



三种蓝莓根际细菌的分离及其对蓝莓苗生长发育的影响

陈树莓¹, 俞正杰¹, 时潇琼¹, 李里², 覃月映¹, 朱逸晨¹, 张春媚¹, 邢珂¹, 秦盛^{1*}

1 江苏师范大学生命科学学院 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116

2 江苏闰中农业科技有限公司, 江苏 新沂 221423

陈树莓, 俞正杰, 时潇琼, 李里, 覃月映, 朱逸晨, 张春媚, 邢珂, 秦盛. 三种蓝莓根际细菌的分离及其对蓝莓苗生长发育的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(2): 565-580.

CHEN Shumei, YU Zhengjie, SHI Xiaoqiong, LI Li, QIN Yueying, ZHU Yichen, ZHANG Chunmei, XING Ke, QIN Sheng. Bacteria isolated from rhizosphere soils of three blueberry varieties affect the growth and development of blueberry seedlings[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(2): 565-580.

摘要:【目的】从3种蓝莓根际土壤中分离细菌, 探究蓝莓根际土壤细菌多样性, 并筛选具有产酸、促生长、抑菌性能的菌株, 为蓝莓专用微生物肥料的研究提供优质菌株资源和理论基础。【方法】选用5种培养基分离3种蓝莓根际土壤细菌, 并进行16S rRNA基因测序和系统发育分析。筛选产酸、产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和铁载体、固氮、溶磷和抑制灰葡萄孢生长的菌株, 挑选最适菌株制备菌剂进行蓝莓苗盆栽实验验证促生能力, 并检测菌剂对蓝莓元素吸收和根际土壤肥力的影响。【结果】从3种蓝莓根际土壤分离得到124株细菌, 挑选70株代表性菌株进行16S rRNA基因测序, 分布于3个门21个属, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)和红球菌属(*Rhodococcus*)为优势分离菌群。代表性菌株中, 21.4%的菌株能产酸, 21.4%的菌株产吲哚-3-乙酸, 47.1%的菌株具有固氮潜力, 65.7%的菌株具有解磷能力, 14.3%的菌株能产铁载体。少量菌株同时具有产酸、产IAA、固氮、解磷和抑菌等能力。选取具有产酸和多种促生特征的菌株绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129 进行盆栽蓝莓苗处理, 发现2株菌均能显著促进蓝莓苗的生长发育并调控根际土壤 pH, 其中菌株 CSM-70 处理还显著促进了蓝莓叶

资助项目: 国家自然科学基金(32270004); 江苏省政策引导类计划(苏北科技专项)(XZ-SZ202146); 徐州市重点研发计划(KC22077)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32270004), the Jiangsu Province Policy Guidance Program (Subei Science and Technology Special Project) (XZ-SZ202146), and the Key Research and Development Program of Xuzhou City (KC22077).

*Corresponding author. E-mail: shengqin@jsnu.edu.cn

Received: 2023-07-18; Accepted: 2023-09-04; Published online: 2023-09-11

片氮、磷元素的吸收，提升了土壤速效钾、碱解氮的含量。【结论】蓝莓根际细菌多样性高且蕴藏着丰富的促生长菌株，绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129 能够促进蓝莓苗生长、调控根际土壤 pH 和肥力，并促进植株养分吸收，具有蓝莓专用微生物菌剂研制与应用的潜力。

关键词：蓝莓；根际促生菌；多样性；微生物菌剂

Bacteria isolated from rhizosphere soils of three blueberry varieties affect the growth and development of blueberry seedlings

CHEN Shumei¹, YU Zhengjie¹, SHI Xiaoqiong¹, LI Li², QIN Yueying¹, ZHU Yichen¹, ZHANG Chunmei¹, XING Ke¹, QIN Sheng^{1*}

¹ The Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plant of Jiangsu Province, School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu, China

² Jiangsu Runzhong Agricultural Technology Co., Ltd., Xinyi 221423, Jiangsu, China

Abstract: [Objective] We isolated bacteria from the rhizosphere soils of three blueberry varieties, explored the bacterial diversity, and screened out the strains with acid-producing, plant growth-promoting, and antifungal properties, aiming to provide high-quality strain resources and a theoretical basis for the research on blueberry-specialized microbial fertilizers. [Methods] Five different media were used to isolate the bacteria from rhizosphere soils, and 16S rRNA gene sequencing and phylogenetic analysis were performed. The strains capable of producing acid, indole-3-acetic acid (IAA), and siderophores, fixing nitrogen, solubilizing phosphorus, and inhibiting the growth of *Botrytis cinerea* were screened out. The suitable strains with excellent properties were selected and then inoculated in blueberry seedlings cultivated in pots. The effects on the growth and element absorption of the seedlings and fertility of rhizosphere soil were examined. [Results] A total of 124 strains were isolated from the rhizosphere soils of three blueberry varieties. Seventy representative strains were selected for 16S rRNA gene sequencing, belonging to 21 genera of 3 phyla, among which *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, and *Rhodococcus* were the dominant bacteria. Among the representative strains, 21.4%, 21.4%, 47.1%, 65.7%, and 14.3% could produce acids, produce IAA, fix nitrogen, solubilize phosphorus, and secrete siderophores, respectively. A few strains displayed the abilities of producing acids and IAA, fixing nitrogen, solubilizing phosphorus, and inhibiting *B. cinerea* simultaneously. *Pseudomonas chlororaphis* CSM-70 and *Pseudomonas piscium* CSM-129 with acid-producing and growth-promoting characteristics were selected and inoculated in blueberry seedlings. Both strains significantly promoted the growth and development of blueberry seedlings and regulated the pH of the rhizosphere soil. In addition, strain CSM-70 significantly promoted the absorption of nitrogen and phosphorus in blueberry leaves and increased the content of available potassium and available nitrogen in the

soil. **[Conclusion]** The blueberry rhizosphere soil has high bacterial diversity and harbors abundant plant growth-promoting strains. *P. chlororaphis* CSM-70 and *P. piscium* CSM-129 can promote the growth of blueberry seedlings, regulate rhizosphere soil pH and fertility, and promote nutrient absorption, demonstrating the potential of serving as blueberry-specific microbial fertilizers.

Keywords: blueberry; plant growth-promoting bacteria in rhizosphere; diversity; microbial fertilizers

蓝莓(*Vaccinium* sp.)是杜鹃花科越橘属的浆果类经济林木, 又被称为越桔、蓝浆果。蓝莓果实口感酸甜, 并富含维生素 C、花青素、类黄酮等多种功能活性成分, 具有抗氧化、保护视力、增强免疫力、抗糖尿病和改善脑功能等功效, 被联合国粮食及农业组织列为人类五大健康食品之一, 具有“浆果之王”的称号, 具有很高的营养价值和经济价值^[1-2]。蓝莓既可以鲜食, 也可深加工, 目前我国多地均有规模化栽培, 其产业链市场潜力较大。然而, 蓝莓植株根系不发达、根系吸收养分能力较差, 喜好偏酸土壤环境, 植株生长对土壤条件的特殊要求导致蓝莓的人工扩大栽培受到限制, 严重制约了蓝莓的种植与产业发展。当前蓝莓种植中需要大量使用草炭作为改良基质, 并施加硫磺粉等酸性肥料, 然而草炭、硫磺粉等资源有限, 而且成本高, 长期使用易破坏土壤生态平衡, 造成环境污染^[3-4]。此外, 蓝莓根系不发达, 需要使用较多的肥料, 化学肥料的长期和大量使用也会引起土壤板结、元素失衡、蓝莓生长状况差以及发生病害等情况。因此, 在促进蓝莓植株生长的同时, 降低蓝莓种植土壤的改良成本对蓝莓产业的高质量发展至关重要。

