

玉米茎腐病病原禾谷镰孢拮抗菌筛选及分子鉴定

李 想^{1,2}, 王欢欢^{1,2}, 郭秋翠^{1,2}, 李 旭¹, 李新宇¹, 张惠文¹

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所/污染生态与环境工程重点实验室, 沈阳 110016; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 禾谷镰孢引起的玉米茎腐病会导致玉米产量锐减, 筛选高效的拮抗菌株对防治玉米茎腐病尤为重要。采用稀释培养法从土壤中分离得到810株细菌, 通过平板对峙法和16S rDNA分子测序方法进行拮抗菌的筛选和分子鉴定, 共分离出禾谷镰孢拮抗菌23株, 占分离细菌总数的2.84%, 抑菌圈直径10.12~27.56 mm。拮抗菌主要分布在厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)3个门及芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)5个属中, 其中, 芽孢杆菌属细菌数量最多且拮抗能力较强, 暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)的拮抗活性最强, 具有较大的生防潜力。实验分离的23株菌株对禾谷镰孢有较好的拮抗活性, 在玉米茎腐病防控中具有潜在的应用价值。

关键词: 玉米; 玉米茎腐病; 禾谷镰孢; 拮抗菌; 生物防治

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

Isolation and Molecular Identification of Antagonistic Bacteria Against the Pathogen *Fusarium graminearum* Causing Corn Stalk Rot

LI Xiang^{1,2}, WANG Huan-huan^{1,2}, GUO Qiu-cui^{1,2}, LI Xu¹, LI Xin-yu¹, ZHANG Hui-wen¹

(1. Key Laboratory of Pollution Ecology and Environmental Engineering, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Corn stalk rot caused by *Fusarium graminearum* can lead to serious yield reduction of maize. Screening efficient antagonistic strains were particularly important for controlling corn stalk rot. Eight hundred and ten strains of bacteria were isolated from soil by dilution culture method. Antagonistic bacteria were screened by plate confrontation method, and their molecular identification was conducted through 16S rDNA sequence analysis. A total of 23 antagonistic bacteria were isolated, which accounted for 2.84% of the total bacteria isolated. The inhibition zone diameter was 10.12–27.56 mm. These bacteria were mainly distributed in three phyla: Firmicutes, Proteobacteria and Actinobacteria and five genera: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Acinetobacter* and *Arthrobacter*. Among the five genera, *Bacillus* was the most abundant genus and had relatively strong antagonistic ability. Furthermore, *Bacillus siamensis* had the strongest antagonistic activity, which indicated that it had great potential for biocontrol and was worth further exploration. Twenty-three strains isolated from the experiment had good antagonistic activity against *Fusarium graminearum* and had potential application value in the prevention and control of corn stalk rot.

Key words: Corn; Corn stalk rot; *Fusarium graminearum*; Antagonistic bacteria; Biocontrol

玉米茎腐病又称青枯病、玉米茎基腐病, 是世界玉米产区普遍发生的一种系统侵染的土传病害, 一般年份的发病率为15%~20%, 在多雨年份我国部

分地区玉米茎基腐病发病率最高可达到70%, 由此病害导致的产量损失一般在20%左右, 严重时可减产50%左右^[1]。另外该病还会导致穗轴易碎, 进一步影响机械收割后的质量, 最终降低粮食等级^[2]。随着秸秆还田、土壤退化、玉米种植强度和种植制度的改变, 玉米茎基腐病近年来在我国呈加重趋势, 已成为制约玉米持续增产的重要因素^[3]。

文献报道各个地区分离到的玉米茎腐病主要致病菌为镰刀菌属(*Fusarium*)和腐霉菌属(*Pythium*)真

录用日期: 2019-06-28

基金项目: 国家自然科学基金(41671258)

