

宁夏枸杞内生细菌的多样性及其抑菌活性研究

杜晓宁 徐惠娟 黄盼盼 代金霞*

(宁夏大学 生命科学学院 宁夏 银川 750021)

摘要:【目的】对宁夏枸杞各药用部位内生细菌的分布特征、遗传多样性和抑菌活性进行分析。

【方法】采用菌落计数和 16S rRNA 基因序列分析法研究枸杞内生细菌的分布特征、遗传多样性,采用琼脂扩散法测定其抑菌活性。【结果】从各药用组织器官中分离出内生细菌 34 株,隶属于 7 科 11 属,内生细菌的数量和群落组成存在明显的组织特异性,其数量表现为根皮>叶>花>果实,而多样性则表现为花>根皮>叶>果实。芽孢杆菌属为枸杞优势内生菌群,分布于所有组织中;抑菌实验结果表明有 76.5%的内生菌对一种或多种病原菌的生长有抑制作用,芽孢杆菌属菌株 R2、R7、L3 和短波单胞菌属的 R3 拮抗番茄炭疽杆菌和玉米大斑病菌的能力较强,而多数菌株对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制能力较弱。【结论】枸杞可培养内生细菌遗传多样性丰富,对植物病原菌有较强的抑制活性。

关键词: 枸杞, 内生细菌, 遗传多样性, 抑菌活性, 16S rRNA

Diversity and antimicrobial activity of endophytic bacteria isolated from *Lycium barbarum* of Ningxia

DU Xiao-Ning XU Hui-Juan HUANG Pan-Pan DAI Jin-Xia*

(School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: [Objective] The purpose of this study was to investigate the distribution, diversity and antimicrobial activity of endophytic bacteria of *Lycium barbarum* L. of Ningxia. [Methods] The 16S rRNA gene sequencing and agar diffusion were employed to explore the diversity and antimicrobial activity of endophytic bacteria isolated from different organs and tissues of *Lycium barbarum* L.. [Results] Total of thirty-four isolates were obtained. The result of diversity analysis showed that these isolates could be phylogenetically classified into 11 genera and 7 families, based on their 16S rRNA gene sequencing. The quantity and clonal composition of bacterial communities were distinct from various tissues. The quantity of endophytic bacteria in the different tissues was in order of roots > leaves > flowers > fruits; the diversity of bacteria was flowers > roots > leaves > fruits. Additionally, *Bacillus* spp. was a predominant species and was isolated in all tested tissues. Analysis of antimicrobial activity demonstrated that 76.5% of isolates had an antimicrobial activity against at least one of the five tested pathogenic bacteria, among which *Bacillus* R2, R7, L3 and *Brevundimonas* R3 displayed significant antimicrobial activity against the plant pathogens *Colletotrichum nigrum* and *Exserohilum*

基金项目: 宁夏高等学校科学研究项目(2012); 国家级大学生创新项目(No. 131074913)

*通讯作者: 函: djxia05@163.com

收稿日期: 2014-11-16; 接受日期: 2015-02-12; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-03-12

turcica. Of note, the majority of isolates showed weak inhibition effect against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. [Conclusion] Endophytic bacteria of *Lycium barbarum* L. are genetically diverse and most of them have a strong inhibitory activity against plant pathogenic fungi.

Keywords: *Lycium barbarum*, Endophytic bacteria, Genetic diversity, Antimicrobial activity, 16S rRNA

植物内生菌是能够定殖在植物细胞间隙或细胞内,并与寄主植物建立和谐关系的一类微生物^[1]。内生菌不仅能够参与植物次生代谢产物的转化与合成,而且还能够独立产生丰富的次生代谢产物,是天然产物的重要来源^[2]。自1993年Stierle从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)中分离得到一株能合成抗癌物质紫杉醇的内生真菌 *Taxomyces andreanae* 后,引起国内外学者对药用植物内生菌的广泛关注。目前,我国学者对药用植物内生菌的研究较多,已有学者从黄花蒿、冬麦、黄连、甘草、大花金挖耳等传统药用植物中分离到对植物病原菌具有较强拮抗作用的内生菌并对其多样性进行了初步的探究^[3-6];药用植物内生菌次生代谢产物含有与宿主植物相同或相似的药用活性成分,包括抗菌、抗炎症、降糖、抗氧化活性类物质等天然化合物^[7]。研究显示,51%从植物内生菌分离的生物活性物质是以前没有发现的化合物,其中多种化合物具有广谱抗菌活性,这对抗菌活性物质的开发具有重大的意义^[8]。目前药用植物内生菌已成为人们寻找新型药物的重要来源。

枸杞 *Lycium barbarum* L.为茄科多年生落叶小灌木,是我国传统的药用植物,也是重要的经济来源。其花、果、叶、根皮均可入药,药用成分主要有多糖、糖脂、类黄酮、生物碱等,具有降血糖、降血压、抗肿瘤、抗衰老、抗疲劳、激发生长和促进造血功能等药用保健价值。宁夏被指定为中国枸杞的唯一原产地,所产枸杞被《中华人民共和国药典》收录为道地性中药材。宁夏枸杞因具备生态、社会、经济三位一体的效益,成为我国北方干旱半干旱荒漠地区的营林先锋树种。枸杞产业对促进西部地区农业经济的发展具有重要的推动作用。目

前,对宁夏枸杞的研究多集中在育种、栽培技术及枸杞多糖(LBP)的生物活性等方面,而对宁夏枸杞内生菌多样性及其物活性的研究极少,仅见刘建利^[9]对4株内生真菌的抗氧化活性的研究报道。

因此,本研究拟对宁夏枸杞不同发育阶段各药用组织器官中内生细菌的遗传多样性和分布特征进行分析,以5种病原菌为指示菌对分离菌株的抑菌活性进行测定,旨在了解枸杞内生菌的生物学特性及其未知的药理学作用、为揭示内生菌与道地药材之间的相关性研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料:以宁夏枸杞的主要栽培品种宁杞1号为供试材料,2013年5月-2014年7月期间在宁夏育新枸杞开发有限公司的各种植区内选择树龄8年的健康植株,采用5点取样法,于枸杞的不同发育期定期采集健康的花、果、叶、根皮用于菌株分离。

1.1.2 供试指示菌:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcica*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、番茄炭疽病菌(*Colletotrichum nigrum*),供试指示菌由宁夏大学生命科学学院和农学院提供。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离纯化:将新鲜枸杞根皮、花、叶、果上杂物冲洗干净后,称取各组织材料5g在超净台中分别用无菌水清洗3遍,经75%的乙醇和含有有效氯为5%的NaClO₄溶液进行表面消毒处理,无菌水漂洗多次后置于研钵中加入无菌生理盐水研磨至匀浆,取上清液梯度稀释后接种于营养琼脂

(Nutrient agar, NA)平板, 置 28 °C 培养 2–3 d 进行菌落计数和菌株分离; 取最后一次漂洗液涂布于平板以检测表面消毒是否彻底。根据菌落形态挑选单菌落进行划线纯化, 经革兰氏染色并镜检细胞形态和纯度后, 纯菌落转接于试管斜面保存。

1.2.2 菌株的 16S rRNA 基因序列分析: 将纯化的菌株接入 NA 液体培养基中, 28 °C、150 r/min 振荡培养 2 d, 4 °C、8 000 r/min 离心收集菌体, 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根)进行菌株总 DNA 提取。采用通用引物对 27F (5'-AGAG TTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-TACGG YTACCTTGTTACGACTT-3') 扩增菌株的 16S rRNA 基因序列^[10]。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 用限制性内切酶 *Hinf* I 和 *Msp* I 进行 ARDRA 分型, 根据分型结果选择代表菌株委托上海生工生物工程技术有限公司进行测序。测序结果在 GenBank 中进行 BLAST 同源性搜索, 获得同源性相近的菌种序列, 经 ClustalX 多重比对后, 运用 MEGA 5.0 软件, 采用 Neighbor-Joining 法构建系统树, Bootstrap 1 000 次检测各分支的置信值, 对各菌株的系统发育地位进行分析^[11]。

