

王锦丹,余亚军,郭建伟,等. 珠芽魔芋叶斑病菌生物学特性研究、内生细菌及防治药剂筛选[J]. 江苏农业科学,2026,54(3):145-154.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2026.03.017

珠芽魔芋叶斑病菌生物学特性研究、 内生细菌及防治药剂筛选

王锦丹,余亚军,郭建伟,高鹏华,李丽芳,齐颖,邹颖,余磊,黄飞燕,杨敏

(云南省魔芋生物学重点实验室/昆明学院农学与生命科学学院/云南省都市特色农业工程技术研究中心,云南昆明 650214)

摘要:为明确云南省珠芽魔芋叶斑病菌生物学特性,并筛选出有效的生物防治菌剂和杀菌剂。采用菌丝生长速率法,测定其在不同光照、温度、pH 值、氮碳源和培养基条件下的生长情况;随后采用平板对峙法筛选所分离的珠芽魔芋植株内生细菌对叶斑病菌有拮抗作用的菌株;并测定 7 种杀菌剂对该菌的毒力大小。结果表明,该菌在 4~35℃ 内均可生长,其中 25~30℃ 是最适生长温度;pH 值范围在 4~11 时病原菌均可生长,最适生长 pH 值为 9;全光照条件下最有利于病原菌的生长;CAS 培养基是该病原菌生长的最适培养基;蛋白胨、D-果糖分别为最适氮、碳源。共筛选出 10 株对该病菌有抑制效果的内生细菌,其中,菌株 J4(*Bacillus velezensis*)的抑菌效果最好,抑菌率为 73.72%。此外,供试的 7 种杀菌剂对病原菌的生长均有一定的毒力作用,其中抑菌能力最强的是 50% 福美双 WP,其 EC_{50} 为 1.114 2 mg/L;20% 噻菌铜 SC 和 80% 多菌灵 WP 抑菌效果最差,其 EC_{50} 分别为 10.507 2、3.280 0 mg/L。综上,在防治珠芽魔芋叶斑病时,可采用拮抗菌 J4 菌株或杀菌剂 50% 福美双 WP。

关键词:珠芽魔芋;叶斑病;细极链格孢;生物学特性;内生细菌;毒力测定

中图分类号:S182;S436.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2026)03-0145-10

珠芽魔芋(*Amorphophallus bulbifer*)是一种天南星科魔芋属的多年生单子叶植物^[1],是一类既能利用球茎和实生籽种进行繁殖,也能利用在叶柄分叉处着生的气生珠芽来进行繁殖的经济作物,具有繁

殖系数大、产量高等特点,是近年广泛种植的一类魔芋新品种^[2-3]。已在云南、四川、广东、广西等地大面积推广种植^[4]。然而,随着珠芽魔芋产业的发展,病害问题逐渐显现,叶斑病已经成为限制珠芽魔芋产业发展的重要因素。目前,已经有多种病原菌被报道与魔芋叶斑病的发生相关,其中包括胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、细极链格孢(*Alternaria tenuissima*)、拟漆斑霉(*Paramyrothecium breviseta*)以及多主棒孢霉(*Corynespora cassiicola*)等^[5-8]。笔者所在课题组在前期研究中发现,珠芽魔芋叶斑病的主要病原为 *A. tenuissima*,并且这是国内首次报道该病原可引发珠芽魔芋叶斑病^[5],目前关于珠芽魔芋叶斑病菌的生物学特性研究仍较为

收稿日期:2025-02-13

基金项目:云南省科技计划(编号:202501AU070008、202401BA070001-001);云南省科技厅云南省魔芋生物学重点实验室专项(编号:202449CE340009);云南省余磊专家基层科研工作站专项。

作者简介:王锦丹(1998—),女,云南文山人,硕士研究生,研究方向为资源利用与植物保护。E-mail:2277271844@qq.com。

通信作者:黄飞燕,博士,研究员,主要从事经济作物生产技术研究,E-mail:125593879@qq.com;杨敏,博士,助理研究员,主要从事作物抗病研究,E-mail:2576241960@qq.com。

[21] Valle S F, Giroto A S, Guimarães G G F, et al. Co-fertilization of sulfur and struvite-phosphorus in a slow-release fertilizer improves soybean cultivation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:861574.

[22] Olmo M, Alburquerque J A, Barrón V, et al. Wheat growth and yield responses to biochar addition under Mediterranean climate conditions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(8):1177-1187.

[23] 陈照明,王强,刘晓霞,等.¹⁵N 示踪法研究生物炭施用对水稻-土壤系统氮肥去向的影响[J]. *水土保持学报*, 2022, 36

(2):331-336.

[24] Allison S D, Weintraub M N, Gartner T B, et al. soil enzymology [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2011:229-243.

[25] Qian T T, Zhang X S, Hu J Y, et al. Effects of environmental conditions on the release of phosphorus from biochar[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(9):2069-2075.

[26] Khan S, Chao C, Waqas M, et al. Sewage sludge biochar influence upon rice (*Oryza sativa* L.) yield, metal bioaccumulation and greenhouse gas emissions from acidic paddy soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(15):8624-8632.

匮乏。此外,大部分植物叶斑病的防治措施仍主要依赖化学手段,但在实际应用中,喷药量没有统一的标准,导致施药量过大且药剂种类繁多,造成田间防治效果不一致。不规范的防治方式使得病原菌对多种药物产生抗性,同时对人体健康构成威胁,也对环境造成污染。因此,筛选出低毒、高效的化学药剂及安全高效的植物源药剂,成为防治该病害的关键途径。

因此,本研究开展了云南地区珠芽魔芋叶斑病菌的生物学特性测定,以及其植物源和低毒高效化学药剂的筛选,旨在明确云南地区珠芽魔芋叶斑病菌的生物学特性,并筛选获得防效较好的药剂,以期云南地区珠芽魔芋叶斑病菌的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

细极链格孢(*A. tenuissima*)于2024年7月在昆明学院云南省魔芋生物学重点实验室活化与培养,具体操作如下:将-20℃低温保存于滤纸片上的珠芽魔芋叶斑病菌菌株BNYB03接种于孟加拉红培养基,并置于温度为28℃、黑暗的培养箱中进行活化培养,培养5d后在菌落边缘打取直径为6mm的菌饼接种到培养基上备用。

