

• 环境生物技术 •

耐盐碱促生菌的筛选及性能

孙雪^{1,2}, 董永华³, 王娜², 崔文会^{2,4}, 廖鲜艳¹, 刘莉²

- 1 上海大学 生命科学学院, 上海 200444
- 2 中国科学院上海高等研究院, 上海 201210
- 3 上海市农产品质量安全中心, 上海 200335
- 4 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093

孙雪, 董永华, 王娜, 等. 耐盐碱促生菌的筛选及性能. 生物工程学报, 2020, 36(7): 1356-1364.

Sun X, Dong YH, Wang N, et al. Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria. Chin J Biotech, 2020, 36(7): 1356-1364.

摘要: 盐分是影响作物生长最重要的因素, 使用能促进植物生长的耐盐碱促生菌减轻盐胁迫引起的损害是一种农业上的有效方法。文中从盐碱地筛选得到 7 株耐盐细菌, 并考察筛选菌株的产胞外聚合物 (EPS) 能力、降碱能力和产吲哚-3-乙酸 (IAA) 能力。经综合评价选出 1 株优势菌株 DB01, 菌株 DB01 产 EPS 能力为 0.21 g/g, 降碱能力为 8.7%, 产 IAA 的能力为 8.97 mg/L。菌株经 16S rRNA 鉴定为海水盐单胞菌 *Halomonas aquamarina*, 并且有抑制香蕉枯萎病、番茄早疫病、大豆疫霉病、小麦纹枯病病原菌的能力, 同时能够在盐胁迫下促进小麦幼苗的发芽率和根长。海水盐单胞菌 *Halomonas aquamarina* DB01 可为土壤微生物资源开发利用和盐碱地改良提供理论依据。

关键词: 耐盐, 降碱, 胞外聚合物, 促生特性, 促生效应

Received: November 20, 2019; **Accepted:** February 13, 2020

Supported by: Shanghai Science and Technology Commission Project (No. 18295810400), Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program (No. 2019-02-08-00-16-F01140), Shanghai Chongming District Agricultural Science and Technology Innovation Project (No. 2019CNKC-05).

Corresponding author: Li Liu. Tel/Fax: +86-21-20325161; E-mail: liul@sari.ac.cn

上海市科委项目 (No. 18295810400), 上海市科技兴农项目 (No. 2019-02-08-00-16-F01140), 上海市崇明区农业科创项目 (No. 2019CNKC-05) 资助。

网络出版时间: 2020-03-02

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200301.2054.001.html>

Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria

Xue Sun^{1,2}, Yonghua Dong³, Na Wang², Wenhui Cui^{2,4}, Xianyan Liao¹, and Li Liu²

¹ School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China

² Shanghai Advanced Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

³ Shanghai Quality Safety Center of Agricultural Products, Shanghai 200335, China

⁴ School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

Abstract: Salinity is the most important factor for the growth of crops. It is an effective method to alleviate the toxic effect caused by salt stress using saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria in agriculture. Seven salt-tolerant bacteria were screened from saline-alkali soil, and the abilities of EPS production, alkalinity reduction and IAA production of the selected strains were investigated. A dominant strain DB01 was evaluated. The abilities of EPS production, alkalinity reduction and IAA production of strain DB01 were 0.21 g/g, 8.7% and 8.97 mg/L, respectively. The isolate was identified as *Halomonas aquamarina* by partial sequencing analysis of its 16S rRNA genes, and had the ability to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp., *Alternaria solani*, *Phytophthora sojae* and *Rhizoctonia cerealis*. It also could promote root length and germination rate of wheat seedlings under salt stress. *Halomonas aquamarina* can provide theoretical basis for the development of soil microbial resources and the application in saline-alkali soil improvement.

Keywords: salt-tolerant, alkalinity reduction, extracellular polymer, growth-promoting properties, growth-promoting effect

土地盐碱化是一个影响全世界的土壤退化问题,盐碱化不仅降低了耕地的作物产量,而且严重限制耕地利用的可持续性,阻碍了农业的发展^[1]。我国盐碱地面积位列全球第三,面积约有 $1 \times 10^8 \text{ hm}^2$,广泛分布于我国西北、东北、华北以及滨海地区^[2-3]。除自然形成的盐碱地外,人们对化肥和农药的滥用以及不当的耕作方式,也会造成盐分在耕作层的累积从而导致土地次生盐渍化的形成^[4]。根据目前耕地面积快速减少的趋势,增加耕地面积、修复耕地生态已经成为重中之重,盐碱地的改良已成为增加和改善耕地的突破口。根据《关于开展全国耕地后备资源调查评价工作的通知》(国土资厅发〔2014〕13号)^[5],轻度和中度盐碱地已然成为我国耕地后备资源,这为盐碱地的改良和利用提供更加坚实的理论支持。

