



网络出版日期:2022-07-14

doi:10.7606/j.issn.1004-1389.2022.08.008

网络出版地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20220713.1659.018.html>

促进水稻耐盐碱细菌 S4 菌株的筛选鉴定及其效果研究

李 壮¹, 吴凯华¹, 齐玉玺¹, 季鸿飞¹, 张慧兄²,

刘 艳², 杨国平^{1,2,3}, 张 秀^{1,3}

(1. 北方民族大学 生物科学与工程学院, 银川 750021; 2. 宁夏五丰农业科技有限公司, 银川 750021;
3. 宁夏特殊生境微生物资源开发与利用重点实验室, 银川 750021)

摘要 自然界存在可显著提高植物耐盐碱能力的微生物, 利用选择性培养基, 在盐含量 0.60%、pH 8.5 条件下, 将供试菌株与水稻幼苗共同培养于人工光照培养箱中, 通过根长、株高等生长指标对最优菌株进行筛选, 结果从 450 株分离物中筛选出对盐碱胁迫下水稻生长促进作用最佳的一株菌, S4 菌株。经 16S rRNA 序列相似性比对, S4 菌株鉴定为人参土微杆菌 (*Microbacterium ginsengiterrae*), 其可在盐含量 4.0% 和 pH 9.5 的盐碱环境中良好生长。在水培试验中, 与未接菌盐碱胁迫对照相比, 接种 S4 菌株可提升水稻幼苗干质量 4.7%; 且在银川盐碱地试验中, 接种 S4 菌株的水稻植株相对未接菌组亩产提升 10.8%。

关键词 耐盐碱; 水稻; 人参土微杆菌

中图分类号 Q939.96

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2022)08-1008-09

随着经济和社会的发展, 国内人口基数不断增大, 与不断减少的耕地之间矛盾愈加突出, 粮食安全问题已经成为国家战略安全问题^[1-2]。中国约有 4.5 亿亩水稻田, 水稻作为中国人最重要的粮食作物, 在农业发展和粮食安全上一直占据重要地位^[3]。水稻田面积的减少和次生盐渍化严重威胁中国的粮食安全, 故人们开始将目光转向在盐碱地这一重要的潜在土地资源上种植水稻^[4-5]。中国约有 $3.6 \times 10^7 \text{ hm}^2$ 盐碱地和 $2.0 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 沿海滩涂^[6-7], 大力开展耐盐碱水稻(俗称海水稻)的育种和在沿海滩涂地带以及内陆盐碱地上试种耐盐碱水稻, 便是中国利用盐碱地资源和解决粮食问题的新尝试。

自然界中存在可刺激植物提升抗逆(如盐碱、干旱、洪涝、冻害等)能力的根际微生物和内生微生物^[8-12], 但人们对这些特殊微生物知之甚少。近年来, 植物耐盐碱研究大多局限于植物对盐碱胁迫的生理生化反应, 例如在盐碱胁迫下植物的过氧化氢酶活性升高、积累某些氨基酸等, 这些研究只涉及植物和盐碱等方面^[13-14]。而微生物的接

种可使不耐盐碱的植物提升一定的耐盐碱能力, 形成独特的“植物—微生物—盐碱”模式, 而这三方面的相互作用鲜见报道。此外, 如何高效筛选更多有效促进植物耐盐碱的菌株, 并揭示此类微生物提高植物耐受能力作用机理的研究更为欠缺。本研究通过模拟自然界盐碱胁迫条件, 筛选增强水稻在盐碱胁迫下生长能力的微生物, 通过接种微生物, 开辟在不改变盐碱地的情况下仍可让作物生长良好的新型盐碱地利用模式, 避免传统盐碱地治理方法的高投入低回报弊端, 其具有较大的商业应用价值, 并为提高盐碱地资源的利用、解决人口与耕地间的矛盾提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物品种 水稻(*Oryza sativa L.*)品种为耐盐碱水稻‘湘两优 900’(由湖南年丰种业公司提供, 特此感谢)。

