

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.06.034

引用格式:伊国云,程亮,李娟,等.根际促生菌的定殖及其对不同温度下紫花针茅生长的影响[J].草地学报,2026,34(6):2316—2328

YI Guo-yun, CHENG Liang, LI Juan, et al. Colonization of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and its Effects on the Growth of *Stipa Purpurea* Under Different Temperature Conditions[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(6):2316—2328

根际促生菌的定殖及其对不同温度下紫花针茅生长的影响

伊国云^{1,2},程亮^{1,2*},李娟^{1,2*},王信¹

(1. 青海大学农林科学院,青海 西宁 810016; 2. 青海省农业有害生物综合治理重点实验室,青海 西宁 810016)

摘要:为筛选能有效定殖于紫花针茅根际的促生菌(PGPR),本研究以4株分离自紫花针茅根际的PGPR为候选菌株,通过利福平抗性筛选检测其根际定殖动态,并在15℃、20℃和25℃培养条件下,测定接种PGPR对紫花针茅发芽率、形态及生理指标的影响。结果显示,变形斑沙雷氏菌(*Serratia proteamaculans*)GD-1-1和硝基愈创木酚类节杆菌(*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*)YD-2-4能有效定殖于紫花针茅根际,20 d时的定殖量分别为 1.22×10^8 和 0.6×10^7 CFU·g⁻¹。菌株YD-2-4的 1×10^1 和 1×10^2 CFU·mL⁻¹稀释液,在15℃~25℃范围内均能显著促进种子发芽和幼苗生长,同时提高植株抗氧化酶活性、降低丙二醛含量;而菌株GD-1-1的 1×10^2 和 1×10^3 CFU·mL⁻¹稀释液的促进作用随温度降低而减弱,15℃下无显著促进效果。说明菌株YD-2-4根际定殖能力稳定且温度适应范围广,可作为高寒草地微生物菌剂开发的优良菌株。

关键词:高寒草地;紫花针茅;植物根际促生菌;利福平抗性筛选;促生作用

中图分类号:S543+.9

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)06-2316-13

Colonization of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and its Effects on the Growth of *Stipa Purpurea* Under Different Temperature Conditions

YI Guo-yun^{1,2}, CHENG Liang^{1,2*}, LI Juan^{1,2*}, WANG Xin¹

(1. Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Xining, Qinghai Province 810016, China;

2. Qinghai Provincial Key Laboratory of Agricultural Integrated Pest Management, Xining, Qinghai Province 810016, China)

Abstract: To screen plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) that are capable of stably colonizing the rhizosphere of *Stipa purpurea*, four PGPR strains previously isolated from this alpine grass were evaluated. Rifampicin-resistant derivatives were generated to monitor root-zone colonization dynamics, and the effects of bacterial inoculation on seed germination, seedling morphology, and physiological indices were assessed under the culture of 15°C, 20°C, and 25°C. *Serratia proteamaculans* GD-1-1 and *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* YD-2-4 established stable populations in the *S. purpurea* rhizosphere, and the colonization amounts were 1.22×10^8 and 0.06×10^8 CFU·g⁻¹ at 20 d, respectively. Dilutions of YD-2-4 (1×10^1 and 1×10^2 CFU·mL⁻¹) significantly enhanced germination and seedling growth across 15°C–25°C, concurrently increasing antioxidant enzyme activities and lowering malondialdehyde content. In contrast, the stimulatory effect of GD-1-1 (1×10^2 and 1×10^3 CFU·mL⁻¹) declined with temperature and disappeared at 15°C. These results indicated that YD-2-4 possessed robust colonization ability and broad temperature adaptability, making it an excellent candidate for the development of microbial inoculants for alpine grasslands.

收稿日期:2025-07-18;修回日期:2025-11-12

基金项目:青海省自然科学基金项目项目-青年(2024-ZJ-942)资助

作者简介:伊国云(1998-),男,藏族,青海西宁人,博士研究生,主要从事微生物方向研究,E-mail:3476098428@qq.com; *通信作者
Author for correspondence, E-mail:liangcheng1979@163.com; 18293130625@163.com

Key words: Alpine grassland; *Stipa purpurea*; Plant growth-promoting rhizobacteria; Rifampicin resistance selection; Growth-promoting effect

高寒草地是青藏高原最大的陆地生态系统,约占总面积的60%,其在土壤保护、水源涵养和维持生态平衡等方面具有重要作用^[1]。20世纪中期以来,随着气候变化和人为干扰等因素,大面积草地出现植被单一化、毒杂草数量增多、水土流失等退化问题^[2]。紫花针茅(*Stipa purpurea*)作为多年生草本植物,具有耐寒、抗旱和适应性强等特征,是青藏高原高寒草地的优势牧草之一。它在预防风蚀、固沙、修复退化草地和改善土壤理化性质等方面起着至关重要的作用^[3]。这些生态功能与其根际独特的微生物群落,特别是根际促生菌密切相关^[4]。因此,加强对紫花针茅根际促生菌的筛选和促生机制研究,可为适用于高寒草地的微生物菌剂开发提供优良菌株资源,对预防高寒草地退化、改善生态稳定性具有重要意义。

植物根际促生菌(PGPR)是一类能够有效定殖于植物根际,具有促进植物生长和提高植株抗逆性等特点的益生菌^[5]。PGPR能否在宿主植物根际成功定殖,是决定其能否发挥促生作用的根本因素^[6]。目前,常用于追踪PGPR定殖动态的技术包括抗生素抗性筛选^[7]、绿色荧光蛋白标记法(GFP)^[8]和DNA探针法^[9]等。其中,抗生素抗性筛选法因操作简便、成本低且对菌株功能干扰小等优势,被广泛应用^[10]。利福平作为一种广谱抗生素,对高等植物组织和细胞无毒性,在土壤中半衰期短,可避免长期残留影响生态环境,成为抗生素抗性筛选法中选用最多的试剂之一^[7]。宋露洋等^[11]通过利福平抗性筛选法发现菌株 *Bacillus velezensis* ZB36 能在苦瓜根、茎和叶中稳定定殖。王军强等^[12]采用利福平和链霉素双抗生素法获得抗性菌株多黏类芽孢杆菌 L₁-9,并测得该双抗菌株能在黄瓜根际土壤、根系组织和子叶中稳定定殖。因此,利福平抗性筛选法在分析PGPR定殖能力和阐释其促生机制等方面具有重要意义。

当前关于高寒草地牧草PGPR的研究多集中于披碱草(*Elymus* spp.)、中华羊茅(*Festuca sinensis*)和冰草(*Agropyron cristatum*)等^[13]。其主要原因在于这些牧草具有适口性好、生物产量大、生长周期短等优良饲用价值与农艺性状,是人工草地种植与退化草地补播的首选材料。围绕这些牧草开展PGPR研究,可直接服务于“提高产量”与“改良

品质”的目标,进而通过微生物技术推动畜牧业发展^[14]。相比之下,紫花针茅因直接牧用价值较低、生长缓慢、栽培成本高等原因,导致其根际PGPR的研究长期被忽视,报道较少^[4]。然而,紫花针茅对高寒生境表现出高度适应性,在维持群落结构与生态系统功能方面具有关键作用,这些特性均与其根际微生物的互作密切相关。因此,紫花针茅根际是分离兼具生态适应性和促生活性优良PGPR菌株的资源宝库,但目前仅有敖远等^[15-16]对紫花针茅内生细菌的促生能力进行研究,且分离促生菌株类型单一,以芽孢杆菌为主,未能充分反映其根际微生物资源的多样性。综上所述,系统性地从紫花针茅根际筛选高效PGPR菌株,可为高寒退化草地的生态修复提供潜在微生物资源。

温度是调控植物生长发育的关键环境因素,也深刻影响着PGPR的促生效应^[17]。在高寒地区生态恢复中,低温更是制约PGPR存活、根际定殖及功能表达的关键限制因子^[18]。因此,筛选兼具耐寒特性与高效促生活性的PGPR菌株,对高寒草地生态系统的调节与退化草地的生物修复具有重要意义。基于此,本研究以前期分离到的4株具有溶磷、固氮、产IAA和产ACC脱氨酶活性的PGPR为候选菌株^[19],通过利福平抗性筛选法检测有效定殖于紫花针茅根际的菌株,并探究PGPR在不同温度下对紫花针茅形态特征和生理指标的影响,以期为开发适用于高寒草地生态修复的微生物肥料提供坚实的理论依据与宝贵的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物根际促生菌:栖鱼假单胞菌(*Pseudomonas piscicola*)HD-1-1、简单芽孢杆菌(*Peribacillus simplex*)GD-3-9、变形斑沙雷氏菌(*Serratia proteamaculans*)GD-1-1和硝基愈创木酚类节杆菌(*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*)YD-2-4,均由本实验室分离并保藏。它们分离自青海省海北州西海镇(36.6803°N, 101.3115°E, 3033.8 m)的高寒草地紫花针茅根际。经体外促生活性测定,确定这4株菌兼具溶磷、固氮、产IAA及产ACC脱氨酶等多种促生特性^[19]。

