2026, 66(10): 5038-5057
CSTR: 32112.14.j.AMS.20260229
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20260229

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Research Article 研究报告

黑土复合菌剂在化肥减量条件下对玉米的促生效应

刘春利[1,2]，张云君[1,2]，于运凯[3]，王立达[3]，曾艳[2]，刘缨[2]，张春辉[1*]，郑艳宁[2*]

1 山西农业大学 农学院，分子农业与生物能源研究所，山西 晋中
2 中国科学院微生物研究所，微生物多样性与资源创新利用全国重点实验室，北京
3 黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院，黑龙江 齐齐哈尔

刘春利, 张云君, 于运凯, 王立达, 曾艳, 刘缨, 张春辉, 郑艳宁. 黑土复合菌剂在化肥减量条件下对玉米的促生效应[J]. 微生物学报, 2026, 66(10): 5038-5057.
LIU Chunli, ZHANG Yunjun, YU Yunkai, WANG Lida, ZENG Yan, LIU Ying, ZHANG Chunhui, ZHENG Yanning. Growth-promoting effect of a composite microbial inoculant for black soil on maize under chemical fertilizer reduction[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(10): 5038-5057.

摘　要：东北黑土地是我国重要的粮食生产基地和全国玉米的主产区。多功能促生菌可以通过固氮解磷将土壤中作物难以利用的氮、磷转化为可吸收形态，从而减少化肥用量并促进作物生长。【目的】从东北黑土中系统筛选高效多功能菌株，通过玉米种子 16 ℃低温萌发试验与盆栽试验评价其在减施 20% 氮磷条件下提升黑土肥力与促进玉米生长的作用效果，为创制适配东北黑土区生境的候选微生物菌剂提供优良种质资源。【方法】采用选择性培养基从水稻根际土中分离筛选多功能菌株；通过 16S rRNA 基因序列分析对菌株进行分类鉴定；定量测定所获得菌株的固氮、溶磷及吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)合成等促生特性。在此基础上，以玉米为供试作物，通过种子萌发试验和盆栽试验系统评价功能菌株对低温(16 ℃)条件下种子萌发及苗期土壤理化性质和植株生长指标的影响，综合评估其对土壤质量提升与作物促生效应。【结果】筛选获得 2 株多功能根际促生菌，经 16S rRNA 基因序列分析鉴定为雪白螺菌属(*Niveispirillum* sp.) YM6 和芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.) A03。功能分析表明，YM6 兼具固氮与产 IAA 能力，A03 兼具溶磷与产 IAA 能力。低温萌发试验显示，复合接种 YM6+A03 效果最佳，发芽率达 49.00%，发芽指数较对照提高 51.44%，平均发芽时间缩短 0.18 d，表现出优于单菌处理及三元复配的协同促生效应。盆栽试验进一步表明，三元复合处理[YM6+A03+ZP (*Penicillium bilaiae*)]的玉米株高、总生物量、叶绿素总量及土壤有效磷、铵态氮含量较化肥减量对照分别显著提高 12.73%、82.60%、66.30%、29.94% 和 30.03%；双菌复合处理(YM6+A03)上述指标与全肥无显著差异，但较化肥减量对照分别提高 9.08%、63.54%、32.81%、21.51% 和 15.31%，且优于单一菌剂处理。这表明复合菌剂

资助项目：中国科学院A类战略性先导科技专项(XDA28030201)
This work was supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA28030201).
*Corresponding authors. E-mail: ZHENG Yanning, zhengyn@im.ac.cn; ZHANG Chunhui, chunhuizhang90@163.com
Received: 2026-03-18; Accepted: 2026-04-25; Published online: 2026-06-08

(YM6+A03+ZP)表现出显著的协同增效作用，可在化肥减量条件下维持甚至提升作物生产力。【结论】单一菌株接种的促生效果相对有限，双菌复合处理(YM6+A03)在化肥减量条件下可维持与全肥相当的生产力，三元复合处理(YM6+A03+ZP)则显著优于全肥对照，在促进玉米生长的同时改善黑土养分状况，并展现出良好的微生物菌剂开发潜力。

关键词：复合菌剂；种子萌发；氮磷吸收；玉米；促生作用

Growth-promoting effect of a composite microbial inoculant for black soil on maize under chemical fertilizer reduction

LIU Chunli[1,2], ZHANG Yunjun[1,2], YU Yunkai[3], WANG Lida[3], ZENG Yan[2], LIU Ying[2], ZHANG Chunhui[1*], ZHENG Yanning[2*]

1 Institute of Molecular Agriculture and Bioenergy, College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong, Shanxi, China

2 State Key Laboratory of Microbial Diversity and Innovative Utilization, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

3 Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar, Heilongjiang, China

Abstract: As an important grain production base and the main maize-producing area in China, the black soil region in northeast China can utilize multifunctional plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to convert nitrogen and phosphorus into plant-available forms through nitrogen fixation and phosphate solubilization, thereby reducing chemical fertilizer input and promoting crop growth. **[Objective]** To systematically screen efficient multifunctional strains from the black soil in northeast China and evaluate their effects on soil fertility and maize growth under 20% nitrogen and phosphorus reduction through low-temperature (16 ℃) germination and pot experiments, thus providing excellent strain resources for developing microbial inoculants adapted to the black soil region in northeast China. **[Methods]** Functional strains were isolated from rice rhizosphere soil *via* selective media and identified by 16S rRNA gene sequence analysis. The plant growth-promoting traits of the obtained strains, including nitrogen fixation, phosphate solubilization, and indole-3-acetic acid (IAA) production, were quantitatively determined. Furthermore, maize seed germination and pot experiments were carried out to systematically evaluate the effects of these functional strains on seed germination under low-temperature conditions (16 ℃), as well as on soil physicochemical properties and seedling growth indicators during the seedling stage, on the basis of which the potential of functional strains in improving soil quality and promoting crop growth was comprehensively evaluated. **[Results]** Two PGPR strains, *Niveispirillum* sp. YM6 and *Bacillus* sp. A03, were screened from rhizosphere soil and identified by 16S rRNA gene sequence analysis. Functional characterization revealed that strain YM6 exhibited both nitrogen fixation and indole-3-acetic acid (IAA) production capabilities, while strain A03 displayed both phosphate solubilization and IAA production capabilities. Under

low-temperature (16 ℃) conditions, inoculation with both YM6 and A03 achieved the best performance in promoting seed germination, with a germination rate of 49.00%, a germination index 51.44% higher than the control, and shortening of 0.18 d in the average germination time, demonstrating a synergistic growth-promoting effect superior to both single-strain treatments and ternary combinations. Pot experiments further demonstrated that compared with the reduced-fertilizer control (CK-R), the ternary combination YM6+A03+ZP (*Penicillium bilaiae*) significantly increased the maize plant height, total biomass, total chlorophyll content, and soil available phosphorus and ammonium nitrogen by 12.73%, 82.60%, 66.30%, 29.94%, and 30.03%, respectively. Notably, the binary combination YM6+A03 showed no significant difference from the full-fertilizer control (CK-F) in these indicators but increased them by 9.08%, 63.54%, 32.81%, 21.51%, and 15.31%, respectively, compared with CK-R, outperforming all single-strain treatments. These results indicated that YM6+A03+ZP exhibited a significant synergistic enhancement effect, capable of maintaining or even improving crop productivity under chemical fertilizer reduction. **[Conclusion]** Single-strain inoculation exhibited limited plant growth-promoting effects. The binary combination YM6+A03 under 20% reduced fertilization maintained crop productivity comparable to that of CK-F, whereas the ternary combination YM6+A03+ZP significantly outperformed CK-F in promoting maize growth while improving black soil nutrient status, holding promise for the development of region-specific microbial inoculants adapted to the black soil region in northeast China.

Keywords: compound microbial inoculant; seed germination; nitrogen and phosphorus absorption; maize; plant growth-promoting effect

玉米是保障全球粮食安全的重要作物，广泛应用于食品、饲料生产等领域。中国是全球第二大玉米生产国，玉米种植面积约 4 355 万 hm^2，占全国粮食种植面积的 36.8%，产量占全国粮食总产量的 39.9%[1-2]。其中，东北黑土区是我国最重要的玉米生产基地，玉米产量占全国总产量的 30.0% 以上[3]。然而，该区域地处高纬度，春季低温冷害频发，严重影响玉米种子萌发和幼苗建植，成为限制玉米产量潜力发挥的关键因素[4-5]。

玉米源自热带和亚热带地区，对低温胁迫极为敏感，尤其在种子萌发阶段。低温(5−15 ℃)显著抑制种子萌发及根系发育，阻碍养分(水分、磷和微量元素)吸收，干扰 V6 期前茎尖分生组织正常分化，最终导致出苗不齐、苗势弱，产量降低[6]。根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)被认为是缓解作物低温胁迫、促进养分吸收的重要生物策略，可通过调控植物生理生化过程、促进养分吸收，有效缓解作物低温胁迫[7-8]。Jha 等[9]证实在低温胁迫条件下，接种纺锤状赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)和球形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)能显著促进玉米植株的生长和生物量；Mishra 等[10]在温室条件下发现，接种铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)可显著提高低温(8 ℃)胁迫下小麦叶片叶绿素含量。尽管已有研究证实 PGPR 在缓解作物低温胁迫方面具有积极作用，但现有研究多集中于常温菌株，对东北黑土区土著耐冷 PGPR 资源的挖掘及其在玉米低温萌发中的应用效果仍缺乏系统研究。

玉米的高产依赖充足的养分供给。作为典型的喜肥作物[11]，玉米对氮、磷等矿质养分需求量较大。氮素是氨基酸、叶绿素和核酸的核

心成分，直接参与光合作用、蛋白质合成及植株生长发育过程，常成为限制玉米产量提升的关键因子[12-14]。磷素是细胞膜磷脂、能量货币ATP及遗传物质核酸的必需组分，参与能量转移、信号转导及细胞分裂等关键生理过程。然而，土壤中的磷素有效性普遍较低，易被钙、镁、铁、铝等金属离子固定，形成难溶性磷酸盐，导致植物可吸收利用的速效磷不足全磷的5.0%。因此，全国约30.0%−40.0%的耕地存在缺磷问题[15-16]。

长期以来，化学肥料通过提供速效养分成为提升土壤生产力和保障作物产量的重要手段，但其过量施用已逐渐演变成制约我国绿色发展的突出难题[17]。长期过量施用化肥不仅会导致水体富营养化和大气污染等环境风险，还会加速土壤有机质分解，引起土壤退化、养分有效性下降，农业生态系统的健康与功能也随之受损[18-20]。因此，通过根际促生菌减少化肥投入、提高养分利用效率，成为实现“减肥增效”的重要策略[21]。生物肥料是含有活微生物或来自细菌和真菌等生物的天然代谢物，通过活菌或其代谢产物发挥作用，其在溶磷、有机质分解、固氮等方面已经得到证实，它们可以通过酸解、螯合、交换等反应将土壤中难溶的磷、钾形态转化为植物易吸收的形态[22-24]。多项研究证实了特定功能菌株的促生效应；Hansen等[25]发现在低肥力土壤中联合接种拜莱青霉(*Penicillium bilaiae*)和简单芽孢杆菌(*Bacillus simplex*)可显著促进小麦生长；Dobbelaere等[26]证实，在中低等氮肥条件下接种巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)对小麦和玉米的植株和根系均具有明显促生效果；聂鑫等[27]报道，辣椒接种特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*)后根长、茎长等生长指标显著提高；史发超等[28]研究则表明，斜卧青霉(*Penicillium decumbens*)具有明显的解磷作用，能够显著提升玉米鲜重、干重、土壤有效磷含量以及产量。

