

惠 慧,张学坤,赵建军,等. 北疆早熟棉区棉花黄萎病菌的生物学特性[J]. 江苏农业科学,2017,45(4):66-69.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.04.020

# 北疆早熟棉区棉花黄萎病病菌的生物学特性

惠 慧<sup>1</sup>,张学坤<sup>2</sup>,赵建军<sup>1</sup>,艾尼江<sup>1</sup>

(1. 石河子农业科学研究院棉花研究所,新疆石河子 832000; 2. 新疆农垦科学院植物保护研究所,新疆石河子 832000)

**摘要:**为明确新疆北疆早熟棉区黄萎病病菌的菌落类型及培养特性,于棉花黄萎病发病高峰期采集北疆早熟棉区典型发病地的病株进行分离和鉴定,并测定其生物学特性。结果表明:所有供试菌株均为菌核型;25、20 ℃ 分别为菌丝生长、产孢的最适温度,33 ℃ 时绝大部分菌株仍能缓慢生长,并产生少量孢子;pH 值在 4~9 范围内菌株均可生长,pH 值在 5~7 范围内菌株生长较快;6.25% 的菌株致死温度、时间为 65 ℃、10 min,37.50% 的菌株致死温度、时间为 60 ℃、10 min,56.25% 的菌株致死温度、时间为 55 ℃、10 min。

**关键词:**北疆;早熟棉区;棉花;黄萎病;生物学特性

**中图分类号:**S435.621.2<sup>+</sup>4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)04-0066-04

新疆是我国最大的优质商品棉生产基地,2012 年该地区种植棉花面积为 165 万 hm<sup>2</sup>,棉花产量为 308 万 t,占全国总产量的比例首次超过 50%,已连续 20 年实现棉花面积、单产、总产和调出量全国第一<sup>[1]</sup>。近年来,棉花黄萎病在新疆主要植棉区大范围发生,发病程度中度及中度以上的病田占 48.1%,重病田占 24.1%,严重威胁新疆棉花的可持续发展<sup>[2]</sup>。北疆棉区的黄萎病发生程度较南疆重<sup>[3]</sup>,由于北疆棉区杂交棉品种较少,自 2013 年开始从黄河流域棉区大量引入杂交棉种子,而黄河流域棉区落叶型黄萎病已普遍发生,导致新疆棉花落叶型黄萎病种群明显增加<sup>[4]</sup>。目前,北疆棉区黄萎病发生面积不断扩增、急性枯死型症状明显增加,生长中后期有些棉田甚至绝产,这主要与黄萎病扩展迅速且黄萎病菌易受环境影响产生新的致病类型、土壤中病原菌的逐年累积、强致病力类型菌株增多等有关<sup>[5]</sup>。

针对北疆早熟棉区黄萎病发病日趋严重的情况,本研究有针对性地采集了典型发病地的病株进行分离和鉴定,并测定其生物学性状,了解北疆早熟棉区黄萎病病菌的菌落类型及培养特性,为北疆棉花抗病育种、品种合理布局及病害防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株的分离纯化

2013—2014 年于棉花黄萎病发病高峰期,在北疆第五师、第七师和第八师各选取 5 个典型重病地采集病株,进行病原菌分离、纯化与保存;对照菌株 V991 由南京农业大学提供(表 1)。

收稿日期:2015-12-17

基金项目:国家科技援疆计划(编号:2013AB004);兵团科技攻关与成果转化计划(编号:2015AC002);八师石河子市科技攻关与成果转化计划(编号:2011NY06);石河子农业科学研究院青年科技基金(编号:2013NQKJ01)。

