

# 香蕉枯萎病菌粗毒素对地衣芽胞杆菌 生长和培养液上清蛋白组成的影响

黎永坚 杨紫红 陈远凤 陈燕红 程 萍 喻国辉\* (珠海市农业科学研究中心 广东 珠海 519075)

摘 要:本文研究了香蕉枯萎病菌 4号生理小种湛江菌株(Foc 4-zj)产生的粗毒素对地衣芽胞杆菌 R21 菌株生长及其培养液中蛋白组成变化的影响。实验结果表明, Foc 4-zj 的粗毒素能够抑制 R21 菌株的生长,缩短其生长周期;减少培养液上清蛋白含量以及改变蛋白质的种类;低剂量的粗毒素有利于拮抗蛋白的积累,而高剂量的粗毒素则相反。

关键词: 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种-zj 菌株, 粗毒素, 地衣芽胞杆菌 R21 菌株, 生长曲线, 拮抗蛋白

# Effect of the Crude Toxin of Fusarium oxysporum f. sp. cubense Race 4 on the Growth and the Protein Secretion of Bacillus licheniforms

LI Yong-Jian YANG Zi-Hong CHEN Yuan-Feng CHEN Yan-Hong CHENG Ping YU Guo-Hui\*

(Zhuhai Agriculture Research Center, Zhuhai, Guangdong 519075, China)

**Abstract:** The effects of the crude toxin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (Foc 4-zj) on the growth of *Bacillus licheniforms* R21 strain and its protein secretion were studied. The results showed that the growth of R21 strain was inhibited by the crude toxin produced by Foc 4-zj, and its growth cycle was shorten. The protein contents were decreased and the kinds of protein in the supernatant fluid had changed significantly after treated with crude toxin. High dose of the crude toxin greatly decreased the contents of antagonistic proteins, whereas lower one increased.

**Keywords:** Fusarium oxysporum f. sp. cubense race 4-zj strain, Crude toxin, Bacillus licheniforms R21 strain, Growth curve, Supernatant protein

由尖孢镰刀菌古巴专化型[Fusarium oxysporum f. sp. cubense (E. F. Smith) Snyder et Hasen, Foc] [1] 引起的香蕉枯萎病是一种毁灭性病害, 在我国广东、广西、海南、云南、福建、台湾等香蕉种植地

区均有发生。香蕉枯萎病菌被划分成 4 个生理小种, 其中 4 号小种(Foc 4)几乎对所有香蕉栽培品种致病, 严重地威胁着香蕉产业的可持续健康发展, 国内外 纷纷开展了香蕉枯萎病的生物防治研究。

基金项目:广东省科技厅教育部产学研结合项目(No. 2007B090400083);珠海市产学研结合项目(No. PC20082043);珠海市科技计划项目(No. PC20081078, PC20082043)

\*通讯作者: Tel: 86-756-8508971; ⊠: ygh76411@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-05-18; 接受日期: 2009-08-06

在生物防治的研究中、笔者发现数种具有广 谱抗真菌能力的芽胞杆菌、对香蕉枯萎病有较好 的防治效果, 其中对巴西蕉的最好田间防治效果 达 82.40%, 并能维持较高防效到次年(另文报道); 但在室内平板对峙试验中、拮抗作用却很微弱。 香蕉枯萎病菌在培养过程中能够产生毒素[2]、毒 素对香蕉乃至多种作物均有明显的毒害作用[3,4]。 为探明香蕉枯萎病菌毒素对平板拮抗测定及生防 芽胞杆菌生长的影响,本文首先测定了尖孢镰刀 菌古巴专化型 4 号生理小种湛江菌株(简称 Foc 4-zi)粗毒素对不同生防芽胞杆菌的平板抑制作用, 然后以一株分离自石斛兰(Dendrobium spp.),对 由串珠镰刀菌(Fusarium moniliforme)引起的石斛 兰叶斑病(Dendrobium Leaf Spot)具有较好防效的 地衣芽胞杆菌 R21 菌株为对象<sup>[5]</sup>, 测定了 Foc 4-zj 粗毒素对 R21 菌株生长、培养液蛋白含量和组成、 拮抗蛋白含量等的影响,以期揭示病原菌毒素干 扰生防菌株拮抗功能的现象、为今后拮抗菌株的 筛选与改良提供一定的理论依据。

