



研究报告

类芽孢杆菌 QHZ11 对马铃薯黑痣病的生防效果

董爱菊^{1,2} 邱慧珍^{*1,2} 魏茹云^{1,2} 陈兰兰^{1,2} 庞娅楠^{1,2} 成志远^{1,2} 王川³

1 甘肃农业大学资源与环境学院 甘肃省干旱生境作物学重点实验室 甘肃 兰州 730070

2 甘肃省畜禽废弃物资源化利用工程研究中心 甘肃 兰州 730070

3 甘肃农业大学动物医学院 甘肃 兰州 730070

摘要:【背景】马铃薯黑痣病是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的一种典型土传病害,目前该病害生物防治的菌种资源比较有限,相应菌株生防机制的研究更是缺乏。【目的】明确马铃薯黑痣病原菌立枯丝核菌(*R. solani*) JT18 的拮抗菌 QHZ11 对马铃薯黑痣病的生防效果,揭示 QHZ11 对黑痣病的部分防治机理。【方法】在灭菌土壤中分别接种 *R. solani* JT18 (CK), *R. solani* JT18 和普通有机肥(Organic Fertilized, OF), *R. solani* JT18 和氨基酸有机肥(AA+OF)及 *R. solani* JT18 和 QHZ11 生物有机肥(BOF11),结合实时荧光定量 PCR (Real-Time Fluorescence Quantitative PCR, RT-qPCR)等方法,研究马铃薯全生育期不同处理 *R. solani* JT18 在马铃薯根际和植株不同部位的数量变化及拮抗菌 QHZ11 与 *R. solani* JT18 的数量消长规律,同时比较不同处理黑痣病的病情指数及相应的防效。

【结果】RT-qPCR 结果表明,随马铃薯生育进程的推进,马铃薯根际、根系和匍匐茎 *R. solani* JT18 的数量在各处理中均呈现先升高至块茎膨大期到达峰值后下降的趋势,而且各部位 *R. solani* JT18 的数量为 CK>OF>AA+OF>BOF11 且根际>根系>匍匐茎;拮抗菌 QHZ11 的数量变化趋势与 *R. solani* JT18 相同,但峰值在块茎形成期,并且同时期同一部位 QHZ11 的定殖数量均显著高于 *R. solani* JT18,甚至高出 2 个数量级,说明 QHZ11 占用了一定的营养资源和生态位点,严重抑制了 *R. solani* JT18 的生长和繁殖。病情结果表明:CK 病情指数最高,OF、AA+OF 和 BOF11 处理均显著低于 CK,其中 BOF11 处理发病最轻;生防结果则相反,为 BOF11>AA+OF>OF 处理,说明普通有机肥、氨基酸有机肥及生物有机肥均可不同程度地防治马铃薯黑痣病,其中以生物有机肥效果最显著。【结论】QHZ11 以有机肥为载体施入土壤后,可以通过在马铃薯根际及植株不同部位竞争营养和生态位点,从而有效抑制黑痣病原菌 *R. solani* JT18 的生存和繁殖,起到显著的生防效果,这对 QHZ11 生物有机肥的应用和推广具有重要意义,并为进一步研究 QHZ11 的生防机制奠定了基础。

关键词: 马铃薯黑痣病, 立枯丝核菌, 类芽孢杆菌, 生态位, 生防

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31760614); National Key Research and Development Program of China (2017YFD0800200)

***Corresponding author:** Tel: 86-931-7631731; E-mail: hzqiu@gsau.edu.cn

Received: 30-01-2021; **Accepted:** 28-03-2021; **Published online:** 01-04-2021

基金项目: 国家自然科学基金(31760614); 国家重点研发计划(2017YFD0800200)

***通信作者:** Tel: 0931-7631731; E-mail: hzqiu@gsau.edu.cn

收稿日期: 2021-01-30; **接受日期:** 2021-03-28; **网络首发日期:** 2021-04-01

The biocontrol effect of *Paenibacillus jamilae* QHZ11 on potato black scurf

DONG Aiju^{1,2} QIU Huizhen^{*1,2} WEI Ruyun^{1,2} CHEN Lanlan^{1,2} PANG Yanan^{1,2}
CHENG Zhiyuan^{1,2} WANG Chuan³

1 Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science, College of Resources and Environmental Sciences, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China

2 Engineering Research Center of Livestock and Poultry Waste Resource Utilization in Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China

3 College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China

Abstract: [Background] Potato black scurf is a typical soil-borne disease caused by *Rhizoctonia solani*. At present, the bacterial resources for biological control of the disease are relatively limited, and the researches on the biological control mechanisms of corresponding strains are more lacking. [Objective] To clarify the biocontrol effect of QHZ11—an antagonistic bacteria of *Rhizoctonia solani* JT18, and reveal its partial biological control mechanisms on potato black scurf. [Methods] *R. solani* JT18 (CK), *R. solani* JT18 and ordinary organic fertilizer (OF), *R. solani* JT18 and amino acid organic fertilizer (AA+OF) and *R. solani* JT18 and QHZ11 biological organic fertilizer (BOF11) were inoculated respectively into the sterilized soil. Using real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) method to study the quantity changes of *R. solani* JT18, and law of quantity's increase and declining between the antagonistic antibacterial QHZ11 and *R. solani* JT18 under the different treatments in the rhizosphere and different parts of the plant during the whole growth period of potato. At the same time, we compared the disease index of black scurf of different treatments and the corresponding control effects. [Results] The results of RT-qPCR showed that with the progress of potato growth, the quantity of *R. solani* JT18 in potato rhizosphere, roots and stolons under each treatment increased to the peak in the tuber expansion period, and then decreased. The quantity of *R. solani* JT18 in each part was: CK>OF>AA+OF>BOF11, rhizosphere>root>stolon. The quantity of antagonistic antimicrobial QHZ11 showed the same trend as *R. solani* JT18, but its peak appeared in the tuber formation period, and the colonization quantity of QHZ11 was significantly higher than *R. solani* JT18 in the same part of the same period, even two orders of magnitude higher. It showed that the existence of QHZ11 occupied certain nutrient resources and niches, which severely inhibited the growth and reproduction of *R. solani* JT18. The results of the disease showed that the disease index of CK was the highest, another three treatments were significantly lower than CK in which BOF11 had the least disease incidence. The results of biocontrol were just opposite, which were BOF11>AA+OF>OF. It showed that ordinary organic fertilizer, amino acid organic fertilizer and bio-organic fertilizer could control potato black scurf to varying degrees, among which bio-organic fertilizer had the most significant effect. [Conclusion] After QHZ11 is made into bio-organic fertilizer and applied to the soil, it can effectively inhibit the survival and reproduction of pathogen of black scurf by competing for nutrition and niches in the rhizosphere and different parts of potato plant, thereby achieving significant biocontrol effect. It is of great significance to the application and promotion of bio-organic fertilizer of QHZ11, and lays a foundation to further research the biological control mechanism of QHZ11.

