



研究报告

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

李章雷 刘爽 王艳宇 周妍 刘权 殷奎德*

黑龙江八一农垦大学植物微生物互作实验室 黑龙江 大庆 163319

摘要:【背景】黑龙江省大庆市地处松嫩平原,土地盐碱化程度较重。盐碱土中含有大量的耐盐碱菌株,其中部分具有特殊的促生功能,可以作为有益促生菌促进植物生长,提高植物对盐碱的抗性。

【目的】有效解决土地盐碱化问题,提高粮食作物产量。【方法】采集大庆地区的盐碱土壤为实验材料,在NaHCO₃终浓度为50 mmol/L、pH 9.0的条件下对土壤中耐盐碱细菌进行分离,用功能性培养基进行促生功能细菌菌株的筛选,并对相应促生物物质产量进行测定;挑选促生功能较全、促生效果较好的细菌菌株,采用形态学观察、生理生化法以及16S rRNA基因序列分析法进行菌种鉴定,以确定菌株的分类学地位;在pH 8.5、15 mmol/L NaHCO₃胁迫条件下测试施用促生菌株对红小豆种子发芽率、根长、芽长及插条生根数和根长的影响,以验证促生效果。【结果】对筛选获得的细菌菌株进行鉴定,29号细菌为卓贝氏菌属(*Zobellella* sp.),23、34、36和41号细菌属于盐单胞菌属(*Halomonas* sp.)。5株细菌均具有固氮、产植物激素吲哚乙酸(Indole-3-Acetic Acid, IAA)及ACC脱氨酶功能,34号和23号细菌具有最高植物激素IAA和ACC脱氨酶产量,分别达到了17.66 mg/L和0.31 U/mg。另外,23号细菌具有产铁载体能力,铁载体产量为3.19%;29和41号细菌具有溶有机磷功能,溶磷量分别为20.05 mg/L和34.61 mg/L。植物促生试验结果显示,在盐碱胁迫条件下,红小豆种子接菌后种子的发芽率和根长分别提高了41.67%和32.63%以上;红小豆插条接菌后,幼苗的根长和生根数与盐碱胁迫对照相比分别提升了129%和160%以上。【结论】这5株耐盐碱促生细菌能够缓解盐碱胁迫对红小豆生长的抑制作用,可以较好地促进其根系生长发育,可为研制耐盐碱促生菌肥提供优良菌种。

关键词: 促生菌, 盐碱胁迫, 红小豆, 生长

Screening and identification of five saline-alkali tolerant bacteria for growth promotion of red adzuki bean

LI Zhanglei LIU Shuang WANG Yanyu ZHOU Yan LIU Quan YIN Kuide*

Plant Microbe Interaction Laboratory, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China

Abstract: [Background] Daqing is located in Songnen plain, which land is heavily salinized. Saline-alkali soil contains a large number of saline-alkali-resistant strains, some of which have special functions of promoting growth and can be used as beneficial bacteria to promote plant growth and improve plant saline-alkali-resistance. [Objective] In order to solve the problem of land salinization effectively and

Foundation item: Local Characteristic Discipline Project of Heilongjiang Province

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

Received: 22-07-2020; Accepted: 08-09-2020; Published online: 17-11-2020

基金项目: 黑龙江省地方特色学科项目

*通信作者: E-mail: yinkuide@163.com

收稿日期: 2020-07-22; 接受日期: 2020-09-08; 网络首发日期: 2020-11-17

increase the yield of grain crops. **[Methods]** The saline-alkali soil collected in Daqing area as an experiment material was used to separate the saline-alkali tolerant bacteria under pH 9.0, 50 mmol/L NaHCO_3 , the growth promoting function of the strain was screened by functional medium, and the yield of corresponding substance was measured accordingly. The strains with complete promoting function and better promoting effect was selected, using analyses of morphology, physiological biochemistry, 16S rRNA gene sequence to identify the strains, so as to determine their taxonomic status. The growth promoting strains were tested on physiological indicators such as germination rate, root length, bud length, rooting number and root length of seeds of red adzuki bean to verify the growth promoting effect under pH 8.5 and 15 mmol/L NaHCO_3 . **[Results]** The strain 29 was *Zobellella*, and the others were *Halomonas*. All the five strains had the functions of nitrogen fixation and produced indole-3-acetic acid (IAA) and ACC deaminase. The strain 34 and strain 23 had the highest yield of IAA and ACC deaminase, reaching 17.66 mg/L and 0.31 U/mg respectively. In addition, the strain 23 was capable of producing siderophore, which content was 3.19%. The strains 29 and 41 had the ability of organophosphorus-dissolving and the phosphorus solution capacity is 20.05 mg/L and 34.61 mg/L. The results of plant growth promotion test showed that the germination rate and root length of red adzuki bean seeds were increased respectively by 41.67% and 32.63% after the seeds were treated with inoculation under saline-alkali stress. After inoculation, the root length and root number of seedlings increased by 129% and 160%, respectively, compared with saline-alkali stress control. **[Conclusion]** The five saline-alkali tolerance and growth-promoting bacteria could alleviate the inhibition of saline-alkali stress on the growth of red adzuki bean and promote the growth of its root system. This provides an excellent strain for the development of saline-alkali tolerant and growth-promoting microbial fertilizer.

Keywords: growth-promoting bacteria, saline-alkali stress, red adzuki bean, growth

现如今,土地盐碱化已成为制约农业生产及威胁生态环境的重要问题。在全球的许多地区,由于气候干旱、不适宜的灌溉方式及人口膨胀等各方面原因,导致土地没有得到合理的开发利用,土壤盐分逐渐累积,土壤盐碱化进程加速^[1],最终造成土壤板结,减少作物水分吸收,降低粮食产量。因此,在现今倡导生态效益为首的前提下,如何改良和有效利用盐碱地,提高农林业生产的经济和社会效益,成为农业科研工作者的重要任务之一。

植物根际促生菌(Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR)可以在一定程度上增强植物对干旱、盐碱和高温等非生物因素胁迫的耐受性,还可以通过固氮、溶磷、解钾及降低乙烯水平等方式对植物生长发育进行调节。Jiang 等^[2]分离得到 4 种具有溶磷功能的菌株,鉴定后分别是巨芽孢杆菌(YM13)、肠杆菌(YM14)、普罗维登氏菌(TPM23)和青贮黏液杆菌(TPMX5),研究结果显示这 4 种菌在盐碱胁迫下具有比较高效的溶磷能力,可以增加

花生的生物量,在花生的生长发育过程中具有一定的促进作用。Li 等^[3]通过分离得到芽孢杆菌属、肠杆菌属、鞘氨醇单胞菌属和泛菌属的根际内生菌,结果证明其能够在盐碱条件下促进植物生长,并提高杂交象草的盐碱耐受能力。研究表明,从碱蓬根际土中分离筛选得到的具有产 ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate)脱氨酶活性的菌株均显著增加了盐胁迫下草籽的茎叶长和根长^[4]。可见,通过分离筛选得到耐盐碱促生微生物,可以作为缓解土地盐碱化、促进植物生长的一种手段。

