



# 魔芋软腐病拮抗菌 GZA12 的分离鉴定及其防病促生作用

钟宇<sup>1#</sup>, 牛莉莎<sup>1#</sup>, 曾雨洁<sup>1</sup>, 吴涓<sup>1</sup>, 任禛<sup>1</sup>, 唐佐芯<sup>1</sup>, 魏薇<sup>1</sup>, 魏环宇<sup>1</sup>,  
曹振亮<sup>1</sup>, 贾博轩<sup>1</sup>, 王小晓<sup>2</sup>, 罗志斌<sup>2</sup>, 王瑞聪<sup>2</sup>, 夏体渊<sup>1\*</sup>

1 昆明学院 农学与生命科学学院, 云南 昆明 650214

2 云南省烟草公司临沧市公司凤庆分公司, 云南 临沧 675900

钟宇, 牛莉莎, 曾雨洁, 吴涓, 任禛, 唐佐芯, 魏薇, 魏环宇, 曹振亮, 贾博轩, 王小晓, 罗志斌, 王瑞聪, 夏体渊. 魔芋软腐病拮抗菌 GZA12 的分离鉴定及其防病促生作用[J]. 微生物学报, 2024, 64(10): 3916-3931.

ZHONG Yu, NIU Lisha, ZENG Yujie, WU Juan, REN Zhen, TANG Zuoxin, WEI Wei, WEI Huanyu, CAO Zhenliang, JIA Boxuan, WANG Xiaoxiao, LUO Zhibin, WANG Ruicong, XIA Tiyan. An antagonistic bacterial strain GZA12 against soft rot of konjac: isolation, identification, and application in disease prevention and growth promotion[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(10): 3916-3931.

**摘要:**【目的】软腐病是影响魔芋产量和品质的重要病害之一。本研究旨在从魔芋根际土壤中筛选出一株对软腐果胶杆菌(*Pectobacterium aroidearum*)具有拮抗作用的菌株, 从而为花魔芋软腐病害的生物防治提供种质资源。【方法】通过平板对峙法筛选出一株拮抗菌, 并测定该菌株对多种病原真菌的拮抗效果。通过魔芋球茎组织接种、生防和灌根试验验证 GZA12 对魔芋软腐病的防治效果。同时对该菌株的促生能力进行室内测定, 并通过番茄盆栽试验初步验证该菌株促生效果。【结果】筛选出一株具有拮抗能力的菌株 GZA12 并鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), 该菌株对软腐果胶杆菌的抑菌圈直径达 21.33 mm, 对葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和茄病镰刀菌(*F. solani*)的抑菌率分别为 58.16%、47.30%和 54.53%。

资助项目: 云南省地方本科高校基础研究联合专项(202101BA070001-057, 202101BA070001-035); 云南省万人计划青年拔尖人才专项(YNWR-QNBJ-2020-096); 云南兆岭科技有限公司科研项目(ZL20221110008); 云南省科技厅科技人才与平台计划(202405AC350040); 云南省教育厅科学研究基金(2024Y743)

This work was supported by the Joint Program on Basic Research for Local Undergraduate Universities in Yunnan Province (202101BA070001-057, 202101BA070001-035), the Yunnan Provincial Ten Thousand People Program for Young Top Talents (YNWR-QNBJ-2020-096), the Research Project of Yunnan Zhaoling Technology Co., Ltd. (ZL20221110008), Yunnan Provincial Science and Technology Department of Science and Technology Talent and Platform Program (202405AC350040), and the Scientific Research Fund Project of Yunnan Provincial Education Department (2024Y743).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: tiyuanxia@163.com

Received: 2024-04-12; Accepted: 2024-05-29; Published online: 2024-05-30

在魔芋球茎组织接种试验中, 魔芋组织病情指数比单独接种软腐果胶杆菌菌液分别降低了 26.67%、33.33%和 40.00%; 在生防盆栽试验中, 与对照组相比, GZA12 菌悬液处理组病情指数降低了 22.85%, 防效达 53.31%。在灌根试验中, 与清水灌根相比, GZA12 发酵液灌根处理后, 病情指数降低了 4.89%, 防效达 21.57%。室内促生试验表明菌株 GZA12 具有固氮、解磷、产铁载体和产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的能力, 接种 GZA12 菌悬液能促进番茄幼苗生长, 其中高浓度的菌悬液效果更佳。【结论】菌株 GZA12 对魔芋软腐病病原菌有较好的拮抗效果, 并具有促生特性, 有进一步开发利用的潜力。

关键词: 魔芋; 软腐病; 芽孢杆菌; 根际促生细菌; 拮抗; 促生

## An antagonistic bacterial strain GZA12 against soft rot of konjac: isolation, identification, and application in disease prevention and growth promotion

ZHONG Yu<sup>1#</sup>, NIU Lisha<sup>1#</sup>, ZENG Yujie<sup>1</sup>, WU Juan<sup>1</sup>, REN Zhen<sup>1</sup>, TANG Zuoxin<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>1</sup>, WEI Huanyu<sup>1</sup>, CAO Zhenliang<sup>1</sup>, JIA Boxuan<sup>1</sup>, WANG Xiaoxiao<sup>2</sup>, LUO Zhibin<sup>2</sup>, WANG Ruicong<sup>2</sup>, XIA Tiyuan<sup>1\*</sup>

1 College of Agriculture and Life Science, Kunming University, Kunming 650214, Yunnan, China

2 Yunnan Tobacco Company Lincang Fengqing Branch, Lincang 675900, Yunnan, China

**Abstract: [Objective]** Soft rot is one of the major diseases affecting the yield and quality of konjac. This study screened a strain with antagonistic effect on *Pectinobacterium aroidearum* from the rhizosphere soil of konjac, aiming to provide germplasm resources for the biocontrol of soft rot in konjac. **[Methods]** An antagonistic strain was screened by the plate confrontation method, and its antagonistic effects on pathogenic fungi were measured. The control effect of GZA12 on soft rot in konjac was examined by the inoculation in konjac corm tissue, pot experiment, and root irrigation. The growth-promoting effect of this strain was tested indoors and preliminarily verified by tomato pot experiments. **[Results]** A strain GZA12 with antagonistic effect was screened out and identified as *Bacillus velezensis*. This strain showed the inhibition zone diameter of 21.33 mm against *P. aroidearum* and the inhibition rates of 58.16%, 47.30%, and 54.53% against *Botryosphaeria dothidea*, *Fusarium oxysporum*, and *F. solani*, respectively. Inoculation of GZA12 in konjac corm tissue decreased the disease index by 26.67%, 33.33%, and 40.00%, respectively, compared with the inoculation of *B. dothidea* alone. In the pot experiment, the treatment with GZA12 suspension decreased the disease index by 22.85% compared with the control group and reached the control effect of 53.31%. The results from the root irrigation experiment showed that compared with water irrigation, irrigation with GZA12 fermentation broth reduced the disease index by 4.89% and reached the control effect of 21.57%. Strain GZA12 had the ability to fix nitrogen, solubilize phosphorus, and produce siderophores and

indole-3-acetic acid (IAA). Inoculation with GZA12 suspension promoted the growth of tomato seedlings in a concentration-dependent manner. **[Conclusion]** Strain GZA12 can inhibit the pathogen causing soft rot and promote the growth of konjac, demonstrating the potential for further development and utilization.

**Keywords:** *Amorphophallus konjac*; soft rot; *Bacillus* sp.; plant growth-promoting rhizobacteria; antagonism; growth promotion

魔芋(*Amorphophallus konjac*)是天南星科魔芋属多年生草本植物,能大量合成葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM),其因超强的增稠成膜性被广泛应用于食品、保健品、医药、化妆品及化工等行业,具有广阔的发展前景<sup>[1-2]</sup>。魔芋广泛种植于我国云南、四川、陕西等地,魔芋产业是我国中西部地区农业产业结构调整、农民脱贫致富的重要支柱产业之一<sup>[3]</sup>。

魔芋软腐病主要是由胡萝卜果胶杆菌胡萝卜软腐亚种(*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*)、软腐果胶杆菌(*P. aroidearum*)等引起的细菌病害<sup>[4-6]</sup>,在魔芋生产中普遍发生,造成了严重的经济损失和生态破坏。因此,软腐病常被称为魔芋的“癌症”,软腐病的高发性也成为限制魔芋产业发展的主要因素<sup>[7]</sup>。目前魔芋软腐病防治的研究主要集中在抗病品种选育和基因工程、化学药剂防治、生物防治等方面,其中,生物防治因其成本低和安全高效等优点,获得了人们的广泛关注。魔芋软腐病生物防治现阶段研究较多的是生防细菌(如溶杆菌<sup>[8-10]</sup>、芽孢杆菌<sup>[11-13]</sup>)和生防放线菌(如链霉菌<sup>[14-15]</sup>)对魔芋软腐病的抑制作用,以及植物提取物(如苦楝树叶片)和种子的水提物对胡萝卜软腐欧文氏菌胡萝卜亚种抗菌活性作用<sup>[16]</sup>。由于非生物和生物因素的影响,现有的生物制剂或生物有机肥在实际应用中效果不稳定,在实际生产应用中可供选择的抗软腐病的微生物菌剂种类还是比较单一,对拮抗微生物的筛选工作有待进一步加强<sup>[7]</sup>。此

