

海洋沉积物芽孢杆菌 LS-06 的筛选鉴定及其对植物的促生作用

廖捷¹,王春雪¹,刘贺¹,戴莉¹,胡志勇¹,王成²,门庆永³,刘凯^{1*},汪城墙^{1*}

1. 山东农业大学生命科学学院, 土肥高效利用国家工程研究中心, 小麦育种全国重点实验室, 山东 泰安 271018
2. 山东省滨州市邹平市高新街道办事处, 山东 滨州 256200
3. 莒县农业技术服务中心, 山东 日照 276500

摘要: 我国耕作土壤盐渍化问题日益加剧, 严重限制了小麦、黄瓜等作物的生长发育。生物改良法因其成本低、效果显著、环保无害等特点, 成为改良土壤盐渍化的有效手段。植物根际促生细菌是一类非常重要的菌种资源, 可用于改良盐渍化土壤, 有重要研究价值。本研究从盐渍地中筛选到了一株多功能的耐盐促生芽孢杆菌 LS-06, 通过生理功能及其 16S rDNA 序列分析初步鉴定为海洋沉积物芽孢杆菌(*Cytobacillus oceanisedimins*)。LS-06 能在 13% NaCl 的高盐条件下生长, 还具有解钾、固氮和降解酪蛋白的功能。盆栽试验证明, LS-06 对种植在盐渍环境下的小麦和黄瓜具有促生功能。在高盐条件下, 经过 12 d 盆栽培养, 施加菌株 LS-06 的小麦株高、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重分别增加了 99.2%、80.2%、82.3%、72.1% 和 35.7%。菌株 LS-06 对种植在高盐条件下的黄瓜也有一定的促生功能, 经过 16 d 的盆栽培养, 施加菌株 LS-06 的黄瓜幼苗的株高、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重分别增加了 20.3%、30.2%、28.3%、31.9% 和 15.9%。综上所述, 菌株 LS-06 在小麦和黄瓜耐盐促生方面表现出了一定的应用价值, 为盐碱土改良和农业可持续发展提供了菌种资源。

关键词: 盐碱土; 小麦; 黄瓜; 植物根际促生细菌; 芽孢杆菌

中图法分类号: Q939.96

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2026)02-0211-11

Screening and Identification of *Cytobacillus oceanisedimins* LS-06 and Its Growth-promoting Effect on Plants

LIAO Jie¹, WANG Chun-xue¹, LIU He¹, DAI Li¹, HU Zhi-yong¹,
WANG Cheng², MEN Qing-yong³, LIU Kai^{1*}, WANG Cheng-qiang^{1*}

1. College of Life Sciences/National Engineering Research Center for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources/Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

2. Gaoxin Sub-district Office of Zouping City, Binzhou 256200, China

3. Juxian Agricultural Technical Service Center, Rizhao 276800, China

Abstract: Soil salinization in China is becoming increasingly severe, significantly inhibiting the growth and development of crops such as wheat and cucumber. Biological improvement methods, characterized by low cost, notable effectiveness, and environmental friendliness, have emerged as effective approaches to ameliorate saline-alkali soils. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) play a crucial role in improving salinized soil and hold substantial research value. This study screens a multi-functional salt-tolerant *Bacillus* LS-06 from saline soil, which is preliminarily identified as *Cytobacillus oceanisedimins* through physiological function and 16S rDNA sequence analysis. LS-06 can grow under high salt condition of up to 13% NaCl, and also exhibits the functions of dissolving potassium, fixing nitrogen and degrading casein. Pot experiments reveal that LS-06 promotes the growth of wheat and cucumber under saline conditions. Under high salt conditions, after 12 days of pot culture, wheat treated with strain LS-06 show increases in the plant height, aboveground fresh weight, aboveground dry weight, underground fresh weight, and underground dry weight by 99.2%, 80.2%, 82.3%, 72.1% and 35.7%, respectively. Strain LS-06 also displays a growth-promoting effect on cucumber under high-salt conditions. After 16 days of pot culture, cucumber seedlings treated with LS-06 exhibit increases in the plant height, aboveground fresh weight, aboveground dry weight, underground fresh weight, and underground dry weight by 20.3%, 30.2%, 28.3%, 31.9% and 15.9%, respectively. In summary, LS-06 demonstrates valuable potential in enhancing salt

收稿日期: 2025-05-15

修回日期: 2026-03-07

基金项目: 山东省重点研发计划(乡村振兴科技创新提振行动计划)项目(2023TZXD003);国家自然科学基金项目(32170133,31700094);大棚黄瓜专用菌剂研发(382077);山东农业大学“811”科技小院建设项目

第1作者简介: 廖捷(2004-),女,硕士研究生,研究方向:微生物。E-mail:17664502896@163.com

*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: wangcq@sdau.edu.cn;liukai_1982@163.com

tolerance and promoting the growth of wheat and cucumber, thereby providing strain resources for saline-alkali soil improvement and sustainable agricultural development.

Keywords: Saline-alkali soil; wheat; cucumber; plant growth-promoting rhizobacteria; *Bacillus*

土壤盐渍化是灌溉农业区可持续发展的主要限制因素之一。全球的盐渍化土地面积高达 $9.54 \times 10^8 \text{ hm}^2$ 。其中中国盐渍地总面积为 $9\,913 \text{ hm}^2$ 。主要分布在西北内陆地区、黄淮海平原、东北平原等地^[1]。土地盐渍化作为一个影响全球的土壤退化问题,严重阻碍了农业发展^[2]。土壤盐渍化存在着一系列的危害,会使土壤结构退化、降低土壤养分含量以及土壤中微生物的多样性^[3],从而抑制植物生长发育。目前国内外的土壤盐渍化的修复方法主要包括物理修复和化学修复,但是这两种修复方法的成本较高,也可能对土壤结构和环境造成一定影响。生物修复作为一种对环境更为友好的修复方法,成为土壤盐渍化修复的新方法^[4,5]。

耐盐菌是能够在高盐环境中生存的微生物,根据其耐盐程度,由低到高可以分为轻度耐盐菌、中等耐盐菌和极端耐盐菌^[6]。耐盐微生物主要通过分泌胞外多糖等物质提高土壤的保水能力,从而改善渗透胁迫,为植物的生长发育提供充足的水分和良好的土壤,来增强植物的耐盐能力。耐盐菌除具备耐盐特性外,通常还表现出多种植物促生功能,包括解磷、解钾、固氮、降纤维素和降蛋白质等功能^[7]。这些功能可通过调控植物形态建成和生理代谢过程,显著提高植物对营养元素的吸收利用效率,进而提升作物产量、改善品质并增强抗逆性。例如,海内氏芽孢杆菌(*Bacillus haynesii*)N-7 不仅可以耐受高盐环境,还具有解钾、降蛋白和降纤维素等促生功能,对种植于中重度盐渍土壤中的棉花具有显著的促生效果^[8];耐盐碱多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)TaRb44 则通过固氮作用以及分泌纤维素酶和淀粉酶等,有效缓解盐胁迫对小麦幼苗生长的抑制作用^[9]。耐盐促生菌通过多种生理功能的协同作用,能够显著提升作物在盐渍环境中的适应能力,在农业生产中展现出重要的应用潜力。

