

乔俊卿, 陈志谊, 梁雪杰, 等. 枯草芽孢杆菌 Bs916 在番茄根部的定殖[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(6): 1278-1283.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.06.013

枯草芽孢杆菌 Bs916 在番茄根部的定殖

乔俊卿, 陈志谊, 梁雪杰, 刘永锋, 刘卹洲
(江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了明确生防枯草芽孢杆菌 Bs916 在番茄根部的定殖能力, 本研究基于 Bs916 全基因组数据, 分析了 Bs916 中参与生物膜形成的关键编码基因簇, 研究了 Bs916 及其绿色荧光蛋白(GFP)标记菌株 Bs916G 抑制番茄青枯菌的能力和生物膜形成能力, 并采用植物 MS 平板定殖研究法和温室盆栽试验评估了 Bs916 在番茄根部的定殖能力和规律。全基因组分析结果表明, 枯草芽孢杆菌 Bs916 拥有完整的生物膜形成关键基因(簇), 包括胞外多糖(EPS)合成酶编码基因簇、TasA 蛋白和 γ -多聚谷氨酸聚合酶编码基因簇, 其大小分别为 15 715 bp、786 bp 和 4 369 bp, 与已报道的相关氨基酸序列同源性达 96%~100%。室内试验显示, GFP 标记菌株 Bs916G 具有和野生菌株相同的抑制番茄青枯菌的能力和生物膜形成能力。在 MS 平板试验中, Bs916 在番茄根部的定殖量可达 3.1×10^7 CFU/g。盆栽试验结果显示, 在常规土壤或接种青枯菌处理中, Bs916 在番茄根部的定殖数量都呈现先下降后上升, 最后趋于稳定的趋势。表明, 枯草芽孢杆菌 Bs916 可以在番茄根部有效定殖, 这为其在田间防治番茄青枯病提供重要保障。

关键词: 枯草芽孢杆菌 Bs916; 番茄; 生物膜; 番茄青枯菌; 根部定殖

中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)06-1278-06

Colonization of *Bacillus subtilis* Bs916 on tomato root

QIAO Jun-qing, CHEN Zhi-yi, LIANG Xue-jie, LIU Yong-feng, LIU You-zhou
(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: In order to identify the colonization ability of *Bacillus subtilis* Bs916 on tomato root, the biofilm formation key gene clusters were characterized and analyzed, the biofilm formation and antagonistic activity of green fluorescent protein (GFP)-labelled strain Bs916G were studied, and the colonization of Bs916 was evaluated by petri dish and pot experiments. The results showed that all three key gene clusters existed in *B. subtilis* Bs916 genome, which were responsible for the synthesis of biofilm main constituents, exopolysaccharide (EPS), TasA protein and γ -Polyglutamic acid (PGA). The gene clusters were 15 715 bp (*eps*), 786 bp (*tasA*) and 4 369 bp (*PGA*) in sizes. Lab work revealed that GFP-labelled strain Bs916G and wild type had similar biofilm-forming ability and antagonistic effects on *Ralstonia solanacearum*. The amount of Bs916 colonized on tomato root was up to 3.1×10^7 CFU/g in MS plate. The amount of Bs916 colonized on the to-

mato root cultured in pot fell before rising to 10^7 CFU/ml with or without inoculation of *R. solanacearum*. In conclusion, *B. subtilis* Bs916 has an efficient colonization in the tomato rhizosphere, which was considered the prerequisite for field application of Bs916 in controlling tomato soil-borne diseases.