# 1 材料与方法

#### 1.1 供试菌株

生防菌株:凝结芽胞杆菌 Bacillus coagulans R14、环状芽胞杆菌 B. circulans R38、地衣芽胞杆菌 B. licheniforms R21、R26、R31、R37、R39、R47以及铜绿假单胞菌 Pseudomonas aeruginosa LK;上述菌株由珠海市农业科学研究中心农业微生物实验室分离保藏。香蕉枯萎病菌 4 号生理小种湛江菌株(Foc 4-zj),由广东海洋大学易润华博士惠赠。

#### 1.2 供试培养基

LB(细菌培养基)<sup>[6]</sup>, PDA(真菌培养基)<sup>[6]</sup>, Richard 培养液<sup>[7]</sup>。

## 1.3 菌株培养方法

**1.3.1** 生防菌株的培养:接种于 LB 培养液中, 37°C、180 r/min 振荡培养至 *OD*<sub>600</sub> 为 1.0 后备用。

1.3.2 香蕉枯萎病菌粗毒素的制备:参照黎永坚<sup>[4]</sup> 报道的方法进行培养。将 Foc 4-zj 菌株在 PDA 平板上 28°C 扩大培养 4 d, 用直径为 0.6 cm 的打孔器沿菌落边缘打菌片,接种 8 块菌片到 Richard(pH 6.0)培养液中, 28°C、140 r/min 振荡培养 15 d。培养液用四层纱布滤除菌丝,滤液常温下 5200 r/min 离

心 25 min, 上清液用细菌过滤器作无菌处理即为粗毒素。

#### 1.4 粗毒素对不同生防菌株生长的影响

吸取  $100~\mu L$  各生防菌株培养液的  $100~\epsilon$  稀释液于 LB 平板中,涂布均匀,吹干;在平板上放置无菌牛津杯,加入  $200~\mu L$  粗毒素, $37^{\circ}C$  培养 2~d 后以十字交叉法测量抑菌圈直径。以加  $200~\mu L$  Richard 培养液作对照。每株生防菌株做  $3~\epsilon$  个重复  $1~\epsilon$ 

1.5 粗毒素对地衣芽胞杆菌 R21 菌株生长和培养液上清蛋白组成的影响

1.5.1 粗毒素处理 R21 菌株方式: 于装有 97 mL LB 培养液的三角瓶(容量为 250 mL)中分别加入 1 mL、2 mL、3 mL 粗毒素,并用 Richard 培养液补足,使 瓶中液体总体积为 100 mL,然后接种 200 μL 的 R21 菌株培养种液(方法参见 1.3.1), 37°C、180 r/min 振荡培养 12 h、24 h、48 h、72 h 后进行各项指标测试。每个处理 3 次重复,以加 3 mL Richard 培养液为对照(预实验证明, 97 mL LB 培养液中加入 3 mL 或以下的 Richard 培养液对 R21 菌株的各项生理生化指标均无影响)。

**1.5.2** 粗毒素对 **R21** 菌株生长的影响:在 12 h、24 h、48 h和 72 h时间段将各处理的 R21 菌株培养液稀释 10 倍后测  $OD_{600}$ ,每个处理各测 3 次。

1.5.3 粗毒素对 R21 菌株培养上清液蛋白含量及种类的影响: 将各时间段、各处理的 R21 菌株培养液 4°C、10000 r/min 离心 25 min 以去除菌体,细菌过滤器过滤后得到 R21 菌株培养上清液,—20°C 贮存备用。上清液蛋白质含量采用双缩脲法进行测定<sup>[8]</sup>,每个处理各测 3次;并对上清液进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(浓缩胶为 4%,分离胶为 12%,初始电压为 80 V,最终电压为 120 V,银染法染色),分析蛋白质种类的变化。

