

# 一株嗜盐嗜碱菌属促生菌的分离及功能鉴定

张小霞<sup>1</sup>, 王一<sup>1</sup>, 苏萍<sup>2</sup>, 杨新平<sup>3</sup>, 代金平<sup>3</sup>, 梁振普<sup>\*1,2,3</sup>

1 河南农业大学 生命科学学院, 河南 郑州 450046

2 新疆生产建设兵团第十四师农业科学研究所, 新疆 昆玉 848116

3 新疆农业科学院微生物应用研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091

张小霞, 王一, 苏萍, 杨新平, 代金平, 梁振普. 一株嗜盐嗜碱菌属促生菌的分离及功能鉴定[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4617-4632.

ZHANG Xiaoxia, WANG Yi, SU Ping, YANG Xinping, DAI Jinping, LIANG Zhenpu. Isolation and functional identification of a growth-promoting rhizobacterial strain of *Alkalibacterium*[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4617-4632.

**摘要:**【背景】土壤盐碱化是一个全球性问题, 耐盐植物根际存在大量未被开发的功能微生物, 例如植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)。这些微生物能够通过自身的促生功能帮助植物抵抗盐碱胁迫并促进植物生长。【目的】筛选出具有耐盐碱作用的 PGPR, 研究其促生功能, 为研发盐碱地专用功能性微生物肥料提供候选菌株。【方法】从新疆维吾尔自治区喀什地区野生柽柳根际土壤中筛选出一株耐盐碱细菌 Bachu49; 通过形态学、生理生化特性和 16S rRNA 基因测序技术对其进行分类鉴定; 利用多种功能鉴定培养基测定菌株 Bachu49 的解钾、固氮、解磷、吲哚乙酸合成、1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶和铁载体合成等促生能力; 采用二分格培养皿验证菌株 Bachu49 产生挥发性酸性物质的能力; 最后分别通过平皿和盆栽试验测定菌株对拟南芥和玉米幼苗生长的影响。【结果】从供试土壤样品中筛选分离到一株耐盐碱菌株 Bachu49, 经 16S rRNA 基因序列比对分析鉴定为嗜盐嗜碱菌属(*Alkalibacterium*); 菌株 Bachu49 拥有固氮、解有机磷和分泌吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)等促生能力, 可在盐浓度 0-160 g/L、pH 7.0-11.0 的条件下生长, 该菌还具有一定的降碱能力。在 pH 8.0、9.0 和 10.0 的条件下, 降碱率分别为 9.75%、15.56%和 20.60%。促生试验结果表明菌株 Bachu49 可以显著促进拟南芥、玉米在盐碱胁迫条件下的生长。其中, 在 pH 8.0、2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 的盐碱胁迫条件下, 接种了菌株 Bachu49 后拟南芥的根长、侧根数目、鲜重和叶片数分别增加了 239.86%、1 952.83%、389.71%和 91.23%; 在 15 g/kg 的盐胁迫条件下, 玉米的地下鲜重增加了 10.14%, 而在 30 g/kg 的盐碱胁迫条件下, 玉米的地上鲜重、茎粗和株高分别增加了 42.04%、23.14%和 40.91%。【结论】*Alkalibacterium* sp. Bachu49 具有优良的耐盐碱与促生能力, 能够显著促进植物在盐碱胁迫

资助项目: 新疆重点产业创新发展支撑计划(2022DB026); 新疆维吾尔自治区重点研发专项(2022B02019)

This work was supported by the Support Program for Innovative Development of South Xinjiang Key Industries (2022DB026) and the Special Project on Key Research and Development Tasks of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022B02019).

\*Corresponding author. E-mail: lzpbio@126.com

Received: 2024-02-20; Accepted: 2024-06-25; Published online: 2024-07-30

下的生长, 这为今后在研发盐碱地专用功能型微生物肥料方面提供了菌种资源和理论基础。

关键词: 嗜盐嗜碱菌属; 植物促生根际细菌; 盐碱地; 促生; 柽柳

## Isolation and functional identification of a growth-promoting rhizobacterial strain of *Alkalibacterium*

ZHANG Xiaoxia<sup>1</sup>, WANG Yi<sup>1</sup>, SU Ping<sup>2</sup>, YANG Xinping<sup>3</sup>, DAI Jinping<sup>3</sup>, LIANG Zhenpu<sup>\*1,2,3</sup>

1 College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, Henan, China

2 Agricultural Science Research Institute of the 14th Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Kunyu 848116, Xinjiang, China

3 Institute of Applied Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang, China

**Abstract: [Background]** Soil salinization is a global problem, and there are a large number of undeveloped functional microorganisms in the rhizosphere of salt tolerant plants, such as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). These microorganisms can help plants resist salt alkali stress and promote plant growth through their own growth promoting functions. **[Objective]** This study screened plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with salt-alkali tolerance and evaluated their growth-promoting effects, aiming to provide candidate strains for the development of microbial fertilizers for saline-alkaline land. **[Methods]** A bacterial strain Bachu49 with salt-alkali tolerance was isolated from the rhizosphere soil of wild *Tamarix chinensis* in Kashgar Prefecture of Xinjiang. This strain Bachu49 was identified based on morphological, physiological, and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence. Multiple media for functional identification were used to examine the growth-promoting effects [solubilizing potassium, fixing nitrogen, solubilizing phosphorus, synthesizing indole-3-acetic acid (IAA), secreting 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, and producing siderophores] of Bachu49. The Petri dish with two compartments was used to examine the production of volatile acid substances by Bachu49. Finally, the effects of Bachu49 on the growth of *Arabidopsis* and maize seedlings were analyzed by plate and pot experiments, respectively. **[Results]** A strain Bachu49 with salt-alkali tolerance was isolated from the soil samples. This strain was identified as *Alkalibacterium* sp. and named *Alkalibacterium* sp. Bachu49. Strain Bachu49 had the effects of fixing nitrogen, solubilizing organic phosphorus, and synthesizing IAA. It survived within the salt concentration of 0–160 g/L and pH 7.0–11.0 and showed the ability of reducing alkali. At pH 8.0, 9.0, and 10.0, the alkali reduction rates of Bachu49 were 9.75%, 15.56%, and 20.60%, respectively. Strain Bachu49 promoted the growth of *Arabidopsis* and maize seedlings under salt-alkali stress. Specifically, at pH 8.0 and 2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, inoculation with strain Bachu49 increased the root length, number of lateral roots, fresh weight, and number of leaves of *Arabidopsis* by 239.86%, 1 952.83%, 389.71%, and 91.23%, respectively. Inoculation of this strain increased the underground fresh weight of maize seedlings by 10.14% in the presence of 15 g/kg salt-alkali, and it increased the aboveground fresh weight, stem diameter, and plant height of maize seedlings by 42.04%, 23.14%, and

40.91%, respectively, under 30 g/kg salt-alkali stress. **[Conclusion]** *Alkalibacterium* sp. Bachu49 has excellent salt-alkali tolerance and plant-growth promoting effects under salt-alkali stress. This study provides a candidate strain and a theoretical basis for the future development of specialized microbial fertilizers for saline-alkali soil.

**Keywords:** *Alkalibacterium*; plant growth-promoting rhizobacteria; saline-alkaline land; growth promotion; *Tamarix chinensis*

盐碱土是指土壤中可溶性盐类物质含量大于 2 g/kg, pH>8.0 的土壤<sup>[1]</sup>。目前全球约有 10 亿  $\text{hm}^2$  的盐碱地, 我国的盐碱地总面积约为 1 亿  $\text{hm}^2$ , 主要分布在新疆、宁夏、河北、内蒙古、吉林和沿海地区<sup>[2-3]</sup>, 其中, 新疆维吾尔自治区盐碱地面积高达 1 336.1 万  $\text{hm}^2$ , 约占全国盐碱地总面积的 36.8%, 是我国土壤盐碱化分布最广、类型最多的地区<sup>[4-5]</sup>。大面积的盐碱地对新疆维吾尔自治区的农业绿色发展和生态环境都造成了不良的影响<sup>[6]</sup>, 许多耕地因土壤盐碱化加剧无法种植作物而弃用<sup>[7]</sup>。研究表明, 土壤盐碱化不仅会降低土壤中微生物的活性, 导致土壤的结构造成破坏, 而且会直接毒害植物, 抑制植物的生长<sup>[8-9]</sup>, 因此对盐碱地的治理迫在眉睫。目前对盐碱地的治理方式主要分为物理改良法、化学改良法和生物改良法这三大类, 其中, 生物改良法又分为植物改良和微生物改良<sup>[10]</sup>。植物改良主要是通过种植一些耐盐植物, 例如碱蓬、苜蓿、柽柳等来改善土壤的理化性质, 提升土壤微生物多样性, 降低盐碱土中的含盐量<sup>[11-13]</sup>。微生物改良则是指向土壤或植物中接种耐盐碱微生物菌剂, 改善植物根际环境与土壤理化性质, 从而达到改良盐碱地的目的<sup>[14]</sup>。

