

## 辽宁省大豆根瘤菌资源抗逆性及生防潜力研究

赵宇枢<sup>1</sup>, 段玉玺<sup>1</sup>, 王媛媛<sup>2</sup>, 陈立杰<sup>1</sup>, 尹丽娜<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161; <sup>2</sup>沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:**从辽宁省不同地理分布区采集土样并诱集根瘤;采用组织分离法分离获得16株根瘤菌。测定其对酸、碱、盐、氨、温度的耐受性和对大豆根部病原微生物的抑制作用。结果表明:分离得到的16株根瘤菌的抗逆性及拮抗活性在不同菌株之间表现出明显差异。其中,菌株Snb119、Snb126、Snb183对酸、碱、盐、氨、高温、低温,有较强的耐受性,菌株Snb183、Snb204、Snb389、Snb394可有效抑制腐霉菌,菌株Snb183、Snb241对大豆胞囊线虫二龄幼虫具有抑制作用。

**关键词:**大豆;根瘤菌;抗逆性;生防潜力

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2009)01-0113-05

## Stress Resistance and Biocontrol Potential of Soybean Rhizobia Resources Isolated From Liaoning Province

ZHAO Yu-shu<sup>1</sup>, DUAN Yu-xi<sup>1</sup>, WANG Yuan-yuan<sup>2</sup>, CHEN Li-jie<sup>1</sup>, YIN Li-na<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning; <sup>2</sup>Department of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

**Abstract:** In order to make clear the endurance abilities and the biocontrol potential of soybean rhizobia resource of Liaoning province. The growth or survival abilities of soybean rhizobia strains isolated from different area were tested under the stresses of acid, alkali, NaCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , high temperature, low temperature, and their potential to control soybean root pathogens was researched. Soil samples were collected from different geographical area in Liaoning province and soybean root nodules were trapped from the soil sample; 16 strains of soybean rhizobia were isolated by tissue isolation. The results showed that the stress-tolerant capability and antagonistic effect of the 16 rhizobia strains differ greatly. Strains Snb119, Snb126, Snb183 can grow under the stresses of acid, alkali, NaCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , high temperature, low temperature. Snb183, strains Snb204, Snb389, Snb394 inhibit growth of *Pythium* spp, Snb183, Snb241 strains suppress J<sub>2</sub> of soybean cyst nematode.

**Key words:** Soybean; Rhizobia; Stress tolerance; Biocontrol potential

大豆是我国主要的粮食和经济作物,是油脂、蛋白质及保健活性物质的重要来源,也是食品、饲料等多种加工工业的原料<sup>[1]</sup>。生物固氮是大豆有别于其它农作物最重要的长处,种植大豆可少施化肥、培肥地力、改良土壤<sup>[2]</sup>。根瘤菌是与豆科植物结瘤的共生固氮细菌的总称。根瘤菌与豆科植物的共生体系是生物固氮中固氮能力最强的体系,占生物固氮量的65%以上。据FAO统计,美国靠豆科植物(苜蓿、大豆、花生)固定的氮已占其农田固氮总量的1/3。巴西种大豆只接种根瘤菌,可增产30%<sup>[3]</sup>。应

用大豆根瘤菌可以改良土壤,保护环境,提高大豆产量,推动我国大豆产业的发展。

大豆根腐病和胞囊线虫病害是制约大豆产量的重要根部病害,因其病原存活于土壤中,防治困难,根瘤菌共生于大豆根部,具备天然的定殖优势,广泛存在于根际土壤中。具备生防潜力的根瘤菌将有广阔的应用前景。辽宁省是中国大豆主产区之一,具有丰富的大豆根瘤菌资源,通过调查辽宁省大豆根瘤菌资源对土壤无机环境的耐受性和对大豆根部重要病原微生物的抑制作用,明确其对环境区域的适

收稿日期:2008-09-07

基金项目:十一五国家科技支撑计划资助项目(2006BAD08A08);农业部科技成果转化基金项目(05EFN212100059);国家自然科学基金资助项目(30673199)。