供试盆栽土壤:取自海北州西海镇高寒草地(36.6803°N, 101.3115°E, 3033.8 m),土壤呈棕黄色, pH 8.19, 电导率 549.33 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, 有机质含量 30.83 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效氮含量 30.34 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 属于棕钙土。

供试紫花针茅种子:同样采自上述样地,于2024年10月初采集芒完全伸展并扭曲、颖果饱满且呈黑褐色的种子,带回放置于4℃冰箱中黑暗条件下密封保存。

1.2 PGPR在紫花针茅根际定殖能力测定

(1) 原始PGPR的固有抗药性测定:将原始菌株接种至含利福平浓度为50, 100和200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的LB固体培养基上, 25℃恒温培养3 d, 观察并计数平板上的菌落数。

(2) 抗药性菌株的驯化培养:将PGPR接种于含有200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平抗生素的LB培养液中, 25℃, 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养7 d, 进行抗药性突变株的驯化, 待培养菌液 OD_{600} 大于1后转入300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度培养液中培养, 以此类推进行高浓度驯化, 最终获得抗500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度的驯化菌株^[20]。

(3) 驯化菌株稳定性分析:将驯化菌株划线于LB(不含抗生素)培养基上, 连续继代培养5代, 将第5代菌株划线接种于含利福平500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的LB固体培养基上, 3 d后对生长情况进行观察, 并与原始菌株的菌落形态、功能培养基上的溶解活性进行对比, 分析驯化菌株的抗性稳定性^[20]。

(4) 驯化菌株在紫花针茅根际土壤中的定殖动态测定:将驯化菌株稀释到 1×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度, 按100 mL每盆的量接种于盆栽紫花针茅根际, 放置于恒温培养箱中25℃, 12小时光暗循环、900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强、40%RH湿度下培养^[19]。分别于接种后5, 10, 20, 30 d取紫花针茅根际土样1 g, 参照赵志祥等^[20]方法吸取100 μL 的 1×10^{-4} 稀释液, 涂布于含500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平的LB固体培养基上, 25℃恒温培养3 d后测定菌落数量, 从而确定驯化PGPR的定殖能力^[11]。

1.3 不同温度下PGPR对紫花针茅植株形态及生理指标的影响测定

(1) 盆栽PGPR菌液制备和种子处理:将PGPR转接至LB培养液中, 20℃、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温

培养2 d, 用无菌LB培养液调整菌株 OD_{600} 值为1.0, 再用无菌水依次稀释菌株浓度为 1×10^8 , 10^7 , 10^6 和 10^5 $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ (稀释倍数分别为 1×10^1 , 10^2 , 10^3 和 10^4)。挑选形态饱满、大小一致的紫花针茅种子, 用2% NaClO消毒5 min, 再用75%乙醇灭菌10 min, 最后用无菌水冲洗3次。将灭过菌的种子置于稀释 1×10^1 , 10^2 , 10^3 和 10^4 浓度的PGPR培养液中浸种6 h, 以无菌水浸种为空白对照, 用无菌水分别稀释为 1×10^1 , 10^2 , 10^3 和 10^4 的LB培养液浸种为阴性对照。

(2) 盆栽试验设定:盆栽土壤剔除杂物后过100目筛, 并与细沙、蛭石按5:2:1混匀后装入盆栽花盆中, 控制每盆装土质量为 230 ± 2 g。将浸种后的种子点播至盆栽土1 cm深处, 每个处理组设置6个生物学重复(即6个独立的花盆), 每盆放置9粒。置于光照培养箱中12 h光照、12 h黑暗、900 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强、40% RH湿度下培养。每天固定时间通过称重法补充无菌水至初始花盆重量, 保证每个处理组花盆的含水量相同。温度梯度设置为15, 20和25℃。其中, 25℃和15℃参照盆栽土壤采样地紫花针茅生长季的平均昼夜温度设定, 20℃为中间梯度, 旨在解析温度效应的连续变化趋势。所有处理的其他培养条件均保持一致。

(3) 测定指标:每隔1 d统计种子发芽率, 种子停止出芽后结束种子萌发试验, 测量幼苗芽长、根长、生物量等形态指标。用ChloroTech121手持式叶绿素测定仪测定不同处理幼苗叶绿素含量^[21]。采用抗氧化酶活测试盒(江苏科铭生物科技有限公司, 中国)分别测定不同处理组幼苗的过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、脯氨酸和丙二醛活性^[22]。

1.4 数据处理

所有试验均进行六次以上重复, 每个生物学重复(单盆)的最终数据, 由该盆内3株长势一致植株的测量值取平均而得。统计分析以单盆作为独立重复($n\geq 6$)。数据结果以平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示。使用SPSS软件(25.0版)和Excel进行数据处理和统计分析。采用单因素方差分析(ANOVA), 并利用最小显著性差异法(LSD)进行事后检验。在 $p<0.05$ 的水平上认为差异具有统计学意义。此外, 使用Origin 2021进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 不同 PGPR 的定殖能力

(1) 抗低浓度利福平 PGPR 的筛选:4 株 PGPR (GD-1-1, GD-3-9, YD-2-4 和 HD-1-1) 中菌株 GD-1-1 在 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 培养基上能生长, 活菌数量为 $1.38\times 10^8 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$; YD-2-4 在 50 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平培养基上能生长, 活菌数量为 0.6×10^7 和 $0.12\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$; 菌株 GD-3-9 和 HD-1-1 在

不同浓度利福平培养基上均不能生长(图 1A)。

(2) 高浓度利福平驯化 PGPR: 分别用 300 和 $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度利福平的 LB 液体培养基依次驯化 7 d, 获得具有高抗性菌株 YD-2-4' 和 GD-1-1' (图 1B)。吸取利福平培养基中的驯化菌株菌液 $10 \mu\text{L}$, 划线至含 400, $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平的固体培养基上, 菌株 YD-2-4' 和 GD-1-1' 均能在高浓度利福平培养基上生长(图 1C)。从而获得抗高浓度利福平能力的驯化菌株 YD-2-4' 和 GD-1-1'。

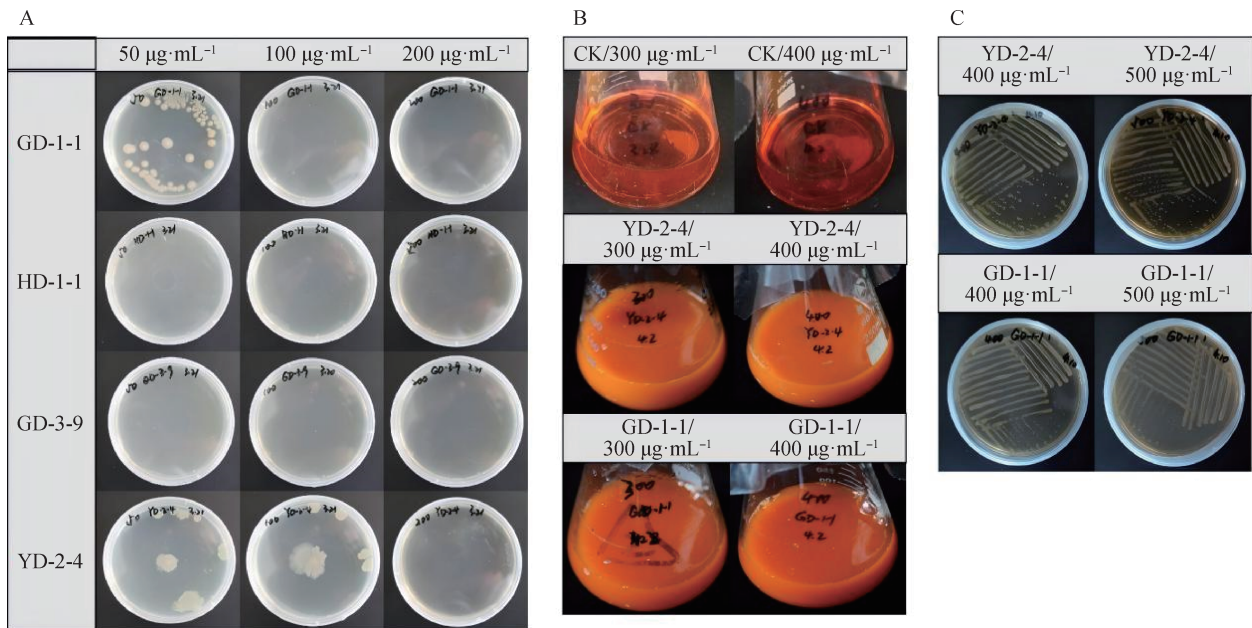


图 1 抗利福平 PGPR 的筛选和驯化

Fig. 1 Screening and domestication of rifampicin-resistance PGPR

注: A, 抗利福平菌株的筛选; B, 抗利福平菌株的驯化; C, 驯化菌株在高浓度利福平培养基上的生长情况

Note: A, screening of rifampicin-resistance strains; B, domestication of rifampicin-resistance strains; C, the growth of domesticated strains on high-concentration rifampicin medium