1.2.3 抑菌活性检测: 将分离纯化的菌株接种于 20 mL 的 NA 液体培养基中, 于 28 °C、180 r/min 培养 72 h 后, 将发酵液以 8 000 r/min 离心 5 min 取上清液。采用琼脂扩散法对菌株的抑菌活性进行检测^[6]。取 200 μL 指示病原菌加入冷却至 45 °C 的固体培养基中(NA 用于培养指示细菌, PDA 用于培养指示真菌)混匀倒平板, 冷凝后用打孔器在平板上打出直径为 5 mm 的孔。取发酵上清液 80 μL, 于 28–30 °C 培养 18–72 h 观察并测量抑菌圈的直径, 以灭菌 NA 无菌培养液为空白对照组, 每实验设置 3 次重复, 实验数据采用 IBM SPSS Statistics 19 软件进行数据分析。

2 结果

2.1 内生细菌的分离纯化及其多样性

枸杞各组织表面消毒后最后一次漂洗液涂布

NA 平板, 28 °C 培养 72 h 后未见菌落生长, 说明组织表面消毒彻底。菌落计数结果表明, 不同组织中定殖的内生细菌数量有明显差异。根部细菌密度大, 数量多, 叶中细菌数量次于根部, 果实中细菌数量最少。通过对菌株的培养特征和镜检结果进行归类, 本研究从枸杞根皮、花、叶、果中共分离内生细菌 34 株。菌株编号见表 1。

结合菌落形态特征和 ARDRA 分型结果, 选择 27 株代表菌株进行测序, 序列拼接后获得长度为 1 300–1 400 bp 左右的序列。将 27 株枸杞内生细菌 16S rRNA 基因序列提交至 GenBank, 获得序列号 KJ605123–KJ605132、KJ751509、KJ605134–KJ605143、KM355774–KM355779。序列分析结果表明, 枸杞内生细菌分属于 7 科 11 属, 多样性丰富, 其中芽孢杆菌属 *Bacillus* 为优势类群, 也是各药用组织中的共有属。内生细菌的群落组成和多样性存在明显的组织特异性。花中分离出的内生细菌种类最多, 分布于 7 个属, 黄单胞菌属 *Xanthomonas*、*Terribacillus* 为花的特有属; 根皮内生菌分布于 5 个属, 短波单胞菌 *Brevundimona* 为特有属; 叶部内生细菌分布于 4 个属, 葡萄球菌属 *Staphylococcus* 为特有属; 果实中的内生菌分属于 3 个属, 其中泛菌属 *Pantoea* 是特有属。副球菌属 *Paracoccus*、*Oceanobacillus* 是根皮和花的共有属, 寡养单胞菌属 *Stenotrophomona* 为叶和花共有属, 不动杆菌属 *Acinetobacter* 为根皮和叶的共有属。芽孢杆菌在根皮和花中占绝对优势。以各菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树如图 1 所示。

2.2 枸杞内生细菌的抑菌活性

采用改进的牛津杯法对 34 株内生细菌的抑菌活性进行测定, 结果见表 2。

表 2 表明, 在测定的 34 株内生细菌中, 至少有 26 株菌表现出不同程度的抑菌活性, 占测定菌株的 76.5%。其中属于芽孢杆菌属的菌株 R2、R7 和属于短波单胞菌属的菌株 R3 对玉米大斑和番茄炭疽的抑菌效果比较明显; 属于寡养单胞菌属的 L5

表 1 枸杞内生细菌的多样性
Table 1 Diversity of endophytic bacterial in *Lycium barbarum*

内生细菌菌株编号 Endophytic bacteria No.	科 Family	属 Genus	比对结果 BLAST results	序列同源性 Identity (%)
R3	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>Brevundimonas vesicularis</i> KF818658	100
R4, L2	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i> KC816553	99
R11, R12, R1, R2, R8, R7, F13, F2, F10, F12, F6, F18, L3, G1, G9	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> KF935650 <i>Bacillus</i> sp. KF863878 <i>Bacillus licheniformis</i> KF952565	100
L1		<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> JX428964	99
R9, F15		<i>Oceanobacillus</i>	<i>Oceanobacillus manasiensis</i> HG931336	100
F11, F9		<i>Terribacillus</i>	<i>Terribacillus goriensis</i> JX155764	100
R6, F1	Rhodobacteraceae	<i>Paracoccus</i>	<i>Paracoccus yeei</i> GU083584	100
F4, F8, G4,	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> sp. AB480754	99
F3	Xanthomonadaceae	<i>Xanthomonas</i>	<i>Xanthomonadaceae bacterium</i> EU313793	99
L5, F5		<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Stenotrophomonas</i> sp. JQ917800	100
G2, G12, G7	Enterobacteriaceae	<i>Pantoea</i>	<i>Pantoea agglomerans</i> FJ357834	100

注：L、R、F、G 分别代表分离于枸杞叶、根皮、花和果的内生细菌。

Note: L, R, F, G respectively represent to endophytic bacteria isolated from leaves, root, flowers and fruits of *Lycium barbarum*.

