



旱区盐生植物根际促生菌的分离鉴定及其干旱、盐胁迫下促生特性

郭彦钊^{1*}, 杜春辉², 于烽¹, 黄敏刚¹, 齐飞¹

1 陕西师范大学微生物工程与技术研究院, 陕西 西安 710119

2 榆林市自然资源和规划局, 陕西 榆林 719000

郭彦钊, 杜春辉, 于烽, 黄敏刚, 齐飞. 旱区盐生植物根际促生菌的分离鉴定及其干旱、盐胁迫下促生特性[J]. 微生物学报, 2023, 63(2): 610-622.

GUO Yanzhao, DU Chunhui, YU Feng, HUANG Mingang, QI Fei. Isolation and identification of growth-promoting bacteria in halophyte rhizosphere in arid region and their growth-promoting characteristics under drought and salt stresses[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(2): 610-622.

摘要: 【目的】从在干旱、高盐碱生境下生长的盐生杂类草根际土壤中分离具有耐盐和促生性能的根际微生物, 并研究其促生特性, 为改良旱区土壤盐碱化提供优质菌种资源和理论基础。【方法】通过选择培养基筛选具有耐盐、解磷和解钾能力的菌株, 再检测菌株产生生长激素(indole-3-acetic acid, IAA)、产 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶、产铁载体以及产胞外多糖的能力, 选择性状优良者通过拮抗实验组建复合菌剂。并采用菌液侵染萝卜和玉米种子验证菌株对在盐胁迫下种子发芽率和植株在干旱与盐双重胁迫下生长的影响。最后通过 16S rRNA 基因测序进行分子生物学鉴定。【结果】得到 3 株具有良好耐盐促生能力的根际微生物 y1923、hs032 和 hy127, 菌株 y1923 兼具解磷(46.29 mg/L)、解钾(58.07 mg/L)、产 IAA (29.23 mg/L)、产 ACC 脱氨酶(13.83 U/mg)和产铁载体(SU=0.43)能力, 菌株 hs032 具有最强产 IAA (61.18 mg/L)和产铁载体(SU=0.23)能力, 菌株 hy127 具有最强产 ACC 脱氨酶(15.29 U/mg)能力。经 16S rRNA 基因序列分析后分别将 y1923 和 hs032 鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), hy127 鉴定为巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*)。3 株菌互不拮抗可组建复合菌剂, 2%混合菌液可提高种子在盐胁迫下种子发芽率(77%), 对干旱和盐胁迫下玉米的根长、株高、干重和叶绿素也都有显著的提高($P<0.05$), 并且可以显著地降低玉米体内丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量(60%)。【结论】菌株 y1923、hs032 和 hy127 具有优秀的耐盐促生性能, 组合成的混合菌剂能在干旱和盐胁迫下促进植物的生长, 具有改良旱区盐渍化土壤的潜力。

资助项目: 榆林市盐碱地治理技术开发项目(2020064)

This work was supported by the Yulin Saline-Alkali Land Treatment Technology Development Project (2020064).

*Corresponding author. Tel: +86-29-85310517, E-mail: guoyanzhao@snnu.edu.cn

Received: 2022-05-18; Accepted: 2022-06-27; Published online: 2022-07-15

关键词: 旱区; 土壤盐渍化; 根际微生物; 耐盐促生

Isolation and identification of growth-promoting bacteria in halophyte rhizosphere in arid region and their growth-promoting characteristics under drought and salt stresses

GUO Yanzhao^{1*}, DU Chunhui², YU Feng¹, HUANG Mingang¹, QI Fei¹

1 Institute of Microbial Engineering and Technology of Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, Shaanxi, China

2 Yulin Bureau of Natural Resources and Planning, Yulin 719000, Shaanxi, China

Abstract: [Objective] We isolated and screened microbes with growth-promoting function and salt tolerance from the rhizosphere soil of halophytes in dry and saline habitats and studied their growth-promoting ability, hoping to provide high-quality bacterial resources and a reference for alleviating soil salinization in arid areas. [Methods] Strains with salt tolerance and phosphate-solubilizing and potassium-releasing abilities were screened with selective media. Then, the ability of the strains to produce indole-3-acetic acid (IAA), 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, siderophore, and exopolysaccharide was tested. Through antagonism test, strains with excellent functions and no antagonism to each other were selected to prepare the compound bacterial mixture. The suspension of each of the strains and that of the mixture of strains without antagonism to each other were respectively used to infect seeds of radish and maize, and the influence on seed germination rate under salt stress and plant growth under both drought and salt stresses was observed. Finally, 16S rRNA gene sequencing was performed to identify the strains. [Results] Strains y1923, hs032, and hy127 with salt tolerance and growth-promoting ability were screened out. y1923 can solubilize phosphate (46.29 mg/L), help release potassium (58.07 mg/L), and produce IAA (29.23 mg/L), ACC deaminase (13.83 U/mg), and siderophores (SU=0.43). hs032 was outstanding in producing IAA (61.18 mg/L) and siderophore (SU=0.23) and hy127 excelled in producing ACC deaminase (15.29 U/mg). Through 16S rRNA gene sequencing, y1923 and hs032 were identified as *Bacillus subtilis* and hy127 was determined to be *Priestia megaterium*. The three showed no antagonism to each other and thus they can be used together as compound bacterial mixture. The 2% mixture suspension can improve the seed germination rate (77%) under salt stress. Moreover, it can increase the root length, plant height, dry weight, and chlorophyll production ($P<0.05$), and significantly reduce the malondialdehyde (MDA) content (60%) of maize under drought and salt stresses. [Conclusion] Strains y1923, hs032 and hy127 show excellent salt tolerance and growth-promoting function. The compound mixture prepared with the three can remarkably promote plant growth under drought and salt stresses and those strains have the potential to improve salinized soil in arid regions.

Keywords: arid region; soil salinization; rhizosphere microorganisms; salt tolerance and growth promotion

土壤盐渍化是人类活动或自然演变过程导致土壤盐分的过度积累,是土壤退化沙化的原因之一^[1]。由于盐分的过度积累,土壤功能失衡,使土壤内生物对水、矿物质和营养物质的吸收遭到严重影响^[2-3],因此土壤盐渍化将会降低植物存活率和土壤生物多样性,进而使耕地产出下降、草地退化和林木减少,影响农牧民生产选择和土地规划政策,最终影响社会经济可持续发展^[4]。我国西北部属于干旱、半干旱地区,降雨量小于蒸发量,地下水也相对缺乏,分布着大量的盐碱地,在这里生存的植物在面临盐胁迫的同时也会面临缺水的环境^[5]。

