



大豆根腐病拮抗细菌研究进展

孙毅民¹, 宋慧芳¹, 代丽婷¹, 王宗涛¹, 贺晴¹, 杨帆², 刘亮², 吕云波¹

(1. 黑龙江省现代农业示范区管理中心, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 植物保护研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:大豆根腐病拮抗细菌是大豆根腐病生物防治领域的重要手段。本文对大豆根腐病的发生规律及病原菌进行了简单的介绍, 对拮抗细菌的分离、筛选及作用机理进行了综述, 并对下一步应用前景及研究重点进行了展望, 旨在为植物真菌病害的防治提供参考, 为有效的利用土壤中的拮抗细菌及生物农药的开发和利用奠定基础。
关键词:大豆根腐病; 拮抗细菌; 分离; 筛选; 作用机制

Mechanism and Application of Antagonistic Bacteria Against Soybean Root Rot

SUN Yi-min¹, SONG Hui-fang¹, DAI Li-ting¹, WANG Zong-tao¹, HE Qing¹, YANG Fan², LIU Liang², LYU Yun-bo¹

(1. Management Center of Modern Agricultural demonstration District in Heilongjiang Province, Harbin 150086, China; 2. Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Antagonistic bacteria against soybean root rot is an significant method in the field of biological control of soybean root rot. This paper briefly introduced the occurrence law and pathogenic bacteria of soybean root rot, reviewed the screening and mechanism, and prospected the application prospect and research emphasis of the next step, aiming to provide new resources for the prevention and control of plant fungal diseases and to lay a foundation for the development and utilization of antagonistic bacteria and biological pesticides in soil.
Keywords: Soybean root rot; Antagonistic bacteria; Separate; Screen; Mechanism of action

大豆根腐病是一种引起大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]根部腐烂的世界性土传病害,其危害大豆生产的整个生命周期,造成大豆产量严重降低,危害范围遍及世界各地。我国黑龙江省东北部是大豆主产区,大豆根腐病发生较重,发病时大豆减产高达10%~60%,严重时甚至绝产^[1]。大豆根腐病是通过以土壤为媒介进行传播的病害,在不同生态环境的地区,引起大豆根腐病的病原菌存在差异,多是由多个属的病原物引起,也有是由一种或多种镰刀菌属的种内混合侵染所导致的。大豆根腐病有大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)、镰刀菌(*Fusarium* spp.)、腐霉菌(*Pythium* spp.)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)等病原菌^[2]。不同地区引发大豆根腐病的病原菌种类也存在一定的差异^[3]。

生物防治是利用自然界中一些微生物对病原菌的抗生作用、营养和空间竞争、重寄生作用以及微生物诱导植物产生系统抗性等作用,一方面是通过降低病原菌数量,另一方面是减弱病原菌致病活力,从而减少病原菌所致病害的发生^[4]。目前用于生物防治的菌株主要是放线菌、细菌和真菌,其中

细菌是在自然界中分布最广泛的一类微生物,其种类繁多,数量庞大,繁殖速度极快,通过人工培养容易获得。且拮抗细菌对大豆根腐病病原菌特异性较强,不会对人畜造成毒害,对环境不会造成残留和污染,因此充分的利用拮抗细菌能够有效抑制大豆根腐病的发生。郭荣君等^[5]自1994年开始对大豆根腐病根际细菌进行研究,使用iKgn'sB培养基,通过对根际土壤悬液加热处理,在大豆幼苗期进行根际细菌的分离,获得了1 000余株菌株,经过平板拮抗测定,得到拮抗根腐病菌的有效菌株118株。目前,大豆根腐病拮抗细菌的研究已备受国际研究学者的重视。本文将对大豆根腐病拮抗细菌的分离、筛选及作用机制进行初步整理分析,为有效的利用土壤中的拮抗细菌防治大豆根腐病提供参考。