1.1.2 土壤样品采集 土壤样品取自宁夏回族自治区盐碱地不同植物根系(表 1)。

收稿日期:2021-04-22 修回日期:2021-06-17

基金项目:国家自然科学基金(32060424);国家民委人才项目(2016)。

第一作者:李 壮,男,硕士研究生,研究方向为微生物生态学。E-mail:786520002@qq.com

通信作者:杨国平,男,教授,研究方向为农业微生物学。E-mail:yang_guoping@126.com

张 秀,男,教授,研究方向为微生物资源开发与利用。E-mail:zhangxiu101@aliyun.com

表 1 土样取样地基本情况
Table 1 Basic information of sampling sites

地点 Site	纬度 Latitude	经度 Longitude	植物 Plant	盐含量/% Salinity	pH
宁夏中卫沙坡头 Shapotou, Zhongwei Ningxia	37°28'	105°26'	沙冬青 <i>Ammopiptanthus mongolicus</i>	0.32	8.3
			碱蓬 <i>Suaeda glauca</i>	0.45	8.4
宁夏平罗县 Pingluo Ningxia	39°14'	106°45'	玉米 <i>Zea mays</i>	0.41	8.5
			油葵 <i>Helianthus annuus</i>	0.43	8.4
			水稻 <i>Oryza sativa</i>	0.42	8.2
			小麦 <i>Triticum aestivum</i>	0.45	8.3
			玉米 <i>Zea mays</i>	0.16	8.2
			小麦 <i>Triticum aestivum</i>	0.14	8.3
宁夏银川 Yinchuan Ningxia	38°20'	106°16'	空心菜 <i>Ipomoea aquatica</i>	0.20	8.2
			甜高粱 <i>Sorghum dochna</i>	0.25	8.3

1.1.3 植物营养母液的配置(1 000×) 植物营养母液的配置参照刘环等^[15]的方法。

母液各取 1 mL 加入少量蒸馏水中定容至 1 000 mL, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min 即为常规植物营养液。

1.1.4 盐碱胁迫营养液 在常规植物营养液中加入 5.50 g NaCl, 经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min 后, 加入适当浓度经灭菌的 Na_2CO_3 溶液, 调节 pH 至 8.5, 即为盐碱胁迫营养液。

1.1.5 TSN 固体培养基 胰蛋白胨 1.70 g, 大豆蛋白胨 0.33 g, 氯化钠 5.5 g, 磷酸氢二钾 0.25 g, 葡萄糖 0.25 g, 蒸馏水 1 000 mL, 琼脂 12.0 g, 经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.1.6 DTSA 培养基 胰蛋白胨 1.70 g, 大豆蛋白胨 0.33 g, 磷酸氢二钾 0.25 g, 葡萄糖 0.25 g, 琼脂 12.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, 经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.1.7 DTSB 培养基 胰蛋白胨 1.70 g, 大豆蛋白胨 0.33 g, 磷酸氢二钾 0.25 g, 葡萄糖 0.25 g, 蒸馏水 1 000 mL, 经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.1.8 初筛培养基 常规植物营养培养基: 常规植物营养液中加入 6.5 g/L 琼脂, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min; 盐碱胁迫培养基: 盐碱胁迫营养液中加入 6.5 g/L 琼脂, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min, 凝固前加入适量灭菌的 Na_2CO_3 溶液即为盐含量 0.60%, pH 8.5 的盐碱胁迫培养基。

1.1.9 催芽培养基 琼脂 6.5 g, 蒸馏水 1 000 mL, 经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离纯化 分别取表 1 中 10 g 根际

土壤碾碎后加入装有 90 mL 蒸馏水的烧杯中, 振荡 30 min, 取悬浊液逐级梯度稀释, 将适宜浓度的稀释液涂布于 TSN 固体培养基平板上, 28 °C 倒置培养 24~72 h, 挑取各分离物划线纯化 3 次, 获得纯化菌株保存于 4 °C, 备用。

1.2.2 种子催芽 取大小均一、颗粒饱满无破损的水稻种子经 55 °C、10 min 热处理后, 在超净工作台中用无水乙醇浸泡 5 s, 用 0.1% 的 HgCl_2 溶液浸泡消毒 30 s, 再用无菌水冲洗 6 次。均匀摆放在催芽培养基上, 于 28 °C 黑暗条件下培养 2 d 萌发, 待水稻幼芽长至 0.5~1.0 cm, 备用。

1.2.3 初筛 通过盐碱胁迫平板筛选可刺激水稻幼苗耐盐碱的菌株, 设置 3 种处理, 无盐碱胁迫对照 CK0: 催芽后的种子均匀摆放在常规植物营养培养基上; 盐碱胁迫对照 CK1: 催芽后的种子均匀摆放在盐碱胁迫培养基上; 测试处理: 催芽后的种子用待测菌株配置的菌悬液浸泡 1 min 后均匀摆放在盐碱胁迫培养基上, 菌悬液浓度为 1×10^8 cfu/mL。每平板 25 粒种子, 每处理设置 3 个重复, 置于光照培养箱中, 培养方式参照表 2。

1.2.4 复筛 水培法筛选可提高促进水稻耐盐碱能力的菌株: 水稻种子催芽后挑选长势均一的水稻幼芽, 均匀摆放在盛有 300 g 白色鹅卵石(直径 0.4~0.7 cm)经 1×10^5 Pa 灭菌 20 min 的植物培养瓶中, 各培养瓶中加入 60 mL 植物营养液, 并在每瓶摆放 25 粒水稻幼芽。CK0: 常规植物营养液, 不接菌处理; CK1: 盐碱胁迫营养液, 不接菌处理; 测试组: 盐碱胁迫培养基, 种子浸泡于 1×10^8 cfu/mL 浓度的待试菌悬液 1 min 后种植。每处理设置 3 个重复, 放置光照培养箱中, 按

