

研究报告

短小橘杆菌(*Brevibacterium antarcticum*) WN5 代谢产物对烟苗的促生效应李英民^{1,2}, 殷文闻¹, 柳霞¹, 刘京³, 黄莺^{*1,2}

1 贵州大学 烟草学院, 贵州 贵阳 550025

2 贵州省烟草品质研究重点实验室, 贵州 贵阳 550025

3 贵州省烟草公司遵义市公司, 贵州 遵义 563000

李英民, 殷文闻, 柳霞, 刘京, 黄莺. 短小橘杆菌(*Brevibacterium antarcticum*) WN5 代谢产物对烟苗的促生效应[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 3032-3040.

LI Yingmin, YIN Wenwen, LIU Xia, LIU Jing, HUANG Ying. Metabolites of *Brevibacterium antarcticum* strain WN5 promote the growth of tobacco seedlings[J]. Microbiology China, 2024, 51(8): 3032-3040.

摘要:【背景】短小橘杆菌(*Brevibacterium antarcticum*)菌株 WN5 筛选自贵州植烟土壤, 具有氨转化能力, 但其对烟草促生应用效果研究的报道较少。【目的】研究菌株 WN5 代谢产物对烟苗的促生作用。【方法】在烟苗十字期施用菌株 WN5 培养液, 通过对烟苗外观农艺性状、根系形态结构及活性、氮素养分和抗逆性生理指标等数据的分析, 探讨其促生效应。【结果】在菌株培养液中测定出了 4 种激素及激素合成前体: 1-氨基环丙烷-1-羧酸、反式玉米素、吲哚-3-乙酸和水杨酸, 将其施用在烟苗生长基质中, 可促进地上部分生长, 烟苗株高、茎围和鲜重分别增加 42.74%、12.91%和 5.00%, 最大叶面积和叶片数也有增加趋势, 但未达显著差异水平; 烟苗叶绿素含量较对照增加 32.86%; 菌液处理根系的总面积、表面积、平均直径、平均长度、体积和根系活力分别显著增加 35.42%、20.54%、18.22%、24.07%、36.56%和 29.01%; 对根系的促进作用大于地上部, 根冠比显著提高 41.67%。菌株 WN5 处理还提升了烟苗吸收养分的能力和抗逆能力, 硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性提升 32.97%, 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和可溶性蛋白(soluble protein, SP)增加了 36.31%、16.23%和 18.50%。【结论】菌株 WN5 通过产生植物激素显著促进烟苗地上部与根系的生长, 提高根系活力, 增强对氮素的吸收能力和烟苗的抗氧化应激能力, 具有广泛的应用潜力。

关键词: 烟苗; 代谢产物; 促生菌; 促生效果

资助项目: 贵州省烟草公司科技项目(2022XM05)

This work was supported by the Science and Technology Project of Guizhou Tobacco Company (2022XM05).

*Corresponding author. E-mail: yhung6@gzu.edu.cn

Received: 2023-11-18; Accepted: 2024-01-05; Published online: 2024-05-30

Metabolites of *Brevibacterium antarcticum* strain WN5 promote the growth of tobacco seedlings

