

内生菌 72 和 146 对盐胁迫下大豆幼苗过氧化氢酶活性和脯氨酸含量的影响

赵龙飞^{1*}, 徐亚军¹, 杨静雅², 黄雪珍¹, 宋唯一¹, 杜丽平¹

1 商丘师范学院 生物与食品学院, 商丘市农业微生物资源利用重点实验室, 河南 商丘

2 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨

赵龙飞, 徐亚军, 杨静雅, 黄雪珍, 宋唯一, 杜丽平. 内生菌 72 和 146 对盐胁迫下大豆幼苗过氧化氢酶活性和脯氨酸含量的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1726-1741.

ZHAO Longfei, XU Yajun, YANG Jingya, HUANG Xuezheng, SONG Weiyi, DU Liping. Endophytic bacterial strains 72 and 146 affect catalase activity and proline content in soybean seedlings under salt stress[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(4): 1726-1741.

摘要:【目的】探索盐胁迫环境下大豆根瘤内生菌对大豆幼苗生长的影响, 为黄河流域作物高质量发展提供参考。【方法】以‘徐豆 20’为实验材料, 设置对照组、盐胁迫组和盐胁迫接种内生菌组 3 组处理, 在人工气候条件下采用盆栽法探究不同盐胁迫下接种内生菌对大豆幼苗生长的影响。【结果】在盐胁迫条件下, 接种内生菌 72 时, 大豆幼苗培养至 21 d 时, 使用 $OD_{600}=0.75$ 菌悬液(2:1)接种, 当盐浓度为 200 mmol/L 时, 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性最高, 为 2.010 0 U/g FW, 比盐胁迫组高出 54.02%; 使用 $OD_{600}=0.33$ 的菌悬液(1:2)接种时, 在盐浓度为 300 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为 0.028 6 mg/g, 而在盐浓度为 100 mmol/L 时, 脯氨酸含量比盐胁迫组高出 64.38%。接种内生菌 146 时, 大豆幼苗培养至 21 d 时, 使用 $OD_{600}=0.50$ 的菌悬液(1:1)接种, 在盐浓度为 50 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为 1.350 0 U/g FW; 培养至 28 d, 使用 $OD_{600}=0.75$ 的菌悬液(2:1)接种, 在盐浓度为 100 mmol/L 时, CAT 活性比盐胁迫组高出 272.73%; 在盐浓度为 150 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为 0.147 0 mg/g, 比盐胁迫组高出 860.78%。由此可见, 在盐胁迫条件下, 接种内生菌 72 和 146 均具有一定的修复作用。总体而言, 接种内生菌 146 后, 大豆幼苗的 CAT 活性和脯氨酸含量均显著高于盐胁迫组, 说明内生菌 146 的修复作用更为明显。基于 16S rRNA 基因序列及系统发育分析结果, 菌株 72 与枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)最相似, 相似率为 99.45%; 菌株 146 与解蛋白芽孢杆菌(*Bacillus proteolyticus*)最相似, 相似率为 100%。【结论】接种内生菌可有效缓解黄河流域盐碱土壤对大豆幼苗生长的不利影响, 对研发生物防治剂具有重要意义。

资助项目: 国家自然科学基金(U1204301); 河南省重点研发与推广专项(212102310223); 河南省高校重点科研项目(24A180022)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (U1204301), the Key Specialized Research and Development Program of Henan Province (212102310223), and the Key Scientific Research Program of Henan University (24A180022).

*Corresponding author. E-mail: hnzhaolongfei@163.com

Received: 2024-05-04; Accepted: 2024-09-18; Published online: 2024-09-19

关键词: 内生细菌; 大豆幼苗; 盐胁迫; 过氧化氢酶; 脯氨酸; 修复作用

Endophytic bacterial strains 72 and 146 affect catalase activity and proline content in soybean seedlings under salt stress

ZHAO Longfei^{1*}, XU Yajun¹, YANG Jingya², HUANG Xuezheng¹, SONG Weiyi¹, DU Liping¹

¹ Key Laboratory on Agricultural Microorganism Resources Development of Shangqiu, College of Biology and Food, Shangqiu Normal University, Shangqiu, Henan, China

² College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang, China

Abstract: [Objective] To explore the effects of endophytic bacteria in soybean nodules on the growth of soybean seedlings under salt stress and provide reference for the high-quality development of crops in the Yellow River Basin. [Methods] A pot experiment was conducted with the soybean cultivar ‘Xudou 20’ under artificial climate conditions. Three groups were designed: control, salt stress, and salt stress inoculated with endophytic bacteria. The growth of soybean seedlings in each group was measured. [Results] Regarding strain 72, in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.75$ (2:1) and the salt concentration of 200 mmol/L, the activity of catalase (CAT) in the seedlings of 21 days was the highest (2.010 0 U/g FW), which was 54.02% higher than that in the salt stress group; in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.33$ (1:2) and the salt concentration of 300 mmol/L, the proline content was the highest (0.028 6 mg/g); in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.75$ (2:1) and the salt concentration of 100 mmol/L, the proline content was 64.38% higher than that in the salt stress group. Regarding strain 146, the seedlings of 21 days in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.50$ (1:1) and the salt concentration of 50 mmol/L had the highest CAT activity (1.350 0 U/g FW); the seedlings of 28 days in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.75$ (2:1) and the salt concentration of 100 mmol/L had the CAT activity 272.73% higher than that in the salt stress group; the seedlings in the case of inoculation with the suspension at $OD_{600}=0.75$ (2:1) and the salt concentration of 150 mmol/L had the highest proline content of 0.147 0 mg/g, which was 860.78% higher than that in the salt stress group. The results indicated that inoculation with the endophytic bacterial strain 72 or 146 had a repairing effect. The increases in the CAT activity and proline content in the soybean seedlings inoculated with strain 146 over those in the salt stress group were generally higher than those in the case of inoculation with strain 72, indicating that the repairing effect of strain 146 was more obvious. The phylogenetic tree built based on 16S rRNA gene sequences showed that strains 72 and 146 had the highest similarity with *Bacillus subtilis* (99.45%) and *B. protolyticus* (100%), respectively. [Conclusion] Inoculating endophytic bacteria was of great significance for alleviating the effect of saline-alkali stress in the Yellow River Basin on the growth of soybean seedlings and developing biological repairing agents.

Keywords: endophytic bacteria; soybean seedlings; salt stress; catalase; proline; repairing effect

大豆原产于中国,是我国居民饮食中不可或缺的蛋白质来源,也是油料和饲料制造产业的重要原料^[1]。土壤盐渍化会降低土壤溶液的渗透压,从而限制大豆的生长和产量^[2],土壤中积累的 Na^+ 和 Mg^{2+} 对植物形态的维持产生不利影响,导致植株光合作用减弱、叶绿素合成量减少。盐离子在氮代谢过程中会产生有毒中间体,导致植物生理性缺水,抑制其代谢活动,阻碍营养物质的吸收利用,最终使植株生长发育不良,作物产量降低^[3]。在盐胁迫下,植物体内超氧自由基、过氧化氢等活性氧的浓度会升高,这些物质对植物细胞具有毒害作用,会引起膜脂过氧化^[4],进而危害植株生长。我国盐碱地总面积达 9 913 万 hm^2 , 约占全国土地面积的 1/10, 面积大且分布广^[5], 严重危害大豆的生长和发育。因此,采取恰当措施改善土壤盐渍化状况,有效缓解盐渍化对作物的危害,以促进大豆的生长和发育,对推动黄河流域生态保护和高质量发展具有重要意义。

植物内生菌(endophyte)是指在正常和恶劣环境条件下,生长在植物组织间及组织内,并对植物生长发育起促进作用的微生物类群^[6]。植物内生细菌主要存在于植物根系^[7]。内生菌分布广泛、种类繁多,几乎存在于所有植物中。作为一种新型微生物资源,内生菌具有丰富的物种多样性,可用于发掘新型天然活性物质,经过内生菌与宿主植物的长期协同进化,内生菌还能产生与宿主植物相同或类似的活性成分^[8]。由于内生菌生活在植物组织中,可直接与植物细胞保持密切接触,从而更易直接发挥促进作用^[9]。研究表明,内生菌能够增加杨树(*Populus alba* L.)抗氧化酶的产量以及脯氨酸含量,从而促进盐胁迫下杨树的生长^[10]; 葫芦[*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.]内生真菌能够防治黄瓜(*Cucumis sativus* L.)病害^[11]; 内生芽孢杆菌