1 大豆根腐病拮抗细菌的分离和筛选

1.1 大豆根腐病拮抗细菌的分离与纯化

大豆根腐病拮抗细菌的分离与纯化分为根际细菌、根系内生细菌、生态区农田土壤细菌等的分离与纯化。其中广泛应用的大豆根际拮抗细菌的

分离纯化方法:取大豆根系用手轻轻震荡,直到根系的土壤不脱落为止,取5 g 此根系放入100 mL NB的培养基中震荡30 min,然后80℃水浴10 min,逐级稀释后,取适当浓度涂平板,28℃培养48 h后挑取菌落形态不同的菌株,采用划线法纯化后,挑取菌落形态不同的菌株转入试管,保存备用^[6-7]。大豆根系内生细菌的分离纯化方法为:取大豆根系5 g经表面消毒后,无菌条件下,转入已灭菌的研钵中,加入适量的NB培养基,研磨后,转入100 mL NB培养基,150 r·min⁻¹震荡30 min,80℃水浴10 min,逐级稀释后涂平板,28℃培养48 h后挑取菌落形态不同的菌株,采用划线法纯化后,挑取菌落形态不同的菌株转入试管,保存备用^[8-9]。生态区农田土壤细菌的分离纯化方法为:采用组织分离法,将采集的病样用自来水反复冲洗除去根茬和泥土,每根系标样分别随机在主根和侧根病健交界处挑取1 cm长组织,经70%的酒精消毒5 s,0.1%升汞液表面消毒2~3 min,无菌水洗3次,无菌滤纸吸干,分别移植于PDA(常规培养基)和MGA2.5(选择性培养基)的平板培养基上,置于25~28℃培养箱中培养4 d^[1]。

1.2 大豆根腐病拮抗细菌的筛选与抑菌活性测定

平板对峙培养法是筛选拮抗细菌的主要方法,平板对峙培养法是依据微生物的拮抗作用实现的,在筛选过程中有可能会忽略掉一部分有益微生物。

大豆根腐病拮抗细菌的抑菌活性测定主要应用双重对峙培养法和琼脂平板扩散法。

双重对峙培养法:将待测拮抗细菌接种液均匀三点、每点20 μL,接种于PDA培养基边缘,25℃培养24 h后,将大豆根腐病病原菌饼置于PDA培养基中央,重复3次,25℃培养7 d。测量病原菌菌落直径,计算抑菌率,同时测量病原菌与细菌间的抑菌带宽^[10-11]。

抑菌率(%) = $(R - r) / R \times 100$, 其中: R 为相向待测拮抗菌株的病原菌菌丝生长最大半径, r 为相对待测拮抗菌株的病原菌菌丝生长半径^[12-13]。

琼脂平板扩散法:取0.2 mL病原菌孢子菌丝混合液,均匀涂布于PDA平板上,室温放置3 h以上待菌液风干后,用直径1 cm灭菌打孔器在平板上距中心点2.5 cm的圆周上等距离打3个孔,每孔中加入0.2 mL的供试拮抗菌无菌滤液,以无菌的细菌培养液为对照,重复3次,25℃恒温培养箱中培养。待对照菌落长满培养皿时,采用十字交叉法测量抑菌圈直径^[12]。

2 大豆根腐病拮抗细菌的作用机制

生防细菌主要以产生抗生物质、产生噬铁素、位点竞争、营养竞争、诱导植物抗性机制的表达、降解病原菌产生的致病物质、分泌细胞壁降解酶等作用机制发挥作用^[14]。有的拮抗菌株主要作用机制为其中的一种机制,有的同时进行着多种机制。拮抗细菌的作用机制主要是通过位点竞争、营养竞争以及利用抗生素的拮抗作用等来达到生防效果^[14-15]。

2.1 竞争作用

竞争作用通常是指利用两种生物的位点竞争和营养竞争来达到拮抗的作用,也被认为是拮抗细菌抑制大豆根腐病产生的主要作用机制之一。杨可欣等^[16]筛选到一株对大豆根腐病尖孢镰刀菌具有较强拮抗作用的枯草芽孢杆菌8-32,通过对土壤脲酶活性、蛋白酶活性、酸性磷酸酶活性、碱性磷酸酶活性、根际土壤中细菌数量、对土壤中真菌数量抑制率、放线菌数量等测定,发现其抑病率高达32.08%。温广月^[17]的研究发现生防细菌18BR2-2和18BR9-1都呈现了很广的杀菌谱,特别是对大豆根腐病菌尖孢镰孢菌、燕麦镰孢菌、茄腐镰孢菌以及立枯丝核菌都有很好的离体拮抗作用。

