

# 海洋细菌解淀粉芽胞杆菌BA-3在兰花的定殖及对根际微生态的影响

姚锦爱, 黄 鹏, 侯翔宇, 余德亿\*

(福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/福建省农业科学院植物保护研究所, 福州 350013)

**摘要:** 为明确海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 BA-3 在兰花根际的定殖特性, 本研究采用抗生素标记法筛选出对利福平和卡那霉素稳定的菌株 BA-3-K。平板对峙试验证明, 菌株 BA-3-K 对兰花茎腐病抑菌率达 86.91%, 与原始菌株 BA-3 抑菌率 87.69% 无明显差异。采用灌根法和涂茎法证实了标记菌株 BA-3-K 能在兰花植株体内定殖达 60 d 以上。灌根处理表明, 生防菌 BA-3-K 的定殖数量为土壤>根>茎, 呈先升后降的趋势, 第 21 d 在根部和茎部达到最大分别为  $2.54 \times 10^5$  和  $1.47 \times 10^5$  cfu/g, 在土壤中第 15 d 达到最大  $6.50 \times 10^5$  cfu/g, 但叶部未检测到标记菌株 BA-3-K; 涂茎处理生防菌的定殖量茎>叶, 第 17 d 在茎部达到最大  $2.33 \times 10^5$  cfu/g, 随后呈下降趋势, 根部和土壤未检测到标记菌株 BA-3-K; 通过扫描电镜定性观察, 发现 BA-3-K 可在植株茎部定殖。盆栽试验表明, 菌株 BA-3-K 施用后, 根际土壤中细菌、真菌和放线菌的数量明显高于对照处理。本研究表明海洋细菌 BA-3 有较强的定殖能力, 具有良好的应用价值。

**关键词:** 海洋细菌; 解淀粉芽胞杆菌; 兰花茎腐病; 定殖

**中图分类号:** S436.8      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1005-9261(2019)06-0915-07

## Colonization Dynamics Marine Bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BA-3 and Its Impact on the Microbial Community of Cymbidium Rhizosphere

YAO Jinai, HUANG Peng, HOU Xiangyu, YU Deyi\*

(Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests/Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** Marine bacterium strain BA-3 was applied to cymbidium plants to investigate the colonization features and the impact on the microbial community of Cymbidium rhizosphere. Mutant strain BA-3-K with stable marker of antibiotic and inhibitory effect against *Fusarium oxysporium* of cymbidium were screened by using the rifampin and kanamycin-resistant mutants and dual culture method. Plate confrontation test proves that the inhibition rates of strain BA-3-K and original strain BA-3 against *Fusarium oxysporium* were 86.91% and 87.69%. It was verified that the strain BA-3-K could colonize for 60 days or more in cymbidium by root irrigating and stem daubing. After root irrigating, the colonization quantity of strain BA-3-K trended to increase firstly and then decrease. The highest quantity in roots and stems were  $2.54 \times 10^5$  cfu/g and  $1.47 \times 10^5$  cfu/g at 21 d, in soil were  $6.50 \times 10^5$  cfu/g at 15 d after inoculation, respectively. Bacteria quantities in different parts were soil>root>stem and strain BA-3-K wasn't detected in leaf. After stem daubing, the highest colonization quantity in stem was  $2.33 \times 10^5$  cfu/g at 17 d after inoculation and then decreased. Bacteria quantities in different parts were stem>leaf. and strain BA-3-K wasn't detected in root and soil. The strain BA-3-K could colonize in stem of cymbidium by scanning electron microscope. Pot tests demonstrated that the quantities of bacteria, fungi and actinomycetes in rhizosphere soil was

收稿日期: 2019-07-31

基金项目: 福建省科技计划项目 (2018R1025-2, 2019R1024-5); 福建省农业科学院生物防治资源利用科技创新团队 (STIT2017-2-2)

作者简介: 姚锦爱, 副研究员, E-mail: yaoja@163.com; \*通信作者, 研究员, E-mail: yudy\_2004@126.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2019.06.019

significantly higher than that in control by root irrigating with strain BA-3-K. The results indicated that marine bacterium strain BA-3 has strong colonization ability and good application value.

