

研究报告

荒漠银砂槐根际、非根际细菌促生特性及促萌发作用

朱艳蕾^{*1,2}, 刘家勤^{1,2}, 黄永杰^{1,2}, 寇智宁^{1,2}, 乃菲赛·奴尔哈曼提^{1,2}

1 新疆师范大学 生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830054

2 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室 干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830054

朱艳蕾, 刘家勤, 黄永杰, 寇智宁, 乃菲赛·奴尔哈曼提. 荒漠银砂槐根际、非根际细菌促生特性及促萌发作用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 3970-3986.

ZHU Yanlei, LIU Jiaqin, HUANG Yongjie, KOU Zhining, Naifeisai Nuerhamanti. Growth-promoting properties and germination-promoting effects of rhizosphere and nonrhizosphere bacteria of *Ammodendron bifolium* in deserts[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 3970-3986.

摘要: 【背景】荒漠土壤营养贫瘠、盐碱含量高, 其植物根际微生物可帮助宿主抵抗逆境, 对维持生态系统功能具有重要意义。【目的】以银砂槐根际和非根际细菌为供试菌株, 对其促生特性和促萌发作用进行研究, 以期获得优良抗逆促生菌资源。【方法】采用平板检测法测定了菌株固氮溶磷、产铁载体和产水解酶特性, 结合比色法定量测定菌株溶磷、产水解酶和产生生长素(indole-3-acetic acid, IAA)能力, 通过菌株与银砂槐种子共培养检测了菌株促萌发作用, 并观测了菌株对干旱和盐碱的抵抗能力。【结果】35株供试菌株具有固氮活性, 并且主要集中于根际变形菌门(*Proteobacteria*)和非根际厚壁菌门(*Firmicutes*); 菌株 Ba-12、Ra-2、Rb-12 和 Rb-18 具有较好的溶无机磷和有机磷能力, 并且主要来源于根际; 获得1株产铁载体菌株, 即菌株 Rb-12, 来源于根际; 发现6株菌具有明显的产生生长素能力, 其中产 IAA 量最高的菌株 Rb-5 和 Rb-12 来源于根际; 同时产淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶的8株菌主要来源于非根际, 产2种酶的10株菌大部分来源于根际, 产1种酶的13株菌主要来源于根际; 获得一株具有显著促萌发作用的菌株, 即菌株 Bc-5, 来源于非根际; 大部分供试菌株能够耐受聚乙二醇 6000 (PEG6000)浓度为30%, 盐浓度为2%–4%, pH 11.5, 并且抗逆性最强的菌株来源于根际。【结论】具有优良促生特性的菌株 Ba-12、Ra-2、Rb-5、Rb-12 和 Rb-18 等菌株主要来源于根际, 这表现出银砂槐具有明显的根际效应; 而非根际菌株 Bc-5 的促萌发作用与促生特性并无相关关系, 对此需进一步探讨。

关键词: 银砂槐; 荒漠; 根际细菌; 促生特性; 种子萌发

资助项目: 国家自然科学基金(32160309); 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2022D01A94)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32160309) and the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022D01A94).

*Corresponding author. E-mail: zhuyanlei1226@163.com

Received: 2023-12-31; Accepted: 2024-04-27; Published online: 2024-06-05

Growth-promoting properties and germination-promoting effects of rhizosphere and nonrhizosphere bacteria of *Ammodendron bifolium* in deserts

ZHU Yanlei^{*1,2}, LIU Jiaqin^{1,2}, HUANG Yongjie^{1,2}, KOU Zhining^{1,2},
Naifeisai Nuerhamanti^{1,2}

1 School of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, Xinjiang, China

2 Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, Urumqi 830054, Xinjiang, China

Abstract: [Background] Desert soil is barren and saline-alkaline, in which the rhizosphere microorganisms can help the host plants to tolerate stress, which is of great significance for maintaining the ecosystem function. [Objective] To evaluate the growth-promoting properties and germination-promoting effects of rhizosphere and nonrhizosphere bacteria of *Ammodendron bifolium*, and obtain elite bacterial resources with growth-promoting effects and stress tolerance. [Methods] We employed the plate culture method to examine the nitrogen-fixing, phosphorus-solubilizing, siderophore-secreting, and hydrolase-producing properties of the strains. The abilities of the strains to solubilize phosphorus and produce hydrolase and indole-3-acetic acid (IAA) were quantitatively measured by the colorimetric method. The germination-promoting effects of the strains were tested by strain-seed co-cultivation, and the tolerance of the strains to drought and saline-alkali stress was observed. [Results] Thirty-five strains showed nitrogen-fixing activity, mainly belonging to *Proteobacteria* in the rhizosphere and *Firmicutes* in the nonrhizosphere. Strains Ba-12, Ra-2, Rb-12, and Rb-18 had the abilities to solubilize inorganic and organic phosphorus, mainly originating from the rhizosphere. One strain (Rb-12) was capable of secreting siderophores, originating from the rhizosphere. Six strains had the ability of producing IAA, of which strains Rb-5 and Rb-12 with the highest levels of IAA came from the rhizosphere. Eight strains were capable of producing amylase, protease, and cellulase simultaneously, coming from the nonrhizosphere. The 10 strains producing two enzymes and the 13 strains producing one enzyme mainly came from the rhizosphere. One strain, i.e, Bc-5, showed a significant germination-promoting effect, originating from the nonrhizosphere. Most of the tested strains tolerated 30% PEG6000, 2%–4% NaCl, and pH 11.5, and the strain with the strongest stress tolerance came from the rhizosphere. [Conclusion] Strains Ba-12, Ra-2, Rb-5, Rb-12, and Rb-18 with excellent growth-promoting properties mainly originate from the rhizosphere, which indicates the significant rhizosphere effect of *A. bifolium*. However, the germination-promoting effect of the nonrhizosphere strain Bc-5 is not related to the growth-promoting properties, which requires further exploration. **Keywords:** *Ammodendron bifolium*; desert; rhizosphere bacteria; growth-promoting properties; seed germination

根际是指根系表面约 1–2 mm 区域内的土壤,是植物-微生物与土壤之间相互作用形成的特殊微生境^[1]。由于受到根系和周围环境的强烈影响,使根际土壤在理化特性和生物学特性上明显不同于非根际土壤。有研究表明,根际土壤具有更高的养分、酶活及更高比例的微生物数量^[2-3]。由于根际的这种特殊效应,形成了独特的互利互惠的微生物区系,而细菌是这个区系中数量最多的一类。相较于非根际细菌,根际细菌能够从荒漠植物根系获取营养,使其数量和种类得以增加^[4];作为回馈,根际细菌也能够活化土壤养分并促进植物对营养的吸收,或产生促生长物质而促进植物生长并增强抗性^[5-6]。将这类定殖于根际且能够直接或间接促进植物生长的有益细菌称为根际促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)。

研究证实植物根际是 PGPR 的“大本营”且类群丰富。目前已报道 PGPR 主要包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)等,其中 *Bacillus*、*Pseudomonas*、*Enterobacter* 是常见的根际促生菌^[7-8]。PGPR 通过与植物根系建立共生关系以促进植物生长并增强环境胁迫适应性。在荒漠环境中,PGPR 可以通过固氮、溶磷、解钾等参与植物的养分循环^[9-10];产生植物激素(如 indole-3-acetic acid, IAA)改变根系构型,合成 1-氨基环丙烷-1-羧酸盐(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶以降低胁迫乙烯水平而促进植物生长^[11-12];也能够产生铁载体、溶菌素、氰化物等抑制病原微生物^[13]。同时,PGPR 在可持续农业生产、生物防治、植物多样性保护和土壤修复方面显

示出巨大的应用潜力。据报道从阿塔卡马沙漠特有植物根际筛选出具有溶磷作用的芽孢杆菌菌株能显著促进番茄种子和幼苗生长^[14];从荒漠植物山柑根际分离出的粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*) 在盐胁迫下接种到小麦植株上,发现能显著促进小麦植株生长,并提高脯氨酸、可溶性总糖和吲哚乙酸的渗透保护剂水平^[15]。Nascimento 等^[16]发现巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) STB1 基因组序列中有多种与土壤和根际定殖有关的胁迫抗性基因,该菌能够通过产生植物生长调节激素增强植物抵抗逆境能力。

