

植物根围促生细菌菌剂增强玉米干旱耐受性研究

王超^{1,2}, 李刚², 谢越盛¹, 高彦林¹, 郭坚华¹, 许泉¹

(1. 南京农业大学, 江苏 南京 210095; 2. 环境保护部南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042)

摘要: 选用植物根围促生细菌(PGPR)菌剂 BBS 处理玉米幼苗, 研究干旱胁迫下玉米幼苗叶片相关生理特性及基因表达差异。结果表明, 干旱胁迫 15 d 后, BBS 处理组玉米幼苗的萎蔫程度显著低于对照组; 处理组植株叶片 MDA 含量仅为对照组的 74.35%, 叶片脯氨酸和可溶性糖含量分别是对照组的 3.39 倍和 1.07 倍; 处理组植株叶片 *ZmP5CS1* 的表达水平及 SOD 活性均显著高于对照组; BBS 处理组植株叶片在干旱胁迫过程中一直保持较低的 H₂O₂ 含量。研究得出, BBS 处理能够有效减缓干旱胁迫对玉米幼苗造成的伤害, 进而加速正常浇水后的恢复。处理组植株叶片 *NCED1* 和 *ZmDREB2.7* 的高水平表达也表明干旱胁迫下玉米幼苗与 BBS 的互作过程可能有依赖 ABA 信号途径及不依赖 ABA 信号途径的共同参与。

关键词: 玉米; 干旱耐受性; 植物根围促生细菌; 脱落酸

中图分类号: S513 **文献标志码:** A

Enhanced drought tolerance in maize conferred by a consortium of plant growth-promoting rhizobacterium strains

WANG Chao^{1,2}, LI Gang², XIE Yue-sheng¹, GAO Yan-lin¹, GUO Jian-hua¹, XU Quan¹

(1. Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China;

2. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection of PR China, Nanjing, Jiangsu 210042, China)

Abstract: A consortium of plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) strains BBS was demonstrated to enhance tolerance to drought stress in plants. Here, under drought stress, physiological characteristics and transcription of stress-related genes in leaves of maize plants treated with BBS were investigated. After withholding watering for 15 days, BBS-treated maize seedlings had substantially lighter wilt symptoms than control plants. In relation to the control, BBS treatment decreased the leaf monodehydroascorbate (MDA) content by 25.65%, and increased the leaf proline and soluble sugars content by 3.39-fold and 7.28%, respectively. It activated significantly higher transcription of *ZmP5CS1* gene, and significantly enhanced the activity of superoxide dismutase (SOD), a major antioxidant enzyme. Additionally, BBS inoculated plants had significantly lower leaf H₂O₂ content during drought stress than the control plants. Consequently, BBS efficiently extenuated the drought-induced injury in maize seedlings and facilitated post-drought recovery. Moreover, the stimulated expression of *NCED1* and *ZmDREB2.7* indicated the involvement of ABA-dependent and ABA-independent signaling pathways in BBS-maize interaction under water deficit.

Keywords: maize; drought tolerance; plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR); abscisic acid (ABA)

干旱是限制作物生长和发育的主要环境因子之一。世界上每年因水分短缺和干旱造成的农作物产量损失超过 100 亿美元^[1], 而全球变暖正在加剧干旱的发生频率和强度, 将进一步加重农作物产量损失的不良现状。作为全球第三大粮食作物, 玉米在提供食物、饲料、药物制剂以及工业原材料等方面具

有重要价值^[2]。玉米在生长发育过程中对干旱胁迫异常敏感, 提高其干旱耐受性日益引起世界性关注。

除传统农业管理措施外, 诸多现代生物科技手段逐渐被用于提高农作物的干旱耐受性, 比如杂交育种、培育耐旱转基因植物等基因工程方法。然而, 干旱耐受性的遗传复杂性使得耐旱品种培育异常艰

收稿日期: 2016-10-20 修回日期: 2016-12-07
基金项目: 江苏省科技厅产学研合作前瞻性项目“防治蔬菜花叶病毒的广谱、高效生物农药创制及关键技术研究”(BY2014128-05); 国家重大科技专项项目“东江上游典型集水区水环境风险控制技术集成与综合示范”(2014ZX07206001)
作者简介: 王超(1989—), 男, 山东费县人, 助理研究员, 主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: wcofrecc@126.com。
通信作者: 许泉(1966—), 男, 江苏南通人, 副研究员, 主要从事植物病理学研究。E-mail: xuquan@njau.edu.cn。

难,并且转基因作物在全球大部分地区很难被接受^[3],同时,增强植物干旱耐受性化学物质的应用会形成残留并污染环境。植物根围促生细菌(PGPR)能够定殖在植物根围土壤或根内,从而促进植物生长,增加作物产量^[4]。PGPR 能适应复杂的环境条件,降低不良环境因子对植物造成的伤害,诸多研究发现 PGPR 能提高拟南芥、玉米、小麦、绿豆、甘蔗等植物的干旱耐受性^[5-10]。因此,在当前干旱和水分短缺日益严重的情况下,PGPR 是改善农作物水分利用率、提高作物产量的一种潜在高效手段。

