



何晓兴,李波,张扬琳,刘奕诺,孟祥龙,戴蓬博,王亚南,曹克强,王树桐. 两株菌及其组合对苹果再植病的防效[J]. 中国农业大学学报,2025,30(11):40-52.
HE Xiaoxing, LI Bo, ZHANG Yanglin, LIU Yinuo, MENG Xianglong, DAI Pengbo, WANG Yanan, CAO Keqiang, WANG Shutong. Efficacy of two biocontrol strains and their combination against apple replant disease[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(11): 40-52.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.11.04

两株菌及其组合对苹果再植病的防效

何晓兴 李波 张扬琳 刘奕诺 孟祥龙 戴蓬博 王亚南
曹克强 王树桐*

(河北农业大学 植物保护学院,河北 保定 071001)

摘要 为构建可高效防治苹果再植病的生防菌组合,将已筛选获得的拮抗菌‘H166’和促生菌‘C35’进行亲和性鉴定并构建组合菌;通过室内试验测定组合菌对尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)、腐皮镰孢菌(*F. solani*)、层出镰孢菌(*F. proliferatum*)和串珠镰孢菌(*F. moniliforme*)4种病原镰孢菌的抑菌活性,并测定组合菌的发酵液、无菌滤液和胞外代谢产物对尖镰孢菌孢子萌发,及组合菌发酵液对上述4种病原镰孢菌菌丝形态的影响和对其他植物病原菌的抑菌作用;通过盆栽和田间试验测定组合菌对苹果再植病的防治效果。结果表明:拮抗菌‘H166’(解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*)和促生菌‘C35’(铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*)的亲和性良好,2个菌株按1:1体积比构建组合菌‘H166+C35’。组合菌的无菌滤液对尖镰孢菌、腐皮镰孢菌和层出镰孢菌的抑菌率分别为58.33%、36.88%和44.25%。电子显微镜观察发现,‘H166’、‘C35’和‘H166+C35’处理均可导致4种病原镰孢菌的菌丝分枝、断裂和膨大。与无菌水处理孢子萌发率(98.44%)相比,‘H166+C35’的发酵液、无菌滤液及胞外代谢产物均可显著抑制尖镰孢菌孢子萌发,萌发率分别为52.66%、19.75%和12.88%。抑菌谱试验表明,‘H166+C35’对葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)的抑制效果均显著优于‘H166’、‘C35’的单菌处理,抑菌率均高达71%以上。盆栽试验中,‘H166+C35’处理的八棱海棠株高、根长、根鲜重及侧根数分别比清水处理升高20.07%、47.23%、64.33%和68.54%,保护与治疗效果分别达74.82%和68.15%。田间试验调查显示,‘H166+C35’处理八棱海棠的死苗率为0%,显著低于‘H166’(10%)、‘C35’(30%)及清水处理(50%)的死苗率。综上,组合菌‘H166+C35’可通过破坏病原菌菌丝结构、抑制孢子萌发,降低苹果再植病的发生,增强植株的抗性,可开发成菌剂应用苹果再植病的生物防治。

关键词 苹果再植病; 镰孢菌; 生防细菌; 组合菌; 防治效果

中图分类号 S432.1

文章编号 1007-4333(2025)11-0040-13

文献标志码 A

Efficacy of two biocontrol strains and their combination against apple replant disease

HE Xiaoxing, LI Bo, ZHANG Yanglin, LIU Yinuo, MENG Xianglong, DAI Pengbo,
WANG Yanan, CAO Keqiang, WANG Shutong*

(College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract To construct a combination of biocontrol bacteria with efficient prevention and control effects on apple replanting disease, the antagonistic bacterium ‘H166’ and growth-promoting bacterium ‘C35’ obtained from previous screening were identified for affinity and a combination of bacteria was constructed. Through indoor

收稿日期: 2025-02-20

基金项目: 国家现代农业(苹果)产业技术体系专项(CARS-27);河北省农业高质量发展关键共性技术攻关专项(21326506D);河北省现代农业产业技术体系专项(HBCT2024150208, HBCT2024170205)

第一作者: 何晓兴(ORCID:0009000621663710),硕士研究生, E-mail:2356938142@qq.com

通讯作者: 王树桐(ORCID:0000000243323075),教授,主要从事植物病害流行与综合防治研究, E-mail:bdstwang@163.com

experiments, the antibacterial activity of the combination bacteria against four pathogenic fungi, namely *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum*, and *F. moniliforme*, and the effects of the fermentation broth, sterile filtrate, and extracellular metabolites of the combination bacteria on the spore germination of *F. oxysporum* and the mycelial morphology of the four pathogenic *F. oxysporum* strains mentioned above, as well as their antibacterial effects on other plant pathogens were determined. In pot and field experiments were adopted to investigate the prevention and control effect of combined bacteria on apple replanting disease. The results showed that: The antagonistic bacterium 'H166' (*Bacillus amyloliquefaciens*) exhibited good affinity with the growth-promoting bacterium 'C35' (*Pseudomonas aeruginosa*). The two bacterial strains were combined as 'H166+C35' at a 1:1 volume ratio. The antibacterial rates of the sterile filtrate of the combination bacteria against *F. oxysporum*, *F. solani* and *F. proliferatum* were 58.33%, 36.88%, and 44.25%, respectively. Electron microscopy revealed that the combination of bacteria caused hyphal branching, breakage and enlargement of four pathogenic fungi. The fermentation broth, sterile filtrate, and extracellular metabolites of the combination bacteria can significantly inhibit the spore germination of the *Fusarium oxysporum*, with germination rates of 52.66%, 19.75%, and 12.88%, respectively, compared to sterile water (98.44%). The bacterial combination showed stronger inhibitory effects on *Botryosphaeria dothidea* and *Alternaria alternata* than single bacterium, and the inhibition rates are all over 71%. In the pot experiment, the height, root length, root fresh weight and number of lateral roots of the eight-edge crabapple (*Malus robusta* Rehd.) treated with the combination bacteria increased by 20.07%, 47.23%, 64.33%, and 68.54%, respectively, compared to water treatment. The protective and therapeutic effects reached 74.82% and 68.15%, respectively. Field experiments discovered that the death rate of seedlings treated with the combination bacteria is 0%, which was significantly lower than that of a single strain ('H166' 10% and 'C35' 30%) and the water treatment (50%). In summary, the 'H166+C35' combination reduces apple replanting disease by disrupting fungal hyphae, inhibiting spore germination, and enhancing plant resistance, demonstrating potential for production control.

Keywords apple replant disease; *Fusarium* spp.; biocontrol bacteria; combined bacteria; control efficacy

中国是全球最大的苹果生产国,种植面积达 198 万 hm^2 ^[1],近年来由于耕地资源的限制和农业政策的调整,我国苹果主产区扩展新果园较为困难,导致果农不得不对老果园进行原址重建,并重复利用果树苗圃,这种现象导致了苹果再植病的严重发生^[2]。苹果再植病,又称连作障碍,是指在相同地块连续种植苹果树后,导致新植果树生长不良的一种病害,该病可导致再植果树生长缓慢、根系受损、树木活力减弱,并引发严重的病虫害问题,最终导致果实品质下降和产量降低^[3-4],严重时,再植苹果树的死亡率可高达 50%^[5-6],给果农带来重大经济损失^[7-8],已成为我国苹果产业可持续发展的重要限制因素^[9-10]。

苹果再植病在世界范围内普遍发生^[11],尽管不同地区的发病程度和致病菌种类有所差异,但多项研究表明,镰孢属(*Fusarium*)、柱孢属(*Cylindrocarpum*)、丝核菌属(*Rhizoctonia*)、疫霉菌属(*Phytophthora*)和腐霉菌属(*Pythium*)等真菌及卵菌在我国的多个苹果产区分别被确认为主要致病菌^[12-13]。已有研究表明,镰孢属真菌是引起河北省苹果再植病的主要致病菌^[14],