植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是指能够定殖于植物根际、促进植物生长的一类有益细菌, 可以通过固氮、溶磷、产 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶、铁载体和植物激素等方式来促进植物在盐碱地中的生长<sup>[15]</sup>。有些

耐盐碱 PGPR 可以帮助植物建立盐碱胁迫的抵抗机制, 例如通过改变植物根系对离子的吸收与释放、调控植物特定基因的表达来提高植物的耐盐性, 增强植物在盐碱地中的生存能力<sup>[16-17]</sup>, 从而改善植物在盐碱环境中的生长状态。除此之外, 在盐碱土中接种 PGPR 可以促进土壤有机质的分解, 提高土壤肥力, 改善土壤的理化性质, 从而降低土壤的盐碱化<sup>[18-20]</sup>。因此, 挖掘具有耐盐碱促生作用的 PGPR 并将其制成微生物菌剂, 将有助于盐碱地的改良、提升农业生产力。

嗜盐嗜碱菌属(*Alkalibacterium*)是属于芽孢杆菌纲的一类细菌, 具有较高的耐盐耐碱性, 广泛存在于土壤、海水及人工环境中<sup>[21]</sup>。柽柳属(*Tamarix chinensis*)柽柳科植物, 是典型的泌盐植物。柽柳不仅具有很高的耐盐能力, 而且能防风固沙、保持水土、显著改良土壤理化性质<sup>[22]</sup>。本研究从新疆维吾尔自治区喀什地区柽柳根际土中分离筛选具有耐盐碱作用的 PGPR, 对其进行分类及功能鉴定, 并利用平皿和盆栽试验评估菌株对植物的促生效果, 以期为进一步探索 PGPR 的耐盐碱促生机制奠定基础, 并为获得优质的 PGPR 菌株、开发盐碱地专用微生物肥料提供材料支撑和理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样品

土壤样品为新疆维吾尔自治区巴楚县柽柳的根际土壤。玉米种子为新玉 62 号, 购自新疆金丰源种业股份有限公司。拟南芥种子为拟南

芥哥伦比亚生态型,由本实验室扩繁保存。链霉菌(*Streptomyces*) sp. A537 保存于本实验室。

## 1.2 培养基

高盐高碱 LB 培养基(g/L):胰蛋白胨 10.00, 酵母提取物 5.00, 氯化钠 75.00, pH 9.0; 1/2 MS 培养基(g/L): MS 培养基 2.37, 蔗糖 10.00, 琼脂 15.00; 促生能力鉴定培养基: 无机磷培养基、蒙金娜有机磷培养基、阿须贝无氮培养基、硅酸盐细菌培养基、ADF 培养基和铬天青(chrome azurol sulphonate, CAS)培养基参考文献[23-28]配制。

## 1.3 主要试剂和仪器

16S rRNA 基因扩增引物,生工生物工程(上海)股份有限公司; 2×phanta Max Mix, 南京诺唯赞生物科技有限公司; 常规化学试剂, 国药集团化学试剂有限公司; MS 培养基, 杭州百思生物技术有限公司。恒温振荡培养箱, 天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司; 扫描电镜, 赛默飞世尔科技公司; PCR 仪, 北京友华照钦医疗器械有限公司。

## 1.4 耐盐碱菌株的分离、纯化

取 5 g 供试土壤样品加入装有 45 mL 灭菌去离子水的离心管中, 涡旋振荡 2 min 后室温静置 2-5 min 获得土壤悬液; 吸取上清液进行逐级梯度稀释, 分别得到  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  浓度梯度的土壤悬液, 然后将其涂布于 LB 固体培养基 30 °C 恒温培养箱中倒置培养 48 h。挑取不同形态、颜色及大小的单菌落进行 3 次划线纯化。最后将单菌株接种于 LB 液体培养基, 30 °C、180 r/min 培养至  $OD_{600}$  值为 0.6-0.8, 取 500  $\mu$ L 菌液与 500  $\mu$ L 50% 甘油等比混合后置于 -80 °C 保存备用。

## 1.5 菌株 Bachu49 的鉴定

### 1.5.1 菌株 Bachu49 的形态特征

将在培养基上富集的菌落进行 3 次划线纯化后, 最终获得 109 株纯培养菌株, 将其中一株

编号为 Bachu49。将分离得到的菌株 Bachu49 接种于 LB 固体培养基上, 30 °C 恒温培养箱倒置培养 7 d, 观察菌落形态特征, 并利用革兰氏染色和扫描电镜对菌株 Bachu49 的细胞形态进行进一步的观察。

### 1.5.2 菌株 Bachu49 的生理生化特性

使用生化管对菌株 Bachu49 的生理生化特性进行鉴定, 包括葡萄糖、果糖、半乳糖、蔗糖、木糖、阿拉伯糖等, 并根据生化鉴定结果参照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[29]</sup>判断细菌特征。

### 1.5.3 菌株 Bachu49 的分子生物学鉴定

采用 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGT TACCTTGTACGACTT-3') 进行 PCR。PCR 反应体系(25  $\mu$ L): 菌液( $OD_{600}$  0.6-0.8) 0.5  $\mu$ L, 2×phanta Max Mix 12.5  $\mu$ L, 上、下游引物(10  $\mu$ mol/L) 各 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 10  $\mu$ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 2 min, 35 个循环; 72 °C 5 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果在 NCBI 数据库中进行 BLAST 同源性比对分析, 利用 MEGA 11 构建系统发育树。

## 1.6 菌株 Bachu49 促生能力相关特性的测定

### 1.6.1 溶无机磷、解有机磷、解钾能力的测定

将菌株 Bachu49 分别接种于无机磷培养基、蒙金娜有机磷培养基和硅酸盐细菌培养基中, 30 °C 恒温培养箱倒置培养 8-9 d, 观察菌落周围是否能够产生透明圈, 若产生透明圈则证明菌株具有溶无机磷、解有机磷、解钾的能力。

### 1.6.2 固氮、分泌 ACC 脱氨酶能力的测定

将菌株 Bachu49 分别接种于阿须贝无氮培养基和 ADF 培养基中, 30 °C 恒温培养箱倒置培养 8-9 d, 连续传代 3 次, 如果菌株能够在平板上生长, 则证明菌株具有固氮和分泌 ACC 脱

氨酶的能力。

### 1.6.3 产铁载体能力的测定

将菌株 Bachu49 接种于 CAS 培养基中, 30 °C 恒温培养箱倒置培养 8–9 d, 观察菌落周围是否能够产生橘色透明圈, 若产生透明圈则证明菌株具有产铁载体的能力。

### 1.6.4 分泌吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA) 能力的测定

采用 Salkowski 法对菌株 Bachu 49 分泌吲哚乙酸的能力进行测定。称取 IAA 标准品 10.0 mg, 用无水乙醇溶解后用蒸馏水定容至 100 mL, 随后再用蒸馏水稀释, 配成浓度分别为 10、20、30、40、50  $\mu\text{L}/\text{mL}$  的标准液。取 2 mL 标准液并加入等体积的 Salkowski 显色液, 避光处理 30 min 后, 用紫外分光光度计在 530 nm 波长处进行比色分析, 并根据结果数据绘制标准曲线。

挑取菌株 Bachu49 单菌落接种于 LB 液体培养基中, 30 °C、180 r/min 恒温振荡培养 14 d, 每隔 24 h 取 2 mL 菌悬液, 14 000 $\times g$  离心 10 min, 取上清加入等体积的 Salkowski 显色液避光处理, 显色 30 min 后立刻用紫外分光光度计在 530 nm 波长处进行比色分析。参照对应的标准曲线计算出 IAA 的含量。

### 1.7 产挥发性酸性物质的测定

为验证菌株 Bachu49 是否产生挥发性酸性物质, 本实验选用中性红(pH 6.8–8.0)试剂进行测定。将中性红试剂加入 LB 固体培养基中, 在隔离培养皿一侧接种菌株 Bachu49, 另一侧不做处理, 共 6 个重复。30 °C 倒置培养 48 h 后观察培养基颜色是否由橘色变为红色。

### 1.8 耐盐能力的测定

将菌株 Bachu49 接种于 LB 液体培养基, 30 °C、180 r/min 培养至  $OD_{600}$  值为 0.6–0.8。将菌液在培养基 pH 值为 9.0, NaCl 浓度分别为 0、20、40、60、80、100、120、140、160、180

