

Research Progress on Application of *Bacillus methylotrophicus* in Biological Control of Plant Diseases

Jie Wang*, Meng Zhou, Weiling Du

Biological Center of Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin Heilongjiang
Email: wangjie.521@163.com

Received: Jun. 20th, 2018; accepted: Jul. 3rd, 2018; published: Jul. 10th, 2018

Abstract

In this paper, research progress on application of *Bacillus methylotrophicus* in biological control of plant diseases is reviewed from the aspects of bacterial habitat, control effect and disease prevention mechanism. The existing problems in the study are discovered and solutions are put forward.

Keywords

Bacillus methylotrophicus, Plant Diseases, Biological Control

甲基营养型芽胞杆菌在植物病害生物防治上的应用研究进展

王杰*, 周萌, 杜伟玲

哈尔滨市农业科学院生物中心, 黑龙江 哈尔滨
Email: wangjie.521@163.com

收稿日期: 2018年6月20日; 录用日期: 2018年7月3日; 发布日期: 2018年7月10日

摘要

本文从菌源生境、防治效果、防病机制等方面对甲基营养型芽胞杆菌(*Bacillus methylotrophicus*)在植物病害生物防治上的应用研究进展进行了综述, 发现了目前研究中存在的问题, 并提出了解决途径。

*第一作者。

关键词

甲基营养型芽胞杆菌, 植物病害, 生物防治

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

Munusamy Madhaiyan [1]等于2010年首次从水稻根际土壤中分离得到甲基营养型芽胞杆菌(*Bacillus methylotrophicus*)。甲基营养型芽胞杆菌严格好氧,革兰氏阳性,细胞呈杆状,宽0.63~0.64 μm,长1.8~2.7 μm,芽胞椭圆形,具运动性。甲基营养型芽胞杆菌为厚壁菌门,芽胞杆菌纲,芽胞杆菌目,芽胞杆菌科,芽胞杆菌属,广泛分布于自然界中,与枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*)、解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的16S rRNA基因序列同源率为98.2%~99.2% [2],是属于能利用甲醇等非C-C键低碳化合物的甲基营养菌(methylotrophy)中的一类细菌。

由于其抗病谱广、抗逆性强、对作物安全且环境友好,成为植物病害生防菌家族的后起之秀。华北制药集团爱诺有限公司于2016年获得农业部药检所首个甲基营养型芽胞杆菌9912母药及可湿性粉剂临时登记[3],登记对象为黄瓜灰霉病,9912是由沈阳生态所胡江春研究员为首的科研团队从辽宁渤海海域的海泥样品中成功筛选、分离出的一株海洋细菌,简称BAC-9912,多年田间试验证明BAC-9912对黄瓜灰霉病、番茄灰霉病、黄瓜晚疫病、番茄晚疫病、棉花黄枯萎病和苹果树腐烂病防治效果显著。

科研人员从不同生境分离筛选高拮抗菌株用于不同植物病害的防治试验,取得了较好的防治效果。

2. 菌源生境

2.1. 土壤生境

目前拮抗菌来源仍以土壤生境[4]-[18]为主,而且相对于植物根围等区域,植物根际结构更为复杂,其与植物根系通过物质交流而建立更加紧密的互作关系,根际土壤内细菌为争夺有利生态位点具有更强的竞争能力、生存能力和防病促生能力[19],因而有更好的生防应用潜力。

2.2. 植物内生

植物内生细菌按照它们的作用类型可分为两类:促进生长,该类细菌具有提高宿主植物潜在生长活性的特性[20] [21] [22],可开发成生物肥料;病害防治,它们可以抑制病原物的侵染[23]-[29],具有应用于植物病害生物防治的巨大潜力。

2.3. 水域生境

占地球面积71%的海洋环境非常复杂,生活在其中的微生物由于其生活环境异于陆生生物,造成其产生的活性物质与陆生微生物有明显的不同,其中许多海洋微生物的次级代谢产物对农业病虫害有很好的抑制作用[3] [30] [31]。

