



谢红辉, 韦继光, 周 颖, 等. 1 株桑根腐病拮抗细菌的分离鉴定及田间防治效果[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(2): 59-64.

1 株桑根腐病拮抗细菌的分离鉴定及田间防治效果

谢红辉^{1,2}, 韦继光¹, 周 颖¹, 熊 英¹

(1 广西大学 农学院, 广西 南宁 530004; 2 广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西 南宁 530001)

摘要:【目的】筛选出对桑根腐病菌可可毛色二孢 *Lasiodiplodia theobromae* 有显著拮抗作用的细菌,并测定其田间防治效果。【方法】采用平板稀释法从健康桑树根际土壤中分离细菌;采用平板对峙法和孢子萌发法筛选出对靶标菌株有显著拮抗作用的菌株。通过形态观察、生理生化特征测定、*gyrA* 和 *gyrB* 基因序列鉴定拮抗细菌菌株。设置田间小区试验,测定拮抗菌株在自然条件下的生防效果。【结果】从桑树根际土壤中分离出 8 株对 *L. theobromae* 有抑制作用的细菌,其中菌株 YZ14-3 的抑制效果最好。该菌株及其培养液对 *L. theobromae* 菌丝生长的抑制率分别为 73.3% 和 55.6%,挑取抑菌圈上的 *L. theobromae* 菌丝镜检发现,菌丝畸形膨大; *L. theobromae* 分生孢子在 YZ14-3 的培养液中不能萌发,且分生孢子因细胞壁降解而解体;经形态观察、生理生化特征测定和基于 *gyrA* 和 *gyrB* 基因序列 BLAST 分析结果构建的系统发育树, YZ14-3 被鉴定为解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*;大田防治试验结果表明, YZ14-3 的生防效果达 67.94%。【结论】*B. amyloliquefaciens* 菌株 YZ14-3 对 *L. theobromae* 的抑制效果较显著,可应用于 *L. theobromae* 所致病害的生物防治。

关键词:桑根腐病;可可毛色二孢;解淀粉芽孢杆菌;拮抗作用;分离鉴定;田间防治
中图分类号:S572 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2016)02-0059-06

Isolation, identification and field control capability of an antagonistic bacterium strain against mulberry root rot

XIE Honghui^{1,2}, WEI Jiguang¹, ZHOU Ying¹, XIONG Ying¹
(1 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China;
2 Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning 530001, China)

Abstract:【Objective】To isolate bacterium strains that have strongly inhibitory effects against *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of mulberry root rot, and test its field control efficiency. 【Method】Bacterium strains were isolated from rhizosphere soil of healthy mulberry by plate dilution method. Strains with remarkable antagonist activities against target pathogen were screened by dual culture and spore-germination techniques. The antagonistic bacteria were identified based on morphological, physiological and biochemical characteristics as well as their *gyrA* and *gyrB* gene sequences. Field plot experiments were set up to determine the biocontrol effects of antagonistic bacteria under natural conditions. 【Result】Eight bacterium strains with inhibitory effects against *L. theobromae* were isolated, and YZ14-3 was the most effective among them. The inhibition rate of YZ14-3 and its culture extracts were 73.3% and 55.6%, respectively. The mycelia of *L. theobromae* in the inhibition zone were enlarged and malformed; the conidia could not germinate and disintegrated due to cell wall degradation in the culture extracts of YZ14-3.

收稿日期:2015-07-03 优先出版时间:2016-01-18
优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20160118.1651.014.html>
作者简介:谢红辉(1982—),男,助理研究员,博士研究生,E-mail:xhh317@126.com;通信作者:韦继光(1962—),男,教授,博士,E-mail:jiguangwei@gxu.edu.cn
基金项目:国家自然科学基金(31270076);广西科学研究与技术开发计划项目(桂科重 14121002-4-3);南宁市科学研究与技术开发计划项目(20122065)

YZ14-3 was identified as *Bacillus amyloliquefaciens* using its morphological, physiological and biochemical characteristics as well as the phylogenetic tree based on the BLAST results with *gyrA* and *gyrB* gene sequences. Field tests showed that the biocontrol efficiency of YZ14-3 was 67.94%. 【Conclusion】The *B. amyloliquefaciens* strain YZ14-3 has remarkable inhibitory effect against *L. theobromae*, and therefore it can be used for biocontrol of diseases caused by *L. theobromae*.

