

烟草黑胫病拮抗细菌菌群的筛选

尹坚^{1,2}, 王振华³, 刘天波^{1,2}, 李基光⁴, 陈武¹, 肖云花⁵, 李迅^{1,6}, 唐前君^{1,2*}

(1.湖南农业大学植物保护学院, 湖南 长沙 410128; 2.植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128; 3.湖南省烟草公司张家界市公司, 湖南 张家界 427000; 4.湖南省农业科学院作物所, 湖南 长沙 410125; 5.湖南农业大学生物科技学院, 湖南 长沙 410128; 6.爱荷华州立大学植物病理与微生物系, 美国 艾奥瓦州 50010)

摘要:从湖南烟区烟草黑胫病重发田块采集根际土壤样品共 900 份, 经富集培养后筛选出 195 个对烟草黑胫病菌有拮抗效果的细菌菌群。菌群 Miseq 高通量测序结果表明: 不动杆菌属(*Acinetobacter*)和寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)为拮抗细菌菌群共有的优势属。挑选 5 个抑菌效果较好菌群施入烟田土壤, B44R 菌群对烟草黑胫病防效达 51.56%。将这 5 个细菌菌群进行拮抗菌株分离筛选, 获得的拮抗菌株分别属于芽孢杆菌属、不动杆菌属、寡养单胞菌属和克雷伯氏菌属。施入菌群后的土壤高通量测序结果显示这些拮抗细菌菌群可在土壤中定殖, 其中不动杆菌属和芽孢杆菌属的种群数量显著增加。

关键词:烟草; 烟草黑胫病; 高通量测序; 拮抗细菌菌群; 筛选

中图分类号: S435.72 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2019)06-0588-06

Screening and mechanism of antagonistic bacteria against tobacco black shank

YIN Jian^{1,2}, WANG Zhenhua³, LIU Tianbo^{1,2}, LI Jiguang⁴, CHEN Wu¹, Xiao Yunhua⁵, LI Xun^{1,6}, TANG Qianjun^{1,2*}

(1.College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 3.Zhangjiajie Tobacco Company of Hunan Tobacco Company, Zhangjiajie, Hunan 427000, China; 4.Crop Institute of Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 5.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 6. Department of Plant Pathology & Microbiology, Iowa State University, Ames, Iowa 50010, The United States of America)

Abstract: A total of 900 rhizosphere soil samples were collected from the main tobacco producing areas in Hunan Province and 195 bacterial groups with antagonistic effect on tobacco black shank were screened out after enrichment and cultivation. The high-throughput sequencing results of Miseq showed that *Acinetobacter* and *Stenotrophomonas* are the common dominant genera of antagonistic bacteria. Five bacteria groups with better bacteriostatic effect were selected and applied to the soil of tobacco field, the control effect of group B44R on tobacco black shank was 51.56%. Antagonistic strains in the 5 bacteria groups were screened and isolated, the obtained antagonistic strains were found to belong to 4 genera: *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* and *Klebsiella*. The results of soil high-throughput sequencing showed that after applied to soils, the antagonistic bacteria could colonize in the soil and the populations of *Acinetobacter* and *Bacillus* increased significantly.

Keywords: tobacco; tobacco black shank; high-throughput sequencing; antagonistic bacterial flora; screening

Van Breda de Haan 在印度尼西亚首次发现烟草黑胫病^[1-2], 该病现已在近 40 个国家和地区发生。20 世纪初, 中国首次报道烟草黑胫病^[3], 安徽、贵

州、河南、云南和福建等多个烟区已发生该病。烟草黑胫病以根茎部侵染为主, 向茎髓部扩展, 病株叶片自下而上依次变黄, 茎中腐烂, 茎节呈黑色,

收稿日期: 2019-09-01

修回日期: 2019-10-15

基金项目: 中国烟草总公司湖南省公司项目(17-20Aa02); 湖南省教育厅开放基金项目(16K039)

作者简介: 尹坚(1994—), 男, 湖南益阳人, 硕士研究生, 主要从事植物病害生物防治研究, 781011979@qq.com; *通信作者, 唐前君, 博士, 副教授, 主要从事植物病理学研究, tangqianjun78@163.com

