



辣椒镰孢根腐病防病促生细菌的筛选及其效应

许世洋¹, 范雨轩¹, 汪学苗¹, 张怡忻¹, 柴继宽¹, 李建军², 李敏权², 漆永红², 李雪萍^{1,2*}

1 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070

2 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070

许世洋, 范雨轩, 汪学苗, 张怡忻, 柴继宽, 李建军, 李敏权, 漆永红, 李雪萍. 辣椒镰孢根腐病防病促生细菌的筛选及其效应. 微生物学报, 2022, 62(7): 2735–2750.

Xu Shiyang, Fan Yuxuan, Wang Xuemiao, Zhang Yixin, Chai Jikuan, Li Jianjun, Li Minquan, Qi Yonghong, Li Xueping. The *Fusarium* root rot-controlling effect and growth-promoting effect of the bacteria in the rhizosphere of *Capsicum annuum*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2735–2750.

摘要:【目的】筛选辣椒(*Capsicum annuum* L.)根腐病防病促生细菌并明确其防病促生效应。

【方法】采集健康辣椒根围土壤样品,以辣椒根腐病病原真菌茄镰孢(*Fusarium solani*)和尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)为指示菌,采用平板对峙法筛选生防细菌,采用选择性培养基筛选溶无机磷、溶有机磷、固氮菌和解钾菌等促生菌,钼锑抗比色法测定溶磷量,凯氏定氮法测定固氮量,火焰原子吸收光谱法测定解钾量。对特性良好组合的菌株进行16S rDNA序列分析鉴定并制作菌剂,最后采用盆栽法测定菌剂防病促生效果。【结果】共筛选得到323株特性良好的功能菌株,拮抗菌78株,溶有机磷菌87株,溶无机磷菌107株,固氮菌128株,解钾菌123株,部分菌株同时具有多个功能特性。互作组合得到6个特性良好的菌株组合,包括8株功能菌株,鉴定发现XP271和XP181为枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*),XP125为特基拉芽胞杆菌(*Bacillus tequilensis*),XP236为耐盐芽胞杆菌(*Bacillus halotolerans*),XP79为巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium*),XP171为环状芽胞杆菌(*Bacillus circulans*),XP248为芬氏纤维微菌(*Cellulosimicrobium funkei*),XP167为产黄假单胞菌(*Pseudomonas synxantha*)。选择2种优良组合制作菌剂,测定其防病促生效果发现,对辣椒镰孢根腐病的防效达88.52%,并使辣椒株高增加10 cm左右、分枝数平均增加2个、生物量增加5–21 g;辣椒根围土壤中碱解氮、速效磷、速效钾等土壤养分含量增加,脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶等土壤酶活性增

基金项目:嘉峪关市科技计划(19-20);甘肃农业大学学生科研训练计划(202102024);甘肃省科技计划(20YF3NA021)
Supported by the Jiayuguan Science and Technology Program (19-20), by the Student Scientific Research Training Program of Gansu Agricultural University (202102024) and by the Science and Technology Project of Gansu Province (20YF3NA021)

*Corresponding author. E-mail: lixueping@gsagr.ac.cn

Received: 12 November 2021; Revised: 14 January 2022; Published online: 19 March 2022

加, 土壤过氧化氢酶含量降低; 土壤微生物生物量碳、固氮基因、固氮微生物的含量均显著增加。【结论】辣椒根围土壤中含有功能良好防病促生菌株, 制成菌剂对辣椒镰孢根腐病有良好的防效且对辣椒促生性能明显。

关键词: 辣椒; 镰孢根腐病; 拮抗细菌; 促生菌

The *Fusarium* root rot-controlling effect and growth-promoting effect of the bacteria in the rhizosphere of *Capsicum annuum*

XU Shiyang¹, FAN Yuxuan¹, WANG Xuemiao¹, ZHANG Yixin¹, CHAI Jikuan¹, LI Jianjun², LI Minquan², QI Yonghong², LI Xueping^{1,2*}

1 Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China

2 Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, Gansu, China

Abstract: [Objective] To screen out the bacterial strains that can control the *Fusarium* root rot and promote the growth of *Capsicum annuum* L. and clarify their disease-controlling and growth-promoting effects. [Methods] The soil samples were collected from the rhizosphere of healthy *C. annuum* plants, and then plate confrontation method was employed to screen the biocontrol bacteria with *Fusarium solani* and *F. oxysporum* as the indicator fungi. After that, selective media were used to screen the growth-promoting bacteria with inorganic phosphorus-solubilizing, organic phosphorus-solubilizing, nitrogen-fixing, or potassium-solubilizing activities. Further, the disease-controlling and growth-promoting effects of the selected strains were determined qualitatively and quantitatively. The amount of phosphorus solubilized, nitrogen fixed, and potassium solubilized were respectively determined by molybdenum-antimony anti-colorimetric method, Kjeldahl method, and flame atomic absorption spectrometry. We then determined the 16S rDNA sequences of the strains with excellent characteristics and prepared the bacterial inoculants with different combination formula. Finally, pot experiments were carried out to measure the disease-controlling and growth-promoting effects of the inoculants. [Results] We screened out 323 strains with excellent functions, including 78 antagonistic strains, 87 organic phosphorus-solubilizing strains, 107 inorganic phosphorus-solubilizing strains, 128 nitrogen-fixing strains, and 123 potassium-solubilizing strains. Some strains had multiple functions, and 6 combinations with excellent characteristics were obtained, which involved 8 strains. Strains XP271 and XP181 were identified as *Bacillus subtilis*, XP125 as *B. tequilensis*, XP236 as *B. halotolerans*, XP79 as *B. megaterium*, XP171 as *B. circulans*, XP248 as *Cellulosimicrobium funkei*, and XP167 as *Pseudomonas synxantha*. The inoculants were prepared according to two combination formula, which demonstrated the best controlling effect of 88.52% on *Fusarium* root rot and increased the plant height, branch number, and biomass of *C. annuum* by about 10 cm, 2 branches, and 5–21 g. Moreover, after the inoculation, the content of available nitrogen, available phosphorus and available potassium in the rhizosphere soil, as well as the activities of soil enzymes such as urease, sucrase, and

alkaline phosphatase increased, while the activity of soil catalase decreased. Additionally, the microbial biomass carbon, nitrogen-fixing genes, and nitrogen-fixing microorganisms in the soil increased significantly. **[Conclusion]** The rhizosphere soil of *C. annuum* harbors rich bacteria with excellent disease-controlling and growth-promoting effects, which can be prepared into inoculants for the control of *Fusarium* root rot and the growth-promoting on *C. annuum*.

Keywords: *Capsicum annuum*; *Fusarium* root rot; antagonistic bacteria; growth-promoting strains

辣椒(*Capsicum annuum* L.)镰孢根腐病是一种主要由茄镰孢(*Fusarium solani*)及尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)引起的土传病害^[1-2],其在全球范围内均有分布,一旦发生,防治则较为困难,严重制约了辣椒产业的发展^[3]。因此,辣椒镰孢根腐病的研究及防治工作迫在眉睫。而目前辣椒根腐的研究主要集中在辣椒疫霉根腐病方面,其研究深度已达到了基因层面,如辣椒疫霉根腐病防御机制候选基因表达的研究已有了新的进展^[4],但辣椒镰孢根腐病的研究及有效防控措施的报道寥寥无几。生产上对辣椒镰孢根腐病的防治多依靠化学农药,但长期单一地使用某类化学药剂,容易造成抗药性等问题某些化学农药难以降解,容易造成环境污染^[5]。而辣椒抗病品种选育较难,嫁接技术防治根腐的方法研究利用技术尚不成熟、不普遍^[6]。近年来,越来越多的研究表明,生物防治具有绿色、高效且安全的特点^[7],因此,生防菌的开发和利用越来越普遍,哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)、罗氏链霉菌(*Streptomyces rochei*)、生防青霉(*Penicillium striatisporum*)等对辣椒疫霉根腐病防效良好^[8-9]。枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)、解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、多粘类芽胞杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)及黄绿木霉(*Trichoderma aureoviride*)等对辣椒镰孢根腐病的病原真菌有良好的抑制作用^[10-12]。

