



疮痂链霉菌拮抗菌的筛选鉴定及特性研究

王紫薇¹, 茹素龙², 豆梦言³, 赵盼^{4,5}, 李楠², 苏伟强⁶, 徐玉梅^{1*}, 仲乃琴^{2,4,5*}

1 山西农业大学植物保护学院, 山西 晋中 030600

2 宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021

3 山西农业大学农学院, 山西 晋中 030600

4 中国科学院微生物研究所, 北京 100101

5 内蒙古自治区马铃薯肥料农药高效利用技术企业重点实验室, 内蒙古 呼伦贝尔 021000

6 中科菌悦(惠州)科技有限公司, 广东 惠州 516000

王紫薇, 茹素龙, 豆梦言, 赵盼, 李楠, 苏伟强, 徐玉梅, 仲乃琴. 疮痂链霉菌拮抗菌的筛选鉴定及特性研究[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2713-2730.

WANG Ziwei, RU Sulong, DOU Mengyan, ZHAO Pan, LI Nan, SU Weiqiang, XU Yumei, ZHONG Naiqin. Screening, identification, and characterization of *Streptomyces scabies* antagonists[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2713-2730.

摘要: 由致病性链霉菌疮痂链霉菌(*Streptomyces scabies*)引起的疮痂病已成为威胁马铃薯产业可持续发展的重要瓶颈, 以菌治菌是目前最为理想的措施。【目的】筛选具有解磷功能的拮抗菌株, 研究其对马铃薯疮痂病防控的增益效果, 为研制复合功能菌剂提供候选菌种。【方法】采用平板对峙和解磷试验筛选目标菌株, 利用形态学观察、生理生化实验及 16S rRNA 基因测序确定其分类地位; 通过盆栽和大田试验研究目标菌株对致病性链霉菌的抑制效果, 并分析解磷功能对拮抗效果的增益。【结果】获得 4 株对致病链霉菌具有明显拮抗作用的菌株, 分别为 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2, 经鉴定 BN4-4、BN4-5 为深褐芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*), BN5-2 和 YN17-2 为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), 其中 BN4-4 和 BN5-2 具有较强的降解无机磷的能力。4 株菌的盆栽试验相对防效分别为 71.35%、38.70%、62.18%和 36.22%, BN4-4 和 BN4-5 的田间防效分别为 69.07%和 56.20%。4 株菌对茄链格孢菌、尖孢镰孢菌、立枯丝核菌、大丽轮枝菌等植物病原菌具有明显的抑制效果, 可耐受 pH 1.0–13.0、1%–13% NaCl 及 80 °C 的高温环境, 对阿维菌素、中

资助项目: 广东省重点领域研发计划(2020B0202010005); 内蒙古自治区关键技术攻关计划(2021GG0300); 中国科学院战略性先导科技专项(XDA24020104); 山西省现代农业产业技术体系建设专项(2023CYJSTX06-12)

This work was supported by the Key Area Research and Development Program of Guangdong Province (2020B0202010005), the Key Technology Tackling Plan of Inner Mongolia Autonomous Region (2021GG0300), the Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA24020104), and the Special Project for the Construction of Modern Agricultural Industry Technology System of Shanxi Province (2023CYJSTX06-12).

*Corresponding authors. E-mail: ZHONG Naiqin, nqzhong@im.ac.cn; XU Yumei, ymxu@sxau.edu.cn

Received: 2024-01-06; Accepted: 2024-03-21; Published online: 2024-03-26

生菌素、甲基硫菌灵、春雷霉素、多菌灵等生产上常用的杀菌剂不敏感。4株菌均可代谢产生吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA), 表现良好的促生增产效果。相比之下, 具有解磷功能的BN4-4和BN5-2对疮痂链霉菌的抑制作用较对应的非解磷菌种更佳。【结论】具有解磷功能的深褐芽孢杆菌BN4-4对致病性链霉菌具有良好防效, 该菌株具有较好的广谱抗病性、热稳定性、耐盐碱、促生和定殖能力, 对防控马铃薯疮痂病等农作物土传病害具有良好的前景。

关键词: 马铃薯疮痂病; 疮痂链霉菌; 拮抗菌; 解磷

Screening, identification, and characterization of *Streptomyces scabies* antagonists

WANG Ziwei¹, RU Sulong², DOU Mengyan³, ZHAO Pan^{4,5}, LI Nan², SU Weiqiang⁶, XU Yumei^{1*}, ZHONG Naiqin^{2,4,5*}

1 College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030600, Shanxi, China

2 School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

3 College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030600, Shanxi, China

4 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

5 The Enterprise Key Laboratory of Advanced Technology for Potato Fertilizer and Pesticide, Hulunbuir 021000, Inner Mongolia, China

6 Zhongke Junyue (Huizhou) Technology Co., Ltd, Huizhou 516000, Guangdong, China

Abstract: Potato scab caused by *Streptomyces scabies* has become a bottleneck threatening the sustainable development of the potato industry. Using biocontrol strains to combat bacterial infections is considered an ideal approach. **[Objective]** We screened the phosphorus-solubilizing antagonistic strains of *S. scabies* and investigated their effects on the prevention and control of potato scab, aiming to provide candidate strains for the development of composite functional bacterial agents. **[Methods]** The target strains were screened by plate confrontation and phosphorus-solubilizing tests. Their taxonomic status was determined by morphological observation, physiological and biochemical tests, and 16S rRNA gene sequencing. Pot and field experiments were carried out to measure the inhibitory effects of the target strains on *S. scabies*, and the relationship between phosphorus-solubilizing function and antagonistic effect was analyzed. **[Results]** Four antagonistic strains BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2, were screened out. Among them, BN4-4 and BN5-2 showed strong ability to degrade inorganic phosphorus. BN4-4 and BN4-5 were identified as *Bacillus atrophaeus*, while BN5-2 and YN17-2 as *Bacillus subtilis*. The pot experiments showed that the relative control effects of the four strains were 71.35%, 38.70%, 62.18%, and 36.22%, respectively. In the field experiments, BN4-4 and BN4-5 showed the control effects of 69.07% and 56.20%, respectively. The four strains exerted inhibitory effects on four plant pathogens: *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, and *Verticillium dahliae*. The four strains

showed tolerance to pH 1.0–13.0, NaCl concentration of 1%–13%, and high temperatures (up to 80 °C). Furthermore, they were insensitive to commonly used fungicides such as avermectin, zhongshengmycin, thiophanate-methyl, kasugamycin, and carbendazim. All the four strains exhibited the ability to metabolize and produce indole-3-acetic acid (IAA), which has been shown to promote the growth and increase the yield of plants. Notably, strains BN4-4 and BN5-2 capable of solubilizing phosphorus exhibited stronger inhibitory effects on *S. scabies* than the non-phosphorus-solubilizing strains. **[Conclusion]** *B. atrophaeus* BN4-4 with phosphorus-solubilizing function demonstrated promising preventive effects against *S. scabies*. This strain demonstrated broad-spectrum disease resistance, thermal stability, salinity tolerance, plant growth-promoting effect, and colonizing ability, serving as a potential functional strain for preventing and controlling potato scab and other soil-borne diseases in crops.

Keywords: potato scab; *Streptomyces scabies*; antagonists; solubilizing phosphorus

马铃薯是全球范围内仅次于水稻、小麦的第三大粮食作物^[1], 具有生长周期短、产量高、营养丰富、耐贫瘠、耐干旱、适应性强等优势, 对于维持世界人口增长和粮食安全作出了重要贡献^[2]。中国是世界上最大的马铃薯生产国, 种植面积约 4 606 千 hm^2 , 约占全球总播种面积的 1/3^[3-4]。

近年来, 由致病性链霉菌疮痂链霉菌 (*Streptomyces scabies*) 引起的疮痂病在马铃薯种植区普遍发生, 危害程度逐年加重, 已成为威胁产业可持续发展的重要瓶颈^[5-6]。致病菌具有多样性, 其在不同区域差异化分布^[7], 主要危害马铃薯块茎表皮, 产生疮痂状硬斑, 影响其品质和商品性, 造成巨大经济损失。病原菌主要通过土壤和种子传播^[8], 也可危害胡萝卜和甜菜等根茎类作物。国际上开展疮痂病的防控研究已有 100 多年, 但一直未取得突破性进展, 至今尚无值得大面积推广的技术和产品。灌溉^[9]、轮作^[10]和调节土壤 pH 值^[11]等传统农业措施虽有一定防控效果, 但受耕地面积、环境条件等因素的制约, 操作难度较大^[12-19]。相对而言, 生物防治具有对环境友好、使用便捷、防效持久稳定等优势^[20-22], 越来越受到人们的重视。目前可用于大面积推广

的菌种资源十分有限, 迫切需要筛选更多具有活化养分、抗病增产功能的微生物, 以实现马铃薯疮痂病的高效防控。

Cao 等^[23]研究发现, 磷肥施用量与马铃薯疮痂病危害程度密切相关, 疮痂链霉菌对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的吸收具有趋向性, 随着基质中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 含量的升高, 病原菌繁殖速度加快, 块茎发病率和病情指数也随之升高。可见, 筛选具有解磷功能的拮抗菌, 可能是降低土壤中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 含量、实现对马铃薯疮痂病有效控制的重要方向。因此, 本研究筛选兼具拮抗和解磷功能的生防菌株, 并通过大田和盆栽试验, 验证目标菌株对马铃薯疮痂病的防控效果, 分析其在土壤中的定殖情况和环境适应性, 从而评价菌株产业化应用的前景, 为研制高效防控马铃薯疮痂病的复合菌剂奠定理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

土壤样本采自内蒙古自治区呼伦贝尔市海拉尔区马铃薯田 (pH 为 5.9, 有机质 58.20 g/kg, 全氮 3.25 g/kg, 总磷 1.06 g/kg, 全钾 20.90 g/kg,

有机碳 33.80 g/kg), 从中分离、纯化获得具有拮抗和解磷功能的菌株。

供试植物病原菌: 疮痂链霉菌(*S. scabies*)、大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)、茄链格孢菌(*Alternaria solani*)、尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)均购自中国普通微生物菌种保藏管理中心, 馆藏编号分别为 CGMCC 4.1765、CGMCC 3.1496、CGMCC 3.3758、CGMCC 3.12834 和 CGMCC 3.2888。

供试马铃薯品种: 盆栽试验马铃薯品种为‘夏波蒂’, 马铃薯脱毒试管苗由本实验室保存; 田间试验品种为‘荷兰 15’, 脱毒马铃薯种薯由呼伦贝尔市北雪农业科技有限公司提供。

胰蛋白胨大豆肉汤培养(trypticase soy broth, TSB)购自 BD 公司, 30.0 g/L, pH 7.3±0.2; LB 培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0, 酵母提取物 5.0, NaCl 10.0, 琼脂粉 15.0, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.2; PDA 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂粉 15.0, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.2; 解磷培养基(g/L): 葡萄糖 10.0, (NH₄)₂SO₄ 0.5, NaCl 0.3, MgSO₄ 0.3, MnSO₄ 0.03, K₂SO₄ 0.3, FeSO₄ 0.03, CaCO₃ 5.0, 琼脂 15.0, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.0–7.5; King 氏液体培养基(g/L): 蛋白胨 20.0, K₂HPO₄ 1.5, MgSO₄ 1.5, 琼脂 10.0, 甘油 10 mL, pH 7.0–7.2。

盆栽马铃薯营养液(g/L): KNO₃ 50.0, MgSO₄·7H₂O 5.0, NaH₂PO₄·H₂O 3.0, CaCl₂·2H₂O 3.0, (NH₄)₂SO₄ 2.7, FeSO₄·7H₂O 5.56, EDTA-2Na 7.46, H₃BO₃ 3.0, MnSO₄·4H₂O 10.0, ZnSO₄·7H₂O 2.0, NaMoO₄·2H₂O 0.25, CuSO₄·5H₂O 0.025, CoCl₂·6H₂O 0.025, KI 0.75, 蒸馏水定容至 1 L。

1.2 拮抗菌的分离和筛选

细菌培养液的制备: 称取 5 g 土壤样品, 加入 50 mL 无菌水充分振荡后稀释 1 000 倍。

吸取 100 μL 悬浮液均匀涂布于 LB 固体培养基上, 28 °C 培养 24 h, 挑取单菌落接种于液体 LB 培养基中, 28 °C、200 r/min 振荡培养 24 h。

拮抗菌的筛选: 吸取疮痂链霉菌孢子悬浮液 100 μL 均匀涂布于 PDA 培养基, 接种 6 μL 待测细菌培养液, 28 °C、200 r/min 培养 3 d 后测量抑菌圈直径。

菌株解磷能力测定: 在解磷培养基上接种待测细菌培养液 6 μL, 28 °C、200 r/min 培养 7 d 后观察解磷效果。

1.3 拮抗菌的鉴定

菌株形态观察: 将待测菌液均匀涂布于 LB 平板上, 37 °C 培养 24 h, 观察菌落形态, 扫描电子显微镜观察菌体形状, 记录菌株革兰氏染色后的状态。

16S rRNA 基因序列分析: 采用细菌 16S rRNA 基因通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGA TCCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-CTACGGCTACC TTGTTACGA-3')和 *gyrB* 基因引物(5'-GCCTTGT CGACCACTCTTGA-3'; 5'-AATGGCAGTCAGC CCTTCTC-3')分别进行测序, 所得结果在 NCBI 上比对, 采用 BioEdit 和 MEGA 11.0 软件构建系统发育树, 核酸序列数据存储在微生物科学数据中心(National Microbiology Data Center, NMDC), 参试菌株核酸序列编号: NMDCN000370S、NMDCN000370T、NMDCN000370U 和 NMDCN000370V。

菌株生理生化特性分析: 利用梅里埃 API 50CHB G⁺芽孢杆菌鉴定试剂盒(北京兰伯瑞生物技术有限责任公司)测定菌株生理生化性质, 挑取单菌落, 用无菌水配制高浓度菌悬液, 滴入 API 50CHB 培养基安瓿混匀接种。参照 API 50CH 试验条说明书判读测试结果, 除 25 号七叶灵柠檬酸铁指示剂由红变黑为阳性外, 其余培

培养基颜色呈现黄色则为阳性。

1.4 盆栽及田间试验

盆栽试验: 将 *S. scabies* 孢子接种于 TSB 液体培养基中, 37 °C、200 r/min 振荡培养 7 d, 4 000 r/min 离心 25 min 收集菌体, 用无菌水悬浮, 调节孢子数至 1×10^7 CFU/mL, 将 500 mL 孢子悬浮液均匀拌入蛭石并装至直径 17 cm 的花盆中, 移栽培养 20 d 的‘夏波蒂’脱毒试管苗, 每盆 3 株, 24 °C 恒温培养, 15 d 后向马铃薯幼苗根部浇施 10 mL 孢子数为 1×10^8 CFU/mL 的拮抗菌悬浮液。以未接种任何菌株的处理为 CK1, 以只接种 *S. scabies* 的处理为 CK2。每个处理重复 3 次, 每间隔 7 d 浇水 2 L。

田间试验: 试验安排在内蒙古自治区呼伦贝尔市海拉尔区鄂温克旗马铃薯连作 3 年的地块, 2023 年 5 月 19 日播种。试验设置 3 个处理, 每处理 3 次重复, 随机区组排列, 小区面积 120 m², 种植密度 75 963 株/hm², 底肥采用施可丰牌通用型复合肥(总养分 $\geq 45\%$, N:P₂O₅:K₂O=13:17:15), 用量 1 124.4 kg/hm²。生育期间追施复合肥 2 次(N:P₂O₅:K₂O=14:18:12), 每次 373.1 kg/hm², 2023 年 9 月 3 日收获。

结果统计: 参考石莹莹等^[24]的方法, 生长期定期测定株高、茎粗、叶绿素等指标, 收获后测定块茎质量, 并依据马铃薯疮痂病分级标准统计发病率、病情指数, 计算防治效果。

病害分级标准: 0 级, 薯皮健康, 无病斑; 1 级, 块茎病斑面积为 0–1/6; 2 级, 病斑面积为 1/6–1/3; 3 级, 病斑面积为 1/3–1/2; 4 级, 病斑面积为 1/2 以上。

发病率(%)=发病块茎数/收获总块茎数 $\times 100$;

病情指数= $\frac{\sum(\text{各病级块茎数} \times \text{该病级数代表值})}{(\text{调查个体总和} \times \text{最高病级数})} \times 100$;

相对防效(%)=(对照组病情指数–处理组病

情指数)/对照组病情指数 $\times 100$ 。

1.5 菌株特性研究

菌株生长状况测定: 将待试菌株分别接入 LB 液体培养基中, 实时测定菌液生长量与 pH。

菌株抗逆特性分析: 将待测菌株分别接种至不同梯度 pH 和不同 NaCl 浓度的液体 LB 培养基中, 28 °C、200 r/min 振荡培养 12 h 后测定其 OD₆₀₀ 值; 待测菌株用不同温度的水浴处理 30 min 后, 取 6 μ L 滴在均匀涂布了疮痂链霉菌的 PDA 平板上, 28 °C 培养 24 h 后观察拮抗圈大小。

菌株广谱耐药性分析: 参考李曦等^[9]和李建萍^[10]的研究方法, 选择 15 种常见杀菌剂和生物农药, 试验测试浓度参考产品说明书。将直径 8 mm 的滤纸片在药剂溶液中充分浸泡 5 min, 置于均匀涂布菌株的 LB 固体培养基上, 以浸泡无菌水的滤纸片为对照, 28 °C 培养 12 h 后, 观察记录菌株的生长状况。

菌株促生长特性分析: 参照李培根等^[11]的方法, 将吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)标准品配置成 10、20、30、40、50 mg/L 的标准溶液, 与 Salkowski 比色剂 1:1 比例混合后, 避光常温静置 30 min, 以蒸馏水与 Salkowski 比色剂混合为空白对照, 测定 OD₅₃₀ 处的吸光度, 并以 IAA 浓度为横坐标, 以吸光度为纵坐标绘制标准曲线。将待测菌株接种到 LB 液体培养基中, 28 °C、200 r/min 培养 48 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 取 1 mL 上清液加入等量的 Salkowski 比色剂, 测定 OD₅₃₀ 的吸光度, 将上述吸光度代入 IAA 标准曲线获得菌株的 IAA 产量。

菌株在土壤中的定殖: 采用抗生素标记法, 将 4 株待测菌株用利福平和卡那霉素分别进行梯度标记(0.5、1.5、10、50、100、200、300 μ g/mL), 以区别马铃薯土壤根际菌, 直至获得能够在含 300 μ g/mL 利福平及卡那霉素的 LB 培养基中

稳定生长的双抗菌株。将获得的抗性稳定菌株标记为 BN4-4-K、BN4-5-K、BN5-2-K 和 YN17-2-K, 28 °C 培养 2 d 备用。用灌根法将浓度为 1×10^7 CFU/mL 的双抗菌株菌悬液接种于马铃薯幼苗根部周围, 每株 10 mL, 以等量的无菌水作为对照。

