

# 马铃薯黑痣病生防菌的筛选和鉴定 及其生长条件的研究

关小敏<sup>1</sup>,孟品品<sup>1</sup>,刘 星<sup>1,2</sup>,邱慧珍<sup>1,2</sup>,张文明<sup>1,2</sup>,  
海 龙<sup>1,2</sup>,张俊莲<sup>2</sup>,王 蒂<sup>2</sup>,沈其荣<sup>3</sup>

(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. 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室,甘肃 兰州 730070; 3. 南京农业大学资源与环境学院,江苏 南京 210095)

**摘要:**从甘肃省景泰县条山农场不同连作年限的马铃薯地块中取根际土样品,分离筛选马铃薯黑痣病病原菌—立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)的拮抗菌。采用土壤平板稀释、对峙法筛选拮抗菌;结合形态特征、生理生化及16SrDNA分子鉴定;采用单因素试验设计对G1菌株的生长条件进行初步试验。通过初筛和复筛,从108株细菌中获得1株对立枯丝核菌拮抗效果稳定、拮抗能力较强的细菌G1。采用平板对峙法测定其拮抗作用,抑菌带宽度达6mm,抑菌圈直径>2.5 cm,抑菌率为66.7%。结合形态特征、生理生化及16SrDNA分子鉴定,G1为类芽孢杆菌(*Paenibacillus* sp.);采用单因素试验设计对G1菌株的生长条件进行初步试验。结果表明,菌株G1在4℃~45℃,pH 5~10,盐浓度0~50 g·L<sup>-1</sup>都能生长,碳源、氮源利用广泛,最适条件为:温度37℃,pH 7,蔗糖为碳源,蛋白胨为氮源,盐浓度为10 g·L<sup>-1</sup>。拮抗菌G1被鉴定为类芽孢杆菌,该菌株抑菌带较宽、抑菌效果稳定,生长条件与马铃薯生长的大田环境基本相符,具有作为一株优良生防菌的必要条件。

**关键词:**马铃薯;黑痣病;拮抗菌;筛选鉴定;生长条件

中图分类号:S435.32 文献标志码:A

## Isolation and identification of antagonistic strains against black scurf of potato and conditions for their growth

GUAN Xiao-min<sup>1</sup>, MENG Pin-pin<sup>1</sup>, LIU Xing<sup>1,2</sup>, QIU Hui-zhen<sup>1,2</sup>, ZHANG Wen-ming<sup>1,2</sup>,  
HAI Long<sup>1,2</sup>, ZHANG Jun-lian<sup>2</sup>, WANG Di<sup>2</sup>, SHEN Qi-rong<sup>3</sup>

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Gansu Agricultural University / Gansu Province

Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Gansu Province Key Laboratory of

Crop Genetic & Germplasm Enhancement, Lanzhou Gansu, 730070, China; 3. College of Resources and Environmental

Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** Bacteria with antagonistic activity against potato black scurf pathogen (*Rhizoctonia solani*) were isolated from the rhizosphere soils with different years of continuous cropping in hill farm of Jingtai county, Gansu Province. Antagonistic bacteria were isolated from soil through dilution plates and antagonistic plates. Based on the morphological characteristics, physiological and biochemical tests, and 16SrDNA sequencing analysis were performed. Single factor experiment design was carried out to discuss the growth conditions of strain G1. One of the isolated strains, G1, which showed the strongest antagonism, was selected from 108 bacterial strains. It produced an inhibition zone with 6.0mm width and > 2.5cm diameter, and an inhibitory rate at 66.7% through confronting incubation. According to the morphological characteristics, physiological and biochemical tests, and 16SrDNA sequence analyses, it was preliminarily identified to be *Paenibacillus* sp. In addition, a single factor experiment design was carried out to examine the optimal growth conditions for G1. The results showed that the bacteria could grow at 4℃~45℃ with pH 5~10 and salt concentration 0 to 50 g·L<sup>-1</sup>. The optimal conditions for G1 growth was found to be 37℃ inoculation with pH at 7 using sucrose

收稿日期:2014-05-08

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201103004);国家自然科学基金(31360500);国家科技支撑计划(2012BAD06B03);甘肃省科技重大专项(1102NKDM025)

作者简介:关小敏(1989—),女,甘肃白银人,硕士研究生,研究方向为马铃薯黑痣病防治。E-mail:guanxm89@163.com。

通信作者:邱慧珍(1961—),女,上海市人,教授,博士生导师,主要从事植物营养与营养生态的教学与科研工作。E-mail:hzqiu@gsau.edu.cn。

and peptone as carbon and nitrogen sources respectively, as well as with a salt concentration at  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . In conclusion, the newly selected *Paenibacillus* sp. G1 showed broad inhibition zone, with a stable effect against potato black scurf pathogen (*Rhizoctonia solani*). The growth condition for G1 was similar to those for potato growth, owning necessary criteria as a good biocontrol strain.

**Keywords:** potato; black scurf; antagonistic bacteria; isolation and identification; growth condition

马铃薯黑痣病是导致马铃薯生长、块茎产量和品质下降的一种土传病害,病原菌是立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)<sup>[1]</sup>。我国马铃薯主产区黑龙江、辽宁<sup>[2-4]</sup>以及内蒙古<sup>[5]</sup>等省(自治区)对马铃薯黑痣病已有报道。内蒙发病严重地块的植株死亡率高达70%~80%,块茎发病率达100%<sup>[6]</sup>。2010—2011年甘肃中部主产区和干旱灌区马铃薯因茎溃疡病引起的植株幼苗死亡率高达60%<sup>[7]</sup>。目前马铃薯黑痣病已成为影响我国马铃薯主产区马铃薯产量和品质的重要因素之一。

马铃薯黑痣病目前采用的主要防治方法有种薯药剂消毒<sup>[8]</sup>、药剂处理土壤<sup>[9]</sup>、筛选抗病品种<sup>[10]</sup>、与非寄主作物轮作<sup>[11]</sup>等。然而,多年来高毒农药的使用导致该病原菌产生了严重的抗药性,同时引起土壤、水体和大气等环境污染,使得农副产品中农药残留增加,直接危害人类的健康<sup>[12]</sup>。近年来,人们致力于寻找具有对环境友好、无污染、见效快等优点的防治方法。因此,有机改良剂<sup>[13]</sup>、植物药剂和生防因子<sup>[14]</sup>、有益微生物<sup>[15]</sup>等环境友好型生防措施发展成为综合防治土传病害的重要部分。国内外大量研究表明,在土壤或者植物根际引入有益微生物能防治马铃薯黑痣病等多种土传病害。Marin Talbot Brewer等<sup>[16]</sup>研究表明,青霉菌(*Penicillium* sp.)、绿色木霉(*Trichoderma virens*)、木霉菌(*Trichoderma* sp.)能有效防治马铃薯黑痣病,使发病率比对照下降54%~60%。Gloria Bautista等<sup>[17]</sup>发现,荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)可以促进当地马铃薯(*Solanum phureja*)植株的生长,并有效防治马铃薯黑痣病。国内鲜见在马铃薯上的报道,仅见到彭振红等<sup>[18]</sup>用菌株XA3多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)和菌株XC5枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)防治马铃薯黑痣病的初步研究结果。甘肃省在此方面的研究尚属空白。为此,筛选对马铃薯黑痣病病原菌具有特异、高效的生防菌迫在眉睫。

本研究从甘肃省景泰县条山农场不同连作年限的马铃薯地块中取根际土样品,分离筛选马铃薯黑痣病病原菌—立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)的拮抗菌,并对拮抗效果稳定、能力较强的菌株进行生长条件的探索,以期马铃薯黑痣病的优良生防菌剂以及拮抗菌生物有机肥的研制和开发奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 类芽孢杆菌G1由本试验分离得到,立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)由本实验室提供。

1.1.2 土壤的采集与处理 2012年7月从景泰条山农场马铃薯连作年限为1、2、3、4、5、7、8 a的地块中用蛇形法取样,每个地块采5株黑痣病发病严重植株周围的健康植株根际土壤,混合均匀装入自封袋,每个地块3次重复,装入冰盒带回实验室,4℃保存备用。

1.1.3 试剂及引物 Ezup柱式基因组DNA抽提试剂盒(细菌),SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒,mark,琼脂糖,核酸染料,引物<sup>[18]</sup>均购自上海生物工程股份有限公司。

### 1.2 马铃薯黑痣病拮抗菌的分离、筛选

1.2.1 拮抗菌的筛选 采用土壤稀释涂布法,LB培养基分离纯化细菌;PDA平板对峙,筛选具有拮抗效果的菌株。

1.2.2 菌株G1对马铃薯立枯丝核菌菌丝形态的影响 从对峙培养5 d的平板中,挑取离拮抗菌株G1较近的立枯丝核菌菌丝,以培养5 d的立枯丝核菌为对照,在40倍的光学显微镜下观察菌丝形态。

### 1.3 马铃薯黑痣病拮抗菌的鉴定

1.3.1 拮抗菌的培养特征及形态特征 参照沈萍等<sup>[19]</sup>的方法,将所筛选的菌株划线接种于LB平板,于28℃恒温培养箱,培养48 h后观察菌落形态。培养24 h后进行革兰氏染色和芽孢染色。

1.3.2 拮抗菌的生理生化特征 按照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[20]</sup>和《微生物学实验》<sup>[19]</sup>方法,将筛选的拮抗菌于LB液体培养基,28℃培养24 h后,用于生理生化的测定。

1.3.3 16S rDNA序列测定及分析 以细菌基因组柱式提取试剂盒提取的基因组DNA为模板,以27F: 5' - AGAGTTTTCATCATGGCTCAG - 3' 和1492R: 5' - GGTACCTTGTTACGACTT - 3' 为引物,进行扩增。PCR反应体系为50 μL: 10×buffer 5 μL, MgCl<sub>2</sub> (20 mmol·L<sup>-1</sup>) 5 μL, dNTPs (10 mmol·L<sup>-1</sup>) 1 μL, Taq酶 0.5 μL, 模板DNA 1 μL, 引物各1 μL, ddH<sub>2</sub>O 35.5 μL。反应条件为: 95℃初始变性3 min; 94℃变性45 s,

55℃退火 1 min, 72℃延伸 1 min, 30 个循环; 72℃复性 7 min。经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 将 PCR 产物送上海生物工程股份有限公司进行测序。测序结果在 NCBI 进行比对, 并利用 MEGA 软件构建系统发育树。

#### 1.4 生长条件测定

参照《微生物学实验》<sup>[19]</sup> 方法, 测定菌株 G1 的生长曲线及最适温度、碳源、氮源、pH 值、耐盐度。

#### 1.5 数据处理

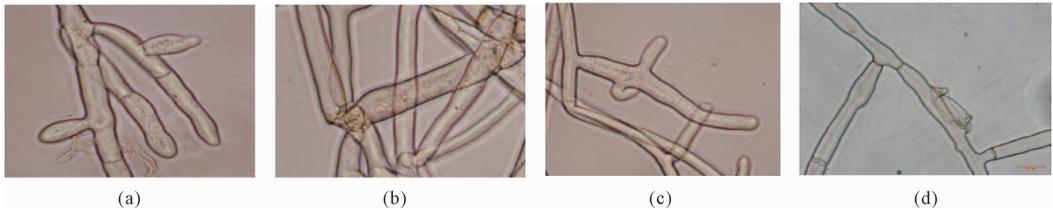
利用 Microsoft Excel 2010 作图, 数据统计分析采用 SPSS21 统计软件, 不同处理间差异显著性检验采用 Duncan's 新复极差法。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯黑痣病拮抗菌的筛选

获得对马铃薯黑痣病病原菌生长有强烈抑制作用的细菌 6 株(表 1)。其中菌株 G1 对立枯丝核菌的抑菌带宽度达到 6 mm, 抑菌圈直径 > 2.5 cm, 抑菌率达到 66.7%(图 1)。此结果表明, 菌株 G1 具有很好的防治立枯丝核菌潜力。

如图 2 可知, 菌株 G1 对峙培养 5d, 使马铃薯立枯丝核菌菌丝发生畸形, 其中菌丝顶端膨大, 菌丝变短、弯曲、缠绕, 由此可知, G1 产生某种拮抗物质, 使马铃薯立枯丝核菌的菌丝发生畸形, 也为 G1 对马铃薯黑痣病的拮抗机理研究奠定理论基础。



a 马铃薯立枯丝核菌对照; b 菌株 G1 对峙立枯丝核菌  
a Control of *R. solani* from potato; b Antagonistic bacteria G1

图 1 拮抗菌 G1 对马铃薯立枯丝核菌的拮抗作用(5 d)  
Fig.1 Antibacterial effects of G1 on *R. solani* from potato(5 d)

a~c 菌株 G1 拮抗的马铃薯立枯丝核菌菌丝; d 马铃薯立枯丝核菌菌丝对照(光学显微镜 40 倍)

a~c Antibacterial effects of strain G1 on *R. solani* mycelium from potato; d Control of *R. solani* mycelium from potato (light microscope 40×)

图 2 菌株 G1 对马铃薯立枯丝核菌菌丝的拮抗作用(5 d)

Fig.2 Antibacterial effects of strain G1 on *R. solania* mycelium from potato(5 d)

### 2.2 拮抗菌的鉴定

2.2.1 拮抗菌的形态特征及理化测定 G1 在 LB 培养基上生长良好(如图 3), 28℃ 下培养 2~3 d 即可出现明显菌落, 其菌落呈椭圆形或不规则形, 乳白色, 菌落不透明, 表面有褶皱, 湿润, 粘稠, 革兰氏染色为阳性, 菌体呈杆状, 中生芽孢。拮抗菌的相关生理生化指标测定结果见表 2。通过自动检索数据库, 比较鉴定结果, 表明该菌属于类芽孢杆菌属。

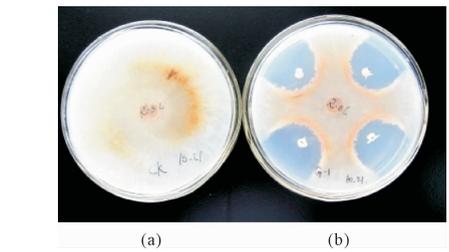
2.2.2 拮抗菌的分子生物学鉴定 通过对拮抗菌进行 DNA 提取及 PCR 扩增, PCR 产物电泳检测结果见图 4。对 PCR 产物纯化后测序, 得到 G1 的 16S

表 1 对峙培养 5 d 后细菌对马铃薯立枯丝核菌的拮抗作用  
Table 1 Bacteria inhibition against *R. solani* from potato after 5 days

拮抗菌 Antagonistic bacteria	病原菌菌落半径/cm Pathogen colonies radius		抑菌率/% Antagonistic ratio
	对照菌 CK	对峙菌 Confrontation	
1Y18	4.5	1.9 ± 0.058d	57.8
B13	4.5	2.3 ± 0.115c	48.9
5Y10	4.5	2.1 ± 0.153d	53.3
8Y24	4.5	2.8 ± 0.058a	37.8
G1	4.5	1.5 ± 0.058e	66.7
5Y30	4.5	2.6 ± 0.058b	42.2

注: 同列数据后不同字母表示差异达 5% 显著水平。

Note: Different letters in a column mean significant difference at 5% level.



a G1 在 LB 培养基的菌落形态; b G1 的光学形态特征

a Colony morphology of strain G1 on LB medium;

b Morphological characteristics of strain G1

图 3 拮抗菌 G1 形态学鉴定结果

Fig.3 Morphological identification of *Paenibacillus* sp. G1

表 2 拮抗菌株 G1 的生理生化鉴定结果

Table 2 Physiological and biochemical properties of strain G1

测定指标 Text index	试验结果 Result	测定指标 Text index	试验结果 Result
葡萄糖 Glucose	+	精氨酸脱羧酶 Pure acid decarboxylase	+
蔗糖 Sucrose	+	精氨酸水解酶 Pure acid hydrolase	-
乳糖 Lactose	+	丙二酸盐 Malonae	+
糊精 Dextrin	+	酒石酸盐 Tartrate	-
阿拉伯糖 Arabinose	-	淀粉水解 Amylolysis	+
肌醇 Inosite	-	接触酶 Catalase	+
棉籽糖 Raffinose	+	硫化氢产生 Sulfuretted hydrogen	-
甘露糖 Mannose	+	V.P 试验 V.P test	+
麦芽糖 Maltose	+	M.R 试验 M.R test	-
山梨醇 Sorbitol	-	硝酸盐还原 Nitrate reduction	-
木糖 Xylose	+	产生吲哚 Indole	-
氨基酸脱羧酶 Aromatic amino acid decarboxylase	+	明胶液化 Gelatin liquefaction	+

注: + : 阳性反应; - : 阴性反应。

Note: + : positive reaction; - : negative reaction.

rDNA 的序列长度为 1428 bp, 将菌株 G1 的 16S rDNA 序列递交 GenBank 中 BLAST 进行比对, 选取同源性不低于 99% 的序列, 利用 MEGA 软件绘制系统发育树(图 5), 结果表明: G1 与类芽孢杆菌属同源性高达 96.6%, 与 *Paenibacillus jamilae* (AJ271157) 亲缘关系最近, 结合生理生化测定的结果, 初步确定 G1 为 *P. jamilae*。

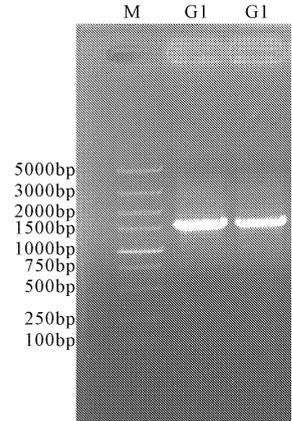


图 4 G1 的 PCR 扩增产物电泳图

Fig. 4 Electrophoretogram of PCR amplification product on G1

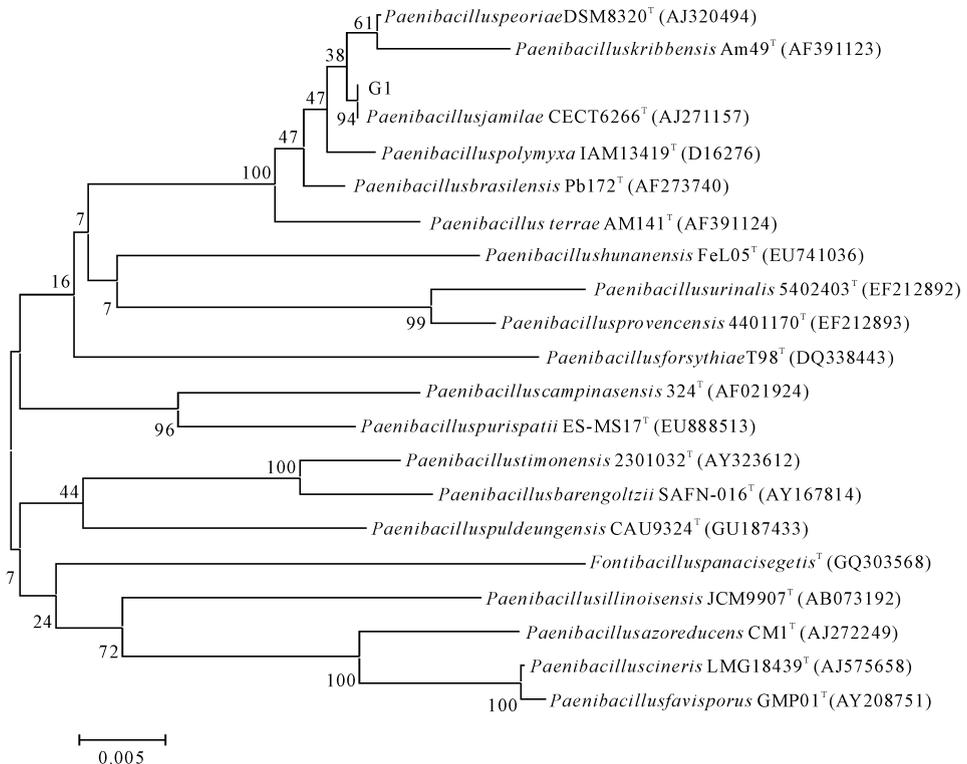


图 5 G1 的 16SrDNA 系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of 16SrDNA region of G1

### 2.3 菌株 G1 生长特征

2.3.1 G1 的生长曲线 由图 6 可见, 在改良 LB 培养基中生防菌 G1 在 2~8 h OD600 急剧增大, 因此 2

~8 h 为生防菌 G1 的对数生长期。培养 8~24 h, 随时间延长, 菌量缓慢增长, 以后趋于稳定, 表明该菌在基础培养基中的最适培养时间为 20 h 左右(图 6)。