发病严重时整株枯死^[4], 整个生育期都可发病。烟草黑胫病菌潜伏期长, 隐蔽性强, 发病部位特殊, 病害一旦出现, 短期内会大面积流行^[5]。目前化学防治依然是主要的防治措施, 长期使用化学药剂导致病原产生抗药性、农药残留等问题^[6]。

从烟草根际分离筛选出有益根际细菌, 再施用于烟草根部是防治烟草黑胫病的捷径^[7]。奚家勤等^[8]发现几丁质酶活性与抑菌作用相关, 链霉菌 *Streptomyces* spp. 菌株 9-1-1 对黑胫病菌有良好的抑制效果。王革等^[9]筛选出 1 株木霉菌株长枝木霉 *Trichoderma longibrachiatum*, 能通过竞争作用、重寄生作用和抗生素作用来拮抗黑胫病菌。王静^[10]发现的短小芽孢杆菌 *Bacillus pumilus* AR03 菌株的菌体和分泌的胞内物质都对烟草黑胫病菌有很强的拮抗作用, 还能通过与化学农药产生协同作用, 达到抗病的效果。王远山等^[11]发现细菌绿针假单胞菌 *P. chlororaphis* PL9 和其液体培养物浓缩过滤液对烟草黑胫病有较强的抑制作用。千慧敏等^[12]获得 2 株对烟草黑胫病有拮抗作用的假单胞菌株 PA2101 和 PG3402。黄大跃^[13]发现链霉菌属 F-7 菌株能有效抑制烟草黑胫病。黄瑞环等^[14]对海洋红树林来源木霉分离纯化, 发现 13 株对烟草黑胫病有抑制效果的木霉。马丽等^[15]通过将铜绿假单胞菌 NXHG29 与一种新型生物有机肥组合来降低烟草黑胫病的发病率。这一系列对烟草黑胫病生防菌的研究, 多集中于单菌的防效上, 最具明显防治作用的是芽孢杆菌 *Bacillus* sp.^[16-22]。刘璇等^[23]将拮抗菌株同具有促进作用的细菌组合, 得到对烟草黑胫病有良好防治效果的复合微生物。傅春风^[24]将筛选的 PGPR 细菌菌株复合, 发现它对烟草黑胫病的防效为 49.05%。张维^[25]发现的复配拮抗菌 FP246 是由芽孢杆菌构成, 田间防效能达到 81.06%。

笔者从湖南省烟区烟草黑胫病重发田块收集了 900 份根际土壤样品, 利用培养基富集烟草根际土壤中的微生物, 继代培养后筛选出对烟草黑胫病有明显拮抗作用且相对稳定的细菌菌群, 运用 Miseq 高通量测序方法, 分析拮抗细菌菌群的结构和种群丰度; 选取抑菌效果好的细菌菌群施于烟草根部, 验证拮抗细菌菌群对烟草黑胫病的防治效果, 并对施入菌群后的土壤进行 Miseq 测序, 分析土壤中菌群结构和种群丰度, 筛选拮抗细菌菌群中的拮抗单菌,

旨在为烟草黑胫病的生物防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

于 2016 年, 在湖南永州市、郴州市、衡阳市、长沙市和湘西自治州烟田采集烟草根际土壤样品共 900 份, 其中永州市 300 份, 郴州市 180 份, 衡阳市 60 份, 长沙市 120 份, 湘西州 240 份。

1.2 方法

1.2.1 拮抗细菌菌群的筛选

称取 0.5 g 土样, 分别使用 1/2 LB 和 R2A 培养基培养, 27 °C、180 r/min 振荡培养 5 d。取 2 mL 用细菌过滤头过滤, 用作拮抗试验, 剩余用甘油于 -80 °C 保存。参考陆新莉等^[20]的方法筛选拮抗细菌菌群。

1.2.2 拮抗细菌菌群的 Miseq 高通量测序

使用 OMEGA Bacterial DNA Kit 试剂盒, 提取细菌菌群 DNA 后, 参考肖云花^[26]的方法进行 PCR 扩增。利用 Gel-Imaging 软件获得条带净光密度以及分子量大小。再用 NanoDrop 测定的浓度做校正, 计算每个样品的浓度。按每个样品 200 ng 来混样。PCR 扩增产物送中南大学资源加工与生物工程学院测序。

