

王中阳, 李梅, 万群, 曹瑶瑶, 马丽雅, 冯发运, 葛静, 余向阳. *Bordetella petrii* B35 通过铁载体介导增强 *Sphingomonas* sp. HJY 对水稻的促生作用[J]. 土壤学报, 2026,

WANG Zhongyang, LI Mei, WAN Qun, CAO Yaoyao, MA Liya, FENG Fayun, GE Jing, YU Xiangyang. *Bordetella petrii* B35 Enhances Rice Growth Promotion by *Sphingomonas* sp. HJY via Siderophore Mediation[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

Bordetella petrii B35 通过铁载体介导增强 *Sphingomonas* sp. HJY 对水稻的促生作用*

王中阳^{1, 2}, 李梅^{2†}, 万群², 曹瑶瑶², 马丽雅², 冯发运², 葛静²,
余向阳^{1†}

(1. 南京农业大学植物保护学院, 南京 211800; 2. 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所/省部共建国家重点实验室培育基地—江苏省食品质量安全重点实验室, 南京 210014)

摘要: 根际促生菌与土著微生物的互作对植物生长具有重要影响。本研究旨在明确土著细菌对水稻生长促生菌 *Sphingomonas* sp. HJY 促进水稻生长能力的影响及其作用机制。首先从水稻根际土壤中分离出一批细菌, 并采用共培养和无菌上清液培养的方法从中筛选对 HJY 生长有促进作用的土著细菌帮手, 选择促进效果最明显的细菌作为代表, 对其进行 16S rRNA 基因全长测序鉴定; 然后探究土著细菌帮手促进 HJY 生长的机制; 最后检测土著细菌帮手对 HJY 在自然土壤中促进水稻生长能力的影响。结果发现, 编号为 B35 的土著细菌对 HJY 生长的促进作用最显著, B35 菌体及其无菌发酵液分别使 HJY 生物量提高 71.2% 和 95.4%, 后者效果显著优于前者, 该菌被鉴定为博德氏杆菌 (*Bordetella petrii*)。B35 菌株在限铁条件下铁载体分泌量显著高于富铁条件, 且限铁发酵液对 HJY 的促生效果较富铁发酵液提升 13.89%, 表明 B35 分泌的铁载体是促进 HJY 生长的主要因子之一。土壤接种试验显示, HJY+B35 无菌发酵液处理的水稻 18 d 时株高、鲜物质量、叶绿素和根长分别较单接 HJY 提高 5.9%、11.6%、12.7% 和 21.2%, 而 HJY+B35 处理的水稻上述指标较单接 HJY 分别提高 4.4%、7.6%、5.1% 和 8.0%。说明 B35 及其无菌发酵液均能增强 HJY 对水稻生长的促进效果, 且发酵液处理促进效果优于菌体处理。单独接种 B35 或其发酵液对水稻生长无显著影响。综上, 土著细菌 B35 可通过产生铁载体促进 HJY 生长, 进而协同增强其对水稻的促生效果。本研究为揭示根际微生物互作机制及开发高效复合菌剂提供了理论依据。

关键词: *Sphingomonas* sp. HJY; *Bordetella petrii* B35; 微生物促生; 土著细菌帮手; 铁载体; 水稻

中图分类号: S182 文献标志码: A

Bordetella petrii B35 Enhances Rice Growth Promotion by *Sphingomonas* sp. HJY via Siderophore Mediation

*国家自然科学基金项目(42207156, 32272600)和江苏省青年科技人才托举工程项目(JSTJ-2024-119)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42207156 and 32272600), and the Youth Science and Technology Talent Support Project of Jiangsu Province, China (No. JSTJ-2024-119)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yu981190@hotmail.com; limei@jaas.ac.cn

作者简介: 王中阳(1995—), 男, 河南平顶山人, 硕士研究生, 研究方向为环境污染治理与修复。E-mail: w18837559829@163.com

收稿日期: 2025-08-29; 收到修改稿日期: 2026-01-19; 网络首发日期(www.cnki.net):

WANG Zhongyang^{1, 2}, LI Mei^{2†}, WAN Qun², CAO Yaoyao², MA Liya², FENG Fayun², GE Jing², YU Xiangyang^{1†}

(1. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China; 2. Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Food Quality and Safety—State Key Laboratory Cultivation Base of Ministry of Science and Technology, Nanjing 210014, China)

Abstract: 【Objective】 The intricate interactions between introduced plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and the indigenous microbial community are pivotal determinants of inoculation efficacy and plant health. While the direct mechanisms of PGPR are well-studied, the role of resident microbes in modulating their activity remains less understood. This study focuses on *Sphingomonas* sp. HJY, a known growth-promoting bacterium for rice, aims to elucidate how specific indigenous bacteria influence its plant growth-promoting capacity and to uncover the fundamental mechanisms behind this interaction. Clarifying this synergy is crucial for advancing the knowledge of rhizosphere ecology and optimizing microbial inoculation strategies. 【Method】 A batch of bacteria was isolated from rice rhizosphere soil, and indigenous bacterial helpers that promoted the growth of HJY were screened by both co-culture assay and supernatant-culture assay. The bacterium with the most pronounced promotion effect was selected as a representative and identified by full-length 16S rRNA gene sequencing. To elucidate the mechanism of facilitation, the selected helper strain was cultured under iron-rich and iron-limited conditions. Its siderophore production was quantified using the Chrome Azurol S (CAS) assay. Subsequently, the impact of its filter-sterilized supernatant from both iron conditions on HJY growth was compared. Finally, a pot experiment with natural soil was conducted to assess the influence of the indigenous bacterial helper on the ability of HJY to promote rice growth. 【Result】 The results showed that the indigenous bacterium labeled B35 exhibited the most significant promotion effect on HJY growth. The biomass of HJY was increased by 71.2% and 95.4% by B35 cells and its sterile supernatant, respectively, with the latter being significantly more effective. This strain was identified as *Bordetella petrii*. Under iron-limited conditions, the siderophore secretion by B35 was significantly higher than under iron-sufficient conditions. Moreover, the iron-limited supernatant enhanced the growth-promoting effect on HJY by 13.89% compared with the iron-sufficient supernatant, indicating that siderophores secreted by B35 were one of the main factors promoting HJY growth. Soil inoculation experiments demonstrated that, at 18 days, the plant height, fresh biomass, chlorophyll content, and root length of rice treated with HJY + B35 sterile supernatant were increased by 5.9%, 11.6%, 12.7%, and 21.2%, respectively, compared with those treated with HJY alone. In contrast, the corresponding indices for rice treated with HJY + B35 cells were increased by 4.4%, 7.6%, 5.1%, and 8.0% compared with HJY alone. These results indicated that both B35 and its sterile supernatant could enhance the growth-promoting effect of HJY on rice, with the supernatant treatment showing a superior effect to the bacterial cell treatment. Inoculation with B35 alone or its supernatant alone had no significant effect on rice growth. 【Conclusion】 In conclusion, this study demonstrates that the indigenous bacterium *Bordetella petrii* B35 enhances the plant growth-promoting activity of *Sphingomonas* sp. HJY through a facilitative interaction driven largely by siderophore production. This interaction significantly improves HJY's efficacy in promoting rice growth in natural soil, with the direct application of the helper's metabolites yielding the strongest effect. These findings provide novel insights into the complex network of rhizosphere microbial interactions, highlighting how targeted exploitation of specific facilitative relationships—such as cross-feeding via siderophores—can be a crucial strategy for optimizing the performance of PGPR inoculants. This study, therefore, offers a theoretical foundation for designing more effective and stable synthetic microbial consortia for sustainable agriculture.

