

# 玉米拮抗内生细菌资源的筛选及鉴定

郭风清<sup>1</sup>, 金梦军<sup>1</sup>, 许永峰<sup>2</sup>, 何树文<sup>2</sup>, 杨成德<sup>1\*</sup>

(1. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070;

2. 甘肃省张掖市植保植检站, 甘肃 张掖 734000)

**摘要:**【目的】开发和利用玉米内生细菌资源。【方法】从玉米穗、叶片、茎部和鞘部分离内生细菌, 采用对峙培养法筛选优良拮抗内生细菌, 测定优良拮抗内生细菌的抑菌谱、产IAA、溶磷、固氮和产铁载体等生物功能, 并根据形态特征和分子生物学方法进行鉴定。【结果】从玉米中共分离得到128株内生细菌, 其中从鞘部分离得到的内生细菌ZY-Q-26对拟轮枝镰孢菌(*Fusarium sporotrichioides*)、变红镰孢菌(*F. incarnatum*)、尖刀镰孢菌(*F. oxysporum*)和层出镰孢菌(*F. proliferatum*)具有抑制作用, 其抑菌率分别为68.66%、68.74%、63.89%和65.84%, 且其具有产IAA和固氮能力。ZY-Q-26为革兰氏阳性菌(G<sup>+</sup>), 菌体杆状, 大小为0.321~0.652 μm×0.053~0.086 μm。通过形态学观察和16S rDNA及gyrA基因序列同源性分析, 将其鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。【结论】从玉米鞘部分离出的优良拮抗细菌ZY-Q-26鉴定为枯草芽孢杆菌。该研究结果为玉米内生细菌资源的开发和利用奠定基础, 也为玉米病害的生物防治提供菌种资源。

**关键词:** 玉米; 内生细菌; 分离; 生物功能; 测定; 鉴定

中图分类号: S476 文献标志码: A 文章编号: 1009-5500(2025)01-0190-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2025.01.022



玉米是我国主要的粮食作物, 具有粮、经、果、饲、能等很多用途。张掖是中国最大的玉米制种基地, 其生产的玉米种子质量高于国家标准, 供种量占全国近60%。随着玉米秸秆还田技术的推广, 种植面积不断增加以及常年连作, 使得多种病害不断发生。而由镰刀菌属(*Fusarium*)真菌所引起的玉米病害日益加重, 其可侵染玉米的穗部、茎部、鞘部和根部, 导致玉米发生穗腐、茎腐、鞘腐和根腐<sup>[1-2]</sup>。目前主要通过化学方法进行防治, 但杀菌剂的长期使用会导致植物产生抗药性和环境污染。由于生物防控具有对环境友好和不易产生抗药性的特点, 因此, 生防微生物的研究是针对病害防控的一种十分可行的手段。

植物内生菌是指生活在植物活体组织内而不引起宿主植物明显病变的一类微生物, 主要包括细菌、真菌和放线菌等<sup>[3]</sup>, 其广泛分布于植物的根、茎、叶、花、果实、种子等器官中<sup>[4-5]</sup>。有研究表明植物内生细菌具有促进植物生长和抑制原菌的作用<sup>[6]</sup>, 用其制成的生物菌剂或菌肥可以替代或部分替代传统化肥, 降低化肥与化学农药的施用量, 减少对环境和农产品的污染, 对农业的可持续发展具有重要意义和实际价值<sup>[7]</sup>。

芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)作为植物内生细菌, 具有在复杂环境中生存和定殖的能力, 并能产生多种抗真菌胞外酶和抗菌次级代谢产物<sup>[8]</sup>。其中枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)是一种嗜温性的好氧性革兰氏阳性细菌, 具有丰富多样的生理特征, 广泛分布于植物中并容易分离培养, 对人畜无毒, 且不污染环境, 是目前较为理想的生防细菌<sup>[9]</sup>。近年来, 国内外学者对枯草芽孢杆菌防病促生作用机制进行了大量研究, 认为其作用方式多样, 如刘雪等<sup>[10]</sup>发现枯草芽孢杆菌对丝状真

