

兰科植物内生细菌物种多样性及其促生机理研究进展

张萍^a, 宋希强^{a,b*}

(海南大学, a. 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室; b. 园艺园林学院, 海南 儋州 571737)

摘要: 内生细菌影响兰科植物菌根形成和共生关系的稳定性,在兰科植物的生活史中起着重要作用。内生细菌通过分泌植物激素、采用光合作用、生物固氮或促进矿质营养的循环以及产生铁载体、合成其他活性物质等途径来促进兰科植物生长发育。综述了兰科植物内生细菌物种多样性的研究方法及其对兰科植物的促生机理,基于兰科植物与共生微生物的密切关系,认为内生细菌间、内生细菌与兰科植物菌根真菌间的互作是揭示兰科植物与内生细菌互作机理的重要方向。

关键词: 内生细菌; 兰科植物菌根真菌; 激素; 生物固氮; 铁载体

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.01.017

Advances in Diversity and Promotion Mechanism of Endophytic Bacteria Associated with Orchids

ZHANG Ping^a, SONG Xi-qiang^{a,b*}

(a. Key Laboratory of Protection and Developmental Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources; b. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: Endophytic bacteria play an important role in the life history of orchids, which influence the formation of mycorrhiza and stability of plant-fungi interaction. Endophytic bacteria could promote growth and development of orchids by secreting phytohormone, conducting photosynthesis, fixing nitrogen or promoting the cycle of mineral nutrition, producing siderophore and secreting other active substances. The research methods of the diversity of endophytic bacteria associated with orchids, and their growth-promoting mechanism were reviewed. Based on the close relationship between orchids and symbiotic microbe, the studies on interactions between endophytic bacteria and mycorrhizal fungi will be an important direction to reveal the mechanism of orchid-endophytic bacteria interaction.

Key words: Endophytic bacteria; Orchid mycorrhizal fungi; Phytohormone; Fixing nitrogen; Siderophore

植物内生细菌是指栖息在健康植物组织内且对宿主无实质性伤害的一类微生物,其中一些细菌对植物有益,具有促进植物种子萌发、光合形态建成及生长发育,增强宿主抗逆性等生物学功能^[1]。兰科植物与微生物存在着复杂的微生态关系。在这个系统中,内生真菌是兰科植物赖以生存的营养

之源^[2],而内生真菌又强烈依赖于系统中的细菌。兰科植物的根被为海绵状多孔结构的组织,这为内生细菌的栖居提供了良好的小生境。细菌可通过气孔、皮孔、伤口等开放性结构进入植物组织,然后在植物组织间隙或细胞间质形成群落,极少数进入组织细胞内,这样不仅有利于营养物质的吸收和积

收稿日期: 2011-06-27 接受日期: 2011-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30860233, 31160178); 霍英东青年教师基金项目(11029); 教育部博士点基金项目(20104601110002); 海南省自然科学基金项目(310025)资助

作者简介: 张萍(1984 ~), 女, 硕士研究生, 研究方向为园林植物种质资源学, email: dcwql26@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, email: song.strong@163.com

累,同时也可保护细菌免于紫外辐射、干燥、渗透压等其他有害环境,从而保障了内生细菌的生存,并促使其形成具有生态功能的群落^[3]。早在 1933 年,Rogers 就首次报道了原产澳大利亚的天麻(*Gastrodia sesamoides*)的根状茎、根和芽中存在细菌。至今,已从 90 多种兰科植物中分离到了大量内生细菌,研究表明这些内生细菌对兰科植物具有重要的生物学功能^[4]。本文综述了兰科植物内生细菌物种多样性的研究方法及其对兰科植物的促生机理等方面的研究进展,旨在揭示兰科植物与内生细菌的互作机理,以期对兰科植物的保育策略研究提供参考。

1 兰科植物内生细菌的多样性

1.1 多样性研究方法

一直以来,兰科植物内生细菌的多样性研究主要以传统的分离培养法为主,通过平板培养法分离培养,然后根据菌体的形态特征、生理生化特性进行分类研究。这种传统的研究方法是微生物学研究的基石,对微生物群落结构,尤其在发现新物种资源方面具有不可替代的作用。但是内生菌对生存环境的要求特殊,目前对这些特殊要求还不够清楚,分离培养过程中所用培养基可能不能完全满足内生菌的需求,它们在脱离原生境的情况下不易存活,使得分离出的内生菌种类大大减少,不能客观全面反映微生态系统中微生物的真实状况。过去,为了得到兰科植物内生细菌的实体,一直采用传统纯化培养中常用的细菌培养基和操作方法,从多种兰科植物上只得到少数几种内生细菌^[5-6],后来经过对分离前表面灭菌条件和培养基成分进行改进^[7],使分离培养条件与自然状态更接近,从而获得了更多的内生细菌资源。

