

烟草根腐病生防菌的筛选鉴定及抑菌活性分析

唐思迪¹, 唐一才¹, 杨 勇¹, 向海波¹, 许汝冰², 黎妍妍^{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2日; 录用日期: 2024年12月2日; 发布日期: 2024年12月10日

摘 要

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)引起的根腐病是烟草大田种植中的常见病害, 具有发病率高、传染性强和不易防治等特点, 给烟农带来了严重的经济损失。为了绿色防控镰刀菌根腐病, 本研究采用平板对峙法筛选出了1株能高效抑制尖孢镰刀菌的拮抗菌NYM2002, 形态观察和16S rRNA测序鉴定其为短小芽胞杆菌(*Bacillus pumilus*)。该菌株能产生几丁质酶和纤维素酶, 具有分解几丁质和纤维素的能力; 同时该菌株发酵液能提高烟叶PPO、POD和PAL防御酶的活性。盆栽试验也发现该菌株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, 相对防效高达81.03%, 表明短小芽胞杆菌NYM2002具有开发为绿色防治烟草根腐病的生物农药的潜力。

关键词

烟草根腐病, 尖孢镰刀菌, 生物防治, 短小芽胞杆菌

Screening, Identification, and Antibacterial Activity Analysis of Antagonistic Bacteria against Tobacco Root Rot Disease

Sidi Tang¹, Yicai Tang¹, Yong Yang¹, Haibo Xiang¹, Rubing Xu², Yanyan Li^{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. 2nd, 2024; accepted: Dec. 2nd, 2024; published: Dec. 10th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 唐思迪, 唐一才, 杨勇, 向海波, 许汝冰, 黎妍妍. 烟草根腐病生防菌的筛选鉴定及抑菌活性分析[J]. 农业科学, 2024, 14(12): 1283-1292. DOI: 10.12677/hjas.2024.1412162

Abstract

Root rot caused by *Fusarium oxysporum* is a common disease in tobacco field planting. It has the characteristics of high incidence rate, strong infectivity and difficult control, which has brought serious economic losses to tobacco farmers. In order to prevent and control Fusarium wilt disease in a green way, this study used the plate confrontation method to screen out a strain of antagonistic bacterium NYM2002 that can efficiently inhibit *Fusarium oxysporum*. Morphological observation and 16S rRNA sequencing identified it as *Bacillus subtilis*. This strain can produce chitinase and cellulase, and has the ability to decompose chitin and cellulose; At the same time, the fermentation broth of this strain can enhance the activity of PPO, POD, and PAL defense enzymes in tobacco leaves. The pot experiment also found that the strain of *Bacillus subtilis* NYM2002 has better control over Fusarium root rot than the commercial pesticide Methomyl-Manganese Zinc Wettable Powder, with a relative control efficiency of 81.03%, indicating that it has the potential to be developed as a green biopesticide for controlling tobacco root rot.

Keywords

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

Copyright © 2024 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

烟草根腐病是由镰刀菌属真菌引起的土传性病害，防治难度大，严重影响烟草产业发展[1]。镰刀菌根腐病的病原菌有尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*) [2]-[4]、茄病镰刀菌(*F. solani*) [5]，共享镰刀菌(*F. commune*) [6]等。该病可引起植物根部发生病变，造成顶部弯向一侧，叶片小，烟草根部腐烂，剖开病茎、病根，观察到木质部褐变，破坏了烟草的维管系统，导致地上部分的水分吸收及地下部的营养吸收困难，最后致使烟草植株死亡[7] [8]，从幼苗到成株期均可发病，降低烟叶产量，影响烟叶品质。

