微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn

DEC 20, 2010, 37(12): 1753–1759
© 2010 by Institute of Microbiology, CAS

研究报告

YD4-6 和 NV11-4 菌株抑菌活性及诱导水稻防御性相关酶活性变化

刘永锋* 李美荣 陈志谊 于俊杰 刘邮洲 聂亚锋 罗楚平

(江苏省农业科学院植物保护研究所 江苏 南京 210014)

摘 要: 从麦田和蔬菜地土样中筛选到2株具有较高抗菌活性的生防菌株YD4-6和NV11-4, 测定了其抑菌活性和诱导水稻防御性相关酶活性的变化。抑菌活性测定结果表明YD4-6和NV11-4对水稻纹枯病菌、水稻稻瘟病菌、油菜菌核病菌和白菜黑斑病菌均具有较强的抑菌活性。两菌株均不产生几丁质酶活性, 但NV11-4能产生纤维素酶活性。针对其对水稻病原菌的抑菌活性和纤维素酶活性的差异及其特性, 研究了 2 个菌株诱导水稻防御性酶活性的变化。结果表明, YD4-6 和NV11-4 菌株均可有效诱导水稻 PPO、POD、PAL、SOD 活性增强, MDA 含量升高。接种水稻纹枯病菌和使用 YD4-6 和 NV11-4 菌株, 在使用 48 h 后, 水稻防御酶的活性增加并达到最高, 其中NV11-4 菌株诱导活性比较持久; YD4-6 使用后, 诱导水稻的 MDA 含量增幅较大。结果显示, 2 个菌株均可有效的诱导水稻防御性酶活性增强和 MDA 含量增加。经 16S rRNA 鉴定后, 菌株 Y4-6 确定为蜡质芽孢杆菌, NV11-4 确定为枯草芽孢杆菌。

关键词: YD4-6 和 NV11-4, 抑菌活性, 水稻, 防御酶

The Inhibition Activities of Isolates YD4-6, NV11-4 and Their Induced Activities to Rice Defense Enzyme

LIU Yong-Feng* LI Mei-Rong CHEN Zhi-Yi YU Jun-Jie LIU You-Zhou
NIE Ya-Feng LUO Chu-Ping

(*Institute of Plant Protection*, *Jiangsu Academy of Agricultural Science*, *Nanjing*, *Jiangsu* 210014, *China*)

Abstract: YD4-6 and NV11-4 strains were isolated from wheat soil and vegetable soil, both of them exhibited a better antifungal activities to several plant pathogens. The results exhibited that YD4-6 and NV11-4 showed antifungal activities to *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe grisease*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Alternaria brassicae*, while NV11-4 also can inhibit the growth of *Fusarium moniliforme*. Both of these two isolates exhibited without chitinase activity, NV11-4 with cellulase activities. Based on these differences to antifungal and cellulase activities of the YD4-6 and NV11-4, their effects on rice defense enzyme were observed. The results indicated that YD4-6 and NV11-4 effectively increased rice

基金项目: 江苏省农科院院基金人才项目(No. 6510803); 江苏省农业科技自主创新项目[No. cx(08)120]; 江苏省自然科学基金项目(No. BK2008350); 农业部公益性行业科技(农业)专项(No. nyhyzx07-056)

*通讯作者: Tel: 86-25-84391002; ✉: liuyf@jaas.ac.cn

收稿日期: 2010-04-14; 接受日期: 2010-09-30

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

PPO, POD, PAL and SOD activities, also promoted concentration of MDA. When the *R. solani* used with isolates YD4-6, NV11-4, respectively, the induced activities of PPO, POD, PAL, SOD and concentration of MDA were higher than that of only used *R. solani*, YD4-6 or NV11-4. Compared with two antagonistic bacteria induced activities to rice defense enzyme, NV11-4 exhibited more durable than that of YD4-6, also YD4-6 induced accumulation of MDA, these difference maybe related with character of these two isolates. These two isolates were identified in database by using 16S rRNA sequence of YD4-6 or NV11-4. YD4-6 identified as *Bacillus cerecus*, and NV11-4 as *Bacillus subtilis*.

Keywords: YD4-6 and NV11-4, Antifungal activities, Rice, Defense enzyme

利用生防菌株防治水稻病害是目前植物病害生物防治的主要内容[1−4], 研究生防菌株的作用机理, 对深化生防菌的应用有重要的意义[4−5]。生防菌株的抑菌机理, 是生物防治的研究热点, 在这方面有大量的研究报道[3,6]。拮抗细菌作为生物活体, 抑菌机理比较复杂。已有研究发现的主要抑菌机理有: 诱导植物产生抗性[7−9]; 产生具有拮抗活性物质, 这类物质有环状脂肽化合物、有机酸和一些小分子的抗生素等[2,10]; 分泌纤维素酶、果胶酶、葡聚糖苷酶、抗菌蛋白质、几丁质酶等蛋白类抗菌物质[2,10−11]; 以及定殖于根系, 实现竞争防病机制[1,6]。其中, 诱导寄主抗病性, 是拮抗微生物抗病作用的主要机理, 在这方面已有大量的研究报道。研究生防菌株诱导植物抗性特点, 对利用拮抗微生物资源, 实现高效防治植物病害的具有重要意义[4,6−7,12]。本研究针对两株不同来源生防菌株, 研究了其对 5 种病原菌的抑制活性, 并探讨了其诱导水稻的防御性酶的活性变化和对丙二醛(MDA)含量的影响, 为探讨和利用两种具有不同防治机理的生防菌协同防治水稻病害提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 YD4-6 和 NV11-4 对 5 种植物病原菌抑菌活性的测定

细菌分离物 YD4-6 分离于扬州里下河农科所麦田土样, NV11-4 分离自南京麒麟门镇辣椒地土样。

细菌分离物 YD4-6 和 NV11-4 分别移入 200 mL YPG (葡萄糖 5 g, 酵母膏 5 g, 胰蛋白胨 5 g)培养液中, 在 28ºC 下振荡(150 r/min)培养 48 h 后, 得到拮抗菌培养液(采用稀释法测定菌含量后, 将菌含量调配为 10^{10} CFU/mL)。采用杯碟法测定两株对水稻纹枯病菌 RH-2 (*R. solani*)、水稻稻瘟病菌(*M. grisease*) 2008-10、水稻恶苗病菌(*F. moniliforme*) F-1、油菜菌核病菌(*S. sclerotiorum*) NJ-3 和白菜黑斑病菌 N-1 (*A. brassicae*)的抑制活性[2]。所有菌株均由本实验室保存。

1.2 YD4-6 和 NV11-4 菌株几丁质酶活性检测

取培养好的拮抗菌发酵液 10 μL 滴加到胶体几丁质培养基[$NH_4H_2PO_4$ 1.0 g, KCl 0.2 g, $MgSO_4·7H_2O$ 0.2 g, 胶体几丁质 1% (*W/V*)定容至 1000 mL, pH 7.0, 琼脂 20 g]上, 27ºC 培养 2−3 d 观察有无透明圈[11]。

1.3 YD4-6 和 NV11-4 菌株纤维素酶活性检测

利用刚果红染色测定。将待鉴定的拮抗菌培养在含有纤维素酶活性检测培养基(蛋白胨 10 g, 酵母粉 10 g, 羧甲基纤维素钠 10 g, NaCl 5 g, KH_2PO_4 1 g, 琼脂 18 g, pH 7.0)的平板上, 在 37ºC 恒温培养 2−4 d, 然后往培养皿加入 2 mL 1 g/L 刚果红溶液, 1 h 后, 弃去染液, 加入 2 mL 1 mol/L NaCl 溶液, 洗涤 1 h, 去除 NaCl 溶液, 再加入 0.5 mL 1 mol/L 盐酸, 涂匀, 背景呈蓝色, 若菌株产生纤维素酶, 则在菌落的周围会出现清晰的透明圈[13]。

1.4 YD4-6 和 NV11-4 菌株对水稻防御性酶活性及丙二醛含量的影响

本实验采用盆栽实验进行, 实验水稻品种为金刚 30。选择长势一致并进入孕穗期的水稻植株作为供试植株。水稻纹枯病菌接种采用牙签法接种, 每株接种 1 只牙签[14]。

1.4.1 实验设计: (1) 单独喷施 YD4-6; (2) 接种水稻纹枯病菌(RH-2)并使用 YD4-6, 表示为 YD4-6 + RH-2; (3) 单独使用 NV11-4,表示为 NV11-4; (4) 接种水稻纹枯病菌(RH-2)并喷施 NV11-4, 图表中表示为 NV11-4 + RH-2; (5) 接种水稻纹枯病菌(RH-2), 图表中表示为 RH-2; (6) 喷施清水作为对照, 图表中表示为 CK。

上述处理后 9、24、48、72、96 和 120 h 分别取样, 测定水稻多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