Key words: *Sphingomonas* sp. HJY; *Bordetella petrii* B35; Plant growth promotion by microorganisms; Indigenous helper bacteria; Siderophore; Rice

水稻作为全球最重要的粮食作物之一，其产量直接关系到全球粮食安全^[1-3]。随着农业可持续发展的需求日益增加，探索绿色、高效的水稻增产技术成为研究热点^[4]。近年来，植物微生物组学研

究表明,根际微生物在植物生长、养分吸收和逆境胁迫中发挥着重要作用^[5-8]。其中,一些有益微生物能够通过固氮、解磷、激素分泌、铁载体产生等促进植物的生长发育^[9]。*Sphingomonas* 属细菌是一类广泛存在于土壤和植物根际的革兰氏阴性细菌,以其代谢多样性和环境适应性而闻名。近年来,越来越多的研究表明,某些 *Sphingomonas* 菌株具有促进植物生长的能力,包括固氮、解磷、产生植物生长素等^[10-12]。例如, *Sphingomonas* sp. HJY 作为一种具有潜在促生能力的菌株,已在实验室条件下显示出对水稻生长的促进作用^[13-15]。然而,其在自然土壤中的促生效果及其作用机制仍有待进一步研究。

自然界中的微生物不是作为个体存在的,而是在动态变化的微生物群落中相互影响和交流^[16-17]。土著微生物帮手是指那些在自然环境中与目标微生物发生互作,并通过提供营养、信号分子或其他生态位支持,增强目标微生物功能的微生物^[18-20]。这种互作关系在微生物群落中普遍存在,且对目标微生物的生长和功能发挥具有重要影响。例如,存在促进青枯菌在根际定殖并发挥致病功能的土著细菌帮手^[21]。此外,研究^[22]表明,土壤中土著细菌帮手能促进毒死蜱降解菌的生长及其降解毒死蜱的能力。在植物根际环境中,土著细菌帮手也可能通过增强目标促生菌株的定殖能力和促生功能表达,间接促进植物生长。因此,研究土著细菌帮手对 *Sphingomonas* sp. HJY 的促进作用及其机制,对于理解微生物互作在植物生长中的作用具有重要意义。

本文旨在探讨一株土著细菌帮手对 *Sphingomonas* sp. HJY 促进水稻生长能力的影响。首先,通过微孔板体系培养,采用共培养和发酵液培养的方法,确定土著细菌 B35 对水稻促生菌 HJY 生长的促进作用;其次,在实验室条件检测 B35 菌株促进 HJY 生长的潜在机制——是否通过产生铁载体促进 HJY 生长;最后,采用促生菌 HJY 分别与 B35 菌株及其无菌发酵液共接种的方式,检测 B35 在自然土壤中对 HJY 促进水稻生长能力的影响。通过以上研究,分析土著细菌帮手与 HJY 之间的初步互作机制,揭示其对水稻生长的协同促进作用。本研究结合微生物互作理论和实际应用,为合成菌群设计及今后微生物菌剂的开发和应用提供理论依据。

1 材料与方方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 供试稻种 水稻种子南粳“5055”由江苏省农业科学院农产品质量安全与营养所提供。

1.1.2 供试菌株 实验室前期分离得到,并用绿色荧光标记菌株 *Sphingomonas* sp. HJY^[13-15]。

1.1.3 主要试剂 Luria-Bertani (LB) 培养基:称取蛋白胨 10 g、酵母粉 5 g、氯化钠 10 g,使用去离子水溶解,最终定容至 1 000 mL,调节 pH 至 7.0;胰酪大豆胨液体培养基 (TSB):称取胰蛋白胨 15 g、大豆蛋白胨 5 g、氯化钠 5 g,使用去离子水溶解,最终定容至 1 000 mL,调节 pH 至 7.0;胰酪大豆胨固体培养基 (TSA):TSB 培养基加 15 g·L⁻¹ 琼脂;无菌缓冲溶液 (SM 缓冲液):七水硫酸镁 2.0 g·L⁻¹,氯化钠 5.8 g·L⁻¹,1 mol·L⁻¹ Tris-盐酸 (pH 7.5) 50 mL·L⁻¹,2% (m/v) 明胶 5 mL·L⁻¹。以上培养基于 115 °C 高压灭菌 30 min,备用。MKB (改良金氏培养基, Modified King B) 限铁培养基的配制方法如下:首先分别配制以下三种溶液:①将 5 g 酪蛋白氨基酸和 15 mL 甘油 (丙三醇) 加入去离子水中,定容至 1 L;②将 2.5 g 磷酸氢二钾溶于 100 mL 去离子水中;③将 2.5 g 七水硫酸镁溶于 100 mL 去离子水中。上述溶液分开配制完成后,分别灭菌,115 °C 灭菌 30 min, pH 调至 7.2。使用时将①②③混合。MKB 富铁培养基的配制方法如下:在 MKB 限铁培养基中加入 50 μmol·L⁻¹ 氯化铁。铬天青 (CAS) 检测液的配制方法如下:分别配制以下四种溶液:①1 mmol·L⁻¹ 氯化铁储备液:将 0.270 3 g 六水合氯化铁溶于 1 L 10 mmol·L⁻¹ 盐酸中,常温避光保存备用;②CAS 储备液:将 0.242 1 g 铬天青溶于 200 mL 去离子水中,4 °C 避光保存备用;③十六烷基三甲基溴化铵溶液:将 0.021 9 g 十六烷基三甲基溴化铵 (HTDMA) 溶于 50 mL 去离子水中,现配现用;④哌嗪缓冲液:将 4.307 9 g 无水哌嗪 (Piperazine, 99%) 溶于 30 mL 水中,用浓盐酸将 pH 调至 5.6,现配现用。配制完成后,

取 1.5 mL 溶液①加入 7.5 mL 溶液②混匀, 边搅拌边加入 50 mL 溶液③, 再加入 30 mL 溶液④, 最后加入去离子水, 最终配成 100 mL CAS 检测液。

