

东北黑土区大豆根际促生菌生长条件及促生效应

王志刚^{1,2}, 钟 鹏³, 王建丽⁴, 徐伟慧¹, 莫继先¹

(1. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 4. 黑龙江省农业科学院 草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:通过摇瓶和盆栽试验,研究了东北黑土区大豆根际3株优势促生菌(FN,PD和SB)的生长条件和对大豆的促生效应。结果表明:3株大豆促生菌的最适温度均为25℃;FN在pH值5.0~9.0范围内生物量变化不大,PD和SB的最适pH值为5.0;1.0 g·L⁻¹ MnSO₄对FN的生长具有一定的促进作用,PD受MnSO₄抑制明显,MnSO₄能够显著促进SB的生长;MgSO₄能够加快FN的生长,PD和SB均在MgSO₄浓度为1.0 g·L⁻¹时生物量最大;FN和PD的生长最适盐分浓度均为1.0 g·L⁻¹,SB的生物量与盐分浓度正相关;不同的菌剂对大豆的株高、茎粗、根干重、根鲜重、植株干重、植株鲜重和根冠比均有一定促进作用,FN+PD+SB处理对大豆的促生效果最好,3种菌株对大豆的促生效果中存在协同效应机制。

关键词:东北黑土;大豆;根际促生菌;促生效应

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)02-0270-04

Growth Conditions and Growth-promoting Effects of Soybean PGPR in the Black Soil Region of Northeast China

WANG Zhi-gang^{1,2}, ZHONG Peng³, WANG Jian-li⁴, XU Wei-hui¹, MO Ji-xian¹

(1. College of Life Science and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006; 2. Resources and Environment Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030; 3. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 4. Institute of Pratacultural Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

Abstract: In order to elucidate the growth-promoting effects of soybean plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), shake flasks and pot experiments were set to study the growth conditions and effects of three soybean PGPRs (FN, PD and SB) in the black soil region of northeast China. The results showed that optimum temperatures of three soybean PGPRs were 25℃. The biomass of FN changed little at pH 5.0-9.0 and the optimum pH of PD and SB were 5.0. MnSO₄ to FN had a weak role in promoting growth at 1.0 g·L⁻¹, PD was significantly inhibited by MnSO₄, MnSO₄ could significantly promote the growth of SB. MgSO₄ could accelerate the growth of FN, the biomass of PD and SB were maximized when the concentration of MgSO₄ were 1.0 g·L⁻¹. The optimal salt concentrations of FN and PD were 1.0 g·L⁻¹, the biomass of SB positively correlated with the concentration of salt. Different strains had a certain role in promoting agronomic traits of soybean, such as plant height, stem diameter, root dry weight and fresh weight, plant dry weight and fresh weight and root shoot ratio, etc. Because FN + PD + SB treatment had the best growth-promoting effect on soybean, we speculated the synergies should exist among three strains.

Key words: Black soil region of northeast China; Soybean; Plant growth-promoting rhizobacteria; Growth-promoting effect

根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)能够帮助作物吸收营养物质或者合成某种化合物(如生长激素)供植物利用,与作物产量和品质的形成密切相关^[1-2]。以PGPR为核心的生物肥料研究与开发工作已经成为国内外的研究热点^[3-6]。近些年来研究人员对玉米^[7-8]、小麦^[9]、水稻^[10]、油菜^[11]、棉花^[12]等作物PGPR开展了大量工作,研究结果表明PGPR能够显著提升作物产量和植株的抗逆性。根际促生细菌能够增加豆科植物根瘤数和生物量、促进根系发育和养分吸收^[13-15],因此研究大豆根际促生菌具有重要意义。

该研究从东北黑土区大豆根际分离到的促生

菌中选择活性强、分布范围广的菌种,研究其生长条件和促生效应,为东北黑土区的大豆根际促生菌制剂生产与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株从内蒙古鄂温克旗、黑龙江海伦市、黑龙江克山县和黑龙江农垦红兴隆分局友谊农场等黑土区大豆根际分离获得,菌种信息见表1。

盆栽土样取自黑龙江农垦总局红兴隆分局友谊农场,土壤类型为黑土,pH 5.96,有机质 80.7 g·kg⁻¹,铵态氮 11.9 mg·kg⁻¹,速效磷 27.1 mg·kg⁻¹,速效钾

