

小麦茎基腐病生防菌株 YB-161 的 分离鉴定及防效测定

林琪童^{1,2} 杨丽荣² 夏明聪² 孙润红² 李洪连^{1*} 张洁^{2*}

(1. 河南农业大学植物保护学院, 小麦玉米作物学国家重点实验室, 郑州 450002; 2. 河南省农业科学院
植物保护研究所, 河南省生物农药工程研究中心, 河南省作物保护国际联合实验室, 郑州 450002)

摘要: 为筛选防治小麦茎基腐病的高效生防菌株, 采用稀释涂布法从小麦茎基腐病病土中分离细菌, 以假禾谷镰孢 *Fusarium pseudograminearum* 为靶标菌, 通过平板对峙培养法和室内盆栽试验筛选优良菌株并测定其田间防治效果, 分析优良菌株发酵滤液对假禾谷镰孢的抑菌能力, 并结合形态特征、Biolog 微生物自动鉴定系统和 *gyrA* 序列分析对其进行种类鉴定, 以及测定该菌株的抑菌谱。结果表明, 10 份供试土样中共分离到 98 株细菌, 对假禾谷镰孢的菌丝生长抑制率超过 40.00% 的菌株有 14 株, 其中菌株 YB-161 对假禾谷镰孢的菌丝生长抑制率最高, 达 63.50%。室内盆栽试验结果显示, 菌株 YB-161 处理小麦的病情指数最低, 为 31.40, 对小麦茎基腐病的防治效果最好, 为 68.15%, 其对小麦也表现出较好的促生作用。田间调查结果显示, 菌株 YB-161 菌液拌种处理对小麦茎基腐病的田间防治效果高于 52.35%, 并对小麦具有一定的增产作用。菌株 YB-161 的发酵滤液 5 倍稀释液和 10 倍稀释液对假禾谷镰孢的菌落抑制率分别达 66.67% 和 44.33%, 该菌株被鉴定为解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*。此外, 菌株 YB-161 对辣椒炭疽病菌 *Colletotrichum capisci*、烟草疫霉病菌 *Phytophthora parasitica* 等 5 种植物病原真菌均有较好的拮抗作用。表明生防菌株 YB-161 对绿色防控小麦茎基腐病具有良好的开发利用潜能。

关键词: 小麦茎基腐病; 假禾谷镰孢; 分离筛选; 解淀粉芽胞杆菌; 防治效果

Isolation, identification and control efficiency of biocontrol strain YB-161 against wheat crown rot

LIN Qitong^{1,2} YANG Lirong² XIA Mingcong² SUN Runhong² LI Honglian^{1*} ZHANG Jie^{2*}

(1. National Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan Province, China; 2. Henan International Joint Laboratory of Crop Protection, Henan Biopesticide Engineering Research Center, Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan Province, China)

Abstract: To screen effective candidate biocontrol agents against wheat crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*, bacteria were isolated from the diseased soil using the dilution separation method. After the initial screening with confrontation culture and indoor pot test, the control effect of the strain on wheat crown rot was analyzed under field conditions and the antimicrobial ability of fermentation filtrate of the strain was determined. The strain was identified according to morphological characteristics, Biolog microbial identification system and *gyrA* sequence analysis. In addition, its antimicrobial

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201503112), 国家重点研发计划(2017YFD0201101), 河南省农业科学院优秀青年科技基金(2020YQ24)

* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: honglianli@sina.com, zhangjie656@126.com

收稿日期: 2019-09-23

spectrum was determined. The results showed that 98 strains were isolated from ten soil samples, among which 14 strains significantly inhibited the mycelial growth of *F. pseudograminearum* with an inhibition rate over 40.00%. Among them, the strain YB-161 had the highest inhibition rate (63.50%). The indoor pot tests showed that the disease index of wheat treated with strain YB-161 was the lowest (31.40), with the highest control efficiency (68.15%), and strain YB-161 could promote the growth of wheat. The results of field experiments indicated that the control efficiency of strain YB-161 on wheat crown rot was higher than 52.35%, concurrently increasing wheat yield. The colony inhibition rates of five-fold dilution and ten-fold dilution of strain YB-161 fermentation filtrate against *F. pseudograminearum* were 66.67% and 44.33%, respectively. The strain YB-161 was identified as *Bacillus amyloliquefaciens*. In addition, strain YB-161 showed a strong antagonistic effect on five species of plant pathogens, such as *Colletotrichum capisci* and *Phytophthora parasitica*. The results indicated that the biocontrol strain YB-161 had a great potential for green control of wheat crown rot.

Key words: wheat crown rot; *Fusarium pseudograminearum*; isolation and screening; *Bacillus amyloliquefaciens*; control efficiency

小麦是我国重要的粮食作物之一,其产量占粮食总产量的20%以上(赵广才等,2012),对我国粮食安全至关重要。小麦茎基腐病是一种由多种病原菌引起的小麦土传病害,目前已遍及北美、南美、欧洲、非洲、亚洲西南部、澳洲等小麦产区,对小麦的产量和品质造成了严重影响(Smiley & Patterson, 1996; Chakraborty et al., 2006; Saremi et al., 2007)。由于秸秆还田造成病原菌积累,加之大多数推广品种不抗病,该病近年来在我国小麦主产区逐年加重,给我国的小麦安全生产带来严重威胁(徐飞等,2016)。该病害可造成小麦种植期烂种、死苗,成株期茎基部褐变,发病严重时可见白穗症状。目前,小麦茎基腐病在我国黄淮小麦主产区的河南、河北、山东、安徽等省份普遍发生,并呈不断加重和蔓延趋势(周海峰等,2014)。据报道,引起小麦茎基腐病的病原菌主要有假禾谷镰孢 *Fusarium pseudograminearum*、禾谷镰孢 *F. graminearum* 和黄色镰孢 *F. culmorum*, 亚洲镰孢 *F. asiaticum*、燕麦镰孢 *F. avenaceum*、锐顶镰孢 *F. acuminatum*、早熟禾镰孢 *F. poae*、尖孢镰孢 *F. oxysporum*、木贼镰孢 *F. equiseti* 等也可引起该病(Tunali et al., 2008; Moya-Elizondo et al., 2011; Fernandez et al., 2014)。其中,假禾谷镰孢是在我国黄淮麦区新发现的小麦茎基腐病的优势病原菌(Li et al., 2012)。

目前,小麦茎基腐病的防治主要采用农业防治、化学药剂防治、选育抗病品种和生物防治措施等。但是在实际生产过程中发现,单靠农业防治难以有效地控制小麦茎基腐病的发生和发展,且耗费人