(*Bacillus*)可减轻作物受到的非生物胁迫和生物胁迫,包括调节水分运输、养分吸收以及激活抗氧化和防御系统^[12],并通过诱导胁迫响应基因、植物激素和胁迫相关代谢物的表达来增强其植物宿主的胁迫耐受性^[13]。以上研究结果表明,内生菌具有促进宿主植物生长、防治植物病原菌、增强宿主抗胁迫能力等功能。然而,目前关于利用大豆内生菌缓解盐胁迫对大豆幼苗生长影响的研究相对较少^[14]。基于此,本研究以‘徐豆 20’为实验材料,在人工气候条件下设置不同程度的盐胁迫,探究接种内生细菌 72 和 146 对盐胁迫下大豆幼苗生长的影响,以期为缓解土壤盐渍化对大豆幼苗的不良影响以及研发接种剂或生物菌肥提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

‘徐豆 20’ (国审豆 2014012), 系豫东黄河故道流域大面积种植品种,采购自商丘市睢阳区老杨种子经营部。

内生细菌 72 和 146 由商丘市农业微生物资源利用重点实验室从大豆根瘤中分离纯化,短期保藏于斜面培养基中。

牛肉膏蛋白胨固体培养基^[15](g/L): 牛肉膏 3.0, 蛋白胨 10.0, NaCl 5.0, 琼脂 18.0, 蒸馏水 1.0 L, 121 °C 灭菌 20 min。

LB 液体培养基^[15](g/L): NaCl 15, 酵母膏 30, 蛋白胨 30, 蒸馏水 2 L, 按 NaCl、蛋白胨、酵母膏的顺序,依次煮沸后关火,分装于 250 mL 锥形瓶中,121 °C 灭菌 20 min。

1.2 菌悬液配制

1.2.1 菌株活化

在超净工作台上,用无菌接种环从斜面培养基上挑取菌体,划线于斜面培养基上,标记后置入 28 °C 培养箱中培养 2 d,重复上述步骤

进行 2 次活化, 每次培养 2 d。

1.2.2 菌株快速繁殖

在 LB 液体培养基中接种经 2 次活化的菌体, 30 °C、130 r/min 培养 3 d, 至对数生长期 (OD_{600} 约为 0.8)。

1.2.3 菌悬液配制

在超净工作台中, 将菌悬液分装至 50 mL 离心管中, 10 000 r/min 离心 10 min 保留沉淀。用 10 mL 无菌水冲洗沉淀 2 次, 再加入 10 mL 无菌水, 置于磁力搅拌器上涡旋振荡摇匀。使用分光光度计在波长 600 nm 处测定, 将菌液与无菌水按比例配制成 OD_{600} 约为 1.00 的半成品, 置于 4 °C 冰箱中保存备用。按半成品与无菌水的不同比例, 分别配制成 1:1 ($OD_{600}=0.50$)、1:2 ($OD_{600}=0.33$) 和 2:1 ($OD_{600}=0.75$) 的菌悬液。

1.3 盐浓度梯度设置

称量 NaCl, 用无菌水分别配制成 50、100、150、200、250、300 mmol/L 的盐溶液。

1.4 大豆的挑选

挑选豆粒饱满、色泽鲜艳、无霉变、种皮完好无破损的‘徐豆 20’ 4 000 粒, 每 400 粒为 1 包, 放冰箱保鲜备用。

1.5 大豆幼苗的培养

采用蛭石作为栽培基质, 将蛭石装袋后在高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 20 min, 每袋蛭石隔夜连续灭菌 2 次。选用口径 $\Phi 20$ cm、深度 15 cm 的花盆作为栽培容器, 用报纸包裹后在高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 20 min。将干、湿蛭石搅拌均匀, 较疏松地铺满花盆 2/3, 稍压实平整, 标记为 CK0、CK (NaCl)、1:1、1:2、2:1。CK0 共 9 盆, 其余处理组各设置 6 个不同的盐浓度梯度, 其中 50、100、150 mmol/L 的盐胁迫各设 3 个重复, 200、250、300 mmol/L 的盐浓度各设 4 个重复。在超净工作台中, 用无菌水冲洗大豆 2 遍, 挑选 45 粒不破皮、饱满的大

豆, 置于培养皿中, 加入 30 mL 无菌水, 在培养箱中培养 2 h; 吸出培养皿中的无菌水, 对照组加入 30 mL 无菌水, 不同比例菌悬液处理组各加入 30 mL 相应比例的菌悬液, 继续在培养箱中培养 1 h。将经不同比例菌悬液(1:1、1:2、2:1)浸泡的大豆种植于相应花盆中, 无菌水浸泡的大豆种植于 CK0 和 CK (NaCl) 的花盆中, 每盆种植 30 粒。种植完毕后, 用蛭石覆盖大豆, 用无菌水浇灌蛭石, 置于人工气候培养箱中培养。第 2 天, 用 30 mL 不同浓度的盐溶液浇灌蛭石; 第 3 天, 除对照组和盐胁迫组用无菌水浇灌外, 其余处理组分别接种相应比例的菌悬液。此后, 每 3 d 为 1 个周期, 每天依次按照无菌水、盐胁迫、盐胁迫接菌的顺序浇灌盆栽。

1.6 取样

对照组 9 盆共分为 3 组, 每组设置 3 个重复。采用在蛭石深处不断根的方法, 从每组重复中取样 8 株幼苗。其余盐胁迫组和盐胁迫接菌组(盐胁迫+1:1; 盐胁迫+1:2; 盐胁迫+2:1), 分别按照盐浓度梯度 50、100、150、200、250、300 mmol/L 设置 6 个小组, 以同样方法在每个相同盐浓度梯度的 3/4 个重复中共取 8 株大豆幼苗, 进行详细记录后置于冰箱保存备用。

1.7 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定

采用紫外吸收法^[16]测定 CAT 活性。配制 pH 7.8 的磷酸缓冲液(A 液 8.5 mL, B 液 91.5 mL)和 pH 7.0 的磷酸缓冲液(A 液 39.0 mL, B 液 61.0 mL), 再加入 30% H_2O_2 配成 CAT 反应液。称取 0.1 g 叶片, 加入 1.5 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液, 在冰上研磨后, 置于 1.5 mL 离心管中, 12 000 r/min 离心 20 min。将紫外分光光度计波长设置为 240 nm, 对照组为 3 mL pH 7.8 缓冲液, 实验组为 3 mL pH 7.0 缓冲液和 0.1 mL 离心后的上清液。分别测定对照组、盐胁迫组、

盐胁迫接菌组(NaCl+1:1、NaCl+1:2、NaCl+2:1)中不同盐浓度梯度在 0 s 和 40 s 时的 CAT 活性,每个处理组相同盐浓度共测定 3 组,记录数据。

1.8 脯氨酸含量测定

采用磺基水杨酸比色法^[17]测定脯氨酸含量。准备 82 支试管并标号,不同处理组相同盐浓度分别标有 3 支试管。在每个试管中分别加入 2 mL 3% 磺基水杨酸、2 mL 冰醋酸和 4 mL 2.5% 酸性茚三酮溶液。称取 0.2 g 茎,加入 10 mL 3% 磺基水杨酸研磨,倒入 2 个 5 mL 离心管中,将离心管放入 80 °C 水浴锅中水浴 10 min,冷却后以 3 000 r/min 离心 10 min。每个离心管分别吸取 3 mL 上清液,加入相同标号的 3 支试管中,使每个试管中有 2 mL 上清液。拍照记录脯氨酸反应前的颜色,试管口封膜后置于 100 °C,将试管放在水浴锅中水浴 1.5 h,拍照记录脯氨酸反应后的颜色。冷却后加入 4 mL 甲苯,摇晃并拍照观察脯氨酸分层现象。从每个试管中吸取 3 mL 甲苯上层提取液,将相同 3 支试管中的 9 mL 提取液合并到洁净的小烧杯中。将分光光度计波长设置为 520 nm,对照组为 4 mL 甲苯溶液,实验组为红色甲苯上层提取液,测定含量并记录数据。

1.9 菌株 16S rRNA 基因测序及系统发育树构建

采用 CTAB 法^[18]提取内生菌 72 和 146 的基因组 DNA,利用正向引物 P1 (5'-CGGGATCCA GAGTTTATCCTGGCTCAGAACGAACGCT-3') 和反向引物 P2 (5'-CGGG ATCCTACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCC-3')进行 PCR 扩增。PCR 反应体系 (25 μ L): 2 $\times$ Phanta Max Mix (p515) 12.5 μ L, 正、反向引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, DNA 模板 0.5 μ L, ddH₂O 10 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 预热 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 共 36 个循