本研究拟从根际土壤中分离、筛选具有溶磷、产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、固氮功能的菌株，通过低温萌发试验验证其对玉米种子萌发及幼苗建成的促进效应，并通过盆栽试验揭示施用菌剂对玉米土壤肥力的影响，以期为低温条件下玉米促生菌剂的开发应用提供优良菌株资源和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验样品

土壤样品采集自黑龙江省五常市(44°49′45″N, 127°3′25″E)水稻根际。盆栽试验黑土取自黑龙江省齐齐哈尔市克山县(48°0′36″N, 125°49′12″E)。土壤基本理化性质测定方法参照文献[29]方法测定，该土壤基本理化性质：pH 7.6，全磷(total phosphorus, TP) 669.6 mg/kg，速效磷(available phosphorus, AP) 99.0 mg/kg，速效氮(available nitrogen, AN) 76.7 mg/kg，总碳(total carbon, TC) 212.6 mg/kg，土壤有机质(soil organic matter, SOM) 167.7 mg/kg。

供试玉米品种为‘郑单958’，购自寿光春铭种子店。

对照菌株：高效溶磷真菌拜莱青霉(*Penicillium bilaiae*)，命名为ZP，购自中国科学院微生物研究所，作为开展玉米种子萌发以及盆栽试验的对照菌株。

1.1.2 主要试剂和仪器

磷酸二氢钾，国药集团化学试剂有限公司；酒石酸锑钾、钼酸铵、甘露醇、钼酸钠，上海麦克林生化科技股份有限公司；抗坏血酸，北京百灵威科技有限公司；硫酸镁，上海吉至生化科技有限公司；Bradford试剂盒、细菌基因组DNA提取试剂盒，天根生化科技(北京)有限公司；2×M5 Semi-Fidelity PCR Mix，北京聚合美生物科技有限公司。

总有机碳总氮分析仪，Vario公司；紫外可见分光光度计，上海佑科仪器仪表有限公司；

全自动工业分析仪，赛默飞世尔有限公司；岛津气相色谱 GC-2014；高速离心机，Eppendorf SE 公司；生化培养箱，Bluepard 公司。

1.1.3 主要培养基

LB 培养基(g/L)[30]：胰蛋白胨 10.0，酵母粉 5.0，NaCl 10.0，琼脂 15.0，pH 7.0±0.2，121 ℃灭菌 20 min；无氮培养基(g/L)[29]：甘露醇 10.0，KH_2PO_4 0.2，$CaSO_4·2H_2O$ 0.2，$CaCO_3$ 5.0，NaCl 0.2，$MgSO_4·7H_2O$ 0.2，琼脂 15.0，pH 7.0±0.2，115 ℃灭菌 30 min；根瘤固氮培养基(g/L)[31]：磷酸氢二钾 0.500，硫酸镁 0.200，氯化钠 0.100，甘露醇 10.000，酵母提取物 1.000，刚果红 0.025，琼脂 15.000，pH 7.0±0.2，121 ℃灭菌 30 min；改良 Döbereiner 培养基(g/L)[32]：蔗糖 10.000，苹果酸 5.000，$K_2HPO_4·H_2O$ 0.100，KH_2PO_4 0.400，$MgSO_4·7H_2O$ 0.200，NaCl 0.100，$CaCl_2·2H_2O$ 0.020，$FeCl_3·6H_2O$ 0.010，$Na_2MoO_4·2H_2O$ 0.002，琼脂 15.000，pH 7.0±0.2，115 ℃灭菌 20 min；无机磷培养基(g/L)[33]：葡萄糖 10.00，硫酸铵 0.50，酵母提取物 0.50，氯化钠 0.30，氯化钾 0.30，硫酸镁 0.30，硫酸亚铁 0.03，硫酸锰 0.03，磷酸钙 5.00，琼脂 15.00，pH 7.0±0.2，115 ℃灭菌 20 min；YEPG 培养基(g/L)[34]：葡萄糖 10.0，蛋白胨 10.0，酵母提取物 5.0，琼脂 15.0，pH 7.0±0.2，115 ℃灭菌 20 min；R2A Broth 培养基(g/L)[35]：用于菌株活化培养(北京酷来搏科技有限公司)。

1.2 菌株分离筛选

1.2.1 土壤微生物菌株分离纯化与保存

去除杂物后称取 5.0 g 土壤样品，加入 45 mL 去离子水，30 ℃、200 r/min 浸提过夜。取 10 mL 土壤悬液，分别接入 200 mL 无机磷、根瘤固氮以及无氮培养基中，30 ℃、200 r/min 振荡富集 48 h。随后以 10 倍梯度连续稀释至 10^{-7}，取 10^{-3}−10^{-7} 各 100 μL 涂布对应平板，每梯度 3 次重复，30 ℃倒置培养 48 h。待菌落形成后，挑取形态差异单菌落划线纯化，获得纯培养物备用。纯菌株储存在 25% 无菌甘油中，于−80 ℃条件下保存。

1.2.2 菌株 16S rRNA 基因测序鉴定

将初筛获得的菌株进行纯化培养，以纯化后的单菌落为模板，采用细菌通用引物 27F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) 和 1492R (5′-CTACGGCTACCTTGTTACGA-3′)对 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增。反应体系(20.0 μL)：2×M5 Semi-Fidelity PCR Mix 10.0 μL，上、下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL，ddH_2O 8.0 μL，模板 DNA 1.0 μL。扩增程序：95 ℃ 3 min；94 ℃ 25 s，56−59 ℃ 25 s，72 ℃ 30 s，共 30 个循环；72 ℃ 6 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后，送至北京擎科生物科技股份有限公司测序，所得序列与 EzBioCloud 数据库(https://www.ezbiocloud.net)进行比对[36]，以确定其近似模式菌株。

1.3 促生菌株的筛选与功能鉴定

1.3.1 菌株溶磷水平检测

取 5 μL 菌悬液分别点接于无机磷筛选平板，30 ℃培养 72 h。观察菌落生长情况及透明圈产生情况，初步判断菌株无机磷溶解能力。

取数支 50.00 mL 离心管，分别加入磷酸盐标准溶液(5 μg/mL) 0.00、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 mL，加入 5.00 mL 钼锑显色剂后加蒸馏水稀释至 50.00 mL。采用钼锑抗比色法[37]测定发酵上清液中的有效磷含量，以含磷量(mg)为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。将初筛中产透明圈的菌株以 1% 的接种量接种到无机磷培养基中，30 ℃、200 r/min 培养 72 h 后取样，8 000 r/min 离心 10 min，取 2.50 mL 上清，加入 5.00 mL 钼锑显色剂，蒸馏水定容至 50.00 mL，室温静置 30 min 后于 OD_{700} 下测定吸光值；同时用 pH 计测定其上清液 pH。

1.3.2 菌株固氮能力检测

采用乙炔还原法[38]测定固氮酶活性。首先对活化菌株进行预培养，按照 1% 的接种量将菌

株接种到改良 Döbereiner 培养基中，30 ℃、200 r/min 培养 24 h。配制 0.15% 改良 Döbereiner 半固体培养基(含 0.15% 琼脂)，分装 4 mL 于 10 mL 血清瓶中，培养基体积约占血清瓶容积的 40%；将预培养菌液以 1% 的接种量缓慢接种到改良 Döbereiner 半固体培养基中层；用棉塞封口后，30 ℃静置 24 h，拔去棉塞，换成可穿刺丁基塞并压紧铝盖密封；注入 1 mL 10% 乙炔，30 ℃静置 30 min，采用氢火焰离子化检测器和 Porapak N 柱检测乙烯生成量，进样器、检测器、柱温分别设置为 120、60、150 ℃，氩气流速为 25 mL/min，进样量 100 μL。以初次转入乙炔的瓶中气体为零点，不接菌培养基为对照，每隔 1 h 取 100 μL 气体注入气相色谱，同时记录取样时间及乙烯峰面积。以乙炔还原活性(acetylene reduction activity, ARA)表示固氮酶活性，计算如公式(1)所示。

$$\mathrm{ARA}=\frac{\Delta A\times V_{瓶}}{A_{进}\times A_{标}\times C_{蛋白}\times t} \quad (1)$$

式中：ARA 为固氮酶活性，nmol C_2H_4/(min·mg protein)；ΔA 为乙烯峰面积变化值；$V_{瓶}$ 为瓶内气相体积，$A_{进}$ 为气体样品进样量；$A_{标}$ 为 1 nmol 标准乙烯峰面积；$C_{蛋白}$ 为蛋白浓度，t 为反应时间。

蛋白含量按 Bradford 试剂盒说明测定。

1.3.3 菌株产 IAA 能力的测定

采用 Salkowski 比色法[39]测定菌株 IAA 的分泌能力。将初筛得到的 IAA 阳性菌株接种至含 0.2 g/L 色氨酸的 R2A Broth 液体培养基中，30 ℃、200 r/min 培养 48 h 后取样，8 000 r/min 离心 10 min。取上清与 Salkowski 比色液按体积比 1:2 混匀，避光静置 30 min，于 530 nm 下测定吸光度，根据 IAA 标准曲线计算 IAA 浓度。

1.4 菌株拮抗试验

菌株间拮抗作用测定采用十字交叉法[40]。细菌拮抗试验：将 A03 与 YM6 分别交叉划线接种于 LB 平板中央，30 ℃培养 48 h；真菌与细菌间拮抗试验：将 ZP 划线接种于固体 YEPG 平板中央，25 ℃培养 3 d，待菌落生长稳定后以垂直方向交叉划线分别接种 A03 和 YM6，30 ℃培养 48 h。根据各组合交叉处是否出现抑制圈，判定菌株间是否存在拮抗作用。

1.5 菌株对玉米的促生试验

1.5.1 微生物菌液制备与种子处理

细菌菌剂制备：将供试菌株在 LB 平板划线培养，挑取单菌落以 1% 的接种量接入 50 mL LB 液体培养基中，30 ℃、200 r/min 培养 24 h，待菌液 OD_{600} 达到 1.00 时，取 50 mL 菌液于离心管中，8 000 r/min 离心 5 min，弃去上清后用无菌水冲洗 3−5 次，加入无菌水重悬菌体，调整菌悬液浓度至 OD_{600} 为 0.10±0.05，备用。真菌菌剂制备：将菌株接种到 YEPG 液体培养基中，30 ℃、200 r/min 培养 5 d，8 000 r/min 离心 5 min，弃去上清后用无菌水冲洗 3−5 次，重悬孢子并调整浓度至 1×10^8 CFU/mL，以此作为孢子悬液备用。玉米种子用 1% 次氯酸钠溶液浸泡消毒 30 min，无菌水冲洗后吸干水分，备用播种。

1.5.2 试验设计

本研究设置种子萌发试验和盆栽试验 2 部分。种子萌发试验采用培养皿发芽法，共设 5 个处理：不接菌对照(CK)；分别单接 *Niveispirillum* sp. YM6 和 *Bacillus* sp. A03；复合接种 YM6+A03 (1:1 体积比)；复合接种 YM6+A03+ZP (1:1:1 体积比，ZP 为 *Penicillium* sp.)；每个处理设 3 个生物重复，每重复 100 粒玉米种子。

盆栽试验采用完全随机设计，基肥设置全肥(100%)和减氮磷 20% 2 个水平。共设 6 个处理：全肥不接菌对照记为 CK-F (过磷酸钙 0.20 g/盆、尿素 0.20 g/盆、氯化钾 0.10 g/盆)；减氮磷 20% 不接菌对照记为 CK-R (过磷酸钙 0.16 g/盆、尿素 0.16 g/盆、氯化钾 0.10 g/盆)；减氮磷 20% 接种 A03 记为 R+A03；减氮磷 20% 接种 YM6 记为 R+YM6；减氮磷 20% 接种 YM6+A03 记为 R+YM6+A03；减氮磷 20% 接种 YM6+A03+ZP 记为 R+YM6+A03+ZP，每个处