收稿日期: 2024-01-19; 修回日期: 2024-06-03

基金资助: 国家自然科学基金项目(31660148)

作者简介: 郭风清(1998-), 男, 甘肃临夏人, 硕士研究生。

E-mail: 729498397@qq.com

\*通信作者, 研究方向为植物病害综合防治。

E-mail: yangcd@sau.edu.cn

菌主要通过营养和空间位点的竞争强烈抑制病原菌的生长,其产生的次生代谢产物可消解病原菌的菌丝体,使病原菌菌丝出现断裂、畸形等现象。柴凤兰等<sup>[11]</sup>还发现枯草芽孢杆菌在抑制立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)病原菌丝生长的同时还能抑制其病原孢子的萌发,同时也能够在柑橘(*Citrus reticulata*)叶片上定殖和增殖,改善叶际细菌群落结构,提升有益菌的比例,降低病情指数,有效防治柑橘砂皮病严重发生。生物防治由于其对环境友好,对农产品安全,已成为成为很多学者关注的焦点。因此,本研究对采集自张掖市的玉米植株进行内生细菌的分离,以玉米髓腐病菌拟轮枝镰孢菌等为指示菌评价拮抗能力,测定优良拮抗细菌的生物功能,并通过形态学和分子生物学方法对其进行鉴定,以期为玉米内生细菌资源的开发利用奠定基础,也为药肥兼效的微生物制剂的开发提供菌种资源。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试材料 采集自张掖的玉米穗、茎秆、叶片和鞘部。供试病原真菌分别为拟轮枝镰孢菌(*Fusarium sporotrichioides*)、变红镰孢菌(*F. incarnatum*)、尖刀镰孢菌(*F. oxysporum*)和层出镰孢菌(*F. proliferatum*),均分离自玉米茎部的致病菌。以上所有菌株均保存于甘肃农业大学植物病原细菌及细菌多样性实验室。

1.1.2 培养基 牛肉膏蛋白胨培养基(NA)、LB培养基、马铃薯琼脂培养基(PDA)、阿须贝氏培养基、蒙金娜培养基、PKO培养基、金氏培养基(KING)和铬天青培养基(CAS)参考相关文献<sup>[12-15]</sup>配置。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 内生细菌的分离

将玉米穗、叶片、茎秆和鞘部用无菌水冲洗干净后,称取1g组织于无菌条件下用0.1%升汞消毒30s,无菌水冲洗3~4次。取最后1次无菌水冲洗液0.2mL涂布于NA培养基平板(作为CK),培养3~5d观察是否有菌落生长以检验表面灭菌效果。将消毒后的玉米组织置于无菌研钵(盛有少量石英砂)中磨碎,并加入5mL生理盐水,沉淀10min后,取上清液进行梯度稀释至 $10^{-1}$ g/mL、 $10^{-2}$ g/mL和 $10^{-3}$ g/mL,

分别取0.2mL稀释后的液体涂布于NA平板,重复3次,置于28℃恒温培养3~5d,根据菌落形态分类划线纯化,将纯化后的分离物4℃保存于NA斜面上<sup>[16]</sup>。

#### 1.2.2 内生细菌的抑菌能力测定

以拟轮枝镰孢菌、变红镰孢菌、尖刀镰孢菌和层出镰孢菌为指示菌,采用平板对峙法评价拮抗能力。将供试指示病菌接种于PDA培养基上,28℃培养5d后于菌落边缘打取5mm直径菌饼,接种于PDA培养基平板中央,在距菌饼四周30mm处分别点接内生细菌,以只接种病原菌为对照,3次重复,置于25℃条件下培养5~7d后,待对照直径80mm左右时,采用十字交叉法测量病原菌菌落的抑菌直径并计算抑菌率<sup>[17]</sup>,于显微镜下观察内生细菌对病原真菌菌丝的影响。

$$\text{抑菌率}(\%) = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{受抑制菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - 0.5}$$