在荒漠化区域,植被稀少、气候干旱、土壤营养贫乏及盐碱含量高是典型特征。有研究表明灌木根系发达,持水力强,枯落物丰富,具有富集有机质的“肥岛效应”,因此根际微生物生物量和活性明显优于草本植物,表现出显著的根际正效应^[17]。对有机质含量少的荒漠贫瘠土壤而言,灌木的这种根际正效应更明显,这对于植被恢复和荒漠生态系统维持具有重要作用。银砂槐(*Ammodendron bifolium*)为我国新疆维吾尔自治区霍城县塔克尔莫乎尔荒漠特有植物,属豆科银砂槐属落叶灌木树种。银砂槐根系发达且具有耐干旱、耐沙埋特性,是优良的防风固沙和水土保持灌木。研究发现长期处于干旱环境的荒漠植物根际包含大量的植物促生菌,这些促生菌可以缓解荒漠逆境对植物造成的胁迫并促进植物生长^[18-19]。为更深入调查银砂槐根际细菌促生效应,本文以实验室前期分离培养的根际和非根际细菌为研究对象^[20],采用定性和定量实验相结合的方法分析其促生特性和抗盐碱特性,采用萌发实验阐明其促生效应,以挖掘荒漠植物优良促生菌资源,并进一步探讨银砂槐对逆境胁迫的适应机制,这对荒漠区植被恢复和荒漠化防治等具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 样 品

从本实验室前期分离鉴定的银砂槐根际及非根际 80 株分离株中选择不同属或近似种的 47 株代表性菌株作为供试菌株^[20], 菌株序列登录号及其基本信息见表 1; 供试银砂槐种子于 2021 年 7 月采自新疆伊犁河谷西部的塔克尔莫乎尔荒漠。

1.2 培养基

R₂A 培养基^[21]、阿须贝(Ashby)固体培养基^[22]、蒙金娜有机磷培养基^[23]、PKO 无机磷培养基^[24]、CAS 固体培养基^[25]按文献方法制备。淀粉琼脂培养基、淀粉酶发酵培养基、脱脂牛奶琼脂培养基、脱脂牛奶液体培养基、纤维素琼脂培养基、纤维素发酵培养基按文献^[26-30]方法分别制备。

1.3 主要试剂和仪器

参考文献^[22]配制钼锑贮存液、钼锑钒显色剂、Spot 比色液、S2 比色液和 2,6-二硝基苯酚指示剂; 参考文献^[27]配制 DNS 显色液和淀粉含量 1% pH 6.0 的磷酸柠檬酸缓冲液。

恒温培养箱, 上海齐欣科学仪器有限公司; 恒温振荡培养箱, 上海天呈仪器制造有限公司; 紫外/可见光分光光度计, 上海元析仪器有限公司。

1.4 分离株固氮和溶磷能力的检测

将甘油管中保存的分离株接种于 R₂A 固体培养基进行活化, 30 °C 恒温培养 10 d, 待长出单菌落后使用接种环划线于 Ashby 固体培养基上, 7 d 后观察培养基中菌株生长情况。

将分离株接种于 R₂A 液体培养基中, 30 °C、150 r/min 摇床培养 20 h, 吸取 2.0 μL 菌液分别点接于 PKO 无机磷培养基和蒙金娜有机磷培养基上, 30 °C 恒温培养 10 d, 根据解磷圈直径 *D* 与菌落直径 *d* 的比值大小初步判断菌株溶磷(无机磷和有机磷)能力的强弱^[31]。依据文献^[23,32]

方法, 对上述形成透明圈的分离株进行溶磷能力的定量检测。按 1% 接种量将活化菌株悬浮液 ($OD_{600}=1.0$) 分别接种至 50 mL PKO 无机磷液体培养基和蒙金娜有机磷液体培养基, 30 °C、150 r/min 培养 5 d, 8 000 r/min 离心 10 min, 取 5 mL 上清液加入 50 mL 容量瓶, 滴加 2,6-二硝基苯酚指示剂 2 滴, 用稀盐酸将溶液调至无色, 最后加 5 mL 钼锑钒显色剂, 用去离子水定容, 以空白培养基作为对照, 于 720 nm 波长下比色测定吸光度值, 参照 KH_2PO_4 标准曲线计算发酵液中有磷含量。

1.5 分离株产铁载体能力的定性检测

根据 Ali 等^[25]所述, 将菌株用 R₂A 液体培养基活化后, 取 2 μL 点接于 CAS 固体培养基, 30 °C 静置培养 10 d, 观察菌落周围有无橙色或紫色光晕, 若有, 则证明菌株产铁载体, 记录晕圈直径(*D*)与菌落直径(*d*)。

1.6 产 IAA 能力的测定

依据文献^[23]方法, 采用 spot 比色法检测分离株是否具有产 IAA 能力。具体步骤如下: 按 1% 接种量将分离株接种于含 100 mg/L 色氨酸的 R₂A 液体培养基中, 于 37 °C、150 r/min 振荡培养 3 d, 将菌悬液与 spot 比色液等体积混合于白色陶瓷比色板, 避光静置 30 min, 以 R₂A 培养基为阴性对照, 颜色变红者为产 IAA 阳性。取 5 mL 阳性菌株培养液, 于 8 000 r/min 下离心 10 min, 取 2 mL 上清液与等体积 S2 比色液混合, 避光静置 30 min, 以空白培养基为对照, 在 530 nm 波长下比色测定吸光度值, 以纯 IAA 为标准计算待测样品 IAA 含量。

1.7 分离株产酶活性的定性及定量检测

取 2 μL 活化种子液分别点接于脱脂牛奶琼脂、淀粉琼脂、纤维素琼脂培养基上, 28 °C 静置培养 3 d。若脱脂牛奶琼脂培养基上菌落出现透明圈, 则为蛋白酶阳性菌^[28]; 将 0.1% 碘液加

表1 分离株 16S rRNA 基因序列登录号及其基本信息

Table 1 The accession number of 16S rRNA gene sequence of the isolates and its basic information

Strain code	Accession number	Most closely related genus or species	Phylum
Ba-6	OP390738	<i>Pseudomonas fluorescens</i> JCM5963	Proteobacteria
Ba-7	OP390739	<i>Neobacillus niacini</i> NBRC15566	Firmicutes
Ba-8	OP390740	<i>Bacillus safensis</i> FO-36b	Firmicutes
Ba-11	OP390743	<i>Lysobacter rhizophilus</i> THG-YS3.6	Proteobacteria
Ba-12	OP390744	<i>Paenibacillus peoriae</i> DSM8320	Firmicutes
Ba-18	OP390748	<i>Streptomyces coeruleofuscus</i> NBRC12757	Actinobacteria
Ra-2	OP390752	<i>Paracoccus yeei</i> G1212(NR029038)	Proteobacteria
Ra-4	OP390753	<i>Sphingosinicella cucumeris</i> THG-sc1	Proteobacteria
Ra-5	OP390754	<i>Moraxella osloensis</i> NCTC10465	Proteobacteria
Ra-6	OP390755	<i>Fictibacillus barbaricus</i> V2-BIII-A2	Firmicutes
Ra-7	OP390756	<i>Priestia endophytica</i> 2DT	Proteobacteria
Ra-10	OP390757	<i>Sphingomonas</i> sp. ZDH117	Proteobacteria
Ra-13	OP390759	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	Actinobacteria
Ra-17	OP390761	<i>Brevundimonas basaltis</i> J22	Proteobacteria
Ra-18	OP390762	<i>Niabella ginsengisoli</i> GR10-1	Bacteroidetes
Ra-19	OP390763	<i>Inquilinus ginsengisoli</i> Gsoil080	Proteobacteria
Ra-23	OP390764	<i>Chitinophaga chungangae</i> MAH-28	Bacteroidetes
Ra-27	OP390767	<i>Streptomyces tibetensis</i> XZ46	Actinobacteria
Ra-28	OP390768	<i>Thermomonospora umbrina</i> JCM6837	Actinobacteria
Bb-2	OP390770	<i>Arthrobacter globiformis</i> JCM 1332	Actinobacteria
Bb-5	OP390772	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Firmicutes
Bb-6	OP390773	<i>Metabacillus idriensis</i> SMC 4352-2	Firmicutes
Bb-10	OP390775	<i>Agromyces albus</i> VKM Ac-1800	Actinobacteria
Bb-12	OP390776	<i>Bacillus rugosus</i> SPB7	Firmicutes
Bb-15	OP390777	<i>Bacillus subtilis</i> IAM12118	Firmicutes
Bb-21	OP390778	<i>Brevibacillus ginsengisoli</i> Gsoil3088	Firmicutes
Bb-28	OP390780	<i>Neobacillus cucumis</i> AP-6	Firmicutes
Rb-5	OP390783	<i>Mesorhizobium terrae</i> NIBRBAC000500504	Proteobacteria
Rb-9	OP390786	<i>Bosea vaviloviae</i> Vaf-18	Proteobacteria
Rb-11	OP390788	<i>Chitinophaga japonensis</i> NBRC16041	Bacteroidetes
Rb-12	OP390789	<i>Pantoea agglomerans</i> DSM3493	Proteobacteria
Rb-13	OP390790	<i>Chitinophaga alhagiae</i> T22	Bacteroidetes
Rb-17	OP390792	<i>Rhizobium sullae</i> IS123	Proteobacteria
Rb-18	OP390793	<i>Neorhizobium galegae</i> NBRC14965	Proteobacteria
Rb-19	OP390794	<i>Streptomyces peucetius</i> NBRC100596	Actinobacteria
Bc-2	OP390797	<i>Nocardioides albus</i> KCTC9186(T)	Actinobacteria
Bc-3	OP390798	<i>Nonomuraea turkmeniaca</i> DSM 43926	Actinobacteria
Bc-4	OP390799	<i>Promicromonospora xylanilytica</i> YIM61515	Actinobacteria
Bc-5	OP390800	<i>Peribacillus frigoritolerans</i> DSM8801	Firmicutes
Bc-13	OP390804	<i>Neobacillus drentensis</i> NBRC102427	Firmicutes
Rc-1	OP390805	<i>Bacillus stercoris</i> D7XPN1	Firmicutes
Rc-2	OP390806	<i>Luteimonas cucumeris</i> Y4	Proteobacteria
Rc-3	OP390807	<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i> LPM-5	Proteobacteria
Rc-7	OP390809	<i>Devosia insulae</i> DS-56	Proteobacteria
Rc-9	OP390810	<i>Pseudoxanthomonas wuyuanensis</i> XC21-2	Proteobacteria
Rc-10	OP390811	<i>Agrobacterium rubi</i> NBRC13261	Proteobacteria
Rc-19	OP390815	<i>Microbacterium algeriense</i> G1	Actinobacteria

