

研究报告

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) PZ-3 吸附载体的筛选及对玉米根际土壤微生物多样性的影响

窦鑫¹, 郭鹏博¹, 张伟³, 王敬红³, 陈昭¹, 洪艳华³, 孙冬梅¹, 王伟东^{*1,2}

1 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 农业农村部东北平原农业绿色低碳重点实验室, 黑龙江大庆 163319

2 东北林业大学生命科学学院 东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

3 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319

窦鑫, 郭鹏博, 张伟, 王敬红, 陈昭, 洪艳华, 孙冬梅, 王伟东. 贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) PZ-3 吸附载体的筛选及对玉米根际土壤微生物多样性的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(6): 2013-2029.

DOU Xin, GUO Pengbo, ZHANG Wei, WANG Jinghong, CHEN Zhao, HONG Yanhua, SUN Dongmei, WANG Weidong. The adsorption carrier of *Bacillus velezensis* PZ-3: screening and effects on microbial diversity in the rhizosphere soil of maize[J]. Microbiology China, 2024, 51(6): 2013-2029.

摘要: 【背景】载体类型对微生物肥料的应用效果和成本有显著影响。【目的】筛选吸附贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) PZ-3 能力强的载体。【方法】以生物炭、腐殖酸、生物质灰渣、有机肥、菌糠和稻壳粉作为载体原料, 以贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 为试验菌株与载体进行吸附试验, 通过稀释涂布-菌落计数法, 流式细胞术及玉米盆栽试验, 筛选与目标菌株适配的载体, 并探究其吸附目标菌株后对玉米根际土壤中微生物多样性的影响。【结果】腐殖酸+菌糠吸附目标菌株后在玉米根际土壤中定殖效果最佳, 根际土壤中目标菌株的数量在第 7 天达到最高, 为 1.28×10^5 CFU/g, 其相对丰度为 59.15%; 该处理与原始土壤相比, 玉米的株高、茎粗、地上物质干重提升了 28.51%、19.05%、48.65%; 且该处理显著提升($P < 0.05$)玉米根际土壤中链霉菌属(*Streptomyces*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)的相对丰度, 显著降低了索氏梭菌属(*Paeniclostridium*)、瓶毛壳属(*Lophotrichus*)、赤霉菌属(*Gibberella*)的相对丰度。【结论】腐殖酸+菌糠吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 的能力强, 联合配施对玉米促生效果明显, 且显著提升玉米根际土壤中植物促生菌的相对丰度, 降低植物病原真菌的相对丰度。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌; 载体; 玉米; 根际微生物; 微生物多样性

资助项目: 国家重点研发计划(2023YFD1500501-01); 黑龙江省揭榜挂帅科技攻关项目(2022ZXJ08B01); 国家自然科学基金区域创新发展联合基金(U22A20444); 中央高校基本科研业务费专项资金(2572023CT08); 黑龙江八一农垦大学三纵计划(ZDZX202105)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1500501-01), the Unveils and Leads Scientific and Technological Project of Heilongjiang Province (2022ZXJ08B01), the Regional Innovation and Development Joint Funds of the National Natural Science Foundation of China (U22A20444), the Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (2572023CT08), and the Three Vertical Plan Fund of Heilongjiang Bayi Agricultural University (ZDZX202105).

*Corresponding author. E-mail: wwdcyy@126.com

Received: 2024-01-01; Accepted: 2024-03-25; Published online: 2024-04-07

The adsorption carrier of *Bacillus velezensis* PZ-3: screening and effects on microbial diversity in the rhizosphere soil of maize

DOU Xin¹, GUO Pengbo¹, ZHANG Wei³, WANG Jinghong³, CHEN Zhao¹, HONG Yanhua³, SUN Dongmei¹, WANG Weidong^{*1,2}

1 Key Laboratory of Low-Carbon Green Agriculture in Northeast Plain, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China

2 Key Laboratory of Saline-Alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China

3 College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang, China

Abstract: [Background] Carriers influences the effects and costs of microbial fertilizers. [Objective] To screen the vector with strong adsorption ability of *Bacillus velezensis* PZ-3. [Methods] We carried out adsorption experiments for *B. velezensis* PZ-3 with biochar, humic acid, biomass ash, organic fertilizer, mushroom bran, and rice husk powder as carriers. The carrier suitable for the target strain was screened by dilution coating-colony counting method, flow cytometry, and maize pot experiment. Then, we investigated the effects of the adsorbed target strain on the microbial diversity in the rhizosphere soil of maize. [Results] The best colonization effect was achieved in the rhizosphere soil of maize after the adsorption of the target strain by humic acid+mushroom bran. The abundance and number of the target strain in the rhizosphere soil of this treatment peaked at 1.28×10^5 CFU/g, with a relative abundance of 59.15%, on day 7. Compared with the control (original soil), this treatment increased the plant height, stem diameter, and aboveground dry weight of maize by 28.51%, 19.05%, and 48.65%, respectively. Moreover, this treatment increased the relative abundance of *Streptomyces* and *Pseudomonas* ($P < 0.05$) and reduced the relative abundance of *Paeniclostridium*, *Lophotrichus*, and *Gibberella* in the rhizosphere soil of maize. [Conclusion] Humic acid combined with mushroom bran had a strong ability to adsorb *B. velezensis* PZ-3. The combination significantly promoted the growth of maize, increased the relative abundance of plant growth-promoting strains, and reduced the relative abundance of plant pathogenic fungi in the rhizosphere soil of maize.

Keywords: *Bacillus velezensis*; carrier; maize; rhizosphere microorganisms; microbial diversity

在微生物菌剂的开发研究中,芽孢杆菌因其在逆境中可产生芽孢,具有抗逆性强等优势;贝莱斯芽孢杆菌可拮抗多种植物病原真菌且具备固氮能力,其进入土壤后能够提高作物根系对土壤中养分的利用效率、改善作物根际的土壤微生态,是生产中应用较广泛的细菌类型^[1-2]。颗粒或粉剂是广泛采用的剂型,微生

物菌剂所用载体对微生物菌剂的质量有着非常重要的影响,载体与微生物吸附混合后可以为其中的活性微生物提供生长所需的庇护空间与碳、氮等营养物质,进而协助微生物在进入土壤后稳定地发挥功能^[3]。

在载体的选择中,首先要保证绿色、无污染,其次需要控制成本,为大规模生产提供可能性。

目前农业生产中常用的微生物菌剂载体主要有农业副产品、生物炭、腐殖酸与有机肥等^[4]。菌糠在一定条件下单独施加可以改善土壤团聚体结构、提高土壤肥力水平,使得冬季小麦、玉米、大豆分别增产 28.7%、10.6%、30.6%^[5]。在杨梅凋萎病的研究中,施用腐殖酸 1 年,杨梅的分枝长度、直径、叶长、叶宽、叶厚、叶绿素含量分别增加了 28.62%、11.03%、12.13%、14.86%、10.68%、17.75%,同时杨梅的果实鲜重、总糖、维生素 C 含量分别升高了 36.30%、24.72%、173.15%^[6]。载体施加于土壤后可以引发作物根际土壤中的微生物多样性变化。研究表明陈年生生物炭在进入土壤后会增加作物根系土壤的微生物活性,而新鲜的生物炭则相反^[7],陈年生生物炭进入土壤后,会增强土壤微生物分解有机质的能力,加快碳元素转运速度,提升土壤中间孢囊菌属(*Intrasporangium*)、微杆菌属(*Microbacterium*)的相对丰度^[8],间孢囊菌已被证明可以修复被重金属镉污染的土壤,微杆菌具备降解对羟基苯甲酸的潜力,减弱其对土壤的污染^[9]。腐殖酸进入土壤后能够增加土壤微生物的多样性,引起土壤中克洛斯氏菌属(*Crossiella*)相对丰度的显著增加,克洛斯氏菌属具有拮抗病原真菌的能力,嗜酸杆菌属(*Acidibacter*)和双子担子菌属(*Geminibasidium*)的相对丰度显著降低^[10]。有机肥进入土壤后,不仅可以增加植物的高度和产量,还可以增加根际细菌群落的多样性^[11]。

综上所述,载体吸附微生物菌剂后可以对土壤及作物产生积极影响。目前的研究已证实载体吸附微生物菌剂后可以维持其中的活性微生物稳定发挥功能,但不同载体对不同微生物的吸附能力有差异,现阶段在生物菌剂研究中,微生物菌剂载体的选择随意性很大^[12],未能使微生物发挥出其本身作用。为使进入土壤后的微生物菌剂最大化发挥作用,筛选与之适配的载体将

