

# 烟草青枯病生防菌 YH-22 抗病机制的初步研究

杨欢<sup>1</sup>, 余君<sup>2</sup>, 王昌军<sup>2</sup>, 李进平<sup>2</sup>, 施河丽<sup>3</sup>, 谭军<sup>3</sup>,  
李锡宏<sup>2</sup>, 王瑞<sup>3</sup>, 徐迪红<sup>1</sup>, 陈守文<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学农业微生物国家重点实验室, 武汉 430070; 2. 湖北省烟草科研所, 武汉 430030;  
3. 湖北省烟草公司恩施州公司科技中心, 湖北 恩施 445000)

**摘要:** 通过菌株生态定殖以及抗病物质分析, 初步探究解淀粉芽胞杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) YH-22 抗青枯病 (茄科雷尔氏菌所致) 的机制。采用利福平抗性诱导, 获得抗 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的抗性菌株以利于定殖研究。盆栽试验结果表明, YH-22 先在烟草根际土壤定殖, 然后依次进入根部、茎部。对 YH-22 菌株发酵上清液进行理化性质分析, 发现抗茄科雷尔氏菌活性物质不溶于氯仿和乙酸乙酯, 能溶于甲醇, 具有一定的耐热性, 能耐受胃蛋白酶和紫外线, 具有排油和使液滴坍塌的特性。综上所述, 生防菌 YH-22 在烟草根际土壤、根、茎均具有一定的定殖能力, 其抗菌物质可能为蛋白质和脂肽的混合物。

**关键词:** 解淀粉芽胞杆菌; 茄科雷尔氏菌; 定殖; 抗菌物质; 理化性质

中图分类号: S572.08

文章编号: 1007-5119(2014)03-0061-06

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2014.03.013

## Study on Resistance Mechanism of Bio-control Strain *Bacillus amyloliquefaciens* YH-22 against Tobacco Wilt

YANG Huan<sup>1</sup>, YU Jun<sup>2</sup>, WANG Changjun<sup>2</sup>, LI Jinping<sup>2</sup>, SHI Heli<sup>3</sup>, TAN Jun<sup>3</sup>,  
LI Xihong<sup>2</sup>, WANG Rui<sup>3</sup>, XU Dihong<sup>1</sup>, CHEN Shouwen<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Hubei Tobacco Research Institute, Wuhan 430030, China; 3. Enshi Tobacco Company of Hubei Province, Enshi, Hubei 445000, China)

**Abstract:** Through the analysis of ecological colonization and antimicrobial substances of *Bacillus amyloliquefaciens* YH-22, the resistance mechanism of YH-22 against bacterial wilt which was caused by *Ralstonia solanacearum* was preliminarily investigated. The tolerance dosage of YH-22 resistance strain against rifampicin reached 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  by resistance induction with rifampicin. The results of pot experiments showed that YH-22 resistance strain firstly colonized on the rhizosphere soil. Then, it intruded into the root and stem successively. The antimicrobial substances in broth could be dissolved by methanol, but not by chloroform and ethyl acetate. They could maintain high stability under the conditions of heat treatment, protease hydrolysis and Ultraviolet. Moreover, they had the character of oil displacement and droplet collapse. In conclusion, strain YH-22 has colonization ability in rhizosphere soil as well as tobacco tissue. The antibacterial components of strain YH-22 may consist of proteins and lipopeptides.

**Keywords:** *Bacillus amyloliquefaciens*; *Ralstonia solanacearum*; colonization; antibiotic substance; physicochemical characteristic

烟草是一种重要的农业经济作物, 在我国多个地方都有种植区域, 然而一些细菌性、真菌性与病毒病害等给烟叶生产带来了巨大的损失, 严重制约了高效农业的发展。据不完全统计, 烟草花叶病、赤星病、黑胫病、青枯病和根结线虫病 5 种烟草主要病害造成的产量损失为 4.8 亿多公斤, 产值损失高达 15 亿多元<sup>[1]</sup>。烟草青枯病是由茄科雷尔氏菌

