

## 研究报告

一株耐盐碱细菌肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) NP36 的分离鉴定及全基因组分析

金佳悦, 范忠玲, 郭利利, 李坤, 毕少杰\*, 王彦杰\*

黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院 黑龙江省寒区环境微生物与农业废弃物资源化利用重点实验室,  
黑龙江 大庆 163319金佳悦, 范忠玲, 郭利利, 李坤, 毕少杰, 王彦杰. 一株耐盐碱细菌肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) NP36 的分离鉴定及全基因组分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1447-1461.JIN Jiayue, FAN Zhongling, GUO Lili, LI Kun, BI Shaojie, WANG Yanjie. Isolation, identification, and whole-genome analysis of a bacterium *Klebsiella pneumoniae* NP36 with saline-alkali tolerance[J]. Microbiology China, 2025, 52(4): 1447-1461.

**摘要:** 【背景】近年来, 大庆地区土壤盐碱化问题日渐严峻, 严重威胁作物生长。盐碱土中存在的耐盐碱促生菌可缓解盐碱环境对作物的胁迫。【目的】从水稻根际土壤中获取耐苏打盐碱的促生菌资源以提高水稻对盐碱环境的抗性, 促进水稻生长。【方法】利用改良后的培养基筛选获得耐盐碱细菌, 利用功能培养基测定其促生能力; 通过 16S rRNA 基因序列分析鉴定菌株, 并结合全基因组分析菌株基因组信息。【结果】筛选得到菌株 NP36, 鉴定结果为肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*), 其在 pH 3.0–11.0 及苏打盐 80–200 mmol/L 的 LB 培养基中均可生长。菌株 NP36 具有产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)能力, 可达(87.27±0.11) mg/L; 具有溶无机磷能力, 最大有效磷增量为(93.22±1.94) mg/L。相较于无菌水浸种处理, 1.0×10<sup>7</sup> CFU/mL 菌悬液浸种显著促进水稻胚根和侧根的生长。通过全基因组测序分析发现, 菌株 NP36 具有合成有机酸和运输磷酸盐的基因。此外, 在菌株 NP36 基因组中还发现氨基酸合成和 K<sup>+</sup>转运的相关基因, 分析菌株 NP36 通过细胞氧化还原反应和维持渗透压来抵抗盐碱胁迫。【结论】本研究验证了菌株 NP36 对水稻的促生能力, 并在基因组水平分析菌株 NP36 解磷和耐盐碱的机制, 为开发耐盐碱促生菌生物肥料提供了理论依据和菌种资源。

**关键词:** 肺炎克雷伯氏菌; 苏打盐碱地; 全基因组测序; 耐盐碱基因

资助项目: 黑龙江八一农垦大学揭榜挂帅项目(JB20220001); 大庆市指导性科技计划(zd-2024-58)

This work was supported by the Heilongjiang Bayi Agricultural Reclamation University Unveiled Project (JB20220001) and the Daqing City Guiding Science and Technology Project (zd-2024-58).

\*Corresponding authors. E-mail: WANG Yanjie, wangyanjie1972@163.com; BI Shaojie, bishaojie1990@163.com

Received: 2024-06-19; Accepted: 2024-09-20; Published online: 2024-10-11

## Isolation, identification, and whole-genome analysis of a bacterium *Klebsiella pneumoniae* NP36 with saline-alkali tolerance

JIN Jiayue, FAN Zhongling, GUO Lili, LI Kun, BI Shaojie\*, WANG Yanjie\*

Heilongjiang Key Laboratory of Environmental Microbiology and Agricultural Waste Resource Utilization in Cold Area, College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China

**Abstract: [Background]** In recent years, the soil salinization in Daqing has become increasingly serious, which threatens crop growth. The presence of plant growth-promoting bacteria with saline-alkali tolerance can alleviate the saline-alkali stress on crops. **[Objective]** To obtain the strain resources with soda saline-alkali tolerance from rice rhizosphere soil for improving rice tolerance to saline-alkali environments and promote rice growth. **[Methods]** The modified medium was used for screening of saline-alkali-tolerant bacteria, the ability of which to promote plant growth was determined in a functional medium. The isolate was identified by 16S rRNA gene sequencing and the genomic information of the strain was analyzed based on the whole genome sequence. **[Results]** The strain NP36 was screened out and identified as *Klebsiella pneumoniae*, which was capable of growing in the LB medium at pH 3.0–11.0 and soda salts of 80–200 mmol/L. Strain NP36 had the ability to produce indole-3-acetic acid, the concentration of which reached up to  $(87.27 \pm 0.11)$  mg/L. In addition, it had the ability to solubilize inorganic phosphorus, with a maximum available phosphorus increment of  $(93.22 \pm 1.94)$  mg/L. Compared with the treatment of seed soaking with sterile water, the seed soaking with  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL bacterial suspension significantly promoted the growth of radicle and lateral roots of rice. The whole genome sequence analysis showed that strain NP36 carried the genes for the synthesis of organic acids and the transport of phosphates. In addition, the genes related to amino acid synthesis and  $K^+$  transport were also identified in the genome of strain NP36. The results indicated that strain NP36 could respond to saline-alkali stress by redox reaction and maintenance of osmotic pressure. **[Conclusion]** We verified the rice growth-promoting ability of strain NP36 and analyzed the mechanism of phosphorus dissolution and saline-alkali tolerance of strain NP36 at the genome level. The findings provide a theoretical basis and strain resources for the development of biofertilizer based on the bacteria with saline-alkali tolerance and plant growth-promoting effects.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*; soda saline-alkali soil; whole genome sequencing; saline-alkali tolerance genes

土壤盐碱化是由于地下水位过高导致水中的盐分随水位升高而在土壤上层聚集,待水分蒸发后盐分累积于土壤,最终形成盐碱地<sup>[1]</sup>。我国盐碱地总面积约 1 亿  $\text{hm}^2$ ,其中松嫩平原的盐碱地面积已超 300 万  $\text{hm}^2$ ,松嫩平原是我

国重要的农牧业地区,该区主要为苏打盐碱地,其强碱性、高盐量的特点导致土壤养分失衡,具有较大毒性,严重影响植物生长<sup>[2]</sup>。

植物根际存在一类具有促生功能的微生物,称为植物根际促生菌(plant growth promoting

rhizobacteria, PGPR), 通过直接或间接促生的方式促进植物生长, 如将土壤中难溶性矿质元素转化为可被植物吸收利用的养分, 诱导植物对生物及非生物胁迫的系统抗性<sup>[3]</sup>。而在盐碱土中筛选出的部分 PGPR 可在盐碱胁迫下发挥其促生特性。

目前 PGPR 被广泛应用于盐碱地促生方面的研究, 尤以松嫩平原耐盐碱促生菌的研究较多, 如柳鑫鹏等<sup>[4]</sup>筛选获得 14 株促生细菌, 均能在不同浓度 NaCl 下生长。周妍等<sup>[5]</sup>从耐盐碱植物羊草和碱蓬根际土筛选出 3 株溶磷菌 JC8、JC11 和 JP8, 均能提高土壤酶活性, 缓解盐碱胁迫对绿豆生长的抑制。由此可见, PGPR 能够有效缓解盐碱胁迫但大部分筛选条件集中于单一的盐碱胁迫, 而松嫩平原盐碱地的苏打盐成分主要是由 NaCl、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaHCO<sub>3</sub> 和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 按照 1:1:9:9 组成的<sup>[6-7]</sup>。本研究基于此条件, 在大庆市盐碱地区的水稻根际土壤中筛选出具有促生能力的耐盐碱菌株, 构建系统发育树, 通过全基因组测序分析探索其耐盐碱机制, 以期耐盐碱促生菌提供优良的促生菌种资源。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试土壤样品及水稻种子

供试土壤采集于黑龙江省大庆市林甸四季青镇(125°14'E, 47°14'N)的水稻根际土壤, 封入密封袋中 4 °C 运至实验室待用。土壤样品 pH 8.54, 土壤全盐含量为 1.16 g/kg, 碱解氮、有效磷和速效钾的含量分别为 250.54、75.60 和 212.70 mg/kg, 有机质含量为 3.89%。供试水稻品种为‘绥粳 18’, 由黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院农业生物技术实验室提供。

### 1.2 主要试剂、仪器及培养基

无磷活性炭粉采用优级纯; 碳酸氢钠、硫酸钠和磷酸三钙等采用分析纯。

pH 计, 东莞万创电子制品有限公司; 隔水式恒温培养箱, 上海森信实验仪器有限公司; 紫外-可见分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司; 光学显微镜, 尼康精机(上海)有限公司。