环; 72 °C 再延伸 2 min, 4 °C 下保持。扩增产物送北京奥科鼎盛生物科技有限公司测序,根据测序结果在 GenBank 中进行 BLAST 比对,使用 DNAMAN 6.0 软件分析相似性,用 DNASTar 软件对待测菌株序列进行反向互补转换,用 MEGA 5.05 构建系统发育树,确定待测菌株的系统发育地位。

1.10 数据处理

利用 SPSS 26.0 软件对数据进行 Duncan's 新复极差法差异检验分析、单因素随机方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著差数法 (least significant difference, LSD) 分析,显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。数据处理完成后,使用 Excel 2010 绘制折线图或柱状图,分析不同程度盐胁迫下接种内生菌 72 和 146 对大豆幼苗 CAT 活性和脯氨酸含量的影响。

2 结果与分析

2.1 内生菌代表菌株系统发育分析

对菌株 72 和 146 进行 16S rRNA 基因测序,获得长度为 1 500 bp 的 DNA 片段。测序所得序列已提交至 GenBank,获得序列号分别为 OR487866 和 OR485250。利用模式菌株序列构建系统发育树 (图 1)。系统发育树分析表明,菌株 72 和 146 与参比模式菌株形成分支 I,边缘菌株为弧菌属 (*Calditerrivibrio*)。通过 DNAMAN 软件进行同源性分析,结果显示菌株 72 与枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) subsp. HUB-I-047^T (GQ892930) 的相似性最高,相似率为 99.45%; 菌株 146 与解蛋白芽孢杆菌 (*Bacillus proteolyticus*) MCCC 1A00365^T (KJ812418) 的相似性为 100%。因此,菌株 72 和 146 均属于芽孢杆菌属,其最相似菌株分别为枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 和解蛋白芽孢杆菌 (*Bacillus proteolyticus*)。

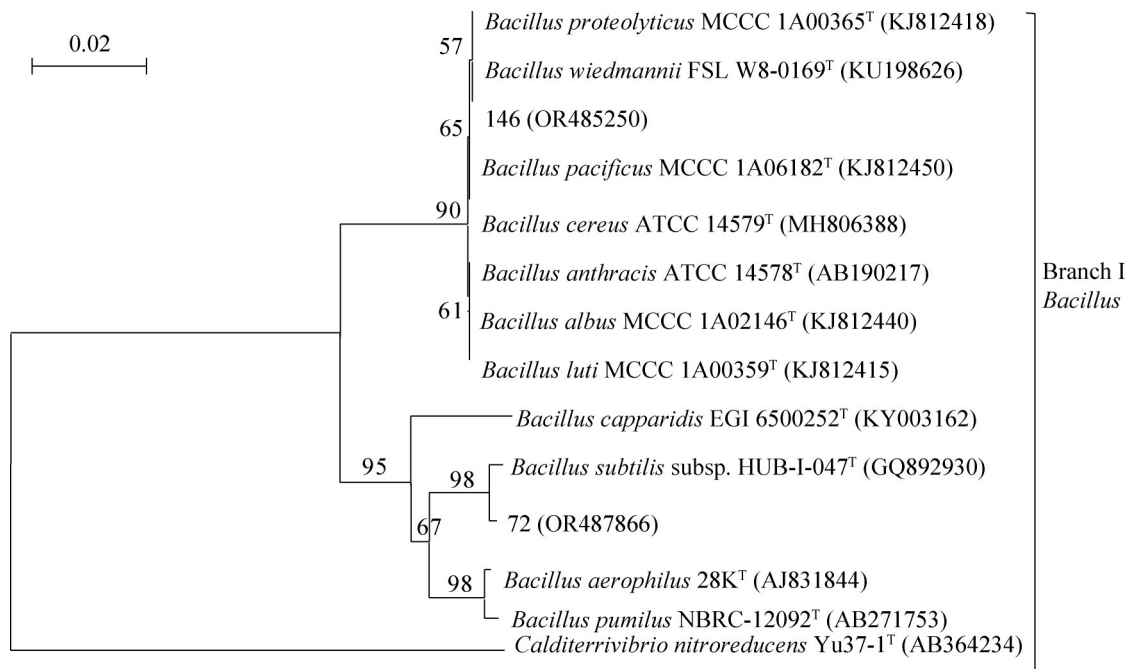


图1 内生菌72和146基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree based on the sequences of the 16S rRNA gene sequence of endophytic bacteria 72 and 146. Numbers in parentheses represent sequence numbers in GenBank.

2.2 内生菌 72 对大豆幼苗 CAT 活性的影响

如图 2 所示, 当大豆幼苗培养至 21 d 时, 在盐胁迫条件下, CAT 活性随盐浓度升高总体呈“波浪线”趋势。在盐浓度为 50 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为 1.470 0 U/g FW, 比对照组高 68.97%; 而在盐浓度为 300 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.832 5 U/g FW。接种内生菌 72 后, 用 NaCl+1:1 菌悬液处理大豆幼苗, CAT 活性变化仍呈“波浪线”趋势, 且酶活性均低于盐胁迫组; 在盐浓度为 300 mmol/L 时, CAT 活性最低, 为 0.472 5 U/g FW; 在盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 1.065 0 U/g FW, 比对照组高 22.41%, 但低于盐胁迫组 27.55%, 修复作用不显著。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时, 酶活性总体呈“波浪线”变化趋势; 在盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最低,

为 0.585 0 U/g FW; 在盐浓度为 100 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 1.132 5 U/g FW, 比对照组高 30.17%, 但低于盐胁迫组 16.57%; 在盐浓度为 250 mmol/L 时, 酶活性比盐胁迫组高 9.65%。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时, 酶活性总体呈“波浪线”变化趋势; 在盐浓度为 100 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.600 0 U/g FW 时; 盐浓度为 200 mmol/L 和 300 mmol/L 时, 酶活性均高于盐胁迫组, 且在盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 2.010 0 U/g FW, 比对照组高 131.03%, 比盐胁迫组高 54.02%。综上所述, 在盐胁迫条件下, NaCl+1:2 菌悬液在盐浓度为 250 mmol/L 时表现出一定的修复作用; NaCl+2:1 菌悬液在盐浓度为 200 mmol/L 和 300 mmol/L 时均表现出修复作用, 其中最佳修复作用的盐浓度为 200 mmol/L。

如图 3 所示, 当大豆幼苗培养至 28 d 时,

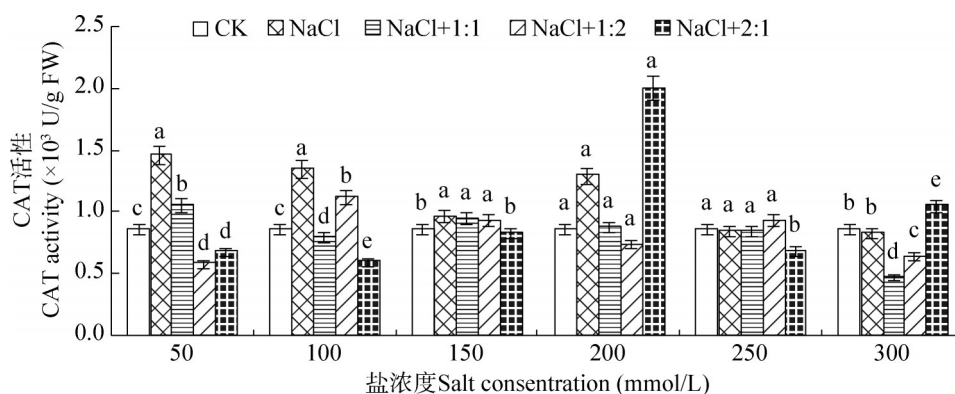


图2 大豆幼苗接种内生菌72培养至21 d时的CAT活性

Figure 2 CAT activity of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 72 and cultured for 21 days. Different lowercase letters indicate significant differences at the $P<0.05$ level. The same below.

