

醋酸钙不动杆菌合成吡咯喹啉醌发酵条件优化及干旱胁迫下对辣椒生长的影响

何秀兰^{1,2}, 彭宇翔^{1,2}, 陶禹^{2,3}, 周池^{2,3}, 朱理伟⁴, 李鑫^{1,2,3*}

1 湖南大学 生物学院隆平分院, 湖南 长沙 410125

2 湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125

3 植物内生微生物资源挖掘与利用湖南省工程研究中心, 湖南 长沙 410125

4 潍坊盛瑜药业股份有限公司, 山东 寿光 262714

何秀兰, 彭宇翔, 陶禹, 周池, 朱理伟, 李鑫. 醋酸钙不动杆菌合成吡咯喹啉醌发酵条件优化及干旱胁迫下对辣椒生长的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(1): 182-195.

HE Xiulan, PENG Yuxiang, TAO Yu, ZHOU Chi, ZHU Liwei, LI Xin. *Acinetobacter calcoaceticus* CDWB36: optimization of fermentation conditions for pyrroloquinoline quinone production and effect on growth of pepper under drought stress[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(1): 182-195.

摘要: 【目的】研究菌株 CDWB36 及其代谢产物吡咯喹啉醌(pyrroloquinoline quinone, PQQ)对辣椒抗旱促生的应用效果, 为多功能菌剂的开发利用提供优良的菌种资源。【方法】结合形态学和 16S rRNA 基因对菌株 CDWB36 进行分类学鉴定; 利用 HPLC 法和光谱法对 PQQ 进行检测; 通过单因素试验探究菌株产 PQQ 的最佳发酵条件; 通过盆栽试验, 明确含 PQQ 的菌剂对干旱胁迫下辣椒生长、生理生化、土壤养分以及根际微生物群落结构的影响。【结果】菌株 CDWB36 经鉴定为醋酸钙不动杆菌, 具备生产 PQQ 的能力。其最佳发酵条件为酵母粉 10 g/L、混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸=2:1:1) 4 g/L、MgSO₄ 1.0 g/L、CaCl₂ 0.40 g/L、接种量 0.5%、温度 28 °C 和 pH 6.5。优化后, 在摇瓶水平上发酵 7 d 该菌株 PQQ 产量可达 61.48 mg/L, 较优化前提升 3.3 倍。盆栽试验结果表明, PQQ 菌剂处理后, 辣椒株高、茎粗、地上部和地下部鲜重较 CK 分别增加 35.05%、8.22%、14.41%、51.70%, 促生效果优于 PQQ 溶液。此外, PQQ 菌剂显著提高叶片抗氧化酶活性和渗透调节物质含量, 并显著增加土壤养分含量。同时, 它明显改变了辣椒根际土壤中细菌和真菌的相对丰度, 其中芽孢杆菌属、曲霉属和嗜热链球菌属相对丰度分别为 CK 的 1.99 倍、1.38 倍和 8.75 倍。【结论】醋酸钙不动杆菌 CDWB36 具有合成 PQQ 的能力, 适宜的发酵条件能够显著

资助项目: 邹学校院士创新工作站平台建设支撑项目(TL2023YF007); 湖南省重点研发计划(2023NK2030); 国家重点研发计划(2022YFD1700100)

This work was supported by the Innovation Workstation Platform Construction Support Project of ZOU Xuexiao Academician (TL2023YF007), the Key Research and Development Program of Hunan Province (2023NK2030), and the National Key Research and Development Program of China (2022YFD1700100).

*Corresponding author. E-mail: s2007203272@yeah.net

Received: 2024-07-11; Accepted: 2024-10-08; Published online: 2024-10-12

提高 PQQ 产量; 该菌株发酵液对处于干旱胁迫下的辣椒生长具有显著的促进作用, 其中 PQQ 是发挥这一作用的关键物质, 在植物抗逆促生领域具有广阔的应用前景。

关键词: 醋酸钙不动杆菌; 吡咯喹啉醌; 发酵优化; 抗旱促生; 根际微生物群落

***Acinetobacter calcoaceticus* CDWB36: optimization of fermentation conditions for pyrroloquinoline quinone production and effect on growth of pepper under drought stress**

HE Xiulan^{1,2}, PENG Yuxiang^{1,2}, TAO Yu^{2,3}, ZHOU Chi^{2,3}, ZHU Liwei⁴, LI Xin^{1,2,3*}

1 Longping Branch, College of Biology, Hunan University, Changsha 410125, Hunan, China

2 Hunan Vegetable Research Institute, Changsha 410125, Hunan, China

3 Hunan Engineering Research Center on Excavation and Utilization of the Endophytic Microbial Resources of Plants, Changsha 410125, Hunan, China

4 Tan Fang Sheng Yu Pharmaceutical Co., Ltd., Shouguang 262714, Shandong, China

Abstract: **[Objective]** To explore the effects of strain CDWB36 and its metabolite pyrroloquinoline quinone (PQQ) on the drought resistance and growth of pepper, so as to provide efficient strain resources for the development and utilization of multifunctional microbial agents. **[Methods]** A strain CDWB36 was identified based on the morphological characteristics and the 16S rRNA gene-based phylogenetic tree. HPLC and spectroscopy were employed to detect PQQ. The fermentation conditions were optimized by single factor tests with PQQ production as the indicator. The effects of the PQQ-containing microbial agent on the growth, physio-biochemical characteristics, soil nutrients, and rhizosphere microbial community structure of pepper under drought stress were determined by pot experiments. **[Results]** Strain CDWB36 was identified as *Acinetobacter calcoaceticus* and it had the ability to produce PQQ. The optimum conditions of strain CDWB36 for producing PQQ were 10 g/L yeast powder, 4 g/L mixed nitrogen sources (ammonium sulfate:glutamic acid:tyrosine=2:1:1), 1.0 g/L MgSO₄, 0.40 g/L CaCl₂, 0.5% inoculum amount, 28 °C, and pH 6.5. The PQQ production of the strain in shake flasks after 7 days of fermentation at the optimized conditions reached 61.48 mg/L, which increased by 3.3 times compared with that before optimization. Compared with CK, the PQQ-containing microbial agent increased the plant height, stem diameter, aboveground fresh weight, and belowground fresh weight of pepper by 35.05%, 8.22%, 14.41%, and 51.70%, respectively, demonstrating better plant growth-promoting effect than the PQQ solution. Moreover, the PQQ-containing microbial agent significantly improved the activities of antioxidant enzymes and the content of osmoregulatory substances (soluble sugar, soluble protein, and proline) in leaves, while increasing the soil nutrient content. The PQQ-containing microbial agent significantly changed the relative abundance of bacteria and

fungi in the rhizosphere soil of pepper, increasing the relative abundance of *Bacillus*, *Aspergillus*, and *Streptococcus* by 1.99 times, 1.38 times, and 8.75 times, respectively, compared with CK. **[Conclusion]** *A. calcoaceticus* CDWB36 has the ability to produce PQQ. Optimizing the fermentation conditions can effectively enhance the PQQ production. The fermentation broth of CDWB36 significantly promotes pepper growth under drought stress, and PQQ is a key substance in the broth for promoting pepper growth. Therefore, the strain has broad application prospects in enhancing the stress resistance and promoting the growth of plants.

