

研究报告

内蒙古和海南干旱地区芽孢杆菌和伯克霍德尔菌的耐旱性

季翠, 骆晶晶, 刁琦, 王依嘉, 姜雪婷, 王一腾, 钱怡雯, 盛下放, 何琳燕*

南京农业大学 生命科学学院 农业农村部农业环境微生物重点实验室, 江苏 南京 210095

季翠, 骆晶晶, 刁琦, 王依嘉, 姜雪婷, 王一腾, 钱怡雯, 盛下放, 何琳燕. 内蒙古和海南干旱地区芽孢杆菌和伯克霍德尔菌的耐旱性[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4118-4131.

Ji Cui, LUO Jingjing, DIAO Qi, WANG Yijia, JIANG Xueting, WANG Yiteng, QIAN Yiwen, SHENG Xiafang, HE Linyan. Drought tolerance of *Bacillus* spp. and *Burkholderia* spp. in arid areas of Inner Mongolia and Hainan[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 4118-4131.

摘要: 【背景】世界旱灾的频发对农作物的产量和品质都造成了严重的影响, 亟需一种经济节约的方法来缓解。植物根际促生细菌有望直接用于农作物提高耐旱性。【目的】干旱环境中的微生物物种组成和分布格局具有独特性。研究从干旱土壤中筛选出的细菌遗传多样性和功能多样性十分必要。【方法】利用聚乙二醇 6000 (polyethylene glycol 6000, PEG-6000)模拟干旱胁迫, 对内蒙古和海南干旱地区采集分离获得的 30 份芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)和伯克霍德尔菌(*Burkholderia* spp.)进行耐旱性分析及生物学特性分析。【结果】通过聚类分析把 30 株供试菌株的耐旱能力分为三类群, 并且不同胁迫条件下供试菌株表现为 3 种生长模式: 在第一类生长模式中, 渗透势-0.2 mPa 与 0 mPa 的 OD_{600} 值无显著差异; 第二类生长模式中, 随着渗透势的增加, 菌株的 OD_{600} 值也随之下降。这类菌占总体供试菌株的 43.33%; 第三类生长模式中, 菌株在-0.6 mPa 和-1.2 mPa 渗透势下, OD_{600} 值无显著差异。对 30 株供试菌株进行生物学特性分析, 发现每株菌都有产吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)、铁载体、脲酶、精氨酸脱羧酶和生物膜这 5 种特性中的 1-4 种特性, 即供试菌株都具有潜在的植物促生功能。【结论】基于耐旱性分析和生物学特性分析, 最终筛选到 2 株优质耐旱芽孢杆菌 NC51、NO89, 均为第三类生长模式。为今后提高作物耐旱性和研发微生物菌剂提供菌种资源。

关键词: 芽孢杆菌; 伯克霍德尔菌; 干旱胁迫; 耐旱性

资助项目: 南京农业大学国家级大学生创新训练项目(202310307099Z); 国家自然科学基金(41977199)

This work was supported by the National College Student Innovation Training Program of Nanjing Agricultural University (202310307099Z) and the National Natural Science Foundation of China (41977199).

*Corresponding author. E-mail: helinyan7012@sina.com

Received: 2024-02-04; Accepted: 2024-04-30; Published online: 2024-06-06

Drought tolerance of *Bacillus* spp. and *Burkholderia* spp. in arid areas of Inner Mongolia and Hainan

JI Cui, LUO Jingjing, DIAO Qi, WANG Yijia, JIANG Xueting, Wang Yiteng, Qian Yiwen, SHENG Xiafang, HE Linyan*

Key Laboratory of Agricultural Environmental Microbiology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China

Abstract: [Background] The frequent occurrence of drought in the world has seriously affected both the yield and quality of crops. An economically efficient method to alleviate it is urgently needed. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are expected to directly improve drought tolerance in crops. [Objective] In arid environments, the species composition and distribution patterns of microbial communities are unique. It is essential to study the genetic diversity and functional diversity of bacteria screened from arid soils. [Methods] Thirty strains of *Bacillus* spp. and *Burkholderia* spp. were collected and isolated from the arid areas in Inner Mongolia and Hainan provinces, respectively. These strains were subjected to drought tolerance analysis and biological characteristic analysis using polyethylene glycol 6000 (PEG-6000) to simulate drought stress. [Results] Cluster analysis categorized the drought tolerance of the 30 tested strains into 3 groups. The tested strains exhibited 3 growth patterns under different stress conditions: in the first type of growth pattern, there was no significant difference in OD_{600} value between the permeability potential of -0.2 mPa and 0 mPa; in the second type of growth pattern, the OD_{600} value of the strain decreased as permeability potential increased, and the strains which exhibited this growth pattern represent 43.33% of the total tested strains; in the third type of growth pattern, there was no significant difference in OD_{600} values at -0.6 mPa and -1.2 mPa permeation potential. The biological characteristics of the 30 tested strains revealed that each strain exhibited 1 to 4 characteristics of IAA, siderophore, urease, arginine decarboxylase, and biofilm, indicating the tested strains have potential plant growth-promoting functions. [Conclusion] Based on drought tolerance analysis and biological characteristic analysis, two superior drought resistance *Bacillus* strains, NC51 and NO89, were finally screened, both exhibiting the third type of growth pattern. These strains provide microbial resources for improving crop drought tolerance and developing microbial inoculants in the future.

Keywords: *Bacillus* spp.; *Burkholderia* spp.; drought stress; drought tolerance

当今世界环境问题日益严峻，土壤酸化、盐碱化、干旱对农业生产和食品安全造成严重威胁^[1]。每年约有 1 200 万 hm^2 的土地因干旱和荒漠化而消失，而在过去 40 年中，地球受干旱影响的比例翻了一番^[2]。因此，亟须通过绿色环

保的方法提高农业生产并保护生态环境，如生物肥料的开发与利用，而生物肥料研制的关键在于高效促生菌株的筛选。这些菌株或可提高植株对极端干旱环境的耐受性，具有较大促生潜力，可作为后续研制生物肥料的优质菌种资源^[3-4]。

当植物处于干旱胁迫环境中,植物根际促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)依靠多种途径增强植物与微生物之间的相互交流,有效缓解逆境对植物的胁迫程度^[5]。如多数促生菌株通过产生吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA)^[6]、脱落酸(abscisic acid, ABA)^[7]等植物激素,胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)^[8], 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶^[9]等物质,以及分泌的抗氧化酶^[10]来帮助植物增强抗旱能力。有研究发现,分离于荒漠植物中的具有分泌植物激素、产铁载体、产 ACC 脱氨酶等多种功能的根部组织内生细菌,接种在小麦土壤中能提高小麦在逆境下的生长能力^[11]。从非洲干旱地区生长的植物筛选出的细菌(包括 *Pseudomonas* spp.、*Acinetobacter* spp.、*Stenotrophomonas* spp.、*Rhizobium* spp.等),通过产生植物激素、铁载体和适度的磷酸盐溶解来促进干旱胁迫下玉米的根系生长^[12]。

