



厦门大学学报(自然科学版)
Journal of Xiamen University(Natural Science)
ISSN 0438-0479,CN 35-1070/N

《厦门大学学报(自然科学版)》网络首发论文

题目: 黑果枸杞根际耐盐碱细菌筛选及其促生特性分析
作者: 热孜亚·吐尔逊, 郑勇, 阿丽亚·外力, 特列吾·哈杰提, 黄晶晶, 玛依拉·买苏提, 依丽米努尔·艾力, 艾斯凯尔·玉苏普, 旭格拉·哈布丁
收稿日期: 2021-07-11
网络首发日期: 2022-04-27
引用格式: 热孜亚·吐尔逊, 郑勇, 阿丽亚·外力, 特列吾·哈杰提, 黄晶晶, 玛依拉·买苏提, 依丽米努尔·艾力, 艾斯凯尔·玉苏普, 旭格拉·哈布丁. 黑果枸杞根际耐盐碱细菌筛选及其促生特性分析[J/OL]. 厦门大学学报(自然科学版). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/35.1070.N.20220426.2027.002.html>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

黑果枸杞根际耐盐碱细菌筛选及其促生特性分析

热孜亚·吐尔逊, 郑勇, 阿丽亚·外力, 特列吾·哈杰提, 黄晶晶,

玛依拉·买苏提, 依丽米努尔·艾力, 艾斯凯尔·玉苏普, 旭格拉·哈布丁*

(新疆师范大学生命科学学院, 新疆干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 新疆特殊环境物种多样性应用与调控重点实验室, 新疆师范大学沙漠藻研究院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

*通信作者 旭格拉·哈布丁, xugela@163.com

摘要 为了得到具有耐盐碱及具有促生特性的菌株, 采用梯度稀释涂布法从黑果枸杞根际土壤中分离得到 110 株根际微生物, 通过革兰氏染色和平板划线法观察落形态和生长特性选择 37 株进行 16S rRNA 基因序列比对, 结果显示 37 株菌株分别属于 9 个属, 其中 *Bacillus* 为优势属。在盐质量分数为 2%~25% 和 pH 为 5~12 的培养基中对上述菌株进行筛选及除盐、除碱特性研究, 并采用固氮、溶磷、产吲哚乙酸 (IAA) 和产铁载体定性、定量法研究促生特性。结果显示: 其中 10 株根际细菌在盐浓度为 2%~20% 和 pH 为 5~11 培养基中均能生长, 在 36 h 时除盐、除碱效率最好且菌株 HQY8 除盐、除碱率达到 75% 和 42%。10 株耐盐碱根际细菌在阿须贝无氮培养基中也能生长并绘制出生长曲线, 溶磷量为 28.2~52.63 mg/L 之间, 菌株 HQA2 在 60 h 时产 IAA 能力达 54.21 mg/L 且产铁载体能力也最好, 周围产生的黄色晕圈直径为 37.25 mm。综上, 筛选获得的 10 株黑果枸杞耐盐碱根际细菌可为开发生物菌肥和改良土壤极端环境提供优良菌株。

关键词 黑果枸杞; 根际细菌; 耐盐碱; 盐碱去除; 溶磷; 吲哚乙酸; 铁载体

中图分类号 Q93-3

文献标志码: A

DOI: 10.6043/j.issn.0438-0479.202107018

Screening and growth promoting characteristics of saline alkali tolerant bacteria in rhizosphere of *Lycium ruthenicum barbarum*

RAZIYA Tursun, ZHENG Yong, ALIYA Wali, TELIEWU Hajieti, HUANG Jingjing, MAYIRA Ali, ELMINUR Ali,

ASKAR Yusup, HABDEN Xugela✉

(College of Life Science, Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Special Environment Biodiversity Application and Regulation in Xinjiang, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, Institute of Desert Algae, Xinjiang Normal University, Xinjiang Urumqi 830054)

Abstract In order to obtain strains with salt tolerance and growth promoting characteristics, 110 rhizosphere microorganisms were isolated from the rhizosphere soil of *Lycium ruthenicum barbarum* by gradient dilution coating method. The colony morphology and growth characteristics were observed by Gram staining and plate scribe method. 37 strains were selected for 16S rRNA gene sequence comparison. The results showed that 37 strains belonged to 9 genera, of which bacillus was the dominant genus. The above strains were screened in the medium with salt concentration of 2%~25% and pH of 5~12, and the characteristics of salt and alkali removal were studied. The growth promoting characteristics were studied by qualitative and quantitative methods of nitrogen fixation, phosphorus dissolution, indoleacetic acid (IAA) production and iron carrier. The results showed that 10 rhizosphere bacteria could grow in the medium with salt concentration of 2%~20% and pH of 5~11. The salt and alkali removal efficiency was the best at 36h, and the salt and alkali removal rates of strain hqy8 were 75% and 42%. Ten strains of saline alkali tolerant rhizosphere bacteria can also grow and draw the birth length curve in ashbe

收稿日期: 2021-07-11

基金项目: 新疆干旱区植物逆境重点实验室项目(XJNUSYS112018A01); 自治区重点研发计划(2016B03041-2)

网络首发时间: 2022-04-27 11:02:54 网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/35.1070.N.20220426.2027.002.html>

nitrogen-free medium. The amount of phosphorus dissolved is between 28.2~52.63 mg/L. the IAA production capacity of strain hqa2 reaches 54.21 mg/L and the iron carrier production capacity is the best at 60 h. The diameter of the surrounding yellow halo is 37.25 mm. In conclusion, the 10 strains of saline alkali tolerant rhizosphere bacteria of *Lycium ruthenicum barbarum* can provide excellent strains for the development of biological bacterial fertilizer and the improvement of soil extreme environment.

Key words *Lycium ruthenicum* Murr.; rhizosphere bacteria; salt tolerance; desalting alkali; dissolving phosphorus; indole acetic acid; iron carrier

盐生植物根际存在大量的耐盐耐碱细菌,其通过自身代谢物特征与宿主植物互作促进植物生长^[1-2]。研究表明,根际耐盐碱细菌能够通过耐盐、耐碱、固氮、溶磷、产铁载体、分泌吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, ACC 脱氨酶)促进植物生长发育,并赋予植物抗盐、抗碱、抗旱等特性,避免或降低逆境中盐碱对植物的伤害。基于根际耐盐碱细菌具有能够促进植物生长的特征,研发高效的微生物肥料,替代化肥与农药及降低化肥与农药对土壤环境污染已成为研究热点之一^[3-6]。

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)是根蘖性强、抗盐碱、耐土壤贫瘠的多年生盐生灌木植物,主要分布于我国西北盐碱荒漠地区,兼具巨大药用、经济和生态价值^[7-8]。其果实含有大量的大分子物质和微量元素(Mn、Sr、Se、Zn、Cu等)、葡萄糖、甜菜碱、甾醇类、香豆酸、枸杞多糖等多种成分^[9]。同时,许多研究表明,黑果枸杞具有贮盐功能,能承受一定浓度的盐胁迫,能在一定含盐量的土壤环境中生长发育,可作为我国改良土壤盐渍化和保护生态环境的先锋树种,具有广泛的经济前景与开发潜力^[10-11]。近年来新疆大力推广种植黑果枸杞,据不完全统计种植面积已达为14~18万亩,是我国主要生产区,对新疆地区盐碱地的生态建设、保护、修复及改良利用起到推动作用,为当地带来经济、社会和生态效益^[12-13]。

