

番茄青枯病拮抗菌筛选鉴定及其 发酵条件初探

黄明媛¹ 顾文杰² 张发宝² 徐培智² 杨少海² 王立群^{1*} 解开治²

(1. 东北农业大学生命科学学院 黑龙江 哈尔滨 150030)

(2. 广东省农业科学院土壤肥料研究所 广东 广州 510640)

摘要: 从健康番茄根系采样, 筛选出 4 株对番茄青枯病有较强拮抗作用的菌株, 在 NA 培养基上抑菌圈直径 > 9 mm。其中拮抗菌株 YB6 抑菌活性最强且拮抗效果稳定, 通过形态学观察及部分生理生化特征测定, 初步确定为节杆菌属。通过单因素试验进行了发酵条件初步研究, 得到适宜的发酵条件为: 发酵时间 3 d, 培养温度 30 °C, 初始 pH 值 9.0, 接种量 3%, 转速 100 r/min, 碳源蔗糖, 氮源酵母浸膏。通过初步优化后拮抗菌株抑菌活性明显增强, 最终对青枯病菌 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌圈直径与 NB 培养基相比增加了 76.72% 和 81.14%, 差异显著。

关键词: 番茄青枯病, 拮抗菌株, 生理生化, 发酵条件, 抑菌活性

Identification and fermentation of antagonistic bacterium against *Ralstonia solanacearum*

HUANG Ming-Yuan¹ GU Wen-Jie² ZHANG Fa-Bao² XU Pei-Zhi²
YANG Shao-Hai² WANG Li-Qun^{1*} XIE Kai-Zhi²

(1. College of life Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

(2. Soil and Fertilizer Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: The objective of this study was to screen and identify antagonistic bacteria against *Ralstonia solanacearum* from tomato rhizosphere soil. Four strains (YB1, YB6, YB22, YB70) showed strong antagonistic activity, with diameters of inhibition zone above 9 mm. The strain YB6, identified as *Arthrobacter* sp. according to its morphological, physiological and biochemical characteristics, presented the best and most stable effect against *R. solanacearum*. The fermentation conditions of the strain YB6 were 30 °C, pH 9.0, inoculum 3%, shaking at 100 r/min, sucrose as carbon source, and yeast condensate as nitrogen source. Under the optimized fermentation conditions, diameters of inhibition zone produced by the strain YB6 against *R. solanacearum* strains SST-Y and G2M1.70 increased by 76.72% and

基金项目: 广东省科技计划重点项目(No. 2009A020101003)

* 通讯作者: Tel: 86-451-55190519; ✉ wangliqun2@163.com

收稿日期: 2010-07-22; 接受日期: 2010-11-23

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

81.14%, respectively.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*, Antagonistic bacteria, Physiological and biochemical characteristics, Fermentation condition, Antibacterial activity

番茄青枯病是由茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种毁灭性土传病害^[1]。该菌菌系复杂, 寄主广泛, 高温高湿环境下生命力顽强, 能侵染 50 多个科的 450 多种植物, 防治难度大^[2]。虽然在抗病品种选育、化学防治、农业防治等方面进行了大量的研究, 但至今效果均不理想^[3]。生物防治一直是解决土传病害的重要途径, 并且符合农业可持续发展的要求, 已经成为防治该病害的重点发展方向^[4-5]。我国从 60 年代初就已开始研究青枯病的生物防治。目前, 青枯病拮抗菌集中在无致病力青枯菌和内生菌的研究。迄今为止, 筛选出的生防菌株主要有芽孢杆菌^[6-7]、假单胞菌^[8]、菌根真菌^[9]及链霉菌等少数放线菌^[10]。龙良鲲等^[11]和黎起秦等^[6]从番茄根内分离出青枯病的内生拮抗菌, 有一定的防效; Lemessa F.等^[3]通过根际微生物的筛选, 得到效果较好的拮抗菌株 APF1 和 B2G。然而, 绝大多数拮抗菌株的筛选均是针对茄科雷尔氏菌的某一株, 因此防治范围较小, 并且存在拮抗能力退化快, 定殖能力弱, 效果不稳定, 使用方法复杂等问题。