LB 培养基参照李章雷等<sup>[8]</sup>的方法进行改良后配制, 调整 NaCl:Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:NaHCO<sub>3</sub>:Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 为 1:1:9:9, 使培养基中盐浓度为 80 mmol/L, 使用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节培养基的 pH 值至 8.5; Ashby 无氮培养基参照刘悦等<sup>[9]</sup>方法配制; 蒙金娜有机磷培养基和蒙金娜无机磷培养基(Pikovskaya medium, PKO)参照孟丽媛等<sup>[10]</sup>方法配制; 解钾培养基参照郭彦钊等<sup>[11]</sup>的方法配制; 铬天青检测培养基(chrome azurol sulphonate detection medium, CAS)参照李冬莹<sup>[12]</sup>的方法配制; 纤维素酶检测培养基参照 Jabborova 等<sup>[13]</sup>的方法配制; 蛋白酶检测培养基参照 Senthilkumar 等<sup>[14]</sup>的方法配制。

### 1.3 耐盐碱菌株的筛选

耐盐碱菌株的初筛: 取 10 g 水稻根际土加入装有 90 mL 无菌水的锥形瓶中, 30 °C、160 r/min 摇床振荡 30 min 后依次稀释至 10<sup>-7</sup>, 取 10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-7</sup> 梯度的土壤悬液 100 μL 分别涂布于改良后的 LB 固体培养基, 每个梯度设置 3 次重复试验, 于 30 °C 恒温培养箱中倒置培养 2–4 d 后, 选取菌落形态不同的菌株进行分离纯化, 获得单菌落后于 4 °C 保存备用<sup>[15]</sup>。

耐盐碱菌株的复筛: 对获得的菌株进行耐盐、耐碱能力的测定。将菌株按照 1% 的接种量分别接种于含有 0.1–1.7 mol/L NaCl (间隔 0.1 mol/L)、含有 100、150、200、250、300 mmol/L 苏打盐和 pH 3.0–11.0 (间隔 0.5) 的 LB 液体培养基中, 于 37 °C、160 r/min 条件下振荡培养 24 h 后取出测定光吸收值(OD<sub>600</sub>), 重复 3 次。

### 1.4 耐盐碱促生菌的筛选

耐盐碱促生菌株的初筛: 通过观察菌株在

Ashby 无氮培养基是否生长判断菌株有无固氮能力；在蒙金娜有机磷培养基、PKO 无机磷培养基和解钾培养基上观察透明圈判断菌株的溶磷和解钾能力；在 CAS 检测培养基上观察是否出现橙黄色光晕判断菌株有无产铁载体能力；通过 Salkowski 法观察菌株上清液是否变色判断菌株有无产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的能力。

耐盐碱促生菌株的复筛：对耐盐碱菌株的促生能力进行定量分析。采用钼锑抗比色法测定溶磷菌的有效增磷量<sup>[16]</sup>，采用 Salkowski 法测定菌株产 IAA 含量<sup>[17]</sup>。

### 1.5 耐盐碱促生菌的鉴定

通过光学显微镜观察耐盐碱促生菌的菌落形态，根据参考文献[18-19]对菌株进行生理生化测定。选用 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGT TTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GCTTA CCTTGTTACGACTT-3')进行扩增。PCR 反应体系(25  $\mu$ L)：2 $\times$ Taq Master Mix 12.5  $\mu$ L，上、下游引物(10  $\mu$ mol/L)各 1  $\mu$ L，DNA 模板 1  $\mu$ L，ddH<sub>2</sub>O 补足 25  $\mu$ L。PCR 反应条件：95  $^{\circ}$ C 5 min；94  $^{\circ}$ C 30 s，55  $^{\circ}$ C 30 s，72  $^{\circ}$ C 90 s，35 个循环；72  $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行 16S rRNA 基因序列分析，将测序结果上传至 GenBank 获得分离菌株登录号为 PQ436664，并通过 EzBioCloud 数据库进行比对，选取相似性最高的菌株序列，利用 MEGA 11.0 软件进行系统发育树的构建。

### 1.6 耐盐碱促生菌的全基因组测序分析

利用 FastQC、Trimmomatic 等软件对原始数据进行质控和过滤。采用 Canu 完成基因组的组装，并使用 Pilon 软件进行序列矫正，用 PGAP、RepeatModeler 等软件对基因组进行预测，生成菌株 NP36 的预测结果，参考 KEGG 数据库预测的代谢通路，确定菌株 NP36 基因组中参与

解磷和耐盐碱通路的相关基因，分析菌株 NP36 的解磷通路和耐盐碱通路。全基因组测序工作由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

### 1.7 耐盐碱促生菌对水稻种子萌发的影响

菌悬液的制备：挑取活化后的耐盐碱促生菌株的单菌落接种于 LB 液体培养基于 37  $^{\circ}$ C、160 r/min 振荡培养 24 h，5 000 r/min 离心 15 min，弃去上清液，加入无菌水洗涤，重复 3 次，制成菌悬液。

水稻种子的处理：向烧杯中加入无菌水浸泡水稻种子 30 min，去除空秕粒。再用 75%的乙醇表面消毒 5 min，1% NaClO 浸泡 5 min，无菌水清洗 3-5 次后装入烧杯中，分别加入无菌水、灭菌菌悬液和 3 种不同浓度(T1:  $1.0\times 10^6$  CFU/mL；T2:  $1.0\times 10^7$  CFU/mL；T3:  $1.0\times 10^8$  CFU/mL)的菌悬液进行浸种处理。

不同浓度菌悬液对水稻种子发芽的影响：在每个装有两层无菌滤纸的平板中放置 30 粒水稻种子。设置 5 个处理：CK1：无菌水浸种；CK2：灭菌菌悬液浸种；T1:  $1.0\times 10^6$  CFU/mL 菌悬液浸种；T2:  $1.0\times 10^7$  CFU/mL 菌悬液浸种；T3:  $1.0\times 10^8$  CFU/mL 菌悬液浸种。每组重复 3 次，试验过程中及时向平板中补充无菌水。放置在 28  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养 7 d 测定发芽率，并测量胚芽长度、胚根长度和侧根数。

发芽率=(发芽种子数/供试种子总数) $\times 100\%$

### 1.8 耐盐碱促生菌对盐碱胁迫下水稻种子萌发的影响

在上述试验中选取最适菌悬液浓度在 pH 9.0、30 mmol/L 的盐碱条件下进行水稻种子发芽试验。设置 4 个处理：CK1：无菌水浸润+无菌水浸种；T4：盐碱溶液浸润+无菌水浸种；T5：盐碱溶液浸润+灭活菌悬液浸种；T6：盐碱溶液浸润+ $1.0\times 10^7$  CFU/mL 菌悬液浸种。每组重复 3 次，

试验过程中及时向平板中分别补充盐碱溶液和无菌水。放置在 28 °C 恒温培养箱中培养 7 d 测定发芽率,并测量胚芽长度、胚根长度和侧根数。

## 1.9 数据分析

采用 Excel 软件对数据进行处理和统计,采用 SPSS 19.0 软件(Duncan 法)对不同处理间的差异进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐盐碱促生菌株的筛选结果

筛选得到 1 株耐盐碱促生菌,命名为 NP36。经鉴定,菌株 NP36 在 NaCl 浓度高于 1.4 mol/L 时生长受到严重抑制,当 NaCl 浓度高于 1.5 mol/L 时菌株几乎不能生长(图 1)。当苏打盐浓度高于 100 mmol/L 时生长受到抑制,当盐浓度高于 200 mmol/L 时,菌株生长受到严重抑制或不能

生长(图 2)。菌株 NP36 在 pH 4.0–11.0 时均可生长,其生长最适 pH 值为 7.5,当 pH<4.0 时,菌株无法生长(图 3)。菌株 NP36 无法在 Ashby 无氮培养基上生长,不能在蒙金娜有机磷培养基和解钾培养基上产生透明圈,在 CAS 检测培养基上未出现橙黄色光晕,因此菌株 NP36 不具备固氮、溶有机磷、解钾和产铁载体能力。菌株 NP36 可在 PKO 无机磷培养基上生长良好且有透明圈产生(图 4A),根据钼锑抗比色法,磷标准曲线方程为  $y=0.031\ 14x+0.002\ 48$ ,  $R^2=0.992\ 7$ ,相关系数  $R^2$  值(0.992 7)接近 1,表明试验数据和拟合函数吻合程度较高,方程可用,测得菌株 NP36 最大有效磷增量为  $(93.22\pm1.94)$  mg/L;此外,菌株 NP36 具有产 IAA 能力(图 4B),曲线方程为  $y=0.011\ 8x+0.011\ 9$ ,  $R^2=0.994\ 5$ ,测得菌株 NP36 单位 IAA 产量为  $(87.27\pm0.11)$  mg/L。

