DOI: 10.5846/stxb201802060309
徐亚军,赵龙飞,邢鸿福,罗云霄,魏正欣.内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸和丙二醛的影响.生态学报,2020,40(11):3726-3737.
Xu Y J, Zhao L F, Xing H F, Luo Y X, Wei Z X.Effects of endophytic bacteria on proline and malondialdehyde of wheat seedlings under salt stress.Acta Ecologica Sinica,2020,40(11):3726-3737.

内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸和丙二醛的影响

徐亚军[1],赵龙飞[1,2,*],邢鸿福[1],罗云霄[1],魏正欣[1]
1 商丘师范学院生物与食品学院, 商丘 476000
2 河南省特色微生物资源开发与应用工程研究中心, 商丘 476000

摘要:以周麦 18 为试验材料,以内生菌 252 和 254 为供试菌株,试验采用盆栽法设置盐胁迫组、盐胁迫接菌组和对照组,研究不同盐浓度胁迫下接菌处理对小麦幼苗脯氨酸(Pro,proline)和丙二醛(MDA,malondialdehyde)含量的影响。结果表明:小麦幼苗在盐胁迫环境下,随着培养时间和盐浓度增加,盐胁迫组 Pro 含量先升后降。在前中期,盐胁迫组小麦 Pro 含量逐渐积累,提高了小麦抗逆性;在后期 Pro 含量较中期有一定程度下降,小麦逐渐对盐环境产生适应性。随着盐浓度升高,盐胁迫组小麦在不同培养阶段对盐环境的抵抗能力不同,每个时期对盐抵抗能力有一阈值,超过此盐浓度 Pro 含量下降,抵抗能力减弱。接菌处理后,小麦 Pro 含量升高,提高了抗盐胁迫能力,第 14 天时修复效果最明显,接菌 252 处理组和 254 处理组分别在盐浓度为 200 mmol/L 和 250 mmol/L 时高出盐胁迫组 133.48%和 91.48%。盐胁迫组 MDA 含量随时间延长先降后升,与 Pro 含量变化趋势相反。在前中期,盐胁迫组小麦膜质过氧化程度不高,对小麦正常代谢活动尚未造成严重影响,在后期 MDA 含量升高,盐胁迫组小麦逐渐枯萎。接菌后,降低了幼苗细胞膜脂化程度,提高了小麦存活率,促进幼苗生长,MDA 含量在 21 d 时均低于盐胁迫组,修复效果显著。

关键词:小麦;内生细菌;脯氨酸;丙二醛;盐胁迫;修复作用

Effects of endophytic bacteria on proline and malondialdehyde of wheat seedlings under salt stress

XU Yajun[1], ZHAO Longfei[1,2,*], XING Hongfu[1], LUO Yunxiao[1], WEI Zhengxin[1]
1 *College of Biology and Food, Shangqiu Normal University, Shangqiu* 476000, *China*
2 *Engineering Research Center of Development and Application of Characteristic Microbial Resources in Henan, Shangqiu* 476000, *China*

Abstract: Taking Zhoumai 18 as research materials, 252 and 254 as tested strains, wheat treatment group with salt stress, bacterial treatment group, and the control group used by artificial climate culture method were cultivated for 7d, 14d, and 21 d. The content of proline (Pro) and malondialdehyde (MDA) of wheat seedlings treated with inoculation and those of wheat under salt stress were determinated. The results showed that Pro content of salt stress group firstly rose then falled with the increase of culture time and salt concentration under salt stress environment. In the prophase and metaphase, contents of wheat Pro under salt stress gradually accumulated and improved the resistance of wheat. In the anaphase, Pro contents declined to certain degrees compared with those in metaphase, which indicated that wheat gradually adapted to salt environment. With increasing salt concentrations, wheat in various groups of salt stress exhibited different levels of resistances to salt environment at different stages of cultivation. During each period, there was a threshold of wheat resistance to salt concentration. When salt concentration was greater than such threshold, Pro content declined, and wheat

基金项目:国家自然科学基金项目(U1204301);河南省自然科学基金项目(182300410069);河南省高校重点科研项目(17A180011,18B180022)
收稿日期:2018-02-06; **网络出版日期**:2020-03-31
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: hnzhaolongfei@163.com

resistance to salt was lessened. After inoculation with endophytes, higher Pro content of wheat improved the ability of wheat resistance to salt stress, and its respair effect of 14 d was the most obvious. When the treatment group inoculated with 252 and 254 respectively under the concentration of salt, their Pro content were higher 133.48% and 91.48% for 200 mmol/L and 250 mmol/L than those of salt stress group. MDA content of wheat with salt stress group was first drop and rose with time prolong, but Pro content changes had inverse trend. During the prophase and metaphase, in various groups of salt stress, lipid peroxidation degrees of wheat cellular membrane were not high, which brought about no severe threat to the normal metabolism of wheat. During the anaphase, MDA content increased and wheat in various groups of salt stress gradually withered. Due to the accumulation of reactive oxygen species in cells, some ingredients would be involved in severe reactions. After inoculation with endophytes, endophytes reduced the degree of lipid peroxidation of wheat cellular membrane, enhanced the survival rate of wheat, and promoted the growth of wheat seedlings. MDA content were lower than that on the 21d in salt stress group, and remediation effect was significant.

Key Words: wheat; endophytic bacteria; proline; malondialdehyde; salt stress; repair effect

小麦是我国盐碱地主要农作物之一,在幼苗时期易受到盐碱毒害,减弱其抵抗逆境的能力[1],导致产量下降。近年来,越来越重视对小麦抗盐机理的研究。刘晓华等[2]采用转基因技术将 TaCHP 基因插入小麦品种“济南 17”和“济麦 22”基因中,以 NaCl 模拟盐胁迫环境培植小麦,转基因小麦与对照组相比其体内 Pro 含量上升、MDA 含量降低,TaCHP 基因能提高小麦抗盐性。李金亭等[3]采用外源 H_2O_2 处理“郑麦-004”盐胁迫下幼苗,提高了小麦耐盐性;郭伟和王庆祥[4]利用腐植酸浸种提高了小麦幼苗抗盐碱能力。Safdarian 等[5]在盐胁迫环境下接种小麦硝基愈疮木胶节杆菌(*Arthrobacter nitroguajacolicus*)比较转录组分析,结果表明有 152 个基因上调,在接种小麦根部苯丙烷、黄酮类、萜类、卟啉、叶绿素代谢、芪类化合物、双苯庚烷代谢途径呈现差异性表达,并检测到编码次生代谢物基因,参与细胞木质素和抗氧化物的生物合成,促进生长并提高了小麦耐盐性。前人通过物理方法、化学方法、耕作控制、遗传育种等措施和途径[6]在一定程度上提高小麦耐盐能力,但这些方法仍存在很多不足,如成本高、不安全、周期长等。目前,运用生物方法[7]探索小麦耐盐机制及提高小麦抗盐能力已成为研究的热点。