然而,植物根围本身就存在着一类对环境

友好且对植物生长有利的微生物类群,统称为植物根围促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)^[13]。对于辣椒根围促生菌的研究及应用已有很大进展, Tariq 等^[14]和 Mandyal 等^[15]研究表明,使用 PGPR 菌剂能促进辣椒生长,提高辣椒产量,维持辣椒根围土壤健康。吕雅悠等^[16]研究促生菌对辣椒生长及根围土壤微生态环境的影响发现,辣椒的蛋白质、维生素 C 和硝态氮含量均有提高,辣椒根围土壤过氧化氢酶、脲酶和磷酸酶活、速效氮、磷、钾含量显著增加,根围土壤细菌和放线菌数量上升,真菌数量降低。黄文茂等^[17-18]的研究也揭示了同样的结果,同时发现施用 PGPR 复合菌剂后,辣椒根围溶磷、解钾及固氮菌等功能菌群数量上升,并影响辣椒根围土壤细菌多样性及群落结构,对辣椒增产促生效果明显。

目前,采用拮抗菌与促生菌联合防治辣椒镰孢根腐病的研究较少,仅有何付丽等^[19]研究了单一生防菌株对辣椒镰孢根腐病防效及其促生作用,杨茉等^[20]筛选辣椒根围促生菌时研究了其对辣椒根腐病的病原菌拮抗特性,均尚未形成优良的菌株组合及菌剂产品。而引进的菌剂产品适应性差、针对性不强,对辣椒镰孢根腐病的防效甚微,因此,针对辣椒镰孢根腐病,筛选“本土化”的防病促生菌资源,形成专用菌剂产品的工作迫在眉睫。本研究结合甘肃省特有的生态环境,采集本土健康辣椒根围土壤样品,在筛选辣椒镰孢根腐病拮抗菌的同时,利

用相应的选择性培养基筛选溶磷、固氮及解钾等具有促生作用的菌株, 并进行组合优化, 初步形成“本土化”的菌剂产品, 以期为辣椒镰孢根腐病的生物防治提供有效方法。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 根围土壤

从甘肃省嘉峪关市新城镇长城村和甘肃省庆阳市镇原县太平镇枣林村 2 个地点, 采集健康辣椒根系及其根围土样, 将从采根系轻轻刷下的根表土壤装入自封袋, 做好标记, 低温运输至实验室。

1.1.2 辣椒镰孢根腐病病原真菌

茄 镰 孢 (*Fusarium solani*) 和 尖 镰 孢 (*Fusarium oxysporum*) 为本课题组自有菌种。

1.1.3 辣椒种子

采购自甘肃绿星农业科技有限责任公司, 品种为陇椒 5 号。

1.1.4 培养基

LB 培养基(Luria-Bertani medium)^[10]; PDA 培养基 (potato dextrose agar medium)^[10]; Pikovaskaia's (PKO)无机磷培养基^[20]; 蒙金娜有机磷培养基^[20]; 无氮培养基 (nitrogen free medium, NFM): $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, NaCl 0.1 g, 苹果酸 5.0 g, 生物素 10 μg , 0.5%溴百里酚蓝 5 mL, 琼脂 15 g, 蒸馏水补足至 1 000 mL, pH 7.0; 钾长石培养基: 蔗糖 5 g, 葡萄糖 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, 酵母粉 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g, 磷酸氢二钠 2 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, 钾长石 2 g, 琼脂粉 18 g, 蒸馏水补足至 1 000 mL, pH 7.2。

1.2 菌株筛选

称取上述根围土壤 10 g, 稀释至 10^{-5} , 备用, 分别制作 LB 平板、PKO 无机磷平板、蒙

金娜有机磷平板、NFM 平板和钾长石平板, 用移液枪吸取 500 μL 稀释液分别注入各平板中, 并用涂布器涂布均匀, 每样品每平板 10 个重复, 置于 30 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养。

1.2.1 拮抗菌筛选

挑取 LB 平板上的单菌落, 采用平板划线法进行纯化后, 采用平板对峙法筛选拮抗菌, 即以活化后的辣椒镰孢根腐病病原真菌茄镰孢 (*Fusarium solani*)和尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)为靶标菌, 接种于 PDA 平板中央, 同时在周围等距离接种纯化后的菌株, 置于 25 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养 7 d 后, 测定抑菌圈大小。最后将各菌株接种于 PKO、蒙金娜、NFM 和钾长石平板上进行溶磷、固氮及解钾功能的定性测定。

1.2.2 溶磷菌筛选

观察 PKO 无机磷平板和蒙金娜有机磷平板上的单菌落是否有溶磷圈, 并挑取有溶磷圈的单菌落采用划线法进行纯化, 并将纯化后的菌株采用点接法接种于相应的 PKO 无机磷平板和蒙金娜有机磷平板上, 30 $^\circ\text{C}$ 培养 5 d 后, 测定其溶磷圈直径。最后按照 1.2.1 种的方法进行拮抗功能测定, 并接种于 NFM、钾长石平板上进行固氮及解钾功能的定性测定。

1.2.3 固氮菌筛选

挑取 NFM 平板上的单菌落采用平板划线法纯化得到固氮菌株, 并按照 1.2.1 中的方法进行拮抗功能测定, 并接种于 PKO、蒙金娜和钾长石平板上进行溶磷及解钾功能的定性测定。

1.2.4 解钾菌筛选

挑取钾长石平板上的单菌落采用平板划线法纯化得到解钾菌, 并按照 1.2.1 中的方法进行拮抗功能测定, 并接种于 PKO、蒙金娜和 NFM 平板上进行溶磷和固氮功能的定性测定。

1.3 菌株防病促生性能的定量测定

1.3.1 拮抗菌株抑菌率的测定

将所有具有拮抗功能的菌株在 LB 平板上

活化后, 接入液体 LB 培养基中(装液量 50 mL/150 mL 三角瓶), 30 °C、150 r/min 摇床培养 3 d 后, 将发酵液装入 10 mL 离心管中, 10 000×g 离心 10 min, 取上清用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤约 1 mL 滤液于 PDA 平板上, 涂布均匀后, 分别接入辣椒镰孢根腐病原菌镰孢(*F. solani*)和尖镰孢(*F. oxysporum*), 以未涂布发酵液的平板上接种病原菌为对照, 每个处理 3 个重复, 于 25 °C 下恒温培养 5 d 后, 测量病原菌直径, 计算生长抑制率。生长抑制率(%)=(对照平板病原菌菌落直径-带毒平板病原菌菌落直径)/(对照平板菌落直径-接入菌饼直径)×100%。

1.3.2 溶磷菌株溶磷量的测定

选取溶磷圈 D/d>1.5 菌株在 LB 平板上活化后接入于液体 LB 培养基中(装液量: 50 mL/150 mL 三角瓶), 30 °C、150 r/min 摇床培养 36–48 h 后, 取 1 mL 浓度为 10⁸ CFU/mL 的菌液接入液体 PKO 无机磷、蒙金娜有机磷培养液中, 每菌株 3 重复, 以不接菌的培养液为对照, 30 °C、150 r/min 摇床培养 10 d 后, 采用钼锑抗比色法测定磷含量^[21]。

1.3.3 固氮菌株固氮量的测定

将所有经 NFM 平板筛选具有固氮功能的菌株在 LB 平板上活化后, 接种于液体 LB 培养基中(装液量: 50 mL/150 mL 三角瓶), 30 °C、150 r/min 摇床培养 36–48 h 后, 取 1 mL 浓度为 10⁸ CFU/mL 的菌液接入液体 NFM 培养液中, 每个菌株 3 个重复, 以不接菌的培养液为对照, 30 °C、160 r/min 培养 7 d 后, 委托甘肃国信润达分析测试中心采用凯氏定氮法测定各培养液的氮含量。

1.3.4 解钾菌株解钾量的测定

将所有经钾长石平板筛选具有解钾功能的菌株在 LB 平板上活化后, 接种于液体 LB 培养基中(装液量: 50 mL/150 mL 三角瓶), 30 °C、

150 r/min 摇床培养 36–48 h 后, 取 1 mL 浓度为 10⁸ CFU/mL 的菌液接入液体钾长石培养液中, 每个菌株 3 个重复, 以不接菌的培养液为对照, 30 °C、160 r/min 培养 7 d 后, 委托甘肃国信润达分析测试中心采用火焰原子吸收光谱法测定各培养液中水溶性钾的含量。

