

马铃薯早疫病生防细菌 WB-1 的筛选及鉴定

王怡凡¹, 刘巍², 朱其立², 孙敏², 李延锋^{2*}, 朱建强^{1*}

(1. 长江大学农学院, 湖北 荆州 434025; 2. 中化农业(临沂)研发中心有限公司, 山东 临沂 276000)

摘要:为有效防控马铃薯早疫病,从马铃薯早疫病病株根际土壤分离、筛选出有明显拮抗作用的细菌为供试菌株,筛选出一株对靶标病原菌平板抑菌率达到76%的拮抗菌株WB-1,菌落形态呈淡黄色,边缘规则,近圆形,微凸,表面湿润且光滑,不透明,菌体杆状,两端钝圆。经16S rDNA及*gyrB*基因序列分析,其与*Bacillus velezensis*(LC506620.1)及*B. velezensis*(MN365038.1)的同源性分别为71%、95%。经鉴定,菌株WB-1为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)。具有解无机磷、产吲哚乙酸(Indoleacetic acid, IAA)及铁载体的能力。盆栽试验结果表明,菌株WB-1可显著降低马铃薯早疫病的病情指数,相对防效为69.26%。因此,本试验获得的生防菌株WB-1对马铃薯早疫病菌具有较好的抑制效果,可以作为防治马铃薯早疫病害的候选菌株。

关键词:马铃薯早疫病;贝莱斯芽孢杆菌;生防

中图分类号:S435.32

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2024)02-0041-07

Screening and Identification of Potato Early Blight Biocontrol Bacteria WB-1

WANG Yifan¹, LIU Wei², ZHU Qili², SUN Min², LI Yanfeng^{2*}, ZHU Jianqiang^{1*}

(1. School of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025; 2. Linyi Sinochem Agriculture R&D Center Co., Ltd., Linyi 276000, China)

Abstract: Screening and development of bacterial strains with biocontrol effects against early blight of potato, to provide strain resources and basis for effective prevention and control of this disease. Bacteria with obvious antagonistic effects were isolated and screened from the rhizosphere soil of potato early blight diseased plants as the tested strains. As a result, an antagonistic strain WB-1 with an inhibition rate of 76% against the target pathogen was screened out. The colony shape was light yellow, with regular edges, nearly round, slightly convex, moist and smooth, opaque, and rod-shaped. The ends are blunt and rounded. After 16S rDNA and *gyrB* gene sequence analysis, the homology with *Bacillus velezensis* (LC506620.1) and *B. velezensis* (MN365038.1) was 71% and 95%, respectively. After identification, the strain WB-1 is *B. velezensis*. It has the ability to dissolve inorganic phosphorus, produce indoleacetic acid (IAA) and siderophores. The pot experiment results showed that the strain WB-1 can significantly reduce the disease index of potato early blight, with a relative control effect of 69.26%. Therefore, the biocontrol strain WB-1 obtained in this experiment has a good inhibitory effect on potato early blight and can be used as a candidate strain for preventing and controlling potato early blight.

Key words: Potato early blight; *Bacillus velezensis*; Biocontrol

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是我国第四大主粮作物^[1]。随着马铃薯种植面积逐步扩大,加之连作重茬等不合理的种植模式,导致马铃薯病害种类增多^[2]。其中马铃薯早疫病又称夏疫病、

轮纹病,是由茄链格孢菌(*Alternaria solani*)引起的土传、气传多循环流行性病害。茄链格孢菌在自然界寄主种类多,分布广泛,对环境的适应能力强。病原菌可通过种子、水流、土壤以及病残体等多种途径进行传播,可侵染多种农作物,如番茄、辣椒、茄子、芥属等^[3]。此病害已成为马铃薯第二大真菌病害。马铃薯早疫病发生,田间大片枯黄,严重的叶片干枯脱落,导致产量损失严重、品质明显降低^[4]。目前,关于马铃薯早疫病的防治,常见的方法主要有改善农业栽培管理措

收稿日期:2023-05-18

基金项目:中化农业重点研发项目(072018017F)