植物在进化过程中形成了一系列复杂的生理学、细胞学以及分子学机制来适应和应对水分短缺。干旱导致植株体内大量累积活性氧从而形成氧化胁迫,植物形成了酶类以及非酶类抗氧化防卫系统^[11]处理氧化胁迫。同时,植物处于干旱环境中常因水分代谢不平衡遭受渗透胁迫,积累渗透保护物质(主要是可溶性糖类和脯氨酸)则是植物应对渗透胁迫的主要机制^[12]。此外,植物干旱耐受性机制常依赖于复杂的分子信号网络,最常见的是依赖 ABA 信号途径^[13]。关于拟南芥应对非生物胁迫的研究发现,依赖 ABA 信号途径和不依赖 ABA 信号途径是控制胁迫相关基因表达的两大主要信号途径^[2]。另有研究表明,DREBs 是依赖 ABA 信号途径中控制胁迫相关基因表达的主要转录因子^[14]。对于玉米的研究发现,*ZmDREB2.7* 基因与植株干旱耐受性密切相关^[2]。

PGPR 提高植物干旱耐受性涉及诸多机制,一些 PGPR 会影响植物激素含量或激素信号反应,比如分泌 ACC 脱氨酶降低乙烯含量^[15]、干扰细胞分裂素-脱落酸平衡^[16]以及干涉水杨酸信号通路^[17]等;一些 PGPR 提高植物抗氧化酶类活性来减轻干旱引起的氧化损伤^[18];有些 PGPR 根围定殖能够激发小麦幼苗减少胁迫性挥发物质的释放从而提高干旱环境下的存活率^[19];PGPR 菌株 *Phyllobacterium brassicacearum* STM196 甚至推迟拟南芥的生殖生长来提高其耐干旱能力^[8]。前期研究发现生防细菌 AR156、SM21 及 XY21 能够防治多种植物病害^[20-25],PGPR 菌剂 BBS 对干旱胁迫下黄瓜的生长也会产生有益影响^[26],为此,本试验探讨 BBS 是否能够增强玉米幼苗的干旱耐受性,并试图从细胞水平和分子水平分别阐释 BBS 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细菌菌株与培养条件

蜡质芽胞杆菌 (*Bacillus cereus*) AR156(菌株保藏

编号:CGMCC No.1929)从江苏省南京市下马坊菜园土壤中分离获得,枯草芽胞杆菌 (*B. subtilis*) SM21 (菌株保藏编号:CGMCC No.2058)和沙雷氏菌 (*Serratia* sp.) XY21 (菌株保藏编号:CGMCC No.2059)从江苏省镇江市森林土壤中分离获得,并鉴定保存。LB(Luria-Bertani)培养基(1 L):胰蛋白胨 10 g,酵母提取物 5 g,NaCl 10 g,补足水至 1 L,用 1 M NaOH 调节 pH 值至 7.0~7.2,固体培养基在以上成分基础上加入 15 g 琼脂粉,分装后 1×10^5 Pa 灭菌 20 min,备用。不添加琼脂粉即得 LB 培养液。取保存于-70℃超低温冰箱中的生防菌菌株 AR156、SM21 和 XY21 划线培养于 LB 平板培养基上。在 28℃下培养 24 h 后转接于 LB 培养液中,28℃,200 r·min⁻¹,培养 24 h 成种子液。以 1:100(体积比)的比率在 LB 培养液中扩繁。28℃,200 r·min⁻¹,扩繁 24 h 后所得菌液在 1.818×10^8 CFU·mL⁻¹后以 1:1:1(体积比)混合即得 BBS 菌剂。

1.2 植物生长条件

玉米(苏玉 19)种子经表面消毒(70%乙醇浸泡 3 min,然后用 2%次氯酸钠溶液浸泡 5 min,最后无菌水浸洗 3 次,每次 1 min)后放在湿润滤纸上置于 28℃,黑暗培养催芽约 3 d,萌芽的种子播种于无菌营养土(高温灭菌处理,组分为东北黑土和蛭石,二者以 3:1 体积比均匀混合);东北黑土的理化性质:有机质含量 34.87 ± 1.56 g·kg⁻¹,全氮含量 84.33 ± 10.19 mg·kg⁻¹,全磷含量 4.13 ± 0.47 mg·kg⁻¹,全钾含量 529.67 ± 39.11 mg·kg⁻¹,pH 值 6.64 ± 0.08 中育苗,温度 25℃~28℃,光照强度 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时间为 14 h。播种约 17 d(三叶期)后进行移栽,移植到塑料盆钵(圆筒状,直径 12 cm,高 10 cm;装有 300 g 无菌营养土)中,每盆钵移栽 6 棵同等大小的玉米幼苗。移栽后继续培养,干旱胁迫前每盆钵浇等量无菌水保持恰当的土壤湿度(16%)。

1.3 试验设计

移栽当天进行 BBS 菌剂处理(0 dpi),每株幼苗根部浇灌 10 mL 菌剂,对照组以等量无菌水代替。每个处理组 24 株幼苗,三个重复,在温室中按照完全随机区组设计摆放。菌剂处理 5 d 后进行断水干旱(5 dpi),干旱胁迫持续 15 d(20 dpi)。干旱胁迫后正常浇水,观察玉米幼苗的恢复生长情况。各项生理生化指标及基因表达分别于 0、5、10、15 dpi 和 20 dpi 取叶片样品检测。试验设计时间模式如图 2 (A)。

