

耐盐碱微生物菌种的筛选鉴定及其功能性与促生性

赵廷伟^{1,2}, 彭轶楠^{1,2}, 梁燕^{1,2}, 王治业^{1,2}, 季彬^{*1,2}

1 甘肃省科学院生物研究所, 甘肃 兰州 730030

2 甘肃省微生物资源开发利用重点实验室, 甘肃 兰州 730030

赵廷伟, 彭轶楠, 梁燕, 王治业, 季彬. 耐盐碱微生物菌种的筛选鉴定及其功能性与促生性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4033-4047

Zhao Tingwei, Peng Yinan, Liang Yan, Wang Zhiye, Ji Bin. Screening and identification of saline-alkali-resistant microbial strains and research on their functions and growth-promoting properties[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4033-4047

摘要:【背景】近年来, 甘肃省土地盐碱化的日益加剧已对当地农业生产和生态环境产生严重影响。【目的】从甘肃省兰州市兰州新区和张掖市黑河生态保护区盐碱土壤中分离筛选出耐盐碱菌株, 并对其进行鉴定和部分功能性评价与促生性分析, 从而为改良甘肃省盐碱地提供微生物资源和理论基础。【方法】利用不同盐碱浓度的改良培养基对分离后的菌落进行条件培养, 筛选出具有高耐盐碱能力的菌种, 通过 16S rRNA 基因序列鉴定菌种类型, 并测试其在不同培养基条件下功能性和促生性的不同作用。【结果】共筛选得到 5 株高耐盐碱菌株, 鉴定结果分别为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、金黄节杆菌(*Arthrobacter aureus*)、费氏中华根瘤菌(*Sinorhizobium fredii*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)。经鉴定分析 5 株菌均具有溶磷和分泌吲哚乙酸的能力; 金黄节杆菌和地衣芽孢杆菌具有解钾能力; 金黄节杆菌、费氏中华根瘤菌和不动杆菌属具有固氮能力; 地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌和费氏中华根瘤菌分泌的 ACC 脱氨酶活性分别达到 0.272、0.217 和 0.159 U/mg, 金黄节杆菌和不动杆菌属几乎无 ACC 脱氨酶活性。【结论】五株耐盐碱菌在溶磷、解钾和固氮功能方面各自具有不同的效果且兼具一定的促生作用, 这为后期微生物改良盐碱地的应用提供了物种资源和理论基础。

关键词: 土壤盐碱化; 微生物菌株; 功能性; 促生性; 盐碱化改良

基金项目: 甘肃省科学院科技产业化项目 2019 (CY02)

Supported by: Science and Technology Industrialization Project of Gansu Academy of Sciences in 2019 (CY02)

*Corresponding author: E-mail: b.ji@gsas.ac.cn

Received: 2022-02-28; Accepted: 2022-04-10; Published online: 2022-06-06

Screening and identification of saline-alkali-resistant microbial strains and research on their functions and growth-promoting properties

ZHAO Tingwei^{1,2}, PENG Yinan^{1,2}, LIANG Yan^{1,2}, WANG Zhiye^{1,2}, JI Bin^{*1,2}

1 Institute of Biology, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730030, Gansu, China;

2 Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application of Gansu Province, Lanzhou 730030, Gansu, China

Abstract: [Background] In recent years, with the increasing of land salinization in Gansu province, its impact on agricultural production and ecological environment has become more and more serious. **[Objective]** In this study, saline-alkali-tolerant strains were isolated and screened from the saline-alkali soils of Lanzhou new district of Lanzhou city and Heihe Ecological Reserve of Zhangye city, Gansu province. Then we identified the isolated strains, and evaluated and analyzed some of their functionality and growth-promoting properties, which provided microbial resources and theoretical basis for improving the saline-alkali land in Gansu province. **[Methods]** The isolated colonies were cultured in conditioned medium of different salinity and alkali concentrations, and those with high saline-alkali tolerance were screened out. The 16S rRNA gene sequencing was used to identify the types of the selected strains and test their various functional and growth-promoting effects in different media. **[Results]** Five highly saline-alkali-tolerant strains were obtained, which were *Bacillus megaterium*, *Arthrobacter aureescens*, *Sinorhizobium fredii*, *Bacillus licheniformis* and *Acinetobacter* sp.. All five strains had the ability to dissolve phosphorus and secrete indole-3-acetic acid (IAA), *A. aureescens* and *B. licheniformis* had the ability to dissolve potassium, and *A. aureescens*, *S. fredii* and *Acinetobacter* sp. showed nitrogen fixation ability. ACC deaminase activities secreted by *B. licheniformis*, *B. megaterium* and *S. fredii* reached 0.272, 0.217, and 0.159 U/mg, respectively, while *A. aureescens* and *Acinetobacter* sp. had almost no ACC deaminase activity. **[Conclusion]** The five saline-alkali-tolerant bacteria had different phosphorus-dissolving, potassium-solving and nitrogen-fixing functions and certain growth-promoting effects. This study provided species resources and theoretical basis for the later application of microorganisms to improvement of saline-alkali land.

Keywords: soil salinization; microbial strains; functionality; growth promotion; salinization improvement

土壤盐碱化是目前全球普遍存在且广受生态学相关科研工作者关注的研究热点之一,土壤盐碱化的扩增严重限制了我国土壤资源的有效利用和可持续性,其不仅会造成土壤板结、孔隙度低和土壤肥力差,还会对很多植物直接造成毒害作用^[1]。在我国,约有 670 万 hm² 的农田受到不同程度的土壤盐碱化危害,占全国

耕地面积的 10%左右^[2]。甘肃省的土壤盐碱化区域主要分布在河西走廊灌溉农业地区,全省所有盐碱化土地面积约为 6 559 km²,面积较大^[3]。甘肃省盐碱地的形成除了人为对化肥农药等化学物质的滥用、农田的不适当耕作和过度开发种植等原因,其主要原因是地表水的引灌造成区域地下水水位上升,容易发生土壤次生盐碱

化,使得农田土壤盐碱化愈加严重^[4]。该现状已严重威胁到甘肃省的生态环境与粮食安全,找到一种合适且具有生态效益的改良方法具有十分重要的现实意义。

目前全球针对土壤盐碱化改良的方式主要有三大类,分别为物理、化学和生物修复方法^[5]。其中前两种修复投入成本高,不易实施,相对而言生物修复的方法能够取得更好的生态效益和经济效益,生物修复主要包括植物修复与微生物修复,植物修复易受气候、环境等自然条件的影响而无法大规模种植,而微生物修复相对更容易实施,土壤耐盐碱微生物在土壤中不仅适应能力强,而且数量庞大、种类丰富,修复过程相对更加经济环保,具有不错的改良效果^[6]。本研究从甘肃省兰州市兰州新区和张掖市黑河生态保护区内共采集 15 个点的土样,对其进行菌种分离、筛选、鉴定后共找到 5 种不同类型的耐盐碱细菌,通过进行一些功能性和促生性的鉴定分析,挖掘出 5 种耐盐碱菌种的功能区别,以期利用微生物改良盐碱地提供新的菌种资源和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土样

