

# 耐盐促生菌的分离鉴定及其对设施次生盐渍化土壤的改良效果

周蕾<sup>1</sup>, 刘银双<sup>1</sup>, 牛宏进<sup>1</sup>, 孙宏勇<sup>2</sup>, 何艳霞<sup>1</sup>, 张晓旭<sup>1</sup>, 张智英<sup>\*3</sup>, 黄亚丽<sup>\*1</sup>

1 河北科技大学 环境科学与工程学院, 河北 石家庄 050018

2 中国科学院遗传与发育生物学研究所 农业资源研究中心, 河北 石家庄 050022

3 黄骅市自然资源和规划局, 河北 黄骅 061100

周蕾, 刘银双, 牛宏进, 孙宏勇, 何艳霞, 张晓旭, 张智英, 黄亚丽. 耐盐促生菌的分离鉴定及其对设施次生盐渍化土壤的改良效果[J]. 微生物学通报, 2024, 51(9): 3454-3467.

ZHOU Lei, LIU Yinshuang, NIU Hongjin, SUN Hongyong, HE Yanxia, ZHANG Xiaoxu, ZHANG Zhiying, HUANG Yali. Isolation and identification of salt-tolerant growth-promoting bacteria capable of remediating secondary salinized soils of greenhouses[J]. Microbiology China, 2024, 51(9): 3454-3467.

**摘要:**【背景】土壤次生盐渍化现象非常普遍, 严重制约了设施蔬菜产业的可持续发展。【目的】筛选耐盐促生微生物菌株, 为设施次生盐渍土壤改良提供菌种资源。【方法】采用稀释涂平板法在含盐量 5% 的 LB 培养基上进行盐渍化土壤样品中耐盐菌株的筛选; 采用浸种法筛选具有促生作用的耐盐菌株; 采用形态学、生理生化和 16S rRNA 基因序列分析对耐盐促生菌进行分类鉴定; 采用定性和定量分析法确定菌株的耐盐促生性质; 采用盆栽试验评价耐盐促生菌株对设施土壤修复及黄瓜生长的效果。【结果】从采集的 37 份设施盐渍化土壤样品中分离获得 58 株耐盐细菌, 其中 5 株菌对黄瓜简化活力指数增长率大于 15%, 并且在 0.3% 的 NaCl 浓度下均对黄瓜幼苗具有一定的促生长作用, 但是随着 NaCl 浓度升高其促生能力下降。经鉴定菌株 YQ-1-8 为贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*)、菌株 SN-1-4 为干旱节杆菌 (*Arthrobacter arilaiti*)、菌株 3A-2 为黄海芽孢杆菌 (*B. marisflavi*)、菌株 L1-2 为蜡样芽孢杆菌 (*B. cereus*)、菌株 L3-3 为阿氏芽孢杆菌 (*B. aryabhatai*), 其中菌株 3A-2 具有解有机磷、产吲哚-3-乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 和产胞外多糖的性质。土壤中菌株 3A-2 浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/g 时对黄瓜幼苗有明显的促生作用, 茎粗、株高、地上部鲜重、地上部干重和叶绿素分别较对照增加 12.39%、14.31%、30.92%、38.46% 和 9.06%, 并且显著增加土壤碱解氮和速效钾含量, 降低土壤 pH、电导率和全盐含量 ( $P < 0.05$ )。【结论】菌株 3A-2 兼具耐盐促生作用, 能够用于盐渍化土壤的改良, 为次生盐渍土壤微生物改良产品的研制提供菌株资源。

资助项目: 石家庄市驻冀高校产学研合作项目 (241490427A); 黄河流域生态保护和高质量发展联合研究项目 (2022-YRUC-01-0308)

This work was supported by the Shijiazhuang Project of Industry and School and Research Cooperation for University Resident (241490427A), and the Joint Research Program on Ecological Protection and High-quality Development in the Yellow River Basin (2022-YRUC-01-0308).

\*Corresponding authors. ZHANG Zhiying, E-mail: zhangzhiying05@163.com; HUANG Yali, huangyali2291@163.com

Received: 2023-12-03; Accepted: 2023-12-12; Published online: 2024-01-31

关键词: 耐盐促生菌; 促生特性; 盐渍土壤; 土壤改良

## Isolation and identification of salt-tolerant growth-promoting bacteria capable of remediating secondary salinized soils of greenhouses

ZHOU Lei<sup>1</sup>, LIU Yinshuang<sup>1</sup>, NIU Hongjin<sup>1</sup>, SUN Hongyong<sup>2</sup>, HE Yanxia<sup>1</sup>, ZHANG Xiaoxu<sup>1</sup>, ZHANG Zhiying<sup>\*3</sup>, HUANG Yali<sup>\*1</sup>

1 College of Environmental Sciences and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, Hebei, China

2 Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050022, Hebei, China

3 Huanghua Bureau of Natural Resources and Planning, Huanghua 061100, Hebei, China

**Abstract:** [Background] The prevalence of secondary salinization in soil poses a significant constraint on the sustainable development of protected vegetable production. [Objective] To screen out the salt-tolerant growth-promoting microbial strains and provide bacterial resources for remediating secondary salinized soils in greenhouses. [Methods] The LB medium with 5% salt was used to screen out the salt-tolerant strains from the soil samples of vegetable greenhouses by the dilution-plate coating method. The growth-promoting ability of each strain was determined by the seed immersion method. The morphological characteristics, physiological and biochemical properties, and 16S rRNA gene sequence were used to identify the strains. The salt tolerance and growth-promoting effect of each strain were measured by quantitative and qualitative methods. Pot experiments were carried out to examine the remediation effect of each strain on salinized soil samples and the cucumber growth-promoting effect. [Results] Fifty-eight strains of salt-tolerant bacteria were isolated from 37 salinized soil samples. Among them, five strains, YQ-1-8, SN-1-4, 3A-2, L1-2, and L3-3, increased the simplified activity index of cucumber by more than 15%, and all of them had growth-promoting effects on cucumber seedlings exposed to 0.3% salt. However, the growth-promoting effect decreased with the increasement of the salt concentration. YQ-1-8 was identified as *Bacillus velezensis*, SN-1-4 as *Arthrobacter arilaiti*, 3A-2 as *B. marisflavi*, L1-2 as *B. cereus*, and L3-3 as *B. aryabhatai*. Strain 3A-2 was capable of solubilizing organophosphorus and producing IAA and exopolysaccharide. The results of pot experiments showed that 3A-2 at  $1 \times 10^7$  CFU/g increased the stem thickness, plant height, aboveground fresh weight, aboveground dry weight, and chlorophyll by 12.39%, 14.31%, 30.92%, 38.46%, and 9.06%, respectively. In addition, the strain increased the content of available nitrogen and available potassium and decreased the pH, electrical conductivity, and total salt content in soil ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] Strain 3A-2 with salt tolerance and growth-promoting effect can serve as a candidate for the development of microbial agents for the recommendation of secondary salinized soils.

