

郭丹钊,葛璐,马海乐,等.太子参叶斑病生防小球的制备工艺及对太子参品质的影响[J].江苏农业科学,2019,47(9):163-167.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.09.036

太子参叶斑病生防小球的制备工艺 及对太子参品质的影响

郭丹钊^{1,2},葛璐¹,马海乐^{1,2},李振江³,韩邦兴⁴

(1. 江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江 212013; 2. 江苏大学食品物理加工研究院,江苏镇江 212013;

3. 南京工业大学材料化学工程国家重点实验室,江苏南京 210009; 4. 皖西学院生物与制药工程学院,安徽六安 237012)

摘要:以生防小球的机械性能及传质性能为指标,优化太子参叶斑病生防小球的制备工艺,并研究环境条件对生防小球拮抗性能的影响。结果表明,当聚乙烯醇浓度为9%,海藻酸钠浓度为3%,活性炭浓度为2%时,生防小球的机械性能、传质性能最佳;芽孢包埋浓度为 10^8 CFU/mL时,生防小球的拮抗性能最强。大田试验中施用生防小球后,太子参的水分含量无明显变化,多糖含量明显增加,灰分含量增加,皂苷含量减少。

关键词:太子参;叶斑病;固定化微生物;多糖;皂苷;制备工艺;拮抗活性;生物防治

中图分类号: S435.675 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)09-0163-04

太子参为石竹科孩儿参 [*Pseudostellariae heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.] 的干燥块根,是国家卫生健康委员会公布的可用于保健的补益中成药^[1]。富含糖类、环肽类、氨基酸类、皂苷类、磷脂等多种成分,具有心机保护、止咳、抗应激、降血糖、免疫调节等多种功能^[2-3]。近年来,叶斑病等真菌病害严重影响了太子参的生长,造成其产量和质量大幅度下降^[4-5]。太子参叶斑病原菌的分生孢子器可以在病残体上越冬和越夏,翌年条件适宜时分生孢子器释放出分生孢子进行初侵染,发病后产生分生孢子进行再侵染。农业防治和化学防治是目前太子参叶斑病的主要防治措施,而生物防治法可缓解常规化学防治带来的环境污染、抗药性等问题,是太子参栽培过程中药物防治的重要补充^[5-8]。

固定化微生物技术具有生物浓度易控制、耐毒害能力强、产物易分离、菌种流失少等优点^[9],目前主要应用于工业生产^[10-11]和废水处理^[12-14],在农业生产上也开展了部分研究,并显示出良好的应用前景^[15-16]。常见的用于固定化微生物的材料有天然有机聚合物、化学合成聚合物及无机载体材料等,而利用有机聚合物对传统无机载体材料进行改性,制备兼具两者优良特性的复合载体用于微生物的固定化研究,受到了众多学者的青睐^[17]。笔者所在课题组在前期研究过程中筛选获得1株太子参叶斑病的高效拮抗菌 JK05 菌株,盆栽试验和大田试验均呈现出显著的生防效果^[18],本试验旨在采用聚乙烯醇-海藻酸钠-活性炭复合材料制备拮抗菌 JK05 生防小球,并对其制备工艺进行优化,同时考察生防小球的施用对太子参品质的影响,以期为其应用于太子参栽培土壤并

抑制土壤中太子参叶斑病病原菌活性奠定研究基础,这对于降低太子参叶斑病病原菌的初侵染概率具有重要的意义,是太子参叶斑病生物防治的重要环节。

1 材料与方法

1.1 供试菌株与培养基

拮抗菌为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) JK05 菌株,保存于江苏大学食品与生物工程学院;病原菌为斑点叶点霉 (*Phyllosticta commonsii*),保存于江苏大学食品与生物工程学院。太子参为宣参1号,由安徽省宣城市金泉生态科技示范园提供。