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus*; pyrroloquinoline quinone; fermentation condition optimization; drought resisting and growth promoting; rhizosphere microbial community

微生物菌剂是一种绿色环保、生态友好型肥料，具有促进植物生长、提高植物抗逆性、改善土壤养分状况等特点，对于实现农业生产可持续发展具有重要意义^[1-2]。菌剂的应用效果受其所含菌株生物量、活性成分产量以及菌株定殖能力强弱的影响^[3]，其中，活性成分产量取决于菌体的生长代谢过程，而菌体的生长与培养基成分和培养条件密切相关。因此，挖掘功能菌株及相关代谢产物，并探究其最适发酵条件，对推进功能菌株产业化和商业化应用具有重要作用。

吡咯喹啉醌 (pyrroloquinoline quinone, PQQ) 是继黄素核苷酸和吡啶核苷酸之后被发现的第 3 种氧化还原酶的辅酶^[4]，可参与呼吸链电子传递并表现出很强的抗氧化性^[5-6]。研究表明，PQQ 具有增强细胞代谢、提高土壤养分含量以及抗逆促生等功能。刘卫群等^[7]研究表明，PQQ 可作为活性氧清除剂，调节植物体内自由基代谢平衡，增强植株的抗逆性。Li 等^[8]研究发现，在好氧或厌氧的土壤环境中施用 PQQ，可以改善土壤养分有效性并抑制辣椒连作土壤中的病原菌。Choi 等^[9]研究发现，可产 PQQ 的野生型荧光假单胞菌 B16 能够显著提高番茄的株高、开花数、坐果数和总果重，而不

产 PQQ 的突变型菌株则不存在促进作用。综上，挖掘产 PQQ 的菌株作为生物肥料，是提高植物抗逆性和促进植物生长的一项有效手段。

相关研究表明，目前仅发现部分革兰氏阴性菌具有合成 PQQ 的能力^[10]，其中以扭脱甲基杆菌 (*Methylobacterium extorquens*)、脱氮生丝微菌 (*Hyphomicrobium denitrificans*) 等甲基型营养菌研究为主^[11]，暂未见有利用醋酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*) 生产 PQQ 的成熟技术方案，以及将 PQQ 以微生物菌剂的形式应用在植物上的研究报道。本研究以一株具有 PQQ 生产能力的醋酸钙不动杆菌 CDWB36 为研究对象，通过单因素试验在摇瓶水平上对其发酵条件进行优化，进一步提高该菌株的 PQQ 生物合成量，并探究含 PQQ 的菌剂在干旱胁迫下对辣椒生长的促进效果，旨在为农用微生物制剂的发展提供高效且功能多样的菌株资源，为菌株的开发及推广利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株 CDWB36 由湖南省蔬菜研究所农用微生物课题组于辣椒叶片中分离与保存；辣椒幼苗取自湖南省蔬菜研究所实验基地。

1.2 培养基

LB 液体培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, 酵母粉 5.0, 氯化钠 10.0, pH 7.0±0.2。

LB 固体培养基(g/L): 在 LB 液体培养基中添加琼脂 15.0。

初始发酵培养基(g/L): 酵母粉 10.0, 蛋白胨 4.0, Na₂HPO₄ 2.0, KH₂PO₄ 1.4, MgSO₄·7H₂O 1.0, CaCl₂·2H₂O 0.4, 微量元素液 0.4, pH 7.0±0.2。微量元素液(mg/L): FeSO₄·7H₂O 80.0, ZnSO₄·7H₂O 22.5, NaCl 15.0, KI 0.3, H₃BO₃ 3.0, CuSO₄ 5.0。

1.3 CDWB36 菌株活化与种子液制备

将菌种资源库中由甘油管保存的菌株接种至 LB 固体培养基, 28 °C 恒温培养 3–7 d。挑取单菌落接种至装有 50 mL 液体的 LB 培养基中, 28 °C、180 r/min 振荡培养, 当 OD₆₀₀ 在 0.5–0.8 时, 获得种子液。

1.4 菌株 CDWB36 的鉴定

参照《伯杰细菌鉴定手册》^[12]和《常见细菌系统鉴定手册》^[13]对菌株 CDWB36 进行形态学鉴定。以 PQQ 产生菌为模板, 利用 16S rRNA 基因通用引物进行 PCR 扩增, 产物送北京擎科生物科技股份有限公司测序, 将测序结果在 NCBI 数据库中进行比对, 用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建系统发育树^[14]。

1.5 菌株 CDWB36 合成 PQQ 的特性鉴定

1.5.1 PQQ 定性检测

通过 HPLC 法^[15]定性检测菌株发酵液中的 PQQ。将发酵液 5 000 r/min 离心 10 min, 用 0.22 μm 的水系膜过滤上清液。HPLC 条件, 色谱柱: Sun Fire C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为水:乙腈=85:15 (体积比), 用 1%三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)调节 pH 至 1.0, 流速 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, 检测波长 330 nm。

1.5.2 PQQ 定量检测

采用光谱法^[16]测定 PQQ 含量。设置不同浓度(1、2、5、10、20、25、50、100 mg/L)的 PQQ 标准溶液, 以蒸馏水作为空白对照, 测定样品在 OD₃₃₀ 的吸光值, 绘制标准曲线。按 1%的接种量将种子液接至盛有 50 mL 液体 LB 的摇瓶中, 28 °C、180 r/min 振荡培养。将菌株发酵液 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液测定 OD₃₃₀ 值, 连续监测 15 d, 根据标准曲线计算 PQQ 产量, 绘制菌株发酵动力学曲线。

1.5.3 菌株生长曲线测定

发酵条件同 1.5.2, 以菌株发酵液的 OD₆₀₀ 值为指标, 测定不同发酵时间对菌株生物量的影响。每隔 2 h 测定 1 次, OD₆₀₀ 趋于平稳后, 继续监测至 15 d, 根据测定结果绘制菌株生长曲线。

1.6 发酵条件优化试验

按 1%的接种量将种子液转移至盛有 50 mL 发酵培养基的摇瓶中, 28 °C、180 r/min 振荡培养 7 d, 以初始发酵培养基为基本条件, PQQ 产量为指标进行单因素试验。碳源种类: 葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、半乳糖、酵母粉, 含量均为 10 g/L; 酵母粉含量: 5、10、15、20、25 g/L。氮源种类: 无水硫酸铵、L-谷氨酸、L-酪氨酸、蛋白胨、混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸的质量比为 2:1:1, 下同), 含量均为 4 g/L。混合氮源含量: 4、8、12、16、20 g/L; pH: 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0; 温度: 28、30、32、34、36 °C; 接种量: 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%; MgSO₄: 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g/L; CaCl₂: 0.01、0.10、0.20、0.40、0.60 g/L。每个因素的优化都建立在上个因素最优的基础之上。

1.7 盆栽试验

1.7.1 试验设计与实施

选取长势良好、大小一致的辣椒幼苗, 移栽至装有基质土的盆钵中, 每盆 1 株, (25±3) °C

温室中常规管理。在辣椒正常生长情况下,土壤含水量应为 60%–70%,在干旱胁迫下,通过调整浇水间隔时间控制盆栽土壤含水量为 20%–30%^[17]。按照优化后的发酵条件制备菌剂,稀释备用。试验设置 PQQ 溶液(500 nmol/L)、PQQ 菌剂(含约 7.5×10^7 CFU/mL CDWB36、500 nmol/L PQQ 和 CDWB36 发酵过程中产生的其他代谢物)和 CK (无菌水) 3 个处理,每个处理 5 盆,3 次重复。定植 5 d 缓苗后对辣椒同时进行喷施和灌根处理,施用量均为 30 mL,每 7 d 处理 1 次,第 3 次处理 7 d 后进行取样。

1.7.2 测定指标

生长指标:测定植株株高、茎粗、单株地上部和地下部鲜重。

生理指标:参照张志良等^[18]的方法测定辣椒叶片丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,以及过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性;参照李合生^[19]的方法测定脯氨酸、可溶性蛋白、可溶性糖含量。

土壤养分指标:参照鲍士旦^[20]的方法测定全氮(total nitrogen, TN)、全磷(total phosphorus, TP)、全钾(total potassium, TK)、有效氮(available nitrogen, AN)、有效磷(available phosphorus, AP)、速效钾(available potassium, AK)、有机质(organic matter, OM)含量。

土壤微生物指标:收集植株根际土壤,–80 °C 保存,送至上海美吉生物医药科技有限公司进行测样。提取全基因组 DNA 后,利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的 DNA 质量。细菌 16S rRNA 基因采用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GGACTAC HVGGGTWTCTAAT-3')进行 PCR 扩增^[21],真菌 ITS 基因采用引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTA GAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTT

CTTCATCGATGC-3')进行 PCR 扩增^[22]。通过 Illumina MiSeq 平台测序,对测序得到的原始序列进行拼接、质控,在 97%的相似水平下进行 OTU 聚类分析,采用 RDP classifier 贝叶斯算法与 Silva 和 Unite 数据库对 OTU 的代表序列进行物种注释。

