

引文格式: 敖静, 李杨, 刘晓辉, 等. 一株黄瓜枯萎病拮抗细菌的筛选鉴定及抑菌作用初探[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(3): 429–434. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202109024

# 一株黄瓜枯萎病拮抗细菌的筛选鉴定 及抑菌作用初探\*

敖 静, 李 杨, 刘晓辉, 高晓梅, 孙玉禄  
(辽宁省微生物科学研究院, 辽宁 朝阳 122000)

**摘要:** 【目的】筛选黄瓜枯萎病的高效拮抗细菌并研究其抑菌作用。【方法】采用平板对峙法从设施温室土壤样品中筛选拮抗细菌, 对其中抑菌率最高的菌株进行生理生化试验及 16S rDNA 测序分析; 利用平板倒扣法、凹玻片法以及 HPLC 等方法对其抑菌作用进行初步研究。【结果】共筛选得到 8 株拮抗细菌 (XN-1~XN-8), 其中抑菌率最高的为 XN-3。在 NCBI 数据库的分析比对结果显示: XN-3 与解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 16S rDNA 序列的同源相似性最高 (99%)。XN-3 能产生有抑菌作用的挥发性物质。XN-3 可使病原菌菌丝卷曲, 长度变短, 显微形态出现菌丝膨大、弯曲不均, 分枝菌丝生长受阻, 有厚垣孢子生成; 其胞外物质使病原菌孢子萌发率降低 89.01%。HPLC 色谱图显示: 峰 A-2 中的成分有明显的抑菌作用。【结论】分离得到的拮抗细菌 XN-3 为解淀粉芽孢杆菌, 其对黄瓜枯萎病病原菌具有较强的抑菌作用, 可以通过胞外物质抑制菌丝生长及孢子萌发来实现抑菌。该结果为进一步研究其生防机制奠定了基础。

**关键词:** 黄瓜枯萎病; 解淀粉芽孢杆菌; 鉴定; 高效液相色谱; 抑菌作用

中图分类号: S436.421.13 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X (2022) 03-0429-06

## Screening and Identification of Antagonistic Bacteria against Fusarium Wilt of Cucumber and Preliminary Study on Its Antifungal Effect

AO Jing, LI Yang, LIU Xiaohui, GAO Xiaomei, SUN Yulu  
(Microbial Research Institute of Liaoning Province, Chaoyang 122000, China)

**Abstract:** [Purpose] To screen high effective antagonistic bacteria of cucumber fusarium wilt and to study its antimicrobial activity. [Methods] The antagonistic bacteria were screened from greenhouse soil samples by plate confrontation method, physiological and biochemical tests and 16S rDNA sequencing analysis were performed on the strains with the highest bacteriostatic rate, the antifungal effects were studied by plate inversion method, hollow glass and HPLC. [Results] A total of eight strains of antagonistic bacteria (XN-1-XN-8) were screened, and XN-3 had the highest inhibitory rate. The results of analysis and comparison in NCBI database showed that XN-3 had the highest homology similarity with 16S rDNA sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* (99%). XN-3 could produce volatile compounds which had antifungal effect. XN-3 could make the mycelia curl, shorten their

收稿日期: 2021-09-18

修回日期: 2022-03-11

网络首发日期: 2022-04-26

\*基金项目: 辽宁省农科院院长基金项目 (2020QN2413); 辽宁省农科院土壤微生物生态学科建设项目 (2019DD154522); 辽宁省“兴辽英才计划”项目 (XLYC2002048)。

作者简介: 敖静 (1986—), 女, 辽宁朝阳人, 硕士, 助理研究员, 主要从事土壤微生物生态研究。

E-mail: aojing07@163.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20220425.1037.001.html>



length, and the microscopic morphology of mycelia expand and bend unevenly, the growth of branching mycelia was blocked, and chlamydospore was generated, its extracellular substance reduced the spore germination rate by 89.01%. HPLC chromatogram showed that the components in peak A-2 had obvious antifungal effect. [ **Conclusion** ] The isolated antagonistic bacterium XN-3 was *Bacillus amyloliticus*, which had a strong antifungal effect on *Fusarium oxysporum*. It could inhibit mycelial growth and spore germination by extracellular substances, laying a foundation for further study on its biocontrol mechanism.

