

茶轮斑病拮抗细菌 kc-16 的抑菌性能及田间防效

杨学宇^{1,2}, 谭琳³, 沈程文^{1,2}, 邓玉莲^{1,2}, 李桂花^{1,2}, 黄虹^{1,2}, 胡秋龙^{*1,2}

1 湖南农业大学 茶学教育部重点实验室, 湖南 长沙 410128

2 湖南农业大学 园艺学院, 湖南 长沙 410128

3 湖南农业大学 植物保护学院, 湖南 长沙 410128

杨学宇, 谭琳, 沈程文, 邓玉莲, 李桂花, 黄虹, 胡秋龙. 茶轮斑病拮抗细菌 kc-16 的抑菌性能及田间防效[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4560-4573.

YANG Xueyu, TAN Lin, SHEN Chengwen, DENG Yulian, LI Guihua, HUANG Hong, HU Qiulong. Antimicrobial activity and field control effect of an antagonistic bacterial strain kc-16 against tea gray blight[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4560-4573.

摘要:【背景】茶轮斑病是茶树的主要病害, 目前仍以化学防治为主, 而化学防治引起的农残与抗药性问题亟待解决, 发掘和利用生防微生物资源是保障茶叶安全生产和提高产量的重要举措。

【目的】筛选对茶轮斑病菌(*Pseudopezalotiopsis theae*)具有拮抗能力的芽孢杆菌并初步明确该拮抗菌的抑菌性能及其对茶树的田间防病促生效果, 为茶轮斑病菌生防技术开发提供支持。【方法】利用平板对峙法筛选对茶轮斑病菌具有拮抗效果的细菌; 通过形态特征、生理生化特征结合 16S rRNA 基因测序对筛选所得拮抗菌进行种属鉴定; 利用不同检测平板分析产真菌细胞壁裂解酶的特性, 通过平板对峙试验测定菌株 kc-16 不同类型代谢产物对茶轮斑病菌的抑制能力, 同时测定菌株 kc-16 对其他 9 种常见植物病原真菌的拮抗率以确定其广谱抑菌能力, 最后进行田间试验评价菌株 kc-16 对茶轮斑病的防治和对茶树的增产效果。【结果】筛选到一株对茶轮斑病菌有较好抑制效果的菌株 kc-16, 抑菌率为(79.62±0.82)%。经生理生化特征比对与 16S rRNA 基因序列同源性分析, 将菌株 kc-16 鉴定为枯草芽孢杆菌沙漠亚种(*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*); 该菌具有固氮、产铁载体与溶磷能力, 但不具有解钾能力; 能够分泌蛋白酶、纤维素酶、β-1,3 葡聚糖酶和几丁质酶。此外, 其对 9 种病原真菌均有不同程度的抑制效果, 抑制率为 46.67%–81.00%。同时, 其胞外抑菌物质均对茶轮斑病菌有抑制作用, 菌株 kc-16 的无菌滤液、蛋白类代谢物、挥发性代谢产物和非挥发性代谢产物的平板抑制率分别为 69.00%、58.00%、47.50%和 78.71%; 田间试验表明枯草芽孢杆菌沙漠亚种对茶树有良好的防病促生效果, 在显著降低茶轮斑病发病率的同时, 使茶叶鲜重(1 芽 1 叶)相较空白对照提升了 25.0%。【结论】枯草芽孢杆菌沙漠亚种对茶轮斑病菌有

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFD16000803-6); 湖南省重点研发计划(2022NK2051, 2023NK2013); 湖南省科技创新重大项目(2021NK1020)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFD16000803-6), the Key Research and Development Program of Hunan Province (2022NK2051, 2023NK2013), and the Major Scientific and Technological Innovation Project in Hunan Province (2021NK1020).

*Corresponding author. E-mail: huqiulongnet@126.com

Received: 2024-02-26; Accepted: 2024-06-01; Published online: 2024-06-25

较好的抑制效果，同时对茶树也有较好的促生效果，具有潜在的应用价值。本研究结果为该菌株的后续研究和其在防治植物病害方面的应用提供了理论支撑。

关键词：茶轮斑病；枯草芽孢杆菌沙漠亚种；生物防治；促生

Antimicrobial activity and field control effect of an antagonistic bacterial strain kc-16 against tea gray blight

YANG Xueyu^{1,2}, TAN Lin³, SHEN Chengwen^{1,2}, DENG Yulian^{1,2}, LI Guihua^{1,2}, HUANG Hong^{1,2}, HU Qiulong^{*1,2}

1 Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

2 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

3 College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

Abstract: [Background] Tea gray blight is a major disease attacking tea plants. Chemical methods are mainly used to control this disease, and the chemical residues and pathogen resistance caused by chemical control need to be solved urgently. Exploring biocontrol microorganisms is an important measure to ensure the safety and increase the yield of tea production. [Objective] To screen the *Bacillus* strains with inhibitory effects on tea gray blight and clarify the inhibitory activity and field control effect of the strain screened out, providing support for the development of biocontrol methods for tea gray blight. [Methods] A plate confrontation experiment was conducted to screen out the strain with antagonistic effect on *Pseudopezalotiopsis theae*, the pathogen causing tea gray blight. The strain was identified based on morphological, physiological, and biochemical characteristics and sequence analysis of the 16S rRNA. Various plates were utilized to examine the production of enzymes lysing fungal cell walls by the strain. Plate confrontation tests were conducted to determine the inhibitory activities of different metabolites produced by the strain on *Ps. theae*. The inhibition rates against nine common species of plant pathogenic fungi were measured to assess the antifungal spectrum of the strain. Finally, field experiments were conducted to evaluate the effects of the strain on tea gray blight and yield of tea plants. [Results] A strain kc-16 with antagonistic effect on *Ps. theae* was screened out, with the inhibition rate of (79.62±0.82)%, and it was identified as *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* by morphological, physiological, and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence analysis. Strain kc-16 demonstrated nitrogen-fixing, iron carriers producing and phosphorus-solubilizing abilities but lacked the potassium-solubilizing ability, and it could secrete protease, cellulase, β-1,3-glucanase, and chitinase. In addition, strain kc-16 inhibited nine species of pathogenic fungi, with inhibition rates ranging from 46.67% to 81.00%. The extracellular substances of strain kc-16 exhibited inhibitory effects on the pathogen of tea gray blight. Specifically, the cell-free filtrate, crude protein extract, volatile substances, and non-volatile substances of this strain showcased the inhibition rates of 69.00%, 58.00%, 47.50%, and 78.71%, respectively. In field experiments,

B. subtilis subsp. *inaquosorum* showed tea gray blight-preventing and growth-promoting effects on tea plants. It reduced the incidence of tea gray blight while increasing the fresh weight of tea leaves (one bud and one leaf) by 25.0% compared with the blank control. **[Conclusion]** *B. subtilis* subsp. *inaquosorum* inhibits tea gray blight and promotes the growth of tea plants, demonstrating the application potential. The results of this study provide theoretical support for the future research and application of this strain in the control of plant diseases.