目前,在拮抗细菌竞争机制中有关噬铁素的研究较多。在缺Fe³⁺的条件下,细菌会产生一系列铁的螯合物以及噬铁素等物质,这些化合物的产生会对Fe³⁺离子产生一定的亲和作用^[18]。大豆在生长过程中除了产生根瘤菌,大豆的自身生长也需要足够的Fe³⁺离子^[19]。有研究指出大豆对铁离子的吸收对其根系微生物的群体结构有一定影响。由于细菌产生的铁螯合物具备较强的铁离子吸附能力,致使大豆根腐病病原菌因为Fe³⁺的吸收而受到抑制,从而减轻大豆根腐病的产生^[20]。当然根系中铁离子的竞争是个复杂的过程,噬铁素的产生也会受到各种条件的影响,具体的竞争机制还需要更进一步的研究。

2.2 拮抗作用

拮抗作用是利用拮抗细菌与大豆根腐病病原菌产生的抗生物质,以及两者相互作用产生的抗生物质对大豆根腐病产生生防作用。拮抗细菌的同化作用产生的抗菌物质能够抑制病原菌的生长及代谢,从而对大豆根腐病起到抑制作用^[21]。有研究指出细菌在离体环境下,能够产生氨基类、酚类、丁酰内酯类及吡咯菌素等次生代谢产物;细菌在活体情

况下,也能够产生 2,4-DAPG 等抑菌次生产物^[22]。刘海洋等^[23]从新疆棉田中分离获得一株细菌 AL7,利用酸沉淀法粗提菌株 AL7 的抑菌活性物质。高同国等^[12]通过平板对峙法从实验室保存的 237 株芽孢杆菌筛选到一株对该尖孢镰刀菌具有明显抑菌活性的芽孢杆菌 8-32,该生防菌对大豆根腐病具有很好的防治效果,能够使其病情指数减少 32.08%。

2.3 其它作用机制

诱导抗性机制不同于拮抗机制,也是大豆根腐病拮抗细菌作用的主要机制之一。诱导抗性机制是指产生与病原微生物相关,且对大豆根部不会产生危害的微生物,这种微生物能够诱导大豆植株产生抗病原菌的机制。其中诱导机制所引起的系统反应包括产生结构抗性、物理屏障以及生理生化变化等,还可以增强与抗大豆根腐病相关酶类的活性。当大豆根部受到病原侵染时,会产生一系列的蛋白质,包括信号蛋白等能够直接诱导植物抗性。

还有些拮抗细菌可以通过促进大豆生长,全赞华等^[24]以我国大豆根腐病的主要致病菌镰刀菌为目标进行了拮抗菌的室内筛选及温室测定,发现 AS819 和 AS929 菌剂对豆苗的株高、鲜株重、根长、根重均表现出良好的促进作用,进而对大豆根腐病有较好的防治效果和促生作用。Benson 等^[25]提出大豆根部的链霉菌具有很强的固氮作用,能够与大豆形成共生的关系,从而促进植物生长。曲东明等^[26]研究发现弗兰克氏菌(*Frankia*)能与多种木本被子植物建立共生固氮关系,它形成的根瘤具有较强的固氮能力,有些甚至超过大豆根瘤菌。弗兰克氏菌在共生固氮放线菌的研究中,也被发现能够诱导大范围的放线菌根瘤植物产生根瘤^[27]。

此外,大豆根腐病拮抗细菌的作用机制还包括促进营养物质的溶解、提高菌根的形成、调节根部乙烯的产生、减轻重金属离子的毒性、防御酶的产生及木质素的产生等相关机制。

3 大豆根腐病拮抗细菌的应用及存在问题

目前,大豆根腐病拮抗细菌的应用在不断推广中,其中拮抗细菌的种类也在不断地被鉴定和优化。大豆根腐病拮抗细菌不仅能防止大豆根腐病的产生,还能起到促生的作用^[28]。李春杰等^[29]也通过对大豆根腐病拮抗细菌的研究,发现生防细菌对大豆根腐病菌有较好的抑制作用,同时对大豆的生长起到促进作用。王光华等^[30]提出将大豆根际