作者简介: 李 想(1992-), 女, 硕士, 主要从事玉米免耕秸秆还田研究。E-mail: lixiang92917@foxmail.com

李新宇为本文通讯作者。E-mail: xyli@iae.ac.cn

菌。程玉静等^[4]发现,引起玉米茎腐病的镰孢菌种类主要以禾谷镰孢和串珠镰孢为主。张瑞英等^[5]发现,黑龙江地区玉米茎腐病的主要致病菌是禾生腐霉和禾谷镰孢。陈楠等^[6]通过对东北地区的90份土样进行研究后发现,玉米茎腐病的主要致病菌有4种,其中主要组成为拟轮枝镰孢及禾谷镰孢。因此,禾谷镰孢是玉米茎腐病分布广、致病力强的代表性致病菌。

目前,主要通过化学防治来控制玉米茎腐病。化学制剂会诱发病原菌产生抗药性,影响玉米粮食等级的同时还会对环境造成一定污染^[7]。由于生物防治对环境和人畜无害且不易产生抗药性,因此受重视程度日益增强,将发展为玉米土传病害无害防治的重要措施^[8]。

本研究以禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)作为靶标菌,采用稀释培养法、平板对峙法和16S rDNA分子测序方法,进行玉米茎腐病病原禾谷镰孢拮抗菌的筛选及分子鉴定,获得有效控制玉米茎腐病的菌株,为玉米茎腐病的防治提供更多的优良拮抗菌株。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土样

实验从吉林省梨树县黑土玉米长期耕作田采集样品共27份,采样后样品4℃保存。

1.1.2 供试病原菌种

禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)由中国科学院沈阳应用生态研究所微生物资源菌种库提供。

1.1.3 培养基

土壤细菌稀释培养选用大豆蛋白胨琼脂培养基(TSA)^[9],固体培养基(1 L)组成为胰化蛋白胨7.5 g、大豆蛋白胨2.5 g、NaCl 2.5 g、琼脂20 g、蒸馏水1 000 mL,pH值7.0~7.6。细菌分离培养选用1/2营养的LB培养基,培养基(1 L)组成为胰蛋白胨5g、酵母提取物2.5 g、NaCl 5 g、蒸馏水1 000 mL。病原真菌禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)的培养和平板对峙实验用PDA培养基,固体培养基(1L)组成为马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂15 g、蒸馏水1 000 mL。

1.2 研究方法

1.2.1 细菌分离

土壤细菌分离采用稀释培养法^[10],将收集到的土壤过2 mm筛去除杂质,每个样品称取10 g土壤,放入盛有90 mL无菌水且瓶底铺好灭菌玻璃珠的250 mL三角瓶内,放于摇床上(200 r/min)摇动30 min

后,取1 mL混匀的悬液加入盛有9 mL无菌水的试管中,反复吹打并震荡混匀。继续重复该操作,最终得到稀释倍数为 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 的菌液,用枪头吸取100 μ L加入TSA培养基,使用涂布棒涂布均匀后室温培养48 h,根据菌落的颜色、形态透明度等从每个样品的 10^{-4} 稀释平板上挑取差异明显的菌落,平板划线纯化,编号,纯化培养后的细菌在TSA斜面培养基上培养24 h后,4℃保存备用。

1.2.2 拮抗活性鉴定

采用对峙培养法^[11],筛选禾谷镰孢的拮抗细菌。将活化的禾谷镰孢用打孔器在菌落边缘打出直径8.5 mm的病原菌菌饼,放置于PDA平板中央,四周距离平皿边缘1.5 cm处等距离打4个直径为7 mm的孔,接种15 μ L待筛选细菌菌液,每个处理重复3皿,设无菌水对照。28℃恒温培养,7 d后用游标卡尺测量抑菌圈直径。

1.2.3 禾谷镰孢拮抗菌16S rRNA序列测定

细菌DNA按照细菌DNA快速提取试剂盒(广州美技生物科技有限公司)的步骤进行提取。PCR扩增引物选用细菌16S rDNA通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-GGT-TACCTTGTTACGACTT-3')。PCR扩增体系(50 μ L)为模板DNA 0.5 μ L,引物27F和1492R各1 μ L,双蒸水22.5 μ L,2 $\times$ Taq PCR Master Mix 25 μ L。PCR扩增程序:94℃预变性10 min,94℃变性1 min,56℃退火1 min,72℃延伸2 min,从变性至延伸34个循环,72℃再延伸10 min,保温4 min。PCR产物检测后委托华大基因股份有限公司进行测序,将所测得的16S rDNA序列经过校对与NCBI中GenBank序列库中已有序列进行BLAST序列比对,利用MEGA 6.0软件构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 禾谷镰孢拮抗菌的筛选