分别于处理 1、7、14、21、28、35 d 后测定马铃薯根际土壤双抗标记菌株的菌体数量。称取 1 g 植株根际周围 2 cm 内、深度 3–5 cm 的土壤, 用 100 mL 无菌水进行梯度稀释, 选择 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 稀释液 200 μ L 均匀涂布于含 300 μ g/mL 的利福平和卡那霉素平板中, 根据定殖量绘制菌株定殖动态曲线^[25]。

1.6 数据处理

采用 Excel 和 Origin 2019b 软件处理数据, 系统发育树利用 MEGA 11.0 软件构建邻位连接法(neighbor-joining, NJ)的 Kimura 2-parameter 模型, 重抽样法(bootstrap test)对发育树分支点的置

信度进行评价, 重复抽取次数为 1 000。

2 结果与分析

2.1 疮痂链霉菌拮抗菌的分离筛选及其解磷效果研究

2.1.1 拮抗菌的分离和筛选

经过初筛和复筛分离得到 4 株对 *S. scabies* 具有明显拮抗作用的细菌, 编号分别为 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2, 抑菌圈直径分别为 (31.00 ± 1.24) 、 (31.95 ± 0.91) 、 (35.82 ± 1.65) 和 (35.19 ± 1.10) mm, 其中 BN5-2 和 YN17-2 的抑菌率相近, 约为 42%, BN4-4 和 BN4-5 抑菌率相近, 约为 37% (图 1)。

2.1.2 菌株对无机磷的降解效果

四株菌在解磷培养基上培养 7 d 后发现, BN4-4 和 BN5-2 的生长速度较快, 菌落直径明显大于 BN4-5 和 YN17-2, 周围形成半透明状的解磷圈, 直径分别为 11.20 mm 和 10.00 mm, 表明二者皆具有较强的解磷能力(图 2)。

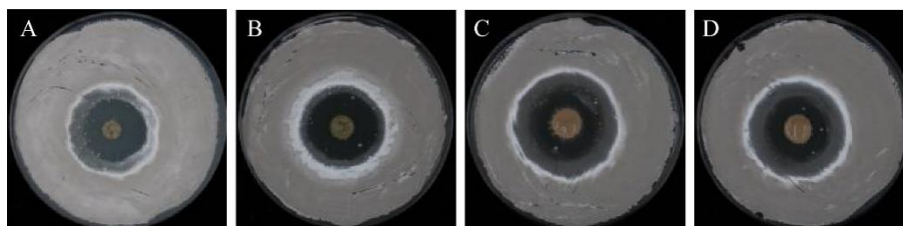


图 1 拮抗菌株对疮痂链霉菌的抑制效果 A–D: 依次为 BN4-4、BN4-5、BN5-2、YN17-2 的拮抗圈
Figure 1 Inhibitory effects against *Streptomyces scabies* CGMCC 4.1765. A–D: Inhibition zone of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2.

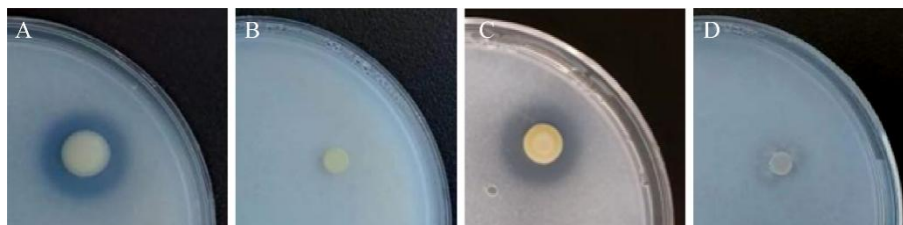


图 2 拮抗菌株对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的利用效果 A–D: 依次为 BN4-4、BN4-5、BN5-2、YN17-2 的解磷圈
Figure 2 Utilization of $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by antagonistic strains. A–D: Inhibition zone of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2.

2.2 疮痂链霉菌拮抗菌株的鉴定

2.2.1 菌株形态学观察

如图 3 所示, 参试菌株的菌落均呈圆形, 白色半透明, 革兰氏染色呈阳性, 菌体杆状, 两端钝圆, 大小为 $(0.5-1.5) \mu\text{m} \times (0.3-0.6) \mu\text{m}$, 单个排列。其中 BN4-4 和 BN4-5 的菌落边缘光滑, BN5-2 和 YN17-2 表面粗糙不整齐。

2.2.2 菌株生理生化特性分析

如表 1 所示, 4 株菌均可利用葡萄糖、果糖、山梨醇, 均无法分解半乳糖和鼠李糖。BN5-2、YN17-2、BN4-4 可以木糖作为唯一碳源; BN5-2 和 YN17-2 能利用阿拉伯糖、甘露醇和核糖, 菌

株 BN4-4 和 BN4-5 可分解山梨糖和甘露糖, 但不能分解肌醇。各菌株对七叶灵柠檬酸铁反应均为阳性, 可裂解七叶灵分子, 释放的葡萄糖分子作为碳源被利用。菌株 BN4-4 和 BN4-5 的葡萄糖酸钾反应呈阳性, 表明其可氧化葡萄糖酸盐生成 2-酮基葡萄糖酸盐。API 50CHB 鉴定系统分析表明, 4 株菌均为枯草芽胞杆菌, 鉴定率在 97.3%–99.6%之间。依据深褐芽胞杆菌能利用甘露糖, 不能利用甘露醇, 枯草芽胞杆菌能利用甘露醇, 不能利用甘露糖的特点^[26], 初步推断菌株 BN4-4 和 BN4-5 为深褐芽胞杆菌, BN5-2 和 YN17-2 为枯草芽胞杆菌。

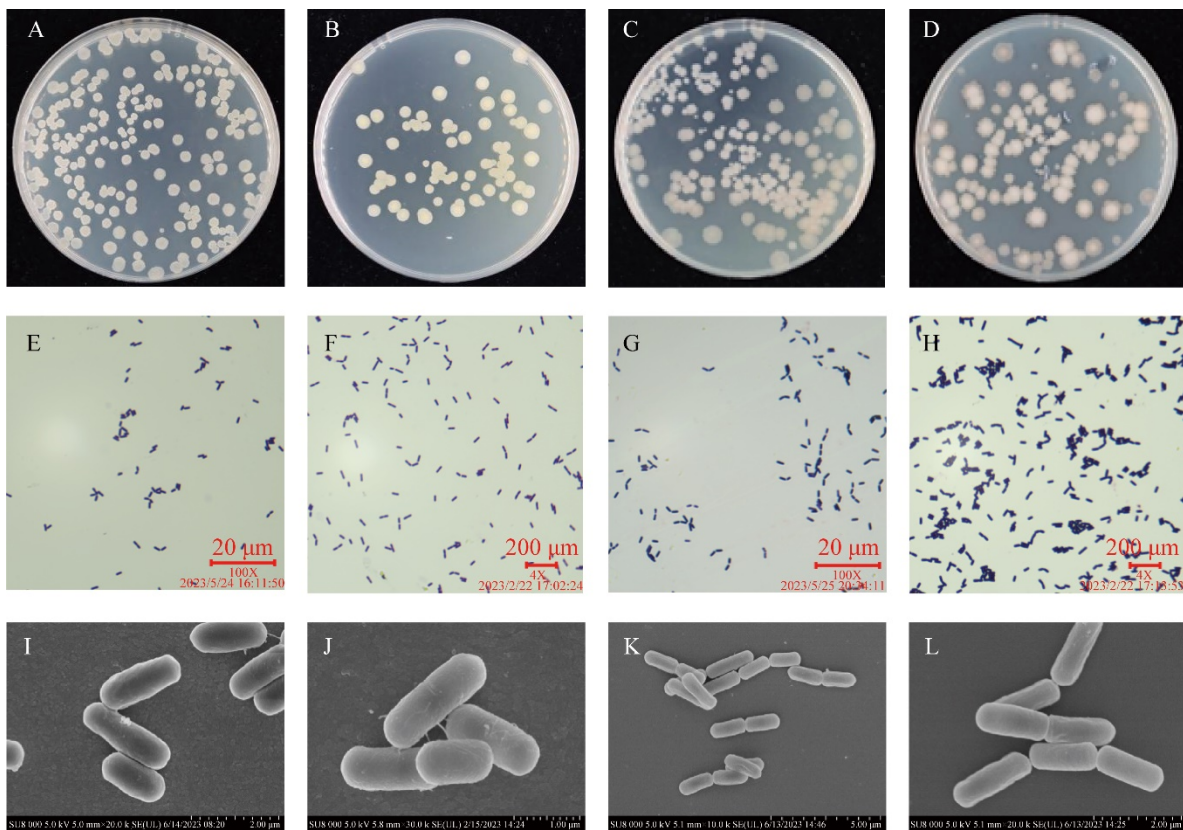


图 3 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2 的菌落和细胞形态特征 A–D: 依次为 BN4-4、BN4-5、BN5-2、YN17-2 的菌落形态. E–H: 依次为 BN4-4、BN4-5、BN5-2、YN17-2 的革兰氏染色结果. I–L: 依次为 BN4-4、BN4-5、BN5-2、YN17-2 的扫描电镜图片

Figure 3 Strain and cell morphological characteristics of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2. A–D: Colony morphology of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2. E–H: Gram staining of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2. I–L: Bacteria of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2.

