

冬枣 (*Ziziphus jujube* Mill.) 根际3株 促生细菌的筛选与鉴定*

马海林^{1**} 邢尚军¹ 刘方春¹ 陈波² 丁延芹² 姚良同² 杜秉海²

(¹山东省林业科学研究院, 山东省森林植被生态修复工程技术研究中心 济南 250014)

(²山东农业大学生命科学学院 泰安 271018)

摘要 为给冬枣 (*Ziziphus jujube* Mill.) 生物肥料的研制和生产提供优良菌株资源, 利用梯度稀释法和三区划线法从冬枣根际土壤中分离、纯化出832株细菌分离物, 进一步通过小麦叶片保绿法和萝卜子叶增重法筛选出效果较好的3株, 分别记为DZ1、DZ2和DZ3。这3株细菌分离物均不产异戊烯基腺嘌呤, 其中DZ1和DZ2分泌反式玉米素 (分别为368.73和598.46 ng mL⁻¹)、激动素 (273.56和193.16 ng mL⁻¹) 和吲哚乙酸[9.24和13.85 μg mL⁻¹ (OD_{600 nm})⁻¹], 而DZ3分泌激动素 (175.4 ng mL⁻¹) 和反式玉米素 (314.34 ng mL⁻¹), 但不产吲哚乙酸。通过形态学观察、生理生化测定、16S rRNA基因测序及系统发育树分析, 初步确定DZ1和DZ2为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*), DZ3为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。最后通过盆栽试验对这3株细菌分离物的促生效果进行比较, 结果发现, DZ1、DZ2和DZ3, 尤其是DZ1, 对冬枣根的生长及地上部干物质积累有积极作用, 可作为研制冬枣生物肥料的优良菌株资源。图2 表3 参21

关键词 冬枣; 根际; 促生细菌; 菌种筛选; 菌种鉴定; 激素

CLC S144 : S665.106

Screening and Identification of Three Plant Growth-promoting Rhizobacteria from Winter Jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) Rhizosphere*

MA Hailin^{1**}, XING Shangjun¹, LIU Fangchun¹, CHEN Bo², DING Yanqin², YAO Liangtong² & DU Binghai²

(¹Shandong Engineering Research Center for Ecological Restoration of Forest Vegetation, Shandong Academy of Forestry, Jinan 250014, China)

(²College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract The aim of the present study was to provide the excellent strain resources for the production of winter jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) bio-fertilizer. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are important catalysts that regulate the functional properties of agricultural systems. However, there is little information on the isolation and screening from winter jujube rhizospheric soil. Therefore, bacterial isolates were isolated and screened from winter jujube rhizospheric soil by the methods of remaining green and radish cotyledon bioassay. First, 832 bacterial isolates were separated and purified from the rhizosphere soil using serial dilution and three-region streaking methods. Then 3 PGPR, with broad application prospects in the bio-fertilizer production, were screened and named DZ1, DZ2 and DZ3, respectively. The plant hormones produced by the bacterial isolates were quantitatively detected. At last, the three PGPR were identified based on the results of morphologic characteristics, physiological biochemical properties and phylogenetic analysis of 16S rRNA genes sequence. The results showed that none of the three bacterial isolates produced isopentenyladenine. DZ1 and DZ2 produced trans-zeatin (368.73 and 598.46 ng mL⁻¹, respectively), kinetin (273.56 and 193.16 ng mL⁻¹, respectively), and indoleacetic acid (9.24 and 13.85 μg mL⁻¹ (OD_{600 nm})⁻¹, respectively). DZ3 produced trans-zeatin (175.4 ng mL⁻¹), and kinetin (314.34 ng mL⁻¹), but no indoleacetic acid. According to the results of morphologic characteristics, physiological biochemical properties and phylogenetic analysis of 16S rRNA genes, DZ1 and DZ2 were identified as *Bacillus subtilis*, and DZ3 identified as *Bacillus* sp. The pot experiment results showed that the three PGPR, especially DZ1, can significantly improve the fine root and aerial part dry weight, beneficial to winter jujube growth. In conclusion, DZ1, DZ2, and DZ3 exert beneficial effects on winter jujube growth, exhibiting broad application prospects in the winter jujube bio-fertilizer production. Fig 3, Tab 2, Ref 21