**Key words:** marine bacteria; *Bacillus amyloliquefaciens*; stem rot on cymbidium; colonization

兰花茎腐病是由尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 引起的一种重要土传病害,其传播迅速,危害程度大,给防控带来极大的挑战<sup>[1,2]</sup>,是兰花产业发展重要的威胁<sup>[3,4]</sup>。为了控制兰花茎腐病,人们不断增加农药的种类和施用量<sup>[2,5-7]</sup>,为病原菌的变异提供了强大的选择压力,同时带来农药残留、污染环境等问题;通过育种提高植物的抗病性是防治病害最有效、环保的方式,但目前兰花尚无良好的抗病品种<sup>[2]</sup>,且长期单一化种植同种植物的同一个品种,会促使病原菌产生变异,进而使抗病品种丧失对病原菌的抗病性。而生物防治因其具有不易产生抗药性、对作物及环境友好等优点,已成为该类病害防治的重要措施之一。因此,生防微生物特别是海洋微生物因其生境的特殊性,抗逆性强,越来越受到人们的关注,目前已有多种海洋微生物及其代谢产物用于植物病害生物防治的报道<sup>[8-10]</sup>。而海洋微生物用于防治土传病害的先决条件是其能有效定殖<sup>[11-13]</sup>,及其对根际土壤微生态和环境友好<sup>[14-17]</sup>。近年来,有研究报道海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 SH-27 在大豆体内的定殖能力与其对大豆疫霉菌 *Phytophthora sojae* 的抑制效果成正比<sup>[13]</sup>;王雪等<sup>[18]</sup>发现解淀粉芽胞杆菌 FS6 能够在人参植株体内稳定定殖并诱导其产生抗病性。但是关于海洋微生物在兰花根际定殖特性的研究相对较少,目前只有陆源微生物如短小芽胞杆菌<sup>[19]</sup>、枯草芽胞杆菌<sup>[20,21]</sup>和解淀粉芽胞杆菌等<sup>[20,22,23]</sup>被应用于防控兰科植物茎腐病的相关报道。为进一步扩大兰花茎腐病生防菌株的储备资源,本研究以前期分离获得的一株高效海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* BA-3 为研究对象,采用抗利福平和卡那霉素标记法及平板对峙生长法获得诱变菌株 BA-3-K,利用灌根和涂茎两种方式研究其在兰花根际的定殖特性,为其生防作用机理及生防菌制剂的研究应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试菌株:海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 *B. amyloliquefaciens* BA-3,已保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(保存编号 CGMCC No.12745),病原菌为兰花茎腐病菌尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*,均由本研究室提供。

供试兰花品种:为组培苗经驯化后移栽于无菌基质栽培3个月的建兰(四季兰)。

供试药剂、培养基:抗生素利福平(rifampicin)和卡那霉素(kanamycin)购自美国 Sigma 公司;培养基为马铃薯葡萄糖琼脂(Potato Dextrose Agar, PDA)培养基、营养琼脂(Nutrient Agar, NA)培养基、细菌基础(Luria Bertani, LB)培养基。NB 液体培养基:蛋白胨 10.0 g,牛肉膏 5.0 g,氯化钠 5.0 g,水 1000 mL, pH 7.0~7.5。

### 1.2 抗生素标记菌株的筛选及稳定性分析

采用抗利福平和卡那霉素标记法<sup>[13,24]</sup>筛选菌株 BA-3 的标记菌株 BA-3-K,直至所筛选菌株在含有浓度均为 300  $\mu\text{g/mL}$  的利福平和卡那霉素的 NA 平板上能稳定生长,菌落形态与原始菌株保持一致;挑取原始菌株 BA-3 和双抗菌株 BA-3-K 单菌落,分别接入装有 100 mL NB 培养液的三角瓶中,于 28  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养,以未接菌 NB 培养液为空白对照,每处理重复 3 次;接菌 48 h 内,每隔 2 h 在超净工作台中吸取 2 mL 菌液测定 OD 值,以时间为横轴,以 OD 值为纵轴绘制生长曲线,比较原始菌株和双抗菌株的生长速率;挑选与原始菌株特性相近,且性状稳定的双抗生素标记菌株,将其标记为 BA-3-K。采用平板对峙法测定原始菌株与标记菌株对病原菌的拮抗效果,在 PDA 平板中央接种兰花茎腐病菌,直径约 5.0 mm 的菌饼,后分别挑取原始菌株 BA-3、标记菌株 BA-3-K 点接于平板边缘 1.5 cm 处,置于培养箱中 28  $^{\circ}\text{C}$  黑暗培养 6 d,测量抑菌带宽并计算抑菌率。每处理重复 3 次,以仅接种病原菌菌饼的平板作为对照。

