

生防菌 ZJY-1 及 ZJY-116 的 GFP 标记及其在黄瓜根围的生态适应性^{*}

张 昕¹ 张炳欣^{1**} 喻景权¹ 张 震² 沈卫峰² 陈振宇³ 石 江⁴

(¹ 浙江大学农业与生物技术学院, 杭州 310029; ² 浙江农业科学院, 杭州 310021; ³ 浙江大学图书馆, 杭州 310029;

⁴ 杭州市蔬菜研究所, 杭州 316004)

【摘要】 将具有绿色荧光蛋白(GFP)标记和氯霉素抗性的重组质粒 pRP22-GFP 导入生防菌 *Brevibacillus brevis* ZJY-1 和 *Bacillus subtilis* ZJY-116 中, 用这些标记菌株处理黄瓜种子, 出苗后通过定期分离计数具有上述表型的转化子, 研究了 2 株生防菌在黄瓜根围的定殖规律. 结果表明, 在整个生育期 2 株生防菌株均能在黄瓜根围有效定殖, 并在黄瓜盛花期和盛果期出现数量高峰. 盆栽试验发现, 引入黄瓜根围的 2 株生防菌有向周边杂草迁移的特性, 且在前一季寄主植物死亡后, 菌株可在下一季植株根围增殖.

关键词 质粒 pRP22-GFP GFP 基因 短短芽孢杆菌 枯草芽孢杆菌 黄瓜根围 定殖

文章编号 1001-9332(2005)11-2144-05 **中图分类号** S336 **文献标识码** A

Labeling of biocontrol agents ZJY-1 and ZJY-116 *gfp* gene and its ecological adaptability in cucumber rhizosphere. ZHANG Xin¹, ZHANG Bingxin¹, YU Jingquan¹, ZHANG Zhen², SHEN Weifeng², CHEN Zhenyu³, SHI Jiang⁴ (¹ College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ² Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, China; ³ Library of Zhejiang University, Hangzhou 316004, China; ⁴ Vegetable Institute of Hangzhou, Hangzhou 316004, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 16(11):2144~2148.

The recombinant plasmid pRP22-GFP contained with *gfp* gene and chloramphenicol resistant was successfully introduced into two biocontrol agents *Brevibacillus brevis* ZJY-1 and *Bacillus subtilis* ZJY-116. After seed inoculation, the survival and colonization of the two strains were studied by periodically retrieving the GFP-tagged strains in the cucumber rhizosphere based on the selective markers. The results showed that both the strains could successfully colonize in the rhizosphere during the whole life of cucumber, and a higher colonization level was observed during anthesis and fruition stages. In pot trials, they could migrate to the nearby non-inoculated spontaneous weed plants, and reestablish in the rhizosphere of plants subsequently grown in the same pot.

Key words Plasmid pRP22-GFP, *Gfp* gene, *Brevibacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, Cucumber rhizosphere, Colonization.

1 引 言

一些根围细菌能通过分泌植物生长激素和对病原菌有拮抗作用的次生代谢产物等机制起到促进植物生长和防治植物病害的作用^[2, 26, 27]. 目前已有许多关于根围细菌促生防病效应的研究报道^[6, 11, 19, 29]. 引入根围的生防因子能否发挥预期的生防作用, 有赖于该因子的成功存活和有效定殖, 因此有必要选择理想的研究方法, 跟踪检测环境中的生防菌株, 从而明确其在田间的定殖规律及其与其它各因素的相互制约关系. 为了与土壤习居菌分开, 通常需要对引入根围的有益菌进行特殊标记. 很久以来, 抗生素标记成为人们常用的手段^[3, 5, 17, 20], 可是这种方法却不易区别环境中对标记抗生素有同样

抗性的土著微生物, 而且使用选择平板法并不能明确细菌在根围小生境的空间分布. 标记基因技术的建立与发展, 为根围细菌定殖的微生物学研究提供了有效手段. *lacZ*、*gus*、*xylE* 以及 *lux* 等标记基因已被广泛应用于微生物的环境示踪^[7, 10, 15, 25, 28]. 其中绿色荧光蛋白(GFP)因为荧光性能稳定、检测方便以及表达不受受体种属限制等特性, 而越来越为人们重视^[14], 并被成功地用于研究细菌在植物根部的定殖^[8, 13, 18]及工程菌向环境的释放^[4, 12, 21].