随着盐浓度的升高，CAT 活性呈“波浪线”变化趋势。在盐浓度为 100 mmol/L 时，酶活性最低，为 1.102 5 U/g FW；而在盐浓度为 300 mmol/L 时，酶活性最高，为 1.657 5 U/g FW，比对照组高 7.46%。接种内生菌 72 后，用 NaCl+1:1 菌悬液处理大豆幼苗，酶活性呈“先降后升再降”趋势；在盐浓度为 50、100 和 250 mmol/L 时，酶活性均高于盐胁迫组，但在盐浓度为 300 mmol/L 时，酶活性最低，为 0.960 0 U/g FW；在盐浓度为 250 mmol/L 时，酶活性最高，为 1.657 5 U/g FW，比对照组高 7.46%，比盐胁迫组高 36.42%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理大豆幼苗

时，酶活性呈“波浪线”变化趋势；在盐浓度为 50 mmol/L 时，酶活性最低，为 0.735 0 U/g FW；在盐浓度为 300 mmol/L 时，酶活性最高，为 1.252 5 U/g FW，低于对照组 18.80%，低于盐胁迫组 24.43%；在盐浓度为 100 mmol/L 时，酶活性高于盐胁迫组 0.68%。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时，酶活性呈“波浪线”变化趋势；在盐浓度为 250 mmol/L 时，酶活性最低，为 0.622 5 U/g FW；在盐浓度为 100 mmol/L 时，酶活性最高，为 1.252 5 U/g FW，比盐胁迫组高 13.61%，修复作用最为显著。由此可见，3 种菌悬液接种大豆后均表现出一定的修复作用；NaCl+1:1 菌悬

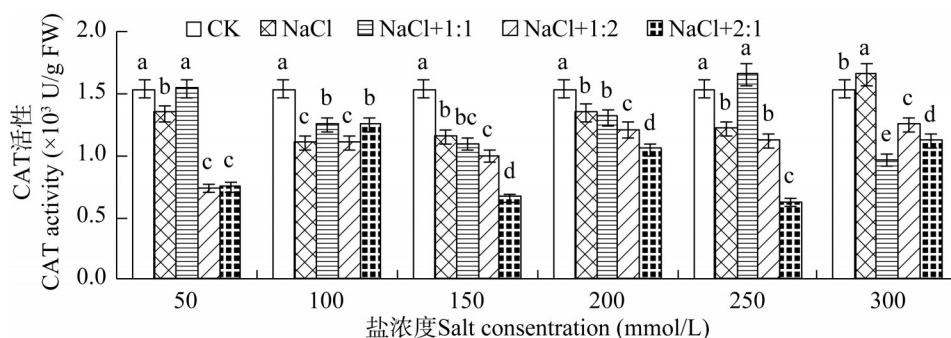


图3 大豆幼苗接种内生菌72培养至28 d时CAT活性

Figure 3 CAT activity of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 72 and cultured for 28 days.

液在盐浓度为 50、100 和 250 mmol/L 时均表现出修复作用, 且在 250 mmol/L 时修复作用最为显著; NaCl+1:2 菌悬液和 NaCl+2:1 菌悬液在盐浓度为 100 mmol/L 时表现出修复作用。

2.3 内生菌 146 对大豆幼苗 CAT 活性的影响

如图 4 所示, 当大豆幼苗培养至 21 d 时, CAT 活性随盐浓度升高呈“波浪线”变化。在盐胁迫条件下, 盐浓度为 150 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 2.482 5 U/g FW, 比对照组高 76.69%; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.412 5 U/g FW。接种内生菌 146 后, 用 NaCl+1:1 菌悬液处理时, 酶活性呈“先降后升”趋势; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.720 0 U/g FW, 比盐胁迫组高 74.55%; 盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 1.350 0 U/g FW, 比盐胁迫组低 26.23%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时, 酶活性总体呈“波浪线”变化; 盐浓度为 100 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.682 5 U/g FW; 盐浓度为 300 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 0.900 0 U/g FW, 比盐胁迫组低 43.66%。用 NaCl+2:1 菌悬液处理, 酶活性呈“波浪线”变化趋势; 盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.615 0 U/g FW; 盐浓度为

250 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 0.795 0 U/g FW, 比对照组低 43.42%, 比盐胁迫组低 40.11%。3 种不同比例的菌悬液接种后, 对大豆幼苗发挥修复效果的盐浓度均为 200 mmol/L。

如图 5 所示, 大豆幼苗培养至 28 d 时, 随着盐浓度升高, 盐胁迫组 CAT 活性呈现“先降后升”趋势。盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 0.360 0 U/g FW, 比对照组高 33.33%; 盐浓度为 100 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.165 0 U/g FW。接种内生菌 146 后, 用 NaCl+1:1 菌悬液处理时, 酶活性呈现“先升后降再升”趋势; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.165 0 U/g FW; 盐浓度为 100 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 0.472 5 U/g FW, 比对照组高 75.00%, 比盐胁迫组高 186.36%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时, 酶活性呈现“先升后降再升”趋势; 盐浓度为 50 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.210 0 U/g FW; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最高, 为 0.637 5 U/g FW, 比对照组高 136.11%, 比盐胁迫组高 165.63%, 修复作用最显著。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时, 酶活性总体呈现“先降后升再降”趋势, 均高于盐胁迫组; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 酶活性最低, 为 0.472 5 U/g FW, 比对照组高 75.00%, 比盐胁迫

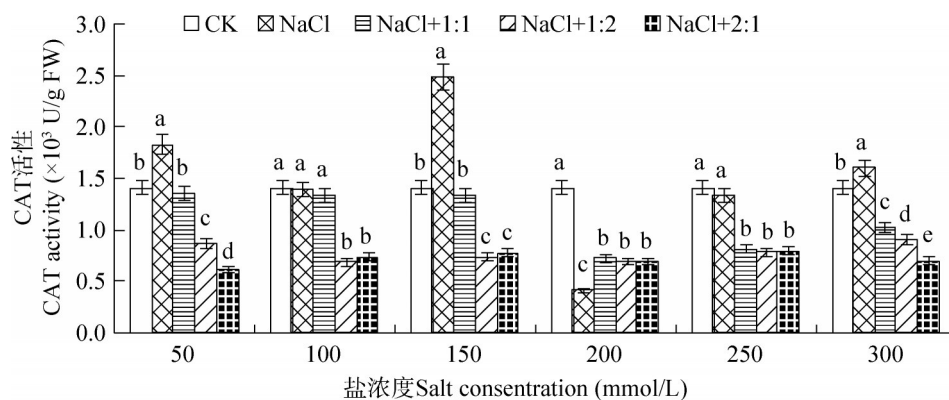


图4 大豆幼苗接种内生菌146培养至21 d时的CAT活性

Figure 4 CAT activity of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 146 and cultured for 21 days.

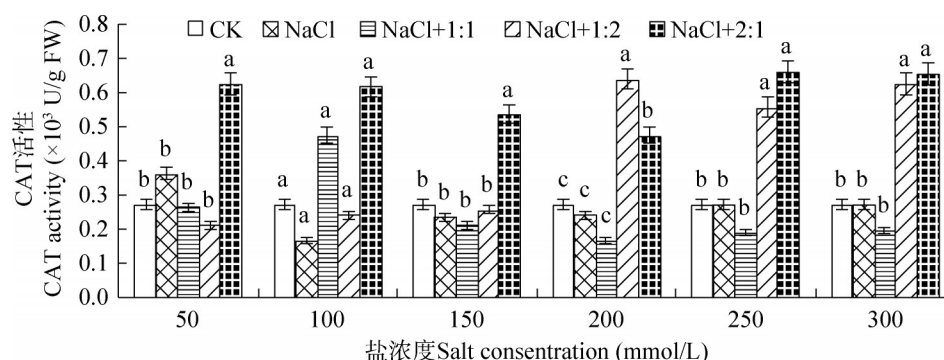


图5 大豆幼苗接种内生菌146培养至28 d时的CAT活性

Figure 5 CAT activity of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 146 and cultured for 28 days.