表 1 菌株 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2 的生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical properties of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2

Test items	BN4-4	BN4-5	BN5-2	YN17-2
D-galactose	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	+	+
D-ribose	-	-	+	+
D-xylose	+	-	+	+
D-glucose	+	+	+	+
D-fructose	+	+	+	+
D-mannose	+	+	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-
L-sorbose	+	+	-	-
Inositol	-	-	+	+
Mannitol	-	-	+	+
Sorbitol	+	+	+	+
6,7-dihydroxycoumarin	+	+	+	+
Potassium gluconate	+	+	-	-

+: Positive; -: Negative.

2.2.3 基于 16S rRNA 和 *gyrB* 基因序列的分子生物学鉴定

通过 PCR 扩增获得 4 个菌株的 16S rRNA 基因片段, 将各自的序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 分析比对, 菌株 BN4-4 和 BN4-5 与深褐芽孢杆菌的相似性达到 99.0%, BN5-2 和 YN17-2 与枯草芽孢杆菌的一致性达到 99.9% 以上。利用 MEGA 11.0 构建系统发育树, 如图 4 所示, 菌株 BN4-4 和 BN4-5 与深褐芽孢杆菌 *B. atrophaeus* 处于同一分支上, 自展值达 95.0%; 菌株 BN5-2 和 YN17-2 与枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* 处于同一分支上, 自展值达 87.0%。

进一步扩增菌株的 *gyrB* 基因片段, 并利用 MEGA 11.0 软件构建系统发育树, 发现 BN4-4 和 BN4-5 与深褐芽孢杆菌 JCM 9070 聚类到一个分支, BN5-2 和 YN17-2 与枯草芽孢杆菌 NCIB 3610 聚类到一个分支(图 5), 结合形态学观察和

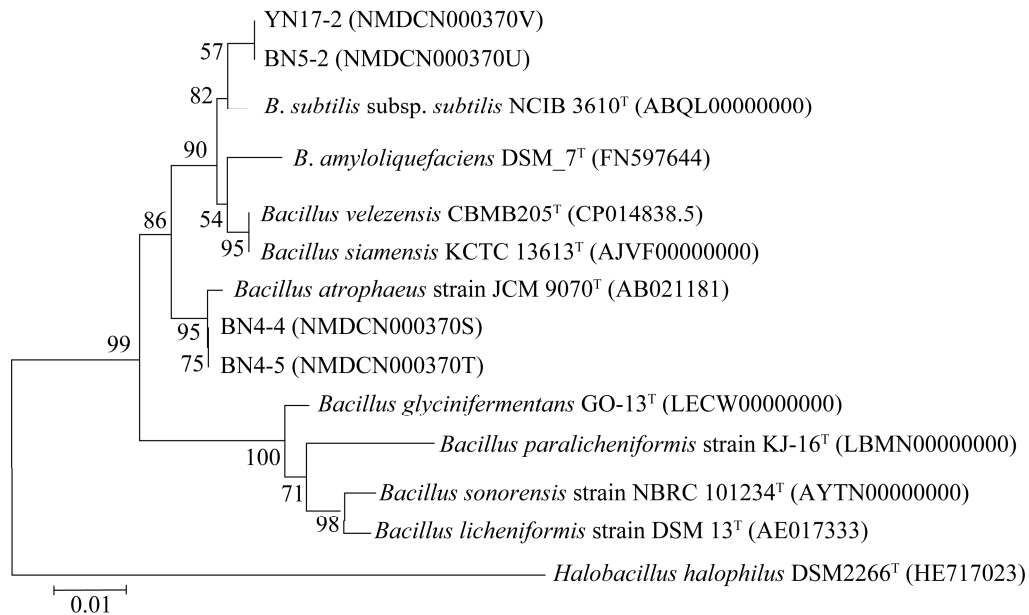


图 4 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树 括号中数值为 GenBank 登录号; 分支处标注有自展值; 标尺 0.01 代表核苷酸替换率

Figure 4 Phylogenetic tree constructed based on the 16S rRNA gene sequences. Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values are shown at the node; The scale bar indicates 0.01 substitutions per nucleotide position.

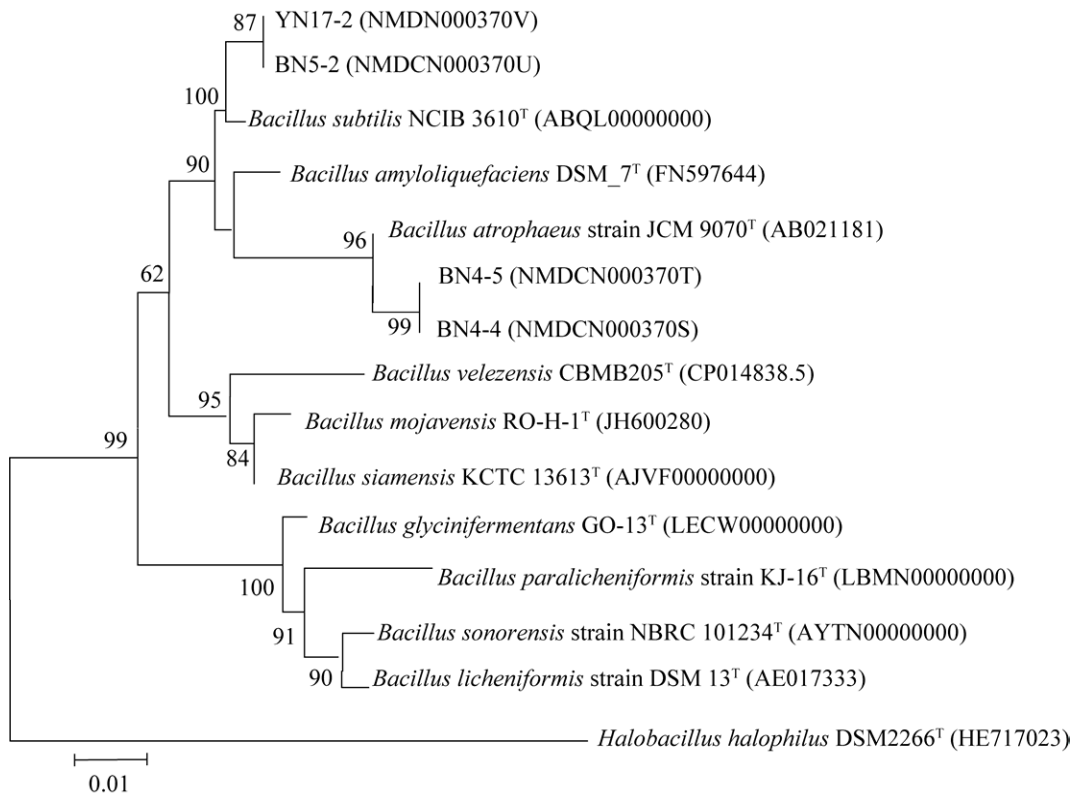


图 5 基于 *gyrB* 基因序列构建的系统发育树 括号中数值为 GenBank 登录号；分支处标注有自展值；标尺 0.01 代表核苷酸替换率

Figure 5 Phylogenetic tree constructed based on the *gyrB* gene sequences. Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The bootstrap values are shown at the node; The scale bar indicates 0.01 substitutions per nucleotide position.

生理生化特性分析结果，确定菌株 BN4-4 和 BN4-5 为深褐芽孢杆菌(*B. atrophaeus*)，BN5-2 和 YN17-2 均为枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)。

2.3 疮痂链霉菌拮抗菌株解磷功能对其拮抗效果的增益

2.3.1 盆栽抑病试验

试验结果如表 2 和图 6 所示，各组总结薯数除菌株 BN5-2 处理组略少外，其他各组间无显著差异。其中，水处理组 CK1 未发生疮痂病，不同拮抗菌处理组发病率均显著低于病原菌处理组 CK2，菌株 BN4-4 处理组发病率最低，为 (15.87±3.61)%，显著低于菌株 BN4-5 处理组；

菌株 BN5-2 处理组发病率为(20.97±3.70)%，显著低于菌株 YN17-2 处理组。各拮抗菌处理组的病情指数均显著低于病原菌处理组 CK2，最低的菌株 BN4-4 处理组为 12.46±1.51，其相对防效较菌株 BN4-5 处理组提高 45.76%，差异达到显著水平。菌株 BN5-2 处理组病情指数为 13.03±4.07，其相对防效达(62.18±7.59)%，较菌株 YN17-2 处理组提高 41.75%，差异达到显著水平。

分析上述结果发现，具有解磷功能的深褐芽孢杆菌 BN4-4 和枯草芽孢杆菌 BN5-2 对马铃薯疮痂病的防控效果较对应的非解磷菌种更佳。

表 2 盆栽试验结果

Table 2 Results of pot experiment

Treatment	Number of grains	Occurrence rate (%)	Disease index	Relative control effects (%)
CK1	15.00±1.15a	0.00	0.00	—
CK2	16.00±1.00a	95.69±3.73a	55.68±1.46a	—
BN4-4	15.00±0.58a	15.87±3.61c	12.46±1.51b	71.35±7.01a
BN4-5	15.00±0.58a	33.97±5.74b	22.99±4.58b	38.70±11.67b
BN5-2	13.00±0.58b	20.97±3.70c	13.03±4.07b	62.18±7.59a
YN17-2	15.00±2.00a	35.35±4.62b	26.65±5.80b	36.22±9.77b

Data were presented as mean±SD, means with different letters are significantly different at $P<0.05$. “—” indicates that the results will not be discussed.



图 6 马铃薯盆栽试验结果

Figure 6 Pot experiment results of potato. A: CK1. B: CK2. C: BN4-4. D: BN4-5. E: BN5-2. F: YN17-2.

2.3.2 田间防病试验

挑选盆栽试验中效果较好的 BN4-4 和 BN4-5 进行田间试验, 结果如表 3 所示, 未施用菌剂的对照组发病率为(94.04±1.25)%, 病情指数为 45.84±8.00; 浇施 BN4-4 菌液的处理组发病率为(29.10±6.03)%, 病情指数为 29.11±6.03, 相对

防效为(69.07±6.29)%; 浇施 BN4-5 菌液的处理组发病率为(41.21±4.94)%, 病情指数为 41.21±4.94, 相对防效为(56.20±4.79)%。上述数据与盆栽试验结果一致, 即具有解磷功能的菌株田间防效更佳。可见, 筛选具有拮抗和解磷功能的生防菌是实现疮痂病有效防控的重要措施。

表 3 田间试验结果

Table 3 Results of field experiment

Treatment	Occurrence rate (%)	Disease index	Relative control effects (%)
CK	94.04±1.25a	45.84±8.00a	—
BN4-4	29.10±6.03c	29.11±6.03b	69.07±6.29a
BN4-5	41.21±4.94b	41.21±4.94ab	56.20±4.79b

Data were presented as mean±SD, means with different letters are significantly different at $P<0.05$. “—” indicates that the result will not be discussed.

2.4 疮痂链霉菌拮抗菌株的特性研究

2.4.1 菌株的生长繁育特性

为了进一步了解拮抗菌株的生长繁育特性, 将菌株 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2 分别接入 LB 培养基中, 对其生长量与 pH 值进行实时测定(图 7)。结果表明, 培养 8 h 时 4 株菌均结束了对数生长, OD_{600} 值分别为 1.18、1.08、1.00、1.01, 此时培养液 pH 值分别为 6.7、6.7、6.7、6.8。BN4-4 和 BN4-5 在培养 18 h 后生物量最大, OD_{600} 值分别为 1.31 和 1.31, BN5-2 和 YN17-2 在培养 20 h 后生物量最大, OD_{600} 值分别为 1.27 和 1.29。YN17-2 在培养 24 h 时 pH 达到峰值 6.9, 菌株 BN4-4、BN4-5 和 BN5-2 在培养 26 h 时 pH 达到最高值, 分别为 6.9、6.9、7.0。

2.4.2 菌株耐高温和耐盐碱特性

为了探究目标菌株对环境的适应性, 将 4 株菌分别在 37、60、80、100 °C 水浴中处理 30 min, 结果如图 8A 所示。100 °C 处理后 4 株菌均失去抑菌活性; 80 °C 处理后, BN4-4 的抑菌圈直径最大, 为 29.00 mm, BN4-5 的抑菌圈直径最小, 为 19.00 mm。平板计数法统计结果表明, 37、60、80 °C 处理后, BN4-4 的活菌数分别为 6.0×10^6 、 1.2×10^6 、 2.0×10^4 CFU/mL, BN4-5

分别为 5.2×10^6 、 8.0×10^4 、 1.0×10^4 CFU/mL, BN5-2 分别为 5.0×10^6 、 6.0×10^4 、 1.0×10^4 CFU/mL, YN17-2 分别为 7.0×10^6 、 6.0×10^4 、 1.0×10^4 CFU/mL。相比较而言, BN4-4 具有较好的热稳定性。

将 4 个菌株分别接种于 pH 1.0–13.0、NaCl 含量为 1%–11% 的 LB 液体培养基中培养 24 h 发现, 4 个菌株均可耐受 NaCl 浓度为 11% 的高盐环境, 在 pH 1.0–13.0 的条件下均可存活。其中菌株 BN4-4、BN4-5 和 YN17-2 可在 pH 为 5.0–9.0 的环境中正常生长, 菌株 BN5-2 仅适应 pH 5.0–7.0 的弱酸性环境。随着培养基 NaCl 浓度的增加, 菌株 BN4-4 和 BN4-5 的生物量有所下降; BN5-2 和 YN17-2 在 NaCl 含量为 1%–7% 的培养基上可正常生长, OD_{600} 值达 1.00–1.50。

2.4.3 菌株对常用化学杀菌剂的敏感性

不同拮抗菌株对常用杀菌剂的敏感性测试结果见表 4。在沾有无菌水的滤纸片周围 4 株芽孢杆菌均可正常生长; 氟硅唑、氟啶胺、苯醚甲环唑及百菌清对 4 株菌均有抑制作用。菌株 BN4-4、BN4-5、BN5-2 对代森锰锌敏感, 菌株 BN5-2 对联苯·啶虫脒和异菌脲敏感。4 株拮抗菌的生长均不受阿维菌素、中生菌素、甲基硫菌灵、春雷霉素、多菌灵、噻虫嗪和氟菌·霜霉威的影响。

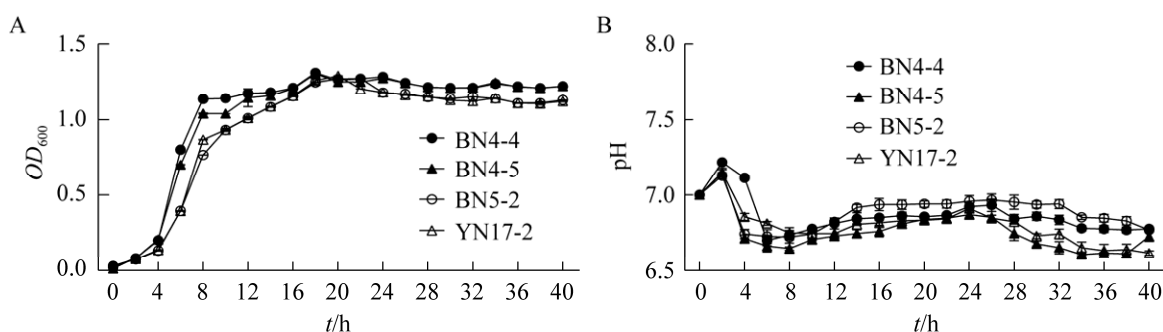


图 7 菌株 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2 的生长曲线和 pH 实时测定 A: 生长量变化曲线. B: pH 变化曲线

Figure 7 The growth curves and the pH monitoring values of BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2. A: The growth curves. B: The pH monitoring values. Error bar: Represent standard error, with data from three data duplications.

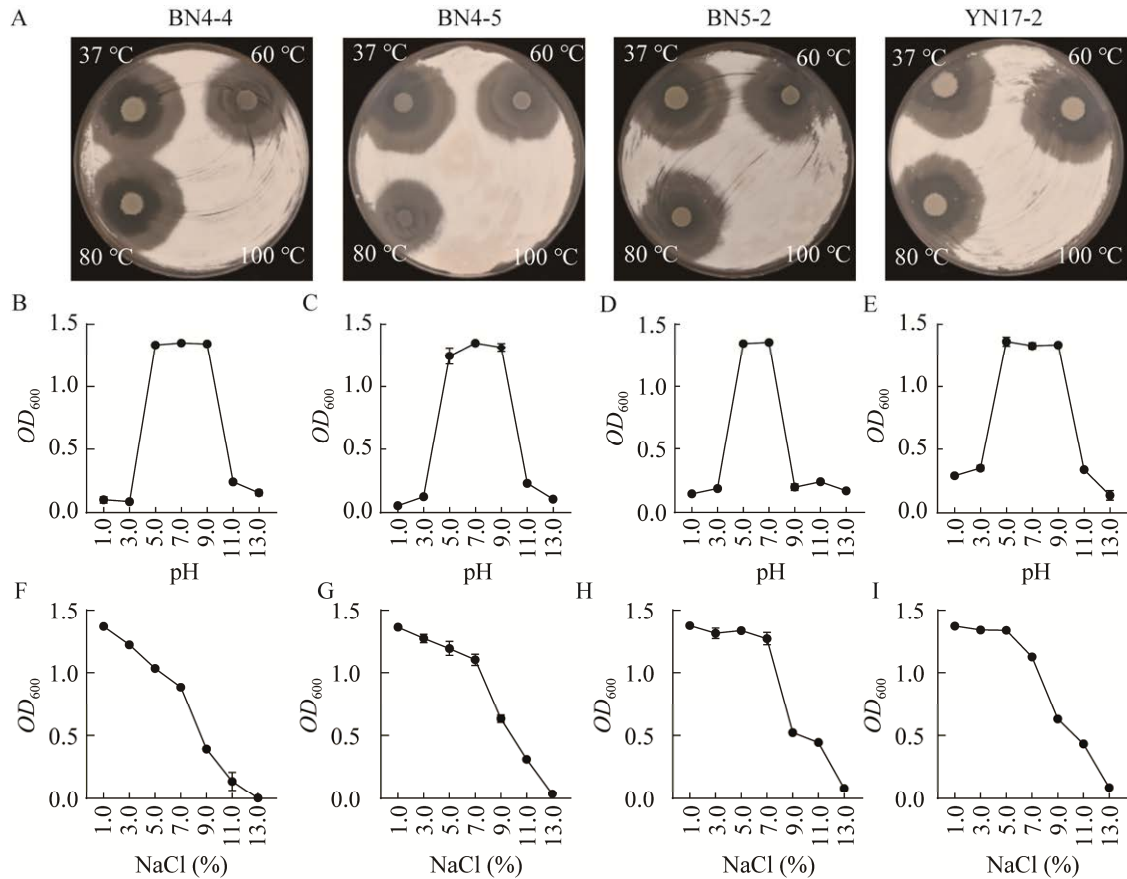


图 8 拮抗菌耐高温及耐盐碱范围 A: 高温处理后菌株拮抗疮痂链霉菌效果. B-E: pH 耐受试验. F-I: NaCl 耐受试验

Figure 8 Resistance range of antagonistic bacterial to high-temperature and salt-alkali. A: Inhibitory effect against *Streptomyces scabies* after heating. B-E: pH resistance test. F-I: NaCl resistance test. Error bar: Represent standard error, with data from three data duplications.

2.4.4 菌株的广谱抗病性

为了进一步探究拮抗菌株的生防潜能,通过平板对峙试验测试了其对多种重要植物病原菌的拮抗效果,结果如图 9 所示。参试菌株对茄链格孢菌、尖孢镰孢菌、立枯丝核菌和大丽轮枝菌均具有不同程度的抑制效果,具有较好的广谱抗病性。

2.4.5 菌株促生长效果

将 4 株菌在 King 氏液体培养基培养 24 h,上清液与比色液混合,观察到混合液均显粉红色,表明 4 株菌皆可产 IAA (图 10A)。对照标准曲线计算(图 10B),菌株 IAA 的产量分别为 0.012 4、

0.010 7、0.003 5 和 0.004 7 mg/mL。

用自来水悬浮发酵菌体浇施马铃薯幼苗,45 d 后统计叶片叶绿素相对含量(soil and plant analyzer development, SPAD)、株高、茎粗,块茎收获后称取质量。经 4 株菌处理的植株长势均优于对照(图 11A),其中, BN4-4 处理后的株高、茎粗、SPAD 值和块茎质量分别较对照增加了 15.05%、19.84%、17.49%和 100.35%,差异均达到极显著水平; BN4-5 处理后株高、茎径、SPAD 值和块茎质量分别较对照增加了 11.91%、13.19%、7.72%和 52.38%,差异均达到极显著水平; BN5-2 处理后株高与块茎质量分别较对照增加了 15.78%

表 4 杀菌剂对菌株 BN4-4、BN4-5、BN5-2 和 YN17-2 的影响

Table 4 Effect of fungicides on BN4-4, BN4-5, BN5-2, and YN17-2

Fungicide	Concentration (%)	Resistance			
		BN4-4	BN4-5	BN5-2	YN17-2
H ₂ O		+	+	+	+
Avermectin	0.10	+	+	+	+
Zhongshengmycin	0.10	+	+	+	+
Thiophanate-methyl	0.01	+	+	+	+
Kasugamycin	0.05	+	+	+	+
Mancozeb	0.10	-	-	-	+
Pyraclostrobin	0.10	+	+	+	+
Carbendazim	0.10	+	+	+	+
Thiamethoxam	0.10	+	+	+	+
Flusilazole	0.10	-	-	-	-
Fluazinam	0.10	-	-	-	-
Difenoconazole	0.10	-	-	-	-
Bifenthrin & Acetamiprid	0.01	+	+	-	+
Iprodione	0.10	+	+	-	+
Fluopicolide & Propamocarb	0.10	+	+	+	+
Chlorothalonil	0.01	-	-	-	-

“+” indicates that fungicides do not affect antagonist growth; “-” indicates that fungicides inhibit antagonist growth.

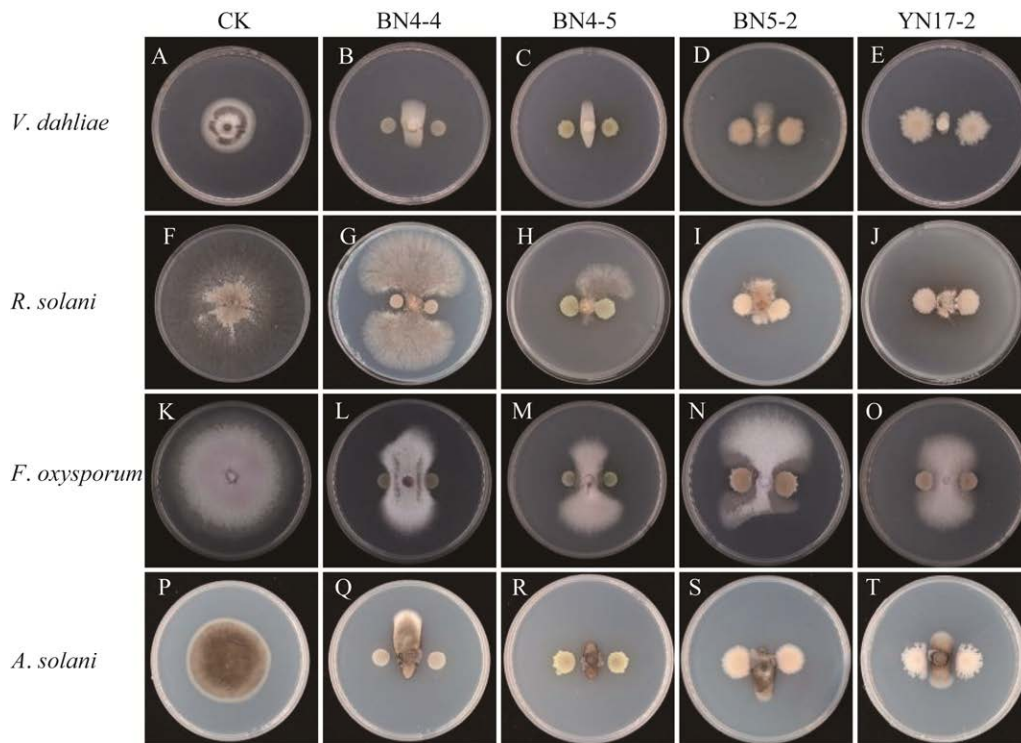


图 9 四株菌的广谱抗性 A-E: 菌株对大丽轮枝菌的拮抗效果. F-J: 菌株对立枯丝核菌的拮抗效果. K-O: 菌株对尖孢镰孢菌的拮抗效果. P-T: 菌株对茄链格孢菌的拮抗效果

Figure 9 Broad-spectrum resistance of four strains. A-E: Inhibitory effect against *Verticillium dahliae*. F-J: Inhibitory effect against *Rhizoctonia solani*. K-O: Inhibitory effect against *Fusarium oxysporum*. P-T: Inhibitory effect against *Alternaria solani*.

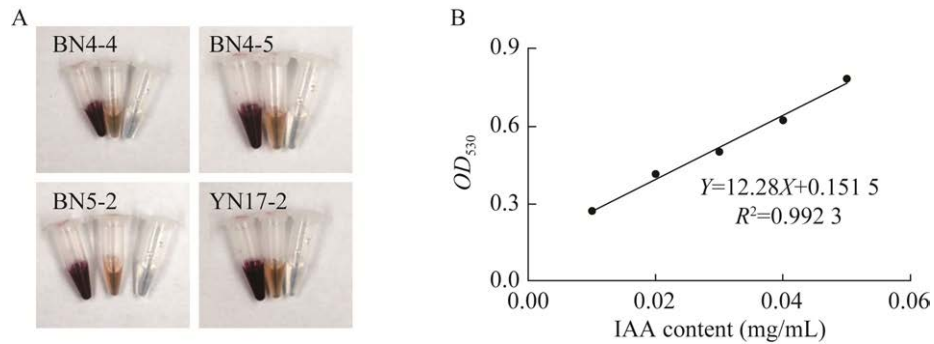


图 10 菌株分泌 IAA 能力测定 A: 显色反应结果: 从左至右依次为阳性对照、菌液、空白对照. B: IAA 标准曲线

Figure 10 Detection of the ability to secrete IAA of strains. A: The result of chromogenic reaction: from left to right are positive control, bacterial solution, and blank control in sequence. B: IAA standard curve.

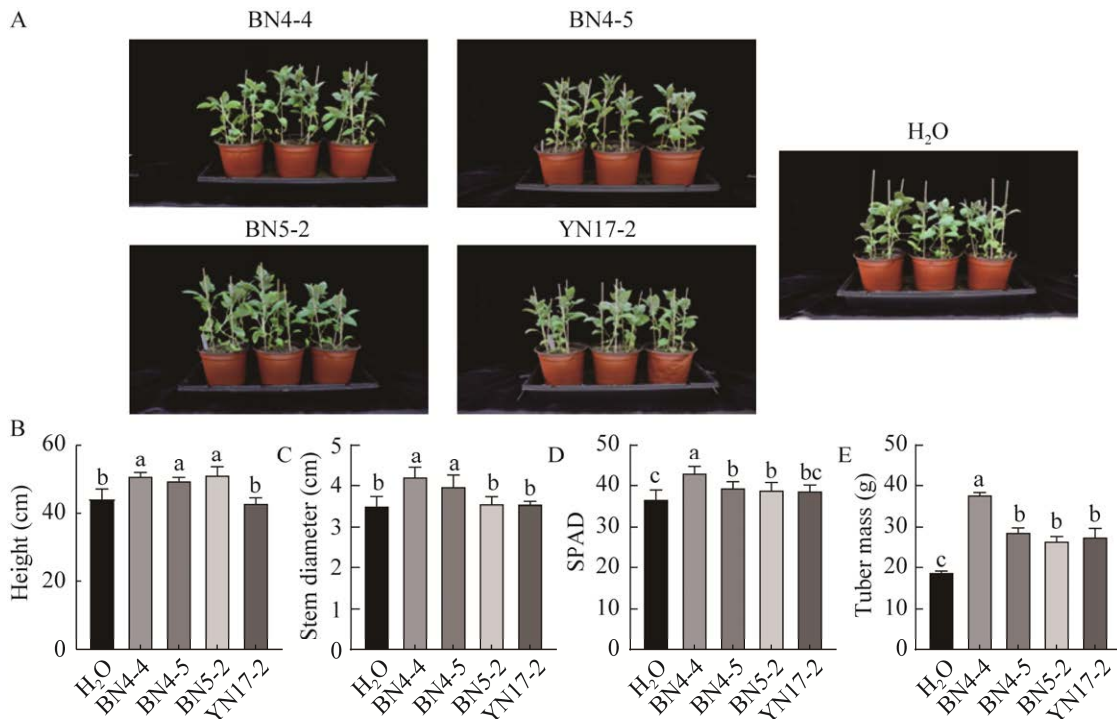


图 11 拮抗菌促生试验 A: 盆栽促生试验. B: 植株株高. C: 植株茎粗. D: 植株叶绿素含量. E: 块茎质量

Figure 11 Growth promotion assay of antagonistic bacterial. A: Growth promotion assay in pot. B: Plant height. C: Stem diameter. D: SPAD. E: Tuber mass. The presented values are the means of three determinations, with standard deviations indicated. The presented values are the means of three determinations, with standard deviations indicated; Means with different letters are significantly different at $P < 0.05$.

和 41.09%, 差异均达到极显著水平, SPAD 增加了 6.26%, 差异达到显著水平; YN17-2 处理后块茎质量较对照增加了 46.38%, 差异达到极显著水平。上述结果表明, 4 株拮抗菌均表现出良

好的促生增产效果, 其中 BN4-4 表现最佳。

2.4.6 菌株在土壤中的定殖力

不同双抗菌株在马铃薯根际土壤中定殖量如图 12 所示。随着时间的推移, 根际土壤中的

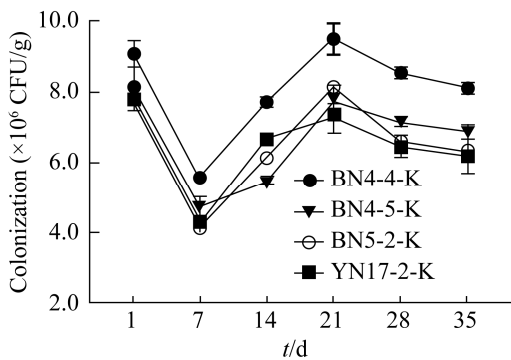


图 12 不同菌株在根际土壤中的定殖量

Figure 12 The amount of colonization of strains in rhizosphere soil. The presented values are the means of three determinations, with standard deviations indicated. Error bar: Represent standard error, with data from three data duplications.

4 株拮抗菌的数量均呈现下降-上升-下降的趋势。其中菌株 BN4-4-K 在 21 d 时的活菌数最多, 达 9.50×10^6 CFU/g, 35 d 时稳定在 8.10×10^6 CFU/g, 定殖量相对高于其他菌株。在未添加双抗菌株菌悬液的对照中无标记菌株。

3 讨论与结论

随着人们对绿色环保型农产品需求的日益增加, 利用生防菌替代化学农药抑制农作物病害的技术越来越受重视。目前, 芽孢杆菌是最主要的土壤生防菌, 已被应用于多种作物^[27-30], 其中, 枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌和甲基营养型芽孢杆菌, 可通过分泌次生代谢物或者影响土壤微生物群落结构, 抑制致病性链霉菌生长^[31-34], 降低马铃薯疮痂病的危害程度, 而关于利用深褐芽孢杆菌防控马铃薯疮痂链霉菌的研究较少^[35]。本研究中的 2 株深褐芽孢杆菌 BN4-4 和 BN4-5 对于马铃薯疮痂病的盆栽防效分别为 $(71.35 \pm 7.01)\%$ 和 $(38.70 \pm 11.67)\%$, 大田防效达 $(69.07 \pm 6.29)\%$ 和 $(56.20 \pm 4.79)\%$, 生防效果优于苏云金芽孢杆菌^[24]、解淀粉芽孢杆菌^[34]、

枯草芽孢杆菌^[32]等。

土壤胶体对磷具有较强的吸附和固定作用, 磷肥可与土壤中的金属阳离子结合形成包括 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 在内的不溶性磷酸盐, 在土壤中逐年积累^[36]。最新研究发现, 高磷肥用量会加重马铃薯疮痂病的危害, 致病链霉菌对 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 具有嗜好性, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的逐年富集是加重疮痂病危害的关键因素, 筛选解磷拮抗菌是实现高效防控的主要方向^[23]。关于拮抗菌解磷能力对病害防控效果增益方面的研究目前尚未见报道。因此, 探究解磷菌对疮痂病的防控效果十分必要。本研究设置 2 组同种、抑菌圈直径相近、解磷能力明显不同的细菌, 分别为深褐芽孢杆菌 BN4-4 和 BN4-5 (抑菌圈直径可达 31.00 mm 和 31.95 mm)、枯草芽孢杆菌 BN5-2 和 YN17-2 (抑菌圈直径分别为 35.82 mm 和 35.19 mm), 其中具有较强解磷能力的 BN4-4 和 BN5-2 在盆栽和田间试验中防效均较对应的非解磷菌更佳, 表明解磷功能对于菌株防控疮痂病效果具有明显的增益, 这一结果与 Cao 等^[23]的研究一致, 可能是由于解磷菌有效降低土壤中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的含量, 不利于病原菌生长^[23], 从而提高了防控效果, 其机理尚需深入研究。

研究显示^[6], 地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) A-5 在培养皿上的抑菌圈仅为 20 mm, 显著小于萎缩芽孢杆菌(*B. atrophaeus*) XJ-3 (49 mm) 和耐盐芽孢杆菌(*B. halotolerans*) KW3-10 (56 mm), 而其对马铃薯疮痂病的盆栽实际防效(68.68%)高于其他 2 株菌(62.72%和 60.24%)。本研究中菌株 BN4-4 和 BN4-5 在培养基上的抑菌圈较菌株 BN5-2 和 YN17-2 略小, 但实际防效高于后者, 可见, 抑菌圈大小与实际防效之间并非正相关。

综上所述, 深褐芽孢杆菌 BN4-4 具有明显的解磷功能, 对马铃薯疮痂病防控效果良好, 使用后块茎表面光洁度增强, 软腐病和黑胫病的发

生率也明显减少, 并且菌株的定殖力、广谱抗病性、热稳定性、耐极端盐碱及促生能力均较为突出, 具有较好的开发和应用潜力。

参考文献

- [1] DEVAUX A, KROMANN P, ORTIZ O. Potatoes for sustainable global food security[J]. *Potato Research*, 2014, 57(3): 185-199.
- [2] NUNN N, QIAN N. The potato's contribution to population and urbanization: evidence from a historical experiment[J]. *The Quarterly Journal of Economics*, 2011, 126(2): 593-650.
- [3] 贾晶霞, 杨德秋, 李建东, 李洋. 中国与世界马铃薯生产概况对比分析与研究[J]. *农业工程*, 2011, 1(2): 84-86.
- JIA JX, YANG DQ, LI JD, LI Y. Research and comparative analysis about potato production situation between China and continents in the world[J]. *Agricultural Engineering*, 2011, 1(2): 84-86 (in Chinese).
- [4] 张笃芹, 木泰华, 孙红男. 马铃薯块茎特异蛋白 Patatin 的研究进展[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(9): 1746-1756.
- ZHANG DQ, MU TH, SUN HN. Domestic and abroad research progress of potato tuber-specific storage protein Patatin[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(9): 1746-1756 (in Chinese).
- [5] LORIA R, BUKHALID RA, FRY BA, KING RR. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*[J]. *Plant Disease*, 1997, 81(8): 836-846.
- [6] 茹素龙, 赵永龙, 王紫薇, 曹晶晶, 汪志琴, 赵盼, 仲乃琴. 产胞外多糖菌株的分离鉴定及其功能研究[J]. *微生物学报*, 2023, 63(11): 4315-4329.
- RU SL, ZHAO YL, WANG ZW, CAO JJ, WANG ZQ, ZHAO P, ZHONG NQ. Isolation, identification, and functional characterization of exopolysaccharide-producing strains[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(11): 4315-4329 (in Chinese).
- [7] NGUYEN HP, WEISBERG AJ, CHANG JH, CLARKE CR. *Streptomyces caniscabiei* sp. nov., which causes potato common scab and is distributed across the world[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2022, 72(1): 0.005225.
- [8] 赵翔, 谢志雄, 陈绍兴, 沈萍. 适合高产铁载体细菌筛选、检测体系的改进与探析[J]. *微生物学通报*, 2006, 33(6): 95-98.
- ZHAO X, XIE ZX, CHEN SX, SHEN P. Improvement and analysis in over-siderophores production bacteria filtrating and detecting[J]. *Microbiology China*, 2006, 33(6): 95-98 (in Chinese).
- [9] 李曦, 廖汉鹏, 崔鹏, 白玉丹, 刘晨, 文畅, 周顺桂. 3 种常用除草剂对细菌抗生素耐药性的影响[J]. *环境科学*, 2021, 42(5): 2550-2557.
- LI X, LIAO HP, CUI P, BAI YD, LIU C, WEN C, ZHOU SG. Effects of three commonly used herbicides on bacterial antibiotic resistance[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(5): 2550-2557 (in Chinese).
- [10] 李建萍. 检验科微生物检验质量的影响因素及病原菌耐药性分析[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(15): 2733-2735.
- LI JP. Influencing factors of microbial test quality in clinical laboratory and drug resistance analysis of pathogenic bacteria[J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2021, 21(15): 2733-2735 (in Chinese).
- [11] 李培根, 要雅倩, 宋吉祥, 王天琪, 周波, 王冰, 林榕珊. 马铃薯根际产 IAA 芽孢杆菌的分离鉴定及促生效果研究[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 109-116.
- LI PG, YAO YQ, SONG JX, WANG TQ, ZHOU B, WANG B, LIN RS. Isolation and identification of IAA-producing *Bacillus* sp. on potato rhizosphere and its growth-promoting effect[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 109-116 (in Chinese).
- [12] 夏善勇, 盛万民. 我国马铃薯疮痂病及其防治研究进展[J]. *植物保护*, 2022, 48(1): 7-16, 28.
- XIA SY, SHENG WM. Research progress on potato common scab disease in China and its control measures[J]. *Plant Protection*, 2022, 48(1): 7-16, 28 (in Chinese).
- [13] 何虎翼, 谭冠宁, 何新民, 唐洲萍, 李丽淑, 杨鑫. 马铃薯品种(系)资源的疮痂病抗性鉴定[J]. *植物遗传资源学报*, 2017, 18(4): 786-793.
- HE HY, TAN GN, HE XM, TANG ZP, LI LS, YANG X. Identification of scab resistance in potato (*Solanum tuberosum*) variety (line) resources[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(4): 786-793 (in Chinese).
- [14] 赵远征, 徐利敏, 聂峰杰, 贾瑞芳, 王东, 张笑宇, 吕英, 李宇晨, 郭景山, 刘璇. 不同马铃薯品种抗疮痂病的田间鉴定与评价[J]. *北方农业学报*, 2020, 48(1): 81-86.
- ZHAO YZ, XU LM, NIE FJ, JIA RF, WANG D, ZHANG XY, LYU Y, LI YC, GUO JS, LIU X. Field resistance identification of different varieties for potato

- common scab[J]. *Journal of Northern Agriculture*, 2020, 48(1): 81-86 (in Chinese).
- [15] DEES MW, WANNER LA. In search of better management of potato common scab[J]. *Potato Research*, 2012, 55(3): 249-268.
- [16] BRAUN S, GEVENS A, CHARKOWSKI A, ALLEN C, JANSKY S. Potato common scab: a review of the causal pathogens, management practices, varietal resistance screening methods, and host resistance[J]. *American Journal of Potato Research*, 2017, 94(4): 283-296.
- [17] 张露, 艾玉廷, 马健, 张伟, 赵凯涛. 不同比例氟啶胺对马铃薯块茎疮痂病防治效果[J]. *中国马铃薯*, 2013, 27(3): 175-178.
ZHANG L, AI YT, MA J, ZHANG W, ZHAO KT. Control efficacy of various levels of fluazinam on potato tuber common scab[J]. *Chinese Potato Journal*, 2013, 27(3): 175-178 (in Chinese).
- [18] 周芳, 贾景丽, 刘兆财, 贾立君, 张昱, 徐小虎. 不同浓度 2,4-D 对马铃薯疮痂病的防治效果[C]//2016 年中国马铃薯大会论文集, 2016: 506-509.
ZHOU F, JIA JL, LIU ZC, JIA LJ, ZHANG Y, XU XH. The control effect of different concentrations of 2,4-D on potato scab disease[C]//Collected Papers of the 2016 China Potato Conference, 2016: 506-509 (in Chinese).
- [19] 王宏虬, 缪福俊, 李彪, 万红, 刘绍雄. 马铃薯疮痂病最适诱抗剂筛选试验[J]. *南方农业学报*, 2013, 44(7): 1125-1129.
WANG HQ, MIAO FJ, LI B, WAN H, LIU SX. Selection of the optimal inducers for potato scab[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2013, 44(7): 1125-1129 (in Chinese).
- [20] SARWAR A, LATIF Z, ZHANG SY, ZHU J, ZECHEL DL, BECHTHOLD A. Biological control of potato common scab with rare isatropolone C compound produced by plant growth promoting *Streptomyces* A1RT[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1126.
- [21] JIA RM, XIAO KY, YU LG, CHEN J, HU LF, WANG Y. A potential biocontrol agent *Streptomyces tauricus* XF for managing wheat stripe rust[J]. *Phytopathology Research*, 2023, 5(1): 14.
- [22] ZHANG XY, LI C, HAO JJ, LI YC, LI DZ, ZHANG DM, XING X, LIANG Y. A novel *Streptomyces* sp. strain PBSH9 for controlling potato common scab caused by *Streptomyces galilaeus*[J]. *Plant Disease*, 2020, 104(7): 1986-1993.
- [23] CAO JJ, WANG ZQ, WU JH, ZHAO P, LI CC, LI XB, LIU L, ZHAO YL, ZHONG NQ. Phosphorus accumulation aggravates potato common scab and to be controlled by phosphorus-solubilizing bacteria[J]. *Science Bulletin*, 2023, 68(20): 2316-2320.
- [24] 石莹莹, 赵盼, 宋双伟, 熊悯梓, 莫乘宝, 仲乃琴. 马铃薯疮痂病拮抗菌 YN-2-2 的分离与鉴定[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(8): 2425-2435.
SHI YY, ZHAO P, SONG SW, XIONG MZ, MO CB, ZHONG NQ. Isolation and characterization of the antagonistic bacterium YN-2-2 against potato common scab[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(8): 2425-2435 (in Chinese).
- [25] 姚锦爱, 黄鹏, 侯翔宇, 余德亿. 海洋细菌解淀粉芽胞杆菌 BA-3 在兰花的定殖及对根际微生态的影响[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(6): 915-921.
YAO JA, HUANG P, HOU XY, YU DY. Colonization dynamics marine bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BA-3 and its impact on the microbial community of *Cymbidium* rhizosphere[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2019, 35(6): 915-921 (in Chinese).
- [26] 马顶虹, 龚海燕, 李萌萌, 李备军, 汤琳, 张明. 萎缩芽孢杆菌生理生化特征与检测鉴定[J]. *安徽农学通报*, 2014, 20(7): 33-35.
MA DH, GONG HY, LI MM, LI BJ, TANG L, ZHANG M. Physiological and biochemical identification of *Bacillus atrophaeus*[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2014, 20(7): 33-35 (in Chinese).
- [27] PRASANNA S, PRASANNAKUMAR MK, MAHESH HB, BABU GV, KIRNAYMAYEE P, PUNEETH ME, NARAYAN KS, PRAMESH D. Diversity and biopotential of *Bacillus velezensis* strains A6 and P42 against rice blast and bacterial blight of pomegranate[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(7): 4189-4199.
- [28] 李岚岚, 戴利铭, 施玉萍, 刘一贤, 蔡志英. 橡胶树生防内生菌解淀粉芽孢杆菌的理化特性及田间防效[J]. *热带农业科技*, 2023, 46(4): 54-60.
LI LL, DAI LM, SHI YP, LIU YX, CAI ZY. Physicochemical characteristics and field control effect of endophytic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* in rubber tree[J]. *Tropical Agricultural Science & Technology*, 2023, 46(4): 54-60 (in Chinese).

- [29] LUGTENBERG B, KAMILOVA F. Plant-growth-promoting rhizobacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63: 541-556.
- [30] GUARDADO-VALDIVIA L, TOVAR-PÉREZ E, CHACÓN-LÓPEZ A, LÓPEZ-GARCÍA U, GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ P, STOLL A, AGUILERA S. Identification and characterization of a new *Bacillus atrophaeus* strain B5 as biocontrol agent of postharvest anthracnose disease in soursop (*Annona muricata*) and avocado (*Persea americana*)[J]. *Microbiological Research*, 2018, 210: 26-32.
- [31] HAN JS, CHENG JH, YOON TM, SONG J, RAJKARNIKAR A, KIM WG, YOO ID, YANG YY, SUH JW. Biological control agent of common scab disease by antagonistic strain *Bacillus* sp. sunhua[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 99(1): 213-221.
- [32] 周敬轩, 赵永龙, 赵盼, 曹晶晶, 汪志琴, 刘璐, 仲乃琴. 疮痂链霉菌拮抗菌 HD9-1 的筛选及功能评价[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(3): 1149-1162.
- ZHOU JX, ZHAO YL, ZHAO P, CAO JJ, WANG ZQ, LIU L, ZHONG NQ. Screening and functional evaluation of strain HD9-1 against *Streptomyces scabies*[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(3): 1149-1162 (in Chinese).
- [33] 李玉聪, 李滨影, 油心怡, 刘宇豪, 周波, 林榕珊. 马铃薯疮痂病拮抗菌的筛选鉴定及防治效果初探[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(10): 116-121.
- LI YC, LI BY, YOU XY, LIU YH, ZHOU B, LIN RS. Screening, identification and biocontrol effect of antagonistic bacteria on potato common scab[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(10): 116-121 (in Chinese).
- [34] 赵永龙, 赵盼, 曹晶晶, 汪志琴, 刘璐, 仲乃琴. 疮痂链霉菌拮抗菌定向筛选及其功能评价[J]. *微生物学报*, 2022, 62(7): 2624-2641.
- ZHAO YL, ZHAO P, CAO JJ, WANG ZQ, LIU L, ZHONG NQ. Targeted screening and functional evaluation of the bacterial antagonistics to *Streptomyces scabies*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2624-2641 (in Chinese).
- [35] BIESSY A, FILION M. Biological control of potato common scab by plant-beneficial bacteria[J]. *Biological Control*, 2022, 165: 104808.
- [36] MARRA LM, de OLIVEIRA-LONGATTI SM, SOARES CRFS, OLIVARES FL, de SOUZA MOREIRA FM. The amount of phosphate solubilization depends on the strain, C-source, organic acids and type of phosphate[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2019, 36(3): 232-242.