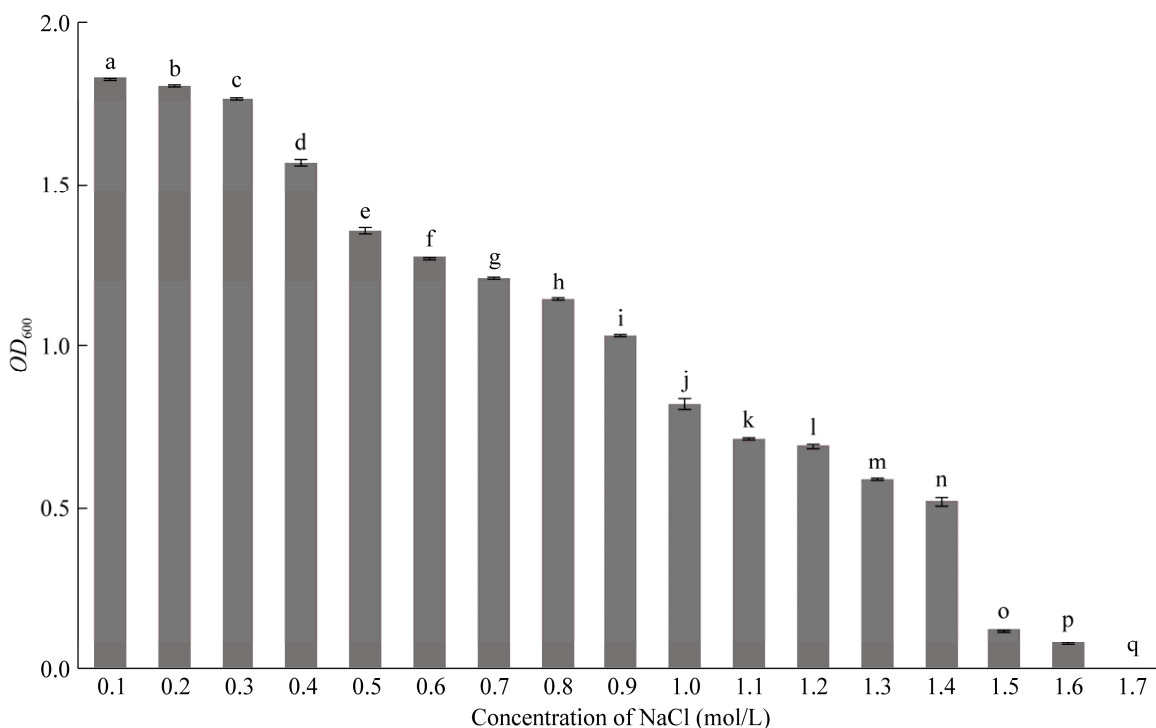


图 1 分离菌株 NP36 耐受氯化钠能力的测定 不同小写字母代表处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Figure 1 Determination of NaCl tolerance ability of isolated strain NP36. Different lowercase letters represent significant differences between treatments ( $P<0.05$ ).

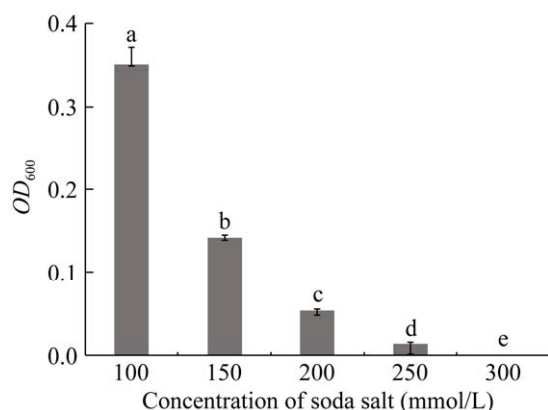


图 2 分离菌株 NP36 耐受苏打盐能力的测定 不同小写字母代表处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

Figure 2 Determination of soda salt tolerance ability of isolated strain NP36. Different lowercase letters represent significant differences between treatments ( $P < 0.05$ ).

## 2.2 分离菌株 NP36 的鉴定结果

### 2.2.1 菌株 NP36 的形态学鉴定结果

分离菌株 NP36 菌落呈乳白色, 圆形, 边缘整齐中间凸起, 半透明, 表面光滑湿润(图 5A),

菌株为革兰氏阴性细菌, 菌体形态呈短杆状(图 5B)。

### 2.2.2 菌株 NP36 的生理生化鉴定结果

分离菌株 NP36 接触酶试验、柠檬酸盐利用试验呈现阳性反应, 具有产蛋白酶的能力; 氧化酶试验、硫化氢试验、V-P 试验、硝酸盐还原试验、明胶液化试验均呈阴性反应, 不具备产纤维素酶的能力。

### 2.2.3 菌株 NP36 的 16S rRNA 基因序列分析

将测定的 16S rRNA 基因序列在 EzBioCloud 数据库进行比对分析, 菌株 NP36 与肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)属于同一分支, 序列相似度达到 99.19%, 因此初步确定分离菌株 NP36 为肺炎克雷伯氏菌, 将其命名为肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) NP36 (图 6)。

## 2.3 菌株 NP36 的全基因组测序结果

本研究利用 Illumina NovaSeq 测序平台对菌株 NP36 进行全基因组测序, 最终获得分离菌株 NP36 的基因组框架图。NP36 基因组测序

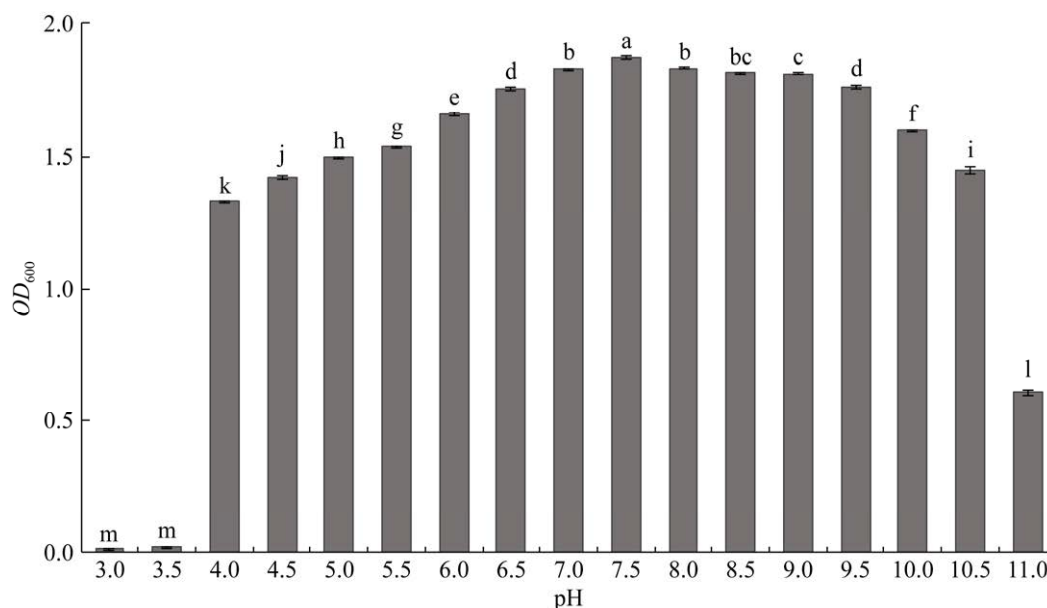


图 3 分离菌株 NP36 耐碱能力测定 不同小写字母代表处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

Figure 3 Determination of alkali tolerance ability of isolated strain NP36. Different lowercase letters in the figure represent significant differences ( $P < 0.05$ ).

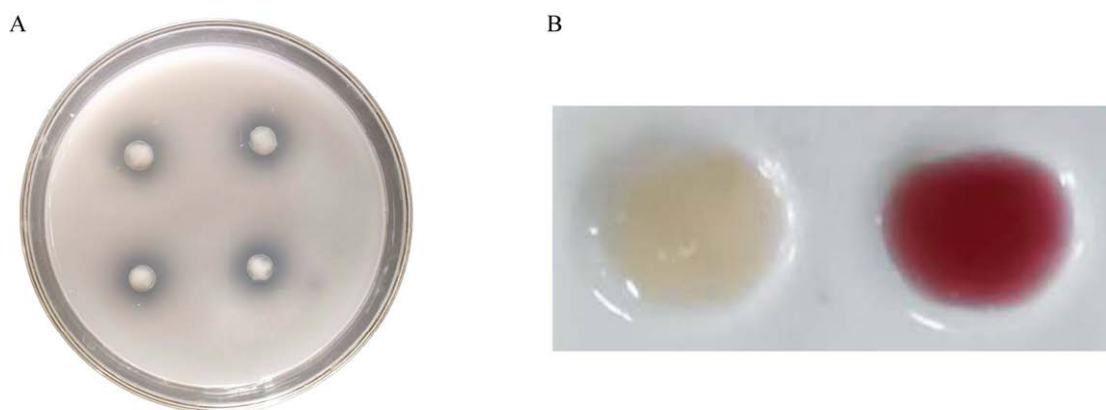


图 4 分离菌株 NP36 促生能力测定 A: 溶无机磷能力; B: 产 IAA 能力。

Figure 4 Determination of the growth-promoting ability of the isolated strain NP36. A: Ability to dissolve inorganic phosphorus; B: IAA production capacity.

