

一株大蒜根际细菌特性研究及其对田间大蒜产量和土壤酶活性的影响

崔 曼^{1, 2}, 尹彦舒², 张梦琦¹, 卜 宁¹, 陈云云², 高 森^{2*}, 马莲菊^{1*}

(1. 沈阳师范大学生命科学学院, 辽宁 沈阳 110034; 2. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 / 农业农村部农业微生物资源收集与保藏重点实验室, 北京 100081)

摘 要: 植物根际促生菌 (Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 具有抵抗植物病害, 促进植物生长等作用。以前期在山东省金乡县连作大蒜根际土壤中分离获得的根际细菌为研究对象, 筛选获得对大蒜根腐病原菌 H5 (*Setophoma terrestris*) 和 H9 (*Fusarium solani*) 具有较好拮抗效果的菌株 DS7, 经 16S rRNA 基因序列分析初步鉴定, 该菌株属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*)。功能特性研究显示: 菌株 *Bacillus* sp. DS7 对 H5 抑制率达到 51.72%, 对 H9 抑制率达到 42.31%; 菌株 DS7 具有产 IAA (19.29 ± 0) $\mu\text{g/mL}$ 、产铁载体、水解蛋白、溶磷等能力, 但不具有产 ACC 脱氨酶能力。田间接种试验结果显示: 与不接菌的对照相比, 接种菌株 DS7 后大蒜产量提高 15.42%; 土壤的蔗糖酶活性和脲酶活性高于对照土壤, 过氧化氢酶活性低于对照土壤。综上, 植物根际促生菌 *Bacillus* sp. DS7 具有多种功能特性, 可以增加田间大蒜产量, 改良土壤, 是潜在的微生物肥料生产菌种。

关键词: 大蒜; 根际细菌; 功能特性; 土壤酶活

植物根际促生细菌 (PGPR) 是定殖在植物根部周围, 具有促进植物生长, 增加植物产量, 抵抗植物病害等功能的一类有益菌群^[1-2]。大部分 PGPR 具有生物固氮、溶磷、产生植物激素和分泌抗生素等特性及生防作用或其中之一的某种特性^[3]。根际环境中, 植物与微生物形成的有益关系可使植物健康生长并且维持土壤肥力^[4]。近年来植物根际促生菌的筛选成为研究热点^[5]。到目前为止关于 PGPR 的报道遍布国内外, 其中包括常见的芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 等^[1-2, 6-10]。大蒜是一种忌连作的蔬菜, 作物连作是导致大蒜品质和产量下降的主要因素。连作障碍产生的主要原因是由于土壤养分元素的不均衡、化感物质积累、土壤微生态及微生物区系变化等方面导致的^[11]。前人研究发现, 大蒜连作 15 ~ 20 年

后, 可导致土壤中酶活性降低, 产生明显的连作障碍现象^[12]。连作障碍产生后, 大蒜根腐病的发病情况也随之增加^[13]。本研究中的根际细菌为前期实验室人员在山东省金乡县大蒜田中收集的连作大蒜根际土壤, 在连作土壤中分离获得的根际细菌。筛选出对大蒜根腐病和其他植物上的病害病原菌具有拮抗作用的菌株进行功能特性、田间增产及对土壤有改良作用的菌株, 为更好的改善土壤, 解决大蒜产量及病害等多重问题发掘潜在菌株。

1 材料与方法

1.1 供试材料

根际微生物: 连作大蒜根部中分离纯化的细菌。

大蒜根腐病原真菌: H5 (*Setophoma terrestris*) 为前期实验室人员在有根腐病的大蒜根部分离得到的大蒜病原真菌, H9 (*Fusarium solani*) 由中国农业微生物菌株保藏中心提供。

1.2 培养基

对峙检验: PDA 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 蒸馏水 1 L, 琼脂 15 ~ 20 g, pH 值 7.0。