(*Ralstonia solanacearum*) 引起的一种土传细菌性病害, 可浸染烟草、马铃薯、番茄、茄子、辣椒等 54 个科的 450 多种植物<sup>[2]</sup>, 以危害根、茎为主<sup>[3]</sup>, 是典型的维管束病害。目前, 青枯病防治措施主要有农业防治和化学防治等。其中, 抗病品种连作会引起作物抗性衰退<sup>[4]</sup>, 防治效果差, 而化学农药残留带来了严重的环境污染。相对于传统防治方法而

基金项目: 湖北省烟草公司项目“‘清江源’、‘金神农’烟叶‘减害降焦’的农业关键技术研究与应用”(027Y2011-055)

作者简介: 杨欢, 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物代谢工程。E-mail: yanghuan8724@163.com。\*通信作者, E-mail: chenshouwen@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2013-10-24

修回日期: 2014-04-26

言,生物防治因其环境友好型、防治效果显著等特点,近年来成为植物病害防治的研究热点。生物防治是利用对土传病害有拮抗效果的微生物或其代谢物,抑制病原微生物的生长,达到防治土传病害发生的目的<sup>[5]</sup>,是一种环保无公害的方法。

微生物生防机制主要包括竞争生态位点和营养、产生抗菌物质、诱导抗性和促进植物生长等。对于一个理想的生防菌而言,既要具有产生有效拮抗病原菌因子的能力,又要很好的定殖于植株体内或根部以占据有利的生态位<sup>[6]</sup>。因此想要获得较好的病害防效,必须考虑生防菌株在植物体内的定殖能力。王静等<sup>[7]</sup>、张秀玉等<sup>[8]</sup>从烟草根际土壤分离到一株枯草芽胞杆菌 SH7,分泌的抗菌蛋白对青枯病菌具有良好的抑制作用。

本研究供试生防菌解淀粉芽胞杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) YH-22 分离筛选自恩施州烤烟种植区域的健康烟叶,对烟草青枯病有一定防效。以利福平抗性诱导,获得利福平抗性株,研究了该菌株在烟草根际土壤和组织体内的定殖情况。为了进一步探讨该菌株的抗病机制,对其抗菌物质的理化性质进行了初步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种及烟草

生防菌株解淀粉芽胞杆菌 YH-22 (筛选自健康烟草叶片);烟草青枯病病原菌茄科雷尔氏菌 9-2、烟草 K326 均由湖北省烟草科学研究院提供。

### 1.2 培养基

NA 液体培养基:葡萄糖 20 g,蛋白胨 5 g,牛肉膏 3 g,1000 mL 水,pH 7.2~7.4;TTC 固体培养基:葡萄糖 20 g,蛋白胨 5 g,牛肉膏 3 g,红四氮唑 0.10 g,1000 mL 水,琼脂粉 18.0,pH 7.2~7.4;红四氮唑溶液(TTC):0.10 g 红四氮唑溶于 10 mL 蒸馏水配成母液,使用前用灭菌的 0.22  $\mu\text{m}$  无机滤膜过滤,100 倍稀释用;LB 液体培养基:蛋白胨 10 g,酵母浸粉 5 g,氯化钠 10 g,1000 mL 水,pH 7.0~7.5,固体培养基加入 1.8%琼脂;发酵培养基:

玉米淀粉 15 g,豆粕 50 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  1.0 g, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.75 g, $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$  0.01 g,1000 mL 水,pH 7.5。

### 1.3 利福平抗性诱导

先将筛选的拮抗菌株 YH-22 按 2%的接种量接入含有 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利福平的 LB 中,37  $^\circ\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 24 h,然后接入含 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利福平的 LB 中,以此逐级转接于含 20、50、100、150、200、300、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利福平的 LB 中进行抗性诱导。同时验证抗 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利福平菌株抗利福平能力和抗青枯病菌活性的稳定性。