组高 96.88%；盐浓度为 250 mmol/L 时，酶活性最高，为 0.660 0 U/g FW，比对照组高 144.44%，比盐胁迫组高 144.44%。综上所述，不同比例菌悬液处理，对盐胁迫幼苗均有一定的修复作用；NaCl+1:1 菌悬液发挥修复作用的盐浓度为 100 mmol/L，NaCl+1:2 菌悬液和 NaCl+2:1 菌悬液发挥最佳作用的盐浓度分别为 200 mmol/L 和 100 mmol/L。

2.4 内生菌 72 对大豆幼苗脯氨酸含量的影响

如图 6 所示，当大豆幼苗培养至 21 d 时，脯氨酸含量随盐浓度升高呈现“先升后降”趋势。在盐胁迫条件下，盐浓度为 200 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.023 0 mg/g，比对照组高 18.56%。接种内生菌 72，用 1:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈现“先降后升”趋势；盐浓度为 100 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.015 9 mg/g，比盐胁迫组高 8.90%；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.023 0 mg/g，比对照组高 18.56%，比盐胁迫组高 29.94%，修复作用最显著。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时，脯氨酸含量总体呈“先升后降再升”趋势；除盐浓度为 200 mmol/L 外，其他盐胁迫条件下，脯氨酸含量均高于盐胁迫组；盐浓度为 50 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为

0.018 9 mg/g，比盐胁迫组高 21.15%；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.028 6 mg/g，比对照组高 47.42%，比盐胁迫组高 61.58%，修复作用最显著。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈“波浪线”变化；除盐浓度为 250 mmol/L 和 300 mmol/L 外，其他盐胁迫条件下，脯氨酸含量均高于盐胁迫组；盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.017 1 mg/g；盐浓度为 100 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.024 0 mg/g，比对照组高 23.71%，比盐胁迫组高 64.38%，修复作用最显著。综上所述，不同比例菌悬液处理盐胁迫下的大豆幼苗后，脯氨酸含量均有一定升高，表现出一定的修复作用，且 NaCl+1:1、NaCl+1:2、NaCl+2:1 菌悬液发挥最佳作用的盐浓度分别为 300、300、100 mmol/L。

如图 7 所示，大豆幼苗生长至 28 d 时，脯氨酸含量呈现“波浪线”变化趋势。在盐胁迫条件下，当盐浓度为 200 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.011 4 mg/g；而盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.016 6 mg/g，比对照组高 12.16%。接种内生菌 72 后，用 NaCl+1:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈现“波浪线”变化；盐浓度为 200 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.009 9 mg/g；盐浓度为

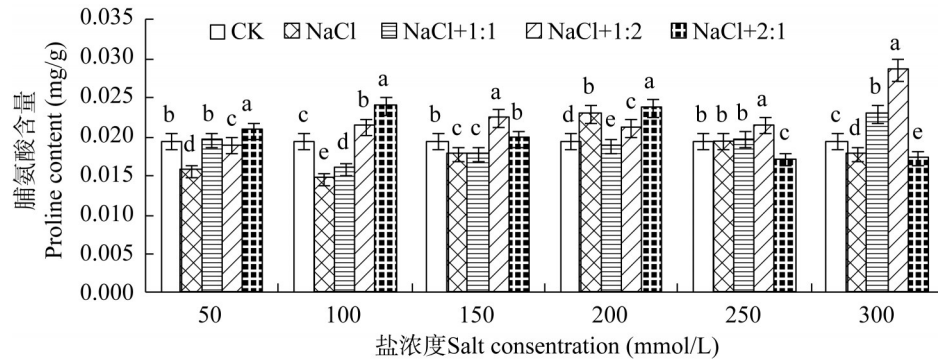


图6 大豆幼苗接种内生菌72培养至21 d时的脯氨酸含量

Figure 6 Proline content of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 72 and cultured for 21 days.

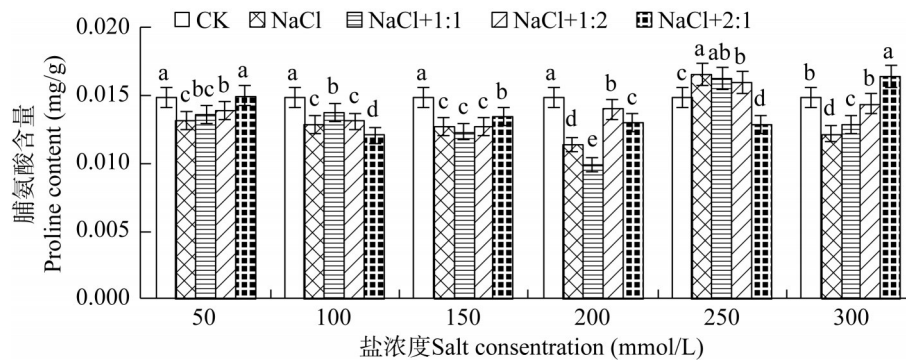


图7 大豆幼苗接种内生菌72培养至28 d时的脯氨酸含量

Figure 7 Proline content of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 72 and cultured for 28 days.

为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.016 3 mg/g，比对照组高 10.14%，但比盐胁迫组低 1.81%。在盐浓度为 50、100 和 300 mmol/L 时，脯氨酸含量分别比盐胁迫组高 3.03%、6.98% 和 5.74%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈现“先降后升再降”趋势；盐浓度为 150 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.012 7 mg/g，与盐胁迫组相等；盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.016 0 mg/g，比对照组高 8.11%，但比盐胁迫组低 3.61%。在其盐浓度下，脯氨酸含量均高于盐胁迫组。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈现“波浪线”变化；除盐浓度为 100 mmol/L 和 250 mmol/L 外，其余盐浓度下脯

氨酸含量均高于盐胁迫组。盐浓度为 100 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.012 1 mg/g；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.016 4 mg/g，比对照组高 10.81%，比盐胁迫组高 34.43%，修复作用最为显著。综上所述，1:1、1:2 和 2:1 比例的菌悬液对盐胁迫下的大豆幼苗均具有一定的修复作用，其最佳修复作用的盐浓度分别为 100、200、300 mmol/L。

2.5 内生菌 146 对大豆幼苗脯氨酸含量的影响

如图 8 所示，大豆幼苗培养至 21 d 时，脯氨酸含量随盐浓度升高呈现“先升后降”趋势。在盐胁迫条件下，盐浓度为 150 mmol/L 时，脯

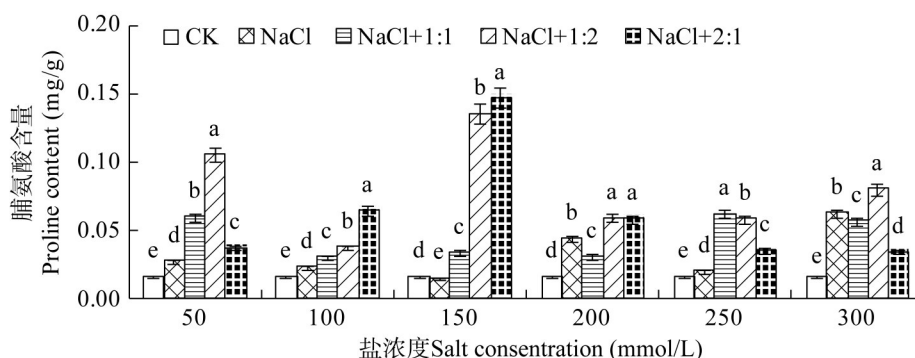


图8 大豆幼苗接种内生菌146培养至21 d时的脯氨酸含量

Figure 8 Proline content of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 146 and cultured for 21 days.

氨酸含量最低，为 0.015 3 mg/g；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.062 9 mg/g，比对照组高 285.89%。接种内生菌 146 后，用 NaCl+1:1 菌悬液处理大豆幼苗，脯氨酸含量总体呈“波浪线”变化；除盐浓度为 200 mmol/L 和 300 mmol/L 外，其余盐浓度下，脯氨酸含量均高于盐胁迫组；盐浓度为 100 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.030 4 mg/g，比对照组高 86.50%，比盐胁迫组高 31.03%；盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.062 3 mg/g，比对照组高 282.21%，比盐胁迫组高 209.95%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈“波浪线”变化，且均高于盐胁迫组；盐浓度为 100 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.037 7 mg/g，比对照组高 131.29%，比盐胁迫组高 62.50%；盐浓度为 150 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.135 8 mg/g，比对照组高 733.13%，比盐胁迫组高 787.58%，修复作用最为显著。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量变化呈“先升高后降低”趋势；除 300 mmol/L 盐胁迫外，其他盐浓度下，脯氨酸含量均高于盐胁迫组；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.034 1 mg/g，比对照组高 109.20%；盐浓度为 150 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为

0.147 0 mg/g，比对照组高 801.84%，比盐胁迫组高 860.78%，表现出最显著的修复作用。综上所述，在盐胁迫条件下，大豆幼苗接种 3 种比例的菌悬液后均表现出一定的修复作用；NaCl+1:1、NaCl+1:2、NaCl+2:1 菌悬液发挥最佳作用的盐浓度分别为 250、150 和 150 mmol/L。