根际是植物吸收养分的门户, 植物根际促生细菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是分布在根际的一类有益微生物。PGPR能促进植物根系生长发育、调控和改善根际土

壤环境、抑制植物病原菌, 对促进植物生长和维持土壤健康具有重要意义。已有研究表明, PGPR 通过分泌植物生长激素、非共生固氮、溶解土壤难溶性磷、产胞外多糖、挥发性有机物、1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶和铁载体等, 以及作为“助手细菌”影响根瘤菌、丛枝菌根真菌与植物的共生的方式, 直接或间接影响植物生长、诱导抗性并影响植物免疫, 以及抵抗盐、干旱、重金属等胁迫造成的损伤^[5-8]。作为植物的“第二基因组”, 根际微生物与植物生长发育和健康联系密切, 在植物营养元素吸收与病害防治、根际微生态调控及农业发展中具有重要应用潜力^[9]。当前, 对蓝莓根际微生物群的解析以及促生菌的研究主要集中在真菌方面, 例如粒毛盘菌属(*Lachnum*)和 *Cadophora* 属的菌株 ECHh 和 Ed6d 能够定殖于蓝莓根际, 促进植株生长^[10]。内生真菌 *Anteaglonium* sp. T010 促进蓝莓组培苗生长并改变植物激素和类黄酮生物合成相关基因的表达^[11]。对蓝莓根际 PGPR 产酸、促进蓝莓生长发育以及调控根际土壤生态的研究仅有少量的报道, 如纺锤形芽孢杆菌 L13 促进蓝莓生长, 调节土壤细菌群落结构和土壤肥力^[12]。虽然关于 PGPR 与蓝莓宿主互作的研究已有少量报道, 但相关细菌的属种分布还非常有限, 其促生机制也不清晰, 亟待进一步探究。

本研究以 3 个五年生种植的蓝莓品种为材

料,一方面,分离蓝莓根际细菌,探究根际土壤细菌多样性;另一方面,对分离菌株产酸、促生长特性和抑制蓝莓病原真菌活性进行筛选,选取产酸并具有多种促生特征的菌株进行蓝莓盆栽回接实验,探究根际功能细菌对蓝莓生长发育,氮、磷等养分吸收,以及土壤肥力的影响,为利用 PGPR 促进蓝莓生长、实现蓝莓种植土壤改良提供研究思路、优良菌种资源和科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 土壤来源

蓝莓根际土壤样品于 2022 年 2 月采集于江苏省新沂市润中蓝莓园(N34°24', E118°29')。用铲子去除地表的枝叶和杂质后,用枝剪获取表层土以下 5–10 cm 范围的侧根少许,抖去根表的大块土壤后,用刷子收集根上剩余的土壤。共采集天后(Tianhou)、薄雾(Bowu)、莱克西(Laikexi) 3 种五年生的蓝莓根际土壤 9 份,存于无菌样品袋中,用冰袋低温保存运回实验室进行微生物的分离和筛选。土壤样品酸碱度经 pH 计检测为 4.61–5.45。

1.1.2 培养基

细菌分离培养基包括海藻糖-脯氨酸培养基^[13]、淀粉-精氨酸培养基^[14]、ISP 5 培养基、营养琼脂(nutrient agar, NA)、LB 培养基,将培养基 pH 值调至 5.0 左右。

菌株促生特性筛选培养基:无氮培养基、无机磷培养基、铬天青 S (Chrome Azurol S, CAS)培养基、溴甲酚紫显色培养基、发酵培养基、有氮培养基、产淀粉酶培养基和羧甲基纤维素培养基参照文献[15–17]配制。以上培养基配好后 121 °C 灭菌 20 min。

1.1.3 主要试剂和仪器

CAS 及常规化学试剂均为分析纯,生工生物工程(上海)股份有限公司;PCR-Mix 体系,2×Rapid Taq Master Mix 试剂盒,南京诺唯赞生物科技有限公司;梯度 PCR 仪,Heal Force 公司;凝胶成像仪,杭州申花科技有限公司;16S rRNA 基因扩增所用 PCR 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 三种蓝莓根际土壤细菌分离

分别取每种蓝莓根际土壤样品 5 g,加入无菌水 45 mL,漩涡振荡混匀后吸取 1 mL 移入另一装有 9 mL 无菌水的离心管中,制成 10^{-2} 浓度,以此类推进行梯度稀释,分别取 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释度的 200 μ L 上清液,均匀涂布于 pH 为 5.0 左右的 5 种细菌分离培养基上,30 °C 恒温培养箱培养 2–10 d,挑取菌落形态各不相同的单菌落在 LB 培养基上四区划线纯化,纯菌用 LB 斜面和甘油保藏法分别于 4 °C 和 –80 °C 保存。

1.3 菌株 16S rRNA 基因测序及系统发育分析

根据菌落特点从分离菌株中选择 70 株有形态代表性的菌株进行 16S rRNA 基因序列的测定以及系统发育分析。采用酶法小量 DNA 提取试剂盒提取待测菌株的总 DNA,PCR 扩增采用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27f (5'-CAGAGTTTGATCCTGGCT-3')和 1942r (5'-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3')^[17]。PCR 反应体系(50 μ L):PCR-Mix 25 μ L,模板 DNA 2 μ L,上下游引物各 1 μ L,蒸馏水补足 50 μ L。热循环参数如下:94 °C 预变性 4 min;94 °C 变性 1 min,56 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 2 min,循环 30 次;72 °C 延伸 10 min。通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳回收目的条带,将其送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,所得序列在 NCBI 和 EzBioCloud 数据库中进行同源性分析,并与典型种进行序列

相似性比较。利用 Mega-X^[18]软件采用邻接法 (neighbor-joining) 建立系统发育树, 并用在线软件 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 对系统发育树进行美化。菌株序列已经提交至 NCBI, 登录号为: OR272362-OR272431。

1.4 根际细菌促生长特征和产酸能力筛选

菌株固氮能力测定: 将菌株点接于无氮培养基上, 30 °C 培养 3 d, 观察其生长情况, 经过 5 次转接后仍能生长, 说明菌株具有固氮潜力^[14]。

菌株解磷能力测定: 将菌株点接于无机磷培养基上, 30 °C 培养 2-4 d, 观察有无溶磷圈, 并计算溶磷圈直径与菌落直径的比值, 比值越大说明溶解无机磷能力越强^[14]。

菌株产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA) 能力测定: 采用 Salkowski 法参照文献[19]测定, 首先配制 2.5 mg/mL 的色氨酸溶液, 用微孔滤膜(0.22 μm)过滤除菌。将有氮培养基分装于试管中, 每管 4 mL, 121 °C 灭菌后加入 1 mL 过滤除菌的色氨酸溶液, 使色氨酸终浓度为 0.5 mg/mL。将 30 °C 摇床培养 3 d 的菌株培养液与 Sackowcki's 显色剂混合, 室温避光显色 20 min 后观察颜色, 若为红色或粉红色说明产 IAA。通过 IAA 浓度与 OD_{530} 的标准关系曲线计算菌株产生 IAA 的具体浓度, 每组实验重复 3 次^[14]。

菌株产铁载体能力测定: 在 CAS 检测培养基上点接待测菌株, 30 °C 培养, 待菌落长成后, 直接观察菌落周围是否存在橙色的铁载体分泌圈, 有则为阳性, 具有产铁载体能力^[15]。

