

吉烟 9 号内生细菌的分离及多样性分析

闫 寒, 李虎林, 郎 彬, 朱诗苗, 陈 越, 姬文秀*

(延边大学农学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 为了解烤烟内生细菌的多样性, 以吉烟 9 号为供试材料, 分别从汪清、和龙、延吉烤烟的根、茎、叶分离得到内生细菌 24 株、18 株、16 株, 依据菌落表型特征及 16S rRNA 序列同源性对分离的内生菌进行初步鉴定和多样性分析, 结果表明, 主要为变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes), 其中的芽孢杆菌属(*Bacillus*) 是 3 地共同的优势菌属。Neighbor-joining 聚类分析表明, 3 个取样地烤烟内生细菌分别划分为 13、9、11 个类群。通过数值分类比较 9 个表型特征, 结果表明, 汪清、和龙在 7.2 水平聚为 5 个表观群, 延吉在 6.3 水平聚为 3 个表观群。为吉烟 9 号内生菌的进一步应用提供了一定的理论基础。

关键词: 烤烟; 内生细菌; 表型特征; 微生物多样性

中图分类号: S435.72

文章编号: 1007-5119(2019)01-0075-07

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2019.01.010

Isolation and Diversity Analysis of Endophytic Bacteria in Jiyan 9

YAN Han, LI Hulin, LANG Bin, ZHU Shimiao, CHEN Yue, JI Wenxiu*

(Agronomy College, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China)

Abstract: To understand the diversity of endophytic bacteria in flue-cured tobacco, using Jiyan 9 of flue-cured tobacco as the test material, 24, 18 and 16 strains of endophytic bacteria were isolated from roots, stems and leaves of flue-cured tobacco from Wangqing, Helong and Yanji regions respectively. Preliminary identification and diversity analysis of isolated endophytes were carried out based on colony phenotypic characteristics and 16S rRNA sequence homology analysis. The results showed that the endophytes were mainly Proteobacteria, Actinobacteria, and Firmicutes. Among them, *Bacillus* is a common genus of the three locations. Neighbor-joining cluster analysis showed that the endophytic bacteria of the three sampled flue-cured tobaccos were divided into 13, 9, and 11 groups. Comparing 9 phenotypic features by numerical classification indicated that the Wangqing and Helong strains gathered at the 7.2 level for 5 apparent groups, and the Yanji strains was clustered into 3 apparent groups at the 6.3 level. It provides a theoretical basis for the further application of endophytic bacteria of Jiyan 9.

Keywords: flue-cured tobacco; endophytic bacteria; phenotypic characteristic; microbial diversity

内生菌研究距今已有 100 多年历史, 因受环境影响小、定殖效果好、作用稳定持久的特点而有着独特且重要的应用价值。据研究表明, 植物内生菌几乎存在于地球上的所有植物中^[1]。烟草作为我国重要的经济作物, 是我国财税的重要来源, 因此, 对其内生菌的研究也受到众多学者的广泛关注。目前, 内生菌作为微生物菌肥, 具有固氮、溶磷、解钾、降烟碱和亚硝酸盐及抵抗病原菌等功效^[2-6], 在提高烟草重金属耐受性和污染环境修复方面也有

积极作用^[7-9], 部分菌肥已商品化并在多种作物栽培中应用。

吉烟 9 号作为吉林省烤烟的主推品种, 在延边、长春、白城等烟区广泛种植。为促进烟株正常生长, 获得较好的经济效益, 在烟叶的生产中, 使用了化学农药和化学肥料, 带来经济效益的同时, 烟区的生态环境也受到了严重影响, 如病虫害抗药性增加, 土壤板结, 重金属含量超标, 水体污染等。近年来, 对吉烟 9 号内生菌的研究鲜有报道, 为此, 本试验

作者简介: 闫 寒(1993-), 女, 硕士研究生, 从事烟草栽培生理研究。E-mail: yanhan0221@sina.com。*通信作者, E-mail: jwxlyq@ybu.edu.cn

