

研究报告

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

赵龙飞^{*1}, 徐亚军¹, 邵璇¹, 杨静雅²

1 商丘师范学院生物与食品学院 河南省特色微生物资源开发与应用工程研究中心, 河南 商丘 476000

2 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081

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 Longfei, Xu Yajun, Shao Xuan, Yang Jingya. 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

摘要: 【背景】盐胁迫环境严重影响大豆幼苗生长, 内生菌可提高作物的抗逆性。【目的】探究接种内生枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 对盐胁迫下大豆幼苗体内超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性的影响。【方法】以“徐豆 20”为实验材料, 采用盆栽实验法, 设置对照组、盐胁迫组和盐胁迫接菌组, 在人工气候培养条件下, 用不同 NaCl 浓度 (50、100、150、200、250 和 300 mmol/L) 处理大豆幼苗, 并接种不同 OD_{600} 值 ($OD_{0.33}$ 、 $OD_{0.50}$ 和 $OD_{0.75}$) 的菌悬液。【结果】培养 14 d, 接种枯草芽孢杆菌 127 的菌悬液 $OD_{0.33}$ 和 $OD_{0.75}$ 分别在盐浓度 300 mmol/L 和 100 mmol/L 时, SOD 活性均为 1.04 U/g-FW; 接种解蛋白芽孢杆菌 133 的菌悬液 $OD_{0.50}$ 在盐浓度 300 mmol/L 胁迫下 POD 活性最高为 7 820 U/(g·min), 对大豆幼苗修复效果较显著。培养 28 d, 接种枯草芽孢杆菌 127 的菌悬液 $OD_{0.50}$, 在 150 mmol/L 时 SOD 活性最高 (0.88 U/g-FW); 接种解蛋白芽孢杆菌 133 的菌悬液 $OD_{0.50}$ 在 100 mmol/L 盐胁迫下, POD 活性最高 [8 300 U/(g·min)], 对大豆幼苗修复效果最显著。【结论】内生枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 发挥作用的最适盐浓度不同, 盐胁迫下接种内生菌可使大豆幼苗体内 SOD 和 POD 活性不同程度变化, 表明接种内生枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 均可提高大豆幼苗的耐盐性, 对盐胁迫环境的大豆幼苗具有修复作用。

关键词: 芽孢杆菌; 大豆幼苗; 盐胁迫; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶

基金项目: 国家自然科学基金(U1204301); 河南省自然科学基金(182300410069); 河南省重点研发与推广专项(212102310223); 国家级大学生创新创业训练计划重点项目(202010483004)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (U1204301); Natural Science Foundation of Henan Province (182300410069); Key Specialized Research and Development Program of Henan Province (212102310223); National Innovation Experiment Program for University Students (202010483004)

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

Received: 2021-08-11; Accepted: 2021-10-25; Published online: 2022-01-21

Two endophytic *Bacillus* strains from soybean nodules affect superoxide dismutase and peroxidase activities in soybean seedlings under salt stress

ZHAO Longfei^{*1}, XU Yajun¹, SHAO Xuan¹, YANG Jingya²

1 Engineering Research Center of Development and Application of Characteristic Microbial Resources in Henan, College of Biology and Food, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, Henan, China

2 Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: [Background] Salt stress affects the growth of soybean seedlings, while endophytic bacteria can improve the resistance of soybean seedlings to salt stress. [Objective] This study aims to investigate the effects of endophytic *Bacillus subtilis* 127 and *B. proteolyticus* 133 on the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in soybean seedlings under salt stress. [Methods] Pot experiments were carried out with the soybean variety 'Xudou 20' in three groups: control group, salt stress group, and salt stress group with strain inoculation. Under artificial climatic conditions, the soybean seedlings were respectively treated with different concentrations (50, 100, 150, 200, 250 and 300 mmol/L) of NaCl solutions and inoculated with the bacterial suspensions at OD0.33, OD0.50 and OD0.75 (OD₆₀₀ value). [Results] After 14 days, the SOD activity was 1.04 U/g-FW in the soybean seedlings treated with 300 mmol/L or 100 mmol/L NaCl solution and inoculated with *B. subtilis* 127 suspension at OD0.33 or OD0.75; the POD activity was the highest (7 820 U/(g·min)) in the soybean seedlings treated with 300 mmol/L NaCl solution and inoculated with *B. proteolyticus* 133 suspension at OD0.50. After 28 days, the SOD activity was the highest (0.88 U/g-FW) in the soybean seedlings treated with 150 mmol/L NaCl solution and inoculated with *B. subtilis* 127 suspension at OD0.50; the POD activity was the highest (8 300 U/(g·min)) in the soybean seedlings treated with 100 mmol/L NaCl solution and inoculated with *B. proteolyticus* 133 suspension at OD0.50. [Conclusion] The optimum salt concentrations for endophytes *B. subtilis* 127 and *B. proteolyticus* 133 are different, and inoculation of endophytes can increase the SOD and POD activities in soybean seedlings exposed to salt stress. Both *B. subtilis* 127 and *B. proteolyticus* 133 can improve the salt tolerance of soybean seedlings.

Keywords: *Bacillus*; soybean seedlings; salt stress; SOD; POD

土壤盐渍化会导致土壤板结、肥力下降,不利于农作物对养分的吸收和利用,阻碍作物生长,这已成为全球性资源和生态难题。由于不合理污水灌溉和大量施用化肥,我国土壤盐渍化愈发严重,导致可利用耕地日益减少,成为限制作物产量和品质的重要因素之一^[1]。土壤中盐浓度过高不仅会破坏植物细胞的渗透平

衡,使植物根系因吸收大量的 Na⁺和 Cl⁻造成离子毒害,从而影响植物光合作用^[2],盐胁迫还可诱导植物体内过氧化氢(H₂O₂)、超氧自由基(O²⁻)等活性氧的积累,从而引起膜脂过氧化,破坏细胞膜加剧细胞内电解质外渗,导致细胞活性氧代谢失衡^[3]。此时植物体可通过增加体内抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,

SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等酶活性, 加快活性氧的清除, 修复损伤并有效维持植物体内活性氧代谢平衡, 减少逆境胁迫对植物体的伤害^[4]。盐胁迫不仅会使作物产量明显减少, 而且让作物本身的潜在优势难以发挥出来。因此, 提高作物的耐盐胁迫能力和恢复生态环境已经成为生态学、植物学、微生物学关注的焦点。大豆(*Glycine max* L.)作为中度耐盐作物, 种植范围广, 是我国食用植物油和动物饲料的主要来源, 也是我国重要的经济作物^[5]。因此, 提高大豆的耐盐性对于我国盐渍化地区的农业发展和生态环境保护都具有重要意义。

植物内生菌是指那些在其生活史的一定阶段或全部阶段生活在健康植物的组织或组织间隙内, 并能正常繁殖和生长及产生次生代谢产物, 但不会引起宿主植物产生明显病害症状的微生物类群^[6-7]。内生菌长期存在植物体中, 与宿主共同进化, 二者间形成互利互惠的关系。其在植物生长发育及代谢过程中发挥着重要作用, 是植物体不可忽视的一部分。一些内生菌还能抑制病虫害, 增强对非生物胁迫的抗性, 促进宿主生长^[8-9]。Radhakrishnan 等^[10]研究发现芽孢杆菌的存在可增加植物对压力的耐受性。Myresiotis 等^[11]利用枯草芽孢杆菌可减少现代农业中合成农药和杀菌剂的使用。因此, 内生菌在农业生产及农药研发方面具有广阔应用前景, 其不仅能修复盐胁迫带来的伤害, 提高植物抗盐胁迫能力^[12], 并且具有成本低廉、环境友好、有效缓解土壤盐渍化状况等优点。因此, 利用植物内生菌提高作物的抗逆性, 缓解土壤盐化对农业生产的影响已经成为一大研究热点。目前, 植物内生菌的研究主要集中在内生菌与植物代谢相互关系、内生菌代谢产物对宿主植物的影响^[13-15], 而利用内生菌提高盐胁迫下大豆幼苗抗性研究的报道^[16-17]还较为少见。因