Keywords winter jujube (*Ziziphus jujube* Mill.); rhizosphere; growth-promoting rhizobacteria; strain screening; strain identification; hormone

CLC S144 : S665.106

收稿日期 Received: 2012-10-02 接受日期 Accepted: 2012-12-10

*山东省科学技术发展计划项目 (2007GG2009007) 和山东省农业重大应用技术创新项目资助 Supported by the Science and Technology Development Project of Shandong, China (No. 2007GG2009007) and the Major Special Project for Agricultural Application Technology of Shandong

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: mahlin@163.com)

植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是指生存于植物根际、根表,对植物生长有促进或对病原菌有拮抗作用的有益细菌统称^[1-2]。大量文献证明,PGPR对植物生长具有显著的促进作用^[3-5]。PGPR菌株可促进植物根系生长,增强根系吸收矿物营养和水分的能力,从而促进植物生长。同时PGPR在根围的定殖可在一定程度上抑制病原物的定殖和传播。目前PGPR的筛选鉴定工作多是集中在农作物上^[3-4],而在经济林木中的研究鲜有报道。经济林木生长周期长,相对于一般的农作物来说,更容易形成一些相对稳定的微生物群落结构。此外,大量研究证实,PGPR具有一定的专用性和土著性^[3],因此,针对各种经济林木开展PGPR的筛选工作是有必要的。

冬枣(*Ziziphus jujube* Mill.)为鼠李科(Rhamnaceae)枣属植物,原产于我国,主要分布在黄河三角洲一带,VC含量高,营养丰富^[6-7]。施肥是冬枣生产管理过程中的一个非常重要的环节,其施肥效应除了受土壤和本身营养特性影响外,还与肥料品种有关^[8]。生物有机肥料是由一种或数种有益活体微生物接种到有机材料中制成的,借助其代谢过程或代谢产物,改善植物生长条件,达到促进植株生长的目的。有文献报道,从微生物生态学角度出发,从植物根际筛选PGPR制成生物肥料具有较好的施用效果^[9-11]。PGPR可以通过产生一些植物生长调节物质,改善根际土壤生态环境,促进植物生长^[1,4],而细胞分裂素就是一种重要的植物生长调节物质。细胞分裂素能够抵抗外界生物及非生物各种应激反应对其造成的伤害,对植物生长发育有着不可忽视的作用^[12]。因此,本研究借鉴Abbasi等人的生物法筛选方法^[3],结合小麦叶片保绿、萝卜子叶增重及植物激素定量检测结果,从冬枣根际土壤中筛选产细胞分裂素的PGPR,对其进行了鉴定,并初步探讨了其对冬枣生长的影响,以期PGPR的筛选提供有效的方法,为冬枣生物肥料的研制提供优良的菌株资源。

1 材料与方法

1.1 土壤样品来源、培养基及菌株筛选方法

根际土壤样品来自山东省滨州市林业局冬枣示范园(37.22°N, 108.02°E),细菌分离用牛肉膏蛋白胨NA固体培养基,细菌培养用LB培养基。通过梯度稀释法,从冬枣根际土样中分离细菌。通过三区划线法对分离到的细菌进行纯化,并通过镜检判断菌株是否纯化,对纯化后的细菌进行编号,挑取单菌落,转接到LB斜面上保存备用。

1.2 保绿法试验方法

1.2.1 小麦种子的播种与培养 挑选颗粒饱满、大小一致的小麦种子,消毒后用无菌水洗净。吸干表面水分后播种到培养皿中,加盖,23℃的培养箱中培养。24-36 h后弃去未萌发和发芽不整齐的种子,留下发芽整齐的种子,继续培养。当麦芽顶到皿盖时,摘去皿盖,光照继续培养。