植物根际细菌的数量分布及促进植物生长特性不仅与植物种类有关,还与植物所处的环境和土壤条件密切相关^[14]。因此,本研究从新疆鄯善县黑果枸杞根际分离筛选耐盐碱菌株,并初步研究菌株的生物学特性,从而为研发适于盐碱环境微生物肥料提供理论依据和菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 供试土样

供试土壤在2020年10月采自位于经度为90.386°,纬度42.867°,海拔773 m的新疆鄯善县黑果枸杞根际土壤,共设5个采样点,每个点选取生长较好的黑果枸杞,去掉树枝落叶层,小心挖取离地表30cm深处的黑果枸杞根,将根际表面土壤用刷子刷落在无菌白纸上,并混匀5个采样点土壤,再装入无菌袋中,低温保存带回实验室。

1.1.2 培养基

无机磷培养基(g/L): C₆H₁₂O₆ 10, Ca₃(PO₄)₂ 10, NaCl 50, KCl 10, MgCl₂·6H₂O 5, MgSO₄·7H₂O 0.3, FeSO₄·7H₂O 0.03, MnSO₄·7H₂O 0.03, 琼脂粉 20, pH 7.5。

有机磷培养基(g/L): C₁₃H₂₄O₄ 10, NaCl 50, C₆H₁₂O₆ 10, 牛肉膏 3, C₄H₈NO₈P 5, 琼脂粉 20, pH 7.5。

阿须贝无氮培养基(g/L): C₆H₁₄O₆ 10, K₂HPO₄ 0.2, NaCl 50, MgSO₄·7H₂O 0.2, CaSO₄·7H₂O 0.5, CaCO₃ 5, 琼脂粉 20, pH 7.5。

改良ISP2(g/L): C₆H₁₂O₆ 4, Yeast extract 4, Malt extrac 5, C₁₃H₂₄O₄ 4, NaCl 50, 琼脂粉 20, pH 7.5。

使用King培养基^[15]检测菌株分泌IAA的能力;使用CAS固体培养基和MKB液体培养基^[16]测定菌株分泌IAA能力。

1.1.3 主要试剂

EasyPure Genomic DNA Kit、2×High Fidelity PCR SuperMix 等购自北京全式金生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 根际土壤理化性质测定

供试土样送至中国科学院新疆生态与地理研究所生态与环境分析测试中心进行 pH、总盐、硫酸根、氯离子、钠离子、镁离子、钾离子、有机质、全氮、水解性磷，有效磷等指标的测定。

1.2.2 根际细菌的分离、纯化及保存

采用梯度稀释涂布培养的方式将所采集的土壤样品稀释，取稀释土悬液 200 μL 涂布于改良 ISP2 培养基上，37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静止培养待菌落长出，将长出来的菌落根据不同菌落形态通过平板划线法分别进行分离纯化。将纯化菌株依次分别划线于无机磷培养基、有机磷培养基和阿须贝无氮培养基进行筛选并选取在这几种培养基中都能生长的菌株保存于改良 ISP2 斜面培养基中，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用；50%（体积分数）甘油体积比为 1:1 进行菌种-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3 菌种的鉴定

1.3.1 菌落形态特征及菌体鉴定

将测试菌株划线于阿须贝无氮固体培养基上，待长出单菌落，并观察菌落大小、颜色、表面、透明度、边缘、质地等形态特征。挑取单菌落进行革兰氏染色，显微镜下观察菌体特征。

1.3.2 基于 16S rRNA 基因序列分子鉴定

采用 EasyPure Genomic DNA Kit 提取细菌总 DNA。采用全式金 2×High Fidelity PCR SuperMix 进行 16S rRNA 基因序列扩增。扩增引物：27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')。PCR 反应体系 (50 μL)：2×High Fidelity PCR SuperMix 25 μL ，27F 引物 (20 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL ，1492R 引物 (20 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL ，基因组 DNA 1 μL ，用无菌 ddH₂O 补充为 50 μL 。PCR 反应程序：94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min；94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s，55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s，33 次循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 保温 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳检测：取 4 μL PCR 反应产物与 1 μL DNA loading buffer 混匀，以 DNA marker 对照进行电泳检测。根据检测结果，将 PCR 产物送至上海生工股份有限公司完成测序。将测序结果进行 Blast 序列比对并分析吐鲁番干旱地区黑果枸杞根际细菌多样性。

1.4 耐盐、耐酸碱能力的测定

1.4.1 耐盐能力测定

将待测菌株活化后，按 1% 接种量将菌株分别接种于 50 mL 改良 ISP2 液体培养基，37 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min，震荡培养，制备生长 600 nm 处吸光度 (A_{600}) 为 0.5 的菌液悬浮液。

定性测定：取 5 μL 悬浮液用微量移液枪点种于 NaCl 浓度为 2%，5%，10%，15%，20%，25% 的改良 ISP2 固体培养基上，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱倒置培养待菌落长出，并观察菌落特征，每组 3 个平行。

定量测定：按 1% 接种量将菌株分别接种于盐度为 2%，5%，10%，15%，20%，25%（以 NaCl 计）的 50 mL 改良 ISP2 液体培养基中，37 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 震荡培养，利用分光光度计测量 24 h 的菌悬液 A_{600} ，每组 3 个平行。

1.4.2 耐碱能力测定

定性测定：将菌种取 5 μL 接种于 pH 值为 5，6，7，8，9，10，11，12 的改良 ISP2 固体培养基中，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱倒置培养待菌落长出，并观察菌落特，每组 3 个平行。

定量测定：按 1% 接种量将菌株分别接种于 pH 值分别为 5，6，8，9，10，11，12（以 NaOH 计）的 50 mL 改良 ISP2 液体培养基中，37 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 震荡培养，利用分光光度计测量 24 h 的菌悬液 A_{600} ，每组 3 个平行。

1.4.3 除盐、除碱能力测定

将待测菌株按 1% 接种量接种于 pH 值为 9, 盐度为 8% 的改良 ISP2 液体培养基中, 37 °C, 180 r/min 震荡培养, 培养时间点为 12, 24, 36, 48 h。

利用 AgNO₃ 溶液滴定法测定菌株除盐能力, 取 2 mL 发酵液, 滴加 1 滴 10% (质量分数) 铬酸钾溶液作为指示剂, 用 0.1 mol/L AgNO₃ 溶液滴定。一边滴一边摇晃, 直至三角瓶中出现砖红色沉淀且颜色不褪去即为滴定终点。记录 AgNO₃ 溶液用量, 并计算 Cl⁻ 浓度 $c(\text{Cl})$, 每组 3 个平行。其计算公式为 $c(\text{Cl})=c(\text{AgNO}_3)\times V_1/V_2$, 式中: V_1 为滴定时消耗的 AgNO₃ 溶液的体积 (mL); V_2 为滴定时取的发酵液的体积, 即 2 mL。

