

生物有机肥中几种功能微生物的研究及应用概况*

陈 谦¹ 张新雄^{2**} 赵 海¹ 官家发^{1**}

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(²广东省东莞市保得生物工程有限公司 东莞 523087)

摘 要 综述了近年来国内外对生物有机肥中几种主要功能微生物的研究及应用概况. 总结了生物有机肥中芽孢杆菌、假单胞菌、链霉菌以及其它一些功能菌在抑制作物病原菌、溶解土壤中难溶养分、产生作物生长调节因子等方面发挥的巨大作用. 指出含有功能微生物是生物有机肥的重要特征. 概述了生物有机肥的安全性问题. 对我国生物有机肥研制应用现状中存在的问题及发展前景进行了讨论, 并提出加强高效功能菌株的选育和肥料生产技术的完善是提高生物有机肥肥效的重要途径. 参86

关键词 生物有机肥; 功能菌; 芽孢杆菌; 假单胞菌; 链霉菌; 生物安全性

CLC S144. 1

Advance in Research and Application of Some Functional Microbes in Bio-organic Fertilizer*

CHEN Qian¹, ZHANG Xinxiong^{2**}, ZHAO Hai¹ & GUAN Jiafa^{1**}

(¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²Dongguan Baode Biological Engineering Co., Ltd., Dongguan 523087, Guangdong, China)

Abstract The recent research and application of some functional microbes in bio-organic fertilizers were reviewed, and the effects of *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* and other functional microbes were investigated and summarized in this paper. *Bacillus*, a kind of widely applied, environment-friendly and high security microorganism, could strongly inhibit many field crops' pathogens and pests and effectively degrade phosphate pesticides. Disease resistance of field crops could be induced by *Pseudomonas*. Many crops' pathogens were inhibited by *Streptomyces* and crops yields were increased. Other functional microbes also displayed their special effects in bio-organic fertilizer. Containing these functional microbes was the most significant characteristics of bio-organic fertilizer compared with other fertilizers. The biological safety problem of bio-organic fertilizer was reviewed, and it needs to be paid much attention in future. The problems of development and application of bio-organic fertilizer in China were discussed. The screening of much more effective functional microbes and improvement of their producing technique were considered to be an important way to improve the fertility of bio-organic fertilizer. Ref 86

Keywords bio-organic fertilizer; functional microbe; *Bacillus*; *Pseudomonas*; *Streptomyces*; biological safety

CLC S144. 1

近年来化肥及农药的大量使用造成农产品质量下降, 土壤品质和生产率降低, 农业生产环境恶化, 河流和地下水污染严重等一系列问题. 为保障粮食供应及农产品质量和良好的农业生产环境, 我国农业必须走可持续发展道路, 寻找传统化肥的替代品成为目前研究的热点之一^[1-2]. 生物有机肥是指特定功能微生物与主要以动植物残体(如畜禽粪便、农作物秸秆等)为来源并经无害化处理、腐熟的有机物料复合而成的一类兼具微生物肥料和有机肥效应的肥料^[3], 其本质特征是含有特定功能的、表现出一定的肥料效应的微生物, 这些功能微生物的生命活动是生物有机肥优于其它肥料的关键因素^[4]. 生物有机肥施用后能产生多种活性物质溶解土壤中难溶化合物以提高土壤肥力并有利于农作物吸收

养分; 产生抑菌物质和生长调节因子减少作物病虫害的发生并促进作物稳健生长^[5]. 生物有机肥的种种优点已受到越来越广泛的关注. 本文对近年来生物有机肥中起主要作用的微生物的功能、它们之间的相互作用及对生物有机肥施用效果的影响等研究进行综述, 以期为我国生物有机肥的研制、生产和施用提供参考.

1 生物有机肥中主要的功能微生物及其对作物的影响

单一菌种、单一功能的生物有机肥已不能满足现代农业发展的要求. 目前, 复合菌种是生物有机肥的发展趋势^[6]. 在生物有机肥生产过程中, 加入的功能菌一般为芽孢杆菌(*Bacillus*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、链霉菌(*Streptomyces*)、固氮菌、溶磷菌、光合细菌等^[6-7].

1.1 芽孢杆菌

芽孢杆菌是一大类广泛分布于自然界, 细胞呈直杆状, 鞭毛周生, 多数能运动, 能形成内生芽孢, 革兰氏阳性或生命早期呈革兰氏阳性, 严格好氧或兼性厌氧的化能异

收稿日期: 2009-10-29 接受日期: 2009-11-17

*国家科技支撑项目(No. 07N5041100)和东莞保得生物工程有限公司资助项目 Supported by the National Key Technology R & D Program of China(No. 07N5041100) and the Funds from Dongguan Baode Biological Engineering Co., Ltd., Guangdong, China

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: zhxyt168@126.com; guanjf00@mail.sc.cninfo.net)

养细菌^[8]。2004年出版的第二版《伯杰氏细菌系统学手册: 原核生物分类纲要》将芽孢杆菌类细菌分为35个属, 共计409种^[9]。芽孢杆菌能产生多种抗生素、酶类等活性物质, 广泛应用于饲料加工、医药、农药、食品等各个行业^[10], 如工业上耐高温的 α -淀粉酶主要由地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)发酵产生^[11]; 洗涤添加剂碱性纤维素酶主要由嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alcalophilus*)产生^[12]; 苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的伴胞晶体是农业上常用的杀虫剂^[13]。另外, 芽孢杆菌在医学上也展现出良好的应用前景^[14-15]。其中应用广泛且比较重要的是: 地衣芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌(*Brevibacillus laterosporus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)等。

1.1.1 地衣芽孢杆菌 地衣芽孢杆菌是一种安全性高、生长迅速、抗逆性强的工业微生物菌种, 在酶制剂生产、饲料加工、医学、生物农药等方面得到了广泛的应用^[16-17]。我国农业部发布的《饲料添加剂品种目录(2006)》将地衣芽孢杆菌列入安全饲料添加剂。

长期以来人们主要依赖于多菌灵、万霉灵和速克灵等化学农药来防治植物病害^[18]。而化学农药的持续施用使病原菌快速产生抗药性, 农药的防治效果明显下降, 同时还污染农业生产环境。地衣芽孢杆菌分泌的多种蛋白类抗菌物质(几丁质酶、抗菌蛋白、多肽类)可有效抑制一些植物病原菌的生长^[19], 减少有机农药的施用。

Kim等分离到一株地衣芽孢杆菌B65-1, 其分泌的苯乙酸类抗生素能明显抑制动物病原菌金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、藤黄色微球菌(*Micrococcus luteus*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)的生长^[20]。

Sid等从辣椒根际分离的4株地衣芽孢杆菌HS93、LS234、LS523和LS674对辣椒疫霉病(*Phytophthora capsici*)的抑制率分别达到80%、51%、49%和54%; 对辣椒黑斑病(*Alternaria alternata*)分别达到54%、74%、62%和53%。盆栽实验表明, 用这4株菌的菌悬液浸泡过的辣椒种子播种后, 辣椒疫霉病和黑斑病的发病率明显降低^[21]。

灰霉病(*Botrytis cinerea* Pers.)是严重危害番茄等作物生产的病害之一。童蕴慧等报道地衣芽孢杆菌W10对番茄灰霉病的田间防除率达到70%, 并可诱导番茄植株产生灰霉病抗性^[22]。W10还对苹果轮纹病菌(*Physalospora piricola*)、柑橘炭疽病菌(*Colletotrichum gleosporioides*)和青霉病菌(*Penicilliosis italicum*)具有明显的抑制作用^[23]。地衣芽孢杆菌在防治烟草黑胫病(*Phytophthora nicotianae*)^[24]、棉花黄萎病(*Verticillium dahliae*)^[25]、水稻稻瘟病(*Magnaporthe grisea*)^[26]等方面也表现出明显的效果。

燕红等的研究表明, 地衣芽孢杆菌可产生半纤维素酶、纤维素酶和木质素酶降解农业废弃物——秸秆, 发酵5 d后, 纤维素降解率可达14.91%^[27]。顾小平等从毛竹根系处分离到的4株地衣芽孢杆菌具有固氮特性, 接种后可促进毛竹实生苗的生长并显著提高苗木的成活率^[28]。

华南农业大学的王振中等研制的地衣芽孢杆菌202能够

有效抑制香蕉枯萎病菌的生长, 环境安全性好, 具有良好的开发前景^[29]。

1.1.2 侧孢芽孢杆菌 侧孢芽孢杆菌广泛分布于自然界及某些动物体内, 随着研究的深入, 发现侧孢芽孢杆菌具有多种应用潜力, 如产生杀虫、抑菌活性物质, 具有解磷、解钾、固氮等多种功能^[30]。

张楹等分离到一株侧孢芽孢杆菌YMF3.100003产生的一种胞外酶对两种危害严重的土传病原真菌——尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)菌丝的生长具有强烈的抑制作用^[31]。

有机磷农药是国内外应用最广泛的一类农药, 但其毒性大, 残留性高, 对生态环境和人类健康产生严重的影响^[30]。宫占元等报道的侧孢芽孢杆菌BL-21和BL-22对有机磷农药水胺硫磷的解磷率分别达到58.98%和75.5%, 对氧化乐果的解磷效率分别为32.66%和29.10%^[32]; 菌株BL-11和BL-12对无机磷的解磷能力分别达到10.91%和7.34%, 可有效增加土壤中水溶性磷的含量, 提高土壤品质^[33]。Barsby等在巴布亚新几内亚分离到一株侧孢芽孢杆菌, 其产生的一种十肽抗生素能明显抑制白色念珠菌的生长^[34]。Orlova等报道一株侧孢芽孢杆菌形成的一种胞内晶体对幼蚊有毒杀作用^[35]。赵秋敏等分离到的一株产几丁质酶的侧孢芽孢杆菌1.864, 对小麦赤霉菌(*Fusarium graminearum*)、棉花立枯菌(*Rhizoctonia solani*)、苹果轮纹菌等八株病原真菌有明显的抑制效果; 对淡色库蚊二龄幼虫有明显的致死作用; 且与Bt杀虫剂混合使用时对Bt杀虫剂有明显的增效作用^[36]。张新雄等发明了侧孢芽孢杆菌土壤接种剂, 大田试验结果显示其主要功能为:

(1)改良土壤, 使土壤肥力、微生物活性及种群结构得到明显改善; (2)促进农作物生长, 使农作物根系发达, 植株增高, 茎秆增粗, 叶片增多增厚, 叶色浓绿, 生长稳健; (3)增强农作物抗病能力, 农作物施用土壤接种剂后, 均表现出抗病能力增强, 被喻为“植物癌症”的烟草花叶病、棉花枯萎病, 在施用接种剂后, 发病率明显降低, 大田病毒接种试验表明, 烟草花叶病发病率降低60%~70%; (4)增强农作物抗寒能力和抗旱抗涝能力; (5)有效改善农产品品质; (6)提高农作物产量, 土壤接种剂在不同地域、不同作物上应用, 作物产量明显提高: 蔬菜增产12%~30%, 水果增产20%左右, 水稻增产10%~15%, 烟草增产7.5%~19.8%, 茶叶鲜产量增收26.8%, 蚕桑产量增加20.8%^[37]。

1.1.3 枯草芽孢杆菌 枯草芽孢杆菌是芽孢杆菌的模式菌株, 在工农业、医药卫生、食品保健、水产养殖等方面具有较高的应用价值^[38-39]。

Cavaglieri等从玉米根围分离到的枯草芽孢杆菌RC8、RC9和RC11对玉米轮状镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)具有强烈的抑制作用, 并抑制其伏马毒素B1的产生^[40]。枯草芽孢杆菌FZB-24在德国、美国等国已注册, 并在德国Bayer公司投入生产, 可用于防治番茄晚疫病、灰霉病和小麦白粉病, 还可作为增产促进剂^[41]。近年来发现, 枯草芽孢杆菌能产生与植物抗性蛋白合成基因表达相关的信号肽, 诱导植物对病害产生抗性; 或通过分泌如丝氨酸专一性肽链内切酶直接诱导植物产生抗性^[42]。如枯草芽孢杆菌AF1能诱导木豆种子中木

豆丙氨酸解氨酶(PAL)的活性增加^[42];枯草芽孢杆菌IN937诱导黄瓜对嗜气管欧文菌产生抗性^[43]。另外,*Bacillus subtilis* FZB24 (r)可诱导大头菜生长出更为发达的根系,且FZB24 (r)液体培养物中存在植物生长素如细胞分裂素、玉米素、脱落酸、赤霉素等,此培养物对萝卜或小麦根部处理或叶面喷施后对植株都表现出良好的生长促进作用^[42]。伊枯草菌素(Iturin)是从枯草芽孢杆菌培养液中提取出来的一大类脂肽类化合物,包括伊枯草菌素A、B、C、D、E,芽孢菌素D、F、L及抗霉枯草菌素等,它们对多种植物病原菌具有很强的拮抗作用^[44]。枯草芽孢杆菌还能分泌植酸酶分解植酸,增加土壤中游离磷的含量,促进植物对磷的吸收^[45]。

除上述3种芽孢杆菌外,其它多种芽孢杆菌也有广泛的应用。苏云金芽孢杆菌是目前应用广泛的微生物杀虫剂,它克服了传统化学农药污染环境、易使病原菌产生抗性等缺点,具有选择性强、安全、环境友好等优点^[13];程安春等分离到一株蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) SA38可明显抑制家禽白痢沙门氏菌(*Salmonella pullorum*)和霍乱沙门氏菌(*Salmonella choleraesuis*)的生长^[46]。阮丽芳等还发现蜡状芽孢杆菌还可提高苏云金芽孢杆菌对棉铃虫的毒力^[47]。环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)是硅酸盐细菌中的常见菌种,它能分解土壤硅酸盐矿物质,使土壤中难溶性钾、磷、硅等转变为可溶性物质供植物生长利用,同时也可产生多种生物活性物质促进植物生长^[48,49]。

芽孢杆菌是一类应用广泛、安全性高、抗逆性强、环境友好的细菌。其中许多菌株对多种植物病原菌和害虫有强烈的抑制和杀灭作用,可提高作物的成活率和农产品产量^[22-26,36];一些菌株能分泌纤维素酶降解秸秆类农业废弃物,有利于自然界碳素的循环^[27];具有固氮特性的芽孢杆菌可提高土壤中氮素的含量,促进作物生长^[28];某些芽孢杆菌对有机磷农药具有较高的解磷率,对缓解目前大量施用有机磷农药造成的农业生产环境恶化有积极意义^[32]。随着研究的深入,芽孢杆菌将在生物有机肥的研制和施用中占据越来越重要的地位。

1.2 假单胞菌

假单胞菌属是薄壁菌门假单胞菌科的模式属,具有分布广泛、繁殖快、环境适应性强等特点^[50]。其中,荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)属于植物根围促生细菌(PGPR)类,能对多种植物病原菌产生抑制作用而得到广泛的研究^[51]。*P. fluorescens* DR54能产生环形脂肽,对立枯丝核菌引起的作物病害有较好的抑制作用^[52]。*P. fluorescens* JKD-2对稻瘟病的抑制率可达60%^[53]。某些*P. fluorescens*产生的植物保护素、双萜、多聚物等小分子物质能诱导植株对病原菌产生抗性^[54]。Peer等用*P. fluorescens* WCS417处理香石竹后诱导植株产生对尖孢镰刀菌的抗病性^[55]。李萍等报道棉花植株内生*P. gladioli* D-2251诱导后植株表面蚜虫数量降低了74.95%^[56]。

*P. fluorescens*在环境保护和污染修复等方面也有广泛的应用。Harwood等发现沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*)在厌氧条件下通过苯甲酰辅酶A途径代谢芳香烃化合物,使芳香环逐个脱落,最终使环完全裂解^[57]。聂麦茜等

从污染污泥中分离的假单胞菌PCB2对葱和菲的混合体系最高TOC去除率可达73.7%^[58]。王松文等报道一株假单胞菌AD1对阿特拉津(atrazine)污染土地有良好的修复作用,4 wk的处理时间内对阿特拉津最高去除率可达96%^[59]。菌株AEBL3对有机农药呋喃丹污染土壤中呋喃丹的去除率最高可达90%^[60];菌株DLL-1对土壤中残留的农药甲基对硫磷(M-1605)有明显的降解作用,接种DLL-1的土壤在2 d后已检测不到M-1605的残留,而对照土壤12 d后才达到同样效果^[61]。