Key words: mulberry root rot; *Lasiodiplodia theobromae*; *Bacillus amyloliquefaciens*; inhibitory effect; isolation and identification; field control

桑树 *Morus alba* Linn. 属桑科 Moraceae 桑属 *Morus*, 原产我国中部, 是一种具有重要经济价值的落叶乔木。种桑养蚕是我国的传统产业, 我国已有约 4 000 的桑树栽培历史^[1]。随着“东桑西移”发展战略的实施, 广西逐步成为我国蚕茧生产第一大省区和世界重要原料蚕茧生产基地, 2012 年, 广西桑树种植面积达 $1.69 \times 10^5 \text{ hm}^2$, 家蚕饲养量为 655 万张, 蚕茧产量达 $2.56 \times 10^5 \text{ t}$ ^[2]。由可可毛色二孢 *Lasiodiplodia theobromae* Pat. Griffon & Maubl 桑树的新病害, 2014 年, Xie 等^[3]曾报道该病害在我国广西横县发生, 发病面积达 2 400 hm^2 , 其后在广西其他蚕桑种植区均发现该病害的存在。

桑根腐病是一种根部新病害, 目前生产上鲜见有防治效果好的化学药剂, 且化学防治易对桑树和家蚕产生药害, 因此, 针对该病害开展生物防治的研究具有重要意义, 而获得有显著拮抗效果的菌株是病害生物防治的基础。本研究采集健康桑树根际土壤, 筛选能显著抑制 *L. theobromae* 的拮抗细菌, 以期作为桑根腐病的生物防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒、DNA Ladder Min Marker (SM0337)、Dream Taq Green PCR MasterMix (2 ×)、PCR 引物等均购自上海生物工程技术服务有限公司; PDA 粉(广东环凯微生物科技有限公司); 快速革兰氏染色试剂盒(济南百博生物科技有限责任公司); 孔雀石绿(天津市大茂化学试剂厂)。

NA 培养基: 牛肉浸膏 3.0 g、蛋白胨 5 g、葡萄糖 2.5 g、琼脂粉 15 g, 用少量蒸馏水加热溶解后, 补充蒸馏水至 1 L。

可可毛色二孢 *Lasiodiplodia theobromae* 菌株由广西大学农学院植保系实验室分离保存。

1.2 方法

从广西自治区南宁市、河池市和来宾市的桑园

中, 采集健康桑树根际土壤用于分离拮抗细菌。参考孙正祥等^[4]的方法分离和纯化细菌菌株。

1.2.1 拮抗细菌对 *L. theobromae* 菌丝生长的影响

采用平板对峙法^[5]测定拮抗细菌对菌丝生长的影响。将保存的病原菌株和细菌菌株分别在 PDA 培养基和 NA 培养基上活化。用灭菌打孔器(直径 6 mm)取 *L. theobromae* 菌饼接种至 PDA 培养基平板中央, 其两侧 2 cm 处对称放置细菌菌落块, 放置于 28 ℃ 培养箱中培养。待对照处理的菌落长满平板后, 测量各处理菌落的直径, 参照谢晨昭等^[6]的方法计算生长抑制率, 并在显微镜下观察抑菌带菌丝的形态特征。各处理重复 3 次。从参试的细菌菌株中筛选出拮抗效果最好的菌株进行后续试验。

1.2.2 细菌培养液对 *L. theobromae* 菌丝生长的影响

将筛选出的细菌菌落块接种到 150 mL 液体 NA 培养基中, 于振荡培养箱中(28 ℃, $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)培养 3 d。培养液经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤后, 备用。取活化好的 *L. theobromae* 菌饼接种到 PDA 培养基中央, 在其周围对称放置 3 片灭菌滤纸片(直径 5 mm), 再用移液枪吸取 10 μL 细菌上清液滴在滤纸片上。重复 3 次, 计算生长抑制率。