收稿日期: 2018-08-21

修回日期: 2018-10-10

以吉烟9号为材料,分离团棵期内生细菌并研究其在不同生态环境的多样性,旨在为吉烟9号内生菌在病害防治和菌肥研究等方面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

本试验以团棵期吉烟9号的根、茎、叶为材料,采用五点取样法取样,取样时间为2017年7月,样品分别取自延边州汪清县、和龙市和延吉市,取样地土壤养分概况如表1。采样时选择无病虫害的健康植株,采集后将根、茎、叶立刻装入自封袋中,低温保存,在24 h内完成内生菌的分离。

1.2 培养基及主要试剂

内生细菌的分离、培养均采用NA培养基(Becton, Dickinson and Company, USA)。细菌DNA的提取及扩增使用的试剂均为分析纯,rTaq、dNTP、Buffer Mg(-)、MgCl₂等为宝生物工程(大连)产品。细菌通用引物27f和1492r由生工生物工程(上海)有限公司合成。

1.3 内生细菌的分离

参照陈泽斌等^[10]的方法将采集的根、茎、叶样

品进行表面消毒。取消毒彻底的样品材料1 g与灭菌的石英砂一同放入研钵中研磨,研磨后的样品加入9 mL生理盐水,随后稀释成10⁻²、10⁻³、10⁻⁴,将稀释液涂布于NA培养基上,每个处理重复3次,28 °C培养48 h后,根据菌落的形态、颜色等挑取单菌落,经反复划线纯化,挑取单菌落置于30%甘油中,-70 °C保存备用。

1.4 表型特征的统计及聚类分析

根据菌落的颜色、形状、大小、表面、边缘、干湿、质地、色素及透明度与否9个指标对菌落形态进行归类,按照表2编码并记录结果,对于完全相同的表型特征的菌株只选一株作为代表菌株,用SPSS 20进行聚类分析,得到表型特征的数值分类聚类图。

1.5 内生细菌的16S rRNA序列分析

采用改进SDS-CTAB方法提取细菌基因组DNA^[11],PCR反应体系(25 μL)组成:10×Buffer Mg(-) 2.5 μL、25 mmol/L MgCl₂ 2.5 μL、dNTP 2 μL、引物27f 2 μL、引物1492r 2 μL、模板DNA 2 μL、Taq酶0.2 μL、灭菌蒸馏水11.8 μL。PCR扩增条件:94 °C 30 s预变性,94 °C 1 min变性,55 °C退火,

表1 土壤养分概况

Table 1 Soil nutrient profile

地点 Site	pH	有机质 Organic matter/ (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N/ (g·kg ⁻¹)	全磷 Total P/ (g·kg ⁻¹)	全钾 Total K/ (g·kg ⁻¹)	速效氮 Available N/ (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available P/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K/ (mg·kg ⁻¹)
汪清	5.34	41.83	2.33	0.48	16.32	103.6	74.2	253.1
和龙	5.27	44.56	2.24	0.18	18.13	96.6	58.68	152.4
延吉	7.16	24.55	2.15	0.68	13.35	86.8	47.12	123.3

表2 细菌聚类分析特征

Table 2 The clustering analytical characteristics table of bacteria

序号 No.	性状 Characters	描述编码 Description number
1	颜色	黄色-1;浅黄-2;米黄-3;乳黄-4;橘黄-5;浅橘黄-6;金黄-7;白色-8;乳白-9;灰色-10;粉色-11;黄褐色-12
2	形状	圆形-1;不规则形-2;圆形,水渍状-3;点状-4
3	大小	数值单位:mm
4	表面	凸起-1;内凹-2;扁平-3;扁皱-4;凹凸不平-5
5	边缘	整齐-1;不整齐-2
6	干湿	干-1;湿-2
7	质地	有光泽-1;无光泽-2
8	色素	有-1;无-2
9	透明度	透明-1;半透明-2;不透明-3

