

网络出版时间:2014-07-09 11:51 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.019
网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.019.html

生防芽孢杆菌的应用研究进展

叶晶晶¹,曹宁宁²,吴建梅¹,胡祚忠¹,张剑飞¹

(1 四川省农业科学院 蚕业研究所,四川 南充 637000;2 四川省南充蚕种场,四川 南充 637000)

[摘要] 作为一种理想的生防菌筛选对象,芽孢杆菌已引起人们的广泛关注。近年来,国内外对其各方面应用的研究日益增多。文章主要对芽孢杆菌的生防作用形式与机制、应用现状及存在的问题进行了综述,并对相关研究趋势进行了展望,以期进一步扩大其在新型生物农药研发中的应用前景。

[关键词] 芽孢杆菌;生物防治;拮抗作用;作用机制

[中图分类号] S476.8

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)08-0185-06

Research progress on application of biocontrol *Bacillus*

YE Jing-jing¹, CAO Ning-ning², WU Jian-mei¹, HU Zuo-zhong¹, ZHANG Jian-fei¹

(1 *Sericultural Research Institute, Sichuan Academy of Agriculture, Nanchong, Sichuan 637000, China;*

2 *Sichuan Province Nanchong Silkworm Farm, Nanchong, Sichuan 637000, China*)

Abstract: As one kind of ideal biocontrol screening object, *Bacillus* has aroused extensive attention. In recent years, the researches on the application of *Bacillus* are increasing at home and abroad. In this paper, we reviewed the biocontrol form and mechanism, application status, and existing problems of *Bacillus*. At last, the related research trends were prospected to extend its application in the research and development of new biological pesticides.

Key words: *Bacillus*; biological control; antagonizing effects; mechanism

化学防治在植物病虫害防治中一直发挥着重要作用,但长期大量地使用化学农药,则带来了环境污染、生态平衡被破坏等一系列严重问题。因此,探寻对人类和环境友好并具有良好防治效果的新型植物病虫害防治策略尤为重要。

自然界广泛存在的与植物病原微生物密切相关的拮抗微生物,是植物病害生物防治的一个重要组成部分,相关研究始于 1921 年的利用真菌防治猝倒病(*Pythium debaryanum*, damping-off)^[1],之后寻找有益微生物防治植物病害便成为新型生物农药研究的一个重要方向。生物农药既可避免农药残留对

人畜的危害,又能促进农业的可持续发展。作为具有生防应用价值的拮抗菌之一,芽孢杆菌(*Bacillus*)因培养周期短、生产方便而日益成为生防菌的优势菌源^[2]。芽孢杆菌是一类产芽孢的革兰氏阳性细菌,好氧或兼性厌氧生活,能够产生耐热、耐旱、抗紫外线和抗有机溶剂的内生孢子,所产芽孢可制成粉剂、可湿性粉剂等各种剂型,且与化学农药混用后不失活,是理想的生防菌筛选对象^[3]。已报道的生防芽孢杆菌有枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、多粘芽孢杆菌(*B. polymyxa*)、蜡状芽孢杆菌(*B. cereus*)、蕈状菌变种(*B. cereus* var. *mycoides*)、巨大芽孢杆菌

[收稿日期] 2013-06-03

[基金项目] 四川省农业科学院提升项目青年基金(2013QNJJ-019);科技部星火项目(2011GA810011);四川省科技厅科技支撑项目(2011NZ0020);农业部国家蚕桑产业技术体系养蚕设施与机械岗位项目(CARS-22-ZJ0401)

[作者简介] 叶晶晶(1984—),女,山东德州人,助理研究员,硕士,主要从事生物技术及综合利用研究。

E-mail: yjjsuccess2008@163.com

[通信作者] 张剑飞(1974—),男,四川南充人,副研究员,硕士,主要从事省力化养蚕机械与设施研究。E-mail: 783890694@qq.com

(*B. megaterium*)和短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)等。本文主要从芽孢杆菌的生防作用机制、应用现状及存在问题等方面进行综述,并对相关研究趋势进行了展望,以期进一步扩大芽孢杆菌在新型农药研发中的应用。