由于淡水资源的缺乏,旱区土壤生态系统也就更加脆弱,不适合水利治理方式和化学治理方式。而通过微生物治理土壤盐渍化问题是目前研究热点^[6-7]。由于植物根际促生菌(plant growth promoting rhizo bacteria, PGPR)能够抑制植物病原菌、分泌激素和促进矿物质溶解,并且富集于植物根际土壤中,能与植物形成紧密的互利共生关系,进而提高植物对盐胁迫的耐受能力,所以 PGPR 成为现阶段生物治理土壤盐渍化方法中研究最深入应用最广泛的微生物^[8]。盐生植物根际土壤内蕴含着丰富的耐盐促生微生物资源,对这些微生物资源进行筛选、复配和富集等人为干预将会很大程度提高其在治理盐碱地中的作用,为解决上述问题提供新的方式^[9-10]。例如,1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶能够分解乙烯(ethylene)生物合成前体 ACC,降低植物体内乙烯含量,从而增强宿主植物吸收养分、提高抗逆性和促进植物生长。Habib 等^[11]在接种能够产生 ACC 脱氨酶的巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium* UPMR2)和肠杆菌(*Enterobacter* sp. UPMR18)后,秋葵种子在 75 mmol/L 和 100 mmol/L 盐胁迫下发芽率提高

了 30%。通过分泌生长激素(indole-3-acetic acid, IAA)促进植物根、茎、叶的生长增强植物对水分、营养物质以及对光的吸收和捕获^[12]。然而,现阶段利用 PGPR 治理土壤盐渍化的研究并未考虑到干旱缺水这一环境因素。筛选出的菌株的促生数据大多是在非干旱条件下得出的,这并不适合旱区盐碱地的实际应用情况。本研究从生长于干旱地区盐渍化土壤上的羊草(*Leymus chinensis*)、沙蒿(*Artemisia desertorum*)、草木樨(*Melilotus officinalis*)和乳苣(*Mulgedium tataricum*)等盐生植物根际土壤中分离耐盐促生微生物,并以其为研究对象,检测其促生特性以及系统发育地位,并通过在缺水干燥的环境中种子发芽率实验和玉米盆栽实验研究菌株对植物在盐胁迫下生长的影响,为微生物治理干旱地区土壤盐渍化发掘优秀的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤及种子

植物根际土壤样品采集于陕西省榆林市横山区塔湾镇(37°46'N, 109°11'E, 海拔 1 088 m)。采集对象为羊草、草木樨、乳苣和沙蒿根际土壤 50 份。采集时以植物地面主茎为中心半径 20 cm, 拨去表层的盐碱结晶及上层覆土,整体挖出植物地下部分,取距地面 5–20 cm 的土壤。得到的土壤样品存于无菌样品袋中,冰袋低温保存运回实验室进行微生物的分离和筛选。土壤样品 pH 为 8.26–9.17,水溶性盐总量为 5.27–10.50 g/kg。萝卜和玉米品种分别是“涪陵红心 1 号”和“渭研 6000”。

1.1.2 主要培养基

牛肉膏蛋白胨(BPM)培养基^[13]用于细菌的常规培养,添加 L-色氨酸或 NaCl 后分别用于测定 IAA 能力和筛选耐盐菌;无机磷培养基

(PKO)^[14]用于定性定量分析解磷菌; 缺钾液体培养基^[15](含钾长石粉 10.0 g/L)和亚历山大硅酸盐培养基^[16](含钾长石粉 1.0 g/L)用于定性定量分析解钾菌; 无氮培养基^[17]、DF 固体培养基(不含 ACC)、ADF 固体培养基^[18][不含 (NH₄)₂SO₄的 DF 培养基添加 ACC 3.0 mmol/L]用于定性定量分析产 ACC 脱氨酶菌株; MKB 培养基^[19]用于测定菌株铁载体产量。

1.1.3 主要试剂和仪器

铬天青 S (chrome azurol S, CAS)以及常规化学试剂均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; Salkowski 比色液(35%高氯酸 500 mL, 0.5 mol/L FeCl₃ 10 mL)^[20]; DNA 提取试剂盒、PCR 扩增试剂盒与 IAA 标准品均购自北京索莱宝科技有限公司; 超微量分光光度计 NanoDrop One C, Thermo Fisher Scientific; 原子吸收分光光度计 TAS-990AFG, 北京普析; PCR 仪, FlexCycler, 耶拿。

1.2 菌种分离及标准菌液制备

1.2.1 耐盐解磷解钾菌株分离

将混合好的盐碱土壤样品 10 g 加入盛有 90 mL 无菌水的 250 mL 三角瓶内, 置于恒温摇床 180 r/min 振荡 30 min 后静置 15 min, 吸取上清液, 梯度稀释后分别涂布至加有 10% NaCl 的 BPM 固体培养基上, 30 °C 恒温培养箱培养 48 h, 挑取菌落形态各不相同的单菌落利用划线法纯化直至无杂菌, 再将纯菌株分别点接至 PKO 培养基和亚历山大硅酸盐培养基上, 30 °C 倒置于恒温培养箱中培养 4 d, 将能够生长的菌株接种至斜面上, 待斜面长出明显菌苔后, 注入无菌水利用细胞刮刀将菌苔刮至无菌水中制成高浓度菌悬液, 注入灭菌甘油管, 于-80 °C 保存。

1.2.2 标准单菌悬液

将菌种活化后接种至 BPM 摇瓶中, 于恒温摇床中 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h。将菌液

在 8 000 r/min 的条件下离心 10 min, 利用无菌水将菌体冲散, 再于 8 000 r/min 离心 5 min, 重复 2 次。再利用无菌水将菌体调配成 OD₆₀₀=1 即为标准菌悬液。

1.2.3 标准混合菌悬液

将 1.2.2 所述的标准单菌悬液以同体积混合即成标准混合菌悬液。

1.3 菌株解磷解钾性能检测

1.3.1 解磷

选择在 PKO 培养基上生长的菌株接种于 BPM 液体培养基中, 于恒温摇床中 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 镜检确认无杂菌后吸取 5 mL 菌液, 注入 95 mL 液体 PKO 培养基中, 于 30 °C、180 r/min 振荡培养 5 d, 以无菌水作为空白对照。将发酵液于 4 °C、8 000 r/min 条件下离心 10 min, 收集上清液用钼蓝比色法测定上清液中有效磷的含量^[21], 每个菌株 3 个重复。

1.3.2 解钾

将可以在亚历山大硅酸盐培养基上生长的菌株接种于 BPM 液体培养基中, 于 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 镜检确认无杂菌后吸取 5 mL 菌液, 注入 95 mL 液体缺钾培养基中, 180 r/min、30 °C 摇床培养 7 d, 以无菌水作为空白对照。结束培养后取发酵液 20 mL, 加入 4 mL 6% H₂O₂, 高温消化处理 20 min, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液用火焰原子分光光度计测定上清液中 K⁺的含量^[15], 每个菌株 3 个重复。