土样共采集 15 份,其中 5 份采自甘肃省兰州市永登县中川街 11 号兰州新区舟曲中学校园内生长良好的草地根际土壤,其余 10 份采自甘肃省张掖市高台县黑河湿地生态恢复保护示范区干流中游下段生长较好的植被根际土壤。分别取 0-10、10-20 和 20-30 cm 的表层土壤。

1.1.2 培养基

Gibbson 改良培养基参照文献[7]配制;LB 培养基参照文献[8]配制;无机磷培养基(pikovaskaia's

medium, PKO)参照文献[9]配制;蒙金娜有机磷培养基参照文献[10]配制;Dworkin and Foster (DF)培养基参照文献[11]配制;ADF 培养基参照文献[12]配制(将 DF 培养基中的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 替换成 1-氨基羰酰-1-环丙烷羧酸);硅酸盐细菌培养基参照文献[13]配制;阿须贝氏培养基(Ashby medium)参照文献[14]配制。

1.1.3 主要试剂和仪器

牛肉膏、酵母膏、蛋白胨、葡萄糖、蔗糖、氯化钠、硫酸镁、碳酸钙、甘露醇和琼脂等,均为分析纯,天津市津东天正精细化学试剂厂;1-氨基羰酰-1-环丙烷羧酸(1-amino carbonyl-1-cyclopropane carboxylic acid, ACC), Salkowski 公司;DNA 聚合酶, Sigma-Aldrich 公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒, Omega 公司;土壤基因组 DNA 提取试剂盒, MP Biomedicals 公司。

PCR 仪和电泳仪, Bio-Rad 公司;紫外分光光度计, 上海昂拉仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 耐盐碱菌株的分离

称取采集的新鲜盐碱土壤样品各 10 g, 分别向其中加入 90 mL 的无菌水稀释, 将稀释好的土壤样品置于 180 r/min 的摇床上摇匀。取 1 mL 摇匀的菌液, 用 9 mL 的生理无菌盐水对样品进行梯度稀释。再分别从 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-7} 稀释液中取 0.1 mL 液体涂布于盐浓度 10%、pH 9.0 的 Gibbson 改良培养基平板上, 37 °C 恒温培养 5 d。从培养基上挑取单一的菌落划线培养至新的培养基中, 反复通过平板划线法对菌进行分离纯化, 并将纯化后的菌株接种于斜面培养基上 37 °C 培养 4 d 后, 放置于 4 °C 冰箱中保藏备用。

1.2.2 耐盐碱菌株的筛选

将 Gibbons 改良培养基的盐度和碱度进行调整, 以达到筛选耐盐碱菌株的目的。分别设

置3组试验,第1组试验在保证培养基 pH 9.0 的条件下,通过外源向培养基中加入 NaCl,以达到调节培养基盐度的作用,使各培养基中 NaCl 浓度分别为 100、120、140、160、180 和 200 g/L;第2组试验保证培养基 NaCl 浓度为 100 g/L 的条件下,通过外源向培养基中加入 1 mol/L NaOH 溶液以调节培养基的碱度,调节培养基的 pH 值分别为 9.0、10.0、11.0 和 12.0;第3组试验设计为同时增加培养基的碱度和盐度分别为:9.0 和 100 g/L、11.0 和 140 g/L、12.0 和 200 g/L。最后将分离纯化的菌株接种于不同盐碱度的培养基上,37 °C 静置培养 4 d 后观察菌落生长状况,筛选出耐盐碱能力较强的菌株。

1.2.3 耐盐碱菌株的鉴定

(1) 形态学观察

将待测菌液涂布至相应的培养基上,静置于 37 °C 培养箱中培养 24 h,观察菌落生长形态。

(2) 分子生物学分析

用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株的总 DNA 作为模板,利用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:DNA 模板(10 ng/ μ L) 3 μ L, 10 \times PCR Buffer (含 Mg²⁺) 5.0 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 4.0 μ L, *Taq* 酶(2.5 U/ μ L) 1.0 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,加 ddH₂O 至 50 μ L。PCR 反应条件:95 °C 10 min; 94 °C 30 s, 54 °C 40 s, 72 °C 90 s, 共 30 个循环; 72 °C 12 min。PCR 产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测,利用 PCR 产物纯化试剂盒进行纯化,纯化后的产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源性分析,应用 MEGA 7.0 做系统发育树。

1.2.4 耐盐碱菌株溶磷、解钾、固氮能力测定方法

(1) 溶磷能力的测定

通过将筛选菌株接种至 PKO 无机磷培养基和蒙金娜有机磷培养基中,28 °C、180 r/min 培养 48 h,采用钼锑抗显色法测定其溶磷能力^[15]。

(2) 解钾能力的测定

将筛选菌株划线接种于硅酸盐细菌培养基,30 °C 恒温培养 3 d,经 3 次重复实验,如果平板上能生长菌落并且呈光滑、透明油滴状,则证明菌株具有解钾的能力^[16]。

(3) 固氮能力的测定

采用划线接种的方法,将耐盐碱菌株划线于 Ashby 固体培养基上,在 30 °C 培养 10 d,连续传代 3 次,第 3 次依然能在 Ashby 培养基上生长的细菌则被视为具有固氮能力^[17]。

1.2.5 耐盐碱菌株的促生性测定方法

(1) 吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的定量测定

采用 Salkowski 法^[18]进行测定。将筛选得到的耐盐碱菌株接种于 LB 培养液中,28 °C、180 r/min 条件下培养 48 h 后,再在 10 000 r/min 条件下离心 10 min,取 1 mL 上清液,加入 4 mL 的 Salkowski 比色液,避光处理,显色 30 min 后立刻在 530 nm 波长处用分光光度计进行比色分析。重复测量 3 组数据,取其平均值,参照对应的标准曲线计算出 IAA 的量。

(2) ACC 脱氨酶活性的测定

参照 Honma 等^[19]的方法,将筛选的菌株接种至 30 mL 的 DF 液体培养基,在 30 °C、200 r/min 条件下避光振荡培养 12 h。再将菌液置于 4 °C、8 000 r/min 条件下离心 10 min,收集菌悬液,并将沉淀物再次重悬于 30 mL 的 ADF 液体培养基中,在 30 °C、200 r/min 条件下避光振荡培养 24 h,用以诱导细菌的 ACC 脱氨酶活性。将