其吸附后用于促生作物,改善土壤微生态具备较大研究潜力。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

试验所用菌株为本实验室自主筛选^[13]的贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3,试验前将菌株送至丰海生物公司进行 GFP 标记。

所用玉米种子的品种为“嫩江 13”,由黑龙江八一农垦大学农学院提供。载体来源及其理化性质如表 1 所示。

1.1.2 培养基

参照文献^[14]配制 LB 培养基,灭菌后冷却至 60 °C 以下加入氯霉素溶液 0.01 g/L,即为抗性 LB 培养基。

1.1.3 主要试剂和仪器

蛋白胨、酵母粉和生化试剂,北京奥博星生物技术有限公司。紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;扫描电子显微镜,日立科学仪器(北京)有限公司;全温振荡器,北京东联哈尔仪器制造有限公司;电热鼓风干燥箱,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标记菌株的鉴定及 GFP 质粒遗传稳定性检测

挑取抗性 LB 固体培养基中生长良好的标记菌株接种于抗性 LB 液体培养基中,30 °C、160 r/min 培养 12 h。采用引物 pWN33-F (5'-AGTGTGG TATGTATGTGATTCAATA-3')和 M13R (5'-AGC GGATAACAATTTACACAGG-3')进行 PCR 扩增,PCR 反应体系:2×*Taq* PCR Mix 10 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL,菌液 0.5 μL,超纯水 8.5 μL。PCR 反应条件:94 °C 5 min;94 °C 30 s,55 °C 30 s,72 °C 1 min,30 个循环。反应

结束后取 20 μL 扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶电泳进行检测,以贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 作为对照。使用 75%的无水乙醇擦拭盖玻片和载玻片,挑取标记菌株的菌悬液滴加于载玻片中,盖玻片固定后吸取多余菌悬液,放置于荧光显微镜下观察,以贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 菌悬液作为对照。

将标记菌株接种于抗性 LB 液体培养基中,30 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 全温振荡器中培养 48 h,每隔 48 h 按照 1%的接种量传代,每次传代时将菌液稀释涂布于抗性 LB 固体培养基中,30 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 24 h 后,将培养基中的菌落依次挑出,用盖

玻片固定后观察发绿色荧光情况。质粒稳定性($\%$)=可发绿色荧光菌落数/总菌落数 $\times 100$ 。

将贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 和标记菌株分别用 LB 液体培养基和抗性 LB 液体培养基在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 的全温振荡器中培养 48 h,传代数次的样品放置于扫描电子显微镜下观察并拍照。观察贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 转入 GFP 质粒前、后的形态。

在抗性 LB 液体培养基、LB 液体培养基中按照 1%的接种量分别接种标记菌株和贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3,在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 的全温振荡器

表 1 载体的理化性质及其来源

Table 1 Physicochemical properties and sources of the carrier

指标/样品 Indicators/Sample	生物炭 Biochar	腐殖酸 Humic acid	生物质灰渣 Biomass ash	有机肥 Organic fertilizer	菌糠 Mushroom bran	稻壳粉 Rice husk powder
含水率 Moisture content (%)	7.66 \pm 0.00	18.77 \pm 0.01	21.08 \pm 0.01	9.54 \pm 0.01	21.11 \pm 0.00	10.52 \pm 0.00
pH Power of hydrogen	7.17 \pm 0.01	5.53 \pm 0.03	8.43 \pm 0.06	7.50 \pm 0.03	7.91 \pm 0.05	6.62 \pm 0.04
全氮 Total nitrogen (%)	1.01 \pm 0.01	0.79 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.79 \pm 0.01	1.84 \pm 0.01	0.52 \pm 0.00
全磷 Total phosphorus (mg/kg)	458.84 \pm 33.77	289.15 \pm 35.97	5230.75 \pm 162.48	619.95 \pm 40.89	1015.59 \pm 84.94	222.41 \pm 34.64
全钾 Total potassium (mg/kg)	10.27 \pm 0.58	2.63 \pm 0.25	50.80 \pm 2.76	11.10 \pm 1.39	14.03 \pm 0.93	4.50 \pm 0.29
有效磷 Available phosphate (mg/kg)	136.20 \pm 3.12	15.10 \pm 1.29	402.70 \pm 5.18	261.79 \pm 9.63	251.73 \pm 5.61	157.11 \pm 2.98
有效钾 Available potassium (mg/kg)	4.73 \pm 0.15	0.19 \pm 0.02	8.82 \pm 0.14	3.39 \pm 0.05	7.00 \pm 0.14	3.96 \pm 0.17
载体来源 Source of vector	安徽省滁州市 宁合立洁清洗 剂加工厂 Chuzhou city, Anhui Province Ninghe Lijie cleaning agent processing plant	山东省金世 缘化工有限 公司 Shandong Jinshiyuan Chemical Co. LTD	黑龙江省宝泉岭 电业局有限公司 Heilongjiang Baoquanling Electric Power Bureau Co. LTD	实验室自制 Laboratory made	黑龙江省友谊县 菌场 Bacteria field in Youyi district, Heilongjiang Province	黑龙江省绥化市联 丰农业公司 Suihua Lianfeng Agricultural Company, Heilongjiang Province

中培养 84 h。利用双束紫外分光光度计测定菌液在 0、12、24、36、48、60、72、84 h 时 600 nm 处吸光值变化情况,以 LB 培养基进行调零,每次取样设置 3 组重复,绘制标记菌株、原始菌株的生长曲线。

1.2.2 载体对标记菌株的吸附能力检测

将标记菌液与载体(风干质量)按质量比 5:1 混合均匀,置于摇床 30 °C、160 r/min 振荡 2 h 后静置 3 min,弃上清,重复此过程 3 次,洗去附着在载体表面的多余菌株细胞。将其置于电热鼓风干燥箱中 35 °C 干燥 48 h,之后等质量分装于 50 mL 离心管中并使用封口膜密封,室温静置。6 种载体静置第 10、20、30、60、90、120、150、180 天的样品各取 10 g 加入 90 mL 无菌水中充分振荡,使用无菌水将振荡液稀释为原浓度的 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 涂布于抗性 LB 固体培养基中,30 °C 培养 24 h。将每个培养基中生长的菌落使用接种环依次挑取到载玻片中,盖玻片固定后置于

荧光显微镜下观测,计数统计发绿色荧光的菌落。

1.2.3 标记菌株在玉米根际土壤中定殖及对玉米生长的影响

基于菌株在载体中定殖试验的结果,选取生物炭、腐殖酸、菌糠 3 种载体进行玉米盆栽试验,检测根际土壤中的标记菌株的定殖情况及对玉米生长的影响,具体试验处理如表 2 所示。

将处理组 C0–C7 按照 5 kg/667 m² 的添加量与过 5 mm 网筛后的土壤混合均匀,装入盆栽桶(直径 27 cm,高 20 cm)中,每盆 5 kg,均使用 1.5 kg 的自来水浇透,每桶均匀点入 6 粒玉米种子后覆土,每日施水量为 2 L/盆,每个处理重复 3 次。玉米出苗后计第 1 天,每个处理组均于第 1、7、14、21、28 天时选取每桶中长势一致的玉米植株,利用抖土法去除与玉米根系结合松散的非根际土,用毛刷刷取与玉米根系结合紧密的根际土壤。检测根际土中标记菌株数量,同时使用流式细胞术检测根际土壤中的绿色荧光丰度。

表 2 玉米盆栽试验处理组代号及处理方法

Table 2 Code and treatment methods of each treatment group in the maize pot experiment.