×100

#### 1.2.3 优良拮抗菌株鉴定

1.2.3.1 形态学鉴定 将优良拮抗内生细菌接种于NA培养基上,28℃条件下培养16~18h,进行革兰氏染色,显微观察其菌体特征,并测量大小;培养72h后进行菌落形态特征观察。

1.2.3.2 分子生物学鉴定 基因组DNA采用TIANGEN公司的细菌基因组DNA提取试剂盒(4991106)提取。采用通用引物27f/1492r扩增内生细菌的16S rDNA基因片段。PCR反应体系为easytap-Mix 12.5 μL, 27F 1 μL, 1492r 1 μL, 模板DNA 1 μL, 补ddH<sub>2</sub>O至25 μL。扩增条件为:94℃ 5 min; 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 2 min, 循环34次; 72℃ 5 min。

采用特异性引物gyrA-bs1/gyrA-bs2扩增内生细菌的gyrA基因片段。PCR反应体系为easy tapMix 12.5 μL, gyrA-bs1 1 μL, gyrA-bs2 1 μL, 模板DNA 1 μL, 补ddH<sub>2</sub>O至25 μL。扩增条件为:94℃ 5 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 2 min, 循环33次; 72℃ 5 min。

将0.1%凝胶电泳检测的PCR产物送至上海生物工程技术有限公司进行测序。将所得序列于GenBank数据库中进行BLAST相似性比对分析,选取若干相似性较高的序列,于MEGA7.0中采用Neighbor-Joining法构建系统发育树,确定该菌株的

系统发育学地位。

#### 1.2.4 优良拮抗菌株的生物功能测定

1.2.4.1 分泌 IAA 能力测定 采用沙尔科夫斯基反应(Salkowski's reaction)进行定性测定。观察其颜色变化,3次重复。溶液变红为阳性,表示该菌具有分泌 IAA 能力。

采用分光光度法对其产 IAA 能力进行定量分析。根据相应的标准曲线,确定待测菌株分泌 IAA 的量<sup>[12]</sup>。

1.2.4.2 溶磷能力测定 采用溶磷圈法测定溶磷能力。将 NA 平板上活化 1 d 的菌株点接于 PKO 培养基和蒙金娜培养基平板上,7 d 后观察并测量菌株在培养基平板上形成的溶磷圈大小。根据溶磷圈直径/菌落直径(D/d 值)确定其溶磷能力<sup>[13]</sup>。D/d 值越大,表示溶磷能力越强。

1.2.4.3 固氮能力测定 将活化后的菌悬液 200  $\mu\text{L}$  分别接种于阿须贝无氮平板和液体培养基内,有菌落和试管内培养基变浑浊者为阳性<sup>[14]</sup>。

1.2.4.4 产生铁载体能力测定 采用平板法,在铬天青培养基上接种,28  $^{\circ}\text{C}$  倒置培养 24–72 h 后观察是否有橙黄色变色圈,根据 Mp 值判断其产铁载体能力<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 内生细菌的分离

根据菌落形态、颜色等特征,从采自张掖市的玉米穗、茎秆、叶片和鞘部中分离纯化得到 128 株内生细菌,将穗部 37 株内生细菌命名为 ZY-S-1~ZY-S-37,茎秆 39 株内生细菌命名为 ZY-J-1~ZY-S-39,叶片 17 株命名为 ZY-Y-1~ZY-Y-17,鞘部 35 株内生细菌命名为 ZY-Q-1~ZY-Q-35。

### 2.2 优良拮抗菌株的筛选

采用平板对峙培养法对分离得到的 128 株内生细菌进行拮抗能力测定,发现只有从鞘部分离得到的 ZY-Q-26 同时对拟轮枝镰孢菌、变红镰孢菌、尖刀镰孢菌和层出镰孢菌具有较好的抑制作用,抑菌率分别为 68.66%、68.74%、63.89% 和 65.84% (图 1)。

