

耐盐碱紫花苜蓿内生细菌的筛选鉴定及促生能力分析

郑慧颖^{1#}, 唐璐^{1#}, 张静¹, 史怡梦¹, 姚琳¹, 刘建生², 陈佳欣^{1*}, 郭长虹^{1*}

1 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

2 黑龙江国宏节能环保有限公司, 黑龙江 哈尔滨

郑慧颖, 唐璐, 张静, 史怡梦, 姚琳, 刘建生, 陈佳欣, 郭长虹. 耐盐碱紫花苜蓿内生细菌的筛选鉴定及促生能力分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3317-3330.

ZHENG Huiying, TANG Lu, ZHANG Jing, SHI Yimeng, YAO Lin, LIU Jiansheng, CHEN Jiaxin, GUO Changhong. Screening, identification, and plant growth-promoting effect evaluation of saline-alkali tolerant strains of endophytic bacteria in alfalfa[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(8): 3317-3330.

摘要: 盐碱胁迫是制约植物生长发育的主要非生物胁迫之一。植物内生细菌可通过提高渗透调节物质含量及抗氧化酶活性, 增强植物的抗逆性。**【目的】** 从盐碱地生长的紫花苜蓿根系中筛选并鉴定耐盐碱内生细菌, 评价其耐盐碱能力、促生特性以及在盐碱环境下对紫花苜蓿生长的影响和定殖情况。**【方法】** 采用组织匀浆法分离紫花苜蓿根系耐盐碱内生菌, 通过形态学观察、16S rRNA 基因序列系统发育树分析和生理生化实验对菌株进行鉴定; 分析菌株的多种促生特性, 并通过温室盆栽试验评价其对盐碱环境下紫花苜蓿生长的影响; 利用绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 标记内生菌, 结合激光扫描共聚焦显微镜观察, 评价菌株 Z-1 在紫花苜蓿根内的定殖情况。**【结果】** 从盐碱地生长的紫花苜蓿根系中分离出 1 株摩拉维亚假单胞菌 (*Pseudomonas moraviensis*) Z-1, 其耐盐碱能力可达 NaCl 4%、pH 9.0, 并具有产 1-氨基环丙烷-L-羧酸 (1-aminocyclopropane-L-carboxylic acid, ACC) 脱氨酶、嗜铁素、吲哚-3-乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 和溶磷能力; 在盐碱环境下, 接种 Z-1 能够显著提高紫花苜蓿地上部分的干重、根系活力和可溶性蛋白含量; 显著提高过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 使过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂)、超氧阴离子 (superoxide anion, O₂⁻) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量显著降低 ($P < 0.05$); Z-1 在紫花苜蓿根内具有良好的定殖能力, 定殖量可达 7.57×10^4 CFU/g。**【结论】** 耐盐碱内生细菌 Z-1 在促进紫花苜蓿生长以及

资助项目: 国家自然科学基金(U21A20182); 黑龙江省科技攻关项目(2021ZXJ03B05); 哈尔滨师范大学研究生创新基金(HSDSSCX2024-14)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (U21A20182), the Key Scientific and Technological Project of Heilongjiang Province (2021ZXJ03B05), and the Graduate Innovation Fund of Harbin Normal University (HSDSSCX2024-14).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: GUO Changhong, kaku3008@126.com; CHEN Jiaxin, 2017300666cc@126.com

Received: 2025-02-17; Accepted: 2025-05-13; Published online: 2025-06-06

提高其抗盐碱能力方面发挥了重要作用，是开发紫花苜蓿耐盐碱微生物制剂的优质菌株资源。

关键词：紫花苜蓿；盐碱环境；内生细菌；促生；定殖

Screening, identification, and plant growth-promoting effect evaluation of saline-alkali tolerant strains of endophytic bacteria in alfalfa

ZHENG Huiying^{1#}, TANG Lu^{1#}, ZHANG Jing¹, SHI Yimeng¹, YAO Lin¹, LIU Jiansheng², CHEN Jiixin^{1*}, GUO Changhong^{1*}

1 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Molecular Cellular Genetics and Genetic Breeding, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang, China

2 Heilongjiang Guohong Energy Conservation and Environmental Protection Co., Ltd., Harbin, Heilongjiang, China

Abstract: Saline-alkali stress is one of the main abiotic constraints limiting plant growth and development. Endophytic bacteria can enhance the stress tolerance of host plants by increasing osmotic adjustment substances and boosting antioxidant enzyme activities. **[Objective]** To isolate and identify saline-alkali tolerant endophytic bacteria from the roots of alfalfa grown in saline-alkali soil and evaluate them regarding the saline-alkali tolerance, plant growth-promoting traits, effects on alfalfa growth under saline-alkali stress, and colonization. **[Methods]** Saline-alkali tolerant endophytes were isolated by the tissue homogenization method from alfalfa roots. Strains were identified by morphological observation, 16S rRNA gene-based phylogenetic analysis, and physiological and biochemical assays. Multiple plant growth-promoting traits were assayed *in vitro*. A greenhouse pot experiment was conducted to assess the effect of the selected strain on alfalfa growth under saline-alkali conditions. Colonization of strain Z-1 in alfalfa roots was visualized by green fluorescent protein tagging and laser scanning confocal microscopy. **[Results]** *Pseudomonas moraviensis* Z-1 was successfully isolated from the roots of alfalfa growing in saline-alkali soil. The endophytic bacterial strain tolerated 4% NaCl and pH 9.0 and displayed the ability to produce 1-aminocyclopropane-L-carboxylate deaminase, siderophores, indole-3-acetic acid, and soluble phosphorus. Under saline-alkali conditions, inoculation with Z-1 significantly increased the dry weights of the aboveground parts, root vigor, and soluble protein content of alfalfa. Moreover, the strain significantly increased catalase, peroxidase, and superoxide dismutase activities and decreased the hydrogen peroxide, superoxide anion, and malondialdehyde content ($P < 0.05$). Confocal microscopy confirmed successful colonization of Z-1 in alfalfa roots at 7.57×10^4 CFU/g. **[Conclusion]** The saline-alkali tolerant endophytic bacterium Z-1 plays a vital role in promoting alfalfa growth and enhancing its tolerance to saline-alkali stress. It represents a promising candidate for developing microbial preparations to ameliorate saline-alkali soil.

Keywords: alfalfa; saline-alkali conditions; endophytic bacteria; plant growth-promoting; colonization

土壤盐碱化是全球面临的重大生态问题之一^[1]。我国盐碱化土壤分布范围较广,主要集中在东北、西北、华北以及滨海地区,总面积超过3 600万 hm^2 , 占总耕地面积的10%以上,且每年因土壤盐碱化导致大量耕地被弃耕甚至撂荒^[2]。土壤盐碱化严重制约着作物的产量和种植范围。因此,提高盐碱地的利用率对于确保我国耕地总面积动态平衡及实现农业可持续发展具有重要意义。

植物促生内生菌(plant growth promoting endophytes, PGPE)是指在宿主植物细胞间隙、组织和器官内完成其整个生命活动,且不对宿主植物造成危害的微生物类群,其作用相对稳定,不易受外界环境影响^[3]。植物促生内生菌是一类极为重要的微生物资源,能够为植物提供生长所需的能量和养分,并通过代谢产物对植物产生影响^[4]。研究表明,植物对胁迫的耐受性与其内生菌密切相关,促生内生菌可通过帮助植物吸收水分和养分、产生植物激素、嗜铁素、调节脯氨酸含量以及提高抗氧化酶活性等方式促进植物生长,增强植物在胁迫环境下的耐受性^[5]。例如, Lu等^[6]从水稻根系分离出8株耐盐内生细菌,其中接种菠萝泛菌(*Pantoea ananatis*) D1可显著促进盐胁迫下水稻根部和地上部分的生长,并显著提高水稻幼苗的叶绿素、可溶性蛋白和脯氨酸含量。张永志等^[7]发现,接种丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)能够提高盐胁迫下紫花苜蓿的可溶性蛋白和可溶性糖含量,并增强超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是豆科苜蓿属多年生草本植物,具有高蛋白质含量和强适应性等优点,是禽畜的优质青饲料^[8]。然而,目前关于耐盐碱紫花苜蓿内生细菌资源的筛选及其促生能力评价的研究仍较少。本研究从盐碱地种植的紫花苜蓿根系中筛选出1株内生细菌,通过形态学观察、16S rRNA基因序列分析及生理

