

任娜娜, 颜冬. 月季根际生防菌的分离、鉴定及对黑斑病病原菌的生防潜力评价[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(17): 148-154.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.17.019

月季根际生防菌的分离、鉴定及对黑斑病病原菌的生防潜力评价

任娜娜, 颜冬

(邯郸科技职业学院农牧系, 河北邯郸 056000)

摘要:筛选月季黑斑病的高效拮抗菌株,为月季大棚生产过程中的生防资源开发及黑斑病的生物防治提供理论依据。采用形态学、生理生化及 16S rRNA 基因序列对分离株的种属及拮抗性能进行鉴定,并用盆栽、田间原位栽培试验探索其生防效果。结果表明,从设施发病区健康月季根际土中获得 35 株分离菌,以黑斑病病原菌链格孢(*Alternaria alternata*)为靶标菌,得到具有拮抗作用的 7 株拮抗菌。通过定性、定量检测发现,菌株 HD13 的拮抗效果、养分转化潜力最强,同时具有产铁载体、产纤维素酶、产蛋白酶等特性。形态学、16S rRNA 进化树分析结果显示,HD13 为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。B. *velezensis* HD13 的抑菌机制主要通过分泌几丁质酶、纤维素酶,溶解链格孢的细胞壁、菌丝,使其失去侵染能力,进而抑制病原菌生长。将 B. *velezensis* HD13 发酵液应用于盆栽、大田试验发现,其发病率分别为 0.487%,病情指数分别为 0.187,防治效果分别为 100.00%、80.21%。综上,贝莱斯芽孢杆菌 HD13 具有良好的生防功能,其菌剂的田间应用对于月季黑斑病具有较好的防治效果,可作为生产月季拮抗菌剂的候选菌株资源。

关键词:月季;贝莱斯芽孢杆菌;链格孢;拮抗菌;生防效果

中图分类号:S182;S436.8⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)17-0148-06

月季(*Rosa chinensis*)为蔷薇属(*Rosa*)植物,是目前全球范围内栽培历史最悠久、绿化及园艺装饰中常用的花卉种类之一^[1]。月季可四季常开,其花姿曼妙、色泽高雅,花朵可用于提取色素、精油,兼具观赏与经济价值,目前已被广泛应用于园林绿化、切花装饰及化妆品领域^[2]。然而,月季是典型的蔷薇属植物,其抗病性远低于其他木本植物,而且对光照、温度及湿度的要求相对苛刻,当用于室内工厂化栽培时极易发生病害,从而造成经济损失^[3]。目前的研究发现,月季的病害种类高达 20 种,其中黑斑病主要是由链格孢霉(*Alternaria alternata*)感染导致的典型病害,是月季中发病最为严重、发病率最高的病害之一^[4]。黑斑病可导致月季根系失水、茎基部呈紫褐色并隆起,从而导致月季根部活力不足、木质部养分吸收和运输受限、叶片黄化等^[5-6]。由于月季的种植密度较高,植株一

旦感染,病株数量会呈暴发式增加,且黑斑病可降低植株的防御能力,从而导致多病害复合发生^[7]。由此可见,黑斑病的防治与处理目前已经成为制约月季栽培的重要问题。

当前针对月季黑斑病等病害的防治策略主要有品种培育、化学药剂杀菌及生物技术防治等^[8]。一般而言,抗性品种的培育需要分子基因技术介入,以转基因技术为主,试验初期对环境的要求苛刻,且耗资较大,需要漫长的测试过程才能转化成果。此外研究发现,相关转基因品种会产生毒性物质,因此应用较少^[9]。化学药剂防治方法是目前控制植物病害的常用方法^[7],然而长期施用化学农药后,病原体会产生抗药性,使得农药的杀菌功效锐减,并且残留时间较长,不易降解,从而对生态环境、人类健康造成严重威胁^[10]。生物防治剂具有污染程度低、在疾病防治过程中的残留少、对环境无风险、目标病原菌无抗药性等显著优势,目前生物技术已逐渐被广泛应用于土传病害的防治中^[11],为农业可持续化发展提供了新策略。