和 200 g/L, 以及不调节 pH, 盐浓度为 0 g/L [简称为 0(-)]的 LB 固体培养基上划线培养, 30 °C 恒温培养箱倒置培养。每隔 24 h 统计菌株 Bachu49 的菌落直径大小, 每个时间点重复测定 3 次, 取其平均值。

### 1.9 耐碱能力的测定

将菌株 Bachu49 接种于 LB 液体培养基, 30 °C、180 r/min 培养至  $OD_{600}$  值为 0.6–0.8。将菌液以 2% 的接种量分别接种到盐浓度为 75 g/L, pH 值为 7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0 的 LB 液体培养基中, 30 °C、180 r/min 培养 4 d。每隔 24 h 用紫外分光光度计测量菌液  $OD_{600}$  值, 并以相应 pH 值未接种菌株的 LB 液体培养基为对照组, 每个时间点重复测定 3 次, 取其平均值。

### 1.10 菌株降碱能力的测定<sup>[30]</sup>

分别在 pH 8.0、9.0 和 10.0 的 LB 液体培养基中接种  $OD_{600}$  值为 0.6–0.8 的 Bachu49 菌液, 30 °C、180 r/min 培养 4 d, 每隔 12 h 取 0.5 mL 菌液于 4 000 r/min 离心 5 min, 取上清用 pH 计测定菌液的 pH 值。根据公式(1)计算降碱率:

$$\eta_{\text{碱}}(\%) = (\text{pH}_{\text{前}} - \text{pH}_{\text{后}}) / \text{pH}_{\text{前}} \times 100 \quad (1)$$

式(1)中:  $\eta_{\text{碱}}$  为菌株降碱能力;  $\text{pH}_{\text{前}}$  为发酵前培养基的 pH 值;  $\text{pH}_{\text{后}}$  为发酵后菌液的 pH 值。

### 1.11 拟南芥的培养皿促生试验

将拟南芥种子洗净后于 4 °C 冰箱春化 3 d 备用。

根据课题组前期对拟南芥盐碱耐受程度的试验结果<sup>[31]</sup>, 设立 5 个 1/2 MS 培养基盐碱胁迫条件, 分别为将培养基 pH 值调为 5.8、pH 值调为 8.0、pH 值调为 8.0 并加入 2 mmol/L  $\text{NaHCO}_3$ 、pH 值调为 8.0 并加入 100 mmol/L NaOH、pH 值调为 8.0 并加入 2 mmol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  和 100 mmol/L 的 NaOH (5 个盐碱胁迫条件简称 pH 5.8、pH 8.0、pH 8.0+2、pH 8.0+100、pH 8.0+2+100)。实验

采用自制的双层培养基法：配制 1/2 MS 固体培养基，在距培养皿底部 6.0 cm 处接种处理好的拟南芥种子；切掉距底部 1.5 cm 处的 1/2 MS 培养基部分，加入 2 mL LB 固体培养基，LB 固体培养基部分接种菌株 *Bachu49*。每个培养皿上接种 20 颗拟南芥种子，每个条件 3 次重复。于 22 °C、12 000 lx、光暗周期 16 h/8 h、相对湿度 50% 培养 10 d 后统计拟南芥的根长、鲜重等生理指标。

### 1.12 玉米的盆栽促生试验

玉米盆栽试验使用混合盐碱溶液进行环境胁迫模拟。将营养土和蛭石 1:1 混匀，121 °C 灭菌 20 min，烘干备用；混合盐碱溶液使用灭菌水和碱性盐  $\text{NaHCO}_3$ 、中性盐  $\text{NaCl}$  按照物质的量 1:1 进行配制。根据课题组前期对玉米盐碱耐受程度的试验结果<sup>[31]</sup>，本实验设立了 3 个盐碱胁迫条件，向灭菌营养土中分别加入对应浓度的混合盐碱溶液，使盐碱在营养土中的浓度分别为 15、30 和 45 g/kg。将配制好的盐碱土分为每份 37 g，装于 5 cm×5 cm×6.5 cm 的育苗盆中。向每盆盐碱土中播种 5 粒饱满、大小一致的新玉 62 号玉米种子，播种深度为 1 cm 左

右；每组处理设置 10 个重复。

将菌株 *Bachu49* 接种于 LB 液体培养基中，30 °C、180 r/min 培养，使菌液浓度为  $10^8$  CFU/mL，然后将菌液稀释 10 倍制成菌悬液备用。

待玉米长出两片叶时，向每株玉米施加 5 mL 菌株 *Bachu49* 的菌悬液，每隔 7 d 施加 1 次，以灭菌去离子水处理作为对照。14 d 后洗净玉米根系，并测量地上鲜重和地下鲜重等农艺性状指标。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株 *Bachu49* 的鉴定结果

#### 2.1.1 菌株 *Bachu49* 的形态

将在培养基上富集的菌落进行 3 次划线纯化后，最终获得 109 株纯培养菌株，其中 1 株为 *Bachu49*。将此菌株在 LB 培养基上划线后，发现菌株的菌落形态呈圆形、白色透明，菌落边缘较为整齐，易挑起(图 1A)。革兰氏染色结果显示为红色，因此菌株 *Bachu49* 为革兰氏阴性菌(图 1B)。扫描电镜下菌株 *Bachu49* 细胞呈短杆状，无芽孢，大小约为  $(1.5-2.5) \mu\text{m} \times (0.7-21.1) \mu\text{m}$  (图 1C)。

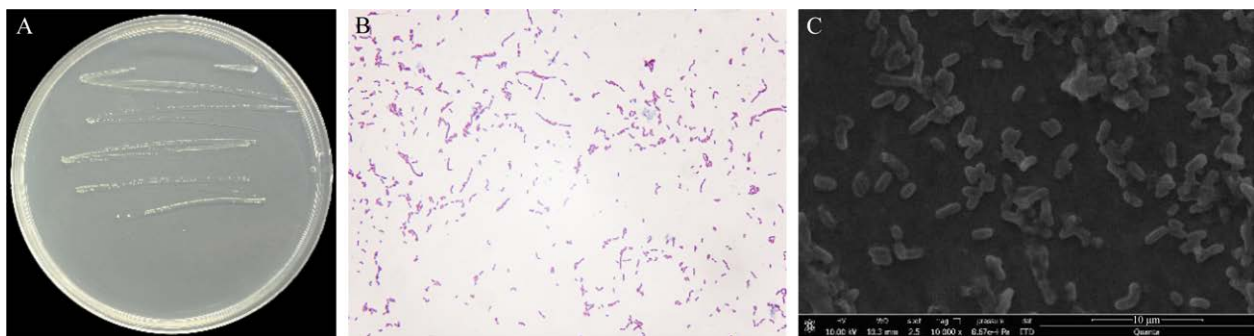


图 1 菌株 *Bachu49* 的形态特征 A: 菌株 *Bachu49* 的菌落形态. B: 革兰氏染色下菌株 *Bachu49* 的菌体形态. C: 扫描电镜下 *Bachu49* 的菌体形态

Figure 1 Morphological characteristics of strain *Bachu49*. A: Colony characteristics of strain *Bachu49*. B: The Gram staining result of strain *Bachu49*. C: Morphology of strain *Bachu49* by scanning electron microscope.

### 2.1.2 菌株 Bachu49 的生理生化特性结果

菌株 Bachu49 可以利用蔗糖、木糖、阿拉伯糖、柠檬酸盐作为唯一碳源进行生长；该菌具备产过氧化氢酶的能力，没有产氧化酶和水解淀粉的能力(表 1)。

### 2.1.3 菌株 Bachu49 的分子生物学鉴定结果

测序结果显示，菌株 Bachu49 的 16S rRNA 基因扩增片段长度为 1 455 bp (GenBank 登录号: OQ993071)。在线 BLAST 结果显示，菌株 Bachu49 与嗜盐嗜碱菌属的模式菌株 NBRC 103243 (NR114242)亲缘关系最近，相似性为 99.38%，其次是菌株 T129-2-1 (NR041575)和 O24-2 (NR113154)，相似性分别为 99.45%和 99.31%。基于 16S rRNA 基因序列构建了系统发育树，结果显示，菌株 Bachu49 与嗜盐嗜碱菌属(*Alkalibacterium*)共处一个大的分支(图 2)。

综上，最终确定 Bachu49 为嗜盐嗜碱菌属(*Alkalibacterium*)的成员,将其命名为 *Alkalibacterium* sp. Bachu49。

