

张 猛,王 琼,万东光,等. 1株死谷芽孢杆菌的分离、鉴定及防治西瓜枯萎病的效果[J]. 江苏农业科学,2017,45(8):97-100.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.08.027

1 株死谷芽孢杆菌的分离、鉴定及防治西瓜枯萎病的效果

张 猛¹, 王 琼¹, 万东光², 余向阳¹

(1. 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 江苏南京 210014; 2. 丽水出入境检验检疫局, 浙江丽水 323000)

摘要:为筛选新的防治西瓜枯萎病的生防菌种资源,采用稀释涂布平板法从番茄植株中分离得到对西瓜枯萎病菌具有显著抑制作用的拮抗菌,采用平板对峙法研究其对病原菌的广谱抑制效果,将菌体特征结合 16S rDNA 序列分析及生理生化指标相结合,对生防菌进行初步鉴定,明确其分类地位,并采用温室栽培试验对其进行抗病效果初探。结果表明,从番茄中分离的 1 株对西瓜枯萎病菌具有显著拮抗作用的菌株 wm005,对西瓜枯萎病菌、油菜菌核病菌、黄瓜立枯病菌、草莓灰霉病菌、小麦赤霉病菌、辣椒疫霉病菌、番茄枯萎病菌、水稻恶苗病菌、葡萄炭疽病菌均表现出很强的抑制作用,具有广谱抗性。根据菌体特征、16S rDNA 序列分析及生理生化指标的结果,初步鉴定该菌为死谷芽孢杆菌(*Bacillus vallismortis* wm005)。温室栽培试验表明菌株 wm005 对由西瓜枯萎病菌引起的西瓜枯萎病具有显著的防治效果(防效为 75.1%),高出化学药剂百菌清防效 16.9 百分点,说明菌株 *Bacillus vallismortis* wm005 具有很好田间应用开发的潜力。

关键词:死谷芽孢杆菌;分离;生防菌;西瓜枯萎病

中图分类号: S436.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)08-0097-04

植物病害一直是威胁农业安全生产的重要因素,化学农药的长期大量使用一方面使得病原菌产生了抗药性,另一方面对人、畜和环境产生危害,由农药引起的食品安全问题已经受到广泛关注^[1]。因此,采用高效、低毒、环境友好的治理技术来替代传统单一依靠化学农药来防治植物病害是生产中亟

待解决的问题。生物防治因其对环境和人畜安全、不易产生抗药性、处理费用低廉等优点,已广泛应用于各种农林病虫害的防治^[2,4]。生物防治(Biological Control)是指利用生物物种间的相互关系,以一种或一类生物抑制、消灭另一种或一类有害生物物的防治方法^[5-6]。在生物防治过程中,分离和筛选防效好、活性稳定、环境适应性强的可替代化学试剂的生防菌株资源是保证生物防治效果的前提^[7]。

植物内生细菌是指某一时期生活在活的植物组织内而不引起明显病害症状,并与寄主和谐共存的细菌。植物内生菌作为最具防病潜力与应用价值的一类生防细菌,不仅能够促进植物生长,增加作物的产量,还能提高植株抗病能力,对植物本身而言也不是一个外来物种,从而成为许多学者研究的热点对象^[8]。有资料显示,目前在各种农作物和经济作物中发现的植物内生细菌已超过 129 种,分属于 54 个属,主要为芽孢杆

收稿日期:2016-09-02

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(15)1035];江苏省自然科学基金青年项目(编号:BK20140745)。

作者简介:张 猛(1982—),男,山东泰安人,博士,副研究员,主要从事植物源杀菌剂的抑菌机制研究。Tel:(025)84390396;E-mail:z320m320@163.com。

通信作者:余向阳,博士,研究员,主要从事农药环境归趋及生态毒理研究。Tel:(025)84391229;E-mail:yu981190@hotmail.com。

加显著。因此,应加强对玉米螟综合防治技术的研究,从而为玉米的安全生产和食用、饲用安全提供保障。

参考文献:

[1] 中国农作物病虫害编辑委员会. 中国农作物病虫害:上册[M]. 北京:农业出版社,1979:492-502.
[2] 文丽萍,王振营,叶志华,等. 亚洲玉米螟对玉米的为害损失估计及经济阈值研究[J]. 中国农业科学,1992,25(1):44-49.
[3] 王振营,何康来,石 洁,等. 桃蛀螟在玉米上危害加重原因与控制对策[J]. 植物保护,2006,36(2):67-69. [4] 石 洁,王振营,何康来. 黄淮海地区夏玉米病虫害发生趋势与原因分析[J]. 植物保护,2005,31(5):63-65.
[5] 杨樟法,吕仲贤,王桂跃,等. 玉米螟为害玉米的产量损失估计及单株允许残留虫量[J]. 植物保护学报,1994,21(4):333-337.