表2 方式培养,每天测定并矫正营养液盐度和pH,14 d后采集水稻幼苗株高、根长和鲜质量等生长指标,筛选出可显著提升水稻耐盐碱能力的菌株。

表2 水稻幼苗培养条件

Table 2 Cultivation condition of rice seedlings

时段 Period	时间/h Duration	温度/℃ Temperature	湿度/% Humidity	光照度/1x Illuminance
1	0.5	19	70	500
2	0.5	20	70	1 500
3	0.5	21	70	3 000
4	0.5	22	70	5 000
5	1	23	70	7 000
6	1	25	70	10 000
7	2.5	27	70	12 000
8	3	28	70	13 000
9	2.5	28	70	11 000
10	1	27	70	9 000
11	1	25	70	7 000
12	1	23	70	5 000
13	0.5	21	70	3 000
14	0.5	19	70	1 000
15	8	18	70	0

1.3 菌株的鉴定

1.3.1 培养特征和形态特征观察 将S4菌株划线接种在TSN培养基上,28℃培养72 h后观察记录单菌落形态,并采用革兰氏染色法观察细胞形态。

1.3.2 分子鉴定 将S4菌株送至北京睿博兴科生物技术有限公司测定16S rRNA序列,根据同源性进行菌株鉴定。

1.3.3 S4菌株生长曲线的测定 将S4菌株划线接种在DTSA培养基上,28℃培养24 h。挑取单菌落用无菌水制成 1×10^8 cfu/mL菌悬液,取1 mL菌悬液,加入装有100 mL DTSB培养液的250 mL锥形瓶中,180 r/min,28℃振荡培养,每隔2 h取样。在600 nm下(以不接菌DTSB培养液为空白对照)测定吸光值。

1.3.4 S4菌株对盐、碱、高温耐受性 将S4菌株划线接种在DTSA斜面上,28℃培养24 h。

用无菌水制成 1×10^8 cfu/mL菌悬液,取1 mL菌悬液分别加入装有100 mL含有0、5%、10%、15%、20%、25% NaCl的DTSB培养液的250 mL锥形瓶中,180 r/min,28℃振荡培养72 h,在600 nm下(以不接菌培养液为空白对照)测定吸光值。

用无菌水制成 1×10^8 cfu/mL菌悬液,取1 mL菌悬液,加入装有100 mL DTSB培养液的

250 mL锥形瓶中,pH分别调节为7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0,180 r/min,28℃振荡培养72 h,在600 nm波长条件下以不接菌培养液为空白对照测定吸光值。

用无菌水制成 1×10^8 cfu/mL菌悬液,取1 mL菌悬液加入装有100 mL DTSB培养液的250 mL锥形瓶中,180 r/min,分别置于30℃、35℃、40℃、45℃、50℃条件下振荡培养72 h,在600 nm波长下(以不接菌培养液为空白对照)测定吸光值。

1.4 大田试验

试验区位于宁夏银川市西夏区贺兰山西路芦花村($108^{\circ}9'13''E$ 、 $38^{\circ}34'45''N$,海拔1117 m)。采用旱育稀植和全程机械化栽培,以常规方式进行底肥、分蘖肥、穗肥和粒肥的施加。试验设置2个处理,测试组:S4菌剂拌种+常规管理;对照组:常规管理。各组设置6个重复,共计12个小区,小区面积 13.225 m^2 ($115\text{ m} \times 115\text{ m}$),小区随机区组排列,小区间打埂隔离。

1.4.1 试验区肥力指标检测 主要检测总有机质、全氮、速效氮、速效磷、速效钾、土壤盐分和pH等对水稻生长有重要影响的指标,检测方法参照农业部标准NY/T 1121-2006、NY/T 53-1987和NY/T 889-2004等。

1.4.2 S4菌株在盐碱土中对水稻生长的影响 收获期每小区随机选取50株水稻植株,对株高、分蘖数、剑叶长度等生长指标和单穗质量、有效穗数、千粒质量等产量指标进行测定。

1.5 数据统计分析

采用Microsoft Excel 2016和Graphpad Prism 8.0进行数据处理和统计,5%显著水平,并用Microsoft Excel 2016进行绘图,数据以“平均数±标准差”形式表示。

2 结果与分析

2.1 促进水稻耐盐碱菌的筛选

从植物根际土壤和植物组织中分离得到450株细菌、放线菌,共筛选出效果较为明显且稳定的6株供试菌株。在盐碱胁迫条件下分别接种6种菌株相对于对照组(不接种菌株),水稻幼苗的株高、根长、鲜质量和干质量均有不同程度的提升,说明上述6株菌株对水稻幼苗在盐碱环境的生长具有促进作用,可不同程度地提升水稻幼苗对盐碱胁迫的抵御能力(表3)。通过3次重复共培养