目前国内外对盐碱地的修复研究主要集中在物理和化学法修复,但是这两种修复方法的费用较为昂贵,生物修复因具有成本低且无二次污染等优点成为盐碱地修复的新兴方法^[6]。盐碱地易形成土壤板结,造成土壤的透气性差,而耐盐碱促生微生物分泌的胞外聚合物(EPS)能通过范德

华力和静电引力与土壤颗粒形成土壤团聚体,增加土壤的透气性,同时减少盐离子对作物的毒害作用^[7]。此外它们还能够分泌吲哚-3-乙酸(IAA)等植物生长激素来调控盐胁迫下植物的系统反应。利用耐盐碱促生菌促进植物根系的生长,减缓盐胁迫对植物的不利,进而达到改善盐碱地的目的。由于耐盐碱微生物是生物修复的重要组成部分,因此,筛选一株能够改善土壤质地、促进植株生长的菌株,是盐碱土壤可持续发展的关键^[8]。本实验研究从江苏如东盐碱土分离得到耐盐菌株,并对其产EPS能力、降碱能力、产IAA能力、病原菌拮抗等多重生理指标以及在盐胁迫下对作物的促生效应进行初步探讨,为研制改良盐碱地微生物菌剂提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 盐碱土壤样品

供试土壤于2018年11月采集于江苏省南通市如东县沿海盐碱土(32°50'N, 121°14'E)。该盐碱土的可溶性总盐含量为0.7%,pH为8.99,电

导率为 3.62 mS/cm。

1.1.2 种子和实验病原菌

实验种子采用小麦 *Triticum aestivum* 种子。

指示病原菌：香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp.、番茄早疫病菌 *Alternaria solani* 来自海南大学热带农林学院农药实验室；大豆疫霉病菌 *Phytophthora sojae*、小麦纹枯病菌 *Rhizoctonia cerealis* 来自中国农业微生物菌种保藏管理中心。

1.1.3 培养基

10%氯化钠的 LB 培养基：酵母膏 5 g，蛋白胨 10 g，NaCl 100 g，加蒸馏水配制至 1 000 mL。固体培养基中琼脂的添加量为 1.5%。

5%氯化钠的 LB 培养基：酵母膏 5 g，蛋白胨 10 g，NaCl 50 g，加蒸馏水配制至 1 000 mL。

LB 培养基：酵母膏 5 g，蛋白胨 10 g，NaCl 10 g，加蒸馏水配制至 1 000 mL。固体培养基中琼脂的添加量为 1.5%。

pH=10 的 LB 培养基：酵母膏 5 g，蛋白胨 10 g，NaCl 10 g，加蒸馏水配制至 1 000 mL。用碳酸钠调节培养基的 pH 值，碳酸钠溶液采用过滤灭菌，当培养基冷却至 50 °C 时加入碳酸钠溶液调节培养基的 pH 值到 10^[9]。

产 EPS 菌株发酵培养基：蔗糖 20 g，K₂HPO₄ 0.2 g，KH₂PO₄ 0.5 g，NaCl 100 g，MgSO₄·7H₂O 0.5 g，酵母膏 3 g，加蒸馏水配制至 1 000 mL^[10]。

所有培养基均于 121 °C 灭菌 20 min。

1.1.4 主要试剂和仪器

AxyPrep 基因提取试剂盒、*Taq* 酶、DNA Ladder Mix、dNTP 均购自生工生物工程（上海）股份有限公司；其余试剂均为分析纯试剂，购自上海国药集团化学试剂有限公司。Salkowski 试剂：浓 H₂SO₄ 10.8 mol/L，FeCl₃ 4.5 mol/L。

S1000-PCR 扩增仪：美国 BIO-RAD；HQ40d 便携式 pH 计：美国哈希公司；ZWY-2102C 恒温振荡摇床：上海智城分析仪器制造有限公司；DR2800 台式可见光分光光度计：美国哈希公司；

L550 医用离心机：湖南湘仪实验室仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 耐盐微生物的筛选

菌株的分离：取 5 g 供试土壤加入装有 100 mL 无菌水的锥形瓶中，180 r/min 振荡 30 min，使供试土壤中的微生物充分分散于无菌水中，得到土壤混合液。将土壤混合液按梯度进行稀释，选择浓度梯度为 10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ 的土壤混合液进行涂布，吸取 100 μL 菌悬液涂布于 10%氯化钠的 LB 固体培养基中用于分离耐盐微生物。将平板倒置放入 30 °C 恒温培养箱中培养 48–96 h^[10]。