分离获得的 BRF-1 对大豆根腐病病原菌尖孢镰刀菌、腐霉菌、立枯丝核菌和茄腐镰刀菌具有较强的拮抗作用,可以有效抑制大豆根腐病的发生。同时分离获得的假单孢杆菌属、芽孢杆菌属、链霉菌属和产碱菌属等是世界上研究最多的拮抗细菌。从大豆根际分离筛选出的枯草芽孢杆菌能够防治由尖孢镰刀菌引起大豆根腐病,在温室防效可达 56.1%^[10]。张淑梅等^[31]从黑龙江省大豆品种合丰 25 的根、茎、叶和种子中分离到菌株 TF28,其抑菌谱广,抑菌率高,鉴定为解淀粉芽孢杆菌,对大豆根腐病具有较强的抑制作用。郭荣君等^[32]在温室试验中获得的大豆根际的 BH1 和 DS1 芽孢杆菌,具有良好的防治效果,在 2 年田间试验中,尖孢镰孢菌 BS1 引起的大豆根腐病防效高达 56.1%,增产率为 21.8%,菌株 DS1 防治效果达 51.5%,增产 11.6%。而且此菌株在大豆根际定殖能力较强。

大豆根腐病拮抗细菌的应用中,会受到大气温度、土壤湿度、土壤 pH、化学药剂、金属离子、土壤中的其它细菌等的影响。不同的大豆根腐病拮抗细菌种类不同,在同一环境条件的发挥作用也存在一定的差异^[33-34]。李春杰等^[35]对 8 株目标生防细菌的生长温度、pH、氧气、渗透压、生长速度等生物学特性进行了研究,发现 8 株生防细菌的生长曲线存在一定的差异,不同环境条件影响生防细菌的定殖和繁殖。同时土壤中的温度也对大豆根腐病拮抗细菌的作用产生一定的影响,一般情况下,随温度的升高拮抗细菌的活性增强。也存在一些嗜温的拮抗细菌,这些拮抗细菌则不能用于防治由耐低温的病原菌引起的晚秋、早春的苗期病害^[36-37]。还有些拮抗细菌是耐寒、耐低温的,所以在低温的环境下,这些拮抗细菌才能够分泌对大豆根腐病起到生防作用的酶类^[38-39]。另一方面,土壤中的 pH 值会直接影响拮抗细菌的生长,甚至还会抑制拮抗细菌参与营养竞争和位点竞争,影响其自身的重寄生效果及拮抗作用,对胞外酶的产生也存在一定的影响^[40-42]。

4 展 望

自然界是生防细菌分离的最好场所,也是生防细菌作用的最好场所^[43]。生防细菌以其安全无污染、培养数量大的优势已被作为防治大豆根腐病的重要手段,大豆根腐病拮抗细菌不仅可以起到抑制大豆根腐病的作用,在一定的条件下还会使大豆产量增加。因此,在当今大力提倡的绿色无污染及保

护环境的前提下,生防细菌的应用有助于社会、经济及生态统一发展。

但是目前大豆根腐病拮抗细菌在田间大面积应用的抑制效果还受到多种因素的影响,且作用效果不稳定。微生物的生长、繁殖是在自然条件下不断进行物质及能量相互转化的过程,因此自然条件的变化直接影响拮抗细菌的作用。不仅与所存在的环境条件有关,还受拮抗细菌所在环境的温度等因素影响。有研究提出,在某个地区有明显的抑制防治效果的菌株,在其它生态条件差异显著的地区却存在效果不显著,甚至减产的现象^[44-46]。影响生防菌效果的稳定性的因素还包括细菌施用技术的不完善以及施用的微生物本身不稳定等。因此,在利用拮抗细菌抑制大豆根腐病的工作中,应尽量满足室内抑菌试验、盆栽试验以及田间防效试验达到一致性,为生防细菌的应用提供有利依据。

此外,随着现代分子生物技术的高速发展和细菌鉴定系统以及仪器设备的不断更新,细菌的鉴定技术也在不断发展。许艳丽等^[34]利用 Biolog 微生物鉴定系统对菌株 B021a 及菌株 B04b 进行鉴定,指出菌株 B021a 是塔式弧菌,菌株 B04b 是海藻巴斯德菌。通过更深入的细菌鉴定将进一步推动拮抗细菌的开发,为具有应用前景的生防细菌的制剂研发和应用提供基础。