外,目前的研究主要集中在这些生防菌对魔芋软腐病原菌的抑制效果上,有关这些菌株的促生作用研究较少,限制了其在实际生产中的广泛应用。贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)广泛存在于植物组织、土壤等自然环境中,是近年来研究比较多的一个新种。崔双等研究表明贝莱斯芽孢杆菌对 *P. aroidearum* 引起的魔芋软腐病具有一定的温室防效,在防治魔芋软腐病方面具有应用潜力<sup>[5]</sup>。然而,贝莱斯芽孢杆菌在魔芋软腐病防治及其促生效应方面未见系统的研究。

本研究以引起魔芋软腐病病害的主要致病菌软腐果胶杆菌(*P. aroidearum*)为靶菌,从健康的魔芋植株根际土壤中筛选拮抗菌,通过平板对峙和魔芋离体组织接种试验测定了拮抗菌的抑菌效果,证实了其对软腐果胶杆菌的拮抗作用,并通过盆栽试验研究了拮抗菌对魔芋软腐病的温室防效;同时,检测了拮抗菌的促生特性及其对幼苗生长的影响,研究了拮抗菌的促生潜力,以期魔芋生产提供优质的生防菌资源。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

供试魔芋材料:花魔芋种球,云南景天魔芋农业有限公司。

生防菌株:从魔芋、烟草、番茄等植物根际土壤中分离、纯化和筛选获得。

供试病原菌:软腐果胶杆菌(*P. aroidearum*)、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、尖孢镰刀

菌(*Fusarium oxysporum*)、茄病镰刀菌(*F. solani*), 由昆明学院农学与生命科学学院植物保护教研室提供。

培养基和试剂: LB 固体培养基、LB 液体培养基和 CAS 固体培养基购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司、阿须贝固体培养基(Ashby)参见林标声等<sup>[17]</sup>的文献配制, 无机磷固体培养基参见赵君等<sup>[18]</sup>的文献配制, Salkowski 试剂参见黄臣等<sup>[19]</sup>方法配制, MKB 培养基和 CAS 检测液参见热孜亚·吐尔逊<sup>[20]</sup>方法配制。

菌株发酵液的制备: 将菌株接种于已灭菌的 LB 液体培养基中, 28 °C、120 r/min 摇床振荡 24 h 制成菌株发酵液。

菌悬液的制备: 将菌株发酵液在离心机中 12 000 r/min 离心 10 min 后去除上清, 加入无菌水重悬制成菌悬液。

## 1.2 根际细菌的分离和筛选

植物根际土样采用稀释涂布平板法<sup>[21]</sup>分离。取 2 g 土样加 18 g 无菌水, 28 °C、120 r/min 摇床振荡 20 min, 在超声仪中超声 1 min, 静置后取上清液分别稀释成  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  3 个梯度, 每个梯度各取 100  $\mu\text{L}$  均匀涂布于 LB 固体培养基上, 每个处理 3 次重复, 在 28 °C 恒温下倒置培养 24 h。根据菌落形态、大小、颜色及湿润度的不同挑取单菌落接种于 LB 培养基中培养纯化, 保存于 30% 甘油中, 放置于 -80 °C 的恒温冰箱保存备用。

采用平板对峙的方法对分离出的细菌进行拮抗效果的测定, 吸取软腐病病原菌菌悬液 150  $\mu\text{L}$ , 加入到装有 150 mL 已灭好菌、温度 50 °C 的 LB 琼脂培养基中, 摇匀倒入无菌培养皿中, 冷却成平板。在平板中接种分离出的细菌, 初步筛选出对软腐病菌有拮抗作用的菌株, 用于后续研究<sup>[21]</sup>。对初筛筛选出的菌株, 进行软腐病菌的拮抗效果的复筛, 并采用十字交叉法测量抑菌圈大小<sup>[22]</sup>。

## 1.3 目标菌株的鉴定

### 1.3.1 形态鉴定

将目标菌株接种于 LB 固体培养基中, 28 °C 恒温培养 24 h, 观察菌落的形状、大小、颜色及湿润度等。参考《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[23]</sup>进行革兰氏染色。

### 1.3.2 16S rRNA 基因序列分析鉴定

将菌株送到深圳华大基因股份有限公司进行测序, 引物使用 16S-27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 16S-1492R (5'-TACGGCTACCTGTTACGACTT-3')。测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 筛选出相似性高的菌株序列, 采用 MEGA 7.0.26 软件构建系统发育树。

### 1.3.3 管家基因 *gyrA* 序列分析鉴定

将菌株送到深圳华大基因股份有限公司进行测序, 引物使用 42F (5'-CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT-3') 和 1066R (5'-CAAGGTAATGCTCCAGGCATTGCT-3')。测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 筛选出相似性高的菌株序列, 采用 MEGA 7.0.26 软件构建系统发育树。

## 1.4 目标菌株对不同植物病原菌的拮抗作用检测

采用平板对峙法测定目标菌株对病原真菌的抑制作用。将保存的病原真菌接种到 PDA 平板上进行活化。目标菌株接种于 LB 固体培养基上活化。将目标菌株和病原真菌同时接种在 PDA 平板上, 平板中心接种病原真菌, 菌饼直径为 6 mm, 距离中心 2.5 cm 处等距离用无菌牙签点接目标菌株, 每平板 3 个重复。28 °C 培养, 根据真菌的生长情况, 测定目标菌株对病原菌的抑菌率<sup>[24]</sup>, 见公式(1)。

$$\text{抑菌率} = \frac{(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径})}{\text{对照菌落直径}} \times 100\% \quad (1)$$

## 1.5 目标菌株的生防作用评价

### 1.5.1 目标菌株拮抗魔芋软腐病病原菌的体外防效试验

目标菌株拮抗魔芋软腐病病原菌的体外防

效试验使用魔芋球茎组织进行<sup>[25]</sup>, 取健康花魔芋球茎, 切成 2 cm×2 cm×1.5 cm (长×宽×高)的魔芋球茎组织, 用 75%乙醇和次氯酸钠进行表面消毒后, 再用无菌水清洗 3–4 次, 在无菌环境下, 于组织表面用直径为 6 mm 无菌打孔器打孔, 孔洞用于放置菌液, 随后将其放入有无菌滤纸的培养皿中, A<sub>1</sub>组(无菌水)加入 20 μL 无菌水, A<sub>2</sub>组(软腐病菌菌悬液)加入软腐病菌菌悬液 20 μL, A<sub>3</sub>组(软腐病菌菌悬液:目标菌株菌悬液=1:1)、A<sub>4</sub>组(软腐病菌菌悬液:目标菌株菌悬液=1:2)和 A<sub>5</sub>组(软腐病菌菌悬液:目标菌株菌悬液=1:3)分别加入病原菌菌悬液与目标菌株菌悬液比例分别为 1:1、1:2、1:3 的混合液各 20 μL; 期间用无菌水保持滤纸湿润, 放置 7 d 后观察发病情况并统计病情指数和防效<sup>[15]</sup>, 见公式(2)和(3)。

分级标准: 0 级: 无变色; 1 级: 变色严重程度 <20%; 2 级: 变色严重程度 20%–50%; 3 级: 变色严重程度 50%–80%; 4 级: 变色严重程度 >80%。

病情指数 =  $[\sum(\text{各级感染数} \times \text{相应级数})] / (\text{调查总数} \times \text{最高级数}) \times 100\%$  (2)

防效 =  $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$  (3)

### 1.5.2 目标菌株对魔芋软腐病的生防试验

魔芋种植基质采用灭菌土壤:有机质土壤:蛭石=1:2:2。将拇指大小的魔芋种球种植于底径 7.6 cm、高 9 cm、内口径 10 cm 的灭菌塑料花盆中, 正常水肥管理。待种植的魔芋叶片完全展开后开始试验<sup>[26]</sup>。选用生长状况大致相同的健康魔芋植株, 每盆一株。采用注射器将 10 μL 的菌悬液接种于魔芋茎的顶端, 共设置两个组, B<sub>1</sub>组(接种软腐病菌菌悬液)、B<sub>2</sub>组(接种软腐病菌菌悬液和拮抗菌菌悬液 1:1 混合液), 每组 10 盆。试验期间正常水肥管理, 于处理后 30 d 统计发病情况, 计算病情指数及相对防效, 见公式(2)和(3)分级标准<sup>[27]</sup>: 0 级, 全株正常, 无发病部位;

1 级, 1/3 叶片变黑腐烂, 叶柄基部无腐烂下垂; 2 级, 1/3–1/2 的叶片变黑腐烂, 叶柄基部无腐烂下垂; 3 级, 超过 1/2 的叶片变黑腐烂, 叶柄基部腐烂干枯下垂; 4 级, 茎秆腐烂变黑, 茎秆弯折。5 级, 球茎腐烂变黑, 植株倒伏, 整株腐烂干枯。