植物内生菌指一定阶段或全部阶段定殖于健康植物组织及器官内,对植物不产生实质性危害并与植物形成互惠互利关系的一类微生物类群[8],可增强植物抗病、抗盐碱、抗重金属等抗逆能力[9-10]。Zhao 等[11]研究表明大豆根瘤内生菌对大豆疫霉菌具有拮抗作用和促进宿主生长的作用,Fan 等[12]表明对分离自豆科植物苜蓿根瘤的内生细菌 *Sinorhizobium meliloti* CCNWSX0020,采用重金属吸附和富集法、电镜扫描和能谱分析法、傅里叶变换红外光谱分析法等表明,内生菌可通过与植物联合作用、转化重金属形态、协同与共生作用等来减小重金属对植物毒害及促进植物对重金属分解。此外,许多有益内生细菌能提高宿主植物在高盐环境下的存活率[13],Sapre 等[7]分离自小麦根际的耐盐促生长菌株 IG3,接种燕麦在 100 mmol/L 的 NaCl 盐浓度胁迫下可提高其耐盐性,盐胁迫下接种组和未接种组相比,茎长、根长、茎干物质、根干物质及相对含水量都明显提高,而脯氨酸、电解质渗出率、丙二醛、抗氧化酶活性均出现降低,明显提升燕麦在盐胁迫下的耐盐性和促进植株生长。而大豆根瘤内生细菌在豆科植物根系具有促进植物生长[14-15]、提高植物抗逆性、增强植物抗病能力等[16]功能。赵龙飞等[17]对大豆根瘤内生细菌溶磷性研究发现溶磷菌能促进大豆生长;刘杰等[18]报道了豆科植物根瘤内生细菌的研究现状及功能。在长期系统进化过程中,内生细菌与植物形成一种特殊的互惠互利关系[19],其在促进农业生产和研发生物农药方面具有较大潜力,是修复盐胁迫作用的重要微生物资源[20]。目前,根瘤内生细菌不仅能与豆科植物形成共生固氮体系,在适宜条件下还可与玉米、水稻、小麦等非豆科草本植物形成联合内生作用,增强作物自身抗逆性,促进作物健康生长,减轻环境污染,降低种植成本,同时也可缓解土壤盐渍化程度[21]。本课题组前期大豆根瘤内生细菌人工气候室接种小麦幼苗试验结果[22]表明,可改善盐胁迫环境下小麦幼苗生长及促进小麦植株生长。但是目前国内有关内生细菌对盐胁迫下小麦幼苗生长

影响研究仍较为少见。基于此,本试验拟选用周麦 18 为试验材料,大豆根瘤内生细菌为研究菌株,检测小麦体内 Pro 和 MDA 含量变化,探讨接种大豆根瘤内生细菌对不同盐浓度胁迫下小麦幼苗生长的影响,以期为提高小麦耐盐性提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

小麦品种:周麦 18(周口市农业科学院殷贵鸿博士馈赠);根瘤内生细菌 252 和 254 分离自课题组(U1204301)在 2012 年 7—8 月采集自河南省周口市西华县址坊镇吴店村大豆根瘤样品,对获得的内生细菌进行分离纯化、筛选、镜检,斜面短期保藏于 4℃冰箱。

1.2 内生菌的活化和菌悬液制备

将菌株 252 和 254 接种至牛肉膏蛋白胨琼脂培养基[23]斜面上,置于 30℃恒温培养 3d。将内生菌接种在 LB 液体培养基,置于 130 r/min 30℃震荡培养 3 d,10000 r/min 离心 10 min,收集菌体并使用无菌水稀释制成菌悬液,调整 OD_{600}值≈1,4℃低温保存备用。

1.3 内生细菌 16S rDNA 测序及系统发育分析

采用 CTAB 法提取内生细菌基因组 DNA,以此为模板进行 16S rDNA 扩增[24],所用引物、扩增体系、反应条件见文献[17],扩增产物送北京奥科鼎盛生物科技有限公司测序,根据测序结果,获得序列提交 GenBank。使用 ClustalX 1.81 软件进行序列比对,采用 Bioedit 4.8.4 软件进行手工纠正,使用 TRENCONW 软件以 Neighbor-Joining 方法构建系统发育树,用 Bootstrap 重复 1000 次进行可信度评估,用 DNAMAN 6.0 软件进行序列相似性分析。

1.4 小麦种子处理和接种培养

试验于 2013 年 7 月—2015 年 8 月在实验室及人工气候室内进行。挑选籽粒饱满、完整有胚、无霉变的种子,用无水乙醇浸泡 15—20 s,置入 3%—5%NaClO 溶液消毒 3—5 min,再用无菌水冲洗 5—8 次。用无菌水、252 和 254 菌悬液分别浸泡小麦种子,置于恒温培养箱中培养。待小麦种子露白后播于装有灭菌蛭石的花盆中,每盆 60 粒,置于人工气候箱中(白天 28℃14 h,晚上 22℃10 h)培养。试验共设置 6 个处理,3 个重复,依据前期试验[22],盐胁迫浓度设置为 0、50、100、150、200、250 mmol/L。第 1 天,CK 中加 30 mL 无菌水,盐胁迫组、菌悬液组各加 30 mL 盐溶液;第 2 天,CK、盐胁迫组各加 30 mL 无菌水,菌悬液组接 30 mL 菌悬液;第 3 天,CK、盐胁迫组、菌悬液组分别加 30 mL 无菌水,以此 3d 为一个循环。

1.5 小麦脯氨酸含量测定

采用磺基水杨酸比色法[25]。待小麦幼苗长至第 7、14、21 天分别剪取小麦叶片,加入 3%磺基水杨酸提取,水浴 10 min,以 3000 r/min 离心 10 min。每个试管中加入上清,对照用蒸馏水代替,再向试管中加入 3%磺基水杨酸、冰醋酸和 2.5%酸性茚三酮,水浴显色 1 h,加入甲苯漩涡震荡,提取上清液中 Pro,静置分层取甲苯相,测定 OD_{520}值。绘制标准曲线,计算 Pro 含量。

1.6 丙二醛含量测定

采用硫代巴比妥酸比色法[25]。待小麦幼苗长至第 7、14、21 天分别采样,称取小麦叶片,加入石英砂和 10%三氯乙酸磨成匀浆状,加入三氯乙酸充分研磨,4000 r/min 离心 10 min,上清液为样品提取液。取出提取液放于试管中,对照用蒸馏水代替,加入 0.6% TBA 溶液混合均匀,水浴 15 min,冷却后分别测定 532 nm 和 450 nm 波长下 OD 值,计算出 MDA 含量。

1.7 数据处理

利用 SPSS 19. 0 软件对数据进行统计分析。采用双因素随机方差分析(two-way ANOVA)和最小显著差数法(LSD)分析不同盐浓度下接种内生细菌对 Pro、MDA 含量的影响,显著性水平设定为 $\alpha=0.05$。

2　结果与分析

2.1　菌株 16S rDNA 序列测定及系统发育地位

2 株菌 16S rDNA 序列片段大小均为 1500 bp,获得序列号分别为 KJ499776 和 KJ499777。在 NCBI 数据库中检索相似性高的模式株和参比菌株,构建系统发育树(图 1)和进行序列相似性分析。系统发育树整体分为两个主分支和一个边缘支(*Escherichia coli* U5/41^T)。主分支分别为 *Bacillus* 和 *Agrobacterium*,菌株 252 和模式菌株形成了分支 I,其中菌株 252 与 *Bacillus vallismortis* DSM11031^T(AB021198)位于同一系统发育分支,两者具有最大相似率,达 99.6%。菌株 254 和模式菌株形成了分支 II,其中菌株 254 和模式菌株 *Agrobacterium tumefaciens*IAM 12048^T(AB247615)位于同一系统发育分支 II,两者具有最大相似率,为 99.7%。因此,菌株 252 最相似菌株为死谷芽孢杆菌(*Bacillus vallismortis*),菌株 254 最相似菌株为根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)。