试验,发现菌株 S4 对盐碱胁迫下水稻幼苗生长的促生效果最为显著而稳定(图 1)。

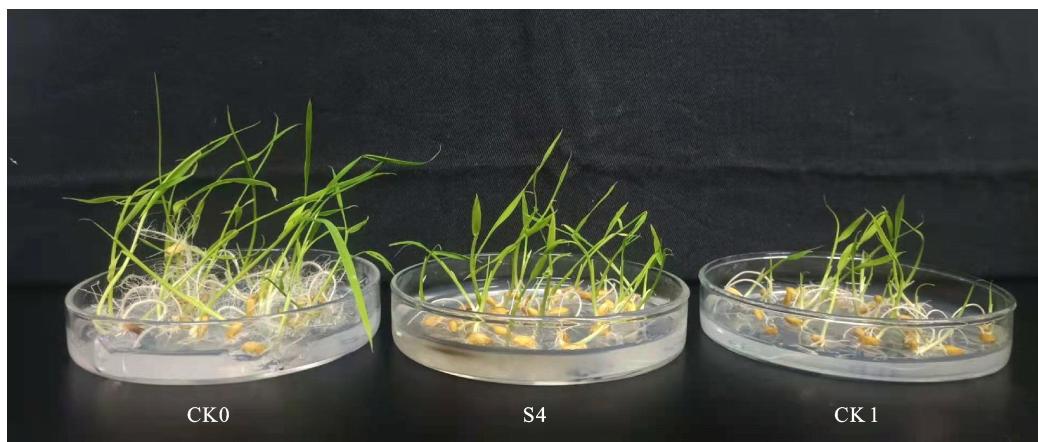
表 3 接种菌株 14 d 后水稻幼苗生长状况

Table 3 Growth status of rice seedlings after strains inoculation for 14 days

菌株 Strain	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	25 株鲜质量/g Fresh mass	25 株干质量/g Dry mass
CK1	10.48±1.94 c	4.89±1.53 c	2.45±0.08 c	0.716±0.007 c
SD6	11.72±1.62 ab	7.08±2.11 ab	2.59±0.05 c	0.727±0.005 bc
S4	12.15±1.27 ab	7.56±1.44 a	2.75±0.15 b	0.736±0.006 b
R55	11.36±1.03 b	6.41±1.40 b	2.71±0.10 b	0.730±0.002 b
BJ12	11.68±1.93 b	5.03±1.68 c	2.65±0.09 bc	0.724±0.004 bc
SD12	11.04±1.15 b	6.95±1.32 ab	2.52±0.06 c	0.726±0.004 bc
L133	11.87±1.39 b	6.43±0.66 b	2.61±0.07 bc	0.731±0.006 b
CK0	13.54±1.77 a	7.48±2.14 a	3.53±0.07 a	0.742±0.007 a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters within the same columns indicate significant difference($P<0.05$) between treatments.



CK0. 无盐碱胁迫条件下生长的水稻,生长良好;CK1. 盐碱胁迫条件下,水稻生长受到抑制;S4. 盐碱胁迫条件下,接种 S4 菌株可刺激水稻生长

CK0. Rice seedlings grew well under no salt-alkali stress; CK1. The growth of rice seedlings was inhibited under salt-alkali stress; S4. The inoculation of strain S4 under salt-alkali stress improved the growth of rice seedlings

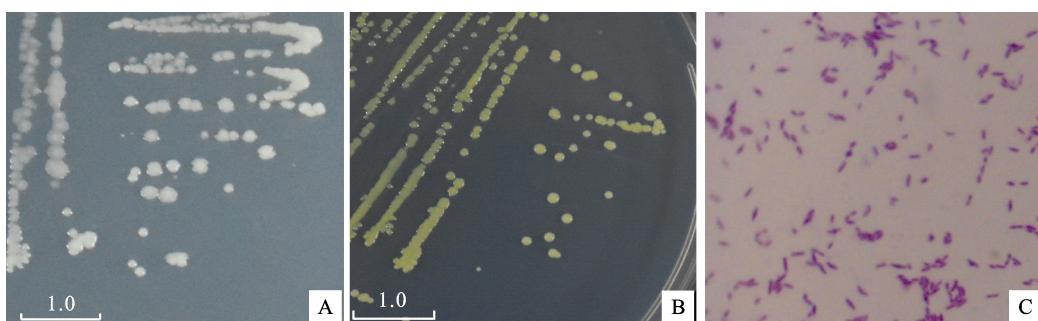
图 1 不同处理下水稻幼苗生长情况对比

Fig. 1 Comparison of growth of rice seedlings under different treatments

2.2 菌株 S4 的鉴定

2.2.1 培养特征和形态学观察 S4 菌株在 TSN 培养基上的菌落为圆形,直径 1.5 mm,菌落颜色因培养条件不同而变化,在黑暗条件下生长

的菌落为乳白色,在光照条件下培养的菌落为淡黄色,表面光滑有光泽,有粘性易挑起。菌落切面隆起,不透明,边缘完整或波状(图 2-A、图 2-B),为革兰氏阳性菌(图 2-C)。