1.2.3 细菌培养液对 *L. theobromae* 孢子萌发的影响

采用载玻片孢子萌发法^[5]: 利用过滤的细菌培养液配制孢子悬浮液(约 $1 \times 10^6 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$), 以清水为对照, 将 500 μL 孢子悬浮液滴在干净的载玻片上, 再将载玻片放入垫有湿润滤纸的培养皿中, 然后放置于 28 ℃ 培养箱中培养 20 h 后观察孢子萌发情况, 计算孢子萌发率。以芽管长度超过孢子长度的一半作为萌发标准。

1.2.4 拮抗菌株的鉴定

将活化好的拮抗菌株菌落划线接种在 NA 培养基平板上, 放入 28 ℃ 培养箱中培养 2 d 后, 观察菌落特征, 并进行革兰氏染色和芽孢染色观察形态特征^[7]。参照《常见细菌系统鉴定手册》^[7]的方法测定拮抗细菌的生理生化特征。试剂盒提取菌株总 DNA, 保存于 -20 ℃ 备用。参考

并利用 Chun 等^[8]的引物扩增 *gyrA* 基因。PCR 反应体系: Dream Taq Green PCR MasterMix (2 ×) 25 μL, 引物各 2 μL, DNA 模板 2 μL, 加 ddH₂O 至 50 μL。反应条件: 95 ℃ 预变性 3 min; 95 ℃ 35 s, 62 ℃ 1 min, 72 ℃ 2 min, 重复 30 次; 72 ℃ 10 min。*gyrB* 基因引物为 UP1 和 UP2r^[9]。除引物不同外, PCR 反应体系中各成分的量 and 反应条件与 *gyrA* 基因序列扩增试验相同。

PCR 扩增完成后, 取 PCR 产物在 10 g · L⁻¹ 琼脂糖凝胶中电泳 (150 V、100 mA、20 min) 检测产物的特异性并委托上海生工测序。将测得的菌株序列在 NCBI 上进行 BLAST 比对, 确定菌株的分类地位, 同时下载 NCBI 中参与参试菌株序列相似性高的序列用 Mega 5 软件进行同源性分析, 构建系统发育树。

1.2.5 YZ14-3 大田防治桑根腐病效果 在广西自治区横县石塘镇选择树龄为 4 ~ 6 年的桑园作为试验田, 试验田随机设置 3 个小区, 每小区 65 ~ 70 棵桑树。施用生防菌剂前, 先调查记录好各小区的病死桑树。将 YZ14-3 培养液 9 L (4.8 × 10⁸ CFU · mL⁻¹) 兑水 18 L 后均匀浇灌于各小区桑树根部土壤。试验期限为 2014 年 4 月至 2015 年 5 月, 前 5 个月, 每月施用培养液 2 次, 其后每月施用 1 次。对照用等量的清水代替 YZ14-3 培养液。最后 1 次施药 1 个月后, 调查各处理小区及对照的病死株数, 参照赖传雅的方法^[10]并稍作改进计算防治效果:

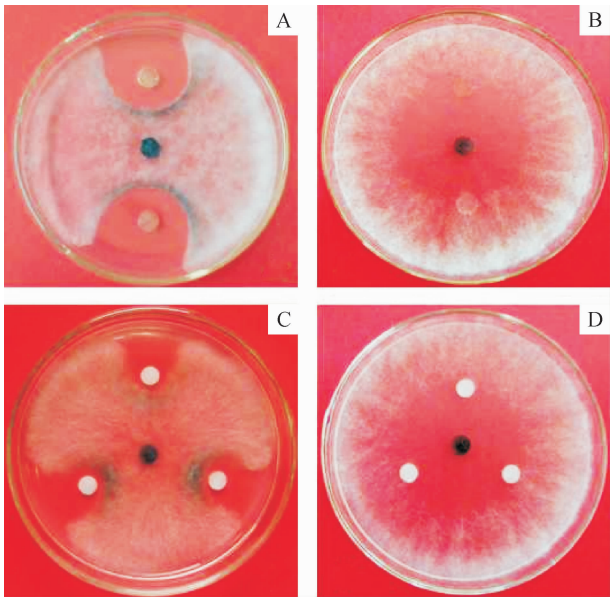
防治效果 = [(对照区校正病死率 - 处理区校正病死率) / 对照区校正病死率] × 100%,