收稿日期:2011-11-29

基金项目:齐齐哈尔大学青年科研启动支持计划(2010k-M10);黑龙江省教育厅科学技术研究资助项目(11551539)。

第一作者简介:王志刚(1980-),男,讲师,博士,从事微生物生态方面的研究与教学工作。E-mail:wzg1980830@yahoo.com.cn。

87.9 mg·kg⁻¹。大豆品种东农 36,由东北农业大学大豆研究所提供。生长特征发酵基础培养基为 LB 培养基。

表 1 供试菌株
Table 1 Strains used in study

菌株 Strain	属别 Taxonomy	功能 Function
FN	<i>Azotobacter Azomonas</i>	自生固氮、产生植物生长素
PD	<i>Arthrobacter</i>	解磷
SB	<i>Bacillus</i>	解钾

1.2 方法

1.2.1 促生菌生长条件筛选 生长条件设置温度、pH 值、锰离子、镁离子和氯化钠共计 5 个处理,液体培养基中培养 24 h 后用 722 分光光度计在 600 nm 波长处测定吸光值。

1.2.2 促生效应 盆栽试验在人工气候箱内进行,用塑料盆装土,每盆装土 1.0 kg。添加用 LB 培养基培养 24 h 的菌液 60 mL,组合菌剂中每种菌的添加量为各种菌的平均分配量,以不施菌剂为对照,3 次重复。土壤分别与各种菌剂充分混匀后装盆,加去离子水至田间持水量的 70%,平衡 14 d 后每盆播入 10 颗籽粒饱满、大小均匀的大豆种子,出苗后间苗至每盆 3 株,保持苗间距基本一致,共 24 盆。人工气候箱条件:光照时间为 7:00~19:00,光照强度为 300 μmol·m⁻²·s⁻¹,温度为白天 28℃,夜晚 20℃。每个盆钵用去离子水等量灌溉。大豆生长 70 d 后测量株高,收获整个植株,测定第 3 个叶片处的茎粗;将大豆植株用自来水洗净后,去离子水清洗 2~3 遍,吸水纸吸干后测定植株和根系鲜重,然后,105℃杀青,晾干后放入烘箱内 65℃烘 48 h 至恒重,测定植株与根系干重。

1.3 数据分析

采用 DPS v7.05 进行数据统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 温度和 pH 值对大豆促生菌生长的影响

一切生命的代谢活动都是在酶的作用下进行的^[16],要发挥酶最大的催化效率,必须保证酶具有最适宜的温度和 pH。因此,温度和 pH 值是菌剂发酵生产首先要考虑的工艺参数。由图 1 可以看出,3 株菌在 15℃和 37℃生物量均相对较低,最适温度均为 25℃;FN 在 pH 值 5.0~9.0 范围内生物量变化不大,说明其对 pH 值的反应不敏感;PD 和 SB 随着 pH 升高生物量有下降趋势,其最适 pH 值均为 5.0。

2.2 金属离子和盐分对大豆促生菌生长的影响

金属离子是微生物生长和功能酶合成的重要因子^[17],锰是羧化酶的激活剂,是糖代谢中许多酶类发挥活性所必需的元素^[18],MgSO₄能提供微生物

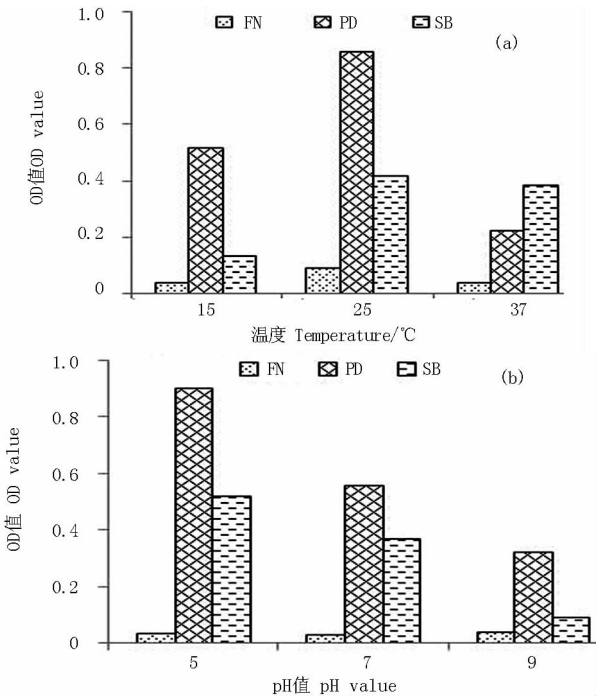


图 1 温度(a)和 pH 值(b)对大豆根际促生菌的影响
Fig.1 Effect of temperature(a) and pH(b) on soybean PGPR