**Keywords:** salt-tolerant growth-promoting strain; growth-promoting property; saline-alkali soil; soil remediation

土壤盐渍化导致的耕地数量不足、农业生产能力下降,已经成为制约耕地产能的重要因子<sup>[1]</sup>,直接威胁着全世界的粮食安全和经济发展,因此盐渍化土壤的改良具有重要的经济及战略意义<sup>[2]</sup>。目前,针对盐渍化土壤含盐量高、碱性强、物理结构差、养分匮乏等问题,学者们提出了物理、化学和生物等诸多改良措施<sup>[3-4]</sup>。其中生物改良因具有脱盐持久、稳定且有利于水土保持以及生态平衡的效果,被认为是目前最具有生态效益的措施<sup>[5-8]</sup>。

微生物改良措施是生物改良措施的一种,具有绿色、长效的优点,成为目前盐渍化土壤改良研究的热点<sup>[9]</sup>。微生物改良盐渍化土壤的原理是利用特定功能的微生物改善土壤微环境,从而缓解盐碱胁迫对植物生长的抑制作用,最终达到改良盐渍化土壤的目的<sup>[10]</sup>。因此,微生物改良措施的核心是筛选获得具有耐盐促生作用的微生物菌株。研究者已经从不同区域盐碱土壤样品、根样品中筛选出木霉属(*Trichoderma*)<sup>[11]</sup>、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、嗜盐涅斯特连科氏菌(*Nesterenkonia rhizosphaerae*)<sup>[12]</sup>等种属的耐盐促生微生物。通过深入分析耐盐促生菌株的作用机理发现,产有机酸、无机酸、胞外多糖(exopolysaccharide, EPS),以及分泌吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、铁载体等植物生长因子是大多数菌株的耐盐促生机制<sup>[13-14]</sup>。这些菌株的挖掘及利用为盐渍化土壤的微生物修复奠定了菌株基础。

次生盐渍化作为盐渍化土壤的一类,源于土壤管理措施不当而引起的土壤盐分含量升高。设施种植由于棚室内高温高湿和高量施肥的特点,土壤次生盐渍化现象非常普遍,严重制约了设施蔬菜产业的可持续发展。但是,目前耐盐促生菌株的筛选主要针对和来源于原生盐碱土壤<sup>[7]</sup>,针对设施次生盐渍化土壤中适用的耐盐促生菌株

的研究还鲜有报道。因此,本研究采集河北省主要设施蔬菜种植区域的棚室土壤,针对性地进行耐盐促生微生物菌株的筛选及其性质研究,并确定其对设施盐渍化土壤的改良效果,为设施次生盐渍化土壤的生物改良提供菌株资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

分离微生物的土壤样品采集于河北省沧州市肃宁县、廊坊市永清县和邯郸市永年县种植年限大于5年的设施蔬菜种植棚内深度为5-20 cm的非根际土壤,共采集37份,装于无菌自封袋中,低温运送至实验室。盆栽试验土壤采自河北省沧州市肃宁县设施蔬菜种植12年的耕层土壤,土壤有机质15.79 g/kg、碱解氮95.11 mg/kg、有效磷127.35 mg/kg、速效钾369.00 mg/kg、全盐7.40 g/kg、电导率1.28 mS/cm、pH 7.60。供试黄瓜品种为新“津研四号”。

### 1.2 培养基

LB培养基<sup>[15]</sup>用于细菌的常规培养,向LB培养基中分别加入终浓度为5%、7%、10%、15%和20%的NaCl,用于耐盐微生物菌株的分离和耐盐性能测定;解钾培养基、无机磷培养基、有机磷培养基、IAA培养基、CAS培养基、固氮培养基、EPS培养基<sup>[16-18]</sup>分别用于耐盐促生菌解钾、解无机磷、解有机磷、产IAA、产铁载体、固氮、产多糖性能的测定。

### 1.3 主要试剂和仪器

琼脂粉、酵母粉、细菌DNA提取试剂盒及2.5%戊二醛溶液,北京索莱宝科技有限公司;蛋白胨,北京奥博星生物技术有限责任公司;过氧化氢,天津永大化学试剂有限公司;磷酸二氢钠和十二水磷酸氢二钠,天津市科密欧化学试剂有限公司。

分光光度计,SHIMADZU公司;医用离心

机, 曦玛离心机(扬州)有限公司; 生化培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 恒温培养振荡器和超净工作台, 上海智城分析仪器制造有限公司; 高压灭菌锅, SANYO 公司; 医用冷藏箱, 青岛海尔特种电器有限公司; 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 电子显微镜, 尼康仪器(上海)有限公司。

#### 1.4 耐盐促生菌株的筛选

耐盐菌株的初筛: 以 5% NaCl 的 LB 培养基为选择性培养基, 采用稀释涂平板方法进行土壤样品中耐盐细菌的分离, 涂布的平板在 28 °C 恒温培养 96 h 后挑取形态各异的菌落, 在 LB 培养基上划线纯化 5 次获得纯培养菌株, 再次在 5% NaCl 的 LB 培养基上进行培养, 获得遗传稳定的耐盐菌株, 采用 25% 甘油在 -80 °C 保藏备用。

耐盐促生菌株的初筛: 将低温保存的耐盐菌株在 LB 培养基上活化, 挑取活化菌种接种于 LB 液体培养基中, 28 °C、180 r/min 恒温培养 24 h 后 10 000 r/min 离心 10 min 获得菌体, 用无菌水重悬菌体并稀释至  $OD_{600}$  为 0.1。选取饱满一致、表面消毒的黄瓜种子于上述菌悬液中浸泡 4 h, 以无菌水浸泡的种子为对照, 将浸泡后的种子均匀摆放到铺有灭菌双层滤纸的培养皿中, 每个平板中 10 粒, 重复 3 次, 每个培养皿中加入 1.0% NaCl 溶液至蛭石饱和。将平板置于 28 °C 恒温培养箱中培养, 3 d 后统计发芽率、根长, 计算简化活力指数和增长率; 其中简化活力指数=平均根长×种子的发育率, 增长率=(处理组简化活力指数-对照简化活力指数)/对照简化活力指数×100%<sup>[19]</sup>。

耐盐促生菌株的复筛: LB 平板上均匀摆放饱满一致、表面消毒的黄瓜种子 10 粒, 每个培养皿中加入 5 mL、 $OD_{600}$  为 0.1 的耐盐促生菌菌液, 在种子上覆盖 10 g 灭菌蛭石。在蛭石上分别加入 0.3%、0.5% 和 1.0% 这 3 个浓度 NaCl 溶

液至饱和, 以加入等量清水为对照, 每个处理 3 次重复。在 25 °C、光暗周期 16 h:8 h 的条件下培养 12 d, 培养期间补清水以保持蛭石湿度, 测定并记录茎粗、株高、地上部鲜重和干重。

#### 1.5 耐盐促生菌株的鉴定

将筛选的耐盐促生菌株在 LB 固体培养基中进行划线培养, 观察并记录菌落形态, 扫描电镜观察菌体形态<sup>[20]</sup>。根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[21]</sup>的方法进行 V-P、柠檬酸盐、丙酸盐、D-木糖、L-阿拉伯糖、D-甘露醇、明胶液化、硝酸盐还原、淀粉水解和接触酶的试验, 依据《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[22]</sup>初步鉴定菌株的科属。采用细菌 DNA 提取试剂盒提取待测菌株的基因组 DNA, 以细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F 和 1429R<sup>[23]</sup>进行 PCR 扩增<sup>[24]</sup>, 扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序, 所得序列提交到 NCBI 并进行 BLAST 比对及同源性分析, 使用 MEGA-X 软件的 neighbor-joining 法构建系统发育树。

#### 1.6 耐盐促生菌株耐盐能力的确定

将筛选的耐盐促生菌株分别点接到 NaCl 浓度为 5%、10%、15% 和 20% 的 LB 固体培养基上, 每个处理 3 次重复, 置于 28 °C 培养箱中培养 7 d 后, 观察各个菌株的生长情况。

#### 1.7 耐盐菌株的耐盐促生性质分析

采用平板点接透明圈法测定目的菌株的解钾能力、解无机磷能力、解有机磷能力、产铁载体性质, 测量透明圈直径( $D$ )和菌体直径( $d$ ), 计算  $D/d$  值。吸取 5  $\mu$ L 活化 24 h 的菌液点接于固氮培养基上, 28 °C 培养 7 d, 观察培养基上是否有菌落, 确定菌株的固氮能力。采用菌液乙醇沉淀法测定 EPS 的产生量<sup>[15]</sup>。采用 Salkowski 试剂颜色反应观察法定性 IAA 是否产生, 呈现粉色为产生 IAA。参照李章雷等<sup>[25]</sup>的方法定量测定 IAA 的含量。