A. 黑暗培养;B. 光照培养;C. 革兰氏染色结果

A. Incubated in the dark; B. Incubated in light; C. Gram stain

图 2 S4 菌株的菌落形态和菌株特征

Fig. 2 Colony morphology of strain S4

2.2.2 菌株 S4 分子鉴定 根据 16S rRNA 鉴定, S4 菌株为人参土微杆菌 (*Microbacterium ginsengiterrae*), 相似性达 99.14%, 获得序列号 NR116483.1。

2.2.3 菌株 S4 生长曲线 随着培养时间的增加, S4 菌株的 OD₆₀₀ 在 0~14 h 增加缓慢, 即菌体数增加缓慢; 而在 16~20 h, S4 菌株的 OD₆₀₀ 呈现指数增长趋势, 表明此时菌体增长量大, 活力最旺盛, 在其生长期內此时期最适宜对种子进行接种(图 3)。

2.2.4 菌株 S4 对盐、碱及高温的耐受能力 经试验测定(图 4), S4 菌株在盐含量达到 4.0% 时生长状态最为良好, 而其最大耐盐含量为 5.0%; pH 在 9.5 时生长最佳, 但 pH 达到 10.5 时无法

生长; 最适生长温度在 30~31 °C, 最高耐受温度为 50 °C。

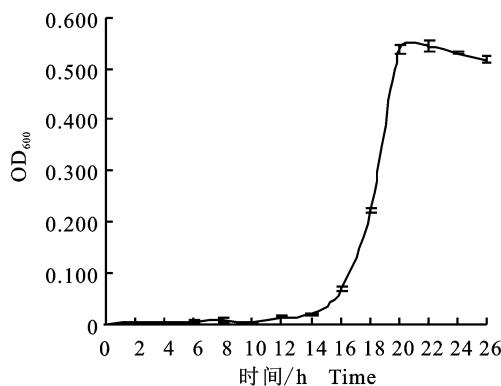


图 3 菌株 S4 生长曲线($n=3$)

Fig. 3 Growth curve of strain S4($n=3$)

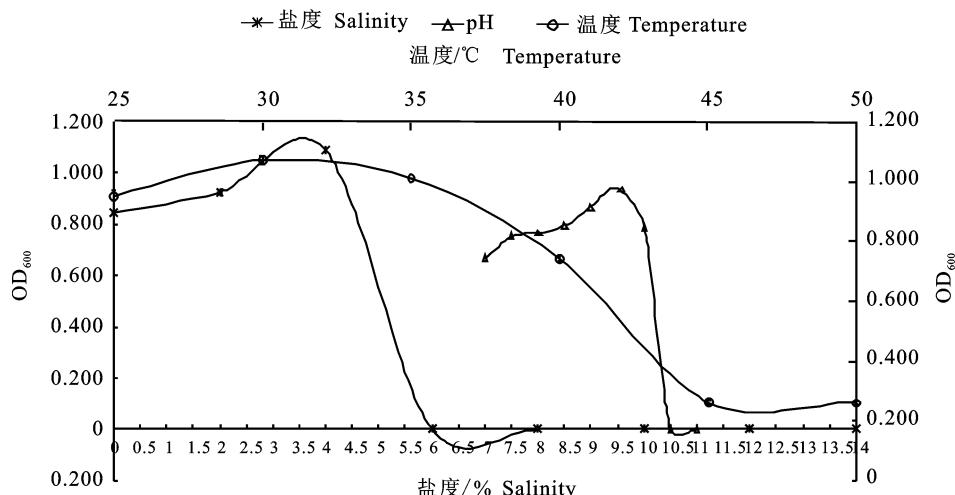


图 4 S4 菌株对逆境的耐受能力($n=3$)

Fig. 4 Tolerance of strain S4 to adverse conditions($n=3$)

2.3 S4 菌株对水稻植株在盐碱土中生长的影响

2.3.1 试验区肥力指标检测 试验区土壤肥力指标中有机质和全氮含量较高, 参照全国第 2 次土壤普查推荐的土壤肥力分级标准, 速效氮、速效磷和速效钾含量为第 3 级, 表明土壤肥力较好, 但盐分和 pH 较高, 对作物生长不利(表 4)。