理设 3 个生物重复，每重复播种 3 粒玉米种子。

1.5.3 玉米种子萌发试验

将消毒后的种子浸泡在菌悬液中 2 h (对照组用无菌水浸泡)，取出后阴干至表面无明显液滴。取洁净培养皿，底部垫双层滤纸，加入 10 mL 相应菌悬液(对照组加等量无菌水)，均匀摆放 100 粒种子，密封皿盖(留缝透气)。置于恒温光照培养箱中，设置温度 16 ℃，光周期 12 h 光照/12 h 黑暗，相对湿度 70%。每日定时观察并记录发芽数(以胚根伸长>2 mm 为发芽标准)，连续监测 7 d 直至发芽率稳定。萌发指标测定如公式(2)所示。

$$\text{发芽率}=(\text{发芽种子数}/\text{总种子数})\times 100\% \quad (2)$$

平均发芽时间(mean germination time, MGT)反映种子发芽速度，计算如公式(3)所示。

$$\text{MGT}=\sum(n_i\times t_i)/\sum n_i \quad (3)$$

式中：n_i 为第 i 天发芽的种子数，t_i 为发芽时间(天数)。

发芽指数(germination index, GI)，综合评价发芽活力，计算如公式(4)所示。

$$\text{GI}=\sum n_i/t_i \quad (4)$$

式中：n_i 为第 i 天发芽的种子数，t_i 为发芽时间(天数)。

1.5.4 玉米盆栽接种试验

选用直径 19 cm 的圆柱形棕色花盆，试验土壤为风干黑土，过 2 mm 筛后每盆装填 1.6 kg。将肥料与土壤充分混匀后浇透水，平衡过夜。玉米种子经消毒处理后备用，播种前用供试菌悬液(对照组用无菌水)浸泡 2 h，取出后阴干至表面无明显液滴，每盆播入 3 粒玉米种子，于室温[(25±2) ℃]、光周期 14 h 光照/10 h 黑暗条件下培养 5–7 d，待出苗后间苗，保留 1 株健壮植株。定苗后每 5 d 定量浇水 250 mL。出苗 7 d 后，细菌处理组每盆追施 10 mL 菌悬液(OD_{600}=0.10±0.05)，真菌处理组每盆追施 10 mL 孢子悬浮液(1×10^8 CFU/mL)，对照组加等量无菌水，继续培养至播种后 35 d 时取样测定各指标。

1.5.5 玉米与土壤指标测定

植株生长指标测定采用以下方法：用软尺测量茎基部至植株自然生长最高处的垂直距离作为株高；统计土壤表面以上完全展开叶片的数量作为叶片数；将植株完整取出并清除根际土壤后，分离地上部与地下部，分别于 105 ℃杀青 30 min，70 ℃烘至恒重后称量，获得地上干重与地下干重。叶片色素提取采用丙酮浸提法[41]：取新鲜叶片剪成 2 mm 细丝，精密称取 0.2 g 置于 15 mL 离心管中，加入 8 mL 80% 丙酮，密封后室温暗处浸提至叶片完全脱色，再用 80% 丙酮补足至 10 mL，充分摇匀，5 000 r/min 离心 5 min，取上清液，以 80% 丙酮为空白调零，分别在 470、646、663 nm 波长处测定类胡萝卜素、叶绿素 b 和叶绿素 a 的吸光值。叶绿素和类胡萝卜素含量按 Lichtenthaler 和 Wellburn[42] 的方法计算。

土壤理化性质测定包括：pH 值采用去离子水浸提，水土比 1:10，30 ℃、200 r/min 恒温振荡 30 min，静置 30 min，采用 pH 计进行测定[43]；铵态氮采用 1.0 mol/L KCl 溶液浸提，按照土液比 1:10 配制浸提体系，于 30 ℃、200 r/min 恒温振荡 30 min，浸提液经 0.45 μm 滤膜过滤后，采用全自动水质分析仪测定[44]；有效磷采用 0.5 mol/L 碳酸氢钠溶液浸提，结合钼锑抗比色法进行测定[45]，按照土液比 1:20 配制浸提体系，在 30 ℃、200 r/min 恒温振荡 30 min，浸提液经 0.45 μm 滤膜过滤后，取 1 mL 上清液，加入 5 mL 钼锑抗显色剂，蒸馏水定容至 50 mL，反应 30 min 后，于 700 nm 处测定吸光值，结合磷标准曲线计算有效磷含量。

1.6 数据分析

采用 SPSS Statistics 27.0 进行数据统计分析，显著性水平设为 P<0.05。组间差异采用单因素方差分析结合 Duncan 多重比较法进行显著性检验，使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 多功能菌株分离与筛选

以拜莱青霉(*Penicillium bilaiae*)为对照菌株，从根际土壤中成功分离筛选出 2 株高效多功能促生菌。菌株 ZP 与 A03 在无机磷培养基上均能正常生长并形成溶磷透明圈，表明其具备溶解无机磷的能力，而 YM6 无此特性；同时，菌株 A03 和 YM6 表现出吲哚乙酸(IAA)合成能力，ZP 则为 IAA 阴性(图 1)。

促生潜力分析结果显示，溶磷能力方面，ZP 和 A03 的溶磷量分别为 251.62 mg/L 和 15.27 mg/L；IAA 合成能力方面，A03 和 YM6 的 IAA 产量分别为 1.57 mg/L 和 24.43 mg/L (表 1)。固氮能力检测结果显示，仅 YM6 具有固氮活性，其固氮酶活性为 40.54 nmol C_2H_4/(min·mg protein)，ZP 与 A03 均未检测到固氮能力。

2.2 多功能菌株 16S rRNA 基因序列相似性及系统发育分析

基于 16S rRNA 基因序列，经 EzBioCloud 数据库比对，采用 MEGA 11 邻接法构建系统发育树(图 2)。菌株 YM6、A03 分别归属于 *Niveispirillum* 和 *Bacillus* 属，其中 YM6 与模式菌株伊拉克雪白螺菌(*Niveispirillum irakense*) KBC1^T (Z29583) 16S rRNA基因相似性为 99.48%，A03 与特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*) KCTC 13622^T (AYTO01000043)的 16S rRNA 基因相似性为 99.93%。

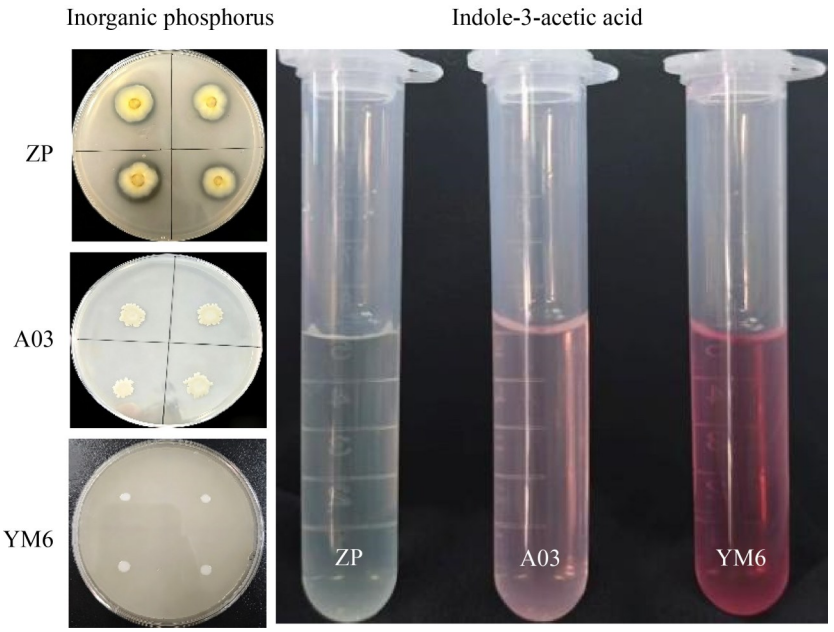


图1 菌株YM6、A03、ZP溶磷及产IAA能力

Figure 1 Phosphate solubilization and indole-3-acetic acid (IAA) production by strains YM6, A03, and ZP.

表1 分离菌株的促生潜力

Table 1 Plant growth promotion potential of isolated strains

Strains	Phosphate solubilization/(mg/L)	IAA/(mg/L)	Nitrogenase activity/[nmol C_2H_4/(min·mg protein)]
YM6	Not detected	24.43±2.03	40.54±1.03
A03	15.27±0.77	1.57±0.16	Not detected
ZP	251.62±3.08	Not detected	Not detected

2.3 多功能菌株间拮抗作用

采用十字交叉法对 3 株促生菌株进行相互拮抗试验。如图 3 所示，各组合交叉处均未出现明显抑制圈，供试菌株间无拮抗作用，具有良好的生物相容性，可用于后续复合菌剂的构建。

2.4 多功能菌接种对玉米种子萌发影响

2.4.1 多功能菌株对玉米种子萌发表型影响

不同接菌处理对玉米种子低温萌发具有不同的效果(图 4)。CK 萌发率最低，多数种子未突破种皮；单接 YM6 和 A03 萌发率略有提高，可见胚根伸长；混合接种 YM6+A03 及三元复配

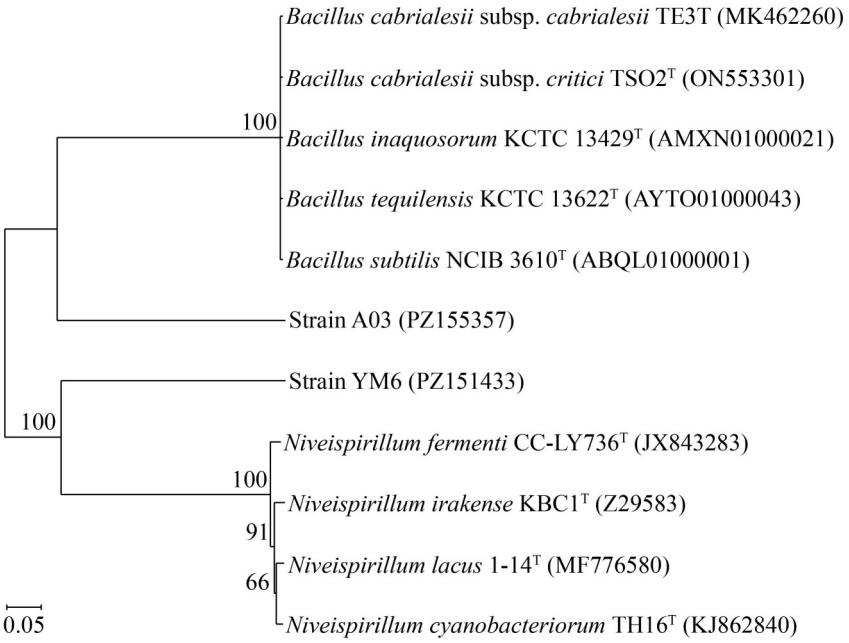


图2 菌株基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strains. Numbers at the branches indicate bootstrap values (only values ≥50% are shown); GenBank accession numbers are in parentheses; The scale bar 0.05 represents evolutionary distance.