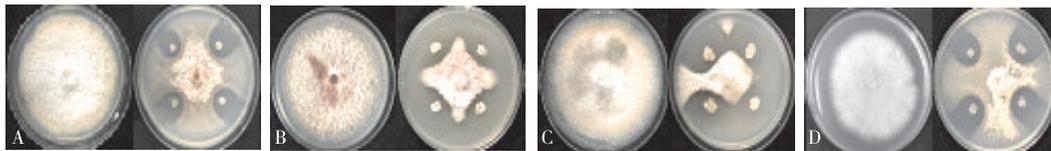


图 1 ZY-Q-26 对 4 种镰刀菌的抑菌能力测定

Fig. 1 Determination of antibacterial ability of ZY-Q-26 against four different *Fusarium* species

注:A:拟轮枝镰孢菌 *Fusarium sporotrichioides* B:变红镰孢菌 *F. incarnatum*; C:尖刀镰孢菌 *F. oxysporum*; D:层出镰孢菌 *F. proliferatum*

### 2.3 优良拮抗菌株 ZY-Q-26 的鉴定

2.3.1 形态学鉴定 将内生细菌 ZY-Q-26 接种于 NA 平板上,28  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 3 d 后,其菌落平均大小为 3.2 mm,近圆形,边缘不整齐,菌落不平展,有白色褶皱,不透明,无光泽(图 2-A)。革兰氏染色呈阳性,菌体呈杆状(图 2-B),大小为 0.321~0.652  $\mu\text{m}$   $\times$  0.053~0.086  $\mu\text{m}$ 。

2.3.2 分子生物学方法鉴定 使用通用引物 27f 和 1492r 进行 16s rDNA 基因扩增,得到 1421 bp 的片段,将其基因序列导入 GenBank 数据库经 BLAST 相似性分析,结果表明 ZY-Q-26 与解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*, 登录号:MT613661.1),贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*, 登录号:MT611652.1)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*, 登录号:KX791428.1)等多株芽孢



图 2 ZY-Q-26 的单菌落形态(A)与革兰氏染色(B)

Fig. 2 Single colony (A) and Gram staining (B) of ZY-Q-26

注:A:ZY-Q-26 单菌落形态,B:ZY-Q-26 革兰氏染色。

杆菌属细菌相似性达 100%。使用特异性引物 gyrA 进行特异性基因扩增,得到 1 040 bp 的片段,将其序列导入 GenBank 数据库经 BLAST 相似性分析,结果表明与枯草芽孢杆菌 Hlj-3 (*B. subtilis*, 登录号:

OQ803359)相似性达100%,从系统发育树可以看出,菌株ZY-Q-26与枯草芽孢杆菌HIj-3聚在同一枝,且置信值为97(图3),结合形态学特征和分子生物学鉴定将菌株ZY-Q-26鉴定为枯草芽孢杆菌。

## 2.4 ZY-Q-26的生物功能测定

2.4.1 分泌IAA能力测定 分别在含有与不含色氨酸的培养液中培养内生细菌,1比1加pc比色液后均能变红,说明ZY-Q-26内生细菌可以分泌IAA(图4)。标准曲线  $pc: y=14.378x-1.2069 (R^2=0.9991)$ 。通过定量测定发现ZY-Q-26分泌IAA的量在含有色氨酸条件下为8.82 mg/L,在不含色氨酸的条件下为5.16 mg/L。

2.4.2 固氮能力测定 ZY-Q-26在阿须贝无氮培养基上形成明显的菌落且试管内培养液变浑浊,经过连续3代培养后仍能形成菌落并使培养液变浑浊(图5)。

2.4.3 溶磷能力测定 菌株ZY-Q-26在蒙金娜培养基和PKO培养基上均无溶磷圈产生无溶磷能力。

2.4.4 产生铁载体能力测定 在铬天青培养基上,ZY-Q-26菌落周围无橙黄色圈产生无产铁载体能力。

## 3 讨论

玉米根腐病的发生不仅严重影响玉米产量和品质,其致病镰孢菌还可分泌多种毒素,并普遍存在于玉米粒和秸秆青贮饲料中<sup>[18]</sup>,有效控制玉米病害发生已成为玉米生产中急待解决的重要问题。因此,本研