1.4.2 酶液的提取: 取水稻叶片 2 g, 加入 2 mL 0.05 mol/ L 的磷酸缓冲液(pH 6.8)和少量石英砂, 冰浴研磨, 15000 r/min 离心 20 min, 取上清液即为粗酶液[3−4,7−8]。

1.4.3 多酚氧化酶(PPO)活性测定: 在2.95 mL反应体系中含有 50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲液 2.5 mL、100 mmol/L 邻苯二酚 200 μL 和 150 μL 粗酶液。加入邻苯二酚启动反应, 在室温下测定 5 min 内 A_{400} 值的变化。以 A_{400} 变化 0.01 为一个酶活性单位[3−4,7]。

1.4.4 过氧化物酶(POD)活性测定: 用改进的 Maehly 方法测定。反应混合液: 100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0) 2.91 mL, 20 mmol/L 愈创木酚 50 μL, 30%过氧化氢 20 μL, 在试管中混合均匀。37ºC 恒温水浴 3 min, 加入 20%三氯乙酸 20 μL 中止反应。在 470 nm下测定其吸光度, 以 pH 7.0 磷酸缓冲液作为空白调零。一个活性单位定义为 1 min 氧化 1 μmol 愈创木酚(ε = 26.6 mmol/cm)的酶量。每个处理重复测定 3 次[7,15]。

1.4.5 苯丙氨酸解胺酶(PAL)活性测定: 取 1.0 g 叶片于预冷的研钵中, 加入 5 mL 50 mmol/L 硼酸缓冲液(pH 8.7, 内含 5 mmol/L 亚硫酸钠)和 0.1 g 聚乙烯吡咯烷酮及少量石英砂, 冰浴研磨成匀浆, 于 4ºC、9000 r/min 离心 20 min, 上清液即为粗酶液。在 3.5 mL 反应体系中含粗酶液 0.5 mL、50 mmol/L 硼酸缓冲液 2 mL、0.6 mol/L L-苯丙氨酸 1 mL, 酶液最后加入。加入酶液后于 30ºC 水浴保温 30 min, 立即加入 6 mol/L HCl 终止反应, 测定 OD_{290} 值, 以 *OD* 值变化 0.01 为一个酶活力单位(U) [4,7]。

1.4.6 超氧化物岐化酶(SOD)活性测定: 采用高灵敏度的氯化硝基氮兰四唑(NBT)光还原测定 SOD 活性。在 6 mL pH 7.8 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液反应液中含有 13 mmol/L 的甲硫氨酸 2.7 mL、75 μmol/L 的 NBT 0.1 mL、0.1 μmol/L 的 EDTA 0.1 mL、2 μmol/L 的核黄素 0.1 mL 以及 20 μL 粗酶液, 在 25ºC、4000 lx 光照 20 min 后终止反应, 在 560 nm 下测定吸光度(A)值, 酶活性单位采用抑制光化还原 50%的酶量为一个酶活性单位[16−17]。

1.4.7 丙二醛(MDA)含量测定: 取粗酶液 1.5 mL, 加入 2.5 mL 0.5%硫代巴比妥酸(TBA, 溶解于 20%三氯乙酸), 在沸水浴中保温 30 min 后立即冷却, 4000 r/min 离心 20 min, 去上清, 分别在 450、532 和 600 nm 下测吸光度值(*A*), 计算 MDA 含量[4]。

1.5 菌株的 16S rRNA 鉴定

采用扩增细菌 16S rRNA 的通用引物, 27F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)和 1541R(5′-AAGGAGGTGATCCAGCC-3′)来扩增其 16S rRNA。PCR 反应体系为: 10 × Buffer 5 μL, 10 mmol dNTPs 1.0 μL, 5 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 0.5 μL, 25 mmol 氯化镁 5.0 μL, 10 μmol/L 上下游引物各 1.0 μL, 用无菌水将反应液体积补足至 50 μL。

PCR 的反应程序为: 94ºC 5 min; 94ºC 1 min, 56ºC 1 min, 72ºC 2 min, 30 个循环; 72ºC 7 min。取 5 μL 扩增产物与 1 μL Loading buffer 混合, 在 1%的琼脂糖凝胶(含 Goldeiew DNA 染料 5 μL/100 mL)上点样, 在 5 V/cm 的电泳仪上电泳 45 min, 在 UVI 凝胶成像系统上进行分析。将扩增产物送上海生工生物科技有限公司进行测序, 将得到的DNA序列在数据库进行比对, 用 MEGA 4.0 version 对 YD4-6 和 NV11-4 的序列与同属中不同种进行多序列比较, 构建系统发育树[18−21]。

2 结果与分析

2.1 YD4-6 和 NV11-4 对 5 种植物病原真菌的抑菌活性

YD4-6 和 NV11-4 对 5 种病原真菌具有不同的抑制活性(表 1)。其中, 来自蔬菜地的 NV11-4 对白菜黑斑病菌菌丝生长具有较好的抑制活性; 来自麦地的 YD4-6 则对油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌和水稻稻瘟病菌具有较好的抑菌活性, 对水稻恶苗病菌不具有抑制活性。

表 1 YD4-6 和 NV11-4 对五种病原菌的抑制菌丝生长
Table 1 Inhibition effect to growth of five plant pathogens by YD4-6 and NV11-4 strains

菌株 Strains	抑菌圈直径 Diameter of inhibition to growth of five plant pathogens (mm)				
	水稻纹枯病菌 *R. solani*	水稻稻瘟病菌 *M. grisease*	水稻恶苗病菌 *F. moniliforme*	油菜菌核病菌 *S. sclerotiorum*	白菜黑斑病菌 *A. brassicae*
YD4-6	24.3 ± 0.577	26.5 ± 0.500	0	25.8 ± 0.764	12.2 ± 0.866
NV11-4	25.5 ± 0.707	22.3 ± 0.929	23.7 ± 1.155	19.3 ± 0.577	26.8 ± 0.289

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn
http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

2.2 两株菌株的几丁质酶活性和纤维素酶活性测定

研究结果表明, YD4-6 和 NV11-4 菌株均不能分泌产生几丁质酶活性。NV11-4 能产生纤维素酶活性, YD4-6 则不能产生纤维素酶活性(图 1)。这说明这两株具有不同抑菌机理。

2.3 两株菌株诱导水稻 4 种防御酶活性和 MDA 含量的变化

2.3.1 YD4-6 和 NV11-4 菌株诱导水稻 PPO 酶活性变化: 图 2 结果表明, YD4-6 对水稻 PPO 酶活性具有较大的影响。在使用了 YD4-6 后 48 h, PPO 酶活性达到峰值, 随后活性处于缓慢下降中; 菌株 NV11-4 对 PPO 酶活性诱导作用和 YD4-6 的诱导作用相当, 趋势一致; YD4-6、NV11-4 分别和水稻纹枯病菌同时使用后, 对水稻 PPO 酶的诱导作用大于单独使用两个菌株, 且 NV11-4 和纹枯病菌同时使用的诱导效果更强, 120 h 后该酶的活性仍然为对照处理的 2 倍以上, 说明两菌株诱导 POD 酶均有较长的持效性。

2.3.2 YD4-6 和 NV11-4 菌株诱导水稻 POD 酶活性变化: 图 3 结果表明, YD4-6 和 NV11-4 菌株能有效诱导水稻 POD 酶活性增强。在使用了 YD4-6 和 NV11-4 后 48 h, POD 酶活性均达到高峰; 在和水稻纹枯病菌同时使用 48 h 后, 对水稻 POD 酶的诱导活性比单独使用 YD4-6 或 NV11-4 高。在 120 h 后, 该酶活性均比对照、单独接种纹枯病菌的处理高。YD4-6 的诱导活性比 NV11-4 高一些, 趋势比较稳定。在使用 120 h 后 POD 酶活性是对照处理的两倍以上, 说明两菌株诱导 POD 酶均有较长的持效性。

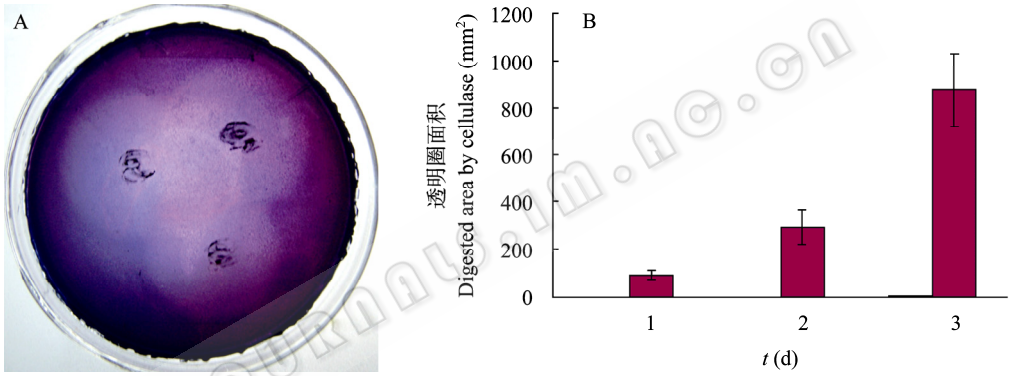

图 1 NV11-4 菌株分泌纤维素酶活性测定

Fig. 1 Determination of Nv11-4 cellulase activity

注: A: NV11-4 培养 3 d 后, 纤维素酶活性测定; B: NV11-4 培养 1−3 d 后, 纤维素酶活性所形成的透明圈面积.

Note: A: Determination cellulase activity of NV11-4 cultured three days; B: Digested area by NV11-4 cellulase in different days.

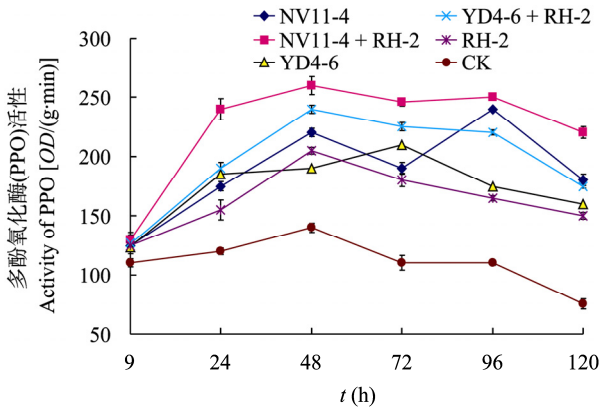

图 2 YD4-6 和 NV11-1 对水稻叶片 PPO 酶活性的影响

Fig. 2 Effect of YD4-6 and NV11-4 strains on PPO activities in rice leave

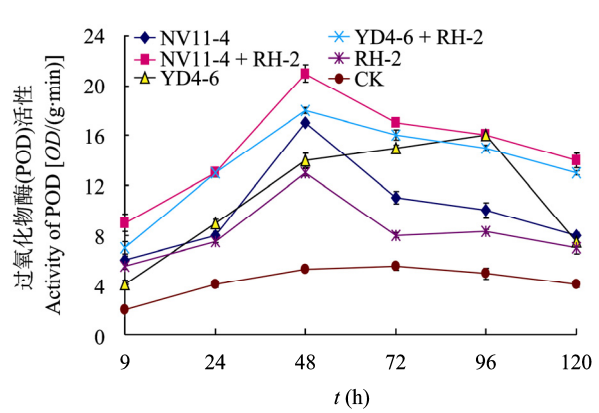

图 3 YD4-6 和 NV11-1 对水稻 POD 酶的活性影响

Fig. 3 Effect of YD4-6 and NV11-4 strains on POD activities in rice leave

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

2.3.3 YD4-6 和 NV11-4 菌株诱导水稻 PAL 酶活性变化: 结果表明(图 4), YD4-6 和 NV11-4 均可诱导水稻 PAL 酶活性增强。在使用 YD4-6 后 24 h, PAL 酶活性达到峰值, 随后活性处于缓慢下降中, 在 120 h 酶活性和对照相当; NV11-4、YD4-6、水稻纹枯病菌、NV11-4 或 YD4-6 和水稻纹枯病菌同时接种后, PAL 酶活性在 48 h 达到最高值, 随后酶活性下降。结果表明, PAL 酶的变化起伏较大, 所有处理在 120 h 后 PAL 酶活菌和对照相差无几, 说明两菌株诱导 PAL 酶活的持效期都较短。

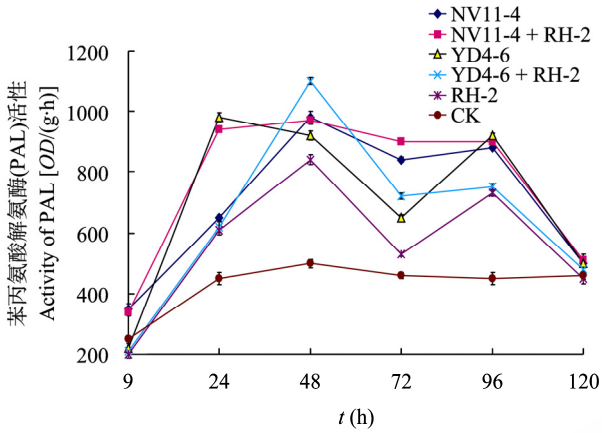

图 4 YD4-6 和 NV11-1 对水稻 PAL 酶的活性影响
Fig. 4 Effect of YD4-6 and NV11-4 strains on PAL activities in rice leave

2.3.4 YD4-6 和 NV11-4 菌株诱导水稻 SOD 酶活性变化: 如图 5 所示, 结果表明, YD4-6 和 NV11-4 均可以有效地诱导水稻 SOD 酶活性增加。使用 YD4-6 后 72 h, SOD 酶活性达到峰值; 使用 NV11-4 后, 酶活处于缓慢上升, 在 72 h 时达到峰值, 趋势和 YD4-6 一致; 在和水稻纹枯病菌同时接种后, 对该酶系的诱导作用比分别单独使用 YD4-6 和 NV11-4 高。利用 2 个菌株处理后, 在 120 h, 酶活性仍然为对照的 1.5 倍以上。说明 2 个菌株可以有效地诱导水稻 SOD 酶活性, 且具有一定的持效性。

2.3.5 YD4-6 和 NV11-4 菌株诱导水稻 MDA 的含量变化: 结果表明(图 6), YD4-6 和 NV11-4 可诱导水稻 MDA 含量增加。在使用了 YD4-6 后 24 h, MDA 含量明显上升。在使用了 NV11-4 后, MDA 含量缓慢增加, 96 h 达到最高峰; 两菌株和纹枯病菌同时接种后, MDA 的含量均比单独使用 2 个菌株的高。在 120 h, 用 2 个菌株处理后的水稻 MDA 含量均比对照处理高, 约为对照的 3 倍以上。说明利用 YD4-6 和 NV11-4 可有效诱导水稻 MDA 含量增加。

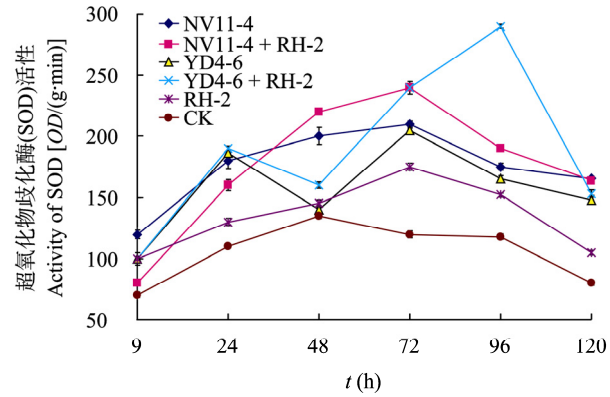

图 5 YD4-6 和 NV11-1 对水稻 SOD 酶的活性影响
Fig. 5 Effect of YD4-6 and NV11-4 strains on SOD activities in rice leave

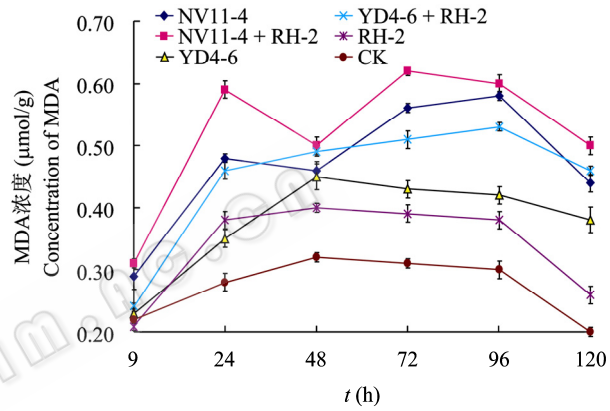

图 6 YD4-6 和 NV11-1 对水稻 MDA 含量的影响
Fig. 6 Effect of YD4-6 and NV11-4 strains on MDA concentration in rice leave

2.4 YD4-6 和 NV11-4 的菌株鉴定

获得的序列经过 NCBI 序列比对, 结果表明 YD4-6 属于蜡质芽孢杆菌, NV11-4 是枯草芽孢杆菌, 构建的系统发育树见图 7。

3 讨论

利用寄主的防御体系来控制病害, 对维护农田生态环境和保护农产品品质意义重大。易龙等研究了拮抗内生细菌与附生细菌及其组合对烟草诱导抗性作用和对赤星病的控病作用, 结果表明烟草体内 PAL、PPO、POD 活性有不同程度的提高, 病程相关蛋白也有量的积累[7]。张晓鹿等研究报道了生防放线菌 Act1、Act8 和 Act11 与生防真菌 C、D、M1 和 M2 混合接种对辣椒根系生长、生防菌定殖能力及辣椒叶片和根系诱导抗性的影响[3]。研究结果表明, 不同菌株及其组合对寄主的抗性诱导效果是不同的, 不同作用机理和拮抗活性的菌株对寄主的诱

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn
http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

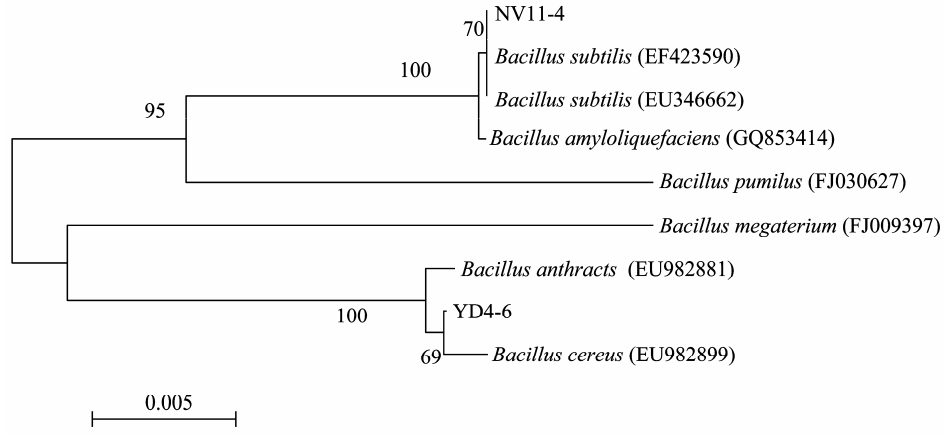

图 7 依据 16S rRNA 序列构建的菌株 YD4-6 和 NV11-4 的同属相关种的系统发育树

Fig. 7 The phylogenetic tree of strain YD4-6 and NV11-4

Note: Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank. The number at each branch point is the percentage supported by bootstrap. Bar, 0.005 substitutions per nucleotide position.

导抗性水平具有显著不同。这说明针对不同生物活性可结合对寄主的作用特点, 利用防治对象和寄主之间防御酶系的反应特点制定和构建合理的使用技术体系, 达到有效防治植物病害的目的[3−4,7−8,12]。

本研究报道了同属于芽孢杆菌的蜡质芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的抑菌活性及其分泌几丁质酶和纤维素酶活性的能力差异, 结果表明 2 个菌株具有明显的差别。其中 YD4-6 是分离自扬州旱田的土样, 其对水稻纹枯病、水稻稻瘟病和油菜菌核病菌、白菜黑斑病菌都具有较好的抑菌活性, 该菌株对水稻恶苗病菌没有抑菌活性, 不具备产生几丁质酶和纤维素酶活性的能力; NV11-4 是采自南京蔬菜地的土样, 该菌株对水稻纹枯病菌、水稻稻瘟病菌、油菜菌核病菌、白菜黑斑病菌和水稻恶苗病菌都具有较好的抑菌活性, 且具有几丁质酶和纤维素酶活性的能力; YD4-6 是分离自扬州的菌株, 2 个菌株在特性等方面具有一定差异。进一步探讨两菌株诱导水稻抗性, 结果表明, NV11-4 对水稻防御酶系的诱导活性较强, 总体水平较高, 表现出较长的持久性, YD4-6 对水稻 MDA 含量的变化有显著影响。NV11-4 和 2 株对病原菌拮抗活性以及和诱导水稻防御酶活性变化的差异和菌株的特性有关。

研究结果表明, 2 个菌株可以有效地诱导水稻防御酶活性增强, 尤其是 2 个菌株和病原菌同时使用后, 防御性相关酶的活性更强, 这说明在病害初发病时, 使用生防菌株可能更易激活水稻防御酶的活性, 从而使水稻防御酶活性处于较高水平。本研究的目的在于利用 2 个不同拮抗特性的菌株诱导水稻防御酶系的活性变化, 明确 2 个菌株诱导活性的差异, 为进一步利用 2 个菌株协同控制水稻病害发挥作用。本研究未能明确 NV11-4 和 YD4-6 两个菌株混合情况下对水稻防御酶活性和 MDA 含量的影响, 我们将进一步研究 2 个菌株之间协同诱导水稻防御酶活性变化和对水稻纹枯病的协同控制效果, 探明其协同控制水稻病害的能力, 以期能有效地控制水稻真菌病害。

参 考 文 献

[1] 王国平, 鲁书玲, 郑必强, 等. 内生真菌紫杉木霉 ZJUF0986 菌株及其活性代谢产物防治水稻纹枯病的效果. 中国生物防治, 2009, **25**(1): 30−34.

[2] Liu YF, Chen ZY, Ng TB, *et al*. Bacisubin, an antifungal protein with ribonuclease and hemagglutinating activities from *Bacillus subtilis* strain B-916. *Peptides*, 2007(28): 553−559.

[3] 张晓鹿, 薛泉宏, 郭志英, 等. 混合接种对辣椒疫病生防菌定殖、辣椒生长及诱导抗性的影响. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, **36**(4): 151−158.

[4] 郑莉, 梁建根, 施跃峰. 生防菌 ZJH-10 对黄瓜灰霉病诱导抗性的研究. 中国农学通报, 2009, **25**(03): 197−201.

[5] Cavaµlieri L, Orlando J, Rodríguez MI, *et al*. Etcheverry Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides in vitro* and at the maize root level. *Research in Microbiology*, 2005, **156**(56): 748−754.

[6] 刘晓光, 高克祥, 康振生, 等. 防菌诱导植物系统抗性及其生化和细胞学机制. 应用生态学报, 2007, **18**(8):

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

1861−1868.

[7] 易龙, 肖崇刚, 马冠华, 等. 拮抗内生细菌与附生细菌及其组合对烟草赤星病的诱导抗性和控病作用. 中国生物防治, 2007, **23**(2): 165−169.

[8] 胡艳霞, 孙振钧, 孙永明, 等. 蚯蚓粪对黄瓜炭疽病的系统诱导抗性作用. 应用生态学报, 2004, **15**(8): 1358−1362.

[9] Kim SY, Kim JY, Kim SH, *et al*. Surfactin from *Bacillus subtilis* displays anti-proliferative effect via apoptosis induction, cell cycle arrest and survival signaling suppression. *FEBS Letters*, 2007, **581**(5): 865−871.

[10] Wichitra L, Pranom S, Souwalak P, *et al*. Purification, characterization and synergistic activity of β-1,3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 against rice blast and sheath blight. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006(38): 990−997.

[11] Li DC, Shu C, Lu J. Purification and partial characterization of two chitinases from the mycoparasitic fungus *Talaromyces flavus*. *Mycopathologia*, 2005(159): 223−229.

[12] 曾任森, 苏贻娟, 叶茂, 等. 植物的诱导抗性及生化机理. 华南农业大学学报, 2008, **29**(2): 1−6.

[13] 葛春辉, 徐万里, 邵华伟, 等. 一株产纤维素酶细菌的筛选、鉴定及其纤维素酶的部分特性. 生物技术, 2009(19): 36−40.

[14] 刘永峰, 陈志谊, 吉健安, 等. 江苏省水稻主栽及区试品种对水稻纹枯病的抗性分析. 江苏农业科学, 2006(1): 27−28.

[15] Britton C, Maehly AC. Assay of Catalase and Peroxidase. New York: Academic Press. 1995: 764−775.

[16] 王友升, 田世平, 罗伦. 隐球酵母、褐腐病菌与甜樱桃果实在不同温度下的互作效应. 中国农业科学, 2007, **40**(12): 2811−2820.

[17] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 167−169.

[18] 杨敬辉, 朱桂梅, 陈宏州, 等. 草莓根围拮抗细菌的多样性分析及其田间应用. 中国生物防治, 2009(25): 52−57.

[19] 朱丽梅, 吴小芹, 徐旭凌, 等. 细菌 JK2JS3 对松树线虫的杀线活性及菌种的分子鉴定. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2009, **33**(6): 49−52.

[20] 郝建国, 薛燕芬, 马延和. 一株产蛋白酶嗜碱菌株的分离、鉴定及酶学特性. 微生物学报, 2010, **50**(1): 54−59.

[21] 周启升, 孙长坡, 张楠, 等. 拮抗放线菌 S24 的鉴定及其对黄曲霉的抑制作用. 微生物学通报, 2009, **36**(12): 1832−1837.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目, 原“高等院校教学”, 是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目, 也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟, 一方面为高校微生物学科的教师提供一个发表论文的平台, 同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表, 是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告, 特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线, 撰写的稿件内容必须要有新意、要实用, 不是泛泛地叙述教学设计与过程, 而是确实有感而发, 是教学工作中的创新体会, 或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性, 做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进, 注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中, 只有这样才能真正起到教与学的互动, 促进高校生物学教学的发展, 更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时, 为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台, 本栏目还开辟了“名师名课”版块, 原“名师讲堂”。邀约相关生命科学领域, 如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点, 推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文, 为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习的平台, 促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿！欢迎对本栏目多提宝贵意见!

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn
http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn