

欧李内生促生菌分离、鉴定及促生、耐盐碱特性

白洁¹,姚拓¹,王占军²,雷杨¹,杨晓蕾¹,张蔚¹

(1.甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃兰州 730070;

2.宁夏农林科学院荒漠化治理研究所,宁夏银川 750000)

摘要:为获得欧李(*Cerasus humilis*)根系优良内生促生菌,以欧李根系为研究材料,采用组织匀浆法分离纯化可培养内生细菌,测定其固氮、解磷、溶磷、合成植物生长素 IAA(吲哚乙酸)和耐盐碱特性,并通过 16S rRNA 序列系统发育分析进行初步鉴定。结果显示:分离的 7 株菌均表现出一定的促生潜力,菌株固氮酶活性在 50.64~127.40 nmol·h⁻¹·mL⁻¹,菌株 Y3 最高;菌株解有机磷量在 1.28~358.90 μg·mL⁻¹,菌株 N23 最高;菌株溶无机磷量在 6.29~143.61 μg·mL⁻¹,菌株 Y2 最高;菌株合成 IAA 量在 14.24~70.48 μg·mL⁻¹,菌株 N22 最高。菌株耐盐碱特性测定中,菌株 Y3、Y4 表现出广泛的耐盐碱特性,可在 NaCl 浓度为 30% 以及 pH 值为 13 的条件下正常生长,属极端嗜盐嗜碱微生物。16S rRNA 序列系统发育分析结果,菌株 Y3、Y4 确定为 *Bacillus* sp., 菌株 N23、N22 为 *Pseudomonas simiae*, 菌株 N1 为 *Brevibacterium frigoritolerans*, 菌株 Y1、Y2 为 *Achromobacter marplatensis*。研究分离出的内生促生菌具有多种优质促生特性,可为后续研制微生物接种剂(菌肥)提供优良菌种,并有望在绿色农业发展中发挥积极作用。

关键词:欧李;内生促生菌;固氮;解磷;溶磷;植物生长素;耐盐碱

中图分类号:S182 **文献标志码:**A

Isolation and identification as well as growth enhancement and saline-alkali tolerance properties of *Cerasus humilis* plant growth-promoting endophytes

BAI Jie¹, YAO Tuo¹, WANG Zhanjun², LEI Yang¹, YANG Xiaolei¹, ZHANG Wei¹

(1. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Desertification Control Institute of Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Science, Yinchuan, Ningxia 750000, China)

Abstract: To obtain *Cerasus humilis* root plant growth-promoting endophytes, PGPE, we took the root system of *Cerasus humilis* as the research object and used tissue homogenization method to isolate and purify cultivable endophytic bacteria to determine its nitrogen fixation, phosphorus-dissolving, phosphorus-solubilizing, IAA production and saline-alkali tolerance properties. We also tried to use phylogenetic analysis of 16S rRNA sequence for preliminary identification. The results showed that the 7 isolated strains all showed a certain growth potential. The nitrogen fixation activity of strains was within the range between 50.64~127.40 nmol·mL⁻¹, and the Y3 strain had the highest nitrogen fixation activity. The dissolution of organic phosphorus strains was within the range between 1.28~358.90 μg·mL⁻¹, and the N23 strain had the highest capacity of dissolving organic phosphorus. The solubilization of inorganic phosphorus strains was within the range between 6.29~143.61 μg·mL⁻¹, and the Y2 strain had the highest capacity of solubilizing inorganic phosphorus. The content of IAA synthesized by the strain was between 14.24 μg·mL⁻¹ and 70.48 μg·mL⁻¹, and the content of IAA synthesized by the N22 strain was the highest. In addition, the Y3 and Y4 strains showed a wide range of saline-alkali tolerance characteristics and grew normally under the condition of 30% NaCl concentration and pH of 13. They were extremely halophilic and alkalophilic micro-

收稿日期:2021-03-20

修回日期:2021-04-22

基金项目:甘肃省林业和草原局科技支撑项目(GFG2019-366-2);宁夏自治区重点研发项目(2020BBF02027)

作者简介:白洁(1995-),女,内蒙古包头人,硕士研究生,研究方向为草地生物多样性。E-mail: 949310733@qq.com

通信作者:姚拓(1968-),男,教授,主要从事草业科学、农业微生物及其制剂研发,以及农业废弃物的循环利用等研究。E-mail: yaotuo@

gsau.edu.cn

organisms. As a result of phylogenetic analysis of 16S rRNA sequence, the Y3 and Y4 strains were identified as *Bacillus* sp. N23 and N22 strains were *Pseudomonas simiae*. Strain N1 was *Brevibacterium frigoritolerans*. The Y1 and Y2 strains were *Achromobacter marplatensis*. The PGPE isolated in this study contained a variety of high-quality growth-promoting properties, which could provide excellent strains for the subsequent development of microbial inoculants (bacterial fertilizers) and play an active role in the development of green agriculture.