作者简介:赵宇枢(1983-),女,硕士研究生,现从事生物多样性与生物防治方面研究。E-mail:zhaoyushu232@163.com。

通讯作者:段玉玺,教授,博士生导师。E-mail:duanyx6407@163.com。

用性,发掘抗逆防病增产的优良菌种资源,从而为应用提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

土样:土样采自辽宁省北部的沈阳、铁岭、本溪、辽阳地区;西部的葫芦岛、锦州地区;南部的鞍山、大连地区;东部的丹东地区。

诱集大豆品种:辽豆 18、辽豆 15、辽豆 12、合丰 25、抗线 4 号。

回接大豆品种:辽豆 15。

### 1.2 盆栽诱集根瘤

大豆种子以 95% 酒精浸泡 1 min, 0.1% 升汞浸泡 3 min, 无菌水冲洗 10 次, 于 28℃ 下催芽至芽长 1 cm 时播种, 每钵以供试土样种植 5 个大豆品种(见 1.1), 同时设大豆品种对照, 以鉴别不同大豆品种, 待大豆开花后收集根瘤, 以备分离纯化。

### 1.3 根瘤菌的分离纯化

菌株分离纯化采用 YMA 结晶紫培养基和 YMA 刚果红培养基<sup>[4]</sup>, 具体参考文献[4-5], 略有改动。

### 1.4 盆栽回接鉴定

采用双层套钵沙培法<sup>[6]</sup>, 供试大豆品种见 1.1, 种子处理方法同 1.2, 种子播种于灭菌的双层套钵, 待子叶伸出时, 接种  $10^9$  cfu · mL<sup>-1</sup> 根瘤菌 TY 发酵液 ( $OD_{600} \approx 0.4$ ) 10 mL, 设置无菌水和氮肥双对照。以无菌水浇灌, 定期浇灌灭菌的 Fahraeus 无氮植物营养液<sup>[6]</sup>, 25℃ 下室内自然光培养, 30 d 后收获, 记录结果。

### 1.5 耐受性试验

耐受性测定采用 TY 选择性培养基, 除温度耐受试验外, 培养温度均为 28℃; 培养时间: 快生菌 3~5 d, 慢生菌 6~8 d。均以 TY 常规培养基于 28℃ 下培养为对照, 3 次重复, 无菌操作, 定时观察, 记录结果。

温度耐受试验: 供试菌株分别于 15℃、40℃ 下培养 7~10 d 后观察其生长情况, 记录结果。

耐酸碱试验: 以 NaOH 和 HCl 调节高压灭菌后的 TY 培养基酸碱度至以下 pH: 4、5、9、10、11, 其中处理 pH=4 以液体培养基进行测试, 测定  $OD_{600}$  检测其生长情况。

耐盐试验: 以 NaCl 配制选择性培养基, 终浓度 (W/V) 为: 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%。

耐氨试验: 以  $(NH_4)_2SO_4$  配制选择性培养基, 终

浓度为: 0.1 mol · L<sup>-1</sup>、0.3 mol · L<sup>-1</sup>、0.5 mol · L<sup>-1</sup>。

### 1.6 对土壤中病原微生物的抑制作用试验

1.6.1 拮抗大豆根腐病菌试验 供试病原菌: 尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、茄腐镰刀菌 (*F. solani*)、腐霉病菌 (*Pythium. spp*)、立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*), 由本室分离保存。

拮抗性测定: 采用平板对峙培养法<sup>[7]</sup>, 测定病原菌接入后 10 d 后的抑菌率。

抑菌率 (%) =

$$\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$$

1.6.2 拮抗大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*) 试验 供试线虫 ( $J_2$ ): 大豆胞囊线虫 3 号生理小种, 采自北方线虫研究所试验地, 采用改良的淘洗过筛法收集胞囊<sup>[8]</sup>。用 0.5% NaClO 消毒 3 min, 无菌水冲洗 5 次, 放在含有少量无菌水的培养皿中, 25℃ 恒温箱中孵化, 定期查看胞囊孵化的情况, 收集新孵化的  $J_2$ , 保存于 4℃ 冰箱中备用。

根瘤菌悬液: 供试根瘤菌活化后以无菌水制备成  $10^9$  cfu · mL<sup>-1</sup> 根瘤菌悬液。

根瘤菌发酵液: 取 2 mL 上述菌悬液放入 50 mL TY 液体培养基中, 于 28℃, 120 r · min<sup>-1</sup> 下摇瓶发酵 7 d, 发酵液在 6 000 r · min<sup>-1</sup> 下离心 10 min, 取上清液, 作为根瘤菌发酵滤液。

供试根瘤菌对  $J_2$  的作用: 在灭菌的贝氏小皿中加入 0.2 mL 约含 40 条大豆胞囊线虫  $J_2$  的悬液, 按不同处理分别加入 0.2 mL 根瘤菌悬液和发酵液, 以无菌水处理为对照, 每个处理设 3 次重复, 菌悬液处理 48 h, 发酵液处理 72 h, 以毛针刺激后僵直不动为标准, 镜检计数, 计算校正死亡率。

