

生防菌株铜绿假单胞菌和粪产碱菌对奇异根串珠霉菌的防效测定及其发酵条件优化

刘双龙^{1,2}, 余凤玉¹, 宋薇薇¹, 杨德洁^{1*}, 牛晓庆^{1*}

1. 中国热带农业科学院椰子研究所/海南省院士创新平台, 海南文昌 571339; 2. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228

摘要: 奇异根串珠霉菌 (*Thielaviopsis paradoxa*) 可危害几乎所有的棕榈科植物, 其中以引起的椰子泻血病最严重, 且至今尚未找到安全有效的防治方法。本研究前期筛选到的生防菌中, 经验证铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) wrj-2-5 和粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) brj-21 具有抑制奇异根串珠霉菌的生防潜力。为明确其对奇异根串珠霉菌的具体抑制效果, 以奇异根串珠霉菌为靶标菌, 对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 进行抑菌效果测定、室内防效测定及发酵条件的优化。结果表明, 菌株 brj-21 和 wrj-2-5 对奇异根串珠霉菌的抑菌率均达到 70% 以上, 离体实验发现 2 菌株依然具有很好的抑菌效果, 处理组病斑面积显著小于对照组, 且接种生防菌越早其抑菌效果越好。此外, 这 2 菌株对椰子可可毛色二孢果腐病、椰子灰斑病和椰子心腐病的病原菌均有较强的抑制作用。通过对 2 菌株的发酵条件进行优化, 最终确定菌株 wrj-2-5 的最佳发酵条件为: 接种量 8%、转速 180 r/min、温度 28 °C, 初始 pH 为 6.0~8.0, 培养 36 h; 菌株 brj-21 的最佳发酵条件为: 接种量 8%、转速 180 r/min、温度 28~32 °C, 初始 pH 为 6.0~8.0, 培养 24 h。综上, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 对奇异根串珠霉菌有较好的防治效果, 为椰子泻血病和椰子奇异根串珠霉果腐病的绿色生物防治提供重要的参考依据。

关键词: 椰子病害; 奇异根串珠霉菌; 拮抗细菌; 生物防治

中图分类号: S476.1 文献标识码: A

Determination of Control Effect of Biocontrol Strains *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes faecalis* on *Thielaviopsis paradoxa* and Optimization of Fermentation Conditions

LIU Shuanglong^{1,2}, YU Fengyu¹, SONG Weiwei¹, YANG Dejie^{1*}, NIU Xiaoqing^{1*}

1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / The Innovation Platform for Academicians of Hainan Province, Wenchang, Hainan 571339, China; 2. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: *Thielaviopsis paradoxa* is harmful to almost all palm plants, among which stem bleeding of coconut is the most serious, and no effective and safe control method is available. Among the biocontrol bacteria screened in the early stage of this study, *Pseudomonas aeruginosa* wrj-2-5 and *Alcaligenes faecalis* brj-21 were proved to have biocontrol potential against *T. paradoxa*. In order to determine the specific inhibitory effect of *P. aeruginosa* and *A. faecalis* on *T. paradoxa*, *T. paradoxa* was used as the target strain to determine the bacteriostatic effect, indoor control effect and fermentation conditions of the biocontrol strains wrj-2-5 and brj-21. The results showed that wrj-2-5 and brj-21 both had a bacteriostatic rate of more than 70% against *T. paradoxa*. *In vitro* experiment found that the two bacteria still had good bacteriostasis. The lesion area of the treatment group was significantly smaller than that of the control group. Earlier inoculation would lead to better effect. In addition, the strains had strong inhibitory effect on other pathogenic bacteria

收稿日期 2022-06-07; 修回日期 2022-09-29

基金项目 海南省自然科学基金青年基金项目 (No. 320QN355); 海南省院士创新平台科研专项 (No. YSPTZX202151)。

作者简介 刘双龙 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 棕榈植物病害生物防治。*通信作者 (Corresponding author): 杨德洁 (YANG Dejie), E-mail: yangdjie@foxmail.com; 牛晓庆 (NIU Xiaoqing), E-mail: xiaoqingniu123@126.com。

of coconut leaf spot, fruit rot, gray spot and heart rot. The optimal fermentation condition of wrj-2-5 was rotation speed 180 r/min, temperature 28 °C, culture time 36 h, initial pH value 6.0–8.0, and inoculum amount 8%. The optimal fermentation condition of strain brj-21 was inoculum amount 8%, the initial pH value 6.0–8.0, rotation speed 180 r/min, temperature 28–32 °C, and incubation time 24 h. In conclusion, wrj-2-5 and brj-21 have good control effects on the stem bleeding of coconut and fruit rot of coconut caused by *T. paradoxa*. They also have a certain inhibitory effect on the pathogens of other coconut diseases, which would provide an important reference for the green and biological control of *T. paradoxa*.