1.2 水稻根际土著细菌的分离、纯化、保存

田间采集的水稻根际土样于 4 °C 冰箱保存, 用于分离土著细菌, 具体分离方法参照李梅等^[22]。共筛选纯化得到 41 株土著细菌, 编号 B1~B41。纯化后的菌株加入含有 400 μ L TSB 培养基的 48 孔板中, 随后将它们置于摇床, 30 °C, 170 r·min⁻¹ 培养过夜, 加入 400 μ L 30% (m/v) 甘油并充分混合, 然后将其保存于 -80 °C 冰箱备用。

1.3 HJY 土著细菌帮手的筛选方法

从分离的土著细菌中筛选 HJY 的帮手, 将保存于 -80 °C 冰箱的菌株在 LB 平板上划线活化, 除去未活化成功的菌株, 最后剩余 21 株细菌。因此, 本试验检测 21 株土著细菌对 HJY 生长的影响。采用土著菌菌株分别与 HJY 共培养, 以及每株土著菌无菌上清液分别培养 HJY 的方法, 利用微孔板培养体系测定筛选的土著细菌对 HJY 生长的影响。

共培养方法: 将提前在 LB 固体培养基上划线活化的 HJY 和每株土著细菌分别加入液体 LB 培养基, 在 170 r·min⁻¹、30 °C 的摇床中培养过夜, 离心调整菌液在 600 nm 波长处的吸光值 (OD₆₀₀) 为 1, 备用。以 2 μ L OD₆₀₀=1 的每株土著细菌作为处理分别加入事先加好 198 μ L 混有 1% (v/v) OD₆₀₀=1 的 HJY 悬液的 LB 液体培养基的 96 孔板中, 阳性对照加入 2 μ L 无菌水代替土著细菌菌液, 阴性对照为加入 200 μ L LB 液体培养基, 每处理 3 重复。将 96 孔板置于 170 r·min⁻¹、30 °C 的摇床, 培养 36 h 后用酶标仪 (Spark®, TECAN, 瑞士) 检测 HJY 荧光强度 (绿色荧光激发光波长: 488 nm, 发射光波长: 507 nm), 表征 HJY 的生长情况。

无菌上清液培养方法: 具体步骤参照李梅等^[22]。当土著细菌发酵液对 HJY 的生长有显著促进作用时, 认为该细菌是降解菌的帮手。

综合共培养方法和发酵液培养方法得到的结果 (图 1), 筛选出对 HJY 促进效果最佳的菌株 B35 进行后续研究。

1.4 菌株菌落形态及 16S rRNA 基因序列鉴定方法

将菌株 B35 在 LB 固体培养基平板上划线, 置于 30 °C 恒温培养箱中培养 48 h, 观察菌株的菌落形态。为了进行细菌分类学鉴定, 本研究委托安徽通用生物科技有限公司南京分公司完成了菌株 B35 的 16S rRNA 基因的测序工作。随后, 将获得的 16S rRNA 基因序列提交至美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 平台, 运用基本局部比对搜索工具 (BLAST) 与 GenBank 数据库内的已知序列进行了同源性对比分析。依据比对结果, 筛选出相似度最高且阈值不低于 97% 的参考序列作为候选近缘种。进一步地, 为了明确所研究菌株的系统发育关系, 本研究采用了 MEGA 7.0 软件包, 通过邻接法 (Neighbour-Joining, NJ) 构建系统发育树, 以直观展示菌株间的进化关系和亲缘距离。

1.5 菌株 B35 产生的铁载体对 HJY 生长的影响试验

将提前划线活化的 B35 菌株接种至 LB 培养基中于 170 r·min⁻¹ 30 °C 摇床中培养过夜, 随后转移 20 μ L 上述菌悬液分别至含有 2 mL MKB 限铁培养基和 MKB 富铁培养基的 10 mL 离心管中, 设置 4 个平行组, 于 170 r·min⁻¹ 30 °C 的摇床中培养 48 h 后, 在室温下用酶标仪, 测定菌悬液的悬浊度 (OD₆₀₀), 即为“帮手”在限铁和富铁条件下的生物量。然后, 在 10 000 r·min⁻¹, 离心 5 min, 用 0.22 μ L 无菌滤膜过滤得到无菌上清液。最后将 HJY 接种至 LB 培养基中于 170 r·min⁻¹ 30 °C 摇床中培养过夜, 调 OD₆₀₀ 为 1 备用。

接下来, 将无菌上清液分为两部分: 一部分用于测定上清液中铁载体的含量, 方法参照 Schwyn 和 Neilands^[23]。分别取 100 μ L 无菌上清液与 100 μ L CAS 检测液均匀混合, 加入 96 孔板中, 静置反应 2 h 后, 使用酶标仪测定混合液在 630 nm 处的光密度值, 记为 A。同时, 以未培养过微生物的 MKB 培养基作为空白对照, 取 100 μ L 该培养基与 100 μ L CAS 检测液混合, 同样加入 96 孔板中, 静置反应 2 h 后, 用酶标仪测定其在 630 nm 处的光密度值, 记为 Ar。按照公式 $SU = 1 - A/Ar$ 计算铁载体相对含量 (SU)。

另一部分用于开展菌株 B35 产生的铁载体对 HJY 生长的影响试验。将 180 μL 混有 1% (v/v) HJY 标准悬液的 10% (v/v) MKB 培养基加入 96 孔板中。随后, 向培养基中分别加入 20 μL 富铁或限铁条件下 B35 菌株的无菌上清液。对照加入相应的 20 μL 富铁或限铁培养基, 每处理 4 重复。将以上 96 孔板在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下进行振荡培养。培养 24 h 后, 使用酶标仪通过光密度 OD_{600} 测量值来评估 HJY 的生长情况。

1.6 菌株 B35 及其无菌发酵液对 HJY 促进水稻生长能力的影响试验

为探究菌株 B35 的菌体及无菌发酵液对 HJY 菌株促进水稻生长能力的影响, 本试验共设置四个处理组, 分别为: 无添加的空白对照、单独 HJY、B35 无菌发酵液+HJY 和 B35 菌体+HJY, 每种处理均设置 4 个重复。具体试验操作如下。

试验选用饱满的南粳 5055 水稻种子, 置于 500 mL 无菌烧杯中进行表面消毒。种子先在 75% (v/v) 乙醇溶液中浸泡 5 min, 随后用无菌蒸馏水冲洗 3~5 次以去除残留乙醇; 接着转移至 3% (m/v) 次氯酸钠溶液中浸泡 5 min, 并再次用无菌蒸馏水反复冲洗 3~5 次。消毒后的种子放置于铺有经无菌水润湿滤纸的无菌培养皿中, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中避光催芽 2~3 d, 直至种子胚根显露。随后将种子播种于装有灭菌水稻土的 12 孔育苗盘中, 每孔播入 6 粒种子。在整个幼苗生长期, 每日补充等量的无菌水以维持适宜湿度, 满足水稻幼苗的水分需求。待水稻幼苗生长至三叶一心期时, 保留 4 株生长状况一致的植株用于后续试验。