[6] 顾成玉,梁艳春,张广芝. 黑龙江省玉米螟为害玉米产量损失的研究[J]. 植物保护学报,1989,16(4):265-268.
[7] 魏铁松,朱维芳,庞民好,等. 棉铃虫和玉米螟危害对玉米穗腐病的影响[J]. 玉米科学,2013,21(4):116-118,123.
[8] 李文德,陈素馨,秦建国. 亚洲玉米螟危害蛀孔在春玉米上的分布及其与产量损失的关系[J]. 植物保护,2002,28(6):25-28
[9] 周惟敏,李玉民,刘家骧,等. 玉米螟为害状与产量损失关系的调查[J]. 植保技术与推广,1997,17(6):12.
[10] 段有厚,孙广志,邹剑秋,等. 亚洲玉米螟在高粱上蛀孔分布及其与产量损失的关系[J]. 辽宁农业科学,2008(4):16-18.
[11] 宋立秋,石 洁,王振营,等. 亚洲玉米螟为害对玉米镰孢穗腐病发生程度的影响[J]. 植物保护,2012,38(6):50-53.
[12] 杨 硕,石 洁,张海剑,等. 桃蛀螟为害夏玉米果穗对产量的影响[J]. 植物保护学报,2015,42(6):991-996.

菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)、泛菌属 (*Pantoea*) 和克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*) 等^[9], 为植物病害的生物防治提供了丰富的微生物资源。近年来内生菌领域的研究已取得一定进展, 发现了一些有医用、农用价值的菌株和化合物^[10]。

本研究从番茄中分离筛选到 1 株对西瓜枯萎病菌具有显著抑制作用的拮抗菌, 并结合菌体特征、16S rDNA 序列分析及生理生化指标, 对拮抗菌进行初步鉴定, 确定其分类地位。同时, 在温室盆栽条件下对分离的拮抗菌进行抗病效果初探, 旨在为生物防治提供菌种资源。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

供试致病菌株西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*) 由江苏省农业科学院产地环境研究室保存。试验中选用的西瓜品种为江苏省江蔬种苗科技有限公司培育的“苏蜜 5 号”。菌株培养基为马铃薯葡萄糖培养基 (PDB) 和 Luria - Bertani 培养基 (LB)。菌株 DNA 提取、PCR 扩增试剂, 均购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

试验仪器为: 超净台 (苏州净化), 摇床 (上海知楚), PCR

仪 (Eppendorf), 扫描电镜 (蔡司 EVO18)。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的分离、纯化与保存 该菌株分离自江苏省农业科学院蔬菜基地大棚内的番茄植株。采集番茄样品后, 自来水洗风干, 然后依次用 75% 乙醇浸泡 1 min 和 8% NaClO 浸泡 4 min 进行表面消毒处理, 无菌水洗 4 次后, 将根、茎、叶用无菌剪刀剪开, 根和茎切成约 1 cm 的小段, 放置于 LB 平板上; 叶加水研磨至糊状, 静置 10 min 后涂布 LB 平板, 均放置于 30 ℃ 培养 48 h, 选取不同形态特征的单菌落反复划线纯化后进行斜面保存。

1.2.2 拮抗菌的筛选及广谱性验证 采用对峙培养法筛选出对西瓜枯萎病原菌具有抑制作用的菌株。首先, 将尖孢镰刀菌在 PDA 平板上 28 ℃ 培养 5 d, 用直径为 5 mm 的打孔器在平板上打取圆形琼脂块, 将其接入 PDA 平板中央, 28 ℃ 培养 2 d, 然后用灭菌牙签在病原菌菌饼两侧等距离处点接种分离得到的细菌, 于培养箱中 28 ℃ 培养 3 d 后观察记录抑菌圈。每个处理重复 3 次, 有抑菌圈的菌株即为拮抗菌。为进一步验证分离的菌株对植物土传病害是否具有广谱抑菌效果, 选取了如表 1 所示的另外 6 种常见的植物病原真菌进行进一步的抑菌试验。