LI Yingmin^{1,2}, YIN Wenwen¹, LIU Xia¹, LIU Jing³, HUANG Ying^{*1,2}

1 College of Tobacco Science, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

2 Key Laboratory of Tobacco Quality Research in Guizhou Province, Guiyang 550025, Guizhou, China

3 Zunyi Company, Guizhou Tobacco Company, Zunyi 563000, Guizhou, China

Abstract: [Background] The *Brevibacterium antarcticum* strain WN5, isolated from tobacco-cultivating soil in Guizhou, possesses ammonia transformation capabilities. However, there are few reports on its efficacy in promoting tobacco growth. [Objective] To investigate the growth-promoting effect of WN5 metabolites on tobacco seedlings. [Methods] We applied the WN5 culture to the tobacco seedlings with two leaves and then determined the agronomic traits, morphological traits and vigor of roots, nitrogen nutrients, and stress resistance of the tobacco seedlings. [Results] Four plant hormones and hormone precursors: 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, trans zeatin, indole-3-acetic acid, and salicylic acid, were detected in the strain culture. The strain culture was then applied to the matrix of tobacco seedlings, which promoted the shoot growth, increasing the plant height, stem circumference, and fresh weight of the seedlings by 42.74%, 12.91%, and 5.00%, respectively. However, the maximum leaf area and leaf number increased without statistically significance. The chlorophyll content in tobacco seedlings increased by 32.86% compared to the control. Additionally, the strain culture enhanced root growth and vigor, increasing the total area, surface area, average diameter, average length, volume, and vigor of roots by 35.42%, 20.54%, 18.22%, 24.07%, 36.56%, and 29.01%, respectively. The growth-promoting effect of the strain culture was more significant on the roots than on the shoots, as the root-to-shoot ratio was increased by 41.67%. Moreover, the treatment with WN5 enhanced the nutrient absorption and stress resistance of tobacco seedlings. Specifically, the treatment increased the levels of nitrate reductase, catalase, superoxide dismutase, and soluble protein by 32.97%, 36.31%, 16.23%, and 18.50%, respectively. [Conclusion] *B. antarcticum* WN5 can promote the shoot and root growth, improve the root vigor, enhance the nitrogen absorption, and reduce the oxidative stress of tobacco seedlings by producing plant hormones. This finding suggests that WN5 has great potential for widespread application.

Keywords: tobacco seedlings; metabolites; growth-promoting strain; growth-promoting effect

根际微生物被称作植物的第二基因组, 对宿主植物的营养和健康发挥着重要的作用。根际微生物中的植物促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)由于其根际定殖能力强、对植物具有多种益生作用, 是目前微生物肥料的主要生产菌种。根际促生菌主要通过活化根际养分和促进根系发育提高养分的利用效率、促

进植物的生长。PGPR 能调控植物根系构型(root system architecture, RSA), 促进侧根和根毛的发育, 增强植物生长和根际养分吸收, 提高肥料利用率^[1]。PGPR 通过分泌植物激素和信号物质调控植物的生长发育和根系构型。这些代谢物可以分为两大类: 一是植物激素类物质, 包括吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、赤霉素

(gibberellin, GA)、细胞分裂素(cytokinin, CTK)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、乙烯(ethylene, ET)和油菜素甾醇(brassinosteroid, BR)等, 这些激素可以通过激活其下游信号通路直接调控植物的生长和根系发育; 第二大类是 PGPR 分泌的激素之外的一些信号分子, 它们通过影响植物内源激素的稳态和根系发育的过程来调控植物的生长^[1]。可分泌植物激素类物质调控植物的生长和影响根系构型的主要菌种有分泌 IAA 的菌种[巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*) Sp245、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) AH18、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) K11、双色蜡蘑(*Laccaria bicolor*) S238N]^[2-4], 分泌 CTK 的菌种[荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*) G20-18、多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)、*Bacillus subtilis*]^[5-7], 分泌 GA 的菌种[蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) MJ-1、大型芽孢杆菌(*Bacillus macrolides*) CJ-29、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)]^[8], 以及分泌 ET 的菌种[*Bacillus subtilis* GB03、萎缩木霉菌(*Trichoderma atroviride*)]^[9-10]。上述菌种改善植物生长和根系构型的途径有两方面: 一方面, 通过增加植物体内各种激素的含量从而影响植物的生长和根系构型^[11]; 另一方面通过激素的直接诱导从而改变根系构型^[12]。

从烟草根际土壤筛选的短小橘杆菌(*Brevibacterium antarcticum*)菌株 WN5 在烟草上的应用及报道较少^[13]。因此, 研究菌株 WN5 及其代谢产物的促生效果可以丰富烟草促生菌的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

云烟 87 由贵州省安顺市烟草公司提供^[14]。

试验在贵州省安顺市杨武乡贵州大学烟草试验基地进行。

菌株 WN5 分离自贵州省遵义市湄潭县植烟土壤, 具有氨转化能力(菌种保藏号: TTCTC M2021895)^[13]。

1.1.2 主要试剂和仪器

根系活力试剂盒、PBS 缓冲溶液、可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量检测试剂盒、硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性试剂盒及过氧化氢酶(catalase, CAT)活性试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC), Sigma-Aldrich (上海)贸易有限公司; 反式玉米素(trans zeatin, tZ)、IAA 和水杨酸(salicylic acid, SA), 上海源叶生物科技有限公司。

气相色谱-质谱联用仪, 安捷伦科技有限公司; 发酵罐, 北京佳德精密科技有限公司; 叶绿素仪, Konica Minolta (China)公司; 根系扫描仪, 精工爱普生公司。

