



柽柳根际一株盐单胞菌 Bachu 26 的分离、鉴定及其盐胁迫下的促生作用研究

张小霞¹, 陈筱玥¹, 王秋云¹, 张国只¹, 杨新平², 代金平², 梁振普^{1,2*}

1 河南农业大学生命科学学院, 河南 郑州 450046

2 新疆农业科学院微生物应用研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091

张小霞, 陈筱玥, 王秋云, 张国只, 杨新平, 代金平, 梁振普. 柽柳根际一株盐单胞菌 Bachu 26 的分离、鉴定及其盐胁迫下的促生作用研究[J]. 微生物学报, 2024, 64(2): 607-622.

ZHANG Xiaoxia, CHEN Xiaoyue, WANG Qiuyun, ZHANG Guozhi, YANG Xinping, DAI Jinping, LIANG Zhenpu. Isolation and identification of *Halomonas* sp. Bachu 26 with plant growth-promoting effect from rhizosphere of *Tamarix chinensis* under salt stress[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(2): 607-622.

摘要: 盐渍化是世界性的土壤问题, 植物促生根际细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)在盐碱地改良和促进植物生长方面具有独特优势。柽柳是典型的盐生植物, 筛选其根际微生物并研究其促生效果与促生机制, 以此开发微生物菌肥, 具有重要的应用价值。【目的】筛选耐盐碱植物柽柳的根际微生物, 对其基本特性、耐盐碱能力、促生功能及促生效果进行评估。【方法】从新疆巴楚境内野生柽柳根际土壤中筛选出一株耐盐碱细菌菌株 Bachu 26; 通过形态学观察、生理生化特性测定和 16S rRNA 基因序列分析, 对该菌株进行鉴定; 利用不同盐浓度(0%–20%)和不同 pH (7.0–13.0), 对菌株 Bachu 26 的耐盐耐碱能力进行测定; 采用多种功能鉴定培养基测定其促生功能, 并对生长素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)进行定量测定; 通过二分格培养皿实验验证菌株产生挥发性酸性物质的能力; 在普通培养皿上将拟南芥幼苗与菌株 Bachu 26 共培养, 分析菌株对拟南芥幼苗的促生作用; 在二分格培养皿上将拟南芥与 Bachu 26 隔离培养, 分析菌株产生的挥发性酸性物质对拟南芥幼苗的促生作用; 用盆栽法分析该菌株对玉米幼苗的促生作用。【结果】菌株 Bachu 26 为盐单胞菌属(*Halomonas*), 将其命名为 *Halomonas* sp. Bachu 26, 该菌株生长最高耐受盐浓度达 20%, 耐受的最高 pH 值为 11.0。菌株 Bachu 26 具有溶解有机磷、固氮、产 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase, ACC)、IAA 和挥发性

资助项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划(2022B02019); 新疆重点产业创新发展支撑计划(2022DB026)

This work was supported by the Key Research and Development Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022B02019) and the Innovative Development Support Program for Key Industries of South Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022DB026).

*Corresponding author. E-mail: lzpbio@126.com

Received: 2023-07-25; Accepted: 2023-09-26; Published online: 2023-10-11

酸性物质的能力，其中 IAA 产量可达 45.885 6 mg/L。菌株 Bachu 26 可显著提高拟南芥幼苗在盐碱胁迫条件下的鲜重、侧根数、主根长和叶片数；盆栽实验中可显著提高玉米在盐碱胁迫下的地上鲜重、地下鲜重和株高。【结论】新分离 Bachu 26 具有显著的耐盐碱促生效果，为后期盐碱地的改良和耐盐碱促生微生物肥料的开发提供了材料和理论支持，同时可以促进对盐单胞菌的应用和基础研究。

关键词：柽柳；盐碱地；植物促生根际细菌(PGPR)；盐单胞菌；促生

Isolation and identification of *Halomonas* sp. Bachu 26 with plant growth-promoting effect from rhizosphere of *Tamarix chinensis* under salt stress

ZHANG Xiaoxia¹, CHEN Xiaoyue¹, WANG Qiuyun¹, ZHANG Guozhi¹, YANG Xinping², DAI Jinping², LIANG Zhenpu^{1,2*}

¹ School of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, Henan, China

² Institute of Microbiology Application, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang, China

Abstract: Salinization is a global soil problem. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) have unique advantages in remediating saline-alkali soils and promoting plant growth. Screening the rhizosphere microorganisms of *Tamarix chinensis*, a typical halophyte, and revealing the growth-promoting effect and mechanism of these microorganisms are of great significance for developing microbial fertilizers. **[Objective]** To screen out the microorganisms from the rhizosphere soil of saline-alkali tolerant *T. chinensis* and measure their basic characteristics, salt and alkali tolerance, and plant growth-promoting effects. **[Methods]** A saline-alkali tolerant strain Bachu 26 was screened out from the rhizosphere soil of wild *T. chinensis* in Bachu, Xinjiang and identified based on the morphological, physiological, and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence. We cultured the strain Bachu 26 in the media with different salt concentrations (0%–20%) and pH values (7.0–13.0) to evaluate its salt and alkali tolerance. We then used multiple functional media to examine the growth-promoting function of Bachu 26 and measured the production of indole-3-acetic acid (IAA). The petri dishes with two compartments were used to verify the ability of Bachu 26 to produce acidic volatile substances. *Arabidopsis thaliana* seedlings were co-cultured with strain Bachu 26 in common culture dishes, based on which the growth-promoting effect of Bachu 26 on *A. thaliana* seedlings was analyzed. Furthermore, *A. thaliana* seedlings and Bachu 26 were cultured individually in the petri dishes with two compartments, based on which the growth-promoting effect of volatile acidic substances produced by Bachu 26 on the seedlings was analyzed. The growth-promoting effect of Bachu 26 on maize seedlings was analyzed by pot experiments. **[Results]** Strain Bachu 26 was identified as a species of *Halomonas* and

named *Halomonas* sp. Bachu 26, with the maximum tolerance to 20% salt and pH 11.0. *Halomonas* sp. Bachu 26 could solubilize organic phosphorus, fix nitrogen, and produce ACC deaminase, IAA, and volatile acidic substances, with the IAA yield reaching 45.885 6 mg/L. *Halomonas* sp. Bachu 26 significantly increased the fresh weight, lateral roots, taproot length, and leaves of *A. thaliana* seedlings under saline-alkali stress. In pot experiments, *Halomonas* sp. Bachu 26 significantly increased the fresh weight of aboveground part, fresh weight of underground part, and plant height of maize under saline-alkali stress. **[Conclusion]** The newly isolated PGPR strain Bachu 26 has a significant plant growth-promoting effect. The findings provide material and theoretical support for the remediation of saline-alkali soil and development of saline-alkali tolerant plant growth-promoting microbial fertilizers. Furthermore, the results will promote the applied and basic research on *Halomonas*.

Keywords: *Tamarix chinensis*; saline-alkali soil; plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR); *Halomonas*; plant growth-promoting effect

土壤盐碱化问题在世界范围普遍存在,其主要表现为易溶性盐分不断析出并积聚在土壤表层。目前,土壤盐渍化面积仍然呈增加趋势,严重制约着农业生产和经济的发展^[1-2]。2021年世界土壤日的主题为“防止土壤盐渍化,提高土壤生产力”,旨在鼓励社会加强改良和利用盐碱土壤,提高土壤生产力,保持生态系统稳定。我国盐碱地面积占比极大,排名世界第三,而新疆是我国盐碱地主要分布区。

土地盐碱化会抑制作物生长、降低肥料利用率,严重时甚至导致耕地抛荒,并且据统计每年因为土壤盐渍化导致可耕地面积下降1%~2%^[3-4]。因此土壤盐碱化是严重影响耕地产能、粮食安全以及生态系统的重要障碍因子^[5-6]。早在20世纪30年代,世界各国就纷纷开展了盐碱地治理方面的研究。目前,治理盐碱地主要有3种改良技术:物理改良、化学改良和生物改良。生物改良技术主要是通过种植喜盐植物和接种耐盐碱促生微生物来改良盐碱地和促进植物生长。微生物接种方法,即采集耐盐碱植物根际的有益微生物开发成生物肥料接种于植物根部,能有效缓解盐碱胁迫对植物生长的抑制作用^[7],同时通过微生物的活动也可以改善土壤的理化性质^[7-8]。

根际是由植物的根、土壤、微生物三者共同构成的一个动态、灵活且复杂的生态微环境,不仅对植物生长发育起到关键作用,同时对微生物驱动的碳氮固定及循环过程也十分重要^[9]。植物促生根际细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是生长于植物根系表面的细菌群落,能够起到促进植物生长、改善土壤微环境等作用^[10]。PGPR可以通过自身作用直接产生有利于植物生长吸收的代谢物质或通过改变植物的代谢途径间接地促进植物的生长^[11-14]。研究显示PGPR可以产生植物内源激素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA), IAA可以影响植物细胞的分裂、组织伸长、种子萌发和根系发育等,并作用于植物生长全过程,对于植物在盐碱胁迫的响应有重要作用^[15]。此外PGPR还可以通过固定大气中的氮、溶磷、解磷、解钾、产1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶等方式促进植物生长^[16]。在盐胁迫下,植物通常会产生大量乙烯,过量的乙烯会抑制植物的生长,PGPR可以通过产生ACC脱氨酶降解乙烯的前体物质ACC,从而调节植物体内乙烯含量^[17]。PGPR还可阻止或减弱病原菌对植物的侵染,从而间接地达到促生

效果^[18-19]。

目前,利用微生物接种剂促进植物生长及盐碱地改良过程中遇到的突出问题包括:(1)菌株种类少;(2)已有菌株对不同环境,尤其像盐碱地这样的特殊生态环境适应性差;(3)已有菌株对不同植物的促生效果普适性差。因此,需要开发针对性高的功能型微生物菌剂。柽柳作为我国新疆常见的一种荒漠灌木,广泛分布于沙荒地和盐渍化土地,特殊的生长环境孕育了柽柳根际特殊的微生物种类。

本研究对新疆维吾尔自治区巴楚境内的柽柳根际菌株进行了分离、筛选与鉴定,结果分离到了一株盐单胞菌 Bachu 26,对其特性和促生功能进行了研究,结果可丰富耐盐碱促生菌的资源,加快微生物接种剂在盐碱地改良、植物促生等领域的应用进程。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物、菌株

研究所用拟南芥种子为拟南芥哥伦比亚生态型 (*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia, Col),由本实验室扩繁保存。供试玉米种子为新玉 62 号。供试菌株 Bachu 26 分离自新疆维吾尔自治区喀什地区巴楚境内柽柳的根际土壤,由本课题组保藏。

1.1.2 培养基

高盐高碱 LB 培养基:酵母提取物 0.5 g/L,胰蛋白胨 1 g/L, NaCl 1.28 mol/L, pH 9.0,用于微生物常规培养(利用 40% NaOH 调节 pH 值至 9.0)。分别采用无机磷培养基、蒙金娜培养基、硅酸盐培养基、阿须贝无氮培养基和 ADF 培养基进行微生物溶磷、解磷、解钾、固氮和产 ACC 脱氨酶能力的鉴定,每种培养基的 NaCl 终浓度均为 1.28 mol/L。

1.2 土壤悬液制备、微生物分离与菌株 16S rRNA 基因的鉴定

于超净工作台中称取 5.0 g 供试土样,加入 45 mL 灭菌去离子水中,涡旋振荡使土壤与水充分混匀后静置 2-5 min 形成土壤悬液。对土壤悬液进行梯度稀释,得到分别为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 浓度梯度的悬液。将制备的不同浓度梯度的土壤悬液涡旋振荡混匀后,分别取 100 μ L 涂布于高盐高碱 LB 固体培养基,倒置放入 30 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养 48 h。选取能够分离出单菌落的浓度梯度的平板,挑取单菌落进行至少 3 次划线培养,得到能够在高盐高碱环境下生存的耐盐碱微生物,然后接种到 LB 液体培养基于 30 $^{\circ}$ C 恒温振荡摇床培养,将菌液按 1:1 比例加入 50% 甘油中,于 -80 $^{\circ}$ C 保藏备用。

利用 PCR 扩增单菌落的 16S rRNA 基因序列,引物为细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')^[20]。PCR 反应体系 (25 μ L): 2 \times phanta Max Mix (p515) 12.5 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板 0.5 μ L, ddH₂O 10 μ L。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 5 min。对 PCR 产物测序[生工生物工程(上海)股份有限公司]验证,测序结果通过 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 比对,并在 NCBI 数据库中进行注册。

1.3 Bachu 26 的形态学鉴定

将单菌落 Bachu 26 接种于 LB 固体培养基,30 $^{\circ}$ C 倒置培养 48 h,观察菌落的大小、形状、颜色、边缘整齐度等形态。采用革兰氏染色与扫描电镜观察细菌的形态与大小。

1.4 Bachu 26 的生理生化测定

将 Bachu 26 菌株接种于 LB 液体培养基中,

在 30 °C、180 r/min 培养 OD_{600} 为 0.6–0.8。菌株耐盐能力测定选取 pH 9.0 条件下的 11 个不同 NaCl 浓度(0、20、40、60、80、100、120、140、160、180、200 g/L)和一个盐浓度为 0 g/L 但不调节 pH 的条件[标为 0(-)], 共 12 个条件进行测定; 蘸取菌液在盐浓度不同的 LB 固体培养基上划线, 置于 30 °C 恒温培养箱中倒置培养; 每隔 24 h 观察菌落直径大小, 重复测 3 次取平均值。耐碱能力测定选取 NaCl 浓度为 1.28 mol/L 条件下 7 个不同 pH 值, 分别为 7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0 (均使用 40% 的 NaOH 调节 pH 值); 将菌液以 2% 的接种量分别接种到不同 pH 值的 LB 液体培养基中, 置于恒温振荡摇床 30 °C、180 r/min 培养; 以不接菌的 LB 液体培养基为对照组, 每隔 24 h 用可见分光光度计测定并统计菌株的 OD_{600} 值, 重复测 3 次取平均值。

对菌株进行产淀粉水解酶、过氧化氢酶、氧化酶和柠檬酸盐测定。使用青岛海博生物技术有限公司的生化管进行菌株唯一碳源鉴定。依据《普通细菌鉴定手册》与生化鉴定结果判断细菌特征。

1.5 菌株 Bachu 26 的促生功能鉴定

1.5.1 溶无机磷、解有机磷、解钾、固氮、分泌 ACC 脱氨酶能力鉴定

在培养皿上等间距接种 3 处菌液, 每处接种 5.0 μ L。无机磷培养基、蒙金娜培养基、硅酸盐培养基、阿须贝无氮培养基和 ADF 培养基均采用上述方式接种, 每种功能鉴定培养基各接种 3 个培养皿作为生物学重复, 置于 30 °C 恒温培养箱倒置培养 8 d, 观察不同培养基上的菌株生长情况。无机磷培养基、蒙金娜培养基、硅酸盐培养基上的菌株周围如能够产生透明圈, 则表示 Bachu 26 具有溶磷、解磷、解钾的能力, 使用十字交叉法测定透明圈直径大小与菌落直径大小, 二者比值与菌株溶磷、解磷、解钾能力呈正相关。阿须贝无氮培养基、ADF 培养基上如生长菌落,

则表示 Bachu 26 具有固氮、分泌 ACC 脱氨酶的能力。

1.5.2 分泌 IAA 能力鉴定

称取 IAA 标准品 10.0 mg, 用少量无水乙醇溶解后用蒸馏水定容至 100 mL 作为贮备液, 将贮备液稀释至浓度分别为 10、20、30、40、50 μ g/mL 的标准液。向 2 mL 的标准液中加入 2 mL Salkowski 显色液。置于避光处 30 min 等待颜色反应。测量其 OD_{530} 处的吸光度并根据数据绘制标准曲线。

将菌株接种于 LB 液体培养基中, 置于恒温振荡摇床 30 °C、180 r/min 培养, 每 48 h 取 2 mL 菌悬液于离心管离心 10 min, 转移上清加入等体积 Salkowski 显色液。置于避光处 30 min 等待颜色反应。使用分光光度计测量记录 OD_{530} 的吸光度, 以 OD_{530} 的值为横坐标, IAA 浓度为纵坐标绘制标准曲线^[21], 通过标准曲线的回归方程计算 Bachu 26 产生的 IAA 浓度。

1.5.3 挥发性酸性物质产生情况鉴定

为验证 Bachu 26 是否产生挥发性酸性物质, 本研究利用在隔离培养皿中加入中性红(指示范围: pH 6.8–8.0)的方法进行判定, 中性红在 pH 6.8–8.0 的指示范围内显示红色, 不在该范围时为橘色。在隔离培养皿两侧加入添加了中性红的 LB 固体培养基, 一侧接种菌株 Bachu 26, 另一侧不接菌; 共接种 6 个培养皿。将培养皿置于 30 °C 倒置培养 48 h 后取出, 观察颜色变化。选择 3 个培养基开盖敞口放置, 另外 3 个不敞口。24 h 后对敞口与未敞口的 2 组培养皿进行比较。如培养 48 h 后培养基变红说明产生酸性物质; 敞口放置 24 h 后如颜色未从红色变为橘色说明产生的酸性物质为非挥发性的, 如颜色由红色变为橘色说明产生的酸性物质为挥发性物质。

1.5.4 降盐降碱能力测定

将 OD_{600} 值为 0.6–0.8 的 Bachu 26 菌液分别接种于 NaCl 浓度为 1.28 mol/L, pH 值分别为 8、9、10 的液体培养基中, 置于恒温振荡摇床 30 °C、

180 r/min 培养,用于测定 Bachu 26 的降盐能力。每隔 12 h 取 0.5 mL 菌液,向其中滴加 2.5 μ L 10% 的铬酸钾溶液作为指示剂,以 0.1 mol/L AgNO_3 滴定法测定 NaCl 浓度。当出现砖红色沉淀且不褪去即为滴定终点。

根据公式(1)计算 Cl^- 的浓度 C_2 。

$$C_2 = (C_1 \times V_1) / V_2 \quad (1)$$

式中, C_1 为 AgNO_3 溶液浓度(mol/L); V_1 为滴定时消耗的 AgNO_3 溶液体积(mL); V_2 为滴定时菌液的体积(mL); 将 Cl^- 浓度带入公式(2)计算降盐率 $\eta_{\text{盐}}$ 。

$$\eta_{\text{盐}} = (C_{2\text{最高}} - C_{2\text{最低}}) / C_{2\text{最高}} \times 100\% \quad (2)$$

式中, $C_{2\text{最高}}$ 为培养基中 Cl^- 降解前浓度(mol/L); $C_{2\text{最低}}$ 为培养基中 Cl^- 降解后浓度(mol/L)。

降碱率测定的菌株培养和取样方法同上。将菌液 4 000 r/min 离心 5 min, 取上清液测量菌液的 pH 值。根据公式(3)计算降碱率 $\eta_{\text{碱}}$ 。

$$\eta_{\text{碱}} = (\text{pH}_{\text{前}} - \text{pH}_{\text{后}}) / \text{pH}_{\text{前}} \times 100\% \quad (3)$$

式中, $\text{pH}_{\text{前}}$ 为接菌前培养基的 pH 值; $\text{pH}_{\text{后}}$ 为接菌后培养基的 pH 值。

1.6 菌株 Bachu 26 的促生效果验证

1.6.1 对拟南芥的促生效果验证

取适量拟南芥(Col)种子清洗干净后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱春化 3 d 备用。

通过测定拟南芥的耐盐碱能力, 确定了 1/2 MS 固体培养基的 5 个盐碱胁迫条件: pH 调至 5.8、pH 调至 8.0、pH 调至 8.0 并加入 2 mmol/L 的 NaHCO_3 (简称 pH 8+2 mmol/L NaHCO_3)、pH 调至 8.0 并加入 100 mmol/L NaCl (简称 pH 8+100 mmol/L NaCl)、pH 调至 8.0 并加入 2 mmol/L NaHCO_3 和 100 mmol/L NaCl (简称 pH 8+2 mmol/L NaHCO_3 +100 mmol/L NaCl), 上述培养基均利用 40% 的 NaOH 调节培养基 pH 值。共培养采用自制的双层培养基: 在培养皿中加入 1/2 MS 固体培养基, 待培养基完全冷却后切掉距培养皿底部 1.5 cm 处的培养基,

加入 2.0 mL LB 固体培养基, 在距培养皿底部 6.0 cm 处划线, 划线处接种 20 颗处理好的拟南芥种子, LB 固体培养基部分接种菌株 Bachu 26, 将培养皿密封后放入培养箱竖直培养。隔离培养使用二分格培养皿, 一侧分别加入 5 个不同条件的 1/2 MS 培养基(pH 5.8、pH 8.0、pH 8.0+2 mmol/L NaHCO_3 、pH 8.0+100 mmol/L NaCl 和 pH 8.0+2 mmol/L NaHCO_3 +100 mmol/L NaCl), 在距离 1/2 MS 培养基顶部 1.5 cm 处接种拟南芥种子 10 颗, 另一侧加入 LB 培养基用于接种菌株 Bachu 26, 将培养皿密封后放入培养箱竖直培养。

拟南芥生长条件: 22 $^{\circ}\text{C}$, 光照强度 12 000 lx 培养 16 h, 黑暗培养 8 h, 相对湿度 50%, 竖直培养 10 d。10 d 后统计共培养和隔离培养的拟南芥发芽率、幼苗根长、叶片数和鲜重 4 项生理指标。

1.6.2 对玉米的促生效果验证

选取大小均一的玉米种子洗净消毒后在黑暗条件下浸泡过夜备用。

选取 11 个条件对玉米的耐盐碱情况进行测定, 盐碱使用碱性盐 NaHCO_3 和中性盐 NaCl 按照物质的量 1:1 比例混合后根据质量比加入营养土中, 加入盐的量与土壤的质量比分别为: 0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 g/kg。将处理过的玉米种子播种至不同盐碱浓度的土壤中, 28 $^{\circ}\text{C}$ /22 $^{\circ}\text{C}$, 20 000 lx/0 lx, 光周期 14 h/10 h, 相对湿度 70% 培养 10 d, 确定盆栽实验的盐胁迫浓度。

由玉米耐盐碱测定实验选出 3 个合适的盐碱浓度 0、15、45 g/kg 进行实验; 每盆播种 5 粒玉米种子, 播种深度为 1 cm 左右, 每个盐浓度设置 10 个重复。待玉米长出 2 片叶片, 取浓度为 10^8 CFU/mL 的菌液按照 1:9 的比例稀释 10 倍制成菌悬液, 向每株玉米根部施加 5 mL 菌悬液, 每隔 7 d 施加一次。14 d 后洗净玉米根系, 称量地上鲜重和地下鲜重、测量株高。

2 结果与分析

2.1 菌株 Bachu 26 的鉴定

2.1.1 菌株 Bachu 26 的形态学特征

为了确定菌株 Bachu 26 的形态学特征, 对其进行了菌落、光学显微镜和扫描电镜观察。菌株 Bachu 26 的形态学特征为: 在 LB 固体培养基培养 48 h 后菌落直径约 2.85 mm, 菌落规则呈圆形, 边缘整齐, 表面凸起呈黄色、光滑湿润不透明。菌株 Bachu 26 革兰氏染色呈红色, 表明其为革兰氏阴性菌。扫描电镜观察结果显示, Bachu 26 大小约为 1.743 3 μm × 0.457 3 μm , 细胞呈长杆状, 无芽孢。

2.1.2 菌株 Bachu 26 的生理生化特征

为了测定菌株 Bachu 26 对盐碱环境的耐受性, 对其耐盐碱能力进行了测定。研究表明, 菌株 Bachu 26 在 NaCl 浓度为 0–200 g/L 条件下均可生长(图 1A), 其中在 80 g/L 盐浓度下生长速度最快。菌株 Bachu 26 在 pH 7.0–11.0 条件下均可生长(图 1B), 其中 pH 7.0–10.0 时菌株长势较好。明确了菌株 Bachu 26 最适生长的盐碱条件为: 80 g/L 盐浓度, pH 7.0–10.0。

生理生化反应结果显示, 菌株 Bachu 26 具备产过氧化氢酶和氧化酶的能力, 不具备水解淀粉的能力; 菌株 Bachu 26 可利用葡萄糖、果糖、半乳糖、蔗糖、木糖、阿拉伯糖和柠檬酸盐作为唯一碳源进行生长(表 1)。

2.1.3 菌株 Bachu 26 的分子鉴定

16S rRNA 基因序列的 PCR 产物测序结果显示, 菌株 Bachu 26 的 16S rRNA 基因序列长度为 1 444 bp; 将其在 GenBank 进行注册, 登录号为 OQ586668。通过 NCBI 数据库比对和构建系统发育树(图 2), 结果显示, 菌株 Bachu 26 与盐单胞菌属成员 TRM0175^T (NR 104282) 的 16S rRNA 基因序列相似性最高, 达到 99.65%。结合形态学特征、生理生化特性与分子鉴定结果, 可

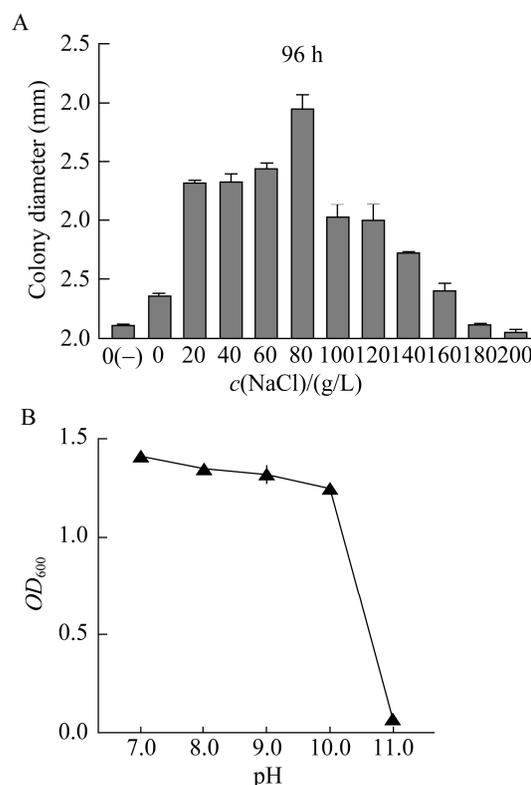


图 1 Bachu 26 的耐盐碱测定

Figure 1 Determination of salt and alkali resistance of Bachu 26. A: Growth of strain Bachu 26 under different salt concentrations. B: Growth of strain Bachu 26 under different pH values. The standard deviation is the result of measuring colony diameter three times.

表 1 菌株 Bachu 26 生理生化测定结果

Table 1 Physiological and biochemical analysis of the strain Bachu 26

Test items	Results
Starch hydrolyze	-
Catalase test	+
Oxidase test	+
Only carbon source tests	
Glucose	+
Fructose	+
Galactose	+
Saccharose	+
Xylose	+
L-arabinose	+
Citrate test	+

+: Positive reaction; -: Negative reaction.

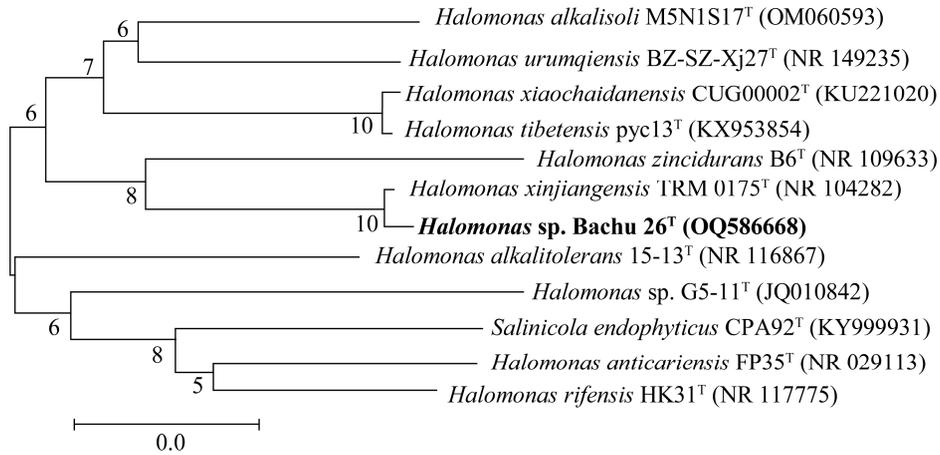


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 *Bachu 26* 的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of strain *Bachu 26* based on 16S rRNA gene sequences. Maximum likelihood phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the phylogenetic position of strains *Bachu 26*^T. Bootstrap values (>50%) based on 1 000 replicates for the maximum likelihood method are shown at branch nodes. Bar: 0.01 substitutions per site. GenBank accession numbers are given in parentheses.

以确定菌株 *Bachu 26* 属于盐单胞菌属成员，将其命名为 *Halomonas* sp. *Bachu 26*。

2.2 菌株 *Bachu 26* 的促生功能分析

2.2.1 溶无机磷、解有机磷、解钾、固氮、分泌 ACC 脱氨酶能力的测定

通过在不同的功能鉴定培养基上接种菌株 *Bachu 26* 判断该菌的促生功能特性，结果显示，菌株 *Bachu 26* 在蒙金娜培养基上可以形成透明圈，菌落直径与解磷圈直径的比值 $HC (D/d)$ 为 2.267 048，而在无机磷和硅酸盐培养基上无透明圈出现，说明菌株 *Bachu 26* 具有解有机磷的功

能，不具有溶无机磷和解钾的功能；菌株 *Bachu 26* 在阿须贝无氮培养基和 ADF 培养基上均可生长，说明其具有固氮和产 ACC 脱氨酶的能力(图 3)。

2.2.2 分泌 IAA 的能力

在对菌株 *Bachu 26* 产生的 IAA 进行定量前，根据不同浓度 IAA 纯品的吸光度，以 IAA 浓度为纵坐标制作了标准曲线，得到标准曲线方程为 $y=74.595x-2.525 6$ 。实验测得菌株 *Bachu 26* 在 OD_{530} 处的吸光度为 0.649，最终确定其在 NaCl 1.28 mol/L、pH 9.0 条件下分泌 IAA 的量为 45.886 56 mg/L。

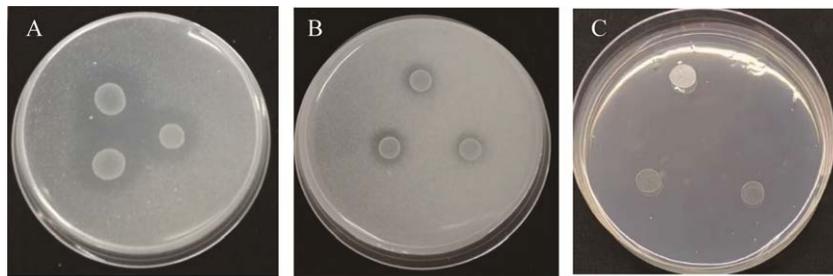


图 3 菌株 *Bachu 26* 在不同鉴定培养基上的生长情况

Figure 3 The growth of strain *Bachu 26* on different identification mediums. A: Mongina medium. B: Ashby medium. C: ADF medium.

2.2.3 菌株 Bachu 26 的降盐降碱能力

为了解析菌株 Bachu 26 是否可以通过直接降低盐碱从而起到促生作用, 对菌株 Bachu 26 的降盐碱能力进行了测定。降碱实验结果表明, 在 pH 值分别为 8.0、9.0、10.0 的条件下培养菌株 Bachu 26 后, 培养基的最终 pH 值分别降为 7.45、7.70、7.92, 由公式(3)计算出降碱率分别为 6.88%、14.44%、20.80%, 其降碱能力随 pH 值的升高而增强。降盐实验结果表明, Bachu 26 在 pH 为 8.0 和 9.0 时不具备降盐能力, 当 pH 值为 10.0 时, 降盐率为 7.03% (表 2)。

2.2.4 Bachu 26 产挥发性酸性物质能力

为了确定菌株 Bachu 26 降碱时是否产生挥发性的酸性物质, 本研究使用中性红作为指示剂进行了分析。将加入中性红(pH 指示范围: 6.8–8.0)的 LB 培养基倒入隔离培养皿两侧, 于一侧接种菌株 Bachu 26, 30 °C 倒置培养 48 h。结果表明, 接种菌株 Bachu 26 培养 48 h 后培养

基两侧变红(图 4A); 将 2 组培养皿分别进行敞口和不敞口放置 24 h, 敞口放置的培养基恢复橘色(图 4B), 未敞口放置的培养基颜色不变(图 4C)。上述结果表明, 菌株 Bachu 26 产生了挥发性酸性物质。

2.3 菌株 Bachu 26 对拟南芥的促生效果

根据课题组前期对拟南芥耐盐碱性的测定, 菌株 Bachu 26 对拟南芥促生效果的验证实验采用了 5 个不同盐碱条件的 1/2 MS 培养基: pH 5.8、pH 8、pH 8+2 mmol/L NaHCO₃、pH 8+100 mmol/L NaCl 和 pH 8+2 mmol/L NaHCO₃+100 mmol/L NaCl。