面对以上问题, 本试验针对广东省诱发青枯病的两株主要病原菌, 从番茄根系土壤中筛选出能够拮抗青枯病菌的优势土著微生物, 经鉴定为节杆菌属。该菌广泛存在于土壤中, 主要用于生产丙氨酸^[12], 少见关于其对拮抗番茄青枯病菌的报道。因此, 进一步研究该菌不同条件下的抗菌活性, 优化发酵工艺, 从而为该菌工业生产和田间应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源: 土壤样品采集于广东省博罗县杨村镇蓝记菜场、珠海市斗门区斗门镇小赤坎村、佛山市三水利达隆有基肥菜场及广东省农业科学院蔬菜研究所大丰基地, 每个地点随机采取 9 个健康番

茄植株根系 0–20 cm 深度的土样, 混合均匀。

1.1.2 供试病原菌: 青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*) SST-Y 菌株由广东省农业科学院植物保护研究所提供, G2M1.70 菌株购买自广东省微生物研究所。

1.1.3 培养基: 牛肉膏蛋白胨培养基(NA); 牛肉膏蛋白胨液体培养基(NB); 青枯病菌培养基(Tm); 青枯病菌致病力检测培养基(TTC, g/L): 蛋白胨 10.0, 酪朊水解物 1.0, TTC (2,3,5-氯化三苯基四氮唑) 0.05, 葡萄糖 10.0, 琼脂 18.0, pH 7.0^[13]。

1.2 筛选方法

1.2.1 菌株的分离纯化: 分别称取 10.0 g 土样加入 90 mL 无菌水中, 于 30 °C、180 r/min 振荡 30 min, 然后分级稀释(10^{-4} – 10^{-8})涂布在 NA 平板。每个稀释度重复 3 次, 30 °C 培养 24 h, 待平板上长出菌落后, 挑取培养特征相异的单个菌落, 经纯化后 4 °C 保存备用。

1.2.2 番茄青枯病拮抗菌筛选: 初筛采用打孔法进行对峙试验。首先将经 TTC 平板检测具有强致病力的病原菌菌液(SST-Y, G2M1.70) 200 μ L 混合于 NA 平板, 然后用打孔器(直径为 8 mm)以十字交叉方式打孔, 孔中分别加入分离菌株的培养液 50 μ L, 30 °C 培养 48 h, 观察孔周围菌落生长情况, 选择有抑菌圈或影响病原菌生长的菌株保存备用。

复筛时选取对 2 种病原菌均有拮抗作用的菌株进行筛选, 复筛方法同初筛方法, 挑选抑菌圈大且效果稳定的菌株。

1.3 拮抗菌株的形态观察和生理生化鉴定

根据《常见细菌系统鉴定手册》和《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版)进行形态和生理生化鉴定^[14-15]。

1.4 拮抗菌株发酵条件初探

依次调整拮抗菌株的发酵时间、温度、初始 pH、接种量、供氧量、碳源和氮源等, 选择最佳条件进行不断优化, 以确定最适发酵条件。抑菌活性用抑菌圈直径表示, 抑菌圈直径(mm)=透明圈总径

(mm)–孔径(8 mm)。

1.4.1 发酵时间:以 1%接种量将培养 24 h 的拮抗菌培养液接种 NB 培养基中静置培养 1 周, 每天 16: 00 时取样做对峙试验, 确定最适发酵时间。

1.4.2 发酵温度:设置温度分别为 20 °C、25 °C、30 °C、35 °C 和 40 °C 5 个梯度, 选用 NB 培养基和最适时间发酵, 做对峙试验, 确定最适发酵温度。

1.4.3 初始 pH:设置 NB 培养基初始 pH 分别为 5、6、7、8、9 和 10 6 个梯度, 选用最适时间和温度发酵, 做对峙试验, 确定最适初始 pH。

1.4.4 接种量:设置 0.1%、0.5%、1%、2%、3%、5%、7%和 10% 8 个接种量将拮抗菌接种于 NB 培养基(初始 pH 为上述所得最佳 pH), 选用最适时间和温度发酵, 做对峙试验, 确定最适接种量。