随着分离培养方法的不断改进,从兰科植物上分离出越来越多的内生细菌。若采用传统的分类鉴定方法,工作量大且繁琐,而且受到种类特征的种间重叠和环境的影响,一些近缘种和疑难种往往难以确认。近年来,随着分子生物学技术的发展,细菌的分类以及多样性分析有了很大的发展,如 RAPD、RFLP、DGGE、T-RFL 等新方法也逐步应用于细菌的分类鉴定之中。这些新方法克服了传统方法的一些缺陷,为检测植物内生细菌种群多样性提供了更有效的手段。目前在分子生物学方面,兰科植物内生细菌的鉴定和多样性分析

主要采用 16S rDNA 序列分析,以及将它与核糖体 DNA 扩增片段限制性分析(ARDRA)相结合^[8-9],再利用获得的序列进行系统进化分析。这些分子手段极大推动了兰科植物内生细菌多样性的研究。尽管如此,分子生物学手段也存在局限性,加上现有数据库还不够完善,因而一些种间或种内菌株仍然无法进行准确、科学的分类,尤其发现潜在的新物种时,仍需要传统的形态鉴定方法。因此,目前兰科植物内生细菌多样性研究还是以传统分离培养法为主,辅以分子技术手段,以确保结果的可靠性。

1.2 兰科植物内生细菌的物种多样性

兰科植物是单子叶植物中的 1 个大家族,广泛分布在温带、热带和亚热带地区的各种生境中。自 20 世纪 80 年代末以来,兰科植物内生细菌的研究日益成为研究热点。从地生兰和附生兰的根、茎等器官先后分离到内生细菌,其中根部是内生细菌常见的分离部位(表 1)。据不完全统计,这些兰科植物内生细菌隶属于近 60 属。

同种兰科植物中某种细菌出现频率较高,这种细菌称为该兰科植物的优势内生细菌。Wilkinson 等^[10]从 13 种西澳大利亚地生兰的 12 个菌根组织中分离到一批内生细菌,结果表明假单胞菌属(*Pseudomonas*)细菌最常见,其次是芽孢杆菌属(*Bacillaceae*)、库特氏菌属(*Kurthia*)和节杆菌属(*Arthrobacter*),其中假单胞菌属为兰科植物 *Pterostylis vittata* 根系中的优势菌(72.8%),而芽孢杆菌属为 *Diuris* 的优势菌(71.4%)^[11-12]。研究表明,兰科植物内生细菌的属丰富度会随季节,尤其是基于菌根真菌侵染的组织形态学的不同而发生变化,而细菌属的比例与兰科植物的种类、根龄、生长季节以及与菌根真菌的定殖程度相关^[10]。

俄罗斯学者对栽培和野生的几种附生兰及地生兰进行了内生细菌的研究,结果表明,兰科植物的内生细菌种类丰富,附生兰与地生兰的内生细菌种类不同^[5,13];附生兰的基生根与气生根内的细菌种类也不同,气生根内的细菌更丰富,也更适合细菌的定殖^[6,13]。从各类型的根中都分离出大量的假单胞菌,因此假单胞菌为优势细菌。内生细菌隶属于不同属反映了兰科植物生活小生境的不同^[14]。