小麦是全球广泛种植的一种农作物,拥有极高的食用和经济价值;黄瓜则是典型的蔬菜作物,具有清热解毒、促进消化、美容养颜等功效^[10],是研究植物胁迫响应的模式蔬菜之一。选择这两种作物作为研究对象具有重要科学依据:小麦和

黄瓜分别代表了我国主要的粮食作物和经济作物,对保障粮食安全和农民增收至关重要;小麦和黄瓜对盐胁迫的敏感性存在差异,小麦属于中等耐盐作物而黄瓜是典型的盐敏感作物^[11],这种差异性有助于全面评估菌株的促生效果;小麦和黄瓜在农业生产中常面临连作障碍和土壤盐渍化等共性问题,研究结果具有更广泛的适用性^[12]。

近年来,土壤盐渍化严重影响土壤健康,进而对小麦和黄瓜等作物的种植造成破坏,严重危害小麦和黄瓜的产量和品质。为了缓解和治理土壤盐渍化危害,各国各地区正积极采取措施,其中,微生物菌剂是替代化肥和农药的重要生物制剂,可以改良盐渍化土壤,提高作物抗逆性,是非常有前景的环境友好的新型制剂,有助于种植业的绿色可持续发展^[13]。目前,研制微生物菌剂的菌种资源还存在土壤适应性不强、定殖能力差等难题,需要针对问题土壤原位筛选菌种资源,以提高其适配性。本研究从小麦盐渍地原位土壤中筛选耐盐促生菌,进行耐盐和促生功能鉴定,为小麦和黄瓜等作物的耐盐性改良和农业可持续发展提供了有力支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 土壤样品 本实验用于筛菌的盐渍土来自山东聊城小麦种植区盐渍地根际微域环境,采用对角线五点取样法,选择 5 株健康小麦植株,小心挖取根系后,通过无菌刷收集紧密附着在根表 2 mm 范围内的根际土壤,混合均匀备用。盆栽实验所用土壤同样采用五点取样法,采自山东农业大学试验田。

1.1.2 培养基 本实验用于细菌培养的培养基分别是氯化钠浓度为 5%、7%、9%、11%、12%、13% 和 14% 的固体 LB 培养基,以及液体 LB 培养基。本实验细菌筛选鉴定所用培养基参照张琳等^[14]方法配置。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的筛选与纯化 取盐碱土壤样品 10 g,溶于装有 50 mL 无菌水的 250 mL 三角瓶

中,置于37℃、180 rpm摇床震荡培养30 min。将土壤悬液进行梯度稀释,并取 10^{-3} 和 10^{-4} 稀释梯度的样品各100 μ L分别滴到含有5% NaCl的固体LB培养基上(每个稀释梯度作三组平行)并涂布,置于37℃恒温培养箱中培养1~2 d。等到平板上长出单菌落时,用接种环挑取单菌落到正常盐浓度的固体LB培养基上,用三区划线的方

法进行分离纯化,并对纯化后的菌进行编号。

1.2.2 菌株耐盐能力测定 分别配置氯化钠的质量浓度不同的固体LB培养基倒入平板,挑取单菌落于培养基表面,置于37℃恒温培养箱中培养24 h,观察菌落生长状况。

1.2.3 菌株促生功能的验证 菌株促生功能的操作见表1。

表1 菌株促生功能验证

Table 1 Validation of growth-promoting functions of strains

| 菌株促生功能鉴定 Identification of growth-promoting function of strains | 步骤 Procedure |
|--|---|
| 溶磷、解磷功能鉴定 | 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,分别接种于蒙金娜有机磷细菌培养基和蒙金娜无机磷细菌培养基上,28℃培养5 d,观察是否出现透明圈。 |
| 解钾功能鉴定 | 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于硅酸盐细菌培养基上,28℃培养2 d,观察平板中是否有油滴状菌落产生。 |
| 降酪蛋白功能鉴定 | 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于酪蛋白培养基上,37℃培养1 d,观察是否出现透明圈。 |
| 降纤维素功能鉴定 | 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于CMC-Na培养基上,28℃培养2 d,先用刚果红染液(1 g/L)染色30 min,后用1 mol/L的NaCl溶液洗脱两次,每次15 min,观察是否出现透明圈。 |
| 固氮功能鉴定 | 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于阿须贝培养基上,37℃培养2 d,观察是否出现透明圈。 |

1.2.4 芽孢染色 滴一滴无菌水于洁净载玻片上,用灭菌接种环蘸取菌落于液滴中均匀涂布,将载玻片置于酒精灯火焰上方进行热固定。滴加孔雀绿染液覆盖菌膜区域,采用弱火焰间歇性加热10 min(期间保持染液湿润)。待载玻片冷却后,用去离子水缓慢冲洗至无染液析出,继而滴加番红染液复染1 min。再次用去离子水冲洗至流出液无色,室温晾干后于100倍油镜下观察。

1.2.5 分子生物学鉴定 提取单菌落的16S rDNA,测序后进行Blast比对,利用MEGA 11软件进行分析并构建菌种进化树^[15]。

1.2.6 盆栽试验 ① 小麦盆栽试验

从山东农业大学试验田收集土壤,过筛备用;挑取饱满健康的小麦种子,蒸馏水洗去表面灰尘,先用75%乙醇溶液浸泡5 min,再用10% NaClO溶液处理10 min,去离子水清洗3-5次,消毒后的小麦种子在光照(12 h)和黑暗(12 h)交替处理的条件下发芽。挑取促生功能较好的菌株LS-06进行盆栽实验,设置无盐对照和有盐对照,每组3盆,每盆播种4颗发芽的小麦种子,待小麦统一出苗后,每盆保留两株长势一致的小麦进行盆栽试验。