菌株产淀粉酶能力测定: 将菌株点接于产淀粉酶筛选培养基上, 30 °C 培养 2-3 d, 在菌株周围滴加碘液, 观察是否有透明圈出现, 如果有透明圈, 则说明菌株具有产淀粉酶活性^[15]。

菌株产纤维素酶能力测定: 将菌株点接于羧甲基纤维素培养基, 30 °C 培养 2-3 d, 在菌株周围滴加刚果红染色 10 min, 再用 1 mol/L

NaCl 脱色 15 min, 观察有无透明圈^[15]。

菌株产酸能力测定: 将菌株点接于溴甲酚紫显色培养基(pH 6.8)上, 30 °C 培养 2 d, 若菌落周围颜色由紫色变为黄色, 则说明菌株产酸。将阳性菌株接种至液体发酵培养基(pH 7.6)中, 30 °C、180 r/min 培养 2 d 后测量培养基中 pH 值, 每组 3 次重复^[16]。

1.5 菌株溶血性及对灰葡萄孢的抑菌性测定

1.5.1 菌株溶血性测试

将菌株划线接种于直径为 7 cm 的哥伦比亚血琼脂培养基平板(江门市凯林贸易有限公司), 30 °C 培养 1-2 d, 观察菌落周围有无溶血透明圈, 若有则说明菌株具有溶血性。

1.5.2 菌株抑菌能力测定

将菌株以上下各划一条直线的方式接种于 LB 培养基, 直线距培养皿底部和顶部统一距离, 30 °C 培养 2 d 后, 在培养皿中央接种蓝莓病原真菌灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*, GDMCC 3.47) 5 mm 菌饼, 22 °C 培养 4-5 d, 直至对照的灰葡萄孢长满, 取出观察结果, 测量菌饼直径并计算抑菌率。抑菌率(%)=(对照组病原菌直径-实验组病原菌直径)/(对照组病原菌直径-菌饼初始直径)×100, 每组实验 3 次重复。

1.6 蓝莓盆栽实验

将筛选出的 2 株菌绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129 分别接种至液体发酵培养基, 30 °C、180 r/min 培养 2 d, 用无菌水将菌液浓度稀释至 1×10^7 CFU/mL。蓝莓苗为绿宝石苔藓苗(株高 ≤ 15 cm), 盆栽基质为泥炭、椰糠和珍珠岩按比例配制的蓝莓栽培专用土, 每棵蓝莓苗根际灌菌 30 mL, 每 10 d 处理 1 次, 共灌菌 5 次, 对照组用不接菌的等体积培养基处理, 每组重复 7 棵苗。两个月后收集植株, 观察比较表型, 并采集根际土壤, 检测土壤理化性质。土壤 pH 用 pH 计测定, 植株氮、磷、

钾元素含量采用凯式定氮法、钒钼黄比色法、火焰光度法测定,土壤有机质、碱解氮、有效磷和速效钾的测定分别采用重铬酸钾硫酸氧化比色法、碱解扩散法、 NaHCO_3 浸提-钼锑抗比色法和 NH_4Ac 浸提-火焰光度法测定^[20-21],实验重复 3 次。

1.7 数据统计和分析

数据采用“平均值±标准差”表示,处理用 Microsoft Excel 2020 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA),用不同字母表示处理间具有显著性差异水平 ($P < 0.05$),柱状图使用 GraphPad Prism 8.0 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 三种蓝莓根际土壤细菌的分离

分别用 5 种不同培养基从 3 种蓝莓土样中分离获得 124 株细菌。如图 1A 所示,其中天后蓝莓土样分离细菌 53 株,占总菌数的 43%;薄雾蓝莓根际分离到 44 株,占分离菌总数的 35%;莱克西蓝莓根际分离获得 27 株,占总菌数的 22%。如图 1B 所示,5 种培养基中分离菌数最多的是 LB (44 株)和淀粉精氨酸培养基(31 株),

其次为 NA 培养基(24 株)、海藻糖脯氨酸培养基(19 株)和甘油天门冬酰胺培养基(6 株)。

2.2 三种蓝莓根际土壤细菌的多样性分析

从分离细菌中选择 70 株有形态代表性的菌株进行测序,结果发现在分类学上隶属于 3 个门 21 个属(图 2)。其中,放线菌门(*Actinomycetota*)最多,占比 42%,其次为芽孢杆菌门(*Bacillota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*),分别占比 34% 和 24% (图 2A)。从属水平来看,芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 18 株)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 12 株)、链霉菌属 (*Streptomyces*, 8 株)、红球菌属 (*Rhodococcus*, 5 株)为优势分离菌属。还分离到节杆菌属 (*Arthrobacter*)、微球菌属 (*Micrococcus*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、考克氏菌属 (*Kocuria*)和植物杆菌属 (*Plantibacter*) 等常见细菌属。此外,还分离得到假节杆菌属 (*Pseudarthrobacter*)、短波单胞菌属 (*Brevundimonas*)、魏茨曼氏菌 (*Weizmannia*)和贪噬菌属 (*Variovorax*) 等不常见类群(图 2B),说明蓝莓根际蕴藏着较为丰富的细菌类群。如图 3 所示,利用邻接法构建的系统发育树表明,测序的菌株分布于 21 个细

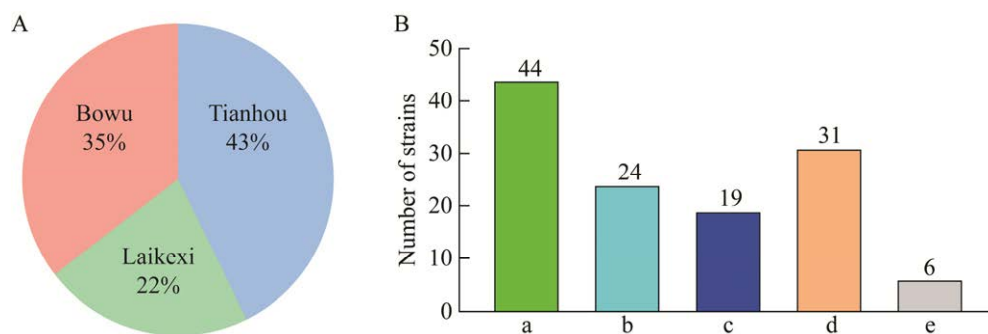


图 1 不同蓝莓土样和不同培养基分离的细菌数

Figure 1 The strains number of bacteria from different blueberry soil samples and different isolation media. A: Percentage of bacteria isolated from three types of blueberry (Bowu, Tianhou, and Laikexi) rhizosphere soils. B: Number of bacteria obtained from different media. a: LB medium; b: NA medium; c: Trehalose-proline medium; d: Starch-arginine medium; e: ISP 5 medium.