本研究从内蒙古、海南等干旱地区土壤中筛选耐干旱菌株并解析其生物多样性,测定其促生能力(如产 IAA 等植物促生因子),以期为相关微生物肥料研制提供优质菌种资源,为干旱地区的绿色可持续发展提供科技支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株:本实验室保藏的 30 株耐干旱菌株,具体种属见表 1。

LB 培养基(g/L):蛋白胨 10.0,酵母粉 5.0, NaCl 10.0, pH 7.2。1/5 LB 培养基(g/L):蛋白胨 2.0,酵母粉 1.0, NaCl 2.0, pH 7.2。无氮培养基(g/L):蔗糖 10.0,磷酸氢二钾 0.5,硫酸镁 0.2,氯化钠 0.2,碳酸钙 1.0, pH 7.4。有氮培养基(g/L):蔗糖 10.0,磷酸氢二钾 2.0,硫酸铵

1.0,七水硫酸镁 0.5,酵母膏 0.5,碳酸钙 0.5,氯化钠 0.1, pH 7.2。脲酶培养基(g/L):蛋白胨 1.0,氯化钠 5.0,磷酸二氢钾 2.0,葡萄糖 1.0, 0.4%酚红溶液 0.003, 2%尿素, pH 7.2。精氨酸脱羧酶基础培养基(g/L):蔗糖 10.0,硫酸铵 1.0,硫酸镁 0.5,磷酸氢二钾 0.5,氯化钠 0.1,酵母膏 0.1,维生素 B6 0.005,酚红 0.02, pH 6.0。固体培养基中加入 20 g/L 的琼脂。

聚乙二醇 6000 (polyethylene glycol 6000, PEG-6000), 国药集团化学试剂有限公司。超净工作台,苏州净化设备厂;隔水式恒温培养箱,上海森信实验仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;数显单控单列水浴锅,常州国宇仪器制造有限公司;-80 °C超低温冰箱,中科美菱低温科技有限责任公司;紫外分光光度计, spectrometer MAPADA; pH 计,赛多利斯科学仪器有限公司;电子天平,梅特勒公司;精密天平,赛多利斯科学仪器有限公司;恒温振荡培养箱,太仓市华美生化仪器厂;PCR 仪, Applied Biosystems 公司。

1.2 耐旱性能力的测定

筛选培养基分别为 LB、1/5 LB 培养基和无氮培养基,在培养液中加入不同浓度的 PEG-6000 人工模拟干旱条件,设置 0%、10%、20%、30%和 40%这 5 个不同浓度的 PEG-6000,分别对应渗透势水平 0、-0.2、-0.6、-1.2 和 -1.9 mPa。分别使用筛选培养基 30 °C、160 r/min 振荡培养 24 h 活化供试菌株,将活化后的菌株按 2%接种量接种至 LB 培养基中,30 °C、160 r/min 振荡培养 24 h 后测定菌悬液的 OD_{600} 值。将各菌液加无菌水稀释制成 OD_{600} 值为 1.0 的菌悬液,即为试验用的标准菌悬液。将标准菌悬液按 2%接种量接种至 5 种渗透势水平的 LB 液体培养基中 30 °C、160 r/min 振荡培养 24 h,测定其 OD_{600} 值,以 OD_{600} 值的大小(浊度)与降幅

表 1 内蒙古和海南干旱地区筛选的耐旱菌种属

Table 1 Drought-tolerant species screened in the arid regions of Inner Mongolia and Hainan

菌株编号 Strain	采集地区 Site	菌株属名 Strain genus name	筛选培养基 Screening medium
WB2	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Bacillus proteolyticus</i>	LB
WB3	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Bacillus mojavenensis</i>	LB
WA4	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Priestia aryabhatai</i>	LB
WB11	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	LB
WB17	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	LB
WC19	内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	<i>Bacillus proteolyticus</i>	LB
NB30	海南省 Hainan Province	<i>Paenibacillus cineris</i>	LB
NB46	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus tropicus</i>	LB
NB47	海南省 Hainan Province	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i>	LB
NA50	海南省 Hainan Province	<i>Priestia aryabhatai</i>	LB
NC51	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus salipaludis</i>	LB
NC54	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus rhizoplanae</i>	LB
NA55	海南省 Hainan Province	<i>Priestia aryabhatai</i>	LB
NA56	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus tropicus</i>	LB
NO62	海南省 Hainan Province	<i>Priestia megaterium</i>	LB
NO63	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus tropicus</i>	LB
NO87	海南省 Hainan Province	<i>Priestia megaterium</i>	无氮培养基 Nitrogen-free medium
N089	海南省 Hainan Province	<i>Rummeliibacillus pycnus</i>	1/5 LB
NG121	海南省 Hainan Province	<i>Priestia aryabhatai</i>	1/5 LB
NG125	海南省 Hainan Province	<i>Priestia aryabhatai</i>	1/5 LB
NG127	海南省 Hainan Province	<i>Priestia megaterium</i>	1/5 LB
NG128	海南省 Hainan Province	<i>Priestia megaterium</i>	1/5 LB
NG131	海南省 Hainan Province	<i>Bacillus tropicus</i>	1/5 LB
NG132	海南省 Hainan Province	<i>Priestia megaterium</i>	1/5 LB
NB57	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia latens</i>	LB
NC66	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia arboris</i>	无氮培养基 Nitrogen-free medium
NC69	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia arboris</i>	无氮培养基 Nitrogen-free medium
NC77	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia arboris</i>	无氮培养基 Nitrogen-free medium
NC98	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia arboris</i>	1/5 LB
NC102	海南省 Hainan Province	<i>Burkholderia arboris</i>	1/5 LB

评价其生长繁殖状况(相邻渗透势 OD_{600} 的比值, 例如:

$$\text{降幅}(-1.2/-0.6) = -\frac{-1.2OD\text{平均值} - (-0.6OD\text{平均值})}{-0.6OD\text{平均值}} \quad (1)$$

用以说明 PEG-6000 浓度的升高对供试菌株存活率的影响。降幅越大, 细菌生长势越小^[13]。

1.3 生物学特性的测定

1.3.1 产 IAA 含量分析

使用含 100 mg/L 色氨酸溶液的 LB 培养基检测 IAA 含量, 采用 Salkowski's 显色剂进行显色反应 30 min。根据标准曲线计算出供试菌株的 IAA 产量^[14]。

1.3.2 产铁载体含量分析

使用有氮培养基检测供试菌株产铁载体含量,通过CAS检测液进行显色反应60 min,用紫外分光光度计检测 OD_{630} 值,铁载体计算公式:

$$Su (\%) = \frac{Ar - As}{Ar} \times 100^{[15]} \quad (2)$$

式中, Su 表示铁载体活性单位; As 表示供试菌株上清液 OD_{630} 值; Ar 表示无菌培养基 OD_{630} 值。

1.3.3 产脲酶的检测

使用脲酶培养基分析供试菌株产脲酶的能力,培养基变色则为阳性,不变色则为阴性。

1.3.4 产精氨酸脱羧酶活性的测定

使用精氨酸脱羧酶(arginine decarboxylase, ADC)基础培养基测定精氨酸脱羧酶活性,其中一份加入L-精氨酸盐酸盐,另外一份作为空白对照。培养基变红而空白对照不变色则为阳性,二者均不变色则为阴性,二者均变色则为假阳性^[14]。