利用构建的含 GFP 基因和氯霉素抗性的质粒, 分别转化对黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)有明显抑制作用的生防菌株 *Brevibacillus brevis* ZJY-

^{*} 国家自然科学基金重点资助项目(30230250).

^{**} 通讯联系人.

2005-03-02 收稿, 2005-06-13 接受.

1 和 *Bacillus subtilis* ZJY-116, 得到具有 GFP 绿色荧光和氯霉素抗性的转化子. 用这些标记菌株处理黄瓜种子, 通过筛选具有上述表型的菌落, 研究了 2 株生防菌株在黄瓜根围的定殖规律. 本试验证明了 GFP 和氯霉素抗性双标记系统检测生防菌的可靠性, 以及菌株在田间定殖的可行性, 为菌株的实际开发利用提供依据.

2 材料与方法

2.1 供试材料

生防菌株 ZJY-1(*Brevibacillus brevis*)和 ZJY-116(*Bacillus subtilis*)系本试验室分离自温室大棚黄瓜根围土壤, 对黄瓜枯萎病菌(*F. o. c.*)菌丝生长和孢子萌发具有显著的抑制作用. 质粒 pRP22 由江苏农业科学院陈志谊老师惠赠, 具有氯霉素抗性标记; *E. coli*-*B. subtilis* 穿梭载体 pRP22-GFP 是将 *xylR-gfp* 的 *Kpn* I / *Sph* I 双酶切片插入 pRP22 质粒的相应酶切位点构建而成, 携带有组成型表达的 *gfp* 基因和氯霉素抗性. 氯霉素购自上海生物工程公司, 使用浓度为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 供试土壤为杭州华家池地区菜园土. 供试作物为黄瓜(品种: 新泰密刺).

2.2 试验方法

2.2.1 菌株对病原菌的抑制作用 生防菌株对 *F. o. c.* 菌丝生长的抑制作用采用平皿对峙法测定; 对孢子萌发的抑制作用参照林福呈等方法测定^[16].

2.2.2 菌株转化及质粒稳定性测定 重组质粒 pRP22-GFP 在大肠杆菌 TG1 中扩繁后, 采用 SDS 碱裂解法提取. 质粒向受体菌的原生质体高频转化主要参照文献^[9]进行, 略有修改. 受体菌在 LB 培养液 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下振荡培养到对数期. 取 5 ml 菌液, 离心收集菌体, 然后将菌体悬浮于 0.5 ml SMML ($2 \times \text{SMM}$ 与 $4 \times \text{LB}$ 液等体积混合) 缓冲液, 振荡摇匀后加入 $4 \mu\text{l}$ $50 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 溶菌酶, 充分混匀后于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下振荡培养 2 h . $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 去上清后在管中加入 2 ml SMML 缓冲液, 悬浮均匀后离心, 在沉淀里加入 0.5 ml SMML, 充分悬浮后再加入 0.1 ml 体积比为 $1:1$ 的质粒与 $2 \times \text{SMM}$ 混合液. 加入 1.5 ml 40% PEG, 室温放置 2 min 后再加入 5 ml 缓冲液, 离心后去上清液, 在沉淀中加入 1 ml 缓冲液, 悬浮后 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 摇床上培养 1.5 h . 吸取 0.1 ml 液体至 DM-3 再生培养基上, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜培养. 标记菌株代时及外源质粒稳定性的测定参照吕泽勋等的方法进行^[13].

2.2.3 黄瓜种子和细菌接种物的准备 黄瓜种子表面消毒、清水漂洗后, 催芽待用. 细菌接种物准备: 转化菌株 ZJY-1G 和 ZJY-116G 在 LB 平板上分别培养 24 h 后, 用无菌水稀释至 $A_{600} = 1$ [即 ZJY-1G 为 6.8×10^7 菌落形成单位 (CFU) $\cdot \text{ml}^{-1}$, ZJY-116G 为 7.4×10^7 CFU $\cdot \text{ml}^{-1}$] 浸泡黄瓜种子. 2 h 后取出种子, 自然凉干播种.

2.2.4 盆栽试验 将新鲜培养的病原菌菌液接入查氏培养液, 在 $26 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇培, 待孢子大量形成时, 用双层

灭菌纱布过滤培养液, 所得滤液经血球计数器计数孢子浓度后, 待用. 盆栽用土准备: 将取回土壤过筛 (20 目) 分为 2 份, 其中 1 份称重后加入病原菌的孢子悬液, 制成密度为 1×10^6 CFU $\cdot \text{g}^{-1}$ 病土, 另 1 份加入等量无菌水, 分别搅拌均匀后, 装钵. 每钵插入 10 粒种子, 每个菌株 2 种土壤处理, 每种处理 10 钵, 设 3 次重复. 出苗后每隔 3 d 浇 1 次水. 此外, 为研究菌株在第二季植物根围的富集情况, 黄瓜生育期结束后 10 d , 重新在盆钵中播种第二季的黄瓜种子.

2.2.5 田间小区测定 种子经上述两个标记菌株处理后, 按常规的栽培模式播入田间, 每种种子处理的播种面积为 10 m^2 , 设 3 个重复, 在整个生育期定期回收标记菌株.

2.2.6 菌株的定期回收 黄瓜出苗后, 按 $1, 4, 7, 10 \text{ d} \dots$ 的时间间隔, 将黄瓜苗连带根土挖掘出来, 把紧贴于根上的薄层土壤用无菌水洗下. 悬浊液经一系列倍比稀释后, 分别吸取 $100 \mu\text{l}$ 悬液均匀涂布平板, 每稀释度 3 个重复, 最后于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养. 24 h 后在紫外透射仪波长 230 nm 下计数荧光菌落. 为研究菌株的迁移特性, 对盆栽试验中随机长出的杂草根围用同样方法进行分离.

3 结果与分析

3.1 生防菌株对 *F. o. c.* 的抑制

平皿对峙试验中, 供试 2 株生防菌明显地抑制 *F. o. c.* 菌丝的生长, 菌落周围有清晰的抑菌圈 (图 1). 此外, 2 菌株的抗菌水溶液均能显著抑制分生孢子的萌发和芽管的生长 (表 1).

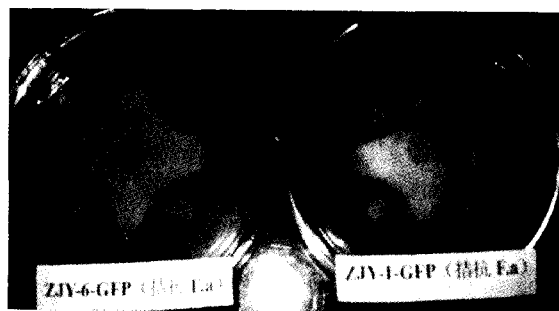


图 1 生防菌对 *F. o. c.* 的抑制作用

Fig. 1 Inhibition effect of biocontrol agents to *F. o. c.*

表 1 抗菌水溶液对 *F. o. c.* 分生孢子萌发和芽管生长的抑制作用
Table 1 Inhibition effect of antagonistic metabolites in aqueous concentrate on germination and tube growth of conidia of *F. o. c.*

处 理 Treatment	发芽率 Germination rate (%)			芽管长 Tube length (μm)		
	发芽率 Germination rate (%)	抑制效果 Inhibition effect (%)	显著性 Signifi- cance	发芽率 Germination rate (%)	抑制效果 Inhibition effect (%)	显著性 Signifi- cance
CK	100	-	a	229	-	a
ZJY-1 ¹⁾	4	96.0	b	41.2	82.0	b
ZJY-116 ¹⁾	5.7	94.3	b	43.6	81.0	b

1) 拮抗水溶液 Antagonistic metabolites.

3.2 质粒向生防菌的转化

用质粒 pRP22-GFP 转化上述生防菌的原生质体细胞后得到了大量的转化子. 它们在 LB 平板上

表现出氯霉素抗性,在荧光显微镜下,菌体呈现明亮的绿色(图2).分别选取其中之一定名为ZJY-1G和ZJY-116G. *xylR-gfp* 基因的PCR扩增显示2菌株携带有GFP标记的外源质粒(图3).

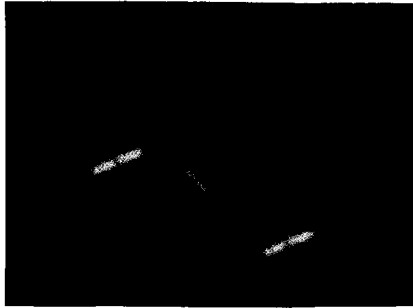


图2 转化菌株在荧光显微镜下
Fig.2 Transformants under fluorescence.

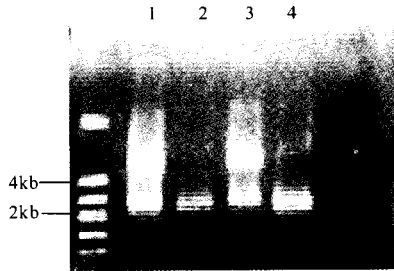


图3 重组质粒酶切及 *xylR-gfp* 基因的PCR扩增
Fig.3 Plasmids digestion and *xylR-gfp* PCR amplification.
泳道1,3;两菌株抽提质粒的 *Kpn* I / *Sph* I 双酶切 Plasmids digested by *Kpn* I / *Sph* I ;泳道2,4;转化菌株 *xylR-gfp* 的PCR扩增 *xylR-gfp* PCR amplification from plasmid.

3.3 质粒稳定性的测定

质粒稳定性结果表明,在无选择压力培养条件下,菌株ZJY-1G连续传10代,质粒保存率为82.1%;连续传70代,质粒保存率为9.1%.菌株ZJY-116G连续传10代,质粒保存率为69.3%;连续传70代,质粒保存率为零.

3.4 盆栽条件下菌株在黄瓜根围的定殖

研究发现,2菌株在病土和自然土中呈现类似的动态变化规律.黄瓜出苗后的前22d,标记菌株的种群数量呈波浪状下降趋势,且未接种病原菌的黄瓜根围的标记菌株数量有略高于接种病原菌的黄瓜根围的趋势(图4).之后,随着黄瓜盛花期和盛果期的出现,标记菌株种群有所回升,并出现数量高峰.高峰过后,随着植株的逐步衰败,种群密度又呈下降趋势,并在植株死亡后趋于平稳状态,2个菌株具有一致性.此外,对盆钵中随机长出的杂草根围的分离也发现了标记菌株的存在,说明标记菌株有向周边杂草迁移的特性.

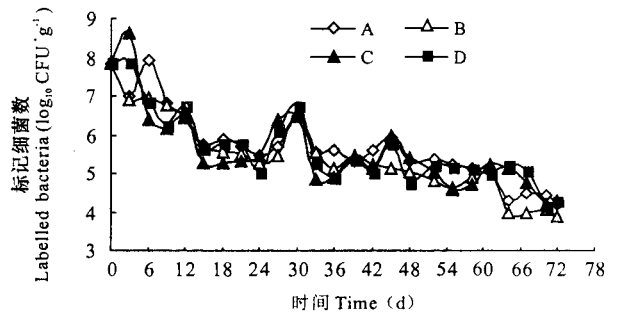


图4 盆栽条件下标记菌株在黄瓜根围定殖的动态变化
Fig.4 Dynamic variation of labeled strains in cucumber rhizosphere in the pot.
A:菌株ZJY-1G在自然土中 ZJY-1G in natural soil;B:ZJY-1G在病原菌接种土 ZJY-1G in soil inoculated with pathogen;C:菌株ZJY-116G在自然土中 ZJY-116G in natural soil;D:ZJY-116G在病原菌接种土 ZJY-116G in soil inoculated with pathogen.

3.5 室内盆栽条件下菌株在第二季植物根围的增殖

待黄瓜植株生育期结束后,在上述盆钵中播种第二季的黄瓜种子,定期取样发现,有黄瓜植株生长的盆钵中的标记菌株数量均明显高于无苗土中标记菌数(图5).这种现象说明,菌株能在第二季的黄瓜植株根围增殖,2个菌株具有一致性.

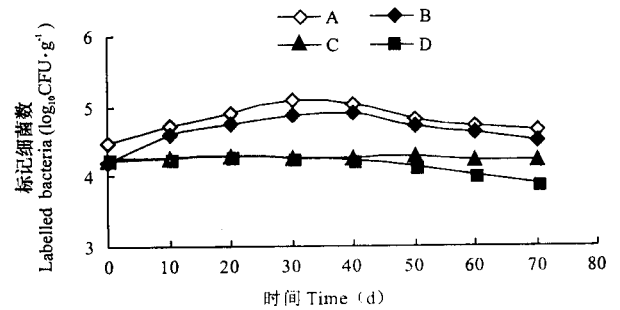


图5 黄瓜植株生育期结束后菌株的定殖动态
Fig.5 Dynamic variation of labeled strains following crop harvest.
A:ZJY-1G在第二季黄瓜根围 ZJY-1G in re-planted cucumber rhizosphere;B:ZJY-116G在第二季黄瓜根围 ZJY-116G in re-planted cucumber rhizosphere;C:ZJY-1G在无苗土中 ZJY-1G in non-planted soil;D:ZJY-116G在无苗土中 ZJY-116G in non-planted soil.

3.6 田间小区情况下菌株在黄瓜根围的定殖

两细菌菌株在田间小区条件下,呈现相似的动态变化规律(图6).接种后至盛花期前数量逐渐降低,在盛花期和盛果期有所回升,并出现数量高峰,后随着黄瓜植株的衰亡,种群略有下降,并在土壤中以相当数量群稳定存在.

4 讨论

本文通过原生质体高频转化法成功地实现了GFP标记质粒向2株生防菌株的转化,得到了2个

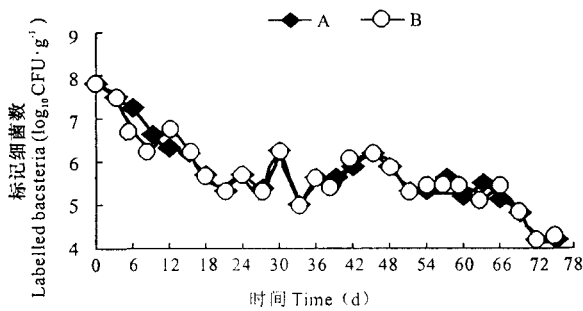


图 6 田间条件下标记菌株在黄瓜根围定殖的动态变化

Fig. 6 Dynamic variation of labeled strains in cucumber rhizosphere in the field.

A: ZJY-1G 的动态变化 Dynamic variations of ZJY-1G; B: ZJY-116G 的动态变化 Dynamic variations of ZJY-116G.

具 GFP 标记和氯霉素抗性的转化子。尽管在液体培养基条件下连续培养 70 代后, 菌株 ZJY-116G 的质粒保存率为零, 而菌株 ZJY-1G 的质粒保存率也仅为 9.1%, 但在播种有标记菌株的土壤中 6 个月后仍能回收到较高数量种群的转化子 (10^4 CFU · g⁻¹)。其原因可能是黄瓜根围的营养较培养液贫乏, 造成菌株代时延长, 从而使得质粒丢失率比试验室条件下低的多。

根围细菌与植物之间存在着密切的互动关系^[1,22]。前者通过直接或间接的生物机制促进植物的生长发育, 植物在代谢过程中引起的微环境理化变化, 又反作用于其根围的细菌。本研究中细菌的种群数量在植物代谢最为旺盛的盛花期和盛果期出现高峰, 以及标记菌株在有黄瓜植株生长的盆钵中的数量明显高于无苗土的研究结果, 也证明了这一点。

生防菌能正常发挥功能的一个必要条件就是施用后该菌株能在不同于最初生境的环境下存活, 并在植物根围有效定殖。我们的结果表明, 2 株分离自黄瓜根围的细菌菌株在供试黄瓜的整个生育期均可有效定殖, 并可向邻近未接种的野生杂草迁移, 而且植株死亡后还可以在第二季播种的黄瓜根围增殖, 与 Wiehe 等的研究结果一致^[23,24]。由此可见, 2 株生防菌具有广泛的环境适应性和在植物根围稳定定殖的潜力。本研究为生防菌的实际开发利用提供了有利依据。

参考文献

- Bonkowski M, Cheng W, Griffiths BS, et al. 2000. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. *Eur J Soil Biol*, **36**: 135~147
- Bloemberg GV, Lugtenberg BJ. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol*, **4**: 343~350
- Bennett AJ, Leifert C, Whipps JM. 2003. Survival of the biological

- agents *Coniothyrium minitans* and *Bacillus subtilis* MBI600 introduced into pasteurized, sterilized and non-sterile soils. *Soil Biol Biochem*, **35**: 1565~1573
- Bloemberg GV, O' toole GA, Lugtenberg BJJ, et al. 1997. Green fluorescent protein as a marker for *Pseudomonas* spp. *Appl Environ Microbiol*, **63**: 4543~4551
- Chao WL, Nelson EB, Harman GE, et al. 1986. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. *Phytopathology*, **76**: 60~65
- Chen X-B(陈晓斌), Zhang B-X(张炳欣), Lou B-G(楼兵干), et al. 1999. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on disease control of cucumber seedlings. *J Zhejiang Univ Sci (Agric Life Sci)* (浙江大学学报·农业与生命科学版), **25**(6): 578~582 (in Chinese)
- Chen X-B(陈晓斌), Zhang B-X(张炳欣), Lou B-G(楼兵干), et al. 2001. Introduction of the chromogenic gene to the plant Growth-promoting rhizobacteria of cucumber. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), **41**(3): 287~292 (in Chinese)
- Dong Y-M(董越梅), An Q-L(安千里), Li J-D(李久蒂), et al. 2000. Use of GFP and antibiotic resistance as selective markers to monitor colonization of associated nitrogen-fixing bacteria in maize rhizosphere. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **6**(1): 61~65 (in Chinese)
- Guo X-H(郭兴华), Jia S-F(贾士芳), Chen N-Y(陈乃用). 1982. *Bacillus protoplasts* as recipients for plasmid DNA transformation. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), **22**(3): 263~268 (in Chinese)
- He L-Y(何琳燕), Huang W-Y(黄为一). 2004. Introduction of bioluminescence genes into silicate-dissolving bacteria strain NBT. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **15**(7): 1241~1244 (in Chinese)
- Jetiyanon K, Kloepper JW. 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biol Control*, **24**: 285~291
- Leff LG, Leff AA. 1996. Use of green fluorescent protein to monitor survival of genetically engineered bacteria in aquatic environments. *Appl Environ Microbiol*, **62**: 3486~3488
- Lü Z-X(吕泽勋), Li J-D(李久蒂), Zhu Z-Q(朱至清). 2001. *Klebsiella oxytoca* SG-11 labeling by green fluorescent protein gene (*gfp*) and its colonization in rice seedling roots. *J Agric Biotechnol (农业生物技术学报)*, **9**(1): 13~18 (in Chinese)
- Luo Q-S(罗启仕), Wang H(王慧), Zhang X-H(张锡辉), et al. 2004. Using of *gfp* gene to monitor environmental microorganisms. *Chin J Water Supply Sewerage (中国给水排水)*, **20**(6): 32~34 (in Chinese)
- Li Y-G(李友国), Zhou J-C(周俊初). 2003. Root colonization and nodulation of *Sinorhizobium fredii* HN01DL in *Glycine max* rhizosphere. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **14**(8): 1283~1286 (in Chinese)
- Lin F-C(林福星), Zhang B-X(张炳欣), Ge Q-X(葛起新). 1990. Effects of antagonistic substances produced by three isolates of *Bacillus subtilis* on conidia of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *J Zhejiang Agric Univ Sci* (浙江农业大学学报), **16**(2): 235~240 (in Chinese)
- Nautiyal CS, Johri JK, Singh HB. 2002. Survival of the rhizosphere-competent biocontrol strains *Pseudomonas fluorescences* NBR12650 in the soil and phytosphere. *Can Microbiol*, **48**(7): 588~601
- Ramos HJO, Roncato-Maccari LDB, Souza EM, et al. 2002. Monitoring *Azospirillum*-wheat interaction using the *gfp* and *gusA* genes constitutively expressed from a new broad-host range vector. *J Biotechnol*, **97**: 243~252
- Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, et al. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot*, **20**: 1~11
- Sheng X-F(盛下放). 2003. Colonization of silicate bacterium strain NBT in wheat roots. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **14**(11): 1914~1946 (in Chinese)
- Scott KP, Mercer DK, Glover LA, et al. 1998. The green fluorescent protein as a visible marker for lactic acid bacteria in complex ecosystems. *FEMS Microbiol Ecol*, **26**: 219~230

- 22 Waid JS. 1999. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences. *Appl Soil Ecol*, **13**:151~158
- 23 Wiehe W, Höflich G. 1995. Survival of plant growth rhizosphere bacteria in the rhizosphere of different crops and migration to non-inoculated plants under field conditions in north-east Germany. *Microbiol Res*, **150**:201~206
- 24 Wiehe W, Höflich G. 1995. Establishment of plant growth promoting bacteria in the rhizosphere of subsequent plants after harvest of the inoculated precrops. *Microbiol Res*, **150**:331~335
- 25 Winstanley C, Morgan JAW, Pickup RW, et al. 1991. Use of a *xylE* marker gene to monitor survival of recombinant *Pseudomonas putida* population in lake water by culture on nonselective media. *Appl Environ Microbiol*, **57**(7):1905~1913
- 26 Wang G-H(王光华), Raaijmakers JM. 2004. Antibiotics production by bacterial agents and its role in biological control. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **15**(6):1100~1104(in Chinese)
- 27 Wu L-J(吴连举), Yang Y-J(杨依军), Wu X(武 侠), et al. 1999. Studies on the control of *Cylindrocarpon destructans* of Ginseng by soil antagonistic microbes. *Chin J Biol Contr* (中国生物防治), **15**(4):166~168(in Chinese)
- 28 Xi CW, Lambrecht M, Vanderleyden J, et al. 1999. Bi-functional *gfp*- and *gusA*-containing mini-Tn5 transposon derivatives for combined gene expression and bacterial localization studies. *J Microbiol Meth*, **35**:85~92
- 29 Zhang S, Reddy MS, Kloepper JW. 2002. Development of assay for assessing induced systemic resistance by plant growth-promoting *Rhizobacteria* against blue mold of tobacco. *Biol Contr*, **23**:79~86

作者简介 张 昕,女,1976年生,博士研究生.主要从事植物病理学与微生物生态学研究,发表论文多篇. E-mail: xinzhangw@eyou.com

欢迎订购《应用生态学》

应用生态学是研究协调人类与生物圈之间关系和协调此种复杂关系以达到和谐发展目的的科学,应用生态学是一个极其宽广的研究领域,是生态学的一大研究门类,所有与研究人类活动有关的生态学分支如农业生态学、渔业生态学、林业生态学、草地牧业生态学、污染生态学、城市生态学、资源生态学以及野生动植物管理保护、生态预测乃至景观生态学、区域生态学及全球生态学中的部分或大部分领域都可归属在应用生态学这一门类之下,应用生态学的根本任务在于认识和改造环境,保护和改善人类的生存环境和促进经济、社会发展同资源、环境相协调。

为纪念中国科学院沈阳应用生态研究所建所 50 周年,系统总结过去 50 年的研究成果,组织有关科技人员,在多年研究积累的基础上,参阅了国内外近年来在应用生态学方面的创新性研究成果,开拓性地撰写了这本学术性专著《应用生态学》,全书共 12 章,主要内容包括:应用生态学概论,农业生态与农业生态工程,森林生态与林业生态工程,草地生态与草地生态系统管理,水域生态与流域管理,湿地生态与湿地恢复,旅游生态与生态旅游规划和管理,污染生态与环境生态工程,城市生态与城市生态建设,景观生态与区域生态建设,保护生物学与生物多样性,全球重大生态问题与对策。

本书可供生态学、农学、林学、地学和环境科学等领域的科技人员参考,也可供有关研究部门管理者和高等院校师生参考。

本书由科学出版社出版,计 146 万字,定价为 163 元,另加邮费 10 元,有需要者请与《应用生态学报》编辑部联系.电话:024-83970393