

烟草根腐病生防细菌的筛选鉴定及其生防作用特性研究

黄国桃¹, 刘 辉¹, 向海波¹, 杨 勇¹, 李 浩², 余 君^{2*}

¹湖北大学生命科学学院, 省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室, 湖北 武汉

²湖北省烟草科学研究院, 湖北 武汉

收稿日期: 2024年11月21日; 录用日期: 2025年1月7日; 发布日期: 2025年1月17日

摘 要

为挖掘对烟草镰刀菌根腐病具有较强拮抗作用的生防菌株, 绿色防治烟草镰刀菌根腐病, 本研究利用平板对峙法分离筛选出一株对尖孢镰刀菌具有高效拮抗活性的菌株TH0008, 抑菌率为86.3%, 通过形态学、生理生化特征以及16S rRNA序列分析鉴定该菌株为高地芽胞杆菌(*Bacillus altitudinis*)。该菌株发酵上清液中含有几丁质酶和纤维素酶, 可溶解病原菌的细胞壁; 同时烟苗中PPO、POD和PAL防御酶活性升高, 说明菌株TH0008能诱导烟草产生抗性。盆栽试验也发现菌株TH0008对镰刀菌根腐病的防控优于商品化的农药甲霜·锰锌可湿性粉剂, 相对防效达到84.9%, 表明高地芽胞杆菌TH0008在绿色防治烟草根腐病中具有较大的应用潜力。

关键词

烟草根腐病, 尖孢镰刀菌, 高地芽胞杆菌, 生物防治

Screening, Identification, and Biological Control Properties of Bacteria against Tobacco Root Rot Disease

Guotao Huang¹, Hui Liu¹, Haibo Xiang¹, Yong Yang¹, Hao Li², Jun Yu^{2*}

¹State Key Laboratory of Biocatalysis and Enzyme Engineering, School of Life Science, Hubei University, Wuhan Hubei

²Tobacco Research Institute of Hubei Province, Wuhan Hubei

Received: Nov. 21st, 2024; accepted: Jan. 7th, 2025; published: Jan. 17th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 黄国桃, 刘辉, 向海波, 杨勇, 李浩, 余君. 烟草根腐病生防细菌的筛选鉴定及其生防作用特性研究[J]. 植物学研究, 2025, 14(1): 36-45. DOI: 10.12677/br.2025.141004

Abstract

To identify biocontrol strains with strong antagonistic effects against *Fusarium* root rot disease in tobacco and promote environmentally friendly management of this disease, a bacterial strain TH0008 was isolated using the dual-culture method and exhibited high antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* with an inhibition rate of 86.3%. The strain was identified as *Bacillus altitudinis* based on morphological, physiological, biochemical characteristics, and 16S rRNA gene sequence analysis. The fermentation supernatant of TH0008 contained chitinase and cellulase, which can degrade the cell walls of pathogens, and it significantly induced the activity of defense enzymes PPO, POD, and PAL in tobacco seedlings. Pot experiments further demonstrated that strain TH0008 provided superior control of *Fusarium* root rot disease compared to the commercial fungicide Metaxyl-Mancozeb wettable powder, achieving a relative control efficacy of 84.9%. These findings suggest that *Bacillus altitudinis* TH0008 has significant potential for sustainable biological control of tobacco root rot disease.

Keywords

Tobacco Root Rot Disease, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus altitudinis*, Biological Control

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

镰刀菌根腐病是烟草的重要土传根茎病害，对烟草的产量和质量构成严重威胁。该病害由尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和茄病镰刀菌(*F. solani*)引起，其病害症状通常表现为根部变褐、腐烂，最终导致植株萎蔫、枯死[1]。镰刀菌可单独侵染，也可与其他病原菌如黑胫病菌(*Phytophthora nicotianae*)和青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)共同侵染，进一步加剧病害严重程度[2]。这种病害的广泛发生不仅严重影响烟叶的商品价值，还可能导致全田绝收。