Keywords: potato black scurf, *Rhizoctonia solani*, *Paenibacillus jamilae*, niche, biocontrol

马铃薯黑痣病又称茎溃疡病和黑色粗皮病,是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)侵染引起的一种世界性病害,在我国马铃薯主产区均有发生^[1-2]。据

报道,2009 年内蒙古产区马铃薯地下茎发病率 85%以上,块茎发病率达 100%^[3];2017 年河北产区黑痣病情指数达到 30.73^[4];作为“马铃薯之乡”的甘

肃省定西市由于常年连作病害发生也较为严重, 据调查, 该地区普通田块病株率在 10%–20%, 重病田发病率达 75%以上^[5]。黑痣病会造成马铃薯芽腐、茎腐、根腐和块茎黑痣, 并且在整个生育期均可发生, 严重影响马铃薯的产量和品质^[6-7]。目前, 对于该病害生产上主要采用化学药剂进行防治, 不仅无法彻底控制病害, 还会造成环境污染, 因此当务之急是探索高效、安全又环保的防治方法^[7]。

近年来, 作为一种有前途的替代策略, 生物有机肥(有机肥与土壤有益微生物的混合物)^[8]的使用变得越来越广泛。生物有机肥之所以能够发挥生防作用, 主要得益于其中的功能菌株, 即根际促生菌(Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR)^[9]。PGPR 发挥作用的前提是其在作物根际和根系的有效定殖^[10-11], 影响定殖的因素有很多, 其中生态位理论认为, 根际微生物会去竞争根表的位置, 这些具有多样营养且微生物可以大量繁殖的地方称为生态位; 因此, 靠近根表的位置有更适合微生物生长的营养物质并且吸引了大量、多样的微生物, 其中包括病原菌和 PGPR; 当有微生物在某个生态位成功定殖并形成稳定的生物膜或者菌丝体结构后, 后来的微生物很难再次竞争这个生态位, 这也是 PGPR 通过竞争抑制病原菌的一个机理^[12-15]。

本实验室前期从健康马铃薯根际分离出一株对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) JT18 有显著抑制效果的类芽孢杆菌(*Paenibacillus jamilae*) G1, 该菌株抗菌谱较宽, 对 *R. solani* JT18 抑菌率达到 66.7%; 能产生纤维素酶、蛋白酶、果胶酶、Fe 载体和吡啶乙酸, 还具有一定的解磷能力; 镜检观察发现, G1 能使 *R. solani* JT18 菌丝发生畸形、缠绕、变短和顶端膨大; 盆栽试验表明 G1 以有机肥为载体可以在马铃薯根际有效定殖, 而且对马铃薯促生效果良好, 本课题组在对菌株进行保藏时, 将 G1 命名为 QHZ11^[16-18]。尽管本课题组已经对 QHZ11 的促生效果进行了有效验证, 但就 QHZ11 对马铃薯黑痣病生防方面的研究几乎还未涉及。

因此, 本试验以 QHZ11 为研究对象, 探究其制成生物有机肥后对马铃薯黑痣病的生防效果, 并通过研究 QHZ11 与 *R. solani* JT18 在马铃薯根际和植株不同部位的数量消长规律揭示 QHZ11 的生防机制, 以期为 QHZ11 生物有机肥的应用和推广提供理论支撑, 并对进一步研究 QHZ11 的生防机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) JT18、类芽孢杆菌(*Paenibacillus jamilae*) QHZ11 均由本实验室分离、鉴定和保存。

土壤: 土壤采自甘肃农业大学校内试验地的未施肥土壤, 使用前进行高压灭菌处理(1×10^5 Pa 灭菌 30 min), 晾 2 h 后于同等条件下进行二次灭菌, 最后置于阴凉处自然晾干。基本理化性质为: 有机质 21.24 g/kg, 全氮 0.9 g/kg, 碱解氮 123.2 mg/kg, 速效磷 97.98 mg/kg, 速效钾 64.23 mg/kg, pH 8.2。

病土的制备^[19]: 在播种前将制备好的立枯丝核菌菌丝按 1 g/kg (土壤) 的量均匀拌入灭菌土中。

普通有机肥料: 由鸿远生物科技有限公司提供, 其中有机质 45.23%, 全氮 1.22%, P_2O_5 3.15%, K_2O 1.67%。

氨基酸水解液: 由江阴联业生物科技有限公司提供。全氮 12.31 g/L, 全磷 0.81 g/L, 全钾 1.71 g/L, 游离氨基酸 16 种, 分别为天冬氨酸 150.224 $\mu\text{mol/mL}$ 、苏氨酸 30.673 $\mu\text{mol/mL}$ 、丝氨酸 47.315 $\mu\text{mol/mL}$ 、谷氨酸 101.553 $\mu\text{mol/mL}$ 、甘氨酸 225.112 $\mu\text{mol/mL}$ 、丙氨酸 109.933 $\mu\text{mol/mL}$ 、半胱氨酸 1.232 $\mu\text{mol/mL}$ 、缬氨酸 28.501 $\mu\text{mol/mL}$ 、甲硫氨酸 15.154 $\mu\text{mol/mL}$ 、异亮氨酸 13.065 $\mu\text{mol/mL}$ 、亮氨酸 47.204 $\mu\text{mol/mL}$ 、络氨酸 18.568 $\mu\text{mol/mL}$ 、苯丙氨酸 41.024 $\mu\text{mol/mL}$ 、赖氨酸 44.974 $\mu\text{mol/mL}$ 、组氨酸 24.790 $\mu\text{mol/mL}$ 、精氨酸 41.413 $\mu\text{mol/mL}$ 。

氨基酸有机肥的制备^[19]: 取普通有机肥 7 kg 于周转箱(内径 56 cm×36 cm×28 cm), 按 15% (体积

质量分数)的量加入氨基酸水解液并混匀,每天定时搅拌至 pH 接近 6.8 时备用。其基本理化性质为:有机质 47.74%,全氮 2.16%, P_2O_5 3.29%, K_2O 2.02%,pH 6.8。

生物有机肥的制备^[19]:将 QHZ11 菌悬液按 5% (体积质量分数)接种至氨基酸有机肥中,每天定时搅拌,控制含水率为 60%±1%,好氧发酵 8 d,制成生物有机肥。基本理化性质为:有机质 46.88%,全氮 2.21%, P_2O_5 3.50%, K_2O 2.16%,pH 7.1,QHZ11 总量达 10^8 CFU/g (湿重)。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

植物基因组 DNA 提取试剂盒、土壤基因组 DNA 提取试剂盒和 ChamQ™ Universal SYBR® qPCR Master Mix,南京诺唯赞生物科技有限公司。荧光定量 PCR 仪, Roche 公司。