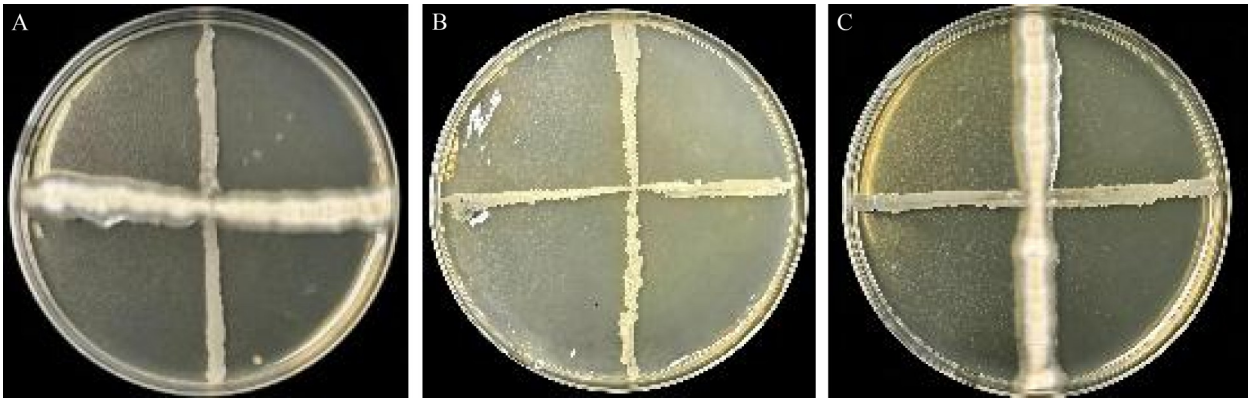


图3 菌株间的拮抗作用

Figure 3 Antagonistic effects between strains. A: ZP and A03; B: YM6 and A03; C: ZP and YM6.

YM6+A03+ZP 萌发率显著提高，胚根粗壮、胚芽展开良好。这表明复合菌剂较单菌及对照更能促进低温下玉米种子萌发和幼苗建成。

2.4.2 多功能菌株对玉米种子低温萌发的影响分析

与对照组(CK)相比，各接菌处理均表现出促进玉米种子在低温条件下萌发。发芽指数(GI)方面(图 5A)，接菌处理较 CK 提升 42.60%−51.44%，其中 YM6 和 YM6+A03 处理较 CK 显著提高(P<0.05)。具体表现：YM6+A03>YM6>YM6+A03+ZP>A03。发芽率方面(图 5B)，CK 平均发芽率为 33.67%，接菌处理发芽率提高至 46.33%−49.00%，增幅为 37.62%−45.54%，其中 YM6+A03 发芽率最高，达到了 49.00% (P<0.05)，YM6 和 A03 分别为 48.67 和 47.00%。平均发芽时间(MGT)方面(图 5C)，各接菌处理均较 CK 缩短 0.11−0.31 d，以 YM6+A03+ZP 最短，为 4.99 d，显著低于 CK (P<0.05)，其次依次是 YM6、YM6+A03 和 A03。上述结果表明，不同接菌处理对玉米种子低温萌发特性的影响存在一定差异。总体来看，接菌处理不仅能够提高发芽指数和发芽率，还能够缩短平均发芽时间，说明单一及复合接菌均可增强玉米种子在低温条件下的萌发活力，并加快萌发进程。其中，YM6+A03 处理在提高发芽指数和发芽率方面表现较优，而 YM6+A03+ZP 处理在缩短平均发芽时间方面效果最明显。综上所述，接菌处理可显著改善玉米种子的低温萌发特性，复合处理

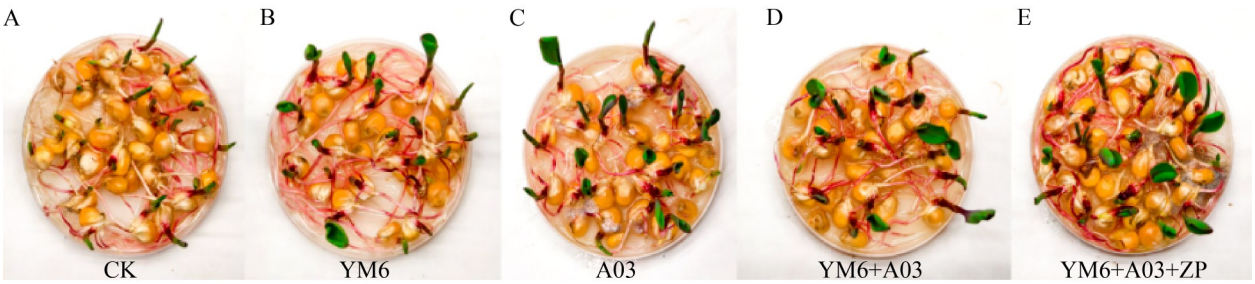


图4 16 ℃下不同接菌处理对玉米种子萌发的影响

Figure 4 Effect of different inoculation treatments on maize seed germination at 16 ℃.

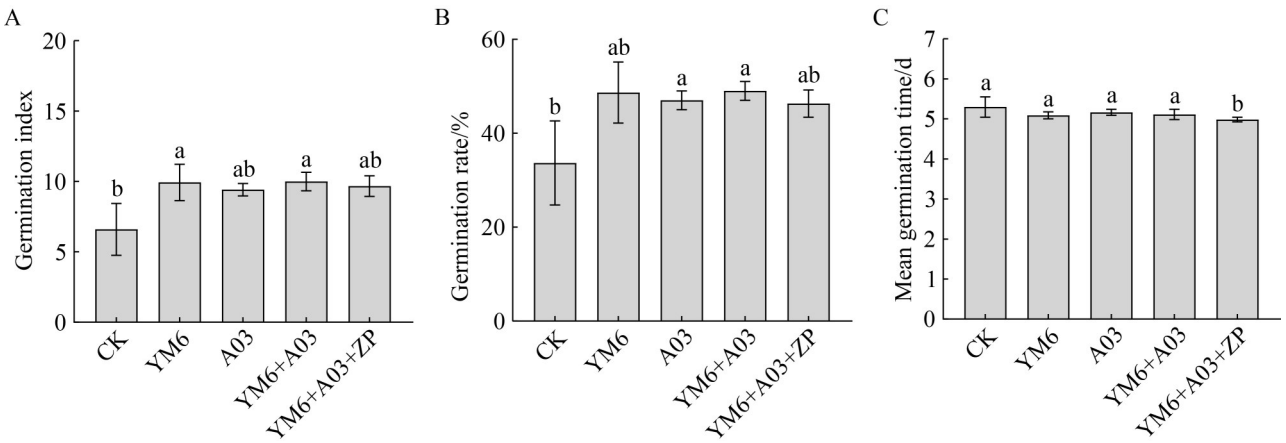


图5 玉米种子发芽指数(A)、发芽率(B)和发芽时间(C)

Figure 5 Maize seed germination index (A), germination rate (B), germination time (C). Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at P<0.05.

(YM6+A03 及 YM6+A03+ZP)总体优于单一菌剂，表现出一定的微生物组合协同增效作用。

2.5 多功能菌接种对玉米盆栽促生效应

2.5.1 施用菌株对玉米株高与叶片数的影响

盆栽试验设置全肥(CK-F)和减施 20% 氮磷(CK-R) 2 个对照组，并在 CK-R 基础上分别接种 YM6、A03、YM6+A03 及 YM6+A03+ZP 菌悬液(其中复合菌剂分别按 1:1 和 1:1:1 体积比配制)。各处理组玉米幼苗株高结果如图 6 所示，与 CK-R 相比，各接菌处理组玉米植株株高均显著增加，同时各接菌处理株高与 CK-F 无显著差异，表明在减氮磷条件下接种供试菌株可有效缓解养分胁迫，促进玉米幼苗营养生长，展现出良好的化肥替代潜力。

与 CK-R 相比，各接菌处理在一定程度上促进玉米幼苗生长。株高方面(图 7A)，接菌处理显著高于 CK-R，整体恢复至全肥(CK-F)相当；其中 R+YM6+A03+ZP 处理组表现最为突出，较 CK-R 显著提高 12.73%，R+YM6+A03 处理组增幅也达 9.08%。R+A03、R+YM6 及 R+YM6+A03 处理与 CK-F 无显著差异。在叶片展开数方面(图 7B)，栽培 35 d 后，各接菌处理组叶片展开数均明显多于 CK-R 组，R+YM6+A03+ZP 处理组叶片展开数最多(平均 4–5 片)，CK-R 组仅为 3–4 叶。上述结果表明，在 20% 减氮磷条件下，供试菌株可有效缓解养分缺乏对玉米幼苗生长的抑制，且复合菌剂促生效果优于单一菌剂。

2.5.2 施用多功能菌对玉米生物量的影响

生物量是反映作物生长状况的重要指标。如图 8 所示，减肥处理(CK-R)的地上生物量、地下生物量及总干重较全肥对照(CK-F)分别降低 13.23%、22.38% 和 23.39%，表明化肥减量对玉米生长产生了明显的养分胁迫。

与 CK-R 相比，各接菌处理均在不同程度上提高了玉米幼苗生物量。单一菌剂处理中，R+A03 和 R+YM6 的地上生物量、地下生物量明显低于复合菌剂处理 R+YM6+A03 和 R+YM6+A03+ZP，且单一菌剂间无显著差异；在总干重方面，



图6 不同处理对玉米生长的影响

Figure 6 Effects of different treatments on maize growth.

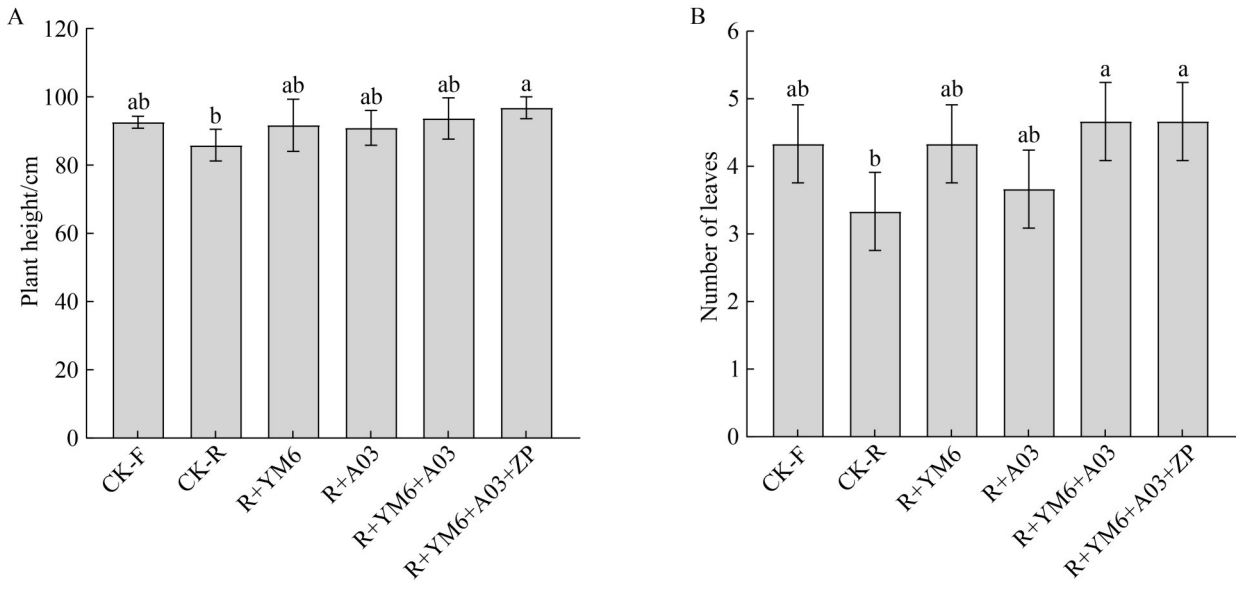


图7 玉米株高(A)和叶片数(B)

Figure 7 Maize plant height (A) and leaf number (B). Different lowercase letters indicate significant differences between treatments at $P<0.05$.