当前，对镰刀菌根腐病的主要防治策略包括抗病品种的选育和化学药剂的使用。然而，抗病种质资源的匮乏以及抗病品种选育周期的漫长限制了这一方法的广泛应用[3]。另一方面，化学防治虽然在短期内能够有效控制病害，但长期大量使用化学药剂会带来环境污染、农药残留等问题，并加速病原菌产生抗药性，最终导致病菌群体的遗传结构发生生理分化和变异[4]，进一步增加病害防治的难度。随着绿色农业理念的推广，开发生态友好型的生物防治剂逐渐成为镰刀菌病害防治的重要方向。近年来，针对根腐病的生物防治研究主要集中在木霉菌(*Trichoderma spp.*)和芽孢杆菌(*Bacillus spp.*)。姚晨斌等[5]筛选出棘孢木霉 Tr-0111，对烟草镰刀菌的抑制率达到 93.13%，并能促进烟草种子的萌发和根系的生长；何明川等[6]分离到的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) MC4-2 对烟草黑胫病的盆栽防效达到 63.86%；许乐等[7]获得的内生多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*) DS-R5 通过抑制腐皮镰刀菌孢子萌发，破坏菌丝结构和内部细胞器抑制病原菌生长，对丹参根腐病的盆栽防效达到 61.4%。然而，目前针对烟草镰刀菌根腐病的生防细菌研究尚不系统，对其作用机制的揭示也较为有限。因此，本研究从健康烟株根际土壤中筛选拮抗细菌菌株，获得对烟草镰刀菌根腐病主要病原具有较好抑制作用的拮抗细菌菌株，明确其种类，并测定其防效及对烟草的促生效果，为烟草镰刀菌根腐病高效生物防治剂的开发提供重要的微生物资源和

理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

供试细菌：20 株细菌菌株，分离自湖北省烟区烟草根际土壤，保存于湖北大学省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室。

供试烟草品种：云烟 87，由湖北省烟草科学研究院提供。

供试病原菌：烟草镰刀菌根腐病菌(*F.oxysporum*)，该病菌经致病性测定和鉴定，保存于湖北大学省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室。

供试培养基：LB 培养基：氯化钠 10 g，蛋白胨 10 g，酵母粉 5 g，1000 mL 水，琼脂 15 g，灭菌；TSA 培养基：胰酪蛋白胨 15 g，大豆蛋白胨 5.0 g，氯化钠 5.0 g，琼脂粉 15 g，1000 mL 水，pH 值 7.3 ± 0.2 ，灭菌；NA 培养基：牛肉浸膏 3 g，酵母浸膏 1 g，蛋白胨 5 g，葡萄糖 10 g，琼脂 15 g，蒸馏水补足 1000 mL，pH 7.2，灭菌；PDA 培养基：马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15~20 g、蒸馏水 1000 mL，pH 7.0~7.4，灭菌。生理生化所需培养基均购买自北京酷莱博科技有限公司，按照使用说明书配制并灭菌。

2.2. 拮抗细菌的分离和筛选

菌株分离：土壤采自湖北省襄阳市主要烟区烟田中的健康烟草植株根际。采土时，用铁铲挖开烟草根部土壤，深度为 10~15 cm，在不损伤烟草根系的情况下，采集烟株根际土壤。取 10 g 带根土壤加入有 90 mL 无菌水的锥形瓶中，于 28℃ 恒温振荡培养箱中，200 r/min 振荡 1 h，使待测土样充分稀释均匀，取出后静置沉淀 10 min，取上清液依次稀释至 10^{-1} ~ 10^{-6} 倍，吸取 100 μ L 在 LB 平板上涂布。37℃ 培养箱中培养 24 h，选择不同形态菌株多次平板培养和纯化，直到获得纯化的单菌落，甘油保存。

菌株筛选：以烟草根腐病尖孢镰刀菌(*F.oxysporum*)为指示菌，采用平板对峙法测定待测菌株对尖孢镰刀菌的拮抗活性。在 PAD 平板上预先活化尖孢镰刀菌，用直径为 5 mm 的无菌打孔器在菌落边缘打取菌饼，接种于新的 PDA 平板中央，在距离平板中心 2.5 cm 处上下平行划线接种分离纯化得到的不同细菌。以只接种病原菌为空白对照。每处理设 3 次重复，将平板置于 28℃ 恒温箱内培养 5 d 后观察病菌生长情况。记录抑菌带宽度，筛选出抑菌带宽度大于 5 mm 的菌株进行复筛。将初筛获得的细菌用于复筛，复筛方法同上，但每个平板两侧接种同一个菌株，对照不接菌且长满平板后记录菌株的抑菌带宽度。将上述初筛平板取出，测量抑菌带宽度并计算抑菌率，计算公式如下：

$$\text{抑菌率} = \left[\frac{\text{对照组抑菌带宽度} - \text{处理组抑菌带宽度}}{\text{对照组抑菌带宽度}} \right] \times 100\% \quad (1)$$

2.3. 拮抗细菌的鉴定

2.3.1. 形态观察和生理生化特征

接种拮抗菌在 LB 液体培养基中过夜培养，使用接种环蘸取菌液在 LB 固体培养基上将筛选出的拮抗细菌进行划线，置于 28℃ 培养 24 h，观察菌落形态特征，使用革兰氏染色试剂盒对拮抗细菌进行革兰氏染色，观察染色结果。参照文献[8][9]的方法对菌株进行生理生化测定。将 5 μ L 菌液分别滴在产铁载体、解磷、解钾、固氮、蛋白酶、淀粉酶及明胶培养基上，在 28℃ 下静置培养 6 d，根据是否产生透明圈来判断是否具有该项活性。吡啶试验使用蛋白胨水培养基，将 10 μ L 菌液接种于 10 mL 蛋白胨水培养基中 28℃ 培养 48 h。培养结束后取 1 mL 培养液于 1.5 mL 离心管中，沿管壁缓缓加入 40 μ L kovac 氏试剂，静置观察现象。细菌若含有色氨酸酶，则分解蛋白胨中色氨酸形成吡啶，加入 kovac 氏试剂后与吡啶发生反应，

形成红色分层。每组实验 3 个重复。

2.3.2. 菌株的分子学鉴定

提取细菌基因组参见谢永丽等[10]方法。利用通用引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'和 1541R: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'对其 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增后测序, 将 16S rRNA 的 PCR 扩增产物回收纯化后由武汉擎科生物科技有限公司测序。测序结果提交 NCBI 数据库进行 BLAST 同源性分析, 再利用 MEGA11.0 软件进行序列比对以及系统进化树的构建[11][12]。

2.4. 拮抗细菌纤维素酶和几丁质酶活性的测定

菌株培养 48 h, 收集发酵液的上清液(全菌液经 12000 r/min 离心 5 min, 取上清液过滤)。几丁质酶与纤维素酶活性分别使用纤维素酶活性检测试剂盒(上海原鑫生物, YX-SH-TQ22025)与几丁质酶活性检测试剂盒(上海原鑫生物, YX-W-B917)进行检测[13]。

2.5. 拮抗细菌发酵液对烟叶防御酶活性诱导试验

选取长势大小一致的烟苗, 在烟苗移栽后 7 d 进行灌施拮抗细菌发酵液(1.0×10^8 cfu/mL) 40 mL, 以清水处理为对照(CK), 各处理 6 株, 重复 3 次。处理 7 d 后取第 3 片叶, 采用邻苯二酚法测定多酚氧化酶(PPO)活性[14], 愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性[15], 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定参考文献[16]的方法。

2.6. 拮抗细菌对烟草根腐病盆栽防效的测定

试验设计空白组 CK、对照组 T1、处理组 T2。尖孢镰刀菌接种于 PDB 液体培养基, 28℃、200 r/min 振荡培养 7 d, 制成孢子浓度为 1.0×10^8 cfu/mL 的孢子悬液; 拮抗细菌接种于 LB 液体培养基, 37℃、200 r/min 振荡培养 48 h, 制成浓度为 1.0×10^8 cfu/mL 的细胞悬液。选取长势一致的烟草, 移栽 7 d 后采用灌根法浇灌植株, 每株灌施病原菌孢子悬液 200 mL。对照组 T1 在 7 d 后进行甲霜·锰锌可湿性粉剂(有效成分含量为 58%, 其中甲霜灵 10%, 代森锰锌 48%, 苏州宝灵化工股份有限公司) 600 倍溶液浇灌处理。处理组 T2 在 7 d 后每株灌施拮抗细菌发酵液 200 mL。CK 灌施清水做空白处理。每个处理 6 株, 设 3 个重复。于最后一次灌根后 15 d 开始调查发病情况。参照标准 GB/T23222-2008 [17]方法进行烟草根腐病病情指数分级。计算发病率、病情指数和相对防效。

$$\text{发病率} = \frac{\text{染病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病株数} \times \text{该病级值})}{(\text{调查总株数} \times \text{最高级值})} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{相对防效} = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (4)$$