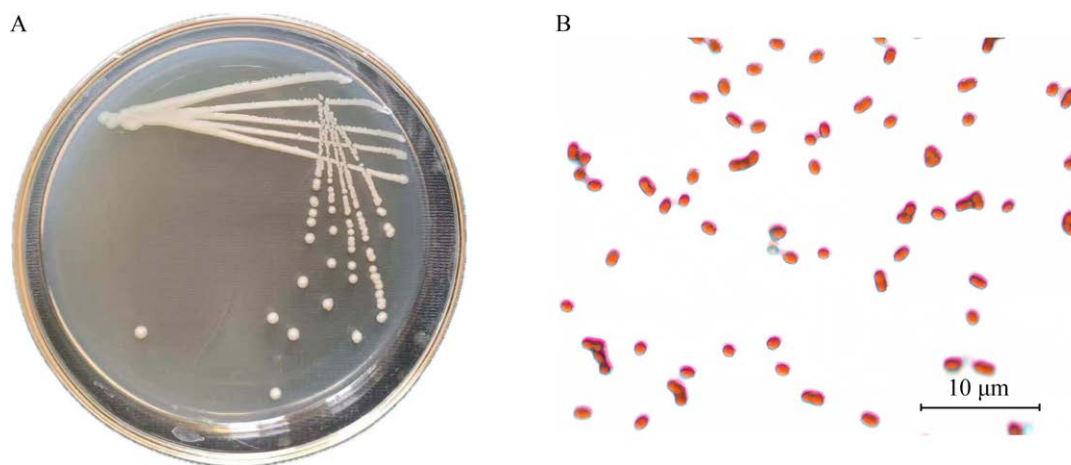


图 5 分离菌株 NP36 的菌落形态(A)和光学显微镜下革兰氏染色图(B)

Figure 5 Colony morphology (A) of isolated strain NP36 and Gram staining under optical microscopy (B). Bar: 10  $\mu$ m.

数据量总计 1 446 066 900 bp, 原始 reads 总数为 9 640 446 个, 过滤后获得 9 635 410 个高质量 reads, G+C 含量为 56.50%。菌株 NP36 基因组测序数据拼装完成后, 共获得 32 个 scaffold, 最小序列长度为 520 bp, 最大序列长度为 1 434 838 bp, N50 为 440 044 bp (表 1)。

基因组预测结果显示, 菌株 NP36 基因组共有 4 813 个蛋白编码基因, 总基因序列长度 4 524 350 bp, 每个基因平均长度 940 bp, 编码

序列(coding sequence, CDS)平均长度 956 bp, 预测到 10 个 rRNA、79 个 tRNA 和 1 个 ncRNA (表 2)。

通过 NCBI 的非冗余蛋白序列数据库(non-redundant protein sequences database, NR)注释到的基因最多, 占预测基因总数的 99.96%; 利用转运蛋白分类数据库(transporter classification database, TCDB)注释到的基因最少, 占预测基因总数的 20.96% (表 3)。

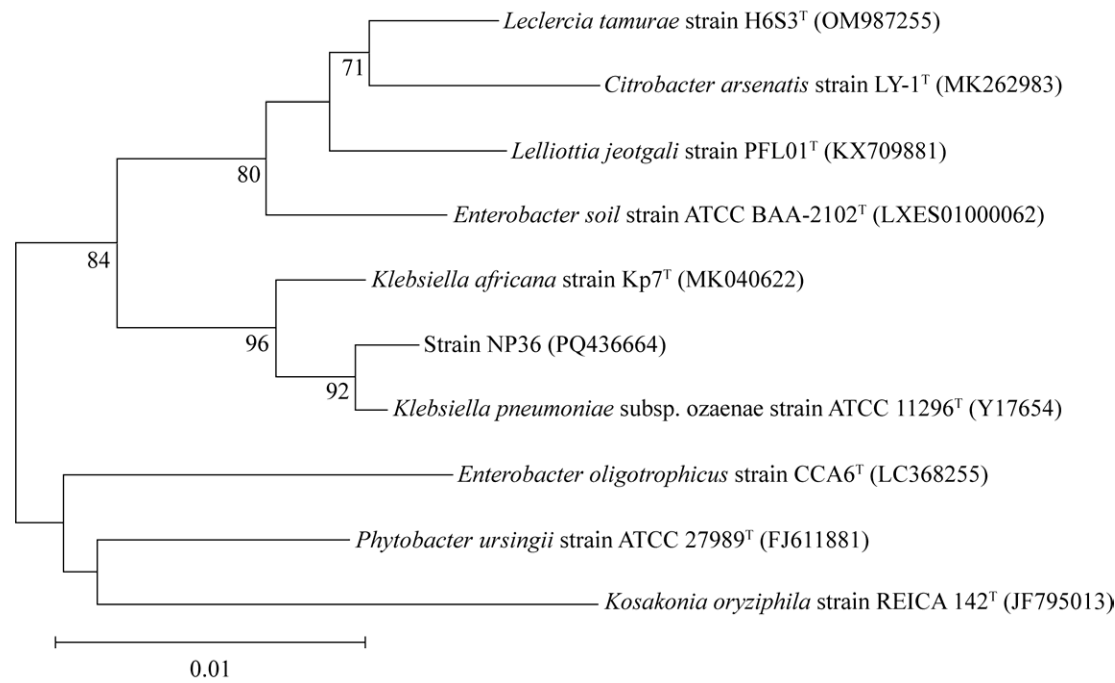


图 6 菌株 NP36 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 Bootstrap 检验次数设置 1 000 次；分支点上的数字为自展值(%)；括号中的序号表示对应菌株 16S rRNA 基因序列的 GenBank 登录号；标尺表示每个位点 0.01 次碱基替换。

Figure 6 Phylogenetic tree constructed by isolated strain NP36 based on 16S rRNA gene sequence. The number of bootstrap tests is set to 1 000; Bootstrap values are shown in branching points (%); GenBank accession numbers of 16S rRNA gene sequences are given in parentheses; The bar represents 0.01 substitutions per site.

表 1 分离菌株 NP36 的基因组测序与组装

Table 1 Genome sequencing and assembly of isolated strain NP36

| 类别 Category                    | 数量 Quantity   |
|--------------------------------|---------------|
| 碱基总数 Total number of base (bp) | 1 446 066 900 |
| 原始 reads 总数                    | 9 640 446     |
| Total number of raw reads      |               |
| 高质量 reads 数                    | 9 635 410     |
| Number of high-quality reads   |               |
| G+C 含量 G+C content (%)         | 56.50         |
| Scaffold 大片段数量                 | 32            |
| Scaffold large fragment count  |               |
| 最小序列长度                         | 520           |
| Minimum sequence length (bp)   |               |
| 最大序列长度                         | 1 434 838     |
| Maximum sequence length (bp)   |               |
| N50 (bp)                       | 440 044       |

表 2 菌株 NP36 的基因组预测结果

Table 2 Genome prediction results of isolated strain NP36

| 类别 Category                     | 数量 Quantity |
|---------------------------------|-------------|
| 蛋白编码基因数量                        | 4 813       |
| Number of protein-coding genes  |             |
| 总基因序列长度                         | 4 524 350   |
| Total gene sequence length (bp) |             |
| 基因平均长度                          | 940         |
| Gene average length (bp)        |             |
| CDS 平均长度                        | 956         |
| CDS average length (bp)         |             |
| rRNA                            | 10          |
| tRNA                            | 79          |
| ncRNA                           | 1           |

表 3 分离菌株 NP36 基因组功能分析汇总  
Table 3 Summary of genome function analysis of isolated strain NP36

| 数据库类型         | 基因数量        |
|---------------|-------------|
| Database type | Gene number |
| NR            | 4 721       |
| COG           | 3 798       |
| TCDB          | 990         |
| PFAM          | 3 570       |
| CDD           | 2 334       |
| KEGG          | 1 734       |
| GO            | 2 608       |

2.3.1 KEGG 功能注释

通过 KEGG pathway 注释分离菌株 NP36 的基因组，发现代谢通路中具有 1 734 个基因，富集在 29 条代谢通路中(图 7)。涉及基因数量较多的代谢通路主要有以下 5 条：碳水化合物代谢通路具有 22.55%的基因；膜运输通路具有 21.16%的基因；氨基酸代谢通路具有 15.63%的基因；辅助因子和维生素的代谢通路具有 11.07%的基因；能量代谢通路具有 10.50%的基因。其中，注释到分离菌株 NP36 与解磷相关