无盐处理对照组(无盐CK组):将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL无盐的自来水,待小麦种子出土后加入50 mL稀释100倍的灭菌液体LB培养基;盐处理对照组(有盐CK组):将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL的130 mmol/L的混盐水(混盐水中各成分摩尔比为NaCl: Na₂SO₄: NaHCO₃: Na₂CO₃=1: 9: 9: 1)^[16],模拟中度盐碱条件,待小麦种子出土后加入50 mL稀释100倍的灭菌的液体LB;LS-06组:将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL的130 mmol/L的混盐水,待小麦种子出土后加入50 mL稀释100倍的菌株LS-06的发酵液。无盐CK组、有盐CK组和LS-06组的营养土的体积相同。将无盐CK组、有盐CK组和LS-06组均置于昼夜温度20℃/18℃、湿度50% RH、光照4×10⁴ Lx的培养箱中培养12 d,定期浇等量自来水,每隔3 d测量株高,第12 d测量小麦幼苗的地上地下干鲜重,并做好记录,进行数据处理。

② 黄瓜盆栽试验

从山东农业大学试验田收集土壤,过筛备

用;挑取饱满健康的黄瓜种子,用蒸馏水洗去表面灰尘后,用75%乙醇溶液浸泡5 min,再用去离子水清洗3-5次,消毒后的黄瓜种子在光照(12 h)和黑暗(12 h)交替处理的条件下发芽。挑取促生功能较好的LS-06菌株进行盆栽实验,设置YCK、YLS-06、CK和LS-06四个处理组,每组3盆,每盆播种4颗发芽的黄瓜种子,待黄瓜统一出苗后,每盆保留两株长势一致的黄瓜进行盆栽试验。

无盐处理对照组(CK组):将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL无盐的自来水,待黄瓜种子出土后加入50 mL稀释100倍的灭菌的液体LB;LS06组:将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL无盐的自来水,待黄瓜种子出土后加入50 mL稀释100倍的菌株LS-06的发酵液;盐处理对照组(YCK组):将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL的100 mmol/L的NaCl盐水,待黄瓜种子出土后加入50 mL稀释100倍的灭菌的液体LB;YLS-

06组:将拌好的营养土装入5.5 cm×5.5 cm×7.5 cm的花盆中,后加入50 mL的100 mmol/L的NaCl盐水,待黄瓜种子出土后加入50 mL稀释100倍的菌株LS-06的发酵液。YCK组、YLS-06组、CK组和LS-06组的营养土的体积相同。将YCK组、YLS-06组、CK组和LS-06组均置于昼夜温度28 °C/18 °C、湿度60% RH、光照 4×10^4 Lx的培养箱中培养16 d,定期浇等量自来水,每隔4 d测量株高,第16 d测量黄瓜幼苗地上地下干鲜重,并做好记录,并进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选与纯化

将盐渍土壤样品制备成菌悬液并梯度稀释,在氯化钠浓度为5%的LB培养基上进行稀释涂布,37 °C培养24 h,并根据菌落的形态学特征对菌种进行平板划线分离纯化,共分离出7个菌种,分别编号LS-01、LS-02、LS-03、LS-04、LS-05、LS-06和LS-07(菌落图如图1)。

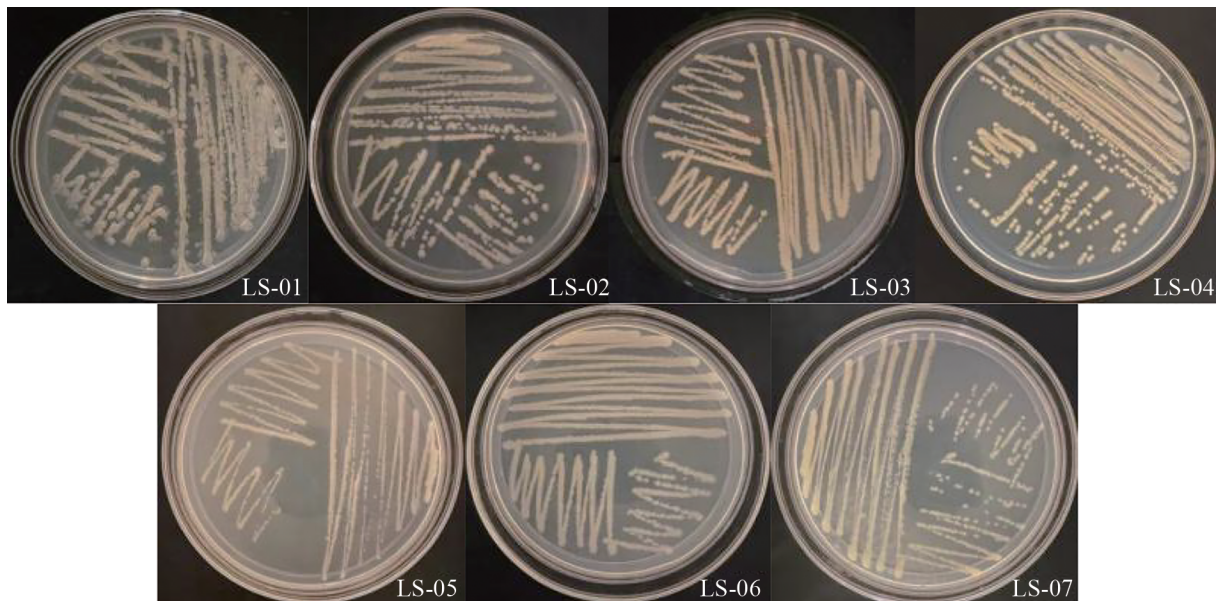


图1 菌株菌落形态图

Fig. 1 Colony morphology of strains

2.2 菌株耐盐促生性能分析

2.2.1 耐盐能力鉴定 将平板划线纯化后的单菌分别接种在NaCl浓度为7%、9%和11%的固体LB培养基上,37 °C培养2 d,观察并记录菌落生长状况。结果表明LS-04、LS-05、LS-06和LS-07耐盐能力较好,LS-03耐盐能力一般,LS-01和

LS-02耐盐能力较差(见表2)。

2.2.2 菌株溶磷、解磷功能鉴定 将筛选得到的7株单菌落分别用无菌牙签点到有机磷培养基和无机磷培养基上,28 °C培养5 d,观察并记录是否出现透明圈。结果发现在无机磷培养基中,只有菌株LS-01和菌株LS-02出现透明圈,表明

表 2 菌株耐盐能力效果表
Table 2 Salt tolerance of strain

| 菌株编号 Strain number | 5% LB | 7% LB | 9% LB | 11% LB |
|-----------------------|----------|----------|----------|-----------|
| LS-01 | ++++ | +++ | + | - |
| LS-02 | ++++ | +++ | + | - |
| LS-03 | ++++ | ++++ | +++ | - |
| LS-04 | ++++ | ++++ | ++ | + |
| LS-05 | ++++ | ++++ | +++ | + |
| LS-06 | ++++ | ++++ | ++ | + |
| LS-07 | ++++ | ++++ | +++ | + |

注:“-”表示不生长,“+”表示生长,“+”越多代表菌落长势越好。

Note:“-” indicates no growth, “+” indicates growth, and the more “+” indicates the better colony growth.