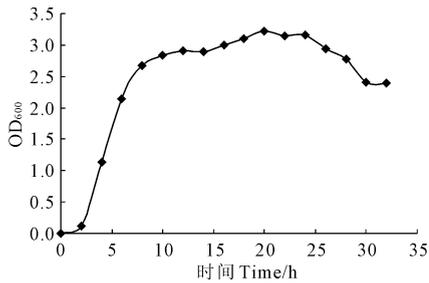


图 6 菌株 G1 生长曲线

Fig.6 Growth curve of strain G1

2.3.2 温度 从图 7 可知,当温度在 20℃ ~ 37℃ 的范围内,G1 的菌量随温度的升高而增加,但以 37℃ 为最适生长,随温度的升高,菌量开始下降,在 55℃ 时几乎停止生长。

2.3.3 碳源和氮源 如图 8 所示,蔗糖为碳源时,

G1 生长最快,以葡萄糖、甘油、麦芽糖、D-半乳糖为碳源时也能良好生长;菌株 G1 在以蛋白胨、酵母粉、牛肉膏、 $\text{KNO}_3$  为氮源时都能良好生长,与其他处理间差异显著。说明 G1 能利用的碳源、氮源比较广泛。

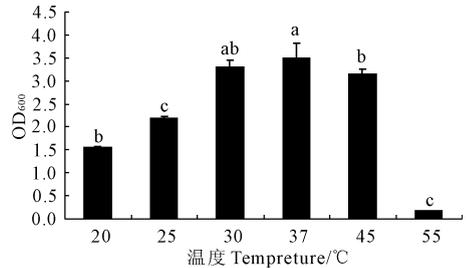


图 7 温度对菌株 G1 生长的影响

Fig.7 Effects of temperature on the growth of strain G1

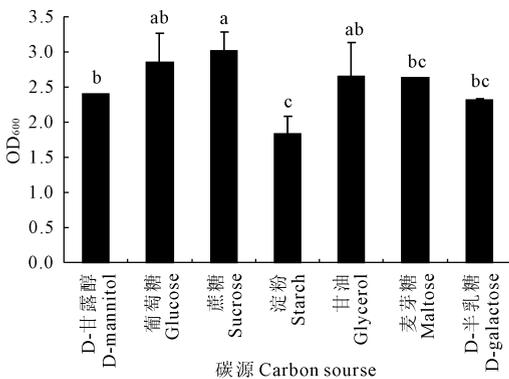
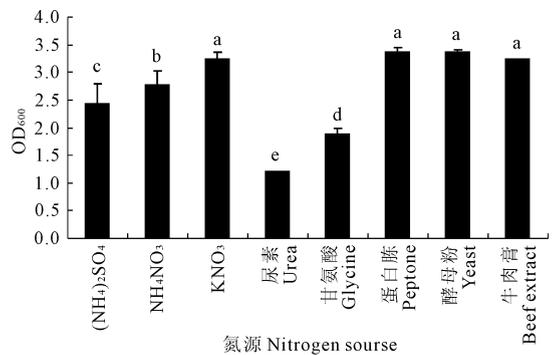


图 8 碳源和氮源对菌株 G1 生长的影响

Fig.8 Effects of nitrogen and carbon sources on the growth of strains G1



2.3.4 pH 和耐盐度 如图 9 所示,菌株 G1 在 pH 5 ~ 9 范围内均能良好生长。pH 为 7 时 G1 生长最好,pH 为 10 时 OD 值明显减小,在 pH 为 4、11、12 时菌株 G1 几乎不生长;盐浓度在 0 ~ 10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,菌量随盐浓度的升高而增加,盐浓度达到 10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

时,G1 生长最好,高于 10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,菌量迅速下降,达到 50  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,几乎停止生长。由此可知,G1 的最适生长 pH 范围为 6 ~ 8,在盐质量浓度 < 50  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时都能生长。

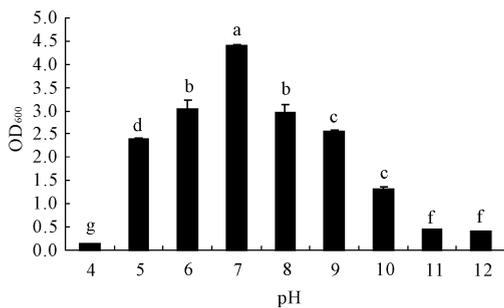
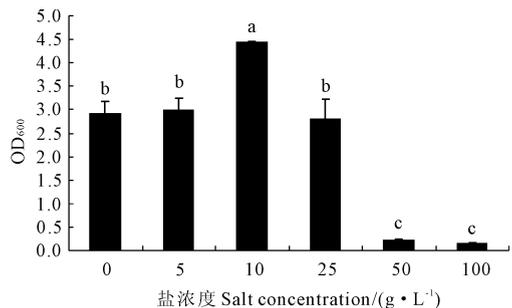


图 9 pH 值和盐浓度对菌株 G1 生长的影响

Fig.9 Effects of pH and salt concentrations on the growth of strains G1



### 3 结论与讨论

由立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 引起的植物病害,是一全球性土传病害,可侵染多种植物,引起植

物苗期的立枯病<sup>[21]</sup>,如禾谷类作物的纹枯病<sup>[22]</sup>,马铃薯的茎溃疡病<sup>[23]</sup>,严重影响作物产量和品质。目前,在我国北方马铃薯主产区由于马铃薯的种植效益日益提高,连作现象普遍,土壤中土传病害病原

菌数量大量累积,严重影响了马铃薯的产量和品质<sup>[24]</sup>。利用生防菌来防治土传病害已被认为是当今最具发展潜力的防治方法之一<sup>[25]</sup>。

类芽孢杆菌能够产生耐热抗逆的芽孢,利于生防菌剂的生产、剂型加工及在环境中存活、定殖与繁殖<sup>[26]</sup>,且可以分泌多种胞外抗菌物质,对多种致病菌有抑制活性,能显著提高作物的抗病性,同时能促进植物生长、提高产量<sup>[27]</sup>。王小慧等<sup>[28]</sup>发现,分离出的 *Paenibacillus jamilae* 菌株 Cy5 对由西瓜专化型尖孢镰刀菌(*Fusariumoxysporum f. sp. niveum*)引起的西瓜枯萎病防治效果显著。梅新兰等<sup>[29]</sup>研究表明,多粘类芽孢杆菌 HL-3 和短小芽孢杆菌 LZ-8 对辣椒疫病有良好的防治作用,防效分别达 83% 和 72%,且对辣椒生长有明显的促进作用。陈倩等<sup>[30]</sup>筛选到 1 株类芽孢杆菌 *Paenibacillus sp.* GD812,该菌株固氮酶活性高,具有很强的固氮作用,且对麦类赤霉病和棉花黄萎病均有抑制作用。但利用拮抗菌防治马铃薯黑痣病却很少有报道。

从拮抗菌与致病菌相同或相近的生境筛选拮抗菌,对病原菌生长的抑制作用可能更强烈。本研究从马铃薯根际土壤中筛选获得 1 株有效抑制马铃薯黑痣病原真菌立枯丝核菌的拮抗菌株 G1,通过平板对峙法,抑菌带宽度达到 6 mm,抑菌圈直径达到 2.5 cm;且使菌丝发生畸形,如缩短、弯曲、顶端膨大。通过形态观察、生理生化特征和 16S rDNA 分子生物学鉴定,菌株 G1 为类芽孢杆菌 *P. jamilae*。通过对类芽孢杆菌 G1 在不同时间、温度、pH、碳源、氮源条件下生长量的研究,确定最适生长条件。结果表明:菌株 G1 最佳生长时间为 8~28 h,最适生长温度为 37℃,最适 pH 为 7,最适盐浓度为 10 g·L<sup>-1</sup>;在温度 4℃~45℃,pH 5~10,盐浓度 0~50 g·L<sup>-1</sup>都可以生长,且碳源、氮源的利用比较广泛。因此,菌株 G1 的生长条件与马铃薯生长的大田环境基本相符,具有作为一株优良生防菌的必要条件。