### 1.3 菌株 BA-3-K 在兰花植株体内和土壤的定殖动态

1.3.1 接种方法 将标记菌株 BA-3-K 接种于含 300  $\mu\text{g/mL}$  利福平和卡那霉素的 NB 液体培养基中,28  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 18~24 h,至菌量浓度为  $1.0 \times 10^7$  cfu/mL,备用。采用灌根<sup>[25]</sup>和涂茎<sup>[13]</sup>2 种接种方法处

理。灌根接种: 将标记菌株 BA-3-K 发酵液均匀浇灌植株根围土壤, 每株 30 mL。涂茎接种: 用无菌药棉蘸取 1 mL 标记菌株 BA-3-K 发酵液涂抹兰花茎部, 保湿 24 h。2 种接种方法均设无菌水处理为对照, 每处理 5 盆, 3 次重复。

1.3.2 菌株 BA-3-K 在植株体内和土壤中的定殖 植株体内定殖测定参照汪腾等<sup>[26]</sup>的菌株分离回收方法, 分别于接种后第 7、14、21、35 和 60 d 取兰花各处理组及对照组进行目标菌株的分离、回收。每次取样后先清水冲洗根、茎、叶、稍干后分别称取根际土壤、根、茎、叶样品各 0.5 g, 根际土壤直接用无菌水进行梯度稀释, 其他依次用 75%乙醇消毒 30 s, 用无菌水清洗 3 次, 取最后 1 次冲洗的无菌水 200  $\mu$ L 涂布于含相同浓度利福平和卡那霉素的 NA 平板上, 无细菌生长, 证明消毒彻底。将样品剪碎置于无菌研钵中, 加入 1 mL 无菌水研磨匀浆, 静置 15 min 后再用无菌水进行梯度稀释。取 200  $\mu$ L 各梯度稀释液分别涂布于 NA 培养基平板上(分别含 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素), 于 37  $^{\circ}$ C 黑暗培养 24 h 后, 分别计数每皿菌落数并换算成每克鲜组织中的菌落数(cfu/g)<sup>[27]</sup>, 每处理 3 次重复。为进一步验证菌株 BA-3-K 在植株体内成功定殖, 选取涂茎接种处理第 14 d 植株茎部, 用无菌水冲洗, 去除表面附着的土壤及菌体, 切取横切面大小为 5 mm $\times$ 5 mm 的组织薄片, 用扫描电镜(JSM-6380)观察生防菌在植株体内的定殖情况。

在土壤中定殖: 分别取植株根围半径 2 cm 和深度 3~5 cm 内的土壤进行分离检测; 采用平板稀释法<sup>[13]</sup>称取 1 g 待测土壤用 100 mL 无菌水进行梯度稀释后选择  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  土壤匀浆稀释液 200  $\mu$ L 均匀涂布于 NA 培养基平板上(分别含 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素), 于 37  $^{\circ}$ C 黑暗培养 24 h 后, 分别计算每皿菌落数并换算成每克土壤中的菌落数(cfu/g)<sup>[20,21]</sup>, 每处理 3 次重复。

#### 1.4 菌株 BA-3-K 对根际土壤可培养微生物含量的影响

将标记菌株 BA-3-K 培养液( $1.0 \times 10^7$  cfu/mL)以 30 mL/株灌根接种于盆栽兰花中, 每处理 5 盆, 3 次重复, 设 NB 培养液为阴性对照, 于处理第 15 和 45 d 取根际土壤样品, 取样方法同 1.3。采用平板稀释法<sup>[28]</sup>测定根际周围土壤细菌、真菌和放线菌生物量消长变化。

