铁载体内生细菌主要通过铁载体的螯合作用来改变植物根际土壤中鉄的含量以及通过与一些病原微生物竞争鉄元素抑制病原微生物的生长进而直接或间接地促进植物的生长^[67]。推测萌发前种子中分布的多种产铁载体内生菌可能与促进猪油果萌发、生长有关。

种子萌发实验进一步验证能促进猪油果组织块萌发的内生细菌为寡养单胞属细菌。并且在萌发前与萌发后种子中检测到的寡养单胞属均为第一优势属,这与目前关于种子内生菌的研究分离所得优势内生菌多为芽孢杆菌属细菌所不同。近年来,寡养单胞菌在调节植物生长和修复有机污染等领域表现出良好的应用潜力^[68,69],受到国内外学者的广泛关注。大量研究指出一些寡养单胞菌属细菌能够通过产生抗菌物质、分泌植物生长激素等方式促进和保护植物生长^[70]。例如:Zhang 等^[71]研究发现,寡养单胞菌菌株 SB-K88 和嗜麦芽寡养单胞菌 C3 能够通过分泌黄杆菌素和几丁质酶抑制病原菌的生长,从而保障宿主植物的健康生长。邓阳等^[70]在综述指出嗜麦芽寡养单胞菌 DSM 50170T 等多个菌株均能够通过分泌 IAA 等植物激素促进根系生长,从而提升植物的整体生长能力。

4 结论

本研究发现猪油果种子萌发前后可培养内生菌组成存在较大差异,且种子中存在多种促生内生细菌,优势内生细菌属为寡养单胞菌属,优势内生真菌属为中国异枝顶孢属。其中,同时具有溶磷、固氮功能的菌株 PBS3-48 (*Stenotrophomonas*) 对猪油果种子组织块具有较好的促生能力,能显著提高猪油果种子组织块的发芽率和发芽势。研究结果有助于揭示顽拗性猪油果种子相关的内生菌群及其相关的生理机制。

致谢

感谢国家重要野生植物种质资源库对本研究的支持。

作者贡献说明

耿树存负责文章总体实验推进、数据处理、论文写作;胡红艳、樊玉坤负责实验材料处理、数据处理;兰芹英、杨明挚负责论文框架构思、原稿审查。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无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