作者简介:王怡凡(1996-),女,在读硕士,研究方向为生物防治。

通讯作者:李延锋,男,博士,高级工程师,E-mail: 250478237@qq.com

朱建强,男,博士,教授,E-mail: zyjb@sina.com

施、培育抗病品种、喷洒化学药剂以及生物防治等。但是,这些措施均存在不足之处。其中,化学药剂可以有效防治马铃薯早疫病,但通常是见症施药,极易错过最佳防治时机,并常伴有环境污染及农产品质量安全等一系列问题^[5]。生物防治具有防治效果稳定持久,对靶标病原物有专一性,与环境的兼容性好等特点,逐渐受到植物病害防治领域的关注^[6]。高丽辉^[7]研究表明,木霉菌 T-115D 发酵滤液能够抑制马铃薯早疫病菌丝生长,其发酵原液对马铃薯早疫病的防效达 41.7%。吴颖等^[8]试验结果表明,枯草芽孢杆菌代谢物原液对茄链格孢菌菌丝生长有一定的抑制作用,其抑制率为 55.44%。杨胜清^[9]分离的贝莱斯芽孢杆菌 S6 对番茄早疫病的田间防效达 80.83%,同时拮抗菌株 S6 发酵液的抑菌效果具有广谱性。杨登路等^[10]筛选鉴定到 1 株枯草芽孢杆菌,对马铃薯早疫病具有良好的抗菌活性。研究结果表明,木霉和苏云芽孢杆菌可在一定程度上降低茄链格孢菌对马铃薯植株的侵害,起到提质增产的效果。综合近年来马铃薯早疫病生防菌的相关进展,相关研究还较少,分离鉴定的菌株种类还不是很多,适用于大田生产的资源有限。本研究从马铃薯早疫病病株根际周围采集土样,筛选出对马铃薯早疫病具有高效拮抗作用的菌株,进行鉴定、代谢分泌物测定及盆栽验证,以期丰富防治马铃薯早疫病的菌种资源。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

土样采集:采用五点取样法从内蒙古正蓝旗马铃薯种植区采集早疫病病株根际距离地表 3~10 cm 处的土样,共 10 份。每份土样重 20 g,装入采样袋,编号,4 °C 保存。

培养基包括:PDA 培养基、LB 液体培养基、LB 固体培养基、燕麦琼脂(OMA)培养基、无机磷(PKO)培养基的配制参见文献[11],高压灭菌后备用。Salkowski 显色液的配制参见文献[12]、CAS (Chrome azurol sulphonate)检测液的配制参见文献[13]。

供试病原菌:中化农业(临沂)研发中心有限公司实验室保存的马铃薯早疫病菌(*Alternaria solani*)ZH-Z01(GenBank 登录号为 MW365320)。

细菌的生理生化鉴定:参照《伯杰细菌鉴定手册》^[14]和《常见细菌系统鉴定手册》^[15],革兰氏染色以及糖类分解试验,硝酸盐还原、甲基红、淀粉水

解试验。

细菌的抗生素敏感性:将生防作用强的菌株纯化培养后,分别挑取单菌落,接种至 LB 液体培养基中,30 °C,180 r/min 震荡培养 24 h 后,用无菌移液枪吸取 100 μL 的菌液涂布于 LB 固体平板上,将供试抗生素纸片置于 LB 平板上,倒置培养 24 h 后,依据抑菌圈的大小,分析生防菌株对不同抗生素的敏感性^[16]。供试抗生素包括:四环素,多黏菌素 B、氨苄西林、氯霉素、青霉素 G、庆大霉素、红霉素、卡那霉素、头孢噻吩、万古霉素、环丙沙星、链霉素。