1.2.2 细菌发酵液的制备、接种与培养 牛肉膏3 g,蛋白胨10 g, NaCl 5 g,水1 000 mL, pH 7.0-7.2。分装试管,每管5 mL,121℃高压蒸汽灭菌30 min。在配好的液体培养基中接入一环菌种,放入摇床中,37℃,180 r/min,培养24 h。

1.2.3 细胞分裂素产生情况的测定 当小麦苗长至10 cm高时,

截取小麦第一片真叶放到无菌水中,待用。在每管细菌发酵液中加入5 mL无菌水,稀释,摇动混匀,待用。另取一支装有不接菌的培养基试管加入5 mL无菌水,稀释,摇动混匀,作为对照,待用。将小麦叶取出切成1 cm左右的小段,装入含有不同细菌发酵稀释液的试管中,每管5段。25℃暗室放置4 d后,分深绿、浅绿、浅黄和黄色4个级别目测叶片保绿情况。重复3次。

1.3 萝卜子叶增重法试验方法

萝卜种子的播种与培养同小麦、细菌发酵液的制备同上。在配好的液体培养基中接入一环菌种,放入摇床中,37℃,180 r/min,培养24 h。将培养好的细菌发酵液装入大离心管,3 000 r/min离心20 min。取上清液,装入灭菌的三角瓶中,加入30 mL无菌水稀释,摇动混匀,待用。另取一不接菌的装有30 mL液体培养基的三角瓶,加30 mL无菌水稀释,摇动混匀,作为对照,待用。

萝卜子叶充分展开后取出,剪下一片较小的子叶。随机取8片,称重,记录。将已称重的8片子叶装入垫有两张滤纸的培养皿中,于中心处摆好,用已稀释好的上清菌液浇灌。加盖后将培养皿放入25℃培养箱光照培养4 d,中间补充蒸发的稀释上清菌液。4 d后,从培养皿中取出子叶,用无菌水冲洗,吸水纸吸干水分,称重,记录。

1.4 形态特征和生理生化特征及激素含量测定

依照Garrity等人的方法^[13],对筛选出的细菌分离物的菌落形态、菌体细胞形态及部分生理生化性状进行测定。利用高效液相色谱(HPLC)测定菌液中细胞分裂素含量(反式玉米素、激动素和异戊烯基腺嘌呤),参考刘琳等人的试验方法^[14]测定吲哚乙酸的含量。

1.5 DNA的提取、PCR反应体系及16S rDNA序列测定

PCR反应体系(25 μL)为Taq酶(5 U μL⁻¹) 0.5 μL, 10×Buffer(Mg²⁺) 2.5 μL, dNTPs(10 mmol L⁻¹)各0.5 μL,引物(20 μmol L⁻¹)各0.5 μL,模板1 μL, Depc H₂O 18 μL。采用通用引物27F/1492R(正向引物:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';反向引物:5'-GGTTACCTGTACGACTT-3')。PCR反应条件为:95℃ 5 min; 94℃ 1 min, 56℃ 1 min, 72℃ 1.5 min,共30个循环;72℃ 10 min。PCR产物用1%的琼脂糖凝胶电泳检测,溴化乙锭染色后,在UVP紫外凝胶成像系统上观察照相。测序工作由生工生物工程(上海)有限公司完成。测序结果用NCBI数据库中的BLAST进行相似性分析。使用MEGA4.0(Molecular evolutionary genetics analysis software version 4.0)程序包,构建Interior branch test of phylogeny中的Neighbor-Joining Tree,进化距离采用Jukes-Cantor算法,系统树各分枝的置信度经重抽样法(Bootstrap)1 000次重复检测。

1.6 筛选菌株促生效果盆栽试验

试验于2011年4月9日在山东省林业科学研究院试验苗圃进行,供试土壤为潮土,土壤碱解氮、速效磷和速效钾的含量分别为27.96 mg kg⁻¹、26.52 mg kg⁻¹和79 mg kg⁻¹,有机质含量为6.83 g kg⁻¹。试验共设4个处理,重复3次,分别为:处理1,不接种任何菌剂(简称CK);处理2,接种DZ1(简称DZ1);处理3,接种DZ2(简称DZ2);处理4,接种DZ3(简称DZ3)。将