作者简介:惠 慧(1988—),女,陕西渭南人,硕士,助理研究员,主要从事棉花病害研究。E-mail:xihuui101101@126.com。

通信作者:张学坤,硕士,助理研究员,主要从事植病生防与生物农药研究。E-mail:can00012@126.com。

表 1 棉花黄萎病病菌的采集地点及菌落类型

编号	菌株	采集地点或来源	菌落特征	菌落类型
1	V1	第五师-83 团	HyOst/Radial	AVH
2	V2	第五师-86 团	HyDen/Radial	AVH
3	V3	第五师-89 团	HyDen/CWL	AVH
4	V4	第五师-达勒特镇	HyDen/CWL	AVH
5	V5	第五师-90 团	HyDen/CWL	AVH
6	V6	第七师-125 团	HyDen/CWL	AVH
7	V7	第七师-126 团	HyDen/Radial	AVH
8	V8	第七师-127 团	HyDen/Radial	AVH
9	V9	第七师-128 团	HyDen/Radial	AVH
10	V10	第七师-130 团	HyDen/CWL	AVH
11	V11	第八师-121 团	HyOst/CWL	AVH
12	V12	第八师-133 团	HyDen/CWL	AVH
13	V13	第八师-142 团	HyDen/Radial	AVH
14	V14	第八师-147 团	HyDen/Radial	AVH
15	V15	第八师-石河子农业科学院	HyOst/Radial	AVH
16	V991	南京农业大学	HyDen/Radial	AVH

注:AVH 表示菌核型。HyDen 表示菌丝发达致密;HyOst 表示菌丝发达疏松。Radial 表示呈放射状;CWL 表示呈同心轮纹状。

### 1.2 不同温度对菌株生长和产孢的影响

将直径为 5 mm 的菌块接种于 PDA 平板上,分别置于 15、20、25、30、33 ℃ 恒温培养箱中培养,重复 3 次。用十字划线法测量恒温培养第 5、第 10 天的菌落直径;观察记载 25 ℃ 条件下培养第 15 天的菌落形态,然后在每皿中加入 10 mL 无菌水,洗下的孢子液用血球计数板测定其浓度。

### 1.3 不同 pH 值对菌株生长的影响

将直径为 5 mm 的菌块分别接种于 pH 值为 4、5、6、7、8、9 的 PDA 平板上,置于 25 ℃ 恒温培养箱中恒温培养,10 d 后测量其菌落直径,重复 3 次。

### 1.4 菌丝致死温度的测定

将直径为 5 mm 的菌块置于加有 1 mL 无菌水的已灭菌 1.5 mL EP 管中,分别在温度为 45、50、55、60、65、70 ℃ 的水浴锅中处理 10 min,然后将菌块取出置于 PDA 平板上,10 d 后观察其生长情况,重复 3 次。

1.5 数据处理与分析

原始数据用 Excel 进行处理后,采用 SPSS 17.0 进行方差分析,通过 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 棉花黄萎病菌的培养性状观察

在北疆早熟棉区(第五师、第七师、第八师)采集的病株上共分离到 65 个菌株,经镜检鉴定为大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.),然后进行形态学鉴定,在每个师各筛选 5 个菌株作为供试菌株。

供试菌株在 PDA 平板上生长的菌落大多为圆形或椭圆形,少数为不规则形状。15 个供试菌株及对照菌株 V991 均属于菌核型,可产生大量微菌核,其中 9 个菌株(包括 V991)的微菌核呈从内向外交射状,占有菌株的 56.25%;其余 7

个菌株的微菌核呈同心轮纹状,占 43.75%;菌丝致密的菌株(包括 V991)有 13 个,占有菌株的 81.25%;菌丝稀疏的有 3 个,占 18.75%(表 1)。

2.2 不同温度条件对菌株生长速度和产孢量的影响

供试菌株在不同温度条件下,其生长速度存在差异性。

由表 2 可见,供试菌株在 15~30℃条件下均可生长,但在 33℃条件下,V1、V2、V5、V15 等 4 个菌株完全停止生长,其余菌株生长极缓慢。在不同温度条件下供试菌株的产孢量之间差异明显。由表 3 可见,15~30℃条件下各菌株均可产孢,但在 33℃条件下菌株 V2 不产孢,其余菌株均可产孢,但产孢量极少,平均值为 0.5×10<sup>7</sup> 个/mL。25℃条件下,第五师、第七师和第八师菌株的平均生长速度最快(图 1),但在 20℃条件下平均产孢量最多(图 2)。33℃条件下菌株生长速度最慢,产孢量也最少(表 2、表 3)。

