

朱明明,张 岱,赵冬梅,等. 马铃薯黑痣病生防芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学,2018,46(14):97-101.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.14.023

马铃薯黑痣病生防芽孢杆菌的筛选与鉴定

朱明明,张 岱,赵冬梅,潘 阳,朱杰华,杨志辉

(河北农业大学植物保护学院,河北保定 071000)

摘要:马铃薯黑痣病是我国马铃薯主产区普遍发生、危害严重的一种土传病害。为筛选出对马铃薯黑痣病具有生防作用的芽孢杆菌,从河北省和内蒙古自治区马铃薯连作黑痣病发生严重的地块采集健康植株上的根际土,采用土壤稀释法和平板对峙法分离筛选出6株对黑痣病菌抑制效果较好的菌株(抑菌带宽度>6.0 mm),研究温度对生防菌株抑菌效果的影响。结果表明,温度降低,抑菌效果减小,温度为15℃时,菌株HN-Q-8抑菌效果显著高于其他菌株,当温度降为10℃时,无抑菌作用。以形态学特征为基础,结合gyrB序列系统发育分析,筛选出来的6个菌株经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。盆栽防效试验表明,贝莱斯芽孢杆菌HN-Q-8对马铃薯黑痣病的防效为52.72%~61.22%。

关键词:马铃薯黑痣病;芽孢杆菌;gyrB基因;种类鉴定;盆栽防效;生物防治

中图分类号: S435.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)14-0097-05

马铃薯黑痣病是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的一种土传性真菌病害,该病害既可通过土壤传播,也可通过带病种薯传播^[1],在世界各国马铃薯主产区均普遍发生,严重影响马铃薯的产量和品质^[2]。近年来,马铃薯种植面积逐渐扩大,难以进行轮作倒茬,导致土壤中立枯丝核菌逐年累积,马铃薯黑痣病对我国马铃薯外观品质影响严重。据报道,内蒙古地区马铃薯黑痣病发病严重的地块发病率可达70%~80%^[3],植株幼苗的死亡率高达60%^[4],严重制约我国马铃薯产业的可持续健康发展。

目前,马铃薯黑痣病仍以化学防治为主,但化学药剂的频

繁使用会导致病原菌产生抗药性,造成农药残留和环境污染^[5-6]。我国农业现代化发展方向是绿色可持续发展,因此利用生物源药剂来防控病害符合我国当今和未来的农业发展趋势。当前,有机改良剂^[7]、有益微生物^[8]、植物药剂和生防因子^[9]等环境友好型生防药剂的开发成为防治土传病害的研究热点。相关研究表明,寄生性真菌绿色黏帚霉(*Gliocladium virens*)和木霉属(*Trichoderma* spp.)^[10-12]、轮枝菌(*Verticillium biguttatum*)^[13-15]能够破坏立枯丝核菌的菌丝和菌核,从而降低马铃薯黑痣病的发生。此外,荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)^[16]、多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)^[17]等细菌也能够有效防治马铃薯黑痣病。

芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)是土壤和植物微生态系统中的优势微生物群体,能够产生不同的抗真菌化合物,有利于植物生长并诱导其产生抗性;此外,还能产生耐热抗逆的芽孢,具有很强的生存繁殖能力,有利于生防菌剂的开发^[18-19]。芽孢杆菌有益菌株已用于如稻瘟病^[20]、小麦赤霉病^[21]、小麦根腐病^[22]、苹果轮纹病^[23]等多种植物病害的防控研究。针对马铃薯病害的研究多集中于几种马铃薯细菌病害如马铃薯黑胫

收稿日期:2017-01-19

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-10-P12);河北省保定市科研项目(编号:16S02)。

作者简介:朱明明(1991—),女,河南商丘人,硕士研究生,主要从事植物病原真菌与真菌病害研究。E-mail:zhudming1128@126.com。

通信作者:杨志辉,教授,博士生导师,主要从事植物真菌病害研究。E-mail:13933291416@163.com。

园艺,2016(5):10-11.

[13]陈 蓉,顾向红,朱法辉. 新疆伊犁河谷设施草莓套种平菇立体栽培原理及技术[J]. 现代农业科技,2016(1):118,120.

[14]全国农业技术推广服务中心. 农作物有害生物测报技术手册[M]. 北京:中国农业出版社,2006.

[15]罗海凌,苏德伟,林 辉,等. 草栽平菇病虫害的综合防治技术[J]. 北方园艺,2016(3):132-134.

[16]张运涛,张国珍. 草莓病虫害概论[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,2012:42-43.

[17]刘金权. 设施栽培草莓病虫害发生规律与综防对策[J]. 现代园艺,2009(1):28-29.

[18]曹雨艳,罗晓程,王建春,等. 哈密设施草莓病虫害的发生与防治[J]. 北方园艺,2016(14):60-61.

[19]武晓静,申 超,刘江利,等. 大棚平菇病虫害防治技术[J]. 西

北园艺,2011(4):44-45.

[20]张继英,戚元成,王兰青,等. 几种杀菌剂抑菌防杂比较试验[J]. 食用菌,2009,31(3):68-70.

[21]赵腊梅. 袋栽平菇的病害分析与防治措施[J]. 山西农业科学,2008,36(9):60-61.

[22]张 权,张朝辉,宋好倩,等. 3种复配杀菌剂对根霉和平菇栽培病害的防治效果[J]. 河南农业科学,2016,45(6):67-71.

[23]赖德才. 有机草莓生产病虫害综合防治技术[J]. 现代园艺,2016(3):117.

[24]董 芳,肖 健,严小芹. 有机平菇保护地袋式栽培技术[J]. 食用菌,2011(4):44-45.

[25]汪云岗,张纪兵,邵崇妹,等. 中华人民共和国国家标准:有机产品:第1部分:生产:GB/T 19630.1-19630.4—2011[S]. 北京:中国标准出版社,2011.

病和软腐病^[24]、马铃薯环腐病^[25],对于马铃薯黑痣病的生防芽孢杆菌,仅见枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) XCS^[17]和萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*) D1-0-1和D1-0-2^[26]。因此,进一步筛选出适合我国不同区域的芽孢杆菌菌株对于防治黑痣病具有重要意义。

本研究从河北省和内蒙古自治区马铃薯连作试验田采集的马铃薯根际土中筛选对黑痣病生防效果好的芽孢杆菌,进行盆栽防效试验,以期为今后马铃薯黑痣病优良生防菌剂的开发奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 供试菌株

本研究所用生防菌株均由本试验分离获得,指示菌株立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)分离自马铃薯黑痣病块茎,保存于河北农业大学马铃薯病害研究中心。

1.2 根际土壤样品的采集

从河北省和内蒙古自治区马铃薯连作试验田采用5点取样法取马铃薯黑痣病发病严重的植株周围的健康植株根际0~20 cm的土壤,混合均匀,装入自封袋带回实验室,4℃保存备用。

1.3 马铃薯黑痣病生防芽孢杆菌的分离和筛选

采用土壤稀释法分离土壤中的芽孢杆菌^[27],以平板对峙法^[28]筛选对马铃薯黑痣病具有生防效果的菌株:将25℃培养3 d的立枯丝核菌菌饼(直径5 mm)置于PDA培养基中央,取供试芽孢杆菌菌悬液5 μL分别接种于距立枯丝核菌菌饼2.5 cm处的无菌滤纸片上,以接无菌水为对照。放置在28、15、10℃进行培养,待对照长满平板,测量抑菌带宽度。

1.4 生防芽孢杆菌的鉴定

1.4.1 生防菌的培养特征和形态特征 参照范秀容等的方法^[29],将所筛选的菌株划线接种于LB平板,于37℃恒温培养箱培养24 h后,观察菌落形态并进行革兰氏染色。

1.4.2 生防菌的分子鉴定 采用细菌Ezup柱式基因组DNA抽提试剂盒提取生防菌DNA,并用引物gyrB-F(5'-TTGRCGGHRGCGHTATAAAGT-3')和gyrB-R(5'-TCCDCCSTCAGARTCWCCCTC-3')进行gyrB序列扩增^[26]。PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测,送上海生工生物工程有限公司测序。将测得的序列与GenBank中核酸序列进行BLAST同源序列比对,下载同源性大于98%的序列,利用ClustalX进行多重序列比对,切除两端不齐的部分,用MEGA(6.06)以邻接法构建系统发育树,Bootstrap置信值估算重复次数为1 000次。

1.5 生防菌对马铃薯黑痣病的盆栽防效试验

1.5.1 生防菌发酵液的制备 将保存在-80℃的菌株划线于LB平板上活化培养,挑取单菌落于LB液体培养基中,30℃、200 r/min培养20 h,按2%的接种量接种于40 mL/250 mL的三角瓶中,培养2~3 d,调整菌液浓度至1.0×10⁹ CFU/mL,备用。

1.5.2 盆栽防效试验 将麦粒培养基中培养20 d后的病原菌按2%的质量比接入盆中。试验设计4个处理(表1),每个处理10盆,重复3次。接种30 d后调查其出苗率、发病率,根据张建平等的分级标准^[30]统计病害严重度,计算病情指数

和防治效果。

出苗率 = 出苗数/播种数 × 100% ;

发病率 = 发病数/出苗数 × 100% ;

病情指数 = Σ(各级病株数 × 发病级别)/(调查数 × 最高级别) × 100% ;

防治效果 = (对照病情指数 - 处理病情指数)/对照病情指数 × 100% 。

表1 生防菌株HN-Q-8对马铃薯黑痣病的盆栽试验处理

处理	方法
灌根	含有病原菌的土壤,播种未经处理的种薯,用生防菌浇灌,每盆浇灌20 mL
浸种	含有病原菌的土壤,播种经生防菌浸种30 min的种薯
生防菌对照	未经处理的土壤播种经生防菌浸种30 min的种薯
病原菌对照	含病原菌的土壤,播种未经处理的种薯

1.6 数据统计和分析

生防菌筛选和盆栽试验数据采用SPSS V21.0进行方差分析,并采用Duncan氏新复极差法检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌的分离及黑痣病菌拮抗菌株的筛选

通过土壤稀释法从28个土样中共分离到141株芽孢杆菌,以平板对峙法28℃培养筛选出12株对黑痣病菌(*R. solani*)具有拮抗作用的菌株,其抑菌带宽度>5.0 mm(表2)。其中HN-Q-8、HC-X-21、NZ-9、NZ-7、FX、HC-W-162等6株芽孢杆菌对黑痣病菌(*R. solani*)具有很强的抑制作用(图1),其抑菌带宽度为6.1~8.0 mm(表2)。

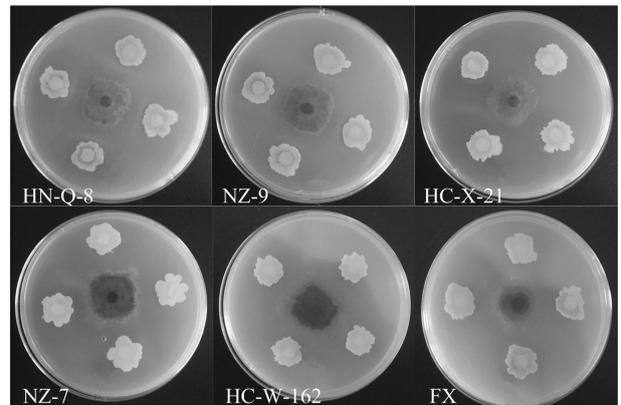


图1 芽孢杆菌对立枯丝核菌的拮抗作用

表2 芽孢杆菌对立枯丝核菌的抑制效果

菌株号	抑菌带宽度 (mm)	菌株号	抑菌带宽度 (mm)
HN-Q-8	(8.0 ± 0.2) a	NZ-4	(5.8 ± 0.5) def
HC-X-21	(7.6 ± 0.5) ab	HC-X-1	(5.6 ± 0.6) ef
NZ-9	(7.1 ± 0.8) bc	HC-Z-4	(5.6 ± 0.6) ef
NZ-7	(6.6 ± 0.6) cd	NZ-5	(5.6 ± 0.4) ef
FX	(6.6 ± 0.5) cd	HC-Z-5	(5.6 ± 0.5) ef
HC-W-162	(6.1 ± 0.1) de	HC-Z-13	(5.0 ± 0.8) f

注:数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

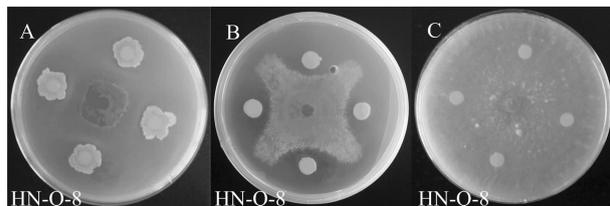
2.2 温度对芽孢杆菌抑制黑痣病菌的影响

将筛选获得的6株强抑制作用的芽孢杆菌分别放置于

28、15、10 ℃与供试立枯丝核菌进行对峙培养,测定温度对抑菌带大小的影响。结果表明,28 ℃时供试6株芽孢杆菌的抑菌带最宽;15 ℃时抑菌带的大小急剧减小(图2)。从表3可以看出,不同菌株抑菌带减小量差异很大,菌株FX在28 ℃时抑菌带宽度为6.6 mm,在15 ℃时抑菌带宽度为2.1 mm,减少了4.5 mm;温度为15 ℃时,菌株HN-Q-8的抑菌带宽度明显高于其他菌株。而当温度降为10 ℃时,所有菌株均无抑菌效果(图2-C),表明低温抑制了芽孢杆菌的活力,从而使其丧失了抑菌效果。

2.3 生防菌株的培养和形态学特征

生防菌HN-Q-8等6个菌株在LB平板上37 ℃培养24 h后,菌落形态一致为圆形或椭圆形、乳白色,黏稠湿润,



A—28 ℃时抑菌带宽度; B—15 ℃时抑菌带宽度; C—10 ℃时抑菌带宽度

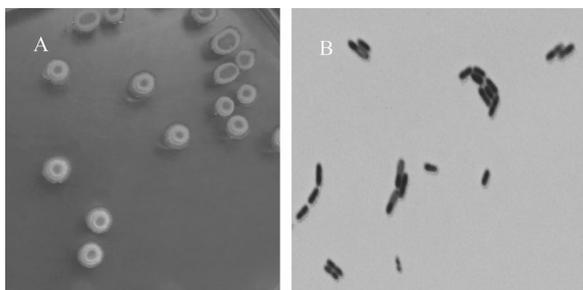
图2 不同温度下生防菌对立枯丝核菌的抑菌效果

菌落边缘不整齐,表面有褶皱,不透明(图3-A)。革兰氏染色呈阳性,菌体呈杆状并生有芽孢(图3-B)。

表3 温度对生防菌株抑制黑痣病菌效果的影响

温度(℃)	抑菌带宽度(mm)					
	HN-Q-8	HC-X-21	NZ-9	NZ-7	FX	HC-W-162
28	(8.0±0.2)A	(7.6±0.5)A	(7.1±0.8)A	(6.6±0.6)A	(6.6±0.5)A	(6.1±0.1)A
15	(4.6±0.1)Ba	(4.2±0.1)Bb	(4.2±0.1)Bb	(3.0±0.2)Bc	(2.1±0.3)Bd	(3.1±0.3)Bc
10	0C	0C	0C	0C	0C	0C

注:同列数据后不同大写字母表示差异显著($P < 0.05$);同行数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。



A—LB培养基上菌落形态; B—革兰氏染色的形态

图3 生防芽孢杆菌HN-Q-8的菌落和显微形态

2.4 生防芽孢杆菌的分子鉴定

本研究测定了HN-Q-8等6个菌株的gyrB序列,提交到GenBank,登录号为:KY369915-KY369920,长度为911~927 bp。分别在GenBank中进行BLAST同源序列比对,下载21条相似性高于98%的序列,同源比对后,获得长度为899 bp的gyrB基因数据组。以*B. atrophaeus*、*B. subtilis*、*B. licheniformis*和*B. malacitensis*作为外群构建系统发育树(图4)。该树形成了3个分支,从上到下以阿拉伯数字表示。结合文献和GenBank注释分支1~3为解淀粉芽孢杆菌复合种。Dunlap研究表明,菌株JN86140为*B. velezensis*^[31],Agbobatinkpo等和Zhao等分别将菌株JX513952和JQ734538鉴定为*Bacillus amyloliquefaciens*^[32-33],因此分支1界定为*B. velezensis*,分支2界定为狭义的*B. amyloliquefaciens*,而分支3为一未命名的隐藏种。本研究中所测定的6个芽孢杆菌均聚在分支1中,因此我们将其鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)。

2.5 生防芽孢杆菌HN-Q-8对马铃薯黑痣病的盆栽防治效果

不同处理组接种培养30 d后,测定生防菌株对马铃薯黑痣病的防治效果。结果表明,生防菌灌根和浸种处理组的发病率和病情指数均低于病原菌对照组,且灌根处理低于浸种

处理组(表4);生防菌灌根处理对马铃薯黑痣病的防治效果高于浸种处理组,防效分别为61.22%和52.72%(表4)。

3 讨论

应用有益微生物和微生物代谢产物被认为是防治植物病害的有效方法^[34-37]。本研究从马铃薯根际土中筛选出6株对马铃薯黑痣病菌具有较强抑制效果的*B. velezensis*,其中菌株HN-Q-8对马铃薯黑痣病的防治效果最强。研究表明,*B. velezensis*能够促进植物生长,防控植物病原菌,并且能够诱导寄主产生抗性^[31,38-39]。*B. velezensis* CC09产生的活性化合物对由大豆炭疽病菌、立枯丝核菌和链格孢引起的真菌病害具有防治作用,且促进植物生长^[40-41]。Chen等发现*B. velezensis* FZB42产生的聚酮化合物对果树火疫病具有防治作用^[42]。此外,*B. velezensis*对白菜黑斑病菌^[43]、番茄灰霉病菌^[44]、兰花枯萎病菌^[45]等也具有较好的抑制作用。

本研究发现生防菌在不同的温度下其防治效果不同,大体表现为温度降低,生防效果减小,且不同菌株减小的程度不同。在10 ℃时供试芽孢杆菌对黑痣病菌均无任何抑制作用,而马铃薯在5 ℃以上即可发芽,10 ℃即可生长,同时黑痣病菌10 ℃也可生长,而此时供试芽孢杆菌无防病作用。因此,在今后利用芽孢杆菌防控黑痣病时,应注意播种前期结合喷施化学药剂方能在后期表现出其对黑痣病的防控作用。本研究中菌株HN-Q-8和HC-X-21在28 ℃时对立枯丝核菌的抑制作用无明显差异,但当温度降至15 ℃时,其抑菌效果差异显著。因此,为了更好地发挥早期温度较低时生防菌株的防病效果,应选择受温度影响较小的菌株。

参考文献:

- [1] Frank J A, Leach S S. Comparison of tuberborne and soilborne inoculum in the *Rhizoctonia* disease of potato[J]. *Phytopathology*, 1980,70(1):51-53.

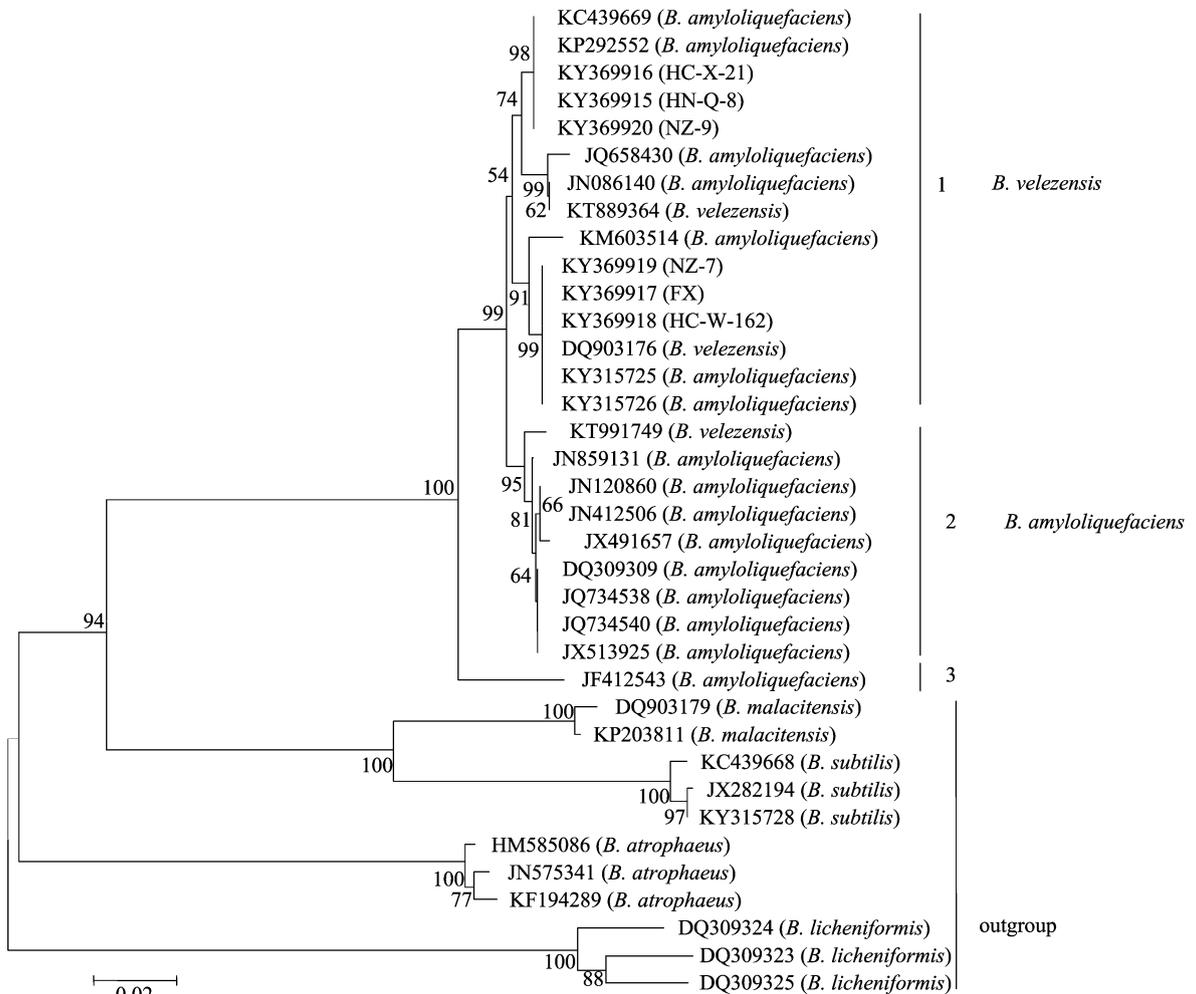
图4 基于 *gyrB* 序列构建的解淀粉芽孢杆菌复合群的系统发育树

表4 菌株 HN-Q-8 对马铃薯黑痣病的盆栽防治效果

处理	出苗率 (%)	发病率 (%)	病情指数	防效 (%)
灌根	100.00	46.67c	(22.50 ± 0) a	61.22
浸种	100.00	63.33b	(28.33 ± 1.44) b	52.72
生防菌对照	100.00			
病原菌对照	96.67	96.67a	(62.96 ± 0.80) c	

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

- [2] Hornby D. Diseases caused by soilborne pathogens [M] // Jones D G. The epidemiology of plant diseases. Netherlands: Springer, 1998.
- [3] 曹春梅, 张建平, 张庆平, 等. 马铃薯黑痣病药剂防治试验 [C] // 中国作物学会马铃薯专业委员会 2009 年马铃薯大会论文集. 榆林, 2009: 366 - 370.
- [4] Bakali A M E, Martín M P. Black scurf of potato [J]. Mycologist, 2006, 20(4): 130 - 132.
- [5] 李社增, 鹿秀云, 张静, 等. 小麦纹枯病拮抗细菌的筛选 [J]. 植物病理学报, 2005, 35(6): 95 - 98.
- [6] 姜英华, 胡白石, 刘凤权. 植物土传病原菌拮抗细菌的筛选与鉴定 [J]. 中国生物防治, 2005, 21(4): 260 - 264.
- [7] Akila R, Rajendran L, Harish S, et al. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense (Foc) causing *Fusarium* wilt in

banana [J]. Biological Control, 2011, 57(3): 175 - 183.

- [8] Lemessa F, Zeller W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia [J]. Biological Control, 2007, 42(3): 336 - 344.
- [9] Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, et al. Soil health through soil disease suppression; which strategy from descriptors to indicators? [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(1): 1 - 23.
- [10] Beagleristaino J E, Papavizas G C. Biological control of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato [J]. Phytopathology, 1985, 75(5): 560 - 564.
- [11] Lewis J A, Fravel D R, Lumsden R D, et al. Application of biocontrol fungi in granular formulations of pregelatinized starch - flour to control damping - off diseases caused by *Rhizoctonia solani* [J]. Biological Control, 1995, 5(3): 397 - 404.
- [12] Lewis J A, Larkin R P. Extruded granular formulation with biomass of biocontrol *Gliocladium virens* and *Trichoderma* spp. to reduce damping - off of eggplant caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soil - less mix [J]. Biocontrol Science and Technology, 1997, 7(1): 49 - 60.
- [13] Velvis H, Jager G. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 1. Preliminary experiments with *Verticillium biguttatum*, a sclerotium - inhabiting fungus [J]. European Journal

- of Plant Pathology, 1983, 89(3): 113 - 123.
- [14] Jager G, Velvis H. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. 2. Sprout protection against soil - borne *R. solani* through seed inoculation with *Verticillium biguttatum* [J]. European Journal of Plant Pathology, 1984, 90(1): 29 - 33.
- [15] Phjfvanden B, Deacon J W. Biotrophic mycoparasitism by *Verticillium biguttatum* on *Rhizoctonia solani* [J]. European Journal of Plant Pathology, 1994, 100(2): 137 - 156.
- [16] Bautista G, Mendoza H, Uribe D. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in native potato (*Solanum phureja*) plants using native *Pseudomonas fluorescens* [J]. Acta Biologica Colombiana, 2007, 12(1): 19 - 32.
- [17] 彭振红. 马铃薯黑痣病生防菌的筛选及抑菌机理的初步研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [18] Correa O S, Montecchia M S, Berti M F, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* BNM122, a potential microbial biocontrol agent applied on soybean seeds, causes a minor impact on rhizosphere and soil microbial communities [J]. Applied Soil Ecology, 2009, 41(2): 185 - 194.
- [19] Pérez - García A, Romero D, de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2011, 22(2): 187 - 193.
- [20] 游春平, 肖爱萍, 傅志岸, 等. 稻瘟病生防菌对四种作物土传病害病原菌的抑制作用 [J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(6): 860 - 863, 867.
- [21] 王雨淋. 小麦赤霉病的生物防治 [J]. 粮食加工, 1988(2): 29 - 36.
- [22] 崔云龙, 姬金红, 衣海青. 短小芽孢杆菌 D82 对小麦根腐病原菌拮抗的研究 [J]. 中国生物防治学报, 1995, 11(3): 114 - 118.
- [23] 谢栋, 胡剑. 枯草芽孢杆菌抗菌蛋白 X98 III 的纯化与性质 [J]. 微生物学报, 1998, 38(1): 13 - 19.
- [24] Sharga B M, Lyon G D. *Bacillus subtilis* BS 107 as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1998, 44(8): 777 - 783.
- [25] 王瑞霞, 贺运春, 赵廷昌, 等. 马铃薯环腐病生防菌株 P1 的鉴定、防病效果及促生作用研究 [J]. 植物病理学报, 2010, 40(1): 66 - 73.
- [26] 王爱军, 柴兆祥, 李金花, 等. 马铃薯干腐病菌和黑痣病菌拮抗芽孢杆菌的筛选及鉴定 [J]. 中国生物防治学报, 2013, 29(4): 586 - 594.
- [27] 中国科学院南京土壤所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [28] 黄新琦, 雍晓雨, 沈其荣, 等. 土传黄瓜立枯病高效拮抗菌的筛选鉴定及其生物效应 [J]. 植物保护学报, 2012, 39(1): 45 - 50.
- [29] 范秀容, 沈萍. 微生物学实验 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1980.
- [30] 张建平, 哈斯, 程玉臣. 几种杀菌剂对马铃薯黑痣病的防效 [J]. 中国马铃薯, 2014(1): 53 - 56.
- [31] Dunlap C S. *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzae*' are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66: 1212 - 1217.
- [32] Agbobatinkpo P B, Thorsen L, Nielsen D S, et al. Biodiversity of aerobic endospore - forming bacterial species occurring in Yanyanku and Ikpiru, fermented seeds of *Hibiscus sabdariffa* used to produce food condiments in Benin [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 163(2/3): 231 - 238.
- [33] Zhao Y C, Li P X, Huang K H, et al. Control of postharvest soft rot caused by *Erwinia carotovora* of vegetables by a strain of *Bacillus amyloliquefaciens* and its potential modes of action [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29(3): 411 - 420.
- [34] 邱德文. 我国植物病害生物防治的现状与发展策略 [J]. 植物保护, 2010, 36(4): 15 - 18, 35.
- [35] 张晓媛, 赖闻玲, 许杨. 防治脐橙炭疽病生防菌的筛选 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 152 - 154.
- [36] 张鸿雁, 刘勇, 任勇洋. 人参锈腐病及疫病生防放线菌筛选 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(2): 173 - 176.
- [37] 屈俊廷, 金海强, 沈国娟, 等. 人参锈腐病生防用解淀粉芽孢杆菌 Y - S - Y12 菌株发酵条件的优化 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(3): 158 - 161.
- [38] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Kwon S W, et al. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol - utilizing, plant - growth - promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(10): 2490 - 2495.
- [39] Borriss R, Chen X H, Rueckert C, et al. Relationship of *Bacillus amyloliquefaciens* clades associated with strains DSM 7^T and FZB42^T: a proposal for *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *amyloliquefaciens* subsp. nov. and *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* subsp. nov. based on complete genome [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, 61(8): 1786 - 1801.
- [40] 杨洪凤, 薛雅蓉, 余向阳, 等. 内生解淀粉芽孢杆菌 CC09 菌株在小麦叶部的定殖能力及其防治白粉病效果研究 [J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 481 - 488.
- [41] Cai X C, Li H, Xue Y R, et al. Study of endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* CC09 and its antifungal cyclic lipopeptides [J]. Journal of Applied Biology & Biotechnology, 2013, 1(1): 1 - 5.
- [42] Chen X H, Scholz R, Borriss M, et al. Difficidin and bacilysin produced by plant - associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease [J]. Journal of Biotechnology, 2009, 140(1/2): 38 - 44.
- [43] 杜淑涛, 李术娜, 朱宝成. 白菜黑斑病拮抗细菌 *Bacillus velezensis* DL - 59 的筛选鉴定及田间防效实验 [J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(6): 51 - 56.
- [44] 索雅丽, 李术娜, 李红亚, 等. 番茄灰霉病菌拮抗菌株的筛选及功能基因的分析 [J]. 中国植保导刊, 2010, 30(8): 7 - 10.
- [45] 连彩, 郭晓军, 朱宝成, 等. 兰花枯萎病拮抗细菌的筛选与鉴定 [J]. 华北农学报, 2012, 27(2): 222 - 225.