与 F5 对番茄炭疽的拮抗作用较明显；泛菌属的菌株 G7 仅对小麦赤霉病菌表现出较强的抑制活性；芽孢杆菌 L3 则对各指示菌均表现出相对较强抑制活性。总体上看枸杞内生菌对植物病原真菌的拮抗作用较强，芽孢杆菌的抑菌活性强于其他类群，但几乎所有菌株对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的拮抗作用相对比较弱，部分抑菌效果见图 2。

3 讨论

已有研究证实，内生菌的分布特征和群落结构不仅受宿主植物基因型的影响，还受外界环境因子的影响。即使是同一种植物，不同组织中内生细菌的种类和数量也不尽相同，存在复杂的多样性^[5,12-13]。本研究运用 16S rRNA 基因序列分析法对宁夏枸杞各部分组织内生细菌多样性进行了分析，结果表明分离的 34 株内生细菌分属于 7 科 11 属，多样性较丰富，不同组织中内生细菌的种类和数量均有差异。Rosenblueth 认为内生菌在植株体内的分布通常

下部组织多于上部组织，越往植株顶部，内生菌越少^[14]。目前对植物可培养内生细菌的分离结果表明，内生细菌在林木组织中以根部最多，茎部次之，叶部较少，而在一年生和多年生的经济作物中，根部最多，叶茎中数量相近^[15]。本研究表明宁夏枸杞根部细菌密度大，数量多，叶次之，花和果实中细菌数量最少，与已有的研究结果基本一致。而在种群分布上，枸杞花中内生细菌的多样性较其他部位更加丰富，分布于 7 个属，有 2 个特有属。内生菌分布的组织特异性可能与其进入宿主植物的方式和位点有关。目前普遍认为土壤是内生菌的主要来源，土壤内微生物进入宿主后随着蒸腾作用沿着维管束由地下部分逐渐向地上部位扩增，因而地下部位内生菌的数量多于地上部位；而宿主植物的地上部位接触环境的多样性又比地下部位丰富，进而影响微生物群落的多样性；环境中的微生物一般会沿着植物的气孔、水孔及伤口等破损处进入植物选择