之前的菌液于 4 °C、8 000 r/min 条件下再次离心 10 min, 沉淀物重悬至 5 mL 的 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.6), 4 °C、8 000 r/min 条件下继续离心 10 min, 并收集沉淀物。向菌体沉淀中加入 1 mL 的 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.6)悬浮菌体, 然后转移至 1.5 mL 离心管中, 11 000 r/min 条件下离心 10 min; 重悬菌体于 600 μ L 的 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5), 加入 30 μ L 甲苯同时漩涡振荡 30 s 来破碎菌体细胞。吸取 200 μ L 破碎细胞菌悬液, 加入 20 μ L 的 0.5 mol/L ACC 溶液, 混匀后保持水浴加热(30 °C) 15 min, 然后向其中加入 1 mL 的 0.56 mol/L HCl 溶液摇匀, 11 000 r/min 离心 10 min。取上述离心上清液 1 mL, 加入 800 μ L 的 0.56 mol/L HCl 溶液, 混匀后再加入 300 μ L 的 2 g/L 2,4-二硝基苯肼溶液, 30 °C 水浴 30 min。加入 2 mL 的 2 mol/L NaOH 溶液显色, 检测 OD_{540} 值, 以无菌水代替菌悬液的处理作为空白对照。将样品的 OD_{540} 值代入标准曲线计算其对应的 α -丁酮酸含量, 将每分钟形成 1 μ mol α -丁酮酸的量定义为 1 个酶活力单位。

1.3 数据分析

采用 Excel 2010、SPSS 17、Origin 2018 软件进行数据统计与分析, 运用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 耐盐碱菌株的筛选及耐盐碱能力测定

研究共采集 15 份盐碱土壤样品, 在 Gibson 改良培养基上共得到 21 株不同的细菌(分别命名为 1-21 号)。其中 8 株分离于兰州新区, 13 株分离于张掖市黑河保护区。

2.1.1 菌株耐盐能力的测定

如表 1 所示, 在 Gibson 改良培养基 pH 值为 9.0 的前提下, 8、9、13 和 16 号菌株耐盐能

表 1 菌株的耐盐能力

Table 1 Salt tolerance of strains

菌株编号 Strain No.	NaCl concentration (g/L)					
	100	120	140	160	180	200
1	+	+	-	-	-	-
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	-	-	-
4	+	+	+	+	-	-
5	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	-
8	+	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	-	-	-
13	+	-	-	-	-	-
14	+	+	+	-	-	-
15	+	+	+	+	+	+
16	+	-	-	-	-	-
17	+	+	+	+	+	+
18	+	+	+	-	-	-
19	+	+	-	-	-	-
20	+	+	+	+	-	-
21	+	+	+	+	+	+

注: +: 菌株生长, -: 菌株不生长。下同

Note: +: The strain grows; -: The strain does not grow. The same below.

力最低, 可耐受含盐量最高为 100 g/L 的培养基; 1 号和 19 号菌株耐盐能力次之, 可耐受含盐量最高为 120 g/L 的培养基; 3、12、14 和 18 号菌株耐盐能力一般, 可耐受含盐量最高为 140 g/L 的培养基; 4 号和 20 号耐盐能力比较好, 可耐受含盐量最高为 160 g/L 的培养基; 7 号菌株耐盐能力很好, 最高可耐受含盐量为 180 g/L 的培养基, 2、5、6、10、11、15、17 和 21 号菌株的耐盐能力最好, 可耐受含盐量为 200 g/L 以上的培养基。

2.1.2 菌株耐碱能力的测定

由表 2 可以看出, 当 Gibson 改良培养基 NaCl 浓度保持在 100 g/L 时, 3、8、9、13 和

表2 菌株的耐碱能力

Table 2 Alkali tolerance of strains

菌株编号 Strain No.	pH			
	9.0	10.0	11.0	12.0
1	+	+	-	-
2	+	+	+	+
3	+	-	-	-
4	+	+	+	-
5	+	+	+	+
6	+	+	-	-
7	+	+	+	-
8	+	-	-	-
9	+	-	-	-
10	+	+	-	-
11	+	+	+	+
12	+	+	+	-
13	+	-	-	-
14	+	+	-	-
15	+	+	+	+
16	+	-	-	-
17	+	+	+	+
18	+	+	+	-
19	+	+	-	-
20	+	+	+	-
21	+	+	+	+

表3 菌株的耐盐碱能力

Table 3 Saline-alkali-tolerance of strains

Strain No.	NaCl 100 g/L,	NaCl 140 g/L,	NaCl 200 g/L,
	pH 9.0	pH 11.0	pH 12.0
1	+	-	-
2	+	+	+
3	+	-	-
4	+	-	-
5	+	+	+
6	+	+	-
7	+	+	-
8	+	-	-
9	+	-	-
10	+	-	-
11	+	+	-
12	+	+	-
13	+	-	-
14	+	-	-
15	+	+	+
16	+	-	-
17	+	+	+
18	+	-	-
19	+	+	-
20	+	+	-
21	+	+	+

16号菌株耐碱能力表现最差,最高只能在pH 9.0的碱性环境中生长;1、6、10、14和19号菌株的耐碱能力表现一般,最高能在pH 10.0的碱性环境中生长;4、7、12、18和20号菌株的耐碱能力表现较好,最高可以生长在pH 11.0的碱性环境下;2、5、11、15、17和21号菌株的耐碱能力表现最好,最高能够生长在pH 12.0以上的碱性环境中。

2.1.3 菌株耐盐碱能力的测定

如表3所示,在NaCl浓度为100 g/L和pH 9.0的条件下,21株菌都可以生长。通过不断提高培养基的盐度和碱度,可以看出在NaCl浓度为140 g/L和pH 11.0的条件下,2、5、6、7、11、12、15、17、19、20和21号菌株可以

生长;在NaCl浓度为200 g/L和pH 12.0时,2、5、15、17和21号可以生长。其中2号和5号分离于兰州新区舟曲中学校园内,15、17和21号分离于张掖市黑河湿地湖泊生态恢复保护示范区。由此可以看出,2、5、15、17和21号菌株具备较强的耐盐碱能力。

2.2 耐盐碱菌株的鉴定

2.2.1 耐盐碱菌株的形态学鉴定

在Gibbson改良培养基中分离筛选出5株耐盐碱菌,编号分别为2、5、15、17和21号。对5株耐盐碱菌株分别进行菌落形态观察,结果如图1-5所示:5株菌的菌落形状均为圆形;其中2、17号菌表面褶皱,边缘波状,中央呈乳白色不透明状;5号菌表面光滑,边缘整齐,中



图 1 2号菌株菌落形态图
Figure 1 Colony morphology of strain 2.

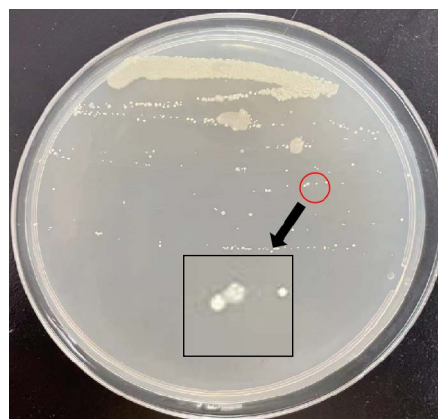


图 4 17号菌株菌落形态图
Figure 4 Colony morphology of strain 17.