筛选出的菌株分别接种NA培养基,于37℃,180 r/min,摇床培养2 d后用无菌水稀释至 2×10^8 CFU mL⁻¹。选择生长一致的一年生冬枣嫁接苗沾根后定植,每盆装土9 kg,然后再将54 mL稀释液浇灌于冬枣苗根部周围。2011年10月12日,采集冬枣根系和地上部样品,利用游标卡尺根系按照0-1 mm, 1-5 mm和>5 mm进行分级,于105℃烘箱中杀青15 min, 80℃烘箱中烘至恒重,测定其根系和地上部干重。

2 结果与分析

2.1 保绿法和萝卜子叶增重法筛选结果

利用梯度稀释法从冬枣根际土样中分离出832株细菌分离物。通过小麦叶片保绿法结合萝卜子叶增重法,最终筛选出3株具有良好促生效果的细菌,记为DZ1、DZ2和DZ3。3株细菌分离物的保绿实验筛选结果及萝卜子叶增重法筛选结果见表1。可以看出,选择的3株细菌分离物有着良好的保绿效果。同对照相比,DZ1、DZ2和DZ3的萝卜子叶增重百分比分别提高56.70%、55.96%和39.82%。

2.2 细菌发酵液中植物激素的定量测定

细胞分裂素和吲哚乙酸是重要的具有促生作用的植物激素,对植物生长具有良好的促进作用^[15-16]。因此,细菌分离物分泌激素量的多少,是鉴定促生效果好差的一个重要指

标。本研究定量检测了3株细菌分离物产反式玉米素、激动素、异戊烯基腺嘌呤和吲哚乙酸的能力,结果如表2所示,可以看出,3株细菌分离物均不产异戊烯基腺嘌呤,DZ1和DZ2产反式玉米素、激动素和吲哚乙酸,DZ3产反式玉米素和激动素,但不产吲哚乙酸。DZ2分泌反式玉米素最高,DZ3分泌激动素最高,DZ1分泌细胞分裂素能力介于两者之间。

2.3 细菌分离物的菌落特征、菌体形态及生理生化特征

DZ1在LB平板上培养24 h后呈圆形不透明,表面光滑,菌体细胞大小为(0.7-0.8) μm × (2.0-3.0) μm,产芽孢,G⁺,细胞直杆状。DZ2在LB平板上培养24 h后呈圆形不透明,表面光滑,菌体细胞大小为(0.7-0.8) μm × (2.0-3.0) μm,产芽孢,G⁺,细胞直杆状。DZ3在LB平板上培养24 h后菌落形态不规则不透明,表面粗糙,菌体细胞大小为(1.0-1.5) μm × (3.0-5.0) μm,产芽孢,G⁺,细胞直杆状。

3株细菌分离物的主要生理生化特征见表3。可以看出,DZ1和DZ2与*Bacillus subtilis*的模式种生理生化指标上具有相同的特征。DZ3与*Bacillus thuringiensis*的模式种在淀粉水解试验、葡萄糖产气和甘露醇实验上存在差异,与*Bacillus cereus*的模式种在淀粉水解试验、葡萄糖产气、甘露醇实验上存在差异。

表1 保绿法和萝卜子叶增重法筛选结果

Table 1 The results of remaining green and radish cotyledon increase methods

编号No.	保绿结果 Results from remaining green method			萝卜子叶增重结果 Results from radish cotyledon increase method		
	重复1 Triplicate 1	重复2 Triplicate 2	重复3 Triplicate 3	培养前重量 Weight before cultivation (m/g)	培养后重量 Weight after cultivation (m/g)	增重百分比 Percent of weight increase (P/%)
对照 Control	++	++	++	0.100 (0.009)	0.150 (0.011)	50.000 (3.934)
DZ1	++++	++++	++++	0.097 (0.007)	0.173 (0.013)	78.351 (5.968)
DZ2	++++	++++	++++	0.109 (0.008)	0.194 (0.013)	77.979 (6.249)
DZ3	++++	+++	++++	0.113 (0.010)	0.192 (0.014)	69.912 (4.371)