1.8 数据处理

采用 SPSS 27 进行单因素方差分析,并运用 Duncan 法进行组间多重比较,以 $P < 0.05$ 表示差异显著;使用 Origin 2021 软件绘图。另外,借助 Mothur 1.30.2、R v3.3.1、vegan 2.4.3 进行微生物群落特征分析。

2 结果与分析

2.1 菌株 CDWB36 的鉴定

菌株 CDWB36 的菌落呈乳白色、不透明、圆形扁平状、边缘规整(图 1A),菌体呈短粗杆或球杆状(图 1B)。经 NCBI BLAST 比对分析表明,16S rRNA 基因序列与醋酸钙不动杆菌同源性最高,为 99.93%,综合菌落和菌体形态特征鉴定菌株 CDWB36 为醋酸钙不动杆菌(图 1C)。

2.2 菌株 CDWB36 合成 PQQ 的特性分析

通过 HPLC 法定性检测菌株发酵液中的 PQQ, PQQ 在 14.413 min 出峰(图 2A),证明菌株代谢产物中含有 PQQ。连续 15 d 监测菌株发酵液 PQQ 产量,结果显示 PQQ 产量随发酵时间的延长而逐渐增加(图 2B)。

菌株生长曲线如图 2C 所示,0–8 h 为菌株生长延迟期,8–28 h 为菌株生长对数期,此时菌体浓度急速增长;28 h 左右进入生长稳定期,发酵液中的菌体浓度能够保持稳定且 PQQ 产量持续增长,7 d 后, OD_{600} 值下降趋势明显,因此选取发酵 7 d 作为时间节点进行后续试验,在保证菌液浓度较高的前提下,通过优化发酵条件提高 PQQ 产量。

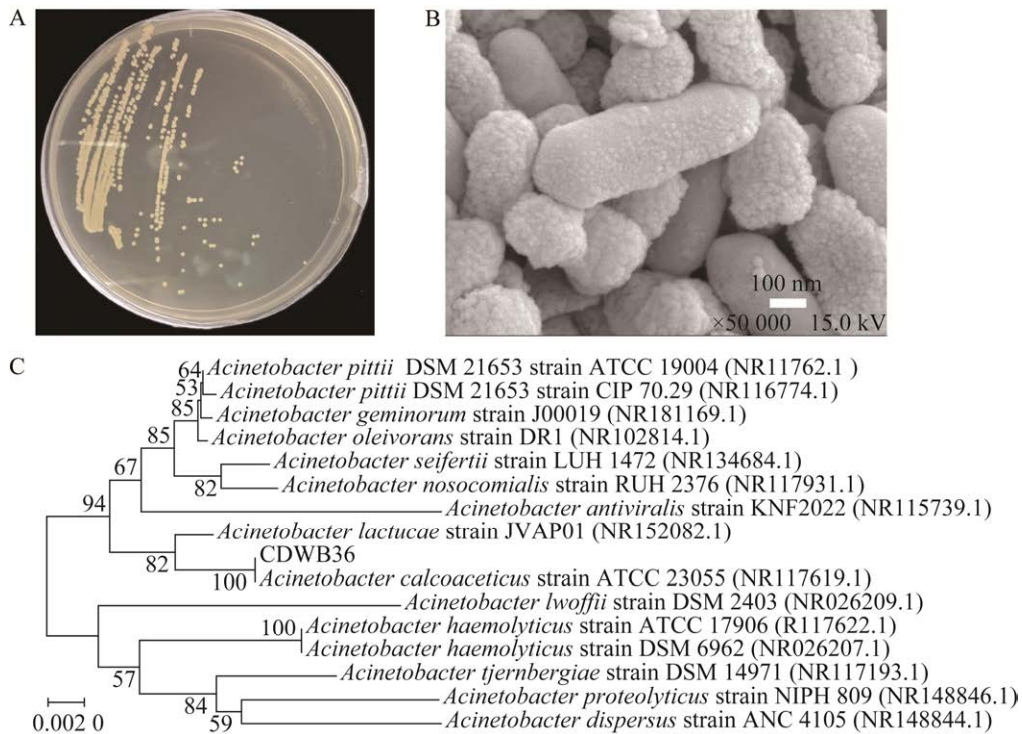


图 1 菌株 CDWB36 菌落形态(A)、扫描电镜图(B)和基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树(C)
Figure 1 Colony morphology (A), scanning electron microscopy (B), and phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence (C) of strain CDWB36. The serial number in parentheses is the GenBank accession number of the strain; The branch number indicates the bootstrap support rate; The length indicated by the scale is 0.002 0 nucleotide substitution rate.

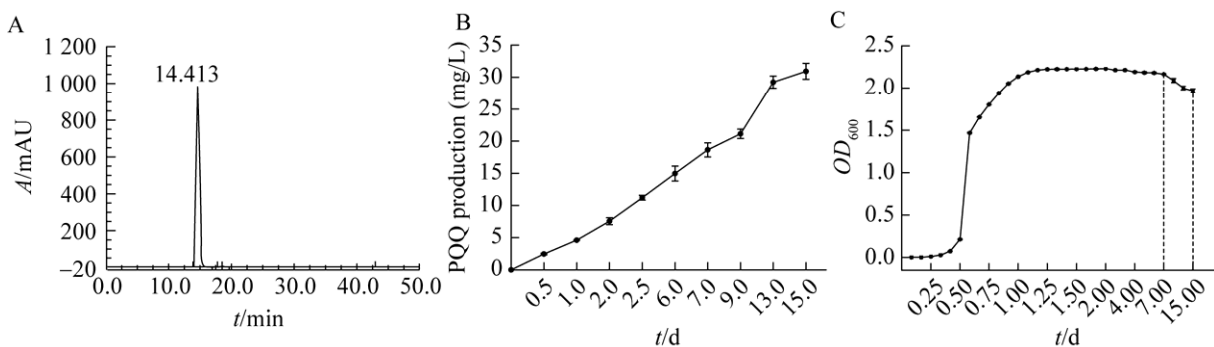


图 2 菌株 CDWB36 HPLC 图(A)、发酵动力学曲线(B)和生长曲线(C)
Figure 2 HPLC chromatogram (A), fermentation kinetics curve (B), and growth curve (C) of strain CDWB36. The data in the figure are mean±SD.

2.3 不同发酵条件对 PQQ 产量的影响

碳源种类及添加量对菌株 CDWB36 合成 PQQ 的影响如图 3A 所示, 以酵母粉作为碳源时, PQQ 产量最高, 达 24.52 mg/L, 显著高于

葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、半乳糖。进一步研究发现, 当酵母粉添加量为 10 g/L 时, 其 PQQ 产量最高, 并显著高于其他添加量处理。

氮源种类及添加量对菌株 CDWB36 合成

PQQ 的影响如图 3B 所示, 以混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸=2:1:1)作为氮源时, PQQ 产量高达 43.65 mg/L, 显著高于其他处理($P<0.05$); 相较于初始氮源蛋白胨, PQQ 产量提高了 78.02%。进一步研究发现, 混合氮源添加量为 4 g/L 时, PQQ 产量最高, 添加量为 20 g/L 时, 产量反而降到最低。

不同培养条件对菌株 CDWB36 合成 PQQ 具有明显影响(图 3C–3E), 在弱酸环境下更有利于 PQQ 的合成, 初始 pH 为 6.5 时, PQQ 产量达 45.17 mg/L; 接种量为 0.5% 时, PQQ 产量达 59.43 mg/L; 温度为 28 °C 时, PQQ 产量达组

内最高, 随后逐渐降低。

不同浓度的 $MgSO_4$ 和 $CaCl_2$ 对 PQQ 产量的影响如图 3F、3G 所示, $MgSO_4$ 的浓度变化对菌株合成 PQQ 无明显影响, 浓度为 1.0 g/L 时, PQQ 产量最高; $CaCl_2$ 浓度对 PQQ 产量的影响呈现先增后减的变化趋势, 浓度为 0.40 g/L 时, PQQ 产量最高, 达 61.48 mg/L。