**Keywords:** cucumber fusarium wilt; *Bacillus amyloliticus*; identification; high performance liquid chromatography (HPLC); antimicrobial activity

黄瓜枯萎病是由尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 侵染引起的土传真菌病害, 可侵染多种植物寄主, 病菌通过分泌降解酶和菌毒素等侵染作物的维管束系统, 导致作物出现萎蔫和腐烂等症状<sup>[1-2]</sup>, 可引起作物和花卉枯萎病, 严重时造成植株死亡, 从而使作物大量减产, 影响农业发展<sup>[3-5]</sup>。尖孢镰刀菌的菌丝和孢子可存留在土壤或作物种子上越冬, 在土壤和空气中能存活 10 年以上<sup>[6]</sup>。目前, 农业生产中主要通过化学药剂防治尖孢镰刀菌, 如利用唑类、甲酯类和酰胺类等药物对种子进行消毒, 或对作物植株进行灌根等处理以抑制病原菌生长<sup>[7-8]</sup>, 但长期大量施用化学药品不仅会污染作物、土壤和水系, 产生病原菌耐药性的风险, 还会直接影响人类健康<sup>[9-10]</sup>。目前, 生物防治是应用前景广、成本较低且绿色无污染的技术<sup>[11]</sup>。本研究以尖孢镰刀菌黄瓜转化型为研究对象, 通过从设施温室土壤中筛选出高效拮抗菌株并研究其抑菌作用, 旨在为进一步探究拮抗菌的生防作用机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

病原菌: 尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum*) 黄瓜转化型, 由辽宁省微生物科学研究院分离。

### 1.2 拮抗菌的筛选和鉴定

#### 1.2.1 拮抗菌筛选

于辽宁省朝阳市喀左县六官营子乡东前沟村 (N41.16°, E119.68°) 种植黄瓜的设施温室中采集土壤样品, 将其混匀后称取 1.0 g 放至 99 mL 无菌水中, 振荡约 30 min。梯度稀释至  $10^{-5}$  倍, 吸取 100  $\mu$ L 均匀涂布于含病原菌的平皿中, 28  $^{\circ}$ C 培养 24 h, 将能产生抑菌圈的菌株分离纯化, 即得到初筛菌株。利用平板对峙法<sup>[12]</sup>测定抑菌率,

筛选出抑菌率较高的拮抗菌株。抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径 $\times$ 100%。

#### 1.2.2 生理生化鉴定及 16S rDNA 序列比对

采用划线法将所得拮抗菌株接种到 LB 固体培养基<sup>[13]</sup>平皿上, 观察菌落形态及其显微形态, 并进行生理生化试验。16S rDNA 扩增引物序列为: F: 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 R: 5'- CTACGGCTACCTTGTTACGA-3'。反应体系总体积 50.0  $\mu$ L, 包括: 上、下游引物各 1.5  $\mu$ L, 细菌基因组 1.0  $\mu$ L, 10 $\times$ Buffer 5.0  $\mu$ L, *Taq* 聚合酶 1.0  $\mu$ L, dNTP 1.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 39.0  $\mu$ L。反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 5 min; 95  $^{\circ}$ C 30 s, 58  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 90 s, 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 7 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后送至上海派森诺生物技术有限公司完成测序。将 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中的核苷酸序列进行同源性分析, 利用 MEGA 软件进行比对及构建发育进化树。

### 1.3 抑菌作用研究

#### 1.3.1 挥发性物质对病原菌菌丝的影响

采用平皿倒扣法, 一个平皿加入 PDA 培养基, 并于中心接种直径为 5 mm 的尖孢镰刀菌菌块, 另一个平皿加入 LB 固体培养基, 将拮抗菌种混悬液 (调节密度为  $10^8$  CFU/mL) 均匀涂布, 2 个平皿倒扣用封口膜封口, 并用保鲜膜密封, 以空白 LB 固体培养基平皿为对照。28  $^{\circ}$ C 培养, 观察处理组病原菌生长情况, 每个处理重复 3 次<sup>[14]</sup>。