++++: 深绿; +++: 浅绿; ++: 浅黄; +: 黄

++++: Dark green; +++: Light green; ++: Light yellow; +: Yellow

表2 细菌分离物发酵产生的植物激素种类和含量

Table 2 The varieties and contents of plant hormones produced by isolate fermentation

编号 No.	反式玉米素 Trans-Zeatin (w/ng mL ⁻¹)	激动素 Kinetin (w/ng mL ⁻¹)	异戊烯基腺嘌呤 Isopentenyladenine (w/ng mL ⁻¹)	吲哚乙酸 Indoleacetic acid (w/μg mL ⁻¹ (OD _{600 nm}) ⁻¹)
DZ1	368.73	273.56	-	13.85
DZ2	598.46	193.16	-	9.24
DZ3	175.4	314.34	-	-

-: 不分泌相应激素 Not producing the corresponding hormone

表3 生理生化实验结果

Table 3 Characteristics of physiology and biochemistry

特征 Characteristics	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	DZ1	DZ2	DZ3
明胶液化试验 Glutin hydrolysis	+	+	+	+	+	+
淀粉水解试验 Starch hydrolysis	-	+	+	-	-	-
吲哚试验 Indol test	-	-	+	-	-	-
伏-普试验 V-P test	+	d	+	+	+	+
硝酸盐还原试验 Nitrate reduction test	+	+	+	+	+	ND
柠檬酸盐利用试验 Citrate utilization test	+	+	+	+	+	+
葡萄糖产气 Gas production of glucose	-	-	-	-	-	+
甘露醇 Mannitol	+	-	-	+	+	+
接触酶试验 Mannitol	+	+	+	+	+	+
卵磷脂酶试验 Lecithinase test	-	d	+	-	-	-

+: 阳性; -: 阴性; d: 11%-89%的菌为阳性; ND: 未测定

+: Positive; -: Negative; d: 11%-89% positive; ND: No determination

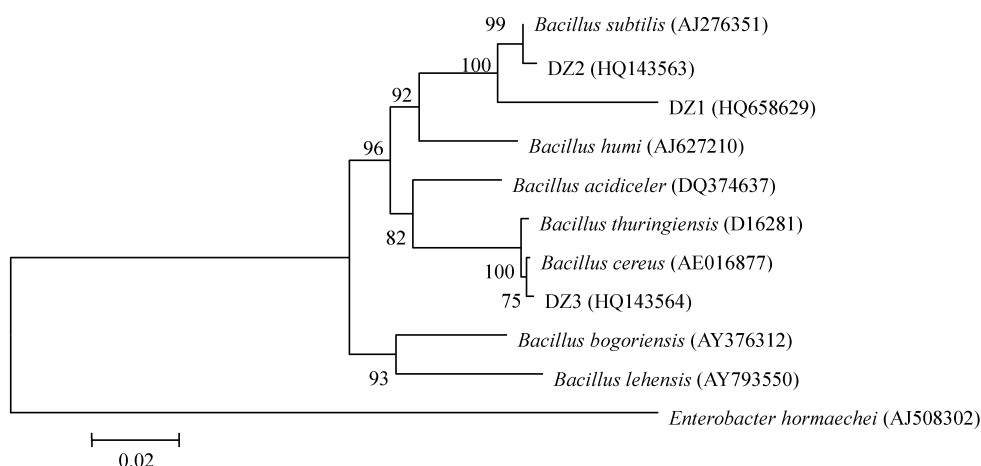


图1 基于16S rRNA基因序列的系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA genes sequence