菌株 B35 无菌发酵液准备: 将菌株 B35 接种于 LB 液体培养基中, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下振荡培养 48~50 h。培养完成后, 以 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 并通过 0.22 μm 无菌滤膜过滤, 收集上清液作为无菌发酵液。菌株 HJY 和 B35 菌体准备: 菌株 HJY 和 B35 分别接种于 LB 液体培养基中, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、170 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下振荡培养过夜。培养结束后, 以 6 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 收集菌体, 并用无菌水缓慢冲洗 3~5 次, 制备成 OD_{600} 为 1.0 的菌悬液。随后, 将 HJY 菌株与 B35 菌株按照 1: 1 (v/v) 的比例混合, 制备成复合菌群; 同时将 HJY 菌悬液与 B35 无菌发酵液按照 1: 3 (v/v) 的比例混合, 即 5 mL HJY 菌悬液加 15 mL 菌株 B35 无菌发酵液, 待用。

试验采用根施法, 将菌液和无菌发酵液直接施用于水稻根系周围的土壤中。菌液处理每孔根施 5 mL, 无菌发酵液+菌液处理每孔根施 20 mL。分别在处理后的第 6 天、第 12 天和第 18 天取样。取样时, 先用叶绿素仪 (SPAD-502 Plus, 日本柯尼卡美能达公司) 测定水稻的叶绿素含量, 然后将水稻植株平铺在水平桌面上, 用直尺准确测量植株地上部的株高和地下部的根长, 并用天平称量整株水稻的鲜物质量。

1.7 菌株 B35 及其无菌发酵液对水稻生长的影响试验

为探究菌株 B35 菌体及无菌发酵液单独存在时, 对水稻的生长是否有影响, 设置三个处理, 分别为对照组 (不加任何菌体及其发酵液)、B35 无菌发酵液和 B35 菌体。具体试验操作同 1.4。

1.8 数据处理

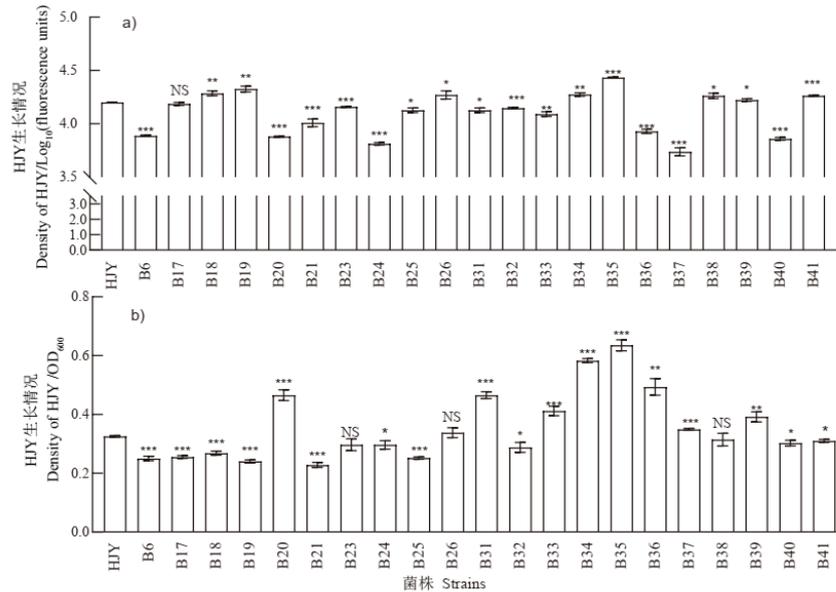
采用 Excel 2016、Graph Pad Prism 8.0 和 MEGA 7.0 软件制图。采用 SPSS 22.0 进行数据统计分析, 不同组间差异性比较采用单因素方差分析或图基 (Tukey's) 多重比较法进行显著性检验。

2 结果

2.1 水稻根际土著细菌对 HJY 生长的影响

为明确分离的 21 株土著细菌 (编号分别为 B 加菌对应的数字) 对 *Sphingomonas* sp. HJY 生长的影响, 本研究分别采用菌体共培养和无菌上清液培养的方法, 测定了 HJY 的荧光强度值和 OD_{600} 值。其中共培养方法的结果显示, 土著细菌中有 12 株显著抑制 HJY 的生长, 1 株对 HJY 的生长无显著影响, 8 株显著促进 HJY 的生长, 其中 B35 菌株促进 HJY 生长的能力最强 (图 1a), HJY 的

荧光强度值取常用对数后从 4.20 增加至 4.43 (增幅为 0.23)。无菌上清液培养结果如图 1b 所示, 21 株土著细菌中有 10 株显著抑制 HJY 的生长, 3 株对 HJY 的生长无显著影响, 8 株显著促进 HJY 的生长, 其中 B35 菌株无菌上清液促进 HJY 生长的能力最强。与 HJY 单独培养相比, 加 B35 菌株无菌上清液后其生物量提高了 95.43%。综合以上两种方法的结果, 本研究筛选出对 HJY 促进效果最佳的菌株 B35 进行后续研究。



注: HJY 为毒死蜱降解菌编号, B+数字为土著细菌编号。NS、*、**、***分别表示无显著影响、 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 。下同。 Note: HJY is the number of chlorpyrifos-degrading bacteria, and B + numbers are the numbers of indigenous bacteria. NS, *, **, *** represent no significant difference, $P<0.05$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively. The same below.

图 1 水稻根际土著细菌对 *Sphingomonas* sp. HJY 生长的影响 (a. 土著细菌菌体对 HJY 生长的影响; b. 土著细菌无菌发酵液对 HJY 生长的影响)

Fig. 1 Effects of soil indigenous bacteria on the growth of HJY (a. effects of indigenous bacterial strain sterile supernatant on the growth of *Sphingomonas* sp. HJY; b. effects of sterile supernatant from indigenous bacteria on the growth of HJY)

2.2 菌株 B35 的形态及 16S rRNA 基因序列鉴定

B35 菌株菌落培养特征如图 2a 所示。其形态学特征如下: 革兰氏染色呈阴性; 在 LB 培养基上菌落呈白色, 表面光滑湿润, 半透明, 边缘规则, 无晕环, 中央隆起。通过菌体直接扩增 16S rRNA 基因并进行测序的方法, 得到该菌的 16S rRNA 基因全长序列。将菌株的测序结果输入 NCBI 数据库, 进行 BLAST 相似度比对, 从中选择出与菌株 B35 同源性最高的菌株的序列, 使用 MEGA 7.0 软件构建菌株 B35 系统发育树, 结果如图 2b 所示, 发现该菌株与博德氏杆菌属(*Bordetella* sp.)相似度较高, 且与博德氏杆菌(*Bordetella petrii*)同源性高达 97%, 初步鉴定为博德氏杆菌(*Bordetella petrii*)。