### 1.8 不同浓度耐盐促生菌 3A-2 对设施盐渍化土壤的修复效果

将培养至芽孢期并用无菌水稀释到不同浓度的 3A-2 菌液均匀混入盆栽试验土壤至浓度分别为  $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$  和  $1 \times 10^8$  CFU/g, 以加等量清水的土壤为对照, 将土壤装入直径为 10 cm、高为 10 cm 的塑料花盆中。选取催芽露白、生长状况一致的黄瓜种子播种到盆栽土壤中, 每盆 3 颗种子, 出苗后, 每盆保留长势一致的幼苗。每个处理 18 盆, 3 次重复。于播种后 28 d 测定黄瓜幼苗的茎粗、株高、地上部鲜重、地上部干重和叶绿素含量。同时, 取促生效果最优的菌液浓度处理土壤样品, 以不加菌液的土壤为对照, 测定土壤有机质、碱解氮、有效磷、速效钾、全盐、电导率和 pH 等指标<sup>[26]</sup>。

### 1.9 数据分析

使用 Office Excel 2003 进行数据处理, 使用

Origin 绘图, 使用 SPSS (26.0) 统计分析软件对整理后的实验数据进行单因素方差分析, 处理间差异显著性检验使用邓肯法 (Duncan) ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐盐促生菌株的筛选

以 NaCl 浓度为 5% 的 LB 培养基为筛选培养基, 从 37 份设施土壤样品中筛选出形态各异的耐盐细菌 58 株。以简化活力指数为指标, 测定耐盐细菌的促生能力, 58 株菌中对黄瓜简化活力指数的增长率大于 15% 的菌株有 5 株, 10%–15% 的菌株有 9 株, 5%–10% 的菌株有 13 株, 其余菌株对黄瓜的简化活力指数增长率小于 5%。其中以菌株 L1-2 的促生作用最大为 29.8%, 之后依次为菌株 L3-3、3A-2、SN-1-4 和 YQ-1-8 (图 1)。

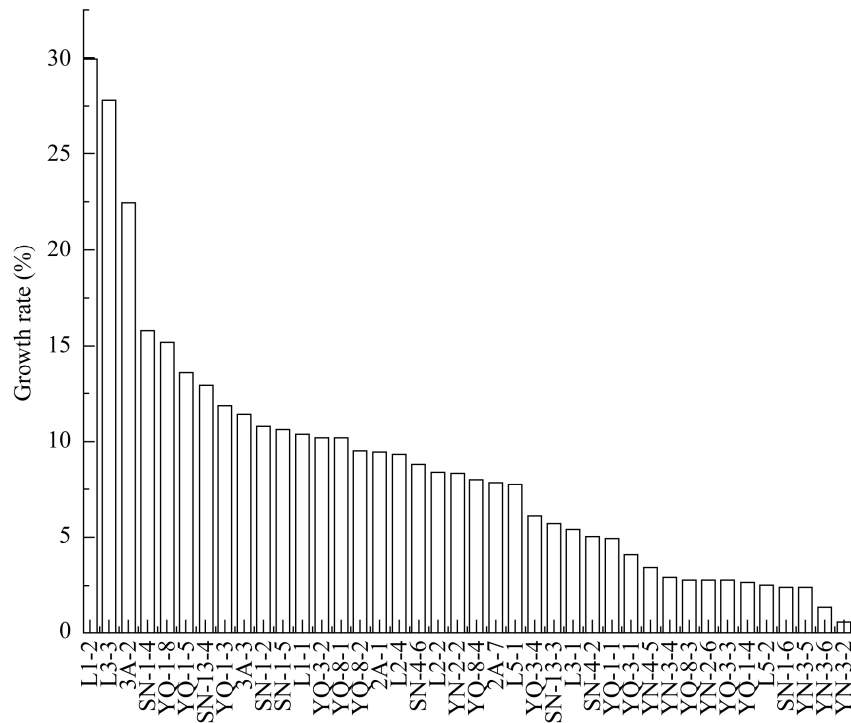


图 1 耐盐菌株对黄瓜简化活力指数的增长率

Figure 1 Growth rate of simplified vitality index of cucumber by salt tolerant strains.

## 2.2 不同 NaCl 浓度下耐盐促生菌株对黄瓜的促生能力分析

测定了简化活力指数增长率大于 15% 的 5 株菌在 0.3%、0.5% 和 1.0% 的 NaCl 浓度下对黄瓜幼苗的促生效果。结果表明(图 2), 与对照相比, 在无盐胁迫情况下 5 株耐盐促生菌均显著增加黄瓜的茎粗、地上部鲜重和干重, 除菌株 L3-3 外的 4 株菌均能显著地增加黄瓜株高( $P<0.05$ )。随着 NaCl 浓度升高, 5 株菌对植株的促生效果降低。NaCl 浓度为 0.3% 时, 5 株菌对茎粗的作

用最明显, 其中菌株 YQ-1-8、SN-1-4、L3-3 和 3A-2 可显著促进茎粗的增加, 菌株 3A-2 还能够显著增加株高, 增幅 29.88%, 菌株 YQ-1-8 和 SN-1-4 可显著增加地上部鲜重和干重( $P<0.05$ )。NaCl 浓度为 0.5% 时, 菌株 SN-1-4 可显著促进茎粗的增加( $P<0.05$ )。NaCl 浓度为 1.0% 时, 耐盐促生菌均未能显著地增加茎粗、株高、地上部鲜重和干重。说明 5 株菌在轻度和中度盐渍化情况下均具有较好的促生效果, 为设施盐渍土壤的改良提供了备选菌株。