表 2 不同温度条件下菌株的生长速度

菌株	生长速度 (cm/d)				
	15℃	20℃	25℃	30℃	33℃
V1	0.103±0.003abcde	0.173±0.003cde	0.170±0.000bc	0.207±0.007efg	0.000±0.000a
V2	0.093±0.003ab	0.180±0.006de	0.190±0.000cd	0.203±0.003fg	0.000±0.000a
V3	0.117±0.003cdefg	0.160±0.015abcde	0.180±0.010bcd	0.110±0.006ab	0.010±0.006ab
V4	0.100±0.006abc	0.137±0.009ab	0.180±0.010bcd	0.183±0.003def	0.087±0.009de
V5	0.103±0.003abcd	0.213±0.007f	0.203±0.007d	0.177±0.012def	0.000±0.000a
V6	0.087±0.003a	0.170±0.010bcde	0.173±0.015bc	0.077±0.003a	0.020±0.006ab
V7	0.130±0.010fg	0.157±0.003abcde	0.143±0.003a	0.180±0.025def	0.023±0.012ab
V8	0.127±0.012efg	0.160±0.010abcde	0.147±0.012a	0.117±0.022bc	0.030±0.012ab
V9	0.123±0.009defg	0.143±0.014abc	0.160±0.006ab	0.100±0.006ab	0.010±0.006ab
V10	0.137±0.003g	0.143±0.022abc	0.180±0.006bcd	0.100±0.006ab	0.023±0.009ab
V11	0.103±0.003abcd	0.167±0.003bcde	0.143±0.009a	0.150±0.006cd	0.043±0.022bc
V12	0.127±0.009efg	0.160±0.006abcde	0.187±0.007cd	0.167±0.020de	0.063±0.007cd
V13	0.133±0.009fg	0.190±0.012ef	0.177±0.003bc	0.173±0.007def	0.030±0.017ab
V14	0.130±0.010fg	0.127±0.009a	0.183±0.007bcd	0.160±0.006d	0.103±0.012e
V15	0.113±0.003bedef	0.147±0.009abcd	0.137±0.009a	0.230±0.017g	0.000±0.000a
V991	0.117±0.003cdefg	0.157±0.009abcde	0.193±0.003cd	0.153±0.009d	0.090±0.015de

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。表 3、表 4 同。

表 3 不同温度条件下菌株的产孢量

菌株	产孢量 (×10 <sup>7</sup> 个/mL)				
	15℃	20℃	25℃	30℃	33℃
V1	2.44±0.2cdef	21.11±3.66e	4.58±0.47abc	3.11±0.18abcde	0.69±0.10cde
V2	3.06±0.14efgh	6.31±0.34abc	4.06±0.44abc	0.97±0.07a	0.00±0.00a
V3	1.61±0.34abc	7.08±1.42abc	2.31±0.31a	1.75±0.29abc	0.64±0.27cde
V4	2.89±0.61defg	6.47±1.69abc	4.67±0.75abc	5.20±1.37ef	1.31±0.20f
V5	1.17±0.13a	6.64±0.15abc	2.67±0.21ab	0.83±0.13a	0.01±0.00a
V6	2.25±0.14bcde	13.50±2.42d	4.11±1.39abc	2.08±0.13abcd	0.14±0.03ab
V7	2.94±0.17efg	8.33±0.73bc	3.89±1.04abc	1.33±0.75ab	0.28±0.06abcd
V8	2.44±0.37cdef	13.42±0.67d	2.75±0.27ab	1.47±0.17ab	0.25±0.48abc
V9	1.86±0.34abcd	6.06±1.13abc	1.61±0.17a	2.50±0.44abcde	0.25±0.10abc
V10	4.06±0.19hi	10.47±2.89cd	10.86±1.23ef	2.19±0.01abcde	0.58±0.22bcde
V11	3.39±0.19fgh	19.72±1.45e	8.69±0.28de	6.25±2.40f	0.94±0.07ef
V12	3.64±0.31gh	14.14±1.45d	14.03±3.76f	4.08±1.79bcdef	0.50±0.05abcde
V13	2.11±0.55abcde	2.22±0.46a	7.22±0.61cd	4.75±1.17cdef	0.31±0.10abcd
V14	4.81±0.54i	4.69±0.83ab	4.14±1.38abc	2.92±0.46abcde	0.31±0.03abcd
V15	1.71±0.02abc	21.75±0.48e	6.58±0.17bcd	4.88±0.02def	0.96±0.17ef
V991	1.19±0.15ab	13.67±0.48d	4.25±0.17abc	2.92±0.10abcde	0.75±0.22de