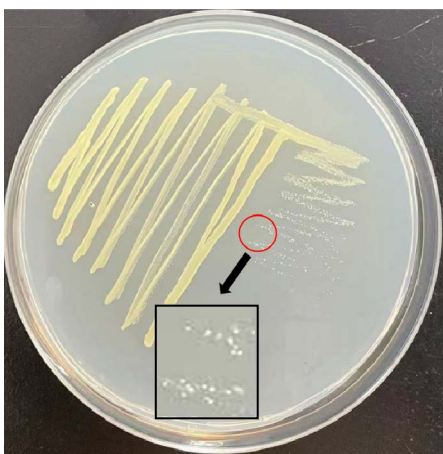


图 2 5号菌株菌落形态图
Figure 2 Colony morphology of strain 5.

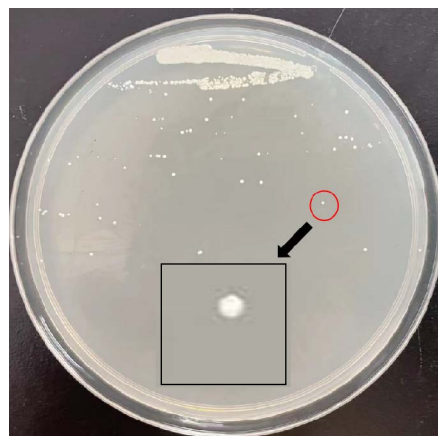


图 5 21号菌株菌落形态图
Figure 5 Colony morphology of strain 21.



图 3 15号菌落形态图
Figure 3 Colony morphology of strain 15.

央呈黄色不透明状; 15号菌表面光滑, 边缘整齐, 中央呈淡黄色半透明状; 21号菌表面光滑, 边缘整齐, 中央呈白色不透明状。

2.2.2 耐盐碱菌株的分子生物学鉴定

通过将筛选得到的 5 株耐盐碱菌的 16S rRNA 基因序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源性分析, 并应用 MEGA 7.0 做系统发育树。结果如图 6 所示, 经过 16S rRNA 基因序列分析鉴定, 2、5、15、17 和 21 号菌株分别与巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、金黄节杆菌(*Arthrobacter aurescens*)、费氏中华根瘤菌

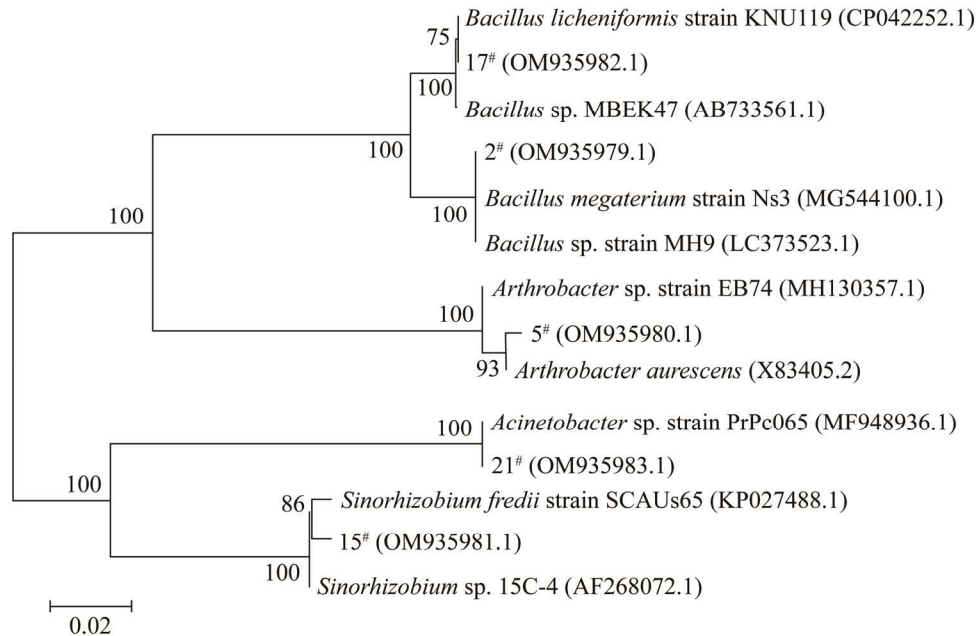


图 6 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 括号中序号为 GenBank 的登录号;分支点处的数值为构建系统发育树时 1 000 次计算形成的 bootstrap 值;标尺 0.02 代表 2% 的核酸差异

Figure 6 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence. Numbers in parentheses is the GenBank accession numbers; Numbers at the branch nodes are bootstrap values, expressed as percentages of 1 000 replicates; The scale bar indicates 2% nucleotide substitution.

(*Sinorhizobium fredii*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)同源关系最近,序列相似性分别达到 100%、99%、99%、100%和 100%。

结合菌落形态学鉴定,确定分离自兰州新区舟曲中学校园的 2 号菌株为巨大芽孢杆菌、5 号菌株为金黄节杆菌;分离自张掖市黑河湿地湖泊生态恢复保护示范区的 15 号菌株为费氏中华根瘤菌、17 号菌株为地衣芽孢杆菌、21 号菌株为不动杆菌属。

2.3 耐盐碱菌株溶磷、解钾、固氮能力功能性鉴定结果

2.3.1 菌株溶磷能力的鉴定

选用难溶性的磷酸三钙作为无机磷源,测定菌株溶解无机磷能力,同时选取卵磷脂为有机磷指标,测定溶解有机磷能力;并且在微生

物接种后的 48 h 内,每 12 h 对培养基中的磷含量进行检测。

当以磷酸三钙为唯一磷源时,结果如图 7 所示,检测 48 h 内各培养基产生的可溶性磷含量发现,最大值由高到低依次为地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、不动杆菌属、金黄节杆菌和费氏中华根瘤菌,最大值分别为 448.25、430.17、375.06、282.58 和 279.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。巨大芽孢杆菌培养基内的可溶性磷含量随着培养时间的增加而增加,36 h 时达到最大值,36 h 后平稳;金黄节杆菌培养基中可溶性磷含量随培养时间增加而增加,48 h 时达到最大值;费氏中华根瘤菌、地衣芽孢杆菌和不动杆菌属的可溶性磷含量在 24 h 时达到最大值,24 h 后降低。

当以卵磷脂为唯一磷源时,结果如图 8 所示,检测 48 h 内各培养基产生的可溶性磷含量,

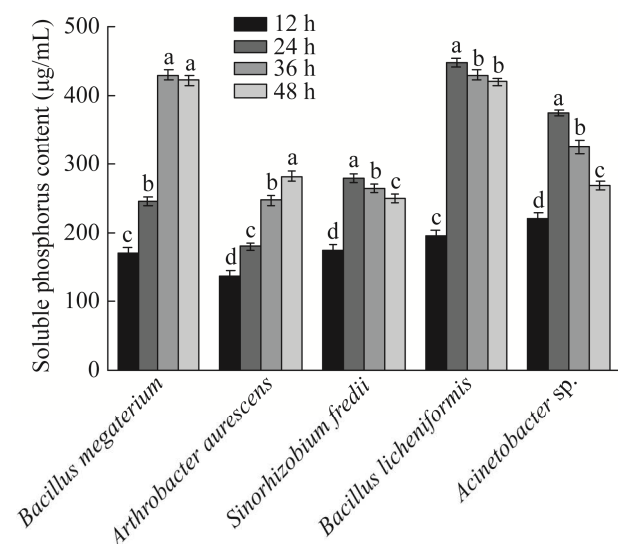


图 7 菌株无机磷培养基可溶性磷含量 同一菌株各组数据上不同小写字母表示不同时间数据差异显著($P<0.05$), 下同

Figure 7 Soluble phosphorus content in inorganic phosphorus medium of strain. Different lowercase letters on the data of each group of the same colony indicate significant differences in data at different times ($P<0.05$). The same bellow.