力;虽然化学药剂的防治效果较好,但其使用常伴随着环境污染等问题;目前缺乏小麦茎基腐病的免疫品种和高抗品种,一些中等抗性品种所表现的抗性并不稳定(杨云等,2015),并且选育新的抗病品种周期很长。生物防治措施由于其安全、高效、环保等特性而逐渐受到关注。王路遥等(2014)筛选由禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病的生防菌株,发现菌株1-8田间防治效果达45%以上;Mojgan(2016)报道印度梨型孢 *Piriformospora indica* 能够抑制禾谷镰孢和黄色镰孢侵染植株根系,从而减轻其对小麦的危害。目前针对假禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病生物防治措施的报道较少,亟需探索对假禾谷镰孢具有生物活性的新生防资源。

本课题组前期研究发现,将枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis* YB-05 菌株与申嗪霉素复配,对假禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病有较好的防治效果(张洁等,2018)。同时Huang & Wong(1998)研究发现,洋葱伯克氏菌 *Burkholderia cepacia* 可以显著减轻假禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病的病症,并有显著的增产作用。基于此,本研究从小麦茎基腐病病土中分离细菌菌株,筛选假禾谷镰孢的高效生防细菌,并进行种类鉴定和田间防治效果测定,以为小麦茎基腐病的生物防治工作提供新的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土壤及小麦品种:在河南省许昌市长葛市

老城镇、周口市西华县大王庄乡、开封市祥符区兴隆乡、新乡市延津县石婆固乡、洛阳市宜阳县柳泉镇等小麦茎基腐病发生严重的地块,按照五点取样法共采集 10 份土壤样品。小麦品种为郑麦 366,种子由河南省农业科学院小麦研究所提供。

供试病原菌:假禾谷镰孢强致病力菌株 WZ-8A,由河南农业大学植物保护学院植物土传病害实验室提供;辣椒炭疽病菌 *Colletotrichum capsici*、烟草疫霉病菌 *Phytophthora parasitica*、西瓜枯萎病菌 *F. oxysporum* f. sp. *niveum*、芹菜早疫病菌 *Cercospora apii*、番茄枯萎病菌 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 菌株,均由河南省农业科学院植物保护研究所分子生物学实验室分离和保藏。

培养基:营养琼脂(nutrient agar, NA)培养基:牛肉膏 3 g、蛋白胨 5 g、葡萄糖 2.5 g、琼脂 15 g,蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7;马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g,蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7;营养肉汤(nutrient broth, NB)培养基:牛肉膏 3 g、蛋白胨 5 g、氯化钠 5 g,蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7;小米培养基:小米煮熟晾干,装入三角瓶中高压灭菌 30 min。

药剂、试剂及仪器:4.8% 苯醚·咯菌腈(difenoconazole·fludioxonil)悬浮种衣剂,先正达生物科技(中国)有限公司。革兰氏染色液试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;BAG 培养基、接种液 B、Gen III 微孔板,美国 Biolog 公司;Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒,生工生物工程(上海)股份有限公司;KOD One™ PCR Master Mix,东洋纺(上海)生物科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。LDZX-75KB 立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;QYC-200 振荡培养箱,上海福玛实验设备有限公司;PQX 型人工气候箱,宁波莱福科技有限公司;A360 型紫外可见分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司;LifeECO 基因扩增仪,杭州博日科技有限公司;DYY-7C 电泳仪,北京六一仪器厂;Gen III Microstation 型 Biolog 微生物自动鉴定系统,美国 Biolog 公司;Axio Imager A2 荧光显微镜,卡尔蔡司(德国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 土壤中生防细菌的分离与初步筛选

将土壤样品置于通风处阴干后过 60 目筛,4℃ 冰箱保存备用。试验时称取 20 g 土壤样品,加入

180 mL 无菌水和适量灭菌的玻璃珠,120 r/min 振荡 30 min 后,利用 10 倍梯度稀释法稀释 10^3 、 10^4 、 10^5 倍,将所得土壤悬液并涂布于 NA 培养基上,每处理 3 次重复。28℃ 培养 1~3 d,挑取形态不同的单菌落在 NA 培养基上纯化,挑取纯化后的单菌落保藏于 NA 斜面培养基备用。

采用平板对峙法,以抑菌带和抑菌率为指标,对分离所得的细菌菌株进行初筛。取假禾谷镰孢 WZ-8A 菌株在 PDA 培养基上活化,4 d 后在菌落边缘用直径 5 mm 的打孔器打制菌饼,将菌饼倒置接种在新的 PDA 培养基中央,挑取活化的上述细菌菌饼对称点接在距离菌饼 20 mm 处,以只接种假禾谷镰孢 WZ-8A 菌饼的 PDA 培养基为对照,每处理 3 次重复。28℃ 倒置培养 5 d,测量各处理的抑菌带宽度,并计算抑菌率。抑菌率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

1.2.2 生防细菌的室内盆栽筛选

采用室内盆栽试验,以防治效果和对小麦的促生效果为指标,对初筛所得的生防菌株进行复筛。取假禾谷镰孢 WZ-8A 菌株在 PDA 培养基上活化,4 d 后在菌落边缘用直径 5 mm 的打孔器打制菌饼,每 100 mL 小米培养基接种 3 块,25℃ 黑暗培养 5~7 d 得小米培养物。将土、草炭和蛭石按照 7:2:1 体积比混合均匀,在烘箱内 160℃ 灭菌 2 h 得无菌基质。将小米培养物按照 0.5% 质量比与无菌基质混合均匀得带病基质,然后将 200 g 带病基质装入直径 9 cm、高 13 cm 的花盆。挑选大小一致、健康的小麦种子,用 1% NaClO 溶液消毒 3 min,再用无菌水冲洗 3 次,然后置于垫有润湿滤纸的培养皿内,26℃、12 h/12 h 光暗交替条件下催芽 36 h 至种子露白。将初筛所得生防菌株分别接种于 50 mL NB 培养液中,于 30℃、200 r/min 振荡培养一定时间得 $OD_{600\text{ nm}}$ 值为 0.8 时的菌液。取露白种子放入不同菌液中浸种 2 h 作为处理组,以 NB 无菌培养液浸种 2 h 作为空白对照,并设 4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂 2 mL/kg 拌种处理作为药剂对照,拌种时加入适量清水,充分搅拌均匀后置于通风处阴干备用。每盆播种 6 粒小麦,再均匀覆盖 30 g 带病基质,每处理种 6 盆,3 次重复。26℃、12 h/12 h 光暗交替条件下培养 30 d 后,每盆随机取样 5 株,调查小麦茎基腐病的发生情况和小麦的生长情况。