2.3.1 菌株 Bachu 26 与拟南芥共培养的促生效果

当菌株 Bachu 26 与拟南芥共培养时, 在 pH 5.8 条件下根长增加, 不具有显著性; 在 pH 8.0 条件下拟南芥的根长、鲜重、叶片数都有增加, 不具有显著性; 在 pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃ 条件下根长、鲜重、叶片数极显著增加($P<0.01$), 侧根数相较于未生长的对照组, 呈现明显的促进作用; 在 pH 8.0+100 mmol/L NaCl、pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃+100 mmol/L NaCl 条件下拟南芥根长显著增加($P<0.05$), 对鲜重和叶片数也表现出明显的促进作用(图 5)。结果表明, 在不同盐碱胁迫条件下, 菌株 Bachu 26 对拟南芥幼苗有促生作用。

表 2 菌株 Bachu 26 降碱降盐能力

Table 2 Alkali-lowering and salt-lowering abilities of strain Bachu 26

Test items	pH	Results
Alkali-lowering ability (%)	8.0	6.88
	9.0	14.44
	10.0	20.80
Salt-lowering ability (%)	8.0	0
	9.0	0
	10.0	7.03

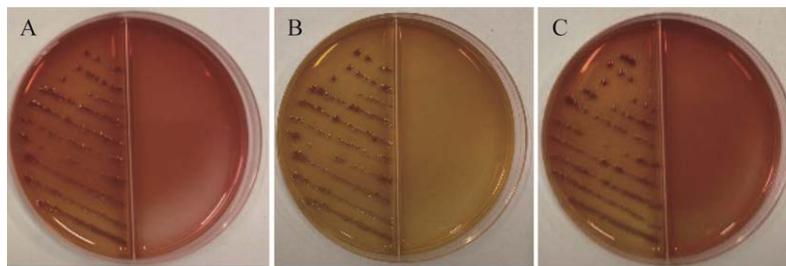


图 4 菌株 Bachu 26 在中性红培养基上的培养结果

Figure 4 Culture results of strain Bachu 26 inoculated in neutral red medium. A: Culture results 48 h after inoculation of strain Bachu 26. B: Results after opening the plate for 24 h. C: Results without opening the plate after 24 h.

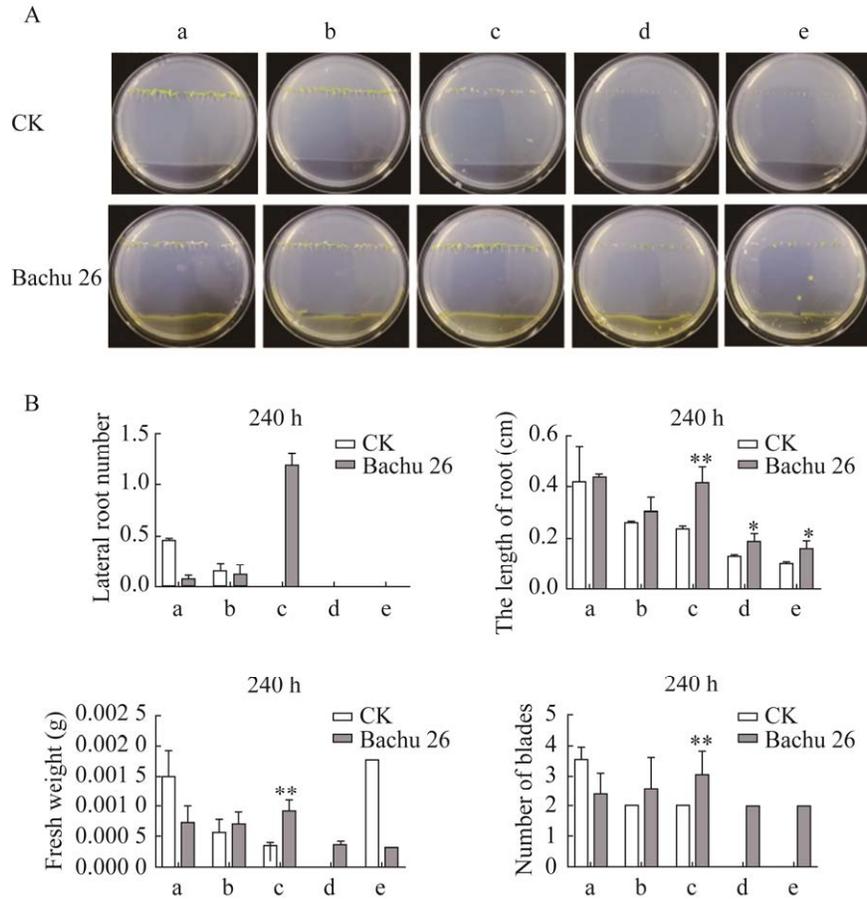


图 5 菌株 *Bachu 26* 与拟南芥共培养对拟南芥幼苗生长的影响

Figure 5 Effects of strain *Bachu 26* co-cultured with *Arabidopsis thaliana* on growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings. a: pH 5.8; b: pH 8.0; c: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃; d: pH 8.0+100 mmol/L NaCl; e: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃+100 mmol/L NaCl. A: Pictures of co-cultured experiments. B: Results of co-cultured experiments. Standard deviation is the individual difference of *A. thaliana* seedlings under the same conditions; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.3.2 菌株 *Bachu 26* 与拟南芥隔离培养的促生效果

由 2.2.4 结果可知 *Bachu 26* 会产生酸性挥发性物质, 因此将拟南芥与菌株 *Bachu 26* 在隔离培养皿上隔离培养进一步验证产生的挥发性酸性物质是否具有促生作用。研究结果表明, 在 pH 8.0 条件下, 拟南芥的侧根数、根长、鲜重显著增加 ($P < 0.05$), 叶片数增加但不具有

显著性; 在 pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃ 条件下侧根数、根长、叶片数显著增加 ($P < 0.05$), 鲜重增加但不具有显著性; 在 pH 8.0+100 mmol/L NaCl 条件下拟南芥的根长显著增加 ($P < 0.05$); 在 pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃+100 mmol/L NaCl 条件下拟南芥的根长显著增加 ($P < 0.05$), 侧根、鲜重、叶片数也增加但不具有显著性 (图 6)。

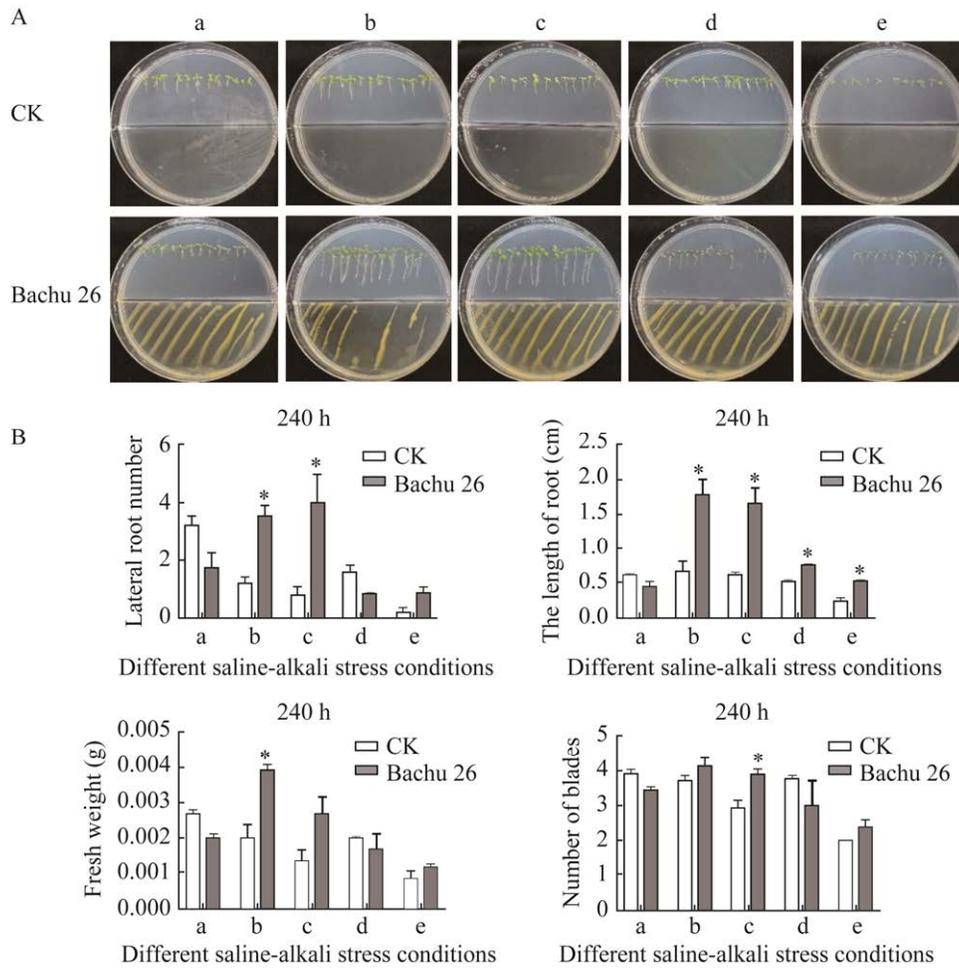


图 6 菌株 Bachu 26 与拟南芥隔离培养对拟南芥幼苗生长的影响

Figure 6 Effects of strain Bachu 26 on growth of *Arabidopsis thaliana* seedlings in isolation culture experiments. a: pH 5.8; b: pH 8.0; c: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃; d: pH 8.0+100 mmol/L NaCl; e: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO₃+100 mmol/L NaCl. A: Pictures of isolation culture experiments. B: Results of isolation culture experiments. Standard deviation is the individual difference of *A. thaliana* seedlings under the same conditions. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.4 菌株 Bachu 26 对玉米的促生效果