本研究通过从盐碱土壤中分离筛选得到耐盐碱细菌菌株,对得到的细菌菌株进行功能鉴定,验证促生特性,挑选促生效果好的细菌菌株进行鉴定,并利用盆栽试验探讨菌株对红小豆的促生效果,以期为进一步研究其耐盐碱机制、获得高效 PGPR、研制耐盐碱促生生物制剂产品等系列工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 盐碱土壤样品的收集

土壤样品采集于黑龙江省大庆市龙凤区未经人为破坏的盐碱地,盐碱土样采集标准为地表存在少量白色碱斑,但有较稀疏植被覆盖的地块,土壤 pH 值为 9.77,总含盐量为 0.85%,速效钾、有效磷、碱解氮含量分别为 334.00、17.75、59.00 mg/kg,有机质含量为 7.50 g/kg^[5]。将采集的土壤过 5 mm 筛,混匀后储存在无菌袋中冷藏,回实验室放置 4 °C 保存。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

16S rRNA 基因扩增引物 27F/1492R 及 *Taq* 聚合酶,生工生物工程(上海)股份有限公司;细菌 DNA 提取试剂盒,Omega 公司。PCR 仪,Applied Biosystems 公司;紫外分光光度计,上海昂拉仪器有限公司。

筛选培养基参照石伟^[6]的筛选耐盐碱菌株培养基 II 进行改良后配制,培养基中加入一定量的 NaCl,使盐浓度保持在 10%, 1×10^5 Pa 灭菌 25 min 后添加 NaHCO₃,调节终浓度为 4.2 g/L,即 50 mmol/L,培养基 pH 值为 9.0;根据前期菌株不同 pH 生长梯度测试效果,对功能鉴定培养基进行适当改良,调节培养基 pH 至 8.0,盐浓度保持在 5%,保证菌株可以在培养基上正常生长,便于试验结束后挑选具有对应促生功能的细菌菌株。阿须贝无氮培养基按照李艳星等^[7]的方法进行配制;蒙金娜有机磷培养基按照王欢等^[8]的方法进行配制;King 氏培养基按照 Glickmann 等^[9]的方法进行配制;ADF 培养基按照 Penrose 等^[10]的方法进行配制,CAS 铁载体检测培养基按照荣良燕等^[11]的方法进行配制。

1.1.3 红小豆试验品种

试验使用的红小豆品种为“珍珠红”,由国家杂粮工程技术研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离纯化

称取 10 g 盐碱土壤样品,溶于装有 50 mL 无

菌水的经过 1×10^5 Pa 高温高压灭菌的三角瓶中,30 °C、170 r/min 振荡培养 20 min,静置片刻后,以此为原液,吸取上清液进行逐级梯度稀释至 10^{-4} 倍后涂布于筛选培养基上,于 28 °C 倒置培养 7 d。反复挑取单一菌落划线培养,传代至少 3 次以上,直至获得纯菌株,挑取部分菌株用 30%甘油进行菌种保藏,置于-80 °C 冰柜;剩余菌株 30 °C 恒温培养 2 d 后,保藏在 4 °C 以进行后续试验。

1.2.2 菌株固氮功能的测定

将分离得到的纯菌株制成菌悬液后,接种 5.0 μ L 于阿须贝无氮培养基上,28 °C 条件下培养 7 d,观察菌落生长情况,能够在阿须贝无氮培养基上生长视为具有固氮功能,根据菌落生长直径判断其固氮能力大小。

1.2.3 菌株溶解有机磷功能的测定

将菌悬液接种 5.0 μ L 于蒙金娜有机磷培养基上,28 °C 条件下培养 7-10 d,观察菌株有无透明溶磷圈出现,并对菌株溶磷圈直径(Diameter of Phosphate Solution, *D*)和菌落直径(Diameter of Colony, *d*)进行测量,由比值(*D/d*)初步判断菌株溶磷能力强弱;在蒙金娜液体培养基中接种 0.5 mL 菌悬液(*OD*₆₀₀ 值调至 0.5)。每株菌设置 3 次重复,设置不接种为空白对照。28 °C、150 r/min 条件下振荡培养 7-10 d,采用钼蓝比色法对上清液中有有机磷量进行测定^[12]。

1.2.4 菌株分泌植物激素吲哚乙酸(Indole-3-Acetic Acid, IAA)能力的测定

配制 King 氏液体培养基,分装 10 mL 液体培养基于试管中,灭菌后接种 0.1 mL 待测菌株菌悬液(10^8 CFU/mL),每株菌设置 3 次重复,设置不接种为空白对照。接种后的培养液于 28 °C、150 r/min 避光培养 7 d。取发酵液 $10\ 000\times g$ 离心 5 min,吸取上清液与 PC 比色液各 100 μ L 在白瓷板上混匀,对照只在比色液中加入等量 0.001% 的 IAA 溶液,避光反应 15 min,观察溶液颜色变化,颜色变粉红色表示菌株能够分泌 IAA,溶液颜色深浅与菌株 IAA 产量成正比。

IAA 定量测定参照詹寿发等^[13]的方法进行。

1.2.5 菌株产 ACC 脱氨酶活性的测定

将菌悬液点接种 5.0 μL 于 ADF 固体培养基上, 28 °C 条件下培养 7 d, 观察菌落生长情况, 能在 ADF 培养基上生长即具有产 ACC 脱氨酶能力。

ACC 脱氨酶活力测定按照秦宝军等^[14]的方法进行, 酶比活力(U/mg)=单位酶活(μmol α-丁酮酸)/酶蛋白浓度(mg)。

1.2.6 菌株产铁载体能力的测定

将菌悬液接种 5.0 μL 于 CAS 培养基上, 28 °C 培养 7 d, 如果菌落周围产生桔黄色晕圈, 则具有产铁载体能力。铁载体产量测定参照王平等^[15]的方法, 以 A/A_r 值作为定量指标, 评价菌株铁载体产量。 A/A_r 值越小, 则铁载体产量越高, 反之亦然。

1.2.7 目的菌株的鉴定

将筛选获得的耐盐碱促生细菌菌株划线接种在筛选固体培养基上, 37 °C 培养 24 h 后, 参考文献^[16]对菌落进行形态学鉴定, 按照《常见细菌系统鉴定手册》^[17]对菌株的生理生化性质进行鉴定。

用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株的总 DNA 后, 利用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCC TGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTAC GACTT-3')扩增其 16S rRNA 基因。PCR 反应体系: 2×*EsTaq* Master Mix 25 μL, 基因组 DNA 2 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, 加 ddH₂O 至 50 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 2 min, 35 个循环; 72 °C 10 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 PCR 产物送往

吉林省库美生物科技有限公司进行测序。测序结果在 NCBI 进行 BLAST 分析, 运用 MEGA 7.0 对序列进行 ClustalW 比对, 采用邻接法对系统发育进化树进行构建, 以此确定菌株的分类学地位。