#### 1.3.2 拮抗菌对病原菌菌丝形态的影响

采用平板对峙法, 将直径为 5 mm 的尖孢镰刀菌菌饼接种至 PDA 培养基平皿中心, 在距离中心 2.5 cm 处接种拮抗菌菌块, 挑取靠近拮抗菌一侧的病原菌菌丝, 在显微镜下观察其形态变化。将靠近拮抗菌一侧的病原菌菌丝转接到新的 PDA 培养基上, 28  $^{\circ}$ C 恒温培养, 观察其是否有

再生长能力, 每 24 h 测量菌落直径大小, 以未经对峙处理的病原菌菌丝为对照, 每个处理组设置 3 个重复<sup>[15]</sup>。

1.3.3 胞外物质对病原菌及孢子萌发的影响

将拮抗菌接种到 100 mL LB 液体培养基中, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h 得到种子液; 将种子液按 2% 的比例接到 LB 液体培养基中, 37 ℃、180 r/min 培养 24 h, 低温 5 000 r/min 离心 10 min, 弃去下沉菌体, 再用 0.22 μm 滤膜过滤, 即得到无菌发酵液。将培养 5 d 的病原菌菌丝用去离子水洗脱, 再用 6 层纱布过滤, 10 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 收集孢子, 用去离子水制备孢子混悬液, 调节其密度为 10<sup>6</sup> 个/mL, 备用。

将 1 mL 病原菌孢子混悬液与 10 mL 融化冷却至约 45 ℃ 的 PDA 培养基混合摇匀后倒入平皿中冷却, 采用牛津杯法, 向牛津杯中加入 100 μL 无菌发酵液, 以 LB 液体培养基为空白对照, 将平皿置于 (28±1) ℃ 培养 24 h, 观察是否有抑菌圈出现, 并测量抑菌圈大小, 每个处理设置 3 个重复<sup>[16]</sup>。精确吸取 0.50 mL 孢子混悬液与同体积无菌发酵液混合, 将混合液体滴于凹玻片, 然后放于平皿中, 加盖保湿培养, 恒温箱设置 28 ℃, 分别于 2、4、6、8 和 10 h 检测孢子萌发数, 以无菌水为对照, 每个处理组设置 3 个重复<sup>[17]</sup>。

1.4 HPLC 分析条件

采用 Agilent 1260 高效液相色谱分析仪和 Venusil XBP C18 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 进行 HPLC 分析, 流动相由色谱纯乙腈 (A) 和纯化水 (B) 组成, 梯度洗脱程序见表 1。进样量 20 μL, 流速 1.0 mL/min, 波长 220 nm, 收集各峰成分并进行抑菌试验。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution program

| 时间/min<br>time | 流动相A/%<br>mobile phase A | 流动相B/%<br>mobile phase B |
|----------------|--------------------------|--------------------------|
| 0.01           | 20                       | 80                       |
| 5.00           | 20                       | 80                       |
| 33.00          | 80                       | 20                       |
| 38.00          | 80                       | 20                       |
| 40.00          | 20                       | 80                       |
| 45.00          | 20                       | 80                       |

2 结果与分析

2.1 拮抗菌筛选结果

土壤样品中共分离出细菌菌株 32 株, 其中

有 8 株 (XN-1~XN-8) 对尖孢镰刀菌有抑菌作用。由表 2 可知: XN-3 的抑菌率最高, 为 71.81%, 故选择 XN-3 进行下一步试验。

表 2 菌株 XN-1~XN-8 测定抑菌率结果

Tab. 2 Results of XN-1- XN-8 antibacterial rate

| 编号<br>number | 抑菌率/%<br>antibacterial rate | 编号<br>number | 抑菌率/%<br>antibacterial rate |
|--------------|-----------------------------|--------------|-----------------------------|
| XN-1         | 51.16±0.98 c                | XN-5         | 45.28±0.40 d                |
| XN-2         | 46.15±0.22 d                | XN-6         | 35.77±0.51 e                |
| XN-3         | 71.81±1.14 a                | XN-7         | 55.48±0.74 b                |
| XN-4         | 26.19±0.76 f                | XN-8         | 25.23±1.07 f                |

注: 不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 下同。  
Note: Different letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ); the same as below.

