

产 β -1,3-葡聚糖酶植物内生放线菌的 筛选及抑菌活性研究

高小宁 涂璇 黄丽丽* 娄鹏

(西北农林科技大学植物保护学院和陕西省农业分子生物学重点实验室 陕西 杨凌 712100)

摘要: 本研究采用透明圈法,对 217 株植物内生放线菌产 β -1,3-葡聚糖酶进行了检测,结果表明:45.6% 的菌株能够产生 β -1,3-葡聚糖酶,黄瓜内生放线菌中的产酶菌株最多为 38 个;不同植物来源的内生放线菌中具有产 β -1,3-葡聚糖酶能力的菌株比例不同,其中黄精中的产酶菌株比例最高,达到 88.9%。产酶菌株粗酶液对油菜菌核病菌的抑菌活性测定结果发现,36 个产酶菌株的粗酶液表现出不同程度的抑制作用,占总产酶菌株的 36.4%,其中菌株 gCLA4 的粗酶液能够完全抑制病菌菌丝生长。对 gCLA4 菌株产酶条件的研究发现,培养液中茯苓粉的量为 0.2%,氮源为蛋白胨,初始 pH 在 7~8 之间,且培养时间为 5 d 时,培养液中 β -1,3-葡聚糖酶活较高且抑菌活性较强。gCLA4 菌株的粗酶液对 13 种常见植物病原菌菌丝生长均有一定的抑制效果,其中对苹果轮纹病菌的抑制作用最强。

关键词: β -1,3-葡聚糖酶,植物内生放线菌,产酶条件,抑菌活性,酶活力

The Screen of Plant Endophytic Actinomycetes Producing β -1,3-Glucanase and Antifungal Activity of β -1,3-Glucanase

GAO Xiao-Ning TU Xuan HUANG Li-Li* LOU Peng

(College of Plant Protection and Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Using of clearing zones on pachyman agar medium, there are 217 plant endophytic actinomycetes, producing β -1,3-glucanase were screened. 45.6% of the strains produced β -1,3-glucanase, in which the strains from cucumber are up to 38. The percentages of endophytic actinomycetes from different hosts producing β -1,3-glucanases were different. The percentage of the strains in *Rhizoma Polygonatum* produced β -1,3-glucanases is the highest, up to 88.9%. The inhibited effects of plant endophytic actinomycetes which produced extracellular β -1,3-glucanases on mycelium growth of *Sclerotinia sclerotiorum* were detected *in vitro*. Cucumber endophytic actinomycete gCLA4 strain was screened out from 99 isolates, which can strongly inhibit the growth of *S. sclerotiorum*. The optimal β -1,3-glucanases fermentation conditions of strain gCLA4 were investigated, they were pachyman 0.2%, peptone as nitrogen, pH 7~8 for 5 days. The

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(No. nyhyzx07-055); 教育部“长江学者和创新团队”支持计划(No. PCSIRT200558); 高等学校学科创新引智计划资助项目(No. B07049)

* 通讯作者: Tel: 86-29-87091312; E-mail: huanglili@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2008-12-15; 接受日期: 2009-02-27

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

β -1,3-glucanases of strain gCLA4 had some inhibiting efficiency on 13 plant pathogens, in which inhibiting efficiency to *Botryosphaeria dothidea* was the strongest.

Keywords: β -1,3-glucanases, Plant endophytic actinomycetes, Fermentation conditions, Antifungal activity, Enzyme activity

β -1,3-葡聚糖是一种以 β -1,3-葡萄糖苷键聚合而成的高分子化合物, 是大多数植物病原真菌细胞壁的主要成分之一, β -1,3-葡聚糖酶能将 β -1,3-糖苷键连接的多聚糖降解为糊精或寡聚糖^[1], 广泛存在于真菌、细菌、藻类、软体动物和高等植物体内^[2,3]。该酶可破坏真菌的细胞壁使细胞失去支撑, 致使细胞内含物外溢, 从而导致植物病原真菌死亡^[4,5]。目前, 已从真菌、细菌及放线菌中分离到产 β -1,3-葡聚糖酶的菌株^[6-11], 相关研究结果表明, 微生物源 β -1,3-葡聚糖酶具有较强的抗植物病害能力^[12-15], 在植物病害生物防治应用中具有较广的应用前景。然而, 现阶段用于生物防治的产 β -1,3-葡聚糖酶微生物主要来源于自然界, 如土壤、根际和植物体表等^[12,16], 对于植物内生菌产 β -1,3-葡聚糖酶的研究报道极少^[17]。因此, 本研究对来自不同植物的 217 株植物内生放线菌的产酶情况及其抑菌活性进行了研究, 将为研究产 β -1,3-葡聚糖酶内生菌抑菌过程、机理及其在植物病害生物防治中的应用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 供试培养基