菌株除盐效率 $\eta_1=(c(\text{Cl})_{\max}-c(\text{Cl})_{\min})/c(\text{Cl})_{\max}\times 100\%$, 式中: $c(\text{Cl})_{\max}$ 为培养基中 Cl⁻ 降解前浓度 (mol/L); $c(\text{Cl})_{\min}$ 为培养基中 Cl⁻ 降解后浓度 (mol/L)。

利用 pH 计测量发酵液前后 pH 值, 并按以下公式计算除碱效率。

菌株除碱效率 $\eta_2=(\text{pH}_{\text{初始}}-\text{pH}_{\text{终止}})/\text{pH}_{\text{初始}}\times 100\%$, 式中: $\text{pH}_{\text{初始}}$ 为接种前培养基酸碱度; $\text{pH}_{\text{终止}}$ 为反应终止菌株降解后培养基酸碱度。

1.5 根际细菌生物活性检测

1.5.1 阿须贝无氮培养基中生长能力测定

以 1% 接种量将待测菌株接种于 100 mL 阿须贝无氮液体培养基, 在 37 °C, 180 r/min, 震荡培养, 每 2 h 取 5 mL 发酵液测定 (0, 2, 4, 8, 10, 12, …, 72 h), 每时间段记录 A_{600} , 绘制生长曲线 (3 个生物学重复)。

1.5.2 溶磷能力的测定

采用打孔法在无机磷固体培养基中打 4 个孔, 直径为 6 mm, 每个孔中分别加入 50 μL 发酵液 (108 cfu/mL), 3 个生物学重复, 在 37 °C 恒温培养箱中倒置培养 15 d 后, 记录各溶磷菌的溶磷圈直径。根据溶磷圈直径的大小对菌株的溶磷能力进行初步判断。

将菌株按 1% 接种于装有 50 mL 无机磷液体培养基的 100 mL 锥形瓶中, 置于 37 °C、180 r/min 的摇床中震荡培养 5 d, 4 °C、10000 r/min 下离心 10 min 后, 取上清液, 采用钼蓝比色法测定上清液中有效磷 (P) 的含量^[17]。

1.5.3 分泌 IAA 能力的测定

参考 Glickman 等^[18]的方法, 将菌株按 1% 的接种量接种到装有 3.0 mL King 液体培养基的 12.0 mL 试管中 (添加浓度为 0.5 g/L 的 L-色氨酸), 每组 3 个重复。37 °C、180 r/min 震荡培养 2 d, 离心后取 50 μL 上清液 100 μL Sackowcki's 显色剂在室温下避光静置 15~20 min。观察颜色变化, 颜色变红说明能够分泌生长素, 且颜色越深表示分泌生长素能力越强。

将菌株取上清液加入等体积显色液 (10.8 mol/L H₂SO₄、4.5 g/L FeCl₃), 混匀避光静置 30 min, 测定其 540 nm 处吸光度 (A_{540})。用 0.5~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ IAA 标准液测定绘制标准曲线, 根据标准曲线计算菌液 IAA 含量^[19]。

1.5.4 分泌铁载体能力测定

采用打孔法在 CAS 固体培养基中打 4 个孔, 直径为 6 mm, 分别加入 50 μL 菌液, 每组重复 3 次, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养 3~5 d, 若菌落周围产生橘黄色晕圈, 则该菌株能够分泌铁载体, 黄色圈的直径大小与该菌株分泌铁载体能力大小成正比^[20]。

1.6 盆栽促生试验

利用这 10 株根际细菌进行盆栽促生试验。设计 3 个处理, 即空白对照 (不加 NaCl、不接种根际细菌)、阴性对照 (加入 300 mmol/L NaCl、不接种根际细菌) 和阳性对照 (加入 300 mmol/L NaCl、接种根际细菌), 每个处理设置 3 次重复。选择直径为 14 cm 的花盆, 每盆装入 500 g 经高温灭菌的土壤, 挑选饱满度较好、大小基本一致的黑果枸杞种子在 70% (体积分数) 乙醇中表面消毒 3 min, 用灭菌的蒸馏水冲洗 3~5 次, 在 37 °C 水浴锅中 24 h 恒温催芽, 每盆中种植 5 颗种子, 每组重复 3

次, 放置在条件为 12 h 光照/12 h 黑暗条件、温度 25 °C/20 °C 条件下培养 14 d 后连续 3 次浇灌 NaCl 溶液, 以保持盐浓度在 300 mmol/L。从第 4 天开始将各菌株在 37 °C、180 r/min 震荡过夜培养, 离心、弃上清, 沉淀用无菌水洗涤 2 次后, 用无菌水重悬, 调节重悬菌液浓度为 $A_{600}=0.50\pm 0.04$ 并洗涤好的菌液取 1 mL 灌根相应盆中的幼苗, 同时阴性对照和空白对照组也用 NaCl 溶液和无菌水灌根培养, 每隔两天灌根一次。培养 60 d 后, 盆中黑果枸杞连根拔起, 用蒸馏水冲洗干净后擦干称重, 记录为鲜质量 (g), 称完鲜重后放入干燥箱中 75 °C 干燥 24 h 称量, 记录为干质量 (g)、用游标卡尺测量其株高 (cm) 和根长 (cm) 和测量叶绿素含量及叶片数等指标。

1.7 耐盐碱根际细菌菌株鉴定

1.7.1 16S rRNA 基因序列分析及系统进化树的构建

16S rRNA 基因序列测序结果提交至 GenBank 进行 Blast 序列比对分析。根据比对结果选取所需的参照菌株及其 16S rRNA 基因序列, 采用 MEGA7.0 软件通过邻接 (neighbour-joining) 法构建系统进化树。

2 结果与分析

2.1 根际土壤理化性质

鄯善县野生黑果枸杞根际土壤理化性质测定结果显示, 根际土壤 pH 为 8.86, 总盐含量为 0.838 mg/g, 其根际土壤有机质含量为 2.66 g/kg, 总氮含量 0.16 g/kg, 速效磷 3.37 mg/kg, Na^+ 0.843 mg/g, K^+ 0.043 mg/g, Mg^{2+} 0.086 mg/g, Cl^- 0.990 mg/g, SO_4^{2-} 0.556 mg/g。黑果枸杞根际土壤属于有机质、氮、磷元素严重匮乏, 微量元素不平衡的极端盐碱土壤。

2.2 根际细菌的筛选

采用 4 种不同培养基分离鄯善县黑果枸杞根际土壤样品, 获得 110 株根际细菌。经过菌株形态、颜色、粘稠性及生长大小的不同重排结果得到 37 株根际细菌 (见附录), 其菌落形态及菌体鉴定如 S1 与图 1 所示。图 1A 与 B 显示选代表性的 3 株菌在培养基中及显微镜下的观察结果。