Keywords: *Cerasus humilis*; plant growth-promoting endophytes; nitrogen-fix; phosphorus-dissolving; phosphorus-solubilizing, plant growth hormone (IAA); saline-alkali tolerance

欧李(*Cerasus humilis*)是一种落叶丛生小灌木,主要生长于我国北方的草原、森林、沙漠边缘以及一些丘陵地区^[1]。其自身表现出的抗逆性是其在不稳定环境下稳定生长的重要原因之一,如耐寒、耐旱、耐盐碱等特性。因此,可作为防风固沙、抵抗水土流失、改善生态环境的先锋树种^[2]。此外,由于欧李叶量大,茎细且质地柔软,便于牛羊的啃食,在畜牧业中被视为一种良好的饲料。前人研究发现,欧李茎叶中不仅含有糖和蛋白质等牛羊生长所需的一般营养,而且其钙元素含量较高,是牛羊骨骼发育的重要补钙来源^[3]。因此,该灌木不管是在生态建设还是作为饲料生产方面均具有较大发展前景。

欧李所表现出的较强的生态价值,主要源于其庞大且呈网状分布的根系能够在瘠薄的土壤中吸收水分和营养物质,供给植物生长^[4]。而定殖于植物根系内的内生促生菌(Plant growth-promoting endophytes, PGPE)所分泌的多种生理活性物质,如生长素、细胞分裂素等,会刺激植物新陈代谢,促进植物根系生长^[5]。此外,还可通过固氮、解磷(将有机磷水解转化为无机磷酸盐)^[6]、溶磷(将不溶性无机磷转化为可溶性磷酸盐)^[7]等方式促进植物生长^[8-9]。谢安强等^[10]从桉树体内分离筛选到的内生细菌,可提高桉树的抗逆性与生长量。张现勇等^[11]从油菜中分离的菌株 yc8,显著提高了油菜幼苗的鲜重和株高。然而,目前关于从生长良好的欧李根系中分离多功能 PGPE 的研究还未见报道。

鉴于此,本研究从欧李根系中分离获得 PGPE 菌株,并对其固氮、解磷、溶磷、合成植物生长素 IAA 和耐盐碱特性进行初步研究,利用分子生物学方法对其进行分类鉴定,以期为后续欧李微生物接种剂(菌肥)研制提供优良菌株,并丰富我国微生物菌种资源库。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品来源及处理 欧李样品来源于宁夏回

族自治区银川市永宁县,位于宁夏中部,属于典型的温带大陆性气候,土壤质地为砂土。采集欧李植物根系,装入无菌自封袋中,标注植物名称及采集日期,放置于冰盒中,运回实验室冰箱中 4℃ 保存,进行菌株分离。

1.1.2 供试培养基 LB(Luria bertani, LB)固体培养基:胰蛋白胨 10 g,酵母提取物 5 g,NaCl 10 g,琼脂 15~20 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 7.0^[12]。

King 氏液体培养基:蛋白胨 20 g,K₂HPO₄ 1.15 g,MgSO₄·7H₂O 1.5 g,丙三醇 15 mL,L-色氨酸 0.1 g^[13]。

无机磷(National botanical research institute's phosphate, NBRIP)液体培养基:葡萄糖 10 g,Ca₃(PO₄)₂ 5g,MgCl₂·6H₂O 5g,MgSO₄·7H₂O 0.25 g,KCl 0.2 g,(NH₄)₂SO₄ 0.1 g,总体积 1 000 mL,pH 6.8~7.0^[14]。

蒙金娜有机磷培养基:MnSO₄·4H₂O 0.03 g,Fe SO₄·7H₂O 0.03 g,CaCO₃ 5.0 g,葡萄糖 10.0 g,(NH₄)₂SO₄ 0.5 g,卵磷脂 0.2 g,NaCl 0.3 g,KCl 0.3 g,酵母膏 0.4 g,总体积 1 000 mL,pH 7.0~7.5^[15]。

NFM(Nitrogen free medium, NFM)培养基:CaCl₂·2H₂O 0.02 g,MgSO₄·7H₂O 0.2 g,K₂HPO₄ 0.5 g,NaMoO₄·2H₂O 0.002 g,NaCl 0.1 g,KOH 5 g,苹果酸 5 g,生物素 10 μg,0.5%溴百里酚蓝 5 mL,琼脂 20 g(固体培养基)或 2 g(半固体培养基),总体积 1 000 mL,pH 7.0^[16]。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离与纯化 采用组织匀浆法^[17],将欧李根系置于自来水下冲洗干净,用 8%次氯酸钠浸泡 3 min,75%乙醇表面消毒 30 s,使用无菌蒸馏水清洗 3 次,去除表面的灭菌剂。灭菌的植物根系用灭菌刀片切成约为 1 g 的小块,用高压灭菌的研磨棒和研磨钵在 9 mL 的无菌水中研磨至匀浆。将 0.1 mL 的组织悬浮液涂布于 LB 平板上。接种平板置于 28℃ 恒温培养箱培养 3~5 d。根据菌落形态与颜色的不同,使用接种环挑取单菌落进行四区划线,反复纯化至单一菌落。分离纯化后的菌株悬浮于