2.4.1 玉米耐盐碱性测定

玉米的耐盐碱实验测定结果表明, 盐碱浓度为 15 g/kg 和 45 g/kg 时, 对玉米种子的萌发和幼苗生长影响明显(图 7)。因此确定盐碱浓度 15 g/kg 和 45 g/kg 作为后续实验中的盐胁迫条件, 以 0 g/kg 的处理作为对照。

2.4.2 菌株 Bachu 26 对玉米的促生效果

在盐浓度 0 g/kg 条件下玉米在接种了菌株

Bachu 26 后地上鲜重显著增加($P < 0.05$), 株高极显著增加($P < 0.001$); 在盐浓度 15 g/kg 条件下, 玉米在接种了菌株 Bachu 26 后地上鲜重、地下鲜重极显著增加($P < 0.01$), 株高有所增加但不显著。在 45 g/kg 条件下玉米在接种了菌株 Bachu 26 后地上鲜重显著增加($P < 0.05$), 株高显著增加($P < 0.05$), 地下鲜重有所增加但不显著(图 8)。结果表明, 在不同盐碱胁迫条件下, Bachu 26 对玉米幼苗均有促生作用。

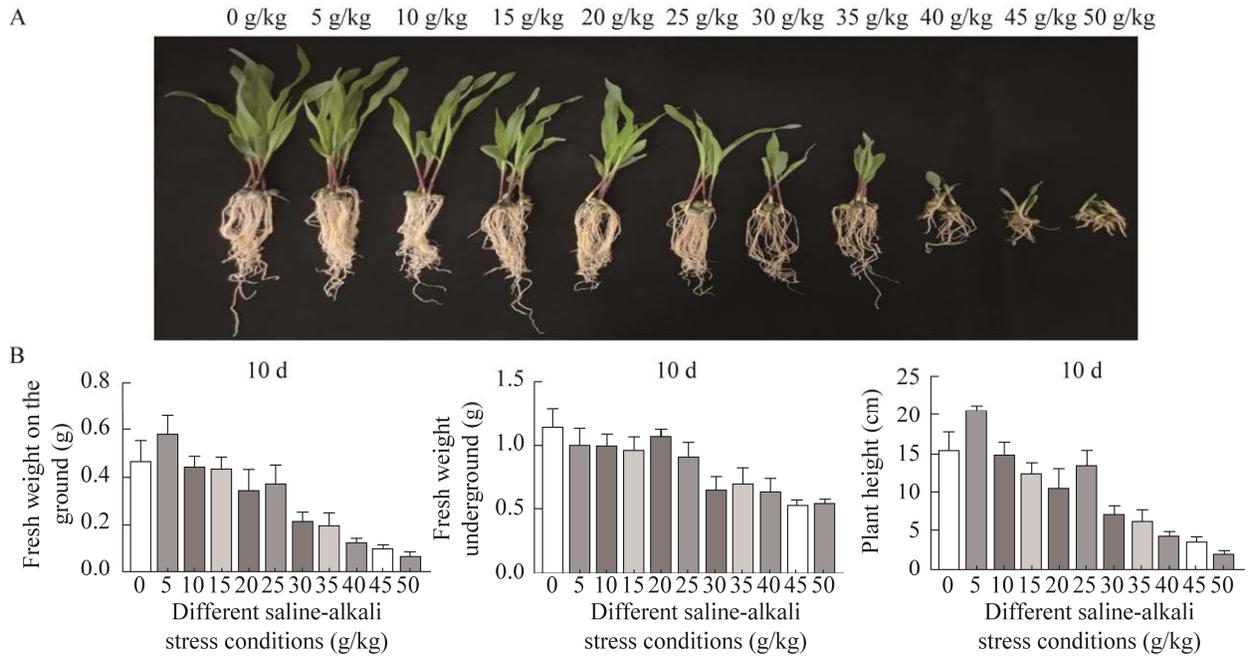


图 7 玉米在不同盐碱胁迫下的生长情况

Figure 7 Growth of maize under different salt and alkali stress. A: Picture of maize under different salt and alkali. B: Results of maize under different salt and alkali concentrations. Different colors means different salt and alkali stress. Standard deviation is the individual difference of maize under the same conditions.

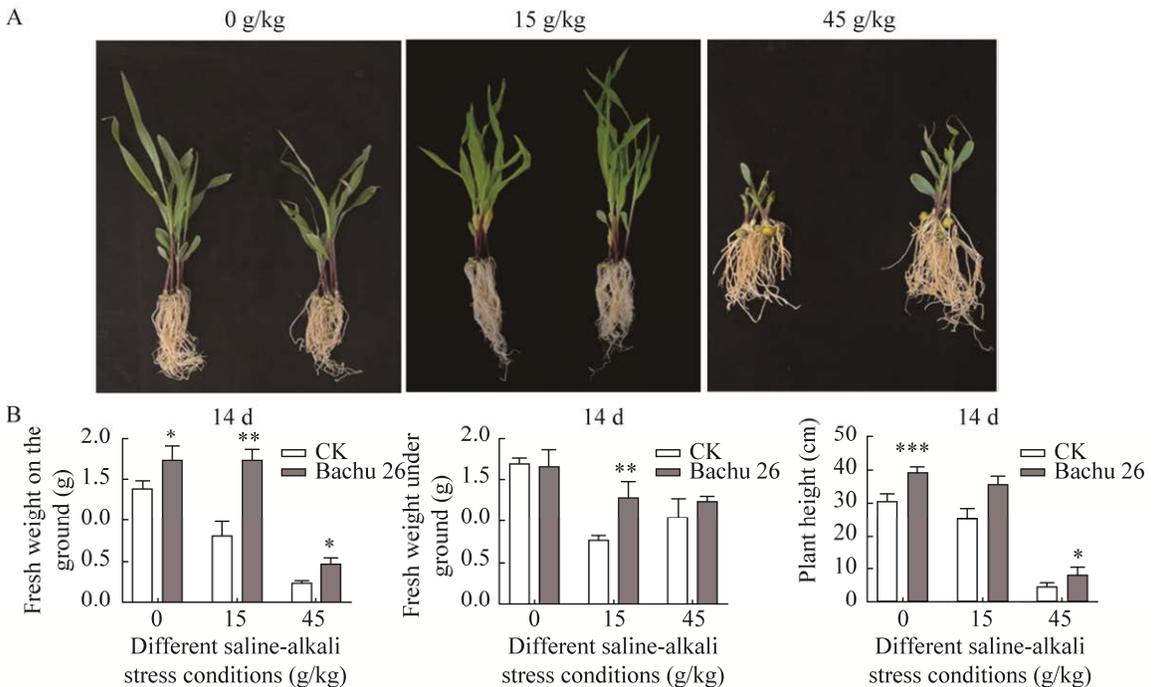


图 8 菌株 *Bachu 26* 对玉米幼苗的促生效果

Figure 8 Growth-promotion effects of strain *Bachu 26* on maize seedlings. A: Picture of maize. The left side is control group, the right side is experimental group. B: Data statistics results of various indicators of maize. Different colors indicate control group and experiment group, respectively. Standard deviation is the individual difference of maize under the same conditions. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