目前，农业防治、化学防治与生物防治等方法普遍应用于烟草根腐病的防治。其中，生物防治是指利用有益微生物或天然代谢产物对植物病害进行防治，不仅可以提高土壤质量、改善土壤微环境，而且无有害残留，为烟草种植提供绿色可持续发展的生态环境，在烟草根腐病的防治中具有重要应用价值[9] [10]。烟草根腐病的生物防治可以通过引入拮抗真菌、生防细菌等途径[11]，目前已报道的用于防治烟草根腐病的微生物如棘孢木霉(*T. asperellum*)抑制烟草镰刀菌达 93.13%，并促进烟草种子萌发和根长增长[12]。付宏喆等[13]筛选出深绿木霉(*T. atroviride*)，对烟草镰刀菌抑菌率为 55.25%。特基拉芽孢杆菌(*B. tequilensis*)，对烟草拟枝镰刀菌的抑制效果达 82.66%，对腐皮镰刀菌的抑菌率达 76.9%，其发酵液对拟枝和腐皮镰刀菌的抑菌率分别为 84.76%和 60.85% [14]。贝莱斯芽孢杆菌(*B. velenzensis*)，其 10%和 20%发酵滤液对病菌生长抑制率分别为 53.09%和 62.24%，发酵液处理 15 d、30 d、45 d，对烟草根腐病的防效分别为 70.00%、74.62%和 79.51% [15]。微小杆菌(*Exiguobacterium sibiricum*)浓度为 7.0×10^6 cfu·mL⁻¹时对烟草尖孢镰刀菌的抑制作用最大，抑制率为 28.27%；蜡质芽孢杆菌(*B. cereus*)浓度为 3.4×10^7 cfu·mL⁻¹的抑制作用最大，抑制率为 21.74% [16]等。

尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)是引起烟草镰刀菌根腐病的最主要病原菌之一[17]，从生理水平上，尖孢镰刀菌通过阻塞植物导管和分泌毒素使宿主发病，它产生的果胶酶、纤维素酶和 β -葡萄糖苷酶能共同分解植物细胞壁，导致果胶阻塞导管，影响植物吸收水分，最终宿主植物因缺水而萎蔫死亡。由镰刀菌属

真菌分泌的非特异性毒素 5-丁基-2-吡啶甲酸, 亦称镰刀菌酸, 能够损伤植物的根系细胞膜, 增加细胞透性, 减少线粒体中活性氧的含量并阻碍 ATP 合成, 导致根系吸水受阻并抑制生长[18]。此外, 镰刀菌产生的脱氢镰刀菌酸、伏马菌素、白僵菌素、卡毒素、麦角固醇素等致病毒素也能损伤植物根系, 同时影响宿主的种子萌发和形态结构[19]。故本研究期望筛选出对尖孢镰刀菌具有较好抑菌效果的拮抗菌, 并鉴定其种属, 评价其促生防病效果, 为烟草根腐病的绿色防控提供理论依据, 为微生物农药的开发提供微生物资源。

2. 材料与方法

2.1. 材料与培养基

供试植物为云烟 87。

供试菌株: 20 株待筛选内生细菌和尖孢镰刀菌为本实验室保存。

TSA 培养基(胰蛋白胨 15.0 g/L、大豆胨 5.0 g/L、氯化钠 5.0 g/L、琼脂 15.0 g/L、PH 值 7.3 ± 0.2)。

LB 培养基(蛋白胨 10 g/L、氯化钠 10 g/L、酵母 5 g/L)。

NA 培养基(蛋白胨 100 g/L, 牛肉膏粉 30 g/L, 氯化钠 50 g/L)。

PDA 培养基: 去皮马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15~20 g 和蒸馏水 1 L。

2.2. 拮抗菌株的筛选

采用平板对峙法筛选拮抗菌。在 PDA 平板中央接种直径 6 mm 的尖孢镰刀菌病原菌饼, 在两侧距菌饼 2.0 cm 处画线接种分离的内生细菌, 对称接两行, 同时以不接内生菌为对照, 置于 28℃ 恒温箱中培养 6 d, 测量病原菌直径。

$$\text{抑菌率}(\%) = \frac{\text{对照组病原菌直径} - \text{处理组病原菌直径}}{\text{对照组病原菌直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3. 拮抗菌株的鉴定

2.3.1. 形态观察

将拮抗细菌在 LB 固体培养基上进行划线, 观察单菌落特征, 并对其进行革兰氏染色[20]。

2.3.2. 菌株的 16SrRNA 序列分析及系统发育树构建

菌株基因组 DNA 的提取: 挑取细菌单菌于 LB 培养基中, 220 r/min、37℃ 条件下培养 12 h, 取 100 μL 得到的菌株发酵液 12,000 r/min 离心 5 min, 去掉上清, 只留菌体。将 50 μL 质量分数为 5% 的 Chelex-100 加入菌体中, 微波 30 s, 12,000 r/min 离心 10 min, 上清即为 DNA, 将得到的 DNA 放置在 -20℃ 条件下保存。