收稿日期: 2018-04-24; 录用日期: 2018-06-02

作者简介: 崔曼 (1994-), 女, 辽宁辽阳人, 硕士研究生, 主要从事微生物资源与应用研究。E-mail: 1224772821@qq.com。

通讯作者: 高森, E-mail: gaomiao@caas.cn; 马莲菊, E-mail: 744289467@qq.com。

产 HCN 能力检验: King's B 培养基: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, K_2HPO_4 1.5 g, 甘油 10 mL^[14], 1.8% 琼脂, 蛋白胨 20 g, pH 值 7.2。

产蛋白酶能力检验: 蛋白酶检测培养基^[14]。

溶解磷能力检验: 溶解有机磷能力: 有机磷卵黄培养基^[14]; 溶解无机磷能力: 无机磷培养基^[14]。

IAA 能力测定: DF 培养基^[14]。

ACC 能力测定: ADF 培养基^[14]。

固氮能力检验: 无氮培养基^[15]。

1.3 测定菌株对病原真菌的拮抗能力

采用两点对峙法^[16]。在 PDA 平板上, 用直径 5 mm 打孔器取大蒜根腐病原真菌菌饼接于距离平板圆 2 cm 处的一点上, 在同一直线距圆心等距反方向的另一点上滴加 2 μL 待测菌液, 每组设置 3 个重复。H9 及处理置于 28℃ 恒温培养箱中培养 7 d, H5 及处理置于 28℃ 恒温培养箱中培养 14 d, 测定抑菌半径, 计算抑菌率。

抑菌直径和抑菌率计算公式:

抑菌直径 = 对照菌落直径 - 处理菌落直径

抑菌率 (%) = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径 $\times 100$

1.4 菌株 16S rRNA 基因序列测定

1.4.1 菌株 16S rDNA 的 PCR 扩增

取单菌落, 于装有 100 μL 无菌水的 EP 管中混匀, 95℃ 水浴 15 min 后, 于 -20℃ 冰箱冷冻 1 min, 12 000 r/min 条件下离心 2 min, 4℃ 冰箱保存, 模板为上清液^[14]。PCR 扩增引物采用通用引物。扩增后的样品送往北京生工有限公司进行测序, 在 EzTaxon 数据库上将获得的序列进行序列比对。

1.4.2 菌株 *gyrB* 基因的 PCR 扩增

采用细菌 DNA 试剂盒方法提取菌株 DNA, 引物为: UP-1 和 UP-2r。反应过程为: 95℃ 5 min, 94℃ 1 min, 58℃ 1 min, 72℃ 2 min, 30 个循环, 72℃ 10 min。扩增后的样品处理同 1.4.1。

1.5 菌株促生特性测定及方法

1.5.1 溶解磷能力测定

收集了 2 μL 的细菌悬浮液, 然后将其接到有机磷和无机磷培养基中。 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 作为无机磷源, 新鲜蛋黄溶液作为有机磷源。每组 3 次重复, 放入培养箱 28℃, 14 d。是否有透明圈围绕形成, 来判定其是否具有溶解磷的能力。

1.5.2 固氮能力测定

挑取单菌落在无氮平板上划线, 28℃ 培养, 在第 3 d 时观察平板上菌株生长状况, 菌落可在无氮培养基中生长表示其具有固氮能力。对有固氮能力的细菌进行乙炔还原法测定固氮酶活性^[17]。并对具有固氮酶活性的菌株进行 *nifH* 基因的扩增, 反应过程为: 95℃ 1 min, 58℃ 1 min, 72℃ 1 min, 共 35 个循环。

固氮酶活性 [$\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, protein] = C_2H_4 (nmol) / [菌体蛋白量 (mg, protein) $\times$ 反应时间 (h)]。

1.5.3 IAA 能力测定

IAA 产生的能力用比色法测定^[18]。在 DF 培养基中接种菌株生长 24 h 后转移到含有 0.1% L 色氨酸的 DF 培养基中。置于 28℃ 培养箱中, 7 d 后, 8 000 r/min 离心 10 min。

