

红树内生细菌 AiL3 在大豆体内的定殖与促生作用研究

黄勤知, 卢乃会, 何红, 冯晓茵

(广东海洋大学 农学院, 广东 湛江 524088)

摘要: 为明确红树内生解淀粉芽孢杆菌 AiL3 在大豆体内的定殖及促生效果, 通过逐步提高抗生素浓度驯化和平板对峙生长法, 筛选对利福平标记稳定且对大豆疫霉菌具有较好抑菌作用的 AiL3^{Rif} 突变菌株, 分别采用灌根和涂叶法研究了 AiL3^{Rif} 在大豆体内的定殖动态, 并在灌根处理中考察了菌株发酵液对大豆的促生作用。结果表明: 培养 10 代后的 AiL3^{Rif} 标记保持稳定, 原始 AiL3 菌株和 AiL3^{Rif} 菌株对大豆疫霉抑制率分别为 57.58% 和 56.92%; 灌根与涂叶法均可使利福平标记菌株 AiL3 在大豆体内定殖, 且能上下传导, 有效定殖期持续达 30 d 以上, 其中灌根处理第 11 天后大豆根部定殖数量最高可达 6.2×10^3 cfu·g⁻¹, 同期定殖量根部 > 茎部 > 叶片, 涂叶处理第 1 天大豆叶片出现最大值 3.34×10^3 cfu·g⁻¹, 同期定殖量叶片 > 茎部 > 根部, 总体看来定殖量灌根要高于涂叶同期处理, 且相对稳定; 促生方面, 以浓度为 1.0×10^7 cfu·mL⁻¹ AiL3 菌株悬浮液灌根盆栽大豆, 20 d 后处理组鲜重、干重、株高、根长、叶绿素、根系活力等指标均显著高于其他组, 说明红树内生细菌 AiL3 对大豆具有明显促生作用。

关键词: 红树; 内生细菌 AiL3; 大豆; 定殖; 促生

中图分类号: S482.292

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2014)02-0223-05

Colonization and Promotion Growth of Mangrove Endophytic Bacteria AiL3 in Soybean

HUANG Qin-zhi, LU Nai-hui, HE Hong, FENG Xiao-yin

(College of Agriculture, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Mangrove endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* AiL3 were used as materials to study the colonization and promotion growth in soybean. Mutant strains AiL3^{Rif} owned stable marker of antibiotic rifampicin and inhibitory effect against *Phytophthora sojae* were screened by gradually increasing the concentration of antibiotics and dual culture method. Colonizing dynamics of the AiL3^{Rif} strain in root, stem and leaf of soybean were investigated by treating with root pouring and leaf coating and promotion growth of plant were determined after root pouring inoculation. The results indicated that the strain AiL3^{Rif} was remain stable resistance marker after 10 generations of cultivation. The inhibition rates of the original AiL3 and mutated AiL3^{Rif} strains against *P. sojae* were 57.58% and 56.92%, respectively. The strain AiL3^{Rif} could not only colonize in soybean but also conduct from top to bottom and effective colonization period could sustain 30 days or more. The most amount of the marked strain were 6.2×10^3 cfu·g⁻¹ after 11 days inoculation of pouring inoculation and the colonizing ability in the root was stronger than stems and leaves. Treated with leaf coating, the most amount appeared in the leaves was 3.34×10^3 cfu·g⁻¹, and followed by stems and least in the roots. The amount of bacteria colone of root pouring was higher than that of leaf coating and relatively stable. In soybean growth-promoting aspects, the content of 1.0×10^7 cfu·mL⁻¹ AiL3 fermentation broth were significantly higher than the other test groups based on determination results of the fresh and dry weight, height, root length, chlorophyll and root activity. It illustrated that mangrove endophytic bacteria AiL3 owned a obvious promoting effect for soybean.