REFERENCES

- [1] NELSON EB. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere[J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42: 271-309.
- [2] KAGA H, MANO H, TANAKA F, WATANABE A, KANEKO S, MORISAKI H. Rice seeds as sources of endophytic bacteria[J]. Microbes and Environments, 2009, 24(2): 154-162.
- [3] FORT T, PAUVERT C, ZANNE AE, OVASKAINEN O, CAIGNARD T, BARRET M, COMPANT S, HAMPE A, DELZON S, VACHER C. Maternal effects shape the seed mycobiome in *Quercus petraea*[J]. New Phytologist, 2021, 230(4): 1594-1608.
- [4] ROBINSON RJ, FRAAIJE BA, CLARK IM, JACKSON RW, HIRSCH PR, MAUCHLINE TH. Wheat seed embryo excision enables the creation of axenic seedlings and Koch's postulates testing of putative bacterial endophytes[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 25581.
- [5] COMPANT S, MITTER B, COLLI-MULL JG, GANGL H, SESSITSCH A. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization[J]. Microbial Ecology, 2011, 62(1): 188-197.
- [6] 杜衍, 耿燕楠, 刘丽, 高德民. 北柴胡种子内生菌群落结构与多样性[J]. 生物资源, 2022, 44(1): 36-44.
- DU K, GENG YN, LIU L, GAO DM. Community structure and diversity of endophytes of *Bupleurum chinense* DC. seeds[J]. Biotic Resources, 2022, 44(1): 36-44. (in Chinese).
- [7] 张誉芳, 文湘穗, 王雨濛, 任跃英, 李宝全, 冷世和. 北五味子种子内生真菌的分离鉴定及抑菌性研究[J]. 中药材, 2020, 43(5): 1087-1091.
- ZHANG YQ, WEN XS, WANG YM, REN YY, LI BQ, LENG SH. Isolation and identification of endophytic fungi from *Schisandra chinensis* seeds and bacteriostasis study[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 43(5): 1087-1091. (in Chinese).
- [8] SHAHZAD R, KHAN AL, BILAL S, ASAF S, LEE IJ. What is there in seeds – vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 24.
- [9] TAGHAVI S, GARAFOLA C, MONCHY S, NEWMAN L, HOFFMAN A, WEYENS N, BARAC T, VANGRONSVELD J, van der LELIE D. Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(3): 748-757.
- [10] XU MS, SHENG JP, CHEN L, MEN YJ, GAN L, GUO ST, SHEN L. Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2014, 30(3): 835-845.
- [11] COMPANT S, SAMAD A, FAIST H, SESSITSCH A. A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application[J]. Journal of Advanced Research, 2019, 19: 29-37.
- [12] 刘媛, 渠露露, 叶美迪, 黄曹生, 朱月丹, 王俏然, 李淑彬. 棕榈科植物种子内生细菌群落多样性的高通量测序分析[J]. 微生物学报, 2019, 59(3): 554-565.
- LIU Y, QU LL, YE MD, HUANG CS, ZHU YD, WANG QR, LI SB. Diversity of bacterial endophytes communities in the seeds of several Palmae plants via high throughput sequencing method[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(3): 554-565. (in Chinese).
- [13] ETESAMI H, BEATTIE GA. Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 148.
- [14] MA Y, RAJKUMAR M, ZHANG C, FREITAS H. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 174: 14-25.
- [15] PIETERSE CMJ, ZAMIOUDIS C, BERENDSEN RL, WELLER DM, van WEES SCM, BAKKER PAHM. Induced systemic resistance by beneficial microbes[J]. Annual Review of Phytopathology, 2014, 52: 347-375.
- [16] SANTOYO G, MORENO-HAGELSIEB G, del CARMEN OROZCO-MOSQUEDA M, GLICK BR. Plant growth-promoting bacterial endophytes[J]. Microbiological Research, 2016, 183: 92-99.
- [17] TRUYENS S, WEYENS N, CUYPERS A, VANGRONSVELD J. Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants[J]. Environmental Microbiology Reports, 2015, 7(1): 40-50.
- [18] LANKOANDÉ B, LYKKE AM, BOUSSIM JI, OUÉDRAOGO A. Structure, plant diversity and future management of *Pentadesma butyracea* stands, an endangered oil tree species in Burkina Faso, West Africa[J]. Forestry, 2019, 92(5): 591-598.
- [19] VERMA SK, KHARWAR RN, WHITE JF. The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment[J]. Symbiosis, 2019, 78(2): 107-113.
- [20] ZELEFACK F, GUILLET D, FABRE N, BAYET C, CHEVALLEY S, NGOUELA S, LENTA BN, VALENTIN A, TSAMO E, DIJOUX-FRANCA MG. Cytotoxic and antiplasmodial xanthenes from *Pentadesma butyracea*[J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(5): 954-957.
- [21] ALITONOU G, AVLESSI F, SOHOUNHLOUE DCK, BESSIÈRE JM, MENUT C. Chemical and biological investigation on volatile constituents of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) from Benin[J]. Journal of Essential Oil Research, 2010, 22(2): 138-140.
- [22] WABO HK, KIKUCHI H, KATOU Y, TANE P, OSHIMA Y. Xanthenes and a benzophenone from the roots of