2.3 不同 pH 值条件下菌丝的生长情况

不同 pH 值条件下菌落生长情况差异明显。表 4 表明:供试菌株在 pH 值为 4~9 范围内均可生长,pH 值在 5~7 范

围内生长速度较快,pH 值为 4 时生长速度最慢。

第五师、第七师和第八师的菌株在 pH 值为 6 时生长速度最快,pH 值为 4 时生长速度最慢(图 3)。

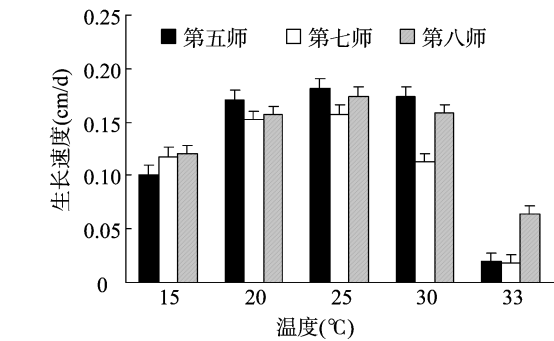


图1 不同温度梯度下菌株的平均生长速度

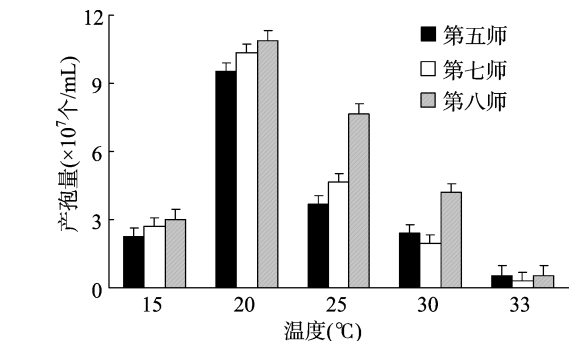


图2 不同温度梯度下菌株的平均产孢量

表 4 不同 pH 值条件下菌丝的生长情况

菌株	菌落直径 (cm)					
	pH 值 =4	pH 值 =5	pH 值 =6	pH 值 =7	pH 值 =8	pH 值 =9
V1	2.77 ± 0.73bc	4.23 ± 0.12de	4.27 ± 0.15cdef	4.05 ± 0.13def	3.90 ± 0.06de	3.65 ± 0.08cde
V2	2.48 ± 0.16abc	4.12 ± 0.06cd	4.65 ± 0.13fg	4.25 ± 0.29ef	4.15 ± 0.09ef	4.08 ± 0.09fg
V3	2.27 ± 0.07a	3.70 ± 0.10ab	3.75 ± 0.08ab	3.60 ± 0.10a	3.47 ± 0.09abc	3.42 ± 0.12bcd
V4	2.43 ± 0.09ab	4.27 ± 0.19de	4.17 ± 0.18bcde	4.12 ± 0.12def	4.07 ± 0.09ef	3.63 ± 0.07cde
V5	2.62 ± 0.12abc	4.50 ± 0.15e	4.73 ± 0.04g	4.30 ± 0.12f	4.13 ± 0.07ef	4.00 ± 0.13efg
V6	2.67 ± 0.07bc	3.48 ± 0.11a	4.07 ± 0.12bcd	3.85 ± 0.16abcd	3.37 ± 0.07abc	3.45 ± 0.18bcd
V7	2.85 ± 0.05c	3.68 ± 0.06ab	4.02 ± 0.10bcd	3.72 ± 0.09abc	3.87 ± 0.12de	3.83 ± 0.12def
V8	3.28 ± 0.09d	3.43 ± 0.03a	3.90 ± 0.06bc	3.68 ± 0.12ab	3.63 ± 0.07cd	3.33 ± 0.07bc
V9	2.43 ± 0.03ab	3.52 ± 0.06ab	3.87 ± 0.09bc	3.83 ± 0.04abcd	3.17 ± 0.07a	3.13 ± 0.31b
V10	2.43 ± 0.09ab	3.87 ± 0.12bc	3.35 ± 0.26a	3.62 ± 0.15ab	3.48 ± 0.21bc	2.77 ± 0.03a
V11	2.40 ± 0.21ab	3.85 ± 0.07bc	4.17 ± 0.12bcde	3.62 ± 0.04ab	3.30 ± 0.05ab	3.20 ± 0.06b
V12	2.60 ± 0.08abc	3.63 ± 0.04ab	4.02 ± 0.10bcd	3.67 ± 0.09ab	3.42 ± 0.004abc	3.42 ± 0.06bcd
V13	2.57 ± 0.09abc	4.52 ± 0.19e	4.40 ± 0.24defg	4.02 ± 0.10cdef	3.95 ± 0.14e	3.75 ± 0.13cdef
V14	2.70 ± 0.23bc	4.13 ± 0.12cd	3.87 ± 0.17bc	3.95 ± 0.10bcde	3.65 ± 0.09cd	3.68 ± 0.15cdef
V15	3.30 ± 0.12d	4.08 ± 0.04cd	4.58 ± 0.58efg	4.68 ± 0.01g	4.35 ± 0.03f	4.28 ± 0.10g
V991	2.63 ± 0.08abc	3.67 ± 0.07ab	4.10 ± 0.17bcd	3.58 ± 0.06a	3.48 ± 0.07bc	3.43 ± 0.07bcd

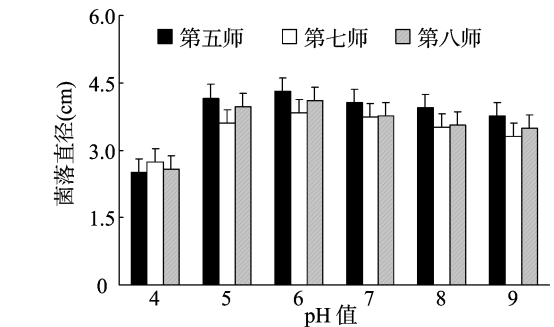


图3 不同 pH 条件下菌株的平均生长直径

2.4 菌丝致死温度的测定

由表 5 可知,供试菌株中只有 V3 的致死温度为 65 ℃,时间为 10 min,仅占 6.25%;其中有 5 个菌株及对照 V991 菌丝的致死温度、时间为 60 ℃、10 min,占 37.50%;其余 9 个菌丝的致死温度、时间为 55 ℃、10 min,占 56.25%。第五师 5 个菌株中除 V3 外,V1、V2 菌株的菌丝致死温度、时间均为 60 ℃、10 min,其余 2 个菌株的菌丝致死温度、时间均为 55 ℃、10 min;第七师 5 个菌株中 V7 的菌丝致死温度、时间为 60 ℃、10 min,其余 4 个菌株的菌丝致死温度、时间均为 55 ℃、10 min;第八师 5 个菌株中 V11、V13 的菌丝致死温度、时间为 60 ℃、10 min,其余 3 个菌株的菌丝致死温度、时间均为 55 ℃、10 min(表 5)。

表 5 菌丝致死温度的测定结果

菌株	菌丝生长情况					
	45 ℃	50 ℃	55 ℃	60 ℃	65 ℃	70 ℃
V1	+	+	+	-	-	-
V2	+	+	+	-	-	-
V3	+	+	+	+	-	-
V4	+	+	-	-	-	-
V5	+	+	-	-	-	-
V6	+	+	-	-	-	-
V7	+	+	+	-	-	-
V8	+	+	-	-	-	-
V9	+	+	-	-	-	-
V10	+	+	-	-	-	-
V11	+	+	+	-	-	-
V12	+	+	-	-	-	-
V13	+	+	+	-	-	-
V14	+	+	-	-	-	-
V15	+	+	-	-	-	-
V991	+	+	+	-	-	-

注:“+”表示生长;“-”表示不生长。处理时间均为 10 min。

3 讨论

北疆早熟棉区黄萎病病菌的菌落以菌核型为主,这与以前同类研究结果<sup>[6]</sup>基本一致。Pullman 等研究表明,30 ~ 33 ℃ 会抑制黄萎病病菌的生长和孢子的萌发<sup>[7]</sup>,本研究结

果与之相似。本研究中 33 ℃ 时有 75% 的菌株仍能缓慢生长,并产生少量孢子,这与张莉等的研究结果<sup>[8]</sup>不一致,表明北疆早熟棉区黄萎病菌的耐高温能力可能有所增强,这也可能是造成当前新疆棉花黄萎病在高温期仍然发病较重的原因之一。30 ℃ 条件下发现有个别菌株由菌核型转为菌丝型,这与朱荷琴等研究的高温胁迫下温度对病原菌的培养特性有影响<sup>[9]</sup>一致。pH 值在 4~9 范围内菌株均可生长,pH 值在 5~7 范围内菌株生长速度较快,表明 pH 值是影响棉花黄萎病菌生长的因素之一。6.25% 菌株致死温度、时间为 65 ℃、10 min,37.50% 菌株致死温度、时间为 60 ℃、10 min,56.25% 的菌株致死温度、时间为 55 ℃、10 min,表明北疆早熟棉区黄萎病菌对高温具有一定的耐受性,籍秀琴等认为高温可明显控制黄萎病的发生<sup>[10]</sup>,棉田遭遇连续高温容易产生隐症,但是一旦环境条件适宜即可暴发成灾。

本研究仅从北疆早熟棉区中的第五师、第七师和第八师采集了 15 个重病田的病株,只能代表北疆早熟棉区局部黄萎病菌的类型。下一阶段的任务是广泛采集病样,进行 PCR 分子鉴定及致病力分化研究,以便为新疆棉花黄萎病的防控提供理论依据。

#### 参考文献:

[1] 新华网. 新疆棉花产量首次超过全国一半[EB/OL]. (2012 -

(上接第 40 页)

用盐溶液低温振荡悬浮处理也有效去除了部分腐殖酸类物质。

在细胞裂解释放 DNA 时,不同的学者采用了 2 × CTAB 提取液、溶菌酶、蛋白酶 K、十二烷基磺酸钠(SDS)裂解液对土壤样品进行处理。本研究则采用反复冻溶和 3 × CTAB 提取液以使细胞壁充分裂解,并适当提高 NaCl 浓度(2.0 mol/L)以使 DNA 充分溶解,从而达到提高 DNA 产量的目的。在土壤 DNA 提取时,影响 DNA 质量的主要是腐殖酸类物质。这类物质主要通过影响 PCR 酶的活性致使 PCR 扩增失败。本法在沉淀 DNA 时,白色絮状 DNA 沉淀漂浮于上层无水乙醇中,快速挑出 DNA 沉淀,使之未与下层液体接触,因而能避免由于腐殖酸类物质等原因给 DNA 质量造成的影响。

目前所报道的土壤 DNA 提取方法中,为了获得更多的 DNA 沉淀,多数是用预冷的无水乙醇或异丙醇沉淀 DNA,并置于 -20 ℃、30 min 左右。这种方法虽然可以避免 DNA 断裂并可获得更多的 DNA 沉淀,但是低温可能会使 CTAB 溶液产生沉淀而影响后续工作。例如,导致 DNA 沉淀较难溶解和有 CTAB 残留,从而可能会对 PCR 产生影响。此外,长时间的沉淀会使更多的腐殖酸类物质随之沉淀而严重影响 DNA 质量。利用本方法所提取的 DNA 虽然浓度稍低,但可以有效去除腐殖酸等物质的干扰。同时本方法具有操作相对简单、整个过程所用时间短等优点,是 1 种简易快速获得高质量 DNA 的提取方法。

12 - 28) [2015 - 09 - 10] <http://news. Xinhuanet. com/fortune/2012 - 12/28/e - 114194610. htm>.