以禾谷镰孢为目标菌,用对峙培养法测试分离810株土壤细菌对病原真菌的拮抗作用。结果表明,有23株细菌对禾谷镰孢有拮抗作用,占分离细菌总数的2.84%。由表2可知,其中,对禾谷镰孢有明显拮抗作用的菌株有14株(抑菌直径在12 mm以上),为菌株S3、S5、S6、S7、S9、S10、S11、S12、S13、S15、S17、S18、S19、S23。剩余9株抑菌圈直径较小,不足12 mm。禾谷镰孢拮抗菌抑菌圈直径的测定结果表明、菌株S12的抑菌圈直径最大,为27.56 mm,说明菌株S12对禾谷镰孢的拮抗能力最强;其次是S17和S11,抑菌圈直径分别为21.14 mm和18.92 mm。

表1 拮抗菌对禾谷镰孢的抑菌效果

Table 1 The antibiotic activity of antagonistic strains against *Fusarium graminearum*

拮抗菌编号 Antagonistic bacteria code	抑菌圈直径(mm) Diameter of inhibition zone	拮抗菌编号 Antagonistic bacteria code	抑菌圈直径(mm) Diameter of inhibition zone
S1	11.68	S13	14.08
S2	10.38	S14	11.58
S3	13.26	S15	13.76
S4	10.12	S16	10.78
S5	15.78	S17	21.14
S6	12.82	S18	13.04
S7	16.46	S19	16.04
S8	10.46	S20	10.56
S9	16.02	S21	10.38
S10	14.96	S22	10.54
S11	18.92	S23	13.54
S12	27.56		

2.2 禾谷镰孢拮抗菌的分子鉴定

将23株禾谷镰孢拮抗菌的16S rDNA进行测序后,登录NCBI数据库通过BLAST对测序结果进行比对分析,并构建系统发育树(图1)。结合系统发育

分析结果,将23株禾谷镰孢拮抗菌16S rDNA比对结果(表2),它们均与最相似菌株在系统发育树中聚在一起,且与最相似菌株的相似性较高,为99%~100%。通过比对结果,初步将这23株禾谷镰孢拮

表2 禾谷镰孢拮抗菌16S rDNA比对结果

Table 2 16S rDNA alignment results of antagonistic bacteria against *Fusarium graminearum*

拮抗菌编号 Antagonistic bacteria code	相似菌株NCBI序列编号 Accession number in NCBI for nearest relative	相似菌株 Nearest relative	相似度(%) Similarity index
S1	KR336831.1	<i>Bacillus subtilis</i>	100
S2	KY910143.1	<i>Pseudomonas koreensis</i>	100
S3	JN228323.1	<i>Acinetobacter sp.</i>	100
S4	KC934821.1	<i>Arthrobacter pascens</i>	99
S5	KT720350.1	<i>Bacillus tequilensis</i>	100
S6	MH012050.1	<i>Bacillus aryabhattai</i>	100
S7	KR336831.1	<i>Bacillus subtilis</i>	100
S8	KY910143.1	<i>Pseudomonas koreensis</i>	99
S9	KR336831.1	<i>Bacillus subtilis</i>	99
S10	MG011551.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99
S11	KY818935.1	<i>Bacillus siamensis</i>	100
S12	KY818935.1	<i>Bacillus siamensis</i>	99
S13	KT720350.1	<i>Bacillus tequilensis</i>	100
S14	KY910143.1	<i>Pseudomonas koreensis</i>	99
S15	KY818935.1	<i>Bacillus siamensis</i>	100
S16	KU973983.1	<i>Streptomyces violascens</i>	100
S17	MG008635.1	<i>Bacillus velezensis</i>	100
S18	KT363756.1	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	100
S19	KC355362.1	<i>Pseudomonas sp.</i>	100
S20	KY910143.1	<i>Pseudomonas koreensis</i>	100
S21	KT720339.1	<i>Bacillus tequilensis</i>	100
S22	KX358675.1	<i>Streptomyces exfoliatus</i>	100
S23	MH057387.1	<i>Bacillus aryabhattai</i>	100

