

## 2 株有效抑制剑麻斑马纹病菌的生防细菌鉴定

侯会霞<sup>1</sup>, 郑肖兰<sup>2\*</sup>, 易克贤<sup>1,2,3\*</sup>, 习金根<sup>2</sup>, 李 慧<sup>1</sup>, 吴伟怀<sup>2</sup>, 陈河龙<sup>2</sup>

1. 海南大学植物保护学院/热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海南海口 571101; 3. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572025

**摘 要:** 剑麻斑马纹病是一种由烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae*) 引起的传染性病害, 导致剑麻出现叶斑、茎腐和轴腐的症状, 对剑麻纤维的产量和质量造成严重影响。目前, 剑麻斑马纹病的防治主要采取以农业栽培措施为主, 抗病育种和化学药剂防治相结合的综合防治策略, 但是农业防治人工成本高, 工人操作技术参差不齐; 抗病育种难度大, 周期长; 化学防治受剑麻叶片表面带有蜡质层的影响, 存在药液不易吸附的问题, 而且大量施药也容易造成病原抗药性提高和环境污染。因此, 开发防治剑麻斑马纹病的生防菌资源, 探索综合防控新途径显得尤为重要。本研究以烟草疫霉菌为靶标菌, 通过五点对峙法筛选, 获得 2 株生防菌 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5, 其菌丝生长抑制率分别为 85.92% 和 83.10%。通过对烟草疫霉菌菌丝显微结构进行观察发现, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 均抑制了烟草疫霉菌菌丝的生长, 生防菌对峙的烟草疫霉菌出现菌丝体膨大增粗、分枝畸形、缠绕等现象。基于细胞形态、生理生化反应以及 16S rDNA 基因序列比对分析, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 鉴定为多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*)。进一步研究显示菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 均具有广谱拮抗作用, 能够很好地抑制辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsica*)、大豆疫霉菌 (*P. sojae*)、瓜疫霉菌 (*P. melonis*)、棕榈疫霉菌 (*P. palmivora*)、豇豆疫霉菌 (*P. vignae*)、尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、黑曲霉菌 (*Aspergillus niger*)、暹罗刺盘孢菌 (*Colletotrichum siamense*) 等 11 种病原菌的生长。此外, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 具有解有机磷能力、解无机磷能力、解钾能力、固氮能力和产铁能力, 可为作物的良好生长提供条件。结果表明, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 对剑麻斑马纹病的防治具有良好的潜力, 可为剑麻斑马纹病的生物防治提供基础材料。

**关键词:** 剑麻斑马纹病; 烟草疫霉菌; 生防菌; 促生特性

中图分类号: S31 文献标识码: A

## Identification of Two Biocontrol Bacteria Effectively Inhibiting Sisal Zebra Disease

HOU Huixia<sup>1</sup>, ZHENG Xiaolan<sup>2\*</sup>, YI Kexian<sup>1,2,3\*</sup>, XI Jingen<sup>2</sup>, LI Hui<sup>1</sup>, WU Weihuai<sup>2</sup>, CHEN Helong<sup>2</sup>

1. College of Plant Protection, Hainan University / Key Laboratory of Green Prevention and Control of Tropical Agricultural and Forestry Biological Disasters, Ministry of Education, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Key Laboratory for Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572025, China

**Abstract:** Sisal zebra disease is an infectious disease caused by *Phytophthora nicotianae*, causing symptoms such as leaf spot, stem rot and shaft rot in sisal, and it has a serious impact on the yield and quality of sisal fibre. At present, the integrated control strategy of sisal zebra disease is mainly based on agricultural control, and combining disease resis-

收稿日期 2022-11-11; 修回日期 2023-01-03

基金项目 海南省科技人才创新项目 (No. KJRC2023B18); 国家麻类产业技术体系“剑麻生理与栽培岗位”项目 (No. CARS-16-E16); 海南省院士创新平台资金项目。