2.4. 其它生境

也有一些生防细菌是从植物组织表面、有机物料里分离筛选得到的[32] [33] [34]。

3. 防治效果

3.1. 在大田作物上的应用

王瑶[32]等从扬花期被禾谷镰刀菌侵染的麦穗上分离得到 3 株甲基营养型芽胞杆菌菌株 JS62N、JS39C 和 JS39D, 它们能够将小麦赤霉病发病程度降低 80%以上, 分别为 88.8%、89.5%和 90.3%。陈新春[4]等从云南昆明市郊蔬菜根际分离筛选出 1 株甲基营养型芽胞杆菌菌株 R2-2, 平板对峙试验显示, R2-2 对水稻白叶枯病菌和水稻细菌性条斑病菌有较强的抑菌效果, 抑菌圈直径分别达 6.83 cm 和 7.03 cm。庄春[35]等进行甲基营养型芽胞杆菌可湿性粉剂(80 亿活芽胞/g)防治水稻细菌性条斑病田间药效试验, 结果表明, 该药剂 1500 g/hm²、1800 g/hm² 对水稻细菌性条斑病的病指防效分别为 53.3%和 61.8%, 极显著高于 50%氯溴异氰尿酸可溶性粉剂 49.0%的防效。程星凯[23]等从玉米植株体内分离得到内生甲基营养型芽胞杆菌菌株 TA-1, 平板对峙结果表明该菌株对玉米茎基腐病菌有显著的抑制效果, 抑菌率达 72.16%; 温室盆栽试验结果显示, TA-1 发酵液、菌体悬液和无菌滤液对玉米茎基腐病原菌都有一定的拮抗效果, 防效在 65%左右, 其中发酵液 > 菌体悬液 > 无菌滤液。张思奇[24]等从玉米幼苗内部获得一株甲基营养型芽胞杆菌菌株 48SJ7-1, 对玉米茎基腐病(主要致病菌禾谷镰孢菌)的盆栽防效为 68.47%, 对玉米生长还有明显的促进作用。陈丽华[36]等分离到甲基营养型芽胞杆菌菌株 LH-L3, 用该菌株菌液浇灌 3 次的棉花出苗率、株高、根长、地上以及地下部分鲜物质质量分别提高 42.85%、10.24%、23.83%、10.05%、97.62%, 对棉花黄萎病的防治效果达到 85.24%。刘海洋[5]等研究发现甲基营养型芽胞杆菌菌株 AL7 对棉花黄萎病的盆栽防治效果为 77.1%。

3.2. 在园艺作物上的应用

王杰[6]等以东北油豆角枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*)为靶标菌, 从作物根际土壤中筛选出对其具有较强拮抗活性的甲基营养型芽胞杆菌菌株 LZF-5-3, 盆栽条件下该菌株对油豆角枯萎病的防效为 71.42%。李晶晶[7]等从多年连作的大棚番茄根际土样中分离、筛选得到一株对番茄灰霉病原菌具有较强拮抗活性的甲基营养型芽胞杆菌菌株 TA-1, 室内毒力试验结果表明菌株 TA-1 对番茄灰霉病菌具有显著拮抗活性; 温室盆栽条件下, 该菌株对番茄灰霉病菌的侵染具有较好的防效。罗琼[25]等从健康番茄植物体内分离获得一株甲基营养型芽胞杆菌 M48, 通过菌悬液浸种及以生物炭搭载的形式根施处理种子和幼苗, 再喷洒病原菌悬液, 结果显示对番茄枯萎病的防治效果为 87.5%。采俊香[26]等从抱茎苦苣菜植株体内分离得到内生甲基营养型芽胞杆菌菌株 G-5, 对其产生的抗菌蛋白抑菌特性进行分析, 结果表明其抗菌蛋白对番茄早疫病病菌、梨黑斑病病菌和番茄灰霉病菌具有较好抑菌效果, 抑菌率分别为 88.3%、90.5%和 95.4%。殷晓敏[8]等从西瓜根际分离获得一株甲基营养型芽胞杆菌菌株 XG-1, 研究发现其对西瓜枯萎病菌菌丝生长、孢子萌发具有良好抑制效果, 抑菌带宽度平均为 0.6 cm。田间小区试验表明, 生防菌灌根处理西瓜苗死亡率为 10%, 相比对照处理的 24.44%, 能显著降低植株发病率。谢学文[9]等从连作多年的黄瓜根际土样中筛选得到 1 株对黄瓜炭疽病菌具有较强拮抗活性的甲基营养型芽胞杆菌菌株 WF-3。活体盆栽条件下, 该菌株对黄瓜炭疽病的防治效果为 66.48%。两年的田间试验表明, 拮抗菌株 WF-3 培养物对黄瓜炭疽病具有良好的防治效果, 防效分别为 68.14%和 73.70%。张海燕[37]等在测定甲基营养型芽胞杆菌菌株 R2-2 对番茄疮痂病的防治效果时, 比较了两种接种方式对病害防治效果的影响, 结果显示, 喷雾法防效 72.11%和浸种法防效 69.40%。吕纪涛[10]等筛选获得了高效拮抗建兰炭疽病原菌胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)的甲基营养型芽胞杆菌菌株 N147-1-3。王全[11]等采用对峙法筛选得到一株对白菜黑斑病菌(*Alternaria brassicae*)具有强烈拮抗作用并具有较广抗菌谱的甲基营养型芽胞杆菌菌株 LBC-2, 田间防效达到 79.08%。邹立飞[12]等从海南 11 个市县甜瓜地、蔬菜地中分离

到甲基营养型芽胞杆菌菌株 F1, 对甜瓜枯萎病的盆栽防治效果达到 70.6%。刘利强[38]等应用 30 亿个芽胞/g 甲基营养型芽胞杆菌可湿性粉剂防治黄瓜灰霉病田间药效试验表明, 供试药剂各剂量(500 倍液、800 倍液、1200 倍液)对黄瓜未发生药害, 对黄瓜安全; 最好防效 500 倍液, 防效达 74.68%。李学红[39]在对甲基营养型芽胞杆菌可湿性粉剂的配方优化后进行田间防效试验, 结果表明, 稀释 500 倍液和 800 倍液对黄瓜灰霉病的防效分别达到 78.8%和 74.7%。王洪梅[13]等从土壤中分离筛选出一株对番茄青枯病病原菌有较强抑菌效果的甲基营养型芽胞杆菌菌株 N5。菌体发酵后与有机肥(猪粪:氨基酸肥料 = 1:1)混合后进行二次发酵制成生物有机肥, 生物有机肥可有效防治番茄青枯病, 其生防效果达 69%, 而单独使用有机肥并不能有效防治番茄青枯病。

3.3. 在果树上的应用

魏新燕[30]等从沧州渤海海域海水中得到一株甲基营养型芽胞杆菌菌株 BH21, 该菌株脂肽粗提物对葡萄灰霉病菌具有较强的拮抗作用, 葡萄灰霉病离体叶片试验结果表明, 脂肽粗提物浓度为 $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 对葡萄叶片灰霉病防病效果为 100%; 脂肽粗提物浓度为 $220 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 对葡萄叶片病斑扩展相对抑制率为 94.4%。尹向田[14]等从土壤中分离筛选出对葡萄白腐病菌有强烈抑制作用的甲基营养型芽胞杆菌菌株 GSBM05, 该菌株稀释 20 倍的无菌发酵液对孢子萌发和菌丝生长抑制率均在 90%以上, 发酵液不同组分对葡萄离体果实、叶片的防治效果均可达 80%以上。周登博[33]等从天然饼肥发酵液中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 4-L-16, 该菌株对 9 种植物病原菌具有广谱抗性, 菌丝生长抑制率可达 28.05%~76.07%, 孢子萌发抑制率达 24.44%~70.00%, 其中对香蕉枯萎病菌的菌丝生长和孢子萌发抑制率分别为 76.07%和 70%。黄霄[40]等从饼肥发酵液中分离筛选出对香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*)有良好拮抗效果的甲基营养型芽胞杆菌菌株 BM-24, 该菌株对供试的 12 种植物病原真菌均有很强的抑制作用, 尤其对香蕉枯萎病菌 1 号和 4 号小种菌丝生长抑制作用最强, 抑菌率分别达到 87.2%和 80.4%。康兴娇[15]等从葡萄园土壤中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 T1-2 和 T3, 两菌株的发酵液对葡萄霜霉病菌的室内抑制率与对照枯草芽胞杆菌 CN181 一致, 均为 100%; 2 次田间试验均表明, 在 7 d 时, 对葡萄霜霉病的相对防治效果为 52.4%, 与菌株 CN181 发酵液无显著差异。该菌株在代谢过程中可产生蛋白酶、纤维素酶和嗜铁素等抑菌物质。

3.4. 在药用植物上的应用

邵天蔚[41]等研究发现与 3 株甲基营养型芽胞杆菌菌株 QM、BM2 和 HZ3 对峙培养的人参致病菌(人参锈腐菌、人参黑斑菌、人参根腐菌和人参灰霉菌)菌丝生长均呈现畸形, 甚至死亡; 菌株发酵液和发酵上清液也有明显的抑菌活性, 上清液中的脂肽粗提物、蛋白粗提物及水饱和正丁醇萃取物均对人参致病菌有不同程度的抑菌效果。张正杰[27]等从人参植株体内分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 B16, 其发酵液对人参锈腐病的保护作用和治疗作用防效分别达到 64.8%和 58.6%。邓进超[28]等从健康人参根际土壤中分离获得一株甲基营养型芽胞杆菌菌株 ATB4, 平板对峙试验表明, 其除了对人参锈腐病菌有抑制作用外, 还对人参菌核病菌、人参立枯病菌、人参灰霉病菌、人参根腐病菌和人参疫病菌均有抑制作用。武利勤[29]等从霍山石斛中分离得到内生菌甲基营养型芽胞杆菌菌株 RA, 其对石斛黑斑病菌表现出强烈的抑菌作用, 抑菌率达到 70%; 另外研究其抑菌谱时发现其对梨轮纹病菌、棉花黄萎病菌、白菜黑斑病菌、灰霉病菌、禾谷镰孢菌、稻瘟病菌具有强烈的抑制作用, 其中对棉花黄萎病菌和禾谷镰孢菌抑制效果最显著, 抑菌率为 80.1%和 86.9%, 对辣椒立枯病菌和香蕉枯萎病菌的抑菌能力稍弱, 抑菌率为 54.8%和 63.6%, 具有广谱抗菌活性。孙卓[16]等从人参根际土壤中分离到的甲基营养型芽胞杆菌菌株 SZ-2, SZ-2 菌悬液对引起人参锈腐病的毁灭柱孢菌的抑制率达 88.80%, 盆栽防治效果为 68.50%, 同时具有广谱抑菌能力。

3.5. 在其它作物上的应用

刘伟[17]等从健康烟草根际土壤中分离得到1株抗烟草青枯病菌活性较好的甲基营养型芽胞杆菌菌株 LW-4, 其菌悬液对烟草青枯病菌的防治效果为 70.37%。谢永丽[42]等从青海年宝玉泽及玛多高寒草甸根围土壤中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 GL18, 平板对峙试验表明, 菌株 GL18 对油菜菌核菌具有显著拮抗活性; 离体叶片接种试验表明, 菌株对油菜菌核菌的侵染具有较好的防效。

4. 主要生防作用机制

4.1. 抗生作用

抗生作用是指一种生物产生某些抗生物质或有毒代谢产物, 对另一种生物具有直接的抑制作用而使群体生长受到抑制, 但本身不受负面影响的现现象。刘伟[43]等从福建、四川、陕西等地耕作土壤中筛选对番茄灰霉病菌、稻瘟病菌、辣椒疫霉病菌、苹果轮纹病菌、小麦根腐病菌、棉花枯萎病菌有较强生防效果的甲基营养型芽胞杆菌菌株 LW-6-1, 该菌株无菌发酵液对番茄灰霉病菌和稻瘟病菌菌丝生长和孢子萌发都有很强的抑制效果。殷晓敏[8]等从西瓜根际分离获得一株甲基营养型芽胞杆菌菌株 XG-1, 研究发现 XG-1 培养液处理病原菌菌丝体和分生孢子培养液后, 可使尖孢镰刀菌小型分生孢子由椭圆形致畸膨大数倍后成球形, 使病原菌大型分生孢子由镰刀形畸变成葫芦串形, 使菌丝体致畸膨大成串珠状, 同时使分生孢子在合适的条件下不能萌发或萌发后生长缓慢, 产生很短的芽管, 而失去侵染力。

生防菌的抗生作用通常由其产生的抗生物质来实现, 抗生物质是指微生物(尤其是放线菌)在生长过程中所产生的低分子质量的次生代谢产物, 在较低浓度下能抑制其它生物的生长或将其杀死的活性物质。生防细菌产生的抗菌化合物可以分为抗生素、嗜铁素和细菌素三种类型。细菌素可以定义为非复制性的抗菌物质, 这类物质对亲缘关系相似的细菌具有特异性的抑制效果。在形态和结构上, 细菌素分高分子质量蛋白质颗粒和低分子量多肽类及核苷酸类似物两大类[44]。王玉霞[45]等从黑龙江省鹤岗地区玉米根围冻土中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 wswshg-10, 其能够分泌几丁质酶、纤维素酶、蛋白酶、嗜铁素、吡啶乙酸、抗菌蛋白等多种活性物质, 抑制烟草角斑病菌、玉米茎基腐病菌、黄瓜枯萎病菌、大豆菌核病菌、水稻恶苗和稻曲病菌、番茄灰霉病菌以及刺五加根腐病菌生长, 抑制率 74.3%~89.2%。武利勤[29]等从霍山石斛中分离内生菌甲基营养芽胞杆菌菌株 RA, 其可以产生 IAA、嗜铁素、蛋白酶、表面活性剂和生物膜。吕倩[31]等从南海深海分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株, 并从菌株的摇瓶发酵液中分离纯化得到3个脂肽类化合物(bacillomycin Lc 类脂肽), 其具有较强抑制黄瓜炭疽病菌、立枯丝核菌、黄瓜枯萎病菌等植物病原真菌的活性。魏新燕[30]等从海水中分离筛选得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 BH21, 通过排油圈法确定菌株 BH21 能够产生具有表面活性的代谢产物, 以脂肽类物质相关基因的特异序列为引物进行菌株抑菌活性成分相关基因的扩增, 确定该菌株中含有 *ituA*、*ituB*、*ituC*、*ituD*、*fenD*、*srfAB* 和 *yndJ* 等7种脂肽物质的合成基因; 利用盐酸沉淀和甲醇抽提法获得了 BH21 发酵液中脂肽粗提物, 通过牛津杯法确定该脂肽粗提物具有明显抑制灰霉菌菌丝生长的能力, 抑制率达到 73.9%。王洪梅[13]等从土壤中分离筛选出一株对番茄青枯病原菌有较强抑菌效果的甲基营养型芽胞杆菌菌株 N5, 菌株 N5 具有产生铁载体、 β -1, 3-葡聚糖酶、纤维素酶、蛋白酶以及多种脂肽类抗菌物质的能力。Abdulwareth Abdulkader Almoneafy (阿伯德尔) [18]从番茄和马铃薯的根际土壤中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株 H8, 在温室条件下, 用该菌株处理的番茄植株, 番茄青枯病(TBW)的发病率减少 89.0%, 并能有效抑制土传真菌赤霉病菌, 瓜果腐霉菌和立枯丝核菌, 番茄株高增加 43.7%, 干重增加 91.55%。生物活性机制研究显示, H8 菌株能产生吡啶乙酸和铁载体, 具有溶解磷的能力, 具有合成脂肽的基因(*bmyB*, *fenD*, *ituC*, *srfAA* 和 *bacA*), 这些基因分别表达合成 Bacillomycin, Fengycin, Iturin, Surfactin 和 Bacilysin。

4.2. 竞争作用

竞争作用指拮抗细菌与植物病原菌在土壤中共同生存,拮抗细菌为了生存,与病原菌竞争营养物质、物理位点、生态位点及氧气等。植物根部病害发生与否及危害程度与根际微生物的群落结构有直接的关系,根际微生物是受植物根系影响最大的土壤微生物群体,也是反映作物生长状况的重要参考指标。例如细菌真菌比值(B/F)是土壤微生物生态的重要指标,常被用来指示微生物群落结构的变化[46],B/F与土壤肥力呈正相关,高B/F土壤的抑病能力更强[47][48]。姜义[49]等通过种子萌发和盆栽促生试验研究3株芽胞杆菌Bs10、Ba12和Bl10对番茄根域微生物区系的调节作用,发现处理后土壤中细菌数量和比例显著增加,真菌数量和比例明显减少;与对照相比,土壤微生物区系优势菌数量发生改变,优势甲基营养型芽胞杆菌在番茄根区、根表土壤中和根内的数量大幅提高;病原真菌腐皮镰刀菌和尖孢镰刀菌在根区和根表土壤中的数量显著减少;推知芽胞杆菌对根系微生物区系的调节作用是其发挥防病促生作用的重要机制之一。