20%甘油,保存至 -80°C 冰箱中备用。

1.2.2 内生促生菌促生特性测定 将分离出的 7 株菌分别进行促生特性测定,固氮酶活性测定:乙炔还原法^[18];解磷、溶磷特性测定:钼锑抗比色法^[19];合成植物生长素 IAA 特性测定:Salkowski 法^[20]。

1.2.3 内生促生菌耐盐碱特性测定 在 LB 液体培养基 pH 7.0 的条件下,将各培养基中的 NaCl 浓度分别提高 5%,培养基中 NaCl 浓度分别为 0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%;在 LB 液体培养基中 NaCl 浓度为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下,将培养基中 pH 值分别提高一个单位,各培养基中 pH 值分别为 7、8、9、10、11、12、13。将分离菌株分别接种至具有不同盐碱浓度的 LB 液体培养基中,每株菌 3 次重复,以不接菌的液体培养基作为空白对照,在 30°C , $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下震荡培养 2 d 后,测定培养基在波长 600 nm 处的吸光度值($\text{OD}_{600\text{ nm}}$)并制作曲线。

1.2.4 分离菌株鉴定 将上述分离出的 7 株菌在 LB 平板上活化后,提取细菌总 DNA,使用引物 27F ($5'-\text{AGAGTTTGATCCTGGCTCAG}-3'$) 和 1492R ($5'-\text{GGTTACCTTGTTACGACTT}-3'$) 进行 16S rRNA 基因序列扩增。50 μL 反应体系: $2\times\text{Taq PCR Master Mix}$ 25 μL 、DNA 模板 2 μL 、引物各 1 μL 、 ddH_2O 21 μL 。PCR 扩增参数设置: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 重复循环 32 次; 72°C 总延伸 5 min, 将 PCR 产物进行 1% 凝胶琼脂糖电泳检测,并于 -20°C 保存待用。16S rRNA 基因序列测定由北京奥科鼎盛科技有限公司完成。将测序结果在 Ezbiocloud 数据库中比对,并利用 MEGA 7.0 软件中 CLUSTAL W 程序进行同源序列比对,使用邻近法构建系统发育树。

1.3 数据分析

采用 SPSS 20.0 软件对试验数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 显著性水平为 $P<0.05$, 并用 Origin Lab Origin Pro 8.5 和 MEGA 7.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 欧李内生促生菌分离菌株促生特性分析

由表 1 可看出,供试 7 株内生菌的固氮酶活性分布在 $50.64\sim 127.40\text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$, 以菌株 Y3 固氮酶活性最高,为 $127.40\text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。对分离菌株解磷、溶磷特性的测定中,菌株解有机磷量在 $1.28\sim 358.90\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 菌株 N23 和 N22 均有较强的解磷能力,解磷量分别为 $358.90\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和

$342.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 其他 5 株菌解磷量均小于 $150\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 分离菌株溶无机磷量在 $6.29\sim 143.61\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 菌株 Y2 和 Y3 相较于其他 5 株菌具有较强溶磷能力,溶磷量均大于 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。通过对分离菌株解磷、溶磷能力的定量测定分析发现,不同菌株具有不同的解磷、溶磷特性,其中 3 株分离菌株出现解有机磷量大于溶无机磷量。此外,在合成植物生长素 IAA 特性测定中,菌株合成 IAA 量在 $14.24\sim 70.48\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 以菌株 N22 合成 IAA 量最高。

2.2 欧李内生促生菌分离菌株耐盐碱特性分析

分离菌株对不同 NaCl 浓度的耐受性测定中,菌株 Y1、Y2、N22、N23、N1 能耐受 NaCl 最高浓度为 10%。菌株 Y4、Y3 能耐受 NaCl 最高浓度为 30%, 说明该两株菌株具有较广泛的耐盐能力。此外菌株 Y3、Y4、N1 的最适 NaCl 浓度为 5% (图 1)。在 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 浓度下,菌株 N1、N22 碱性 (pH 值) 的耐受范围为 7~10, 菌株 N23 碱性 (pH 值) 的耐受范围为 7~11, 其中菌株 N1、N22 最适生长的碱性 (pH 值) 耐受为 8。此外,菌株 Y1、Y2、Y3、Y4 碱性 (pH 值) 的耐受范围为 7~13, 其中菌株 Y1、Y2、Y4 最适生长的碱性 (pH 值) 耐受为 8, 而菌株 Y3 的最适生长的碱性 (pH 值) 耐受为 9, 该结果表明分离出的 7 株菌在 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 浓度下均具有一定的耐碱能力 (图 2)。