作者简介 侯会霞 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物保护。\*通信作者 (Corresponding author): 郑肖兰 (ZHENG Xiaolan), E-mail: orchidzh@163.com; 易克贤 (YI Kexian), E-mail: yikexian@126.com。

tance breeding and chemical control. However, agricultural prevention and control measures have the shortcomings of high labor cost and uneven operation skills of workers, disease-resistance breeding technology is difficult and its cycle is long, and chemical control is affected by the waxy layer on sisal leaf surface, which makes it difficult for the liquid to adsorb, a large amount of drug application can also lead to the increase of pathogen resistance and environmental pollution easily. Therefore, it is particularly important to develop biocontrol bacteria resources for the prevention and control of sisal zebra disease, and enrich comprehensive prevention and control methods. In this study, *P. nicotianae* was used as the target pathogen bacteria. Two antagonistic bacteria, PpHyHNCJ2 and PpHyHNCJ5 were obtained by the five-point confrontation method and the mycelial growth inhibition rate was 85.92% and 83.10%. By observing the microscopic structure of *P. nicotiana* mycelia, it was found that strains PpHyHNCJ2 and PpHyHNCJ5 inhibited the growth of *P. nicotiana* mycelia, and it showed the phenomenon of mycelium enlargement and thickening, branching deformity and entangling. Based on cell morphology, physiological and biochemical reactions, and the alignment of 16S rDNA gene sequences, it was concluded that strains PpHyHNCJ2 and PpHyHNCJ5 were identified as *Paenibacillus polymyxa*. Further studies showed that both strains PpHyHNCJ2 and PpHyHNCJ5 had broad spectrum antagonism, and they could effectively inhibit the growth of 11 kinds of pathogens such as *P. capsica*, *P. sojae*, *P. melonis*, *P. palmivora*, *P. vignae*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum siamense* and so on. In addition, strains PpHyHNCJ2 and PpHyHNCJ5 had the ability to dissolve organic phosphorus, inorganic phosphorus, potassium, nitrogen fixation and iron production, which could provide conditions for the good growth of crops. The results showed that the two biocontrol bacteria had big potential for sisal zebra disease control, and it could lay a foundation for the biological control of sisal zebra disease.

**Keywords:** sisal zebra disease; *Phytophthora nicotianae*; biocontrol bacteria; growth-promoting properties

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.01.022

剑麻 (*Agave* spp.) 又名菠萝麻、龙舌兰麻, 为龙舌兰科 (*Agavaceae*) 龙舌兰属 (*Agave*) 植物<sup>[1]</sup>。剑麻中的硬质纤维具有耐磨、耐盐碱、耐腐蚀等特性, 广泛运用于运输、渔业、化工、国防等重要行业<sup>[2-4]</sup>, 剑麻的麻渣还可用于提炼制药和制作有机肥<sup>[5-7]</sup>, 同时剑麻也是一种园林观赏植物<sup>[8]</sup>。中国是世界剑麻主要生产国之一, 主要种植于广东、广西、福建、海南等省 (区)<sup>[9]</sup>。1963 年我国从坦桑尼亚引入主栽品种——杂交剑麻 H. 11648 (*Agave hybrid* H. 11648), 该品种具有高产的特点, 但极易感染斑马纹病<sup>[10-11]</sup>。

剑麻斑马纹病是一种严重的土传病害, 其病原菌为烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae*), 该菌能侵染剑麻植株地上部分, 表现出叶斑、茎腐和轴腐的症状<sup>[12-13]</sup>。此外, 烟草疫霉生存能力极强, 在土壤中能存活数年至数十年, 给剑麻生产带来严重损失<sup>[14-15]</sup>。目前对于该病害的防控主要采取以农业栽培措施为主, 抗病育种和化学药剂防治相结合的综合防治措施<sup>[16-17]</sup>, 但运用以菌治菌的生物防治措施却鲜有报道。因此, 本研究以剑麻斑马纹病为靶标, 筛选具有较强生防作用的生防菌, 评价其防治效果, 以期剑麻斑马纹病和以烟草疫霉引起的植物病害的生物防治及作物绿色生产提供生防菌源