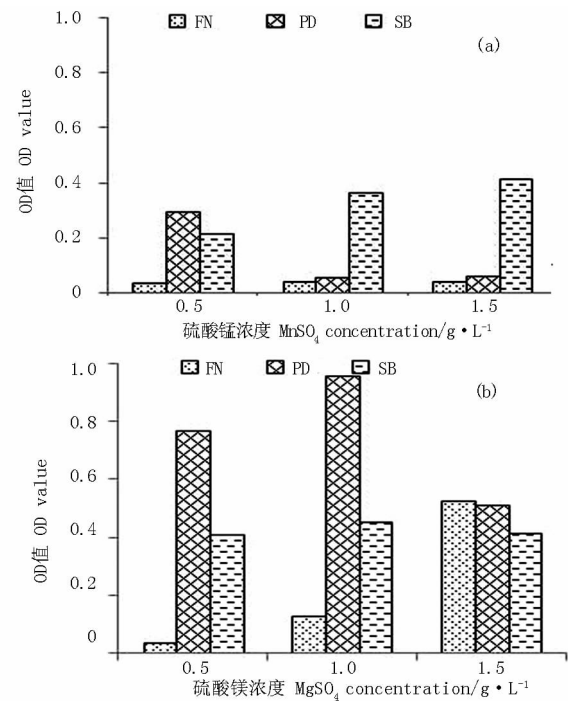


图 2 锰(a)和镁(b)对大豆根际促生菌生长的影响
Fig.2 Effect of Mn²⁺ (a) and Mg²⁺ (b) on soybean PGPR 生长所需要的矿物质元素^[19]。通过图 2 可以看出, MnSO₄在 1.0 g·L⁻¹时对 FN 的生长具有一定的促进作用,但是差异不明显;PD 受 MnSO₄的抑制较为明显,随着 MnSO₄浓度的增加生物量降低,SB 的生物量随着 MnSO₄浓度增加而增加;FN 生长量随着 MgSO₄浓度的增加而升高,PD 和 SB 均在 MgSO₄浓度为 1.0 g·L⁻¹时生物量达到最大。

培养液的盐浓度影响微生物细胞水分有效性和养分吸收^[20]。由图3可以得出, FN 和 PD 的生长最适盐分浓度均为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, SB 的生物量有随着盐分浓度升高而增长的趋势, 在 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时生物量达到最大。

2.3 大豆根际促生菌的促生效应

促生菌对大豆的促生效应研究结果表明(表2), 不同的菌制剂对大豆的株高、茎粗、根干重、根鲜重、植株干重、植株鲜重和根冠比均有一定促进作用, 其中处理 FN + PD + SB 促生效果最佳, 且效果差异显著。大豆的生长受多种因素影响, 为了进一步明确试验处理对大豆生长的影响, 把菌剂处理