1.4 优良菌株的互作效应

选取若干优良菌株在 LB 平板活化后两两进行平板互作实验, 通过画十字交叉线的方法确定各菌株间是否有拮抗或者抑制作用。后将无拮抗作用的各菌株随机组合接入 LB 液体培养基, 每个组合设置 3 个重复, 30 °C、150 r/min 摇床培养 36–48 h 后, 各取 1 mL 浓度为 10⁸ CFU/mL 的菌液同时接入特性测定培养液中, 测定复合菌液的生防效果、溶磷量、固氮量及解钾量(同 1.3), 最后采用软件 DPS 15.10 中的 Topsis 综合分析各指标, 得到最优组合。

1.5 优良菌株的分子鉴定

采用 DNA 提取试剂盒(OMEGA), 按照其说明书步骤, 提取 8 株优良防病促生菌株的 DNA, 采用细菌 16S rDNA 通用引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 1492R: 5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3'对其进行 PCR 扩增, PCR 反应体系及反应程序参考李雪萍等^[22]的体系进行, 1%琼脂糖凝胶电泳后回收目的片段, 送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。最后所获得的序列在 GenBank 基因库进行 BLAST 同源性比对, 并用 MEGA 7.0 中的 UPGMA 方法构建系统发育树, bootstrap 1 000 重复检验其可信度。

1.6 菌剂制作及其防病促生效果

将浓度为 10⁸ CFU/mL 目的组合各菌株发酵液按 1:1:1:1 的比例混匀, 添加表面活性剂 1%, 保护剂 5%, 抗氧化剂 1%。采用盆栽法测

定其防病促生效果, 具体为辣椒种子经消毒催芽后播种于装有栽培用土: 蛭石为 5:1 的花盆 (D=25 cm, H=19.5 cm) 中, 放置于 (25±1) °C, 14 h 光照温室培养, 并及时补充水分, 出苗后第 10 d 间苗, 每盆留苗 5 株, 并在每株苗根系注入病原菌发酵液 (FS+FO) 5 mL, 第 15 天时每株苗根系注入菌剂 5 mL, 对照 (CK) 注入不含菌的发酵液 5 mL, 每处理设置 5 个重复。在接入菌剂 30 d 后, 测定株高、单株分枝数地上生物量 (干重)、地下生物量 (干重), 按照李林等^[23]的方法统计根腐病病级, 计算病情指数和防效, 病情指数 = $\sum(\text{病级株数} \times \text{代表数值}) / \text{株数总和} \times \text{发病最重级的代表数值} \times 100$, 防效 = $[(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数}] \times 100\%$ 。并收集根围土壤, 采用碱解扩散法测定碱解氮含量, 碳酸氢钠法测定速效磷含量, 采用乙酸铵浸提、火焰光度法测定速效钾含量^[24]; 采用容量法测定过氧化氢酶活性, 磷酸苯二钠比色法测定碱性磷酸酶活性, 靛酚蓝比色法测定脲酶活性, 3,5-二硝基水杨酸比色法测定蔗糖酶活性^[25]; 采用熏蒸提取法测定土壤微生物生物量

碳^[26], 以及参考吴小虎^[27]、姚拓等^[28]的方法对土壤固氮酶基因 *nifH* 的相对丰度、好气性自生固氮菌及嫌气性自生固氮菌的含量进行测定。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选

本研究共筛选到功能菌株 323 株, 其中, 拮抗菌 78 株, 溶有机磷菌 87 株, 溶无机磷菌 107 株, 固氮菌 128 株, 解钾菌 123 株, 部分拮抗菌株 (BC) 抑菌圈直径 (D) 及溶有机磷 (OP)、无机磷 (IP) 菌株的溶磷圈直径 (D) 如表 1 (仅列出部分) 所示, 抑菌直径最大达 26.18 mm, 最小 5.00 mm, 各菌株抑菌效果差异显著; 有机磷溶磷圈直径最大为 XP10, 为 26.51 mm, 最小 XP5 为 9.96 mm, 各菌株溶有机磷能力均有所差异, 且多数差异显著 ($P < 0.05$); 无机磷溶磷圈直径最大的则为 XP8, 直径达 24.56 mm, 最小的 XP6 直径为 6.03 mm, 各菌株溶无机磷能力差异亦显著。部分菌株特性效果如图 1 (仅列出部分) 所示, 其抑菌效果及溶有机磷和无机磷效果均显著。

表 1 辣椒根围部分拮抗菌株的抑菌圈直径及溶有机磷、无机磷菌株的溶磷圈直径

Table 1 The inhibition, organophosphorus and inorganic phosphorus zone diameters of partial strains screened from pepper rhizosphere

Strain number (BC)	Diameter/mm	Strain number (OP)	Diameter/mm	Strain number (IP)	Diameter/mm
XP11	5.00±0.88j	XP1	13.52±3.68e	XP1	11.82±2.50f
XP22	17.56±2.09h	XP2	13.98±0.88d	XP2	13.95±1.53e
XP23	13.71±0.90i	XP3	12.14±2.22g	XP3	7.08±1.37h
XP125	22.40±0.88e	XP4	24.69±3.19b	XP4	19.67±2.22c
XP157	25.97±1.98b	XP5	9.96±1.22i	XP5	7.93±2.80g
XP160	23.98±1.20d	XP6	23.29±3.57c	XP6	6.03±0.60i
XP161	20.43±1.90g	XP7	12.21±1.18f	XP7	24.37±1.55b
XP162	20.71±1.48f	XP9	12.23±1.31f	XP8	24.56±0.49a
XP163	24.23±1.37c	XP10	26.51±2.26a	XP16	15.10±0.55d
XP261	26.18±2.13a	XP11	10.71±1.30h	XP17	7.92±0.41g

Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level ($P < 0.05$). The same below.

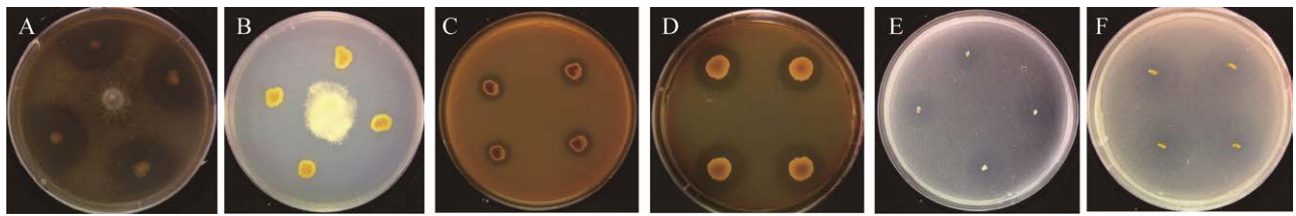


图 1 部分菌株特性效果

Figure 1 The characteristic performance of partial strains. A, B: Figures of antifungal properties; C, D: Figures of dissolved organophosphorus properties; E, F: Figures of dissolved inorganic phosphorus properties.