16S rRNA 的 PCR 扩增: 以提取的细菌总 DNA 为模板, 选取 16S rRNA 引物(27F: 5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3'、1541R: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3')采用菌落聚合酶链式反应的方法对拮抗菌株的 16SrRNA 基因序列进行扩增, 由生工生物工程(上海)股份有限公司将得到的 PCR 扩增产物进行测序, 将测序结果在线上提交至美国国立生物技术信息中心(NCBI)的 GenBank 数据库, 进行同源性搜索比对, 应用 Blast 搜索工具进行基本局部比对, 选取同源性较高的模式菌株的 16S rDNA 基因序列, 最后采用 MEGA11 软件中的邻接法绘制菌株的系统发育树[21]。

2.4. 拮抗菌株纤维素酶和几丁质酶活性的测定

收集拮抗菌株发酵液的上清液(全菌液经 12,000 r/min 离心 5 min, 取上清液过滤)。再使用纤维素酶

活性检测试剂盒(YX-SH-TQ22025, 上海原鑫生物科技有限公司)测定纤维素酶含量, 几丁质酶活性检测试剂盒(YX-W-B917, 上海原鑫生物科技有限公司)检测几丁质酶含量[22]。

2.5. 拮抗菌株发酵液对烟叶防御酶活性诱导试验

采用盆栽试验, 在烟苗移栽后 7 d 接种拮抗菌株发酵液(1.0×10^8 cfu/mL)、发酵液 10 mL, 以清水处理为对照(CK), 各处理设置 10 次重复。接种后第 7 d 取第 3 片叶, 采用邻苯二酚法测定多酚氧化酶(PPO)活性[23], 愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性[24], 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定参考文献[25]的方法。

2.6. 盆栽试验

拮抗菌液的制备: 将拮抗菌株接种于 NA 液体培养基, 37°C 、200 r/min 振荡培养 2 d, 制成浓度为 1.0×10^8 cfu/mL 的细胞悬液, 即为拮抗菌液。病原菌孢子悬液的制备: 将尖孢镰刀菌接种于 PDA 培养基, 28°C 、200 r/min 振荡培养 4 d, 制成孢子浓度为 1.0×10^8 cfu/mL 的孢子悬液, 即为病原菌孢子悬液, 采用灌根法浇灌烟株, 烟苗移栽后 7 d 接种病原菌孢子悬液, 浇灌量 200 mL/盆。接种 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 倍液浇灌处理(T1)。T2 处理为拮抗菌液灌根, 拮抗菌液浇灌量为 200 mL/盆。对照 CK 采用清水处理。每个处理重复 3 组, 每组 6 株烟株, 灌根后 14 d 开始对烟苗发病情况进行调查, 并计算发病率、病情指数和相对防效[26]。

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

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

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

3. 结果与分析

3.1. 内生细菌中拮抗菌株的筛选

将 20 株内生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 $> 50\%$)的内生细菌 8 株, 从中选择抑菌率为 88.0% 的 NYM2002 菌株进一步测定并验证其抑菌效果, 平板抑菌如图 1。