至淀粉琼脂培养基后,若 5 min 内有透明圈出现,则为淀粉酶阳性菌^[29];将 0.1%刚果红染液加至纤维素琼脂培养基,染色 2 h,弃去染液,用 1.0 mol/L NaCl 溶液洗至无色,之后用 NaCl 溶液浸泡 20 min,若有透明圈出现则为纤维素酶阳性菌^[30]。同时记录各检测平板上透明圈直径(D)与菌落直径(d)。依据文献[30,33-34]方法,对上述产酶分离株进行酶活定量检测,即用 DNS 法测定淀粉酶及纤维素酶活性,福林法测定蛋白酶活性。

1.8 分离株抗逆性的测定

聚乙二醇 6000 (PEG6000)亲水性好,能够降低环境水势,并且对细胞无毒害,是一种广泛应用于模拟干旱胁迫的高分子聚合物^[35]。因此本文采用 PEG6000 模拟液体培养基水势,以此进行菌株细胞的干旱耐受性检测。使用 NaCl、NaOH 溶液对菌株的耐盐和耐碱能力进行检测。用 NaCl 将 R₂A 培养基中含盐量分别设置为 0%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%和 20%;用 2 mol/L NaOH 溶液将 R₂A 培养基的 pH 值设为 7.5、8.5、9.5、10.5、11.5、12.5 和 13.5。吸取 2 μ L 活化菌液分别点接于不同浓度 NaCl 和不同 pH 梯度的 R₂A 固体培养基上,28 $^{\circ}$ C 静置培养 7 d,通过菌株生长情况以表征菌株耐盐碱能力。将 0%、10%、20%、30%、40%、50%、60% PEG6000 分别添加至 R₂A 液体培养基以模拟干旱胁迫,按 1%接种量将分离株分别接入装有 5 mL PEG6000 培养基的试管

中,37 $^{\circ}$ C、150 r/min 恒温振荡培养 3 d,通过测定培养液 OD_{600} 值以检测菌株是否生长,若生长则表示菌株能够耐受该胁迫。

1.9 分离株的促萌发试验

将分离株用 R₂A 液体培养基活化后,按 1%接种量转接于新的 R₂A 培养基中,30 $^{\circ}$ C、150 r/min 培养 17 h,4 $^{\circ}$ C 条件下 8 000 r/min 离心 5 min,收集细胞沉淀,用 10 mL 10 mmol/L PBS 将沉淀冲洗 2 次,最后用 PBS 将沉淀悬浮并调至 OD_{600} 为 1.0,备用。采用文献[36]方法对银砂槐种子表面消毒,将表面消毒种子破口后浸入菌悬液 3 h,播种于含无菌水的双层滤纸上,每皿 30 粒,于 20 $^{\circ}$ C 暗培养 15 d,以 PBS 浸种种子为对照。记录种子萌发数、根长、鲜重(fresh weight, FW)及干重(Dry weight, DW)。根据鲜重和干重计算种子的相对含水量,即(FW-DW)/DW。

1.10 数据处理与分析

以上实验处理均重复 3 次,结果以平均值 \pm SD 表示,通过 SPSS 20.0 软件对数据进行显著性分析,利用 GraphPad Prism 5 作图。

2 结果与分析

2.1 分离株对营养物质的活化作用

2.1.1 分离株的固氮活性

从供试菌株中共检测到 35 株菌(占 74.5%)具有固氮活性,其中根际细菌 18 株和非根际细菌 17 株(表 2)。厚壁菌门(*Firmicutes*)中有 12 株(根际 2 株,非根际 10 株)具有固氮活性,其中

表 2 银砂槐根际及非根际细菌基本特征

Table 2 Basic characteristics of rhizosphere and nonrhizosphere bacteria from *Ammodendron bifolium*

Strain code	N fixation	Amylase (D/d)	Protease (D/d)	Cellulase (D/d)	Drought (%)	Salt (%)	Alkali (pH)
Ba-6	+++	/	/	2.00	30	4.0	12.5
Ba-7	+	/	/	/	30	4.0	9.5
Ba-8	++	2.16	2.23	1.86	30	12.0	12.5
Ba-11	+	/	/	/	30	0.5	11.5

(待续)

(续表 2)

Strain code	N fixation	Amylase (<i>D/d</i>)	Protease (<i>D/d</i>)	Cellulase (<i>D/d</i>)	Drought (%)	Salt (%)	Alkali (pH)
Ba-12	+++	1.62	2.15	4.98	10	4.0	11.5
Ba-18	+++	2.34	2.12	/	30	2.0	10.5
Ra-2	+++	1.46	2.89	2.44	30	4.0	11.5
Ra-4	-	/	/	1.35	30	6.0	11.5
Ra-5	-	/	/	2.19	60	18.0	11.5
Ra-6	+	1.88	1.74	1.57	30	6.0	11.5
Ra-7	+	/	1.48	/	30	14.0	11.5
Ra-10	-	/	/	/	10	4.0	11.5
Ra-13	++	/	1.69	2.51	30	12.0	13.5
Ra-17	-	/	/	2.17	30	12.0	11.5
Ra-18	+	/	/	/	40	2.0	11.5
Ra-19	+	/	/	/	30	2.0	11.5
Ra-23	-	/	/	/	30	6.0	11.5
Ra-27	+++	/	1.24	/	40	4.0	11.5
Ra-28	+	/	1.65	/	30	4.0	12.5
Bb-2	+	/	/	/	30	2.0	11.5
Bb-5	+++	/	1.46	/	30	14.0	12.5
Bb-6	+	1.65	1.83	2.09	30	4.0	12.5
Bb-10	-	/	/	/	20	4.0	11.5
Bb-12	++	1.78	2.07	4.58	30	12.0	11.5
Bb-15	+	1.41	2.43	3.15	30	2.0	12.5
Bb-21	-	/	/	/	20	6.0	11.5
Bb-28	+	/	/	/	30	4.0	12.5
Rb-5	+++	/	/	/	30	4.0	11.5
Rb-9	+	/	/	/	30	2.0	11.5
Rb-11	-	/	1.90	/	10	6.0	11.5
Rb-12	+++	/	/	/	30	6.0	11.5
Rb-13	-	/	2.58	/	30	0.5	11.5
Rb-17	+++	/	/	/	30	2.0	9.5
Rb-18	+++	/	/	/	30	18.0	11.5
Rb-19	+++	1.13	1.28	/	30	6.0	11.5
Bc-2	+++	1.40	1.52	/	50	8.0	11.5
Bc-3	+++	/	/	/	30	2.0	11.5
Bc-4	+++	2.67	1.89	/	40	2.0	12.5
Bc-5	+	1.41	1.40	/	30	2.0	11.5
Bc-13	+	/	/	2.93	30	8.0	12.5
Rc-1	+	2.16	1.49	/	20	2.0	11.5
Rc-2	-	1.66	1.68	/	30	2.0	11.5
Rc-3	-	1.24	1.79	/	30	4.0	11.5
Rc-7	-	2.20	2.15	/	60	4.0	12.5
Rc-9	++	/	/	1.74	40	12.0	11.5
Rc-10	+	2.79	2.13	2.69	30	8.0	11.5
Rc-19	+	/	/	2.06	40	8.0	12.5

+++; 生长旺盛; ++: 生长良好; +: 生长较少; -: 不生长; /: 未测出. 样品编号中 B 为非根际土壤, R 为根际土壤
 +++: Vigorous growth; ++: Good growth; +: Less growth; -: No growth; /: It was not detected. In the sample code, B indicates nonrhizosphere and R indicates rhizosphere.

类芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.) Ba-12 和乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.) Bb-5 在无氮培养基上生长旺盛;变形菌门(*Proteobacteria*)中有 12 株(根际 10 株,非根际 2 株)具有固氮活性,其中假单胞杆菌属(*Pseudomonas* sp.) Ba-6、副球菌属(*Paracoccus* sp.) Ra-2、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium* sp.) Rb-5、泛菌属(*Pantoea* sp.) Rb-12、根瘤菌属(*Rhizobium* sp.) Rb-17 和新根瘤菌属(*Neorhizobium* sp.) Rb-18 在无氮培养基上生长旺盛;放线菌门(*Actinobacteria*)中有 10 株(根际 5 株,非根际 5 株)具有固氮活性,其中链霉菌属(*Streptomyces* sp.) Ba-18、链霉菌属(*Streptomyces* sp.) Ra-27、链霉菌属(*Streptomyces* sp.) Rb-19、类诺卡氏菌(*Nocardioideis* sp.) Bc-2、野野村菌属(*Nonomuraea* sp.) Bc-3 和原小单孢菌属(*Promicromonospora* sp.) Bc-4 在无氮培养基上生长旺盛;拟杆菌门(*Bacteroidetes*)仅 1 株,为根际细菌阿巴菌属(*Niabella* sp.) Ra-18。可以看出,

Firmicutes 中具有固氮活性的菌株主要存在于银砂槐非根际,而 *Proteobacteria* 中具有固氮活性的菌株主要存在于银砂槐根际。

2.1.2 分离株溶磷特性

由表 3 所示,8 株具有无机磷溶解能力(6 株根际菌,2 株非根际菌),9 株具有有机磷溶解能力(7 株根际菌,2 株非根际菌),溶磷菌主要归属于根际的变形菌门(*Proteobacteria*)。溶无机磷菌株的溶磷圈直径/菌落直径(D/d)为 1.07–1.38,溶磷含量为 6.20–31.24 $\mu\text{g/mL}$;其中菌株 Ra-2 (31.24 $\mu\text{g/mL}$)和 Ba-12 (29.74 $\mu\text{g/mL}$)溶磷能力最高,其次为菌株 Bb-12 (23.58 $\mu\text{g/mL}$)和 Rb-5 (22.02 $\mu\text{g/mL}$)。溶有机磷菌株的溶磷圈直径/菌落直径(D/d)为 1.10–1.73,溶磷含量为 2.65–17.82 $\mu\text{g/mL}$ 。相较于未接菌处理,具有显著溶有机磷的菌株共 5 株,其中菌株 Ra-2 的 D/d 值最高(图 1),溶有机磷含量也最高,为 17.82 $\mu\text{g/mL}$;其次为菌株 Ra-7 (11.88 $\mu\text{g/mL}$)、

表 3 银砂槐根际及非根际分离株的溶磷能力

Table 3 The phosphate-solubilizing ability of the tested isolates from *Ammodendron bifolium* rhizosphere and nonrhizosphere

Strain code	Inorganic phosphorus		Organophosphorus	
	D/d	Solubilized P ($\mu\text{g/mL}$)	D/d	Solubilized P ($\mu\text{g/mL}$)
CK	/	1.24±0.07	/	2.88±0.03
Ba-12	1.26	29.74±0.30*	1.26	10.19±0.48*
Ra-2	1.24	31.24±0.84*	1.73	17.82±0.80*
Ra-7	/	/	1.24	11.88±0.11*
Ra-10	/	/	1.10	3.79±0.08
Ra-18	/	/	1.20	4.17±0.09
Ra-23	/	/	1.29	2.65±0.05
Ra-27	1.19	8.29±0.20*	/	/
Bb-6	/	/	1.13	3.97±0.19
Bb-12	1.24	23.58±0.93*	/	/
Rb-5	1.21	22.02±1.49*	/	/
Rb-12	1.38	6.20±0.06*	1.34	7.35±0.52*
Rb-18	1.35	6.57±0.75*	1.10	11.38±0.61*
Rc-10	1.07	9.26±0.72*	/	/

D/d : 溶磷圈直径/菌落直径; /: 未测出; *: $P<0.05$

D/d : The diameter of phosphate-solubilizing halo, i.e., halo/colony diameter; /: it was not detected; *: $P<0.05$.

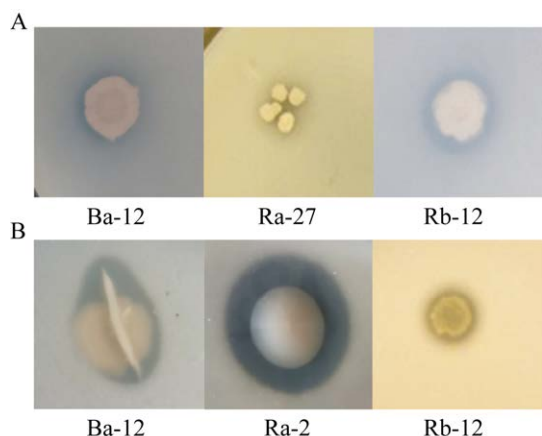


图 1 银砂槐根际及非根际典型菌株的溶磷特性
A: 无机磷的溶解; B: 有机磷的溶解

Figure 1 The phosphate-solubilizing properties of some typical strains from *A. bifolium* rhizosphere and nonrhizosphere. A: Solubilization of inorganic phosphorus; B: Solubilization of organophosphorus.

Rb-18 (11.38 $\mu\text{g/mL}$)、Ba-12 (10.19 $\mu\text{g/mL}$)和 Rb-12 (7.35 $\mu\text{g/mL}$)。通过分析可以发现,同时溶无机磷和有机磷的菌株有 4 株,即菌株 Ba-12、Ra-2、Rb-12 和 Rb-18,其中菌株 Ba-12 和 Ra-2 具有较高溶磷能力(表 3,图 1)。

2.1.3 分离株的产铁载体能力

使用 CAS 固体培养基对分离株进行产铁载体能力的检测,只测得一株具有产铁载体能力的菌株,为菌株 Rb-12,其周围可产生明显的橙色光晕(图 2),对其进行晕圈直径与菌落直径进行测定,其 D/d 比值为 1.79。

2.2 分离株的产 IAA 情况

使用添加 L-色氨酸的 R_2A 液体培养基对分离菌株进行产 IAA 能力检测,共发现 6 株菌具有明显的产 IAA 能力(图 3),主要集中在根际土壤的变形菌门(*Proteobacteria*)。其中 5 株为根际细菌,分别是菌株 Ra-2、普里斯特氏菌属(*Priestia* sp.) Ra-7、Rb-5、Rb-12 和微杆菌属(*Microbacterium* sp.) Rc-19;只有 1 株为非根际菌株,即 *Bacillus* sp. Ba-8 (图 3)。对其产生长素



图 2 银砂槐根际菌泛菌属(*Pantoea* sp.) Rb-12 铁载体产生

Figure 2 Siderophore production by *Pantoea* sp. Rb-12 from *A. bifolium* rhizosphere.

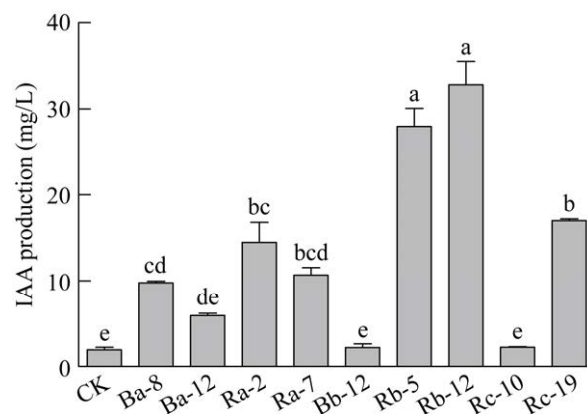


图 3 银砂槐根际及非根际分离株 IAA 产生 不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平各处理间差异显著。下同

Figure 3 IAA production by the tested isolates from *A. bifolium* rhizosphere and nonrhizosphere. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at $P<0.05$. The same below.