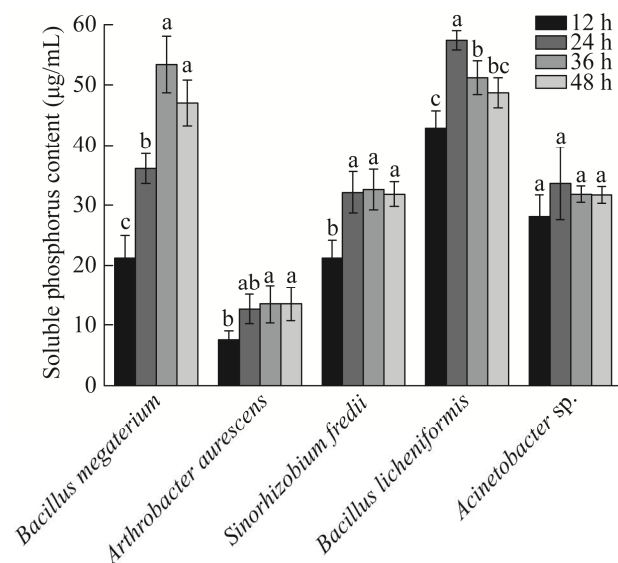


图 8 菌株有机磷培养基可溶性磷含量

Figure 8 Soluble phosphorus content in organophosphorus medium of strain.

发现最大值由高到低依次为地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、不动杆菌属、费氏中华根瘤菌和金黄节杆菌,最大值分别为 57.22、53.64、33.07、32.51 和 13.5 $\mu\text{g/mL}$ 。其中巨大芽孢杆菌和费氏中华根瘤菌培养基中的可溶性磷含量均在第 36 h 时达到最大值,之后保持稳定;地衣芽孢杆菌培养基内的可溶性磷含量在 24 h 时达到最大值,之后逐渐降低;金黄节杆菌培养基内的可溶性磷含量在 24 h 以后保持稳定;不动杆菌属培养基内的可溶性磷含量在 48 h 内无显著变化。

2.3.2 菌株解钾能力的鉴定结果

将 5 株耐盐碱菌株分别接种到硅酸盐细菌培养基中,经过 3 次重复试验获得生长良好且呈光滑、透明油滴状的菌株,如图 9 所示,金黄节杆菌和地衣芽孢杆菌具有解钾能力。

2.3.3 细菌固氮能力的鉴定

微生物的生物固氮能力是一个环境友好型的替代氮肥供给植物氮营养的方式。将筛选的 5 株耐盐碱菌分别接种于 Ashby 固体培养基上,观察它们能否生长,推断它们是否具有生物固氮的能力。结果如图 10 所示,在 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10 d,经过连续转接 3 次后,金黄节杆菌、费氏中华根瘤菌和不动杆菌属在 Ashby 固体培养基上长势良好,说明这 3 株菌具有固氮能力,而巨大芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌未生长。

2.4 耐盐碱菌株促生性评价

2.4.1 菌株分泌 IAA 的定量测定结果

在微生物接种后的 48 h 内,每过 12 h 对培养基中的 IAA 含量进行检测。如图 11 所示,费氏中华根瘤菌分泌 IAA 的能力最强,其次分别为巨大芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和金黄节杆菌,不动杆菌属分泌能力最弱。

在 5 株菌的培养过程中,巨大芽孢杆菌和费氏中华根瘤菌随培养时间的增加,IAA 分泌

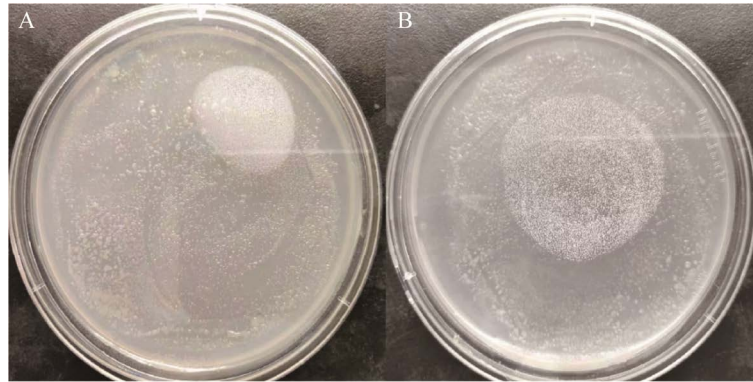


图9 金黄节杆菌(A)和地衣芽孢杆菌(B)的解钾能力

Figure 9 The potassium-dissolving ability of *Arthrobacter aurescens* (A) and *Bacillus licheniformis* (B).



图10 金黄节杆菌(A)、费氏中华根瘤菌(B)和不动杆菌属(C)菌株的固氮能力

Figure 10 The nitrogen-fixing ability of *Arthrobacter aurescens* (A), *Sinorhizobium fredii* (B) and *Acinetobacter* sp. (C).

量随之增加, 36 h 时 IAA 含量均达到最高, 之后虽呈下降趋势, 但并无显著变化, 这可能是因为部分细菌在完成自身生命活动的过程中会产生 IAA 且能够降解 IAA 有关; 金黄节杆菌、地衣芽孢杆菌和不动杆菌属在 24 h 时 IAA 分泌量分别达到最大值, 24 h 后随培养时间的增加, IAA 分泌量呈下降趋势, 这可能是因为菌株在对数期和稳定期大量分泌 IAA, 菌液中 IAA 迅速积累, 随着 IAA 浓度的增加渐渐会形成抑制作用。

2.4.2 细菌 ACC 脱氨酶活性的测定结果

如图 12 所示, 通过对各培养基中的 ACC 脱氨酶进行测定, 结果发现 5 株菌的菌悬液中

均能够检测到 ACC 脱氨酶活性, 但其活性表现出显著的差异。地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、费氏中华根瘤菌(*Sinorhizobium fredii*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)的 ACC 脱氨酶活性显著高于另外 2 株, 分别达到 0.272、0.159 和 0.217 U/mg; 金黄节杆菌(*Arthrobacter aurescens*)和不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)几乎无 ACC 脱氨酶活性。