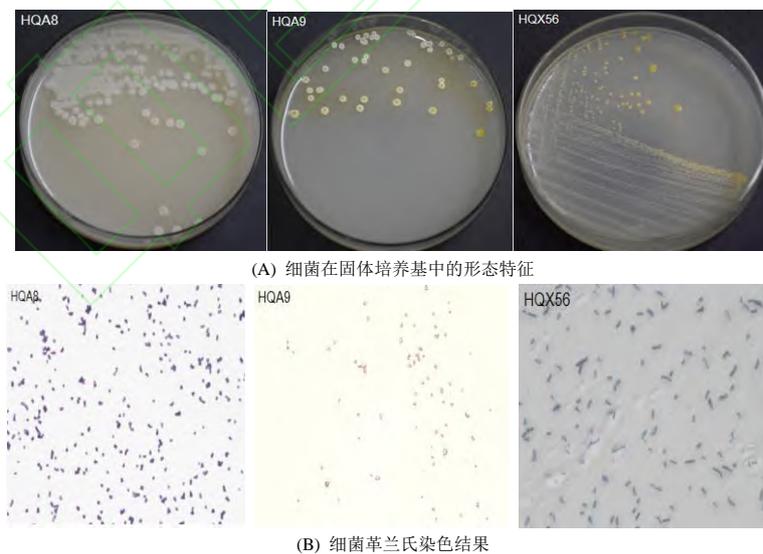


图 1 黑果枸杞根际细菌菌落形态
Fig. 1 Bacterial colony morphology in rhizosphere of *Lycium ruthenicum*

测序得到的 16S rRNA 基因序列提交 NCBI 数据库进行 Blast 序列比对发现, 所筛选得到的 37 株根际细菌分别属于 9 个属, 其中 *Bacillus* 为优势菌属 (22 株), 其次为 *Streptomyces* (4 株), 此外 *Arthrobacter* (2 株), *Paenibacillus* (2 株), *Pseudomonas* (2 株), *Bacterium* (2 株),

Brevibacillus (1 株), *Staphylococcus* (1 株), *Enterobacter* (1 株) 等, 与其相似菌的相似度为 99% 或 100%。

2.3 根际细菌的耐盐、耐碱及除盐、除碱能力

2.3.1 耐盐、耐碱能力

37 株根际细菌分别在盐浓度为 2%~25% 改良 ISP2 液体培养基和 pH 值为 5~11 改良 ISP2 液体培养基中进行接种培养, 其结果显示, 10 株根际细菌兼有较好的耐盐及耐碱能力, 在盐浓度为 2%~20% 和 pH 为 5~11 液体培养基中均能生长, 其最适生长盐浓度为 5% 和最适 pH 为 7, 其中菌株 HQA8、HQA9、HQX52 和 HQX34 耐盐、耐碱综合能力最好, 如图 2 (A 和 B) 所示。

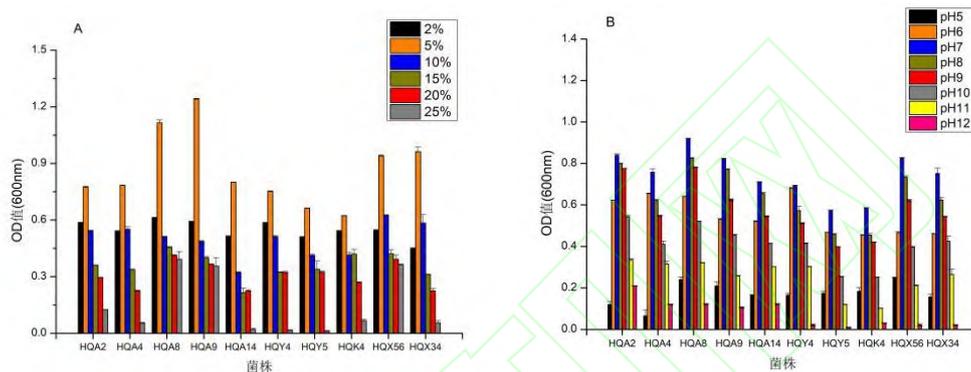


图 2 10 株根际细菌耐盐 (A) 和耐碱 (B) 能力
Fig. 2 Salt tolerance (A) and alkali tolerance (B) abilities of 10 rhizosphere bacteria

2.3.2 除盐、除碱能力

根据耐盐、耐碱能力实验结果, 将 10 株根际细菌分别在 pH 值为 9, 盐浓度为 8% 的改良 ISP2 液体培养基中接种培养, 其实验结果显示, 10 株根际细菌培养至 36 h 除盐、除碱效率最好且菌株 HQY8 除盐、除碱率达到了最高值, 分别为 75% 和 42%, 如图 3 (A 和 B) 所示。说明 10 株根际细菌不仅有耐盐、耐碱性能, 而且兼具除盐、除碱特性。

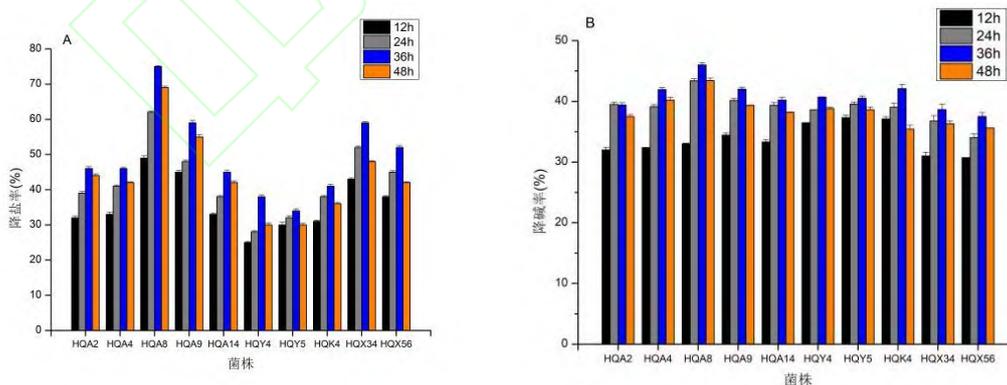


图 3 10 株根际细菌除盐 (A) 和除碱 (B) 能力
Fig. 3 Desalination (A) and alkali removal (B) abilities of 10 rhizosphere bacteria

2.4 根际细菌的生物活性

2.4.1 根际细菌在阿须贝无氮培养基中的生长曲线

10 株根际耐盐碱细菌在阿须贝无氮液体培养基中的生长情况如图 4 所示, 在 6 h 左右进入对数生

长期，26 h 左右对数生长期达到最高值，30 h 左右进入生长平衡期，32~46 h 生长略有下降趋势，46 h 左右进入生长衰竭期。结果表明，10 株菌株在阿须贝无氮培养基中从 0~5 h 没发现明显的生长，从第 6 h 开始进入生长阶段，并且对数生长期和平稳期时间较长，直到 46 h 左右生长情况逐渐减弱，表明这 10 株根际细菌有一定的固氮能力。

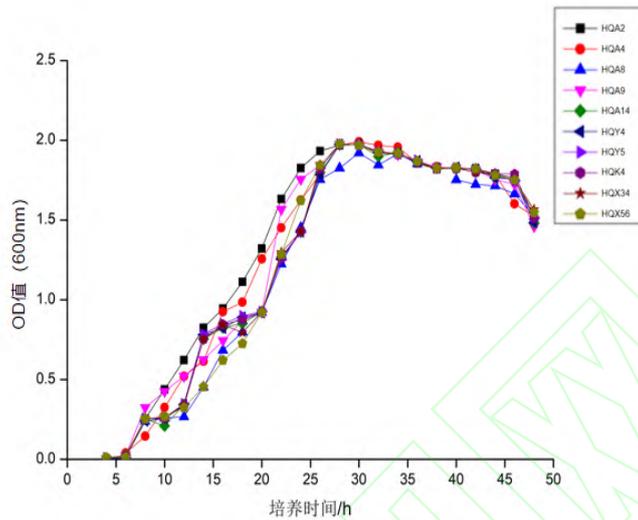


图 4 10 株根际细菌无氮培养基中生长曲线趋势

Fig. 4 Growth curve trend of 10 rhizosphere bacteria in nitrogen free medium

2.4.2 溶磷能力

对 10 株根际细菌进行溶磷能力测定，将 10 株根际细菌在盐浓度为 5% 的无机磷固体培养基上培养 15 d。其实验结果显示，10 株根际细菌均产生大小不同的溶磷圈，溶磷圈的直径为 8.5~23.6 mm 之间，其中菌株 HQA2 的溶磷圈直径最大，可达到 23.6 mm。

