#### 引用格式:

钱鑫,谭志琼,邢梦玉,刘铜,张荣意. 黄瓜菊苣假单胞菌叶斑病内生拮抗细菌的鉴定及促生作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2022,48(1):54-59.



QIAN X, TAN Z Q, XING M Y, LIU T, ZHANG R Y. Isolation and screening of endophytic antagonistic bacteria against cucumber leaf spot *Pseudomonas cichorium* and its growth promotion effect[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2022, 48(1): 54–59.

投稿网址: http://xb.hunau.edu.cn

# 黄瓜菊苣假单胞菌叶斑病内生拮抗细菌的鉴定及促生作用

钱鑫, 谭志琼, 邢梦玉, 刘铜, 张荣意\*

(海南大学植物保护学院,海南 海口 570228)

**摘** 要: 从湖南、云南、海南等地采集的健康黄瓜植株中分离得到 189 株内生细菌,从中筛选的内生细菌 Y-10 对黄瓜叶斑病病原菌菊苣假单胞菌(*Pseudonwnas cichorii*)的抑菌半径达 16 mm,拮抗效果最好,经形态学、生理生化特性及 16S rDNA 和 *rpoA* 双基因联合建树分析,被鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus substilis*)。分别用 4×10<sup>9</sup>、4×10<sup>8</sup>、4×10<sup>7</sup>、4×10<sup>6</sup>、4×10<sup>5</sup> cfu/mL 的 Y-10 菌液浸黄瓜种子和 4×10<sup>9</sup>、4×10<sup>8</sup>、4×10<sup>7</sup>、2×10<sup>7</sup>、4×10<sup>6</sup> cfu/mL 的菌液灌根处理黄瓜盆栽幼苗,以无菌水浸种和灌根处理作为空白对照。结果显示,Y-10 菌液 4×10<sup>7</sup> cfu/mL 处理的种子发芽率较空白对照提高了 6.01%,菌液 4×10<sup>9</sup> cfu/mL 处理的种子几乎不萌发; 黄瓜幼苗的根长、根鲜质量、地上部鲜质量、地上部干质量分别提高了 40.71%、33.59%、35.21%、58.18%。4×10<sup>9</sup> cfu/mL 菌液灌根接种后,黄瓜幼苗根长、根鲜质量、地上部的鲜质量和干质量分别较空白对照提高了 11.49%、19.57%、77.25%、47.15%。Y-10 菌株无溶磷、解钾及产 IAA 作用,但具固氮、产铁载体的作用。

关 键 词:黄瓜叶斑病;菊苣假单胞菌;内生拮抗细菌;促生作用

中图分类号: S436.421.1+9

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2022)01-0054-06

# Isolation and screening of endophytic antagonistic bacteria against cucumber leaf spot *Pseudomonas cichorium* and its growth promotion effect

QIAN Xin, TAN Zhiqiong, XING Mengyu, LIU Tong, ZHANG Rongyi\*

(College of Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract**: One hundred and eighty-nine endophytic bacteria strains were isolated from healthy cucumber plants collected from Hunan, Yunnan and Hainan. The inhibitory radius of strain Y-10 to *Pseudomonas cichorium*, the pathogen of cucumber leaf spot, was 16 mm, and the antagonistic effect was the best. The strain Y-10 was identified as *Bacillus subtilis* by combining the results of morphological, physiological and biochemical characteristics and 16S rDNA and *rpoA* genes analysis. Bacterial suspensions of strain Y-10 was diluted to  $4\times10^9$ ,  $4\times10^8$ ,  $4\times10^7$ ,  $2\times10^7$ ,  $4\times10^6$ ,  $4\times10^5$  cfu/mL by gradient dilution, and  $4\times10^8$ ,  $4\times10^7$ ,  $4\times10^6$ ,  $4\times10^5$  cfu/mL suspensions were selected to soak seeds separately, while  $4\times10^9$ ,  $4\times10^8$ ,  $4\times10^7$ ,  $2\times10^7$ ,  $4\times10^6$  cfu/mL solutions were used to irrigate seedlings independently. Sterile water soaking and root irrigation were used as blank controls. The results show that some dilutions of strain Y-10 could promote the cucumis seedling growth and seeds germination. After soaking seeds with  $4\times10^7$  cfu/mL bacterial solution, the germination rate of seeds was 6.01% higher than that of the blank control. The seeds hardly germinated when treated with  $4\times10^9$ cfu/mL bacterial solution, and the root length, root fresh weight, shoot fresh weight and shoot