序号 Number	处理组代号 Treatment group code	处理方法 Treatment method
1	C0	空白对照 Control
2	C1	施加标记菌株 Applying labeled strain
3	C2	施加吸附标记菌株后的生物炭 Biochar after applying adsorption labeled strain
4	C3	施加吸附标记菌株后的腐殖酸 Humic acid after applying adsorption labeled strain
5	C4	施加吸附标记菌株后的菌糠 Mushroom bran after applying adsorption labeled strain
6	C5	施加吸附标记菌株后的生物炭+腐殖酸(1:1) Biochar+humic acid (1:1) after applying adsorption labeled strain
7	C6	施加吸附标记菌株后的生物炭+菌糠(1:1) Biochar+mushroom bran (1:1) after applying adsorption labeled strain
8	C7	施加吸附标记菌株后的腐殖酸+菌糠(1:1) Humic acid+mushroom bran (1:1) after applying adsorption labeled strain

基于上述试验结果,选择包括 C0、C1、定殖情况良好的处理组(C3、C4、C6、C7)和对照组 CK3、CK4、CK6、CK7 (将处理组 C3、C4、C6、C7 中菌液进行灭活)共 10 组处理,按上述方法重复进行玉米盆栽试验,每个处理均在出苗后的 7 (三叶期)、28 (拔节期)、60 d (大喇叭口期) 取样,取样时取完整的玉米植株及根际土壤,并测定玉米的株高、茎粗、地上物质干重这 3 项生长指标。

1.2.4 样品总 DNA 的提取及微生物多样性分析

基于前期试验结果,选取表 2 中处理组 C0、CK7 和 C7 处理过的第 1、7、60 天的玉米根际土壤样品,每组 3 个重复,样品 DNA 采用氯苯法^[15]进行提取。细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 高通量测序由上海美吉生物科技有限公司完成。

1.2.5 数据统计与分析

所有原始数据使用 Excel 进行处理,使用 SAS 9.4 进行方差分析,使用 *T*-test 对数据进行分析,结果以“平均值±标准差”表示, $P < 0.05$ 表示组间差异显著。Chao1 指数、ACE 指数评估菌群丰富度,Shannon 指数、Simpson 指数评估菌群多样性,利用 R 语言进行主成分分析 (principal component analysis)。

2 结果与分析

2.1 不同载体对贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 的吸附能力

2.1.1 标记菌株的鉴定结果

在抗性 LB 固体培养基中选取生长良好的单菌落,以标记菌株为模板,通过 pWN33F/M13R 引物进行 PCR 扩增的条带如图 1A 所示,标记菌株(1-5 号)在 1 000 bp 处出现清晰条带,表明 pNWnw33-sfgfp 质粒已转入贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 菌株内。标记菌株的绿色荧光检测结果如图 1B 所示,表明 pNWnw33-sfgfp 质粒在贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 中成功表达。

2.1.2 GFP 质粒遗传稳定性

检测结果表明 GFP 质粒遗传稳定性至少在 40 代可保持在 95%。图 2A-2C 为标记菌株第 10、20、40 代 LB 抗性固体培养基中生长良好的单菌落于荧光显微镜下的图片。

2.1.3 形态学观察

贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 标记 GFP 前、后在扫描电子显微镜下的形态如图 3 所示,原始菌株大小约为 $0.55 \mu\text{m} \times 1.69 \mu\text{m}$,标记菌株大小约为 $0.50 \mu\text{m} \times 1.64 \mu\text{m}$ 。标记 GFP 对贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 的整体形态、大小无明显改变。

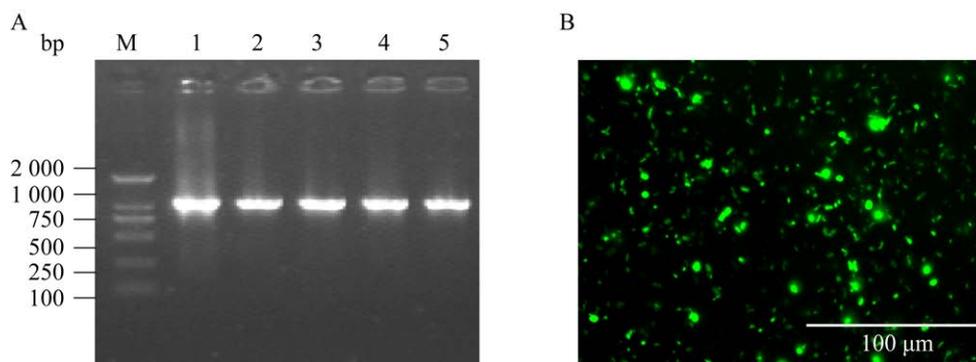


图 1 标记菌株的 PCR 鉴定(A)和绿色荧光检测(B)

Figure 1 The labeled strains were identified by PCR (A) and detected by green fluorescence (B).

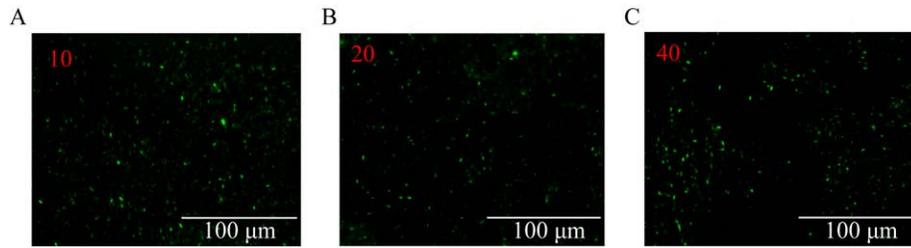


图 2 标记菌株荧光显微镜观察 A: 第 10 代. B: 第 20 代. C: 第 40 代

Figure 2 Mirror image of labeled strains under a fluorescence microscope. A: The 10th generation. B: The 20th generation. C: The 40th generation.

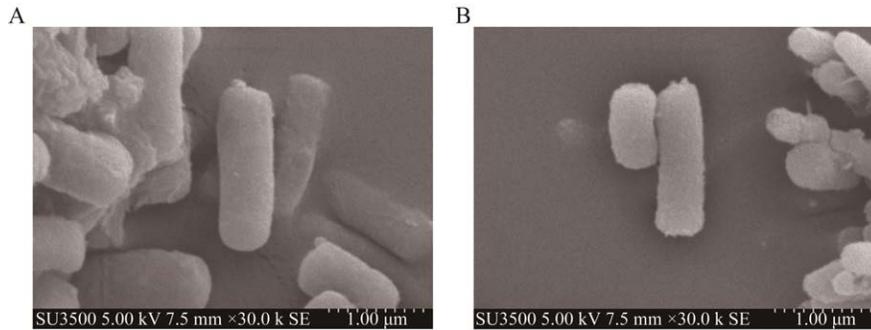


图 3 贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 电镜观察 A: 贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 标记 GFP 前的形态. B: 贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 标记 GFP 后的形态

Figure 3 Electron microscopic observation of *Bacillus velezensis* PZ-3. A: Morphology of *B. velezensis* PZ-3 before GFP labeling. B: Morphology of *B. velezensis* PZ-3 labeled with GFP.

2.1.4 生长曲线测定

标记菌株和原始菌株的生长曲线如图 4 所示, 两菌株在各时期 600 nm 处的吸光值无显著性差异, 且趋势相同, 均于 12 h 开始增长, 48 h 达到最高, 随后趋于平缓, 标记菌株最高可达 1.51, 原始菌株最高可达 1.55。

结合上述, GFP 质粒可以转入贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 中并表达绿色荧光, 质粒 40 代内遗传稳定性超过 95%, 贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 标记 GFP 后基本不改变菌体的形态大小与生长趋势。

2.2 不同载体对贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 的吸附能力

标记菌株在生物炭、腐殖酸、灰渣、有机肥、菌糠、稻壳粉中, 不同时期的定殖数量如图 5 所示。同一时期、不同载体之间的标记菌株数量相比较, 菌糠, 腐殖酸、生物炭中标记菌株的

数量在各时期均高于其他 3 种载体。60、90、120 d 时, 菌糠中标记菌株数量显著高于 ($P < 0.05$) 其他 5 种载体。因此, 选取菌糠、腐殖酸、生物炭 3 种载体进行后续试验。

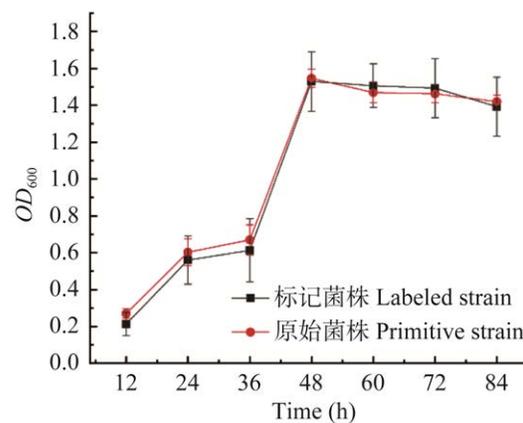


图 4 标记菌株和原始菌株的生长曲线

Figure 4 Growth curve of labeled strain and original strain.