的含量进行测定,发现菌株 Rb-12 和 Rb-5 产 IAA 能力最强,其 IAA 含量分别为 32.83 mg/L 和 27.99 mg/L;其次是 Rc-19 和 Ra-2,其 IAA 含量分别为 17.02 mg/L 和 14.48 mg/L,而菌株 Ba-8 和 Ra-7 产 IAA 含量最少,分别为 9.77 mg/L 和 10.67 mg/L (图 3)。

2.3 分离株的产水解酶情况

通过对 47 株菌进行产酶活性检测, 获得淀粉酶阳性菌 17 株、蛋白酶阳性菌 24 株、纤维素酶阳性菌 16 株(表 2)。产淀粉酶菌株 D/d 范围为 1.13–2.79 (表 2, 图 4A), 其酶活为 0.016–0.072 U/mL(图 4B), 主要分布在非根际土壤的厚壁菌门(*Firmicutes*), 其中菌株 Ba-8、Bc-5、

Rc-2、Rc-7 和 Rc-10 酶活最大为 0.072 U/mL, 其次是菌株 Ba-12 酶活较大为 0.071 U/mL。产蛋白酶菌株透明圈直径/菌落直径(D/d)范围为 1.24–2.89 (表 2, 图 4C), 其酶活为 1.75–6.15 U/mL(图 4D), 主要分布在非根际土壤的厚壁菌门(*Firmicutes*)及根际土壤的变形菌门(*Proteobacteria*), 其中菌株 Ba-12、Ba-18 以及高温单孢菌属

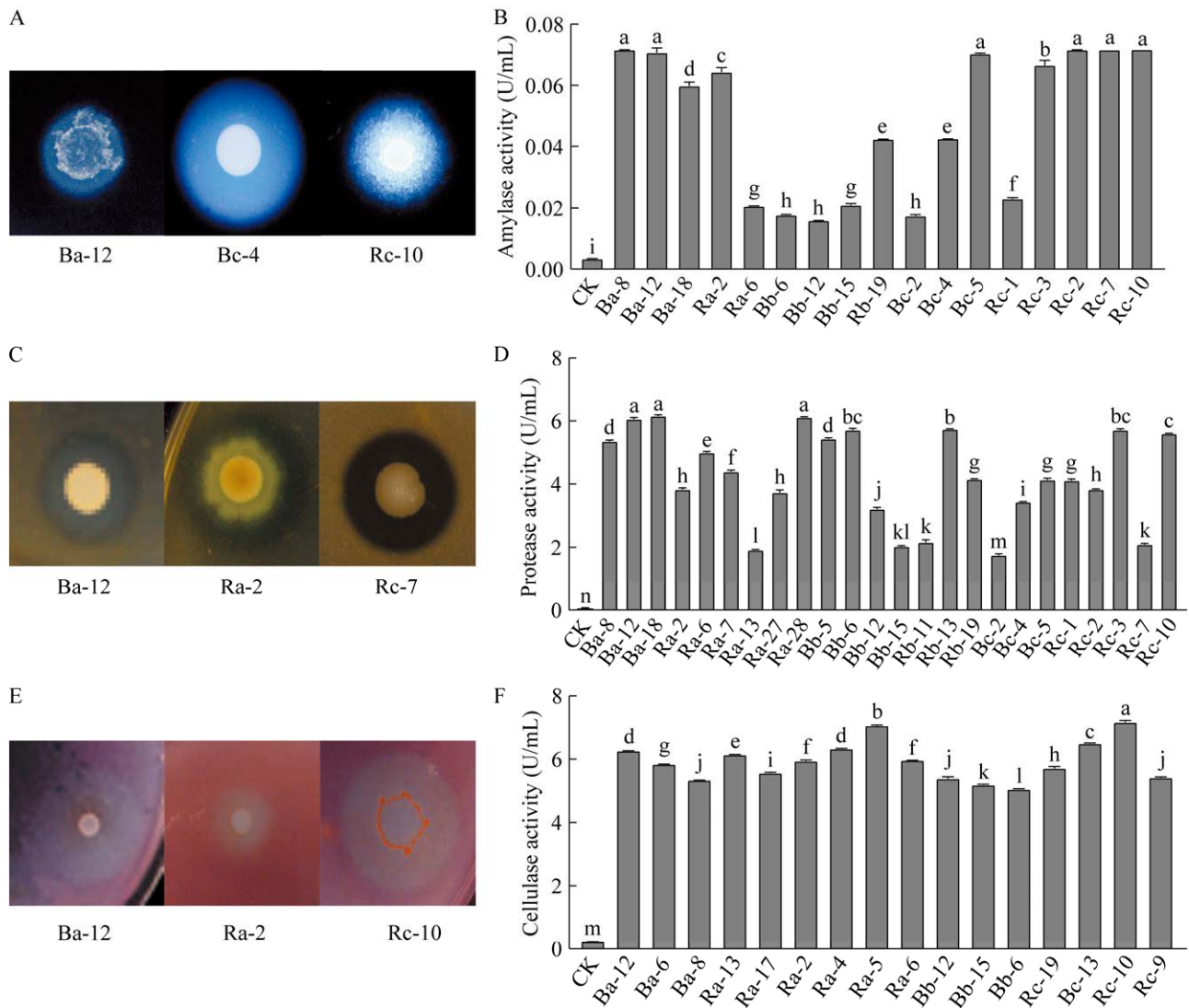


图 4 银砂槐根际及非根际典型菌株水解酶产生 A: 产淀粉酶菌株; B: 产淀粉酶活力; C: 产蛋白酶菌株; D: 产蛋白酶活力; E: 产纤维素酶菌株; F: 产纤维素酶活力

Figure 4 The hydrolase production by some typical strains from *A. bifolium* rhizosphere and nonrhizosphere. A: Amylase production; B: Amylase activity; C: Protease production; D: Protease activity; E: Cellulase production; F: Cellulase activity.

(*Thermomonospora* sp.) Ra-28 的酶活最高, 分别为 6.05、6.19 和 6.11 U/mL。产纤维素酶菌株 *D/d* 范围在 1.35–4.98 (表 2, 图 4E), 其酶活范围在 5.05–7.18 U/mL (图 4F), 主要分布在非根际土壤的厚壁菌门(*Firmicutes*)和根际土壤的变形菌门(*Proteobacteria*), 其中假黄色单胞菌属(*Pseudoxanthomonas* sp.) Rc-10 (7.18 U/mL)和短波单胞菌属(*Brevundimonas* sp.) Ra-5 (7.06 U/mL)产纤维素酶活力最高。

此外, 本文发现同时具有蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶水解活性的菌株有 8 株, 分别为菌株 Ba-8、Ba-12、Ra-2、Ra-6、Bb-6、Bb-12、Bb-15 和 Rc-10, 主要集中在厚壁菌门; 具有 2 种酶水解活性的菌株有 10 株, 同时产淀粉酶和蛋白酶的菌株有 9 株, 分别为菌株 Ba-18、Rb-19、Bc-2、Bc-4、Bc-5、Rc-1、Rc-2、Rc-3 和 Rc-7, 主要分布在变形菌门; 同时产蛋白酶和纤维素酶的仅 1 株, 为菌株 Ra-13; 仅具有 1 种酶水解活性的菌株有 13 株, 仅产蛋白酶的菌株共 6 株, 即 Ra-7、Ra-27、Ra-28、Bb-5、Rb-11、Rb-13; 仅产纤维素酶的菌株共 7 株, 即 Ba-6、Ra-4、Ra-5、Ra-17、Bc-13、Rc-9 和 Rc-19。

2.4 分离株的促萌发作用

将银砂槐种子浸在 47 株菌细胞悬浮液后进行萌发试验, 发现 1 株具有显著促进萌发的菌株。浸种 15 d 后, 近芽孢杆菌属(*Peribacillus* sp.) Bc-5 显著促进了种子萌发, 其萌发率达到 51.1%, Rb-5 和农杆菌属(*Agrobacterium* sp.) Rc-10 接种后萌发率分别为 23.3%和 15.5%, 与未接种处理(萌发率为 17.7%)无明显差异(图 5A)。如图 5B 和 5C 所示, 菌株 Bc-5 接种处理后促进了种子萌发后的进一步吸水, 从而使其根获得进一步生长(图 5D)。相较于未接种处理, 菌株 Bc-5 处理使种子鲜重增加了 41.1%, 相对吸

水量增加了 53.6%, 根长增加了 9.14 mm; 而菌株 Rb-5 和 Rc-10 处理后鲜重、相对含水量和根长与对照相比无显著差异(图 5)。

2.5 分离株的抗逆性

通过观察 47 株菌对不同 PEG6000 浓度的抗旱能力, 发现 47 株菌中在 30% PEG6000 浓度下能生长的菌有 33 株菌, 占 70.2%; 抗旱性在 10%–20%的有 6 株菌; 而抗旱性在 40%–60%的有 8 株菌, 即莫拉氏菌属(*Moraxella* sp.) Ra-5 (60%)、Ra-18 (40%)、Ra-27 (40%)、Bc-2 (50%)、Bc-4 (40%)、戴沃斯菌属(*Devosia* sp.) Rc-7 (60%)、Rc-9 (40%)和 Rc-19 (40%) (表 2)。通过观察不同盐浓度梯度下菌株的生长情况, 发现 47 株菌的耐盐浓度范围在 0.5%–18%, 其中 23 株菌(占 48.9%)的耐盐浓度在 2%–4%; 有 13 株菌的耐盐浓度在 6%–8%; 有 9 株菌的耐盐浓度较高(>10%), 即菌株 Ba-8 (12%)、Ra-5 (18%)、Ra-7 (14%)、耐冷类节杆菌(*Paenarthrobacter* sp.) Ra-13 (12%)、Ra-17 (12%)、Bb-5 (14%)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.) Bb-12 (12%)、Rb-18 (18%)、Rc-9 (12%); 2 株菌的耐盐浓度小于 2%, 分别为菌株 Ba-11 和 Rb-13 (表 2)。通过 47 株菌的耐碱能力测定, 发现所有菌株 pH 耐受性均大于 9.5, 其中 32 株菌耐受 pH 值为 11.5, 占 68.1%; 有 11 株菌 pH 耐受性为 12.5; 有 3 株菌 pH 耐受性为 9.5–10.5; 此外有 1 株菌可耐受 pH 13.5, 即菌株 Ra-13 (表 2)。由以上分析得知, 银砂槐根际和非根际中大部分菌株耐受的 PEG6000 浓度为 30%, 耐受的盐浓度为 2%–4%, 耐受的 pH 值为 11.5。