(3) 驯化菌株抗利福平稳定性测定: 经过连续继代培养 5 代后, 驯化菌株 YD-2-4' 和 GD-1-1' 均能在含 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度利福平培养基上正常生长, 且继代培养菌株在 $600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度利福平培养基上生长(图 2A), 说明驯化菌株 YD-2-4' 和 GD-1-1' 具备稳定抗性。

原始菌株 GD-1-1 和驯化菌株 GD-1-1' 在 LB 固体培养基呈现乳白色不透明, 圆形有光泽; 原始菌株 YD-2-4 和驯化菌株 YD-2-4' 呈现淡黄色, 絮状, 边缘不规则(图 2B)。同时, 原始菌株和驯化菌株在溶磷和固氮功能培养基上能产生溶解透明圈, 且透明圈大小相近。说明经高浓度利福平培养基驯化

未改变菌株形态、溶磷和固氮等活性(图 2C)。

(4) 驯化菌株的定殖能力检测: 在含 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度利福平的 LB 培养基上, 0~20 d 内均能检测到驯化菌株 GD-1-1' 和 YD-2-4' 的生长(图 3)。10 d 时, 驯化菌株 GD-1-1' 在紫花针茅根际定殖量为 $2.77\times 10^8 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$, 菌株 YD-2-4' 的定殖量为 $0.21\times 10^8 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$; 20 d 时, 驯化菌株 GD-1-1' 的定殖量为 $1.22\times 10^8 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$, 菌株 YD-2-4' 的定殖量为 $0.6\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$; 30 d 时, 只能检测到菌株 GD-1-1' 生长, 其定殖量为 $1.5\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$; 40 d 时, 均不能检测到驯化菌株的定殖。

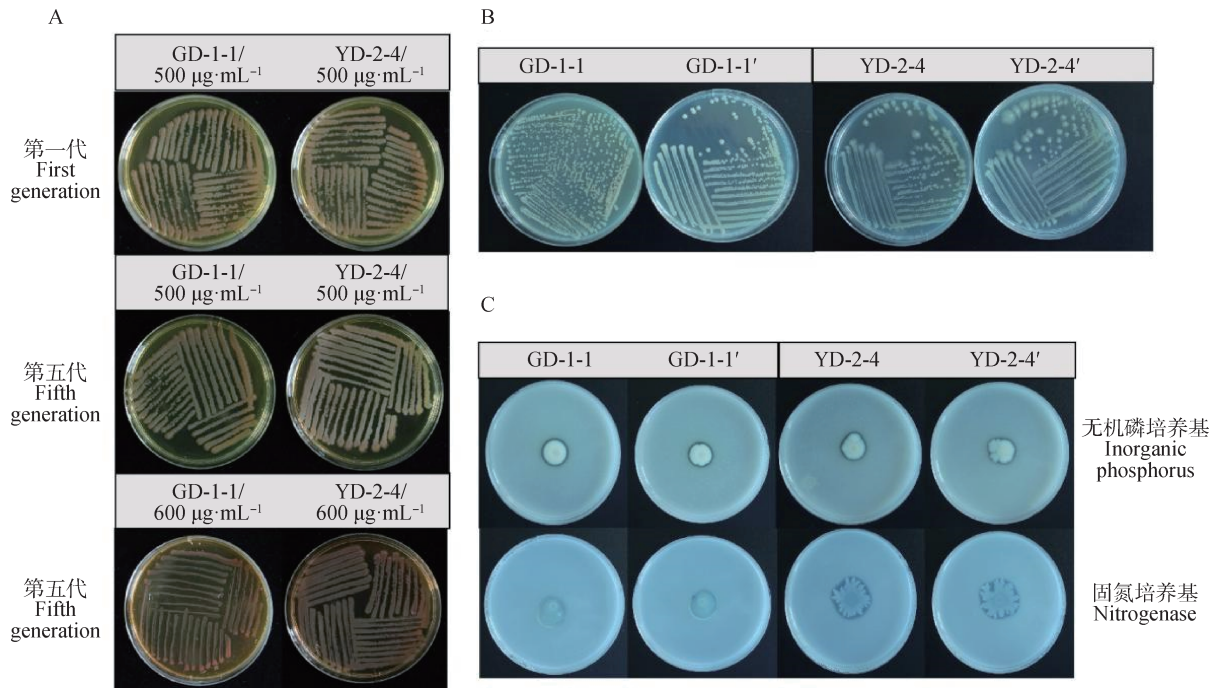


图 2 驯化 PGPR 的抗性稳定性分析

Fig. 2 Analysis of resistance stability of domesticated PGPR

注: A, 驯化菌株的传代培养; B, 驯化菌株与原始菌株的形态比较; C, 驯化菌株与原始菌株在溶磷和固氮培养基上的溶解圈比较

Note: A, subculture of domesticated strains; B, morphological comparison between domesticated strains and wild-type strains; C, comparison of solubilization zones between domesticated and wild-type strains on phosphorus-solubilizing and nitrogen-fixing media

	10 d	20 d	30 d	40 d
GD-1-1'				
	2.77×10^8 CFU·g ⁻¹	1.22×10^8 CFU·g ⁻¹	1.5×10^7 CFU·g ⁻¹	0
YD-2-4'				
	2.1×10^7 CFU·g ⁻¹	0.6×10^7 CFU·g ⁻¹	0	0

图 3 驯化 PGPR 在紫花针茅根际的定殖量测定

Fig. 3 Measurement of colonization density of domesticated PGPR in the rhizosphere of *Stipa purpurea*

2.2 不同盆栽温度下 PGPR 对紫花针茅的促进作用

(1) 培养温度 25℃

高浓度 LB 稀释液 (1×10^1 , 1×10^2) 会抑制种子出芽, 低浓度稀释液 (1×10^3 , 1×10^4) 无显著影响 (图 4A)。菌株 GD-1-1 的 1×10^2 和 1×10^3 稀释液显著促进种子萌发, 1×10^1 和 1×10^4 稀释液处理组对发芽率无显著影响。菌株 YD-2-4 的 1×10^1 和 $1 \times$

10^2 稀释液能促进种子萌发, 种子发芽率显著高于 1×10^3 , 1×10^4 稀释液处理组。

LB 稀释液对幼苗生长有抑制作用, 浓度越高抑制作用越明显。菌株 GD-1-1 的 1×10^3 稀释液显著提高幼苗芽长、根长和生物量, 对幼苗生长的促进作用优于其它浓度处理组。菌株 YD-2-4 的 1×10^1 和 1×10^2 稀释液能促进幼苗生长, 幼苗的芽长、根长和生物量显著高于 CK (图 4B~D)。

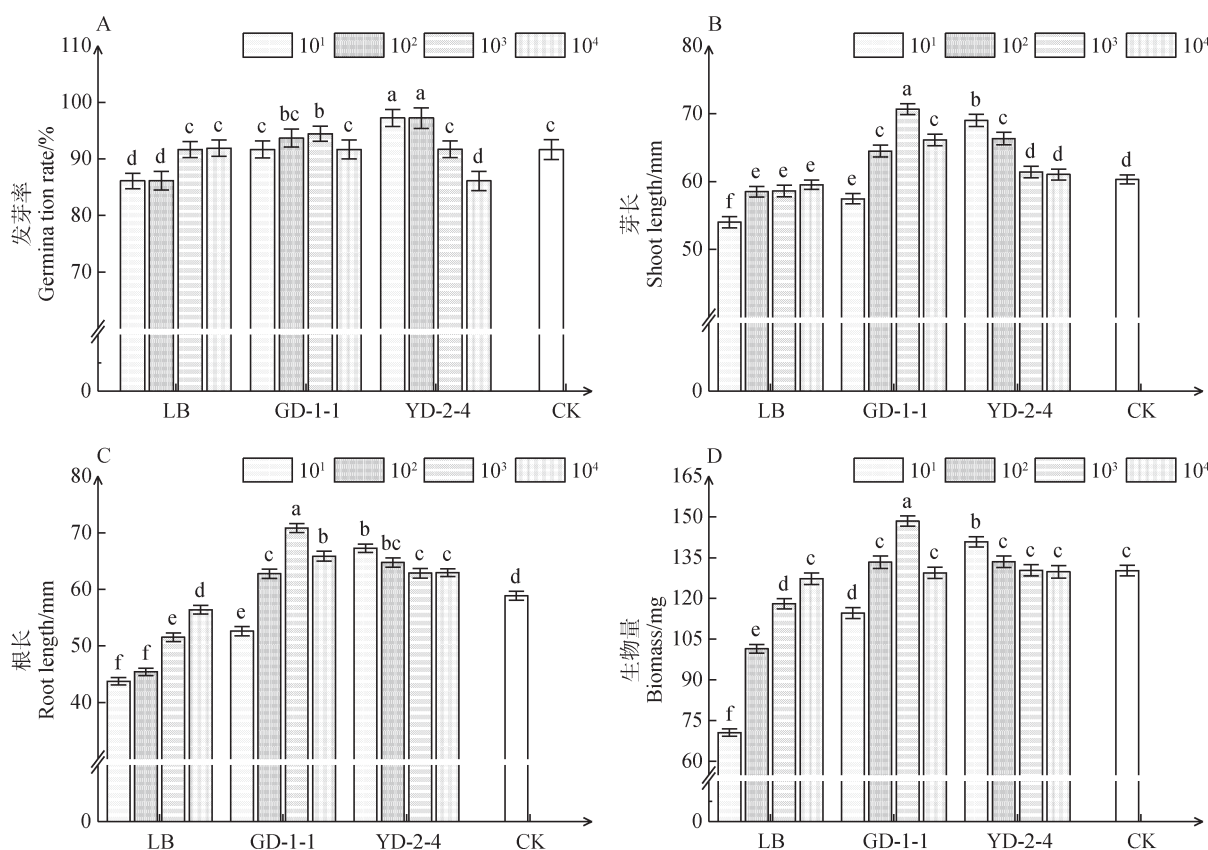


图4 25°C培养条件下紫花针茅发芽率及形态指标测定

Fig. 4 Measurement of germination rate and morphological parameters of *Stipa purpurea* under 25°C culture condition