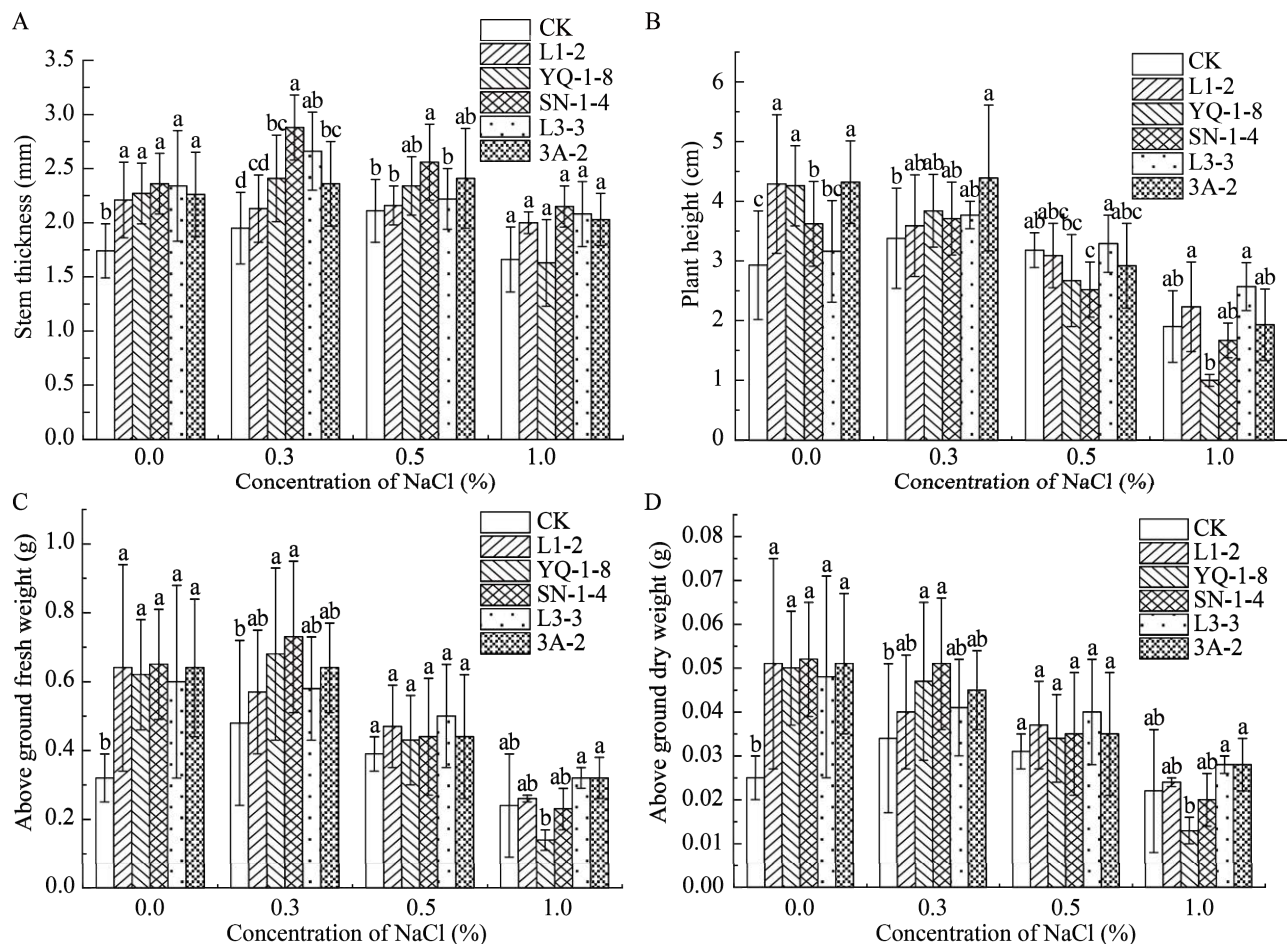


图 2 不同 NaCl 浓度下 5 株菌对黄瓜幼苗生长的影响 A: 茎粗. B: 株高. C: 地上部鲜重. D: 地上部干重. 不同小写字母表示差异显著

Figure 2 The effect of five bacteria strains on the growth of cucumber seedlings under different NaCl concentrations. A: Stem diameter. B: Plant height. C: Above ground fresh weight. D: Above ground dry weight. Different lowercase letters indicate significant differences.

## 2.3 菌株的鉴定结果

### 2.3.1 形态学鉴定结果

观察 5 株菌在 LB 培养基上的菌落形态(图 3)和电镜下的菌体形态(图 4), 菌株 YQ-1-8 白色、近圆形、边缘齿状、表面较湿润、凸起, 菌体杆状, 大小为 $(0.5-0.8) \mu\text{m} \times (1.5-2.0) \mu\text{m}$ ; 菌株 SN-1-4 浅黄色、近圆形、边缘光滑、表面较湿润、凸起, 短杆状, 大小为 $(0.3-0.6) \mu\text{m} \times (0.7-1.5) \mu\text{m}$ ; 菌株 3A-2 菌落黄色、近圆形、边缘齿状、表面较湿润、凸起, 菌体杆状, 大小为 $(0.7-0.9) \mu\text{m} \times (1.0-3.0) \mu\text{m}$ ; 菌株 L1-2 白色、近圆形、边缘齿状、表面较湿润、凸起, 菌体杆状、大小为 $(0.7-1.0) \mu\text{m} \times (1.5-3.5) \mu\text{m}$ ; 菌株 L3-3 白色、卵圆形、边缘光滑、表面较湿润、凸起, 卵圆形杆状, 大小为 $(1.0-1.5) \mu\text{m} \times (1.5-2.0) \mu\text{m}$ 。

### 2.3.2 生理生化鉴定

对 5 株耐盐促生菌测定 10 个生理生化指标(表 1), 结合形态学和生理生化特征, 并对照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[21]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[22]</sup>, 将菌株 YQ-1-8、3A-2、L1-2 和 L3-3

初步鉴定为芽孢杆菌属(*Bacillus*), 菌株 SN-1-4 为节杆菌属(*Arthrobacter*)。

### 2.3.3 分子生物学鉴定结果

对 5 株耐盐促生菌的 16S rRNA 基因进行序列分析, 并将 5 株菌的序列提交到 NCBI, 菌株 YQ-1-8、SN-1-4、3A-2、L1-2 和 L3-3 的 GenBank 登录号依次为 ON024388、OQ431676、OQ431674、OQ431675 和 OQ431677。将菌株的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 的核酸序列进行同源性比对, 并使用 MEGA-X 的邻接法构建系统发育树(图 5)。结合形态学、生理生化和系统发育树结果, 将菌株 YQ-1-8 鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)、菌株 SN-1-4 为干旱节杆菌(*A. arilaiti*)、菌株 3A-2 为黄海芽孢杆菌(*B. marisflavi*)、菌株 L1-2 为蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)和菌株 L3-3 为阿氏芽孢杆菌(*B. aryabhatai*)。

### 2.4 菌株的耐盐促生性质分析结果

对耐盐促生效果较好的菌株 YQ-1-8、SN-1-4、3A-2、L1-2 和 L3-3 进行耐盐能力测定, 由表 2 可知, 5 株菌的耐盐能力均能达到 7%,

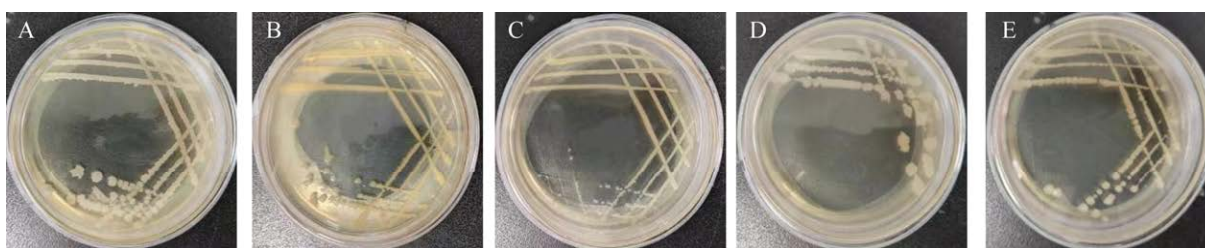


图 3 五株耐盐促生菌的菌落形态

Figure 3 Colony morphology of five salt tolerant and growth promoting bacteria. A: Strain YQ-1-8. B: Strain 3A-2. C: Strain SN-1-4. D: Strain L1-2. E: Strain L3-3.

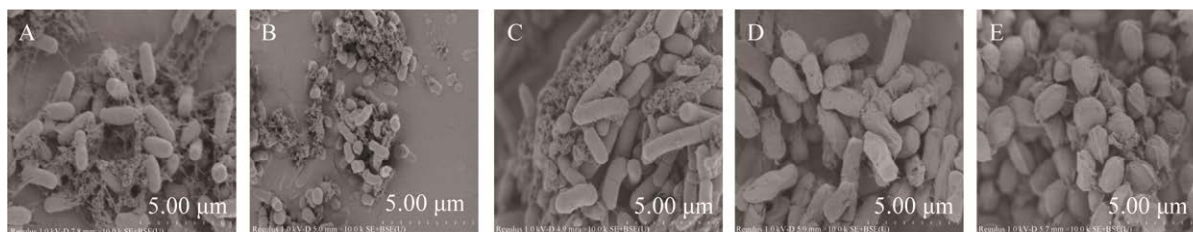


图 4 五株耐盐促生菌的扫描电镜图(10 000×)

Figure 4 Scanning electron microscopy images of five salt tolerant and growth promoting bacteria (10 000×). A: Strain YQ-1-8. B: Strain 3A-2. C: Strain SN-1-4. D: Strain L1-2. E: Strain L3-3.