3 讨论与结论

荒漠区域土壤养分贫瘠, 在长期的生长适应过程中, 荒漠植物根际富集了丰富的根际促

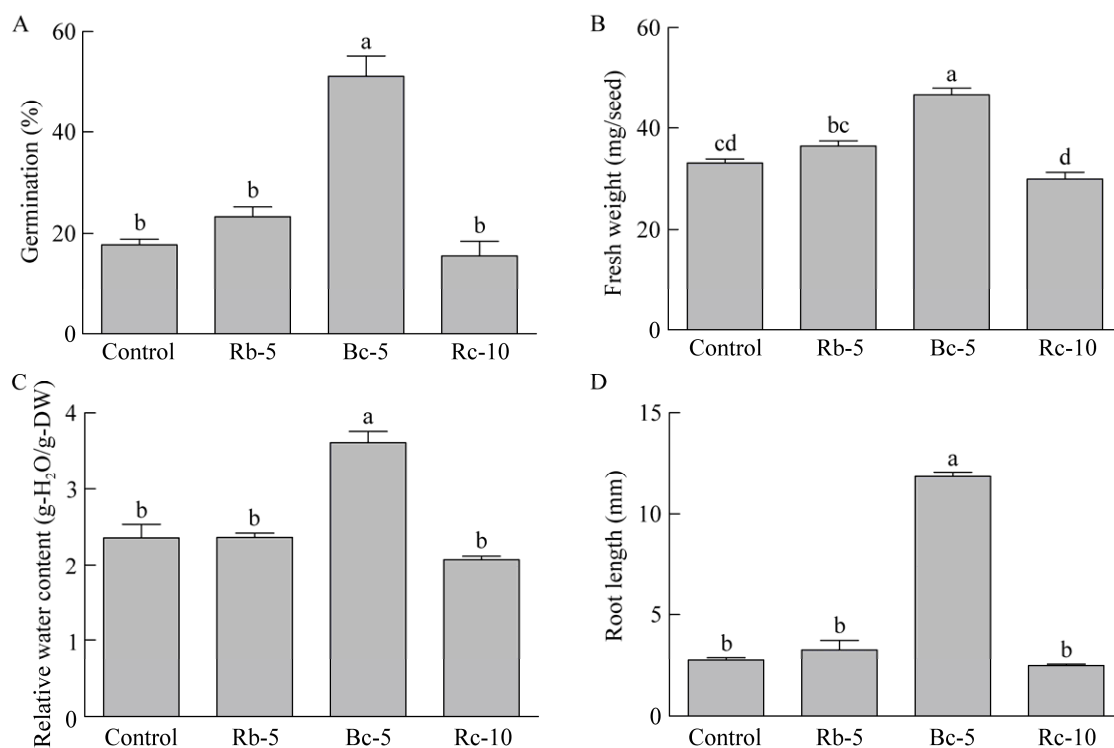


图 5 供试促生菌株对种子萌发(A)、鲜重(B)、相对含水量(C)和根长(D)的影响

Figure 5 The effect of selected growth-promoting isolates on seed germination (A), fresh weight (B), relative water (C) content and root length (D).

生菌,帮助植物抵抗逆境并促进其生长。目前已从梭梭、骆驼蓬、柠条、珍珠猪毛菜和山柑等荒漠植物根际中分离出 *Bacillus*、*Pseudomonas* 和 *Pantoea* 等属菌株,这些菌株通过固氮、溶磷、产 IAA、产铁载体和产水解酶等促进荒漠植物生长并提高抗病性^[37]。本研究从荒漠银砂槐生境土壤获得具有固氮活性的菌株达 74%;据报道该荒漠含氮量极低(总氮<0.353 g/kg, 碱解氮<18.62 mg/kg),这可能为固氮菌的生存创造了条件。我们发现具有固氮、溶磷和产 IAA 能力的分离株,主要集中在银砂槐根际变形菌门(*Proteobacteria*),这与 Zhu 等^[20]的研究结果相符合。其中根际 *Proteobacteria* 中菌株 Rb-17、Rb-18 和 Rb-5 已被广泛研究和应用,其对豆科作物的促生作用具有明显优势^[38];并且本文发

现菌株 Rb-5 具有溶无机磷能力,而 Rb-18 不仅具有溶无机磷能力也具有溶有机磷能力,这 2 株菌在土壤氮磷的积累和转化方面可能具有较好的潜力。有研究表明 *Proteobacteria* 中根瘤菌(*Rhizobium*)、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)或固氮螺菌(*Azospirillum*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)等通过产 IAA 等激素来促进植物生长发育^[39-41]。大田试验表明变形菌门中黏质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*) EB67 和假单胞菌(*Pseudomonas*) CDB35 菌株分别使玉米籽粒产量提高 85%和 64%^[42],并且该门物种对烟草具有促生和抗逆作用^[43-44]。因此,本文根际 *Proteobacteria* 中的优良促生菌株对其宿主也可能发挥重要的促生抗逆作用,从而使银砂槐能够生长于干旱贫瘠的荒漠土壤。

本研究从银砂槐根际获得 1 株具有固氮、溶磷、产铁载体、产 IAA 和较强抗旱抗盐碱能力的菌株 Rb-12, 已发现该属菌株存在于大量植物的根际和体内。有研究表明沙漠骆驼刺内生菌 *Pantoea alhagi* LTYR-11Z^T 具有较强的产 IAA (17.73 mg/L)、铁载体和溶无机磷能力及耐旱(20%)、耐盐(9%)能力, 还能促进干旱胁迫下小麦植株的生长^[45]。张磊等^[46]报道泛菌属(*Pantoea*)马铃薯内生细菌具有极高的产 IAA 能力, 高达 186.07 mg/L, 该属菌株还具有溶无机磷能力, 并能促进小白菜提高产量; 从磷矿粉中分离的一株 *Pantoea* 菌不仅能增强黑麦草植株生长, 还能促进植物富集 Pb、Cd 含量^[47]。这些研究说明 *Pantoea* 菌株在植物的促生、抗逆和污染修复方面有重要的应用价值, 而本文菌株 Rb-12 还有待于发掘其潜力。此外, 本文中菌株 Ra-2 和菌株 Ba-12 也具有较好的促生特性。研究报道副球菌属(*Paracoccus*)菌株在氮素降解方面具有重要应用价值^[48]; 类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)在生物防治和促生长方面具有重要作用, 该属菌株多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)可通过固氮、溶磷、获取铁、产植物生长调节剂等促进植物生长发育, 已被美国环保署确定为商用微生物之一^[49-50]。本文证实菌株 Ra-2 对高含量卵磷脂具有较强的溶解能力(17.82 μg/mL), 菌株 Ba-12 具有较高的产酶和溶无机磷能力, 其在植物促生和生物防治方面的应用需进一步探索。

银砂槐根际和非根际菌株在抗旱和抗盐碱方面表现出优良性能, 本文发现可耐受 60% PEG6000、18% NaCl 和 pH 11.5 的菌株 Ra-5, 该属菌株被报道是一种致病菌且具有很强的耐药性, 但其在降解环境污染物方面具有一定潜力^[51], 关于其在植物方面的研究鲜有报道。此外, Ra-13 具有较强的耐碱性(pH 13.5), 并且可

耐受 30% PEG6000 和 12% NaCl。据报道类节杆菌属(*Paenarthrobacter*)菌株因其具有寡营养型特点, 而在沙漠生态治理方面更具优势; 魏浩卓等^[52]从毛乌素沙地苔藓结皮获得一株具有高效固沙能力的菌株 *Paenarthrobacter* sp. OM7, 并发现其在生物结皮形成过程中发挥重要作用。总之, 银砂槐根际和非根际中大部分菌株具有较好的耐旱(30% PEG6000)和抗盐(2%–4% NaCl)碱(pH 11.5)能力, 可望为植物促生抗逆作用的研究提供优良菌株资源。