抗菌鉴定为3株特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*), 3株暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*), 3株枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), 1株贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), 2株阿耶波多氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhattai*), 1株苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*), 1株侧孢短芽孢杆菌(*Brevibacillus laterosporus*), 4株韩国假单胞菌(*Pseudomonas koreensis*), 1株假单胞菌(*Pseudomonas* sp.), 1株脱叶链霉菌(*Strepto-*

myces exfoliatus), 1株浅紫链霉菌(*Streptomyces violascens*), 1株不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)和1株耐盐节杆菌(*Arthrobacter pascens*)。

根据禾谷镰孢拮抗菌的抗菌活性可以看出(表1), 拮抗能力最强的是菌株S12(D=27.56 mm), 为暹罗芽孢杆菌; 其次是菌株S17, 为贝莱斯芽孢杆菌。筛选获得的这株暹罗芽孢杆菌具有较大的生防潜力。

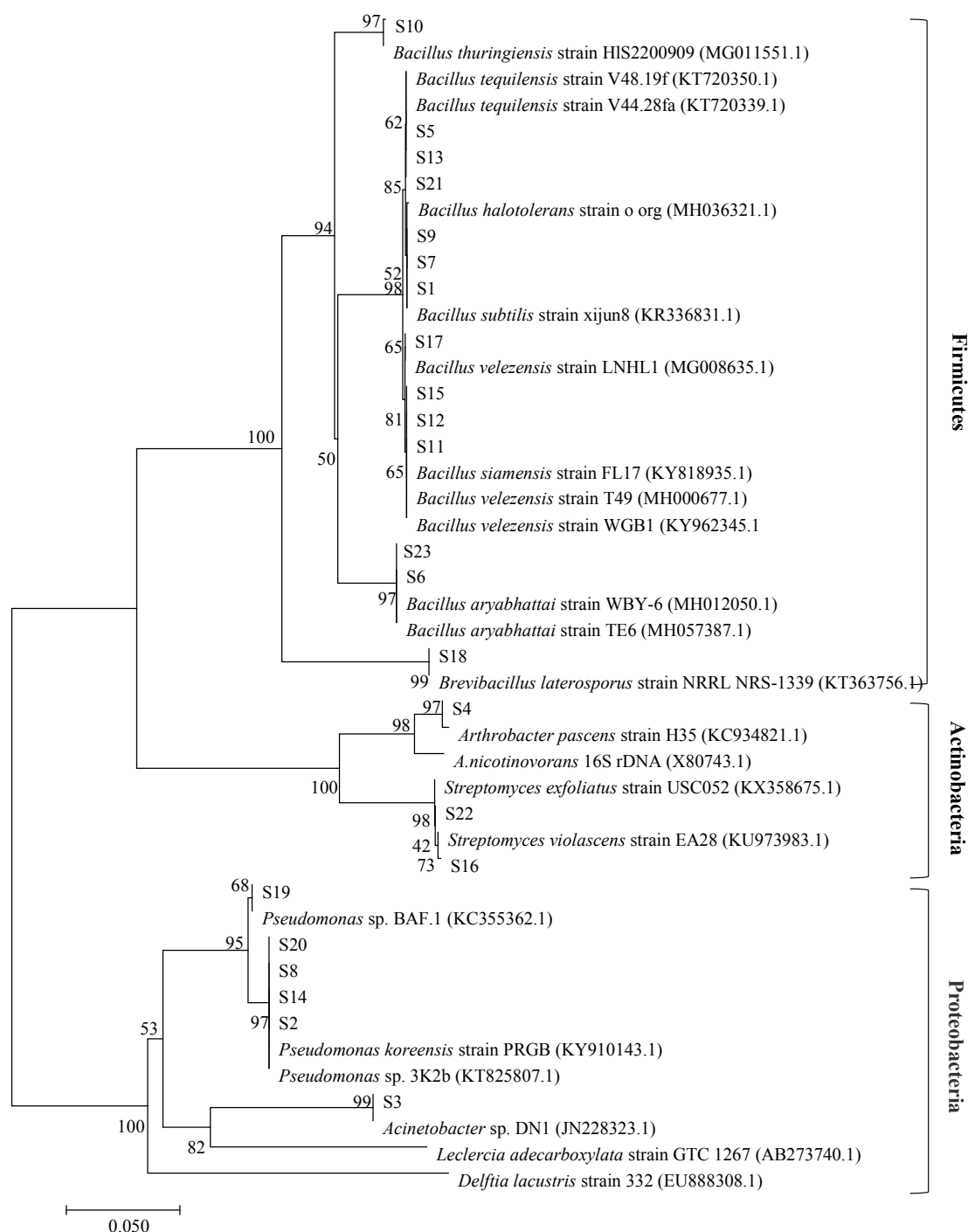


图1 禾谷镰孢拮抗菌 16S rDNA 系统发育树

Fig.1 16S rDNA phylogenetic tree of antagonistic bacteria against *Fusarium graminearum*

2.3 基于属水平的禾谷镰孢拮抗菌分析

系统发育树分析显示(图1),分离获得的23株禾谷镰孢拮抗菌主要分布在3个门和5个属,其中,14株属于厚壁菌门(Firmicutes),6株属于变形菌门(Proteobacteria),3株属于放线菌门(Actinobacteria)。5个属(图2)分别是芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)和节杆菌属(*Arthrobacter* sp.),其中,属于芽孢杆菌属的拮抗菌最多(14株,占

总比率61%),其次是假单胞菌属(5株,占总比率22%)。

根据比较不同属的平均抑菌圈直径(图3),在分离出的5个拮抗菌属中,芽孢杆菌属的拮抗能力最强($\bar{D}$ = 15.72 mm),其次是不动杆菌属($\bar{D}$ = 13.26 mm)、假单胞属($\bar{D}$ = 11.80 mm)、链霉菌属($\bar{D}$ = 10.66 mm)和节杆菌属($\bar{D}$ = 10.12 mm)。芽孢杆菌属平均拮抗能力约为排名第二的不动杆菌属的1.19倍。

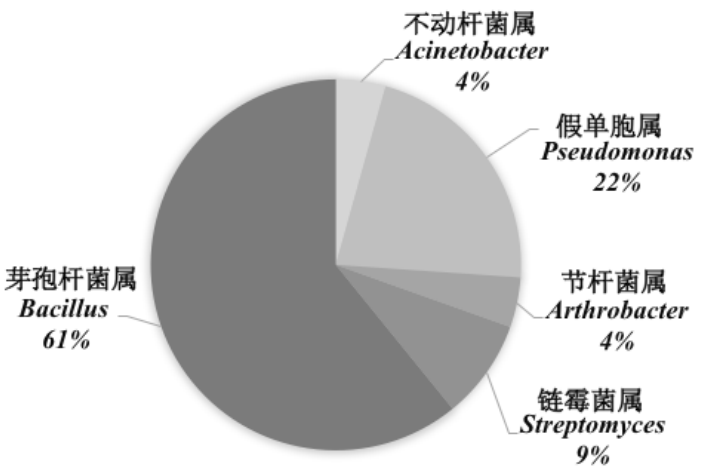


图2 基于属水平上的禾谷镰孢拮抗菌相对丰度

Fig.2 Relative abundances of antagonistic bacteria against *Fusarium graminearum* at genus level

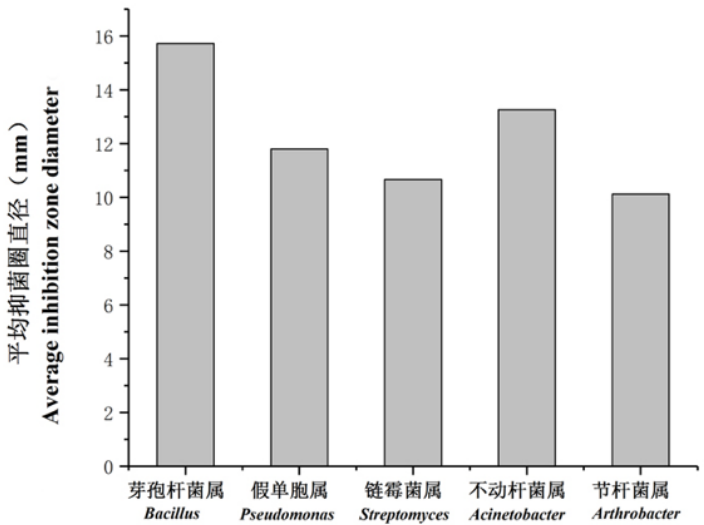


图3 不同属的平均抑菌圈直径(mm)

Fig.3 Average inhibition zone diameter of different genus

3 结论与讨论

生物防治具有防治资源来源广泛、绿色安全 and 环境友好等特点。越来越多的研究都在积极挖掘和评估生物防治在玉米茎腐病防治手段上的潜力与前

景。本研究从810株细菌中筛选出23株对禾谷镰孢抑制效果较好的拮抗菌。通过比对分析和系统发育树构建,发现分离出的抗性菌株主要来自于芽孢杆菌属和假单胞属。常见对土传病害具有生物防治作用的细菌主要有两大类群,芽孢杆菌属(*Bacillus*)和

假单胞属(*Pseudomonas*)^[12]。本研究所分离出的禾谷镰孢拮抗菌中芽孢杆菌属数量最多,拮抗活性最强。张思奇等^[13]以玉米茎基腐病的主要致病菌禾谷镰孢作为靶标菌,通过对峙培养法进行筛选后,发现生防效果最好的为芽孢杆菌,且该菌对玉米长势也有明显促进作用。张承胤等^[14]在玉米秸秆还田条件下,筛选小麦茎腐病拮抗细菌,发现芽孢杆菌属拮抗能力最强。同时,在周义东等^[15]构建的禾谷镰孢拮抗菌的菌种资源库中,芽孢杆菌属占最大比例,达到50%。现有研究广泛认可芽孢杆菌属中的许多细菌种为良好的拮抗生防菌,如枯草芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、蕈状芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、球状芽孢杆菌等^[16]。这些生防芽孢杆菌均有降低植物病害发病率的作用,由于芽孢杆菌属细菌是土壤中微生物的优势菌群,体积大,繁殖速度快,能分泌多种抗菌物质,包括抗生素、脂肽、抗菌蛋白等,可以抑制多种植物病菌的生长^[17, 18]。随着研究深入,芽孢杆菌将在生物拮抗和生物农药的研制中占有越来越重要的地位。

本研究中,经平板对峙培养法分离获得了拮抗性较好的菌株,其中,暹罗芽孢杆菌在分离出的菌株中拮抗活性最强,贝莱斯芽孢杆菌次之,其他芽孢杆菌如枯草芽孢杆菌和特基拉芽孢杆菌等,拮抗能力也非常强。枯草芽孢杆菌的生防作用已有很多报道,但其他芽孢杆菌在植物病原菌拮抗方面的研究报道较少。王瑶等^[19]研究表明,暹罗芽孢杆菌和特基拉芽孢杆菌均对禾谷镰孢表现出明显的拮抗作用。宗英等^[20]研究表明,特基拉芽孢杆菌可产生挥发性物质抑制禾谷镰孢的菌体生长(抑制率为27.7%)和孢子萌发(抑制率为26.7%)。詹发强^[21]等还发现,特基拉芽孢杆菌能明显抑制番茄枯萎病的发生,说明暹罗芽孢杆菌和特基拉芽孢杆菌有很大的生防潜力,值得进一步研究。

大量研究表明,除芽孢杆菌,假单胞菌也是生物防治的主要资源类群。在本研究中,属于假单胞属的拮抗菌数量较大,占总拮抗菌数的22%。程亮等^[22]研究发现,假单胞菌属是土壤中植物根围的优势种群。Bailey、曹启光和Chen等均发现^[23-25],假单胞菌是土传病害的主要拮抗菌。在国内,假单胞菌属的生防菌可用于防治多种植物病害,可抑制棉花立枯病、棉花猝倒病、小麦根腐病、小麦纹枯病^[24]以及水稻鞘腐病等发生^[26-29]。本实验分离到的芽孢杆菌和假单胞菌是重要的生防资源,可为将来玉米田土传病害防治提供重要的菌种资源。