1.4.5 供氧量:以所得最适接种量将培养 24 h 拮抗菌培养液接种于 NB (初始 pH 为上述所得的最佳 pH)培养基, 分别设定 0、50、100、150、180、200 r/min 的不同转速连续振荡培养, 选最适时间和温度发酵, 做对峙试验, 确定最适供氧量。

1.4.6 碳源:分别以 0.3%的牛肉膏、葡萄糖、蔗糖、玉米粉、糖蜜、可溶性淀粉、CaCO₃为碳源(除碳源外其它成分与 NB 培养基相同), 初始 pH 上述所得的最佳 pH, 选用以上最适条件发酵, 做对峙试验, 确定最佳碳源。

1.4.7 氮源:分别以 1%的磷酸氢二氨、硫酸氨、硝酸氨、硝酸钾、尿素、蛋白胨、酵母浸膏为氮源(除氮源外其它成分与 NB 培养基相同), 选用以上最适条件发酵, 做对峙试验。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌株的筛选和鉴定

初筛获得 33 株拮抗菌, 试验结果表明, 广东省农业科学院蔬菜研究所大丰基地健康番茄根系土样筛选到拮抗菌株较多, 这可能与土壤环境和番茄品种有关, 该地是常年青枯病多发地, 通过采用番茄青枯病抗性品种来防止青枯病的发生。经复筛后获得 4 株抑菌活性较强的菌株(表 1), 分别命名为 YB1、YB6、YB22、YB70。其中 YB6 抑菌活性最

强, 对 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌圈直径分别达到了 18.13 mm 和 18.56 mm。经 10 次传代(每隔 7 d 传代 1 次)后对 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌活性仍然达到 16.94 mm 和 16.37 mm, 与最初的抑菌活性相比差异不显著($P>0.05$), 拮抗效果稳定。因此 YB6 作为本试验的研究对象。

表 1 拮抗菌对番茄青枯病菌的抑制效果[抑菌圈直径(mm)]
Table 1 Inhibition effects of antagonistic bacterium against *Ralstonia solanacearum* [diameter of inhibition zone (mm)]

菌株编号 Number	SST-Y	G2M1.70
YB6	18.13	18.56
YB1	9.98	9.75
YB22	10.09	10.18
YB70	9.27	11.72

经平板划线、革兰氏染色、芽孢及鞭毛染色, 观察菌株培养特征及形态特征(图 1), 该菌菌落呈圆形, 较小, 边缘整齐, 表面凸起, 光滑湿润, 易挑起, 菌落棕黄色, 不透明; 革兰氏染色阳性, 易褪色, 不规则杆状, 有明显的杆、球周期变化, 幼龄菌杆状, 老龄菌全部断裂为球状; 无芽孢, 单端极生鞭毛(图 1)。生理生化特征鉴定结果见表 2, 菌株 YB6 为好氧菌, 接触酶反应、硝酸盐还原、葡萄糖氧化发酵及明胶液化均为阳性; 淀粉水解和纤维素分解反应为阴性。

综合以上菌落形态特征及生理生化特征, 依据《常见细菌系统鉴定手册》和《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版)进行分析, 该菌株与节杆菌属(*Arthrobacter*)相符。

2.2 拮抗菌发酵条件研究

2.2.1 发酵时间对菌株抑菌活性的影响:不同培养时间对菌株抑菌活性影响情况(图 2)表明随着培养时间的延长, 抑菌活性呈现先快速增强后缓慢下降的趋势。第 3 天时 YB6 对 2 种病原菌的抑菌活性均达到最大。继续培养抑菌活性开始下降, 最后基本趋于平稳。其中培养时间为 3 d 的抑菌效果与其余 6 种培养时间比较, 均具有显著差异($P<0.05$)。故 3 d 为最佳培养时间。