Key words: *Bacillus subtilis* Bs916; tomato; biofilm; *Ralstonia solanacearum*; root colonization

收稿日期: 2015-05-29

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(13)5028]; 国家自然科学基金青年科学基金项目(31201556); 江苏省自然科学基金青年科学基金项目(BK2012373)

作者简介: 乔俊卿(1984-), 男, 山西大同人, 博士, 副研究员, 主要从事植物病害及生物防治研究。(Tel) 025-84390230; (E-mail) junqingqiao@hotmail.com

通讯作者: 刘卹洲, (Tel) 025-84390228; (E-mail) shitouren88888@163.com

枯草芽孢杆菌可产生强抗逆性的内生芽孢,其抑菌谱广,对多种植物病害具有良好防效,且对植物具有促生作用。已有研究表明,芽孢杆菌防治植物病害的机制主要有:与病原菌竞争营养和生态位点、分泌抗菌物质抑制病原菌的生长和激发植物诱导系统抗性^[1]。然而,生防菌防治植物病害的先决条件是其引进位点能够有效定殖^[2-3]。因此,生防菌的定殖能力及动态规律研究已经成为生防微生物筛选、研发的重要参考指标。

生防菌在植物根际的有效定殖具有以下特征:能够吸附在植物根表面;能够在生长的植物根系上定殖;能够利用种子或根系泌出液为营养繁殖扩展^[4]。生防芽孢杆菌通常以生物膜的形式定殖于植物根际。生物膜可以提高生防菌的生存竞争力,帮助其抵抗抗生素等环境压力,逃避原生动物的捕食;生物膜还能维持生防菌在植物根部的定殖数量,从而提高细菌分泌的胞外酶和抗生素的浓度,使其达到有效浓度,保证生防菌发挥正常的生防和促生作用^[5]。芽孢杆菌生物膜主成分是胞外多糖、TasA 蛋白、多聚谷氨酸以及一些 DNA 等物质^[6]。因此,生物膜的主成分是影响芽孢杆菌在植物根际定殖的重要因子。

江苏省农业科学院植物保护研究所水稻病害与生防研究室经过长期研究,积累了大量的生防菌株资源,并开发了相关产品,如防治水稻纹枯病的生物制剂“纹曲宁”^[7-9]和防治水稻细菌性病害的“叶斑宁”等^[10-11]。研究表明,枯草芽孢杆菌 Bs916 (纹曲宁主要活性成分)对多种植物病原真菌和细菌都具有抑制作用;全基因组测序和质谱检测显示,Bs916 可产生多种脂肽类和聚酮类抗生素,如表面活性素、杆菌霉素 L 等^[12-14]。本研究拟在 Bs916 全基因组测序平台和其抑制番茄青枯病菌的基础上,进一步分析 Bs916 生物膜形成的关键基因,研究其生物膜形成能力,并采用植物 MS 平板定殖研究法和温室盆栽试验评估 Bs916 在番茄根部的定殖能力和规律,旨在为芽孢杆菌 Bs916 防治番茄青枯病的田间应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验用病原菌番茄青枯菌 (*Ralstonia solanacearum*, RSQ) 和生防菌 (*Bacillus subtilis* Bs916)

及其绿色荧光蛋白 (GFP) 标记菌株 Bs916G 均由江苏省农业科学院植物保护研究所水稻病害与生防研究室保存。枯草芽孢杆菌活化和发酵均用改良酵母膏蛋白胨葡萄糖 (Yeast peptone glucose, YPG) 培养基 (酵母膏 5 g、胰蛋白胨 5 g、葡萄糖 5 g、pH 7.0~7.2, 固体培养基需加琼脂 15 g)。菌株 Bs916G 由姚震声^[15]构建,其抗生素使用浓度为:氯霉素 (Cm), 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。番茄青枯病菌用营养琼脂 (Nutrient agar, NA) 培养基 (牛肉浸膏 3 g、酵母膏 1 g、蛋白胨 5 g、葡萄糖 10 g、蒸馏水 1 000 ml, 固体培养基需加琼脂 15 g) 活化培养。试验所用番茄品种为巨粉宝,枯草芽孢杆菌在无菌番茄根部定殖试验采用植物普通组培 (Murashige and skoog, MS) 培养基 (购自荷兰 Duchefa Biochemie 公司)^[16]。