假单胞菌是植物根围促生细菌(PGPR)中一类重要的菌种,既能抑制多种植物病原菌的生长,还能分泌一些小分子物质诱导植株产生抗病性,从而能间接提高作物产量。同时,假单胞菌对农药污染的土壤有较好的修复作用,有利于土壤微生物群落正常功能的恢复和维持。

1.3 链霉菌

放线菌是一类具有分枝状菌丝体、高G+C含量的革兰氏阳性细菌,广泛存在于不同的自然生态环境中,种类繁多,大多数菌种可产生多种生物活性物质,如抗生素,是一类具有广泛实际用途和巨大经济价值的微生物资源^[62]。链霉菌是放线菌中一个重要的属。

目前广泛应用的一种放线菌活体制剂Mycostop,可防治一些常见的土传病原菌,如腐霉菌(*Pythium*)、镰刀菌(*Fusarium*)、疫霉菌(*Phytophthora*)和丝核菌(*Rhizoctonia*)等引起的土传植物病害。它还可用于抑制温室中观赏植物和蔬菜上一些常见的病害^[63]。阎淑珍等将分离到的一株链霉菌R-2配制成微生物肥料,田间实验表明,该肥料对棉花黄萎病和油菜菌核病的抑制率分别为72%和97.2%^[64]。我国自上世纪50年代开始使用细黄链霉菌乳糖变种(5406菌肥),在小麦、蔬菜、烟草、人参等多种作物上使用的结果表明其能促进作物生长,提高产量并具有一定抗病、驱虫作用^[65]。峥嵘研究了细黄放线菌5406对小麦生长的影响,发现5406可使小麦地上部分干重增加2.64%,根干重增加21.20%,幼苗根系活力提高11.56%^[66]。上海市农业科学院土壤肥料植物保护研究所菌肥组的研究表明,细黄放线菌5406与钾细菌、棕色固氮菌混合培养时,这3种菌的菌数均较单独培养时有较大提高,说明细黄放线菌5406对生物有机肥中其它几种功能菌的生长有促进作用,且可提高肥料质量^[67]。胡江春等应用细黄放线菌MB-97克服重茬大豆连作的障碍。经过试验,MB-97对大豆根际致害生物紫青霉菌的抑制率达80%,对土传真菌病害如镰刀菌的抑制率达50%以上;还可调节优化大豆根际土壤微生物群落,使大豆平均增产15.2%,表明MB-97是一株优良的植物根际促生菌^[68]。刘克锋等报道细黄链霉菌对猪粪和垃圾发酵腐熟效果最好,同时除臭效果最明显^[69]。另外,多种放线菌还有优良的固氮功能,具有固氮能力强,固氮持续时间长等特点^[70-71]。联合国粮农组织(FAO)在马拉维、赞比亚等国推广豆科树木的根瘤菌接种剂和非豆科树木如木麻黄的弗氏固氮放线菌接种剂,接种效果良好^[72]。

其它放线菌菌株也具有成为生物有机肥中功能菌的潜力。陈华保等分离一株放线菌IPS-54,其代谢产物对烟草赤星病菌、马铃薯干腐病菌、玉米大斑病菌等病原真菌的菌丝

生长抑制率均在80%以上,盆栽试验表明对小麦白粉病菌的保护和治疗作用均大于70%;大田防治番茄灰霉病菌的防效在50%以上^[73]。中国科学院成都生物所胡厚芝等分离的诺尔斯链霉菌西昌变种产生的宁南霉素可诱导植物产生PR蛋白,这种蛋白能降低植物体内病毒粒体浓度,破坏病毒粒体结构,从而达到防治作物病毒病的目的。它对烟草等作物的病毒病防效最高可达90%以上^[74]。

1.4 其它菌种

固氮菌、溶磷菌、光合细菌等也是生物有机肥中重要的功能菌。固氮菌是一类通过固氮酶的催化将氮气还原为氨的细菌,是土壤生态系统氮素循环的关键因素,为作物的生长提供必不可少的氮源^[75]。接种了固氮菌的堆肥中全氮增加了11%^[76]。固氮菌可使红海榄幼苗的苗高增加27.3%,地下生物量增加28.8%,地上生物量增加19.4%^[77]。

溶磷菌具有将植物难利用的磷转化为可利用形态磷的能力,包括细菌、真菌和放线菌等^[78]。杨慧等分离到一株草生欧文氏菌变种P21,对磷酸三钙、羟基磷灰石、磷酸铁、磷酸锌均有较好的溶解作用,其中对磷酸三钙、羟基磷灰石的每升液体培养基溶磷量达1 206.2 mg和529.67 mg^[79]。固氮菌和溶磷菌联合对红海榄施用后使其苗高、地下生物量、总生物量、根全氮含量和根全磷含量分别提高了43.3%、44.8%、29.9%、29.3%、27%和16.8%^[77]。

光合细菌是一类利用太阳能生长繁殖的微生物,以H₂S或有机物为供氢体还原CO₂,并具有固氮功能^[80]。田间实验表明,施用含光合细菌的有机肥能提高小麦、番茄、萝卜等作物的产量,还可提高农产品的品质^[80-82]。在生物有机肥中加入光合细菌,能促进稻田土壤中固氮菌和放线菌的增殖,提高土壤中微生物总量,为作物创造出良好的生长环境^[80]。

2 生物有机肥中功能菌的安全性问题

以基因工程技术为代表的现代生物技术在解决人类社会所面临的粮食短缺、环境污染等重大问题上发挥了巨大作用,然而基因工程技术潜在的巨大风险同样不能忽视^[83]。生物安全问题成为国际社会关注的焦点之一^[84]。生物有机肥中功能微生物的安全性问题也受到各方面的重视。中国农业部制定的生物有机肥标准(NY 884-2004)中明确指出,生物有机肥中使用的微生物菌种应安全、有效,有明确来源和种名;农业部发布的微生物肥料生物安全通用技术准则(NY 1109-2006)明确规定生物有机肥中使用的菌种安全性分级以及对菌种和产品进行毒理学试验的原则、程序、方法和结果评价指标,成为生物有机肥生产和使用的标准。然而随着基因工程技术及新菌种逐渐应用于生物有机肥的生产和研制中,生物有机肥中功能微生物的安全性问题需要得到进一步的研究和关注,相关法规需要进一步完善,并需要成立权威实验室对菌种的安全性进行公平公正的评估,以避免人为干扰和腐败等问题的影响^[84-85]。

3 存在问题及发展前景

我国目前使用的各种生物有机肥中固氮菌类基本都是无芽孢菌。由于无芽孢菌抗逆性差,不耐高温和干燥,成本较高,不易贮存,运输和施用较困难,难以形成规模化生产。

因此,选用能形成芽孢的功能菌有利于生产粉状或颗粒状生物有机肥,方便贮存和运输^[6, 86]。另外,进一步提高我国生物有机肥加工技术水平,加大产品质量监管的力度,提高技术员的科研素质,将有利于我国生物有机肥产业的健康发展。

生物有机肥具有成本低、效率高、无污染、原料来源广泛等优点,符合现代生态农业可持续发展的特点^[6]。生物有机肥代替部分传统化肥及有机农药,可缓解它们对农业生产环境及人体健康的严重危害,合理施用生物有机肥是我国农业实现可持续发展的重要途径^[7]。今后应进一步加强选育高效微生物菌种,改良有机肥原料组成的研究,不断完善原料处理工艺、生产工艺及施肥技术。可以预见,生物有机肥将在我国农业生产中发挥其特有的经济和生态效益^[4, 6]。

References

- 1 Yang WR (阳文锐). Study on the effect of long-term application of biological-organic compost on soil organisms: [Master Degree's Dissertation]. Beijing, China: China Agricultural University (北京: 中国农业大学), 2004. 2~10
- 2 Pei ZJ (裴占江). Effects of bio-fertilizer application on enzyme activities at rhizosphere and N, P absorption: [Master Degree's Dissertation]. Harbin, China: Northeast Agricultural University (哈尔滨: 东北农业大学), 2006. 1~9
- 3 沈德龙, 李俊, 姜昕, 陈慧君, 曹凤明, 关大伟, 李力. NY 884-2004 生物有机肥标准. 北京: 中国农业出版社, 2004
- 4 Li QK (李庆康), Zhang YC (张永春), Yang QF (杨其飞), Yang ZY (杨卓亚), Li Y (李延). The concept, mechanism, affecting factors and prospect of applying bio-organic fertilizer. *Chin J Eco-Agric* (中国生态农业学报), 2003, 11 (2): 78~80
- 5 Shen DL (沈德龙), Cao FM (曹凤明), Li L (李力). Development status and prospect of microbial organic fertilizer in China. *Chin Soil & Fert* (中国土壤与肥料), 2007 (6): 1~5
- 6 吴建峰, 林先贵. 我国微生物肥料研究现状及发展趋势. *土壤*, 2002 (2): 68~72
- 7 Liu J (刘健), Li J (李俊), Ge C (葛诚). Advance in role mechanism of microbial fertilizer. *J Microbiol* (微生物学杂志), 2001, 21 (1): 33~36
- 8 Buchanan RE, Gibbens NE. 伯杰氏细菌鉴定手册. 8版. 北京: 科学出版社, 1984. 729~732
- 9 Liu GH (刘国红), Lin NQ (林乃铨), Lin YZ (林营志), Liu B (刘波). Advances in taxonomy and application of genus *Bacillus*. *Fujian J Agric Sci* (福建农业学报), 2008, 23 (1): 92~99
- 10 Lu HX (鲁红学), Zhou Y (周赓). Research advances in application of *Paenibacillus* in plant disease control and environment control. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2008, 36 (30): 13244~13247
- 11 Chen HG (陈红歌), Gu SH (顾渤海), Ren SZ (任随周), Ma XD (马向东), Jia XC (贾新成). Properties of thermo stable α -amylase from *Bacillus licheniformis* strain WB211. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 2004, 27 (1): 63~66
- 12 Guo CS (郭成栓), Cui TB (崔堂兵), Guo Y (郭勇). Developments in alkaline cellulase from alkaliphilic *Bacillus*. *Amino Acids & Biotic Resour* (氨基酸和生物资源), 2007, 29 (1): 35~38

- 13 Zhu W (朱玮), Zhao B (赵兵), Wang XD (王晓东), Wang YC (王玉春). Progress of the study on *Bacillus thuringiensis* as biopesticides. *Chin J Proc Eng* (过程工程学报), 2004, **4** (3): 282~288
- 14 Li J (李洁), Cheng HH (陈华红), Zhao GZ (赵国振), Xiong Z (熊智), Xu LH (徐丽华). Isolation and classification of two anticancer endophytic bacterial strains. *J Microbiol* (生物学杂志), 2007, **27** (1): 1~4
- 15 Zhang K (张柯), Ning DG (宁德刚), Xu WD (徐卫东). Advance on the surface display of recombinant vaccines on *Bacillus subtilis* spores. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2006, **33** (5): 134~137
- 16 Ma K (马凯), Liu GQ (刘光全), Cheng C (程池). The TD-PCR and phylogenetic analysis of *Bacillus licheniformis* 16S rDNA. *Microbiology* (微生物学通报), 2007, **34** (4): 709~711
- 17 Pan KC (潘康成), He MQ (何明清), Liu KL (刘克林). Study on the effects of *Bacillus licheniformis* to cell-mediated immunity of rabbits. *J Sichuan Agric Univ* (四川农业大学学报), 1997, **15** (2): 368~371
- 18 Tong YH (童蕴慧), Xu JY (徐敬友), Chen XJ (陈夕军), Ji ZL (纪兆林), Yu W (郁伟). Screening and application of antagonistic microorganisms against *Botrytis cinerea*. *Jiangsu Agric Res* (江苏农业研究), 2001, **22** (4): 25~28
- 19 Tang LJ (唐丽娟), Ji ZL (纪兆林), Xu JY (徐敬友), Chen XJ (陈夕军), Tong YH (童蕴慧). Mechanisms of action to *Botrytis cinerea* and antimicrobial substance of *Bacillus licheniformis* W10. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2005, **21** (3): 203~205
- 20 Kim Y, Cho JY, Kuk JH, Moon JH, Cho JI, Kim YC, Park KH. Current identification and antimicrobial activity of phenylacetic acid produced by *Bacillus licheniformis* isolated from fermented soybean, Chungkook-Jangmicrobiolog. *Curr Microbiol*, 2004, **48** (1): 312~317
- 21 Sid A, Ezziyani M, P'erez S'anchez C, Candela ME. Selecting bacterial strains for use in the biocontrol of diseases caused by *Phytophthora capsici* and *Alternaria alternata* in sweet pepper plants. *Biol Planta*, 2003, **47** (4): 569~574
- 22 Tong YH (童蕴慧), Guo GP (郭桂萍), Xu JY (徐敬友), Ji ZL (纪兆林), Chen XJ (陈夕军). Induced resistance to gray mould in tomato plant by antagonistic bacteria. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2004, **20** (3): 187~189
- 23 Ji ZL (纪兆林), Tong YH (童蕴慧), Ling Z (凌笋), Chen XJ (陈夕军), Xu JY (徐敬友). Inhibition of antagonistic bacteria to post-harvest fungal pathogens of some fruits and their control of fruit rots. *J Nanjing Agric Technol Coll* (南京农专学报), 2003, **19** (4): 23~27
- 24 Fang DH (方敦煌), Li TF (李天飞), Mu YX (沐应祥), Zhou L (周黎), Yang SY (杨硕媛), Lu QH (陆庆华). Field application of antagonistic bacteria GP13 to control tobacco black shank. *J Yunnan Agric Univ* (云南农业大学学报), 2003, **18** (1): 48~51
- 25 Qi DM (齐东梅), Liang QM (梁启美), Hui M (惠明), Niu TG (牛天贵). Characteristics of antagonistic proteins from *Bacillus* against cotton *Fusarium* wilt and *Verticillium* wilt. *Microbiol* (微生物学通报), 2005, **32** (4): 42~46
- 26 Peng HX (彭化贤), Liu BW (刘波微), Chen XJ (陈小娟), Liu HY (刘海艳). Biological control of rice blast with *Bacillus* spp. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2002, **18** (1): 25~27
- 27 Yan H (燕红), Yang Q (杨谦), Pan ZC (潘忠诚). Study on degradation of rice straw by *Bacillus licheniformis*. *J Zhejiang Univ Agric & Life Sci* (浙江大学学报农业与生命科学版), 2007, **33** (4): 360~366
- 28 Gu XP (顾小平), Wu XL (吴晓丽). Studies on nitrogen fixation characters of several *Bacillus licheniformis* strains from *Phyllostachys pubescens* root. *J Bamboo Res* (竹子研究汇刊), 1998, **17** (4): 59~63
- 29 王振中, 孙正祥, 纪春艳. 一种地衣芽孢杆菌202及其应用. 中国专利, CN101440356. 2009-05-27
- 30 Jin SC (金术超). 侧孢芽孢杆菌BL-21降解有机磷农药的作用研究: [Master Degree's Dissertation]. Harbin, China: Heilongjiang University (哈尔滨: 黑龙江大学), 2006. 9~11
- 31 Zhang Y (张楹). The antifungal protease from *Brevibacillus laterosporus*. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2006, **22** (2): 146~149
- 32 Gong ZY (宫占元), Wang YJ (王艳杰), Li YP (李永鹏), Zheng DF (郑殿峰). Study on the capacity of several strains of *Bacillus laterosporus* in dissolving organic phosphate compounds. *J Heilongjiang Aug First Land Reclam Univ* (黑龙江八一农垦大学学报), 2006, **18** (1): 12~14
- 33 Gong ZY (宫占元), Wang YJ (王艳杰), Li YP (李永鹏), Zheng DF (郑殿峰). Studies on the capacity of *Bacillus Laterosporus* in dissolving inorganic phosphate compounds. *J Heilongjiang Aug First Land Reclam Univ* (黑龙江八一农垦大学学报), 2005, **17** (5): 14~17
- 34 Barsby T, Kelly MT, Andersen RJ. Tupuseleiamides and basilliskamides, new acyldipeptides and antifungal polyketides produced in culture by a *Bacillus Laterosporus* isolate obtained from a tropical marine habitat. *J Nat Prod*, 2002, **65**: 1447~1451
- 35 Orlova MV, Simirnova TA, Ganushkina LA, Yacubovich VY, Azizbekyan RR. Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64** (7): 2723~2725
- 36 Zhao QM (赵秋敏), Chen YH (陈月华), Cai J (蔡峻), Lu W (卢伟). Chitinase producing *Bacillus laterosporus* strain and its antifungal activity. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2006, **22** (suppl): 42~46
- 37 张新雄, 韩斌, 林满文. 侧孢芽孢杆菌及由该菌种制备的土壤接种剂. 中国专利, CN200610036923.8. 2007-05-23
- 38 吴仲贤. 群体遗传学. 北京: 农业出版社, 1981. 295~305
- 39 Hui M (惠明), Dou LN (窦丽娜), Tian Q (田青), Hou YC (侯银臣). Advances in application research of *Bacillus subtilis*. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学). 2008, **36** (27): 11623~11624, 11627
- 40 Cavaglieri LR, Passone A, Etcheverry, MG. Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of *Fusarium verticillioides* in *Zea mays* L. *Biol Control*, 2004, **31** (3): 259~267
- 41 Zhao D (赵达), Fu JF (傅俊范), Qiu JY (裘季燕), Liu WC (刘伟成). 枯草芽孢杆菌在植病生防中的作用机制与应用. *Liaoning Agric Sci* (辽宁农业科学), 2007 (1): 46~48
- 42 Cheng HB (程洪斌), Liu XQ (刘晓桥), Chen HM (陈红漫). Research advance in controlling plant fungous diseases by *Bacillus subtilis*. *Acta Agric Shanghai* (上海农业学报), 2006, **22** (1): 109~112
- 43 Chen ZY (陈中义), Zhang J (张杰), Huang DF (黄大昉). Research progress on antimicrobial mechanism and genetic engineering of

- Bacillus* for plant diseases biocontrol. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2003, **33** (2): 97~103
- 44 Ren ZG (任争光), Zhang ZY (张志勇), Wei YM (魏艳敏). Research progress on biological control of horticultural plant diseases by *Bacillus* spp. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2006, **22** (suppl): 194~198
 - 45 Fan JY (范继英), He YQ (何月秋). Brief review of secreted phytases from *Bacillus subtilis*. *J Yunnan Agric Univ* (云南农业大学学报), 2006, **21** (6): 715~720
 - 46 程安春, 何明清, 陈孝跃. SA38蜡样芽孢杆菌在体外对几种致病菌的生物拮抗试验. *中国兽医杂志*, 1994, **20** (2): 12~13
 - 47 Yuan LF (阮丽芳), Lin KC (林开春). Initial-exploratory to the synergistic mechanism of 34-16 to Bt. *Virol Sin-Special Issue* (中国病毒学-杀虫微生物专刊), 2000, **15**: 120~125
 - 48 Liu WX (刘五星), Yang QY (杨启银), Xu XS (徐旭士), Wu XH (吴向华). Research progress of silicate bacteria fertilizer. *Tianjin Agric Sci* (天津农业科学), 2003, **9** (4): 39~42
 - 49 葛诚. 微生物肥料生产应用基础. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 81~84
 - 50 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001. 162~166
 - 51 Bashan Y, Holguin G. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into classification: Biocontrol-PGPR (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biol Biochem*, 1998, **30** (8/9): 1225~1228
 - 52 Nielsen TH, Christophersen C, Anthoni U, Sørensen J. Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *J Appl Microbiol*, 2000, **87** (1): 80~90
 - 53 Xu YQ (许煜泉), Zhang Y (张彦), Yu JA (俞吉安), Tang WN (唐玮宁), Luo PQ (骆佩琪). Antagonism against rice blast disease and other phytopathogens by a strain of *Fluorescent Pseudomonas* spp. *J Shanghai Jiaotong Univ* (上海交通大学学报), 1998, **32** (3): 111~115
 - 54 Yang HL (杨海莲), Sun XL (孙晓璐), Song W (宋未). Current development on induced resistance by plant growth promoting and endophytic bacteria. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2000, **30** (2): 106~110
 - 55 Peer RV, Niemann GJ, Schippers B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*, 1991, **81** (7): 728~734
 - 56 Li P (李萍), Zhang QW (张青文), Cai QN (蔡青年). Study on induced resistance of cotton to aphid gossyp ii with *Pseudomonas gladioli*. *Acta Gossypii Sin* (棉花学报), 1998, **10** (4): 193~198
 - 57 Harwood CS, Burchhard TG, Herrmann H, Fuchs G. Anaerobic metabolism of aromatic compounds via the benzoyl-CoA pathway. *FEMS Microbiol Rev*, 1999, **22** (5): 439~458
 - 58 Nie MQ (聂麦茜), Zhang ZJ (张志杰), Wang XC (王晓昌), Dai XD (戴小东). Degradation of anthracene phenanthrene and pyrene by two *Pseudomonas* sp. PCN5 and PCB2. *Acta Sci Circumst* (环境科学学报), 2002, **22** (5): 630~633
 - 59 Wang SW (王松文), Lu XY (吕宪禹), Jiang L (江磊), Cai BL (蔡宝立). Bioremediation of atrazine-contaminated soil by *Pseudomonas* sp. Strain AD1. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis* (南开大学学报自然科学), 2001, **34** (3): 121~122
 - 60 Liu XH (刘宪华), Feng X (冯忻), Song WH (宋文华), Dai SG (戴树桂). Bioremediation of carbofuran-contaminated soil by *Pseudomonas* sp. AEBL3. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis* (南开大学学报自然科学), 2003, **36** (4): 63~67
 - 61 Shen B (沈标), Shao JS (邵劲松), Li SP (李顺鹏), Liu Z (刘智), Hong Q (洪青). Function of *Pseudomonas* sp. DLL-1 in soil bioremediation. *China Environ Sci* (中国环境科学), 2002, **22** (4): 365~369
 - 62 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 姜成林. 放线菌系统学-原理、方法及实践. 北京: 科学出版社, 2007. 5~16
 - 63 Jiang Y (姜钰), Dong HY (董怀玉), Xu XD (徐秀德), Liu ZH (刘志恒), Fan HM (樊慧梅). Progress on the research of actinomycetes in biocontrol of plant disease. *Rain Fed Crops* (杂粮作物), 2005, **25** (5): 329~331
 - 64 Yan SZ (阎淑珍), Yang QY (杨启银), Chen YR (陈育如). Antagonism of complex microbial fertilizer and functional actinomycetes against soil-borne plant pathogenic fungi. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), 2004, **20** (1): 49~52
 - 65 Tan ZL (谭之磊), Wang LF (王来福), Xiao XZ (肖湘政), Yang ZY (杨则媛). Optimization of fermentation conditions and its applications to maize of *Streptomyces microflavus* 005. *Chin Soil & Fert* (中国土壤与肥料), 2008 (2): 61~64
 - 66 Zheng R (峥嵘). The effect of 5406 actinomycetes on the wheat seedling. *J Inner Mongolia Agric Univ* (内蒙古农业大学学报), 2006, **27** (2): 150~152
 - 67 上海市农业科学院土壤肥料植物保护研究所菌肥组. 细黄放线菌 5406与几种土壤微生物之间的关系. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 1977, **17** (1): 62~63
 - 68 Hu JC (胡江春), Xue DL (薛德林), Wang SJ (王书锦), He B (何斌), Wang DM (王德明). Obstacles of soybean continuous cropping III Mechanism of soybean yield increment by marine actinomycetes MB-97. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学), 2002, **13** (9): 1095~1098
 - 69 Liu KF (刘克锋), Liu YQ (刘悦秋), Lei ZP (雷增谱), Liu CL (刘彩苓), Shi AP (石爱平), Wang HL (王红利). Screening of starter strains for higher quality of pig-dung and urban waste compost. *Rural Eco-Environ* (农村生态环境), 2003, **19** (2): 47~50
 - 70 Xiong Z (熊智), Zhang ZZ (张忠泽), Jiang CL (姜成林). A review on the evolution of *Frankia* actinorhizal plant symbiosis. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2003, **9** (2): 213~217
 - 71 Wang YZ (王元贞). A review of the ecological studies on symbiotic nitrogen fixation of actinomycetes with nonlegumes. *Eco-Agric Res* (生态农业研究), 1996, **4** (4): 21~25
 - 72 葛诚. 国外微生物肥料的研究和生产应用. 国外畜牧学-草原与牧草, 1994 (3): 6~12
 - 73 Chen HB (陈华保), Yang CP (杨春平), Wu WJ (吴文君). Agriculturally Useful activity of metabolites produced by the actinomycete IPS-54. *Pesticides* (农药), 2005, (5): 232~234

- 74 Hu HZ (胡厚芝), Xiang GX (向固西), Chen JR (陈家任), Zhao XY (赵秀榆), Li CR (李朝荣), Chen LJ (陈丽娟), Shi WW (施文武), Zhang WJ (张武军), Xia SH (夏绍华), Lin YF (林云峰). Studies on application of ningnanmycin to mosaic diseases of tobacco. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 1998, **4** (4): 390~391
- 75 周德庆. 微生物学教程. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2002. 133~135
- 76 杨建强, 刘海鹏. 堆肥接固氮菌施于冬小麦的初步研究. 环境卫生工程, 1994 (2): 17~18
- 77 Li M (李玫), He XX (何雪香), Liao BW (廖宝文). Inoculation of nitrogen-fixing bacteria and phosphate-solubilizing bacteria on the growth of *Rhizophora stylosa*. *Ecol Sci* (生态科学), 2008, **27** (4): 222~226
- 78 Huang M (黄敏), Wu JS (吴金水), Huang QY (黄巧云), Li XY (李学垣). Process in research on microbiological action of soil phosphorus. *Ecol & Environ Sci* (生态环境), 2003, **12** (3): 366~370
- 79 Yang H (杨慧), Fan BQ (范丙全), Gong MB (龚明波), Li QX (李全霞). Isolation and identification of a novel phosphate-dissolving strain P21. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2008, **48** (1): 51~56
- 80 Li JF (李俊峰), Wang ML (王梦亮). The effect of photosynthetic bacteria on agricultural ecosystem. *J Shanxi Agric Sci* (山西农业科学), 2002, **30** (1): 52~56
- 81 Wu XP (吴小平), Lü CB (吕川冰), Chen F (陈锋). A Study on the Application of PSB in Crop Industry. *Acta Agric Univ Jiangxiensis* (江西农业大学学报), 2006, **26** (2): 278~281
- 82 Wu XP (吴小平), Ruan MC (阮妙春), Hu QJ (胡七金). 光合细菌在萝卜上的应用研究. *Fujian Agric Sci & Technol* (福建农业科技), 2000 (2): 11~12
- 83 Liu B (刘标), Xue DY (薛达元). Status quo and characteristics of biosafety in the world and the countermeasures in China. *Rural Eco-Environ* (农村生态环境), 2000, **16** (1): 34~37
- 84 Zhong FS (钟福生). On organism safety and safe measure in organism in our country. *J Hunan Environ-Biol Polytech* (湖南环境生物职业技术学院学报), 2005, **11** (2): 123~124
- 85 王小军. 我国生物安全法律体系的构建. 科技进步与对策, 2004 (6): 28~30
- 86 陈廷伟, 葛诚. 我国微生物肥料发展趋向. 土壤, 1995 (6): 16~20