菌株的纯化：根据菌落形态、颜色以及大小的区别，挑取单个微生物菌落，之后进行多次纯化直至获得单克隆菌株，纯化获得的菌株用 30% 的甘油储存于 -80 °C 冰箱。

1.2.2 菌株产 EPS 能力的测定

将初筛得到的耐盐菌株接入产 EPS 菌株发酵培养基中，接种量为 5%，培养温度为 30 °C，培养时间为 3 d。3 d 后取 10 mL 发酵液 4 000 r/min 离心 15 min，去除菌体，菌体 105 °C 烘干称重。上清液加入 3 倍体积 95% 乙醇进行醇沉，4 °C 过夜，混合液 4 000 r/min 离心 30 min，倒去上清液，沉淀 105 °C 下烘干称重。通过 EPS 重量和菌株干重的比值得出单位重量菌株的 EPS 的产量^[11]。

1.2.3 菌株降碱能力的测定

降碱能力的平板验证：将筛选得到的菌株在 pH=10 的 LB 固体培养基上进行划线，将平板倒置放入 30 °C 恒温培养箱中培养 48–96 h。观察是否有菌株生长，生长的菌株进行后续的摇瓶验证。

降碱能力的摇瓶测定：将平板生长情况较好的菌株接入到 pH 10 的 LB 液体培养基中，每隔 12 h 观察菌株生长情况和 pH 值的变化情况。菌株以 5% 的接种量接入 pH 10 的 LB 液体培养基中。菌株的降碱率按照下式进行计算：

$$\eta = \frac{\text{pH}_{\text{前}} - \text{pH}_{\text{后}}}{\text{pH}_{\text{前}}} 100\% \quad (1)$$

式中： η 为降碱能力，%； $\text{pH}_{\text{前}}$ 为发酵前培养基的 pH 值； $\text{pH}_{\text{后}}$ 为发酵后培养基的 pH 值^[12]。

1.2.4 菌株产 IAA 能力的测定

吲哚-3-乙酸 (IAA) 是一种植物生长激素，它能够促进植株的生长。盐分会抑制植物体内 IAA 的合成，可以通过菌株分泌的外源 IAA 刺激植物体内 IAA 的合成。菌株产 IAA 的能力采用 Salkowski 比色法测定，本研究采用 5% 氯化钠的 LB 培养基作为发酵培养基，观察高盐情况下，菌株 IAA 的产生情况。菌株以 5% 的接种量接入 5% 氯化钠的 LB 液体培养基中。30 °C、180 r/min 振荡 2 d，之后将菌液 10 000 r/min 离心 10 min，取 2 mL 上清液加入相同体积的 Salkowski 试剂混合均匀，于黑暗处反应 30 min 后测定溶液在 530 nm 处的吸光值，通过制作好的标准曲线计算出发酵液中 IAA 的含量^[13]。

1.2.5 菌株的鉴定

用 16S rRNA 基因序列分析的方法对筛选所得菌株进行鉴定，本实验使用 AxyPrep 细菌基因组 DNA 小量制备试剂盒，提取基因组，采用细菌常用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCC TGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTA CGACTT-3') 进行 PCR^[14]。

PCR 采用 20 μL 反应体系：Taq 酶 10 μL ，模板 0.5 μL ，引物各 0.6 μL ，添加 ddH₂O 至体系总体积为 20 μL 。

PCR 反应程序：94 °C 预变性 5 min；94 °C 变性 30 s，55 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 90 s，循环 30 次；72 °C 补延伸 10 min，16 °C 降温 5 min 结束。PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳进行条带检测，送往上海杰李生物技术有限公司进行纯化测序。根据测序所得 16S rRNA 序列在 GenBank 中 BLAST 搜索同源序列^[15]。

1.2.6 菌株拮抗病原微生物能力的测定

测定筛选所得优势菌株对香蕉枯萎病菌、

番茄早疫病菌、大豆疫病霉菌以及小麦纹枯病菌的抑制能力。将 4 种致病菌分别接入到 LB 固体培养基中培养 7-9 d。之后再分别在真菌菌丝生长最旺盛的地方用灭过菌的打孔器进行打孔，将这些带有菌丝的培养基接入到新的 LB 培养基的正中间，同时在距平板中心 2.5 cm 的位置接入筛选获得的菌株，30 °C 下培养，每天观察菌株和真菌的生长状况以及菌株对真菌的拮抗效果^[16-17]。