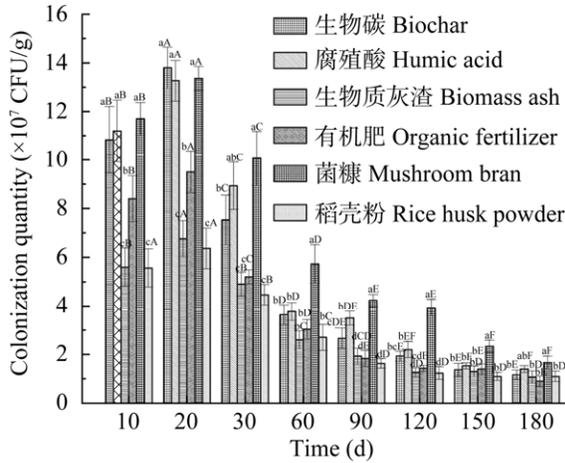


图5 供试载体的 GFP 标记菌株定殖情况 小写字母表示同一时期不同组别存在显著性差异 ($P < 0.05$); 大写字母表示同组别不同时期存在显著性差异 ($P < 0.05$). 下同

Figure 5 Colonization of GFP labeled strains of test vector. Lowercase letters indicate significant differences among different groups in the same period ($P < 0.05$). Capital letters indicate significant differences in different periods of the same group ($P < 0.05$). The same below.

2.3 载体吸附标记菌株后在玉米根际土壤的定殖及对玉米生长的影响

2.3.1 标记菌株与不同载体吸附后在玉米根际土壤中的定殖情况

对 C1–C7 各处理组根际土壤在不同时期的绿色荧光丰度含量进行检测, 如图 6 所示。在各时期, 除第 1 天外, 含量最高的均为 C4、C3、C7 和 C6 这 4 个处理组。其中, C7 在第 21 和 28 天的数值最高且显著高于 ($P < 0.05$) 其他 6 组处理。

上述各处理组根际土壤中的标记菌株数量在不同时期下的变化情况如图 7 所示。各处理组在不同时期的标记菌株数量检测中, C7、C6、C3、C4 均排名前 4 位。其中, C7 在第 7、14、21 天的数量最多。

2.3.2 不同载体吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 对玉米生长的影响

在玉米根际土中的绿色荧光丰度与标记菌

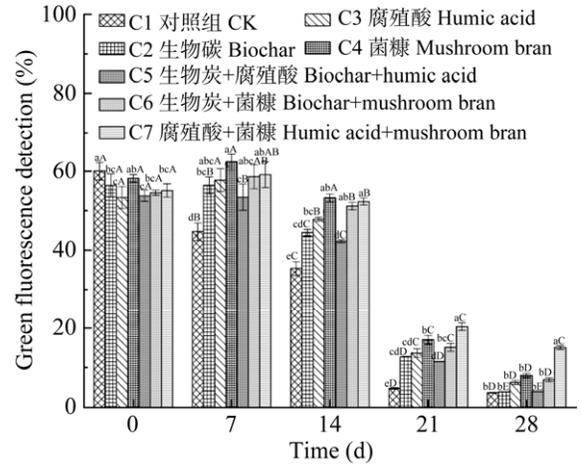


图6 不同处理组的绿色荧光丰度变化情况
Figure 6 The change of green fluorescent abundancies time in different treatment groups.

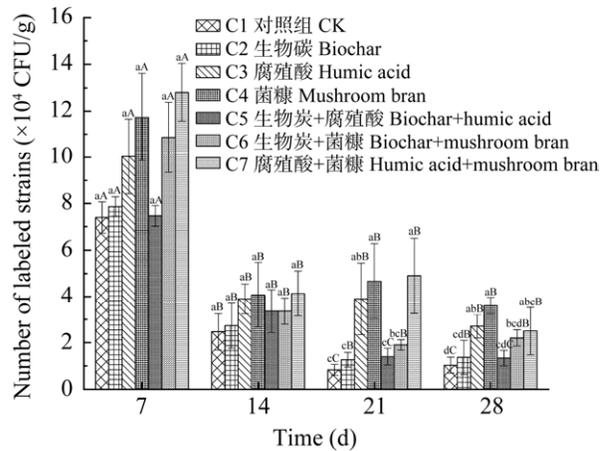


图7 标记菌株与不同载体吸附后在玉米根际土壤中的数量变化情况

Figure 7 Changes of the number of labeled strains in maize rhizosphere soil after adsorption with different carriers.

株数量检测中, C7、C6、C3、C4 均排名前 4 位, 因此选用这 4 种处理及其对应的空白对照处理进行玉米盆栽试验, 探究以上处理对玉米生长的影响。

不同处理组中, 三叶期、玉米拔节期、大喇叭口期的 3 项生长指标如图 8 所示, C7 的株高、茎粗、地上干重为所有处理组中最高值, 均显著高于 C0 和 C1, 其中株高显著高于其他 9 个处理组。结合玉米根际土壤中标记菌株数量变化情况发现三叶期时, 与 C0 相比, C7 的株高、茎

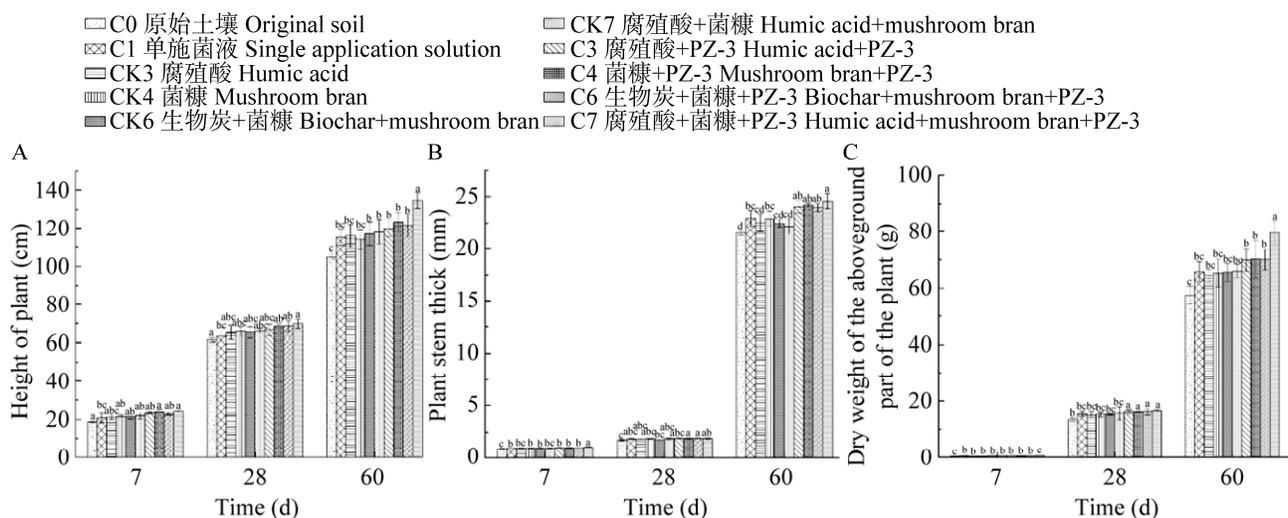


图 8 不同处理组玉米生长指标 A: 植物株高. B: 植物茎粗. C: 植株地上部分干重. 不同小写字母表示同一玉米生长指标的组间差异达到显著性($P < 0.05$)

Figure 8 Growth indexes of maize in different treatment groups. A: Height of plant. B: Plant stem thick. C: Dry weight of the aboveground part of the plant. Different lowercase letters indicated that the difference of the same maize growth index between groups reached significance ($P < 0.05$).