#### 1.5 数据统计与分析

采用 Excel 2007 软件对数据进行统计分析, 并使用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, Duncan 氏新复极差法分析不同处理间差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗生素标记菌株的筛选及稳定性分析

通过对菌株 BA-3 进行抗利福平和卡那霉素筛选, 得到抗利福平和卡那霉素(浓度均为 300  $\mu$ g/mL)的突变菌株, 标记为 BA-3-K。标记菌株 BA-3-K 在不含利福平和卡那霉素条件下连续继代培养 19 代后, 转接于分别含 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素的 NA 培养基中可以良好生长, 菌落形态及颜色等与原始菌株基本相同, 说明诱变菌株抗性标记稳定。抑菌试验结果表明, 与兰花茎腐病菌对峙培养 6 d 后, 原始菌株 BA-3 对兰花茎腐病菌的抑菌带宽为 16.00 mm, 抑菌率为 87.69%; 而抗性标记菌株 BA-3-K 的抑菌带宽为 15.00 mm, 抑菌率为 86.91%, 两者差异不显著。同时标记前后菌株生长速率(测定培养液 OD<sub>600</sub>)基本一致, 在培养 16 h 时 OD<sub>600</sub> 值达到最大, 分别为 2.52 和 2.48(图 1), 差异不显著; 说明标记菌株 BA-3-K 的抗性标记是稳定的, 并且抑菌能力基本无退化, 可作为生物防治靶标细菌, 用于兰花植株中的定殖测定。

### 2.2 菌株 BA-3-K 在兰花植株体内和土壤中的定殖

采用灌根和涂茎两种方法接种, 均可在兰花植株体内和土壤中回收到细菌菌株, 而回收试验中无菌水对照组在分别含 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素的 NA 平板中均未长出细菌菌落; 灌根和涂茎 2 种处理方法下, 兰花根、茎、叶组织在分别含 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素的 NA 平板上所回收菌株的菌落形态、颜色等均与原始菌株相似, 拮抗效果也无差异, 说明标记菌株 BA-3-K 可用于兰花植株体内的定殖测定。

灌根处理后, 标记菌株 BA-3-K 在兰花根、茎和土壤中均能定殖, 且定殖数量土壤>根>茎, 土壤与

根部、茎部定殖量差异显著，根部与茎部两者之间差异也显著，但是叶部未检测到标记菌株。标记菌株 BA-3-K 在根、茎、土壤中的定殖量均呈现“先升后降”的消长趋势，其中根部和茎部在第 21 d 时达到最大值，分别为  $2.54\times 10^5$  和  $1.47\times 10^5$  cfu/g，土壤在第 15 d 时达到最大值，为  $6.50\times 10^5$  cfu/g，随后均逐渐下降。接种后第 60 d，仍可检测到一定数量的标记菌株，根、茎和土壤中分别为  $3.40\times 10^4$ 、 $2.04\times 10^4$  和  $1.01\times 10^5$  cfu/g，可以使该菌株在兰花植株体内定殖一定时期，定殖时间达 60 d 以上（图 2）。

涂茎接种处理后，茎部定殖量表现为先升后减的变化趋势，随后逐渐下降；接种第 17 d，茎部菌株定殖量达到最大值（ $2.33\times 10^5$  cfu/g），而叶部定殖量为  $1.07\times 10^5$  cfu/g，两者差异显著；第 7 d 叶部菌株定殖量达到最大值（ $1.39\times 10^5$  cfu/g），随后定殖量下降；但在第 60 d 时，茎部和叶部仍有一定的定殖量，茎中的定殖数量明显高于叶。在涂茎处理不同时期取样，根部和土壤一直未能检测到标记菌株 BA-3-K（图 3）。