茯苓粉培养基^[18](简称 ABP 培养基)高氏一号培养基和马铃薯葡萄糖琼脂培养基^[19]。

1.2 供试菌株

植物内生放线菌由本实验室从辣椒、黄瓜、芹菜、柴胡等 12 种蔬菜和药用植物中分离获得^[20], 植物病原菌(见表 3)由西北农林科技大学植物病害综合治理实验室提供。

1.3 产 β -1,3-葡聚糖酶菌株的筛选

将供试的植物内生放线菌接种在 ABP 选择性培养基上, 30°C 恒温培养 5 d~7 d, 观察并记录菌株产生消解圈的情况, 筛选出能够产生消解圈的菌株备用。

1.4 β -1,3-葡聚糖酶的诱导

将初筛到的产酶菌株接入装有 100 mL 高氏一号培养液的 250 mL 三角瓶中, 30°C、180 r/min 摇床培养 3 d 后作为种子液, 取 10 mL 种子液接入盛有

100 mL ABP 选择性培养液的 250 mL 三角瓶中, 30°C、180 r/min 摇培 5 d 后, 4°C、12000 r/min 离心 15 min, 即获得粗酶液, 用于酶活测定及其抑菌活性的检测。

1.5 酶液的抑菌活性测定

采用液培法, 将油菜菌核病菌的菌丝块($d=4$ mm)接入到含 1 mL 粗酶液的 50 mL PD 培养液中, 振荡培养(25°C, 150 r/min) 5 d 后将病菌菌丝过滤, 烘干至恒重, 称量菌丝干重, 计算抑菌效果。以加入 1 mL 无菌水为对照, 试验设 3 个重复。

$$\text{抑菌效果} = \frac{\text{对照菌丝干重} - \text{处理菌丝干重}}{\text{对照菌丝干重}} \times 100\%$$

1.6 酶活力测定

采用 DNS 法, 取 0.05 mol/L pH 5.5 的乙酸钠-乙酸缓冲液配制的 0.1% 底物昆布多糖 100 μ L, 37°C 水浴预热 5 min 后加入 100 μ L 酶液, 混匀, 置 37°C 保温 30 min, 用紫外分光光度计在 540 nm 下测吸光度^[21]。

1.7 菌株 gCLA4 产酶条件的研究

1.7.1 碳源不同量对产酶及抑菌活性的影响: 以 ABP 为基础培养基, 改变碳源(茯苓粉)的量, 使培养基中茯苓粉含量分别为 0.1%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1%, 其他成分不变, 培养方法同 1.4, 抑菌活性测定同 1.5, 酶活力测定 1.6。

1.7.2 不同氮源对产酶及抑菌活性的影响: 以 ABP 为基础培养基, 改变氮源的种类, 其他成分不变。所选定的氮源种类为牛肉膏、蛋白胨、酵母粉、氯化铵、硫酸铵、硝酸钠, 培养方法同 1.4, 抑菌活性测定同 1.5, 酶活力测定 1.6。

1.7.3 不同初始 pH 值对产酶及抑菌活性的影响: 以 ABP 为培养基, 分别将初始 pH 值调为 4、5、6、7、8、9、10, 其他成分不变, 培养方法同 1.4, 抑菌活性测定同 1.5, 酶活力测定 1.6。

1.7.4 培养时间对产酶及抑菌活性的影响: 按照 1.4 的方法接种 3 瓶培养液并进行诱导培养, 每隔 24 h 定时定点取样, 4°C、12000 r/min 离心 15 min, 即获得粗酶液, 抑菌活性测定同 1.5, 酶活力测定 1.6。