1.4 玉米叶片生理生化指标测定

于 0、5、10、15 dpi 和 20 dpi 取对照组和处理组玉米幼苗相同叶位叶片进行 H₂O₂ 含量以及抗氧化酶类活性的测定,于 BBS 处理后第 20 天取样进行 MDA、可溶性糖、脯氨酸含量的测定。准确称取不同处理的玉米叶片,剪碎,冰上研磨作为提取液,H₂O₂ 含量测定用试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行,测定结果以 mM·g⁻¹protein 表示;SOD、POD 和 CAT 活性测定用试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行,测定结果以 U·mg⁻¹protein 表示;MDA、可溶性糖、脯氨酸含量测定参照 Wang 等^[27]的方法进行。

1.5 Real-time PCR 分析

于 0、5、10、15 dpi 和 20 dpi 用 Trizol 试剂(Invitrogen)提取对照组及处理组玉米叶片的总 RNA,反转录为 cDNA,以适量的 cDNA 为模板进行荧光定量 PCR 反应(所用引物如表 1 所示)。荧光染料 SYBR Green 及参比染料 ROX Reference Dye 购自 Invitrogen 公司。在荧光定量 PCR 仪 ABI 7500 上分析测定基因(*ZmP5CS1*, *CAT1*, *NCED1*, *ZmDREB2.7*)的表达情况。以真核生物内保守表达的 β -actin 作为对照,采用 $\Delta\Delta_{CT}$ 方法^[28]进行试验数据处理,每个处理

重复三次。

表 1 PCR 扩增所用的引物序列
Table 1 Primers designed for transcript expression analysis of chosen genes

基因 Genes	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
<i>ZmP5CS1</i>	ACTGCAATGTCCACTTATCC	TAACCTAGACTAGACACAGC
<i>CAT1</i>	CTAACAGGCTGTCTGAGAAGTG	TGTCAGTGGCTCAACCCATC
<i>NCED1</i>	AGTTGTGTGCACCCAGTCCAG	CACGCACCGATAGCCACA
<i>ZmDREB2.7</i>	TTGAATTTCATGGATCGGGTGCCG	TCACTGCAGGTTTAGCGGAGC
β -actin	GATTCTCTGGGATTGCCGAT	TCTGCTGCTGAAAAGTGCTGAG

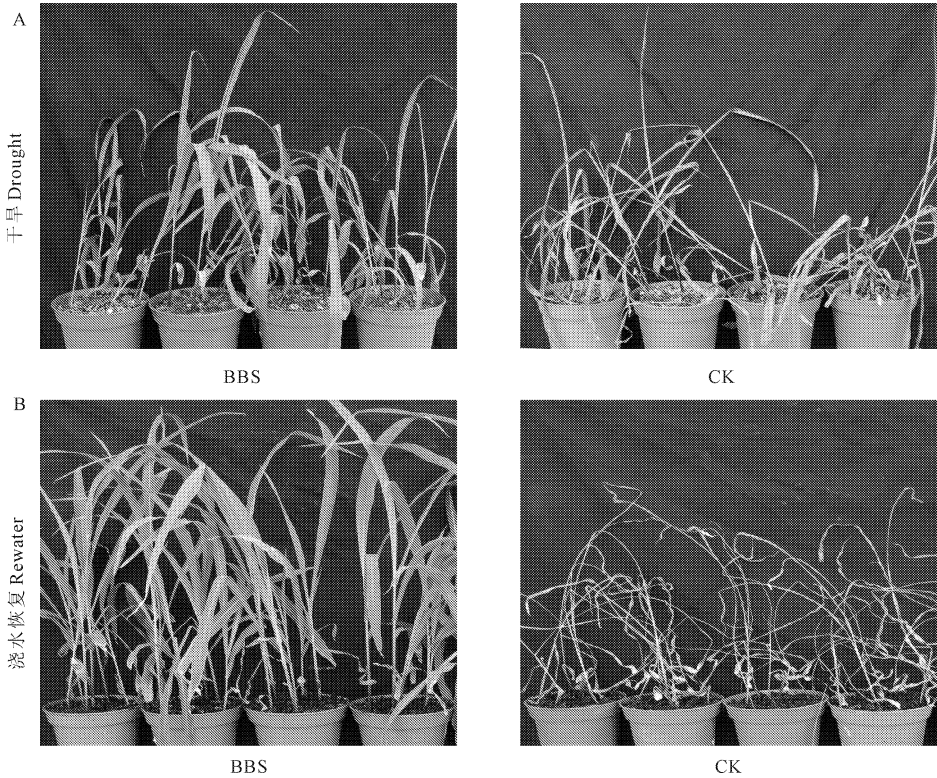
1.6 数据分析

数据由 Microsoft Excel 2007 统计分析,显著水平由 DPS v 7.05 获得。

2 结果与分析

2.1 BBS 增强了玉米幼苗的干旱耐受性

断水干旱胁迫 15 d 后(20 dpi),BBS 处理组玉米幼苗叶片出现轻微萎蔫和皱缩(早晨和晚上能恢复正常状态),而对照组植株叶片严重萎蔫、皱缩,早晚不能恢复正常状态(图 1A)。浇水进行恢复生长,6 d 后处理组植株恢复正常生长,而对照组植株全部死亡(图 1B)。



注: BBS, 经 BBS 处理的玉米幼苗; CK, 对照组植株; A, 玉米幼苗断水干旱 15 d(20 dpi); B, 植株经干旱胁迫后浇水恢复 6 d。
Note: Seedlings of BBS-treated (BBS) and control (CK) plants were withheld for 15 days (20 dpi, A), then re-watered and recovered for 6 days (B).