1.4 菌株产 ACC 脱氨酶活性测定

1.4.1 ACC 脱氨酶阳性菌筛选

将活化后的菌株, 转接到 DF 固体培养基和 ADF 固体培养基上, 于 30 °C 培养 48-72 h 后, 在 ADF 平板上生长情况好于在 DF 培养基上生长的菌株视为 ACC 脱氨酶阳性菌株^[22]。

1.4.2 菌株 ACC 脱氨酶活性测定

将活化后的菌株接入无氮培养基, 30 °C 振荡培养 24 h, 接入 DF 培养基 30 °C 振荡培养

24 h, 转接入 ADF 培养基, 30 °C 振荡培养 24 h 后 12 000 r/min, 离心 5 min 收集菌体, 利用 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.6)洗涤 2 次。菌体重悬于 Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5)中, 添加甲苯迅速振荡 30 s 破碎细胞, 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量, 重复 3 次。以纯水做空白对照, 细胞破碎液与 ACC 混合, 30 °C 水浴 15 min, 加入 0.56 mol/L 的 HCl 终止反应。12 000 r/min 离心 5 min。取上清液加入 0.56 mol/L 的 HCl 和 0.2% 的 2,4-二硝基苯肼溶液, 充分溶解, 30 °C 恒温 30 min, 再加入 2 mol/L NaOH 混匀, 540 nm 处测吸光度值。酶活的计算方式以每分钟产出 1 μmol α -丁酮酸的量为 1 酶活力单位(U), 计算方式参考赵龙飞等^[17]的方法

1.5 菌株产 IAA 能力测定

1.5.1 产 IAA 阳性菌筛选

将菌株接入加有 100 mg/L L-色氨酸的 BPM 培养基中, 30 °C 振荡培养 48 h 后, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液加入等体积 Salkowski 比色液, 以 50 mg/L 的标准 IAA 作对照, 避光静置 30 min, 变粉红色为具有产 IAA 阳性菌株。

1.5.2 菌株产 IAA 量测定

以 IAA 浓度为横坐标、 OD_{530} 为纵坐标制作 IAA 标准曲线^[23], 将上述溶液测定其 OD_{530} 值, 根据标准曲线计算单位体积发酵液中相应的 IAA 浓度。

1.6 菌株产铁载体能力测定

参考南京农业大学顾绍华等^[24]测定根际微生物产铁载体的方法。将纯化的菌株接种于液体 BPM 培养基中, 于恒温摇床中 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 镜检确认无杂菌后吸取 5 mL 菌液, 注入 95 mL 液体 MKB 培养基中, 30 °C、170 r/min 恒温振荡培养 48 h。培养结束后将培养液在 4 °C、4 000 r/min 的条件下离心 5 min, 再用细菌过滤器(0.22 μm)过滤上清液, 将未接种培养基同样操作作为对照。将无细胞上清液

与 CAS 溶液等体积混合静置 2 h, 测定 OD_{680} 。用相对铁载体活性单位(siderophore units, SU)表示铁载体的产量^[25]。

1.7 发酵液胞外多糖含量测试

参考蔡国林^[26]的方法, 提取发酵液粗多糖后采用苯酚硫酸法测定胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)含量^[27]。

1.8 菌种鉴定

使用细菌 DNA 提取试剂盒提取待测菌株的总 DNA, 使用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-CTACGGTTACCTTGTTACGAC-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系 25 μL , 热循环参数如下: 94 °C 3 min; 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min, 循环 30 次; 72 °C 10 min。通过琼脂糖凝胶电泳回收目的条带, 将其送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序, 所得序列提交 NCBI 并进行 BLAST 比对及同源性分析^[28], 通过 neighbor-joining 法建立系统发育树。

1.9 复合菌群的建立

1.9.1 拮抗实验

将目标菌接至液体 BPM 摇瓶中, 于恒温摇床中 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h。选取其中一株作为指示菌株, 用无菌水稀释后涂布至 BPM 平板上, 再将灭菌后的小滤纸圆片相隔一定距离放置于平板上。将其余菌株的发酵液分别滴至滤纸片上, 于 28 °C 恒温培养 48 h, 观察有无抑菌圈产生。依次将所有分离出的菌株都作为指示菌或测试菌株进行上述操作, 记录菌株间的拮抗结果。

1.9.2 混合发酵

按照 1.2.3 所述方式配置标准混合菌悬液, 再按照 1% 的接种量将混合菌悬液接种至新鲜 BPM 培养基中。于恒温摇床中 30 °C、180 r/min 振荡培养 48 h, 即成混合菌种发酵液。检测其

解磷解钾、产 IAA、产 ACC 脱氨酶、以及产铁载体能力。

1.10 菌种对种子发芽的影响

挑选无明显外伤的萝卜种子, 浸入 8%的 H_2O_2 溶液消毒 20 min, 再利用无菌水清洗 5 次。将消毒后的种子随机分组, 每组 4 个重复。用无菌水分别将菌株 y1923、hy127、hs032 和混合菌发酵液均稀释至 0.5%、0.8%、1.0%、1.2%、1.5% 和 2.0%, 设置浸泡种子 12 h。再将种子均匀铺放至灭菌后的铺有滤纸的托盘中, 每日喷淋含有 10%NaCl 的无菌水, 形成盐胁迫。设置 2 个对照组 CK1: 无菌水浸泡 12 h, 无菌水喷淋; CK2: 无菌水浸泡 12 h, 10% NaCl 无菌水喷淋。3 d 后记录种子发芽情况。

1.11 菌种在干旱和盐胁迫下对玉米生长的影响

实验土壤取自陕西师范大学长安校区 ($34^{\circ}9'N$, $108^{\circ}53'E$, 海拔 453 m), 总盐 3.2 g/kg, 有机质 5.38 g/kg, pH 8.54, 水溶性氮 34.8 mg/kg, 有效磷 6.7 mg/kg, 有效钾 101 mg/kg, 含水率 49%。土壤过 2 mm 筛, 120 $^{\circ}C$ 灭菌 20 min, 烘干自然冷却后平均分装至花盆中, 实验用土添加 10 g/kg NaCl。实验组 1-4 组, 分别加入土壤质量 5% 的 y1923、hy127、hs032 和混合菌标准菌悬液, 于室温放置 7 d。设置 2 个对照 CK1: 不加盐, 不加菌; CK2: 加盐, 不加菌。利用无菌水将所有土壤含水率调至 30%。将玉米种子经消毒处理后, 无菌水浸种 12 h, 挑选露芽种子随机分组, 每组 50 粒。实验组 1-4 组分别用相应的菌种发酵液, CK1 和 CK2 用无菌水浸泡, 增加菌种定殖量, 浸泡 2 h 后移栽至盆中。培养环境湿度为 30%, 培养第 20 天后收获, 测量根长、株高、干重以及叶绿素土壤与作物分析开发 (soil and plant analyzer development,

SPAD) 值, 并称取约 0.5 g 的地上部组织, 使用南京建成生物工程研究所的相应试剂盒测量丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量^[29]。

1.12 数据处理

数据处理用 SPSS (version 22) 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 各实验组间数据差异用 Duncan 方法进行检验 (显著水平 $P < 0.05$, 为差异显著)。用 Microsoft Excel 2019 进行实验结果图片的绘制。

2 结果与分析

2.1 耐盐促生微生物筛选结果

从盐碱土壤中筛选出 51 株菌能够在含有 10% NaCl 的 BPM 平板上较快生长, 其中 21 株能够在 PKO 培养基上生长, 解磷能力最强的菌株为 y1923, 5 d 发酵液平均有效磷为 46.29 mg/L; 24 株能够在亚历山大硅酸盐培养基上生长, 解钾能力最强的为菌株 y1923, 7 d 发酵液平均 K^+ 含量为 58.07 mg/L。有 46 株能产生 IAA, 能力最强的菌株为 hs032, 48 h 发酵液平均 IAA 浓度为 61.18 mg/L; 有 26 株菌能产 ACC 脱氨酶, 能力最强的为菌株 hy127, 2 d 发酵液平均酶活单位 $U = 15.29 U/mg$; 有 11 株菌能产生铁载体, 能力最强的为 hs032, 平均 $SU = 0.23$ 。兼具解磷、解钾、产 IAA、产 ACC 脱氨酶和产铁载体的菌株有 1 株, 为菌株 y1923。以解磷、解钾、产 IAA、产 ACC 脱氨酶和产铁载体性能最优的菌株即菌株 y1923、hy127 和 hs032 做拮抗实验, 结果显示其相互不拮抗, 可以混合培养。菌株 y1923、hy127、hs032 纯培养以及其混合发酵液中有效磷、钾离子、IAA、ACC 脱氨酶、铁载体以及发酵液胞外多糖含量详细数据如表 1 所示。

表 1 单菌及混合菌液产酶促生检测结果

Table 1 Growth-promoting properties of strains

Test item	yl923	hy127	hs032	Mix
Phosphorus (mg/L)	46.29±0.06c	43.29±0.12b	38.22±0.09a	48.25±0.11d
Potassium (mg/L)	58.07±0.14c	35.48±0.23a	48.00±0.09b	58.15±0.21c
IAA (mg/L)	29.23±0.10a	57.13±0.08b	61.18±0.09c	61.22±0.16c
ACC deaminase (U/mg)	13.83±0.23a	15.29±0.15b	—	16.93±0.17c
Siderophore units	0.43±0.09b	—	0.23±0.04a	0.21±0.07b
EPS (mg/L)	7.30±0.08b	5.80±0.11a	8.30±0.07c	10.30±0.13d

Values are means ($n=3$)±standard error. Different lowercase letters indicate that the same index is significantly different ($P<0.05$). —: The corresponding performance is not detected.

2.2 菌株对盐胁迫下植物发芽及生长的影响

实验结果如图 1 所示, 10% NaCl 溶液对萝卜种子的发芽有显著的抑制作用, CK1 组的萝卜种子发芽率为 95%, CK2 组为 44%。经不同浓度菌液处理的萝卜种子均表现出不同程度的抗盐胁迫能力, 并且种子发芽率随浸泡菌液浓度的升高而升高。在各级别菌液处理浓度上混合菌发酵液提高种子发芽率均是最高的, 2.0% 菌液处理组平均种子发芽率达到 79%, 相较未经菌液处理的 CK2 提高 77%。单菌液实验组中菌株 hs032 促种子发芽效果最好, 在处理浓度高于 1.2% 后与混合菌液组发芽率无较大差别, 但在低浓度时混合菌液有较高的提升种子发芽率的能力。说明促生菌浸泡处理能够促进种子在盐胁迫下的发芽, 并且多菌种组合处理可以在低浓度下有更好的促生效果。

2.3 菌液对干旱条件下盐土盆栽玉米生长的影响

如表 2 所示, 在盐胁迫下的玉米植株(CK2)生物量显著低于($P<0.05$)其它各组, 与无盐胁迫组

(CK1)比较, 根长、株高和干重分别比 CK1 组减少 13.5%、15.2%和 25.0%。加菌的各组比未加菌的 CK2 根长、株高和干重均显著提高($P<0.05$)。实验组 4 相较 CK2 提升最为显著, 根长提高 138.6%, 株高提高 113.4%, 干重提高 156.0%。并且相较添加单菌的实验组 1-3 也有显著($P<0.05$)提高。

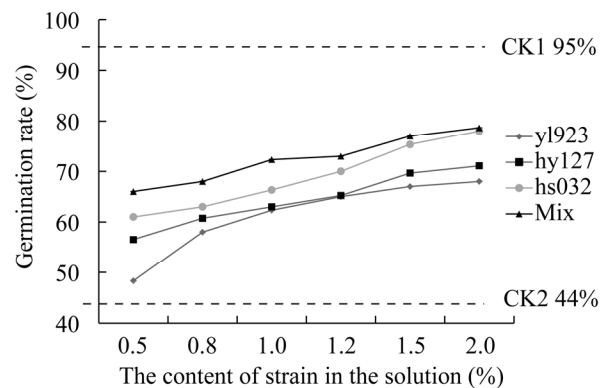


图 1 菌株对盐胁迫下种子发芽率的影响

Figure 1 Effects of strains on seed germination rate under salt stress. The dotted line represents the seed germination rate of CK1 and CK2; The error bars represent the standard errors.

表 2 菌株在干旱和盐胁迫下对玉米生长的影响

Table 2 Effects of strains on maize growth under both drought and salt stress

Test item	CK1	CK2	Test 1 yl923	Test 2 hy127	Test 3 hs032	Test 4 Mix
Root length (cm)	32.50±0.65b	22.00±0.33a	39.70±0.45d	38.40±0.27c	42.30±0.43e	52.50±0.28f
Shoot length (cm)	30.85±0.51b	24.67±0.51a	39.44±0.23c	39.95±0.25c	39.64±0.24c	52.66±0.36d
Dry weight (g)	0.83±0.015b	0.57±0.013a	1.21±0.023e	1.01±0.012c	1.13±0.008d	1.46±0.035f

Values are means ($n=3$)±standard error. Different lowercase letters indicate that the same index is significantly different ($P<0.05$).

从图 2 中可以看出, 盐胁迫下使玉米 MDA 含量显著提高达到 14.31 $\mu\text{mol/L}$, 叶绿素含量显著降低 SPDA 值达到 36.38, 表明盐胁迫环境能够加强玉米幼苗的过氧化程度。4 个实验组均能显著 ($P < 0.05$) 降低盐胁迫下玉米幼苗体内 MDA 含量, 并提高叶绿素含量。实验组 1-3 植株内的 MDA 含量和叶绿素含量组间无显著差异, 而与 CK2 相比有显著降低和增加, 但仍显著高于和低于 CK1 ($P < 0.05$)。实验组 4 植株内 MDA 含量与 CK1 无明显差异 ($P > 0.05$), 叶绿素含量显著高于 CK1 ($P > 0.05$)

2.4 菌种鉴定

将菌株 hy127、hs032 和 yl923 的 16S rRNA 基因序列上传至 NCBI 数据库中获得登录号, 再通过 BLAST 进行序列比对, 利用邻接法(N-J) 进行系统发育分析和构建进化树如图 3 和图 4。

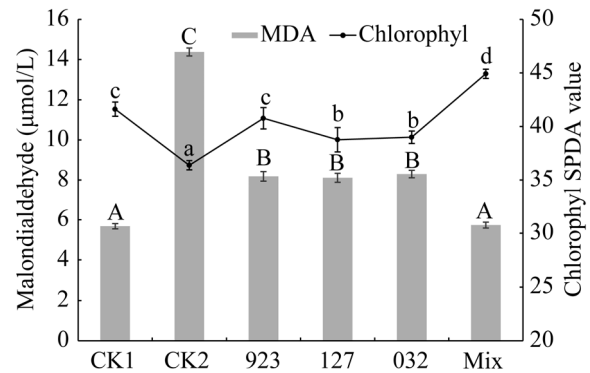


图 2 菌株在干旱和盐胁迫下对玉米丙二醛和叶绿素含量的影响

Figure 2 Effects of strains on the content of MDA and chlorophyll in maize under drought and salt stress. The error bars represent the standard errors. Different uppercase and lowercase letters respectively indicate that malondialdehyde and chlorophyll SPDA value are significantly different ($P < 0.05$).

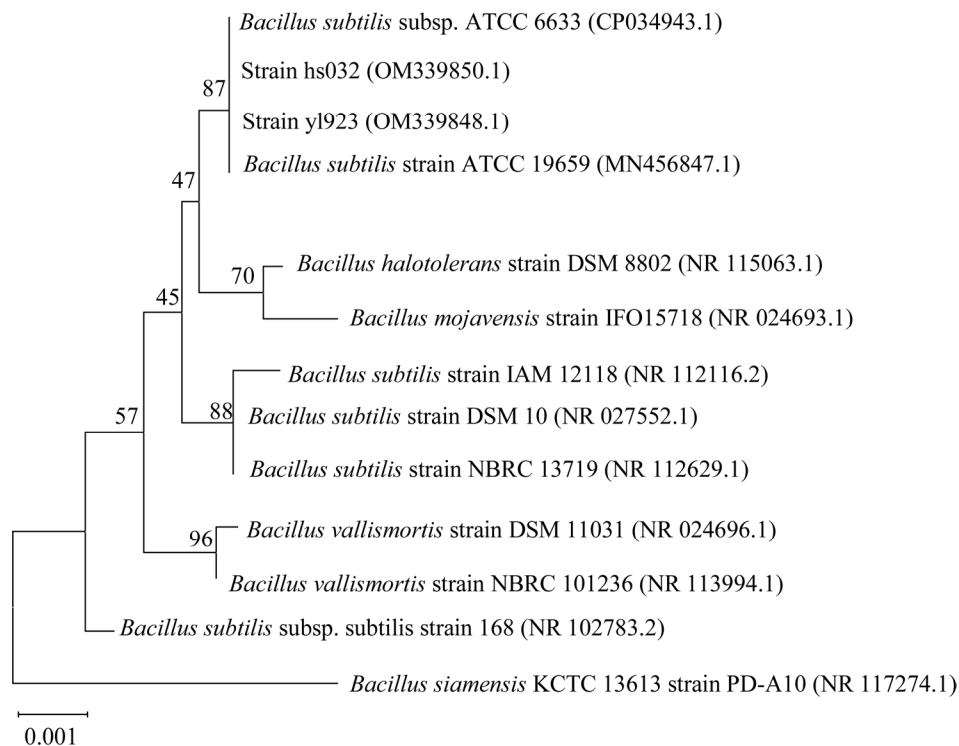


图 3 基于菌株 yl923 和 hs032 的 16S rRNA 基因序列的系统发育进化树

Figure 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene of yl923 and hs032. Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Bar 0.001 represents sequence divergence.

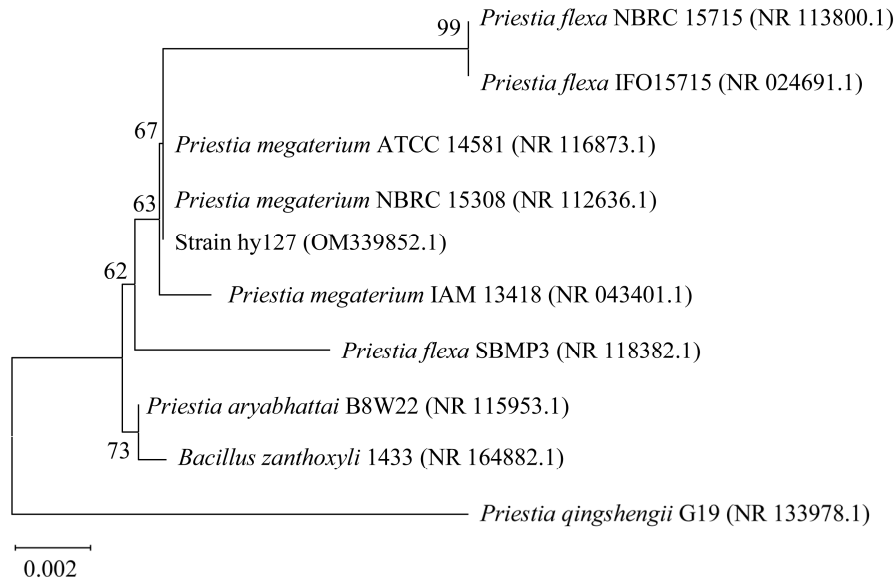


图 4 基于菌株 hy127 的 16S rRNA 基因序列的系统发育进化树

Figure 4 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene of hy127. Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Bar 0.002 represents sequence divergence.