生化实验对其进行鉴定,分析其耐盐碱能力、产1-氨基环丙烷-L-羧酸(1-aminocyclopropane-L-carboxylic acid, ACC)脱氨酶、嗜铁素、吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)及溶磷的能力。利用盆栽试验评价该菌株在盐碱环境下对紫花苜蓿的促生能力,并通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记分离菌株,观察其在紫花苜蓿根内的定殖情况,为开发适用于盐碱地改良的紫花苜蓿菌剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

供试植物紫花苜蓿(*M. sativa*)取自黑龙江省绥化市兰西县黑龙江省草业研究所基地(46°32'55.55"N, 126°01'41.62"E)。将紫花苜蓿装入事先准备好的无菌保鲜袋中,于4℃冰箱中保存,带回实验室后立刻进行耐盐碱内生细菌的分离与鉴定。

1.2 菌株的分离及鉴定

1.2.1 菌株的分离

将紫花苜蓿用自来水冲洗干净后晾干,称取1g根系组织,分别用75%乙醇和2%次氯酸钠对其进行表面灭菌,采用组织匀浆法^[9]进行内生细菌的分离。选取生长状况良好且形态不同的单菌落进行纯化培养,经6代纯化后,将制得的甘油菌于-80℃保存备用。

1.2.2 菌株16S rRNA基因序列和生理生化鉴定

采用CTAB/NaCl方法提取细菌DNA^[10]。使用细菌16S rRNA基因通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-GGT TACCTTGTTACGACTT-3')^[11]进行PCR扩增。PCR反应体系(20 μL): ddH₂O 13.0 μL , 上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各0.4 μL , Taq酶(5 U/ μL) 0.2 μL , DNA模板2.0 μL , Buffer 2.0 μL , dNTPs 2.0 μL 。PCR反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸

90 s, 30 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序(去除两端嵌合序列)。将测序结果与 GenBank 数据库进行 BLAST 多重序列比对, 利用 MEGA 11 软件以邻接法(neighbor-joining method)构建系统发育树, 选用 bootstrap 法(1 000 次重复)^[12]评估系统发育树分支聚类的稳定性, 从而对分离菌株进行分子鉴定。参照《常见细菌系统鉴定手册》^[13]和《伯杰细菌鉴定手册》^[14], 对分离菌株进行生理生化鉴定。

1.3 菌株耐盐碱能力及促生特性分析

1.3.1 菌株耐盐碱能力测定

以 LB 液体培养基为基础培养基, 添加 NaCl 使培养基中 NaCl 含量分别为 1%–8%, 将 pH 值均调至 7.0^[15]; 参照 Li 等^[16]的方法, 利用 pH 7.0–10.0 缓冲液体系(pH 7.0–8.0, 0.1 mol/L KH_2PO_4 +0.1 mol/L NaOH; pH 9.0–10.0, 0.1 mol/L NaHCO_3 +0.1 mol/L Na_2CO_3)维持培养基 pH 稳定, 调节培养基 pH 分别为 7.0、8.0、9.0、10.0。将分离菌株在 LB 培养基中 28 °C、180 r/min 振荡培养 12 h, 调节菌悬液浓度($OD_{600}=0.50\pm 0.02$), 将其等量转接到不同 NaCl 浓度和 pH 值的培养基中, 28 °C、180 r/min 振荡培养 12 h 后测定 OD_{600} 吸光值。

1.3.2 菌株 ACC 脱氨酶活性测定

以 2,4-二硝基苯肼为染料, α -丁酮酸为检测指标, 参照 Honma 等^[17]的方法测定菌株的 ACC 脱氨酶活力。蛋白质的测定采用 Bradford^[18]的方法。

1.3.3 菌株嗜铁素合成能力测定

将菌株接种于 MKB (Modified King's B) 培养基中, 28 °C、180 r/min 培养 48 h。参照王平等^[19]的方法测定菌株嗜铁素合成能力。

1.3.4 菌株吲哚乙酸(IAA)合成能力测定

将分离菌株接种至 DF (dworkin and foster) 培养基中, 28 °C、180 r/min 培养 48 h, 参考

Glickmann 等^[20]的方法, 采用 Salkowski 比色法测定菌株产 IAA 能力。

1.3.5 菌株溶磷能力的测定

将菌株接种到 LB 培养基中 37 °C、200 r/min 培养过夜, 再以 1% 接种量转接至 PVK (pikovskaya)培养基中(以不接菌培养基为对照), 28 °C、180 r/min 培养 72 h。参考乔策策等^[21]的方法, 采用钼锑抗显色法计算有效磷含量, 菌株的溶磷量为有效磷含量减去对照值。

1.4 紫花苜蓿盆栽试验

供试紫花苜蓿(*M. sativa*)种子由黑龙江省农业科学院畜牧分院提供。供试盐碱土(pH 8.4, EC 288 $\mu\text{S}/\text{cm}$)取自黑龙江省绥化市兰西县远大镇胜利村。将内生菌 Z-1 接种于 LB 培养基中 37 °C、200 r/min 培养过夜, 28 °C、6 000 r/min 离心 10 min, 取菌体沉淀, 用无菌水重悬菌体, 将其浓度稀释至 1×10^8 CFU/mL 以制成菌悬液。将种子置于菌悬液中浸泡 2 h (对照组置于等量无菌水中), 均匀地播种于装有 0.65 kg 盐碱土的花盆中。以灌根的方式定期接种菌悬液(对照组浇灌等量无菌水)。培养 4 周后取其叶片与根系, 测定紫花苜蓿叶片生理特性及根系活力。采用 2,3,5-氯化三苯基四氮唑法^[22]测定植株根系活力, 采用茚三酮法^[23]和考马斯亮蓝染色法^[24]分别测定植株游离脯氨酸和可溶性蛋白含量, 采用愈创木酚氧化法^[25]和氮蓝四唑光还原法^[26]测定植株 POD 和 SOD 活性, 采用分光光度法^[27-28]测定植株过氧化氢(H_2O_2)含量和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性, 采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[29]和羟胺氧化法^[30]测定植株丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧阴离子(superoxide anion, O_2^-)含量; 培养 8 周后测定紫花苜蓿的生物量。

1.5 内生菌在紫花苜蓿根内的定殖分布

携带质粒 pMP2444 的大肠杆菌 DH5 α 购自森灵质粒平台, 该质粒具有庆大霉素抗性(Gen), 由 T3 启动子驱动 EGFP 的表达。将大肠杆菌

DH5 α (pMP2444)在含有 30 $\mu\text{g/mL}$ 硫酸庆大霉素的 LB 固体培养基^[31]上划线培养。利用质粒提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取表达质粒,并于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。采用 TSS 法^[32]制备感受态细胞,挑取内生菌 Z-1 的单菌落接种至 LB 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 培养过夜。以 1% 的比例转接至 LB 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 培养至 $OD_{600}=0.3-0.5$,冰浴 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、6 000 r/min 离心 5 min,将菌体重悬于 1/10 原体积预冷的无菌 TSS 溶液^[33]中,进行分装(100 μL /管),并置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。利用热激转化法^[34]将质粒导入 Z-1 感受态细胞中,以未导入质粒的 Z-1 感受态细胞为对照组,将其涂布于含有 30 $\mu\text{g/mL}$ 硫酸庆大霉素的 LB 固体培养基上。参照於浩然等^[35]的方法测定标记菌株与野生型菌株的生长速率。

对紫花苜蓿种子进行表面消毒后,将其置于 Z-1-*gfp* (带有 GFP 标记的菌株 Z-1)菌悬液(1×10^8 CFU/mL)中浸泡 2 h (对照组置于等量无菌水中),选取 20 粒均匀地播种于装有 0.65 kg 盐碱土的花盆(口径 12.8 cm、底径 8.3 cm、高度 11 cm)中。待紫花苜蓿幼苗长出真叶后,每盆定苗 15 株,并向紫花苜蓿根系浇灌标记菌株发酵液 10 mL (1×10^8 CFU/mL),以未接种菌液的紫花苜蓿植株为对照。在幼苗生长过程中,用无菌蒸馏水补充水分。接种 25 d 后,随机选取 3 棵紫花苜蓿植株进行表面消毒,称取 0.2 g 紫花苜蓿根系置于无菌研钵中,加入 1 mL 无菌水研磨。将研磨液依次稀释为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} ,取 100 μL 稀释液涂布于含有 30 $\mu\text{g/mL}$ 硫酸庆大霉素的平板上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h。在黑暗条件下,用手提紫外灯观察每皿内的荧光菌落数量,并以每克紫花苜蓿根系的荧光菌落数量(CFU/g)表示其定殖情况。

在显微镜下观察标记菌株在紫花苜蓿根内的定殖情况。接种菌株 Z-1-*gfp* 25 d 后随机选取 5 棵紫花苜蓿植株(以施加等量无菌水的紫花苜蓿为对照),对其进行表面杀菌与消毒。用灭菌

的刀片将紫花苜蓿根系分割成 1 cm \times 1 cm 的切片,放置在振动切片机[徕卡显微系统(上海)贸易有限公司]上,设置切片参数:切片速度 0.4 mm/s、振幅 1.50 mm、切片厚度 70 μm 。利用激光扫描共聚焦显微镜[徕卡显微系统(上海)贸易有限公司]观察标记菌株在紫花苜蓿根内的定殖情况,最大激发波长为 485 nm、发射波长为 498 nm。

1.6 数据处理

实验数据使用 Excel 2022 进行统计,方差分析使用 SPSS 26.0 进行。不同处理组各指标采用 *t* 检验法和单因素方差分析(one-way ANOVA)进行比较。

2 结果与分析

2.1 耐盐碱内生菌的分离与筛选

将盐碱地种植的紫花苜蓿根系组织磨碎匀浆后,稀释涂布于 NaCl 浓度为 7%、pH 9.0 的 LB 培养基上,经纯化,筛选到 1 株在高盐碱 LB 培养基上生长良好的内生菌,编号为 Z-1。

2.2 内生菌 Z-1 的鉴定

内生菌 Z-1 的菌落呈圆形、隆起、不透明、边缘整齐,在固体培养基上呈淡黄色。对内生菌 Z-1 进行分子生物学鉴定,将其 16S rRNA 基因序列(GenBank 登录号为 PV563462)在 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对分析,并构建系统发育树(图 1),内生菌 Z-1 属于假单胞菌属(*Pseudomonas*),与模式菌株摩拉维亚假单胞菌(*Pseudomonas moraviensis*) 1B4^T 位于同一分支,序列一致性为 99.45%。生理生化实验结果表明,菌株 Z-1 的甲基红、柠檬酸盐水解和明胶液化实验呈阳性,而氧化酶、蔗糖水解、伏普、吡啶、淀粉水解、硫化氢和革兰氏染色实验呈阴性。综合菌落形态特征、16S rRNA 基因序列分析及生理生化实验结果,确定菌株 Z-1 为摩拉维亚假单胞菌(*P. moraviensis*)。

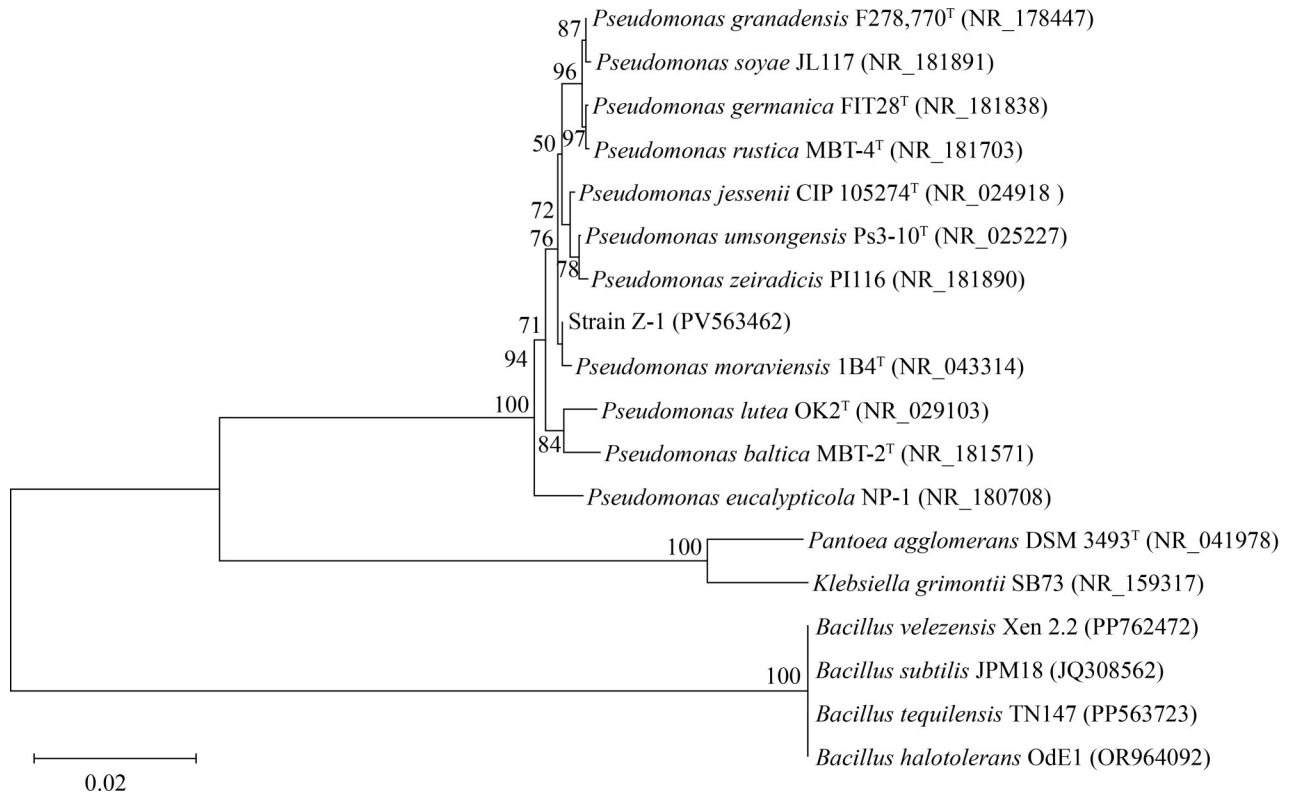


图1 菌株Z-1基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树。菌株后括号内为其16S rRNA基因序列的GenBank登录号；每个分支节点的自展值为基于1 000次重复计算的比例；标尺表示序列(或核苷酸)的差异为2%；^T：模式菌株；Z-1：本研究菌株。

Figure 1 Phylogenetic tree of strain Z-1 based on 16S rRNA gene sequence. Strains are followed by their GenBank accession numbers for 16S rRNA gene sequences; Bootstrap values based on 1 000 replications are shown at the branching nodes; The scale bar indicates a 2% sequence (or nucleotide) difference; ^T: Type strain; Z-1: The strain studied in this paper.