粗和地上干重分别提升 28.51%、19.05%和 48.65%; 与 C1 相比, C7 的株高、茎粗和地上干重分别提升 16.11%、9.90%和 25.00%。到大喇叭口期时, 与 C0 相比, C7 的株高、茎粗、地上干重分别提升 28.45%、14.21%、38.67%; 与 C1 相比, 分别提升 16.99%、7.16%、21.06%。C7 可以更大程度促进玉米的生长, 因此选择 C7 的根际土壤进行后续试验。

2.4 载体吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 对玉米根际土壤微生物多样性的影响

2.4.1 玉米根际土壤中细菌门水平和属水平丰度变化

玉米盆栽试验的 3 组处理, 3 个时期的细菌门分类水平和属分类水平的优势微生物丰度百分比堆叠柱状图(相对丰度 > 1%)如图 9 和图 10 所示。基于相对丰度 > 1% 定义优势细菌门和优势细菌属。

根据各组细菌门水平物种分布柱状图(图 9)发现, 各处理各时期的优势细菌门均为 10 个,

分别为绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、放线菌门 (*Actinobacteriota*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、酸杆菌门 (*Acidobacteriota*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、黏菌门 (*Myxococcota*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadota*)、*Patescibacteria* 和疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*)。

比较同一时期的不同处理, 玉米出苗第 1 天, 载体+菌液处理组玉米根际土壤样品中变形菌门和拟杆菌门相对丰度显著高于对照组和单加载体处理组, 分别为 24.08%和 5.15%。玉米三叶期和大喇叭口期, 载体+菌液处理组玉米根际土壤样品中变形菌门相对丰度显著高于对照组和单加载体处理组, 分别为 21.52%和 17.53%; 单加载体处理组玉米根际土壤样品中放线菌门的相对丰度显著高于对照组, 分别为 25.78%和 30.75%。

根据各组细菌属水平物种分布柱状图(图 10)发现, 各处理各时期的优势细菌属均为 13 个, 分别为假节杆菌属 (*Pseudarthrobacter*)、芽孢杆

菌属(*Bacillus*)、间孢囊菌属(*Intrasporangium*)、*Romboutsia*、氢孢菌属(*Hydrogenispora*)、诺卡氏菌属(*Nocardioides*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)、*Marmoricola*、链霉菌属(*Streptomyces*)、索氏梭菌属(*Paeniclostridium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、*Ilumatobacter* 和 *Turicibacter*。

比较同一时期的不同处理,在玉米生长的3个时期中,载体+菌液处理组玉米根际土壤样品中假单胞菌属、链霉菌属的相对丰度均显著高于对照组和单加载体处理组,间孢囊菌属、*Romboutsia*、氢孢菌属、诺卡氏菌属、索氏梭菌属的相对丰度显著低于对照组和单加载体处

理组。

比较同一处理的不同时期,在载体+菌液处理组中,与玉米出苗第1天相比,大喇叭口期根际土壤样品中*Romboutsia*、氢孢菌属、*Marmoricola*、*Turicibacter*的相对丰度分别从0.94%、1.09%、0.56%、0.46%显著升高($P<0.05$)到1.74%、1.60%、1.25%、0.90%。在单加载体处理组中,相较于玉米出苗第1天,大喇叭口期根际土壤样品中假节杆菌属、*Marmoricola*、链霉菌属的相对丰度分别从2.1%、0.82%、1.46%显著升高($P<0.05$)到5.6%、1.55%、1.81%,芽孢杆菌属、氢孢菌属的相对丰度显著降低($P<0.05$)。

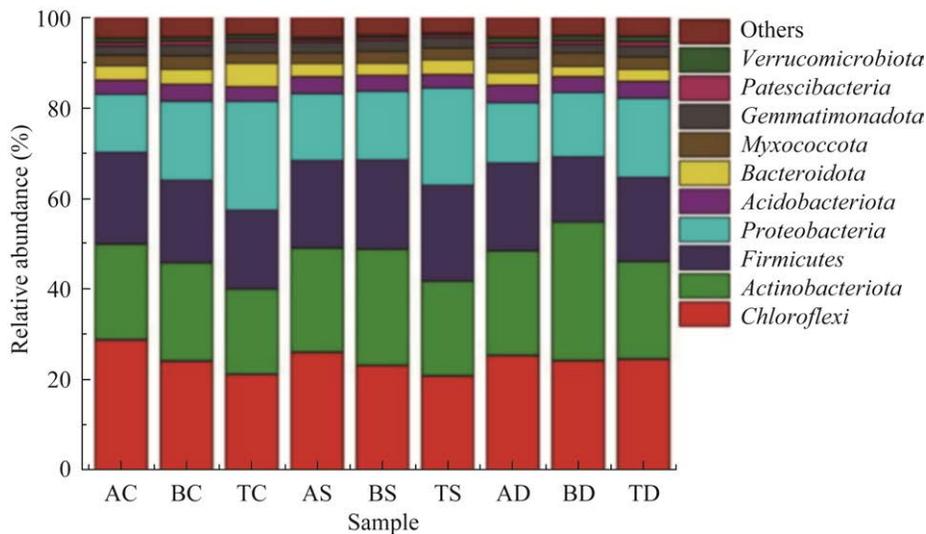


图9 不同组别的门水平丰度图(细菌) AC: 对照组出苗第1天; AS: 对照组三叶期; AD: 对照组大喇叭口期; BC: 单加载体(腐殖酸+菌糠)组第1天; BS: 单加载体(腐殖酸+菌糠)组三叶期; BD: 单加载体(腐殖酸+菌糠)组大喇叭口期; TC: 载体+菌液(腐殖酸+菌糠+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3)组第1天; TS: 载体+菌液(腐殖酸+菌糠+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3)组三叶期; TD: 载体+菌液(腐殖酸+菌糠+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3)组大喇叭口期. 下同

Figure 9 Phylum horizontal abundance maps for different groups (bacteria). AC: 1st day of seedling emergence in the control group; AS: Trifolium stage in the control group; AD: Large bell mouth stage in the control group; BC: Single carrier (humic acid+mushroom bran) group on day 1; BS: Trifolium stage in the single carrier (humic acid+mushroom bran) group; BD: Large bell mouth stage in the single carrier (humic acid+mushroom bran) group; TC: Carrier+bacterial solution (humic acid+mushroom bran+*B. velezensis* PZ-3) group on day 1; TS: In the carrier+bacterial solution (humic acid+mushroom bran+*B. velezensis* PZ-3) group, the trifoliate stage was observed; TD: In the carrier+bacterial solution (humic acid+mushroom bran+*B. velezensis* PZ-3) group, the large bell mouth stage was observed. The same below.

2.4.2 玉米根际土壤中真菌门水平和属水平丰度变化

根据各组真菌门水平物种分布柱状图(图 11)发现各处理,各时期的优势真菌门共 3 个,分别为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和 *Mortierellomycota*。基于相对丰度>1%定义优势真菌门。

比较同一时期的不同处理,在玉米生长的

3 个时期中,载体+菌液处理组玉米根际土壤样品中 *Mortierellomycota* 的相对丰度显著均高于 ($P<0.05$)对照组和单加载体处理。而比较同一处理、不同时期发现,在载体+菌液处理组中,相较于玉米出苗第 1 天,大喇叭口期根际土壤样品中子囊菌门的相对丰度从 86.64%显著提高到 94.04%,担子菌门的相对丰度从 3.92%显著降低到 2.13%。

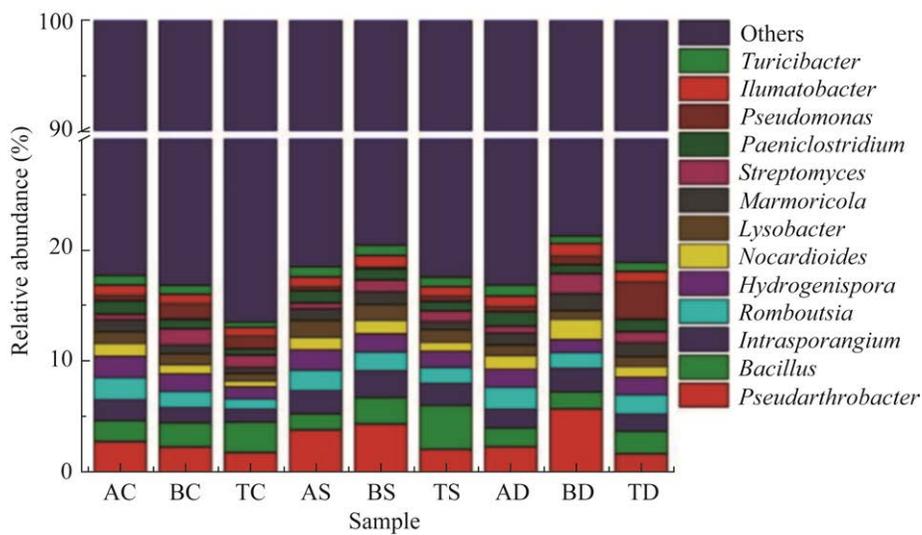


图 10 不同组别的属水平丰度图(细菌)

Figure 10 Genus horizontal abundance maps for different groups (bacteria).