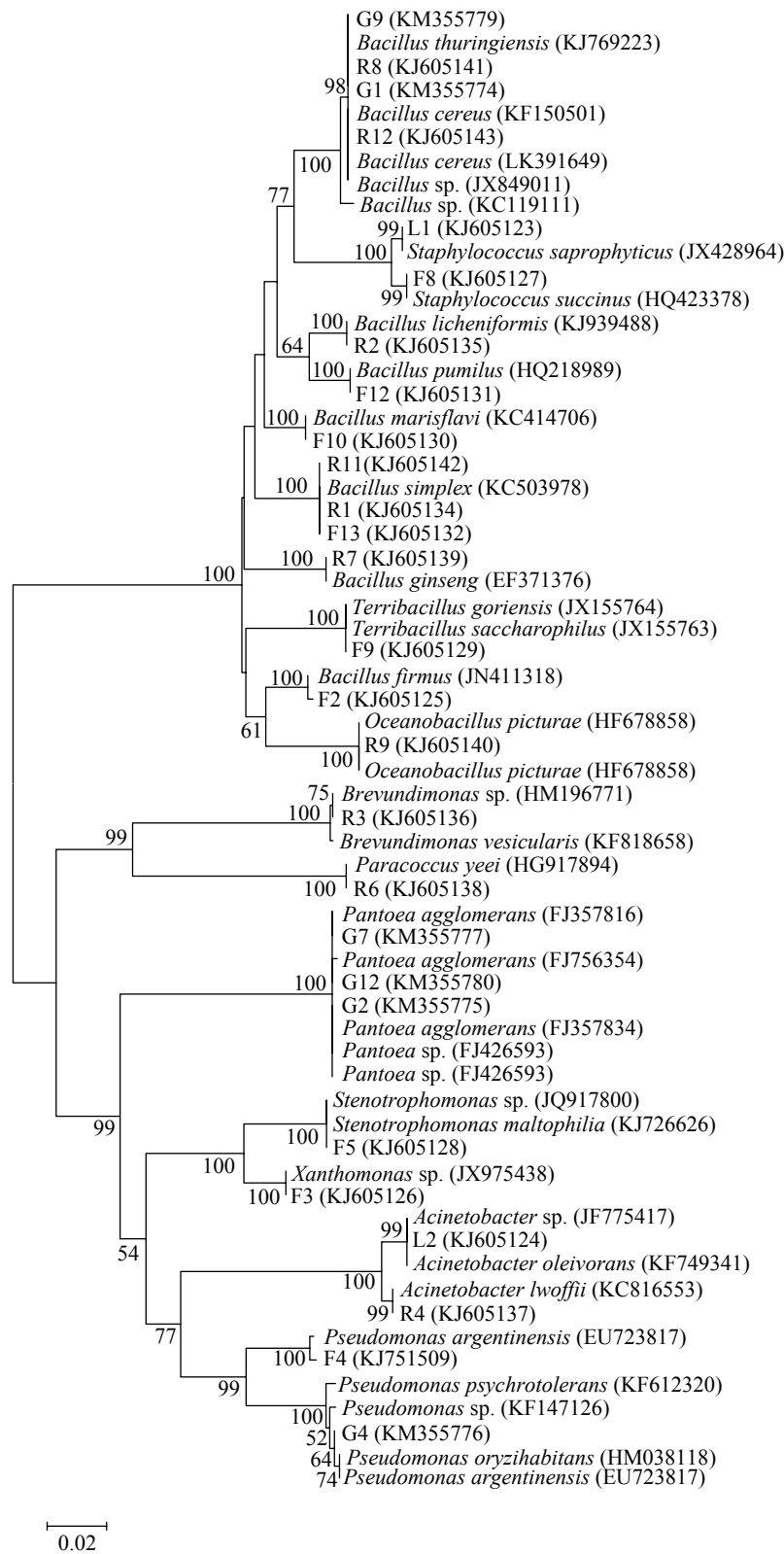


图 1 枸杞内生细菌的 16S rRNA 基因系统发育树

Figure 1 Phylogenetic analysis of endophytic bacteria 16S rRNA gene in *Lycium barbarum*

表2 枸杞内生细菌抑菌活性
Table 2 Antimicrobial activity of endophytic bacteria in *Lycium barbarum*

内生细菌 Endophytic bacteria	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	小麦赤霉 <i>Fusarium graminearum</i>	番茄炭疽杆菌 <i>Colletotrichum nigrum</i>	玉米大斑 <i>Exserohilum turcica</i>	
<i>Bacillus</i>	R12	+	+	+	++	+++
	R8	++	+	+	+	+
	R2	+	+	+	++++	++++
	R7	+	++	+	++++	+++++
	L3	+	++	+++	++++	++++
	R1	-	+	++	++	++
	R11	+	-	-	+	+
	G1	-	-	+++	-	-
	G9	-	-	-	-	++
	F10	-	-	-	-	-
	F12	-	-	-	-	-
	F2	-	-	-	-	-
	F13	-	-	-	-	-
	F18	-	-	-	-	-
	F6	-	-	-	-	-
<i>Brevundimonas</i>	R3	+	+	+	++++	++++
<i>Stenotrophomons</i>	L5	+	+	+	+++	++
	F5	+	+	+	+++	++
<i>Terribacillus</i>	F9	+	+	-	+++	+
	F11	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus</i>	L1	+	-	-	+	++
<i>Paracoccus</i>	R6	+	-	-	-	+
	F1	+	-	-	-	+
<i>Pseudomonas</i>	F4	+	-	-	-	-
	F8	-	+	-	-	-
	G4	-	-	-	+++	+++
<i>Acinetobacter</i>	L2	+	-	-	-	+
	R4	-	-	-	-	-
<i>Oceanobacillus</i>	R9	-	-	-	++	-
	F15	-	-	-	-	-
<i>Xanthomonas</i>	F3	-	+	-	-	-
<i>Pantoea</i>	G2	-	-	-	+	+++
	G7	-	-	-	++	++
	G12	-	-	++++	-	-

注: 抑菌圈直径(mm)表示抑菌活性, +: 10; ++: 10-20; +++: 20-30; ++++: 30-40; +++++: 40-50. -: 无抑菌作用。

Note: The antimicrobial activities are expressed by the inhibition zone diameter (millimeter): +: 0<Inhibition zone diameter<10; ++: 10≤Inhibition zone diameter<20; +++: 20≤Inhibition zone diameter<30; ++++: 30≤Inhibition zone diameter<40; +++++: 40≤Inhibition zone diameter<50. -: Isolates showed no antimicrobial activity.

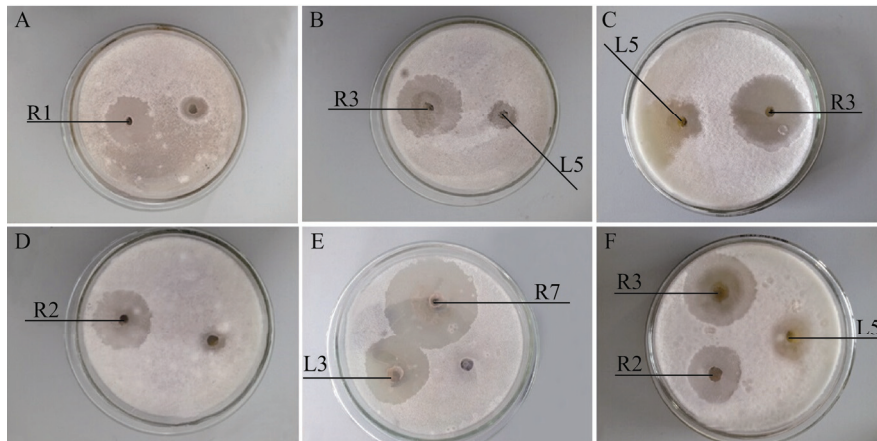


图 2 枸杞内生细菌的抑菌效应

Figure 2 The anti-bacteria effects of the *Lycium barbarum*

注: 图 A、B、E、F 和 C、D 分别是部分内生菌对玉米大斑与番茄炭疽病原菌的拮抗。

Note: A part of isolates against *Exserohilum turcica* (A, B, E, F) and *Colletotrichum nigrum* (C, D).

合适的营养和生态位定殖, 造成地上部位内生菌的种类多于地下部位^[16]。

序列分析表明枸杞内生细菌大多属于土壤土著细菌, 如芽孢杆菌属、假单胞菌属、泛菌属等, 其中芽孢杆菌属细菌是宁夏枸杞分离频率最高的菌群, 该属分布于枸杞所有组织中, 属于优势类群, 这与目前一些学者对甘草、春兰根等中草药内生细菌研究结果相一致^[5,17]。已有研究表明多种芽孢杆菌属的细菌通过竞争营养空间、产生脂肽类抗生素、诱导植物系统抗性等作用对植物病原菌产生广谱抗性^[18]; 枸杞内生细菌的抑菌试验表明, 不同菌株的抑菌活性存在很大差别, 其中有 4 株芽孢杆菌对植物病原菌有较强的拮抗活性, 这与山苍子、茄科作物及荔枝等植物内生菌的拮抗效果相一致^[19-21]; 而几乎所有菌株对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌抑菌效应都不明显, 这与赵赟鑫等对中国红豆杉内生菌的研究结果不同^[22], 这表明不同宿源的内生菌其代谢产物的抑菌效应存在显著差异, 这可能与宿主植物的种类及所处地域环境、气候等因素相关。

宁夏枸杞因药材质量上乘而成为宁夏乃至全国的道地性药材^[23], 而药材品质对内生菌种群多样性及其生态分布均有影响, 种群结构差异产生功能多样性。本实验通过 16S rRNA 序列分析, 发现枸