1.2 平板对峙试验

将枯草芽孢杆菌 Bs916 和 Bs916G 在 YPG 固体平板活化,挑取单菌落入 YPG 液体培养基发酵,33 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 振荡培养 48 h (菌含量: 2×10^9 CFU/ml)。番茄青枯病菌在 NA 固体培养基上活化,移入 50 ml NA 培养液中,28 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 振荡培养 24 h,吸取青枯菌液涂布空白 NA 平板 (0.2 ml 菌液/平板,青枯菌含量: 1×10^8 CFU/ml)。NA 平板四周呈十字架型打 4 个直径 5 mm 的小孔 (离培养皿中心距离约为 30 mm),每孔上滴入生防菌液 5 μl 。每处理重复 3 皿。28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 2 d 后,调查抑菌圈直径。

1.3 芽孢杆菌生物膜形成能力检测

芽孢杆菌 Bs916 和 Bs916G 的生物膜形成能力在 MSgg 培养液中进行评估。MSgg 培养基配方如下:磷酸钾 5 mmol/L, Mops (pH = 7) 100 mmol/L, MgCl_2 2 mmol/L, CaCl_2 700 $\mu\text{mol}/\text{L}$, FeCl_3 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$, MnCl_2 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$, ZnCl_2 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 硫胺素 2 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 甘油 0.5%, 谷氨酸 0.5%、色氨酸 50 mg/L, 苯丙氨酸 50 mg/L^[6]。将芽孢杆菌 Bs916 和 Bs916G 分别接种于 10 ml YPG 液体培养基中,28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 培养 16 h。然后取 5 μl 培养液,转接到含有 3 ml MSgg 培养液的 12 孔细胞培养板中,每个菌株接 4 孔,重复 3 次。37 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养 24~48 h 后,观察生物膜形成情况。

1.4 Bs916 在无菌番茄根部的定殖

Bs916 发酵 48 h 后收集菌体,并用灭菌 0.9% NaCl 稀释至 OD_{600} 为 1.0 待用 (菌含量约为 5×10^7

CFU/ml)。番茄种子于 3% 次氯酸钠溶液中浸泡 5 min 灭菌,无菌水冲洗至无味,置于 Bs916 生防菌液中浸泡 24 h,种子晾干后,播种于 MS 琼脂平板,每平板播种 5 粒,重复 3 次,静置于 28 ℃ 光照培养箱。15 d 后,称取番茄根,将其研磨后用无菌水按照倍比稀释法,涂布 YPG 固体平板,检测生防菌 Bs916 在番茄根部的定殖数量。

1.5 盆栽定殖

GFP 标记菌株 Bs916G 于 YPG 中发酵 48 h,收集菌液待用,测定原液菌含量,约为 2×10^9 CFU/ml。番茄青枯菌 RSQ 于 NA 培养液中培养 48 h,收集菌液待用,菌含量约 1×10^9 CFU/ml。自然土过筛,与营养土和蛭石按 1:1:1 配比,将催芽的番茄种子播入其中,待番茄苗 4 叶 1 心时定植于单独钵中。盆栽定殖试验共 3 个处理,分别是单浇 Bs916G 菌液处理(Bs916G)、先浇 Bs916G 菌液后浇青枯菌处理(Bs916G+RSQ)和浇无菌水对照(CK),每处理 15 钵,重复 3 次。番茄定植前,需浇生防菌的处理,先将番茄苗在生防菌液中浸根 20 min,待定植后,每棵苗根围再浇 Bs916G 菌液 20 ml;Bs916G+RSQ 处理中,每棵苗需同时灌根青枯病菌菌液 10 ml;对照处理中,番茄苗在无菌水中浸根 20 min,定植后并灌根无菌水 20 ml。灌根处理后 1 d、2 d、3 d、5 d、7 d、14 d 定期采集

番茄根,每次取苗 3 棵,抖落根土,并称取根部 1 g,用无菌水振荡洗涤,倍比稀释后,分别涂布含有 10 μ g/ml 氯霉素的 YPG 平板,28 ℃ 静置培养 48~72 h 后,统计枯草芽孢杆菌 Bs916G 菌落数。

1.6 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 软件进行统计分析,Duncan's 新复极差法分析不同处理间差异显著性。

2 结果

2.1 枯草芽孢杆菌 Bs916 生物膜形成关键基因的发掘

全基因组序列分析显示,枯草芽孢杆菌 Bs916 含有完整的生物膜形成关键基因(簇),包括胞外多糖(EPS)合成酶编码基因簇、TasA 蛋白和 γ -多聚谷氨酸聚合酶编码基因簇(表 1)。其中胞外多糖(EPS)合成酶编码基因簇大小为 15 715 bp,包含 15 个编码基因,与已报道的氨基酸序列同源性达 99%~100%;TasA 蛋白编码基因大小 786 bp,与已报道蛋白同源性达 100%; γ -多聚谷氨酸聚合酶编码基因簇大小为 4 369 bp,与已报道的相关氨基酸序列同源性达 96%~100%。3 个完整且高度同源的编码基因(簇)是 Bs916 生物膜形成的有利遗传保障。

表 1 枯草芽孢杆菌 Bs916 生物膜形成关键基因(簇)信息

Table 1 The details of gene clusters related to biofilm formation in *Bacillus subtilis* Bs916

基因(簇)	大小(bp)	基因功能	氨基酸序列同源性(%)	产物
胞外多糖(EPS)合成酶编码基因簇(ABCDEFGHIJKLMNO)	15 715	负责合成胞外多糖	99~100	胞外多糖
TasA 蛋白	786	合成 TasA 蛋白	100	TasA 蛋白
γ -多聚谷氨酸聚合酶编码基因簇	4 369	负责聚合 L-谷氨酸成 γ -多聚谷氨酸	96~100	γ -多聚谷氨酸

2.2 GFP 标记菌株 Bs916G 的拮抗活性稳定性及生物膜形成能力

平板对峙试验结果(表 2)显示,枯草芽孢杆菌 Bs916 及其 GFP 标记菌株 Bs916G 对番茄青枯病菌均显示较好的抑制作用,抑菌圈直径都在 13 mm 左右,且无显著差异,这表明 GFP 的表达并未影响 Bs916 对番茄青枯菌的拮抗效果。此外,生物膜形成能力结果(图 1)显示,Bs916 和 Bs916G 在 MSgg 培养基中都能够形成生物膜,且质地厚实,多皱褶。这也表明 GFP 的表达并不影响芽孢杆菌 Bs916 生物膜的形成能力。

表 2 枯草芽孢杆菌 Bs916 和 Bs916G 对番茄青枯菌的拮抗作用

Table 2 Antagonistic activity of *Bacillus subtilis* Bs916 and Bs916G against *R. solanacearum*

处理	对青枯菌抑菌圈直径(mm)
Bs916	13.3 \pm 0.76a
Bs916G	12.5 \pm 0.57a

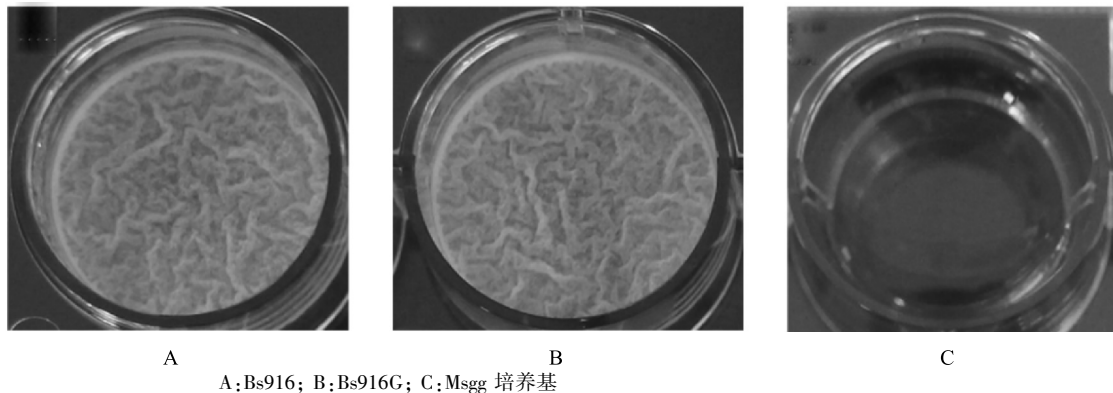
同一列数据后相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$)。