1.1.3 培养基

NA 培养基参考文献[15]配制。

1.2 试验设计

试验分别设置无菌 NA 液体培养基(对照)和含菌株 WN5 NA 液体培养基。对菌株 WN5 进行扩大培养, 便于室外施用。当三角瓶中的菌株 WN5 培养至对数生长期(OD_{600} 为4.65)时接入发酵罐中, 28 °C、180 r/min 培养 48 h。菌株 WN5 培养液中活菌数大于 1×10^{10} /g。作为对照的 NA 液体培养基同以上操作, 但需整个过程维持无菌。每个处理 3 次重复。

采用漂浮育苗方式进行育苗, 到小十字期时将菌剂稀释 10 倍后添加至育苗基质中。20 d 后选择 15 株有代表性的烟苗进行农艺性状及主要生理生化指标的测定。

1.3 菌株促生代谢产物测定方法

采用气相色谱-质谱联用仪鉴定菌株 WN5 分泌的代谢产物。

1.4 农艺性状及生理生化指标测定方法

烟苗主要农艺性状参考文献[16]测定。

根系活力使用氯化三苯基四氮唑还原法测定^[17]。烟叶中叶绿素采用叶绿素仪测定；SOD 活性采用氮蓝四唑光化还原法测定^[18]；CAT 活性采用紫外吸收法测定；NR 活性采用分光光度法测定^[19]；SP 含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[20]。

1.5 数据处理

采用 Origin 2022 进行数据整理、统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 菌株 WN5 促生代谢产物分析

产生促生代谢物是大部分菌株具备促生能力的原因，其中促生菌产生植物激素刺激植物生长发育是其重要的作用机制之一^[21]。通过气相色谱-质谱联用仪测定结果可知，菌株 WN5 可分泌 4 种植物激素或激素合成前体，分别是 ACC、tZ、IAA 和 SA。其中以 ACC 含量最高，为 62.21 ng/mL；其次是 tZ，为 1.29 ng/mL；再次是 IAA，含量为 1.20 ng/mL；最低为 SA，为 0.32 ng/mL。

2.2 菌株 WN5 对烟苗地上部分农艺性状的影响

烟草主要农艺性状可以反映烟苗的生长速度和发育状况。菌液施用后第 5 天，地上部分开始出现差异(图 1)，如图 1A 所示，施用菌株 WN5 后出苗较对照均匀、一致，出苗率高，叶面积大。

施用 20 d 后烟苗主要农艺性状显示(表 1)，菌株 WN5 培养液可促进烟苗地上部分的生长，对株高的影响最大。相较于对照组，烟苗株高、茎围和鲜重等指标显著增加 42.74%、12.91%和

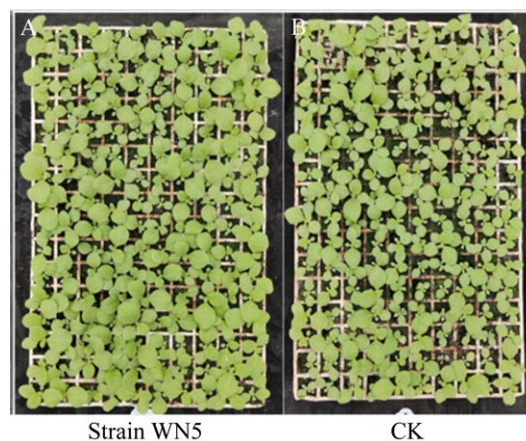


图 1 施用菌株 WN5 5 d 后烟苗地上部分长势

A: 施用菌株 WN5 后烟苗地上部分生长状况. B: 施用无菌 NA 液体培养基后烟苗地上部分生长状况

Figure 1 Aboveground growth of tobacco seedlings after applying strain WN5 for 5 days. A: Growth status of aboveground tobacco seedlings after application of strain WN5. B: Growth status of aboveground tobacco seedlings after application of sterile NA liquid culture medium.

表 1 施用菌株 WN5 20 d 后烟苗主要农艺性状

Table 1 Main agronomic traits of tobacco seedlings after 20 days of application of strain WN5

Indicators	Strain WN5	CK
最大叶面积 Maximum leaf area (cm ²)	39.23±0.40a	34.87±1.81a
茎围 Stem circumference (mm)	10.67±0.32a	9.45±0.18b
株高 Plant height trait (cm)	17.30±0.74a	12.12±0.27b
叶片数 Number of blades (piece)	5.07±0.07a	4.93±0.07a
鲜重 Fresh weight (g)	12.82±0.25a	12.21±0.09b
根冠比 Root-to-shoot ratio	0.34±0.03a	0.24±0.01b

不同小写字母表示差异显著. 下同

Different lowercase letters indicate significant differences. The same below.