2.3 欧李内生促生菌分离菌株鉴定

通过对 7 株分离菌株进行革兰氏染色,发现 Y3、Y4、N1 菌株为革兰氏阳性菌 (G+), 其余菌株为革兰氏阴性菌 (G-)。测序结果在 Ezbiocloud 数据库进行相似性比对 (表 2), 并使用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树 (图 3)。结果显示,菌株 Y4、Y3 确

表 1 分离菌株促生特性测定结果

Table 1 Determination result of the growth-promoting characteristics of isolated strains

菌株 Strain	解磷、溶磷能力 Phosphate dissolving and solubilizing capacity		固氮酶活性 Nitrogenase activity $\text{}/(\text{nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1})$	IAA $\text{}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
	有机磷 Organic P $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	无机磷 Inorganic P $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		
	N23	$358.90\pm 2.47\text{a}$	$63.05\pm 0.46\text{c}$	$122.33\pm 20.22\text{a}$
N22	$342.20\pm 8.62\text{b}$	$27.73\pm 1.59\text{e}$	$123.30\pm 9.90\text{a}$	$70.48\pm 3.90\text{a}$
Y3	$37.34\pm 4.56\text{e}$	$105.66\pm 5.72\text{b}$	$127.40\pm 10.33\text{a}$	$50.48\pm 2.75\text{b}$
Y1	$25.06\pm 0.77\text{e}$	$6.29\pm 0.51\text{f}$	$120.13\pm 16.04\text{a}$	$14.24\pm 0.61\text{d}$
Y2	$99.27\pm 5.57\text{c}$	$143.61\pm 6.38\text{a}$	$124.07\pm 38.81\text{a}$	$46.08\pm 6.58\text{b}$
N1	$1.28\pm 0.73\text{f}$	$46.56\pm 2.73\text{d}$	$50.64\pm 16.22\text{b}$	$27.09\pm 1.93\text{be}$
Y4	$53.91\pm 2.68\text{d}$	$98.49\pm 2.15\text{b}$	$125.90\pm 27.47\text{a}$	$53.82\pm 3.84\text{b}$

注: 数据为平均值 \pm 标准误。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Note: Data are mean \pm SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