Keywords: coconut disease; *Thielaviopsis paradoxa*; antagonistic bacteria; biological control

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.018

椰子 (*Cocos nucifera*) 属于棕榈科椰子属, 为典型的热带经济作物, 是海南的“三棵树”之一^[1]。2018 年海南省的椰子种植面积高达 3.36 万 hm^2 , 经济产值达 3.86 亿元, 带动多地农户脱贫致富^[2]。近几年随着椰子种植面积的增加, 由奇异根串珠霉菌 (*Thielaviopsis paradoxa*) 引起的椰子泻血病逐年加重, 该病害主要危害椰子树干, 病部流出红色液体, 后期则变成铁锈色, 现已成为椰子主要病害之一^[3], 目前海南省各市 (县) 椰子泻血病均有发生, 部分市县发病率达 40%, 死亡率达 5%, 给椰子种植户带来极大的损失^[4]。此外, 温碧柔等^[5]从腐烂椰果中分离并验证奇异根串珠霉菌也是导致椰子果腐的“真凶”。目前关于椰子泻血病和椰子奇异根串珠霉菌果腐病的防治多集中于化学防治^[4], 极易使致病菌产生抗性, 并且随着化学药剂使用量的不断加大, 导致其大面积残留, 给环境造成严重的威胁^[6], 因此寻找防治椰子泻血病的生物防治方法具有重要意义。目前已报道的奇异根串珠霉菌生防菌包括浅灰链霉菌 (*Streptomyces griseolus*)、鼠灰链霉菌 (*S. murinus*) 等^[3], 为丰富奇异根串珠霉菌生防菌的资源, 本研究采用平板对峙法测定 2 株生防菌对奇异根串珠霉菌的抑制效果, 对其抑菌作用进行初步研究, 并对发酵条件进行优化, 以期椰子泻血病的生物防治提供安全、有效的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 供试生防菌: 粪产碱菌 brj-21 (*Alcaligenes faecalis*)、铜绿假单胞菌 wrj-2-5 (*Pseudomonas aeruginosa*) 由本实验室分离保存; 供试病原菌: 奇异根串珠霉菌 (*T. paradoxa*)、椰子灰斑病菌 (*Pestalotiopsis palmarum*)、椰子可可毛色二孢果腐病菌 (*Lasiodiplodia theobromae*)

和椰子心腐病菌 (*Pestalotiopsis* sp.) 由本实验室分离保存。实验所用椰果为中国热带农业科学院椰子研究所“文椰 3 号”品种。

1.1.2 供试培养基 PDA 培养基、LB 培养基、NYBD 液体培养基等, 以上培养基按常规方法配置^[7-8]。

1.2 方法

1.2.1 生防菌的抑制作用测定 采用平板对峙法^[9-10]测定 2 株生防菌对奇异根串珠霉菌、椰子灰斑病菌、椰子可可毛色二孢果腐病菌和椰子心腐病菌的抑制效果。其中, 对奇异根串珠霉菌的抑制效果通过生防菌菌块与菌液进行测定, 对其他病原菌的抑制效果通过生防菌菌块测定。

抑菌率 = (对照组菌落直径 - 测试组菌落直径) / 对照组菌落直径 × 100%

1.2.2 室内防治效果实验 采用椰果刺伤接种^[11]进行室内防效验证。选取健康且大小一致的椰果作为接种对象, 先将椰果用清水冲洗干净, 晾干后用 75% 酒精消毒 30 s, 再用无菌水将椰果清洗 3 次, 晾干后使用一次性注射器针头将果柄处椰果扎破, 每个重复扎 20~30 次, 用灭菌吸水纸、纱布盖于伤口处。预防试验 (处理 1~3): 用无菌枪头吸取 NYBD 培养基中培养的生防菌菌液 (2×10^7 CFU/mL) 100 μL 接种于果柄针刺处, 然后分别在接种 1、3、5 d 后将奇异根串珠霉菌菌丝块 (5 mm^2) 接于椰果伤口处; 治疗试验 (处理 4~6): 先将奇异根串珠霉菌菌丝块 (5 mm^2) 接于椰果伤口处, 然后分别在接种 2、4、6 d 后在果柄处接种 NYBD 培养基中培养的生防菌菌液 (2×10^7 CFU/mL), 共进行 6 组处理。以对应处理的生防菌液换成 NYBD 液体培养基作为对照, 每处理 3 次重复, 置于 28 °C 恒温培养箱内保湿培养, 光照周期为 12 h 光照、12 h 黑暗, 每天连续观察并记录椰果发病情况。病斑面积 $S = 1/4\pi \times \text{长} \times$

宽，测量长、宽的方法：每个病斑量其最长和最宽处（二者成直角）^[12]。

1.2.3 生防菌发酵条件优化 （1）种子液的制备。挑取生防菌株单菌落于 100 mL LB 液体培养基中，置于恒温摇床中，28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h，备用。

（2）发酵时间对生防菌株的影响。使用 LB 培养基，分别在 12、24、36、48、60、72 h 测量细菌浓度，在 0~12 h 内每间隔 2 h 测量 1 次，12~24 h 每间隔 4 h 测量 1 次。24 h 后每 12 h 测 1 次，根据所得数据绘制细菌的生长曲线。

（3）转速对生防菌株的影响。采用上述优化的发酵条件，分别调整转速为 120、150、180、210、240 r/min，培养 24 h 后测量菌液浓度，确定最佳摇床转速。

（4）温度对生防菌株的影响。采用上述优化的发酵条件，分别设置温度为 24、28、32、36 ℃ 进行发酵培养 24 h，测定不同温度的菌液浓度。

（5）初始 pH 对生防菌株的影响。采用上述优化的发酵条件，分别配置 pH 为 4.0、6.0、7.0、8.0、10.0 的培养基，28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h 后，测定不同 pH 环境中细菌生长情况，以确定最佳初始 pH。

（6）始初接菌量对生防菌株的影响。采用上述优化的发酵条件，分别接种含量为 2%、4%、6%、8%、10% 的种子液。28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h 后，测量各培养基中不同初始接菌量的细菌浓度，以确定最佳的初始接菌量^[7-8]。

1.3 数据处理

采用 IBM SPSS Statistics Version 22.0 软件进行单因素方差分析，并且使用 Duncan's 法进行显著性检验 ($P < 0.05$)，使用 GraphPad prim 软件制图。

2 结果与分析

2.1 生防菌对奇异根串珠霉菌的抑制作用

通过平板对峙实验，发现菌株 brj-21 和 wrj-2-5 菌体对奇异根串珠霉菌的抑菌率分别为 74.33% 和 71.00%，抑菌带宽分别为 5.83、7.00 mm；菌液对奇异根串珠霉菌的抑菌率分别为 78.00% 和 69.00%，抑菌带宽分别为 9.17、6.39 mm（图 1，表 1）。

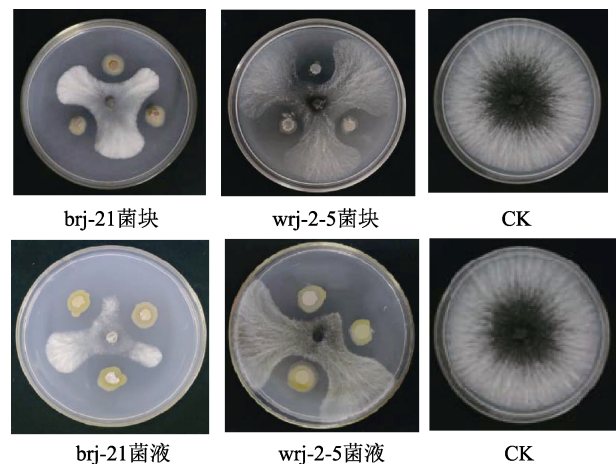


图 1 2 株生防菌对奇异根串珠霉菌的抑制效果
Fig. 1 Inhibitory effect of two antagonistic strains on *T. paradoxa*

表 1 2 株生防菌对奇异根串珠霉菌的抑菌作用

Tab. 1 Antibacterial effect of two strains against *T. paradoxa*

菌株 Strain	菌体 Bacteria		发酵液 Fermentation broth	
	抑菌率 Inhibition rate/%	抑菌带宽 Inhibition bandwidth/mm	抑菌率 Inhibition rate/%	抑菌带宽 Inhibition bandwidth/mm
brj-21	74.33±3.05	5.83±1.52	78.00±1.73	9.17±1.15
wrj-2-5	71.00±3.50	7.00±1.80	69.00±1.50	6.39±1.85