究从玉米穗、茎秆、叶片和鞘部分离内生细菌,并以引起玉米病害的4个致病镰孢菌为指示菌进行了拮抗能力评价,筛选得到1株对拟轮枝镰孢菌、变红镰孢菌、尖刀镰孢菌和层出镰孢菌均具有较强抑菌能力的内生细菌ZY-Q-26,并通过形态学特征和分子生物学技术鉴定,将菌株ZY-Q-26鉴定为枯草芽孢杆菌。枯草芽孢杆菌作为重要的生防微生物,具有较强的竞争生存能力,能够同病原菌竞争植物周围的营养、生存空间并分泌抗菌物质抑制病原菌生长,同时激发植物防御系统抵抗病原菌入侵。谢丽华等<sup>[19]</sup>报道枯草芽孢杆菌SB-24菌株对尖孢镰孢菌菌丝具有抑制作用,李晨楚等<sup>[20]</sup>报道枯草芽孢杆菌B43菌株对多种植物病原真菌具有较强抑制效果,抑菌率多在50%~60%。本试验中,菌株ZY-Q-26对尖孢镰孢菌的抑菌率达63.89%,且对轮枝镰孢菌、变红镰孢菌和层出镰孢菌也具有良好的抑制作用。玉米穗腐、茎腐、根腐和髓腐病主要由镰孢菌属真菌引起,本研究中所使用的4种致病镰孢菌可分别侵染玉米的穗、茎和根<sup>[21]</sup>,说明从张掖玉米鞘部分离的菌株ZY-Q-26具有广谱抗菌作用,可作为一种优良的拮抗微生物用于防治由镰孢菌属真菌侵染玉米引起的病害,具有良好的开发和应用潜力。

高芬等<sup>[22]</sup>报道枯草芽孢杆菌G10具有固氮能力和产IAA的促生长特性,沈冰冰<sup>[23]</sup>报道芽孢杆菌在抑制田间玉米茎腐病发生的同时还具有固氮和分泌吲哚乙酸(IAA)的能力,增加玉米生物量。本试验中经

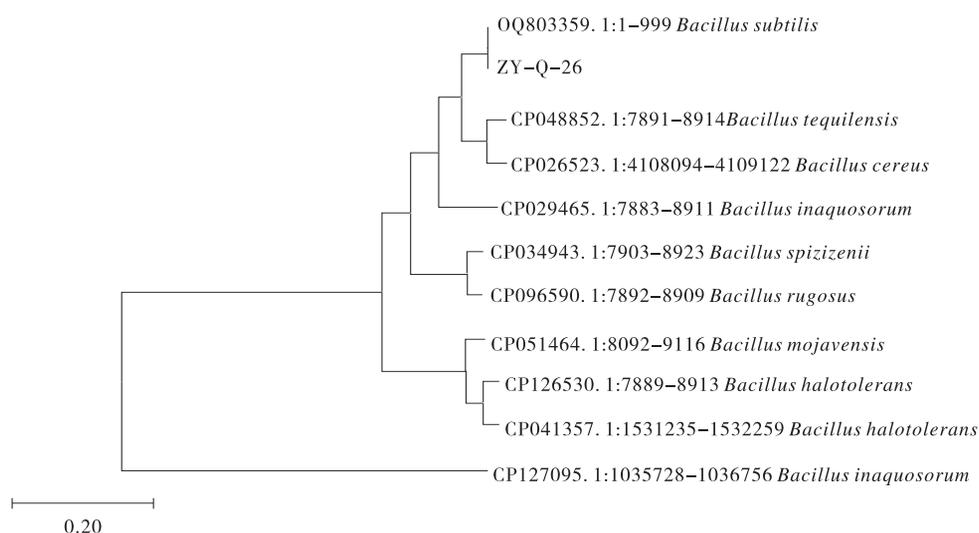


图3 基于gyrA基因序列构建的菌株ZY-Q-26系统发育树

Fig. 3 The phylogenetic tree of ZY-Q-26 and related strains was constructed based on gyrA gene sequence

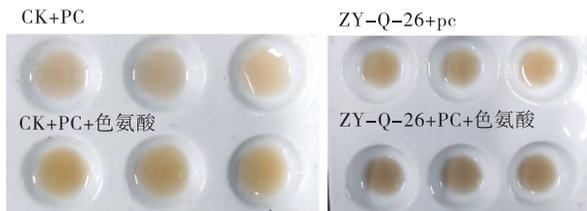


图4 ZY-Q-26产IAA能力测定

Fig. 4 Determination of IAA production capacity of ZY-Q-26

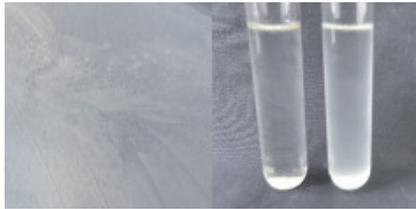


图5 ZY-Q-26的固氮能力测定

Fig. 5 Determination of nitrogen fixation ability of ZY-Q-26

注:A:阿须贝无氮培养基上有菌落形成;B:阿须贝无氮培养液有浑浊。

过测定ZY-Q-26具有产IAA能力和固氮能力,说明ZY-Q-26也具有促生能力,即ZY-Q-26具有防病促生作用。但是本试验仅为室内研究结果,田间防病促生作用还需进一步研究。

## 4 结论

结合形态学特征和分子生物学分析,将从玉米鞘部分离的优良拮抗内生细菌ZY-Q-26鉴定为枯草芽孢杆菌,其对引起玉米病害的4种优势致病镰孢菌的抑菌率在63.89%以上,且具有产IAA和固氮能力。该研究结果为玉米内生细菌资源的开发利用奠定基础,也为玉米病害生物防治提供菌种资源。

### 参考文献:

[1] 杨冰娟,陶睿泽,林丽,等.芽孢杆菌抑制玉米茎腐病菌禾谷镰孢菌和拟轮枝镰孢菌的研究进展[J].江苏农业科学,2023,51(12):42-49.

[2] 徐鹏,李浩然,曹志艳,等.玉米抵御鞘腐病菌侵染的生理机制[J].植物保护学报,2013,40(3):261-265.

[3] 胡桂萍,郑雪芳,尤民生,等.植物内生菌的研究进展[J].福建农业学报,2010,25(2):226-234.

[4] 闫孟红,蔡正求,韩继刚,等.植物内生细菌在防治植物病害中的应用研究[J].生物技术通报,2004,(3):8-12+22.

[5] 赵旭,常思静,景春娥,等.我国植物内生菌研究进展[J].中国沙漠,2010,30(1):87-91.

[6] 杨琦,刘淳劫,郭兵,等.苎麻根部内生细菌的分离鉴定及促生潜力评价[J].中国麻业科学,2020,42(5):219-226.

[7] 吕婷.番茄灰霉病拮抗菌筛选及复合生物海藻液肥研制[D].杭州:浙江大学,2018.

[8] 牛永艳,朱瑞清,毛婷,等.多黏类芽孢杆菌SWS-15玉米促生效果测定及其废水发酵条件优化[J].江苏农业科学,2021,49(22):204-209.

[9] 黄曦,许兰兰,黄荣韶,等.枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J].生物技术通报,2010,(1):24-29.

[10] 刘雪,穆常青,蒋细良,等.枯草芽孢杆菌代谢物质的研究进展及其在植病生防中的应用[J].中国生物防治,2006,(S1):179-184.

[11] 柴凤兰,郑晨,张帆.枯草芽孢杆菌在农作物种植上的应用研究进展[J].南方农业,2023,17(5):152-156.

[12] 杜佳慧,徐伟芳,杨晓冬,等.多花黄精产吲哚乙酸内生菌的分离筛选及其对黄精种子萌发的影响[J].生物技术通报,2022,38(12):223-232.

[13] 敖远,冯疆蓉,杨成德.高寒草地紫花针茅拮抗内生细菌263ZY2的功能测定及其鉴定[J].草原与草坪,2023,43(6):38-43.