如图 9 所示，当大豆幼苗培养至 28 d 时，脯氨酸含量呈“先升后降再升”变化。在盐胁迫条件下，盐浓度为 50 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.014 1 mg/g；盐浓度为 300 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.110 2 mg/g，比对照组高 540.70%。接种内生菌 146 后，用 NaCl+1:1 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈“先降后升再降”趋势；盐浓度为 150 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.013 5 mg/g；盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨酸含量最高，为 0.024 5 mg/g，比对照组高 42.44%，比盐胁迫组低 3.92%；盐浓度为 50 mmol/L 时，脯氨酸含量高于盐胁迫组 57.45%。用 NaCl+1:2 菌悬液处理时，脯氨酸含量呈“波浪线”变化；除盐浓度为 250 mmol/L 外，其他盐浓度下，脯氨酸含量均低于盐胁迫组；盐浓度为 50 mmol/L 时，脯氨酸含量最低，为 0.012 1 mg/g；盐浓度为 250 mmol/L 时，脯氨

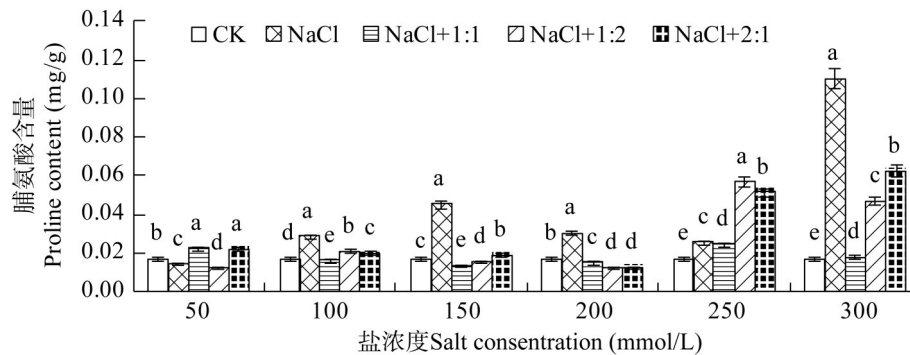


图9 大豆幼苗接种内生菌146培养至28 d时的脯氨酸含量

Figure 9 Proline content of soybean seedlings inoculated with endophytic bacteria 146 and cultured for 28 days.

酸含量最高, 为 0.056 6 mg/g, 比对照组高 229.07%, 比盐胁迫组高 54.95%。用 NaCl+2:1 菌悬液处理时, 脯氨酸含量变化呈“先降后升”趋势; 盐浓度为 200 mmol/L 时, 脯氨酸含量最低, 为 0.012 5 mg/g; 盐浓度为 300 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为 0.062 2 mg/g, 比对照组高 261.63%, 比盐胁迫组低 43.56%; 盐浓度为 50 mmol/L 和 250 mmol/L 时, 脯氨酸含量分别高于盐胁迫组 54.61% 和 100.78%。综上所述, NaCl+1:1 菌悬液在 50 mmol/L 盐浓度下发挥修复作用, NaCl+1:2 菌悬液在 250 mmol/L 盐浓度下发挥修复作用, NaCl+2:1 菌悬液在 250 mmol/L 盐浓度下表现出最佳修复作用。

3 讨论与结论

3.1 接种内生菌对大豆幼苗 CAT 活性的影响

过氧化氢酶(CAT)作为一种清除羟基自由基的酶, 能够减轻植株氧化损伤, 维持细胞内氧的动态平衡, 通过提高植物的抗氧化能力, CAT 对植物抵抗逆境胁迫具有重要意义^[19]。本研究结果表明, 在盐胁迫条件下, 随着盐浓度的升高, 大豆幼苗 CAT 活性总体呈现“波浪线”变化趋势。沈金铃等^[20]研究发现, 盐胁迫会引起桉树 (*Eucalyptus* spp.) 活性氧 (reactive oxygen

species, ROS) 代谢失衡, 导致 H_2O_2 积累和膜脂过氧化; 不同盐胁迫强度下, 6 个 CAT 基因表现出不同的转录差异, 其响应机制也不同, 该研究结果有力支持了本研究的结论。周莹等^[21]发现, 荆芥 (*Nepeta cataria* L.) 幼苗在不同盐胁迫下的反应不同: 轻度盐胁迫时, 叶片内 CAT 活性升高, 清除活性氧的能力增强, 维持植株的正常生长; 而当盐胁迫程度增加时, 酶活性受到抑制, 质膜受损严重, 稳定性下降, 荆芥生长受到抑制, 这与本研究的结论相符。朱金方等^[22]指出, 植物在遭受盐胁迫时, 叶片在一定程度上内具有抗氧化酶活性和抗氧化能力来清除活性氧自由基, 但当盐胁迫强度超过这一限度时, CAT 活性会下降, 抗氧化能力受到抑制, 这一结果也支持了本研究的结论。此外, 本研究还发现, 接种内生菌 72 和 146 后, 在一定盐浓度下, 大豆幼苗的 CAT 活性显著升高, 高于对照组和盐胁迫组, 且幼苗长势良好, 未出现发黄或萎蔫现象, 说明 2 种内生菌能够增强盐胁迫下大豆幼苗的 CAT 活性, 促进植株生长, 缓解盐胁迫对幼苗的危害。赵欣桐等^[23]研究发现, 接种混合菌液 B3014 后, 可增强狗牙根 (*Cynodon dactylon* L.) 的渗透调节能力, 缓解盐胁迫对其的毒害作用, 使植株在生长过程中保持稳定状态, 这与本研究的结论一致。佐长康

等^[24]发现, 接种 SHZ-24、SMT-24、SHT-15、BHZ-29 等菌株后, 可显著提高棉花(*Gossypium* spp.)防御酶 CAT、SOD 等抗氧化酶的活性, 缓解盐胁迫对棉株的毒害作用, 增强其抗病性。董芮萌等^[25]研究发现, 内生菌能够增强水稻(*Oryza sativa* L.)幼苗在镉和盐单一及复合胁迫下的抗氧化酶活性, 提高其对不良环境的抵抗能力, 以上研究结果均与本研究结论基本一致。此外, 研究还表明, 菌株 CB7 对番茄(*Solanum lycopersicum* L.)具有显著的修复作用, 具有开发为生物肥料以提高土壤肥力和促进植物生长的潜力^[26], 这也为本研究结论提供了有力支持。综上所述, 内生菌 72 和 146 能够显著提高盐胁迫下大豆幼苗的 CAT 活性, 但本研究仅探讨了内生菌浸种和盆栽接种对大豆幼苗在不同盐浓度下 CAT 活性的影响, 不同大豆品种在相同盐浓度下对内生菌的响应仍需进一步研究。

通过盆栽试验, 本研究进一步探究了盐胁迫下接种内生菌 72 和 146 对大豆幼苗 CAT 活性的影响。结果表明, 接种内生菌 72 后, 当大豆幼苗培养至 21 d 时, 用 NaCl+2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 200 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为 2.010 0 U/g FW, 比盐胁迫组高 54.02%; 培养至 28 d 时, 用 NaCl+1:1 菌悬液处理, 盐浓度为 250 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为 1.657 5 U/g FW, 高于盐胁迫组 36.42%。接种内生菌 146 后, 生长至 21 d, 用 NaCl+1:1 菌悬液处理大豆幼苗, 盐浓度为 50 mmol/L, CAT 活性最高为 1.350 0 U/g FW, 但盐浓度为 200 mmol/L 时, CAT 活性比盐胁迫组高 74.55%; 培养至 28 d 时, 用 2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 250 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为 0.660 0 U/g FW, 盐浓度为 100 mmol/L 时, CAT 活性比盐胁迫组高 272.73%, 修复作用更为显著。综上所述, 内生菌 72 和 146 均能显著提高盐胁迫下大

豆幼苗的 CAT 活性, 有效缓解盐胁迫对幼苗的危害, 为生物防治菌剂的开发和利用提供了理论基础。

3.2 接种内生菌对大豆幼苗脯氨酸含量的影响

脯氨酸(Pro)是一种广泛存在的渗透调节物质, 在植物生长发育以及响应干旱胁迫的信号途径中发挥重要作用^[27]。研究表明, 脯氨酸在盐胁迫条件下能够诱导抗氧化生物合成相关基因(Cu/Zn-SOD 和 APX)和离子稳态相关基因(SOS1、HKT1 和 NHX1)的表达^[28]。通过提高植株体内抗氧化酶的活性以及脯氨酸含量, 可以降低或清除活性氧浓度, 稳定细胞膜结构, 维持细胞内营养离子的平衡稳态, 从而发挥促生作用^[29]。本研究结果表明, 在大豆幼苗培养期间, 盐胁迫下脯氨酸含量随盐浓度升高总体呈现“先升后降”趋势, 说明大豆幼苗对盐胁迫具有一定的抵抗能力, 但当盐浓度超过阈值时, 其大豆幼苗的抵抗能力减弱, 调节盐胁迫的能力有限。Gyawali 等^[30]发现, 在盐胁迫条件下, 油菜(*Brassica campestris* L.)的脯氨酸含量增加, 这一结果支持了本研究的结论。Ghaid 等^[31]发现, 随着水体盐度的增加, 大麦(*Hordeum vulgare* L.)基因型的脯氨酸含量也随之增加。钟华等^[32]发现, 在盐胁迫条件下, 扁蓿豆(*Pocockia ruthenia* L.)幼苗通过提高脯氨酸含量来缓解 NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫造成的伤害, 但当浓度超过 400 mmol/L 时, 其效果减弱。以上结果均与本研究结论一致。此外, 本研究还表明, 接种内生菌 72 和 146 后, 提高了大豆幼苗的脯氨酸含量, 显著高于盐胁迫组, 有助于清除细胞内活性氧, 提高大豆抵抗盐胁迫的能力, 增强大豆的存活率, 从而发挥促生作用。尤其是接种内生菌 72 后, 在培养至 21 d 时, 盐浓度为 100 mmol/L, 用 NaCl+2:1 菌悬液接种; 以及接

种内生菌 146 后, 在培养至 21 d 时, 盐浓度为 150 mmol/L, 用 NaCl+2:1 菌悬液接种, 对大豆幼苗的修复作用最为显著。随着培养时间的延长, 大豆幼苗对环境的适应性增强, 脯氨酸含量在 28 d 时低于 21 d, 表明修复能力有所下降。徐亚军等^[33]研究发现, 在盐胁迫条件下接种内生菌 252 和 254 后, 随着培养时间的延长, 小麦体内的脯氨酸含量下降, 且随着盐浓度的升高, 脯氨酸含量呈现“先升高后降低”的趋势, 这一结果有力地支持了本研究的结论。杜欣等^[34]发现, 小麦(*Triticum aestivum* L.)叶片中脯氨酸含量与培养时间和 NaCl 浓度呈一定相关性, 在低盐胁迫环境下, 紫茎泽兰(*Eupatorium coelestinum* L.)内生细菌表现出一定的修复能力, 但在高浓度盐胁迫(NaCl 为 300 mmol/L)或延长培养时间后, 修复作用减弱, 效果不明显, 这与本研究结论基本一致。Lastochkina 等^[35]发现, 内生细菌 *B. subtilis* 对盐胁迫(2% NaCl)下的小麦植株具有保护作用, 盐胁迫导致幼苗体内脯氨酸含量显著增加, 而接种 *B. subtilis* 10-4 的幼苗脯氨酸含量增加不明显, 这与本研究结果相符。此外, Yoolong 等^[36]研究了内生菌株对盐胁迫下水稻(*Oryza sativa* L.)的影响, 阐明内生菌通过增加脯氨酸含量来促进水稻生长和耐盐性, 从而发挥促生作用。综上所述, 内生菌 72 和 146 能够缓解盐胁迫对大豆幼苗造成的损害, 具有一定的修复能力, 但随着培养时间的延长, 修复能力有所下降, 其具体机制有待进一步研究。

通过研究内生菌 72 和 146 对盐胁迫下大豆幼苗的修复效果发现, 接种内生菌 72 后, 在培养至 21 d 时, 用 NaCl+2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 100 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为 0.024 0 mg/g, 比盐胁迫组高 64.38%; 培养至 28 d 时, 用 NaCl+2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 300 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为

0.016 4 mg/g, 比盐胁迫组高 34.43%。接种内生菌 146 后, 在培养至 21 d 时, 用 NaCl+1:2 和 NaCl+2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 150 mmol/L 时, 脯氨酸含量均最高, 分别为 0.135 8 mg/g 和 0.147 0 mg/g, 分别比盐胁迫组高 787.58% 和 860.78%; 培养至 28 d 时, 用 NaCl+2:1 菌悬液处理, 盐浓度为 300 mmol/L 时, 脯氨酸含量最高, 为 0.062 2 mg/g, 盐浓度为 250 mmol/L 时, 脯氨酸含量比盐胁迫组高 100.78%。由此可见, 内生菌 72 和 146 能够显著提高脯氨酸含量, 使大豆幼苗的生长情况优于盐胁迫组, 充分发挥对盐胁迫危害的缓解与修复作用, 但随着培养时间的延长, 修复作用逐渐减弱。

作者贡献声明

赵龙飞: 实验总体设计; 徐亚军: 实验开展及论文撰写; 杨静雅: 数据处理及分析; 黄雪珍: 协助数据处理和校对; 宋唯一: 英文翻译及校对; 杜丽平: 实验开展及论文撰写。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 聂莹, 邢亚楠, 黄家章, 肖晓红, 刘锐. 主栽大豆营养品质及加工特性初探[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 1-7. NIE Y, XING YN, HUANG JZ, XIAO XH, LIU R. Nutritional quality and preliminary investigation of processing characteristics for main soybean cultivars[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(17): 1-7 (in Chinese).
- [2] PI EX, XU J, LI HH, FAN W, ZHU CM, ZHANG TY, JIANG JC, HE LT, LU HF, WANG HZ, POOVAIAH BW, DU LQ. Enhanced salt tolerance of rhizobia-inoculated soybean correlates with decreased phosphorylation of the transcription factor GmMYB183 and altered flavonoid biosynthesis[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2019, 18(11): 2225-2243.
- [3] 赵起越, 夏夜, 邹本东. 土壤盐渍化成因危害及恢复[J]. 农业与技术, 2022, 42(11): 115-119. ZHAO QY, XIA Y, ZOU BD. Causes, harm and recovery