- Pentadesma butyracea* and their antiproliferative activity[J]. Phytochemistry Letters, 2010, 3(2): 104-107.
- [23]de DIEU TAMOKOU J, CHOUNA JR, FISCHER-FODOR E, CHERECHES G, BARBOS O, DAMIAN G, BENEDEC D, DUMA M, EFOUET APN, WABO HK, KUIATE JR, MOT A, SILAGHI-DUMITRESCU R. Anticancer and antimicrobial activities of some antioxidant-rich cameroonian medicinal plants[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55880.
- [24]CHABI IB, AÏSSI MV, ZANNOU O, KPOCLOU YE, AYEONON BP, BADOUSSE ME, BALLOGOU VY, GOKSEN G, KHANEGHAH AM, ADÉCHOLA P P K. New value chain *Pentadesma* nuts and butter from West Africa to international markets: Biological activities, health benefits, and physicochemical properties[J]. Food Science & Nutrition, 2023, 12(2): 907-920.
- [25]LENTA BN, KAMDEM LM, NGOUELA S, TANTANGMO F, DEVKOTA KP, BOYOM FF, ROSENTHAL PJ, TSAMO E. Antiplasmodial constituents from the fruit pericarp of *Pentadesma butyracea*[J]. Planta Medica, 2011, 77(4): 377-379.
- [26]TINDANO B, BAYALA B, DOUKOURE M, BELEMTOUNGRI GR, TAMBOURA HH, SAWADOGO L. Phytochemical composition, acute toxicity and phytohormonal activity of hydroalcoholic extract of *Pentadesma butyracea* (Clusiaceae Sabine (1824)) seeds[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2017, 11(42): 656-664.
- [27]TIMTEY JA, ALEMAWOR F, ELLIS WO, PEPRA-AMEYAW NB, AGBENORHEVI JK. *Pentadesma butyracea* in Ghana—indigenous knowledge, uses, and seed characterization[J]. Scientific African, 2023, 21: e01747.
- [28]AVOCÈVOU-AYISSO C, SINSIN B, ADÉGBIDI A, DOSSOU G, van DAMME P. Sustainable use of non-timber forest products: Impact of fruit harvesting on *Pentadesma butyracea* regeneration and financial analysis of its products trade in Benin[J]. Forest Ecology and Management, 2009, 257(9): 1930-1938.
- [29]ELLIS RH, HONG TD, ROBERTS EH. An intermediate category of seed storage behaviour [J]. Journal of Experimental Botany, 1990, 41(9): 1167-1174.
- [30]NEUENSCHWANDER P, SINSIN B, GOERGEN G. Nature conservation in West Africa: red list for Benin [J]. 2011, 21-46.
- [31]AVOCÈVOU C, SINSIN B, OUMOROU M, DOSSOU G, DONKPEGAN A, PAROTTA J, OTENGYEBOAH A, COBBINAN J. Ethnobotany of *Pentadesma butyracea* in Benin: a quantitative approach; Traditional Forest-related Knowledge and Sustainable Forest Management in Africa Papers from the Conference Held in Accra, F, 2009[C].
- [32]AÏSSI MV, NATTA A, MOHAMED S. Connaissance indigène des procédés de production du beurre de *Pentadesma butyracea* au Bénin[J]. 2015, 33(4): 340-350.
- [33]TCHOBO PF, ALAIN AG, JEAN-PIERRE N, MICKAEL L, BRUNO B, PIOMBO G, K.ARMAND N, PIERRE V, MANSOUROU SM, K.C.DOMINIQUE S. Evaluation of the chemical composition of *Pentadesma butyracea* butter and defatted kernels[J]. International Journal of Biosciences, 2013, 3(1): 101-108.
- [34]NOUDOGBESSI JPA, NATTA AK, TCHOBO FP, BOGNINOU GS, BOTHON FTD, BOSSOU AD, FIGUEREDO G, CHALARD P, CHALCHAT JC, SOHOUNHLOUÉ DCK. Phytochemical screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) acclimated in Benin by GC/MS[J]. International Scholarly Research Notices, 2013, 2013: 172397.
- [35] 钱程, 叶景, GALAI K E, 张琴, 高梦蝶, 杨新宇, 喻艳玲, 唐松. 一株柠檬内生细菌 Z10 的分离鉴定及其抑菌活性的发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2024, 51(5): 1641-1658.
- QIAN C, YE J, GALAI KE, ZHANG Q,GAO MD, YANG XY, YU YL, TANG S. Isolation, identification, and fermentation condition optimization for antimicrobial activity of an endophytic bacterial strain Z10 from lemon[J]. Microbiology China, 2024, 51(5): 1641-1658.
- [36] 徐云龙, 周游, 汪军, 郭立佳, 黄俊生, 杨腊英. 一株自生固氮菌的分离鉴定及其对不同品种香蕉的促生特性[J]. 热带作物学报, 2024,45(5):936-943.
- XU YL, ZHOU Y, WANG J, GUO LJ, HUANG JS, YANG LY. Isolation and identification of a nitrogen fixing bacteria and its growth promoting characteristics in different Banana varieties[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2024,45(5):936-943.
- [37] 张凤麟, 黄宁, 李雷, 陈伟东, 季欣悦, 包英哲, 王鸿斌. 耐乙草胺促生菌筛选及其对玉米幼苗的促生效应[J]. 农业资源与环境学报, 2024,41(1):212-221.
- ZHANG FL, HUANG N, LI L, CHEN WD, JI XY, BAO YZ, WANG HB. Screening of acetochlor-resistance-promoting bacteria and their growth-promoting effects on maize seedlings[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2024,41(1):212-221.
- [38] 唐小飞. 解钾菌的分离鉴定及其对烟草的促生作用研究[D]. 合肥: 合肥大学硕士学位论文, 2023.
- TANG XF. Isolation and identification of potassium solubilizing bacteria and their growth promoting effects on Tobacco[D]. Hefei: Master's Dissertation of Hefei University, 2023.
- [39] 杨华, 胡展, 郭照辉, 肖蓉, 罗容珺, 付祖姣, 魏小武, 蔡长平, 王玉双. 水稻促生菌的筛选、鉴定及其促生效果[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2088-2099.
- YANG H, HU Z, GUO ZH, XIAO R, LUO RJ, FU ZJ,WEI XW, CAI CP, WANG YS. Screening and identification of rice growth-promoting strains and their effects on rice growth[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2088-2099.
- [40]BERENDSEN RL, PIETERSE CMJ, BAKKER PAHM. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [41]GLICK BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications[J]. Scientifica, 2012, 2012: 963401.
- [42]COMPANT S, DUFFY B, NOWAK J, CLÉMENT C, BARKA EA. Use of plant growth-promoting bacteria for

biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959.

[43]BULGARELLI D, ROTT M, SCHLAEPPI K, VER LOREN van THEMAAT E, AHMADINEJAD N, ASSENZA F, RAUF P, HUETTEL B, REINHARDT R, SCHMELZER E, PEPLIES J, GLOECKNER FO, AMANN R, EICKHORST T, SCHULZE-LEFERT P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota[J]. Nature, 2012, 488: 91-95.

[44]BAIS HP, WEIR TL, PERRY LG, GILROY S, VIVANCO JM. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 233-266.

[45]VENTURI V, KEEL C. Signaling in the rhizosphere[J]. Trends in Plant Science, 2016, 21(3): 187-198.

[46]CHAPARRO JM, BADRI DV, VIVANCO JM. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development[J]. The ISME Journal, 2014, 8(4): 790-803.

[47]GAGNE-BOURGUE F, ALIFERIS KA, SEGUIN P, RANI M, SAMSON R, JABAJI S. Isolation and characterization of indigenous endophytic bacteria associated with leaves of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) cultivars[J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 114(3): 836-853.

[48]NI H, CHEN L, MA W, SUN X, XU Y. Multifunctional *Rahnella aquatilis* MEM40 used for promoting plant growth, where plant is pakchoi, and for solving poorly soluble inorganic phosphorus, is preserved at China Center for Type Culture Collection[P]: CHINA, CN109576194(B), 2019.

[49]LI L, LI B, SHI Y, XIE X, CHAI A, ZHENG F. New *Rahnella aquatilis* ZF7 strain used in culture solution, bacterial suspension or fermentation product for bacteriostatic action, preparing plant biocontrol agents, is deposited in China General Microbiological Culture Collection Center[P]: CHINA, CN109234193(B), 2019.

[50] 梁婧, 胡秀彩, 吕爱军, 孙敬锋. 水生拉恩菌研究进展[J]. 水产科学, 2020, 39(6): 972-978.

LIANG J, HU XC, LYU AJ, SUN JF. A review: research advances on an aquatic common contaminating bacterium *Rahnella aquatilis*[J]. Fisheries Science, 2020, 39(6): 972-978. (in Chinese).

[51]ALI MALBOOBI M, OWLIA P, BEHBAHANI M, SAROKHANI E, MORADI S, YAKHCHALI B, DELJOU A, MORABBI HERAVI K. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(8): 1471-1477.

[52]ALI MALBOOBI M, BEHBAHANI M, MADANI H, OWLIA P, DELJOU A, YAKHCHALI B, MORADI M, HASSANABADI H. Performance evaluation of potent phosphate solubilizing bacteria in potato rhizosphere[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(8): 1479-1484.

[53]LAKSHMANAN V, SHANTHARAJ D, LI G, SEYFFERTH AL, JANINE SHERRIER D, BAIS HP. A natural rice rhizospheric bacterium abates arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Planta, 2015, 242(4): 1037-1050.

[54]SON HJ, PARK GT, CHA MS, HEO MS. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(2): 204-210.

[55]SULBARÁN M, PÉREZ E, BALL MM, BAHSAS A, YARZÁBAL LA. Characterization of the mineral phosphate-solubilizing activity of *Pantoea agglomerans* MMB051 isolated from an iron-rich soil in southeastern Venezuela (bolívar state)[J]. Current Microbiology, 2009, 58(4): 378-383.

[56]DUTKIEWICZ J, MACKIEWICZ B, LEMIESZEK MK, GOLEC M, MILANOWSKI J. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants[J]. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 2016, 23(2): 197-205.

[57]STEPHEN J, SHABANAMOL S, RISHAD KS, JISHA MS. Growth enhancement of rice (*Oryza sativa*) by phosphate solubilizing *Gluconacetobacter* sp. (MTCC 8368) and *Burkholderia* sp. (MTCC 8369) under greenhouse conditions[J]. 3 Biotech, 2015, 5(5): 831-837.

[58]BEVIVINO A, SARROCCO S, DALMASTRI C, TABACCHIONI S, CANTALE C, CHIARINI L. Characterization of a free-living maize-rhizosphere population of *Burkholderia cepacia*: effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1998, 27(3): 225-237.

[59] 李青青, 张芮, 高彦婷, 张红娟, 刘柯含. 耐盐碱解磷菌的溶磷效果及其对黄豆萌发的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4574-4589.

LI QQ, ZHANG R, GAO YT, ZHANG HJ, LIU KH. Phosphorus solubilization effect of saline-tolerant phosphorus-solubilizing bacteria and its effect on soybean germination[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4574-4589. (in Chinese).

[60]SZTEJNBERG A, PEARSON R, PEARSON RC. Biological control of oomycete-induced plant diseases with *Fusarium proliferatum*[P]: US IL, WO1995031106(A1), 1996.

[61]KIM J, RIM S, LEE J, SHIN Y. Novel gibberellin biosynthesis gene ggs-2 from *Fusarium proliferatum* KGL0401 isolated from ground cherry root, useful for enhanced production of gibberellin biosynthesis[P]: KoRea, KR200805258(A), 2009.

[62]KIM JG, RIM SO, LEE JH, RLEE IK, LEE IJ, SHIN YK. Producing gibberellic acids in bulk useful for promoting growth of plants comprises using *Fusarium proliferatum* kgl0401 strain[P]: KoRea, KR2006057302(A), 2007.

[63] 李小聪. 红豆杉小孢拟盘多毛孢次生代谢产物及其赤霉素协同增效活性研究[D]. 武汉: 武汉大学博士学位论文, 2015.

LI XC. Study on the synergistic activity of secondary metabolites and gibberellin from *Paecilomyces Microsporum* of *Taxus chinensis*[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Wuhan University, 2015 (in Chinese)

- [64] LOMBARD L, van der MERWE NA, GROENEWALD JZ, CROUS PW. Generic concepts in Nectriaceae[J]. *Studies in Mycology*, 2015, 80: 189-245.
- [65] LIU ZG, LIU L, WANG AQ, LI L, ZHAO SN, WANG YN, SUN Y. Xenoacremones D-H, bioactive tyrosine-decahydrofluorene analogues from the plant-derived fungus *Xenoacremonium sinensis*[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(6): 375.
- [66] MANO H, TANAKA F, NAKAMURA C, KAGA H, MORISAKI H. Culturable endophytic bacterial flora of the maturing leaves and roots of rice plants (*Oryza sativa*) cultivated in a paddy field[J]. *Microbes and Environments*, 2007, 22(2): 175-185.
- [67] AHMED E, HOLMSTRÖM SM. Siderophores in environmental research: roles and applications[J]. *Microbial Biotechnology*, 2014, 7(3): 196-208.
- [68] ELUFISAN TO, RODRÍGUEZ-LUNA IC, OYEDARA OO, SÁNCHEZ-VARELA A, HERNÁNDEZ-MENDOZA A, GONZALEZ ED, PAZ-GONZÁLEZ AD, MUHAMMAD K, RIVERA G, VILLALOBOS-LOPEZ MA, GUO XW. The Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) degradation activities and genome analysis of a novel strain *Stenotrophomonas* sp. Pemsol isolated from Mexico[J]. *PeerJ*, 2020, 8: e8102.
- [69] ARULAZHAGAN P, AL-SHEKRI K, HUDA Q, GODON JJ, BASAHI JM, JEYAKUMAR D. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by an acidophilic *Stenotrophomonas maltophilia* strain AJH1 isolated from a mineral mining site in Saudi Arabia[J]. *Extremophiles*, 2017, 21(1): 163-174.
- [70] 邓阳, 姜竹鸣, 张玉琴. 寡养单胞菌属细菌的研究进展[J]. *生物资源*, 2021, 43(1): 1-9.
- DENG Y, JIANG ZM, ZHANG YQ. Research progress on the genus *Stenotrophomonas*[J]. *Biotic Resources*, 2021, 43(1): 1-9. (in Chinese).
- [71] ZHANG Z, YUEN GY. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 in biological control of *Bipolaris sorokiniana*[J]. *Phytopathology*, 2000, 90(4): 384-389.