表 1 五株耐盐促生菌的生理生化特征

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of five salt tolerant growth promoting bacteria

Test indicators	Strain YQ-1-8	Strain SN-1-4	Strain 3A-2	Strain L1-2	Strain L3-3
Acetyl methanol test	+	+	+	+	+
Citrate test	-	-	-	-	-
Propionate utilization	-	-	-	-	-
D-xylose utilization	+	+	-	-	+
L-arabinose utilization	+	+	-	-	+
D-mannitol utilization	+	-	+	-	+
Gelatin liquefaction	-	+	+	-	+
Nitrate reduction test	+	+	-	-	-
Starch hydrolysis test	+	+	+	+	+
Catalase test	+	+	+	+	+

+: Positive; -: Negative.

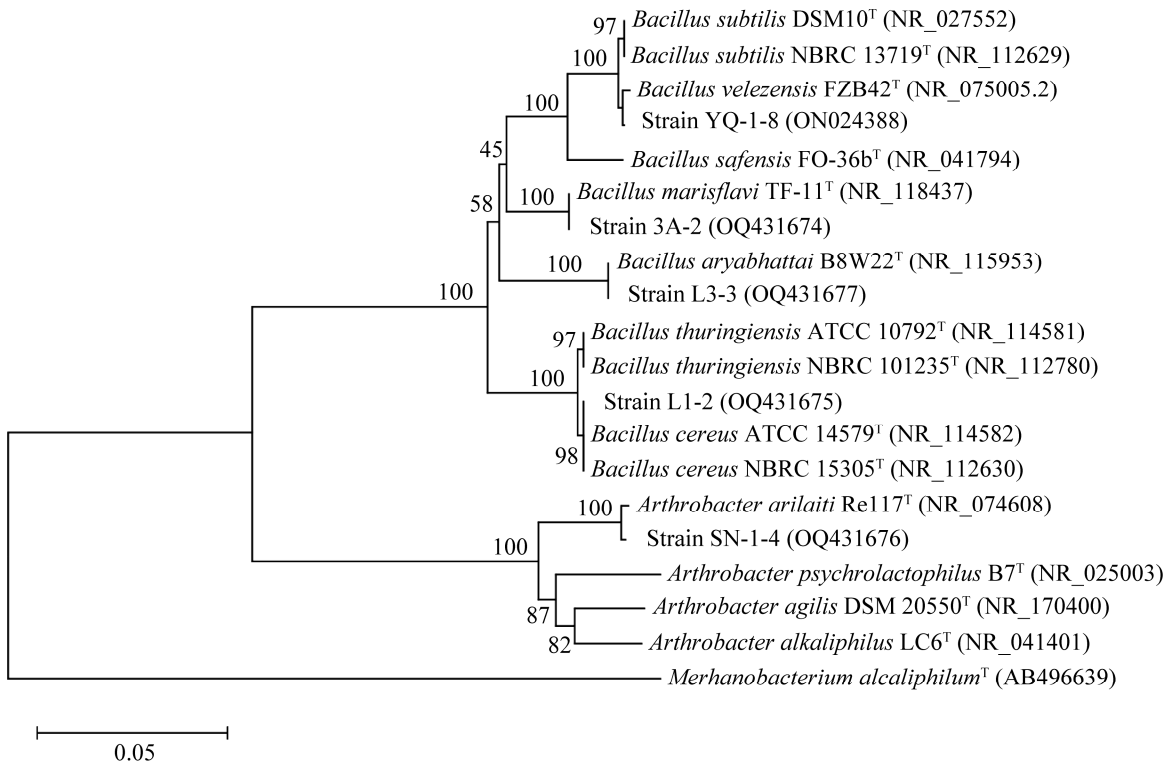


图 5 基于五株耐盐促生菌的 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 括号内序号为 GenBank 登录号; 分支处数字表示 bootstrap 的支持率; 标尺刻度 0.05 表示序列进化分支差异

Figure 5 Phylogenetic tree constructed based on 16S rRNA gene sequences of five salt tolerant and growth promoting bacteria. GenBank accession number are set in parentheses; The branch number indicates the bootstrap support rate; Scale 0.05 represents sequence evolutionary branching differences.



表 2 五株菌在不同 NaCl 浓度下的生长情况  
Table 2 The growth of five bacteria strains under different NaCl concentrations

Strain	5%	7%	10%	15%	20%
YQ-1-8	++	++	++	++	++
SN-1-4	+++	++	+	-	-
3A-2	++	++	++	+	-
L1-2	+++	++	-	-	-
L3-3	+++	+++	-	-	-

-: The colony is inhibited; +: The colony diameter<0.5 cm; ++: 0.5 cm<the colony diameter<1.0 cm; +++: 1.0 cm<the colony diameter<1.5 cm.

表 3 五株菌促生性质的定性分析

Table 3 Qualitative analysis of the growth promoting properties of five bacteria strains

Item	Strain YQ-1-8	Strain SN-1-4	Strain 3A-2	Strain L1-2	Strain L3-3
Organophosphorus solubilizing	+	+	+	+	+
IAA color rendering	+	+	+	+	+
Inorganic phosphorus	-	-	-	-	-
EPS production	+	+	+	+	+
Siderophores production	-	-	-	-	-
Potassium solubilizing	-	-	-	-	-
Nitrogen fixation efficiency	-	-	-	-	-

+: Have this ability; -: Does not have this ability.

其中菌株 SN-1-4 能耐受 10% NaCl 浓度, 菌株 3A-2 耐受能力达 15%, 菌株 YQ-1-8 的耐盐能力最强能达到 20% NaCl 浓度。

定性观察 5 株菌解钾、解磷、固氮、产 IAA、产多糖和产铁载体的性质(表 3), 结果表明 5 株菌能够在有机磷平板上产生透明圈、IAA 反应呈现粉色且能够产生 EPS, 但是均不具有解钾、解无机磷、产铁载体和固氮能力。对 5 株菌解有机磷、产 IAA 和 EPS 的能力进行定量分析(图 6), 菌株 3A-2 解有机磷的能力最强,  $D/d$  值为 2.61;

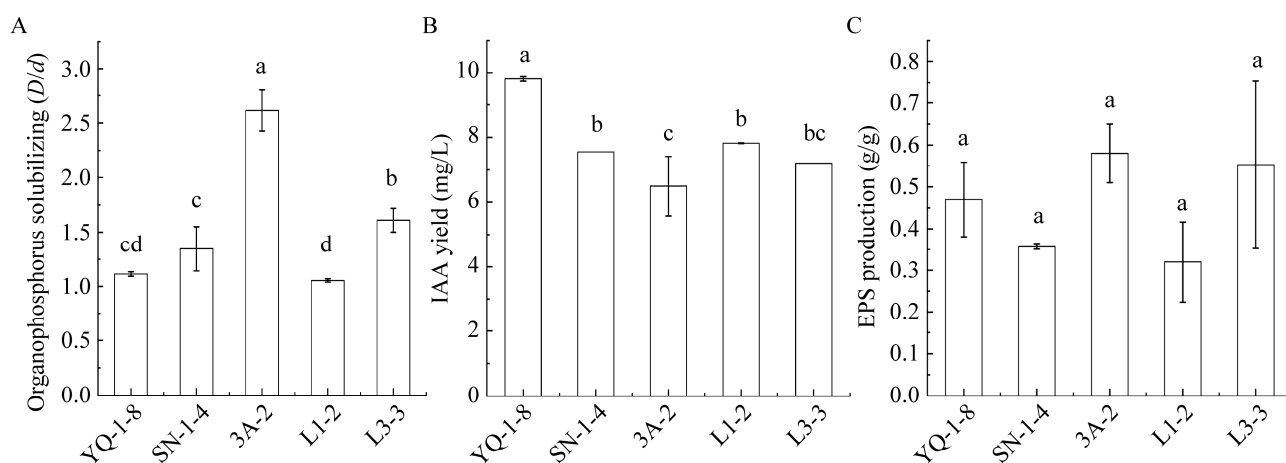


图 6 五株菌的解有机磷、产吲哚-3-乙酸和产胞外多糖能力 A: 解有机磷. B: 吲哚-3-乙酸产量. C: 胞外多糖产量. 不同小写字母表示差异显著

Figure 6 The ability of five bacteria strains to hydrolyze organic phosphorus, produce indole-3-acetic acid, and produce exopolysaccharide. A: Organophosphorus solubilizing. B: Indole-3-acetic acid yield. C: Exopolysaccharide production. Different lowercase letters indicate significant differences.