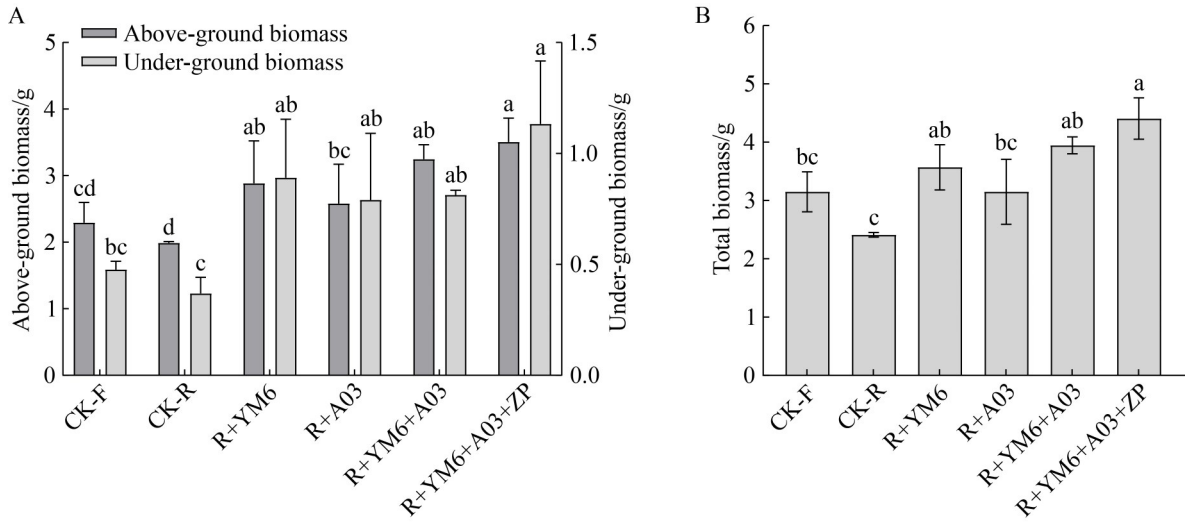


图8 玉米株地上生物量和地下生物量(A)和总干重(B)

Figure 8 Aboveground and belowground biomass of maize plants (A) and total dry weight (B). Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at $P<0.05$.

R+YM6+A03 和 R+YM6+A03+ZP 处理组较 CK-R 分别提高 63.54% 和 82.60%。综上所述，复合菌剂表现出显著的协同增效作用，其中 YM6+A03 与 YM6+A03+ZP 在化肥减量条件下不仅完全弥补了减肥造成的生长损失，且总干重较 CK-F 提高 25.29% 和 39.89%，显示出良好的化肥替代潜力。

2.5.3 施用功能菌对叶片色素含量的影响

如图 9 所示，与全肥对照(CK-F)相比，减施 20% 氮磷处理(CK-R)的叶绿素 a、叶绿素 b 及叶

绿素总量均显著降低。单一接菌处理 R+YM6 和 R+A03 虽使各叶绿素指标略有提升，但与 CK-R 处理无显著差异，未能恢复至 CK-F 水平。

相比之下，复合菌剂处理表现出显著的协同促生效应：双菌复合处理 R+YM6+A03 和三菌复合处理 R+YM6+A03+ZP 的叶绿素 a、叶绿素 b 及总量均显著高于 CK-R 及单一菌剂处理。其中，R+YM6+A03+ZP 处理组的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量分别较 CK-R 显著提高 64.97%、130.01%、66.30%，较 CK-F 分别提高 15.04%、41.25%、15.98%；R+YM6+A03 处理的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量分别较 CK-R 显著提高 40.26%、32.32%、32.81%，且与 CK-F 无显著差异，表明该复合菌剂可完全补偿减施 20% 氮磷造成的叶绿素损失。

类胡萝卜素测定结果显示，与 CK-F 相比，CK-R 处理显著降低，单一接菌处理 R+YM6 和 R+A03 虽略有提升，但与 CK-R 无显著差异，而 R+YM6+A03 双菌复合处理及 R+YM6+A03+ZP 三菌复合处理均显著高于 CK-R，分别增加了 45.34% 和 66.57%，表现出与叶绿素指标一致的协同增效趋势(图 9B)。综上所述，复合菌剂通过协同作用有效缓解了化肥减量对光合色素合成的抑制，其中 R+YM6+A03 处理可实现对减施 20% 氮磷条件下叶绿素损失的完全补偿，而 R+YM6+A03+ZP 处理则在提升叶绿素 b 方面表现出更优的增效特性。

2.6 多功能菌对土壤质量的影响

如图 10A 和 10B 所示，与全肥对照 CK-F 和减肥对照 CK-R 相比，单一接菌处理 R+YM6 和 R+A03 虽使土壤铵态氮及有效磷含量均有不同程度提升，但差异均未达显著水平。相比之下，复合菌剂处理表现出显著的土壤养分活化效果：R+YM6+A03 双菌复合处理及 R+YM6+A03+ZP 三菌复合处理的铵态氮和有效磷含量均高于 CK-R。具体而言，R+YM6+A03 的铵态氮和有效磷含量分别较 CK-R 提高 15.31% 和 21.51%，且与 CK-F 无显著差异；R+YM6+A03+ZP 的铵态氮和有效磷含量分别较 CK-R 提高 30.03% 和 29.94%，也与 CK-F 无显著差异，但其铵态氮和有效磷含量均高于 CK-R 水平。这表明复合菌剂处理可有效缓解减施氮磷造成的土壤养分亏缺，其中 R+YM6+A03 可使土壤肥力恢复至全肥水

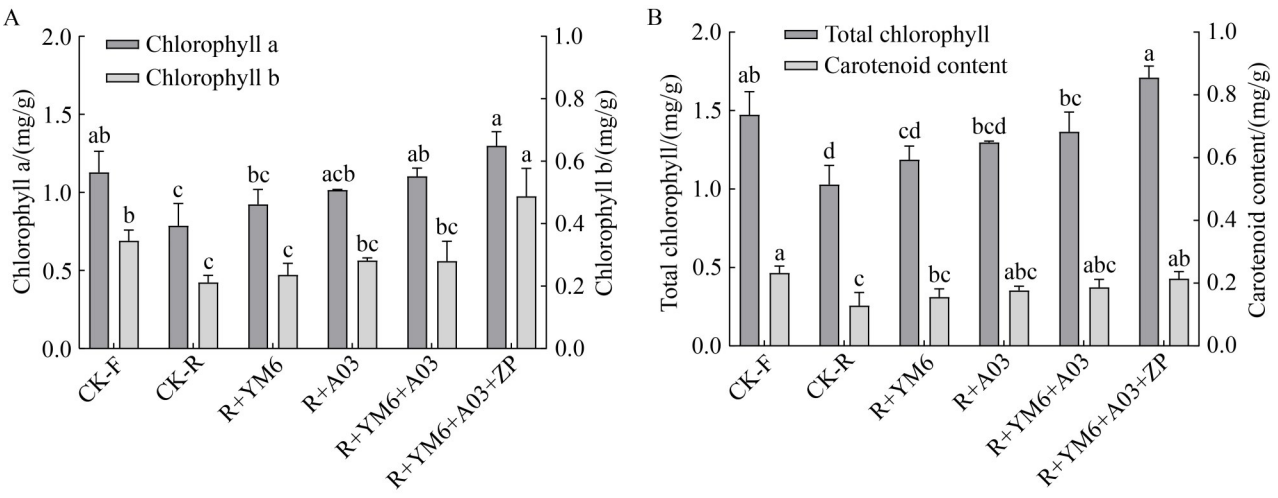


图9 玉米叶片叶绿素含量以及类胡萝卜素的测定

Figure 9 Determination of chlorophyll content and carotenoids in maize leaves. A: Chlorophyll a, b; B: Total chlorophyll, carotenoids. Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at $P<0.05$

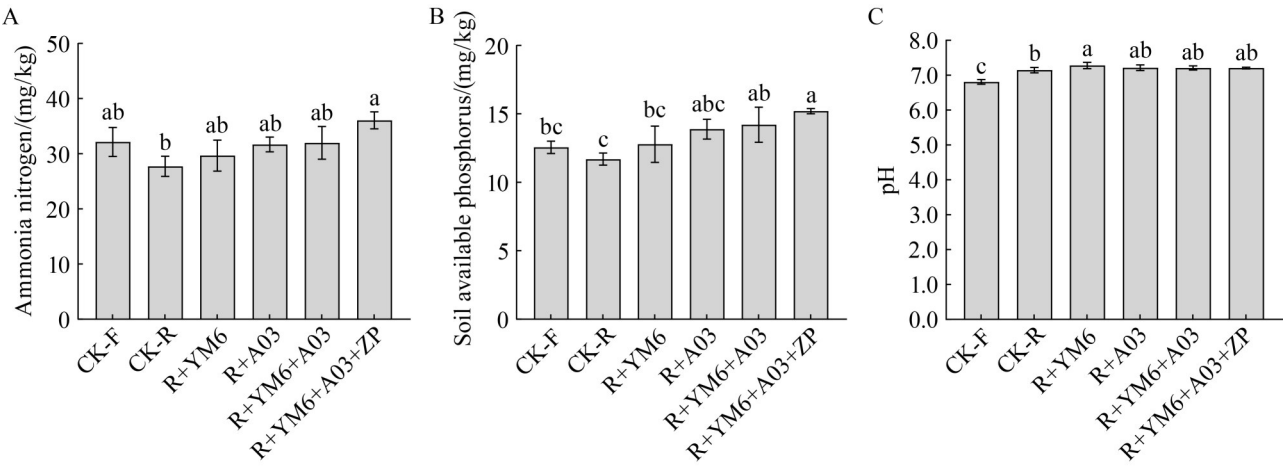


图10 黑土中铵态氮(A)、有效磷含量(B)以及pH (C)的测定

Figure 10 Determination of ammonium nitrogen (A), available phosphorus content (B), and pH (C) in black soil. Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at $P<0.05$.

平，而 R+YM6+A03+ZP 则表现出超越全肥对照的养分供应潜力。

土壤 pH 测定结果(图 10C)显示，减施 20% 氮磷处理(CK-R)土壤 pH 显著高于全肥对照处理(CK-F)，各接菌组与 CK-R 无显著差异，pH 均维持在 7.0 左右，较 CK-F 略有提升，其中 R+YM6 最高。总体而言，减肥和接种根际促生菌均使土壤 pH 略有升高，但这种变化未对养分有效性产生负面影响，推测可能与菌株代谢活动或养分利用效率改善有关。综上所述，复合菌剂在减施 20% 氮磷条件下可有效缓解土壤养分亏缺，R+YM6+A03 可使肥力恢复至全肥水平，R+YM6+A03+ZP 表现出超越全肥的养分供应潜力，且土壤 pH 轻微升高未影响养分有效性，具有良好的化肥替代应用前景。

3 讨论与结论

当前，我国农业生产中化肥过量施用问题突出，已引发农田土壤退化与生态环境恶化等连锁反应[46]。在此背景下，微生物肥料作为化肥的重要替代资源，对于我国在化肥减量前提下保障农作物产量、提升品质具有关键意义[47]。植物根际促生细菌(PGPR)具有固氮、溶磷、解钾和分泌植物激素等多重促生功能，在促进作物生长和缓解非生物胁迫方面发挥重要作用[48-49]。早期微生物菌剂大多由单菌株制成，功能比较单一，难以满足作物多样化需求，因此逐渐趋向于多菌种、多功能的复合菌剂方向发展[50]。现阶段农业应用的微生物制剂主要以多菌复配形式为主，其协同作用可提升植物对土壤养分的吸收利用效率，进而促进作物的健康生长[51]。因此，采用不同功能微生物的组合可以为植物寄主提供多重益处，使植物更好地适应新环境，以改善植物生长并最终提高作物产量[52]。

本研究从黑土中分离得到 2 株根际促生菌，分别命名为 YM6、A03，系统发育分析将其分别归入 *Niveispirillum* 和 *Bacillus* 属。研究表明，这 2 类菌在多种植物根际微生物群落中表现出优势地位[53-55]，且在多项促生研究中展现出良好的潜力。Swedrzynska 等[56]证实接种巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)可显著促进玉米生长并提高产量；陈莹等[57]发现耐盐芽孢杆菌、阿氏芽孢杆菌、鲁戈斯芽孢杆菌具有产 IAA 能力，能有效缓解盐胁迫对油莎豆种子萌发和幼苗生长的抑制；Hansen 等[25]则证明联合接种拜莱青霉和单纯芽孢杆菌可显著提升小麦根部生

物量及低磷土壤中磷利用率，进而促进小麦的生长。

本研究表明，在溶磷、产 IAA 和固氮能力方面，3 株菌表现出明显的功能互补特性。其中 YM6 固氮能力突出，固氮酶活达到 40.54 nmol C_2H_4/(min·mg protein)；YM6 和 A03 均具备产 IAA 能力；A03 和 ZP 则表现出溶磷特性，并且 ZP 的溶磷能力最为显著，其溶磷量高达 251.62 mg/L。

本研究中，16 ℃低温胁迫下各接菌处理均能促进玉米种子萌发，发芽率较 CK 提高 37.62%−45.54%，这与 Jha 等[9]报道的耐冷芽孢杆菌显著促进玉米低温生长的结论一致；也与 Subramanian 等[58]关于耐冷 PGPR 在 5 ℃下仍能促进作物萌发相符，其机制可能与菌株分泌 IAA 促进胚根伸长有关[27]：IAA 通过与 TIR1/AFB 受体结合，促进 Aux/IAA 抑制蛋白降解并激活 ARF 转录因子，进而上调扩张蛋白(expansin)表达，促进细胞壁酸化松弛，驱动胚根细胞伸长，同时激活质膜 H^+-ATP 酶，缓解低温对细胞机械伸展的抑制[59]。YM6 与 A03 分泌的 IAA 可能通过上述途径打破低温萌发障碍。值得注意的是，复合接种(YM6+A03)在发芽指数和发芽率上均优于单菌处理，表明 *Niveispirillum* sp. YM6 (固氮)与 *Bacillus* sp. A03 (溶磷)功能互补，形成协同促生效应。Ribeiro 等[60]报道的固氮螺菌(*Azospirillum*)与芽孢杆菌(*Bacillus*)热带菌株联合接种玉米，在促生及养分吸收方面显著优于单一菌剂处理，本研究中复合耐冷菌剂也表现出类似的协同增效效应。这表明，复合耐冷菌剂可有效缓解东北春玉米的低温出苗障碍。

为探究功能菌株在化肥减施条件下对玉米表型的影响及其应用效果，本研究设置了盆栽试验，通过测定玉米株高、叶片数、生物量和叶片色素含量，系统评估功能菌株对玉米生长的促进作用。结果表明，减施 20% 氮磷条件下，单接 YM6 或 A03 处理虽与 CK-R 无显著差异，但株高、生物量、叶片色素含量均有所提升；R+YM6+A03 双菌复合处理已接近或优于全肥处理；而 R+YM6+A03+ZP 三菌复合处理则显著超过全肥处理，表现出协同促生效应。这与王小蒙等[61]结论一致，即单一菌株在化肥减施条件下促生效果有限，而多菌复合接种可通过功能互补实现协同增效：YM6 通过生物固氮供给氮素，A03 与 ZP 通过溶磷作用释放磷素，形成功能互补的“氮-磷耦合供应”体系；其中 ZP 的菌丝网络可延伸至根系耗竭区，扩大养分捕获空间，并作为细菌迁移的物理载体促进菌群定殖[62]，从而协同放大促生效应。Meena 等[63]在印度梨形孢(*Piriformospora indica*)与条纹假单胞菌(*Pseudomonas striata*)联合接种研究中也报道了类似机制。本研究中 YM6+A03+ZP 三菌复合处理表现出超越双菌复合的促生效果，推测 ZP 可能通过菌丝介导的养分转运及与细菌的代谢互作，进一步增强了复合菌剂的养分活化能力。

氮是叶绿素的核心组成元素，直接参与叶绿素合成：谷氨酸经 GS/GOGAT 循环提供氮源，在 GluTR 催化下生成 5-氨基乙酰丙酸，进而合成叶绿素卟啉环[64]；磷是类囊体膜磷脂组分，驱动光合磷酸化供能[65]。氮磷协同保障叶绿素合成与光合能量转化，缺乏时会导致叶片变黄或变红，直接影响光合作用效率[66]。微生物菌剂可通过调节植物激素水平促进养分吸收，提高叶片叶绿素含量及净光合速率，进而增加地上干重[67]。本研究通过测定叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总量、类胡萝卜素，进一步分析功能菌株对玉米光合作用的影响。结果表明，与 CK-R 相比，R+YM6 或 R+A03 处理组的各色素含量均有所增加，R+YM6+A03 双菌联合处理在单接基础上进一步提升，而 R+YM6+A03+ZP 三菌复合处理组的色素积累量最高，呈现出显著的协同增效效应。这与已有研究一致：PGPR 可通过调节植物激素水平促进养分吸收，进而提高植株叶绿素含量[68]；司欣雨等[69]报道盐碱胁迫下复合菌剂可显著促进绿豆生长并增强叶绿素合成；李畅等[70]证实，黑土源高效解磷菌株

可显著提高玉米叶片叶绿素含量，增强光合性能，同时多项研究表明，多种根际促生微生物接种后均可明显提升叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量。综上所述，功能菌株通过生物固氮与溶磷作用为玉米提供充足的氮、磷营养，促进氮循环与光合产物转运，在减施化肥的同时显著提升作物光合能力，具备开发为环境友好型绿色微生物肥料的应用潜力。

植物生长状况与根系发育特征密切相关，而根系生长又受到土壤中 IAA 及氮、磷等营养元素共同调控[71]。氮是植物生长的主要限制因子，植物可直接利用的形态主要为铵态氮和硝态氮[72]。土壤中解磷菌的生命活动可增加水溶性磷含量，为固氮菌提供磷素营养；而固氮菌不仅能增加土壤氮素，其分泌的生理活性物质还可促进解磷菌芽孢萌发，从而协同增强水溶性磷的形成[73]。该互作的生化本质在于：固氮酶每还原 1 分子 N_2 需消耗 16 个 ATP，对磷供应高度敏感[74]；A03 与 ZP 释放的磷酸根可优先满足 YM6 固氮能量需求，形成“解磷供能-固氮产氮”的互利循环[75]。同时 YM6 分泌的 IAA 可诱导 A03 芽孢萌发，进一步放大协同效应。盆栽试验结果表明，R+YM6 和 R+A03 处理组的土壤铵态氮、有效磷含量明显高于 CK-R 处理组，R+YM6+A03 处理组在单接基础上进一步增加，而 R+YM6+A03+ZP 复合处理组的土壤铵态氮和有效磷最高；上述结果源于三株菌的功能互补，菌株 YM6 可能通过生物固氮作用将大气氮转化为植物可利用的铵态氮，直接提升土壤氮素有效性；A03、YM6 均具备产 IAA 能力，促进根系发育，间接增强根系对氮磷的吸收活力，ZP 作为高效溶磷真菌[76]，通过分泌柠檬酸、草酸等有机酸活化土壤难溶性磷，显著提高有效磷含量。三菌复合接种形成了“固氮-溶磷-促生”功能闭环，协同优化根际微环境，改善土壤结构和肥力，从而实现养分高效活化与作物促生效应。

各处理土壤铵态氮、有效磷含量的增幅与玉米株高、总干重的增长趋势一致，表明根际氮、磷有效性的改善是促进植株生长的关键。其中，R+YM6+A03+ZP 处理土壤有效磷含量最高，与其地上生物量较 CK-R 提高 82.60% 相吻合，证实 ZP 的高效溶磷作用在解除磷限制、促进生物量积累中发挥核心作用。叶片色素含量的变化趋势与地上生物量、总干重增长同步，表明复合菌剂通过提高光合色素含量、增强光能捕获与碳同化能力，为干物质积累提供了充足的碳源和能量。R+YM6+A03+ZP 处理叶绿素总量较 CK-R 提高 66.30%，与其总干重较 CK-F 提高 39.89% 的协同增效趋势一致，说明“固氮-溶磷-促生”功能闭环可通过改善光合生理间接促进碳同化。此外，菌株离体功能特性与盆栽促生效果高度吻合，YM6 的固氮酶活与 R+YM6 处理土壤铵态氮的提升相一致，证实生物固氮是增强土壤氮素有效性的主要途径，A03 与 YM6 的 IAA 产力与地下生物量的增加趋势相符，提示产 IAA 能力在促根增效中具有重要作用。上述结果表明，离体功能特性可在一定程度上反映菌株的促生潜力。

本研究从东北黑土中筛选获得 2 株功能互补的根际促生菌 *Niveispirillum* sp. YM6 和 *Bacillus* sp. A03。其中，YM6 固氮能力与产 IAA 能力较强，A03 兼具溶磷与产 IAA 特性，同时引入具有高效溶磷能力的拜莱青霉(*Penicillium bilaiae*) ZP 构建功能组合。种子萌发试验表明，在低温条件下复合接种 YM6 与 A03 可提高玉米种子发芽率和发芽指数，表现出优于单菌处理的协同促生效应，可有效缓解东北春玉米低温出苗障碍。盆栽试验进一步证明，在减施 20% 氮磷条件下，YM6+A03 双菌组合促生效果可达到甚至优于全肥处理，而 YM6+A03+ZP 三菌组合效果更优，显著高于双菌组合及全肥处理，可有效促进玉米生长、改善土壤肥力。综上所述，YM6+A03+ZP 菌剂组合有望开发为适用于东北黑土地力提升的候选微生物菌剂，为东北黑土地的保护与可持续利用提供技术支撑。

作者贡献声明

刘春利：负责实验设计，实验操作，数据分析以及撰写文章；张云君：参与实验操作和数据分析以及文章修改；于运凯：提供资源支持并提出稿件修改建议；王立达：提出稿件修改建议；曾艳：提出稿件修改建议；刘缨：负责稿件指导和修改；张春辉：提供实验指导并提出稿件修改建议；郑艳宁：负责实验设计，实验指导，结果分析以及稿件指导。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] Bai LF, Wang YF, Li YH, Zhang XQ, Lu ZY, Zhang DJ, Sun FC, Zhao XQ. Changes in the microbial community in maize (*Zea mays* L.) root spatial structure following short-term nitrogen application[J]. ACS Omega, 2023, 8(1): 208-218.

[2] Zou Y, Li LK, Wang YH, Duan RC, Dong HJ, Zhang YH, Du ZZ, Chen FJ. Growth and yield of maize in response to reduced fertilizer application and its impacts on population dynamics and community biodiversity of insects and soil microbes[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1362905.

[3] 高天宇, 邬磊, 张泽茂, 刘天鸿, 王聪, 张文菊, 徐明岗. 施肥对东北黑土区玉米和大豆产量影响的整合分析[J]. 植物营养与肥料学报, 2025, 31(2): 238-253, 383.
Gao TY, Wu L, Zhang ZM, Liu TH, Wang C, Zhang WJ, Xu MG. Meta-analysis of the effects of fertilization on maize and soybean yields in the black soil region of Northeast China[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2025, 31(2): 238-253, 383 (in Chinese).

[4] Meng AJ, Wen DX, Zhang CQ. Maize seed germination under low-temperature stress impacts seedling growth under normal temperature by modulating photosynthesis and antioxidant metabolism[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 843033.