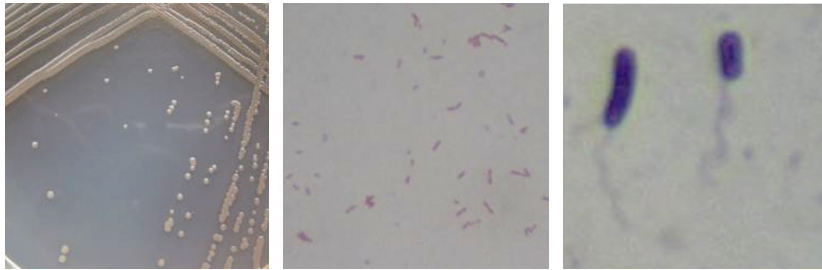


图 1 YB6 菌落、形态特征及鞭毛染色

Fig. 1 Bacterial colonies and morphological characteristics and flagella staining of strain YB6

表 2 菌株 YB6 的生理生化特征 Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain YB6			
项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
革兰氏染色 Gram stain	+	硝酸盐还原 Nitrate reduction test	+
鞭毛染色 Flagella stain	+	葡萄糖氧化发酵 Glucose fermentation	+
芽孢染色 Spore stain	-	明胶液化 Gelatin hydrolysis	+
需氧试验 Aerobic test	好氧	淀粉水解 Starch hydrolysis	-
接触酶 Catalase test	+	纤维素分解 Cellulose decomposition	-

注: +: 阳性; -: 阴性.
Note: +: Positive; -: Negative.

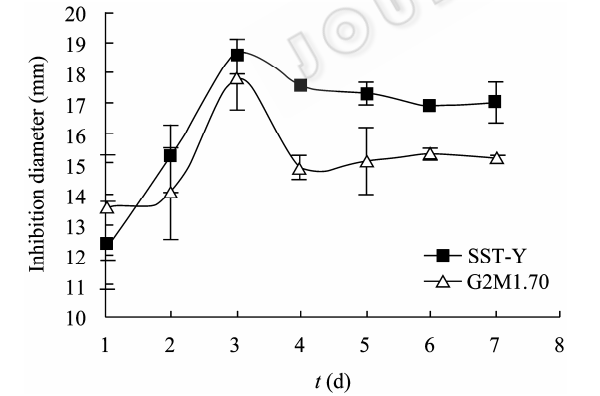


图 2 不同时间对 YB6 菌株抑菌活性的影响
Fig. 2 The effect of fermentation time on antibacterial activity of YB6

2.2.2 发酵温度对菌株抑菌活性的影响: 在其他条件相同的情况下, 在 20 °C–40 °C 范围内菌株的抑菌活性呈正态分布(图 3)。YB6 对 2 种病原菌的抑菌活性均在 10 mm 以上, 表现出较高的抑菌活性。

30 °C 时抑菌活性最大, 其对 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌圈直径分别为 16.53 mm 和 17.21 mm, 明显高于其余温度条件所得的结果, 统计结果表明抑菌结果存在极显著差异($P<0.01$)。因此 30 °C 为最佳发酵温度。

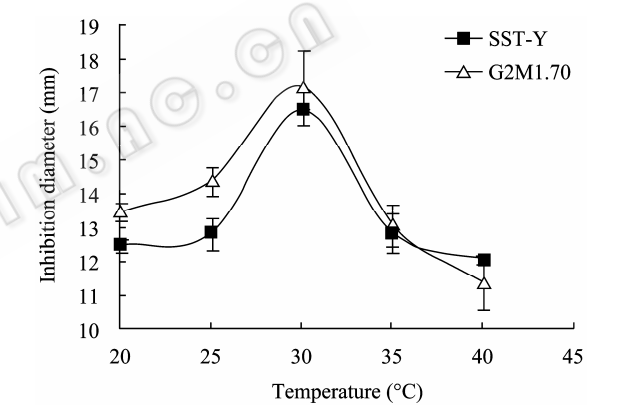


图 3 不同温度对 YB6 菌株抑菌活性的影响
Fig. 3 The effect of temperature on the antibacterial activity of YB6

2.2.3 初始 pH 对菌株抑菌活性的影响: 培养基初始 pH 对拮抗菌的抑菌活性有较大的影响, 从图 4 可以看出, 在 pH 5.0–9.0 范围内 YB6 对 2 种病原菌抑菌活性不断增大, pH 9.0 时抑菌活性最大, 对 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌圈直径分别达到了 19.38 mm 和 18.87 mm。pH 10.0 时抑菌活性明显降低。试验结果表明菌株 YB6 在碱性环境更适宜拮抗物质的产生, 其中 pH 9.0 时与其余不同 pH 时比较, 均具有极显著差异($P<0.01$)。故 pH 9.0 为菌株发酵最适初始 pH。