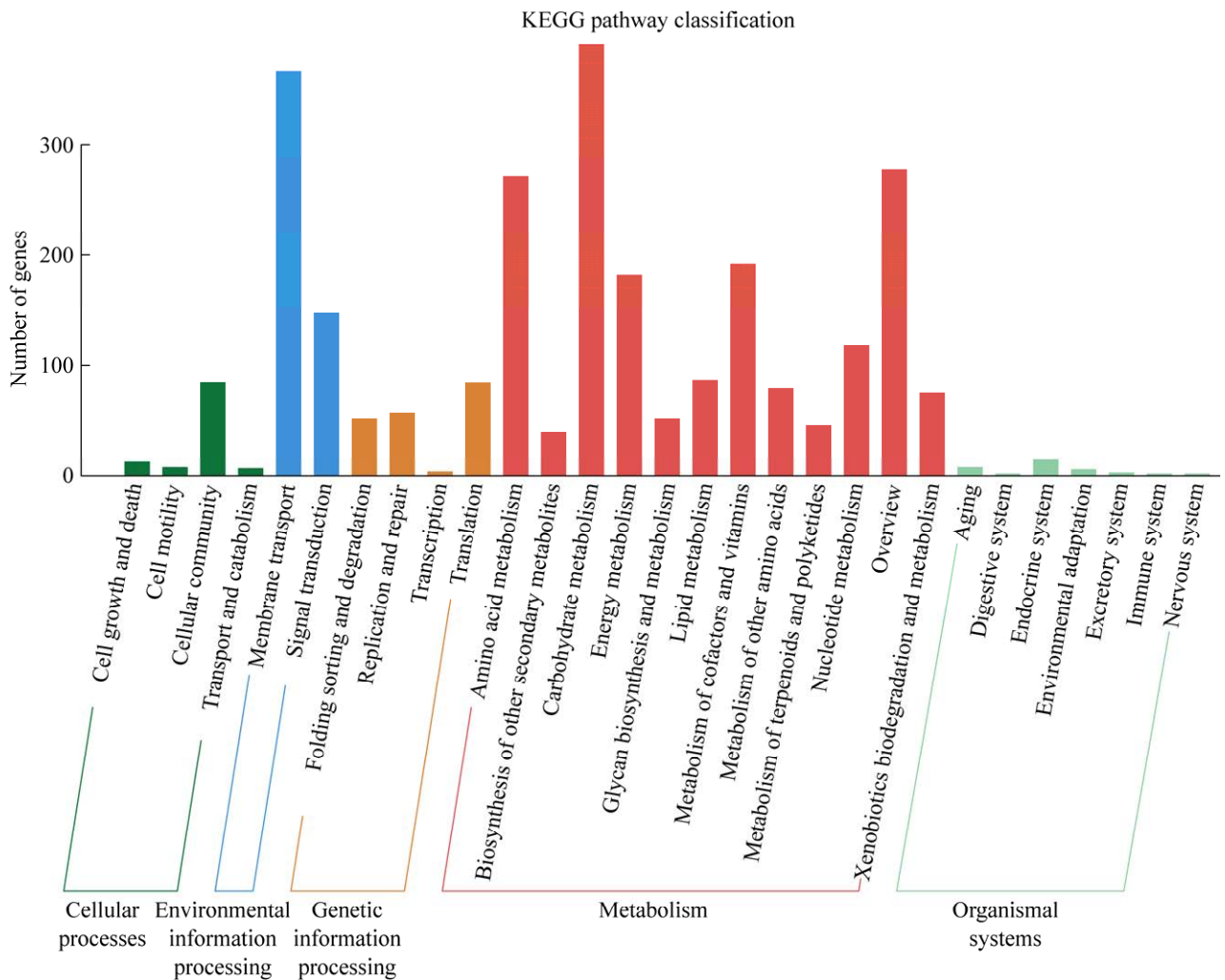


图 7 菌株 NP36 基因组 KEGG 数据库主要代谢通路分析  
Figure 7 KEGG database major metabolic pathway analysis of isolated strain NP36 genome.

基因 12 个, 主要参与氨基酸代谢、碳水化合物代谢和膜运输等代谢通路; 与耐盐碱相关基因 1 个, 主要参与氨基酸代谢、能量代谢及其他氨基酸的代谢通路。

### 2.3.2 菌株 NP36 解磷相关基因分析

微生物的解磷机制可以通过产生、分泌有机酸溶解土壤中难溶性磷酸盐并通过质膜上特定的磷化合物转运蛋白完成植物对有效磷的吸收<sup>[20]</sup>。葡萄糖酸(gluconic acid, GA)是微生物溶解无机矿物磷的主要有机酸之一<sup>[21]</sup>, 可由葡萄糖脱氢酶(glucose dehydrogenase, GDH)及其辅酶吡咯喹啉酮(pyr-roloquinoline quinone, PQQ)协同作用获得<sup>[22]</sup>, 葡萄糖脱氢酶(glucose dehydrogenase, GDH)的合成受 PQQ 依赖型葡萄糖脱氢酶基因(*gcd*)的调控<sup>[23]</sup>。通过 KEGG 数据库注释后发现, 分离菌株 NP36 具有编码 GDH 的关键基因 *gcd*, 以及较为完整的 PQQ 合成簇, 包括 *pqqB*、*pqqC*、*pqqD*、*pqqE* 基因, 王向向等<sup>[24]</sup>的研究提出 *pqqE* 基因编码的酶是

必需的。当土壤中难溶性磷酸盐转化为可溶性磷后, 通过质膜上的 *pstA*、*pstB*、*pstC*、*pstS* 编码的 ABC 型磷酸盐转运蛋白完成可溶性磷的运输和吸收<sup>[25]</sup>。分离菌株 NP36 具有完整的 ABC 型磷酸盐转运蛋白家族, 并且携带磷酸盐吸收调节因子(*phoB*, *phoU*)。当土壤中有效磷含量不足时, 可通过 *phoB* 激活 ABC 型磷酸盐转运蛋白, 从而完成可溶性磷的摄取; 当有效磷含量充足时, 通过 *phoU* 进行 *phoB* 的去磷酸化, 阻止可溶性磷的过多摄入<sup>[26]</sup>(图 8)。

### 2.3.3 菌株 NP36 耐盐碱相关基因分析

微生物可通过合成氨基酸抵抗盐碱胁迫, 如脯氨酸、精氨酸和谷氨酸等<sup>[27]</sup>。L-门冬氨酸盐可通过天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)生成 L-谷氨酸(L-glutamate), 再经过谷氨酸脱氢酶(*proA*)、谷氨酸激酶(*proB*)和吡咯喹啉-5-羧酸还原酶(*proC*)合成脯氨酸, 以便后续生成脯氨酸<sup>[28]</sup>。通过 KEGG 数据库注释后发现, 分离菌株 NP36 具有完整的 AST 家族,

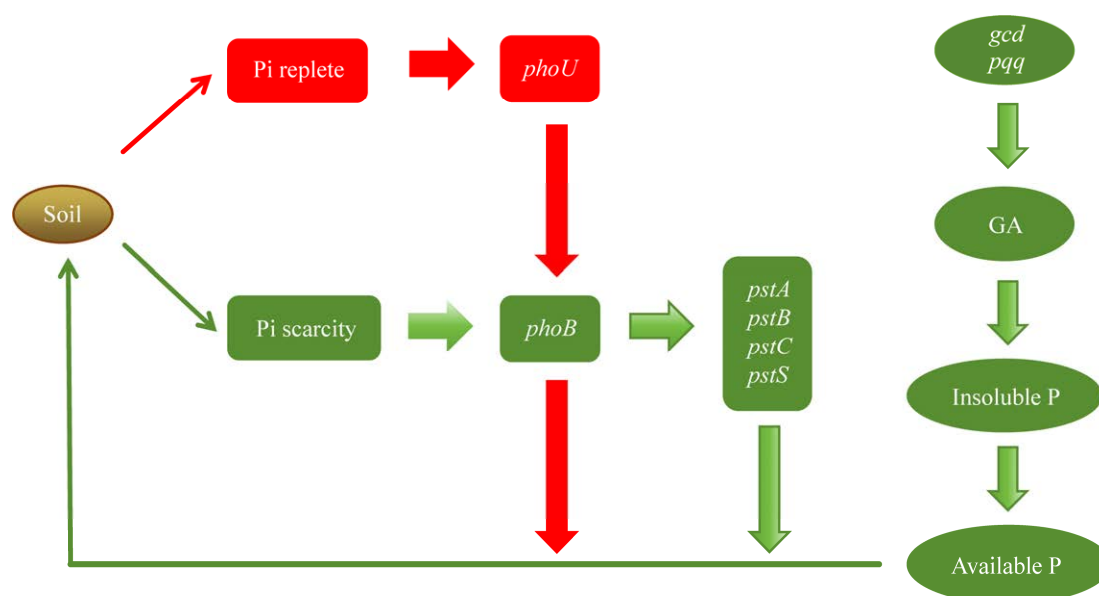


图 8 菌株 NP36 解磷基因通路图

Figure 8 Pathway diagram of phosphate-solubilizing gene of isolated strain NP36.