2.3 枯草芽孢杆菌 Bs916 在无菌番茄根部的定殖能力

如图 2 所示,在 MS 平板试验中,枯草芽孢杆菌

Bs916 浸种的番茄根系两侧均看到白色菌痕,而未浸种的番茄根系两侧并无菌痕,这表明 Bs916 能够利用番茄根系分泌物在番茄根际定殖生存。平板回

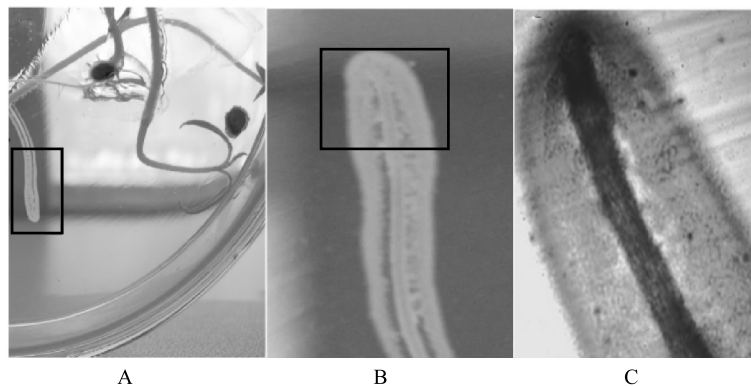
收测定 Bs916 的定殖含量显示,Bs916 在番茄根部的定殖量为每 1 g 根 3.1×10^7 CFU。



A:Bs916; B:Bs916G; C:Mgg 培养基

图 1 枯草芽孢杆菌 Bs916 和 Bs916G 生物膜

Fig.1 The biofilm of *Bacillus subtilis* Bs916 and Bs916G in MSgg medium



A:MS 平板试验中 Bs916 生长在番茄根围;B:A 图中方框区域放大图;C:B 图方框区域显微镜观察图($\times 40$)

图 2 Bs916 在 MS 平板试验中的番茄根部定殖情况

Fig.2 Colonization of Bs916 on tomato roots in the MS plate

2.4 枯草芽孢杆菌 Bs916G 在盆栽番茄根部的定殖动态变化

利用 GFP 标记菌株 Bs916G 灌根番茄苗后,通过抗性平板回收法检测 Bs916G 在番茄根部的定殖情况,结果显示:单独灌根 Bs916G 的处理中,Bs916G 在番茄根部的定殖数量呈现先下降后逐渐上升的趋势,即灌根 1 d 后,番茄根表定殖量可以达到 1×10^9 CFU/g,第 5 d 下降到最低点,仅为每 1 g 根 1×10^6 CFU,随后逐步回升达到 1×10^7 CFU/g,第 7 d、14 d 稳定在 1×10^7 CFU/g。在灌根 Bs916G 并同时接种青枯菌的处理中,Bs916G 的定殖数量变化

趋势和未接种处理基本一致,其定殖数量也基本相近,但在第 14 d 时,Bs916G 的定殖量明显比未接种低约 10 倍,仅为 1×10^6 CFU/g(图 3)。

3 讨论

芽孢杆菌生物膜的成分主要是胞外多糖、TasA 蛋白和 γ -多聚谷氨酸。胞外多糖由 *eps* 操纵子负责合成,该操纵子编码胞外多糖合成酶,TasA 蛋白由 *tasA* 负责合成并分泌到胞外^[17]。Chen 等研究结果表明,枯草芽孢杆菌单独突变 *eps* 或 *tasA* 基因,虽然