2.2.4 接种量对菌株抑菌活性的影响: 分别以不同接种量接入 NB 培养基中, 进行发酵。结果如图 5 所示, 3%接种量最有利于拮抗物质的产生, 且与其

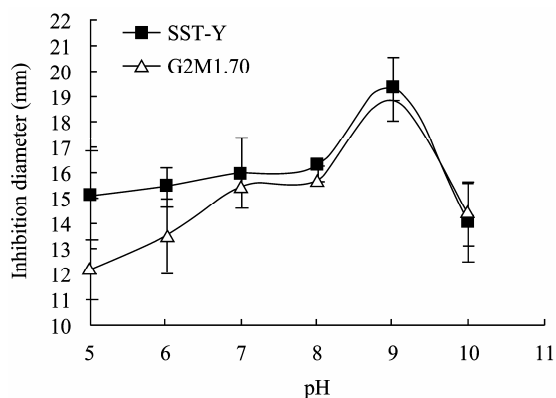


图 4 不同 pH 值对 YB6 菌株抑菌活性的影响

Fig. 4 The effect of pH value on the antibacterial activity of YB6

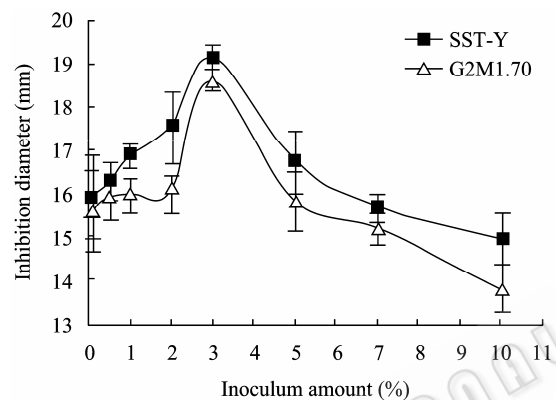


图 5 不同接种量对 YB6 菌株抑菌活性的影响

Fig. 5 The effect of inoculum amount on antibacterial activity of YB6

他接种量差异极显著($P<0.01$), 当接种量超过 3%时, 抑菌活性明显下降。

2.2.5 供氧量对菌株抑菌活性的影响: 振荡培养转速的大小关系到发酵时的供氧量。选用不同的转速进行发酵, 结果如图 6 所示, 不同的转速培养对 YB6 菌株抑菌活性影响较大。100 r/min 的抑菌活性与其他 4 种转速比较, 均具有极显著差异($P<0.01$), 故选择 100 r/min 作为培养的最佳转速, 即适宜供氧量。

2.2.6 碳源对菌株抑菌活性的影响: 碳源是微生物重要组成部分, 碳水化合物不仅是微生物维持生命活动所需能量的主要来源, 而且是产生各种代谢产物和储藏物质的主要原料^[16]。本试验在发酵培养基中分别加入不同的碳源, 根据抑菌圈直径确定碳源