表 1 主要兰科植物及其内生细菌

Table 1 Main orchids and their associated endophytic bacterias

宿主兰花 Host orchid	部位 Part	内生细菌 Endophytic bacterial	参考文献 Reference
杓唇石斛 <i>Dendrobium moschatum</i>	根 Root	<i>Bacillus</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhodococcus</i>	[6]
短序脆兰 <i>Acampe papillosa</i>	根 Root	<i>Alcaligenes</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Gluconobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>	[6]
卷萼兜兰 <i>Paphiopedilum appletonianum</i>	根 Root	<i>Streptomyces</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.,	[13]
节茎石仙桃 <i>Pholidota articulata</i>	根 Root	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp.	[13]
<i>Pterostylis vittata</i>	根 Root	<i>Pseudomonas</i> , <i>P. fluorescens</i>	[11]
<i>Diuris</i>	根 Root	<i>Bacillus</i>	[12]
兔儿兰 <i>Cymbidium lancifolium</i>	根 Root	<i>P. putida</i> , <i>B. scereus</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Flavobacterium johnsoniae</i> , <i>B. megaterium</i>	[15]
短穗斑叶兰 <i>Goodyera maximowicziana</i>	根 Root	<i>E. rhapontici</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. muralis</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>B. psychroviridis</i>	[15]
马鞭兰 <i>Cremastra appendiculata</i>	根 Root	<i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>B. weihenstephanensis</i> , <i>B. cereus</i>	[15]
台湾春兰 <i>Cymbidium formosanum</i> var. <i>formosanum</i>	根 Root	<i>P. graminis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. weihenstephanensis</i> , <i>P. jessenii</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. fluorescens</i>	[15]
黄花杓兰 <i>Cypripedium flavum</i>	根 Root	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>B. cereus</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Uncultured Pseudomonas</i> sp.	[16]
二叶甸茎兰 <i>Galeari diantha</i>	根 Root	<i>P. fluorescens</i> , <i>Aranicola</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	[16]
广布小蝶兰 <i>Ponerorchis chusua</i>	根 Root	<i>Antarctic</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>B. sphaericus</i> , <i>Bacillus</i> sp.	[16]
少花鹤顶兰 <i>Phaius delavayi</i>	根 Root	<i>Bacillus</i> sp., <i>B. thuringiensis</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	[16]
珊瑚兰 <i>Corallorhiza trifida</i>	根 Root	<i>Luteibactor rhizovicina</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Aeromonas</i> sp.	[16]
沼兰 <i>Malaxis monophyllos</i>	根 Root	<i>Arthrobacter oxydans</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	[16]
尖唇鸟巢兰 <i>Neottia acuminata</i>	根 Root	<i>Bacillus</i> sp., <i>Uncultured Pseudomonas</i> sp., <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. cereus</i>	[16]
小花舌唇兰 <i>Platanther aminutiflora</i>	根 Root	<i>Uncultured Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	[16]
筒距兰 <i>Tipularia szechuanica</i>	根 Root	<i>Bacillus</i> sp.	[16]
蕙兰 <i>Cymbidium faber</i>	根 Root	<i>Burkholderia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Duganella</i> sp., <i>Variovorax</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Leifsonia</i> sp.	[17]
春兰 <i>C. goeringii</i>	根 Root	<i>Rhizobium</i> sp., <i>R. multihospitium</i> sp., <i>R. hainanens</i> , <i>Sphingopyxis</i> sp., <i>Altererythrobacter</i> sp., <i>Devosia</i> sp., <i>Mesorhizobium</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp., <i>Agrobacterium</i> sp., <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Dyella</i> sp., <i>Pseudoxanthomonas</i> sp., <i>Variovorax</i> sp., <i>Burkholderia</i> sp., <i>Herbaspirillum</i> sp., <i>Nocardioides</i> sp., <i>Brachybacterium</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Sorhizobium</i> sp.	[7-8]
金钗石斛 <i>Dendrobium nobile</i> , 流苏石斛 <i>D. fimbriatum</i>	茎 Stem	<i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. Subtilis</i> , <i>B. Polyfermenticus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. atrophæus</i>	[18]

国内对兰科植物内生细菌的研究始于 21 世纪初。目前已对斑叶兰属(*Goodyera*)、鸟巢兰属(*Neottia*)^[15]、石斛属(*Dendrobium*)^[18]; 兰属(*Cymbidium*)^[8,17] 等约 50 种兰花进行了初步研究。经对这些内生细菌进行鉴定,结果表明假单胞菌和芽孢杆菌仍为优势菌种^[15-16],同时还发现了一些潜在新种,如分别与已知菌 *Skermanella aerolata* DSM18479T、*Altererythrobacter epoxidivorans* JCM13815T 和 *Paenibacillus contaminans*

LMG24216T 的相似性达 90.1%、96.3% 和 94.6% 的 3 株细菌^[8]。这不仅丰富了兰科植物的内生细菌资源,还推动了兰科植物内生细菌的多样性研究。