### 2.2 菌株 Bachu49 的促生能力测定结果

对菌株 Bachu49 的溶磷、解钾、固氮、产

IAA、产 ACC 脱氢酶、产铁载体能力进行了测定。根据 IAA 标准品测得 IAA 标准曲线为  $y=74.6x-2.53$ 。结果显示，菌株 Bachu49 具有解有机磷、固氮和产 IAA 的促生相关功能，其分泌 IAA 的量为 8.14  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (图 3、表 2)。

### 2.3 菌株 Bachu49 产挥发性酸性物质的测定结果

中性红试剂在碱性条件下显示橘色，酸性条件下显示为红色。在含有中性红的 LB 培养基(pH 9.0, 呈现橘色)上接种菌株 Bachu49, 培养 48 h 后培养基变成红色(图 4A); 经过 24 h 敞口放置, 培养基又恢复为橘色(图 4B), 而未敞口的培养基仍为红色(图 4C), 表明菌株 Bachu49 在培养的过程中产生了挥发性酸性物质。

### 2.4 菌株 Bachu49 的耐盐耐碱能力测定结果

在 pH 9.0 的前提下, 菌株 Bachu49 在 NaCl 浓度为 0–160 g/L 的 LB 平板上均可以生长, 其中, 当 NaCl 浓度为 80 g/L 时长势最好(表 3)。菌株 Bachu49 在 pH 7.0–11.0 的 LB 平板上均可以生长, 在 pH 7.0 条件下长势最好(表 3、表 4)。因此, 菌株 Bachu49 具有良好的耐盐碱性能。

表 1 菌株 Bachu49 和相关种的生理生化测定结果

Table 1 Physiological and biochemical analysis of the strain Bachu49 and related species

Characteristic	Strain Bachu49	<i>A. thalassium</i> T117-1-2 <sup>T[32]</sup>	<i>A. pelagium</i> T143-1-1 <sup>T[32]</sup>	<i>A. putridalgicola</i> T129-2-1 <sup>T[32]</sup>	<i>A. kapii</i> T22-1-2 <sup>T[32]</sup>
Starch hydrolyze	–	ND	ND	ND	ND
Catalase test	+	–	–	–	–
Oxidase test	–	–	–	–	–
Only carbon source tests					
Glucose	–	ND	ND	ND	ND
Fructose	–	ND	ND	ND	ND
Galactose	–	+	+	+	–
Saccharose	+	ND	ND	ND	ND
Xylose	+	–	+	+	–
L-arabinose	+	–	+	+	–
Citrate test	+	ND	ND	ND	ND

+: 阳性; -: 阴性; ND: 无数据

+: Positive; -: Negative; ND: No data.

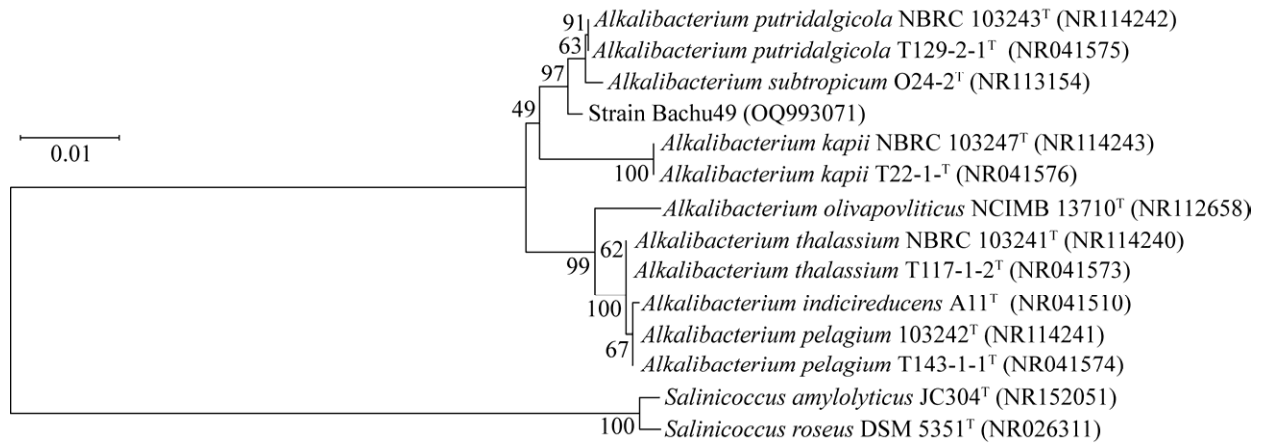


图2 基于16S rRNA基因序列构建的菌株Bachu49的系统发育树 括号内编号为菌株的GenBank登录号；分支上的数字为bootstrap值，代表分类单位被聚在一起的概率；标尺刻度为序列差异的分支长度  
 Figure 2 Phylogenetic tree of strain Bachu49 constructed based on 16S rRNA gene sequence. The GenBank accession number of the strain is indicated in parentheses; The numbers on the branch are bootstrap values, representing the probability that the taxa will be clustered together; Bar: Nucleotide divergence.

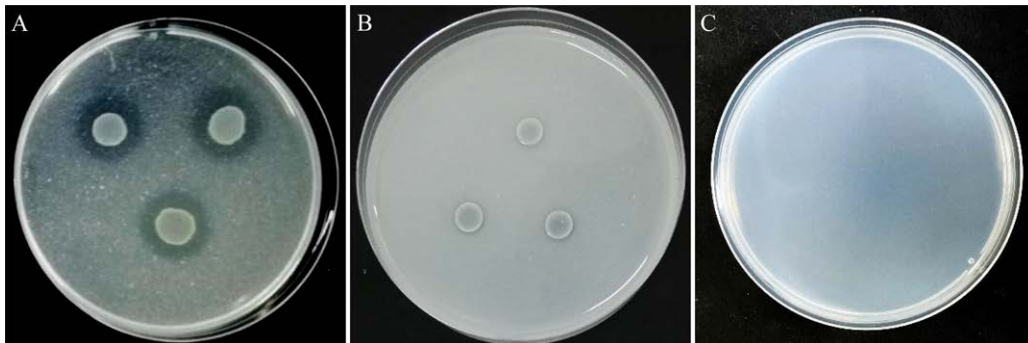


图3 菌株Bachu49促生能力测定结果 A: 解有机磷能力; B: 固氮能力; C: 固氮能力的阴性对照  
 Figure 3 Determination results of the growth-promoting ability of strain Bachu49. A: Phosphate solubilizing ability; B: Nitrogen-fixing ability; C: Nitrogen-fixing ability negative control of strain A537.

表2 菌株Bachu49促生能力测定结果

Table 2 Determination results of the growth-promoting ability of strain Bachu49

Function	Result
Inorganic phosphorus solubility	-
Organic phosphate solubility	+
Potassium-dissolving ability	-
Iron-producing capacity	-
IAA-producing capacity	+
Nitrogen fixation capacity	+
ACC deaminase-producing ability	-

+: Functional; -: Non functional.

## 2.5 菌株Bachu49的降碱能力测定结果

降碱实验结果表明，菌株Bachu49在pH 8.0、9.0和10.0时降碱率分别为9.75%、15.56%和20.60% (表5)。

## 2.6 菌株Bachu49对拟南芥和玉米生长的影响

### 2.6.1 菌株Bachu49对拟南芥生长的影响

在pH 8.0+100 mmol/L NaCl的胁迫条件下，相较于对照组(不接菌)，接种菌株Bachu49



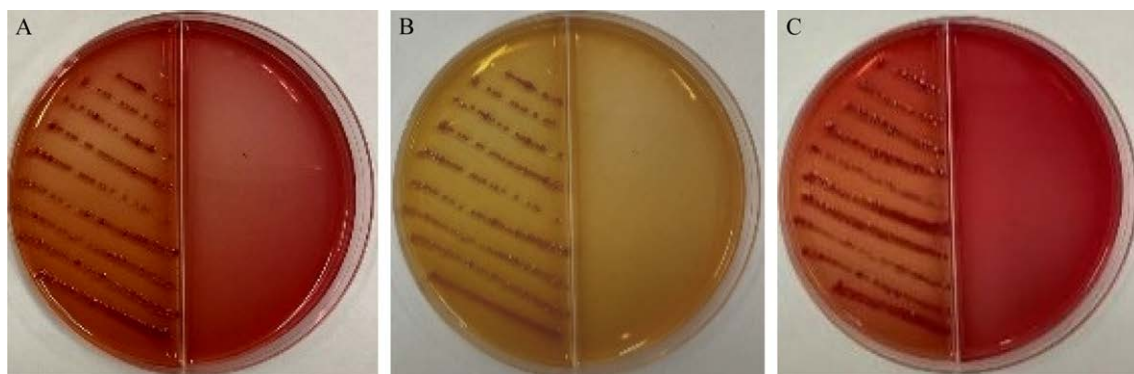


图 4 菌株 **Bachu49** 产挥发性酸性物质的鉴定 A: 菌株培养 48 h 的培养皿; B: 培养皿变红后敞口放置 24 h; C: 培养皿变红后未敞口放置

Figure 4 The identification of producing acidic volatile substances of strain Bachu49. A: The result after cultivating 48 hours; B: 24-hour open placement after the culture dish turns red; C: Unexposed placement after the culture dish turns red.