72 °C 1.5 min 延伸,共 35 个循环,72 °C 延伸 10 min。PCR 产物委托生工生物工程(长春)股份有限公司测序,扩增产物测序结果在 GenBank 进行 BLAST 分析获取同源性最高的菌株。以 Neighbor-joining 方法构建系统发育树,用 Bootstrap(自展值 1000)进行检验。

2 结 果

2.1 内生细菌的分离

从汪清样品中分离纯化得到内生细菌 24 株,

其根中分离出 12 株,茎中分离出 8 株,叶中分离出 4 株;从和龙的样品中分离纯化得到内生细菌 18 株,其根中分离出 15 株,茎中分离出 1 株,叶中分离出 2 株;从延吉的样品中分离纯化得到内生细菌 16 株,其根中分离出 9 株,茎中分离出 5 株,叶中分离出 2 株;3 地分离的内生菌的数量:汪清 > 和龙 > 延吉(表 3)。

2.2 表型特征的统计及聚类分析

从汪清、和龙及延吉分离的内生菌的表型特征

表 3 烤烟内生细菌的来源、种类及分布
Table 3 Sources, species and distribution of endophytic bacteria in flue-cured tobacco

地点 Location	种类 Species		菌株数目 Number of strains	序列相似性 Sequence similarity/%	各部分分离株数 Number of isolates from different parts			
	门 Phylum	属、种 Genus and Species			根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	
汪清	Proteobacteria	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	2	100	2			
		<i>Agrobacterium</i> sp.	2	99~100	2			
		<i>Moraxella</i> sp.	3	99~100		2	1	
		<i>Pseudomonas</i> sp.	2	100	2			
		<i>Methylobacterium</i>	1	100		1		
		<i>Morganella</i>	1	100	1			
	Actinobacteria	<i>Micrococcus</i>	1	100		1		
		<i>Arthrobacter</i> sp.	1	100	1			
		Firmicutes	<i>Staphylococcus</i>	1	100	1		
			<i>Bacillus</i> sp.	7	99~100	1	3	3
<i>Enterobacteriaceae</i> sp.			1	100		1		
<i>Sporosarcina</i> sp.	1	100	1					
<i>Bacterium</i> *	1	100	1					
Firmicutes	<i>Bacillus</i> sp.	5	100	3	1	1		
	<i>Bacterium</i> *	1	100	1				
和龙	Proteobacteria	<i>Acinetobacter</i>	1	99			1	
		<i>Pseudomonas</i> sp.	4	100	4			
		<i>Agrobacterium</i> sp.	1	100	1			
	Actinobacteria	<i>Arthrobacter</i> sp.	1	100	1			
		<i>Micrococcus</i>	1	100	1			
	Bacteroidetes	<i>Leifsonia</i>	2	99~100	2			
		<i>Chryseobacterium</i>	2	100	2			
延吉	Firmicutes	<i>Bacillus</i> sp.	4	99~100	1	1	2	
		<i>Macrococcus</i>	1	100	1			
		<i>Staphylococcus</i>	1	100		1		
	Actinobacteria	<i>Streptomyces</i> sp.	1	100	1			
		<i>Clavibacter</i>	1	100	1			
		<i>Microbacterium</i> sp.	2	99~100	1	1		
	Proteobacteria	<i>Methylobacterium</i>	1	100		1		
		<i>Achromobacter</i>	1	100	1			
		<i>Sphingopyxis</i> sp.	1	100	1			
Bacteroidetes	<i>Chryseobacterium</i> sp.	2	100	2				
	<i>Bacterium</i> *	1	98		1			

注：*表示未被接受的杆菌属。Note:*Represents the unaccepted bacilli.