1.2.8 红小豆发芽试验

将菌株接种在初始培养基中, 37 °C、150 r/min 培养 1–2 d, 10 000×g 离心 15 min, 取菌体沉淀, 无菌生理盐水 10 000×g 离心 10 min 洗涤 3 次后重悬, 菌悬液稀释至 10⁸ CFU/mL。取红小豆种子, 用 5%次氯酸钠溶液表面消毒, 无菌水冲洗至无味, 按照表 1 对种子进行处理, CK 和 H+菌号为在非盐碱胁迫条件下无菌生理盐水和菌悬液浸种 24 h, S 和 S+菌号为在盐碱胁迫的条件下无菌生理盐水和菌悬液浸种 24 h, CK 和 S 作为 2 种处理方式的对照。将处理好的种子置于培养皿, 于光照培养箱中, 28 °C、12 h/12 h 光/暗培养, 按照表 1 所示在种子培养过程中每天分别补充 NaHCO₃ 溶液和无菌水, 5 d 统计发芽率, 7 d 统计种子根长及芽长。

1.2.9 红小豆插条促生根试验

取红小豆种子, 消毒处理后 28 °C 黑暗条件催芽, 选取发芽一致的种子播种于已灭菌的蛭石中。播种 5 d 后, 挑取长势一致的幼苗进行试验。切除子叶以下部位, 得插条。将插条分别置于无菌生理盐水、菌悬液和 15 mmol/L 的 NaHCO₃ 溶液中浸泡 24 h 后, 无菌水冲洗插条基部后, 无菌生理盐水处理插条转移至装有无菌生理盐水的试管中培养(CK), 不同菌悬液处理后的插条转至无菌生理盐水(H+菌号)及 15 mmol/L 的 NaHCO₃ 溶液中培养(S+菌号), 15 mmol/L 的 NaHCO₃ 溶液处理的插条继续在该溶液中培养(S)。每个处理 5 次重复, 每

表 1 红小豆种子处理方法

Table 1 The treatment of seeds

处理方式 Treatment	浸种方式 Soaking method	培养过程中加入 NaHCO ₃ 溶液量 NaHCO ₃ solution volume (mL)	培养过程中加入无菌水量 Sterile water volume (mL)
CK	生理盐水 Physiological saline	0	10
H+菌号 H+Strains No.	菌悬液 Bacterial suspensions	0	10
S	生理盐水 Physiological saline	10	0
S+菌号 S+Strains No.	菌悬液 Bacterial suspensions	10	0

个重复 5 株插条, 插条放置在人工气候室(温度 27 °C, 相对湿度 70%, 12/12 h 光照/黑暗), 每隔 24 h 更换无菌生理盐水和 NaHCO₃ 溶液, 7 d 后对插条的生根数及根长进行统计。

1.3 数据处理

使用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件进行数据分析处理, 方差分析采用 Duncan's 新复极差法和 LSD 法, 采用 Origin 8.5 作图。

2 结果与分析

2.1 耐盐碱菌株的分离结果

取回土样按 1:5 制备土壤浸提液后, 对土壤浸提液进行梯度稀释, 涂布在 NaHCO₃ 浓度为 50 mmol/L、pH 9.0 的筛选培养基上, 28 °C 培养 7 d 后, 通过分离筛选获得相应细菌菌株, 最终得到 43 株不同菌落形态的细菌菌株, 根据菌株适宜生长条件(盐浓度 5%, pH 值为 9.0)及查阅相关文献, 将得到的菌株鉴定为盐碱菌^[18-19], 编号依次为 01-43 号。

2.2 菌株促生功能的鉴定

2.2.1 菌株固氮能力

将分离获得的耐盐碱菌株接种于阿须贝无氮培养基上, 得到有固氮功能的菌株 39 株, 选取菌落形态明显、生长状况良好、固氮效果较明显的 5 株菌, 对其做进一步后续试验, 菌株固氮能力如表 2 所示。

2.2.2 菌株溶有机磷能力

对选取的 5 株菌进行溶解有机磷测验, 测试菌株的溶磷能力。如表 2 所示, 通过菌株溶磷圈半径/菌株半径比值判断其溶磷能力, 29 号细菌 *D/d* 值为 1.10, 41 号细菌 *D/d* 值为 1.29, 其他 3 株菌没有溶磷圈。选用钼蓝比色法对菌株溶解有机磷量测定, 2 株菌溶磷能力差异显著 ($P < 0.05$), 29 号细菌溶磷量为 20.05 mg/L, 而 41 号细菌溶磷量为 34.61 mg/L。

2.2.3 菌株分泌 IAA 能力和产 ACC 脱氨酶能力

利用 Spot 比色法测定 5 株菌分泌 IAA 能力及产量。如图 1A 所示, 选取的几株耐盐碱细菌菌株均

表 2 菌株固氮、溶有机磷能力测定

Table 2 Determination of nitrogen fixing and phosphorus dissolving ability of strains

菌株编号 Strains No.	固氮 Nitrogen fixation	溶有机磷 Phosphate solubilizing	<i>D/d</i>	溶有机磷量 Phosphate solubilizing capacity (mg/L)
23	+	-	-	-
29	+++	+	1.10	20.05
34	+	-	-	-
36	+	-	-	-
41	+	+	1.29	34.61

注: +: 具有该功能, +越多, 功能越强; -: 无此项功能

Note: +: The function is available, the more +, the stronger this function; -: This function is not available

具有分泌 IAA 的能力, IAA 的产量在 7.18-17.66 mg/L 之间, IAA 产量最多的为 34 号细菌, 最少的为 41 号细菌。34 号细菌和 23 号细菌的 IAA 产量明显高于其他细菌, 而 41 号细菌和 29 号细菌 IAA 产量较接近。通过鉴定, 5 株耐盐碱细菌均具有产 ACC 脱氨酶能力, 但是 ACC 脱氨酶活性差异显著 ($P < 0.05$)。图 1B 中, 34 号和 23 号细菌的酶比活力显著高于其他细菌菌株, 分别达到了 0.24 U/mg 和 0.31 U/mg; 其他细菌菌株中, 29 号细菌的酶比活力最低, 仅为 0.02 U/mg。

2.2.4 菌株产铁载体能力

通过铁载体定性检测后, 5 株菌中 23 号细菌具有产铁载体能力; 将其在 MKB 培养基中培养, 对上清液进行 *OD*₆₃₀ 测定, 得出 *A/A_r* 值。23 号细菌的 *A/A_r* 值为 0.968, 折合成铁载体浓度单位为 $Su = (A_r - A) / A_r = 3.19\%$ 。

2.3 菌株鉴定

2.3.1 形态学及生理生化鉴定

将上述 5 株具有相关促生功能的 23、29、34、36 和 41 号耐盐碱细菌在 SG 固体培养基上培养 24 h, 随后进行形态学观察, 如表 3 所示, 这 5 株菌菌落形态均近圆形, 29 号细菌颜色为乳白色, 其余 4 株为淡黄色, 表面较湿润, 有凸起, 边缘光滑, 生长速度较快。生理生化鉴定结果见表 4, 29 号细菌为革兰氏阳性菌, 其余 4 株为革兰氏阴

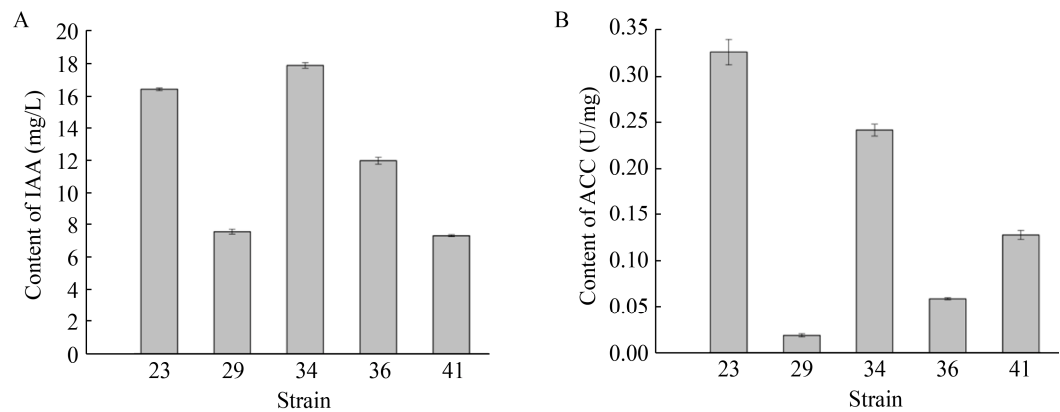


图 1 菌株产 IAA 和 ACC 脱氨酶能力
Figure 1 The strains production of IAA and ACC deaminase
注: A: 菌株 IAA 产量; B: 菌株 ACC 脱氨酶产量
Note: A: IAA production of strains; B: ACC production of strains

表 3 菌株表型特征
Table 3 Colony morphologies of strains

菌株编号 Strains No.	大小 Size	颜色 Color	形状 Shape	边缘 Edge	表面状况 Surface condition	隆起度 Uplift	生长速度 Growth rate
23	较小 Less smaller	淡黄色 Canary yellow	近圆形 Suborbicular	光滑、齿状 Smooth and serrated	较湿润 More moist	凸起 Convex	中等 Medium
29	较大 More bigger	乳白色 Ivory white	圆形 Circular	光滑、整齐 Smooth and regular	湿润 Moist	凸起 Convex	快 Fast
34	小 Small	淡黄色 Canary yellow	圆形 Circular	光滑、整齐 Smooth and regular	较湿润 More moist	凸起 Convex	快 Fast
36	小 Small	淡黄色 Canary yellow	圆形 Circular	光滑、整齐 Smooth and regular	较湿润 More moist	凸起 Convex	快 Fast
41	小 Small	淡黄色 Canary yellow	圆形 Circular	光滑、整齐 Smooth and regular	较湿润 More moist	凸起 Convex	快 Fast

表 4 5 株菌的生理生化特性
Table 4 Physiological and biochemical characteristics of 5 strains

试验指标 Test items		23	29	34	36	41
Only carbon source tests	Glucose	+	+	+	+	+
	Mannitol	+	+	+	+	+
	Sucrose	+	+	+	+	+
Only nitrogen source tests	Ammonium sulfate	+	+	+	+	+
	Potassium nitrate	+	+	+	+	+
Indole test		+	+	+	+	+
Contact enzyme		+	-	+	+	+
Amylohydrolysis test		-	+	-	-	-
M.R test		-	+	-	-	-
Anaerobic growth test		-	-	-	-	-
V-P test		-	-	-	-	-
Nitrate reduction test		+	-	+	+	+
Ammonia production test		+	-	+	+	+
Gelatin liquefaction test		-	-	-	-	-
Gram stain		-	+	-	-	-

注: +: 阳性; -: 阴性
Note: +: Positive; -: Negative

性菌，除 29 号细菌外均具有过氧化氢酶活性；5 株菌在唯一碳源(葡萄糖、甘露醇、蔗糖)和唯一氮源(硫酸铵、硝酸铵)条件下均能生长，均不能在厌氧条件下生长，吲哚试验均呈现阳性，V-P 试验均为阴性，只有 29 号细菌能够分解淀粉，均不能分解明胶，甲基红试验仅有 29 号细菌呈阳性，硝酸盐还原和产氨试验除 29 号细菌外均呈阳性。

2.3.2 分子生物学鉴定

将 5 株菌测序得到的 16S rRNA 基因序列两端冗余序列进行删除后在 NCBI 上进行 BLAST 分析，通过 MEGA 7.0 软件构建系统发育树(图 2)，根据与模式菌株的相似性判断菌株的种属分类。

根据菌株生理生化实验结果、菌株革兰氏染色特性及菌落形态特征，查阅《伯杰细菌鉴定手册》^[16]和《常见细菌系统鉴定手册》^[17]，综合分子生物学鉴定结果得出鉴定结论。5 株耐盐碱细菌的鉴定结果如表 5 所示，29 号细菌鉴定为卓贝尔氏菌属反

硝化卓贝尔氏菌(*Zobellella denitrificans*)，23、34、36 和 41 号细菌鉴定为盐单胞菌属(*Halomonas* sp.)，分别为期望盐单胞菌(*Halomonas desiderata*)、肯尼亚盐单胞菌(*Halomonas kenyensis*)和嗜盐单胞菌(*Halomonas saliphila*)，5 株菌分属于 2 个属 5 个种。

2.4 菌株对盐碱胁迫下红小豆种子发芽及幼苗生长的影响

2.4.1 菌株对红小豆种子发芽的影响

在盐碱胁迫和非盐碱胁迫条件下施用不同菌悬液处理红小豆种子进行发芽试验,对发芽率进行统计，结果如图 3 所示。水培养条件下对红小豆施用不同菌悬液后各组记作 H+对应菌株组，其红小豆发芽率显著提高($P<0.05$)，对比 CK 发芽率至少增加了 5.88%，34 号细菌处理后 H34 发芽率最高，增加了 23.53%；pH 8.5、15 mmol/L NaHCO₃ 的盐碱胁迫能够显著降低红小豆种子发芽率($P<0.05$)，抑制红小豆种子发芽，S 组发芽率仅达到 48%，在

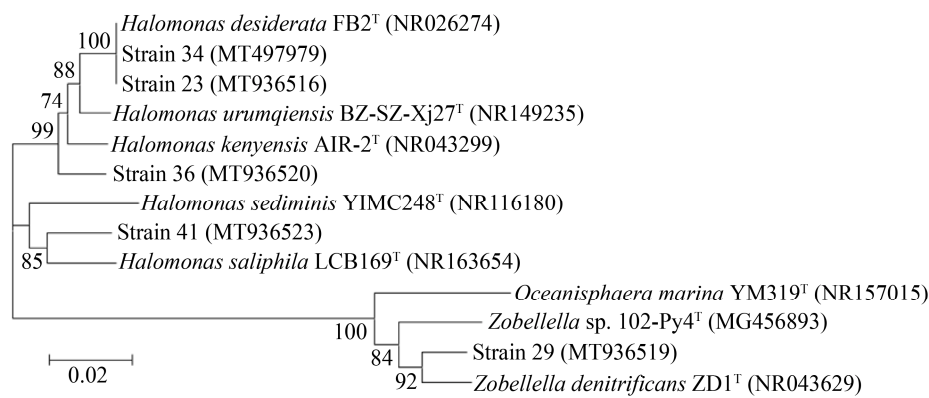


图 2 5 株菌株基于 16S rRNA 基因的系统发育树
Figure 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene of five strains

表 5 5 株菌的 16S rRNA 基因相似性比对及鉴定结果
Table 5 Identification results and homology alignments of 5 strains based on 16S rRNA gene sequences