1.3.5 产生物膜的检测

按1%的接种量将活化后的供试菌株接入LB液体培养基中,28℃静置培养3 d,观察液体表面是否生成一层白色的膜状物,即为生物膜。

1.4 聚类分析

使用SPSS对供试菌株在不同渗透势下的浊度进行系统聚类分析^[16],即从供试菌株的耐旱性出发,自动进行分类。分类之后按照供试菌株在不同浓度PEG-6000的 OD_{600} 值及降幅表征其生长模式。在同一生长模式下,选取某一相邻渗透势降幅最小的和降幅最稳定的为代表性菌株。

1.5 数据处理

所测得的数据均是3次生物学重复,使用SPSS 22.0进行数据分析和系统聚类分析,使用GraphPad Prism 8.0.2进行绘图。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌和伯克霍德尔菌耐旱性的多样性分析

2.1.1 耐旱性分析

以菌株在PEG-6000渗透势下能否增殖为划分耐旱标准,供试菌株在模拟干旱胁迫0~-1.9 mPa下各渗透势水平下的浊度与降幅见表2。

在干旱条件下,菌株的耐旱性是存活的关键能力,对细菌-植物互作也有重要影响。本次研究结果显示,随着PEG-6000浓度的增加,各菌株 OD_{600} 值总体呈下降趋势,PEG-6000浓度为10%、20%、30%、40%时,相较于无PEG-6000对照组,菌株 OD_{600} 值下降幅度分别为0.49%~51.23%、1.93%~81.28%、2.19%~96.01%、17.18~99.00%,平均下降25.86%、41.61%、49.10%、58.09%,说明菌株生长受到干旱的抑制作用逐渐增大。

然而,对于某些细菌来说,干旱条件下更有利于其生长。在渗透势为-0.2 mPa时,菌株WB3的 OD_{600} 值并未下降,反而比对照上升13.62%。在渗透势为-1.2 mPa时,菌株WA4、NC51、NG125的 OD_{600} 值相比-0.6 mPa渗透势下反而提高了42.06%、28.74%、16.99%,说明30%PEG-6000干旱条件更适合这3株菌的生长。当渗透势为-1.9 mPa时,各株菌的 OD_{600} 值都显著下降,仅菌株NA55、NA56、NO89生长旺盛,说明这3株菌能够耐受较大程度的干旱,可以作为菌株提高作物耐旱性的试验材料,并为后续生物肥料的开发提供优质储备菌种。

2.1.2 菌株耐旱能力聚类分析及生长模式分析

对不同PEG-6000渗透势水平下测定的菌悬液浊度值进行聚类分析,如图1所示,干旱模拟胁迫下供试的30份芽孢杆菌、伯克霍德尔菌可以分成3个类群。根据聚类分析结果,不同胁迫条件下供试菌株主要表现为3种生长模式。

表 2 供试菌株在模拟干旱条件下的浊度和降幅(OD_{600})Table 2 Turbidity (OD_{600}) and decrease of the tested strain under simulated drought conditions

菌株 编号 Strain	渗透势水平 Permeability level		降幅 Decrement (%)	渗透势水平 Permeability level		降幅 Decrement (%)	渗透势水平 Permeability level		降幅 Decrement (%)
	0	-0.2		-0.6	-1.2		-1.9		
WB2	1.79±0.03a	1.42±0.26b	20.54	1.39±0.20b	1.93	0.52±0.06c	62.87	0.08±0.03d	84.32
WB3	1.06±0.14a	1.20±0.33a	-13.62	0.50±0.23b	58.12	0.20±0.02bc	59.44	0.03±0.03d	86.93
WA4	1.80±0.06a	1.41±0.06b	21.24	0.93±0.26c	34.10	1.32±0.14b	-42.06	0.25±0.04d	81.29
WB11	2.06±0.10a	1.67±0.09b	18.76	0.77±0.08c	53.74	0.04±0.01d	94.43	0.02±0.02d	49.61
WB17	1.62±0.02a	0.79±0.06b	51.23	0.20±0.03c	74.97	0.01±0.01d	93.59	0.01±0.01d	92.11
WC19	1.68±0.09a	1.27±0.17b	24.31	0.36±0.10c	71.30	0.09±0.01d	75.48	0.02±0.02d	96.64
NB30	1.75±0.10a	1.17±0.04b	32.74	0.44±0.21c	62.93	0.04±0.01d	90.96	0.02±0.03d	89.83
NB46	1.92±0.08a	1.55±0.16b	19.20	1.11±0.21c	28.15	0.74±0.02d	33.32	0.62±0.03d	17.18
NB47	2.04±0.10a	1.53±0.22b	24.76	1.16±0.31c	24.46	1.11±0.14c	4.03	0.01±0.02d	98.20
NA50	1.89±0.17a	1.46±0.07b	22.90	0.88±0.15c	39.77	0.78±0.09c	11.49	0.51±0.02d	34.30
NC51	1.63±0.04a	1.41±0.34a	13.53	0.81±0.05bc	42.69	1.04±0.15b	-28.74	0.61±0.16c	41.67
NC54	2.12±0.10a	1.75±0.16b	17.40	1.04±0.36c	40.53	0.07±0.02d	93.80	0.01±0.01d	84.54
NA55	1.86±0.01a	1.82±0.06a	1.97	1.36±0.22b	25.46	1.17±0.17b	14.08	0.92±0.07c	21.30
NA56	1.88±0.10a	1.52±0.17b	18.85	1.27±0.26b	16.51	0.93±0.20c	27.01	0.69±0.09c	25.45
NB57	1.84±0.09a	1.45±0.07b	21.14	1.01±0.13c	30.28	0.57±0.14d	44.14	0.08±0.01e	85.57
NO62	2.03±0.10a	1.48±0.01b	27.16	1.18±0.24c	20.36	0.63±0.05d	46.84	0.36±0.13e	42.11
NO63	1.90±0.17a	1.13±0.14b	40.33	0.46±0.13c	59.17	0.20±0.03d	57.60	0.10±0.06d	47.54
NC66	1.57±0.12a	1.56±0.03a	0.49	0.69±0.01b	55.52	0.04±0.02c	93.70	0.01±0.01c	77.10
NC69	1.73±0.11a	1.39±0.12b	19.76	0.44±0.19c	68.25	0.04±0.01d	90.23	0.01±0.02d	53.49
NC77	1.82±0.09a	1.42±0.03b	21.70	0.27±0.10c	81.28	0.07±0.03d	74.34	0.01±0.03d	85.37
NO87	1.64±0.15a	1.08±0.14b	34.15	0.64±0.04c	41.08	0.03±0.01d	96.01	0.02±0.01d	21.05
NO89	1.88±0.20a	1.50±0.07b	20.28	1.14±0.24c	23.94	1.10±0.11c	2.90	0.69±0.03d	37.94
NC98	2.18±0.06a	1.63±0.14b	24.98	0.95±0.10c	41.65	0.82±0.03c	14.54	0.03±0.01d	95.99
NC102	1.77±0.08a	1.33±0.03b	25.08	1.04±0.09c	21.68	0.30±0.06d	71.10	0.02±0.01e	99.00
NG121	1.78±0.03a	1.55±0.12ab	12.55	1.28±0.18bc	17.63	1.18±0.38c	7.95	0.57±0.04d	51.76
NG125	2.10±0.09a	1.35±0.08b	35.87	0.92±0.17c	31.84	1.07±0.14c	-16.99	0.40±0.01d	62.61
NG127	1.97±0.03a	1.62±0.25b	17.68	1.27±0.17c	21.90	0.63±0.19d	50.20	0.43±0.18d	32.31
NG128	2.00±0.01a	1.72±0.23b	13.87	1.08±0.05c	37.32	0.27±0.04d	74.76	0.06±0.06e	79.95
NG131	2.03±0.13a	1.59±0.04b	21.65	1.10±0.14c	30.98	0.50±0.13d	54.30	0.30±0.06e	40.85
NG132	2.18±0.26a	1.79±0.09b	17.63	1.49±0.03c	16.63	1.46±0.20c	2.19	0.45±0.07d	68.96