2 兰科植物内生细菌的促生功能

兰科植物的许多内生细菌对植物种子萌发和植株生长具有促生功能,这类细菌被称为植物促生细菌(plant growth-promoting bacteria, PGPB)。

2.1 促进种子萌发

Kundson 早在 1922 年将固氮细菌和根瘤杆菌混合接种到卡特兰(*Cattleya labiata*)种子上,结果显著促进了种子的萌发。此后,有人将分离自成年西澳大利亚地生兰菌根的 7 株内生细菌与兰科植物 *Pterostylis vittata* 的种子共生,结果表明有 3 株内生细菌能够显著促进种子的萌发^[10-11];将从杓唇石斛根部分离的鞘氨醇菌属(*Sphingomonas*)和分枝菌属(*Mycobacterium*)的两株细菌接种于杓唇石斛种子,也极大提高了种子萌发率^[19]。

2.2 促进植株生长

内生细菌促进植株生长主要体现在根系形成、鲜重增加和植株生长势增强等方面。分离自成年西澳大利亚地生兰菌根的 3 株内生细菌不仅促进了种子萌发,对幼苗的生长也具有促进作用^[10-11]。四季豆(*Phaseolus vulgaris*)的根段用兰花内生细菌培养滤液处理后能快速长出须根^[19]。铁皮石斛(*Dendrobium catenatum*)组培苗在接种内生细菌 ZJSH1 后,其株高、根粗、叶片大小均优于对照组,其中平均株高比对照高 17.8%,植株净重比对照高 16.3%^[20]。

2.3 生防作用

内生细菌可以增强植物对逆境的适应性,加强系统的生态平衡,进而保证宿主植物的健康生长。利用内生细菌进行生物防治的研究已经成为一个热点方向^[21]。目前,一些农作物和经济作物通过室内的拮抗筛选和室外的回接效应相结合的实验,证实一些分离自植物组织的内生细菌可增强植物的抗逆性,对病虫害具有防治作用^[22-23]。

兰科植物内生细菌的生防研究尚少,将分离自双色石斛(*Dendrobium chrysopetrum*)叶片的两株芽孢杆菌对双色石斛镰刀菌(*Fusarium*)叶斑病进行生防研究,结果表明两株内生细菌对叶斑病的最高防效分别达到了 70.13% 和 67.53%^[24]。利用内生细菌增强兰花植株的抗逆性,防治病虫害,可降低甚至不使用有毒化肥或农药,有助于环境的保护,或者使餐桌上的装饰兰花也可能具有可食性。

3 兰科植物内生细菌的促生机理

3.1 分泌 IAA

植物细菌能合成一些植物生长调节物质,如吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA₃)、细胞分裂素(CTK),这

些物质被认为是宿主植物与细菌相互作用的主要形式之一。IAA 是一个关键物质,它普遍存在于细菌内,它的合成是植物共生细菌不可缺少的部分^[25]。内生细菌合成 IAA 的活性分析已经成为探索内生细菌对兰科植物作用机理的最主要方法^[26]。采用薄层色谱法(TLC)和高效液相色谱法(HPLC)对内生细菌的培养滤液进行分析,均表明 IAA 的存在;用内生细菌培养滤液处理四季豆根部,可显著促进根系形成,根数量增加,这表明 IAA 确实具有活性^[26]。不同细菌合成 IAA 的能力不同,其中假单胞菌属^[26]、芽孢杆菌属^[10]以及类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)^[8]为 IAA 高产主体菌。

通常细菌合成 IAA 依赖色氨酸^[27],不管是在无机培养基还是有机培养基上,添加外源色氨酸都能显著提高细菌合成 IAA 的含量^[19]。外源色氨酸浓度为 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 时,细菌合成 IAA 的水平达到最高^[26,19]。此外,细菌合成 IAA 的水平还与培养基的组成成分、生长阶段有关。细菌合成 IAA 的水平也会发生变化,保存在矿物油下 6 个月的泛菌属(*Pantoea*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)则完全失去了合成 IAA 的能力;欧文氏菌属(*Erwinia*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、副球菌属(*Paracoccus*)、农杆菌属(*Agrobacterium*)等合成 IAA 的能力也降低^[13]。因此,如何保存细菌以保持其合成 IAA 的能力不下降,显得尤其重要。