目前国内对茎腐病生物防治菌的生物防治机制

研究较少,且生防菌田间实验受地域病菌种类、土壤气候等因素的综合影响,因此后续将进一步研究筛选出的优良拮抗菌株的抑菌机理与大田防治效果,为其能否可开发利用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 刘春来. 我国玉米茎腐病研究进展[J]. 中国农学通报, 2017, 33(30): 130-134.
Liu C L. Research process of corn stalk rot in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(30): 130-134. (in Chinese)
- [2] 谢丽华, 高虹, 陈明丽, 等. 玉米茎基腐病对产量及构成因素的影响[J]. 现代化农业, 2016(12): 5-6.
Xie L H, Gao H, Chen M L, et al. Effect of corn stalk rot on yield and its components[J]. Modernizing Agriculture, 2016(12): 5-6. (in Chinese)
- [3] 范志业, 崔小伟, 施艳, 等. 河南省玉米茎基腐病主要病原菌鉴定及主栽玉米品种的抗性分析[J]. 河南农业科学, 2014, 43(12): 87-90.
Fan Z Y, Cui X W, Shi Y, et al. Identification of pathogens causing corn stalk rot and resistance test of main cultivars in Henan Province[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(12): 87-90. (in Chinese)
- [4] 程玉静, 陈国清, 薛林, 等. 玉米茎腐病研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013(20): 8557-8559, 8569.
Cheng Y J, Chen G Q, Xue L, et al. Research process of maize stem rot[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013(20): 8557-8559, 8569. (in Chinese)
- [5] 张瑞英, 张坪. 黑龙江省玉米茎基腐病病原菌研究初报[J]. 植物保护学报, 1993, 20(3): 287-288.
Zhang R Y, Zhang P. Preliminary report on pathogen of maize stalk rot in Heilongjiang province[J]. Journal of Plant Protection, 1993, 20(3): 287-288. (in Chinese)
- [6] 陈楠, 潘晓静, 姚远, 等. 东北地区玉米茎腐病镰孢菌EF-1 α 基因序列分析鉴定[J]. 玉米科学, 2015, 23(4): 143-148.
Chen N, Pan X J, Yao Y, et al. Sequence analysis and identification of Fusarium EF-1 α gene from maize stalk rot in Northeast China[J]. Journal of Maize Sciences, 2015, 23(4): 143-148. (in Chinese)
- [7] 郑俊强, 高增贵, 庄敬华, 等. 玉米土传病害生物防治的研究进展[J]. 玉米科学, 2005, 13(1): 111-114.
Zheng J Q, Gao Z G, Zhuang J H, et al. Progress of studies on bio-control of maize soil borne disease[J]. Journal of Maize Sciences, 2005, 13(1): 111-114. (in Chinese)
- [8] 宋光桃, 周国英. 土壤拮抗细菌的分离与筛选[J]. 中国农学通报, 2012, 28(27): 99-103.
Song G T, Zhou G Y. Isolation and screening of antagonistic bacteria in soil[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(27): 99-103. (in Chinese)
- [9] Smit E, Leeflang P, Gommans S, et al. Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2001, 67(5): 2284-2291.
- [10] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [11] 林玲, 陈怀谷, 刘磊, 等. 小麦纹枯病菌拮抗细菌的筛选及