校正病死率 = 用药后病死率 - 用药前病死率。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌株分离及拮抗效果测定

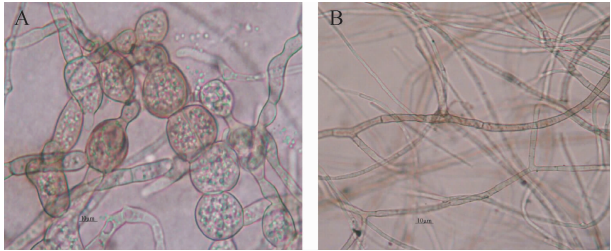
从采集的 45 份土样中分离到菌落形态有明显差异的菌株 22 个, 经筛选得到对 *L. theobromae* 有显著抑制效果的 8 个菌株, 其中菌株 YZ14-3 的抑菌效果最好 (图 1)。YZ14-3 菌落与 *L. theobromae* 对峙培养时, 抑菌圈半径为 12 mm, 对 *L. theobromae* 的生长抑制率为 73.3%。因此, 选定菌株 YZ14-3 进行后续试验。研究发现, 菌株 YZ14-3 的培养液能显著抑制 *L. theobromae* 的生长, 抑菌圈半径为 8 mm, 抑制率为 55.6%。观察发现抑菌圈外缘的 *L. theobromae* 菌丝变黑 (图 1), 挑取变黑的菌丝在显微镜下观察, 发现菌丝膨大、畸形、易断裂 (图 2)。



A: YZ14-3 菌落的抑菌效果; C: YZ14-3 培养液的抑菌效果; B 和 D 分别为 A 和 C 的对照。

图1 菌株 YZ14-3 对 Lasiodiplodia theobromae 菌丝生长的抑制效果

Fig. 1 Inhibitory effect of YZ14-3 on mycelium growth of Lasiodiplodia theobromae



A: 膨大、畸形的 *L. theobromae* 菌丝; B: 正常的 *L. theobromae* 菌丝。

图2 菌株 YZ14-3 对 Lasiodiplodia theobromae 菌丝形态的影响

Fig. 2 Effect of YZ14-3 on mycelium morphology of Lasiodiplodia theobromae

2.2 菌株 YZ14-3 培养液对 L. theobromae 孢子萌发的影响

采用载玻片孢子萌发法测定了 YZ14-3 培养液对 *L. theobromae* 分生孢子萌发的影响, 培养 20 h 后, 在显微镜下观察孢子的萌发情况。每个视野随机观测 500 个孢子, 观察 3 个视野, 共 1 500 个孢子。观察发现, *L. theobromae* 分生孢子在 YZ14-3 的培养液中不能萌发且 YZ14-3 的培养液能降解 *L. theobromae* 分生孢子的细胞壁, 使分生孢子解体。

2.3 菌株 YZ14-3 的鉴定

2.3.1 形态特征 菌株 YZ14-3 在 NA 培养基的主要培养特征 (图 3A) 如下: 菌落乳白色, 边缘不整齐, 表面有皱褶, 隆起不透明, 菌落干爽无光泽; 液体静止培养时形成乳白色菌膜。显微镜下观察发现, YZ14-3 革兰氏染色阳性, 呈紫色 (图 3B), 菌体短杆

状,直或略弯,菌体单个或呈短链状排列,芽孢顶生或生于菌体中部(图 3C)。根据形态特征,初步鉴定 YZ14-3 为芽孢杆菌 *Bacillus* sp.。



A:菌落形态;B:革兰染色;C:芽孢染色。

图 3 YZ14-3 的形态特征

Fig.3 Morphological characteristics of YZ14-3

2.3.2 生理生化特性 本研究测定了 YZ14-3 的部分生理生化特征(表 1)。将本文测定结果与已发表的 *B. amyloliquefaciens* 相关菌株生理生化特征测定结果^[11-12]相比较,并参考《常见细菌系统鉴定手册》^[7],YZ14-3 被初步鉴定为解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*。