2.2 生防菌对其他病原菌的抑制作用

2 株生防菌 brj-21 和 wrj-2-5 对椰子心腐病、椰子灰斑病和椰子可可毛色二孢果腐病的病原菌均有一定的抑制效果，其中 wrj-2-5 对椰子灰斑病菌的抑制作用最强，达 83.78%，brj-21 对椰子灰斑病菌的抑制作用最强，达 81.08%，2 株生防菌对椰子心腐病菌和椰子可可毛色二孢果腐病菌的抑菌率均在 70% 以上（表 2）。

2.3 离体椰果实验

在离体椰果上接种生防菌对奇异根串珠霉菌的扩展有很好的抑制作用（图 2）。其中，在接种 wrj-2-5 和 brj-21 菌株 5 d 后再接种病原菌奇异根串珠霉菌，对奇异根串珠霉菌抑制效果最好，病斑面积分别为 0.76、0.79 cm²，显著小于对照（3.14 cm²）；在接种病原菌 2 d 后接种生防菌 wrj-2-5 和 brj-21 的效果最好，病斑面积分别为

表 2 2 株生防菌对其他椰子病害病原菌的抑制作用
Tab. 2 Inhibition of two antagonistic bacteria on pathogens of other coconut diseases

病原菌 Pathogenic fungus	brj-21		wrj-2-5	
	抑菌率 Inhibition rate/%	抑菌带宽 Inhibition bandwidth/mm	抑菌率 Inhibition rate/%	抑菌带宽 Inhibition bandwidth/mm
椰子心腐病菌	77.50±2.50 ^a	9.80±1.52 ^a	77.50±2.50 ^b	10.50±1.00 ^b
椰子灰斑病菌	81.08±2.70 ^a	9.60±0.57 ^a	83.78±2.70 ^a	15.50±1.00 ^a
椰子可可毛色二孢果腐病菌	71.85±2.56 ^b	5.16±1.52 ^b	74.07±3.39 ^b	6.83±1.52 ^c

注：同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

1.26、1.77 cm²，显著小于对照 (4.45 cm²)。综上，生防菌 wrj-2-5 和 brj-21 对奇异根串珠霉菌的扩展有很好的抑制作用，且接种生防菌越早，其效果越好 (表 3)。

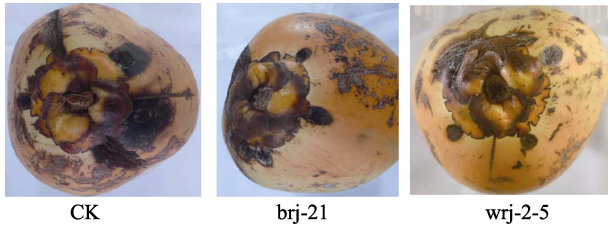


图 2 2 株生防菌离体接种对椰果奇异根串珠霉菌腐病的防治效果

Fig. 2 Effect of two antagonistic strains on control of coconut fruit rot

表 3 2 株生防菌离体接种对椰果奇异根串珠霉菌腐病的防治效果

Tab. 3 Effect of two antagonistic strains on control of coconut fruit rot

时间 Time/d	病斑面积 Lesion area/cm ²		
	CK	wrj-2-5	brj-21
1	3.01±2.01 ^a	2.36±1.46 ^a	1.27±0.71 ^a
3	3.44±1.23 ^a	0.96±0.10 ^b	0.88±0.01 ^b
5	3.14±1.85 ^a	0.76±0.02 ^b	0.79±0.17 ^b
2	4.45±3.90 ^a	1.26±0.80 ^b	1.77±0.13 ^b
4	6.54±9.91 ^a	2.34±0.28 ^b	2.09±2.52 ^b
6	8.41±8.23 ^a	5.50±0.62 ^b	6.36±0.15 ^b

注：同行不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same line indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

2.4 发酵条件优化

2.4.1 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长曲线 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 的生长曲线如图 3 所示。菌株 wrj-2-5 的 OD₆₀₀ 值在 0~36 h 内随时间延长而增大，菌数呈指数增加进入对数期并在 36 h 时达到最大值，在 36 h 后进入稳定期和衰亡期。菌株 brj-21 的 OD₆₀₀ 值在 0~24 h 内随时间延长而增大，