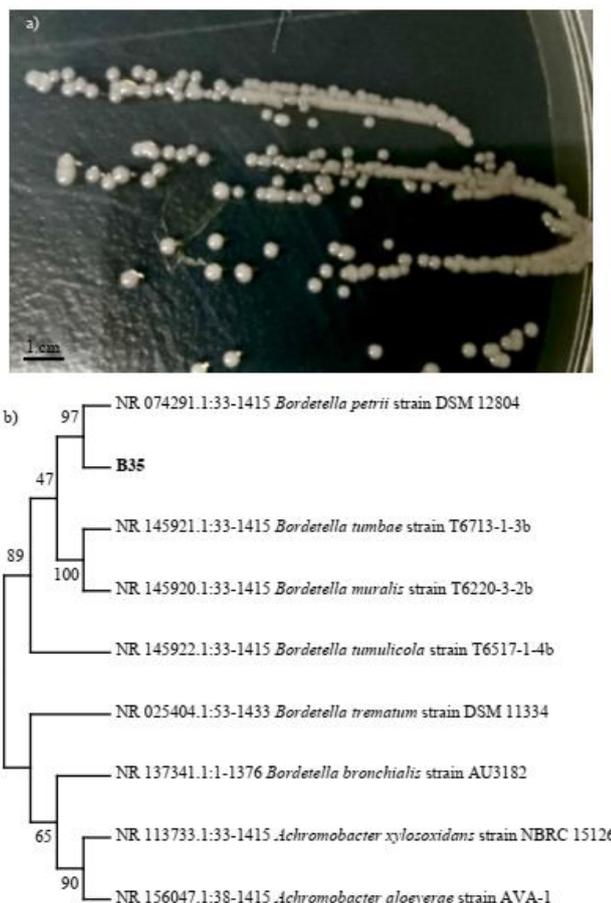


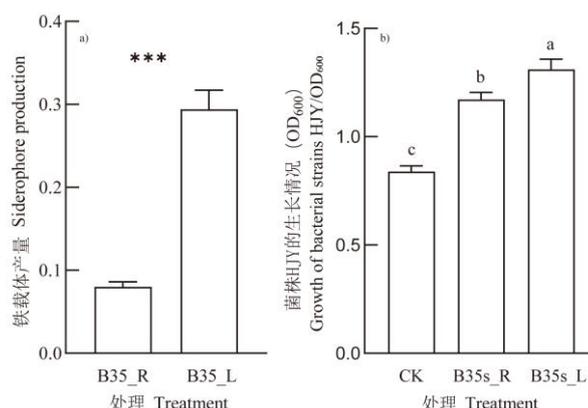
图 2 菌株 B35 菌落形态 (a) 和菌株 B35 的系统进化树 (b)

Fig. 2 Colony morphology of strain B35 (a) and phylogenetic tree of strain B35 (b)

2.3 菌株 B35 产生的铁载体对 HJY 生长的影响

B35 菌株在不同铁处理条件下培养 48 h 后,使用 CAS 方法检测其无菌发酵液中的铁载体含量。结果如图 3a 所示,限铁条件下,菌株 B35 可分泌较多铁载体,而富铁条件下,基本不分泌铁载体,在限铁条件下菌株 B35 铁载体产量显著高于富铁条件下铁载体产量。这表明菌株 B35 分泌铁载体的产量受铁营养限制的影响,铁限制条件是菌株 B35 分泌铁载体的刺激因子。

其次,将菌株 B35 于富铁条件与限铁条件下培养得到的无菌发酵液,分别加入 10% (v/v) 限铁培养基用于培养 HJY,以研究菌株 B35 分泌的铁载体对 HJY 生长的影响。结果如图 3b 所示,富铁条件下培养得到的 B35 无菌发酵液(代谢物质中仅含有少量铁载体或者无铁载体),对 HJY 的生长具有一定的促进作用,可能是因为菌株 B35 分泌的非铁载体代谢产物促进 HJY 的生长。限铁培养基中培养得到的 B35 无菌发酵液(代谢物质中含有大量的铁载体)对菌株 HJY 生长的促进作用更显著,与富铁条件下相比, HJY 的生物量增加了 13.89%。研究结果说明菌株 B35 产生的铁载体能够显著促进 HJY 的生长。



注: B35_R 和 B35_L 分别代表菌株 B35 在富铁和限铁条件, CK 代表单独加 HJY 的对照, B35s_R 和 B35s_L 分别代表菌株 B35 在富铁和限铁条件的无菌发酵液; ***表示 $P < 0.001$, 不同小写字母表示不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: B35_R and B35_L indicate strain B35 under iron-rich and iron-limited conditions, respectively. CK indicates the control with HJY added alone. B35s_R and B35s_L indicate the sterile supernatant of strain B35 under iron-rich and iron-limited conditions, respectively; *** indicates $P < 0.001$, and different lowercase letters indicated significant differences between different treatment groups ($P < 0.05$).

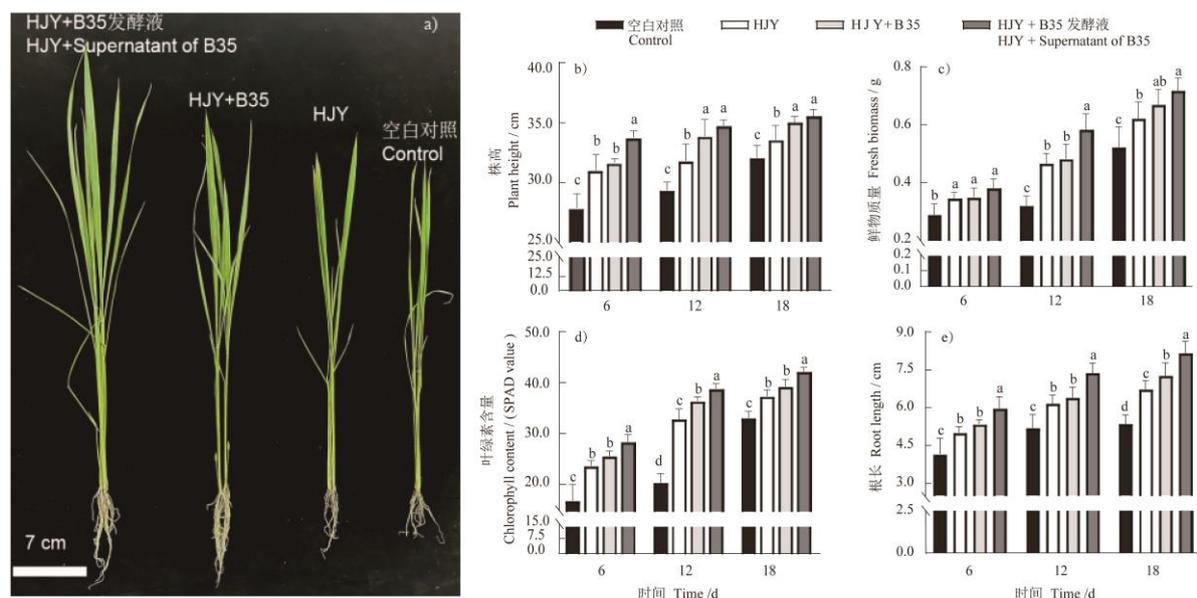
图 3 不同铁处理对菌株 B35 产铁载体的影响 (a) 及菌株 B35 在限铁和富铁条件下铁载体产量对 HJY 生长的影响 (b)
Fig. 3 Effects of different iron treatments on siderophores producing of strain B35(a) and the effect of siderophore production by strain B35 under iron-limited and iron-rich conditions on the growth of HJY(b)