生防菌株发挥作用的第一步就是要建立起一定的种群密度[50],其定殖能力是其发挥作用的先决因素。周登博[33]等从天然饼肥发酵液中分离得到甲基营养型芽胞杆菌菌株4-L-16,该菌株在香蕉根际土壤和植株体内具有良好定殖能力,接种第10天土壤中菌量达到最大值为 6.67×10^6 cfu/g,随时间延长,定殖数量逐渐降低,25天后数量趋于稳定,为 2.05×10^6 cfu/g。香蕉植株内定殖以根系最多,为 4.38×10^3 cfu/g。刘海洋[5]等将带四环素抗性的pGFP78质粒转入到甲基营养型芽胞杆菌菌株AL7中,分析了菌株AL7在棉花根围土壤中、根部组织内的定殖情况。结果表明菌株AL7能够在棉花根围土壤中及根系组织内长期定殖,接种5d时定殖数量最高,达 6×10^6 cfu/g土,接种80d后根围土壤中的定殖数量仍维持在 2×10^6 cfu/g,根系组织内的定殖量为 6×10^4 cfu/g。利用激光共聚焦显微镜观察验证,接种7d后菌株AL7已经进入到棉花根部的中柱鞘细胞,能够在棉花根内大量定殖。黄霄[34]等通过盆栽试验测定甲基营养型芽胞杆菌菌株BM-24菜籽饼发酵液对粉蕉苗期枯萎病的防效时发现菜籽饼能显著提高菌株BM-24定殖效果,接种45d时活菌数量提高了5.0倍。刘伟[17]等从健康烟草根际土壤中分离得到1株抗烟草青枯病菌活性较好的甲基营养型芽胞杆菌菌株LW-4,其可定殖于烟草根际土壤,在灭菌混配营养土中,烟株接种20d,40d,定殖菌量分别为4.57 lg(cfu/g)(每克样品中含有的细菌菌落总数的对数)和5.23 lg(cfu/g),60d时达最高值5.69 lg(cfu/g),60d后根表土壤中的定殖菌量开始下降,至80d时,定殖菌量为5.18 lg(cfu/g),仍可维持一个较高水平。

5. 讨论

甲基营养型芽胞杆菌为最近几年生防细菌研究热点之一,目前的研究大多停留在实验室阶段,真正开发成产品应用到田间的比较少。也有研究显示室内平板对峙实验中的抑制率和田间防治效果并不成正相关[32],主要原因可能是受其在根围土壤或者根系、叶片等植物组织内外的定殖能力的制约,另外还可能因为实验室和田间是两个差异性很大的生境,不同生境下拮抗菌产生抗生物质的种类和数量可能有很大的不同,影响其防治效果。在诸多制约拮抗菌发挥抗病作用的因素中,营养条件可能是关键因素之一,研究人员发现将拮抗菌加入其赖以生存繁殖的营养物质可明显提高其防治效果[34]。这为我们生产更高效的生防菌剂或生物药肥指明了方向,就是在加入生防菌的同时加入其赖以生存繁殖的有机无机营养物质。然而,对添加哪些营养物质、添加数量及比例对生防菌功能发挥的影响研究较少,从某种程度上限制了生防产品在田间的推广应用,亟须加强这方面的研究。

另外,在某些定殖能力相对较差的生防菌株中转入与定殖相关的基因可使其定殖能力显著增强。例如在荧光假单胞菌株WCS307中转入SSS基因片段后,与野生型相比,其在番茄根尖定殖能力增强16~40

