

西洋参内生菌株的分离及拮抗活性菌株的筛选和鉴定

刘学周, 李绍宾, 赵智灵, 张连学*, 孙福仁

吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

摘要: 目的 研究吉林产西洋参内生菌资源状况, 筛选出对西洋参病原菌具有拮抗作用的内生菌。方法 采用混菌法初筛和发酵液拮抗法复筛来筛选具有拮抗活性的菌株, 并用 16 S rDNA 和 ITS 方法鉴定筛选得到的内生菌株。结果 在西洋参中共分离获得 34 株内生菌, 通过初筛和复筛后, 从中选出了 6 株对西洋参病原菌具有较好拮抗作用的菌株, 分别为 B3、B11、B17、B23、B24、F10, 其中 B3 对 7 种病原菌均表现出了抑菌作用, F10 对锈腐病菌 *Cylindrocarpon destructan* 和黑斑病菌 *Alternaria panax* 的抑菌效果最好, 其抑菌圈直径均大于 35 mm, 经鉴定 B3 和 F10 分别为芽孢杆菌 *Bacillus methylotrophicus* 和暗黄青霉 *Penicillium citreonigrum*。结论 西洋参内生菌具有多样性, 并有拮抗活性高的菌株存在, 可以成为西洋参病害生防菌的新来源。

关键词: 西洋参; 内生菌; 抑菌作用; 筛选; 鉴定

中图分类号: R282.15

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)22-3332-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.22.022

Isolation of endophytes from *Panax quinquefolium* and screening and identification of strains with antagonistic activity

LIU Xue-zhou, LI Shao-bin, ZHAO Zhi-ling, ZHANG Lian-xue, SUN Fu-ren

College of Traditional Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective To study the resource situation of endophytes in *Panax quinquefolium* of Jilin province and to select the endophytes with antagonistic effect on pathogenic fungi of *P. quinquefolium*. **Methods** The strains with the antagonistic activity were screened by applying mixed strains method during preliminary screening and adopting the antagonism method of fermentation liquor in re-screening; Besides, the selected endogenous strains were identified via 16 S rDNA and ITS method. **Results** Thirty-four endogenous strains were isolated from *P. quinquefolium*. After preliminary screening and re-screening, six strains with good antagonistic effect on pathogenic fungi of *P. Quinquefolium* were selected: B3, B11, B17, B23, B24, and F10. Among them, B3 showed an inhibitory effect on seven pathogenic fungi; F10 had a good inhibitory effect on *Cylindrocarpon destructans* and *Alternaria panax*, with an inhibitory zone diameter over 35 mm; According to the identification, B3 and F10 were *Bacillus methylotrophicus* and *Penicillium citreonigrum* respectively. **Conclusion** Endophytes in *P. quinquefolium* are diversified and there also exist strains with high antagonistic activity, which can be a good source for biocontrol bacterium and fungus of *P. quinquefolium* diseases.

Key words: *Panax quinquefolium* L.; endophyte; antagonistic activity; screening; identification

西洋参 *Panax quinquefolium* L. 为名贵中药, 在我国东北、北京、陕西、山东和河北等地已形成规模化种植^[1]。在栽培条件下, 西洋参常发生根腐病、疫病、锈腐病等病害, 并随西洋参种植年份的增加, 病害的种类、发病面积及严重程度也逐年增加^[2], 严重制约着西洋参产业的健康发展。

植物内生菌是指存活于健康植物组织内部, 而又不引发宿主植物表现出明显感染症状的微生物类

群, 包括真菌、细菌和放线菌^[3-4]。内生菌会对宿主植物产生有益作用, 如固氮、促植物生长、抗逆境、拮抗植物病原菌等^[5-6]。

西洋参病害的生物防治因具有安全、绿色环保的优势, 越来越受到重视^[7]。开发西洋参内生菌资源, 用于西洋参病害的生物防治, 对于提高西洋参品质和保护环境都具有非常重要的意义。目前对西洋参内生菌的报道多集中在内生菌分离和内生菌次

收稿日期: 2014-07-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31201161); 吉林省教育厅科学技术研究项目(2014-61); 吉林省中医药管理局中医药科技项目(2013-4)

作者简介: 刘学周, 博士, 讲师, 主要从事药用植物栽培生理生态方面的研究。E-mail: lxzhmail@163.com

*通信作者 张连学, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药学。E-mail: zlxbooksea@163.com

生代谢产物研究方面^[8], 西洋参病害生物防治中所用的拮抗微生物也多从土壤中分离筛选得到^[9], 而对西洋参内生菌这一重要资源远未得到充分开发, 西洋参内生菌在西洋参病害防治中的应用更是鲜有报道。因此本实验对吉林省西洋参内生菌资源进行系统研究, 探索其对西洋参病原菌的拮抗作用, 筛选有抑菌活性的内生菌, 将为揭示吉林省西洋参内生菌资源状况, 以及进一步研发西洋参病害的生物防治剂和促生生物菌剂提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株及植物材料

锈腐病菌 *Cylindrocarpon destructans* (Zinss) Scholten、灰霉病菌 *Botrytis cinerea* Pers、菌核病菌 *Sclerotinia schinseng* Wang et Chen、疫病菌 *Phytophthora cactorum* Schroet、黑斑病菌 *Alternaria panax* Whetz、根腐病菌 *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wollenw、立枯病菌 *Rhizoctonia solani* Kuhn. 等7种西洋参常见病原菌由本课题组保存。2013年7~8月, 在吉林珲春、长白、抚松、靖宇、集安采集5年生健康西洋参 *Panax quinquefolium* L. 植株, 样品均由吉林农业大学中药材学院田义新教授鉴定(表1)。

表1 采样地点
Table 1 Sampling sites

采集地	经度	纬度
珲春	东经 130°30'05"	北纬 42°51'41"
长白	东经 128°17'29"	北纬 41°43'22"
抚松	东经 127°33'20"	北纬 42°03'09"
靖宇	东经 126°08'11"	北纬 42°38'16"
集安	东经 126°17'24"	北纬 41°15'31"

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖(PDA)培养基: 马铃薯培养基 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 18 g、水 1 000 mL、加 0.3% 医用链霉素, pH 值自然。

牛肉膏蛋白胨培养基(NA): 牛肉膏培养基 3 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、琼脂 20 g、水 1 000 mL、pH 值 7.4~7.6。

高氏 I 号培养基: 可溶性淀粉 20 g、KNO₃ 1 g、K₂HPO₄ 0.5 g、MgSO₄·7H₂O 0.5 g、NaCl 0.5 g、FeSO₄·7H₂O 0.01 g、琼脂 20 g、自来水 1 000 mL、pH 值 7.4~7.6。

PDA 液体培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、水 1 000 mL, 加 0.3% 医用链霉素, pH 值自然。

NA 液体培养基: 牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、水 1 000 mL, pH 值 7.4~7.6。

1.3 组织表面消毒

将采集到的西洋参样本先在流水下冲洗, 去除表面的泥土和灰尘。室温晾干, 用灭过菌的滤纸吸干植物表面剩余的水分。选择没有破损且完整的叶片、茎和根, 切成 2 cm 见方的小块(段、片), 在 50% 乙醇中浸泡 1 min 后置于 75% 乙醇中 1 min, 根使用 0.10% HgCl₂ 处理 11 min, 参茎使用 0.10% HgCl₂ 处理 7 min, 叶使用 2% 的 NaClO 处理 5 min 进行表面消毒, 然后用无菌水冲洗 3~5 次。

把处理后的组织接入 NA 培养基, 观察两周无污染后, 切去表皮, 切成 0.5 cm 见方的小块(段、片)接入 NA 培养基, 观察记录, 每个处理设置重复, 每个重复接入 9 块组织。组织块边缘有菌丝生长, 证明消毒方法可用, 再进行择优选取。

1.4 内生菌的分离纯化

内生细菌分离采用 NA 培养基, 内生真菌分离采用 PDA 培养基, 内生放线菌分离采用高氏 I 号培养基。分离得到的内生菌经反复纯化后, 4 °C 保存。

1.5 内生菌抑菌活性筛选

抑菌活性初筛: 采用姜云等^[10]的筛选方法。

抑菌活性复筛: 在姜云等^[10]复筛方法的基础上改进, 发酵和菌液收集不变, 使用滤纸片法对菌液进行复筛。

1.6 内生菌的鉴定

内生细菌基因组的提取利用 Bio Teke cat#DP2001 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)进行, 用通用引物 27f(5'-AGAGTTTGATCC-TGGCTCAG-3')和 1492 r(5'-TACGGCTACCTTG-TTACGACTT-3')扩增细菌 16 S RNA。扩增体系为 50 μL, 包括 2×PCR MIX 25 μL, ddH₂O 15 μL, DNA Template 5 μL, 27f 2.5 μL, 1492 r 2.5 μL。PCR 扩增程序为 94 °C 变性 5 min, 94 °C 变性 40 s, 53 °C 复性 60 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并将其产物送上海生工进行测序。

内生真菌基因组提取利用 Bio Teke cat#DP2031 真菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)进行。用通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-G-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATT GATATGC-3')扩增内生真菌 ITS 序列。扩增体系为 50 μL, 包括 2×PCR MIX 25 μL, ddH₂O 15 μL, DNA Template 5

μL, ITS1 2.5 μL, ITS4 2.5 μL。PCR 扩增程序为 95 °C 变性 5 min, 94 °C 变性 45 s, 52 °C 复性 45 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并将其产物送上海生工进行测序。

扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增产物测序结果在 GenBank 中进行 BLAST 分析, 然后用 DNAMAN 6.0 软件进行序列相似性分析, 以 Neighbor-joining 方法构建系统发育树, 用 Bootstrap (1 000 次重复) 进行检验。

1.7 数据分析

用 Excel 2003 对统计数据计算和制作图表。

2 结果与分析

2.1 西洋参内生菌的分离纯化

内生菌的种类和数量会受到植物种类、生长阶段、生长环境的影响^[11], 对不同采样地的西洋参进行内生菌的分离纯化, 共分离得到 34 株内生菌, 其中根中 29 株, 茎中 22 株, 叶中 26 株。5 个不同采样地得到的内生菌也不同, 珥春、长白、抚松、靖宇和集安分别为 17、15、16、16、13 株。结果显示采样地的不同和分离部位的不同影响植株内生菌种类和数量。

2.2 生防内生菌株的初筛

初筛结果表明 (表 2), 对病原菌具有抑菌活性的菌株有 21 株, 其中, 对西洋参立枯病菌有抑菌作用的内生菌最多, 为 12 株, 占有抑菌作用内生菌总数的 57.14%, 其次是对西洋参根腐病菌的为 11 株, 占有抑菌作用内生菌总数的 52.38%, 对西洋参菌核病菌和西洋参锈腐病菌的最少, 均为 3 株, 占有抑菌作用内生菌总数的 14.29%。对病原菌具有抑菌活性的菌株中, 对 4 种以上病原菌具有抑菌活性的内生菌为 6 株, 其中内生菌 B3 对供试的 7 种病原菌都有明显抗性, 内生菌 F10 对除菌核病菌的其他 6 种病原菌都有抑菌活性。

对病原菌有抑制作用的内生菌在西洋参各部位的分布上有明显差异 (表 3), 根中有抑菌作用的内生菌最多, 占有抑菌作用内生菌总数的 76.19%; 叶中次之, 占 57.14%; 茎中最少占 42.86%。对病原菌有抑制作用的内生菌在来源分布上也有明显差异 (表 4), 靖宇西洋参内生菌有抑菌作用的最多, 占 52.38%; 集安次之, 占 47.62%; 长白最少, 占 23.81%; 抚松和珥春分别为 28.57% 和 42.86%。

表 2 西洋参拮抗内生菌的初筛情况

Table 2 Preliminary screening situation of endophyte with antagonistic activity in *P. quinquefolium*