杞内生细菌与许多具有重要生物学功能的细菌有着很高的同源性。如芽孢杆菌属、假单胞菌属的许多菌株可以分泌吲哚乙酸或赤霉素等, 能有效促进植物的生长、抑制多种病原菌活性、显著提高植物的抗病性^[24-25]; *Oceanobacillus* 对植物耐盐碱环境的适应机制有一定的协同调节作用; 寡养单胞菌属的一些菌可降解有机农药等多种有机污染物, 有些还具有硝化反硝化、解磷聚磷等生物活性^[26]; 泛菌属中的一些种具有较高的固氮、溶磷、植物激素生产和铁载体合成等植物促生活性^[27]。对内生菌而言, 药材基因型和同种异质是一种选择性压力, 并通过影响内生菌的种群结构和分布而产生功能的多样性, 不同功能的内生菌群再以各自不同的方式影响着药材性状、生长以及有效成分的积累等, 最终导致道地药材与非道地药材品质的差异。同时, 特异性的植物内生菌可提高植物对生物或非生物胁迫的抵抗力促进植物的生长发育和增强植物的抗逆性。现代研究表明, 内生菌在与植物协同进化过程中, 不但自身能够产生特殊的化学物质, 还能诱导宿主植物次生代谢产物的合成和积累, 作为传统的药食两用经济植物, 道地药材宁夏枸杞所具有的药用价值和耐盐抗旱的逆境品质是否与其体内定殖的内生细菌有关, 这些内生细菌是通过何种途