### 1.4 盆栽定殖试验

2012 年 10 月烟草育苗,12 月份将 2 个月苗龄的烟草移入盆钵中,盆栽土壤使用前每隔 12 h 间歇灭菌 1 次,每次 121  $^\circ\text{C}$ 、30 min,然后 80  $^\circ\text{C}$  烘干,共灭菌、烘干 3 次。盆钵置于温室中,温室培养温度为 28~30  $^\circ\text{C}$ ,相对湿度为 65%,16 h 光照(白天) 8 h 黑暗(晚上)。12 月中旬,将菌株 YH-22 对烟苗进行灌根 100 mL(接菌浓度为  $10^7$  CFU/mL),分别于灌根后第 4、16、23、30、60 天分别取样(根际土壤、根围土壤、根、茎)检测拮抗菌的定殖情况:采用 LB 抗性平板,利福平浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。每个处理做 3 盆,3 次重复。取 10 g 土样于 90 mL 无菌生理盐水,做系列稀释  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ ,同时分别称取 20 g 根围土壤,风干后测量其 pH;根(茎)冲洗干净后风干,进行表面消毒(75%无水乙醇浸泡 10 s,10% NaClO 浸泡 5 min,无菌生理盐水洗涤 3 次),于灭菌研钵中加适量水研磨成组织液后稀释涂布于 LB 抗性平板,37  $^\circ\text{C}$  培养箱倒置培养 12~24 h,记录菌落数。

### 1.5 平板对峙实验

烟草青枯病病原菌茄科雷尔氏菌接入 NA 液体培养基中,30  $^\circ\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 12~16 h,以 5%体积比加入冷却至 60  $^\circ\text{C}$  左右的 TTC 固体培养基得到含菌培养基;拮抗菌 YH-22 接入 LB 液体培养基,37  $^\circ\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 10~12 h 后转接于发

酵培养基,发酵 48 h,8000 r/min 离心 15 min 收集上清。在含菌培养基中打孔,每孔加入 50  $\mu$ L 检测液,检测其抗烟草青枯病原菌活性。

### 1.6 抗菌物质理化性质初步研究

**有机溶剂溶解性<sup>[9]</sup>:**将发酵液离心上清分别与氯仿、乙酸乙酯等量混合后震荡 1 h,静置萃取 30 min 后,分别取 50  $\mu$ L 萃取相和萃余相加入含菌 TTC 平板的孔中,检测抗菌活性。

**热稳定性<sup>[10]</sup>:**YH-22 的 36 h 的发酵液离心上清除菌后,分别在 80  $^{\circ}$ C、110  $^{\circ}$ C、115  $^{\circ}$ C、121  $^{\circ}$ C 处理 30 min,放置至室温,0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌,测定对烟草青枯病原菌的拮抗活性。

**酸碱稳定性<sup>[11]</sup>:**用 3 mol/L 盐酸或 NaOH 将 YH-22 发酵液离心上清 pH 分别调至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,置于 4  $^{\circ}$ C 冰箱 24 h,然后回调 pH 至 7.0 左右,0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌,分别测定滤液对烟草青枯病原菌的拮抗活性。

**酶的耐受性<sup>[12-13]</sup>:**将 YH-22 发酵液离心上清分别加入 1 mg/L 的中性蛋白酶、胰蛋白酶和胃蛋白酶,置于 37  $^{\circ}$ C 水浴保温 1 h 后,80  $^{\circ}$ C 水浴 3 min 终止反应,0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌,分别测定滤液对烟草青枯病原菌的拮抗活性。

**紫外线稳定性<sup>[14]</sup>:**将 YH-22 发酵液离心上清置于紫外灯(8 w)下照射 30 min,0.22  $\mu$ m 滤膜过滤除菌,后测定滤液对烟草青枯病原菌的拮抗活性。酸沉淀、排油特性、液滴坍塌性具体方法均见参考文献[15]。

### 1.7 统计分析方法

抗菌物质理化性质的实验数据结果采用 SPSS18.0 软件的 Duncan 检验进行显著差异性

( $p < 0.05$ ) 分析。

## 2 结果

### 2.1 利福平抗性诱导

将菌株 YH-22 逐级接入含有 5、10、25、50、100、200、300、400  $\mu$ g/mL 的 LB 液体培养基中,37  $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养 12~24 h,最终获得了抗 400  $\mu$ g/mL 利福平的菌株,传代 10 代后,其抗菌作用与原始菌株接近,利福平抗性能力和第一代抗性诱导菌株保持一样。

### 2.2 盆栽定殖能力检测

将抗 400  $\mu$ g/mL 利福平的抗性菌株 YH-22 接入 LB 液体培养基中,37  $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养 12~16 h 得种子液,以 2%接种量接入发酵培养基,相同培养条件下培养 24 h,得菌悬液,用灌根法接种于团棵期的烟草 K326 植株根部,分别在灌根接种后的第 0、4、16、23、30、60 天取样检测 YH-22 的存活量,其生长动态结果见表 1。

接种后第 4 天,根和茎均未检测到菌株。第 16 天,根里开始检测到菌株,后期菌数基本保持稳定,维持在  $10^3$  CFU/g 鲜质量。在第 23 天,茎里开始检测到菌株。第 30 天,根和茎中拮抗菌大增,分别增加了 4.0 倍和 6.8 倍,说明烟草正处于旺长期,合成了大量营养物质,为定殖的拮抗菌提供了生长繁殖所需的营养来源。第 60 天,根和茎的菌株数量锐减,分别降低了 70.0%和 98.4%,说明烟草趋于成熟,合成的营养物质较少,使得拮抗菌株因缺少营养来源而繁殖力降低。而土壤中拮抗菌的菌量保持在  $10^5$  CFU/g 土壤,从第 4~30 天,拮抗菌株数量呈现增长的趋势,第 60 天,根际土壤和根围土

表 1 YH-22 菌株在烟草 K326 上的定殖能力检测  
Table 1 The detection of the colonization ability of strain YH-22 in tobacco K326

检测项目	菌数					
	第 0 天	第 4 天	第 16 天	第 23 天	第 30 天	第 60 天
根际土壤/(CFU·g <sup>-1</sup> )	$1.0 \times 10^6$	$4.1 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$	$5.8 \times 10^5$	$6.5 \times 10^5$	$3.8 \times 10^5$
根围土壤/(CFU·g <sup>-1</sup> )	$1.0 \times 10^6$	$1.3 \times 10^5$	$2.4 \times 10^5$	$3.3 \times 10^5$	$5.1 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$
土壤含水率/%	23.96	24.10	22.85	22.90	22.00	15.30
pH	5.52	5.05	6.64	5.38	5.17	5.66
根/(CFU·g <sup>-1</sup> )	ND	ND	$1.5 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$	$8.0 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$
茎/(CFU·g <sup>-1</sup> )	ND	ND	ND	$0.8 \times 10^2$	$6.2 \times 10^3$	$0.1 \times 10^3$

注:土壤含水率和 pH 是指根围土壤的含水率和 pH,ND 表示未检测到结果。

壤的菌数分别降低到第30天的58.5%和82.2%，这和植株中定殖的拮抗菌数量的变化相似。植株中菌量为 $10^2 \sim 10^3$  CFU/g组织，菌数并不高，可能原因是拮抗菌灌根接种浓度( $10^7$  CFU/mL, 100 mL)较低，这与易有金<sup>[16]</sup>研究中菌株在 $10^7$  CFU/mL接种时在烟草体内未被检测到的结果相类似。

### 2.3 抗菌物部分理化性质

2.3.1 有机溶剂溶解性 用氯仿、乙酸乙酯与发酵液离心上清振荡混合1h后静置萃取30min后，分别检测萃取相和萃余相的抗菌活性。萃取液均无抗菌活性，萃余相均有抗菌活性，且萃取相的抑菌活性和未经有机溶剂处理的上清液相差不大，说明该抗菌物质为水溶性物质而不溶于有机溶剂氯仿和乙酸乙酯<sup>[13]</sup>，结果如图1所示。