1.5.4 粗毒素对 R21 菌株培养上清液拮抗蛋白含量的影响:参照张祎<sup>[9]</sup>报道的方法提取拮抗蛋白。分别准确量取 50 mL 各处理的 R21 菌株培养上清液,4°C下边搅拌边缓慢加入硫酸铵,使硫酸铵饱和度达到20%,4°C下沉淀过夜;4°C、15000 r/min 离心 30 min,去除上清,沉淀用 1 mL pH 6.8 的 20 mmol/L 磷酸缓冲溶液重溶后,100°C 加热处理 30 min 使杂蛋白变性,然后4°C、15000 r/min 离心 30 min 去除变性杂蛋白,上清即为 R21 菌株拮抗蛋白溶液,-20°C 贮存

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

备用。采用双缩脲法<sup>[9]</sup>测定拮抗蛋白的含量,每个处理各测 3 次。

#### 1.6 数据分析方法

用软件 SPSS13.0 中的单因素方差分析程序分析实验数据, 用LSD法检验不同处理的差异显著性, 分析后的数据在 Excel 软件中作图, 所有图形中的正偏差均表示平均数的正标准偏差(+s)<sup>[10]</sup>。

# 2 结果与分析

## 2.1 粗毒素对不同生防菌菌株生长的抑制

Foc 4-zj 粗毒素对供试 8 株生防芽胞杆菌菌株的生长具有明显的抑制作用(表 1), 在 LB 平板上能够形成明显的抑菌圈(图 1), 但对铜绿假单胞菌 LK的生长没有抑制。

表 1 香蕉枯萎病菌粗毒素对生防菌菌株生长的抑制 Table 1 Growth inhibition of biocontrol agents by Foc

4-zj crude toxin									
菌株编号	抑制圈直径								
Strain	Inhibition zone diameter (mm)								
R14	$15.50 \pm 0.21$ bc								
R21	$18.83 \pm 0.12$ a								
R26	$15.67 \pm 0.11$ bc								
R31	$14.00 \pm 0.14 d$								
R37	$16.50 \pm 0.10 \text{ b}$								
R38	17.67 ± 0.06 a								
R39	$15.42 \pm 0.05$ c								
R47	$14.75 \pm 0.19 \text{ cd}$								
LK	$0.0 \pm 0.00$ e								

注: 表中数据为平均数  $\pm$  标准偏差,同列数据后的不同小写字母表示数据经 LSD 法检验差异显著, P < 0.05.

Note: The data in the table are mean  $\pm s$  and the different small letters in the same column show significantly differences among strains using LSD test at P < 0.05.

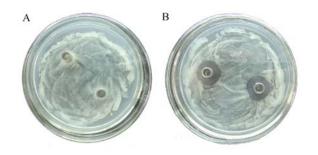


图 1 粗毒素对 R21 菌株生长的影响

Fig. 1 Influence of the crude toxin on the growth of R21 strain

注: A: 空白对照; B: 粗毒素处理.

Note: A: Treated without crude toxin; B: Treated with crude toxin.

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

粗毒素对不同生防芽胞杆菌菌株的抑制作用存在显著性差异,对 R21 菌株的抑制作用最强,抑菌 圈直径达 18.83 mm ± 0.12 mm。

## 2.2 粗毒素对 R21 生长的影响

粗毒素处理导致 R21 菌株比对照提前 24 h 衰亡 (图 2)。对照 24 h 进入对数生长期, 48 h 后才进入衰亡期, 而不同剂量粗毒素处理的 R21 菌株则均在 24 h 后进入衰亡期。

12 h, 对照  $OD_{600}$  为 0.198, 显著高于各处理 (1 mL、2 mL、3 mL 粗毒素处理的  $OD_{600}$  分别为 0.127、0.135、0.0942); 24 h, 对照  $OD_{600}$  与各处理之间差异不显著; 48 h, 对照  $OD_{600}$  为 0.349, 显著高于各处理(1 mL、2 mL、3 mL 粗毒素处理的  $OD_{600}$  分别为 0.203、0.199、0.216); 72 h, 对照  $OD_{600}$  为 0.151, 1 mL、2 mL、3 mL 粗毒素处理的分别为 0.113、0.094、0.133,各处理间的差异如图 2 所示。

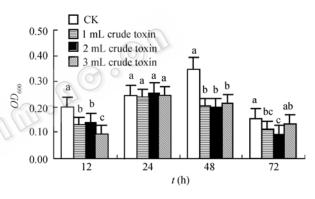


图 2 粗毒素对 R21 菌株生长的影响

Fig. 2 Influence of the crude toxin on the growth of R21 strain

注: 图中相同处理时间段柱形图上方的不同小写字母表示数据经 LSD 法检测差异显著, P < 0.05, 下同.