表 1 拮抗菌 wm005 对 9 种植物病原菌的抑菌效果

植物病原真菌	抑菌带 (mm)	抑菌率 (%)
油菜菌核病菌 (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> in oilseed rape)	+++	88.76
小麦赤霉病菌 (<i>Fusarium graminearum</i>)	++	74.12
黄瓜立枯病菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)	+++	89.41
西瓜枯萎病菌 (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>)	+++	91.00
辣椒疫霉病菌 (<i>Phytophthora capsici</i>)	++	78.82
番茄枯萎病菌 (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>)	++	75.29
草莓灰霉病菌 (<i>Botrytis cinerea</i>)	+++	87.06
水稻恶苗病菌 (<i>Fusarium moniliforme</i>)	++	75.38
葡萄炭疽病菌 (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	++	74.51

注: 参考 Vestberg 法, “+” “++” “+++” 分别表示抑菌带半径为 <5 mm、5~10 mm、>10 mm。

1.2.3 拮抗菌的鉴定 形态学观察: 将分离菌株划线接种于 LB 培养基, 37 ℃ 培养 48 h 后观察菌落形态特征。采用结晶紫进行革兰氏染色, 并利用扫描电镜观察菌体形态及大小。扫描电子显微镜 (SEM) 样品制备过程参见林英等的方法^[11]略作调整。固定: 取液体培养基中的菌体 1 mL, 4 000 r/min 离心 20 min, 弃上清, 并用生理盐水清洗 3 次, 倒入 2.5% 戊二醛固定液于 4 ℃ 过夜后, 用生理盐水清洗 3 次。脱水: 依次用 30%、50%、70%、85%、90% 的乙醇溶液梯度脱水处理, 各浓度均处理 15 min。再用 100% 的乙醇处理 2 次, 每次 15 min。干燥: 吸取混匀的细菌 - 醋酸戊脂悬浮液滴在盖玻片上, 将滴有菌液的盖玻片分别于 -70 ℃ 的冰箱冷冻 12 h 后, 置于冷冻干燥机内真空干燥。扫描: 将干燥后的样品放在真空镀膜机内镀金 15 min 后取出在扫描电镜中进行观察。

生理生化特征分析: 37 ℃ 培养 24~48 h 后, 生理生化特征按《伯杰细菌鉴定手册》^[12] 进行鉴定。

1.2.4 拮抗菌的 16S rRNA 序列测定 采用常规小量基因组提取方法, 采用 TaKaRa MiniBEST Bacterial Genomic DNA Extraction Ver. 2.0 试剂盒, 根据细菌 16S rDNA 的通用引物 27F: 5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3', 1 492R: 5' -

TACGGCTACCTTGTACGACTT - 3'。以过夜培养的 wm005 菌体基因组为模板进行 PCR 扩增。PCR 运行程序: 预变性 94 ℃, 10 min; 变性 94 ℃, 45 s; 退火 56 ℃, 40 s; 延伸 72 ℃, 40 s, 共 35 个循环; 总延伸 72 ℃, 7 min。经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 得到 1 条约 1 400 bp 的特异性片段, 样品送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司测序。

1.2.5 盆栽试验 盆栽试验在江苏省农业科学院日光温室内进行。将西瓜枯萎病菌在 PDA 平板上培养 6~7 d, 用孔径为 20 mm 的打孔器在培养基上打孔, 取 10 片带菌培养基加入 200 mL 灭菌绿豆汤培养基中, 于 28 ℃、180 r/min 摇床振荡培养 7 d, 用灭菌纱布 (4 层) 过滤去渣, 滤液于 4 ℃、5 000 r/min 下离心 10 min, 去上清液取沉淀物 (西瓜枯萎病菌分生孢子), 用液体马铃薯培养基重悬后, 用灭菌去离子水稀释使孢子浓度为 1×10^7 个/mL, 28 ℃ 孵育 60 min, 然后将西瓜枯萎病菌的分生孢子液与灭菌的基质 (营养土: 蛭石 = 1:1) 混合均匀, 接种量为 10^6 个分生孢子/g 基质, 制成病土。将西瓜种子表面消毒后, 无菌水浸泡过夜, 30 ℃ 恒温催芽 2 d。露白后播种于穴盘, 待小苗长至 2 片真叶时, 移栽至内径 10 cm、高 15 cm、内装 300 g 病土壤的塑料杯中。试验设