1.8 菌株 gCLA4 粗酶液的对植物病原真菌菌丝生长的抑制作用

采用牛津杯法, 检测菌株 gCLA4 粗酶液对常见 15 种病原真菌(见表 3)菌丝生长的抑制作用。

2 结果与分析

2.1 产酶菌株的筛选

透明圈实验结果显示: 在检测的 217 株植物内生放线菌中, 能够产生 β -1,3-葡聚糖酶的菌株共 99 株, 占总检测菌株的 45.6%。其中来自黄瓜的产酶菌株最多达 38 株, 占产酶总菌株的 39%, 其次是来自鱼腥草、黄花蒿和芹菜的内生菌, 其能够产酶的菌株分别为 19、15 和 11 株。然而并未从分离自牛蒡、牛膝、薄荷及五味子的内生放线菌中筛选得到能够产 β -1,3-葡聚糖酶的菌株(见图 1)。此外, 从检测结果可以看出, 不同植物来源的内生放线菌中具有产 β -1,3-葡聚糖酶能力的菌株比例不同(见图 2)。其中黄精中的产酶菌株比例最高, 达到 88.9%; 其次是芹菜内生放线菌, 84.6%的菌株具有产酶能力; 黄花蒿、鱼腥草中能够产酶的菌株比例也在 60%以上; 而黄瓜内生放线菌具有产酶能力菌株只占黄瓜总分离株的 49.4%。

2.2 产胞外 β -1,3-葡聚糖酶菌株对油菜菌核病菌丝生长的影响

采用液培法, 对 99 个产 β -1,3-葡聚糖酶植物内生放线菌的粗酶液对油菜菌核病菌丝生长的抑制作用进行了测定, 结果表明: 36 个产酶菌株的粗酶

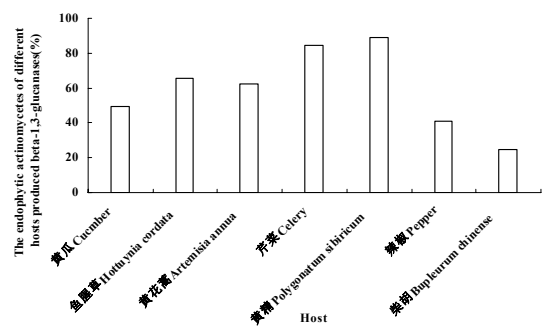


图 2 不同寄主内生放线菌产 β -1,3-葡聚糖酶情况
Fig. 2 The endophytic actinomycetes of different hosts produced β -1,3-glucanases

液表现出不同程度的抑制作用, 占总产酶菌株的 36.4%。其中分离自黄瓜组织的内生放线菌具有较强的产生 β -1,3-葡聚糖酶的能力, 其粗酶液表现出较强的抑菌活性。共有 18 株菌的粗酶液表现出不同程度的抑制作用, 抑制率超过 50%的有 13 株(见表 1), 其中的 gCLA4、CR25 和 CR26 菌株的粗酶液可以完全抑制油菜菌核病菌菌丝的生长。

在来自其他植物的 61 株产酶菌株中, 也有 18 个菌株的粗酶液对油菜菌核菌丝生长表现抑制作用(见表 2), 其中抑制率大于 50%的仅有 3 株, 它们分别是分离自鱼腥草根部的 TGYXCSA3-1 菌株、分离自芹菜茎部的 TGXQCSA10 菌株及分离自黄花蒿根部 TIASA8。

结合透明圈实验及粗酶液的抑菌试验结果, 我们筛选获得了一株高产 β -1,3-葡聚糖酶的菌株 gCLA4, 并对其产酶条件、抑菌谱进行研究。

2.3 菌株 gCLA4 产酶条件的研究

2.3.1 碳源不同量对产酶及抑菌活性的影响: 改变培养基中碳源(茯苓粉)的量, 检测酶活性及酶液的抑菌作用, 结果显示(见图 3): 当培养基中茯苓粉为 0.1%时, 粗酶液的酶活性处于比较低的水平, 且抑菌作用较弱, 抑菌圈直径只有 8 mm; 培养基中茯苓粉的量从 0.2%增加到 1%时, 粗酶液活性变化不大, 抑菌作用之间也没有明显差异; 但比茯苓粉 0.1%时, 酶活和抑菌作用却显著增加, 均提高了 2 倍以上。