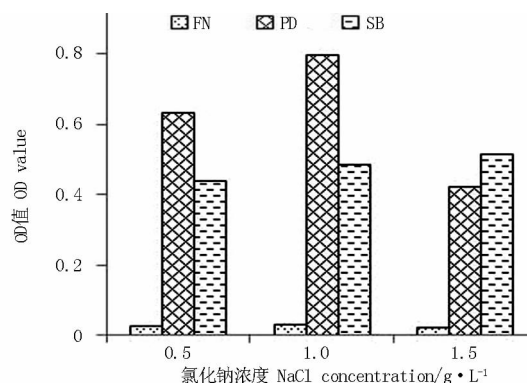


图3 盐分浓度对大豆根际促生菌生长的影响

Fig. 3 Effect of salt concentration on soybean PGPR

表2 促生菌剂对大豆的促生效应

Table 2 Growth-promoting effect of PGPR on soybean

处理 Treatments	株高 Plant height /cm	茎粗 Stem diameter /mm	根干重 Root dry weight per plant/g	根鲜重 Root fresh weight per plant/g	植株干重 Dry weight per plant/g	植株鲜重 Fresh weight per plant/g	根冠比 Root to shoot ratio
CK	33.83 ± 2.41d	3.52 ± 0.81d	0.50 ± 0.21f	3.15 ± 0.79e	3.43 ± 0.32e	25.17 ± 1.72d	0.14
FN	35.22 ± 1.53c	3.92 ± 0.39c	0.60 ± 0.19e	3.45 ± 0.83e	3.96 ± 0.21d	28.48 ± 2.13c	0.14
PD	39.33 ± 2.85a	4.01 ± 0.56c	0.68 ± 0.17d	4.16 ± 0.69c	4.19 ± 0.19c	27.96 ± 1.98c	0.17
SB	38.67 ± 3.14b	4.49 ± 0.68b	0.63 ± 0.20e	3.91 ± 0.74d	4.07 ± 0.17d	27.57 ± 2.13c	0.17
FN + PD	40.75 ± 3.37a	4.89 ± 0.74a	0.83 ± 0.12b	4.66 ± 0.91b	5.24 ± 0.27b	34.58 ± 1.94a	0.16
FN + SB	38.98 ± 1.93b	3.27 ± 0.52e	0.71 ± 0.15c	4.21 ± 0.87c	4.27 ± 0.14c	28.48 ± 1.23c	0.17
PD + SB	39.50 ± 2.46a	3.78 ± 0.43c	0.73 ± 0.21c	4.47 ± 0.69b	5.14 ± 0.43b	31.97 ± 1.34b	0.16
FN + PD + SB	41.50 ± 2.37a	3.52 ± 0.38d	0.93 ± 0.19a	5.48 ± 0.82a	5.51 ± 0.38a	34.71 ± 1.75a	0.19

同一列数据中标有不同字母表示处理间差异显著, $P < 0.05$ 。

Values within a column followed by different lowercase are significantly different, $P < 0.05$.

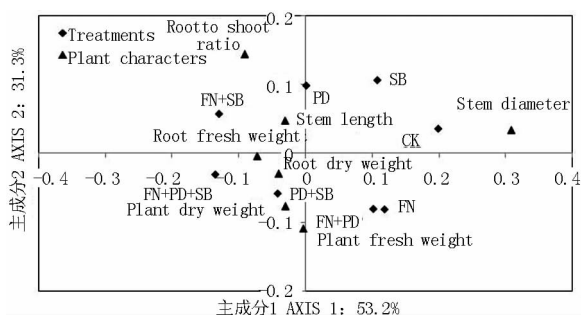


图4 促生菌剂处理与大豆农艺性状的对应关系图谱

Fig. 4 Correspondence analysis of PGPR and soybean

作为 Q 型因子, 把大豆农艺性状作为 R 型因子, 进行对应性分析, 制作二维图谱(图4), 2 个主成分代表了整个体系 84.5% 的特征。通过图4可以看出, FN + PD 和 FN 距离较近, 说明这 2 个处理对大豆的促生效果是相同的; 而 CK、PD、SB、FN + SB、FN + PD + SB 处理分别处于不同象限中或者距离较远, 说明各处理对大豆的促生效果明显不同, 其中 FN + PD + SB 处理与大豆的株高、根干重、根鲜重、植株干重、植株鲜重等性状距离较近, 在整体作用效果

上优于其它处理, 说明 3 种菌株对大豆的促生效应中存在协同效应机制。

3 讨论

温度、pH、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 NaCl 浓度是影响根际促生菌生长的重要环境因素^[21-23]。该研究结果表明, 3 株大豆促生菌的最适温度均为 25°C 左右, FN 对 pH 值变化反应不敏感, 而 PD 和 SB 的最适 pH 值均为 5.0; 适宜的 MnSO_4 浓度对 FN 和 SB 的生长具有促进作用, PD 受 MnSO_4 的抑制较为明显。在 $0.5 \sim 1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内 MgSO_4 浓度与 FN 生长量呈正相关, PD 和 SB 生长的最适 MgSO_4 浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; FN 和 PD 的生长最适盐分浓度均为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, SB 的生物量随着盐分浓度升高而增加, 在 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时生物量达到最大。