菌株 Strains	模式菌株 Type strain	GenBank 登录号 GenBank accession No.	相似性 Similarity (%)	种 Species
23	FB2 ^T	MT936516	96.72	期望盐单胞菌 <i>Halomonas desiderata</i>
29	ZD1 ^T	MT936519	96.93	反硝化卓贝尔氏菌 <i>Zobellella denitrificans</i>
34	FB2 ^T	MT497979	98.19	期望盐单胞菌 <i>Halomonas desiderata</i>
36	AIR-2 ^T	MT936520	98.39	肯尼亚盐单胞菌 <i>Halomonas kenyensis</i>
41	LCB169 ^T	MT936523	97.91	嗜盐单胞菌 <i>Halomonas saliphila</i>

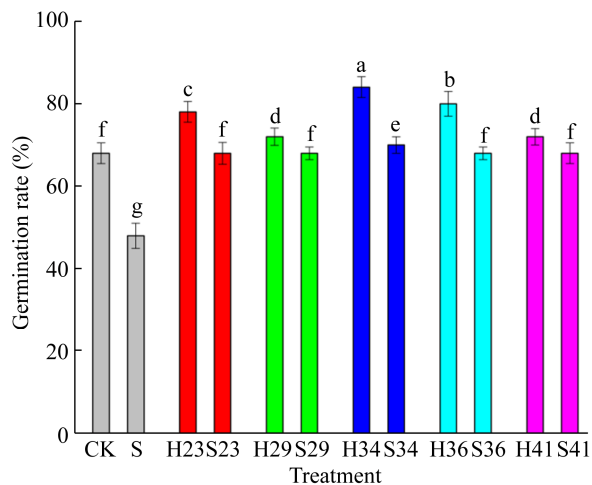


图3 盐碱胁迫条件下菌株对红小豆发芽率的影响

Figure 3 Effect of strains on the germination rate of red adzuki bean under saline-alkali stress

注: CK: 水培养对照组; S: 盐碱胁迫培养对照组; H+菌株: 水培养施用不同菌株; S+菌株: 盐碱胁迫下施用不同菌株。同一指标不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同

Note: CK: Control without non-saline-alkali stress; S: Control with saline-alkali stress; H+Strain: Treated with different strains under non-saline-alkali stress; S+Strain: Treated with different strains under saline-alkali stress. The different letters in the same index mean significant difference at $P < 0.05$, the same below

盐碱胁迫条件下通过菌悬液浸种处理记作 S+对应菌株组, 各组种子发芽率显著提高($P < 0.05$), 均达到 68%以上, 证明接种菌株能够有效缓解盐碱胁迫带来的抑制发芽作用。另外, 盐碱胁迫条件下采用 34 号细菌处理后 S34 的红小豆发芽率达到了 70%, 显著高于 CK 组, 盐碱胁迫条件下其他几株菌处理后的红小豆发芽率也与 CK 组无显著差异, 由此可见, 在盐碱环境下采用这 5 种菌悬液处理后消除了盐碱胁迫对于种子萌发的抑制作用, 提高发芽率。

种子培养 7 d 后, 对其根长、芽长进行测定, 结果如图 4、图 5 所示, 在水培养条件下经 23、29、34、36 和 41 号细菌处理后, 对应的 H23、H29、H34、H36 和 H41 组根长与 CK 组比较具有显著增加($P < 0.05$), 分别增加了 4.43%、8.94%、6.4%、28.05%和 4.16%; 与 CK 相比, S 组种子根长显著降低($P < 0.05$), 说明种子根部生长受到盐碱胁迫的

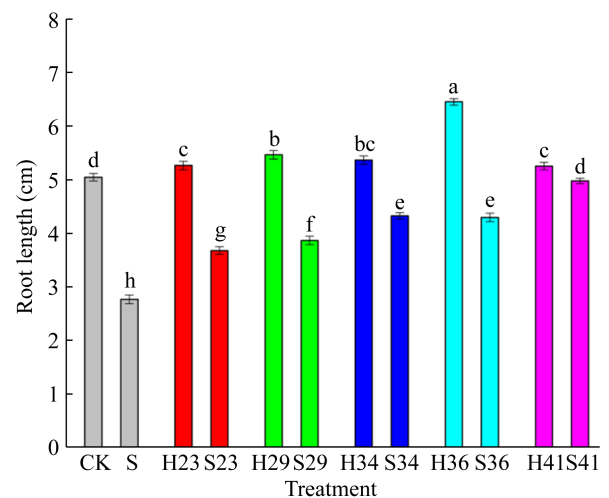


图4 盐碱胁迫条件下菌株对红小豆根长的影响

Figure 4 Effect of strains on root length of red adzuki bean under saline-alkali stress

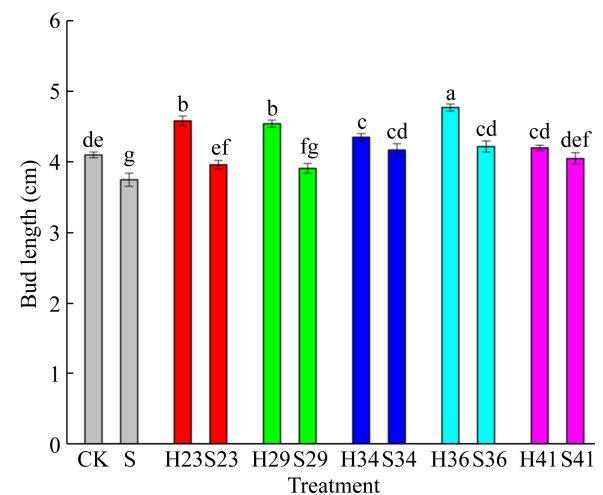


图5 盐碱胁迫条件下菌株对红小豆芽长的影响

Figure 5 Effect of strains on bud length of red adzuki bean under saline-alkali stress

抑制, 但在盐碱胁迫下施用菌株后, 可以促进根系生长; 与对照 S 相比, 5 株菌株施用后红小豆根长增长率分别达到了 32.63%、40.69%、56.11%、55.24%和 79.15%, 差异显著($P < 0.05$); 在盐碱条件下施用菌株后对根部的生长发育有一定的恢复作用, 甚至 41 号细菌施用后 S41 组红小豆根长与 CK 相比无显著差异, 消除了盐碱胁迫带来的生长抑制。在水培养条件下施用菌株后, 施用菌株红小豆

芽长与 CK 相比得到显著增加($P<0.05$); 与 CK 相比, S 组种子芽长显著降低($P<0.05$), 芽的生长发育受到了盐碱胁迫的抑制; 然而在盐碱胁迫下施用菌株后, 种子的芽长与 S 组比较得到了显著增加, 甚至 34、36 和 41 号细菌处理后 S34、S36 和 S41 组种子芽长与 CK 无显著差异, 完全消除了盐碱胁迫对种子的生长抑制作用。综上可知, 菌株 23、29、34、36 和 41 可以缓解甚至消除盐碱胁迫对红小豆发芽带来的抑制作用, 促进红小豆生长。