线虫校正死亡率 (%) =

$$\frac{\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}}{1 - \text{对照线虫死亡率}} \times 100\%$$

数据处理采用 EXCEL2003 版软件, 统计分析采用 DPSv7.55 版软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试根瘤菌的分离与鉴定

采用组织分离法从来自 9 个地区的 51 份土样中共分离纯化获得根瘤内生细菌 206 株, 经细菌学及生理生化鉴定, 结合不同地区来源, 挑选具有地区代表性的 29 株根瘤内生细菌与主栽品种辽豆 15 回接, 20 株结瘤, 9 株未结瘤。在 20 株根瘤菌中, 根据植株干

重选取 16 株结瘤固氮能力较强<sup>[6]</sup>,并在地理分布上 具有代表性的根瘤菌为供试菌株(表 1)。

表 1 供试菌株一览表

Table 1 Rhizobium strains used in this study

菌株 Strains	大豆宿主品种 Soybean host	土样来源,根际土壤植被覆盖 Origin ,vegetational cover	生长速度 Growth rate
Snb119	辽 12 Liao 12	本溪市本溪县,香菜根际	快
Snb126	辽 15 Liao 15	沈阳农业大学北试验地,冬瓜根际	快
Snb183	辽 18 Liao 18	锦州北镇,松树根围	快
Snb204	辽 15 Liao 15	大连金州,黄壤土	慢
Snb225	辽 12 Liao 12	铁岭昌图十八家子,大豆田	慢
Snb231	辽 18 Liao 18	沈阳市东陵区高坎镇,茄子根际	慢
Snb241	辽 12 Liao 12	沈阳农业大学南试验地,大豆田	慢
Snb243	合丰 25 Hefeng 25	沈阳市东陵区高坎镇,大豆根际	慢
Snb264	辽 15 Liao 15	辽阳市辽阳县小北河镇高台子村,大豆根际	慢
Snb385	辽 15 Liao 15	本溪市桓仁县,大豆田	慢
Snb389	辽 15 Liao 15	锦州北镇,松树根围	慢
Snb394	合丰 25 Hefeng 25	鞍山岫岩,大豆田	慢
Snb409	辽 15 Liao 15	葫芦岛绥中,苹果树根围,黄壤土	慢
Snb423	抗线 4 号 Kangxian 4	锦州北镇华丰,大豆田	慢
Snb434	辽 15 Liao 15	丹东凤城鸡冠山镇大地村,大豆根际	慢
Snb447	合丰 25 Hefeng 25	丹东东港,松树根围	慢

## 2.2 菌株对逆境的耐受性

在对酸碱的耐受性方面,慢生型根瘤菌较耐酸(供试菌株中有超过 60% 的慢生型根瘤菌能在 pH =5 条件下生长),快生型根瘤菌较耐碱(可在 pH = 11 的碱性条件下正常生长),这与慢生型根瘤菌产碱,快生型根瘤菌产酸的特性相关(表 2)。

表 2 供试菌株在不同 pH 和极限温度下的生长情况

Table 2 The growth of the strains under the different pH and the limited temperature

菌株 Strains	pH					温度 Temperature	
	4	5	9	10	11	15℃	40℃
Snb119	—	+	+++	+++	+++	+++	+
Snb126	—	+	+++	+++	+++	+++	+
Snb183	—	++	+++	+++	+++	++	—
Snb204	—	++	+	—	—	—	—
Snb225	—	++	+	—	—	+	+
Snb231	—	++	+	—	—	+	—
Snb241	—	++	+	—	—	+	—
Snb243	—	++	—	—	—	—	—
Snb264	—	—	+	—	—	—	—
Snb385	—	++	+	—	—	+	+
Snb389	—	++	+	—	—	+	—
Snb394	—	++	+	—	—	+	+
Snb409	—	—	+	—	—	+	—
Snb423	—	—	—	—	—	+	—
Snb434	—	—	—	—	—	+	—
Snb447	—	++	—	—	—	—	—

+ + + 相当于 CK 的生长水平, + + 生长良好, + 微弱生长, — 无生长,下表同。

+ + + The same as the postive control, + + Growth well, + Grow slightly, — No growing,the same as below.