悬浮液与 $\text{Fe}-\text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液 (1:2) 混合, 暗室放置 45 min, 通过测量 450 nm 处样品吸光度和标准吸光度, 绘制标准曲线。

1.5.4 ACC 脱氨酶活性菌株的筛选

参考 Glick^[19] 的方法, 在 5 mL 固氮液体培养基上接入菌种, 28℃ 200 r/min 条件下振荡培养 1 d, 吸取 0.1 mL 悬浮液至 5 mL 的 DF 培养基中, 同条件继续培养 1 d 后, 吸取 0.1 mL 悬浮液至 5 mL 的 ADF 培养基中, 同条件继续培养 1 ~ 2 d。将可在 ADF 培养基中生长的菌种再转接一次, 用不含 ACC 的 ADF 培养基为阴性对照。分别以不接菌的 ADF 和不含 ACC 的 ADF 培养基为对照, 测定 600 nm 处菌液的吸光度值, 确定 ACC 脱氨酶的阳性菌株。

1.5.5 产铁载体能力检测

采用蓝色定性检测培养基对菌株产铁载体能力进行定性测定^[20]。在 CAS 试验板上能产生橙色晕圈的菌株被鉴定为可产铁载体的阳性菌株。具有产铁载体能力。

1.6 田间接种

在田间小区 (每个小区 6 m^2) 中设置 2 组试验: 第一组: 施用 DS7 菌剂; 第二组: 不施用 DS7 菌剂的对照组。每块小区前后间隔 5 m, 每组试验进行 3 个平行重复。

1.7 土壤样品采集和酶活性测定

用蛇形 5 点采样法, 在田间小区中采集 5 ~ 20 cm 土样, 用于土壤酶活性的测定。播种前在小区内随机取样, 采集大蒜根际土壤样品。

采用高锰酸钾滴定法测定土壤过氧化氢酶活性；采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定脲酶活性；土壤蔗糖酶活性用 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定^[21]。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌株的筛选

供试根际细菌为前期在山东省金乡县大蒜田中采集的连作大蒜根际土壤中分离纯化的细菌，在 PDA 培养基上进行对峙实验，经两点对峙实验，发现菌株 DS7 对两种大蒜根腐病原真菌均有拮抗效果，DS7 对 H5 (*Setophoma terrestris*) 抑制率达到 51.72%，对 H9 (*Fusarium solani*) 抑制率达到 42.31% (图 1)。



图 1 菌株 DS7 对大蒜根腐病原真菌的拮抗能力

2.2 菌株 DS7 的 16S rRNA 基因序列分析

将菌株 DS7 基于 16S rDNA 获得的基因序列和基于 *gyrB* 获得的基因序列，分别与相近种属的基因序列在 EzTaxon 数据库中进行比对后，根据邻近法则结合 MEGA 7.0 软件建立系统发育进化树，如图 2、图 3。结合其菌落形态确定菌株 DS7 为解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)^[22]。