收稿日期: 2021-01-08

修回日期: 2021-08-25

基金项目:农业部行业科技项目(201403075-1-13)

**作者简介**: 钱鑫(1995—), 男, 湖南邵阳人, 硕士研究生, 主要从事植物病理学研究, 1056997298@qq.com; \*通信作者, 张荣意, 博士, 教授, 主要从事植物病理学研究, zryi2013@163.com

dry weight of cucumber seedlings increased by 40.71%, 33.59%, 35.21% and 58.18% respectively. In the treatment with  $4 \times 10^9$ cfu/mL bacterial solution irrigation, the root length, root fresh weight, shoot fresh weight and shoot dry weight of cucumber seedlings, compared with the blank control, were increased by 11.49%, 19.57%, 77.25% and 47.15%, respectively. Strain Y-10 had no function of dissolving phosphorus and potassium and producing IAA, but had the function of fixing nitrogen and producing iron carrier.

Keywords: cucumber leaf spot; Pseudomonas cichorium; endophytic antagonistic bacteria; growth promotion effect

黄瓜生产过程中极易受到白粉病、叶斑病和炭 疽病等的侵害[1]。翟颖妍[2]研究了由刺盘孢菌 (Colletotrichum orbiculare)引起的黄瓜炭疽病的生 物防治,从秦岭森林土壤中分离、筛选出甲基营养 型芽孢杆菌(Bacillus methylotrophicus) ZH-9, 对该 黄瓜炭疽病抑菌率达 74.28%; 陈颖潇等[3]分离、筛 选得到的土壤微生物和内生菌均对黄瓜霜霉病和 白粉病具有生防效果,同时不同生防菌剂的复合 使用能提高对黄瓜霜霉病和白粉病的防效, 且对 黄瓜植株具有较好的促生作用。黄瓜叶斑病常由丁 香假单胞菌(Pseudomonas syringae pv. lachrymans) 侵害引起<sup>[4]</sup>。FU 等<sup>[5]</sup>首次报道了由菊苣假单胞菌 (Pseudomonas cichorium) 引起的黄瓜叶斑病; 随后 穆晓雅等[6]从土壤中分离筛选得到1株拮抗菊苣假单 胞菌的解淀粉芽孢杆菌(Bacillus amyloliquefaciens), 具有较好的平板抑菌效果。笔者从健康黄瓜植株筛 选对菊苣假单胞菌具有较好拮抗效果的内生细菌, 探究其对黄瓜种子及幼苗生长发育的影响,旨在为 黄瓜菊苣假单胞菌叶斑病的生物防治提供依据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料

黄瓜品种'津春四号',购于山东省宁阳县鲁蔬种子销售中心;供试病原菌为海南大学植物病害生物防控课题组分离、鉴定的黄瓜细菌性叶斑病病原菌菊苣假单胞菌(Pseudonwnas cichorii)。于湖南、海南、云南等地采集健康黄瓜植株,用于内生拮抗菌的分离、鉴定。

#### 1.2 方法

- 1.2.1 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌的分离与 鉴定
- 1) 参照张猛等<sup>[7]</sup>的方法,分离采集的黄瓜健康 植株根、茎、叶及果实内的内生细菌;参考穆晓雅 等<sup>[6]</sup>的方法,采用平板对峙试验筛选对菊苣假单胞

菌具有较好拮抗效果的内生细菌菌株。

- 2) 观察拮抗菊苣假单胞菌内生细菌的形态学特征,测定其生理生化特性,按照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[8]</sup>进行鉴定。
- 3) 构建 16S rDNA 及 rpoA 基因序列联合系统 发育树。利用 OMEGA Bacterial DNA Kit 试剂盒提取内生细菌的 DNA。16S rDNA 的 PCR 扩增采用细菌通用引物 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-TACGGCTACCTTGACGACTT-3')进行扩增; rpoA 扩增引物 BSL72(5'-CGTAGAGC CACTTGAGCG-3')和 BSR328(5'-CTGCCGTTACA GTTCCTT-3')<sup>[9-10]</sup>,由北京六合华大基因科技有限公司合成。

