

王芳,杨笑笑,李振轮,等. 矿质元素硼钙镁铁对番茄青枯菌生长及致病力的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):77-80.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.12.020

矿质元素硼钙镁铁对番茄青枯菌生长及致病力的影响

王芳¹,杨笑笑²,李振轮²,杨水英¹

(1. 西南大学植物保护学院/重庆市植物病害生物学重点实验室,重庆 400716;

2. 西南大学资源环境学院/土壤多尺度界面过程与调控重庆市重点实验室,重庆 400716)

摘要:研究矿质营养元素硼、钙、镁、铁对番茄青枯菌在马铃薯液体培养基中生长的影响,同时研究硼、钙、镁、铁分别对青枯菌胞内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响,最后采用盆栽接种法研究复合矿质元素组合对番茄青枯病发病率的影响。结果表明,矿质元素硼、钙、镁、铁对青枯菌在马铃薯液体培养基中的生长有显著的抑制作用;经钙、镁、铁处理过的青枯菌胞内 SOD、POD、CAT 活性均显著升高,而经硼处理过的青枯菌胞内 SOD、POD、CAT 活性显著低于对照组;土壤中添加复合矿质元素组合后,盆栽试验结果表明,随着时间的增长,添加矿质元素的处理中青枯病菌的数量减少,番茄青枯病的发病时间推迟,并且发病率减缓。

关键词:矿质元素;青枯病菌;番茄;盆栽试验;生长;致病力

中图分类号: S436.412.1⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)12-0077-04

番茄青枯菌是一种土传病原菌,属于劳尔氏菌属假单胞杆菌(*Ralstonia solanacearum*),该菌可在土壤中长期残存,通过寄主植物根部的自然孔口或伤口侵入寄主,比如马铃薯、番茄、花生、姜、木麻黄、桑、油橄榄、烟草等数百种植物,一旦感染就会引发严重的细菌性萎蔫病,造成植物快速枯死,常给农业生产带来巨大的经济损失,目前尚无有效的防治方法,因此研究防控番茄青枯病的有效方法一直是热点和难点。

矿质营养元素不仅影响农作物的生长发育、产量、品质,而且一些矿质营养元素还抑制植物病害的发生^[1]。如 Sugimoto 等研究表明,大豆移栽前及移栽后 14 d,喷施甲酸钙、硝酸钙都能显著抑制大豆茎腐病的发生^[2]。李鑫研究指出,感染马铃薯 Y 病毒的烟草喷施铁元素、铜元素均能不同程度地提高烟株体内叶绿素含量,说明铁元素、铜元素能抑制病毒对叶绿体的降解,减轻病毒病的症状^[3]。Dannon 等研究硅营养与番茄青枯病的关系指出,增加硅营养可明显降低番茄青枯病的发病率、病情指数,诱导番茄对青枯病产生抗病特性^[4-7]。He 等研究指出,碳酸钙可以作为一种土壤改良剂,

通过提高土壤中钙离子浓度来抑制青枯病菌生长,从而控制由青枯菌引起的烟草青枯病^[8]。营养调控是一条值得探索的新途径,然而目前尚无镁、铁抑制青枯病菌生长的研究报道,也没有硼、钙、镁、铁复合施用抑制青枯菌生长及对青枯病发生影响的研究报道。

本试验研究了硼、钙、镁、铁 4 种矿质营养元素对青枯菌生长的影响。结果表明,硼、钙、镁、铁可以显著抑制番茄青枯菌的生长,同时 4 种元素复合可以显著延缓番茄青枯病的发生,研究结果为利用矿质营养元素防治番茄青枯病的发生奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为番茄青枯病菌,由土壤多尺度界面过程与调控重庆市重点实验室分离鉴定。

供试土壤于 2013 年 6 月采自重庆市彭水县润溪镇白果坪,其基本理化性质详见表 1。

表 1 供试土壤的基本性质

土样	营养元素含量(g/kg)				含水量 (%)	有效养分含量(mg/kg)			pH 值 (1:1)
	全氮	全磷	全钾	有机质		碱解氮	速效磷	速效钾	
正交试验	1.70	0.79	1.51	0.019 39	26.31	119.00	92.90	270.00	6.18
盆栽试验	1.72	0.62	3.98	0.031 59	25.13	80.50	53.36	258.03	6.11

番茄品种为美国大红王。

矿质元素试剂包括 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,以上均为分析纯。

基本培养基包括 PCCG 选择性培养基、马铃薯蔗糖液体培养基。

Hoagland 营养液:1 L 母液(1), KNO_3 101.11 g、 KH_2PO_4 27.28 g、 MgSO_4 98.61 g;1 L 母液(2), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 205.05 g;1 L 母液(3); H_2BO_3 32.86 g、 $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g、 $\text{H}_3\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.09 g、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08 g;1 L 母液(4), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.39 g、 $\text{Na} \cdot \text{EDTA}$ 1.86 g。每配制 1 L 营养液需(1)4 mL、(2)5 mL、(3)1 mL、(4)4 mL。

1.2 方法

1.2.1 硼、钙、镁、铁对青枯菌在液体培养基中生长量的影

收稿日期:2016-03-31

基金项目:国家公益性(农业)科研专项(编号:201203013)。

作者简介:王芳(1990—),女,甘肃武威人,硕士研究生,主要从事分子植物病理学研究。E-mail:18306076828@163.com。

通信作者:杨水英,博士,副教授,主要从事分子植物病理学、植物病害诊断与控制研究。E-mail:yangshuiying123@sina.com.cn。

响 本试验选择硼、钙、镁、铁 4 种矿质营养元素,每种元素根据植物在土壤中缺乏临界值、毒害临界值设 10 个浓度处理水平(表 2),将不同浓度水平的硼、钙、镁、铁添加到马铃薯蔗糖液体培养基中,以不添加矿质营养元素的马铃薯蔗糖液体培养基为对照,每个处理重复 3 次,在 30 ℃、160 r/min 条件下摇瓶培养,隔 12 h 取样分析培养液 $D_{600\text{ nm}}$,估算青枯菌数量,从而筛选出可抑制青枯病菌生长的矿质元素适宜浓度水平。

表 2 矿质元素硼、钙、镁、铁的浓度水平

处理	矿质元素及浓度 (mg/kg)			
	硼 ^[9]	钙	镁 ^[10]	铁
1	0.5	200	60	7
2	1.0	300	100	14
3	10.0	400	150	28
4	20.0	500	200	56
5	30.0	600	300	70
6	60.0	700	400	100
7	90.0	800	500	150
8	120.0	900	600	200
9	150.0	1 000	700	250
10	200.0	1 343	800	300

注:处理 1 为植物在土壤中元素的缺乏临界值,处理 10 为毒害临界值。

1.2.2 硼、钙、镁、铁对番茄青枯菌细胞内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的影响 将矿质元素硼、钙、镁、铁添加到接种了青枯菌的马铃薯蔗糖液体培养基中,160 r/min、30 ℃条件下摇瓶培养,以不添加硼、钙、镁、铁为对照。硼、钙、镁、铁浓度水平设置分别为 90、600、400、150 mg/kg。将培养 48 h 的菌悬液 4 ℃、5 000 r/min 离心 10 min,去除上清液,加适量磷酸缓冲液洗涤 2 次,离心取沉淀。1 g 湿菌体中加入 3 倍体积的磷酸缓冲液,制成菌悬液,用样品均质破碎机破碎(6 m/s、40 s),然后 12 000 r/min、4 ℃离心 20 min,取上清液,即为粗酶液,用于 SOD、POD、CAT 活性的测定,测定方法参考文献[3,11]。

1.2.3 4 种矿质元素组合对土壤中青枯菌生长的影响 根据“1.2.1”节的试验结果,选取硼、钙、镁、铁 4 种矿质元素中抑制效果较好的几个水平(表 3),并且在缺乏临界值和毒害临界值之间进行正交试验。将矿质元素镁、钙、硼、铁根据正交表 $L_9(3^4)$ 进行组合(表 4),逐次添加到 500 g 土壤中,混匀后置于 1 L 三角瓶中灭菌,设空白对照。然后接种青枯菌使土壤的含菌量约为 0.5 亿 CFU/g,搅拌均匀保持土壤水分相对湿度为 60%,置于 30 ℃条件下培养。每隔 10 d 称取样品 50.0 g,采用稀释平板法,在 PCCG 选择性培养基上进行平板接种,土壤悬液接种量为 0.2 mL,每个稀释度设 3 次重复,接种后的平板于 30 ℃条件下恒温培养,待菌落长出后用 Acolyte 全自动菌落计数仪进行计数,再根据稀释浓度推算 CFU 值。

表 3 硼、钙、镁、铁 4 种矿质元素的浓度水平

处理	各矿质元素的浓度 (mg/kg)			
	A:Mg (MgSO ₄)	C:Ca (CaSO ₄)	B:Fe (Na ₂ B ₄ O)	D:Fe [Fe ₂ (SO ₄) ₃]
1	60	200	0.5	28
2	400	400	10	100
3	600	800	100	200

表 4 矿质元素组合抑菌效果 $L_9(3^4)$ 正交试验方案

试验号	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	1
9	3	3	2	3

1.2.4 复合矿质元素组合对番茄青枯病发病的影响 根据“1.2.3”节的试验结果,采用抑制青枯病菌生长效果良好的复合矿质元素配比进行盆栽试验。取纯净的番茄种子,置于培养皿中的湿滤纸上,在 25 ℃的培养箱中催芽 48 h,把已催芽的种子播到穴盘中,每隔 10 d 浇霍格兰氏营养液(Hoagland's solution),使植株正常生长。将过筛去除石块和泥块的土壤混匀,每个营养钵装入 1.0 kg 土,每个处理 25 个营养钵即 25 个重复。将矿质元素镁、钙、硼、铁按组合分别混入土壤中,CK 不添加这 4 种矿质元素。灭菌后,按照 100 万 CFU/g 土壤的量接入青枯病菌,3 d 后将株高为 20~30 cm,6~7 张真叶的番茄植株伤根后移入上述土壤中。移苗后进行常规水肥管理,从番茄植株出现第 1 株病株开始调查记录发病情况:发病率=发病株数/总株数×100%。

1.2.5 数据分析 试验数据采用 Excel 2007、SPSS 17.0 统计软件进行处理,采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 矿质元素硼、钙、镁、铁对青枯菌在液体培养基中生长的影响

从表 5 可以看出,矿质元素硼、钙、镁、铁对青枯菌在马铃薯液体培养基中的生长有显著的抑制作用。硼对青枯菌的抑制作用较强,随着硼浓度的增大,硼对青枯菌生长的抑制作用逐渐增强,当硼的浓度小于 60 mg/kg(处理 6)时,其对青枯菌生长的抑制率缓慢增强;当硼的浓度大于 90 mg/kg(处理 7)时,其对青枯菌生长量的抑制作用非常强,抑制率均在 70%以上;当硼的浓度为 200 mg/kg(处理 10)时,抑制率达到 96.84%,青枯菌几乎不生长,抑制效果为最佳。钙对青枯菌生长的抑制作用随着钙浓度的增大而增强,低浓度的钙对青枯菌的生长有一定的促进作用。钙浓度为 600 mg/kg(处理 5)时对青枯菌生长量的抑制率显著大于 500 mg/kg(处理 5)钙时,抑制率增加 40.10%。镁、铁对青枯菌生长的抑制率也随浓度的增大而增大。镁浓度高于 500 mg/kg(处理 7)时,对青枯菌的抑制作用较强;而浓度高于 150 mg/kg(处理 7)时,铁对青枯菌生长的抑制作用较强。

2.2 硼、钙、镁、铁对番茄青枯菌细胞内 SOD、POD、CAT 几种酶的影响

试验结果(表 6)表明,在培养 12 h 后,与不处理的对照相比,经 600 mg/kg 钙、400 mg/kg 镁、150 mg/kg 铁处理过后的番茄青枯菌细胞内 SOD、POD、CAT 活性均较对照显著升

表 5 硼、钙、镁、铁对青枯菌生长的抑制率

处理	对青枯菌生长的抑制率(%)			
	硼	钙	镁	铁
1	5.90a	-21.80a	1.64a	8.12a
2	7.97a	-14.28b	5.14ab	10.46a
3	8.12a	-5.72c	4.78ab	9.83a
4	12.97b	11.06d	11.00bc	8.48a
5	21.42c	51.16e	8.48b	7.66a
6	35.76d	71.63f	13.82c	19.84b
7	71.17e	75.11f	24.87d	25.34bc
8	86.74f	87.66g	34.89e	29.04c
9	92.51g	91.82gh	41.57f	30.03c
10	96.84g	94.43h	48.25g	35.62d

注:同列数据后不同小写字母表示经 Duncan's 新复极差法检验,在 0.05 水平上差异显著。表 6 同。

表 6 硼、钙、镁、铁对番茄青枯菌胞内 SOD、POD、CAT 活性的影响

元素 (浓度,mg/kg)	酶活性(U/g)		
	SOD	POD	CAT
Ca(600)	206.34a	14.61a	12.50a
Mg(300)	136.00c	7.58c	0.97d
Fe(150)	151.96b	10.41b	1.38b
B(90)	35.34e	0.21e	0.36e
CK	81.62d	3.80d	1.13c

高,而经 90 mg/kg 硼处理过的青枯菌细胞内 SOD、POD、CAT 活性显著低于对照组。

2.3 复合矿质元素组合对土壤中青枯菌生长的影响

据图 1 可知,将青枯菌添加到土壤中后,青枯菌的数量随着时间呈现先增后减少的趋势。在培养 20 d 时,各处理青枯菌的数量较之前都有明显的增长,其中组合 1、2 对青枯菌的生长有显著地促进作用,但是在 30 d 时,组合 1、2 中青枯菌的数量显著下降。而在 40 d 时,青枯菌的数量均呈现递减趋势,并且每种组合对青枯菌的生长都有显著的抑制作用。培

养 20 d 后,由图 1 可以看出,随着培养时间的增长,这 4 种矿质元素组合对青枯菌生长的抑制作用逐渐增强,这可为田间施肥时间提供一定的理论参考。

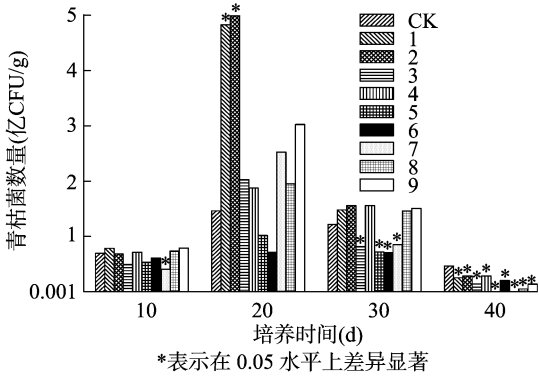


图1 添加矿质元素后土壤中青枯菌随不同时间的数量变化

2.4 土壤中抑制青枯菌生长的矿质元素最佳组合

根据图 1 可知,在添加复合矿质元素的土壤中培养青枯菌至 40 d 时,青枯菌的数量都呈现递减趋势,并且每种组合对青枯菌的生长都有显著的抑制作用。所以笔者选择 40 d 时的结果进行正交试验。通过对正交试验数据进行简单的计算(表 7),可以确定理论的最优水平组合为 A₁B₂C₃D₃,即含 200 mg/kg 铁的 Fe₂(SO₄)₃,含 60 mg/kg 镁的 MgSO₄,含 100 mg/kg 硼的 Na₂B₄O₇ 及含 400 mg/kg 钙的 CaSO₄,这 4 种土壤添加剂能够有效抑制土壤中青枯菌的生长,其中极差值最大的是 Na₂B₄O₇,即此组合中对青枯菌抑制作用的主要因子是 Na₂B₄O₇,其次是 MgSO₄,最后是 CaSO₄。本试验结果表明,当土壤中的钙、镁、铁、硼元素达到一定量时,对青枯菌的生长有显著的抑制作用。可尝试通过添加这些元素,并控制添加一定的量,作为土壤添加剂或复合肥施用于农田,从而达到抑制土壤中青枯菌生长的目的,具体的施用量还须进一步研究。

表 7 矿质元素抑菌效果 L₉(3⁴) 正交试验结果

试验号	A [Fe ₂ (SO ₄) ₃]	B (MgSO ₄)	C (Na ₂ B ₄ O ₇)	D (CaSO ₄)	40 d 后青枯菌 (万 CFU/g)
1	1	1	1	1	2 540.0
2	1	2	2	2	2 890.0
3	1	3	3	3	1 440.0
4	2	1	2	3	2 860.0
5	2	2	3	1	34.5
6	2	3	1	2	2 030.0
7	3	1	3	2	36.4
8	3	2	1	1	510.0
9	3	3	2	3	1 390.0
k ₁	2 290.0	1 812.1	1 693.3	1 028.2	
k ₂	1 641.5	1 144.8	2 380.0	1 652.1	
k ₃	645.5	1 620.0	503.6	1 896.7	
R	1 644.5	667.3	1 876.4	868.5	

2.5 复合矿质元素组合对番茄青枯病发病的影响

由图 2 可以看出,随着栽培时间的延长,添加矿质元素可以延缓番茄植株青枯病的发生,降低青枯病的发病率。可见,土壤中复合矿质元素的添加对番茄青枯病的发生有一定的防效。

3 结论与讨论

青枯病是一种土传植物病害,目前尚无有效的防治方法,虽然一些化学药剂有一定的抑制作用,但长期大量施用带来的问题越来越严重^[12],因此探索绿色环保的控制方法具有重

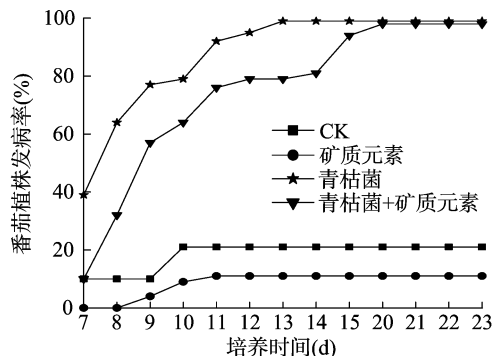


图2 不同处理的番茄植株发病率

要意义。矿质营养元素不仅是植物正常生长的必需元素,同时一些研究表明,提高植物组织中某些矿质元素的含量可以增强植物对一些病害的抵抗力^[2,13-15]。已有研究结果表明,矿质元素减缓植物病害发生可能是通过提高植物对病原菌的抗性,或是矿质元素直接抑制病原菌生长^[14,16-17]。然而目前尚无镁、铁抑制青枯菌生长的报道,也没有硼、钙、镁、铁复合施用抑制青枯菌生长及对青枯病发生影响的研究报道。

本试验系统研究了矿质元素硼、钙、镁、铁对番茄青枯菌生长及致病力的影响。研究结果表明,随着硼浓度的增大,硼对青枯菌生长的抑制作用逐渐增强,当硼含量大于 20 mg/kg 时,对青枯菌生长的抑制率达到 12.97%,这与吴卫玲的研究结果^[18]一致;0.5 mmol/L 硼酸钠对青枯病菌生长抑制率达 18.32%。同时,硼可以显著降低青枯菌胞内 SOD、POD、CAT 的活性,表明硼破坏了青枯菌的活性氧代谢系统,加强青枯菌膜脂过氧化,从而抑制青枯菌生长。研究结果与黄芳等关于硼抑制灰霉病菌孢子萌发机制的结果^[19]一致;0.1% 硼处理可破坏灰霉病菌活性氧清除系统,造成活性氧大量积累,使得膜脂过氧化加强,最终影响细胞的正常生理功能。低于 400 mg/kg 钙(硫酸钙)对青枯菌生长有促进作用,而 600 mg/kg 钙(硫酸钙)能显著抑制青枯菌的生长。李洪研究表明,5 mmol/L 氯化钙能显著抑制青枯菌的生长,抑制率达 16.92%^[20]。其原因一方面可能是伴随阴离子不同,另一方面可能是硫酸钙的溶解性低于氯化钙,添加在液体培养基中后,实际起作用的有效钙可能会少。镁、铁对青枯菌生长均表现出一定的抑制作用,然而钙、镁、铁能显著增强青枯菌胞内 SOD、POD、CAT 活性,因此这 3 种元素不是通过影响青枯菌细胞中酶的清除氧这一机制来影响青枯菌的生长,其作用机制还有待进一步研究。矿质营养硼、钙、镁、铁与番茄青枯病之间存在相互关系,摸清病原物、寄主植物与矿质元素三者之间的关系对从营养调控方面着手解决茄科类植物青枯病防控问题具有重要意义。

参考文献:

- [1] 慕康国,赵秀琴,李健强,等. 矿质营养与植物病害关系研究进展[J]. 中国农业大学学报,2000,5(1):84-90.
- [2] Sugimoto T, Watanabe K, Yoshida S, et al. Field application of calcium to reduce phytophthora stem rot of soybean, and calcium distribution in plants[J]. Plant Disease, 2010, 94(7):812-819.
- [3] 李鑫. 矿质元素调控烟草抗 PVY^N 生理生化及分子机制研究

- [D]. 沈阳:沈阳农业大学,2009,51-55.
- [4] Dannon E A, Wydra K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2004, 64(5):233-243.
- [5] Diogo R V C, Wydra K. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2007, 70(4/5/6):120-129.
- [6] Wang L, Cai K Z, Chen Y T, et al. Silicon-mediated tomato resistance against *Ralstonia solanacearum* is associated with modification of soil microbial community structure and activity[J]. Biological Trace Element Research, 2013, 152(2):275-283.
- [7] Kiirika L M, Stahl F, Wydra K. Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia solanacearum*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2013, 81(4):1-12.
- [8] He K, Yang S Y, Li H, et al. Effects of calcium carbonate on the survival of *Ralstonia solanacearum* in soil and control of tobacco bacterial wilt[J]. Plant Pathology, 2014, 140(4):665-675.
- [9] Opina N, Tavner F, Wang J F, et al. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for indentifying *Burkholderia solanacearum* (Formerly *Pseudomonas solanacearum*) [J]. Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology, 1997, 5(1):19-30.
- [10] 臧小平. 土壤锰毒与植物锰的毒害[J]. 土壤通报, 1999, 30(3):139-141.
- [11] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. 云南师范大学学报, 2002, 22(6):44-48.
- [12] 王梅, 尹显慧, 龙友华, 等. 几种杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力测定及田间药效[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4):151-153.
- [13] Eraslan F, Inal A, Gunes A, et al. Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, membrane permeability, and mineral constituents of tomato and pepper plants[J]. Journal of Plant Nutrition, 2007, 30(6):981-994.
- [14] Narciso J. Postharvest calcium chloride dips of whole tomato fruit reduce postharvest decay under commercial conditions[J]. HortScience, 2006, 41(4):1016-1017.
- [15] Thomidis T, Exadaktylou E. Effect of boron on the development of brown rot (*Monilinia laxa*) on peaches[J]. Crop Protection, 2010, 29(6):572-576.
- [16] 马斯纳. 高等植物的矿质营养[M]. 曹一平, 译. 北京:北京农业大学出版社, 1991, 223-230.
- [17] Heyman F, Lindahl B, Persson L, et al. Calcium concentrations of soil affect suppressiveness against *Aphanomyces* root rot of pea[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(9):2222-2229.
- [18] 吴卫玲. 土壤烟草青枯病菌的分离鉴定及硼酸钠对该菌的影响[D]. 重庆:西南大学, 2012, 25-27.
- [19] 黄芳, 王建明, 徐玉梅. 硼抑制灰霉病菌孢子萌发机制的初步研究[J]. 植物病理学报, 2008, 38(4):370-376.
- [20] 李洪. CaCO₃ 对青枯菌生长的影响及土壤中青枯菌的定量 PCR 分析[D]. 重庆:西南大学, 2012, 18-22.