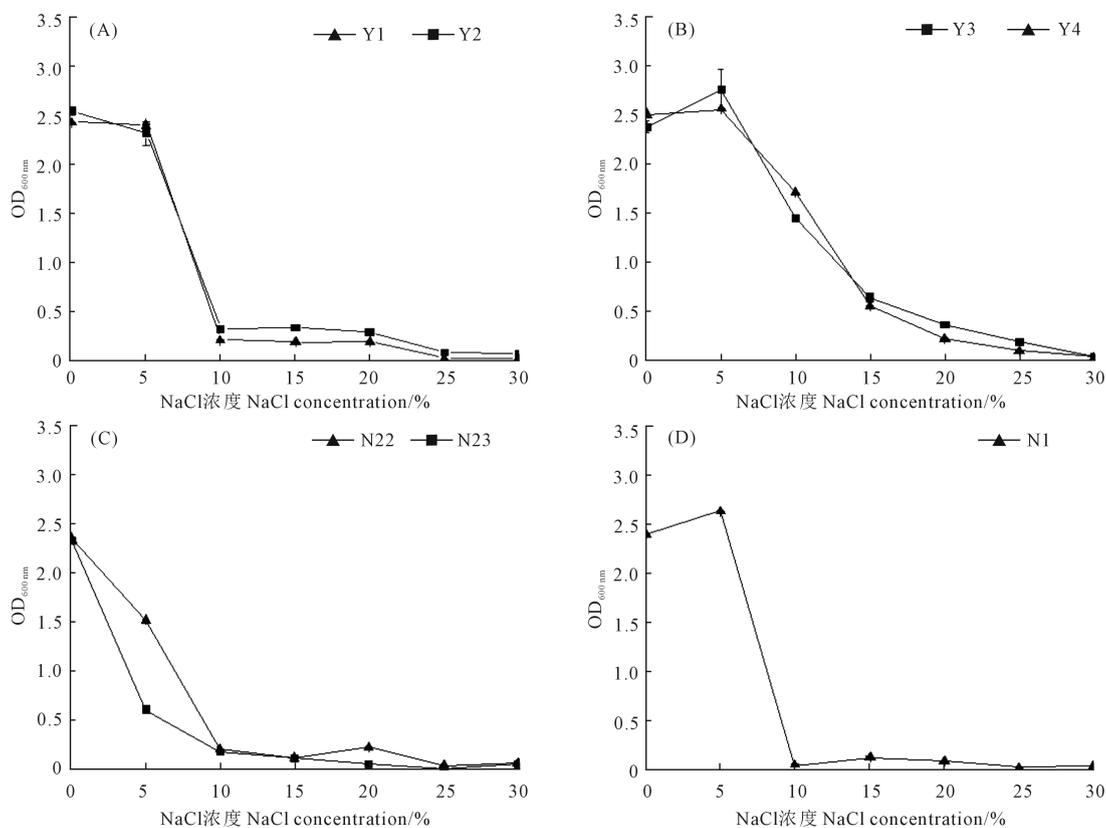


图 1 分离菌株对不同 NaCl 浓度耐受性

Fig.1 Tolerance of isolated strains to different NaCl concentrations

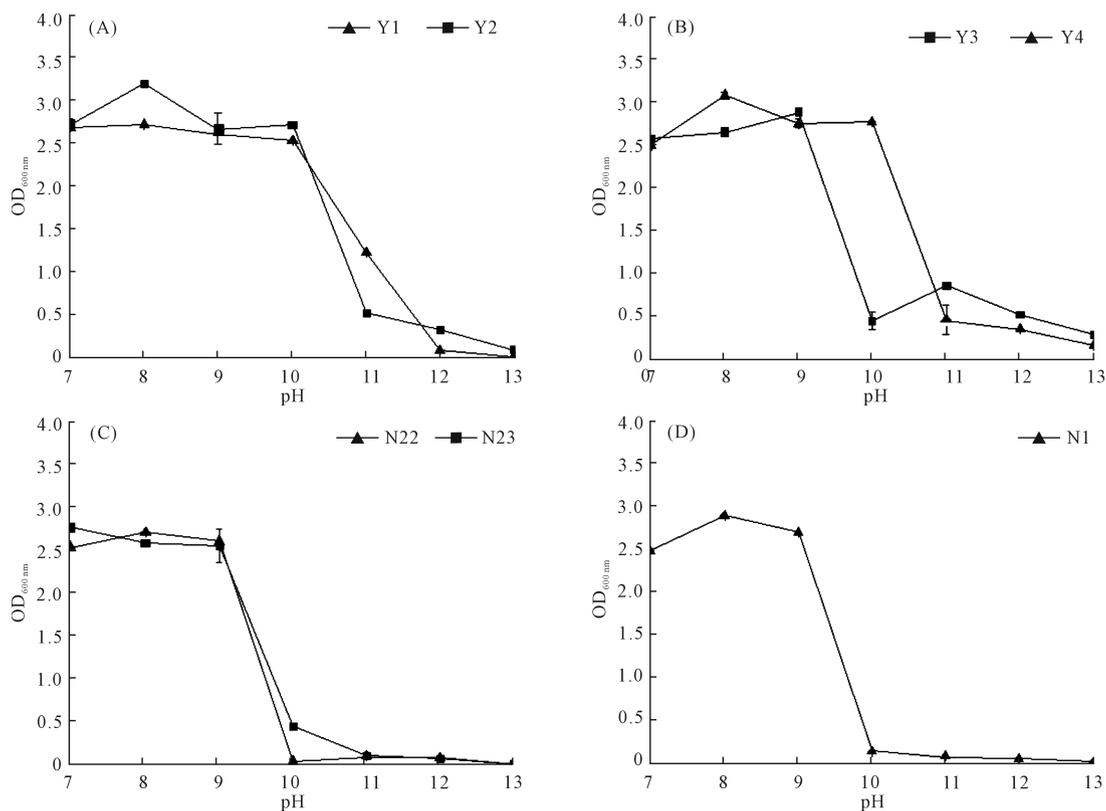


图 2 分离菌株对不同碱性程度 (pH 值) 的耐受性

Fig.2 Tolerance of isolated strains to different alkaline (pH value)

定为芽胞杆菌属 *Bacillus* sp., 菌株 N22、N23 为猴假单胞菌 *Pseudomonas simiae*, 菌株 Y1、Y2 为无色杆菌 *Achromobacter marplatensis*, N1 为耐寒短杆菌 *Brevibacterium frigoritolerans*。

3 讨论与结论

PGPE 是一类具有较强定殖和靶向功能的微生物, 相较于土壤和根际微生物, 接种后更易进入植物体内, 并发挥相关功能^[21]。本研究从欧李根系中分离获得 7 株内生细菌, 包含 4 个属, 分别为芽胞杆菌属、假单胞菌属、短杆菌属和无色杆菌属, 其中假单胞菌属菌株表现出较强的解磷特性。前人研究发现, 假单胞菌在植物根系中是一类较为活跃的解磷微生物^[22-24]。本试验中, 编号为 N23 菌株被初步鉴定为 *Pseudomonas simiae*, 其解有机磷量最高, 为 $358.90 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 并且该菌株同时兼具固氮、合成植物生长素 IAA、耐盐碱等特性, 这在已报道的假单

表 2 分离菌株 16S rRNA 基因相似性比对

Table 2 Comparison of 16S rRNA gene similarity of isolated strains				
菌株 Strain	模式菌株 Type strain	Gen Bank 登录号 Accession number	相似度/% Similarity	同源序列 Homologous sequence
Y4	ATCC 10792	ACNF01000156	99.38	苏云金芽胞杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>
Y3	ATCC 14579	AE016877	99.10	蜡样芽胞杆菌 <i>Bacillus cereus</i>
N1	DSM 8801	AM747813	98.97	耐寒短杆菌 <i>Brevibacterium frigoritolerans</i>
N23	OLi	AJ936933	99.85	猴假单胞菌 <i>Pseudomonas simiae</i>
N22	OLi	AJ936933	99.85	猴假单胞菌 <i>Pseudomonas simiae</i>
Y2	B2	EU150134	99.5	无色杆菌 <i>Achromobacter marplatensis</i>
Y1	B2	EU150134	99.35	无色杆菌 <i>Achromobacter marplatensis</i>