5.00%，最大叶面积增加 12.50%，增加不显著。说明菌株 WN5 培养液在促进烟苗的株高和鲜重方面具有一定成效。

2.3 菌株 WN5 对烟苗叶绿素含量的影响

叶绿素是光合作用的主要光能吸收器，通过吸收光能并转化为化学能，实现光合作用的

能量转换,测定叶绿素含量可以评估植物光合作用的效率和能力。在施用菌株 WN5 培养液后,使用叶绿素仪对烟苗叶片进行测定,相较于 CK 组,叶绿素含量显著提高 32.86% (图 2)。表明施用菌株 WN5 培养液可有效提高烟苗对光的利用效率。

2.4 菌株 WN5 对烟苗根系生长状况的影响

根系作为最重要的吸收器官,对水分和矿质养分的吸收,一方面取决于所接触的土壤空间,另一方面取决于根系的生理活性和吸收能力^[22]。表 1 中数据显示,施用菌株 WN5 培养液可促使根冠比显著提高 41.67%,说明施用菌株 WN5 培养液对根部的促进作用大于地上部分。

为进一步了解菌株 WN5 培养液对烟苗根系是否具有促进作用,对菌株 WN5 培养液处理 20 d 后的烟苗根系生长状况及根系活力进行评估。采用根系扫描仪对烟苗根系进行扫描,结果显示菌株 WN5 培养液处理的根系健壮、侧根数量显著增加(图 3)。根系面积(图 4A)、根系平均直径(图 4B)、根系平均长度(图 4C)、根系体积(图 4D)较对照组分别增加 35.42%、20.54%、18.22%、24.07%。

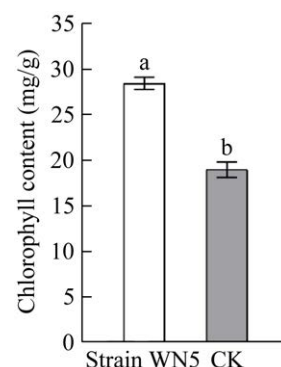


图 2 施用菌株 WN5 20 d 后叶绿素含量

Figure 2 Chlorophyll content after 20 days of application of strain WN5.

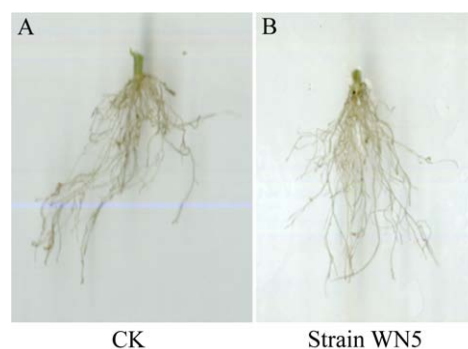


图 3 烟苗根部生长形态

Figure 3 Root growth morphology of tobacco seedlings.

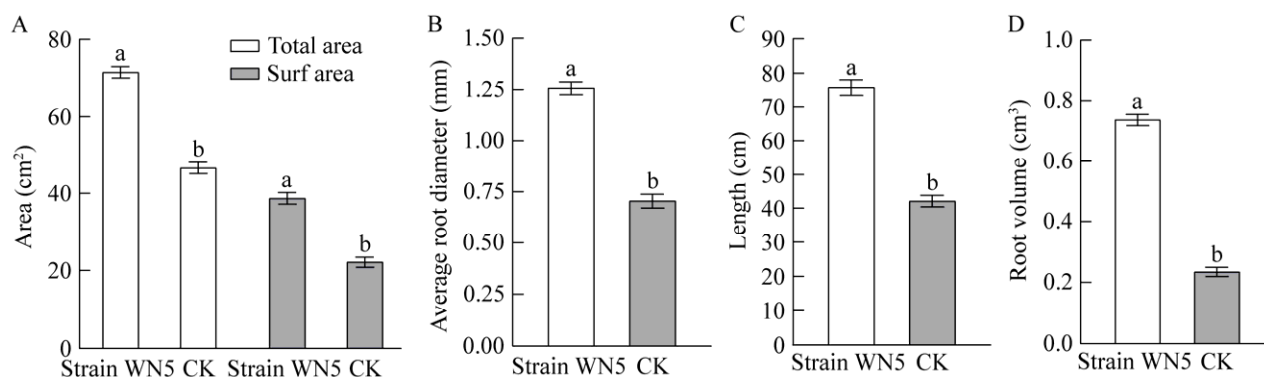


图 4 施用菌株 WN5 培养液 20 d 后烟苗根系生长状况

A: 根系面积. B: 根系平均直径. C: 根系长度. D: 根系体积

Figure 4 Root growth status of tobacco seedlings after 20 days of application of strain WN5 culture medium. A: Root area. B: Average root diameter. C: Root length. D: Root volume.