LB 液体培养基^[19] (g/L): 蛋白胨 10.0, 酵母粉 5.0, 氯化钠 10.0, pH 7.0。

PDB 培养基^[19] (g/L): 去皮马铃薯 200.0, 蔗糖 20.0, pH 7.0。

1.1.3 QHZ11 菌悬液的制备

将活化过夜的 QHZ11 种子液按 5%接种于 LB 液体培养基中, 30 °C、170 r/min 培养 48 h, 分装于 50 mL 离心管后于 4 °C、8 000 r/min 离心 10 min, 去除培养基, 用磷酸缓冲液洗涤菌体 3 次并等体积重悬, 使功能菌总数达到 10^8 CFU/mL。

1.1.4 病原菌菌丝的制备

将新活化的立枯丝核菌用直径 5 mm 打孔器打孔, 菌饼接种到含 300 mL PDB 的 500 mL 锥形瓶中, 每瓶 25 块, 于 25 °C、180 r/min 培养 3 d, 待菌丝缠绕成球状后用无菌纱布过滤, 自然晾干称重, 用豆浆机打碎备用。

1.1.5 供试品种

马铃薯“大西洋”原原种, 由定西市农科院提供。

1.2 试验设计

马铃薯盆栽试验共设 4 个处理, CK: 病土[*R. solani* JT18 按 1 g/kg (干土)均匀拌入灭菌土]; OF: 病土+普通有机肥; AA+OF: 病土+氨基酸有机肥;

BOF11: 病土+QHZ11 生物有机肥。所有处理按肥料含量 1.5%的比例均匀拌入病土, 处理后于当天播种。各处理的 N、P、K 差异用化肥补齐, 每盆装干土 6 kg, 每处理 25 盆。播种前用次氯酸钠对原原种进行消毒、赤霉素打破休眠、催芽待种子露白后播种, 每盆种 8 株, 于苗期定植 4 株, 生育期 120 d。

1.3 供试样品采集

根际土和植株样品均采用破坏性采样方法。分别在马铃薯播种后的第 7 天(芽条期)、第 27 天(苗期)、第 47 天(块茎形成期)、第 67 天(块茎膨大期)、第 87 天(淀粉积累期)和第 107 天(成熟期)采集根际土和根系样品; 在第 47、67、87 和 107 天采集匍匐茎样品。每次每处理采 3 盆, 每盆 3 株。

采样时将马铃薯植株完整地挖出, 轻轻抖落根系上多余的土, 再用灭菌刷将附着在根表 1–2 mm 的土刷下即为根际土^[19]。将土样充分混匀装入 10 mL 无菌管后置于 4 °C 冰盒带回实验室, 部分提取土壤总 DNA 后保存于–20 °C, 剩余部分置于–80 °C 冰箱中保存。将采完根际土的植株在蒸馏水下冲洗干净, 再用无菌水冲洗 3 遍。将根系和匍匐茎小心地分开并剪成 0.5 cm 长的小段, 分别称重后置于 2 mL 离心管中加液氮冷冻, 保存于–80 °C 冰箱中用于提取组织 DNA。

1.4 *R. solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根际、根系和匍匐茎的定量测定

土壤 DNA 和植株 DNA 的提取方法分别按照南京诺唯赞生物科技有限公司的土壤基因组 DNA 提取试剂盒和植物基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行。

以李瑞琴等建立的立枯丝核菌(*R. solani*) JT18 的定量方法^[20]和董莉等建立的 QHZ11 的定量方法^[18]分别对病原菌和拮抗菌进行定量测定。分别以不同采样天数的根际土、根系和匍匐茎的 DNA 为模板, 用 *R. solani* JT18 和 QHZ11 的特异性引物 (Rs3F/Rs3R、*gyrB*-F/*gyrB*-R, 表 1)分别进行扩增。在每一循环的退火阶段收集荧光, 实时检测反应并且记录荧光信号的变化。最后将测得的值代入标准

曲线方程,即可计算出待测样品中 *R. solani* JT18 和 QHZ11 的基因拷贝数。

QHZ11 荧光定量 PCR 反应体系^[18] (25 μ L): ChamQTM Universal SYBR[®] qPCR Master Mix 12.5 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ L, 模板 DNA 1.0 μ L, ddH₂O 9.9 μ L。RT-qPCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 300 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 10 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s, 95 $^{\circ}$ C 1 s; 37 $^{\circ}$ C 30 s。

R. solani JT18 荧光定量 PCR 反应体系^[20] (20 μ L): ChamQTM Universal SYBR[®] qPCR Master Mix 10.0 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ L, 模板 DNA 2.0 μ L, ddH₂O 6.4 μ L。RT-qPCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s。

1.5 不同时期各处理对马铃薯黑痣病的防治效果

根据马铃薯黑痣病病情分级标准^[21] (表 2), 分别在播种后的第 47、67 和 87 天统计各处理地下茎和匍匐茎的发病情况, 在第 107 天统计块茎的发病情况。

病情指数=[\sum (各级病株(块茎)数 \times 代表值)/(调查总株(块茎)数 \times 最高级代表值)] \times 100;

防效(%)=(对照的病情指数-处理的病情指数)/对照的病情指数 \times 100。

1.6 数据分析

采用 SPSS 23.0 软件(IBM Corporation, NY)分

表 1 所用引物信息

Table 1 Information of primers

Primers sequence (5'→3')	Size (bp)
<i>gyrB</i> -F: CGAAGGCTCTCGTGACACGATTC	150
<i>gyrB</i> -R: AATAATCCGGGTAAATGCACTC	
Rs3F: TTGGTTGTAGCTGGTCTATTT	500
Rs3R: TATCACGCTGAGTGGAACCA	

析数据。所有数据均进行正态性和方差齐性检验, 并进行单因素方差分析, 用 Duncan 氏新复极差法检验差异显著性, 不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同时期各处理 *R. solani* JT18 的数量变化

2.1.1 *R. solani* JT18 在马铃薯根际的数量变化

从图 1 可以看出, 随着马铃薯生育进程的推进, 各处理 *R. solani* JT18 在根际的数量均呈现先升高至块茎膨大期(67 d)到达峰值, 随后下降的趋势。各时期 4 个处理 *R. solani* JT18 数量分别为: CK>OF>AA+OF>BOF11, 处理间均有显著性差异。CK 处理 *R. solani* JT18 的数量最高达到了 1.18×10^7 copies/g, 比 OF (4.07×10^6 copies/g)和 AA+OF 处理(1.62×10^6 copies/g)分别高出一个数量级, 比 BOF11 处理(3.97×10^5 copies/g)高出了 2 个数量级。

表 2 马铃薯黑痣病病情分级标准

Table 2 Classification standard of potato black scurf

等级	代表值	地下茎	匍匐茎	块茎
Grade	Representative value	Underground stem	Stolon	Tuber
1	0	No scabs, normal plant growth	No scabs, normal plant growth	Tubers without sclerotiums
2	1	Scabs are 0%–5% of the total area of underground stems	Scabs are 0%–5% of the total area of stolons	The area of sclerotiums are 0%–5% of the total area of tubers
3	2	Scabs are 6%–35% of the total area of underground stems	Scabs are 6%–35% of the total area of stolons	The area of sclerotiums are 6%–35% of the total area of tubers
4	3	Scabs are 36%–65% of the total area of underground stems	Scabs are 36%–65% of the total area of stolons	The area of sclerotiums are 36%–65% of the total area of tubers
5	4	Scabs are 66%–95% of the total underground area of stems	Scabs are 66%–95% of the total area of stolons	The area of sclerotiums are 66%–95% of the total area of tubers
6	5	Scabs are more than 96% of the total area of underground stems	Scabs are more than 96% of the total area of stolons	The area of sclerotiums are more than 96% of the total area of tubers

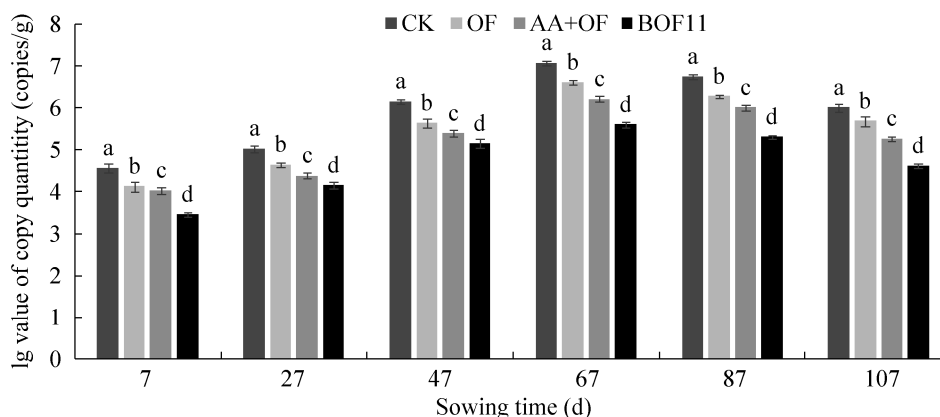


图1 *Rhizoctonia solani* JT18 在马铃薯根际的数量变化

Figure 1 The quantity change of *Rhizoctonia solani* JT18 in the potato rhizosphere

注: 不同小写字母表示差异显著。下同

Note: Different lowercase letters indicate significant differences. The same below

2.1.2 *R. solani* JT18 在马铃薯根系和匍匐茎的数量变化

从图2可以发现, *R. solani* JT18 在马铃薯根系和匍匐茎的数量变化趋势相同且均与根际一致, 也在块茎膨大期到达峰值后下降。不同时期各处理 *R. solani* JT18 的数量均有显著性差异, 并且在整个生育期内病原菌在根系上的定殖数量始终高于匍匐茎。这种差异在块茎膨大期最为明显, 此时期在根系上, CK 处理 *R. solani* JT18 的数量达到 2.72×10^6 copies/g, 显著高于 AA+OF (8.11×10^5 copies/g) 和 BOF11 处理 (5.12×10^4 copies/g); 而同时期在匍匐茎上, CK 处理 *R. solani* JT18 的数

量为 1.83×10^6 copies/g, 略低于根系, 但显著高于其余3个处理, 尤其比 AA+OF (5.14×10^5 copies/g) 和 BOF11 处理 (2.46×10^4 copies/g) 分别高出了一个数量级和两个数量级。

2.2 不同时期 *R. solani* JT18 和 QHZ11 的数量消长关系

2.2.1 *R. solani* JT18 和 QHZ11 在根际的数量消长关系

图3反映了 *R. solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根际的数量消长关系, 可以看出, 二者的数量变化均呈现先升高后下降的趋势, 不同于 *R. solani* JT18, QHZ11 的峰值出现在块茎形成期(47 d)。从

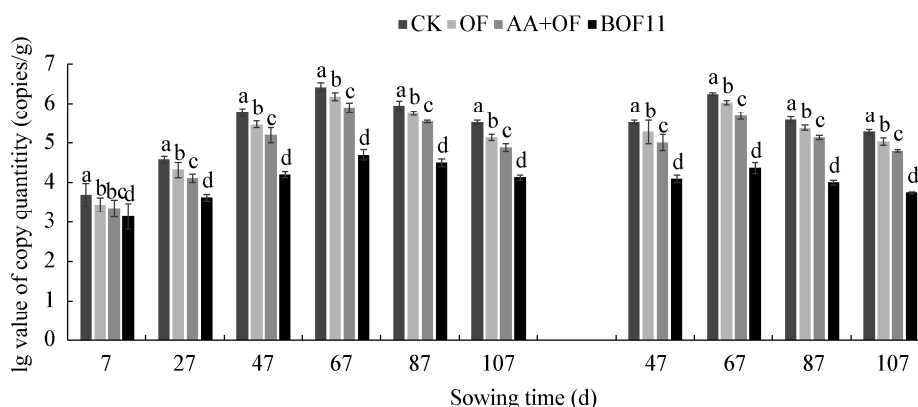


图2 *Rhizoctonia solani* JT18 在马铃薯根系和匍匐茎的数量变化

Figure 2 The quantity change of *Rhizoctonia solani* JT18 in roots and stolons of potato

芽条期(7 d)开始, QHZ11 始终比 *R. solani* JT18 高出一个数量级, 而且两者之间数量的差异为块茎形成期最大, 芽条期次之, 淀粉积累期(87 d)和成熟期(107 d)最小, 说明拮抗菌 QHZ11 在根际的有效定殖抑制了病原菌 *R. solani* JT18 的生长和繁殖, 使 *R. solani* JT18 的数量与其他处理相比显著降低。

2.2.2 *R. solani* JT18 和 QHZ11 在根系和匍匐茎的数量消长关系

从图 4 可以看出, *R. solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根系和匍匐茎的数量变化趋势同根际一致, 并且在整个生育期, QHZ11 在根系的定殖数量同 *R. solani* JT18 一样也高于在匍匐茎上的定殖数量。二者之间的数量差异在根系上为块茎形成期最高, 成熟期最低, 并且从苗期到块茎膨大期, QHZ11 的定殖数量均比 *R. solani* JT18 高出两个数量级, 在芽条期和淀粉积累期高出一个数量级; 在匍匐茎上的差异与根系上基本一致, 不同的是只在块茎形成期, QHZ11 的数量比 *R. solani* JT18 高出 2 个数量级, 其余时期均高出一个数量级。*R. solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根系和匍匐茎的数量消长关系进一步说明了 QHZ11 以有机肥为载体, 可以在马铃薯根系和匍匐茎大量存活和繁殖, 从而迅速占领病原菌在这些部位的生态位和营养物质, 对病原菌起到了有效的抑制作用。

2.3 不同时期各处理对马铃薯黑痣病的防治效果

2.3.1 不同时期各处理马铃薯病情指数以及相应的防效

表 3 给出了不同时期各处理马铃薯地下茎、匍匐茎和块茎的病情指数及相应的防效, 从表 3 中可以看出, 从块茎形成期到成熟期, 4 个处理之间病情指数均有显著性差异, 而且各时期各个部位的病情指数均为 CK>OF>AA+OF>BOF11; 防效均为 BOF11>AA+OF>OF。病情指数最高出现在块茎膨大期的匍匐茎上, 达到了 60.00 (CK 处理), 最低出现在块茎形成期的地下茎上, 仅为 6.40 (BOF11 处理); 防效最高出现在块茎形成期的地下茎上, 达到了 82.16% (BOF11 处理), 最低出现在块茎膨大期的匍匐茎上, 仅为 4.17% (OF 处理)。除了块茎形成期的 CK 和 OF 处理外, 其余时期均以匍匐茎的病情指数高于同时期的地下茎, 但在对马铃薯黑痣病的防效上没有显著规律。整体上, 从马铃薯发病部位看: 地下茎发病情况最轻, 匍匐茎发病最严重, 块茎发病情况介于二者之间; 从生育期来看(仅比较同时期的地下茎和匍匐茎): 块茎膨大期发病最严重, 块茎形成期发病最轻。表 3 的结果与前面病原菌和拮抗菌的定量结果相一致, 从而为定量结果提供了有力的支撑。

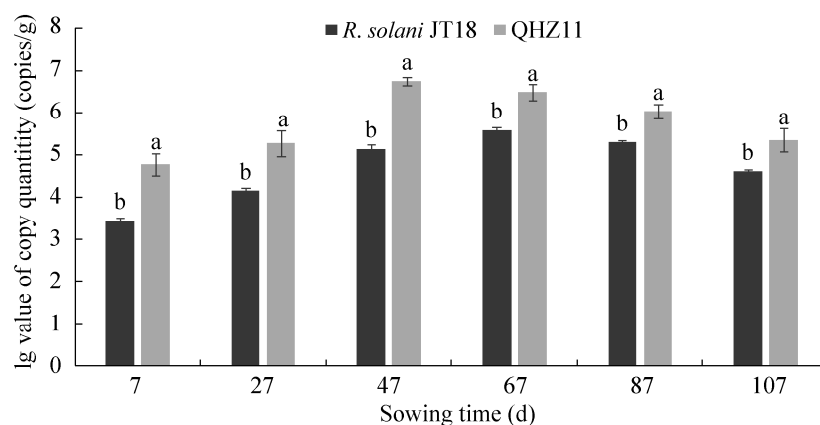


图 3 *Rhizoctonia solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根际的数量消长关系

Figure 3 The relationship of the increase and decline of the number between *Rhizoctonia solani* JT18 and QHZ11 in potato rhizosphere

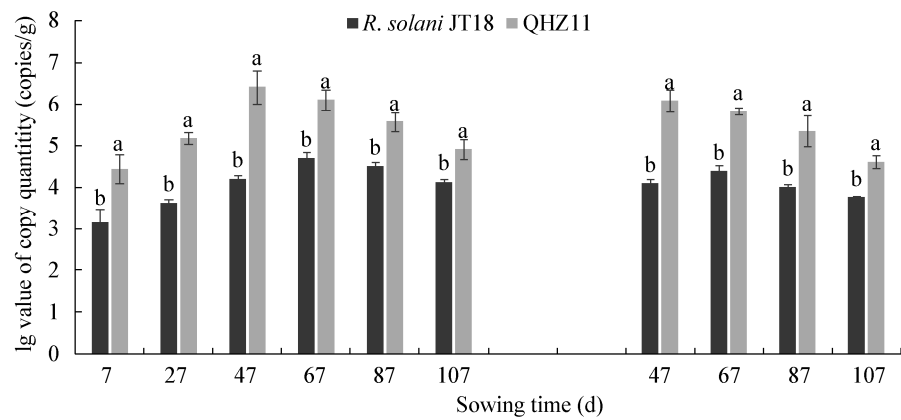


图 4 *Rhizoctonia solani* JT18 和 QHZ11 在马铃薯根系和匍匐茎的数量消长关系
Figure 4 The relationship of the increase and decline of the number between *Rhizoctonia solani* JT18 and QHZ11 in potato roots and stolons

2.3.2 成熟期不同处理马铃薯块茎发病情况的比较

在成熟期比较不同处理马铃薯块茎的发病情况(图 5)发现,马铃薯块茎上出现了大小不等、形状不规则、分布不均匀的黑痣,尤其以 CK 处理黑痣最为严重,呈块状分布,较大且颜色深;其次为 OF 处理,黑痣较分散,除个别呈块状、颜色较深

外,其余均比较小,基本为斑状;BOF11 处理块茎发病最轻,仅有少量的黑痣且颜色较浅。图 5 进一步从表观上展现了 4 个处理块茎的发病情况,也从侧面证明与普通有机肥和氨基酸有机肥相比,将拮抗菌制成生物有机肥施入土壤后对马铃薯黑痣病的防效最好。

表 3 不同时期各处理对马铃薯黑痣病的防治效果

采样时期		地下茎		匍匐茎		块茎	
Sampling period		Underground stem		Stolon		Tuber	
		病情指数	防效	病情指数	防效	病情指数	防效
		Disease index	Efficiency (%)	Disease index	Efficiency (%)	Disease index	Efficiency (%)
块茎形成期 Tuber formation period	CK	35.87a	—	25.00a	—	—	—
	OF	28.00b	21.94	21.74b	13.04	—	—
	AA+OF	12.50c	65.15	18.42c	26.72	—	—
	BOF11	6.40d	82.16	8.00d	68.00	—	—
块茎膨大期 Tuber expansion period	CK	28.57a	—	60.00a	—	—	—
	OF	23.81b	16.66	57.50ab	4.17	—	—
	AA+OF	17.54c	38.61	40.15c	33.08	—	—
	BOF11	11.11d	61.11	18.18d	69.70	—	—
淀粉积累期 Starch accumulation period	CK	15.38a	—	56.67a	—	—	—
	OF	12.50b	18.73	40.00b	29.42	—	—
	AA+OF	11.11c	27.76	26.67c	52.94	—	—
	BOF11	7.63d	50.39	19.05d	66.38	—	—
成熟期 Maturity period	CK	—	—	—	—	42.94a	—
	OF	—	—	—	—	36.00b	16.16
	AA+OF	—	—	—	—	22.25c	48.18
	BOF11	—	—	—	—	18.83d	56.15

注: —: 无数值
Note: —: No value

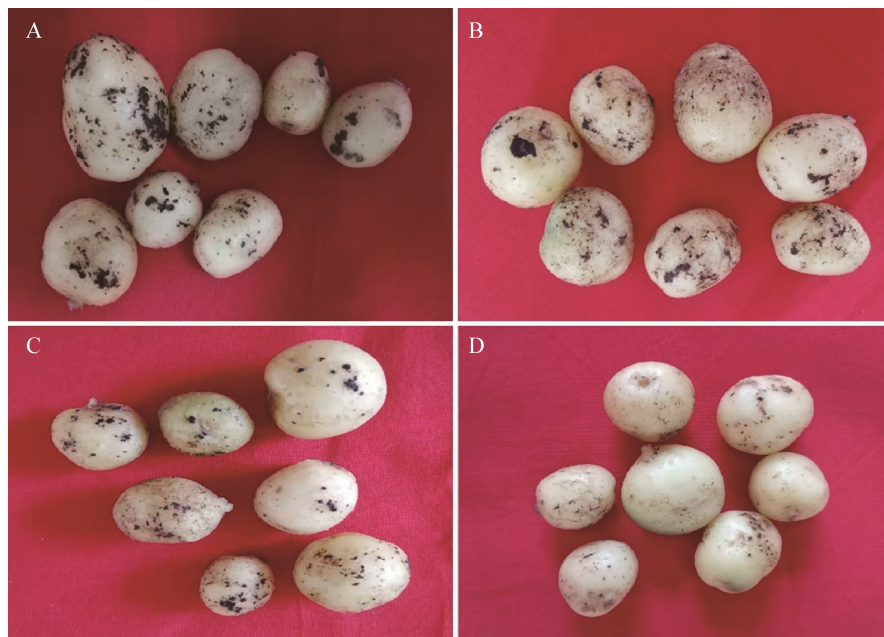


图 5 成熟期不同处理块茎发病情况的比较

Figure 5 Comparison of tuber incidence in different treatments at maturity

Note: A: CK; B: OF; C: AA+OF; D: BOF11

3 讨论

作为一种典型的真菌性土传病害, 马铃薯黑痣病的生物防治一直是当下研究的热点。目前, 可用于黑痣病生物防治的菌种资源十分有限, 主要集中在木霉属, 如棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)、青霉菌(*Penicillium*)^[22]、哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)^[23]及芽孢杆菌属, 如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)^[24]和解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)^[25]等, 但是在类芽孢杆菌上尚未见报道。

本研究通过对马铃薯全生育期, 不同处理下立枯丝核菌(*R. solani*) JT18 在马铃薯根际和植株不同部位的数量变化、拮抗菌 QHZ11 与 *R. solani* JT18 数量消长规律, 以及对不同处理黑痣病病情指数和防效的比较, 发现随马铃薯生育进程的推进, 各部位 *R. solani* JT18 和 QHZ11 的数量均呈现先升高后下降的趋势。其中, *R. solani* JT18 数量的峰值出现在块茎膨大期, 该结果正好解释了病情统计所得出的结论, 即块茎膨大期发病最为严重。同李瑞琴

等^[20]的研究结果相类似, 块茎膨大期病原菌数量最高, 达到 10^4 – 10^6 copies/g 土壤, 随后开始下降。但郝向玲^[26]的研究中, 发病率最高是在苗期, 与本试验结果不一致, 推测应该与马铃薯品种、病原菌的接种方式、接种量及土壤与气候条件等密切相关。

拮抗菌 QHZ11 数量的峰值出现在块茎形成期, 此时, 匍匐茎开始形成, 马铃薯进入生长高峰期, 产生了大量的根系分泌物^[27]。张文明等收集和鉴定了该时期的马铃薯根系分泌物, 发现其中的棕榈酸和邻苯二甲酸二丁酯均可明显促进立枯丝核菌的生长^[28]。本试验中, 块茎形成期立枯丝核菌(*R. solani*) JT18 的数量无论在根系还是匍匐茎, 都要低 QHZ11 两个数量级, 这或许可以解释为马铃薯根系分泌物中同样存在可以趋化 QHZ11 的物质, 从而吸引了大量的 QHZ11 到达根系和匍匐茎寻求营养物质, 不仅优先占领了这些部位的生态位, 还以庞大的数量形成了生物膜, 有效阻止了病原菌在这些部位的定殖, 因而拮抗菌数量升至最高而病原

菌数量却受到了明显的抑制。研究表明,根系分泌物一方面可以作为化学信号物质调控土壤病原菌的活性,并能通过改变土壤微生态环境诱导土传病害的发生;另一方面,当植物受到病害胁迫时会通过根系分泌物招徕功能性的微生物,利用其实现对病原菌的生物防控^[29]。张欣悦等^[30]发现烟草根系分泌的草酸和柠檬酸分别对枯草芽孢杆菌 GZYCT-4 和 GZYCT-9 有趋化作用。Rudrappa 等^[31]发现,拟南芥感染紫丁香假单胞菌后,根系分泌的苹果酸会引诱枯草芽孢杆菌 FB17 进入植株根部定殖。至于马铃薯根系趋化 QHZ11 的具体物质,本课题组还在进一步的研究中,初步估计应该与有机酸中的某种成分有关。

本研究中,在马铃薯整个生育期,病原菌 *R. solani* JT18 的数量均显著低于拮抗菌 QHZ11,并且 OF 和 AA+OF 处理,尤其是后者也可在较大程度上抑制病原菌数量的增加。这个结果除上述原因可以解释外,还应该与病原菌和拮抗菌的生长繁殖方式及 QHZ11 以有机肥为载体有关。研究表明,有机肥可以调控土壤微生物区系,增加土壤有益微生物的数量,对作物土传病害的防治作用突出^[32-33],然而氨基酸肥料不仅可以提高作物的产量和品质,还可以增强作物抗逆性^[34]。所以,二者均可抑制病原菌的生长,从而减轻病害。然而生物有机肥料是将功能微生物接种至氨基酸有机肥中经二次固体发酵制成的,兼具微生物肥料和有机肥效应双重效果^[35]。生物有机肥料不仅富含大量有机质和一定量的速效、缓效养分,也含具有拮抗和促生作用的功能微生物^[36],在施入土壤初期,QHZ11 便可因其生长繁殖周期短、易于移动和定殖等优势在与病原菌的竞争中占据主导地位,首先在根际大量繁殖,之后随马铃薯的发育,根系分泌物趋化 QHZ11 迅速运动到马铃薯根、地下茎以及匍匐茎并占领这些部位的生态位。然而立枯丝核菌繁殖周期长,同时菌丝的伸长也受到土壤中各种物质的干扰,当菌丝伸长至马铃薯根系等部位时,会受到已经占领大多数生态位的拮抗菌的抑制,失去一部分的寄居点,使之不

能及时汲取营养并补充能源,因而数量便一直处于竞争劣势。研究表明,拮抗菌之所以能在作物根系等部位有效抑制病原菌,从而发挥生防效果,其原因除了拮抗菌在作物根系附近快速繁殖形成优势菌群,与病原微生物形成竞争性拮抗作用外^[37],还与拮抗菌在生长繁殖过程中分泌出多种抗生素与植物生长激素,刺激了作物生长,使之对疾病的抗逆性提高等有关^[38]。后期将从拮抗菌诱导植物自身抗性等方面进一步探究 QHZ11 对马铃薯黑痣病的生防机制。

4 结论

QHZ11 以有机肥为载体施入土壤后,可以通过在根际以及马铃薯植株不同部位竞争营养和生态位而有效抑制黑痣病病原菌的生存和繁殖,从而起到显著的生防效果,这对 QHZ11 生物有机肥的应用和推广具有重要的意义,并为进一步研究 QHZ11 的生防机制奠定了基础。

REFERENCES

- [1] Zhao YZ, Wang D, Xu LM, Jia RF, Guo JS, Li N, He YQ, Yan HM. Comparison of field control effects of different microbial agents on potato black scurf[J]. China Plant Protection, 2020, 40(9): 90-92 (in Chinese)
赵远征, 王东, 徐利敏, 贾瑞芳, 郭景山, 李楠, 贺有权, 闫辉敏. 不同微生物菌剂对马铃薯黑痣病的田间防效比较[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(9): 90-92
- [2] Wang YY, Li Q, Yang CD, Zhang JL. Identification and overwintering ability test of *Rhizoctonia solani* anastomosis groups in potato in the Anding district of Gansu province[J]. China Plant Protection, 2020, 40(6): 11-16 (in Chinese)
王银钰, 李青, 杨成德, 张俊莲. 甘肃省安定区马铃薯黑痣病菌菌丝融合群鉴定及其越冬能力初探[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(6): 11-16
- [3] Zhang XY, Yu XX, Yu Z, Zhang WQ, Ju LL, Xue YF. Changes on activity of defensive enzyme after inoculating with toxin of *Rhizoctonia solani* in potato[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2012, 27(4): 153-157 (in Chinese)
张笑宇, 于肖夏, 于卓, 张武全, 琚亮亮, 薛玉凤. 黑痣病菌毒素诱导马铃薯幼苗体内防御酶活性的变化[J]. 华北农学报, 2012, 27(4): 153-157
- [4] Huang YL, Gao QG, Su Y, Sun CG, You WY, Cui Y. Control

- efficacy of 250 g/L azoxystrobin SC on black scurf of potato in two regions[J]. Chinese Potato Journal, 2018, 32(3): 171-174 (in Chinese)
- 黄燕丽, 高庆刚, 苏毅, 孙长贵, 游文字, 崔宇. 250 g/L 嘧菌酯悬浮剂对 2 个地区马铃薯黑痣病的防治效果[J]. 中国马铃薯, 2018, 32(3): 171-174
- [5] Liu XJ, An JH, Mo J, Sun XM, Wang WH, Wei ZQ, Yang Y. Control efficacy of five fungicides on potato black scurf[J]. Chinese Potato Journal, 2019, 33(3): 170-174 (in Chinese)
- 刘小娟, 安建华, 莫娟, 孙兴明, 王文慧, 魏周全, 杨扬. 5 种杀菌剂对马铃薯黑痣病的田间防效试验[J]. 中国马铃薯, 2019, 33(3): 170-174
- [6] Muzhinji N, Woodhall JW, Truter M, Van Der Waals JE. Variation in fungicide sensitivity among *Rhizoctonia* isolates recovered from potatoes in South Africa[J]. Plant Disease, 2018, 102(8): 1520-1526
- [7] Zhang XY, Huo HL, Zhang DM, Xing X, Li DZ, Wang FW. Effects of sodium silicate on resistance to potato stem canker and its resistance-related substances[J]. Journal of Plant Protection, 2020, 47(6): 1287-1296 (in Chinese)
- 张笑宇, 霍宏丽, 张冬梅, 邢星, 李得宙, 王凤梧. 硅酸钠对马铃薯黑痣病的抗性及其抗性相关物质的影响[J]. 植物保护学报, 2020, 47(6): 1287-1296
- [8] Yuan J, Ruan YZ, Wang BB, Zhang J, Waseem R, Huang QW, Shen QR. Plant growth-promoting rhizobacteria strain *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6-enriched bio-organic fertilizer suppressed *Fusarium* wilt and promoted the growth of banana plants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(16): 3774-3780
- [9] Cao YY, Ni HT, Li T, Khien-Duc L, Liu DS, He XY, Ou KM, Tang XY, Wang XB, Qiu LJ. *Pseudomonas* sp. Tk35-L enhances tobacco root development and growth by inducing *HRGPnt3* expression in plant lateral root formation[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(10): 2549-2560
- [10] Zhang N, Wu K, Shen YF, Zhang RF, Shen QR, Huang QW. Investigation of the colonization patterns of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 on banana roots[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2014, 37(6): 59-65 (in Chinese)
- 张楠, 吴凯, 沈怡斐, 张瑞福, 沈其荣, 黄启为. 根际益生菌解淀粉芽孢杆菌 SQR9 在香蕉根表的定殖行为研究[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(6): 59-65
- [11] Sun CC, Ding W, Pan XB, Yan FF. Influencing factors for the stability of biocontrol agents[J]. Plant Doctor, 2019, 32(4): 19-23 (in Chinese)
- 孙成成, 丁伟, 潘兴兵, 闫芳芳. 影响微生物菌剂应用稳定性的因素分析[J]. 植物医生, 2019, 32(4): 19-23
- [12] Liu YP. Enhanced plant growth promotion and root colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 through rhizosphere interaction[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- 刘云鹏. 增强解淀粉芽孢杆菌 SQR9 根际定殖和促生的根际互作机制研究[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2015
- [13] Liu GY, Zou Y, Gu YX, Dai CC. Antagonistic effects of endophytic fungi against *Fusarium oxysporum* in continuous cropping peanut soil[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(12): 171-174 (in Chinese)
- 刘贵友, 邹瑶, 顾杨霞, 戴传超. 内生真菌对连作花生土壤尖孢镰刀菌的拮抗作用[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(12): 171-174
- [14] Etesami H, Alikhani HA, Hosseini HM. Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents[J]. MethodsX, 2015, 2: 72-78
- [15] Cho ST, Chang HH, Egamberdieva D, Kamilova F, Lugtenberg B, Kuo CH. Genome analysis of *Pseudomonas fluorescens* PCL1751: a rhizobacterium that controls root diseases and alleviates salt stress for its plant host[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140231
- [16] Guan XM. Isolation of antagonistic bacterium strains against pathogen causing black scurf of potato and its acting mechanism[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Gansu Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- 关小敏. 马铃薯黑痣病生防细菌的筛选及其生防作用机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2014
- [17] Qiu XL, Zhou YZ, Dong L, Zhang CH, Li ZL, Wang YL, Qiu HZ. Effects of bio-organic fertilizer on bioactivity and root activity of rhizosphere soil of potato[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2019, 37(3): 162-169 (in Chinese)
- 邱晓丽, 周洋子, 董莉, 张春红, 李志龙, 王友玲, 邱慧珍. 生物有机肥对马铃薯根际土壤生物活性及根系活力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(3): 162-169
- [18] Dong L, Qiu HZ, Zhou YZ, Dong AJ, Chen LL, Wang YL, Wang C. Rapid detection and application of antagonistic bacterium QHZ11 against *Rhizoctonia solani* in potato by real-time fluorescence quantitative PCR[J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 4338-4348 (in Chinese)
- 董莉, 邱慧珍, 周洋子, 董爱菊, 陈兰兰, 王友玲, 王川. 马铃薯立枯丝核菌拮抗菌 QHZ11 的实时荧光定量 PCR 快速检测与应用[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4338-4348
- [19] Zhou YZ. Studies on the biocontrol effects and mechanism

- of lipopolypeptide producing strain QHZ-3 on black scurf disease of potato[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Gansu Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- 周洋子. 产脂肽类菌株 QHZ-3 对马铃薯黑痣病的生防效果及其机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2020
- [20] Li RQ, Liu X, Qiu HZ, Zhang WM, Zhang CH, Wang D, Zhang JL, Shen QR. Rapid detection of *Rhizoctonia* in rhizosphere soil of potato using real-time quantitative PCR[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2013, 22(5): 136-144 (in Chinese)
- 李瑞琴, 刘星, 邱慧珍, 张文明, 张春红, 王蒂, 张俊莲, 沈其荣. 发生马铃薯立枯病土壤中立枯丝核菌的荧光定量 PCR 快速检测[J]. *草业学报*, 2013, 22(5): 136-144
- [21] Wu JH, Lu WX, Liu GJ, Hu J, Sun YM, Liu ZH. Effects of *Bacillus subtilis* on potato black scurf and *Verticillium* wilt of potato and on soil enzyme activity[J]. *Chinese Potato Journal*, 2019, 33(2): 101-109 (in Chinese)
- 武建华, 吕文霞, 刘广晶, 胡俊, 孙彦敏, 刘智慧. 枯草芽孢杆菌对马铃薯黑痣病和黄萎病的防效及对土壤酶活性的影响[J]. *中国马铃薯*, 2019, 33(2): 101-109
- [22] Wang DH. Study on the biological control of potato black scurf and its prevention mechanism[D]. Taian: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- 王德浩. 马铃薯黑痣病的生物防治及其机理研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2020
- [23] Guo CJ, Shen RQ, Zhang LR, Wang XG, Zhang SW, Xu BL. Effects on biological control against potato black scurf (*Rhizoctonia solani*) and rhizosphere soil micro-ecosystem of *Trichoderma harzianum* applied together with straw[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(7): 1447-1455 (in Chinese)
- 郭成瑾, 沈瑞清, 张丽荣, 王喜刚, 张树武, 徐秉良. 哈茨木霉协同秸秆对马铃薯黑痣病及根际土壤微生物生态的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(7): 1447-1455
- [24] Pan XH, Chang RX, Mu KG, Chen Q. Inhibition effects of *Trichoderma harzianum* VT9-3r and *Bacillus subtilis* VT4-1x on three potato pathogens[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(4): 72-81 (in Chinese)
- 潘潇涵, 常瑞雪, 慕康国, 陈清. 哈茨木霉 VT9-3r 和枯草芽孢杆菌 VT4-1x 对 3 株马铃薯致病菌的抑制作用效果[J]. *中国农业大学学报*, 2020, 25(4): 72-81
- [25] Song BC, Zhao DM, Yang ZH, Zhang D, Zhao Z, Zhu JH. Screening and identification of an antagonistic bacterium against *Rhizoctonia solani* and analysis of biocontrol factor[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(8): 9-16 (in Chinese)
- 宋本超, 赵冬梅, 杨志辉, 张岱, 赵志, 朱杰华. 马铃薯黑痣病菌拮抗菌的筛选鉴定及生防因子分析[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(8): 9-16
- [26] Hao XL. Study on the effects of new organic fertilizers and biological agents on the control of potato soil-borne diseases[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- 郝向玲. 新型有机肥和生物制剂对马铃薯土传病害防治效果的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2020
- [27] Zhang WM, Qiu HZ, Zhang CH, Liu X, Gao YA, Shen QR. Identification and autotoxicity of root exudates of continuous cropping potato at different growth stages[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(2): 215-224 (in Chinese)
- 张文明, 邱慧珍, 张春红, 刘星, 高怡安, 沈其荣. 连作马铃薯不同生育期根系分泌物的成分检测及其自毒效应[J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(2): 215-224
- [28] Zhang WM, Qiu HZ, Zhang CH, Hai L. Identification of chemicals in root exudates of potato and their effects on *Rhizoctonia solani*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(3): 859-866 (in Chinese)
- 张文明, 邱慧珍, 张春红, 海龙. 马铃薯根系分泌物成分鉴别及其对立枯丝核菌的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(3): 859-866
- [29] Xiao R, Zhang CF, Deng S, Cao QF, Han YH. Research progress on response and function of plant root exudates under disease stress[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2021, 49(1): 110-114 (in Chinese)
- 肖蓉, 张春芬, 邓舒, 曹秋芬, 韩亚慧. 病害胁迫下植物根系分泌物的响应及作用研究进展[J]. *山西农业科学*, 2021, 49(1): 110-114
- [30] Zhang XY, Luo CQ, Chen XJ, Wang Q, Wang L, Ding T. Evaluation of two antagonistic bacteria from tobacco rhizosphere for controlling tobacco bacterial wilt[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2020, 26(1): 91-99 (in Chinese)
- 张欣悦, 罗翠琴, 陈小洁, 王其, 王璐, 丁婷. 两株防治烟草青枯病的烟草根际拮抗菌[J]. *中国烟草学报*, 2020, 26(1): 91-99
- [31] Rudrappa T, Czymbek KJ, Paré PW, Bais HP. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(3): 1547-1556
- [32] 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
- [33] Chen JB. Field control effect of *Bacillus subtilis* and

- azoxystrobin on potato black scurf[J]. China Plant Protection, 2015, 35(12): 55-57 (in Chinese)
- 陈建保. 枯草芽孢杆菌和啮菌酯对马铃薯黑痣病的田间防效[J]. 中国植保导刊, 2015, 35(12): 55-57
- [34] Janvier C, Villeneuve F, De Alabouvette C, Edel-Hermann V, Maitelle T, Steinberg C. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators?[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(1): 1-23
- [35] Guo CJ, Zhang LR, Wang XG, Zha XF, Sun FG, Shen RQ. Effects of different fertilizers on potato black scurf control and soil microbial community[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(11): 82-88 (in Chinese)
- 郭成瑾, 张丽荣, 王喜刚, 查仙芳, 孙发国, 沈瑞清. 不同肥料对马铃薯黑痣病的控制作用和对土壤微生物群落的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(11): 82-88
- [36] Yan TS, Fan ZB, Li XZ, Shi LB. Effects of different application methods of compound amino acid fertilizer on eggplant growth[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(9): 28-31 (in Chinese)
- 颜廷帅, 樊兆博, 李新柱, 时立波. 复合氨基酸肥料不同施用方式对茄子生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(9): 28-31
- [37] Bais HP, Fall R, Vivanco JM. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of Arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production[J]. Plant Physiology, 2004, 134(1): 307-319
- [38] Fu LJ, Zhang AM, Wang XD, Zhou GS. Advances on application of bio organic fertilizer for restoring facility vegetable soil[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2017(3): 1-5 (in Chinese)
- 付丽军, 张爱敏, 王向东, 周国顺. 生物有机肥改良设施蔬菜土壤的研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2017(3): 1-5