

内生拮抗细菌 264ZY7 的生物学特性测定及发酵条件优化

刘 华¹, 冯中红², 李统华², 杨成德²

(1. 甘肃省经济作物技术推广站 兰州 730000; 2. 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室·甘肃农业大学植物保护学院 兰州 730070)

摘要: 对内生拮抗细菌 264ZY7 的生长温度、pH 值、生长周期、固氮、溶磷及产 IAA 能力等生物学特性进行测定, 并结合单因素试验和正交设计试验对其发酵条件进行优化。结果表明, 菌株 264ZY7 具有稳定的固氮和产 IAA 能力; 在 NA 培养基上菌株 264ZY7 最高生长温度 55 °C、最低温度 2 °C、致死温度 110 °C 和最适温度 30~36 °C, 最适 pH 5~7, 在 5 h 进入对数生长期, 在 10~14 h 时进入稳定生长期; 其最优发酵条件为: 牛肉膏 3 g、蔗糖 25 g、NaCl 5 g、酵母膏 5 g、水 1000 mL; 温度 28 °C, 接种量 1%, 装液量 40 mL·150 mL⁻¹, 摇床转速 240 r·min⁻¹, pH 6, 100 L 发酵罐最佳放罐时间为 21 h。获得了最佳培养条件, 该结果为利用菌株 264ZY7 开发生防制剂奠定了基础。

关键词: 解淀粉芽孢杆菌; 生物学特性; 测定; 发酵条件; 优化

中图分类号: S476

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2022)05-021-07

Determination of biological characteristics and optimization of fermentation process for antagonistic bacteria 264ZY7

LIU Hua¹, FENG Zhonghong², LI Tonghua², YANG Chengde²

(1. Extension Station for Economic Crop of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu, China; 2. Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province/College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: The optimal culture method of strain 264ZY7 was established through measuring the biological characteristics of the strain and optimizing the fermentation. Biological features of strain 264ZY7, such as growth and reproduction temperature, pH, growth cycle, nitrogen fixation, phosphorus solubilization, IAA-producing ability, were determined and fermentation conditions were optimized by single factor and orthogonal test. The results showed that strain 264ZY7 on NA medium had stable nitrogen fixation and IAA production capacity, its maximum growth temperature was 55 °C and a minimum temperature was 2 °C, the lethal temperature was 110 °C, and the optimum temperature were 30-36 °C. The optimum pH was 5-7. The growth curve of strain 264ZY7 showed that it entered the logarithmic growth phase at 5 h and the stable growth phase at 10-14 h. The optimal fermentation conditions of 264ZY7 were 3 g beef grit, 25 g sucrose, 5 g NaCl, 5 g yeast extract, 1000 mL water, 28 °C temperature, 1% inoculum volume, 40 mL·150 mL⁻¹ liquid volume, 240 r·min⁻¹ shaker speed, pH 6, and the optimal released time for the 100 L fermenter tank is 21 h. The culture conditions of strain 264ZY7 were optimized, which laid the foundation for the development of anti-formulation.

Key words: *Bacillus amyloliquefaciens*; Biological characteristics; Determination; Fermentation process; Optimization

随着我国经济发展和人们生活水平的提高, 对农业发展的追求已从单纯的高产转化为优质安全。化学农药的过量使用甚至滥用, 造成了农药污染^[1-2]、农药残留^[3]、土壤多样性破坏^[4]和食品安全性降低^[5]等问题。于是生物防治成为近年来新的研究热点。生物防治具有高效无污染、无毒无公害等基本特点, 不但与绿色食品的需求相符合, 还可保障

农业可持续发展。具有显著生防作用的内生细菌在大面积推广应用到田间前需制成生防菌剂, 且该生防菌剂须具备生防物质活性高和存储时间长等特点, 而发酵工艺的优化可提高拮抗菌株的生物量和活性, 并降低生产成本。解淀粉芽孢杆菌中许多菌株能分泌抗菌物质、产生拮抗作用、营养与空间的竞争及诱导寄主产生抗性和促进植物生长等^[6],

收稿日期: 2021-03-06; 修回日期: 2021-05-31

基金项目: 甘肃省瓜菜产业体系; 国家自然科学基金(31660148)

作者简介: 刘 华, 女, 推广研究员, 主要从事园艺作物技术推广工作。E-mail: 370172064@qq.com

通信作者: 杨成德, 男, 教授, 主要从事植物病理学方面研究工作。E-mail: yangcd@gsau.edu.cn

是具有开发生物农药潜力的微生物。本试验中,解淀粉芽孢杆菌 264ZY7 是一株从高寒草甸牧草中分离得到的内生细菌,对马铃薯炭疽病菌(*Colletotrichum coccodes*)、马铃薯枯萎病菌(*Fusarium avenaceum*)、小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokiniana*)、黄瓜枯萎病菌(*F. oxysporum*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)和马铃薯褐腐病菌(*Stysanus stemonitis*)等真菌和番茄细菌性斑点病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)等细菌均有良好的拮抗作用^[7]。因此,2016年在甘肃农业大学植物病原细菌及细菌多样性实验室对解淀粉芽孢杆菌 264ZY7 的生长及促生特性进行测定,并结合单因素试验和正交设计试验对其高密度发酵培养条件进行优化,以期菌株 264ZY7 规模化生产、开发新型生防制剂奠定基础,并为进一步田间的小试和中试提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) 264ZY7 由甘肃农业大学植物保护学院植物病原细菌及细菌多样性实验室保存。