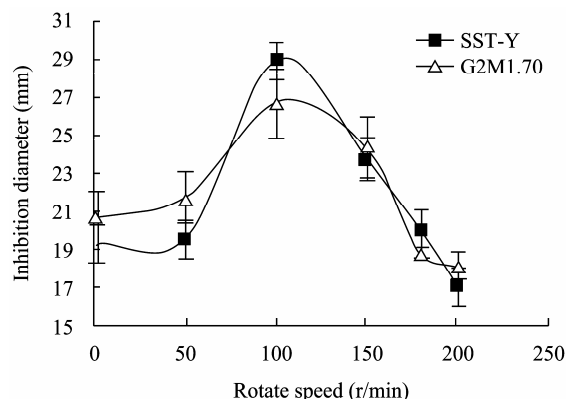


图 6 不同转速对 YB6 菌株抑菌活性的影响

Fig. 6 The effect of rotation speed on the antibacterial activity of YB6

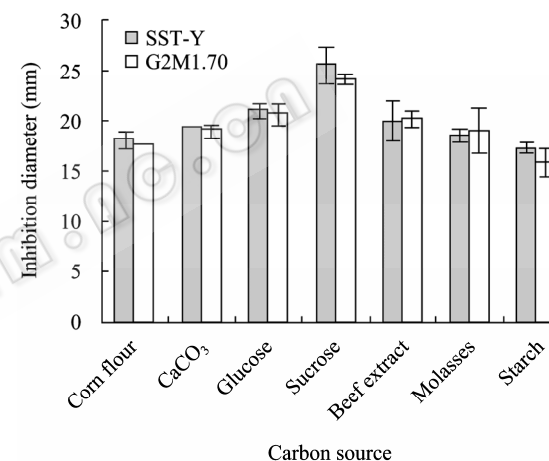


图 7 不同碳源对 YB6 菌株抑菌活性的影响

Fig. 7 The effect of carbon source on the antibacterial activity of YB6

对拮抗菌株抑菌活性的影响, 结果如图 7 所示, 玉米粉、碳酸钙、葡萄糖、牛肉膏、糖蜜和淀粉作为碳源对 2 种病原菌的抑制作用差异不显著($P>0.05$)。蔗糖作为碳源对 2 种病原菌 SST-Y 和 G2M1.70 的抑制作用均很强, 抑菌活性达到 25.42 mm 和 24.10 mm, 与其他碳源相比, 抑菌圈直径差异极显著($P<0.01$), 因此蔗糖为最佳发酵碳源。

2.2.7 氮源对菌株抑菌活性的影响: 在发酵基础培养基中以蔗糖为碳源, 初始 pH 9.0, 进行发酵来研究不同的无机氮源和有机氮源对菌株抑菌活性的影响。试验发现, 不同的氮源均可使拮抗菌株 YB6 对 2 种病原菌的抑菌圈直径均达到 20 mm 以上。不同

的无机氮源对抑菌活性影响不大, 对 SST-Y 抑菌直径均在 20.63 mm–21.23 mm 之间, 对 G2M1.70 的抑菌直径均在 20.61 mm–24.00 mm 之间, 差异不显著 ($P>0.05$)。有机氮源相对而言更有利于拮抗物质的产生, 其中酵母浸膏作为氮源时菌株抑菌活性最强, 对 SST-Y 和 G2M1.70 抑菌活性达到 32.04 mm 和 33.62 mm, 其次是蛋白胨, 抑菌活性达到 26.91 mm 和 28.94 mm, 如图 8 所示, 酵母浸膏与其他氮源相比较差异极显著 ($P<0.01$), 因此酵母浸膏作为氮源时最有利于拮抗物质的产生, 为发酵最佳氮源。