2.3.2 不同氮源对产酶及抑菌活性的影响: 分别选择 3 种有机氮(牛肉膏、蛋白胨、酵母粉)和 3 种无机氮(氯化铵、硫酸铵、硝酸钠)作为培养基中的氮源, 比较其粗酶液的酶活和抑菌活性, 结果表明(见图 4): 有机氮比无机氮有利于 β -1,3-葡聚糖酶的产生, 且 3 种有机氮源之间并没有明显不同。因此, 在

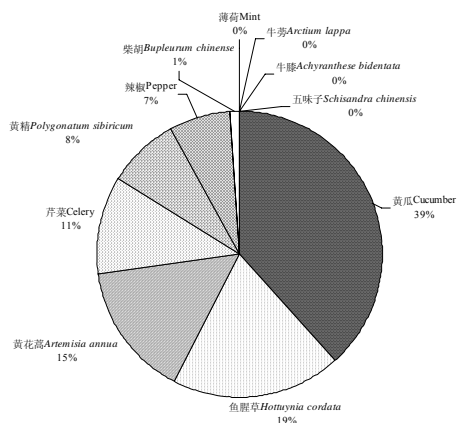


图 1 不同寄主来源的内生放线菌产 β -1,3-葡聚糖酶所占比例

Fig. 1 The percentage of endophytic actinomycetes which produced β -1,3-glucanases from the different hosts

表 1 产胞外 β -1,3-葡聚糖酶的黄瓜内生放线菌对油菜菌核病菌菌丝生长的影响Table 1 Inhibited effects of cucumber endophytic actinomycetes which produced extracellular β -1,3-glucanases on mycelium growth of *Sclerotinia sclerotiorum*

菌株 Strains	分离位置 Isolate site	抑制率(%) Inhibition Effect (%)	菌株 Strains	分离位置 Isolate site	抑制率(%) Inhibition Effect(%)
gCLA4	叶	100	AR1-8	根	63.8
CR25	根	100	AR1-2	根	57.0
CR26	根	100	gCLA7	叶	52.5
AR1-13	根	80.5	PR1-3	根	52.1
PR2-31	根	77.1	AR1-14	根	17.2
gCLA8	叶	75.4	AR1-6	根	9.0
AR1-10	根	73.2	CR32-1	根	9.0
gCLA3	叶	65.6	CR17	根	3.6
CR4-1	根	64.4	PS1-2	茎	0.4

表 2 产胞外 β -1,3-葡聚糖酶的内生放线菌对油菜菌核病菌菌丝生长的影响Table 2 Inhibitory effect of plant endophytic actinomycetes which produced extracellular β -1,3-glucanases on mycelium growth of *Sclerotinia sclerotiorum*

菌株 Isolates	分离位置 Isolate site	抑制率 (%) Inhibition effect (%)	菌株 Isolates	分离位置 Isolate site	抑制率 (%) Inhibition effect (%)
TGYXCSA3-1	鱼腥草	69.8	TGYXCSA7	鱼腥草	30.8
TGXQCSA10	芹菜	65.6	TGHJSA3	黄精	23.5
TIASA8	黄花蒿	52.5	gPLA101	辣椒	22.9
TIASA4	黄花蒿	49.5	TGCHSA1	柴胡	17.5
TGXQCSA2	芹菜	49.5	TGXQCSA9	芹菜	12.5
TGXQCSA3	芹菜	47.6	TIASA5	黄花蒿	12.1
TGYXCSA9	鱼腥草	47.1	gPLA12	辣椒	10.7
gPLA31	辣椒	44.3	TGHJSA2	黄精	7.3
GKSHJA	黄精	31.8	TIASA15	黄花蒿	2.0

表 3 黄瓜内生放线菌 gCLA4 的胞外 β -1,3-葡聚糖酶液对 13 种常见植物病原菌菌丝生长的影响Table 3 Inhibitory effect of cucumber endophytic actinomycete gCLA4 which produced extracellular β -1,3-glucanases on the mycelia growth of 13 plant pathogens