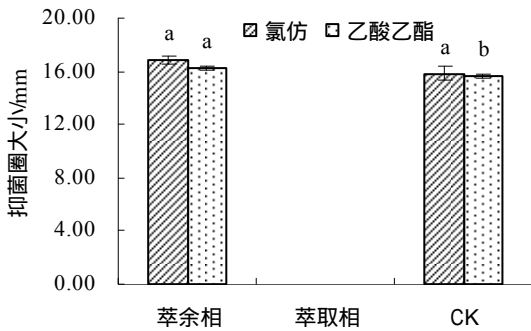


图1 抗菌物质的有机溶剂溶解性

Fig. 1 The antibacterial substances solubility in organic solvent

注：图中不同字母代表 Duncan 检验有显著性差异 ( $p < 0.05$ )，下同。

2.3.2 稳定性 将发酵离心上清过滤除菌后，分别经不同温度、pH、酶和紫外线处理，放置至室温，测定青枯病菌拮抗活性，结果如图2所示。图2A中，在80℃、110℃、115℃、121℃处理30min后，活性分别保留为71.0%、33.8%、9.7%、2.7%，说明该拮抗活性组分具有一定的耐热性；图2B中，抗菌物质在pH4~10下稳定，pH8时活性最高，抑菌圈为6.50mm；图2C中，抗菌物质经中性蛋白酶、胰蛋白酶和胃蛋白酶处理后，活性分别保留有60.3%、65.7%和95.6%，前二者酶处理活性有所降低，说明该抗菌物质中含有蛋白成分，这和齐爱勇等<sup>[9]</sup>的研究结果类似，他们从枯草芽胞杆菌B21的

发酵离心上清中分离纯化到43.0KD的抗菌蛋白，对胰蛋白酶和蛋白酶K部分敏感；图2D中，上清经紫外线照射后，活性保留93.0%。

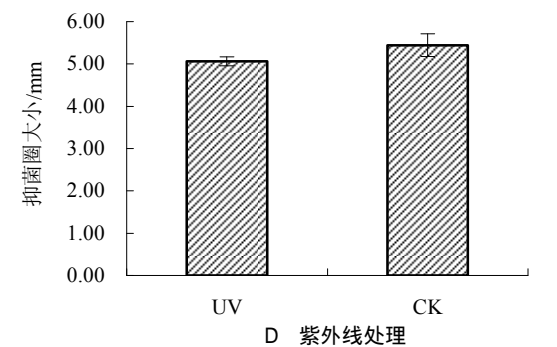
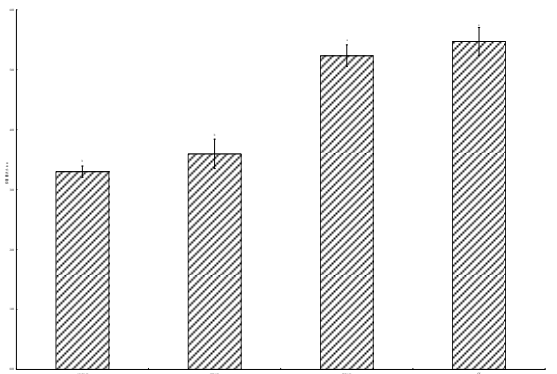
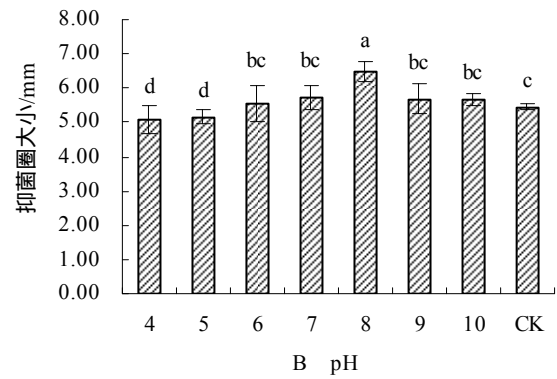
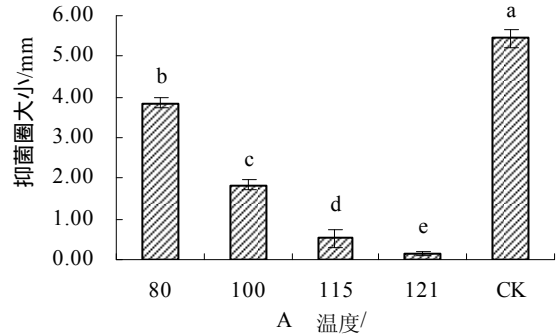


图2 抗菌物质的稳定性

Fig. 2 Stability of antibacterial substances by different treatments

2.3.3 酸沉淀 将发酵液离心上清在 pH 2.0 的条件下进行沉淀,离心收集沉淀,用甲醇溶解,检测甲醇萃取液的拮抗活性,发现酸沉淀后的上清和甲醇本身没有拮抗活性,而甲醇溶解的沉淀拮抗活性较强,结果如图 3 所示,该抗菌物质大部分能在 pH 2.0 沉淀下来,这是因为抗菌蛋白或脂肽类物质在强酸条件下会变性而形成絮状物沉积下来,说明该抗菌物质为蛋白类或脂肽类物质,而甲醇溶解后仍有很强的抑菌活性,而脂肽可以溶解于甲醇,从而进一步说明抗菌物质中含有脂肽类物质。

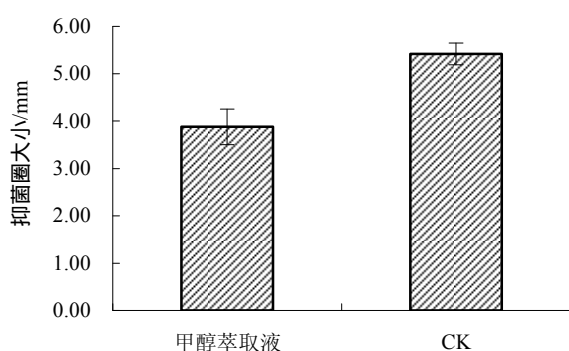


图 3 酸沉淀抑菌活性

Fig. 3 Bacteriostatic activity of acid precipitation

2.3.4 表面活性剂特性 枯草芽孢杆菌分泌的抗菌脂肽 surfactin 是高活性的生物表面活性剂<sup>[17]</sup>,具有溶血、排油、液滴坍塌、凝聚特性<sup>[15]</sup>,实验中将发酵液滴加到油膜中心,发现油膜迅速被打散成一个个圆圈,说明该活性物质具有排油的特性;另外,将发酵液滴在 parafilm 膜上,液滴慢慢坍塌,而不是保持球形结构,说明该抗菌物质具有使液滴坍塌的特性,这进一步表明该抗菌活性物质含有脂肽类物质。

### 3 讨论

生防菌只有在植物体内占据很好的生态位,才有可能发挥更好的防效。而生防菌侵入植物体内的方式和其定殖部位是决定生防菌施用方式和施用时间的关键因素。可通过构建工程菌株,如荧光蛋白基因标记,对生防菌株在植株上的定殖进行实时跟踪,研究抗病菌株发挥生防作用的部位以及菌株在植株中的消长动态,以确定生防机制属于拮抗、

竞争、寄生还是诱导植株系统抗性中的哪一种<sup>[18]</sup>,为生防菌剂的施用提供理论指导。

芽孢杆菌抗菌物质主要有蛋白质和脂肽两大类,通过对抗菌物质理化性质的研究,可以初步确定抗菌物质的种类,进而采取相应的分离纯化的方法,对抗菌物质的结构进行进一步分析。可采用硫酸铵沉淀和酸沉淀进行纯化,将纯化的样品做质谱分析,以确定该拮抗物质的种类。如果是脂肽类,可采用酸沉淀,用甲醇抽提,将抽提液进行 HPLC,通过标准样品(如 iturin、surfactin、fengycin)进行含量测定;如果是蛋白类,可用硫酸铵逐级沉淀,磷酸缓冲液溶解,将溶解液透析除盐后进行 SDS-PAGE,确定蛋白种类和大小,并测定所分离蛋白粗提物的抗菌能力,选择较强抗菌能力的蛋白拮抗物进行氨基酸序列分析、基因克隆或基因导入表达以确定蛋白质的结构。