供试马铃薯品种:荷兰 15 号。

供试菌剂:马铃薯专用微生物菌剂,有效活菌数 8 亿 cfu/g,购买于中农绿康(北京)生物技术有限公司。

1.2 马铃薯早疫病拮抗菌株的分离筛选

1.2.1 土壤菌群分离

采用稀释涂布平板法分离土壤菌群,并挑选单菌落进行纯化培养及编号^[17]。

1.2.2 拮抗菌株的筛选

采用平板对峙法,筛选对靶标病原菌有明显拮抗作用的菌株,重复上述步骤,进行复筛。依据抑菌圈直径的大小选出对病原菌具有较好抑制作用的菌株,4 °C 保存备用。

1.3 拮抗菌株的鉴定

1.3.1 形态学观察

对复筛得到的拮抗性较强的菌株在 LB 固体培养基上进行纯化,放置在 30 °C 恒温培养箱中培养,观察菌落表面形态特征。用无菌接种环挑取单个菌落,接种到无菌载玻片上,进行革兰氏染色,并进行显微镜镜检,以判断供试拮抗菌株为革兰氏阳性菌还是革兰氏阴性菌。

1.3.2 分子生物学鉴定

将复筛拮抗性较强的菌株经过纯化后,采用细菌 16S rDNA 序列通用引物 BSF (27f): 5'-AGAGTTTGCCTGGCTCAG-3' 和 BSR(1541r): 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3' 进行扩增。*gyrB*-B 基因片段扩增引物为 *gyrB*-F: 5'-GAAGTCATCAT GACCGTCTGCAYGCNGGNGNAARTTYGA-3' 和 *gyrB*-R: 5'-AGCAGGCTACGGATGTGCGAGCCRTC AACRTCNGCRTCNGTCAT-3'。PCR 扩增产物委托北京擎科生物科技有限公司青岛分公司进行测序。根据测序结果,通过 NCBI-Blast 序列比对,选取结果中同源性高的菌株序列与供试拮抗菌株进行比对,使用 MEGA7.0 软件构建系统发育树。

1.3.3 生理生化特性测定

使用细菌微量生化鉴定管对供试菌株的生理生化特性进行测定。参照细菌鉴定使用说明书,用接种针从LB平板上挑取经过纯化的单一菌落,接种于需要进行试验测试的安瓿管中,根据具体要求分别进行操作。与此同时,结合《伯杰细菌鉴定手册》^[14]中有关方法进行测定。

1.3.4 抗生素敏感性测定

将复筛拮抗性较强的拮抗菌株经纯化后,用灭菌接种环挑取单菌落,转接入LB培养液中,30℃,180 r/min 震荡培养24 h,取100 μL涂布于LB平板上,再将抗生素纸片放置于LB平板上,继续培养24 h。根据是否产生透明圈,检测该菌株对不同抗生素的敏感性。

1.4 拮抗菌株代谢分泌物的测定

1.4.1 解无机磷定性测定

用灭菌牙签将供试菌株点接于PKO培养基中,30℃培养48 h,观察菌落周围是否有明显透明圈出现。若有,则说明该菌株具有解磷能力;反之,则不具有解磷能力^[18]。

1.4.2 解无机磷定量测定

将供试菌株接种至LB培养基中,30℃过夜培养,作为种子液。吸取2 mL种子液加入200 mL的PKO液体培养基中,对照组加入等量的无菌水,30℃,180 r/min 培养,每个处理3次重复。分别在第0、1、3、5、7天取样,4 000 r/min,20 min 进行离心,吸取上清液。采用钼蓝比色法测定其有效磷含量^[17]。

1.4.3 吲哚乙酸(Indoleacetic acid, IAA)检测

采用Maor等^[12]方法检测吲哚乙酸。吲哚乙酸含量测定的色谱条件为:流动相60% CH₃OH+40% H₂O, pH≤3,流速0.8 mL/min, UV=254 nm。在上述色谱条件下,将处理好的样品,取等体积的标品与样品溶液,进行HPLC测定。与标品溶液的保留时间做定性比较,保留时间基本相同则表明供试菌株可以产生IAA,峰高法进行定量测定菌株产IAA的含量^[19]。

1.4.4 铁载体(Siderophores)检测

采用Schwyn等^[13]方法检测铁载体。将拮抗菌株用灭菌牙签接种于CAS平板上,然后放置于30℃,恒温培养3 d,观察接种的菌株周围是否有透明圈产生,若有,则说明供试菌株具有产铁载体能力,处理重复3次。