1 芽孢杆菌的生防作用形式及机制

芽孢杆菌的生防作用主要有拮抗作用、竞争作用、诱导抗性和促生作用等几种形式,其对植物病原菌的抑制并非由某一种形式发挥作用,而是 2 种或多种形式协同作用的结果^[4]。

1.1 拮抗作用

拮抗作用是指一种微生物产生的物质抑制或杀死另一种微生物的作用^[5]。芽孢杆菌种类繁多,可产生多种不同的代谢产物,如细菌素、酶类、脂肽等,对病原微生物均可表现出拮抗作用。

1.1.1 细菌素的作用 芽孢杆菌能产生细菌素 Subtilin 和 Subtilosin,属于抗菌肽类。Foldes 等^[6]从谷类的根际分离到 1 株枯草芽孢杆菌 IFS201,其对食品腐败病原菌中的霉菌、酵母、细菌都有一定的抑制作用。

1.1.2 酶类及蛋白类抑菌物质的作用 芽孢杆菌在生长代谢过程中会分泌一些抑制植物病原物的酶类或活性蛋白,具有很好的生防作用。结构不同的抗菌物质抑菌机理也不同,而某些菌株分泌的多种结构相似的抗菌物质则会表现出协同的抑菌效果^[7]。芽孢杆菌所产生的酶类主要包括溶菌酶^[8]、氨基酸转移酶^[9]、酰胺酶^[10]、纤溶酶^[11]和氧化酶(β -琼脂糖酶、NADH 氧化酶)^[12-13]等,这些酶可以抑制病原菌的生长;Avinash 等^[14]和 Alya 等^[15]分别对 2 种蜡状芽孢杆菌的代谢产物青霉素酰基转移酶和多糖水解蛋白酶进行了研究,证明这些酶类通过抑制、降解或水解其他的病原体,起到生物防治的作用;邢介师等^[16]研究发现,分离纯化的枯草芽孢杆菌 T2 所产生的蛋白酶,对棉花枯萎病菌菌丝生长具有抑制作用,推测可能是蛋白酶降解了枯萎病菌细胞壁中的蛋白质,造成细胞壁缺损,在膨压的作用下使菌体发生了变形。

抗菌蛋白对植物病原菌的抑制作用机制包括抑制病原菌孢子的产生和萌发,导致菌丝畸形、细胞壁溶解和原生质泄漏等。马桂珍等^[17]从多粘类芽孢杆菌 L1-9 菌株发酵液中分离纯化出一种对金黄色葡萄球菌和小麦蠕孢病菌的菌丝生长及孢子萌发具有抑制作用的抗菌蛋白,分子质量约为 31 ku;王笑

颖等^[18]研究发现,大丽轮枝菌拮抗细菌多粘芽孢杆菌 7-4 菌株所产生的抑菌物质均为蛋白(或多肽);李晶等^[19]从枯草芽孢杆菌 B29 菌株的发酵上清液中分离纯化得到抗菌蛋白 B29I,分子质量约为 42.30 ku,该蛋白可使黄瓜枯萎病菌孢子的萌发时间推迟,并可强烈抑制芽管伸长。

1.1.3 脂肽类物质的作用 在植物病害的生物防治中,由芽孢杆菌代谢产生的具有抗菌活性的脂肽类物质起到了重要作用,这类物质主要分为 3 大家族:表面活性素(surfactins)、伊枯草菌素(iturins)和丰宁素 A、B(fengycins)^[20];另外,还有环肽抗生素如枯草芽孢杆菌 TG226 产生的一种新的抗真菌小肽 LP1^[21]。脂肽类抗生素的作用原理是其对细胞膜结构特性的影响,通过改变细胞膜通透性抑制病原菌的生长^[22],其中表面活性素还具有抗病毒^[23]、抗真菌^[24]和抗菌活性,逐渐受到工业、生物技术和医疗应用方面的关注。陈华等^[25]从枯草芽孢杆菌 JA 发酵液中分离出丰宁素,体外抗菌试验表明,该物质能够抑制多种重要植物病原真菌的生长;张桂英等^[26]通过研究拮抗菌对甘蔗黑穗病菌的拮抗作用发现,其抗菌作用机制与伊枯草菌素的产生有关;黄曦等^[27]研究发现,由枯草芽孢杆菌 ON-6 代谢产生的脂肽类物质对荔枝炭疽菌具有抑制效果;Yanez Mendizabal 等^[28]研究发现,由枯草芽孢杆菌 CPA-8 代谢所产生的类丰宁素家族的脂肽对桃褐腐病菌也具有显著的拮抗作用。