植物病原菌 Plant pathogens	抑菌圈直径(mm) Inhibition zone (mm)	植物病原菌 Plant pathogens	抑菌圈直径(mm) Inhibition zone (mm)
苹果轮纹病菌 <i>Botryosphaeria dothidea</i>	32.2	番茄叶霉病菌 <i>Fulvia fulva</i>	18.6
小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i>	30.6	玉米弯孢病菌 <i>Curvularia lunata</i>	18.5
苹果腐烂病菌 <i>Valsa ceratosperma</i>	29.7	苹果炭疽病菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	16.4
蒜叶枯病菌 <i>Stemphylium botryosum</i>	26.3	玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	15.6
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	26.8	小麦赤霉病菌 <i>Gibberella zeae</i>	6.1
辣椒疫霉病菌 <i>Phytophthora capsici</i>	24.1	棉花枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	5.0
小麦全蚀病菌 <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	19.3		

比较 3 种有机氮源的价格后认为, 蛋白胨价格低廉, 不失为较好的选择。

2.3.3 不同初始 pH 值对产酶及抑菌活性的影响: 不同初始 pH 的培养基对酶活和抑菌活性的研究结

果表明(见图 5): 初始 pH 小于 6 或者大于 9 均不利于菌株产酶, 获得的粗酶液活性极低且不具有抑菌活性。培养基 pH 在 7~8 之间最有利于菌株产酶, 粗酶液活性最高, 且抑菌作用最强, 可达到 19 mm。

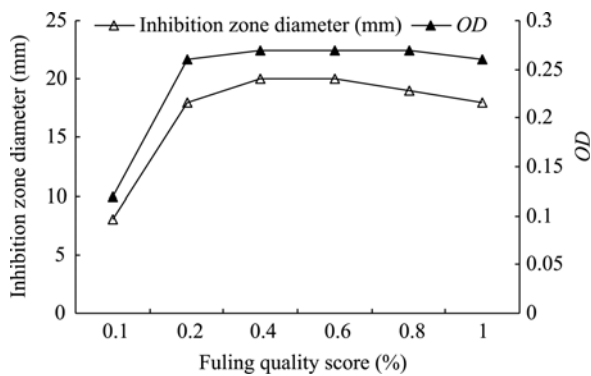


图3 茯苓添加量对产酶及抑菌活性的影响
Fig. 3 Effect of fuling content on β -1,3-glucanase activity and inhibition effect

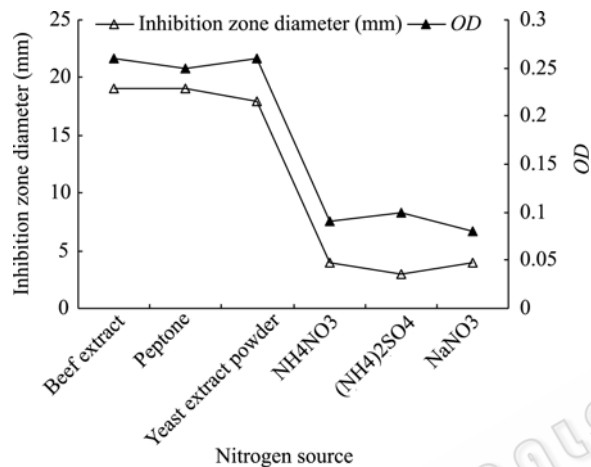


图4 不同氮源对产酶及抑菌活性的影响
Fig. 4 Effect of nitrogen source on β -1,3-glucanase activity and inhibition effect

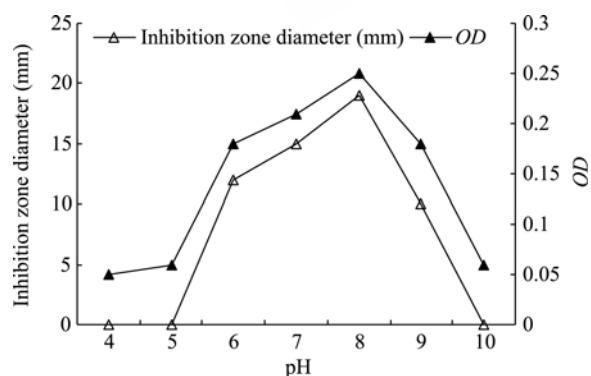


图5 起始 pH 对产酶及抑菌活性的影响
Fig. 5 Effect of initial pH on β -1,3-glucanase activity and inhibition effect

2.3.4 培养时间对产酶及抑菌活性的影响: 培养时间对产酶及抑菌活性的研究结果如图 6 所示: 诱导 24 h 内, 菌株产酶量极少, 从第 2 天开始迅速增加, 第 5 天时达到一个高峰, 到第 10 天时仍然保持较高