也是西北黄土高原地区苹果再植病的主要致病菌^[15-16],通过分泌毒素或侵染根系,导致植株生长受阻,其丰度与苹果再植病的严重程度呈显著正相关^[17-18]。王功帅^[19]的研究进一步证实,尖孢镰孢菌、层出镰孢菌、腐皮镰孢菌、串珠镰孢菌 4 种病原镰孢菌对苹果砧木平邑甜茶(*Malus hupehensis* var. *pingyiensis*)具有强烈的致病性,与未接种病原菌相比,接种 1 个月后幼苗的干重分别减少了 35.60%、51.92%、40.96% 和 40.96%。目前,我国防治苹果再植病主要依靠化学药剂熏蒸,与其他作物进行轮作和间作,以及施用拮抗微生物等措施^[20]。化学药剂熏蒸虽然见效快,但对环境污染较大,且容易导致病原菌产生抗药性;轮作和间作虽然环保,但实施周期较长,且受限于土地资源;单一拮抗微生物防治效果不稳定,难以满足大规模生产需求^[21]。因此,筛选并构建高效的生防菌组合,既能克服单一微生物的局限性,又能减少对环境的污染,对防控苹果再植病具有重要意义。

目前,国内外关于生防菌组合防治植物病害的研究报道已有很多,这些研究表明生防菌组合通过多种微生物的协同作用,能够更全面地抑制病原菌

的生长,同时促进植物健康生长^[22]。马志远等^[23]以47株降解菌和1株生防菌类芽胞杆菌为基础,通过亲和性试验构建了Z₁、Z₂、Z₃和Z₄等4个组合菌,其中组合菌Z₁的综合防治效果最好,可促进番茄的生长,提高产量,对番茄灰霉病的防治效果为27.92%。董琼娥等^[24]用组合菌培养物萃取液为试材,分别鉴定了单一菌和组合菌对草莓白粉病的防治效果,结果表明组合菌的防治效果最好,在5次施用后防效可高达94.0%。陈哲等^[25]利用盆栽试验证实,组合菌对草莓炭疽病有明显的抑制效果,抑制率为68.69%,与化学农药相比,抑制效果升高23.63%。

课题组前期研究中从苹果根际土壤中分离获得的拮抗菌‘H166’鉴定为解淀粉芽胞杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*),促生菌‘C35’鉴定为铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)。目前,基于这2个菌株组合防效的相关研究尚未见报道。本研究对2个菌株的亲合性进行鉴定并构建组合菌,通过室内相关试验测定组合菌的抑菌活性,并通过盆栽和田间试验鉴定组合菌对苹果再植病的综合防效,旨在构建出高效的生防菌组合,明确该菌株组合对镰孢菌的抑制作用,及对苹果再植病的防治效果,以期为苹果再植病的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

尖镰孢菌(*F. oxysporum*)、层出镰孢菌(*F. proliferatum*)、串珠镰孢菌(*F. moniliforme*)、腐皮镰孢菌(*F. solani*)、假禾谷镰孢菌(*F. pseudograminearum*)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)、疫霉菌(*Phytophthora capsici*)、褐座坚壳菌(*Rosellinia necatrix*)、胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、粉红聚端孢菌(*Trichothecium roseum*)均由河北农业大学植物保护学院苹果病害与病害流行病学创新团队提供,−80℃保存菌种,使用前在PDA培养基上活化和纯化。拮抗菌‘H166’和促生菌‘C35’是从河北农业大学植物保护学院苹果病害与病害流行病学创新团队苹果试验园(38.827°N,15.447°E,海拔17.2m)中健康苹果树根际土壤中分离获得。

八棱海棠(*Malus robusta* Rehd.)种子购买自河

北省怀来县好运八棱海棠苗木基地。本试验中使用的培养基有PDA、PDB、LB固体和液体培养基^[26-27];解磷培养基^[28];固氮培养基^[29];CAS检测培养基和刚果红液体培养基^[30]。

1.2 两株菌的拮抗及促生效果测试

采用平板对峙法^[31]测定2个菌株对苹果再植病原尖镰孢菌‘HS2’的抑制作用,将尖镰孢菌的菌饼接种在PDA培养基中心,在距离菌饼约2.5cm处2个不同方向放置无菌滤纸片,滤纸片上分别接种1μL的2株菌发酵液,以只接种病原菌的处理为对照(CK₁),每个处理3个重复,28℃培养4~5d,计算抑菌率,抑菌率=(对照菌落直径−处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。

将2株菌发酵液接种在解磷、固氮、CAS检测等功能培养基,以及含有50mL刚果红液体培养基中进行培养,检测菌株能否在功能培养基上产生透明圈以及在刚果红液体培养基中分泌IAA,若菌株产生透明圈和分泌IAA,则表明具有促生能力。

1.3 组合菌的构建

采用十字交叉法和混毒平板法测定2个菌株的亲合性,并通过微生物生长分析仪测定单菌株和混合菌株的生长曲线^[31]。2个菌株单独发酵后,调节菌液浓度为1×10⁸CFU/mL,按1:1体积比混合获得组合菌。

1.4 组合菌无菌滤液对病原镰孢菌抑菌活性的测定

将组合菌发酵液离心后,上清液经 $d=0.22\mu\text{m}$ 细菌过滤器得无菌滤液,将无菌滤液按10%(V/V)加入PDA培养基中制备平板,待平板冷却后,挑取病原镰孢菌的菌饼至PDA平板中心,以加ddH₂O的PDA平板为对照(CK₂),每个处理3次重复。待CK₂的菌落长满培养皿时,用十字交叉法测量各处理组的菌落直径(d),计算抑菌率,抑菌率公式同1.2。

1.5 组合菌对病原菌孢子萌发及菌丝形态的影响

参考Duan等^[32]的方法,测定组合菌对病原尖镰孢菌孢子萌发的影响,设置ddH₂O(CK₃)、发酵液(FB)、无菌滤液(CFCF)、粗提物(CE)4个处理,再将上述每个处理的混合液充分混匀,吸取30μL置显微镜载玻片上,每个处理重复3次,28℃倒置培养13h后,观察各处理的孢子萌发情况。孢子萌发率=(萌发孢子个数/调查孢子总个数)×100%。

组合菌分别与4种病原镰孢菌对峙培养5d后,

用灭菌刀片将对峙处培养基切成薄片,置于载玻片上,于电子显微镜下观察病原菌菌丝形态变化,以在 PDA 平板上正常生长的菌丝为对照(CK₄),放大倍数为 1 000×。

1.6 组合菌抑菌谱测定

取不同植物病原真菌菌饼至 PDA 平板中心,在距离菌饼 2.5 cm 处左、右 2 个方向放置 $d=5$ mm 无菌滤纸片,在滤纸片上滴加 1 μ L 的组合菌发酵液,以只接种病原菌的处理为对照(CK₅),每个处理重复 3 次,28 $^{\circ}$ C 倒置培养 5~7 d,待 CK₅ 的菌落长满培养皿时,用十字交叉法测量各处理组的菌落直径(d),计算抑菌率,抑菌率公式同 1.2。

1.7 组合菌室内生防效果测定

1.7.1 组合菌对盆栽海棠苗的促生作用

2023 年,于河北农业大学植物保护学院苹果病害与病害流行病学创新团队苹果试验园(N 纬度 38.827 $^{\circ}$,经度 E115.447 $^{\circ}$,海拔 17.2 m)温室中进行试验,以苹果砧木八棱海棠作为试验材料,在提前育好的海棠苗上,挑选叶片(4 叶期)大小、长势一致的海棠幼苗进行试验,采用灌根的方式将组合菌发酵液(1×10^8 CFU/mL)灌入海棠苗的根部,灌根量为 50 mL/株,以清水灌根处理为对照(CK₆),每个处理 3 个重复,10 株/重复。处理 30 d 后,统计株高、鲜重、叶片数、主根长、侧根数等指标。

1.7.2 组合菌对盆栽海棠苗的防治效果

保护效果试验处理:选择叶片大小、长势较一致的 4 叶期八棱海棠苗进行试验,首先将组合菌与单一菌发酵液(1×10^8 CFU/mL)灌入八棱海棠苗的根部,灌根量为 50 mL/株,24 h 后再向八棱海棠苗根部灌入 50 mL 病原尖镰孢菌‘HS2’孢子悬浮液(7.5×10^6 个/mL)。治疗效果试验处理:将 50 mL 尖镰孢菌‘HS2’孢子悬浮液(7.5×10^6 个/mL)灌入八棱海棠苗根部,24 h 后,向被病原菌灌根过的八棱海棠苗根部分别灌入组合菌和单一菌的发酵液(1×10^8 CFU/mL),灌根量均为 50 mL/株。保护效果和治疗效果均以尖镰孢菌孢子悬浮液灌根处理为阴性对照(CK₇),以‘木美土里’复合微生物菌剂灌根处理为阳性对照(KMM₁),10 株海棠苗为 1 个重复,每个处理 3 次重复。接种 30 d 后,测量植株的形态指标、生理指标,并评估植株的发病程度,计算病情指数和防治效果。病情指数= Σ (各级病株数 $\times$ 该病级值)/(调查总株数 $\times$ 最高级值 $\times 100$),