1.2 生物学特性测定

采用单因子变量法测定细极链格孢生物学特性,测定不同光照时间(24、12、0 h/d)、温度(5、10、15、20、25、28、30、35℃)、pH值(4、5、6、7、8、9、10、11)、氮源(蛋白胨、甘氨酸、硝酸钾、硫酸铵、草酸铵和硝酸钠)、碳源(麦芽糖、葡萄糖、D-果糖、D-山梨醇、可溶性淀粉、甘露醇和乳糖)、培养基[马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基、水-琼脂(WA)培养基、察氏(Czapek)培养基、胡萝卜(CAS)培养基、燕麦(OMA)培养基、马铃薯蔗糖琼脂(PSA)培养基、麦芽汁(MEA)培养基、孟加拉红(RBC)培养基和牛肉膏蛋白胨(NA)培养基]对菌丝生长的影响。每个处理重复3次,每天观察菌落生长的情况,7d后用十字交叉法测量菌落直径。

1.3 内生细菌的筛选

1.3.1 内生细菌的分离纯化 将健康珠芽魔芋根、茎、叶组织分别清洗干净后,称取5g,采用表面消毒法和组织研磨法进行内生细菌的分离^[9]。

1.3.2 拮抗菌株的筛选 采用平板对峙法筛选珠

芽魔芋叶斑病菌病原菌的内生拮抗菌株,具体方法:在已活化5d的细极链格孢菌落边缘打取6mm菌饼反接在PDA培养基平板中央,分别在距平板边缘1cm处十字对称点接种内生细菌,以仅接种病原菌为对照,在28℃条件下倒置培养。7d后筛选出对病原菌有明显拮抗作用的菌株,采用碟片法进行复筛,具体方法:用接种环蘸取拮抗菌株单菌落接入LB液体培养基中,在28℃条件下180 r/min振荡培养过夜备用;将6mm病原菌菌饼反接在PDA培养基平板中央,分别在距平板边缘2.5cm处放置4个碟片,碟片中分别滴上5μL拮抗菌发酵液,在28℃条件下正置培养。每个菌株重复3次。7d后测量菌落直径,计算抑菌率,抑菌率=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/对照组菌落直径×100%。

1.3.3 拮抗菌株的鉴定 按照细菌基因组DNA提取试剂盒说明书提取拮抗菌株基因组DNA。16S rRNA基因扩增采用细菌通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1429R(5'-CGGCTACCTTGTACGAC-3')。用1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,并送至北京擎科生物科技股份有限公司测序。将测序结果上传至NCBI数据库,并与数据库中已知序列进行Blastn比对,并用MEGA 7.0软件中的最大似然法构建系统发育树,确定其分类地位。

1.4 7种杀菌剂对细极链格孢的室内毒力测定

参照前人的研究^[10],采用菌丝生长速率法测定7种供试杀菌剂的抑菌活性,供试药剂及其浓度梯度设置见表1。具体试验步骤为:首先,使用直径为6mm的无菌枪头从已活化培养5d的病原菌菌落边缘打取菌饼,并将其接种至含有不同浓度供试杀菌剂的PDA培养基平板中心。对照组使用含等量无菌水的PDA培养基。所有培养基均放置于28℃恒温箱中进行培养,培养时间为7d。培养结束后,采用十字交叉法测量菌落直径,并计算菌落的平均直径。根据菌落的平均直径,计算杀菌剂对菌丝生长的抑制率。抑制率=(对照菌落平均直径-处理菌落平均直径)/对照菌落平均直径×100%。

1.5 数据统计分析

通过Excel 2010对数据进行初步统计,利用SPSS 26.0进行单因素方差分析,结合DPS 7.05进行毒力回归方程和抑制中浓度(EC₅₀)的分析。

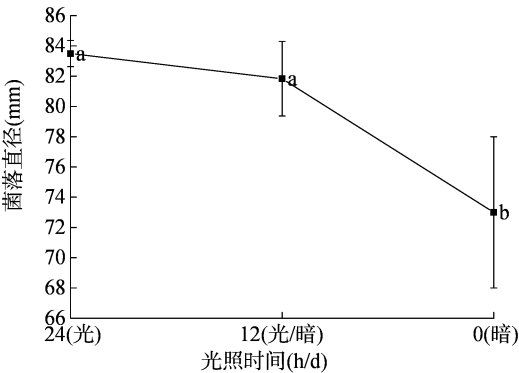
表 1 供试药剂来源及浓度梯度

药剂名称	厂家	浓度梯度 (mg/L)				
		I	II	III	IV	V
精甲霜·锰锌可湿性粉剂 (WP)	先正达 (苏州) 作物保护有限公司	5 000	2 500	1 250	625	312.5
50% 福美双 WP	山东恒利达生物科技有限公司	8 000	4 000	2 000	1 000	500
20% 噻菌铜悬浮剂 (SC)	浙江龙湾化工有限公司	4 000	2 000	1 000	500	250
35% 氟菌·戊唑醇 SC	拜耳作物科学 (中国) 有限公司	1 200	600	300	150	75
12.5% 腈菌唑乳油 (EC)	华北制药集团爱诺有限公司	1 200	600	300	150	75
25 g/L 咯菌腈 WP	先正达南通作物保护有限公司	2 000	1 000	500	250	125
80% 多菌灵 WP	山东百士威作物保护有限公司	2 000	1 000	500	250	125

2 结果与分析

2.1 光照条件对细极链格孢的影响

由图 1、图 2 可知,细极链格孢在不同光照条件下的菌丝生长表现出一定的差异。通过试验观察,光暗交替和全光条件下的菌落直径与菌落生长状态差异不显著。在全光条件下,菌落直径最大,达到了 83.50 mm,其次是在光暗交替条件下,菌落直径为 81.83 mm,相比之下,在全暗条件下菌落直径最小,为 73.00 mm,该结果表明缺乏光照对该菌株的生长有一定的抑制作用。综上,虽然光暗交替与全光条件下的菌丝生长差异不大,但光照条件总体上对细极链格孢的菌落生长产生了积极的影响。全暗条件下的光照缺失限制了菌落的扩展,因此在实际培养中,适当的光照能够促进细极链格孢的生长,提升其菌落的生长速率和扩展能力。

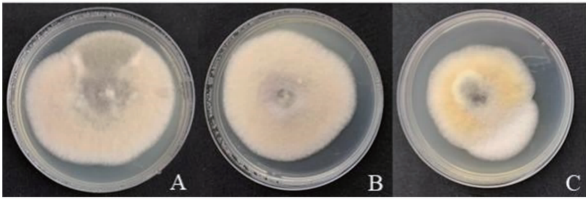


不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 图 3、图 5、图 7、图 9 同

图1 菌株 BNYB03 在不同光照条件下生长的菌落直径

2.2 培养温度对细极链格孢的影响

温度是影响菌落生长速率的关键环境因素之一。通过对细极链格孢在不同温度条件下的生长表现进行观察和分析,结果(图 3、图 4)表明该菌株能够在上述 8 个不同温度下均能生长,但其菌落直