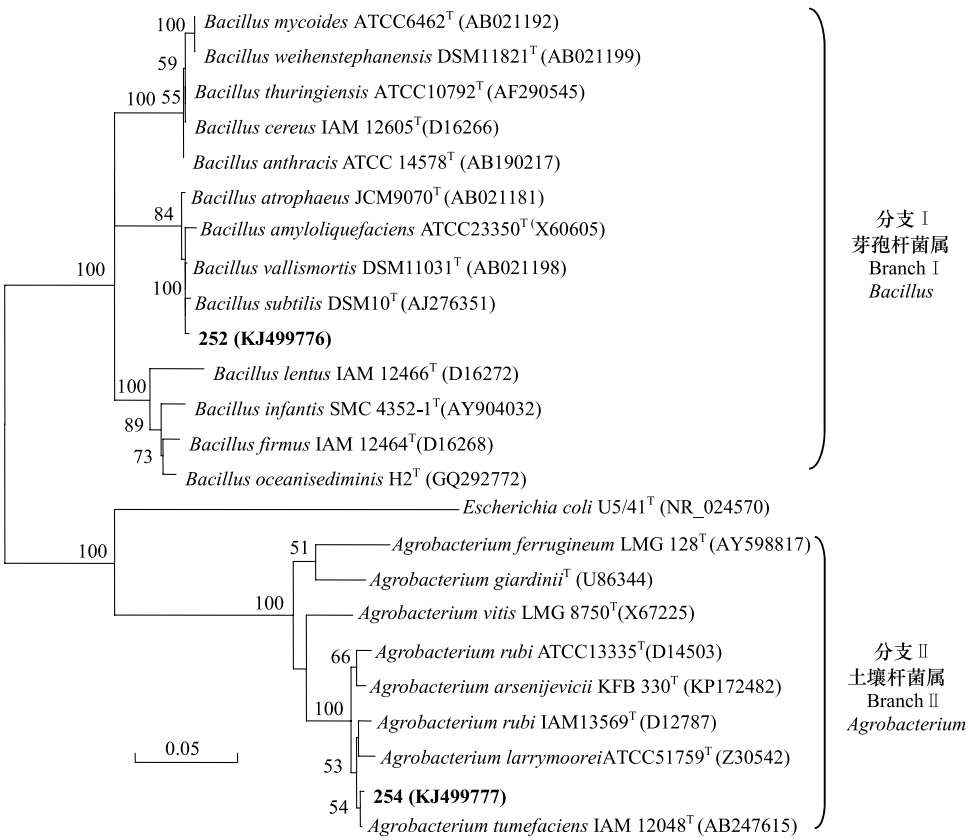


图 1　基于内生细菌 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig.1　Phylogenetic tree generated by the neighbor-joining method based on their 16S rDNA sequences of endophytic bacteria

括号中的数值表示在 GenBank 中的序列号,自举值(1000 次重复)大于 50%的在分支上显示,被测试菌株用黑体标出,标尺表示 0.05%的核苷酸替换

2.2　内生细菌 252、254 对小麦幼苗脯氨酸含量的影响

由图 2 可知,小麦生长 7 d 时,盐胁迫环境下,除盐浓度 150 mmol/L 和 250 mmol/L 时盐胁迫处理组 Pro 含量分别略低于对照组 2.42%和 4.14%以外,总体均高于对照组。在盐浓度 200 mmol/L 时,小麦幼苗体内 Pro 含量达到最高值,为 44.04 μg/g,显著高于对照组 33.67%。由此显示,盐胁迫处理下,NaCl 对小麦幼苗具有一定抑制能力。经内生细菌 252 接菌处理后,该组 Pro 含量除在 200 mmol/L 盐浓度外均高于对照组,其中在盐浓度为 100 mmol/L 时,252 接菌处理组 Pro 含量达到最高值,为 40.37 μg/g,显著高于对照组 22.53%,高

于盐胁迫组 19.14%。盐浓度为 150 mmol/L 时,252 接菌处理组与盐胁迫组相比,Pro 含量有最大程度升高,为 39.12 μg/g,高于对照组 18.73%,高于盐胁迫组 21.68%。当盐浓度升至 200 mmol/L 时,252 接菌处理组 Pro 含量为 39.57 μg/g,高于对照组 20.12%,但低于盐胁迫组 10.14%,此浓度下盐胁迫组 Pro 含量仅次于最高值;在盐浓度 250 mmol/L 时 Pro 含量最低,为 33.71 μg/g,比对照组高 2.33%,比盐胁迫组高 6.75%。总体趋势表明,除盐浓度 200 mmol/L 时 Pro 含量低于盐胁迫组外,252 接菌处理组同一盐浓度下 Pro 含量均高于对照组,其他情况下均明显高于盐胁迫组,说明大豆根瘤内生细菌 252 对盐胁迫小麦在一定程度上(盐浓度 50、100、150、250 mmol/L)具有修复作用。

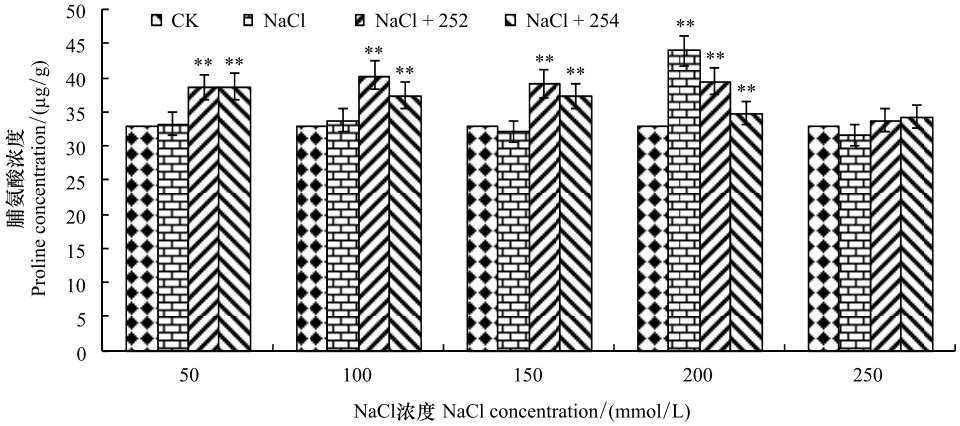


图 2 接种内生细菌 252、254 小麦生长 7d 时植株脯氨酸含量

Fig.2 Proline content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252,254 in the 7th day

图中星号 * * 表示显著差异, * 表示存在差异

盐胁迫处理下,当盐浓度为 200 mmol/L 时,Pro 含量为 44.04 μg/g,显著高于其他盐胁迫组。在 250 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量最低,为 31.58 μg/g,较 200 mmol/L 盐浓度下有大幅度下降。经内生细菌 254 处理后,在盐浓度 50 mmol/L 时,接菌 254 处理组对盐胁迫小麦修复作用最明显,Pro 含量达到最高值,为 38.72 μg/g,高于对照组 17.53%,高于盐胁迫组 16.32%。随着盐浓度升高,接种菌株 254 处理组与对照组相比,修复程度呈现下降趋势。当盐浓度升至 250 mmol/L 时,接菌处理组 Pro 含量最低,为 34.25 μg/g,仅高于对照组 3.9713%,高于盐胁迫组 8.47%。当盐胁迫组在 200 mmol/L 盐浓度时 Pro 含量达到最高值情况下,接种菌株 254 处理组 Pro 含量明显低于盐胁迫组 21.06%,说明此浓度下内生细菌 254 对盐胁迫小麦不具有修复作用。结果表明,在小麦幼苗生长第 7 天,内生细菌在一定盐浓度下(盐浓度 50、100、150、250 mmol/L)对盐胁迫小麦具有明显修复作用。