菌株 YQ-1-8 产 IAA 的能力最强, 为 9.82 mg/L; 菌株 3A-2 产 EPS 的能力最强, 为 0.58 g/g。综合分析, 菌株 3A-2 表现出较强的耐盐、解有机磷和产 EPS 能力。

## 2.5 耐盐促生菌 3A-2 对设施盐渍化土壤的修复效果

由表 4 可知, 在浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/g 时耐盐促生菌 3A-2 对黄瓜生长的促进作用最为明显, 其中地上部鲜重和干重达到最大值, 与 CK 相比增幅分别为 30.92% 和 38.46%, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 茎粗、株高和叶绿素含量也最高, 分别为 3.72 mm、13.58 cm、

19.87 SPAD。在高浓度或低浓度时, 菌株的促生效果则有所降低。

对比分析了浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/g 时菌株 3A-2 处理和空白对照的土壤化学指标(表 5), 结果表明施加菌株 3A-2 后可以显著增加碱解氮、速效钾的含量, 增幅分别为 4.49%、4.91% ( $P < 0.01$ ); 并且显著降低土壤全盐含量、电导率和 pH 值, 降低幅度分别为 16.86%、16.31% 和 0.89% ( $P < 0.01$ )。说明该菌株的施用能够有效增加次生盐渍化土壤的营养含量、降低盐分的含量, 从而为作物生长提供良好的土壤环境, 促进作物生长。

表 4 不同浓度菌株 3A-2 对盐渍化土壤中黄瓜幼苗生长的影响

Table 4 The effect of different concentrations of strain 3A-2 on the growth of cucumber seedlings in saline soil

Strain concentration (CFU/g)	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	Above ground fresh weight (g)	Above ground dry weight (g)	Chlorophyll (SPAD)
CK	3.31±0.49ab	11.88±2.44ab	2.62±0.86b	0.26±0.08bc	18.22±2.67ab
$1 \times 10^4$	3.21±0.50b	11.04±4.47b	2.59±0.83b	0.22±0.09c	18.26±1.51ab
$1 \times 10^5$	3.38±0.44ab	12.50±1.70ab	2.68±1.24ab	0.31±0.11ab	18.73±0.87ab
$1 \times 10^6$	3.53±0.59ab	12.84±2.71ab	3.10±0.92ab	0.31±0.12abc	19.59±4.56ab
$1 \times 10^7$	3.72±0.66a	13.58±2.70a	3.43±1.18a	0.36±0.14a	19.87±3.94a
$1 \times 10^8$	3.61±0.41ab	12.21±2.41ab	2.83±0.54ab	0.30±0.10abc	16.69±4.87b

不同小写字母表示差异显著

Different lowercase letters indicate significant differences.

表 5 菌株 3A-2 处理的土壤化学性质

Table 5 Soil chemical properties treated with strain 3A-2

Item	Control	Strain 3A-2
Soil organic matter (g/kg)	20.12±0.68	19.05±0.01
Alkaline hydrolyzed nitrogen (mg/kg)	101.33±0.53	105.88±0.18**
Available phosphorus (mg/kg)	198.38±7.13	200.38±4.38
Available potassium (mg/kg)	427.50±0.00	448.50±3.00**
Total salt content (g/kg)	13.46±0.19**	11.19±0.30
Electrical conductivity (mS/cm)	2.33±0.04**	1.95±0.05
pH	7.85±0.02**	7.78±0.02

\*\* :  $P < 0.01$ .

### 3 讨论与结论

土壤次生盐渍化是限制设施栽培可持续发展的主要因素之一,利用土壤有益微生物降低盐分、溶解土壤中固定养分、提高植物耐盐能力是盐渍化土壤修复的有效措施<sup>[27-28]</sup>。盐渍化土壤微生物修复的基础是获得具有良好耐盐促生能力的微生物菌株<sup>[29]</sup>。Zhang 等<sup>[30]</sup>从稻田土壤分离到 162 株具有不同耐盐能力的菌株,可以不同程度促进盐胁迫条件下水稻种子萌发,提高种子发芽势,促进地上部分和地下部分生长。王艳宇等<sup>[31]</sup>从大庆地区盐碱土中筛选得到 3 株耐盐碱促生菌,3 株菌能够在盐碱胁迫下促进绿豆根系发育,改善根际微生态,缓解了盐碱胁迫对绿豆的伤害。代金霞等<sup>[32]</sup>以分离自宁夏银北盐碱区耐盐植物根际土壤的 110 株细菌为材料来探究复合菌群的促生效果,其中复合菌群 C3 和 C8 能明显促进植株生物量的增长,具备开发为微生物菌剂的潜能。本研究以设施盐渍化土壤改良为目标,采用河北省不同地区的设施土壤为材料,采用 NaCl 浓度为 5% 的 LB 培养基进行了耐盐菌的筛选,筛选出设施土壤中耐盐微生物菌株。以此为基础,采用皿培试验进行了促生微生物菌株的初筛和复筛,其中简化活力指数增长率大于 15% 的菌株为 5 株,占总菌株数的 8.6%。但是,菌株的促生能力随着添加 NaCl 浓度的增加而降低,说明这些菌株虽然具有较高的耐盐能力,但是由于植物对盐分的敏感性,其在高 NaCl 浓度下促生效果明显受限<sup>[33-34]</sup>。采用形态、生理生化和分子生物学相结合的方法对筛选出的菌株进行鉴定,其中 4 株为芽孢杆菌属,说明芽孢杆菌在抵抗盐胁迫、促进植物生长和调节土壤化学性质上具有良好的应用潜力<sup>[35]</sup>。

耐盐促生微生物的作用机理研究对其菌群组合、菌剂开发及应用具有重要的意义,微生物

耐盐促生机理主要涉及解磷、解钾、产生长素、产 EPS 等。车永梅等<sup>[36]</sup>分析菌株 C8 和 B4 的耐盐促生机理发现,菌株 C8 具有解钾、解有机磷、解无机磷和分泌生长素等多种功能,菌株 B4 具有较强解有机磷和分泌生长素的功能。孙雪等<sup>[15]</sup>从盐碱地筛选得到 7 株耐盐细菌,并考察筛选菌株的产 EPS 能力、降碱能力和产 IAA 能力,其中菌株 DB01 产 EPS 能力为 0.21 g/g,降碱能力为 8.7%,产 IAA 的能力为 8.97 mg/L。本研究筛选的 5 株菌均具有解有机磷能力、产 IAA 和产 EPS 能力。其中菌株 3A-2 产 EPS 的能力最强,为 0.58 g/g,高于菌株 DB01 的 EPS 产生量 2.8 倍,为后期菌群在土壤中固盐提供物质基础。耐盐促生机理的研究为不同菌株之间的复配,使其在盐渍化土壤改良中发挥更大的作用提供了依据。周亚男等<sup>[37]</sup>选取具有产 IAA 和拮抗青枯病菌的 EM-1、溶解无机磷和产 ACC 脱氢酶的 HCH2-3 以及产铁载体的 FGD5-2 进行促生效果探究发现,3 株细菌联合施加对烟苗的促生效果最明显,说明这 3 株细菌在促进烟苗生长中具有协同作用。郭彦钊等<sup>[35]</sup>以解磷、解钾、产 IAA、产 ACC 脱氢酶和产铁载体性能最优的菌株 yI923、hy127 和 hs032 组合进行玉米苗的促生效果研究,发现混合菌液处理过的玉米苗的根长、株高和干重均显著( $P < 0.05$ )高于其他各组。因此,合成菌群或者接种具有不同促生特性的耐盐菌是未来微生物菌剂开发的一个重要方向<sup>[38-40]</sup>。