A、B、C 光照时间分别为 24、0、12 h/d
图2 菌株 BNYB03 在不同光照条件下的生长状况

径存在显著差异。具体而言,在 25 ~ 30 ℃ 培养条件下菌株 BNYB03 的菌落生长速率最快,菌落直径分别为 62.33、63.17、64.00 mm,为其培养的最适温度区间。在这一温度区间内,菌株的代谢活性较高,能够有效利用培养基中的营养物质,促进菌株快速生长。然而,当温度低于 20 ℃ 时,菌落的生长速率明显减慢,菌落直径未能达到其他温度下的生长速度,表明低温抑制了该菌株的代谢过程和细胞分裂,导致其生长受限。特别是在 10 ℃ 培养条件下,菌落生长缓慢的现象更加明显。此外,当温度升高至 35 ℃ 时,菌株的生长速度显著减缓,菌落直径相较于在 30 ℃ 时的表现显著减小。这表明过高的温度对该菌株的生长产生了显著的抑制作用,可能引发热应激反应,影响细胞的正常代谢过程。

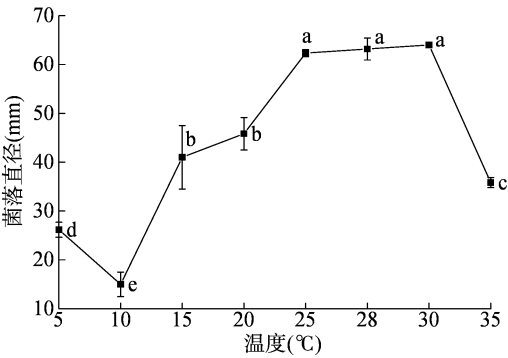
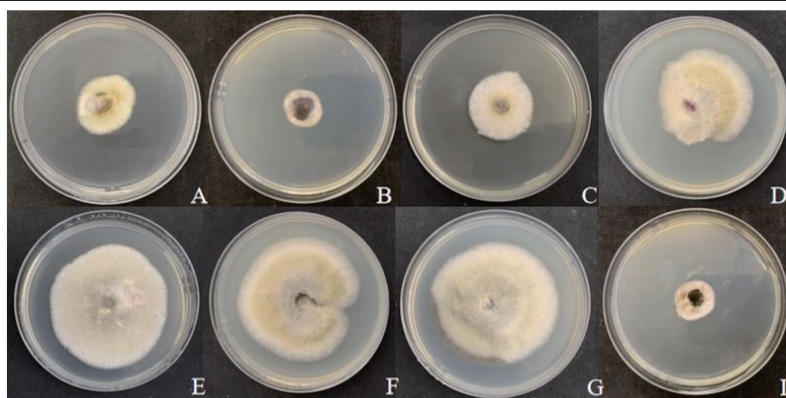


图3 菌株 BNYB03 在不同温度条件下生长的菌落直径

2.3 pH 值对细极链格孢的影响

培养基的 pH 值是影响菌落生长的重要因素之



A~I 分别是培养温度为 5、10、15、20、25、28、30、35 °C
图4 菌株 BNYB03 在不同温度条件下的生长状况

一。本研究对不同 pH 值(分别为 4、5、6、7、8、9、10 和 11)的 PDA 培养基中细极链格孢的生长情况进行了系统分析。在 7 d 后测量菌落直径,结果(图 5、图 6)显示,在 pH 值范围为 4~11 时,菌落均能正常生长。其中,当培养基 pH 值为 9 时,菌落直径达到最大,为 74.00 mm;其次是 pH 值为 4、5、6 时,菌落直径分别为 63.00、61.17、63.33 mm。

2.4 氮、碳源对细极链格孢的影响

为探究细极链格孢对不同碳、氮源的利用情况,本研究以察氏培养基为基础培养基,分别替换其中的氮源硝酸钠为硫酸铵、硝酸钾、甘氨酸、草酸铵、蛋白胨,并以硝酸钠作对照;同样以察氏培养基为基础培养基,分别替换其中的碳源蔗糖为可溶性淀粉、葡萄糖、乳糖、甘露醇、麦芽糖、*D*-山梨醇、*D*-果糖。将菌株 BNYB03 接种于各个培养基。结果(图 7、图 8)表明,接种 7 d 后,可观察到细极链格孢在各培养基上均能生长。在碳源为 *D*-果糖和葡

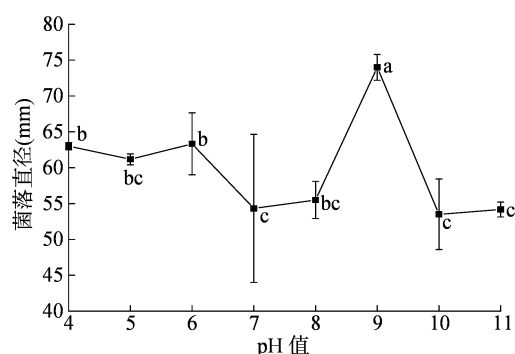
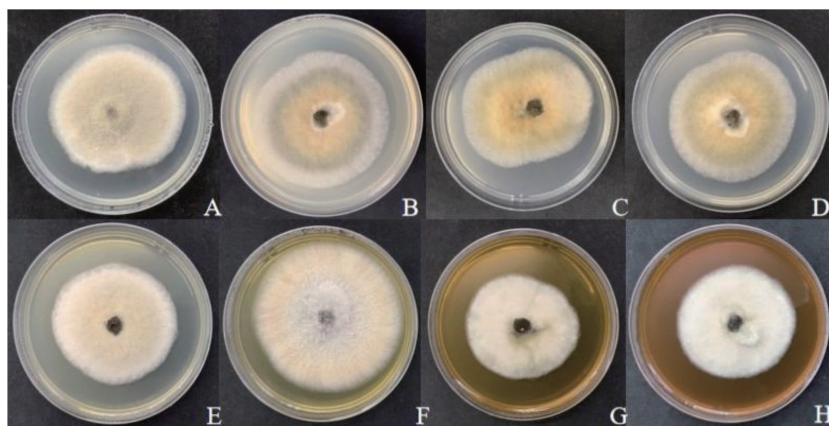


图5 菌株 BNYB03 在不同 pH 值培养基内生长的菌落直径

萄糖的培养基上菌落直径最大,分别为 73.00、70.67 mm;在氮源为蛋白胨的培养基上该菌株的菌落直径最大,为 64.50 mm。而氮、碳源为草酸铵和 *D*-山梨醇时,该菌株生长速度较缓慢。这表明该菌株对草酸铵和 *D*-山梨醇营养源的利用效率较低,导致菌株生长所需的条件较为苛刻。



A~H 的 pH 值分别为 4~11
图6 菌株 BNYB03 在不同 pH 值培养基内生长状况

2.5 培养基对细极链格孢的影响

不同培养基所含营养元素不同可影响病原菌

生长,为探究最适细极链格孢生长的培养基种类。选择目前常用的培养基 CAS、PDA、OMA、PSA、NA、

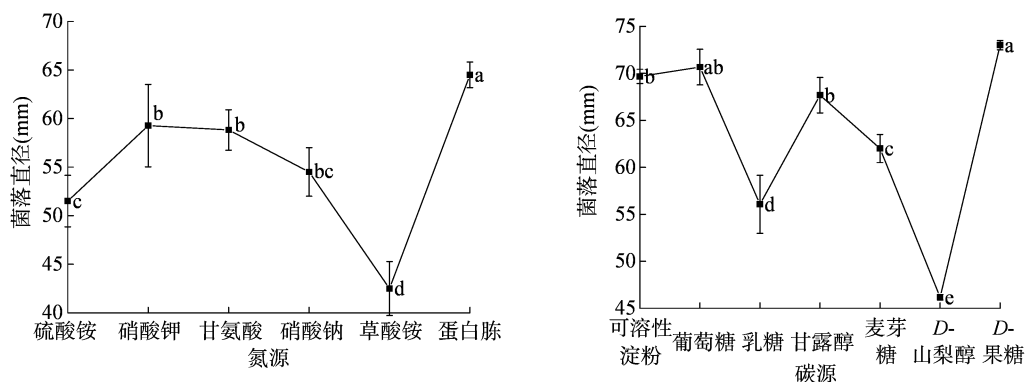
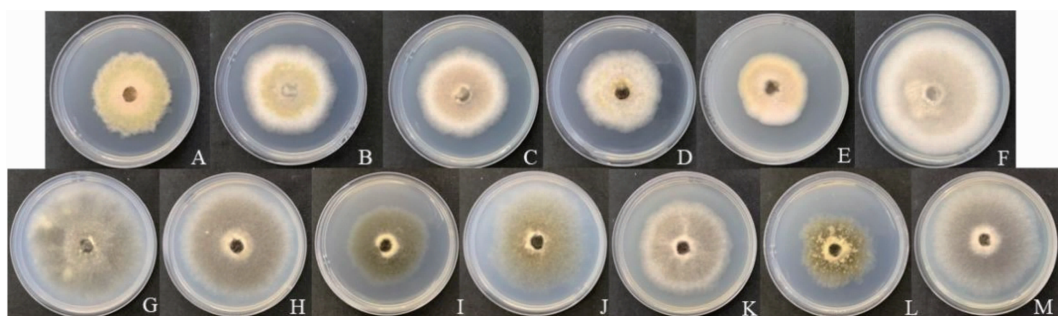


图7 菌株 BNYB03 在不同氮、碳源培养基上的菌落直径



A~F 分别是氮源为硫酸铵、硝酸钾、甘氨酸、硝酸钠、草酸铵、蛋白胨的培养基；G~M 分别是碳源为可溶性淀粉、葡萄糖、乳糖、甘露醇、麦芽糖、D-山梨醇、D-果糖的培养基

图8 菌株 BNYB03 在不同氮、碳源培养基上的生长状况

WA、Czapek、MEA 和 RBC 分别培养菌株 BNYB03 7 d,从试验结果(图 9、图 10)来看,细极链格孢在 CAS 培养基上的生长速率最快,且菌丝生长最为旺盛,菌落直径达到了 75.67 mm,这表明 CAS 培养基为该菌株提供了丰富的营养,极大地促进了其生长。相对而言,WA 培养基对该菌株的生长影响最为不佳,在此培养基上菌丝较为稀疏,菌落直径仅为 39.00 mm。此差异可能源于 WA 培养基的成分较为简单,仅含水和琼脂粉,所提供的营养成分非常有限,难以满足菌株的生长需求,从而导致菌丝生长缓慢。在其他培养基上的生长情况也有所不同。当菌株 BNYB03 接种于 CAS、PDA、OMA 和 MEA 培养基时,初期可见白色菌丝的生长,而在后期,菌落的中心区域逐渐呈现灰绿色,边缘则生长出灰白色的菌丝层,表明这些培养基能够支持较为健康和旺盛的菌丝生长。相比之下,在 NA 和 WA 培养基上,菌落始终保持灰白色或灰褐色,未见明显的颜色变化,且菌丝生长状况不佳。

2.6 内生拮抗细菌的筛选

通过表面消毒法和组织研磨法从健康魔芋根、茎、叶部组织中共分离出 38 株具有不同形态特征的

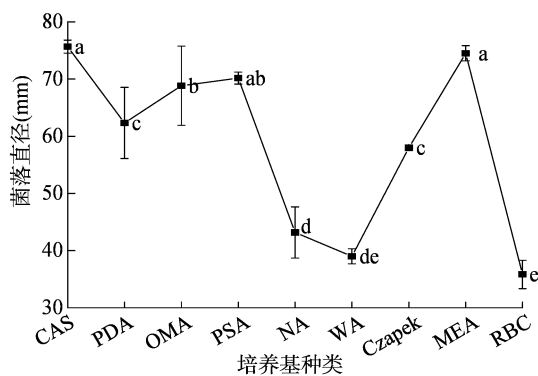
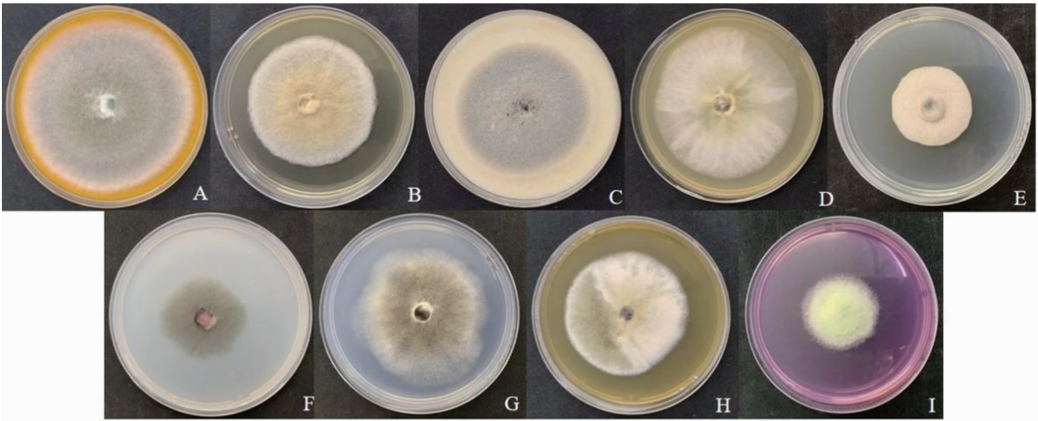


图9 菌株 BNYB03 在不同培养基上的菌落直径

内生细菌,分别命名为 Y1 ~ Y9、J1 ~ J13、G1 ~ G16。采用平板对峙法从中筛选出 10 株对魔芋叶斑病菌具有拮抗效果的菌株 Y1 ~ Y4、J2 ~ J5、G7 和 G10。经测序比对后可知,这 10 株中有 4 株归属于枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),4 株归属于贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*),1 株为 *Bacillus toyonensis*,1 株为 *Bacillus allismortis*。各个菌株的抑菌情况详见表 2 和图 11,抑菌率在 70% 以上的有 2 株(Y3 和 J4),其余 8 株菌株的抑菌率均在 60% ~ 70% 之间。经对比,菌株 J4 的拮抗效果明显优于其他菌株的拮抗效果,因此使用菌株 J4 进行后续分析。



A~I 分别为 CAS、PDA、OMA、PSA、NA、WA、Czapek、MEA、RBC 培养基
图10 菌株 BNYB03 在不同培养基上的生长状况

表 2 10 株内生细菌对菌株 BNYB03 的抑制效果

菌株编号	菌落直径 (mm)	抑菌率 (%)	鉴定结果	参考菌株登录号	相似度 (%)
CK (BNYB03)	74.37 ± 1.96a		<i>Alternaria tenuissima</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MK679626.1 EF - 1α 基因登录号:MK679629.1 β - tubulin 基因登录号:MK674263.1	100
Y1	22.63 ± 1.53d	69.58 ± 1.35b	<i>Bacillus subtilis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:KU922443.1	100
Y2	23.12 ± 1.11d	68.93 ± 0.67b	<i>Bacillus subtilis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MN938175.1	100
Y3	20.22 ± 0.49e	72.80 ± 1.12a	<i>Bacillus subtilis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:OQ472449.1	100
Y4	22.52 ± 0.79d	69.72 ± 0.86b	<i>Bacillus toyonensis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MN428162.1	100
J2	23.57 ± 0.55cd	68.29 ± 1.33b	<i>Bacillus velezensis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:ON259318.1	100
J3	23.77 ± 0.35cd	68.02 ± 1.18bc	<i>Bacillus velezensis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MZ540895.1	100
J4	19.53 ± 0.35e	73.72 ± 0.67a	<i>Bacillus velezensis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:PQ495640.1	100
J5	22.83 ± 0.25d	69.28 ± 1.00b	<i>Bacillus allismortis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MG937647.1	100
G7	27.50 ± 0.96b	63.01 ± 1.45d	<i>Bacillus velezensis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:KU973624.1	100
G10	25.07 ± 0.81c	66.29 ± 1.07c	<i>Bacillus subtilis</i>	rDNA - ITS 基因登录号:MK103123.1	100

注:表中数据为平均值 ± 标准误差;同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

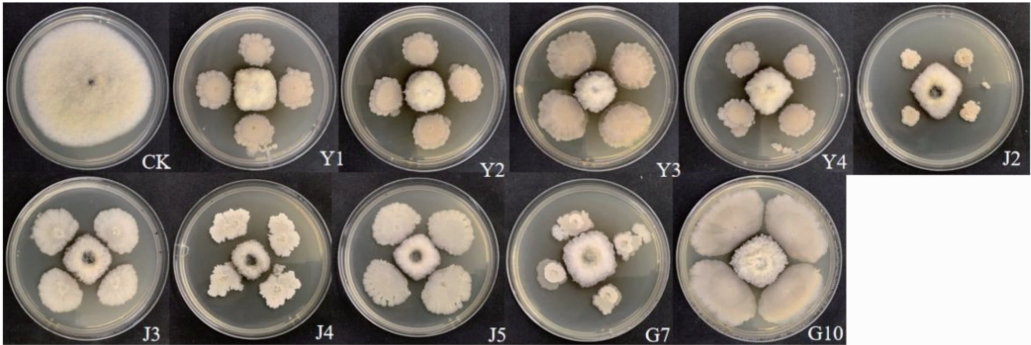


图11 10 株内生细菌对菌株 BNYB03 的平板抑制状况

2.7 内生拮抗菌株的鉴定

经测序分析,菌株 J4 的 16S rRNA 基因扩增产物长度约为 1 378 bp。将该序列上传至 GenBank 后,获得了登录号 PQ867856。通过 Blastn 比对,结

果显示该序列与贝莱斯芽孢杆菌的 16S rRNA 基因序列相似性高达 99%。为了进一步确认菌株 J4 的种类,选取与其序列相似度较高的相关菌株,并基于这些菌株的序列数据构建了系统发育树(图 12)。

从系统发育树的分析结果来看,菌株 J4 与贝莱斯芽孢杆菌紧密聚类,显示出高度的相似性。结合菌株

的形态学特征及分子生物学鉴定结果,可以最终确定菌株 J4 为贝莱斯芽孢杆菌。

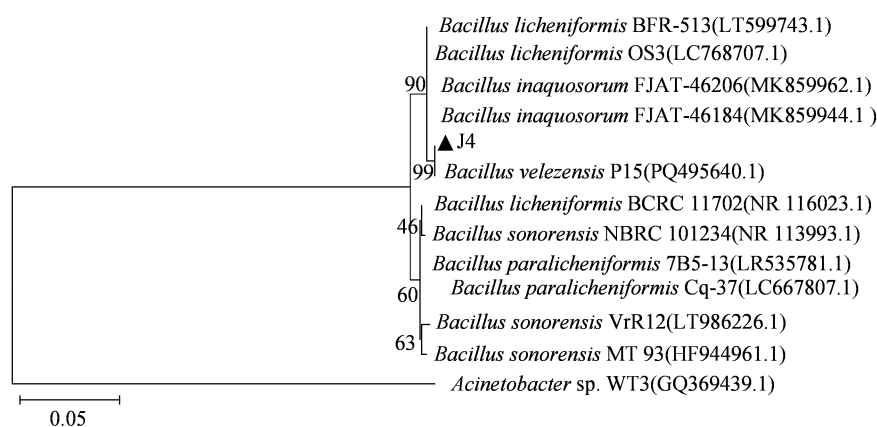


图12 基于 16S rDNA 基因序列用最大似然法构建的菌株 J4 的系统发育树

2.8 7 种杀菌剂对细极链格孢的室内毒力测定

7 种杀菌剂对菌株 BNYB03 菌丝的生长均具有抑制作用,但不同药剂的抑菌效果不同(表 3、图 13)。其中,抑菌能力最强的是 50% 福美双 WP,其 EC_{50} 为 1.114 2 mg/L;其次分别是 35% 氟菌·戊唑醇 SC、精甲霜·锰锌 WP 和 12.5% 腈菌唑 EC,其 EC_{50} 分别为 1.881 1、2.002 7、2.387 0 mg/L;20% 噻菌铜 SC 和 80% 多菌灵 WP 的抑菌效果最差,其 EC_{50} 分别为 10.507 2、3.280 0 mg/L。

3 讨论

链格孢属 (*Alternaria* spp.) 真菌是一类常见的病原菌,广泛存在于自然环境中,不仅能够在多种不同的气候条件下生存,还具有强大的适应性,能够在不同的温度、湿度和土壤条件下繁殖,这使得它能够在全球范围内传播^[11]。据报道细极链格孢 (*A. tenuissima*) 可危害多种作物叶部,引起病害,例如罗布麻叶斑病、蒲公英叶斑病、向日葵叶枯病等均由细极链格孢引起^[12-14],对农业生产造成了不小的威胁。尽管已有关于 *A. tenuissima* 生物学特性的研究,但在不同作物上已有的研究结果并不一致。本研究对 *A. tenuissima* 生物学特性的深入研究,将有助于更好地理解该病害的发生机制,为其有效控制和预防提供科学依据。

生物学特性研究结果表明,*A. tenuissima* 在 4 ~ 35 °C 范围内均可生长,最适生长温度为 25 ~ 30 °C。这一温度范围与国内外前人的相关研究结果高度一致,*A. tenuissima* 和 *A. alternata* 最适生长温度为 25 ~ 30 °C^[15-16]。这一发现对于病害的预测和防治

策略的制定具有重要意义,因为温暖的气候条件是该病菌生长和扩散的关键因素。因此,云南德宏地区的气候特征为病菌的生长提供了优越的环境,病害高发的原因可能与此密切相关。其次,本研究发现,珠芽魔芋叶斑病菌在 pH 值 4 ~ 11 之间均可生长,其中最适生长 pH 值为 9,*D*-果糖为碳源时菌株生长状况较佳,这与前人的研究结果^[17]相符。这表明,该菌具有较强的环境适应性,能够在多种土壤和水分条件下存活并造成危害。*D*-果糖作为碳源,能够迅速被病原菌吸收并转化为能量,加速其生长和侵染过程。此外,本研究还发现,蛋白胨为唯一氮源、全光照 2 种培养条件下,菌株生长状况较好,这与前人的研究结果^[18]相符。蛋白胨作为一种有机氮源,提供了丰富的氨基酸和肽类物质,这些营养成分对于病原菌的生长至关重要。氮源是微生物代谢和蛋白质合成的基本元素,蛋白胨能够为菌株提供必需的氮源,有助于其在适宜的条件下迅速生长和繁殖。因此,蛋白胨被广泛应用于微生物培养中,以提高微生物的生长速度和产物的合成效率。

本研究中,在 CAS 培养基中菌株生长状况较佳,这与前人的研究^[19]有差异,原因可能是寄主与地域环境的差异使细极链格孢的适生条件发生了一定变化,也可能是该菌株在特定的培养环境中对某些营养成分的依赖性较高,或是其适应了 CAS 培养基中某些特定成分的影响。CAS 培养基具有丰富的营养成分,适合病原菌的代谢和繁殖。病原菌在不同培养基中的生长情况与其生物学特性密切相关,合理选择培养基可以有效促进病原菌的生长

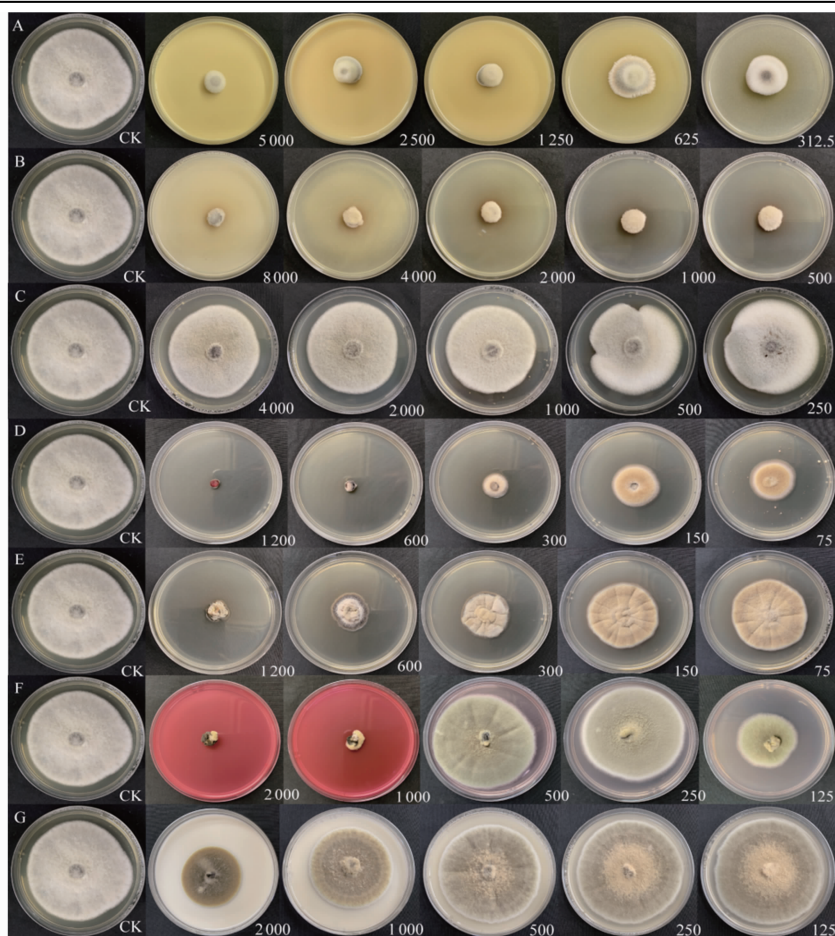
表 3 10 种杀菌剂对木贼镰刀菌 LM-2 的平板抑制效果

杀菌剂	浓度 (mg/L)	菌落直径 (mm)	抑菌率 (%)	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ (mg/L)
CK(BNYB03)		78.40 ± 0.99a				
精甲霜·锰锌 WP	5 000	18.67 ± 2.36c	76.17 ± 3.22a	$y = 4.124\ 4 + 0.437\ 2x$	0.928 2	2.002 7
	2 500	20.78 ± 2.18c	73.49 ± 2.80a			
	1 250	22.17 ± 3.69c	71.71 ± 4.79a			
	625	32.33 ± 2.36b	58.76 ± 2.86b			
	312.5	31.25 ± 1.89b	60.13 ± 2.49b			
50% 福美双 WP	8 000	12.83 ± 0.58c	83.63 ± 0.65a	$y = 4.712\ 8 + 0.257\ 7x$	0.998 1	1.114 2
	4 000	13.83 ± 1.53bc	79.37 ± 1.78bc			
	2 000	13.00 ± 1.32c	81.40 ± 1.91a			
	1 000	14.50 ± 0.75bc	77.50 ± 0.97bc			
	500	15.25 ± 0.66b	74.54 ± 1.02c			
20% 噻菌铜 SC	4 000	66.67 ± 1.88bc	14.96 ± 2.62a	$y = 3.622\ 0 + 0.131\ 1x$	0.536 5	10.507 2
	2 000	65.00 ± 3.04bc	17.12 ± 2.86a			
	1 000	64.58 ± 1.88c	17.61 ± 2.59a			
	500	65.67 ± 4.25bc	16.27 ± 4.59a			
	250	69.67 ± 2.08b	11.15 ± 2.00a			
35% 氟菌·戊唑醇 SC	1 200	6.00 ± 0.00d	92.35 ± 0.10a	$y = 2.554\ 8 + 1.299\ 9x$	0.954 8	1.881 1
	600	6.00 ± 0.00d	92.35 ± 0.10a			
	300	17.78 ± 0.97c	77.31 ± 1.47b			
	150	34.17 ± 1.26b	56.40 ± 2.08c			
	75	35.90 ± 1.54b	54.22 ± 1.58c			
12.5% 腈菌唑 EC	1 200	16.19 ± 0.62e	79.34 ± 1.04a	$y = 2.515\ 5 + 1.040\ 8x$	0.964 3	2.387 0
	600	28.70 ± 1.14d	63.40 ± 1.07b			
	300	36.43 ± 0.90c	53.53 ± 1.55c			
	150	51.57 ± 1.44b	34.21 ± 2.20d			
	75	50.61 ± 0.65b	35.43 ± 1.65d			
25 g/L 咯菌腈 WP	2 000	13.29 ± 1.30e	83.03 ± 1.87a	$y = -0.132\ 2 + 1.316\ 7x$	0.949 9	2.638 6
	1 000	11.51 ± 0.95e	85.33 ± 1.05a			
	500	34.80 ± 2.02d	55.59 ± 2.97b			
	250	46.15 ± 0.92c	41.13 ± 1.34c			
	125	70.74 ± 0.71b	9.09 ± 1.32d			
80% 多菌灵 WP	2 000	44.67 ± 0.77f	43.02 ± 0.31a	$y = 0.681\ 2 + 1.316\ 7x$	0.992 2	3.280 0
	1 000	60.00 ± 0.67e	23.45 ± 1.79b			
	500	68.70 ± 0.57d	12.36 ± 1.82c			
	250	72.26 ± 0.58c	7.82 ± 1.84d			
	125	75.65 ± 0.60b	3.51 ± 0.93e			

注:表中数据为平均值 ± 标准误差,同列数据后不同小写字母表示同一药剂不同浓度之间或与对照之间差异显著($P < 0.05$)。

和毒力表达。本研究生物学特性测定结果表明,细极链格孢能够危害多种植物,但由于其在不同地域或寄主植物上生长于不同环境条件下,再加上不同菌株的测试菌龄差异,导致菌株发生变化,出现种间差异。这种差异使得在生物学特性测定中,同种病原菌的某些特性难以保持一致^[16,18]。

贝莱斯芽孢杆菌作为一种广泛应用的生物防治菌种,因其具有显著的拮抗作用和广阔的应用前景,在农业和植物保护领域的研究中得到了广泛关注。该菌不仅在防治植物病原真菌方面表现出卓越的性能,还在抑制病原细菌方面显示出了巨大的潜力,展现出良好的多功能性和高效性^[20]。近年



A~G 分别表示菌株 BNYB03 在不同浓度的杀菌剂平板中的生长状况,依次为精甲霜·锰锌 WP、50% 福美双 WP、20% 噁菌铜 SC、35% 氟菌·戊唑醇 SC、12.5% 腈菌唑 EC、25 g/L 咯菌腈 WP 和 80% 多菌灵 WP, 浓度单位为 mg/L

图13 7 种杀菌剂对菌株 BNYB03 的平板抑制状况

来,王卓妮等研究发现,3 株贝莱斯芽孢杆菌(G3-23、J3-20、G3-29)对草莓褐色叶斑病原菌(*Pilidium concavum*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、链格孢菌(*A. alternata*)4 种病原菌具有广谱拮抗效果^[21]。刘玉敏等的研究表明,贝莱斯芽孢杆菌 SB10 具有显著的广谱抑菌功能,该菌株不仅能够有效抑制多种病原真菌,如立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和大丽轮枝孢菌(*Verticillium dahliae*)等,还能够抑制多种病原细菌,如柑橘黄单胞杆菌(*Xanthomonas campestris*)、燕麦嗜酸菌西瓜亚种(*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)及青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*),在研究中,对这些病原菌的抑菌圈直径均超过 3.0 cm,说明贝莱斯芽孢杆菌 SB10 具有较强的拮抗作用^[22]。崔文艳等的研究表明,贝莱斯芽孢杆菌 B9601-Y2 菌悬液对金银花叶斑病(*A. alternata*)的防效高达

76.06%^[23]。这些前人的研究结果均表明,贝莱斯芽孢杆菌不仅在防治多种植物病原真菌方面表现出优异的性能,还在抗击植物病原细菌方面展现出潜力,具有广泛的应用前景。本研究筛选出 10 株对珠芽魔芋叶斑病菌具有显著抑制作用的内生细菌,其中,*B. velezensis* 菌株 J4 表现最为优异,抑菌率达到 73.72%,这一结果与相关研究的结果^[24]相符。进一步验证了贝莱斯芽孢杆菌在植物病害防治中的巨大潜力。通过这些研究,贝莱斯芽孢杆菌被证实是一种具有强大拮抗作用的生物用菌,未来有望在农业领域得到更广泛的应用,尤其是在对抗植物病原菌和提高作物抗病性方面。

尽管生物防治在许多情况下表现出良好的防治效果,但化学防治依然是农作物病害防治的重要手段。本研究分析了 7 种常用杀菌剂对珠芽魔芋叶斑病菌上的毒力,结果表明 50% 福美双 WP 对该病菌具有最强的抑制作用,其 EC_{50} 为 1.114 2 mg/L。

根据研究表明,福美双类杀菌剂具有广泛的抑菌作用,在控制可可毛色二孢菌 (*Lasiodiplodia theobromae*)、尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis*)、白粉病菌等方面表现出优异的效果^[25-27]。因此,在珠芽魔芋生产过程中,推荐在叶斑病发生初期及时用药,选择具有较强抑制效果的化学药剂,将更加有效。

4 结论

本研究通过对病原菌细极链格孢 (*A. tenuissima*) 的生物学特性进行研究,发现该菌在全光照条件下生长最为有利,最适生长温度为 25 ~ 30 ℃,最适 pH 值为 9;该菌对氮源蛋白胨和碳源 D-果糖的利用效果最佳,且相对最适的培养基为 CAS 培养基。在筛选出的 10 株内生拮抗菌中,菌株 J4 (*B. velezensis*) 对该病原菌表现出最强的抑菌效果。此外,供试的 7 种不同药剂对该病菌的室内抑菌试验结果表明,50% 福美双 WP 对该病原菌的抑制作用最佳。

参考文献:

- [1] 罗运才. 贵港市引种云南珠芽魔芋的效益分析及关键栽培技术[J]. 南方农业,2022,16(20):28-30.
- [2] 石超峰,吴林璇,高重智,等. 基于表型分类的珠芽魔芋种质资源综合评价[J]. 湖南农业科学,2024(4):1-7.
- [3] 张盛林,宋洋,蒋学宽,等. 川南地区珠芽魔芋健康栽培技术及病虫害综合防控[J]. 植物医学,2022(4):73-83.
- [4] 李洪坤,高燕,侍勋,等. 德宏傣族景颇族自治州珠芽魔芋高产栽培技术[J]. 现代农业科技,2023(22):56-59.
- [5] 王启宇,杨敏,魏环宇,等. 引起云南省珠芽魔芋叶斑病的链格孢菌种类鉴定[J]. 植物保护,2022,48(4):240-244.
- [6] Yang M, Wei H Y, Huang F Y, et al. First report of leaf spot on *Amorphophallus muelleri* caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Yunnan, China [J]. Journal of Plant Pathology, 2020, 102(2): 583-584.
- [7] Wang C M, Li H K, Yin S S, et al. First report of *Paramyothecium breviseta* causing target spot on *Amorphophallus muelleri* in Yunnan, China [J]. Plant Disease, 2024, 108(6):1897.
- [8] 刘一贤,孔祥东,岩香甩. 云南西双版纳珠芽黄魔芋棒孢霉叶斑病原鉴定[J]. 植物保护,2025,51(3):313-317.
- [9] 金利容,许冬,王玲,等. 云木香内生细菌的分离鉴定及其对大丽轮枝菌的抑制作用[J]. 植物保护,2024,50(3):46-54.
- [10] 敖显禧,欧阳浩,杨文佳,等. 贵州省核桃叶斑病原菌鉴定、生物学特性及防治药剂筛选[J]. 南方农业学报,2024,55(7):2126-2136.
- [11] 蒋晶晶,赵娇娇,陈爱昌,等. 黄芩叶斑病原菌鉴定和药剂室内毒力测定[J]. 核农学报,2022,36(11):2166-2174.
- [12] Lan Y R, Yan Z C, Duan T Y. Luobuma leaf spot disease caused by *Alternaria tenuissima* in China [J]. Journal of Fungi, 2023, 9(11):1062.
- [13] Yang Y, Wang X L, Ji J J, et al. First report of purple spot on dandelion in China caused by *Alternaria tenuissima* [J]. Plant Disease, 2021, 105(1):211.
- [14] Wang T Y, Zhao J, Ma G P, et al. Leaf blight of sunflower caused by *Alternaria tenuissima* and *A. alternata* in Beijing, China [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2019, 41(3):372-378.
- [15] 杨雅雯,陈巧环,周佳,等. 射干叶斑病原菌的鉴定、生物学特性及其有效杀菌剂研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(22):6042-6049.
- [16] 李培谦,冯宝珍,赵燕飞,等. 芍药红斑病原菌鉴定、生物学特性及有效药剂筛选[J]. 核农学报,2023,37(8):1533-1541.
- [17] 陈宸,沙鹏飞,江学,等. 金森女贞叶斑病原物的鉴定、生物学特性及防治药剂筛选[J]. 植物病理学报,2024,54(1):36-48.
- [18] 努尔斯曼姑丽·艾海提,魏然,蔡晨宇,等. 新疆万寿菊褐斑病原鉴定、生物学特性及室内药剂筛选[J]. 新疆农业大学学报,2023,46(1):42-49.
- [19] 刘俏,宁楠楠,马永强,等. 青海省樱桃叶斑病菌生物学特性及室内药剂毒力测定[J]. 植物保护,2021,47(3):136-143,176.
- [20] 王帆帆,唐涛,孙光忠,等. 半夏细菌性病害拮抗菌筛选、鉴定及防治效果测定[J]. 南方农业学报,2025,56(1):250-260.
- [21] 王卓妮,覃良红,王丽,等. 草莓病害拮抗菌的筛选及其对草莓褐色叶斑病的防效[J]. 中国蔬菜,2023(2):63-71.
- [22] 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.
- [23] 崔文艳,罗喜燕,张佳佳,等. 贝莱斯芽孢杆菌 B9601-Y2 对金银花叶斑病的防控效果[J]. 中国生物防治学报,2024,40(6):1347-1354.
- [24] 杜淑涛,李术娜,朱宝成. 白菜黑斑病拮抗菌 *Bacillus velezensis* DL-59 的筛选鉴定及田间防效实验[J]. 河北农业大学学报,2010,33(6):51-56.
- [25] 杨玉婷,郑滢淋,梁赛玉,等. 肉桂枝枯病原的分离、鉴定以及室内药剂筛选[J]. 林业与环境科学,2024,40(5):46-54.
- [26] 刘伟,王立达,马晨,等. 仙客来枯萎病药剂防治效果初探[J]. 中国植保导刊,2022,42(1):74-76.
- [27] 郑生岳,张鹏,高峰. 应对桃园白粉病爆发的药剂防治技术研究[J]. 农业科技与信息,2021(14):69-71.