3 讨论与结论

本研究通过对甘肃省兰州新区和张掖市黑河保护区两地的 15 份土壤样品进行细菌的培养试验, 共得到 21 株不同的细菌, 经过耐盐碱

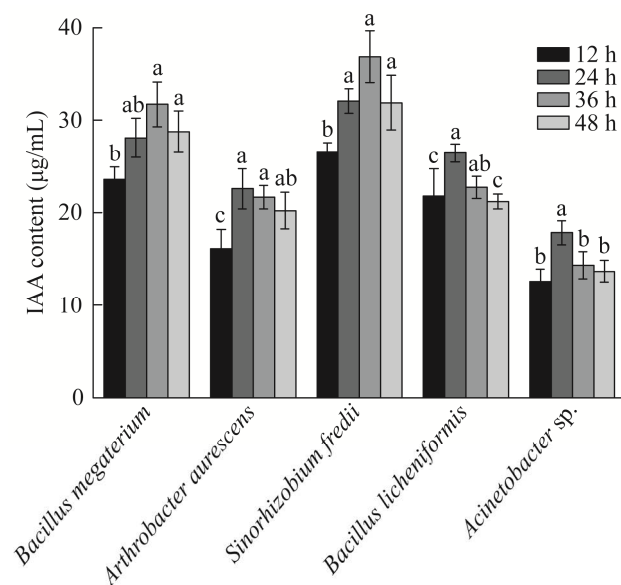


图 11 菌株分泌 IAA 的能力

Figure 11 The ability of the strain to secrete IAA.

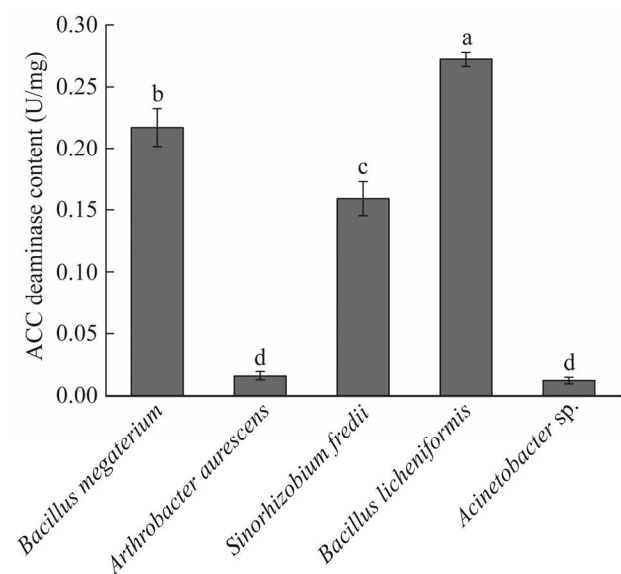


图 12 菌株的 ACC 脱氨酶活性

Figure 12 ACC deaminase activity of strains.

菌株的抗性筛选, 最终筛选出 5 株具有耐盐碱能力的菌株, 并对其进行形态学和分子生物学鉴定, 确定其分别为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、金黄杆菌(*Arthrobacter aureescens*)、费氏中华根瘤菌(*Sinorhizobium fredii*)、地衣芽

孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和不动杆菌属(*Acinetobacter sp.*)。

自植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)被认识以来, 越来越多的国内外学者对细菌的促生作用机理产生了浓厚的兴趣, 对此进行了很多研究。其中, 白洁等^[20]以欧李根系为研究材料对其内生促生菌进行筛选鉴定, 研究发现蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)溶磷量大于 100 µg/mL, 并且表现出极强的嗜盐碱特性, 最高可在 NaCl 浓度为 30% (质量体积分数)及 pH 13.0 的条件下正常生长; 李章雷等^[21]研究发现盐单胞菌属(*Halomonas sp.*)和卓贝氏菌属(*Zobellella sp.*)均具有固氮、产吲哚乙酸和 ACC 脱氨酶的功能, 产量分别最高可达到 17.66 mg/L 和 0.31 U/mg; Pritesh 等^[22]研究发现肠杆菌属(*Enterobacter sp.*)、木糖氧化杆菌(*Achromobacter sp.*)和微小杆菌属(*Exiguobacterium sp.*)在盐渍土壤中具有溶磷、解钾和产生 IAA 的能力, 接种于水稻田中能有效促进水稻的生长。

氮、磷、钾是植物生长所必需的大量元素, 对植物生长代谢发挥着不可替代的作用, 其含量直接影响植物的各项生命活动, 又被称作肥料三要素, 是评价土壤肥力的重要指标之一。本研究为进一步研究已筛选出的 5 株耐盐碱菌株的功能性, 在特定的培养基中对其在溶磷、解钾、固氮方面的功能性做了鉴定试验。试验结果显示 5 种耐盐碱菌株均具有一定的溶磷作用, 其中巨大芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和不动杆菌属相对效果更佳。磷元素与植物的光合作用和植物细胞体内的各种生化过程息息相关, 同时也是构成调节植物细胞内酸碱平衡的重要物质的组成成分^[23]。目前被广大科研工作者认同的溶磷原理主要包括两种形式: (1) 酶解作用, 微生物通过自身的生命活动并向土壤分泌一些具有溶解土壤中固定态磷素的磷酸酶等物

质；(2) 酸解作用，同样在微生物完成自身生命活动的同时，向土壤中释放一些有机酸或无机酸，进而将土壤中固定态磷素溶解释放^[24-25]。Fitriatin 等^[26]也指出具有溶磷作用的 *Pseudomonas mallei* 和 *Pseudomonas cepaceae* 可以促进玉米的生长，增加玉米产量；Othman 等^[27]研究证明添加溶磷微生物可以显著增加水稻的各项生长生理指标。在解钾能力方面，本研究结果显示金黄节杆菌和地衣芽孢杆菌具有一定的解钾能力。钾也是植物生长所必需的大量营养元素之一。研究表明，钾元素由于常被固定在硅酸盐矿物中，而土壤中存在一类能够解钾的细菌，它们可以将硅酸盐中的钾元素源源不断地释放出来，供给植物和自身生命活动使用，这类细菌也被叫作钾细菌或硅酸盐细菌^[28]。根据前人的研究总结^[29]，他们认为细菌分泌的解钾有机酸和氨基酸应是细菌破坏硅酸盐矿物从而进一步释放钾元素的主要原因。本研究中固氮能力鉴定结果显示，金黄节杆菌、费氏中华根瘤菌和不动杆菌属具有固氮能力。氮元素是构成所有生物体内各种蛋白质与核糖核酸的重要组成成分，与生物的基因表达息息相关，更是组成生命体本身不可缺少的重要元素之一^[30]。在此次固氮能力鉴定试验中，有 3 种菌可以在未添加任何氮元素的培养基中正常生长，说明它们具有从空气中固定氮素的功能。这与 Grzyb 等的研究结果^[31]一致，说明一些植物和土壤微生物能够直接利用空气中的氮素来完成自身生命活动。