和相应防控技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试生防菌株: PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 分离自海南省昌江黎族自治县火龙果病茎。

供试病原菌: 剑麻斑马纹病病原菌烟草疫霉菌保存于中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。

抑菌谱病原菌: 辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsica*) P<sub>1</sub>, 寄主为辣椒, 由本实验室保存; 黑曲霉菌 (*Aspergillus niger*) 由本实验室保存; 辣椒疫霉菌 (*P. capsica*) P<sub>2</sub>, 寄主为胡椒, 由海南省万宁市兴隆热带植物园高圣风赠送; 大豆疫霉菌 (*P. sojae*) 由南京农业大学王源超赠送; 瓜疫霉菌 (*P. melonis*)、棕榈疫霉菌 (*P. palmivora*) 和豇豆疫霉菌 (*P. vignae*) 由海南大学植物保护学院陈庆河赠送; 尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 由海南省三亚市热带农业科学院孔祥义赠送; 暹罗刺盘孢菌 (*Colletotrichum siamense*)、可可毛色二孢菌 (*Lasiodiplodia theobromae*) 和霍尔木兹毛球二孢菌 (*L. hormozganensis*) 由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所热带果树病害研究组胡美姣赠送。

## 1.2 方法

1.2.1 生防菌的获得 于 2021 年 7 月在海南省进行剑麻、火龙果和橡胶树等作物病害调查, 并采用组织分离培养法进行生防菌的分离<sup>[18]</sup>, 获得生防菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5。

1.2.2 生防菌株的筛选 采用五点对峙法<sup>[19]</sup>进行生防菌的筛选, 用“十”字交叉法在 PDA 平板背面做好标记, 在中心位置接种倒置的直径约为 5 mm 的剑麻斑马纹烟草疫霉菌饼, 距菌饼为中心 20 mm 处十字线上的 4 点接种生防菌, 以只在中心位置接病原菌为对照 (CK), 每个处理设置 3 个重复。于 28 ℃ 培养 5~10 d, 对照长满整个平板时, 测量菌落直径 (cm), 计算抑制率<sup>[20]</sup>。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - 0.5} \times 100\%$$

1.2.3 生防菌株的鉴定 (1) 形态学观察。采用革兰氏染色法<sup>[21]</sup>观察, 红色为革兰氏阴性菌, 紫色为革兰氏阳性菌。将生防菌株活化后稀释涂布于 LB 平板上, 于 28 ℃ 培养 18~24 h, 长出单个菌落后, 观察菌落特征, 包括其形状、菌落颜色、透明度、光滑度及是否产生芽孢等。

(2) 生理生化指标测定。参照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[21]</sup>的方法, 对生防菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 的部分特性进行鉴定, 包括氧化酶试验、接触酶试验、甲基红试验、乙酰甲基甲醇试验、淀粉水解试验、需氧性试验、明胶液化试验、糖类发酵试验、醇类发酵试验和硝酸盐还原试验。耐盐性试验分别在含 2%、5%、7% 和 10% NaCl (m/V) 的 LB 液体培养基中加入生防菌菌液, 对其耐盐性进行评价。

(3) 分子生物学鉴定。将生防细菌单菌落接种于 LB 液体培养基中于 28 ℃、180 r/min 培养 12 h, 离心收集菌体, 用 OMEGA 细菌 DNA 提取试剂盒进行生防细菌 DNA 的提取。所用引物为细菌鉴定通用引物 16S rDNA (27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>[22]</sup>, PCR 反应程序为: 95 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 40 s, 55 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 72 ℃ 再延伸 7 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送华大基因测序有限公司进行测序。所得的碱基经 DNAMAN 软件拼接后于 NCBI 网站上 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 的 GenBank 数据库进行 blast 比对, 获得同源序列。

用 MEGA11 软件通过 Neighbor-Joining 法构建系统发育树, 确定菌株的分类地位。

1.2.4 生防菌抑菌谱测定 参照 1.2.2 中的五点对峙法, 分别测定生防菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 对 11 种供试病原菌的抑制作用, 观察并记录抑菌效果。