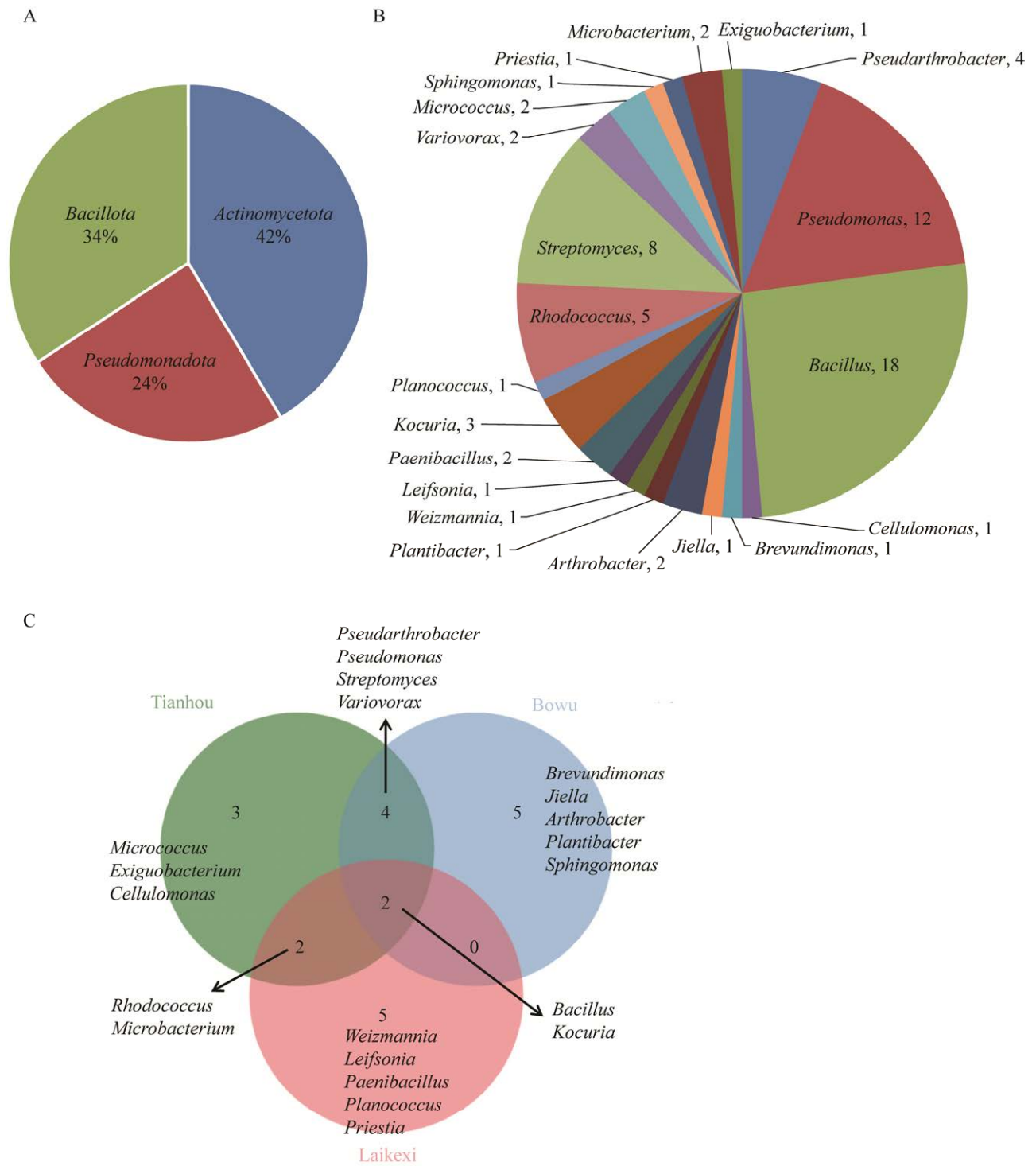


图 2 三种蓝莓根际土壤细菌的多样性和分布统计

Figure 2 Diversity and distribution statistics of rhizosphere bacteria from three blueberry soil samples. A: Phylum level statistics analysis. B: Genus level statistics analysis. C: Venn diagram showing comparison of isolates at the genus level from three types of blueberry.

菌属的多个物种, 多样性较高。从测序的菌株来源来看, 来源于天后蓝莓根际的细菌隶属于 11 个属, 其中芽孢杆菌属(31.25%)、假单胞菌属(21.87%)、红球菌属(12.5%)为优势菌属; 来源于薄雾蓝莓根际的细菌隶属于 11 个属, 其中链霉菌属(20.0%)、假单胞菌属(20.0%)、芽孢杆菌属(16.0%)、假节杆菌属(12.0%)为优势菌属; 来源于莱克西蓝莓根际的细菌隶属于 9 属, 其中芽孢杆菌属(30.7%)、类芽孢杆菌属(15.4%)为优势菌属。芽孢杆菌属和考克氏菌属在 3 种蓝莓根际土中均能分离到, 只在天后蓝莓根际土分离到的有微球菌和纤维单胞菌等 3 个属, 魏茨曼氏菌属、雷夫松氏菌属(*Leifsonia*)、动性球菌属(*Planococcus*)、类芽孢杆菌属和普里斯特氏菌(*Priestia*)等 5 属细菌只在莱克西蓝莓根际分离获得, 而节杆菌属、鞘氨醇单胞菌属等 5 属细菌只在薄雾蓝莓根际分离到(图 2C), 说明不同品种蓝莓根际细菌的属种分布具有一定的特异性。

2.3 根际细菌促生活性的筛选

如图 4 所示, 测序的 70 株根际细菌中, 有 15 株菌具有产 IAA 能力, 占总检测菌株的 21.4%; 有 46 株菌具有解磷活性, 占总检测菌株的 65.7%; 有 17 株菌能分解淀粉, 占总检测菌株的 24.3%; 有 33 株菌有固氮潜能, 占总检测菌株的 47.1%; 有 15 株菌有产酸能力, 占总检测菌株的 21.4%; 有 10 株菌具有产铁载体能力, 占总检测菌株的 14.3%; 有 18 株菌具有分解纤维素能力, 占总检测菌株的 25.7%。说明田间生长的蓝莓根际土壤中具有较多的潜在促生细菌。发现 CSM-18、CSM-46、CSM-70、CSM-105 和 CSM-129 等 5 株菌具有较强的产酸能力, 并具备多种促生长特性(表 1)。其中鉴定为双鱼假单胞菌(*Pseudomonas piscium*)的 CSM-129 菌株产 IAA 含量最高, 达 13.02 mg/L。该菌株

无溶血性, 能溶解无机磷, 并对蓝莓病原真菌灰葡萄孢抑菌性较强(图 5)。属于绿针假单胞菌(*Pseudomonas chlororaphis*)的 CSM-70 菌株具有产酸能力的同时, 也具有较强的抑菌、溶解无机磷能力, 并能产生铁载体和在无氮培养基上生长。菌株 CSM-18 的溶解无机磷能力最强, 且抑菌性也为 100%。这些菌株可以作为候选菌株, 用于后续蓝莓生长促进的评价。综合各种产酸、促生特性和溶血性结果, 选择菌株 CSM-70 和 CSM-129 用于后续蓝莓苗的盆栽灌根实验。

2.4 盆栽实验促生长评价

如图 6 所示, 用菌株 CSM-70 和 CSM-129 的菌液回接蓝莓苗 2 个月后, 发现 CSM-70 和 CSM-129 处理组的蓝莓植株长势更好, 表现在叶片增多、植株变高、分枝数增加, 且根重明显增加。统计分析表明(图 7), CSM-70 和 CSM-129 处理后的蓝莓苗平均株高由 25.58 cm 增加到 33.00 cm 和 33.74 cm, 平均分枝数由 3.8 增加到 5.4 和 6.4, 根的干重分别增加了 4.0 倍和 4.6 倍, 叶片数分别增加了 90.4%和 92.2%, 且平均最大叶片直径由 3.80 cm 增加到了 4.94 cm 和 5.16 cm。此外, 对照根际土壤的 pH 平均值为 4.32, 而 CSM-70 和 CSM-129 处理后下降到 4.23 和 3.68, 菌株 CSM-129 的土壤调酸能力尤其明显。