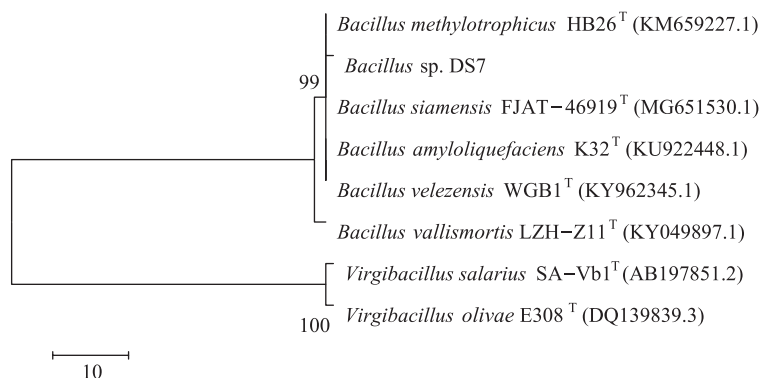


图 2 基于 16S rDNA 基因序列构建菌株 DS7 系统发育进化树

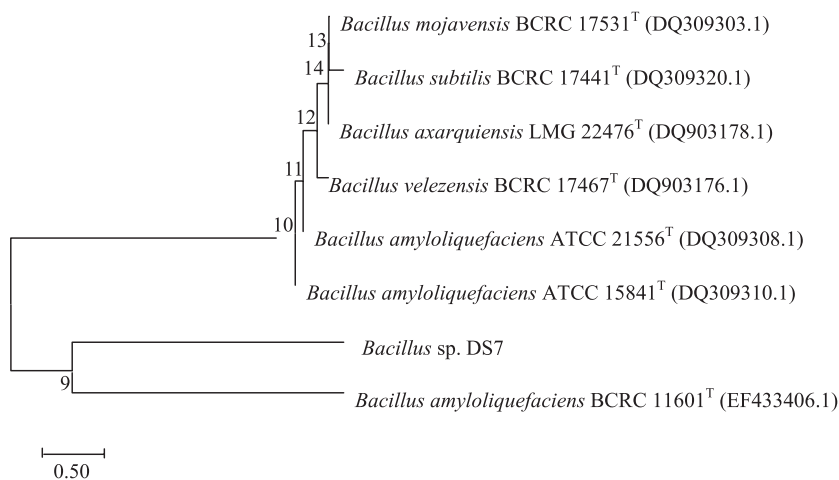


图 3 基于 *gyrB* 基因序列构建菌株 DS7 系统发育进化树

2.3 菌株 DS7 的功能特性研究

菌株 DS7 能在蛋白酶检测平板上出现明显透明水解圈，表明其具有蛋白水解能力；在 King's B 培

养基上，含菌株 DS7 的滤纸出现深黄色变化，说明其具有产 HCN 能力；菌株 DS7 可以使 CAS 蓝色检测液产生橘黄色透明圈，说明其具有产铁载

体能力。DS7 具有产铁载体的能力；具有溶解有机磷和无机磷的能力；具有水解蛋白能力；有产 IAA 能力；不具有产生 ACC 脱氨酶的能力，结果如表 1 所示。菌株 DS7 在平板上的情况，如图 4 所示。

表 1 菌株 *Bacillus* sp. DS7 的功能机制

功能特性	菌株 DS7	功能特性	菌株 DS7
产铁载体能力	+	水解蛋白能力	+
溶解有机磷能力	++	固氮能力	+
溶解无机磷能力	+	ACC 含量	-
产 HCN 能力	+	IAA 含量	19.29 ± 0 (μg/mL)

注：表格中符号“+”表示菌株具有相应功能的能力，“++”表示具有较强相应功能能力，符号“-”表示菌株不具有相应功能的能力。

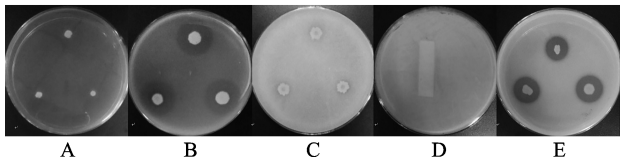


图 4 菌株 *Bacillus* sp. DS7 的功能特性

注：图 A：菌株 DS7 产铁载体能力，图 B：菌株 DS7 溶解有机磷能力，图 C：菌株 DS7 溶解无机磷能力，图 D：菌株 DS7 产 HCN 能力，图 E：菌株 DS7 水解蛋白能力。

DS7 可以在无氮培养基中培养，其固氮酶活性为 (0.41 ± 0.09) nmol/(mg · h)；菌株和阳性对照固氮菌株的固氮酶 *nifH* 基因扩增结果如图 5 所示。从分子学角度上再一次确定菌株 DS7 为固氮菌，具有固氮能力。