- [2] 刘海洋,王 伟,张仁福,等. 新疆棉花黄萎病发生调查及病原菌系统进化分析[J]. 新疆农业科学,2015,52(1):65 - 71.
- [3] 缪卫国,田逢秀. 新疆棉花枯、黄萎病发生趋势及研究现状[J]. 新疆农业科学,2000(增刊1):107 - 109.
- [4] 石磊岩,冯 洁,王莉梅,等. 北方植棉区棉花黄萎病菌生理分化类型研究[J]. 棉花学报,1997,9(5):273 - 280.
- [5] 李国英,张新全,宋玉萍,等. 北疆棉区棉花黄萎病发生趋势、抗性研究[J]. 新疆农业科学,2015,52(1):185 - 190.
- [6] 李国英,霍向东,田新莉,等. 新疆棉花黄萎病菌的培养特性及致病性分化的研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2000,4(1):9 - 15.
- [7] Pullman G S, Devay J E. Epidemiology of *Veticillium* wilt of cotton: effects of disease development on plant phenology and line yield[J]. Phytopathology,1982,72(5):554 - 559.
- [8] 张 莉,马慧宁,陈文霞,等. 石河子地区棉花黄萎病菌致病型监测研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(16):4879 - 4880,4882.
- [9] 朱荷琴,宋晓轩,简桂良. 温度胁迫对棉花黄萎病菌致病力的影响[J]. 棉花学报,2003,15(1):33 - 36.
- [10] 籍秀琴,马 存. 棉花黄萎病消长与温度关系的分析[J]. 农业科技通讯,1980(8):30 - 31.

#### 参考文献:

- [1] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbiological Reviews,1995,59(1):143 - 169.
- [2] Ward D M, Weller R, Bateson M M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community[J]. Nature,1990,345(6270):63 - 65.
- [3] Pace N R. Amolecular view of microbial diversity in the biosphere[J]. Science,1997,276:734 - 740.
- [4] 李春楠,崔海瑞,王伟博. 用 SRAP 标记研究根际土壤微生物的遗传多样性[J]. 生物多样性,2011,19(4):485 - 493.
- [5] 顾华杰,李玉祥,赵明文,等. 几种水稻田土壤微生物总 DNA 提取方法的比较[J]. 江苏大学学报(医学版),2005,15(4):300 - 305.
- [6] 徐 岩,吴友根,张军锋,等. 广藜香根际土壤微生物总 DNA 提取方法的优化[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):45 - 47.
- [7] 赵 勇,周志华,李 武,等. 土壤微生物分子生态研究中总 DNA 的提取[J]. 农业环境科学学报,2005,24(5):854 - 860.
- [8] 陈旭玉,周亚奎,余贤美,等. 一种直接用于 PCR 的土壤微生物 DNA 提取方法[J]. 中国农学通报,2008,24(4):33 - 36.
- [9] 李钧敏,金则新. 一种高效可直接用于 PCR 分析的土壤总微生物 DNA 抽提方法[J]. 应用生态学报,2006,17(11):2107 - 2111.
- [10] 张海燕,王彩虹,龚明福,等. 一种简单有效且适于土壤微生物多样性分析的 DNA 提取方法[J]. 生物技术通报,2009(8):151 - 155.
- [11] 王 澍,芮 蕊,蔡 婷,等. 不同无土栽培基质微生物 DNA 提取方法研究[J]. 西南林业大学学报,2012,32(4):36 - 40.