文章编号:1000-7601(2023)05-0236-10 doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2023.05.25

马铃薯根系分泌物及氨基酸对萎缩芽孢杆菌 QHZ3 趋化成膜的影响

庞娅楠[1,2],邱慧珍[1,2],成志远[1,2],陈兰兰[1,2],
董爱菊[1,2],张春红[1,2],王友玲[1,2]

(1.甘肃农业大学资源与环境学院/甘肃省干旱生境作物学重点实验室,甘肃 兰州 730070;
2.甘肃省畜禽废弃物资源化利用工程研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘 要:通过土培收集、硅烷衍生化分离、气质联用鉴定马铃薯苗期、现蕾期及盛花期根系分泌物的主要成分,并采用半固体平板法、类毛细管法和结晶紫染色法比较观察马铃薯不同生育时期根系分泌物及氨基酸对萎缩芽孢杆菌 QHZ3 趋化成膜的影响,以揭示菌株 QHZ3 在马铃薯根际的定殖机制。马铃薯根系分泌物鉴定中发现了 5 种氨基酸:脯氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸。定性试验显示,马铃薯不同生育时期的根系分泌物和除脯氨酸之外的其他 4 种氨基酸均对菌株 QHZ3 具有显著的正趋化作用,并以甘氨酸的作用最强,其趋化圈直径(6.40 cm)是对照(3.48 cm)的 1.84 倍;定量试验结果表明,根系分泌物(120 μg·mL^{-1}和 240 μg·mL^{-1})、甘氨酸(10 ~50 μmol·L^{-1})、天冬氨酸(50~75 μmol·L^{-1})和苯丙氨酸(25~50 μmol·L^{-1})均对菌株 QHZ3 有显著正趋化作用,尤其以 25 μmol·L^{-1}的甘氨酸趋化性指数最大,其毛细管中细菌数量(5.13×10^5 CFU·mL^{-1})达到对照组(1.53×10^5 CFU·mL^{-1})的 3.3 倍;结晶紫染色法显示,现蕾期和盛花期根系分泌物以及甘氨酸(25~100 μmol·L^{-1})、脯氨酸(75~100 μmol·L^{-1})和苯丙氨酸(25~100 μmol·L^{-1})均对菌株 QHZ3 生物膜的形成有显著促进作用。根系分泌物和氨基酸均对菌株 QHZ3 在马铃薯根际趋化成膜具有促进作用,但 5 种氨基酸的作用各不相同,其中天冬氨酸和酪氨酸显著影响菌株的趋化作用,脯氨酸显著影响了菌株生物膜的形成,而甘氨酸和苯丙氨酸则对菌株的趋化和成膜兼具显著效果。

关键词:马铃薯;萎缩芽孢杆菌;根系分泌物;氨基酸;趋化;成膜

中图分类号:S532; S476 **文献标志码**:A

Effects of potato root exudates and amino acids on the chemotaxis and biofilm formation of *Bacillus atrophicus* QHZ3

PANG Yanan[1,2], QIU Huizhen[1,2], CHENG Zhiyuan[1,2], CHEN Lanlan[1,2]
DONG Aiju[1,2], ZHANG Chunhong[1,2], WANG Youling[1,2]

(1. *Gansu Provincial Key Laboratory of Arid-land Crop Science, College of Resources and Environmental Sciences, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*; 2. *Engineering Research Center of Livestock and Poultry Waste Resource Utilization in Gansu Province, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*)

Abstract: By soil culture collection, silane derivatization separation, the main components of potato root exudates were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) at seedling stage, squaring stage and anthesis stage. Semisolid plate, capillary-like test and crystal violet staining method were used to compare the effects of root exudates and different amino acids on chemotaxis and biofilm formation of *Bacillus atrophaeus* QHZ3 at different growth stages of potatoto, in order to reveal the colonization mechanism of *Bacillus atrophaeus* QHZ3 in potato rhizosphere. Five amino acids were identified in potato root exudates: proline, glycine, aspartic acid,

收稿日期:2022-08-10 **修回日期**:2022-10-10

基金项目:国家自然科学基金(31760614);国家重点研发计划项目(2017YFD0800200)

作者简介:庞娅楠(1998-),女,甘肃庆阳人,硕士研究生,研究方向为作物根际营养生态。E-mail:3132359514@qq.com

通信作者:邱慧珍(1961-),女,上海市人,教授,博士生导师,主要从事作物根际调控与农业废弃物资源化利用研究。E-mail:hzqiu@gsau.edu.cn

phenylalanine and tyrosine. Qualitative tests showed that root exudates from different growth stages of potato and other four amino acids except proline had significant positive chemotactic effects on strain QHZ3, and glycine had the strongest effect, and its chemotactic circle diameter (6.40cm) was 1.84 times that of the control (3.48 cm). The results of quantitative test showed that root exudates (120 μg · mL^{-1} and 240 μg · mL^{-1}), glycine (10~50 μmol · L^{-1}), aspartic acid (50~75 μmol · L^{-1}) and phenylalanine (25~50 μmol · L^{-1}) all had significant positive chemotactic effects on strain QHZ3, especially with 25 μmol · L^{-1} glycine, the chemotaxis index was the highest, and the number of bacteria in the capillary (5.13×10^5 CFU · mL^{-1}) was 3.3 times higher than that in the control group (1.53×10^5 CFU · mL^{-1}). Crystal violet staining showed that root exudates, glycine (25~100 μmol · L^{-1}), proline (75~100 μmol · L^{-1}) and phenylalanine (25~100 μmol · L^{-1}) significantly promoted the formation of biofilm in strain QHZ3. Both root exudates and amino acids promoted the chemotaxis and film formation of strain QHZ3 in the potato rhizosphere, but the effects of the five amino acids were different. Among them, aspartic acid and tyrosine had significant effects on the chemotaxis of strain QHZ3, and proline significantly affected the biofilm formation of the strain, while glycine and phenylalanine had significant effects on the chemotaxis and biofilm formation.

Keywords: potato; *Bacillus atrophicus*; root exudates; amino acids; chemotaxis; biofilm formation

马铃薯作为继水稻、玉米、小麦后的第四大粮食作物,在保障我国粮食安全、调整种植业结构和农业生产转型升级等方面发挥着重要作用[1-2]。甘肃省因其独特的土壤和气候特点成为我国重要的马铃薯种薯和商品薯生产基地,种植面积和产量均居全国前列[3-4]。然而,随着马铃薯种植面积的扩大,其轮作倒茬难以实现,连作障碍日益严重,加剧了土传病害的发生,特别是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)侵染引起的马铃薯黑痣病严重制约着我国马铃薯产业的可持续发展[5-8]。

马铃薯黑痣病可通过化学防治、农业防治和生物防治等方法进行防治[9]。生物防治时施用添加植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)的生物有机肥具有显著的防病、促生和增产效果,且其环保、安全、无毒,不会引起病原菌产生抗药性[10-12],能有效防控香蕉枯萎病[13]、黄瓜枯萎病[14]、西瓜枯萎病[15]、小麦根腐病[16]和棉花黄萎病[17]等土传病害。PGPR 是一类能在植物根际存活和定殖的有益微生物,具有促进植物生长及防控土传病害的作用[18]。可作为生防菌的 PGPR 包括真菌、放线菌、弱毒或无致病力微生物菌株及细菌等[19],尤其是细菌中的芽孢杆菌,因其具有分布范围广、环境适应性强、易培养且抗逆性强等特点,其作为生防因子防治植物病害已成为热点[20]。