菌株 LS-01 和菌株 LS-02 具有溶解无机磷(溶磷)的能力,其他菌株无溶解无机磷的能力;在有机磷培养基中,菌株 LS-04 出现透明圈,表明菌株 LS-04 具有降解有机磷(解磷)的能力,其他菌株无降解有机磷能力(如图 2)。

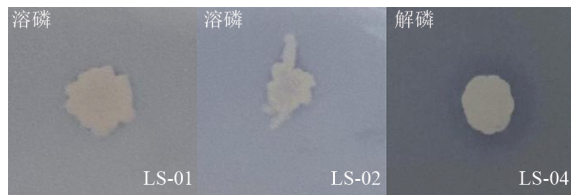


图 2 部分菌株溶磷、解磷效果图

Fig. 2 Phosphorus dissolving and solubilizing effects of some strains

2.2.3 菌株解钾功能鉴定 用无菌牙签分别挑取纯化后的 7 株单菌落,接种于硅酸盐培养基上,28 °C 培养 2 d,观察并记录平板中是否有油滴状菌落产生,结果得到具有解钾能力的菌株 3 株,分别为 LS-02、LS-04 和 LS-06(如图 3)。

2.2.4 菌株固氮功能鉴定 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于阿须贝培养基上,37 °C 培养 2 d,观察并记录菌落是否有透明圈产生。结果表明 LS-04、LS-06 和 LS-07 具有固氮能力(如图 4)。

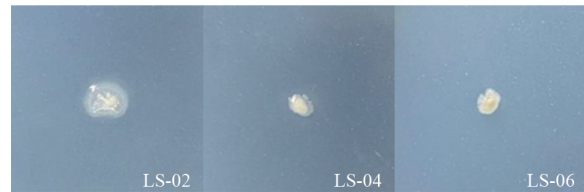


图 3 部分菌株解钾效果图

Fig. 3 Potassium-releasing effect of some strains

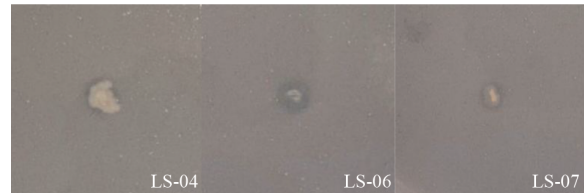


图 4 部分菌株固氮效果图

Fig. 4 Nitrogen fixation effect of some strains

2.2.5 菌株降解酪蛋白功能鉴定 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于酪蛋白培养基上,37 °C 培养 1 d,观察是否出现透明圈。结果得到 5 株菌种具有降解酪蛋白的能力,其中 LS-05 和 LS-03 在平板上形成了较大的透明圈,降解酪蛋白能力较强。LS-07、LS-04 和 LS-06 降解酪蛋白能力一般。其他菌株降解酪蛋白能力较差(如图 5)。

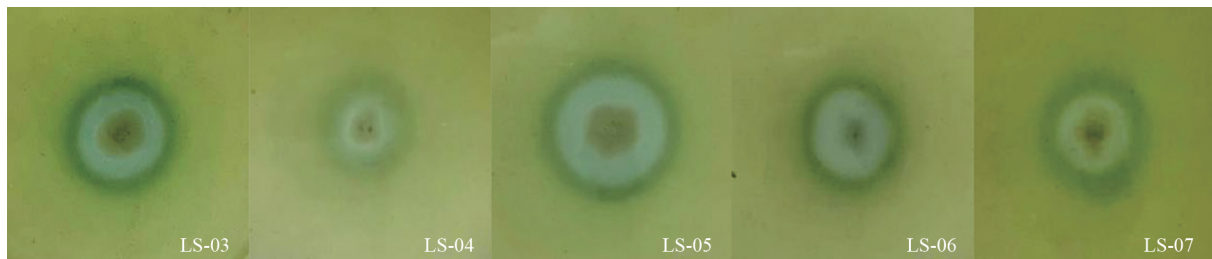


图 5 部分菌株降解酪蛋白质效果图

Fig. 5 Casein degradation effect for some strains

2.2.6 菌株降解纤维素功能验证 用无菌牙签挑取纯化后的单菌落,接种于CMC-Na培养基上,28 °C培养2 d,先用刚果红染液(1 g/L)染色30 min,后用1 mol/L的NaCl溶液洗脱两次,每次15 min,观察并记录是否出现透明圈。结果表明LS-01和LS-02具有较强的降解纤维素能力(如图6)。

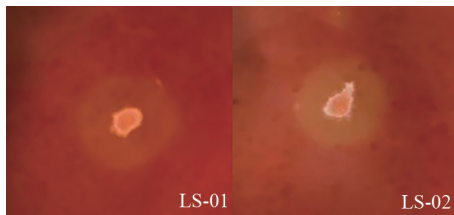


图6 部分纤维素降解菌效果图

Fig. 6 Cellulose degradation effect of some strains

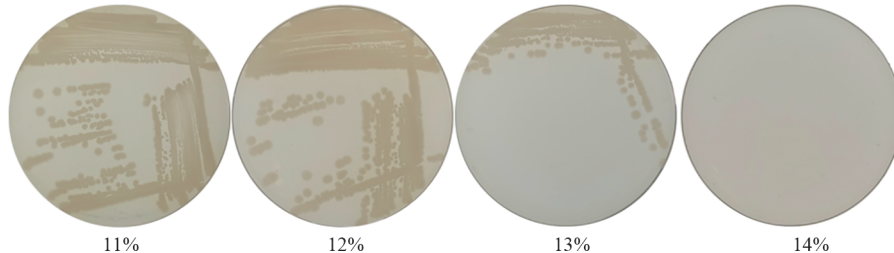


图7 菌株LS-06耐盐能力鉴定

Fig. 7 Identification of salt tolerance of strain LS-06

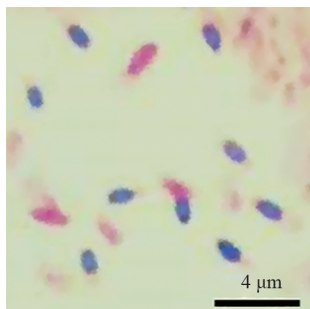


图8 芽孢染色结果

Fig. 8 Spore staining results

2.4 菌株LS-06的分子生物学鉴定

通过菌株促生能力鉴定,选取综合促生能力较好的LS-06菌株,提取其单菌落的16S rDNA基因序列,测序后进行Blast比对,利用MEGA 11软件进行分析并构建系统发育树,分析结果见图9。结果表明LS-06与海洋沉积物芽孢杆菌(*Cytobacillus oceanisediminis*)亲缘性最高,初步鉴定菌株LS-06为海洋沉积物芽孢杆菌(*C. oceanisediminis*)。