1.2.5 生防菌促生功能测定 参考张昊鑫等<sup>[23]</sup>的方法进行 Salkowski 比色液的配制, 采用 Salkowski 比色法<sup>[24]</sup>测定菌株分泌吲哚乙酸 (IAA) 的能力。参考张文韬等<sup>[25]</sup>的方法进行解磷能力测定。解钾能力测定: 采用点接法将生防菌接种于解钾培养基平板上, 于 28 ℃ 恒温培养箱中培养 7 d, 菌落周围有透明油滴状晕圈表示该菌株具有解钾能力。参考李章雷等<sup>[26]</sup>的方法进行固氮能力测定。参考彭云等<sup>[27]</sup>的方法进行产铁能力测定。

## 1.3 数据处理

利用 Excel 2019 和 IBM SPSS 22.0 软件进行图表制作和数据分析, 采用 Duncan's 新复极差法进行试验数据差异显著性检验; 分子生物学鉴定使用 DNAMAN 软件进行序列拼接, 用 MEGA11 软件构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 生防菌株的分离、活化与筛选

通过分离、筛选获得生防菌 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5, 菌丝生长抑制率分别为 85.92%、83.10% (图 1)。通过观察烟草疫霉菌菌丝显微结构发现, PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 均抑制了烟草疫霉菌菌丝的生长, 生防菌对峙的烟草疫霉菌出现菌丝体分支畸形 (图 2b)、膨大增粗 (图 2c)、缠绕 (图 2d) 等现象, 而对照菌丝表面光滑、粗细均匀、生长正常 (图 2a)。

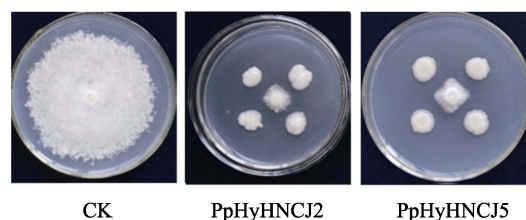
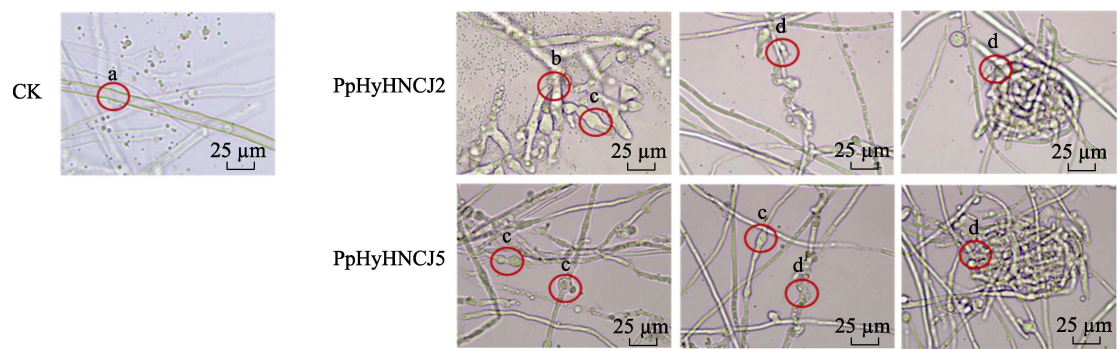


图 1 生防菌对烟草疫霉菌菌丝体生长的抑制效果  
Fig. 1 Inhibition effect of biocontrol bacteria on the growth of *P. nicotiana* mycelium

### 2.2 生防菌株的鉴定

2.2.1 形态学特征 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 在 LB 培养基平板上均能生长良好



a: 烟草疫霉菌正常菌丝体; b: 生防菌处理后菌丝体分支畸形; c: 生防菌处理后菌丝体膨大增粗; d: 生防菌处理后菌丝体缠绕。  
a: Normal mycelium of *P. nicotianae*; b: Mycelial branch malformation after biocontrol treatment; c: Mycelial enlargement and thickening after biocontrol treatment; d: Mycelial entanglement after biocontrol treatment.