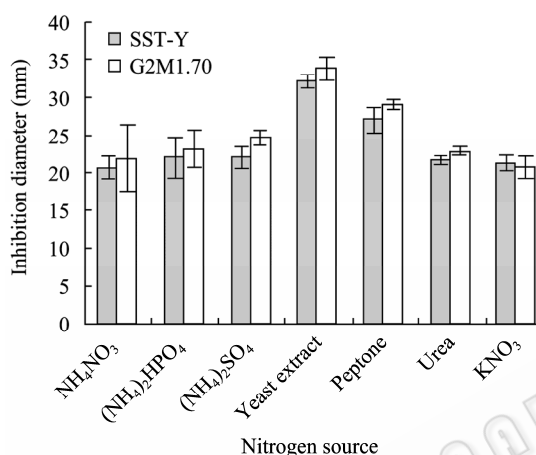


图 8 不同氮源对 YB6 菌株抑菌活性的影响

Fig. 8 The effect of nitrogen source on the antibacterial activity of YB6

3 讨论

已有的研究表明, 生防菌在目标作物上的定殖会受多种因素影响, 而土壤生物是一个重要因子^[17], 本试验采用健康番茄根系土进行拮抗菌株的筛选, 具有根际优势。共筛选出 4 株抑菌活性较强的菌株, 其中细菌 YB6 抑菌活性最强且效果稳定, 经发酵条件优化后, 其抑菌圈可达到 32 mm–33 mm, 略大于黎起秦等^[6]所筛选的 B47 (抑菌圈 30 mm), 远远大于李伟杰等^[18]所筛选的 X10 (抑菌圈 10.43 mm) 菌株和 Lemessa F 等^[3]所筛选 APF1 (抑菌圈 10.70 mm), 以及徐玲等^[7]筛选的 HY96-2 (抑菌圈 18.13 mm), 也要好于谭兆赞等^[19]组配的复合微生物菌剂 (抑菌圈 22.80 mm)。该菌经过形态及生理生化鉴定初步确定为节杆菌属。节杆菌广泛分布于环境, 主要是土壤

中^[15], 它主要用于生产丙氨酸, 有报道节杆菌可以产生乙内酰脲酶, 将乙内酰脲水解为苯丙氨酸^[12], 因此, 其作为生防菌对植株生长的利害还有待进一步研究。

节杆菌属最适生长温度为 20 °C–30 °C^[15], 本试验测定的发酵温度对菌株抑菌活性的影响中 30 °C 效果最好, 这说明菌体的最适生长温度也是其产生拮抗物质的最适温度, 二者相吻合, 并且青枯病菌最佳培养温度为 30 °C, 应该更有利于增强其拮抗效果; 而黎起秦^[6]所筛选的 B47 最适生长温度为 35 °C。通过本试验发现, 随着培养时间不断延长, 抑菌活性有缓慢下降的趋势, 长期培养中的活性损失可能是因为菌株生长后期培养基养分大量消耗, 同时产生的次级代谢产物使拮抗物质失活或者产生了反馈抑制作用, 也有可能是因为在生长后期阶段 pH 的改变影响了拮抗物质活性^[20]。pH 与拮抗物质的产生有很大的关系, 一般认为不同的抗菌物质在不同的 pH 值中产生, 且其 pH 活性范围不同^[20]。本研究中最适 pH 值为 9, 这与王美琴等^[21]拮抗细菌的研究有差异, 黎起秦等^[6]筛选的菌株最适 pH 在 5–6 之间, 这是筛选出的拮抗菌株种属不同的原因。南方土壤多为酸性土壤, 因此拮抗菌的最适 pH 偏酸性可能拮抗效果更好。本试验筛选的菌株在中性偏碱的条件下拮抗物质活性较高, 因此在今后的应用与土壤调理剂配合使用可能效果更好。谭兆赞等^[22]的研究表明施用堆肥可以减轻番茄青枯病, 今后将该菌接种于有机肥作为二次接种菌剂也是一个研究方向。

当接种量超过 3% 时, 抑菌活性明显下降, 此时, 可能是由于接种量过多而使得菌体生长速度过快, 培养基养分贫瘠, 不利于抗菌物质的积累^[23]。由于该菌为好氧菌, 因此随着转速增加抑菌活性增强, 100 r/min 时对 2 种病原菌的抑菌效果最佳, 之后随着转速增加抑菌活性下降, 过高的 O_2 浓度可能对微生物产生毒害作用, 抑制了菌体生长和代谢产物的产生。从培养基成分来看氮源对 YB6 拮抗物质的产生影响较大, 尤其是有机氮效果较好, 这与黎起秦等^[6]的研究相符, 有机氮源更有利于拮抗物质的产生, 这说明青枯病拮抗菌对氮源有一定要求, 而对碳

源的要求相对较低,这与大多数人的研究相符^[6,21]。本试验研究的 7 个因素中,在调节温度、接种量和碳源时,YB6 对 G2M1.70 和 SST-Y 的抑菌活性变化趋势和影响程度基本一致,而在调节时间、初始 pH、供氧量和氮源时,YB6 对 G2M1.70 和 SST-Y 的抑菌活性变化趋势虽然大致相同,但影响程度不同。这说明,YB6 对 G2M1.70 和 SST-Y 的拮抗物质有可能是同类物质,但不是同一种,或者是 G2M1.70 和 SST-Y 细胞结构和成分不同对拮抗物质的抵抗作用程度不同。要想明确这一点,需要进一步研究 YB6 对 G2M1.70 和 SST-Y 的拮抗作用机理。