Key words: Mangrove; Endophytic bacteria AiL3; Soybean; Colonization; Promotion growth

由大豆疫霉菌 (*Phytophthora sojae*) 引起的大豆疫霉根腐病, 传播速度快、危害程度大, 严重时可导致大豆绝产, 年经济损失高达 10 亿 ~ 20 亿美元^[1-2]。该病害 1948 年发现于美国印第安纳州, 1951 年在俄亥俄州首次报道, 之后在加拿大、阿根廷和新西兰等国的大豆主产区相继报道出现; 1991 年, 该病害在我国东北地区首次发现, 随后迅速向南扩展, 目前已蔓延至 15 个省市区^[3-6]。

目前, 大豆疫霉根腐病的传统防治方法主要包括选育抗病品种、杀菌剂化学防治、优化耕作条件等, 但存在田间病菌变异过快品种抗性丧失^[7]、病原抗药性^[8]及农业生产成本过高等不利因素影响, 因此利用生物防治该病将成为未来重点研究方向之一。韩祥东等^[9]从大豆根系筛选到一株假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.)、付红梅等^[10]在大豆根围获得的短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 均对大豆疫霉菌有较好的抑菌效果。大量研究表明, 生防菌在寄主

收稿日期: 2013-09-13

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303018); 广东省科技计划 (2012A020602049)。

第一作者简介: 黄勤知 (1987-), 男, 在读硕士, 主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: yuwen_333@qq.com。

通讯作者: 何红 (1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事植物病害生物防治及海洋微生物资源调查研究。E-mail: hehong893@163.com。

植物体内有效定殖量是衡量生防菌株性能的重要指标之一,有关生防细菌在大豆体内定殖规律的相关研究鲜有报道。本文以实验室分离获得高效生防菌 AiL3^{Rif} 为研究材料,采用抗生素诱导获得稳定标记突变菌株 AiL3^{Rif},利用灌根和涂叶两种方法研究了其在大豆体内定殖规律,并测定灌根处理对大豆植株的促生作用,为进一步对其生防大豆疫霉作用机理、定殖与促生之间联系及未来菌剂开发的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株:红树老鼠筋(*Acanthus ilicifolius*)内生解淀粉芽孢杆菌 AiL3 为本实验室分离保存。

供试病菌与大豆:大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)同安2号和大豆种子毛豆75由福建省农业科学院植物保护研究所兰成忠老师惠赠。

1.2 AiL3 菌株抑菌活性测定

参照柳凤等^[12]的平板对峙生长法。在黑麦培养基(黑麦50g,琼脂20g,去离子水1000mL)平板中央接种直径5mm的大豆疫霉(*P. sojae*)同安2号菌丝块,在距离平板边缘1.5cm处对称接种 AiL3 菌株,对照只接病原菌块。28℃黑暗培养6d后,测量抑菌带宽,计算抑菌率。每处理3次重复。

1.3 AiL3^{Rif} 菌株的诱导

用一定量的90%乙醇溶液配成一定浓度的利福平液,灭菌后加入NB(蛋白胨10.0g,牛肉膏5.0g,氯化钠5.0g,水1000mL,pH7.0~7.5)液体培养基中配成不同浓度梯度培养液。参照汪腾等^[13]的方法逐步提高抗生素浓度驯化诱导 AiL3 突变菌株。方法如下:将菌株 AiL3 菌株在NA(1L NB培养基中加入18~20g琼脂)平板上培养24h后,转接于含0.5 μg·mL⁻¹利福平的NB液体培养基中,35℃黑暗条件,180 r·min⁻¹摇床培养24h后,取0.5 mL菌液加入含更高浓度利福平NB液体培养基中,相同培养条件继续培养,依次由低浓度培养基上生长筛选逐渐向高浓度的利福平上生长筛选,直到诱导菌株 AiL3 抗利福平浓度为500 μg·mL⁻¹为止,获得利福平标记菌株,编号为菌株 AiL3^{Rif}。