由图 3 可知,生长 14 d 时,对照组 Pro 含量为 70.86 μg/g,较 7 d 时 Pro 含量(39.72 μg/g)有明显升高。盐胁迫组 Pro 含量除盐浓度为 150 mmol/L 时外总体均低于对照组,与 7 d 时情况相反。盐浓度为 150 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量升至最高,为 119.50 μg/g,高于对照组 83.63%。经接种内生菌 252 处理后,Pro 含量均高于对照组,除盐浓度在 150 mmol/L 下 Pro 含量稍低于盐胁迫组 6.55%外,其余盐浓度下接菌 252 处理组与盐胁迫组相比较,Pro 含量均显著升高($P<0.05$)。在盐浓度 100 mmol/L 时,接菌 252 处理组 Pro 含量最低,为 99.73 μg/g,高于对照组 90.23%,高于盐胁迫组 73.46%。当盐浓度达到 200 mmol/L 时,252 接菌处理组 Pro 含量高达 140.54 μg/g,高于对照组 98.33%,高于盐胁迫组 133.48%。随着培养时间延长,对照组、盐胁迫组、252 接菌处理组 Pro 含量均呈现上升趋势,且接菌 252 处理组在盐浓度 200 mmol/L 时明显高于盐胁迫组。结果表明,内生细菌 252 在一定盐浓度下(盐浓度 50 mmol/L、100 mmol/L、200 mmol/L、250 mmol/L)对盐胁迫小麦具有显著修复作用。

小麦幼苗生长 14 d 时,在盐浓度 50、200、250 mmol/L 下,接种菌株 254 处理组 Pro 含量均高于盐胁迫组,

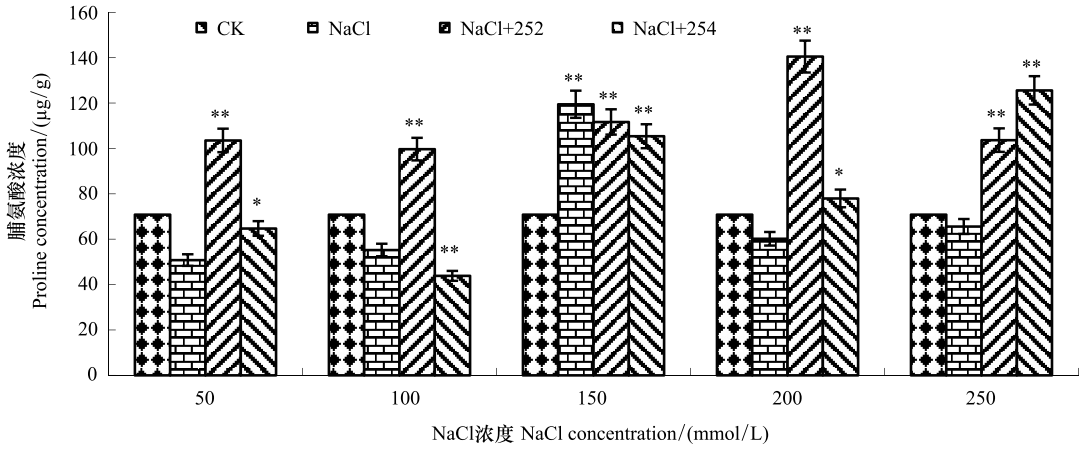


图 3　接种内生细菌 252、254 小麦生长 14d 时植株脯氨酸含量

Fig.3　Proline content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252, 254 in the 14th day

其中在 250 mmol/L 时 Pro 含量最高,为 125.61 μg/g,比对照组高 77.26%,比盐胁迫组高 91.48%,修复作用最为显著。在盐浓度为 50 mml/L 和 200 mmol/L 时,接种 254 处理组 Pro 含量分别高于盐胁迫组 27.43%和 29.53%。盐浓度为 100 mmol/L 和 150 mmol/L 时,接种 254 处理组 Pro 含量均低于盐胁迫组。结果说明内生细菌 254 只有在特定盐浓度范围内(盐浓度 50、200、250 mmol/L)对盐胁迫小麦才具有修复作用,且在高盐浓度为 250 mmol/L 时修复作用最明显。

由图 4 可知,培养 21 d 时,对照组 Pro 含量降至 40.57 μg/g,盐胁迫组 Pro 含量均高于对照组,随着培养时间增长,盐胁迫组和接菌 252 处理组 Pro 含量均呈先升后降趋势,且盐胁迫组随盐浓度升高,Pro 含量呈逐渐升高趋势。盐浓度为 50 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量最低,为 43.27 μg/g,高于对照组 6.66%。当盐浓度升至 250 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量达到最高值,为 113.09 μg/g,高于对照组 178.76%。经内生细菌 252 处理后,小麦 Pro 含量随盐浓度升高呈现先升后降趋势,其中,在 200 mmol/L 时,接种 252 处理组 Pro 含量最高,为 99.73 μg/g,比对照组高 145.81%,比盐胁迫组高 83.92%。当盐浓度升高至 250 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量最高,而 252 接菌处理组 Pro 含量降为 54.65 μg/g,高于对照组 34.70%,低于盐胁迫组 51.68%。结果表明内生菌 252 能在一定盐浓度范围下(盐浓度 100、150、200 mmol/L)对盐胁迫小麦有不同程度修复作用。

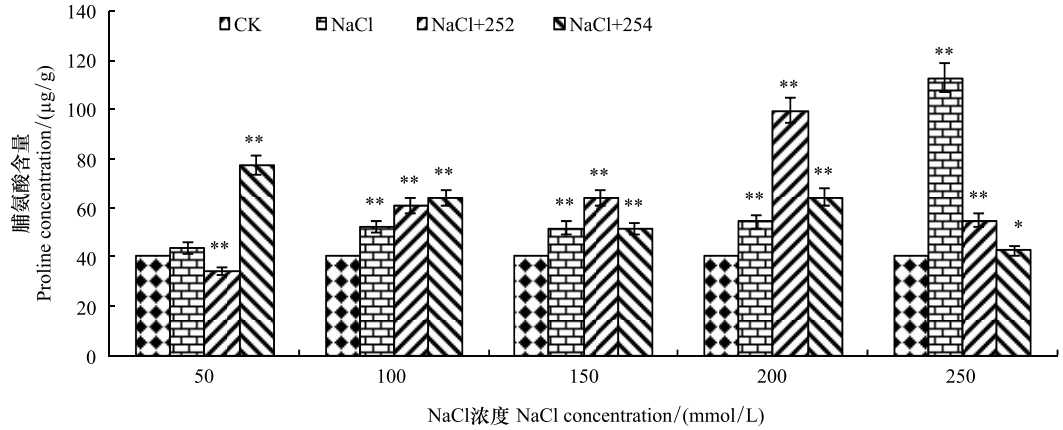


图 4　接种内生细菌 252、254 小麦生长 21d 时植株脯氨酸含量

Fig.4　Proline content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252, 254 in the 21th day

小麦幼苗培养至 21 d 时,盐胁迫组 Pro 含量随盐浓度升高呈上升趋势,盐浓度 250 mmol/L 下,Pro 含量

较 200 mmol/L 上升,最高值为 113.10 μg/g,高于对照组 178.76%。而接菌 254 处理组在 250 mmol/L 时 Pro 含量降至最低,为 42.42 μg/g,明显低于盐胁迫组 64.29%,仅高于对照组 4.56%。由此说明在高盐浓度 250 mmol/L 下,当盐胁迫组 Pro 含量达到最高值时,内生菌 254 修复作用有限,对盐胁迫小麦失去修复能力。在低盐环境 50 mmol/L 下,接菌 254 处理组 Pro 含量最高,为 77.26 μg/g,高于对照组 90.43%,高于盐胁迫组 78.54%,此浓度下,内生菌 254 对盐胁迫组小麦修复作用达到最佳。随盐浓度升高,接种 254 处理组对盐胁迫小麦修复作用总体上呈下降趋势。结果表明,内生细菌 254 在低盐环境下(盐浓度 50、100、200 mmol/L)对小麦具有显著修复作用,在高盐环境下(盐浓度 250 mmol/L),对盐胁迫小麦生长呈现明显抑制作用。