微生物菌株的分离、筛选及防治效果是决定其能否从实验室走向田间的重要参考^[4,10]。丁艳哲等筛选到可分泌抑菌酶类的生防菌贝莱斯芽孢杆菌

收稿日期:2024-12-20

基金项目:河北省现代农业产业技术体系(编号:HBCT2023100214)。

作者简介:任娜娜(1987—),女,河北邯郸人,硕士,副教授,主要从事园艺生物技术研究。E-mail:Rennn241105@163.com。

通信作者:颜冬,副教授,主要从事植物保护研究。E-mail:nmxjxb@163.com。

YZ-375, 可有效抑制刺五加黑斑病原菌菌丝的生长, 田间防效达 72.31%^[12]。郑爱芳等从香樟根系筛选得到 1 株芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) B505, 其分离株可诱导香樟幼苗合成水杨酸, 并且可强烈抑制香樟黑斑病原菌链孢菌菌丝的生长和孢子萌发, 对香樟离体叶片黑斑病的抑制率为 55.60%^[13]。目前, 关于微生物资源开发的报道已较多, 但主要集中在生防机制和发酵技术方面, 对菌剂实际运用的研究较少。本研究基于从黑斑病发病区健康月季植株根际土壤中筛选得到的 1 株拮抗菌 HD13 为对象, 对该菌株的形态学、生理生化及拮抗机制进行探索, 用盆栽试验、田间试验设计分析其生防潜力, 以期为月季大棚生产过程中的生防资源开发及黑斑病的生物防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试月季品种为金玛丽。供试月季黑斑病原菌链格孢 (*Alternaria alternata*) 分离自河北省邯郸市广平苗木基地月季黑斑病发生区, 菌株发酵液由河北邦科植物保护有限公司提供。

供试化学农药包括啞菌酯、咯菌腈、多菌灵, 三者皆为粉状, 均购自河北威远生物化工有限公司, 试验用药皆用自来水稀释 600 倍; 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 菌肥、哈茨木霉真菌 (*Trichoderma harzianum*) 菌肥皆为粉状, 有效活菌总数均大于 1.0×10^{10} CFU/g, 均购自江苏恩威博生物科技有限公司。

1.2 拮抗菌菌株的分离与筛选

拮抗菌根际土壤于 2023 年 8 月采集自邯郸市广平苗木基地月季黑斑病发生区的健康植株根际, 用消毒的铲子、剪刀收集, 收集 5~20 cm 土层深度、紧贴侧根的约 20 g 土壤样品。用同样的方法收集病株根系包裹土壤, 作为后续盆栽基质用土。

称取番茄根际土壤, 用梯度稀释-平板划线法^[14]获得纯化的单菌落, 并进行相应命名。菌株筛选以链格孢为靶标菌, 采用平板对峙法筛选不同纯化分离株的拮抗性能, 于 30 °C 恒温培养箱中培养 7 d 后, 测定抑菌直径, 计算抑菌率。

1.3 分离菌株的生防、促生功能评估

用水解圈 (D) 与菌落直径 (d) 的比值 (D/d) 衡量菌株的活性。IAA 分泌能力、固氮能力、溶有机磷能力、解钾能力、产铁载体活性分别用 Salkowski 试

剂比色法、阿须贝氏培养基法、蒙金娜有机磷培养基法、亚历山大罗夫培养基法、铬天青培养基法测定^[15]。相关酶类活性包括纤维素酶、蛋白酶活性, 分别用刚果红纤维素培养基法、大豆酪蛋白琼脂培养基法进行测定^[16]。

1.4 最佳拮抗菌 HD13 的形态、生理及分子鉴定

将对链格孢抑菌效果最佳的菌株 HD06 发酵液均匀涂布于琼脂培养基上, 于 28 °C 培养 2 d, 观察菌落形态。挑取少量菌落制成临时载玻片, 于体视显微镜 (DM5000, 德国徕卡公司) 下观察菌株的外观形态、大小等特征, 参照《伯杰氏系统细菌学手册》(第 2 版)^[17]对菌株进行初步鉴定。菌株细胞与链格孢菌丝形态皆用扫描电镜观察, 电镜镀金玻片的制备参照 Chen 等的方法^[18]。

用 DNA 试剂盒 (OMEGA) 提取菌株的基因组 DNA, 用细菌通用引物序列进行 PCR 扩增, 其中上游引物序列 (27F) 为 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 下游引物序列 (1492R) 为 5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3'。PCR 体系、扩增条件及热循环程序参考刘玉敏等的方法^[19]; 菌株的 16S rRNA 序列在模式菌株数据库中进行比较; 基于 MEGA 7.0 系统, 采用邻接法构建系统发育树。

1.5 菌株 HD13 代谢产物的测定

菌株发酵液的制备采用基于 NB 固体培养基的划线-摇瓶培养法^[20]。HD13 菌株发酵液的上清液 (CC)、菌体细胞粗提取物 (T3) 采用差速离心法获取^[16]。纤维素酶、几丁质酶活性的检测采用北京索莱宝科技有限公司生产的试剂盒, 试剂盒型号分别为 BC2540、BC0820。

1.6 菌株 HD13 对盆栽、田间月季黑斑病的防治效果

1.6.1 室内盆栽试验 盆栽试验于 2024 年 5—7 月在邯郸科技职业学院试验大棚中进行。用苗木育苗盘将月季培养至 2 月龄。设置咯菌腈、啞菌酯、多菌灵、枯草芽孢杆菌菌肥、哈茨木霉真菌菌肥、HD13 菌剂等 6 个处理, 以不施用化学农药和不施生物菌剂为对照 (CK), 各处理重复 8 次。将月季幼苗移栽至装有 5 kg 灭菌土壤的塑料盆中, 该土壤为发病植株包裹土壤, 其理化性质如下: pH 值为 6.83, 碱解氮、有效磷、速效钾含量分别为 68.12、9.43、95.26 mg/kg。相关化学农药及生物菌剂处理皆采用灌根方式, 在幼苗阶段的用量共 90 mL, 分 3 次等量施入。首次施入时间为还苗期 (移栽后

7 d), 此后每间隔 7 d 施入 30 mL。农药中咯菌腈、嘧菌酯、多菌灵处理皆为 500 倍稀释液, 枯草芽孢杆菌菌肥、哈茨木霉真菌菌肥为 500 倍稀释液, HD13 菌剂为菌株发酵液(1.0×10^9 CFU/mL)。各烟株施用菌剂、农药 7 d 后灌根接种 30 mL 链格孢发酵液(7.0×10^8 CFU/mL), 接种链格孢发酵液 14 d 后记录发病情况。

1.6.2 室外田间试验 盆栽试验于 2023 年 5—7 月在邯郸市广平苗木基地月季黑斑病发生区进行, 该种植区的黑斑病发病率为 25% ~ 35%, 已连续发病 3 年。田间相关处理同盆栽设计处理, 每个处理重复 3 次。共设 21 个小区, 每个小区面积为 12 m²。月季还苗后, 农药或菌剂按照盆栽试验中的 10 倍体积用量施用, 每隔 10 d 灌根施用 1 次, 共灌根 3 次, 灌根结束后记录发病情况。

1.7 数据处理与统计分析

相关病情指数的计算公式如下^[21]:

发病率 = (发病株数/调查总株数) × 100% ;

病情指数 = Σ (各级病株数 × 该病级值)/(调查总株数 × 最高病级值) × 100;

相对防效 = (阳性对照病情指数 - 处理病情指数)/阳性对照病情指数 × 100%。

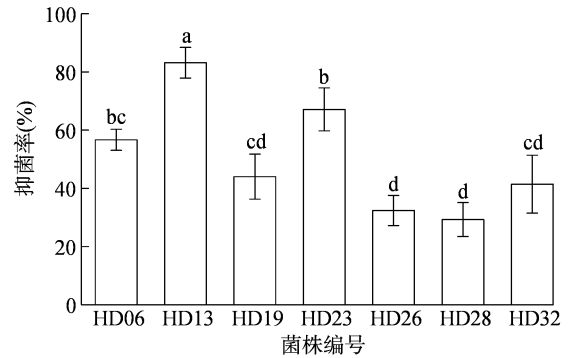
用 DPS 14.0 中的 Duncan's 新复极差法进行显著性分析, 用 Origin 10.0 制图。

2 结果与分析

2.1 月季黑斑病病原菌相关拮抗菌的初筛

从健康月季根际共获得 35 株分离菌, 以月季黑斑病病原菌链格孢为靶标菌, 共筛选获得 7 株拮抗菌, 相应菌株分别为 HD06、HD13、HD19、HD23、HD26、HD28、HD32。由图 1 可以看出, 菌株 HD13

的抑菌效果最强, 其次为菌株 HD23, 菌株 HD26、HD28 的拮抗效果最弱; 不同拮抗菌的抑菌率表现为 HD28 < HD26 < HD32 < HD19 < HD06 < HD23 < HD13, 与菌株 HD13 相比, 其他菌株的抑菌率显著降低了 16.03 ~ 53.88 百分点($P < 0.05$)。



不同处理间标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

图1 不同分离菌发酵液对链格孢的抑菌效果

2.2 月季黑斑病病原菌拮抗菌的营养转化能力分析

由表 1 可以看出, 7 株链格孢拮抗菌中有 4 株具有固氮效果, 分别为 HD06、HD13、HD23、HD28, 有 2 株具有溶磷功能, 分别为 HD13、HD32, 有 2 株可产铁载体, 分别为 HD13、HD32, 有 2 株能够产吲哚乙酸(IAA), 分别为 HD13、HD32, 有 2 株可以降解纤维素, 分别为 HD13、HD23, 有 1 株可以降解蛋白, 为 HD13。综合分析可知, 菌株 HD13 同时具有固氮、溶解有机磷、产铁载体、产 IAA、产纤维素、产蛋白酶的能力; 菌株 HD13 具有固氮、降解纤维素的能力; 菌株 HD32 具有溶有机磷、产铁载体、产 IAA 的能力。以上结果表明, 菌株 HD13 的营养活化、促生及抑菌等综合性能优越, 可作为后续研究的供试菌株。