不同小写字母表示供试菌株在不同渗透势水平下的 OD_{600} 值存在显著差异(平均值的多重比较采用 Duncan 法, $P<0.05$)
Different lowercase letters indicate significant differences in OD_{600} values of the tested strains at different levels of osmosis (Duncan method was used for multiple comparisons of mean values, $P<0.05$).

如图 2A 所示,在第一类生长模式中,10% PEG-6000 模拟干旱的条件下,菌株的 OD_{600} 值未大幅度下降,反而与 0 mPa 的 OD_{600} 值无显著差异。这些菌株是 WC19、NB30、NC69、NC77、NO63、NO87、NC66、WB17 和 WB3。

其中,菌株 WB3 在-0.2 mPa 的吸光度显著高于 0 mPa,提高了 13.62%。说明在-0.2 mPa 渗透势模拟干旱的条件下,对这类菌株的生长无较大影响,反而有利于这些菌株的存活和生长。这类菌株能够适应轻度干旱(-0.2 mPa)的环境。

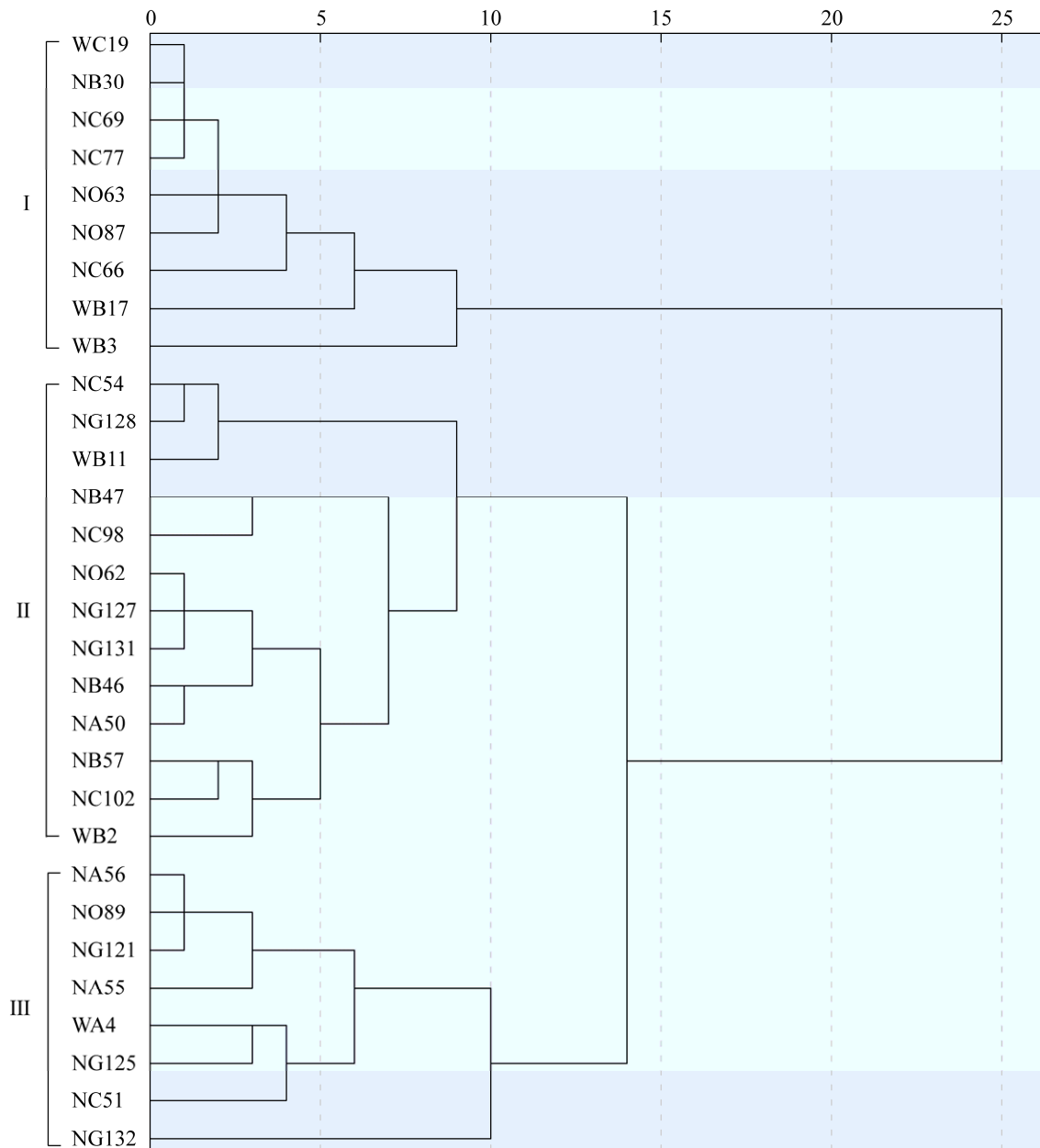


图 1 供试菌株耐旱能力聚类分析结果

Figure 1 Dendrogram showing relationship among rhizobia strain of dry-tolerant.

如图 2B 所示, 第二类生长模式中, 随着渗透势的增加, 菌株的 OD_{600} 值也随之下降。这类生长模式菌的数量是最多的, 占总体供试菌株的 43.33%, 为菌株 NC54、NG128、WB11、NB47、NC98、NO62、NG127、NG131、NB46、NA50、NB57、NC102 和 WB2。这类生长模式

符合大部分菌的生长情况, 即随着环境的干旱程度增加而活性下降。

如图 2C 所示, 第三类生长模式中, 菌株在 0%–20% PEG-6000 的范围内, OD_{600} 值随着渗透势增加而降低; 而在 -0.6 mPa 和 -1.2 mPa 渗透势下, OD_{600} 值无显著差异。这类菌株是 NA56、

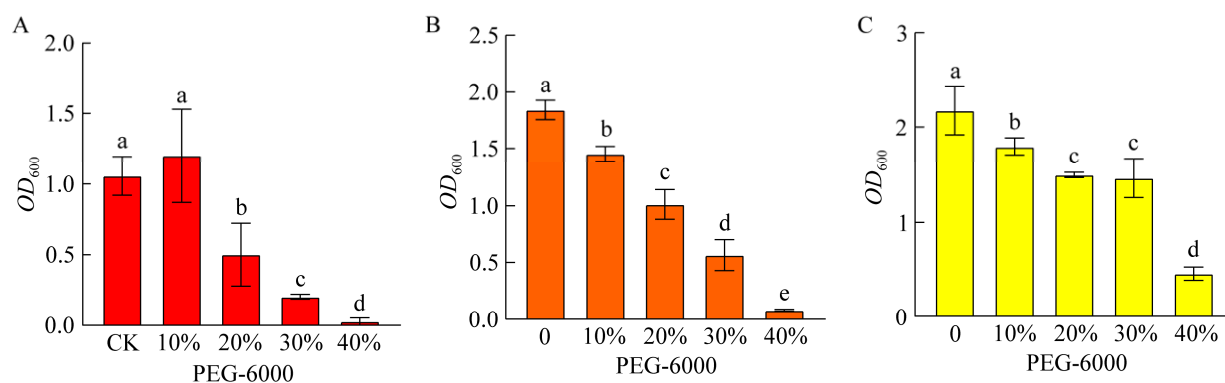


图 2 不同胁迫条件下菌株的三类生长模式 A: 第一类生长模式(代表菌株 WB3). B: 第二类生长模式(代表菌株 NB57). C: 第三类生长模式(代表菌株 NG132). 不同小写字母表示供试菌株在不同渗透势水平下的 OD_{600} 值存在显著差异. 下同

Figure 2 Three growth patterns of bacterial strains under different stress conditions. A: The first kind of growth model (representative strain: WB3). B: The second kind of growth model (representative strain: NB57). C: The third kind of growth model (representative strain: NG132). Different lowercase letters indicate significant differences in OD_{600} values of the tested strains at different levels of osmosis. The same below.

NO89、NG121、NA55、WA4、NG125、NC51 和 NG132。说明这类细菌能更好地适应中度干旱(-0.6 mPa 和 -1.2 mPa)环境,是一类耐旱能力突出的细菌。后期筛选耐旱菌进行菌植互作试验和生物肥料时如果需要高度耐旱菌时,可以从这一类群中考虑。

2.2 耐旱菌的生物学特性

在 30 株供试菌株中,有 10 株细菌分泌 IAA,占供试菌株总数的 33.3%。其中,菌株 NC69、NC77、NC98、NC102 为伯克霍德尔菌,其余均为芽孢杆菌(表 3,图 3)。菌株 NG127 的 IAA 产量高达 25.25 $\mu\text{g/L}$,而菌株 NC77 的 IAA 含量较低,为 11.04 $\mu\text{g/L}$,可见不同菌株的产 IAA 能力差异显著。

有 12 株菌产铁载体。产量最高的是芽孢杆菌 NB47,为 9.09%,产量最低的是 NG132,为 3.50%(表 3,图 4)。有 9 株菌产脲酶菌,NC102 为伯克霍德尔菌,其余均为芽孢杆菌。有 4 株菌产精氨酸脱羧酶菌,占总体供试菌株的 13.3%。

这些菌是 WC19、NB47、NO87 和 NG131,均为芽孢杆菌。在 30 株供试菌株中,有 21 株菌产生物膜。共有 6 株的伯克霍德尔菌和 15 株的芽孢杆菌具有产生物膜的能力,具体生物学特性见表 3。

3 讨论与结论

土壤微生物会随着周围环境水势的下降而干燥,从而限制其生长发育。本研究利用不同渗透势 PEG-6000 人工模拟干旱,评估内蒙古和海南干旱地区的芽孢杆菌和伯克霍德尔菌的耐旱能力。PEG-6000 由于其分子量大,不能进入细胞且无毒害作用,加入水中后能降低水势,所以广泛用于筛选耐旱菌和耐旱作物品种的材料^[13,17-18]。相较于大部分研究中 20%-30%浓度的 PEG-6000^[19-21],本研究设置了 40% PEG-6000,具有更高的渗透胁迫效果,筛选出的菌具有更高的耐旱潜力。此外,本研究设置了 3 种不同的培养基: LB、1/5LB 和无氮培养基,以此来筛选不同营养条件下的细菌,获得更丰富的类群。

表3 供试菌株的生物学特性

Table 3 Biological characteristics of test strains

Strain code	Indole acetic acid ($\mu\text{g/L}$)	Siderophore (%)	Urease	Arginine decarboxylase	Biofilm
WB2	-	-	-	-	+
WB3	-	-	-	-	+
WA4	23.97 \pm 1.63	-	+	-	-
WB11	-	6.42 \pm 0.51	-	-	+
WB17	-	6.03 \pm 0.79	-	-	+
WC19	-	-	-	+	+
NB30	-	-	-	-	+
NB46	-	-	-	-	+
NB47	-	9.09 \pm 0.45	-	+	-
NA50	-	-	-	-	-
NC51	16.81 \pm 2.21	5.16 \pm 0.11	-	-	+
NC54	-	-	-	-	+
NA55	-	-	+	-	-
NA56	-	-	-	-	+
NB57	-	-	-	-	+
NO62	-	4.66 \pm 0.34	-	-	+
NO63	-	-	+	-	+
NC66	-	5.24 \pm 0.22	-	-	+
NC69	22.97 \pm 1.60	-	-	-	+
NC77	11.04 \pm 0.59	-	-	-	+
NO87	-	6.43 \pm 0.12	-	+	+
NO89	16.50 \pm 0.91	3.81 \pm 0.70	-	-	+
NC98	24.34 \pm 3.34	-	-	-	+
NC102	11.92 \pm 1.94	4.75 \pm 0.64	+	-	+
NG121	20.80 \pm 0.53	-	+	-	-
NG125	-	6.71 \pm 1.52	+	-	-
NG127	25.25 \pm 1.53	-	+	-	-
NG128	24.78 \pm 0.16	5.35 \pm 0.70	+	-	-
NG131	-	-	+	+	+
NG132	-	3.50 \pm 0.36	-	-	-

+: Positive; -: Negative.