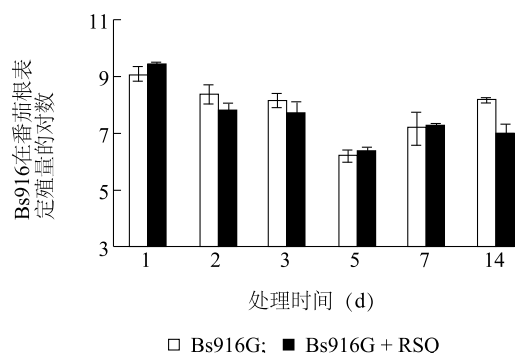


图3 枯草芽孢杆菌 Bs916G 在盆栽番茄根部的定殖动态变化

Fig.3 Dynamics of colonization of *B. subtilis* Bs916G on the root of tomato over time

能产生微弱的生物膜,但其在番茄根部的定殖能力下降,而 *eps* 和 *tasA* 的双突变体不产生任何生物膜,在番茄根部基本不能定殖^[18-19]。本研究结果显示,枯草芽孢杆菌 Bs916 中具有完整的生物膜形成关键基因(簇),包括胞外多糖(EPS)合成酶编码基因簇, *TasA* 蛋白和 γ -多聚谷氨酸聚合酶编码基因簇,其大小分别为15 715 bp、786 bp 和4 369 bp,与已报道的相关氨基酸序列同源性达 96%~100%。同时,本研究的后续试验已经构建了 *tasA* 基因的突变体,并发现该突变体的生物膜形成能力严重下降,在番茄根系定殖能力减弱,这与 Chen 等^[19]报道的结果一致。由此可见,生物膜是芽孢杆菌在植物根部定殖的重要存在形式。

绿色荧光蛋白(GFP)是一种良好的标记物,近年来,GFP 被广泛应于标记生防芽孢杆菌,用来观察和研究生防菌在植物根部的行为和互作方式^[20-21]。刘邰洲等利用 GFP 标记枯草芽孢杆菌 PTS-394,并进行了其在番茄根围定殖的观察研究^[22]。本研究首先比较了 GFP 标记的枯草芽孢杆菌 Bs916G 与野生型 Bs916 的生物膜形成能力和抑制番茄青枯菌的能力,确认两者无显著差异后,利用 GFP 标记菌株进行其在番茄根部的定殖动态和规律研究,为生防芽孢杆菌 Bs916 田间防治番茄青枯病奠定了理论基础。

生防芽孢杆菌施用后,稳定的定殖能力是其发挥生防、促生作用的关键因素^[23],因此,生防菌的定殖能力及动态规律研究已经成为生防微生物筛选、研发的重要参考指标之一。刘庆丰等^[24]报道,枯草芽孢杆菌 XF-1 能在大白菜根围、根表和根内长时间

定殖,有利于占据有利生态位点,从而抑制白菜根肿病菌的侵染和繁殖。本试验结果表明,枯草芽孢杆菌 Bs916 能够在番茄根部定殖,其在番茄根部的定殖数量呈现先下降后逐渐上升的趋势,即使接种青枯菌,Bs916 的定殖数量的变化趋势和未接种处理也基本一致,但在第 14 d 时,其定殖量明显比未接种低约 10 倍。以上结果表明,枯草芽孢杆菌 Bs916 可以在番茄根部有效定殖,这是其在田间发挥防治番茄青枯病的重要保障因素。

参考文献:

- [1] LUGTENBERG B, KAMILOVA F. Plant-growth-promoting rhizobacteria [J]. Annual Review of Microbiology, 2009, 63: 541-556.
- [2] 殷幼平,袁训娥,李 强,等. 生防菌枯草芽孢杆菌 CQBS03 的绿色荧光蛋白基因标记及其在柑橘叶片上的定殖 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3555-3563.
- [3] 王志远,吴兴兴,吴毅歆,等. 解淀粉芽孢杆菌 B9601-Y2 抗性基因标记及其在作物根部的定殖能力 [J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(3): 313-319.
- [4] KLOEPPER J W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents [M]// Metting F B. Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. New York: Marcel Dekker Inc., 1992: 255-274.
- [5] 刘 俊. 解淀粉芽孢杆菌 CO6 防治桃褐腐病菌的机制及其产生的 γ -多聚谷氨酸在定殖中的作用 [D]. 南京:南京农业大学, 2010.
- [6] BRANDA, S S, CHU F, KEARNS D B, et al. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix [J]. Molecular Microbiology, 2006, 59: 1229-1238.
- [7] 陈志谊,许志刚,高泰东,等. 水稻纹枯病拮抗细菌的评价及利用 [J]. 中国水稻科学, 2000, 14(2): 98-102.
- [8] 陈志谊,刘 荣,刘永锋. 水稻纹枯病拮抗细菌 B-916 的选育 [J]. 中国生物防治, 2003, 19(1): 15-18.
- [9] 陈志谊,刘永锋,陆 凡. 井冈霉素和生防菌 Bs-916 协同控病作用及增效机理 [J]. 植物保护学报, 2003, 30(4): 429-434.
- [10] 张荣胜,陈思宇,王晓宇,等. 解淀粉芽孢杆菌 Lx-11 防治水稻细菌性条斑病应用技术研究 [J]. 中国生物防治, 2014, 29(4): 595-600.
- [11] 张荣胜,王晓宇,罗楚平,等. 解淀粉芽孢杆菌 Lx-11 产脂肽类物质鉴定及表面活性素对水稻细菌性条斑病的防治作用 [J]. 中国农业科学, 2013, 46(10): 2014-2021.
- [12] WANG X, LUO C, CHEN Z. Genome sequence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus* sp. strain 916 [J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(19): 5467-5468.
- [13] LUO C, LIU X, ZHOU H, et al. Nonribosomal peptide synthase gene clusters for lipopeptide biosynthesis in *Bacillus subtilis* 916 and their phenotypic functions [J]. Applied and Environmental

- Microbiology, 2015, 81(1): 422-431.
- [14] LUO C, ZHOU H, ZOU J, et al. Bacillomycin L and surfactin contribute synergistically to the phenotypic features of *Bacillus subtilis* 916 and the biocontrol of rice sheath blight induced by *Rhizoctonia solani* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(4): 1897-1910.
- [15] 姚震声,陈中义,陈志谊,等. 绿色荧光蛋白基因标记野生型生防枯草芽孢杆菌的研究 [J]. 生物工程学报, 2003, 19(5): 551-555.
- [16] MURASHIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures [J]. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473-479.
- [17] BRANDA S S, GONZALEZ-PASTOR J E, DERVYN E, et al. Genes involved in formation of structured multicellular communities by *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186, 3970-3979.
- [18] BEAUREGARD P B, CHAI Y, VLAMAKIS H, et al. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(17): E1621-1630.
- [19] CHEN Y, CAO S, CHAI Y, et al. A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants [J]. Molecular Microbiology, 2012, 85(3): 418-430.
- [20] 郝变青,马利平,乔雄梧. GFP 标记的植物促生菌 B96-II-gfp 的定殖能力研究 [J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(4): 861-865.
- [21] 杨秀荣,田 涛,孙淑琴,等. GFP 标记生防细菌 B579 及其定殖能力检测 [J]. 植物病理学报, 2013, 43(1): 82-87.
- [22] 刘卹洲,梁雪杰,乔俊卿,等. 枯草芽孢杆菌 PTS-394 的 GFP 标记及其定殖能力 [J]. 植物保护学报, 2014, 41(4): 416-422.
- [23] FAN B, BORRIS R, BLEISS W, et al. Gram-positive rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 colonizes three types of plants in different patterns [J]. Journal of Microbiology, 2012, 50: 38-44.
- [24] 刘庆丰,熊国如,毛自朝,等. 枯草芽孢杆菌 XF-1 的根围定殖能力分析 [J]. 植物保护学报, 2012, 39(5): 425-430.

(责任编辑:陈海霞)