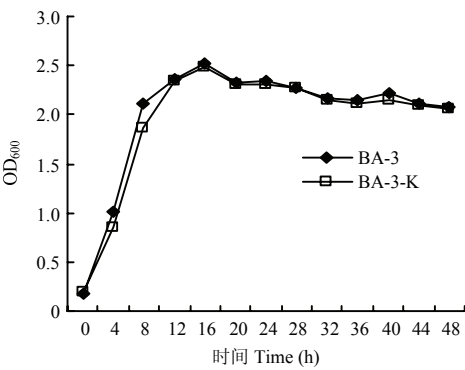
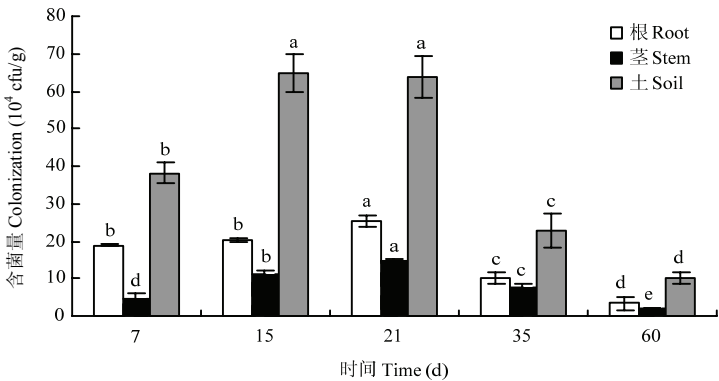


图 1 菌株 BA-3-K 与原始菌株 BA-3 的生长曲线

Fig. 1 The growth curve of strains BA-3-K and original strain

BA-3

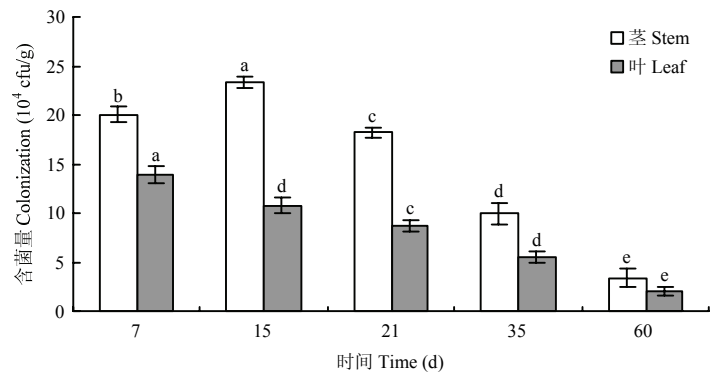


注：图中数据为平均值±标准差，图上不同小写字母代表各处理不同时间上差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: Data were presented as mean±SD, different lowercase letters indicated data were significantly different between colonization time in the same treatment.

图 2 灌根法测定菌株 BA-3-K 在兰花植株体内和土壤中的定殖

Fig. 2 Colonization of strain BA-3-K in different tissues and soil by root irrigating treatment

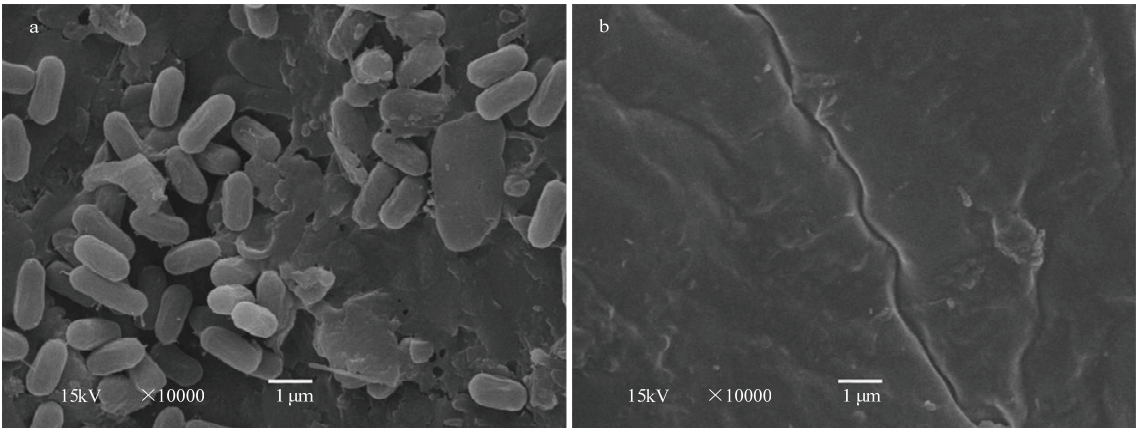


注：图中数据为平均值±标准差，图上不同小写字母代表各处理不同时间上差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: Data were presented as mean±SD, different lowercase letters indicated data were significantly different between colonization time in the same treatment.