参考文献

- [1] 刘春来,李新民,王爽,等. 土壤拮抗细菌的分离与抗植物病原真菌活性初步研究[J]. 黑龙江农业科学, 2015(7):56-61. (Liu C L, Li X M, Wang S, et al. Preliminary study on isolating antagonistic bacteria from soil and antagonistic activity against plant pathogens [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2015 (7):56-61.)
- [2] 刘海龙,李春杰,许艳丽. 生防细菌的抑菌谱和对大豆根腐病的防治[J]. 大豆通报, 2008(1): 10-13. (Liu H L, Li C J, Xu Y L. Antibacterial spectrum and biocontrol against soybean root rot of 8 strains bacteria[J]. Soybean Bulletin, 2008(1):10-13.)
- [3] 李本金,陈庆河,兰成忠,等. 福建省大豆根腐病病原菌的鉴定[J]. 福建农业学报, 2011, 26(5): 798-803. (Li B J, Chen Q H, Lan C Z, et al. Identification and pathogenicity test of the pathogens causing soybean root rot in Fujian[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 26(5): 798-803.)
- [4] 于淑池,徐亚茹. 拮抗细菌产生的活性物质及拮抗机理研究进展[J]. 承德职业学院学报, 2006(1): 67-69. (Yu S C, Xu Y R. Advances in research on the active substances produced by antagonistic bacteria and the antagonistic mechanism[J]. Journal of Chengde Vocationnal College, 2006(1):67-69.)

- [5] 郭荣君. 拮抗大豆根腐病和孢囊线虫病根际细菌的初步研究 [C]//全国生物防治学术讨论会. 全国生物防治学术讨论会论文摘要集. 北京:全国生物防治学术讨论会, 1995:287. (Guo R J. Preliminary study on antagonism to rhizosphere bacteria of soybean root rot and cystic nematode disease[C]// National Symposium on Biological Control. Abstracts of Papers of the National Symposium on Biological Control. Beijing: National Symposium on Biological Control, 1995:287.)
- [6] Rousseau G, Rioux S, Dostaler D. Effect of crop rotation and soil amendments on sclerotinia stem rot on soybean in two soils[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2007, 87: 3605-3614.
- [7] 王琦,付学池,梁华容,等. 防治小麦纹枯病微生态制剂菌株的筛选[C]//中国植物病理学会. 中国植物病理学会第六届青年学术研讨会论文集——植物病理学研究进展(第五卷). 北京:中国植物病理学会, 2003:4. (Wang Q, Fu X C, Liang H R, et al. Screening of microecological preparation strains to control wheat sharp eye-spot[C]// Chinese Society of Plant Pathology. Proceedings of the Sixth Youth Symposium of the Chinese Society of Plant Pathology--Advances in plant pathology (The fifth volume). Beijing: Chinese Society of Plant Pathology, 2003: 4.)
- [8] 文景芝,张明厚,刘刚. 重迎茬大豆根腐病的发生与防治[J]. 大豆通报, 1996(3): 5-6. (Wen J Z, Zhang M H, Liu G. Occurrence and prevention of root rot of heavy cropping soybean [J]. Soybean Circular, 1996(3):5-6.)
- [9] 贾新民,姜述君,殷奎德,等. 重迎茬条件下大豆根系分泌物对根腐病原菌的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 1997, 9(3):12-15. (Jia X M, Jiang S J, Yin K D, et al. The effect of soybean root system secretion upon the pathogenic fungi producing by root rot under continues-cropping and one year intermittent cropping[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 1997, 9(3): 12-15.)
- [10] 王佳. 大豆根腐病生防菌的鉴定及发酵条件的优化[D]. 哈尔滨:黑龙江大学, 2010:6-8. (Wang J. Identification and optimization of bacterial control and fermentation conditions of soybean root rot[D]. Harbin: Heilongjiang University, 2010:6-8.)
- [11] 黄铭慧. 大豆尖镰孢根腐病拮抗菌 X2 生防菌剂的研制与应用[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2017. (Huang M H. Research and application on antagonistic bacteria (X2) powder for suppressing soybean root rot induced by fusarium oxysporum[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.)
- [12] 高同国,张冬冬,郭晓军,等. 芽孢杆菌 8-32 对大豆根腐病的生防效果[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(18): 4489-4492. (Gao T G, Zhang D D, Guo X J, et al. Biocontrol effect of bacillus sp. 8-32 against soybean root rot[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(18): 4489-4492.)
- [13] 周克琴,韩秉进,张秋英,等. 生防菌 BRF-1 和 BRF-2 对大豆根腐病和产量的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(5): 801-803. (Zhou K Q, Han B J, Zhang Q Y, et al. Effect of BRF-1 and BRF-2 on root rot and seed yield in soybean [J]. Soybean Science, 2012, 31(5): 801-803.)
- [14] Chang K F, Hwang S F, Ahmed H U, et al. First report of Phyto-