2.4 16S rRNA基因序列分析

将DZ1、DZ2和DZ3的16S rRNA基因序列提交GenBank, 所得收录号为HQ658629、HQ143563、HQ143564。3株细菌分离物得系统进化树构建结果见图1, 可以看出, DZ1和DZ2与*B. subtilis*同处于一个分支, 进化距离最近。DZ1和DZ2的16S rRNA基因序列与*B. subtilis* (AJ276351) 的相似性分别达98%和99%, 综合前面生理生化结果将其鉴定为枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*)。DZ3同*B. cereus*的进化距离最近。DZ3的16S rRNA基因序列与*B. thuringiensis* (D16281) 及*B. cereus* (AE016877) 的相似性均为99%, 但其生理生化特征与*B. cereus*和*B. thuringiensis*均存在较大差异, 将其鉴定为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。

>5 mm根系生物量差异未达显著水平。DZ1的地上部生物量最高, 分别比CK、DZ2和DZ3提高15.75%、7.67%和6.35%, 差异显著。DZ1处理的0-1 mm和1 mm-5 mm根系、根系总干重和地上部干物质重均显著高于DZ2和DZ3。以上分析可知, 筛选出的3株PGPR, 尤其是DZ1, 对冬枣细根生长和地上部干物质积累有积极作用。

3 结论与讨论

生物有机肥料是由一种或数种有益活体微生物接种到有机材料中制成的, 借助其代谢过程或代谢产物, 改善植物生长条件, 达到促进植株生长的作用^[2, 6]。稀少的菌株资源是限制生物肥料生产及应用的重要因素, 针对冬枣筛选出冬枣中专用的PGPR, 是冬枣生物肥料研制过程中的关键环节。在PGPR的促生机理中, 通过产生植物激素对植物生长进行调节, 是一种比较常见的途径^[13]。细胞分裂素是一种重要的具有促生作用的植物激素, 其分泌的多少, 自然也成了鉴定促生效果的一个重要指标。本研究正是通过在同等条件下菌种分泌细胞分裂素的多少, 来判断其促生效果的强弱。叶片在衰老的过程中, 叶绿素等物质会不断地流失, 表现为叶片逐渐变黄。而细胞分裂素有延缓植物衰老的作用, 在同等条件下, 可以减缓叶片中叶绿素的流失, 表现为在细胞分裂素分泌多的菌液中保存的叶片, 其颜色更绿。由此, 我们通过叶片颜色的深浅筛选出促生效果较好的菌种。我们从微生物生态学角度出发, 从冬枣根际土壤中分离、纯化出832株细菌分离物中, 利用小麦叶片保绿法初筛出57株分离物, 然后结合萝卜子叶增重法和定量检测细菌分离物分泌植物激素的结果, 筛选出3株具有应用潜力的植物根际促生细菌DZ1、DZ2和DZ3。产细胞分裂素能力最强的为DZ2, 其产细胞分裂素总量为800.86 ng mL⁻¹; 最弱的为DZ3, 产细胞分裂素总量为489.74 ng mL⁻¹; DZ1产细胞分裂素介于DZ2和DZ3之间。Hussain等人利用高效液相色谱-电喷雾-串联质谱仪的方法筛选了12株产细胞分裂素的细菌, 其中产细胞分裂素最强的菌株产细胞分裂素总量为416.73 ng mL⁻¹^[17], 可见, 本研究所筛选菌株产细胞分裂素能力优于Hussain等人所筛选菌株。本研究所筛菌株DZ1和DZ2的IAA产量分别为13.85和9.24 μg mL⁻¹ (OD_{600 nm}),

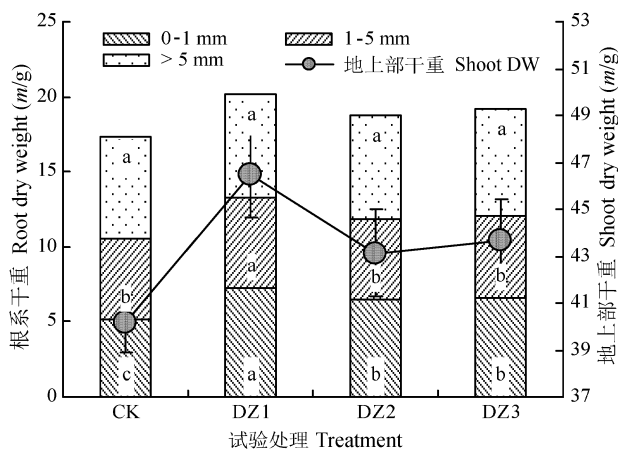


图2 不同处理对冬枣根系及地上部干重的影响
Fig. 2 Effects of different treatments on the dry weight of roots and aerial parts of winter jujube