分析结果表明, 菌株 hy127 (OM339852)与模式菌株 *Priestia megaterium* NBRC 15308 (NR_112636) 亲缘关系相近, 16S rRNA 基因序列相似度为 99.7%, 最终将菌株 hy127 鉴定为 *Priestia megaterium* (原 *Bacillus megaterium*), 菌株 hs032 (OM339850)与模式菌株 *Bacillus subtilis* subsp. ATCC 6633 (CP034943) 16S rRNA 基因序列相似度为 99.81%, 菌株 y1923 (OM339848)与 *Bacillus subtilis* ATCC 19659 (MN456847) 16S rRNA 基因序列相似度为 99.94%, 所以将菌株 hs032 和菌株 y1923 鉴定为 *Bacillus subtilis*。

3 讨论与结论

盐胁迫是植物生存所面临的主要的非生物胁迫^[30], 而盐生植物根际微生物在植物对抗外界严酷环境时扮演着重要的角色^[31-32]。同时, 盐生植物也通过根部分泌独特成分的分泌物来塑造建立对自身生存有益的微生物群落^[33]。

本研究从生长于干旱地区盐渍化土壤的杂

类草根际土壤中, 筛选出能耐受 10% NaCl 的细菌菌株 51 株, 其中有解磷能力的有 21 株, 有解钾能力的 24 株, 能产 IAA 的 46 株, 产 ACC 脱氨酶的 26 株, 产铁载体 11 株。结果证明, 在盐生植物根际土壤中有着丰富的耐盐促生菌资源, 这点与已有的研究结果相一致^[34-35]。其中有 3 株促生能力突出, 经 16S rRNA 基因序列比对分析分别鉴定为 2 株枯草芽孢杆菌 hs032 (OM339850)和 y1923 (OM339848), 一株巨大芽孢杆菌 hy127 (OM339852), 并且这 3 株菌互相没有拮抗作用, 能够混合培养。在之前的研究中^[36]有利用枯草芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌同时作用于马铃薯, 使其叶片净光合速率和酶活性提高的案例。芽孢杆菌大量分布于各类土壤中, 以其生长迅速、对营养物质需求低、耐受多种恶劣环境和能够分泌多种酶和激素并且大多数芽孢杆菌对人畜无毒害作用, 被广泛应用于环境保护和畜牧种植当中^[37-38]。在本研究中枯草芽孢杆菌 y1923 兼具解磷、解钾、产

IAA、产 ACC 脱氨酶和产铁载体的能力, 并且在所有菌株中具有最强的解磷、解钾能力(5 d 发酵液平均有效磷为 46.29 mg/L; 7 d 发酵液平均 K^+ 含量为 58.07 mg/L)。菌株 hy127 和菌株 hs032 也兼具多种促生能力, 这也验证了芽孢杆菌在促进植物生长、增强植物抗逆性和维持土壤微生物生态平衡上有巨大的应用潜力。

植物种子的萌发影响着植物整个生长周期, 将决定植物以后的生长发育^[39]。而过量的盐分积累将会使植物种子难以吸收水分, 从而导致激素代谢紊乱和酶活性降低, 进而影响呼吸作用使萌发受阻^[11]。本研究中的 3 株促生菌以及混合发酵液均能显著的提高植物种子在盐胁迫下的发芽率(图 1)。分析结果可得, 激素合成能力较强的菌株 hs032 和混合发酵液组的发芽率最高, 低菌液浓度时混合菌液发芽率远高于 hs032 组, 但菌液含量高于 1.2% 后两组差别不大。两组的种子发芽率高于其他各组可能是由于菌株 hs032 和混合菌液产生的激素和胞外多糖有关。植物种子的发芽首先需要吸收足够的水分, 多菌发酵过程相较单菌发酵过程更复杂, 合成的二级代谢产物也更丰富^[40]。在相同培养时间内混合培养菌液能够产生较多的胞外多糖(表 2), 所以在低菌浓度下混合菌液也有足够多的胞外多糖能在种子表面形成生物保护膜, 为种子隔绝外界高盐环境威胁的同时将发酵液内激素集中于种子表面^[41], 促进种子萌发。

我国西北部处于干旱、半干旱地带, 年平均降水量远远低于年平均蒸发量, 淡水资源极其有限。因此, 西北地区盐碱地的出现往往伴随着干旱的气候环境^[42]。所以在干旱条件下 PGPR 仍具有较高的促生能力, 将对在干旱地区的实际应用具有重要意义。本研究的实验结果(2.3 节)表明, 在干旱和盐双重胁迫下(CK2), 玉米幼苗呈现出生长缓慢、叶绿素降低和细胞

膜过氧化标志物 MDA 含量增加等现象。4 个实验组的玉米幼苗在根长、株高和干重上不仅显著高于 CK2 也比 CK1 显著增加, 可能由于 CK1 除了有干旱胁迫以外, 其土壤还经过灭菌处理, 土壤内缺乏微生物的生理活动。这一点在一定程度上验证了土壤微生物在刺激植物快速生长上的重要地位。单菌实验组之间比较, y1923 组玉米干重显著高于其他两株处理过的玉米, 这可能是由于菌株 y1923 兼具解磷、解钾、产 IAA、产 ACC 脱氨酶以及产铁载体的能力, 比另外两株菌有较全面的促生特性。说明, 在土壤栽培过程中需要具有复合的促生特性才能达到更好的促生效果。而经过综合能力更强的混合菌液处理过的玉米苗的根长、株高和干重均显著 ($P < 0.05$) 高于其他各组, 也证明了这一点。

叶绿素和丙二醛(MDA)含量均是植物受损的标志, 叶绿素含量越低或者 MDA 含量越高, 表明植物受到伤害就越大^[29,43]。菌株 y1923、hy127、hs032 以及混合菌液均能不同程度地减轻玉米植株受到的伤害, 混合菌液处理过的玉米植株生长状况甚至优于无盐胁迫的 CK1 组。结果分析发现, 在不利条件下添加促生菌能够减轻植物所受伤害、增强植物抗逆能力、促进植物的生长以及生物量的积累, 这与许多研究结果一致^[8-9,26,34,36-37], 并且综合多项的促生能力, 能够更好地达到抗逆促生的目的。在实际的研究中通过分离筛选的方式很难得到能够将不同促生能力集中于一身, 并且强度能达到需求的菌株, 而将各类促生能力较强的菌株复配成混合菌剂是一个较好的方法。

菌株 y1923、hy127 和 hs032 具有耐盐促生特性, 都能够在干旱的情况下减轻盐胁迫对植物的伤害。值得注意的是这 3 株菌的混合培养液有更高的促生效果。但是, 实际应用的自然环境要更加复杂多变, 这也会增加促生菌对植

物促生作用的不确定性，所以需要进一步驯化菌株在自然环境下的促生抗逆能力。此外，微生物对土壤理化性质的改变也值得注意，在菌种组合中添加对土壤理化性质有改善作用菌株，可能会对土壤盐碱化的治理效果有所提升。

参考文献

- [1] ZHANG HX, XIANG Y, IRVING LJ, LI Q, ZHOU DW. Nitrogen addition can improve seedling establishment of N-sensitive species in degraded saline soils[J]. *Land Degradation & Development*, 2019, 30(2): 119-127.
- [2] SGROY V, CASSÁN F, MASCIARELLI O, del PAPA MF, LAGARES A, LUNA V. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 85(2): 371-381.
- [3] ESTRADA B, AROCA R, AZCÓN-AGUILAR C, BAREA JM, RUIZ-LOZANO JM. Importance of native arbuscular mycorrhizal inoculation in the halophyte *Asteriscus maritimus* for successful establishment and growth under saline conditions[J]. *Plant and Soil*, 2013, 370(1): 175-185.
- [4] 郎文聚, 杨劲松, 鞠正山. 以科技创新对接国家倡议: 聚焦“一带一路”沿线盐碱地治理[J]. *国土资源*, 2015(9): 44-46.
YUN WJ, YANG JS, JU ZS. Connecting the National Strategy with Scientific and Technological Innovation—focus on saline-alkali land treatment along the “the Belt and Road initiative”[J]. *Land & Resources*, 2015(9): 44-46 (in Chinese).
- [5] 王飞. 国际荒漠化协会联合主席, 水土保持专家王飞先生论基于土盐-水盐双分离的旱区盐碱地水资源管理模式[J]. *水土保持通报*, 2019, 39(1): 317-321.
WANG F. A strategy of soil and water resource management based on double desalinization approach in saline-alkali land of arid areas—commented by Mr. Wang Fei, A scientist of soil and water conservation research, Co-chair of DesertNet international[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2019, 39(1): 317-321 (in Chinese).
- [6] DE-BASHAN LE, 5 Y. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation - A comprehensive evaluation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 171-189.
- [7] DODD IC, PÉREZ-ALFOCEA F. Microbial amelioration of crop salinity stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(9): 3415-3428.
- [8] 康贻军, 程洁, 梅丽娟, 胡健, 朴哲, 殷士学. 植物根际促生菌作用机制研究进展[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(1): 232-238.
KANG YJ, CHENG J, MEI LJ, HU J, PIAO Z, YIN SX. Action mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): a review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(1): 232-238 (in Chinese).
- [9] 潘晶, 黄翠华, 彭飞, 尤全刚, 刘斐耀, 薛娴. 植物根际促生菌诱导植物耐盐促生作用机制[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 75-87.
PAN J, HUANG CH, PENG F, YOU QG, LIU FY, XUE X. Mechanisms of salt tolerance and growth promotion in plant induced by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 75-87 (in Chinese).
- [10] 刘少芳, 王若愚. 植物根际促生细菌提高植物耐盐性研究进展[J]. *中国沙漠*, 2019, 39(2): 1-12.
LIU SF, WANG RY. Advance in research on Plant salt tolerance improved by plant-growth-promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Desert Research*, 2019, 39(2): 1-12 (in Chinese).
- [11] HABIB SH, KAUSAR H, SAUD HM. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes[J]. *BioMed Research International*, 2016, 2016: 6284547.
- [12] KUMARI S, VAISHNAV A, JAIN S, VARMA A, CHOUDHARY DK. Bacterial-mediated induction of systemic tolerance to salinity with expression of stress alleviating enzymes in soybean (*Glycine max* L. Merrill)[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2015, 34(3): 558-573.
- [13] 魏蔚, 宋时丽, 吴昊, 张丽, 管永祥, 李运生, 戴传超. 复合菌剂对玉米秸秆的降解及土壤生态特性的影响[J]. *土壤通报*, 2019, 50(2): 323-332.
WEI W, SONG SL, WU H, ZHANG L, GUAN YX, LI YS, DAI CC. Effects of compound microbial agent on corn straw degradation and soil ecological properties[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2019, 50(2): 323-332 (in Chinese).
- [14] 郭英, 杨萍, 张丹雨, 刘莹莹, 马莲菊, 卜宁. 野大豆多功能根际促生菌的筛选鉴定和促生效果研究[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(10): 108-115.
GUO Y, YANG P, ZHANG DY, LIU YY, MA LJ, BU N. Screening, identification and growth-promoting effect of multifunction rhizosphere growth-promoting strain of wild soybean[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(10): 108-115 (in Chinese).

- [15] 王珣珏, 黄巧云, 蔡鹏, 陈雯莉. 解钾菌解钾效率检测方法比较[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(1): 81-85.
WANG XJ, HUANG QY, CAI P, CHEN WL. Comparing different methods of detecting potassium solubilizing efficiency with potassium solubilizing bacteria[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(1): 81-85 (in Chinese).
- [16] 赵君, 饶惠玲, 冯清玉, 黄伟, 吴承祯, 李健. 一株南方红壤区杉木根际高效解钾菌的筛选、鉴定及其培养条件优化[J]. 林业科学研究, 2022, 35(1): 172-181.
ZHAO J, RAO HL, FENG QY, HUANG W, WU CZ, LI J. Screening, identifying and optimizing the culture conditions of high-efficiency potassium-solubilizing bacteria in the rhizosphere of *Cunninghamia lanceolata* in red soil area of South China[J]. Forest Research, 2022, 35(1): 172-181 (in Chinese).
- [17] 赵龙飞, 徐亚军, 常佳丽, 李敏, 张艳玲, 党永杰, 王梦思, 程亚稳, 张斌月. 具 ACC 脱氨酶活性大豆根瘤内生菌的筛选、抗性及其促生作用[J]. 微生物学报, 2016, 56(6): 1009-1021.
ZHAO LF, XU YJ, CHANG JL, LI M, ZHANG YL, DANG YJ, WANG MS, CHENG YW, ZHANG BY. Screening, resistance and growth-promoting effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity isolated from soybean nodules[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(6): 1009-1021 (in Chinese).
- [18] DWORKIN M, FOSTER JW. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen[J]. Journal of Bacteriology, 1958, 75(5): 592-603.
- [19] DJIBAOU D, BENSOLTANE A. Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*[J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 4(7): 697-702.
- [20] 陈越, 李虎林, 朱诗苗, 闫寒, 郎彬, 姬文秀. 产吡啶乙酸(IAA)促生菌的分离鉴定及对烟草种子萌发和幼苗生长发育的影响[J]. 作物杂志, 2020(2): 176-181.
CHEN Y, LI HL, ZHU SM, YAN H, LANG B, JI WX. Isolation and identification of IAA-producing rhizobacteria and its effects on seed germination and seedling growth of tobacco[J]. Crops, 2020(2): 176-181 (in Chinese).
- [21] RODRÍGUEZ H, FRAGA R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion[J]. Biotechnology Advances, 1999, 17(4/5): 319-339.
- [22] SINGH RP, JHA PN. The multifarious PGPR *Serratia marcescens* CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0155026.
- [23] 崔月贞, 万志文, 冯疆蓉, 薛莉, 杨成德. 东祁连山高寒草地优势牧草内生细菌产 IAA 能力的研究[J]. 草地学报, 2016, 24(3): 618-623.
CUI YZ, WAN ZW, FENG JR, XUE L, YANG CD. Research on IAA secreting ability of endophytic bacteria from forage on eastern-Qilian mountain[J]. Acta Agrestia Sinica, 2016, 24(3): 618-623 (in Chinese).
- [24] GU SH, WEI Z, SHAO ZY, FRIMAN VP, CAO KH, YANG TJ, KRAMER J, WANG XF, LI M, MEI XL, XU YC, SHEN QR, KÜMMERLI R, JOUSSET A. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes[J]. Nature Microbiology, 2020, 5(8): 1002-1010.
- [25] 朱慧明, 张彦, 杨洪江. 高产铁载体假单胞菌的筛选及其对铁氧化物的利用[J]. 生物技术通报, 2015, 31(9): 177-182.
ZHU HM, ZHANG Y, YANG HJ. Screening of *Pseudomonas* strains producing high-yield siderophore and its utilization of iron hydroxides[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(9): 177-182 (in Chinese).
- [26] 蔡国林. 解淀粉芽孢杆菌胞外多糖的结构及其益生作用机制[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2020.
CAI GL. The structure of exopolysaccharide from *Bacillus amyloliquefaciens* and its probiotic mechanism[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2020 (in Chinese).
- [27] 韩洁, 谢和, 赵杰宏. 枯草芽孢杆菌胞外多糖的快速测定与发酵条件优化[J]. 食品科技, 2007, 32(6): 210-213.
HAN J, XIE H, ZHAO JH. Fast assaying of extra polysaccharides concentration and optimizing the conditions of fermentation of *Bacillus subtilis*[J]. Food Science and Technology, 2007, 32(6): 210-213 (in Chinese).
- [28] PRAKASH B, VIDYASAGAR M, MADHUKUMAR MS, MURALIKRISHNA G, SREERAMULU K. Production, purification, and characterization of two extremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable α -amylases from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101[J]. Process Biochemistry, 2009, 44(2): 210-215.
- [29] 刘东昀, 袁永强, 仇荣亮, 王诗忠, 黄雄飞, 黄海燕. 根际促生菌 *Enterobacter* sp. EG16 对小白菜生长及硒吸收的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(7): 1420-1431.
LIU DY, YUAN YQ, QIU RL, WANG SZ, HUANG XF, HUANG HY. Effect of plant growth promoting

- rhizobacteria *Enterobacter* sp. EG16 on the growth and Selenium uptake of *Brassica chinensis* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(7): 1420-1431 (in Chinese).
- [30] 付丽, 刘加珍, 陶宝先, 陈永金, 郭雯雯, 贾一灿, 尚婉滢. 盐生植物对盐渍土壤环境的适应机制研究综述[J]. *江苏农业科学*, 2021, 49(15): 32-39.
FU L, LIU JZ, TAO BX, CHEN YJ, GUO WW, JIA YC, SHANG WY. Adaptive mechanism of halophytes to saline soil environment: a review[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2021, 49(15): 32-39 (in Chinese).
- [31] 李明源, 王继莲, 周茜, 张甜, 美合热·阿依·木台力甫. 南疆四种盐生植物根际土壤真菌群落结构特征[J]. *生态学报*, 2021, 41(21): 8484-8495.
LI MY, WANG JL, ZHOU Q, ZHANG T, MIHRAY·M. Analysis on the rhizosphere fungal community structure of four halophytes in Southern Xinjiang[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(21): 8484-8495 (in Chinese).
- [32] KESWANI C, PRAKASH O, BHARTI N, VÍLCHEZ JI, SANSINENA E, LALLY RD, BORRIS R, SINGH SP, GUPTA VK, FRACETO LF, de LIMA R, SINGH HB. Re-addressing the biosafety issues of plant growth promoting rhizobacteria[J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 690: 841-852.
- [33] PII Y, BORRUSO L, BRUSETTI L, CRECCHIO C, CESCO S, MIMMO T. The interaction between iron nutrition, plant species and soil type shapes the rhizosphere microbiome[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2016, 99: 39-48.
- [34] 代金霞, 田平雅, 沈聪, 刘爽. 耐盐植物根际促生菌筛选及促生效应研究[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(5): 968-975.
DAI JX, TIAN PY, SHEN C, LIU S. Screening of rhizosphere bacteria from salt tolerant plants and their growth promoting effects[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(5): 968-975 (in Chinese).
- [35] BULGARELLI D, GARRIDO-OTER R, MÜNCH PC, WEIMAN A, DRÖGE J, PAN Y, McHARDY AC, SCHULZE-LEFERT P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley[J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(3): 392-403.
- [36] 邢嘉韵, 兰时乐, 李姣, 王惠群. 巨大芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌混合对马铃薯生长及土壤微生物含量的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(4): 377-381.
XING JY, LAN SL, LI J, WANG HQ. Effects of *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis* on growth physiology of *Solanum tuberosum* L. and microbial biomass in rhizosphere soil[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2017, 43(4): 377-381 (in Chinese).
- [37] 王雨, 刘振婷, 高广磊, 杜凤梅, 张英, 丁国栋, 任悦, 曹红雨. 干旱胁迫下枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)对柠条(*Caragana korshinskii*)和沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *中国沙漠*, 2022, 42(5): 73-81.
WANG Y, LIU ZT, GAO GL, DU FM, ZHANG Y, DING GD, REN Y, CAO HY. Effects of *Bacillus subtilis* on seed germination, seedling growth of *Caragana korshinskii* and *Ammopiptanthus mongolicus* under drought stress[J]. *Journal of Desert Research*, 2022, 42(5): 73-81 (in Chinese).
- [38] LU ZX, GUO W N, LIU C. Isolation, identification and characterization of novel *Bacillus subtilis*[J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2018, 80(3): 427-433 (in Chinese).
- [39] 陆时万, 徐祥生, 沈敏健. 植物学-上册[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2020.
LU SW, XU XS, SHEN MJ. Botany-part i[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2020 (in Chinese).
- [40] 杨林丽. 纤维素降解菌筛选及混合菌种纤维素降解能力测定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士毕业论文, 2013.
YANG LL. Screening of cellulose-decomposing bacteria and measuring activity of cmcase of the mixed bacteria[D]. Yangling: Thesis for Master's Degree of Northwest A&F University in 2013 (in Chinese).
- [41] QURASHI AW, SABRI AN. Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress[J]. *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 2012, 43(3): 1183-1191.
- [42] 胡娟, 张洁, 盛洲, 周宸宇, 张旭萍, 拉本. 盐生植物萌发期对盐胁迫的适应研究进展[J]. *盐湖研究*, 2022, 30(1): 95-100.
HU J, ZHANG J, SHENG Z, ZHOU CY, ZHANG XP, LA B. Research progress on the adaptation of halophytes to salt stress in germination stage[J]. *Journal of Salt Lake Research*, 2022, 30(1): 95-100 (in Chinese).
- [43] SINGH RP, JHA PN. The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1945.