在筛选耐旱菌过程中, 获得了许多种类细菌。芽孢杆菌属和伯克霍尔德菌属占大多数, 在3种培养基中均有筛出。实验证明这30株芽孢杆菌和伯克霍尔德菌具有较高的耐旱潜力和植物促生潜力, 可为后续实验提供材料。芽孢杆菌广泛存在于自然界中, 能在干旱条件下产生抗逆性强的芽孢, 从而逃脱当前不适宜生长

的环境^[22], 是一类耐旱能力强的细菌。同时, 芽孢杆菌具有多种生物学特性^[8,23-24], 在干旱环境下缓解胁迫对作物的消极影响, 提高作物产量。与芽孢杆菌不同, 伯克霍尔德菌是革兰氏阴性菌, 大多只耐受20% PEG-6000, 耐旱潜力较低。但其具有固氮、解磷能力, 是一类重要的植物根际促生菌^[25]。根据筛选条件不同, 耐旱

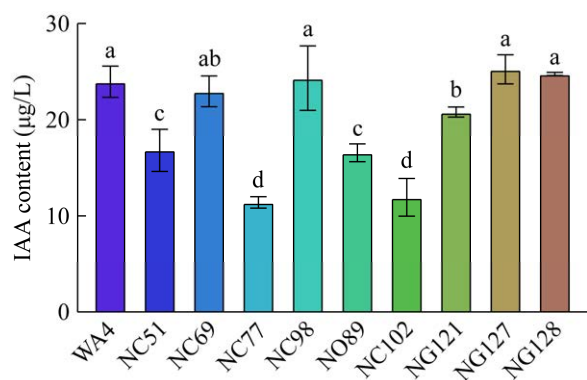


图 3 供试菌株分泌 IAA 产量

Figure 3 The production of IAA secreted by the tested strains.

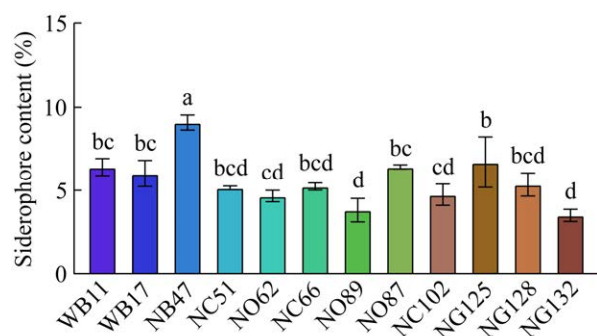


图 4 供试菌株分泌铁载体含量

Figure 4 The content of siderophore secreted by the tested strains.

菌除了芽孢杆菌属^[26-27]和伯克霍尔德属^[28-29], 还有假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)^[28,30]、根瘤菌属(*Rhizobium* spp.)^[29,31]、节杆菌属(*Arthrobacter* spp.)^[32-33]等。

结果表明, 本研究中 30 株耐旱菌都能耐受 20% PEG-6000 (即-0.6 mPa 渗透势), 具有较高的耐旱性。同一地区和属种的耐旱菌的生长模式表现出较大差异。分析发现, 可能有两种原因造成不同的生长模式。一种是土壤养分对细菌的干扰。已有报道证明, 在荒漠生态系统中, 土壤有机碳含量高的“肥岛”会聚集富营养型微生物, “肥岛”之外有机碳含量低的土壤主要是寡营养型微生物^[34]。这些微生物的生活史不同,

对待外界胁迫的反应程度也不同。另一种原因是土壤中的菌间互作。在土壤的大环境下, 复杂的菌落结构使得其中的细菌交叉互养, 更有耐旱菌能产生生物膜或者渗透调节物质来抵御干旱胁迫^[35], 从而使其他菌能在干旱环境中更好存活。但单独培养时, 部分细菌失去菌间互作, 可能就会表现出较低的生长活性。本研究中耐旱细菌尤其具有较强耐旱性的菌株其生长模式还需进一步研究。

随着渗透势的降低, 第二类生长模式的菌株的 OD_{600} 值也随之下降; 而第一类和第三类生长模式的菌株在相邻渗透势下会有一个持平 OD_{600} 值, 即 OD_{600} 值变化无显著差异。第一类生长模式的菌株在 10% PEG-6000 时, 与无 PEG-6000 胁迫时相比, OD_{600} 值无显著差异, 表明从干旱地区土壤筛选出的耐旱菌更适应轻度胁迫的环境。在 10% PEG-6000 条件下有一定的生长势这一特性在李萍等^[36]从青海干旱地区发现的蚕豆根瘤菌(*Vicia faba Rhizobium*)和 Niu 等^[37]从东北辽宁省西部半干旱地区小米根部筛选的荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)中都有表现。

第三类生长模式的供试菌株在 20% PEG-6000 和 30% PEG-6000 时 OD_{600} 值无显著差异, 与 Rashid 等^[3]筛选出的巨大芽孢杆菌(*Priestia megaterium*)相似。猜测可能是因为干旱对细菌的胁迫具有一个临界值, 在临界值附近的 OD_{600} 值无显著差异, 细菌还能维持一定的生长活性。但是突破临界值后, 细菌获得的水分不能维持正常的生长发育, 细菌就很难存活。这一点需要之后再实验验证。

本研究中每株耐旱菌都有 1-4 种生物学特性, 既具有耐旱性, 又具有植物促生潜力。在干旱环境中, 微生物通过多种方式维持细胞水分, 其中一种方式就是通过产胞外聚合物(extracellular

polymeric substance, EPS)形成的生物膜。作为具有高度黏性的聚合物,当添加到沙质土壤中时, EPS 使接菌的土壤比未做处理的土壤容纳更多的水来改变土壤的水分含量^[38]。作者认为, EPS 通过像海绵一样的结构来保护细菌免受干燥,从而使细菌进行代谢调整以维持生存。另外,接种产 EPS 的 PGPR,能够保持土壤含水率以及促进植物生长发育^[39]。Sandhya 等^[40]从向日葵根际土壤中筛选的恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)具有产 EPS 的能力,在干旱条件下有效地定殖于向日葵的根系黏附土壤,提高根系黏附土/根组织比和土壤团聚体的稳定百分比;通过扫描电子显微镜发现,接种细菌在根表面形成了生物膜,更好地黏附土壤结构,保护了植物免受干旱胁迫。因此,产 EPS 的细菌,具有改善土壤结构和保持土壤水分、促进细菌定殖、调节植物对缺水响应等能力,具有缓解植物干旱胁迫和提高土壤保水率的巨大潜力,所以把生物膜这一生理特性作为筛选耐旱菌株的重要指标。

其余的生物学特性如 IAA 属于植物激素,使植物在非生物胁迫中缓解胁迫^[41];铁载体是结合铁离子的螯合剂,有助于作物对抗由于铁不足引起的环境压力^[42];精氨酸脱羧酶是多胺合成的关键酶^[43];脲酶能将尿素水解成氨和二氧化碳,有利于植物吸收氮素^[44]。通过这些植物促生指标来筛选出 PGPR,提高作物生产力和农作物的耐旱性,并可用于在有限的水条件下最大限度地减少作物损失,为传统的育种技术提供新思路。

在当前气候变化情景下,应用 PGPR 是增加粮食产量的可持续方法。PGPR 通过同时缓解胁迫反应的生理、生化和分子方面,帮助植物适应干旱胁迫。将 PGPR 引入土壤和根际后的挑战是 PGPR 在干旱和其他胁迫下的生存。