拮抗内生菌	抑菌效果						
	锈腐	灰霉	菌核	疫病	黑斑	根腐	立枯
B2	-	-	-	-	+	-	+
B3	+	+	+	+	+	+	+
B4	-	-	-	+	-	-	-
B5	-	-	-	+	-	+	-
B6	-	-	-	-	-	-	+
B7	-	-	-	-	-	-	+
B8	-	-	-	+	-	-	+
B11	-	-	+	+	+	+	+
B12	-	-	-	-	-	+	-
B13	-	-	-	-	+	-	-
B17	-	+	-	+	+	+	-
B18	-	+	-	-	+	+	-
B19	-	-	-	-	-	+	+
B20	-	-	-	-	-	+	+
B21	-	+	-	+	-	-	-
B22	-	-	-	-	+	-	+
B23	+	-	-	-	+	+	+
B24	-	+	+	-	-	+	+
F2	-	+	-	-	-	-	-
F3	-	-	-	+	-	-	-
F10	+	+	-	+	+	+	+

B-细菌, F-真菌 (下同); “+” 为有抑制效果, “-” 为无抑制效果
B-bacteria, F-fungus (same as below); “+” means antagonistic effect, while “-” means absence of antagonistic effect

2.3 生防内生菌株的复筛

通过对初筛得到的内生细菌和真菌进行发酵液抑菌活性复筛后表明, 对西洋参锈腐病菌、黑斑病菌、立枯病菌有抑菌活性的菌株各有 4 株, 对西洋参灰霉病菌、西洋参菌核病菌、西洋参疫病病菌和西洋参根腐病菌有抑菌活性的菌株较少 (表 5)。内生菌 B3 对供试的 7 种病原菌均表现出了抑菌作用。内生菌 F10 对锈腐病菌和黑斑病菌的抑菌圈直径均 > 35 mm, 说明此菌株的抑制效果明显好于其他处理。

内生菌 B3 的发酵液与菌体的抑菌活性无明显差异。内生菌 F10 发酵液相对于菌体来说, 对疫病病菌、根腐病和立枯病菌的抑制作用消失, 但是对锈腐病菌和黑斑病菌的抑制效果显著增强。内生菌 B24 发酵液相对于菌体只剩下对菌核病菌的抑制作用, 且抑制作用与菌体相比, 无明显变化, 对灰霉

表 3 西洋参不同部位中对植物病原菌有抑菌作用内生菌的数量及所占比例

Table 3 Quantity and proportion of endophytes with antagonistic effect on phytopathogen in different parts

分离部位	内生菌数量 (占比例 / %)							总数
	锈腐病菌	灰霉病菌	菌核病菌	疫病菌	黑斑病菌	根腐病菌	立枯病菌	
根	2 (66.67)	6 (85.71)	2 (66.67)	7 (77.78)	8 (88.89)	9 (81.82)	8 (66.67)	16 (76.19)
茎	1 (33.33)	2 (28.57)	0 (0)	2 (22.22)	5 (55.56)	3 (27.27)	4 (33.33)	9 (42.86)
叶	2 (66.67)	3 (42.86)	2 (66.67)	4 (44.44)	5 (55.56)	5 (45.45)	9 (75.00)	12 (57.14)
总数	3 (14.29)	7 (33.33)	3 (14.29)	9 (42.86)	9 (42.86)	11 (52.38)	12 (57.14)	21 (100.00)

表中“()”外面数字表示有抑菌作用内生菌种类数,“()”中数字表示其占有抑菌作用内生菌总数的百分比(下同)

Figures outside“()” in table refer to quantity of endophytes with antagonistic effect, and Figures in“()” mean its proportion in all endophytes with antagonistic effect (same as below)

表 4 不同地区西洋参中对植物病原菌有抑菌作用内生菌的数量及所占比例

Table 4 Quantity and proportion of endophytes with antagonistic effect on phytopathogen in different areas

采样地点	内生真菌数量 (占比例 / %)							总数
	锈腐病菌	灰霉病菌	菌核病菌	疫病菌	黑斑病菌	根腐病菌	立枯病菌	
珲春	2 (66.67)	4 (57.14)	1 (33.33)	4 (44.44)	4 (44.44)	4 (36.36)	4 (33.33)	9 (42.86)
长白	0 (0)	1 (28.57)	0 (0)	1 (11.11)	3 (33.33)	1 (9.09)	3 (0.25)	5 (23.81)
抚松	1 (33.33)	2 (28.57)	1 (33.33)	5 (55.56)	3 (33.33)	3 (27.27)	4 (33.33)	6 (28.57)
靖宇	1 (33.33)	5 (71.34)	1 (33.33)	5 (55.56)	3 (33.33)	6 (54.55)	6 (0.5)	11 (52.38)
集安	2 (66.67)	3 (42.86)	1 (33.33)	3 (33.33)	3 (33.33)	6 (54.55)	6 (0.5)	10 (47.62)
总数	3 (14.29)	7 (33.33)	3 (14.29)	9 (42.86)	9 (42.86)	11 (52.38)	12 (57.14)	21 (100.00)

表 5 西洋参拮抗内生菌的复筛情况

Table 5 Re-screening situation of endophytes with antagonistic activity in *P. quinquefolium*

拮抗菌株	抑菌圈直径 / mm						
	锈腐病菌	灰霉病菌	菌核病菌	疫病菌	黑斑病菌	根腐病菌	立枯病菌
B3	9	9	13	18	11	16	9
B11	11				14		18
B17	14					12	17
B23				27	10		13
B24			15				
F10	36	13			40		

病菌、根腐病菌、立枯病菌的抑制作用消失;内生菌 B11、B17、B23 发酵液与菌体相比,对可抑制的病原菌种类减少,但其抑菌活性增强。

B23 分布最广,4 个采样地点都分离得到,多出现在茎、叶中;F10 次之,只在根中发现;B3 和 B17 有 2 个采样地发现,B3 在根和叶中得到,B17 在根和茎中得到;B11 只有在长白根中得到,B24 只在集安叶中得到。

2.4 菌株 16 S rDNA 序列扩增及系统发育学分析

对菌株 F10 进行 16 S rDNA 基因测序,将所得序列在 GenBank 基因库中进行同源性搜索,结果表明,菌株 F10 与暗黄青霉 *Penicillium citreonigrum* (EU497942) 的序列相似率最大,达 98%,构建系统发育树后,二者位于同一系统发育分支上。综合同源性比对结果和 F10 与暗黄青霉在发育系统中的位置,并结合其培养特征,该菌株应属于暗黄青霉。对 B3

进行 16 S rDNA 基因测序,将所得序列在 GenBank 基因库中进行同源性搜索,结果表明,菌株 B3 与芽孢杆菌 *Bacillus methylotrophicus* (JN700123) 菌株的序列相似率最大,达 99%,构建系统发育树后,二者位于同一系统发育分支上(图 3)。综合同源性比对结果和 B3 与芽孢杆菌在发育系统中的位置,并结合其培养特征,该菌株应属于芽孢杆菌。

3 讨论

本研究在不同地点、不同器官的西洋参样本中共分离到内生菌 34 株,样品的来源较广、数量较多,表面消毒彻底,保证了分离到的内生菌具有多样性和代表性,为西洋参内生菌资源进行进一步的开发奠定了良好基础。

本研究通过混菌法对西洋参内生菌初筛后发现,不同采集地、同采集地不同部位西洋参体内拮抗菌的量存在一定的差异,这与金岩等^[12]在五味子内生



图 3 筛选菌株的 16 S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 16 S rDNA sequence of screened strains

菌研究中得出的结论一致。而且不同菌株对于供试的 7 种西洋参主要病害病原菌均有不同的抑制作用，其中对疫病菌、黑斑病菌、根腐病菌、立枯病菌和灰霉病菌具有抑菌活性的菌株较多，而对锈腐病菌和菌核病菌有抑菌作用的菌株较少，说明在拮抗菌株间存在着靶标菌选择性，对于不同种类的病原菌抗菌谱存在差异，这与李勇等^[13]在人参内生菌研究中得出的结论一致。

芽孢杆菌属菌株是最普遍被报道的植物生长促生根际细菌，芽孢杆菌属的一些种能够产生次生代谢产物（如多肽类物质），对植物病原菌（细菌、真菌、线虫等）具有较强的抑菌活性^[14-15]，可用于生物防治。本研究筛选出的 B3 属于芽孢杆菌，B3 对 7 种病原菌都有较好的抑制作用，可能是产生了抗生素一类的物质，因而抗性较好而且广谱。

病菌受到抑制后有明显的抑菌区域，可能是由于内生菌的生长速度快，占据营养空间，对病原菌形成营养上的竞争，使病原菌因缺乏营养而萎缩^[16]；也可能是在培养的过程中内生菌产生的水解酶类（细胞壁水解酶、几丁质酶、蛋白酶等）降解了病原真菌细胞壁，或产生了其他致病因子如毒素等，发挥作用的结果^[17]。本研究筛选出的 F10 属于暗黄青霉，对病原菌将初筛和复筛结果进行比较后发现，内生菌 F10 发酵液相对于菌体来说，对根腐病菌、疫病菌和立枯病菌的抑制作用消失，但其对原本具有抑制作用的锈腐病菌、黑斑病菌的抑菌活性显著增强，这可能是因为 F10 菌体对前 3 种病菌的抑制作用主要是对营养成分、空间等的竞争造成的，而对后两种病菌的抑制作用主要是其次生代谢产物对病原菌的毒性造成的，在对 F10 发酵后，无菌发酵液中相关次生代谢产物的量增加了，进而对锈腐病菌、黑

斑病菌的抑菌活性显著增强。

本研究表明西洋参体内含有大量的内生菌，并有拮抗活性高的菌株存在，因此西洋参内生菌可以成为西洋参病害生防菌的新来源。对于筛选出的拮抗菌，今后将进一步测定其在西洋参体内的定植情况以及对西洋参生长的影响、田间的防病效果，为西洋参病害生防内生菌资源的开发提供科学依据。

参考文献

[1] 田义新. 药用植物栽培学 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.

[2] 杨家学, 焦晓林, 高微微, 等. 西洋参根部病害研究进展 [J]. 植物保护, 2009, 35(6): 30-35.

[3] 贾 栗, 陈疏影, 翟永功, 等. 近年国内外植物内生菌产生物活性物质的研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1750-1754.

[4] 江 曙, 钱大玮, 段金殿, 等. 植物内生菌与道地药材的相关性研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1268-1272.

[5] 赵 俞, 王 琦. 人参内生菌的多样性及其次生代谢产物 [J]. 菌物研究, 2012, 10(2): 113-118.

[6] Liu J H, Wu L F, Zhang H W. Isolation and preliminary identification of endophytes from *Artemisia Annu Linn* [J]. *Amino Acids Biotic Resources*, 2011, 33(4): 27-31.

[7] 龙汉广. 生物防治在植物病虫害防治中存在的问题及对策 [J]. 农业与技术, 2013, 33(2): 36.

[8] 陈雪英. 西洋参内生菌与人参皂苷类成分相关性的初步研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2007.

[9] 林红梅, 施建飞, 李岳桦, 等. 西洋参病原菌拮抗细菌的分离筛选与鉴定 [J]. 吉林农业科学, 2013, 38(6): 62-65.

[10] 姜 云, 尹 望, 陈长卿, 等. 人参内生菌的分离及拮抗菌株的筛选 [J]. 吉林农业大学学报, 2012, 34(5): 517-521.

[11] 王美琴, 陈俊美, 薛 丽, 等. 番茄内生细菌的分离及拮抗菌的筛选 [J]. 山西农业科学, 2007, 35(2): 55-58.

[12] 金 岩, 孙晶波, 高 洁. 五味子中内生拮抗活性细菌的分离与筛选 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 996-1001.

[13] 李 勇, 赵东岳, 丁万隆, 等. 人参内生细菌的分离及拮抗菌株的筛选 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1532-1535.

[14] 石晶盈, 陈维信, 刘爱媛, 等. 植物内生菌及其防治植物病害的研究进展 [J]. 生态学报, 2006, 26(7): 2395-2401.

[15] Lim H S, Kim Y S, Kim S D. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and antifungal mechanism against *Fusarium solani* an agent of plant root rot [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(2): 510-516.

[16] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(9): 4951-4959.

[17] Velazhahan R, Samiyappan R. Relationship between antagonistic activities of *Pseudomonas fluorescens* isolates against *Rhizoctonia solani* and their production of lytic enzymes [J]. *J Plant Dis Pro*, 1999, 106(3): 244-250.