1.4 AiL3^{Rif} 菌株标记稳定性及拮抗作用测试

将菌株 AiL3^{Rif} 接种至不含抗生素的LB液体培养基中,28℃、150 r·min⁻¹黑暗培养12h后,连续转接,培养10代,采用稀释涂布平板法分别测试其在不含抗生素和含500 μg·mL⁻¹抗生素的培养基中生长状况。

将标记稳定的 AiL3^{Rif} 菌株活化后,对称接种于距离平板边缘1.5cm处黑麦培养基上,然后于平板中央接种直径5mm大豆疫霉菌块,28℃黑暗培养6d后,测量抑菌带宽。以原始 AiL3 菌株对称点接为对照,分别测量抑菌宽度,每处理3个重复。

1.5 AiL3^{Rif} 菌株在大豆体内定殖测定

1.5.1 菌株 AiL3^{Rif} 接种 将菌株 AiL3^{Rif} 在含500 μg·mL⁻¹利福平的LB培养液中35℃、180 r·min⁻¹恒温振荡培养18h后,吸取10mL转接于200mL的BPY培养基(蛋白胨10.0g,牛肉膏5.0g,氯化钠5.0g,葡萄糖10.0g,酵母粉5.0g,pH7.0~7.5)中,在180 r·min⁻¹、28℃的恒温振荡培养箱中振荡培养18~24h,至菌量浓度为1.0 × 10⁷ cfu·mL⁻¹备用。采用灌根和涂叶2种方法接种生防菌。均以无菌水为对照,每处理5盆,3次重复。分别于接种后第1,3,7,11,17,23和30天随机取样。

灌根接种:大豆种子播种于盛有灭菌土壤的花盆中,出苗后每盆保留6株。当大豆苗长出真叶时,将浓度为1.0 × 10⁷ cfu·mL⁻¹菌株 AiL3^{Rif} 发酵液均匀浇灌各植株根围土壤。

涂叶接种:大豆种子播种于盛有灭菌土壤的花盆中,出苗后每盆保留6株。待真叶完全展开后,用无菌药棉蘸取浓度为1.0 × 10⁷ cfu·mL⁻¹菌株 AiL3^{Rif} 发酵液涂抹真叶叶片,保湿24h。

1.5.2 菌株 AiL3^{Rif} 在大豆体内定殖与消长动态测定 参照汪腾等^[13]的菌株回收方法,并改进。分别于接种后第1,3,7,11,17,23和30天取各处理组大豆根、茎和叶片,每次取样后清水冲洗干净,稍干后称取0.5g样品,70%乙醇(v/v)表面消毒30s,再用0.1%升汞溶液浸泡1~2min,无菌水清洗3次。晾干后剪碎并加入1mL无菌水磨碎,静置15min后,倍比稀释后,分别取200 μL溶液涂布于含500 μg·mL⁻¹利福平的NA培养基平板上,28℃黑暗培养24~36h,计算每皿菌落数,并换算成每克鲜组织中的菌落数(cfu·g⁻¹FW)。每样品3次重复。

1.6 不同浓度 AiL3 培养液对大豆的促生作用

将大豆种子播种于盛有灭菌土壤的花盆中,出苗后每盆留苗8株。当大豆苗长出真叶时,将浓度为1.0 × 10⁸ cfu·mL⁻¹生防菌株 AiL3 发酵液分别稀释10倍、100倍后均匀浇灌各盆根围土壤,以培养基(BPY)和无菌水为对照,每处理5盆,3次重复。各处理第20天时分别取样测定鲜重、干重、株高、根长、根系活力和叶绿素含量,计算促生增幅。其中根系活力测定采用四氮唑(TTC)比色法,叶绿素含量测定采用“乙醇-丙酮混合液浸泡法”^[14]。