注:A,种子发芽率;B,幼苗芽长;C,幼苗根长;D,幼苗生物量。LB培养基的稀释倍数分别为 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 和 1×10^4 ;菌株GD-1-1, YD-2-4稀释 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 和 1×10^4 倍后的活细胞计数分别为 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 和 1×10^5 CFU·mL⁻¹。不同的字母代表不同处理组之间的显著差异性($P < 0.05$)。下同

Note: A, seed germination rate; B, seedling shoot length; C, seedling root length; D, seedling biomass. The dilution multiples of LB broth were 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 and 1×10^4 ; and the viable cell counts of strains GD-1-1 and YD-2-4 after 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 and 1×10^4 -fold dilution were 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 and 1×10^5 CFU·mL⁻¹, respectively. Different letters represent significant differences between the treatment groups ($P < 0.05$). The same as below

在25°C培养条件下,与CK相比,菌株GD-1-1的 1×10^2 和 1×10^3 浓度稀释液处理能显著提高幼苗脯氨酸含量,且丙二醛含量显著降低,幼苗的过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性和叶绿素含量与CK无显著差异。菌株YD-2-4的 1×10^1 和 1×10^2 稀释液处理能显著提高幼苗过氧化氢酶、过氧化物酶活性和脯氨酸含量,显著降低丙二醛含量,超氧化物歧化酶活性和叶绿素含量无显著影响(图5)。

(2) 培养温度20°C

在20°C培养条件下,高浓度LB稀释液(1×10^1 , 1×10^2)会抑制种子出芽,抑制作用随浓度增加而增加。菌株GD-1-1的 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$ 稀释液均能显著提高种子发芽率。菌株YD-2-4的 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^3$ 稀释液能显著促进种子萌发,其中 1×10^1 稀释液

处理组的发芽率显著高于其它处理组(图6A)。

高浓度LB稀释液(1×10^1 , 1×10^2)对幼苗生长有抑制作用,而低浓度LB稀释液(1×10^3 , 1×10^4)对幼苗的抑制作用较低(图6B~D)。菌株GD-1-1的 1×10^3 稀释液处理能提高幼苗芽长、根长和生物量,对幼苗生长的促进作用显著优于 1×10^1 , 1×10^2 和 1×10^4 稀释液处理组。菌株YD-2-4的 1×10^1 和 1×10^2 稀释液能显著提高幼苗的芽长、根长和生物量,其中 1×10^1 稀释液处理对紫花针茅的促进作用最显著。

在25°C培养条件下,菌株GD-1-1的 1×10^2 , 1×10^3 和 1×10^4 浓度稀释液处理能显著提高幼苗的过氧化氢酶活性和脯氨酸含量,超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性、丙二醛和叶绿素含量与CK无显著差异。菌株YD-2-4的 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$ 浓度稀释

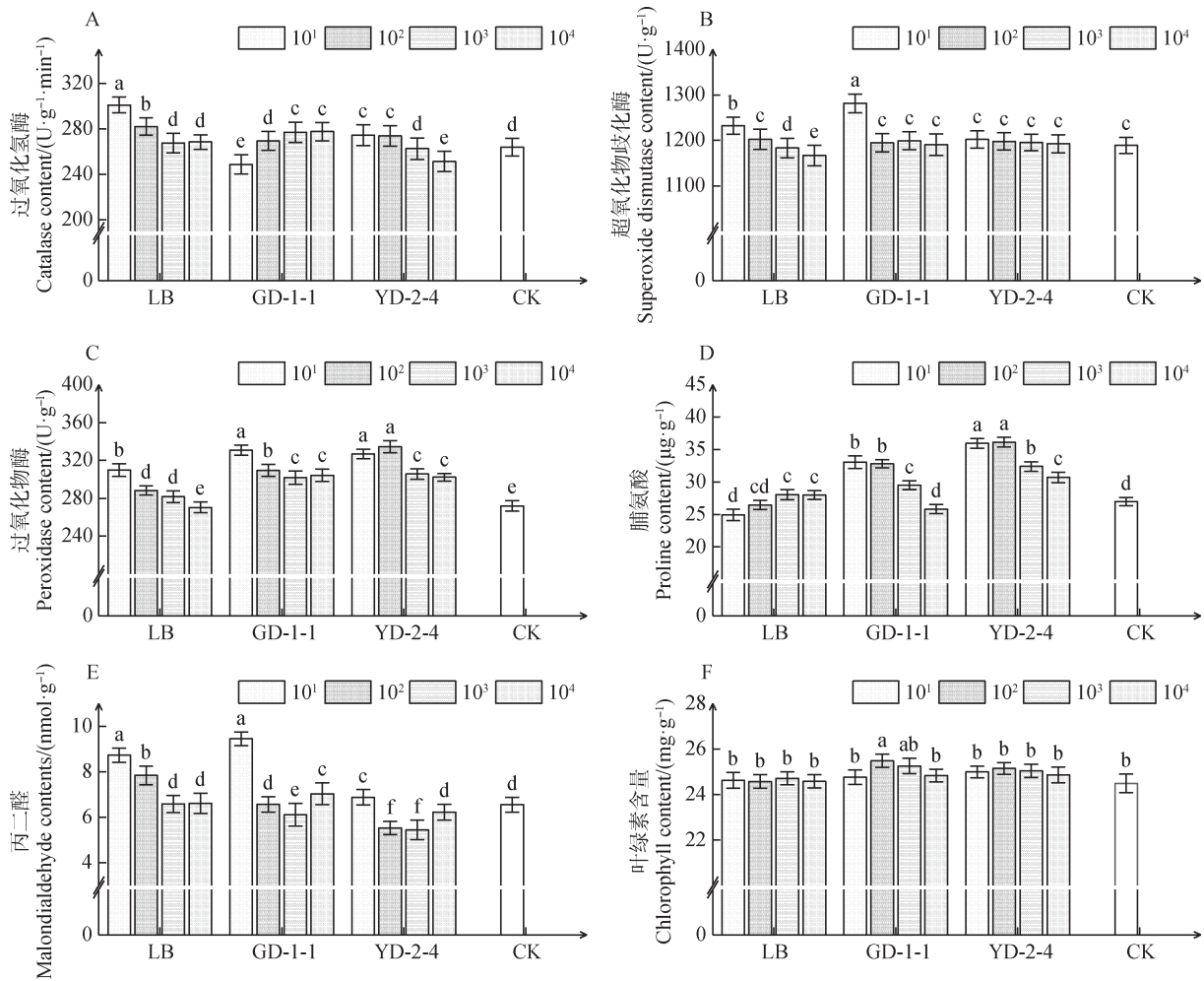


图5 25℃培养条件下紫花针茅幼苗的抗氧化特性和叶绿素含量测定

Fig. 5 Measurement of antioxidant properties and chlorophyll content of *Stipa purpurea* seedlings cultured at 25℃

注: A, 过氧化氢酶; B, 超氧化物歧化酶; C, 过氧化物酶; D, 脯氨酸; E, 丙二醛; F, 叶绿素

Note: A, catalase; B, superoxide dismutase; C, peroxidase; D, proline; E, malondialdehyde; F, chlorophyll

液处理能显著提高幼苗抗氧化酶活性和脯氨酸含量,并显著降低丙二醛含量,其中 1×10^2 稀释液的作用最显著(图7)。

(3) 培养温度 15℃

在15℃培养条件下,不同浓度LB稀释液(1×10^1 , 1×10^2 和 1×10^3)显著抑制种子出芽。菌株GD-1-1的 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$ 稀释液处理组种子发芽率均低于CK,对种子发芽率无提升作用。菌株YD-2-4的 $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^3$ 稀释液能促进种子萌发,其中 1×10^1 稀释液处理组的发芽率显著高于其它处理组(图8A)。

LB不同浓度稀释液($1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$)对幼苗根生长和生物量积累有抑制作用(图8C~D)。菌株