通过单因素试验对 YB6 发酵条件研究表明,30 °C 下,以蔗糖为碳源,酵母浸膏为氮源,初始 pH 9.0 的发酵培养基中,3%接种量,100 r/min 恒温连续培养 3 d,抑菌活性与 NB 培养基比较明显增强。该结果是在实验室条件下得到,能否用于实践生产,还需盆栽和田间试验验证,并且工业化生产时需根据本试验中的最佳碳氮源成分寻找廉价的培养基原料。

参 考 文 献

- [1] Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, et al. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. Nature, 2002, 415(6871): 497-502.
- [2] Hayward AC. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*[J]. Annual Review Phytopathology, 1991, 29: 65-87.
- [3] Lemessa F, Zeller W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia[J]. Biological Control, 2007, 42(3): 336-344.
- [4] 黎志坤, 朱红惠. 一株番茄青枯病生防菌的鉴定与防病、定殖能力初探[J]. 微生物学报, 2010, 50(3): 342-349.
- [5] Stura AV, Matheson BG. Population of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers[J]. Plant and Soil, 1996, 184(2): 265-271.
- [6] 黎起秦, 叶云峰, 蒙显英, 等. 内生细菌 B47 菌株的鉴定及其对番茄青枯病的防效测定[J]. 中国生物防治, 2005, 21(3): 178-182.
- [7] 徐玲, 王伟, 魏鸿刚, 等. 多粘类芽孢杆菌 YH96-2 对番茄青枯病的防治作用[J]. 中国生物防治, 2006, 22(3): 216-220.
- [8] 连玲丽, 谢荔岩, 郑璐平, 等. 短小芽孢杆菌 EN16 诱导番茄对细菌性青枯病的抗性[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2009, 38(5): 460-464.
- [9] 朱红惠, 姚青, 李浩华, 等. AM 真菌对青枯菌的抑制和对酚类物质的影响[J]. 微生物学通报, 2004, 31(1): 1-5.
- [10] 潘文道, 何鸿洪, 黎起秦, 等. 抗放线菌 St-145 对番茄青枯病的防治效果[J]. 广西植保, 2008, 21(3): 13-15.
- [11] 龙良鲲, 肖崇刚, 宴彦霞. 防治番茄青枯病内生细菌的分离与筛选[J]. 中国蔬菜, 2003(2): 19-21.
- [12] 李洪贞, 张惟材, 王建华, 等. 节杆菌乙内酰胺水解酶与 GST 蛋白融合表达及纯化[J]. 生物技术通讯, 2008, 19(6): 852-854.
- [13] 周宇光. 中国菌种目录[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 648-703.
- [14] 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: 267-272.
- [15] Buchanan RE, Gibbons NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 第 8 版. 中国科学院微生物研究所伯杰细菌鉴定手册翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984: 855-865.
- [16] 李季伦, 张伟心, 许耀才, 等. 微生物生理学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 72-73.
- [17] 张炳欣, 张平, 陈晓斌. 影响引入微生物根部定殖的因素[J]. 应用生态学报, 2000, 11(6): 951-953.
- [18] 李伟杰, 姜瑞波. 番茄青枯病拮抗菌的筛选[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(1): 5-8.
- [19] 谭兆赞, 林捷, 刘可星, 等. 抗番茄青枯病复合菌剂的筛选构建及其防效[J]. 安全与环境学报, 2006, 6(4): 27-30.
- [20] 徐长安, 罗秀针, 张怡评, 等. 一株海洋芽孢杆菌 B09 的筛选及其发酵条件优化研究[J]. 海洋通报, 2009, 28(5): 74-78.
- [21] 王美琴, 陈俊美, 薛丽, 等. 番茄内生拮抗细菌的分离鉴定及培养条件研究[J]. 中国农业生态学报, 2008, 16(2): 441-445.
- [22] 谭兆赞, 徐广美, 刘可星, 等. 不同堆肥对番茄青枯病的防病效果及土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(2): 10-14.
- [23] 罗静, 严铸云, 郭晓恒, 等. 产银杏内酯内生真菌的选育及发酵条件研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2009, 46(4): 1161-1165.