牛肉膏蛋白胨液体培养基:3 g 牛肉浸膏,10 g 鱼粉蛋白胨,5 g 氯化钠,1 000 mL 蒸馏水;牛肉膏蛋白胨固体培养基:3 g 牛肉浸膏,10 g 鱼粉蛋白胨,5 g 氯化钠,1 000 mL 蒸馏水,加入2%琼脂;PDA 固体培养基:200 g 去皮马铃薯,1 000 mL 蒸馏水,煮沸,过滤,加入2%琼脂。各培养基均于121℃高温灭菌20 min,备用。

1.2 主要试剂与仪器

聚乙烯醇 1 750 ± 50 (PVA)、海藻酸钠 (SA)、活性炭 (C)、硼酸、无水氯化钙 (CaCl_2)、亚甲基蓝、硫酸铵、磷酸氢二钾、硫酸钾、葡萄糖、苯酚、浓硫酸、齐墩果酸、香兰素、冰醋酸、高氯酸等,以上试剂均为分析纯,均购自国药集团化学试剂有限公司。

79-1 磁力加热搅拌器,购自江苏省金坛市中大仪器厂;HEV-50 自动高压灭菌器,购自日本 Hirayama 公司;HYL-C2 组合式摇床,购自江苏省太仓市强乐实验设备有限公司;紫外/可见分光光度计,购自北京瑞利分析仪器有限公司;DHP-9272 型恒温培养箱,购自上海一恒科技有限公司;台式高速冷冻离心机,购自湘仪离心机仪器有限公司;电子分析天平 E124S,购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.3 生防小球制备工艺的优化

1.3.1 载体材料浓度的优化 采用 PVA、SA、C 等3种固定

收稿日期:2018-12-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:31301544);南京工业大学材料化学工程国家重点实验室开放课题基金(编号:KL15-12);江苏高校优势学科建设工程资助项目。

作者简介:郭丹钊(1978—),女,江苏丹阳人,博士,副教授,主要从事微生物发酵方向的研究。E-mail: guodanzhao@ujs.edu.cn。

化载体材料进行单因素试验,PVA 浓度分别设置为 6%、8%、10%、12% (此时 SA 浓度为 2%,C 浓度为 1%);SA 浓度分别设置为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5% (此时 PVA 浓度为 10%,C 浓度为 1%);C 浓度分别设置为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0% (此时 PVA 浓度为 10%,SA 浓度为 2.5%)。

根据单因素试验结果,设置正交试验的因素和水平,进行 3 因素 3 水平正交试验分析,各因素水平如表 1 所示。

表 1 正交试验的因素和水平

水平	因素		
	A:PVA 浓度(%)	B:SA 浓度(%)	C:C 浓度(%)
1	8	2.0	1.0
2	9	2.5	1.5
3	10	3.0	2.0

根据以上单因素和正交试验设置的浓度,将称取好的各载体材料加入蒸馏水中,并在磁力加热搅拌器上进行溶解,待混合物完全溶解并搅拌均匀后,于 121 ℃ 高温灭菌 20 min,冷却后加入等体积的无菌水,搅拌均匀,然后用一次性无菌注射器将其滴加到含 2% CaCl₂ 的饱和硼酸溶液中,边滴边摇,形成的凝胶颗粒于 4 ℃ 冰箱中固定 24 h 后得到固定化小球,将固定化小球取出后用无菌水冲洗 3 次并用滤纸吸干,分别检测其机械性能和传质性能。

1.3.2 拮抗菌 JK05 菌株芽孢最佳包埋浓度的优化 拮抗菌 JK05 菌株芽孢悬液的制备:将冰箱保存的拮抗菌 JK05 斜面转接至牛肉膏蛋白胨固体培养基中,在 37 ℃ 进行活化;将活化后的菌株 JK05 接种至牛肉膏蛋白胨液体培养基中,在 37 ℃、180 r/min 条件下培养 12 h 获得种子液;将种子液接种至牛肉膏蛋白胨液体培养基中,接种量为 2%,于 37 ℃、180 r/min 条件下培养 24~36 h 至菌体形成芽孢,将发酵液于 4 ℃、5 000 r/min 条件下离心,取沉淀加入适量无菌水分别配制成不同浓度的芽孢悬液,备用。