3个处理,即拮抗细菌菌株 wm005 培养液(1×10^8 CFU/mL)、75%百菌清可湿性粉剂稀释 500 倍液(有效成分 1 500 mg/L)、对照 LB 空白培养液,每处理 12 株西瓜苗,3 次重复。在移栽的同时,各处理分别在每株西瓜苗根部浇灌 10 mL 拮抗细菌菌株 wm005 培养液,以后每隔 5 d 浇灌 1 次,连续 3 次。在最后 1 次施药后第 21 天按照于思勤等的分级标准^[13]调查西瓜苗发病情况,计算病情指数与防治效果。

1.3 数据分析

采用 SPSS 16.0 统计软件中的 ANOVA 过程进行 Duncan's 多重比较,检验组间差异显著性。数据表示为平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌的分离及广谱性验证

通过平板对峙法对分离的细菌进行筛选,得到 1 株对西瓜枯萎病菌具有明显拮抗活性的菌株,将其命名为 wm005。对菌株 wm005 进行抗菌谱测定,发现菌株 wm005 对油菜菌核病菌、黄瓜立枯病菌和草莓灰霉病菌具有非常强烈的抑制效果,且菌株 wm005 对小麦赤霉病菌、辣椒疫霉病菌、番茄枯萎病菌、水稻恶苗病菌、葡萄炭疽病菌表现出了很强的抑制作用。由此可见菌株 wm005 在离体平板试验条件下对植物病原菌具有广谱的抑菌效果。

2.2 拮抗菌鉴定

2.2.1 形态特征 供试菌株 wm005 为革兰氏阳性菌株,其电镜照片见图 1,菌体呈杆状、无鞭毛、两端钝圆,能够产生椭圆形芽孢,长 1.2 ~ 2.2 μm ,宽 0.6 ~ 0.8 μm 。该菌株在 LB 培养基上 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后,菌落呈乳白色,边缘不规则,表面干涩易起皱,易挑起。能在 25 ~ 40 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下生长,最适生长温度为 32 $^{\circ}\text{C}$;生长 pH 值范围为 4.0 ~ 9.0;最适 pH 值为 6.5。生理生化测定结果(表 2)表明,接触酶反应、V. P. 试验、硝酸盐还原反应、石蕊牛奶还原胨化、淀粉水解反应、利用柠檬酸盐反应、葡萄糖酸盐、吡啶试验、甲基红反应、氧化酶试

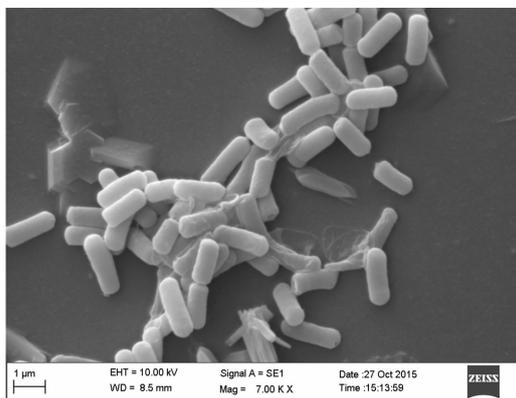


图1 拮抗菌 wm005 的扫描电镜图

表2 拮抗菌 wm005 的生理生化特征

测试项目	结果	测试项目	结果
菌株形态	杆状	葡萄糖酸盐	+
革兰氏反应	+	丙二酸盐	-
接触酶	+	氧化酶	+
V. P. 试验	+	甲基红试验	+
硝酸盐还原	+	柠檬酸盐	+
石蕊牛奶	+	明胶液化	-
吡啶	+	淀粉水解	+

验均为阳性,丙二酸盐和明胶液化试验为阴性,能分解葡萄糖产酸不产气;在含 2% ~ 5% NaCl 的 LB 培养基上均能生长。

2.2.2 16S rDNA 序列分析 菌株 wm005 经 16S rDNA PCR 扩增后,得到了 1 条约 1 400 bp 的目的条带,将目的片段胶回收后测序,为长度 1 407 bp 的 DNA 序列。将序列在 NCBI 数据库中采用 Blast 进行同源性比对(序列登记号为: KX094443),结合 MEGA 6.0 用邻接法(Neighbor - Joining, N - J)构建系统发育树(图 2),wm005 与 *Bacillus vallismortis* 同属 1 个遗传分支,亲缘性达到 99%。结合形态特征观察以及生理生态特征分析,确定菌株 wm005 为死谷芽孢杆菌(*Bacillus vallismortis* wm005)。

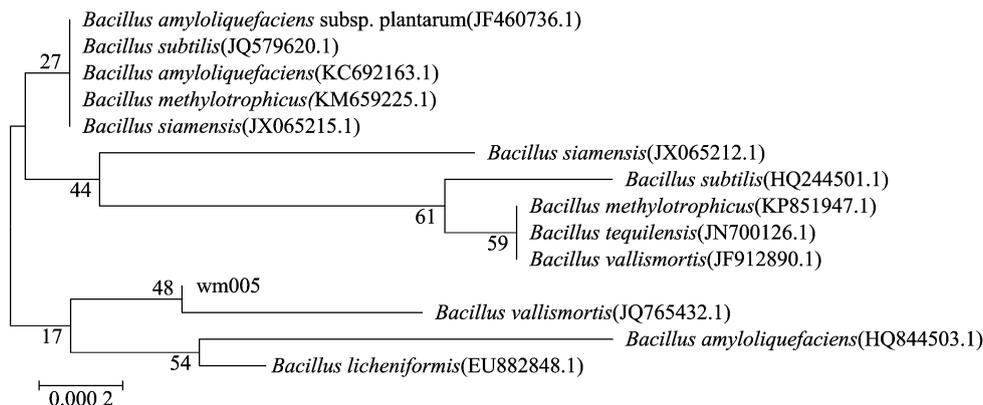


图2 菌株 wm005 基于 16S rDNA 序列的系统进化树

2.3 盆栽试验

由表 3 可知,从番茄中分离的拮抗菌 wm005 在温室条件下对西瓜枯萎病菌引发的枯萎病有一定的防治效果,从病情指数上来看,接种菌株 wm005 的西瓜植株病情指数 17.2,明显低于没有接种菌株 wm005。只接种西瓜枯萎病菌的对照试验组(70.2),病情指数下降 53。从防治效果来看,菌株

表3 拮抗菌 WM005 对西瓜枯萎病的盆栽防效

处理	发病率 (%)	病情指数	防治效果 (%)
wm005	25.3	17.2	75.1
百菌清	52.1	29.0	58.2
对照组	87.8	70.2	-

wm005对西瓜枯萎病的防效为75.1%,明显高于化学药剂百菌清的防治效果(58.2%),防效高出16.9个百分点。

3 结论与讨论

传统的生物防治是引入一个新生物来控制植物有害生物,但是多数难以取得成功,这是因为一个新物种的进入必然涉及到未知的风险。因此,客观地评估生物防治中的新物种对环境及其他物种带来的潜在危害至关重要^[14]。植物内生细菌能够促进植物生长、增加作物的产量,还能提高植株抗病能力,对植物本身而言也不是一个外来物种,不存在上述潜在的危害,因此作为生防细菌具有巨大的防病潜力和重要的应用价值。国内外关于植物内生细菌防治植物病害报道很多。van Buren等从马铃薯茎组织中分离得到61株内生菌对马铃薯环腐病有防治效果^[15]。Ren等在杨树干中发现的短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)对杨树溃疡病菌有抑制作用,还对植物生长可以起到促进作用^[16]。龙良鲲等从番茄根内筛选到18株内生细菌,在番茄的根部具有较强的定殖能力,在盆栽试验中对番茄青枯病菌具有一定的拮抗作用^[17]。杨海莲等报道水稻苗期根内分离的阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*),对水稻白叶枯病菌不表现体外拮抗作用,但是用其发酵液喷雾或浸种,都可以显著提高水稻对白叶枯病的抗性^[18]。本试验从番茄植株中分离到1株对西瓜枯萎病菌具明显拮抗作用的内生菌株wm005,根据菌体特征、16S rDNA序列分析及生理生化指标,初步鉴定该菌为死谷芽孢杆菌(*Bacillus vallismortis* wm005)。

芽孢杆菌可产生肽类、脂肽类、磷脂类、多烯类、氨基酸类、核酸类等抗菌物质,不同种类的抗菌物质有不同的生物学活性,因此芽孢杆菌往往表现出对多种病害的广谱抗性。采用平板对峙试验对该菌株进行抗菌谱测定,结果表明菌株wm005对西瓜枯萎病菌、油菜菌核病菌、黄瓜立枯病菌、草莓灰霉病菌、小麦赤霉病菌、辣椒疫霉病菌、番茄枯萎病菌、水稻恶苗病菌、葡萄炭疽病菌均表现出了很强的抑制作用。由此可见菌株wm005对植物病原菌具有广谱的抑菌效果。