Note: The different small letters upon the column at the same treatment time of R21 strain show significant differences among treatments using LSD test at P < 0.05 (the same below).

# 2.3 粗毒素对 R21 菌株培养上清液蛋白含量及种类的影响

不同剂量粗毒素处理的 R21 菌株培养上清液蛋白含量在各时间段存在差异,但均低于对照。在 24 h~72 h期间,蛋白含量随着粗毒素剂量的增大而降低(图 3)。

12 h 后对照上清液蛋白含量 $(1.465 \times 10^3 \text{ μg/mL})$  比粗毒素处理的(1 mL, 2 mL, 3 mL 粗毒素处理分别为  $1.324 \times 10^3 \text{ μg/mL}, 1.238 \times 10^3 \text{ μg/mL}, 1.297 \times 10^3 \text{ μg/mL})$ 高,但差异不显著;24 h 后对照上清液蛋

白质含量为  $1.315 \times 10^3 \ \mu g/mL$ , 显著高于  $1 \ mL$   $(1.182 \times 10^3 \ \mu g/mL)$ ,  $2 \ mL(1.096 \times 10^3 \ \mu g/mL)$  和  $3 \ mL$  粗毒素处理( $9.950 \times 10^2 \ \mu g/mL$ );  $48 \ h$  后  $1 \ mL$ 、  $2 \ mL$  和  $3 \ mL$  粗毒素处理的上清液蛋白质含量(分别为  $1.016 \times 10^3 \ \mu g/mL$ 、 $9.090 \times 10^2 \ \mu g/mL$ 、 $8.435 \times 10^2 \ \mu g/mL$ )均低于对照( $1.078 \times 10^3 \ \mu g/mL$ ),各处理间的差异如图  $3 \ m\pi$ ;  $72 \ h$  后对照处理的蛋白质含量为  $1.006 \times 10^3 \ \mu g/mL$ , $1 \ mL$ 、 $2 \ mL$  粗毒素处理的分别为  $9.867 \times 10^2 \ \mu g/mL$ 、 $1.022 \times 10^3 \ \mu g/mL$ ,显著高于  $3 \ mL$  粗毒素处理( $9.539 \times 10^2 \ \mu g/mL$ )。

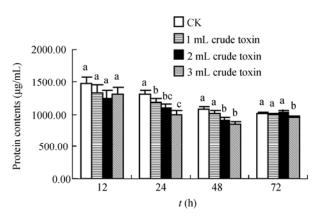


图 3 粗毒素对 R21 菌株培养上清液蛋白含量的影响 Fig. 3 Influence of the crude toxin on the protein contents of R21 strain in its supernatant fluid

SDS-PAGE 电泳显示, 粗毒素引起 R21 菌株培养上清液的蛋白种类发生明显变化(见表 2), 这种变化表现在 3 个方面。

首先,不同时间段不同处理的蛋白组成不同。 12 h 时对照上清蛋白电泳只出现 2 条带,而 1 mL、 2 mL、3 mL 粗毒素处理的则分别出现 6 条、9 条和 12 条带; 24 h 时对照蛋白带增至 17 条,而粗毒素处理的均为 12 条; 48 h 时对照蛋白带减少至 13 条,粗毒素处理的则分别增加至 14 条、17 条和 16 条; 72 h 时对照及粗毒素处理的蛋白条带数量与种类不存在差异,均为 17 条。