耐盐促生菌的施用浓度影响其耐盐促生效果,菌浓度过低则对植株的有益因子低,菌浓度过高则可能由于土壤菌群平衡或代谢产物积累而不利于植株的生长。李英楠<sup>[41]</sup>探究不同浓度的耐盐促生菌在土壤的定殖情况及应用效果,结果发现菌剂浓度越高,菌在根际土壤的定殖密度越大,但在根系的定殖情况无明显差异; $10^8$  CFU/mL 和  $10^9$  CFU/mL 的应用效果均优于  $10^7$  CFU/mL。

张晓丽等<sup>[42]</sup>研究了 3 种微生物菌剂对根际盐碱土壤理化性质的影响发现, 施用微生物菌剂(DL、BL)均可显著降低土壤盐分和 pH 值, 其中 BL2 处理对降低土壤盐分的效果最显著, 与 CK、DL、BL1 相比分别降低 14.0%、4.2%、7.4%。本研究设置 5 个浓度梯度探究菌株 3A-2 的促生效果, 结果表明  $1 \times 10^7$  CFU/g 时对植物的促生效果最佳, 并且能够降低土壤盐分含量, 提高碱解氮和速效钾的含量, 该研究为设施盐渍化土壤的修复提供了试验支撑。

总之, 菌株 3A-2 具有良好的耐盐促生特性, 能够降低土壤盐分指标, 提高土壤肥力, 促进黄瓜生长。实际应用的自然环境更加复杂, 这会增加耐盐促生菌在次生盐渍化土壤改良中的不确定性, 因此该菌株的应用仍需对不同菌株间复合增效作用进行研究, 并在此基础上进一步明确菌剂施用后土壤物理性质及其对微生物群落结构的影响。

## REFERENCES

- [1] 刘嘉斌, 田军仓. 基于国内外盐碱地改良的科技文献可视化分析[J]. 宁夏工程技术, 2022, 21(4): 317-325.  
LIU JB, TIAN JC. Visual analysis of scientific literature related to saline-alkali land improvement at home and abroad[J]. Ningxia Engineering Technology, 2022, 21(4): 317-325 (in Chinese).
- [2] ZHANG ZL, SUN D, TANG Y, ZHU R, LI X, GRUDA N, DONG JL, DUAN ZQ. Plastic shed soil salinity in China: current status and next steps[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 296: 126453.
- [3] 侯格平, 甄东升, 孙宁科, 姜青龙, 白长福, 李伟, 郭兴红. 河西走廊蔬菜日光温室土壤次生盐渍化现状及改良对策[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2018, 38(1): 48-54.  
HOU GP, ZHEN DS, SUN NK, JIANG QL, BAI CF, LI W, GUO XH. Study on soil degradation in greenhouse in Hexi Corridor area[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2018, 38(1): 48-54 (in Chinese).
- [4] 王宇, 韩兴, 赵兰坡. 硫酸铝对苏打盐碱土的改良作用研究[J]. 水土保持学报, 2006, 20(4): 50-53.  
WANG Y, HAN X, ZHAO LP. Study on function of aluminum sulfate on soda alkali-saline soil improvement[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2006, 20(4): 50-53 (in Chinese).
- [5] 云雪雪, 陈雨生. 国际盐碱地开发动态及其对我国的启示[J]. 国土与自然资源研究, 2020(1): 84-87.  
YUN XX, CHEN YS. International development of saline-alkali land and its enlightenment to China[J]. Territory & Natural Resources Study, 2020(1):84-87 (in Chinese).
- [6] 赵英, 王丽, 赵惠丽, 陈小兵. 滨海盐碱地改良研究现状及展望[J]. 中国农学通报, 2022, 38(3): 67-74.  
ZHAO Y, WANG L, ZHAO HL, CHEN XB. Research status and prospects of saline-alkali land amelioration in the coastal region of China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(3): 67-74 (in Chinese).
- [7] 葛汉勤, 秦光蔚, 韩建均. 滨海盐碱地生物改良措施在内陆盐碱地改良中的应用效果研究[J]. 现代农业科技, 2022(3): 165-169.  
GE HQ, QIN GW, HAN JJ. Study on the application effect of biological improvement measures in coastal saline-alkali land in inland saline-alkali land improvement[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2022(3): 165-169 (in Chinese).
- [8] 徐莉, 唐金, 陈淑英. 不同磁化水处理下盐渍化土壤脱盐效果研究[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(5): 211-217.  
XU L, TANG J, CHEN SY. Effects of different magnetized-water treatments on soil desalinization[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2019, 37(5): 211-217 (in Chinese).
- [9] SHAYGAN M, MULLIGAN D, BAUMGARTL T. The potential of three halophytes (*Tecticornia pergranulata*, *Sclerolaena longicuspis*, and *Frankenia serpyllifolia*) for the rehabilitation of brine-affected soils[J]. Land Degradation & Development, 2018, 29(6): 2002-2014.
- [10] MAHMOOD S, DAUR I, AL-SOLAIMANI SG, AHMAD S, MADKOUR MH, YASIR M, HIRT H, ALI S, ALI Z. Plant growth promoting rhizobacteria and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 876.
- [11] 崔西苓. 耐盐碱木霉菌株的筛选鉴定、抗病促生及耐盐机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文全文, 2014.  
CUI XL. Screening and identification of *Trichoderma* strain with saline-alkali tolerance, study on disease resistance, growth promotion and salt tolerance mechanism[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014 (in Chinese).