萎缩芽孢杆菌 QHZ3 是本实验室分离出的一株兼具促生及生防特性的根际促生菌[21-22],施用由其制成的生物有机肥可观察到菌株能在马铃薯根际定殖且可显著降低马铃薯黑痣病的发生[3,8,20],定殖主要包括促生菌向根际的趋化和在根际聚集形成生物膜两个步骤[18,23],其信号物质可能是根系分泌物中的一些氨基酸、小分子糖、小分子有机酸、酚酸或次级代谢产物等[24-26],本实验室前期研究发现酚酸和有机酸可介导其有效定殖[27]。有研究表明,氨基酸类物质能使促生菌在植株根系趋化成膜[26,28]。因此,本研究采用土培试验,结合气质联用鉴定马铃薯 3 个关键生育时期(苗期、现蕾期及盛花期)的根系分泌物,并比较马铃薯不同生育时期根系分泌物及氨基酸对菌株 QHZ3 趋化成膜的影响,进一步揭示菌株 QHZ3 的定殖机制。

1　材料与方法

1.1　材料

供试品种:马铃薯'大西洋'原原种,购于定西市农业科学研究院。

供试菌株:萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*)QHZ3 由本实验室分离、鉴定和保存。

供试土壤:取自甘肃农业大学校内试验地,使用前进行 2 次高压灭菌处理,用干净的布袋(以高压锅的铁筐为模具制作)装满土壤后置于铁筐中,扎紧布袋,在 121℃的条件下灭菌 30 min,每筐装土 20 kg,每次 2 筐,取出后晾 2 h,继续于同等条件下进行二次灭菌,最后置于阴凉处自然晾干。正式播种前用紫外照射以杀死空气中的杂菌。土壤基本理化性质为:有机质 18.50 g · kg^{-1},全氮 1.18 g · kg^{-1},碱解氮 132.4 mg · kg^{-1},速效磷 90.75 mg · kg^{-1},速效钾 27.20 mg · kg^{-1},pH 8.26。

供试培养基及试剂:LB 液体培养基、LB 固体培养基、LB 半固体培养基、生理盐水、趋化缓冲液,参

考陈兰兰等[2]的方法配制。

氨基酸标准品:脯氨酸,甘氨酸,天冬氨酸,苯丙氨酸,酪氨酸,购于上海源叶生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原原种的播前处理 用0.1%的次氯酸钠溶液对马铃薯原原种浸种消毒10 min后用无菌水冲洗,自然风干后避光平铺于含脱脂棉的盘子里,置于通风处催芽,温度以25℃为宜。待种子露白后,把顶芽以外的芽子掰掉,只留1个顶芽播种,每盆6株,重复15盆,盆钵内径22 cm,深度17 cm,每盆装土6 kg,播种深度3 cm,于2021年6月14日播种。

播种前先将每盆土壤用水浇透,隔夜播种。前期每2 d浇1次水,后期按照网室的温度和土壤的干湿情况而定,每次浇水量及浇水时间相同。

1.2.2 根系分泌物的收集 参照张文明等[29-30]的收集方法:采用破坏性采样,于马铃薯苗期(播种后35 d)、现蕾期(播种后55 d)和盛花期(播种后75 d)分别选取生长良好的植株3盆,每盆采样5株,将15株植株混合后放入盛有500 mL色谱纯甲醇溶液的烧杯中反复淋洗根系,得到根系分泌物的甲醇溶液,4 000 r·min^{-1}离心5 min,35℃下旋转蒸发仪浓缩至100 mL,取50 mL蒸干后加50 mL蒸馏水,真空冷冻干燥得到根系分泌物干粉,于-80℃备用。

1.2.3 根系分泌物的衍生化 取5mL根系分泌物的甲醇溶液,用氮吹仪(35℃)吹干后进行硅烷衍生化。硅烷化过程具体操作如下[29-30]:加入0.5 mL Regisil试剂(99%N,O-双三甲基硅烷基三氟乙酰胺+1%三甲基-氯硅烷)和1.16 mL嘧啶,在70℃水浴中加热30 min,冷却后取样品0.1 ml,用乙酸乙酯稀释至2 mL,进行GC-MS分析。

1.2.4 根系分泌物的鉴定 气相色谱型号:安捷伦7890;质谱型号:安捷伦5975C;色谱柱型号:HP-5;检测器型号:FID。进样量:1 μL;进样口温度:140℃;分流比:30∶1;加热器温度:280℃;电子能量:70 eV;离子源温度:230℃;传输线温度:300℃;质量扫描范围:40~550 m·z^{-1}。色谱条件:40℃保持5 min,10℃·min^{-1}升温至250℃,5℃·min^{-1}升温至280℃保持5 min。检测完成后应用标准谱库NIST05a进行物质的鉴定。

1.2.5 根系分泌物及其氨基酸对菌株QHZ3的趋化作用定性分析 定性分析参照Park等[31]的方法:按1%的体积比将过夜活化的菌株QHZ3种子液接种至LB液体培养基中,37℃、170 r·min^{-1}、90 min培养至OD_{600}=0.4。将直径为6 mm的无菌滤纸片置于含有根系分泌物(60 μg·mL^{-1})和氨基酸(30 μmol·L^{-1})的半固体培养基中。取10 μL菌悬液滴加到滤纸片上,每个处理重复3次,37℃培养12 h后用十字交叉法测量趋化圈直径,测量3次求平均值。

1.2.6 根系分泌物及其氨基酸对菌株QHZ3的趋化作用定量分析 定量分析参考Ling等[24]的方法:按1.2.5小节的方法培养QHZ3至OD_{600}=1.0,4℃、5 000 r·min^{-1}离心5 min后重悬于等体积的趋化缓冲液中,将吸取了100 μL根系分泌物(60、120、240 μg·mL^{-1})和氨基酸(10、25、50、75、100 μmol·L^{-1})的1 mL无菌注射器针头插入吸取了100 μL菌悬液的枪头细口端,针头朝上,置于超净工作台中2 h后,对注射器中的溶液进行稀释涂布,稀释倍数为10^3,涂布体积为100 μL,37℃培养24 h后,计算移动的细菌数及趋化性指数,每个处理3次重复。

每毫升待测组分中的细菌数 = $C \div V \times M$

式中,C代表平均菌落数,V代表涂布体积(mL),M代表稀释倍数。

趋化性指数(RCI) = 处理菌落数 ÷ 对照菌落数

当$RCI \geq 2$时代表处理的趋化作用与对照相比差异显著。

1.2.7 菌株QHZ3生物膜的形成过程 生物膜的形成过程参考曹启航等[32]的方法:按1.2.5小节的方法培养QHZ3至OD_{600}=0.2,稀释100倍后吸取12 mL加入放有无菌载玻片的无菌培养皿中,置于37℃培养6、12、24、36、48、72 h后,取出载玻片用无菌生理盐水冲洗3次,甲醇固定30 min后,用无菌生理盐水冲洗3次,再用0.1%结晶紫染色30 min后,用无菌生理盐水冲洗4次,室温晾干后置于光学显微镜下观察、拍照。