图 1 BBS 增强玉米幼苗干旱耐受性

Fig.1 BBS enhances drought tolerance in maize seedlings

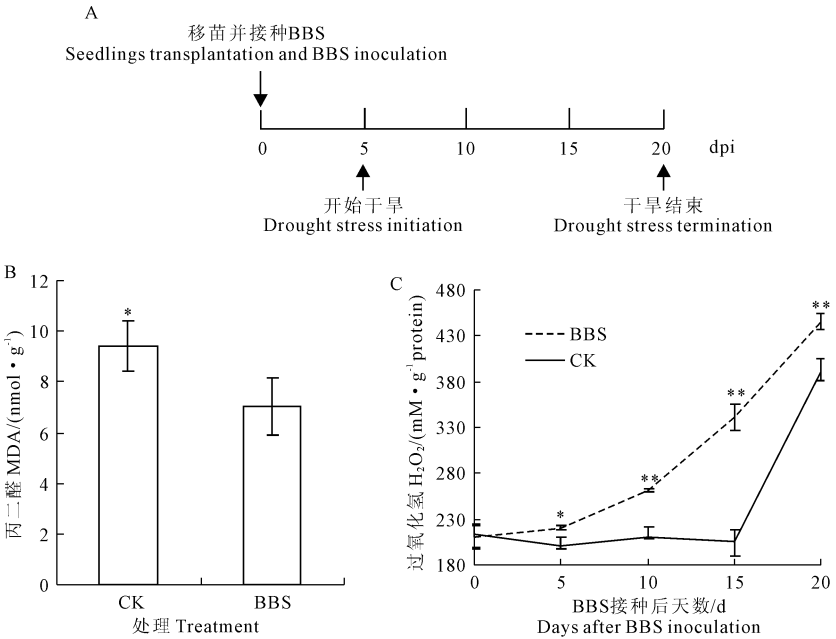
干旱胁迫下植物细胞膜会受到损伤,发生膜脂过氧化作用,而 MDA 含量能够准确反映膜脂过氧化作用的强弱。本研究发现,干旱胁迫后 BBS 处理组植株叶片 MDA 含量显著低于对照组(图 2B)。此外,植物处于干旱胁迫时植株体内会累积 H_2O_2 等活性氧,形成氧化损伤。处理组植株叶片 H_2O_2 含量从干旱胁迫开始至结束始终低于对照组,尤其在干旱开始后第 10 天(15 dpi),前者只有后者的 60.1%(图 2A,C)。

作为渗透保护物质,干旱胁迫下脯氨酸和可溶性糖类在保护植株免于过度脱水中起关键性作用。干旱胁迫下, BBS 处理组植株叶片脯氨酸含量

($851.98\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)是对照组($251.68\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)的 3.4 倍(图 3A);干旱开始后第 5~15 天(10~20 dpi),处理组植株叶片 *ZmP5CS1* (编码脯氨酸合成途径中的关键酶— $\Delta 1$ -吡咯啉-8-羧酸合成酶)的表达量同样显著高于对照组(图 5)。此外,干旱胁迫下处理组植株叶片可溶性糖含量也显著高于对照组(图 3B)。上述结果表明,玉米幼苗根部经 BBS 处理后对于干旱胁迫的耐受性增强。

2.2 BBS 处理对抗氧化酶活性的影响

干旱胁迫下,植物利用 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶清除过量积累的活性氧,降低氧化损伤。本研究中,测定了上述抗氧化酶类的活性,探究干旱胁迫



注:每个指标独立重复测定三次,数值为平均值±标准差;*, $P<0.05$; **, $P<0.01$ 。A: 试验设计时间模式图, BBS 接种 5 天后玉米幼苗断水干旱。

Note: data are presented as mean ± SD of three independent biological replicates. *, $P<0.05$; **, $P<0.01$. Drought stress initiated 5 days after BBS inoculation (A).