2.5 促生菌株对蓝莓养分吸收和土壤理化性质的影响

对照和菌剂处理的蓝莓叶片中的氮(N)、磷(P)、钾(K)元素的含量测定结果如表 2 所示。菌株 CSM-70 处理与 CK 相比, 氮、磷元素的含量显著增加, 分别为 6.22%和 47.44%。CSM-70 处理后的叶中钾含量, 以及菌株 CSM-129 处理后的叶片中的氮、磷和钾元素的含量虽然都比对照增加, 但是统计学上差异性不显著。对蓝

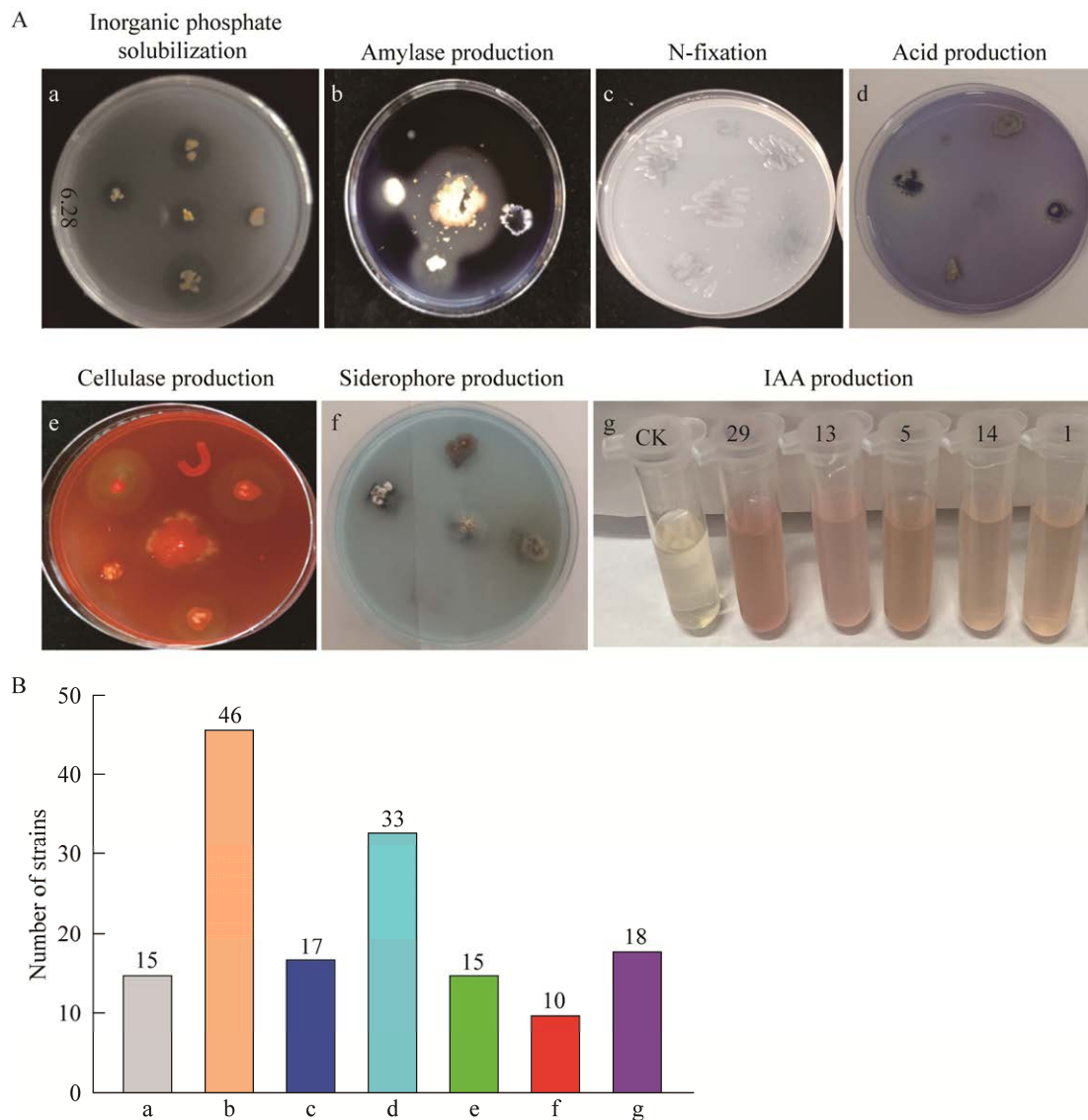


图 4 蓝莓根际细菌促生长特性的筛选与统计结果

Figure 4 Screening and statistical results of growth promoting characteristics of blueberry rhizosphere bacteria. A: Positive screening results for different growth promoting characteristics, inorganic phosphate solubilization, growth on nitrogen-free medium, siderophore and IAA production, amylase and cellulase production, and the acid production. a: IAA production; b: Inorganic phosphate solubilization; c: Amylase production; d: N-fixation; e: Acid production; f: Siderophore production; g: Cellulase production. B: Number of strains with different growth promoting characteristics.

莓根际土壤的理化检测表明，菌株 CSM-70 处理和对照相比，土壤的速效钾、碱解氮、有机质和有效磷均增加，其中速效钾、碱解氮的含量显著性提升($P < 0.05$)，分别增加了 25.29%和

30.94%。菌株 CSM-129 处理后，土壤中速效钾、碱解氮、有机质和有效磷的含量分别增加了 8.05%、9.35%、8.33%和 6.67%，但未达到显著性差异。

表 1 五株根际细菌的促生长特性和抑菌能力

Table 1 Growth promoting characteristics and antimicrobial ability of five rhizosphere strains

Strains	Identification result	Hemolysis	Acid production and pH value	IAA value	Nitrogen-fixation	Phosphate solubilization (D/d)	Siderophore production	Antifungal percentage (%)
CSM-18	<i>Pseudomonas kairouanensis</i>	+	6.23±0.14	-	-	6.80	-	100
CSM-46	<i>Paenibacillus taichungensis</i>	-	4.38±0.08	-	-	-	-	93.6
CSM-70	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aureofaciens</i>	-	5.37±0.03	-	+	2.40	+	100
CSM-105	<i>Bacillus velezensis</i>	-	6.42±0.04	8.27±0.02	+	1.50	-	100
CSM-129	<i>Pseudomonas piscium</i>	-	4.87±0.02	13.02±0.91	+	2.60	-	100

D: Transparent zone diameter (mm); d: Colony diameter (mm); +: Positive; -: Negative.

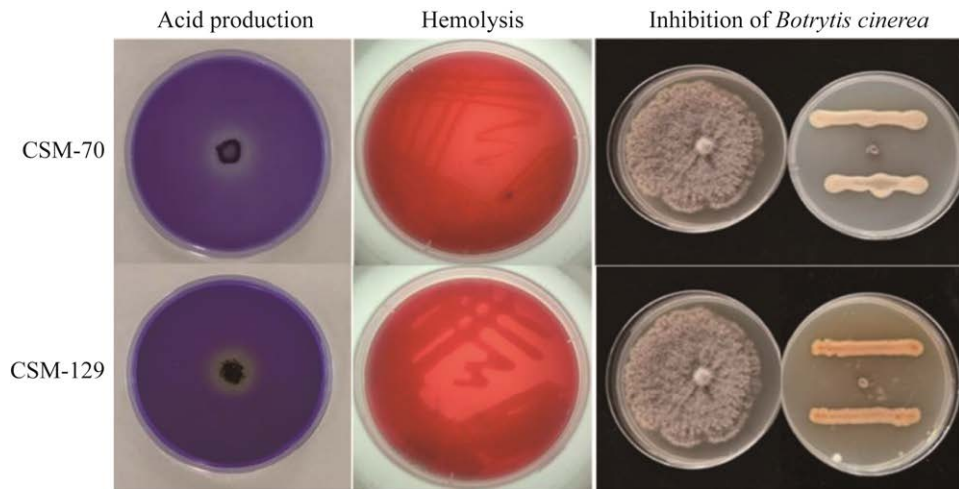


图 5 菌株 CSM-70 和 CSM-129 产酸、溶血性和抑制灰葡萄孢检测平板

Figure 5 Detection for acid production, hemolysis, and inhibition of *Botrytis cinerea* by CSM-70 and CSM-129.