2 结果与分析

2.1 AiL3 菌株的抑菌活性及 AiL3^{Rif} 菌株的获得

平板对峙生长试验结果显示:对峙生长培养 6 d 后,红树内生细菌 AiL3 对大豆疫霉菌同安 2 号的抑菌圈直径达 17.81 mm(图 1B),与对照(图 1A)相比拮抗作用达到了 57.58%。诱导获得菌株 AiL3^{Rif} 在无抗生素条件下连续培养 10 代后,转接于含 500

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 抗生素的培养基中良好生长,与不含抗生素培养基中生长的菌落数基本相同,说明诱变菌株抗性标记稳定。标记菌株抑菌试验表明:与大豆疫霉菌同安 2 号对峙培养 6 d 后,菌株 AiL3^{Rif} 抑菌直径达 17.30 mm(图 1C),抑菌率达 56.92%,与原始菌株抑菌率差异不显著,说明抗性筛选 AiL3 菌株标记稳定、抑菌能力基本无退化,可用于生防菌在大豆体内定殖测定。

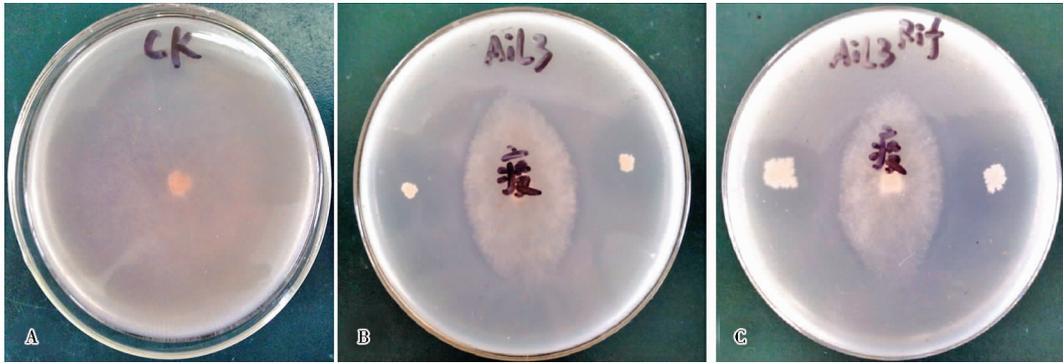


图 1 AiL3 对大豆疫霉抑菌作用稳定性测试

Fig. 1 Stability of inhibitory effect of strain AiL3 against *Phytophthora sojae*

2.2 菌株 AiL3^{Rif} 在大豆体内的定殖测定

采用灌根和涂叶两种处理方式测定菌株 AiL3^{Rif} 在大豆体内的定殖消长动态。整个回收试验中清水及空白培养基处理组大豆根、茎、叶在 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 NA 平板中未长出细菌菌落,灌根和接种处理材料各部位回收菌株与利福平标记菌株 AiL3 形态相似,说明菌株 AiL3^{Rif} 可以在大豆体内定殖。

由图 2 可知,灌根处理后,不同取样时间内菌株 AiL3^{Rif} 在根、茎、叶定殖量均存在显著差异,且根、茎、叶标记菌株定殖菌量均呈先增加后降低的单峰曲线变化。根部和茎部的变化趋势基本一致,菌含量在第 11 天达到最大值;叶部变化幅度较小,菌含量在第 7 天达到最大值。随后菌量开始迅速下降,第 30 天在根部和茎部取样仍能回收标记菌株,且菌

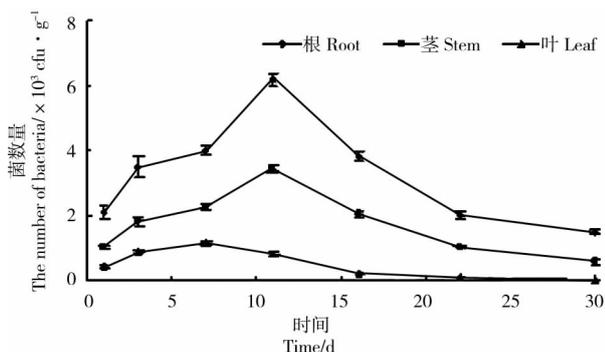


图 2 灌根处理后菌株 AiL3^{Rif} 在大豆定殖动态

Fig. 2 Colonization fluctuation of AiL3^{Rif} strain in different tissues by root pouring treatment