Keywords: tea gray blight; *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*; biocontrol; growth promotion

茶树作为我国的重要经济作物之一,在农村脱贫与出口创汇方面发挥了重要作用,其种植面积近年来不断扩大^[1]。茶树大多种植在温暖多雨的地区,这为病害的发生提供了有利的气候条件,而其规模化种植更增添了病害流行的风险^[2]。其中由类似盘多毛孢(*Pestalotiopsis*-like)引起的茶轮斑病是造成茶叶产量和品质下降的重要原因之一。作为茶叶生产中最具破坏性的叶部病害之一,茶轮斑病在国内外茶园中均有发生^[3-4]。在茶叶生产中,仍然采用不同作用方式的化学药剂防治该病害。尽管有着不俗的效果,但化学药剂的滥用常导致农药残留、抗药性等一系列问题。因此,需要开发新的绿色技术来防控茶轮斑病,从而实现茶产业的可持续发展。

微生物拮抗功能的深入挖掘为该问题提供了新的解决方案。与化学农药相比,拮抗微生物不仅资源丰富,并且在有效控制病害的同时,对生态环境影响较小^[5]。目前已有多种微生物被用于防治茶树叶部病害,张玉丹等^[6]、黄大野等^[7]、卢声洁等^[8]筛选得到的藤黄生孢链霉菌(*Streptomyces luteosporus*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)、短密木霉(*Trichoderma brevicompactum*)均对茶树叶部病害有较好的抑制作用。芽孢杆菌作为拮抗微生物中的重要一员,具有良好的生物安全性和抑菌性能,是当前研究与应用的热点^[9-10]。贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)^[7]、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)^[11]、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)^[12]、

特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*)^[13]等均被报道对茶树叶部病害有较好的抑制作用。目前已有商品化的芽孢杆菌生物制剂被研究用于防治茶轮斑病^[1],但生防微生物资源的发掘和利用对茶树病害绿色防治技术的发展仍尤为重要。

本研究从湖南省茶轮斑病危害严重的茶园中采集发病程度较轻的茶树叶片和健康茶树叶片,分离筛选对茶轮斑病具有较好拮抗效果的细菌,对其进行分子生物学鉴定,研究其抗菌谱、不同类型代谢产物的抑菌效力、促生指标和产真菌细胞壁裂解酶特性等,随后通过田间试验明确其对茶轮斑病的防治效果和茶树的促生效果,以期为茶轮斑病的防治提供菌种资源和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 样品

罹病茶树叶片和健康茶树叶片均采自湖南省郴州市北湖区茶园。

茶轮斑病菌(*Pseudopestalotiopsis theae*)由本课题组从湖南省武陵山区茶园中分离并鉴定^[12];辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、茭白镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、柑橘沙皮病菌(*Diaporthe citri*)、棉花枯萎病菌(*Verticillium dahlia*)、马铃薯早疫病菌(*Alternaria solani*)、草莓疫病菌(*Phytophthora fragariae*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、黄精炭疽病菌(*Colletotrichum circinans*)和茄子褐纹病菌

(*Phomopsis vexans*)均由湖南农业大学植物病原微生物及水稻病害实验室提供。

1.2 主要试剂和仪器

EasyPure[®] Genomic DNA Kit, 北京全式金生物技术有限公司; 50%多菌灵, 山东鑫星农药有限公司。恒温光照培养箱, 上海飞跃实验仪器有限公司; PCR 仪, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

1.3 培养基

PDA 培养基、LB 培养基、NA 培养基和 NB 培养基参考文献[14]配制, Ashby 无氮培养基参考文献[15]配制, 磷酸三钙无机磷培养基和蒙金娜有机磷培养基参考文献[16]配制, 解钾培养基参考文献[17]配制, 脱脂牛奶培养基、几丁质培养基、茯苓粉培养基和羧甲基纤维素培养基参考文献[18]配制, CAS 培养基参考文献[19]配制。

1.4 拮抗菌的分离与筛选

采用稀释涂布平板法进行叶际微生物的分离。取 10 g 叶片加入 100 mL 无菌水中, 振荡 2 min 后进行浓度梯度稀释, 取 10^{-4} – 10^{-7} 梯度的稀释液各 100 μ L 涂布于 PDA 培养基上, 每个浓度梯度设 3 个平行分离平板, 28 $^{\circ}$ C 倒置培养 1–3 d, 挑取单菌落再次划线, 确保菌株纯化。

以茶轮斑病菌为靶标菌, 通过平板对峙法进行试验, 将活化好的病原菌取菌饼(5 mm)接种于 PDA 培养基中央, 通过滤纸片法将拮抗菌接种在距病原菌菌饼 2.5 cm 处左右两侧, 每处理设 4 次重复, 以仅接种病原菌的平板为空白对照, 28 $^{\circ}$ C 倒置培养。3 d 后分别测量菌落直径并参照计算公式(1)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–菌饼直径)] \times 100% (1)

1.5 拮抗菌的鉴定

形态学与生理生化特征: 参考《常见细菌

系统鉴定手册》^[20]及《伯杰细菌鉴定手册》^[21]对筛选得到的拮抗菌进行革兰氏染色、明胶液化、硫化氢等生理生化特征的检测, 每项特征重复检测 3 次。

分子生物学鉴定: 采用 EasyPure[®] Genomic DNA Kit 提取拮抗菌的基因组 DNA, 并以细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3') 对其 16S rRNA 基因进行扩增。PCR 反应体系 (20 μ L): Taq PCR Master Mix 10 μ L, 正、反向引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板(10 μ mol/L) 2 μ L, ddH₂O 补足 20 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将测序后得到的序列在 GenBank 数据库进行同源性比较, 从 NCBI 与 BacDive 中筛选近源标准菌株的 16S rRNA 基因序列, 并通过 MEGA 11 构建系统发育树。

1.6 拮抗菌促生特性的检测

将拮抗菌分别点接至磷酸三钙无机磷培养基、蒙金娜有机磷培养基、解钾培养基、CAS 培养基上, 每处理设 3 个重复, 28 $^{\circ}$ C 条件下倒置培养 3 d。观察平板是否有透明圈出现, 有透明圈说明菌株具有降解对应培养基成分的能力; 采用 Ashby 无氮培养基检测菌株的固氮能力, 将拮抗菌接种至装有 100 mL Ashby 无氮液体培养基的锥形瓶中, 设 3 个重复, 以不接菌为空白对照, 在 30 $^{\circ}$ C、180 r/min 条件下培养 3 d, 随时观察。观察处理组液体培养基是否浑浊, 浑浊说明菌株具有固氮能力。

1.7 拮抗菌产真菌细胞壁裂解酶特性的检测

将拮抗菌点接至脱脂牛奶培养基、几丁质培养基、茯苓粉培养基、羧甲基纤维素培养基

平板上,每处理设3个重复,28℃倒置培养3 d。观察脱脂牛奶培养基、几丁质培养基、茯苓粉培养基平板是否产生水解圈以判断是否产生蛋白酶、几丁质酶或葡聚糖酶;羧甲基纤维素培养基需染色后观察,使用浓度为1 mg/mL的刚果红染液对平板染色15 min后,再用1 mol/L的NaCl溶液洗涤平板,随后观察是否有透明圈出现以确定是否产生纤维素酶^[18]。