生防小球的制备:采用优化获得的各载体材料浓度,将称取好的各载体材料加入蒸馏水中,并在磁力加热搅拌器上进行溶解,待混合物完全溶解并搅拌均匀后,于 121 ℃ 高温灭菌 20 min,冷却后加入等体积的各浓度芽孢悬液(芽孢终浓度分别为 10⁵、10⁶、10⁷、10⁸、10⁹ CFU/mL),搅拌均匀,用一次性无菌注射器将其滴加到含 2% CaCl₂ 的饱和硼酸溶液中,移入 4 ℃ 冰箱中固定 24 h 后得到生防小球,将生防小球取出后用无菌水冲洗 3 次并用滤纸吸干,以其拮抗活性为指标筛选出最佳包埋芽孢浓度。

1.4 机械性能的测定

参照文献[19]中的方法,在铁架台上用细线悬挂 1 个质量合适的砝码,在砝码的正下方放置电子秤,在电子秤上放置 1 个载玻片,选取 1 颗大小适宜的小球放置在载玻片上,使砝码缓缓下降,使生防小球发生形变,直至小球压缩至原直径的 1/2 左右,记下此时电子秤的读数,即为该小球的机械强度,做 10 次平行试验。

1.5 传质性能的测定

参照文献[20]中的方法,随机选取 50 个大小均匀的生防小球放入亚甲基蓝溶液中,于 15 ℃、50 r/min 摇床中振荡培养 4 h 后,在 665 nm 波长下分别测定生防小球的亚甲基蓝

溶液和原亚甲基蓝溶液的吸光度,计算传质率:

传质率 = (D_{空白} - D_{样品}) / D_{空白} × 100%。

式中:D_{空白} 为空白溶液的吸光度;D_{样品} 为样品溶液的吸光度。

1.6 拮抗活性的测定

采用对峙培养法测定拮抗活性^[21],病原菌斑点叶点霉经 PDA 斜面培养基活化后,用打孔器打取直径为 5 mm 的菌饼,接种至 PDA 平板培养基的中央,菌饼正面朝下放置,并用接种铲轻压菌饼使其紧密贴合于培养基表面,取生防小球在无菌条件下置于距平板中央菌饼 2.5 cm 处,将完成接种的平板放置于 27 ℃ 的恒温培养箱中培养 10 d,同时以不接生防小球的平板作为对照,计算出生防小球的抑菌率,通过抑菌率判断拮抗活性,培养基示意如图 1 所示。

抑菌率 = (d_{空白} - d_{处理}) / d_{空白} × 100%。

式中:d_{空白} 为对照平板的病原菌菌落直径;d_{处理} 为放置生防小球方向菌落直径(图 1)。

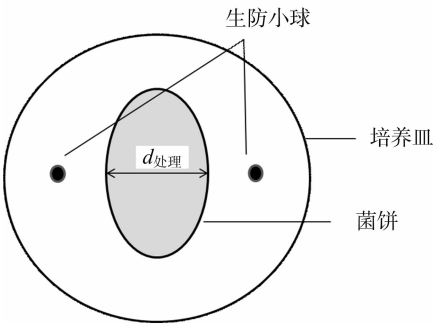


图 1 培养基示意

1.7 生防小球对太子参品质的影响

1.7.1 生防小球的大田试验 根据最优载体材料浓度和最佳包埋芽孢浓度制备生防小球,用于大田试验,试验在安徽省宣城市金泉生态科技示范园中进行,太子参品种为宣参 1 号,选择芽头完整、参体肥大的种参块根,在 10 月中旬种植,在畦面上按行距 12~15 cm 横向开沟,保持沟深 12~13 cm,按株距 5~7 cm 芽头向上、同方向、稍倾斜地栽入沟内,距离地面 6 cm。然后将生防小球按 0.1、1.0、10.0 g/株 3 种试验剂量均匀置于块根周围土壤,覆细土压实、浇水,并设置对照组不添加生防小球,其他操作与试验组一致。正常水肥管理至次年 6 月份,当参苗枯萎后及时采收,去除茎叶,洗净并晾干表面水分,用于太子参品质测定。