防治效果=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数 $\times 100\%$ 。

病害分级标准参照张艳杰^[33]和 Mohd-Yusuf^[34]的方法,略有改动。评估标准如下,0 级:植株完全健康;1 级:叶片开始出现发黄现象,发病叶片的数量少于植株总叶片数的 1/8;2 级:叶片发黄现象更加明显,发病叶片的数量占植株总叶片数的 1/8~1/4;3 级:叶片发黄严重,发病叶片的数量占植株总叶片数的 1/4~1/2;4 级:植株整体出现萎蔫,部分叶片干枯,发病叶片的数量超过植株总叶片数的 1/2。

1.8 组合菌田间防治效果评价

2024 年,于河北农业大学苹果试验园中开展田间试验,种植八棱海棠苗的地块为 12 年连续种植海棠苗的重茬地块,首先对重茬地块进行除草、翻耕。2024 年 3 月中旬,将在温室培育的 8 叶期海棠苗移栽至田间重茬地块。移栽 48 h 后,对海棠苗进行灌根处理,将组合菌和单一菌(浓度均为 1×10^8 CFU/mL)分别灌入海棠苗根部土壤中,灌根量为 300 mL/株,以清水处理作为阴性对照(CK₈),以‘木美土里’复合微生物菌剂处理作为阳性对照(KMM₂),重复 3 次,每个重复 10 株海棠苗,每隔 10 d 灌根 1 次。在灌根后的第 30、60 和 90 天分别测量海棠的株高、茎粗、相对叶绿素含量(SPAD)、叶片数和死苗率,死苗率=(死苗植株数/调查植株总数) $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 两株菌的拮抗效果及促生潜力

由图 1 可知,菌株‘C35’能在解磷、固氮、嗜铁培养基上产生透明圈,并具有分泌 IAA 的能力,说明该菌株具有促生潜力,同时能够降低尖镰孢菌色素的产生。菌株‘H166’在解磷、固氮培养基上未产生透明圈,说明不具有解磷、固氮功能;在嗜铁培养基上产生透明圈,表明具有嗜铁功能,对尖镰孢菌的抑制率达到 71.30%。

2.2 两株菌的亲合性

由图 2 可知,在 LB 固体培养基上,菌株‘H166’和‘C35’在交叉位置均可以生长(a),在混毒平板上未出现清晰可见的抑菌圈(b),说明两株菌之间无拮抗作用,具有亲合性。‘C35’生长速度最快,‘H166’次之,2 个菌株复合之后介于二者之间,说明 2 个菌株之间没有明显的拮抗作用(c),可进行组合。

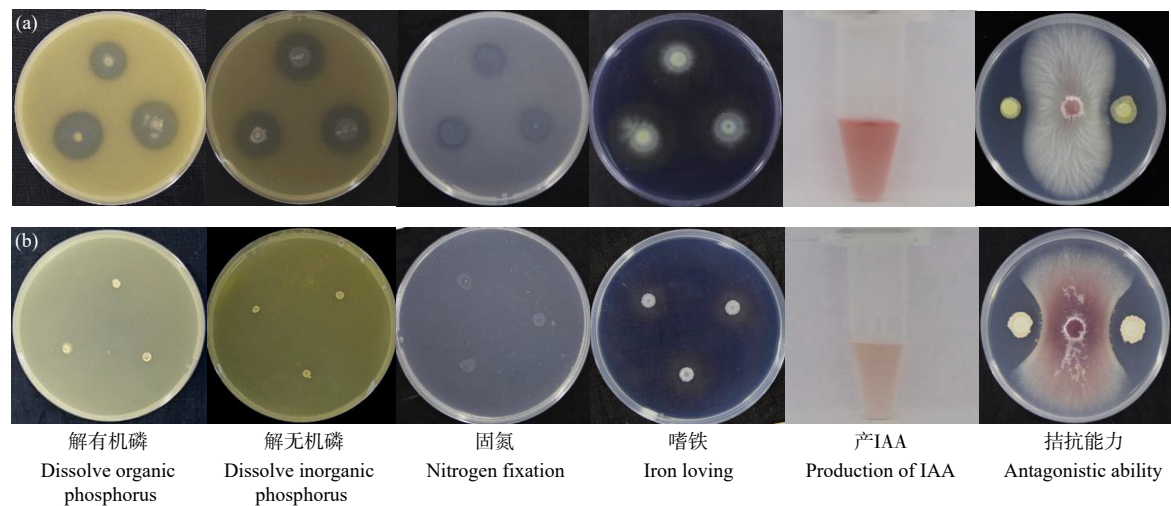


图1 菌株‘C35’(a)和‘H166’(b)的拮抗效果及促生潜力测定

Fig. 1 Determination of antagonistic effect and growth promoting potential of the bacterial strains ‘C35’(a) and ‘H166’(b)

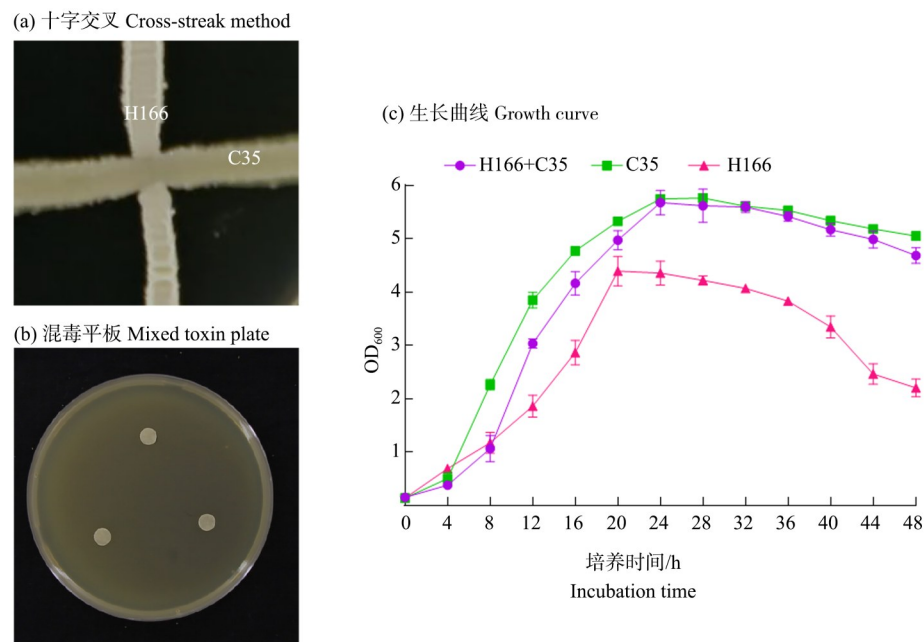


图2 菌株‘C35’和‘H166’亲和性测定

Fig. 2 Affinity determination of the strains ‘C35’ and ‘H166’

2.3 组合菌无菌滤液对病原镰孢菌的抑菌活性

由表1可知,组合菌无菌滤液对4种病原镰孢菌菌丝生长均具有显著的抑制效果。其中,对尖镰孢菌‘HS2’、腐皮镰孢菌和层出镰孢菌的抑菌率均较高,抑菌率分别为58.33%、36.88%、44.25%,与‘H166’和‘C35’处理相比差异均显著,组合菌能显著降低病原菌生长速度。虽然组合菌对串珠镰孢菌抑菌效果不佳,仅为8.76%,但还是优于2个单一菌株的抑制效果,菌株‘C35’和‘H166’抑菌率分别为4.79%、7.01%。

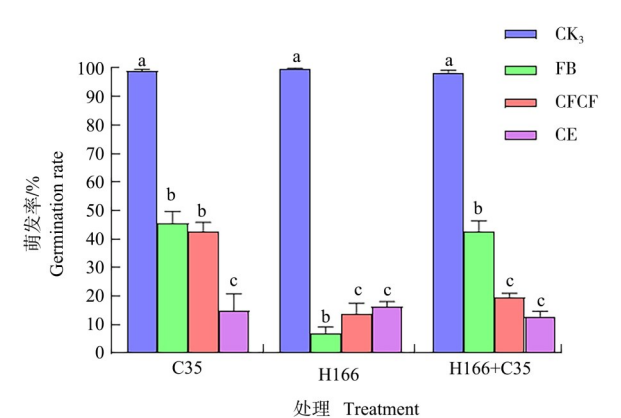
2.4 组合菌对病原菌孢子萌发及菌丝形态的影响

由图3可知,‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’处理均能显著抑制病原尖镰孢菌孢子萌发。‘H166+C35’的发酵液、无菌滤液及胞外代谢产物处理后,孢子萌发率分别为52.66%、19.75%和12.88%,显著低于对照(CK₃)孢子萌发率(98.44%)。其中以‘H166’发酵液处理的孢子萌发率最低,为7.01%;其次是‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’的胞外代谢产物处理,孢子萌发率分别为14.81%、16.82%、12.89%。