2.3 内生细菌 252、254 对小麦幼苗体内丙二醛含量的影响

由图 5 可知,培养第 7 天时,对照组 MDA 含量为 1.12 μmol/L,盐胁迫组 MDA 含量均低于对照组,随盐浓度升高,MDA 含量总体上呈下降趋势。在盐浓度为 50 mmol/L 时,盐胁迫组 MDA 含量最高,为 0.48 μmol/L,低于对照组 56.97%。当盐浓度为 250 mmol/L 时,盐胁迫组 MDA 含量降至最低,为 0.39 μmol/L,低于对照组 65.20%。由此表明,在盐胁迫下小麦对于盐分具有一定程度抵抗能力。经内生细菌 252 处理后,除盐浓度 100 μmol/L 和 150 μmol/L 时,接菌 252 处理组 MDA 含量分别略高于盐胁迫组 11.25%和 1.90%外,总体上接菌处理组均低于盐胁迫组 MDA 水平。在盐浓度为 250 mmol/L 时,接菌 252 处理组较其他盐浓度下 MDA 含量达到最低,为 0.27 μmol/L,低于对照组 76.01%,低于盐胁迫组 31.05%,修复作用最为显著。结果表明内生细菌 252 对盐胁迫下小麦在一定盐浓度下(盐浓度 50、200、250 mmol/L)具有修复作用。

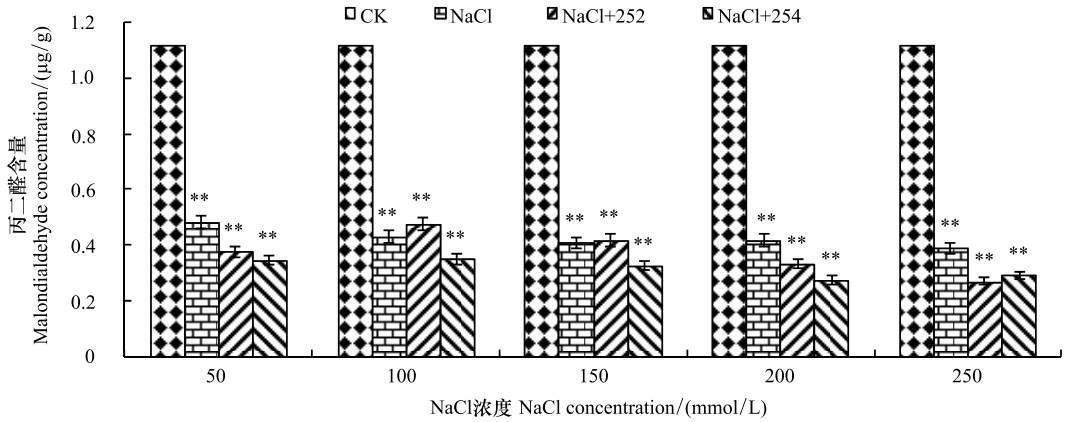


图 5 接种内生细菌 252、254 小麦生长 7d 时植株丙二醛含量

Fig.5 MDA content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252, 254 in the 7th day

小麦长至 7d,盐胁迫组 MDA 含量均低于对照组,接菌 254 处理组均低于盐胁迫组。在盐浓度 100 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量最高,为 0.35 μmol/L,低于对照组 68.99%,低于盐胁迫组 18.87%。在盐浓度为 200 mmol/L 时,接菌处理组 MDA 含量最低,为 0.27 μmol/L,低于对照组 75.66%,低于盐胁迫组 34.35%。随盐浓度升高,接菌处理组 MDA 含量总体保持稳定。说明内生细菌 254 在一定程度上对盐胁迫小麦具有明显稳定修复能力。

由图 6 可知,生长 14 d 时,对照组小麦幼苗体内 MDA 含量为 0.18 μmol/L,较第 7 天 MDA 含量有较大程度降低。盐胁迫组 MDA 含量总体上均高于对照组,在盐浓度 50 mmol/L 时,盐胁迫组 MDA 含量最高,为 1.09 μmol/L,高于对照组 513.15%。接种内生细菌 252 后,在盐浓度 50 mmol/L 时,接菌 252 处理组 MDA 含量达到最低,为 0.19 μmol/L,明显低于盐胁迫组 82.52%。盐浓度为 150 mmol/L 和 200 mmol/L 时,接菌 252 处理组 MDA 含量分别低于盐胁迫组 8.65%和 2.01%。盐浓度 100 mmol/L 和 250 mmol/L 下,接菌处理组 MDA 含量分别高于盐胁迫组 78.63%和 35.75%。说明内生细菌 252 对盐胁迫小麦在 100 mmol/L 和 250 mmol/L 时具有显著抑制作用,在盐浓度 50、150、200 mmol/L 时具有修复作用。

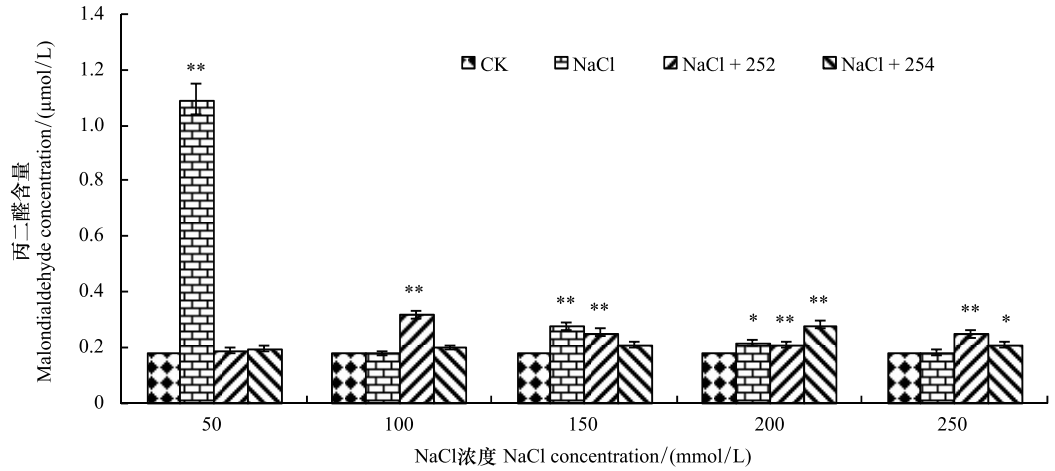


图 6　接种内生细菌 252、254 小麦生长 14d 时植株丙二醛含量

Fig.6　MDA content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252, 254 in the 14th day

小麦培养 14 d 时,接菌 254 处理组 MDA 含量均高于对照组。在盐浓度为 50 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量最低,为 0.19 μmol/L,低于对照组 9.02%,低于盐胁迫组 82.22%,修复作用最明显。在盐浓度 150 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量低于盐胁迫组 25.24%。说明在盐浓度 50 mmol/L 和 150 mmol/L 时,内生菌具有明显修复作用。在盐浓度为 100 mmol/L、200 mmol/L、250 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量均高于盐胁迫组,其中在盐浓度 200 mmol/L 时,接菌处理组 MDA 含量最高,为 0.28 μmol/L,高于对照组 56.94%,高于盐胁迫组 30.63%,说明大豆内生细菌在 200 mmol/L 盐浓度下对小麦生长具有明显抑制作用。

由图 7 可知,生长 21 d 时,对照组 MDA 含量为 0.52 μmol/L。随培养时间延长,对照组 MDA 总体趋势为先降后升,与 Pro 含量变化趋势相反。随盐浓度升高,盐胁迫组 MDA 含量均低于对照组,接种菌株 252 处理组均低于盐胁迫组。在盐浓度为 50 mmol/L 时,接菌 252 处理组 MDA 含量最高,为 0.25 μmol/L,低于对照组 23.57%,低于盐胁迫组 32.25%。在盐浓度为 200 mmol/L 时,252 接菌处理组 MDA 含量最低,为 0.09 μmol/L,低于对照组 82.93%,低于盐胁迫组 81.50%,修复作用最明显。结果表明,内生菌 252 在 21d 盐胁迫环境下培养均具有明显修复作用。