图 2 玉米幼苗干旱耐受性指标

Fig.2 The indexes of drought tolerance in maize seedlings

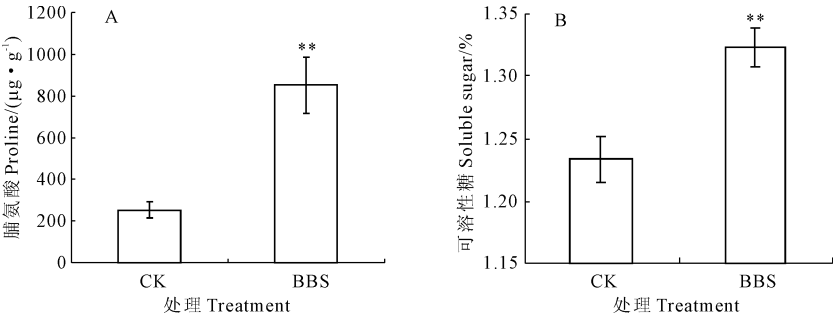


图 3 玉米幼苗叶片渗透调节物质含量

Fig.3 The content of osmotic regulating substances in maize leaves

迫下 BBS 处理对抗氧化酶类活性的影响。如图 4A 所示,在整个试验过程中,BBS 处理增强了植株叶片 SOD 活性,干旱后第 5 天(10 dpi)出现峰值(411.59 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ protein}$),随后轻微下降;处理组植株叶片 SOD 活性始终高于对照组。因此,干旱胁迫下 BBS 处理能够显著增强玉米幼苗叶片 SOD 活性。然而,BBS 处理对植株叶片 POD 活性的影响不同于 SOD,干旱胁迫开始后第 5~15 天(10~20 dpi)对照组植株叶片 POD 活性始终高于处理组(图 4B)。与之相比,处理组植株叶片 CAT 活性在 BBS 处理后上升,干旱胁迫开始后第 5 天(10 dpi)起下降,随后上升并于 20 dpi 激增至 $54.65\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{ protein}$;对比发现,BBS 处理至干旱胁迫开始后第 5 天处理组植株叶片 CAT 活性高于对照组,20 dpi 发生逆转(图 4C)。与之相对应的是,植株叶片 *CAT1* 基因表达量出现了相似趋势(图 5)。总之,干旱胁迫下,BBS 处理能够增强玉米幼苗叶片 SOD 和 CAT 活性。

2.3 BBS 处理增强了依赖和不依赖 ABA 信号途径关键基因的表达水平

BBS 处理会影响干旱胁迫下 *ZmP5CS1* 和 *CAT1* 的表达模式(图 5),为了探明干旱胁迫下 BBS 和玉米互作过程中信号途径的参与方式,测定了标志基因 *NCED1* (ABA 合成途径中的关键基因)和 *ZmDREB2.7* (不依赖 ABA 信号途径中的关键调控基因)的表达模式。结果发现,0~10 dpi 植株叶片 *NCED1* 的表达水平在对照组和处理组间没有差异,但干旱胁迫开始后 10~15 d(15~20 dpi)期间,后者显著高于前者(图 5)。另外,干旱胁迫开始至第 5 天(5~10 dpi),处理组植株叶片 *ZmDREB2.7* 的表达量显著高于对照组,第 15 天时(20 dpi),前者达到后者的 15.2 倍(图 5)。因此,干旱胁迫下 BBS 与玉米的互作过程中可能有依赖和不依赖 ABA 信号途径的共同参与。

3 讨 论

PGPR 定殖植物后通常引发多种有益生理生化变化,进而增强植物对非生物胁迫的耐受性,该效应被称为诱导系统性耐受性^[29]。近年来,多项研究已经探明了 PGPR 定殖植物引发诱导系统性耐受性的机理^[30]。我们曾经证实 PGPR 菌剂 BBS 能够为黄瓜提供应对干旱胁迫的诱导系统性耐受性^[26],本研究评价了 BBS 在减轻干旱胁迫对 C4 植物玉米的伤害中的作用。结果表明,BBS 处理对玉米幼苗高效应对水分缺失具有显著的作用,比如加速了干旱胁迫下可溶性糖类和脯氨酸的积累、增强了抗氧化酶

类活性、激发了胁迫相关基因的大量表达,进而减弱了膜脂过氧化作用,优化了干旱后的恢复进程。本研究首次报道了 PGPR 三菌合剂可能通过依赖和不依赖 ABA 信号途径增强植物对水分缺失的耐受性和适应性。

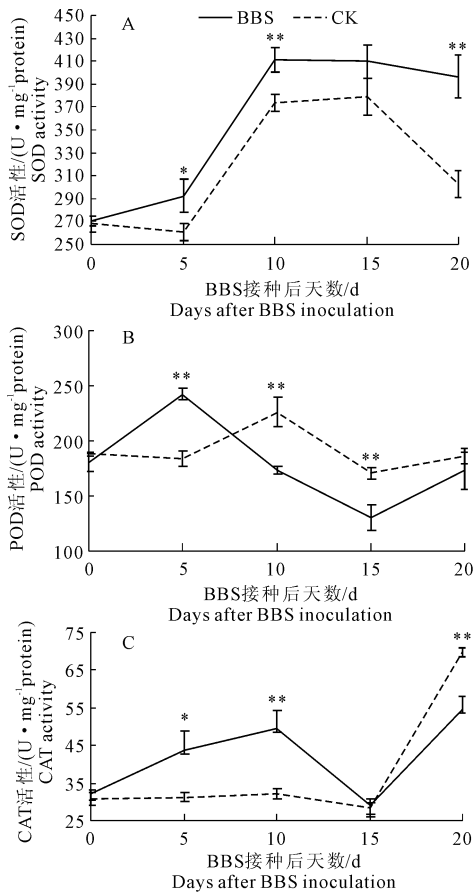


图 4 玉米幼苗叶片抗氧化酶类活性变化

Fig.4 Changes of antioxidant enzymes activities in leaves of BBS-treated and control (BBS) (CK) maize seedlings determined at 0, 5, 10, 15 and 20 days post inoculation

干旱胁迫通常导致植株体内活性氧的大量产生,引起细胞膜脂过氧化作用从而积累 MDA^[31],因此,植株 MDA 含量常作为植物干旱耐受性的有效评价指标。本研究中,干旱胁迫下 BBS 处理组玉米幼苗叶片 MDA 含量低于对照组(图 2B),表明 BBS 处理组植株受伤害程度远低于对照组,植株表型(图 1)同样证实了该结论。由于水分缺失和植株体外渗透势的上升,处于干旱胁迫的植物通常会积累大量的渗透保护物质(比如脯氨酸和可溶性糖类物质)来防止脱水,有效应对干旱^[32]。本研究处理组植株叶片相比对照组积累了更多的渗透保护物质(图 3),表明 BBS 处理可能通过该机制增强玉米幼苗的干旱耐受性。