图 6 菌株 CSM-70 和 CSM-129 处理后的盆栽蓝莓苗表型变化

Figure 6 Phenotypic changes in potted blueberry seedlings after root irrigation with strains CSM-70 and CSM-129.

3 讨论与结论

蓝莓果实因美味且营养价值高而受到消费者的青睐，因此，蓝莓在我国的人工种植面积逐年增加，蓝莓产业正在迅猛发展。然而蓝莓根系不发达，根毛少且根浅，根系多分布于浅层土壤，且蓝莓植株喜爱酸性、疏松和有机质含量高的土壤，使得蓝莓的栽培基质和繁育条件较为苛刻^[1]。因此，对蓝莓种植土壤的酸碱度、肥力及环境条件等进行改良非常必要和迫切。植物根际微生物中的益生菌具有活化根区养分、促进植物生长、增强植物抗逆和抑制土传病害等功能，在促进化肥减施增效和农业绿

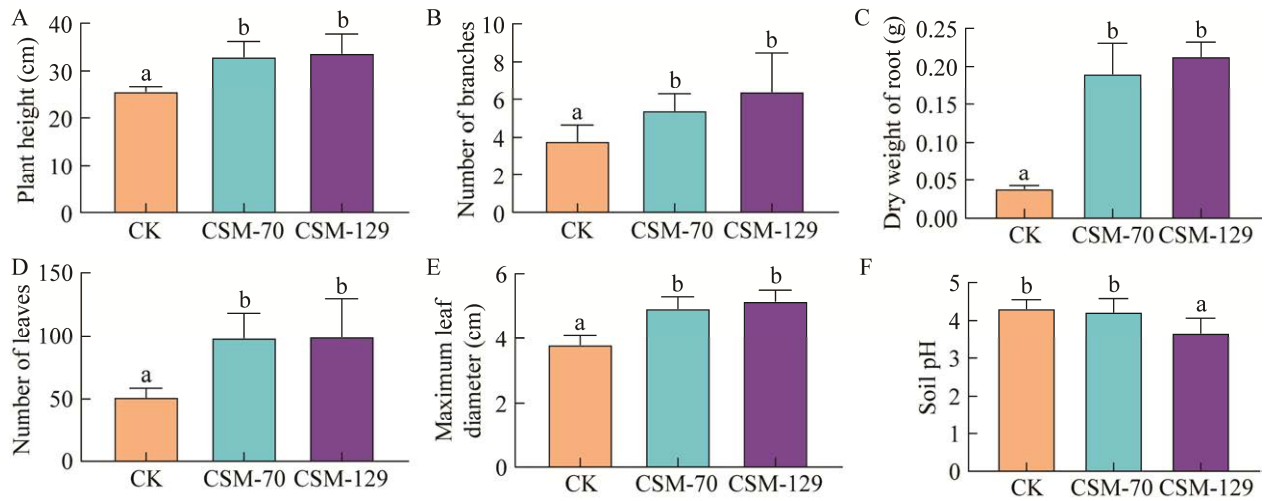


图 7 菌株 CSM-70 和 CSM-129 处理后的盆栽蓝莓苗生长情况和根际土壤 pH 值变化

Figure 7 Phenotypic data of potted blueberry seedlings treated with strains CSM-70 and CSM-129. A: Plant height. B: Number of branches. C: Dry weight of root. D: Number of leaves. E: Maximum leaf diameter. F: Soil pH value. Different small letters represent significant differences ($P < 0.05$).

表 2 菌剂处理对蓝莓叶片养分含量和根际土壤理化性质的影响

Table 2 Effect of bacteria treatments on nutrient content in leaves of blueberry and physicochemical properties of rhizosphere soil

Groups	Element absorption in leaves			Physical and chemical properties of rhizosphere soil			
	N (g/kg)	P (g/kg)	K (g/kg)	Available K (g/kg)	Hydrolytic N (g/kg)	Organic matter (g/kg)	Available P (g/kg)
CK	15.91±0.395	0.78±0.080	8.09±0.471	0.87±0.053	1.39±0.006	544.18±21.036	0.15±0.049
CSM-70	16.9±0.070*	1.15±0.171*	8.28±0.092	1.09±0.089*	1.82±0.139*	569.81±8.404	0.19±0.039
CSM-129	16.47±0.299	1.07±0.001	8.33±0.228	0.94±0.006	1.52±0.044	589.53±13.559	0.16±0.001

Results are expressed as the mean±SD ($n=3$). The asterisk indicates a significant difference between the control group (CK) and the treatment group ($P < 0.05$).

色发展中具有巨大应用潜力,是一种环境友好、经济有效的措施^[22]。蓝莓根毛的缺失使其对菌根具有较高的依赖性,已有报道发现菌根真菌可以促进蓝莓的生长。例如,尤式备等研究发现,从地栽“夏普蓝”和“奥尼尔”蓝莓根系中分离得到的 12 株蓝莓内生菌根真菌中,有 4 株真菌接种后显著促进了蓝莓生长、根系活力,并对根际的酸化效果显著^[3]。Ważny 等也发现菌根真菌和内生真菌能促进蓝莓生长和根系活力^[23]。虽然 PGPR 在植物生长发育中扮演着重要角色,但是有关根际细菌对蓝莓生长的影响报道

较少。山东农业大学杜秉海团队研究表明,蓝莓根际纺锤形芽孢杆菌 L13 能够促进蓝莓生长与养分吸收,增加蓝莓根际土壤有机质含量,提高根际土壤微生物数量,调控根际微环境,具有较好的应用潜力^[12,24]。王梦姣等从蓝莓根际分离到 12 株具有产生长素、解磷能力的促生细菌,分布于布丘氏菌属、伯克霍尔德菌属以及假单胞菌属^[25]。发掘并开发蓝莓根际益生菌资源,是促进蓝莓生长并改良种植土壤环境的有益新途径,但是目前可以开发应用的蓝莓 PGPR 菌种十分有限。

本研究从 3 种植了 5 年的蓝莓根际土壤中分离出 124 株细菌, 经鉴定属于 3 个细菌门(放线菌门、芽孢杆菌门和假单胞菌门)的 21 个属, 其中芽孢杆菌、假单胞菌、链霉菌的分离频率最高。这 3 个属也是土壤中的优势类群, 在很多植物根际被分离报道。测序的 18 株芽孢杆菌中, 包括蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)、特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*)和高地芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)等常见的优良促生和防病种^[26-28], 说明多年生蓝莓根际土壤蕴藏着较为多样的细菌和潜在的植物益生菌资源。然而 3 种蓝莓品种根际也存在各自独特的细菌类群, 如微球菌、纤维单胞菌和微小杆菌 3 个属的菌株只在天后蓝莓根际分离得到。近期, 有研究者利用扩增子测序对陕西汉中定军山的 3 种蓝莓根际微生物群落进行研究, 发现酸杆菌门、放线菌门和变形菌门为 3 种蓝莓根际共同优势细菌门, 子囊菌门为共同优势真菌门, 不同品种的蓝莓根际微生物群落结构存在显著性差异^[29], 结合本研究的结果, 说明品种类型是影响蓝莓根际微生物群落结构和多样性的重要因素。