包括 *astA*、*astB*、*astC*、*astD*、*astE*，以及代谢谷氨酸的必需基因 *proA* 和 *proB* (图 9)。

2.4 菌株 NP36 对水稻种子萌发的影响

经 5 种处理的水稻种子萌发情况如下：各处理对水稻种子的萌发没有影响，相较于 CK1 处理，CK2 处理中灭活的菌悬液对水稻种子的萌发与生长无影响。相较于 CK1 处理，T1、T2 和 T3 处理均显著促进水稻种子胚芽、胚根和侧根的生长，其中 T2 处理效果最好，分别增加了 18.52%、14.90%和 19.87%，由此可见，T2 处理对水稻种子萌发有较好的促进作用(表 4)。

2.5 菌株 NP36 盐碱胁迫下对水稻种子萌发的影响

经 4 种处理的水稻种子萌发情况如下：相较于 CK1 处理，T4 处理中的盐碱胁迫会抑制

水稻种子的萌发,且 T5 处理中灭活的菌悬液不能缓解盐碱胁迫对水稻种子的危害，而 T6 处理可使水稻种子的胚芽长显著高于 T4 处理，提高了 67.21%，其胚根和侧根也得到进一步生长发育。由此可见，T6 处理在 pH 9.0、30 mmol/L 的盐碱条件下可缓解盐碱胁迫对水稻种子的危害(表 5)。

3 讨论

耐盐碱促生菌是指可以在盐碱地促进作物生长，进而提高作物产量的微生物<sup>[29]</sup>。目前研究人员已分离获得许多具有耐盐碱能力的 PGPR，如张小霞等<sup>[30]</sup>筛选出 1 株可在以 NaCl、NaHCO<sub>3</sub> 或 NaCl+NaHCO<sub>3</sub> 为盐成分的盐碱环境中促进拟南芥和玉米生长的盐单胞菌(*Halomonas* sp.) Bachu 26；王艳宇等<sup>[31]</sup>发现的分离菌株 DQSA1

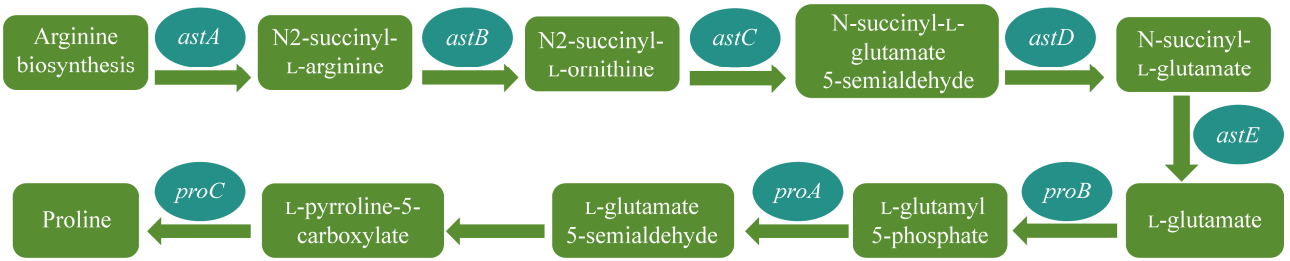


图 9 菌株 NP36 耐盐碱基因通路图  
Figure 9 Pathway diagram of saline-alkali tolerance gene of isolated strain NP36.

表 4 分离菌株 NP36 菌悬液对水稻种子萌发的影响

Table 4 Effect of isolated strain NP36 suspension on rice seed germination

| 组别    | 发芽率                  | 胚芽长             | 胚根长              | 侧根数                     |
|-------|----------------------|-----------------|------------------|-------------------------|
| Group | Germination rate (%) | Bud length (cm) | Root length (cm) | Number of lateral roots |
| CK1   | 96.67±1.93a          | 9.34±0.07c      | 4.16±0.03b       | 7.60±0.08c              |
| CK2   | 96.67±0.01a          | 9.63±0.03c      | 4.18±0.05b       | 7.65±0.12c              |
| T1    | 96.67±0.01a          | 10.16±0.05b     | 4.39±0.01b       | 7.94±0.01c              |
| T2    | 97.78±1.11a          | 11.07±0.22a     | 4.78±0.10a       | 9.11±0.03a              |
| T3    | 98.89±1.11a          | 10.44±0.13b     | 4.41±0.15b       | 8.44±0.27b              |

CK1：无菌水；CK2：灭活菌悬液；T1：1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL 菌悬液；T2：1.0×10<sup>7</sup> CFU/mL 菌悬液；T3：1.0×10<sup>8</sup> CFU/mL 菌悬液。不同小写字母代表处理间差异显著(*P*<0.05)。

CK1: Sterile water; CK2: Inactivation bacterial suspension; T1: 1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL suspension; T2: 1.0×10<sup>7</sup> CFU/mL suspension; T3: 1.0×10<sup>8</sup> CFU/mL suspension. Different lowercase letters in the figure represent significant differences (*P*<0.05).

表 5 菌株 NP36 菌悬液盐碱条件下对水稻种子萌发的影响

Table 5 Effect of isolated strain NP36 suspension on seed germination in rice under saline-alkali conditions

| 组别    | 发芽率                  | 胚芽长             | 胚根长              | 侧根数                     |
|-------|----------------------|-----------------|------------------|-------------------------|
| Group | Germination rate (%) | Bud length (cm) | Root length (cm) | Number of lateral roots |
| CK1   | 96.67±1.93a          | 9.34±0.07a      | 4.16±0.03a       | 7.60±0.08a              |
| T4    | 86.67±1.93b          | 2.44±0.01c      | 0.72±0.05c       | 1.97±0.06c              |
| T5    | 86.67±1.93b          | 2.46±0.01c      | 0.83±0.01c       | 2.26±0.07c              |
| T6    | 91.11±1.11ab         | 4.08±0.07b      | 4.08±0.03b       | 6.63±0.10b              |

CK1: 无菌水浸润+无菌水浸种; T4: 盐碱溶液浸润+无菌水浸种; T5: 盐碱溶液浸润+灭活菌悬液浸种; T6: 盐碱溶液浸润+ $1.0 \times 10^7$  CFU/mL 菌悬液浸种。不同小写字母代表处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

CK1: Sterile water infiltration+sterile water immersion; T4: Saline-alkali solution infiltration+sterile water immersion; T5: Saline-alkali solution infiltration+inactivation bacterial suspension soaking; T6: Saline-alkali solution infiltration+ $1.0 \times 10^7$  CFU/mL bacterial suspension soaking. Different lowercase letters in the figure represent significant differences ( $P < 0.05$ ).

为佐贝尔菌属(*Zobellella*)的一个新种,并且在盐碱条件下具有良好的促生效果。但目前已有的耐盐碱促生菌种类较少,并且对于不同的盐碱环境适应能力差。本研究采用改良后的 LB 培养基对大庆盐碱地区的水稻根际土壤进行细菌分离筛选,得到 1 株可耐苏打盐碱的菌株 NP36,经生理生化试验和分子生物学鉴定表明,菌株 NP36 为肺炎克雷伯氏菌。肺炎克雷伯氏菌对盐碱耐受程度的差异较大, Biswas 等<sup>[32]</sup>筛选获得的可促进豇豆生长的肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*, 登录号为 ON259697)可耐受 10% 的 NaCl, 苏悦等<sup>[33]</sup>筛选得到的 1 株可降解没食子酸的肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) MSZS12 可耐受 pH 5.0–9.0 及 3% 的 NaCl, 本文筛选获得的菌株 NP36 可以耐受 0.1–1.5 mol/L NaCl、pH 4.0–11.0, 属于耐盐碱菌株<sup>[34–35]</sup>。为验证菌株 NP36 耐受苏打盐能力,通过盐碱萌芽试验证实菌株 NP36 可在 pH 9.0、30 mmol/L 苏打盐的盐碱环境中缓解盐碱胁迫对种子萌发的影响。

促生特性也是抵抗盐碱胁迫的机制之一,菌株可以利用自身的促生能力改善环境从而为植物提供养分,促进植物生长。刘鹏飞<sup>[36]</sup>发现耐盐碱促生菌株在盐碱环境下可显著提高

玉米植株地上部干重并提高土壤速效氮含量。李静等<sup>[37]</sup>还发现具有溶磷能力的菌株对小麦生长有着积极影响。本研究获得的分离菌株 NP36 具有溶无机磷能力和产 IAA 能力,其溶磷量达到( $93.22 \pm 1.94$ ) mg/L, IAA 产量达到( $87.27 \pm 0.11$ ) mg/L,在盐碱环境中相较于无菌水浸种处理, $1.0 \times 10^7$  CFU/mL 菌悬液浸种处理能有效缓解盐碱胁迫对水稻种子的危害,水稻种子的胚根和侧根都因促生菌的加入而得到生长。