1.2 供试培养基

牛肉膏蛋白胨培养基 NA 和培养液 NB^[8],PKO 平板培养基和孟金娜平板培养基^[9],阿须贝培养基^[10]。

1.3 生长及促生特性测定

1.3.1 生长温度测定 最低温度测定:将待测菌株于 NA 斜面培养基上进行划线,分别置于温度梯度为 0、2、4、6、8、10、12、14、16 ℃ 的恒温培养箱中培养 24 h,观察其生长情况;3 次重复(每个重复样本数 5 个,下同)。

最高温度测定:将待测菌株于 NA 斜面培养基上进行划线,分别置于温度梯度为 45、47、49、51、53、55、57、59、61 ℃ 的恒温培养箱中,培养 24 h 后观察其生长情况;3 次重复。

致死温度测定:将待测菌株培养液接于装 10 mL NB 培养液的试管中,分别经 90、91、92、93、94、95、100、105、110 ℃ 的高温处理 10 min 后,取 0.1 mL 菌悬液均匀涂布于 NA 平板上,并于 28 ℃ 培养箱中培养,48 h 后观察并记录菌落生长情况;3 次重复。

最适温度测定:取 0.03 mL 待测菌株培养液接于装 3 mL NB 培养液的试管中,以接无菌水培养液为对照,分别置于 22、24、26、28、32、34、36 ℃ 的摇

床培养(转速 180 r·min⁻¹),3 次重复,24 h 后测定 OD₆₀₀ 值。

1.3.2 最适生长 pH 测定 将 NB 培养液初始 pH 用 40%NaOH 和 40%HCl 分别调为 3、4、5、6、7、8、9、10 和 11,取 0.03 mL 待测菌株接于装有 3 mL NB 培养液的试管中,以无菌水培养液为对照,于 28 ℃、180 r·min⁻¹ 摇床中培养,3 次重复,12 h 后测定 OD₆₀₀ 值。

1.3.3 生长曲线测定 取 0.03 mL 待测菌株接于装有 3 mL NB 培养液的试管中,以接无菌水培养液为对照,于 28 ℃、180 r·min⁻¹ 摇床中培养,3 次重复,前 3 h 每隔 30 min 检测一次 OD₆₀₀ 值,3 h 后每隔 1 h 测一次。以 OD₆₀₀ 值为纵坐标,以培养时间为横坐标,制作生长曲线。

1.3.4 生物学功能的研究 溶磷能力采用溶磷圈法^[11],即将待测菌株分别点接在 PKO 和孟金娜平板培养基上,同时,用无菌水点接作为对照,28 ℃ 培养 3~5 d,菌落周围出现透亮溶磷圈的记录为阳性,否则为阴性;将待测菌株用划线法接于阿须贝培养基上,3 次重复,以接无菌水为对照,28 ℃ 培养,在第 3 天和第 7 天检查其生长情况,在培养基上明显生长者记为阳性,继代培养 3 代仍为阳性,则认为具有固氮能力^[12];利用 Salkowski 法^[13]测定产 IAA 能力。

1.4 发酵条件优化

1.4.1 种子液制备 将已活化的新鲜待测菌株接于 NA 培养液(100 mL·150 mL⁻¹ 三角瓶)中,振荡培养(180 r·min⁻¹,28 ℃)24 h,制得种子液。

1.4.2 碳、氮源及无机盐筛选 供试碳源:A 蔗糖;B 玉米淀粉;C 水溶性淀粉;D 麦芽糖;E 乳糖;F 不加糖;CK NB 培养基。将以上碳源分别替换基础培养液(40 mL·150 mL⁻¹ 三角瓶)中葡萄糖,接入种子液 2 mL,振荡培养(180 r·min⁻¹,28 ℃)24 h,3 次重复,测定发酵液 OD₆₀₀ 值,以 OD₆₀₀ 值确定最佳碳源。

供试氮源:A 尿素;B (NH₄)₂SO₄;C KNO₃;D NH₄Cl;E 酵母膏;F 不加氮;CK NB 培养液。将以上氮源分别替换基础培养基中蛋白胨,其他处理同碳源筛选,以确定最佳氮源。

无机盐:A MgSO₄;B KH₂PO₄;C MnSO₄;D CuSO₄;E CaCl₂;F 不加无机盐离子;CK NB 培养基。将以上无机盐分别替换基础培养基中 NaCl,其他处理同碳源筛选,以确定无机盐。

1.4.3 正交试验设计 根据单因素试验筛选结果,将最适碳、氮源和无机盐按不同浓度进行 L₉(3³) 正交试验(表 1),28 ℃,180 r·min⁻¹ 摇床振荡培养 24 h,

通过检测发酵液 OD_{600} 值,分析方差显著性,确定最优培养基组合。

表 1 L9(3³)正交试验设计

水平	因素		
	碳源 A	氮源 B	无机盐 C
1	1	1	0
2	1	0	1
3	0	1	1

1.4.4 摇瓶发酵条件优化 设定 pH 为 5、6、7、8、9,温度为 20、24、28、32、36 °C,摇床转速为 150、180、210、240、270 $r \cdot \min^{-1}$,接种量为 0.5%、1%、2%、6%、10%,装液量为 150 mL 三角瓶中分装 20、40、60、80 和 100 mL 培养液,3 次重复;在最佳培养基上分别振荡培养 24 h,检测发酵液 OD_{600} ,筛选发酵条件。

1.4.5 100 L 发酵罐放罐时间确定 在最佳发酵培养基和培养条件下,对生防菌株进行连续培养,每隔 3 h 取样,3 次重复,测定发酵液 OD_{600} 值,确定 100 L 发酵罐中最佳放罐时间。

1.5 数据处理

利用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 等软件进行试验设计与数据处理。

2 结果与分析

2.1 生长及促生测定

2.1.1 最低、最高、致死和最适生长温度的测定 由图 1 可知,菌株 264ZY7 在温度低于 2 °C 或高于 55 °C 时不生长,在 30~36 °C 时 OD_{600} 明显高于其他温度,在 110 °C 水浴 10 min 后涂于 NA 平板上 48 h 后未发现菌落,表明菌株 264ZY7 最高生长温度为 55 °C,最低、致死和最适温度分别为 2 °C、110 °C 和 30~36 °C。

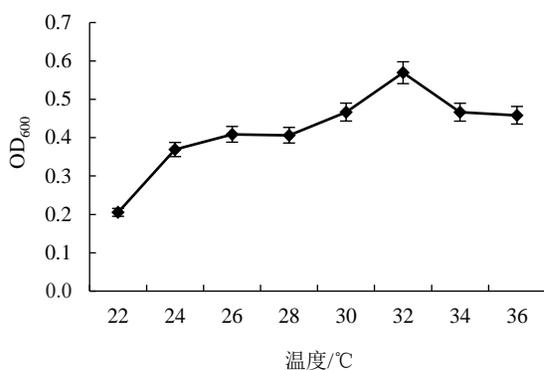


图 1 最适生长温度测定

2.1.2 生长 pH 值测定 由图 2 可知,pH 值在 4 及以下时菌株 264ZY7 生长明显受限,pH 值在 5~7

范围时生长良好,其 OD_{600} 高于其他 pH 值,pH 超过 8 时,菌株生长减缓,pH 值达到 11 时菌株不生长。这表明菌株 264ZY7 最适生长 pH 值为 5~7,低于 4 和高于 8 不利于其生长。

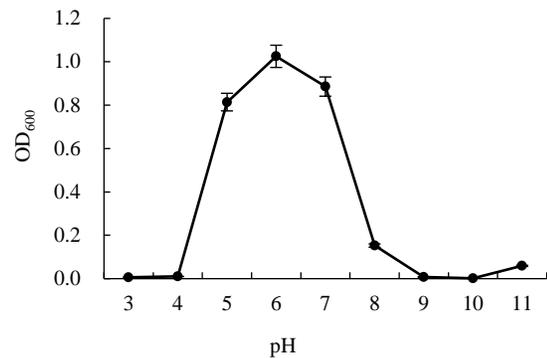


图 2 菌株 264ZY7 最适生长 pH

2.1.3 生长曲线测定 由图 3 可知,菌株 264ZY7 在 0~5 h 为迟缓期,在 5 h 后进入对数生长期,14 h 后进入稳定期,在 30 h 时菌株生物量上升到最大值,之后进入衰退期(图 3)。

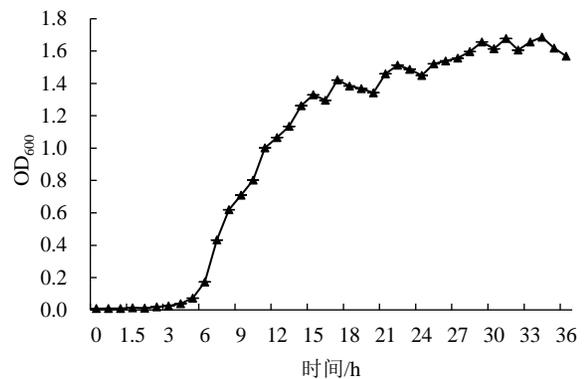


图 3 菌株 264ZY7 生长曲线

2.1.4 促生能力表征测定 菌株 264ZY7 在无氮阿须贝培养基上培养 7 d 可以正常生长,且连续培养 3 代均可形成明显菌落,说明菌株具有稳定的固氮能力;在溶磷培养基上不形成透明圈,说明无溶磷作用;在含色氨酸和不含色氨酸的培养液中分别加入比色液均表现为淡红色或血红色的阳性反应(图 4),表明菌株有产 IAA 的能力。

2.2 碳、氮源及无机盐筛选

2.2.1 碳、氮源及无机盐筛选 由图 5 可以看出,菌株 264ZY7 碳源为蔗糖时, OD_{600} 显著大于其他碳源,即最适碳源为蔗糖。

由图 6 可以看出,在酵母膏为氮源的培养基上 OD_{600} 显著高于其他氮源,说明酵母膏是最适氮源,尿素对该菌株有显著的抑制作用。

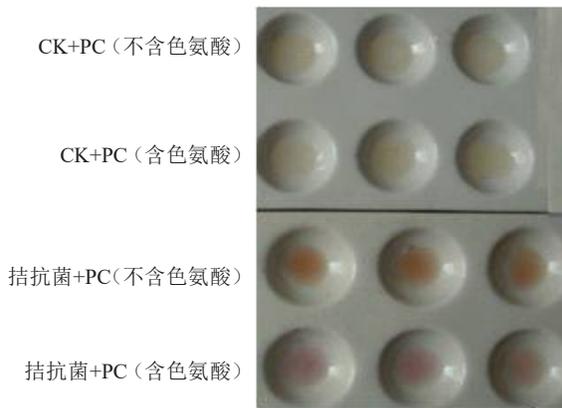
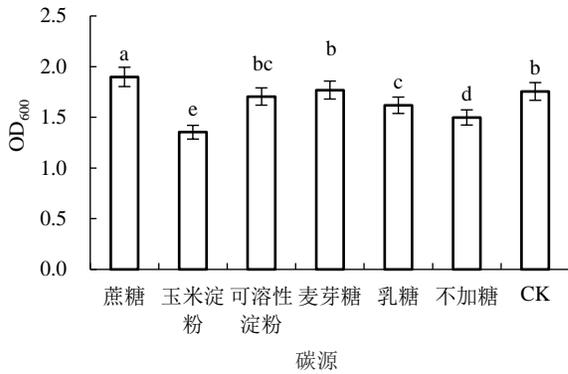


图4 产IAA能力的定性测定



注:小写字母表示在0.05水平差异显著。下同。

图5 碳源对菌株264ZY7生长的影响

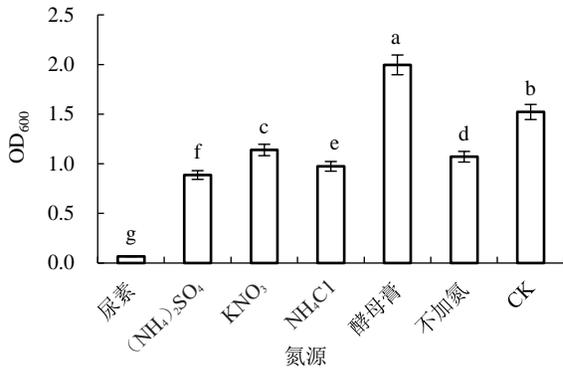


图6 氮源对菌株264ZY7生长的影响

由图7可以看出,CK(无机盐为NaCl)时发酵液OD₆₀₀显著高于其他无机盐,表明NaCl是最佳无机盐,CuSO₄与MnSO₄对其有显著的抑制作用。

2.2.2 碳、氮源及无机盐浓度优化 菌株264ZY7在碳源浓度(ρ ,后同)为蔗糖20 g·L⁻¹时,OD₆₀₀显著大于其他碳源浓度,即最佳碳源浓度为蔗糖20 g·L⁻¹;氮源酵母膏浓度为4 g·L⁻¹时,OD₆₀₀显著大于其他氮源酵母膏浓度,即最佳氮源浓度为酵母膏4 g·L⁻¹;无机盐浓度为NaCl 5 g·L⁻¹时,OD₆₀₀显著大于其他NaCl浓度,即最佳无机盐浓度为NaCl 5 g·L⁻¹(图8、图9、图10)。