对分离菌株进行产酸和促生长等特征筛选, 发现产酸菌株 15 株, 产 IAA 的细菌 15 株, 有解磷能力的 46 株, 无氮培养基上生长的 33 株, 产铁载体的 10 株。该结果证明, 在蓝莓根际土壤中有丰富的产酸、促生菌资源, 这可能是根际微生物长期定殖适应蓝莓酸性土壤环境的结果。CSM-46、CSM-70 和 CSM-129 这 3 株菌产酸能力较强, 在发酵培养基(pH 7.6)中培养 48 h 后, 培养基的 pH 值降至 6.0 以下。综合多种促生长特征、溶血性、对蓝莓病原真菌灰葡萄孢的抑菌性, 选择了绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129 菌株灌根回接蓝莓苗, CSM-70 和 CSM-129 处理组的蓝莓植株长势更

好, 叶片数、植株高度、分枝数和根重等指标显著增加, 具有产 IAA 等多种促生特性可能是 2 株菌促进蓝莓苗生长的重要机制之一。此外, 还发现 CSM-129 处理后的根际土壤酸度下降。已有研究表明, 土壤酸度的降低可以提高蓝莓根系代谢活力, 从而有利于养分吸收, 促进蓝莓生长^[30]。氮、磷等营养元素在蓝莓生长发育过程中也至关重要, 2 株菌处理后不仅促进蓝莓生长, 也促进了叶片中氮、磷元素的积累, 以及土壤有机质、速效钾等养分含量的增加。因此, 2 株促生菌不仅能够促进蓝莓植株生长, 还具有酸化根际环境的作用, 而对根际环境以及肥力的调控也可能是其改善蓝莓生长的重要原因之一。绿针假单胞菌的不同菌株能够产生吩嗪化合物、铁载体、挥发性物质等, 具有促生长和广谱抑菌性等特点, 具有较好的植物促生长和生防能力, 已经在农业上广泛应用^[31-32]。如绿针假单胞菌 JD37 是一株具有生防作用的植物根际促生菌, 对番茄、玉米、小麦等多种农作物具有促生防病功能, 已被开发成微生物肥料^[33]。双鱼假单胞菌为 2019 年从虹鳟鱼中分离到的一个新种^[34], 目前其防病促生特性鲜有研究报道。近期有研究发现番茄根际双鱼假单胞菌 P1E3 具有较强溶磷和抑制尖孢镰刀菌能力, 并能促进盆栽番茄苗的生长^[35], 而绿针假单胞菌和双鱼假单胞菌对蓝莓的生长影响尚未有报道。本文报道了同时具有产酸和促生长能力的根际绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129, 拓展了蓝莓根际益生菌开发的菌种资源, 而它们对田间栽培蓝莓生长的影响、土壤肥力的提升、土壤微生物生态环境的调控效应, 以及完整生育期内对蓝莓果实产量及品质的影响还需要进一步研究验证。

综上所述, 本研究从 3 种多年生的蓝莓根际分离到 124 株根际细菌, 筛选获得了多种产

酸、产 IAA、铁载体等促生特性的功能菌株，并探究了 2 株促生菌绿针假单胞菌 CSM-70 和双鱼假单胞菌 CSM-129 对盆栽蓝莓苗的促生效果。发现 2 株菌无溶血性且具有强抑菌性，不仅显著促进蓝莓苗生长发育，还具有酸化根际土壤，促进氮、磷元素吸收，以及增加土壤肥力的功效，在蓝莓微生态制剂应用方面具有较好的开发潜力。

参考文献

- [1] 李丽敏, 吴林, 郝庆升, 李亚东. 中国蓝莓市场现状及产业发展对策研究[J]. 中国果树, 2011(3): 70-73.
LI LM, WU L, HAO QS, LI YD. Research on blueberry market status and industrial development countermeasures in China[J]. *China Fruits*, 2011(3): 70-73 (in Chinese).
- [2] DUAN YM, TARAFDAR A, CHAURASIA D, SINGH A, BHARGAVA PC, YANG JF, LI ZL, NI XH, TIAN Y, LI HK, AWASTHI MK. Blueberry fruit valorization and valuable constituents: a review[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 381: 109890.
- [3] 尤式备, 徐佳慧, 郭怡文, 廖芳蕾, 杨莉, 陈文荣, 郭卫东. 蓝莓根毛缺失的机制及内生菌根真菌的促生作用[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2020, 46(4): 417-427.
YOU SB, XU JH, GUO YW, LIAO FL, YANG L, CHEN WR, GUO WD. Mechanism of root hair deficiency and growth-promoting effect of endophytic mycorrhizal fungi in blueberry[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences Edition)*, 2020, 46(4): 417-427 (in Chinese).
- [4] 江勇. 蓝莓绿色生态种植技术[J]. 热带农业工程, 2023, 47(2): 91-93.
JIANG Y. The green ecological planting technology of blueberry[J]. *Tropical Agricultural Engineering*, 2023, 47(2): 91-93 (in Chinese).
- [5] 沈仁芳, 赵学强. 土壤微生物在植物获得养分中的作用[J]. 生态学报, 2015, 35(20): 6584-6591.
SHEN RF, ZHAO XQ. Role of soil microbes in the acquisition of nutrients by plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(20): 6584-6591 (in Chinese).
- [6] XU ZH, LIU YP, ZHANG N, XUN WB, FENG HC, MIAO YZ, SHAO JH, SHEN QR, ZHANG RF. Chemical communication in plant-microbe beneficial interactions: a toolbox for precise management of beneficial microbes[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2023, 72: 102269.
- [7] QIN S, FENG WW, ZHANG YJ, WANG TT, XIONG YW, XING K. Diversity of bacterial microbiota of coastal halophyte *Limonium sinense* and amelioration of salinity stress damage by symbiotic plant growth-promoting actinobacterium *Glutamicibacter halophytocola* KLBMP 5180[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(19): e01533-18.
- [8] SANGWAN S, PRASANNA R. Mycorrhizae helper bacteria: unlocking their potential as bioenhancers of plant-arbuscular mycorrhizal fungal associations[J]. *Microbial Ecology*, 2022, 84(1): 1-10.
- [9] CHEPSERGON J, MOLELEKI LN. Rhizosphere bacterial interactions and impact on plant health[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2023, 73: 102297.
- [10] BIZABANI C, DAMES J. Effects of inoculating *Lachnum* and *Cadophora* isolates on the growth of *Vaccinium corymbosum*[J]. *Microbiological Research*, 2015, 181: 68-74.
- [11] WU FL, LI Y, TIAN W, SUN YD, CHEN FY, ZHANG YR, ZHAI YX, ZHANG J, SU HY, WANG L. A novel dark septate fungal endophyte positively affected blueberry growth and changed the expression of plant genes involved in phytohormone and flavonoid biosynthesis[J]. *Tree Physiology*, 2020, 40(8): 1080-1094.
- [12] 王君, 杜秉海, 马海林, 刘方春, 丁延芹, 姚良同, 李丽. 纺锤形芽孢杆菌 L13 对蓝莓生长及根际土壤生物学特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22(5): 917-925.
WANG J, DU BH, MA HL, LIU FC, DING YQ, YAO LT, LI L. Effect of *Bacillus fusiformis* L13 on blueberry growth and rhizosphere soil biological characteristics[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2016, 22(5): 917-925 (in Chinese).
- [13] QIN S, LI J, CHEN HH, ZHAO GZ, ZHU WY, JIANG CL, XU LH, LI WJ. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(19): 6176-6186.
- [14] QIN S, ZHANG YJ, YUAN B, XU PY, XING K, WANG J, JIANG JH. Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense*