- of soil salinization[J]. *Agriculture and Technology*, 2022, 42(11): 115-119 (in Chinese).
- [4] De GARA L, FOYER CH. Ying and Yang interplay between reactive oxygen and reactive nitrogen species controls cell functions[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 40(4): 459-461.
- [5] 朱建峰, 崔振荣, 吴春红, 邓丞, 陈军华, 张华新. 我国盐碱地绿化研究进展与展望[J]. *世界林业研究*, 2018, 31(4): 70-75.
ZHU JF, CUI ZR, WU CH, DENG C, CHEN JH, ZHANG HX. Research advances and prospect of saline and alkali land greening in China[J]. *World Forestry Research*, 2018, 31(4): 70-75 (in Chinese).
- [6] ADHIKARI P, JOSHI K, PANDEY A. Taxus associated fungal endophytes: anticancerous to other biological activities[J]. *Fungal Biology Reviews*, 2023, 45: 100308.
- [7] MUSHTAQ S, SHAFIQ M, TARIQ MR, SAMI A, NAWAZ-UL-REHMAN MS, BHATTI MHT, HAIDER MS, SADIQ S, ABBAS MT, HUSSAIN M, SHAHID MA. Interaction between bacterial endophytes and host plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1092105.
- [8] 靳锦, 赵庆, 张晓梅, 李文均. 植物内生菌活性代谢产物最新研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2018, 38(3): 103-113.
JIN J, ZHAO Q, ZHANG XM, LI WJ. Research progress on bioactive products from endophytes[J]. *Journal of Microbiology*, 2018, 38(3): 103-113 (in Chinese).
- [9] SANTOYO G, MORENO-HAGELSIEB G, del CARMEN OROZCO-MOSQUEDA M, GLICK BR. Plant growth-promoting bacterial endophytes[J]. *Microbiological Research*, 2016, 183: 92-99.
- [10] PAN XY, QIN Y, YUAN ZL. Potential of a halophyte-associated endophytic fungus for sustaining Chinese white poplar growth under salinity[J]. *Symbiosis*, 2018, 76(2): 109-116.
- [11] HUANG LQ, NIU YC, SU L, DENG H, LYU H. The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber[J]. *Microbiological Research*, 2020, 231: 126369.
- [12] RADHAKRISHNAN R, HASHEM A, ABD ALLAH EF. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments[J]. *Frontiers in Physiology*, 2017, 8: 667.
- [13] HASHEM A, TABASSUM B, FATHI ABD ALLAH E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, 26(6): 1291-1297.
- [14] 赵龙飞, 徐亚军, 邵璇, 杨静雅. 两株内生芽孢杆菌对盐胁迫下大豆幼苗超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性影响[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(5): 1664-1677.
ZHAO LF, XU YJ, SHAO X, YANG JY. Two endophytic *Bacillus* strains from soybean nodules affect superoxide dismutase and peroxidase activities in soybean seedlings under salt stress[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(5): 1664-1677 (in Chinese).
- [15] ZHAO LF, XU YJ, LAI XH, SHAN CJ, DENG ZS, JI YL. Screening and characterization of endophytic *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from medicinal plant *Lonicera japonica* for use as potential plant growth promoters[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2015, 46(4): 977-989.
- [16] ZHANG R, LIU RT, ZONG WS. Bisphenol S interacts with catalase and induces oxidative stress in mouse liver and renal cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(34): 6630-6640.
- [17] DIAO QN, SONG YJ, QI HY. Exogenous spermidine enhances chilling tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings via involvement in polyamines metabolism and physiological parameter levels[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, 37(11): 230.
- [18] KOUAKOU JL, GONDELELÉ -BI S, ASSAMOI JB, ASSANVO N, GUETTA SP. Optimization of the Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) DNA extraction protocol using forest elephant dung samples[J]. *MethodsX*, 2022, 9: 101867.
- [19] 董璐, 杨春洪, 陈林, 宋丽. 大豆 CAT 基因家族生物信息学分析及非生物逆境胁迫响应研究[J]. *大豆科学*, 2022, 41(6): 663-671.
DONG L, YANG CH, CHEN L, SONG L. Bioinformatics analysis of soybean catalase family and the response to abiotic stress[J]. *Soybean Science*, 2022, 41(6): 663-671 (in Chinese).
- [20] 沈金玲, 钟镇芬, 黄永健, 蔡冠龙, 周淑霞, 黄真池. 盐胁迫对桉树(*Eucalyptus*)活性氧代谢和 CAT 基因表达的影响[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(5): 1661-1665.
SHEN JL, ZHONG ZF, HUANG YJ, CAI GL, ZHOU SX, HUANG ZC. Effects of salt stress on the metabolism of reactive oxygen and the transcription of CAT genes in *Eucalyptus*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(5): 1661-1665 (in Chinese).
- [21] 周莹, 赵永娟, 黄丽瑾, 唐楠煜, 唐晓清, 王康才. 荆芥幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. *核农学报*, 2019, 33(1): 166-175.
ZHOU Y, ZHAO YJ, HUANG LJ, TANG NY, TANG XQ, WANG KC. Physiological responses of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. seedlings to salt stress[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(1): 166-175 (in Chinese).
- [22] 朱金方, 刘京涛, 陆兆华, 夏江宝, 柳海宁, 金悦. 盐胁迫对中国柞柳幼苗生理特性的影响[J]. *生态学报*, 2015, 35(15): 5140-5146.
ZHU JF, LIU JT, LU ZH, XIA JB, LIU HN, JIN Y. Effects of salt stress on physiological characteristics of *Tamarix chinensis* Lour. seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15): 5140-5146 (in Chinese).
- [23] 赵欣桐, 陈晓东, 李子吉, 张巨明, 刘天增. 植物内生肠杆菌对狗牙根耐盐性的调控研究[J]. *草业学报*, 2021, 30(9): 127-136.
ZHAO XT, CHEN XD, LI ZJ, ZHANG JM, LIU TZ. An evaluation of the effects of the plant endophyte *Enterobacter* on the salt tolerance of bermudagrass[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(9): 127-136 (in Chinese).
- [24] 佐长庚, 王静怡, 牛新湘, 刘萍, 管力慧, 党文芳, 杨红梅, 楚敏, 王宁, 林青, 王有武, 姜恺, 史应武. 内生菌与根际细菌对棉花的促生与诱导抗病作用[J]. *西南农业学报*, 2022, 35(4): 757-763.
ZUO CG, WANG JY, NIU XX, LIU P, GUAN LH, DANG WF, YANG HM, CHU M, WANG N, LIN Q,

- WANG YW, LOU K, SHI YW. Effects of endophytes and rhizosphere bacteria on cotton growth promotion and disease resistance induction[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(4): 757-763 (in Chinese).
- [25] 董芮萌, 王佳瑶, 朱梦卓, 赵晓妍, 朱森, 汪雅楠, 王泽, 马莲菊. 内生菌对镉和盐单一及复合胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(19): 31-34, 37.
- DONG RM, WANG JY, ZHU MZ, ZHAO XY, ZHU M, WANG YN, WANG Z, MA LJ. Effects of endophytes on growth and physiological characteristics of rice seedlings under single and combined stresses of cadmium and salt[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(19): 31-34, 37 (in Chinese).
- [26] MEHTA P, WALIA A, KULSHRESTHA S, CHAUHAN A, SHIRKOT CK. Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions[J]. Journal of Basic Microbiology, 2015, 55(1): 33-44.
- [27] 商成慧, 周泽宇, 崔文雪, 郭卫冷, 杨敬华, 白琰, 郭长虹. 大豆脯氨酸积累相关基因家族鉴定及干旱胁迫表达分析[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(6): 1793-1806.
- SHANG CH, ZHOU ZY, CUI WX, GUO WL, YANG JH, BAI Y, GUO CH. Identification and expression analysis of proline accumulation related gene families in soybean under drought stress[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(6): 1793-1806 (in Chinese).
- [28] GUO SQ, MA XX, CAI WQ, WANG Y, GAO XQ, FU BZ, LI SX. Exogenous proline improves salt tolerance of alfalfa through modulation of antioxidant capacity, ion homeostasis, and proline metabolism[J]. Plants, 2022, 11(21): 2994.
- [29] 陈奋奇, 方鹏, 白明兴, 姬祥卓, 庄泽龙, 彭云玲. 外源脯氨酸缓解玉米幼苗盐胁迫的效应[J]. 草业科学, 2022, 39(4): 747-755.
- CHEN FQ, FANG P, BAI MX, JI XZ, ZHUANG ZL, PENG YL. Mitigation of salt stress in maize seedlings by exogenous proline application[J]. Pratacultural Science, 2022, 39(4): 747-755 (in Chinese).
- [30] GYAWALI S, PARKIN IAP, STEPPUHN H, BUCHWALDT M, ADHIKARI B, WOOD R, WALL K, BUCHWALDT L, SINGH M, BEKKAOU D, HEGEDUS DD. Seedling, early vegetative, and adult plant growth of oilseed rapeseeds (*Brassica napus* L.) under saline stress[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2019, 99(6): 927-941.
- [31] GHAIID JA, SADDAM AA, MUSTAFA SA. Proline and agronomic production responses of different barley cultivars to salinity stress: a correlation analysis[J]. Research on Crops, 2019, 20(3): 483-487.
- [32] 钟华, 董洁, 董宽虎. 盐胁迫对扁蓿豆幼苗脯氨酸积累及其代谢关键酶活性的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(4): 189-194.
- ZHONG H, DONG J, DONG KH. Effect of salt stress on proline accumulation and the activities of the key enzymes involved in proline metabolism in *Medicago ruthenica* seedlings[J]. Acta Pratacultural Sinica, 2018, 27(4): 189-194 (in Chinese).
- [33] 徐亚军, 赵龙飞, 邢鸿福, 罗云霄, 魏正欣. 内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸和丙二醛的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(11): 3726-3737.
- XU YJ, ZHAO LF, XING HF, LUO YX, WEI ZX. Effects of endophytic bacteria on proline and malondialdehyde of wheat seedlings under salt stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(11): 3726-3737 (in Chinese).
- [34] 杜欣, 杨林美, 姜梦柯, 曾忠秀, 李梦霜, 李中源, 李淑英. 内生细菌对NaCl胁迫下小麦幼苗的缓解作用[J]. 安徽农学通报, 2022, 28(1): 15-18.
- DU X, YANG LM, JIANG MK, ZENG ZX, LI MS, LI ZY, LI SY. Alleviating effect of endophytic bacteria on wheat seedlings under NaCl stress[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2022, 28(1): 15-18 (in Chinese).
- [35] LASTOCHKINA O, PUSENKOVA L, YULDASHEV R, BABAEV M, GARPOVA S, BLAGOVA D, KHAIRULLIN R, ALINIAEIFARD S. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 121: 80-88.
- [36] YOOLONG S, KRUSASWAN W, THANH PHM HT, JAEMSAENG R, JANTASURIYARAT C, THAMCHAIPENET A. Modulation of salt tolerance in Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML105) by *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 expressing ACC deaminase[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1275.