

# 稻瘟病菌拮抗细菌的筛选及其防效作用研究

韩雨桐, 刘 焱, 张淋淋, 张俊华\*

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:**从黑龙江省 16 个市县采集水稻根系土壤, 利用平板划线分离获得 579 株细菌。通过平板对峙法进行抑菌试验, 筛选获得一株拮抗细菌 Sc2。该菌株对稻瘟病菌抑菌率达 73.44%。经形态、生理生化特性和 16S rDNA 序列分析, Sc2 被初步鉴定为枯草芽胞杆菌。Sc2 无菌发酵上清液对稻瘟病菌菌丝生长和分生孢子萌发均有显著的抑制作用。随着稀释倍数的增加, 抑制效果逐渐下降, 其中将浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的无菌发酵上清液稀释至 40 倍时, 对稻瘟病菌分生孢子萌发的 24 h 抑制率及菌丝生长的 7 d 抑制率仍达 60% 以上。室内盆栽试验结果表明, Sc2 对稻瘟病的防治作用主要在预防, Sc2 与三环唑按 1:2 混配, 防治稻瘟病的防效达 90.33%。

**关键词:**水稻稻瘟病; 枯草芽胞杆菌; 三环唑; 生物防治; 协同防治

中图分类号: S432.4<sup>+</sup>

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)03-

## Screening and Evaluation of Antagonistic Bacteria against Rice Blast

HAN Yutong, LIU Ye, ZHANG Linlin, ZHANG Junhua\*

(College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** 579 bacteria strains were isolated from rice rhizosphere soil in 16 counties of Heilongjiang Province by way of streak plate method. A strain of Sc2 was finally selected to have strong inhibitory activity against *Magnaporthe oryzae* with the inhibition rate of 73.44% by plate confrontation method screening. Combined with its colony morphology, biochemical characteristics and 16s rDNA sequence analysis, the strain Sc2 was confirmed to be *Bacillus subtilis*. The Sc2 had strong inhibitory activity against the hypha growth and spore germination of *M. oryzae*. With the increase of dilution ratio, inhibitory activity was gradually decline. The inhibition rate of spore germination after 24 h and hypha growth on 7 d was more than 60% with 40 times diluent of  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL fermentation liquid. Results of indoor pot experiment showed that the Sc2 prevention was mainly in the prevention of rice blast. Preventive efficacy was 90.33% when Sc2 was mixed with tricyclazole by 1:2.

**Key words:** Rice blast; *Bacillus subtilis*; Tricyclazole; Biological control; Collaborative control

稻瘟病是由稻瘟病菌 (*Magnetograph oryzae*) 引起的真菌病害, 其具有传播迅速、流行性强、病害危害严重等特点, 使其在世界范围内广泛分布, 严重影响水稻的生产和品质<sup>[1]</sup>。选育抗病品种和施用化学农药一直是稻瘟病防治的主要措施。虽然化学防治以其经济、方便、高效、迅速的优点, 成为稻瘟病综合治理中最主要的方法, 但长期施用化学药剂不仅使病原菌产生抗药性及耐药性, 而且化学药剂的残留还会损害生态环境、

威胁人畜的健康<sup>[2-3]</sup>。生物制剂因其在使用中无残留, 不会产生抗药性, 多组分、多位点共同作用于病原菌, 符合绿色农业发展需要越来越受到国内外的重视。目前国内外已报道的稻瘟病拮抗细菌主要为芽胞杆菌和假单胞菌, 虽然部分研究已较深入, 但从整体上看还存在一些问题, 如防效不稳定、生产和使用技术不完善等, 因此筛选高效且有潜力的生防细菌, 通过与低毒农药混配, 替代部分化学农药的生物防治技术成为解决上述问题的新思路<sup>[4-6]</sup>。

本研究从水稻根系土壤中筛选出一株对稻瘟病菌具有明显抑制活性的细菌, 命名为 Sc2, 通过形态、生理生化特性和分子生物学鉴定, 初步将其确定为枯草芽胞杆菌, 并测定了 Sc2 发酵上清液对水稻稻瘟病菌丝生长和分生孢子萌发的影

收稿日期: 2016-01-05

基金项目: 哈尔滨市应用技术研究与开发项目 (2014AB6BN036)

作者简介: 韩雨桐 (1990-), 女, 在读硕士, 主要从事寄主与病原物互作研究。

通讯作者: 张俊华, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: podozjh@163.com

响,以及其与三环唑混合施用对室内盆栽水稻稻瘟病菌的防治效果。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

水稻根系土壤样本是从黑龙江省 16 个市县(尚志、庆安、密山、宁安、桦南、五常、鸡西、富锦、海林、富裕、杜蒙、牡丹江、依安、方正、饶河、852 农场)采集的水稻根系土壤样本;供试水稻品种为东农 427(中感苗瘟,由东北农业大学水稻研究所提供);供试水稻稻瘟病菌由东北农业大学植物病理课题组提供。

稻瘟病菌分生孢子悬浮液制备:采用穆常青<sup>[7]</sup>燕麦培养基方法。将接种于 PDA 平板中、28℃ 恒温培养 5 d 的稻瘟病菌中加入 5 mL 无菌水,刮下菌丝,配成菌丝悬浮液。取 100 μL 涂于燕麦片培养基上,28℃ 培养 7 d,刮掉菌丝体,20℃ 光照诱导产孢培养 2 d。再用无菌水洗刷分生孢子,无菌纱布过滤至无菌锥形瓶中。显微镜下用血球计数板配制浓度为  $2 \times 10^5$  个/mL 的孢子悬浮液。

### 1.2 拮抗细菌的分离与筛选

拮抗细菌的分离:采用平板稀释法<sup>[8]</sup>。细菌分离物在 NA 平板上于 28℃ 倒置培养 2~3 d 后,挑取形状、颜色不同的单菌落纯化,标号并保存于 NA 试管中。放置于 28℃ 恒温箱中培养 7 d 后,放置于 4℃ 恒温箱中保存、备用。

拮抗细菌的发酵:将拮抗细菌接种到装有 50 mL 的 NB 培养液(250 mL 锥形瓶)中,140 r/min、28℃ 摇床培养 2 d,用 NB 培养液配制成浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的菌悬液备用。

拮抗细菌的初筛:采用平板对峙法<sup>[9]</sup>,用 7 mm 打孔器将 PDA 培养基上生长 7 d 的稻瘟病菌打成菌饼,放置在 PDA 中央,两侧等距离(3 cm)接种 10 μL 浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的待筛选菌株的发酵液。28℃ 恒温培养 5 d 后观察,根据各筛选菌产生的抑菌带的宽度来确定拮抗程度,选取拮抗效果良好的菌株,每处理重复 3 次。

拮抗细菌的复筛:采用打孔法<sup>[10]</sup>,在 PDA 平板中央接入直径 7 mm 稻瘟病菌饼,28℃ 培养 3 d 后,在与距病原菌中心 3 cm 处对称的 3 点用直径 7 mm 打孔器打孔,打入 10 μL 浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的细菌发酵液为对照,置于 28℃ 恒温箱内培养,每处理重复 3 次,待对照病原菌长满平板时,选取拮抗效果显著的测量抑菌圈直径,根据下列公式计算抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{处理抑菌圈直径}}{\text{对照病原菌生长直径}/2} \times 100\%^{[11]}$$

### 1.3 拮抗细菌的鉴定

菌株生理生化特征鉴定主要参照《伯杰细菌鉴定手册》和《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[12-13]</sup>。DNA 提取和 PCR 扩增参照 Kim 等的方法<sup>[14]</sup>。16S rDNA 扩增采用通用引物 27F(5'-AGAGTTTATCTGCC G-3')和 1492R(5'-GGTTACCTTGTACGATT-3'),扩增程序为 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 45 sec; 55℃ 45 sec; 72℃ 1 min,共 30 个循环; 72℃ 10 min。引物合成与测序由上海生工生物工程有限公司完成,测序结果与 GeneBank 数据库中已报道的序列进行同源性比对。并用 MEGA6.06 软件建立系统发育树。