其次,不同时间段不同处理出现特异性蛋白带。12 h 时 1 mL 和 2 mL 粗毒素处理均出现分子量为 44.54 kD 的特异性蛋白带, 3 mL 粗毒素处理则出现分子量为 51.23 kD 的特异性蛋白带; 24 h 时对照出现分子量分别为 140.70 kD、97.11 kD、49.79 kD的特异性蛋白带, 3 mL 粗毒素处理出现分子量为26.46 的特异性蛋白带。这些特异的蛋白条带在其它的时间段和处理中都不再出现。

再次, 粗毒素处理导致一些蛋白条带提前出现, 且主要集中在 12 h。12 h 时, 1 mL、2 mL、3 mL 粗 毒素处理共同出现分子量为 42.39 kD、24.45 kD 的 蛋白带; 2 mL 粗毒素处理出现分子量为 27.73 kD 的 蛋白带; 3 mL 粗毒素处理则出现分子量为 80.53 kD、 38.94 kD、27.73 kD 的蛋白带。这些条带对照都要 到 24 h 才会出现。

2.4 粗毒素对 R21 菌株培养上清液拮抗蛋白含量的影响

随着培养时间的延长、对照及粗毒素处理的 R21 菌株培养上清液中拮抗蛋白(分子量为 36.62 kD, 见表 2)产量呈减少趋势, 含量最高峰均出现在 24 h; 低剂量的粗毒素处理有利于拮抗蛋白的积累,而高 剂量的粗毒素处理不利于拮抗蛋白的积累(图 4)。 12 h 后各处理未检测出拮抗蛋白; 24 h 后 1 mL 和 2 mL 粗毒素处理 R21 菌株产生的拮抗蛋白量(分别为  $6.738 \times 10^{2} \, \mu \text{g/mL}$ 、 $6.970 \times 10^{2} \, \mu \text{g/mL}$ )略比对照  $(6.123 \times 10^2 \, \mu g/mL)$ 高,差异不显著,但三者显著高 于 3 mL 粗毒素处理 $(3.803 \times 10^2 \,\mu\text{g/mL})$ ; 48 h 后, 对 照的拮抗蛋白含量为  $2.787 \times 10^2 \,\mu\text{g/mL}$ , 1 mL, 2 mL, 3 mL 粗毒素处理的分别为  $3.435 \times 10^2 \,\mu\text{g/mL}$ 、2.784  $\times 10^{2} \, \mu g/mL$ 、 1.481  $\times 10^{2} \, \mu g/mL$ ,各处理间差异 显著; 72 h后, 对照处理的拮抗蛋白含量(2.796 ×  $10^2 \,\mu g/mL$ )与 1 mL 粗毒素处理(2.761 ×  $10^2 \,\mu g/mL$ ) 之间差异不显著、但显著高于 2 mL 和 3 mL 粗毒素 处理(拮抗蛋白含量分别为  $2.110 \times 10^2$  μg/mL、1.021 $\times 10^2 \, \mu g/mL$ )

# 3 结论与讨论

香蕉枯萎病菌产生的毒素在香蕉枯萎病的发病过程中起重要的作用,尤其在病菌侵染寄主后,毒素可引起维管束细胞产生褐变、坏死等病理变化。目前关于香蕉枯萎病菌毒素的研究,主要集中在应用粗毒素测定寄主品种抗性或筛选抗病品种、研究毒素对蕉类的致病性分化之间的关系等<sup>[3,11,12]</sup>。本研究发现,香蕉枯萎病菌 4 号小种的粗毒素对多种广谱抗真菌芽胞杆菌的生长具有抑制作用;利用其中一株地衣芽胞杆菌R21 菌株做靶标研究的结果显示,培养液中添加不同剂量的粗毒素,不仅抑制了菌株的正常生长,使菌株提前进入衰退期,还使其上清液蛋白质含量减少,不同时相的蛋白组成发生变化;