因此,开发合适的 PGPR 是缓解干旱胁迫的重要课题,应重点探索与旱生植物根际或内生的耐旱菌。此外,土壤-植物-微生物的相互作用尚不清楚,随着各种“组学”方法的出现,有可能对这种错综复杂的关系有更深入的理解。鉴于自然环境中微生物群落的多样性和复杂性,探索植物微生物群的功能在技术上仍然具有挑战性,而人工合成菌群(synthetic community, SynCom)能在一定程度上模拟自然条件下的植物土壤微生物群落^[45]。接种于玉米后, SynCom 能在植物根系上定殖,并招募 PGPRs,从而提高了植物对重度干旱的抗逆性^[46]。由 *Bacillus* sp. 组成的菌群通过产 IAA、铁载体及溶磷能力,增强了菠菜在缺水情况下的生长发育,提高了光合作用的速率^[47]。比起单一菌株,合成菌群对提高植物的耐旱性具有更复杂的生理机制和更深远的现实意义。

基于耐旱性分析和生物学特性分析,筛选到 2 株优质耐旱芽孢杆菌 NC51 和 NO89,均为第三类生长模式。菌株 NC51 和 NO89 在 30% PEG-6000 胁迫下的 OD_{600} 值分别为 1.04 ± 0.15 、 1.10 ± 0.11 ,并且这 2 株菌均有产 IAA、铁载体和生物膜特性。本研究结果丰富了耐旱菌的种质资源库,也可为后续人工合成菌群的构建提供材料。

REFERENCES

- [1] MONDAL S, MISHRA AK, LEUNG R, COOK B. Global droughts connected by linkages between drought hubs[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 144.
- [2] United Nations Convention to Combat Desertification. Drought in Numbers 2022[EB/OL]. (2022-05-20) [2024-02-01]. <http://www.unccd.int/resources/publications/drought-numbers>.
- [3] RASHID U, YASMIN H, HASSAN MN, NAZ R, NOSHEEN A, SAJJAD M, ILYAS N, KEYANI R, JABEEN Z, MUMTAZ S, ALYEMENI MN, AHMAD

- P. Drought-tolerant *Bacillus megaterium* isolated from semi-arid conditions induces systemic tolerance of wheat under drought conditions[J]. *Plant Cell Reports*, 2022, 41(3): 549-569.
- [4] SOBOLEVA A, FROLOVA N, BUREIKO K, SHUMILINA J, BALCKE GU, ZHUKOV VA, TIKHONOVICH IA, FROLOV A. Dynamics of reactive carbonyl species in pea root nodules in response to polyethylene glycol (PEG)-induced osmotic stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(5): 2726.
- [5] GROVER M, ALI SZ, SANDHYA V, RASUL A, VENKATESWARLU B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(5): 1231-1240.
- [6] JOCHUM MD, McWILLIAMS KL, BORREGO EJ, KOLOMIETS MV, NIU GH, PIERSON EA, JO YK. Bioprospecting plant growth-promoting rhizobacteria that mitigate drought stress in grasses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2106.
- [7] COHEN AC, BOTTINI R, PONTIN M, BERLI FJ, MORENO D, BOCCANLANDRO H, TRAVAGLIA CN, PICCOLI PN. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels[J]. *Physiologia Plantarum*, 2015, 153(1): 79-90.
- [8] ARMADA E, PROBANZA A, ROLDÁN A, AZCÓN R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 192: 1-12.
- [9] SALEEM AR, BRUNETTI C, KHALID A, DELLA ROCCA G, RAIIO A, EMILIANI G, de CARLO A, MAHMOOD T, CENTRITTO M. Drought response of *Mucuna pruriens* (L.) DC. inoculated with ACC deaminase and IAA producing rhizobacteria[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0191218.
- [10] UZMA M, IQBAL A, HASNAIN S. Drought tolerance induction and growth promotion by indole acetic acid producing *Pseudomonas aeruginosa* in *Vigna radiata*[J]. *PLoS One*, 2022, 17(2): e0262932.
- [11] CHEN CQ, XIN KY, LIU H, CHENG JL, SHEN XH, WANG Y, ZHANG L. *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41564.
- [12] CRUZ C, CARDOSO P, SANTOS J, MATOS D, FIGUEIRA E. Bioprospecting soil bacteria from arid zones to increase plant tolerance to drought: growth and biochemical status of maize inoculated with plant growth-promoting bacteria isolated from Sal Island, Cape Verde[J]. *Plants*, 2022, 11(21): 2912.
- [13] LI P, TENG CC, ZHANG JF, LIU YJ, WU XX, HE T. Characterization of drought stress-mitigating *Rhizobium* from faba bean (*Vicia faba* L.) in the Chinese Qinghai-Xizang Plateau[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1212996.
- [14] JIANG CY, SHENG XF, QIAN M, WANG QY. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil[J]. *Chemosphere*, 2008, 72(2): 157-164.
- [15] 李枢妍, 何艳丽, 宋超东, 黄夏至, 陆君铭, 李时勇, 张红岩, 申乃坤, 姜明国. 铜绿假单胞菌 Gxun-2 产铁载体发酵条件优化及其抑菌效果[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(10): 118-125.
- LI SY, HE YL, SONG CD, HUANG XZ, LU JM, LI SY, ZHANG HY, SHEN NK, JIANG MG. Optimization of siderophores production and its antifungal activity of *Pseudomonas aeruginosa* gxun-2[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(10): 118-125 (in Chinese).
- [16] 杜俊鹏, 吕军, 吴计生, 赵立勇, 魏春风, 张宇. 基于主成分分析法和系统聚类分析法的河流水质评价研究[J]. *水利技术监督*, 2022, 30(12): 216-220.
- DU JP, LÜ J, WU JS, ZHAO LY, WEI CF, ZHANG Y. Study on river water quality evaluation based on principal component analysis and system cluster analysis[J]. *Technical Supervision in Water Resources*, 2022, 30(12): 216-220 (in Chinese).
- [17] 卢前成, 宁松瑞, 颜安, 孙萌, 左筱筱. PEG-6000 干旱胁迫下 18 种牧草种子萌发特性与响应机制[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(22): 180-190.
- LU QC, NING SR, YAN A, SUN M, ZUO XX. Seed germination characteristics and response mechanism of 18 forage grasses under PEG-6000 simulated drought stress[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2023, 51(22): 180-190 (in Chinese).
- [18] 许健, 于海林, 王宇先, 周超, 兰宏宇, 徐莹莹, 李青超. 苗期玉米对 PEG-6000 胁迫的生理响应[J]. *黑龙江农业科学*, 2021(8): 8-11.