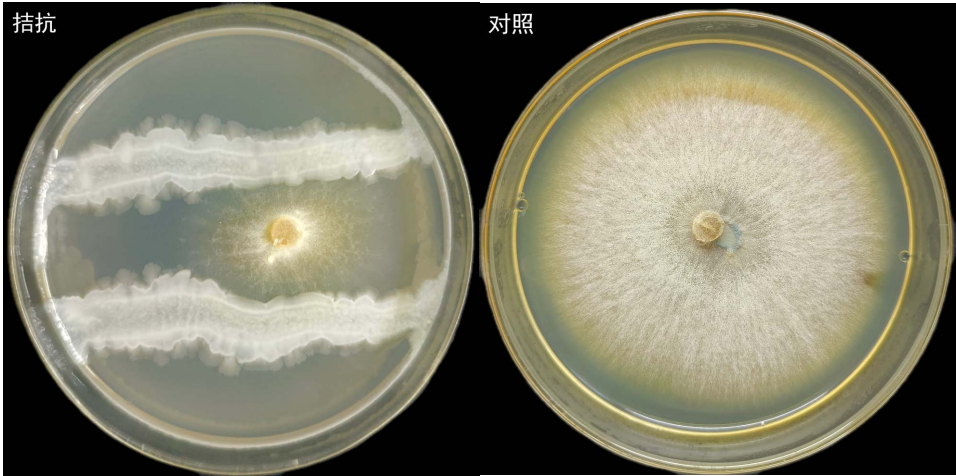


Figure 1. Antagonistic effect of antagonistic strain NYM2002 on *F. oxysporum*
图 1. 拮抗菌株 NYM2002 对尖孢镰刀菌的拮抗效果

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

菌株编号	对照组病原菌直径(cm)	处理组病原菌直径(cm)	抑菌率(%)
ORM8001	5.6	0.7	98.0
NRM3001		0.8	96.0
ZYM4002		1	92.0
NYM5001		1.1	90.0
NYM2002		1.2	88.0
FRM9001		1.3	86.0
ORM7001		1.7	78.0
NYM6005		1.9	74.0
NYM11002		3.5	42.0
ZRM8001		3.5	42.0
NYM8005		3.8	36.0
NJM6001		4.4	24.0
ZYM5001		4.5	22.0
FRM7001		4.8	16.0
NJM10001		5.0	12.0
NYM4001		5.0	12.0
FRM5001		5.4	4.0
ZJM4002		5.4	4.0
NYM9001		5.6	0
ZYM8001		5.6	0

3.2. 拮抗菌株 NYM2002 的鉴定

3.2.1. 形态观察

如图 2 所示，菌株 NYM2002 在 TSA 培养基上菌落呈现出不规则的形状，菌落不透明，整体呈现不透明乳白色，菌落表面光滑有光泽，在显微镜下呈杆状，革兰氏染色阳性。

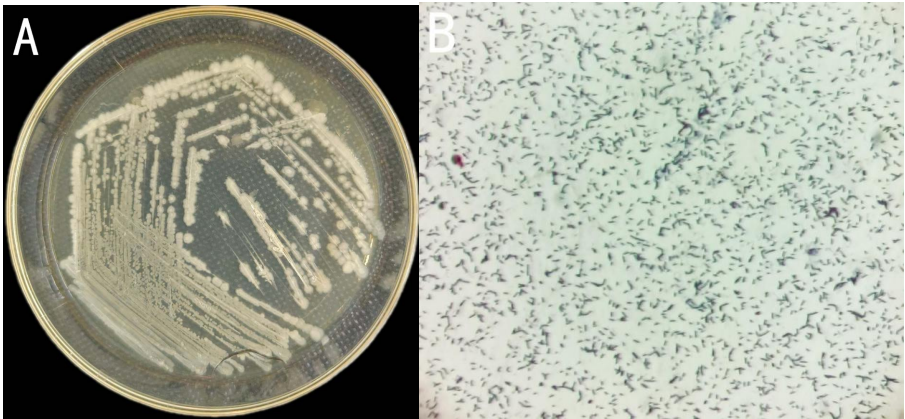


Figure 2. Colony (A) and cell morphologies (B) of antagonistic strain NYM2002
图 2. 拮抗菌株 NYM2002 菌落形态(A)与细胞形态(B)

3.2.2. 16S rRNA 序列分析及系统发育树构建

在 NCBI 中对菌株 NYM2002 的 16S rRNA 基因序列进行 Blast 分析，并下载相似性较高的序列，利用 MEGA7.0 构建系统发育进化树。如图 3 所示，对比序列间的同源性，其与 *Bacillus pumilus* 聚成一枝，同源性达到 100%。结合形态鉴定确定菌株 NYM2002 为短小芽孢杆菌。

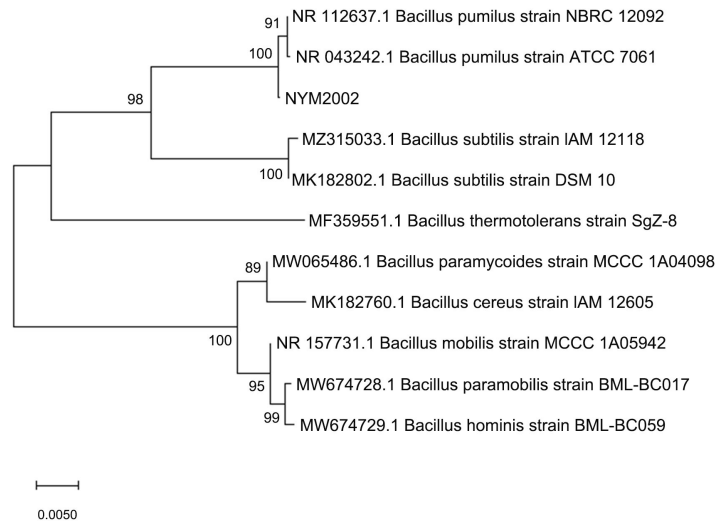


Figure 3. Phylogenetic tree of antagonistic strain NYM2002
图 3. 拮抗菌株 NYM2002 的系统进化树

3.3. 拮抗菌株 NYM2002 纤维素酶和几丁质酶活性的测定

纤维素和几丁质是许多植物病原真菌细胞壁的组成部分。在生产上，许多生防微生物可以分泌几丁质酶和纤维素酶，同时破坏了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 [27]。在菌株 NYM2002 的发酵上清液中检测到了几丁质酶和纤维素酶的酶活分别为 $80.64 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $311.43 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，见图 4，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。

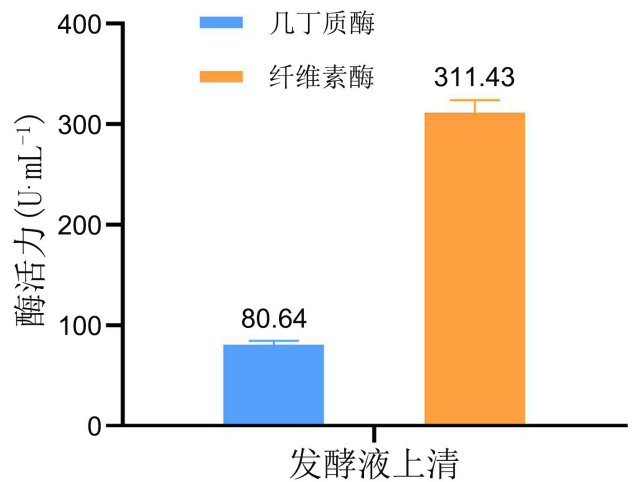


Figure 4. Contents of chitinase and cellulase in strain NYM2002
图 4. 菌株 NYM2002 的几丁质酶和纤维素酶含量

3.4. 拮抗菌株 NYM2002 发酵液对烟叶防御酶活性诱导试验

PPO、POD 和 PAL 是 3 种极为重要的防御酶，与植物的抗(耐)病性密切相关[28]。如图 5 所示，烟叶内三种防御酶活性变化规律整体上一致。与 CK 相比，发酵液处理时三种防御酶活性在接种后第 7 天均呈升高趋势，可以得出发酵液(1.0×10^8 cfu/mL)可提高三种防御酶活性。

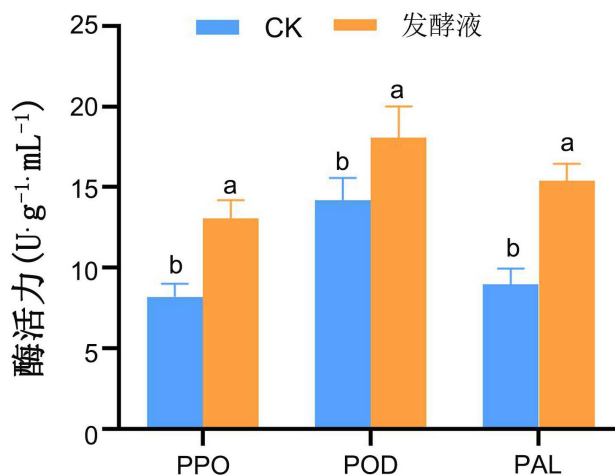


Figure 5. The effect of fermentation broth of strain NYM2002 on PPO, POD, and PAL enzyme activities in tobacco leaves
图 5. 菌株 NYM2002 发酵液对烟叶 PPO、POD 和 PAL 酶活性的影响