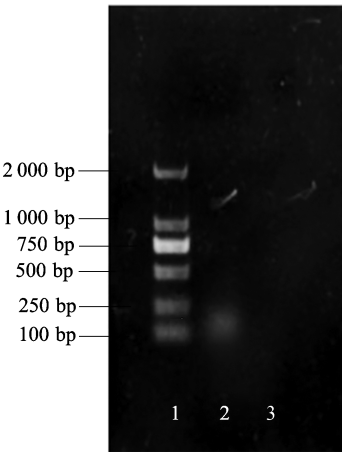


图 5 菌株 *Bacillus* sp. DS7 固氮酶 *nifH* 基因的 PCR 扩增结果

注：泳道 1 为 DNA marker，泳道 2 为菌株 DS7，泳道 3 为阴性对照。

2.4 接种菌株 DS7 对田间大蒜产量的影响

田间测产结果如表 2，施用 DS7 菌剂后大蒜的产量比不施用任何产品的对照组的大蒜产量增加约 15.42%。

表 2 田间测产结果

处理	产量 (kg/m ²)	增产率 (%)
对照	6.29 ± 0.47a	—
DS7	7.26 ± 0.76a	15.42

注：数据后的小写字母表示处理之间差异显著 (P<0.05, n=10)。下同。

2.5 接种菌株 DS7 对田间大蒜根际土壤酶活性的影响

测量接种菌株 DS7 后土壤中的蔗糖酶活性、过氧化氢酶活性和脲酶活性 3 种指标检测土壤酶活性。接种 DS7 菌液后，土壤蔗糖酶活性相对于对照组提高 12.95%，可见接种 DS7 菌液后土壤肥力有所提高并改善。过氧化氢酶活性并没有提高，反而降低 2.75%，土壤中微生物的生命活动速度减慢，可能因为接种 DS7 后会抑制土壤中其他微生物的活动。接种 DS7 可加速氨的生成，与对照组相比增长率为 6.80%，结果见表 3。

表 3 土壤酶活性结果

土壤酶活性指标	处理		增长率 (%)
	对照	DS7	
蔗糖酶活性性 (mg)	23.791 ± 0.122a	26.872 ± 0.049a	12.95
过氧化氢酶活性 (mL)	0.218 ± 0.012a	0.212 ± 0.078a	-2.75
脲酶活性 (mg)	258.284 ± 0.013a	275.844 ± 0.018a	6.80

3 结论与讨论

植物根际促生菌 (PGPR) 在植物生长过程中对植物生长来说是一类有意义的菌群，PGPR 在植物的根茎或根表面定殖，通过吸收矿物质的方式来帮助植物快速生长^[23]。目前常用的根际微生物是具有生物防治功能的促生菌^[24]，例如：假单胞菌属 (*pseudomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和农杆菌属 (*Agrobacterium*)，这些微生物大多具有防病促生功能，可以有效用于防治植物病害。部分 PGPR 在对植物促生时可对土壤进行修复^[25]，所以在肥料开发的过程中充分利用 PGPR 的功能特性是解决田间植物生长、土壤修复等问题的一种环保的方法。在实际生产中已出现商家利用 PGPR 做成肥料并投入生产的情况^[26]。芽孢杆菌属主要应用

在田间农蔬作物,前期对种子进行处理,可防治各种苗期出现的病害^[27]。王娜娜^[28]从白皮大蒜中共分离出62株内生菌对4种病原菌都具有拮抗作用,其中芽孢杆菌属的数量占到84.2%。解淀粉芽孢杆菌对果蔬上的病原菌有很好的防治效果,例如:山茶灰斑病,猕猴桃灰霉病等^[29-30]。解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)具有抑制真菌和细菌的活性的作用,与菌株在生长过程中产生的代谢产物有关^[31]。本研究筛选到的根际细菌DS7(*Bacillus amyloliquefaciens*)对大蒜根腐病病原菌抑制效果:对H5(*Setophoma terrestris*)抑制率达到51.72%,对H9(*Fusarium solani*)抑制率达到42.31%,实验结果表明,菌株DS7对大蒜根腐病病害具有较好拮抗效果。