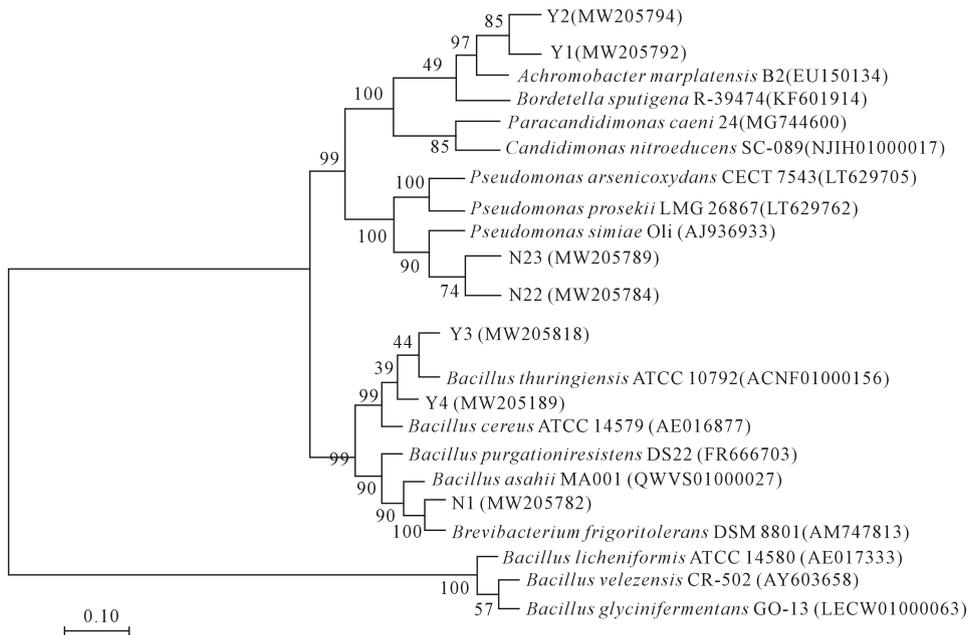


图 3 基于分离菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence of the isolated strains

胞菌株中是较为少见的。另外, 尽管有 2 株细菌同属于 *P.simiae*, 且这两株菌的 16S rRNA 基因序列与 *P.simiae* OLi 的相似度均达到 99.85%, 但它们的促生潜力却具有显著差异, 说明同一种属的内生细菌的促生潜力存在菌株间的差异, 引起菌株间促生潜力的差异与细菌自身代谢能力、外界环境中碳源、氮源及微量元素的种类等诸多因素有关^[25], 还需进一步研究。

欧李主要分布于我国北方地区, 多山地丘陵或

沙漠草原, 土壤养分贫瘠, 而固氮微生物在为植物提供氮源方面发挥很大作用。本研究测定分离菌株固氮酶活性在 $50.64 \sim 127.40 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, 芽胞杆菌 Y3 固氮酶活性最高, 为 $127.40 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, 与前人报道的芽胞杆菌固氮活性结果一致^[26]。吡啶乙酸 (IAA) 是一种极为重要的生理活性物质, 由包含 PGPE 在内的多种微生物产生^[27-28]。本试验中分离的菌株均能够分泌植物生长素 IAA, 如果给宿主植物接种分泌 IAA 菌株, 可扩

大根表面积,利于根系从土壤中吸收水分和矿物质^[29],对提高欧李的产量和品质具有积极作用。

在 PGPE 菌株分离过程中,不仅要分离具有促生作用的菌株,还应筛选具有耐盐碱特性菌株,这对生产实践具有重要作用^[30]。全球大约 20% 的耕地和 50% 的灌区受到盐碱化的影响^[31],内生菌能够从植物的多个方面来改善植物组织渗透平衡和离子毒害,从而缓解盐碱胁迫对植物的伤害,有利于植物在盐碱地生长^[32]。根据 Larsen 等^[33]和 Vreeland^[34]提出的微生物对盐碱敏感程度的分类系统,本试验分离菌株 Y3、Y4 能够在 NaCl 浓度为 30%、pH 值为 13 的条件下正常生长,属于极端嗜盐嗜碱微生物。推测该株菌与欧李能够生长在盐碱环境中有一定关系,可协助植物适应环境,并在盐碱地生物修复中具有很好的应用潜力。