3.2 光合作用

光合细菌与兰科植物密切相关,尤其对失去光合能力的腐生兰具有重要意义。目前已从附生兰短序脆兰、蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)和杓唇石斛(*Dendrobium moschatum*)气生根表面观察并分离到大量形态各异的蓝细菌^[14],这种细菌兼具固氮和光合作用。对根表面和根被中光合细菌的定位研究表明,3 种兰花的气生根,以及短序脆兰和杓唇石斛的基生根中均有以念珠蓝细菌属(*Nostoc*)为主的蓝细菌^[28]。在与真菌共生时,细丝状的蓝细菌和真菌菌丝相互交织在附生兰的气生根表面形成一种鞘状物,鞘的空隙里充满了单细胞的光养生物,其中包括细菌,这些具备光合能力的微生物通过光合产物为兰科植物的生长提供所需营养。

3.3 生物固氮及促进矿质营养的循环

内生固氮菌对宿主植物有一定的氮肥贡献^[29]。固氮细菌也广泛存在于兰科植物的根部,

如短序脆兰、蝴蝶兰和杓唇石斛根被中的蓝细菌,不仅具有光合作用,而且还具有固氮作用,为宿主兰花提供 N 素营养^[28]。

植物细菌还可通过风化矿物^[30]的方式促进矿物营养的循环,为宿主植物提供所需的矿质营养,这类细菌可分为解磷、解钾细菌等。有研究表明,接种解磷、解钾内生细菌能促进植株根系对 P、K 的吸收,从而提高了植物矿质营养^[31-32]。这些内生细菌应用于兰科植物,将对珍稀濒危兰科植物的引种等保育研究具有重要的意义。

3.4 产生铁载体

产生铁载体是植物内生细菌促进宿主生长发育的一个重要途径。铁载体是由微生物在限制条件下产生的一种对 Fe^{3+} 具有较高螯合特性的低分子化合物^[33]。内生细菌产生的铁载体可向细菌细胞提供铁素养分,而细菌又将可利用的铁元素供应给宿主植物,或与病原菌竞争铁元素,从而达到促进植物生长的目的。有研究表明,春兰(*Cymbidium goeringii*)根内可产生铁载体的内生细菌也具有丰富的多样性^[34]。因此,产铁载体可能是兰科植物内生细菌的促生机理之一。

3.5 合成其他活性物质

内生细菌与植物互作机制复杂,除合成 IAA 等植物生长调节物质直接促进植物生长外,还能产生其他一些活性物质间接促进植物生长。如产生抗菌物质,包括抗生素类、水解酶类等,这些物质通过抑制或消除植物的一些病原菌以达到保障植物生长的目的。其中,内生枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)分泌的环脂抗菌多肽就属于抗生素类物质,其能有效抑制番茄(*Lycopersicon esculentum*)青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)等的生长^[35]。

4 建议和展望

兰科植物与内生细菌关系密切,尤其对于一些珍稀濒危物种,相关内生细菌对其生长和种群的繁殖具有极其重要的作用。虽然内生细菌与兰科植物的互作研究日益增多,但目前涉及的方面并不广,已有的研究还不够系统和深入。对兰科植物与内生细菌间互作机理的深入研究,还需开展大量的工作,这也说明兰科植物与内生细菌间的相互作用研究具有广泛的前景。兰科植物组织内、外的微生物丰富而复杂,内生细菌间、内生细菌与兰科植物

菌根真菌间的相互作用可能直接或间接促进兰科植物的生长发育,因此,将来可以从这两方面充实内生细菌与兰科植物互作机理的研究内容。此外,内生细菌的浓度在它们的相互关系中又起着重要作用,将这些微生物按照一定浓度制成单一或混合菌肥,对于兰科植物组培生产和田间栽培都具有很大的应用潜力,对以后兰科植物保育工作的开展也具有重要的启示作用。