GD-1-1的不同浓度稀释液($1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$)对幼苗芽长无显著促进作用,但对幼苗生物量的积累有抑制作用。菌株YD-2-4的 1×10^1 和 1×10^2 稀释液能显著提高幼苗的芽长、根长和生物量, 1×10^3 和 1×10^4 稀释液处理对幼苗生长无显著促进作用。

在15℃培养条件下,菌株GD-1-1不同浓度稀释液($1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$)处理能显著提高幼苗超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量,显著降低脯氨酸含量,对幼苗过氧化氢酶、过氧化物酶活性和叶绿素含量无显著影响。菌株YD-2-4的 1×10^1 , 1×10^2 稀释液处理能显著提高幼苗抗氧化酶活性和脯氨酸含量,并显著降低丙二醛含量,其中 1×10^2 稀释液的作用最显著(图9)。

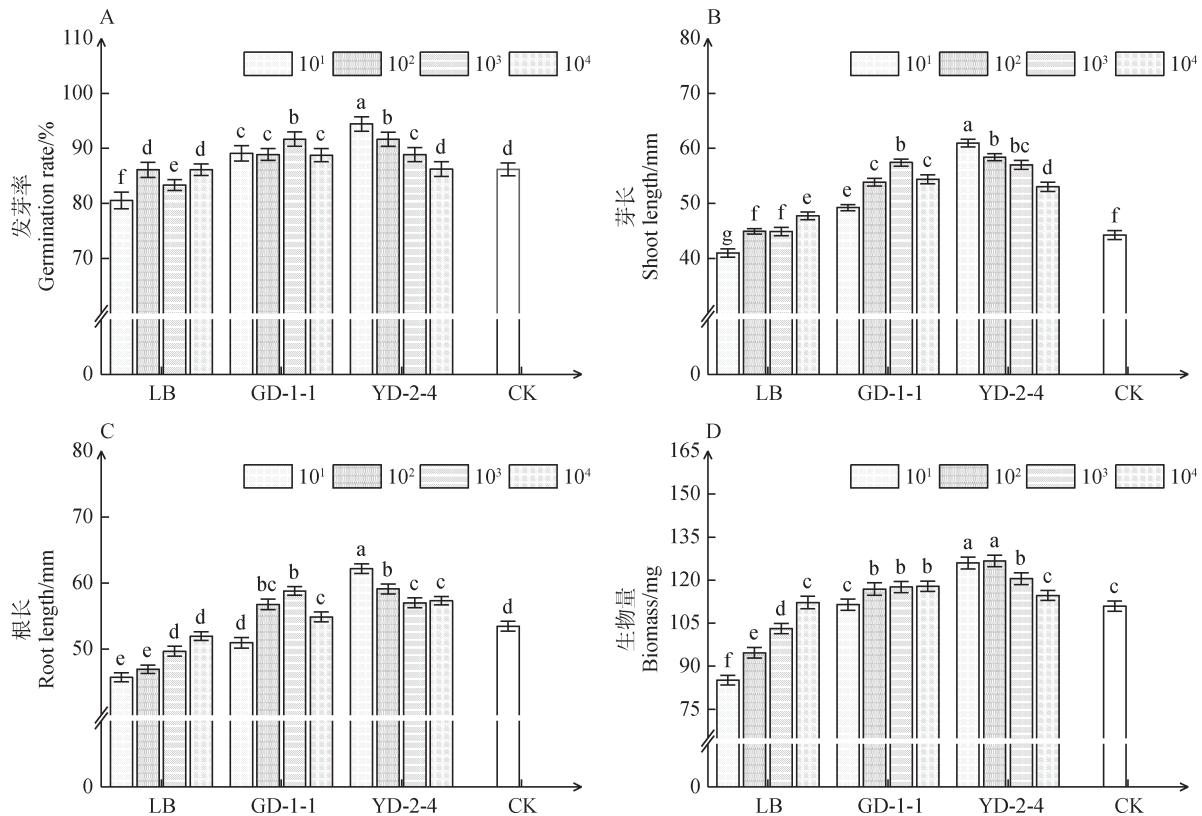


图6 20℃培养条件下紫花针茅发芽率及形态指标测定

Fig. 6 Measurement of germination rate and morphological indexes of *Stipa purpurea* cultured at 20°C

注: A, 种子发芽率; B, 幼苗芽长; C, 幼苗根长; D, 幼苗生物量

Note: A, seed germination rate; B, seedling shoot length; C, seedling root length; D, seedling biomass

3 讨论

3.1 PGPR在紫花针茅根际的定殖能力及机制分析

定殖能力是决定PGPR能否在复杂根际环境中建立种群并持续发挥益生功能的首要因素^[23]。本研究结果表明两株PGPR能有效定殖于紫花针茅根际,这与其具备的产生胞外多糖、形成生物被膜,并分泌IAA与ACC脱氨酶等活性密切相关^[19]。PGPR产生的附着酶、黏附小分子等胞外多糖类分泌物是调控菌株定殖于植物根系表面的第一步^[24]。例如,*Pseudomonas putida*通过分泌特定的胞外多糖(Peptide polyether类和Lipopenic类化合物)来降低根系的表面张力,从而增强细菌在植物根部的附着力^[25]。PGPR在定殖过程中会形成生物膜,并与根系表面纤维结合形成三维网状结构,有效增强PGPR的定殖活性,尤其是在盐碱、干旱等逆境条件下,生物膜已成为决定菌株能否定殖的关键^[26]。此外,PGPR与植物的相互作用也是决定定殖效率的因素之一。一方面,PGPR通过合成IAA、ACC脱

氨酶等物质促进根系生长与形态建成,这为菌株创造了更多的定殖位点^[27]。另一方面,具有溶磷、固氮等功能的PGPR能促进植物营养吸收,增加根系分泌物的释放,为PGPR的生存与定殖提供养分支持^[27]。正是这些机制的协同作用,共同赋予了菌株GD-1-1和YD-2-4在紫花针茅根际的稳定定殖活性。从定殖动态来看,两菌株均呈现“先升后降”的趋势,这与李颖等^[10]报道的PGPR定殖规律相符。定殖后期数量的下降,可能与根际养分的消耗、宿主根系分泌物的变化以及土著微生物群的竞争抑制等因素有关^[11]。菌株GD-1-1和YD-2-4所具备的稳定根际定殖能力,为开发适用于高寒草地生态修复的微生物菌剂奠定了坚实基础。

3.2 PGPR对紫花针茅的促生机制及浓度效应

PGPR产生的IAA可以直接穿透种皮进入种子,从而促进种子萌发;PGPR分泌的ACC脱氨酶可调节根系的乙烯水平,刺激主根的伸长生长及侧根的形成^[28]。菌株的溶磷和固氮活性可调节根际养分平衡,增强根系对养分的吸收,对幼苗代谢产