倍[51]。对于定殖能力不强的菌株,通过基因工程方法增强其定殖能力,不失为提高生防菌防效的有效途径之一。

参考文献

- [1] Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Kwon, S.W., *et al.* (2010) *Bacillus thylotrophicus* sp.nov., a Methanolutilizing, Plant-Growth Promoting Bacterium Isolated from Rice Rhizosphere Soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **60**, 2490-2495. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.015487-0>
- [2] 刘波,陶天申,王阶平,等.芽胞杆菌(第二卷):芽胞杆菌分类学[M].北京:科学出版社,2016:383-384.
- [3] 我国首登甲基营养型芽胞杆菌 9912[J].山东农药信息,2016(2):23.
- [4] 陈新春,张喜喜,汪钱龙,等.蔬菜根际细菌 R2-2 的鉴定及其抑菌活性[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2012,38(2):177-180.
- [5] 刘海洋,姚举,张仁福,等.甲基营养型芽胞杆菌 AL7 对棉花黄萎病的盆栽防治效果及定殖能力[J].中国生物防治学报,2017,33(3):378-384.
- [6] 王杰,周萌,杜伟玲,等.一株东北油豆角枯萎病菌拮抗芽胞杆菌的筛选与鉴定[J].北方园艺,2018(4):72-77.
- [7] 李晶晶,任莉,孙新林,等.一株生防芽胞杆菌的筛选、鉴定及拮抗活性测定[C]//彭友良,李向东.中国植物病理学会2017年学术年会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2017:460.
- [8] 殷晓敏,吴琼,金志强.甲基营养型芽胞杆菌对西瓜枯萎病菌拮抗作用的研究[J].热带农业科学,2017,37(11):54-60.
- [9] 谢学文,董瑞利,石延霞,等.黄瓜炭疽病拮抗细菌的筛选及其抑制效果[J].中国生物防治学报,2016,32(2):215-220.
- [10] 吕纪涛,魏莉,曹晓璐,等.胶孢炭疽菌拮抗菌株的筛选、鉴定及抑菌物质分析[J].河南农业科学,2015,44(7):89-93.
- [11] 王全,李术娜,王树香,等.白菜黑斑病菌拮抗细菌 LBC-2 的筛选鉴定、发酵条件优化及田间防效[J].中国生物防治学报,2015,31(1):96-105.
- [12] 邹立飞,侯宪文,李光义,等.一株甜瓜枯萎病原拮抗菌的筛选与防治效果初报[J].广东农业科学,2013(1):72-75.
- [13] 王洪梅,吴云成,沈标.青枯病生防菌 N5 的特性及其生物学效应[J].土壤,2013,45(6):1082-1090.
- [14] 尹向田,苏玲,吴新颖,等.芽胞杆菌 GSBM05 对葡萄白腐病菌的抑菌活性及其鉴定[J].中国农学通报,2018,34(1):134-141.
- [15] 康兴娇,申红妙,贾招闪,等.葡萄霜霉病生防菌甲基营养型芽胞杆菌 T3 的鉴定及其防治效果[J].中国生物防治学报,2016,32(6):775-782.
- [16] 孙卓,杨利民.人参锈腐病拮抗细菌的筛选鉴定[J].中国农业大学学报,2016,21(2):73-81.
- [17] 刘伟,刘鹏,沈小英,等.烟草青枯病拮抗芽胞杆菌的筛选、鉴定及其抑菌活性初探[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(2):123-130.
- [18] 阿伯德尔.温室条件下芽胞杆菌的生物活性及对番茄青枯病菌的抑制机制研究[D]:[博士学位论文].杭州:浙江大学,2013:90.
- [19] 胡江春,薛德林,马成新,等.植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景[J].应用生态学报,2004,15(10):1963-1966.
- [20] Frommel, M.I., Nowak, J. and Lazarovits, G. (1991) Growth Enhancement and Developmental Modifications *in Vitro* Grown Potato (*Solanum tuberosum* spp. *Tuberosum*) as Affected by a Non-Fluorescent *Pseudomonas* sp. *Plant Physiology*, **96**, 928-936. <https://doi.org/10.1104/pp.96.3.928>
- [21] Wiehe, W., Hecht-Buchholz, C.H. and Höflich, G. (1994) Electron Microscopic Investigations on Root Colonization of *Lupinus albus* and *Pisum sativum* with Two Associative Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Symbiosis*, **17**, 15-31.
- [22] Pillay, V.K. and Nowak, J. (1997) Inoculum Density, Temperature and Genotype Effect on *in Vitro* Growth Promotion and Endophytic Colonization of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Seedlings Inoculated with a *Pseudomonas bacterium*. *Canadian Journal of Microbiology*, **43**, 354-361.
- [23] 程星凯,王红艳,王东,等.玉米茎基腐病拮抗菌的筛选及其防治效果[C]//彭友良,李向东.中国植物病理学会

2017 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2017: 461.

- [24] 张思奇, 孙丽萍, 赵同雪, 等. 玉米茎基腐病生防菌的筛选及应用[J]. 微生物学通报, 2017, 44(10): 2345-2352.
- [25] 罗琼, 叶小莉, 郑冰雅, 等. 植物内生甲基营养型芽胞杆菌防治番茄枯萎病[J]. 泉州师范学院学报, 2017, 35(6): 17-20.
- [26] 采俊香, 李月梅. 抱茎苦苣菜内生甲基营养型芽胞杆菌 G-5 抗菌蛋白抗真菌特性研究[J]. 中国植保导刊, 2017, 37(4): 20-26.
- [27] 张正杰, 韩金秀, 刘学周, 等. 内生菌株 B16 发酵条件优化及其对人参锈腐病的防效[J]. 微生物学通报, 2017, 44(11): 2698-2707.
- [28] 邓进超, 关一鸣, 吴连举, 等. 人参锈腐病菌拮抗菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 东北农业科学, 2017, 42(3): 31-38.
- [29] 武利勤, 顾海科, 王青, 等. 石斛内生甲基营养芽胞杆菌的拮抗和促生作用研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(8): 200-206.
- [30] 魏新燕, 黄媛媛, 黄亚丽, 等. 甲基营养型芽胞杆菌 BH21 对葡萄灰霉病菌的拮抗作用[J]. 中国农业科学, 2018, 51(5): 883-892.
- [31] 吕倩, 胡江春, 王楠, 等. 南海深海甲基营养型芽胞杆菌 SHB114 抗真菌脂肽活性产物的研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1): 113-120.
- [32] 王瑶, 赵月菊, 邢福国, 等. 禾谷镰刀菌拮抗菌株的筛选及鉴定[J]. 核农学报, 2017, 31(6): 1128-1136.
- [33] 周登博, 陈宇丰, 井涛, 等. 抗香蕉枯萎病甲基营养型芽胞杆菌的鉴定及定殖[J]. 中国农学通报, 2017, 33(36): 145-151.
- [34] 黄霄, 周登博, 张锡炎, 等. 甲基营养型芽胞杆菌 BM-24 菜籽饼发酵液对粉蕉枯萎病防效研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(3): 361-369.
- [35] 庄春, 李红阳. 甲基营养型芽胞杆菌制剂防治水稻细菌性条斑病田间药效试验[J]. 现代农业科技, 2017(5): 105.
- [36] 陈丽华, 袁德超, 吴毅歆, 等. 棉花黄萎病生防内生芽胞杆菌 LH-L3 的分离鉴定[J]. 棉花学报, 2017, 29(6): 550-559.
- [37] 张海燕, 张小芳, 刘雅婷, 等. 云南番茄细菌性疮痂病原菌鉴定及其生防研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2016, 30(2): 218-225.
- [38] 刘利强, 杨士玲, 陈强, 等. 30 亿个/g 甲基营养型芽胞杆菌可湿性粉剂防治黄瓜灰霉病田间药效试验[J]. 现代农业科技, 2014(9): 130-133.
- [39] 李学红. 甲基营养型芽胞杆菌可湿性粉剂配方的优化[J]. 煤炭与化工, 2015, 38(6): 46-50.
- [40] 黄霄, 陈波, 周登博, 等. 菌株 BM-24 的分离鉴定及对香蕉枯萎病菌的抑菌活性[J]. 植物保护学报, 2013, 40(2): 121-127.
- [41] 邵天蔚, 张晓云, 丁万隆, 等. 三株甲基营养型芽胞杆菌抑菌活性物质初探[J]. 中国现代中药, 2018, 20(2): 189-194.
- [42] 谢永丽, 徐志伟, 马莉贞. 两株生防芽胞杆菌的分子鉴定及拮抗活性测定[J]. 西北农业学报, 2012, 21(8): 32-37.
- [43] 刘伟, 宋双, 沈小英, 等. 番茄灰霉病拮抗芽胞杆菌 LW-6-1 的筛选、鉴定及抑菌活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(11): 73-79.
- [44] 黄云. 植物病害生物防治学[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 109.
- [45] 王玉霞, 姜威, 刘宇帅, 等. 寒地耐冷生防菌株筛选鉴定及特性研究[J]. 东北农业大学学报, 2016, 47(8): 31-38.
- [46] Frey, S.D., Elliott, E.T. and Paustian, K. (1999) Bacterial and Fungal Abundance and Biomass in Conventional and No-Tillage Agroecosystems along Two Climatic Gradients. *Soil Biology & Biochemistry*, **31**, 573-585.
- [47] Liu, X. and Herbert, S.J. (2003) Fifteen Years of Research Examining Cultivation of Continuous Soybean in Northeast China: A Review. *Field Crops Research*, **79**, 1-7.
- [48] Yao, H. and Wu, F. (2010) Soil Microbial Community Structure in Cucumber Rhizosphere of Different Resistance Cultivars to Fusarium Wilt. *FEMS Microbiology Ecology*, **72**, 456-463.
- [49] 娄义, 郭俏, 彭楚, 等. 3 株芽胞杆菌对番茄的促生作用及对番茄根域微生物的影响[J]. 应用生态学报, 2018, 29(1): 260-268.
- [50] 杨威, 刘苏闵, 郭坚华. 细菌定殖能力与其生物防治功能相关性研究进展[J]. 中国生物防治, 2010, 26(增刊):

90-94.

- [51] Dekkers, L.C., Mulders, I.H.M., Phoele, C.C., *et al.* (2000) The *sss* Colonization Gene of the Tomato—*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* Biocontrol Strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 Can Improve Root Colonization of Other Wild-Type *Pseudomonas* spp. Bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **13**, 1177-1183.

Hans 汉斯

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5507, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjas@hanspub.org