PCR 反应体系:  $2 \times PCR$ -Mixture  $25 \mu L$ ,模板 DNA  $1 \mu L$ ,上、下游引物各  $2 \mu L$ , $2 \times Taq$  Plus PCR Master Mix  $25 \mu L$ ,加  $ddH_2O$  定容至  $50 \mu L$ 。反应条件:  $94 \degree \%$ 变性  $10 \min$ ;  $94 \degree \%$ 变性; 30 s;  $57 \degree \%$  退火 30 s;  $72 \degree \%$ 延伸  $2 \min$ ;  $30 \degree \%$ 循环后终止延伸  $5 \min$ ,  $4 \degree \%$ 保存。产物送华大基因公司测序,结果在 NCBI 上进行 BLAST 比对,运用 MEGA  $7.0 \text{ 软件进行系统进化树分析,采用 Maximum Likelihood 法,Bootstrap 为 <math>1000^{[11]}$ 。

- 1.2.2 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌的促生作 用的测定
- 1) 将筛选鉴定的对菊苣假单胞菌具有较好拮抗效果的内生拮抗细菌菌株在 28 ℃培养至菌液浓度约为 4×10<sup>9</sup> cfu/mL,按照 10<sup>9</sup>、10<sup>8</sup>、10<sup>7</sup>、10<sup>6</sup>、10<sup>5</sup> 等 5 个梯度,采用培养皿纸床保湿法催芽黄瓜种子<sup>[12]</sup>,以无菌水处理为空白对照。每处理 50 粒黄瓜种子,重复 3 次。于第 3 天统计黄瓜种子的发芽势,第 7 天统计发芽率和发芽指数。
- 2) 参考刘彩云等<sup>[13]</sup>的方法。分别选取  $4\times10^9$ 、 $4\times10^8$ 、 $4\times10^7$ 、 $4\times10^6$ 、 $4\times10^5$  cfu/mL 等 5 个浓度内生拮抗菌菌液浸种黄瓜种子,以浓度分别为  $4\times10^9$ 、 $4\times10^8$ 、 $4\times10^7$ 、 $2\times10^7$ 、 $4\times10^6$  cfu/mL 拮抗菌液灌根

处理黄瓜盆栽幼苗,黄瓜种子催芽出苗后移栽至 10 cm×8.8 cm 花盆培育。浸种处理组黄瓜植株于移栽后 20 d进行破坏性取样,灌根处理组于灌根处理后10 d进行破坏性取样,分别测量幼苗的株高、根长、茎周长、根鲜质量及干质量、茎鲜质量及干质量,计算茎粗[13]。

# 1.2.3 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌促生物质 的测定

分别参照江绪文等<sup>[14]</sup>、吕俊等<sup>[15]</sup>、王娟娟<sup>[16]</sup>的方法,测定具较好拮抗菊苣假单胞菌细菌的内生细菌的固氮、解磷、解钾作用。参考余贤美<sup>[17]</sup>、李培根等<sup>[18]</sup>的方法,测定对菊苣假单胞菌具有较好拮抗效果的内生细菌的产铁载体和产 IAA 作用。

# 2 结果与分析

## 2.1 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌的鉴定结果

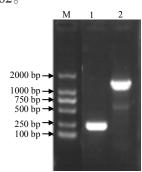
从海南、湖南、云南等地黄瓜健康植株的根、茎、叶、果实分离得到 189 株内生细菌,用平板对峙法筛选得到的内生菌株 Y-10 有较好的拮抗效果,抑菌半径可达 16 mm。

内生细菌 Y-10 菌落呈乳白色,不透明,表面粗糙,边缘整齐。革兰染色呈阳性;芽孢染色可观察到蓝绿色的椭圆形芽孢。根据菌落形态特征、革兰染色反应和芽孢染色结果,菌株 Y-10 被初步鉴定为芽孢杆菌属。