1.2.7 菌株促生能力的测定

种子液的制备：菌株以 5% 的接种量接入 LB 液体培养基中，30 °C 培养 48 h。之后菌液以 8 000 r/min 离心 10 min 去除上清液，用无菌水将菌体悬浮成 OD=0.2 的菌株悬浮液。

种子处理：挑选大小一致、饱满的小麦种子，用 75% 的乙醇消毒 3 min，之后用无菌水清洗 3 次，去除残留的乙醇。将处理过后的种子于室温下浸泡在制备好的菌株悬浮液中 3 h^[13]。

发芽床的制备：选择无菌培养皿进行实验，使用吸水性和保水性较好的滤纸作为纸床。每组 30 粒小麦种子作为一个平行，重复 3 次。采用不同 NaCl 浓度 (0 mmol/L、50 mmol/L、100 mmol/L、150 mmol/L、200 mmol/L) 的水溶液浸湿滤纸来营造不同盐胁迫的环境，纸床在吸足水后，去除多余水分。种子在 25 °C 下暗培养 4 d 后，测定种子发芽率 (GR)、根长、茎长和简化活力指数 (SVI)。SVI 的计算公式如下^[18]：

$$\text{SVI} = (\text{平均根长} + \text{平均茎长}) \times \text{GR} \quad (2)$$

1.3 数据处理

数据的差异显著性分析通过 SPSS 软件获得。

2 结果与分析

2.1 耐盐菌株的筛选

从初筛培养基的平板中，根据菌落形态特征分离纯化得到 7 株耐 10% 氯化钠的耐盐菌株，菌落形态以及生长情况见表 1。

表 1 菌落形态

Table 1 Colony morphology

Strain	Colony morphology	Growth situation
YJY01	Round, white, opaque, convex colonies, neat edge, moist, smooth and shiny surface.	++
YJY04	Flat, yellow, round, opaque colonies, neat edge, smooth and shiny surface.	++
YJJ01	Round, milky white, opaque, convex colonies, fluffy edge, smooth and shiny surface.	++
YJJ02	Round, white, opaque, convex colonies, dry and dull surface, irregular and flocculent edge.	+
YJJ03	Luminous yellow, round, opaque, swell colonies, neat edge, smooth and shiny surface.	+
YJJ04	Light pink, round, opaque, flat colonies, neat edge, smooth and shiny surface.	+
DB01	Yellow, round, opaque, flat colonies, neat edge, moist surface.	+++

“+” represents colony diameter<0.5 mm, “++” represents 0.5 mm<colony diameter<2 mm, “+++” represents colony diameter>2 mm.

2.2 菌株生理活性

EPS 因含有羟基、羧基等官能团, 故其能够吸附环境中的金属离子。同时 EPS 还能通过范德华力与土壤胶体相结合形成土壤团聚体, 从而抵抗盐离子对植物的毒害作用。通过考察筛选所得菌株的产 EPS 能力和耐碱能力, 得到的 7 株菌株都有分泌 EPS 的能力, 其中菌株 YJY01 产 EPS 的能力最高, 产量为 0.42 g/g, 但是其无法在耐碱培养基上生长。除 YJY01 之外, 其余菌株都可在耐碱培养基上生长, 且有一定的降碱能力, 菌株 YJJ02 的降碱能力最强, 能够达到 12%, 同时所有菌株在生长周期的前 12 h 有较高的降碱能力, 后期随着菌株的消亡, 细胞内容物溢出, 使得发酵液 pH 值呈现逐步上升的趋势。

IAA 是较为常见的植物促生长激素, 当环境中盐浓度增加时, 植物体内的内源 IAA 的含量将会减少, 此时可以通过外加菌株分泌的 IAA 来刺激植物产生内源 IAA 而促进植物的生长。观测高盐情况下菌株 IAA 的产生量, 结果如表 2 所示, 筛选所得菌株在高盐情况下皆有产生 IAA 的能力并且皆大于 1 mg/L, 其中菌株 DB01 分泌 IAA 的能力最强为 8.97 mg/L, 根据上述 3 种能力, 挑选优势菌株 DB01 进行 16S rRNA 基因鉴定和革兰氏染色, 并进行致病菌拮抗实验和小麦发芽率实验。

2.3 菌株的鉴定

将筛选得到的优势菌株 DB01 的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 数据库中的核酸序列数据进行 BLAST 对比分析, 选取其中同源性最高的菌