3 讨论与结论

根际土壤微生物在植物的生长中至关重要,它与植物的营养元素获取有着密不可分的关系^[22],PGPR 可以通过自身代谢产生对植物生长有利的某些激素,如 IAA 能促进植物细胞生长,使细胞的体积和质量增加;或者分泌 ACC 脱氨酶、产铁载体等多种促生物质,或者具有将难溶性钾、磷转变为植物易吸收的可溶性钾和磷的能力,从而促进植物生长^[23]。然而大多数植物的根际促生菌的生长环境属于中性,它们难以适应高盐碱环境^[24],较难在盐碱地中利用;如果能够分离利用这些耐盐碱植物的根际微生物,可以有效缓解由于盐碱造成的我国耕地面积日渐紧逼的问题。

柽柳作为一种耐盐碱植物可以对土壤中的盐分进行吸收,降低土壤盐含量^[25],因此分离其根际微生物可以获得具有高盐高碱环境适应能力的 PGPR。本研究供试菌株 Bachu 26 分离自我国新疆巴楚县的一株柽柳,该菌株在 0%–20% 的盐浓度和 pH 7.0–11.0 的条件下均可生存,具有较好的耐盐碱能力,其耐盐碱的分子机制有待今后进一步验证。促生菌对不同生存环境的适应性存在明显差异,在一定程度上限制了根际促生菌的应用^[26]。菌株 Bachu 26 可以利用的碳源种类较广泛,这种多样的碳源利用能力可以为菌株在生长中提供更便利的能量来源,大大提高其在极端环境下的生存能力。因此菌株 Bachu 26 可以克服已有促生菌的适应性差等弊端^[26],在盐碱化土壤中的利用甚至非盐碱化土壤中的利用都具有较大潜力。

研究表明,有些溶磷微生物可以将土壤中难溶性磷转化为可溶性磷,最终被植物吸收利用^[27]。氮素是植物生长发育所需的大量营养元素之一,也是作物生产中最常见的养分限制因

子^[28]。生物固氮是陆地生态系统中氮的重要来源,为大气氮的利用提供了可能^[29]。另外微生物产生的 ACC 脱氨酶与 IAA 可以被植物吸收成为内源性物质,作用于植物本身生长,IAA 的吸收还可以激活植物 ACC 合成酶的活性,从而促进植物的生长^[30]。本研究中的菌株 Bachu 26 具有溶解有机磷的能力;可以利用大气中的氮元素;同时还可以产生 ACC 脱氨酶和 IAA,其 IAA 的产量可达 45.886 56 mg/L。因此,菌株 Bachu 26 具有良好的促生利用潜能。此外,本研究的隔离培养实验显示,菌株 Bachu 26 能产生某些挥发性酸性物质,推测其可以直接有效缓解土壤的碱胁迫,但是这些挥发性物质参与降碱的比重还需要进一步研究。本研究显示不同碱性条件下菌株 Bachu 26 具有的不同降盐能力,推测其原因是不同的碱性条件诱导了细菌的某些特定基因的表达所致。其在高碱情况下表现出的降盐能力的分子机制及其应用价值也有待进一步探究。

基于对菌株 Bachu 26 促生能力的生理生化鉴定结果,本研究还选取了 2 种植物开展了促生效果的进一步验证。结果表明,菌株 Bachu 26 在培养皿促生实验中对拟南芥具有促生作用,其作用表现在根长、鲜重、侧根数和叶片数的增加,这种促生作用在盐碱胁迫的条件下尤为明显。玉米的盆栽促生实验结果显示,不论是否存在盐碱胁迫,菌株 Bachu 26 对玉米的地上鲜重、地下鲜重、株高等均产生了不同程度的促生效果。

因 PGPR 具有优良的应用潜能,近年来,越来越多的研究人员开展了 PGPR 的分离与应用研究工作。如陕西理工大学的王梦娇团队,分析了蓝莓的根际微生物群落构成,并分离到了对蓝莓生长具有促进作用的根际促生菌,该研究以生长素产生能力作为筛选标准,共筛选出 12 株可以产生生长素的细菌,其生长素产生能力范围为 5.53–58.07 mg/L;对这 12 株促生菌的解磷、解

钾能力进行了鉴定, 其中 5 株具有解磷能力, 2 株具有溶解硅酸盐的能力; 分子鉴定结果显示, 2 株属于布丘氏菌属、3 株属于伯克霍尔德菌属、7 株属于假单胞菌属^[31]。还有研究人员根据微生物的某一种或几种特定功能进行了筛选, 如山东农业大学周波团队以 20 种盐碱地植物根际土壤作为材料, 在进行微生物分离后针对能产生胞外多糖的耐盐碱微生物进行了筛选, 得到了 15 株可产生胞外多糖的菌株, 产量最高可达 2 618 mg/L, 该菌株还具有解磷解钾作用, 经鉴定该菌株属于枯草芽孢杆菌沙漠亚种; 该菌株还具有改善土壤环境的能力, 在接种于盐碱土壤后, 土壤中 ≥ 2 mmol/L 粒径团聚体的比例显著提升; 在中度盐碱土壤中使用该菌株的发酵液对番茄幼苗进行灌根, 番茄的壮苗指数、干重、茎粗明显改善, 根际土的 pH、全盐量、土壤容重显著降低, 土壤中的速效磷速效钾显著提升^[32]。尽管 PGPR 的潜在应用价值极高, 但在实际应用中亟待解决的问题也较为突出: 首先市场上现有的菌株种类少、针对性强, 缺少在不同植物间的普适性; 其次多数微生物对极端环境的适应性较差, 尤其新疆的土壤环境较为特殊, 使得目前已有的 PGPR 接种剂达不到预期效果; 另外大多数的 PGPR 筛选多停留在功能鉴定、促生效果研究层面, 导致其促生机制仍不明确。因此, 能够应用于极端环境的 PGPR 菌种资源扩充、定殖及其促生机制的研究成为当前急需解决的问题。本研究从新疆巴楚境内的盐碱地典型植物——柽柳根际筛选出了一株耐盐碱促生菌 Bachu 26, 经鉴定属于典型的中度嗜盐菌——盐单胞菌属, 该菌株具有解磷、固氮、产 ACC 脱氨酶、IAA、挥发性酸性物质以及降盐降碱能力, 能很好地适应盐碱环境, 对拟南芥与玉米都有较好的促生作用。目前盐单胞菌被应用于多个领域, 如废水污水的处理^[33]、微生物染料电池^[34]等, 虽然已经证

明有些基因与其耐盐碱性能相关(例如 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因^[35]、*duf1*、*duf2*^[36]等), 但是作为 PGPR 方面的研究及应用鲜有报道。本研究开展了盐单胞菌属成员在盐碱地改良、植物促生方面的研究, 为进一步将其研制成盐碱地专用微生物肥料提供了重要依据, 同时也丰富了 PGPR 的菌种资源。为了加快盐单胞菌作为 PGPR 的应用进程, 后续仍需要进一步开展以下研究内容: 菌株的促生机制、菌株在不同植物根际的定殖情况、大田实验以及制剂研发等。

参考文献

- [1] 王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 陈志刚. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684.
WANG JL, HUANG XJ, ZHONG TY, CHEN ZG. Review on sustainable utilization of salt-affected land[J]. *Acta Geographica Sinica*, 2011, 66(5): 673-684 (in Chinese).
- [2] FAROOQ M, HUSSAIN M, WAKEEL A, SIDDIQUE KHM. Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(2): 461-481.
- [3] ETESAMI H, MAHESHWARI DK. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 225-246.
- [4] LEHMANN J. A handful of carbon[J]. *Nature*, 2007, 447(7141): 143-144.
- [5] 杨劲松, 姚荣江, 王相平, 谢文萍, 张新, 朱伟, 张璐, 孙瑞娟. 防止土壤盐渍化, 提高土壤生产力[J]. *科学*, 2021, 73(6): 30-34.
YANG JS, YAO RJ, WANG XP, XIE WP, ZHANG X, ZHU W, ZHANG L, SUN RJ. Halt soil salinization, boost soil productivity[J]. *Science*, 2021, 73(6): 30-34 (in Chinese).
- [6] HASSANI A, AZAPAGIC A, SHOKRI N. Global predictions of primary soil salinization under changing climate in the 21st Century[J]. *Nature Comm/Lunications*, 2021, 12: 6663.
- [7] 鲁凯珩, 金杰人, 肖明. 微生物肥料在盐碱土壤中的应用展望[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(7): 1695-1705.
LU KH, JIN JR, XIAO M. Application prospect of