综上所述, 菌株合成 PQQ 的最佳发酵条件为酵母粉 10 g/L、混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸=2:1:1) 4 g/L、pH 6.5、接种量 0.5%、温度 28 °C、 $MgSO_4$ 1.0 g/L、 $CaCl_2$ 0.40 g/L。

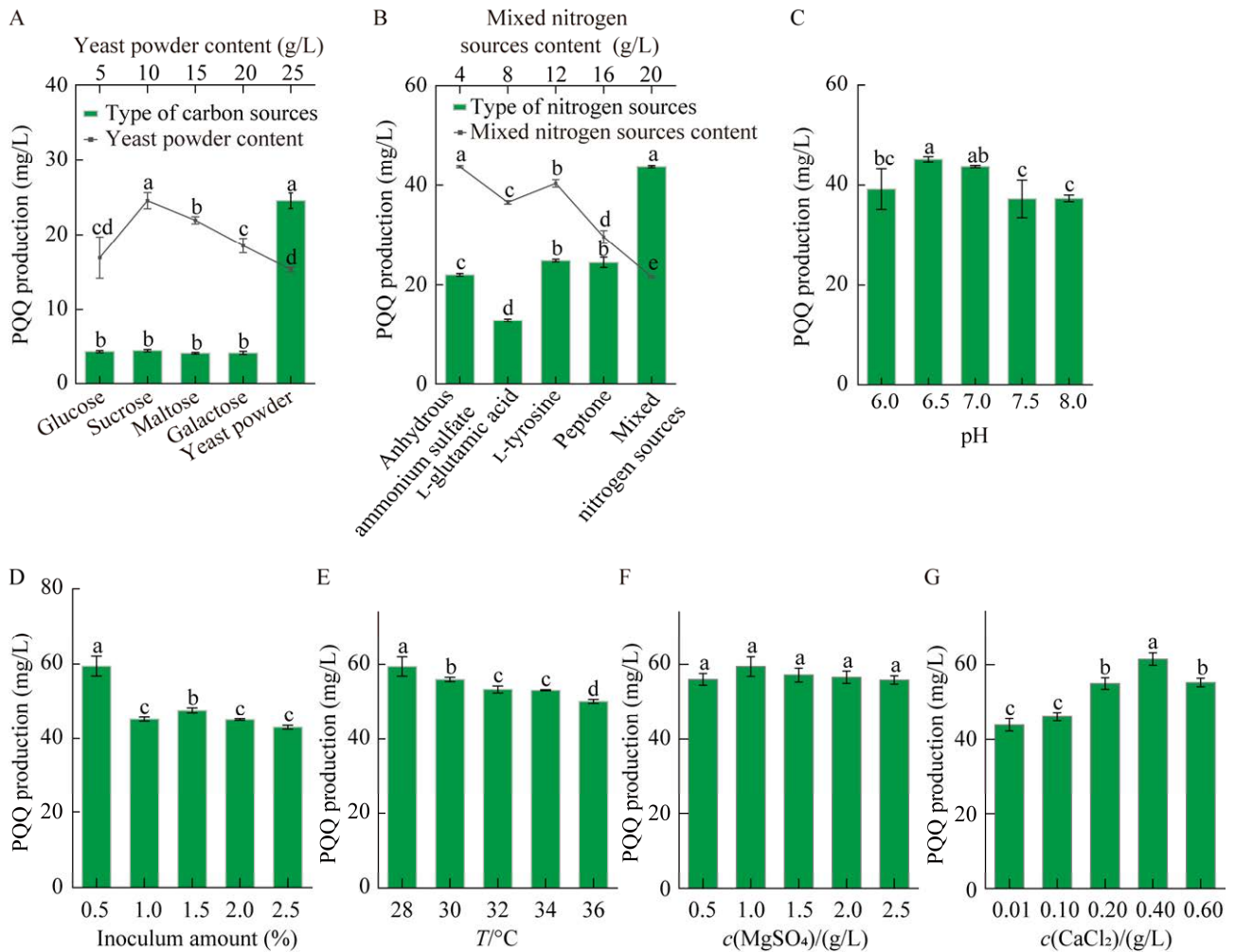


图 3 不同发酵条件对 PQQ 产量的影响

Figure 3 Effects of different fermentation conditions on PQQ production. A: Carbon sources; B: Nitrogen sources; C: pH; D: Inoculum amount; E: Temperature; F: Mg^{2+} concentration; G: Ca^{2+} concentration. The data in the figure are mean \pm SD. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.4 干旱胁迫下不同处理对辣椒生长及生理特性的影响

由图 4A–4E 可知, PQQ 可以促进干旱胁迫下辣椒的生长, 且 PQQ 菌剂(含约 7.5×10^7 CFU/mL CDWB36、500 nmol/L PQQ 以及 CDWB36 发酵过程中产生的其他代谢物)的促生效果明显优于 PQQ 溶液(500 nmol/L)。与 CK 相比, 施用 PQQ 溶液可以显著增加辣椒的株高和地下部鲜重; 施用 PQQ 菌剂可以显著增加辣椒的株高、茎粗、地上部和地下部鲜重, 较 CK 分别增加 35.05%、8.22%、14.41%、51.70% ($P < 0.05$)。

由图 4F–4I 可知, PQQ 溶液和 PQQ 菌剂均能提高辣椒叶片 SOD、POD、CAT 活性, 显著

降低 MDA 含量($P < 0.05$), 以 SOD 活性差异最为明显, 二者较 CK 分别提高 3.67 倍和 6.24 倍。此外, 与 PQQ 溶液相比, PQQ 菌剂能使辣椒叶片积累更多的渗透调节物质, 叶片脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量较 CK 分别显著增加 24.36%、76.26%、59.19% ($P < 0.05$)。

2.5 干旱胁迫下不同处理对辣椒土壤养分含量的影响

各处理间土壤养分含量存在显著差异(表 1), 与 CK 相比, PQQ 溶液和 PQQ 菌剂均能提高土壤全氮、全磷、有效氮、有效磷、速效钾、有机质含量, 其中, 除有机质含量外, PQQ 菌剂较 PQQ 溶液的其他土壤养分含量增幅明显更大($P < 0.05$)。