对菌株 Y-10 的生理生化特性进行测定的结果表明, Y-10 菌株可在 pH 5~9 生长并增殖, 其柠檬酸盐利用、接触酶反应、V.P.试验、甲基红试验、淀粉水解及明胶液化试验均呈阳性; KOH 快速检测、产吲哚试验呈阴性; 可利用葡萄糖、蔗糖、棉子糖、麦芽糖、半乳糖、阿拉伯糖、甘露糖、海藻糖等碳源和硝酸铵、氯化铵、硝酸钾、硫酸铵、蛋白胨等氮源; 几乎不能利用鼠李糖、果糖、乳糖、肌醇、山梨糖和脲(氮源), 与枯草芽孢杆菌(B. subtilis)的特性相符。

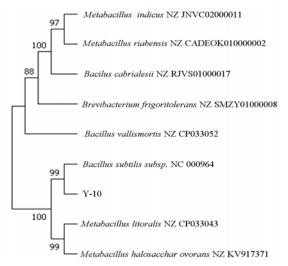
经测序分析, Y-10 菌株的 16S rDNA 基因片段 大小为 1421 bp, rpoA 序列片段大小为 243 bp(图 1), 在 NCBI 上进行 BLAST 比对,运用最大似然法进 行 16S rRNA-rpoA 双基因进化树分析,结果(图 2) 菌株 Y-10 与枯草芽孢杆菌聚合在同一分支, bootstrap 数值为 99%,亲缘性高。 结合菌株 Y-10 的形态学特征及生物学特性测定结果,将菌株 Y-10 鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。Y-10 菌株 16S rDNA 序列、*rpoA* 序列均已在 NCBI 数据库提交,登录号分别为 MW047293和 MW287082。

http://xb.hunau.edu.cn



M DL2000 marker; 1 rpoA 扩增结果; 2 16S rDNA 扩增结果。

# 图 1 Y-10 菌株 rpoA、16S rDNA 基因序列的扩增结果 Fig.1 Electrophoresis of amplified rpoA and 16S rDNA sequence products from strain Y-10



# 图 2 基于 16S rDNA、rpoA 两基因合并序列 ML 法 构建的芽孢菌属系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of *Bacillus* by ML method based on combining sequences of 16S rDNA and *rpoA* genes

#### 2.2 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌的促生作用

# 2.2.1 对黄瓜种子萌发的影响

Y-10 菌液处理的黄瓜种子萌发性状列于表 1。  $4\times10^9$  cfu/mL 菌液浸种处理后黄瓜种子几乎不萌发;  $4\times10^8$ 、 $4\times10^7$ 、 $4\times10^6$ 、 $4\times10^5$  cfu/mL 菌液处理,对黄瓜种子的萌发均有促进作用,其中  $4\times10^7$  cfu/mL 菌液处理与对照相比,发芽势增加了 16.82%,发芽率增长了 6.01%,发芽指数提高了 7.47%。Y-10 高浓度( $4\times10^9$  cfu/mL)菌液抑制黄瓜种

子的萌发。

表 1 Y-10 菌液处理黄瓜种子的萌发性状

Table 1 Endophytic bacteria strain Y-10 on cucumber seed

8	ci iiiiiatioii		
菌液浓度/ (cfu·mL <sup>-1</sup> )	发芽势/%	发芽率/%	发芽指数
CK	(79.33±0.58)c	(88.67±1.53)b	(19.95±0.48)c
$4 \times 10^{9}$	0	0	0
$4\times10^8$	(88.00±1.00)b	(92.67±1.53)ab	(21.03±0.26)ab
$4\times10^7$	(92.67±1.00)a	(94.00±2.08)a	(21.44±0.59)a
$4\times10^6$	(88.00±1.00)b	(91.33±0.58)ab	(20.57±0.08)bc
4×10 <sup>5</sup>	(86.00±2.08)b	(88.67±1.53)b	(20.44±0.34)bc