表 1 两株菌及其组合对 4 种病原镰孢菌的抑制率

菌株 Strain	尖镰孢菌 <i>Fusarium oxysporum</i>		腐皮镰孢菌 <i>F. solani</i>		层出镰孢菌 <i>F. proliferatum</i>		串珠镰孢菌 <i>F. moniliforme</i>	
	菌落 <i>d</i> /cm	抑菌率/%	菌落 <i>d</i> /cm	抑菌率/%	菌落 <i>d</i> /cm	抑菌率/%	菌落 <i>d</i> /cm	抑菌率/%
	Colony diameter	Inhibition rate	Colony diameter	Inhibition rate	Colony diameter	Inhibition rate	Colony diameter	Inhibition rate
CK ₂	7.60±0.05 ^a	—	8.13±0.03 ^a		8.13±0.03 ^a		7.60±0.05 ^a	
H166+C35	3.16±0.03 ^d	58.33	5.13±0.03 ^d	36.88	4.53±0.03 ^d	44.25	6.93±0.03 ^c	8.76
C35	7.06±0.03 ^b	7.01	7.60±0.05 ^b	6.54	7.10±0.05 ^b	12.70	7.23±0.08 ^b	4.79
H166	6.56±0.03 ^c	13.59	7.13±0.03 ^c	12.29	6.36±0.13 ^c	21.72	7.06±0.03 ^{bc}	7.01

注：CK₂，加 ddH₂O 的 PDA 平板。不同字母表示差异显著 ($P\leq 0.05$)。下同。
Note: CK₂, PDA tablet with sterile water added. Different letters in the table indicate significant differences ($P\leq 0.05$). The same below.



FB, CFCF 和 CE 分别为 2 株菌及其组合的发酵液、无菌滤液和胞外代谢产物;CK₃, ddH₂O。
FB, CFCF and CE are fermentation broth, sterile filtrate and extracellular metabolites of two strains and their combinations, respectively;CK₃, ddH₂O.

图 3 两株菌及其组合处理尖镰孢菌孢子的萌发率
Fig.3 Spore germination rate of *F. oxysporum* treated with two strains and their combinations

由图 4 可知, ‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’的发酵液与尖镰孢菌(*F. oxysporum*)、腐皮镰孢菌(*F. solani*)、层出镰孢菌(*F. proliferatum*)和串珠镰孢菌(*F. moniliforme*)4 种病原镰孢菌对峙培养后,与 PDA 平板培养菌丝(CK₄)相比,菌丝分枝较多,呈不规则状、厚度不均、呈现皱缩、膨大、变薄、断裂等现象。

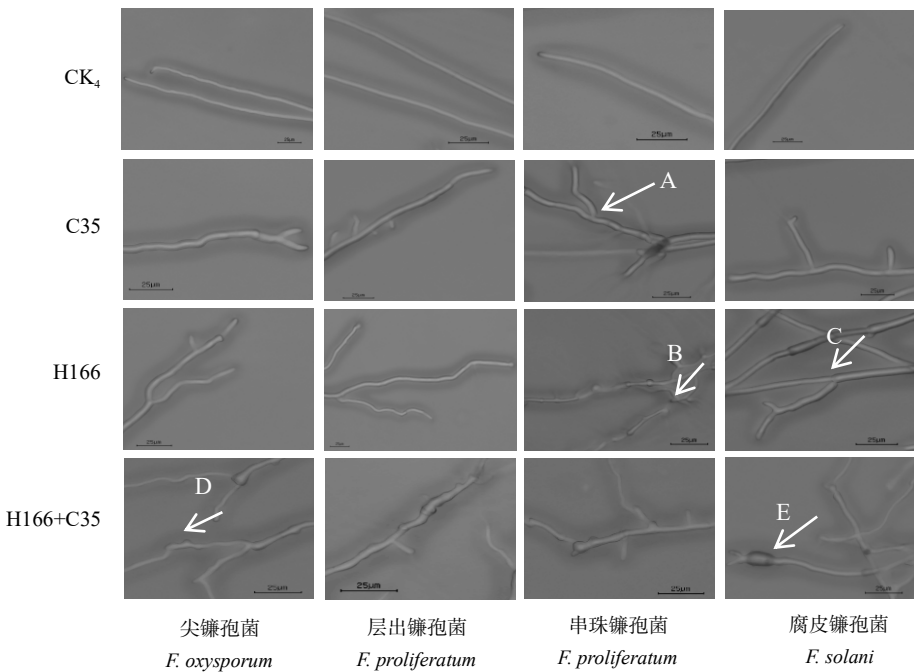
2.5 组合菌的抑菌谱

由表 2 可知, ‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’处理

对多种植物病原真菌均具有显著的抑菌效果。其中, ‘C35’、‘H166+C35’对疫霉菌和粉红聚端孢的抑菌较高,均>80%。‘C35’、‘H166’和‘H166+C35’对白纹羽束丝菌的抑菌率均在 71%~80%, ‘C35’和‘H166+C35’对腐皮镰孢菌的抑菌率都在 71%~80%。针对串珠镰孢菌、链格孢菌、疫霉菌、葡萄座腔菌这 4 种病原菌,组合菌抑菌效果优于‘C35’、‘H166’单菌处理。综上, ‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’处理对多种植物病原真菌均具有不同程度的抑制作用,抑菌谱均较广。

2.6 组合菌对盆栽八棱海棠苗的促生作用

由表 3 可知, ‘H166+C35’灌根处理的八棱海棠在株高、根长、叶片数、总鲜重、根鲜重、根干重、SPAD 和侧根数分别比对照(CK₆)升高 20.07%、47.23%、81.47%、64.33%、57.65%、22.41% 和 68.54%; ‘H166’处理的八棱海棠株高、根长、总鲜重、根鲜重、根干重、SPAD 和侧根数分别比 CK₆ 高 19.92%、22.05%、60.54%、42.46%、26.57%、22.36% 和 15.54%, ‘C35’的八棱海棠株高、根长、总鲜重、根鲜重、根干重、SPAD 和侧根数分别比 CK₆ 高 40.21%、33.40%、93.69%、49.18%、55.63%、26.26%、61.14%。‘H166+C35’在根长、根鲜重、根干重和侧根数方面上均优于‘H166’和‘C35’单菌处理。综上, 组合菌‘H166+C35’处理对八棱海棠植株具有一定的促生作用。



CK₄,在PDA平板上正常生长的菌丝。比例尺为25 μm。A,菌丝分枝多;B,菌丝断裂;C,菌丝厚度不均;D,菌丝不规则状;E,菌丝膨大。
CK₄, hyphae that grow normally on PDA tablets. Scale is 25 μm. A, mycelium have many branches;B,mycelium rupture;C, mycelium uneven thickness;D,mycelium irregular;E,mycelium swollen.

图4 两株菌及其组合与4种病原镰孢菌对峙培养的菌丝形态

Fig. 4 The mycelial morphology of four pathogenic *Fusarium* species co-cultured with two bacterial strains and their combinations

病原真菌 Pathogenic fungi	抑菌率 Inhibition rate		
	C35	H166	H166 + C35
尖镰孢菌 <i>F. oxysporum</i>	+	++	++
腐皮镰孢菌 <i>F. solani</i>	+++	+	+++
层出镰孢菌 <i>F. proliferatum</i>	+	++	+
串珠镰孢菌 <i>F. moniliforme</i>	+	+	++
假禾谷镰刀菌 <i>F. pseudograminearum</i>	+	++	+
疫霉菌 <i>Phytophthora capsici</i>	++++	++	++++
粉红聚端孢菌 <i>Trichothecium roseum</i>	++++	++++	++++
链格孢菌 <i>Alternaria alternata</i>	++	+	+++
葡萄座腔菌 <i>Botryosphaeria dothidea</i>	++	++	+++
黑腐皮壳菌 <i>Valsa mali</i>	+++	+++	++
胶孢炭疽菌 <i>Glomerella cingulata</i>	++	++	++
褐座坚壳菌 <i>Rosellinia necatrix</i>	+++	+++	+++

注: +, ++, +++, +++++ 代表相对菌丝抑制率分别为 50%~60%、>60%~70%、>70%~80% 和 >80%。
Note: "+", "++", "+++" and "++++" represent relative mycelial inhibition rates of 50%~60%, >60%~70%, >70%~80%, and >80%, respectively.

表 3 两株菌及其组合对盆栽八棱海棠苗的促生指标

Table 3 The promotion indicators of two strains and their combinations on the growth of potted *Malus robusta* Rehd.

菌株 Strain	株高 Plant height		根长 Root length		总鲜重 Total fresh weight		根鲜重 Root fresh weight	
	长度/cm Length	增长率/% Growth rate	长度/cm Length	增长率/% Growth rate	重量/g Weight	增长率/% Growth rate	重量/g Weight	增长率/% Growth rate
CK ₆	18.53±0.58 ^c		7.78±0.45 ^c		0.73±0.04 ^c		0.14±0.01 ^b	
C35	25.98±0.60 ^a	40.21	10.38±0.39 ^{ab}	33.40	1.41±0.07 ^a	93.69	0.21±0.03 ^a	49.18
H166	22.22±0.61 ^b	19.92	9.50±0.65 ^{bc}	22.05	1.17±0.04 ^b	60.54	0.20±0.01 ^{ab}	42.46
H166+C35	22.25±0.25 ^b	20.07	11.46±0.68 ^a	47.23	1.32±0.06 ^{ab}	81.47	0.23±0.02 ^a	64.33

菌株 Strain	根干重 Root dry weight		叶绿素 SPAD		侧根数 Number of lateral roots	
	重量/mg Weight	增长率/% Growth rate	SPAD	增长率/% Growth rate	数量/个 Quantity	增长率/% Growth rate
CK ₆	29.60±0.23 ^b		26.51±0.34 ^b		19.73±0.17 ^b	
C35	46.06±5.83 ^a	55.63	33.47±1.94 ^a	26.26	31.80±2.46 ^a	61.14
H166	37.46±2.58 ^{ab}	26.57	32.44±1.12 ^a	22.36	22.80±2.13 ^b	15.54
H166+C35	46.66±6.49 ^a	57.65	32.45±0.78 ^a	22.41	33.26±1.71 ^a	68.58

注:CK₆,清水灌根处理。
Note: CK₆, Root irrigation treatment with clean water.

2.7 组合菌对盆栽八棱海棠苗的防治效果

由表 4 可知,‘H166+C35’对尖镰孢菌引起的再植病害具有显著的防治效果。‘H166+C35’处理的八棱海棠幼苗病情指数仅为 20.37,显著低于对照组(CK₇)病情指数(80.55),预防效果达 74.82%,防效略低于‘H166’(77.04%)。并且该组合菌的保护效果与阳性对照‘木美土里’复合微生物菌剂(KMM₁)相比无显著差异($P>0.05$),对八棱海棠苗的保护效果仅次于 KMM₁。经过浓度为 7.5×

10⁶ 个/mL 的尖镰孢菌孢子悬浮液灌根接种 48 h 后,再将‘H166+C35’发酵液灌入八棱海棠苗的根部,处理 30 d 后发现该组合菌处理的病情指数为 25.92,治疗效果为 68.15%,优于‘C35’(53.33%),与‘H166’处理的治疗效果(69.26%)相当,并且‘H166’与‘H166+C35’、KMM₁相比,其治疗效果也无显著差异。综上,‘C35’、‘H166’、‘H166+C35’均可以显著降低尖镰孢菌对八棱海棠苗的进一步侵害。

表 4 两株菌及其组合对苹果再植病的防治效果

Table 4 Control effect of two bacterial strains and their combinations on apple replant disease

处理 Treatment	病情指数 Disease index	预防效果/% Protection effect	病情指数 Disease index	治疗效果/% Therapeutic effect
CK ₇	80.55±2.78 ^a		83.33±9.62 ^a	
C35	25.92±3.70 ^b	67.41	38.89±5.56 ^b	53.33
H166	18.51±1.85 ^{bc}	77.04	24.07±4.90 ^{bc}	69.26
H166+C35	20.37±1.85 ^{bc}	74.82	25.92±3.70 ^{bc}	68.15
KMM ₁	11.11±5.55 ^c	86.67	12.96±6.68 ^c	82.78

注:CK₇,尖镰孢菌孢子悬浮液灌根处理;KMM₁,‘木美土里’复合微生物菌剂灌根处理。
Note: CK₇, *F. oxysporum* spore suspension root irrigation treatment; KMM₁, root irrigation treatment with ‘mumei tuli’ composite microbial agent.

2.8 组合菌田间防治效果的评价

由表5可知,‘H166+C35’和‘H166’处理第30、60、90天的八棱海棠植株在株高、茎粗、SPAD均显著高于清水灌根的对照(CK₈),但叶片数无显著差异。随着处理时间的延长,各处理八棱海棠植株的各项生长指标均显著高于CK₈,说明不同处理降低了病原菌对八棱海棠植株的侵染。同时发现‘木美土里’复合微生物菌剂(KMM₂)和

‘H166+C35’处理的海棠植株无死苗率,而‘H166’和‘C35’处理的海棠植株出现了死苗率,死苗率分别为10%和30%,但显著低于CK₈的死苗率(50%),说明‘H166+C35’的田间防治效果要优于2个单一菌株。综上所述,KMM₂与‘H166’对海棠苗具有一定的保护作用,可以降低八棱海棠的死苗率,并且在一定程度上促进了八棱海棠苗的生长。

表5 两株菌及其组合处理不同时间的八棱海棠苗的生长指标
Table 5 The growth parameters of *Malus robusta* seedlings in response to treatment durations with two biocontrol bacteria and their combinations

处理 Treatment	30 d				SPAD
	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem thickness	叶片数/个 Number of blades		
CK ₈	25.63±0.84 ^c	4.25±0.17 ^c	31.50±2.50 ^c		23.56±1.54 ^c
KMM ₂	63.92±3.58 ^a	7.03±0.49 ^a	98.80±4.75 ^a		33.40±1.71 ^a
H166+C35	34.95±3.28 ^b	5.60±0.33 ^b	38.60±4.39 ^{bc}		27.88±1.32 ^b
H166	40.37±2.40 ^b	6.04±0.32 ^{ab}	46.60±3.98 ^b		29.70±1.13 ^{ab}
C35	32.47±3.40 ^{bc}	4.53±0.34 ^c	31.80±4.51 ^c		29.12±1.18 ^b

处理 Treatment	60 d				SPAD
	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem thickness	叶片数/个 Number of blades		
CK ₈	31.95±0.93 ^c	4.45±0.18 ^c	35.70±4.16 ^c		26.91±1.37 ^c
KMM ₂	86.45±4.69 ^a	9.17±0.44 ^a	114.2±4.26 ^a		38.93±0.87 ^a
H166+C35	53.34±4.36 ^b	6.26±0.43 ^b	50.8±5.68 ^b		34.12±1.57 ^b
H166	55.87±3.74 ^b	6.59±0.28 ^b	50.6±3.88 ^b		32.33±1.47 ^b
C35	42.44±3.24 ^c	6.16±0.41 ^b	53.9±3.17 ^b		30.93±0.80 ^b

处理 Treatment	90 d				
	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem thickness	叶片数/个 Number of blades	SPAD	死亡率/% Death rate
CK ₈	34.10±2.23 ^d	4.35±0.16 ^c	36.9±1.81 ^c	31.64±1.22 ^c	50.00
KMM ₂	98.75±4.80 ^a	10.31±0.43 ^a	113.3±3.87 ^a	47.52±1.52 ^a	—
H166+C35	63.71±2.68 ^b	6.79±0.68 ^b	58.5±3.43 ^b	38.07±1.45 ^b	—
H166	64.13±3.42 ^b	7.01±0.35 ^b	54.3±3.58 ^b	36.55±1.59 ^b	10.00
C35	41.98±2.64 ^c	6.13±0.39 ^b	50.6±4.06 ^b	35.98±2.05 ^{bc}	30.00

注:CK₈,清水灌根处理;KMM₂,‘木美土里’复合微生物菌剂灌根处理。
Note: CK₈, root irrigation with clean water treatment; KMM₂, root irrigation treatment with ‘Mumei Tuli’ composite microbial agent.

3 讨论

3.1 生防菌的拮抗特性

根际微生物是抵御植物病原菌在土壤中传播

的第一道防线,是一个主要的植物病害生物防治来源,可直接形成抗受力蛋白和脂肽类等生物活性产物^[35-36],间接诱导植物分泌功能性物质,激发其抵抗能力等,在防治植物病害方面发挥着重要作用^[37]。

高娃等^[38]研究结果证明,解淀粉芽胞杆菌‘TF28’抗菌蛋白 Tas A 基因的表达产物能有效抑制黄瓜灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 和柑橘溃疡病菌 (*Xanthomonas citri* pv. *citri*) 的侵染。本研究测定了‘C35’和‘H166’对病原尖镰孢菌‘HS2’的拮抗能力,发现 2 个菌株均具有不同程度的拮抗作用,其中‘C35’还能够降低尖镰孢菌‘HS2’色素的产生,当 2 个菌株及其组合在与病原镰孢菌对峙培养时,可导致菌丝膨大、皱缩和断裂,并且‘C35’、H166’、‘H166+C35’的发酵液和无菌滤液以及胞外代谢产物均可以显著降低病原菌孢子的萌发。推测,2 个菌株及其组合菌的抗菌作用可能是由于产生了某种抗菌物质,进而显著抑制病原镰孢菌的生长,但造成这种抑制作用的特定抗菌蛋白或脂肽类物质目前了解不多。因此,今后应对 2 个菌株所产生的脂肽类物质进一步深入研究和分析,还应利用 PCR 特异性扩增技术,确认菌株编码的生物防治功能基因类型,如 *bmyB*、*fenD*、*srfAA* 和 *srfAB*。此外,还可用不同饱和度的硫酸铵对其发酵产物的粗提取物进一步进行抗菌试验,以确定菌株产生的抗菌蛋白类型。

3.2 生防菌的促生特性

刘彩霞等^[39]研究表明,生防菌大多数具有固氮、溶磷、溶钾和拮抗植物病原菌等多种功能。如成团泛菌‘XD20’的特性包括固氮、产生铁载体、溶解磷和产生吲哚乙酸 (IAA),当成团泛菌‘XD20’接种到不同类型的甘蔗品种上,不仅能够使株高增加,还能提高植物叶片中叶绿素的含量,增强谷氨酰胺合成酶活力进而提高生物量等^[40];从柠条根系中分离出的泛菌‘C9’能分泌有机酸,溶解土壤中的难溶性磷,从而提高磷的可用性^[41]。Liu 等^[42]研究表明根际促生菌主要是通过产生嗜铁素和 IAA 等物质来促进植物的生长。本研究分析了‘C35’和‘H166’在溶磷、固氮、嗜铁和分泌 IAA 等方面的特性,发现‘C35’具有解磷、固氮、嗜铁和分泌 IAA 的能力,对海棠苗具有较强的促生作用,‘C35’处理八棱海棠苗后,其株高、根干重、侧根数相较于清水对照 (CK₆) 分别升高了 40.21%、55.63%、61.14%。‘H166’不具有解磷、固氮功能,但有嗜铁功能,其处理的八棱海棠苗株高、根干重和侧根数分别比 CK₆ 高 19.92%、26.57% 和 15.54%,促生效果要低于‘C35’。后续,应对‘C35’和‘H166’分泌 IAA 的情

况进行定量检测,以阐明菌株促进植物生长的特性。

3.3 组合菌的防治效果

本研究结果发现,组合菌不仅对促进植物生长具有积极作用,可显著提高植物 SPAD、产量和土壤微生物多样性,提高土壤酶活性,对病害也有显著的抑制作用,与雷先德等^[43]研究结果相似。傅春风^[44]将筛选到的 PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) 细菌菌株的组合菌施用于烟草的根部,可降低烟草黑胫病的发生,防治效果达到了 49.05%;李苗苗等^[45]研究发现,组合菌‘GY1+GY10+GY12’使用对烟草黑胫病的防治效果达到 74.53%,分别比单独施用‘GY1’、‘GY10’和‘GY12’高 15.34%、27.42% 和 44.94%。Zheng 等^[46]研究表明,3 种菌株组合‘FGD5-2+HCH2-3+MTD4-1’处理烟草防病效果最好,可将发病时间推迟 8~10 d,在田间病害发生较轻的情况下,防病效果可达 50% 以上。本研究同时测定了‘H166+C35’‘C35’‘H166’对八棱海棠苗的保护和治疗效果,发现经组合菌与单菌处理的海棠苗均较尖镰孢菌孢子悬浮液处理 (CK₇) 发病轻,保护效果均达 67% 以上,治疗效果均在 53% 以上,显著降低了病原菌对海棠苗的侵染。在本试验中,发现‘H166+C35’的促生作用比‘C35’稍差,防治效果比‘H166’稍差,其原因尚不清楚。因此,在后续试验中,应进一步分析 2 个菌株的生防机制,以明确组合菌的内部作用机制。

4 结 论

解淀粉芽胞杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) ‘H166’表现出显著的拮抗特性,能够有效抑制病原镰孢菌的生长。铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) ‘C35’则能够通过解磷、固氮、嗜铁和分泌 IAA 等机制促进八棱海棠苗的生长。2 个菌株具有亲和性,按照体积比 1:1 进行混合获得的组合菌‘H166+C35’可显著抑制病原菌孢子萌发和菌丝生长,抑菌谱较广,并可促进八棱海棠苗的生长,室内盆栽保护效果为 74.82%,治疗效果为 68.15%,田间处理无死苗率,防治效果较强。综上,组合菌‘H166+C35’通过破坏病原菌菌丝结构,抑制孢子萌发,降低了苹果再植病的发生,增强了植株的抗性,可开发成菌剂应用于苹果再植病的生物防治。