图 3 涂茎法测定菌株 BA-3-K 在兰花植株体内的定殖

Fig. 3 Colonization of strain BA-3-K in different tissues by stem daubing treatment



a: BA-3-K 处理的茎部组织 Stem inoculated with strain BA-3-K; b: 无菌水处理的茎部组织 Stem inoculated with sterile water

图 4 生防菌 BA-3-K 在兰花植株茎部的定殖显微观察

Fig. 4 The colonization of strain BA-3-K in the stem of cymbidium by scanning electron microscope

通过扫描电镜发现，植株茎部接种生防菌 BA-3-K 第 14 d，在植株茎部组织检测到生防菌（图 4a），而无菌水对照中未检测到生防菌体（图 4b）。

2.3 菌株 BA-3-K 对根际土壤微生物含量的影响

菌株 BA-3-K 发酵液处理后的兰花根际土壤微生物发生了变化。在菌株处理后的第 15 和 45 d 时，土壤真菌和放线菌的总量较对照组有不同程度的增多，而细菌呈先升后降的趋势；菌株 BA-3-K 发酵液处理土壤后，细菌、放线菌和真菌生物量在 15 d 时分别为  $2.29 \times 10^6$ 、 $3.72 \times 10^5$  和  $2.8 \times 10^4$  cfu/g，45 d 生物量分别降为  $2.04 \times 10^6$ 、 $3.31 \times 10^5$  和  $2.5 \times 10^4$  cfu/g。说明生防菌株 BA-3 的定殖对根际土壤中微生物的增殖具有一定的影响（表 1）。

表 1 不同处理根际土壤微生物含量 ( $10^3$  cfu/g  $\pm$ )

Table 1 The quantities of microorganism in the soil by different treatment ( $10^3$  cfu/g soil)

微生物种类 Microorganism	0 d		15 d		45 d	
	BA-3-K	CK	BA-3-K	CK	BA-3-K	CK
细菌 Bacteria	1677 $\pm$ 30.0 c	1711 $\pm$ 32.8 c	2292 $\pm$ 48.2 a	1684 $\pm$ 19.8 c	2043 $\pm$ 4.48 b	1706 $\pm$ 23.1 c
放线菌 Actinomycetes	272 $\pm$ 19.6 b	270 $\pm$ 27.1 b	372 $\pm$ 29.9 a	266 $\pm$ 31.8 b	331 $\pm$ 13.3 ab	269 $\pm$ 27.7 b
真菌 Fungi	21 $\pm$ 2.4 b	18 $\pm$ 2.2 b	28 $\pm$ 3.9 a	18 $\pm$ 2.2 b	25 $\pm$ 2.4 a	18 $\pm$ 2.3 b

注：数据为平均值  $\pm$  标准差，不同小字母表示 0.05 水平上差异显著。  
Note: Data were presented as mean  $\pm$  SD, data with different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level.

3 讨论

本文以海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 BA-3 为研究对象，采用抗生素标记法成功筛选出能耐受 300  $\mu$ g/mL 利福平和卡那霉素的标记菌株 BA-3-K，经 19 代传代培养菌株标记验证，并且抑菌能力无退化，能满足后续用于兰花各目标部位菌株定殖量测定要求。本研究中对菌株进行抗生素标记，使不带有抗菌素抗性基因的受体菌不能在含有抗菌素的培养基（选择培养基）中生长。当带有抗菌素抗性基因的载体进入受体菌后，受体菌才能生长，保证了试验的准确性。解淀粉芽胞杆菌作为一种重要的生防细菌，充分发挥作用的前提是其能在植物体内和土壤中稳定高效地定殖且保持一定菌体量<sup>[16,17]</sup>，这两种因素决定它是否能够作为微生物菌剂进行应用<sup>[29-31]</sup>。本研究发现灌根处理盆栽兰花，其根、茎、土壤均可回收到标记菌株，且定殖时间达 60 d 以上，说明该菌株能在兰花植株体内和土壤中长期有效定殖，并能上传下导，其中根部、茎部和土壤为优势定殖部位。而涂茎法处理兰花植株，各部位回收菌株数量差异显著，定殖数量茎>叶，但根部和土壤一直未能分离到该菌株，这与林巧玲等<sup>[13]</sup>在涂叶接种后，根茎未分离到细菌的研究结果相似，说