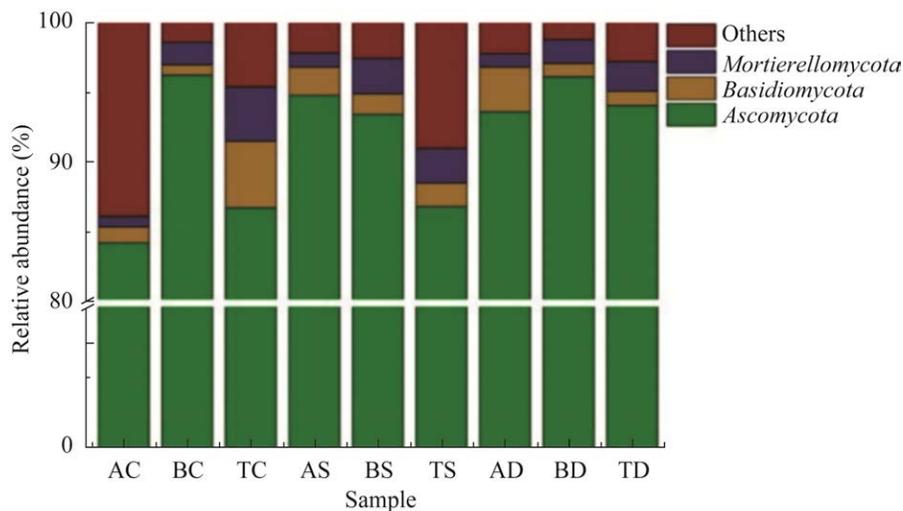


图 11 不同组别的门水平丰度图(真菌)

Figure 11 Phylum horizontal abundance maps for different groups (fungi).

根据各组真菌属水平物种分布柱状图(图 12)发现各处理,各时期的优势真菌属共 8 个,分别为瓶毛壳属 (*Lophotrichus*)、篮状菌属 (*Talaromyces*)、赤霉菌属(*Gibberella*)、青霉菌属 (*Penicillium*)、*Wardomyces*、*Kernia*、曲霉菌属 (*Aspergillus*)和 *Fusarium*。

比较同一时期的不同处理,在玉米生长的 3 个时期中,载体+菌液处理组玉米根际土壤样品中瓶毛壳属的相对丰度在玉米前两个生长期(玉米出苗第 1 天、三叶期)均显著低于对照组和单加载体处理组,赤霉菌属的相对丰度显著低于对照组, *Wardomyces* 的相对丰度显著高于对照组和单加载体处理组, *Kernia*、曲霉菌属的相对丰度显著高于对照组。单加载体处理组玉米根际土壤样品中篮状菌属、青霉菌属、*Wardomyces*、*Kernia*、曲霉菌属相对丰度显著高于对照组。

比较同一处理的不同时期,在载体+菌液处理组中,对比玉米出苗第 1 天,大喇叭口期根际土壤样品中曲霉菌属的相对丰度从 0.74%显著升高到 6.04%,青霉菌属、*Wardomyces* 的相对

丰度分别从 15.01%、10.85%显著降低到 0.41%、4.88%。在单加载体处理组中,对比玉米出苗第 1 天,大喇叭口期根际土壤样品中曲霉菌属的相对丰度从 0.99%显著升高到 13.79%,青霉菌属、*Fusarium* 的相对丰度分别从 7.25%、11.71%显著降低到 3.37%、0.75%。

2.4.3 细菌和真菌群落结构的 α 多样性分析

选取 Simpson、Chao1、ACE、Shannon 这 4 个 α 多样性指数基于 OTU 相似度 97%的水平下分析,细菌和真菌 α 多样性指数值统计如表 3 和表 4 所示。

对比同一时期、不同处理下的细菌 ACE 指数、细菌 Chao1 指数,在玉米三叶期时,单加载体处理组显著高于载体+菌液处理组。对比不同处理下的细菌 Shannon 指数,在玉米出苗第 1 天时,单加载体处理组显著高于对照组。对比不同处理下的细菌 Simpson 指数,在玉米出苗第 1 天时,对照组显著高于其他两个处理组;在玉米大喇叭口期时,单加载体处理组显著高于对照组。

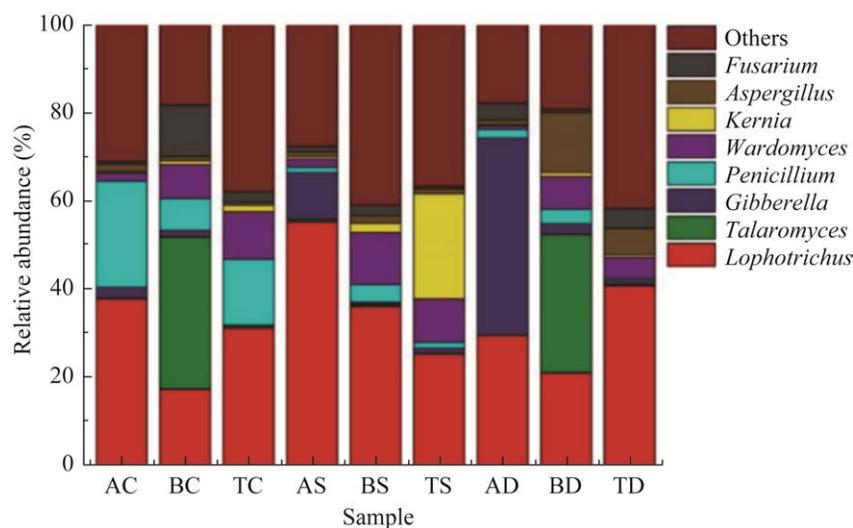


图 12 不同组别的属水平丰度图(真菌)

Figure 12 Genus horizontal abundance maps for different groups (fungi).

表 3 细菌的 α 多样性指数

Table 3 Alpha diversity index of bacteria

样品 Sample	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
AC	4 532±805aA	4 100±371aA	6.190 0±0.090 0bA	0.014 1±0.003 3aA
BC	4 284±66aAB	4 234±51aA	6.520 0±0.010 0aA	0.007 1±0.000 6bB
TC	3 904±33aA	3 803±342aA	6.360 0±0.100 0abA	0.007 3±0.001 0bA
AS	3 773±114bA	3 711±86abA	6.210 0±0.090 0aA	0.011 0±0.003 3aA
BS	4 142±82aB	3 980±107aA	6.300 0±0.020 0aC	0.009 2±0.000 3aA
TS	3 811±135bA	3 655±173bA	6.320 0±0.050 0aA	0.007 3±0.000 2aA
AD	4 148±265aA	3 947±186aA	6.350 0±0.040 0aA	0.009 8±0.000 4abA
BD	4 532±182aA	4 226±136aA	6.370 0±0.030 0aB	0.010 3±0.000 4aA
TD	4 048±255aA	3 901±165aA	6.370 0±0.020 0aA	0.008 2±0.001 2bA

不同小写字母表示同一时期不同组别存在显著性差异($P<0.05$); 不同大写字母表示同组别不同时期存在显著性差异($P<0.05$). 下同

Lowercase letters indicate significant differences among different groups in the same period ($P<0.05$). Capital letters indicate significant differences in different periods of the same group ($P<0.05$). The same below.

比较同一时期、不同处理的真菌 ACE 指数、真菌 Chao1 指数和真菌 Shannon 指数发现, 玉米三叶期和大喇叭口期时, 单加载体处理组和菌液+载体处理组显著高于对照组; 比较同一时期、不同处理的真菌 Simpson 指数发现, 在玉米三叶期和大喇叭口期时, 对照组显著高于 2 个处理组。

2.4.4 细菌和真菌群落结构的 β 多样性分析

如图 13 所示, 载体+菌液处理组的玉米出苗期和三叶期聚类很近, 且较其他处理组之间有一

定距离, 载体+菌液处理组的玉米三叶期与其他处理组的距离小于同处理的出苗期, 表明施加载体+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 后, 短时期内土壤细菌群落中, 除链霉菌属和假单胞菌属外的优势细菌属的相对丰度均显著升高, 随着时间的推移, 相比玉米三叶期, 在玉米生长后期假节杆菌属、芽孢杆菌属、间孢囊菌属、溶杆菌属和假单胞菌属的相对丰度显著下降, 与其他处理组的细菌群落结构逐渐趋同。

表 4 真菌的 α 多样性指数

Table 4 Alpha diversity index of fungi

Sample	ACE index	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
AC	489±18aA	497±6aA	2.35±0.20aA	0.22±0.02aB
BC	496±69aB	494±71aB	2.66±0.35aA	0.16±0.07aA
TC	426±41aB	430±48aB	2.95±0.14aA	0.14±0.02aB
AS	453±23cAB	458±24cAB	2.24±0.05bA	0.32±0.02aA
BS	610±31aA	614±31aA	3.17±0.08aA	0.15±0.01bA
TS	526±2bA	524±8bA	2.98±0.26aA	0.13±0.02bB
AD	418±28bB	418±26cB	2.00±0.14bA	0.30±0.03aA
BD	571±16aAB	577±18aAB	2.79±0.06aA	0.15±0.01cA
TD	514±33aA	513±30bA	2.64±0.16aA	0.21±0.02bA