2.4.2 菌株对红小豆插条生根的影响

对培养在无菌生理盐水和 pH 8.5、15 mmol/L 的 NaHCO_3 溶液中的红小豆幼苗进行生根数及根长统计, 结果如图 6 所示。在水培养条件下经菌悬液处理后, 红小豆插条根长及生根数与 CK 相比显著增加($P<0.05$), 证明 5 株菌对红小豆的生长产生了促进作用; 盐碱胁迫培养组(S)中的生根数及根长均为最低值, 说明盐碱胁迫显著抑制红小豆生根, 阻碍根部发育($P<0.05$); 然而经过菌悬液处理后各组生根数及根长比 S 组均显著提高, 34 和 36 号细菌处理后 S34 和 S36 组红小豆生根数显著高于 CK, 消除了盐碱胁迫对生根的抑制作用; 在

盐碱条件下经 41 号细菌处理后 S41 组红小豆插条生根数最多, 23 号细菌处理后 S23 组红小豆插条根长最长, 对比 S 组分别提高了 360%和 320%, 说明在盐碱条件下接种这 5 株菌后均可以缓解甚至消除盐碱对红小豆插条生根的胁迫作用, 促进根部的生长发育。

3 讨论

植物根际促生菌 (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR) 是一种有益菌类, 其能在土壤中自由生长或依附于植物根系, 促进植物生长以及吸收和利用矿质营养, 抑制土壤中的有害生物。一般具有固氮、溶磷、解钾等一项或多项促生功能。部分 PGPR 对土壤中有病原微生物以及根际有害微生物具有一定的生防作用, 能够促进吸收和利用矿质营养, 促进植物生长^[20]。然而多数 PGPR 的生长环境属于中性, 它们难以适应高盐碱环境, 所以研制普通的生物菌剂对于改良盐碱土质存在一定困难。本研究从大庆盐碱土壤中分离得到耐盐碱细菌, 通过对菌株促生功能鉴定, 挑选促生功能较强的菌株进行研究。研究发现分离获得的 5 株菌

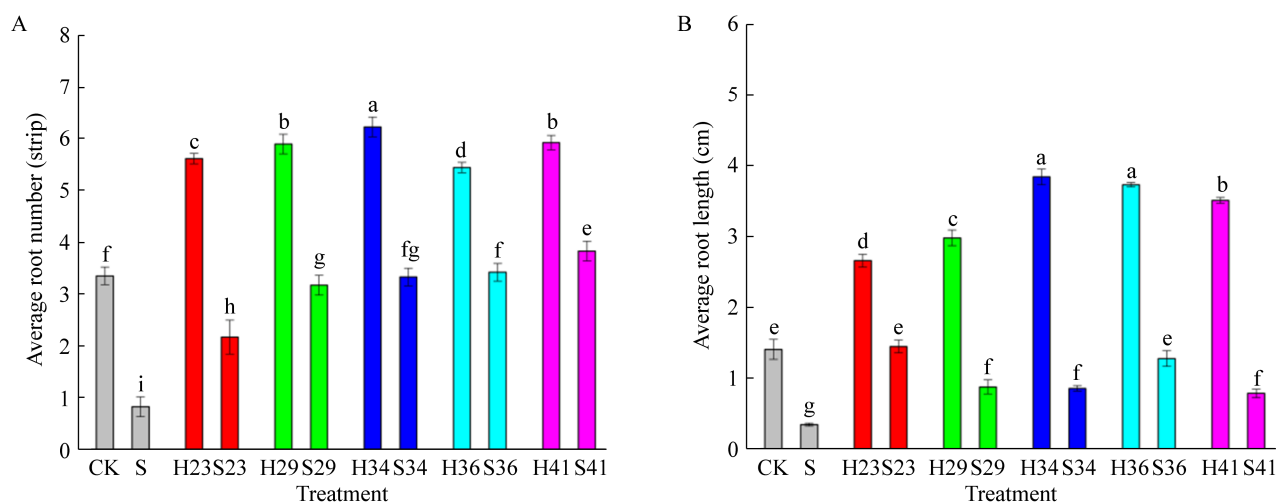


图 6 不同处理对红小豆插条根系生长的影响

Figure 6 Effect of different treatments on root growth of red adzuki bean cuttings

注: A: 红小豆插条平均生根数; B: 红小豆插条平均根长

Note: A: Average root number of red adzuki bean cuttings; B: Average root length of red adzuki bean cuttings

均具有固氮、产植物激素 IAA 和分泌 ACC 脱氨酶能力, 其中, 29 号细菌和 41 号细菌具有溶磷能力, 23 号细菌具有产铁载体能力。

乙烯贯穿于植物生长发育的整个过程, 在逆境下植物会产生大量乙烯对自身造成损伤, ACC 脱氨酶能降解乙烯的前体 ACC, 降低逆境时植物体内乙烯含量, 有助于植物生长。相关研究表明, ACC 脱氨酶活性高于 20 nmol/mg 时就能够促进植物的生长^[10]。本研究中菌株产 ACC 酶活性为 0.018–0.306 mmol/mg, 显著高于文献[10]数值, 证明筛选得到的菌株具有促进植物生长的能力。Penrose 等^[21]研究表明, 能够产 ACC 脱氨酶的菌株附着在萌发的油菜种子表皮时, 油菜体内的 ACC 和乙烯含量下降。菌株产 ACC 脱氨酶, 能将植物体内的 ACC 分解为 α -丁酮酸和氨, 一方面可以用作菌株生长发育所需碳源, 另一方面也减轻了逆境下对于植物的损伤, 提高植物的抗逆性, 实现互利共生。

如今在进行高效溶磷菌株筛选的研究过程中, 把有无溶磷圈及溶磷圈与菌落半径的比值大小作为评判菌株是否具有溶磷能力及其能力强弱的准则^[22]。但本研究中可以看到, 溶磷圈/菌株半径的比值和菌株溶磷量不完全呈正相关, 在其他研究中也发现了相似的现象^[23–24], 究其原因可能是由于菌株溶磷机理的复杂性。相关研究表明, 微生物溶磷主要是通过产酸进行^[25], 生成的酸性物质包括葡萄糖酸、苹果酸和柠檬酸等有机酸以及 H_2S 、 H_2SO_4 等无机酸^[26]。在生成的酸类物质作用下, 培养基所含的 $Ca_3(PO_4)_2$ 或 $CaCO_3$ 等成分被溶解, 进而有溶磷圈的产生; 但除产酸外, 微生物还可以通过酶解作用等^[27]对土壤中的难溶性磷进行溶解, 因此, 溶磷圈的大小并不能绝对地判断溶磷能力强弱。在本研究中, 以有无溶磷圈的生成作为定性评价标准, 进而通过钼蓝比色法对有溶有机磷功能的菌株溶解有机磷量进行测定, 两者结合综合评判菌株的溶有机磷能力, 具有一定的可靠性。

铁元素通常作为溶解度较低的氧化物存在于地壳中。部分 PGPR 能够分泌对铁有亲和力的铁螯合物-铁载体, 与存在于环境中的不溶性 Fe^{3+} 螯合, 以此形成能够被植物吸收利用的复合体, 提升植物体内铁素含量水平, 同样也可以通过产生铁载体而创造出相对高铁浓度的外部生境, 利于植物生长^[28]。具有产铁载体功能的菌株可以凭借其高效的螯铁能力在与同环境微生物的铁素竞争中获得一定优势, 最终抑制植物病害^[29]。另外, 铁载体还具有螯合 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 及 Zn^{2+} 等金属离子的能力, 以此形成不能够进入细胞内部的大分子物质, 可以提高植物体对于重金属胁迫的耐受能力并应用在植物修复过程中^[30]。本研究中的 5 株耐盐碱促生细菌菌株中, 23 号细菌具有产铁载体能力, 其产铁载体浓度为 3.19%。然而 23 号细菌分泌的铁载体是否能够应用于诱导植物抗病性、提升植物的抗病能力需进一步研究。

吲哚乙酸(IAA)是植株体内普遍存在的天然生长素, 低浓度的 IAA 能够促进主根伸长, 高浓度的 IAA 可以促进侧根的形成和根毛的增加, 具有分泌 IAA 功能的菌株可以通过分泌一定的 IAA 促进植物根系新陈代谢, 增加植物对于土壤中养分的吸收^[5]。IAA 存在多种合成途径, 主要途径为色氨酸途径^[31]。本研究在加入了色氨酸的 King 培养基中培养耐盐碱菌株, 结果显示, 本研究中 5 株菌的 IAA 产量范围为 7.18–17.66 mg/L。对红小豆进行盐碱胁迫处理, 处理组根系发育受到抑制; 然而在接种菌株后, 根系的抑制情况得到缓解, 究其原因可能与接种菌株具有产 IAA 能力有关。詹寿发等^[13]研究表明, 从芒萁内生真菌中筛选出能够分泌吲哚乙酸(IAA)的菌株, 将其采用回接形式施用于玉米盆栽, 其中菌株 MQ013 和 MQ039 对玉米幼苗的生长存在明显的促进作用。郑元元等^[32]证实, 具有产酸溶磷和分泌生长素性能的 2 株盐促生菌 Rs-5 和 Rs-198 可以在盐胁迫下提高棉花发芽和出苗率。由此可见, 一些具有产

植物激素 IAA 等促生功能的菌株可以在一定程度上缓解外界环境胁迫对于植物生长的影响,并促进其根系的生长。

本研究中,在非盐碱胁迫和盐碱胁迫环境下,红小豆种子接种 5 株菌后,发芽率均提高,说明这 5 株菌在非盐碱或盐碱环境下均具有促生作用,而且在盐碱条件下经菌株处理后红小豆发芽率甚至可以恢复到与 CK 同一等级,几乎消除了盐碱胁迫对种子的抑制,提高了在盐碱环境中红小豆种子的发芽能力。在对根长的统计中发现,菌株处理后的根系发育均显著优于盐碱处理对照组,根长更长并且生根数更多,甚至能够恢复到和 CK 同一水平,说明接种菌株后消除了盐碱对植物根系的抑制。刘冠一等^[33]研究表明,接种促生菌后能够显著提升盐碱胁迫环境中紫花苜蓿的根干重、根长等生理指标;Bal 等^[34]的研究发现,在水稻上接种能够产 ACC 脱氢酶的 PGPR 可以显著促进根系的生长;代金霞等^[35]通过筛选得到的肠杆菌属(*Enterobacter* sp.) AC3 具有固氮溶磷、产 IAA、ACC 和铁载体能力,对施用的柠条具有促生作用,特别促进了地下部分的生长。本研究中的促生菌也具有类似的促生效果。

4 结论

本研究从大庆地区盐碱土中筛选分离得到 43 株耐盐碱细菌,并对其相关促生功能进行鉴定,选取 5 株促生功能比较全面、促生效果较好的耐盐碱细菌菌株进行了深入研究,其中具有溶有机磷能力的有 2 株,具有产铁载体能力的有 1 株,5 株均具有固氮、产 IAA 和产 ACC 脱氢酶能力;通过形态学、生理生化和分子生物学鉴定,1 株属于卓贝氏菌属(*Zobellella* sp.), 4 株属于盐单胞菌属(*Halomonas* sp.)。在盐碱环境中,接种这 5 株耐盐碱促生细菌能够显著增加红小豆种子的发芽率、根长以及插条生根数和根长,其中 34、36 号细菌处理效果较为突出,对缓解盐碱环境中植物受到的抑制、促进红小豆生长具有重要作用。

REFERENCES

- [1] Gul B, Ansari R, Ali H, Adnan MY, Weber DJ, Nielsen BL, Koyro HW, Khan MA. The sustainable utilization of saline resources for livestock feed production in arid and semi-arid regions: a model from Pakistan[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2014, 26(12): 1032-1045
- [2] Jiang HH, Qi PS, Wang T, Chi XY, Wang M, Chen MN, Chen N, Pan LJ. Role of halotolerant phosphate-solubilising bacteria on growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea*) under saline soil[J]. *Annals of Applied Biology*, 2019, 174(1): 20-30
- [3] Li X, Geng XY, Xie RR, Fu L, Jiang JX, Gao L, Sun JZ. The endophytic bacteria isolated from elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) promote plant growth and enhance salt tolerance of Hybrid *Pennisetum*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9(1): 190
- [4] Liu YJ, Wang J, Tian XY, Luan MY, Li GN, Wang K. Selection for salt-tolerant bacteria and its promoting effect on plant growth[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2009, 40(3): 360-362 (in Chinese)
刘延吉, 王靖, 田晓艳, 栾美英, 李冠男, 王坤. 耐盐菌株的筛选及其促生作用研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2009, 40(3): 360-362
- [5] Xiang JL, Tang CR, Wang JQ, Liu Q, Zhang XM, Yin KD. Screening and identification of *Medicago sativa* Linn growth promoting rhizobacteria under saline-alkali stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(2): 266-272 (in Chinese)
向君亮, 唐呈瑞, 王佳琦, 刘权, 张兴梅, 殷奎德. 盐碱胁迫下一株促进苜蓿生长的细菌筛选与鉴定[J]. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(2): 266-272
- [6] Shi W. Screening and resistance-analysis of microorganisms in extreme saline soil environments[D]. Harbin: Doctoral Dissertation of Northeast Forestry University, 2011 (in Chinese)
石伟. 极端盐碱土壤细菌的分离筛选及抗盐特性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学博士学位论文, 2011
- [7] Li YX, Guo PY, Sun JG. Isolation, identification, phylogeny and growth promoting characteristics of endophytic diazotrophs from *Tuber* and root crops[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(1): 104-122 (in Chinese)
李艳星, 郭平毅, 孙建光. 块根块茎类作物内生固氮菌分离鉴定、系统发育与促生特性[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(1): 104-122
- [8] Wang H, Wang JJ, Xu S, Zhao W, Han YF, Wang XB, Huang ZY. Screening and growth promoting characteristics of efficient organophosphate-degradation bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(5): 667-680 (in Chinese)
王欢, 王敬敬, 徐松, 赵维, 韩一凡, 王兴彪, 黄志勇. 有机磷降解菌的筛选及其促生特性[J]. *微生物学报*, 2017,