1.2.3 拮抗细菌菌群对烟草黑胫病的田间防效试验

选择湘西科技示范园烟草黑胫病历年发病严重的田块进行大田防效试验。根据拮抗细菌菌群筛选结果, 挑选抑菌效果较好的 5 个菌群处理, 设 1 个阳性对照和 1 个阴性对照。阳性对照为 10% 甲霜灵+48% 代森锰锌可湿性粉剂(北农绿亨公司提供); 阴性对照为清水。每处理 3 个重复, 随机排列, 每小区 30 m²。按当地烟草良好农业操作规范施基肥, 起垄后移栽烟草, 将菌群分别稀释 800 倍液后作为定根水灌根, 每株 300 mL; 移栽后 30 d, 再灌根 1 次。6 月中旬调查各处理烟草黑胫病的发病情况, 参照 GB/T 23222—2008 进行病情分级, 计算发病率和病情指数。

1.2.4 拮抗菌株的分离与鉴定

参照杨艺炜等^[27]的方法, 对抑菌效果较好的 5 个拮抗细菌菌群进行分离与拮抗筛选, 对获得的拮抗菌株进行分子鉴定。

1.2.5 根际土壤细菌的高通量测序

于菌群施入土壤后 30、60、90 d, 分别采集土壤样品, 每个处理取 10 个重复。提取土壤 DNA, 通过 Miseq 高通量测序, 分析土壤中菌群种类和种群丰度。采用单因素方差分析(ANOVA)方法比较其中菌属的丰度变化。

2 结果与分析

2.1 拮抗细菌菌群筛选结果

以 1/2 LB 和 R2A 为富集培养基, 对 900 份根际土壤样品进行富集培养后, 筛选得到对黑胫病菌有抑制作用的菌群 195 个, 其中湘西和郴州筛选到的拮抗细菌菌群分别有 82 和 42 个, 数量较多。

2.2 拮抗细菌菌群 Miseq 高通量测序结果

对 195 个拮抗菌群进行 Miseq 测序, 结果(表 1)发现: 拮抗效果较好的 5 个拮抗细菌菌群中, R156R 和 B100R 中的优势菌属为鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium*), 相对丰度分别为 29.18%和 13.19%; R182R 中的优势菌属为不动杆菌属(*Acinetobacter*), 相对丰度为 59.08%; B7L 中的优势菌属为苍白杆菌属(*Ochrobactrum*), 相对丰度为 55.35%; B44R 中的优势菌属为丛毛单胞菌属(*Comamonas*), 相对丰度为 17.03%; 其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)和寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)是 5 个拮抗细菌菌群共有的优势属。

表 1 拮抗细菌菌群的优势属

Table 1 Dominating genera of antagonistic microorganisms

拮抗菌群优势属	学名	相对丰度/%				
		R156R	R182R	B100R	B7L	B44R
无法分类的属		0.62	0.06	43.47	8.96	17.84
鞘氨醇单胞菌属	<i>Sphingomonas</i>	0.06	0.00	0.00	0.05	0.04
<i>Gaiella</i>	<i>Gaiella</i>	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
寡养单胞菌属	<i>Stenotrophomonas</i>	1.66	6.14	1.70	14.53	6.96
鞘氨醇杆菌属	<i>Sphingobacterium</i>	29.18	0.02	13.19	0.00	0.23
短小芽孢杆菌	<i>Lysinibacillus</i>	0.00	7.64	4.93	3.76	1.98
无色杆菌属	<i>Achromobacter</i>	0.30	3.95	0.09	8.05	0.19
假苍白杆菌属	<i>Pseudochrobactrum</i>	0.01	0.00	10.79	0.00	0.00
短波单胞菌属	<i>Brevundimonas</i>	0.00	0.02	0.12	0.00	0.13
产碱杆菌属	<i>Alcaligenes</i>	0.15	0.03	0.00	0.00	0.00
亮杆菌属	<i>Leucobacter</i>	0.01	0.81	0.69	0.01	0.03
类香味菌属	<i>Myroides</i>	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
假单胞菌属	<i>Pseudomonas</i>	9.53	1.51	0.00	0.00	12.32
肠杆菌属	<i>Enterobacter</i>	5.06	14.35	0.00	0.01	0.31
丛毛单胞菌属	<i>Comamonas</i>	20.73	0.87	9.48	0.00	17.03
苍白杆菌属	<i>Ochrobactrum</i>	1.46	0.01	0.38	55.35	0.45
鞘脂杆菌属	<i>Pedobacter</i>	21.68	0.00	0.00	0.00	1.71
黄杆菌属	<i>Flavobacterium</i>	4.08	0.00	0.00	0.00	1.13
申氏杆菌属	<i>Shinella</i>	1.25	0.05	0.72	0.01	0.03
不动杆菌属	<i>Acinetobacter</i>	3.12	59.08	12.33	4.65	11.20
潘多拉菌属	<i>Pandoraea</i>	0.00	2.24	0.00	0.00	0.00
微枝形杆菌属	<i>Microvirga</i>	0.00	1.04	0.00	0.01	0.00
代尔夫特菌属	<i>Delftia</i>	0.00	0.00	1.41	0.00	0.10
类芽孢杆菌属	<i>Paenibacillus</i>	0.00	0.05	0.07	2.96	0.00
芽孢杆菌	<i>Bacillus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	8.98
金黄杆菌属	<i>Chryseobacterium</i>	0.00	0.01	0.00	0.00	9.28
马赛菌属	<i>Massilia</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	4.63
伊丽莎白菌属	<i>Elizabethkingia</i>	0.01	0.22	0.00	0.00	3.90
伯克霍尔德菌属	<i>Burkholderia</i>	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
短杆菌属	<i>Brevibacillus</i>	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00
<i>Dyella</i>	<i>Dyella</i>	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
贪铜菌属	<i>Cupriavidus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.42
库特氏菌属	<i>Kurthia</i>	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
其他		1.09	1.89	0.60	1.61	1.10

2.3 拮抗细菌菌群对烟草黑胫病的田间防效

田间病情调查结果(表 2)表明,5 个拮抗细菌菌群处理和阳性对照的病情指数均低于阴性对照,且各个处理的病情指数差异显著。B44R 对烟草黑胫病的田间防效为 51.56%,R182R 和 B7L 防效也高于阳性对照,且存在显著性差异,表明拮抗细菌菌群对烟田烟草黑胫病有一定的防治效果。

表 2 5 种菌群对烟草黑胫病的田间防效
Table 2 Field control effects of 5 bacterial groups on tobacco black shank

菌群编号	病情指数	防效/%
B7L	31.93e	45.77b
B44R	26.81f	51.56a
R182R	36.07d	39.23c
B100R	40.52b	24.92e
R156R	41.63b	26.71e
阳性对照	38.89c	27.88d
阴性对照	53.48a	

不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.4 拮抗菌株的鉴定结果

将 5 个拮抗细菌菌群进行分离,在每个涂布平板上选取形态大小相似、数量最多的 6 个菌落进行对峙拮抗试验,每个重复 3 次,3 d 后记录抑菌率,结果发现有 24 个菌株(表 3)对烟草黑胫病菌有拮抗作用。通过测序结果比对分析,发现 24 个菌株分别来自芽孢杆菌属、不动杆菌属、寡养单胞菌属和克雷伯氏菌属 4 个属,其中 B44R-6 菌株的抑菌率为 66.67%,B44R-2 和 B7L-3 的抑菌率分别为 61.90%和 52.38%。通过进化树分析,B44R-6 属于醋酸钙不动杆菌(*A. calcoaceticus*),B7L-3 属于嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),B44R-2 与克雷伯氏菌属中的解鸟氨酸克雷伯菌(*Klebsiella ornithinolytica*)最相近。

表 3 拮抗菌株对烟草黑胫病菌的抑菌率

Table 3 Inhibitory effect of 24 antagonistic strains on tobacco black shank disease

菌株	抑菌率/%	菌株鉴定结果	菌株	抑菌率/%	菌株鉴定结果
B7L-3	52.38b	寡养单胞菌属	R182R-1	38.10de	不动杆菌属
B44R-1	42.86cd	克雷伯氏菌属	R182R-2	23.81gh	克雷伯氏菌属
B44R-2	61.90a	克雷伯氏菌属	R182R-3	42.86cd	不动杆菌属
B44R-4	38.10de	不动杆菌属	R182R-4	47.62bc	不动杆菌属
B44R-5	47.62bc	芽孢杆菌属	R182R-5	23.81gh	克雷伯氏菌属
B44R-6	66.67a	不动杆菌属	R182R-6	28.57fg	克雷伯氏菌属
B100R-1	42.86cd	克雷伯氏菌属	R156R-1	33.33ef	不动杆菌属
B100R-2	28.57fg	不动杆菌属	R156R-2	4.76i	克雷伯氏菌属
B100R-3	19.05h	克雷伯氏菌属	R156R-3	23.81gh	克雷伯氏菌属
B100R-4	52.38b	不动杆菌属	R156R-4	23.81gh	不动杆菌属
B100R-5	47.62bc	克雷伯氏菌属	R156R-5	38.10de	克雷伯氏菌属
B100R-6	38.10de	不动杆菌属	R156R-6	42.86cd	不动杆菌属

2.5 施入拮抗细菌菌群土壤的 Miseq 测序结果

对施入拮抗细菌菌群的土壤样品进行 Miseq 测序,得到细菌 32 门 71 纲 99 目 240 科 753 属。在属分类水平上,鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、*Gaiella*、酸杆菌 Gp16、酸杆菌 Gp4、酸杆菌 Gp6、酸杆菌 Gp7 和酸杆菌 Gp3 为优势菌属(相对丰度大于 1%)。施入菌群 30 d 和 60 d 时,根瘤菌属(*Mesorhizobium*)、*Lacibacterium*、剑菌属(*Ensifer*)

和微枝杆杆菌属(*Microvirga*)相对丰度增加(图 1),说明这些菌属可能与拮抗烟草黑胫病或诱导烟株抗性有关;节杆菌属(*Arthrobacter*)、酸杆菌 Gp16、类诺卡氏菌属(*Nocardioide*)和 *Aeromicrobium* 相对丰度在施入菌群 30、60、90 d 时都显著减少,*Aquihabitans*、*Spartobacteria_genera_incertae_sedis*、大理石菌属(*Marmoricola*)、壤霉菌属(*Agromyces*)和 *Phycococcus* 相对丰度在 30 d 和 60 d 时减少,说明这些菌属可能与烟草黑胫病的发生有关。

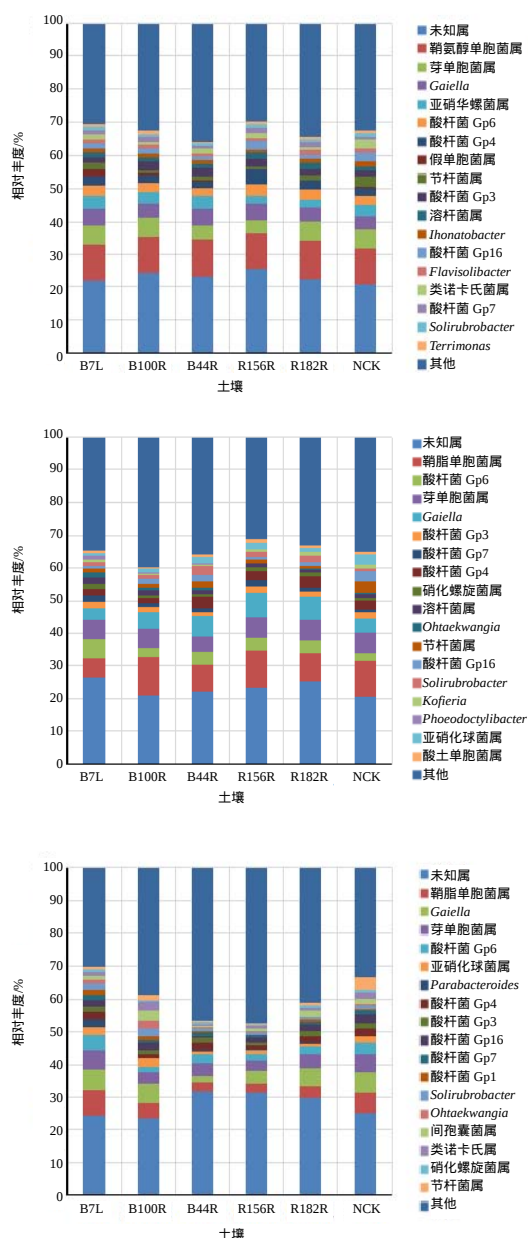
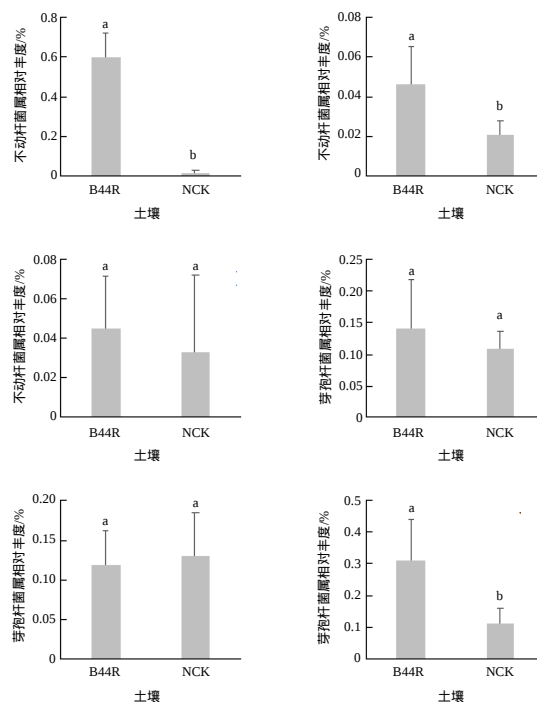


图 1 施入菌群 30、60、90 d 后土壤微生物在属水平的相对丰度

Fig.1 Relative abundance of soil microorganisms at genus level 30, 60, 90 days after bacterial flora treatment

为了明确分离获得的 4 种拮抗菌属随拮抗菌群进入土壤后能否发挥相应的拮抗作用,通过单因素方差分析(ANOVA)方法,选择防效较好菌群 B44R 与阴性对照 NCK 进行比较。结果发现:不同时期的同一处理土壤中的 4 种拮抗菌属的相对丰度不一致,在 30 d 和 60 d 时, B44R 处理土壤中不动杆菌属的相对丰度显著增加,芽孢杆菌属在 90 d 时显著增加,说明不动杆菌属和芽孢杆菌属可能在拮抗菌群抑制烟草黑胫病菌过程中发挥作用(图 2)。



I、II、III 分别表示施入 B44R 土壤中 30、60、90 d 不动杆菌属的相对丰度; 、 、 分别表示施入 B44R 土壤中 30、60、90 d 芽孢杆菌属的相对丰度。

图 2 施入 B44R 的土壤不动杆菌属和芽孢杆菌属的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of *Acinetobacter* and *Bacillus* in soil under B44R treatment

3 讨论

从湖南长沙、衡阳、郴州、永州和湘西 5 个烟区烟草黑胫病重发田块采集根际土壤,富集土壤中的细菌微生物后,筛选出 195 个具有拮抗效果的细菌菌群,其中湘西和郴州的拮抗细菌菌群数量较多,对烟草黑胫病菌的拮抗效果也优于其他地区,可能因为这 2 个地区的土壤环境复杂,微生物种类丰富,其复杂的生物多样性可能抑制烟草黑胫病的发生。对 5 个抑菌效果较好的拮抗细菌菌群进行 Miseq 测序,发现不动杆菌属与寡养单胞菌属是其共同的优势菌属,从中分离获得的拮抗菌株分别属于不动杆菌属、寡养单胞菌属、克雷伯氏菌属和芽孢杆菌属。将 5 个菌群施入土壤,其中施入 B44R 菌群的田间防效为 51.56%,土壤中不动杆菌属和芽孢杆菌属相对丰度显著增加,不动杆菌属和芽孢杆菌属可能在菌群拮抗过程中发挥重要作用。高通量测序结果发现,拮抗细菌菌群的施入,明显改变了烟田土壤微生物群落的结构和种群丰度,相较于单一菌株,拮抗细菌菌群可能更具稳定性和环境适应性。

参考文献:

- [1] 易龙, 邱妙文, 陈永明, 等. 烟草黑胫病的生物防治研究进展[J]. 中国农学通报, 2017, 33(25): 146–151.
- [2] 朱贤朝, 王彦亭, 王智发. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 21–36.
- [3] 方中达, 陆家云, 叶钟音, 等. 中国农业百科全书: 植物病理学卷[M]. 北京: 农业出版社, 1996: 534–535.
- [4] 马国胜, 高智谋, 陈娟. 烟草黑胫病研究进展[J]. 烟草科技, 2001(9): 44–48.
- [5] 谈文, 吴元华. 烟草病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [6] 李斌, 龚国淑, 姚革, 等. 烟草黑胫病化学防治研究进展[J]. 广西农业科学, 2008, 39(3): 331–334.
- [7] 冯志珍, 陈太春, 段军娜, 等. 烟草黑胫病拮抗根际芽孢杆菌 FB-16 的筛选鉴定及其抑菌活性[J]. 植物保护学报, 2012, 39(3): 224–230.
- [8] 奚家勤, 宋纪真, 周汉平, 等. 产几丁质酶菌的分离、筛选及其对烟草病原真菌的抑制作用[J]. 烟草科技, 2006, 39(3): 55–58.
- [9] 王革, 李梅云, 段玉琪, 等. 木霉菌对烟草黑胫病菌的拮抗机制及其生物防治研究[J]. 云南农业大学学报, 2001, 23(3): 222–226.
- [10] 王静, 孔凡玉, 秦西云, 等. 短小芽孢杆菌 AR03 对烟草黑胫病菌的拮抗活性及其田间防效[J]. 中国烟草学报, 2010, 16(5): 78–81.
- [11] 王远山, 王平, 胡正嘉. 绿针假单胞菌 PL9 菌株对烟草疫霉的拮抗作用研究[J]. 华中农业大学学报(自然科学版), 2002, 21(3): 248–251.
- [12] 千慧敏, 文艺, 赵辉, 等. 烟草黑胫病和根黑腐病生防假单胞杆菌的筛选与鉴定[J]. 中国生物防治学报, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3515.S.20191106.1542.003.html>
- [13] 黄大跃. 烟草黑胫病菌拮抗菌的筛选及生防机制研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018.
- [14] 黄瑞环, 苟剑渝, 韩小斌, 等. 烟草主要病害拮抗菌的筛选鉴定及除草活性分析[J]. 烟草科技, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1137.TS.20190925.1122.006.html>
- [15] MA Li, ZHANG Haoyu, YANG Chenggang. Biological control tobacco bacterial wilt and black shank and root colonization by bio-organic fertilizer containing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* NXHG29[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 129: 136–144.
- [16] 王进, 黄艳飞, 汪汉成, 等. 烟草疫霉拮抗菌枯草芽孢杆菌 21b 菌株的分离鉴定及其生物学特性研究[J]. 微生物学通报, 2014(12): 2481–2487.
- [17] 朱忠彬, 吴秉奇, 丁延芹, 等. 短短芽孢杆菌 DZQ3 对烟草的促生及系统抗性诱导作用[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(3): 92–96.
- [18] 周向平, 肖启明, 罗宽, 等. 烟草黑胫病菌拮抗内生细菌的筛选和鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2004, 30(5): 450–452.
- [19] 程睿君. 烟草黑胫病拮抗菌 ZY-11-2 的筛选、鉴定及其生物防治效果研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [20] 陆新莉, 雷庭, 邱克刚, 等. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选、鉴定和防病潜力[J]. 生物学杂志, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1081.Q.20190121.1530.004.html>
- [21] 施河丽, 谭军, 丁才夫, 等. 烟草黑胫病拮抗芽孢杆菌的筛选及生防效果评价[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(18): 60–65, 68.
- [22] 张恒, 李金星, 陈思颖, 等. 烟草黑胫病与青枯病生防芽孢杆菌筛选[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2019, 36(5): 33–37.
- [23] 刘璇. 防治烟草黑胫病复合微生物的构建[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [24] 傅春风. 烟草抗病促生复合微生物菌剂的研制及效果评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [25] 张维. 烟草黑胫病复配拮抗菌的筛选及其生防潜力研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [26] 肖云花. 生物冶金体系环境-微生物-矿物氧化效率关联机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2017.
- [27] 杨艺炜, 黎妍妍, 张安盛. 等. 烟草黑胫病拮抗菌 XF10 的筛选与鉴定[J]. 烟草科技, 2018, 51(4): 20–27.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维