### 4 结论

在根际土壤、根、茎先后检测到了菌株 YH-22,说明菌株 YH-22 在烟草组织内具有一定的定殖能力。后期可以考虑构建工程菌株,如荧光蛋白基因标记,研究抗病菌株在植株具体部位中的消长动态,为生防菌剂的施用提供理论指导。

解淀粉芽孢杆菌 YH-22 对青枯病菌具有抗性的物质,对胰蛋白酶和中性蛋白酶具有一定的耐受性,能耐受紫外线和胃蛋白酶,不溶于氯仿和乙酸乙酯,具有排油和使液滴坍塌的表面活性剂特性,具有一定的耐热性,可初步确定该抗菌活性物质是蛋白和脂肽的混合物。至于其结构的鉴定,要进一步对其进行分离纯化,如硫酸铵沉淀、酸沉淀、HPLC、SDS-PAGE 等;通过氨基酸序列分析、基因克隆或基因导入表达等方法确定其结构。

#### 参考文献

- [1] 陈瑞泰,朱贤朝,王智发,等.全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告[J].中国烟草科学,1997,18(4):1-7.
- [2] Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, et al. *Ralstonia solanacearum* Strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential[J].

- Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 6790-6801.
- [3] 周训军,王静,杨玉文,等.烟草青枯病研究进展[J].微生物学通报,2012,39(10):1479-1486.
- [4] 方树民,顾钢,纪成灿,等.烟草青枯菌致病型及分布的研究[J].中国烟草学报,2002,8(3):40-43.
- [5] 钱风光.高效生防菌枯草芽孢杆菌的筛选及其发酵工艺优化[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [6] Verma S C, Ladha J K, Tripathi A K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice[J]. Journal of Biotechnology, 2001, 91(2): 127-141.
- [7] 王静,赵廷昌,孔凡玉,等.SH7对烟草青枯病的抑菌、防病作用及其抑菌物质的初步研究[J].中国烟草科学,2007,28(2):41-44.
- [8] 张秀玉,孔凡玉,王静,等.枯草芽孢杆菌 SH7 抑菌蛋白的分离纯化及对烟草青枯病菌的抑制作用[J].中国烟草科学,2010,31(1):13-15.
- [9] 齐爱勇,魏东盛,刘大群.枯草芽孢杆菌 B21 抗菌蛋白的分离纯化及特性研究[J].河北农业大学学报,2011,34(3):56-59.
- [10] 郭金鹏,刘晓昌,仝赞华,等.芽孢杆菌 HSY-8-1 对植物病原真菌的抑制及其抑菌产物特性[J].吉林农业大学学报,2010,32(1):29-33.
- [11] 安文静.侧孢芽孢杆菌 BL-1 产抗菌物质发酵条件的研究以及抗菌物质的分离纯化[D].哈尔滨:黑龙江大学,2008.
- [12] 黄曦,张荣灿,王何健,等.枯草芽孢杆菌 ON-6 菌株抑制荔枝炭疽菌活性物质的初步研究[J].中国农学通报,2011,27(13):188-193.
- [13] 任召珍,孙谧,郑媛,等.海洋侧孢短芽孢杆菌 Lh-1 株所产多肽 R-1 性质分析及作用原理探讨[J].海洋科学,2010,34(11):41-45.
- [14] Yan X, He L, Song G, et al. Antagonistic bioactivity of endophytic strains isolated from *Salvia miltiorrhiza*[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(67): 15117-15122.
- [15] 王启军.枯草芽孢杆菌 B6-1 产脂肽和聚- $\gamma$ -谷氨酸及抗几种植物病原菌的研究[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [16] 易有金.烟草内生细菌及其对烟草青枯病的防治作用研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.
- [17] 林文凭. *Bacillus subtilis* ZJU15 产生的抗菌肽研究[D].杭州:浙江大学,2010.
- [18] 程亮,游春平,肖爱萍.拮抗细菌的研究进展[J].江西农业大学学报,2003,25(5):732-737.