荒漠银砂槐种子因其种皮坚硬、不透水和生长环境恶劣而导致其在自然界萌发率极低, 有研究发现银砂槐内生菌可帮助宿主抵抗渗透胁迫以促进萌发和胚根生长^[53]。经过种子与菌株共培养实验, 发现菌株 Bc-5 具有显著促进银砂槐种子萌发及根生长的作用。但该属菌株是从植物非根际获得, 并且未在根际中发现, 这也许是植物为了避免生存空间竞争。有报道土壤 *Peribacillus* 菌株可以缓解植物干旱胁迫, 并且该属菌株在生物防治和促生方面也具有应用潜力^[54-55]。本文进一步发现菌株 Bc-5 具有产淀粉酶和蛋白酶特性, 这 2 种酶有利于种子贮藏物质的降解以促进种子萌发, 而菌株 Rc-10 能产水解酶、菌株 Rb-5 不能产水解酶, 但二者都不能促进种子萌发。因此, 本文研究结果暗示菌株的促生特性(如固氮、溶磷、产水解酶、产 IAA 等)与种子萌发率之间无直接相关关系, 关于促生菌促种子萌发机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] LI XZ, RUI JP, MAO YJ, YANNARELL A, MACKIE R. Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 392-401.
- [2] HERMAN RP, PROVENCIO KR, HERRERA-MATOS J, TORREZ RJ. Resource islands predict the distribution of heterotrophic bacteria in Chihuahuan

- Desert soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(5): 1816-1821.
- [3] WEI YL, WANG F, GAO JL, HUANG YL, REN W, SHENG HM. Culture-dependent and culture-independent characterization of bacterial community diversity in different types of sandy lands: the case of Minqin County, China[J]. BMC Microbiology, 2021, 21(1): 87.
- [4] FERJANI R, MARASCO R, ROLLI E, CHERIF H, CHERIF A, GTARI M, BOUDABOUS A, DAFFONCHIO D, OUZARI HI. The date palm tree rhizosphere is a niche for plant growth promoting bacteria in the oasis ecosystem[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 153851.
- [5] TIMM CM, CARTER KR, CARRELL AA, JUN SR, JAWDY SS, VÉLEZ JM, GUNTER LE, YANG Z, NOOKAEW I, ENGLE NL, LU TY S, SCHADT CW, TSCHAPLINSKI TJ, DOKTYCZ MJ, TUSKAN GA, PELLETIER DA, WESTON DJ. Abiotic stresses shift belowground *Populus*-associated bacteria toward a core stress microbiome[J]. mSystems, 2018, 3(1): e00070-17.
- [6] 高江力. 荒漠植物根际土壤细菌对不同干旱条件和沙丘类型的响应机制[D]. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2019.
- GAO JL. Response mechanism of rhizosphere soil bacteria of desert plants to different drought conditions and dune types[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Lanzhou University, 2019 (in Chinese).
- [7] 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).
- [8] PIRTTILÄ AM, TABAS HMP, BARUAH N, KOSKIMÄKI JJ. Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: how to identify and develop new potent microbial strains and traits[J]. Microorganisms, 2021, 9(4): 817.
- [9] EIDA AA, ZIEGLER M, LAFI FF, MICHELL CT, VOOLSTRA CR, HIRT H, SAAD MM. Desert plant bacteria reveal host influence and beneficial plant growth properties[J]. PLoS One, 2018, 13(12): e0208223.
- [10] AULAKH AM, QADIR G, HASSAN FU, HAYAT R, SULTAN T, BILLAH M, HUSSAIN M, KHAN N. Desert soil microbes as a mineral nutrient acquisition tool for chickpea (*Cicer arietinum* L.) productivity at different moisture regimes[J]. Plants, 2020, 9(12): 1629.
- [11] MARASCO R, ROLLI E, ETOUMI B, VIGANI G, MAPELLI F, BORIN S, ABOU-HADID AF, EL-BEHAIRY UA, SORLINI C, CHERIF A, ZOCCHI G, DAFFONCHIO D. A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e48479.
- [12] MARASCO R, ROLLI E, FUSI M, CHERIF A, ABOU-HADID A, EL-BAHAIRY U, BORIN S, SORLINI C, DAFFONCHIO D. Plant growth promotion potential is equally represented in diverse grapevine root-associated bacterial communities from different biopedoclimatic environments[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 491091.
- [13] KAPLAN D, MAYMON M, AGAPAKIS CM, LEE A, WANG A, PRIGGE BA, VOLKOGON M, HIRSCH AM. A survey of the microbial community in the rhizosphere of two dominant shrubs of the Negev Desert Highlands, *Zygophyllum dumosum* (Zygophyllaceae) and *Atriplex halimus* (Amaranthaceae), using cultivation-dependent and cultivation-independent methods[J]. American Journal of Botany, 2013, 100(9): 1713-1725.
- [14] ASTORGA-ELÓ M, GONZALEZ S, ACUÑA JJ, SADOWSKY MJ, JORQUERA MA. Rhizobacteria from 'flowering desert' events contribute to the mitigation of water scarcity stress during tomato seedling germination and growth[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 13745.
- [15] SINGH RP, JHA PN. The multifarious PGPR *Serratia marcescens* CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0155026.
- [16] NASCIMENTO FX, HERNÁNDEZ AG, GLICK BR, ROSSI MJ. Plant growth-promoting activities and genomic analysis of the stress-resistant *Bacillus megaterium* STB1, a bacterium of agricultural and biotechnological interest[J]. Biotechnology Reports, 2019, 25: e00406.
- [17] 王卫霞, 罗明, 潘存德. 塔里木河下游几种荒漠植物根际土壤微生物及其活性[J]. 中国沙漠, 2010, 30(3): 571-576.
- WANG WX, LUO M, PAN CD. Microorganisms and

- its biological activity in rhizospheric soil around desert plants at the lower reaches of Tarim River, Xinjiang, China[J]. *Journal of Desert Research*, 2010, 30(3): 571-576 (in Chinese).
- [18] TIMMUSK S, ABD EL-DAIM IA, COPOLOVICI L, TANILAS T, KÄNNASTE A, BEHERS L, NEVO E, SEISENBAEVA G, STENSTRÖM E, NIINEMETS Ü. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96086.
- [19] WANG SS, OUYANG LM, JU XY, ZHANG LL, ZHANG Q, LI YB. Survey of plant drought-resistance promoting bacteria from *Populus euphratica* tree living in arid area[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2014, 54(4): 419-426.
- [20] ZHU YL, HUANG YJ, NUERHAMANTI N, BAI XY, WANG HN, ZHU XY, ZHANG W. Composition and distribution characteristics of rhizosphere bacterial community of *Ammodendron bifolium* growing in takeermohuer desert are different from those in non-rhizosphere[J]. *Microbial Ecology*, 2023, 86(4): 2461-2476.
- [21] 卜旭莹, 任敏, 万传星, 张利莉. 帕米尔高原可培养需氧冷适应细菌及古菌多样性[J]. *微生物学报*, 2022, 62(7): 2568-2581.
- BU XY, REN M, WAN CX, ZHANG LL. Diversity of aerobic cold-adapted bacteria and Archaea isolated from the Pamir Plateau[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2568-2581 (in Chinese).
- [22] 姚拓, 张德罡, 胡自治. 高寒地区燕麦根际联合固氮菌研究 I 固氮菌分离及鉴定[J]. *草业学报*, 2004, 13(2): 106-111.
- YAO T, ZHANG DG, HU ZZ. Associative nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of *Avena sativa* in an alpine region I Isolation and identification[J]. *Acta Pratacultural Science*, 2004, 13(2): 106-111 (in Chinese).
- [23] 黄涛. 玉米根际促生细菌的筛选及其促生机理初步研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2020.
- HUANG T. Optimization of fermentation conditions for the red pigment branch of *Sporidiobolus pararoseus* and key enzyme gene transcription level analysis[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [24] HAFEEZ FY, MALIK KA. Manual on Biofertilizer Technology[M]. Pakistan: National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering, 2000: 1-20.
- [25] ALI SZ, SANDHYA V, VENKATESWAR RAO L. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp.[J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 64(2): 493-502.
- [26] 张传丽, 李同祥, 杨凡, 肖凯峰, 徐芳, 陈路路, 孙会刚. 产淀粉酶和蛋白酶芽孢杆菌的筛选鉴定及其酶学性质分析[J]. *中国酿造*, 2023, 42(12): 110-116.
- ZHANG CL, LI TX, YANG F, XIAO KF, XU F, CHEN LL, SUN HG. Screening and identification of amylase-and protease-producing *Bacillus* and their enzymatic property analysis[J]. *China Brewing*, 2023, 42(12): 110-116 (in Chinese).
- [27] 赵龙妹, 陈林, 杜东晓, 董惠心, 李旺, 李元晓, 何万领, 曹平华. 产纤维素酶细菌的筛选鉴定与特性分析[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(30): 83-88.
- ZHAO LM, CHEN L, DU DX, DONG HX, LI W, LI YX, HE WL, CAO PH. Screening, identification and characteristic analysis of cellulase-producing bacteria[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(30): 83-88 (in Chinese).
- [28] SARAN S, ISAR J, SAXENA RK. A modified method for the detection of microbial proteases on agar plates using tannic acid[J]. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 2007, 70(4): 697-699.
- [29] AKPAN I, BANKOLE MO, ADESEMOWO AM. A rapid plate culture method for screening of amylase producing micro-organisms[J]. *Biotechnology Techniques*, 1999, 13(6): 411-413.
- [30] 张远科, 徐鸿, 曹治, 冉松, 马靓, 曾晓希. 产纤维素酶细菌的筛选及其产酶优化[J]. *纤维素科学与技术*, 2021, 29(3): 16-26.
- ZHANG YK, XU H, CAO Z, RAN S, MA L, ZENG XX. Screening of cellulase-producing bacteria and optimization of enzyme production[J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2021, 29(3): 16-26 (in Chinese).
- [31] 林启美, 赵小蓉, 孙焱鑫, 姚军. 四种不同生态系统的土壤解磷细菌数量及种群分布[J]. *土壤与环境*, 2000, 9(1): 34-37.
- LIN QM, ZHAO XR, SUN YX, YAO J. Community characters of soil phosphobacteria in four ecosystems[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1): 34-37 (in Chinese).
- [32] MURPHY J, RILEY JP. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1962, 27: 31-36.
- [33] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化