表 3 供试菌株在不同浓度 NaCl、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 下的生长情况

Table 3 The growth of the strains under the different concentration of NaCl and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

菌株 Strains	NaCl					(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /mol · L <sup>-1</sup>		
	0.5%	1%	1.5%	2%	2.5%	0.1	0.3	0.5
Snb119	++	+	—	—	—	+	—	—
Snb126	++	+	—	—	—	++	+	—
Snb183	+++	+++	+++	++	+	+	+	—
Snb204	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb225	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb231	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb241	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb243	+	+	+	—	—	+	+	—
Snb264	+	+	—	—	—	—	—	—
Snb385	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb389	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb394	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb409	+	+	—	—	—	—	—	—
Snb423	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb434	—	—	—	—	—	—	—	—
Snb447	+	—	—	—	—	+	+	—

75% 的供试菌株较耐低温而不耐高温,与供试根瘤菌对辽宁地区气候的长期适应性相关。综合考察 5 种因素对根瘤菌生长的影响发现,菌株 Snb126,Snb119,Snb183 表现出了较强的抗逆性,其中,菌株 Snb183 耐盐性极强,可在 2% 盐度下生长,菌株 Snb126 具备一定的耐氨性,可在 0.1 mol · L<sup>-1</sup> 的 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 下生长,慢生型根瘤菌 Snb243 能耐受 1.5% NaCl,而大多数大豆慢生根瘤菌在 1% 的盐度

下,即被抑制(表 3)。

2.3 供试根瘤菌对供试土壤习居病原真菌的作用

16 株供试菌株均不能抑制尖孢镰刀菌和茄腐镰刀菌,只有菌株 Snb183 轻微抑制丝核菌菌丝的伸展,供试 16 株根瘤菌中有 6 株对腐霉菌有抑制作用,观察腐霉菌的菌落生长状态,6 株根瘤菌的抑制机制都主要表现为因营养竞争而抑制腐霉菌菌丝的生长(图 1)。不同菌株对腐霉菌的抑制程度(图 2)和抑制作用持续的时间不同,菌株 Snb183 对腐霉菌的抑制最为强烈,腐霉菌接入后 15 d,只见其有微弱生长。菌株 Snb394、Snb398、Snb204 的抑制作用可持续 12 d,菌株 Snb119、Snb423 在腐霉菌接入初期表现出一定抑制作用,在接入 8 d 后,菌丝可越过根瘤菌接种带,而对照在 3 d 内即可布满培养皿。

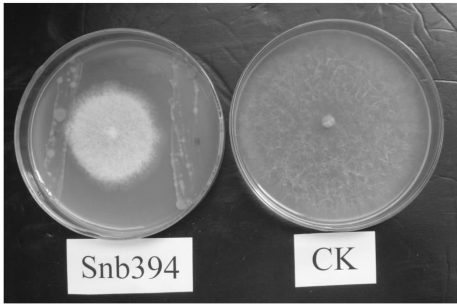


图 1 根瘤菌对腐霉的抑制作用

Fig. 1 Antagonistic effect of rhizobium on *Pythium*. spp on Ty medium

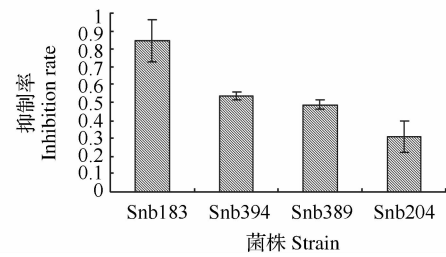


图 2 根腐菌对腐霉的抑制作用

Fig. 2 Inhibition of *Pythium*. spp by rhizobium

2.4 供试根瘤菌对大豆胞囊线虫的作用

不同根瘤菌悬液处理 48 h,对大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub> 的作用不同。供试 16 株根瘤菌悬液处理中,8 株根瘤菌的校正死亡率为正值,其余为负值,两株菌对 J<sub>2</sub> 有明显抑制作用,与对照相比差异极显著(表 4),以这两株菌的发酵液处理 J<sub>2</sub> 72 h,抑制效果大大提高,校正死亡率可分别达到 83.0% 和 70.1%(表 5)。其中,Snb241 分离自多年连作,胞囊线虫危害严重的大豆田中,多年连作很可能促进了拮抗性根瘤菌

的产生。可见,根瘤菌不同菌株对大豆胞囊线虫的作用存在明显差异,既存在对 J<sub>2</sub> 有保护作用的根瘤菌,又存在对其有抑制作用的根瘤菌。胞囊线虫病是极难防治的根部病害,根瘤菌在大豆根部具有天然定殖优势,抑制大豆胞囊线虫的根瘤菌将是具有应用潜力的生防因子。