2.5 筛选菌株对冬枣的促生效果

不同试验处理对冬枣根系及地上部干物质的影响结果如图2所示, 可以看出, 不同试验处理对冬枣苗的根系及干物质积累产生了显著影响。同CK处理相比, DZ1、DZ2和DZ3处理的0-1 mm根系增加39.46%、24.95%和27.85%, 差异达显著水平。DZ1处理的1-5 mm根系显著高于其他3个处理, DZ2和DZ3与CK之间差异不显著。方差分析结果显示, 各处理之间

与刘琳等人所筛选菌株^[14]相比,产IAA能力一般。

国内外有关筛选PGPR的报道很多,其中包括节杆菌属 (*Arthobacter*)、布克霍尔氏菌属 (*Burkholderia*)、固氮螺菌属 (*Azospirillum*)、产碱菌属 (*Alcaligenes*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 以及假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等^[2, 18-20],但是尚未有筛选冬枣PGPR的研究报道。本研究通过对所筛菌株进行形态学观察、生理生化测定、16S rRNA基因序列及系统发育学分析,将DZ1和DZ2鉴定为枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*), DZ3鉴定为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。3株PGPR菌株的筛选鉴定结果与前人报道的PGPR鉴定结果具有相同之处。

盆栽试验结果证实从冬枣根际土壤中筛选出的3株PGPR,尤其是DZ1,对冬枣细根的生长(0-1 mm)和干物质积累有积极作用。PGPR对土壤性质的适应性是其使用效果的决定因素^[21],只有PGPR在植物根际具有竞争性,能定殖于根际,才能发挥其促生作用^[4]。因此,具有促生作用的PGPR并不一定有好的使用效果。因此,冬枣PGPR的成功筛选,并不意味着冬枣生物肥料研制成功。不同的环境条件,诸如气象、土壤性质或其他土著微生物活力等均会对微生物的生长造成影响^[4]。因此,我们将围绕筛选出的3株PGPR,尤其是DZ1,进一步开展冬枣生物肥料的研发工作。

参考文献 [References]