1.5 盆栽试验验证

将在PDA固体培养基上活化培养的早疫病病原菌

打成直径为8 mm的菌饼,接种到OMA固体培养基上,25℃黑暗条件下培养7 d,用无菌水洗下孢子,调整其浓度为2.0×10⁴个/mL,制备孢子悬浮液,备用^[20]。拮抗菌剂WB-1为本实验室自行发酵并干燥制成的固体菌粉,有效活菌数为736亿cfu/g。

盆栽试验共设置3个处理,所有处理均有5次重复,以只接种病原菌ZH-Z01孢子悬浮液为空白对照组(CK),病原菌ZH-Z01与市场菌剂、拮抗菌剂WB-1共同处理分别为F₁、F₂。在马铃薯植株12~16叶期时,先接种早疫病病原菌孢子悬浮液,用移液枪滴加在叶片背部,并用灭菌棉签均匀涂抹,用量为40 μL,每个植株分别滴加4片复叶。72 h后接种对应处理的拮抗菌剂,有效活菌数≥0.5亿cfu/g。接种30 d后统计植株发病率、病情指数及相对防效。

病叶分级标准^[21]:0级:无病斑;1级:病斑面积占整个叶面积5%以下;3级:病斑面积占整个叶面积6%~10%;5级:病斑面积占整个叶面积11%~20%;7级:病斑面积占整个叶面积21%~50%;9级:病斑面积占整个叶面积50%以上。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{该病级值})}{\text{调查总叶数} \times \text{最高病级值}} \times 100$$

$$\text{相对防效} = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\%$$

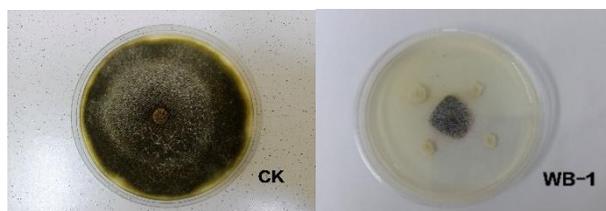
1.6 数据处理与分析

试验中所有数据利用DPS 9.1软件进行统计分析,采用Duncan氏新复极差法进行差异显著性分析,运用MEGA 7.0软件构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 马铃薯早疫病拮抗菌株的分离与筛选

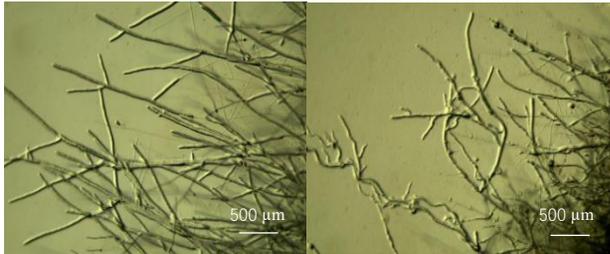
经筛选编号为WB-1的菌株对病原菌ZH-Z01的抑制效果最为明显,抑菌率为76%,见图1。与未接种拮抗菌株WB-1相比(图2),接种拮抗菌株导致病原菌ZH-Z01菌丝畸形、弯曲、分支增多及生长停滞。初步判断拮抗菌株WB-1对病原菌ZH-Z01有抑制作用。



A 对照组

B 拮抗菌株 WB-1

图1 病原菌ZH-Z01与拮抗菌株WB-1平皿对峙图

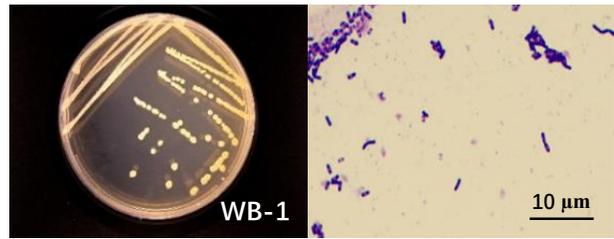


A 病原菌菌丝边缘 (未接种拮抗菌) B 病原菌菌丝边缘 (接种拮抗菌)