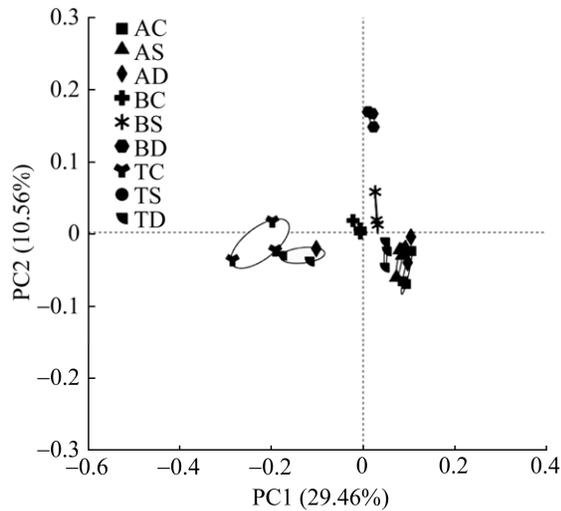


图 13 不同组别的主成分分析(细菌)

Figure 13 Principal component analysis of different groups (bacteria).

如图 14 所示, 真菌群落结构中, 载体处理组的玉米出苗期和大喇叭口期之间聚类很近, 且距离其他处理组有一定距离, 表明单独施加载体后引起了玉米根际土壤中真菌群落结构的改变, 施加载体+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 基本不改变真菌群落结构。

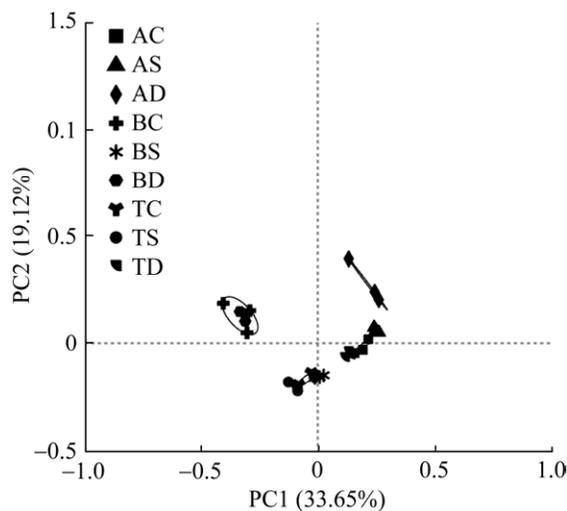


图 14 不同组别的主成分分析(真菌)

Figure 14 Principal component analysis of different groups (fungi).

3 讨论与结论

研究表明, 与单施功能菌剂相比, 施加腐殖酸+功能菌剂可以提升烟叶、水稻及玉米的产量, 水稻产量的增幅达到显著性差异, 为 8.4%^[16], 玉米的株高、茎粗、根长、叶绿素含量、叶宽等指标起到明显的提升作用^[17], 本研究使用腐殖酸吸附标记菌株后在作物根系中的定殖情况同样良好, 大部分检测时期中, 数值显著高于单加菌剂的对照组。

综合上述研究结果并结合本试验证明腐殖酸、菌糠作为载体时可为外源微生物提供生存所需的营养物质与庇护空间, 从而维持外源微生物在作物根系中更好地完成定殖^[18]。此外, 载体可以通过改善微生物在玉米根际中的定殖情况从而影响其生长。

本试验中单独施加所选载体(腐殖酸+菌糠)可以增加玉米根际土壤中细菌的多样性与丰富度, 该处理中显著升高的链霉菌属是一种放线菌, 其次生代谢产物丰富, 研究已报道放线菌属所产生的抗生素有 90%以上由该菌属所产^[19], 可以起到杀灭土壤中病原菌的作用, 且链霉菌在土壤中可以忍受极端的环境。该处理中相对丰度显著上升的假节杆菌属是一种广泛的有机污染物降解菌、石油烃降解菌^[20], 可以起到降解土壤污染物的作用, 另外假节杆菌 DG22 已被证明对中药材有显著的促生作用, 并提升土壤中脲酶及碱性磷酸酶的活性, 改善作物的生长环境^[21]。该处理中相对丰度显著上升的假单胞菌属包含多种具备拮抗植物病原真菌及溶解有机磷的功能微生物^[22]。除此之外, 该处理中相对丰度显著下降的索氏梭菌属是一种厌氧孢子生成菌, 其产生的致毒素 TcsL 和出血性毒素 TcsH 已被证明可以导致人和动物发生致命性感染^[23], 同时由于其厌氧特性, 该菌属的相对丰度降低一定程

度上代表土壤中的透气性增加。

与单独施加载体相同,施加载体+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 也可以引起链霉菌属、假单胞菌属相对丰度显著升高,同时显著降低索氏梭菌属的相对丰度。该处理同样显著降低诺卡氏菌属的相对丰度,人兽共患的诺卡病为诺卡氏菌属所引起,该菌属为一种常见的动植物病菌^[24]。综上所述,载体单独施加或吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 后均会引起玉米根际土壤中促生细菌相对丰度的升高及致病细菌相对丰度的降低。

本试验中单独施加所选载体可以提升玉米根际土壤中真菌的多样性与丰富度,并且一定程度改变真菌的群落结构。该处理可以显著提升玉米根际土壤中的篮状菌属的相对丰度,篮状菌属所产生的部分次生代谢物,例如含异戊烯基类的化合物可以抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的生长,该细菌为一种分布广泛、致病力强的菌株,且可以产生广谱耐药性^[25]。该处理中相对丰度显著升高的青霉菌已被证明可以防治作物的根结线虫病,将青霉菌作为颗粒菌剂合理施加于黄瓜时,可以对黄瓜根结线虫病的抗病率超过 65%^[26]。此外,该处理中相对丰度显著升高的曲霉菌属中的米曲霉、黄曲霉具备生物防治功能,可以与具备溶磷、溶钾功能的胶冻样芽孢杆菌组配作为一种微生物菌肥,提升生菜的株高和产量^[27]。该处理中相对丰度显著降低的赤霉菌属中的藤仓赤霉菌又称禾谷镰刀菌,是一种水稻病原菌,可侵染水稻、小麦、玉米等多种农作物^[28]。该处理中相对丰度同样显著降低的瓶毛壳属是一种植物病原菌,可以危害作物生长,造成土传病害,而土传病害导致土壤酸化,有机质减少、养分失调等^[29-30]。

与单施载体处理组相比,载体+贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 不会引起篮状菌属的相对丰度与对照组产生显著性差异。除此之外,与单独施加载体

所引起的根际土壤中真菌属变化情况基本相同。综上所述,载体单独或吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 后施加均可显著提升玉米根际土中促生真菌的相对丰度,同时显著降低致病真菌的相对丰度。

腐殖酸+菌糠吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3 的能力强,联合施加后目标菌株在玉米根际土壤中的相对丰度显著提升,对玉米促生效果明显;配施腐殖酸+菌糠或腐殖酸+菌糠吸附贝莱斯芽孢杆菌 PZ-3,均可显著增加玉米根际土壤中的促生菌相对丰度,同时显著降低植物病原菌的相对丰度。

REFERENCES

- [1] ZHOU YY, CHEN JS, ZHU XF, WANG YY, LIU XY, FAN HY, DUAN YX, CHEN LJ. Efficacy of *Bacillus megaterium* strain Sneb207 against soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in soybean[J]. Pest Management Science, 2021, 77(1): 568-576.
- [2] FIRA D, DIMKIĆ I, BERIĆ T, LOZO J, STANKOVIĆ S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species[J]. Journal of Biotechnology, 2018, 285: 44-55.
- [3] COBAN O, de DEYN GB, van der PLOEG M. Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands[J]. Science, 2022, 375(6584): abe0725.
- [4] TOSTI L, van ZOMEREN A, PELS JR, DIJKSTRA JJ, COMANS RNJ. Assessment of biomass ash applications in soil and cement mortars[J]. Chemosphere, 2019, 223: 425-437.
- [5] SÁNCHEZ C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85(5): 1321-1337.
- [6] REN HY, ISLAM MS, WANG HY, GUO H, WANG ZS, QI XJ, ZHANG SW, GUO JN, WANG Q, LI B. Effect of humic acid on soil physical and chemical properties, microbial community structure, and metabolites of decline diseased bayberry[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(23): 14707.
- [7] NI N, KONG DY, WU WZ, HE J, SHAN ZJ, LI JY, DOU YZ, ZHANG YQ, SONG Y, JIANG X. The role of biochar in reducing the bioavailability and migration of persistent organic pollutants in soil-plant systems: a review[J]. Bulletin of Environmental Contamination and