同列不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

# 2.2.2 对黄瓜幼苗生长的影响

Y-10 菌液浸种和灌根处理的黄瓜幼苗的生长性状列于表 2。不同浓度 Y-10 菌液浸种的黄瓜幼

苗地上部株高无明显差异。4×10<sup>8</sup>、4×10<sup>7</sup>、4×10<sup>6</sup> cfu/mL 菌液浸种的黄瓜幼苗的根长、根鲜质量、根干质量、茎周长、地上部鲜质量、地上部干质量等均有显著提升,4×10<sup>7</sup> cfu/mL 菌液促生效果最好,较对照幼苗根长、根鲜质量、根干质量、茎周长、地上部鲜质量、地上部干质量分别提高了 40.71%、33.59%、2.33%、11.03%、35.21%、58.18%。4×10<sup>5</sup> cfu/mL 菌液浸种处理黄瓜幼苗的茎周长及地上部干质量较 CK 有显著提高。

Y-10 菌液 4×10<sup>9</sup> cfu/mL 灌根处理, 黄瓜幼苗 10 d 后根长、地上部株高、茎周长、根鲜质量、地上部鲜质量、根干质量及地上部干质量等较对照均有显著提高,分别提高了 11.49%、23.57%、13.36%、19.57%、77.25%、37.84%、47.15%, 促生作用最好。

表 2 Y-10 菌液浸种和灌根的黄瓜幼苗的生长性状

Table 2 Growth indexes of cucumber treated with strain Y-10

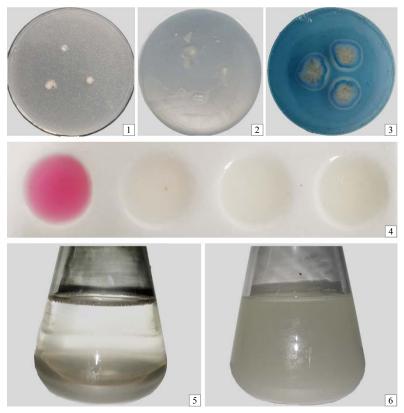
处理	菌液浓度/ (cfu·mL <sup>-1</sup> )	根长/cm	地上部高/cm	茎周长/cm	根鲜质量/g	地上部鲜质量/g	根干质量/g	地上部干质量/g
浸种	CK	(11.243±1.382)c	(7.313±0.821)a	(1.414±0.092)c	(0.512±0.057)b	(2.741±0.863)b	(0.030±0.006)b	(0.220±0.052)c
	$4\times10^8$	(14.209±1.451)b	(7.518±0.723)a	(1.555±0.107)a	(0.657±0.158)a	(3.654±0.401)a	(0.034±0.007)ab	(0.314±0.046)ab
	$4 \times 10^7$	(15.820±0.928)a	(7.860±0.909)a	(1.570±0.112)a	$(0.684\pm0.068)a$	(3.706±0.378)a	(0.037±0.008)a	$(0.348\pm0.045)a$
	$4 \times 10^6$	(12.960±0.991)b	(7.590±0.669)a	(1.520±0.103)ab	(0.627±0.054)ab	(3.206±0.426)ab	(0.033±0.004)ab	(0.297±0.051)b
	4×10 <sup>5</sup>	(11.214±0.398)c	(7.314±0.604)a	(1.486±0.186)ab	$(0.508\pm0.042)b$	$(2.781\pm0.408)b$	(0.029±0.004)b	$(0.280\pm0.053)b$
灌根	CK	(21.127±0.987)c	(9.763±0.913)c	(1.377±0.122)c	(2.141±0.394)b	(4.290±0.621)d	(0.074±0.016)c	(0.316±0.092)c
	4×10 <sup>9</sup>	(23.554±0.993)a	(12.064±1.064)a	(1.561±0.177)a	$(2.560\pm0.887)a$	(7.604±0.901)a	(0.102±0.033)a	(0.465±0.064)a
	$4\times10^8$	(22.611±0.980)b	(11.344±0.985)a	(1.432±0.120)b	(2.431±0.586)a	(5.082±0.954)b	(0.086±0.025)b	(0.372±0.052)b
	$4 \times 10^7$	(22.227±1.034)b	(10.747±0.955)b	(1.500±0.139)ab	(2.407±0.588)a	(4.742±0.426)c	(0.079±0.016)bc	(0.342±0.039)c
	$2 \times 10^7$	(21.728±0.844)b	(10.331±0.829)b	(1.423±0.085)b	(2.246±0.408)a	(4.341±0.408)cd	(0.077±0.013)bc	$(0.331\pm0.054)c$
	$4\times10^6$	(21.516±0.878)c	(10.057±0.87)c	(1.391±0.071)b	(1.679±0.488)b	(4.301±0.368)cd	(0.074±0.009)c	(0.322±0.044)c