3.5. 盆栽试验

如图 6 所示，烟株经 CK、化学药剂甲霜·锰锌(T1)和拮抗菌株 NYM2002 处理后，发病率(DR)分别为 88.22%、60.07%、15.15%；病情指数(DI)分别为 50.19%、32.07%、9.52%，T1 与菌株处理组均低于 CK。T1 处理时防效为 36.10%；菌株 NYM2002 处理时防效为 81.03%。可见，生防菌株 NYM2002 在盆栽试验呈现出中较高的防治效果。

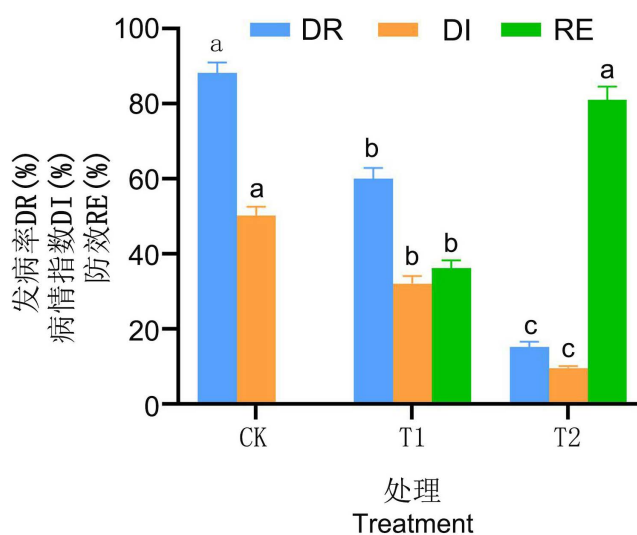


Figure 6. Potting experiment on the control effect of strain NYM2002 bacterial solution
图 6. 菌株 NYM2002 菌液的盆栽试验防效

4. 讨论

以尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)为主要病原菌的烟草镰刀菌根腐病在我国大多数烟区发生且危害严重,给烟叶生产带来巨大的损失[29][30]。拮抗微生物一直被认为是一种环境友好、经济性好和可持续的生物制剂[31]。植物内生菌是一类重要的微生物资源,在植物体内具有稳定的生存空间,不易受外界环境的影响。许多研究证明,健康植物体内存在的大量内生细菌是植物病害生物防治的潜在资源菌。

芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)是一类重要的植物病原菌拮抗菌、易于定向分离,又是自然界广泛存在的非致病菌、多分布于土壤、植物体表面及水体中,繁殖快速,无湿状态可耐低温-60℃、耐高温+280℃,耐强酸,耐强碱,抗菌消毒;好氧或兼型厌氧;细胞呈杆状,占据空间优势,抑制有害菌的生长繁殖;产抗逆性孢子,在制剂加工和储存过程中不易失活;可产生对致病菌或内源性感染的条件致病菌有明显的抑制作用[32]。芽孢杆菌具有分泌多种结构和生物活性的次生代谢产物的能力,其全基因组中有5%~10%的基因用于合成具有抗菌作用的次生代谢产物[33]。生防菌常抑制尖孢镰刀菌的孢子萌发、菌丝生长及对菌丝有致畸效果,而芽孢杆菌发酵液可致尖孢镰刀菌丝扭曲、断裂、破碎[34]。目前已报道的用于烟草根腐病防治的芽孢杆菌如:枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)在控病测试中防效达77.1% [35];淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)无菌滤液对烟草根黑腐病菌的抑制率为81.5% [36]、暹罗芽孢杆菌(*B. siamensis*)对尖孢镰刀菌抑菌率分别为34.79%和35.40% [37];多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*) [38]等。

本研究筛选出菌株 NYM2002 对尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)具有较好的抑制效果,抑菌率为88.0%,对烟草根腐病防效为81.03%,与已知芽孢杆菌相比,本菌株对烟草根腐病具有相对高防效率。根据菌株形态特征、生理生化特性、16S rRNA 分子鉴定并构建系统发育树,确定菌株 NYM2002 为短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)。但是,目前在实际烟草根腐病防控方面,短小芽孢杆菌的应用研究尚少,且由于菌株 NYM2002 是从叶内分离的,它在烟草根部的定殖能力、林间防治效果以及在烟草体内传导等还需进一步研究。

5. 结论

本研究中短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)菌株 NYM2002 对尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)平板对峙试验抑菌率为88.0%;盆栽试验中对烟草根腐病防效为81.03%;且菌株 NYM2002 能产生几丁质酶和纤维素酶,具有分解几丁质和纤维素的能力;该菌株发酵液可提高PPO、POD和PAL三种防御酶活性。可见,短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)菌株 NYM2002 具有防治烟草根腐病的潜力。短小芽孢杆菌是芽孢杆菌属的重要成员,其生长快、抗逆性强、对人和动物安全无毒,主要通过生产脂肽、水解酶、微生物挥发性有机化合物以及ISR等抑制植物病原真菌[39],是理想的生防菌源。

基金项目

中国烟草总公司重点科技项目“基于微生物组的烟草根际生物屏障抗病机理及应用研究”(110202101047(LS-07));“烟草生防菌精准鉴定、重要性状解析及资源库建设”(110202201019(LS-03));湖北省烟草公司重点科技项目“雪茄烟主要病虫害灾变规律调查及防控技术研究与应用”(027Y2022-023)。

参考文献

- [1] 姚晨斌, 李小杰, 刘畅, 等. 3株拮抗烟草尖孢镰刀菌的木霉菌筛选鉴定及促生防病效果评价[J]. 中国烟草学报, 2022, 28(4): 96-105.
- [2] Elena, K. and Pappas, A.C. (2002) Pathogenicity and Vegetative Compatibility of *Fusarium oxysporum* F. sp. *Phaseoli* in Greece. *Journal of Phytopathology*, **150**, 495-499. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2002.00786.x>
- [3] Tjamos, S.E., Markakis, E.A., Antoniou, P. and Paplomatas, E.J. (2006) First Record of *Fusarium* Wilt of Tobacco in

- Greece Imported as Seedborne Inoculum. *Journal of Phytopathology*, **154**, 193-196.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2006.01081.x>
- [4] Kiprop, E.K., Mwang'ombe, A.W., Baudoin, J.P., Kimani, P.M. and Mergeai, G. (2002) Cultural Characteristics, Pathogenicity and Vegetative Compatibility of *Fusarium udum* Isolates from Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in Kenya. *European Journal of Plant Pathology*, **108**, 147-154. <https://doi.org/10.1023/a:1015012702846>
 - [5] bin Jusoh, M.N., Zin, N.B.M. and Nagao, H. (2013) Vegetative Compatibility Group of *Fusarium solani* Pathogenic to Tobacco Plant in Peninsular Malaysia. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **35**, 615-621.
 - [6] 吴安忠, 程崖芝, 巫升鑫, 等. 烟草镰刀菌根腐病的病原鉴定[J]. 中国烟草学报, 2018, 24(2): 135-140.
 - [7] 朱贤朝. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
 - [8] 赵亚南, 黎妍妍, 曹春霞, 等. 烟草镰刀菌根腐病研究进展[J]. 中国植保导刊, 2023, 43(11): 20-25, 59.
 - [9] 闵琪茹, 甘勇, 陈寿明, 等. 植物根际促生菌在烟草根茎类病害防治中的应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2024(11): 108-112, 116.
 - [10] 杨林, 张建华, 范嵘, 等. 烟草黑胫病的绿色防控技术[J]. 安徽农学通报, 2023, 29(13): 81-84.
 - [11] 刘颖, 杜根平, 胡战军, 等. 烟草根黑腐病综合防治技术[J]. 植物医生, 2013, 26(5): 46-47.
 - [12] 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.
 - [13] 付宏喆, 杨盟权, 彭智良, 等. 烟草根腐病生防木霉菌筛选及防病作用研究[J/OL]. 中国烟草学报, 1-14.
https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=ufuULIVWCsOTsZzPSRPeBSYvOwYbUsB1Kr6BL6Tj7gXnus_Hq-71fUjMlcaEAftYmWlBEZCxxOiVvurB6lFM-OpA9byqQ4GKrkcLuuCwg6nQ6bsHcJU-tHU7hS9O3rbpel7lZDxz9eq13EAOLe71hzAGGEPbXJLgZnINjNHx_Chg=&uniplatform=NZKPT, 2024-09-14.
 - [14] 樊炳君, 姚丽, 段娇, 等. 镰刀菌根腐病拮抗菌的筛选及鉴定[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(20): 132-137.
 - [15] 沈会芳, 杨祁云, 张景欣, 等. 烟草镰刀菌根腐病生防菌 GDND-2 的鉴定及防病效果[J]. 中国农学通报, 2024, 40(23): 126-134.
 - [16] 郑春香, 顾钢, 周挺, 等. 烟蚜茧蜂内生细菌对烟草尖孢镰刀菌和青枯菌的影响[J]. 武夷科学, 2024, 40(1): 54-63.
 - [17] 桑维钧, 祝明亮, 吴兴禄, 等. 烟草镰刀菌根腐病研究初报[J]. 山地农业生物学报, 1998(3): 140-141, 145.
 - [18] 高晓敏, 王琚钢, 马立国, 等. 尖孢镰刀菌致病机理和化感作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(10): 2143-2148.
 - [19] 孙勇, 曾会才, 彭明, 等. 香蕉枯萎病致病分子机理与防治研究进展[J]. 热带作物学报, 2012, 33(4): 759-766.
 - [20] 中国科学院微生物研究所细菌分类组, 编. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978.
 - [21] 东秀珠, 蔡妙英, 等, 编著. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
 - [22] 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.
 - [23] 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)
 - [24] 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>
 - [25] 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>
 - [26] 王亚月, 贾方方, 李俊营, 等. 烟草黑胫病拮抗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.
 - [27] 刘永锋, 李美荣, 刘卹洲, 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: 227.
 - [28] 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.
 - [29] 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.
 - [30] 赵杰, 王静, 李乃会, 等. 烟草镰刀菌根腐病病菌致病粗毒素的研究[J]. 植物保护, 2013, 39(3): 61-66.
 - [31] Tariq, M., Khan, A., Asif, M., Khan, F., Ansari, T., Shariq, M., et al. (2020) Biological Control: A Sustainable and Practical Approach for Plant Disease Management. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, **70**, 507-

524. <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1784262>
- [32] 翟秋倩, 刘丽, 李俊峰. 芽胞杆菌防治烟草病虫害的研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(3): 7-11.
- [33] Chen, X.H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., *et al.* (2007) Comparative Analysis of the Complete Genome Sequence of the Plant Growth-Promoting Bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* Fzb42. *Nature Biotechnology*, **25**, 1007-1014. <https://doi.org/10.1038/nbt1325>
- [34] 刘莎莎, 程园园, 张丹, 等. 两株紫花苜蓿根际芽孢杆菌的筛选及生防效果研究[J]. 草业学报, 2015, 24(9): 96-103.
- [35] 易龙, 马冠华, 肖崇刚. 烟草根黑腐病拮抗内生细菌的筛选及其抑菌作用[J]. 微生物学通报, 2012, 39(10): 1464-1470.
- [36] 罗云艳, 安航, 何估弦, 等. 烟草根黑腐病根际拮抗菌的筛选、鉴定及其促生防病效果[J]. 中国烟草科学, 2021, 42(3): 57-64.
- [37] 姚晨斌. 烟草镰刀菌根腐病生防细菌与真菌的筛选鉴定[D]: [硕士学位论文]. 洛阳: 河南科技大学, 2022.
- [38] 单宇航, 周涛, 张崇, 等. 烟草根腐病、黑胫病生防菌筛选及活性物质初步研究[C]//植物病理科技创新与绿色防控——中国植物病理学会 2021 年学术年会论文集. 沈阳: 沈阳农业大学植物保护学院, 2021: 595.
- [39] 常波. 短小芽孢杆菌防治植物病害研究进展[J]. 现代农业科技, 2024(12): 65-70.