产铁载体的PGPR能吸收土壤中的铁元素提供给植物,还能够抑制病原菌繁殖^[32]。具备固氮能力、溶解磷能力的根际微生物,可以为自身和植物在一定程度上提供可利用的氮和磷,加快植物的生长速度^[33-34]。PGPR菌,例如:枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*),能促进玉米生长,具有溶解无机磷、有机磷,分泌IAA能力^[35]。*Burkholderia* sp. 7016具有固氮、溶磷、产ACC脱氨酶,促进番茄生长及拮抗番茄土传病害等多种功能特性^[33]。本实验研究筛选出的DS7具有多种功能特性:水解蛋白、产铁载体、固氮、溶解有机磷、无机磷和产IAA的能力。土壤酶活性反映了土壤中营养成分的转化以及土壤生物的生命活动能力的强弱。土壤中的酶活性与土壤中各种代谢过程和能量转换息息相关^[36-37],是土壤生物化学特征的重要组成部分。在评价土壤肥力、环境监测、衡量土地利用等方面有广泛的作用,可为土壤健康管理提供科学依据^[38]。土壤中脲酶活性与土壤的微生物数量、土壤全氮、速效氮等密切相关^[39];蔗糖酶是一种重要水解酶,蔗糖酶断裂蔗糖分子键后产生葡萄糖、果糖,为植物和微生物提供营养的碳源^[40]。土壤过氧化氢酶活性与土壤呼吸强度和土壤微生物活动相关,能有效防止过氧化氢的毒害,是重要的土壤微生态环境指示因子^[40-42]。赵晶等^[43]发现长期施用有机肥能够增加土壤中有机质含量,并且与土壤脲酶、磷酸酶和转化酶活性呈相关性。接种类芽孢杆菌(*Paenibacillus* spp.)后土壤酶活性与植物的生物量呈正相关,能够提高土壤质量,同时具有促

进植物产量功能^[44]。田间试验结果可看出,接种DS7(*Bacillus amyloliquefaciens*)后大蒜产量比对照组增产15.42%,接种DS7有助于提高产量。收集接种过DS7菌液的土壤和未做处理的对照组土壤,测定土壤中酶的活性,从过氧化氢酶活性指标可看出,DS7可能会抑制土壤中某些细菌的生命活动。但通过蔗糖酶活性及脲酶活性可看出,DS7可帮助土壤加快氮的转化速率,改善土壤肥力,起到改良土壤的作用。因此,DS7具备多种功效,对大蒜根腐病病原真菌有良好的拮抗效果,在增产的同时可以改善土壤肥力,是一种良好的微生物肥料资源菌种。

参考文献:

- [1] Kloepper J W, Leong J, Teintze M, et al. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Nature*, 1980, 286 (5776): 885-886.
- [2] Bhattacharyya P N, Jha D K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28 (4): 1327-1350.
- [3] 龙伟文,王平,冯新梅. PGPR与AMF相互关系的研究进展[J]. *应用生态学报*, 2000, 11 (2): 311-314.
- [4] Rana A, Saharan B, Joshi M, et al. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat [J]. *Annals of Microbiology*, 2011, 61: 893-900.
- [5] 崔晓双,王伟,张如,等. 基于根际营养竞争的植物根际促生菌的筛选及促生效应研究[J]. *南京农业大学学报*, 2015, 38 (6): 958-966.
- [6] Haiyambo D H, Chimwamurombe P M, Reinhold-Hurek B. Isolation and screening of rhizosphere bacteria from grasses in east Kavango Region of Namibia for plant growth promoting characteristics [J]. *Current Microbiology*, 2015, 71 (5): 566-571.
- [7] Ahmad F, Ahmad I, Khan M S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities [J]. *Microbiological Research*, 2008, 163 (2): 173-181.
- [8] Thokchom E, Kalita M C, Talukdar N C. Isolation, screening, characterization, and selection of superior rhizobacterial strains as bioinoculants for seedling emergence and growth promotion of Mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2014, 60 (2): 85-92.
- [9] Kuklinsky-Sobral J, Araújo W L, Mendes R, et al. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion [J]. *Environmental Microbiology*, 2004, 6 (12): 1244-1251.
- [10] Rodríguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their

- role in plant growth promotion [J]. *Biotechnology Advances*, 1999, 17 (4/5): 319-339.
- [11] 贾茹, 张迪, 马晓东, 等. 大蒜连作障碍研究进展 [J]. *北方园艺*, 2014, (19): 207-210.
- [12] 刘素慧, 刘世琦, 张自坤, 等. 大蒜连作对其根际土壤微生物和酶活性的影响 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43 (5): 1000-1006.
- [13] 李先生, 刘留, 孙光天. 地膜大蒜根腐病的发生与防治 [J]. *现代农业科技*, 2010, (20): 212.
- [14] 张梦琦, 陈云云, 张熙, 等. 多功能植物根际促生菌 DD3 的功能特性及对大蒜幼苗的促生效果 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23 (3): 748-756.
- [15] 孙建光, 胡海燕, 刘君, 等. 农田环境中固氮菌的促生潜能与分布特点 [J]. *中国农业科学*, 2012, 45 (8): 1532-1544.
- [16] González-Sánchez M. Evaluation of the effectiveness of biocontrol bacteria against avocado white root rot occurring under commercial greenhouse plant production conditions [J]. *Biological Control*, 2013, 67: 94-100.
- [17] 孙建光, 徐晶, 胡海燕, 等. 中国十三省市土壤中非共生固氮菌微生物菌种资源研究 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15 (6): 1450-1465.
- [18] Amprayn K, Rose M T, Kecskes M, et al. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth [J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 295-299.
- [19] Glick B R. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase [J]. *FEMS Microbiology Letter*, 2005, 251 (1): 1-7.
- [20] Schwyn B, Neilands J B. University Chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160: 47-56.
- [21] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986. 274-340.
- [22] Christopher A D, Soo-Jin K, Soon-Wo K, et al. *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzicola*' are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66 (3): 1212-1217.
- [23] 刘洪波. 探讨植物根际促生菌在蔬菜种植中的应用进展 [J]. *种子科技*, 2017, 35 (6): 44-47.
- [24] Ipek M, Pirlak L, Esitken A, et al. plant growth-promoting rhizobacteria (Pgpr) increase yield, growth and nutrition of strawberry under high-calcareous soil conditions [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2014, 37 (7): 990-1001.
- [25] Xun F, Xie B, Liu S, et al. Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation [J]. *Environmental Science & Pollution Research International*, 2014, 22 (1): 598-608.
- [26] Kusari S, Singh S, Jayabaskaran C. Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype [J]. *Trends in Biotechnology*, 2014, 32 (6): 297-303.
- [27] 陶光灿, 王素英, 王玉平, 等. 芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.) 10 株细菌混合制剂对 4 种作物出苗及苗期生长的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2003, 9 (6): 598-602.
- [28] 王娜娜. 拮抗性大蒜内生细菌的多样性及其促植物生长特性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [29] 张静, 冉晓潇, 朱天辉, 等. 解淀粉芽孢杆菌对山茶灰斑病菌的抑制作用 [J]. *东北林业大学学报*, 2014, 42 (7): 122-125.
- [30] 钱一鑫, 康冀川, 罗乙凯, 等. 猕猴桃灰霉病拮抗解淀粉芽孢杆菌 X17 可湿性粉剂的研制 [J]. *中国生物防治学报*, 2016, 32 (3): 342-348.
- [31] 吴一品, 林艺芬, 林河通, 等. 生防菌解淀粉芽孢杆菌研究进展 [J]. *包装与食品机械*, 2012, 30 (6): 49-52.
- [32] Gupta G, Panwar J, Jha P N. Natural occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*, a dominant cultivable diazotrophic endophytic bacterium colonizing *Pennisetum glaucum*. (L.) R. Br. [J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, 64: 252-261.
- [33] Gao M, Zhou J, Wang E, et al. Multiphasic characterization of a plant growth promoting bacterial strain *Burkholderia* sp. 7016 and its effect on tomato growth in the field [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14 (9): 1855-1863.
- [34] 李琬, 刘森, 张必弦, 等. 植物根际促生菌的研究进展及其应用现状 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30 (24): 1-5.
- [35] 李建宏, 李雪萍, 张建贵, 等. 饲用玉米根际促生菌资源筛选及其特性研究 [J]. *草原与草坪*, 2017, 37 (1): 44-50.
- [36] 洪常青, 何忠俊, 鱼海霞. 三江并流区暗棕壤酶活性特征研究 [J]. *云南农业大学学报 (自然科学版)*, 2013, 28 (6): 857-864.
- [37] 景宇鹏, 李跃进, 年佳乐, 等. 土默川平原不同盐渍化土壤酶活性特征的研究 [J]. *生态环境学报*, 2013, 22 (9): 1538-1543.
- [38] 张志丹, 赵兰坡. 土壤酶在土壤有机培肥研究中的意义 [J]. *土壤通报*, 2006, (2): 2362-2368.
- [39] 兰宇, 韩晓日, 战秀梅, 等. 施用不同有机物料对棕壤酶活性的影响 [J]. *土壤通报*, 2013, 44 (1): 110-115.
- [40] 马云华, 王秀峰, 魏岷, 等. 黄瓜连作土壤酚类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2005, 16 (11): 2149-2153.
- [41] Woese C R. Bacterial evolution [J]. *Microbiol Rev*, 1987, 51: 221-271.
- [42] 尹淑丽, 张丽萍, 习彦花, 等. 沼渣对土壤微生态结构、土壤酶活及理化性状的影响 [J]. *中国沼气*, 2017, 35 (1): 72-76.