2.3 综合性能最优菌株LS-06的耐盐谱分析与芽孢鉴定

2.3.1 耐盐谱鉴定 将耐盐能力较好的菌株LS-06的单菌落进一步接种于NaCl浓度为12%、13%和14%的固体LB培养基上,发现菌株LS-06在NaCl浓度为12%和13%的LB培养基上可以生长;而菌株LS-06在NaCl浓度为14%的LB培养基上不能生长。因此,菌株LS-06的最高耐盐浓度为13%(见图7)。

2.3.2 细胞和芽孢形态分析 从LB培养基上挑取少许培养至成熟期后的LS-06菌体,经孔雀绿和番红染色后,使用100倍油镜进行观察,发现菌体为红色杆状,芽孢为边缘绿色中间透明的卵圆形(图8)。

2.5 菌株LS-06的小麦盆栽促生效果测定

挑取促生功能较好的LS-06菌株进行小麦的抗盐促生盆栽实验,设置无盐对照和有盐对照。在株高方面,在第3 d时加入菌株LS06的小麦与有盐CK相比增长了128.0%($P < 0.05$);在第6 d时加入菌株LS06的小麦与有盐CK相比增长了122.7%($P < 0.05$);在第9 d时加入菌株LS06的小麦与有盐CK相比增长了68.4%($P < 0.05$);在第12 d时加入菌株LS06的小麦与有盐CK相比增长了99.2%($P < 0.05$)(图10C)。

在小麦生长至12 d时,分别测量无盐CK组、有盐CK组和LS06组小麦的地上和地下干鲜重。在地上鲜重方面,加入菌株LS06的小麦与有盐CK组相比增长了80.2%($P < 0.05$);在地下鲜重方面,加入菌株LS06的小麦与有盐CK组相比增长了72.1%($P < 0.05$);在地上干重方面,加入菌株LS06的小麦与有盐CK组相比增长了82.3%;在地下干重方面,加入菌株LS06的小麦与有盐CK组相比增长了35.7%(图10D)。

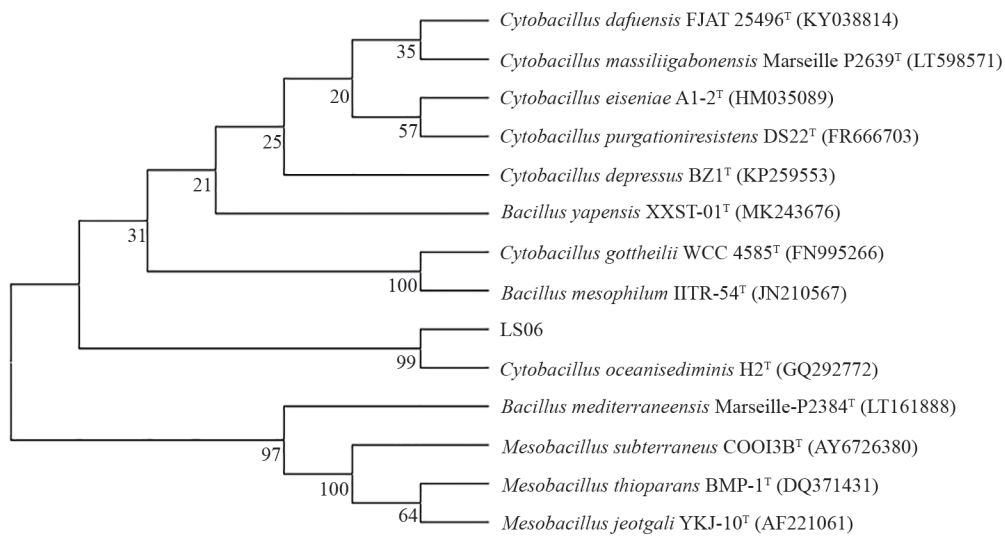


图 9 LS-06 菌株遗传学鉴定进化树
Fig. 9 Evolutionary tree of genetic identification of LS-06

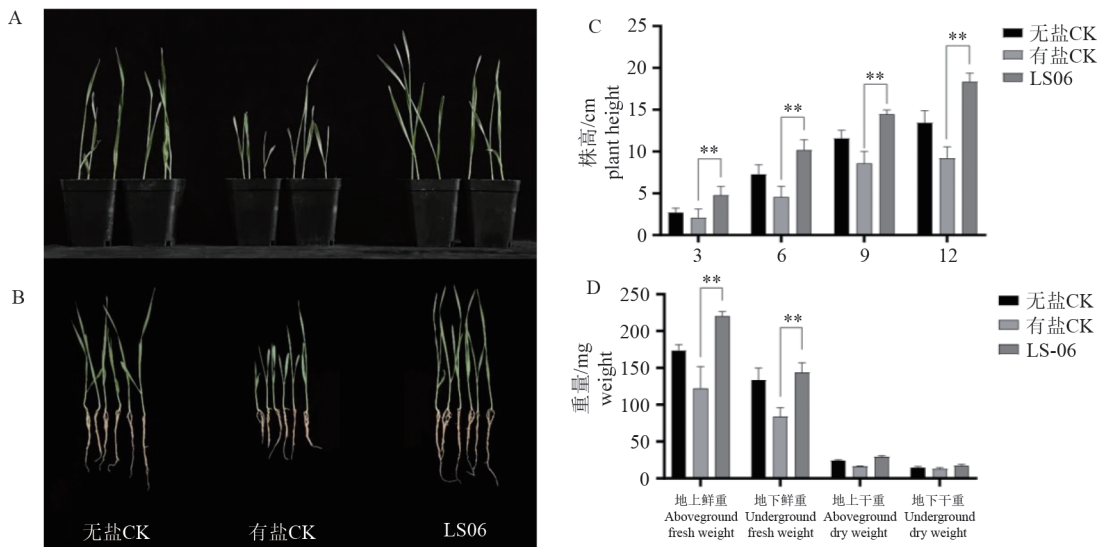


图 10 菌株 LS-06 对小麦的促生效果

Fig. 10 Growth promotion effect of strain LS-06 on wheat

注:A和B为第12 d无盐CK组、有盐CK组和LS06组的小麦照片,添加菌株LS-06的盆栽生物量均高于未添加菌株的两组对照(无盐CK组、有盐CK组),且添加菌株LS06的小麦幼苗的株高及根长均分别大于有盐CK的株高和根长。C为3-12 d各组小麦株高结果。D为小麦生长至12 d时,无盐CK组、有盐CK组和LS06组小麦的地上下干鲜重结果。