表 2 菌株生理活性

Table 2 Physiological activity of strains

Strain	EPS production (g/g) ¹	Alkaline plate ²	Alkalinity reduction (%) ³	IAA production (mg/L)
YJY01	0.42±0.01 ^a	—	—	2.65±0.06 ^d
YJY04	0.13±0.00 ^c	+	3.6±0.16 ^c	1.09±0.07 ^e
YJJ01	0.15±0.03 ^c	++	6.0±0.04 ^c	3.97±0.08 ^e
YJJ02	0.29±0.08 ^b	++	12.1±0.04 ^a	1.27±0.03 ^e
YJJ03	0.24±0.01 ^b	++	5.3±0.08 ^d	2.70±0.06 ^d
YJJ04	0.27±0.03 ^b	++	5.8±0.57 ^c	5.14±0.07 ^b
DB01	0.23±0.04 ^b	++	8.7±0.08 ^b	8.97±0.24 ^a

1: EPS yield is the ratio of net EPS secreted by the strain after subtracting EPS from the medium to the dry weight of the strain, 2: “+” represents colony diameter<0.5 mm, “++” represents 0.5 mm<colony diameter<2 mm, “—” represents no growth, 3: Alkalinity reduction is the value after subtracting the blank. a,b,c,d,e: there were significant differences between the values at $P<0.05$.

株作为代表菌株。使用 MEGA 7.0 进行菌株系统发育树的构建, 具体菌株同源性信息见图 1, 由图 1 可知 DB01 与 *Halomonas aquamarina* (GenBank 登录号: EF143431.1) 聚为一支, 表明 DB01 的 16S rRNA 的基因序列与其有着最高的同源性, 相似性为 100%, 因此可以判定菌株 DB01 为海水盐单胞菌 *Halomonas aquamarina*。菌株的具体形态见图 2, 由图 2 可知菌株 DB01 为革兰氏阴性、呈现杆状。目前从盐碱地中筛选得到耐盐碱促生菌大多为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、盐杆菌属(*Halobacillus*)和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等。仅有个别文章提到

期望盐单胞菌可作为提高植物耐盐性的根际促生菌(PGPR), 但是还并未有文章提及 *Halomonas aquamarina* 可作为耐盐促生菌^[19-22]。与其他耐盐促生菌相比, *Halomonas aquamarina* 不仅能够耐受高盐环境也可在高碱环境下生存, 能够在高盐环境下分泌 IAA, 通过刺激内源 IAA 和抗氧化酶的产生增加植物对高盐环境的耐受能力, 具有铁载体和蛋白酶的产生能力, 表明其有望成为生防耐盐促生菌的潜力。*Halomonas aquamarina* 可以定殖在植物根系, 通过产生的 EPS 结合钠离子来减少钠离子在作物体内的累积, 还可以增加根系周边的营养来促进作物的生长。

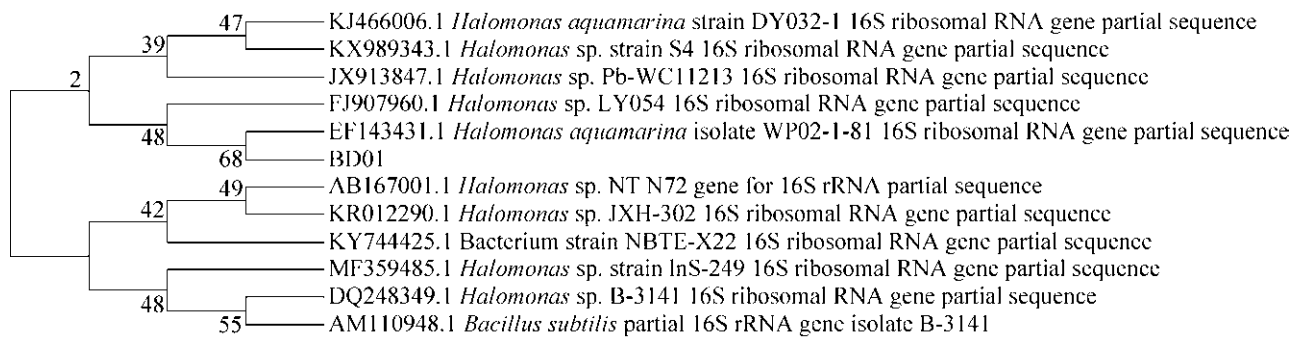


图 1 菌株 DB01 的系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain DB01.

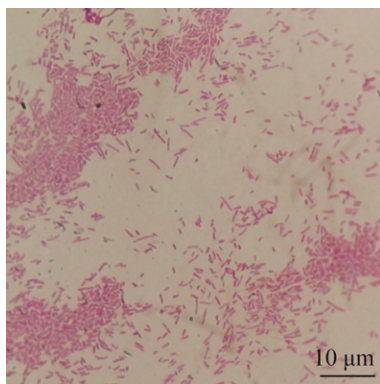


图 2 菌株 DB01 的镜检图

Fig. 2 Microscopic examination of strain DB01.