本研究分离的 7 株内生菌均具有一定的促生功能(固氮、解磷、溶磷、合成植物生长素 IAA)和耐盐碱特性,解有机磷量最高为 $342.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,溶无机磷量最高为 $143.61 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,固氮酶活性最高为 $125.9 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$;合成植物生长素 IAA 量最高为 $70.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,耐盐碱特性较强的菌株可在 NaCl 浓度为 30%,pH 值为 13 的条件下正常生长。7 株优良 PGPE 被鉴定为:Y3、Y4 为 *Bacillus* sp.,N23、N22 为 *Pseudomonas simiae*,N1 为 *Brevibacterium frigoritolerans*,Y1、Y2 为 *Achromobacter marplatensis*。各菌株之间促生潜力存在显著差异,可为后续复合微生物菌剂(菌肥)研发提供依据。

参考文献:

- [1] 王有信,何卫军,李学风.欧李区域分布、种群演变与潜在价值研究[J].山西果树,2015,(4):12-14.
WANG Y X, HE W J, LI X F. Study on regional distribution, evolution of population and potential value of *Cerasus humilis* [J]. Shanxi Fruits, 2015, (4): 12-14.
- [2] 罗旭鹏,张锦梅,张文莲.青海高原欧李引种潜力和利用前景[J].青海农林科技,2020,(4):54,73.
LUO X P, ZHANG J M, ZHANG W L. Introducing potential and utilizing prospect of *Cerasus humilis* in Qinghai Plateau[J]. Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry, 2020,(4): 54, 73.
- [3] 陈会敏,安传志,李海军,等.欧李的生态效益与产业化探讨[J].河北果树,2016,(5):32-33.
CHEN H M, AN C Z, LI H J, et al. Discussion on ecological benefit and industrialization of *Cerasus humilis* [J]. Hebei Fruits, 2016, (5): 32-33.
- [4] 李小燕,王欣玉,李连国,等.欧李根、茎的形态解剖学研究[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2014,35(3):26-30.
LI X Y, WANG X Y, LI L G, et al. A study of morphological anatomy of root and stem on *Cerasus humilis* [J]. Journal of Inner Mongolia Ag-

- ricultural University(Natural Science Edition), 2014, 35(3): 26-30.
- [5] VESSEY J K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers [J]. Plant and Soil, 2003, 255(2): 571-586.
- [6] TARAFDAR J C, CLAASSEN N. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms [J]. Biology and Fertility of Soils, 1988, 5(4): 308-312.
- [7] KUCEY R M N, JANZEN H H, LEGGETT M E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus [C]//BRADY N C. Advances in agronomy: volume 4. US: Academic Press, 1989: 199-228.
- [8] WAKELIN S A, WARREN R A, HARVEY P R, et al. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots [J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 40(1): 36-43.
- [9] COMPANT S, REITER B, SESSITSCH A, et al. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain P_sJN [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(4): 1685-1693.
- [10] 谢安强,洪伟,吴承祯,等.桉树内生菌对尾巨桉幼苗抗寒性的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2011,40(2):138-144.
XIE A Q, HONG W, WU C Z, et al. Effects of endophytic fungus in eucalyptus on the cold resistance of the seedling of *E.urophylla* × *E. grandis* [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2011, 40(2): 138-144.
- [11] 张现勇,韩巨才,刘慧平,等.油菜内生细菌 yc8 发酵液对植物促生作用及其营养代谢的影响[J].安徽农业科学,2007,35(29):9121-9122,9124.
ZHANG X Y, HAN J C, LU H P, et al. Effect of the fermentation of endophytic bacteria strain yc8 from rapeseeds on the growth-promoting effect and nutrition metabolism [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(29): 9121-9122, 9124.
- [12] 刘丽辉,彭桂香,黄淑芬,等.落地生根内生固氮菌多样性和促生特性[J].微生物学通报,2019,46(10):2538-2547.
LIU L H, PENG G X, HUANG S F, et al. Diversity and growth promotion of endophytic diazotrophic bacteria isolated from *Bryophyllum pinnatum* [J]. Microbiology, 2019, 46(10): 2538-2547.
- [13] 李海云,蒋永梅,姚拓,等.蔬菜作物根际促生菌分离筛选、鉴定及促生特性测定[J].植物保护学报,2018,45(4):836-845.
LI H Y, JIANG Y M, YAO T, et al. Isolation, screening, identification and growth promoting characteristics of plant growth promoting rhizobacteria of vegetable crops [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2018, 45(4): 836-845.
- [14] NAUTIYAL C S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms [J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 170(1): 265-270.
- [15] 陈俊,陆俊镔,康丽华,等.红树林溶磷菌的初步鉴定、溶磷能力测定及其优化培养[J].微生物学通报,2009,36(8):1183-1188.
CHEN J, LU J K, KANG L H, et al. Primary identification, capability of phosphate-solubilization and optimization of medium of some microorganism from mangrove [J]. Microbiology, 2009, 36(8): 1183-1188.
- [16] 韩文星,姚拓,席琳乔,等.PGPR 菌肥制作及其对燕麦生长和品质

- 影响的研究[J].草业学报,2008,17(2):75-84.
- HAN W X, YAO T, XI L Q, et al. PGPR bio-fertilizers producing and its effect on *Avena sativa* growth and quality development [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(2): 75-84.
- [17] 王娇,解修超,邓百万,等.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 X C, DENG B W, et al. Isolation, identification and biological activity of endophytic bacteria in *Aesculus sinensis*[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2017, (11): 71-75.
- [18] PIROMYOU P, BURANABANYAT B, TANTASAWAT P, et al. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(1): 44-54.
- [19] 姚拓,龙瑞军,王刚,等.兰州地区盐碱地小麦根际联合固氮菌分离及部分特性研究[J].土壤学报,2004,41(3):444-448.
- YAO T, LONG R J, WANG G, et al. Isolation and characteristics of associative symbiotic nitrogen bacteria from rhizosphere of wheat in saline soil in Lanzhou area[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(3): 444-448.
- [20] 张银翠,姚拓.溶磷细菌的溶磷及分泌吡啶乙酸能力研究[J].草原与草坪,2020,40(2):17-22.
- ZHANG Y C, YAO T. Study on the abilities of phosphorus solubilizing and indoleacetic acid secretion of phosphorus solubilizing bacteria[J]. *Grassland and Turf*, 2020, 40(2): 17-22.
- [21] 王吉永,郭龙妹,高林怡,等.植物内生菌的侵染定殖研究概况[J].江苏农业科学,2019,47(14):36-39.
- WANG J Y, GUO L M, GAO L Y, et al. Study overview on infection and colonization of plant endophytes [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(14): 36-39.
- [22] SIDDIQUI I A, SHAUKAT S S. Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on the diversity of culturable microfungi and nematodes associated with tomato: impact on root-knot disease and plant growth [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(10): 1359-1368.
- [23] SHEN X M, HU H B, PENG H S, et al. Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *pseudomonas*[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 271.
- [24] CRONIN D, MOENNE-LOCOCOZ Y, FENTON A, et al. Role of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol *pseudomonad* strain F113 with the potato cyst nematode *globochloa rostrata*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(4): 1357-1361.
- [25] 马文彬,姚拓,王国基,等.根际促生菌筛选及其接种剂对箭筈豌豆生长影响的研究[J].草业学报,2014,23(5):241-248.
- MA W B, YAO T, WANG G J, et al. Assessment of rhizobacteria strains for *Vicia sativa*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(5): 241-248.
- [26] 孙建光,罗琼,高森,等.小麦、水稻、玉米、白菜、芹菜内生固氮菌及其系统发育[J].中国农业科学,2012,45(7):1303-1317.
- SUN J G, LUO Q, GAO M, et al. Isolation and phylogeny of nitrogen-fixing endophytic bacteria in wheat, rice, maize, Chinese cabbage and celery [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(7): 1303-1317.
- [27] HUSSAIN M I, ASGHAR H N, ARSHAD M, et al. Screening of multi-traits rhizobacteria to improve maize growth under axenic conditions [J]. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 2013, 23(2): 514-520.
- [28] LWIN K M, MYINT M M, TAR T, et al. Isolation of plant hormone (indole-3-acetic acid-IAA) producing rhizobacteria and study on their effects on maize seedling [J]. *Engineering Journal*, 2012, 16(5): 137-144.
- [29] KIM Y C, LEVEAU J, MCSPADEN GARDENER B B, et al. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(5): 1548-1555.
- [30] 王丹,赵亚光,张风华.耐盐促生菌筛选、鉴定及对盐胁迫小麦的效应[J].麦类作物学报,2020,40(1):110-117.
- WANG D, ZHAO Y G, ZHANG F H. Screening and identification of salt-tolerant plant growth-promoting bacteria and its promotion effect on wheat seedling under salt stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(1): 110-117.
- [31] 燕红,钟方,高新亮,等.耐盐碱菌株的分离筛选及生物学特性和盐碱去除效率的研究[J].生态学杂志,2012,31(4):1000-1008.
- YAN H, ZHONG F, GAO X L, et al. Isolation and screening of saline-alkali tolerant bacterial strains and the biological characteristics and salt-alkali removal efficiency of the strain screened [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(4): 1000-1008.
- [32] 李娇,张宝龙,赵颖,等.内生菌对提高植物抗盐碱性的研究进展[J].生物技术通报,2014,(4):14-18.
- LI J, ZHANG B L, ZHAO Y, et al. Progress in endophyte improving plant salt and alkali resistance [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014, (4): 14-18.
- [33] LARSEN P I, SYDNES L K, LANDFALD B, et al. Osmoregulation in *Escherichia coli* by accumulation of organic osmolytes; betaines, glutamic acid, and trehalose [J]. *Archives of Microbiology*, 1987, 147(1): 1-7.
- [34] VREELAND R H. Mechanisms of halotolerance in microorganisms [J]. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 1987, 14(4): 311-356.