Note: A and B are the 12 d wheat photos of CK group without salt, CK group with salt and LS06 group. The pot biomass of strain LS-06 added is higher than that of the two control groups without adding strain(CK group without salt and CK group with salt). The plant height and root length of wheat seedlings with strain LS06 are higher than those with salt CK. C is the results of wheat plant height in 3 to 12 d groups. D is the above-ground dry and fresh weight results of wheat in groups CK without salt, CK with salt and LS06 after growing to 12 days.

2.6 菌株 LS-06 的黄瓜盆栽促生效果测定

挑取促生功能较好的 LS-06 菌株进行黄瓜的抗盐促生盆栽实验。在株高方面, YLS-06 与 YCK 相比: 在第 4 d 时增长了 9.5%, 在第 8 d 时增长了 20.6%, 在第 12 d 时增长了 18.2%, 在第 16 d 时增长了 20.3% ($P < 0.05$); LS-06 与 CK 相比: 在

第 4 d 时增长了 9.9%, 在第 8 d 时增长了 17.1%, 在第 12 d 时增长了 15.8%, 在第 16 d 时增长了 16.6% ($P < 0.05$) (图 11C)。

在黄瓜生长至 16 d 时, 分别测量 YCK 组、YLS-06 组、CK 组和 LS-06 组黄瓜的地上和地下干鲜重。YLS-06 组与 YCK 组相比: 地上鲜重增

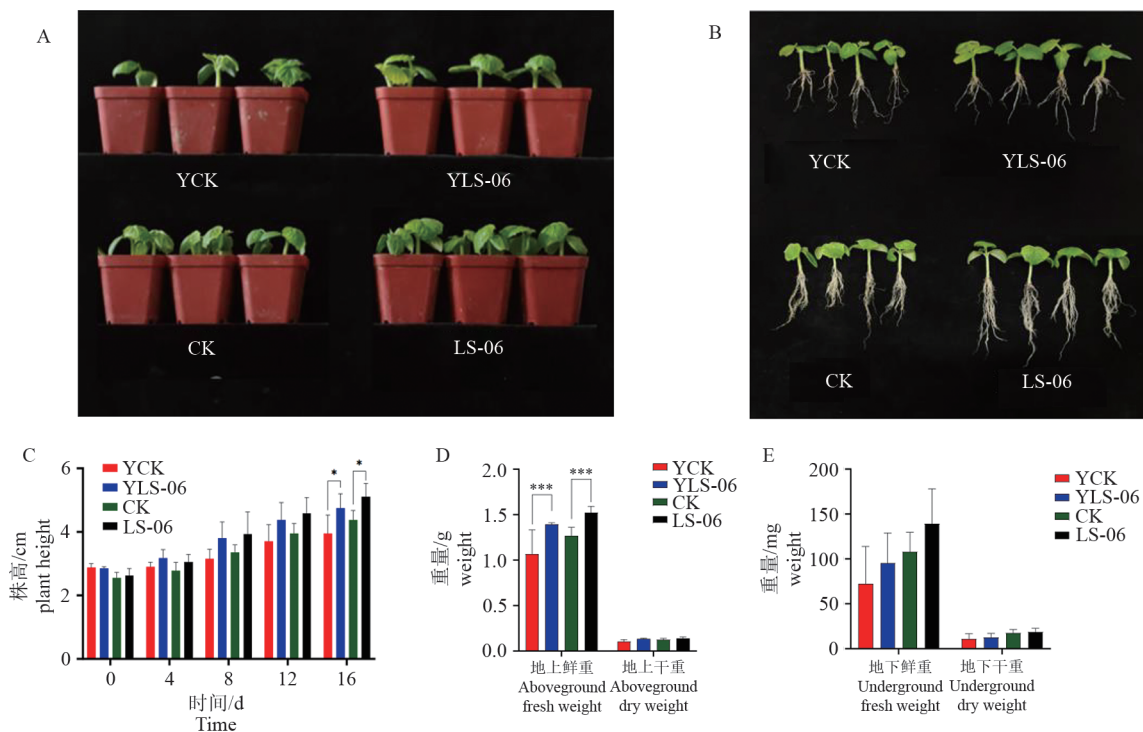


图 11 菌株 LS-06 对黄瓜的促生效果

Fig. 11 Growth promotion effect of strain LS-06 on cucumber

注:A、B为第16 d YCK组、YLS-06组、CK组和LS-06组的黄瓜照片,添加菌株LS-06的YLS-06组和LS-06组的盆栽生物量均高于未添加菌株的两组对照(YCK组、CK组);且YLS-06组和LS-06组的黄瓜幼苗的株高及根长均分别大于YCK组和CK组的株高和根长。C为4-16 d各组黄瓜株高结果。D为黄瓜生长至16 d时YCK组、YLS-06组、CK组和LS-06组的地上鲜干重结果。E为黄瓜生长至16 d时YCK组、YLS-06组、CK组和LS-06组的地下鲜干重结果。

Note: A and B are cucumber photos of YCK group, YLS-06 group, CK group and LS-06 group on the 16th day. The pot biomass of YLS-06 group and LS-06 group with strain LS-06 is higher than that of the two control groups without strain (YCK group and CK group). The plant height and root length of cucumber seedlings in YLS-06 group and LS-06 group are higher than those in YCK group and CK group, respectively. C is the result of cucumber plant height in each group of 4-16 d. D is the fresh and dry weight results of YCK group, YLS-06 group, CK group and LS-06 group on the 16th day of cucumber growth. E is the underground fresh and dry weight results of YCK group, YLS-06 group, CK group and LS-06 group when cucumber grows to 16 days.