明生防菌 BA-3 不能自上向下传导。由于兰花茎腐病是土传病害,而涂茎处理时生防细菌 BA-3 无法定殖于根部和土壤,对比两种接种方法,灌根处理优于涂茎处理。

生防菌施用后在根际周围土壤中繁殖,必然对植株根际周围土壤微生物群体产生影响<sup>[32]</sup>。由于根际微生物的数量庞大,使根际土壤酶活性存在差异,当根围环境,如外来微生物入侵、温湿度及酸碱度等发生改变时,其根围土壤酶活性也随之发生相应变化<sup>[33]</sup>。乔俊卿等<sup>[29]</sup>筛选的菌株 B1619 施入番茄根部,结果表明其可改善土壤酶活性,有利于提高土壤肥力,从而改善寄主的抗病能力。连玲丽等<sup>[34]</sup>研究表明生防菌株 EN5 处理使根际土壤中细菌、真菌和放线菌的数量明显高于对照土壤,对氨化细菌、固氮菌、纤维素降解菌等微生物群体有促进作用,对反硫化细菌群体有抑制作用。本研究结果显示,菌株 BA-3-K 对植株根际土壤周围的真菌和放线菌均有促进作用,细菌呈先升高后降低的趋势。

从本研究结果来看,菌株 BA-3-K 可在兰花植株体内有效定殖 60 d 以上,灌根处理的根部、茎部和土壤为优势定殖部位,同时对根际微生物均有促进作用。说明海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 BA-3 在植物病害生物防治中具有一定的开发和应用潜力,在进一步确认其生防和诱导抗性特征的基础上,可作为微生物菌剂的潜在资源进行推广。而有关生防菌与寄主互作的机制有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Yao J A, Huang P, Lan C Z, *et al.* Stem rot on *Cymbidium ensifolium* (Orchidaceae) caused by *Fusarium oxysporum* in China[J]. *Canada Journal Plant Pathology*, 2018, 40(1): 105-108.
- [2] 黄鹏, 陈峰, 姚锦爱, 等. 6 种杀菌剂对建兰茎腐病原菌尖孢镰刀菌的毒力及联合作用[J]. *福建农业学报*, 2018, 33(4): 396-400.
- [3] 刘仲健. 中国兰花观赏与培育及病虫害防治[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998, 293.
- [4] 姚锦爱, 黄鹏, 陈峰, 等. 建兰茎腐病原菌尖孢镰刀菌的生物学特性研究[J]. *福建农业学报*, 2018, 33(2): 190-194.
- [5] 易绮斐, 刘东明, 陈红锋, 等. 兰花主要病害及其防治[J]. *植物保护*, 2004, 30(1): 71-73.
- [6] 陈健平, 梁月光, 张晚凤. 国兰镰刀菌枯萎病的发生及防治[J]. *中国花卉园艺*, 2007(18): 41-42.
- [7] 焦鹏, 贾变桃, 孙颖, 等. 6 种杀菌剂对兰花茎腐病菌抑制作用比较[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2012, 32(2): 154-157.
- [8] 柳凤, 潘朝勃, 何红, 等. 海洋细菌对辣椒疫霉和辣椒疫病的抑制作用[J]. *中国生物防治*, 2008, 24(4): 379-381.
- [9] 崔金香, 田黎, 高伟, 等. 几株具有农药活性的海洋微生物菌株诱导番茄抗盐作用与机理研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(11): 2100-2106.
- [10] 胡江春, 王楠, 潘华奇, 等. 海洋微生物抗菌脂肽及新生物农药研发[J]. *微生物学杂志*, 2013(6): 1-5.
- [11] 殷幼平, 袁训娥, 李强, 等. 生防菌枯草芽胞杆菌 CQBS03 的绿色荧光蛋白基因标记及其在柑橘叶片上的定殖[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(17): 3555-3563.
- [12] 王志远, 吴兴兴, 吴毅歆, 等. 解淀粉芽胞杆菌 B9601-Y2 抗性基因标记及其在作物根部的定殖能力[J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(3): 313-319.
- [13] 林巧玲, 卢乃会, 何红, 袁越, 等. 海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 SH-27 在大豆体内的定殖动态及促生防病作用 [J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(2): 240-246.
- [14] Lugtenberg B, Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63: 541-556.
- [15] Kamilova F, Validov S, Azarova T, *et al.* Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(11): 1809-1817.
- [16] 胡伟, 赵兰凤, 张亮, 等. 香蕉枯萎病生防菌 AF11 的鉴定及其定殖研究[J]. *中国生物防治学报*, 2012, 28(3): 387-393.
- [17] 王静, 宁燕夏, 李黄维, 等. 解淀粉芽胞杆菌 B6 在番茄根部定殖及对番茄枯萎病盆栽防效初步研究[J]. *中国植保导刊*, 2018, 38(3): 19-22, 29.
- [18] 王雪, 张丹妮, 王春伟, 等. 解淀粉芽胞杆菌 FS6 在人参体内的定殖特性及对人参诱导抗病性[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2019, 47(7): 125-130, 138.
- [19] 朱秋潮, 杨惠, 张甲辰, 等. 芽胞杆菌及其提取物对兰花茎腐病的防治效果[J]. *浙江农业科学*, 2012, 1(5): 690-691.
- [20] 高圣风, 刘爱勤, 桑利伟, 等. 香草兰生防细菌的筛选、分子鉴定及其抑菌机制的初步研究[J]. *热带农业科学*, 2016, 36(1): 41-46.
- [21] 曾会才, 张开明, 文衍堂. 香草兰根腐病生防菌 OBS-2 的鉴定[J]. *热带作物学报*, 1998, 19(3): 44-47.
- [22] 王士燕. 两株新菌的多相分类和兰花致病真菌拮抗细菌的筛选[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016.
- [23] 连彩, 郭晓军, 朱宝成, 等. 兰花枯萎病拮抗细菌的筛选与鉴定[J]. *华北农学报*, 2012, 27(2): 222-225.
- [24] 余超, 肖荣凤, 刘波, 等. 生防菌 FJAT - 346-PA 的内生定殖特性及对香蕉枯萎病的防治效果[J]. *植物保护学报*, 2010, 12(6): 493-498.