根据产溶磷圈实验结果将 10 株根际细菌在无机磷液体培养基中培养 7 d。结果显示，10 株根际细菌溶磷量为 28.2~52.63 mg/L 之间，其中 HQA2 的溶磷量最大，可达到 52.63 mg/L，与产溶磷圈实验结果一致，同时无机磷液体培养基的 pH 值由初始的 9 降低到 4.82~5.55（如图 5 所示）。

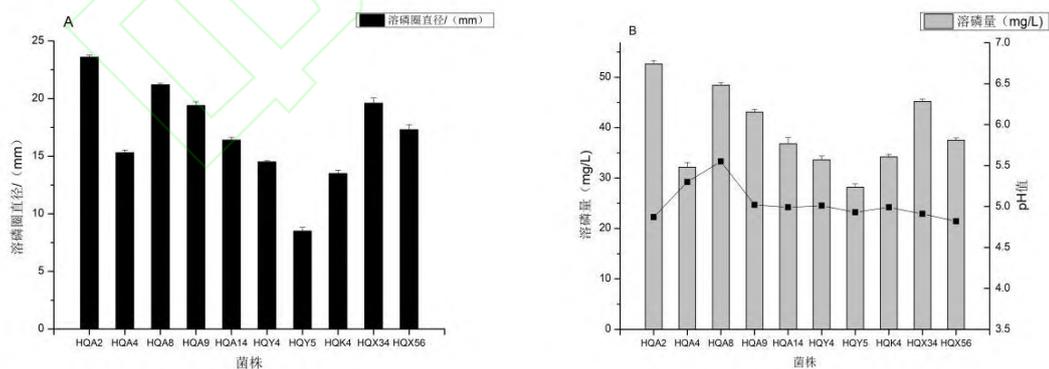


图 5 10 株根际细菌溶磷圈直径 (A) 及溶磷量和培养基的 pH 值 (B)

Fig. 5 Diameter of phosphate solubilizing zone of 10 rhizosphere bacteria (A), and their phosphorus solubilization amount and pH value of culture medium (B)

2.4.3 分泌 IAA 能力

对这 10 株根际细菌继续进行在 48 h、60 h、72 h 的产 IAA 能力测定，其实验结果显示，10 株根际细菌均具有大小不同的产 IAA 能力，其中菌株 HQA2 产 IAA 能力最好，在 60 h 达到最大值 54.21

mg/L。10 株根际细菌培养 60~72 h 之间产 IAA 的能力开始减弱（如图 6 所示）。

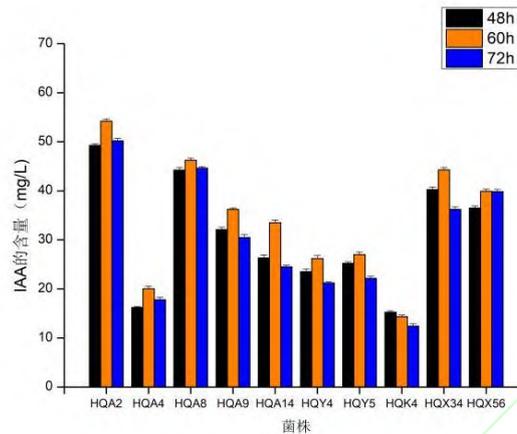


图 6 10 株根际细菌在不同时间段 IAA 产量
Fig.6 IAA production of 10 rhizosphere bacteria at different time

2.4.4 分泌铁载体能力

对 10 株根际细菌进一步进行产铁载体能力测定，其实验结果显示，各菌株在 CAS 固体培养基上产生的黄色晕圈，可以初步的判断这 10 株根际细菌均具有产铁载体的能力，其中菌株 HQA2 周围所产生的黄色晕圈直径最大为 37.25 mm（如图 7 所示）。

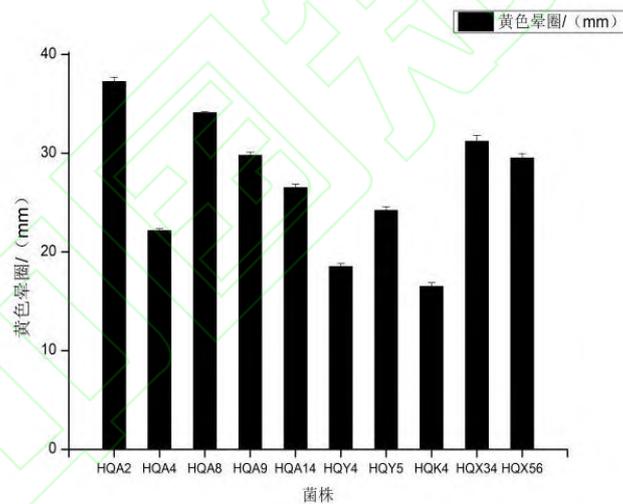


图 7 10 株根际细菌在 CAS 固体培养基上产生的黄色圈直径
Fig. 7 Diameter of yellow circle produced by 10 rhizosphere bacteria on CAS solid medium

本研究采用 Schwyn 与 Neilands 的 CAS 检测方法，测定各菌株 A/Ar 的值，其中 HQK4 的 A/Ar 值最大，约为 1.98，HQA2 的 A/Ar 值最小约 0.62（见表 1）。

表1 10株根际细菌铁载体合成量
Tab. 1 The amount of iron carrier in 10 rhizosphere bacteria

供试菌株	铁载体 A/Ar
HQA2	0.62±0.01
HQA4	1.29±0.09
HQA8	0.71±0.01
HQA9	0.93±0.04
HQA14	0.96±0.02
HQY4	1.41±0.01
HQY5	1.12±0.03
HQK4	1.98±0.03
HQX34	0.75±0.01
HQX56	0.81±0.01

注：A 表示 CAS 液体培养基的吸光度；Ar 表示菌液吸光度。A/Ar 表示铁载体的相对含量，值越大表示铁载体相对含量越低。

2.5 盐胁迫下接种根际细菌对黑果枸杞幼苗生长的影响

基于以上 10 株根际细菌的耐盐、耐碱、除盐、除碱能力以及溶磷能力、产 IAA 能力和产铁载体能力分析结果进行盆栽试验。结果显示，与空白对照组相比阴性对照组的黑果枸杞幼苗生长受到了严重的抑制，黑果枸杞的鲜重、干重、株高、叶片数和叶绿素含量较空白对照分别减少了 83.52%，78%，46.14%，41.3%，12.4% ($P<0.05$)。分别用 10 株耐盐碱根际细菌处理植株与阴性对照组相比，各根际细菌对黑果枸杞幼苗的生长均有不同程度的促进作用，其中菌株 HQA8 处理黑果枸杞幼苗各项指标与阴性对照相比促进作用最明显，各根际细菌对黑果枸杞幼苗的生长均有不同程度的促进作用（见表 2）。