表 4 根瘤菌对大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub> 的抑制作用

Table 4 The effect of rhizobium strains on J<sub>2</sub> of

<i>Heterodera glycines</i>				
处理 Treatment	菌悬液处理 48 h Rhizobium strains at 48 h		发酵液处理 72 h Rhizobium fermented broth at 72 h	
	平均死亡率 Average	校正死亡率 Corrected	平均死亡率 Average	校正死亡率 Corrected
	inhibition ratio/%	inhibition ratio/%	inhibition ratio/%	inhibition ratio/%
Snb183	36.2aA	28.7	85.2aA	83.0
CK(无菌水)	10.3bB	—	—	—
Snb241	33.5aA	26.9	73.2aA	70.1
CK(无菌水)	8.2bB	—	12.5 bB	—

数字后字母为 Duncan 氏新复极差测验结果,不同大小写字母分别表示差异显著( $P < 0.05$ ),和差异极显著( $P < 0.01$ ),下同。

According to Duncan's multiple range test, the uppercase letter and lowercase letter after numeral in each column indicate significantly different at  $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ , respectively. The same as below.

3 结论与讨论

研究发现,除在千年生松树根围处的土壤中未诱集到根瘤,其余供试土样中均能诱集到有效根瘤,说明大豆根瘤菌在辽宁地区分布广泛,而菌株之间在抗逆性和抑制病原方面表现出的差异性,表明其因区域地理环境的差异而具有多样性。在供试的 16 株根瘤菌中,只有 3 株为快生型根瘤菌,说明慢生型根瘤菌为辽宁地区的优势种群,同时分布有抗逆性较强的快生型根瘤菌,这与中国东北地区的大豆主要与 *Bradyrhizobium* 及 *B. liaoning* gense 共生固氮<sup>[9]</sup> 的研究结果一致。

根瘤菌与豆科植物及生态环境之间存在着复杂的关系,依据陈文新提出的豆科植物根瘤菌接种剂的筛选和应用必须考虑菌株对当地环境的适应能力<sup>[9]</sup> 的思想,试验立足于从辽宁地区的根瘤菌中筛选能在该地区推广应用的优良菌种资源,发现了对酸碱有较强抗逆性的根瘤菌菌株,可应用于相应的土壤环境;在对逆境的综合耐受性方面,3 株快生型根瘤菌表现出较强的抗逆性,此外,一株慢生型大豆根瘤菌表现出较强的耐盐性,说明辽宁地区分布着丰富的抗逆性较强的根瘤菌资源;在耐氨试验中发现供试菌株对氨都较为敏感,只有菌株 Snb126 表现

出一定的耐氨特性,目前我国仍以施用氮肥培肥地力为主,极大的限制了我国根瘤菌产业的发展,发掘筛选耐氨性根瘤菌对促进我国根瘤菌的产业化具有重要意义。

土壤环境是复杂的,土壤微生物与根瘤菌相互拮抗竞争的动态平衡,是其生防潜力的重要方面,根瘤菌与豆科植物之间的共生关系,使其具备了作为生防因子最重要的定殖能力。在根瘤菌与危害大豆根部的病原真菌的平板对峙试验中,占供试菌株 37.5% 的根瘤菌对腐霉菌有抑制作用,且机制都主要表现为因空间和营养的竞争而抑制了腐霉菌生长。Bardin 于 2004 年研究表明,在 *Rhizobium* 与 *Pythium*. spp 的对峙培养过程中,营养竞争是 *Pythium*. spp 受到抑制的原因,并认为与豆科植物结瘤固氮的根瘤菌对腐霉病害的控制很可能是广泛存在的<sup>[10]</sup>。这与本试验的结果是一致的。根瘤菌对大豆胞囊线虫的抑制作用,不同菌株对  $J_2$  的作用表现出差异性,占供试菌株 50% 的根瘤菌处理  $J_2$  后对其表现为促进作用,50% 的菌株表现出不同程度的抑制作用,这种相互作用的多样性为拮抗性根瘤菌的产生提供了可能。菌株 Snb183 和 Snb241 对  $J_2$  表现出显著抑制作用,且其发酵液的抑制作用明显高于菌悬液,说明这两株根瘤菌的代谢产物对线虫有很强的抑制作用,由此可知 Snb183 和 Snb241 的抑制作用是源于某种代谢产物对线虫的拮抗作用。1984 年,Chakraborty 报道根瘤菌能产生一种能有效抑制豆科植物根部土传病害的生物活性物质——根瘤菌素<sup>[11-12]</sup>,1998 年,Siddiqui 报道根瘤菌素能控制绿豆根结线虫病害<sup>[11-12]</sup>。试验中根瘤菌的对大豆胞囊线虫源于某种代谢产物的拮抗活性可能与根瘤菌素相关,可见,根瘤菌素具有巨大的研究价值和广阔的应用前景。