- (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress[J]. *Plant and Soil*, 2014, 374(1): 753-766.
- [15] 卞光凯, 张越己, 秦盛, 邢珂, 谢焕松, 蒋继宏. 南通沿海滩涂耐盐植物重金属抗性内生细菌的筛选及生物多样性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(11): 1538-1547. BIAN GK, ZHANG YJ, QIN S, XING K, XIE HS, JIANG JH. Isolation and biodiversity of heavy metal tolerant endophytic bacteria from halotolerant plant species located in coastal shoal of Nantong[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(11): 1538-1547 (in Chinese).
- [16] 王君. 蓝莓根际促生细菌的筛选、鉴定及其促生效果[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2016. WANG J. Screening, identification and growth-promoting effects of PGPR from blueberry rhizosphere[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [17] LIU JQ, CHEN SM, ZHANG CM, XU MJ, XING K, LI CG, LI K, ZHANG YQ, QIN S. Abundant and diverse endophytic bacteria associated with medicinal plant *Arctium lappa* L. and their potential for host plant growth promoting[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2022, 115(12): 1405-1420.
- [18] KUMAR S, STECHER G, LI M, KNYAZ C, TAMURA K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [19] 冯维维, 武美贤, 司雨婷, 邢珂, 秦盛, 蒋继宏, 彭学. 中华补血草内生与根际具 ACC 脱氨酶活性细菌的筛选及其生物多样性[J]. *微生物学报*, 2016, 56(4): 719-728. FENG WW, WU MX, SI YT, XING K, QIN S, JIANG JH, PENG X. Screening and biodiversity of endophytic and rhizosphere bacteria containing ACC deaminase from halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(4): 719-728 (in Chinese).
- [20] 孙玉芳, 王曦. 元素分析仪测定土壤氮、碳含量的不确定度评定[J]. *分析测试技术与仪器*, 2016, 22(4): 240-245. SUN YF, WANG X. Uncertainty evaluation of measurement results for determination of total carbon and nitrogen in soil samples using elemental analyzer[J]. *Analysis and Testing Technology and Instruments*, 2016, 22(4): 240-245 (in Chinese).
- [21] 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).
- [22] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中大有所为的植物第二基因组[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 1-2. ZHANG RF. Rhizosphere microbiota: a promising plant second genome in green agricultural development[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 1-2 (in Chinese).
- [23] WAŻNY R, JĘDRZEJCZYK RJ, ROZPADEK P, DOMKA A, TURNAU K. Biotization of highbush blueberry with ericoid mycorrhizal and endophytic fungi improves plant growth and vitality[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(12): 4775-4786.
- [24] 孙运杰, 马海林, 刘方春, 丁延芹, 邢尚军, 丁凤菊. 植物根际促生菌对蓝莓根际土壤养分与微生物数量的影响[J]. *山东农业科学*, 2014, 46(1): 66-69. SUN YJ, MA HL, LIU FC, DING YQ, XING SJ, DING FJ. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on soil nutrient and microbial quantity in blueberry rhizosphere[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2014, 46(1): 66-69 (in Chinese).
- [25] 王梦姣, 郑天骄. 蓝莓根际土壤微生物群落结构及促生菌筛选[J]. *西南农业学报*, 2023, 36(5): 983-991. WANG MJ, ZHENG TJ. Microbial community structure and screening of growth-promoting bacteria in blueberry rhizosphere soil[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 36(5): 983-991 (in Chinese).
- [26] KIM MJ, SHIM CK, PARK JH. Control efficacy of *Bacillus velezensis* AFB2-2 against potato late blight caused by *Phytophthora infestans* in organic potato cultivation[J]. *The Plant Pathology Journal*, 2021, 37(6): 580-595.
- [27] JIAO HW, XU WH, HU YL, TIAN RM, WANG ZG. Citric acid in rice root exudates enhanced the colonization and plant growth-promoting ability of *Bacillus altitudinis* LZP02[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(6): e0100222.
- [28] XU MJ, GUO JH, LI TJ, ZHANG CM, PENG X, XING K, QIN S. Antibiotic effects of volatiles produced by *Bacillus tequilensis* XK29 against the black spot disease caused by *Ceratocystis fimbriata* in postharvest sweet potato[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(44): 13045-13054.
- [29] 郑天骄, 王梦姣. 不同蓝莓根际微生物群落结构多

- 样性及其差异[J]. 北方园艺, 2022, 22(14): 76-86.
- ZHENG TJ, WANG MJ. Diversity and differences of rhizosphere microbial community structure in different blueberries[J]. *Northern Horticulture*, 2022(14): 76-86 (in Chinese).
- [30] 陈雅彬, 李永强, 孙琳, 沈妍雯, 陈文荣, 刘霞, 郭卫东. 非酸性根际土壤对蓝莓铁元素吸收及其代谢相关基因表达的影响[J]. *园艺学报*, 2015, 42(2): 233-242.
- CHEN YB, LI YQ, SUN L, SHEN YW, CHEN WR, LIU X, GUO WD. Effects of non-acid rhizosphere pH on the iron elements uptakes and expressions of iron metabolism related genes in blueberry[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(2): 233-242 (in Chinese).
- [31] 张春媚, 徐明洁, 李雪威, 邢珂, 秦盛. 绿针假单胞菌的研究进展及农业应用潜力[J]. *微生物学报*, 2022, 62(2): 391-402.
- ZHANG CM, XU MJ, LI XW, XING K, QIN S. Recent research advances and application potential in agriculture of *Pseudomonas chlororaphis*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(2): 391-402 (in Chinese).
- [32] ZHANG Y, LI TJ, XU MJ, GUO JH, ZHANG CM, FENG ZZ, PENG X, LI ZY, XING K, QIN S. Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* SPS-41 on oxidative stress and mitochondrial dysfunction of *Ceratocystis fimbriata*[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 173: 104777.
- [33] 王婧, 方蕊, 蒋秋悦, 肖明. 载体和保护剂对桔黄假单胞菌 JD37 微生物肥料活性的影响[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2012, 41(2): 179-185.
- WANG J, FANG R, JIANG QY, XIAO M. Effects of carrier and protective agent on the biological activities of *Pseudomonas aurantiaca* JD37 strain microbial fertilizer[J]. *Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences Edition)*, 2012, 41(2): 179-185 (in Chinese).
- [34] DUMAN M, MULET M, ALTUN S, SATICIOGLU IB, GOMILA M, LALUCAT J, GARCIA-VALDES E. *Pseudomonas piscium* sp. nov., *Pseudomonas pisciculturae* sp. nov., *Pseudomonas mucoides* sp. nov. and *Pseudomonas neuropathica* sp. nov. isolated from rainbow trout[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 71(3): 004714.
- [35] 李凤. 番茄根际微生物组分析及防病促生菌的筛选[D]. 济南: 齐鲁工业大学硕士学位论文, 2022.
- LI F. Analysis of tomato rhizosphere microbiome and screening of functional bacteria for disease control and growth promotion[D]. Jinan: Master's Thesis of Qilu University of Technology, 2022 (in Chinese).