- Verma JP, Yadav J, Tiwari KN, Lavakush SV. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production [J]. *Int J Agric Res*, 2010, **5**: 954-983
- 康贻军, 程洁, 梅丽娟, 殷士学. 植物根际促生菌的筛选及鉴定[J]. 微生物学报, 2010, **50** (7): 853-861 [Kang YJ, Cheng J, Mei LJ, Yin SX. Screening and identification of plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2010, **50** (7): 853-861]
- Abbasi MK, Sharif S, Kazmi M, Sultan T, Aslam M. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants [J]. *Plant Biosyst*, 2011, **145**: 159-168
- Egamberdiyeva D. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils [J]. *Appl Soil Ecol*, 2007, **36**: 184-189
- Karakurt H, Kotan R. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set, pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry (*Prunus cerasus* cv. Kütahya) [J]. *Turk J Biol*, 2011, **35**: 283-291
- 刘方春, 邢尚军, 马海林, 杜振宇, 马丙尧, 段春华, 陈波. 生物肥对冬枣生物学特性及产量和品质的影响[J]. 水土保持学报, 2010, **24** (6): 222-226 [Liu FC, Xing SJ, Ma HL, Du ZY, Ma BY, Duan CH, Chen B. Effects of biological organic fertilizer on biological characteristics, yield and quality of *Zizyphus jujube* Mill. Dongzao trees [J]. *J Soil Water Conserv*, 2010, **24** (6): 222-226]
- 魏绍冲, 姜远茂. 冬枣果实中1个ETR2类乙烯受体基因的克隆及其表达[J]. 林业科学, 2012, **48** (4): 138-142 [Wei SC, Jiang YM. Cloning and expression of a cDNA encoding ETR2-Type ethylene reception in 'Dongzao' jujube [J]. *Sci Silv Sin*, 2012, **48** (4): 138-142]
- 刘方春, 邢尚军, 马海林, 杜振宇, 马丙尧, 陈波. 生物肥对冬枣根际土壤微环境特征的影响[J]. 北京林业大学学报, 2012, **34** (5): 102-106 [Liu FC, Xing SJ, Ma HL, Du ZY, Ma BY, Chen B. Effect of bio-fertilizers on micro-environment characteristics in *Zizyphus jujube* Mill. rhizosphere soil [J]. *J Beijing For Univ*, 2012, **34** (5): 102-106]
- Adesemoye AO, Torbert HA, Kloepper JW. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb Ecol*, 2009, **58**: 921-929
- Kumara S, Pandey P, Maheshwari DK. Reduction in dose of chemical fertilizers and growth enhancement of sesame (*Sesamum indicum* L.) with application of rhizospheric competent *Pseudomonas aeruginosa* LES4. *Eur J Soil Biol*, 2009, **45**: 334-340
- 张慧, 杨兴明, 冉炜, 徐阳春, 沈其荣. 土传棉花黄萎病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2008, **45** (6): 1095-1101 [Zhang H, Yang XM, Ran W, Xu YC, Shen QR. Screening of bacteria antagonistic against soil-borne cotton verticillium wilt and their biological effects on the soil-cotton system [J]. *Acta Pedol Sin*, 2008, **45** (6): 1095-1101]
- Bari R, Jones JDG. Role of plant hormones in plant defence responses [J]. *Plant Mol Biol*, 2009, **69**: 473-488
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M]. 2nd ed. New York: Heidelberg Springer-verlag, 2004
- 刘琳, 孙磊, 张瑞英, 姚娜, 李璐滨. 春兰根中可分泌吲哚乙酸的内生细菌多样性[J]. 生物多样性, 2010, **18** (2): 195-200 [Liu L, Sun L, Zhang RY, Yao N, Li LB. Diversity of IAA-producing endophytic bacteria isolated from the roots of *Cymbidium goeringii* [J]. *Biodiv Sci*, 2010, **18** (2): 195-200]
- Arkhipova TN, Prinsen E, Veselov SU, Martinenko EV, Melentiev AI, Kudoyarova GR. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil [J]. *Plant Soil*, 2007, **292**: 305-315
- Hussain A, Hasnain S. Interactions of bacterial cytokinins and IAA in the rhizosphere may alter phytostimulatory efficiency of rhizobacteria [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2011, **27**: 2645-2654
- Hussain A, Hasnain S. Interactions of bacterial cytokinins and IAA in the rhizosphere may alter phytostimulatory efficiency of rhizobacteria [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2011, **27**: 2645-2654
- Sudhakar P, Chattopadhyay GN, Gangwar SK, Ghosh JK. Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*) [J]. *J Agric Sci*, 2000, **134**: 227-234
- 王丹, 李旺, 巩春甫, 杨四佳, 张强, 唐恺迪, 戚南昌, 银丽娟, 张杰, 杨志荣. 不对称还原丙酮酸乙酯菌株的筛选及鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2012, **18** (3): 460-464 [Wang D, Li W, Gong CF, Yang SJ, Zhang Q, Tang KD, Qi NC, Yin LJ, Zhang J, Yang ZR. Screening and identification of a strain for asymmetric reduction of ethyl pyruvate [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2012, **18** (3): 460-464]
- Karakurt H, Kotan R. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set, pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry (*Prunus cerasus* cv. Kütahya) [J]. *Turk J Biol*, 2011, **35**: 283-291
- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities [J]. *Microbiol Res*, 2008, **163** (2): 173-181