4.1 内生细菌与兰科植物菌根真菌的互作

菌根辅助细菌(MHB)是一类栖息地广泛的微生物,可以栖息在菌根或菌根根际^[4],与菌根真菌(如 AMF)特异性结合,能刺激菌根真菌的孢子萌发和菌丝的生长、增强刺激信号的产生,促进其在宿主植物根部的定殖和生长;加强菌根化,从而间接促进植物的生长^[36]。植物促生细菌(PGPB)中还有一类重要的细菌,为植物根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR),能合成生长激素等物质,具有固氮作用,能提高土壤中可溶性营养元素的浓度;与病原菌竞争生态位及根系周围养分、诱导植物产生系统抗性等;作为具有应用价值和生防潜力的一类重要细菌,对宿主植物种子的萌发、根系的形成和生物产量的增加具有促进作用。有研究表明 PGPR 与菌根真菌混接后表现出较强的促生效果,明显优于单接^[37]。目前,菌根真菌与 MHB、PGPR 间的互作关系已成为菌根学研究中最活跃、最具应用前景的领域之一^[4]。

有研究表明,兰科植物菌根中存在菌根辅助细菌 MHB 和植物根际促生细菌 PGPR^[10,12]。菌根促生细菌荧光假单胞菌有助于真菌在植株根部的定殖,促进兰花菌根的形成^[11];从卷萼兜兰(*Paphiopedilum appletonianum*)和节茎石仙桃(*Pholidota articulata*)根部分离出能合成 IAA,且能促进菜豆根段生根和生长发育的细菌^[19],均为 PGPR。因此,发掘筛选兰科植物的 MHB 和 PGPR 类细菌,未来在兰科植物的相关微生物研究中显得尤为重要。

4.2 兰科植物内生细菌间的互作

研究表明细菌单接和混接于植物的接种效应不同。MHB 和 PGPB 均能促进植株的生长,它们分别与 AMF 混接均能够显著促进番茄的生长^[38]。它们与 MHB *P. fluorescens* (荧光假单胞菌) 92、PGPB *P. fluorescens* P190r 联合起来,与菌根真菌

Glomus mossaeae(摩西球囊霉菌)BEG12 发生互作,结果表明均能显著促进番茄的生长,且促进效果优于这两种细菌单独与菌根真菌互作的效果^[39]。目前,兰科植物内生细菌处于单接试验阶段,已筛选出了一些促生内生细菌^[20]。因此,内生细菌间的相互作用研究将是兰科植物内生细菌研究的又一个重要方向。

4.3 内生细菌的浓度对兰科植物生长的影响

细菌的接种浓度影响细菌对兰科植物的作用效果,不同细菌对植物起促进作用的剂量也不同。有些细菌,在低浓度(10 cfu cm^{-3} 土壤)才具有促进作用^[40],高浓度可能对植物或菌根真菌造成不利影响,这可能是细菌浓度过高会破坏植物或部分组织器官,引起植物生长不良甚至死亡。虽然具有合成 IAA 能力的细菌在浓度高时,合成 IAA 的量也会高,但是 IAA 过量反而会对植株的生理产生不利影响^[41]。有些细菌仅在一定浓度范围内具有促生作用,不同细菌的促生浓度范围存在差异,如任何浓度的 MHB *Paenibacillus* sp.(类芽孢杆菌属)EJP73 均可提高菌根形成,促进欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)的生长;而 MHB *Burkholderia* sp.(伯克氏菌属)EJP67 的促生浓度范围则比较窄^[42]。因此,确定细菌接种的适宜浓度对有效提高兰科植物促生效果有重要影响。

致谢 美国佛罗里达州国际大学刘虹博士对论文的撰写与修改提供帮助,谨致谢意!