表 1 菌株 YZ14-3 的生理生化特性¹⁾

Tab.1 Physiological and biochemical characteristics of YZ14-3

测试项目	YZ14-3	B10-26 ^[11]	SWFU01 ^[12]	测试项目	YZ14-3	B10-26 ^[11]	SWFU01 ^[12]
厌氧生长	+	+		10℃培养	+		-
尿素酶试验	+	+		30℃培养	+	+	+
甲基红反应	+	+		50℃培养	-	-	-
明胶液化	+	+	+	w(NaCl)为1%	+		
淀粉水解	+	+	+	w(NaCl)为5%	+	+	
柠檬酸盐利用	-	-		w(NaCl)为7%	+	-	+
酪氨酸水解	-	-		w(NaCl)为10%	-	-	
氧化酶	-			硝酸盐还原	+	+	-
葡萄糖	+	+	+	葡萄糖发酵产酸产气	+		
半乳糖	+	-		乙酰甲基甲醇反应	+	+	+
木糖	+	+		接触酶	+	+	
过氧化氢酶	+	+		苯丙氨酸脱氨酶试验	-	-	

1)“+”为阳性反应,“-”为阴性反应,空白表示未测定。

2.3.3 *gyrA* 和 *gyrB* 序列分析鉴定 菌株 YZ14-3 的 *gyrA* 基因扩增后,获得 1 个长度为1 013 bp 的片段。PCR 产物纯化、测序后,将该基因序列在 NCBI 上进行 BLAST 相似性分析,比对结果表明,YZ14-3 的 *gyrA* 序列与 GenBank 中的 *B. amyloliquefaciens* 的 *gyrA* 序列相似性均高于 98%。从 GenBank 中下载与 YZ14-3 的 *gyrA* 序列相似性较高的 *B. amyloliquefaciens gyrA* 序列 11 个、*B. subtilis* 序列 8 个、*B. licheniformis* 序列 6 个,以大肠埃希菌 *Escherichia coli* 菌株的 *gyrA* 序列(登录号:DQ447131)为外群构建系统发育树(图 4A)。由系统发育树可知,YZ14-3 与 11 株 *B. amyloliquefaciens* 聚在一群,并与其他菌株分离,表明 YZ14-3 与 *B. amyloliquefaciens* 具有很高的遗传相似性。

菌株 YZ14-3 的 *gyrB* 基因扩增后,获得 1 个长度为 1 243 bp 的片段。PCR 产物纯化、测序后,将该基因序列在 NCBI 上进行 BLAST 相似性分析,结果发现,YZ14-3 的 *gyrB* 序列与 GenBank 中的 *B. amyloliquefaciens* 的 *gyrB* 序列相似性均高于 99%。下载 GenBank 中与 YZ14-3 的 *gyrB* 序列相似性较高的 7 个 *B. amyloliquefaciens* 菌株序列、7 个 *B. subtilis* 序列、3 个 *B. licheniformis* 序列、3 个 *B. thuringiensis* 序列,以 *E. coli* 菌株的 *gyrB* 序列(登录号:AB083949)为外群构建系统发育树(图 4B)。由系统发育树可知,YZ14-3 与 7 株 *B. amyloliquefaciens* 聚在一群,并与 7 株 *B. subtilis* 分离,表明 YZ14-3 与 *B. amyloliquefaciens* 的遗传相似性很高。