[14] 陈兰,谢永丽,吴晓晖,等.4株促紫花苜蓿生长的芽孢杆菌分子鉴定及其生物活性分析[J].西北农业学报,2023,32(2):212-221.

[15] 王丹丹,孙丽,于宏,等.花生种子相关促生菌分离鉴定及功能评价[J].微生物学通报,2023,50(11):4852-4862.

[16] 杨成德,王玉琴,陈秀蓉,等.2种嵩草属牧草休眠期内生细菌多样性研究[J].草业学报,2016,25(8):136-144.

[17] 高晓星,满百膺,陈秀蓉,等.东祁连山线叶嵩草内生细菌X4的产吲哚乙酸、解磷、抗菌和耐盐特性研究及分子鉴定[J].草业学报,2013,22(4):137-146.

[18] 欧阳振华,阮妙鸿,黄伟群,等.11种杀菌剂对玉米鞘腐病田间防效及玉米产量的影响[J].福建农业科技,2022,53(8):74-78.

[19] 谢丽华,高虹,陈明丽,等.枯草芽孢杆菌SB-24对尖孢镰刀菌拮抗机理[J].土壤与作物,2015,4(2):91-95.

[20] 李晨楚,张荣意,康迅,等.枯草芽孢杆菌B43对香蕉枯萎病菌抑菌活性及其活性成分分析[J].中国南方果树,2017,46(3):57-63+71.

[21] 祁娜,许永锋,王爱文,等.甘肃省张掖市玉米黑髓病病原的分离与鉴定[J].中国农学通报,2024,40(5):

97-104.

4188-4193.

[22] 高芬,郝锐,秦雪梅,等.拮抗黄芪根腐病菌的根际促生菌的室内筛选与鉴定[J].中国中药杂志,2016,41(22):

[23] 沈冰冰.玉米茎腐病和大斑病生防菌的筛选及其促生作用的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2019.

## Screening and biological function determination of excellent antagonistic endophytic bacteria in maize

Guo Feng-qing<sup>1</sup>, Jin Meng-jun<sup>1</sup>, Xu Yong-feng<sup>2</sup>, He Shu-wen<sup>2</sup>, Yang Cheng-de<sup>1\*</sup>

(1. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Gansu Provincial Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests Biological Control, Lanzhou 730070, China; 2. Plant Protection and Quarantine Station of Zhangye City, Zhangye 734000, China)

**Abstract:** [Objective] In order to explore and utilize the endophytic bacteria resources in maize, endophytic bacteria were isolated from the leaf sheath of maize in this experiment. [Method] The antagonistic endophytic bacteria were screened using confrontation culture method, and the antibacterial spectrum, IAA production, phosphate solubilization, nitrogen fixation and siderophore production of excellent antagonistic endophytic bacteria were further determined. [Result] The results showed that 35 endophytic bacteria were isolated from the sheath of maize. Among them, the inhibitory rates of endophytic bacteria ZY-Q-26 against *Fusarium sporotrichioides*, *F. incarnatum*, *F. oxysporum* and *F. proliferatum* were 68.66%, 68.74%, 63.89% and 65.84%, respectively. The detection showed that medium could produce IAA and nitrogen fixation. ZY-Q-26 was a Gram-positive ( $G^+$ ) bacterium, with a rod-shaped and a size of  $0.321\sim 0.652\ \mu\text{m} \times 0.053\sim 0.086\ \mu\text{m}$ . Combining with the morphological characteristics and 16S rDNA and *gyrA* gene sequence homology analysis, this strain was identified as *Bacillus subtilis*. [Conclusion] The excellent antagonistic bacterium ZY-Q-26 isolated from the sheath of maize was identified as *Bacillus subtilis*. The results of this study laid a foundation for the exploration and utilization of endophytic bacterial resources in maize, and provided endophytic bacteria resources for the biological control of maize melasma.

**Key words:** maize; endophytic bacteria; isolation; biological function; determination; identification

(责任编辑:康宇坤)