2.4 菌株 B35 及其无菌发酵液对 HJY 促进水稻生长能力的影响

本研究通过测定水稻的株高、鲜物质量、叶绿素含量及根长 4 项生理指标, 分析了菌株 B35 及其无菌发酵液对 HJY 促进水稻生长能力的影响。结果显示, 添加 HJY、菌株 B35 及其无菌发酵液的处理组在培养 6、12 和 18 d 后, 各项生理指标均显著优于对照组 (图 4a)。

图 4b 呈现了菌株 B35 及其无菌发酵液对 HJY 促进水稻株高的影响。随着培养时间延长, 水稻株高呈增长趋势。培养 6 d 时, 与对照组相比, 处理组 HJY、HJY+B35 和 HJY+B35 无菌发酵液显著提高水稻株高, 且以无菌发酵液的促进效果最为显著。培养 12 d 时, HJY+B35 无菌发酵液处理仍保持较高的促进生长活性, 株高较对照增加 18.5%, 较 HJY 单独处理提高 9.3%。培养 18 d 时, 各处理组促进水稻生长的作用有所下降, 但 HJY+B35 和 HJY+B35 无菌发酵液处理较对照和 HJY 单独仍显著提高水稻株高。图 4c 所示鲜物质量变化表明, 培养 12 d 时促进效应最为明显。相较于 HJY 单独处理, HJY+B35 及 HJY+无菌发酵液处理的鲜物质量分别显著增加 3.5% 与 23.0%, 较对照组的增幅则分别为 50.6% 和 79.0%。在 6 d 与 18 d 时也表现出促进作用, 但增幅相对较低, 介于 1.4% 至 10.4% 之间。叶绿素含量结果如图 4d 所示, 其变化趋势与鲜物质量相似, 在 12 d 时促进效果最为显著。其中 HJY+无菌发酵液处理的叶绿素含量较 HJY 处理显著提高 18.1%, 较对照组提升 89.6%, 增效最为明显。HJY+B35 处理较 HJY 和对照分别提高 11.0% 与 78.3%。在 6 d 与 18 d 时叶绿素含量亦有所增加, 增幅范围为 5.1% 至 19.5%, 均低于 12 d 时的水平。根长生长情况如图 4e 所示, 三种处理均随时间推移促进根系伸长, 且在 12 d 与 18 d 时效果最为显著且持续增强。与 HJY 单独处理相比, HJY+无菌发酵液在 12 d 与 18 d 使根长分别增加 19.5% 与 21.2%, 显著高于 HJY+B35 处理同期对应的 3.7% 与 8.0%。

以上结果表明, 菌株 B35 和菌株 B35 无菌发酵液均能显著增强 HJY 对水稻生长的促进作用, 且菌株 B35 无菌发酵液的作用效果优于菌株 B35。



注：不同小写字母表示相同时间不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Note: Different lowercase letters indicate significant differences between different treatment groups ($P < 0.05$). The same below.

图4 菌株 B35 及其无菌发酵液对 HJY 促进水稻生长能力的影响 (a. 水稻生长第 18 天植株图片; b. 株高; c. 鲜物质质量; d. 叶绿素含量; e. 根长)

Fig. 4 The effect of strain B35 and its supernatant on the ability of HJY to promote rice growth (a. Images of rice plants on 18th day; b. plant height; c. fresh biomass; d. chlorophyll content; and e. root length)

2.5 菌株 B35 及其无菌发酵液对水稻生长的影响

为进一步探究菌株 B35 及其无菌发酵液是否会对水稻生长造成影响, 本研究同样分析了菌株 B35 及其无菌发酵液对水稻的株高、鲜物质质量、叶绿素含量及根长等 4 项生理指标的影响。结果如图 5 所示, 无论在处理后的第 6 天、第 12 天还是第 18 天, 与对照组相比, 菌株 B35 菌体及其无菌发酵液处理的水稻株高、鲜物质质量、叶绿素含量及根长均无显著性差异 (图 5a~图 5d)。上述结果表明, 菌株 B35 对水稻的生长无显著促进作用。

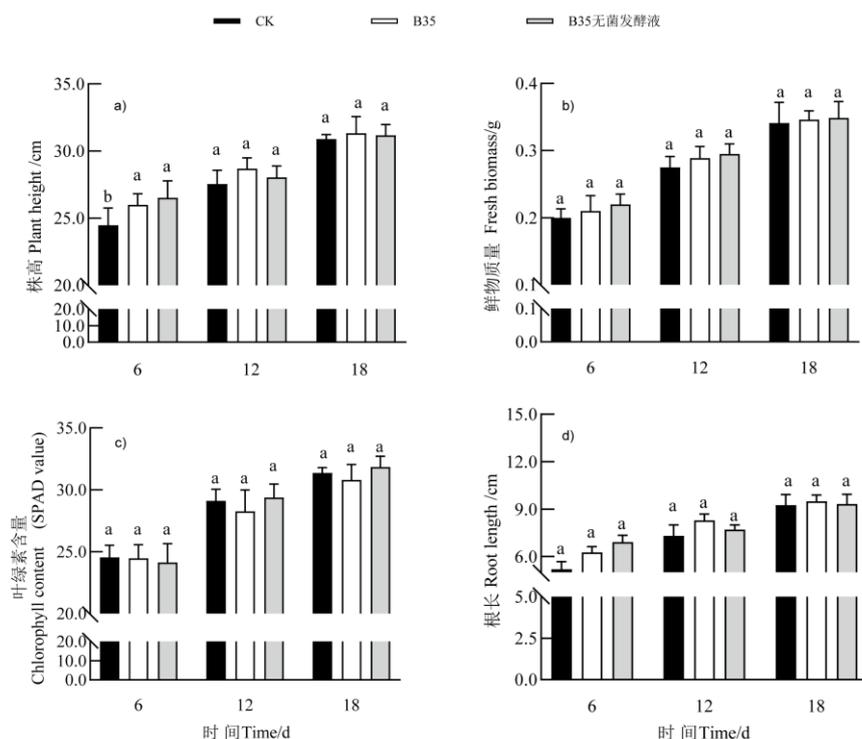


图5 菌株 B35 及其无菌发酵液对水稻生长的影响 (a. 株高; b. 鲜物质量; c. 叶绿素含量; d. 根长)