菌株 NP36 具有良好的解磷能力。肺炎克雷伯氏菌被报道过具有溶解磷酸盐的能力<sup>[38–40]</sup>,但较少的研究会在基因组水平探索肺炎克雷伯氏菌溶磷能力的机制, Rajkumari 等<sup>[41]</sup>的研究仅发现肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) AWD5 具有合成 GA 的 *pqq* 基因。通过全基因组测序分析,在菌株 NP36 基因组中发现可指导 GA 合成的基因 *gcd*、*pqq*,并与完整的磷酸盐转运蛋白家族和磷酸盐吸收调节因子构成完整的通路,从而提高难溶性磷酸盐的利用率。而有关微生物在盐碱胁迫下对植物的促生作用早有报道,但关于微生物具有耐盐碱能力的机制研究较少。目前研究人员发现了多个耐盐碱基因,如 *kdp*、*pro*、*ast*、*trk* 等<sup>[42–44]</sup>。本研究通过在基因组水平上找寻菌株 NP36 的耐盐碱基

因并分析菌株具有耐盐碱功能的原因,发现菌株 NP36 不仅具有完整的合成氨基酸的通路,而且具有与  $K^+$  转运相关的 Kdp 家族,有研究表明,植株内部  $K^+$  的吸收可以在盐碱胁迫下维持渗透压的平衡,抵抗盐碱胁迫带来的损伤<sup>[45]</sup>,推测这也是分离菌株 NP36 缓解盐碱胁迫的原因之一。

## 4 结论

本研究在大庆市盐碱地区的水稻根际土壤中筛选获得 1 株耐盐碱促生菌 NP36,经试验验证其可适应苏打盐碱地,并在苏打盐碱环境中提高水稻种子抵抗盐碱胁迫的能力。本研究在基因水平上揭示分离菌株 NP36 的解磷机制,通过合成有机酸将难溶性磷酸盐转化为植物可直接吸收利用的有效磷,并通过自身细胞完成有效磷的运输;其耐盐碱机制是通过合成氨基酸发生氧化还原反应从而抵抗盐碱胁迫。

## REFERENCES

- [1] 仇大成,廖子亚,邢庆花,王海胜,刘杰,赵百锁. 松嫩平原盐碱土细菌群落结构及环境互馈关系[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2037-2049.  
QIU DC, LIAO ZY, XING QH, WANG HS, LIU J, ZHAO BS. The correlation analyses between bacterial community and the crucial environmental factors in saline-alkali soil of Songnen Plain[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2037-2049 (in Chinese).
- [2] 王智颖. 松嫩平原盐碱地分布及空间变化研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学硕士学位论文, 2020.  
WANG ZY. Study on the distribution and spatial change of saline alkali land in Songnen Plain[D]. Harbin: Master's Thesis of Harbin Normal University, 2020 (in Chinese).
- [3] 孙韵雅,陈佳,王悦,程济南,韩庆庆,赵祺,李惠茹,李慧萍,何傲蕾,缙晶毅,吴永娜,牛舒琪,索升州,李静,张金林. 根际促生菌促生机理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1203-1215.  
SUN YY, CHEN J, WANG Y, CHENG JN, HAN QQ, ZHAO Q, LI HR, LI HP, HE AL, GOU JY, WU YN, NIU SQ, SUO SZ, LI J, ZHANG JL. Advances in growth promotion mechanisms of PGPRs and their effects on improving plant stress tolerance[J]. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(5): 1203-1215 (in Chinese).
- [4] 柳鑫鹏,臧淑英,智刚,渠凤甜. 盐碱土耐盐碱细菌筛选及其植物促生能力研究[J]. 土壤通报, 2022, 53(3): 567-576.  
LIU XP, ZANG SY, ZHI G, QU FT. Isolation for plant-growth promoting halotolerant bacteria from alkali-saline soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(3): 567-576 (in Chinese).
- [5] 周妍,王丽娜,张美珍,王思文,刘权,殷奎德. 盐碱土加沙后接种溶磷菌对绿豆根际土壤细菌多样性的影响[J]. 山东农业科学, 2022, 54(6): 73-81.  
ZHOU Y, WANG LN, ZHANG MZ, WANG SW, LIU Q, YIN KD. Effects of inoculating phosphorus-solubilizing bacteria on bacterial diversity of mung bean rhizosphere soil mixed with sands in saline alkaline soil[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2022, 54(6): 73-81 (in Chinese).
- [6] 韩毅强,高亚梅,杜艳丽,张玉先,杜吉到,张文慧,潘绍玉. 大豆耐盐碱种质资源鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(6): 1016-1024.  
HAN YQ, GAO YM, DU YL, ZHANG YX, DU JD, ZHANG WH, PAN SY. Identification of saline-alkali tolerant germplasm resources of soybean during the whole growth stage[J]. Chinese Journal of oil Crop Sciences, 2021, 43(6): 1016-1024 (in Chinese).
- [7] GAO YM, HAN YQ, LI X, LI MY, WANG CX, LI ZW, WANG YJ, WANG WD. A salt-tolerant *Streptomyces paradoxus* D2-8 from rhizosphere soil of *Phragmites communis* augments soybean tolerance to soda saline-alkali stress[J]. Polish Journal of Microbiology, 2022, 71(1): 43-53.
- [8] 李章雷,刘爽,王艳宇,周妍,刘权,殷奎德. 5株耐盐碱促生细菌的筛选鉴定及其对红小豆的促生作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(5): 1580-1592.  
LI ZL, LIU S, WANG YY, ZHOU Y, LIU Q, YIN KD. Screening and identification of five saline-alkali tolerant bacteria for growth promotion of red adzuki bean[J]. Microbiology China, 2021, 48(5): 1580-1592 (in Chinese).
- [9] 刘悦,徐伟慧,王志刚. 大豆根际促生菌的筛选鉴定与促生效应[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(12): 2775-2784.  
LIU Y, XU WH, WANG ZG. Screening and identification of soybean rhizosphere growth-promoting bacteria and their growth-promoting effects[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2023, 35(12): 2775-2784 (in Chinese).
- [10] 孟丽媛,邱涵,谢瑾,林星宇,吴兰,欧阳双,魏赛金. 解磷菌、解钾菌和固氮菌的分离筛选与鉴定[J]. 生物灾害科学, 2022, 45(2): 241-246.  
MENG LY, QIU H, XIE J, LIN XY, WU L, OUYANG S, WEI SJ. Isolation, screening and identification of phosphorus-solubilizing bacteria, potassium-solubilizing bacteria and nitrogen-fixing bacteria[J]. Biological Disaster Science, 2022, 45(2): 241-246 (in Chinese).
- [11] 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).
- [12] 李冬莹. 松嫩平原耐盐碱促生菌的筛选鉴定及其植物促生作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学硕士学位论文, 2022.  
LI DY. Screening and identification of salt-tolerant and