- Toxicology, 2020, 104(2): 157-165.
- [8] LI XN, WANG T, CHANG SX, JIANG X, SONG Y. Biochar increases soil microbial biomass but has variable effects on microbial diversity: a meta-analysis[J]. *The Science of the Total Environment*, 2020, 749: 141593.
- [9] 张志斌, 朱晓洁, 刘婷婷, 张晓, 杨慧林, 颜日明, 朱筠. 高产吡啶乙酸东乡野生稻内生微杆菌 K1spL18 分离及鉴定[J]. *微生物学报*, 2022, 62(11): 4108-4121. ZHANG ZB, ZHU XT, LIU TT, ZHANG X, YANG HL, YAN RM, ZHU D. Isolation and identification of a novel IAA high-producing endophytic strain K1spL18 from *Oryza rufipogon*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(11): 4108-4121 (in Chinese).
- [10] GONZALEZ-PIMENTEL JL, DOMINGUEZ-MOÑINO I, JURADO V, LAIZ L, CALDEIRA AT, SAIZ-JIMENEZ C. The rare actinobacterium *Crossiella* sp. is a potential source of new bioactive compounds with activity against bacteria and fungi[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(8): 1575.
- [11] BERGOGNE-BÉRÉZIN E, TOWNER KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1996, 9(2): 148-165.
- [12] CASTRO JF, RAZMILIC V, GOMEZ-ESCRIBANO JP, ANDREWS B, ASENJO J, BIBB M. The 'gifted' actinomycete *Streptomyces leeuwenhoekii*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2018, 111(8): 1433-1448.
- [13] 欧阳晓伦, 陈昭, 窦鑫, 张洪奇, 高亚梅, 晏磊, 邱化蛟, 王伟东. 贝莱斯芽孢杆菌 YX-3 的筛选鉴定及其抑菌效果[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2022, 34(6): 64-70. OUYANG XL, CHEN Z, DOU X, ZHANG HQ, GAO YM, YAN L, QIU HJ, WANG WD. Screening and identification of *Bacillus velezensis* YX-3 and antagonistic effect[J]. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 2022, 34(6): 64-70 (in Chinese).
- [14] LIU Y, TENG K, WANG T, DONG E, ZHANG M, TAO Y, ZHONG J. Antimicrobial *Bacillus velezensis* HC6: production of three kinds of lipopeptides and biocontrol potential in maize[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(1): 242-254.
- [15] JU XT, XING GX, CHEN XP, ZHANG SL, ZHANG LJ, LIU XJ, CUI ZL, YIN B, CHRISTIE P, ZHU ZL, ZHANG FS. Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(9): 3041-3046.
- [16] 刘芳, 韩丹, 赵铭钦, 李小勇, 管成伟. 微生物菌剂配施腐殖酸钾对植烟土壤改良及烤烟经济效益的影响[J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(7): 1064-1069. LIU F, HAN D, ZHAO MQ, LI XY, GUAN CW. Effects of application of microbial agents along with humic acid potassium on tobacco-planted soil and economic benefit of flue-cured tobacco[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2017, 29(7): 1064-1069 (in Chinese).
- [17] 史振声, 李海燕, 李凤海, 吴玉群, 杨翠翠, 王志斌, 王宏伟, 吕香玲, 朱敏. 玉米株高的年际间变化及其与产量的关系研究[J]. *玉米科学*, 2013, 21(5): 24-29. SHI ZS, LI HY, LI FH, WU YQ, YANG CC, WANG ZB, WANG HW, LÜ XL, ZHU M. Relationship between the interannual change of maize height and yield[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2013, 21(5): 24-29 (in Chinese).
- [18] ZHANG M, SONG G, GELARDI DL, HUANG LB, KHAN E, MAŠEK O, PARIKH SJ, OK YS. Evaluating biochar and its modifications for the removal of ammonium, nitrate, and phosphate in water[J]. *Water Research*, 2020, 186: 116303.
- [19] 高齐霖, 杨建, 李蓉, 赖刚, 许莲花. 南沙链霉菌来源细胞色素 P450 酶 CYP154C34 的表征及生物转化[J]. *微生物学报*, 2024, 64(2): 502-515. GAO QL, YANG J, LI R, LAI G, XU LH. Characterization and biotransformation of cytochrome P450 CYP154C34 from *Streptomyces nanshensis*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(2): 502-515 (in Chinese).
- [20] LI XX, HE LQ, LUO JH, ZHENG YL, ZHOU Y, LI DY, ZHANG YY, PAN ZR, LI YY, TAO L. *Paeniclostridium sordellii* hemorrhagic toxin targets TMPRSS2 to induce colonic epithelial lesions[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 4331.
- [21] 李娟, 王文丽, 赵旭. 一种假节杆菌及应用, 及其生物有机肥及应用[P]: CN110358711B. 2020-04-07. LI J, WANG WL, ZHAO X. A kind of *Pseudarthrobacter* and ITS application, and its bio-organic fertilizer and its application[P]: CN110358711B. 2020-04-07 (in Chinese).
- [22] GOLDBERG JB. *Pseudomonas*: global bacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 2000, 8(2): 55-57.
- [23] ZERROUKI H, REBIAHI SA, ELHABIRI Y, FATMI A, BARON SA, PAGNIER I, DIENE SM, ROLAIN JM. Prevalence and antimicrobial resistance of *Paeniclostridium sordellii* in hospital settings[J]. *Antibiotics*, 2021, 11(1): 38.

- [24] 熊文斌, 卢晗, 刘新春. 诺卡氏菌烈性噬菌体 vB_Ncarnea_KYD1 的分离纯化与基因组分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(11): 4832-4847.
XIONG WB, LU H, LIU XC. Isolation, purification, and genomic analysis of the virulent phage vB_Ncarnea_KYD1 from *Nocardia* spp.[J]. Microbiology China, 2022, 49(11): 4832-4847 (in Chinese).
- [25] 徐可心, 单夏男, 余知和, 邓建新, 王龙. 篮状菌属的三个中国新记录种[J]. 菌物学报, 2021, 40(8): 2181-2190.
XU KX, SHAN XN, YU ZH, DENG JX, WANG L. Three species of *Talaromyces* (Ascomycota, Eurotiales) new to China[J]. Mycosystema, 2021, 40(8): 2181-2190 (in Chinese).
- [26] 王子俊. 防治黄瓜枯萎病的拮抗青霉菌株的分离鉴定及其功能性研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2021.
WANG ZJ. Isolation, identification and functional study of antagonistic *Penicillium* strain for controlling *Fusarium* wilt of cucumber [D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2021(in Chinese).
- [27] 张由真. 黄曲霉毒素生物防控复合微生物菌肥的研究[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2021.
ZHANG YZ. Research on the combined use of biofertilizer and chemical fertilizer for aflatoxin prevention[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2021 (in Chinese).
- [28] 李超. 藤仓赤霉基因敲除体系的建立和 *p450-3* 基因敲除对赤霉素合成的影响[D]. 杭州: 浙江工业大学硕士学位论文, 2016.
LI C. Establishment of transformation systems for *Gibberella fujiiuroi* and effect of *p450-3* gene deletion on gibberellins biosynthesis[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University of Technology, 2016 (in Chinese).
- [29] 陈芬, 余高, 王谢丰, 李廷亮, 孙约兵. 土壤真菌群落结构对辣椒长期连作的响应特征[J]. 环境科学, 2024, 45(1): 543-554.
CHEN F, YU G, WANG XF, LI TL, SUN YB. Response characteristics of soil fungal community structure to long-term continuous cropping of pepper[J]. Environmental Science, 2024, 45(1): 543-554 (in Chinese).
- [30] 朱诗君, 王丽丽, 金树权, 汪峰, 周金波, 卢晓红. 微生物剂菌肥对西瓜连作障碍的缓解作用[J]. 中国农学通报, 2023, 39(28): 48-53.
ZHU SJ, WANG LL, JIN SQ, WANG F, ZHOU JB, LU XH. The alleviating effect of microbial fertilizer on watermelon continuous cropping obstacles[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39(28): 48-53 (in Chinese).