[5] 陈笑莹, 宋凤斌, 朱先灿, 孙露莹, 马福, 刘胜群. 低温胁迫下丛枝菌根真菌对玉米幼苗形态、生长和光合的影响[J]. 华北农学报, 2014(S1): 155-161.
Chen XY, Song FB, Zhu XC, Sun LY, Ma F, Liu SQ. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus on morphology, growth and photosynthetic characteristics in maize seedlings under low temperature stress[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2014(S1): 155-161 (in Chinese).

[6] Moradtalab N, Ahmed A, Geistlinger J, Walker F, Höglinger B, Ludewig U, Neumann G. Synergisms of microbial consortia, N forms, and micronutrients alleviate oxidative damage and stimulate hormonal cold stress adaptations in maize[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 396.

[7] Chandran H, Meena M, Swapnil P. Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture[J]. Sustainability, 2021, 13(19): 10986.

[8] Hassan MA, Chen X, Farooq M, Muhammad N, Zhang Y, Xu H, Ke YY, Bruno AK, Zhang LL, Li JC. Cold stress in wheat: plant acclimation responses and management strategies[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 676884.

[9] Jha Y, Mohamed HI. Inoculation with *Lysinibacillus fusiformis* strain YJ4 and *Lysinibacillus sphaericus* strain YJ5 alleviates the effects of cold stress in maize plants[J]. Gesunde Pflanzen, 2023, 75(1): 77-95.

[10] Mishra PK, Bisht SC, Ruwari P, Selvakumar G, Joshi GK, Bisht JK, Bhatt JC, Gupta HS. Alleviation of cold stress in inoculated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with psychrotolerant Pseudomonads from NW Himalayas[J]. Archives of Microbiology, 2011, 193(7): 497-513.

[11] 浦军, 黄吉美, 王朝武, 杨眉. 氮肥种类及用量对旱地玉米肥料利用率和产量的影响[J]. 新农业, 2021(23): 13-14.

[12] Fendrich RC, Silva MB, Marriel IE. Agronomic efficiency of a new liquid inoculant formulated with a mixture of *Azospirillum brasilense* strains ab-V5 and ab-V6 in corn (*Zea mays* L.)[J]. Microorganisms, 2025, 13(10): 2403.

[13] Feng WJ, Xue WW, Zhao ZQ, Shi ZK, Wang WJ, Bai Y, Wang HX, Qiu P, Xue JF, Chen BG. Nitrogen fertilizer application rate affects the dynamic metabolism of nitrogen and carbohydrates in kernels of waxy maize[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1416397.

[14] 楚光红, 章建新. 施氮量对滴灌超高产春玉米光合特性、产量及氮肥利用效率的影响[J]. 玉米科学, 2016, 24(1): 130-136.
Chu GH, Zhang JX. Effects of nitrogen application on photosynthetic characteristics, yield and nitrogen use efficiency in drip irrigation of super high-yield spring maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2016, 24(1): 130-136 (in Chinese).

[15] Adnan M, Fahad S, Zamin M, Shah S, Ahmad Mian I, Danish S, Zafar-ul-Hye M, Battaglia ML, Naz RMM, Saeed B, Saud S, Ahmad I, Yue Z, Brtnicky M, Holatko J, Datta R. Coupling phosphate-solubilizing bacteria with phosphorus supplements improve maize phosphorus acquisition and growth under lime induced salinity stress[J]. Plants, 2020, 9(7): 900.

[16] Elhaissoufi W, Ghoulam C, Barakat A, Zeroual Y, Bargaz A. Phosphate bacterial solubilization: a key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity[J]. Journal of Advanced Research, 2022, 38: 13-28.

[17] Gao M, Zhen QM, Duan YF, Liu C, Zhou J, Li YP, Zhang XC, Wang XH, Shi XY. Integrated moldboard ploughing and organic-inorganic fertilization enhances maize yield and soil fertility in a semi-arid region of North China[J]. Plants, 2025, 14(23): 3594.

[18] Zhou C, Wang J, Xu T, Pei K, Ma BX, Li QC, Liu Y,

Ding XY, Han YH, Wang JQ. Manure substitution for chemical nitrogen enhances soil quality without compromising maize yield: a short-term field experiment in Northeast China[J]. Frontiers in Plant Science, 2025, 16: 1694608.

[19] Tang Y, Nian LL, Zhao X, Li J, Wang ZN, Dong LW. Bio-organic fertilizer application enhances silage maize yield by regulating soil physicochemical and microbial properties[J]. Microorganisms, 2025, 13(5): 959.

[20] Yuan Y, Feng ZJ, Yan SX, Zhang JJ, Song HP, Zou Y, Jin DP. The effect of the application of chemical fertilizer and arbuscular mycorrhizal fungi on maize yield and soil microbiota in saline agricultural soil[J]. Journal of Fungi, 2025, 11(4): 319.

[21] Zhang J, Li YY, Yuan JW, Wang L, Wei GY, Liang ZJ. Optimizing maize production and soil microbiome structure through reduced chemical nitrogen supplemented with organic fertilizer[J]. Plants, 2025, 14(15): 2275.

[22] Sabir MS, Shahzadi F, Ali F, Shakeela Q, Niaz Z, Ahmed S. Comparative effect of fertilization practices on soil microbial diversity and activity: an overview[J]. Current Microbiology, 2021, 78(10): 3644-3655.

[23] Malusá E, Vassilev N. A contribution to set a legal framework for biofertilisers[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(15): 6599-6607.

[24] Zhang TR, Jian QH, Yao XZ, Guan L, Li LL, Liu F, Zhang C, Li D, Tang H, Lu LT. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and quality of several crops[J]. Heliyon, 2024, 10(10): e31553.

[25] Hansen V, Bonnichsen L, Nunes I, Sexlinger K, Lopez SR, van der Bom FJT, Nybroe O, Nicolaisen MH, Jensen LS. Seed inoculation with *Penicillium bilaiae* and *Bacillus simplex* affects the nutrient status of winter wheat[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56(1): 97-109.

[26] Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Okon Y, Vanderleyden J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize[J]. Biology and Fertility of Soils, 2002, 36(4): 284-297.

[27] 聂鑫, 王伟. 潜在促生菌 *Bacillus tequilensis* U36 的产 IAA 特性及其对辣椒的促生效果[J]. 广东农业科学, 2017, 44(1): 36-42.
Nie X, Wang W. IAA production characteristics and growth-promoting effects on pepper of potential plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus tequilensis* U36[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2017, 44(1): 36-42 (in Chinese).

[28] 史发超, 殷中伟, 江红梅, 范丙全. 一株溶磷真菌筛选鉴定及其溶磷促生效果[J]. 微生物学报, 2014, 54(11): 1333-1343.
Shi FC, Yin ZW, Jiang HM, Fan BQ. Screening, identification of P-dissolving fungus P83 strain and its effects on phosphate solubilization and plant growth promotion[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, 54(11): 1333-1343 (in Chinese).

[29] 李畅, 刘春利, 张云君, 于运凯, 王立达, 张春辉, 刘缨, 郑艳宁. 黑土固氮菌功能多样性及对玉米的减氮促生作用[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3432-3446.
Li C, Liu CL, Zhang YJ, Yu YK, Wang LD, Zhang CH, Liu Y, Zheng YN. Nitrogen-fixing bacteria from black soil with functional diversity promote maize growth with reduced fertilizer use[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(8): 3432-3446 (in Chinese).

[30] 赵斌, 林会, 何绍江. 微生物学实验[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2014.

[31] 李雪梅, 姚拓, 李昌宁, 杨晓蕾, 王晚霞, 张怡忻. 甘南野生天蓝苜蓿高效共生、抗逆根瘤菌筛选鉴定[J]. 草业学报, 2025, 34(3): 134-143.
Li XM, Yao T, Li CN, Yang XL, Wang WX, Zhang YX. Screening and identification of symbiotically efficient and stress-resistant rhizobia of wild *Medicago lupulina* in Gannan[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(3): 134-143 (in Chinese).

[32] 谢光辉, 苏宝林, 崔宗均. 长江流域水稻根际芽孢杆菌属固氮菌株的分离与鉴定[J]. 微生物学报, 1998, 38(6): 480-483.
Xie GH, Su BL, Cui ZJ. Isolation and identification of N_2-fixing strains of *Bacillus* in rice rhizosphere of the Yangtze River valley[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1998, 38(6): 480-483 (in Chinese).

[33] 孙平平, 吴若晨, 吕秀华, 贾伟, 张磊, 李正男. 两株植物促生细菌的分离鉴定及对马铃薯的促生效果评价[J]. 中国马铃薯, 2024, 38(4): 339-346.
Sun PP, Wu RC, Lü XH, Jia W, Zhang L, Li ZN. Isolation and identification of two plant growth-promoting bacteria and evaluation of their growth-promoting effects on potatoes[J]. Chinese Potato Journal, 2024, 38(4): 339-346 (in Chinese).

[34] Shimokawa O, Nakayama H. Acetate-mediated growth inhibition in sterol 14α-demethylation-deficient cells of *Candida albicans*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, 43(1): 100-105.

[35] Liu HW, Wang JJ, Sun X, McLaughlin NB, Jia SX, Liang AZ, Zhang SX. The driving mechanism of soil organic carbon biodegradability in the black soil region of Northeast China[J]. Science of the Total Environment, 2023, 884: 163835.

[36] Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, Park SC, Jeon YS, Lee JH, Yi HN, Won S, Chun J. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62(Pt_3): 716-721.

[37] 吕俊, 于存. 一株高效溶磷伯克霍尔德菌的筛选鉴定及对马尾松幼苗的促生作用[J]. 应用生态学报, 2020, 31(9): 2923-2934.
Lyu J, Yu C. Screening and identification of an efficient phosphate-solubilizing *Burkholderia* sp. and its growth-promoting effect on *Pinus massoniana* seedling[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(9): 2923-2934 (in Chinese).

[38] Montes-Luz B, Conrado AC, Ellingsen JK, Monteiro RA, de Souza EM, Stacey G. Acetylene reduction assay: a measure of nitrogenase activity in plants and bacteria[J]. Current Protocols, 2023, 3(5): e766.