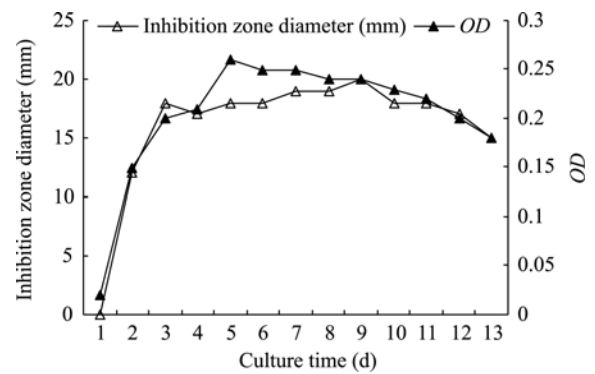


图6 培养时间对产酶及抑菌活性的影响
Fig. 6 Effect of culture time on β -1,3-glucanase activity and inhibition effect

的产酶水平, 之后逐渐下降。抑菌作用表现的趋势与产酶情况相似, 从第 5 天到 11 d, 粗酶液对菌丝生长的抑菌圈直径为 18 mm~20 mm, 之间并无差异。

2.4 菌株 gCLA4 粗酶液对植物病原真菌菌丝生长的抑制作用

采用牛津杯法, 检测了菌株 gCLA4 粗酶液对常见 13 种病原菌菌丝生长的抑制作用, 结果表明(见表 3): 菌株 gCLA4 粗酶液对所用供试的植物病原菌均有抑制作用。对除了小麦赤霉菌和棉花枯萎病菌之外的供试病菌表现出较强的抑制效果, 抑菌带都在 15 mm 以上, 其中对苹果轮纹病菌的抑制作用最强, 抑菌圈直径达到 32 mm。

3 讨论

本研究采用透明圈法, 对从辣椒、黄瓜、芹菜、柴胡等 12 种蔬菜和药用植物中分离获得的 217 株内生放线菌产 β -1,3-葡聚糖酶的情况进行了分析。结果表明产酶菌株占总菌株数的 45.6%, 且不同种类植物间所含的产酶菌株存在差异, 其中来自黄瓜的产酶菌株最多达 38 株, 占产酶总菌株的 39%。此外, 不同植物来源的内生放线菌中具有产酶能力的菌株比例差异显著, 其中黄精中的产酶菌株比例最高, 达到 88.9%; 而产酶菌株最多的黄瓜内生放线菌中产酶菌株比例却只有 49.4%。然而目前对于来源于植物内生菌的产 β -1,3-葡聚糖酶的研究报道极少, 对相关信息的了解还非常有限, 因此对其在生物防治领域的相关研究还有待于深入开展。

通过本研究, 我们最终获得了一株产酶菌株 gCLA4, 该菌株分离自黄瓜的叶部, 涂璇^[22]等的鉴定结果将该菌株归为淡紫灰链霉菌(*Streptomyces*