多种植物根际促生菌同时接种时, 促生菌之间有可能存在协同促生作用。王富民等^[24]研究表明固氮菌和磷细菌同时存在时能够相互促进, 并增强

生理活性,小麦平均增产 13.2%。蒲一涛等^[25]把自生固氮菌和纤维素分解菌进行混合培养,结果 2 种菌在一定情况下能相互利用、相互依存,经混合培养后发酵液的含氮量增高,菌数增加。刘丽丽等^[26]研究表明磷细菌和钾细菌混合培养可以显著提高其生物量。该研究结果表明,不同的菌制剂对大豆的株高、茎粗、根干重、根鲜重、植株干重、植株鲜重和根冠比均有一定促进作用。其中 FN + PD + SB 处理对大豆的促生效果最好,3 种菌株对大豆的促生效果中存在协同效应机制。

参考文献

- [1] Mena-Violante H G, Olalde-Portugal V. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs [J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 113: 103-106.
- [2] Latha P, Anand T, Ragupathi N, et al. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani* [J]. *Biological Control*, 2009, 50: 85-93.
- [3] Kavino M, Harish S, Kumar N, et al. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions [J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 45: 71-77.
- [4] 臧威, 孙剑秋, 王鹏, 等. 东北地区四种农作物根际磷细菌的分布 [J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17(6): 1206-1210. (Zang W, Sun J Q, Wang P, et al. Distribution of phosphobacteria in rhizosphere soils of four crops in Northeast China [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(6): 1206-1210.)
- [5] 康贻军, 程洁, 梅丽娟, 等. 植物根际促生菌作用机制研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2010, 21(1): 232-238. (Kang Y J, Cheng J, Mei L J, et al. Action mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): A review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(1): 232-238.)
- [6] Azcom R, Barea J M. Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants [J]. *Plant and Soil*, 1975, 43: 609-619.
- [7] 饶正华, 林启美, 孙焱鑫, 等. 解钾菌与解磷菌及固氮菌的相互作用 [J]. *生态学报*, 2002, 21(2): 71-73. (Rao Z H, Lin Q M, Sun Y X, et al. Interactions between a *Bacillus mucilaginosus*, phosphobacteria and a nitrogen fixing bacterium [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2002, 21(2): 71-73.)
- [8] 刘晓东, 王补全, 李伟. 玉米根际促生菌的筛选及其对玉米生长发育的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(10): 5043-5045. (Liu X D, Wang B Q, Li W. Selection of the rhizosphere growth-promoting bacterium of maize and its impact on maize growth and development [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(10): 5043-5045.)
- [9] 常慧萍, 祝凌云, 姚丽娟, 等. 小麦根际固氮菌、解磷菌及解钾菌的互作效应 [J]. *中国土壤与肥料*, 2008(4): 57-59. (Chang H P, Zhu L Y, Yao L J, et al. Effects of interaction between azotobacteria, P-releasing and K-releasing bacteria of wheat rhizosphere [J]. *Soil and Fertilizers Sciences in China*, 2008(4): 57-59.)
- [10] 祝凌云. 水稻根际促生菌的筛选及对水稻的促生作用 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2008. (Zhu L Y. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria of rice and their influence on the growth of rice [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2008.)
- [11] 康贻军, 程洁, 梅丽娟, 等. 植物根际促生菌的筛选及鉴定 [J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 853-861. (Kang Y J, Cheng J, Mei L J, et al. Screening and identification of plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 853-861.)
- [12] 夏冕真, 马忠友, 曹媛媛, 等. 棉花根际固氮菌、解磷菌及解钾菌的相互作用 [J]. *中国微生物生态学杂志*, 2010, 22(2): 102-105. (Xia M Z, Ma Z Y, Cao Y Y, et al. Interactions between a N-fixation bacterium, a phosphobacterium and a K-releasing bacterium of cotton rhizosphere [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2010, 22(2): 102-105.)
- [13] 薛晓昀, 冯瑞华, 关大伟, 等. 大豆根瘤菌与促生菌复合系筛选及机理研究 [J]. *大豆科学*, 2011, 30(4): 613-620. (Xue X Y, Feng R H, Guan D W, et al. Screening and analysis for efficient co-inoculation system of soybean rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Soybean Science*, 2011, 30(4): 613-620.)
- [14] Petersen D J, Srinivasan M, Chanway C P. *Bacillus polymyxa* stimulates increased *Rhizobium etli* populations and nodulation when co-resident in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* [J]. *FEMS Microbiology*, 1996, 142: 271-276.
- [15] Lifshitz R, Guilmette H, Kozłowski M. Tn5-mediated cloning of a genetic region from *Pseudomonas putida* involved in the stimulation of plant root elongation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 54: 3169-3172.
- [16] 魏琛, 姚晓园, 陆天友. 高原地区耐冷菌的生物特性研究 [J]. *贵州大学学报(自然科学版)*, 2009, 26(6): 129-133. (Wei C, Yao X Y, Lu T Y. Research on the biological characteristics of psychrotrophs in highland areas [J]. *Journal of Guizhou University (Natural Sciences Edition)*, 2009, 26(6): 129-133.)
- [17] 杨峰晓, 唐赞. 金属离子对嗜热菌 BF80 生长及苯酚降解的影响研究 [J]. *微生物学通报*, 2008, 35(6): 876-881. (Yang F X, Tang Y. Effect of metal ions on cell growth and phenol degradation of a thermophilic strain BF80 [J]. *Microbiology*, 2008, 35(6): 876-881.)
- [18] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 19. (Chen T S. The manufacture and application of microbiological culture media [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995: 19.)
- [19] 朱永真, 杜双田, 车进, 等. 无机盐及生长因子对羊肚菌菌丝生长的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(4): 211-215. (Zhu Y Z, Du S T, Che J, et al. Effect of inorganic salts and growth factors on the mycelia growth of microchella esculenta [J]. *Journal of Northwest Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(4): 211-215.)
- [20] 沈萍. 微生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 143. (Shen P. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 143.)
- [21] 梁锦锋, 陈欣, 唐建军. 1 株磷细菌基本培养条件的研究 [J]. *浙江林学院学报*, 2002, 19(4): 342-345. (Liang J F, Chen X, Tang J J. Culture condition of phosphate-solubilizing bacteria *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 2002, 19(4): 342-345.)