吲哚乙酸作为植物生长调节物质，在植物受到盐碱胁迫时可以促进植物根系生长，增加根系长度和侧根生长数量，加快作物生长过程中对土壤养分的吸收转化效率^[32-33]，还能够刺激植物分泌 ACC 脱氨酶^[34]。ACC 是乙烯合成的前体物质，而 ACC 脱氨酶则可以对 ACC 进

行分解转化。乙烯作为植物不可缺少的植物激素之一，对植物生长代谢起着十分重要的调控作用^[35]。当植物受到盐碱胁迫时会加速乙烯的合成，乙烯浓度过高会导致植物衰老加速、果实脱落等现象，严重时还会对植物产生毒害作用^[36]。近年来研究发现，有些微生物可以生成脱氨酶，将合成乙烯的前体物质降解为酮戊二酸和氨，进而降低植物乙烯的产量，进一步促进植物在逆境环境中的生长^[37]；同时还发现，很多促生细菌都具有分泌吲哚乙酸和脱氨酸的能力，而且发现这一类细菌能够显著提高植物的抗病性和耐盐碱性^[38-39]。在本试验中，通过促生功能培养基的选择培养，5 种耐盐碱菌均表现出不同程度分泌 IAA 的能力，其中由高到低依次为费氏中华根瘤菌、巨大芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、金黄节杆菌和不动杆菌属；此外，对筛选鉴定后得到的 5 种耐盐碱菌做了 ACC 脱氨酶活性的测定，发现其中地衣芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌和费氏中华根瘤菌的 ACC 脱氨酶活性明显增高。

综上所述，筛选得到的 5 种耐盐碱菌株在溶磷、解钾、固氮功能性和分泌产生 IAA、ACC 脱氨酶促生性方面作用各异，为后期微生物改良盐碱地的应用提供了新的物种资源和理论依据。微生物改良盐碱地在保证土壤结构不被破坏的同时，既可以有效提高盐碱地土壤肥力、促进植物生长发育，还能进一步缓解土壤盐碱危害^[40]，具有很好的研究价值和现实意义。

REFERENCES

- [1] 赵恒策, 魏霞, 贺燕, 王涛. 冻融对河北省深州市盐碱地土壤理化性质的影响[J]. 水土保持学报, 2018, 32(5): 78-83
Zhao HC, Wei X, He Y, Wang T. Effects of freeze-thaw on the physical and chemical properties of saline and alkali soil at Shenzhou city, Hebei province[J]. Journal of Soil and Water Conservation,

- 2018, 32(5): 78-83 (in Chinese)
- [2] 武芳, 李勇, 路兆军. 盐碱土壤中微生物菌株的分离、筛选与功能评价[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(23): 24-27, 35
Wu F, Li Y, Lu ZJ. Isolation, screening and functional evaluation of microbial strains in saline alkali soil[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2019, 25(23): 24-27, 35 (in Chinese)
- [3] 杨建涛. 甘肃省盐碱化区域地下水合理埋深分析与确定[J]. 甘肃科技, 2021, 37(19): 31-33
Yang JT. Analysis and determination of reasonable buried depth of groundwater in saline-alkaliized areas of Gansu province[J]. Gansu Science and Technology, 2021, 37(19): 31-33 (in Chinese)
- [4] 袁广祥, 陈德文, 朱井生, 张路青, 曾庆利, 王小东. 河西走廊水资源开发利用诱发土壤盐渍化的风险评价[J]. 中国农村水利水电, 2021(10): 162-167, 174
Yuan GX, Chen DW, Zhu JS, Zhang LQ, Zeng QL, Wang XD. Risk assessment of soil salinization induced by water resources development and utilization in Hexi Corridor[J]. China Rural Water and Hydropower, 2021(10): 162-167, 174 (in Chinese)
- [5] 王舒华, 陈爽, 王悦, 李圆宾, 徐璐瑶, 王强, 李莹飞, 薛鹏飞, 焦加国, 李辉信, 等. 不同有机物料对盐碱土的淋洗效果研究[J]. 水土保持学报, 2021, 35(6): 376-383
Wang SH, Chen S, Wang Y, Li YB, Xu LY, Wang Q, Li YF, Xue PF, Jiao JG, Li HX, et al. Study on leaching effect of different organic materials on saline-alkali soil[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2021, 35(6): 376-383 (in Chinese)
- [6] 鲁凯珩, 金杰人, 肖明. 微生物肥料在盐碱土壤中的应用展望[J]. 微生物学通报, 2019, 46(7): 1695-1705
Lu KH, Jin JR, Xiao M. Prospect of microbial fertilizer in saline soil[J]. Microbiology China, 2019, 46(7): 1695-1705 (in Chinese)
- [7] 朱浩, 刘珂欣, 刘维维, 迟晓丽, 张潇, 许超, 金晓, 孙中涛, 刘丽英. 极端耐盐碱菌株的筛选及其菌肥对盐碱条件下小麦生长和土壤环境的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(7): 2338-2344
Zhu H, Liu KX, Liu WW, Chi XL, Zhang X, Xu C, Jin X, Sun ZT, Liu LY. Screening of extreme salt-alkali tolerant strain and effect of its fertilizer on wheat growth and soil environment under saline-alkali condition[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(7): 2338-2344 (in Chinese)
- [8] Baev MV, Baev D, Radek AJ, Campbell JW. Growth of *Escherichia coli* MG1655 on LB medium: determining metabolic strategy with transcriptional microarrays[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 71(3): 323-328
- [9] 韩玉竹, 赵建军, 曾兵, 明晓燕, 朱全伟. 多花黑麦草根际解磷菌的分离及解磷能力测定[J]. 草地学报, 2011, 19(5): 766-770
Han YZ, Zhao JJ, Zeng B, Ming XY, Zhu QW. Isolation and the phosphate solubilizing capacity of Italian ryegrass rhizosphere phosphate-solubilizing microorganism[J]. Acta Agrestia Sinica, 2011, 19(5): 766-770 (in Chinese)
- [10] 白变霞, 陈艳彬, 任嘉红. 蜡状芽孢杆菌 CLY07 菌株的解有机磷特性研究[J]. 西南林业大学学报, 2016, 36(4): 75-81
Bai BX, Chen YB, Ren JH. Study on organophosphate-solubilizing characteristics of *Bacillus cereus* CLY07[J]. Journal of Southwest Forestry University, 2016, 36(4): 75-81 (in Chinese)
- [11] Afridi MS, Amna, Sumaira, Mahmood T, Salam A, Mukhtar T, Mehmood S, Ali J, Khatoon Z, Bibi M, et al. Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 139: 569-577
- [12] Wu ZS, Yue HT, Lu JJ, Li C. Characterization of rhizobacterial strain Rs-2 with ACC deaminase activity and its performance in promoting cotton growth under salinity stress[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2012, 28(6): 2383-2393
- [13] Knox OGG, Killham K, Leifert C. Effects of increased nitrate availability on the control of plant pathogenic fungi by the soil bacterium *Bacillus subtilis*[J]. Applied Soil Ecology, 2000, 15(2): 227-231
- [14] Shamim A, Sheikh JH, Sk AH, Rakesh KD. Isolation and characterization of salinity tolerant *Azotobacter* sp.[J]. Greener Journal of Biological Sciences, 2012, 2(3): 43-51
- [15] 李显刚, 王小利, 姚拓, 陆瑞霞, 孟军江. 溶磷菌的溶磷、分泌 IAA 及有机酸特性研究[J]. 土壤通报, 2012, 43(6): 1385-1390
Li XG, Wang XL, Yao T, Lu RX, Meng JJ. Characters of solubilizing phosphate, secreting IAA and organic acids of phosphorus-solubilizing bacteria from rhizosphere of *Lotus corniculatus*[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2012, 43(6): 1385-1390 (in Chinese)
- [16] 康貽军, 程洁, 梅丽娟, 殷士学. 植物根际促生菌的筛选及鉴定[J]. 微生物学报, 2010, 50(7): 853-861
Kang YJ, Cheng J, Mei LJ, Yin SX. Screening and