2.5 菌株 WN5 对烟苗根系活力的影响

根系活力是评估根系健康的重要指标。通过测定根系活力,可以评估根系的生长状况和功能状态^[23]。施用菌株 WN5 培养液后 20 d,烟苗根系活力比对照组显著提升 29.01%。经菌株 WN5 处理后烟苗根系活力较高(图 5),说明根系发育良好,具有较强的吸收养分和水分的能力,有利于烟苗的生长和发育。

2.6 菌株 WN5 对烤烟幼苗抗逆性的影响

抗氧化酶是防御氧化物和自由基损害的酶,抗氧化酶活性的高低是体现植物抗逆性的重要指标。可溶性蛋白是烟草根系细胞中重要的渗透调节物质,对维持细胞膨压、保持抗氧化酶活性具有重要作用^[24]。施用菌株 WN5 培养液处理烟苗,在成苗期的 SOD 活性(图 6A)、CAT 活性(图 6B)和 SP 含量增加(图 6C)。CAT 活性极显著大于对照组,增加了 36.31%,而 SOD 活性和 SP 含量显著大于对照组,分别显著增加 16.23%和 18.50%。

施用菌株 WN5 培养液后烟苗的 SOD 活性、CAT 活性和 SP 含量等指标显著增加,表明菌株 WN5 具有提高烟苗抗氧化能力、调节细胞渗透压的作用。

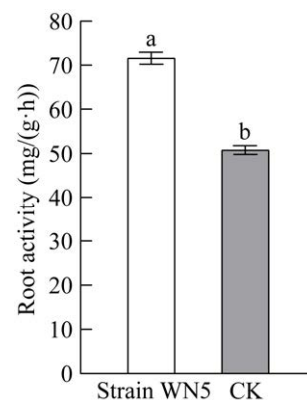


图 5 施用菌株 WN5 培养液 20 d 后烟苗根系活力(成苗期)

Figure 5 Root viability of tobacco seedlings after 20 days of application of strain WN5 culture medium (seedling stage).

2.7 菌株 WN5 对烤烟幼苗氮代谢的影响

硝酸还原酶是硝酸盐同化中第一个酶,也是限速酶,处于植物氮代谢的关键位置。它与植物吸收利用氮肥有关,对农作物产量和品质有重要影响^[25]。施用菌株 WN5 后 NR 活性提高 32.97% (图 7)。烟苗较高的硝酸还原酶活性表示植物能够有效地吸收和利用土壤中的硝酸盐,提供足够的氮素供应。

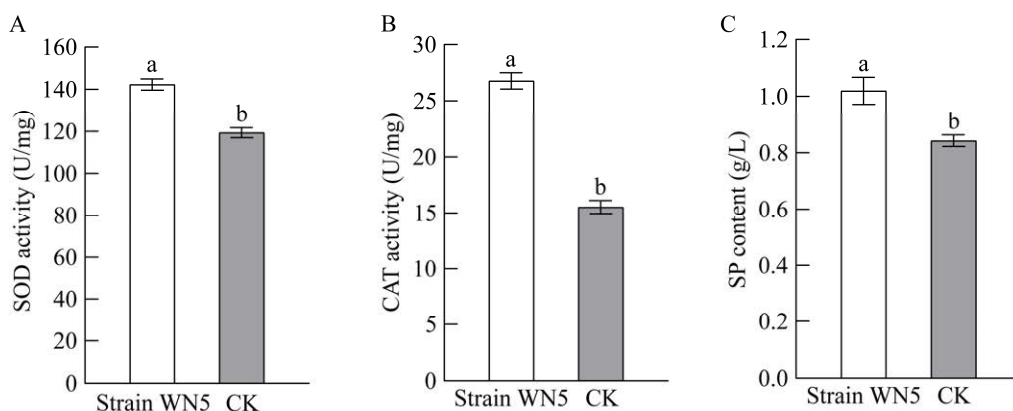


图 6 施用菌株 WN5 处理烟苗抗氧化酶活性及可溶性蛋白含量(成苗期) A: 超氧化物歧化酶活性. B: 过氧化氢酶活性. C: 可溶性蛋白含量

Figure 6 Antioxidant enzyme activity and soluble protein content of tobacco seedlings treated with strain WN5 (seedling stage). A: Superoxide dismutase activity. B: Catalase activity. C: Soluble protein content.