2.3 内生菌 Z-1 耐盐碱能力分析

对筛选获得的菌株 Z-1 在不同浓度 NaCl 和不同 pH 值培养液中的生长情况进行了分析。结果表明，随着 NaCl 浓度和 pH 值的增加，菌株的生长受到抑制。在 NaCl 浓度为 1%–3% 时，菌株能够正常生长；当 NaCl 浓度为 4% 时，菌株 Z-1 的生长量明显受到抑制；当 NaCl 浓度超过 5% 时，菌株 Z-1 几乎无法生长(图 2A)。因此，菌株 Z-1 的耐受 NaCl 浓度最高为 4%。在 pH 值为 8.0 和 9.0 时菌株可正常生长；当 pH 值为 10.0 时菌株几乎不生长(图 2B)。因此，菌株 Z-1 的耐受 pH 值最高为 9.0。

2.4 内生菌 Z-1 促生特性分析

对内生菌 Z-1 的 ACC 脱氨酶活性、嗜铁素合成能力、溶磷能力和 IAA 合成能力进行了测定。结果表明，内生菌 Z-1 的 ACC 脱氨酶活性为 15.94 $\mu\text{mol } \alpha\text{-KA}/(\text{mg}\cdot\text{h})$ ； A/A_r 值为 1.42 (A 为待测样品上清液与 CAS 检测液混合后的吸光值； A_r 为空白对照)；有效磷含量为 243.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；IAA 测定结果显示，内生菌 Z-1 在无 L-Trp 时即可合成 IAA，且随着 L-Trp 浓度的增加，IAA 的合成量也增加，当 L-Trp 浓度达到 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，IAA 的合成量最高，可达 7.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 1)。

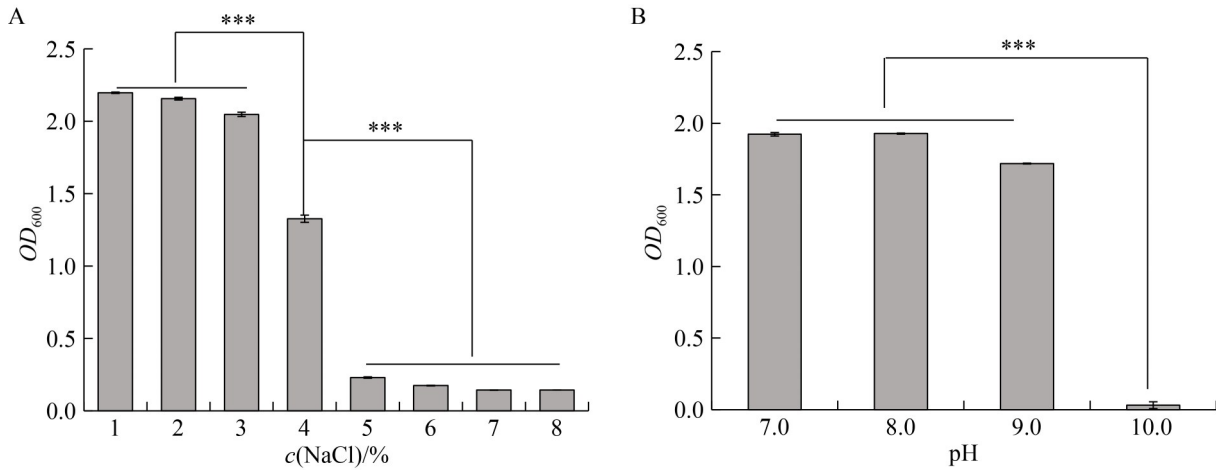


图2 不同NaCl浓度(A)和不同pH(B)对菌株Z-1生长的影响。显示的值均为3个独立试验的平均值；误差线表示平均值的标准差；***: $P < 0.001$, 差异显著。

Figure 2 Effects of different NaCl (A) and pH (B) concentrations on the growth of strain Z-1. The values represent the average of three independent experiments; Error bars represent the standard deviations of the average; ***: Indicates significant differences ($P < 0.001$).

表1 菌株Z-1促生特性的测定

Table 1 Determination of the growth-promoting characteristics of strain Z-1

Growth-promoting substances	Results
ACC deaminase ($\mu\text{mol } \alpha\text{-KA}/(\text{mg}\cdot\text{h})$)	15.94±1.59
Siderophore (A/A_t)	1.42±0.06
Phosphorus ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	243.81±7.16
IAA (without L-tryptophan)	4.27±0.19c
IAA (add 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ L-tryptophan)	5.50±0.02b
IAA (add 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ L-tryptophan)	6.85±0.08a
IAA (add 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ L-tryptophan)	7.03±0.17a

不同小写字母代表处理间差异显著($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

2.5 接种内生菌 Z-1 对盐碱环境下紫花苜蓿生物量的影响

与对照组相比, 接种内生菌 Z-1 的紫花苜蓿株高增加了 5.71%, 根长增加了 9.61%, 地上鲜重和干重分别增加了 18.27% 和 18.52%, 地下鲜重和干重分别增加了 10.57% 和 18.18% ($P < 0.05$) (表 2)。结果表明, 接种内生菌可促进盐碱环境

表2 盐碱环境下接种菌株Z-1对紫花苜蓿生物量的影响

Table 2 Effects of inoculation with strain Z-1 on alfalfa biomass under saline-alkali conditions

Alfalfa biomass	CK	Z-1
Plant height (cm)	15.25±0.68	16.12±1.38
Root length (cm)	14.82±0.69	16.25±0.80
Fresh weight of shoots (g/5 plants)	1.08±0.11	1.27±0.09
Dry weight of shoots (g/5 plants)	0.27±0.03	0.32±0.01*
Fresh weight of roots (g/5 plants)	0.88±0.12	0.98±0.04
Dry weight of roots (g/5 plants)	0.18±0.03	0.22±0.03

*: $P < 0.05$ 水平下差异显著。

*: Indicates significant differences ($P < 0.05$).

下紫花苜蓿的生长。

2.6 接种内生菌 Z-1 对盐碱环境下紫花苜蓿生理特性的影响

与对照组相比, 接种内生菌 Z-1 后紫花苜蓿的根系活力提高了 27.92% (图 3A); 游离脯氨酸和可溶性蛋白含量分别提高了 19.06% 和 13.37% (图 3B、3C); CAT、POD 和 SOD 活性分别提高了 16.23%、54.93% 和 4.22% (图 3D–3F); H_2O_2 和

O_2^- 含量分别降低了 22.67% 和 16.32% (图 3G、3H); MDA 含量降低了 13.05% (图 3I) ($P<0.05$)。结果表明, 接种内生菌 Z-1 可以有效缓解盐碱环境对紫花苜蓿生理特性的影响。

2.7 Z-1-gfp 在紫花苜蓿根内的定殖情况

为了检测菌株 Z-1 在紫花苜蓿根内的定殖情况, 通过转化将质粒 pMP2444 导入菌株 Z-1 中。

由生长曲线(图 4)可看出, 菌株 Z-1 与 Z-1-gfp 的生长变化趋势基本一致, 几乎同时进入对数期和稳定期, 表明质粒标记对菌株的正常生长未产生明显影响。通过盆栽试验分析 Z-1-gfp 在紫花苜蓿根内的定殖能力(图 5), 结果表明经 Z-1-gfp 发酵液灌根处理后, 在紫花苜蓿根内能检测出目标菌株, 且定殖量达到 7.57×10^4 CFU/g, 说明

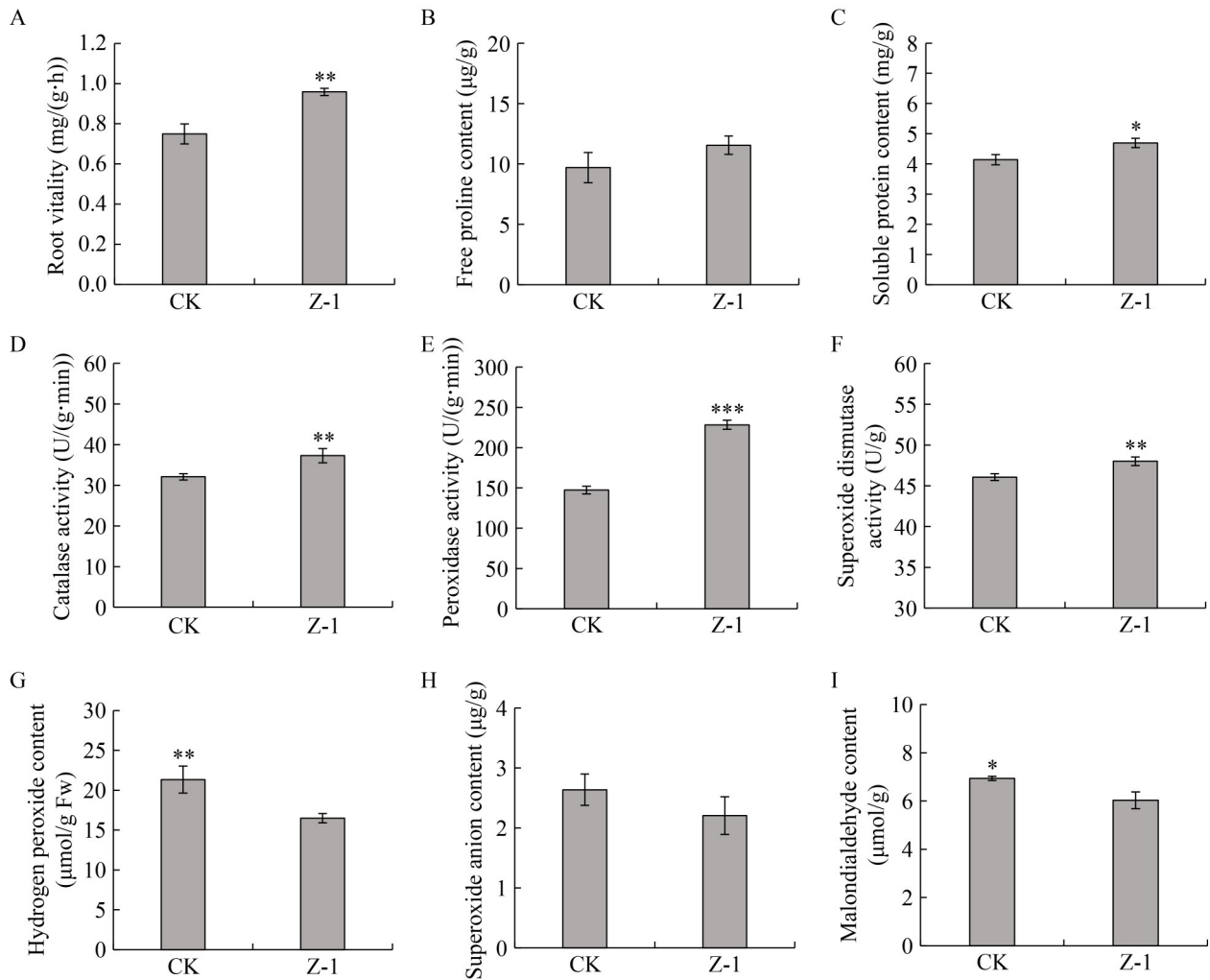


图3 盐碱环境下接种菌株Z-1对紫花苜蓿生理特性的影响。A: 根系活力; B: 游离脯氨酸含量; C: 可溶性蛋白含量; D: CAT活性; E: POD活性; F: SOD活性; G: H_2O_2 含量; H: O_2^- 含量; I: MDA含量。*、**和***: $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 水平下差异显著。

Figure 3 The effects of inoculating strain Z-1 on the physiological characteristics of alfalfa under saline-alkali conditions. A: Root vitality; B: Free proline content; C: Soluble protein content; D: CAT activity; E: POD activity; F: SOD activity; G: H_2O_2 content; H: O_2^- content; I: MDA content. *, **, and ***: Indicate significant differences at $P<0.05$, $P<0.01$, and $P<0.001$ levels, respectively.

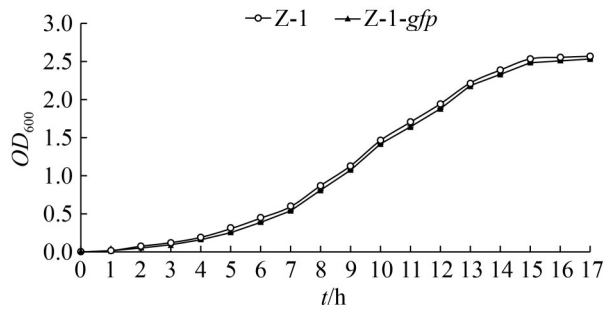


图4 菌株Z-1和Z-1-gfp的生长曲线。显示的值是3个独立试验的平均值；误差线表示平均值的标准差。

Figure 4 Growth curves of strains Z-1 and Z-1-gfp. The values represent the average of three independent experiments; Error bars represent the standard deviations of the average.

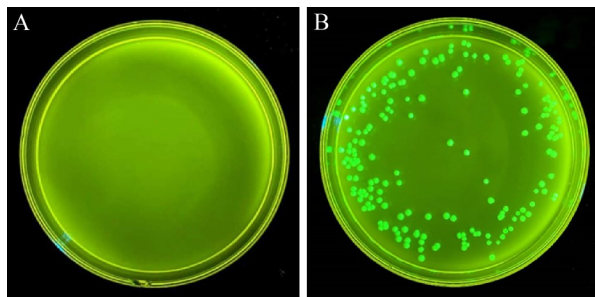


图5 接种内生菌Z-1-gfp的紫花苜蓿根系中的菌株。将紫花苜蓿根系研磨涂布到含有30 μg/mL硫酸庆大霉素的LB平板上，28 °C培养24 h后观察。A: 未接种的苜蓿根系；B: 接种菌株Z-1-gfp的苜蓿根系。

Figure 5 Strains of alfalfa roots inoculated with the endophyte Z-1-gfp. Roots of alfalfa were homogenized and plated onto LB agar containing 30 μg/mL gentamicin sulfate, and observed after culturing at 28 °C for 24 hours. A: Roots of unvaccinated alfalfa; B: Roots of alfalfa inoculated with the strain Z-1-gfp.

菌株 Z-1 在紫花苜蓿根内具有良好的定殖能力。

为进一步证实上述结果，将紫花苜蓿根系制作成临时装片，使用激光扫描共聚焦显微镜观察 Z-1-gfp 的定殖情况。结果表明，经 Z-1-gfp

灌根处理后，紫花苜蓿根系(横切面、纵切面)在激光扫描共聚焦显微镜下可观察到明显绿色荧光(图 6F、6L)，而经无菌水处理的对照组紫花苜蓿根系切片未发现明显的绿色荧光(图 6C、6I)，进一步证实菌株 Z-1 可在紫花苜蓿根内定殖。

3 讨论

盐碱胁迫是植物生长过程中面临的主要非生物胁迫之一，对植物的生长和发育具有严重危害^[36]。植物内生菌可通过多种途径促进植物生长，提高植物对盐碱胁迫的抵抗能力^[37]。例如，Siddiqui 等^[38]从盐生草中分离得到的内生细菌在盐胁迫下可显著提高水稻和玉米的产量。Yang 等^[39]发现接种强壮植物伯克霍尔德氏菌 (*Paraburkholderia phytofirmans*) PsJN 能够提高盐胁迫下藜麦的生物量，增强其抵抗盐胁迫的能力。Asif 等^[40]研究发现，接种纺锤状赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus fusiformis*) ART-1 和球形赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus sphaericus*) ART-10 可以促进盐胁迫下水稻的生长。本研究从紫花苜蓿根系中分离得到了一株内生细菌 Z-1，该菌株具有较强的耐盐碱能力。接种 Z-1 后提高了盐碱环境下紫花苜蓿的株高、根长、地上及地下部分的鲜重和干重，表明内生菌 Z-1 在盐碱环境下具有促进紫花苜蓿生长的能力。

植物内生菌具有产 IAA、嗜铁素以及溶解难溶性磷酸盐等多种促生特性，从而促进植物的生长^[41]。例如，Lu 等^[6]从水稻根系分离得到的菠萝泛菌 (*Pantoea ananatis*) D1 具有产 IAA、嗜铁素和溶磷的能力，可显著提高盐胁迫下水稻根系及芽的生长。Bokhari 等^[42]从沙漠植物根系筛选到的芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 细菌具有较强的耐盐能力，同时还具有产 IAA、嗜铁素和溶磷等促生特性，可以促进拟南芥在盐胁迫条件下的生长。本研究筛选的内生菌 Z-1 不仅具有产嗜铁素、IAA 以及溶磷能力，还具有 ACC 脱氨酶活性。Gamalero 等^[43]从盐生植物补血草中分离

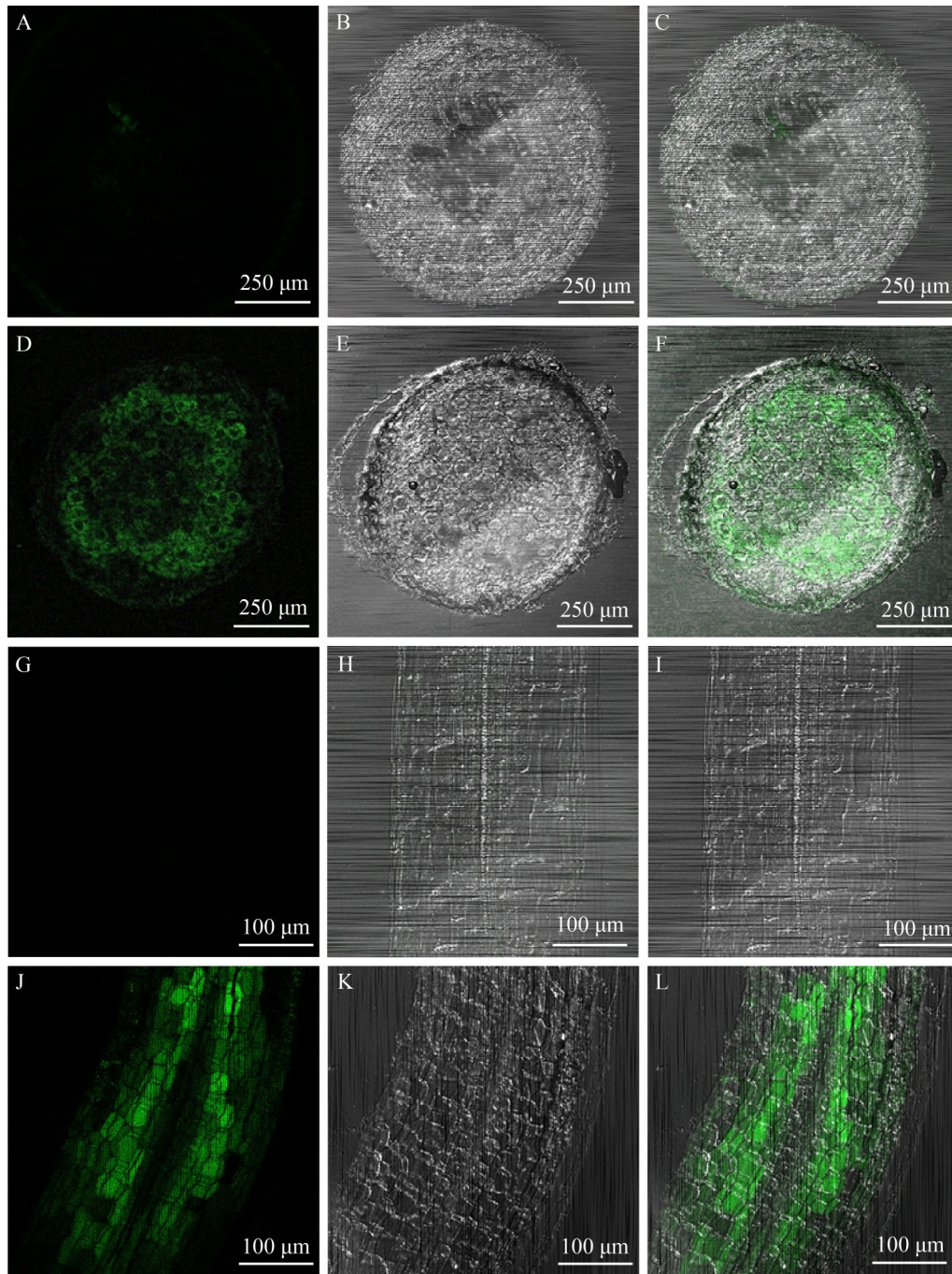


图6 菌株Z-1-*gfp*在紫花苜蓿根内的定殖情况。A-C: 未接种处理的紫花苜蓿根系横切面; D-F: 接种菌株Z-1-*gfp*后紫花苜蓿根系横切面; G-I: 未接种处理的紫花苜蓿根系纵切面; J-L: 接种菌株Z-1-*gfp*后紫花苜蓿根系纵切面; A-J: 暗场视野; B-K: 明场视野; C-L: 合并视野。

Figure 6 Colonization of strain Z-1-*gfp* in alfalfa roots. A-C: The cross sections of alfalfa roots uninoculated control; D-F: The cross sections of alfalfa roots inoculated with strain Z-1-*gfp*; G-I: The longitudinal sections of alfalfa roots uninoculated control; J-L: The longitudinal section of alfalfa roots inoculated with strain Z-1-*gfp*; A-J: Dark field images; B-K: Bright field images; C-L: Merged dark and bright field images.

得到的内生细菌具有较强的 ACC 脱氨酶特性。据报道,有益微生物所产生的 ACC 脱氨酶能够作用于植物乙烯合成的前体 ACC,将其分解为 α -丁酮酸和氨,从而有效降低植株内乙烯含量,减轻乙烯对植物生长的抑制作用,促进植物生长,提高其对非生物胁迫的抵抗能力^[44]。

脯氨酸和可溶性蛋白是植物体内重要的渗透调节物质,在非生物胁迫下会大量积累,平衡植物体内渗透势,减少逆境对植物的危害^[45]。王艳宇等^[46]研究表明,佐贝尔菌属(*Zobellella* sp.) DQSA1 能够提高绿豆植株脯氨酸和可溶性蛋白含量。本研究中,接种内生菌 Z-1 显著提高了盐碱环境下紫花苜蓿的可溶性蛋白及脯氨酸含量($P<0.05$)。在非生物胁迫下,植物体内会产生大量的活性氧(O_2^- 、 H_2O_2 等),这些活性氧具有极强的氧化性,会导致植物细胞膜脂过氧化,最终生成 MDA,并对生物大分子如蛋白质和核酸造成交联聚合,具有细胞毒性^[47]。SOD 可以将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 和 O_2 ,减少对植物的氧化损伤;CAT 可以通过将 H_2O_2 分解为水和氧气以防止其积累;而 POD 可以参与 H_2O_2 消除^[48]。研究表明,内生菌可以通过影响植物抗氧化酶活性和 ROS 清除系统等促进植物的生长,提高植物的耐盐碱性^[49]。Abd_Allah 等^[50]研究表明,接种内生菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) BERA71 提高了盐胁迫下鹰嘴豆的 SOD、POD 和 CAT 活性。本研究中,接种内生菌 Z-1 增强了盐碱胁迫下紫花苜蓿的 POD、CAT 和 SOD 活性,降低了 MDA、 O_2^- 、 H_2O_2 含量,表明内生菌 Z-1 可以通过提高紫花苜蓿抗氧化酶活性减少活性氧的产生,提高其对盐碱胁迫的抗性。

绿色荧光蛋白(GFP)标记方法可以对目的菌株进行稳定的标记,便于检测内生菌在植物体内的定殖情况^[51]。本研究表明内生菌 Z-1 在紫花苜蓿根内具有较好的定殖能力。毛仲玉等^[52]研究表明,田菁茎瘤固氮根瘤菌(*Azorhizobium caulinodans*) 在茎瘤芥根内具有较好的定殖能力,接种该菌株可以显著提高茎瘤芥的生物量。Ku

等^[53]研究表明,蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) YL6 在玉米、小麦和白菜根内具有较好的定殖能力,可以促进这些植物的生长。Li 等^[54]研究表明,内生简单近芽孢杆菌(*Peribacillus simplex*) M1 可以在玉米根内定殖,提高玉米的抗氧化酶活性,促进盐碱胁迫下玉米的生长。这些研究表明植物内生促生菌在宿主植物的成功定殖是其发挥作用的关键。

4 结论

本研究从紫花苜蓿根系中分离出的内生细菌摩拉维亚假单胞菌(*Pseudomonas moraviensis*) Z-1 具有较强的耐盐碱能力、产 ACC 脱氨酶、嗜铁素、IAA 和溶解无机磷的能力。在盐碱环境下,接种内生菌 Z-1 可以促进紫花苜蓿的生长,提高其生物量和根系活力,增加紫花苜蓿渗透调节物质的积累,并增强其抗氧化能力。此外,该菌株在紫花苜蓿根内具有较好的定殖能力。因此,内生菌 Z-1 可作为开发盐碱地紫花苜蓿微生物制剂的优质菌株资源。

作者贡献声明

郑慧颖:数据收集、数据分析、初稿撰写、论文修改;唐璐:实验指导、审阅、论文修改;张静:数据收集;史怡梦:样品采集、数据收集;姚琳:审阅、论文修改;刘建生:提供资源;陈佳欣:方法论、实验指导、论文修改;郭长虹:提出概念、试验设计、实验指导、审阅、论文修改。

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] 王世平,陈月,潘大伟,薛文多,周雷,赵娜,巩宗强,张晓蓉.盐碱地治理研究综述:现状、问题与对策[J].化工矿物与加工,2023,52(11):59-68.
WANG SP, CHEN Y, PAN DW, XUE WD, ZHOU L,

- ZHAO N, GONG ZQ, ZHANG XR. Review on salt marshes management: status, problems and countermeasures[J]. *Industrial Minerals & Processing*, 2023, 52(11): 59-68 (in Chinese).
- [2] 范王涛. 土壤盐碱化危害及改良方法研究[J]. *农业与技术*, 2020, 40(23): 114-116.
- [3] KUSHWAHA P, KASHYAP PL, BHARDWAJ AK, KUPPUSAMY P, SRIVASTAVA AK, TIWARI RK. Bacterial endophyte mediated plant tolerance to salinity: growth responses and mechanisms of action[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2020, 36(2): 26.
- [4] MERCADO-BLANCO J, PRIETO P. Bacterial endophytes and root hairs[J]. *Plant and Soil*, 2012, 361(1): 301-306.
- [5] HOSSEYNI MOGHADDAM MS, SAFAIE N, SOLTANI J, HAGH-DOUST N. Desert-adapted fungal endophytes induce salinity and drought stress resistance in model crops[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 160: 225-238.
- [6] LU L, CHANG M, HAN X, WANG Q, WANG J, YANG H, GUAN Q, DAI S. Beneficial effects of endophytic *Pantoea ananatis* with ability to promote rice growth under saline stress[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 131(4): 1919-1931.
- [7] 张永志, 高文俊, 郭艳妮, 郝鲜俊. 丛枝菌根真菌对NaCl胁迫下紫花苜蓿的生理指标及光合参数的影响[J]. *草原与草坪*, 2018, 38(4): 26-34.
ZHANG YZ, GAO WJ, GUO YN, HAO XJ. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on physiological responses of *Medicago sativa* under NaCl stress[J]. *Grassland and Turf*, 2018, 38(4): 26-34 (in Chinese).
- [8] 刘雅丽, 雷毓. 陇东地区紫花苜蓿产业化发展初探[J]. *甘肃科技*, 2014, 30(9): 138-140.
- [9] 王娇, 解修超, 邓百万, 罗阳兰, 刘军生. 七叶树内生细菌的分离鉴定及生物活性研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2017(11): 71-75.
WANG J, XIE XC, DENG BW, LUO YL, LIU JS. Isolation, identification and biological activity of endophytic bacteria in *Aesculus sinensis*[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2017(11): 71-75 (in Chinese).
- [10] KOCAGÖZ T, YILMAZ E, OZKARA S, KOCAGÖZ S, HAYRAN M, SACHEDEVA M, CHAMBERS HF. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by polymerase chain reaction using a simplified procedure[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1993, 31(6): 1435-1438.
- [11] HEUER H, KRSEK M, BAKER P, SMALLA K, WELLINGTON EM. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(8): 3233-3241.
- [12] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 66-193.
- DONG XZ, CAI MY. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001: 66-193 (in Chinese).
- [14] 布坎南RE, 吉本斯NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984: 620-621.
BUCHANAN RE, GIBBONS NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. 8th Edition. Translation team of the Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Beijing: Science Press, 1984: 620-621 (in Chinese).
- [15] RADHAKRISHNAN N, KRISHNASAMY C. Isolation and characterization of salt-stress-tolerant rhizosphere soil bacteria and their effects on plant growth-promoting properties[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 24909.
- [16] LI WJ, ZHANG YG, ZHANG YQ, TANG SK, XU P, XU LH, JIANG CL. *Streptomyces sodiophilus* sp. nov., a novel alkaliphilic actinomycete[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(3): 1329-1333.
- [17] HONMA M, SHIMOMURA T. Metabolism of l-aminocyclopropane-L-carboxylic acid[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1978, 42(10): 1825-1831.
- [18] BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [19] 王平, 董飏, 李阜棣, 胡正嘉. 小麦根圈细菌铁载体的检测[J]. *微生物学通报*, 1994, 21(6): 323-326.
WANG P, DONG B, LI FD, HU ZJ. Detection and determination of the siderophores produced by wheat rhizobacteria[J]. *Microbiology China*, 1994, 21(6): 323-326.
- [20] GLICKMANN E, DESSAUX Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(2): 793-796.
- [21] 乔策策, 王甜甜, 王若斐, 刘超, 高琦, 李荣, 沈其荣. 高效溶磷菌的筛选及其促生效应研究[J]. *南京农业大学学报*, 2017, 40(4): 664-670.
QIAO CC, WANG TT, WANG RF, LIU C, GAO Q, LI R, SHEN QR. Screening phosphate solubilizing bacterial strains from maize rhizosphere and research on their plant growth promotion effect[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2017, 40(4): 664-670 (in Chinese).
- [22] LIU JJ, WEI Z, LI JH. Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling[J]. *Botanical Studies*, 2014, 55(1): 47.
- [23] 刘旻霞, 马建祖. 6种植物在逆境胁迫下脯氨酸的累积特点研究[J]. *草业科学*, 2010, 27(4): 134-138.
LIU MX, MA JZ. Study on proline accumulation patterns of six plant species under adversity stress[J]. *Pratacultural Science*, 2010, 27(4): 134-138 (in Chinese).
- [24] 刘明杨, 雷彩燕, 李静静, 卢少华, 白润娥, 汤清波, 闫凤鸣. 黄瓜对B型和Q型烟粉虱取食的不同生理生化反应[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(13): 2514-2523.

- LIU MY, LEI CY, LI JJ, LU SH, BAI RE, TANG QB, YAN FM. Differential physiological and biochemical responses of cucumber to the feeding by *Bemisia tabaci* B and Q biotypes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(13): 2514-2523 (in Chinese).
- [25] SHANNON LM, KAY E, LEW JY. Peroxidase isozymes from horseradish roots: i. isolation and physical properties[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1966, 241(9): 2166-2172.
- [26] GIANNOPOLITIS CN, RIES SK. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, 59(2): 309-314.
- [27] FERGUSON IB, WATKINS CB, HARMAN JE. Inhibition by calcium of senescence of detached cucumber cotyledons: effect on ethylene and hydroperoxide production[J]. *Plant Physiology*, 1983, 71(1): 182-186.
- [28] 杨兰芳, 庞静, 彭小兰, 闫静静. 紫外分光光度法测定植物过氧化氢酶活性[J]. *现代农业科技*, 2009(20): 364-366.
- YANG LF, PANG J, PENG XL, YAN JJ. Measurement of catalase activity in plants by ultraviolet spectrophotometry[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2009(20): 364-366 (in Chinese).
- [29] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- ZOU Q. *Experimental Guidance for Plant Physiology*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [30] YANG J, CAO Y, ZHANG ND. Spectrophotometric method for superoxide anion radical detection in a visible light (400–780 nm) system[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 239: 118556.
- [31] 孙雪, 董永华, 王娜, 崔文会, 廖鲜艳, 刘莉. 耐盐碱促生菌的筛选及性能[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(7): 1356-1364.
- SUN X, DONG YH, WANG N, CUI WH, LIAO XY, LIU L. Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, 36(7): 1356-1364 (in Chinese).
- [32] CHUNG CT, NIEMELA SL, MILLER RH. One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(7): 2172-2175.
- [33] 张迹, 李智, 张宇, 袁巧云. 一步法制备大肠杆菌 BL21(DE3)菌株感受态细胞及转化条件优化[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(12): 529-532.
- [34] 代军. 大肠杆菌感受态细胞制备及转化条件优化[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(4): 53-54.
- [35] 於浩然, 吴婧波, 詹儒林, 柳凤, 姚全胜, 李国平, 魏卿. 绿色荧光蛋白(GFP)标记芒果细菌性角斑病原菌及其定殖规律[J]. *中国南方果树*, 2024, 53(4): 71-79.
- YU HR, WU JB, ZHAN RL, LIU F, YAO QS, LI GP, WEI Q. Colonization rule of GFP-tagged *Xanthomonas citri* pv. *mangiferaeindicae* in different tissues of mango[J]. *South China Fruits*, 2024, 53(4): 71-79 (in Chinese).
- [36] HA-TRAN DM, NGUYEN TTM, HUNG SH, HUANG E, HUANG CC. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: a review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(6): 3154.
- [37] GUO XY, PENG WR, XU XY, XIE KW, YANG XY. The potential of endophytes in improving salt-alkali tolerance and salinity resistance in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(23): 16917.
- [38] SIDDIQUI ZS, WEI XY, UMAR M, ABIDEEN Z, ZULFIQAR F, CHEN JJ, HANIF A, DAWAR S, DIAS DA, YASMEEN R. Scrutinizing the application of saline endophyte to enhance salt tolerance in rice and maize plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 12: 770084.
- [39] YANG AZ, AKHTAR SS, FU Q, NAVEED M, IQBAL S, ROITSCH T, JACOBSEN SE. *Burkholderia phytofirmans* PsJN stimulate growth and yield of quinoa under salinity stress[J]. *Plants*, 2020, 9(6): 672.
- [40] ASIF S, JAN R, KIM N, ASAF S, LUBNA, KHAN MA, KIM EG, JANG YH, BHATTA D, LEE IJ, KIM KM. Halotolerant endophytic bacteria alleviate salinity stress in rice (*Oryza sativa* L.) by modulating ion content, endogenous hormones, the antioxidant system and gene expression[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 494.
- [41] Del CARMEN OROZCO-MOSQUEDA M, GLICK BR, SANTOYO G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops[J]. *Microbiological Research*, 2020, 235: 126439.
- [42] BOKHARI A, ESSACK M, LAFI FF, ANDRES-BARRAO C, JALAL R, ALAMOUDI S, RAZALI R, ALZUBAIDY H, SHAH KH, SIDDIQUE S, BAJIC VB, HIRT H, SAAD MM. Bioprospecting desert plant *Bacillus endophytic* strains for their potential to enhance plant stress tolerance[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 18154.
- [43] GAMALERO E, LINGUA G, GLICK BR. Ethylene, ACC, and the plant growth-promoting enzyme ACC deaminase[J]. *Biology*, 2023, 12(8): 1043.
- [44] GLICK BR. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 30-39.
- [45] 侯雪, 陈雨洁, 李春苗, 方淑梅, 梁喜龙, 郑殿峰. 调环酸钙对盐碱胁迫下绿豆苗期生长的调控作用[J]. *作物杂志*, 2022(6): 174-180.
- HOU X, CHEN YJ, LI CM, FANG SM, LIANG XL, ZHENG DF. Regulating effects of prohexadione-calcium on the growth of mung bean seedlings under saline-alkali stress[J]. *Crops*, 2022(6): 174-180 (in Chinese).
- [46] 王艳宇, 向君亮, 周妍, 刘权, 殷奎德, 张兴梅. 耐盐碱细菌 DQSA1 的分离鉴定及盐碱胁迫下对绿豆的促生作用[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(8): 2653-2664.
- WANG YY, XIANG JL, ZHOU Y, LIU Q, YIN KD, ZHANG XM. Isolation and identification of saline-alkali tolerance bacteria DQSA1 and its growth-promoting effect on mung bean under saline-alkali stress[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(8): 2653-2664 (in Chinese).
- [47] BEN AHMED C, BEN ROUINA B, SENSOY S,

- BOUKHRIS M, BEN ABDALLAH F. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 67(2): 345-352.
- [48] SONG LL, YU YL, CHEN HZ, FENG YW, CHEN S, ZHANG HH, ZHOU HJ, MENG L, WANG Y. Response of photosynthetic characteristics and antioxidant system in the leaves of safflower to NaCl and NaHCO₃[J]. *Plant Cell Reports*, 2024, 43(6): 146.
- [49] REN XN, SHAN Y, LI X, FAN JH, LI YY, MA LJ, WANG LL, LI XM. Application of RNA sequencing to understand the benefits of endophytes in the salt-alkaline resistance of rice seedlings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2022, 196: 104820.
- [50] Abd ALLAH EF, ALQARAWI AA, HASHEM A, RADHAKRISHNAN R, AL-HUQAIL AA, AL-OTIBI FON, AHMAD MALIK J, ALHARBI RI, EGAMBERDIEVA D. Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2018, 13(1): 37-44.
- [51] 祁山颜, 朱峰, 王继春, 田成丽, 王东元, 欧玉苹, 刘晓梅, 李莉, 姜兆远. 枯草芽胞杆菌 GB519 在水稻植株中的定殖及对稻瘟病田间防效[J]. *植物保护*, 2023, 49(2): 48-56.
- QI SY, ZHU F, WANG JC, TIAN CL, WANG DY, OU YP, LIU XM, LI L, JIANG ZY. Colonization dynamics of *Bacillus subtilis* GB519 in rice plants and its biocontrol efficacy against rice blast in the field[J]. *Plant Protection*, 2023, 49(2): 48-56 (in Chinese).
- [52] 毛仲玉, 常黎洁, 王殿东. 根瘤菌对茎瘤芥的促生作用研究[J]. *安徽农业科学*, 2024, 52(12): 1-6, 12.
- MAO ZY, CHANG LJ, WANG DD. Study on the growth-promoting effect of rhizobia on tumorous stem mustard[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2024, 52(12): 1-6, 12 (in Chinese).
- [53] KU YL, XU GY, TIAN XH, XIE HQ, YANG XN, CAO CL, CHEN YL. Root colonization and growth promotion of soybean, wheat and Chinese cabbage by *Bacillus cereus* YL6[J]. *PLoS One*, 2018, 13(11): e0200181.
- [54] LI GL, SHI MX, WAN WH, WANG ZY, JI SW, YANG FS, JIN SM, ZHANG JG. Maize endophytic plant growth-promoting bacteria *Peribacillus simplex* can alleviate plant saline and alkaline stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(20): 10870.