表 3 菌株 **Bachu49** 的耐盐能力

Table 3 Salt tolerance of strain Bachu49

NaCl concentration (g/L)	Result
0(-)	-
0	+
20	++
40	++
60	+++
80	++++
100	+++
120	+++
140	++
160	+
180	-
200	-

-: 不生长; +: 生长且菌落直径<0.3 mm; ++: 菌落直径 0.3-0.5 mm; +++: 菌落直径 0.5-0.8 mm; ++++: 菌落直径>0.8 mm

-: The strain does not grow; +: Growing and colony diameter<0.3 mm; ++: Colony diameter, 0.3-0.5 mm; +++: Colony diameter, 0.5-0.8 mm; ++++: Colony diameter>0.8 mm.

的拟南芥在根长、侧根数目、鲜重和叶片数等方面均有显著增加(图 5), 增加率分别为 239.86%、1 952.83%、389.71%和 91.23%。在 pH 8.0+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 的胁迫条件下, 与对照组相比, 接种菌株 **Bachu49** 的拟南芥侧根数、

表 4 菌株 **Bachu49** 的耐碱能力

Table 4 Alkali tolerance of strain Bachu49

pH	Result
7.0	++++
8.0	++++
9.0	++++
10.0	++
11.0	+
12.0	-
13.0	-

-: 不生长; +: 生长且 OD<sub>600</sub><0.3; ++: OD<sub>600</sub>, 0.3-0.5; +++: OD<sub>600</sub>, 0.5-0.8; ++++: OD<sub>600</sub>>0.8

-: The strain does not grow; +: Growing and OD<sub>600</sub><0.3; ++: OD<sub>600</sub>, 0.3-0.5; +++: OD<sub>600</sub>, 0.5-0.8; ++++: OD<sub>600</sub>>0.8.

表 5 菌株 **Bachu49** 的降碱能力

Table 5 Alkali-reducing ability of strain Bachu49

pH	Alkali-reducing rate (%)
8.0	9.75
9.0	15.56
10.0	20.60

根长和鲜重均有所增加, 其中根长的增加率为 23.59%, 鲜重增加率为 150.31%。在 pH 8.0+100 mmol/L NaCl+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 胁迫条件下, 接种菌株 **Bachu49** 的拟南芥根长增加了

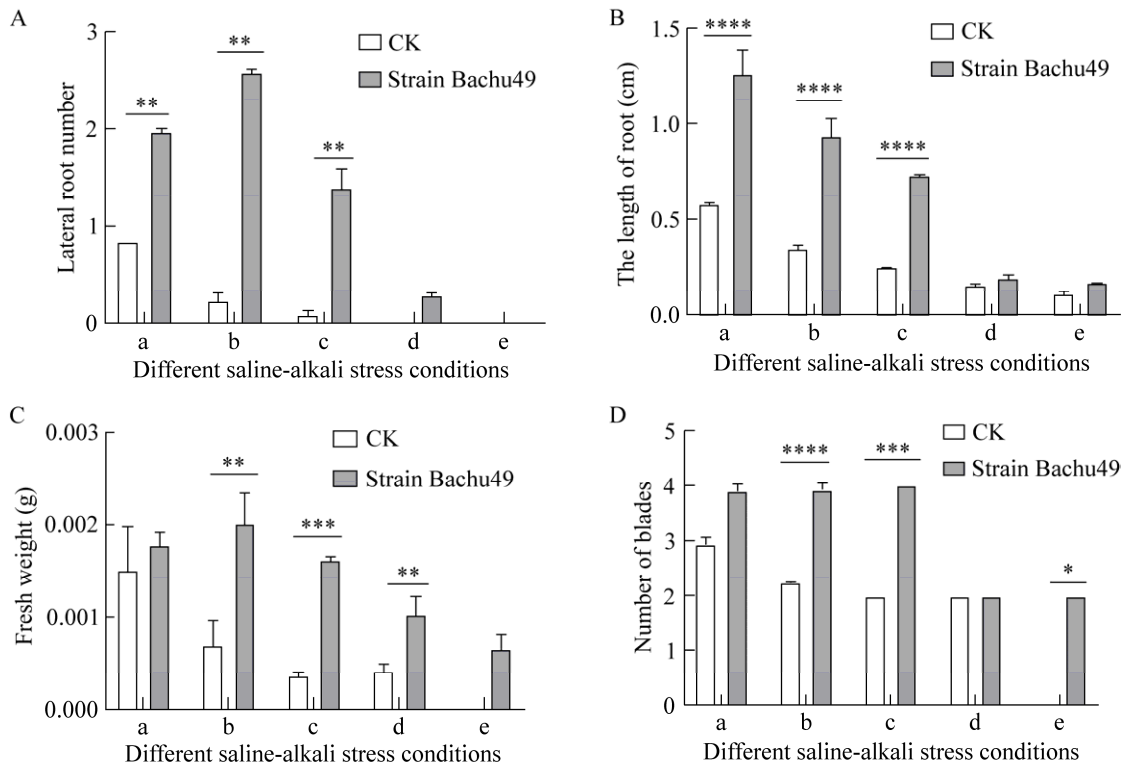


图 5 菌株 *Bachu49* 在不同盐碱胁迫条件下对拟南芥的促生作用 A: 对拟南芥侧根的影响; B: 对拟南芥根长的影响; C: 对拟南芥鲜重的影响; D: 对拟南芥叶片的影响. a: pH 5.8; b: pH 8.0; c: pH 8.0+100 mmol/L NaCl; d: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>; e: pH 8.0+100 mmol/L NaCl+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>; \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; \*\*\*:  $P<0.001$ ; \*\*\*\*:  $P<0.0001$

Figure 5 Effects of *Bachu49* on growth of *Arabidopsis* under different saline-alkali condition. A: Effects on lateral roots of *Arabidopsis*; B: Effects on lateral the root length of *Arabidopsis*; C: Effects on fresh weight of *Arabidopsis*; D: Effects on the number of *Arabidopsis* leaves. a: Medium condition pH 5.8; b: pH 8.0; c: pH 8.0+100 mmol/L NaCl; d: pH 8.0+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>; e: pH 8.0+100 mmol/L NaCl+2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>; \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; \*\*\*:  $P<0.001$ ; \*\*\*\*:  $P<0.0001$ .

39.41%。综上所述, 菌株 *Bachu49* 在盐碱胁迫条件下能促进拟南芥根系的生长发育, 且具有极显著效果。

### 2.6.2 菌株 *Bachu49* 对玉米生长的影响

玉米的盆栽结果显示(图 6、图 7), 相较于对照组, 接种菌株 *Bachu49* 的玉米在不同的胁迫条件下生物量均有不同程度的增加。在无盐碱胁迫的情况下, 接种了 *Bachu49* 菌液的玉米地上鲜重和地下鲜重呈极显著增加, 增加率为 60.87% ( $P<0.001$ )和 122.30% ( $P<0.0001$ ); 株高

呈显著增加, 增加率为 15.66% ( $P<0.01$ )。在 15 g/kg 的胁迫条件下, 接种了 *Bachu49* 菌液的玉米株高、茎粗呈现显著增加, 增加率为 28.64% ( $P<0.001$ )和 18.55% ( $P<0.01$ )。在 30 g/kg 的胁迫条件下, 接种了 *Bachu49* 菌液的玉米株高、茎粗、地上鲜重以及地下鲜重均有所增加, 增加率分别为 40.91%、23.14% ( $P<0.01$ )、42.04%和 9.71% ( $P<0.05$ )。在 45 g/kg 的胁迫条件下, 接种了 *Bachu49* 菌液的玉米茎粗呈现显著增加, 增加率为 17.94% ( $P<0.05$ )。