参考文献

- [1] Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, et al. Endophytic bacteria and their potential applications [J]. Crit Rev Plant Sci, 2002, 21(6): 583–606.
- [2] Ke H L(柯海丽), Song X Q(宋希强), Tan Z Q(谭志琼), et al. Endophytic fungi diversity in root of *Doritis pulcherrima* (Orchidaceae) [J]. Biodiv Sci(生物多样性), 2007, 15(5): 456–462.(in Chinese)
- [3] Shen L Z(沈丽珍). Identification of endophytic bacteria StC01 isolated from potato and study on its plant-growth-promotion effect [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007: 1–59.(in Chinese)
- [4] Tarkka M T, Frey-Klett P. Mycorrhiza helper bacteria [C]// Varma A. Mycorrhiza. 3rd ed. Berlin: Springer, 2008: 113–132.
- [5] Tsavkelova E A, Cherdynseva T A, Lobakova E S, et al. Microbiota of the orchid rhizoplane [J]. Microbiology, 2001, 70(4): 567–573.
- [6] Tsavkelova E A, Cherdynseva T, Netrusov A I. Bacteria associated with the roots of epiphytic orchids [J]. Microbiology, 2004, 73(6): 710–715.
- [7] Sun L(孙磊), Bi X B(毕晓宝), Li L B(李潞滨), et al. Primary research on the isolation method of root endophytic bacteria of *Cymbidium goeringii* [J]. J Agri Univ Hebei(河北农业大学学报), 2009, 32(1): 42–46.(in Chinese)
- [8] Liu L(刘琳), Sun L(孙磊), Zhang R Y(张瑞英), et al. Diversity of IAA-producing endophytic bacteria isolated from the roots of *Cymbidium goeringii* [J]. Biodiv Sci(生物多样性), 2010, 18(2): 182–287.(in Chinese)
- [9] Yang N(杨娜), Yang B(杨波). Diversity and seasonal fluctuations of endophytic bacteria isolated from the root tissues of *Cymbidium faberi* [J]. Plant Sci J(植物科学学报), 2011, 29(2): 156–163.(in Chinese)
- [10] Wilkinson K G, Dixon K W, Sivasithamparam K, et al. Effect of IAA on symbiotic germination of an Australian orchid and its production by orchid-associated bacteria [J]. Plant Soil, 1994, 159(2): 291–295.
- [11] Wilkinson K G, Dixon K W, Sivasithamparam K. Interaction of soil bacteria, mycorrhizal fungi and orchid seed in relation to germination of Australian orchids [J]. New Phytol, 1989, 112(3): 429–435.
- [12] Wilkinson K G, Sivasithamparam K, Dixon K W, et al. Identification and characterization of bacteria associated with western Australian orchids [J]. Soil Biol Biochem, 1994, 26(1): 137–142.
- [13] Tsavkelova E A, Cherdynseva T A, Botina S G, et al. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin [J]. Microbiol Res, 2007, 162(1): 69–76.
- [14] Tsavkelova E A, Lobakova E S, Kolomeitseva G L, et al. Localization of associative cyanobacteria on the roots of epiphytic orchids [J]. Microbiology, 2003, 72(1): 99–104.
- [15] Huang Y Y(黄宜莹), Gao Y T(高怡婷), Xu Y T(徐源泰). Studies on the endophytic microorganisms of Orchidaceae [J]. J Chin Soc Hort Sci(中国园艺), 2005, 51(4): 347–356.(in Chinese)
- [16] Hou T W(侯天文). Mycorrhizal fungi diversity of the dominant orchids in the Huanglong Valley, Sichuan [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2010: 1–58.(in Chinese)
- [17] Zhu X L(褚晓玲), Yang B(杨波), Gao L(高丽), et al. Species diversity of cultivable bacteria isolated from the roots of *Cymbidium faberi* Rolfe [J]. J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究), 2010, 28(2): 199–205.(in Chinese)
- [18] He J(何劲). The studies on antifungal endophyte from *Dendrobium* [D]. Guiyang: Guizhou University, 2006: 7–58.(in Chinese)
- [19] Tsavkelova E A, Cherdynseva T A, Klimova S Y, et al. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin [J]. Arch Microbiol, 2007, 188(6): 655–664.
- [20] Yu J(俞婕), Zhao K P(赵凯鹏), Dong F(董飞), et al. Separation and growth-promoting study of endophyte in wild