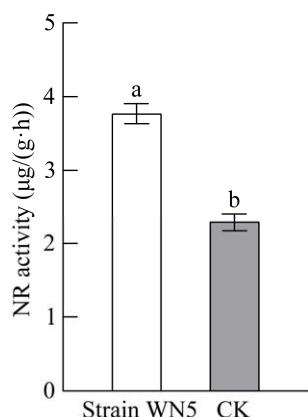


图 7 施用菌株 WN5 处理烟苗硝酸还原酶活性(成苗期)

Figure 7 Nitrate reductase activity of tobacco seedlings treated with strain WN5 (seedling stage).

3 讨论与结论

已报道的植物促生菌中,菌株 *Brevibacterium* sp. GWR4 可产生 IAA, 在白菜中进行促生效果验证发现白菜叶色浓绿、鲜重显著增加^[26]。王建武等^[27]分离了一株可产 IAA 和 CTK 的根际促生菌耐寒短杆菌(*Brevibacterium frigoritolerans*) SDB5, 将其接种到受盐碱胁迫的水稻根际, 结果显示, 菌株 SDB5 可提高耐盐碱性, 并能使穗长、穗直径、根长和根体积等显著增加。综上所述, 短杆菌属对植物具有促生功能, 且主要是其代谢产物 IAA 在起作用。

通过对菌株 WN5 代谢产物的测定, 明确了菌株 WN5 可分泌 4 种植物激素或激素合成前体, 分别为 ACC、tZ、IAA 和 SA。烟苗施用菌株 WN5 后 20 d 发现株高、茎围和鲜重等指标显著提高, 可能是菌株 WN5 菌液中的 IAA 与 tZ 促进了烟苗地上部分细胞的增殖分裂和伸长, 从而表现为株高、茎围和鲜重的提高。叶绿素含量增加可能是菌液中的 IAA 和 tZ 通过促进叶片细胞分裂增殖而促进叶绿素含量的积累, 表现为烟苗叶色浓绿。

烟苗根冠比的显著增加表明施用菌株 WN5 培养液对根部的促进作用大于地上部分。PGPR 对植物 RSA 的改变, 通常伴随着植物内源激素响应的变化^[1]。根系长度、根直径及侧根数目的显著增加, 我们推测可能是由于菌株 WN5 培养液中的 IAA、ACC 和 tZ 等促进了根系细胞的生长分裂和扩张, IAA 信号可诱导侧根形成点的形成, 也调控侧根原基的发生和发育, 是侧根发生最重要的调控因子^[28]。根系面积及根系活力等指标增加可增大根系与土壤空间的接触面积, 从而提高烟苗对水分和养分的吸收效率^[29]。叶绿素含量的提升意味着烟苗光合作用能力的增强, 烟苗能够更有效地利用光能进行光合作用, 进而提高生长速率。NR 活性的显著提高意味着烟苗能够有效地将土壤中的硝酸盐转化为可利用的氨和亚硝酸盐, 提高氮素利用效率。SOD、CAT 活性和 SP 含量的显著提高表明, 可能是由于菌株 WN5 培养液中的激素促生物质有助于烟苗在逆境条件下保持正常的生长和代谢, 并促进烟苗的生长和产量的提高^[30], 表现为促进烟苗的形态建成、光合作用并提高抵抗胁迫的能力。

综上所述, 菌株 WN5 的菌液对烟苗产生促生作用, 可能是由于其中含有 ACC、tZ、IAA 和 SA 等植物生长调节物质所致, 它们的含量与比例对烟草促生作用的贡献度尚待进一步探究。

REFERENCES

- [1] 付严松, 李宇聪, 徐志辉, 邵佳慧, 刘云鹏, 宣伟, 张瑞福. 根际促生菌调控植物根系发育的信号与分子机制研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 42-48.
FU YS, LI YC, XU ZH, SHAO JH, LIU YP, XUAN W, ZHANG RF. Research progressing in signals and molecular mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria to regulate plant root development[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(9): 42-48 (in Chinese).