- identification of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 853-861 (in Chinese)
- [17] 漫静, 唐波, 邓波, 李佳欢, 何玉娟, 张佳良. 羊草根际促生菌的分离筛选及促生作用研究[J]. *草业学报*, 2021, 30(1): 59-71
Man J, Tang B, Deng B, Li JH, He YJ, Zhang JL. Isolation, screening and beneficial effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in the rhizosphere of *Leymus chinensis*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(1): 59-71 (in Chinese)
- [18] Ehmann A. The Van URK-Salkowski reagent—a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives[J]. *Journal of Chromatography A*, 1977, 132(2): 267-276
- [19] Honma M, Jun KW, Yamada M. Identification of the reactive sulfhydryl group of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1993, 57(12): 2090-2093
- [20] 白洁, 姚拓, 王占军, 雷杨, 杨晓蕾, 张蔚. 欧李内生促生菌分离、鉴定及促生、耐盐碱特性[J]. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(1): 132-138
Bai J, Yao T, Wang ZJ, Lei Y, Yang XL, Zhang W. Isolation and identification as well as growth enhancement and saline-alkali tolerance properties of *Cerasus humilis* growth-promoting endophytes[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(1): 132-138 (in Chinese)
- [21] 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)
- [22] Pritesh P, Avnika P, Kinjal P, Jinal HN, Sakthivel K, Amaran N. Amelioration effect of salt-tolerant plant growth-promoting bacteria on growth and physiological properties of rice (*Oryza sativa*) under salt-stressed conditions[J]. *Archives of Microbiology*, 2020, 202(9): 2419-2428
- [23] Soetan K, Olaiya C, Oyewole O. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: a review[J]. *African Journal of Food Science*, 2010, 4: 200-222
- [24] Meena VS, Bahadur I, Maurya BR, Kumar A, Meena RK, Meena SK, Verma JP. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview[J]. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*, 2016: 1-20
- [25] Quiquampoix H, Mousain D. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus[J]. *Organic Phosphorus in the Environment*, 2005: 89-112
- [26] Fitriatin BN, Yuniarti A, Turmuktini T, Ruswandi FK. The effect of phosphate solubilizing microbe producing growth regulators on soil phosphate, growth and yield of maize and fertilizer efficiency on Ultisol[J]. *Eurasian Journal of Soil Science: Ejss*, 2014, 3(2): 101
- [27] Othman R, Panhwar QA. Phosphate-Solubilizing Bacteria Improves Nutrient Uptake in Aerobic Rice, Phosphate Solubilizing Microorganisms[M]. Springer, Cham, 2014: 207-224
- [28] Meena VS, Maurya BR, Verma JP. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils?[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(5/6): 337-347
- [29] Sattar A, Naveed M, Ali M, Zahir ZA, Nadeem SM, Yaseen M, Meena VS, Farooq M, Singh R, Rahman M, et al. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: a review[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 133: 146-159
- [30] 孔德杰. 秸秆还田和施肥对麦豆轮作土壤碳氮及微生物群落的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2020
Kong DJ. Effect on nitrogen and carbon content and microbial community structure of wheat-soybean rotation soil under straw return and fertilizer application treatments[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2020 (in Chinese)
- [31] Grzyb A, Wolna-Maruwka A, Niewiadomska A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management[J]. *Agronomy*, 2021, 11(7): 1415
- [32] 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)
- [33] 李斌, 黄进, 王丽, 李瑾, 梁越洋, 陈稷. 环境胁迫

- 及相关植物激素在水稻根毛发育过程中的作用[J]. 中国水稻科学, 2020, 34(4): 287-299
- Li B, Huang J, Wang L, Li J, Liang YY, Chen J. A review on how plant hormones and environment factors are involved in rice root hair development[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2020, 34(4): 287-299 (in Chinese)
- [34] 袁仁文, 刘琳, 张蕊, 范淑英. 植物根际分泌物与土壤微生物相互作用关系的机制研究进展[J]. 中国农学通报, 2020, 36(2): 26-35
- Yuan RW, Liu L, Zhang R, Fan SY. The interaction mechanism between plant rhizosphere secretion and soil microbe: a review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(2): 26-35 (in Chinese)
- [35] Yang SF, Pratt HK. The physiology of ethylene in wounded plant tissues[A]//Biochemistry of Wounded Plant Tissues[M]. De Gruyter, 1978: 595-622
- [36] Naing AH, Maung TT, Kim CK. The ACC deaminase-producing plant growth-promoting bacteria: influences of bacterial strains and ACC deaminase activities in plant tolerance to abiotic stress[J]. Physiologia Plantarum, 2021, 173(4): 1992-2012
- [37] Orozco-Mosqueda MDC, Glick BR, Santoyo G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops[J]. Microbiological Research, 2020, 235: 126439
- [38] 袁志林, 章初龙, 林福呈. 植物与内生真菌互作的生理与分子机制研究进展[J]. 生态学报, 2008, 28(9): 4430-4439
- Yuan ZL, Zhang CL, Lin FC. Recent advances on physiological and molecular basis of fungal endophyte-plant interactions[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(9): 4430-4439 (in Chinese)
- [39] Pretorius IS, Høj PB. Grape and wine biotechnology: challenges, opportunities and potential benefits[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(2): 83-108
- [40] 于建, 宋以玲, 丁方军, 张娟, 黄剑, 李巧玉, 洪丕征, 马学文, 李明远, 苏本玉. 复合微生物肥料对盐胁迫下番茄生理特性的影响[J]. 土壤通报, 2020, 51(2): 372-380
- Yu J, Song YL, Ding FJ, Zhang J, Huang J, Li QY, Hong PZ, Ma XW, Li MY, Su BY. Effects of compound microbial fertilizers on physiological characteristics of tomato under salt stress[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2020, 51(2): 372-380 (in Chinese)