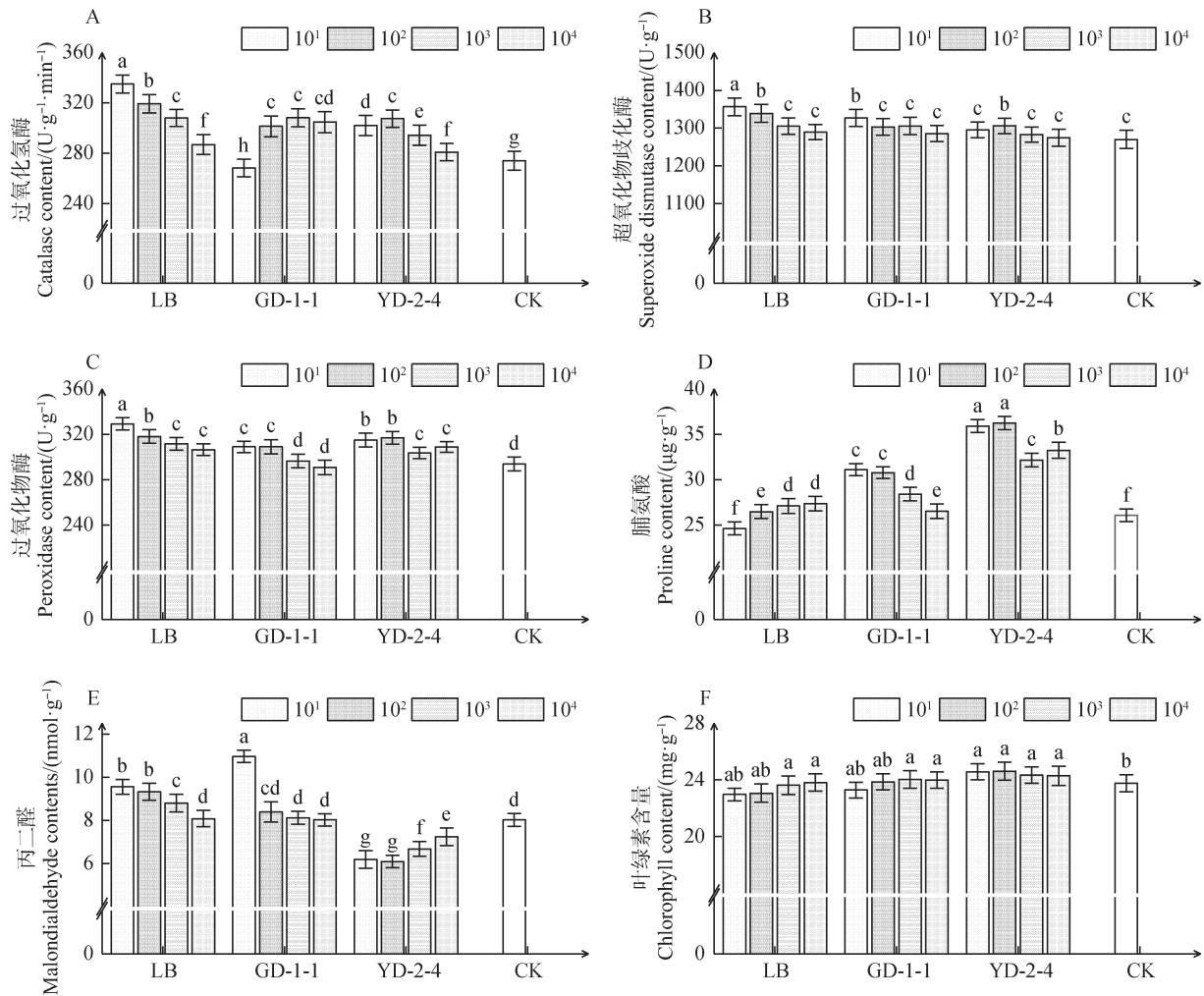


图 7 20℃ 培养条件下紫花针茅幼苗的抗氧化特性和叶绿素含量测定

Fig. 7 Measurement of antioxidant properties and chlorophyll content of *Stipa purpurea* seedlings cultured at 20℃

注: A, 过氧化氢酶; B, 超氧化物歧化酶; C, 过氧化物酶; D, 脯氨酸; E, 丙二醛; F, 叶绿素

Note: A, catalase; B, superoxide dismutase; C, peroxidase; D, proline; E, malondialdehyde; F, chlorophyll

物的生物合成和光合作用有积极影响^[29]。本研究中,菌株 GD-1-1 与 YD-2-4 对紫花针茅生长的促进作用,正是这些多重机制协同作用的体现,这与任智慧等^[30-31]在其他禾草上的研究发现相类似。本研究结果还发现,高浓度菌液及 LB 培养液本身均抑制紫花针茅生长,这揭示了菌株促生作用存在明确的浓度效应。高浓度的 LB 培养液可能通过其盐离子诱导渗透胁迫,或增加了植物中活性氧的产生和积累,从而抑制种子萌发与幼苗生长^[32-33]。高浓度菌液则可能导致菌株与幼苗对水分、氧气的竞争加剧,甚至其代谢产物(如氰化氢、过量 IAA)在局部积累产生毒害效应^[34-35]。值得注意的是,两株菌的最适浓度范围存在差异性:GD-1-1 在中等浓度下的促生效果最优,说明菌株促生作用可能更依赖于分泌的 IAA 调控,其有效作用浓度范围较窄^[28];而

YD-2-4 在较宽浓度范围内,尤其是较高浓度下仍能发挥稳定促生作用,可能与菌株产生丰富的胞外多糖以抵御环境胁迫,或分泌抗生素有效抑制竞争者有关^[33]。这表明,在实践应用中,首先要确定 PGPR 菌株的最适接种剂量。

3.3 温度对 PGPR 促生功能的影响及其高寒适应性意义

温度是影响 PGPR 田间应用效果的关键环境因子。在高寒地区,温度波动大且生长季短暂,探究 PGPR 在不同温度下的功能稳定性具有重要的生态实践意义。本研究设定的 15℃~25℃ 温度梯度,模拟了青藏高原高寒草地生长季典型的昼夜温度波动,这使得实验结果能够更直接地预测菌株在真实生境中的表现。温度改变不仅能影响菌株自

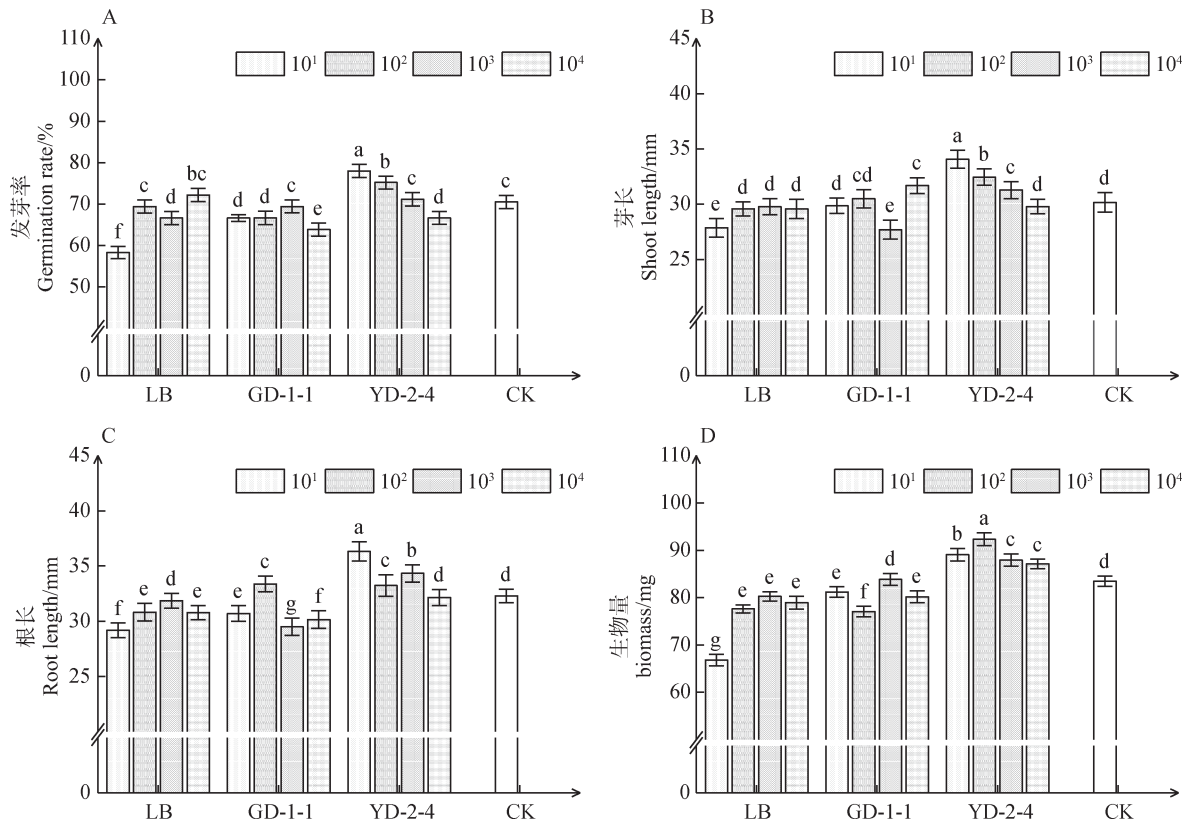


图8 15℃培养条件下紫花针茅发芽率及形态指标测定

Fig. 8 Measurement of germination rate and morphological indexes of *Stipa purpurea* cultured at 15℃

注: A, 种子发芽率; B, 幼苗芽长; C, 幼苗根长; D, 幼苗生物量

Note: A, seed germination rate; B, seedling shoot length; C, seedling root length; D, seedling biomass

身的生长代谢与功能基因表达,还可能改变其分泌激素(如生长素与脱落酸)的比例,进而影响菌株对宿主植物的促生效果^[36]。本研究观察到,在15℃~25℃的培养温度范围内,高浓度LB稀释液(1×10^1 , 1×10^2)和菌株GD-1-1的 1×10^1 稀释液处理会显著抑制种子萌发和幼苗生长,提高幼苗丙二醛含量,加剧幼苗体内的氧化损伤。而菌株GD-1-1的 1×10^2 , 1×10^3 稀释液在25℃培养条件下,对种子萌发、幼苗生长及抗氧化能力形成具有促进作用,20℃条件下仅显著促进种子萌发和幼苗生长,对抗氧化能力形成无显著促进效应,15℃条件下则对种子萌发、幼苗生长及抗氧化能力形成均无显著影响。说明菌株GD-1-1的促生作用,特别是对抗氧化系统的诱导能力随着温度的降低而减弱。这与前人报道的部分PGPR在非最适温度下促生作用减弱的现象一致^[37],说明GD-1-1的代谢活性与益生功能对低温较为敏感。菌株YD-2-4的 1×10^1 , 1×10^2 稀释液在15~25℃范围内,均能有效促进紫花针茅种子萌发、幼苗生长及抗氧化能力形成,尤其在20℃时对幼苗抗氧化能力的提升最为显著。这种多效的、