- phthora sojae causing root rot in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in Alberta, Canada[J]. Crop Protection, 2017, 91: 49-56.
- [15] Chitrampalam P, Nelson B. Multilocus phylogeny reveals an association of agriculturally important *Fusarium solani* species complex (FSSC) 11, and clinically important FSSC 5 and FSSC 3 + 4 with soybean roots in the north central United States[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2016, 109(2):335-347.
- [16] 杨可欣,王欢,刘雪娇,等. 生防芽孢杆菌 8-32 对盆栽大豆土壤酶系和微生物区系的影响[J]. 大豆科学, 2018, 37(5):762-768. (Yang K X, Wang H, Liu X J, et al. Effect of bacillus subtilis 8-32 on soil enzymes and microflora of potted soybean[J]. Soybean Science, 2018, 37(5): 762 -768.)
- [17] 温广月. 大豆根腐病生防细菌的筛选及作用机制研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2005:23-29. (Wen G Y. Screening of biocontrol bacteria against soybean root rot and studies on the mechanism of action of biocontrol bacteria[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2005:23-29.)
- [18] 赵蕾. 绿色木霉对灰霉病菌拮抗机制的初步研究[J]. 植物保护, 1998(2): 36-37. (Zhao L. Preliminary study on the antagonistic mechanism of trichoderma greyiformis against botrytis cinerea [J]. Plant Protection, 1998(2):36-37.)
- [19] 李梅云,李天飞,王革,等. 木霉对烟草黑胫病菌的拮抗机制[J]. 植物保护学报, 2002(4):309-312. (Li M Y, Li T F, Wang G, et al. Antagonistic mechanism of *Trichoderma* spp. against phytophthora nicotianae[J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2002(4):309-312.)
- [20] 韩松. 内生细菌对棉花枯萎萎病的拮抗机制[D]. 阿拉尔:塔里木大学, 2011. (Han S. The antagonistic mechanism of endopytic bacteria against fusarium and verticillium wilt of cotton [D]. Alar: Tarim University, 2011.)
- [21] 徐志辉. 解淀粉芽孢杆菌 SQR9 生物膜形成和根际定殖分子机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014. (Xu Z H. The molecular mechanisms of biofilm formation and cucumber root colonization of bacillus amyloliquefaciens SQR9 [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.)
- [22] 陈瑾. 复合生防菌剂防治大豆根腐病的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2010. (Chen J. The study of composite biological agent on the control of soybean root rot [D]. Daqing: Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2010.)
- [23] 刘海洋,王琦,王伟,等. 拮抗菌 AL7 的鉴定及其生防特性的初步研究[J]. 植物保护, 2018, 44(2):53-60. (Liu H Y, Wang Q, Wang W, et al. Species identification and biocontrol characteristics of antagonistic bacterium AL7 [J]. Plant Protection, 2018, 44(2): 53-60.)
- [24] 全赞华,王学士. 大豆根腐病拮抗菌的室内筛选及温室测定[J]. 中国生物防治, 1997, 14(1):25-27. (Tong Z H, Wang X S. Screening for antagonistic isolates against soybean root rot disease in the laboratory and greenhouse[J]. Chinese Journal Of Biological Control, 1997, 14(1)25-27.)