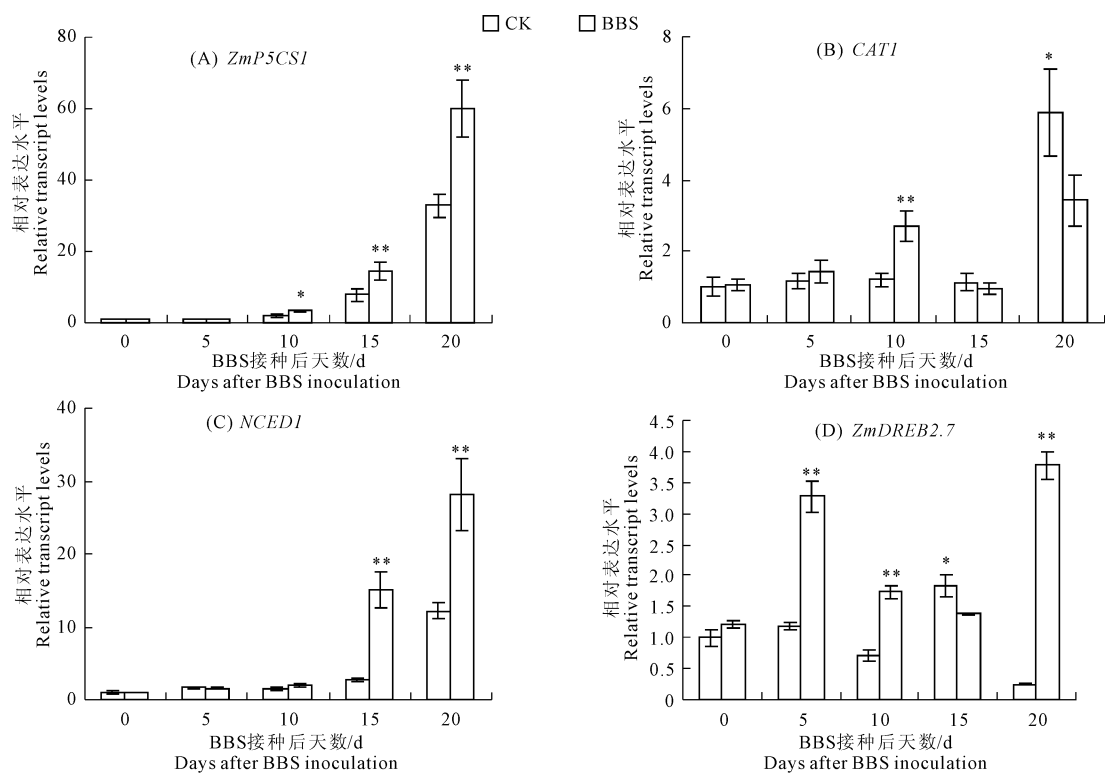


图 5 玉米幼苗叶片胁迫相关基因表达情况

Fig.5 Transcript expression analysis of *ZmP5CS1*, *CAT1*, *NCED1* and *ZmDREB2.7* in leaves of BBS – treated (BBS) and control (CK) maize seedlings determined at 0, 5, 10, 15 and 20 days post inoculation

如上所述,干旱胁迫会引起植株体内超氧化物自由基(O_2^-)以及过氧化氢(H_2O_2)等活性氧的过量累积。为应对该氧化胁迫,植物形成了抗氧化酶类防御系统,其中 SOD 能催化歧 O_2^- 化成 H_2O_2 ,而 CAT 进一步将 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 ^[33],因此, SOD 和 CAT 是植物应对干旱的关键抗氧化酶类,并作为植物干旱耐受性的有效评价指标。本研究中, BBS 处理组玉米处于干旱胁迫时其叶片 SOD 和 CAT 活性显著高于对照组(图 4),这也就解释了干旱胁迫后第 0~15 天(5~20 dpi)处理组植株叶片 H_2O_2 含量显著低于对照组(图 2C)。此外,玉米幼苗根部经 BBS 处理后能在干旱胁迫第 0~5 天(5~10 dpi)快速激活 CAT1 的大量表达(图 5)。上述结果说明 BBS 能够通过激活玉米幼苗高强度的抗氧化酶类活性来清除水分缺失引起的过量累积的活性氧,该发现与 Zou 等^[34]的研究结果一致,他们同样发现有 *Funneliformis mosseae* 定殖的枳在干旱环境中 SOD 和 CAT 活性显著上升,其植株体内活性氧爆发。

在分子层面,植物胁迫相关基因(如本研究中 *ZmP5CS1* 和 *CAT1*)在干旱环境中会同时经由依赖和不依赖 ABA 信号途径诱导表达。NCED 合成的 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶是植物体内