由 *gyrA* 和 *gyrB* 序列构建的系统发育树可鉴定菌株 YZ14-3 为 *B. amyloliquefaciens*。

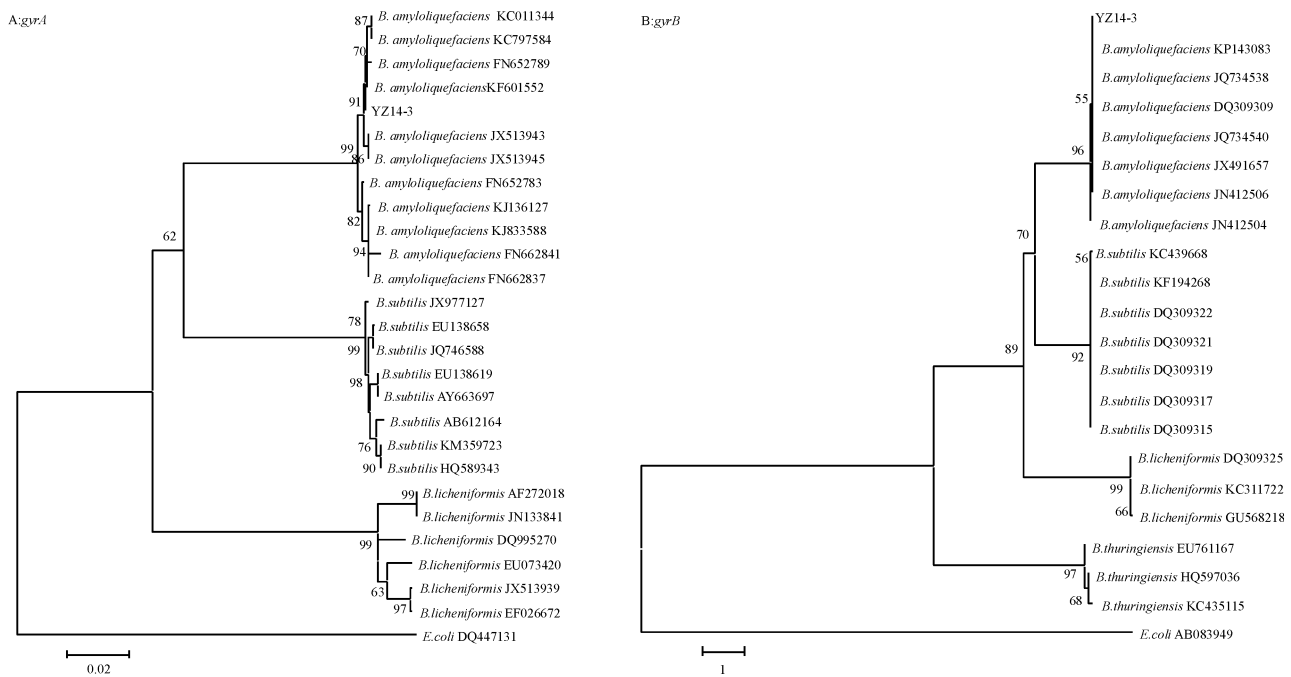


图 4 基于 *gyrA* 和 *gyrB* 基因序列的 YZ14-3 系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of YZ14-3 based on *gyrA* and *gyrB* gene sequences

2.3.4 菌株 YZ14-3 的田间防治效果 施用 YZ14-3 培养液前后各调查 1 次桑树病死情况,施用 YZ14-3 培养液用药前和用药后桑树病死率分别为 14.44% 和 18.89%,用药后的桑树病死率显著地低于对照的 (29.44%)。生防菌剂处理的校正病死率约为 4.45%,显著高于对照的校正病死率 13.88%。由生防菌剂处理和对照的校正病死率得 YZ14-3 的田间防治效果为 67.94%。

3 讨论与结论

B. amyloliquefaciens 与 *B. subtilis* 亲缘性很高,能分泌一系列抑制真菌、细菌、病毒和支原体生长发育的抗菌脂肽^[13]。王奕文等^[14]从甜瓜果实表面分离到 1 株 *B. amyloliquefaciens*,该菌株对灰葡萄孢 *Botrytis cinerea*、链格孢 *Alternaria* sp.、尖孢镰刀菌 *Fusarium. oxysporum* 等病原真菌的拮抗作用显著。陈妍等^[15]从土壤中分离出 1 株对棉花黄萎病菌 *Verticillium dahliae* 有良好拮抗作用的 *B. amyloliquefaciens* 菌株。陈成等^[16]从土壤中分离到 1 株 *B. amyloliquefaciens*,其对黑曲霉 *Aspergillus niger*、稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* 和水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 等植物病原真菌有很强的抑制作用。*B. amyloliquefaciens* 菌株 DFE16 及其发酵液不仅能抑制病菌生长,而且能诱导油菜对黑胫病产生抗性^[17]。*B. amyloliquefaciens* 的发酵液对油茶炭疽病具有很强的抑制作用,进一步研究发现发酵液中的抑菌物质为脂肽,该物质能使病菌菌丝畸形^[18]。*B.*

amyloliquefaciens 分泌的胞外非蛋白类物质能有效抑制鱼腥藻的生长^[19]。枯草芽孢杆菌不同种群在植物病害的生物防治中有广泛的应用,其作用机制主要有竞争、抗生、溶菌等^[20]。本研究从健康桑树的根际土壤中分离出 1 株 *B. amyloliquefaciens* YZ14-3,其对桑根腐病菌 *L. theobromae* 的抑制效果显著,YZ14-3 的无菌培养液能完全抑制病菌分生孢子的萌发,降解分生孢子的细胞壁,从而使孢子解体,说明 YZ14-3 的培养液中含有溶菌物质。溶菌作用是 *B. amyloliquefaciens* 菌株 YZ14-3 抑制病原菌生长的一种机制。田间防治试验结果表明,YZ14-3 的生防效果较显著达 67.94%,具有一定的应用前景。本研究结果为菌株 YZ14-3 在桑根腐病生物防治中的应用奠定了基础。

16S rDNA/RNA 基因序列被广泛应用于细菌鉴定或研究细菌的系统进化关系,但由于 16S rDNA/RNA 基因序列过于保守,在亲缘关系很近的分类类群间,由于序列间的相似度太高而无法区分近缘种^[21]。Wang 等^[22]研究认为 16S rDNA/RNA 基因序列不能有效区分枯草芽孢杆菌的菌株,而 *gyrA* 和 *gyrB* 基因序列可以用于枯草芽孢杆菌的鉴定。*gyrA* 和 *gyrB* 基因的分子进化速率比 16S rDNA/RNA 基因大,可以弥补 16S rDNA/RNA 基因的不足^[22-23]。菌株 SWB16 的 16S rRNA 序列与 *B. subtilis*、*B. amyloliquefaciens*、*B. licheniformis* 和贝莱斯芽孢杆菌 *B. velezensis* 有 99% 的相似性,但利用 *gyrA* 序列构建的系统发育树显示 SWB16 与 *B. amyloliquefaciens* 聚

为一群^[24]。本文利用 *gyrA* 和 *gyrB* 基因序列构建了系统发育树,2 株系统发育树均能将 *B. amyloliquefaciens* 与 *B. subtilis* 及其他芽孢杆菌近缘种区分开。目前,*gyrA* 和 *gyrB* 基因已经应用到许多细菌近缘种的鉴别中,如枯草芽孢杆菌组 (*B. subtilis* group)^[21,25-26]、假单孢菌属 *Pseudomonas*^[27]、气单孢菌属 *Aeromonas*^[28]、分枝杆菌属 *Mycobacterium*^[29] 等。

参考文献:

- [1] 张建华,罗春燕,庞良玉. 桑树的栽培和利用[J]. 四川农业科技,2011(3):32-33.
- [2] 祁广军.“东桑西移”背景下广西蚕丝业发展实证研究[D]. 北京:中国农业大学,2013:2.
- [3] XIE H H, WEI J G, LIU F, et al. First report of mulberry root rot caused by *Lasiodiplodia theobromae* in China[J]. Plant Dis, 2014, 98(11):1581.
- [4] 孙正祥,纪春艳,李云锋,等. 香蕉枯萎病拮抗细菌的分离筛选与鉴定[J]. 中国生物防治,2008,24(2):143-147.
- [5] 董汉松. 植病研究法[M]. 北京:中国农业出版社,2012:77-79.
- [6] 谢晨昭,杨毅玲,李磊,等. 拮抗放线菌 B1 菌株鉴定及其防治番茄灰霉病的初步研究[J]. 植物保护学报,2008,35(4):300-306.
- [7] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:353-356.
- [8] CHUN J, BAE K S. Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* and related taxa based on partial *gyrA* gene sequence[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2000, 78(2):123-127.
- [9] 孙崇思,陈晓敏,束长龙,等. 对大丽轮枝菌具有拮抗作用的萎缩芽孢杆菌的分离和鉴定[J]. 植物保护,2014,40(1):30-37.
- [10] 赖传雅. 关于作物病害药剂防治中几种防治效果计算方法的应用问题[J]. 广西植保,1998,11(3):30-32.
- [11] 赵辉,鲁传涛,刘红彦,等. 1 株生防芽孢杆菌的鉴定及其抑菌活性的初步研究[J]. 河南农业科学,2014,43(4):75-79.
- [12] 刘绍雄,王娟,王金华,等. 一株引起马来甜龙竹组培污染内生菌的分离与鉴定[J]. 微生物学通报,2012,39(8):1112-1119.
- [13] 车晓曦,李校堃. 解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的研究进展[J]. 北京农业,2010(3):7-10.
- [14] 王奕文,胡文兵,许玲. 甜瓜果实表面生防芽孢杆菌的类群与鉴别[J]. 植物病理学报,2008,38(3):317-324.
- [15] 陈妍,李红亚,李术娜,等. 棉花黄萎病拮抗菌株 DS45-2 的分离鉴定[J]. 河南农业科学,2010,39(1):68-72.
- [16] 陈成,崔堂兵,于平儒. 一株抗真菌的解淀粉芽孢杆菌的鉴定及其抗菌性研究[J]. 现代食品科技,2011,27(1):36-39.
- [17] RAMARATHNAM R, FERNANDO W G D, KIEVIT T D. The role of antibiosis and induced systemic resistance, mediated by strains of *Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus cereus* and *B. amyloliquefaciens*, in controlling blackleg disease of canola[J]. Biocontrol, 2011, 56(2):225-235.
- [18] 信珊珊,祁高富,朱发银,等. 1 株解淀粉芽孢杆菌发酵条件的优化及其对油茶炭疽病的防效[J]. 华中农业大学学报,2011,30(4):411-415.
- [19] 李超,吴为中,吴伟龙,等. 解淀粉芽孢杆菌对鱼腥藻的抑藻效果分析与机理初探[J]. 环境科学学报,2011,31(8):1602-1608.
- [20] 姜莉莉,陈彦闯,辛明秀. 枯草芽孢杆菌在防治植物病害上的应用及研究进展[J]. 安徽农学通报,2009,15(7):37-39.
- [21] CHRISTENSEN H, NORDENTOFT S, OLSEN J E. Phylogenetic relationships of *Salmonella* based on rRNA sequences[J]. Int J Syst Bacteriol, 1998, 48(2):605-610.
- [22] WANG L T, LEE F L, TAI C J, et al. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group[J]. Int J Syst Evol Micr, 2007, 57(8):1846-1850.
- [23] CHELO M I, ZÉ-ZÉ L, TENREIRO R. Congruence of evolutionary relationships inside the *Leuconostoc-Oenococcus-Weissella* clade assessed by phylogenetic analysis of the 16S rDNA gene, *dnaA*, *gyrB*, *rpoC* and *dnaK* [J]. Int J Syst Evol Micr, 2007, 57(2):276-286.
- [24] 汪静杰,赵东洋,刘永贵,等. 解淀粉芽孢杆菌 SWB16 菌株脂肽类代谢产物对球孢白僵菌的拮抗作用[J]. 微生物学报,2014,54(7):778-785.
- [25] 王俊丽,卢彩鸽,刘伟成,等. 一株芽孢杆菌 QD-10 的鉴定及生防特性分析[J]. 中国生物防治学报,2014,30(4):564-572.
- [26] 周林,程萍,沈汉国,等. 1 株广谱抗真菌芽孢杆菌 TR21 的鉴定[J]. 热带作物学报,2010,31(4):605-609.
- [27] YAMAMOTO S, HARAYAMA S. Phylogenetic relationships of *Pseudomonas putida* strains deduced from the nucleotide sequences of *gyrB*, *rpoD* and 16S rDNA gene[J]. International J Syst Bacteriol, 1998, 48(3):813-819.
- [28] YÁÑEZ M A, CATALÁN V, APRÁIZ D, et al. Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences[J]. Int J Syst Evol Micr, 2003, 53(3):875-883.
- [29] NIEMANN S, HARMSSEN D, RUSCH-GERDES S, et al. Differentiation of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates by *gyrB* DNA sequence polymorphism analysis [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(9):3231-3234.

【责任编辑 霍 欢】