- [43] 赵晶, 孟庆峰, 周连仁, 等. 长期施用有机肥对草甸碱土土壤酶活性及养分特征的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2014, (2): 23-26, 34.
- [44] 牛鑫斌, 杨慧, 孙建光, 等. 三株固氮类芽孢杆菌的特点及其对中国青菜的产量和土壤酶活性的影响 [J/OL]. 微生物学报, 2018, 58 (7): 1213-1223.

Study on the characteristics of a rhizosphere bacteria in garlic and its effect on garlic yield and soil enzyme activities in field

CUI Man^{1, 2}, YIN Yan-shu², ZHANG Meng-qi¹, BU Ning¹, CHEN Yun-yun², GAO Miao^{2*}, MA Lian-ju^{1*}
(1. College of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang Liaoning 110034; 2. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Microbial Resources Collection and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081)

Abstract: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) has the function of resisting plant diseases and promoting plant growth. The rhizosphere bacteria previously isolated from the rhizosphere soil of garlic in continuous cropland in Jinxiang County of Shandong Province were studied. The results showed that the selected strains had good antagonism on the pathogens H5 (*Setophoma terrestris*) and H9 (*Fusarium solani*) of garlic root rot. The strain DS7 was initially identified by the sequence analysis of the 16S rRNA gene, which belongs to the genus *Bacillus*. The study of functional properties showed that the inhibition rate of strain *Bacillus* sp. DS7 inhibition to H5 reached 51.72%, and the inhibition rate to H9 reached 42.31%. The strain DS7 carries the abilities of producing IAA (19.29 ± 0) $\mu\text{g/mL}$, producing iron-producing carrier, hydrolyzing protein, and dissolving phosphorus-dissolving ability, but does not have the ability to produce ACC deaminase. The field inoculation test results showed that the garlic yield increased by 15.42% after inoculation with strain DS7, and the invertase activity and urease activity of soil were higher than that of the control soil, and the catalase activity was lower than that of the control soil. In summary, the plant rhizosphere growth-promoting strain *Bacillus* sp. DS7 has a variety of functional properties, which can increase the yield of garlic in the field and improve the soil. It is a potential microbe fertilizer production strain.

Key words: garlic; plant growth-promoting rhizobacteria; functional characterizations; soil enzyme activities