2.2 菌株的防病促生性能

2.2.1 生防菌株的抑菌效果

对 78 株生防菌株的抑菌功能进行测定发现, 同一菌株对不同病原的抑菌率不同(图 2), 如表 2 (仅列出部分)所示, 对茄镰孢抑菌率最高的生防菌株为 XP171, 达 83.50%, 其次为 XP177, 为 78.58%, 最低为 XP162, 抑菌率仅为 2.71%; 对尖镰孢抑菌率最高的生防菌株则为 XP248, 达 74.33%, 其次为 XP174, 为 73.2%, 最低为 XP22, 仅 4.61%。还有 XP150、XP155、XP159、XP233 等多株菌对 2 种病原的抑制率均较好的

菌株, 抑菌率均达 40%以上。

2.2.2 溶磷菌株的溶磷量

对 87 株溶有机磷、107 株溶无机磷菌株的溶磷量测定发现(表 3), 多数菌株同时具有良好的溶有机磷和无机磷的能力, 其溶有机磷能力和溶无机磷能力不一, 有机磷溶磷量在 8.86–297.90 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 能力最强的是菌株 XP271, 溶磷量达 297.90 $\mu\text{g/mL}$, 其溶无机磷量为 210.4 $\mu\text{g/mL}$, 而无机磷溶磷能力最强的菌株为 XP181, 溶磷量达 1 182.66 $\mu\text{g/mL}$, 最小的 XP11, 溶磷量仅为 17.18 $\mu\text{g/mL}$ 。

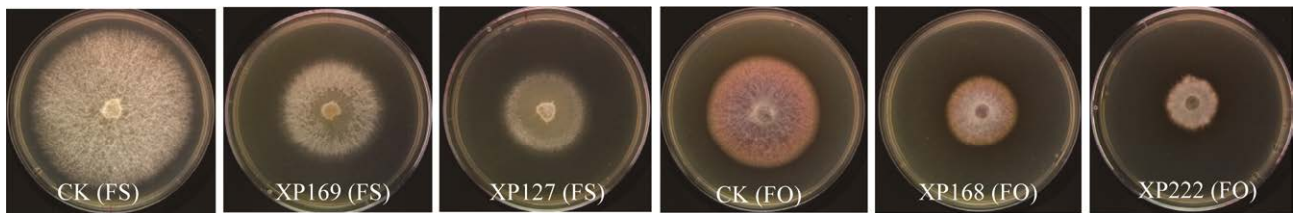


图 2 部分拮抗菌株对病原的生长抑制效果

Figure 2 The antagonistic performance on pathogens of partial strains.

表 2 辣椒根围部分拮抗菌株的抑菌率

Table 2 The inhibition rate of partial antagonistic strains screened from pepper rhizosphere

Strain number	<i>Fusarium solani</i> (FS)/%	Strain number	<i>F. oxysporum</i> (FS)/%
XP150	46.37±0.003	XP125	72.82±0.013
XP155	58.51±0.002	XP138	62.59±0.007
XP159	42.35±0.003	XP150	46.50±0.017
XP166	60.00±0.007	XP155	56.74±0.001
XP171	83.50±0.002	XP159	51.74±0.024
XP177	78.58±0.003	XP174	73.20±0.001
XP233	61.23±0.006	XP233	64.79±0.001
XP244	68.74±0.003	XP248	74.33±0.006
XP308	64.15±0.021	XP308	68.07±0.002
XP162	2.71±1.51	XP22	4.61±0.29

表 3 辣椒根围部分菌株的溶磷特性

Table 3 The phosphate solubilization properties of partial strains screened from pepper rhizosphere

Strain number	Dissolved organic phosphorus (OP)/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	pH (OP)	Dissolved inorganic phosphorus (IP)/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	pH (IP)
XP5	37.95 \pm 1.84	7.91 \pm 0.19	37.40 \pm 0.00	4.76 \pm 0.10
XP11	17.68 \pm 2.00	7.90 \pm 0.04	17.18 \pm 0.07	4.80 \pm 0.03
XP46	70.98 \pm 0.70	8.47 \pm 0.02	259.05 \pm 3.99	5.51 \pm 0.05
XP79	19.93 \pm 0.92	9.32 \pm 0.05	1038.31 \pm 25.64	4.78 \pm 0.13
XP125	23.12 \pm 3.06	7.26 \pm 0.06	488.21 \pm 0.33	3.62 \pm 0.15
XP181	200.30 \pm 2.31	7.76 \pm 0.04	1182.66 \pm 0.56	4.29 \pm 0.02
XP184	111.90 \pm 1.15	7.87 \pm 0.03	135.92 \pm 1.69	7.81 \pm 0.02
XP194	200.86 \pm 4.42	7.76 \pm 0.17	215.88 \pm 3.14	7.72 \pm 0.02
XP215	268.06 \pm 2.07	7.63 \pm 0.04	543.77 \pm 2.66	5.33 \pm 0.01
XP235	259.42 \pm 1.61	7.74 \pm 0.02	436.60 \pm 21.70	6.54 \pm 0.09
XP271	297.90 \pm 1.40	5.53 \pm 0.16	210.44 \pm 1.97	4.66 \pm 0.02
XP303	40.58 \pm 2.53	9.06 \pm 0.09	59.53 \pm 0.86	4.37 \pm 0.05
XP157	8.86 \pm 1.30	8.24 \pm 0.01	592.26 \pm 4.26	3.82 \pm 0.10
CK	0.00	7.00	0.00	6.80

2.2.3 固氮菌株的固氮量

对 128 株固氮菌的固氮量测定发现(表 4), 除 XP167 固氮量高达 1.033 g/L 外, 其余 127 株固氮菌固氮量均在 0.039–0.183 g/L 之间, 表 4 仅列出部分固氮菌株的固氮量。

2.2.4 解钾菌株的解钾量

对 123 株解钾菌的解钾量测定发现(表 5), 其解钾量最低为 30.90 mg/L, 最高为 595.00 mg/L, 多数菌株的解钾量在 60–110 mg/L 之间, 大于 110 mg/L 的解钾菌株占 10%左右, 表 5 列出了包含最高及最低解钾量菌株的部分菌株的解钾量。

表 4 辣椒根围部分固氮菌株的固氮量

Table 4 The nitrogen-fixing quantity of partial nitrogen-fixing strains screened from pepper rhizosphere

Strain number	Nitrogen-fixing quantity/(g/L)	Strain number	Nitrogen-fixing quantity/(g/L)
CK	0	XP81	0.059 \pm 0.005
XP14	0.183 \pm 0.003	XP156	0.067 \pm 0.005
XP15	0.048 \pm 0.001	XP167	1.033 \pm 0.072
XP44	0.115 \pm 0.007	XP215	0.116 \pm 0.009
XP52	0.093 \pm 0.005	XP232	0.073 \pm 0.006
XP60	0.054 \pm 0.003	XP244	0.084 \pm 0.009
XP68	0.056 \pm 0.004	XP303	0.050 \pm 0.004
XP4	0.039 \pm 0.002	XP20	0.085 \pm 0.004

2.3 优良菌株的互作效应

如图 3 所示, 各菌株两两十字交叉处未有断开, 说明各菌株间无拮抗作用。复配后优良菌株组合的生防、溶磷、固氮及解钾特性如表 6 所示, 除 TB 外, 其他组合均有良好的生防功能, 抑菌率在 80%以上, 组合 TD 的生防功能最好, 抑菌率达 92.2%。组合 TA、TC、TE 的溶有机磷效果较好, 均在 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上, 组合 TB、TC、TF 溶无机磷效果则最好, 在 1 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上。固氮能力除 TB 组合外, 其他组合的固氮量均良好; 解钾能力 TA、TB、TF 组合解钾量在 600 mg/L 以上, 是其他组合的 10 倍。对

表 5 辣椒根围部分解钾菌的解钾量

Table 5 The potassium-releasing quantity of partial potassium-releasing strains screened from pepper rhizosphere

Strain number	Potassium-releasing quantity/(mg/L)	Strain number	Potassium-releasing quantity/(mg/L)
CK	0	XP214	307.33±3.05
XP2	80.50±0.53	XP225	91.00±3.55
XP15	90.00±0.30	XP236	595.00±8.59
XP16	68.83±0.55	XP240	544.00±43.55
XP46	73.57±0.98	XP271	91.10±2.95
XP53	30.90±2.25	XP157	366.47±1.74
XP79	77.00±0.46	XP303	486.10±2.00
XP44	63.70±0.28	XP166	106.4±0.69

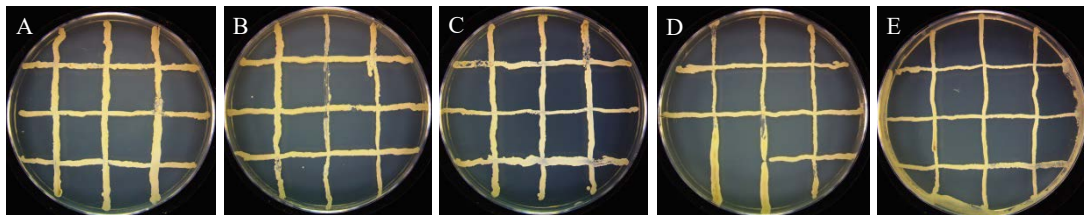


图 3 部分菌株之间的拮抗效果

Figure 3 The antagonistic effects between partial strains. A: XP79 and XP79; B: XP79 and XP125; C: XP79 and XP271; D: XP79 and XP167; E: XP79 and XP171.

表 6 辣椒根围优良组合的功能特性

Table 6 The functional features of excellent combinations that made of bacteria screened from pepper rhizosphere

Excellent combination	Inhibition rate/%	Dissolved organic phosphorus (OP)/(μg/mL)	Dissolved inorganic phosphorus (IP)/(μg/mL)	Nitrogen-fixing quantity/(g/L)	Potassium-releasing quantity/(mg/L)	Topsis (CI)	
						All	Without Potassium
TA (XP125+XP167+XP236+XP271)	80.27±0.004	301.25±3.46	593.28±6.54	1.146±0.007	607.21±1.90	0.66	0.57
TB (XP79+XP181+XP236+XP248)	35.52±0.006	243.76±2.71	1 543.01±3.73	0.581±0.005	611.57±5.38	0.62	0.51
TC (XP79+XP125+XP167+XP271)	82.37±0.003	340.28±4.08	1 566.26±1.47	1.182±0.002	59.95±1.59	0.54	0.91
TD (XP125+XP167+XP171+XP248)	92.20±0.002	76.54±2.57	501.43±2.52	1.160±0.003	34.00±0.60	0.31	0.40
TE (XP125+XP167+XP248+XP271)	84.36±0.004	306.13±2.57	597.36±1.69	1.093±0.003	41.10±3.42	0.42	0.57
TF (XP79+XP167+XP171+XP181+XP236)	88.58±0.003	238.90±2.55	1 569.93±3.95	1.297±0.005	649.27±2.74	0.84	0.79

各优良组合进行 Topsis 综合评价,按统计量(CI)从大到小排序为 TF>TA>TB>TC>TE>TD;考虑到甘肃本土多数土壤中速效钾含量较高,同时做了除解钾能力外的综合分析,从大到小依次为 TC>TF>TA/TE>TB>TD。其中,统计量越大表明组合综合能力越强,可以作为制作菌剂的备选配方使用。

2.4 菌株鉴定

对优良组合的各菌株进行 16S rDNA 鉴定,构建系统发育树发现(图 4), XP125 与特基拉芽胞杆菌(*Bacillus tequilensis*)模式种 EMBS 083 (KC171015.1)的遗传距离为 0, 1 000 次重复自展支持率 99; XP236 与耐盐芽胞杆菌(*Bacillus halotolerans*)模式种 DSM 8802 (NR115063.1)的

遗传距离为 0, 自展支持率 99; XP271 和 XP181 与枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*) 模式种 CCTCC M207209 (MT373810.1) 的遗传距离为 0, 自展支持率 95; XP79 与巨大芽胞杆菌 (*Bacillus megaterium*, MG719554.1) 的遗传距离为 0, 自展支持率 99; XP171 与环状芽胞杆菌 (*Bacillus circulans*) 模式种 NBRC 13626 (NR112632.1) 的遗传距离为 0, 自展支持率 99; XP248 与芬氏纤维微菌 (*Cellulosimicrobium funkei*, MT487604.1) 的遗传距离为 0, 自展支持率 100; XP167 与产黄假单胞菌 (*Pseudomonas synxantha*) 的模式种 NBRC 3913 (NR113583.1)

的遗传距离小于 0.01, 自展支持率为 100。因此, XP125 鉴定为特基拉芽胞杆菌 (*B. tequilensis*), GenBank 登录号为 OK560297; XP236 鉴定为耐盐芽胞杆菌 (*B. halotolerans*), 登录号为 OK560298; XP271 和 XP181 鉴定为枯草芽胞杆菌 (*B. subtilis*), 登录号分别为 OK560301 和 OK560303; XP79 鉴定为巨大芽胞杆菌 (*B. megaterium*), 登录号为 OK560300; XP171 鉴定为环状芽胞杆菌 (*B. circulans*), 登录号为 OK560299; XP248 鉴定为芬氏纤维微菌 (*C. funkei*), 登录号为 OK560302; XP167 鉴定为产黄假单胞菌 (*P. synxantha*), 登录号为 OK560296。

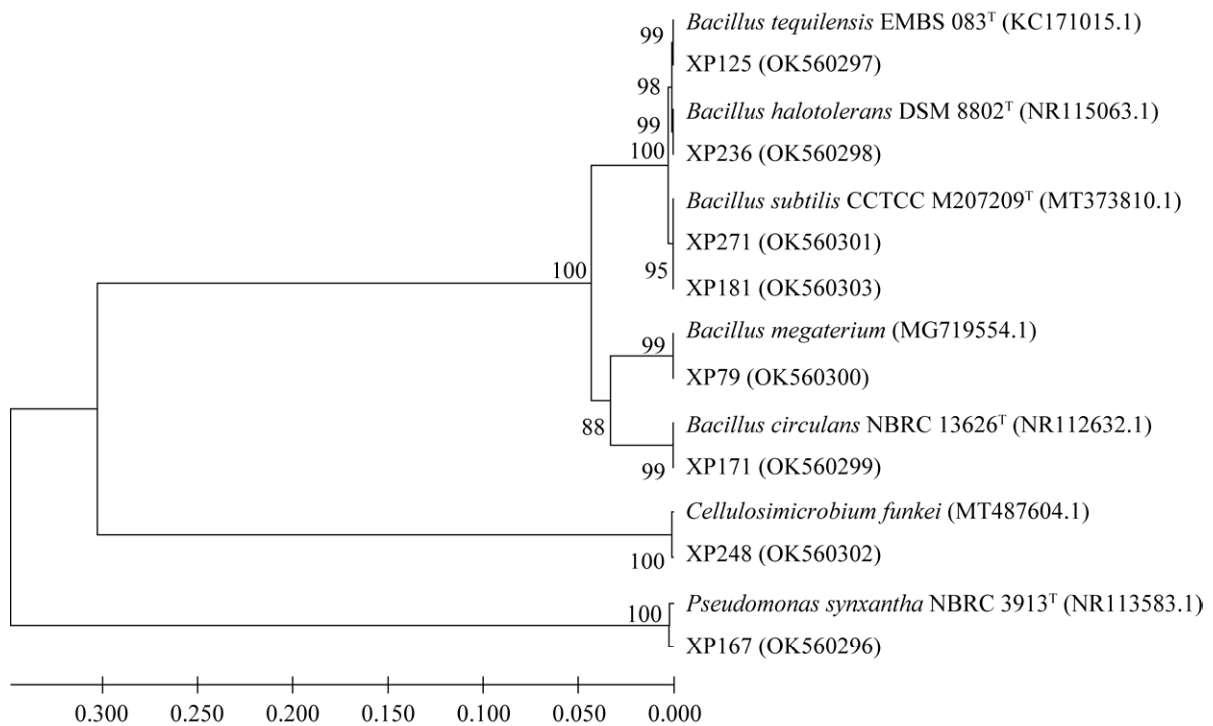


图 4 基于 16S rDNA 构建的系统发育树

Figure 4 The phylogenetic tree was constructed upon 16S rDNA sequences of the strains using the UPGAM method. The serial numbers starting with capital letters in the brackets are the entry number of the strains in GenBank. Superscript "T" indicates the strain is a model strain. The capital letters and numbers before "T" indicate the abbreviation and number of the species reserve center where the type strain resides. We showed the average bootstrap support values of the estimated gene trees for the simulated datasets. The bootstrap value of every branch was calculated with 1 000 replications. The scale is the genetic distance of every strain.

2.5 复合菌剂的防病促生效应

以互作效应良好的组合 TF 及不含解钾菌最优组合 TC 为目的菌剂配方, 共制作得到 2 种菌剂 TFI 及 TCI, 测定其防病促生效果, 结果如下:

2.5.1 对辣椒生长的影响及防效

由表 7 可知, 菌剂 TFI 和 TCI 均具有良好的促生防病效果, 菌剂 TCI 的促生效果更优, 相比如对照(CK)而言, 株高增加近 10 cm, 且差异显著($P<0.05$)。单株分枝数平均比对照多 2 个, 地上生物量和地下生物量增加显著($P<0.05$), 对根腐病的防效为 86.43%。TFI 处理的辣椒株高亦有所增加, 幅度不如 TCI, 但相比 CK 而言, 增加量显著($P<0.05$), 防效较 TCI 更优, 达 88.52%。

2.5.2 对土壤速效养分的影响

由表 8 可知, 菌剂 TFI 和 TCI 使土壤碱解氮、速效钾及速效磷的含量显著增加($P<0.05$), TFI 的增幅更大, 碱解氮含量达 73.93 mg/kg, 增加了 22.04 mg/kg; 速效磷增加了 13.53 mg/kg; 速效钾增加了 3.9 mg/kg。且增幅均显著($P<0.05$),

说明 2 种菌剂均有良好的提高土壤肥力水平的能力。

2.5.3 对土壤酶活性及微生物生物量碳的影响

菌剂处理 TFI 和 TCI 土壤过氧化氢酶含量降低, 脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和微生物生物量碳的含量均显著增加($P<0.05$), 但 2 个菌剂处理间酶活性差异不大, TFI 处理的微生物生物量碳的含量增幅较大, 增幅达 38.74% (表 9), 说明菌剂的使用使土壤中生态环境得到改良, 肥力水平提升。

2.5.4 对辣椒根围土壤基因库中固氮基因丰度及固氮微生物的影响

菌剂处理使土壤基因库中固氮基因和固氮微生物的量均显著增加($P<0.05$), 以 TFI 处理增加尤为明显(表 10)。固氮基因增幅在 75%以上, 好气性自生固氮菌含量 TFI 处理达 4.36×10^4 CFU/g, TCI 处理含量达 3.86×10^4 CFU/g, 增幅在 35%以上。嫌气性自生固氮菌含量 TFI 处理接近对照 CK 的 2 倍, TCI 处理则增加了 0.28×10^4 CFU/g, 且增加显著($P<0.05$), 说明 2 种菌剂在辣椒根围土壤中能保持了良好的活性。

表 7 辣椒根围菌剂对辣椒生长的影响及对根腐病的防效

Table 7 The inoculants' effects on pepper growth performance and root rot controlling after being used in pepper rhizosphere

Treatment	Plant height/cm	Number of branches per plant	Above-ground biomass/g	Under-ground biomass/g	Biocontrol effect/%
CK	22.80±2.30c	2.30±0.35c	32.98±0.35c	9.30±0.37c	—
TFI	27.73±1.72b	3.85±0.48b	46.55±1.69b	14.28±0.87b	88.52
TCI	31.93±1.58a	4.35±0.37a	49.80±3.66a	16.48±1.21a	86.43

表 8 辣椒根围菌剂对土壤速效养分的影响

Table 8 The inoculants' effects on available nutrients in pepper rhizosphere soil

Treatment	Alkaline nitrogen/(mg/kg)	Available potassium/(mg/kg)	Available phosphorus/(mg/kg)
CK	51.89±0.06c	192.82±0.63c	29.01±0.40c
TFI	73.93±1.58a	196.72±0.46a	42.54±0.16a
TCI	68.95±0.66b	193.85±2.09b	38.64±0.69b

表 9 辣椒根围菌剂对土壤酶活性及微生物生物量碳的影响

Table 9 The inoculants' effects on enzyme activity and microbial biomass carbon in pepper rhizosphere soil

Treatment	Catalase/(mL/g)	Urease/(mg/g)	Sucrase/(mg/g)	Alkaline phosphatase/(mg/g)	Microbial biomass carbon/(mg/kg)
CK	1.51±0.03a	7.16±0.02b	5.44±0.02c	1.55±0.01b	316.77±4.31c
TFI	1.16±0.02b	8.23±0.04a	7.45±0.01a	1.71±0.01a	439.50±12.18a
TCI	1.16±0.02b	8.21±0.02a	7.22±0.04b	1.69±0.02a	373.11±6.98b

表 10 辣椒根围菌剂对土壤中固氮基因及固氮微生物的影响

Table 10 The inoculants' effects on nitrogen-fixing genes and microorganisms in pepper rhizosphere soil

Treatment	nifH/(×10 ³ % total bacteria 16S rDNA)	Aerobic autogenous nitrogen-fixing stain/(×10 ⁴ CFU/g)	Aerophobic autogenous nitrogen-fixing strain/(×10 ⁴ CFU/g)
CK	1.08±0.01c	2.85±0.04c	0.67±0.03c
TFI	1.99±0.10a	4.36±0.04a	1.27±0.03a
TCI	1.89±0.04b	3.86±0.02b	0.95±0.03b

3 讨论

微生物在提高植物生存和适应能力方面发挥着重要作用^[29], 根围微生物则是与植物相互作用促进进化的主力军^[30], 利用植物根围微生物来防治病害及促进其生长, 既经济安全, 且能有效降低农药化肥的使用量^[31]。本研究通过大量筛选工作从辣椒根围土壤中得到生防、溶磷、固氮及解钾微生物, 并定量测定其特性, 得到优良防病促生菌株 323 株, 其中, 生防菌对辣椒根腐病原的最高抑菌率为 83.5%, 与陈建爱等^[32]所筛选的黄绿木霉效果相当, 高于曲春鹤等^[10]所筛选的辣椒根腐病拮抗细菌的防效, 这可能与菌种不同及环境因素有关。最优溶有机磷、溶无机磷、固氮及解钾菌株的功能高出目前所报道促生菌的 10 倍^[33-35], 但占比较小或者只有个别, 如固氮菌除 XP167 具有超强的固氮能力外, 其他菌株的固氮能力均在 0.183 g/L 之下, 由此可见, 多数菌株的促生能力都集中在特定范围内, 究其原因, 可能和本研究所采集的土壤样品多、筛选工作量大且及时有关, 因此筛选得到了异常高效的促生菌株。另外, 本研究发现, 通过对生防菌的抑菌率和

溶磷菌的溶磷量测定发现, 初筛中抑菌圈、溶磷圈较大的菌株在定量测定时其抑菌率、溶磷量并不一定高, 这与马骥毓等^[36]、李海云等^[37]的研究结果一致, 因此, 我们不能仅通过抑菌圈、溶磷圈直径大小去定量确定某一菌株的抑菌及溶磷能力。

单一的菌株在实际应用过程中效果并不理想^[38-39], 因此, 本研究在菌剂复配前进行了互作效应研究, 并测定了其抑菌、溶磷、固氮及解钾能力, 发现了 6 个优良组合, 其协同效应良好。但本研究仅简单地按照 1:1 的比例将各菌株进行了组合, 并未研究其最佳配比, 而合适的配比能使菌剂的功能进一步提升^[40], 所以, 各组合的防病促生功能还有很大的提升空间。

菌剂是否能长久稳定地发挥防病促生作用最直观的表现除植物生长状态、生物量及产量之外, 还取决于其是否能在根围定殖及对土壤生态产生良好的影响, 改变其生态结构, 形成良性循环^[41]。本研究所制成的 2 种微生物菌剂 TFI 和 TCI 均有良好的防病促生作用, 辣椒的株高、分枝数、生物量等均增加明显, 防效良好。通过对土壤养分、酶活性、土壤微生物生物量碳研究表明其活化了土壤环境, 原因在于

一是碱解氮、速效钾、速效磷等含量均有所增加, 更有利于植物吸收, 促进植物生长; 二是过氧化氢酶能反应土壤能量代谢、脲酶能反映土壤氮代谢、蔗糖酶能反映土壤碳代谢、碱性磷酸酶则能反映土壤磷代谢的情况, 本研究发现使用菌剂后土壤过氧化氢酶活性降低, 证明其根围土壤中有害物质减少^[42], 脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶活性升高说明土壤中氮、碳、磷元素代谢旺盛, 土壤肥力水平得到了提升^[43], 土壤微生物生物量碳的升高也验证说明了同样的问题。除此之外, 菌剂中的各种菌株能否在植物根围土壤中定殖是其稳定性及起效时间的长短的关键因素^[44], 本研究中所制成 2 种菌剂中的 8 菌株均具有固氮作用, 因此以土壤基因库中固氮酶基因的相对丰度、好气性自生固氮菌和嫌气性自生固氮菌的含量来反映菌株的定殖与起效情况^[28]。结果表明, 土壤固氮酶基因 *nifH* 的相对丰度、好气性自生固氮菌和嫌气性自生固氮菌的含量均显著增加, 说明 2 种菌剂的各种菌株在辣椒根围土壤中活性或定殖良好, 能有效发挥防病促生作用, 且 TFI 的增幅明显高于 TCI, 说明菌剂 TFI 的固氮性能更好, 与优良组合固氮量的测定结果一致。但本研究仅限于室内盆栽条件下, 众所周知, 大田环境气候、土壤条件更为复杂^[45], 田间应用试验及最佳使用方法等还需要进一步研究。

参考文献

- [1] Ikeda K. Role of perithecia as an inoculum source for stem rot type of pepper root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *Piperis* (teleomorph: *Nectria haematococca* f. sp. *Piperis*). *Journal of General Plant Pathology*, 2010, 76(4): 241–246.
- [2] Pérez-Hernández A, Serrano-Alonso Y, Aguilar-Pérez MI, Gómez-Uroz R, Gómez-Vázquez J. Damping-off and root rot of pepper caused by *Fusarium oxysporum* in Almería Province, Spain. *Plant Disease*, 2014, 98(8): 1159.
- [3] Jaber LR, Alananbeh KM. Fungal entomopathogens as endophytes reduce several species of *Fusarium* causing crown and root rot in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Biological Control*, 2018, 126: 117–126.
- [4] Bagheri LM, Nasr-Esfahani M, Abdossi V, Naderi D. Analysis of candidate genes expression associated with defense responses to root and collar rot disease caused by *Phytophthora capsici* in peppers *Capsicum annuum*. *Genomics*, 2020, 112(3): 2309–2317.
- [5] Sasanelli N, D'Addabbo T, Mancini L. Suppressive effect of composted olive mill wastes soil amendments on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Acta Horticulturae*, 2011, 914: 229–231.
- [6] 姜飞, 刘业霞, 刘伟, 郑楠, 王洪涛, 艾希珍. 嫁接辣椒根腐病抗性及其与苯丙烷类物质代谢的关系. *中国蔬菜*, 2010, 8: 46–52.
Jiang F, Liu YX, Liu W, Zheng N, Wang HT, Ai XZ. Relationship between root rot resistance and phenylalaninoid metabolism in graft *Capsicum*. *China Vegetables*, 2010, 8: 46–52. (in Chinese)
- [7] 高杜娟, 唐善军, 陈友德, 周斌. 水稻主要病害生物防治的研究进展. *中国农学通报*, 2019, 35(26): 140–147.
Gao DJ, Tang SJ, Chen YD, Zhou B. Biological control of major rice diseases: a review. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2019, 35(26): 140–147. (in Chinese)
- [8] Ezziyiani M, Requena ME, Egea-Gilabert C, Candela ME. Biological control of *Phytophthora* root rot of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in combination. *Journal of Phytopathology*, 2007, 155(6): 342–349.
- [9] Ma Y, Chang ZZ, Zhao JT, Zhou MG. Antifungal activity of *Penicillium striatisporum* Pst10 and its biocontrol effect on *Phytophthora* root rot of chilli pepper. *Biological Control*, 2008, 44(1): 24–31.
- [10] 曲春鹤, 何付丽, 刘培福, 纪明山, 赵长山, 高黎力. 辣椒根腐病拮抗细菌的筛选、鉴定及其抑菌促生作用. *东北农业大学学报*, 2012, 43(7): 89–94.
Qu CH, He FL, Liu PF, Ji MS, Zhao CS, Gao LL. Selection and identification of antagonistic bacteria against *Fusarium solani* and its effect. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2012, 43(7): 89–94. (in Chinese)
- [11] 朱辉, 姚良同, 田方, 杜秉海, 丁延芹. 辣椒根腐病拮抗细菌的筛选及其生物学特性研究. *生物技术通报*, 2008(1): 156–159.

- Zhu H, Yao LT, Tian F, Du BH, Ding YQ. Screening and study on biological characteristics of antagonistic bacteria against *Fusarium solani*. *Biotechnology Bulletin*, 2008(1): 156–159. (in Chinese)
- [12] 陈建爱, 周善跃, 杨焕明, 裘纪莹, 杜方岭. 黄绿木霉 T1010 防治辣椒根腐病茄镰孢. *农学学报*, 2012, 2(10): 14–18, 25.
Chen JN, Zhou SY, Yang HM, Qiu JY, Du FL. Biocontrol of pepper root rot caused by *Fusarium solani* with *Trichoderma aureoviride* 1010. *Journal of Agriculture*, 2012, 2(10): 14–18, 25. (in Chinese)
- [13] Kloepper JW. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology*, 1981, 71(10): 1020.
- [14] Tariq M, Ali Q, Khan A, Khan GA, Rashid B, Rahi MS, Ali A, Nasir IA, Husnain T. Yield potential study of *Capsicum annum* L. under the application of PGPR. *Advances in Life Science and Technology*, 2014, 1(4): 202–207.
- [15] Mandyal P, Kaushal R, Sharma K, Kaushal M. Evaluation of native PGPR isolates in bell pepper for enhanced growth, yield and fruit quality. *International Journal of Farm Sciences*, 2012, 2(2): 28–35.
- [16] 吕雅悠, 于迪, 丁方丽, 朴凤植, 申顺善. 促植物生长根际细菌 A21-4 对田间辣椒生长及根际土壤微生态环境的影响. *中国生物防治学报*, 2016, 32(1): 86–92.
Lü YY, Yu D, Ding FL, Piao FZ, Shen SS. Effects of PGPR strain A21-4 on growth and rhizosphere soil characters of pepper in field. *Chinese Journal of Biological Control*, 2016, 32(1): 86–92. (in Chinese)
- [17] 黄文茂, 詹永发, 王欢, 韩丽珍. PGPR 菌剂对辣椒的促生效应及根际土壤细菌的响应研究. *中国土壤与肥料*, 2020(5): 152–160.
Huang WM, Zhan YF, Wang H, Han LZ. Growth-promoting effects of PGPR microbial agent on chilli and response of rhizosphere soil bacteria. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2020(5): 152–160. (in Chinese)
- [18] 黄文茂, 易伦, 彭思云, 黄承森, 程代松, 韩丽珍. PGPR 复合菌剂对辣椒生长及根际土壤微生物结构的影响. *中国土壤与肥料*, 2020(1): 195–201.
Huang WM, Yi L, Peng SY, Huang CS, Cheng DS, Han LZ. Effect of PGPR compound bacterial agents on growth of chilli and changes of soil microbial structure. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2020(1): 195–201. (in Chinese)
- [19] 何付丽, 曲春鹤, 赵长山, 刘培福, 黄长权, 纪明山. 生防细菌 II621 防治辣椒根腐病的效果及对辣椒的促生作用, 2010 First International Conference on Cellular, Molecular Biology, Biophysics and Bioengineering (CMBB), 2010: 129–132.
He FL, Qu CH, Zhao CS, Liu PF, Huang CQ, Ji MS. Pepper growth promoting and disease inhabiting by an antagonistic bacterium II621. 2010 First International Conference on Cellular, Molecular Biology, Biophysics and Bioengineering (CMBB). 2010: 129–132. (in Chinese)
- [20] 杨茱, 高婷, 李滢璟, 魏崇瑶, 高森, 马莲菊. 辣椒根际促生菌的分离筛选及抗病促生特性研究. *生物技术通报*, 2020, 36(5): 104–109.
Yang M, Gao T, Li YJ, Wei CY, Gao M, Ma LJ. Isolation and screening of plant growth-promoting rhizobacteria in pepper and their disease-resistant growth-promoting characteristics. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(5): 104–109. (in Chinese)
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [22] 李雪萍, 李建宏, 李敏权, 孟宪刚. 浆水中降胆固醇乳酸菌的筛选及其功能特性. *微生物学报*, 2015, 55(8): 1001–1009.
Li XP, Li JH, Li MQ, Meng XG. Screening and functional properties of cholesteroldegrading lactic acid bacteria from Jiangshui. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(8): 1001–1009. (in Chinese)
- [23] 李林, 齐军山, 李长松, 徐作珽. 主要辣椒品种对疫病、根腐病的抗性鉴定. *山东农业科学*, 2001, 33(2): 29–30.
Li L, Qi JS, Li CS, Xu ZT. Identification of resistance of main pepper varieties to blight and root rot. *Shandong Agricultural Sciences*, 2001, 33(2): 29–30. (in Chinese)
- [24] 张兆永, 李菊英, 祖皮艳木·买买提, 叶庆富. 艾比湖流域小尺度农田土壤养分的空间分布和盐渍化风险评价. *生态学报*, 2017, 37(3): 819–828.
Zhang ZY, Li JY, Zulpiya M, Ye QF. Spatial heterogeneity of soil nutrients and salinization risk assessment of a small-scale farmland in Ebinur Basin in Northwest China. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(3): 819–828. (in Chinese)
- [25] 李雪萍, 李建宏, 漆永红, 郭炜, 李潇, 李敏权. 青稞根腐病对根际土壤微生物及酶活性的影响. *生态学报*, 2017, 37(17): 5640–5649.
Li XP, Li JH, Qi YH, Guo W, Li X, Li MQ. Effects of naked barley root rot on rhizosphere soil