- microbial fertilizer in saline-alkali soil[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(7): 1695-1705 (in Chinese).
- [8] ARORA NK, FATIMA T, MISHRA J, MISHRA I, VERMA S, VERMA R, VERMA M, BHATTACHARYA A, VERMA P, MISHRA P, BHARTI C. Halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for improving productivity and remediation of saline soils[J]. *Journal of Advanced Research*, 2020, 26: 69-82.
- [9] BAIS HP, PARK SW, WEIR TL, CALLAWAY RM, VIVANCO JM. How plants commol/lunicate using the underground information superhighway[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(1): 26-32.
- [10] KLOEPPER JW, LEONG J, TEINTZE M, SCHROTH MN. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Nature*, 1980, 286(5776): 885-886.
- [11] 黄文茂. PGPR 复合菌剂的制备及对辣椒的田间促生研究[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2020.
HUANG WM. Preparation of PGPR compound microbial inoculum and its effect on growth promotion of pepper in field[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2020 (in Chinese).
- [12] HACQUARD S, GARRIDO-OTER R, GONZÁLEZ A, SPAEPEN S, ACKERMANN G, LEBEIS S, McHARDY AC, DANGL JL, KNIGHT R, LEY R, SCHULZE-LEFERT P. Microbiota and host nutrition across plant and animal kingdoms[J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(5): 603-616.
- [13] BHATTACHARYA PN, JHA DK. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(4): 1327-1350.
- [14] VACHERON J, DESBROSSES G, BOUFFAUD ML, TOURAINE B, MOËNNE-LOCCOZ Y, MULLER D, LEGENDRE L, WISNIEWSKI-DYÉ F, PRIGENT-COMBARET C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 356.
- [15] GOSWAMI D, PITHWA S, DHANDHUKIA P, THAKKER JN. Delineating *Kocuria turfanensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2014, 9(1): 566-576.
- [16] SUN F, OU QJ, WANG N, GUO ZX, OU YY, LI N, PENG CL. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from *Mikania micrantha* rhizospheric soil and their effect on *M. micrantha* plants[J]. *Global Ecology and Conservation*, 2020, 23: e01141.
- [17] GRICHKO VP, GLICK BR. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2001, 39(1): 11-17.
- [18] PERSELLO-CARTIEAUX F, NUSSAUME L, ROBAGLIA C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(2): 189-199.
- [19] BASHAN Y, de-BASHAN LE. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment[M]//*Advances in Agronomy*. Amsterdam: Elsevier, 2010: 77-136.
- [20] 吕正阳, 许钰滢, 吴凤娟, 刘娟, 汪银平, 邵登科, 翁志强, 王荣波, 鲁国东, 叶文雨. 一株菌草根际细菌的鉴定及其生物学特性研究[J]. *青海农林科技*, 2022(1): 1-5, 37
LV ZY, XU YY, WU FJ, LIU J, WANG YP, SHAO DK, WENG ZQ, WANG RB, LU GD, YE WY. Isolation and identification of rhizosphere bacteria from JUNCAO and its biological characteristics[J]. *Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry*, 2022(1): 1-5, 37 (in Chinese).
- [21] 柳鑫鹏, 臧淑英, 智刚, 渠凤甜. 盐碱土耐盐碱细菌筛选及其植物促生能力研究[J]. *土壤通报*, 2022, 53(3): 567-576.
LIU XP, ZANG SY, ZHI G, QU FT. Isolation for plant-growth promoting halotolerant bacteria from alkali-saline soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2022, 53(3): 567-576 (in Chinese).
- [22] VANDENKOORNHUYSE P, QUAISER A, DUHAMEL M, le V, DUFRESNE A. The importance of the microbiome of the plant holobiont[J]. *The New Phytologist*, 2015, 206(4): 1196-1206.
- [23] SUN SL, YANG WL, FANG WW, ZHAO YX, GUO L, DAI YJ. The plant growth-promoting rhizobacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 regulates the level of indole-3-acetic acid synthesized from indole-3-acetonitrile[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(16): 1343-1354.
- [24] ZENG QW, WU XQ, WEN XY. Identification and characterization of the rhizosphere phosphate-solubilizing bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2 and its plant growth-promoting effects on poplar seedlings[J]. *Annals of Microbiology*, 2017, 67(3): 219-230.

- [25] 许婕, 刘加珍, 张天举, 马笑丹, 付丽, 张亚茹, 李苗, 马玉芹, 陈永金. 黄河口湿地柽柳灌丛土壤盐渍化特征[J]. 生态学报, 2022, 42(17): 7118-7127.
XU J, LIU JZ, ZHANG TJ, MA XD, FU L, ZHANG YR, LI M, MA YQ, CHEN YJ. Soil salinization characteristics under the crown of *Tamarix chinensis* in the wetland of the Yellow River Estuary[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(17): 7118-7127 (in Chinese).
- [26] 孙韵雅, 陈佳, 王悦, 程济南, 韩庆庆, 赵祺, 李惠茹, 李慧萍, 何傲蕾, 侯晶毅, 吴永娜, 牛舒琪, 索升州, 李静, 张金林. 根际促生菌促生机理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1203-1215.
SUN YY, CHEN J, WANG Y, CHENG JN, HAN QQ, ZHAO Q, LI HR, LI HP, HE AL, GOU JY, WU YN, NIU SQ, SUO SZ, LI J, ZHANG JL. Advances in growth promotion mechanisms of PGPRs and their effects on improving plant stress tolerance[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(5): 1203-1215 (in Chinese).
- [27] KUMAR A, RIA LC. Soil organic carbon and phosphorus availability regulate abundance of culturable phosphate-solubilizing bacteria in paddy fields[J]. *Pedosphere*, 2020, 30(3): 405-413.
- [28] YANG L, BAI J, ZENG N, LIAO YL, LU YH, REES RM, NIE J, CAO W. Diazotroph abundance and commol/lunity structure are reshaped by straw return and mineral fertilizer in rice-rice-green manure rotation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 11-20.
- [29] ZHANG LH, CHEN SF. *Pseudacidovorax intermedius* NH-1, a novel marine nitrogen-fixing bacterium isolated from the south China Sea[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(9): 2839-2847.
- [30] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 5版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 187.
PAN RC. *Plant Physiology*[M]. 5th ed. Beijing: Higher Education Press, 2004: 187 (in Chinese).
- [31] 王梦姣, 郑天骄. 蓝莓根际土壤微生物群落结构及促生菌筛选[J]. 西南农业学报, 2023, 36(5): 983-991.
WANG MJ, ZHENG TJ. Microbial commol/lunity structure and screening of growth-promoting bacteria in blueberry rhizosphere soil[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 36(5): 983-991 (in Chinese).
- [32] 李慧芬, 方安然, 冯海霞, 黄剑, 赵明珠, 周波. 胞外多糖产生菌的筛选鉴定及其促生改土作用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(5): 1941-1957.
LI HF, FANG AR, FENG HX, HUANG J, ZHAO MZ, ZHOU B. Screening and identification of extracellular polysaccharide-producing strain and the influence on soil quality and crop growth[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(5): 1941-1957 (in Chinese).
- [33] 李昱静. 盐单胞菌尿素酶性质及其在高盐含氮废水净化中的应用研究[D]. 大连: 大连海事大学硕士学位论文, 2022.
LI YJ. Study on properties of urease from *Halomonas* sp. and its application in purification of high salt and nitrogen wastewater[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian Maritime University, 2022 (in Chinese).
- [34] 王金凤. 盐单胞菌微生物燃料电池高盐下脱氮与产电耦合技术研究[D]. 大连: 大连海事大学硕士学位论文, 2022.
WANG JF. Study on coupling technology of denitrification and electricity generation under high salinity in *Halomonas* microbial fuel cell[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian Maritime University, 2022 (in Chinese).
- [35] 宋娜. 嗜碱盐单胞菌中新型的 NhaD 型钠/氢逆向转运蛋白基因的克隆与功能分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2018.
SONG N. Cloning and functional analysis of a novel NhaD-type sodium/hydrogen antiporter gene from *Halomonas hydrophila*[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [36] 贾桂燕, 王永杰, 陈志康, 陈星, 殷奎德, 李雯, 王艳红. 盐单胞菌 DSM 16354^T 中新型耐盐基因的克隆及解析[J]. 中国生物工程杂志, 2022, 42(3): 27-37.
JIA GY, WANG YJ, CHEN ZK, CHEN X, YIN KD, LI W, WANG YH. Cloning and analysis of novel functional genes in *Halomonas alkaliphila* DSM 16354^T[J]. *China Biotechnology*, 2022, 42(3): 27-37 (in Chinese).