2.3.2 S4 菌株在盐碱土中对水稻生长的影响 与对照组相比, 施用 S4 菌剂对水稻植株剑叶长度的促进作用不显著, 但在株高、分蘖数、穗长和地上部分干质量等生长指标方面分别提高 8.46%、72.91%、12.74% 和 66.85%, 而在单穗质量、有效穗数、穗粒质量、出谷率、千粒质量和理论亩产等产量指标方面, 相对对照组水稻植株分别提高 13.33%、18.31%、18.43%、5.24% 和 10.79% (图 5、表 5、表 6)。

表 4 田间试验区土壤肥力指标

Table 4 Soil fertility index in field of trial area

指标 Index	含量或数值 Content or value	土壤肥力级别 Soil fertility level
总有机质/(g/kg) Total organic matter	10.62±1.12	1
全氮/(g/kg) Total nitrogen	0.57±0.07	1
速效氮/(mg/kg) Available nitrogen	42.05±3.54	3
速效磷/(mg/kg) Available phosphorus	14.77±1.72	3
速效钾/(mg/kg) Available potassium	102.04±4.45	3
盐分/(g/kg) Salinity	0.93±0.13	—
pH	8.44±0.16	—



CK. 常规育苗后常规管理的水稻植株; S4. S4 菌剂拌种后常规管理的水稻植株

CK. Conventional field management with conventional nursery; S4. Conventional field management after seed dressing with bacterial fertilizer S4

图 5 不同育苗方式下水稻生长状况对比

Fig. 5 Comparison of rice growth status with different seedling raising methods

表 5 施用 S4 菌剂后水稻植株生长状况

Table 5 Growth status of rice after application of S4 inoculum

组别 Group	株高/cm Plant height	分蘖数 Tillers	剑叶长/cm Flag leaf	穗长/cm Panicle length	地上部分干质量/g Dry mass
CK	90.66±3.07 b	9.45±1.54 b	23.37±3.29	18.92±2.11 b	31.22±1.54 b
S4	98.33±3.22 a	16.34±1.43 a	26.06±3.06	21.33±2.07 a	52.09±2.66 a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters within the same columns indicate the significant difference ($P<0.05$) between treatments. The same below.

表 6 施用 S4 菌剂后水稻产量指标变化

Table 6 Changes of rice yield indexes after application of S4 inoculum

组别 Group	单穗质量/g Per panicle mass	有效穗数 Panicle number	穗粒数 Grain number	出谷率/% Grain yield	千粒质量/g Thousand seed mass	理论产量/(kg/667m ²) Per mu yield
CK	19.73±1.15 b	13.71±0.74 b	92.73±4.26 b	72.64±2.50 b	25.92±1.53 b	579.92±2.64 b
S4	22.36±1.37 a	16.22±0.63 a	106.88±3.98 a	86.03±2.97 a	27.28±2.85 a	642.51±2.90 a

3 讨论

近年来,通过微生物方法改良土壤盐渍化已成为人们关注的热点,但通过微生物刺激提高水稻耐盐碱能力的研究鲜见报道,主要集中在芽孢杆菌、沙雷氏菌和肠杆菌等的研究,且多为先通过研究盐碱的抗性与溶磷、产吲哚乙酸(IAA)和 ACC 脱氨酶活性能力对菌株进行初步筛选,再与植物互作筛选可提高水稻耐盐碱能力的菌株,方法较为复杂,同时可能遗漏单独存在时无抗盐碱或产酶能力,但与植物互作时可提高双方耐盐碱能力的菌株。

杨美英等^[16]研究发现可溶磷的沙雷氏菌和肠杆菌的加入可提高水稻根、茎、叶中渗透调节物质的增加,并能提高水稻产量;谢金宏^[17]发现一株沙雷氏菌和一株巨大芽孢杆菌均可降解难溶磷,提高水稻在盐碱地中的生长能力;韩笑^[18]研究发现一株肠杆菌的加入可通过增大溶磷量、产吲哚乙酸等方式提高水稻种子在盐碱胁迫下的发芽率和水稻幼苗的生长能力。而本研究采用的两步筛选法,首先使用平板初筛可高效便捷地筛选出能有效提高水稻耐盐碱能力的菌株,再进行培养瓶水培试验复筛,在更加符合水稻生长规律的培养条件下,进一步验证供试菌株对水稻耐盐碱

能力提升的效果和稳定性,方法简便,值得推广应用。

本研究通过微生物刺激提高水稻耐盐碱能力具有经济高效、节约能源、效果稳定等优点,同时是对盐碱地资源的有效利用,且无污染,对环境友好型、资源节约型生态农业的发展具有重大意义^[19-21]。耐盐碱水稻的研究提高中国粮食产量,是解决人民温饱问题最有力途径之一,对盐碱地资源的有效利用和在一定程度上解决人地矛盾也有较为重要的意义^[22]。而S4菌株的加入明显提高了耐盐碱水稻在盐碱胁迫下的生长能力和产量。并且S4菌株可在盐含量4.0%时正常生长,能够耐受高达9.5的碱性pH,表明该菌株具有良好的商业应用潜力,对耐盐碱水稻的产业化发展和盐碱地资源的利用有较大作用。