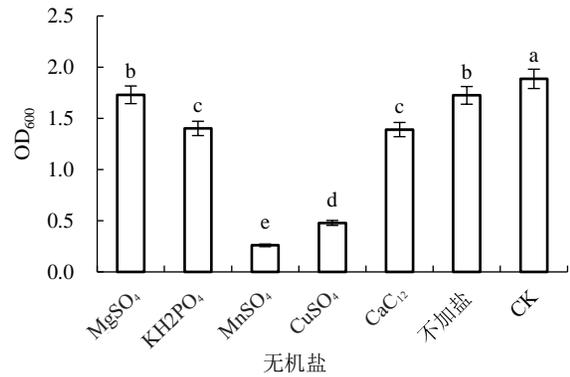


图7 无机盐对生防菌株264ZY7生长的影响

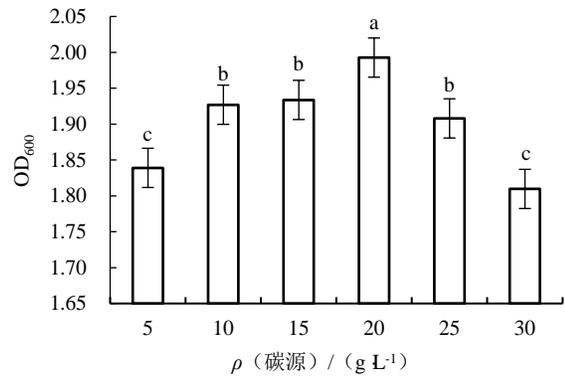


图8 碳源浓度对菌株264ZY7生长的影响

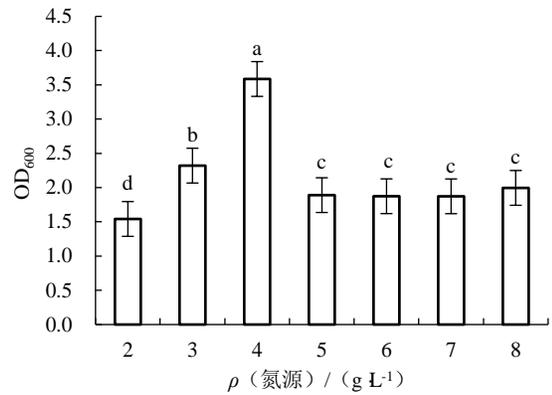


图9 氮源浓度对菌株264ZY7生长的影响

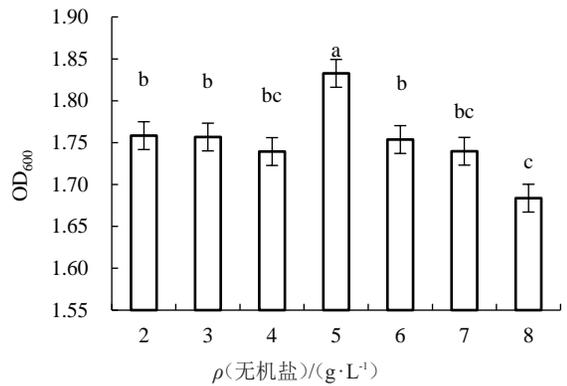


图10 无机盐离子浓度对菌株264ZY7生长的影响

2.3 正交试验

由表 2 正交试验可知, 菌株 264ZY7 在蔗糖 25 g、NaCl 5 g、酵母膏 5 g、水 1000 mL 的培养液中 OD₆₀₀ 显著大于其他正交试验, 表明最适宜菌株 264ZY7 生长为牛肉膏 3 g、蔗糖 25 g、NaCl 5 g、酵母膏 5 g、水 1000 mL。

表 2 正交试验优化结果

序号	试验因素			OD ₆₀₀
	蔗糖/g	酵母膏/g	NaCl/g	
1	15	3	4	2.33 f
2	15	4	5	3.77 c
3	15	5	6	4.44 b
4	20	3	5	2.53 e
5	20	4	6	3.83 c
6	20	5	4	4.53 b
7	25	3	6	3.26 d
8	25	4	4	3.83 c
9	25	5	5	4.71 a

注: 在 OD₆₀₀ 值中同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

2.4 摇瓶发酵条件的优化

2.4.1 最适 pH 值筛选 由图 11 可知, 菌株 264ZY7 在 pH 6 时生长最快, 且显著大于其他 pH 值下的 OD₆₀₀, 表明菌株 264ZY7 生长的最适 pH 值为 6。

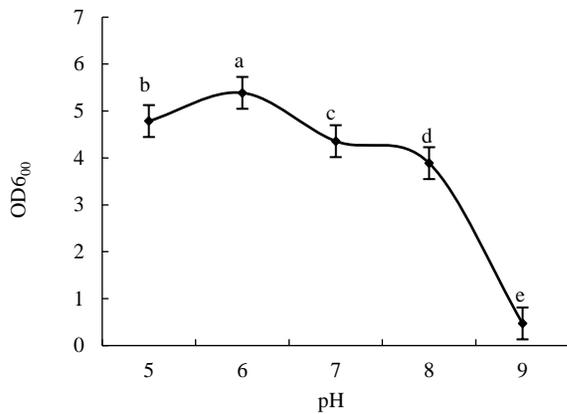


图 11 pH 对菌株 264ZY7 生长的影响

2.4.2 最适温度筛选 由图 12 可知, 菌株 264ZY7 在温度为 28 °C 时 OD₆₀₀ 最大, 且显著大于其他温度下 OD₆₀₀ 值, 表明适宜菌株 264ZY7 生长的最适温度为 28 °C。

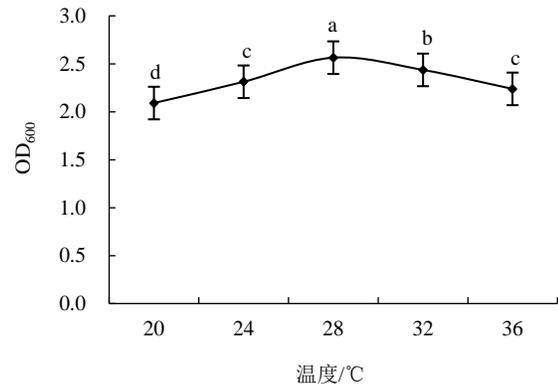


图 12 温度对菌株 264ZY7 生长的影响

2.4.3 最佳接种量筛选 由图 13 可知, 菌株 264ZY7 接种量为 1% 时 OD₆₀₀ 最大, 且显著高于其他接种量条件下的 OD₆₀₀, 表明该菌株生长最适的接种量为 1%。

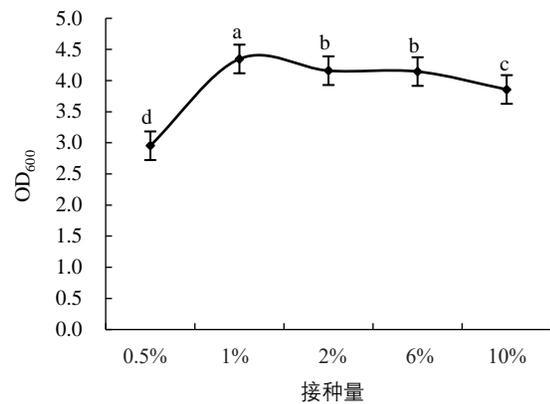


图 13 接种量对菌株 264ZY7 生长的影响

2.4.4 最佳装液量筛选 由图 14 可知, 菌株

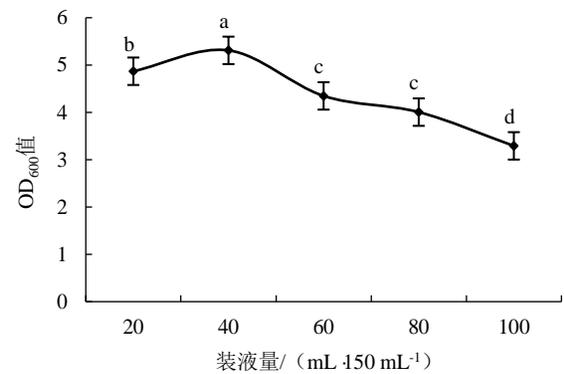


图 14 装液量对菌株 264ZY7 生长的影响

264ZY7 的装液量为 40 mL · 150 mL⁻¹ 时 OD₆₀₀ 显著高于其他装液量条件, 即最佳装液量为 40 mL · 150 mL⁻¹。

2.4.5 最佳转速筛选 由图 15 可知, 菌株 264ZY7 在摇床转速为 240 r · min⁻¹ 时 OD₆₀₀ 达到最大, 且显著高于其他转速时的生物量, 表明该菌株生长最适的摇床转速为 240 r · min⁻¹。

2.4.6 100 L 发酵罐放罐时间确定 由图 16 可知, 在最佳摇瓶发酵条件下对菌株 264ZY7 进行 100 L 发酵罐扩大培养, 菌株 264ZY7 在 21 h 时 OD₆₀₀ 极显著高于其他时间, 表明菌株 264ZY7 的发酵罐最佳放罐时间为 21 h。

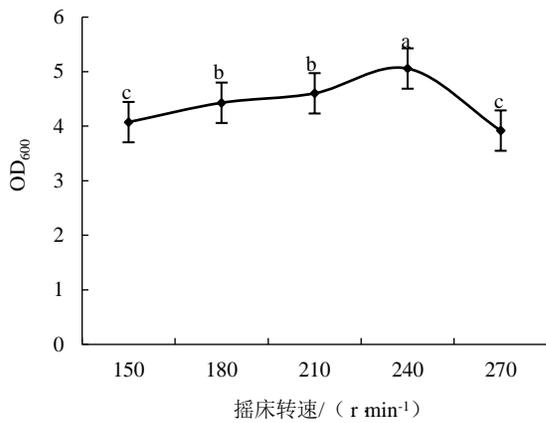
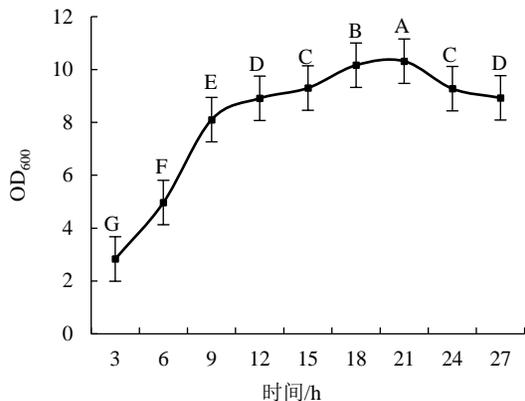


图 15 摇床转速对菌株 264ZY7 生长的影响



注:不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。

图 16 发酵时间对菌株 264ZY7 生长的影响

3 讨论与结论

高寒草甸内生细菌因其特殊的生境条件及抗逆性强等特点,是开发生防制剂的首选。王玉琴等^[4]从东祁连山高寒牧草中分离出内生细菌 265ZY4 可有效抑制多种病原菌的生长,并且有固氮、溶磷和分泌 IAA 等多种生物学功能。郭海等^[5]报道了高寒草地矮生嵩草内生细菌 262AG6 对马铃薯炭疽病的抑制效果达到 81.33%。笔者试验测定了菌株 264ZY7 的固氮、溶磷、产 IAA 能力及最低、最高、致死、最适生长温度、pH 和生长曲线。结果表明,菌株 264ZY7 具有稳定的固氮和产 IAA 能力,最高生长温度 55℃、最低生长温度 2℃、致死温度 110℃、最适温度 30~36℃,最适 pH 值 5~7。致死温度 110℃,比杨冬静等^[6]报道的解淀粉芽孢杆菌的致死温度(100℃)高,表明菌株 264ZY7 更耐受加工制备成生防制剂过程中的高温等条件;与张娟等^[7]报道的解淀粉芽孢杆菌 pH 为中性的结论基本一致。生长曲线表明,在 5 h 进入对数生长期,

在 10~14 h 时进入稳定生长期,与王卉等^[8]报道的解淀粉芽孢杆菌 L-S60 在 10 h 进入对数生长期、在 20 h 时进入稳定生长期的结果相比培养时间极度缩短,表明菌株 264ZY7 能在较短的时间内培养出高密度的生物量,在病害防治中所需时间缩短,能方便快捷的运用于生产中。

对生防内生细菌发酵条件优化有利于菌株的培养和用于生产中。冯中红等^[9]对抗马铃薯坏疽病的莫海威芽孢杆菌 ZA1 培养条件的优化得到最佳培养基配比氯化铵 14.25 g、玉米粉 19 g、马铃薯 237 g、水 1000 mL,最佳发酵条件 pH 7.7、培养温度 28℃、转速 180 r·min⁻¹ 及发酵时间 36 h,ZA1 优化后活菌数为 4.12×10¹⁰ CFU·mL⁻¹。本试验中菌株 264ZY7 对多种病原真菌和番茄丁香假单胞叶斑病菌都有较强的抑制效果^[7],为了使其较快的进入工业化生产并应用到田间地头,试验通过单因素和正交设计试验优化了其发酵工艺。结果表明,菌株 264ZY7 的最优培养基配比及生长条件为:牛肉膏 3 g,蔗糖 25 g,NaCl 5 g,酵母膏 5 g,水 1000 mL;温度为 28℃;接种量为 1%;装液量为 40 mL·150 mL⁻¹;摇床转速为 240 r·min⁻¹;pH 6;100 L 发酵罐放罐时间为 21 h。与刘京兰^[20]报道的内生解淀粉芽孢杆菌优化后的发酵条件为 pH 6,发酵温度 28℃等的结论接近,最佳接菌量比 7%少。与李鑫等^[21]报道的解淀粉芽孢杆菌 HRH-317 优化后的发酵条件 pH 7,最佳接菌量 3.8%、最佳时间 21 h,最适温度 37℃相比,最佳接种量少,最适温度低于李鑫等^[21]报道的解淀粉芽孢杆菌 HRH-317 的最适温度且更近于常温,比梁艳琼等^[22]和洪鹏等^[23]报道的解淀粉芽孢杆菌的最佳接种时间 48 h 短,表明本试验中的生防菌能在较低要求的培养条件下获得较多的有益产物,且此差异的出现也可能由菌株的来源不同所致。经过发酵工艺的优化,菌株 264ZY7 的生物量显著高于优化前(发酵前最高的 OD₆₀₀ 1.69,发酵后的 OD₆₀₀ 10.37),该结论为菌株 264ZY7 进入工业化生产奠定了良好的基础。但菌株 264ZY7 的抑菌物质及在番茄根、茎、叶内的定殖动态尚不明确,此还有待于进一步研究探讨。

内生拮抗细菌 264ZY7 具有稳定的固氮和产 IAA 能力,在牛肉膏 3 g、蔗糖 25 g、NaCl 5 g 和酵母膏 5 g,水补足至 1000 mL 和 pH 6 的培养基中,于 28℃、接种量 1%、装液量 40 mL·150 mL⁻¹ 和转速 240 r·min⁻¹ 条件下发酵 21 h 的 OD₆₀₀ 达 10.37。该研究结果为利用内生拮抗细菌 264ZY7 开发生防制

剂奠定了基础。

参考文献

- [1] 周一明,赵鸿云,刘珊,等.水体的农药污染及降解途径研究进展[J].中国农学通报,2018,34(9):141-145.
- [2] OLUTONA G O, AYANO S A, OBAYOMI-DAVIES O. Organochlorine pesticide in water and bottom sediment from Aiba Reservoir (Southwestern Nigeria) [J]. Chemistry And Ecology, 2014, 30(6): 513-531.
- [3] LOFTY H M, EL-ALEEM A E A, MONIR H H. Determination of insecticides malathion and lambda-cyhalothrin residues in zucchini by gas chromatography [J]. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University, 2013, 51(2): 255-260.
- [4] YADAV M, SHUKLA A K, SRIVASTVA N, et al. Utilization of microbial community potential for removal of chlorpyrifos: a review [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2016, 36(4): 727-742.
- [5] 郝世宾,刘丽,魏青.廊坊市市售蔬菜中农药残留的调查分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3849-3854.
- [6] WAN T T, ZHAO H H, WANG W. Effect of biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* SN16-1 and plant pathogen *Fusarium oxysporum* on tomato rhizosphere bacterial community composition [J]. Biological Control, 2017, 112: 1-9.
- [7] 冯中红,王玉琴,杨成德,等.番茄细菌性叶斑病菌的拮抗菌筛选、鉴定及其拮抗性评价 [J]. 草业学报, 2015, 24(8): 166-173.
- [8] 畅涛,冯中红,杨成德,等.一株抗马铃薯坏疽病生防细菌 B-401 产抑菌物质条件优化及稳定性 [J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(3): 365-371.
- [9] 李海云,蒋永梅,姚拓,等.蔬菜作物根际促生菌分离筛选、鉴定及促生特性测定 [J]. 植物保护学报, 2018, 45(4): 836-845.
- [10] 崔月贞,杨小利,杨成德,等.拮抗马铃薯晚疫病病菌的高寒草地牧草内生细菌的鉴定及其生物功能测定 [J]. 植物保护学报, 2016, 43(5): 789-795.
- [11] 殷晓敏,郑服从,贺春萍,等.枯草芽孢杆菌 B215 生物学特性及对香蕉枯萎病的生防效果评价 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(8): 1416-1419.
- [12] 杨成德,李振东,陈秀蓉,等.高寒草地珠芽蓼内生拮抗固氮菌 Z19 的鉴定及其固氮功能 [J]. 微生物学通报, 2014, 41(2): 267-273.
- [13] GLICMANN E, DESSAUX Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796.
- [14] 王玉琴,杨成德,王颖,等.针茅内生细菌菌株 265ZY4 的鉴定及其生物学功能 [J]. 微生物学通报, 2015, 42(1): 101-109.
- [15] 郭海,杨成德,姚玉玲,等.高寒草地牧草内生细菌 262AG6 拮抗功能测定及鉴定 [J]. 西北农业学报, 2017, 26(10): 1529-1536.
- [16] 杨冬静,张成玲,徐振,等.一株解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定及其生物学特性研究 [J]. 江西农业学报, 2017, 29(9): 69-74.
- [17] 张娟,杨彩梅,曹广添,等.解淀粉芽孢杆菌及其作为益生菌的应用 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(4): 863-867.
- [18] 王卉,游成真,秦宇轩,等.解淀粉芽孢杆菌 L-S60 生物学特性及其固态发酵工艺研究 [J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(9): 133-142.
- [19] 冯中红,畅涛,杨成德,等.一株抗马铃薯坏疽病莫海威芽孢杆菌 (*Bacillus mojavensis* ZA1) 培养条件的优化 [J]. 草业学报, 2016, 25(2): 77-86.
- [20] 刘京兰,薛雅蓉,刘常宏.内生解淀粉芽孢杆菌 CC09 产 Iturin A 摇瓶发酵条件优化 [J]. 微生物学通报, 2014, 41(1): 75-82.
- [21] 李鑫,郝林,马玲.解淀粉芽孢杆菌 HRH₃₁₇ 抑菌物质发酵条件的优化 [J]. 中国酿造, 2017, 36(2): 25-29.
- [22] 梁艳琼,黄兴,吴伟怀,等.解淀粉芽孢杆菌 TWC2 发酵条件的优化 [J]. 中国糖料, 2017, 39(6): 17-22.
- [23] 洪鹏,安国栋,胡美英,等.解淀粉芽孢杆菌 HF-01 发酵条件优化 [J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(4): 569-578.