1.7.2 水分含量测定 将太子参置于 60 ℃ 烘箱中烘干至恒质量,按以下公式计算其水分含量:

水分含量 = (m₁ - m₂) / m₂ × 100%。

式中:m₁ 为太子参鲜质量,g;m₂ 为太子参干质量,g。

1.7.3 多糖的提取与含量测定 将烘干的太子参研磨成粉末,称取 0.1 g 粉末至试管中,加入 10 mL 80% 乙醇浸泡过夜,于 5 000 r/min 离心 10 min,取沉淀按照 1 g : 20 mL (干粉:蒸馏水)的比例加入蒸馏水,于 90 ℃ 恒温水浴中浸提 3 h,于 5 000 r/min 离心 10 min,重复提取 3 次,合并上清液。按 1 : 2 (上清液:95% 乙醇)的体积比向上清液中加入 95% 乙醇,在 4 ℃ 冰箱中过夜后于 5 000 r/min 离心 10 min,取沉淀用蒸馏水定容至 10 mL,稀释 20 倍,得到太子参粗多糖溶液。采用苯酚-硫酸法^[22]测定太子参多糖含量。

1.7.4 皂苷的提取与含量测定 称取 0.1 g 太子参粉末置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 无水乙醇,于 75 ℃ 恒温水浴中浸提 2 h,取出冷却至室温,于 5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液即为太子参皂苷溶液。采用香草醛-冰醋酸法^[23]测定太子参皂苷含量。

1.7.5 灰分含量测定 采用干法灰化法^[24]测定灰分含量。取坩埚置于高温炉内,将盖子斜盖在坩埚上,经 550 ℃ 灼灼约 1.5 h,取出坩埚,稍冷片刻移置干燥器内并盖上盖子,放冷至室温,精密称定坩埚质量并记录,重复数次,直至恒质量。称取 1.0 g 样品,置已灼灼至恒质量的坩埚内,将盛有供试品的坩埚置于通风柜内的电炉上缓缓灼烧,样品全部炭化呈黑色,并不冒浓烟。然后将坩埚移置高温炉内,盖子斜盖于坩埚上,在 550 ℃ 灼灼 4 h,使样品完全灰化,重复数次,直至恒质量。

2 结果与分析

2.1 生防小球制备工艺的优化

2.1.1 载体材料浓度的优化 单因素试验考察固定化小球载体材料浓度对其机械性能及传质性能的影响。由图 2 可以看出,在供试浓度范围内,随着 PVA 浓度的增加,生防小球的机械性能不断增强,而其传质性能逐渐降低。设置了 SA 的浓度范围为 1.0%~3.5%,随着 SA 浓度的增加,生防小球的机械性能逐渐增强,传质性能则先增强后减弱,在 SA 浓度为 2.5% 时,生防小球的传质性能达到最强。在浓度为 0.5%~

3.0% 范围内,随着 C 浓度的增加,生防小球的机械性能无明显变化,传质性能则同样先增强后减弱,在 C 浓度为 2.0% 时传质性能达到最强。总体来看,PVA 浓度为 8%~10%、SA 浓度为 2.0%~3.0%、C 浓度为 1.0%~2.0% 时,制备的生防小球机械性能与传质性能均较好,因此,选择 PVA 浓度为 8%、9%、10%、SA 浓度为 2.0%、2.5%、3.0%、C 浓度为 1.0%、1.5%、2.0%,进行下一步的正交试验。

正交试验共有 9 组,将机械性能和传质性能 2 个指标转换成相应的隶属度,用隶属度和其权重来计算总评分,隶属度计算方法如下:

指标隶属度 = (指标值 - 最小指标值) / (最大指标值 - 最小指标值)。

根据实际要求,机械性能的权重定为 1,传质强度的权重定为 1,计算并获得各指标分数的加权和作为总评分。总评分 = 1 × 机械性能隶属度 + 1 × 传质强度隶属度。由表 2 可知, $R_B > R_C > R_A$,各因素的主次顺序表现为 $B > C > A$ 。由于 A 因素中 $k_2 > k_3 > k_1$,B 因素中 $k_3 > k_2 > k_1$,C 因素中 $k_3 > k_2 > k_1$,因此,最优方案为 $A_2B_3C_3$,即各载体材料的最佳配比为 9% PVA,3% SA,2% C。

2.1.2 拮抗菌 JK05 芽孢最佳包埋浓度的优化 考察拮抗菌 JK05 芽孢的不同包埋浓度对生防小球拮抗活性的影响。由图 3 可以看出,随着芽孢包埋浓度的增大,生防小球的拮抗活性逐渐增强,当浓度为 10^8 CFU/mL 时,生防小球的抑菌率达

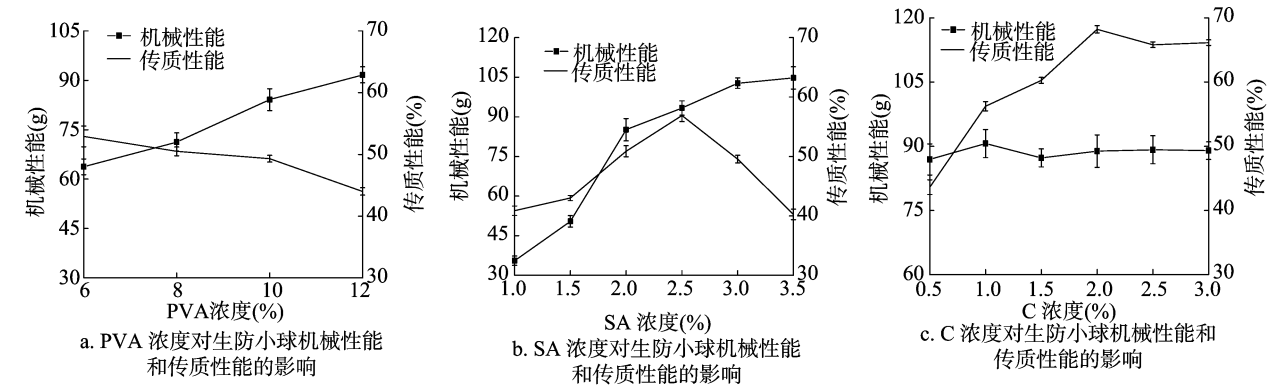


图2 PVA、SA、C 浓度对生防小球机械性能和传质性能的影响

表 2 生防小球机械性能与传质性能的正交试验结果

试验号	A	B	C	机械性能 (g)	传质性能 (%)	机械性能隶属度	传质性能隶属度	总评分
1	1	1	1	73.6	56.38	0.00	0.00	0.00
2	1	2	3	80.1	68.86	0.22	0.91	1.13
3	1	3	2	88.8	70.10	0.50	1.00	1.50
4	2	3	3	96.5	69.41	0.76	0.95	1.71
5	2	2	1	81.7	66.53	0.27	0.74	1.01
6	2	1	2	75.2	64.61	0.05	0.60	0.65
7	3	2	2	94.0	59.67	0.68	0.24	0.92
8	3	1	3	88.4	65.98	0.49	0.70	1.19
9	3	3	1	103.8	59.26	1.00	0.21	1.21
k_1	0.88	0.61	0.74					
k_2	1.12	1.02	1.02					
k_3	1.10	1.47	1.34					
极差 R	0.74	2.58	1.81					

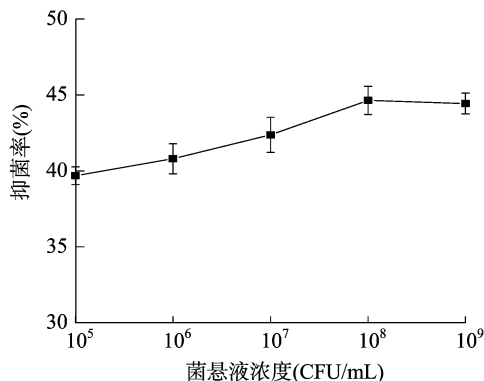
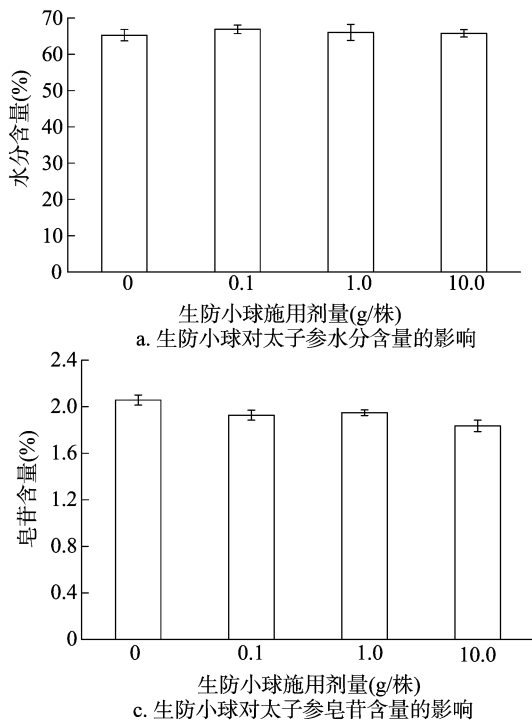


图3 包埋芽孢浓度对生防小球拮抗活性的影响



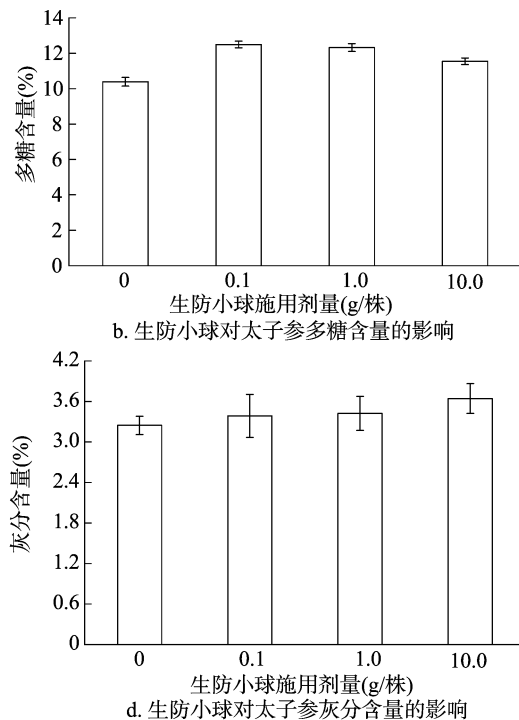
a. 生防小球对太子参水分含量的影响

c. 生防小球对太子参皂苷含量的影响

到最大值,为 44.64%。

2.2 生防小球对太子参品质的影响

在太子参栽培过程中,向栽培土壤中施用不同剂量的生防小球,各处理组太子参水分、多糖、皂苷、灰分含量等的测定结果如图 4 所示。多糖和皂苷是太子参主要的生物活性成分,具有抗疲劳、抗应激和增强机体免疫功能等重要药理作用。由图 4 可以看出,施用生防小球后,太子参的水分含量无明显变化,多糖含量有明显的增加,皂苷含量有所降低,灰分含量有所增加,表明太子参栽培过程中施用生防小球,可明显提高参体的多糖含量,这可能是由于生防小球中拮抗菌对太子参根周环境有抑菌促生作用,改善了根周环境,从而促进太子参的生长发育及生物活性物质的积累。



b. 生防小球对太子参多糖含量的影响

d. 生防小球对太子参灰分含量的影响

图4 生防小球对太子参水分、多糖、皂苷、灰分等含量的影响

3 结论

经单因素和正交试验分析,获得太子参叶斑病生防小球的最佳制备工艺为 9% PVA,3% SA,2% C,拮抗菌 JK05 菌株的芽孢最佳包埋浓度为 10⁸ CFU/mL。太子参大田栽培结果显示,施用太子参叶斑病生防小球后,收获的太子参水分含量无明显变化,多糖含量明显增加,皂苷含量减少,灰分含量增加,即太子参叶斑病生防小球的施用对太子参部分重要活性成分的积累具有一定的促进作用。

参考文献:

- [1] 褚书豪,汪小彩,冯良. 太子参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 光明中医,2016,31(7):1047-1048.
- [2] 李传厚,王瑞. 太子参化学成分的研究进展[J]. 山东医学高等专科学校学报,2017,39(3):229-231.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2010 年版. 北京:中国医药科技出版社,2010:62.

- [4] 张国辉,范成明,但胜利. 2 株枯草芽孢杆菌对太子参 4 种病原真菌的抑菌效果研究[J]. 中国植保导刊,2017,37(3):18-23.
- [5] 张国辉,王龙,任永权,等. 贵州省黔东南州太子参立枯病的病害分析及生防初探[J]. 中国农学通报,2015,31(11):205-209.
- [6] 黄曦,许兰兰,黄荣韶,等. 枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J]. 生物技术通报,2010(1):24-29.
- [7] 周思彤. 生防菌及相关生物技术在植物病害防治中的应用[J]. 科技经济导刊,2017(4):151.
- [8] 张礼生,陈红印. 生物防治作用物研发与应用的进展[J]. 中国生物防治学报,2014,30(5):581-586.
- [9] 沈耀良,黄勇,赵丹,等. 环境工程新技术丛书:固定化微生物污水处理技术[M]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [10] 李超敏,魏永义. 固定化细胞技术应用于国内酱油生产的研究进展[J]. 中国调味品,2013,38(10):10-12.
- [11] Furuya T, Kino K. Regioselective synthesis of piceatannol from resveratrol: catalysis by two-component flavin-dependent monooxygenase HpaBC in whole cells[J]. Tetrahedron Letters, 2014,55(17):2853-2855.

林星辰,田义新,王 泽,等. 人参内生菌 B69 菌株抑菌物质特性的研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(9):167-170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.09.037

人参内生菌 B69 菌株抑菌物质特性的研究

林星辰,田义新,王 泽,牛林飞

(吉林农业大学中药材学院,吉林长春 130118)

摘要:研究人参内生细菌 B69 菌株对人参根腐病病原菌的作用机制,通过硫酸铵沉淀、低温乙醇沉淀等方法获得菌株发酵液中活性成分,对其抑菌物质粗提液进行稳定性测定,并对其抑菌成分进行分离,采用平板扩散法测定提取成分的抑菌活性。结果表明,从 B69 菌株发酵液得到的提取液具有抑菌活性;对抑菌物质粗提物进行高温、酸碱度、紫外线、反复冻融和蛋白酶 K 处理,抑菌活性均未见明显变化。从 B69 发酵液中初步分离出具有抑制根腐菌活性的活性肽和胞外多糖。表明 B69 菌株能产生多种抑菌活性成分,抑菌成分对胁迫条件不敏感,值得进一步开发利用。

关键词:人参;内生细菌;B69 菌株;人参根腐病;抑菌物质

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)09-0167-04

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)属五加科多年生草本植物,是传统的名贵中药材。在我国东北地区已经形成规模化种植^[1]。人参病害一直是影响人参质量最主要的因素之一,其中人参根腐病是常见的人参土传病害,人参根腐病主要侵染人参的根部,造成根部软化腐烂,危害严重且防治相当困难^[2]。在人参栽培中根腐病发病率最高可达 50%,可造成巨大的经济损失^[3]。

内生细菌在宿主植物中具有丰富的多样性,在与宿主植物长期协同进化的过程中形成了特殊的共生关系^[4-5]。因此人参内生菌资源的开发用于人参病害的生物防治,对环境保

护和人参质量的提高都有巨大意义。目前人参内生菌的报道多集中在内生菌分离和次生代谢产物的研究上,对植物病害的防治报道较少,人参内生菌这一重要的资源有待于开发。姜云等分离得到的人参内生菌对人参根腐病菌(*Fusarium solani*)等多种人参病原真菌具有明显的抑制作用^[6]。本试验通过对人参内生细菌 B69 菌株分泌液中代谢产物进行分离提取,以期明确 B69 菌株合成的抑菌活性成分组成情况及其抑菌活性的稳定性,为人参的病害防治奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 供试菌株 B69 由笔者所在课题组从人参根中分离得到,经刘学周等鉴定为死谷芽孢杆菌(*Bacillus vallismortis*)^[7]。活性指示菌根腐病病菌,由吉林农业大学农学院植物病理教研室提供。

1.1.2 供试培养基 供试细菌的保存和培养使用营养琼脂(NA)培养基;供试细菌液体发酵培养使用营养肉汤(NB)培

收稿日期:2017-12-22

基金项目:吉林省重点科技攻关项目(编号:20160204001YY)。

作者简介:林星辰(1992—),女,吉林辽源人,硕士研究生,研究方向为药用植物规范化生产与质量控制。E-mail: 905537901@qq.com。

通信作者:田义新,博士,教授,硕士生导师,研究方向为药用植物栽培育种。E-mail: y. x. tian2003@163.com。

[12] Godjevargova T, Ivanova D, Alexieva Z, et al. Biodegradation of toxic organic components from industrial phenol production waste waters by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57 [J]. Process Biochemistry, 2003, 38(6): 915-920.

[13] Lebeau T, Bagot D, Jézéquel K, et al. Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture [J]. Science of the Total Environment, 2002, 291(1): 73-83.

[14] 任宏洋,马伶俐,王 兵,等. 生物炭基固定化菌剂对石油类污染物的高效降解[J]. 环境工程学报, 2017, 11(11): 6177-6183.

[15] 胡小加,江木兰,张银波. 固定化植物促生菌的存活性研究[J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(3): 55-57.

[16] Blackburn N T, Seech A G, Trevors J T. Survival and transport of lac-lux marked *Pseudomonas fluorescens* strain in uncontaminated and chemically contaminated soils [J]. Systematic and Applied Microbiology, 1995, 17(4): 574-580.

[17] 张桂芝,廖 强,王永忠. 微生物固定化载体材料研究进展[J]. 材料导报, 2011, 25(17): 105-109.

[18] 郭丹钊,韩邦兴,顾凯华,等. 一种枯草芽孢杆菌及其在抗太子参叶斑病中的应: CN201510071402.5 [P]. 2015-02-11.

[19] 郭 玲,黄建华. 浅谈固定化细胞颗粒的机械强度[J]. 生物学教学, 2014, 39(10): 49-50.

[20] 李 婧. 以玉米秸秆吸附-包埋-交联的复合固定化方法固定微生物处理苤的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2012.

[21] 欧阳慧. 生防菌株 JY-1 对几种植物病原真菌和细菌的抑制作用[C]//中国植物病理学会 2017 年学术年会论文集, 2017.

[22] 池晓峰. 校正曲线法测定太子参中多糖的含量[J]. 海峡药学, 2009, 21(7): 102-103.

[23] 彭爱红,熊何健,颜宇航. 太子参总皂苷的含量测定方法研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2006, 29(6): 743-746.

[24] 张达正,刘 强,曹志强. 测定人参水分、总灰分、酸不溶性灰分含量的不确定度评估[J]. 人参研究, 2007, 19(2): 15-17.