- Dendrobium candidum* [J]. Mod Agri Sci Techn(现代农业科技), 2010(9): 96–97.(in Chinese)
- [21] Xia Z J(夏正俊), Gu B K(顾本康), Wu A M(吴嵩民). Studie on induced resistance of cotton plants against *Verticillium dahliae* by endophytic and rhizosphere bacteria [J]. Chin J Biol Contr(中国生物防治), 1996, 12(1): 7–10.(in Chinese)
- [22] Ding G C(丁国春), Fu P(付鹏), Li H M(李红梅), et al. Biocontrol evaluation of *Bacillus subtilis* strain AR11 against *Meloidogyne incognita* [J]. J Nanjing Agri Univ(南京农业大学学报), 2005, 28(2): 46–49.(in Chinese)
- [23] Xu L X(徐立新), Du Z Y(董章勇), Ji C Y(纪春艳), et al. Study on antagonistic entophytic bacteria *Bacillus subtilis* A16 in sweet corn against *Bipolaris maydis* [J]. Guangdong Agri Sci(广东农业科学), 2010(9): 20–22, 26.(in Chinese)
- [24] Cheng P(程萍), Zheng Y L(郑燕玲), Li Y J(黎永坚), et al. Study on biocontrol of *Dendrobium* leaf spot caused by *Fusarium* [J]. Chin Agri Sci Bull(中国农学通报), 2008, 24(9): 357–361.(in Chinese)
- [25] Ivanova E G, Doronina N V, Trotsenko Y A. Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins [J]. Microbiology, 2001, 70(4): 452–458.
- [26] Tsavkelova E A, Cherdyntseva T A, Netrusov A I. Auxin production by bacteria associated with orchid roots [J]. Microbiology, 2005, 74(1): 46–53.
- [27] Leveau J H J, Lindow S E. Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290 [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(5): 2365–2371.
- [28] Tsavkelova E A, Lobakova E S, Kolomeitseva G L, et al. Associative cyanobacteria isolated from the roots of epiphytic orchids [J]. Microbiology, 2003, 72(1): 92–97.
- [29] Hurek T, Handley L L, Reinhold-Hurek B, et al. *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state [J]. Mol Plant-Microb Interact, 2002, 15(3): 233–242.
- [30] Calvaruso C, Turpault M P, Frey-Klett P. Root-associated bacteria contribute to mineral weathering and to mineral nutrition in trees: A budgeting analysis [J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(2): 1258–1266.
- [31] Xi L Q(席琳乔), Song A M(宋爱民), Gong M F(龚明福), et al. Preliminary study on the potassium-dissolving mechanism of silicate bacteria from cotton rhizosphere [J]. Acta Agri Boreal-Occid Sin(西北农业学报), 2009, 18(3): 309–314.(in Chinese)
- [32] Li Y E(李玉娥), Yao T(姚拓), Rong L Y(荣良燕). Characteristics of IAA secretion and phosphate dissolving of phosphate-solubilizing bacteria and its effect on Alfalfa growth [J]. Acta Pratac Sin(草地学报), 2010, 18(1): 84–87.(in Chinese)
- [33] Buyer J S, Kratzke M G, Sikora L J. A method for detection of pseudobactin, the siderophore produced by a plant-growth-promoting *Pseudomonas* strain, in the barley rhizosphere [J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(3): 677–681.
- [34] Sun L(孙磊), Shao H(邵红), Liu L(刘琳), et al. Diversity of siderophore-producing endophytic bacteria of *Cymbidium goeringii* roots [J]. Acta Microbiol Sin(微生物学报), 2011, 51(2): 189–195.(in Chinese)
- [35] He H(何红), Cai X Q(蔡学清), Guan X(关雄), et al. Antifungal protein from endophytic bacteria BS-2 and its control effect against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) [J]. Acta Phytopathol Sin(植物病理学报), 2003, 33(4): 373–378.(in Chinese)
- [36] Frey-Klett P, Chavatte M, Clause M L, et al. Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads [J]. New Phytol, 2005, 165(1): 317–328.
- [37] Vestberg M, Kukkonen S, Saari K, et al. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry [J]. Appl Soil Ecol, 2004, 27(3): 243–258.
- [38] Gamalero E, Fracchia L, Cavaletto M, et al. Characterization of functional traits of two fluorescent pseudomonads isolated from basidiomes of ectomycorrhizal fungi [J]. Soil Biol Biochem, 2003, 35(1): 55–65.
- [39] Gamalero E, Trotta A, Massa N, et al. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition [J]. Mycorrhiza, 2004, 14(3): 185–192.
- [40] Frey-Klett P, Churin J L, Pierrat J C, et al. Dose effect in the dual inoculation of an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium in two forest nurseries [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31(11): 1555–1562.
- [41] Liu P, Nester E W. Indoleacetic acid, a product of transferred DNA, inhibits vir gene expression and growth of *Agrobacterium tumefaciens* C58 [J]. Proc Natl Acad Sci, 2006, 103(12): 4658–4662.
- [42] Aspray T J, Eirian Jones E, Whipps J M, et al. Importance of mycorrhization helper bacteria cell density and metabolite localization for the *Pinus sylvestris*-*Lactarius rufus* symbiosis [J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 56(1): 25–33.