[39] 马连杰, 卢文才, 刘倩, 张慧. 四株高产吲哚乙酸菌株的筛选鉴定及促生应用研究[J]. 中国土壤与肥料, 2025(5): 222-230.
Ma LJ, Lu WC, Liu Q, Zhang H. Screening, identification and growth-promoting application research of four high IAA-producing strains[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(5): 222-230 (in Chinese).
[40] 文春玉, 徐明, 张姣, 聂坤, 张健. 7种外生菌根真菌的生长曲线测定研究[J]. 中国农学通报, 2023, 39(12): 35-41.
Wen CY, Xu M, Zhang J, Nie K, Zhang J. Seven ectomycorrhizal fungi: determination of the growth curve characteristics[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39(12): 35-41 (in Chinese).
[41] Singh DP, Singh V, Shukla R, Sahu P, Prabha R, Gupta A, Sarma BK, Gupta VK. Stage-dependent concomitant microbial fortification improves soil nutrient status, plant growth, antioxidative defense system and gene expression in rice[J]. Microbiological Research, 2020, 239: 126538.
[42] Kocot D, Koźmińska A, Fluder A, Volante A. LED light quality drives development of *Bletilla striata*: toward sustainable orchid propagation[J]. Sustainability, 2026, 18(3): 1522.
[43] 陈富伟, 李伟. 土壤酸碱度、含水量和有机质测量方法对比[J]. 云南化工, 2020, 47(8): 4-6.
Chen FW, Li W. Comparison of measuring method of soil pH, water content and organic matter content[J]. Yunnan Chemical Technology, 2020, 47(8): 4-6 (in Chinese).
[44] 赵岩. 土壤氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定试料保存实验[J]. 干旱环境监测, 2014, 28(4): 182-186.
Zhao Y. Research on storage condition for analysis in determination of nitrogen, nitrite nitrogen and nitrate nitrogen in soil[J]. Arid Environmental Monitoring, 2014, 28(4): 182-186 (in Chinese).
[45] 李静. 碳酸氢钠浸提测定土壤有效磷研究[J]. 资源节约与环保, 2019(10): 105.
Li J. Study on determination of soil available phosphorus by sodium bicarbonate extraction[J]. Resources Economization & Environmental Protection, 2019(10): 105 (in Chinese).
[46] Chang Y, Zhang XM, Shu Q, Sun ZH, Yang M, Liu XY, Guo JP, He ZQ, Li L, Huang J, Zhi JH, Chen GD, Wang TT. Effects of fertilization measures on soil fertility and crop yields in drylands of the North China Plain: a meta-analysis[J]. Frontiers in Plant Science, 2026, 17: 1768991.
[47] 杨华, 胡展, 郭照辉, 肖蓉, 罗容珺, 付祖姣, 魏小武, 蔡长平, 王玉双. 水稻促生菌的筛选、鉴定及其促生效果[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2088-2099.
Yang H, Hu Z, Guo ZH, Xiao R, Luo RJ, Fu ZJ, Wei XW, Cai CP, Wang YS. Screening and identification of rice growth-promoting strains and their effects on rice growth[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2088-2099 (in Chinese).
[48] 张旭东, 陈永成, 刘朝荣, 胡天宇, 陈莹, 苏力合, 白云飞, 刘慧, 马春晖. 羊草根际耐盐促生菌的筛选鉴定及促生效果[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 328-344.
Zhang XD, Chen YC, Liu CR, Hu TY, Chen Y, Su LH, Bai YF, Liu H, Ma CH. Screening, identification, and growth-promoting effect evaluation of salt-tolerant rhizosphere bacteria of *Leymus chinensis*[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 328-344 (in Chinese).
[49] 陈苏, 简敏菲, 张晓, 黄文新, 付学琴. 东乡野生稻根际促生菌分离筛选及其促生作用的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2022(10): 222-230.
Chen S, Jian MF, Zhang X, Huang WX, Fu XQ. Isolation and screening of rhizosphere growth-promoting bacteria from Dongxiang wild rice and their growth-promoting effects[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2022(10): 222-230 (in Chinese).
[50] 王恒煦, 刘泽平, 徐伟慧, 王志刚. 几种菌株对水稻的促生能力测定[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(11): 94-99.
Wang HX, Liu ZP, Xu WH, Wang ZG. Determination of growth-promoting ability of several strains to rice[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(11): 94-99 (in Chinese).
[51] 张议戈, 张钰颖, 格桑曲珍, 尹翠, 朱红艳, 陈书霞, 王继涛, 马骅, 曹云娥. 宁夏地区耐盐植物根际促生菌的筛选及对小白菜生长的影响[J]. 微生物学通报, 2026, 53(6): 2932-2949.
Zhang YG, Zhang YY, Gesang QZ, Yin C, Zhu HY, Chen SX, Wang JT, Ma H, Cao YE. Screening of salt-tolerant plant rhizosphere growth-promoting bacteria in Ningxia and their effects on the growth of Chinese cabbage[J]. Microbiology China, 2026, 53(6): 2932-2949 (in Chinese).
[52] 张文丽, 万雨欣, 徐伟慧, 王志刚, 陈文晶, 胡云龙. 促生菌种组合提高玉米根际土壤有益微生物基因丰度及促生效应研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2024, 30(2): 394-405.
Zhang WL, Wan YX, Xu WH, Wang ZG, Chen WJ, Hu YL. Combination of microbial strains and the promotion effect on beneficial soil microbial genes and maize growth[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2024, 30(2): 394-405 (in Chinese).
[53] 常泸尹, 王中华, 李凤敏, 高梓源, 张辉红, 王祎, 李芳, 韩燕来, 姜瑛. 玉米根际多功能促生菌的筛选及其对冬小麦-夏玉米轮作体系产量提升效果[J]. 生物技术通报, 2024, 40(1): 231-242.
Chang LY, Wang ZH, Li FM, Gao ZY, Zhang HH, Wang Y, Li F, Han YL, Jiang Y. Screening multi-functional rhizobacteria from maize rhizosphere and their enhancing effects on winter wheat-summer maize rotation system[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(1): 231-242 (in Chinese).
[54] Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications[J]. Scientifica, 2012, 2012: 963401.
[55] Wakelin SA, Gupta VVSR, Harvey PR, Ryder MH. The effect of *Penicillium* fungi on plant growth and phosphorus mobilization in neutral to alkaline soils from southern Australia[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2007, 53(1): 106-115.
[56] Swedrzynska D, Sawicka A. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* ssp. *Saccharata* L.) under different cultivation conditions[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2000, 9(6): 505-509.
[57] 陈莹, 刘朝荣, 张旭东, 胡天宇, 陈永成, 苏力合, 黄嵘峥, 王旭哲, 马春晖. 产吲哚乙酸耐盐促生菌的筛选及其对

盐胁迫下油莎豆幼苗的促生作用[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 254-270.
Chen Y, Liu CR, Zhang XD, Hu TY, Chen YC, Su LH, Huang RZ, Wang XZ, Ma CH. Screening and effect evaluation of IAA-producing salt-tolerant bacterial strains promoting the growth of *Cyperus esculentus* seedlings under salt stress[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 254-270 (in Chinese).

[58] Subramanian P, Kim K, Krishnamoorthy R, Mageswari A, Selvakumar G, Sa TM. Cold stress tolerance in psychrotolerant soil bacteria and their conferred chilling resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under low temperatures[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161592.

[59] Fendrych M, Leung J, Friml J. TIR1/AFB-Aux/IAA auxin perception mediates rapid cell wall acidification and growth of *Arabidopsis* hypocotyls[J]. eLife, 2016, 5: e19048.

[60] Ribeiro VP, Gomes EA, de Sousa SM, de Paula Lana UG, Coelho AM, Marriel IE, de Oliveira-Paiva CA. Co-inoculation with tropical strains of *Azospirillum* and *Bacillus* is more efficient than single inoculation for improving plant growth and nutrient uptake in maize[J]. Archives of Microbiology, 2022, 204(2): 143.

[61] 王小蒙, 马红菊, 张建, 郭婷, 刘艳, 杨桂会, 王士宝. 减施化肥配施复合微生物菌剂对土壤肥力及夏玉米产量的影响[J]. 中国农技推广, 2024, 40(10): 80-83.
Wang XM, Ma HJ, Zhang J, Guo T, Liu Y, Yang GH, Wang SB. Effects of reduced chemical fertilizer application combined with compound microbial inoculant on soil fertility and summer maize yield[J]. China Agricultural Technology Extension, 2024, 40(10): 80-83 (in Chinese).

[62] Kohlmeier S, Smits THM, Ford RM, Keel C, Harms H, Wick LY. Taking the fungal highway: mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(12): 4640-4646.

[63] Meena KK, Mesapogu S, Kumar M, Yandigeri MS, Singh G, Saxena AK. Co-inoculation of the endophytic fungus *Piriformospora indica* with the phosphate-solubilising bacterium *Pseudomonas striata* affects population dynamics and plant growth in chickpea[J]. Biology and Fertility of Soils, 2010, 46(2): 169-174.

[64] Hudson D, Guevara D, Yaish MW, Hannam C, Long N, Clarke JD, Bi YM, Rothstein SJ. GNC and CGA1 modulate chlorophyll biosynthesis and glutamate synthase (GLU1/fd-GOGAT) expression in *Arabidopsis*[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e26765.

[65] Dukic E, Gollan PJ, Grebe S, Paakkarinen V, Herdean A, Aro EM, Spetea C. The *Arabidopsis* thylakoid chloride channel ClCe regulates ATP availability for light-harvesting complex II protein phosphorylation[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1050355.

[66] Sun YF, Wang J, Yu YC, Wu LM, Ruan BP. Molecular and physiological regulation of premature leaf senescence in rice[J]. Plants, 2026, 15(6): 869.

[67] Abou Jaoudé R, Luziatelli F, Ficca AG, Ruzzi M. A plant's perception of growth-promoting bacteria and their metabolites[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 14: 1332864.

[68] 穆丹, 贾凡乐, 梁英辉, 刘德江. 植物根际促生菌对幼苗生长的促生机制研究进展[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(18): 1-7.
Mu D, Jia FL, Liang YH, Liu DJ. Research progress on growth-promoting mechanism of plant growth-promoting rhizobacteria on seedling growth[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2025, 53(18): 1-7 (in Chinese).

[69] 司欣雨, 李佳琪, 周梦含, 张曼, 胡开蕾, 郭红莲. 多功能复合菌剂的构建及盐碱胁迫下促生效果[J]. 农业工程学报, 2024, 40(21): 82-90.
Si XY, Li JQ, Zhou MH, Zhang M, Hu KL, Guo HL. Constructing multifunctional composite microbial agents for promoting crop growth under saline-alkali stress[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2024, 40(21): 82-90 (in Chinese).

[70] 李畅, 刘锐, 于运凯, 王立达, 季春丽, 郑艳宁. 黑土高效解磷菌的筛选及其对玉米的促生效果[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1101-1117.
Li C, Liu R, Yu YK, Wang LD, Ji CL, Zheng YN. Screening of efficient phosphate-solubilizing bacteria capable of promoting maize growth from black soil[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1101-1117 (in Chinese).

[71] 曹钰敏, 李凤敏, 郭志强, 王祎, 李芳, 韩燕来, 张红, 姜瑛. 牛粪多功能促生菌的筛选及其对小白菜促生提质效果研究[J]. 中国土壤与肥料, 2025(1): 231-240.
Cao YM, Li FM, Guo ZQ, Wang Y, Li F, Han YL, Zhang H, Jiang Y. Screening and identification of multifunctional growth-promoting bacteria in cow dung and its effect on promoting the growth and quality of pakchoi[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(1): 231-240 (in Chinese).

[72] Yang ZQ, Yan HF, Liu HW, Yang L, Mi GH, Wang P. Enhancing crop nitrogen efficiency: the role of mixed nitrate and ammonium supply in plant growth and development[J]. Biology, 2025, 14(5): 546.

[73] 韩华雯, 孙丽娜, 姚拓, 荣良燕, 刘青海, 卢虎, 马晖玲. 不同促生菌株组合对紫花苜蓿产量和品质的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 104-112.
Han HW, Sun LN, Yao T, Rong LY, Liu QH, Lu H, Ma HL. Effects of bio-fertilizers with different PGPR strain combinations on yield and quality of alfalfa[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 104-112 (in Chinese).

[74] 王友绍, 李季伦. 固氮酶催化机制及化学模拟生物固氮研究进展[J]. 自然科学进展, 2000, 10(6): 481-490.
Wang YS, Li JL. Advances in the catalytic mechanism of nitrogenase and chemical simulation of biological nitrogen fixation[J]. Progress in Natural Science, 2000, 10(6): 481-490.

[75] 向春雨, 罗栋源, 郭莉, 杜军艳, 刘世宾, 蒲生彦. 植物-微生物联合修复化学退化土壤研究进展[J]. 土壤通报, 2024, 55(1): 288-300.
Xiang CY, Luo DY, Guo L, Du JY, Liu SB, Pu SY. Advances in plant-microbial combined remediation of chemically-degraded soils[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(1): 288-300 (in Chinese).

[76] Kucey RMN. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils[J]. Canadian Journal of Soil Science, 1983, 63(4): 671-678.