2.2 形态学及生理生化特征

由图 1 可知: XN-3 单菌落呈白色, 近圆形, 表面半干燥, 有隆起褶皱, 显微镜下菌体呈杆状, 产椭圆形芽孢, 革兰氏颜色试验呈阳性。通过生理生化试验结果 (表 3) 并结合《常见细菌

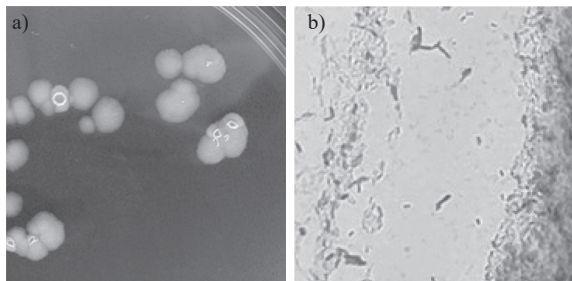


图 1 XN-3 在 LB 培养基 (a) 和光学显微镜下 (b) 的形态特征

Fig. 1 The morphological characteristics of XN-3 in LB medium (a) and light microscope (b)

表 3 细菌 XN-3 生理生化特征

Tab. 3 The physiological and biochemical characteristics of XN-3

| 检测项目<br>test items               | 检测结果<br>detection result | 检测项目<br>test items         | 检测结果<br>detection result |
|----------------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| V-P反应<br>Voges-Prokauer reaction | +                        | 淀粉水解<br>starch hydrolysis  | +                        |
| 柠檬酸盐<br>citrate utilization      | +                        | 蔗糖水解<br>sucrose hydrolysis | +                        |
| 明胶液化<br>hydrolysis of gelatin    | +                        | 脲酶水解<br>urea hydrolysis    | +                        |
| 蔗糖发酵<br>sucrose fermentation     | +                        | 吡唑试验<br>indole test        | -                        |
| 甘露醇发酵<br>mannitol fermentation   | +                        | 接触酶试验<br>catalase test     | +                        |

注: +. 阳性反应; -. 阴性反应。  
Note: +. positive reaction; -. negative reaction.

系统鉴定手册》<sup>[18]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[19]</sup>, 将 XN-3 鉴定为芽孢杆菌属。

### 2.3 分子生物学鉴定

将 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中的核苷酸序列进行同源性分析, 结果显示菌株 XN-3 与解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)

16S rDNA 序列的同源相似性最高, 为 99%。由图 2 可知: 菌株 XN-3 与解淀粉芽孢杆菌位于同一分支, 结合菌体形态特征及生理生化鉴定结果, 可确定 XN-3 为解淀粉芽孢菌, 将其核酸序列上传至 Genebank, 获取登录号为: OK465112。

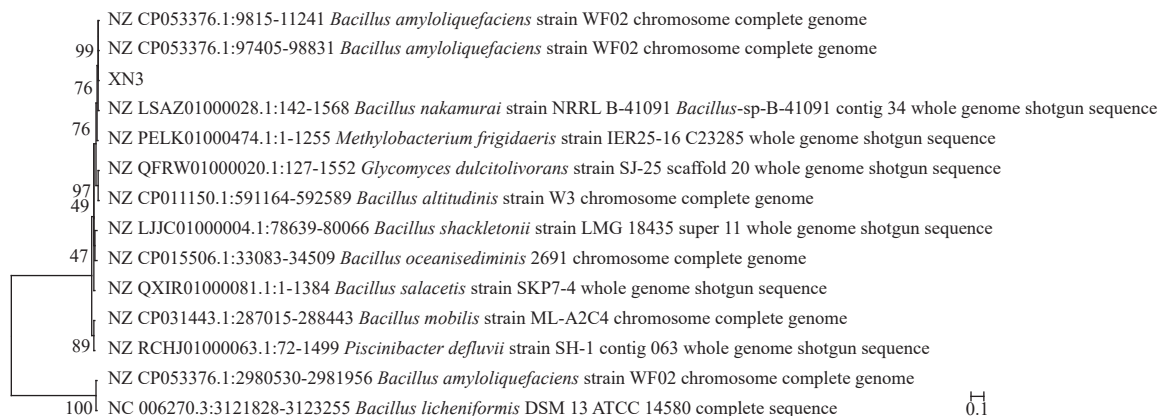


图 2 XN-3 的 16S rDNA 系统发育进化树

Fig. 2 The 16S rDNA phylogenetic evolution tree of XN-3

### 2.4 抑菌作用

#### 2.4.1 挥发性物质对病原菌菌丝的影响

由图 3 可知: 对照组菌丝生长状态较好, 菌丝较长, 且气生菌丝生长旺盛; 处理组菌丝卷曲, 长度变短, 说明 XN-3 能够产生对病原菌菌丝生长有抑制作用的挥发性气体。

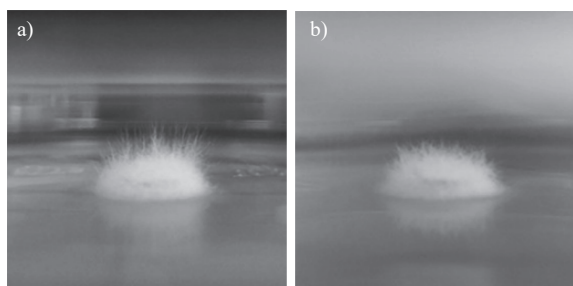


图 3 对照组 (a) 和处理组 (b) 的菌丝形态比较

Fig. 3 Comparison of mycelium morphology of control group (a) and treatment group (b)

#### 2.4.2 拮抗菌对病原菌菌丝的影响

由图 4 可知: 对照组菌丝粗细均匀, 表面光滑, 有弹性, 菌丝内原生质均匀分布, 有少量孢子产生; 处理组菌丝膨大、变弯变短, 粗细不均匀, 菌丝分节现象明显, 顶端出现不规则分支, 分枝菌丝生长受阻, 有厚垣孢子生成。

由图 5 可知: 在 72 h 内, 处理组菌落直径分别为 10.06、21.00 和 35.00 mm, 均小于对照组,

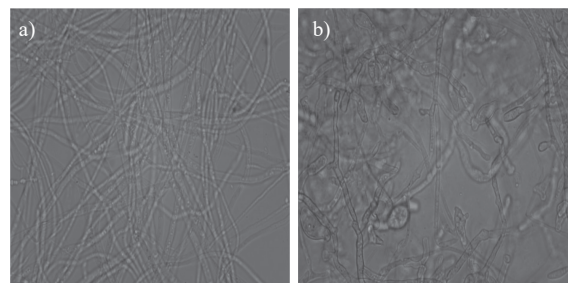


图 4 光学显微镜下对照组 (a) 和处理组 (b) 的菌丝形态比较

Fig. 4 Comparison of mycelium morphology of control group (a) and treatment group (b) under light microscope

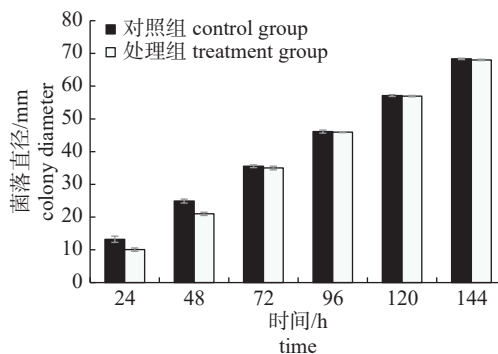


图 5 菌丝生长情况比较

Fig. 5 Comparison of mycelial growth

说明处理组菌丝生长初期受限, 但并未完全失去生长能力; 随着菌丝生长, 96 h 后对照组和处理



菌落直径基本一致。

2.4.3 胞外物质对病原菌及孢子萌发的影响

由表 4 可知: 无菌发酵液可对病原菌产生抑菌作用, 抑菌圈直径为 18.23 mm, 说明 XN-3 胞

外物质对病原菌有抑制作用; 同时, 处理组孢子萌发率明显降低, 对照组孢子完全萌发时, 处理组孢子萌发率仅为 10.23%, 说明 XN-3 无菌发酵液对病原菌孢子萌发有明显的抑制作用。

表 4 XN-3 无菌发酵液对病原菌孢子萌发的影响

Tab. 4 Effect of XN-3 aseptic fermentation broth on spore germination of pathogenic bacteria

| 处理<br>treatments    | 孢子萌发率/% spore germination rate |              |              |              |              | 平均抑菌圈直径/mm<br>antibacterial circle diameter |
|---------------------|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------------------------------------|
|                     | 2 h                            | 4 h          | 6 h          | 8 h          | 10 h         |                                             |
| 对照组 control group   | 12.56±1.06 e                   | 53.23±1.57 d | 87.32±2.49 c | 98.65±0.92 b | 99.26±0.83 a | —                                           |
| 处理组 treatment group | 3.20±0.12 e                    | 5.36±0.14 d  | 7.02±0.54 c  | 8.35±0.15 b  | 10.23±0.47 a | 18.23±0.36 a                                |

注: —, 未产生抑菌圈。  
Note: —, no inhibition zone produced.

2.5 HPLC 分析结果

由图 6 可知: 无菌发酵液共分离出 2 个峰, 保留时间分别为 29.728 (A-1) 和 35.858 min (A-2); 峰面积分别为 116444 和 198887。收集出峰成分进行平板抑菌试验, 结果(图 7)显示: 峰 A-2 中成分有抑菌圈出现, 具有较明显抑菌作用。

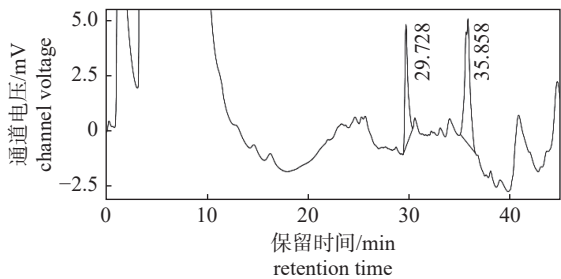


图 6 无菌发酵液 HPLC 色谱图

Fig. 6 HPLC chromatogram of sterile fermentation liquid

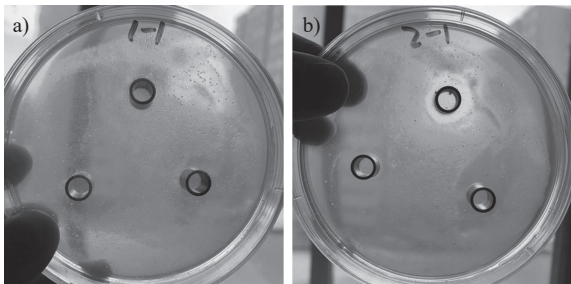


图 7 峰 A-1 (a) 与峰 A-2 (b) 成分的抑菌作用

Fig. 7 Fungicidal activity of the components of peak A-1 (a) and peak A-2 (b)

3 讨论

尖孢镰刀菌是土传病原真菌, 且分布广泛, 在设施农业生产中很难防治, 现已成为植物病理中的第三大土传病原真菌<sup>[6]</sup>, 长期以来, 过度的化学防治已造成严重的环境污染甚至影响人类健

康, 因此, 应用绿色生物防治技术, 筛选尖孢镰刀菌高效拮抗菌株、明显其抑菌成分、探究其作用机理并研究其田间防治效果具有重要的理论和实践意义。本研究以尖孢镰刀菌引起的黄瓜枯萎病为靶标进行高效拮抗菌的筛选, 得到 1 株抑菌率高达 71.81% 的细菌菌株 XN-3, 经鉴定为解淀粉芽孢杆菌, 而解淀粉芽孢杆菌对尖孢镰刀菌具有明显的抑菌作用, 这与张美君等<sup>[20]</sup>的研究结论一致。此外, 解淀粉芽孢杆菌是一种具有广泛抑菌作用的生防菌, 有研究发现其对橡胶树褐根病菌 (*Phellinus noxius*)、橡胶疫霉 (*Phytophthora heveae*)、小孢拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis microspora*) 和尖孢炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) 等多种病原真菌具有较好的抑菌效果<sup>[21]</sup>, 因此, 对 XN-3 的研究具有更广阔的应用价值, 这也是本研究的重要意义所在。