- XU J, YU HL, WANG YX, ZHOU C, LAN HY, XU YY, LI QC. Physiological response of maize to PEG-6000 stress at seedling stage[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2021(8): 8-11 (in Chinese).
- [19] LI YT, CHENG C, AN DD. Characterisation of endophytic bacteria from a desert plant *Lepidium perfoliatum* L[J]. Plant Protection Science, 2016, 53(1): 32-43.
- [20] DEVARAJAN AK, SABARINATHAN KG, GOMATHY M, KANNAN R, BALACHANDAR D. Mitigation of drought stress in rice crop with plant growth-promoting abiotic stress-tolerant rice phyllosphere bacteria[J]. Journal of Basic Microbiology, 2020, 60(9): 768-786.
- [21] LÜ ZW, LIU HY, WANG CL, CHEN X, HUANG YX, ZHANG MM, HUANG QL, ZHANG GF. Isolation of endophytic fungi from *Cotoneaster multiflorus* and screening of drought-tolerant fungi and evaluation of their growth-promoting effects[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1267404.
- [22] NICHOLSON WL, MUNAKATA N, HORNECK G, MELOSH HJ, SETLOW P. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR, 2000, 64(3): 548-572.
- [23] HAN L, ZHANG M, DU L, DU L, ZHANG L, LI B. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 on photosynthesis and antioxidant characteristics of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under drought stress[J]. Agronomy, 2022, 12(9): 2177.
- [24] XIE ZC, ZHANG XJ, LANG DY, ZHANG XH. Growth-promoting bacteria alleviates drought stress of *G. uralensis* through improving photosynthesis characteristics and water status[J]. Journal of Plant Interactions, 2019, 14(1): 580-589.
- [25] 张珂飞, 钟永嘉, 孙丽莉, 廖红. 植物有益伯克霍尔德氏菌的研究进展及其在农业中的应用[J]. 微生物学报, 2021, 61(8): 2205-2218.
- ZHANG KF, ZHONG YJ, SUN LL, LIAO H. Research progress of plant-associated beneficial *Burkholderia* and its application in agriculture. Plant-associated beneficial *Burkholderia*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(8): 2205-2218 (in Chinese).
- [26] ZHOU C, MA ZY, ZHU L, XIAO X, XIE Y, ZHU J, WANG JF. Rhizobacterial strain *Bacillus megaterium* BOFC15 induces cellular polyamine changes that improve plant growth and drought resistance[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 976.
- [27] LOZO J, DANOJEVIĆ D, JOVANOVIĆ Ž, NENADOVIĆ Ž, FIRA D, STANKOVIĆ S, RADOVIĆ S. Genotype-dependent antioxidative response of four sweet pepper cultivars to water deficiency as affected by drought-tolerant *Bacillus safensis* SS-2.7 and *Bacillus thuringiensis* SS-29.2 strains[J]. Horticulturae, 2022, 8(3): 236.
- [28] PRASANNA KUMAR B, TRIMURTULU N, VIJAYA GOPAL A, NAGARAJU Y. Impact of culturable endophytic bacteria on soil aggregate formation and peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and yield under drought conditions[J]. Current Microbiology, 2022, 79(10): 308.
- [29] MESELE A, YITBARK W, TESFAYE A, ENRIQUE G, FRANCISCO JJ. The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating drought stress on pepper plants[J]. Agricultural Water Management, 2022, 272: 107831.
- [30] SANDHYA V, ALI SZ, VENKATESWARLU B, REDDY G, GROVER M. Effect of osmotic stress on plant growth promoting *Pseudomonas* spp.[J]. Archives of Microbiology, 2010, 192(10): 867-876.
- [31] IGIEHON NO, BABALOLA OO, AREMU BR. Genomic insights into plant growth promoting rhizobia capable of enhancing soybean germination under drought stress[J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 159.
- [32] HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ G, GALÁN B, CARMONA M, CASTRO L, GARCÍA JL. Transcriptional response of the xerotolerant *Arthrobacter* sp. Helios strain to PEG-induced drought stress[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1009068.
- [33] SANTACRUZ-CALVO L, GONZÁLEZ-LÓPEZ J, MANZANERA M. *Arthrobacter siccitolerans* sp. nov., a highly desiccation-tolerant, xeroprotectant-producing strain isolated from dry soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(Pt 11): 4174-4180.
- [34] LI SY, YANG SS, WEI XM, JIAO S, LUO W, CHEN WM, WEI GH. Reduced trace gas oxidizers as a response to organic carbon availability linked to oligotrophs in desert fertile islands[J]. The ISME Journal, 2023, 17(8): 1257-1266.
- [35] ALLISON SD. Microbial drought resistance may destabilize soil carbon[J]. Trends in Microbiology, 2023, 31(8): 780-787.

- [36] 李萍, 滕长才, 刘玉皎, 张金发, 侯万伟, 何涛, 张晓玲, 王建忠. 青海一株蚕豆根瘤菌的鉴定及抗旱性评价[J]. 微生物学报, 2022, 62(10): 4030-4046.
LI P, TENG CC, LIU YJ, ZHANG JF, HOU WW, HE T, ZHANG XL, WANG JZ. Identification of *Vicia faba* Rhizobium and drought resistance verification in arid region of Qinghai[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(10): 4030-4046 (in Chinese).
- [37] NIU XG, SONG LC, XIAO YN, GE WD. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2580.
- [38] ROBERSON EB, FIRESTONE MK. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(4): 1284-1291.
- [39] KHAN N, BANO A, ALI BABAR M. The root growth of wheat plants, the water conservation and fertility status of sandy soils influenced by plant growth promoting rhizobacteria[J]. Symbiosis, 2017, 72(3): 195-205.
- [40] SANDHYA V, SK Z A, GROVER M, REDDY G, VENKATESWARLU B. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45[J]. Biology and Fertility of Soils, 2009, 46(1): 17-26.
- [41] FAHAD S, HUSSAIN S, BANO A, SAUD S, HASSAN S, SHAN D, KHAN FA, KHAN F, CHEN YT, WU C, TABASSUM MA, CHUN MX, AFZAL M, JAN A, JAN MT, HUANG JL. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(7): 4907-4921.
- [42] SCHALK IJ, HANNAUER M, BRAUD A. New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(11): 2844-2854.
- [43] BURRELL M, HANFREY CC, MURRAY EJ, STANLEY-WALL NR, MICHAEL AJ. Evolution and multiplicity of arginine decarboxylases in polyamine biosynthesis and essential role in *Bacillus subtilis* biofilm formation[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(50): 39224-39238.
- [44] ABALOS D, JEFFERY S, SANZ-COBENA A, GUARDIA G, VALLEJO A. Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2014, 189: 136-144.
- [45] VORHOLT JA, VOGEL C, CARLSTRÖM CI, MÜLLER DB. Establishing causality: opportunities of synthetic communities for plant microbiome research[J]. Cell Host & Microbe, 2017, 22(2): 142-155.
- [46] ARMANHI JSL, de SOUZA RSC, BIAZOTTI BB, YASSITEPE JECT, ARRUDA P. Modulating drought stress response of maize by a synthetic bacterial community[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 747541.
- [47] PETRILLO C, VITALE E, AMBROSINO P, ARENA C, ISTATATO R. Plant growth-promoting bacterial consortia as a strategy to alleviate drought stress in *Spinacia oleracea*[J]. Microorganisms, 2022, 10(9): 1798.