- 57(5): 667-680
- [9] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(2): 793-796
- [10] Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Physiologia Plantarum*, 2003, 118(1): 10-15
- [11] Rong LY, Yao T, Zhao GQ, Chai Q, Xi LQ, Wang XL. Screening of siderophore-producing PGPR bacteria and their antagonism against the pathogens[J]. *Plant Protection*, 2011, 37(1): 59-64 (in Chinese)
荣良燕, 姚拓, 赵桂琴, 柴强, 席琳乔, 王小利. 产铁载体 PGPR 菌筛选及其对病原菌的拮抗作用[J]. *植物保护*, 2011, 37(1): 59-64
- [12] Bao SD. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*[M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000: 82-83 (in Chinese)
鲍士旦. *土壤农化分析*[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 82-83
- [13] Zhan SF, Lu DN, Mao HY, Xiong RL, Huang D, Chen Y. Isolation of two phosphate/potassium-solubilizing and IAA-producing strains of endophytic fungi and their plant growth promoting function[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2017(3): 142-151 (in Chinese)
詹寿发, 卢丹妮, 毛花英, 熊蓉露, 黄丹, 陈晔. 2 株溶磷、解钾与产 IAA 的内生真菌菌株的筛选、鉴定及促生作用研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2017(3): 142-151
- [14] 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)
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 脱氨酶测定[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(6): 1066-1073
- [15] Wang P, Dong B, Li FD, Hu ZJ. Detection and determination of the siderophores produced by wheat rhizobacteria[J]. *Microbiology China*, 1994, 21(6): 323-326 (in Chinese)
王平, 董飏, 李阜棣, 胡正嘉. 小麦根圈细菌铁载体的检测[J]. *微生物学通报*, 1994, 21(6): 323-326
- [16] George MG, Julia AB, Timothy GL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*[M]. 9th ed. New York, USA: Springer, 2004
- [17] Dong XZ, Cai MY. *Common Bacterial System Identification Manual*[M]. Beijing: Science Press, 2001: 353-354, 365-384 (in Chinese)
东秀珠, 蔡妙英. *常见细菌系统鉴定手册*[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 353-354, 365-384
- [18] Zhao BS, Li J. Biodiversity of culture-dependent haloalkaliphilic microorganisms[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(9): 1409-1420 (in Chinese)
赵百锁, 李俊. 可培养盐碱菌多样性的研究进展[J]. *微生物学报*, 2017, 57(9): 1409-1420
- [19] Zhao BS, Yan YC, Chen SL. How could haloalkaliphilic microorganisms contribute to biotechnology?[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2014, 60(11): 717-727
- [20] Hu JC, Xue DL, Ma CX, Wang SJ. Research advances in plant growth-promoting rhizobacteria and its application prospects[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(10): 1963-1966 (in Chinese)
胡江春, 薛德林, 马成新, 王书锦. 植物根际促生菌 (PGPR) 的研究与应用前景[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(10): 1963-1966
- [21] Penrose DM, Glick BR. Levels of ACC and related compounds in exudate and extracts of canola seeds treated with ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47(4): 368-372
- [22] Cheng BS, Fang YL, Liu YL, Qu YP, Song SR. Screening and promotion effect of phosphate-solubilizing bacteria from grapevine rhizosphere in Weibei semi-arid plateau[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2009, 18(4): 185-190 (in Chinese)
程宝森, 房玉林, 刘延琳, 屈雁朋, 宋士任. 渭北旱塬葡萄根际解磷细菌的筛选及其对葡萄的促生效应[J]. *西北农业学报*, 2009, 18(4): 185-190
- [23] Zhao XR, Lin QM, Li BG. The relationship between rock phosphate solubilization and pH and organic acid production of microorganisms[J]. *Journal of Microbiology*, 2003, 23(3): 5-7 (in Chinese)
赵小蓉, 林启美, 李保国. 微生物溶解磷矿粉能力与 pH 及分泌有机酸的关系[J]. *微生物学杂志*, 2003, 23(3): 5-7
- [24] Narsian V, Patel HH. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(4): 559-565
- [25] Patel DK, Archana G, Kumar GN. Variation in the nature of organic acid secretion and mineral phosphate solubilization by *Citrobacter* sp. DHRSS in the presence of different sugars[J]. *Current Microbiology*, 2008, 56(2): 168-174
- [26] Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh LJ, Poole PS. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants[J]. *Plant and Soil*, 2002, 245(1): 83-93
- [27] Delvasto P, Ballester A, Muñoz JA, González F, Blázquez ML, Igual JM, Valverde A, García-Balboa C. Mobilization of phosphorus from iron ore by the bacterium *Burkholderia caribensis* FeGL03[J]. *Minerals Engineering*, 2009, 22(1): 1-9
- [28] Zhao X, Chen SX, Xie ZX, Shen P. Isolation, identification

- and over-siderophores production of *Pseudomonas fluorescens* sp-F[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(5): 691-695 (in Chinese)
- 赵翔, 陈绍兴, 谢志雄, 沈萍. 高产铁载体荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* sp-F 的筛选鉴定及其铁载体特性研究[J]. 微生物学报, 2006, 46(5): 691-695
- [29] Mao DJ, Zhu YL, Han N. Siderophores and pigments produced by *Pseudomonas* bacteria[J]. Microbiology China, 2013, 40(3): 500-516 (in Chinese)
- 毛得奖, 朱亚玲, 韩宁. 假单胞菌铁载体及色素研究[J]. 微生物学通报, 2013, 40(3): 500-516
- [30] Schalk IJ, Hannauer M, Braud A. New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(11): 2844-2854
- [31] Xie Y, Han SJ, Li XN, Amombo E, Fu JM. Amelioration of salt stress on bermudagrass by the fungus *Aspergillus aculeatus*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2017, 30(3): 245-254
- [32] Zheng YY, Yue HT, Shi ZQ, Li H, Li C. Physiochemical characters and ability to promote cotton germination of bacteria strains Rs-5 and Rs-198 under salt stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(5): 1326-1332 (in Chinese)
- 郑元元, 岳海涛, 石在强, 李晖, 李春. 盐胁迫下解盐促生细菌 Rs-5 和 Rs-198 促进棉花种子发芽的机理探讨[J]. 中国农业科学, 2008, 41(5): 1326-1332
- [33] Liu GY, Liu YL, Liu BW, Liu SS, Guo CH. Research on enhanced alfalfa tolerance to saline-alkali stress by strain combinations containing ACC deaminase[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(5): 1022-1028 (in Chinese)
- 刘冠一, 刘艳玲, 刘博文, 刘莎莎, 郭长虹. 含 ACC 脱氨酶活性的复合菌株提高苜蓿抗盐碱能力研究[J]. 核农学报, 2017, 31(5): 1022-1028
- [34] Bal HB, Nayak L, Das S, Adhya TK. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress[J]. Plant and Soil, 2013, 366(1/2): 93-105
- [35] Dai JX, Zhou B, Tian PY. Screening and growth-promoting effects of rhizobacteria with ACC deaminase activity from rhizosphere soil of *Caragana korshinskii* grown in desert grassland[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2017, 26(3): 386-391 (in Chinese)
- 代金霞, 周波, 田平雅. 荒漠植物柠条产 ACC 脱氨酶根际促生菌的筛选及其促生特性研究[J]. 生态环境学报, 2017, 26(3): 386-391