跨温度范围的促生能力,与其前期研究中展现出的稳定根际定殖能力、胞外多糖及生物膜形成能力相关^[19]。

本研究设计的温度梯度不仅具有现实模拟性,其结论也为高寒地区微生物接种剂的筛选提供了关键的理论依据与菌株资源。菌株YD-2-4在不同温度下所表现出的促生特性,意味着其在应对高寒草地夏季夜间低温及生长季内骤然降温等复杂场景时,具有更强的缓冲能力和功能稳定性,这极大地提升了其田间应用的成功概率与推广价值。

4 结论

菌株变形斑沙雷氏菌(*Serratia proteamaculans*)GD-1-1和硝基愈创木酚类节杆菌(*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*)YD-2-4能有效定殖于紫花针茅植株根际。菌株GD-1-1对紫花针茅生长的促进作用随温度降低而降低,而菌株YD-2-4在不同盆栽温度下(15℃~25℃)均能促进幼苗生长,并提高植株抗氧化能力。因此,菌株YD-2-4具有

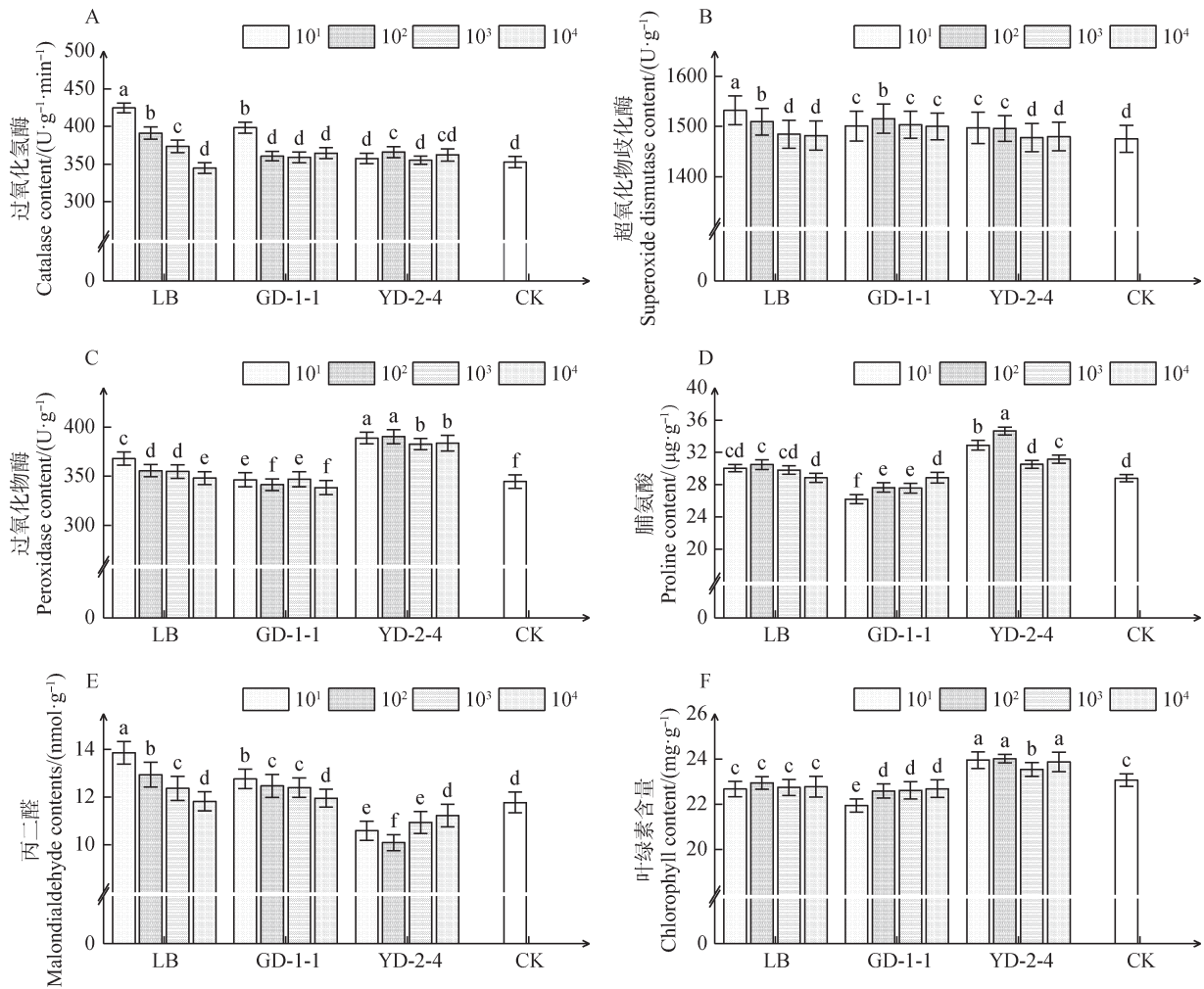


图9 15℃培养条件下紫花针茅幼苗的抗氧化特性和叶绿素含量测定

Fig. 9 Measurement of antioxidant properties and chlorophyll content of *Stipa purpurea* seedlings cultured at 15℃

注:A, 过氧化氢酶; B, 超氧化物歧化酶; C, 过氧化物酶; D, 脯氨酸; E, 丙二醛; F, 叶绿素

Note: A, catalase; B, superoxide dismutase; C, peroxidase; D, proline; E, malondialdehyde; F, chlorophyll

优良生态适应性和高效促生活性,更适用于高寒生境下退化草地的修复和生态系统的治理。

参考文献

- [1] 董世魁,汤琳,张相锋,等. 高寒草地植物物种多样性与功能多样性的关系[J]. 生态学报,2017(5):1472-1483
DONG S K, TANG L, ZHANG X F, et al. Relationship between plant species diversity and functional diversity in alpine grassland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017(5):1472-1483
- [2] 张锦涛. 青藏高原典型高寒退化草地植被特征与环境因子的影响探究[D]. 临汾:山西师范大学,2022:2-7
ZHANG J T. Exploring the influence of vegetation characteristics and environmental factors in typical alpine degraded grasslands on the Qing-Zang plateau[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2022:2-7
- [3] 李明,王军邦,张秀娟,等. 未来气候情景下青藏高原高寒草原与高寒草甸优势种潜在适宜区分布预测[J]. 生态学报, 2024, 44(22):10162-10177

- LI M, WANG J B, ZHANG X J, et al. Distribution of potential suitable areas of dominant species in alpine grasslands and alpine meadows in the TP under future climate scenarios [J]. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(22):10162-10177
- [4] LU D X, JIN H, YANG X Y, et al. Characterization of rhizosphere and endophytic fungal communities from roots of *Stipa purpurea* in alpine steppe around Qinghai Lake [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2016, 62(8):643-656
- [5] HAROON U, MUNIS M F H, LIAQUAT F, et al. Biofilm formation and flocculation potential analysis of halotolerant *Bacillus tequilensis* and its inoculation in soil to mitigate salinity stress of chickpea [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2023, 29(2):277-288
- [6] 祁之秋,李兴海,王英姿,等. 黄瓜枯萎病拮抗芽孢杆菌 B67 在土壤及黄瓜根际的定殖[J]. 中国蔬菜, 2009(8):63-66
QI Z Q, LI X H, WANG Y Z, et al. Colonizing of antagonistic bacterium B67 isolate on soil and rhizosphere of cucumber [J]. China Vegetables, 2009(8):63-66

- [7] 金岩,高洁. 五味子内生拮抗菌JYg07的定殖研究[J]. 中草药,2015,46(21):3242-3247
- JIN Y,GAO J. Study on colonization of endophytic antagonistic strain JYg07 of *Schisandra chinensis* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2015,46(21):3242-3247
- [8] 杨潇湘,黄小琴,张蕾,等. 绿色荧光蛋白标记解淀粉芽孢杆菌Bam22在油菜体内的定殖[J]. 中国农学通报,2022,38(1):125-130
- YANG X X,HUANG X Q,ZHANG L,et al. Colonization of GFP-labelled *Bacillus amyloliquefaciens* Bam22 in *Brassica napus* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2022,38(1):125-130
- [9] 王志刚,刘泽平,胡云龙,等. 植物杆菌属(*Plantibacter*)菌株WZW03的分子标记与定殖促生能力[J]. 浙江农业学报,2018,30(10):1715-1721
- WANG Z G,LIU Z P,HU Y L,et al. Molecular marker and colonization of *Plantibacter* sp. WZW03[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis,2018,30(10):1715-1721
- [10] 李颖,龙长梅,蒋标,等. 两株PGPR菌株的花生定殖及对根际细菌群落结构的影响[J]. 生物技术通报,2022,38(9):237-247
- LI Y, LONG C M,JIANG B,et al. Colonization on the peanuts of two plant-growth promoting rhizobacteria strains and effects on the bacterial community structure of rhizosphere [J]. Biotechnology Bulletin,2022,38(9):237-247
- [11] 宋露洋,高沛,张涵,等. 苦瓜枯萎病生防细菌ZB36的分离鉴定及其定殖特性研究[J]. 河南农业大学学报,2024,58(2):228-238
- SONG L Y,GAO P,ZHANG H,et al. Isolation,identification and colonization of biocontrol bacteria ZB36 against bitter melon *Fusarium* wilt [J]. Journal of Henan Agricultural University,2024,58(2):228-238
- [12] 王军强,汪晶晶,王琦,等. 海洋细菌L₁-9双抗菌株的定殖能力及其对黄瓜枯萎病的防治作用[J]. 生物技术通报,2016,32(6):193-198
- WANG J Q,WANG J J,WANG Q,et al. Colonization of double-resistance strain of marine bacterium L₁-9 and its biocontrol effect on *Fusarium* wilt of cucumber [J]. Biotechnology Bulletin,2016,32(6):193-198
- [13] 李明源. 祁连山高寒草地优势牧草耐冷促生菌特性及促生理研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2022:12-30
- LI M Y. Characterization and plant growth-promoting mechanism of cold-adapted PGPR from dominant herbage in the alpine grassland of the Qilian mountains [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University,2022:12-30
- [14] 雷生妍,张英,苏贝贝,等. 植物根际促生菌(PGPR)对高寒区3种栽培饲草促生效果研究[J]. 草地学报,2025,33(7):2388-2399
- LEI S Y,ZHANG Y,SU B B,et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on three cultivated forages in alpine area [J]. Acta Agrestia Sinica,2025,33(7):2388-2399
- [15] 敖远,冯疆蓉,杨成德. 高寒草地紫花针茅拮抗内生细菌263ZY2的功能测定及其鉴定[J]. 草原与草坪,2023,43(6):38-43
- AO Y,FENG J R,YANG C D. Function determination and identification of endophytic bacteria 263ZY2 from *Stipa purpurea* in Alpine Grassland [J]. Grassland and Turf,2023,43(6):38-43
- [16] 杨成德,崔月贞,冯中红,等. 内生枯草芽孢杆菌265ZY4对温度和紫外光胁迫下紫花针茅生化特征的影响[J]. 草业学报,2019,28(6):101-108
- YANG C D,CUI Y Z,FENG Z H,et al. Effects of endophytic *Bacillus subtilis* 265ZY4 on physiological and biochemical characteristics of *Stipa purpurea* under abiotic stress [J]. Acta Prataculturae Sinica,2019,28(6):101-108
- [17] GÓMEZ E,ALONSO A,SÁNCHEZ J,et al. Application of biostimulant in seeds and soil on three chickpea varieties: impacts on germination, vegetative development, and bacterial facilitation of nitrogen and phosphorus [J]. Life,2024,14(1):148
- [18] 宋江琴,尹亚丽,赵文,等. 青海高原黑土滩退化草地土壤微生物群落空间分异特征[J]. 生态环境学报,2024,33(11):1696-1707
- SONG J Q,YIN Y L,ZHAO W,et al. Characteristics of spatial differentiation of soil microbial communities in degraded grassland on the "black soil beaches" of Qinghai Plateau [J]. Ecology and Environmental Sciences,2024,33(11):1696-1707
- [19] YI G Y,LI J,WANG X,et al. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria and their growth-promoting activities for *Stipa purpurea* in alpine grassland [J]. Journal of Applied Microbiology,2025,136(3):1xaf041
- [20] 赵志祥,李道敏,谭诗梦,等. 芽孢杆菌Ya-1的定殖特性及其对辣椒根际细菌多样性的影响[J]. 南方农业学报,2024,55(11):3346-3357
- ZHAO Z X,LI D M,TAN S M,et al. Colonization characteristics of *Bacillus* sp. Ya-1 and its effects on rhizosphere bacterial diversity of pepper [J]. Journal of Southern Agriculture,2024,55(11):3346-3357
- [21] QIU J,BAI Y G,FU Y B,et al. Spatial variation in temperature thresholds during seed germination of remnant *Festuca hallii* populations across the Canadian prairie [J]. Environmental and Experimental Botany,2010,67(3):479-486
- [22] 郭珂好,张凯,杨柳,等. 盐单胞菌L6对盐碱胁迫下棉花促生特性及发酵优化研究[J]. 西北农业学报,2025,34(4):639-652
- GUO K Y,ZHANG K,YANG L,et al. Growth-promoting characteristics and fermentation optimization of *Halomonas* sp. L6 in cotton under saline-alkali stress [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2025,34(4):639-652
- [23] 余旋. 四川核桃主产区根际解磷细菌研究[D]. 雅安:四川农业大学,2011:23-25
- YU X. A study on phosphate-solubilizing bacteria of rhizosphere soil in walnut plant grown in Sichuan Province [D]. Yaan:Sichuan Agricultural University,2011:23-25

- [24] AHMAD H A, FARHANA L, HAROON U, et al. Rhizospheric bacterial strain *Pseudomonas putida* and fungal strain *Penicillium chrysogenum* alleviate *Fusarium* wilt of tomato by improving key growth attributes[J]. European Journal of Plant Pathology, 2025, 172(1):123-142
- [25] AHMAD ANSARI F, AHMAD I, PICHTEL J, et al. *Pantoea agglomerans* FAP10: A novel biofilm-producing PGPR strain improves wheat growth and soil resilience under salinity stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2024, 222:105759
- [26] 张玉芹, 李军民, 崔丙慧, 等. 根际微生物对烟草生长发育及抗逆影响机制与应用研究进展[J]. 生物灾害科学, 2024, 47(4):500-511
- ZHANG Y Q, LI J M, CUI B H, et al. Research progress on the mechanism and application of rhizosphere microorganisms to the growth, development, and stress resistance of tobacco [J]. Biological Disaster Science, 2024, 47(4):500-511
- [27] 曾秀丽. 内生草螺菌 ZXN111 在阿萨姆种茶树中的定殖及促生作用初步研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2020:27-30
- ZENG X L. Preliminary study on endophytic *Herbaspirillum* sp. ZXN111 colonization and growth-promoting activity on tea plant *Camellia sinensis* var. *assamica* [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2020:27-30
- [28] ZHAO T L, DENG X L, XIAO Q Z, et al. IAA priming improves the germination and seedling growth in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) via regulating the endogenous phytohormones and enhancing the sucrose metabolism [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 155:112788
- [29] MILJAKOVIĆ D, MARINKOVIĆ J, TAMINDŽIĆ G, et al. Bio-priming of soybean with *Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*: strategy to improve seed germination and the initial seedling growth[J]. Plants, 2022, 11(15):1927
- [30] 任智慧, 于乔, 高士孔, 等. 垂穗披碱草根际促生菌的分离鉴定及促生作用研究[J]. 草地学报, 2024, 32(6):1693-1701
- REN Z H, YU Q, GAO S K, et al. Screening and promoting effects of plant growth-promoting bacteria from rhizosphere of *Campeiostrachys nutans* Griseb [J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(6):1693-1701
- [31] 赵树栋, 李建宏. 高原早熟禾根际促生菌分离筛选及特性研究[J]. 草地学报, 2021, 29(9):1885-1891
- ZHAO S D, LI J H. The study on screening and characteristics of rhizosphere growth-promoting bacteria of *Poa alpigena* L. [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(9):1885-1891
- [32] 乔思薇, 邵财, 张浩, 等. 不同浓度 NaCl 胁迫对甘草种子萌发和幼苗生长的影响 [J/OL]. <https://link.cnki.net/doi/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.239>, 2024-12-16/2025-11-12
- QIAO S W, SHAO C, ZHANG H, et al. Effect on the seed germination and seedling growth of *Glycyrrhiza uralensis* under different concentration NaCl stress [J/OL]. <https://link.cnki.net/doi/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.239>, 2024-12-16/2025-11-12
- [33] SONG P, ZHAO B, SUN X X, et al. Effects of *Bacillus subtilis* HS5B5 on maize seed germination and seedling growth under NaCl stress conditions [J]. Agronomy, 2023, 13(7):1874
- [34] MAKHAYE G, AREMU A O, GERRANO A S, et al. Biopriming with seaweed extract and microbial-based commercial biostimulants influences seed germination of five *Abelmoschus esculentus* genotypes [J]. Plants, 2021, 10(7):1327
- [35] 李娅娣, 王瀚祥, 胡柏耿, 等. 植物根际促生菌缓解园艺作物非生物胁迫研究进展 [J]. 园艺学报, 2024, 51(8):1964-1976
- LI Y D, WANG H X, HU B G, et al. Research progress on plant growth promoting rhizobacteria to alleviate abiotic stress tolerance of horticultural crops [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(8):1964-1976
- [36] 夏铁骑, 朱学文, 吕爱国. 小麦根际细菌的互作效应及其对小麦生长的影响 [J]. 河南农业科学, 2009, 38(5):53-55
- XIA T Q, ZHU X W, LU A G. Interactions of wheat PGPR and its effects on wheat growth [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2009, 38(5):53-55
- [37] ZHU Y X, ZHANG Y Y, WANG X Y, et al. *Wolbachia* modify host cell metabolite profiles in response to short-term temperature stress [J]. Environmental Microbiology Reports, 2024, 16(5):e70013

(责任编辑 彭露茜)