综上所述,根瘤菌除了作为生物肥料固定空气中的  $N_2$ ,还可以作为有效的生防因子控制土壤病原微生物。通过离体试验,初步研究获得了能抑制腐霉菌和大豆胞囊线虫的根瘤菌菌株。对根瘤菌研究的逐步深入将发掘我国根瘤菌资源的巨大应用潜力,使其在复杂的生物多样性中最大限度的发挥其资源优势,成为推动我国农业的可持续发展的有力科技支撑。

## 参考文献

[1] 赵团结,盖钧镒,李海旺,等. 超高产大豆育种研究的进展与讨论[J]. 中国农业科学,2006,39(1):29-37. (Zhao T J, Gai J Y,

Li H W, et al. Advances in breeding for super high-yielding soybean cultivars [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39 (1): 29-37. )

- [2] 蒋慕东,盖钧镒. 中国大豆应自主沉浮[J]. 中国食物与营养, 2006,8:4-7. (Jiang M D, Gai J Y. The Chinese soybean should sink independently floats[J]. Food and Nutrition in China, 2006, 8:4-7. )
- [3] 陈文新,陈文峰. 发挥生物固氮作用减少化学氮肥用量[J]. 中国农业科技导报,2004,6(6):3-6. (Chen W X, Chen W F. Exertion of biological nitrogen fixation in order to reducing the consumption of chemical nitrogenous fertilizer [J]. Review of China Agriculture Science and Technology, 2004, 6(6):3-6. )
- [4] 朱剑光,尉亚辉,吴艺舟. 花生慢生根瘤菌的分离与鉴定[J]. 生物技术,2006,16(2):45-47. (Zhu J G, Wei Y H, Wu Y Z. Isolation and identify of bradyrhizobium bacterium from peanut [J]. Biotechnology, 2006, 16(2):45-47. )
- [5] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:364-369. (Dong X Z, Cai M Y. Manual of determinative systematic bacteriology [M]. Beijing: Science Press, 2001: 364-369. )
- [6] 徐传瑞. 高效固氮大豆根瘤菌的筛选和鉴定[D]. 武汉:华中农业大学,2004:21-47. (Xu C R. Screening and identification of highly efficient Rhizobia[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2004:21-47. )
- [7] 王媛媛,段玉玺,陈立杰. 根瘤内生细菌对大豆胞囊线虫及根腐病菌的影响[J]. 大豆科学,2007,29(2):213-217. (Wang Y Y, Duan Y X, Cheng L J. Effect of endophytic bacteria from soybean root nodules on soybean cyst nematode and pathogens of soybean root rot[J]. Soybean Science, 2007, 29(2):213-217. )
- [8] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1995:36-41. (Liu W Z. The technique of plant nematode research[M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1995:36-41. )
- [9] 陈文新,汪恩涛,陈文峰. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系[J]. 中国农业科学,2004,37(1):81-86. (Chen W X, Wang E T, Chen W F. The relationship between the symbiotic promiscuity of rhizobia and legumes and their geographical environments[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(1):81-86. )
- [10] Bardin S D, Hang H C, Pinto J, et al. Biological control of *Pythium damping-off* of pea and augar beet by *Rhizobium Leguminosarum* bv. viceae [J]. Canadian Journal of Botany, 2004, 82 (3): 291-296. )
- [11] Siddiqui I A, Amer-Zareen S, Zaki M J, et al. Evaluation of Rhizobia for the control of *meloidogyne javanica* in *Vigna mungo* [J]. Pakistan Journal of Biological Scientific Information, 2001, 4 (9): 1124-1125. )
- [12] Shaukat S S, Siddiqui I A, Hamid M, et al. In vitro survival and nematicidal acticity of rhizobium, bradyrhizobium and sinorhizobium. I. The Influence of various NaCl concentrations [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2002, 5(6):669-671. )
- [13] 李力,曹凤明,徐玲玫,等. 花生根瘤菌的抗逆性初步研究[J]. 微生物学通报,2000,27(1):42-47. (Li L, Cao F M, Xu M L, et al. Preliminary study on peanut rhizobia of China for tolerance to stresses [J]. Microbiology, 2000, 27(1):42-47. )