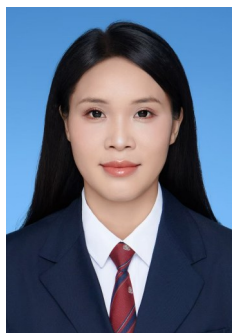
参考文献 References

- [1] 国家统计局. 年度统计数据[DB/OL]. [2025-02-26]. <https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01>
National Bureau of Statistics of China. Annual Statistical Data[DB/OL]. [2025-02-26]. <https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01> (in Chinese)
- [2] 张春禹. 不同苹果矮化自根砧的抗重茬和抗旱性比较研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017
Zhang C Y. The study of replant disease and drought resistance in different apple dwarf rootstocks[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017 (in Chinese)
- [3] 盛月凡. 土壤质地对苹果连作障碍发生程度影响的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020
Sheng Y F. Study on the effect of soil texture on the degree of apple replant disease[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [4] Yim B, Baumann A, Grunewaldt-Stöcker G, Liu B, Beerhues L, Zühlke S, Sapp M, Nesme J, Sørensen S J, Smalla K, Winkelmann T. Rhizosphere microbial communities associated to rose replant disease: Links to plant growth and root metabolites[J/OL]. *Horticulture Research*, (2020-09-01), DOI:doi.org/10.1038/s41438-020-00365-2
- [5] Weiß S, Bartsch M, Winkelmann T. Transcriptomic analysis of molecular responses in *Malus domestica* 'M26' roots affected by apple replant disease[J]. *Plant Molecular Biology*, 2017, 94(3): 303-318
- [6] Grunewaldt-Stöcker G, Mahnkopp F, Popp C, Maiss E, Winkelmann T. Diagnosis of apple replant disease (ARD): Microscopic evidence of early symptoms in fine roots of different apple rootstock genotypes[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 243: 583-594
- [7] Li C, Zhao Q, Gao T T, Wang H Y, Zhang Z J, Liang B W, Wei Z W, Liu C H, Ma F W. The mitigation effects of exogenous melatonin on replant disease in apple[J/OL]. *Journal of Pineal Research*, (2018-10-12). DOI: 10.1111/jpi.12523
- [8] Gao T T, Liu Y S, Liu X M, Zhao K, Shan L, Wu Q, Liu Y, Zhang Z J, Ma F W, Li C. Exogenous dopamine and overexpression of the dopamine synthase gene MdTYDC alleviated apple replant disease[J]. *Tree Physiology*, 2021, 41(8): 1524-1541
- [9] Xiang L, Wang M, Jiang W T, Wang Y F, Chen X S, Yin C M, Mao Z Q. Key indicators for renewal and reconstruction of perennial trees soil: Microorganisms and phloridzin[J/OL]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (2021-12-01). DOI:10.1016/j.ecoenv.2021.112723
- [10] Mazzola M, Manici L M. Apple replant disease: Role of microbial ecology in cause and control[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2012, 50: 45-65
- [11] 尹承苗, 王玫, 王嘉艳, 陈学森, 沈向, 张民, 毛志泉. 苹果连作障碍研究进展[J]. 园艺学报, 2017, 44(11): 2215-2230
Yin C M, Wang Z, Wang J Y, Chen X S, Shen X, Zhang M, Mao Z Q. The research advance on apple replant disease[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(11): 2215-2230 (in Chinese)
- [12] Manici L M, Ciavatta C, Kelderer M, Erschbaumer G. Replant problems in South Tyrol: Role of fungal pathogens and microbial population in conventional and organic apple orchards[J]. *Plant and Soil*, 2003, 256(2): 315-324
- [13] Yaseen Y, Diop A, Gancel F, Béchet M, Jacques P, Drider D. Polynucleotide phosphorylase is involved in the control of lipopeptide fengycin production in *Bacillus subtilis*[J]. *Archives of Microbiology*, 2018, 200(5): 783-791
- [14] 邹庆甲. 河北省苹果再植病害致病镰刀菌种类的鉴定及其致病机制初探[D]. 保定: 河北农业大学, 2012
Zou Q J. The Identification of the pathogenic *Fusarium* spp and the preliminary study on their pathogenic mechanisms in apple replant disease[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2012 (in Chinese)
- [15] 王瑞东, 李学营, 路晓月, 李景, 索相敏, 阎爱华. 苹果再植病关键抑病土壤微生物组特征分析研究[J]. 植物病理学报, 2025, 55(1): 76-88
Wang R D, Li X Y, Lu X Y, Li J, Suo X M, Yan A H. Characteristic analysis of key microbiomes in suppressive soil for apple-replanting disease[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2025, 55(1): 76-88 (in Chinese)
- [16] 王晓宝, 王功帅, 刘宇松, 陈学森, 沈向, 尹承苗, 毛志泉. 西北黄土高原地区苹果连作障碍与土壤真菌群落结构的相关性分析[J]. 园艺学报, 2018, 45(5): 855-864
Wang X B, Wang G S, Liu Y S, Chen X S, Shen X, Yin C M, Mao Z Q. Correlation analysis of apple replant disease and soil fungal community structure in the northwest Loess Plateau area[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2018, 45(5): 855-864 (in Chinese)
- [17] Tewoldemedhin Y T, Mazzola M, Labuschagne I, McLeod A. A multi-phasic approach reveals that apple replant disease is caused by multiple biological agents, with some agents acting synergistically[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1917-1927
- [18] 孙杨, 王璐, 赵璐, 孟祥龙, 王亚南, 胡同乐, 曹克强, 王树桐. 复合微生物菌肥对苹果再植病害调控及对根围土壤真菌群落结构的影响[J]. 植物病理学报, 2022, 52(2): 256-268
Sun Y, Wang L, Zhao L, Meng X L, Wang Y N, Hu T L, Cao K Q, Wang S T. Effects of compound microbial fertilizer on apple replanted diseases and fungal community structure in rhizosphere soil[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2022, 52(02): 256-268 (in Chinese)
- [19] 王功帅. 环渤海连作土壤真菌群落结构分析及混作葱减轻苹果连作障碍的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.
Wang G S. Studies on fungal community in replanted soil around Bohai gulf and alleviation apple replanted disease by mixed cropping with *Allium fistulosum* L [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [20] 毛志泉, 尹承苗, 陈学森, 沈向, 姜远茂. 我国苹果产业节本增效关键技术: 苹果连作障碍防控技术[J]. 中国果树, 2017(5): 1-4, 14, 102
Mao Z Q, Yin C M, Chen X S, Shen X, Jiang Y M. Prevention and control technology of apple replant disease[J]. *China Fruits*, 2017, (5): 1-4, 14, 102 (in Chinese)
- [21] 甘林, 代玉立, 兰成忠, 刘晓菲, 杨秀娟. 复合生防菌对香蕉枯萎病的防效及其促生作用[J]. 福建农业科技, 2024, 55(6): 13-18
Gan L, Dai Y L, Lan C Z, Liu X F, Yang X J. Control effect of composite microbial agent on banana *Fusarium* wilt and its growth-promoting effect[J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2024, 55(6): 13-18 (in Chinese)
- [22] 韩小斌, 王先勃, 张之砚, 祝乾湘, 苟剑渝. 新型生防菌组合防治烟草青枯病田间药效评价[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(6): 123-124, 128
Han X B, Wang X B, Zhang Z F, Zhu Q X, Gou J Y. Efficacy evaluation of a new biocontrol bacteria combination against tobacco bacterial wilt under field condition[J]. *Anhui Agricultural Science*, 2022, 50(6): 123-124, 128
- [23] 马志远, 李金岭, 冯志珍, 段军娜, 李晶, 成巨龙, 安德荣. 1株烟草赤星病拮抗芽孢杆菌的鉴定与活性研究[J]. 西北农林科技大学学报自然科学版, 2012, 40(3): 117-125

- Ma Z Y, Li J L, Feng Z Z, Duan J N, Li J, Cheng J L, An D R. Isolation, identification and antibacterial activity of antagonistic bacteria M-07C2F against tobacco brown spot[J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2012, 40(3): 117-125 (in Chinese)
- [24] 董琼娥, 张振荣, 田云霞, 童江云. 复合微生物制剂防治草莓白粉病的应用[J]. 北方园艺, 2020(15): 38-41.
- Dong Q E, Zhang Z R, Tian Y X, Tong J Y. Application of compound microbial preparation in controlling strawberry powdery mildew[J]. *Northern Horticulture*, 2020(15): 38-41 (in Chinese)
- [25] 陈哲, 黄静, 赵佳, 梁宏. 防治草莓炭疽病的芽胞杆菌组合的筛选[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 582-588
- Chen Z, Huang J, Zhao J, Liang H. Screening of the combinations of bacillus strains against strawberry anthracnose [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34(4): 582-588 (in Chinese)
- [26] 梁艳琼, 唐文, 董文敏, 吴伟怀, 李锐, 习金根, 谭施北, 郑金龙, 黄兴, 陆英, 贺春萍, 易克贤. 枯草芽胞杆菌菌株 Czk1 挥发性物质的抑菌活性及其组分分析[J]. 南方农业学报, 2019, 50(11): 2465-2474
- Liang Y Q, Tang W, Dong W M, Wu W H, Li R, Xi J G, Tan S B, Zheng J L, Huang X, Lu Y, He C P, Yi K X. Antifungal effect and components analysis of volatile organic compounds from *Bacillus subtilis* Czk1[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(11): 2465-2474 (in Chinese)
- [27] 王芳, 吕顺, 刘文清, 曾莉莎, 杜彩娴, 周建坤, 韩秀香, 刘建平. 香蕉枯萎病生防菌的筛选及生防物质分析[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(6): 1264-1269
- Wang F, Lyu S, Liu W Q, Zeng L S, Du C X, Zhou J K, Han X X, Liu J P. Screening of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f sp. *cubense* and analysis of the substances associated with biological control [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2014, 36(6): 1264-1269 (in Chinese)
- [28] 瞿云杰, 唐易, 李花, 家佳丽, 贾幸宸, 荣航, 熊月明, 王明元. 小白菜根际高效解磷菌的分离鉴定与培养条件优化[J]. 福建农业科技, 2024, 55(1): 1-7
- Qu Y J, Tang Y, Li H, Jia J L, Jia X C, Rong H, Xiong Y M, Wang M Y. Isolation and identification of the high efficient phosphate-solubilizing bacteria from the rhizosphere of *Brassica chinensis* L and the optimization of culture conditions[J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2024, 55(1): 1-7 (in Chinese)
- [29] 雷海英, 赵青松, 杨潇, 王毛毛, 白洁, 孙永琪, 王志军. 苦参根际高效固氮菌的分离及复合菌肥对幼苗的促生效应[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 157-166
- Lei H Y, Zhao Q S, Yang X, Wang M M, Bai J, Sun Y Q, Wang Z J. Isolation of efficient nitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of *Sophora flavescens* and the growth-promoting effect of compound microbial fertilizer on seedlings[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 157-166 (in Chinese)
- [30] 王文丽. 复合微生物菌剂的研制及其对番茄青枯病的生防效应[D]. 南京: 南京农业大学, 2021
- Wang W L. Preparation of composite microbial agent and its biocontrol effect on tomato bacterial wilt [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021 (in Chinese)
- [31] 蓝建荣, 黄杰豪, 黄石连, 李锦旋, 田凯, 刘青, 吴健雄, 郑丽. 生防菌组合防控精品西瓜枯萎病的效果初探[J]. 广东农业科学, 2022, 49(1): 94-104
- Lan J R, Huang J H, Huang S L, Li J X, Tian K, Liu Q, Wu J X, Zheng L. A preliminary study on the effects of combination of biocontrol agents against watermelon *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f sp *niveum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2022, 49(1): 94-104 (in Chinese)
- [32] Duan Y N, Zhao L, Jiang W T, Chen R, Zhang R, Chen X S, Yin C M, Mao Z Q. The phlorizin-degrading *Bacillus licheniformis* XNRB-3 mediates soil microorganisms to alleviate apple replant disease [J/OL]. *Frontiers in Microbiology*, (2022-03-03). DOI: 10.3389/fmicb.2022.839484
- [33] 张艳杰, 杨淑, 陈英化, 沈凤英, 乔丹娜, 李亚宁, 刘大群. 玫瑰黄链霉菌防治番茄连作障碍及对土壤微生物区系的影响[J]. 西北农业学报, 2014, 23(8): 122-127
- Zhang Y J, Yang S, Chen Y H, Shen F Y, Qiao D N, Li Y N, Liu D Q. Efficiency of *Streptomyces roseoflavus* against tomato continuous cropping obstacle and effects to soil microflora [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2014, 23(8): 122-127 (in Chinese)
- [34] Mohd -Yusuf Y, Khalid N, Al-Obaidi J R, Akmal Baharum N, Zaidi K, Salleh B, Azuddin N F, Abdul Aziz F A, Munusamy U, Othman R Y. Standardized bioassays: An improved method for studying *Fusarium oxysporum* f sp *cubense* race 4 (FocR4) pathogen stress response in *Musa acuminata* cv 'berangan' [J]. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 2019, 27(3): 101-112
- [35] 汪静杰, 赵东洋, 刘永贵, 敖翔, 范蕊, 段正巧, 刘艳萍, 陈倩茜, 金志雄, 万永继. 解淀粉芽胞杆菌 SWB16 菌株脂肽类代谢产物对球孢白僵菌的拮抗作用[J]. 微生物学报, 2014, 54(7): 778-785
- Wang J J, Zhao D Y, Liu Y G, Ao X, Fan R, Duan Z Q, Liu Y P, Chen X C, Jin Z X, Wan Y J. Antagonism against *Beauveria bassiana* by lipopeptide metabolites produced by entophyte *Bacillus amyloliquefaciens* strain SWB16 [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(7): 778-785 (in Chinese)
- [36] 向亚萍, 陈志谊, 罗楚平, 周华飞, 刘永锋. 芽胞杆菌的抑菌活性与其产脂肽类抗生素的相关性[J]. 中国农业科学, 2015, 48(20): 4064-4076
- Xiang Y P, Chen Z Y, Luo C P, Zhou H F, Liu Y F. The antifungal activities of *Bacillus* spp and its relationship with lipopeptide antibiotics produced by *Bacillus* spp [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(20): 4064-4076 (in Chinese)
- [37] Ongena M, Jacques P. *Bacillus* lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol[J]. *Trends in Microbiology*, 2008, 16(3): 115-125
- [38] 高娃, 姜威, 孟利强, 李晶, 陈靖宇, 曹旭, 胡基华, 刘宇帅, 张鹏远, 张淑梅. 解淀粉芽胞杆菌 TF28 抗菌蛋白 TasA 基因序列分析及蛋白质结构预测[J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(2): 313-318
- Gao W, Jiang W, Meng L Q, Li J, Chen J Y, Cao X, Hu J H, Liu Y S, Zhang P Y, Zhang S M. Gene sequence analysis and protein structure prediction of antifungal protein gene *TasA* from *Bacillus amyloliquefaciens* TF28 [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34(2): 313-318 (in Chinese)
- [39] 刘彩霞, 焦如珍, 赵京京. 林木病原菌广谱拮抗菌株的筛选及功能研究 [J]. 生物技术进展, 2018, 8(1): 63-70, 93
- Liu C X, Jiao R Z, Zhao J J. Screening and functional research of broad spectrum antagonistic strains against forest pathogenic fungi [J]. *Current Biotechnology*, 2018, 8(1): 63-70, 93 (in Chinese)
- [40] 马佳, 李颖, 胡栋, 彭杰丽, 贾楠, 张翠锦, 王旭, 王占武. 芽胞杆菌生物防治作用机理与应用研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 639-648
- Ma J, Li Y, Hu D, Peng J L, Jia N, Zhang C M, Wang X, Wang Z W. Progress on mechanism and applications of *Bacillus* as a biocontrol microbe [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34(4): 639-648 (in Chinese)
- [41] 聂海珍, 孙漫红, 李世东, 钟增明. 棉隆与淡紫拟青霉联合防治番茄根结线虫病的效果评价[J]. 植物保护学报, 2016, 43(4): 689-696
- Nie H Z, Sun M H, Li S D, Zhong Z M. Integrated control of root-knot nematode disease of tomato by dazomet and *Paecilomyces lilacinus* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2016, 43(4): 689-696 (in Chinese)

- [42] Liu K, Garrett C, Fadamiro H, Kloepper J W. Induction of systemic resistance in Chinese cabbage against black rot by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Biological Control*, 2016, 99: 8-13
- [43] 雷先德, 李金文, 徐秀玲, 张翰林, 曹林奎. 微生物菌剂对菠菜生长特性及土壤微生物多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(4): 488-494
- Lei X D, Li J W, Xu X L, Zhang H L, Cao L K. Effect of microbial inoculants on spinach growth characteristics and soil microbial diversity[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(4): 488-494 (in Chinese)
- [44] 傅春风. 烟草抗病促生复合微生物菌剂的研制及效果评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016
- FU C F. Developing and effects rating of complex microbial inoculants on tobacco growth-promoting and disease resistance[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [45] 李苗苗, 王晓强, 王东坤, 刘元德, 孙光军, 沈宏, 艾永峰, 崔志燕, 陈德鑫, 王凤龙. 生防菌复配对烟草黑胫病的防治效果研究[J]. 中国烟草科学, 2020, 41(2): 32-38
- Li M M, Wang X Q, Wang D K, Liu Y D, Sun G J, Shen H, Ai Y F, Cui Z Y, Chen D X, Wang F L. Effect of biocontrol agents mixture on control of tobacco black shank[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2020, 41(2): 32-38 (in Chinese)
- [46] Zheng Y F, Han X B, Zhao D L, Wei K K, Yuan Y, Li Y Q, Liu M H, Zhang C S. Exploring biocontrol agents from microbial keystone taxa associated to suppressive soil: A new attempt for a biocontrol strategy[J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2021-03-19). DOI: 10.3389/fpls.2021.655673

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 何晓兴, 河北农业大学植物保护学院资源利用与植物保护专业硕士。曾参与国家现代农业(苹果)产业技术体系专项(CARS-27); 河北省农业高质量发展关键共性技术攻关专项(21326506D); 河北省现代农业产业技术体系专项(HBCT2023120208, HBCT2024170205)。申报专利1项。在*Frontiers in Plant Science*以共同第一作者身份发表1篇SCI论文。荣获2022—2023学年度校级研究生二等奖学金, 2023—2024学年度校级研究生一等奖学金, 2023—2024学年度校级优秀研究生。



通讯作者简介: 王树桐, 博士, 河北农业大学植物保护学院教授, 博士生导师, 植物保护学院创新创业教研室主任。主要从事苹果病害流行规律、生物防治及综合防控研究工作。国家苹果产业技术体系岗位专家, 病虫草害防控研究室主任, 主持在研国家重点研发项目等国家级省部级科研项目5项, 主研项目10余项。获国家科技进步奖二等奖1项, 河北省科技进步奖一等奖1项、新疆生产建设兵团科技进步二等奖1项; 以第一作者或通讯作者在*Plant Disease*、*Frontiers in Plant Science*等国际期刊发表论文50余篇。