2.4 菌株抑菌能力

将菌株 DB01 与香蕉枯萎病、番茄早疫病、大豆疫霉病、小麦纹枯病的致病菌接入同一平板中观察菌株对致病菌的抑制效果。实验发现 DB01 对以上 4 种致病菌皆有抑制能力, 由图可知, 菌株对番茄早疫病菌和小麦纹枯病菌的抑制能力较强, 赵新贝等、王平等提到菌株可以通过分泌 HCN 等抑菌物质来抑制病原菌生长, 同时也可以通过分泌胞外酶(几丁质酶、葡聚糖)来分解致病菌的细胞壁从而导致致病菌死亡, 还可以通过分泌铁载体和病原菌争夺土壤中的铁元素抑制致病菌的生长^[23-25]。菌株 DB01 的生防机理尚未见报道, 有待后续研究。

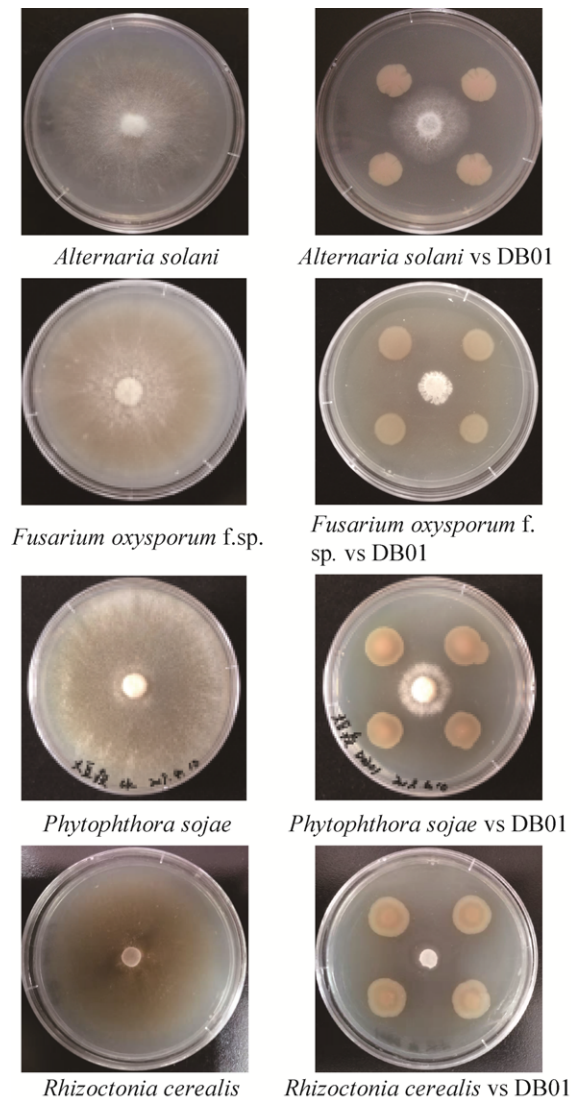


图3 DB01对致病菌的抑制情况
Fig. 3 The inhibition of pathogenic bacteria by DB01.

表3 菌株DB01对小麦幼苗的促生作用

Table 3 The promoting effect of strain DB01 on wheat seedlings

NaCl concentration (mmol/L)	Treatment	Germination rate (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	SVI
0	CK	75.00±6.80 ^a	2.30±0.18 ^a	3.42±0.56 ^b	431.98±85.91 ^b
	DB01	80.00±8.16 ^a	2.87±0.08 ^b	5.12±0.13 ^a	640.29±77.37 ^a
50	CK	73.33±13.61 ^{ab}	1.76±0.13 ^c	2.61±0.03 ^d	320.40±57.8 ^{cd}
	DB01	73.33±9.81 ^{ab}	1.77±0.41 ^c	3.39±0.58 ^b	387.04±119.88 ^{bc}
100	CK	65.56±8.31 ^b	1.26±0.1 ^d	1.98±0.14 ^e	212.40±16.78 ^{de}
	DB01	70.00±2.72 ^{ab}	1.16±0.08 ^d	2.84±0.13 ^{bc}	280.39±22.4 ^{cd}
150	CK	53.33±0.00 ^{cd}	0.69±0.06 ^e	1.82±0.32 ^e	133.88±19.72 ^{ef}
	DB01	58.33±1.36 ^c	0.72±0.11 ^e	2.53±0.22 ^{cd}	189.80±11.03 ^f
200	CK	47.78±3.14 ^d	0.55±0.06 ^e	1.35±0.24 ^e	91.50±18.62 ^e
	DB01	51.11±4.16 ^{cd}	0.52±0.04 ^e	1.86±0.08 ^e	122.27±11.96 ^e

a,b,c,d,e,f: there were significant differences between the values at $P < 0.05$.