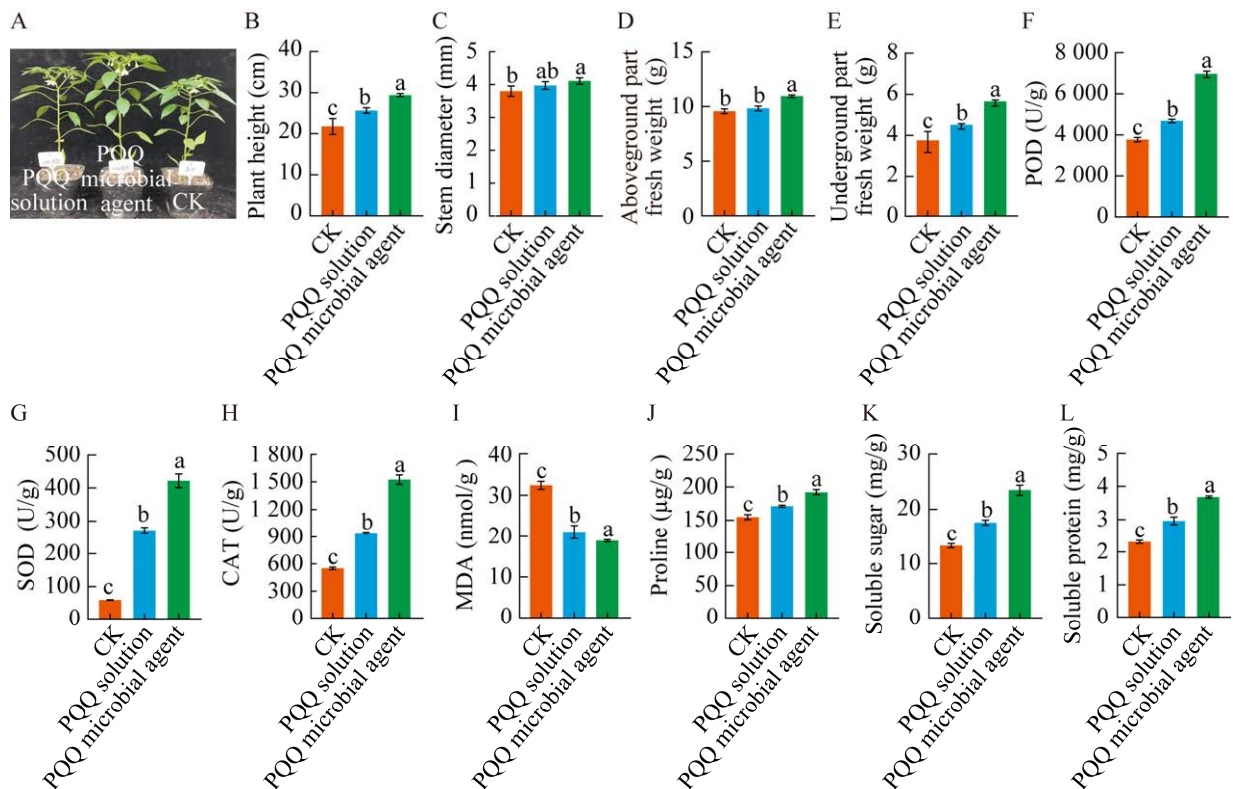


图 4 干旱胁迫下不同处理对辣椒生长及生理特性的影响

Figure 4 Effects of different treatments on growth and physiological characteristics of pepper under drought stress. A: Plant morphology; B: Plant height; C: Stem diameter; D: Aboveground part fresh weight; E: Underground part fresh weight; F: POD activity; G: SOD activity; H: CAT activity; I: MDA content; J: Proline content; K: Soluble sugar content; L: Soluble protein content. The data in the figure are mean ± SD. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

表 1 干旱胁迫下不同处理对土壤养分含量的影响

Table 1 Effects of different treatments on soil nutrient content under drought stress

Treatment	TN (g/kg)	TP (g/kg)	TK (g/kg)	AN (mg/kg)	AP (mg/kg)	AK (mg/kg)	OM (g/kg)
CK	7.31±0.07c	1.16±0.01c	18.38±0.35a	661.29±2.89c	366.83±1.30c	1 637.85±54.82c	381.57±2.10c
PQQ solution	8.41±0.03b	1.36±0.01b	17.91±0.40a	770.32±4.11b	387.95±2.23b	1 860.23±55.26b	429.59±2.80a
PQQ microbial agent	10.26±0.22a	1.91±0.03a	16.90±0.20b	796.73±1.27a	395.14±1.70a	2 404.31±50.42a	409.52±1.50b

The data in the table are mean±SD. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.6 干旱胁迫下不同处理对辣椒根际微生物群落结构的影响

2.6.1 微生物群落多样性分析

利用 Chao1 指数和 Shannon 指数来表征微生物群落的 α 多样性(图 5A、5B)。从细菌群落来看, PQQ 溶液的 Chao1 指数和 Shannon 指数均高于 CK 和 PQQ 菌剂。从真菌群落来看, PQQ 菌剂的 Chao1 指数较高, 但各处理间无显著性差异($P>0.05$); PQQ 菌剂显著提高了 Shannon 指数, 较 CK 和 PQQ 溶液分别提高 22.65%、36.80% ($P<0.05$)。

对不同处理下辣椒根际微生物进行 PCoA 分析, 结果如图 5C、5D 所示, 不同处理的细菌群落之间存在明显分离。经 ANOSIM 检验发现, PQQ 溶液和 PQQ 菌剂均对细菌群落结构产生极显著影响($P\leq 0.001$)。不同处理的真菌群落之间无显著区别($P>0.05$), 但与 CK 相比,

PQQ 菌剂的真菌群落结构存在差异。

2.6.2 微生物群落组成分析

不同处理条件下土壤门水平和属水平细菌群落组成情况如图 6A、6B 所示, 在门水平上, 变形菌门 (*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、放线菌门 (*Actinobacteriota*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 是优势菌门, 占 70.00% 以上。与 CK 相比, 施用 PQQ 溶液后, 厚壁菌门增加了 16.40%, 绿弯菌门增加了 43.01%; 而施用 PQQ 菌剂后, 厚壁菌门增加了 75.29%, 绿弯菌门增加了 50.59%。在属水平上, 施用 PQQ 溶液和 PQQ 菌剂后优势菌属中芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、norank_f_LWQ8、norank_o_SBR1031、马杜拉放线菌属 (*Actinomadura*)、链霉菌属 (*Streptomyces*) 较 CK 均有所增加, 其中 PQQ 菌剂处理后芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 相对丰度增加最多, 是对照的 1.99 倍。

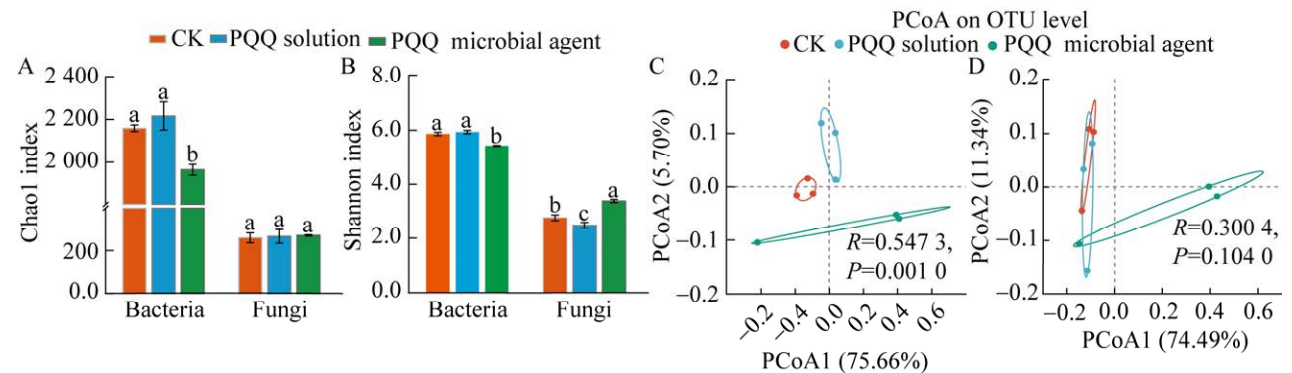


图 5 辣椒根际微生物多样性分析

Figure 5 Diversity analysis of rhizosphere microorganisms in peppers. A: Chao1 index; B: Shannon index; C: PCoA analysis of bacteria; D: PCoA analysis of fungi. The data in the figure are mean±SD. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

不同处理下土壤门水平和属水平真菌群落组成情况如图 6C、6D 所示, 在门水平上, 各处理优势菌门为担子菌门(*Basidiomycota*)、子囊菌门(*Ascomycota*)、未知菌门(*unclassified_k_Fungi*)、被孢霉门(*Mortierellomycota*)。施用 PQQ 溶液可以显著增加担子菌门, 较 CK 提升 22.54%, 施用 PQQ 菌剂后子囊菌门、未知菌门、被孢霉门显著高于 CK, 其中子囊菌门占比最高, 为 49.48%。在属水平上, 施用 PQQ 溶液可以增加 *Auriculariales_g_Incertae_sedis*、嗜热链球菌属(*Mycothermus*), 施用 PQQ 菌剂可以显

著增加曲霉属 (*Aspergillus*)、嗜热链球菌属 (*Mycothermus*)、*unclassified_o_Sordariales*、*Sagenomella*, 其中, 曲霉属(*Aspergillus*)和嗜热链球菌属(*Mycothermus*)占比较高, 分别是 CK 的 1.38 倍和 8.75 倍。

2.7 微生物群落与土壤养分的相关性分析

对不同处理的前 10 个菌属与土壤养分进行 db-RDA 分析(图 7)。结果表明, AK ($P=0.011$)、TN ($P=0.012$)、TP ($P=0.013$)、TK ($P=0.014$)对辣椒根际土壤细菌群落结构具有重要影响; AN ($P=0.004$)、AK ($P=0.011$)、OM ($P=0.008$)对辣

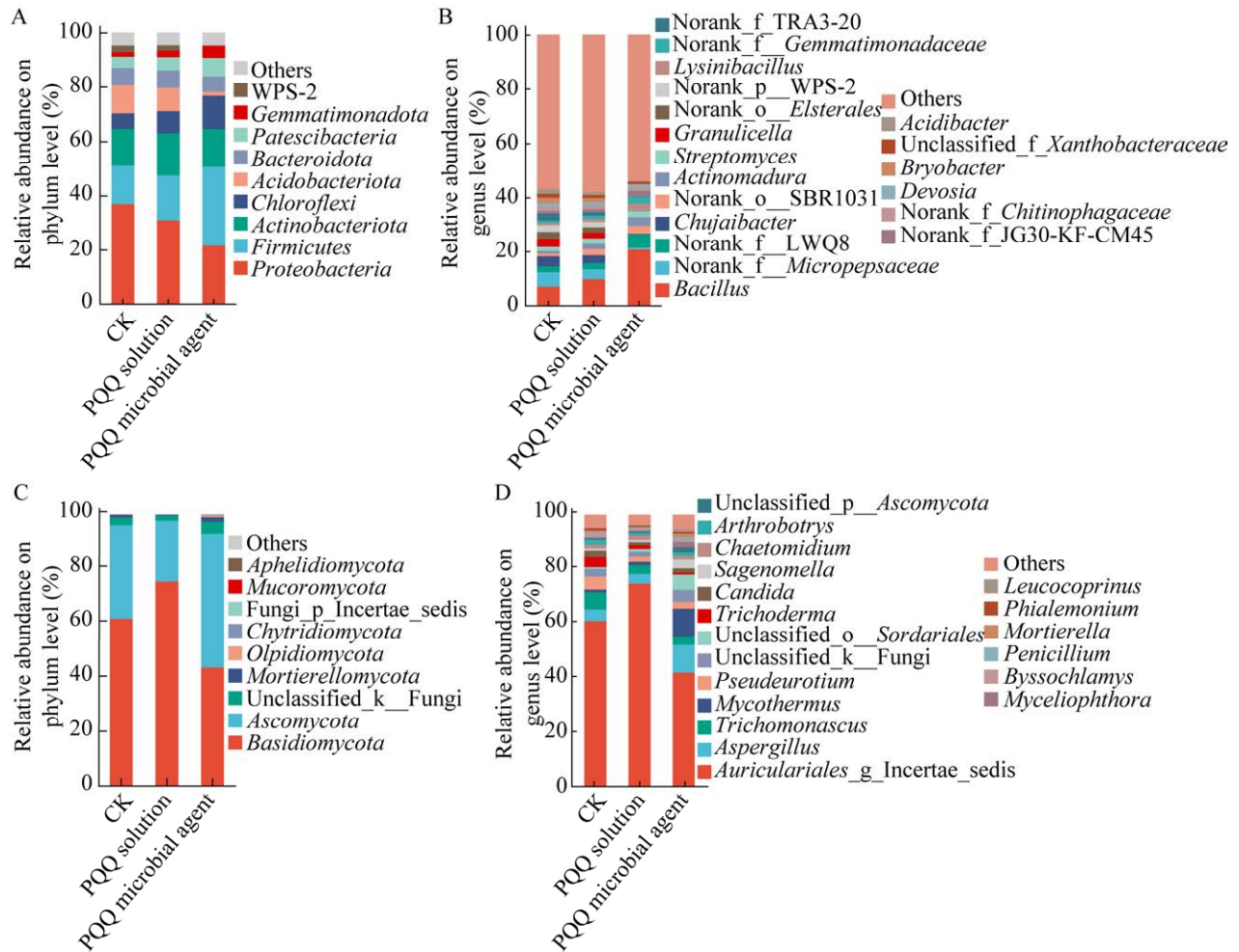


图 6 不同处理在门水平和属水平的微生物相对丰度

Figure 6 Relative abundance of microorganisms at phylum level and genus level for different treatments. A: Phylum level of bacteria; B: Genus level of bacteria; C: Phylum level of fungi; D: Genus level of fungi.

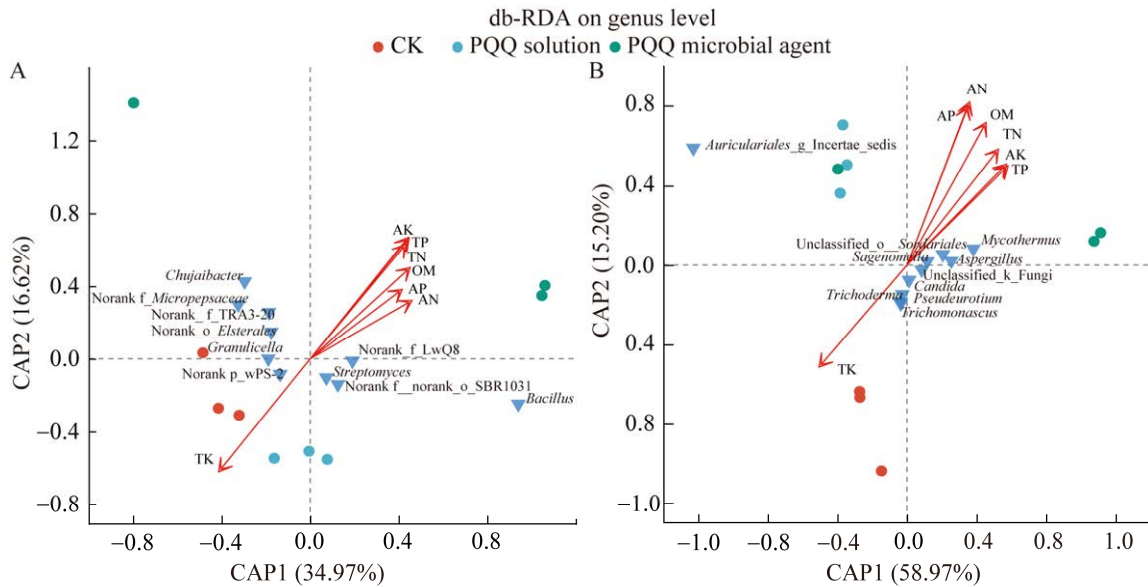


图 7 细菌(A)、真菌(B)与土壤养分在属水平上的 db-RDA 分析
Figure 7 db-RDA analysis of bacteria (A), fungi (B) and soil nutrients at the genus level.

椒根际土壤真菌群落结构具有重要影响。芽孢杆菌属(*Bacillus*)、norank_f_LwQ8、曲霉属(*Aspergillus*)、嗜热链球菌属(*Mycothermus*)、unclassified_o_Sordariales 与 AK、TP、TN、OM、AP 和 AN 呈正相关；norank_p_wPS-2、小粒胞菌属(*Granulicella*)、假散囊菌属(*Pseudeurotium*)、*Trichomonascus* 与 TK 呈正相关关系。

3 讨论与结论

微生物发酵是合成 PQQ 的重要方法之一，优化发酵工艺条件有利于控制微生物代谢产物的合成方向，以此提高目标产物产量。本研究发现，菌株 CDWB36 的 PQQ 产量随发酵时间的延长而逐渐增加，但发酵 7 d 后，发酵液中的菌体浓度下降趋势明显，因此选取发酵 7 d 作为时间节点，在保证菌液浓度较高的前提下，通过优化发酵条件提高 PQQ 产量。李红月^[23]研究发现，经单因素试验优化后，高产突变菌株扭脱甲基杆菌(*Methylobacterium extorquens*) 1-C6 的 PQQ 产量可达 29.1 mg/L，较初始条件提高 81.9%。本研究中，醋酸钙不动杆菌 CDWB36

的 PQQ 初始产量仅为 18.65 mg/L，对其发酵条件进行优化后，PQQ 产量提高至 61.48 mg/L，较初始条件提高了 3.3 倍。钟杉杉等^[24]研究表明，酵母粉作为碳源时更有利于假单胞杆菌(*Pseudomonas*) 0813 发酵合成 PQQ。这与本研究结果类似，在添加单一碳源时菌株 CDWB36 的 PQQ 产量并不理想，而以 10 g/L 酵母粉作为碳源时 PQQ 产量最高，推测菌株体内可能含有多种脱氢酶，导致在其代谢途径中以成分复杂的酵母粉对 PQQ 的合成更为有利。在氮源利用方面，以 4 g/L 混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸=2:1:1)作为氮源时，菌株 CDWB36 的 PQQ 产量最高，这可能是因为 PQQ 由谷氨酸和酪氨酸缩合而成，两者同时供应有利于 PQQ 的合成^[24]。此外，本研究还发现，添加 1.0 g/L $MgSO_4$ 和 0.40 g/L $CaCl_2$ 时菌株 CDWB36 的 PQQ 产量最高，且 $CaCl_2$ 浓度变化对 PQQ 合成影响较大，这与周留柱^[25]的研究结果一致，其原因可能是游离的 Ca^{2+} 能与细胞膜结合形成钙离子通道，提高细胞膜的通透性，从而促使 PQQ 从菌株体内转运到体外。研究表明，微生物在营养

物质和外界条件均适宜的情况下,产生的代谢物往往较为丰富^[26]。本研究结果表明,培养温度 28 °C、接种量 0.5%、pH 6.5 为菌株 CDWB36 合成 PQQ 的最佳培养条件,此时 PQQ 产量最高。

作为一种多功能的生理活性物质,PQQ 在植物抗逆促生方面发挥着重要作用。在已有研究中,施用的 PQQ 多以纯化学品配制而成的溶液为主。李已夫等^[27]研究表明,在水稻全生育期喷施 PQQ 对纹枯病的防治效果较好,且具有一定的增产效果。何曙光等^[28]研究发现,PQQ 可通过调控抗氧化系统和渗透调节系统减轻低温胁迫对水稻幼苗造成的伤害,提高水稻幼苗的抗逆能力。本研究也证实了这一点,PQQ 能显著提高植株抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性,减少过氧化产物 MDA 的积累,减轻干旱胁迫对细胞的氧化损伤,同时增加渗透调节物质可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量,降低细胞渗透势,有助于维持辣椒正常的生理代谢,提高抗旱性,促进植株生长。此外,本研究还发现由微生物发酵而成的 PQQ 菌剂在植物抗逆促生方面的作用效果明显优于化学合成的 PQQ 溶液,这可能是因为微生物本身及其他对植物具有抗逆促生功能的代谢产物也在其中发挥作用,具体原因有待进一步探究。

土壤微生物在分解有机质、参与养分循环与交换,以及促进植物生长等方面具有重要作用,其多样性和群落组成是根际微环境的重要组成部分^[29]。本研究表明,PQQ 菌剂降低了细菌群落 α 多样性,提高了真菌群落 α 多样性,推测这可能是因为菌株 CDWB36 定殖土壤与其他细菌竞争生态位,导致根际土壤细菌群落的物种趋于均一化;而真菌与细菌在营养物质需求上的差异,使得 PQQ 及菌株其他代谢产物的添加为真菌提供多种营养来源,满足了不同

真菌的生长需求。本研究结果还显示,PQQ 菌剂处理下的土壤微生物群落结构与 CK 存在明显差异,但优势类群基本相似,主要改变了不同菌群的相对丰度,显著提高了细菌中芽孢杆菌属丰度占比,较 CK 提高 1.99 倍。研究表明,芽孢杆菌能通过溶磷、解钾、固氮、产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、产铁载体等机制促进植物生长及提高植物抗逆性^[30-31]。同时,PQQ 菌剂显著提高了真菌中曲霉属和嗜热链球菌属的丰度占比,二者具有较强的耐受性^[32-33]。孙美美等研究表明,曲霉属和嗜热链球菌属所属的子囊菌门,在干旱生态系统中对碳氮循环起着重要的推动作用,当土壤养分丰富时,子囊菌门的相对丰度会显著增加^[22],这与本研究结果一致。相关性分析结果显示芽孢杆菌属、曲霉属和嗜热链球菌属均与土壤有机质、全氮、全磷和有效养分含量呈正相关关系。PQQ 菌剂处理后土壤全氮、全磷和有效养分含量显著增加,与 PQQ 溶液相比,菌剂处理后土壤有机质含量有所降低,其原因可能是 PQQ 菌剂改变了根际微生物群落结构,从而促进土壤微生物对有机质的分解,为细胞生长和代谢活动提供更多底物,增加土壤养分含量。

综上所述,对菌株 CDWB36 产 PQQ 发酵工艺条件进行优化后,PQQ 产量从 18.65 mg/L 提高至 61.48 mg/L。最佳发酵条件为酵母粉 10 g/L、混合氮源(硫酸铵:谷氨酸:酪氨酸=2:1:1) 4 g/L、MgSO₄ 1.0 g/L、CaCl₂ 0.40 g/L、接种量 0.5%、温度 28 °C 和 pH 6.5。在干旱胁迫下施用 PQQ 菌剂能显著提高辣椒叶片的抗氧化酶活性和渗透调节物质含量,调节根际微生物群落结构,增加土壤养分含量,显著促进辣椒植株生长。本研究结果为发展利用生物合成的 PQQ 进行植物抗逆促生应用提供了优良的菌种资源和理论基础。

致谢

感谢陈芳、周诗晶、张明星、王玉琦对本研究试验工作及论文撰写给予的指导与帮助。

作者贡献声明

何秀兰：实验及论文撰写；彭宇翔：实验协助；陶禹：论文修改；周池：实验指导；朱理伟：文献调研；李鑫：实验指导及论文修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] RAWAT P, DAS S, SHANKHDHAR D, SHANKHDHAR SC. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 21(1): 49-68.
- [2] 周益帆, 白寅霜, 岳童, 李庆伟, 黄艳娜, 蒋玮, 何川, 王金斌. 植物根际促生菌促生特性研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(2): 644-666. ZHOU YF, BAI YS, YUE T, LI QW, HUANG YN, JIANG W, HE C, WANG JB. Research progress on the growth-promoting characteristics of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(2): 644-666 (in Chinese).
- [3] 姚锦爱, 黄鹏, 侯翔宇, 余德亿. 海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 BA-3 在兰花的定殖及对根际微生态的影响[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(6): 915-921. YAO JA, HUANG P, HOU XY, YU DY. Colonization dynamics marine bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BA-3 and its impact on the microbial community of *Cymbidium* rhizosphere[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2019, 35(6): 915-921 (in Chinese).
- [4] MISRA HS, RAJPUROHIT YS, KHAIRNAR NP. Pyrroloquinoline-quinone and its versatile roles in biological processes[J]. *Journal of Biosciences*, 2012, 37(2): 313-325.
- [5] 杨蒙雅, 张春月, 伊进行, 王怡明, 卓明洋, 马倩, 谢希贤. 大肠杆菌中吡咯喹啉醌合成途径的构建[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(8): 75-85. YANG MY, ZHANG CY, YI J/X, WANG YM, ZHUO MY, MA Q, XIE XX. Construction of pyrroloquinoline quinone synthesis pathway in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2022, 41(8): 75-85 (in Chinese).
- [6] HUANG CY, FAN ZJ, HAN DD, JOHNSTON LJ, MA X, WANG FL. Pyrroloquinoline quinone regulates the redox status *in vitro* and *in vivo* of weaned pigs via the Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2021, 12(1): 77.
- [7] 刘卫群, 朱云集, 王永华, 赵永芳. 低温胁迫下 PQQ 对黄瓜幼苗子叶防御系统的影响[J]. *武汉大学学报(理学版)*, 1998, 44(4): 86-89. LIU WQ, ZHU YJ, WANG YH, ZHAO YF. Effects of PQQ on protective system in cucumber cotyledons under low temperature stress[J]. *Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)*, 1998, 44(4): 86-89 (in Chinese).
- [8] LI X, ZHANG MX, ZHANG QZ, TAN FJ, GONG Z, XIE YH, TAO Y, CHEN J. Insights into pyrroloquinoline quinone (PQQ) effects on soil nutrients and pathogens from pepper monocropping soil under anaerobic and aerobic conditions[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(4): e0093322.
- [9] CHOI O, KIM J, KIM JG, JEONG Y, MOON JS, PARK CS, HWANG I. Pyrroloquinoline quinone is a plant growth promotion factor produced by *Pseudomonas fluorescens* B16[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(2): 657-668.
- [10] GAO H, WANG YS, YANG JH, QIU M, LEI ZX, ZHANG WM, JIANG WK, XIN FX, JIANG M. Microbial synthesis of pyrroloquinoline quinone[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2023, 40(1): 31.
- [11] REN Y, YANG XW, DING LT, LIU DF, TAO Y, HUANG JZ, KE CR. Adaptive evolutionary strategy coupled with an optimized biosynthesis process for the efficient production of pyrroloquinoline quinone from methanol[J]. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 2023, 16(1): 11.
- [12] BUCHANAN RE, GIBBONS NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984. BUCHANAN RE, GIBBONS NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001. DONG XZ, CAI MY. *Handbook of Identification of Common Bacterial Systems*[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [14] ZOU L, WANG Q, WU RX, ZHANG YP, WU QS, LI MY, YE KH, DAI W, HUANG J. Biocontrol and plant growth promotion potential of endophytic *Bacillus subtilis* JY-7-2L on *Aconitum carmichaelii* Debx[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1059549.
- [15] 纪晓娜, 吴文博, 任志敏, 陈国军, 李延君. 高效液相色谱法检测蔬菜中甲萘威残留[J]. *分析科学学报*, 2022, 38(1): 122-124. JI XN, WU WB, REN ZM, CHEN GJ, LI YJ. Detection of carbaryl residue in vegetables by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Analytical Science*, 2022, 38(1): 122-124 (in Chinese).
- [16] 朱道洋. 发酵法生产吡咯喹啉醌的研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2021. ZHU DY. Study on production of pyrroloquinoline quinone by fermentation[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2021 (in Chinese).
- [17] TALEB MH, MAJIDI MM, PIRNAJMEDIN F, MAIBODY SAMM. Plant functional trait responses to

- cope with drought in seven cool-season grasses[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 5285.
- [18] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009.
ZHANG ZL, QU WJ, LI XF. *Experimental Instruction of Plant Physiology*[M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2009 (in Chinese).
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI HS. *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000 (in Chinese).
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO SD. *Soil and agricultural chemistry analysis*[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [21] 刘明艳, 马嘉哈, 李瑜, 刘文霞, 秦鸿娟, 高配科. 16S rRNA 基因高变区 V4 和 V3-V4 及测序深度对油藏细菌菌群分析的影响[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(2): 440-449.
LIU MY, MA JH, LI Y, LIU WX, QIN HJ, GAO PK. Influence of 16S rRNA gene V4 and V3-V4 sequencing and sequencing depth on unraveling bacterial communities inhabiting oil reservoirs[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(2): 440-449 (in Chinese).
- [22] 孙美美, 田丽, 乔紫薇, 张雪雅, 高泽文. 内蒙古砒砂岩地区沙棘根际和非根际土壤理化性质及真菌群落特征[J]. *微生物学报*, 2024, 64(6): 1747-1765.
SUN MM, TIAN L, QIAO ZW, ZHANG XY, GAO ZW. Physicochemical properties and fungal community characteristics of rhizosphere and non-rhizosphere soils of *Hippophae rhamnoides* in Pisha sandstone area of Inner Mongolia[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(6): 1747-1765 (in Chinese).
- [23] 李红月. 高产吡咯喹啉酮脱甲基杆菌的定向选育与发酵优化[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2018.
LI HY. *Directional breeding and fermentation optimization of high-yield pyrroloquinoline quinone-producing *Methylobacterium extorquens**[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2018 (in Chinese).
- [24] 钟杉杉, 刘辉, 葛喜珍, 田平芳. 吡咯喹啉酮生产菌的发酵条件优化[J]. *北京化工大学学报(自然科学版)*, 2013, 40(5): 88-92.
ZHONG SS, LIU H, GE XZ, TIAN PF. Optimization of fermentation conditions for pyrroloquinoline quinone expression by *Pseudomonas* 0813[J]. *Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science Edition)*, 2013, 40(5): 88-92 (in Chinese).
- [25] 周留柱. 鲍曼不动杆菌生物合成吡咯喹啉酮的研究[D]. 郑州: 郑州轻工业大学硕士学位论文, 2019.
ZHOU LZ. *Study on biosynthesis of pyrroloquinoline quinone by *Acinetobacter baumannii**[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Zhengzhou University of Light Industry, 2019 (in Chinese).
- [26] 申云鑫, 施竹凤, 李铭刚, 赵江源, 王楠, 冯路遥, 莫艳芳, 陈齐斌, 杨佩文. 贝莱斯芽孢杆菌 SH-1471 发酵条件优化及其番茄枯萎病的防治效果[J]. *微生物学报*, 2024, 64(1): 220-237.
SHEN YX, SHI ZF, LI MG, ZHAO JY, WANG N, FENG LY, MO YF, CHEN QB, YANG PW. Optimization of fermentation conditions of *Bacillus velezensis* SH-1471 and its control effect on tomato *Fusarium wilt*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(1): 220-237 (in Chinese).
- [27] 李巴夫, 欧阳茹, 刘洋, 匡炜, 朱杰伟, 刘都才, 欧阳翔, 马国兰, 彭亚军, 张玉焯. 诱抗剂 PQQ 对纹枯病的田间防效与水稻产量和品质的影响[J]. *杂交水稻*, 2023, 38(3): 121-128.
LI SF, OUYANG R, LIU Y, KUANG W, ZHU JW, LIU DC, OUYANG X, MA GL, PENG YJ, ZHANG YZ. Effects of resistance inducer PQQ on field control of sheath blight and rice yield and quality[J]. *Hybrid Rice*, 2023, 38(3): 121-128 (in Chinese).
- [28] 何曙光, 李华平, 戴力, 刘洋, 匡炜, 方宝华, 赵杨. PQQ 对低温胁迫下早稻幼苗生理特性的影响[J]. *湖南农业科学*, 2020(5): 17-20.
HE SG, LI HP, DAI L, LIU Y, KUANG W, FANG BH, ZHAO Y. Effects of PQQ on physiological characteristics of early rice seedlings under low temperature stress[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2020(5): 17-20 (in Chinese).
- [29] 冯海萍, 陈卓, 杨虎. 微生物菌剂对连作芹菜根际土壤真菌群落多样性与结构的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2024, 42(2): 53-61, 70.
FENG HP, CHEN Z, YANG H. Effects of microbial inoculants on the diversity and structure of fungal community in rhizosphere soil of continuous cropping celery[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2024, 42(2): 53-61, 70 (in Chinese).
- [30] PATANI A, PATEL M, ISLAM S, YADAV VK, PRAJAPATI D, YADAV AN, SAHOO DK, PATEL A. Recent advances in *Bacillus*-mediated plant growth enhancement: a paradigm shift in redefining crop resilience[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2024, 40(2): 77 (in Chinese).
- [31] 董晓雪, 彭国袁, 常卓凡, 于文娟, 旺姆. 西藏土壤芽孢杆菌的分离鉴定及生防促生菌筛选[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(23): 114-123.
DONG XX, PENG GY, CHANG ZF, YU WJ, WANG M. Isolation and identification of soil *Bacillus* in Xinjiang and screening of biocontrol and growth-promoting bacteria[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2023, 51(23): 114-123 (in Chinese).
- [32] 杨肖芳, 郭瑞, 姚燕来, 朱为静, 洪磊东, 洪春来, 朱凤香, 王卫平. 微生物菌剂对连作地块草莓生长、土壤养分及微生物群落的影响[J]. *核农学报*, 2023, 37(6): 1253-1262.
YANG XF, GUO R, YAO YL, ZHU WJ, HONG LD, HONG CL, ZHU FX, WANG WP. Effects of microbial agents on plant growth, soil fertility and microbial communities under continuous cropping strawberry[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(6): 1253-1262 (in Chinese).
- [33] 杜华栋, 刘研, 毕银丽, 车旭曦, 拜梦童. 干旱砾漠区不同微地貌单元土壤性状及真菌群落变化特征[J]. *干旱区研究*, 2024, 41(3): 421-431.
DU HD, LIU Y, BI YL, CHE XX, BAI MT. Characteristics of soil properties and fungal community changes in different micro-geomorphic units in arid gravel desert area[J]. *Arid Zone Research*, 2024, 41(3): 421-431 (in Chinese).