同一处理同列不同字母表示不同菌液浓度间差异显著(P<0.05)。

#### 2.2.3 黄瓜内生拮抗菊苣假单胞菌细菌的促生物质

溶磷、解钾试验结果(图 3-1、图 3-2)显示,将Y-10接种至溶磷培养基和解钾培养基上不能生长、增殖,且菌落周围无透明圈,表明Y-10菌株无溶磷、解钾作用。将Y-10接种至CAS平板培养基,恒温培养7d后菌落正常生长,且菌落周围产生明显黄色透明条带(图 3-3),表明Y-10菌株能产生嗜铁素。将Y-10接种至含L-色氨酸的LB培养液中摇床培养7d,与Salkowski显色液混合反应30min

后,经比色板比色,结果(图 3-4)显示,Y-10 菌液混合液无颜色变化,为无色透明状液体,而标准品与显色液混合液显示出明显的红色,表明Y-10 菌株不具产 IAA 能力;固氮试验结果(图 3-5、图 3-6)显示,将Y-10 接种在 Ashby 无氮培养基中恒温摇床培养 7 d 后,接种Y-10 处理组出现浑浊现象,表明Y-10 菌株能在无氮培养基中正常生长,具有固氮作用。



1 解钾作用检测; 2 可溶性磷检测; 3 铁载体产生; 4 产 IAA 检测; 5 Ashby 固氮作用 CK; 6 Ashby 固氮作用接种 Y-10。 图 3 内生细菌 Y-10 产促生物质的检测结果

Fig.3 Detection of growth-promoting substances produced by endophytic bacteria strain Y-10

# 3 结论与讨论

从健康的黄瓜根、茎、叶、果实分离得到 189 株内生细菌, 经平板对峙试验, 筛选得到对菊苣假 单胞菌(P. cichorii)抑制效果较好的内生细菌 Y-10 菌株, 其抑菌半径达 16 mm。经形态学、生理生化 特性及 16S rDNA 和 rpoA 基因序列分析,将 Y-10 菌株鉴定为枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)。4×10<sup>7</sup> cfu/mL的 Y-10 菌液浸种处理黄瓜种子后,种子萌 发率较对照提高 6.01%, 幼苗的根长、根鲜质量、 地上部鲜质量、地上部干质量较对照分别提高了 40.71%, 33.59%, 35.21%, 58.18%,  $4\times10^9$  cfu/mL Y-10 菌液灌根处理黄瓜幼苗后,幼苗的根长、根 鲜质量、地上部鲜质量和地上部干质量较对照分别 提高了 11.49%、19.57%、77.25%、47.15%。进一 步检测 Y-10 的固氮、溶磷、解钾、产铁载体和 IAA 作用,结果 Y-10 菌株能产生铁载体,具有固氮作 用, 但不具产生 IAA 能力, 不具有溶磷、解钾作用, 说明菌株 Y-10 可能通过固氮作用及产生铁载体等 方式促进黄瓜植株的生长。

内生菌因其与寄主植物长期共同进化形成的

"内生菌-寄主植物"共生系统,与寄主联系紧密,因此其生物学功能主要体现为促进植物生长发育<sup>[19]</sup>、增强寄主抗逆性<sup>[20]</sup>、提高寄主植物修复能力<sup>[21]</sup>、促进寄主植物产生次生代谢产物<sup>[22]</sup>以及作为外源基因表达载体<sup>[23]</sup>等方面。Y-10 菌株在对菊苣假单胞菌的室内防效以及田间防效、诱导植物抗病、提高黄瓜植株抗逆能力、促进黄瓜植株分泌次生代谢产物以及促进植物修复等生物学作用有待进一步试验研究。