### 1.4 拮抗细菌发酵上清液对稻瘟病菌菌丝生长的抑制作用

采用生长速率法进行测定<sup>[15-16]</sup>,将 1.2 中所配置的浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的拮抗细菌发酵液 5 000 r/min 离心 10 min,去除菌体和残渣,将上清液采用 0.22 μm 孔径的细菌过滤器过滤,得到无菌滤液。用 40~50℃ 的 PDA 将无菌滤液分别稀释 1、10、40、80、100、200 倍,混合摇匀后倒板,以灭菌蒸馏水代替无菌发酵液为对照,平板中央接入直径 7 mm 稻瘟病菌饼,28℃ 培养,每处理重复 3 次,分别在 3、5、7 d,测量菌落直径,根据下列公式计算抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径})}{\text{对照组菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%^{[14]}$$

### 1.5 拮抗细菌发酵上清液对稻瘟病菌分生孢子萌发的影响

参照王星云等<sup>[5]</sup>的方法,分别将 1.4 中过滤后所得的无菌发酵上清液用 NB 培养液稀释 1、10、20、40、80、100、200 倍。按照 1.1 中的方法配制浓度为  $2 \times 10^5$  个/mL 的稻瘟病菌孢子悬浮液,取稀释后的上清液 200 μL 与稻瘟病菌孢子悬浮液等体积混合,以 NB 培养液代替无菌发酵液为对照,于 1.5 mL 的 EP 管中,28℃ 下培养,分别在 4 h、8 h、12 h、24 h 统计孢子萌发率,每处理重复 3 次,每次统计 100 个孢子。再按下式计算出各处理的孢子萌发抑制率。

萌发抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照组孢子萌发率} - \text{处理组孢子萌发率}}{\text{对照组孢子萌发率}} \times 100\%^{[17-18]}$$

### 1.6 拮抗细菌与三环唑混配对稻瘟病的防治效果

拮抗细菌与三环唑相容性测定:采用滤纸片法<sup>[19]</sup>。三环唑的浓度分别为100、500、1 000、2 000、3 000、4 000、5 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分别吸取各浓度的三环唑药液100  $\mu\text{L}$ 与50 mL NA培养基混匀制备含药平板,距中心3 cm对峙3点放入滤纸片,滴加10  $\mu\text{L}$ 拮抗细菌发酵液,设不含药液培养基为对照,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养2 d后记录菌落大小。

拮抗细菌发酵液与三环唑协同防效的测定:采用盆栽法<sup>[20]</sup>,稻瘟病菌孢子悬浮液的接种,以及拮抗细菌发酵液与三环唑混配制剂的施用均采用叶面喷雾法,试验时期为水稻的3叶期。治疗作用防效测定时先将稻瘟病菌孢子悬浮液( $2 \times 10^5$ 个/mL,孢子萌发率95%以上)均匀喷施于水稻叶面24 h后,喷施拮抗细菌发酵液和三环唑混合液,三环唑与拮抗细菌发酵液的混配比例设置为1:0、1:1、1:2、2:1、0:1,其中三环唑的浓度为2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;发酵液的浓度为 $1.8 \times 10^8$  cfu/mL。以喷施清水为对照。预防作用防效测定时,先将拮抗细菌发酵液与三环唑混配制剂喷施于水稻上,24 h后接种稻瘟病菌孢子悬浮液。每处理3次重复,每重复1盆,每盆10株水稻,每株水稻苗喷施20 mL拮抗细菌发酵液和三环唑混合液,保湿培养5~7 d,统计每个处理的发病情况。

稻瘟病苗瘟分级标准参照国家技术监督局GB/T分级标准<sup>[7,11,21]</sup>,以株为单位进行统计:0级,无病斑;1级,病斑5个以下;2级,病斑5~10个;3级,全株发病或部分叶片枯死。记录数据并计算防治效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 拮抗细菌的分离与筛选

本试验从黑龙江省16个市县的水稻田中采集根系土样,从中共分离出细菌579株,通过以稻瘟病菌为指示菌进行初筛和复筛,筛选出一株抑

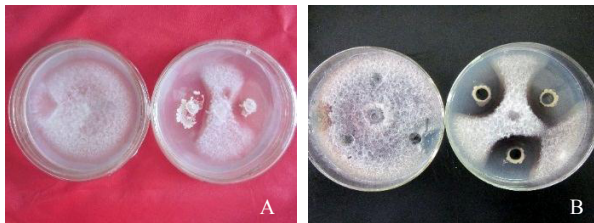


图1 菌株Sc2对水稻稻瘟病菌的抑菌效果

A: 平板对峙法; B: 打孔法

菌直径为33.05 mm且抑菌效果稳定的菌株,命名为Sc2(图1)。

在培养3 d的稻瘟病菌平板上,采用打孔法接种Sc2后,菌落生长明显受到抑制,选取抑菌带边

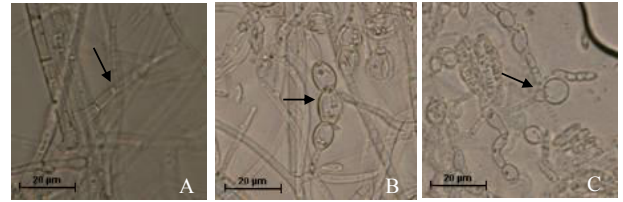


图2 Sc2菌株对稻瘟病菌丝的抑制作用

A: 正常菌丝; B~C: 受抑制的菌丝

缘的菌丝,显微镜下观察,可观察到芽管畸形,扭曲,蜷缩,肿大,不能正常形成附着胞(图2)。

### 2.2 拮抗细菌的鉴定

菌株Sc2在NA平板中菌落圆形或近圆形,边缘锯齿状,乳白色,表面褶皱状突起,不透明,不产生色素,菌体杆状,革兰氏染色呈阳性,厌氧生长,接触酶试验、葡萄糖氧化试验、淀粉水解试验、柠檬酸盐利用试验、M-R试验、V-P试验、明胶液化试验以及硝酸盐还原酶试验均为阳性,且NaCl含量为5%和7%时菌株生长良好,初步推断该菌株为芽胞杆菌。PCR产物的琼脂糖凝胶电泳检测结果如图3所示,其PCR扩增产物测序结果显示其长度为1 483 bp。与GenBank上已有数据进行Blast比对,比对结果表明,Sc2与*Bacillus subtilis*菌株DSM 3258 (GenBank Accession No. DQ452509.1)的同源性为100%。然后利用MEGA6.06软件构建系统发育树,如图4所示,Sc2与*Bacillus subtilis*菌株DSM 3258(GenBank Accession No. DQ452509.1)处于

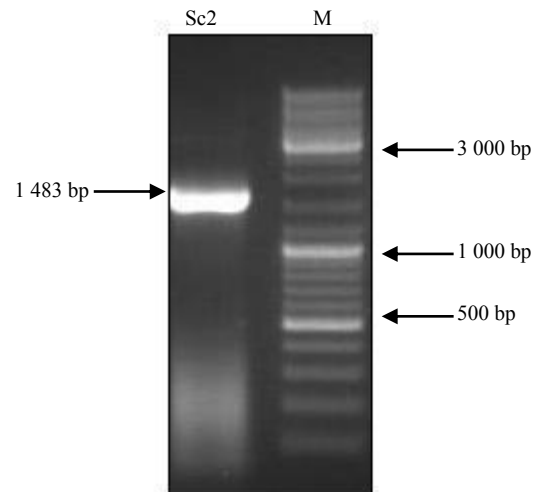


图3 菌株Sc2 16S rDNA PCR扩增结果

M: DNA maker 10 000

同一个分支,进化上的距离最近。综上所述,证明Sc2属于枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)。

### 2.3 拮抗细菌发酵上清液对稻瘟病菌分生孢子

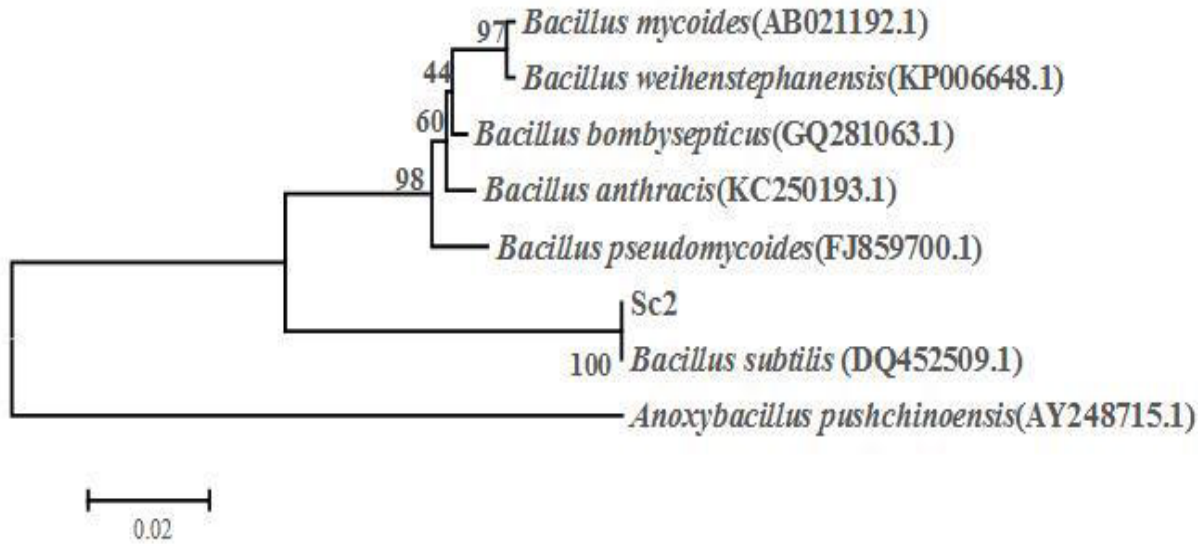


图4 菌株Sc2基于16S rDNA序列的系统发育树

### 萌发的影响

将浓度为  $1.8 \times 10^8$  cfu/mL 的 Sc2 无菌发酵上清液稀释至 1、10、20 倍时,对稻瘟病菌分生孢子的萌发抑制率均为 100%,40 倍稀释液 4 h 抑制率为 100%,24 h 抑制率仍在 60% 以上,随着稀释液倍