- growth-promoting bacteria in Songnen Plain and their plant growth-promoting effects[D]. Harbin: Master's Thesis of Helongjiang University, 2022 (in Chinese).
- [13] JABBOROVA D, ANNAPURNA K, FAYZULLAEVA M, SULAYMONOV K, KADIROVA D, JABBAROV Z, SAYYED RZ. Isolation and characterization of endophytic bacteria from ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)[J]. *Annals of Phytomedicine*, 2020, 9(1): 116-121.
- [14] SENTHILKUMAR M, AMARESAN N, SANKARANARAYANAN A. Isolation of microorganisms producing hydrolytic enzymes: protease[M]. *Springer Protocols Handbooks*. New York, NY: Springer US, 2020: 193-194.
- [15] KASHYAP AS, MANZAR N, MESHRAM S, SHARMA PK. Screening microbial inoculants and their interventions for cross-kingdom management of wilt disease of solanaceous crops-a step toward sustainable agriculture[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1174532.
- [16] 孟建宇, 郭慧琴, 贾丽娟, 杨鸿儒, 冯福应. 内蒙古荒漠灌木内生解磷菌类群及其解磷和产铁载体能力分析[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(12): 260-264.
- MENG JY, GUO HQ, JIA LJ, YANG HR, FENG FY. Study on endophytic phosphorus-solubilizing bacteria community of desert shrubs in Inner Mongolia and their phosphorus-solubilizing and siderophore-producing capabilities[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(12): 260-264 (in Chinese).
- [17] MOHITE B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2013.
- [18] Buchanan RE, Gibbons NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所, 译. 8版. 北京: 科学出版社, 1984.
- BUCHANAN RE, GIBBONS NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Trans. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [19] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 350-370.
- DONG XZ, CAI MY. *Handbook of Identification of Common Bacterial Systems*[M]. Beijing: Science Press, 2001: 350-370 (in Chinese).
- [20] 姜焕焕, 李嘉钦, 陈刚, 王通, 迟晓元, 祁佩时. 解磷微生物及其在盐碱土中的应用研究进展[J]. *土壤*, 2021, 53(6): 1125-1131.
- JIANG HH, LI JQ, CHEN G, WANG T, CHI XY, QI PS. Phosphate solubilizing microorganisms and application progress in saline-alkaline soil[J]. *Soils*, 2021, 53(6): 1125-1131 (in Chinese).
- [21] LIU WX, WANG QL, HOU JY, TU C, LUO YM, CHRISTIE P. Whole genome analysis of halotolerant and alkalotolerant plant growth-promoting rhizobacterium *Klebsiella* sp. D5A[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26710.
- [22] 秦利均, 杨永柱, 杨星勇. 土壤溶磷微生物溶磷、解磷机制研究进展[J]. *生命科学研究*, 2019, 23(1): 59-64, 86.
- QIN LJ, YANG YZ, YANG XY. Advances in mechanisms of soil phosphorus solubilization and dissolution by phosphate solubilizing microorganisms[J]. *Life Science Research*, 2019, 23(1): 59-64, 86 (in Chinese).
- [23] LI Y, ZHANG JQ, GONG ZL, XU WL, MOU ZS. *Gcd* gene diversity of quinoprotein glucose dehydrogenase in the sediment of Sancha Lake and its response to the environment[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 16(1): 1.
- [24] 王向向, 陈静宇, 孟利强, 张烨, 李萌, 曹旭. 溶磷微生物功能基因的研究进展[J]. *生物过程*, 2022, 12: 170.
- WANG XX, CHEN JY, MENG LQ, ZHANG Y, LI M, CAO X. Advances in functional genes of phosphorus-solubilizing microorganisms[J]. *Bioprocess*, 2022, 12: 170 (in Chinese).
- [25] 郭小丹, 唐珊, 余水静. 脐橙根际解磷菌的分离鉴定及全基因组测序分析[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(10): 39-47.
- GUO XD, TANG S, YU SJ. Isolation, identification and genome sequencing analysis of phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere of navel orange[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2023, 51(10): 39-47 (in Chinese).
- [26] SANTOS-BENEIT F. The Pho regulon: a huge regulatory network in bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 402.
- [27] MIN YF, YU D, YANG JH, ZHAO WD, ZHANG LS, BAI Y, GUO CH. Bioinformatics and expression analysis of proline metabolism-related gene families in alfalfa under saline-alkali stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 205: 108182.
- [28] 王伟伟, 唐鸿志, 许平. 嗜盐菌耐盐机制相关基因的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(3): 550-558.
- WANG WW, TANG HZ, XU P. Salt-tolerance related genes in halophilic bacteria and Archaea[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(3): 550-558 (in Chinese).
- [29] 梁洪榜, 赵丽, 周云鹏, 刘畅, 和婧, 匡乃昆, 李云开. 盐碱地应用根际促生菌对土壤改良、作物产量与品质的影响: 基于 META 分析[J]. *土壤*, 2022, 54(6): 1257-1264.
- LIANG HB, ZHAO L, ZHOU YP, LIU C, HE J, KUANG NK, LI YK. Effects of rhizosphere growth-promoting bacteria on soil improvement, crop yield and quality in saline-alkali land: a META analysis[J]. *Soils*, 2022, 54(6): 1257-1264 (in Chinese).
- [30] 张小霞, 陈筱玥, 王秋云, 张国只, 杨新平, 代金平, 梁振普. 柽柳根际一株盐单胞菌 *Bachu* 26 的分离、鉴定及其盐胁迫下的促生作用研究[J]. *微生物学报*, 2024, 64(2): 607-622.
- ZHANG XX, CHEN XY, WANG QY, ZHANG GZ, YANG XP, DAI JP, LIANG ZP. Isolation and identification of *Halomonas* sp. Bachu 26 with plant growth-promoting effect from rhizosphere of *Tamarix chinensis* under salt stress[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(2): 607-622 (in Chinese).
- [31] 王艳宇, 向君亮, 周妍, 刘权, 殷奎德, 张兴梅. 耐盐碱细菌 DQSA1 的分离鉴定及盐碱胁迫下对绿豆的促生作用[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(8): 2653-2664.
- WANG YY, XIANG JL, ZHOU Y, LIU Q, YIN KD, ZHANG XM. Isolation and identification of saline-alkali tolerance bacteria DQSA1 and its growth-promoting effect on mung bean under saline-alkali stress[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(8): 2653-2664 (in Chinese).

- [32] BISWAS S, PHILIP I, JAYARAM S, SAROJINI S. Endophytic bacteria *Klebsiella* spp. and *Bacillus* spp. from *Alternanthera philoxeroides* in Madiwala Lake exhibit additive plant growth-promoting and biocontrol activities[J]. Journal of Genetic Engineering & Biotechnology, 2023, 21(1): 153.
- [33] 苏悦, 夏雨, 张文武, 王伟, 王开彬, 李书峰, 杨宇斯. 一株耐盐且高效降解没食子酸的肺炎克雷伯氏菌及其应用: CN202210167857.7[P]. 2022-05-31.
- SU Y, XIA Y, ZHANG WW, WANG W, WANG KB, LI SF, YANG YS. A salt-tolerant and efficient gallic acid degrading strain of *Klebsiella pneumoniae* and its application: CN202210167857.7[P]. 2022-05-31 (in Chinese).
- [34] 周德庆. 微生物学教程[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2020: 243-244.
- ZHOU DQ. Essential Microbiology[M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2020: 243-244 (in Chinese).
- [35] 庄滢潭, 刘芮存, 陈雨露, 杨岑玥, 余岩, 王涛, 王友亮, 宋亚军, 滕越. 极端微生物及其应用研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2022, 52(2): 204-222.
- ZHUANG YT, LIU RC, CHEN YL, YANG CY, YU Y, WANG T, WANG YL, SONG YJ, TENG Y. Extremophiles and their applications[J]. Scientia Sinica (Vitae), 2022, 52(2): 204-222 (in Chinese).
- [36] 刘鹏飞. 耐盐碱功能菌株的促生效果及其对土壤细菌群落的影响[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2023.
- LIU PF. The promoting effect of saline alkali resistant functional strains and their impact on soil bacterial communities[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2023 (in Chinese).
- [37] 李静, 李明源, 张甜, 周茜, 王继莲. 盐生植物解磷菌的筛选及促生效应研究[J]. 核农学报, 2023, 37(7): 1470-1479.
- LI J, LI MY, ZHANG T, ZHOU Q, WANG JL. Screening of phosphate-solubilizing bacteria from halophytes and their growth-promoting effects[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2023, 37(7): 1470-1479 (in Chinese).
- [38] WANG JJ, LI RC, ZHANG H, WEI GH, LI ZF. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 38.
- [39] MOTURU US, NUNNA T, AVULA VG, JAGARLAMUDI VR, GUTHA RR, TAMMINANA S. Investigating the diversity of bacterial endophytes in maize and their plant growth-promoting attributes[J]. Folia Microbiologica, 2023, 68(3): 369-379.
- [40] LIU D, CHEN L, ZHU XF, WANG YY, XUAN YH, LIU XY, CHEN LJ, DUAN YX. *Klebsiella pneumoniae* SneBYK mediates resistance against *Heterodera glycines* and promotes soybean growth[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1134.
- [41] RAJKUMARI J, SINGHA LP, PANDEY P. Genomic insights of aromatic hydrocarbon degrading *Klebsiella pneumoniae* AWD5 with plant growth promoting attributes: a paradigm of soil isolate with elements of biodegradation[J]. 3 Biotech, 2018, 8(2): 118.
- [42] 杨雁霞, 张文洪, 杨云娟, 黄遵锡, 唐湘华, 李俊俊, 慕跃林, 许波. 宏基因组学应用于耐盐酶类及耐盐基因研究的进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(4): 900-912.
- YANG YX, ZHANG WH, YANG YJ, HUANG ZX, TANG XH, LI JJ, MU YL, XU B. Metagenomics in studying salt tolerance enzymes and salt tolerance genes[J]. Microbiology China, 2019, 46(4): 900-912 (in Chinese).
- [43] 侯蓉苗. 金莲花幼苗对复合盐碱胁迫的生长生理响应及转录组分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2023.
- HOU RM. Growth, physiological and transcriptome analysis of *Trollius chinensis* seedlings in response to complex saline-alkali stress[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [44] 孙鹏波, 王志军, 格根图, 建原, 金花, 贾玉山. 紫花苜蓿耐盐碱胁迫与缓减措施的研究进展[J]. 北方园艺, 2023(21): 131-137.
- SUN PB, WANG ZJ, GE GT, JIAN Y, JIN H, JIA YS. Research progress of alfalfa salt and alkali stress tolerance and mitigation measures[J]. Northern Horticulture, 2023(21): 131-137 (in Chinese).
- [45] 贾冰冰. AM 真菌提高牧草在重金属污染盐碱化土壤中耐受性的作用机制[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学硕士学位论文, 2021.
- JIA BB. The mechanism of AM fungi improving tolerance of grasses in heavy metal contaminated saline soil[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia University, 2021 (in Chinese).