图2 ZH-Z01菌丝形态镜检图

2.2 形态学特征及分子生物学鉴定

如图3所示, WB-1菌株菌落形态呈淡黄色, 边缘规则, 近圆形, 微凸, 表面湿润且光滑, 不透明, 菌体杆状, 两端钝圆, 革兰氏染色阳性。将测序获得的拮抗菌株WB-1的基因序列上传至Genbank数据库中, 选取特征相近的基因序列进行BLAST同源性比对分析, 并用MEGA 7.0构建其系统发育树。结果见图4、图5。菌株WB-1的16S rDNA及gyrB基因序列均与芽孢杆菌属的同



A 菌落形态 B 革兰氏染色
图3 菌株WB-1菌落及显微形态观察

源性最高, 故将其归类为芽孢杆菌属。菌株WB-1的16S rDNA基因片段序列长度为979 bp, 与*B. velezensis* (LC506620.1)的基因序列同源性71%, 其gyrB基因片段序列长度为1 205 bp, 与*B. velezensis* (MN365038.1)的基因序列同源性最为接近, 为95%。根据形态学及分子生物学鉴定, 将WB-1鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)。将WB-1的16S rDNA及gyrB序列分别提交至GenBank, 申请获得登录号依次为MW365732、MW884254。

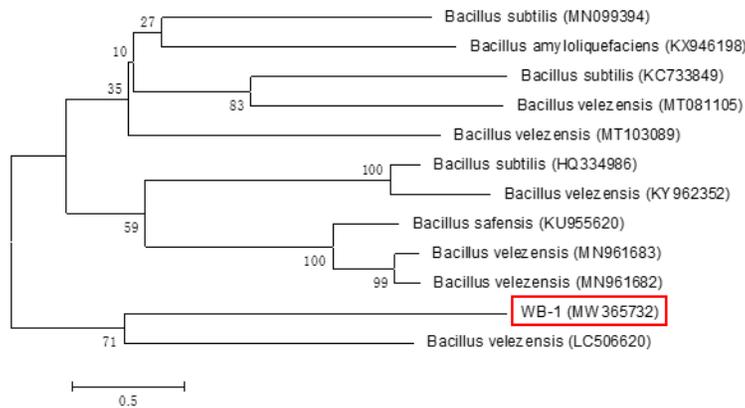


图4 基于16S rDNA基因序列构建的菌株WB-1系统发育树

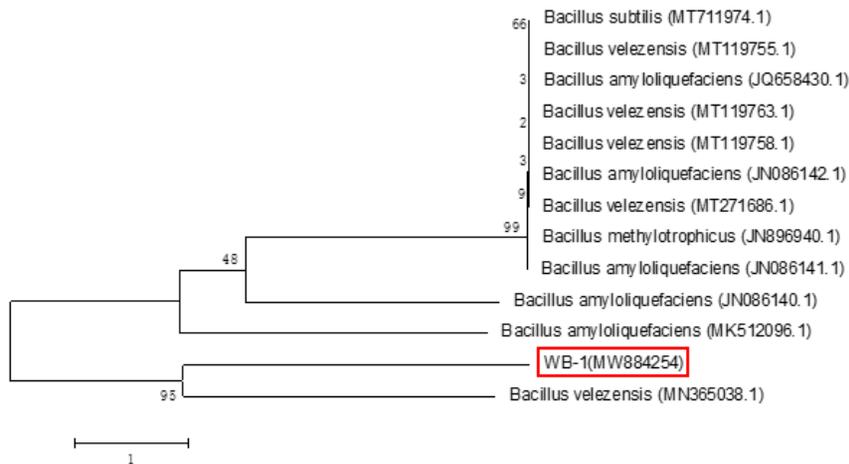


图5 基于gyrB基因序列构建的菌株WB-1系统发育树

2.3 生理生化特性分析

菌株WB-1的生理生化特性详见表1。生理生化试验结果表明,拮抗菌株WB-1为革兰氏阳性菌,甲基红反应为阴性,硝酸盐还原反应为阳性,能够水解淀粉,可利用果糖、葡萄糖、麦芽糖、乳糖、甘露醇、蔗糖、山梨醇、D-阿拉伯糖等多种物质,说明其对碳源的代谢谱较广,有助于在土壤中定殖。

表1 菌株WB-1的生理生化特性

特征	WB-1	特征	WB-1
革兰氏染色	+	蔗糖	+
甲基红	-	山梨醇	+
果糖	+	D-阿拉伯糖	+
葡萄糖	+	硝酸盐还原	+
麦芽糖	+	甘露醇	+
乳糖	+	淀粉水解	+

注:“+”代表反应为阳性,“-”代表反应为阴性

2.4 抗生素敏感性测定

用抗生素纸片对供试菌株WB-1进行敏感性试验,结果见表2,拮抗菌株WB-1对多种抗生素具有较强的抗性。此结果可用于设计拮抗菌株WB-1的选择性培养基。

表2 菌株WB-1的抗生素敏感性

抗生素	WB-1	抗生素	WB-1
四环素	-	红霉素	++
多黏菌素B	-	卡那霉素	++
氨苄西林	-	头孢噻吩	++
氯霉素	-	万古霉素	-
青霉素G	++	环丙沙星	-
庆大霉素	-	链霉素	-

注:“++”代表很敏感,“+”代表敏感,“-”代表具有抗性

2.5 拮抗菌株代谢分泌物的测定

2.5.1 解无机磷定性测定

试验结果如图6所示,WB-1菌落周围出现了溶磷圈,则初步表明其具有解无机磷的能力。

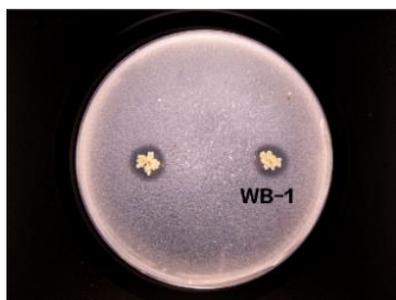
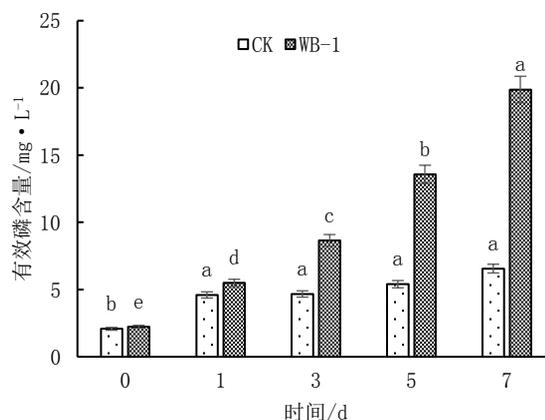


图6 菌株WB-1解无机磷定性测定

2.5.2 解无机磷定量测定

图7为拮抗菌株WB-1解无机磷能力定量测定结果。在第7天的时候WB-1表现出最高的解磷含量为19.87 mg/L,则进一步说明其具有促生能力。



注:小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图7 菌株WB-1解无机磷定量测定

2.5.3 产吲哚乙酸测定

向拮抗菌株WB-1的滤液中加入Salkawski显色液后,颜色逐渐显现为粉红色,如图8所示。并通过HPLC测定吲哚乙酸含量为203 $\mu\text{g/L}$,说明供试拮抗菌株可产生IAA,进一步说明该菌株具有促生能力,可开发为植物促生菌剂。

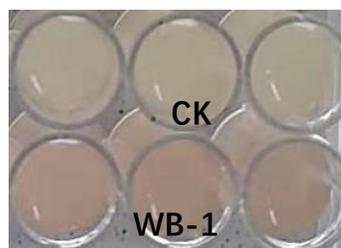


图8 菌株WB-1产吲哚乙酸的测定

2.5.4 产铁载体能力测定

微生物合成的铁载体既与植物病害的生物防治有关,又与促进植物生长有关。试验结果如图9所示,菌落周围出现了透明圈,表明菌株WB-1能产生铁载体,进一步说明供试菌株具有一定的生防和促生能力。

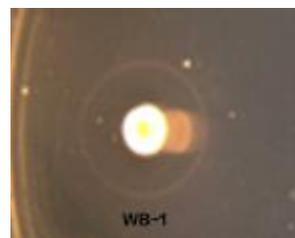


图9 菌株WB-1产铁载体能力测定

2.6 盆栽试验验证拮抗菌株对马铃薯早疫病防控效果

马铃薯盆栽接种拮抗菌株 30 d 之后调查发病情况,计算病情指数及相对防效值,试验结果如表 3 所示。对照组(CK)的病情指数达 83.17, F_1 处理组的病情指数为 61.46, 相对防效为 25.37%, F_2 处理组的病情指数为 25.56, 相对防效为 69.26%, 显著低于 CK 与 F_1 处理组的病情指数。盆栽试验结果再次验证贝莱斯芽孢杆菌 WB-1 对马铃薯早疫病有较好的防控效果,可作为菌种资源。

表 3 盆栽试验验证结果

处理	病情指数	相对防效/%
CK	83.17±0.06a	—
F_1	61.46±0.32b	25.37±1.14c
F_2	25.56±0.04a	69.26±0.07a

注:表中数据为“平均值±标准差”,小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)

3 结论与讨论

在有病原菌或者寄主存在的地块中,采集、分离与筛选拮抗菌株是一种可有效防治农作物病害的重要途径。本研究筛选的拮抗菌株 WB-1,经形态学观察、16S rDNA、*gyrB* 基因序列分析及生理生化检测,鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*),不仅具有产生代谢分泌物的能力,且能够对马铃薯早疫病的防控起到一定的作用。鉴于目前国内外关于马铃薯早疫病生防菌株的相关研究报道还较少,研制和应用的复合菌剂比较有限。本研究中的生防菌株 WB-1 可为马铃薯等茄科农作物早疫病病害的高效防治提供依据。

在用于防治植物病害的生防细菌中,芽孢杆菌属具有抗逆性及定殖能力强、理化性质稳定等特点,应用最为广泛。目前,应用于植物病害防治方面的芽孢杆菌有枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus magisterium*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)等^[22]。Ali 等^[23]指出,芽孢杆菌不仅具有生防作用,还具有解磷、固氮及分泌类植物生长激素等作用,从而促进植物生长。吴凯^[16]从烟草根际土

壤分离的解淀粉芽孢杆菌 SQY162 具有解磷、产铁载体及 IAA 的能力,说明其在促进植物生长方面发挥了作用。本研究筛选出一株编号为 WB-1 的拮抗菌株,对靶标病原物 ZH-Z01 具有明显的抑制效果。经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)。试验结果显示,该菌株对四环素、多黏菌素 B、氨苄西林、氯霉素、链霉素等多种抗生素具有抗性,可用于计算分析拮抗菌株 WB-1 在马铃薯根际土壤中的定殖情况。拮抗菌株 WB-1 具有解无机磷、产 IAA 及铁载体的作用,其解无机磷的量为 19.87 mg/L,产 IAA 量为 203 μ g/L,表明该菌株具有防控植物病害和促进植株生长的潜能,该结果与黄程^[24]和张斌等^[25]的研究一致。盆栽防效试验结果显示,各个处理均有发病情况,施用拮抗菌株 WB-1 后,马铃薯植株的病情指数明显降低,相对防效为 69.26%,表明 WB-1 可作为防治马铃薯早疫病复合功能菌剂的候选菌株。关于拮抗菌株 WB-1 的抑菌机理有待深入研究,并将设置田间试验验证对马铃薯植株的抗病促生能力。由于田间土壤情况复杂,微生物数量及种类较多,外界因素影响较大,可能与室内试验存在一定的差异性。将通过优化菌剂发酵条件、优化菌种等方法,提高菌株的抑菌率,为实现拮抗菌株 WB-1 的大面积推广应用奠定基础。

参考文献:

- [1] 范莎莎,赵冬梅,杨爽,等.6种杀菌剂对马铃薯早疫病菌的室内毒力测定[J].东北农业科学,2021,46(1):75-79.
- [2] 郭振升,崔保伟.高海拔地区钾素营养对马铃薯品质及增产效应的研究[J].吉林农业科学,2013,38(1):15-18.
- [3] 张子君,李海涛,邹庆道,等.不同培养基对番茄早疫病菌丝生长的影响[J].辽宁农业科学,2007(4):17-18.
- [4] 李宝芹,姜铁军,董娟.马铃薯病害的发生及防治[J].现代农业科技,2009(3):129.
- [5] 杨帆,张飞燕,孙劲冲,等.马铃薯真菌病害拮抗菌株鉴定及初步应用[J].中国蔬菜,2019(11):56-62.
- [6] 徐进,朱杰华,杨艳丽,等.中国马铃薯病虫害发生情况与农药使用现状[J].中国农业科学,2019,52(16):2800-2808.
- [7] 高丽辉.木霉菌 T-115D 的发酵液对茄链格孢菌的抑制作用及防病效果研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学,2010.
- [8] 吴颖,侯璐丹,张杰.8种菌株代谢物对茄链格孢菌菌丝生长及孢子萌发的抑制[J].江苏农业学报,2016,32(2):293-298.
- [9] 杨胜清.贝莱斯芽孢杆菌 S6 的鉴定、发酵条件优化及其生防作用研究[D].长春:吉林农业大学,2017.
- [10] 杨登路,雷帮星,康冀川,等.马铃薯早疫病拮抗菌株筛选及其抗菌活性[J].山地农业生物学报,2016,35(1):62-66.

- [11] 刘 诚,张 钲,余梦林,等.多功能菌株假单胞菌的溶磷和解磷效果及其应用[J].湖北大学学报(自然科学版),2018,40(5):457-461,469.
- [12] Maor R, Haskin S, Levi-Kedmi H, et al. In Planta Production of Indole-3-Acetic Acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*[J]. Applied and Environ Microbiol, 2004, 70(3): 1852-1854.
- [13] Schywn B, Nielandts J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 160: 47-56.
- [14] 廖延雄.《伯杰氏鉴定细菌学手册》与《伯杰氏分类细菌学手册》[J].微生物学通报,1992(4):249.
- [15] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:349-387.
- [16] 吴 凯.调控烟草根际拮抗菌数量防控土传烟草青枯病效果及其机理研究[D].南京:南京农业大学,2014.
- [17] 李新宇,李 磊,石延霞,等.黄瓜棒孢叶斑病拮抗细菌的筛选、鉴定及防治效果[J].植物保护学报,2020,47(3):620-627.
- [18] 张文瑞.高效解磷菌筛选及与菌根互作的促生效应[D].杨凌:西北农林科技大学,2023.
- [19] 兰彦平,许雪峰,韩振海.反相高效液相色谱法测定平邑甜茶植株内源ABA、IAA含量[J].生物技术,2000(6):43-45.
- [20] Shahin E A,Shepard JF.An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species[J]. Phytopathology, 1979, 69(6): 618-620.
- [21] 宋 健.方中达与植物病害研究[D].南京:南京农业大学,2017.
- [22] 石莹莹,赵 盼,宋双伟,等.马铃薯疮痂病拮抗菌YN-2-2的分离与鉴定[J].微生物学通报,2020,47(8):2425-2435.
- [23] Ali B, Sabri A N, Ljung K, et al. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L.[J]. Letters in Applied Microbiology, 2009, 48(5): 542-547.
- [24] 黄 程.油茶根际微生物群落结构特征及其解磷菌的解磷效应[D].南昌:南昌大学,2019.
- [25] 张 斌,乔俊卿,梁雪杰,等.番茄枯萎病菌和青枯病菌拮抗细菌的评价[J].植物保护学报,2015,42(3):353-361.

(责任编辑:范杰英)