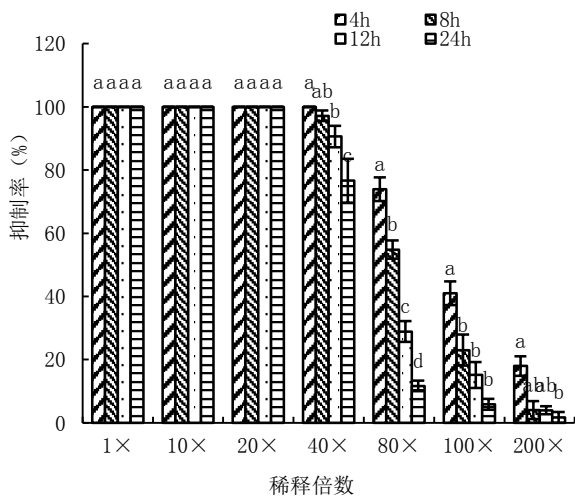


图5 Sc2发酵上清液对稻瘟病菌孢子萌发的影响

数的加大抑制率逐渐下降,200 倍稀释液,24 h 抑制率与对照无显著差异(图5)。

### 2.4 拮抗细菌发酵上清液对稻瘟病菌菌丝生长的影响

Sc2 发酵上清液对稻瘟病菌菌丝生长有显著的抑制作用,原液、10 倍稀释液对稻瘟病菌菌丝生长的抑制率均在 80% 以上,40 倍稀释液 7 d 抑制率仍达 60% 以上,随着稀释倍数增加,菌落直径逐渐增大,对菌丝生长的抑制率逐渐下降(图 6,图 7)。

### 2.5 拮抗细菌与三环唑混配对稻瘟病的防治效果

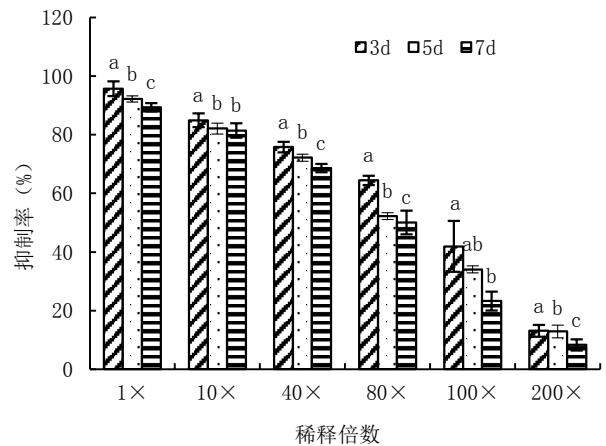


图6 Sc2发酵上清液对稻瘟病菌菌丝生长的影响

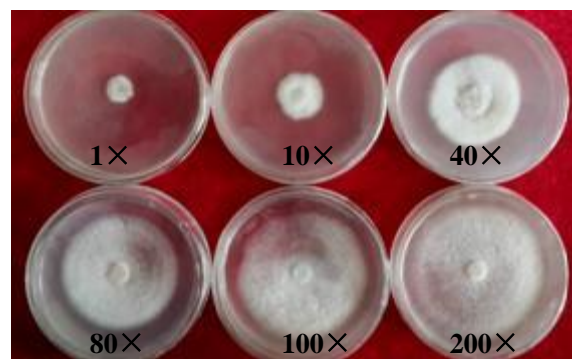


图7 Sc2菌株发酵上清液不同稀释倍数对稻瘟病菌菌丝生长的影响

拮抗细菌 Sc2 在三环唑浓度为  $4\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$  的培养基上基本能够生长,但长势十分弱小,菌落不易观察,三环唑浓度达到  $5\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$  时,Sc2 不能生长。拮抗细菌与三环唑的相容性测定结果表明,拮抗细菌 Sc2 与三环唑有较好的相容性,对三

环唑敏感性较低(表1)。

从表2可见,拮抗细菌Sc2发酵液与三环唑配比施用的预防作用要显著高于治疗作用。预防效果均高于80%,其中Sc2发酵液与三环唑配比为1:2时,预防效果达到90.33%,与三环唑单独施用无显著性差异。在对稻瘟病的治疗作用中,三环唑

单独施用效果最好,治疗效果为71.01%,随着Sc2发酵液配比份额的逐渐加大,其治疗效果逐渐下降,拮抗细菌单独施用治疗效果仅为47.83%,说明拮抗细菌对水稻苗期稻瘟病有显著的预防作用,治疗作用不明显。总体来看,发病前喷施Sc2与三环唑1:2的复配液对水稻稻瘟病苗瘟防治作

表1 Sc2发酵液与不同浓度三环唑相容性测定

菌株	相容性							
	CK	100 $\mu$ g/mL	500 $\mu$ g/mL	1000 $\mu$ g/mL	2000 $\mu$ g/mL	3000 $\mu$ g/mL	4000 $\mu$ g/mL	5000 $\mu$ g/mL
Sc2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-