1.2 竞争作用

近年来,随着分子生物学和生化分析技术的发展,一些新技术和仪器被用于竞争作用的研究,如扫描电镜观察、荧光标记、ELISA、PCR 等。竞争作用是生防微生物发挥作用的重要机制之一。芽孢杆菌的竞争作用主要包括营养竞争和空间位点竞争,而且以空间位点竞争为主,主要作用方式为在植物根际、体表或体内及土壤中定殖。何红等^[29]研究表明,枯草芽孢杆菌 BS22 和 BS21 菌株可通过浸种、灌根和涂叶等接种方法进入番茄等多种非自然宿主植物体内定殖;Bacon 等^[30]分离的玉米内生枯草芽孢杆菌与玉米病原真菌串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme*)有相同的生态位,枯草芽孢杆菌能在玉米体内迅速定殖和繁殖,可有效降低串珠镰孢菌及其毒素的积累;郭荣君等^[31]利用营养竞争平板筛选法,筛选到 2 株可完全抑制尖孢镰刀菌(*Fusarium monoxysporum*)和茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)菌丝生长的枯草芽孢杆菌菌株,对真叶期大豆根腐病有

很好的防治效果,并能提高大豆产量;曹君等^[32]研究发现,枯草芽孢杆菌 BS 菌株活菌液对棉花枯萎病的抑菌率在 70% 以上,而菌株代谢液的抑菌率较低,说明 BS 菌株对棉花枯萎病的作用主要通过营养竞争的方式实现;黎起秦等^[33]研究发现,枯草芽孢杆菌 B47 菌株主要在番茄维管束中定殖,从而抑制番茄内生病菌的生长;Timmusk 等^[34]在研究多粘类芽孢杆菌 B1 和 B2 时发现,菌株在拟南芥根部细胞间隙定殖,并形成生物保护膜,有效地防止了拟南芥病害菌的侵入,粘类芽孢杆菌 MB02-1007^[35]、GBR-462^[36]和 B5^[37]亦是通过这种机制来有效防治植物病害的。

1.3 诱导抗性作用

诱导植物产生抗性是生防细菌发挥生防作用的一个重要方面。芽孢杆菌不但能直接抑制植物病原菌,而且能通过诱发植物自身的抗病潜能而增强植物的抗病性。FZB24(r)可产生与植物抗性蛋白合成基因表达相关的信号蛋白来诱导植物产生抗性,也可通过分泌相关蛋白如丝氨酸专性肽链内切酶直接诱导植物产生抗性^[38]。李德全等^[39]通过对生防菌 Bs2916 进行诱变,筛选到 4 株拮抗性提高 15% 以上的菌株(与未诱变的 Bs2916de 抗性相比),而且 Bs2916 及其突变菌株分泌的活性物质对水稻具有诱导抗性作用,使得水稻植株体内的过氧化物酶、多酚氧化酶和超氧化物歧化酶 3 种酶的活性增强。

1.4 促生作用

在植物根际生活、可刺激植物生长和抑制植物病原菌的细菌群,被称作促进植物生长根际细菌(PGPR)。部分芽孢杆菌即属于促进植物生长根际细菌,可通过自身合成多种不同的生长激素来促进植物的生长,且在极低浓度下就可产生明显的生理效应并影响植物的生长态势,从而起到防止病害发生的作用。

芽孢杆菌合成的生长激素类物质主要有生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸和吲哚乙酸等^[40-42]。Faltin 等^[43]建立了筛选对立枯丝核菌有抗性作用并可产生吲哚乙酸的植物有益菌的平板微孔法,用这种方法发现,有益菌分泌的植物激素可以明显促进莴苣叶片伸长;张霞等^[44]在试验中发现,添加枯草芽孢杆菌 B931 后,甘薯苗的发根数和根长均显著增加;蔡学清等^[45]对辣椒内生枯草芽孢杆菌 BS-2 的研究证明,BS-2 对辣椒苗有明显的促生作用,而且可诱导辣椒体内吲哚乙酸等促生长激素的生成,并可降低脱落酸等抑制植物生长激素的含量。

2 芽孢杆菌的生防应用现状

芽孢杆菌作为防治植物病害的生防因子之一,从 20 世纪 80 年代起,一些优良的生防菌株便已进入工厂化生产,并开始较大规模地在田间推广应用,其中以研发的枯草芽孢杆菌制剂尤为突出。

2.1 应用成果

目前已有许多优良的芽孢杆菌菌株应用于生产实践。美国已有 4 株芽孢杆菌生防菌株(QST713、GB03、MBI600 和 FZB24)得到了美国环保署(EPA)商品化或有限商品化生产应用许可;国内利用芽孢杆菌防治植物病害的应用研究也达到了世界先进水平,现已开发成功并投入生产的商品制剂有亚宝、百抗、麦丰宁、纹曲宁等。

2.2 存在问题

2.2.1 生防效果不稳定 在生态系统中引入生防菌,其能否适应被引入的生态环境,能否在受病原菌侵染的植物上定殖并稳定增殖,以及其与相应病原物的竞争,成为了防治病害的关键。同时,拮抗菌生防效果受到生态适应性、环境抗逆性以及作用时间等的限制,使得芽孢杆菌生长不稳定,分泌的有效杀菌物质被降解,因此防治效果不稳定。

2.2.2 有益微生物的局限性 有益微生物一般生活在特定的环境(包括土壤类型、温度、pH 及土壤生态系统等)中。因此,应解决生防菌对环境适应性较窄,且有的菌株对农药反应敏感、抗病谱窄等问题。

2.2.3 拮抗和促生作用结合较难 拮抗作用是衡量生防效果的重要指标之一。试验证明,在许多植株的根际或叶面存在对植株有促生作用的微生物^[46],而如何使拮抗和促生效果有机结合,仍是生防研究的难题。

2.3 解决方法

鉴于以上问题,建议从以下几个方面进行解决:

(1)与化学农药配合使用。施用农药可帮助芽孢杆菌克服定殖过程中与其他微生物群落的竞争,形成优势种群,同时发挥化学药剂抑菌迅速、防效稳定的优势,通过协同作用达到优势互补、用量减少、防效增强的目的^[47]。

(2)对有益微生物进行改造。采用基因工程、诱变育种的方法,对有益微生物进行改造,获得营养竞争能力强、抗菌物质产量高、生长速度快、适应性强的理想生防工程菌株,这也是生防菌应用领域的研究重点^[48]。目前,通过遗传改良构建的工程菌兼具杀虫、防病等作用,且遗传性状稳定^[49-52]。

(3)与其他拮抗微生物协同互作。通过互作实现多种抗菌功能互补、多种病害兼防、作用持久的协同控病效果^[53],如将没有拮抗、寄生、溶解或竞争等互斥关系的 2 种以上的拮抗微生物混合,有利于混合菌株对植物不同部位的空间进行全面占领;同时由于混合菌剂能适应不同的环境条件,可在更大的光、温、气、湿度变幅内生生存繁衍,可以更好地发挥菌株的协同控病效果。

3 展 望

利用拮抗微生物防治植物病害是当今植物病理学界十分活跃的研究领域之一。实践证明,引入对病原菌有拮抗作用的微生物防治植物病害,是一种经济有效且无副作用的防治途径。芽孢杆菌微生物杀菌剂具有对人畜安全、无污染、不易产生抗药性、高效广谱、促进作物生长等优点,因而更符合现代社会对农业生产及有害生物综合防治的要求和农业的可持续发展战略目标,同时有较强的市场竞争力和良好的经济效益,能产生巨大的经济、社会和生态效益,将会有无限的应用前景。因此,在农业生物技术领域,如何运用芽孢杆菌来防治植物病害已成为一个备受关注的热点^[54]。

目前,对芽孢杆菌抗菌作用的分子机制、拮抗基因的克隆及其表达调控、诱导抗性的生理及分子机制等研究已经积累了丰富的资料,这对于指导利用芽孢杆菌开发生防菌剂具有重要的理论意义和生产价值。随着基因组学、蛋白质组学、转录组测序等新兴技术的发展及先进仪器设备的出现,今后将会开发出更多的新型高效生防制剂。

[参考文献]

[1] Adhikari T B, Joseph C M, Yang G, et al. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seeding disease of rice [J]. Microbio, 2001, 47: 916-924.

[2] 易 龙, 张 亚, 廖晓兰, 等. 蜡状芽孢杆菌次生代谢产物的研究进展 [J]. 农药, 2013, 52(3): 162-164.

Yi L, Zhang Y, Liao X L, et al. Advances in secondary metabolite produced by *Bacillus cereus* [J]. Agrochemicals, 2013, 52(3): 162-164. (in Chinese)

[3] 郭兴华. 益生菌基础与应用 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2002: 116-118.

Guo X H. Foundation and application of probiotics [M]. Beijing: Science and Technology Press, 2002: 116-118. (in Chinese)

[4] Hill D S, Stein J I, Torkewitz N R, et al. Cloning of genes in-

volved in the synthesis of pyrrolnitrin from *Pseudomonas fluorescens* and role of pyrrolnitrin synthesis in biological control of plant disease [J]. Appl Environ Micro, 1994, 60(1): 78-85.

[5] Melin P, Sundh I, Kansson S, et al. Biological preservation of plant derived animal feed with antifungal microorganisms; Safety and formulation aspects [J]. Biotechnology Letters, 2007, 29(8): 1147-1154.

[6] Foldes T, Banhegyi I, Heroai Z, et al. Isolation of *Bacillus* strains from the rhizosphere of cereals and *in vitro* screening for antagonism against phytopathogenic, foodborne pathogenic and spoilage microorganisms [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 89(5): 840-846.

[7] Maget-Dana R, Thimon L, Peypoux F, et al. Surfactin/iturin A interactions may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A [J]. Biochimie, 1992, 74(12): 1047-1051.

[8] Nakamura N, Nakano K, Sugiura N, et al. A novel cyanobacteriolytic *Bacterium*, *Bacillus cereus*, isolated from a Eutrophic lake [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003, 95(2): 179-184.

[9] 王 晶, 李江华, 房 峻. 转氨酶产生菌的筛选鉴定及其摇瓶发酵条件的优化 [J]. 微生物学通报, 2008, 35(9): 1341-1347.

Wang J, Li J H, Fang J. Screening, identification and fermentation optimization of amino transferase-producing strain [J]. Microbiology China, 2008, 35(9): 1341-1347. (in Chinese)

[10] 张俊伟, 郑裕国, 沈寅初. 蜡状芽孢杆菌 ZJB-07112 酰胺酶的分离纯化及其酶学性质 [J]. 化工学报, 2008, 59(3): 624-629.

Zhang J W, Zheng Y G, Shen Y C. Purification and characterization of amidase from *Bacillus cereus* ZJB-07112 [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering (China), 2008, 59(3): 624-629. (in Chinese)

[11] 袁洪水, 张爱莲, 辛 欣, 等. 蜡状芽孢杆菌菌株纤溶酶的酶学性质 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2008, 28(3): 305-311.

Yuan H S, Zhang A L, Xin X, et al. Characterization of fibrinolytic enzyme from *Bacillus cereus* Bc-05 [J]. Journal of Hebei University: Natural Science Edition, 2008, 28(3): 305-311. (in Chinese)

[12] Nair S U, Singhal R S, Kamat M Y, et al. Induction of pullulanase production in *Bacillus cereus* FDTA-13 [J]. Bioresource Technology, 2007, 98(4): 856-859.

[13] Wang L, Chong H Q, Jiang R R. Comparison of alkyl hydroperoxide reductase and two water-forming NADH oxidases from *Bacillus cereus* ATCC 14579 [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 96(3): 1265-1273.

[14] Avinash V S, Atul K, Naik N, et al. Characterization of a new *Bacillus cereus* ATUAVP1846 strain producing Penicillin V acylase, and optimization of fermentation parameters [J]. Ann Microbiol, 2011, 10: 219-226.

[15] Alya S K, Ghorbel-Frikha B, Haddar A, et al. Enhanced *Bacillus cereus* BG1 protease production by the use of sardinelle (*Sardinella aurita*) powder [J]. Ann Microbiol, 2011, 61: 273-280.

- [16] 邢介帅,李 然,赵 蕾,等.生防芽孢杆菌 T2 胞外蛋白酶的纯化及其抗真菌作用 [J]. 植物病理学报,2008,38(4):377-381.
- Xing J S,Li R,Zhao L,et al. Purification, characterization and antagonism of an extracellular protease from *Bacillus subtilis* strain T2 [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2008,38(4):377-381. (in Chinese)
- [17] 马桂珍,王淑芳,暴增海,等.海洋多粘类芽孢杆菌 L1-9 菌株抗菌蛋白的分离纯化及其抗菌作用 [J]. 食品科学,2010,31(17):335-339.
- Ma G Z,Wang S F,Bao Z H,et al. Isolation, purification and biological activity assessment of an antimicrobial protein from marine *Paenibacillus polymyxa* strain L1-9 [J]. Food Science,2010,31(17):335-339. (in Chinese)
- [18] 王笑颖,孟成生,雷白时.大丽轮枝菌拮抗细菌多粘芽孢杆菌 7-4 菌株的筛选与鉴定 [J]. 湖北农业科学,2011,50(9):1797-1799,1825.
- Wang X Y,Meng C S,Lei B S. Screening and identification of antagonistic *Bacterium* strain 7-4 against *Verticillium dahliae* [J]. Hubei Agricultural Sciences,2011,50(9):1797-1799,1825. (in Chinese).
- [19] 李 晶,杨 谦,赵丽华,等.生防枯草芽孢杆菌 B29 菌株抗菌物质的初步研究 [J]. 中国生物工程杂志,2008,28(2):59-65.
- Li J,Yang Q,Zhao L H,et al. Antifungal substance from biocontrol *Bacillus subtilis* B29 strain [J]. China Biotechnology,2008,28(2):59-65. (in Chinese)
- [20] Ongena M,Jacques P. Bacillus lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol [J]. Trends in Microbiology,2008,16(3):115-125.
- [21] 刘 颖,徐 庆,陈章良.抗真菌肽 LP1 的分离纯化及特性分析 [J]. 微生物学报,1999,39(5):441-447.
- Liu Y,Xu Q,Chen Z L. Purification and characterization of antifungal peptidelp 1 [J]. Acta Microbiologica Sinica,1999,39(5):441-447. (in Chinese)
- [22] Deleu M,Paquot M,Lander N. Fengycin interaction with lipid monolayers at the airaqueous interface implications for the effect of fengycin on biological membranes [J]. Journal of Colloid and Interface Science,2005,283(2):358-365.
- [23] 赵秀香,吴元华.枯草芽孢杆菌 SN-02 代谢物的抗病毒活性、表面活性剂特性及其化学成分分析 [J]. 农业生物技术学报,2007,15(1):124-128.
- Zhao X X,Wu Y H. Antiphytoviral activity and surfactant property of metabolic product of *Bacillus subtilis* SN-02 and its chemical compoment analysis [J]. Journal of Agricultural Biotechnology,2007,15(1):124-128. (in Chinese)
- [24] Wiehita L,Punpen H,Samerchail C. Growth in inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit [J]. Postharvest Biology and Technology,2008,48(1):113-121.
- [25] 陈 华,袁成凌,蔡克周,等.枯草芽孢杆菌 JA 产生的脂肽类抗生素——iturin A 的纯化及电喷雾质谱鉴定 [J]. 微生物学报,2008,48(1):116-120.
- Chen H,Yuan C L,Cai K Z,et al. Purification and identification of iturin A from *Bacillus subtilis* JA by electrospray ionization mass spectrometry [J]. Acta Microbiologica Sinica,2008,48(1):116-120. (in Chinese)
- [26] 张桂英,廖咏梅,张君成.甘蔗黑穗病菌拮抗性芽孢杆菌的抗菌作用与伊枯草菌素 A 的产生有关 [J]. 广西科学,2004,2(3):272-296.
- Zhang G Y,Liao Y M,Zhang J C. The antifungal mechanism of antagonistic *Bacillus subtilis* to ustilago scitaminea is related to iturin A producing [J]. Guangxi Sciences,2004,2(3):272-296. (in Chinese)
- [27] 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.
- Huang X,Zhang R C,Wang H J,et al. Antagonistic ability against lichi collettrichum gloeosporiodes penz of crude extract of *Bacillus subtilis* ON-6 [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2011,27(13):188-193. (in Chinese)
- [28] Yanez Mendizabal V,Zerriouh H,Vinas I,et al. Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides [J]. European Journal of Plant Pathology,2012,132(4):609-619.
- [29] 何 红,邱思鑫,蔡学清,等.辣椒内生细菌 BS21 和 BS22 在植物体内的定殖及鉴定 [J]. 微生物学报,2004,44(1):13-18.
- He H,Qiu S X,Cai X Q,et al. Colonization in plants and identification of endophytic *Bacteria* BS-1 and BS-2 from *Capsicum annuum* [J]. Acta Microbiologica Sinica,2004,44(1):13-18. (in Chinese)
- [30] Bacon C W,Yates I E,Hinyon D M,et al. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize [J]. Environmental Health Perspectives,2001,109(Suppl. 2):325-332.
- [31] 郭荣君,李世东,张 晶,等.基于营养竞争原理的大豆根腐病生防芽孢杆菌的筛选及其特性研究 [J]. 植物病理学报,2010,40(3):307-314.
- Guo R J,Li S D,Zhang J,et al. Characterization of *Bacillus strains* screened via nutritional competition for biocontrol of soybean root rot disease [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2010,40(3):307-314. (in Chinese)
- [32] 曹 君,高智谋,潘月敏,等.枯草芽孢杆菌 BS 菌株和哈茨木霉 TH-1 菌株对棉花枯黄萎病的拮抗作用 [J]. 植物病理学报,2005,36(6):170-172.
- Cao J,Gao Z M,Pan Y M,et al. Inhibition of *Bacillus subtilis* BS and trichoderma harzianum TH-1 against the pathogens of *Verticillium* wilt and *Fusarium* wilt of cotton [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2005,36(6):170-172. (in Chinese)
- [33] 黎起秦,叶云峰,王 涛,等.内生枯草芽孢杆菌 B47 菌株入侵番茄的途径及其定殖部位 [J]. 中国生物防治,2008,24(2):133-137.
- Li Q Q,Ye Y F,Wang T,et al. Entrance of endophytic *Bacillus subtilis* strain B47 into tomato plant and its colonization

- inside the plant [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2008, 24(2): 133-137. (in Chinese)
- [34] Timmusk S, Grantcharova N, Wagner E. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 7292-7300.
- [35] Li B, Yu R R, Tang Q M, et al. Biofilm formation ability of *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus macerans* and their inhibitory effect against tomato bacterial wilt [J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5(25): 4260-4266.
- [36] Kim S G, Khan Z, Jeon Y H, et al. Inhibitory effect of *Paenibacillus polymyxa* GBR-462 on *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in chili pepper [J]. Journal of Phytopathology, 2009, 157(6): 329-337.
- [37] Haggag W M, Timmusk S. Colonization of peanut roots by biofilm-forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 104(4): 961-969.
- [38] Killian U, Steiner B, Krebs, et al. FZB24(r) *Bacillus subtilis* mode of section of a microbial agent enhancing plant vitality [J]. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 2010(1): 72-93.
- [39] 李德全, 陈志谊, 聂亚峰. 生防菌 Bs-916 及高效突变菌株抗菌物质及其对水稻抗性诱导作用的研究 [J]. 植物病理学报, 2008, 38(2): 192-198.
- Li D Q, Chen Z Y, Nie Y F. Antifungal substances produced by a high-yielding mutant of Bs-916 and their effects inducing-resistance on rice plant [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2008, 38(2): 192-198. (in Chinese)
- [40] Karadeniz A, Topcuoglu S F, Inan S. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2006, 22(10): 1061-1064.
- [41] Hamdache A, Lamarti A, Aleu J, et al. Non-peptide metabolites from the genus *Bacillus* [J]. Journal of Natural Products, 2011, 74(4): 893-899.
- [42] Gamalero E, Glick B R. Mechanisms used by plant growth promoting bacteria [M]//Maheshwari D K. Bacteria in agrobiology: Plant nutrient management. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011: 17.
- [43] Faltin F, Lottmann J, Grosch R, et al. Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(10): 811-820.
- [44] 张霞, 唐文华, 张力群. 枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用 [J]. 作物学报, 2007, 33(2): 236-241.
- Zhang X, Tang W H, Zhang L Q. Biological control of plant diseases and plant growth promotion by *Bacillus subtilis* B931 [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(2): 236-241. (in Chinese)
- [45] 蔡学清, 何红, 胡方平. 内生菌 BS-2 对辣椒苗的促生作用及对内源激素的影响 [J]. 亚热带农业研究, 2005, 1(4): 49-52.
- Cai X Q, He H, Hu F P. The effects of endophytic BS-2(*Bacillus subtilis*) on growth and internal phytohormone of capsicum [J]. Subtropical Agriculture Research, 2005, 1(4): 49-52. (in Chinese)
- [46] 刘方春, 荆尚军, 马海林, 等. 根际促生细菌(PGPR)对冬枣根际土壤微生物数量及细菌多样性影响 [J]. 林业科学, 2013, 49(8): 75-80.
- Liu F C, Xing S J, Ma H L, et al. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the microorganism population and bacterial diversity in *Ziziphus jujuba* rhizosphere soil [J]. Scientia silvae Sinicae, 2013, 49(8): 75-80.
- [47] Liu Y Z, Chen Z Y, Wang K R, et al. Enhancing bioefficacy of *Bacillus subtilis* with sodium bicarbonate for the control ring rot in pear during storage [J]. Biological Control, 2011, 57(2): 110-117.
- [48] Leenders F, Stein T H, Kablitz B, et al. Rapid typing of *Bacillus subtilis* strains by their secondary metabolites using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of intact cells [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1999, 13: 943-949.
- [49] 陈中义, 吴限, 管宇, 等. 荧光假单胞菌工程菌田间残留和扩散的追踪检测 [J]. 应用环境生物学报, 2002, 8(1): 83-86.
- Chen Z Y, Wu X, Guan Y, et al. Biosafety detection of the remnants and diffuse of engineered *Pseudomonas fluorescens* strains in small scale field test [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2002, 8(1): 83-86. (in Chinese)
- [50] 陈中义, 张杰, 草景萍, 等. 杀虫防病遗传工程枯草芽孢杆菌的构建 [J]. 生物工程学报, 1999, 15(2): 215-220.
- Chen Z Y, Zhang J, Cao J P, et al. Construction of insecticidal and genetic engineering of *Bacillus subtilis* [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 1999, 15(2): 215-220. (in Chinese)
- [51] 高学文, 姚仕义, Huang P, 等. 基因工程枯草芽孢杆菌 GEB3 产生的脂肽类抗生素及其生物活性研究 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(12): 1496-1501.
- Gao X W, Yao S Y, Huang P, et al. Lipopeptide antibiotics produced by the engineered strain *Bacillus subtilis* GEB3 and detection of its bioactivity [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(12): 1496-1501. (in Chinese)
- [52] Tang W H. Advances in biological control of plant diseases proceeding of international workshop on biological control of plant diseases [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1996.
- [53] 陈志谊, 刘邈洲, 刘永峰, 等. 拮抗细菌菌株之间的互作关系及其对生物防治效果的影响 [J]. 植物病理学报, 2005, 35(6): 539-544.
- Chen Z Y, Liu Y Z, Liu Y F, et al. Compatibility between antagonistic bacterial strains and biocontrol efficacy by different bacterial combinations against *Fusarium* wilt of vegetables [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2005, 35(6): 539-544. (in Chinese)
- [54] Pérez-García A, Romero D, Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2011, 22(2): 187-193.