- [25] 胡开辉, 罗庆国, 汪世华, 等. 化感水稻根际微生物类群及酶活性变化[J]. 应用生态学报, 2006, 17(6): 1060-1064.
- [26] 汪腾, 段雅婕, 刘兵团, 等. 两株香蕉枯萎病拮抗菌在香蕉体内的定殖[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(3): 342-350.
- [27] 何红, 邱思鑫, 蔡学清, 等. 辣椒内生细菌 BS-1 和 BS-2 在植物体内的定殖及鉴定[J]. 微生物学报, 2004, 44(1): 13-18.
- [28] 黄勤知, 卢乃会, 何红, 等. 红树内生细菌 Ail3 在大豆体内的定殖与促生作用研究[J]. 大豆科学, 2014, 33(2): 223-227.
- [29] 乔俊卿, 刘卹洲, 夏彦飞, 等. 生防菌 B1619 在番茄根部的定殖及对根际微生态的影响[J]. 植物保护学报, 2013, 40(6): 507-511.
- [30] Compant S, Clement C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(5): 669-678.
- [31] 洪凤, 薛雅蓉, 余向阳, 等. 内生解淀粉芽胞杆菌 cc09 菌株在小麦叶部的定殖能力及其防治白粉病效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 481-488.
- [32] 王颖, 杨成德, 薛莉, 等. 拮抗内生细菌 *Bacillus mojavensis* ZA1 在马铃薯根内及根际的定殖动态及其对土壤微生物的影响[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(3): 372-378.
- [33] 徐雁, 向成华, 李贤伟. 土壤酶的研究概况[J]. 四川林业科技, 2010, 31(2): 16-20.
- [34] 连玲丽, 谢荔岩, 陈锦明, 等. 生防菌 EN5 的定殖能力及其对根际土壤微生物类群的影响[J]. 植物保护, 2011, 37(2): 31-35.