ABA 生物合成的关键酶,而 ABA 调控一系列的生长发育和生理生化过程,在植物应对水分短缺中起关键作用^[35]。本研究中 BBS 处理组玉米幼苗干旱耐受性显著增强,干旱胁迫下其叶片中 *NCED1* 表达量上升,特别是在第 10~15 天(15~20 dpi,图 5),因此, BBS 可能通过激活依赖 ABA 信号途径提高植株体内 ABA 含量来增强玉米幼苗的干旱耐受性。此外, DREB 转录因子被证实为介导植物干旱胁迫响应基因表达的关键组分,是不依赖 ABA 信号途径介导胁迫相关基因表达的关键转录因子^[14]。Liu 等^[2]在耐旱玉米品种中鉴定出 *ZmDREB2.7*,发现该基因在玉米干旱耐受性中起重要作用。本研究中干旱胁迫下处理组植株叶片中 *ZmDREB2.7* 的表达量显著高于对照组,特别是在第 15 天(20 dpi,图 5),表明 BBS 可能通过不依赖 ABA 信号途径介导集成了一系列适应反应。当然, BBS 增强玉米幼苗干旱耐受性所经由的确切、具体的信号途径尚需进一步阐释和验证,比如通过检测上述两个信号途径中其它相关基因的表达情况,以及利用 ABA 合成缺陷突变体重新试验 BBS-玉米互作过程等。

总之, BBS 可能通过依赖和不依赖 ABA 信号途径降低细胞膜损伤、优化渗透调节、加强抗氧化酶类系统,从而提高了玉米幼苗的干旱耐受性,表明 BBS

可以作为一种潜在保护剂应用于农业实际生产,提高玉米抗旱能力。当然,干旱胁迫下 BBS-玉米互作过程中级联信号通路的参与尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Sergey M, Govorushko. Natural Processes and Human Impacts: Interactions Between Humanity and the Environment [M]. New York; Springer, 2012.
- [2] Liu S, Wang X, Wang H, et al. Genome-wide analysis of *ZmDREB* genes and their association with natural variation in drought tolerance at seedling stage of *Zea mays* L. [J]. PLoS Genetics, 2013, 9(9): e1003790.
- [3] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: an overview[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 199-223.
- [4] Kloepper J W, Lifshitz R, Zablotowicz R M. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity [J]. Trends in Biotechnology, 1989, 7(2): 39-44.
- [5] Moutia J F Y, Saumtally S, Spaepen S, et al. Plant growth promotion by *Azospirillum* sp. in sugarcane is influenced by genotype and drought stress[J]. Plant and Soil, 2010, 337(1-2): 237-242.
- [6] Sandhya V, Ali S Z, Grover M, et al. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress[J]. Plant Growth Regulation, 2010, 62(1): 21-30.
- [7] Saravanakumar D, Kavino M, Raguchander T, et al. Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(1): 207-209.
- [8] Bresson J, Varoquaux F, Bontpart T, et al. The PGPR strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. New Phytologist, 2013, 200(2): 558-569.
- [9] Kasim W A, Osman M E, Omar M N, et al. Control of drought stress in wheat using plant growth-promoting bacteria [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2013, 32(1): 122-130.
- [10] Naveed M, Mitter B, Reichenauer T G, et al. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17 [J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, (97): 30-39.
- [11] Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2009, 29(1): 185-212.
- [12] Urano K, Kurihara Y, Seki M, et al. 'Omics' analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2010, 13(2): 1-7.
- [13] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6(5): 410-417.
- [14] Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses [J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, (57): 781-803.
- [15] Belimov A A, Dodd I C, Hontzeas N, et al. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling [J]. New Phytologist, 2009, 181(2): 417-423.
- [16] Liu F, Xing S, Ma H, et al. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(20): 9155-9164.
- [17] Cho S M, Kang B R, Han S H, et al. 2R,3R-Butanediol, a bacterial volatile produced by *Pseudomonas chlororaphis* O6, is involved in induction of systemic tolerance to drought in *Arabidopsis thaliana* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(8): 1067-1075.
- [18] Mastouri F, Bjorkman T, Harman G E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2012, 25(9): 1267-1271.
- [19] Timmusk S, Abd El-Daim I A, Copolovici L, et al. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles [J]. PLoS ONE, 2014, 9(5): e96086.
- [20] 郭坚华, 薛庆云, 刘红霞. “蔬得康”商标: 中国, CN7823197 [P]. 2012-06-21.
- [21] 张文芝, 庄振国, 郑丽, 等. 生物农药“蔬得康”防治苦瓜根结线虫田间试验 [C]//何晨阳, 王琦, 郭坚华. 植物细菌病害与植物病害生物防治研究进展论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010: 365-371.
- [22] 庄振国, 郑丽, 张文芝, 等. “蔬得康”防治西瓜淮安地区大棚黄瓜根结线虫的田间试验 [C]//何晨阳, 王琦, 郭坚华. 植物细菌病害与植物病害生物防治研究进展论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010: 372-377.
- [23] Niu D D, Liu H X, Jiang C H, et al. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* by simultaneously activating salicylate- and jasmonate/ethylene-dependent signaling pathways [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2011, 24(5): 537-542.
- [24] 郑颖, 刘红霞, 郭坚华. 生物农药“蔬得康”对香蕉枯萎病的防治试验 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2): 199-201.
- [25] Niu D D, Wang C J, Guo Y H, et al. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces resistance in tomato with induction and priming of defence response [J]. Biocontrol Science and Technology, 2012, 22(9): 991-1004.
- [26] Wang C J, Yang W, Wang C, et al. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains [J]. PLoS ONE, 2012, 7(12): e52565.
- [27] Wang C, Wang C, Gao Y L, et al. A consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains acclimates *Lycopersicon esculentum* and confers a better tolerance to chilling stress [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2015, 18(1): 1-11.
- [28] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[4]

李凤民,徐进章.黄土高原半干旱地区集水型生态农业分析[J].中国生态农业学报,2002,10(1):101-103.