表2 不同根际细菌处理对黑果枸杞幼苗生长的影响
Tab. 2 Effects of different rhizosphere bacterial treatments on the growth of *Lycium barbarum* seedlings

处理	鲜质量/g	干质量/g	株高/cm	叶片数	叶绿素含量/(mg·g ⁻¹)
空白对照	0.72±0.21 a	0.29±0.22 b	18.3±0.52 b	31.2±0.92 a	2.26±0.02 a
阴性对照	0.22±0.06 a	0.04±0.12 b	10.54±0.82 b	22.3±1.52 ab	1.52±0.51 b
HQA2	0.45±0.11 a	0.11±0.23 b	12.5±0.22 ab	25.9±1.33 ab	2.11±0.52 c
HQA4	0.19±0.51 c	0.05±0.36 a	11.02±1.22 ab	21.62±1.65 a	1.36±0.52 bc
HQA8	0.88±0.44 c	0.33±0.22 a	16.3±0.51 ab	32.3±1.66 b	2.27±0.36 ab
HQA9	0.56±0.33 c	0.18±0.02 a	14.21±0.61 b	26.4±1.45 b	2.16±0.44 b
HQA14	0.46±0.53 c	0.10±1.13 a	12.3±0.41 bc	23.6±1.64 b	1.95±0.68 b
HQY4	0.29±0.04 c	0.07±0.12 a	12.1±0.02 b	22.1±0.44 ab	1.64±0.28 b
HQY5	0.37±0.22 a	0.08±0.06 a	12.2±0.32 b	23.5±0.51 b	1.74±0.33 c
HQK4	0.26±0.02 c	0.08±0.05 a	10.88±0.18 b	22.7±1.32 b	1.49±0.45 b
HQX34	0.67±0.55 c	0.25±0.04 a	15.8±0.33 b	30.6±0.88 a	2.22±0.61 c
HQX56	0.48±0.52 c	0.16±0.05 a	12.2±0.48 a	23.5±0.56 b	2.19±0.19 b

注：同一行数据后不同的小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

2.6 根际耐盐碱菌株鉴定

将测序得到的 16S rRNA 序列提交 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对，并将序列提交 GenBank，获得 10 株根际耐盐碱细菌的登录号，使用 MEGA7.0 软件构建菌株的系统进化树。结果显示，菌株 HQA9 (MZ328846)、HQA4 (MZ325514) 与 *Bacillus halotolerans* DSM 8802 (MN483266)，菌株 HQA2 (MZ325513)、HQK4 (MZ328878)、HQY5 (MZ328877) 和 HQX56 (MZ328879) 与 *Bacillus rugosus* SPB7 (MK453326)，菌株 HQA8 (MZ325386) 与 *Bacillus subtilis subsp. HUB-I-047* (GQ892930)，菌株 HQA14 (MZ328847) 与 *Priestia megaterium* IAM 13418 (AF311995)，菌株 HQX34 (MZ331543) 与 *Bacillus paramycoides* MCCC 1A04098 (KJ812444)，菌株 HQY4 (MZ331592) 与 *Pseudomonas putida* ATCC 12633 (JN630890) 的序列具有最高同源性（如图 8 所示）。

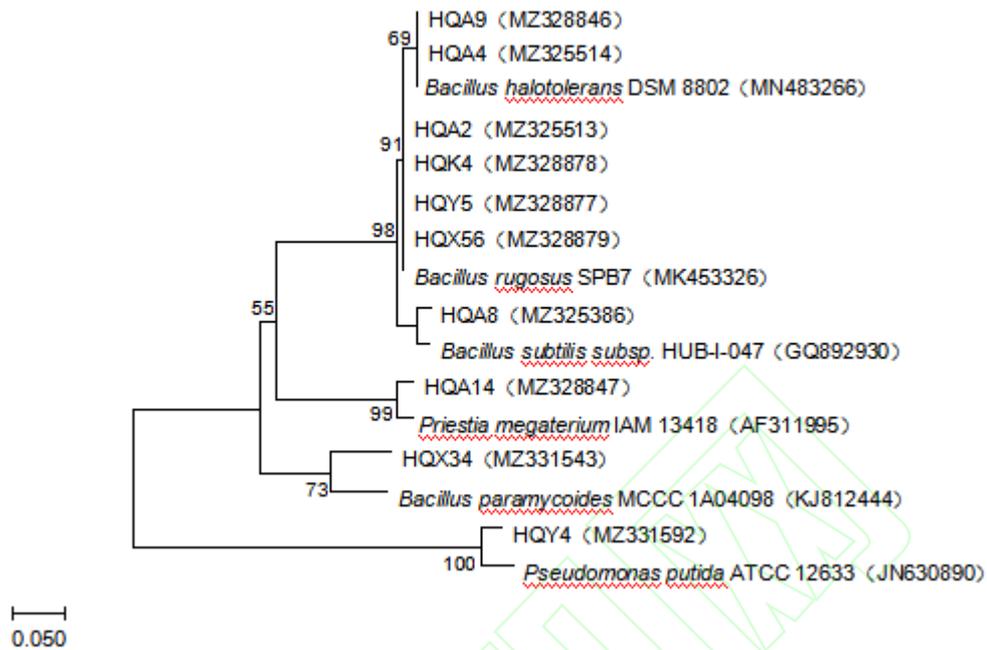


图 8 基于 10 株根际耐盐碱细菌 16S rRNA 的 neighbor-joining 系统发育树
Fig. 8 Neighbor joining phylogenetic tree based on 16S rRNA of 10 rhizosphere salt tolerant bacteria

3 讨论

土壤盐碱化是世界上最严重的环境问题之一，我国的盐碱化土壤主要分布在我国西北干旱半干旱的甘肃、新疆等地区，尤其是新疆受不同程度盐碱危害的耕地面积约占新疆耕地总面积的 1/3^[21]。土壤盐碱化造成对植物营养不足、微量元素的极度缺乏等原因抑制植物的正常生长。我们通过参考文献、实地调研了解，吐鲁番地区鄯善县黑果枸杞种植基地为干燥、高温、多风、年均降水量低、蒸发强烈、水资源和土壤营养元素匮乏的极端盐碱内陆荒漠区^[22-23]。对新疆鄯善县根际土壤理化性质进行分析发现该土壤 pH 值和盐含量偏高，属于有机质，氮、磷元素严重匮乏，微量元素不平衡的极端盐碱地，确保黑果枸杞生产稳定的重要措施之一就是合理地施肥种植技术。施用大量的化肥会造成土壤养分流失，水土失衡，土壤板结，盐碱化程度加深，土壤源污染等生态问题。微生物肥料的出现降低了化学肥料使用量，保护农业生态环境。微生物群落多样性和组成在不同生境的差异性与土壤理化性质密切相关，生境不同，根际微生物群落不同^[24]。刘国强等^[25]研究的新疆阿克陶县黑果枸杞根际促生菌的筛选及促生能力分析研究表明链霉菌属 (*Streptomyces* sp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、微杆菌属 (*Microbacterium* sp.) 为阿克陶县黑果枸杞根际微生物中属于优势属优势属。李岩等^[26]人研究的新疆精河县、乌苏市、路旁荒地和五家渠等不同生境黑果枸杞根际与非根际土壤微生物群落多样性研究报道中已验证 *Haliea*、*Gp10*、*Pelagibius*、*Microbulbifer*、假单胞菌属等是北疆地区黑果枸杞根际土壤细菌优势属。张春林等^[27]在寒旱区柠条根际细菌群落结构与多样性研究发现，3 个不同地区优势菌种的丰度存在较大差异，同地区不同取样点微生物分布具有更多的相似性。不同地区间乌兰察布和赤峰间的微生物组成相对更接近，这说明柠条根际微生物结构在同一地域具有一定的稳定性、均匀性，随着地域不同显示出一定的差异性，这可能与土质、气候条件等有关。本研究通过研究从黑果枸杞根际土壤中分离与纯化具有耐盐、耐碱以及除盐、除碱能力的微生物并进行各种生物活性的测定，为改良根际土壤微生物生态环境、开发天然无害微生物肥料、提高植物胁迫耐受性等问题提供重要的理论依据和技术支撑。