本研究表明: XN-3 能够产生有抑菌作用的挥发性物质。有研究显示: 解淀粉芽孢杆菌能够产生抑制青霉菌的羟基丁酮以及 2-癸酮等 11 种挥发性有机物 (VOCs), 这些有机物都可以有效抑制香蕉枯萎病菌菌丝生长及孢子萌发<sup>[22-23]</sup>。郝象琰等<sup>[24]</sup>利用 GC-MS 研究解淀粉芽孢杆菌 LJ02 产生的挥发性气体对多种果类致病菌的作用, 特别是对黑腐皮壳菌 (*Valsa mali*)、草莓灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 和枣浆胞病菌 (*Alternaria* spp.) 有显著抑制效果, 抑菌率均大于 50%。本研究显示: XN-3 可使病原菌菌丝卷曲, 长度变短, 显微形态出现菌丝膨大和弯曲不均, 分枝菌丝生长受阻, 这些病原菌菌丝形态的变化可能是由于 XN-3 产生的抑菌物质破坏了病原菌菌丝细胞; 利用 HPLC 分析技术, 通过收集分离出的各峰组分, 在峰 A-2 中发现对尖孢镰刀菌具有明显

抑菌作用的成分。权春善等<sup>[25]</sup>和王军华等<sup>[26]</sup>研究发现：解淀粉芽孢杆菌对病原菌菌丝细胞有强烈的破坏作用；ARREBOLA 等<sup>[22]</sup>研究发现：解淀粉芽孢杆菌 PPCB004 对青霉属真菌的菌丝延伸有强烈的抑制作用，能抑制其生长速度；刘超等<sup>[27]</sup>研究发现：解淀粉芽孢杆菌 BA-26 发酵液组分中的抗菌物质对灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*) 孢子萌发抑制作用较强。这些研究均验证了解淀粉芽孢杆菌的广谱抑菌作用，同时也说明解淀粉芽孢杆菌发酵产物中的抑菌成分是可被分离的，为微生物发酵生物农药的研发提供可能性，但在本研究中 XN-3 抑菌物质的含量、种类及具体的抑菌机理尚不明确，有待进一步探索和研究。

本研究筛选出 1 株抑菌率较高的解淀粉芽孢杆菌 XN-3，可为今后植物病害绿色防治提供菌种种质资源，通过对其抑菌作用的初探，为进一步研究生防机制奠定基础，为针对尖孢镰刀菌引发的植物病害研发绿色生物农药提供依据和方向。

#### 4 结论

本研究在设施农业土壤中分离筛选出 8 株黄瓜枯萎病的高效拮抗菌菌株，其中，抑菌率最高的菌株 XN-3 鉴定为解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliti-cus*)。XN-3 能够产生有抑菌作用的挥发性物质，能够抑制病原菌菌丝生长，且胞外物质能够有效地抑制病原菌孢子萌发，其发酵液组分 A-2 中有明显抑菌作用的成分。

#### [参考文献]

- [1] KING B C, WAXMAN K D, NENNI N V, et al. Arsenal of plant cell wall degrading enzymes reflects host preference among plant pathogenic fungi[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2011, 4: 4. DOI: 10.1186/1754-6834-4-4.
- [2] BANI M, RISPAIL N, EVIDENTE A, et al. Identification of the main toxins isolated from *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 and their relation with isolates' pathogenicity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12): 2574. DOI: 10.1021/jf405530g.
- [3] 李敏慧, 苑曼琳, 姜子德, 等. 香蕉枯萎病菌致病机理研究进展[J]. *果树学报*, 2019, 36(6): 803. DOI: 10.13925/j.cnki.gsx.20180523.
- [4] 梁银, 张谷月, 王辰等. 一株拮抗放线菌的鉴定及其对黄瓜枯萎病的生防效应研究[J]. *土壤学报*, 2013, 50(4): 810. DOI: 10.11766/trxb201208010308.
- [5] 蔡文涌, 王肖肖, 方香玲. 不同尖孢镰刀菌菌株对紫花苜蓿幼苗生长的影响[J]. *草地学报*, 2020, 28(5): 1233. DOI: 10.11733/j.issn.1007-0435.2020.05.007.
- [6] 文增叶, 李定华, 代梦瑶, 等. 尖孢镰刀菌全基因组测序及其致病相关基因分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(3): 1106. DOI: 10.13417/j.gab.039.001105.
- [7] 田倍齐, 龚晓丽, 温芸芸, 等. 隆德县大田辣椒枯萎病气象条件分析[J]. *农业科技与信息*, 2020(13): 31. DOI: 10.15979/j.cnki.cn62-1057/s.2020.13.012.
- [8] 王丽波, 崔玥晗, 岳玲, 等. 百合枯萎病的研究进展[J]. *园艺与种苗*, 2018, 38(12): 51. DOI: 10.16530/j.cnki.cn21-1574/s.2018.12.018.
- [9] 何欢, 王占武, 胡栋, 等. 根系分泌物与根际微生物互作研究进展[J]. *河北农业科学*, 2011(3): 70. DOI: 10.16318/j.cnki.hbnykx.2011.03.029.
- [10] 翟争光, 黄松青, 栗广增, 等. 植物根系分泌物研究进展[J]. *江西农业学报*, 2012, 24(12): 28. DOI: 10.19386/j.cnki.jxnyxb.2012.12.009.
- [11] 王敏. 土传黄瓜枯萎病治病生理机制及其与氮素营养关系研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [12] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [13] 杨革. 微生物学实验教程[M]. 4版. 北京: 科学出版社, 2010.
- [14] 祝久香. 黄瓜枯萎病拮抗细菌的筛选、发酵及生防机制研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019.
- [15] 李晓红. 解淀粉芽孢杆菌抑菌作用机理的探究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2016.
- [16] 秦楠. 解淀粉芽孢杆菌HRH317抗菌蛋白鉴定及抑菌机理研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015.
- [17] NY/Y 1156.1—2006. 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂 第1部分: 抑制病原真菌孢子萌发试验 凹玻片法[S].
- [18] 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.
- [19] BUCHANAN R E, GIBBONS N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所, 译. 8版. 北京: 科学出版社, 1984.
- [20] 张美君, 吴庆, 尹翠等. 尖孢镰刀菌专化型枯萎病菌拮抗菌的筛选、鉴定及培养条件优化[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 125. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2020-0578.
- [21] 贺海滨, 苏峻, 冬滕凯, 等. 解淀粉芽孢杆菌研究进展[J]. *现代农业科技*, 2021(2): 101. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5739.2021.02.043.
- [22] ARREBOLA E, JACOBS R, KORSTEN L, et al. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(2): 386. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04438.x.
- [23] 樊丽娟, 郭海, 杨成德, 等. 内生解淀粉芽孢杆菌 262AG6 抑菌物质的初步探究[J]. *西北农业学报*, 2020, 29(6): 912. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2020.06.012.
- [24] 郝象璐, 卢志军, 王婧, 等. 解淀粉芽孢杆菌 LJ02 抑菌气体分析[J]. *天津农学院学报*, 2016, 23(3): 23. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5394.2016.03.006.
- [25] 权春善, 王军华, 徐洪涛, 等. 一株抗真菌解淀粉芽孢杆菌的分离鉴定及其发酵条件的初步研究[J]. *微生物学报*, 2006, 46(1): 7. DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.2006.01.003.
- [26] 王军华, 权春善, 徐洪涛, 等. 解淀粉芽孢杆菌 Q-12 抗真菌特性的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(6): 47. DOI: 10.3321/j.issn.0253-990X.2006.06.013.
- [27] 刘超, 刘宏伟, 汪步清, 等. 解淀粉芽孢杆菌 BA-26 抗菌物质分离及对灰葡萄孢抑菌作用研究[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(7): 83. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2019-0055.

责任编辑: 何馨成