1.2.8 根系分泌物及其氨基酸对菌株QHZ3生物膜形成的影响 将根系分泌物和氨基酸加入到1.2.7稀释后的菌悬液中,涡旋混匀后分装至96孔细胞培养板中,每孔200 μL,每个处理8个重复,37℃培养24 h后将培养基吸出,用250 μL无菌生理盐水冲洗3次以清除尚未形成的生物膜,室温干燥后,加入200 μL 0.1%结晶紫溶液染色30 min,然后用200 μL无菌生理盐水冲洗4次以去除未结合的结晶紫,室温干燥后,加入200 μL 95%乙醇溶液脱色后稀释40倍,用酶标仪测定光吸收值(OD_{562})。

1.3 数据统计与分析

试验数据采用Excel 2010进行试验数据统计分析,Origin 2019制图,SPSS 24进行方差分析和差异显著性检验,显著性水平为P<0.05。

2　结果与分析

2.1　马铃薯不同生育时期根系分泌物的鉴定

马铃薯苗期、现蕾期及盛花期根系分泌物总离子质谱图分别见图 1、图 2 及图 3,通过计算机检索系统对总离子质谱图进行搜索得到马铃薯不同生育时期根系分泌物的主要组分(表 1)。

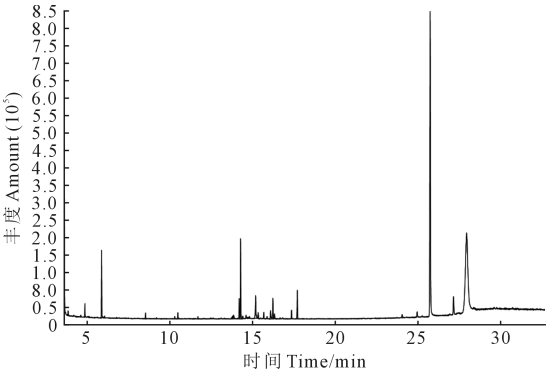


图 1　马铃薯苗期根系分泌物总离子质谱图

Fig.1　Total ion mass chromatogram of potato root exudates at seedling stage

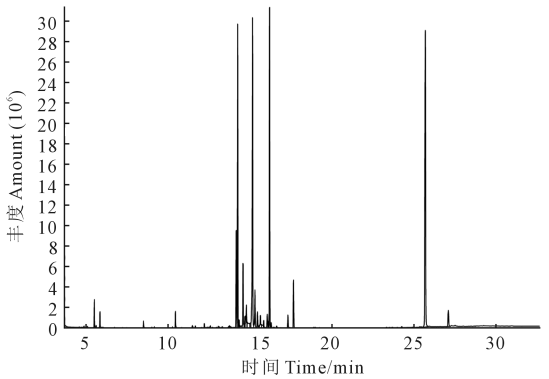


图 2　马铃薯现蕾期根系分泌物总离子质谱图

Fig.2　Total ion mass chromatogram of potato root exudates at squaring stage

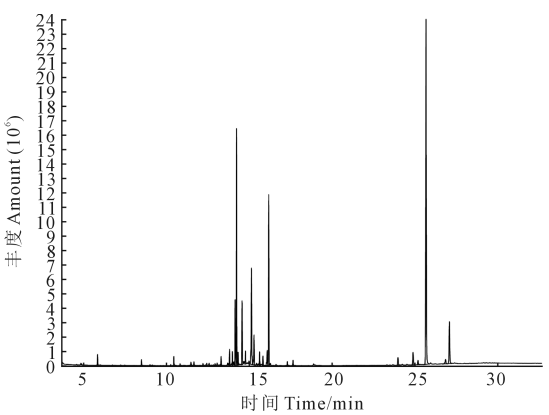


图 3　马铃薯盛花期根系分泌物总离子质谱图

Fig.3　Total ion mass chromatogram of potato root exudates at anthesis stage

由表 1 可知,马铃薯的 3 个生育时期根系分泌物中所检测出的物质可分为 8 个大类,即糖类、有机酸类、醇类、胺类、氨基酸类、酯类、酰胺类和脂肪酸类,但各个大类的物质数量及其相对含量在不同生育期之间有较大差异,苗期、现蕾期和盛花期根系分泌物中分别含有 24 种、31 种和 31 种主要物质,3 个生育时期均检测出的物质共 7 种,分别是 D-果糖、D-核糖、蔗糖、3,4-二羟基丁酸、甘油、甘露醇和肌醇,苗期和现蕾期的根系分泌物中有 8 种相同物质,相对含量分别占苗期和现蕾期根系分泌物总量的 51.30%和 39.81%;现蕾期与盛花期的根系分泌物中有 18 种相同物质,分别占现蕾期和盛花期根系分泌物总量的 67.43%和 55.58%;苗期与盛花期的根系分泌物中有 10 种相同物质,分别占苗期和盛花期根系分泌物总量的 57.21%和 33.46%。这些差异说明,在马铃薯的生长发育过程中,根系分泌物中的有些物质一直存在且不断地累积,有些物质则发生转化或降解,同时还有新物质陆续产生。

鉴定得到氨基酸类物质主要有 5 种,分别是脯氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸,苗期、现蕾期和盛花期根系分泌物中分别有 2 种、3 种和 2 种,相对含量分别占相应时期根系分泌物总量的 0.35%、0.42%和 0.96%。虽然氨基酸类物质种类及所占比例较少,但王玉双等[33]、冯海超[34]、Yao 等[35]、沈怡斐等[26]、Liu 等[28]的研究发现其能影响促生菌趋化成膜,因此针对氨基酸组分进行研究。

2.2　根系分泌物及氨基酸对菌株 QHZ3 趋化性的影响

2.2.1　*不同生育时期根系分泌物对菌株 QHZ3 趋化作用的定性分析*　测定不同生育时期根系分泌物对菌株 QHZ3 的趋化性,结果如图 4 所示。与对照组相比,苗期、现蕾期和盛花期根系分泌物均对菌株 QHZ3 有显著趋化性,其趋化圈直径分别是 4.33、4.93 cm 和 5.43 cm,分别相当于对照(3.48 cm)的 1.24、1.42 倍和 1.56 倍,以现蕾期和盛花期的趋化作用最为显著,说明随着生育进程的推进,马铃薯生物量变大的同时对菌株 QHZ3 产生趋化作用的物质也随之增加。

2.2.2　*氨基酸对菌株 QHZ3 趋化作用的定性分析*　由图 5 可知,与对照相比,除脯氨酸外,其他氨基酸对菌株 QHZ3 趋化性均有显著影响,其中影响最大的是甘氨酸,趋化圈直径为 6.40 cm,是对照(3.48 cm)的 1.84 倍;其次是天冬氨酸(5.70 cm)、苯丙氨酸(5.35 cm)和酪氨酸(5.07 cm),分别是对照的 1.64、1.54 倍和 1.45 倍。

表1 马铃薯不同生育时期根系分泌物的GC-MS分析结果

Table 1 GC-MS analysis results of potato root exudates at different growth stages

物质种类 Type of compound	保留时间 Retention time/min	化合物 Compound	化学分子式 Chemical formula	相对丰度 Relative amount/%		
				苗期 Seedling stage	现蕾期 Squaring stage	盛花期 Anthesis stage
糖类 Saccharides	12.22	呋喃阿拉伯糖苷 Arabinofuranoside	$C_5H_{10}O_5$		0.27	1.17
	14.16	β-D-呋喃半乳糖苷 D-galactopyranoside	$C_6H_{12}O_6$		0.44	7.36
	14.25	D-果糖 D-fructose	$C_6H_{12}O_6$	9.16	17.72	1.04
	14.34	山梨糖 Sorbose	$C_6H_{12}O_6$		0.49	1.07
	14.61	β-L-呋喃甘露糖 β-L-mannofuranose	$C_6H_{12}O_5$	0.42		
	15.15	D-吡喃葡萄糖 D-galactose	$C_6H_{12}O_6$		18.07	7.97
	15.18	D-半乳糖 D-galactose	$C_6H_{12}O_6$	2.65		
	15.26	α-D-吡喃葡萄糖苷 α-D-glucopyranoside	$C_5H_{10}O_5$			0.64
	15.30	α-D 吡喃半乳糖 α-D-galactopyranose	$C_6H_{12}O_6$		2.22	2.44
	15.33	D-木糖 D-xylose	$C_5H_{10}O_5$	0.75		
	15.46	木酮糖 D-xylulose	$C_5H_{10}O_5$		0.94	
	16.09	D-核糖 D-ribose	$C_5H_{10}O_5$	1.01	0.22	0.38
	16.18	α-D-吡喃甘露糖 α-D-mannopyranose	$C_6H_{12}O_5$			13.69
	16.29	海藻糖 Trehalose	$C_6H_{12}O_5$		0.77	
	16.23	D-葡萄糖 D-glucose	$C_6H_{12}O_6$	2.45		
	17.31	α-D-呋喃核糖 α-D-ribofuran	$C_5H_{10}O_5$			0.34
	17.35	D-呋喃半乳糖 α-D-galactofuranose	$C_6H_{12}O_6$	1.04		
	25.74	蔗糖 Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	35.89	17.63	28.04
	27.10	α-D-呋喃葡萄糖苷 α-D-glucofuranoside	$C_6H_{12}O_6$		0.97	
酸类 Acids	9.17	2,3-二羟基丙酸 Glyceric acid	C_3H_6O4		0.04	
	9.82	乙醛酸 Glyoxylic acid	$C_2H_2O_3$		0.05	
	10.30	3,4-二羟基丁酸 3,4-dihydroxybutyric acid	$C_4H_8O_4$	0.15	0.13	0.09
	10.46	4-羟基环已烷甲酸 4-hydroxycyclohexanecarboxylic acid	$C_7H_{12}O_3$		1.08	0.74
	10.90	苹果酸 Malic acid	$C_4H_6O_5$	0.78		0.22
	11.49	苯膦酸 Phenylphosphonic acid	$C_6H_7O_3P$		0.98	0.28
	11.68	2,3,4-三羟基丁酸 2,3,4-trihydroxybutanoic acid	$C_4H_8O_5$		0.15	0.30
	12.21	阿拉伯酸 Arabicacid	$C_5H_{10}O_6$			0.17
	12.22	木糖酸 Xylonic acid	$C_5H_{10}O_6$		0.13	1.23
	12.45	核糖酸 Ribonicacid	$C_5H_{10}O_6$			0.19
	12.59	葡糖酸 Gluconic acid	$C_6H_{12}O_7$		0.14	0.20
	12.84	戊二酸 Glutaric acid	$C_5H_8O_4$			0.11
	13.07	环戊酸 Cyclopentanecarboxylic acid	$C_6H_{10}O_2$			0.22
	13.31	2-哌啶甲酸 2-piperidinecarboxylicacid	$C_6H_{11}NO_2$			1.20
	13.85	对苯二甲酸 Terephthalic acid	$C_8H_6O_4$	0.47		
	27.94	苯甲酸 Benzoic acid	$C_7H_6O_2$	9.19		
醇类 Alcohols	5.63	丙二醇 Propylene glycol	$C_3H_8O_2$		0.13	
	5.86	1,3-丁二醇 1,3-butanediol	$C_4H_{10}O_2$		0.94	
	6.06	正丁醇 1-butanol	$C_4H_{10}O$	0.37		
	8.53	甘油 Glycerol	$C_3H_8O_3$	0.75	0.39	0.47
	14.16	环已四醇 Cyclohexanetetrol	$C_6H_{12}O_4$			18.79
	14.58	山梨醇 Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$		3.82	1.22
	15.68	甘露醇 Mannitol	$C_6H_{14}O_6$	0.77	0.74	1.13
	16.34	木糖醇 Xylitol	$C_5H_{12}O_5$	0.58		
	17.70	肌醇 Inositol	$C_6H_{12}O_6$	3.35	2.81	0.45
胺类 Amines	4.62	聚碳化二亚胺 Polycarbodiimide	CH_2N_2	0.25		
	27.15	异邻苯二甲酰亚胺 Isophthalamide	$C_8H_8N_2O_2$	2.13		
氨基酸类 Amino acids	11.25	脯氨酸 Proline	$C_5H_9NO_2$	0.13		0.74
	13.07	甘氨酸 Glycine	$C_6H_{10}O_7$	0.22	0.17	
	14.70	天冬氨酸 Asparticacid	$C_4H_7NO_4$		0.11	
	15.01	苯丙氨酸 Phenylalanine	$C_9H_{11}NO_2$		0.14	
	18.37	L-酪氨酸 L-tyrosine	$C_9H_{11}NO_3$			0.22
酯类 Esters	8.62	磷酸三乙酯 Triethyl phosphate	$C_6H_{15}O_4P$	9.70		
	16.09	D-葡庚糖酸-γ-内酯 D-Glucoheptonic acid-γ-lactone	$C_7H_{12}O_7$		0.38	
酰胺类 Amides	5.87	2-羟基乙酰胺 2-hydroxyacetamide	$C_2H_5NO_2$	5.22		0.90
脂肪酸类 Fatty acids	10.48	巴豆酸 Crotonic acid	$C_4H_6O_2$	0.32		
	16.62	棕榈酸 Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$		1.34	
	18.88	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$		0.08	

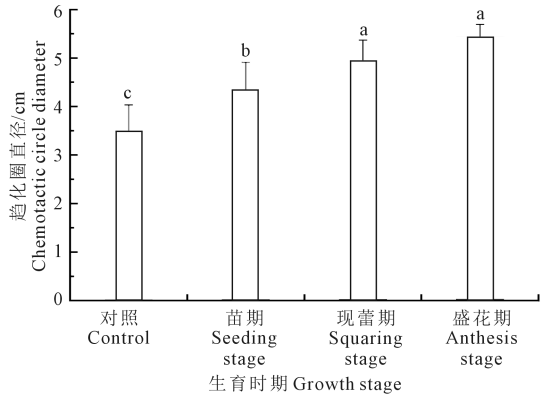
2.2.3　不同浓度根系分泌物对菌株 QHZ3 趋化作用的定量分析　不同浓度根系分泌物对菌株 QHZ3 的趋化作用如图 6 所示:根系分泌物对菌株 QHZ3 均有正趋化作用,且随着根系分泌物浓度的增加,对 QHZ3 的趋化作用越强,其中 240 μg · mL^{-1}的现蕾期和盛花期根系分泌物趋化性指数最大,毛细管中细菌数量均达到对照组的 2.8 倍。

2.2.4　氨基酸对菌株 QHZ3 趋化作用的定量分析　氨基酸对菌株 QHZ3 的趋化作用如图 7 所示:各浓度氨基酸对菌株 QHZ3 均有趋化性作用,但趋化程度不同,趋化性指数(*RCI*)大于 2 的氨基酸为甘氨酸(10~50 μmol · L^{-1})、天冬氨酸(50~75 μmol · L^{-1})和苯丙氨酸(25~50 μmol · L^{-1}),即在该浓度下的氨基酸对菌株 QHZ3 有显著的正趋化作用,其中以 25 μmol · L^{-1}的甘氨酸趋化性指数最大,毛细管中细菌数量达到 5.13×10^5 CFU · mL^{-1},是对照组(1.53×10^5 CFU · mL^{-1})的 3.3 倍,而脯氨酸和酪氨酸所有浓度下的趋化性指数均小于 2,说明脯氨酸和酪氨酸对菌株 QHZ3 没有显著趋化作用。

从图 7 也可以看出,随着各氨基酸浓度升高,除酪氨酸的 *RCI* 变化呈下降趋势外,其他氨基酸的 *RCI* 变化均呈先上升后下降的趋势。

2.3　马铃薯不同生育时期根系分泌物及氨基酸组分对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响

2.3.1　菌株 QHZ3 生物膜的形成过程　QHZ3 生物膜的形成过程如图 8 所示。整体来看,菌株 QHZ3 生



注:不同字母表示处理间差异显著(P<0.05),下同。

Note: Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05), the same below.

图 4　不同生育时期根系分泌物对 QHZ3 趋化性的影响

Fig.4　Effects of root exudates at different growth stages on chemotaxis of QHZ3

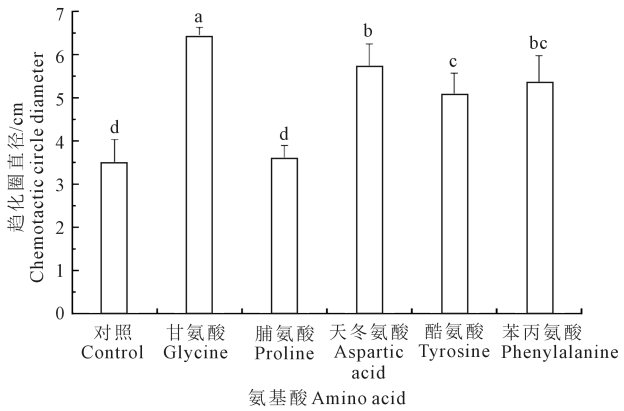
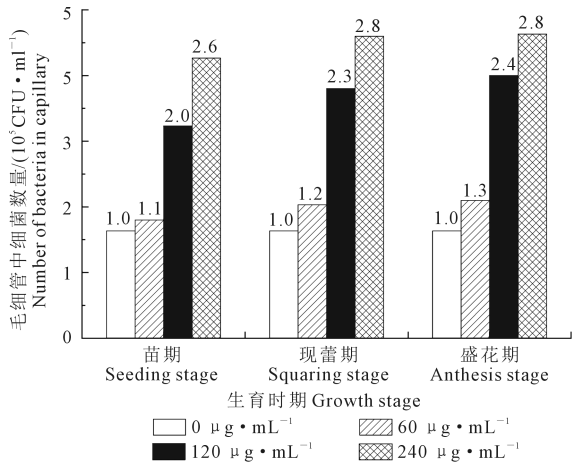


图 5　氨基酸对菌株 QHZ3 趋化性的影响

Fig.5　Effects of amino acids on chemotaxis of QHZ3



注:数字代表趋化性指数,下同。

Note: Figures represent chemotaxis index, the same below.

图 6　不同浓度根系分泌物对 QHZ3 的趋化作用

Fig.6　Chemotactic of root exudates on QHZ3 with different concentrations

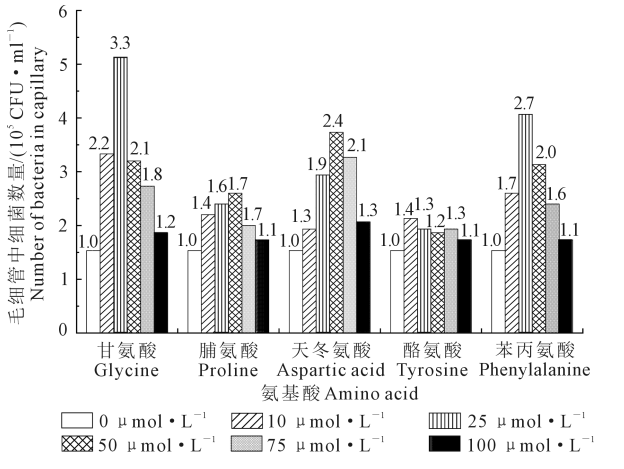


图 7　不同浓度氨基酸对 QHZ3 的趋化作用(定量)

Fig.7　Chemotaxis of QHZ3 by amino acids with different concentrations (Quantitative)

物膜随着培养时间的增加呈现增加趋势。培养 6 h 后,有少量细菌粘附在载玻片上,空白区域占整个视野的 80%左右;培养 12 h 后,粘附在载破片上的细菌数量明显增多,且形成微菌落,空白区域占整个视野的 50%左右;培养 24 h 后,微菌落聚集形成菌落,呈片状结构,空白区域明显减少;培养 36 h 后,菌落铺满整个视野且具有一定厚度;培养 48 h 后,菌落间相互叠加,形成团状结构;培养 72 h 后,团状结构聚集变厚,形成致密的生物膜。

2.3.2 不同浓度根系分泌物对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响 不同浓度根系分泌物对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响结果如图 9 所示。马铃薯根系分泌物可明显促进菌株 QHZ3 生物膜形成,与未添加根系分泌物相比,苗期各浓度与对照组间差异不显著;现蕾期和盛花期,根系分泌物浓度为 120 μg·mL^{-1}和 240 μg·mL^{-1}时可显著促进菌株 QHZ3 生物膜的形成。

2.3.3 不同浓度氨基酸对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响 如图 10 所示,各浓度的氨基酸对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响各不相同。其中甘氨酸(25~100 μmol·L^{-1})、脯氨酸(75~100 μmol·L^{-1})和苯丙氨酸(25~100 μmol·L^{-1})可以显著促进菌株 QHZ3 生物膜的形成,而酪氨酸和天冬氨酸则对 QHZ3 的生物膜形成影响不显著。

从图 10 可知,随着各氨基酸浓度的升高,甘氨酸和苯丙氨酸对菌株 QHZ3 生物膜形成的影响效果呈先上升后下降的趋势,脯氨酸和天冬氨酸呈上升趋势,而酪氨酸呈现下降趋势。

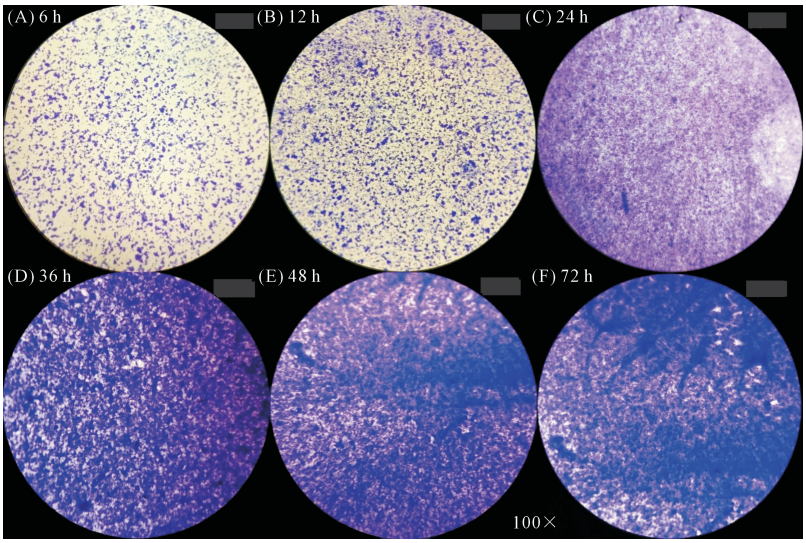


图 8 不同培养时间菌株 QHZ3 生物膜的形成能力

Fig.8 Biofilm formation capacity of strain QHZ3 at different culture time

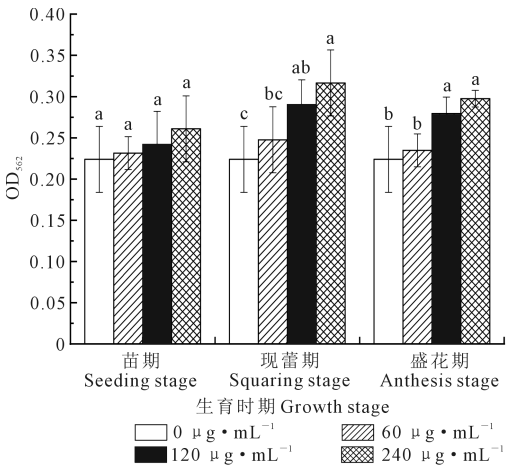


图 9 不同浓度根系分泌物对各生育期 QHZ3 生物膜形成的影响

Fig.9 Effects of different concentrations of root exudates on QHZ3 biofilm formation at different growth stage

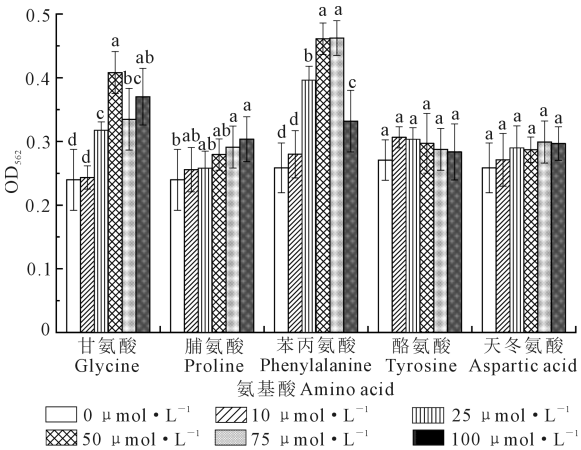


图 10 不同浓度氨基酸对 QHZ3 生物膜形成的影响

Fig.10 Effects of different concentrations of amino acids on QHZ3 biofilm formation

3　讨　论

根系分泌物能够联系植物与根际土壤微生物且可以为根际微生物提供生存和繁衍所需的营养和能源物质,并可作为信号物质吸引特异微生物从而促进根际有益微生物的定殖[36]。已有研究表明,根系分泌物中可作为信号物质来介导根系与微生物间的互作关系[26]。陈兰兰[27]通过研究发现,酚酸和有机酸能促进萎缩芽孢杆菌 QHZ3 定殖。赵大君等[37]研究发现凤眼莲根系分泌物中的氨基酸可以诱导肠杆菌属 F2 的趋化性。本研究通过气质联用从不同生育时期马铃薯的根系分泌物中鉴定出的物质主要有糖类、有机酸类、醇类、胺类、氨基酸类、酯类、酰胺类和脂肪酸类等,其中包括 5 种氨基酸,分别是甘氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸、酪氨酸。

半固体平板法的趋化圈大小和深浅可以反映趋化物对菌株的趋化能力。本研究发现除脯氨酸外,其他 4 种氨基酸均能使 QHZ3 形成明显的趋化圈,同时也发现,3 个生育时期根系分泌物对 QHZ3 有显著正趋化作用。胡小加等[38]研究发现天冬氨酸对枯草芽孢杆菌 Tu-100 具有显著正趋化作用,沈怡斐等[26]研究发现多黏类芽孢杆菌 SQR-21 对甘氨酸、天冬氨酸和苯丙氨酸具有强烈的正趋化作用,本试验结果与其一致。

类毛细管试验发现趋化物对细菌的作用往往存在一个最适浓度范围,高于或低于该浓度都表现出相对较弱的正趋化作用[26]。本试验发现除脯氨酸和酪氨酸外,其他 3 种氨基酸(甘氨酸、苯丙氨酸和天冬氨酸)均对菌株 QHZ3 具有明显趋化性,且当其处于中浓度(25~75 μmol · L^{-1})时,菌株 QHZ3 趋化能力均强于低、高浓度,同时,根系分泌物(120 μg · mL^{-1}和 240 μg · mL^{-1})也对菌株 QHZ3 具有明显趋化性,这与 Mesibov 等[39]研究大肠杆菌对氨基酸的趋化性时得到的结果相同,说明菌株对某些氨基酸的趋化依赖于浓度梯度,浓度过大或过小都可能对菌株的趋化作用产生抑制。

生防细菌在植物根际的定殖能力与其生防效果相关,并且生防细菌根际定殖能力与其生物膜形成相关[40]。本试验观察得到不同生育时期根系分泌物及氨基酸对菌株 QHZ3 的生物膜形成的影响不同,研究发现根系分泌物和氨基酸均可促进菌株 QHZ3 生物膜形成,尤其是现蕾期和盛花期(120 μg · mL^{-1}和 240 μg · mL^{-1})根系分泌物、甘氨酸(25~100 μmol · L^{-1})、脯氨酸(75~100 μmol · L^{-1})和苯丙氨酸(25~100μmol · L^{-1})可显著促进菌株 QHZ3 生物膜的形成。Goh 等[41]发现添加适宜浓度的 L-脯氨酸和赖氨酸能够显著提高大肠杆菌 BL21 菌株的生物膜形成能力。赵卫松等[42]发现 L-脯氨酸可显著促进枯草芽胞杆菌 NCD-2 菌株生物膜形成。Price[43]研究发现,加入脯氨酸能显著提高气单胞菌属细菌的生物膜形成。从以上研究结果可知,菌株生物膜形成能力可能与外源添加剂种类和浓度及菌株的种类有关,浓度过大或过小时,可能会抑制生物膜的形成。

4　结　论

1)从不同生育时期马铃薯的根系分泌物中鉴定出的物质有 8 类,即糖类、有机酸类、醇类、胺类、氨基酸类、酯类、酰胺类和脂肪酸类等,其中氨基酸类物质有 5 种,分别是甘氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸、酪氨酸。

2)马铃薯不同生育时期根系分泌物对菌株 QHZ3 的趋化成膜均有显著影响,尤其添加现蕾期及盛花期根系分泌物作用显著,且促生效果随着根系分泌物浓度增大而明显加强。

3)5 种氨基酸对菌株 QHZ3 趋化成膜的作用程度不同,其中天冬氨酸和酪氨酸对菌株 QHZ3 具有显著正趋化作用,脯氨酸能显著影响菌株 QHZ3 生物膜的形成,而甘氨酸和苯丙氨酸则能显著影响菌株 QHZ3 的趋化成膜。

参 考 文 献:

[1] 董莉, 邱慧珍, 周洋子, 等. 马铃薯立枯丝核菌拮抗菌 QHZ11 的实时荧光定量 PCR 快速检测与应用[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4338-4348.
DONG L, QIU H Z, ZHOU Y Z, et al. Rapid detection and application of antagonistic bacterium QHZ11 against *Rhizoctoniasolani* in potato by real-time fluorescence quantitative PCR[J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 4338-4348.

[2] 陈兰兰, 邱慧珍, 董爱菊, 等. 马铃薯根系分泌物及酚酸类物质对萎缩芽孢杆菌促生菌株 QHZ3 趋化成膜的介导作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3642-3654.
CHEN L L, QIU H Z, DONG A J, et al. Effects of potato root exudates and phenolic acids on inducing chemotaxis of *Bacillus atrophiae* isolate QHZ3[J]. Microbiology China, 2021, 48(10): 3642-3654.

[3] 邱晓丽.不同生物有机肥对土壤生物活性以及对马铃薯的生物效应的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2018.
QIU X L. Effects of bio-organic fertilizers on soil biological activities and the root growth,morphology and activities of potato[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018.

[4] 卢建武, 邱慧珍, 张文明, 等. 半干旱雨养农业区马铃薯干物质和钾素积累与分配特性[J]. 应用生态学报, 2013, 24(2): 423-430.
LU J W, QIU H Z, ZHANG W M, et al. Characteristics of dry matter

and potassium accumulation and distribution in potato plant in semi-arid rainfedareas[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(2): 423-430.

[5] 刘宝玉, 胡俊, 石立航, 等. 马铃薯黑痣病病原菌生物学特性初步研究[C]//粮食安全与植保科技创新, 武汉: 中国植物保护学会, 2009: 1019.
LIU B Y, HU J, SHI L H,et al. Preliminary study on the biological characteristics of the pathogen of potato nevus[C]//Science and Technology Innovation of Food Security and Plant Protection, Wuhan: China Society of Plant Protection, 2009: 1019.

[6] 拓宁.立枯丝核菌对马铃薯的侵染过程及致病机理研究[D].兰州: 甘肃农业大学,2015.
TUO N. Infection process of *Rhizoctoniasolani* on potato and itspathogenic mechanism[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015.

[7] 李瑞琴, 刘星, 邱慧珍, 等. 发生马铃薯立枯病土壤中立枯丝核菌的荧光定量 PCR 快速检测[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 136-144.
LI R Q, LIU X, QIU H Z, et al.Rapid detection of *Rhizoctoniainrhizosphere* soil of potato using real-time quantitative PCR[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 136-144.

[8] 关小敏.马铃薯黑痣病生防细菌的筛选及其生防作用机理研究[D].兰州:甘肃农业大学,2014.
GUAN X M. Isolation of antagonistic bacterium strains against pathogen casuing black scurf of potato and its acting mechanism[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.

[9] 卢维宏, 张乃明, 包立, 等. 我国设施栽培连作障碍特征与成因及防治措施的研究进展[J]. 土壤, 2020, 52(4): 651-658.
LU W H, ZHANG N M, BAO L, et al. Study advances on characteristics, causes and control measures of continuous cropping obstacles of facility cultivation in China[J]. Soils, 2020, 52(4): 651-658.

[10] 李星星.群感信号 AI-2 对根际促生解淀粉芽孢杆菌 SQR9 的成膜和运动性影响的分子机理研究[D].南京:南京农业大学,2016.
LI X X. The molecular mechanisms of the effects of quorum-sensing signal AI-2 on the motility and biofilm formation in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.

[11] 罗兴, 冯海超, 夏丽明, 等. 根际促生解淀粉芽胞杆菌 SQR9 对香蕉根系分泌物响应的转录组分析[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(1): 102-110.
LUO X, FENG H C, XIA L M, et al. Transcriptomic profiling of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 in response to banana root exudates[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(1): 102-110.

[12] 邵佳慧.解淀粉芽孢杆菌 SQR9 吲哚乙酸合成途径及促生效应的研究[D].南京:南京农业大学,2014.
SHAO J H. Indole-3-acetic acid synthesis pathways and plant-growth-promotion effects of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.

[13] SHEN Z Z, RUAN Y Z, CHAO X, et al. Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana *Fusarium* wilt disease suppression[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 51(5): 553-562.

[14] 袁玉娟, 胡江, 凌宁, 等. 施用不同生物有机肥对连作黄瓜枯萎病防治效果及其机理初探[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 372-379.
YUAN Y J, HU J, LING N, et al. Effects and mechanisms of application with different bio-organic fertilizers in controlling *Fusarium* wilt of cucumber[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2014, 20(2): 372-379.

[15] 凌宁.根际施用生物有机肥防控西瓜土传枯萎病效果及机理研究[D].南京:南京农业大学,2012.
LING N. The effects and mechanisms of bio-organic fertilizer on biological control of *Fusarium* wilt of watermelon in *Fusafium*-infested soil[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.

[16] 刘苹, 张博, 齐军山, 等. 生物有机肥对小麦根腐病的防效及其机理初探[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(9): 1132-1137.
LIU P, ZHANG B, QI J S, et al.Preliminary study on control effect and mechanism of bioorganic fertilizers on wheat root rot[J]. Journal of Triticeae Crops, 2019, 39(9): 1132-1137.

[17] SHERZAD Z,杨娜, 张静, 等. 棉花内生解淀粉芽孢杆菌 489-2-2 对棉花黄萎病的防效研究[J]. 核农学报, 2021, 35(1): 41-48.
SHERZAD Z, YANG N, ZHANG J, et al. Study on the control effect of endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* 489-2-2 on verticillium wilt of cotton[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(1): 41-48.

[18] 沈怡斐.多粘类芽孢杆菌 SQR-21 在西瓜根际趋化及转录组学研究[D].南京:南京农业大学,2016.
SHEN Y F. Investigation of chemotaxis and transcriptional responses of *Paenibacilluspolymyxa* SQR-21 in the rhizosphere of watermelon [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.

[19] 张亮, 盛浩, 袁红, 等. 根际促生菌防控土传病害的机理与应用进展[J]. 土壤通报, 2018, 49(1): 220-225.
ZHANG L, SHENG H, YUAN H, et al. Applications and mechanisms of plant-growth-promoting rhizobacteria used for controlling soil-borne diseases: a review[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2018, 49(1): 220-225.

[20] 周洋子.产脂肽类菌株 QHZ-3 对马铃薯黑痣病的生防效果及其机理研究[D].兰州:甘肃农业大学,2020.
ZHOU Y Z. Studies on the biocontrol effects and mechanism of lipopolypeptide producing strain QHZ-3 on black scurf disease of potato [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2020.

[21] 马兴.黄瓜枯萎病生防菌的筛选与鉴定及其生物有机肥的作用效果[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
MA X. Screening and identification of the biocontrol strains about cucumber *Fusarium* wilt and effects of its bio-organic fertilizer[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017.

[22] 马龙.马铃薯黑痣病生防细菌的筛选鉴定及其生防作用机理研究[D].兰州:甘肃农业大学,2016.
MA L. Isolation of antagonistic bacterium strains against pathogen casuing black scurf of potato and the acting mechanism[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016.

[23] 刘云鹏.根际促生解淀粉芽孢杆菌根际定殖和诱导植物系统抗性的机理研究[D].北京:中国农业科学院,2019.
LIU Y P. Mechanism of rhizosphere colonization and induction of systemic resistance by *Bacillus amyloliquefaciens*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.

[24] LING N, RAZA W, MA J H, et al. Identification and role of organic acids in watermelon root exudates for recruiting *Paenibacillus*

polymyxa SQR-21 in the rhizosphere[J]. European Journal of soil Biology, 2011, 47(6): 374-379.

[25] 房志颖.解淀粉芽孢杆菌 SQY162 防控土传番茄青枯病效果及其机理研究[D].南京:南京农业大学,2016.
FANG Z Y. The effects and mechanisms of *Bacillus amyloliquefacien* strain SQY162 on biological control of bacterial wilt of tomato[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.

[26] 沈怡斐, 鄂垚瑶, 阳芳, 等. 西瓜根系分泌物中氨基酸组分对多黏类芽孢杆菌 SQR-21 趋化性及根际定殖的影响[J]. 南京农业大学学报, 2017, 40(1): 101-108.
SHEN Y F, E Y Y, YANG F, et al. Effects of amino acids in root exudates of watermelon on the chemotactic reaction and root colonization of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2017, 40(1): 101-108.

[27] 陈兰兰.马铃薯根系分泌物及其组分对萎缩芽孢杆菌 QHZ3 趋化成膜的介导作用[D].兰州:甘肃农业大学,2021.
CHEN L L. The mediation of chemotaxis and biofilm formation of *Bacillus atrophicus* QHZ3 by potato root exudates and its components [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2021.

[28] LIU Y P, CHEN L, WU G W, et al.Identification of root-secreted compounds involved in the communication between cucumber, the beneficial *Bacillus amyloliquefaciens*, and the soil-borne pathogen *Fusariumoxysporum*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2017, 30(1): 53-62.

[29] 张文明, 邱慧珍, 张春红, 等. 不同连作年限马铃薯根系分泌物的成分鉴定及其生物效应[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(12): 1811-1818.
ZHANG W M, QIU H Z, ZHANG C H, et al. Identification of chemicals in potato root exudates under different years of continuous cropping and their biologic effects[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(12): 1811-1818.

[30] 张文明, 邱慧珍, 张春红, 等. 马铃薯根系分泌物成分鉴别及其对立枯丝核菌的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 859-866.
ZHANG W M, QIU H Z, ZHANG C H, et al. Identification of chemicals in root exudates of potato and their effects on *Rhizoctonia solani* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(3): 859-866.

[31] PARK S Y, KIM R, RYU C M, et al. Citrinin, a mycotoxin from *Penicillium citrinum*, plays a role in inducing motility of *Paenibacillus polymyxa*[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 65(2): 229-237.

[32] 曹启航, 刘圆园, 孙亚楠, 等. 不同培养条件对单核细胞增生李斯特菌生物被膜形成的影响[J]. 中国兽医科学, 2020, 50(12): 1563-1571.
CAO Q H, LIU Y Y, SUN Y N, et al. Effect of different culture conditions on the formation of biofilm of *Listeria monocytogenes*[J]. Chinese Veterinary Science, 2020, 50(12): 1563-1571.

[33] 王玉双, 李一路, 程伟, 等. 外源趋化剂对气单胞菌 134 的趋化性及其在水稻根际定殖的影响[J]. 激光生物学报, 2020, 29(4): 318-324, 332.
WANG Y S, LI Y L, CHENG W, et al. Effects of exogenous chemotacticum on the chemotactic reaction and rice root colonization of aeromonas 134[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2020, 29(4): 318-324, 332.

[34] 冯海超.根系分泌物组分与 SQR9 基因转录的相关性分析及其趋化与成膜的影响[D].南京:南京农业大学,2015.
FENG H C. Correlation of root exudates components and gene transcription of SQR9 and its effects on chemotaxis and biofilm formation [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.

[35] YAO J, ALLEN C. Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wiltpathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(10): 3697-3708.

[36] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. 植物生态学报, 2014, 38(3): 298-310.
WU L K, LIN X M, LIN W X. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates[J].Chinese Journal of Plant Ecology, 2014, 38(3): 298-310.

[37] 赵大君, 郑师章. 凤眼莲根分泌物氨基酸组分对根际肠杆菌属 F_2 细菌的趋化作用[J]. 应用生态学报, 1996, 7(2): 207-212.
ZHAO D J, ZHENG S Z. Chemotaxis of amino acids in root exudates from *Eichhornia crassipes* to its rhizospheric *Enterobacter* sp.F_2[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1996, 7(2): 207-212.

[38] 胡小加, 谢立华, 余常兵, 等. 巨大芽孢杆菌 A6 对油菜根系分泌物所含有机酸和糖类的趋化性[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(4): 416-419.
HU X J, XIE L H, YU C B, et al. Chemotaxis of *Bacillus megaterium* strain a6 towards organic acid and saccharide from roots exudates of rapeseed[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(4): 416-419.

[39] MESIBOV R, ADLER J. Chemotaxis toward amino acids in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 1972, 112(1): 315-326.

[40] BAIS H P, FALL R, VIVANCO J M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactinproduction[J]. Plant Physiology, 2004, 134(1): 307-319.

[41] GOH S N,FERNANDEZ A, ANG S Z, et al. Effects of different amino acids on biofilm growth,swimming motility and twitching motility in *Escherichia coli* BL21[J]. Journal of Biology and Life Science, 2013, 4(2): 103-115.

[42] 赵卫松, 郭庆港, 董丽红, 等. L-脯氨酸对枯草芽胞杆菌 NCD-2 菌株生物膜形成的影响[J]. 植物病理学报, 2021, 51(1): 115-122.
ZHAO W S, GUO Q G, DONG L H, et al. Effect of L-proline on biofilm formation of *Bacillus subtilis* NCD-2[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(1): 115-122.

[43] PRICE R E.The effect of various amino acids as nitrogen source on biofilm formation of *Aeromans* spp.[D]. Texas: Texas Tech University, 2012.