注:+++ :菌落直径大于滤纸片直径; ++ :菌落直径等于滤纸片直径; + :菌落直径小于滤纸片直径; - :菌体不能生长

表2 Sc2发酵液与三环唑混配对稻瘟病的防治效果

拮抗细菌 与三环唑 配合比例	预防作用						治疗作用					
	分级				病情 指数	预防 效果(%)	分级				病情 指数	治疗 效果(%)
	0	1	2	3			0	1	2	3		
1:0	20	6	4	0	0.15	83.09 D	1	14	13	2	0.48	47.83 D
1:1	20	8	2	0	0.13	85.50 C	7	17	5	1	0.33	64.13 C
1:2	24	4	2	0	0.09	90.33 A	8	19	1	2	0.30	67.39B
2:1	21	7	2	0	0.12	86.71B	5	16	8	1	0.38	57.73 D
0:1	23	5	2	0	0.10	89.13 A	12	13	4	1	0.26	71.01 A
CK	0	0	7	23	0.92	0.00 E	0	0	7	23	0.92	0.00 E

用最好,效果优于其他处理。

### 3 讨论

应用拮抗微生物防治植物病害可以减少化学农药对农业生态环境污染。本研究从水稻根系土壤中筛选出一株对稻瘟病菌有显著抑制效果的细菌Sc2,经鉴定为枯草芽胞杆菌,另外本作者还测试了Sc2对其他7种病原菌的抑菌作用,结果表明Sc2均对其有较强的抑菌活性,表明Sc2具有高效、广谱性,有作为生防制剂的潜能。

目前已有学者筛选出防治水稻稻瘟的拮抗细菌。彰化贤筛选出一株拮抗细菌A-S-1-2可明显抑制水稻稻瘟病孢子萌发,但在抑制菌丝生长上表现不理想<sup>[22]</sup>,而李永刚筛选出一株枯草芽胞杆菌L1主要对菌丝生长进行抑制,对分生孢子萌发影响较小<sup>[23]</sup>。本研究中Sc2次生代谢产物对稻瘟病菌丝生长和孢子萌发均有显著的抑制作用,说明不同的拮抗细菌,甚至同种拮抗细菌的抑菌机制都不尽相同,后续试验应将对受抑制的稻瘟病菌进行电镜观察,进一步明确Sc2次生代谢产物的抑菌机制。

在拮抗细菌的筛选方法上,最常用的方法主

要有平板划线法、抑菌圈法或琼脂块法及纸片法等<sup>[24]</sup>。本试验初筛由于工作量大采取了平板对峙法,相对于其他方法更便捷,节省时间。复筛采用打孔法,此方法对于拮抗细菌进行液体培养,相对于平板划线法等方法,菌体长势较好,抑菌效果更直观、显著。

利用生防菌与低毒农药混配可以有效解决施用农药带来的抗药性与残留问题,而且还弥补了生防菌作用单一,稳定性差等不足。陈志谊等研究筛选出一株枯草芽胞杆菌与戊唑醇混合复配对蚕豆的枯萎病菌有较强的拮抗作用,复配带来的增效可显著提高枯萎病病害的预防和治疗效果<sup>[25]</sup>。常有宏等研究了枯草芽胞杆菌B-916与嘧霉胺复配对梨黑斑病菌的抑菌作用,试验结果表明,其复配比2:1时对病菌的田间防效可达58.26%,显著优于嘧霉胺和B-916单剂<sup>[26]</sup>。但目前对于水稻稻瘟病此方向研究较少,这也是本试验创新点之一。Sc2发酵液与三环唑有较好的相容性,室内盆栽结果表明,1:2混配后对苗期稻瘟病有显著的预防作用。但此研究结果的应用前景还需在后续的田间试验中加以验证。

参考文献:

- [ 1 ] Zhang Q F. Strategies for developing green super rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(42): 16402-16409.
- [ 2 ] 张传清,周明国,朱国念. 稻瘟病化学防治药剂的历史沿革与研究现状[J]. 农药学报, 2009, 11(1): 72-80.
- [ 3 ] Shan H Y, Zhao M M, Chen D X, et al. Biocontrol of rice blast by the phenaminomethylacetic acid producer of *Bacillus methylotrophicus* strain BC79 [J]. Crop Protection, 2013(44): 29-37.
- [ 4 ] 金鑫. 稻瘟病生防菌 A1、A4 的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [ 5 ] 王星云,宋卡魏,张荣意. 枯草芽孢杆菌 B68 拮抗物质对香蕉冠腐病菌的抑菌作用及其稳定性测定[J]. 中国生物防治, 2007, 23(4): 391-393.
- [ 6 ] Hughes R K, Dickerson A G. The effect of ethylene on phenylalanine ammonia lyase (PAL) induction by a fungal elicitor in *Phaseolus vulgaris*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1989, 34(4): 361-378.
- [ 7 ] 穆常青,刘雪,陆庆光,等. 枯草芽孢杆菌 B-332 菌株对稻瘟病的防治效果及定殖作用[J]. 植物保护学报, 2007, 34(2): 123-128.
- [ 8 ] 范秀容,李广武,沈萍. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989: 107-112.
- [ 9 ] 方中达. 植病研究方法(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [ 10 ] 冯书亮,王容燕,林开春,等. 拮抗细菌 Bs-208 菌株鉴定及对几种植物病原菌的抑菌测定[J]. 中国生物防治, 2003, 19(4): 171-174.
- [ 11 ] 张芬,刘卹洲,于俊杰,等. 水稻稻瘟病菌拮抗细菌的筛选与鉴定[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(3): 505-509.
- [ 12 ] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 729-733.
- [ 13 ] 东秀株,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 44-65.
- [ 14 ] Kim H J, Lee S C, Hwang B K. *Streptomyces cheonanensis* sp. Nov., a novel streptomycete with antifungal activity[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(2): 471-475.
- [ 15 ] 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.
- [ 16 ] 廖庭,秦健,袁高庆,等. 巨大芽孢杆菌 B196 菌株抑菌物质的分离纯化[J]. 植物保护, 2014, 40(2): 16-21.
- [ 17 ] 肖爱萍,游春平,程亮. 拮抗细菌对稻瘟病的防治作用[J]. 江西植保, 2006, 29(2): 51-54.
- [ 18 ] 赵淑莉,任飞娥,刘金亮,等. 玉米大斑病生防放线菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1228-1236.
- [ 19 ] 田宇,洪芳,胡承,等. 类细菌素产生菌 HF08 的选育及其发酵条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(3): 56-60.
- [ 20 ] 张芬. 水稻稻瘟病和白叶枯病拮抗细菌的筛选及防治作用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [ 21 ] 姜华. 不同水稻品种稻瘟病抗性对比试验[J]. 现代农业科学, 2014, 5(5): 173-174.
- [ 22 ] 彭化贤,刘波微,何忠全,等. 水稻稻瘟病拮抗菌株的分离和筛选[J]. 西南农业学报, 1999, 12(3): 85-88.
- [ 23 ] 李永刚,宋兴舜,马凤鸣,等. 水稻稻瘟病拮抗菌 L1 鉴定及抑菌特性的初步研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(6): 898-902.
- [ 24 ] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis[J]. Nucleic Acids Research, 1991, 19(6): 1349.
- [ 25 ] 陈志谊,任海英,刘永锋,等. 戊唑醇和枯草芽孢杆菌协同作用防治蚕豆枯萎病及增效机理初探[J]. 农药学报, 2002, 4(4): 40-44.
- [ 26 ] 常有宏,刘卹洲,王宏,等. 噻霉胺与枯草芽孢杆菌 B-916 协同防治梨黑斑病[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(2):