量差异较小,说明定殖水平趋于相对稳定。

涂叶处理结果(图 3)表明:涂叶接种 1~30 d 内,在根、茎、叶分离到的 AiL3^{Rif} 菌株数量差异显著。接种 1 d 后,叶片 AiL3^{Rif} 菌株数量达到最大,随着时间的推移,菌株 AiL3^{Rif} 菌量呈下降趋势,30 d 后定殖量仍相对较大;茎部表现为单峰变化,菌含量在接种第 11 天达到最大值,随后迅速回落;根部菌株 AiL3^{Rif} 菌量一直维持在较低水平,波动幅度为 $(0 \sim 0.28) \times 10^3 \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1} \text{ FW}$ 。

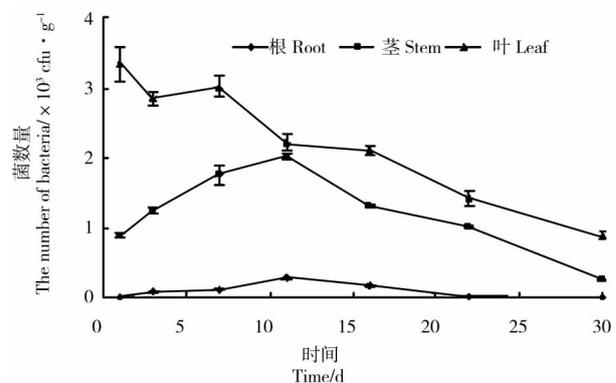


图 3 涂叶处理后菌株 AiL3^{Rif} 在大豆定殖动态

Fig. 3 Colonization fluctuation of AiL3^{Rif} strain in different tissues by leaf coating treatment

两种接种方法处理大豆,在根、茎、叶均可回收菌株 AiL3^{Rif},说明生防菌在大豆体内能有效定殖,并能上下传导。灌根处理后,借助水分蒸腾作用,生防菌向上传导至各部位,总体定殖菌量表现为根

部 > 茎部 > 叶片; 而涂叶处理后, 虽菌株可通过茎部进入根部, 但不能大量在根部定殖, 推测原因可能菌体向下传导能力远小于蒸腾作用, 最终定殖能力表现为叶片 > 茎部 > 根部。

2.3 AiL3 对大豆的促生作用

2.3.1 生长指标 由表 1 可看出, AiL3 10 倍稀释液处理后, 株高、根长、干重、鲜重相比清水对照, 促生效果明显, 分别增加了 49.83%、49.72%、82.82%、74.27%, 而 AiL3 100 倍稀释液处理后, 株高、根长、干重、鲜重分别增加了 31.27%、28.46%、35.24%、41.64%, 培养基 BPY 处理后的增幅不大, 只株高对比无菌水处理增加 7.85%, 其他差异不显著。说明 AiL3 菌液对大豆植株有促生作用, 10 倍稀释液的促生效果最为显著。

2.3.2 叶绿素含量 由表 1 可知, AiL3 菌株 10 倍

稀释液处理的大豆植株叶片的总叶绿素含量较对照高, 与清水对照相比增加 31.24%, 其中叶绿素 b 含量增幅比叶绿素 a 要高, 增幅分别为 40.03% 和 27.49%; 发酵液稀释 100 倍处理的大豆植株叶片的总叶绿素含量较前者要低但高于其他组, 与对照相比增幅为 16.52%; 培养基处理大豆植株与清水对比差异不显著。结果表明: AiL3 菌株 10 倍稀释液处理能显著增加大豆叶片的叶绿素含量, 提高其光合速率, 从而促进植株生长。