- microorganisms and enzyme activity. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(17): 5640–5649. (in Chinese)
- [26] Wu J, Joergensen RG, Pommerening B, Chaussod R, Brookes PC. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22(8): 1167–1169.
- [27] 吴小虎. 氟磺胺草醚对土壤微生物多样性的影响. 中国农业科学院博士学位论文, 2014.
- [28] 姚拓, 龙瑞军, 师尚礼, 张德罡. 高寒草地不同扰动生境土壤微生物氮素生理群数量特征研究. *土壤学报*, 2007, 44(1): 122–129.
Yao T, Long RJ, Shi SL, Zhang DG. Populations of soil nitrogen bacteria groups in alpine steppe of different disturbed habitats in Tianzhu. *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(1): 122–129. (in Chinese)
- [29] Kandel SL, Joubert PM, Doty SL. Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganisms*, 2017, 5(4): 77.
- [30] Verma SK, Kingsley K, Irizarry I, Bergen M, Kharwar RN, White JF Jr. Seed-vectored endophytic bacteria modulate development of rice seedlings. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 122(6): 1680–1691.
- [31] Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(9): 4951–4959.
- [32] 陈建爱, 贾梦莹, 陈为京. PDA 中水含量对固体培养黄绿木霉 T1010 分生孢子生长发育的影响. *中国农学通报*, 2020, 36(15): 106–114.
Chen JA, Jia MY, Chen WJ. Water content in PDA: influence on growth and development of *Trichoderma aureoviride* T1010 conidia on solid medium. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(15): 106–114. (in Chinese)
- [33] Mahdi I. Potential application of selected phosphate solubilizing bacteria isolated from *Chenopodium quinoa* Willd rhizosphere in early plant growthpromotion. *Enzyme Engineering*, 2021, 10(5): 3.
- [34] 吴红艳, 于淼, 冯健, 冯敏. 利用 GFP 标记研究秸秆还田对假单胞菌 PW9 土壤定殖能力的影响. *西南农业学报*, 2021, 34(6): 1257–1261.
Wu HY, Yu M, Feng J, Feng M. Effect of straw mulching on soil colonization of *Pseudomonas* PW₉ by GFP marker. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34(6): 1257–1261. (in Chinese)
- [35] 撤冬荣, 侯栋, 姚拓, 兰晓君, 朱瑞婷. 莴笋根部促生菌筛选与促生特性测定. *干旱地区农业研究*, 2020, 38(3): 127–133.
Han DR, Hou D, Yao T, Lan XJ, Zhu RT. Lettuce root growth promoting bacteria screening and determination of growth promoting properties. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2020, 38(3): 127–133. (in Chinese)
- [36] 马骢毓, 姚拓. 黑果枸杞根际促生菌筛选与特性研究. *草原与草坪*, 2018, 38(2): 73–79.
Ma CY, Yao T. Identification of plant growth promoting rhizobacteria *Lycium ruthenicum* and their effectiveness. *Grassland and Turf*, 2018, 38(2): 73–79. (in Chinese)
- [37] 李海云, 姚拓, 张榕, 张洁, 李智燕, 荣良燕, 路晓雯, 杨晓蕾, 夏东慧, 罗慧琴. 红三叶根际溶磷菌株分泌有机酸与溶磷能力的相关性研究. *草业学报*, 2018, 27(12): 113–121.
Li HY, Yao T, Zhang R, Zhang J, Li ZY, Rong LY, Lu XW, Yang XL, Xia DH, Luo HQ. Relationship between organic acids secreted from rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria in *Trifolium pratense* and phosphate-solubilizing ability. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(12): 113–121. (in Chinese)
- [38] 赖宝春, 戴瑞卿, 林明辉, 吴振强, 王家瑞. 一株拮抗放线菌的鉴定及其对香蕉枯萎病的生防效应. *南方农业学报*, 2020, 51(4): 836–843.
Lai BC, Dai RQ, Lin MH, Wu ZQ, Wang JR. Identification of an antagonistic actinomycetes and its biological control effect on banana *Fusarium* wilt. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(4): 836–843. (in Chinese)
- [39] 晋治波, 解玲, 王幼珊, 孔宇, 刘芳, 朱正杰. 不同基质中番茄菌根苗的培育及其抗南方根结线虫的效果. *菌物学报*, 2021, 40(5): 1087–1098.
Jin ZB, Xie L, Wang YS, Kong Y, Liu F, Zhu ZJ. Effects of different cultivation substrates on the tomato seedling mycorrhization and *Meloidogyne incognita* infestation under condition of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycosystema*, 2021, 40(5): 1087–1098. (in Chinese)
- [40] 叶明, 陶涛, 陈吴西. 一种解磷菌剂的研制及其应用效果. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2010, 36(6): 657–661.
Ye M, Tao T, Chen WX. Development and application of a phosphate-dissolving bacteria agent. *Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences*, 2010, 36(6): 657–661. (in Chinese)
- [41] 毛晓洁, 王新民, 赵英, 周义清, 孙建光. 多功能固氮菌筛选及其在土壤生态修复中的应用. *生物技术*

- 通报, 2017, 33(10): 148–155.
- Mao XJ, Wang XM, Zhao Y, Zhou YQ, Sun JG. Screening of multi-functional nitrogen fixing bacteria and their application in soil ecological restoration. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(10): 148–155. (in Chinese)
- [42] 刘云芬, 王薇薇, 祖艳侠, 梅焱, 郑佳秋, 吴永成, 郭军, 陈中兵. 过氧化氢酶在植物抗逆中的研究进展. *大麦与谷类科学*, 2019, 36(1): 5–8.
- Liu YF, Wang WW, Zu YX, Mei Y, Zheng JQ, Wu YC, Guo J, Chen ZB. Research progress on the effects of catalase on plant stress tolerance. *Barley and Cereal Sciences*, 2019, 36(1): 5–8. (in Chinese)
- [43] 林青, 曾军, 史应武, 杨红梅, 张涛, 高雁, 楚敏, 王斌, 王金鑫, 孙九胜, 霍向东. 聚对苯二甲酸-己二酸丁二酯生物降解膜对土壤酶活性的影响. *新疆农业科学*, 2021, 58(1): 125–132.
- Lin Q, Zeng J, Shi YW, Yang HM, Zhang T, Gao Y, Chu M, Wang B, Wang JX, Sun JS, Huo XD. Effect of poly (butylene adipate-co-terephthalate)-biodegradable mulch film on soil enzyme activity. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2021, 58(1): 125–132. (in Chinese)
- [44] Kloepper JW, Beauchamp CJ. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 1992, 38(12): 1219–1232.
- [45] 徐立鸿, 苏远平, 梁毓明. 面向控制的温室系统小气候环境模型要求与现状. *农业工程学报*, 2013, 29(19): 1–15.
- Xu LH, Su YP, Liang YM. Requirement and current situation of control-oriented microclimate environmental model in greenhouse system. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 29(19): 1–15. (in Chinese)

(本文责编 李磊)