lavendulae sp.), 并对该菌的黄豆粉无菌发酵滤液的抑菌作用进行了测试, 结果显示其对供试的 12 种植物病原真菌均有较强的抑制作用, 其中对苹果树腐烂病菌和油菜菌核病菌的抑菌作用较强。对供试靶标细菌有选择性抑制作用, 如对猕猴桃溃疡病菌表现出较好的抑菌效果, 但对番茄青枯菌则无影响。阿里玛斯^[23]等对该菌株抑制辣椒疫霉菌的作用进行了研究, 结果表明该菌的黄豆粉无菌发酵滤液对其菌丝生长、孢子囊和游动孢子形成均有明显的抑制作用; 此外, 在温室条件下, 菌株 gCLA4 的黄豆粉无菌发酵滤液对辣椒疫病的防治效果可达到 80% 以上。上述研究结果均表明黄瓜内生放线菌 gCLA4 菌株, 在不同的培养条件下能够产生不同类型的抗菌物质, 且都表现出较好的抑菌效果, 在植物病害生物防治中具有良好的应用前景, 因此对该菌株的深入研究将具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Clark AE, Stone BA. Chemistry and biology of β -1,3-glucanase. Academic Press, 1998.
- [2] Castresana C, Carvalho F, Gheysen G, et al. Tissue-specific and pathogen-induced regulation of a *Nicotiana plumbaginifolia* β -1,3-glucanase gene. *Plant Cell*, 1990, 2: 1131-1143.
- [3] Felix M, Brigotte MM, Thomas B. Antitungal hydrolases in pea tissue. *Plant Physiology*, 1988, 88(3): 936-942.
- [4] Sela-Buurlage MB, Ponstein AS, Bres-Vloemans SA, et al. Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinase and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity. *Plant physiol*, 1993, 101: 857-863.
- [5] Nguyen HH, Graham HF. Separation and characterization of six (1,3)- β -glucanases from *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, 1983, 156(3): 1204-1213.
- [6] Anna AK, Karl KT, Konstantin AS, et al. Isolation, enzymatic properties, and mode of action of an exo-1,3- β -glucanase *Trochoderma viride*. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268: 6123-6131.
- [7] Fontaine T, Hartland RP, Beauvais A, et al. Purification and characterization of an endo-1,3- β -glucanase from *Aspergillus fumigatus*. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 243: 315-321.
- [8] Hong TY, Meng M. Biochemical characterization and antifungal activity of an endo-1,3- β -glucanase of *Paenibacillus* sp. isolated from garden soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 61: 472-478.
- [9] Miyanishi N, Hamada N, Kobayashi T, et al. Purification and characterization of a novel extracellular β -1,3-glucanase produced by *Bacillus clausii* NM-1 isolated from ezo abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, 95(1): 45-51.
- [10] Tiunova NA, Kobzeva NIa, Zaikina IV, et al. 1,3- β -glucanases of Actionmycetes. *Mikrobiologiya*, 1983, 52(4): 586-590.
- [11] Aono R, Hammura M, Yamamoto M, et al. Isolation of extracellular 28- and 42-kilodalton β -1,3-glucanase and comparison of three β -1,3-glucanases produced by *Bacillus circulans* IAM1165. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 122-129.
- [12] Wichitra L, Pranom S, Souwalak P. Purification, characterization and synergistic activity of β -1,3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 against rice blast and sheath blight. *Enzyme and Microbial Technol*, 2006, 38: 990-997.
- [13] 姚乌兰, 王云山, 韩继刚, 等. 水稻生防菌株多粘类芽孢杆菌 WY110 抗菌蛋白的纯化及其基因克隆. *遗传学报*, 2004, 31(9): 879-887.
- [14] Soledad VG, Carlos LM, Alfredo HF. Analysis of the β -1,3-glucanolytic system of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 8: 1442-1446.
- [15] 王清海, 万平平, 李安娜, 等. 土壤拮抗链霉菌 R15 发酵产物的抑菌作用. *中国农学通报*, 2006, 22(2): 327-330.
- [16] 万平平, 齐 勇, 韩玉梅, 等. 土壤拮抗链霉菌 R15 β -1,3-葡聚糖酶的纯化与部分特性分析. *农业环境科学学报*, 2006, 25(5): 1266-1270.
- [17] 刘安邦, 王 刚, 陈国参, 等. 小麦内生多粘类芽孢杆菌 hu-4 产 β -1,3-葡聚糖酶发酵工艺研究. *河南科学*, 2008, 26(9): 1050-1053.
- [18] Sock J, Rohringer R. Extracellular β -1,3-glucanase in stem rust affected and abiotically stressed wheat leaves. *Plant Physiol*, 1990, 1994: 1376-1389.
- [19] 陈天寿主编. 微生物培养基的制造与应用. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [20] 涂 璇. 植物内生放线菌抑菌防病作用及其活性物质的研究. 西北农林科技大学博士学位论文, 1999.
- [21] 王旭丽, 黄丽丽, 康振生, 等. 小麦全蚀病菌胞外 β -1,3-葡聚糖酶的产生和部分特性的研究. *菌物系统*, 2003, 22(4): 628-633.
- [22] 涂 璇, 黄丽丽, 高小宁, 等. 黄瓜内生放线菌的分离、筛选及其活性菌株鉴定. *植物病理学报*, 2008, 38(3): 244-251.
- [23] 阿里玛斯, 黄丽丽, 涂 璇, 等. 内生放线菌 gCLA4 对辣椒疫病的防治研究. *西北农业学报*, 2007, 16(5): 256-261.