S4菌株刺激水稻提高耐盐碱能力的具体作用物质及其机理尚不明确,为了进一步发挥S4菌株的潜力,需要进一步研究探讨其作用机理以及最佳施用条件。

参考文献 Reference:

- [1] 李文雪.生物炭添加对盐碱土水气传导的影响[D].山东烟台:鲁东大学,2018.
LI W X. Effect of biochar addition into saline soil on hydraulic conductivity and air permeability[D]. Yantai Shandong: Ludong University, 2018.
- [2] 王华笑,刘环,杨国平,等. *Bacillus amyloliquefaciens* YM6对盐胁迫条件下玉米幼苗生理及生化的影响[J].西北农业学报,2020,29(3):436-443.
WANG H X, LIU H, YANG G P, et al. Effects of *Bacillus amylolique faciens* YM6 on physiological and biochemical characteristics of maize under salt stress[J]. *Acta Agriculturae Borealioccidentalis Sinica*, 2020, 29(3): 436-443.
- [3] 虞国平.水稻在我国粮食安全中的战略地位分析[D].北京:中国农业科学院,2009.
YU G P. Analysis of the strategic position of rice in China's food security[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009.
- [4] ABDULLAH Z, KHAN M A. Salinity-sodicity induced changes in reproductive physiology of rice (*Oryza sativa*) under dense soil conditions [J]. *Environ Experi Botan*, 2003, 49:145-157.
- [5] 胡时开,陶红剑,钱前,等.水稻耐盐性的遗传和分子育种的研究进展[J]分子植物育种,2010,8(4):629-640.
HU SH K, TAO H J, QIAN Q, et al. Progresses on genetics and molecular breeding for salt-tolerance in rice[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2010, 8(4): 629-640.
- [6] 孔涛,张德胜,徐慧,等.盐碱地及其改良过程中土壤微生物生态特征研究进展[J].土壤,2014,46(4):581-588.
KONG T, ZHANG D SH, XU H, et al. Microbial ecological characteristics of alkaline-saline lands and its amelioration process:a review[J]. *Soils*, 2014, 46(4): 581-588.
- [7] 张长宽,陈欣迪.海岸带滩涂资源的开发利用与保护研究进展[J].河海大学学报(自然科学版),2016,44(1):25-33.
ZHANG CH K, CHEN X D. Advances in development, utilization, and protection of coastal tidal flats[J]. *Journal of Hohai University(Natural Sciences)*, 2016, 44(01): 25-33.
- [8] 王华笑,刘环,杨国平,等. *Bacillus amyloliquefaciens* YM6对盐胁迫条件下玉米促生长作用研究[J].生物技术通报,2019,35(12):45-49.
WANG H X, LIU H, YANG G P, et al. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* YM6 on growth promotion of maize under salt stress[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35 (12): 45-49.
- [9] 戴青松,韩锡荣,黄浩,等.根际微生物对土壤有机物修复现状和发展[J].环境科技,2014,27(1):71-74.
DAI Q S, HAN X R, HUANG H, et al. Bioremediation status quo and development of organic pollutants by using rhizosphere microorganisms[J]. *Environmental Science and Technology*, 2014, 27(1): 71-74.
- [10] 吴建峰,林先贵.土壤微生物在促进植物生长方面的作用[J].土壤,2003(1):18-21.
WU J F, LIN X G. Effects of soil microbes on plant growth [J]. *Soils*, 2003(1): 18-21.
- [11] MAYAK S, TIROSH T, GLICK B R. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers[J]. *Plant Science*, 2004, 166: 525-530.
- [12] WANG B, FUNAKOSHI D M, DALP Y, et al. 32 P Absorption and translocation to host plants by AM fungi at low root zone temperature[J]. *Mycorrhizal*, 2002, 12: 93-96.
- [13] 路旭平,李芳兰,马晓娟,等.不同碱敏感水稻品种根系对碱胁迫的生理响应策略[J/OL].中国生态农业学报(中英文):1-14 [2021-05-26]. <https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.200979>.
- [14] LU X P, LI F L, MA X J, et al. Physiological response strategy of roots of different alkali-tolerant rice varieties to alkali stress[J/OL]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 1-14 [2021-05-26]. <https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.200979>.
- [15] 连裕雯,朱成立,黄明逸,等.不同盐渍土中生物炭对玉米生理生长的影响[J].排灌机械工程学报,2021,39(4):426-432.
LEI Y W, ZHU C H L, HUANG M Y, et al. Effect of biochar application in different saline soils on physiological growth of maize[J]. *Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering*, 2021, 39(4): 426-432.
- [16] 刘环,王华笑,杨国平,等.一株促进玉米耐盐碱菌株 *Bacillus velezensis* YM6的发现及鉴定[J].西北农业学报