此, 本试验以优良菌株枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 为研究对象, 以徐豆 20 为实验材料, 研究枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 对盐胁迫下大豆幼苗体内 SOD 和 POD 活性的影响, 探索盐胁迫环境对大豆幼苗毒害的修复作用, 开发微生物菌肥协助植物提高耐盐性, 对维持农业生态平衡具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆品种“徐豆 20”(国审豆 2014012, 豫东黄河故道区域大面积种植品种), 内生枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 由课题组从大豆根瘤分离纯化获得, 斜面短期贮存于 4 °C 冰箱。

大豆根瘤内生菌来源: 枯草芽孢杆菌 127 分离自河南省林州市城郊乡岳西峪村(E113°37'; N35°40', 海拔 1 520 m); 解蛋白芽孢杆菌 133 分离自河南省开封市祥符区半坡店乡周庄村(E114°44'; N34°75', 海拔 65 m)。

培养基: 牛肉膏蛋白胨培养基^[18]、LB 培养基^[19]。

1.2 方法

1.2.1 内生菌悬液的制备

将内生菌枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 接种于牛肉膏蛋白胨培养基上, 30 °C 培养 3 d。将内生菌接种于 LB 液体培养基中, 30 °C、130 r/min 培养 3 d, 待菌体生长至对数期 OD_{600} 约为 0.6 时将培养基分装于 50 mL 离心管, 10 000 r/min 冷冻离心 10 min, 弃上清收集沉淀, 加无菌水在波长 600 nm 处配成 OD_{600} 约为 1 的菌悬液(1.5×10^6 CFU/mL), 4 °C 冰箱中短期保存备用。接种时和无菌水按照比例稀释, 制成 $OD_{0.33}$ 、 $OD_{0.50}$ 、 $OD_{0.75}$ 的菌悬液。

1.2.2 菌株形态特征及理化测试

对筛选菌株进行形态特征和生理生化特性

测定, 方法参见文献[20]。

1.2.3 内生细菌 16S rRNA 基因测序及系统发育分析

提取内生细菌 127 和 133 基因组 DNA^[21], 对基因组 DNA 进行 PCR 扩增。所用正向引物 P1 (5'-CGGGATCCAGAGTTTGATCCTGGCTCAGAACGAACGCT-3')和反向引物 P2 (5'-CGGGATCCTACGGCTACCTTGTACGACTTCACCC-3')。PCR 反应体系^[22](50 μ L): 2 \times Taq Master Mix 0.25 μ L, dNTPs 2 μ L, 正向引物 P1 1 μ L, 反向引物 P6 1 μ L, DNA 模板 1 μ L, 10 \times buffer (2.5 mg Mg²⁺) 5 μ L, ddH₂O 39.75 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 2.5 min; 94 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 36 个循环; 72 $^{\circ}$ C 2 min; 4 $^{\circ}$ 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 对待测菌株序列进行反向互补及反向转换, 用 MEGA 5.05 构建系统发育树, 以确定待测菌株的系统发育地位。

1.2.4 种子处理和实验设计

2018 年 3 月-2019 年 5 月, 挑选颗粒饱满、大小均一、无霉变大豆种子, 用无菌水冲洗 3-4 遍, 分装于小培养皿中加无菌水没过大豆种子, 25 $^{\circ}$ C 恒温培养 2 h, 倒掉培养皿中无菌水, CK 组、处理组分别加无菌水和菌悬液, 浸种培养 1 h。待大豆露芽, 播种于装有灭菌蛭石花盆($\varnothing=21$ cm)中, 每盆 40 颗, 放于人工气候培养箱中, 以白天 25 $^{\circ}$ C 10 h 相对湿度 85%、晚上 18 $^{\circ}$ C 14 h 相对湿度 75% 条件培养。本实验设置有 1 组空白对照和 6 个盐处理, 3 个重复, NaCl 浓度梯度为: 50、100、150、200、250、300 mmol/L。第 1 天, CK、菌悬液组和盐胁迫组均浇灌 30 mL 无菌水; 第 2 天, CK 浇灌 30 mL 无菌水, 菌悬液组、盐胁迫组均浇灌 30 mL NaCl 溶液; 第 3 天, CK 组和盐胁迫组浇

灌 30 mL 无菌水, 菌悬液组浇灌 30 mL 菌悬液, 如此 3 d 一个循环。

1.2.5 SOD 活性检测

采用氯化硝基四氮唑蓝 (nitroblue tetrazolium chloride, NBT) 光还原法^[23]检测 SOD 活性。接菌处理 14 d 和 28 d 后每个处理随机选择 10 株幼苗, 测定其茎中 SOD 活性, 根据 SOD 抑制光下 NBT 还原作用来确定酶活力大小。

1.2.6 POD 活性检测

采用愈创木酚法^[24]测定 POD 活性。接菌处理 14 d 和 28 d 后每个处理随机选择 10 株幼苗, 测定其叶中 POD 的活性。以每分钟 OD₄₇₀ 变化值表示酶活性大小[U/(g \cdot min)]。

1.2.7 数据处理

利用 Excel 2010 进行数据分析作折线图, 使用 SPSS 22.0 软件进行单因素随机方差分析 (one-way ANOVA)、Duncan 氏新复极差法进行差异性检验分析及最小显著差数法 (least significant difference, LSD) 分析, 数据处理完成后作折线图或柱状图, 显著性水平设定为 $P<0.05$ 。测定接种内生菌 127 和 133 对不同浓度盐胁迫下大豆幼苗中 SOD、POD 活性的影响。

2 结果与分析

2.1 筛选菌株的形态特征及生理生化特性

在牛肉膏蛋白胨培养基上培养 72 h, 菌株 127、133 菌落表面湿润、不透明状、有光泽, 菌落小而圆整, 不凸起, 均为乳白色。127 菌体大小为(0.7-0.8) μ m \times (2.0-3.0) μ m (图 1A), 133 菌体大小为(1.6-1.8) μ m \times (2.8-3.6) μ m (图 1B)。革兰氏染色结果表明, 2 株菌均为革兰氏阳性、有芽孢(图 1A、1B), 菌体 127 和 133 均呈短杆状。理化试验结果表明, 2 株菌对接触酶、D-葡萄糖产酸、D-甘露醇、肉汤、柠檬酸盐利用、酪素分解、硝酸还原酶、酪氨酸水解

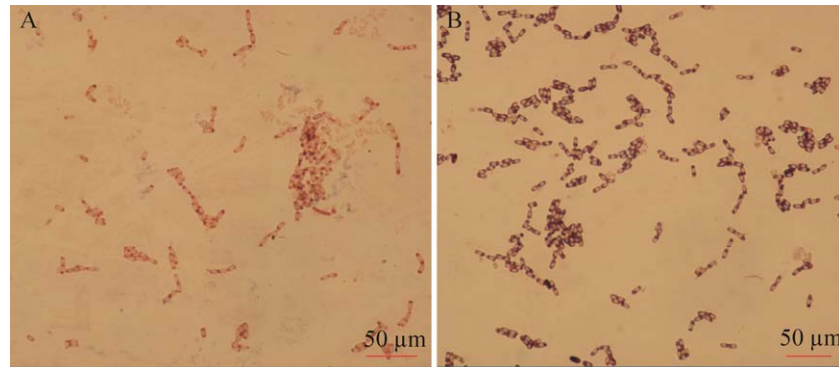


图 1 菌株 127 (A)和 133 (B)显微观察结果

Figure 1 Microscopic examination of strain 127 (A) and strain 133 (B).

反应都呈阳性，对苯丙氨酸脱氢酶反应均为阴性；菌株 127 对 V-P 试验、木糖、淀粉酶水解反应为阳性，菌株 133 反应阴性；L-阿拉伯糖产酸、卵黄磷脂酶反应 127 为阴性，133 为阳性。结合形态特征和理化特性分析结果发现，127 和 133 符合芽孢杆菌属(*Bacillus*)特征，并且与已报道^[20]芽孢杆菌属特征一致。

2.2 内生细菌 16S rRNA 基因序列测定及系统发育地位

对内生细菌 127 和 133 的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增，获得大小为 1 500 bp 的片段，并对该 16S rRNA 基因进行测序，测序所得序列提交 GenBank，获序列号分别为 MT856677 和 MT856676。由系统发育树(图 2)可知，菌株 127 和 133 与参比菌株分别构成 2 个小分支，其中菌株 127 与模式株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* DSM10^T (AJ276351)的相似性最高，为 100%，菌株 133 与模式株解蛋白芽孢杆菌 *Bacillus proteolyticus* TD42^T (KJ812418)相似性最高，为 100%。结合菌体形态特征和生理生化特性，菌株 127 最相似菌株为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)，菌株 133 最相似菌株为解蛋白芽孢杆菌(*Bacillus proteolyticus*)。

2.3 内生菌对盐胁迫下大豆幼苗体内 SOD 活性

2.3.1 接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 培养 14 d 和 28 d 时 SOD 活性分析

由图 3 可知，大豆幼苗生长 14 d 时，CK 组 SOD 活性随盐浓度增加总体上呈现先升高后降低趋势，在 150 mmol/L 时活性最高(0.95 U/g-FW)，说明盐胁迫下大豆幼苗抗氧化能力有限。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 OD0.5 菌悬液后，在盐浓度 300 mmol/L 时活性较高为 0.40 U/g-FW，在 150、200 mmol/L 时活性为 0，说明 OD0.5 菌悬液比例对不同程度盐胁迫下大豆幼苗体内 SOD 活性的影响不同。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 OD 0.33 菌悬液后，SOD 活性在盐浓度 300 mmol/L 时活性最高为 1.04 U/g-FW，在 50–250 mmol/L 时活性为 0，说明 OD0.33 菌悬液对大豆幼苗在盐浓度 300 mmol/L 胁迫下的修复效果明显。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 2:1 菌悬液后，在盐浓度 100 mmol/L 时活性最高(1.04 U/g-FW)，在 150–300 mmol/L 之间，SOD 活性缓慢增加，说明 OD0.75 菌悬液对大豆幼苗的修复效果有限。综上所述，培养 14 d，接种枯草芽孢杆菌 127 菌悬液比例 OD 0.33 和 OD0.75 分别在 300 mmol/L 和 100 mmol/L 时，SOD 活性最高(1.04 U/g-FW)，对盐胁迫下大豆

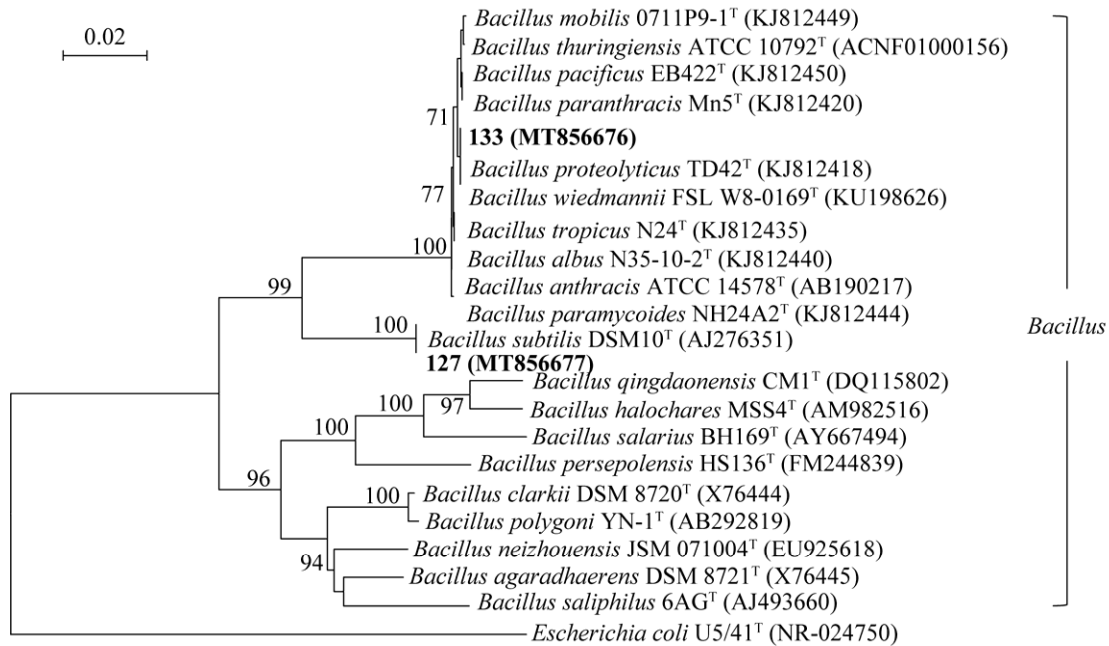


图2 基于内生细菌 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 括号中数字表示在 GenBank 中序列号; 自举值大于 70% 的在分支上显示; 标尺表示 0.02 的核苷酸替换

Figure 2 Phylogenetic tree generated by the neighbor-joining method based on their 16S rRNA gene sequences of endophytic bacteria. Numbers in bracket represent the sequences accession No. in GenBank; The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap; Bar, 0.02 sequence divergence.

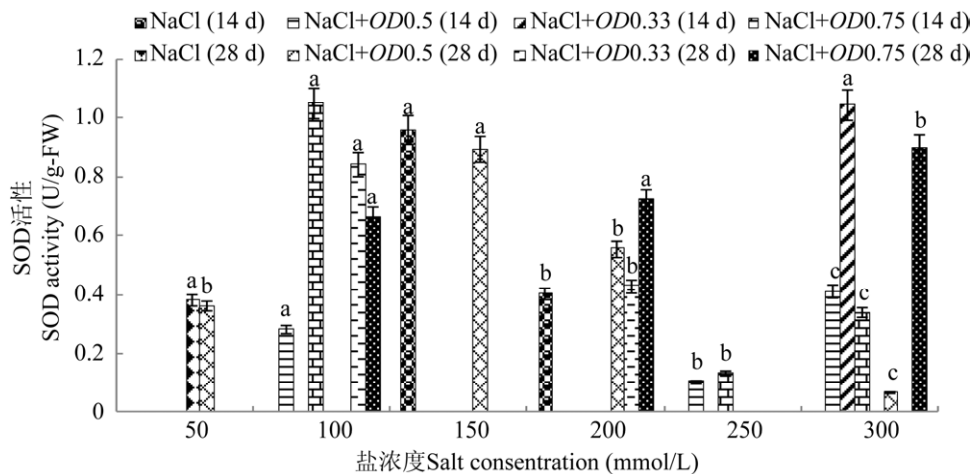


图3 接种枯草芽孢杆菌 127 大豆幼苗生长 14 d 和 28 d 时 SOD 活性 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Figure 3 SOD activity of soybean seedlings inoculated with endophyte *B. subtilis* 127 for 14 days and 28 days. Different lowercase letters show significant difference at $P < 0.05$ level. The same below.

幼苗的修复效果显著。

大豆幼苗生长至 28 d 时, CK 组 SOD 活性整体呈下降趋势(图 3), 在 50 mmol/L 时活性最高, 为 0.37 U/g-FW, 其余盐浓度下活性为 0, 说明高盐胁迫下大豆幼苗的抗氧化能力有限。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 OD0.5 菌悬液后, SOD 活性整体上高于 CK 组, 整体上变化趋势呈先升高后降低趋势, 在 150 mmol/L 时最高(0.88 U/g-FW), 在 100、250 mmol/L 时活性最低为 0, 说明盐浓度在 100–250 mmol/L 之间, OD0.5 的菌悬液有修复效果。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 OD0.33 菌悬液后, SOD 活性呈先升高后降低趋势, 在 100 mmol/L 和 200 mmol/L 时呈现 2 个高峰, 其余浓度盐胁迫下活性为 0, 在 100 mmol/L 时活性最高, 为 0.83 U/g-FW, 与 CK 组相比, 说明盐浓度在 100 和 200 mmol/L 时, OD0.33 的菌悬液具有修复效果。接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 的 OD0.75 菌悬液后, SOD 活性变化趋势与 OD0.33 处理组的变化趋势基本相同, 在 300 mmol/L 时活性最高, 为 0.89 U/g-FW, 在 50、150 和 250 mmol/L 时 SOD 活性为 0, 说明不同比例菌悬液对不同盐浓度的修复效果

不同。

2.3.2 接种内生菌解蛋白芽孢杆菌 133 培养 14 d 和 28 d 时 SOD 活性分析

由图 4 可知, 大豆幼苗生长 14 d 时, CK 组 SOD 活性随盐浓度增加总体上呈现先升高后降低趋势, 在 150 mmol/L 时活性最高(0.95 U/g-FW), 说明盐胁迫下大豆幼苗抗氧化能力有限。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.5 菌悬液后, SOD 活性呈升高趋势, 在 150 mmol/L 时活性最高, 为 0.53 U/g-FW, 说明 OD0.5 菌悬液对大豆幼苗的修复效果显著; 接种内生细菌 133 的 OD0.33 菌悬液后, SOD 活性在 250 mmol/L 时活性最高(0.59 U/g-FW), 说明在 250 mmol/L 下修复效果显著。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.75 菌悬液后, SOD 活性呈升高趋势, 在 150 mmol/L 活性最高, 为 0.60 U/g-FW, 说明 OD0.75 菌悬液对不同盐浓度下大豆幼苗的修复效果不同。综上所述, 幼苗生长 14 d 时, 接种解蛋白芽孢杆菌 133 在盐浓度大于 150 mmol/L 时, SOD 活性最高(0.60 U/g-FW), 修复效果较显著。

在大豆幼苗生长 28 d 时, CK 组 SOD 活性整体呈下降趋势(图 4), 在 50 mmol/L 时活性最

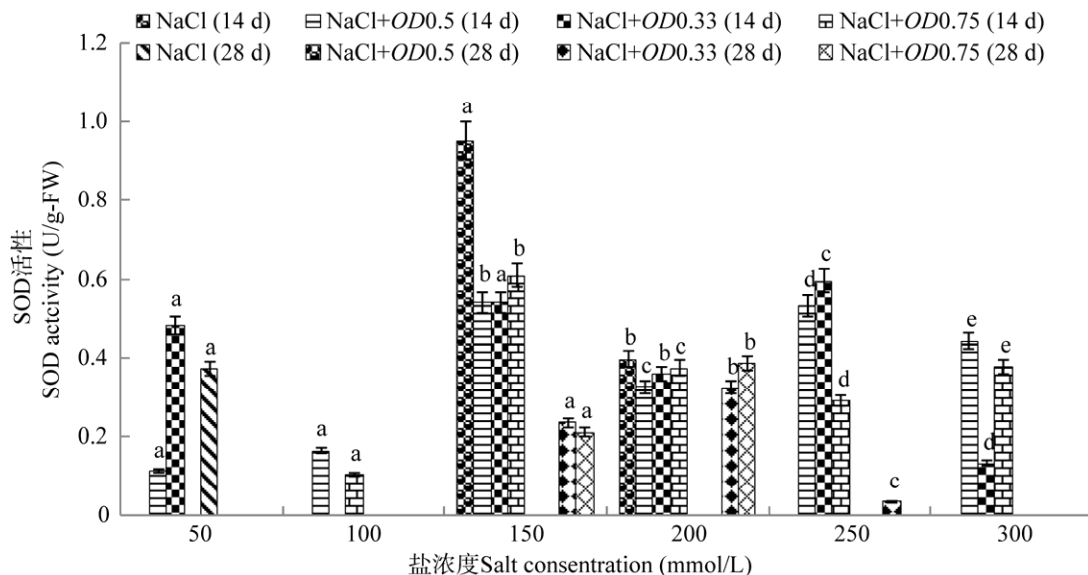


图 4 接种解蛋白芽孢杆菌 133 大豆幼苗生长 14 d 和 28 d 时 SOD 活性

Figure 4 SOD activity of soybean seedlings inoculated with endophyte *B. proteolyticus* 133 for 14 days and 28 days.

高, 为 0.37 U/g-FW, 其余盐浓度下活性为 0, 说明高盐胁迫下大豆幼苗的抗氧化能力有限。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 $OD_{0.5}$ 菌悬液后, SOD 活性整体为 0, 无效果; 接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 $OD_{0.33}$ 菌悬液后, 在盐浓度 100–300 mmol/L 时 SOD 活性呈先升高后降低趋势, 其中在 200 mmol/L 时 SOD 活性最高, 为 0.32 U/g-FW, 除 50 mmol/L 外其余盐浓度下 SOD 活性均高于 CK 组, 说明 $OD_{0.33}$ 的菌对大豆幼苗具有修复作用; 接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 $OD_{0.75}$ 菌悬液后, SOD 活性变化与 $OD_{0.5}$ 处理组的变化趋势基本相同, 在 200 mmol/L 时活性最高, 为 0.38 U/g-FW, 说明 $OD_{0.75}$ 菌悬液在 100–250 mmol/L 修复效果明显。综上所述, 在 200 mmol/L 盐胁迫下接种解蛋白芽孢杆菌 133 菌株 $OD_{0.75}$ 的菌悬液, SOD 活性最高 (0.38 U/g-FW), 修复效果显著。

2.4 内生菌对盐胁迫下大豆幼苗体内 POD 活性分析

2.4.1 接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 培养 14 d 和 28 d 时 POD 活性分析

由图 5 可知, 在盐胁迫下大豆幼苗生长 14 d

时, POD 活性随着盐浓度的增加较 CK 组整体上呈先升高再降低趋势, 在 50 mmol/L 时最高 [3 520 U/(g·min)], 在 150 mmol/L 时最低 [2 080 U/(g·min)]。接种枯草芽孢杆菌 127 的 $OD_{0.5}$ 菌悬液后, POD 活性呈先升高再降低变化, 在 200 mmol/L 时活性最高, 为 4 780 U/(g·min), 修复效果最显著; 除 50 mmol/L 时活性低于 CK 组, 其余盐浓度下均高于 CK 组和盐处理组, 说明在大于 50 mmol/L 时接种 $OD_{0.5}$ 的菌均有修复效果。接种 $OD_{0.33}$ 菌悬液后, POD 活性随盐度增加也呈先升高再降低变化, 在 200 mmol/L 时活性最高 [4 900 U/(g·min)], 在 250 mmol/L 时活性最低 [2 400 U/(g·min)], 在 150 mmol/L 和 200 mmol/L 时活性显著高于 CK 组和盐处理组 ($P < 0.05$), 说明 $OD_{0.33}$ 菌悬液在 150 mmol/L 和 200 mmol/L 时修复效果最显著, 且在 150 mmol/L 时修复效果高于 $OD_{0.5}$ 的菌悬液。接种 $OD_{0.75}$ 菌悬液后, POD 活性呈先降低后升高趋势, 在 300 mmol/L 时活性最高, 达到 4 100 U/(g·min), 在 150 mmol/L 和 300 mmol/L 时活性高于盐处理组, 其余浓度下均低于盐处理组, 说明 $OD_{0.75}$

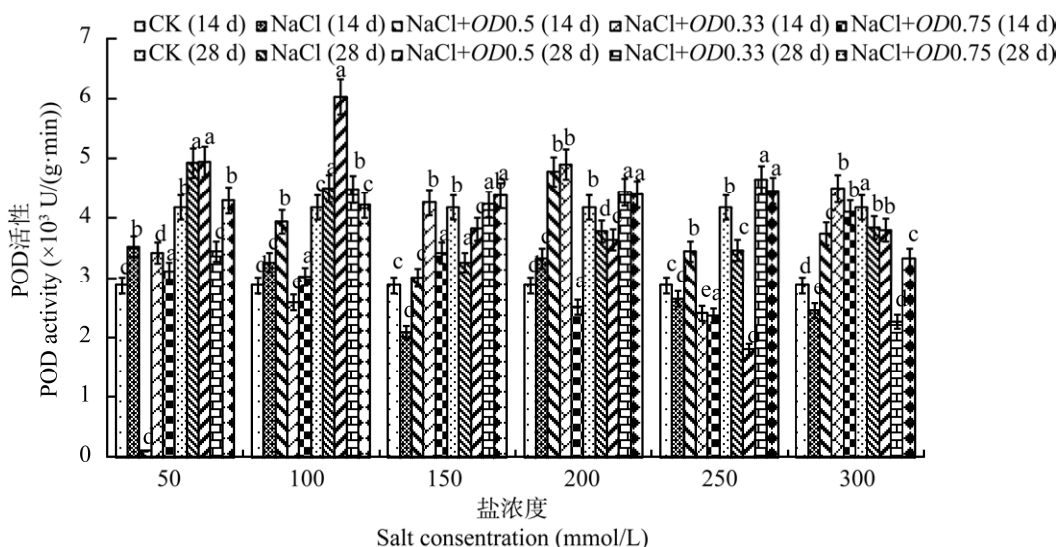


图 5 接种枯草芽孢杆菌 127 大豆幼苗生长 14 d 和 28 d 时 POD 活性

Figure 5 POD activity of soybean seedlings inoculated with endophyte *B. subtilis* 127 for days 14 days and 28 days.

的菌悬液修复效果不显著。综上所述,在大豆生长 14 d 时,接种枯草芽孢杆菌 127 的 *OD0.33* 菌悬液对 200 mmol/L 盐胁迫下 POD 活性最高 [4 900 U/(g·min)],对大豆幼苗修复作用最显著。

在大豆幼苗生长 28 d 时,POD 活性整体随盐浓度的升高呈下降趋势,在 50 mmol/L 时活性最大,为 [4 920 U/(g·min)],在 150 mmol/L 时活性最低,为 [3 260 U/(g·min)],在 100 mmol/L 和 150 mmol/L 时活性高于 CK 组,其余浓度下酶活性低于 CK 组,说明大豆幼苗在盐胁迫下的抗性有一定限度。接种枯草芽孢杆菌 127 的 *OD0.5* 菌悬液后,POD 活性呈先升高后降低变化,在 100 mmol/L 时活性最大,为 6 020 U/(g·min),在 250 mmol/L 时活性最低,为 1 800 U/(g·min),在 100 mmol/L 时活性明显高于 CK 组和盐处理组,说明在 100 mmol/L 时 *OD0.5* 的菌有明显修复效果,但在其余盐浓度下无明显修复效果;接种枯草芽孢杆菌 127 的 *OD0.33* 菌悬液后,POD 活性整体呈先升高后降低趋势,在 150、200 和 250 mmol/L 时活性高于盐处理组和 *OD0.5* 处理组,在 250 mmol/L 时活性最大,为 4 640 U/(g·min),在 300 mmol/L 时活性最低,

说明在 250 mmol/L 时 *OD0.33* 和 *OD0.5* 的菌悬液修复效果明显;接种枯草芽孢杆菌 127 的 *OD0.75* 菌悬液后,POD 活性随盐浓度增加呈下降趋势,在 250 mmol/L 时活性最高,为 4 660 U/(g·min),在 300 mmol/L 时活性最低,与 *OD0.33* 菌悬液处理组的变化趋势基本相同,且酶活力低于 *OD0.33* 处理组,说明 *OD0.75* 的菌修复能力不如 *OD0.33* 菌悬液。综上所述,在 100 mmol/L 时接种枯草芽孢杆菌 127 的 *OD0.5* 悬液 POD 活性最高,对盐胁迫下大豆幼苗具有明显修复作用。

2.4.2 接种内生菌解蛋白芽孢杆菌 133 培养 14 d 和 28 d 时 POD 活性分析

由图 6 可知,在盐胁迫下大豆幼苗生长 14 d 时,POD 活性随盐浓度的增加呈先降后升趋势,在 50 mmol/L 时 POD 活性达到最大,为 7 720 U/(g·min),在 150 mmol/L 时活性最小,为 5 740 U/(g·min),除在 50 mmol/L 时 POD 活性高于 CK 组,其余浓度下活性与 CK 组相差不大,说明大豆幼苗对低盐胁迫具有一定的抗性,但修复能力有限。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 *OD0.5* 菌悬液后,POD 活性随盐浓度增加变化不大,除 50 mmol/L 时活性略低于盐胁迫组,

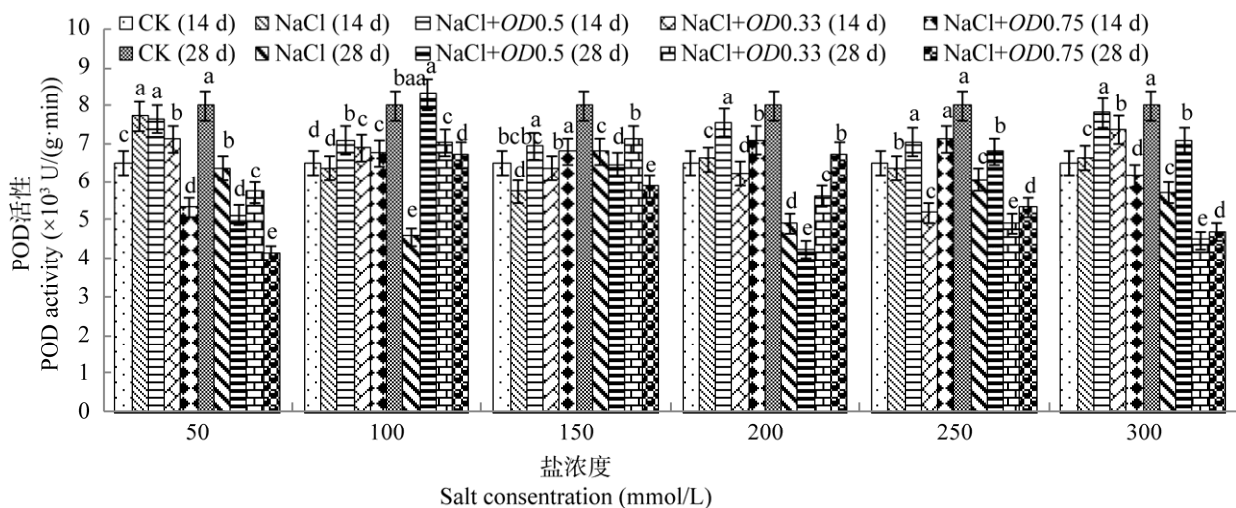


图 6 接种解蛋白芽孢杆菌 133 大豆幼苗生长 14 d 和 28 d 时 POD 活性

Figure 6 POD activity of soybean seedlings inoculated with endophyte *B. proteolyticus* 133 for 14 days and 28 days

其余浓度下酶活性均高于 CK 组和盐胁迫组, 在 300 mmol/L 时活性最大, 为 7 820 U/(g·min), 说明解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.5 菌悬液具有显著修复作用。接种 OD0.33 菌悬液后, POD 活性先降低后升高, 在 300 mmol/L 时活性最大, 为 7 360 U/(g·min), 在 250 mmol/L 时活性最低, 为 5 180 U/(g·min), 在 100、150 和 300 mmol/L 时活性显著高于盐胁迫组($P<0.05$), 说明在此浓度下解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.33 菌悬液有修复作用, 且在 300 mmol/L 时修复效果最显著。接种 OD0.75 菌悬液后, POD 活性随盐浓度增加呈先升高后降低趋势, 在 250 mmol/L 时活性最大, 为 7 120 U/(g·min), 在 50 mmol/L 时活性最低, 为 5 320 U/(g·min), 除 50 和 300 mmol/L 时 POD 活性低于盐胁迫组和 CK 组, 其他浓度下活性均高于盐胁迫组, 说明接种 OD0.75 的菌悬液在不同盐浓度下的修复能力不同, 在 250 mmol/L 时修复能力最好。综上所述, 在 300 mmol/L 下接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD 0.5 菌悬液, POD 活性最高[7 820 U/(g·min)], 修复效果最显著。

大豆生长到 28 d 时, POD 活性随盐浓度增加呈先升高后降低变化, 在 100 mmol/L 时活性最低, 为 4 580 U/(g·min), 在 150 mmol/L 时活性最高, 为 6 780 U/(g·min), 在不同浓度盐胁迫下酶活性均比 CK 组低, 说明大豆幼苗的修复能力有限。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.5 菌悬液后, POD 活性随盐浓度增加呈先升高后降低变化, 在 100 mmol/L 时酶活性显著高于盐处理组($P<0.05$), 在 250 mmol/L 和 300 mmol/L 时略高于盐处理组, 且酶活性均低于 CK 组, 在 100 mmol/L 时活性最高, 为 8 300 U/(g·min), 在 200 mmol/L 时活性最低, 为 4 240 U/(g·min), 说明解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.5 菌悬液在 100 mmol/L 时对盐胁迫下大豆幼苗的修复作用最显著。接种 OD0.33 菌悬液后, POD 活性呈先升高后降低趋

势, 在 100 mmol/L 时酶活性明显高于盐处理组, 在 150 mmol/L 时酶活性最高, 为 7 120 U/(g·min), 说明在浓度大于 150 mmol/L 时, OD0.33 的内生菌对于大豆幼苗无明显修复能力。接种 OD0.75 菌悬液后, POD 活性整体上随盐浓度增加呈先升高再降低趋势, 在 100 mmol/L 和 200 mmol/L 时酶活性最高, 为 6 700 U/(g·min), 在 50 mmol/L 时酶活性最低, 为 4 140 U/(g·min), 在 100 mmol/L 和 200 mmol/L 时酶活性显著高于盐处理组($P<0.05$), 其余浓度下活性均低于盐处理组, 说明解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.75 的菌悬液在 100 mmol/L 和 200 mmol/L 时, 对大豆幼苗的修复效果显著, 在其他浓度下无明显修复效果。综上所述, 在大豆幼苗生长 28 d 时, 接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.5 悬液对 100 mmol/L 盐浓度, POD 活性最高[8 300 U/(g·min)], 对大豆修复效果最显著。

3 讨论与结论

3.1 内生菌对盐胁迫下大豆幼苗 SOD 活性的影响

在通常条件下植物体内活性氧的产生和清除处于动态平衡, 而在逆境胁迫下植物体内自由基和活性氧将不断积累, 对植物体造成损害^[25]。SOD 是生物体内抗氧化酶体系的核心酶, 能催化超氧化物歧化反应, 在活性氧清除系统中起关键作用。SOD 通过催化对细胞有害活性氧和自由基发生歧化反应使活性氧生成 H₂O₂ 和 O₂, 减少其对细胞膜结构和功能的损害, 还能在一定程度上减轻自由基对 DNA 结构的损伤, 与植物的抗逆性有着密切联系^[26]。在盐胁迫条件下, 为清除有害自由基和活性氧, 植物会最大限度提高 SOD 活性, 以提高自身抗胁迫能力^[27]。前期实验^[28]结果表明, 在盐胁迫下随盐浓度升高, 大豆幼苗培养时间延长,

SOD 活性呈现先升高后降低趋势,可能在低盐浓度时,大豆幼苗自身具有一定修复能力,SOD 活性增加用于清除大豆体内积累的活性氧,随着盐浓度增加,超出大豆幼苗自身修复能力的限度,SOD 活性降低。在盐胁迫下,接种枯草芽孢杆菌 127 的 OD0.33 和 OD0.75 菌悬液生长 14 d,分别在盐浓度为 300 mmol/L 和 100 mmol/L 时 SOD 活性最高(1.04 U/g-FW),对幼苗修复效果最显著。接种解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.75 菌悬液生长 14 d 时在盐浓度 150 mmol/L 和生长 28 d 时在盐浓度 200 mmol/L 时修复效果较显著。刘倩等^[29]通过用丛枝菌根真菌和根瘤菌处理盐碱胁迫下紫花苜蓿,结果表明接种后紫花苜蓿对盐碱胁迫的抗性增强。刘晓珍等^[30]表明,接种内生真菌葡萄孢和球壳菌的菊花苗均能够有效提高 SOD 活性,降低盐胁迫对细胞膜的损害,缓解盐害,提高植物抗逆性。徐瑶等^[31]认为接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)能够增加红花(*Carthamus tinctorius*)的 SOD 活性,提高其叶片的抗氧化能力,增加植物的抗逆性。这些研究结论支持本实验结果。韩冰等^[32]研究表明,黄花幼苗在盐胁迫下接种丛枝菌根真菌能够提高其抗氧化能力。Barra 等^[33]研究发现,接种肠杆菌属、沙雷菌属、微杆菌属、假单胞菌属和无色杆菌属均能显著提高盐胁迫下小麦幼苗的出苗、生长、生物量和 SOD 活性。本研究结果表明,在接种枯草芽孢杆菌 127 或解蛋白芽孢杆菌 133 后,对盐胁迫下大豆幼苗均表现出显著修复能力,但发挥作用的盐浓度和培养时间不同,该结果与韩冰等^[32]和 Barra 等^[33]研究结论相一致。本实验采用浇灌和浸种的方法接种内生菌,以研究内生菌对盐胁迫下大豆幼苗 SOD 的影响,对盐胁迫下大豆幼苗 SOD 的作用机制以及其他生理指标测定有待进一步探索。

3.2 内生菌对盐胁迫下大豆幼苗 POD 活性的影响

POD 是普遍存在于植物各组织器官中的一种抗氧化酶,参与植物体内许多生理生化反应,能够催化 H_2O_2 歧化成 H_2O 和 O_2 , 主要用以清除自由基、延缓衰老,减少外界胁迫对植物的伤害,可提高植物的抗逆性^[6,34]。POD、CAT 和 APX 等酶共同构成植物体内的抗氧化防御系统,维持活性氧代谢的平衡,抵御和修复逆境对植物体的伤害^[35-36]。本研究表明,盐胁迫下大豆幼苗体内 POD 活性整体呈现降低趋势。刘建霞等^[37]研究发现,盐胁迫下绿豆幼苗体内 POD 活性降低,经 6-BA 浸种处理后,植物叶片中的 POD 活性显著升高。王利界等^[38]表明,灰胡杨幼苗在盐分胁迫和盐旱交叉胁迫下 POD 活性表现出先升高后降低的趋势。李照君等^[39]经过对多个品种大豆进行多个浓度盐胁迫处理,发现随着盐浓度升高,POD 活性降低。这些研究结论为本实验结果提供了有力支持。Radhakrishnan 等^[40]研究发现,在盐胁迫下,菌根植物体内 POD 活性较非菌根植物有显著提高。韩坤等^[41]发现在盐胁迫下,具有 ACC 脱氨酶活性的内生菌提高了小麦体内 POD 酶活性,增强了植物的耐盐性。Ali 等^[42]认为含有 ACC 脱氨酶活性的 PGPB 可以提高大多数作物的耐盐性。根际微生物与宿主的匹配度可改善根际微生物群系的状况^[43],本实验接种菌株解蛋白芽孢杆菌 133 的 OD0.50 菌悬液生长 14 d 时,在盐浓度 300 mmol/L 时 POD 活性为 7 820 U/(g·min),生长 28 d 在盐浓度 100 mmol/L 时 POD 活性最高[8 300 U/(g·min)],修复效果最显著,说明菌株解蛋白芽孢杆菌 133 对大豆幼苗修复作用较好,此实验结果与上述研究结论一致。本研究发现,不同程度盐胁迫下接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 对大豆幼苗体内的

POD 活性影响不同, 说明内生菌枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 盐胁迫下大豆幼苗的修复能力存在差异, 但解蛋白芽孢杆菌 133 修复效果较好。

综上所述, 盐胁迫下接种内生菌枯草芽孢杆菌 127 和解蛋白芽孢杆菌 133 均能使大豆幼苗的 SOD 和 POD 活性有不同程度的升高, 有效缓解盐胁迫对植物的伤害, 提高植物的抗胁迫能力。本研究为利用植物内生菌资源、提高大豆耐盐性提供了理论支持, 但菌株协助宿主植物提高耐盐性以及促进植物生长还受到环境条件的影响, 需要进行大田实验进一步验证。

REFERENCES

- [1] 赵莹, 杨克军, 李佐同, 赵长江, 徐晶宇, 胡雪微, 石新新, 马丽峰. 外源糖浸种缓解盐胁迫下玉米种子萌发[J]. 应用生态学报, 2015, 26(9): 2735-2742
Zhao Y, Yang KJ, Li ZT, Zhao CJ, Xu JY, Hu XW, Shi XX, Ma LF. Alleviation of salt stress during maize seed germination by presoaking with exogenous sugar[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(9): 2735-2742 (in Chinese)
- [2] 吴运荣, 林宏伟, 莫肖蓉. 植物抗盐分子机制及作物遗传改良耐盐性的研究进展[J]. 植物生理学报, 2014, 50(11): 1621-1629
Wu YR, Lin HW, Mo XR. Research progress in the mechanism of plant salt tolerance and genetic engineering of salt resistant crops[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(11): 1621-1629 (in Chinese)
- [3] 徐臣善. 钙对盐胁迫下小金海棠幼苗生物量及抗氧化系统的影响[J]. 植物生理学报, 2014, 50(6): 817-822
Xu CS. Effects of calcium on biomass and antioxidant systems in seedlings of *Malus xiaojinensis* under salt stress[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(6): 817-822 (in Chinese)
- [4] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405-410
- [5] Pi EX, Xu J, Li HH, Fan W, Zhu CM, Zhang TY, Jiang JC, He LT, Lu HF, Wang HZ, et al. 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
- [6] 赵龙飞, 徐亚军, 赖心河, 常佳丽, 欧启凡, 孟嘉琦, 彭顶华. 内生细菌 252 和 254 对盐胁迫下小麦幼苗过氧化物酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2017, 28(9): 2984-2992
Zhao LF, Xu YJ, Lai XH, Chang JL, Ou QF, Meng JQ, Peng DH. Effects of endophytic bacteria 252 and 254 on peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities of wheat seedlings under salt stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(9): 2984-2992 (in Chinese)
- [7] 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)
- [8] 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
- [9] 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
- [10] 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
- [11] Myresiotis CK, Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E. Effect of specific plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on growth and uptake of neonicotinoid insecticide thiamethoxam in corn (*Zea mays* L.) seedlings[J]. Pest Management Science, 2015, 71(9): 1258-1266
- [12] Farrar K, Bryant D, Cope-Selby N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops[J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(9): 1193-1206
- [13] 崔晋龙, 郭顺星, 肖培根. 内生菌与植物的互作关系及对药用植物的影响[J]. 药学学报, 2017, 52(2): 214-221
Cui JL, Guo SX, Xiao PG. Interaction between endophytes and host plant and the role of endophytes in genuineness analysis of medicinal plant[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2017, 52(2): 214-221 (in Chinese)
- [14] Kane KH. Effects of endophyte infection on drought stress tolerance of *Lolium perenne* accessions from the

- Mediterranean region[J]. Environmental and Experimental Botany, 2011, 71(3): 337-344
- [15] Jia M, Chen L, Xin HL, Zheng CJ, Rahman K, Han T, Qin LP. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 906
- [16] Khan AL, Hamayun M, Khan SA, Kang SM, Shinwari ZK, Kamran M, Rehman SU, Kim JG, Lee IJ. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(4): 1483-1494
- [17] Khan MA, Asaf S, Khan AL, Ullah I, Ali S, Kang SM, Lee IJ. Alleviation of salt stress response in soybean plants with the endophytic bacterial isolate *Curtobacterium* sp. SAK1[J]. Annals of Microbiology, 2019, 69(8): 797-808
- [18] 万文结, 薛芷筠, 张泽文, 李晓华, 程国军, 何冬兰. 一株产碱性蛋白酶菌株的筛选鉴定及酶学特性研究[J]. 微生物学报, 2017, 57(5): 737-747
- Wan WJ, Xue JX, Zhang ZW, Li XH, Cheng GJ, He DL. Isolation and identification of an alkaline protease producing strain and study on enzymatic properties[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2017, 57(5): 737-747 (in Chinese)
- [19] 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
- [20] 赵龙飞, 徐亚军, 常佳丽, 李敏, 张艳玲, 党永杰, 王梦思, 程亚稳, 张斌月. 具 ACC 脱氨酶活性大豆根瘤内生菌的筛选、抗性及其促生作用[J]. 微生物学报, 2016, 56(6): 1009-1021
- Zhao LF, Xu YJ, Chang JL, Li M, Zhang YL, Dang YJ, Wang MS, Cheng YW, Zhang BY. Screening, resistance and growth-promoting effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity isolated from soybean nodules[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(6): 1009-1021 (in Chinese)
- [21] Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959
- [22] Zhao LF, Xu YJ, Sun R, Deng ZS, Yang WQ, Wei GH. Identification and characterization of the endophytic plant growth promoter *Bacillus cereus* strain mq23 isolated from *Sophora alopecuroides* root nodules[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2011, 42(2): 567-575
- [23] Moridani MY, O'Brien PJ. Iron complexes of deferiprone and dietary plant catechols as cytoprotective superoxide radical scavengers[J]. Biochemical Pharmacology, 2001, 62: 1579-1585
- [24] Zhang QM, Zhu LS, Wang J, Xie H, Wang JH, Han YN, Yang JH. Oxidative stress and lipid peroxidation in the earthworm *Eisenia fetida* induced by low doses of fomesafen[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20(1): 201-208
- [25] Ke SS. Effects of copper on the photosynthesis and oxidative metabolism of *Amaranthus tricolor* seedlings[J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(10): 1182-1192
- [26] 陆启环, 李发良, 张弢, 于延冲, 杨德翠, 高婷, 侯晓敏, 董春海, 杨洪兵. NaCl 胁迫对 19 个苦荞品种生理特性及 *FtNHX1* 表达的影响[J]. 植物生理学报, 2017, 53(8): 1409-1418
- Lu QH, Li FL, Zhang T, Yu YC, Yang DC, Gao T, Hou XM, Dong CH, Yang HB. Effect of NaCl stress on physiological characteristics and *FtNHX1* expression of nineteen Tartary buckwheat varieties[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(8): 1409-1418 (in Chinese)
- [27] 赵明德, 刘攀, 杨冲, 闫国苍, 王文颖. 盐胁迫对青藏高原多年生牧草幼苗生理指标的影响[J]. 生态科学, 2018, 37(3): 123-130
- Zhao MD, Liu P, Yang C, Yan GC, Wang WY. Effects of salt stress on physiological indexes of perennial forage seedlings in Qinghai-Tibet plateau[J]. Ecological Science, 2018, 37(3): 123-130 (in Chinese)
- [28] Sekmen AH, Turkan I, Tanyolac ZO, Ozfidan C, Dinc A. Different antioxidant defense responses to salt stress during germination and vegetative stages of endemic halophyte *Gypsophila ob lanceolata* Bark[J]. Environmental and Experimental Botany, 2012, 77: 63-76
- [29] 刘倩, 高娅妮, 柳旭, 周文楠, 王佳珍. 混合盐碱胁迫下接种丛枝菌根真菌和根瘤菌对紫花苜蓿生长的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(17): 6143-6155
- Liu Q, Gao YN, Liu X, Zhou WN, Wang QZ. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on growth of *Medicago sativa* under saline-alkaline stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(17): 6143-6155 (in Chinese)
- [30] 刘晓珍, 宋文玲, 蔡信之, 戴传超. 两株内生真菌对菊花抗盐特性的影响[J]. 中草药, 2011, 42(1): 158-163
- Liu XZ, Song WL, Cai XZ, Dai CC. Effect of two kinds

- of endophytic fungi on salt resistance of *Chrysanthemum morifolium*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(1): 158-163 (in Chinese)
- [31] 徐瑶, 樊艳, 俞云鹤, 许彩云, 葛滢. 丛枝菌根真菌对盐胁迫下红花幼苗生长及耐盐生理指标的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(12): 3395-3402
Xu Y, Fan Y, Yu YH, Xu CY, Ge Y. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on the growth and physiological salt tolerance parameters of *Carthamus tinctorius* seedlings under salt stress[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(12): 3395-3402 (in Chinese)
- [32] 韩冰, 贺超兴, 郭世荣, 徐刚, 于贤昌, 孙锦. 丛枝菌根真菌对盐胁迫下黄瓜幼苗渗透调节物质含量和抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(12): 2492-2497
Han B, He CX, Guo SR, Xu G, Yu XC, Sun J. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on osmoregulation substance contents and antioxidant enzyme activities of cucumber seedlings under salt stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(12): 2492-2497 (in Chinese)
- [33] Barra PJ, Inostroza NG, Acuña JJ, Mora ML, Crowley DE, Jorquera MA. Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 102: 80-91
- [34] Oliveira RAD, De Andrade AS, Imparato DO, De Lima JGS, De Almeida RVM, Lima JPMS, Pasquali MADB, Dalmolin RJS. Analysis of *Arabidopsis thaliana* redox gene network indicates evolutionary expansion of class III peroxidase in plants[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 15741
- [35] 马婷, 滕玉瑾, 李翠祥, 杨颖丽. 盐胁迫下黄花补血草幼苗 ROS 代谢酶活性的变化[J]. 植物生理学报, 2016, 52(2): 177-186
Ma T, Teng YJ, Li CX, Yang YL. Changes of ROS metabolizing enzyme activities in *Limonium aureum* seedlings under salinity stress[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52(2): 177-186 (in Chinese)
- [36] 张腾国, 李巧丽, 刁志宏, 李萍, 王娟, 郑晟. 盐及干旱胁迫对油菜抗氧化系统和 *RbohC*、*RbohF* 基因表达的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(3): 969-978
Zhang TG, Li QL, Diao ZH, Li P, Wang J, Zheng S. Effects of salt and drought stresses on antioxidant system and *RbohC* and *RbohF* genes expression in *Brassica campestris*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(3): 969-978 (in Chinese)
- [37] 刘建霞, 张晓丹, 王润梅, 周凤, 刘文英, 刘支平. 6-BA 浸种对盐胁迫下绿豆萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 作物杂志, 2018(1): 166-172
Liu JX, Zhang XD, Wang RM, Zhou F, Liu WY, Liu ZP. Effects of seed soaking with 6-BA on germination and physiological characteristics of mung bean under salt stress[J]. Crops, 2018(1): 166-172 (in Chinese)
- [38] 王利界, 周智彬, 常青, 范敬龙, 范文鹏. 盐旱交叉胁迫对灰胡杨(*Populus pruinosa*)幼苗生长和生理生化特性的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(19): 7026-7033
Wang LJ, Zhou ZB, Chang Q, Fan JL, Fan WP. Growth, physiological and biochemical characteristics of *Populus pruinosa* seedlings under salt-drought stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(19): 7026-7033 (in Chinese)
- [39] 李照君, 田汝美, 宫永超, 蒲艳艳, 徐冉, 李娜娜, 丁汉凤. 基于表型和抗氧化酶活性的大豆萌芽期耐盐性鉴定[J]. 大豆科学, 2020, 39(1): 76-83
Li ZJ, Tian RM, Gong YC, Pu YY, Xu R, Li NN, Ding HF. Identification of salt tolerance of soybean in germination stage based on phenotype and antioxidant enzyme activity[J]. Soybean Science, 2020, 39(1): 76-83 (in Chinese)
- [40] Radhakrishnan R, Khan AL, Lee IJ. Endophytic fungal pre-treatments of seeds alleviates salinity stress effects in soybean plants[J]. Journal of Microbiology, 2013, 51(6): 850-857
- [41] 韩坤, 田曾元, 刘珂, 张佳夜, 常银银, 郭予琦. 具有 ACC 脱氨酶活性的海滨锦葵(*Kosteletzkya pentacarpos*)内生细菌对小麦耐盐性的影响[J]. 植物生理学报, 2015, 51(2): 212-220
Han K, Tian ZY, Liu K, Zhang JY, Chang YY, Guo YQ. Effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity in *Kosteletzkya pentacarpos* on wheat salt tolerance[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(2): 212-220 (in Chinese)
- [42] Ali S, Charles TC, Glick BR. Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 80: 160-167
- [43] O'Brien AM, Harrison TL. Host match improves root microbiome growth[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(9): 1103-1104