径作用于宿主植物的,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Yang HL, Sun XL, Song W. The research of endophytic bacteria in plants[J]. Microbiology China, 1998, 25(4): 224-226 (in Chinese)
杨海莲, 孙晓璐, 宋未. 植物内生细菌的研究[J]. 微生物学通报, 1998, 25(4): 224-226
- [2] Miller KI, Qing C, Sze DM, et al. Culturable endophytes of medicinal plants and the genetic basis for their bioactivity[J]. Microbial Ecology, 2012, 64(2): 431-439
- [3] Li J, Zhao GZ, Ajit V, et al. A mixed culture of endophytic fungi increases production of antifungal polyketides[J]. PLoS One, 2012, 7(12): 1-9
- [4] Liang HQ, Xing YM, Chen J, et al. Antimicrobial activities of endophytic fungi isolated from *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae)[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012, 12(238): 1472-6882
- [5] Zhang M, Shen DL, Rao XL, et al. Diversity of endophytic bacteria isolated from *Glycyrrhiza*[J]. Microbiology China, 2008, 35(4): 524-528 (in Chinese)
张敏, 沈德龙, 饶小莉, 等. 甘草内生细菌多样性研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(4): 524-528
- [6] Guo XW, Feng JT, Yi XH. Isolation of endophytes in *Carpesium macrocephalum* and the screening of their antifungal activity[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 33(2): 377-383 (in Chinese)
郭小伟, 冯俊涛, 易晓华. 大花金挖耳内生菌的分离及抑菌活性筛选[J]. 西北植物学报, 2007, 33(2): 377-383
- [7] Hu GP, Zheng XF, You MS, et al. Recent advances in research on endophytes[J]. Fujian Academy of Agricultural Sciences, 2010, 25(2): 226-234 (in Chinese)
胡桂萍, 郑雪芳, 尤民生, 等. 植物内生菌的研究进展[J]. 福建农业学报, 2010, 25(2): 226-234
- [8] Strobel GA. Endophytes as sources of bioactive products[J]. Microbes Infect, 2003, 5(6): 535-544
- [9] Liu JL. Isolation and determination of antioxidant activity of endophytic fungi from *Lycium barbarum*[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2011, 22(4): 857-860 (in Chinese)
刘建利. 宁夏枸杞内生真菌的分离及抗氧化活性的测定[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 857-860
- [10] Ordentlich A, Elad Y, Chet I. The role of chitinase of *Serratia marcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*[J]. Phytopathology, 1988, 78(10): 84-88
- [11] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24: 1596-1599
- [12] Andreote FD, Rocha UN, Araújo WL. Effect of bacterial inoculation plant genotype and developmental stage on root-associated and endophytic bacterial communities in potato (*Solanum tuberosum* L.)[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2010, 97(4): 389-399
- [13] Leo VO, Jan DE. Effects of plant genotype and growth stage on the structure of bacterial communities associated with potato (*Solanum tuberosum* L.)[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 64(2): 183-296
- [14] Rosenblueth M, Martinez RE. Bacterial endophytes and their interactions with hosts[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(8): 827-837
- [15] Deng ZS, Zhao LF, Kong ZY, et al. Diversity of endophytic bacteria within nodules of the *Sphaerophysa salsula* in different regions of Loess Plateau in China[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 76: 463-475
- [16] Hollis JP. Bacteria in the healthy potato tissue[J]. Phytopathology, 1951(41): 197-209
- [17] Sun L, Shao H, Liu L. The diversity of Chunlan root endophytic bacteria can produce siderophores[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(2): 189-195 (in Chinese)
孙磊, 邵红, 刘琳. 可产生铁载体的春兰根内生细菌多样性[J]. 微生物学报, 2011, 51(2): 189-195
- [18] Huang X, Xu LL, Huang RS, et al. Research advance in controlling plant diseases by *Bacillus subtilis*[J]. Biotechnology Bulletin, 2010, 7(1): 24-28 (in Chinese)
黄曦, 许兰兰, 黄荣韶, 等. 枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2010, 7(1): 24-28
- [19] Lin N, You L, Guo H, et al. Isolation of endophytic bacteria from *Litsea cubeba* and study of their antifungal activity[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(6): 3382-3384 (in Chinese)
林娜, 游玲, 郭华, 等. 山苍子内生细菌的分离及抑菌活性研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(6): 3382-3384
- [20] Hong PX, Qiu SX, Chen H, et al. Isolation and screening of endophytic antagonistic bacteria from four species of *Solanaceae*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University, 2007, 36(4): 348-351 (in Chinese)
洪鹏翔, 邱思鑫, 陈航, 等. 4种茄科作物内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 福建农林大学学报, 2007, 36(4): 348-351
- [21] Cai XQ, Chen W, Lin N, et al. Colonization and disease control and fruit preservation functions of endophytic bacterial strains in *Lychee*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(8): 2140-2146 (in Chinese)
蔡学清, 陈炜, 林娜, 等. 内生细菌在荔枝体内的定殖及其防病保鲜功能[J]. 应用生态学报, 2011, 22(8): 2140-2146
- [22] Zhao YX, Liu KH, Deng BW, et al. Antibacterial activities of metabolites produced by two endophytic bacteria isolates in *Taxus Chinese*[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2010, 29(4): 618-623 (in Chinese)
赵贻鑫, 刘开辉, 邓百万, 等. 2株中国红豆杉内生细菌代谢产物抑菌活性物质的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(4): 618-623
- [23] Jiang S, Duan JA, Qian DW, et al. Research on correlation between plant endophytes and geohelminthism[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2008, 39(8): 1268-1273 (in Chinese)
江曙, 段金殿, 钱大玮, 等. 植物内生菌与道地药材的相关性

- 研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1268-1273
- [24] Navon A. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection-reality and prospects[J]. Crop Protection, 2000, 19(8): 669-676
- [25] Ramesh R, Joshi AA, Ghanekar MP. *Pseudomonads*: major antagonistic endophytic bacteria to suppress bacterial wilt pathogen, *Ralstonia solanacearum* in the eggplant (*Solanum melongena* L.)[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(1): 47-55
- [26] Wang YL, Hua RM, Tang XY. Application of *Stenotrophomonas* in environmental protection[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(28): 15796-15800 (in Chinese)
- 王昀璐, 花日茂, 唐欣昀. 寡养单胞菌在环境保护中的应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(28): 15796-15800
- [27] Luo F, Wang Y, Zeng QG, et al. Diversity and plant growth promoting activities of the cultivable rhizobacteria of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon*)[J]. Biodiversity Science, 2011, 19(4): 476-484 (in Chinese)
- 罗菲, 汪涯, 曾庆桂, 等. 东乡野生稻根际可培养细菌多样性及其植物促生活性分析[J]. 生物多样性, 2011, 19(4): 476-484

(上接 p.1769)

征 稿 简 则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>