- [2] REMANS R, BEEBE S, BLAIR M, MANRIQUE G, TOVAR E, RAO I, CROONENBORGH S A, TORRES-GUTIERREZ R, EL-HOWEITY M, MICHIELS J, VANDERLEYDEN J. Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth-promoting bacteria in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Plant and Soil, 2008, 302(1): 149-161.
- [3] LIM JH, KIM SD. Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxins-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2009, 52(5): 531-538.
- [4] FELTEN J, LEGUÉ V, DITENGOU FA. Lateral root stimulation in the early interaction between *Arabidopsis thaliana* and the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*: is fungal auxin the trigger?[J]. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5(7): 864-867.
- [5] GARCÍA de SALAMONE IE, HYNES RK, NELSON LM. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2001, 47(5): 404-411.
- [6] TIMMUSK S, NICANDER B, GRANHALL U, TILLBERG E. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(13): 1847-1852.
- [7] ARKHIPOVA TN, VESELOV SU, MELENTIEV AI, MARTYNENKO EV, KUDYAROVA GR. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants[J]. Plant and Soil, 2005, 272(1): 201-209.
- [8] JOO GJ, KIM YM, LEE IJ, SONG KS, RHEE IK. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*[J]. Biotechnology Letters, 2004, 26(6): 487-491.
- [9] RYU CM, FARAG MA, HU CH, REDDY MS, WEI HX, PARÉ PW, KLOPPER JW. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(8): 4927-4932.
- [10] SPLIVALLO R, FISCHER U, GÖBEL C, FEUSSNER I, KARLOVSKY P. Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene[J]. Plant Physiology, 2009, 150(4): 2018-2029.
- [11] CONTRERAS-CORNEJO HA, LÓPEZ-BUCIO JS, MÉNDEZ-BRAVO A, MACÍAS-RODRÍGUEZ L, RAMOS-VEGA M, GUEVARA-GARCÍA ÁA, LÓPEZ-BUCIO J. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in *Arabidopsis* root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2015, 28(6): 701-710.
- [12] NIARI KHAMSSI N, NAJAPHY A. Physiological and biochemical responses of durum wheat under mild terminal drought stress[J]. Cellular and Molecular Biology, 2018, 64(4): 59-63.
- [13] 王小花, 黄莺, 陈雪, 夏梓林, 代飞, 刘昌, 张恒. 植烟土壤高活性氨化菌的筛选鉴定及其氨化能力分析[J]. 中国烟草科学, 2019, 40(3): 31-38.
- WANG XH, HUANG Y, CHEN X, XIA ZL, DAI F, LIU C, ZHANG H. Screening and identification of highly active ammoniating bacteria in tobacco planting soil and analysis of their ammoniation ability[J]. China Tobacco Science, 2019, 40(3): 31-38 (in Chinese).
- [14] 逢涛, 宋春满, 方敦煌, 邓建华, 邓云龙. 云南烤烟主要栽培品种化学成分比较分析[J]. 西南农业学报, 2009, 22(6): 1562-1566.
- XIAO T, SONG CM, FANG DH, DENG JH, DENG YL. Comparative analysis of chemical composition of main cultivars of flue-cured tobacco in Yunnan[J]. Southwest Journal of Agricultural Sciences, 2009, 22(6): 1562-1566 (in Chinese).
- [15] 陈泽斌, 代方平, 寸林江, 李啟, 陈艳芳, 许石剑, 方飞, 黄杨. 烟草内生细菌分离方法的优化研究[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(1): 90-95, 102.
- CHEN ZB, DAI FP, CUN LJ, LI Q, CHEN YF, XU SJ, FANG F, HUANG Y. Optimization of isolation method of tobacco endophytic bacteria[J]. Chinese Journal of Tobacco Science, 2014, 20(1): 90-95, 102 (in Chinese).
- [16] 全国烟草标准化技术委员会. 烟草农艺性状调查测量方法: YC/T 142—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- National Tobacco Standardization Technical Committee. Tobacco agronomic trait survey measurement methods: YC/T142—2010[S]. Beijing: Standards Press of China, 2010 (in Chinese).
- [17] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
- CHEN JX, WANG XF. Experimental Instruction of Plant Physiology[M]. 2nd ed. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2006 (in Chinese).
- [18] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003.

- ZHANG ZL, QU WJ. The Experimental Guide for Plant Physiology[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003 (in Chinese).
- [19] 郝再彬. 植物生理实验技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 2002: 22-26.
- HAO ZB. Experimental Technology of Plant Physiology[M]. Harbin: Harbin Publishing House, 2002: 22-26 (in Chinese).
- [20] 俞建瑛, 蒋宇, 王善利. 生物化学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- YU JY, JIANG Y, WANG SL. Biochemical Experimental Technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005 (in Chinese).
- [21] 邢芳芳, 宋涛, 徐文凤, 徐春英, 嵇优优, 李新柱, 胡兆平. 侧孢芽孢杆菌在生防中的应用及研究进展[J]. 山东农业科学, 2014, 46(6): 146-149.
- XING FF, SONG T, XU WF, XU CY, ZHUO YY, LI XZ, HU ZP. Application of *Bacillus laterosporus* in biological prevention and research advances[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2014, 46(6): 146-149 (in Chinese).
- [22] 马新明, 席磊, 熊淑萍, 杨娟. 大田期烟草根系构型参数的动态变化[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 3373-3376.
- MA XM, XI L, XIONG SP, YANG J. Dynamic changes of morphological parameters of tobacco root in field[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(3): 3373-3376 (in Chinese).
- [23] 靳辉勇, 黎娟, 朱益, 齐绍武, 梁仲哲, 谈俊豪. 土壤调理剂对烤烟根系活力及根际土壤微生物碳代谢特征的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(1): 158-165.
- JIN HY, LI J, ZHU Y, QI SW, LIANG ZZ, DAN JH. Effect of soil conditioner on root vigor and carbon metabolism characteristics of rhizosphere soil microorganisms in flue-cured tobacco[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(1): 158-165 (in Chinese).
- [24] 王宇辰, 陈孟起, 李耀光, 柳征, 肖先仪, 张晓娟, 喻保华, 景延秋, 李春光. 镧处理对于旱胁迫下烟草根系形态与生理特征的影响[J]. 中国稀土学报, 2018, 36(3): 319-327.
- WANG YC, CHEN MQ, LI YG, LIU Z, XIAO XY, ZHANG XJ, YU BH, JING YQ, LI CG. Effects of lanthanum on morphological and physiological characteristics of tobacco root under drought stress[J]. Journal of the Chinese Society of Rare Earths, 2018, 36(3): 319-327 (in Chinese).
- [25] 党伟, 李茜, 叶歌斐, 汪海燕, 张玉宁, 杨铁钊, 武兆云, 杨惠娟. 硝酸还原酶基因启动子 NRE2 元件缺失对烟草氮代谢的影响[J]. 核农学报, 2022, 36(2): 322-328.
- DANG W, LI X, YE GF, WANG HY, ZHANG YN, YANG TZ, WU ZY, YANG HJ. Effect of NRE2 element deletion of nitrate reductase gene promoter on nitrogen metabolism in tobacco[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(2): 322-328 (in Chinese).
- [26] 张磊, 袁梅, 孙建光, 樊明寿, 高森, 郑红丽. 马铃薯内生固氮菌的分离及其促生特性研究[J]. 中国土壤与肥料, 2016(6): 139-145.
- ZHANG L, YUAN M, SUN JG, FAN MS, GAO M, ZHENG HL. Isolation and functional characterizations of potato endogenous nitrogen-fixing bacteria[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2016(6): 139-145 (in Chinese).
- [27] 王健武, 相微微, 陈花, 王一昭, 刘畅, 屈香香, 王鹏, 尚爱军. 沙地柏根际促生耐寒短杆菌 SDB5 的分离和功能鉴定[J]. 西北农业学报, 2022, 31(9): 1202-1210.
- WANG JW, XIANG WW, CHEN H, WANG YZ, LIU C, QU XX, WANG P, SHANG AJ. Isolation and functional identification of growth-promoting rhizobacteria *Brevibacterium frigoritolerans* SDB5 from *Sabina vulgaris*[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2022, 31(9): 1202-1210 (in Chinese).
- [28] van NORMAN JM, XUAN W, BEECKMAN T, BENFEY PN. To branch or not to branch: the role of pre-patterning in lateral root formation[J]. Development, 2013, 140(21): 4301-4310.
- [29] SMITH S, de SMET I. Root system architecture: insights from *Arabidopsis* and cereal crops[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2012, 367(1595): 1441-1452.
- [30] ABREU ME, MUNNÉ-BOSCH S. Salicylic acid deficiency in *NahG* transgenic lines and *sid2* mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(4): 1261-1271.