2.5 菌株对小麦的促生效果

不同盐胁迫下菌株 DB01 对小麦发芽率、根长、茎长以及简化活力指数的影响如表 3 所示。随着盐浓度增加，对照组和实验组的发芽率同时呈现降低的趋势，但菌株 DB01 处理过的小麦种子的发芽率均高于对照组，菌株 DB01 仅在没有盐胁迫下能够显著促进茎长，但是从 0 mmol/L 开始，处理组的根长显著高于对照组的根长，分别增加 50%、30%、43%、39% 和 38%，小麦简化活力指数和根长呈现同一趋势，和对照相比增加 49%、21%、32%、42% 和 34%，这说明在盐胁迫下菌株 DB01 对小麦生长有着一定程度的促进作用。

3 结论

从江苏省如东县盐碱土中筛选得到 7 株耐盐菌株，综合评价菌株的产 EPS 能力、降碱能力以及产 IAA 能力，获得一株耐盐碱促生菌 DB01。该菌株产 EPS 能力为 0.21g/g，降碱能力为 8.7%，产 IAA 能力为 8.97 mg/L。

将菌株 DB01 的 16S rRNA 基因序列进行对比分析，鉴定该菌株为海水盐单胞菌 *Halomonas aquamarina*。

海水盐单胞菌 *Halomonas aquamarina* DB01 能够抑制香蕉枯萎病菌、番茄早疫病菌、大豆疫霉病菌、小麦纹枯病菌的生长，并能够增加小麦

种子的发芽率和简化活力指数,有望成为一种广谱性的生防促生菌。将其应用于盐碱地改良,提高作物对盐碱的抗性可作为今后的研究方向。

REFERENCES

- [1] Li B, Wang GZ, Sun ZG, et al. Resources and sustainable resource exploitation of salinized land in China. *Agri Res Arid Areas*, 2005, 23(2): 154–158 (in Chinese).
李彬, 王志春, 孙志高, 等. 中国盐碱地资源与可持续利用研究. *干旱地区农业研究*, 2005, 23(2): 154–158.
- [2] Niu DL, Wang QJ. Research progress on saline-alkali field control. *Chin J Soil Sci*, 2002, 33(6): 449–455 (in Chinese).
牛东玲, 王启基. 盐碱地治理研究进展. *土壤通报*, 2002, 33(6): 449–455.
- [3] Pan BY, Cao Y. Effect of different doses of Lees on salinized soil. *Environ Sci Manag*, 2009, 34(10): 135–137 (in Chinese).
潘保原, 曹越. 不同剂量的酒糟对盐碱土壤改良的作用. *环境科学与管理*, 2009, 34(10): 135–137.
- [4] Wang WF, Wu ZS, He YH, et al. Plant growth promotion and alleviation of salinity stress in *Capsicum annuum* L. by *Bacillus* isolated from saline soil in Xinjiang. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 164: 520–529.
- [5] Ding SW, Zhang P. Research status of saline-alkali land improvement and application analysis of microbial fertilizer. *Mod Agri Sci Technol*, 2019, (7): 175–176 (in Chinese).
丁绍武, 张鹏. 盐碱地改良研究现状及微生物菌肥应用分析. *现代农业科技*, 2019, (7): 175–176.
- [6] Shaygan M, Mulligan D, Baumgartl T. The potential of three halophytes (*Tecticornia pergranulata*, *Sclerolaena longicuspis*, and *Frankenia serpyllifolia*) for the rehabilitation of brine-affected soils. *Land Degradat Dev*, 2018, 29(6): 2002–2014.
- [7] Jiang HH, Wang T, Chen N, et al. Research progress in PGPR improving plant's resistance to salt and alkali. *Biotechnol Bull*, 2019, 35(10): 189–197 (in Chinese).
姜焕焕, 王通, 陈娜, 等. 根际促生菌提高植物抗盐碱性的研究进展. *生物技术通报*, 2019, 35(10): 189–197.
- [8] Li HS, Lei P, Pang X, et al. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4. *Appl Soil Ecol*, 2017, 119: 26–34.
- [9] Shi W. Screening and resistance-analysis of microorganisms in extreme saline soil environments [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011 (in Chinese).
石伟. 极端盐碱土壤细菌的分离筛选及抗盐特性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
- [10] Liu CX. The screening of saline-alkali-tolerant microbes and its effect on the forming of saline-alkali soil aggregates[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009 (in Chinese).
刘彩霞. 耐盐碱微生物的筛选及在盐碱土团聚体形成中的作用[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- [11] Nunkaew T, Kantachote D, Nitoda T, et al. Characterization of exopolymeric substances from selected *Rhodospseudomonas palustris* strains and their ability to adsorb sodium ions. *Carbohydr Polym*, 2015, 115: 334–341.
- [12] Yan H, Zhong F, Gao XL, et al. Isolation and screening of saline-alkali tolerant bacterial strains and the biological characteristics and salt-alkali removal efficiency of the strain screened. *Chin J Ecol*, 2012, 31(4): 1000–1008 (in Chinese).
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. *生态学杂志*, 2012, 31(4): 1000–1008.
- [13] Shah G, Jan M, Afreen M, et al. Halophilic bacteria mediated phytoremediation of salt-affected soils cultivated with rice. *J Geochem Explorat*, 2017, 174: 59–65.
- [14] Wang N, Li BG, Liu L, et al. Screening and performance of dominant strains for sludge degradation in livestock and poultry breeding wastewater. *Ind Microbiol*, 2019, 49(1): 1–7 (in Chinese).
王娜, 李保国, 刘莉, 等. 降解畜禽养殖废水污泥的优势菌株筛选及其性能研究. *工业微生物*, 2019, 49(1): 1–7.
- [15] Mata JA, Martínez-Cánovas J, Quesada E, et al. A detailed phenotypic characterisation of the type strains of *Halomonas* species. *Syst Appl Microbiol*,