Fig. 5 The effect of strain B35 and its supernatant on rice growth (a. plant height; b. fresh biomass; c. chlorophyll content; and d. root length)

3 讨论

本研究结果表明, 土著细菌与目标菌株 HJY 之间存在复杂的互作关系, 这些互作既可通过菌体直接接触发生, 也可通过代谢产物间接介导。部分菌株 (如 B18、B19) 在共培养中促进 HJY 生长, 但其无菌上清液却表现为抑制 (图 1), 这可能是由于菌体接触为 HJY 提供了附着位点或改善了微环境, 产生了积极的物理互作; 而其分泌的代谢物则可能对 HJY 具有毒性或竞争性, 在无细胞体系中这种抑制作用得以显现。相反, 菌株 B20 在共培养中抑制 HJY, 其上清液却能促进生长, 这暗示了两者的间存在激烈的资源竞争 (如营养、空间), 导致直接互作表现为拮抗; 然而, B20 代谢产生的某些物质 (如生长因子) 可被 HJY 利用, 形成了一种间接的正向互作, 即交叉互养。值得注意的是, B35 菌株的两种处理均显著促进 HJY 生长, 且无菌上清液效果远优于共培养 (图 1)。这表明, B35 对 HJY 的促生作用主要是通过分泌至胞外的代谢产物介导的。无菌上清液促生效果优于菌体共培养, 可能源于在共培养体系中, 两菌株间仍存在对空间或营养的微弱竞争, 一定程度上削弱了铁载体等有益分泌物的净积极效应; 而在无菌上清液培养条件下, HJY 得以在无竞争压力下充分利用 B35 分泌的全部有益物质, 从而表现出更高的生物量增长。

目前很多具有促进植物生长作用的微生物菌株已相继被分离鉴定出来^[24-26], 但在实际应用中经常出现接入的促生菌存活率低、促生活性弱等问题^[27-28]。原因之一可能是未考虑到促生菌与土著微生物之间的相互作用会影响其在目标环境中生长定殖以及促生功能的发挥。研究表明, 环境中的土著微生物如果能促进接入的目标菌株的生长, 则可能帮助其在目标环境中定殖, 并促进其相关功能发挥^[21-22]。类似地, 本研究从水稻根际土壤中筛选到一株能提高 *Sphingomonas* sp. HJY 生长能力的土著细菌帮手 B35, 结合细菌形态特征及 16S rRNA 序列, 将其鉴定为博德氏杆菌 (*Bordetella petrii*) (图 2), 该细菌能增强 HJY 对水稻生长的促进能力。

菌株 B35 及其无菌发酵液对 *Sphingomonas* sp. HJY 的生长具有显著的促进作用 (图 1)。这种促进作用可能源于 B35 分泌的营养物质或信号分子, 为 HJY 提供了更适宜的生长环境。此外, B35 的发酵液中可能含有某些未知的代谢产物, 这些产物能够直接或间接地促进 HJY 的生长。本研究进一步证实, B35 分泌的铁载体能促进 HJY 的生长 (图 3)。铁载体是微生物在铁限制条件下产生的一种低分子量有机化合物, 可增强微生物对铁的吸收^[29]。本研究中铁载体可能通过螯合环境中的铁离子, 为 HJY 提供了必需的铁元素, 从而促进了其生长。该结果进一步支持了微生物互作中“便利互作”(facilitation)的理论, 即某些微生物可通过分泌公共物质(如铁载体)为其他微生物提供生长支持。这种互作关系在根际微生物群落中可能具有重要意义, 尤其是在铁限制的土壤环境中。

试验结果表明, 菌株 B35 能够显著增强 *Sphingomonas* sp. HJY 对水稻生长的促进作用 (图 4)。除了通过直接刺激 HJY 的增殖 (图 1 和图 2), B35 还可能通过其他方式间接促进水稻的生长。例如, 通过改善土壤微环境、增强养分吸收能力或提高植物的抗逆性等^[30]。进一步研究发现, B35 单独对水稻生长无显著影响 (图 5), 这表明其对水稻生长的促进作用主要通过 HJY 的互作实现, B35 在促进水稻生长过程中, 可能主要起到辅助作用, 而非直接促进植物生长。因此, 在实际应用中, 可考虑将 B35 与 HJY 复合使用, 以提高水稻产量和品质。

本研究揭示了土著细菌帮手 B35 对 *Sphingomonas* sp. HJY 促进水稻生长能力的影响, 为理解微生物互作在植物生长中的作用提供了新的视角。研究表明, 微生物之间的协同互作可显著增强其对植物生长的促进作用, 该发现为开发基于微生物的绿色农业技术提供了理论依据。然而, 本研究也存在一定的局限性。例如, 试验主要在实验室和盆栽条件下进行, 未来需要在田间条件下进一步验证 B35 与 HJY 的互作效果。此外, 除铁载体外, B35 发酵液中是否存在其他促进 HJY 生长的代谢产物尚未明确, 未来需要通过代谢组学等技术进一步解析其作用机制。

4 结论

本研究系统探讨了土著细菌帮手 *Bordetella petrii* B35 对促生菌 *Sphingomonas* sp. HJY 促进水稻生长能力的影响及其潜在机制, 得出以下主要结论: (1) 土著细菌帮手 B35 能够显著促进促生菌 HJY 的生长, 其无菌发酵液的效果优于菌体本身, 表明 B35 的代谢产物在互作中起关键作用。(2) B35 在铁限制条件下能够有效分泌铁载体, 且这些铁载体能够显著增强 HJY 在同样铁限制条件下的生长, 提示铁载体是 B35 促进 HJY 生长的重要机制之一。(3) 在自然土壤条件下, B35 与 HJY 的共接种, 或 B35 无菌发酵液与 HJY 的共接种, 均能显著增强 HJY 对水稻生长的促进作用, 表现为水稻株高、鲜物质量、叶绿素含量和根长的显著增加, 且发酵液的协同效果更优。(4) 单独接种 B35 对水稻生长无显著的直接促进作用, 表明 B35 主要通过增强促生菌 HJY 的功能来间接促进植物生长。综上所述, 土著细菌帮手 B35 通过与促生菌 HJY 的互作, 特别是通过分泌铁载体等机制, 实现了对 HJY 功能的增强, 进而协同促进了水稻的生长。该发现不仅深化了对根际微生物互作及其生态功能的理解, 也为未来设计更高效的合成微生物群落和开发新型微生物菌剂提供了重要的理论支持和实践方向。

参考文献 (References)

- [1] Mohidem N A, Hashim N, Shamsudin R, et al. Rice for food security: Revisiting its production, diversity, rice milling process and nutrient content[J]. Agriculture, 2022, 12(6): 741.
- [2] Wheeler T, von Braun J. Climate change impacts on global food security[J]. Science, 2013, 341(6145): 508-513.
- [3] Muthayya S, Sugimoto J D, Montgomery S, et al. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2014, 1324: 7-14.