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

	表 2 粗毒素对 R21 菌株培养上清液蛋白种类的影响 Table 2 Influence of the crude toxin on the types of protein of R21 strain in its supernatant fluid																	
	处理时间							· · ·										
	Treatment		12 h				24 h			48 h				72 h				
	time 处理方式	OV.		2 mL 粗毒素		CVI		2 mL 粗毒素		CVI		2 mL 粗毒素		CVI			3 mL 粗毒素	
	Treatment methods	CK	1 mL crude toxin	2 mL crude toxin	3 mL crude toxin	CK	1 mL crude toxin	2 mL crude toxin	3 mL crude toxin	CK	1 mL crude toxin	2 mL crude toxin	3 mL crude toxin	CK	1 mL crude toxin	2 mL crude toxin	3 mL crude toxin	
	140.70					+												
	97.11					+												
	80.53				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	72.42					+	+	+						+	+	+	+	
	67.85					+	+	+										
	63.06				+	+	+	+	+			+		+	+	+	+	
<del>Q</del>	59.88			+		+			+	+	+	+	+					
蛋白质分子量(kD) Protein molecular weight (kD)	56.69	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	53.29					+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	51.23				+													
	49.79					+												
	49.32									+	+	+	+	+	+	+	+	
	47.13		+	+	+	+	+	+				+	1	+	+	+	+	
	44.54		+	+									3/1					
	42.39		+	+	+	+	+	+	+	+	+	7 6	+	+	+	+	+	
	38.94				+	+	+	+	+	+	9	) +	+	+	+	+	+	
(分)	36.62 32.82	+	+	+	+	+	+	+	+	1		+	+	+	+	+	+	
番白质	31.72				'				11	77	+	+	+	+	+	+	+	
	31.43			+	+	+		18	0 +	+	+	+	+	+	+	+	+	
	28.26						0,0	00		+	+	+	+	+	+	+	+	
	27.73			+	+	+	11+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	26.46					1			+									
	25.23			0	0)					+	+	+	+	+	+	+	+	
	24.45		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	20.53											+	+	+	+	+	+	

注: +: 电泳图上存在此分子量蛋白质条带.

Note: +: The corresponding protein band in the SDS-polyacrylamide gel electrophoretogram.

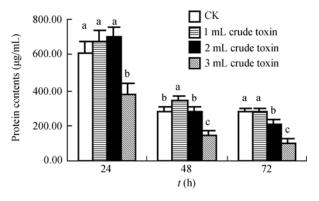


图 4 粗毒素对 R21 菌株培养液拮抗蛋白含量的影响 Fig. 4 Influence of the crude toxin on the antagonistic proteins content of R21 strain in its supernatant fluid

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

同时发现,低剂量的粗毒素有利于拮抗蛋白的积累, 而高剂量则抑制拮抗蛋白的积累。

本文的研究结果确定了香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素对多种生防芽胞杆菌具有明显的影响,而已有研究表明香蕉枯萎病菌毒素主要成分为镰刀菌酸(Fusaric acid, FA),该成分对寄主或非寄主植物都能产生毒害作用<sup>[4]</sup>,那么,是否也意味着 FA 也是本试验中抑制生防芽胞杆菌生长的主因呢?关于FA 对生防菌株的影响,国外已有相关研究报道:Wang 等认为镰刀菌酸对真核生物和原核生物都有毒害作用<sup>[13]</sup>;镰刀菌酸能够影响假单胞杆菌的生物

防治效果、其主要通过抑制吩嗪生物合成基因操纵 子以及群体感应调控基因 phzl 和 phzR 的表达, 导致 吩嗪-1-羧酸含量水平的下降,影响假单胞杆菌 PCL1391 对引起番茄果实和根部腐烂尖孢镰刀菌的 防治效果[14]; Keel 等研究表明, 镰刀菌酸通过抑制 DAPG(2,4-二乙酰基间苯三酚)的产生而影响了荧光 假单胞杆菌 CHA0 的生防效果[15]。为探明香蕉枯萎 病菌 4 号生理小种粗毒素对不同生防芽胞杆菌菌株 表现出的广谱抑制效果是否与镰刀菌酸有关、笔者 初步测定了纯品镰刀菌酸对供试生防菌株的平板抑 制效果、发现镰刀菌酸对上述生防芽胞杆菌菌株也 表现出抑制效果、表明粗毒素的抑制可能由镰刀菌 酸引起,但镰刀菌酸通过何种途径影响生防芽胞杆 菌的生长、还需要进一步研究。同时、本文只针对粗 毒素对生防芽胞杆菌 R21 菌株的生长影响开展研究, 而粗毒素中除镰刀菌酸外, 还有其它的物质成分存 在[4], 这些成分在抑制生防芽胞杆菌的过程中起到 怎样的作用、粗毒素中镰刀菌酸的含量要达到何种 程度才起到抑制 R21 菌株生长的作用等问题尚不清 楚: 因此, 还需要对粗毒素进行提取与纯化分析, 以明确粗毒素中各组分在抑制生防芽胞杆菌生长过 程中所起到的作用。