的数值分类聚类图来看,3个地点的内生细菌具有丰富的表型(表4),汪清分离的内生细菌,在欧式距离为7.2时,聚为5个表观群,在欧式距离为0.9时,聚为22个亚群(图1);和龙分离的内生细菌,在欧式距离为7.2时,聚为5个表观群,在欧式距离为0.9时,聚为17个亚群(图2);延吉分离的内生细菌,在欧式距离为6.3时,聚为3个表观群,在欧式距离为0.9时,聚为15个亚群(图3)。

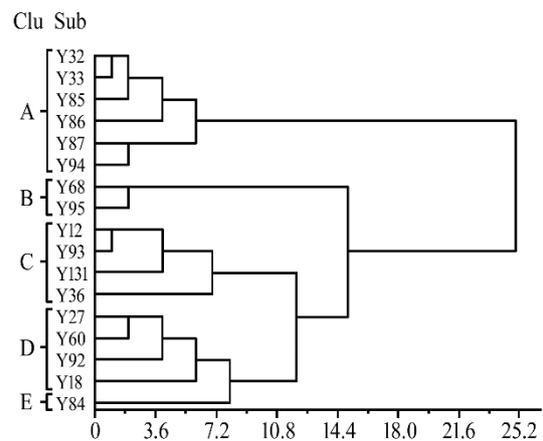
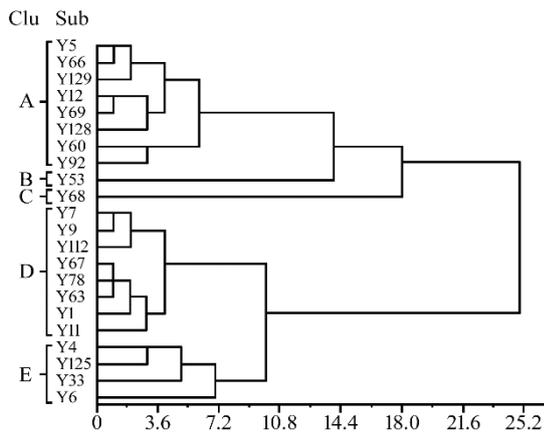
2.3 内生细菌的 16S rRNA 序列分析

测序获得了来自汪清、和龙及延吉的全部内生细菌的 16S rRNA 序列,进行系统发育分析如图 4~6。结果表明,烤烟中分离的内生菌依据细菌表型特征的聚类结果与依据细菌 16S rRNA 序列的聚类结果不完全一致,如汪清烤烟分离的菌株中 Y92、Y129、Y69、Y12、Y128、Y5、Y60、Y66 按数值分类为一个表观群,但在 16S rRNA 序列构建的系统发育

表 4 汪清、和龙、延吉表观群中内生细菌的主要菌落形态及所占比例

Table 4 The main colony morphology and proportion of endophytic bacteria in Wang Qing, He Long and Yanji pigenomes

地点 Location	表观群 Apparent group	菌落形态 Colony morphology	分离株数 Number of isolated strains	所占比例 Proportion/%
汪清	A	主要为不透明;多为灰色和乳白色、边缘不整齐、干、无光泽、无色素。	9	37.5
	B	粉色、点状、表面凸起、边缘整齐、湿、有光泽、无色素、不透明。	1	4.17
	C	乳白色、圆形、表面凸起、边缘整齐、干、有光泽、无色素、不透明。	1	4.17
	D	主要为圆形、有光泽;多为米黄色、表面凸起、边缘整齐。	9	37.5
	E	多为圆形、表面凸起、边缘整齐、有光泽、无色素。	4	16.67
和龙	A	主要为圆形、表面凸起、边缘整齐、湿、有光泽、无色素、不透明、多为黄色。	6	33.33
	B	主要为乳白色、表面凸起、干、有光泽、无色素、不透明。	2	11.11
	C	多为白色、不规则形、边缘不整齐、干、无光泽、无色素、不透明。	5	27.78
	D	多为乳白色、圆形、边缘整齐、湿、有光泽、无色素、不透明。	4	22.22
	E	黄褐色、圆形、有色素、表面凸起、边缘整齐、湿、有光泽、有色素、不透明。	1	5.56
延吉	A	主要为圆形、边缘整齐、有光泽、无色素、表面凸起、湿、直径 3 mm。	8	50
	B	主要为圆形、边缘整齐、干、无色素、不透明、直径 6 mm。	6	37.5
	C	主要为表面凸起、边缘整齐、湿、有光泽、无色素、不透明。	2	12.5



注: Clu, 表观群; Sub, 亚群, 下同。Note: Clu, Cluster; Sub, Subcluster.

图 1 汪清内生细菌表型特征的数值分类聚类图

Fig. 1 Wang Qing's numerical classification cluster map of phenotypic characteristics of endophytic bacteria

图 2 和龙内生细菌表型特征的数值分类聚类图

Fig. 2 He Long's numerical classification cluster map of phenotypic characteristics of endophytic bacteria

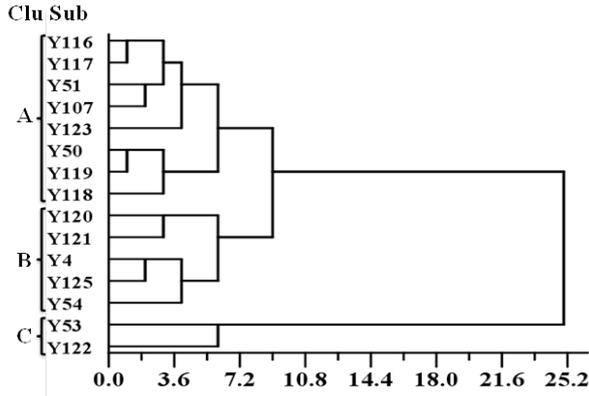
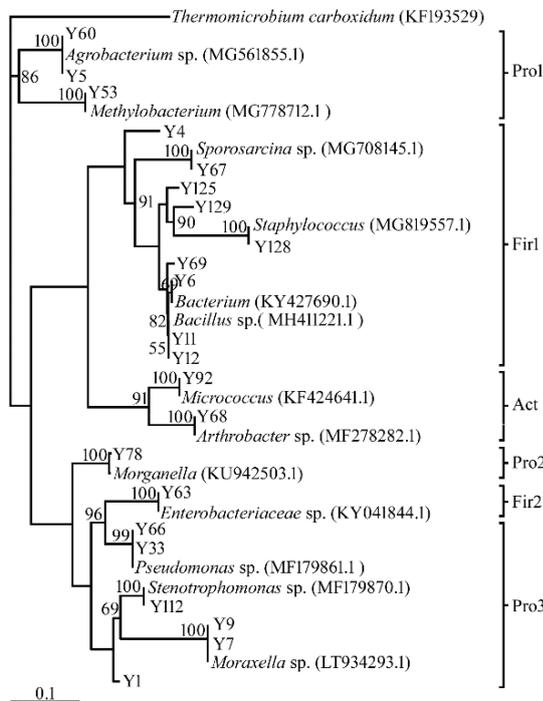


图 3 延吉内生细菌表型特征的数值分类聚类图
 Fig. 3 Yanji's numerical classification cluster map of phenotypic characteristics of endophytic bacteria



注： *Thermomicrobium carboxidum* (KF193529) 为树根，下同。
 Note: *Thermomicrobium carboxidum* (KF193529) is the root of the tree.
 图 4 汪清烤烟内生细菌 16S rRNA 序列构建的系统发育树
 Fig. 4 Phylogenetic tree constructed by 16S rRNA sequence of endophytic bacteria in Wangqing flue-cured tobacco

树上 Y129、Y69、Y12、Y128 与 Y92、Y66、Y5 及 Y60 却没有聚为一个类群；和龙烤烟分离的菌株中 Y27、Y60、Y92、Y18 按数值分类为一个表观群，但在 16S rRNA 序列构建的系统发育树上 Y27、Y60、Y92 却没有聚为一个类群；而在延吉烤烟分离的菌株中 Y120、Y121、Y4、Y125、Y54 按数值分类与在 16S rRNA 序列构建的系统发育树上均聚为一个类群，说明菌落形态相近不能决定亲缘关系远近；

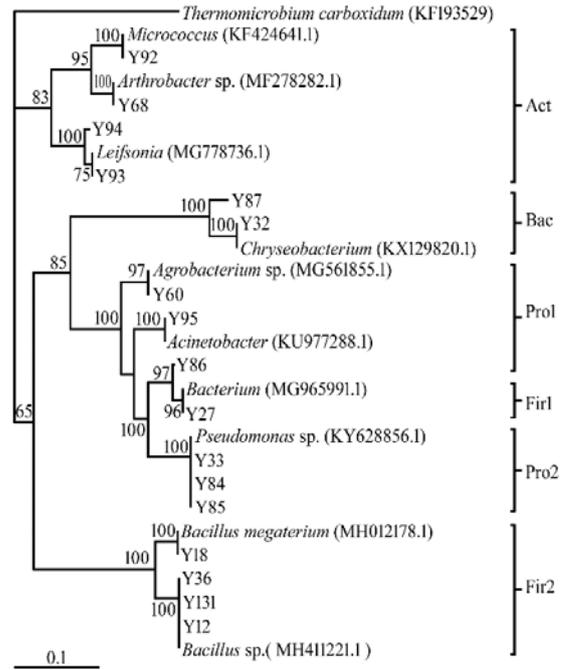


图 5 和龙烤烟内生细菌 16S rRNA 序列构建的系统发育树
 Fig. 5 Phylogenetic tree constructed by 16S rRNA sequence of endophytic bacteria in Helong flue-cured tobacco

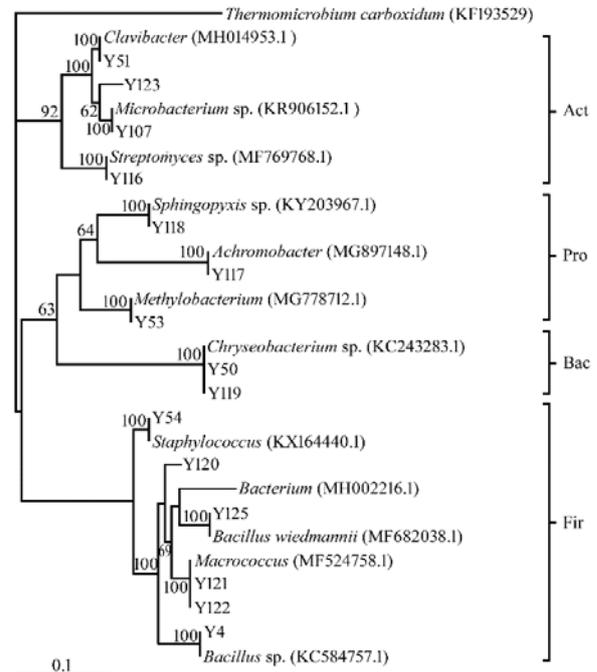


图 6 延吉烤烟内生细菌 16S rRNA 序列构建的系统发育树
 Fig. 6 Phylogenetic tree constructed by 16S rRNA sequence of endophytic bacteria in Yanji flue-cured tobacco

同时，多个菌落形态类型的细菌在系统发育树上被聚为一个类群，如汪清中的 Fir 1 类群与和龙中的 Pro1、Pro 2 类群，其包括 A、D、E 3 个表观群中的某些亚群。

通过对汪清、和龙及延吉3地烤烟的内生细菌的16S rRNA的测序结果与Gen Bank中进行BLAST比对,测定结果表明,3地分离的细菌与已知分类地位菌种的序列相似性在98%~100%,大部分为100%(表3)。汪清、和龙、延吉分离得到的内生细菌中厚壁菌门的芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)分别有7株、5株、4株,分别占分离菌株总数的29.17%、27.78%、25%,为3地烤烟中的优势菌属。由此可知,吉烟9号内生菌的优势种群是厚壁菌门的芽孢杆菌属。且3地分离的内生菌种类数:汪清>延吉>和龙。

总体来看,汪清烤烟分离的内生细菌在数量和种类上较其他两地都多。

3 讨论

本试验研究表明,烤烟中分离的内生菌依据数值分类聚类结果与依据细菌16S rRNA序列的聚类结果不完全一致,数值分类为一个表观群的,在16S rRNA序列构建的系统发育树上可能聚为一个类群(延吉),也可能不聚为一个类群(汪清、和龙)。其可能的原因有:一是观察者对细菌表型特征主观判断误差引起的;二是表型特征在不同类群中进化速度差异很大,甚至基因相同的个体在不同的环境下发育也可能出现显著差异;另外,系统发育树表示的是细菌的进化及亲缘关系,而数值分类是根据表型特征,反映的仅仅是表型间的关系,并不能反映细菌的进化及亲缘关系。这与陈泽斌等^[10]对旺长期烟草研究结果相同。这就说明菌落形态相近不能决定亲缘关系远近。

从汪清、和龙及延吉分离的内生菌均以厚壁菌门的芽孢杆菌属的细菌数量最多,为优势菌属。这与王茂胜等^[12]、林凤敏等^[13]对烟草的研究结果及武永秀等^[14]对野生春兰根的研究结果相同,这可能与芽孢杆菌属细菌在植物体内多是以孢子形式存在,定殖能力强有关。

据研究表明,假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)以及土壤杆菌属(*Agrobacterium*)为植物内生细菌最

常见的属^[15],但尚未见从烟草中分离出肠杆菌属和土壤杆菌属的报道。而本试验对以上4个属在吉烟9号中均分离得到。土壤杆菌属在汪清的根中发现2株、和龙的根中发现1株;假单胞菌属在汪清的根中发现2株,和龙的根中发现4株;肠杆菌属仅在汪清烤烟的茎中分离出1株。可能的原因是烟草品种、取样地点、取样时期、材料表面消毒方法及培养基不同所致。汪清分离的内生菌无论在数量还是种类上较和龙和延吉都多,可能是由于汪清烟田较其他两地的速效氮、磷、钾含量高,土壤中的营养成分对内生菌的种类和数量影响显著所致。

3地分离的共58株内生细菌中的芽孢杆菌属、节杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌属等据资料显示在抵抗病原菌、解磷解钾、污染修复等方面均有显著成效,但雷夫松氏菌属(*Leifsonia*)、莫拉氏菌属(*Moraxella* sp.)、摩氏摩根菌属(*Morganella morganii*)等菌属的作用鲜有报道,今后将围绕分离得到的内生菌在对烟草的促生效果方面进行深入研究,为微生物菌肥的开发利用奠定基础。

4 结论

本研究从吉烟9号中均分离得到4种其他植物中常见的菌属(假单胞菌属、芽孢杆菌属、肠杆菌属及土壤杆菌属),其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)是汪清、和龙、延吉烤烟内生菌中的优势菌属。烤烟中分离的内生菌依据数值分类为一个表观群的,在16S rRNA序列构建的系统发育树上可能聚为一个类群,也可能不聚为一个类群,表明菌落形态相近不能决定亲缘关系远近。

参考文献

- [1] STIERLE A, STROBEL G, STIERLE D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. *Science*, 1993, 260(5105): 214-216.
- [2] 张天栋,李庚,汤丹瑜.降低烟叶烟碱和亚硝酸盐的烟草内生菌筛选及代谢产物应用[J]. *食品工业*, 2011(4): 6-8.
ZHANG T D, LI G, TANG D Y. Tobacco endophytic screening and metabolite application for reducing nicotine and nitrite in tobacco leaves[J]. *Food Industry*,

- 2011(4): 6-8.
- [3] STROBEL G, DAISY B, CASTILLO U, et al. Natural products from endophytic microorganisms[J]. Journal of Natural Products, 2004, 67(2): 257-268.
- [4] 邢颖, 张莘, 郝志鹏, 等. 烟草内生菌资源及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 411-419. XING Y, ZHANG Z, HAO Z P, et al. Advances in studies on tobacco endophytic resources and their applications[J]. Microbiology Bulletin, 2015, 42(2): 411-419.
- [5] 姜乾坤, 彭阁, 王瑞, 等. 抗青枯内生细菌的筛选及其对烟草青枯病的防治效果[J]. 中国烟草科学, 2017, 38(5): 13-17, 31. JIANG Q K, PENG G, WANG R, et al. Screening of endophytic bacteria in Qingyan and Its control effect on tobacco bacterial wilt[J]. Chinese Tobacco Science, 2017, 38(5): 13-17, 31.
- [6] 刘璇, 孔凡玉, 张成省, 等. 烟草根际解钾菌的筛选与鉴定[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(3): 28-31. LIU X, KONG F Y, ZHANG C X, et al. Screening and identification of potassium bacteria in tobacco rhizosphere [J]. Chinese Tobacco Science, 2012, 33(3): 28-31.
- [7] MASTRETTA C, TAGHAVI S, VAN DER LELIE D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity[J]. International Journal of Phytoremediation, 2009, 11(3): 251-267.
- [8] NARASIMHAN K, BASHEER C, BAJIC V B, et al. Enhancement of plant-microbe interactions using a rhizosphere metabolomics-driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls[J]. Plant Physiology, 2003, 132(1): 146-153.
- [9] KHAN A A, WALIA S K. Expression, localization, and functional analysis of polychlorinated biphenyl degradation genes cbpABCD of *Pseudomonas putida*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(5): 1325-1332.
- [10] 陈泽斌, 夏振远, 雷丽萍, 等. 烟草可培养内生细菌的分离及多样性分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(9): 1347-1354. CHEN Z B, XIA Z Y, LEI L P, et al. Isolation and diversity analysis of endophytic bacteria in tobacco[J]. Microbiology Bulletin, 2011, 38(9): 1347-1354.
- [11] 科瓦尔库克, 德·布鲁金, 海德, 等. 分子微生物生态学手册[M]. 丁雄, 译. 2 版. 荷兰多德雷赫特: 克卢沃学术出版社, 2004. KOWALCHK G A, DE BRUJIN F J, HEAD I M, et al. Molecular Microbiology Ecology Manual[M]. DING X, compiled. Second Edition. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [12] 王茂胜, 汪汉成, 马莹, 等. 烟草内生细菌多样性研究[J]. 广东农业科学, 2015(23): 59-64. WANG M S, WANG H C, MA Y, et al. Research on endophytic bacterial diversity of tobacco[J]. Guangdong Agricultural of Sciences, 2015(23): 59-64.
- [13] 林凤敏, 姬文秀, 李虎林. 烟草根际与非根际细菌的系统发育多样性研究[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(5): 1058-1062. LIN F M, JI W X, LI H L. Phylogenetic diversity of tobacco rhizosphere and non-rhizosphere bacteria [J]. Hubei Agricultural of Sciences, 2011, 50(5): 1058-1062.
- [14] 武永秀, 宋彤彤, 张瑞英, 等. 天目山野生春兰根中可培养内生细菌多样性研究[J]. 生物技术通报, 2014(5): 170-173. WU Y X, SONG T T, ZHANG R Y, et al. Study on the diversity of endophytic bacteria cultured in wild spring orchid roots in Tianmu mountain[J]. Biotechnology Bulletin, 2014(5): 170-173.
- [15] 陈宜涛, 王伟剑. 植物内生菌的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(16): 3169-3172. CHEN Y T, WANG W J. Advances in research on endophytes in plants[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2009, 9(16): 3169-3172.