盆栽防治效果及促生效果测定:对小麦茎基腐病的发生情况进行分级调查,计算病情指数和防治

效果。分级标准为(Smiley et al., 2005):0级,无症状;1级,胚盘节变褐;2级,胚盘节变褐,地中茎或叶鞘变褐;3级,胚盘节、地中茎和叶鞘均变褐;4级,地中茎、叶鞘及下部秆变褐;5级,茎秆出现干枯腐烂症状;6级,由茎秆腐烂导致植株死亡;7级,苗枯或种子腐烂。病情指数= Σ (各病情分级 $\times$ 该病级的发病株数)/分级标准中最高级别数 $\times$ 调查总株数 $\times 100$;防治效果=(对照组病情指数-处理组病情指数)/对照组病情指数 $\times 100\%$ 。将小麦从基质中取出,用清水冲洗根部,洗净擦干后分别统计株高、根长和鲜重,每处理调查30株。

1.2.3 菌株YB-161对小麦茎基腐病的田间防治效果

在河南省焦作市武陟县王召乡对室内筛选出的菌株YB-161进行田间防治效果试验。试验地块常年种植小麦且茎基腐病发生严重,病原菌鉴定为假禾谷镰孢(Li et al., 2012)。将菌株YB-161接种于NB培养基中,于30℃、200 r/min振荡培养一定时间得OD_{600 nm}值为0.8时的菌液。本试验共设3个处理:(1)YB-161菌液30 mL/kg拌种;(2)4.8%苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂2 mL/kg拌种(药剂对照);(3)清水拌种(空白对照)。拌种时加入适量清水,充分搅拌均匀后置于通风处阴干备用。每处理3个小区重复,每小区面积为长10 m、宽3 m,随机区组排列。播种时间为2018年10月22日,播种量为225 kg/hm²,小麦生长周期中除试验外不使用其它杀菌剂,保持田间管理措施一致。分别在2018年3月2日和5月4日进行田间调查,每小区采用五点取样法取样,每点取20株小麦,对小麦茎基腐病发生情况进行分级调查(Poole et al., 2012)。分级标准为:0级,整株茎秆无变褐症状;1级,地上部分第1叶鞘出现变褐,但茎节没有变褐;2级,地上部分第1茎节有变褐腐烂现象;3级,地上部分第2茎节有变褐腐烂现象;4级,病斑超过第2茎节,但无白穗;5级,病斑超过第2茎节,有白穗或因发病而无穗。按上述方法计算防治效果。同时在小麦收获期进行测产,每小区采用五点取样法取样,每点取1 m²实收测产,折合为每公顷产量,并计算增产率。增产率=(处理组产量-对照组产量)/对照组产量 $\times 100\%$ 。

1.2.4 菌株YB-161发酵滤液对假禾谷镰孢的抑菌能力

将500 μ L YB-161菌液接种于100 mL NB培养基中,于30℃、200 r/min振荡培养36 h得培养液。将培养液6 000 r/min室温离心15 min,取上清

液,用0.22 μ m的微孔滤膜滤除菌体,得菌株YB-161的发酵滤液。分别按1:4和1:9体积比将发酵滤液与PDA培养基混匀得5倍稀释液和10倍稀释液,以空白PDA培养基为对照。打取直径为5 mm的假禾谷镰孢WZ-8A菌株菌饼接种于培养基中央,每处理3次重复。28℃倒置培养,待对照培养基菌丝长满后,用十字交叉法测量菌落直径,按1.2.1方法计算抑菌率。挑取5倍稀释液处理组和对照组菌落边缘菌丝,在荧光显微镜400倍镜下观察假禾谷镰孢的菌丝形态,共观察5个视野。

1.2.5 菌株YB-161的种类鉴定

形态特征鉴定:将菌株YB-161在NA培养基上划线,30℃培养48 h,观察菌落特征,按照革兰氏染色液试剂盒说明书进行革兰氏染色,在荧光显微镜1 000倍油镜下观察菌体和芽胞形态。共观察5个视野,每视野观察10个菌体和10个芽胞。

微生物自动鉴定系统鉴定:将菌株YB-161在BAG培养基上划线转接两代后,用无菌棉签轻轻蘸取菌株YB-161单菌落,接种于接种液B中,充分混匀后加入GEN III微孔板中,每孔100 μ L。30℃培养至微孔板中约50%孔变色后,将GEN III微孔板放入Biolog微生物自动鉴定系统对菌株YB-161的碳源利用特征进行测试,根据Biolog微生物自动鉴定系统给出的相似值判断菌株YB-161的分类地位,相似值越大则说明分类地位越相近。

gyrA序列分析鉴定:按Ezup柱式细菌基因组DNA抽提试剂盒说明书提取菌株YB-161的基因组DNA。以菌株YB-161的基因组DNA为模板,采用引物gyrA-F(5'-CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3')和gyrA-R(5'-CAAGGTAATGCTCCAGGCATTGCT-3')扩增gyrA序列。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。25 μ L反应体系:KOD One™ PCR Master Mix 12.5 μ L、10 μ mol/L gyrA-F 0.5 μ L、10 μ mol/L gyrA-R 0.5 μ L、DNA模板1 μ L,补ddH₂O至25 μ L。扩增程序:98℃变性10 s,55℃退火5 s,68℃延伸5 s,33个循环。经1%琼脂糖凝胶电泳检测,将具有gyrA阳性克隆条带的PCR产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将测定结果通过BLAST比对分析,并用MEGA 6.0软件以邻接法构建系统发育树,以确定菌株YB-161的分类地位。

1.2.6 菌株YB-161抑菌谱的测定

将菌株YB-161在PDA培养基上按照1.2.1方

法分别与辣椒炭疽病菌、烟草疫霉菌、西瓜枯萎病菌、芹菜早疫病菌、番茄枯萎病菌菌株进行对峙培养,以只接种病原菌的 PDA 培养基为对照,每处理 3 次重复。28℃ 倒置培养,待对照组菌丝长满培养基后,测量各处理的抑菌带宽度,按 1.2.1 方法计算抑菌率。

1.3 数据分析

采用 SPSS 25.0 软件对试验数据进行单因素方差分析,利用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 生防细菌的分离与初步筛选

从 10 份土壤样品中共分离得到 98 株细菌菌株。平板对峙结果表明,共有 27 株细菌的抑菌带在 5 mm 以上,约占分离所得细菌总数的 27.55%。对假禾谷镰孢抑菌率超过 40.00% 的细菌菌株共有 14 株,分别为菌株 YB-161、YB-165、YB-155、YB-212、YB-192、YB-195、YB-220、YB-232、YB-158、YB-174、YB-163、YB-168、YB-171、YB-172 (图 1)。

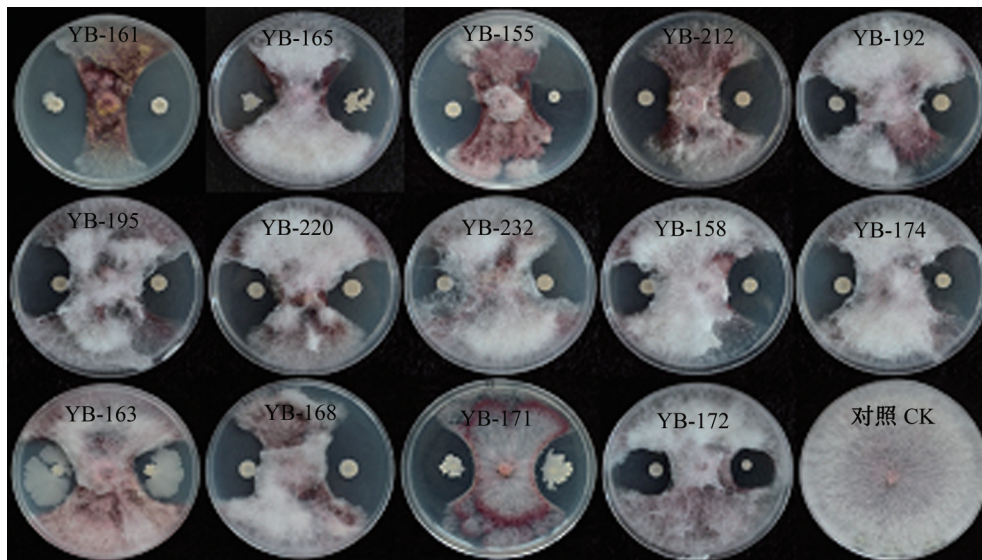


图 1 供试菌株对假禾谷镰孢平板抑菌测定

Fig. 1 Confrontation culture of the isolated strains and *Fusarium pseudograminearum*

菌株 YB-161、YB-165、YB-155 对假禾谷镰孢的抑制作用较强,抑菌带分别为 12.7、12.7 和 12.0 mm,抑菌率分别为 63.50%、63.50%、60.00%。

2.2 生防菌株的室内盆栽筛选

调查结果显示,对照组的病情指数高达 98.60,各生防菌株处理组的病情指数均显著低于空白对照,表明初筛所得的 14 株生防菌株对假禾谷镰孢均有一定的防治效果。其中生防菌株 YB-161 处理组的病情指数最低,为 31.40,防治效果达 68.15%,接近 4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂的防治效果 71.91%。菌株 YB-212、YB-155 的防治效果也较高,分别达到了 67.04% 和 66.84% (表 1)。

对照组小麦株高、根长和鲜重分别为 22.60 cm、3.90 cm 和 0.17 g,菌株 YB-161 处理组小麦株高、根长和鲜重分别为 25.60 cm、5.40 cm 和 0.20 g,分别比对照增加 13.27%、38.46%、17.65%。菌株 YB-174 处理组小麦株高、根长和鲜重分别为 27.50 cm、5.40 cm 和

0.25 g,分别比对照增加 21.68%、38.46%、47.06%。4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂拌种处理对小麦株高、根长均没有明显影响,但是小麦鲜重比对照增加 58.82% (表 1)。结果表明,菌株 YB-161 和 YB-174 对小麦植株具有较好的促生作用。

2.3 菌株 YB-161 对小麦茎基腐病的田间防治效果

田间调查结果显示,2018 年 5 月 4 日各处理的病情指数均高于 3 月 2 日, YB-161 菌液拌种处理病情指数分别为 6.27 和 8.47,防治效果分别达到 58.33% 和 52.35%; 4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂拌种处理病情指数分别为 5.97 和 7.53,防治效果分别达到 60.40% 和 57.60%。表明 YB-161 菌液拌种能有效防治小麦茎基腐病,其防治效果接近化学药剂 4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂。测产结果显示,对照产量为 8 484.23 kg/hm², YB-161 菌液拌种处理的产量为 9 046.37 kg/hm²,增产率达 6.6%; 4.8% 苯醚·咯菌腈悬浮种衣剂拌种处理的产量为

8 896.27 kg/hm², 增产率达 4.9%(表 2)。表明 YB-161 菌液拌种具有一定的增产效果。

表 1 供试菌株对小麦茎基腐病的室内盆栽防治效果和对小麦生长情况的影响

Table 1 Effects of the isolated strains against wheat crown rot and the growth of wheat in the greenhouse					
处理 Treatment	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficiency/%	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	鲜重/g Fresh weight
YB-161	31.40±3.60 fg	68.15±0.89 b	25.60±1.00 a	5.40±1.00 a	0.20±0.03 a
YB-212	32.50±3.20 efg	67.04±0.74 b	25.40±1.60 a	4.40±0.40 ab	0.27±0.02 a
YB-155	32.70±5.00 efg	66.84±1.08 b	26.80±3.50 a	3.10±0.20 cde	0.24±0.02 a
YB-165	33.80±3.60 defg	65.72±0.48 b	28.70±2.60 a	4.10±0.40 abcd	0.26±0.02 a
YB-158	33.90±1.40 defg	65.62±0.33 bc	26.10±2.40 a	3.30±0.30 bcde	0.25±0.02 a
YB-195	36.10±1.40 defg	63.39±0.70 cd	28.30±2.80 a	4.20±0.40 abc	0.29±0.02 a
YB-232	38.70±1.40 defg	60.75±1.47 de	26.90±1.20 a	4.10±0.30 abcd	0.27±0.05 a
YB-220	40.70±2.30 defg	58.72±1.47 ef	26.30±1.70 a	2.50±0.10 bcde	0.24±0.02 a
YB-192	42.90±7.20 cdefg	56.49±1.39 f	24.90±3.00 a	3.20±0.70 bcde	0.23±0.05 a
YB-163	56.30±7.00 bcdef	42.9±1.79 g	25.40±1.30 a	1.90±0.30 de	0.17±0.01 a
YB-174	58.00±5.70 bcde	41.18±0.24 g	27.50±1.70 a	5.40±0.60 a	0.25±0.02 a
YB-172	59.20±5.40 bcd	39.96±1.09 g	17.60±2.50 a	1.80±0.40 e	0.18±0.02 a
YB-168	68.40±5.30 bc	30.63±1.01 h	25.50±1.60 a	2.10±0.20 cde	0.20±0.03 a
YB-171	68.60±5.80 b	30.43±0.93 h	20.60±2.80 a	3.20±0.30 bcde	0.19±0.02 a
4.8% 苯醚·咯菌腈	27.70±3.60 g	71.91±1.24 a	22.90±3.60 a	4.10±0.40 abcd	0.27±0.02 a
4.8% difenoconazole·fludioxonil					
对照 CK	98.60±9.30 a	/	22.60±1.50 a	3.90±0.30 bcde	0.17±0.03 a

表中数据为平均数±标准误。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters indicate in the same column significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

表 2 菌株 YB-161 对小麦茎基腐病的田间防治效果

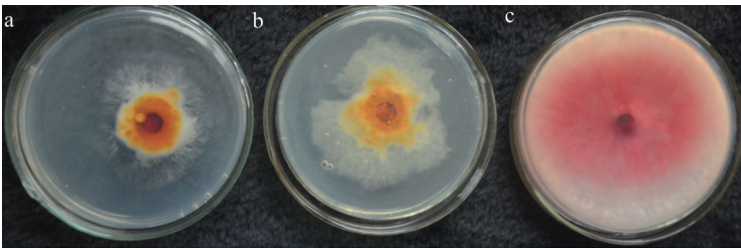
Table 2 Field control efficiency of strain YB-161 against wheat crown rot					
处理 Treatment	2018 年 3 月 2 日 March 2 in 2018		2018 年 5 月 4 日 May 4 in 2018		产量/(kg/hm ²) Yield
	病情指数	防治效果/%	病情指数	防治效果/%	
	Disease index	Control efficacy	Disease index	Control efficacy	
YB-161	6.27±0.12 a	58.33±1.35	8.47±0.24 a	52.35±1.60	9 046.37±99.04 a
4.8% 苯醚·咯菌腈	5.97±0.19 a	60.40±0.70	7.53±0.63 a	57.60±4.88	8 896.27±67.24 a
4.8% difenoconazole·fludioxonil					
对照 CK	15.07±0.52 b	/	17.77±0.59 b	/	8 484.23±108.42 b

表中数据为平均数±标准误。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.4 菌株 YB-161 发酵滤液对假禾谷镰孢抑菌能力

菌株 YB-161 发酵滤液对假禾谷镰孢生长具有明显的抑制作用。与对照相比,处理组菌落明显缩

小、变黄,边缘畸形、不整齐。菌株 YB-161 发酵滤液的 5 倍稀释液和 10 倍稀释液对假禾谷镰孢的菌落抑制率分别达到 66.67% 和 44.33%(图 2)。



a: 5 倍稀释液; b: 10 倍稀释液; c: 对照。a: Five fold dilution; b: ten fold dilution; c: CK.

图 2 不同浓度的菌株 YB-161 发酵滤液对假禾谷镰孢生长的影响

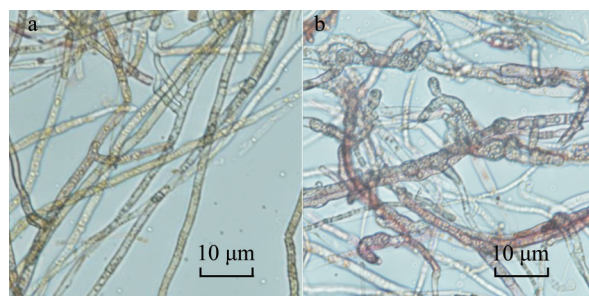
Fig. 2 Effects of YB-161 fermentation filtrate at different concentrations on the growth of *Fusarium pseudograminearum*

通过显微镜观察发现,处理组中假禾谷镰孢菌丝出现明显的原生质体凝集、菌丝膨大、变粗、菌丝节点缩短、断裂等畸形现象。对照组菌丝光滑均匀,生长正常(图3)。结果表明,菌株 YB-161 对假禾谷镰孢菌丝的生长有明显的拮抗活性。

2.5 菌株 YB-161 的种类鉴定

菌株 YB-161 在 NA 培养基上菌落为乳白色不透明,表面粗糙,边缘不规则(图4-a);革兰氏染色阳性,菌体呈短杆状,大小为 $2.57\ \mu\text{m} \times 0.64\ \mu\text{m}$ (图4-b);芽胞中生至近顶生,大小为 $1.78\ \mu\text{m} \times 0.76\ \mu\text{m}$ (图4-c)。经形态学鉴定为芽胞杆菌属 *Bacillus* 的一种。Biolog 微生物自动鉴定系统结果显示,菌株 YB-161

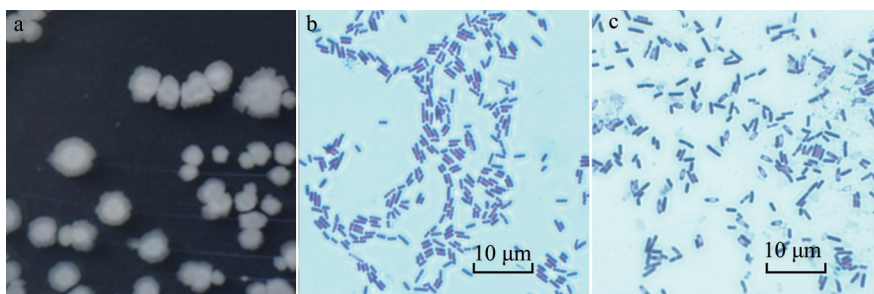
与数据库中解淀粉芽胞杆菌的相似值最高,为0.749。



a: 对照组; b: 处理组。a: CK; b: treatment.

图3 菌株 YB-161 对假禾谷镰孢菌丝生长的影响(400×)

Fig. 3 Effects of YB-161 on mycelium growth of *Fusarium pseudograminearum* (400×)



a: 菌落; b: 菌体(1 000×); c: 芽胞(1 000×)。a: Colony; b: thallus (1 000×); c: spores (1 000×).

图4 菌株 YB-161 的形态特征

Fig. 4 The morphology of strain YB-161

gyrA 序列分析结果表明,菌株 YB-161 的 *gyrA* 序列与解淀粉芽胞杆菌的 *gyrA* 序列的同源性达 99%; 基于 *gyrA* 基因采用邻接法构建菌株 YB-161 及其相似菌株的系统发育树,结果表明, YB-161 菌株与解淀粉芽胞杆菌 *B. amyloliquefaciens* FZB42 (CP000560) 亲缘关系最近(图5)。综合形态特征、微生物自动鉴定系统结果以及 *gyrA* 序列分析结果,最终将菌株 YB-161 鉴定为解淀粉芽胞杆菌。

2.6 菌株 YB-161 抑菌谱的测定

对峙试验结果表明,菌株 YB-161 对辣椒炭疽病菌、烟草疫霉病菌、西瓜枯萎病菌、芹菜早疫病菌、番茄枯萎病菌的菌丝生长都有较强的抑制作用(图6),抑制率分别为 60.00%、60.00%、53.50%、43.50% 和 40.00%。

3 讨论

近年来小麦土传病害发生逐渐加重,严重制约着我国农业生产发展,随着人们对食物安全的重视和环保意识的增强,对农业可持续发展提出更高的要求,生物防治因其成本低、对环境安全友好和无残

留等特点已成为国内外防治植物土传病害的研究热点(李兴龙和李彦忠,2015)。在有寄主或病原菌存在的土壤中,筛选到强拮抗效果的生防菌株的可能性较大(张斌等,2015)。本研究从河南省小麦茎基腐病严重发生的地块采集病土进行生防细菌分离,其中对假禾谷镰孢抑菌带在 5 mm 以上的菌株占所分离细菌总数的 27.55%。因此,从发病土壤中分离生防菌株是一种实现绿色防治小麦茎基腐病等土传病害的重要途径。

生防菌株的定殖能力是其发挥作用的关键(Bolwerk et al., 2003)。本研究通过平板对峙试验初步筛选得到 14 株生防细菌,在室内盆栽试验中均具有一定防治效果。可能是因为室内盆栽试验使用灭菌基质,控制了基质中微生物的种类和数量,有利于生防菌株的定殖和拮抗作用的发挥。平板抑菌试验和田间防治效果测定结果可能存在一定差异,离体拮抗作用较强的菌株在田间未必表现出较好的生防效果(刘邈洲等,2012)。自然条件下田间土壤情况复杂,微生物种类、数量众多,此外,近年来施行的秸秆还田措施增加了土壤中的病原菌数量(陆宁海等,2019)。而本研究中菌株 YB-161 在室内和田间

均表现出良好的防治效果,说明菌株 YB-161 能够在土壤中较好的定殖并发挥防治效果。

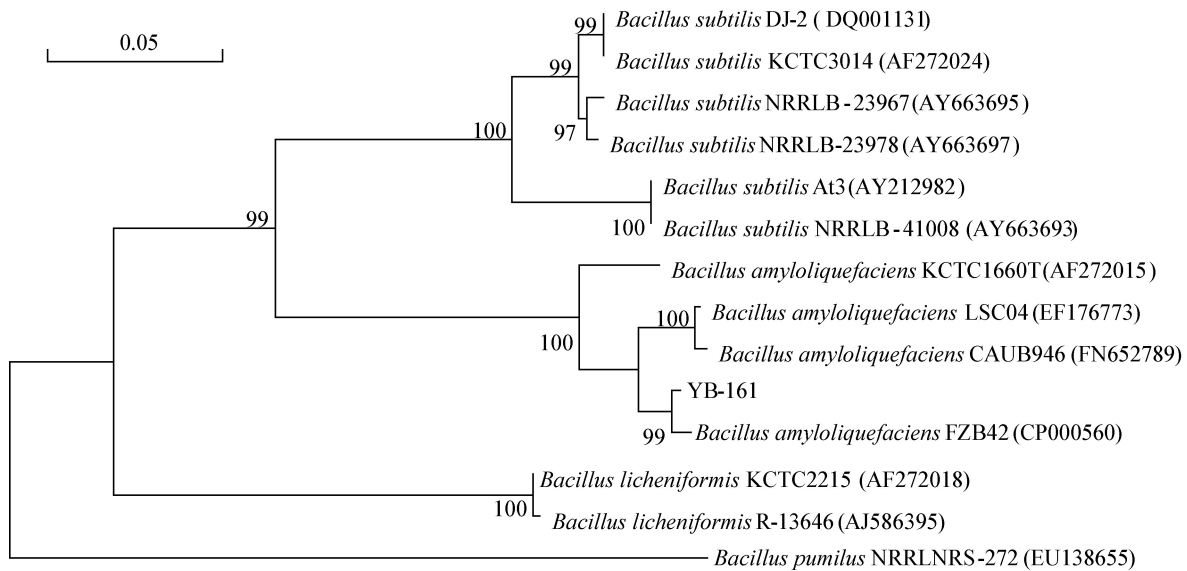
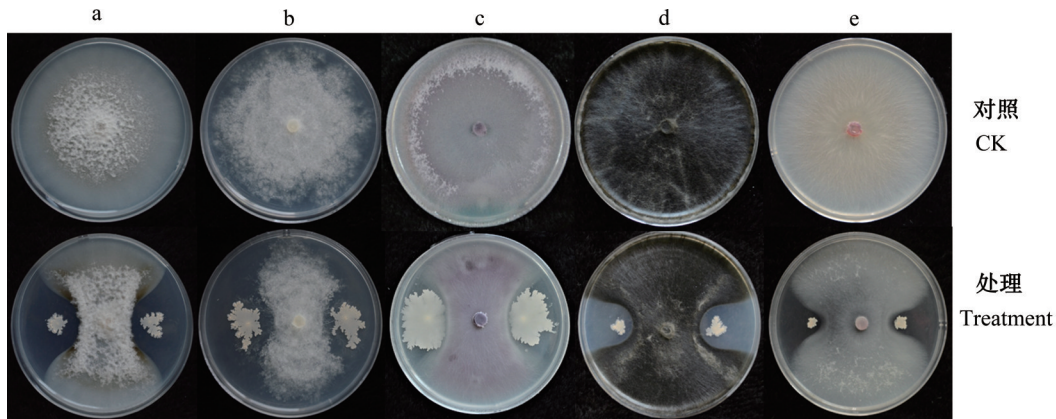


图5 基于 *gyrA* 序列采用邻接法构建菌株 YB-161 及其相似菌株的系统发育树

Fig. 5 Neighbor-joining dendrogram showing the relationships of tested strain YB-161 and other known *Bacillus* spp. strains based on *gyrA* gene sequences



a: 辣椒炭疽病菌; b: 烟草疫霉病菌; c: 西瓜枯萎病菌; d: 芹菜早疫病病菌; e: 番茄枯萎病菌。

a: *C. capsici*; b: *P. parasitica*; c: *F. oxysporum* f. sp. *niveum*; d: *C. apii*; e: *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

图6 菌株 YB-161 对不同植物病原菌抑菌能力的测定

Fig. 6 Confrontation culture of strain YB-161 against different plant pathogens

芽胞杆菌由于其较高的遗传相似性,仅采用序列比对等方法有时难以进行种类区分。Biolog 微生物鉴定系统通过鉴定板对微生物的碳源利用特征进行测试,计算机模拟后与数据库进行比对,具有高效、准确的特性,是一种可靠的微生物鉴定手段(鹿秀云等,2019)。本研究结合形态特征、Biolog 微生物鉴定系统和 *gyrA* 序列分析结果,将菌株 YB-161 鉴定为解淀粉芽胞杆菌。作为一类重要的生防细菌,解淀粉芽胞杆菌在小麦赤霉病(冉军舰等,2016)、水稻纹枯病(卢钰升等,2017)、棉花枯萎病(丁建朋等,2019)等植物病害的防治上都有广泛应

用。张臻(2018)研究表明,解淀粉芽胞杆菌对禾谷镰孢引起的小麦茎基腐病的防治效果与 50% 多菌灵可湿性粉剂相当。但在小麦茎基腐病的生物防治中,鲜有以假禾谷镰孢为靶标菌的报道。本研究从河南省严重发生小麦茎基腐病的病田土壤中分离筛选出解淀粉芽胞杆菌 YB-161 菌株,相较于已报道的解淀粉芽胞杆菌菌株,其可能更适宜黄淮麦区的土壤环境条件和病原菌种类,从而表现出更好的定殖能力和拮抗活性,符合当地生产需求,对于该病的综合防控工作具有一定的实际意义。此外,本文研究发现菌株 YB-161 对多种植物病原菌均有较好的拮

抗作用,具有良好的开发利用潜能。

解淀粉芽胞杆菌可通过产生细菌素、伊枯草菌素、多肽类物质等多种抑菌活性物质来发挥生防效果(陈哲等,2015)。Zhang et al.(2013)研究发现,解淀粉芽胞杆菌产生的脂肽类化合物可以在立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 的细胞膜上形成孔道,造成细胞内物质泄漏,从而导致细胞死亡。赵欣和郝林(2020)研究发现,解淀粉芽胞杆菌 HRH317 菌株对串珠镰孢菌 *F. moniliforme* 菌丝形态和超微结构有破坏作用,能抑制其菌丝体生长。本研究筛选得到的菌株 YB-161 发酵滤液能够造成假禾谷镰孢菌丝膨大、畸形甚至断裂破碎,下一步将研究其抑菌物质的种类以及在自然条件下的活性和产生能力。本研究还发现,菌株 YB-161 对小麦植株的生长具有较好的促生作用。Idriss et al.(2002)研究表明,解淀粉芽胞杆菌 FZB45 菌株胞外植酸酶活性与其促进植物生长的能力有关;Idriss et al.(2007)发现,解淀粉芽胞杆菌 FZB42 菌株可以通过分泌生长素类似物(indole-3-acetic acid, IAA)对植物的生长产生促进作用;乔俊卿等(2013)发现解淀粉芽胞杆菌 B1619 菌液可以提高番茄叶片的光合速率、蒸腾速率等,从而促进植物的光合作用来达到促生作用。因此,菌株 YB-161 对小麦生长的促生作用机理,以及是否通过诱导抗性提高小麦的抗病能力有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- BOLWERK A, LAGOPODI AL, WIJFJES AHM, LAMERS GEM, CHIN-A-WOENG TFC, LUGTENBERG BJJ, BLOEMBERG GV. 2003. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(11): 983–993
- CHAKRABORTY S, LIU CJ, MITTER V, SCOTT JB, AKINSANMI OA, ALI S, DILL-MACKY R, NICOL J, BACKHOUSE D, SIMPFENDORFER S. 2006. Pathogen population structure and epidemiology are keys to wheat crown rot and *Fusarium* head blight management. *Australasian Plant Pathology*, 35(6): 643–655
- CHEN Z, HUANG J, ZHAO J, WANG CB, LIANG H. 2015. Research advances on antibacterial mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Biotechnology Bulletin*, 31(6): 37–41 (in Chinese) [陈哲, 黄静, 赵佳, 王长彪, 梁宏. 2015. 解淀粉芽胞杆菌抑菌机制的研究进展. *生物技术通报*, 31(6): 37–41]
- DING JP, FAN YG, YAO YS. 2019. Identification and control effect on cotton *Fusarium* wilt of biocontrol bacteria HFW217. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 56(3): 498–508 (in Chinese) [丁建朋, 范瑛阁, 姚永生. 2019. 生防菌 HFW217 的鉴定及其对棉花枯萎病的防治效果. *新疆农业科学*, 56(3): 498–508]
- FERNANDEZ MR, FOX SL, HUCL P, SINGH AK, STEVENSON FC. 2014. Root rot severity and fungal populations in spring common, durum and spelt wheat, and Kamut grown under organic management in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 95(5): 937–946
- HUANG Y, WONG PTW. 1998. Effect of *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia* and soil type on the control of crown rot in wheat. *Plant and Soil*, 203(1): 103–108
- IDRISS EE, IGLESIAS DJ, TALON M, BORRIS R. 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(6): 619–626
- IDRISS EE, MAKAREWICZ O, FAROUK A, ROSNER K, GREINER R, BOCHOW H, RICHTER T, BORRIS R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology*, 148(7): 2097–2109
- LI HL, YUAN HX, FU B, XING XP, SUN BJ, TANG WH. 2012. First report of *Fusarium pseudograminearum* causing crown rot of wheat in Henan, China. *Plant Disease*, 96(7): 1065
- LI XL, LI YZ. 2015. Research advances in biological control of soil-borne disease. *Acta Prataculturae Sinica*, 24(3): 204–212 (in Chinese) [李兴龙, 李彦忠. 2015. 土传病害生物防治研究进展. *草业学报*, 24(3): 204–212]
- LIU YZ, CHEN ZY, LIANG XJ, ZHU JH. 2012. Screening, evaluation and identification of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Ralstonia solanacearum*. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(1): 101–108 (in Chinese) [刘卹洲, 陈志谊, 梁雪杰, 朱剑花. 2012. 番茄枯萎病和青枯病拮抗细菌的筛选、评价与鉴定. *中国生物防治学报*, 28(1): 101–108]
- LU NH, YANG R, LANG JF, WU LM, ZHANG Q, HUO YF, SHI MW, CHEN XL. 2019. Straw returning affects soil microbial population and wheat crown rot. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 35(34): 102–108 (in Chinese) [陆宁海, 杨蕊, 郎剑锋, 吴利民, 张强, 霍云凤, 石明旺, 陈锡岭. 2019. 秸秆还田对土壤微生物种群数量及小麦茎基腐病的影响. *中国农学通报*, 35(34): 102–108]
- LU XY, LI BQ, ZHANG XY, GUO QG, MA P, LI SZ. 2019. Screening, identification and evaluation of biocontrol bacteria against cotton boll blight. *Journal of Plant Protection*, 46(4): 805–815 (in Chinese) [鹿秀云, 李宝庆, 张晓云, 郭庆港, 马平, 李社增. 2019. 棉铃疫病生防细菌筛选、鉴定及制剂防治效果. *植物保护学报*, 46(4): 805–815]
- LU YS, GU WJ, JIANG RP, XU PZ, XIE KZ, SUN LL. 2017. Control effect of *Bacillus amyloliquefaciens* GB58 on rice sheath blight and screening of microbial agent carrier. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 33(11): 119–125 (in Chinese) [卢钰升, 顾文杰, 蒋瑞萍, 徐培智, 解开治, 孙丽丽. 2017. 解淀粉芽胞杆菌 GB58 对水稻纹枯病的防效及菌剂载体筛选. *中国农学通报*, 33(11): 119–125]
- MOJGAN R. 2016. Biological control of *Fusarium* diseases of wheat by *Piriformospora indica*. Ph. D Thesis. England: University of

Reading

- MOYA-ELIZONDO EA, REW LJ, JACOBSEN BJ, HOGG AC, DYER AT. 2011. Distribution and prevalence of *Fusarium* crown rot and common root rot pathogens of wheat in Montana. *Plant Disease*, 95(9): 1099–1108
- POOLE GJ, SMILEY RW, PAULITZ TC, WALKER CA, CATER AH, SEE DR, GARLAND-CAMPBELL K. 2012. Identification of quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Fusarium* crown rot (*Fusarium pseudograminearum*) in multiple assay environments in the Pacific northwestern US. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(1): 91–107
- QIAO JQ, LIU YZ, YU X, LIANG XJ, CHEN ZY, LIU YF, ZHANG Y. 2013. Evaluation of yield increasing and control efficiency of tomato soil-borne diseases under the integrated application of straw returning and biocontrol agent. *Chinese Journal of Biological Control*, 29(4): 547–554 (in Chinese) [乔俊卿, 刘卹洲, 余翔, 梁雪杰, 陈志谊, 刘永峰, 张英. 2013. 集成生物防治和秸秆还田技术对设施番茄增产及土传病害防控效果研究. *中国生物防治学报*, 29(4): 547–554]
- RAN JJ, XU JH, HE D, HU XD, SHI JR. 2016. Identification of antagonistic bacterium strain *Bacillus amyloliquefaciens* 7M1 against *Fusarium graminearum* and characterization of the antibiotics from the target strain. *Microbiology China*, 43(11): 2437–2447 (in Chinese) [冉军舰, 徐剑宏, 赫丹, 胡晓丹, 史建荣. 2016. 小麦赤霉病原菌拮抗菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 7M1 产抗菌素的研究. *微生物学通报*, 43(11): 2437–2447]
- SAREMI H, AMMARELLOU A, JAFARY H. 2007. Incidence of crown rot disease of wheat caused by *Fusarium pseudograminearum* as a new soil born fungal species in North West Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(20): 3606–3612
- SMILEY R, GOURLIE JA, EASLEY SA, PATTERSON LM. 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease*, 89(9): 949–957
- SMILEY RW, PATTERSON LM. 1996. Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the Semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease*, 80(8): 944–949
- TUNALI B, NICOL J, HODSON D, UCKUN Z, BÜYÜK O, ERDURMUS D, HEKIMHAN H, AKTAŞ H, AKBUDAK MA, BAĞCI A. 2008. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9): 1299–1306
- WANG LY, WANG C, SHEN CM, CHEN HG, GUO JH. 2014. Biocontrol of wheat *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium graminearum*. *Journal of Triticeae Crops*, 34(5): 703–708 (in Chinese) [王路遥, 王超, 申成美, 陈怀谷, 郭坚华. 2014. 引发小麦赤霉病和茎基腐病禾谷镰孢菌的生物防治初探. *麦类作物学报*, 34(5): 703–708]
- XU F, SONG YL, ZHOU YL, ZHANG H, WANG JM, LI YH, HAN ZX. 2016. Occurrence dynamics and characteristics of *Fusarium* root and crown rot of wheat in Henan Province during 2013–2016. *Plant Protection*, 42(6): 126–132 (in Chinese) [徐飞, 宋玉立, 周益林, 张昊, 王俊美, 李亚红, 韩自行. 2016. 2013–2016年河南省小麦茎基腐病的发生危害情况及特点. *植物保护*, 42(6): 126–132]
- YANG Y, HE XL, HU YF, HOU Y, NIU YJ, DAI JL, YUAN HX, LI HL. 2015. Resistance of wheat cultivars in Huang-Huai region of China to crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*. *Journal of Triticeae Crops*, 35(3): 339–345 (in Chinese) [杨云, 贺小伦, 胡艳峰, 侯莹, 牛亚娟, 代君丽, 袁虹霞, 李洪连. 2015. 黄淮麦区主推小麦品种对假禾谷镰刀菌所致茎基腐病的抗性. *麦类作物学报*, 35(3): 339–345]
- ZHANG B, DONG CJ, SHANG QM, HAN YZ, Li PL. 2013. New insights into membrane-active action in plasma membrane of fungal hyphae by the lipopeptide antibiotic bacillomycin I. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 1828(9): 2230–2237
- ZHANG B, QIAO JQ, LIANG XJ, LIU YZ, CHEN ZY. 2015. Evaluation of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Plant Protection*, 42(3): 353–361 (in Chinese) [张斌, 乔俊卿, 梁雪杰, 刘卹洲, 陈志谊. 2015. 番茄枯萎病菌和青枯病菌拮抗细菌的评价. *植物保护学报*, 42(3): 353–361]
- ZHANG J, TANG MM, XIA MC, LIN QT, SUN RH, YANG YY, YANG LR, LI HL. 2018. Combination of *Bacillus subtilis* YB-05 and shenqinmycin for integrated control of wheat crown rot. *Chinese Journal of Biological Control*, 34(6): 866–872 (in Chinese) [张洁, 汤蒙蒙, 夏明聪, 林琪童, 孙润红, 杨艳艳, 杨丽荣, 李洪连. 2018. 枯草芽胞杆菌 YB-05 与申喹素复配防治小麦茎基腐病. *中国生物防治学报*, 34(6): 866–872]
- ZHANG Z. 2018. The efficacy of two biocontrol strains on wheat head blight and crown rot diseases. Master Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [张臻. 2018. 两株生防菌对小麦赤霉病和茎基腐病防治效果的评价. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- ZHAO GC, CHANG XH, WANG DM, YANG YS, FENG JF. 2012. Research report on development of China's wheat production potential. *Crops*, (3): 1–5 (in Chinese) [赵广才, 常旭虹, 王德梅, 杨玉双, 冯金凤. 2012. 中国小麦生产发展潜力研究报告. *作物杂志*, (3): 1–5]
- ZHAO X, HAO L. 2020. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* HRH317 on mycelial morphology and ultrastructure of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Plant Protection*, 47(1): 110–118 (in Chinese) [赵欣, 郝林. 2020. 解淀粉芽胞杆菌 HRH317 对串珠镰孢菌菌丝形态和超微结构的影响. *植物保护学报*, 47(1): 110–118]
- ZHOU HF, YANG Y, NIU YJ, YUAN HX, LI HL. 2014. Occurrence and control methods of crown rot of wheat. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 43(5): 114–117 (in Chinese) [周海峰, 杨云, 牛亚娟, 袁虹霞, 李洪连. 2014. 小麦茎基腐病的发生动态与防治技术. *河南农业科学*, 43(5): 114–117]

(责任编辑:王 璇)