### 1.5.3 目标菌株对魔芋软腐病的灌根试验

魔芋种植方法同 1.5.2。待魔芋叶片抽出时选用生长状况大致相同的健康植株共 30 盆进行灌根试验。其中 C<sub>1</sub>组(清水) 10 盆, C<sub>2</sub>组(LB 液体培养基) 10 盆, C<sub>3</sub>组(GZA12 发酵液) 10 盆。每 7 d 灌 1 次, 共灌 5 次。7 d 后采用注射器将 10 μL 的软腐病菌菌悬液接种于魔芋茎的顶端, 试验期间每天观察发病情况并进行正常的水肥管理, 1 个月后统计发病情况并计算病情指数及相对防效。分级标准、病情指数和防效同 1.5.2。

## 1.6 目标菌株的生长和促生特性分析

### 1.6.1 生长曲线

将拮抗菌接种于 LB 培养基中, 28 °C、120 r/min 摇床培养过夜, 再以 1% 的体积分数接种于新的 LB 培养基中, 28 °C、120 r/min 摇床培养, 每隔 1 h 取样检测 OD<sub>600</sub> 值, 每个处理 3 次重复, 以 OD<sub>600</sub> 值为纵坐标, 时间为横坐标, 绘制生长曲线。

### 1.6.2 菌株固氮能力测定

取目标菌株的菌悬液 10 μL 滴在阿须贝固体培养基平板中央, 28 °C 倒置培养 5 d, 观察菌落是否可以正常生长。

### 1.6.3 菌株溶磷能力测定

在无机磷固体培养基上用直径(*d*)为 6 mm 的打孔器打孔, 将目标菌株菌悬液滴在孔洞中, 27 °C 培养 5–7 d, 观察透明圈的形成, 并测量菌株测量溶磷圈的直径(*D*), 计算溶磷指数  $D/d$ <sup>[28]</sup>。

### 1.6.4 菌株产铁载体能力测定

产铁载体能力的定性测定使用 CAS 固体培养基, 定量测定参考热孜亚·吐尔逊<sup>[20]</sup>的方法。

### 1.6.5 菌株产 IAA 能力测定

产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)能力定性测定采用 Salkowski 试剂比色法<sup>[29]</sup>。定量测定: 分别配制出 0、10、20、30、40、50 mg/L 的 IAA 标准溶液, 在  $OD_{530}$  处测定标准溶液的吸光值。以  $OD_{530}$  值为纵坐标, 以 IAA 浓度为横坐标, 绘制出生长素的标准曲线, 并根据标准曲线查看目标菌株的 IAA 产量。

### 1.6.6 目标菌株对幼苗生长的影响

花魔芋通常用块茎繁殖, 难以直接用魔芋种子及幼苗检测菌株发酵液的促生活性<sup>[30]</sup>, 因此本研究以番茄为指示作物。将目标菌株在 LB 固体培养基上过夜培养后, 转接至无菌的 LB 液体培养基中, 28 °C、120 r/min 培养 48 h, 将发酵液在 12 000 r/min 离心 10 min 去除上清, 用无菌水将菌体分别重悬至  $1 \times 10^7$  CFU/mL 和  $1 \times 10^8$  CFU/mL。以灭菌土壤作为栽培基质, 将灭菌土与有机土按 1:1 的比例混合, 将露白的番茄种子栽种于育苗盘中, 于 25 °C 温室内培养, 待子叶出土后用菌悬液灌根(每 7 d 1 次, 灌 2 次), 每 5 个 1 组, 每组 3 个重复。D<sub>1</sub> 组每次 20 mL 蒸馏水, D<sub>2</sub> 组( $1 \times 10^7$  CFU/mL)和 D<sub>3</sub> 组( $1 \times 10^8$  CFU/mL) 每次 20 mL 菌悬液。20 d 后取出番茄幼苗测量并记录其形态指标。

## 2 结果与分析

### 2.1 魔芋软腐病拮抗细菌分离与鉴定结果

从不同植物根际土壤中采集的土样进行平板划线分离培养、纯化, 共获得 59 株细菌菌株。经初筛和复筛后筛选出 1 株对魔芋软腐病有明显抑制作用的菌株, 抑菌圈直径达  $(21.33 \pm 2.18)$  mm (图 1A), 该菌株分离自魔芋根际土壤, 编号为 GZA12。该菌株在 LB 平板上呈现乳白色, 不透明, 表面有褶皱(图 1B), 经过革兰氏染色后发现为紫红色(图 1C), 为革兰氏阴性。

对菌株 GZA12 的 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对发现, 16S rRNA 基因大小为 1 382 bp, 与贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) FZB42 (NR\_075\_005.2) 序列相似性达 99.86%, 即表明该菌与贝莱斯芽孢杆菌最为相似, 初步判断菌株 GZA12 为贝莱斯芽孢杆菌。随后使用 MEGA 7.0.26 软件构建系统发育树(图 2)。

对菌株 GZA12 的 *gyrA* 序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对发现, *gyrA* 基因大小为 943 bp, 与贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) isolate TLi20 和 (*B. velezensis*) isolate SXL34 序列相似性达 100%, 即判断菌株 GZA12 为贝莱斯芽孢杆菌, 并使用 MEGA 7.0.26 软件构建系统发育树(图 3)。

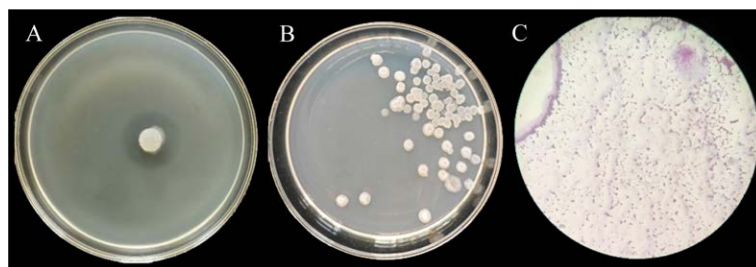


图 1 菌株 GZA12 对魔芋软腐病的抑菌作用和形态特征

Figure 1 Antagonistic effect of GZA12 and morphological identification. A: Antagonistic effect of strain GZA12 on soft rot of konjac. B: Colony morphology. C: Gram staining.

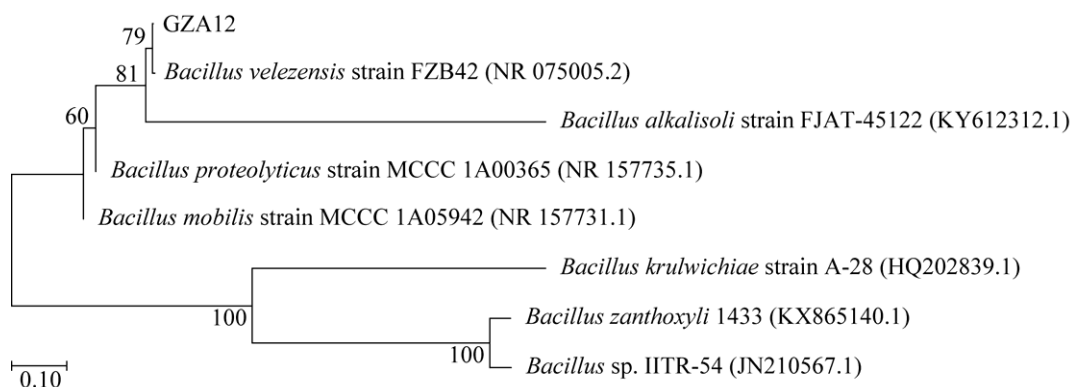


图 2 菌株 GZA12 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree constructed from the 16S rRNA gene sequences of strain GZA12.

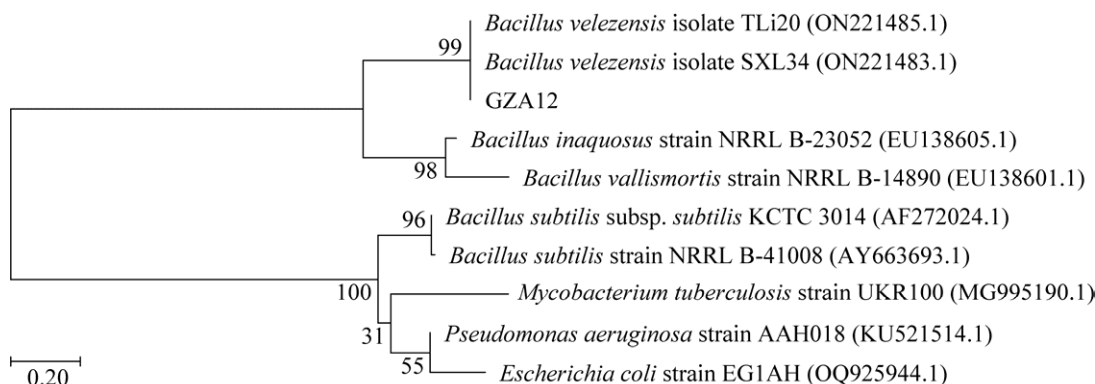


图 3 菌株 GZA12 基于管家基因 *gyrA* 序列构建的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree constructed from the *gyrA* gene sequences of strain GZA12.

## 2.2 菌株 GZA12 对不同植物病原菌的拮抗作用

将 GZA12 菌与多种病原菌进行对峙培养(图 4), 在对峙培养 7 d 后, GZA12 对葡萄座腔菌、尖孢镰刀菌和茄病镰刀菌的生长均有抑制作用, 在对峙培养过程中, 培养皿中均出现了明显的抑菌带, 对葡萄座腔菌抑菌率达 58.16%, 对尖孢镰刀菌抑菌率达 47.30%, 对茄病镰刀菌抑菌率达 54.53%, 说明菌株 GZA12 对多种植物病原真菌都具有潜在的生防效果。

## 2.3 菌株 GZA12 生防能力评价结果

### 2.3.1 菌株 GZA12 对魔芋软腐病病原菌的体外防效

接种菌株 GZA12 对魔芋球茎组织软腐病发病状况的影响, 接种 7 d 后观察魔芋球茎组织发

病状况(图 5 和表 1), 结果表明, A<sub>1</sub> 组的魔芋球茎组织无变色, 发病程度为 0 级; A<sub>2</sub> 组魔芋球茎组织表面变色程度超 80%, 发病等级为 4 级, 病情指数为 76.67%; A<sub>3</sub> 组魔芋球茎组织表面变色程度在 50%–80%, 发病等级为 3 级, 病情指数为 50.00%, 相比 A<sub>2</sub> 组病情指数降低了 26.67%, 而相对防效达 34.79%; A<sub>4</sub> 组魔芋球茎组织表面变色程度 < 20%, 发病等级为 2 级, 病情指数为 43.34%, 相比 A<sub>2</sub> 组病情指数降低了 33.33%、而相对防效达 43.47%; A<sub>5</sub> 组魔芋球茎组织表面变色程度 < 20%, 发病等级为 1 级, 病情指数为 36.67%, 相比 A<sub>2</sub> 组病情指数降低了 40.00%, 而相对防效达 52.17%。试验结果表明, 菌株 GZA12 对软腐病有显著的拮抗作用, 并且浓度越高防效越好。



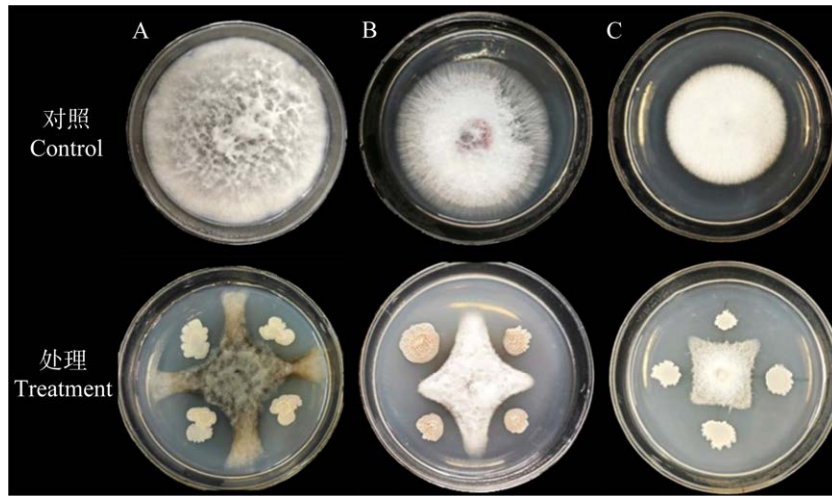


图 4 菌株 GZA12 对不同植物病原真菌的抑菌作用

Figure 4 Strain GZA12 conducted plate antagonism tests against different pathogens. A: *Botryosphaeria dothidea*. B: *Fusarium oxysporum*. C: *Fusarium solani*.



图 5 魔芋块接种 7 d 后魔芋球茎组织发病情况 A<sub>1</sub>: 无菌水; A<sub>2</sub>: 软腐病菌菌悬液; A<sub>3</sub>-A<sub>5</sub>: 软腐病菌菌悬液:GZA12 菌悬液分别为 1:1、1:2 和 1:3

Figure 5 Konjac corm tissue soft rot severity 7 days after inoculation. A<sub>1</sub>: Sterile water; A<sub>2</sub>: Soft rot pathogen solution; A<sub>3</sub>-A<sub>5</sub>: 1:1, 1:2, and 1:3 mixture of soft rot solution and GZA12 solution, respectively.

表 1 魔芋球茎组织病情指数统计

Table 1 Disease index statistics of konjac corm tissue

处理 Treatment	病情指数 Disease index (%)	发病等级 Grade of incidence
A <sub>1</sub>	0.00±0.00d	0
A <sub>2</sub>	76.67±3.34a	4
A <sub>3</sub>	50.00±3.33b	3
A <sub>4</sub>	43.34±3.35bc	2
A <sub>5</sub>	36.67±3.34c	1

A<sub>1</sub>: Sterile water; A<sub>2</sub>: Soft rot pathogen solution; A<sub>3</sub>-A<sub>5</sub>: 1:1, 1:2, and 1:3 mixture of soft rot solution and GZA12 solution, respectively. Data are means±SE; a-d: Lowercase letters indicate significant differences between groups at the 0.05 level.

### 2.3.2 菌株 GZA12 对魔芋软腐病的生防效果

生防试验表明菌株 GZA12 对魔芋软腐病具有一定的防治效果(图 6), B<sub>1</sub> 组病情指数为 65.71%, B<sub>2</sub> 组病情指数为 42.86%, 相对 B<sub>1</sub> 组病

情指数降低了 22.85%, 而防效达 53.31%, 并且相对 B<sub>1</sub> 组的魔芋叶片和茎秆, B<sub>2</sub> 组的叶片不论是发病数量还是叶片发病面积都明显降低, B<sub>2</sub> 组的魔芋茎秆发病程度也显著降低。

### 2.3.3 菌株 GZA12 对魔芋软腐病的灌根试验

灌根试验表明菌株 GZA12 对魔芋软腐病具有一定的防治效果(图 7 和表 2), C<sub>1</sub> 组病情指数为 22.67%, C<sub>2</sub> 组病情指数为 22.66%, C<sub>3</sub> 组病情指数为 17.78%。C<sub>1</sub> 和 C<sub>2</sub> 组病情指数相差不大, 推测 LB 培养基对该试验结果几乎无影响。C<sub>3</sub> 组相对 C<sub>1</sub> 组病情指数降低了 4.89%, 而防效达 21.57%, 证明菌株 GZA12 对魔芋软腐病具有生防效果。





图 6 魔芋盆栽拮抗试验

Figure 6 Biocontrol experiments of strain GZA12 against soft rot of konjac. A and B: Effect of plant infection. C: Effect of leaf infection. D: Effect of stem infection. E: Effect of corm tissue infection. B<sub>1</sub>: Soft rot pathogen solution; B<sub>2</sub>: 1:1 mixture of soft rot solution and GZA12 solution.

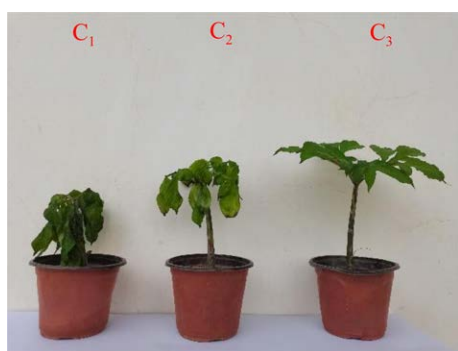


图 7 魔芋温室防病试验 C<sub>1</sub>: 清水; C<sub>2</sub>: LB 液体培养基; C<sub>3</sub>: GZA12 发酵液

Figure 7 Konjac root irrigation experiment. C<sub>1</sub>: Clear water; C<sub>2</sub>: LB liquid culture medium; C<sub>3</sub>: GZA12 fermentation broth.

表 2 魔芋温室防病试验病情指数统计

Table 2 Statistics of disease index in konjac root irrigation experiment

处理	病情指数	防效
Treatment	Disease index (%)	Control efficacy (%)
C <sub>1</sub>	22.67±1.76a	—
C <sub>2</sub>	22.66±1.15a	—
C <sub>3</sub>	17.78±0.39b	21.57

C<sub>1</sub>: Clear water; C<sub>2</sub>: LB liquid culture medium; C<sub>3</sub>: GZA12 fermentation broth. —: No protection effect. Data are means±SE; a, b: Lowercase letters indicate significant differences between groups at the 0.05 level.

## 2.4 菌株 GZA12 的生长与促生特性

### 2.4.1 生长曲线

对菌株 GZA12 生长曲线测定结果表明, 1–5 h 菌株 GZA12 生长缓慢; 5–8 h 进入菌株的对数生长期, 活菌数量快速增加; 8 h 后菌株生长速度逐渐变缓(图 8)。

### 2.4.2 菌株 GZA12 的固氮、溶磷、分泌铁载体和 IAA 能力检测结果

菌株 GZA12 能在阿须贝固氮培养基上正常生长, 说明该菌株具有固氮的能力(图 9A)。在无机磷固体培养基上, 出现溶磷圈, 说明具有解磷能力(图 9B), 在无机磷培养基上溶磷圈为

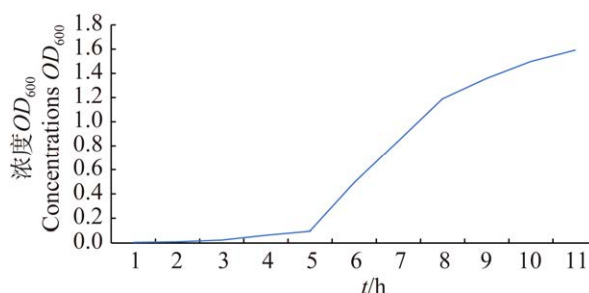


图 8 菌株 GZA12 生长曲线

Figure 8 GZA12 growth curve.

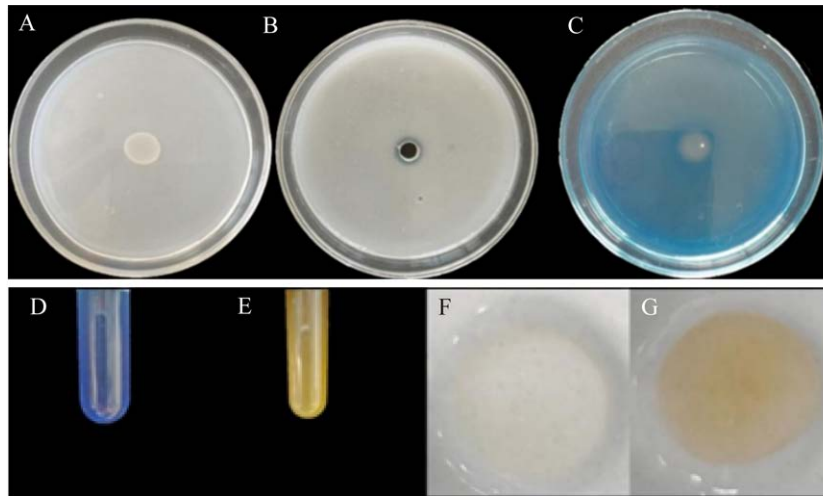


图9 菌株 GZA12 促生特性 A: 固氮能力检测. B: 解无机磷能力检测. C: 载铁能力定性检测. D、E: 产载铁能力定量测定, 对照组(D)和试验组(E). F、G: 产 IAA 能力定性检测, 对照组(F)和试验组(G)

Figure 9 Characterization of growth promoting properties of GZA12 strain. A: Nitrogen fixation capacity assay. B: Determination of inorganic phosphorus solubilization capacity. C: Qualitative detection of siderophore production capacity by chrome azurol S (CAS) medium. D, E: Quantitative determination of siderophore production capacity in control (D) and experimental (E) groups. F, G: Qualitative detection of Indole-3-acetic acid (IAA) production capacity in control (F) and experimental (G) groups.

( $11.67 \pm 0.33$ ) mm, 溶磷指数为( $1.95 \pm 0.06$ )。在 CAS 固体培养基上会产生橙黄色晕圈(图 9C), 说明菌株 GZA12 具有产生铁载体的能力, 经定量测定(图 9D、图 9E)其  $A/A_r$  值为( $0.23 \pm 0.02$ )。经 IAA 定性测定, 检测液变为粉红色(图 9F、图 9G), 说明菌株 GZA12 具有产 IAA 的能力, 经 IAA 定量检测, 根据 IAA 标准曲线计算出其产 IAA 的浓度达( $38.50 \pm 0.72$ ) mg/L。

#### 2.4.3 菌株 GZA12 对番茄幼苗生长的促进作用

温室条件下, GZA12 菌液灌根能够明显促进番茄幼苗的生长(图 10 和表 3), 与对照组相比, D<sub>2</sub> 组( $1 \times 10^7$  CFU/mL GZA12 菌悬液处理)株高增加了 12.98%, 根长增加了 0.57%, 茎粗增加了 0.48%。D<sub>3</sub> 组( $1 \times 10^8$  CFU/mL GZA12 菌悬液处理)株高增加了 14.25%, 根长增加了 8.28%, 茎粗增加了 0.96%。上述结果表明该菌株对番茄幼苗具有促生作用。



图10 番茄幼苗促生试验 D<sub>1</sub>: 对照组, 用清水处理的番茄幼苗; D<sub>2</sub> 和 D<sub>3</sub>: 分别用浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/mL 和  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的 GZA12 菌悬液处理番茄幼苗

Figure 10 Effect of GZA12 strain on tomato growth promotion. D<sub>1</sub>: Control group, tomato seedlings treated with clean water; D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>: Tomato seedlings treated with the GZA12 suspensions with  $1 \times 10^7$  CFU/mL and  $1 \times 10^8$  CFU/mL, respectively.

表3 番茄促生结果统计

Table 3 Statistics of tomato growth promotion results

生长指标	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
Growth indicator			
株长	8.63±0.09b	9.75±0.10a	9.86±0.14a
Plant length (cm)			
根长	12.32±0.40a	12.39±0.39a	13.34±0.40a
Root length (cm)			
茎粗	2.09±0.00b	2.10±0.00a	2.11±0.00a
Stem thickness (mm)			

D<sub>1</sub>: Control group, tomato seedlings treated with clean water; D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> groups: Tomato seedlings treated with the GZA12 suspensions with  $1 \times 10^7$  CFU/mL and  $1 \times 10^8$  CFU/mL, respectively. Data are means±SE; a, b: Lowercase letters indicate significant differences between groups at the 0.05 level.

### 3 讨论

魔芋根系和根系共生土壤中微生物形成的微生态系统是影响软腐病发生和调控生物防治效果的重要因素<sup>[14]</sup>。研究表明生活在植物根际的植物根际促生细菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR), 如芽孢杆菌, 不仅能够促进植物生长, 而且可以产生抗菌化合物, 抑制植物病原菌的生长, 从而降低植物发病率。例如, Hamaoka 等<sup>[31]</sup>分离出的贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)对葡萄座腔菌(*B. dothidea*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、茄病镰刀菌(*F. solani*)的菌丝生长有明显的抑制作用。Dong 等<sup>[32]</sup>分离出的西姆芽孢杆菌(*B. siamensis*) YB-1631 对禾谷镰刀菌(*F. pseudograminearum*)有明显的拮抗效果, 并能促进小麦生长发育。因此, 以魔芋根际土壤优良生防菌株为基础的魔芋软腐病生物防治或成为化学杀菌剂的可行替代品, 对魔芋生产的可持续发展具有重要意义。

本研究表明, GZA12 菌株可以有效减轻魔芋软腐病的发病情况, 在魔芋球茎组织试验中, A<sub>3</sub>组相对 A<sub>2</sub>组防效达 34.79%, A<sub>4</sub>组相对 A<sub>2</sub>组

防效达 43.47%, A<sub>5</sub>组相对 A<sub>2</sub>组防效达 52.17%。即生防菌液浓度越高, 对魔芋软腐病的生防效果越好, 这与代雪凤等<sup>[15]</sup>研究发现菌株 F188 对软腐病菌的拮抗试验研究结果一致。在魔芋植株生防试验中 B<sub>2</sub>组相对 B<sub>1</sub>组防效达 53.31%, 接近吴亚鹏等<sup>[33]</sup>研究的溶杆菌属(*Lysobacter*)对魔芋软腐病的生防效果。在魔芋灌根试验中, C<sub>3</sub>组相对 C<sub>1</sub>组病情指数降低了 4.89%, 而防效达 21.57%, 低于同样使用灌根法的张丽辉等<sup>[34]</sup>的研究, 也低于王永吉等<sup>[35]</sup>和崔双等<sup>[5]</sup>对魔芋软腐病防效的研究, 但这些原因都可能与处理方式、灌根和接种的菌液浓度等因素相关, 后续应开展进一步的试验。此外, GZA12 菌株对植物病原菌具有广谱的拮抗活性, 显示出良好的生防潜力, 邓晓旭等<sup>[36]</sup>筛选得到的贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*) YB-1476 对腐皮镰刀菌(*F. solani*)和尖孢镰刀菌(*F. oxysporum* f. sp. *niveum*)具有抑菌效果; 谢海鹏等<sup>[37]</sup>筛选到的贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*) SD13 对青瓜枯萎病(*F. oxysporum*)、辣椒枯萎病(*F. oxysporum*)、甜瓜枯萎病、苦瓜枯萎病、豇豆叶斑病(*Alternaria alternata*)、烟草疫霉病(*Phytophthora nicotianae*)具有抑菌效果; 何亚芳等<sup>[38]</sup>的研究发现, 贝莱斯芽孢杆菌 JS6-1 对多种病原真菌也具有抑菌效果。然而本研究发现 GZA12 对葡萄座腔菌(*B. dothidea*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和茄病镰刀菌(*F. solani*)具有抑菌效果, 表明贝莱斯芽孢杆菌具有对病原真菌广谱的拮抗效果, 同时对贝莱斯芽孢杆菌的拮抗谱进行了补充, 即 GZA12 对葡萄座腔菌也具有拮抗效果。然而, 其对软腐果胶杆菌引起的魔芋软腐病的大田防治效果还有待进一步的试验验证。

芽孢杆菌作为一类 PGPR, 能够分泌吡啶乙酸促进植物生长发育<sup>[39]</sup>, 或通过解钾、溶磷、载铁功能将土壤中不能被植物直接吸收利用的钾元素、磷元素和铁元素转化为植物可以直接利

用的状态, 促进植物对土壤矿质元素的吸收<sup>[40-41]</sup>。其中, PGPR 的解钾、溶磷功能能够有效克服化学肥料频繁使用带来的土壤板结、环境污染等问题, 以根际促生菌为主要功能成分的微生物肥料获得了人们的广泛关注。Balderas-Ruiz 等<sup>[42]</sup>、Tian 等<sup>[43]</sup>和 Mosela 等<sup>[44]</sup>研究表明, 贝莱斯芽孢杆菌 83、Bv-25 和 Ag75 分别能够促进玉米、黄瓜和大豆的生长, 与对照相比, 促生效果分别为 12.0%、14.4%和 26.5%。本研究分析了 GZA12 菌株的促生特性, 并以番茄为指示植物, 研究了 GZA12 菌株对幼苗生长的促进作用, 结果表明, GZA12 菌株具有固氮、溶磷、产 IAA 和产铁载体的能力, 其溶磷指数为 $(1.95 \pm 0.06)$ , 高于朱颖等<sup>[45]</sup>从红三叶根际分离的菌株的溶磷指数(为 1.13–1.62), 也优于普凤雅等<sup>[46]</sup>从薏苡的根、茎、叶中分离筛选出的 R5 的溶磷指数(为  $1.89 \pm 0.15$ ); IAA 的浓度为 $(38.50 \pm 0.72)$  mg/L, 高于王恩启等<sup>[47]</sup>从番茄根际土壤中筛选获得菌株的产 IAA 能力(为  $5.35 \mu\text{g/mL}$ ), 也大于周益帆等<sup>[48]</sup>从选青菜根际土壤中筛选出的 IAA 合成能力(为  $30.05 \mu\text{g/mL}$ ); 产铁载体  $A/A_r$  值为 $(0.23 \pm 0.02)$ , 优于杨华等<sup>[49]</sup>从水稻中分离的 C10-19 的产铁载体水平,  $A/A_r$  值为 $(0.07 \pm 0.03)$ , 也高于 S11-11 的产铁载体水平 $(0.18 \pm 0.06)$ 。同时, GZA12 菌株菌悬液能够有效促进番茄幼苗的生长, 使用  $1 \times 10^7$  CFU/mL 和  $1 \times 10^8$  CFU/mL 浓度的 GZA12 菌悬液处理番茄幼苗与对照相比, 株长增加了 1.12 cm 和 1.23 cm、根长增加了 0.07 cm 和 1.02 cm、茎粗增加了 0.01 mm 和 0.02 mm。经 GZA12 菌悬液处理后的番茄幼苗株高、茎粗和根长的增加量低于曹宇等<sup>[50]</sup>研究发现的 HNU24 菌液灌根处理后番茄株高(4.06 cm)、茎围(0.47 cm)、根系长度(0.96 cm)的增加量; 也低于王琦等<sup>[51]</sup>研究发现的菌株 YN-2A 菌悬液灌根处理后番茄株高(5.90 cm), 茎粗(0.07 cm)的增加

量, 但这可能与处理方式、灌根的菌液浓度等因素相关, 本研究表明菌株 GZA12 具有非常优秀的促生特性, 后续有待开展进一步试验进行深入研究。

综上所述, GZA12 菌株具有拮抗多种植物病原菌的活性, 能够有效拮抗魔芋软腐病病原菌生长, 减轻魔芋软腐病的发病状况, 并且表现出良好的促生特性, 具有后续开发应用的潜力。后续将围绕该菌株对魔芋软腐病的田间应用和生防机制开展进一步研究。

## 4 结论

本研究从魔芋根际土壤中分离出一株对魔芋软腐病病原菌具有拮抗作用的根际促生细菌 GZA12, 经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌。该菌株对魔芋软腐病具有显著防治效果并且具有良好的促生特性和拮抗多种植物病原菌的活性, 具备良好的开发应用潜力。本研究为魔芋软腐病防治提供了一种有效的生防菌, 为魔芋软腐病生物防治储备了优良的菌种资源。

## 参考文献

- [1] 崔双. 魔芋软腐病病原菌的鉴定、生物学特性及贝莱斯芽孢杆菌的防效[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2021.  
CUI S. Identification and biological characteristics of pathogenic bacteria of the konjac soft rot and control effect of *Bacillus velezensis*[D]. Haikou: Master's Thesis of Hainan University, 2021 (in Chinese).
- [2] DEVARAJ RD, REDDY CK, XU BJ. Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: a critical review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 273-281.
- [3] 卢美欢, 李利军, 马英辉, 王晓兵, 郭邦利, 王晓娥. 魔芋软腐病病原菌 TaqMan 荧光探针 PCR 技术的建立及应用[J]. 植物保护学报, 2019, 46(5): 1100-1109.  
LU MH, LI LJ, MA YH, WANG XB, GUO BL, WANG XE. Establishment and application of TaqMan fluorescence probe real-time PCR detection for the

- pathogen of konjac soft rot[J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46(5): 1100-1109 (in Chinese).
- [4] 张龙芝, 张金军, 郑清芳, 张艳, 阮佳, 王梦, 陈敬民, 白玉, 吴涛, 何斐. 珠芽黄魔芋软腐病病原菌分离与鉴定[J]. *陕西农业科学*, 2023, 69(8): 78-81, 90. ZHANG LZ, ZHANG JJ, ZHENG QF, ZHANG Y, RUAN J, WANG M, CHEN JM, BAI Y, WU T, HE F. Isolation and identification of a pathogen of *Amorphophallus bulbifer* soft rot in Zhenba County of Shaanxi[J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 69(8): 78-81, 90 (in Chinese).
- [5] 崔双, 陈昌龙, 冯佳豪, 曹颖, 寇晓敏, 付璐, 张荣萍, 谢华. 魔芋软腐病致病菌 *Pectobacterium aroidearum* 的特征及贝莱斯芽孢杆菌的生防效果[J]. *中国蔬菜*, 2021(3): 83-93. CUI S, CHEN CL, FENG JH, CAO Y, KOU XM, FU L, ZHANG RP, XIE H. Characterization of *Pectobacterium aroidearum* causing konjac soft rot and biocontrol effect of *Bacillus velezensis*[J]. *China Vegetables*, 2021(3): 83-93 (in Chinese).
- [6] 魏环宇, 魏薇, 杨敏, 裴卫华, 赵建荣, 钟宇, 刘佳妮, 苏源, 黄飞燕, 王启宇, 胡文婷, 陈海如, 余磊. 云南省珠芽魔芋(*Amorphophallus bulbifer*)软腐病病原菌鉴定[J]. *植物病理学报*, 2020, 50(4): 381-386. WEI HY, WEI W, YANG M, PEI WH, ZHAO JR, ZHONG Y, LIU JN, SU Y, HUANG FY, WANG QY, HU WT, CHEN HR, YU L. Identification of a soft rot disease pathogen of *Amorphophallus bulbifer* in Yunnan Province[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(4): 381-386 (in Chinese).
- [7] 赵小明, 李增义, 崔鸣, 陈道明, 赵春明, 王鹏, 夏曾润, 李建国, 尹恒. 安康魔芋软腐病防治技术初步研究[J]. *西北农业学报*, 2021, 30(8): 1263-1270. ZHAO XM, LI ZY, CUI M, CHEN DM, ZHAO CM, WANG P, XIA ZR, LI JG, YIN H. Preliminary study on soft rot control technology of konjac in Ankang[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2021, 30(8): 1263-1270 (in Chinese).
- [8] 张子玉, 谢学文, 石延霞, 柴阿丽, 李磊, 李宝聚. 白菜黑腐病拮抗菌 *Lysobacter enzymogenes* CX03 的分离鉴定及生防效果研究[J]. *中国生物防治学报*, 2021, 37(6): 1221-1230. ZHANG ZY, XIE XW, SHI YX, CHAI AL, LI L, LI BJ. Isolation, identification and biocontrol effect of *Lysobacter enzymogenes* CX03[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2021, 37(6): 1221-1230 (in Chinese).
- [9] 姬广海, 吴亚鹏, 白学慧, 卢俊, 董坤. 抗生素溶杆菌对魔芋软腐病和根际微生物多样性的影响[J]. *江西农业大学学报*, 2009, 31(3): 499-503, 544. JI GH, WU YP, BAI XH, LU J, DONG K. Effects of *Lysobacter antibioticus* on soft rot disease and the diversity of konjac rhizosphere microbial community[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2009, 31(3): 499-503, 544 (in Chinese).
- [10] 古洪辉, 汪正香, 蒋雄, 杨福清, 陈治舟, 严泽生, 秦耀国. 魔芋软腐病及其防治研究进展[J]. *农学报*, 2018, 8(9): 15-19. GU HH, WANG ZX, JIANG X, YANG FQ, CHEN ZZ, YAN ZS, QIN YG. Soft rot of *Amorphophallus* and its control research progress[J]. *Journal of Agriculture*, 2018, 8(9): 15-19 (in Chinese).
- [11] 万欣. 解淀粉芽孢杆菌降解魔芋粉生产魔芋低聚糖的研究[D]. 西安: 陕西师范大学硕士学位论文, 2022. WAN X. Study on the production of konjac oligosaccharides by degrading konjac flour with *Bacillus amyloliquefaciens*[D]. Xi'an: Master's Thesis of Shaanxi Normal University, 2022 (in Chinese).
- [12] 冯佳豪. 芽孢杆菌及其与化学药剂复配防治魔芋软腐病研究[D]. 绵阳: 西南科技大学硕士学位论文, 2022. FENG JH. Study on the control of konjac soft rot by combining *Bacillus* and chemical agent[D]. Mianyang: Master's Thesis of Southwest University of Science and Technology, 2022 (in Chinese).
- [13] 陈娟. 刺槐间作魔芋高产抗病原因探究及软腐病菌拮抗菌株筛选[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2023. CHEN J. Reasons for high yield and disease resistance of intercropped konjac in locust forest and screening of antagonistic strains of soft rot pathogen[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2023 (in Chinese).
- [14] HE F. Response of root-associated bacterial communities to different degrees of soft rot damage in *Amorphophallus konjac* under a *Robinia pseudoacacia* plantation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 652758.
- [15] 代雪凤, 朱丽, 张盛林, 牛义, 刘海利. 魔芋软腐病拮抗放线菌筛选[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(11): 9-17. DAI XF, ZHU L, ZHANG SL, NIU Y, LIU HL. Screening of antagonistic actinomycetes against *Amorphophallus* soft rot[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2021, 43(11): 9-17 (in Chinese).

- [16] 张德馨, 程瑜, 于雪洁, 王宇, 赵璐. 苦楝树叶成分的提取分离及其防治虫害的研究[J]. 种子科技, 2019, 37(6): 158-159.  
ZHANG DX, CHENG Y, YU XJ, WANG Y, ZHAO L. Study on extraction and separation of leaves of melia azedarach and its pest control[J]. Seed Science & Technology, 2019, 37(6): 158-159 (in Chinese).
- [17] 林标声, 汪丽芳, 宋昭昭, 贾雨雷, 林占熺. 巨菌草根内生固氮菌 *Klebsiella variicola* 的分离、鉴定及培养条件的优化[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2019, 48(1): 116-122.  
LIN BS, WANG LF, SONG ZZ, JIA YL, LIN ZX. Isolation, identification and culture conditions optimization of endophytic diazotrophs *Klebsiella variicola* from root of *Pennisetum* sp.[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2019, 48(1): 116-122 (in Chinese).
- [18] 赵君, 饶惠玲, 王耘籽, 黄伟, 吴承祯, 李键. 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), 2022, 61(1): 112-121 (in Chinese).
- [19] 黄臣, 韩玲娟, 梁银萍, 杨凯元, 蒋霖, 孙小涵, 范乐, 赵祥, 高鹏. 达乌里胡枝子四株耐盐碱根际促生菌的鉴定及其促生作用[J]. 草地学报, 2023, 31(4): 1036-1047.  
HUANG C, HAN LJ, LIANG YP, YANG KY, JIANG L, SUN XH, FAN L, ZHAO X, GAO P. Identification and plant growth promotion analysis of four salt-alkali tolerant rhizosphere-promoting bacteria isolated from *Lespedeza daurica*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(4): 1036-1047 (in Chinese).
- [20] 热孜亚·吐尔逊. 鄯善地区黑果枸杞根际微生物特征及耐盐促生菌的筛选和促生特性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆师范大学硕士学位论文, 2022.  
TURSUN Raziya. Characteristics of rhizosphere microorganisms and screening and growth promoting characteristics of salt tolerant growth promoting bacteria of *Lycium ruthenicum* in Shanshan area[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Normal University, 2022 (in Chinese).
- [21] 覃诗扬, 陆凌晨, 谢学文, 石延霞, 柴阿丽, 王远宏, 李宝聚, 李磊. 生防菌 ZF510 的分离鉴定及其对白
- 菜细菌性软腐病的防治效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2024, 40(1): 146-156.  
QIN SY, LU LC, XIE XW, SHI YX, CHAI AL, WANG YH, LI BJ, LI L. Isolation, identification and control effect of strain ZF510 on bacterial soft rot of Chinese cabbage[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2024, 40(1): 146-156 (in Chinese).
- [22] 马俊秀, 吴皓琼, 姜威, 闫更轩, 胡基华, 张淑梅. 蔬菜软腐病菌广谱拮抗细菌菌株筛选鉴定及防效研究[J]. 生物技术通报, 2023, 39(7): 228-240.  
MA JX, WU HQ, JIANG W, YAN GX, HU JH, ZHANG SM. Screening and identification of broad-spectrum antagonistic bacterial strains against vegetable soft rot pathogen and its control effects[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(7): 228-240 (in Chinese).
- [23] 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).
- [24] 孙广正, 姚拓, 刘婷, 卢虎. 植物根际促生菌对 3 种土传真菌病害病原的抑制作用[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2293-2300.  
SUN GZ, YAO T, LIU T, LU H. Antagonism of plant growth promoting rhizobacteria on three soil-borne fungous pathogen[J]. Microbiology China, 2014, 41(11): 2293-2300 (in Chinese).
- [25] 李辉, 李雷林, 高媛, 杨宇纯, 刘欢, 薛艳红, 刘士平. 一株拮抗魔芋软腐病的苏云金芽胞杆菌研究[J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2019, 41(3): 108-112.  
LI H, LI LL, GAO Y, YANG YC, LIU H, XUE YH, LIU SP. Isolation and screening of *Bacillus thuringiensis* against soft rot of konjac[J]. Journal of China Three Gorges University (Natural Sciences), 2019, 41(3): 108-112 (in Chinese).
- [26] YANG M, QI Y, LIU JN, GAO PH, HUANG FY, YU L, CHEN HR. Different response mechanisms of rhizosphere microbial communities in two species of *Amorphophallus* to *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* infection[J]. The Plant Pathology Journal, 2023, 39(2): 207-219.
- [27] 赵吉桃, 何静, 丁德东, 李彦湘, 候彩霞, 赵倩. 花椒流胶病拮抗菌的分离鉴定及其生防机制[J]. 浙江农业学报, 2024, 36(2): 373-382.  
ZHAO JT, HE J, DING DD, LI YX, HOU CX, ZHAO Q. Isolation, identification and biocontrol mechanism of antagonistic fungus against Chinese pepper

- gummosis[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2024, 36(2): 373-382 (in Chinese).
- [28] 李秀彤, 张迪, 赵福培, 江友峰, 曾祥, 王晓丹, 程利芳羽. 两株高效解磷菌的筛选及解磷性能分析[J/OL]. *微生物学杂志*. <https://link.cnki.net/urlid/21.1186.Q.20231116.1438.004>.  
LI XT, ZHANG D, ZHAO FP, JIANG YF, ZENG X, WANG XD, CHENG LFY. Screening and Analysis of Two Strains of High Efficiency Phosphor-Soluble Bacteria[J/OL]. *Journal of Microbiology*. <https://link.cnki.net/urlid/21.1186.Q.20231116.1438.004> (in Chinese).
- [29] 伍巧慧, 龚文坤, 刘新月, 杨劲明, 吕荣婷, 王蓓蓓. 哈密瓜根际耐高温促生菌的筛选及其促生效应研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2023(11): 221-228.  
WU QH, GONG WK, LIU XY, YANG JM, LÜ RT, WANG BB. Screening of high temperature resistant growth promoting bacteria in the rhizosphere of cantaloupe and its promotion effect[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(11): 221-228 (in Chinese).
- [30] 何斐, 张忠良, 崔鸣, 薛泉宏, 王东胜. 放线菌‘D74’对魔芋的防病促生作用[J]. *园艺学报*, 2015, 42(2): 367-376.  
HE F, ZHANG ZL, CUI M, XUE QH, WANG DS. Disease prevention and growth promotion effects of actinomycete strain D74 on *Amorphophallus konjac*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(2): 367-376 (in Chinese).
- [31] HAMAOKA K, AOKI Y, SUZUKI S. Isolation and characterization of endophyte *Bacillus velezensis* KOF112 from grapevine shoot xylem as biological control agent for fungal diseases[J]. *Plants*, 2021, 10(9): 1815.
- [32] DONG QQ, LIU QX, GOODWIN PH, DENG XX, XU W, XIA MC, ZHANG J, SUN RH, WU C, WANG Q, WU K, YANG LR. Isolation and genome-based characterization of biocontrol potential of *Bacillus siamensis* YB-1631 against wheat crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum*[J]. *Journal of Fungi*, 2023, 9(5): 547.
- [33] 吴亚鹏, 姬广海, 陈云兰, 卢俊, 董坤. 生防细菌 13-1 对魔芋软腐病的控制及机理研究[J]. *中国生物防治*, 2010, 26(2): 193-199.  
WU YP, JI GH, CHEN YL, LU J, DONG K. Biocontrol effect and mechanisms of *Lysobacter antibioticus* 13-1 against soft rot pathogen of *Amorphophallus konjac*[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2010, 26(2): 193-199 (in Chinese).
- [34] 张丽辉, 王永吉, 廖林, 姬广海. 生防菌 06-4 对魔芋软腐病的防治及机理的初步研究[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2011, 37(3): 286-289.  
ZHANG LH, WANG YJ, LIAO L, JI GH. Biocontrol effect of *Lysobacter antibioticus* 06-4 on soft rot pathogen of *Amorphophallus konjac* its mechanism[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2011, 37(3): 286-289 (in Chinese).
- [35] 王永吉, 张丽辉, 魏兰芳, 姬广海, 廖林, 林琳. 生防细菌 C3 的鉴定及对魔芋软腐病的防效研究[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2012, 34(2): 17-22.  
WANG YJ, ZHANG LH, WEI LF, JI GH, LIAO L, LIN L. Identification of *Bacillus amyloliquefacien* C3 and the control efficacy against soft rot pathogen of *Amorphophallus konjac*[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2012, 34(2): 17-22 (in Chinese).
- [36] 邓晓旭, 谢夏, 潘娅梅, 赵丰华, 蒋双丰, 徐文, 张洁, 孙润红, 夏明聪, 杨丽荣. 茶树腐皮镰刀菌拮抗菌株的筛选鉴定及促生防病特性分析[J]. *茶叶科学*, 2023, 43(1): 67-77.  
DENG XX, XIE X, PAN YM, ZHAO FH, JIANG SF, XU W, ZHANG J, SUN RH, XIA MC, YANG LR. Screening and identification of strains against *Fusarium solani* isolated from *Camellia sinensis* and analysis of its biocontrol and growth promotion characteristics[J]. *Journal of Tea Science*, 2023, 43(1): 67-77 (in Chinese).
- [37] 谢海鹏, 林樱桃, 吴小燕, 林俊旭, 林明智, 麦贤俊, 陈子跃, 谢文, 孔祥义. 豇豆枯萎病生防细菌的筛选鉴定及抗病机理初探[J]. *热带作物学报*, 2023, 44(6): 1224-1236.  
XIE HP, LIN YT, WU XY, LIN JX, LIN MZ, MAI XJ, CHEN ZY, XIE W, KONG XY. Screening and identification of biocontrol bacteria of cowpea *Fusarium* wilt and preliminary exploration of disease resistance mechanism[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2023, 44(6): 1224-1236 (in Chinese).
- [38] 何亚芳, 包慧芳, 王宁, 詹发强, 张学军, 史应武, 杨蓉, 侯新强, 龙宣杞. 甜瓜镰刀菌果腐病菌拮抗菌筛选及其拮抗性研究[J]. *园艺学报*, 2023, 50(10): 2257-2270.  
HE YF, BAO HF, WANG N, ZHAN FQ, ZHANG XJ, SHI YW, YANG R, HOU XQ, LONG XQ. Screening of antagonistic bacteria against *Fusarium* spp. causing melon fruit rot and the antagonistic properties[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(10): 2257-2270 (in Chinese).
- [39] SPAEPEN S, VANDERLEYDEN J, REMANS R. Indole-3-acetic acid in microbial and



- microorganism-plant signaling[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2007, 31(4): 425-448.
- [40] MEENA VS, MEENA SK, VERMA JP, KUMAR A, AERON A, MISHRA PK, BISHT JK, PATTANAYAK A, NAVEED M, DOTANIYA ML. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review[J]. Ecological Engineering, 2017, 107: 8-32.
- [41] RAJKUMAR M, AE N, PRASAD MNV, FREITAS H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. Trends in Biotechnology, 2010, 28(3): 142-149.
- [42] BALDERAS-RUÍZ KA, BUSTOS P, SANTAMARIA RI, GONZÁLEZ V, CRISTIANO-FAJARDO SA, BARRERA-ORTÍZ S, MEZO-VILLALOBOS M, ARANDA-OCAMPO S, GUEVARA-GARCÍA ÁA, GALINDO E, SERRANO-CARREÓN L. *Bacillus velezensis* 83 a bacterial strain from mango phyllosphere, useful for biological control and plant growth promotion[J]. AMB Express, 2020, 10(1): 163.
- [43] TIAN XL, ZHAO XM, ZHAO SY, ZHAO JL, MAO ZC. The biocontrol functions of *Bacillus velezensis* strain bv-25 against *Meloidogyne incognita*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 843041.
- [44] MOSELA M, ANDRADE G, MASSUCATO LR, de ARAÚJO ALMEIDA SR, NOGUEIRA AF, de LIMA FILHO RB, ZEFFA DM, MIAN S, HIGASHI AY, SHIMIZU GD, TEIXEIRA GM, BRANCO KS, FARIA MV, GIACOMIN RM, SCAPIM CA, GONÇALVES LSA. *Bacillus velezensis* strain Ag75 as a new multifunctional agent for biocontrol, phosphate solubilization and growth promotion in maize and soybean crops[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 15284.
- [45] 朱颖, 姚拓, 李玉娥, 孙红阳. 红三叶根际溶磷菌分离及其溶磷机制初探[J]. 草地学报, 2009, 17(2): 259-263.
- ZHU Y, YAO T, LI YE, SUN HY. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their acting mechanisms in the rhizosphere of red clover[J]. Acta Agrestia Sinica, 2009, 17(2): 259-263 (in Chinese).
- [46] 普凤雅, 谷书杰, 何永宏, 陈崧林, 杨志清. 溶磷内生菌的筛选鉴定及其对薏苡生长发育的影响[J]. 福建农业学报, 2022, 37(7): 946-953.
- PU FY, GU SJ, HE YH, CHEN SL, YANG ZQ. Identification and characterization of phosphate-solubilizing endophytes in *Coix lacryma-jobi* L.[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2022, 37(7): 946-953 (in Chinese).
- [47] 王恩启, 武亚芬, 梁斌, 黄玉丹, 李洋, 张荣慧, 彭宪婧, 赵茗芳, 向丹. 一株番茄枯萎病拮抗菌的筛选、鉴定及其生长条件研究[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2023, 40(3): 174-181.
- WANG EQ, WU YF, LIANG B, HUANG YD, LI Y, ZHANG RH, PENG XJ, ZHAO MF, XIANG D. Screening, identification and growth conditions research of an antagonistic strain against tomato *Fusarium wilt*[J]. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science), 2023, 40(3): 174-181 (in Chinese).
- [48] 周益帆, 王金斌, 何川, 岳童, 白寅霜, 李庆伟, 唐雪明, 杨焱, 蒋玮, 黄艳娜. 一株产吡啶乙酸的 *Bacillus velezensis* JB0319 的筛选、鉴定及其促生作用[J]. 土壤通报, 2024, 55(1): 173-183.
- ZHOU YF, WANG JB, HE C, YUE T, BAI YS, LI QW, TANG XM, YANG Y, JIANG W, HUANG YN. Screening, identification and growth promotion of A strain of *Bacillus velezensis* JB0319 producing indoleacetic acid[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(1): 173-183 (in Chinese).
- [49] 杨华, 胡展, 郭照辉, 肖蓉, 罗容珺, 付祖姣, 魏小武, 蔡长平, 王玉双. 水稻促生菌的筛选、鉴定及其促生效果[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2088-2099.
- YANG H, HU Z, GUO ZH, XIAO R, LUO RJ, FU ZJ, WEI XW, CAI CP, WANG YS. Screening and identification of rice growth-promoting strains and their effects on rice growth[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2088-2099 (in Chinese).
- [50] 曹宇, 陈鹏泽, 曹秀兰, 胡安娜, 叶雨婷, 李鹏. 贝莱斯芽孢杆菌 HNU24 高效拮抗茄雷尔氏菌和促进植物生长活性的研究[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2022, 35(1): 50-56.
- CAO Y, CHEN PZ, CAO XL, HU AN, YE YT, LI P. Studies on *Bacillus velezensis* strain HNU24 with significant antagonistic activity against *Ralstonia solanacearum* and promoting plant growth activity[J]. Journal of Hainan Normal University (Natural Science), 2022, 35(1): 50-56 (in Chinese).
- [51] 王琦, 陈秀玲, 王傲雪. 一株具有促生作用的生防细菌 YN-2A 的分离、鉴定及全基因组测序分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 2986-3003.
- WANG Q, CHEN XL, WANG AX. A biocontrol bacterium YN-2A with growth-promoting effect: isolation, identification, and genome sequencing[J]. Microbiology China, 2024, 51(8): 2986-3003 (in Chinese).