#### 参考文献:

- [1] 王俊山,孙德生,刘涛,等. 大棚黄瓜的常见病害及 防治技术[J]. 河南农业,2020(35): 10.
- [2] 翟颖妍. 甲基营养型芽孢杆菌 ZH-9 的筛选、鉴定及 其对炭疽病的生物防治研究[D]. 杨凌: 西北农林科技 大学, 2020.
- [3] 陈颖潇. 黄瓜霜霉病和白粉病生物防治的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [4] HARIGHI B. Angular leaf spot of cucumber caused by *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in Kurdistan[J]. Plant Disease, 2007, 91(6): 769.
- [5] FU X Y, ZHANG RY, LIU T, et al. First report of bacterial leaf spot of cucumber caused by *Pseudonwnas*

- cichorii in China[J]. Plant Disease, 2019, 103(1): 147–148.
- [6] 穆晓雅,彭正强,张荣意,等.一种新的黄瓜细菌性叶斑病拮抗细菌的筛选鉴定及其发酵条件的初步研究[J].西南农业学报,2019,32(4):837-842.
- [7] 张猛,王琼,冯发运,等. 植物内生特基拉芽胞杆菌的分离、鉴定及防治西瓜枯萎病效果[J]. 中国生物防治学报,2017,33(3):371-377.
- [8] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[K]. 北京: 科学出版社,2001.
- [9] 赵劲捷,王帅,范海燕,等. 防治南方根结线虫的根瘤内生细菌的筛选及鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(5): 811-820.
- [10] 曹凤明,杨小红,马鸣超,等. 枯草芽孢杆菌近缘种 群鉴定方法研究进展[J]. 微生物学通报,2014,41(5):968-974.
- [11] 白海瑞. 系统发育树的和极大似然估计[D]. 济南:山东大学,2017.
- [12] 牟玉梅,李菲,范高领,等. 辣椒种子中拮抗青枯病 菌内生细菌的促生功能分析[J]. 中国瓜菜,2020,33(7):56-60.
- [13] 刘彩云,赵静. 生防菌株 LB-1 培养液对黄瓜的抑病 促生作用[J]. 植物病理学报,2020,50(6):731-738.
- [14] 江绪文,李贺勤,谭勇. 藿香内生细菌 HX-2 的鉴定、耐性及对宿主植物的促生作用[J]. 草业学报,2018(1): 161-168.
- [15] 吕俊,于存.一株高效溶磷伯克霍尔德菌的筛选鉴定及其对马尾松幼苗的促生作用[J].应用生态学报,2020,31(9):2923-2934.
- [16] 王娟娟. 肥效微生物筛选及对小麦促生效果的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [17] 余贤美. 海南岛橡胶根际嗜铁细菌 B. subtilis CAS15

- 筛选及嗜铁素基因 *dhbC* 克隆、表达与功能分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- [18] 李培根,要雅倩,宋吉祥,等. 马铃薯根际产 IAA 芽 孢杆菌的分离鉴定及促生效果研究[J]. 生物技术通报,2020,36(9):109-116.
- [19] AYOMIDE E F, OLUBUKOLA O B. Exploring the potentialities of beneficial endophytes for improved plant growth[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020, 12(27): 3622–3633.
- [20] ARADHANANA M, SATRYENDRA PS, SAHIL M, et al. Bacterial endophytes modulates the withanolide biosynthetic pathway and physiological performance in *Withania somnifera* under biotic stress[J]. Microbiological Research, 2018, 212/213: 17–18.
- [21] IVANI S M, SABRINA T, WILLIAM P S, et al. Endophytic bacteria stimulate mercury phytoremediation by modulating its bioaccumulation and volatilization[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 202: 110818.
- [22] CHAO H, JIE C, XIAO Y C, et al. Effects of enhancement of liquorice plants with dark septate endophytes on the root growth, glycyrrhizic acid and glycyrrhizin accumulation amended with organic residues[J]. Current Plant Biology, 2020, 23: 100–154.
- [23] DUDEJA S S P, SUNEJA M, PAUL M, et al. Bacterial endophytes: molecular interactions with their hosts[J]. Journal of Basic Microbiology, 2021, 61(1): 1–31.

责任编辑: 罗慧敏 英文编辑: 罗维