- 报,2019,28(9):1522-1527.
- LIU H,WANG H X,YANG G P,*et al*. Identification of a salt-tolerant strain *Bacillus velezensis* YM6[J]. *Acta Agriculturae Borealioccidentalis Sinica*, 2019, 28(9): 1522-1527.
- [16] 杨美英,张婷婷,武志海,等.盐碱土添加外源溶磷菌液对水稻渗透调节能力及光合指标的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(8):66-74.
- YANG M Y,ZHANG T T,WU ZH H. Effects of adding exogenous phosphate dissolving bacteria on osmotic adjustment ability and photosynthetic indexes of rice[J]. *Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)*, 2016, 44(8): 66-74.
- [17] 谢金宏.野生稻根际细菌改良盐碱地及水稻促生的研究[D].长春:吉林农业大学,2020.
- XIE J H. Studies on the improvement of saline-alkali soil and rice growth promotion by wild rice rhizosphere bacteria[D]. Changchun:Jilin Agricultural University,2020.
- [18] 韩 笑.根际促生菌的筛选及其促进水稻在盐碱胁迫下生长的作用[D].哈尔滨:东北林业大学,2019.
- HAN X. Screening of plant growth-promoting bacteria and its application in promoting rice growth under saline-alkali stress[D]. Harbin:Northeast Forestry University,2019.
- [19] 姜焕焕.耐盐碱解磷菌与磷石膏联用改良盐碱土的效果与机制[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2019.
- JIANG H H. Saline-alkali soil remediation by the combined application of halotolerant phosphate solubilizing microorganism and rock phosphate[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2019.
- [20] SAHAY R,PATRA D D. Identification and performance of stress-tolerant phosphate-solubilizing bacterial isolates on tagetes minuta grown in sodic soil[J]. *Soil Use and Management*, 2013, 29(4):494-500.
- [21] NUNKAEW T,KANTACHOTE D,NITODA T,*et al*. Characterization of exopolymeric substances from selected *Rhodopseudomonas palustris* strains and their ability to adsorb sodium ions[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 115:334-341.
- [22] 彭既明.耐盐(碱)水稻研发的建议[J].中国稻米,2019,25(1):7-9.
- PENG J M. Suggestions for developing saline-alkaline tolerant rice[J]. *China Rice* ,2019,25(1):7-9.

Characteristics of Bacterial Strain S4 and Its Effect on Enhancement of Rice's Tolerance to Saline-alkali

LI Zhuang¹, WU Kaihua¹, QI Yuxi¹, JI Hongfei¹, ZHANG Huixiong², LIU Yan², YANG Guoping^{1,2,3} and ZHANG Xiu^{1,3}

(1. College of Biological Science and Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021, China;

2. Ningxia Wufeng Agricultural Science and Technology Co., Ltd, Yinchuan 750021, China;

3. Ningxia Key Laboratory for the Development and Application of Microbial Resources in Extreme Environments, Yinchuan 750021, China)

Abstract There are some microorganisms in the natural world, which can significantly improve higher plants' resistance to saline-alkali stress. The selective medium was used to isolate the salt-tolerant bacterial strains, and then these strains were applied for growth of the rice seedlings in the plant growth chamber under the conditions of 0.60% NaCl and pH 8.5. The best strains were chosen based on plant's height, root's length. The top performance of strain S4 was obtained in 450 isolates. Strain S4 was identified as *Microbacterium ginsengiterrae* based on the 16S rRNA sequence similarity. Strain S4 grew well under the adverse conditions of pH 9.5 and 4.0% of NaCl. In the pot experiment, S4 increased the growth of the rice seedling by 3.7% DW compared with the uninoculated control. In the saline-alkali paddy field in Yinchuan of Ningxia, the rice inoculated with strain S4 boosted the grain yield by 10.8% compared with rice not inoculated with strain S4.

Key words Salt-tolerant; Rice; *Microbacterium ginsengiterrae*

Received 2021-04-22

Returned 2021-06-17

Foundation item The National Natural Science Foundation of China(No. 32060424); Talent Project of National Ethnic Affairs Commission(No. 2016).

First author LI Zhuang, male, master student. Research area: microbial ecology. E-mail: 786520002@ qq. com

Corresponding author YANG Guoping, male, professor. Research area: agricultural microbiology. E-mail: yang_guoping@126. com

ZHANG Xiu, male, professor. Research area: development and utilization of microbial resources. E-mail: zhangxiu101@aliyun. com

(责任编辑:顾玉兰 **Responsible editor:** GU Yulan)