[5]

刘广才,杨祁峰,段襁全,等.甘肃发展旱地全膜双垄沟播技术的主要模式[J].农业现代化研究,2008,29(5):629-632.

[6]

张雷,牛建彪,赵凡.旱作玉米提高降水利用率的覆膜模式研究[J].干旱地区农业研究,2006,24(2):8-11,17.

[7]

谭军利,王林权,李生秀.地面覆盖的保水增产效应及其机理研究[J].干旱地区农业研究,2008,26(3):50-54.

[8]

赵洪利,李军,贾志宽,等.不同耕作方式对黄土高原旱地麦田土壤物理性状的影响[J].干旱地区农业研究,2009,27(3):17-21.

[9]

谢军红,张仁陟,李玲玲,等.耕作方法对黄土高原旱作玉米产量和土壤水温特性的影响[J].中国生态农业学报,2015,23(11):1384-1393.

[10]

Borghesi A M, Taghinejad J, Minaei S, et al. Effects of subsoiling on soil bulk density, penetration resistance and cotton yield in northwest of Iran[J]. International Journal of Agricultural Biology, 2008,10(1):120-123.

[11]

秦红灵,高旺盛,马月存,等.两年免耕后深松对土壤水分的影响[J].中国农业科学,2008,41(1):78-85.

[12]

何进,李洪文,高焕文.中国北方保护性耕作条件下深松效应与经济效益研究[J].农业工程学报,2006,22(10):62-67.

[13]

朱瑞祥,张军昌,薛少平,等.保护性耕作条件下的深松技术试验[J].农业工程学报,2009,25(6):145-147.

[14]

Paustian K, Six J, Elliot E T, et al. Management options for reducing CO₂ emissions from agricultural soils[J]. Biogeochemistry, 2000,48(1):147-163.

[15]

Blanco-Canqui H, Lal R. Mechanisms of carbon sequestration in soil aggregates[J]. Critical Reviews in Plant Science, 2004,(23):481-504.

[16]

王红丽,张绪成,宋尚有.半干旱区旱地不同覆盖种植方式玉米田的土壤水分和产量效应[J].植物生态学报,2011,35(8):825-833.

[17]

方彦杰,黄高宝,李玲玲,等.旱地全膜双垄沟播玉米生长发育动态及产量形成规律研究[J].干旱地区农业研究,2010,28(4):128-134.

[18]

Ramon J, Agnes H. Effects of tillage systems in dryland farming on near-surface water content during the late winter period[J]. Soil and Tillage Research, 2005,82(2):173-183.

[19]

Jin K, Cornelis W M, Schiettecatte W, et al. Effects of different management practices on the soil-water balance and crop yield for improved dryland farming in the Chinese Loess Plateau[J]. Soil and Tillage Research, 2007,96(1):131-144.

[20]

张海林,陈阜,秦耀东,等.覆盖免耕夏玉米耗水特性的研究[J].农业工程学报,2002,18(2):36-40.

[21]

Chong S K, Cowser P T. Infiltration in reclaimed mined land ameliorated with deep tillage treatments[J]. Soil and Tillage Research, 1997,44(3):255-264.

[22]

雷金银,吴发启,王健,等.保护性耕作对土壤物理特性及玉米产量的影响[J].农业工程学报,2008,24(10):40-45.

[23]

李友军,黄明,吴金芝,等.不同耕作方式对豫西旱区坡耕地水肥利用与流失的影响[J].水土保持学报,2006,20(2):42-45.

[24]

杜兵,李问盈,邓健,等.保护性耕作表土作业的田间试验研究[J].中国农业大学学报,2000,5(4):65-67.

(上接第 132 页)

[29]

Yang J, Kloepper J W, Ryu C M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress[J]. Trends in Plant Science, 2009,14:1-4.

[30]

Friesen M L, Porter S S, Stark S C, et al. Microbially mediated plant functional traits[J]. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 2011,42:27-46.

[31]

Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002,53:1237-1247.

[32]

Liu X, Zhai S, Zhao Y, et al. Overexpression of the phosphatidylinositol synthase gene (*ZmPI3S*) conferring drought stress tolerance by altering membrane lipid composition and increasing ABA synthesis in maize[J]. Plant Cell and Environment, 2013,36:1037-1055.

[33]

Beck E H, Fetitig S, Snake C, et al. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress[J]. Journal of Bio-sciences, 2007,32:501-510.

[34]

Zou Y N, Huang Y M, Wu Q S, et al. Mycorrhiza-induced lower oxidative burst is related with higher antioxidant enzyme activities, net H₂O₂ effluxes, and Ca²⁺ influxes in trifoliate orange roots under drought stress[J]. Mycorrhiza, 2014,25(2):143-152.

[35]

Huang G T, Ma S L, Bai L P, et al. Signal transduction during cold, salt and drought stresses in plants[J]. Molecular Biology Reports, 2012,39:969-987.