本研究从生长在新疆鄯善县盐碱区的黑果枸杞根际土壤中筛选出了 110 株根际微生物, 根据菌落形态和生长特性选择 37 株进行 16S rRNA 基因序列比对, 发现共 9 个属, 25 个种, 其中 *Bacillus* 为优势菌属; 对这 37 株菌进行耐盐、耐碱及除盐、除碱能力的测定并筛选, 其结果显示菌株 HQA2、HQA4、HQA8、HQA9、HQA14、HQY4、HQY5、HQB4、HQX34、和 HQX56 具有较好的耐盐、耐碱能力, 这一结果与宋郭柳等^[28]筛选得到的耐盐菌的耐盐能力结果相似。10 株根际细菌在不同时间阶段除盐、除碱能力不同且发现培养至 36h 时菌 HQY8 除盐、除碱率达到了最高值, 分别为 75% 和 42%, 表明所筛选得到的 10 株根际细菌不仅有耐盐、耐碱能力还具有除盐、除碱能力, 赵媛等^[29]从青海湖分离的耐盐微生物除盐率最高达到了 17.30%, 除碱率最高达到了 7.60%。进一步研究生物活性测定发现, 10 株根际耐盐碱菌均能在阿须贝无氮培养基中能生长, 可以初步判断 10 株根际细菌有一定的固氮能力, 这一结果与前人关于稻田根际固氮菌的分离筛选以及促生潜力研究的报道一致^[30]。此外, 这 10 株耐盐碱根际细菌均有不同大小的溶磷、产 IAA 和产铁载体等能力, 该结果为研发适于盐碱环境微生物肥料提供了理论依据和菌种资源。Dhara 等^[31]的研究在盐碱环境中筛选的 15 株溶磷菌的最大溶磷量为 45 mg/L, 刘国强等^[25]的新疆阿克陶县盐碱土壤中筛选的根际促生菌最大的溶磷量为 49.97 mg/L, 我们所筛选得到的 10 株根际细菌溶磷量为 20.41~52.63 mg/L 之间, 同时无机磷液体培养基的 pH 值由初始的 9 降低到 4.82~5.55, 我们可以初步的判断这些菌株能够提高土壤肥力又能降低土壤碱性环境, 从而实现生物改良盐碱化土壤的目的。

菌株 HQA2 在 60 h 时产 IAA 含量达到最高值 54.21 mg/L。10 株根际细菌培养到 60~72 h 之间产 IAA 能力开始减弱, 可能是后期营养不足导致产 IAA 能力减弱。参考 Datta^[32]的研究报道, 可能是由于在一定时间段内 IAA 降解酶的释放, 如 IAA 氧化酶和过氧化物酶, 使产生的 IAA 被降解所导致, 具体作用机理还需进一步研究。前人研究表明土壤根际微生物所产生的铁载体可以抑制有害病原菌且促进植物生长^[33]。10 株根际细菌都有不同大小的产铁载体的能力, 可以初步的判断这些菌株具备抑制病原菌的特性。10 株黑果枸杞耐盐碱根际细菌可以通过抑制植物病原菌, 溶磷、分泌 IAA 及固氮等方式可以促进植物生长。

与阴性对照相比, 施用 10 株耐盐碱根际细菌黑果枸杞幼苗有明显的促进作用, 其中菌株 HQA8 处理黑果枸杞幼苗鲜重、干重、株高、叶片数及叶绿素含量分别增加了 45.7%, 121.4%, 164.5%, 56.2% 和 22.6% ($P < 0.05$), 菌株 HQX34 处理叶片数和株高分别增加了 55.3% 和 46.5% ($P < 0.05$)。叶绿素含量的增加可以间接的促进植物的光合作用, Nadeem 等^[34]证实了在盐胁迫下根际促生菌处理植物可以使叶绿素含量增加, 而且大幅度的提高了植物的光合作用。在盐胁迫下, 这 10 株耐盐碱根际细菌可以有效地缓解盐害对黑果枸杞幼苗生长的抑制。

综上, 本研究筛选到 10 株黑果枸杞耐盐碱根际细菌, 并测定了除盐、除碱、固氮、溶磷、产 IAA 以及铁载体等生物特性, 最后综合能力给予评价, 其中 HQA8、HQA9、HQX56、HQX34 和 HQA2 菌株有较高的促进植物生长的潜力, 其次为 HQA14、HQY4、HQY5、HQA4、HQB4, 可为生物菌肥开发提供优良菌株、改良土壤极端环境和扩大适用范围提供理论依据。

附录

表S1 37株根际细菌在阿须贝培养基中的形态及其菌体特征

Tab. S1 Morphology and characteristics of 37 strains of rhizosphere bacteria in Ashu Bei culture medium

菌株编号	大小	形状	表面	颜色	透明度	革兰氏阳/阴性
HQB22	中	圆形	光滑	白色	不透明	阳性
HQP13	大	圆形	光滑	白色	不透明	阴性
HQB14	中	不规则	光滑	白色	不透明	阴性
HQB20	中	不规则	光滑	白色	不透明	阴性
HQB11	大	长棒状	光滑	白色	不透明	阳性
HQK7	大	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQYP16	大	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQK1	中	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQAN14	中	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQYP21	中	粗短状	光滑	黄色	不透明	阳性
HQAN8	中	粗短状	粗糙	白色	不透明	阴性
HQB18	中	粗短状	粗糙	白色	不透明	阴性
HQK5	中	粗短状	光滑	白色	不透明	阴性
HQWP1	大	粗短状	光滑	白色	不透明	阴性
HQAN12	大	粗短状	光滑	白色	不透明	阴性
HQYP11	大	粗短状	光滑	白色	不透明	阴性
HQYP9	大	圆状	光滑	白色	不透明	阴性
HQYP22	小	不规则	粗糙	白色	不透明	阴性
HQYP20	大	不规则	粗糙	黄色	不透明	阴性
HQYP8	大	不规则	粗糙	黄色	不透明	阴性
HQK8	中	粗短状	光滑	黄色	不透明	阴性
HQB17	中	粗短状	粗糙	白色	不透明	阴性
HQYP17	中	不规则	粗糙	白色	不透明	阳性
HQA2	小	粗短状	粗糙	白色	不透明	阳性
HQA4	大	长棒状	粗糙	白色	不透明	阳性
HQA8	小	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQA9	小	粗短状	光滑	白色	不透明	阳性
HQA14	小	圆状	粗糙	白色	不透明	阴性
HQY5	小	粗短状	粗糙	白色	不透明	阴性
HQK4	中	粗短状	粗糙	白色	不透明	阳性
HQX56	小	圆状	光滑	白色	不透明	阳性
HQA13	中	长棒状	光滑	白色	不透明	阳性
HQY6	小	长棒状	光滑	白色	不透明	阴性
HQA10	小	长棒状	光滑	白色	不透明	阴性
HQX34	中	粗短状	光滑	白色	不透明	阴性
HQY11	中	圆状	光滑	白色	不透明	阳性
HQY4	中	圆状	光滑	白色	不透明	阴性