表 1 不同分离菌株的促生活性检测结果

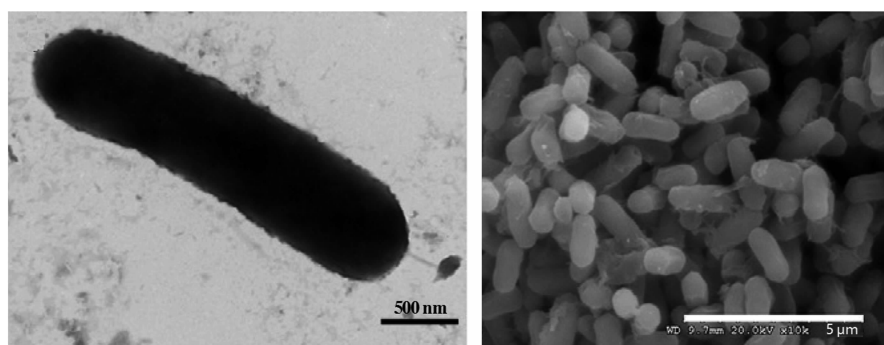
菌株	固氮能力	溶有机磷的能力 (D/d)	解钾能力 (D/d)	铁载体能力 (%)	吲哚乙酸分泌能力	降解纤维素的能力 (D/d)	降解蛋白的能力 (D/d)
HD06	+	-	-	-	-	-	-
HD13	+	+(1.24 ± 0.07)	-	+(21.46 ± 1.95)	+	+(3.37 ± 0.40)	+(2.10 ± 0.10)
HD19	-	-	-	-	-	-	-
HD23	+	-	-	-	-	+(1.46 ± 0.12)	-
HD26	-	-	-	-	-	-	-
HD28	+	-	-	-	-	-	-
HD32	-	+(1.35 ± 0.09)	-	+(19.68 ± 2.07)	+	-	-

注: D/d 表示透明圈与菌落直径的比值; “+”“-”分别表示呈阳性、阴性反应。

2.3 拮抗菌 HD13 的形态、分子生物学鉴定

2.3.1 拮抗菌 HD13 的形态特征 由图 2 - A 可以看出,透射电镜中的 HD13 细胞为短杆状,两端钝圆,并附有细小鞭毛。扫描电子显微镜观察结果显

示,细胞的外表面不规则,有皱纹,细胞末端呈卵形,很少成链,成单或成聚合型短链排列,细胞大小约为(1.6 ~ 1.8) μm \times (0.7 ~ 0.8) μm (图 2 - B)。



A. HD13 菌株在 500 nm 尺度形态特征

B. HD13 菌株在 5 μm 尺度形态特征

图2 拮抗菌 HD13 的形态特征

2.3.2 拮抗菌 HD13 的系统发育及分子鉴定 经测序发现,菌株 HD13 的 16S rRNA 序列长度为 1 488 bp,识别号为 8TCWE8SN017。用邻近法构建系统发育树,选取相似度较高的序列进行发育分析,并以成团泛菌(*Pantoea agglomerans*)、单核增生

李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)等相似度较低的菌株序列为外群。由图 3 可知,菌株 HD13 与贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) SQR9 (序列号: CP006890.1)在同一分支上,BLAST 比对的相似性高达 99.98%,确定菌株 HD13 为贝莱斯芽孢杆菌。

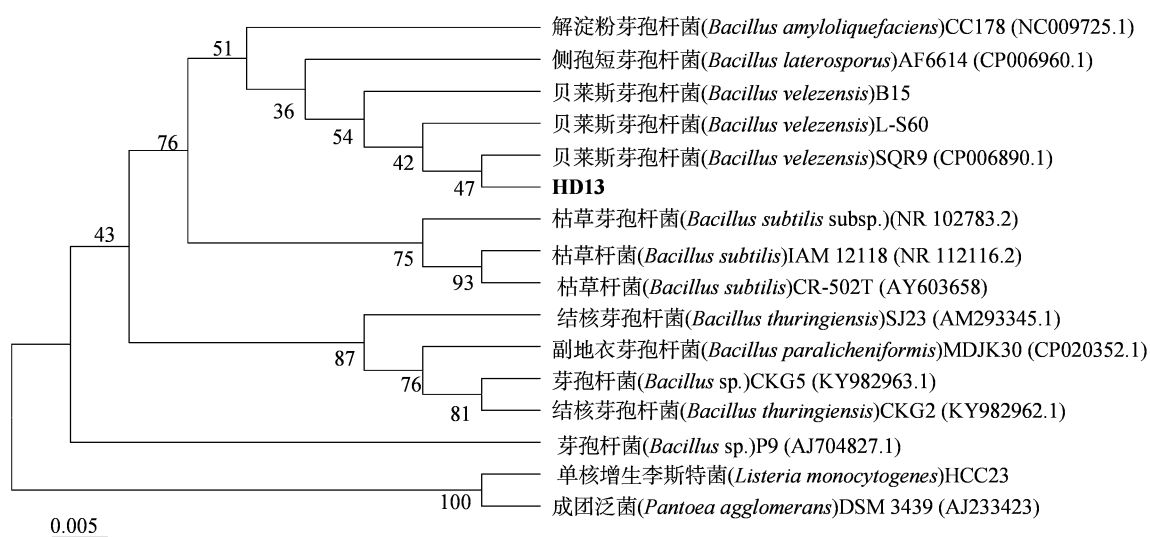


图3 拮抗菌 HD13 的系统发育树

2.4 拮抗菌 HD13 对链格孢的拮抗机制

2.4.1 拮抗菌 HD13 的代谢产物分析 由表 2 可以看出,在菌株 HD13 的发酵上清液与细胞粗提物中均检测到几丁质酶、纤维素酶,并且几丁质酶、纤维素酶活性在上清液中较高,分别较细胞粗提物中的酶活性显著提高 2 454.75%、822.53% ($P < 0.05$)。

2.4.2 拮抗菌 HD13 上清液对月季黑斑病原菌菌丝形态的影响 在含有病原菌链格孢的 NB 培养

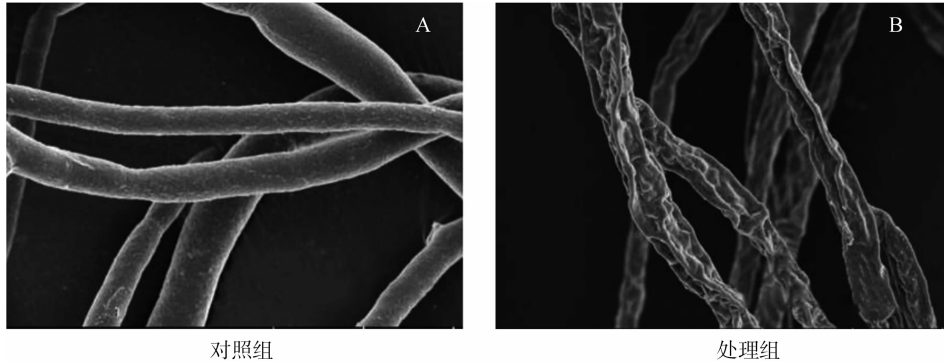
表 2 菌株 HD13 的几丁质酶、纤维素酶活性

样品	几丁质酶活性 (U/mL)	纤维素酶活性 (U/mL)
发酵上清液	80.73 \pm 3.94a	369.75 \pm 15.61a
细胞粗提物	3.16 \pm 0.28b	40.08 \pm 4.33b

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$),下表同。

基中,对未经过处理的对照组和 HD13 拮抗菌发酵的处理组的链格孢菌丝进行观察,发现对照组的菌丝形状充实、饱满,菌丝结构均匀有活力;处理组与

对照组存在明显差异,链格孢菌丝受到明显抑制,表现为菌丝形态萎缩、表面凹陷干瘪、部分菌丝壁溃解,详见图 4。



图中比例尺均为 10 μm
图4 扫描电镜下菌株 HD13 对链格孢的作用情况

2.5 室内盆栽、田间条件下拮抗菌 HD13 对月季黑斑病原菌病害的防治效果

由表 3 可以看出,未施用农药或菌肥处理(CK)的发病率为 100.00%,化学农药或生物菌剂处理的月季黑斑病发病率为 0 ~ 85.00%;各化学农药或生物菌剂处理的病情指数为 0 ~ 79.95,CK 为 89.33;咯菌腈、啞菌酯、多菌灵、枯草芽孢杆菌菌肥、哈茨木霉真菌菌肥和 HD13 菌剂处理盆栽试验的相对防效分别为 77.01%、10.50%、38.95%、52.01%、21.58%、100.00%,以 HD13 发酵液的相对防效最

高,表明贝莱斯芽孢杆菌 HD13 对黑斑病具有良好的防治效果。

在大田复筛试验中,自然发病处理(CK)的月季黑斑病发病率最高,为 16.65%,农药或生物菌剂处理的发病率为 4.58% ~ 13.00%,病情指数为 1.87 ~ 7.00。咯菌腈、啞菌酯、多菌灵、枯草芽孢杆菌菌肥、哈茨木霉真菌菌肥、HD13 菌剂处理的盆栽试验的相对防效分别为 71.75%、25.93%、35.98%、51.22%、32.91%、80.21%,其中以 HD13 发酵液的相对防效最佳(80.21%),其次为咯菌腈处理(71.25%)。

表 3 菌株 HD13 对月季室内及大田病害的防治效果

处理	室内盆栽效果			田间效果		
	发病率(%)	病情指数	相对防效(%)	发病率(%)	病情指数	相对防效(%)
CK	100.00 ± 0a	89.33 ± 2.73a		16.65 ± 2.54a	9.45 ± 0.47a	
咯菌腈	39.67 ± 2.54e	20.54 ± 2.16e	77.01 ± 3.21b	4.58 ± 0.82c	2.67 ± 0.22d	71.75 ± 2.92b
啞菌酯	85.00 ± 4.15b	79.95 ± 8.44ab	10.50 ± 0.76f	13.00 ± 2.00a	7.00 ± 0.54b	25.93 ± 0.95e
多菌灵	59.92 ± 4.07d	54.54 ± 1.92c	38.95 ± 3.02d	6.56 ± 0.56b	6.05 ± 0.38b	35.98 ± 1.13d
枯草芽孢杆菌菌肥	51.33 ± 5.64d	42.87 ± 1.11d	52.01 ± 2.47c	6.27 ± 0.86b	4.61 ± 0.46c	51.22 ± 1.54c
哈茨木霉真菌菌肥	75.67 ± 3.25c	70.05 ± 0.86b	21.58 ± 1.54e	7.92 ± 0.92b	6.34 ± 0.25b	32.91 ± 0.86d
HD13 发酵液	0.00 ± 0f	0.00 ± 0f	100.00 ± 0a	4.87 ± 0.54c	1.87 ± 0.19e	80.21 ± 2.22a

3 结论与讨论

植物病害是限制农作物生产的最重要因素之一,研究发现,世界范围内每年约 30% 的木本植物及粮食作物因受到植物病害而产生损失^[22]。链格孢是黑斑病的主要致病菌之一,大量研究发现,链格孢的致病性较强,且可与细菌、真菌病原菌及根结线虫混合侵染,严重时导致植物死亡^[23]。但是,不同生态区域、不同作物种类的主要致病菌种类型

存在差异^[24]。笔者所在课题组前期的调查鉴别研究发现,邯郸市月季黑斑病的病原菌为链格孢。本研究从邯郸市黑斑病发病区的健康月季株根际筛选得到 35 株菌株,以链格孢为靶向病原菌,得到 7 株拮抗菌(HD06、HD13、HD19、HD23、HD26、HD28、HD32),其中菌株 HD13 的拮抗活性最高。促生活性检测结果显示,菌株 HD13 同时具有固氮、溶磷、产铁载体、产 IAA、降解纤维素、降解蛋白等作用,表明该菌株具有促生、养分活化及抑菌潜力。

在园林生态系统中,由于植物类型较为单一,植物极易受到真菌、细菌类疾病的影响,并且病原菌在繁殖的同时致病力得到了进化,这对于病害防治工作具有重大挑战^[25]。开发具有抗菌活性的生防菌株对于植物致病性黑斑病的防治具有重要意义,确定生防菌株的属种有助于将其更好地应用于生物病害的防治中^[9]。本研究结果表明,HD13 外观形态为短杆状,细胞附有细小鞭毛,呈聚合型短链排列,革兰氏染色为阳性,初步判定该菌株为芽孢杆菌属(*Bacillus*)。16S rRNA 序列对比结果表明,菌株 HD13 与 *Bacillus velezensis* SQR9 的相似性高达 99.98%,确定菌株 HD13 为贝莱斯芽孢杆菌。贝莱斯芽孢杆菌广泛分布于自然界,是土壤、海洋生态系统中的重要菌群之一^[26],该菌对病原体的生物防治机制主要包括分泌抗生素、铁载体、分泌胞外裂解酶和介导生物膜形成等,在作物病害防治方面具有巨大的应用前景和研发价值^[27]。

黑斑病病原菌链格孢的细胞壁以几丁质为主的有机物质作为骨架,相关拮抗菌胞外裂解酶的产生能力决定着病原真菌细胞壁溶解、菌丝崩解效果^[23]。本研究结果表明,*B. velezensis* HD13 发酵上清液、细胞粗提物中均含有一定量的几丁质酶、纤维素酶,且在上清液中相关酶的含量较高,推测 *B. velezensis* HD13 通过分泌几丁质酶、纤维素酶等抗菌物质,溶解致病菌骨架,破坏细胞渗透压平衡,从而达到抑菌的目的。扫描电镜观察结果显示,经 *B. velezensis* HD13 处理后,链格孢菌菌丝萎缩干瘪、活力丧失,部分菌丝壁溃解,表明 *B. velezensis* HD13 可通过产生几丁质酶、纤维素酶等活性物质来破坏细胞壁结构。

良好的拮抗效果是反映生防菌能否成为潜在菌肥资源的重要前提,而实际的田间效率及功能作用是评价其最终应用潜力的参考^[11,28]。鲁晏宏等研究发现,内生菌特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis* NY01)可溶解链格孢的菌丝,提高香梨幼苗叶片防御酶活性,盆栽防效达 80%^[29]。宋聪等从冬枣健果中鉴定得到 1 株解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) K5-4,其发酵液菌剂可产生抗生素来干扰链格孢菌丝的生长发育,从而抑制细胞壁再生,盆栽、大田的防病效果分别为 95.67%、78.50%^[21]。本研究结果表明,无论是室内盆栽还是大田试验,咯菌腈对月季黑斑病的防治效果皆优于其他农药及商品生物有机肥处理,这与

前人的研究结果:咯菌腈对黑斑病病原菌的毒力最强,是防治月季黑斑病的优选农药之一^[30]基本一致。在本研究中,*B. velezensis* HD13 在盆栽试验中对月季黑斑病的防效为 100.00%,大田试验的防效为 80.21%,高于之前报道的芽孢杆菌菌株,或可作为开发防治月季黑斑病的潜在资源。

参考文献:

- [1] Lin R Y, Zheng J X, Pu L, et al. Genome-wide identification and expression analysis of aquaporin family in *Canavalia rosea* and their roles in the adaptation to saline-alkaline soils and drought stress [J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 333.
- [2] 李淑斌, 王炜佳, 吴高琼, 等. 月季组学及其开花习性和花香性状研究进展[J]. *园艺学报*, 2019, 46(5): 995-1010.
- [3] 赵阿香, 瞿素萍, 苏艳, 等. 不同栽培模式下切花月季生长状况及品质分析[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2018, 40(11): 10-19.
- [4] 刘建凤, 吉春明, 卫甜, 等. 月季主要病害的诊断与综合防治技术[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(8): 117-119, 129.
- [5] 李艳杰, 普梅英, 吴红芝, 等. 云南省月季黑斑病原菌分离鉴定[J]. *植物病理学报*, 2024, 54(4): 862-865.
- [6] 郭艳红, 张颖, 陈宇春, 等. 蔷薇属黑斑病抗性叶片结构与酶活性研究[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(8): 1637-1642.
- [7] 张真建, 向贵生, 陈敏, 等. 月季黑斑病及其抗性研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(5): 78-84.
- [8] 王秀平. 月季栽培管理及病虫害防治技术[J]. *农业灾害研究*, 2024, 14(8): 10-12.
- [9] 朱杰辉, 张宏志, 陈己任, 等. 月季黑斑病发生和危害及抗性育种的研究进展[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(1): 47-51.
- [10] 曹焯程, 张大琪, 方文生, 等. 土传病害防治技术进展及面临的挑战[J]. *植物保护*, 2023, 49(5): 260-269.
- [11] 王丽花, 农爱仙, 孙爱青, 等. 云南月季根癌病的病原菌鉴定及生物防治技术研究[J]. *江西农业学报*, 2022, 34(7): 86-91.
- [12] 丁艳哲, 杜立财, 孙卓, 等. 刺五加黑斑病生防细菌分离、筛选及室内防控效果[J]. *华南农业大学学报*, 2024, 45(2): 266-272.
- [13] 郑爱芳, 张名雪, 周姝珂, 等. 香樟黑斑病病原菌鉴定及其拮抗菌 B505 的生防效果[J]. *西北农业学报*, 2024, 33(6): 1163-1173.
- [14] 高晓梅, 李杨, 于森, 等. 多功能根际生防促生放线菌的分离鉴定及其对辣椒的益生效果[J]. *农业资源与环境学报*, 2023, 40(4): 906-916.
- [15] 钟宇, 牛莉莎, 曾雨洁, 等. 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.
- [16] Liu X X, Lu R X, Wang X L, et al. Screening identification and growth-promoting effects of inorganic phosphorus-resolving strains of white clover rhizosphere [J]. *Agricultural Science and Technology*, 2012, 13(10): 2058-2064.

张学明,朱峰,陈玉波,等. 草莓灰霉病原菌分离鉴定及枯草芽孢杆菌 GB519 防病促生长作用[J]. 江苏农业科学,2025,53(17):154-159. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.17.020

草莓灰霉病原菌分离鉴定及枯草芽孢杆菌 GB519 防病促生长作用

张学明,朱峰,陈玉波,李海英,邵静,王继春

[吉林省农业科学院(中国农业科技东北创新中心),吉林长春 130033]

摘要:绿色、安全精准防控草莓灰霉病,对吉林省草莓主要病害发生情况进行调查,并分离、纯化及鉴定其致病菌,确定病原菌种类;通过对峙培养法测定枯草芽孢杆菌 GB519 发酵稀释液对病原菌的抑菌效果,通过盆栽试验和田间试验测定枯草芽孢杆菌 GB519 发酵稀释液、抑霉·咯菌腈、克菌丹、啶酰菌胺、啶酰菌胺+木霉菌等 5 种供试菌剂对草莓灰霉病的防治效果以及对草莓果实生长发育的影响。结果表明,吉林省设施草莓主要病害为草莓灰霉病,其病原菌为灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)。通过对峙培养法测定枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) GB519 发酵稀释液对病原菌的抑菌率,为 63.33%。盆栽试验和田间试验结果表明,GB519 发酵稀释液对草莓灰霉病的防治效果最好,防治率分别为 88.69% 和 92.16%;啶酰菌胺+木霉菌防治效果次之。GB519 发酵稀释液能促进草莓植株生长,还可提高果实经济性状,其产量显著高于其他处理。枯草芽孢杆菌 GB519 发酵稀释液不仅能有效防治草莓灰霉病的发生,还能促进草莓生长发育,提高产量以及果实品质,可作为草莓灰霉病防治的潜在生防菌剂。

关键词:草莓;灰霉病;分离;鉴定;生物防治;枯草芽孢杆菌 GB519

中图分类号:S436.68⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)17-0154-06

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)为蔷薇科草莓属(*Fragaria* L.)多年生草本植物,是一种经济价

值、营养价值均较高的小浆果,其果实酸甜可口、芳香浓郁,富含多种营养成分,深受广大消费者喜爱^[1-4],同时因其具有种植周期短、见效快、经济效益高、适应性强等优势,深受果农青睐^[5]。20 世纪 80 年代以来我国草莓种植业迅猛发展,据统计,截至 2020 年,我国草莓种植面积 12.7 万 hm² 以上,产量可达 333.6 万 t,居世界第一^[6-7]。

草莓灰霉病是世界范围内最具毁灭性的草莓

收稿日期:2024-12-09

基金项目:吉林省科技发展计划项目(编号:20240303105NC)。

作者简介:张学明(1987—),男,吉林公主岭人,硕士,副研究员,从事草莓育种与栽培相关工作。E-mail:snowjlau@163.com。

通信作者:王继春,博士,研究员,从事植物保护相关研究。E-mail:wangjichun@cjaas.com。

[17] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 2 版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组,译. 北京:科学出版社,2001:33-35.

[18] Chen X L,Huang H F,Zhang S M,et al. *Bacillus velezensis* WZ-37,a new broad-spectrum biocontrol strain,promotes the growth of tomato seedlings[J]. Agriculture,2021,11(7):581.

[19] 刘玉敏,谢小林,陈猛,等. 贝莱斯芽孢杆菌 SB10 的筛选、鉴定及其在番茄青枯病防治中的应用[J]. 江苏农业科学,2024,52(19):134-143.

[20] 王伟伟,王卿惠. 解淀粉芽孢杆菌 M1-1 鉴定及其抑菌和植物促生作用[J]. 农业生物技术学报,2023,31(12):2612-2622.

[21] 宋聪,黄亚丽,谢晨星,等. 冬枣黑斑病菌拮抗菌株的筛选鉴定及其对该病的防治作用[J]. 河南农业科学,2016,45(7):71-75.

[22] Wang Y,Pruitt R N,Nürnberg T,et al. Evasion of plant immunity by microbial pathogens[J]. Nature Reviews Microbiology,2022,20(8):449-464.

[23] 周素婷,任兵杨,李欲轲,等. 链格孢致病机制、防治措施与开发利用研究进展[J]. 分子植物育种,2025,23(3):782-791.

[24] 高芬,吴元华. 链格孢属(*Alternaria*)真菌病害的生物防治研究进展[J]. 植物保护,2008,34(3):1-6.

[25] 刘杰. 园林植物病害产生的原因及防治措施[J]. 安徽农学通报,2018,24(2):75-76.

[26] 张德锋,高艳侠,王亚军,等. 贝莱斯芽孢杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. 微生物学通报,2020,47(11):3634-3649.

[27] 陶永梅,潘洪吉,黄健,等. 新型生防微生物因子贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)的研究与应用[J]. 中国植保导刊,2019,39(9):26-33.

[28] 杨学宇,谭琳,沈程文,等. 茶轮斑病拮抗菌 kc-16 的抑菌性能及田间防效[J]. 微生物学通报,2024,51(11):4560-4573.

[29] 鲁晏宏,郝金辉,詹发强,等. 香梨黑斑病病原菌分离及拮抗菌筛选鉴定[J]. 新疆农业科学,2022,59(10):2538-2545.

[30] 冯宝珍,李培谦. 月季黑斑病病原菌鉴定及室内药剂初步筛选[J]. 植物保护学报,2019,46(5):1147-1154.