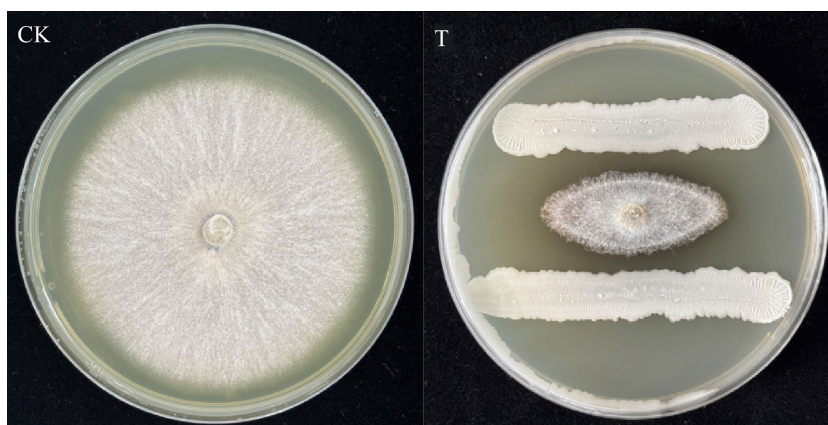
3. 结果与分析

3.1. 拮抗菌株的筛选

将 20 株细菌与尖孢镰刀菌进行平板对峙试验, 结果如表 1。其中对尖孢镰刀菌具有高效拮抗作用(抑菌率 > 50%)的拮抗细菌 7 株, 从中选择抑菌率为 86.3%的 TH0008 菌株进一步测定并验证其抑菌效果, 平板抑菌如图 1。

Table 1. The antagonistic effect of bacteria on *F. oxysporum***表 1.** 细菌对尖孢镰刀菌抑菌效果

菌株编号	对照组病原菌直径(mm)	处理组病原菌直径(mm)	抑菌率(%)
TH0009		6	92.5
TH0012		7	91.2
TH0008		8	86.3
TH0005		13	83.8
TH0018		20	75.0
TH0003		25	68.8
TH0013		36	55.0
TH0017		40	50.0
TH0004		50	37.5
TH0006		56	30.0
TH0014	80.0	58	27.5
TH0002		60	25.0
TH0011		60	25.0
TH0020		70	12.5
TH0007		75	6.2
TH0015		75	6.2
TH0010		80	0
TH0016		80	0
TH0019		80	0
TH0001		80	0

**Figure 1.** Antagonistic effect of antagonistic strain TH0008 on *F. oxysporum***图 1.** 拮抗菌株 TH0008 对尖孢镰刀菌的拮抗效果

3.2. 拮抗菌株 TH0008 的鉴定

3.2.1. 形态观察和生理生化特征

图 2 显示, 菌株 TH0008 为革兰氏染色阳性, 在 TSA 培养基上 28℃ 黑暗培养 24 h, 菌落表面皱缩,

近圆形，扁平，呈乳白色不透明。其生理生化特征见表 2，菌株 TH0008 能够固氮，分解有机磷和无机磷以及产蛋白酶。

Table 2. Physiological and biochemical characteristics of strain TH0008

表 2. 菌株 TH0008 的生理生化特性

生理生化指标	结果
固氮	+
解磷(有机磷)	+
解磷(无机磷)	+
解钾	-
嗜铁素	-
吲哚试验	-
淀粉酶	-
蛋白酶	+
明胶液化	-

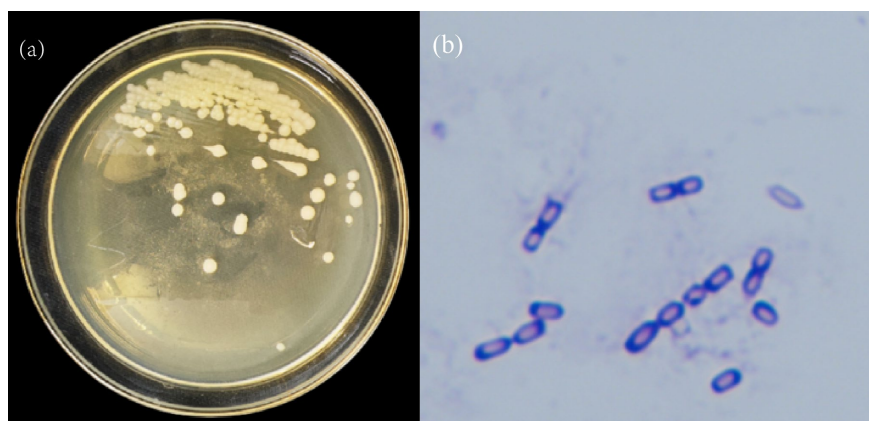


Figure 2. Colony (a) and cell morphologies (b) of antagonistic strain TH0008

图 2. 拮抗菌株 TH0008 菌落形态(a)与细胞形态(b)

3.2.2. 分子生物学鉴定

将拮抗菌株 TH0008 的 16SrRNA 基因序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对分析,利用 MEGA11.0 构建系统发育进化树。结果如图 3 所示,菌株 TH0008 与 *Bacillus altitudinis* (ASJC01000029)聚类为同一分支,同源性达到 100%。结合系统发育分析,鉴定 TH0008 为芽孢杆菌属的高地芽孢杆菌。

3.3. 拮抗菌株 TH0008 纤维素酶和几丁质酶活性的测定

许多生防微生物可以分泌几丁质酶和纤维素酶,破坏植物病原真菌细胞壁的结构,影响其稳定性因而表现出有较强的抑菌作用[18]。在菌株 TH0008 的发酵上清液中检测到了几丁质酶和纤维素酶活性,见图 4,酶含量分别为 $112.74 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $230.19 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$,表明该菌株能产生几丁质酶和纤维素酶,具有分解尖孢镰刀菌细胞壁中几丁质和纤维素的能力。

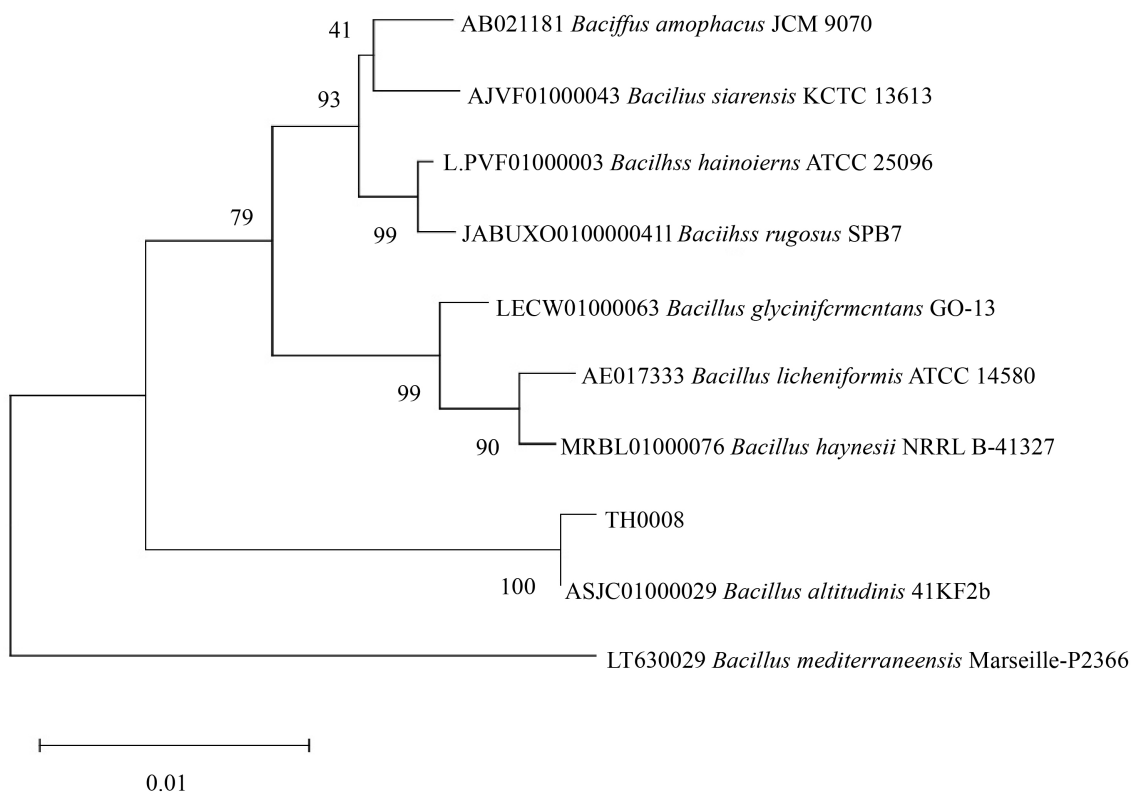


Figure 3. Phylogenetic tree of antagonistic strain TH0008
图 3. 拮抗菌株 TH0008 的系统进化树

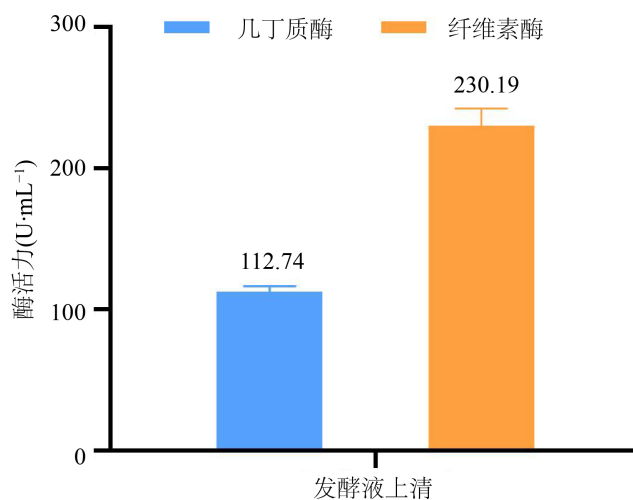


Figure 4. Contents of chitinase and cellulase in strain TH0008
图 4. 菌株 TH0008 的几丁质酶和纤维素酶含量

3.3.1. 拮抗菌株 TH0008 发酵液对烟叶防御酶活性诱导试验

多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、过氧化物酶(POD)三种防御酶与植物的抗(耐)病性密切相关[19]。如图 5 所示, 经过发酵液处理后的烟面, 其叶片内三种防御酶活性与 CK 相比均有显著的提高。说明菌株 TH0008 发酵液处理可以诱导烟苗内多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、过氧化物酶(POD)三种防御

酶活性的显著提高。

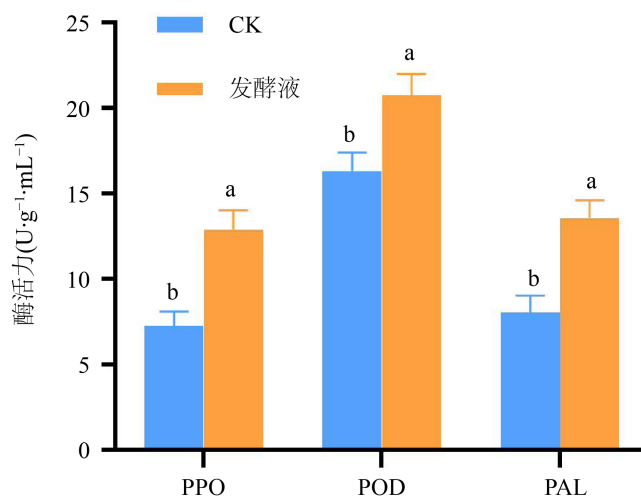


Figure 5. The effect of fermentation broth of strain TH0008 on PPO, POD, and PAL enzyme activities in tobacco leaves

图 5. 菌株 TH0008 发酵液对烟叶 PPO、POD 和 PAL 酶活性的影响

3.3.2. 盆栽试验

如图 6 所示, CK 处理发病率为 85.7%, 甲霜锰锌处理发病率为 56.1%, TH0008 处理烟草镰刀菌根腐病的发病率为 14.0%; 病情指数仍以 CK 处理最高, 为 48.3, 甲霜锰锌和 TH0008 处理病情指数分别为 28.6 和 8; 甲霜锰锌和 TH0008 发酵液处理的盆栽相对防效为 39.8%和 84.9%, 以 TH0008 处理相对防效更高。

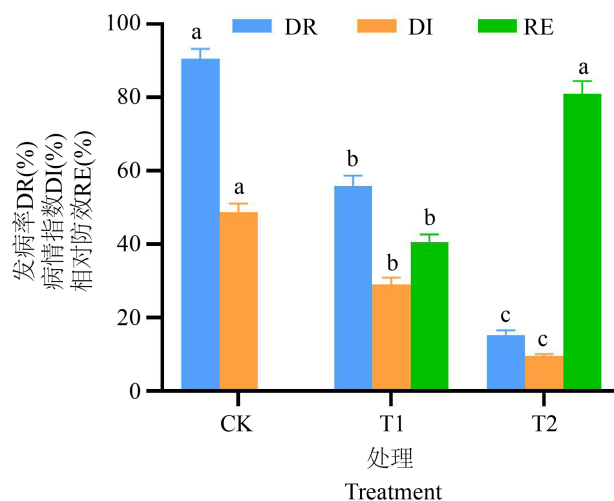


Figure 6. Potting experiment on the control effect of strain TH0008 bacterial solution

图 6. 菌株 TH0008 菌液的盆栽试验防效

4. 讨论

镰刀菌根腐病的主要致病菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和茄病镰刀菌(*Fusarium solani*) [20],

不同生态区域的主要致病菌种类存在显著差异[21]。陈高航[22]在湖北恩施 7 个烟区采集的 18 个样本中, 分离出接骨木镰刀菌(*F.sambucinum*)、三线镰刀菌(*F.tricinatum*)和尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*), 致病性分析发现, 烟草镰刀菌根腐病的主要致病菌为尖孢镰刀菌, 可导致烟草根部腐烂, 而其他两种镰刀菌对烟草根部未表现出显著致病性。目前, 针对烟草镰刀菌根腐病生物防治资源的研究较少。谯天敏等[23]研究表明, 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) Y6 对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的抑菌率为 30.6%; 李姝江等[24]筛选的蜡样芽孢杆菌 B3 对茄病镰刀菌(*F.solani*)的抑菌带直径为 26.0 mm, 盆栽防效为 25.57%~97.56%; 倪方方等[25]研究指出, 枯草芽孢杆菌(*B.subtilis*)对白术尖孢镰刀菌的平板对峙抑菌率为 52.3%, 盆栽防效 36.33%; 姚凤琴等[26]报道了枯草芽孢杆菌 Bv17 对茄病镰刀菌的平板抑菌率为 85.44%, 盆栽防效达 70.52%~97.32%。芽孢杆菌可通过分泌抑菌物质、合成促生长激素及诱导系统抗性等机制显著提高植物抗病能力[27] [28]。

本研究中从健康烟草根际土壤中分离筛选出对尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)拮抗效果显著的菌株 TH0008, 其抑菌率为 86.3%, 对烟草根腐病盆栽防效为 84.9%。根据菌株形态特征、生理生化特性以及 16S rRNA 分子鉴定, 结合系统发育树分析, 确定菌株 TH0008 为高地芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)。诱导抗性被认为是生物防治作物病害的重要机制之一, 植物抗病性常通过抗性相关防御酶如 PPO、POD 和 PAL 的活性来衡量, 这些酶在植物的新陈代谢及能量转化等生命活动中起关键作用。PPO 和 PAL 是苯丙烷类代谢途径中的关键酶和限速酶, 可直接调控酚酸的生成, 从而防止病原菌繁殖扩散; POD 是植物体内主要的活性氧清除剂, 主要通过清除活性氧、合成木质素等方式, 增强植物细胞壁的屏障作用[29]。本研究中接种菌株 TH0008 发酵液处理可以诱导烟苗内多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、过氧化物酶(POD)防御酶活性的表达, 从而增强了烟草对根腐病的抗性。此外, 生防细菌可通过分泌几丁质酶、纤维素酶等胞外水解酶, 降解病原真菌细胞壁, 导致病菌菌丝崩解[30]。本研究筛选的高地芽孢杆菌 TH0008 的发酵上清液中含有几丁质酶和纤维素酶, 这可能是其对尖孢镰刀菌产生显著抑菌效果的主要机制之一。然而, 其具体的作用机理及抗菌物质的种类和作用路径尚需进一步研究。

5. 结论

本研究从健康烟株根际土壤中筛选获得了对烟草镰刀菌根腐病防治效果显著的高地芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)TH0008, 对尖孢镰刀菌的抑菌率达 86.3%; 盆栽试验表明, 该菌株可有效降低烟草尖孢镰刀菌根腐病的发病率和病情指数, 盆栽防效达 84.9%; 进一步研究发现, TH0008 发酵液中检测到了几丁质酶和纤维素酶, 可溶解病原真菌的细胞壁, 从而抑制尖孢镰刀菌的侵染能力; 同时菌株发酵液显著诱导提高烟苗中 PPO、POD 和 PAL 等防御酶活性, 促进烟株生长发育并增强烟株抗病性。本研究为烟草镰刀菌根腐病的生物防治提供了新的菌种资源, 并为进一步探索其作用机理及田间应用潜力奠定了基础。

基金项目

品牌导向的优质雪茄烟叶均质化生产技术体系研究[110202101059(XJ-08)]; 国产马杜罗茄衣烟叶生产技术研发与应用[110202201040(XJ-11)]。

参考文献

- [1] 李小杰, 李琦, 刘畅, 等. 河南烟区烟草根茎类病害调查及病原鉴定[J]. 烟草科技, 2022, 55(1): 7-19.
- [2] 邱睿, 白静科, 李成军, 等. 河南烟草镰刀菌的分子鉴定及致病性分析[J]. 中国烟草学报, 2018, 24(2): 129-134.
- [3] 邱睿, 王海涛, 李成军, 等. 烟草病虫害绿色防控技术研究进展[J]. 河南农业科学, 2016, 45(11): 8-13.
- [4] 程海洋, 魏有海, 郭良芝, 等. 马铃薯晚疫病生防细菌的筛选及鉴定[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(18): 116-121.

- [5] 姚晨斌, 李小杰, 李琦, 等. 烟草尖孢镰刀菌拮抗真菌的筛选鉴定及促生作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(5): 1066-1072.
- [6] 何明川, 曾舒泉, 王志江, 等. 一株烟草疫霉拮抗菌 MC4-2 的鉴定、发酵条件优化及防效测定[J]. 微生物学通报, 2021, 48(12): 4636-4648.
- [7] 许乐, 王子强, 张爽, 等. 丹参根腐病拮抗细菌筛选、鉴定及生防机理研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(4): 846-854.
- [8] 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: 353-398.
- [9] Boone, D.R., Castenholz, R.W. and Garrity, G.M. (2001) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer-Verlag Company, 59, 70, 75, 203.
- [10] 谢永丽, 高学文. 高寒草甸根围拮抗芽孢杆菌筛选鉴定及脂肽化合物分析[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(3): 367-374.
- [11] 王亚月, 贾方方, 李俊营, 等. 烟草黑胫病拮抗细菌的筛选鉴定与防病促生作用研究[J]. 中国烟草科学, 2022, 43(6): 60-67, 75.
- [12] Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731-2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- [13] 贾方方, 许跃奇, 阎海涛, 等. 烟草镰刀菌根腐病(*Fusarium* spp.)拮抗菌 L210 的鉴定及生防潜力评价[J]. 烟草科技, 2023, 56(10): 40-48.
- [14] Tan, B.K. and Harris, N.D. (1995) Maillard Reaction Products Inhibit Apple Polyphenoloxidase. *Food Chemistry*, **53**, 267-273. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93932-h](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93932-h)
- [15] Zhang, Q., Zhu, L., Wang, J., Xie, H., Wang, J., Han, Y., et al. (2012) Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in the Earthworm *Eisenia Fetida* Induced by Low Doses of Fomesafen. *Environmental Science and Pollution Research*, **20**, 201-208. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0962-5>
- [16] Jiang, Y. and Joyce, D.C. (2003) ABA Effects on Ethylene Production, PAL Activity, Anthocyanin and Phenolic Contents of Strawberry Fruit. *Plant Growth Regulation*, **39**, 171-174. <https://doi.org/10.1023/a:1022539901044>
- [17] 中国烟草总公司青州烟草研究所. GB/T23222-2008 烟草病虫害分级及调查方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [18] 刘永锋, 李美荣, 刘邮洲, 等. 产几丁质酶和纤维素酶生防微生物的筛选[C]//江苏省植物病理学会. 江苏省植物病理学会第十一次会员代表大会暨学术研讨会论文集. 南京: 江苏省农业科学院植物保护研究所, 2008: 1.
- [19] 陈亮, 陈年来. 西瓜叶片防御酶活性与枯萎病抗性的关系[J]. 河南农业科学, 2019, 48(1): 77-83, 114.
- [20] 邱睿, 李芳芳, 徐敏, 等. 烟草品种对镰刀菌根腐病的抗性鉴定[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(4): 59-63.
- [21] 姚晓远. 影响烟草根腐病发生的微生态机制及其调控研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [22] 陈高航. 烟草根腐病原鉴定及其生物学特性观察[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [23] 谯天敏, 罗蓉, 朱天辉. 南方红豆杉根腐病病原及拮抗芽孢杆菌的鉴定[J]. 植物保护, 2015, 41(6): 60-66.
- [24] 李姝江, 朱天辉, 谯天敏, 等. 花椒根腐病生防芽孢杆菌的筛选鉴定及定殖和防治效果[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(4): 114-122.
- [25] 倪方方, 徐红梅, 宋腾蛟, 等. 生防菌对白木根腐病的拮抗作用及盆栽防治效果[J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(3): 179-185, 204.
- [26] 姚凤琴, 林发壮, 陈昌铭, 等. 枯草芽孢杆菌 Bv17 对非洲菊根腐病抑菌作用及防治效果[J]. 福建农业科技, 2019, 50(12): 55-59.
- [27] 王蕊, 王腾, 李二峰. 生防芽孢杆菌在植物病害领域的研究进展[J]. 天津农学院学报, 2021, 28(4): 71-77.
- [28] 浦林瀚, 曲彦达, 刘文钰. 芽孢杆菌在植物细菌病防治中的应用[J]. 广东蚕业, 2021, 55(4): 75-76.
- [29] 吴美艳, 罗兴录, 刘珊廷, 等. 木薯叶片 5 种防御酶活性与细菌性枯萎病抗性的关系[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(1): 109-115.
- [30] Gurav, R., Tang, J. and Jadhav, J. (2017) Novel Chitinase Producer *Bacillus Pumilus* RST25 Isolated from the Shellfish Processing Industry Revealed Antifungal Potential against Phyto-pathogens. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **125**, 228-234. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.09.015>