- 2002, 25(3): 360–375.
- [16] Zhou XL, He WF, Chuang SC, et al. The promotion effect of *Curcuma wenyujin* growth-promoting rhizobacteria strains and their survival ability in the soil. *J Anhui Agri Univ*, 2015, 42(4): 591–594 (in Chinese).
周晓雷, 何文斐, 闯绍闯, 等. 温莪术根际促生菌株的促生效应及土壤定殖. *安徽农业大学学报*, 2015, 42(4): 591–594.
- [17] Yessoufou K, Elansary HO, Mahmoud EA, et al. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. *Ind Crop Prod*, 2015, 74: 752–758.
- [18] Sarkar A, Ghosh PK, Pramanik K, et al. A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Res Microbiol*, 2018, 169(1): 20–32.
- [19] Liu SF, Wang RY. Advance in research on plant salt tolerance improved by plant-growth-promoting rhizobacteria. *J Desert Res*, 2019, 39(2): 1–12 (in Chinese).
刘少芳, 王若愚. 植物根际促生细菌提高植物耐盐性研究进展. *中国沙漠*, 2019, 39(2): 1–12.
- [20] Boukhatem ZF, Domergue O, Bekki A, et al. Symbiotic characterization and diversity of rhizobia associated with native and introduced acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. *Fems Microbiol Ecol*, 2012, 80(3): 534–547.
- [21] Etesami H, Beattie GA. Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. *Front Microbiol*, 2018, 9:148.
- [22] Ruppel S, Franken P, Witzel K. Properties of the halophyte microbiome and their implications for plant salt tolerance. *Funct Plant Biol*, 2013, 40(8-9): 940–951.
- [23] Zhao XB, Wang J, Shangguan NN, et al. Identification, fermentation condition optimization and control efficiency of biocontrol Bacterium TD-7 against the tomato grey mould. *Chin J Biol Control*, 2019, 35(2): 226–239 (in Chinese).
赵新贝, 王娟, 上官妮妮, 等. 番茄灰霉病生防细菌 TD-7 的鉴定、发酵条件优化及其防治效果. *中国生物防治学报*, 2019, 35(2): 226–239.
- [24] Wang P, Dong B, Li FD, et al. Detection and determination of the siderophores produced by wheat rhizobacteria. *Microbiol China*, 1994, 21(6): 323–326 (in Chinese).
王平, 董飏, 李阜棣, 等. 小麦根圈细菌铁载体的检测. *微生物学通报*, 1994, 21(6): 323–326.
- [25] Sukkasem P, Kurniawan A, Kao TC, et al. A multifaceted rhizobacterium *Bacillus licheniformis* functions as a fungal antagonist and a promoter of plant growth and abiotic stress tolerance. *Environ Exp Bot*, 2018, 155: 541–551.

(本文责编 陈宏宇)