# 参考文献

- [1] 林时迟, 张绍升, 周乐峰, 等. 福建省香蕉枯萎病鉴定. 福建农业大学学报, 2000, **29**(4): 456-469.
- [2] 兀旭辉, 许文耀, 林成辉. 香蕉枯萎病菌毒素特性的初步研究. //彭友良. 中国植物病理学会 2004 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004, pp.39–44.
- [3] 许文耀, 兀旭辉, 杨静惠, 等. 香蕉假茎细胞对枯萎病菌不同小种极其粗毒素的病理反应. 植物病理学报, 2004, **34**(5): 425-430.

- [4] 黎永坚. 香蕉枯萎病菌及其毒素致病机制的研究. 广东海洋大学硕士学位论文、2007.
- [5] 程 萍,郑燕玲,黎永坚,等. 石斛兰镰刀菌叶斑病的 生物防治研究. 中国农学通报, 2008, **24**(9): 357-361.
- [6] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程. 第 1 版. 北京: 北京大学出版社, 1999, pp.205-206.
- [7] 方中达. 植病研究方法. 第 3 版. 北京: 中国农业出版 社出版, 1998, pp.40.
- [8] 刘邻渭, 陶 健, 毕 磊. 双缩脲法测定荞麦蛋白质. 食品科学, 2004, **25**(10): 258-261.
- [9] 张 祎. 地衣芽胞杆菌(Bacillus licheniformis)R21 的生物学特性和广谱抗真菌蛋白研究. 中山大学硕士论文, 2007.
- [10] 李春喜, 王志和, 王文林. 生物统计学. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2000, pp.16-18.
- [11] Morpurgo RS, Lpatosv V, Afze R, et al. Selection parameters for resistance to Fusarium oxysprum f. sp. cubense race 1 and race 4 on diploid banana (Musa acuminata Colla). Euphytica, 1994, 75: 121–129.
- [12] Matsumoto K, Souza LAC, Barbosa ML. In vitro Selection for Fusarium wilt resistance in banana I Co-cultivation technique to produce culture filtrate of race 1 Fusarium oxysporum f. sp. cubense. Fruits, 1999, 54(2): 97–102.
- [13] Wang H, Ng TB. Pharmacological activities of fusaric acid (5-butylpicolinic acid). *Life Sci*, 1999, **65**: 849–856.
- [14] E Tjeerd van Rij, Genevie've Girard, Ben JJ Lugtenberg, et al. Influence of fusaric acid on phenazine-1-carboxamide synthesis and gene expression of *Pseudomonas chloro*raphis strain PCL1391. *Microbiology*, 2005, 151: 2805–2814.
- [15] Ursula Schnider-Keel, Arnaud Seematter, Monika Maurhofer, *et al.* Autoinduction of 2,4-Diacetylphloroglucinol biosynthesis in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and repression by the bacterial metabolites salicylate and pyoluteorin. *Journal of Bacteriology*, 2000, **182**(5): 1215–1225.

栏目介绍

#### 显微世界

"显微世界"栏目将刊出一些精美清晰的显微照片,带您走进显微镜下的微生物世界,希望在阅读期刊相关科学新进展的同时,给您带来一种愉悦的科学艺术视觉享受。同时欢迎广大作者、读者朋友积极为我们推荐或提供高质量、高清晰的显微照片(提供者保证该图片无任何知识产权问题)。

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn