

植物根际促生菌的筛选及其耐盐促生效果

陈燕鸿, 蔺红苹, 徐苏琪, 邱雨春, 李双羽, 李嘉怡, 卢冬梅*

岭南师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048

陈燕鸿, 蔺红苹, 徐苏琪, 邱雨春, 李双羽, 李嘉怡, 卢冬梅. 植物根际促生菌的筛选及其耐盐促生效果[J]. 微生物学报, 2025, 65(1): 150-168.

CHEN Yanhong, LIN Hongping, XU Suqi, QIU Yuchun, LI Shuangyu, LI Jiayi, LU Dongmei. Screening of plant growth-promoting rhizobacterium with salt tolerance from rhizosphere[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(1): 150-168.

摘要:【目的】研究海水稻耐盐碱植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacterium, PGPR)的耐盐促生机制及基于盐胁迫下陆地作物的促生效果。【方法】以分离自海水稻根际土壤的 15 株细菌为材料, 进行盐耐受性、降碱能力和促生特性测定, 筛选出互不拮抗的高活性菌株进行菌种鉴定和复合菌群的构建, 并验证复合菌群对绿豆种子萌发的促生效果。【结果】筛选出的 15 株 PGPR 属于中度嗜盐菌, 其中菌株 SL-1 属于极端嗜盐菌; 4 个菌株具有嗜盐耐碱兼降碱的特性, 其中菌株 SH-3 的降碱能力最高(16.83%)。这 4 个嗜盐耐碱菌株的促生能力差别较大, 均能够产生胞外聚合物(extracellular polymers, EPS), 其中菌株 SH-3 产 EPS 能力最高(0.47 g/g); 均具有产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的能力, 产量在 0.70–1.48 mg/L 之间。筛选出 3 个高活性菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3, 分别隶属于芽孢杆菌属和肠杆菌属, 可用于构建复合菌群。种子萌发实验表明, PGPR 及其复合菌群在盐胁迫条件下对绿豆种子萌发具有促进作用, 且复合菌群效果优于单一 PGPR, 与对照组相比, 复合菌群在盐浓度为 15 g/L 时作用效果更显著, 提高各项指标(根长、发芽率和简化活力指数), 相对盐害率从 80.53% 下降为 18.95%, 绿豆种子的耐盐阈值从 10 g/L 提高至 15 g/L, 说明复合菌群各菌株在促进绿豆种子发芽中具有协同作用; 相关性分析发现, EPS 和 IAA 活性之间呈较强的正相关关系, 共同促进盐胁迫下绿豆种子的萌发和生长发育。【结论】菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3 具有较强的嗜盐耐碱、降碱、产 EPS、IAA 和促进生长能力, 为合理开发利用土壤微生物资源和改善盐碱土壤环境提供科学依据。

关键词: 海水稻; 耐盐碱 PGPR; 菌群构建; 耐盐促生机制

资助项目: 广东省科技专项资金(大专项+任务清单)竞争性分配项目(2021A05225)

This work was supported by the Competitive Allocation Projects of Guangdong Provincial Science and Technology Special Funds (Major special projects+task list) (2021A05225).

*Corresponding author. E-mail: ludongmei@lingnan.edu.cn

ORCID: LU Dongmei (0000-0002-8062-7713)

Received: 2024-08-15; Accepted: 2024-10-16; Published online: 2024-12-02

Screening of plant growth-promoting rhizobacterium with salt tolerance from rhizosphere

CHEN Yanhong, LIN Hongping, XU Suqi, QIU Yuchun, LI Shuangyu, LI Jiayi, LU Dongmei*

School of Life Science and Technology, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, Guangdong, China

Abstract: [Objective] To study the mechanism of plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) in the rhizosphere of sea rice and the effects of PGPR on the growth of terrestrial crops under salt stress. [Methods] The salt tolerance, alkali-reducing ability, and plant growth-promoting effect were determined for 15 bacterial strains isolated from the rhizosphere soil of sea rice. Highly active strains were selected for species identification and construction of a consortium. The effect of the consortium on the seed germination of mung bean was verified. [Results] The 15 strains of PGPR were moderately halophilic and strain SL-1 was an extreme halophile among them. Four halophilic strains had alkali tolerance and alkali-degrading effect, among which strain SH-3 had the highest alkali-degrading effect (16.83%). These four strains demonstrated different plant growth-promoting effects. All the strains could produce extracellular polymers (EPS), and strain SH-3 had the highest EPS production (0.47 g/g). The strains were capable of producing indole-3-acetic acid (IAA), with the yields between 0.70 mg/L and 1.48 mg/L. Three highly active strains SL-1, SM-1 and SH-3 belonging to *Bacillus* and *Enterobacter* were used to construct a consortium. Seed germination experiments showed that PGPR and the consortium promoted the seed germination of mung bean under salt stress. Moreover, the consortium showcased stronger promoting effect on seed germination than single PGPR. Compared with the control group, the consortium was more effective at the salt concentration of 15 g/L. Specifically, it improved the root length, germination rate, and simplified vitality index, while decreasing the relative salt injure rate from 80.53% to 18.95% and increasing the salt tolerance threshold of mung bean seeds from 10 g/L to 15 g/L. The data indicated that strains of the consortium coordinated to promote the seed germination of mung bean. The correlation analysis showed a strong positive correlation between EPS and IAA, both of which promoted the seed germination, growth, and development of mung bean under salt stress. [Conclusion] Strains SL-1, SM-1 and SH-3 had strong halophilicity, alkali tolerance, and abilities of degrading alkali, producing EPS and IAA, and promoting plant growth. The findings provide a scientific basis for the rational development and utilization of soil microbial resources and the improvement of saline-alkali soil environment.

Keywords: sea rice; plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with saline-alkali tolerance; construction of consortium; mechanisms of salt tolerance and plant growth-promoting effect

土壤盐渍化导致土壤出现不良特性和质量下降的现象^[1-2],使得作物产量低^[3],制约着农业生产以及资源环境的可持续发展。预估 2050 年全球范围内一半的耕种土地将受到盐渍化的影响^[4],中国盐碱化土壤占地面积大,其中滨海盐碱地占全国盐碱地总面积的 40%左右^[2],因此如何开发和利用滨海盐碱地资源,可破解我国补充耕地的瓶颈,同时为海岸滩涂生态修复开辟蹊径。近年来,生物方法改良盐碱地方面取得了良好的成果,这些成果主要包括植物修复和微生物修复,其中以盐生植物作为滩涂盐碱地土壤修复和改造的先锋植物,逐渐受到了人们的重视,这些盐生植物中,从国内外广泛引种的罗布麻、田菁和枸杞等备受关注^[5]。然而,盐生植物不仅萌发期常因盐碱地的恶劣环境而出现成活率低、保存率低等现象^[6],导致培育难度较大且周期长^[7]。利用耐盐碱微生物菌剂改良土壤增强植物耐盐碱能力,是对土壤盐渍化改良的一大重要研究方向。目前国内外针对此方向已开展多项改良优化措施^[8],研究表明施加微生物菌肥可以有效地阻止盐碱化土壤中的盐分对植物幼苗的危害^[9-11]。其中起主要作用的植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacterium, PGPR)不仅为土壤提供离子和调节离子状态平衡,增加土壤肥力^[12],而且改善植物根际环境和耐盐性,提供丰富营养元素并被植物吸收利用,对利用植被恢复改良盐碱地起到积极的作用^[13-14]。如 Yin 等^[15]发现利用耐盐 PGPR 剂可促进土壤微生物的生物代谢,并通过其自身溶磷解钾、固氮、产生铁载体、合成植物激素^[16-19]等物质,促进植物生长。因此开展耐盐碱 PGPR 改良利用盐碱地的研究具有重要意义,该研究已成为当下新兴的应用领域^[20-21]。

盐碱胁迫是典型的非生物胁迫之一,也是导致农作物产量降低的重要环境因素^[22],PGPR

应用为保护植物免受非生物胁迫和提高农业生产提供力提供了一种新的经济、生态和可持续手段^[23]。其中细菌的主要属包括芽孢杆菌属、假单胞菌属、寡养单胞菌属、沙雷氏菌属、固氮螺菌属和节杆菌属等^[24-26]。PGPR 不仅定植于植物根系,通过直接或间接机制促进植物生长^[27-29],而且可有效缓解盐胁迫对作物造成的伤害。已经提出了 PGPR 介导的高等植物盐胁迫耐受性的几种机制,主要与其自身合成的吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)^[30]和胞外聚合物(extracellular polymers, EPS)等有关。例如 EPS 可通过自身的某些基团与盐土中的 Na⁺和 K⁺结合以降低盐土中盐离子的积累^[31],同时还可以吸附土壤中的某些营养物质,使得土壤形成粒状结构,改善土壤结构,提高土壤透气和透水的的能力^[32-33]。Qurashi 等^[34]发现 PGPR 在鹰嘴豆种子表面产生 EPS 可以形成生物膜,锁住种子水分,极大地提高了种子的发芽率。除此之外,当植物受到盐胁迫时,其自身的代谢活动会受到抑制,进而导致分泌的 IAA 减少。曹晶晶等^[35]发现分离出来的极耐盐碱固氮菌合成的 IAA 有益于玉米种子的萌发和叶绿素的产生。Li 等^[36]发现能合成 IAA 的耐盐 PGPR 会刺激植物体内的 IAA 合成,间接提高了植物体内脯氨酸含量和抗氧化酶活性^[37],进而提高植物的盐耐受性和作物的产量。目前,盐碱植物根际土中的 PGPR 相关研究也多集中在单个 PGPR 的促生或单独功能上,而有关功能相关性和复合 PGPR 研究还较少。

耐盐碱水稻(海水稻)作为盐碱地上的先锋作物,不仅可以改善土壤质量,还可显著提升盐土微生物的多样性和丰富度,目前已成为滨海盐土改良的有效途径之一^[38]。李慧君等对海水稻盐碱地的土壤质量以及微生物群落等方面进行了广泛研究^[39],但海水稻 PGPR 的促生效

果和缓解盐胁迫潜在机制的研究鲜有报道。开展 PGPR 作为微生物肥料和菌种资源的研究开发,既可以保护生态环境,又对促进滨海盐碱地的修复和改良具有重要的推动作用^[30,40]。植物在萌发期和幼苗期的耐盐性最差,因此种子萌发的生长发育指标可作为评价该作物抗盐性的重要指标^[41]。鉴于此,本研究以海水稻根际土壤中分离筛选出的耐盐碱 PGPR 为对象,通过盐耐受性、降碱能力和促生特性测定,筛选出不拮抗的菌株构建 PGPR 复合菌群,并通过绿豆种子萌发的促生效果探讨了 PGPR 及其复合菌群解盐胁迫的潜在机制,为合理开发 PGPR 菌种资源和改良盐碱土壤奠定理论基础^[30,37]。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试土壤和菌株

供试土壤采集于广东省湛江市廉江市遂溪县建新镇卜巢村海红米种植基地(21°0'56"N, 110°32'22"E)海水稻根际土壤。该土壤的盐分浓度为 2–7 g/kg, pH 6.5, 有机质含量 32.20 g/kg。收集 4 份样本 IS、SL、SM 和 SH, 其中样本 IS 为无盐土壤, 样本 SL、SM 和 SH 分别为低盐浓度(2 g/kg)、中盐浓度(4 g/kg)和高盐浓度(6 g/kg)根际土壤。

从供试土壤中筛选出 PGPR。样本 IS 菌株编号分别记为 IS-1、IS-2 和 IS-3; 样本 SL 菌株编号分别记为 SL-1、SL-2、SL-3、SL-4 和 SL-5; 样本 SM 菌株编号分别记为 SM-1、SM-2、SM-3 和 SM-4; 样本 SH 菌株编号分别记为 SH-1、SH-2 和 SH-3。

1.1.2 培养基

解钾培养基参照曹晶晶等^[35]的方法配制; LB 培养基和产 EPS 菌株发酵培养基按照孙雪等^[37]的方法配制; Salkowski 试剂按照 Shokri 等^[42]的方法配制。所有培养基均于 121 °C 灭菌 20 min。

1.1.3 主要试剂和仪器

浓硫酸、FeCl₃、K₂HPO₄、KH₂PO₄、NaCl、MgSO₄·7H₂O、CaCO₃ 和钾长石等试剂均为分析纯试剂。

超净工作台, 苏州净化设备有限公司; 生化培养箱, 上海双旭电子有限公司; 全温振荡培养箱, 厦门亿辰科技有限公司; 可见分光光度计, 上海精科实业有限公司; 冷冻离心机, Sigma-Aldrich 公司。

1.2 耐盐 PGPR 的筛选

取 10 g 供试土壤加入装有 100 mL 无菌水的锥形瓶中, 振荡混匀 20 min, 然后将土壤混合液按 10 倍系列进行稀释, 浓度梯度为 10⁻³。吸取 100 μL 菌悬液涂布于 10%氯化钠的 LB 固体培养基上^[37], 30 °C 培养 48–96 h, 挑取菌落形态较为良好的单菌落于培养基上划线纯化数次, 观察培养基上菌落形态, 镜检进行确认, 用于筛选耐盐 PGPR。

1.3 PGPR 的盐耐受性测定

将生长优势较为良好的菌株按照体积分数为 5%的接种量分别接种到 NaCl 浓度梯度为 50、100、150、200 g/L 的 LB 培养基中, 37 °C、200 r/min 培养 36 h, 并测定其 OD₆₀₀ 值^[5]。

1.4 PGPR 的降碱能力检测

将盐耐受性较良好的 PGPR, 在 pH 9.0、氯化钠浓度为 100 g/L 的 LB 培养基上进行划线, 其他条件不变, 30 °C 培养 5 d, 以是否长出菌株判断该菌株的耐盐碱程度。将平板生长情况较好的菌株以 5%的接种量接入到 pH 9.0 的 LB 液体培养基中, 每隔 12 h 观察菌株 pH 值的变化情况, 并计算菌株的降碱率^[37]。

1.5 盐胁迫下 PGPR 生理活性的检测

将筛选的耐盐碱 PGPR 以接种量为 5%接入产 EPS 菌株发酵培养基中, 30 °C 恒温培养 3 d。

之后取 10 mL 发酵液 4 000 r/min 离心 15 min, 菌体烘干称重。上清液中加入 3 倍体积 95%乙醇, 4 °C 过夜, 10 000 r/min 离心 15 min, 沉淀烘干称重, 计算该菌株的 EPS 产量^[37]。

采用 Salkowski 比色法测定^[42]在 10%氯化钠的高盐情况下菌株产 IAA 的能力。配制不同浓度的吲哚乙酸标准溶液, 加入等体积 Salkowski 显色试剂, 避光处静置 30 min 后测定 530 nm 的吸光值。菌株发酵液 10 000 r/min 离心 10 min 取上清液^[10], 加入等体积 Salkowski 显色试剂混合, 避光处静置 30 min 后测定 OD_{530} 值, 计算各菌株相应的 IAA 浓度。

1.6 耐盐碱 PGPR 的相容性检测和菌种鉴定

根据菌株促生活性测定结果, 选择具有较高的单一活性或多种活性的 4 个菌株, 采用平板拮抗法检测供试菌株之间的拮抗反应^[10]。4 个菌株分别设置为指示菌和测试菌, 取灭菌滤纸片间隔一定距离放置在涂有指示菌的平板上, 将测试菌液点接至滤纸片上, 30 °C 培养 48 h, 观察有无抑菌圈, 依次记录不同菌株间的拮抗结果^[30]。选择互不拮抗的菌株, 按照 16S rRNA 基因序列分析的方法进行鉴定^[37]。利用 PCR 扩增 16S rRNA 基因序列, 引物为细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGC TCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTGTTACG ACTT-3')。PCR 反应体系(50 μ L): *Taq* 酶(5 U/ μ L) 7.0 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 1.5 μ L, DNA 模板 1.0 μ L, ddH₂O 39.0 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min 30 s, 35 个循环; 72 °C 终延伸 7 min。PCR 产物经上海赛恒生物科技有限公司测序后, 将所得的 16S rRNA 基因序列与 EzBioCloud 数据库 (<https://www.ezbiocloud.net>) 典型种比对获得相似性信息, 最

后利用软件 MEGA 6.0 分析并用邻连法 (neighbor-joining method) 构建系统发育树, 选用 bootstrap (1 000 次重复) 法检验发育树, 分析其系统发育地位, 确定其所在属种, 进行种群多样性分析。

1.7 盐胁迫下 PGPR 复合菌群的促生效果

1.7.1 复合菌群的构建

根据菌株拮抗反应测定结果, 选择互不拮抗的 3 个菌株, 以每 2 株菌为一个组合^[30], 按相同体积比混匀后, 再按照 5% 的总接种量接种混合菌液至 LB 培养液中, 30 °C、180 r/min 培养 48 h。实验组: 复合菌群 SL-1/SM-1 (简称 AB)、SL-1/SH-3 (简称 AC) 和 SM-1/SH-3 (简称 BC), 以及单菌 SL-1、SM-1、SH-3; 对照组: CK。

1.7.2 种子处理

挑选大小一致、颗粒饱满的绿豆种子, 用 75% 的乙醇浸泡 3 min, 然后清洗 3 次, 去除种子上残留的乙醇^[37]。

1.7.3 绿豆种子萌发实验

室温下, 将灭菌的绿豆种子浸泡于菌株悬浮液中 1 h^[37]。每组 30 粒绿豆种子作为一个平行, 重复 3 次, 使其在不同 NaCl 浓度(5、10、15、20、25 g/L) 的盐胁迫环境下, 置于无菌滤纸培养皿中, 30 °C 恒温暗培养 4 d, 测定种子发芽率、根长、简化活力指数和相对盐害率^[43]。

1.8 数据处理

采用 Excel 和 SPSS 19.0 软件进行数据处理和方差分析, MEGA 6.0 构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 耐盐 PGPR 的筛选

从不同土壤环境中筛选分离出的耐盐菌总数具有明显的区别。如图 1 所示, 以克为单位的盐碱环境土壤的耐盐菌数量和种类普遍高于

非盐碱环境土壤。从耐盐菌数量上看, 其中样本 SL 最多, 高达 1.78×10^6 CFU/g, 其次 SH 达到 7.83×10^5 CFU/g, 而样本 IS 仅为 3.4×10^5 CFU/g (图 1A)。从种类上看, 盐碱环境土壤随着盐浓度增大耐盐菌种类减少, $SL > SM > SH$ (图 1B), 耐盐菌大多为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)和盐单胞菌属(*Halomonas*)等。

2.2 PGPR 的盐耐受性能力

菌株的 OD_{600} 值因随着盐浓度的增加受到抑制而下降, 说明可溶性盐浓度的升高对菌株的生长有一定程度的约束作用。 OD_{600} 值的大小表示菌株在该盐浓度条件下的生长状况, OD_{600} 值越高, 菌株生长状况越良好, 也反映出菌株的盐耐受性能力的高低^[30]。

从不同土壤环境中筛选分离出的菌株的耐盐能力不同。4 份样本 IS、SL、SM 和 SH 的 15 株耐盐菌株测定结果如图 2 所示, 盐碱环境土壤优势菌株的耐盐能力普遍高于非盐碱环境土壤。

15 株菌株在 NaCl 浓度小于 50 g/L 时, 其生长繁殖速度均显著高于无盐培养基, 表明这

些菌株都具有一定的嗜盐功能^[35]; NaCl 浓度为 50 g/L 的培养条件下, 非盐碱环境土壤和盐碱环境土壤耐盐菌无明显差异($P > 0.05$), 其繁殖和生长速度均较快(图 2A)。当盐浓度高于 50 g/L 时, 菌株生长受到一定程度的限制^[35], 繁殖速度趋缓(图 2B–2D); NaCl 浓度 100 g/L 时, $OD_{600} > 0.8$ 的菌株有 5 株(图 2C), 盐碱环境土壤耐盐菌占 80%, 其中 SH-1 和 SM-2 生长速度最快, 其次 SL-1、SM-4 和 SL-5, 非盐碱环境土壤耐盐菌生长速度明显低于盐碱环境土壤耐盐菌($P < 0.05$); 至 NaCl 浓度 150 g/L 时, 大部分菌株生长受到限制 OD_{600} 值降至 0.1 以下, 非盐碱环境土壤中优势菌生长明显受到抑制(OD_{600} 在 0.001–0.044 范围), 盐碱环境土壤 $OD_{600} > 0.3$ 有 SL-1、SM-1 和 SH-3, 盐碱环境土壤最优菌生长速度, 比非盐碱环境土壤中的最优菌高出 10 倍以上; 至 NaCl 浓度 200 g/L 时, 只有菌株 SL-1 仍能存活并缓慢生长(图 2B), 因此 SL-1 在 NaCl 含量为 50–150 g/L 的培养基上可正常生长, 且能耐受 NaCl 含量 200 g/L 的环境。根据 Gadda 等^[44]将耐盐微生物分为 4 类: 非嗜盐菌、轻度嗜盐菌、中度嗜盐菌、极端嗜盐菌, NaCl 浓度 100 g/L 时有 15 株菌生长,

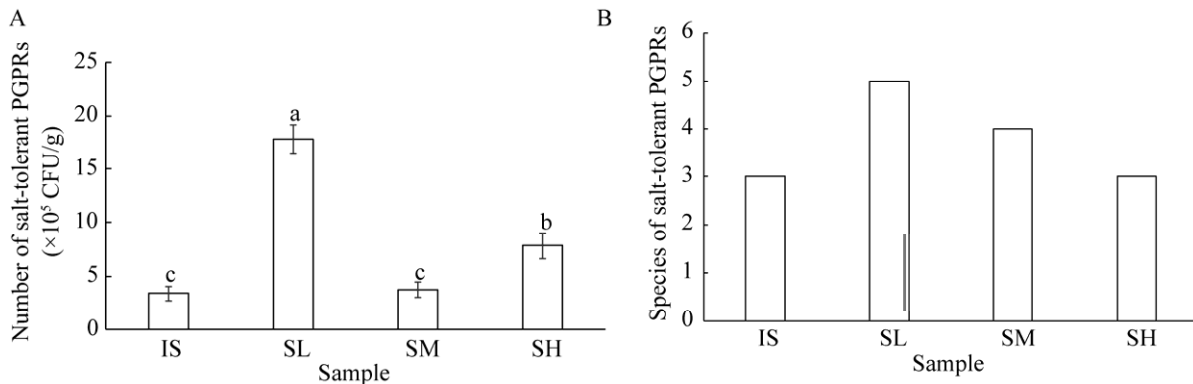


图 1 不同土壤环境的耐盐菌数量和种类

Figure 1 Number and species of salt-tolerant bacteria in different soil environments. A: Number of salt-tolerant bacteria in different soil environments; B: Species of salt-tolerant bacteria in different soil environments. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference for the same index among different samples ($P < 0.05$).

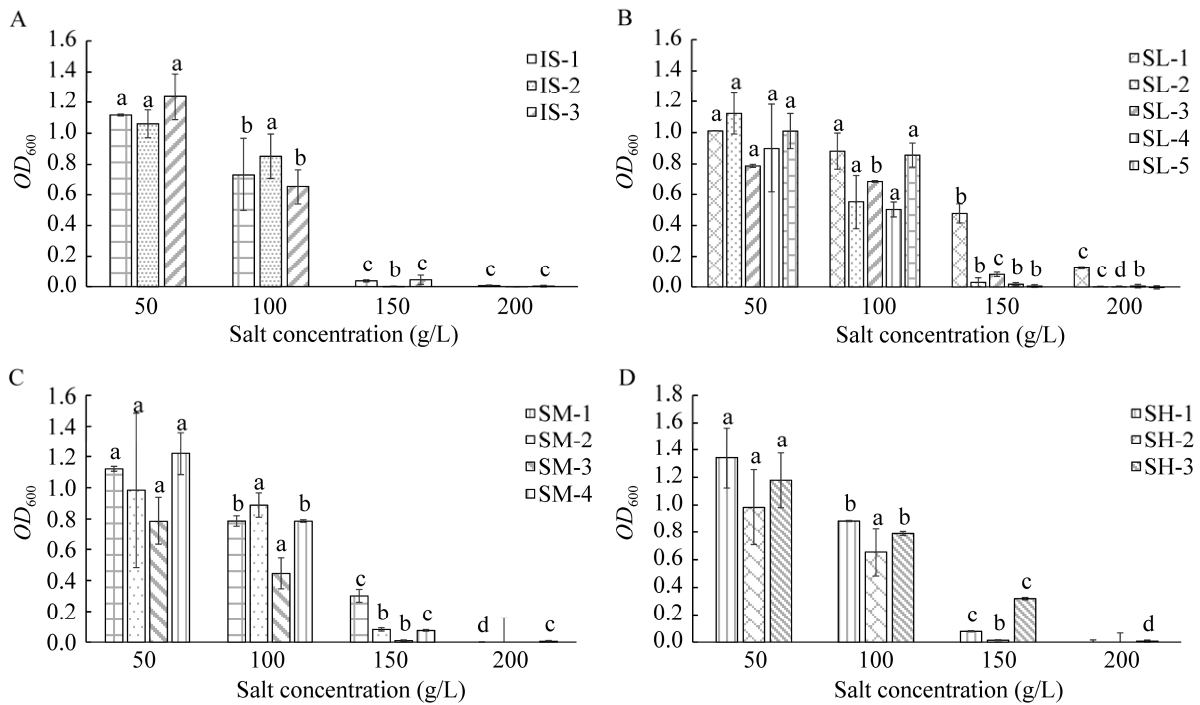


图2 PGPR的盐耐受性能力

Figure 2 Salt tolerance capacity of PGPR. A: Sample IS; B: Sample SL; C: Sample SM; D: Sample SH. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference among the different concentrations of salt ($P < 0.05$).

属于中度嗜盐菌；NaCl 浓度 200 g/L 时，仅菌株 SL-1 可以生长，因此菌株 SL-1 属于极端嗜盐菌。

综上所述，非盐碱环境土壤中优势菌的盐耐受性能力显著低于盐碱环境土壤，其中 SL-1、SM-1、SM-2 和 SH-3 的盐耐受性较好，且耐盐程度依次为 SL-1>SH-3>SM-1>SM-2。因此，选择这 4 个耐盐菌株进行生理活性检测和绿豆种子萌发试验。

2.3 PGPR 的降碱能力

根据微生物的耐碱程度进行分类^[45]，SL-1、SM-1、SM-2 和 SH-3 这 4 株菌均可在 pH 9.0 的固体培养基上正常生长，属于耐碱微生物；且这 4 株耐盐菌的降碱率均达到 15.00% 以上，其中菌株 SH-3 的降碱率最高为 16.83% (图 3)，显著高于赵媛等^[46]对青海湖耐盐菌株的降碱率

(7.60%) 的研究成果，降碱能力较强，可以有效地降低土壤 pH、间接增加土壤生态系统的生物多样性^[37]，开发利用盐碱地和减轻盐碱地的危害。

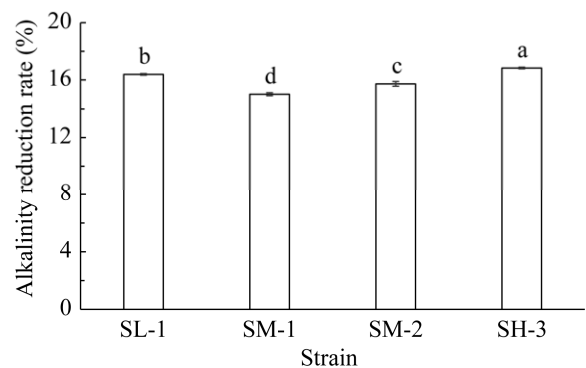


图3 PGPR的降碱能力

Figure 3 The alkalinity reduction ability of PGPR. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference for the same index among different strains ($P < 0.05$).

2.4 盐胁迫对 PGPR 生理活性的影响

2.4.1 盐胁迫对 EPS 含量的影响

耐盐碱 PGPR 产生的 EPS, 利用其含有的羧基、巯基和羟基等官能团, 能够吸附环境中的金属离子; 同时与土壤中的 Na^+ 和 K^+ 结合以减轻盐离子积累的危害程度, 还能通过范德华力与土壤胶体相结合形成土壤团聚体, 从而抵抗盐离子对植物的毒害作用^[33,37]。如图 4 所示, 菌株 SL-1、SM-1、SM-2 和 SH-3 均可以产生 EPS, 能力大小为 SH-3>SM-1>SM-2>SL-1。其中菌株 SH-3 产 EPS 能力最高, 达到 0.47 g/g, 是菌株 SL-1 产 EPS 含量的 5 倍。

2.4.2 盐胁迫对 IAA 含量的影响

IAA 是一种常见的具有促生长作用的植物激素, 有促进植物细胞分裂、植物生长和调节种子萌发的作用^[47]。盐分对植物合成 IAA 有抑制作用, 当外界环境盐浓度增加时, 植物因受到盐胁迫导致内源 IAA 含量减少, 而通过耐盐菌株产生的外源 IAA 可以刺激植物产生 IAA, 以促进植物生长^[48-50]。

菌株 IAA 的产量结果如图 5 所示, 在高盐情况下, 4 株耐盐碱 PGPR 均可产生 IAA^[37],

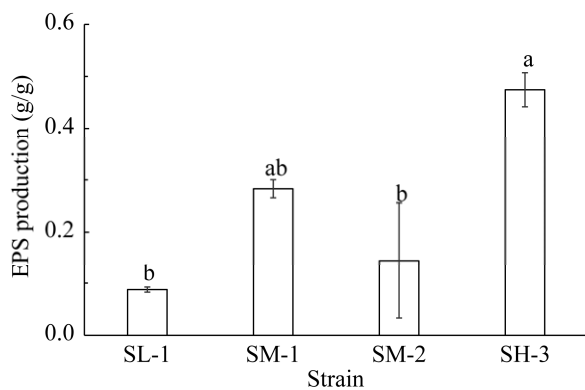


图 4 盐胁迫对 EPS 含量的影响

Figure 4 Effect on EPS production by PGPR under salt stress. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference for the same index among different strains ($P<0.05$).

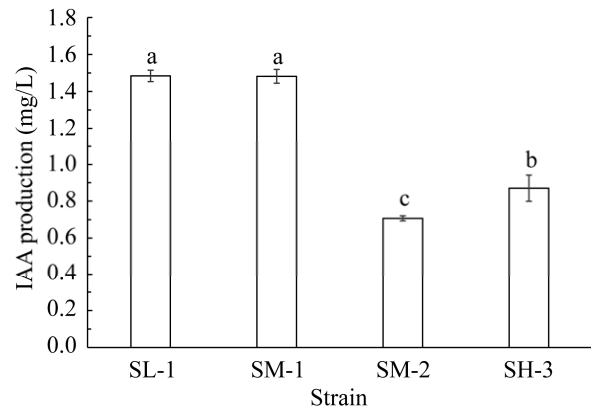


图 5 盐胁迫对 IAA 含量的影响

Figure 5 Effect on IAA production by PGPR under salt stress. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference for the same index among different strains ($P<0.05$).

能力大小为 SL-1=SM-1>SH-3>SM-2, 其中菌株 SL-1 和 SM-1 产 IAA 的能力最强, 均为 1.48 mg/L, 而 SM-2 和 SH-3 产 IAA 能力较弱, 含量在 0.70–0.90 mg/L 之间。

2.5 耐盐碱 PGPR 的相容性检测和菌种鉴定

菌株间的相容性主要通过拮抗反应检测, 实验的主要表现为菌体细胞是否具有亲和性。根据相容性结果, 挑选优势菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3 进行菌落形态、生理活性、革兰氏染色和 16S rRNA 基因鉴定, 并构建复合菌群 PGPR, 用以进一步研究盐碱胁迫条件下 PGPR 对绿豆种子萌发的影响。其菌落形态以及生长情况见表 1。

结合菌株生理生化特征(表 2)、革兰氏染色和 16S rRNA 基因序列分析对菌株进行鉴定。SL-1、SM-1 和 SH-3 的 16S rRNA 基因序列与 EzBioCloud 数据库中的核酸序列数据进行对比分析, 并构建系统发育树^[37]。由图 6 可知, SL-1、SM-1 和 SH-3 分别与副蕈状芽孢杆菌(*Bacillus paramycoides*, GenBank 登录号: NR_157734.1)、

近霍氏肠杆菌(*Enterobacter quasihormaechei*, GenBank 登录号: NR_180451.1)、副蕈状芽孢杆菌(*B. paramycoides*, GenBank 登录号: NR_157734.1)有着最高的同源性,相似性分别为 99.93%、99.52%和 99.59%,因此可以判定菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3 分别为副蕈状芽孢杆菌(*B. paramycoides*)、近霍氏肠杆菌(*E. quasihormaechei*)和副蕈状芽孢杆菌(*B. paramycoides*)。

2.6 盐胁迫下 PGPR 复合菌群的促生效果

盐胁迫对种子萌发的影响程度与盐的浓度及植物自身的耐盐能力有关,而根长(root length, RL)、发芽率(germination rate, GR)、简化活力指数(simplified vigor index, SVI)和相对盐害率(relative salt injury rate, RI)为绿豆种子耐盐性评价的重要指标。不同浓度盐胁迫下 PGPR 及其复合菌群对绿豆种子各项指标 RL、GR、SVI 和 RI 的影响不同。

表 1 菌落形态

Table 1 Colony morphology

Strain	Colony morphology	Growth situation
SL-1	Round, white, opaque, convex colonies, neat edge, moist, smooth and shiny surface	++
SM-1	Flat, yellow, round, opaque colonies, neat edge, smooth and shiny surface	+
SH-3	Yellow, round, opaque, flat colonies, neat edge, moist surface	+

+: Colony diameter<0.5 mm; ++: 0.5 mm<Colony diameter<2 mm; +++: Colony diameter>2 mm^[37].

表 2 菌株生理活性

Table 2 Physiological activity of strains

Strain	Gram staining	Indole test	Methyl red test	Starch hydrolysis test	Cellulase hydrolysis test	Deconerating potassium test
SL-1	+	+	+	-	-	-
SM-1	-	-	-	-	-	-
SH-3	+	+	+	+	-	-

+: Positive. -: Negative.

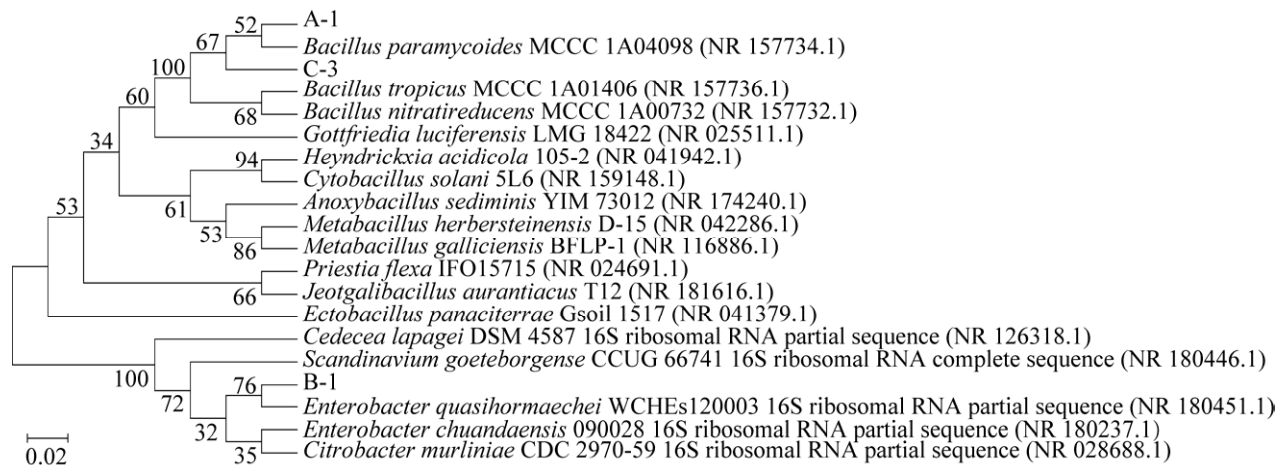


图 6 PGPR 的系统发育树

Figure 6 Phylogenetic tree of PGPR. The phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method; The bootstrap value was set to 1 000 and shown at the node; Numbers in parentheses are GenBank accession numbers. A-1, B-2 and C-3 represent SL-1, SM-1, and SH-3, respectively.

2.6.1 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 GR 的影响

如图 7 所示, 随着盐浓度增加, 对照组和实验组的 GR 同时呈现降低的趋势, 且具有显著性差异($P<0.05$); 但对照组的 GR 下降幅度比实验组大, 对照组在 15 g/L 盐浓度时出现剧烈下降, 而对照组在 20 g/L 盐浓度时出现剧烈下降。在盐胁迫(盐浓度 $>0.5\%$)下, 实验组的 GR 均高于对照组, 并且不同 PGPR 及其复合菌群实验组随着盐浓度 GR 呈现不同变化趋势。NaCl 浓度为 5 g/L 时, 对照组和实验组的 GR 无显著差异。NaCl 浓度为 5–10 g/L 时, 单一菌的 GR (大于 87%) 高于复合菌群(大于 77%); 与对照组相比, 最优单一菌 SM-1 的 GR 提高 24%, 而最优复合菌群 AC 的 GR 则提高 18%。NaCl 浓度为 15 g/L 时, 复合菌群的 GR (64%–77%) 高于单一菌(30%–55%); 与对照组相比, 最优复合菌群 AB 的 GR 提高 316%, 而最优单一菌 SL-1 的 GR 则提高 197%。NaCl 浓度为 20 g/L 时, 单一菌的 GR (15%–19%) 高于复合菌群

(10%–17%); 与对照组相比, 最优单一菌 SH-3 的 GR 提高 118%, 而最优复合菌群 AC 的 GR 则提高 94%。NaCl 浓度为 25 g/L 时, 绿豆种子的 GR 显著降低, 但实验组的 GR (小于 15%) 明显高于对照组(3%), 复合菌群的 GR 高于单一菌。这与殷丽丽等^[40]的研究结果相一致, 当盐浓度在 5 g/L 时不会影响种子的萌发, 而当盐浓度达到 10 g/L, 种子的萌发率才会开始显著下降。因此, 经过 PGPR 及其复合菌群处理的绿豆种子的 GR 值明显高于无菌剂处理组, 这说明 GPRs 及其复合菌群在盐胁迫条件下对绿豆种子的萌发具有促进作用; 而与单一菌相比, 复合菌群在适合条件下(15 g/L 盐浓度)对绿豆种子的促进作用则更显著, 说明这 2 株细菌在促进绿豆种子发芽中具有协同作用。

2.6.2 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 SVI 的影响

简化活力指数 SVI 是反映种子萌发速率和生长量的综合值, SVI 的值高则表示种子生长活力旺盛, 因此可通过检测种子的 SVI 值间

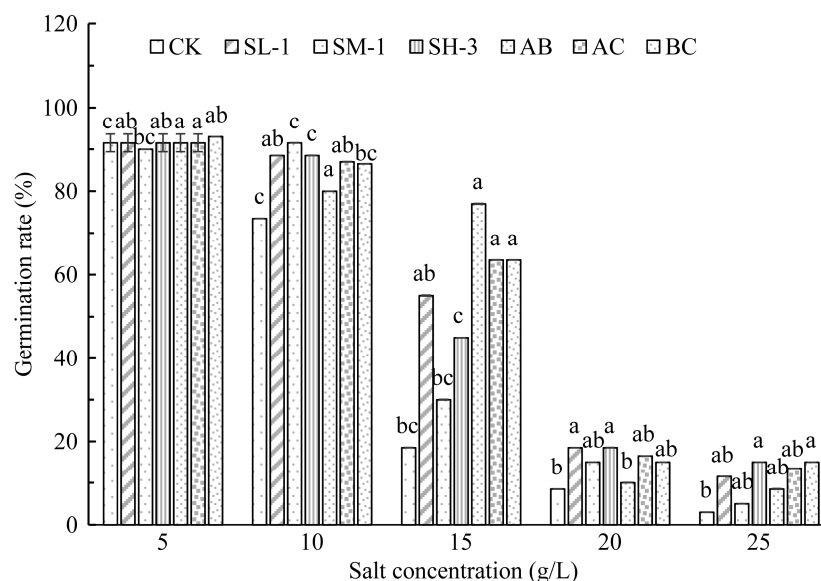


图 7 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 GR 的影响

Figure 7 Effect of PGPR consortium on GR of mung bean seeds under salt stress. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference among the different concentrations of salt ($P<0.05$).

接测定种子生活力的变化^[51]。如图 8 所示, 随着盐浓度增加, 对照组和实验组的 SVI 同时呈现降低的趋势, 且具有显著性差异($P<0.05$); 但对照组的 SVI 下降幅度比实验组大, 对照组在 15 g/L 盐浓度时显著降低, 而对照组在 20 g/L 盐浓度时显著降低。在盐胁迫下, 实验组的 SVI 均高于对照组, 并且复合菌群的 SVI 大多高于单一菌。在同一盐浓度条件下, 不同 PGPR 及其复合菌群实验组 SVI 呈现不同变化趋势。

NaCl 浓度为 5 g/L 时, SVI 在 1.38–2.75 之间, 与对照组相比, 最优复合菌群 AC 的 SVI 则提高 100%, 而最优单一菌 SH-3 的 SVI 提高 76%; NaCl 浓度为 10 g/L 时, SVI 出现下降的现象(0.81–1.49), 与对照组相比, 最优复合菌群 AB 的 SVI 则提高 85%, 而最优单一菌 SL-1 的 SVI 提高 75%; NaCl 浓度为 15 g/L 时, 对照组 SVI 显著下降至 0.12, 复合菌群的 SVI (0.63–0.87) 显著高于单一菌(0.19–0.53), 与对照组相比, 最优复合菌群 AB 的 SVI 则提高 648%, 而最优单一菌 SL-1 的 SVI 提高 342%; NaCl 浓度为 25 g/L 时, 实验组的 SVI 在 0.04–0.06

之间, 而对照组的 SVI 值仅达到 0.004。这与已有的一些研究结果相一致, 刘波等^[52]和吴娟丽^[53]在绿豆实验中均发现使用复合菌剂处理的绿豆种子的活力指数要比使用单一菌剂处理的绿豆种子高。在本研究中, 经过 PGPR 及其复合菌群处理的绿豆种子的 GR 值明显高于无菌剂处理组, 复合菌群 AB、AC 的 SVI 相较于单一菌显著地提高, 说明复合菌群在盐胁迫条件下对绿豆种子的萌发具有促进作用, 可作为盐碱地区作物耐盐菌剂的利用资源。

2.6.3 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 RL 和 RI 的影响

如图 9 所示, 当 NaCl 浓度为 10 g/L 时, 与 CK 组相比, 实验组绿豆种子的 RL 均提高, 相对盐害率均降低, CK 组 RL 为 1.10, 相对盐害率为 22.63%, 而实验组相对盐害率为 3.68%–15.79%; 当 NaCl 浓度升至 15 g/L 时, CK 组绿豆种子的各项活力指标极显著下降, 相对盐害率上升至 80.53%, 而复合菌群组显著提高绿豆种子的 RL 指标, 相对盐害率为 18.95%–33.16%。

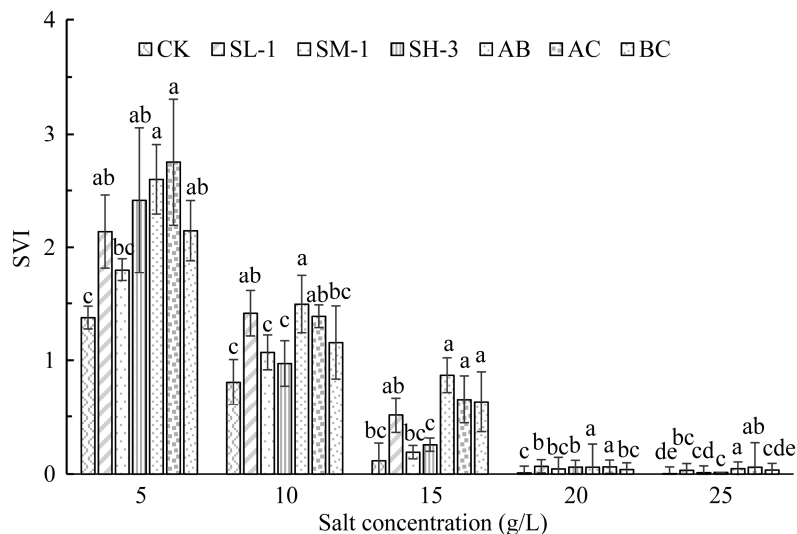


图 8 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 SVI 的影响

Figure 8 Effect of PGPR consortium on SVI of mung bean seeds under salt stress. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference among the different concentrations of salt ($P<0.05$).

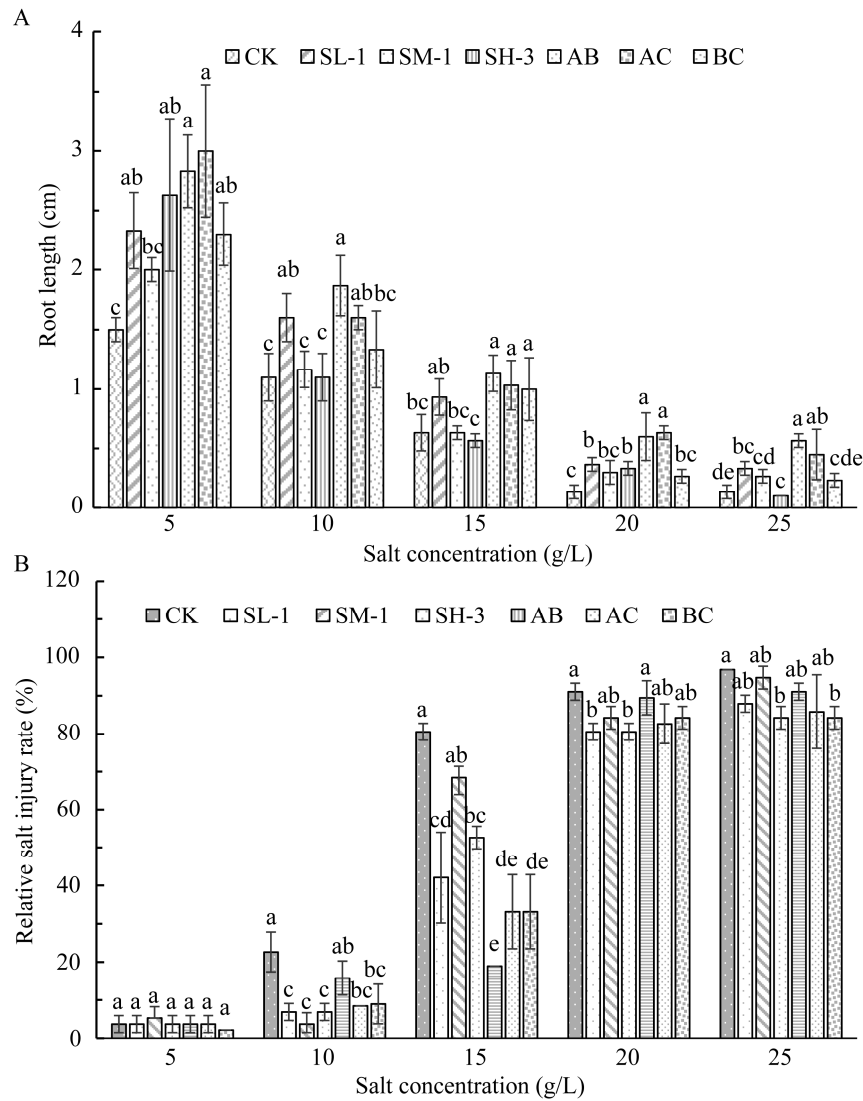


图 9 盐胁迫下 PGPR 复合菌群对绿豆种子 RL 和 RI 的影响

Figure 9 Effect of PGPR consortium on RL and RI of mung bean seeds under salt stress. A: Effect of PGPR consortium on RL of mung bean seeds under salt stress; B: Effect of PGPR consortium on RI of mung bean seeds under salt stress. Different lowercase letters above bars indicate the significant difference among the different concentrations of salt ($P < 0.05$).

盐胁迫对种子萌发的影响程度与盐的浓度及植物自身的耐盐能力有关，而 RL、GR、SVI 和相对盐害率作为绿豆种子耐盐性评价的重要指标，本研究探讨了耐盐碱 PGPR 对不同 NaCl 浓度下绿豆种子萌发和耐盐特性的影响。研究表明，不同 NaCl 浓度均有抑制绿豆种子萌发作用，随 NaCl 浓度的增加，种子萌发的各项

指标(RL、GR 和 SVI)呈下降趋势，相对盐害率呈上升趋势，各处理间差异显著，这与殷丽等^[40]盐胁迫对绿豆种子萌发的影响结果一致。绿豆种子自身对盐胁迫有一定的耐受性，CK 组当盐浓度达到 15 g/L 时，种子的发芽率仅为 18.5%，远低于种子正常发芽率 50.0%的阈值，因此，NaCl 浓度 10 g/L 可以看作是维持绿豆种

子正常萌发的耐盐阈值^[29]。实验组除菌株 SM-1 和 SH-3 外, 复合菌群和菌株 SL-1 均提高了绿豆种子萌发的耐盐阈值, 其值为 15 g/L NaCl 浓度。实验组 PGPR 及其复合菌群处理的绿豆种子的 RL、GR 和 SVI 值各项活力指标明显高于 CK 组, 这说明 PGPR 及其复合菌群在盐胁迫条件下对绿豆种子的萌发具有促进作用; 而与单一 PGPR 相比, 复合菌群对绿豆种子的促进作用则更显著, 说明复合菌群各菌株在促进绿豆种子发芽中具有协同作用。种子萌发活力指标中, GR 反映了萌发程度, SVI 反映了整齐度, 本研究发现种子萌发时 GR 和 SVI 越高, 根长越长, 种子萌发越整齐, 发芽的速度越快, 对盐胁迫的耐受性就越强。

2.6.4 耐盐碱 PGPR 产 IAA、EPS 能力与促生作用相关性

通过双变量相关性分析耐盐碱 PGPR 产 IAA、EPS 能力与绿豆种子耐盐促生作用相关性, 主要比较绿豆种子的 4 个耐盐促生指标 RL、GR、SVI 和 RI。如表 3 所示, 盐胁迫下, 复合菌群 AC 产 IAA 活性与 RL、GR 和 SVI 呈正相关, 不仅与 RL、SVI 呈正相关关系(相关系数分别为 0.999 和 0.993), 还达到极显著水平($P<0.01$), 而 IAA 活性与相对盐害率之间呈极显著的负相关关系(相关系数为 -0.997 , $P<0.01$), 表明 IAA 活性的增强直接促进绿豆种子根长增长, 种子萌发整齐、发芽速度加快, 却抑制了相对盐害率。由表 4 可见, 盐胁迫下

表 3 盐胁迫下复合菌群 AC 产 IAA、EPS 能力与绿豆种子萌发指标相关性

Table 3 The correlation between capacity of IAA and EPS by consortium AC and seed germination index under salt stress

AC	EPS	IAA	GR	RL	SVI	RI
EPS	1.000					
IAA	-0.960*	1.000				
GR	-0.707	0.615	1.000			
RL	-0.965*	0.999**	0.604	1.000		
SVI	-0.981*	0.993**	0.690	0.993**	1.000	
RI	0.950	-0.997**	-0.652	-0.993**	-0.992**	1.000

*: 相关性显著($P<0.05$); **: 相关性极显著($P<0.01$)。

* is significant ($P<0.05$); ** is extremely significant ($P<0.01$).

表 4 盐胁迫下复合菌群 BC 产 IAA、EPS 能力与绿豆种子萌发指标相关性

Table 4 The correlation between capacity of IAA and EPS by consortium BC and seed germination index under salt stress

BC	EPS	IAA	GR	RL	SVI	RI
EPS	1.000					
IAA	0.764	1.000				
GR	0.742	-0.931	1.000			
RL	-0.991**	0.840	-0.823	1.000		
SVI	0.327	-0.859	0.791	-0.447	1.000	
RI	-0.754	0.999**	-0.947	0.833	-0.867	1.000

*: 相关性显著($P<0.05$); **: 相关性极显著($P<0.01$)。

* is significant ($P<0.05$); ** is extremely significant ($P<0.01$).

复合菌群 BC 产 EPS 活性与绿豆种子指标 GR 和 SVI 呈正相关关系, 与 GR 相关性较强(相关系数为 0.742)而 SVI 弱相关(相关系数为 0.327), 而 IAA 活性与 RL 之间呈正相关关系(相关系数为 0.840), 表明 EPS 和 IAA 活性之间呈较强的正相关关系(相关系数为 0.764), 共同促进盐胁迫下绿豆种子的耐受性。研究显示, 产 EPS 的菌株可以显著提高植物的盐耐受性^[54], 而 Khan 等^[55]则发现产 IAA 的菌株有助于作物的生长发育。因此同样具备产 EPS 和 IAA 能力的耐盐菌株对盐胁迫条件下作物的萌发和生长发育起着不可或缺的作用。

3 讨论与结论

滨海盐碱土高盐胁迫不仅严重影响植物生长发育^[37], 而且导致土壤微生物数量和活性低, 土壤有机质分解转化速率慢, 土壤中氮磷钾等养分循环能力差^[56]。PGPR 在促进重要农作物生长以及应对环境胁迫方面具有积极意义^[57]。相关研究多集中在盐碱地耐盐 PGPR 筛选、促生或生防功能上, 如江苏如东盐碱土、大庆地区盐碱土、海南三沙珊瑚岛盐碱土等^[35,40,58], 而有关盐碱植物根际土中的 PGPR 研究还较少^[5,30]。滨海盐土中盐度较高, 导致土壤渗透压升高, 而耐盐植物海水稻可以降低土壤 pH, 极大地提高了根际微生物的数量和活性, 可以很好地适应海滨盐碱区的盐碱环境, 可能与适应环境建立的根际微生物有联系, 鉴于此, 可针对不同的耐盐机制制定并采用多样化的耐盐策略^[59-60]。目前尚未有关于从盐生植物海水稻根际土壤分离促生菌的研究。本研究以滨海盐碱地海水稻根际土壤为研究对象, 筛选出 15 株中度嗜盐菌, 其中菌株 SL-1 属于极端嗜盐菌, 4 株属于耐碱微生物, 因其特殊生境, 在这种生境下轻度嗜盐菌、中度嗜盐菌与耐碱微生物大量生长, 成为

优势种群类型, 而非嗜盐菌、极端嗜盐菌与嗜碱微生物相对较少。因此本研究分离的 4 个菌株 SL-1、SM-1、SM-2 和 SH-3 具有嗜盐兼耐碱的特性, 与赵媛等^[46]研究结果一致。

在微生物资源的研究工作中, 一个新的热点是植物根际促生细菌, 这类细菌存在于植物根圈范围内, 在代谢过程中能产生促进植物生长的物质。目前从盐碱地中筛选得到耐盐碱 PGPR 大多为芽孢杆菌属(*Bacillus*)^[61-62]、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)^[37]和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等^[37]。其中芽孢杆菌属中分离到多种中度嗜盐嗜碱菌, 说明芽孢杆菌属存在大量能适应盐碱环境的微生物类群, 同时能解磷解钾、分解有机物、抗病防病、促进植物生长等, 是具有开发利用价值的微生物资源。近几年, 肠杆菌属的一些菌种逐渐被发现具有促进植物生长的作用, 虽然大多数被发现于普通农作物与经济作物根际, 但也可以耐受不同盐浓度^[5], 如土壤肠杆菌(*Enterobacter soli*) N102 耐盐性达 15%。然而尚未有报道提及副蕈状芽孢杆菌(*B. paramycooides*)和近霍氏肠杆菌(*E. quasihormaechei*)可作为耐盐碱 PGPR。在本研究中, 首先按菌株是否能够在耐盐碱培养基生长的筛选策略从土壤中分离了 15 株 PGPR, 根据降碱性能进行表征, 并检测这些菌株的促生能力, 如产 IAA 和 EPS 能力。耐盐碱 PGPR 菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3, 被鉴定为芽孢杆菌属(*Bacillus*)和肠杆菌属(*Enterobacter*), 既属于嗜盐耐碱微生物, 又属于降盐碱微生物。以往所报道的海水稻微生物多集中于多样性分析及生长特性研究方面, 但既表现嗜盐(200 g/L)耐碱(pH 12.0)降盐碱(16.83%), 又表现出优良的产酸、淀粉水解、产 EPS (0.47 g/g)和 IAA (1.48 mg/L)的耐盐碱 PGPR 暂时未见报道。与

其他耐盐促生菌相比,耐盐碱 PGPR 菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3 不仅能够耐受高盐环境(固氮细菌 DJ-1 耐盐性达 15%^[35]),也可在高碱环境下生存(海水盐单胞菌 DB01 降碱能力为 8.7%^[37]),能够在高盐环境下分泌 IAA (海水盐单胞菌 DB01 产 IAA 能力为 8.97 mg/L^[37]),通过刺激内源 IAA 和抗氧化酶的产生增加植物对高盐环境的耐受能力,还可以定殖在植物根系,通过产生的 EPS 结合钠离子来减少钠离子在作物体内的累积(海水盐单胞菌 DB01 产 EPS 能力为 0.21 g/g^[37]),还可以增加根系周边的营养来促进作物的生长,同时具有淀粉酶的产生能力,表明其有望成为生防耐盐促生菌的潜力。

利用耐盐碱 PGPR 促进植物根系的生长,减缓盐胁迫对植物的不利影响,进而达到改善盐碱地的目的^[37]。盐碱地易形成土壤板结,造成土壤的透气性差,而耐盐碱菌在生长过程中会向外界分泌一些高分子聚合物 EPS,如包括胞外多糖、多肽类物质,还有脂质、熊果酸等无机成分^[31]。高盐环境导致植物体渗透压升高,可溶性糖等作为有机渗透调节物质以及营养物质,对生物膜及其蛋白质起到保护作用^[63]。EPS 能通过范德华力和静电引力增加土壤的透气性、透水能力,有效改善植物生长环境和促进植物生长^[33];还可通过自身某些基团与盐碱土中的 Na⁺和 K⁺结合,减少盐离子对作物的毒害作用;也可于种子表面产生一层生物膜^[46],锁住种子水分,提高种子发芽率^[34]。研究表明,在鹰嘴豆接种交替盐单胞菌和产色素的海洋细菌后,种子表面由于 EPS 的产生极大地提高了种子的发芽率^[34]。有研究显示 IAA 是 PGPR 促进植物逆境胁迫条件下生长的主要因素之一^[47],当外界盐碱浓度大时,植物的代谢活动受到抑制,内源 IAA 减少,此时耐盐碱 PGPR 分泌的 IAA 便可作为外源 IAA 促进植物生长;调节逆

境胁迫条件下种子萌发、根毛形成并增加根和芽发育速率等,从而使其适应盐胁迫;同时刺激植物体内源 IAA 合成并间接促进脯氨酸、抗氧化酶的合成,减少盐碱胁迫造成的活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累,同时也可降低乙烯释放量与丙二醛含量^[64]。Ali 等^[49]证实芽孢杆菌属、假单胞菌属等多种细菌可以提高植物内源性 IAA 含量和普通小麦生长的潜在能力。Grady 等^[18]证实 IAA 可直接影响植物的生长。同样地,Wagi 等^[50]也证实了能够产生 IAA 的 PGPR 可以通过有效地减轻所有的抑制性化合物和胁迫程度来更好地促进植物生长。本研究的结果表明,PGPR 能够在高盐环境下分泌 EPS 和 IAA,对种子萌发具有举足轻重的作用。

耐盐碱 PGPR 的耐盐促生机理主要涉及解钾、产 IAA、产 EPS 等,因此这些被认为是根际促生菌促进植物生长的可能机制^[40,65]。已有文献报道,耐盐碱 PGPR 可以促进盐胁迫下的植物生长,同时减轻盐胁迫对种子发芽、幼苗生长的有害影响^[5,50]。本研究的结果表明,菌株 SL-1、SM-1 和 SH-3 显著改善了盐胁迫下的绿豆种子萌发。通过耐盐碱 PGPR 产 IAA、EPS 能力与绿豆种子耐盐促生作用相关性分析,这种生长促进作用(即 RL、GR 和 SVI 增加)可能是由于 IAA 和 EPS 的合成能力。IAA 与 RL 和 SVI 呈极显著的正相关关系(相关系数分别为 0.999 和 0.993, $P < 0.01$),EPS 与 GR 和 SVI 呈正相关关系,因此同样具备产 EPS 和 IAA 能力的耐盐菌株在盐胁迫条件下共同促进作物的盐耐受性、种子萌发和生长发育。随着盐浓度的增加,绿豆种子的 RL、GR 和 SVI 都降低,可能归因于盐胁迫下大量离子积累破坏了细胞平衡导致种子失水、养分吸收和许多其他代谢功能受到干扰^[40]。在本研究中,通过对盐胁迫下耐盐碱 PGPR 产 IAA、EPS 能力指标间的互作

关系进行相关性分析发现, EPS 和 IAA 活性之间呈较强的正相关关系(相关系数为 0.764), EPS 活性可以显著提高植物的盐耐受性, 而 IAA 活性有助于作物的生长发育, 因此该菌株可以显著提高绿豆对盐浓度环境的耐受性, 显著提高绿豆的发芽率, 这与王艳宇等^[58]的研究结果相一致。耐盐碱 PGPR 的促生效果为不同菌株之间的组合和菌剂开发提供了依据, 并且复合菌群在盐渍化土壤改良中发挥了重要作用。周亚男等^[66]选取具有不同促生效果的 EM-1、HCH2-3 以及 FGD5-2 进行探究, 发现联合施加对烟苗的促生效果最明显; 郭彦钊等^[67]以产 IAA 等性能进行最优菌株组合, 探究玉米苗的促生效果, 研究发现组合菌株处理过的玉米苗显著高于其他组; 孙广正^[68]利用 PGPR 制成的复合菌肥可以显著促进油菜生长。因此, 合成菌群或者接种具有不同促生特性的耐盐菌是未来微生物菌剂开发的一个重要方向^[69]。本研究选取芽孢杆菌属和肠杆菌属构建了 PGPR 复合菌群, 种子萌发实验表明, PGPR 复合菌群效果优于单一菌, 与对照相比, 复合菌群在盐浓度为 15 g/L 时作用效果更显著, 提高各项指标(RL、GR 和 SVI), 相对盐害率从 80.53% 下降为 18.95%, 绿豆种子的耐盐阈值从 10 g/L 提高至 15 g/L, 说明复合菌群各菌株在促进绿豆种子发芽中具有协同作用, PGPR 及其复合菌群在盐胁迫条件下促生长作用显著。

综上所述, 本研究的结果与之前的研究结果一致, 即盐生植物是具有耐盐促生潜力的耐盐碱 PGPR 的重要来源。从海水稻根际土壤分离到的副蕈状芽孢杆菌(*B. paramycooides*) SL-1、SH-3 和近霍氏肠杆菌(*E. quasihormaechei*) SM-1 表现出多种促生耐盐性状, 因此可以改善盐胁迫下的种子萌发。这也验证了 PGPR 对植物的促生耐盐效果, 为合理开发 PGPR 菌种资源和改良盐碱土壤奠定了理论依据。

参考文献

- [1] 王遵亲. 中国盐渍土[M]. 北京: 科学出版社, 1993. WANG ZQ. Saline Soil in China[M]. Beijing: Science Press, 1993 (in Chinese).
- [2] 杨劲松. 中国盐渍土研究的发展历程与展望[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 837-845. YANG JS. Development and prospect of the research on salt-affected soils in China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(5): 837-845 (in Chinese).
- [3] LI JG, PU LJ, HAN MF, ZHU M, ZHANG RS, XIANG YZ. Soil salinization research in China: advances and prospects[J]. Journal of Geographical Sciences, 2014, 24(5): 943-960.
- [4] BUTCHER K, WICK AF, DeSUTTER T, CHATTERJEE A, HARMON J. Soil salinity: a threat to global food security[J]. Agronomy Journal, 2016, 108(6): 2189-2200.
- [5] 王艳霞, 解志红, 张蕾, 常大勇. 田菁根际促生菌的筛选及其促生耐盐效果[J]. 微生物学报, 2020, 60(5): 1023-1035. WANG YX, XIE ZH, ZHANG L, CHANG DY. Screening of plant growth promoting and salt tolerant rhizobacteria in *Sesbania cannabina*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(5): 1023-1035 (in Chinese).
- [6] ZHOU C, ZHU L, XIE Y, LI FY, XIAO X, MA ZY, WANG JF. *Bacillus licheniformis* SA03 confers increased saline-alkaline tolerance in *Chrysanthemum* plants by induction of abscisic acid accumulation[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1143.
- [7] MA Y, RAJKUMAR M, OLIVEIRA RS, ZHANG C, FREITAS H. Potential of plant beneficial bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of metal-contaminated saline soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 379: 120813.
- [8] SHAYGAN M, MULLIGAN D, BAUMGARTL T. The potential of remediation of soils affected by salt using *halophytes*[C]. EGU General Assembly Conference Abstracts, 2017, 18594.
- [9] 卢杰, 马丽娟, 罗春婷, 钟仪珊, 黄文善, 朱英芝. 复合微生物菌剂的筛选及促生效果的研究[J]. 现代农业研究, 2024, 30(1): 58-62. LU J, MA LJ, LUO CT, ZHONG YS, HUANG WS, ZHU YZ. Study on the screening and growth promoting effect of composite microbial agents[J]. Modern Agriculture Research, 2024, 30(1): 58-62 (in Chinese).
- [10] 田平雅. 耐盐植物根际细菌多样性研究及促生菌筛选和复合菌群构建[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2019. TIAN PY. Diversity of bacteria in rhizosphere of salt-tolerant plants, screening of growth-promoting bacteria and construction of compound flora[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2019 (in Chinese).
- [11] 丁绍武, 张鹏. 盐碱地改良研究现状及微生物菌肥应用分析[J]. 现代农业科技, 2019(7): 175-176. DING SW, ZHANG P. Research status of saline-alkali land improvement and application analysis of microbial fertilizer[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2019(7): 175-176 (in Chinese).

- [12] 王杰, 王计平, 杨秀艳, 武海雯, 支晓蓉, 张华新. 渤海湾河口三角洲盐碱地生态修复研究进展[J]. 世界林业研究, 2020, 33(4): 68-73.
WANG J, WANG JP, YANG XY, WU HW, ZHI XR, ZHANG HX. Research progress of ecological restoration of saline and alkaline land in estuary delta of Bohai Bay[J]. World Forestry Research, 2020, 33(4): 68-73 (in Chinese).
- [13] 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.
- [14] VESSEY JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers[J]. Plant and Soil, 2003, 255(2): 571-586.
- [15] YIN ZQ, WANG X, HU YJ, ZHANG JK, LI H, CUI YR, ZHAO DY, DONG XS, ZHANG XH, LIU K, DU BH, DING YQ, WANG CQ. *Metabacillus dongyingensis* sp. nov. is represented by the plant growth-promoting bacterium BY2G20 isolated from saline-alkaline soil and enhances the growth of *Zea mays* L. under salt stress[J]. mSystems, 2022, 7(2): e0142621.
- [16] 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.
- [17] FÜRNKRANZ M, ADAM E, MÜLLER H, GRUBE M, HUSS H, WINKLER J, BERG G. Promotion of growth, health and stress tolerance of Styrian oil pumpkins by bacterial endophytes[J]. European Journal of Plant Pathology, 2012, 134(3): 509-519.
- [18] GRADY EN, MacDONALD J, LIU LD, RICHMAN A, YUAN ZC. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review[J]. Microbial Cell Factories, 2016, 15(1): 203.
- [19] HE AL, NIU SQ, YANG D, REN W, ZHAO LY, SUN YY, MENG LS, ZHAO Q, PARÉ PW, ZHANG JL. Two PGPR strains from the rhizosphere of *Haloxylon ammodendron* promoted growth and enhanced drought tolerance of ryegrass[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 161: 74-85.
- [20] MAHANTY T, BHATTACHARJEE S, GOSWAMI M, BHATTACHARYYA P, DAS B, GHOSH A, TRIBEDI P. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2017, 24(4): 3315-3335.
- [21] RAMAKRISHNA W, RATHORE P, KUMARI R, YADAV R. Brown gold of marginal soil: plant growth promoting bacteria to overcome plant abiotic stress for agriculture, biofuels and carbon sequestration[J]. Science of the Total Environment, 2020, 711: 135062.
- [22] 刘奕嫩, 于洋, 方军. 盐碱胁迫及植物耐盐碱分子机制研究[J]. 土壤与作物, 2018, 7(2): 201-211.
LIU YM, YU Y, FANG J. Saline-alkali stress and molecular mechanism of saline-alkali tolerance in plants[J]. Soils and Crops, 2018, 7(2): 201-211 (in Chinese).
- [23] KUMAR A, VERMA JP. Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review?[J]. Microbiological Research, 2018, 207: 41-52.
- [24] 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.
- [25] VELÁZQUEZ-BECERRA C, MACÍAS-RODRÍGUEZ LI, LÓPEZ-BUCIO J, ALTAMIRANO-HERNÁNDEZ J, FLORES-CORTEZ I, VALENCIA-CANTERO E. A volatile organic compound analysis from *Arthrobacter agilis* identifies dimethylhexadecylamine, an amino-containing lipid modulating bacterial growth and *Medicago sativa* morphogenesis *in vitro*[J]. Plant and Soil, 2011, 339(1): 329-340.
- [26] VELÁZQUEZ-BECERRA C, MACÍAS-RODRÍGUEZ LI, LÓPEZ-BUCIO J, FLORES-CORTEZ I, SANTOYO G, HERNÁNDEZ-SOBERANO C, VALENCIA-CANTERO E. The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi *in vitro*[J]. Protoplasma, 2013, 250(6): 1251-1262.
- [27] OLEŃSKA E, MAŁEK W, WÓJCIK M, SWIECICKA I, THIJS S, VANGRONSVELD J. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: a methodical review[J]. Science of the Total Environment, 2020, 743: 140682.
- [28] EL-TARABILY KA, EIBAGHDADY KZ, AIKHAJEH AS, AYYASH MM, ALJNEIBI RS, EL-KEBLAWY A, AbuQAMAR SF. Polyamine-producing Actinobacteria enhance biomass production and seed yield in *Salicornia bigelovii*[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56(4): 499-519.
- [29] PÉREZ-FLORES P, VALENCIA-CANTERO E, ALTAMIRANO-HERNÁNDEZ J, PELAGIO-FLORES R, LÓPEZ-BUCIO J, GARCÍA-JUÁREZ P, MACÍAS-RODRÍGUEZ L. *Bacillus methylotrophicus* M4-96 isolated from maize (*Zea mays*) rhizosphere increases growth and auxin content in *Arabidopsis thaliana* via emission of volatiles[J]. Protoplasma, 2017, 254(6): 2201-2213.
- [30] 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).
- [31] BHARTI N, BARNAWAL D. Amelioration of salinity stress by PGPR[M]//PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. Amsterdam: Elsevier, 2019: 85-106.
- [32] 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.
- [33] WANG YN, LI KX, LI X. Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(15): 1637-1645.

- [34] QURASHI AW, SABRI AN. Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2012, 43(3): 1183-1191.
- [35] 曹晶晶, 熊惘梓, 钞亚鹏, 赵盼, 汪志琴, 仲乃琴. 极耐盐碱固氮菌的分离鉴定及固氮特性研究[J]. *微生物学报*, 2021, 61(11): 3483-3495.
CAO JJ, XIONG MZ, CHAO YP, ZHAO P, WANG ZQ, ZHONG NQ. Isolation and identification of extremely salt-tolerant azotobacter and its nitrogen-fixing characteristics[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(11): 3483-3495 (in Chinese).
- [36] LI HS, LEI P, PANG X, LI S, XU H, XU ZQ, FENG XH. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 119: 26-34.
- [37] 孙雪, 董永华, 王娜, 崔文会, 廖鲜艳, 刘莉. 耐盐碱促生菌的筛选及性能[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(7): 1356-1364.
SUN X, DONG YH, WANG N, CUI WH, LIAO XY, LIU L. Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, 36(7): 1356-1364 (in Chinese).
- [38] 李高洋, 黄永相, 吴伟健, 陈艺杰, 张伟健, 罗舒文, 李慧君, 黄枫城, 蔺中, 甄珍. 海水稻根际效应对滨海盐碱地土壤氨氧化微生物的影响[J]. *土壤学报*, 2023, 60(2): 587-598.
LI GY, HUANG YX, WU WJ, CHEN YJ, ZHANG WJ, LUO SW, LI HJ, HUANG FC, LIN Z, ZHEN Z. Effects of seawater rice rhizosphere effect on soil ammonia-oxidizing microorganisms in coastal saline-alkali soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(2): 587-598 (in Chinese).
- [39] 李慧君, 张伟健, 吴伟健, 李高洋, 陈艺杰, 黄枫城, 黄永相, 蔺中, 甄珍. 种植海水稻对滨海盐土化学性质和微生物群落影响[J]. *中国农业科技导报*, 2023, 25(9): 147-156.
LI HJ, ZHANG WJ, WU WJ, LI GY, CHEN YJ, HUANG FC, HUANG YX, LIN Z, ZHEN Z. Effects of sea rice on soil chemical properties and microbial community structure in coastal solonchaks[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2023, 25(9): 147-156 (in Chinese).
- [40] 殷丽丽, 陈晓亮, 陈璐璐, 房雅容, 曹家琦, 周凤, 李凤, 李朕. NaCl、Na₂SO₄和Na₂CO₃对绿豆种子萌发的影响[J]. *作物杂志*, 2019(3): 192-196.
YIN LL, CHEN XL, CHEN LL, FANG YR, CAO JQ, ZHOU F, LI F, LI Z. Effects of NaCl, Na₂SO₄ and Na₂CO₃ stress on the seed germination of mung bean[J]. *Crops*, 2019(3): 192-196 (in Chinese).
- [41] GUPTA GN, PRASAD KG, MOHAN S, MANIVACHAKAM P. Salt tolerance in some tree species at seedling stage[J]. *Indian Forester*, 1986, 112(2): 101-113.
- [42] SHOKRI D, EMTIAZI G. Indole-3-acetic acid (IAA) production in symbiotic and non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria and its optimization by taguchi design[J]. *Current Microbiology*, 2010, 61(3): 217-225.
- [43] 周玉梅, 洪园淑, 李文娟, 刘萍, 田蕾. 基于盐胁迫的苦豆子种子生理特性和赖氨酸脱羧酶基因表达分析[J]. *西南农业学报*, 2020, 33(12): 2755-2759.
ZHOU YM, HONG YS, LI WJ, LIU P, TIAN L. Analysis of physiological characteristics and lysine decarboxylase gene expression of *Sophora alopecuroides* under salt stress[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(12): 2755-2759 (in Chinese).
- [44] GADDA G, MCALLISTER-WILKINS EE. Cloning, expression, and purification of choline dehydrogenase from the moderate halophile *Halomonas elongata*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(4): 2126-2132.
- [45] 谭广秀. 具有抑菌活性的桑树内生菌的分离鉴定及其抑菌物质研究[D]. 镇江: 江苏科技大学硕士学位论文, 2012.
TAN GX. Isolation and identification of mulberry endophytes with antimicrobial activity and study on their antimicrobial substances[D]. Zhenjiang: Master's Thesis of Jiangsu University of Science and Technology, 2012 (in Chinese).
- [46] 赵媛, 何彩霞, 杨国柱, 徐汝燕, 宋宏伟. 青海湖耐盐微生物分离及对盐碱降解率的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医(上半月)*, 2018(7): 16-19, 240.
ZHAO Y, HE CX, YANG GZ, XU RY, SONG HW. Isolation of salt-tolerant microorganisms from Qinghai Lake and the effect of degradation rate on salt-alkali[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(7): 16-19, 240 (in Chinese).
- [47] JHUMA TA, RAFEYA J, SULTANA S, RAHMAN MT, KARIM MM. Isolation of endophytic salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from *Oryza sativa* and evaluation of their plant growth-promoting traits under salinity stress condition[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, 5: 687531.
- [48] VURUKONDA SSKP, VARDHARAJULA S, SHRIVASTAVA M, SKZ A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria[J]. *Microbiological Research*, 2016, 184: 13-24.
- [49] ALI B, SABRI AN, LJUNG K, HASNAIN S. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L.[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2009, 48(5): 542-547.
- [50] WAGI S, AHMED A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7258.
- [51] 张云兰, 陶梅, 郭欣荣, 辛萍萍. 谷子、绿豆、豌豆和红小豆种子贮藏最适含水量研究[J]. *种子*, 2001, 41(3): 16-20.
ZHANG YL, TAO M, GUO XR, XIN PP. Study on optimal moisture contents for seed storage of millet, mung bean, pea and adzuki bean[J]. *Seed*, 2001, 41(3): 16-20 (in Chinese).
- [52] 刘波, 陈倩倩, 王阶平, 阮传清, 陈燕萍, 夏江平, 车建美, 陈峥, 潘志针, 文笑, 朱育菁, 张海峰, 郑雪芳. 整合微生物组菌剂的提出、研发与应用[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(14): 2450-2467, 95-96.
LIU B, CHEN QQ, WANG JP, RUAN CQ, CHEN YP, XIA JP, CHE JM, CHEN Z, PAN ZZ, WEN X, ZHU YJ, ZHANG HF, ZHEN XF. Proposition, development and application of the integrated microbiome agent

- (IMA)[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(14): 2450-2467, 95-96 (in Chinese).
- [53] 吴娟丽. 嗜铁素产生菌的筛选鉴定及其对供试植物促生作用研究[D]. 兰州: 兰州交通大学硕士学位论文, 2020.
WU JL. Screening and identification of siderophore-producing bacteria and their growth-promoting effects on tested plants[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Lanzhou Jiatong University, 2020 (in Chinese).
- [54] MANTELIN S, TOURAIN B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(394): 27-34.
- [55] KHAN AL, WAQAS M, KANG SM, AL-HARRASI A, HUSSAIN J, AL-RAWAHI A, AL-KHIZIRI S, ULLAH I, ALI L, JUNG HY, LEE IJ. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(8): 689-695.
- [56] KUMAR A, SINGH S, GAURAV AK, SRIVASTAVA S, VERMA JP. Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1216.
- [57] SEN S, GHOSH D, MOHAPATRA S. Modulation of polyamine biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* by a drought mitigating *Pseudomonas putida* strain[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 129: 180-188.
- [58] 王艳宇, 刘爽, 李鑫, 王思文, 刘权, 殷奎德, 张兴梅. 3株耐盐碱促生菌对绿豆根际微生态的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(1): 139-145.
WANG YY, LIU S, LI X, WANG SW, LIU Q, YIN KD, ZHANG XM. Effects of three saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria on the rhizosphere microecology of mung bean[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(1): 139-145 (in Chinese).
- [59] ETESAMI H, BEATTIE GA. Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 148.
- [60] 薛琼琼, 赵露露, 王云霞, 赵猛. 盐生植物耐盐性研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2021, 40(5): 60-65.
XUE QQ, ZHAO LL, WANG YX, ZHAO M. Research progress on salt tolerance of halophytes[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2021, 40(5): 60-65 (in Chinese).
- [61] GUO HB, HE SW, WANG X, THIN KK, WEI HL, ZHANG XX. *Bacillus telluris* sp. nov. isolated from greenhouse soil in Beijing, China[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 702.
- [62] WANG Y, LIU H, LIU K, WANG CQ, MA HL, LI YH, HOU QH, LIU FC, ZHANG TR, WANG HD, WANG BB, MA JJ, GE RF, XU BC, YAO G, XU WF, FAN LC, DING YQ, DU BH. Complete genome sequence of *Bacillus paralicheniformis* MDJK30, a plant growth-promoting rhizobacterium with antifungal activity[J]. *Genome Announcements*, 2017, 5(25): e00577-17.
- [63] GUO YY, YU HY, YANG MM, KONG DS, ZHANG YJ. Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of *Lycium ruthenicum* Murr. seedling[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2018, 65(2): 244-250.
- [64] ETESAMI H, ALI ALIKHANI H, HOSSEINI HM. Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents[J]. *MethodsX*, 2015, 2: 72-78.
- [65] 车永梅, 郭艳苹, 刘广超, 叶青, 李雅华, 赵方贵, 刘新. 菌株 C8 和 B4 的分离鉴定及其耐盐促生效果和机制[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(5): 276-285.
CHE YM, GUO YP, LIU GC, YE Q, LI YH, ZHAO FG, LIU X. Isolation and identification of bacterial strain C8 and B4 and their halotolerant growth-promoting effects and mechanisms[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(5): 276-285 (in Chinese).
- [66] 周亚男, 韩小斌, 魏可可, 苟剑渝, 王先勃, 张成省, 郑艳芬. 烟草根际可培养微生物多样性及防病促生菌的筛选[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(12): 4649-4663.
ZHOU YN, HAN XB, WEI KK, GOU JY, WANG XB, ZHANG CS, ZHENG YF. The culturable microbial diversity in tobacco rhizosphere and their plant growth-promoting and biocontrol properties[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(12): 4649-4663 (in Chinese).
- [67] 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 YZ, DU CH, YU F, HUANG MG, QI F. 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 (in Chinese).
- [68] 孙广正. 微生物接种剂对油菜和西葫芦病害防治及其促生作用研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2015.
SUN GZ. Study on the control and growth promotion of microbial inoculants on rape and zucchini diseases[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Gansu Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [69] WEI Z, HUANG JF, YANG TJ, JOUSSET A, XU YC, SHEN QR, FRIMAN VP. Seasonal variation in the biocontrol efficiency of bacterial wilt is driven by temperature-mediated changes in bacterial competitive interactions[J]. *The Journal of Applied Ecology*, 2017, 54(5): 1440-1448.