2.3.3 根系活力 由表 1 看出, 根系活力大小顺序为: AiL3 10 倍稀释发酵液 > AiL3 100 倍稀释液 > 空白培养基 > 清水对照, 且差异显著。表明 AiL3 菌株稀释 10 倍的发酵液可大幅增加大豆根系活力, 促进养分水分吸收的能力, 这与 2.3.1 中测定的生长指标趋势一致。

表 1 不同试验组处理对大豆各指标的影响

Table 1 Effect of different experimental groups on soybean of different indicators

处理 Treatment	株高 Plant height /cm	根长 Root length /cm	鲜重 Fresh weight /g	干重 Dry weight /g	叶绿素 a Chlorophyll a /mg·L ⁻¹	叶绿素 b Chlorophyll b /mg·L ⁻¹	总叶绿素 Total chlorophyll /mg·L ⁻¹	根系活力 Root vigor /μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹
AiL3 10 倍稀释液	93.39 ± 3.44 d	15.78 ± 0.35 c	12.45 ± 0.40 c	6.57 ± 0.32 c	17.95 ± 0.57 a	8.43 ± 0.36 a	26.38 ± 0.91 a	193.67 ± 4.10 d
AiL3 100 倍稀释液	81.82 ± 2.66 c	13.54 ± 0.62 b	9.21 ± 0.41 b	5.34 ± 0.38 b	16.17 ± 1.11 ab	7.25 ± 0.62 bc	23.42 ± 1.63 ab	169.33 ± 2.96 c
培养基 Medium	67.22 ± 2.46 b	10.98 ± 0.72 a	6.89 ± 0.52 a	3.87 ± 0.16 a	14.94 ± 0.31 b	6.41 ± 0.35 c	21.35 ± 0.64 bc	127.67 ± 2.60 b
CK	62.33 ± 1.32 a	10.54 ± 0.39 a	6.81 ± 0.39 a	3.77 ± 0.06 a	14.08 ± 1.15 b	6.02 ± 0.19 c	20.10 ± 1.15 c	111.67 ± 3.28 a

按照 Tukey 测验 ($\alpha = 0.05$), 同列标以不同字母表示差异显著。

Values followed by the different letter are significantly at 0.05 probability level in the same row according to Tukey test.

3 结论与讨论

高浓度抗生素诱导获得标记菌株简单、快速、成本低、且不会丧失原始菌株遗传稳定性, 获得数据便于统计分析, 是目标菌数量动态研究的一种常用方法。胡伟等^[15]采用利福平标记法、辛海峰等^[16]采用利福平和链霉素双抗性标记法检测生防细菌在寄主体内定殖动态规律, 均得到较为理想的结果。本文以来自红树老鼠簕对多种植物病原具有较好拮抗作用的 AiL3 菌株, 采用抗生素标记法成功获得了抗 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 利福平的标记菌株 AiL3^{Rif}, 经 10 代传代培养标记稳定, 且抑菌作用与原始菌株差异不明显, 满足后续大豆各部位目标菌株定殖量测定。

生防微生物生防机理主要有位点竞争、产生抗菌物质或诱导植物抗病等, 而拮抗微生物在作物体内定殖能力的强弱决定着其实际应用效果。本文分别以灌根和涂叶方法, 对抗生素标记的生防菌株 AiL3 在大豆体内根茎叶的定殖量进行研究。灌根处理根茎叶部菌量大致呈峰形变化, 7~11 d 达到最

大 ($6.2 \times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$), 根茎定殖量明显高于同期叶片定殖量, 根部为优势定殖部位, 这与文才艺等^[17]报道的芽孢杆菌 EBS05 在小麦体内定殖状况、黎起秦等^[18]研究的枯草芽孢杆菌 B47 在番茄体内定殖特性研究结果相似, 而菌量回收出现的峰性变化原因可能是早期接种后生防菌进入植物体内, 逐渐繁殖而上升, 后由于植株的生长, 外来菌株的进入, 与先期定殖菌株形成竞争关系, 导致各部位定殖菌量呈下降趋势; 而涂叶处理定殖能力表现为叶片 > 茎部 > 根部, 可以判断 AiL3 能自上向下传导, 但定殖能力表现出较大差异, 可能受植物生长过程中水分蒸腾作用影响, 生防菌虽有一定传导能力, 但向下传导能力小于蒸腾作用, 直接表现为涂叶处理根部定殖量远低于其他部位。对于大豆疫病土传病害的防治, 对比两种生防菌接种方法, 灌根处理明显优于涂叶处理。

大量研究报道, 芽孢杆菌属细菌具有防病促生作用^[19-21]。本文以解淀粉芽孢杆菌 AiL3 菌株发酵液灌根处理大豆, 与清水对照对比, 不仅能显著增加大豆体内叶绿素含量, 提高植物光合速率, 还可

增大植株根系活力,促进根部对养分的吸收能力,最终表现为株高、根长和鲜、干重大幅增加,表明 AiL3 菌株具有促生菌潜能。

从本试验结果来看,AiL3 菌株离体对大豆疫霉同安 2 号具有较强拮抗作用,可在大豆体内定殖,且灌根处理根部为优势定殖部位,同时对大豆促生作用明显,说明 AiL3 菌株具有较好的生防应用价值。

参考文献

- [1] Tyler B M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8: 1-8.
- [2] Wrather J A, Stienstra W C, Koening S R. Soybean disease loss estimates for the United States from 1996 to 1998[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2001, 3: 122-131.
- [3] Hildebrand A A. A root and stalk rot caused by *Phytophthora* var. *sojae*[J]. Canadian Journal of Botany, 1959, 37: 927-957.
- [4] Pegg K G, Kochman J K, Vock N T. Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in Australia[J]. Australasian Plant Pathology, 1980, 9: 15.
- [5] 沈崇尧,苏彦纯. 中国大豆疫霉菌的发现及初步研究[J]. 植物病理学报, 1991, 21(4): 298. (Shen C Y, Su Y C. Discovery and preliminary studies of *Phytophthora megasperma* on soybean in China[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1991, 21(4): 298.)
- [6] 杨光红. 大豆疫霉拮抗菌株的筛选、鉴定及拮抗作用[D]. 合肥:安徽农业大学, 2012. (Yang G H. Screening and identification of microorganisms against *Phytophthora sojae* and their antagonistic activity[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2012.)
- [7] 靳立梅,徐鹏飞,吴俊江,等. 野生大豆种质资源对大豆疫霉根腐病抗性评价[J]. 大豆科学, 2007, 26(3): 300-304. (Jin L M, Xu P F, Wu J J, et al. Identification the resistance of wild soybean germplasm to *Phytophthora sojae*[J]. Soybean Science, 2007, 26(3): 300-304.)
- [8] 申宏波,姚文秋,于永梅,等. 不同类型生物农药对大豆疫霉根腐病的防治效果[J]. 大豆科学, 2011, 30(6): 1054-1056. (Shen H B, Yao W Q, Yu Y M, et al. Control efficiency of different biopesticides on soybean *Phytophthora* root rot[J]. Soybean Science, 2011, 30(6): 1054-1056.)
- [9] 韩祥东,花美娜,冯永君,等. 拮抗大豆疫霉菌植物内生细菌的筛选与鉴定[J]. 大豆科学, 2012, 31(1): 85-91. (Han X D, Hua M N, Feng Y J, et al. Isolation and characterization of endophytic bacteria for *Phytophthora sojae* inhibition from soybean plant[J]. Soybean Science, 2012, 31(1): 85-91.)
- [10] 付红梅,李森,檀根甲,等. 大豆疫霉拮抗菌株的筛选与鉴定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(19): 11482-11484, 11495. (Fu H M, Li M, Tan G J, et al. Screening and identification of antagonistic strain against *Phytophthora sojae*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(19): 11482-11484, 11495.)
- [11] 陈宝如,詹儒林,何红,等. 红树内生细菌 AiL3 菌株鉴定及其胞外抗菌活性物质特性[J]. 农业生物技术学报, 2010, 18(4): 801-806. (Chen B R, Zhan R L, He H, et al. Identification of endophytic bacteria AiL3 from mangrove and characterization of its active metabolites [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2010, 18(4): 801-806.)
- [12] 柳凤,何红,詹儒林,等. 拮抗芒果炭疽病菌的红树内生细菌筛选及 AiL3 菌株抗菌物质研究[J]. 中国生物防治学报, 2010, 26(3): 293-299. (Liu F, He H, Zhan R L, et al. Screening of mangrove endophytic bacteria against *Colletotrichum gloeosporioides* and characterization of antifungal substance produced by strain AiL3 [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2010, 26(3): 293-299.)
- [13] 汪腾,段雅婕,刘兵团,等. 两株香蕉枯萎病拮抗菌在香蕉体内的定殖[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(3): 342-350. (Wang T, Duan Y J, Liu B T, et al. The colonization of two strains of antagonistic bacteria of *Fusarium oxysporum* in banana[J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(3): 342-350.)
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 119-120, 134-137. (Li H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 119-120, 134-137.)
- [14] 胡伟,赵兰凤,张亮,等. 香蕉枯萎病生防菌 AF11 的鉴定及其定殖研究[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(3): 387-393. (Hu W, Zhao L F, Zhang L, et al. Identification and colonization of bacteria AF11 antagonistic against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4, the pathogen of banana wilt disease[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2012, 28(3): 387-393.)
- [15] 辛海峰,孟艳艳,李建宏,等. 一株萎蔫芽孢杆菌在小麦中的定植及对赤霉病的防治[J]. 生态学杂志, 2013, 32(6): 1490-1496. (Xin H F, Meng Y Y, Li J H, et al. *Bacillus atrophaeus* strains colonization in wheat plant and its inhibition efficiency to *Fusarium* head blight [J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(6): 1490-1496.)
- [16] 文才艺,赵凯旋,汪敏,等. 内生细菌 EBS05 在小麦体内的定殖动态及其对小麦纹枯病的防治作用[J]. 植物保护学报, 2011, 38(6): 481-486. (Wen C Y, Zhao K X, Wang M, et al. Colonization trends of endophytic bacteria EBS05 in wheat and its control on wheat shape eyespot [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2011, 38(6): 481-486.)
- [17] 黎起秦,罗宽,林纬,等. 内生菌 B47 的定殖能力及其对番茄青枯病的防病作用[J]. 植物保护学报, 2006, 33(4): 363-368. (Li Q Q, Luo K, Lin W, et al. Analysis on the colonization of endophytic bacteria B47 and its control on tomato bacterial wilt [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2006, 33(4): 363-368.)
- [18] 蔡学清,林彩萍,何红,等. 内生枯草芽孢杆菌 BS-Z 对水稻苗生长的效应[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005, 34(2): 189-194. (Cai X Q, Lin C P, He H, et al. Effects of endophytic bacterial strain BS-2 on rice seedling growth [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2005, 34(2): 189-194.)
- [19] 辜运富,张云飞,张小平. 一株抗玉米纹枯病内生细菌的分离鉴定及其抗病促生作用[J]. 微生物学通报, 2008, 35(8): 1240-1245. (Gu Y F, Zhang Y F, Zhang X P. Isolation and identification of one anti-*Rhizoctonia solani* endophytic bacteria strain from corn and its antagonism and promoting research [J]. Microbiology, 2008, 35(8): 1240-1245.)
- [20] Deepa C K, Dastager S G, Pandey A. Plant growth-promoting activity in newly isolated *Bacillus thiarparus* (Ni-0902) from western ghat forest, India [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 26: 2277-2283.