(下转第 277 页)

移栽可以保证鉴定所用的苗处于一致的生长状态,但采用品红染色法出苗后将生长状态不一致的苗拔掉,可以达到同样的目的,且省去了幼苗移栽的繁重工作。

3 讨 论

大豆胞囊线虫危害严重,选育抗病品种是主要的防治方法,近年来,分子标记辅助育种技术已逐渐成熟,这为加快大豆抗线育种提供了新的途径。而建立一种适合于较大规模大豆群体的快速有效的胞囊线虫抗性鉴定方法,对提高抗线分子标记辅助育种的效率至关重要。

经过对 2 种大豆胞囊线虫鉴定方法的比较发现,塑料钵柱法可观察到大豆胞囊线虫病的主要发病特征,包括叶片变黄,植株矮小,根部有胞囊形成等典型症状,可用于胞囊线虫和胞囊形态的鉴定;酸性品红染色法在鉴定胞囊线虫时未见叶片变黄,根部未见胞囊,由于可以在短时间内完成取样过程,然后经过漂洗及染色,在 20 × 显微镜下可见处于二龄期的幼虫,可以大大缩短鉴定周期。在数据稳定性方面,塑料钵柱法由于胞囊的脱落造成数据稳定性差,而品红染色法二龄期幼虫已被固定,不会随着时间的推移而发生变化从而减小误差。因此,采用品红染色法会提高分子标记辅助选育抗线品种(系)时数据的准确性,对于大豆胞囊线虫抗性 QTL 定位及抗性资源的筛选有重要意义。

参考文献

- [1] 靳学慧,辛惠普,郑雯,等. 长期轮作和连作对土壤中大豆胞囊线虫数量的影响[J]. 中国油料作物学报,2006,28(2):189-193. (Le X H, Xin H P, Zheng W, et al. The influence of soil on the long-term rotation and continuous cultivation on soybean cyst nematode[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2006, 28(2):189-193.)
- [2] 董丽民,许艳丽,李春杰. 黑龙江省大豆胞囊线虫胞囊密度和生理小种鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2008,3(1):108-111. (Dong L M, Xu Y J, Li C J. Cyst density and subspecies identification of soybean cyst nematode in Heilongjiang province[J] Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008;3(1):108-111.)
- [3] 王振华,时李波,吴海燕,等. 大豆根内胞囊线虫发育进程及分布[J]. 中国农业科学 2009,42(9):3147-3153. (Wang Z H, Shi L B, Wu H Y, et al. Distribution and developmental process of *Heterodera glycines* in soybean root[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009,42(9):3147-3153.)
- [4] Byrd D W, Kirkpatrick T, Barker K R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for the detection of nematodes[J]. Journal of Nematology, 1983, 15(1):142-143.
- [5] 刘学义,马俊奎,任小俊. 塑料钵柱法在大豆抗大豆胞囊线虫鉴定中的应用[J]. 华北农学报,1998,13(专刊):92-96. (Liu X Y, Ma J K, Ren X J, Identification of resistance to soybean cyst nematode in soybean plastic bowl column method in the application[J]. China Agricultural University, 1998, 13(Special issue):92-96.)
- [6] 齐军山,李长松,李林,等. 大豆胞囊线虫生理小种及其鉴定技术[J]. 中国油料作物学报,2000,22(4):71-74. (Qi J S, Li C S, Li L, et al. Soybean cyst nematode physiological races and identification method[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(4):71-74.)
- [7] 卢为国,盖钧镒. 大豆对胞囊线虫抗性遗传与分子标记研究进展[J]. 大豆科学,2004,23(5):59-64. (Lu W G, Gai J Y. Advances in resistance to soybean cyst nematode(*Heterodera glycines* Ichinohe) and resistant molecular markers in soybean (*Glycines max* Merr.)[J]. Soybean Science, 2004, 23(5):59-64.)
- [8] 吴和礼,姚振纯,李秀兰. 大豆胞囊线虫病抗病性鉴定技术的研究[J]. 大豆科学,1984,3(1):1-6. (Wu H L, Yao Z C, Li X L, et al. Studies on the methods of identification of resistant to cyst nematode (*Heterodera glycines*) [J]. Soybean Science, 1984, 3(1):1-6.)
- [9] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [10] Noel G R, Stanger B A. Scanning electron microscopy of second-stage juvenile cephalic morphology in *Heterodera glycines* races[J]. Journal of Nematology 1986,8:475-478.
- [11] 刘维志,李秀兰,姚振纯. 大豆胞囊线虫抗病性鉴定技术的研究[J]. 大豆科学,1984,3(1):1-6. (Wu H L, Yao Z C, Li X L, et al. Studies on the methods of identification of resistant to cyst nematode (*Heterodera glycines*) [J]. Soybean Science, 1984, 3(1):1-6.)
- [12] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [13] 刘维志,李秀兰,姚振纯. 大豆胞囊线虫抗病性鉴定技术的研究[J]. 大豆科学,1984,3(1):1-6. (Wu H L, Yao Z C, Li X L, et al. Studies on the methods of identification of resistant to cyst nematode (*Heterodera glycines*) [J]. Soybean Science, 1984, 3(1):1-6.)
- [14] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [15] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [16] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [17] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [18] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [19] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [20] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [21] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:23-26. (Liu W Z. Studies of plant pathogenic nematodes[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:23-26.)
- [22] Zakria M, Ohsako A, Saeki Y, et al. Colonization and growth promotion characteristics of *Enterobacter* sp. and *Herbaspirillum* sp. on *Brassica oleracea*[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2008, 54:507-516.
- [23] Li X, Wu Z Q, Li W D, et al. Growth promoting effect of a transgenic *Bacillus mucilaginosus* on tobacco planting[J]. Applied Microbial and Cell Physiology, 2007, 74(5):1120-1125.
- [24] 王富民,张彦,吴皓琼,等. 解磷固氮菌剂的研制及其对小麦的增产效应[J]. 生物技术,1994,4(4):15-18. (Wang F M, Zhang Y, Wu H Q, et al. Study of dissolve phosphorus and nitrogen fixation bacterial manure as well as the effect of increase production for wheat[J]. Biotechnology, 1994, 4(4):15-18.)
- [25] 蒲一涛,钟毅沪,周万龙. 固氮菌和纤维素分解菌的混合培养及其对生活垃圾降解的影响[J]. 环境科学与技术,1999(1):15-18. (Pu Y T, Zhong Y H, Zhou W L. The mixed culturing of nitrogen-fixation bacteria and cellulose decomposing organism and the effects on the decomposing of the household garbage[J]. Environmental Science and Technology, 1999(1):15-18.)
- [26] 刘丽丽,王金华. 磷细菌和钾细菌混合培养的研究[J]. 南开大学学报(自然科学),1995,28(3):21-25. (Liu L L, Wang J H. A study on the mixed culture of potassium bacteria and phosphorus bacteria[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 1995, 28(3):21-25.)

(上接第 273 页)