- [25] Benson D R, Silvester W B. Biology of frankia strains, actinomy-cete symbionts of actinorhizai plants[J]. Microbiol Review, 1993, 57: 293-319.
- [26] 曲东明,王双,韩善华. 沙棘共生固氮根瘤及其内生弗兰克氏菌[J]. 西北植物学报, 1998(1):63-68. (Qu D M, Wang S, Han S H. Nitrogen-fixing root nodules and itsfrankia endophyte of *Hippophae Rhamnoides* L. [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 1998(1):63-68.)
- [27] 曲东明,范浩南,韩善华. 弗兰克氏菌在构建新的共生固氮物种研究中的优越性[J]. 中国微生物学杂志, 1997(4):60-61. (Qu D M, Fan H N, Han S H. The superiority of Frankennella in the construction of new symbiotic nitrogen fixation species[J]. Chinese Journal of Microecology, 1997(4):60-61.)
- [28] 邵红涛. 用于防治大豆根腐病的木霉菌的筛选及其拮抗机理研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004. (Shao H T. Screening *Trichoderma* spp. for biocontrol against soybean root-rot pathogen and study on biocontrol mechanisms empolyed by *Trichoderma* spp. [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2004.)
- [29] 李春杰,刘海龙,许艳丽. 大豆根腐病拮抗细菌的生物学特性研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(5): 809-812. (Li C J, Liu H L, Xu Y L. Biological characteristics of antagonistic bacteria against soybean root rot [J]. Soybean Science, 2011, 30(5): 809-812.)
- [30] 王光华,周克琴,金剑,等. 生防微生物 BRF-1 对大豆根腐病的拮抗作用[J]. 大豆科学, 2004, 33(3):188-191. (Wang G H, Zhou K Q, Jin J, et al. Antagonism on organism BRF-1 against soybean root rot[J]. Soybean Science, 2004, 33(3): 188-191.)
- [31] 张淑梅,沙长青,王玉霞,等. 大豆内生细菌的分离及根腐病拮抗菌的筛选鉴定[J]. 微生物学通报, 2008, 35(10):1593-1599. (Zhang S M, Sha C Q, Wang Y X, et al. Isolation and characterization of antifungal endophytic bacteria from soybean [J]. Institute of Microbiology, 2008, 35(10):1593-1599.)
- [32] 郭荣君,刘杏忠,杨怀文. 大豆根际细菌 I 拮抗大豆根腐病菌研究[J]. 大豆科学, 1998, 17(1):54-59. (Guo R J, Liu X Z, Yang H W. Soybean rhizo bacteria I studies on control of soybean root rot disease[J]. Soybean Science, 1998, 17(1):54-59.)
- [33] 徐诚蛟,徐凤花,万书明,等. 拮抗菌株对田间大豆根腐病原菌抑制效果[J]. 大豆科学, 2008, 27(2):351-353. (Xu C J, Xu F H, Wan S M, et al. Inhibitory effect of antagonisms on pathogen of soybean root rot in field[J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 351-353.)
- [34] 许艳丽,张红骥,张匀华,等. 复配生防菌株防治大豆根腐病的研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(2): 270-274. (Xu Y L, Zhang H J, Zhang Y H, et al. Combining biocontrol strains against soybean root rot[J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 270-274.)
- [35] 李春杰,许艳丽,李兆林,等. 大豆根腐病菌拮抗细菌筛选及抗生作用[J]. 大豆科学, 2004, 23(3):174-177. (Li C J, Xu Y L, Li Z L, et al. Screening of antagonistic bacteria against pathogenic fungus of soybean root rot and their biocontrol efficiency [J]. Soybean Science, 2004, 23(3):174-177.)
- [36] Clara P, Francisco M C, María ú G, et al. Selection for biocontrol

- bacteria antagonistic toward *Rosellinia necatrix* by enrichment of competitive avocado root tip colonizers[J]. *Research in Microbiology*, 2007, 158(5):463-470.
- [37] González-Sánchez M á, de Vicente A, Pérez-García A, et al. Evaluation of the effectiveness of biocontrol bacteria against avocado white root rot occurring under commercial greenhouse plant production conditions[J]. *Biological Control*, 2013, 67(2): 94-100.
- [38] Nicolás P, Evelin C, Javier A, et al. Characterization of rhizosphere bacteria for control of phytopathogenic fungi of tomato[J]. *Journal of Environmental Management*, 2012, 95:7691-7696.
- [39] Ahmed Idris H, Labuschagne N, Korsten N. Suppression of *Pythium ultimum* root rot of sorghum by rhizobacterial isolates from Ethiopia and South Africa[J]. *Biological Control*, 2008, 45(1): 72-84.
- [40] Guo J H, Qi H Y, Guo H Y, et al. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria [J]. *Biological Control*, 2004, 29(1):66-72.
- [41] Henok K, Kerstin W. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* [J]. *Biological Control*, 2013, 67(1):75-83.
- [42] Veerubommu S, Nandina K. Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture[J]. *Biological Control*, 2011, 57(2):85-93.
- [43] 许艳丽, 刘海龙, 李春杰, 等. 拮抗大豆根腐病细菌的生物学鉴定[J]. *华北农学报*, 2012, 27(2): 234-238. (Xu Y L, Liu H L, Li C J, et al. Identification of biocontrol bacteria against soybean root rot with biolog automatic microbiology analysis system [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(2): 234-238.)
- [44] 韦中. 生物有机肥防控土传番茄青枯病的效果及其机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012:57-65. (Wei Z. Effects and mechanisms of bio-organic fertilizers on suppression of bacterial wilt of tomato [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.)
- [45] 王士强. 四种生物制剂对大豆根腐病防效及抗病生理基础研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2008:36-39. (Wang S Q. A research on the control effect and physiological base of biological reagents against soybean root rot [D]. Daqing: Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2008.)
- [46] 胡云云, 高同国, 张冬冬, 等. 大豆根腐病拮抗菌枯草芽孢杆菌 8-32 抗菌物质性质的初步研究[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(4): 917-920. (Hu Y Y, Gao T G, Zhang D D, et al. A Preliminary study on physicochemical properties of antibacterial substances from *Bacillus subtilis* 8-32 against soybean root rot [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(4):917-920.)
-
- (上接第 147 页)
- [44] 齐宝坤, 赵城彬, 李杨, 等. 热处理对大豆 11S 球蛋白溶解性和二级结构的影响[J/OL]. *食品科学*, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1320.036.html>. (Qi B K, Zhao C B, Li Y, et al. Effect of heat treatment on solubility and secondary structure of 11S glycinin [J/OL]. *Food Science*, 2017, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20171227.1320.036.html>.)
- [45] 齐宝坤, 赵城彬, 江连洲, 等. 热处理对大豆 11S 球蛋白表面疏水性的影响及拉曼光谱分析[J/OL]. *食品科学*, 2018, 39(18):15-20. (Qi B K, Zhao C B, Jiang L Z, et al. Effect of heat treatment on surface hydrophobicity of 11S glycinin and raman spectroscopy analysis [J/OL]. *Food Science*, 2018, 39(18): 15-20.)
- [46] Mills E N, Huang L, Noel T R, et al. Formation of thermally induced aggregates of the soya globulin beta-conglycinin[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2001, 1547(2):339-350.
- [47] 刘春雷, 魏冬旭, 贾焱, 等. 大豆 7S 球蛋白热力学特性、溶解性和溶液性质与表面疏水性相关性研究[J]. *中国油脂*, 2018, 43(3):39-43, 49. (Liu C L, Wei D X, Jia Y, et al. Relevance between thermodynamic characteristics, solubility, solution properties and surface hydrophobicity of soybean β -conglycinin (7S) [J]. *China Oils and Fats*, 2018, 43(3):39-43, 49.)
- [48] Setsuko I, Kazuo S. Salt-induced reconstitution of beta-conglycinin from its thermal dissociates[J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1982, 46(6):1481-1488.
- [49] Renkema J M, Gruppen H, Van V T. Influence of pH and ionic strength on heat-induced formation and rheological properties of soy protein gels in relation to denaturation and their protein composition[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2002, 50(21):6064-6071.
- [50] Nagano T, Akasaka T, Nishinari K. Study on the heat-induced conformational changes of β -conglycinin by FTIR and CD analysis [J]. *Food Hydrocolloids*, 1995, 9(2):83-89.
- [51] Xiao J, Shi C, Zhang L, et al. Multilevel structural responses of β -conglycinin and glycinin under acidic or alkaline heat treatment [J]. *Food Research International*, 2016, 89:540-548.
- [52] Jiang J, Chen J, Xiong Y L. Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(16):7576-7583.
- [53] Tang C H, Wang C S. Formation and characterization of amyloid-like fibrils from soy β -conglycinin and glycinin[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(20):11058-11066.
- [54] Shao Y Y, Lin K H, Kao Y J. Modification of foaming properties of commercial soy protein isolates and concentrates by heat treatments[J]. *Journal of Food Quality*, 2016, 39(6):695-706.
- [55] Zhu D, Damodaran S. Removal of off-flavour-causing precursors in soy protein by concurrent treatment with phospholipase A2, and cyclodextrins[J]. *Food Chemistry*, 2018, 264:319-325.
- [56] Gao Z M, Wang J M, Wu N N, et al. Formation of complex interface and stability of oil-in-water (o/w) emulsion prepared by soy lipophilic protein nanoparticles[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 61(32):7838-7847.
- [57] Asanoma M, Kohno M. Soybean protein material for patients with renal disease and foods made from the same; US, EP 2255674 A1 [P]. 2010-12-01.