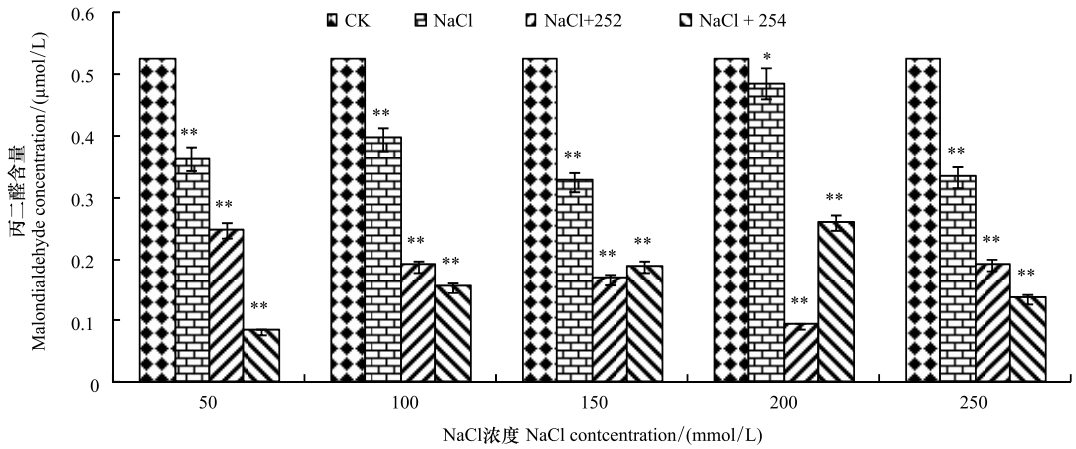


图 7　接种内生细菌 252、254 小麦生长 21d 时植株丙二醛含量

Fig.7　MDA content of wheat seedings inoculated with endophytic bacterium 252, 254 in the 21th day

经内生细菌 254 处理后,接菌处理组 MDA 含量均低于盐胁迫组,在盐浓度为 50 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量最低为 0.08 μmol/L,低于对照组 84.46%,低于盐胁迫组 77.47%。在盐浓度为 200 mmol/L 时,接菌 254 处理组 MDA 含量增至最高,达 0.26 μmol/L,低于对照组 50.98%,低于盐胁迫组 46.90%。结果表明,在小麦培养 21 d 时,接菌 254 处理组对盐胁迫小麦均具有明显修复作用,其中在 50 mmol/L 盐浓度时修复作用最显著。

3 讨论

3.1 接种内生细菌对小麦幼苗脯氨酸含量的影响

Pro 是一种植物体内蛋白质组成成分之一,在植物体内分布广泛并以游离状态存在。Pro 水合能力很强,在盐胁迫等逆境条件下可提高植株耐性和植物细胞液浓度,能保持渗透平衡,防止细胞因过度缺水而变形[1,26];另外,可清除植物体内活性氧,在一定程度上保持膜稳定性[27]。研究[28-29]表明,Pro 含量高低可作为衡量植物抵抗逆境能力强弱的指标。因此,小麦体内 Pro 含量高低作为衡量在盐胁迫环境下小麦的抗逆性强弱。本试验结果表明,随着小麦培养时间延长,盐胁迫组小麦体内 Pro 含量呈先升高后下降的趋势。在前期和中期,小麦在盐处理环境下生长,体内 Pro 含量逐渐积累,调节小麦细胞质渗透压,稳定了生物大分子的结构,从而提高了小麦抗逆性,保证代谢正常进行。在后期,小麦逐渐对盐环境产生适应性,体内 Pro 含量较中期有一定程度下降。随着盐浓度升高,小麦体内 Pro 含量先升高后下降趋势,但不同时期有不同适应性,说明小麦在不同生长期对盐胁迫的抵抗能力不同,每个时期小麦对盐的抵抗能力都有一个阈值,超过小麦体内负荷,小麦的抵抗能力减弱,说明调节能力有限。接种内生细菌 252 和 254 后,提高了小麦体内 Pro 含量,清除细胞内活性氧,维持细胞形态,提高小麦抵抗盐胁迫能力,有利于提高小麦存活率,促进了小麦生长。尤其在第 14 天,内生菌 252 和 254 分别在盐浓度为 200 mmol/L 和 250 mmol/L 时修复效果最显著,分别高于盐胁迫组 133.48%和 91.48%。Lastochkina 等[30]研究表明,内生细菌 *Bacillus subtilis*10-4 可产生 IAA 和铁载体,在 2% NaCl 盐胁迫下小麦幼苗 Pro 含量增加,盐胁迫下接种内生细菌 *B. subtilis*10-4,降低诱导产生 Pro 的积累,该结果与本试验结果相一致。由此表明内生菌 252 和 254 对盐胁迫小麦具有明显修复作用。

本研究用 NaCl 模拟盐胁迫环境,小麦幼苗 Pro 含量显著升高,尤其在生长第 21 天,盐胁迫组 Pro 含量均明显高于对照组,在盐浓度 250 mmol/L 时,盐胁迫组 Pro 含量高达 113.10 μg/g,高于对照组 178.76%。此结果与谷艳芳等[1]研究结论相一致,盐胁迫导致周麦 18 Pro 含量升高。吕秀云等[31]通过对藜研究发现,盐胁迫条件下 Pro 作为藜苗后期主要渗透调节物质,其含量显著增加,有力支持了本试验结果。接种内生细菌 252 和 254 后,小麦幼苗 Pro 含量与盐胁迫组相比有明显升高,这说明内生细菌处理能够减缓盐胁迫对小麦幼苗带来的伤害,达到提高小麦抵抗盐胁迫的能力及促生长作用。对内生菌系统发育结果分析表明,菌株 252 最相似菌株为死谷芽胞杆菌。分离自苦丁茶的内生细菌死谷芽胞杆菌 ZZ185,其发酵液中含有杆菌霉素 D(bacillomycin D),对小麦具有抗真菌活性[32]。菌株 254 最相似菌株为根癌土壤杆菌,携带重组质粒的根癌土壤杆菌 EHA105 转入宿主植物[33],在 200 mmol/L 盐胁迫下,Pro 含量明显高于非转基因烟草植株,提高了宿主植物耐盐性。赵龙飞等[34]从大豆根瘤中筛选产生 ACC 脱氨酶活性的内生细菌,其中菌株 DD165、DD132 可耐受 9% NaCl 盐浓度,接种试验表明内生细菌 DD132 对小麦幼苗生长具有明显促生长作用。刘华伟等[35]利用田菁茎瘤固氮根瘤菌“ORS571”与巴西固氮螺菌 “Yu62”浸种侵染小麦,研究聚乙二醇处理渗透胁迫下接菌小麦种子发芽状况,结果表明接种混合固氮菌后在渗透胁迫下小麦种子发芽率明显提高,小麦幼苗 Pro 含量明显升高,表明接种固氮细菌可提高小麦幼苗抗渗透胁迫能力。这些研究与本试验结论基本一致,盐胁迫使小麦幼苗 Pro 含量升高,经内生细菌 252 和 254 处理后,有效缓解盐胁迫对幼苗造成的伤害,其 Pro 含量进一步积累,对小麦幼苗具有显著修复作用。此外,前人[36]用氢氧化细菌 WMQ7 浸种盐胁迫小麦、大多数内生细菌可产生 Pro 重要渗透物质来提高植物耐盐性[37],均有力支撑了本试验结果。在小麦生长前中期,小麦膜质过氧化程度不高,生物膜结构还未受到损伤,可能对小麦正常代谢尚未造成严重影响,随培养时间延长,

到生长后期,麦苗逐渐出现枯萎,MDA 含量升高,启动了膜脂过氧化,导致膜损伤和破坏[38]。说明内生细菌 252 和 254 能缓解小麦过氧化程度,对盐胁迫下小麦生长具有显著修复能力,且随培养时间延长,修复能力越显著。具体机制还在进一步研究之中。

3.2　接种内生细菌对小麦幼苗丙二醛含量的影响

在小麦幼苗耐盐性研究中,逆境条件下 MDA 是膜脂过氧化的终产物[37],能在一定程度上反映细胞膜结构的完整性,与植物抗性有重要关联[39]。小麦生长 7 d,内生菌 252 处理的小麦在盐胁迫浓度为 50 mmol/L、200 mmol/L、250 mmol/L 时体内 MDA 含量均低于盐胁迫组,接种菌株 254 处理组在盐浓度为 50—250 mmol/L 范围内均表现修复作用。小麦生长 21d,菌株 252 和 254 处理组的 MDA 含量均低于盐胁迫组,特别是在盐浓度 200 mmol/L 时,内生细菌 252 修复作用最明显,MDA 含量低于盐胁迫组 81.50%;内生细菌 254 在盐浓度为 50 mmol/L 时修复作用最显著,其 MDA 含量低于盐胁迫组 77.47%。傅蕾等[40]研究表明,在不同盐浓度胁迫下,内生细菌 PP04 能够有效增加杂交狼尾草体内 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,减少膜脂过氧化产物 MDA 的积累,缓解盐环境对杂交狼尾草造成的氧化胁迫,增强其耐盐能力。Lastochkina 等[30]研究表明,内生细菌 *Bacillus subtilis*10-4 能够产生 IAA 和铁载体,在 2% NaCl 盐胁迫下对小麦生长有保护作用,盐胁迫下小麦幼苗 MDA 含量增加,盐胁迫下接种内生细菌 *B. subtilis*10-4 降低因胁迫诱导产生的 MDA,对小麦幼苗生长具有修复作用。这些结果与本结论基本一致。Mayak 等[41]研究推测其机制是在一定盐胁迫下,接种内生细菌可促进植物对矿质营养元素的吸收,改变植物体内离子平衡,增加植物对水分的吸收和利用能力,从而增强幼苗生长各项指标导致内生菌缓解盐胁迫能力受限。而本研究仅从内生细菌 252 和 254 对盐胁迫小麦在盐浓度为 50—250 mmol/L 范围内通过测定 Pro 和 MDA 含量进行了探索,至于盐胁迫下内生菌对小麦耐盐性的其他生理指标影响有待于进一步研究。

作物盐害导致农田土壤生物多样性和土壤肥效降低,严重影响作物的生长和代谢,具有抗盐潜能的生防微生物菌种有利于这一问题的解决[42]。与植物相关的多样化菌群,在植物生长和健康方面发挥着重要作用,进化基因促使其适应宿主植物,来自拟南芥、杨树、玉米作物根部细菌的基因组测序表明,与非植物根部相关细菌相比,其基因组编码较多的碳水化合物进行代谢,有利于在宿主植物内的定殖进化,也有助于植物相关微生物间的竞争[43]。幼苗时期是小麦生长的关键时期,如果该时期遭遇盐环境侵害,造成小麦体内水分缺失,严重危害小麦生长发育。本研究利用内生细菌接种盐胁迫下小麦幼苗,在一定程度上缓解盐胁迫对小麦的危害。Yoolong 等[44]研究结果支持了本结果,ACC 脱氨酶产生菌株 *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 在盐胁迫条件下接种泰国香稻,通过增加 Pro,减少乙烯、活性氧族和钠离子含量,增加了水稻的耐盐性。韩坤等[45]研究表明外源根瘤菌的固氮作用能够改善小麦生长,有力支持了根瘤内生菌调节其他植物生长并提高产量的可能性。此外,前人还对花生[46]、苜蓿[47]、黄瓜[48]、玉米[49]、番茄[50]等研究,内生细菌作为植物生长修复剂不仅能修复盐害,还能提高作物抗病和分解重金属能力,为实现盐胁迫下修复幼苗植株生长研究打下基础。

参考文献(References):

[1] 谷艳芳, 丁圣彦, 李婷婷, 王欣, 李俊娇, 张丽霞. 盐胁迫对冬小麦幼苗干物质分配和生理生态特性的影响. 生态学报, 2009, 29(2): 840-845.

[2] 刘晓华, 王敏琴, 夏光敏. TaCHP 耐盐转基因小麦新种质创制. 植物生理学报, 2013, 49(7): 671-681.

[3] 李金亭, 赵萍萍, 邱宗波, 张元昊, 王明梅, 毕真真, 张佩佩. 外源 H_2O_2对盐胁迫下小麦幼苗生理指标的影响. 西北植物学报, 2012, 32(9): 1796-1801.

[4] 郭伟, 王庆祥. 腐植酸浸种对盐碱胁迫下小麦幼苗抗氧化系统的影响. 应用生态学报, 2011, 22(10): 2539-2545.

[5] Safdarian M, Askari H, Shariati J V, Nematzadeh G. Transcriptional responses of wheat roots inoculated with *Arthrobacter nitroguajacolicus* to salt stress. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1792.

[6] Liu D G, Wang L J, Liu C L, Song X J, He S Z, Zhai H, Liu Q C. An *Ipomoea batatas* iron-sulfur cluster scaffold protein Gene, *IbNFU*1, is involved in salt tolerance. PLoS One, 2014, 9(4): e93935.

[7] Sapre S, Gontia-Mishra I, Tiwari S. *Klebsiella* sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*).

Microbiological Research, 2018, 206: 25-32.

[8] 蓝江林, 刘波, 陈璐, 肖荣凤, 史怀, 苏明星. 芭蕉属植物内生细菌磷脂脂肪酸(PLFA)生物标记特性研究. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2045-2055.

[9] 陈向东. 植物内生菌是有待深入开发的资源宝库. 微生物学通报, 2012, 39(2): 282.

[10] Compant S, Clément C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(5): 669-678.

[11] Zhao L F, Xu Y J, Lai X H. Antagonistic endophytic bacteria associated with nodules of soybean (*Glycine max* L.) and plant growth-promoting properties. Brazilian Journal of Microbiology, 2018, 49(2): 269-278.

[12] Fan L M, Ma Z Q, Liang J Q, Li H F, Wang E T, Wei G H. Characterization of a copper-resistant symbiotic bacterium isolated from *Medicago lupulina* growing in mine tailings. Bioresource Technology, 2011, 102(2): 703-709.

[13] 冯维维, 武美贤, 司雨婷, 邢珂, 秦盛, 蒋继宏, 彭学. 中华补血草内生与根际具 ACC 脱氨酶活性细菌的筛选及其生物多样性. 微生物学报, 2016, 56(4): 719-728.

[14] Gyogluu C, Jaiswal S K, Kyei-Boahen S, Dakora F D. Identification and distribution of microsymbionts associated with soybean nodulation in Mozambican soils. Systematic and Applied Microbiology, 2018, 41(5): 506-515.

[15] Krishnan R, Lang E, Midha S, Patil P B, Rameshkumar N. Isolation and characterization of a novel 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase producing plant growth promoting marine Gammaproteobacteria from crops grown in brackish environments. Proposal for *Pokkaliibacter plantistimulans* gen. nov., sp. nov., *Balneatrichaceae* fam. nov. in the order *Oceanospirillales* and an emended description of the genus *Balneatrix*. Systematic and Applied Microbiology, 2018, 41(6): 570-580.

[16] 聂刚, 陈卫民, 韦革宏. 神木地区耐旱灌木和草本豆科植物根瘤菌遗传多样性. 应用生态学报, 2014, 25(6): 1674-1680.

[17] 赵龙飞, 徐亚军, 曹冬建, 李源, 厉静杰, 吕佳萌, 朱自亿, 秦珊珊, 贺学礼. 溶磷性大豆根瘤内生菌的筛选、抗性及系统发育和促生. 生态学报, 2015, 35(13): 4425-4435.

[18] 刘杰, 汪恩涛, 陈文新. 豆科植物根瘤内生细菌的发现及其研究进展. 微生物学报, 2011, 51(8): 1001-1006.

[19] Farrar K, Bryant D, Cope-Selby N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(9): 1193-206.

[20] Ulrich D E M, Sevanto S, Ryan M, Albright M B N, Johansen R B, Dunbar J M. Plant-microbe interactions before drought influence plant physiological responses to subsequent severe drought. Scientific Reports, 2019, 9(1): 249.

[21] Meena V S, Meena S K, Verma J P, Kumar A, Aeron A, Mishra P K, Bisht J, Pattanayak A, Naveed M, Dotaniya M L. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. Ecological Engineering, 2017, 107: 8-32.

[22] 赵龙飞, 徐亚军, 赖心河, 常佳丽, 欧启凡, 孟嘉琦, 彭顶华. 内生细菌 252 和 254 对盐胁迫下小麦幼苗过氧化物酶和过氧化氢酶活性的影响. 应用生态学报, 2017, 28(9): 2984-2992.

[23] Pereg L, McMillan M. Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 80: 349-358.

[24] Zhao L F, Xu Y J, Sun R, Deng Z S, Yang W Q, Wei G H. Identification and characterization of the endophytic plant growth prompter *Bacillus cereus* strain MQ23 isolated from *Sophora alopecuroides* root nodules. Brazilian Journal of Microbiology, 2011, 42(2): 567-575.

[25] Diao Q N, Song Y J, Qi H Y. Exogenous spermidine enhances chilling tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings via involvement in polyamines metabolism and physiological parameter levels. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37(11): 230.

[26] 宋敏, 徐文竞, 彭向永, 孔繁华. 外源脯氨酸对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响. 应用生态学报, 2013, 24(1): 129-134.

[27] 周万海, 冯瑞章, 师尚礼, 寇江涛. NO 对盐胁迫下苜蓿根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应. 生态学报, 2015, 35(11): 3606-3614.

[28] 蒋雪梅, 戚文华, 肖娟, 胥晓, 陈坚. 盐胁迫下外源脯氨酸对银杏雌雄幼苗生理生化特性的影响. 植物生理学报, 2013, 49(6): 579-585.

[29] 邱念伟, 杨翠翠, 付文诚, 胡胜, 周峰. 高盐和高温胁迫下外源脯氨酸对 PSII 颗粒的保护作用. 植物生理学报, 2013, 49(6): 586-590.

[30] Lastochkina O, Pusenkova L, Yuldashev R, Babaev M, Garipova S, Blagova D, Khairullin R, Aliniaeifard S. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 121: 80-88.

[31] 吕秀云, 油天钰, 赵娟, 陈莎莎, 兰海燕. 盐胁迫下藜的形态结构与生理响应. 植物生理学报, 2012, 48(5): 477-484.

[32] Zhao Z Z, Wang Q S, Wang K M, Brian K, Liu C H, Gu Y C. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 *in vitro* and identification of its antifungal components. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 292-297.

[33] 朱天艺, 龚一富, 刘增美, 王何瑜. 转北美海蓬子胆碱单加氧酶基因(*cmo*)烟草的获得及耐盐性鉴定. 农业技术学报, 2015, 23(10): 1310-1317.

[34] 赵龙飞, 徐亚军, 常佳丽, 李敏, 张艳玲, 党永杰, 王梦思, 程亚稳, 张斌月. 具 ACC 脱氨酶活性大豆根瘤内生菌的筛选、抗性及促生作用. 微生物学报, 2016, 56(6): 1009-1021.

[35] 刘华伟, 林晓军, 孙超, 李强, 杨呼, 郭蔼光. 接种两种固氮菌增强小麦幼苗抗渗透胁迫及生长能力. 植物生态学报, 2013, 37(1): 70-79.

[36] 王楠, 王卫卫, 张洁, 郭欣. 盐胁迫对氢氧化细菌 WMQ7 浸种小麦萌发和生长的影响. 西北植物学报, 2011, 31(10): 2065-2070.

[37] Qin Y, Druzhinina I S, Pan X Y, Yuan Z L. Microbially Mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. Biotechnology Advances, 2016, 34(7): 1245-1259.

[38] 尤佳, 王文瑞, 卢金, 贾鹏翔, 缪建顺, 杨颖丽. 盐胁迫对盐生植物黄花补血草种子萌发和幼苗生长的影响. 生态学报, 2012, 32(12): 3825-3833.

[39] 江绪文, 李贺勤, 王建华. 盐胁迫下黄芩种子萌发及幼苗对外源抗坏血酸的生理响应. 植物生理学报, 2015, 51(2): 166-170.

[40] 傅蕾, 李霞, 高璐, 蒋建雄, 孙建中. 盐胁迫下泛菌属内生细菌对杂交狼尾草发芽及生理的影响. 草业科学, 2017, 34(10): 2099-2108.

[41] Mayak S, Tirosh T, Glick B R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42(6): 565-572.

[42] 孙建光, 胡海燕, 刘君, 陈倩, 高淼, 徐晶, 周义清. 农田环境中固氮菌的促生潜能与分布特点. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1532-1544.

[43] Levy A, Gonzalez I S, Mittelviefhaus M, Clingenpeel S, Paredes S H, Miao J M, Wang K R, Devescovi G, Stillman K, Monteiro F, Alvarez B R, Lundberg D S, Lu T Y, Lebeis S, Jin Z, McDonald M, Klein A P, Feltcher M E, Rio T G, Grant S R, Doty S L, Ley R E, Zhao B Y, Venturi V, Pelletier D A, Vorholt J A, Tringe S G, Woyke T, Dang J L. Genomic features of bacterial adaptation to plants. Nature Genetics, 2018, 50(1): 138-150.

[44] Yoolong S, Kruasuwan W, Thanh Phm H T, Jaemsaeng R, Jantasuriyarat C, Thamchaipenet A. Modulation of salt tolerance in thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML105) by *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 expressing ACC deaminase. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1275.

[45] 韩坤, 田曾元, 刘珂, 张佳夜, 常银银, 郭予琦. 具有 ACC 脱氨酶活性的海滨锦葵(*Kosteletzkya pentacarpos*)内生细菌对小麦耐盐性的影响. 植物生理学报, 2015, 51(2): 212-220.

[46] Wang T, Liu M Q, Li H X. Inoculation of phosphate-solubilizing bacteria *Bacillus thuringiensis* B1 increases available phosphorus and growth of peanut in acidic soil. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 2014, 64(3): 252-259.

[47] Wang X F, Haruta S, Wang P, Ishii M, Igarashi Y, Cui Z J. Diversity of a stable enrichment culture which is useful for silage inoculant and its succession in alfalfa silage. FEMS Microbiology Ecology, 2006, 57(1): 106-115.

[48] Lee S W, Lee S H, Balaraju K, Park K S, Nam K W, Park J W, Park K. Growth promotion and induced disease suppression of four vegetable crops by a selected plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus subtilis* 21-1 under two different soil conditions. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(6): 1353-1362.

[49] Piromyou P, Buranabanyat B, Tantasawat P, Tittabutr P, Boonkerd N, Teaumroong N. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(1): 44-54.

[50] Mehta P, Walia A, Kulshrestha S, Chauhan A, Shirkot C K. Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. Journal of Basic Microbiology, 2015, 55(1): 33-44.