- 委员会. 蛋白酶制剂: GB/T 23527—2009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009: 6-8.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Protease preparation: GB/T 23527—2009[S]. Beijing: Standards press of China, 2009: 6-8 (in Chinese).
- [34] 王琳, 刘国生, 王林嵩, 张志宏, 侯进怀, 郭惠敏. DNS 法测定纤维素酶活力最适条件研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 1998, 26(3): 69-72.
- WANG L, LIU GS, WANG LS, ZHANG ZH, HOU JH, GUO HM. Study on the optimum conditions for determining cellulase activity by DNS method[J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 1998, 26(3): 69-72 (in Chinese).
- [35] MARULANDA A, BAREA JM, AZCÓN R. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28(2): 115-124.
- [36] 朱艳蕾, 安登第, 曾献春. 银砂槐种子表面消毒技术及无菌萌发条件研究[J]. 新疆师范大学学报(自然科学版), 2014, 33(3): 17-20.
- ZHU YL, AN DD, ZENG XC. Study on seed surface sterilization technology and aseptical germination conditions of *Ammodendron argenteum*(pall.)kuntze[J]. Journal of Xinjiang Normal University (Natural Sciences Edition), 2014, 33(3): 17-20 (in Chinese).
- [37] SINONG GF, YASUDA M, NARA Y, LEE CG, DASTOGEER KMG, TABUCHI H, NAKAI H, DJEDIDI S, OKAZAKI S. Distinct root microbial communities in nature farming rice harbor bacterial strains with plant growth-promoting traits[J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2021, 4: 629942.
- [38] 蒲强, 谭志远, 彭桂香, 李永涛, 刘丽辉, 张海春, 曹禹. 根瘤菌分类的新进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(3): 619-633.
- PU Q, TAN ZY, PENG GX, LI YT, LIU LH, ZHANG HC, CAO Y. Advances in rhizobia taxonomy[J]. Microbiology China, 2016, 43(3): 619-633 (in Chinese).
- [39] AHMED M, KIBRET M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective[J]. Journal of King Saud University-Science, 2014, 26(1): 1-20.
- [40] RANJITHA KUMARI PM. A critical review on plant growth promoting rhizobacteria[J]. Journal of Plant Pathology & Microbiology, 2015, 6(4): 1-4.
- [41] 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.
- [42] HAMEEDA B, HARINI G, RUPELA OP, WANI SP, REDDY G. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna[J]. Microbiological Research, 2008, 163(2): 234-242.
- [43] 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).
- [44] ORELLANA D, MACHUCA D, IBEAS MA, ESTEVEZ JM, POUPIN MJ. Plant-growth promotion by proteobacterial strains depends on the availability of phosphorus and iron in *Arabidopsis thaliana* plants[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1083270.
- [45] 陈超琼. 骆驼刺内生细菌新种 *Pantoea alhagi* LTYR-11Z 的鉴定及其促作物抗旱机制初步研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2017.
- CHEN CQ. The identification of A novel endophytic bacterium *Pantoea alhagi* LTYR-11Z from *Alhagi sparsifolia* shap. and dissecting mechanism underlying enhanced drought resistance in crops[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2017 (in Chinese).
- [46] 张磊, 袁梅, 孙建光, 樊明寿, 高森, 郑红丽. 马铃薯内生固氮菌的分离及其促生特性研究[J]. 中国土壤与肥料, 2016(6): 139-145.
- ZHANG L, YUAN M, SUN JG, FAN MS, GAO M, ZHENG HL. Isolation and functional characterizations of potato endogenous nitrogen-fixing bacteria[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2016(6): 139-145 (in Chinese).
- [47] 杨蕤兰. 溶磷泛菌的分离鉴定及促进黑麦草修复重金属污染河沙的研究[D]. 成都: 成都理工大学硕士学位论文, 2021.
- YANG RL. Isolation and identification of A phosphate solubilizing bacteria *Pantoea* sp. its promotion on the

- remediation of heavy metal polluted river sand by *Lolium multiflorum* lam.[D]. Chengdu: Master's Thesis of Chengdu University of Technology, 2021 (in Chinese).
- [48] 牛晓倩, 陶楠, 舒泉先, 杨小雁, 从瑞涛, 周胜虎, 邓禹. 代谢工程强化脱氮副球菌 DYTN-1 去除氮素污染物[J]. 微生物学报, 2022, 62(10): 3932-3946.
NIU XQ, TAO N, SHU QX, YANG XY, CONG RT, ZHOU SH, DENG Y. Metabolic engineering enhances the nitrogen removal by *Paracoccus denitrificans* DYTN-1[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(10): 3932-3946 (in Chinese).
- [49] 朱晓慧, 刘虹, 郭茹鑫, 王恒煦, 王志刚. 黑土微生物群落对副球菌属(*Paracoccus* sp.) QD15-1 修复邻苯二甲酸二甲酯污染土壤的响应[J]. 环境污染与防治, 2020, 42(2): 182-186.
ZHU XH, LIU H, GUO RX, WANG HX, WANG ZG. Response of microbial community in black soil to remediation of dimethyl phthalate contaminated soil by *Paracoccus* sp. QD15-1[J]. Environmental Pollution & Control, 2020, 42(2): 182-186 (in Chinese).
- [50] 刘守德, 刘华梅, 周莉, 黄芳, 徐广, 武若楠, 王小华, 胡国元. 多粘类芽孢杆菌的研究进展[J]. 武汉工程大学学报, 2022, 44(3): 237-243.
LIU SD, LIU HM, ZHOU L, HUANG F, XU G, WU RN, WANG XH, HU GY. Research progress of *Paenibacillus polymyxa*[J]. Journal of Wuhan Institute of Technology, 2022, 44(3): 237-243 (in Chinese).
- [51] 刘聪洋, 王美妮, 张佳梦, 钱柚粉, 肖锟, 王仁女, 董伟, 潘涛. 一株多环芳烃降解菌及其在多种强化体系中降解菲的潜力[J]. 生物工程学报, 2021, 37(10): 3696-3707.
LIU CY, WANG MN, ZHANG JM, QIAN YF, XIAO K, WANG RV, DONG W, PAN T. A polycyclic aromatic hydrocarbon degrading strain and its potential of degrading phenanthrene in various enhanced systems[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(10): 3696-3707 (in Chinese).
- [52] 魏浩卓, 马佳星, 刘傲, 李静泉. 寡营养型类节杆菌 OM7 的分离鉴定及固沙特性[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2023, 54(3): 293-300.
WEI HZ, MA JX, LIU A, LI JQ. Isolation, identification and sand-fixing characteristics of oligotrophic *Paenarthrobacter* sp. OM7[J]. Journal of Inner Mongolia University (Natural Science Edition), 2023, 54(3): 293-300 (in Chinese).
- [53] ZHU YL. Isolation and identification of *Ammodendron bifolium* endophytic bacteria and the action mechanism of selected isolates-induced seed germination and their effects on host osmotic-stress tolerance[J]. Archives of Microbiology, 2019, 201(4): 431-442.
- [54] RODRÍGUEZ M, REINA JC, SAMPEDRO I, LLAMAS I, MARTÍNEZ-CHECA F. *Peribacillus castrilensis* sp. nov.: a plant-growth-promoting and biocontrol species isolated from a river otter in castril, Granada, southern Spain[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 896728.
- [55] MONTECILLO JAV, BAE H. In silico analysis of koranimine, a cyclic imine compound from *Peribacillus frigiditolerans* reveals potential nematicidal activity[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 18883.