- 生物活性测定[J]. 江苏农业学报, 2003, 19(3): 187-188.
- Lin L, Chen H G, Liu L, et al. Screening of antagonistic bacteria against sharp eyespot of wheat and assay of their biological activity [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2003, 19(3): 187-188. (in Chinese)
- [12] 牟 超. 生物防治对于玉米主要病害的研究进展[J]. 科学技术创新, 2013(9): 224-224.
- Mou C. Advances in biological control of maize major disease[J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2013(9): 224-224. (in Chinese)
- [13] 张思奇, 孙丽萍, 赵同雪, 等. 玉米茎基腐病生防菌的筛选及应用[J]. 微生物学通报, 2017, 44(10): 2345-2352.
- Zhang S Q, Sun L P, Zhao T X, et al. Screening and application of biocontrol bacteria against corn stem rot[J]. Microbiology China, 2017, 44(10): 2345-2352. (in Chinese)
- [14] 张承胤, 邢彦峰, 代 丽, 等. 适应玉米秸秆还田的小麦根病拮抗菌的筛选[J]. 中国农学通报, 2009, 25(3): 206-209.
- Zhang C Y, Xing Y F, Dai L, et al. Screening of antagonistic bacteria against wheat root disease adapted to corn straw returning[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(3): 206-209. (in Chinese)
- [15] 周义东. 禾谷镰刀菌拮抗菌的分离鉴定及其拮抗基因的克隆[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [16] Kloepper J W, Ryu C M, Zhang S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp[J]. Phytopathology, 2004, 94(11): 1259-1266.
- [17] 连玲丽. 芽孢杆菌的生防菌株筛选及其抑病机理[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [18] 李全胜, 谢宗铭, 张国丽, 等. 棉花黄萎病拮抗芽孢杆菌 S12 的筛选鉴定及拮抗机制的分析[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(3): 402-408.
- Li Q S, Xie M Z, Zhang G L, et al. Screening and identification of antagonistic spore bacterium S12 against cotton *Verticillium* wilt and preliminary study on its antagonistic mechanisms[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2015, 38(3): 402-408. (in Chinese)
- [19] 王 瑶, 赵月菊, 邢福国, 等. 禾谷镰刀菌拮抗菌株的筛选及鉴定[J]. 核农学报, 2017, 31(6): 1128-1136.
- Wang Y, Zhao Y J, Xing F G, et al. Screening and Identification of *Bacillus* spp. Strains with biocontrol activity against *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(6): 1128-1136. (in Chinese)
- [20] 宗 英, 赵月菊, 刘 阳, 等. 一株贝莱斯芽孢杆菌抑制禾谷镰刀菌的研究[J]. 核农学报, 2018, 32(2): 310-317.
- Zong Y, Zhao Y J, Liu Y, et al. Study on the inhibitory effect of *Bacillus velezensis* on *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(2): 310-317. (in Chinese)
- [21] 詹发强, 杨文琦, 侯新强, 等. 一种贝莱斯芽孢杆菌及其在番茄枯萎病拮抗中的应用: 中国, CN201110252628.7[P]. 2011-08-30.
- [22] 程 亮, 游春平, 肖爱萍. 拮抗细菌的研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 732-737.
- Chen L, You C P, Xiao A P. Advance in the study on antagonistic bacteria[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2003, 25(5): 732-737. (in Chinese)
- [23] Bailey K L, Lazarovits G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments[J]. Soil & Tillage Research, 2003, 72(2): 169-180.
- [24] 曹启光, 陈怀谷, 杨爱国, 等. 稻秸秆覆盖对麦田细菌种群数量及小麦纹枯病发生的影响[J]. 土壤, 2006, 38(4): 459-464.
- Cao Q G, Chen H G, Yang A G, et al. Effects of straw mulching on population number of bacteria in wheat field and incidence of wheat sharp eye-spot[J]. Soils, 2006, 38(4): 459-464. (in Chinese)
- [25] Chen H G, Cao Q G, Xiong G L, et al. Composition of wheat rhizosphere antagonistic bacteria and wheat sharp eyespot as affected by rice straw mulching[J]. Pedosphere, 2010, 20(4): 505-514.
- [26] Howell C R. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium[J]. Phytopathology, 1979, 69(5): 480-482.
- [27] Loper J E. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain [J]. Phytopathology, 1988, 78(2): 166-172.
- [28] Becker J O. Role of siderophores in suppression of *pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent *pseudomonads*[J]. Phytopathology, 1988, 78(6): 778-782.
- [29] Sakthivel N. Evaluation of *pseudomonas fluorescens* for suppression of sheath rot disease and for enhancement of grain yields in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Applied & Environmental Microbiology, 1987, 53(9): 2056-2059.

(责任编辑:姜媛媛)