加了30.2% ($P < 0.05$),地上干重增加了28.3%,地下鲜重增加了31.9%,地下干重增加了15.9%;LS-06与CK相比:地上鲜重增加了20.7%,地上干重增加了11.9%,地下鲜重增加了28.9%,地下干重增加了4.25%(图11D-E)。

3 讨论

本研究基于氯化钠浓度为5%的LB固体培养基对山东聊城盐渍地土壤内的耐盐菌进行分离纯化及鉴定,分离得到7株菌种。其中对促生能力较强的耐盐菌LS-06进行了分子生物学鉴定,初步鉴定其为芽孢杆菌 *C. oceanisediminis*。多项研究表明,芽孢杆菌属(*Bacillus*)为耐盐优势菌株,阎春兰等^[17]和李思铭等^[18]分别从新疆阿克苏盐碱土及高盐地区田菁植株附近的根际

土壤中分离获得耐盐促生菌株,且均为芽孢杆菌属。本研究所得菌株LS-06经鉴定同样属于芽孢杆菌属,这一发现进一步验证了该属微生物具有显著的耐盐特性,与前人研究结果一致。

芽孢杆菌在植物促生中也扮演着重要角色,其具有固氮、溶磷、溶钾、产生生长促进物质和抗病抗逆等特性,可与植物形成共生或互惠关系,为植物提供多种益处,如促进植物生长、增强抗逆性、改善养分吸收、提高作物产量和品质等。本实验筛选得到的芽孢杆菌LS-06具有固氮、解钾和降蛋白等多种促生功能,而吴昕劼^[19]从盐碱地中筛选得到的菌株WXN-1也具有解钾、产铁载体和解磷等多种促生能力,这与本研究的实验结果相似。兼具耐盐和促生功能的芽孢杆菌在农业领域具有多方面应用潜力,可改良土壤盐渍

化、提高土壤有效养分以及促进植物生长发育,为生态农业和绿色种植提供高效、环保的微生物资源,推动农业可持续发展。

本研究得到的综合性能最佳的菌株为 *C. oceanisediminis* LS-06。*C. oceanisediminis* 为革兰氏阳性或可变染色杆状细菌,需氧或兼性厌氧,主要分离自海洋沉积物等环境。该菌种的研究历程如下:Zhang 等^[20]在2010年首次从中国南海沉积物样品中分离出一株革兰氏阳性、产芽孢的杆状需氧型细菌 H2^T,研究发现该菌株为芽孢杆菌属的新物种,命名为 *Bacillus oceanisediminis* sp. nov.。随后 Lee 等^[21]在2012年分离获得海洋沉积物芽孢杆菌菌株 2691,并报道了该菌株的基因组草图。2016年 Jung 等^[22]完成了2691的全基因组序列的测定。2017年 Boucherba 等^[23]从菌株 SJ3 中分离出一种新型耐热耐溶剂木聚糖酶,并解析了其生化特性。

目前对于海洋沉积物芽孢杆菌的应用研究相对有限,在毒素降解领域,Al-Saadi 等^[24]研究发现 RWGB2 可以抑制黄曲霉的生长并降解黄曲霉素 B1,在食品与饲料行业具有应用潜力;在农业领域,海洋沉积物芽孢杆菌的研究多集中于耐旱方面,如 Umrao 等^[25]研究发现海洋沉积物芽孢杆菌可提高瓜尔豆植物的耐干旱能力。本实验得到的 LS-06 作为一株海洋沉积物芽孢杆菌,首次应用于植物耐盐促生研究,实验结果表明该菌株不仅能显著促进盐碱环境下小麦的生长,对黄瓜也表现出一定的促生效应,这一发现为开发新型植物耐盐促生菌剂、改良盐渍化土壤生态系统提供了重要的菌种资源和理论依据。

土壤盐分是制约灌溉农业发展的主要因素之一。盐胁迫会造成植物离子毒害、渗透胁迫和营养失衡,而耐盐促生菌可以通过多重机制协同作用缓解这些胁迫,如分泌渗透调节物质维持细胞渗透平衡,调控离子转运系统(促进 K⁺吸收/Na⁺外排)维持离子稳态,分泌植物生长激素促进根系发育,以及通过解磷、解钾等作用活化根际养分等,从而促进植物生长^[26]。本研究中,盐胁迫下的小麦株高明显低于无盐胁迫下的小麦株高,茎的鲜重和干重也低于无盐胁迫下的小麦,加入 LS-06 菌株后,小麦的各项生长指标得到明显改善,株高增加 99.2%、地上鲜重增加 80.2%、地上干重增加 82.3%、地下鲜重增加 72.1%,地下

干重增加 35.7%。有研究显示, *Enterobacter* sp. SBP-6^[27]也可显著促进小麦在盐胁迫下的生长,与本实验结果相似。本研究中将耐盐促生菌 LS-06 加入盐胁迫下的小麦后,显著提高了根和茎的生物量。Aijaz 等^[28]和 Li 等^[29]的研究也显示,耐盐促生芽孢杆菌可提高盐胁迫小麦地上及地下生物量。耐盐菌促进小麦生长的原因可能是在盐胁迫下,植物根部直接接受信号,耐盐菌通过分泌激素来促进植物根部的生长,从而促进根部吸取营养物质供地上部分的生长发育^[30]。黄瓜是我国重要的蔬菜栽培作物之一,而黄瓜的根系脆弱、好气、分布较浅,对盐渍环境的适应性较差,其产量和品质深受设施土壤盐渍化的影响^[31]。本研究中,盐胁迫下的黄瓜株高明显低于无盐胁迫下的黄瓜株高,茎的鲜重和干重也低于无盐胁迫下的黄瓜,加入 LS-06 菌株后,黄瓜的各项生长指标得到一定改善,株高增加 20.3%,地上鲜重增加了 30.2%,地上干重增加了 28.3%,地下鲜重增加了 31.9%,地下干重增加了 15.9%。在根际微生物对作物的抗盐促生机制研究方面,Islam 等^[32]认为根际土壤微生物促进植物耐盐机理与其提高土壤肥力等有关,这与本实验的研究结果相似。菌株 LS-06 促生功能较显著,在盆栽实验中表现出良好的促生效果,有关 LS-06 提高小麦和黄瓜的耐盐性的作用机制以及对成株期生长发育的影响,还有待进一步探究。

4 结论

本研究从盐渍地土壤中筛选出了 7 株耐盐菌,其中海洋沉积物芽孢杆菌(*C. oceanisediminis*) LS-06 具有卓越的耐盐能力,能在 13% NaCl 高盐条件下生长,还具备解钾、固氮和降酪蛋白多重促生功能,且经盆栽试验证实,菌株 LS-06 对种植在盐渍环境下的小麦和黄瓜具有明显的促生功能,这些特性使 LS-06 成为开发抗盐生物制剂的理想菌种,在盐碱地改良、作物抗盐栽培及盐渍土生态修复等领域具有广阔的应用前景,为生态农业和绿色种植提供高效、环保的微生物资源,推动农业可持续发展。

参考文献

- [1] Liu L, Bai X G, Jiang Z D. The generic technology identification of saline-alkali land management and

- improvement based on social network analysis[J]. *Cluster Computing*, 2018(4): 181-191.
- [2] 孙雪,董永华,王娜,等.耐盐碱促生菌的筛选及性能[J].*生物工程学报*,2020,36(07):1356-1364.
- [3] Heng T, Liao R, Wang Z, et al. Effects of combined drip irrigation and sub-surface pipe drainage on water and salt transport of saline-alkali soil in Xinjiang, China[J]. *Journal of Arid Land*, 2018, 10(06): 932-945.
- [4] Zhang S, Lu X, Gao X. Matiam-polyethylene glycol-polyglutamic acid peptide dendrimer: design, synthesis, and dissolving thrombus[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2018, 106(1): 1687-1696.
- [5] Fukushima T, Uchida N, Ide M, et al. DL-endopeptidases function as both cell wall hydrolases and poly- γ -glutamic acid hydrolases[J]. *Microbiology (Reading)*, 2018(3): 542-551.
- [6] Bushra R, Walid M K, Cyrus R M. Salt tolerance potential of native plant species and halophilic bacteria from Bahadur Khel and Khewra, Pakistan [J]. *Kuwait Journal of Science*, 2025, 52(3): 100428
- [7] 周蕾,刘银双,牛宏进,等.耐盐促生菌的分离鉴定及其对设施次生盐渍化土壤的改良效果[J].*微生物学通报*,2024,51(09):3454-3467.
- [8] 林瑞玺,王钰琪,王冰,等.棉花根际高抗盐碱芽孢杆菌的筛选鉴定与功能研究[J].*山东农业大学学报(自然科学版)*,2025,56(03):373-383.
- [9] 卜凡,韩思宁,朱仁贵,等.一株耐盐碱多黏类芽孢杆菌 TaRb44 的分离鉴定和耐盐促生作用评价[J].*微生物学报*,2025,65(04):1498-1511.
- [10] Olennikov D N, Markova K V, Chirikova N K, et al. Composition and antilipase activity of C-O-glycosylflavones from yellow-skinned varieties of *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae)[J]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2025, 58: 1705-1712.
- [11] Li Z X, Li R J, Li Q F, et al. Physiological response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves to polystyrene nanoplastics pollution[J]. *Chemosphere*, 2020, 255: 127041.
- [12] Yang Z P, Zhang C L, Luo P, et al. Genetic diversity and functional implication of the long control region in human papillomavirus types 52, 58, and 16 from Central China[J]. *Genetics and Evolution*, 2023, 112: 1567-1348.
- [13] Wang T, Xu J, Chen J, et al. Progress in microbial fertilizer regulation of crop growth and soil remediation research[J]. *Plants*, 2024, 13(3): 346.
- [14] 张琳,余红凤,毕钰,等.辣椒根际促生菌的筛选及促生效应分析[J].*农业生物技术学报*,2024,32(09): 2124-2136.
- [15] Yang Z, Zhang C, Luo P, et al. Genetic diversity and functional implication of the long control region in human papillomavirus types 52, 58, and 16 from Central China[J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2023, 112: 105447.
- [16] 许浩宇,赵颖,阮倩,等.不同混合盐碱下藜麦幼苗的抗性研究[J].*草业学报*,2023,32(01):122-130.
- [17] 阎春兰,余福燕,王艺霏,等.耐盐芽孢杆菌 SF-18 的生防潜能与基因组学分析[J].*华中农业大学学报*, 2024,43(04):192-203.
- [18] 李思铭,于潇,彭志伟,等.黄河三角洲芽孢杆菌的分离鉴定及其盐胁迫下对田菁的促生作用[J].*微生物学报*,2025,65(07):2920-2937.
- [19] 吴昕劼,栗晗,王经邦,等.耐盐菌株筛选及其对盐胁迫下番茄种子萌发促进效应解析[J].*南京农业大学学报*,2026,49(01):103-113.
- [20] Zhang J, Wang J, Fang C, et al. *Bacillus oceanisediminis* sp. nov., isolated from marine sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60(12): 2924-2929.
- [21] Lee Y J, Lee S J, Jeong H, et al. Draft genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691[J]. *Journal Of Bacteriology*, 2012, 194(22): 6351-2.
- [22] Jung J, Jeong H, Kim H J, et al. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes[J]. *Marine Genomics*, 2016, 30: 73-76.
- [23] Boucherba N, Gagaoua M, Bouanane-Darenfed A, et al. Biochemical properties of a new thermo- and solvent-stable xylanase recovered using three phase partitioning from the extract of *Bacillus oceanisediminis* strain SJ3[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2017, 4(1): 29.
- [24] Al-Saadi H A, Al-Sadi A M, Al-Wahaibi A, et al. Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.) gut bacteria inhibit growth of *Aspergillus flavus* and degrade aflatoxin B1[J]. *Journal of Fungi*, 2024, 10(6): 377.
- [25] Umrao V, Yadav S, Semwal P, et al. Endophytic bacilli from *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. induces plant growth and drought tolerance[J]. *International Microbiology*, 2024, 27(5): 1541-1556.
- [26] 纪超,王晓辉,刘训理.盐胁迫环境下植物促生菌的作用机制研究进展[J].*生物技术通报*,2020,36(04):131-143.

- [27] Singh R P, Jha P N. Mitigation of salt stress in wheat plant (*Triticum aestivum*) by ACC deaminase bacterium *Enterobacter* sp. SBP-6 isolated from *Sorghum bicolor* [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38(5): 110.
- [28] Aijaz N, Zaheer M S, Hameed A, et al. Improving salinity tolerance in wheat plants via inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bacillus subtilis* for enhanced biomass, growth and physiological process [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2024, 46: 103.
- [29] Li M, Li W, Wang C, et al. Growth-promoting effects of self-selected microbial community on wheat seedlings in saline-alkali soil environments[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2024, 12 :1464195.
- [30] 李 冰, 龚文秀, 李 清, 等. 植物根际促生菌株对小麦根系发育的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2015, 42(02): 276-282.
- [31] 王丹怡, 韩玲娟, 张 毅, 等. 多胺对盐胁迫下黄瓜SOS2基因家族表达的影响[J]. *西北植物学报*, 2020, 40(11):1855-1865.
- [32] Islam F, Yasmeeen T, Arif M S, et al. Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in *Vigna radiata* by up-regulating antioxidant defense and biological soil fertility[J]. *Plant Growth Regulation*, 2016, 80(1): 23-36.