参考文献:

- [1] PENG M, JIA H B, WANG Q Y. The effect of land use on bacterial communities in saline-alkali soil[J]. Current Microbiology, 2017, 74:325-

- 333.
- [2] PANDEY A, LUIS A Y. Bioprospecting cold-adapted plant growth promoting microorganisms from mountain environments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019(103):643-657.
- [3] ZHAO X, ZHU H S, DONG K H, et al. Plant community and succession in lowland grasslands under saline-alkali conditions with grazing exclusion[J]. Agronomy Journal, 2017,109(5):2428-2437.
- [4] FU J, XIAO Y, WANG Y F, et al. Trichoderma affects the physiochemical characteristics and bacterial community composition of saline-alkaline maize rhizosphere soils in the cold-region of Heilongjiang Province[J]. Plant and Soil, 2019, 436(1/2): 211-227.
- [5] POTTEKAT S P, KALYANASUNDARAM G T, SUBBURAMU K. Isolation and characterization of indigenous plant growth-promoting Rhizobacteria from cardamom rhizosphere[J]. Current Microbiology, 2020(77):2963-2981.
- [6] ZOU D Z, ZHENG H J, ZHANG Y S, et al. Screening of rhizosphere growth promoting bacteria and their growth promoting ability of sunflower in cold black soil area[J]. Earth and Environmental Science, 2020(526):12-39.
- [7] 刘增根, 康海林, 岳会兰, 等. 黑果枸杞资源调查及其原花青素含量差异分析[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(7): 1713-1716.
- [8] 郝媛媛, 颜耀文, 张文培, 等. 荒漠黑果枸杞研究进展[J]. 草业科学, 2016, 33(9): 1835-1845.
- [9] ARSLAN M, ALLAH R. Multi-element ar-centesimal composition and determination of bioactive phenolics in dried fruits and capsules containing Goji berries (*Lycium barbarum* L.)[J]. Food Chemistry, 2019(273):15-23.
- [10] 张亚昊, 方永婷, 崔小梅. 黑果枸杞化学成分和药理作用研究进展[J]. 当代化工研究, 2020(16): 145-147.
- [11] 阿力同其米克, 王青锋, 杨春锋, 等. 新疆药用植物黑果枸杞遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物科学学报, 2013, 31(5): 517-524.
- [12] 林丽, 晋玲, 王振恒, 等. 气候化背景下藏药黑果枸杞的潜在适生区分布预测[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(14): 2659-2669.
- [13] 白春雷, 王灵茂, 王志国. 黑果枸杞育苗技术综述[J]. 园艺种业, 2016(12): 51-54.
- [14] 宋郭柳, 王梦华, 郑利锦, 等. 深圳填海区植物根际土壤耐盐菌株筛选与鉴定[J]. 广东农业科学, 2020, 47(1): 62-67.
- [15] 张东艳, 刘晔, 吴越, 等. 花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(1): 104-110.
- [16] LYRA M, SANTOS D, SILVA M, et al. Isolation and molecular characterization of endophytic bacteria associated with the culture of forage cactus (*Opuntia* spp.)[J]. Journal of Applied Biotechnology, 2013, 1(1): 11-16.
- [17] 陈佳怡, 徐晶秀, 陈紫茵, 等. 两株根际高效溶磷菌的筛选、鉴定和溶磷特性[J]. 草业科学, 2020, 37(10): 1979-1985.
- [18] GLICKMANN E, DESSANX Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796.
- [19] 张东艳, 刘晔, 吴越, 等. 花生根际产 IAA 菌的筛选鉴定及其效应研究[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(4): 104-110.
- [20] SCHWYN B, NEILANDS J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 160(1): 47-56.
- [21] 赵阳. 黄淮海平原(山东)盐碱地植物种质资源调查及土壤含盐量分析[D]. 江苏: 南京农业大学, 2017.
- [22] 王娇, 任宜勇. 新疆降水与环流场演变研究[J]. 干旱区研究, 2005, 22(3): 326-331.
- [23] 徐贵青, 魏文寿. 新疆气候变化及其对生态环境的影响[J]. 干旱区地理, 2004, 27(1): 14-18.
- [24] 王雪, 接伟光, 蔡柏岩, 等. 不同生境黄檗 AM 真菌菌群结构分析[J]. 林业科学, 2012, 48(9): 99-107.
- [25] 刘国强, 旭格拉·哈布丁, 艾山江, 等. 黑果枸杞根际促生菌的筛选鉴定及促生能力分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2019, 58(1): 56-62.
- [26] 李岩, 何学敏, 杨晓东, 等. 不同生境黑果枸杞根际与非根际土壤微生物群落多样性[J]. 生态学报, 2018, 38(17): 5983-5995.
- [27] 张春林, 尚晓蕊, 赵鑫, 等. 寒旱区柠条根际细菌群落结构与多样性研究[J]. 北方园艺, 2021(17): 97-103.
- [28] 宋郭柳, 王梦华, 郑利锦, 等. 深圳填海区植物根际土壤耐盐菌株筛选与鉴定[J]. 广东农业科学, 2020, 47(1): 62-67.
- [29] 赵媛, 何彩霞, 杨国柱, 等. 青海湖耐盐微生物分离及对盐碱降解率的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(7): 16-19.
- [30] 靳海洋, 王慧, 张燕辉, 等. 稻田土壤固氮菌株的分离筛选及促生潜力[J]. 生物技术通报, 2020, 36(6): 73-82.
- [31] PATEL D, JHA C K, TANK N, et al. Growth enhancement of chickpea in saline soils using plant growth-promoting Rhizobacteria[J]. Plant Growth Regul, 2012, 31(1): 53-62.
- [32] DATTA C, BASU P S. Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*[J]. Microbiological Research, 2000, 155(2): 123-127.
- [33] 刘永锋, 陆凡, 陈志谊, 等. 拮抗细菌 T429 和 T392 的生物活性及其对水稻白叶枯病的防治效果[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(4): 733-737.
- [34] NADEEM S M, HUSSAIN I, NAVEED M, et al. Performance of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase activity for improving growth of maize under salt stressed conditions[J]. Pak J Agric Sci, 2006, 43: 114-121.