- [4] Tito R, Vasconcelos H L, Feeley K J. Global climate change increases risk of crop yield losses and food insecurity in the tropical Andes[J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(2): e592-e602.
- [5] Mu W Q, Kang S M, Li P L. Advances in rhizosphere growth-promoting bacteria function on plant growth facilitation and their mechanisms[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2022, 34(2): 118-127. [穆文强, 康慎敏, 李平兰. 根际促生菌对植物的生长促进作用及机制研究进展[J]. *生命科学*, 2022, 34(2): 118-127.]
- [6] Liu J W, Li X Z, Yao M J. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 231-248. [刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231-248.]
- [7] Xun W B, Zhang R F, Shen Q R. Functional compensatory assembly of rhizosphere microbiome: Concept, content, and outlook[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(6): 1481-1491. [荀卫兵, 张瑞福, 沈其荣. 根际微生物组功能补偿装配的概念、内涵和展望[J]. *土壤学报*, 2024, 61(6): 1481-1491.]
- [8] Cheng H H, Wang Y, Yuan Z Y, et al. Effects of different growth-promoting *Trichoderma strains* on growth and soil microbiome of Chinese yam[J]. *Soils*, 2025, 57(5): 1025-1033. [程欢欢, 王琰, 袁紫仪, 等. 促生木霉菌施用对山药生长及土壤微生物区系的影响[J]. *土壤*, 2025, 57(5): 1025-1033.]
- [9] Timofeeva A M, Galyamova M R, Sedykh S E. Plant growth-promoting soil bacteria: Nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities[J]. *Plants*, 2023, 12(24): 4074.
- [10] Liu H, Wei L L, Zhu L F, et al. Research progress of *Sphingomonas*[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(6): 2738-2752. [刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 等. 鞘氨醇单胞菌的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(6): 2738-2752.]
- [11] Kim Y J, Park J Y, Balusamy S R, et al. Comprehensive genome analysis on the novel species *Sphingomonas panacis* DCY99T reveals insights into iron tolerance of ginseng[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 2019.
- [12] Asaf S, Numan M, Khan A L, et al. *Sphingomonas*: From diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(2): 138-152.
- [13] Feng F Y, Ge J, Li Y S, et al. Isolation, colonization, and chlorpyrifos degradation mediation of the endophytic bacterium *Sphingomonas* strain HJY in Chinese chives (*Allium tuberosum*)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(6): 1131-1138.
- [14] Feng F Y, Zhan H L, Wan Q, et al. Rice recruits *Sphingomonas* strain HJY-rfp *via* root exudate regulation to increase chlorpyrifos tolerance and boost residual catabolism[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, 72(15): 5673-5686.
- [15] Li Y, Feng F Y, Mu Q E, et al. Foliar spraying of chlorpyrifos triggers plant production of linolenic acid recruiting rhizosphere bacterial *Sphingomonas* sp[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(45): 17312-17323.
- [16] Li M, Hu J, Wei Z, et al. Synthetic microbial communities: Sandbox and blueprint for soil health enhancement[J]. *iMeta*, 2024, 3(1): e172.
- [17] Geesink P, Ter Horst J, Ettema T J G. More than the sum of its parts: Uncovering emerging effects of microbial interactions in complex communities[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2024, 100(4): fae029.
- [18] Gu S H, Wei Z, Shao Z Y, et al. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes[J]. *Nature Microbiology*, 2020, 5(8): 1002-1010.
- [19] Li Q, Wu Y H, Wang J Y, et al. Linking short-chain N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing and replant disease: A case study of *Rehmannia glutinosa*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 787.
- [20] Spraker J E, Sanchez L M, Lowe T M, et al. *Ralstonia solanacearum* lipopeptide induces chlamydospore development in fungi and facilitates bacterial entry into fungal tissues[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2317-2330.
- [21] Li M, Pommier T, Yin Y, et al. Indirect reduction of *Ralstonia solanacearum* *via* pathogen helper inhibition[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(3): 868-875.
- [22] Li M, Wang Z Y, Jing L L, et al. Screening of indigenous microbial helpers for the chlorpyrifos-degrading bacterium *Shingopyxis granulii* CP-2[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2025, 62(2): 555-564. [李梅, 王中阳, 荆莉莉, 等. 毒死蜱降解菌 *Shingopyxis granulii* CP-2 土著细菌帮手的筛选[J]. *土壤学报*, 2025, 62(2): 555-564.]

- [23] Schwyn B, Neilands J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores[J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160(1): 47-56.
- [24] Li J Y. Study on the growth promoting mechanism of synthetic soybean rhizosphere core flora[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A & F University, 2024. [李婧瑜. 人工合成大豆根际核心菌群的促生机制研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2024.]
- [25] Liu P F. Growth-promoting effect of saline-alkali tolerant functional strains and its influence on soil bacterial community [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2023. [刘鹏飞. 耐盐碱功能菌株的促生效果及其对土壤细菌群落的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2023.]
- [26] Zhang H M. Screening of *Bacillus* producing indole acetic acid and study on their impact of plant growth promotion[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017. [张慧敏. 产吲哚乙酸芽孢杆菌的筛选及其促进植物生长的效果研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.]
- [27] Kebede M T, Mengstie G Y. Optimization the efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria *via* genetic engineering[J]. *Discover Plants*, 2025, 2(1): 154.
- [28] de-Bashan L, Giraldo J D, Cruz-Barrera M, et al. Enhancing the survival rate and effectiveness of plant growth-promoting bacteria through bioencapsulation techniques[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2024, DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-024-01870-5>.
- [29] Saha M, Sarkar S, Sarkar B, et al. Microbial siderophores and their potential applications: A review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(5): 3984-3999.
- [30] Zhou F F, Li X T, Tang L. Growth promotion and stress resistance of synthetic microbial community: A review[J]. *Soils*, 2023, 55(6): 1170-1175. [周芳芳, 李晓婷, 汤利. 合成菌群促生抗逆功能的研究进展[J]. *土壤*, 2023, 55(6): 1170-1175.]

(责任编辑: 陈荣府)