- [12] 王丹, 赵亚光, 张凤华. 耐盐促生菌筛选、鉴定及对盐胁迫小麦的效应[J]. 麦类作物学报, 2020, 40(1): 110-117.  
WANG D, ZHAO YG, ZHANG FH. Screening and identification of salt-tolerant plant growth-promoting bacteria and its promotion effect on wheat seedling under salt stress[J]. Journal of Triticeae Crops, 2020, 40(1): 110-117 (in Chinese).
- [13] VESSEY J K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers[J]. Plant and Soil, 2003, 255(2): 571-586.
- [14] HABIB SH, KAUSAR H, SAUD HM. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes[J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 1-10.
- [15] 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).
- [16] 王明欢, 张小娜, 林冰, 邓锦辉, 张英. 中药药渣中固氮菌、解磷菌、解钾菌的筛选[J]. 中成药, 2020, 42(2): 531-533.  
WANG MH, ZHANG XN, LIN B, DENG JH, ZHANG Y. Screening of nitrogen-solubilizing bacteria, phosphorus-solubilizing bacteria and potassium-solubilizing bacteria from Chinese medicine residues in China[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(2): 531-533 (in Chinese).
- [17] 王亚楠, 陈莹莹, 吴玉洪, 吴海霞, 暴增海, 马桂珍. 甲基营养型芽孢杆菌对黄瓜促生作用及其机理研究[J]. 北方园艺, 2020(12): 1-7.  
WANG YN, CHEN YY, WU YH, WU HX, BAO ZH, MA GZ. Study on the growth-promoting effect of *Bacillus methylotrophicus* and its mechanism[J]. Northern Horticulture, 2020(12): 1-7 (in Chinese).
- [18] 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.  
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).
- [19] 时嘉翔, 曹岭, 余舟昌, 白小明, 张伟. 不同地区野生芨芨草种子萌发期耐盐性综合评价[J]. 西北农业学报, 2022, 31(9): 1142-1153.  
SHI JY, CAO L, YU ZC, BAI XM, ZHANG W. Comprehensive evaluation of salt tolerance of wild *Achnatherum splendens* seeds from different areas during germination period[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2022, 31(9): 1142-1153 (in Chinese).
- [20] 尹思雨, 罗玉山, 黄磊, 党俊杰, 陈洪满, 姚李波, 邓冬梅. 4株耐酸锰氧化菌的分离鉴定及性能测定[J]. 环境科学与技术, 2022, 45(10): 27-35.  
YIN SY, LUO YS, HUANG L, DANG JJ, CHEN HM, YAO LB, DENG DM. Four acid resistant manganese oxidizing bacteria: isolation, identification and performance determination[J]. Environmental Science & Technology, 2022, 45(10): 27-35 (in Chinese).
- [21] 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.  
DONG XZ, CAI MY. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [22] BUCHANAN RE, GIBBONS NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所, 译. 8版. 北京: 科学出版社, 1984.  
BUCHANAN RE, GIBBONS NE. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, trans. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [23] 赵慈, 张茹, 李思琦, 李文进, 宋哲华, 王晓慧, 沈鹏. 一株金霉素降解新菌株的分离鉴定及降解条件优化[J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(6): 2082-2088.  
ZHAO C, ZHANG R, LI SQ, LI WJ, SONG ZH, WANG XH, SHEN P. Isolation, identification and degradation conditions optimization of a new bacterial strain degrading chlortetracycline[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2022, 12(6): 2082-2088 (in Chinese).
- [24] 蔡红艳, 方玉洁, 于可艺, 黄振洲, 代航, 王多春. 基于16S rRNA和gyrB基因的施万菌种水平鉴定分析[J]. 疾病监测, 2021, 36(1): 42-47.  
CAI HY, FANG YJ, YU KY, HUANG ZZ, DAI H, WANG DC. Identification of *Shewanella* at species level based on 16S rRNA and *gyrB* genes[J]. Disease Surveillance, 2021, 36(1): 42-47 (in Chinese).
- [25] 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).
- [26] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.

- LU RK. Methods of Soil Agrochemical Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Sciencetech Press, 2000 (in Chinese).
- [27] de-BASHAN LE, HERNANDEZ JP, BASHAN Y. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation - A comprehensive evaluation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 171-189.
- [28] DODD IC, PÉREZ-ALFOCEA F. Microbial amelioration of crop salinity stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(9): 3415-3428.
- [29] 杨淦然, 马兆红, 司智霞. 山东寿光设施蔬菜土壤修复对策与实例[J]. *中国蔬菜*, 2016(6): 1-5.  
YANG HR, MA ZH, SI ZX. Countermeasures and examples of soil remediation of protected vegetables in Shouguang, Shandong Province[J]. *China Vegetables*, 2016(6): 1-5 (in Chinese).
- [30] ZHANG SY, FAN C, WANG YX, XIA YS, XIAO W, CUI XL. Salt-tolerant and plant-growth-promoting bacteria isolated from high-yield paddy soil[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2018, 64(12): 968-978.
- [31] 王艳宇, 刘爽, 李鑫, 王思文, 刘权, 殷奎德, 张兴梅. 3株耐盐碱促生菌对绿豆根际微生态的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(1): 139-145.  
WANG YY, LIU S, LI X, WANG SW, LIU Q, YIN KD, ZHANG XM. Effects of three saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria on the rhizosphere microecology of mung bean[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(1): 139-145 (in Chinese).
- [32] 代金霞, 田平雅, 沈聪, 刘爽. 耐盐植物根际促生菌筛选及促生效应研究[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(5): 968-975.  
DAI JX, TIAN PY, SHEN C, LIU S. Screening of rhizosphere bacteria from salt tolerant plants and their growth promoting effects[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(5): 968-975 (in Chinese).
- [33] LAU JA, LENNON JT. Evolutionary ecology of plant-microbe interactions: soil microbial structure alters selection on plant traits[J]. *New Phytologist*, 2011, 192(1): 215-224.
- [34] 刘少芳, 王若愚. 植物根际促生细菌提高植物耐盐性研究进展[J]. *中国沙漠*, 2019, 39(2): 1-12.  
LIU SF, WANG RY. Advance in research on Plant salt tolerance improved by plant-growth-promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Desert Research*, 2019, 39(2): 1-12 (in Chinese).
- [35] 郭彦利, 杜春辉, 于烽, 黄敏刚, 齐飞. 旱区盐生植物根际促生菌的分离鉴定及其干旱、盐胁迫下促生特性[J]. *微生物学报*, 2023, 63(2): 610-622.  
GUO YZ, DU CH, YU F, HUANG MG, QI F. Isolation and identification of growth-promoting bacteria in halophyte rhizosphere in arid region and their growth-promoting characteristics under drought and salt stresses[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(2): 610-622 (in Chinese).
- [36] 车永梅, 郭艳苹, 刘广超, 叶青, 李雅华, 赵方贵, 刘新. 菌株 C8 和 B4 的分离鉴定及其耐盐促生效果和机制[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(5): 276-285.  
CHE YM, GUO YP, LIU GC, YE Q, LI YH, ZHAO FG, LIU X. Isolation and identification of bacterial strain C8 and B4 and their halotolerant growth-promoting effects and mechanisms[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(5): 276-285 (in Chinese).
- [37] 周亚男, 韩小斌, 魏可可, 苟剑渝, 王先勃, 张成省, 郑艳芬. 烟草根际可培养微生物多样性及防病促生菌的筛选[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(12): 4649-4663.  
ZHOU YN, HAN XB, WEI KK, GOU JY, WANG XB, ZHANG CS, ZHENG YF. The culturable microbial diversity in tobacco rhizosphere and their plant growth-promoting and biocontrol properties[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(12): 4649-4663 (in Chinese).
- [38] ZHENG YF, HAN XB, ZHAO DL, WEI KK, YUAN Y, LI YQ, LIU MH, ZHANG CS. Exploring biocontrol agents from microbial keystone taxa associated to suppressive soil: a new attempt for a biocontrol strategy[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 655673.
- [39] LIU YX, QIN Y, BAI Y. Reductionist synthetic community approaches in root microbiome research[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 49: 97-102.
- [40] WEI Z, HUANG JF, YANG TJ, JOUSSET A, XU YC, SHEN QR, FRIMAN VP. Seasonal variation in the biocontrol efficiency of bacterial wilt is driven by temperature-mediated changes in bacterial competitive interactions[J]. *The Journal of Applied Ecology*, 2017, 54(5): 1440-1448.
- [41] 李英楠. 设施黄瓜促生耐盐菌的筛选及其应用效果[D]. 郑州: 河南农业大学硕士学位论文, 2021.  
LI YN. Screening and application effect of growth promoting and salt tolerant bacteria in greenhouse cucumber[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Henan Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [42] 张晓丽, 王国丽, 常芳弟, 张宏媛, 逢焕成, 张建丽, 王婧, 冀宏杰, 李玉义. 生物菌剂对根际盐碱土壤理化性质和微生物区系的影响[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(10): 1984-1992.  
ZHANG XL, WANG GL, CHANG FD, ZHANG HY, PANG HC, ZHANG JL, WANG J, JI HJ, LI YY. Effects of microbial agents on physicochemical properties and microbial flora of rhizosphere saline-alkali soil[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2022, 31(10): 1984-1992 (in Chinese).