1.8 拮抗菌代谢产物抑菌能力的测定

挥发性代谢产物抑菌能力的测定:采用平皿对扣法测试菌株挥发性代谢产物的抑菌能力,在NA培养基上划线接种拮抗菌,同时在PDA培养基上接种病原菌饼(5 mm),28℃培养24 h后移去2个培养皿的皿盖,将皿底相对而扣,上皿为接种病原菌饼平板,下皿为接种拮抗菌平板,并用封口膜将培养皿外侧固定封口。28℃条件下继续培养,每处理重复3次,设不接拮抗菌的空白对照。3-5 d后测量菌落直径并根据公式(1)计算抑菌率。

非挥发性代谢产物抑菌能力的测定:采用圆盘滤膜法^[22]在PDA培养基上平铺双层无菌滤膜,吸取5 μL拮抗菌菌液均匀涂抹在滤膜中部,28℃培养2 d,揭去滤膜并在平板中央接种病原菌饼(5 mm)。设3个重复,以无处理的PDA平板接种病原菌饼为对照,28℃培养5 d,测量菌落直径并根据公式(1)计算抑菌率。

无菌滤液抑菌能力的测定:将拮抗菌接种至NB培养基后,28℃、180 r/min条件下培养5 d,将发酵液在4℃、10 000 r/min条件下离心15 min,将上清液经0.22 μm滤器过滤后得到发酵液无菌滤液。采用平板对峙法对其抑菌效果进行探究并根据公式(1)计算抑菌率。

蛋白类代谢产物抑菌能力的测定:采用硫酸铵分级沉淀法^[23]从无菌滤液中进行提取,采用平板对峙法对其抑菌效果进行探究,根据公

式(1)计算抑菌率。

1.9 拮抗菌抑菌谱的测定

通过平板对峙法检测拮抗菌对辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、茭白镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、柑橘沙皮病菌(*Diaporthe citri*)、棉花枯萎病菌(*Verticillium dahlia*)、马铃薯早疫病病菌(*Alternaria solani*)、草莓疫病菌(*Phytophthora fragariae*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、黄精炭疽病菌(*Colletotrichum circinans*)和茄子褐纹病菌(*Phomopsis vexans*)等9种病原真菌的拮抗能力。

1.10 田间防治与促生效果试验

于2023年5月12日进行田间试验,试验茶园位于长沙市湖南农业大学长安基地,茶树为成年茶树,品种为碧香早。试验共设置3个处理,分别为拮抗菌发酵液50倍液(8×10^7 CFU/mL)、50%多菌灵、蒸馏水喷施处理。每处理设置3个小区,随机区组排列,共9个小区,每小区面积为5 m²;利用农药喷雾器喷施药液,以叶面药液均匀湿润,稍有药液滴下为度。

发酵液制备方法:以1%的接种量将拮抗菌的种子液接种至装有3 L NB培养基的锥形瓶中,置于磁力搅拌器上以200 r/min、26℃条件培养3 d。通过稀释涂布平板法检测菌体数量后稀释50倍施用。

病害调查方法:在各处理的茶蓬上采用五点取样法随机选择60片茶叶进行病害严重度分级调查;喷药前进行第一次调查,喷药后第7、15、30天分别进行1次调查。

于喷药处理后第30天对茶树芽头进行采摘,采摘标准为1芽1叶。将茶叶采净,现场称量记录茶叶鲜重,带回实验室后,烘至足干并记录干重。

茶轮斑病病害分级及调查方法均参照董照锋^[1]的方法,病害严重度分级见表1,根据公

式(2)计算病情指数。

病情指数=[\sum (各级病叶数×各级代表值)/调查总叶数×最高一级代表值]×100 (2)

1.11 数据处理

采用 Microsoft Excel 2018 与 IBM SPSS statistic 26.0 进行整理与统计分析,数据通过单因素方差分析和邓肯多重比较在 $P<0.05$ 水平上进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 菌株 kc-16 的分离与鉴定结果

2.1.1 拮抗菌株的筛选结果

从茶树叶片表面筛选出的菌株 kc-16 能够明显抑制茶轮斑病菌菌落的生长,抑菌率为

(79.62±0.82)% (图 1A–1C)。利用光学显微镜对茶轮斑病菌靠近菌株 kc-16 一侧的菌落边缘进行观察,发现菌丝扭曲、变细,而对照组菌丝形态饱满(图 1D、1E)。

2.1.2 菌株 kc-16 的形态学与生理生化特征

菌株 kc-16 在 NA 培养基上培养 3 d 后,菌落为白色,形态不规则,表面有褶皱,边缘隆起。菌体杆状,芽孢中生,革兰氏染色为阳性(图 2)。生理生化特征见表 2。因此将菌株 kc-16 初步鉴定为芽孢杆菌属。

2.1.3 菌株 kc-16 的分子生物学鉴定结果

将菌株 kc-16 的 16S rRNA 基因序列上传至 NCBI (GenBank 登录号为 OR857416.1),并进行 BLAST 同源性分析,结果显示菌株 kc-16 的

表 1 田间试验病害调查标准

Table 1 Field experiment disease survey standards

病害严重度分级 Pathogen severity grading	病斑面积 Disease spot area
0 级 Grade 0	无病斑 No disease
1 级 Grade 1	病斑占叶面积≤1/4 Disease spot account for the leaf area≤1/4
2 级 Grade 2	1/4<病斑占叶面积≤1/2 1/4<disease spot account for the leaf area≤1/2
3 级 Grade 3	1/2<病斑占叶面积≤3/4 1/2<disease spot account for the leaf area≤3/4
4 级 Grade 4	病斑占叶面积>3/4 Disease spot account for the leaf area>3/4

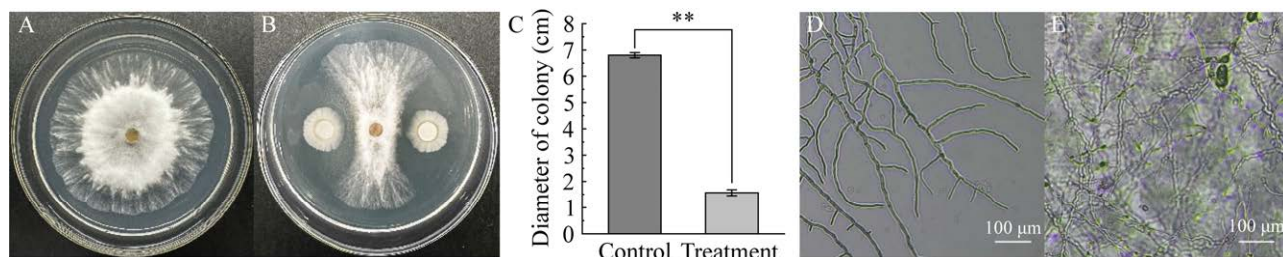


图 1 菌株 kc-16 对茶轮斑病菌的抑制效果 A: 茶轮斑病菌对照. B: 菌株 kc-16 对茶轮斑病菌的拮抗作用. C: 菌株 kc-16 对病原菌菌丝生长的抑制作用. D: 茶轮斑病菌正常菌丝形态. E: 茶轮斑病菌被菌株 kc-16 抑制后的菌丝形态. **: $P<0.01$

Figure 1 The inhibition effect of strain kc-16 against *Pseudopezalotiopsis theae*. A: The control of *Ps. theae*. B: The antagonistic effect of strain kc-16 against *Ps. theae*. C: The inhibition of mycelial growth of the pathogen by strain kc-16. D: The normal mycelial morphology of *Ps. theae*. E: Mycelial morphology of *Ps. theae* with strain kc-16. **: $P<0.01$.

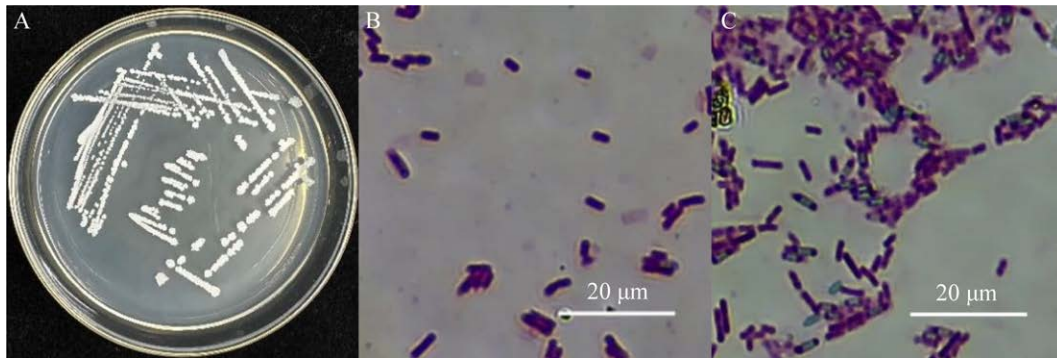


图 2 菌株 kc-16 的形态学特征 A: 菌落形态. B: 革兰氏染色. C: 芽孢染色

Figure 2 The morphological characteristics of strain kc-16. A: Colony morphology. B: Gram staining. C: Spore staining.

表 2 菌株 kc-16 的生理生化特征

Table 2 The physiological and biochemical characteristics of strain kc-16

生理生化试验 Physiological and biochemical experiment	结果 Result
接触酶试验 Catalase test	+
硝酸盐还原试验 Nitrate reduction test	+
明胶液化试验 Gelatin liquefaction test	+
硫化氢试验 Hydrogen sulfide test	-
淀粉水解试验 Starch hydrolysis test	+
V.P 试验 V-P test	-
甲基红试验 Methyl red test	-
精氨酸脱羧酶试验 Arginine acid decarboxylase test	+

+: 阳性; -: 阴性

+: Positive; -: Negative.

16S rRNA 基因序列与枯草芽孢杆菌沙漠亚种 (*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*) 相似度最高, 为 100%。在 NCBI 及 BacDive 中挑选相关标准菌株的 16S rRNA 基因序列, 下载后在 MEGA 11 中通过邻接法构建系统发育树。结果显示菌株 kc-16 与标准菌株 NRRL B-23052 聚为一支(图 3), 这与 BLAST 结果相同。

2.2 菌株 kc-16 的促生特性检测结果

将菌株 kc-16 分别接种在蒙金娜有机磷培养基、磷酸三钙无机磷培养基和 CAS 培养基中培养

3 d 后, 平板上菌落周围均出现透明圈(图 4A-4C), 而在解钾培养基平板上未出现透明圈, 表明菌株 kc-16 具有溶磷和产铁载体能力; 接种菌株 kc-16 的 Ashby 无氮液体培养基相较空白对照变得浑浊(图 4D), 表明菌株在无氮培养基中可以生长, 具有固氮能力。

2.3 菌株 kc-16 的抑菌谱检测结果

平板对峙培养结果表明(表 3, 图 5), 菌株 kc-16 对 9 种植物病原真菌菌丝生长均存在不同程度的抑制效果, 抑制率为 46.67%–81.00%; 其中对黄精炭疽病菌的抑制效果最好, 抑制率达到(81.00±1.00)%; 对辣椒枯萎病菌、茄子褐纹病菌和草莓疫病菌的抑制率也达到 60% 以上。

2.4 菌株 kc-16 的产真菌细胞壁裂解酶检测结果

菌株 kc-16 接种在蛋白酶、葡聚糖酶、纤维素酶和几丁质酶检测培养基上培养 3 d 后, 均能在菌落周围形成透明圈(图 6), 表明菌株 kc-16 具有产蛋白酶、葡聚糖酶、纤维素酶和几丁质酶等真菌细胞壁裂解酶的能力。

2.5 菌株 kc-16 代谢产物的抑菌效果

试验结果表明, 菌株 kc-16 的无菌滤液、蛋白类代谢产物、挥发性代谢产物和非挥发性

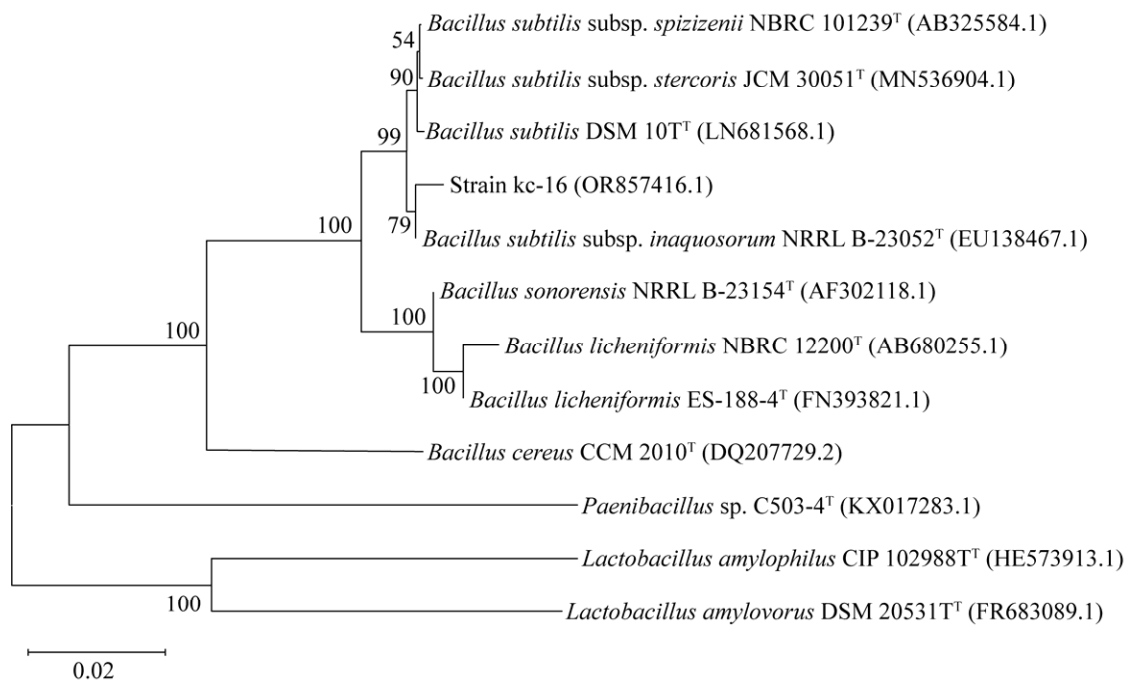


图 3 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 kc-16 系统发育树 分支处数值表示 bootstrap 值；括号内数值为 GenBank 登录号；标尺 0.02 代表序列的进化差异；^T：模式菌株

Figure 3 The phylogenetic tree of strain kc-16 based on 16S rRNA gene sequence. Numbers at branch nodes present bootstrap value; Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The scale bar 0.02 represents sequence variance; ^T: The type strain.

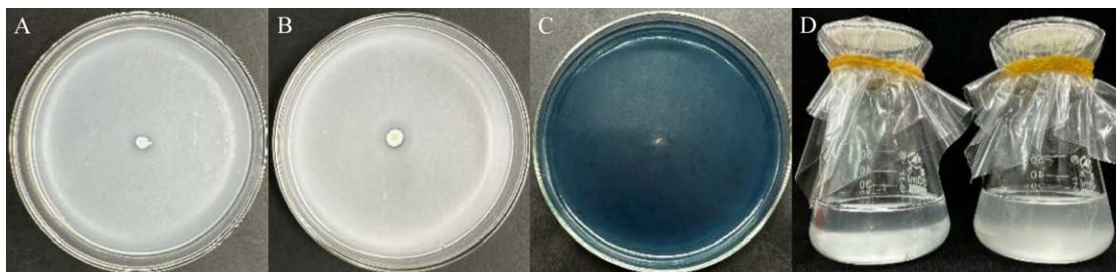


图 4 菌株 kc-16 的促生特性检测 A: 有机磷培养基. B: 无机磷培养基. C: CAS 培养基. D: 无氮培养基

Figure 4 The growth-promoting effect of strain kc-16. A: Organic phosphate medium. B: Inorganic phosphate medium. C: CAS medium. D: Nitrogen-free medium.

代谢产物均对茶轮斑病菌的菌丝生长存在一定抑制效果(图 7),抑制率分别为 69.00%、58.00%、47.50%和 78.71%。菌株 kc-16 的无菌滤液与蛋白类代谢产物对茶轮斑病菌的菌丝生长存在一

定抑制作用,但效果不明显;挥发性代谢产物处理下病原菌气生菌丝明显减少;非挥发性代谢产物抑制效果最好,病原菌菌丝生长受到明显抑制。

表3 菌株 kc-16 对不同病原真菌的抑制效果
Table 3 The inhibitory effect of strain kc-16 on various fungal pathogens

病原菌 Pathogen	抑制率 Inhibition rate (%)
辣椒枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	60.67±3.51
茭白镰刀菌 <i>Fusarium graminearum</i>	59.33±0.58
柑橘沙皮病菌 <i>Diaporthe citri</i>	52.33±0.58
棉花枯萎病菌 <i>Verticillium dahlia</i>	46.67±0.58
马铃薯早疫病菌 <i>Alternaria solani</i>	48.33±10.69
茄子褐纹病病菌 <i>Phomopsis vexans</i>	80.33±4.04
玉米大斑病菌 <i>Exserohilum turcicum</i>	54.67±14.01
草莓疫病菌 <i>Phytophthora fragariae</i>	62.00±5.20
黄精炭疽病菌 <i>Colletotrichum circinans</i>	81.00±1.00

数据由平均值±标准差(standard deviation, SD)表示
The data are represented by the mean ± standard deviation (SD).

2.6 田间防治与促生效果

试验结果表明, 菌株 kc-16 发酵液对茶轮斑病具有较好的防治效果(表 4)。处理后第 7 天进行调查的结果发现, 菌株 kc-16 发酵液与阳性对照多菌灵处理下的病情指数与发病率均显著低于空白对照无菌水, 同时菌株 kc-16 发酵液较多菌灵处理下效果更为显著, 菌株 kc-16 发酵液较多菌灵处理发病率降低 7%, 病情指数降低 0.09; 处理后第 15 天时 2 种处理均能显著降低发病率, 并且菌株 kc-16 发酵液处理的发病率和病情指数显著低于多菌灵处理, 菌株 kc-16 发酵液较多菌灵处理发病率降低 16%, 病情指数降低 0.11; 处理后第 30 天时 3 种处理下病情指数均无显著差异, 但菌株 kc-16 发酵液与多菌灵

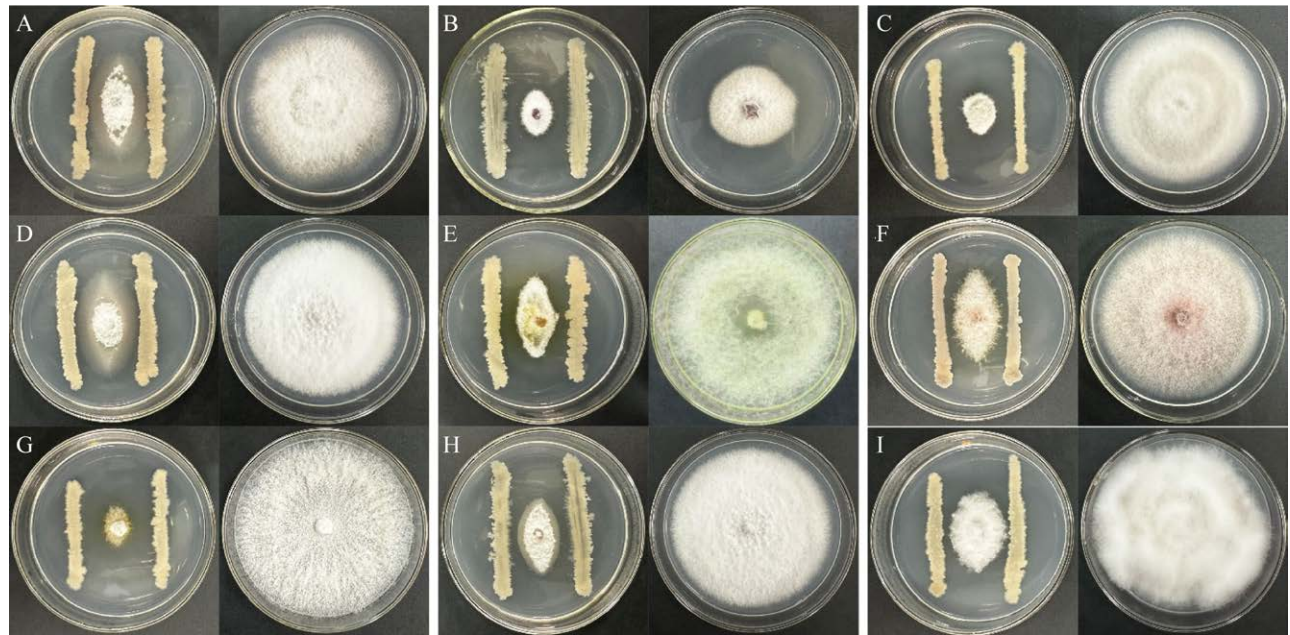


图5 菌株 kc-16 在 PDA 培养基上对 9 种植物病原菌的拮抗作用 A: 辣椒枯萎病菌. B: 棉花枯萎病菌. C: 黄精炭疽病菌. D: 马铃薯早疫病菌. E: 玉米大斑病菌. F: 茭白镰刀菌. G: 茄子褐纹病菌. H: 柑橘沙皮病菌. I: 草莓疫病菌

Figure 5 Inhibitory effect of strain kc-16 on 9 plant pathogens on PDA medium. A: *Fusarium oxysporum*. B: *Verticillium dahlia*. C: *Colletotrichum gloeosporioides*. D: *Alternaria alternata*. E: *Exserohilum turcicum*. F: *Fusarium graminearum*. G: *Phomopsis vexans*. H: *Diaporthe citri*. I: *Phytophthora fragariae*.

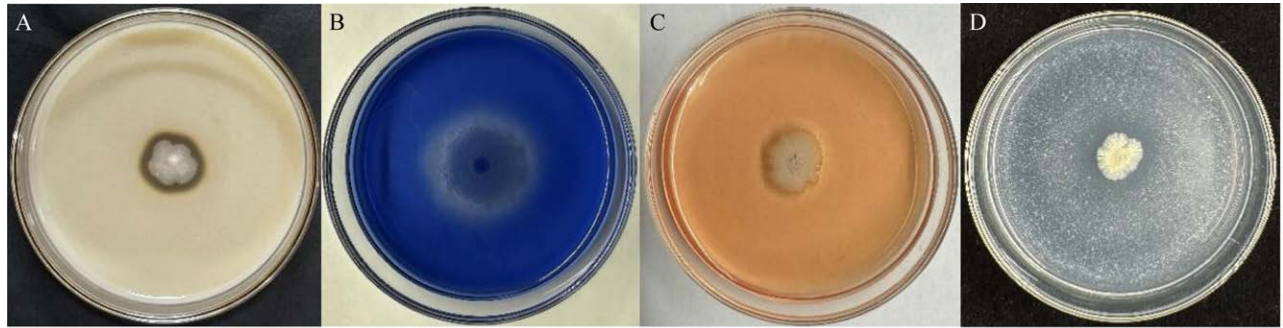


图 6 菌株 kc-16 产真菌细胞壁裂解酶检测 A: 蛋白酶检测培养基. B: 葡聚糖酶检测培养基. C: 纤维素酶检测培养基. D: 几丁质酶检测培养基

Figure 6 Detection of fungal cell wall lytic enzymes produced by strain kc-16. A: Protease detection medium. B: β -1,3-glucanase detection medium. C: Cellulase detection medium. D: Chitinase detection medium.

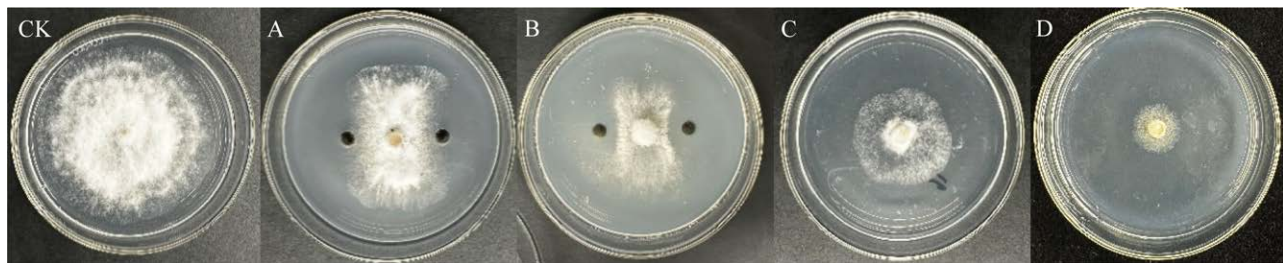


图 7 菌株 kc-16 代谢产物对茶轮斑病菌的抑制效果 A: 无菌滤液抑菌效果. B: 蛋白类代谢产物抑菌效果. C: 挥发性代谢产物抑菌效果. D: 非挥发性代谢产物抑菌效果

Figure 7 Inhibitory effect of metabolites of strain kc-16 on *Pseudopezalotiopsis theae*. A: Antimicrobial effect of cell-free filtrate. B: Antimicrobial effect of crude protein extract. C: Antimicrobial effect of volatile substances. D: Antimicrobial effect of non-volatile substances.

表 4 菌株 kc-16 对茶轮斑病的田间防病效果

Table 4 The field efficacy of strain kc-16 against tea gray blight

处理 Treatment	施药前病情指数 Disease index before treatment	发病率 Incidence rate (%)			病情指数 Disease index		
		Day 7	Day 15	Day 30	Day 7	Day 15	Day 30
无菌水 Distilled water	0.62	55±4.5a	58±7a	57±4a	0.69±0.032a	0.62±0.05a	0.51±0.07a
50%多菌灵 50% Carbendazim	0.64	42±2.9b	46±5b	37±3b	0.62±0.017ab	0.55±0.04a	0.53±0.05a
50 倍菌株 kc-16 发酵液 50 times fermentation broth of strain kc-16	0.50	35±5.0c	30±1c	35±5b	0.53±0.096b	0.44±0.04b	0.49±0.06a

不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Different lowercase letters indicate the difference at the level of $P < 0.05$.

这 2 种处理下发病率较空白对照显著降低, 菌株 kc-16 发酵液较空白对照降低 22%; 综合来看, 菌株 kc-16 发酵液能大幅降低茶轮斑病对茶树造成的损害, 较多菌灵处理效果更为显著, 表明其具有良好的生防潜力。

试验结果表明, 菌株 kc-16 发酵液与多菌灵处理均对茶树有不同程度的增产效果, 但菌株 kc-16 发酵液的促生效果更优。如表 5 所示, 在施药后第 30 天, 相较于无菌水处理, 喷施多菌灵的小区的芽头数量、鲜重和干重均有一定提高, 分别为 14.0%、7.5%和 24.0%, 喷施菌株 kc-16 发酵液的小区的芽头数量、鲜重和干重均显著提高, 分别提高了 30.0%、25.0%和 36.0%。

3 讨论

芽孢杆菌通过不同机理抑制病原体生长, 已有大量学者研究了它们对多种植物病原体的抑制作用^[24]。根据前人研究, 芽孢杆菌能够产生脂肽类抗生素和拮抗蛋白两类拮抗因子, 其中拮抗蛋白类抑菌物质主要包括细胞壁降解酶类及细菌素^[25-26]。此外, 近年来相继发现并鉴定了芽孢杆菌产生的挥发性抑菌物质, 包括醇类、醛类、酮类、酯类、酚类、烯类等^[27-29]。在本研究中, 菌株 kc-16 的无菌滤液、蛋白类代谢产物、挥发性代谢产物和非挥发性代谢产

物均对茶轮斑病菌的菌丝生长存在一定抑制效果, 但以非挥发性代谢产物抑菌效果最佳, 达 78.71%。由此初步确定, 非挥发性代谢产物可能是菌株 kc-16 表现出抑菌活性的主要原因, 但其具体抑菌成分仍需进一步研究。此外, 菌株 kc-16 还具有产蛋白酶、葡聚糖酶、纤维素酶、几丁质酶等真菌细胞壁裂解酶的能力。通过田间试验进一步验证了菌株 kc-16 发酵液对茶轮斑病的防治效果, 在喷施发酵液第 30 天进行调查, 发现茶轮斑病发病率降低了 22%, 并且其防病效果显著优于阳性对照 50%多菌灵。另外, 菌株 kc-16 在田间对茶轮斑病的抑制效果低于室内试验中的抑制效果, 可能是由于大田环境不完全稳定、存在多种不利因素, 导致拮抗菌的抑菌能力受到了不利影响^[30], 所以后期将对菌株的具体抑菌成分进行检测分析并对田间应用配套技术进行优化, 以期进一步增强菌株的田间防治效果。

拮抗菌如果在能防病的同时促进植物生长, 将会更有利用价值, 这类能促进植物生长的细菌通常被称为植物生长促进细菌 (plant grow promote bacteria, PGPB)^[31-32]。PGPB 可以通过产生有机酸、铁载体、植物激素等增加矿物质养分的溶解和可用性(例如钾、磷和铁), 从而直接促进植物生长^[33-34]。目前已有多种 PGPB

表 5 菌株 kc-16 对茶树的促生效果

Table 5 The growth-promoting effect of strain kc-16 on tea plants

处理	芽头数	芽头鲜重	芽头干重
Treatment	Bud count	Bud fresh weight (g)	Bud dry weight (g)
无菌水	398.00±12.58c	40.500±4.179b	8.27±1.44b
Distilled water			
50%多菌灵	453.00±9.54b	43.500±2.376b	10.22±0.61ab
50% Carbendazim			
50 倍菌株 kc-16 发酵液	516.00±27.65a	51.300±5.500a	11.27±0.75a
50 times fermentation broth of strain kc-16			

不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Different lowercase letters indicate the difference at the level of $P < 0.05$.

被开发与应用。许世洋等^[35]将筛选得到的防病促生菌合成微生物复合菌剂,对辣椒镰孢根腐病具有极佳防效,同时其促生效果明显,辣椒株高、分枝数、生物量等指标均有提高。王欢等^[36]分离鉴定4株茶树根际促生菌的试验结果表明,供试菌株对白菜、苋菜、空心菜的株高与鲜重均有明显的促进作用。本研究通过不同鉴定培养基检测发现菌株 kc-16 具有溶磷、固氮和产铁载体等促生特性,并通过后续的田间试验进一步验证了其对茶树具有良好的促生能力。

4 结论

本研究通过室内试验和田间试验证明了菌株 kc-16 具有防病、促生的功能,具有良好的研发和应用前景。但由于不同微生物对营养物质、培养条件和环境条件的需求不同,下一步将对菌株 kc-16 的最适营养物质、培养条件进行研究,提升菌株的拮抗效果与持效时间。此外,菌株 kc-16 在茶树上的定殖能力及其对微生物群落的影响等也仍需进一步研究。

REFERENCES

- [1] 董照锋. 茶轮斑病体外抑制试验及大田防治效果[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2019, 39(1): 13-20.
DONG ZF. Effects of commonly used fungicides on *Pestalotiopsis theae* under laboratory and field conditions[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2019, 39(1): 13-20 (in Chinese).
- [2] XU GX, YING F, WU HM, TANG XX. Biocontrol potential of two deep-sea microorganisms against gray blight disease of tea[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2023, 33(1): 53.
- [3] BORA P, CHANDRA BORA L, BHUYAN RP, HASHEM A, FATHI ABD-ALLAH E. Bioagent consortia assisted suppression in grey blight disease with enhanced leaf nutrients and biochemical properties of tea (*Camellia sinensis*)[J]. Biological Control, 2022, 170: 104907.
- [4] WANG SS, MI XZ, WU ZR, ZHANG LX, WEI CL. Characterization and pathogenicity of *Pestalotiopsis*-like species associated with gray blight disease on *Camellia sinensis* in Anhui Province, China[J]. Plant Disease, 2019, 103(11): 2786-2797.
- [5] KUMAR J, RAMLAL A, MALLICK D, MISHRA V. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance[J]. Plants, 2021, 10(6): 1185.
- [6] 张玉丹, 谭琳, 任佐华, 杨艺帅, 杨学宇, 胡秋龙. 茶炭疽病拮抗链霉菌的筛选鉴定与拮抗能力测定[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(3): 646-656.
ZHANG YD, TAN L, REN ZH, YANG YS, YANG XY, HU QL. Screening, identification and determination of antagonistic actinomycetes strain against tea anthracnose[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2023, 39(3): 646-656 (in Chinese).
- [7] 黄大野, 杨丹, 姚经武, 刘芳, 廖先清, 曹春霞. 贝莱斯芽孢杆菌 CY30 防治茶轮斑病研究[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(11): 13-18.
HUANG DY, YANG D, YAO JW, LIU F, LIAO XQ, CAO CX. Study on the control effect of *Bacillus velezensis* CY30 on tea gray blight[J]. China Plant Protection, 2020, 40(11): 13-18 (in Chinese).
- [8] 卢声洁, 赵兴丽, 罗林丽, 张欣, 程宇豪, 张金峰, 李帅, 周玉锋. 拮抗茶轮斑病菌生防木霉菌的筛选、鉴定与应用[J]. 贵州农业科学, 2021, 49(3): 44-49.
LU SJ, ZHAO XL, LUO LL, ZHANG X, CHENG YH, ZHANG JF, LI S, ZHOU YF. Screening, identification and application of *Trichoderma* strain antagonizing tea grey blight[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2021, 49(3): 44-49 (in Chinese).
- [9] 黄伟, 张丽娟, 王宁, 王玮. 芽孢杆菌属挥发性物质及其在植物病害防治中的应用研究进展[J]. 中国植保导刊, 2021, 41(9): 30-36.
HUANG W, ZHANG LJ, WANG N, WANG W. Research progress and application of *Bacillus* spp. volatile organic compounds in plant disease control[J]. China Plant Protection, 2021, 41(9): 30-36 (in Chinese).
- [10] 马乔女, 李心悦, 顾欣, 王新谱. 芽孢杆菌抗真菌肽的研究进展[J]. 中国植保导刊, 2023, 43(5): 17-24.
MA QN, LI XY, GU X, WANG XP. Research progress of *Bacillus* antifungal peptides[J]. China Plant Protection, 2023, 43(5): 17-24 (in Chinese).
- [11] 郑世仲, 周子维, 陈晓慧, 蔡烈伟, 江胜滔, 刘盛荣. 拮抗炭疽病的茶树内生菌筛选、鉴定及培养条件优化[J]. 茶叶科学, 2023, 43(2): 205-215.
ZHENG SZ, ZHOU ZW, CHEN XH, CAI LW, JIANG

- ST, LIU SR. Screening, identification and culture condition optimization of antagonistic endophytic bacteria against *Gloeosporium theae-sinensis* miyake[J]. Journal of Tea Science, 2023, 43(2): 205-215 (in Chinese).
- [12] 杨学宇, 谭琳, 张玉丹, 杨艺帅, 邓玉莲, 任佐华, 胡秋龙. 茶轮斑病原菌的分离鉴定及其拮抗菌筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(2): 195-200.
- YANG XY, TAN L, ZHANG YD, YANG YS, DENG YL, REN ZH, HU QL. Identification of pathogen from tea leaves with gray blight disease and screening of biocontrol strain[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences Edition), 2023, 49(2): 195-200 (in Chinese).
- [13] 周媛婷, 王芳, 尹加笔, 刘丽, 张东华, 洪英娣, 沈德周, 马焕成, 伍建榕. 德宏州油茶炭疽病拮抗内生芽孢杆菌 6715 的筛选与鉴定[J]. 西部林业科学, 2021, 50(4): 131-138.
- ZHOU YT, WANG F, YIN JB, LIU L, ZHANG DH, HONG YD, SHEN DZ, MA HC, WU JR. Screening and identification of *Bacillus tequilensis* 6715 as biological agent against *Camellia oleifera* anthracnose disease in Dehong prefecture[J]. Journal of West China Forestry Science, 2021, 50(4): 131-138 (in Chinese).
- [14] 蔡信之, 黄君红. 微生物学实验[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2019.
- CAI XZ, HUANG JH. Microbiological Experiment[M]. 4th ed. Beijing: Science Press, 2019 (in Chinese).
- [15] 王明欢, 张小娜, 林冰, 邓锦辉, 张英. 中药药渣中固氮菌、解磷菌、解钾菌的筛选[J]. 中成药, 2020, 42(2): 531-533.
- WANG MH, ZHANG XN, LIN B, DENG JH, ZHANG Y. Screening of nitrogen-fixing bacteria, phosphorus-solubilizing bacteria and potassium-solubilizing bacteria in traditional Chinese medicine residue[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(2): 531-533 (in Chinese).
- [16] 赵君, 饶惠玲, 王耘籽, 黄伟, 吴承祯, 李健. 红壤区杉木根际高效解磷菌的筛选、鉴定及培养条件优化[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2022, 61(1): 112-121.
- ZHAO J, RAO HL, WANG YZ, HUANG W, WU CZ, LI J. Screening, identification and optimization of culture conditions of two high-efficiency phosphorus-solubilizing bacteria in the rhizosphere of *Cunninghamia lanceolata* in red soil areas[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science Edition), 2022, 61(1): 112-121 (in Chinese).
- [17] 方园, 彭勇政, 廖长贵, 陈路生, 周琦, 黄俭, 阎依超, 王慕媛, 张祎坤, 邹丽芳, 陈功友. 一株具有防病促生功能的贝莱斯芽孢杆菌 SF327[J]. 微生物学报, 2022, 62(10): 4071-4088.
- FANG Y, PENG YZ, LIAO CG, CHEN LS, ZHOU Q, HUANG J, YAN YC, WANG MY, ZHANG YK, ZOU LF, CHEN GY. *Bacillus velezensis* SF327, a potential biocontrol agent with the functions of preventing plant diseases and promoting plant growth[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(10): 4071-4088 (in Chinese).
- [18] 黄华毅, 田呈明, 梁小文. 克里本类芽孢杆菌 TRCC 82001 抑菌活性分析及发酵条件优化[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(6): 153-160.
- HUANG HY, TIAN CM, LIANG XW. Antifungal activity of *Paenibacillus kribbensis* TRCC 82001 and optimization of fermentation conditions[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(6): 153-160 (in Chinese).
- [19] 余贤美, 郑服丛, 林超, 贺春萍, 张修国. 土壤产嗜铁素拮抗细菌 CAS15 的分离鉴定[J]. 植物保护学报, 2009, 36(2): 129-135.
- YU XM, ZHENG FC, LIN C, HE CP, ZHANG XG. Isolation and identification of siderophore producing bacteria CAS15 from the soil[J]. Journal of Plant Protection, 2009, 36(2): 129-135 (in Chinese).
- [20] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG XZ, CAI MY. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [21] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所, 译. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984.
- BUCHANAN RE, GIBBONS NE. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, trans. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [22] 张丽荣, 李鹏, 康萍芝, 杜玉宁, 陈杭. 压砂西瓜枯萎病生防木霉菌筛选及其拮抗机制研究[J]. 河南农业科学, 2018, 47(5): 75-78, 84.
- ZHANG LR, LI P, KANG PZ, DU YN, CHEN H. Screening and antagonistic mechanism analysis of *Trichoderma* spp. against *Fusarium* wilt of watermelon in gravel-mulched land[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(5): 75-78, 84 (in Chinese).
- [23] 朱华珺, 周瑚, 任佐华, 刘二明. 枯草芽孢杆菌 JN005 胞外抗菌物质及对水稻叶瘟防治效果[J]. 中国

- 水稻科学, 2020, 34(5): 470-478.
- ZHU HJ, ZHOU H, REN ZH, LIU EM. Extracellular antimicrobial substances produced by *Bacillus subtilis* JN005 and its control efficacy on rice leaf blast[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2020, 34(5): 470-478 (in Chinese).
- [24] WELLER DM, THOMASHOW LS. Use of rhizobacteria for biocontrol[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1993, 4(3): 306-311.
- [25] ŞAHİNOĞLU E, TOZLU E. An investigation of biological control possibilities against *Fusarium proliferatum* on red pepper[J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2023, 47(4): 467-478.
- [26] ETESAMI H, JEONG BR, GLICK BR. Biocontrol of plant diseases by *Bacillus* spp.[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2023, 126: 102048.
- [27] LECLÈRE V, BÉCHET M, ADAM A, GUEZ JS, WATHELET B, ONGENA M, THONART P, GANCEL F, CHOLLET-IMBERT M, JACQUES P. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(8): 4577-4584.
- [28] 李雨欣, 戴欣宇, 曹雪梅, 李二峰. 生防菌在植物病害领域的研究进展[J]. 湖南生态科学学报, 2023, 10(2): 109-116.
- LI YX, DAI XY, CAO XM, LI EF. Research progress of microbial antagonists in the field of plant diseases[J]. Journal of Hunan Ecological Science, 2023, 10(2): 109-116 (in Chinese).
- [29] CHAVES-LÓPEZ C, SERIO A, GIANOTTI A, SACCHETTI G, NDAGIJIMANA M, CICCARONE C, STELLARINI A, CORSETTI A, PAPARELLA A. Diversity of food-borne *Bacillus* volatile compounds and influence on fungal growth[J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 119(2): 487-499.
- [30] POULAKI EG, TJAMOS SE. *Bacillus* species: factories of plant protective volatile organic compounds[J]. Journal of Applied Microbiology, 2023, 134(3): 1xad037.
- [31] JIAO XR, TAKISHITA Y, ZHOU GS, SMITH DL. Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 634796.
- [32] QIAO JQ, YU X, LIANG XJ, LIU YF, BORRIS R, LIU YZ. Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome[J]. BMC Microbiology, 2017, 17(1): 131.
- [33] GLICK BR, CHENG ZY, CZARNY J, DUAN J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria[J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 119(3): 329-339.
- [34] OOI YS, MOHAMED NOR NMI, FURUSAWA G, THAREK M, GHAZALI AH. Application of bacterial endophytes to control bacterial leaf blight disease and promote rice growth[J]. The Plant Pathology Journal, 2022, 38(5): 490-502.
- [35] 许世洋, 范雨轩, 汪学苗, 张怡忻, 柴继宽, 李建军, 李敏权, 漆永红, 李雪萍. 辣椒镰孢根腐病防病促生细菌的筛选及其效应[J]. 微生物学报, 2022, 62(7): 2735-2750.
- XU SY, FAN YX, WANG XM, ZHANG YX, CHAI JK, LI JJ, LI MQ, QI YH, LI XP. The *Fusarium* root rot-controlling effect and growth-promoting effect of the bacteria in the rhizosphere of *Capsicum annuum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(7): 2735-2750 (in Chinese).
- [36] 王欢, 韩丽珍. 4 株茶树根际促生菌菌株的鉴定及促生作用[J]. 微生物学通报, 2019, 46(3): 548-562.
- WANG H, HAN LZ. Identification of four plant growth-promoting rhizobacteria isolated from tea rhizosphere[J]. Microbiology China, 2019, 46(3): 548-562 (in Chinese).