#### 参考文献:

- [1] Frank J A. Rhizoctonia canker (black scurf) [C]//Hooker W J. Compendium of Potato Diseases. St Paul MN, USA: American Phytopathological Society, 1981:52-54.
- [2] 曹春梅,李文刚,张建平,等.马铃薯黑痣病的研究现状[J].中国马铃薯,2009,23(3):171-173.
- [3] 张笑宇,于肖夏,于卓,等.黑痣病菌毒素诱导马铃薯幼苗体内防御酶活性的变化[J].华北农学报,2012,27(4):153-157.
- [4] 张笑宇,于肖夏,琚亮亮,等.黑痣病菌毒素对马铃薯幼苗生理生化抗性相关物质的诱导[J].植物保护学报,2013,4(1):51-55.
- [5] 陈万利.马铃薯黑痣病的研究进展[J].中国马铃薯,2012,26(1):49-51.
- [6] 刘宝玉,胡俊,蒙美莲,等.马铃薯黑痣病原菌分子鉴定及其生物学特性[J].植物保护学报,2011,(4):379-380.
- [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.
- [8] 蔡惶.防治马铃薯黑痣病[J].植保技术与推广,1996,1(1):45.
- [9] 贾辉,吕和平,沈慧敏,等.不同杀菌剂对立枯丝核菌的室内毒力测定[J].甘肃农业大学学报,2007,(6):99-101.
- [10] Bakali A M, Martin M P. Black scurf of potato[J]. Mycologist, 2006,20:130-132.
- [11] 徐福祥.高寒阴湿区马铃薯黑痣病的发生与防控[J].中国蔬菜,2013,(1):32-33.
- [12] 梁建根,施跃峰,竺利红,等.植物病害生物防治的研究现状[J].植物保护,2008,(18):53-57.
- [13] Akila R, Rajendran L, Harish S, et al. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusariumoxysporum f. sp. cubense* (FOC) causing *Fusarium wilt* in banana[J]. Biological Control,2011,57:175-183.
- [14] Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, et al. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators[J]. Soil Biology and Biochemistry,2007,39(1):1-23.
- [15] Lemessa F, Zeller W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstoniasolanacearum* in Ethiopia[J]. Biological Control, 2007,42(3):336-344.
- [16] Brewer M T, Larkin R P. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato[J]. Crop Protection, 2005,24:939-950.
- [17] Gloria B, Daniel U, et al. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in native potato (*Solanumhureja*) plants using native *Pseudomonas fluorescens* [J]. Actabioi Colomb, 2007,20(1):19-32.
- [18] 彭振红.马铃薯黑痣病生防菌的筛选及抑菌机理的初步研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2012.
- [19] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1999.
- [20] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001.
- [21] 黄新琦,雍晓雨,沈其荣,等.土传黄瓜立枯病高效拮抗菌的筛选鉴定及其生物效应[J].植物保护学报,2012,39(2):45-50.
- [22] 肖勇,刘明伟,李刚,等.四川省水稻立枯丝核菌的遗传分化与致病力[J].中国水稻科学,2008,22(1):87-92.
- [23] 李乾坤,孙顺娜,李敏权.马铃薯立枯丝核菌病的研究[J].马铃薯杂志,1988,2(2):79-84.
- [24] 孟品品,刘星,邱慧珍,等.连作马铃薯根际土壤真菌种群结构及其生物效应[J].应用生态学报,2012,23(12):3079-3086.
- [25] 丁传雨,张国漪,沈其荣,等.马铃薯青枯病高效拮抗菌的筛选、鉴定及其生物效应[J].南京农业大学学报,2013,36(4):68-76.
- [26] 陈中义,张杰,黄大盼.植物病害生防芽孢杆菌抗菌机制与遗传改良研究[J].植物病理学报,2003,33(2):99-103.
- [27] 王曦.爱媛类芽孢杆菌南京分离株的鉴定及其体内外的抑菌活性[D].南京:南京农业大学,2009.
- [28] 王小慧,张国漪,冉炜,等.拮抗菌强化的生物有机肥对西瓜枯萎病的防治作用[J].植物营养与肥料学报,2013,19(1):223-231.
- [29] 梅新兰,赵青云,徐阳春,等.辣椒疫病拮抗菌株筛选、鉴定及其防效[J].应用生态学报,2010,21(10):2652-2658.
- [30] 陈倩,高森,胡海燕,等.一株拮抗病原真菌的固氮菌 *Paenibacillus sp.* GD812[J].中国农业科学,2011,44(16):3343-3350.