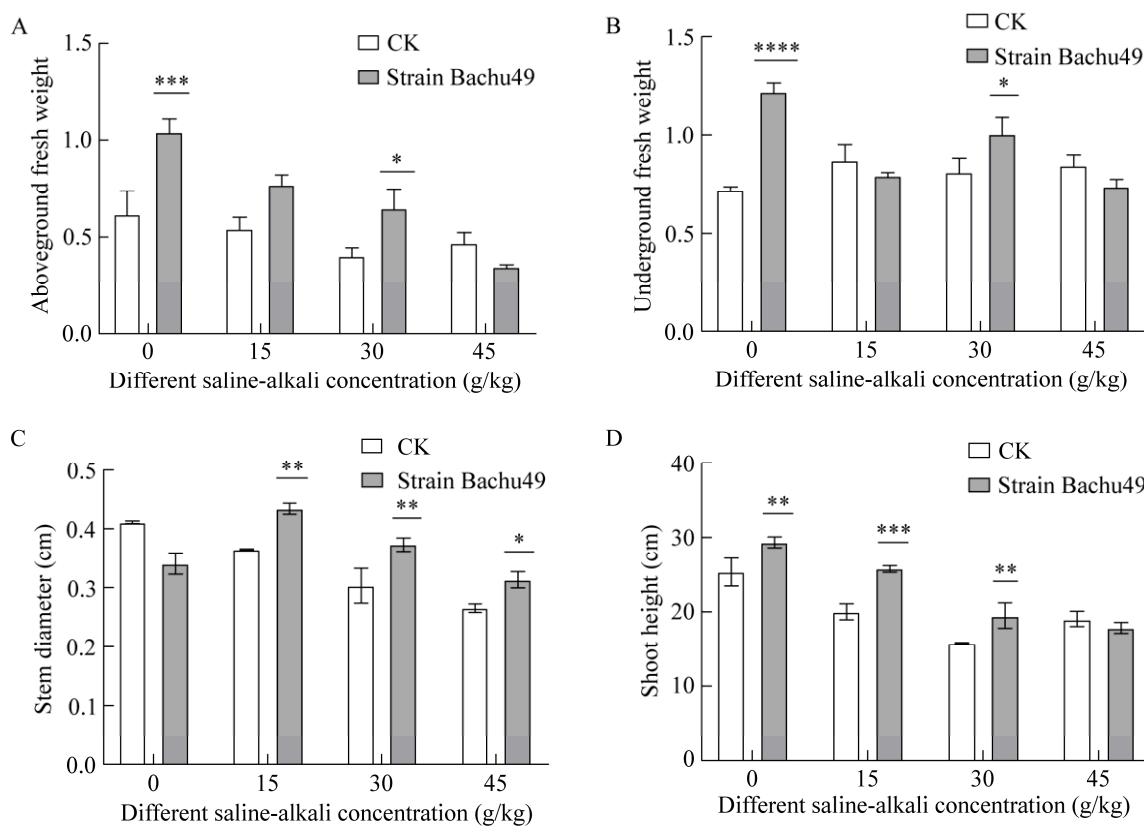


图 6 菌株 *Bachu49* 在不同盐碱浓度胁迫条件下对玉米的促生作用 A: 对玉米地上鲜重的影响; B: 对玉米地下鲜重的影响; C: 对玉米茎粗的影响; D: 对玉米株高的影响. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$

Figure 6 Effects of *Bachu49* on growth of maize under different saline-alkali concentration. A: Effects on the aboveground fresh weight of maize; B: Effects on the underground fresh weight of maize; C: Effects on stem diameter of maize; D: Effects on shoot height of maize. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

### 3 讨论与结论

近年来,随着越来越多 PGPR 的发掘,关于其促进植物生长、改良盐碱地的研究与应用愈发受到关注。然而目前大多数 PGPR 多集中在有限的种类上、菌种同质化现象严重,并且对不同环境缺乏广泛的适应性,性能易受到土壤 pH 值、环境气候等影响<sup>[33-34]</sup>;因此分离出具有较强的盐碱环境适应性 PGPR 并制成微生物菌剂,将能有效扩充 PGPR 资源、推动微生物肥料的研究进程。

本研究从新疆维吾尔自治区耐盐碱植物柽柳根际土壤中分离到了一株耐盐碱促生菌 *Alkalibacterium* sp. *Bachu49*, 该菌株可在盐浓度 0–160 g/L、pH 7.0–11.0 的条件下生长,具有良好的耐盐碱能力且能利用多种碳源,大大提升了其在不同环境下的生存能力。嗜盐嗜碱菌属 (*Alkalibacterium*) 是隶属于芽孢杆菌纲 (*Bacilli*) 乳杆菌目 (*Lactobacillales*) 肉杆菌科 (*Carnobacteriaceae*) 的一类细菌,目前关于嗜盐嗜碱菌属的研究报道较少,主要集中在分离和菌株鉴定、果胶酶的生产发酵,以及氧化胁迫

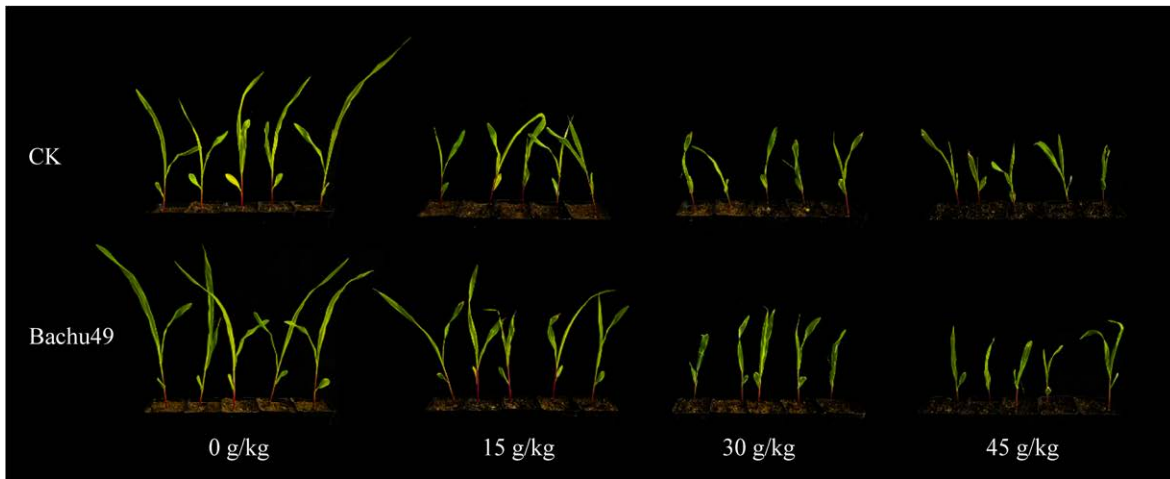


图 7 菌株 **Bachu49** 对玉米幼苗的促生作用 0、15、30 和 45 g/kg 分别表示盐碱浓度为 0、15、30 和 45 g/kg

Figure 7 Effects of Bachu49 strain on maize seedlings. 0, 15, 30 and 45 g/kg represent saline-alkali concentration at 0, 15, 30, and 45 g/kg, respectively.

下嗜盐嗜碱菌属的应答机制等方面<sup>[35-37]</sup>；尚未见关于嗜盐嗜碱菌属(*Alkalibacterium*)在盐碱胁迫下对植物促生作用研究的相关报道。因此菌株 **Bachu49** 可以有效克服目前促生菌适应性较差、菌株类型有限的问题，具有较大的应用潜力。

本研究对菌株 **Bachu49** 的促生功能进行了测定，结果显示菌株 **Bachu49** 具有固氮、解有机磷和分泌 IAA 的促生功能。有研究表明，具有固氮能力的 PGPR 能够将空气中的氮转化为植物可以利用的形式，提高植物对氮的利用效率并促进植物的生长<sup>[38-39]</sup>。而磷是仅次于氮的第二大类植物所需要的营养元素，主要是通过影响植物的各种代谢途径来影响植物的生长；具有溶磷作用的 PGPR，可以将土壤中的磷酸盐转为植物可以吸收的形式，提高植物对磷的吸收能力，以达到促进植物生长的目的<sup>[40-41]</sup>。IAA 作为一种植物激素，可以起到刺激种子的萌发，促进植物根系以及根毛的形成，因此分泌 IAA 的菌株可以起到促进植物生长的作用<sup>[42]</sup>。此外，本研究的隔离培养结果显示，菌株 **Bachu49**

能够产生某些酸性挥发性物质。张鹏鹏<sup>[43]</sup>研究表明，根际促生菌产生的一些挥发性物质能够促进拟南芥的鲜重与根系的生长。Ryu 等<sup>[44]</sup>的研究发现枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) GB30 和阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*) JM22 可以释放一些挥发性物质来促进拟南芥生长。由此推测菌株 **Bachu49** 产生的挥发性酸性物质可能在其降碱能力及缓解土壤碱胁迫中发挥一定的作用，但其具体成分和参与促生的机理还有待进一步证实。

由于 PGPR 的巨大应用潜力，目前已有越来越多的研究人员投入到了 PGPR 挖掘工作中。如徐云龙等<sup>[45]</sup>利用阿须贝无氮培养基分离得到了一株固氮菌 BWLY3X-6，并对其生理生化、固氮特性及对不同品种香蕉的促生作用进行了研究，结果表明固氮菌 BWLY3X-6 属于固氮菌变栖克雷伯菌(*Klebsiella variicola*)，将其接种于南天黄与巴西蕉后，这 2 个品种香蕉的各项生物量都有显著的提升，尤其是根长与对照组相比，增比达到了 43.5%和 54.6%。蔺宝珺等<sup>[46]</sup>

分离出了 4 株具有溶磷功能的假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 菌株, 并通过钼锑抗比色法及盆栽试验测定了其溶磷与促生效果, 结果表明这 4 株溶磷菌不仅能显著增加披碱草株高和地上干重, 并且对土壤中的速效氮、速效磷含量也有正向影响。尽管目前对于 PGPR 的研究越来越多, 但仍有许多生产应用上的问题亟待解决, 如市场现有菌株种类较少、应用效果具有区域特异性; 其次部分菌株对盐碱等极端环境的适应性较差, 由于环境因素的影响而无法展现出原有的促生效果<sup>[47]</sup>。因此, 发掘出对极端环境具有良好适应性的新菌种, 并对 PGPR 资源库进行扩充成为了当前亟须解决的难题。

综上, 本研究从新疆维吾尔自治区喀什地区野生柽柳根际土壤中筛选出了一株耐盐碱促生菌 Bachu49; 结合形态学、生理生化特性及 16S rRNA 基因序列比对的结果, 最终鉴定其为嗜盐嗜碱菌属成员, 并命名为 *Alkalibacterium* sp. Bachu49。该菌株具有固氮、溶有机磷、分泌 IAA、产挥发性酸性气体及降盐碱等多种能力, 能够利用多种碳源且具有较高的盐碱耐受性, 对拟南芥和玉米都具有良好的促生作用。本研究结果对 PGPR 菌种资源进行了扩充, 为进一步研制能够适应盐碱环境的微生物菌肥提供了重要依据, 在新型盐碱地专用微生物肥料开发方面具有重要的应用价值。后续将进一步对其促生理、菌剂研发等方面开展研究。

## REFERENCES

- [1] ZHU JK. Plant salt tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 66-71.
- [2] 边荣荣, 孙兆军, 李向辉, 李惠军. 西北盐碱地改良利用技术研究现状及展望[J]. 宁夏工程技术, 2016, 15(4): 404-408.  
BIAN RR, SUN ZJ, LI XH, LI HJ. Present situation and prospect of improvement and utilization of saline-alkali land in Northwest[J]. Ningxia Engineering Technology, 2016, 15(4): 404-408 (in Chinese).
- [3] 贾壮壮, 谭亚男, 管孝艳, 王忠静, 陶园. 宁夏盐碱地成因及分区治理措施综述[J]. 灌溉排水学报, 2023, 42(5): 122-134.  
JIA ZZ, TAN YN, GUAN XY, WANG ZJ, TAO Y. Saline-alkali soil formation and its remediation strategies in different regions of Ningxia: a comprehensive review[J]. Journal of Irrigation and Drainage, 2023, 42(5): 122-134 (in Chinese).
- [4] 朱生堡, 乌尔古丽·托尔逊, 唐光木, 张云舒, 徐万里, 马海刚. 新疆盐碱地变化及其治理措施研究进展[J]. 山东农业科学, 2023, 55(3): 158-165.  
ZHU SB, Wuerguli·Tuorxun, TANG GM, ZHANG YS, XU WL, MA HG. Research progress on saline-alkali land changes and its treatment measures in Xinjiang[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2023, 55(3): 158-165 (in Chinese).
- [5] 邵华伟, 孙九胜, 胡伟, 王新勇, 罗广华. 新疆盐碱地分布特点和成因及改良利用技术研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2014(11): 160-164.  
SHAO HW, SUN JS, HU W, WANG XY, LUO GH. Research progress on distribution characteristics, causes and improved utilization technology of saline-alkali land in Xinjiang[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2014(11): 160-164 (in Chinese).
- [6] 阿孜古力·库尔班, 王洁, 马无为, 谢滔, 张伟. 新疆盐碱土壤中克百威降解菌群结构解析及降解菌株特性[J]. 西北农业学报, 2023, 32(10): 1616-1626.  
Aziguli·Kuerban, WANG J, MA WW, XIE T, ZHANG W. Structure analysis of carbofuran degrading bacterial flora and characteristics of degrading strains in saline alkali soil of Xinjiang[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2023, 32(10): 1616-1626 (in Chinese).
- [7] 胡炎, 杨帆, 杨宁, 贾伟, 崔勇. 盐碱地资源分析及利用研究展望[J]. 土壤通报, 2023, 54(2): 489-494.  
HU Y, YANG F, YANG N, JIA W, CUI Y. Analysis and prospects of saline-alkali land in China from the perspective of utilization[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(2): 489-494 (in Chinese).
- [8] MACHADO R, SERRALHEIRO R. Soil salinity: effect on vegetable crop growth. management practices to prevent and mitigate soil salinization[J]. Horticulturae, 2017, 3(2): 30.
- [9] 王明睿, 杨升, 刘星, 陈秋夏. 盐胁迫下植物根系特征及其微生物的互作关系[J]. 世界林业研究, 2023, 36(4): 22-27.  
WANG MR, YANG S, LIU X, CHEN QX. Root characteristics of plants under salt stress and their