进入对数期并在 24 h 时达到最大值，在 24 h 后 OD₆₀₀ 值随培养时间延长而降低，整个群体进入稳定期和衰亡期。

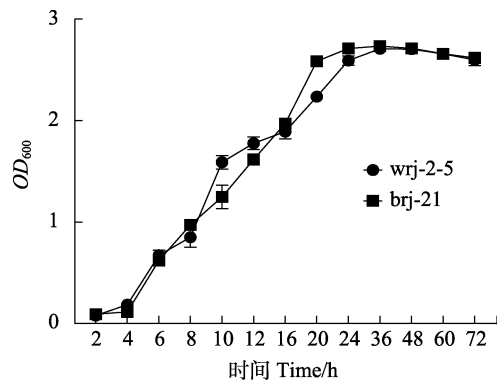
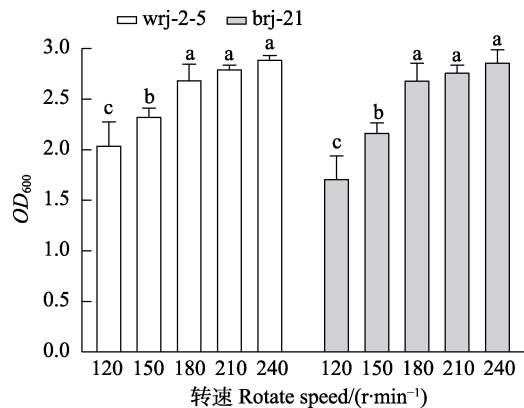


图 3 菌株生长曲线

Fig. 3 Growth curve of strains

2.4.2 转速对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长的影响 不同转速对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长具有显著差异。当摇床转速为 120~180 r/min 时，wrj-2-5 和 brj-21 菌液浓度均随转速增加而增大，当转速提高到 180 r/min 以上时，菌液浓度无显著差异 (图 4)。

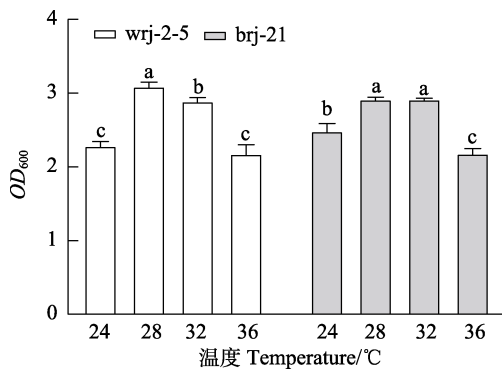


不同小写字母表示同一菌株不同转速间差异显著 ($P<0.05$)。Different lowercase letters indicate significant difference between different rotational speeds of the same strain ($P<0.05$).

图 4 转速对 wrj-2-5 和 brj-21 菌株生长的影响

Fig. 4 Effect of rotational speed on growth of wrj-2-5 and brj-21

2.4.3 温度对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长的影响
在不同温度下, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 均能生长, 菌株 wrj-2-5 在 28 °C 时生长最快, 菌液浓度显著高于其他温度; 高于 28 °C 时, 菌液浓度呈逐渐下降趋势。菌株 brj-21 在 28~32 °C 时生长最快, 且在此温度范围内无显著差异; 高于 32 °C 时, 菌液浓度呈逐渐下降趋势 (图 5)。温度过高或过低对菌株的生长均有不良影响, 最终确定菌株 wrj-2-5 的最佳发酵温度为 28 °C, 菌株 brj-21 的最佳发酵温度为 28~32 °C。



不同小写字母表示同一菌株不同温度间差异显著 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant difference between different temperature of the same strain ($P < 0.05$).

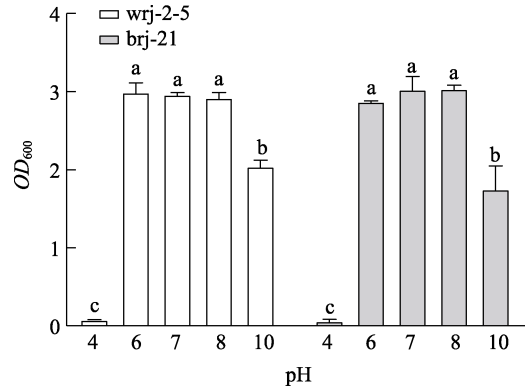
图 5 温度对 wrj-2-5 和 brj-21 菌株生长的影响
Fig. 5 Effect of temperature on growth of wrj-2-5 and brj-21

2.4.4 初始 pH 对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长的影响
不同初始 pH 对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长的影响存在显著性差异。当初始 pH 为 6.0~8.0 时, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长均较好, 在此范围内无显著性差异。当 pH 为 10 时, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 的菌液浓度相对较低, 生长缓慢; 当 pH 为 4.0 时, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 基本不生长 (图 6)。说明过酸或过碱的环境对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 的生长均有抑制作用, 因此确定菌株 wrj-2-5 和 brj-21 的最适 pH 为 6.0~8.0。

2.4.5 初始接种量对菌株 wrj-2-5 和 brj-21 生长的影响
当初始接种量为 8% 时, 菌株 wrj-2-5 和 brj-21 在经过 24 h 振荡培养后浓度最高, 其次是接种量为 10% 和 6% 的菌液浓度 (图 7)。

3 讨论

研究表明, 生防菌粪产碱菌 brj-21 和铜绿假单胞菌 wrj-2-5 对奇异根串珠霉菌有较强的抑菌作用, 抑菌率菌均在 70% 以上, 对其他病原



不同小写字母表示同一菌株不同 pH 间差异显著 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant difference between different pH of the same strain ($P < 0.05$).

图 6 初始 pH 对 wrj-2-5 和 brj-21 菌株生长的影响
Fig. 6 Effect of initial pH on growth of wrj-2-5 and brj-21

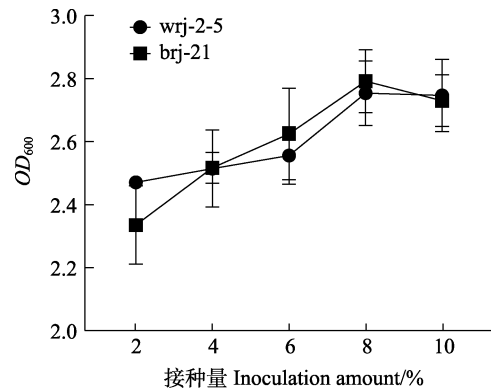


图 7 初始接种量对 wrj-2-5 和 brj-21 菌株生长的影响
Fig. 7 Effect of inoculation amount on growth of wrj-2-5 and brj-21

菌也有很好的抑制作用。已有研究证明, 铜绿假单胞菌对番茄枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum*)、甜瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum f.sp.cucumerinum*)、番茄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*)、油菜菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 及番茄青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) 均有较好的抑制作用, 对番茄枯萎病盆栽防效达 81%^[13-14], 对烟草青枯病的防治效果优于农用链霉素, 防效为 60%^[15]。在铜绿假单胞菌的抑菌机理方面, 有研究发现铜绿假单胞菌可通过产生吩嗪-1-羧酸、藤黄绿脓菌素、3,4-二羟基-N-甲基-4-苯并二氢吡喃酮-丁酰胺等抑制病原菌生长^[16-17], 同时还可产生铁载体, 通过螯合自然界中的微量铁元素, 用特异的转运系统将其转移至体内, 以促进其铁元素的吸收^[18]。而有关粪产碱菌的研究报道较少, 现有研究表明粪产碱菌可对多种有害物质, 如亚硝酸盐、苯酚、硫化氢进行降解, 还可产生羟胺类

等抑菌物质^[19]。此外,有研究发现粪产碱菌 51-A 和 51-B 对根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 具有较强的抑制作用,盆栽实验表明,51-A 和 51-B 可显著抑制根癌瘤的形成,对向日葵根癌病的防效分别为 98.0%和 97.0%^[20]。YUEN^[21-22] 研究发现,粪产碱菌对镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 也有较强的抑制作用。

在离体椰果接种实验中,菌株 brj-21 和 wrj-2-5 的预防作用较优于治疗作用,在病原菌感染前 3~5 d 进行接菌,其预防效果最佳。初步推测可能是因为奇异根串珠霉菌感染椰果之前,生防菌抢占了病原菌的感染位点,或激发了植物自身的免疫应答系统^[23],从而减弱发病程度。下一步将重点研究生防菌在椰子内的定殖及其相关基因的表达。本研究还对生防菌株的发酵条件进行优化,生防菌在生长过程中能产生多种抑菌物质,在适宜的发酵条件下,其抑菌物质的产量将更丰富,还能提高生物农药制剂的抑菌效果,进而节约生产成本^[24]。研究得出,铜绿假单胞菌 wrj-2-5 的最佳发酵条件为接种量 8%、转速 180 r/min、温度 28 ℃,初始 pH 为 6.0~8.0,培养 36 h,这与卢晓虹等^[14]对铜绿假单胞菌确定的发酵条件有所差异,可能是由于菌株来源、生境、用途等不同造成的,后续将进一步验证。

本研究中的生防菌株 wrj-2-5 和 brj-21 在防治由奇异根串珠霉菌引起的椰子病害中有较大的生防潜力,生防菌株的应用将对椰子病害的防治提供更为绿色安全的方法。今后将加强对生防菌株 wrj-2-5 和 brj-21 次生代谢产物、菌株在植物体内定殖和植物内在抗性反应等方面的研究。

参考文献

- [1] 覃伟权,吕朝军,李朝绪,黄山春,彭正强. 中国椰子害虫调查[J]. 中国农学通报, 2010, 26(1): 200-204.
QIN W Q, LYU C J, LI C X, HUANG S C, PENG Z Q. Research of pests of coconut in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(1): 200-204. (in Chinese)
- [2] 卢琨,侯媛媛. 海南省椰子产业分析与发展路径研究[J]. 广东农业科学, 2020, 47(6): 145-151.
LU K, HOU Y Y. Analysis and development path of coconut industry in Hainan province[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2020, 47(6): 145-151. (in Chinese)
- [3] 牛晓庆,余凤玉,宋薇薇,唐庆华,朱辉,覃伟权. 一株拮抗椰子茎泻血病菌的链霉菌鉴定[J]. 热带作物学报, 2015, 36(10): 1851-1855.
NIU X Q, YU F Y, SONG W W, TANG Q H, ZHU H, QIN W Q. Identification of a *Streptomyces* strain against coconut stem bleeding disease caused by *Ceratocystis paradoxa*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(10): 1851-1855. (in Chinese)
- [4] 余凤玉,吴艳萍,牛晓庆,朱辉,唐庆华,吴多扬. 椰子泻血病室内药剂筛选研究[J]. 中国南方果树, 2018, 47(2): 98-100.
YU F Y, WU Y P, NIU X Q, ZHU H, TANG Q H, WU D Y. Screening of fungicides against *Thielaviopsis paradoxa* in laboratory[J]. South China Fruits, 2018, 47(2): 98-100. (in Chinese)
- [5] 温碧柔,林来凤,赖文娜,陈仕林,刘活,易润华. 椰子果腐病菌的鉴定及生物学特性[J]. 广东农业科学, 2021, 48(3): 89-97.
WEN B R, LIN L F, LAI W N, CHEN S L, LIU H, YI R H. Identification and biological characteristics of *Thielaviopsis paradoxa* causing fruit rot on *Cocos nucifera*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2021, 48(3): 89-97. (in Chinese)
- [6] 马成涛,胡青,杨德奎. 土壤有益微生物防治植物病害的研究进展[J]. 山东科学, 2007(6): 61-67.
MA C T, HU Q, YANG D K. Progress of the prevention and treatment of the profitable soil microorganism for plants diseases[J]. Shandong Science, 2007(6): 61-67. (in Chinese)
- [7] 何明川,曾舒泉,王志江,詹菽国,柯昌磊,李微杰,张忠,吴国星,谢永辉. 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.
HE M C, ZENG S Q, WANG Z J, ZHAN Y G, KE C L, LI W J, ZHANG Z, WU G X, XIE Y H. Identification, fermentation condition optimization and control effect of an antagonistic strain MC4-2 against *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*[J]. Microbiology China, 2021, 48(12): 4636-4648. (in Chinese)
- [8] 杨亚男. 番茄根际促生菌的筛选及其培养基优化[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
YANG Y N. Screening and medium optimization of PGPR from tomato rhizosphere[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [9] 李巧玲,杨毅,肖忠,曹敏,韩凤. 木香根腐病生防细菌的筛选与鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42(9): 71-76.
LI Q L, YANG Y, XIAO Z, CAO M, HAN F. Screening and identification of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* causing root rot in *Saussurea costus* (Falc.) Lipech[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2020, 42(9): 71-76. (in Chinese)

- [10] 朱海云, 马瑜, 柯杨, 李勃. 猕猴桃溃疡病菌拮抗菌的筛选、鉴定及其对植物病原真菌的抗性[J]. 生物技术通报, 2021, 37(6): 66-72.
ZHU H Y, MA Y, KE Y, LI B. Screening and identification of an antagonist against the pathogen of kiwifruit canker and its antifungal activity to the phytopathogenic fungus[J]. *Bio-technology Bulletin*, 2021, 37(6): 66-72. (in Chinese)
- [11] 牛晓庆, 余凤玉, 符海泉, 覃伟权. 椰子茎泻血病菌人工接种方法的研究及抗病品种的筛选[J]. 中国南方果树, 2015, 44(1): 44-46.
NIU X Q, YU F Y, FU H Q, QIN W Q. Study on artificial inoculation method of *Ceratocystis paradoxa* and screening of disease resistant varieties[J]. *South China Fruits*, 2015, 44(1): 44-46. (in Chinese)
- [12] 徐睿, 刘闯, 张潇月, 周国英, 刘君昂. 2株拮抗生防菌对油茶炭疽病多种病原菌的抑菌活性及防效[J]. 经济林研究, 2021, 39(2): 27-34.
XU R, LIU C, ZHANG X Y, ZHOU G Y, LIU J A. Antibacterial activity and control effect of two antagonistic biocontrol bacteria against various pathogens of *Camellia oleifera* anthracnose[J]. *Non-wood Forest Research*, 2021, 39(2): 27-34. (in Chinese)
- [13] 郝晓娟, 刘波, 谢关林, 肖荣凤, 陈璐. 铜绿假单胞菌 FJAT-346 对番茄枯萎病的生防作用[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2011, 31(1): 39-43.
HAO X J, LIU B, XIE G L, XIAO R F, CHEN L. Biocontrol effect against tomato *Fusarium* wilt of *Pseudomonas aeruginosa* strain FJAT-346[J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2011, 31(1): 39-43. (in Chinese)
- [14] 卢晓虹, 许敏, 李甜爽, 刘海霞, 王美琴. 番茄青枯病拮抗菌株的筛选、鉴定及发酵条件的优化[J]. 山西农业科学, 2022, 50(5): 698-708.
LU X H, XU M, LI T S, LIU H X, WANG M Q. Screening and identification of antagonistic strains of tomato bacterial wilt and optimization of fermentation conditions[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2022, 50(5): 698-708. (in Chinese)
- [15] 胡军华, 张伏军, 蓝希铨, 林立鹏, 唐婧, 马淑华, 谢洁, 肖杰, 潘国庆, 周泽扬. 烟草根际细菌铜绿假单胞菌 swu31-2 的定殖能力及其对烟草青枯病的防治作用[J]. 植物保护, 2009, 35(5): 89-94.
HU J H, ZHANG F J, LAN X Q, LIN L P, TANG J, MA S H, XIE J, XIAO J, PAN G Q, ZHOU Z Y. Analysis of the colonization of tobacco rhizosphere bacterium swu31-2 and its control effect on tobacco bacterial wilt[J]. *Plant Protection*, 2009, 35(5): 89-94. (in Chinese)
- [16] BANO N, MUSARRAT J. Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent[J]. *Current Microbiology*, 2003, 46(5): 324-328.
- [17] SULOCHANA M B, JAYACHANDRA S Y, KUMAR S K A. Antifungal attributes of siderophore produced by the *Pseudomonas aeruginosa* JAS-25[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(5): 418-424.
- [18] 蒋海霞, 周莲, 何亚文. 铜绿假单胞菌生防菌株抑菌代谢产物及其生防应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2015, 42(7): 1338-1349.
JIANG H X, ZHOU L, HE Y W. Research progress in biocontrol strain *Pseudomonas aeruginosa*: antifungal metabolites and their applications in biocontrol[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(7): 1338-1349. (in Chinese)
- [19] SHIN-ICHIRO Y, YOSHITOMI A, SHUICHI A, ERINA K. Characterization of *Alcaligenes faecalis* strain AD15 indicating biocontrol activity against plant pathogens[J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2013, 59(2): 89-95.
- [20] 高之蕾, 李茜, 郭荣君, 李世东, 李世访, 王红清. 2株桃树根际细菌 *Alcaligenes faecalis* 对根癌病的抑制作用[J]. 果树学报, 2015, 32(2): 267-273, 172.
GAO Z L, LI Q, GUO R J, LI S D, LI S F, WANG H Q. Suppression effect of two peach rhizobacteria *Alcaligenes faecalis* on crown gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2015, 32(2): 267-273, 172. (in Chinese)
- [21] YUEN G Y. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi by iron competition with an *Alcaligenes* sp.[J]. *Phytopathology*, 1986, 76(2): 171-171.
- [22] YUEN G Y. Reduction of *Fusarium* wilt of carnation with suppressive soils and antagonistic bacteria[J]. *Plant Disease*, 1985, 69(12): 1071-1071.
- [23] 赵沛, 冯自力, 师勇强, 赵丽红, 胡小平, 朱荷琴. 棉花内生真菌 CEF-373 菌株对棉花黄萎病的防效及其作用机理[J]. 植物保护学报, 2019, 46(6): 1203-1213.
ZHAO P, FENG Z L, SHI Y Q, ZHAO L H, HU X P, ZHU H Q. Biological control effect and mechanism of cotton endophytic fungus *Fusarium solani* CEF-373 against *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum*[J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46(6): 1203-1213. (in Chinese)
- [24] 力治刚. 花椒内生拮抗细菌 JMY-3 的分离鉴定及抗菌活性的研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2016.
LI Z G. Isolation and identification pepper bacterium JMY-3 and the research of antibiotic activity[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2016. (in Chinese)