研究表明,很多生防菌在平板对峙试验中对病原菌表现出良好抑制效果,但是在植物活体或田间试验中却没有理想的防效^[19-21]。在本试验中,内生防细菌wm005不仅对西瓜枯萎病菌以及其他病原菌表现出了广谱的抑菌效果,而且在温室盆栽试验中,对西瓜枯萎病菌引起的西瓜枯萎病也具有较好的防治效果。但是由于实际田间环境相对温室条件而言要复杂得多,植物内生防细菌wm005在田间实际应用中的防治效果还需要进一步研究。

参考文献:

[1] Huang N X, Enkegaard A, Oosborne L S, et al. The banker plant method in biological control[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011, 30(3): 259 - 278.

[2] Alabouvette C, Olivain C, Migheli Q, et al. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt -

inducing *Fusarium oxysporum*[J]. *New Phytologist*, 2009, 184(3): 529 - 544.

[3] 周秀华, 崔磊, 武术杰, 等. 3种拮抗菌对苗木立枯病原菌的影响[J]. *北方园艺*, 2011(24): 167 - 169.

[4] Rojo F G, Reynoso M M, Ferez M, et al. Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions[J]. *Crop Protection*, 2007, 26: 549 - 555.

[5] van Driesche R G, Carruthers R I, Center T, et al. Classical biological control for the protection of natural ecosystems [J]. *Biological Control*, 2010, 54(1): S2 - S33.

[6] Obyrcki J J, Harwood J D, Kring T J, et al. Aphidophagy by coccinellidae: application of biological control in agroecosystems [J]. *Biological Control*, 2009, 51: 244 - 254.

[7] 谢永丽, 徐志伟, 马莉贞, 等. 青海北山林场桦树根围芽孢杆菌分子鉴定及其拮抗活性分析[J]. *植物保护学报*, 2012, 39(3): 246 - 252.

[8] 严婉荣, 赵廷昌, 肖彤斌, 等. 生防细菌在植物病害防治中的应用[J]. *基因组学与应用生物学*, 2013, 32(4): 533 - 539.

[9] 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.

[10] 范玉刚, 王谧, 王维东, 等. 棉花黄萎病拮抗菌的筛选及定殖效果初步研究[J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(9): 1800 - 1802.

[11] 林英, 司春灿, 赵青松, 等. 一株死谷芽孢杆菌的分离、鉴定及抗病促生效果初探[J]. *北方园艺*, 2014(13): 88 - 92.

[12] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8版. 北京: 科学出版社, 1984: 729 - 741.

[13] 于思勤, 王守正. 西瓜品种拮抗枯萎病鉴定方法的研究[J]. *中国农业科学*, 1990, 23(1): 31 - 36.

[14] Roderick G K, Hufbauer R, Navajas M. Evolution and biological control[J]. *Evolutionary Applications*, 2012, 5: 419 - 423.

[15] van Buren A, Andre C, Ishimaru C. Biological control of the bacterial ring rot pathogen by endophytic bacteria isolated from potato[J]. *Phytopathology*, 1993, 83: 140 - 146.

[16] Ren J H, Li H, Wang Y F, et al. Biocontrol potential of an endophytic *Bacillus pumilus* JK-SX001 against poplar canker[J]. *Biological Control*, 2013, 67(3): 421 - 430.

[17] 龙良鲲, 肖崇刚, 窦彦霞. 防治番茄青枯病内生细菌的分离与筛选[J]. *中国蔬菜*, 2003(2): 19 - 21.

[18] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未, 等. 水稻内生阴沟肠杆菌MR12的鉴定及其固氮和防病作用研究[J]. *植物病理学报*, 2001, 31(1): 92 - 93.

[19] Ran L X, Liu C Y, Wu G J, et al. Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. in China[J]. *Biological Control*, 2005, 32(1): 111 - 120.

[20] Simonetti E, Carmona M A, Scandiani M M, et al. Evaluation of indigenous bacterial strains for biocontrol of the frog-eye leaf spot of soya bean caused by *Cercospora sojina* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2012, 55(2): 170 - 173.

[21] Dal B G, Mónaco C, Rollan M C, et al. Biocontrol of postharvest grey mould on tomato by yeasts[J]. *Journal of Phytopathology*, 2008, 156: 257 - 263.