- interactions with microorganisms[J]. World Forestry Research, 2023, 36(4): 22-27 (in Chinese).
- [10] 张翼夫, 李问盈, 胡红, 陈婉芝, 王宪良. 盐碱地改良研究现状及展望[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 7-10.  
ZHANG YF, LI WY, HU H, CHEN WZ, WANG XL. Present situation and prospect of saline-alkali land improvement research[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(18): 7-10 (in Chinese).
- [11] 林学政, 沈继红, 刘克斋, 黄晓航. 种植盐地碱蓬修复滨海盐渍土效果的研究[J]. 海洋科学进展, 2005, 23(1): 65-69.  
LIN XZ, SHEN JH, LIU KZ, HUANG XH. Study on remediation effects of *Suaeda salsa* L. planting on coastal saline soil[J]. Advances in Marine Science, 2005, 23(1): 65-69 (in Chinese).
- [12] 侯晖, 龚佳, 谢沁宓, 赵宏亮, 程昊, 王芳, 倪细炉. 宁夏 4 种耐盐植物对根际土壤养分及微生物功能多样性的影响[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(4): 61-73.  
HOU H, GONG J, XIE QM, ZHAO HL, CHENG H, WANG F, NI XL. Effects of four salt-tolerant plants on rhizosphere soil nutrients and microbial functional diversity in Ningxia[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2023, 38(4): 61-73 (in Chinese).
- [13] 李海英, 彭红春, 牛东玲, 王启基. 生物措施对柴达木盆地弃耕盐碱地效应分析[J]. 草地学报, 2002, 10(1): 63-68.  
LI HY, PENG HC, NIU DL, WANG QJ. Analysis of the effect of biomeasures on discarded salkaline land in chidamu basin[J]. Acta Agrestia Sinica, 2002, 10(1): 63-68 (in Chinese).
- [14] ORHAN F. Potential of halophilic/halotolerant bacteria in enhancing plant growth under salt stress[J]. Current Microbiology, 2021, 78(10): 3708-3719.
- [15] 姜焕焕, 王通, 陈娜, 禹山林, 迟晓元, 王冕, 祁佩时. 根际促生菌提高植物抗盐碱性的研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(10): 189-197.  
JIANG HH, WANG T, CHEN N, YU SL, CHI XY, WANG M, QI PS. Research progress in PGPR improving plant's resistance to salt and alkali[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(10): 189-197 (in Chinese).
- [16] QIN Y, DRUZHININA IS, PAN XY, YUAN ZL. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(7): 1245-1259.
- [17] VIMAL SR, SINGH JS, ARORA NK, SINGH S. Soil-plant-microbe interactions in stressed agriculture management: a review[J]. Pedosphere, 2017, 27(2): 177-192.
- [18] 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).
- [19] GIRVAN MS, BULLIMORE J, PRETTY JN, MARK OSBORN A, BALL AS. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(3): 1800-1809.
- [20] 郭伟, 薛帅, 张哲超, 刁风伟, 胡杰, 张敏, 刘美淳, 丁胜利, 贾冰冰, 史中奇. 生物技术修复盐碱化草地研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(7): 200-208.  
GUO W, XUE S, ZHANG ZC, DIAO FW, HU J, ZHANG M, LIU MC, DING SL, JIA BB, SHI ZQ. Research progress on bioremediation of saline-alkali grassland: a review[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(7): 200-208 (in Chinese).
- [21] NAKAJIMA K, HIROTA K, NODASAKA Y, YUMOTO I. *Alkalibacterium iburiense* sp. nov., an obligate alkaliphile that reduces an indigo dye[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(Pt 4): 1525-1530.
- [22] 张立华, 陈小兵. 盐碱地柽柳“盐岛”和“肥岛”效应及其碳氮磷生态化学计量学特征[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 653-658.  
ZHANG LH, CHEN XB. Characteristics of ‘salt island’ and ‘fertile island’ for *Tamarix chinensis* and soil carbon, nitrogen and phosphorus ecological stoichiometry in saline-alkali land[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(3): 653-658 (in Chinese).
- [23] 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).
- [24] 白雯霞, 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).
- [25] 曹晶晶, 熊桐梓, 钞亚鹏, 赵盼, 汪志琴, 仲乃琴. 极耐盐碱固氮菌的分离鉴定及固氮特性研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(11): 3483-3495.
- CAO JJ, XIONG MZ, (CHAO/MIAO) YP, ZHAO P, WANG ZQ, ZHONG NQ. Isolation and identification of extremely salt-tolerant azotobacter and its nitrogen-fixing characteristics[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(11): 3483-3495 (in Chinese).
- [26] 黄伟. 杉木根际解磷菌、解钾菌筛选及其培养条件优化的研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2016.
- HUANG W. Study on selection and culture optimization of phosphate-solubilizing bacteria and potassium-releasing bacteria in rhizosphere of *cunninghaimia lanceolata*[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2016 (in Chinese).
- [27] 秦宝军, 罗琼, 高森, 胡海燕, 徐晶, 周义清, 孙建光. 小麦内生固氮菌分离及其 ACC 脱氢酶测定[J]. 中国农业科学, 2012, 45(6): 1066-1073.
- QIN BJ, LUO Q, GAO M, HU HY, XU J, ZHOU YQ, SUN JG. Isolation of wheat endophytic diazotrophs and determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(6): 1066-1073 (in Chinese).
- [28] 周贝贝. 植物根际促生菌的筛选及其在草莓上的应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2018.
- ZHOU BB. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria and its application in strawberry[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [29] 蔡妙英, 东秀珠. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- CAI MY, DONG XZ. Handbook for Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [30] 孙雪, 董永华, 王娜, 崔文会, 廖鲜艳, 刘莉. 耐盐碱促生菌的筛选及性能[J]. 生物工程学报, 2020, 36(7): 1356-1364.
- SUN X, DONG YH, WANG N, CUI WH, LIAO XY, LIU L. Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(7): 1356-1364 (in Chinese).
- [31] 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).
- [32] ISHIKAWA M, TANASUPAWAT S, NAKAJIMA K, KANAMORI H, ISHIZAKI S, KODAMA K, OKAMOTO-KAINUMA A, KOIZUMI Y, YAMAMOTO Y, YAMASATO K. *Alkalibacterium thalassium* sp. nov., *Alkalibacterium pelagium* sp. nov., *Alkalibacterium putridalgicola* sp. nov. and *Alkalibacterium kapii* sp. nov., slightly halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacteria isolated from marine organisms and salted foods collected in Japan and Thailand[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(5): 1215-1226.
- [33] 周萌, 张嘉俊, 罗洋. 微生物肥料的作用机理、现状及展望[J]. 中国农学通报, 2023, 39(33): 68-75.
- ZHOU M, ZHANG JJ, LUO Y. The mechanism, current status and prospects of microbial fertilizers[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39(33): 68-75 (in Chinese).
- [34] 焦松林, 欧阳湖, 刘浪, 祝钰洋, 周东海. 植物根际促生菌对药用植物生长影响的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2024, 40(2): 316-320.
- JIAO SL, OUYANG H, LIU L, ZHU ZY, ZHOU DH. Research progress on the effects of Plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of medicinal plants[J]. Journal of Modern Medicine & Health, 2024, 40(2): 316-320 (in Chinese).
- [35] 高雅新, 王甲果, 张翔凯, 李驰, 马磊, 刘东阳, 沈其荣. 高产 IAA 哈茨木霉突变株 M95 的筛选及其对黄瓜的促生作用[J]. 南京农业大学学报, 2023, 46(3): 499-509.
- GAO YX, WANG JG, ZHANG XK, LI C, MA L, LIU DY, SHEN QR. Screening of mutant *Trichoderma harzianum* M95 with high IAA yield and its growth promotion effect on cucumber[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2023, 46(3): 499-509 (in Chinese).
- [36] CASSÁN F, VANDERLEYDEN J, SPAEPEN S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone

- production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2014, 33(2): 440-459.
- [37] 付学鹏, 沈童飞, 孙晓波, 刘晓涵, 杨晓杰. 链霉菌株 *Streptomyces* sp. FXP04 对水稻种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *作物杂志*, 2020(6): 163-169.
- FU XP, SHEN TF, SUN XB, LIU XH, YANG XJ. Effects of *Streptomyces* sp. FXP04 on seed germination and seedling growth of rice[J]. *Crops*, 2020(6): 163-169 (in Chinese).
- [38] DIN M, NELOFER R, SALMAN M, Abdullah, KHAN FH, KHAN A, AHMAD M, JALIL F, DIN JU, KHAN M. Production of nitrogen fixing *Azotobacter* (SR-4) and phosphorus solubilizing *Aspergillus niger* and their evaluation on *Lagenaria siceraria* and *Abelmoschus esculentus*[J]. *Biotechnology Reports*, 2019, 22: e00323.
- [39] VELMOUROUGANE K, PRASANNA R, CHAWLA G, NAIN L, KUMAR A, SAXENA AK. *Trichoderma-Azotobacter* biofilm inoculation improves soil nutrient availability and plant growth in wheat and cotton[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2019, 59(6): 632-644.
- [40] MEENA VS, BAHADUR I, MAURYA BR, KUMAR A, MEENA RK, MEENA SK, VERMA JP. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview[M]//Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture. New Delhi: Springer, 2016: 1-20.
- [41] QUIQUAMPOIX H, MOUSAIN D. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus[M]//Organic Phosphorus in the Environment. UK: CABI Publishing, 2004: 89-112.
- [42] GOUDA S, KERRY RG, DAS G, PARAMITHIOTIS S, SHIN HS, PATRA JK. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture[J]. *Microbiological Research*, 2018, 206: 131-140.
- [43] 张鹏鹏. 几株植物根际促生细菌释放的挥发性物质对拟南芥及病原菌的影响[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2013.
- ZHANG PP. Effects of some plant growth-promoting rhizobacteria volatiles on *Arabidopsis* and antagonistic properties[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [44] RYU CM, FARAG MA, HU CH, REDDY MS, WEI HX, PARÉ PW, KLOEPPER JW. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(8): 4927-4932.
- [45] 徐云龙, 周游, 汪军, 郭立佳, 黄俊生, 杨腊英. 一株自生固氮菌的分离鉴定及其对不同品种香蕉的促生特性[J]. *热带作物学报*, 2024, 45(5): 936-943.
- XU YL, ZHOU Y, WANG J, GUO LJ, HUANG JS, YANG LY. Isolation and identification of a nitrogen fixing bacteria and its growth promoting characteristics on different banana varieties[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2024, 45(5): 936-943 (in Chinese).
- [46] 蔺宝珺, 杨文权, 赵帅, 柴港宁, 鱼杨华, 武燕茹, 韩显忠, 李希来, 寇建村. 高寒草甸植物根际溶磷菌的筛选鉴定及其溶磷与促生效果[J]. *草地学报*, 2022, 30(11): 3132-3139.
- LIN BJ, YANG WQ, ZHAO S, CHAI GN, YU YH, WU YR, HAN XZ, LI XL, KOU JC. Screening and identification of phosphate-solubilizing bacteria in plant rhizosphere of alpine meadow and their effects on phosphate-solubilizing and plant growth promotion[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(11): 3132-3139 (in Chinese).
- [47] 马雪晴, 冀傲冉, 郑娇莉, 曹春霞, 龚艳, 黄大野, 王蓓蓓. 植物根际促生菌促生机制及其应用研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2023. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2023.0654.
- MA XQ, JI AR, ZHENG JL, CAO CX, GONG Y, HUANG DY, WANG BB. Research progress on growth-promoting mechanism and application of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2023. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2023.0654 (in Chinese).