图 2 生防菌对烟草疫霉菌的抑制作用

Fig. 2 Inhibitory effect of biocontrol bacteria on *P. nicotianae*

(图 3A), 菌体均呈乳白色, 不透明, 边缘不整齐, 表面较光滑 (图 3B)。革兰氏染色后在显微镜下观察发现, 革兰氏染色均呈阳性, 菌体细胞呈杆状, 有芽孢 (图 3C)。

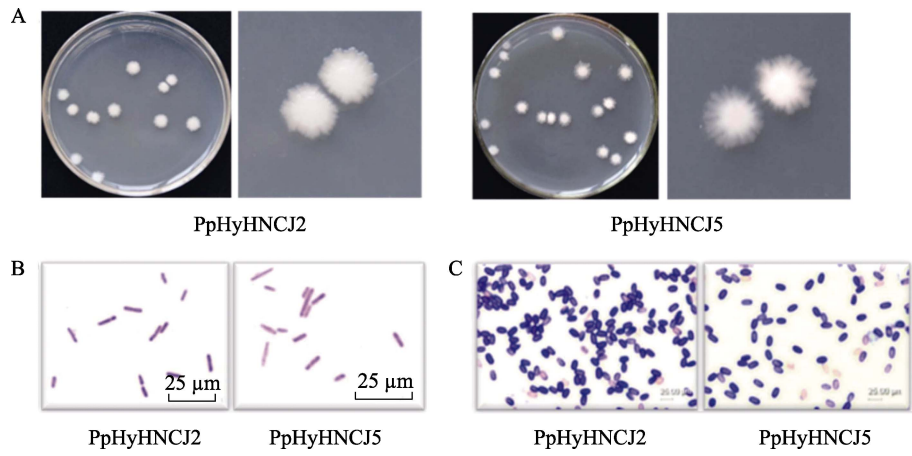


图 3 生防菌株的菌落 (A)、菌体 (B) 及芽孢 (C)

Fig. 3 Colonies (A), mycelia (B) and spores (C) of biocontrol strains

2.2.2 生理生化鉴定 生理生化测试结果显示, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 为厌氧型菌株。在接触酶、乙酰甲基甲醇测定、淀粉水解、硝酸盐还原、明胶液化测试中均呈阳性, 在氧化酶、甲基红测定中均呈阴性。且可以利用葡萄糖、蔗糖、果糖、甘露醇产酸, 但不能利用山梨醇产酸; 能利用葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇产气, 但不能利用果糖产气。在 NaCl 浓度为 2%~7% 时均可生长, 在 10% NaCl 中不能生长 (表 1)。

2.2.3 分子生物学鉴定 将测序结果通过 DNAMAN 软件拼接后, 得到菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 的 16S rDNA 有效序列长度分别为 1460 bp 和 1357 bp。将得到的序列在 NCBI 网站进行 blast 序列比对, 结果显示, 菌株 PpHyHNCJ2、PpHyHNCJ5 与多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus*

*polymyxa*) 相似性分别为 99.72% 和 99.78%。将序列通过 MEGA11 软件, 用 Neighbor-Joining 法构建系统发育树, 结果显示, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 的 16S rDNA 序列与多粘类芽孢杆菌 (*P. polymyxa*) 聚为一支 (图 4), 结合生防菌形态特征、生理生化特征、系统进化树综合分析, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 鉴定为多粘类芽孢杆菌 (*P. polymyxa*)。

2.3 生防菌抑菌谱测定

抑菌谱分析结果显示, PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 对 11 种病原菌均具有较好的抑制效果 (图 5), 菌丝生长抑制率均在 61.03% 以上。PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 对不同病原菌的抑制率存在显著差异, 对大豆疫霉菌的抑制率分别为 88.26%、93.89%。菌株 PpHyHNCJ2 对黑曲霉菌

表 1 生防菌株的生理生化特性  
Tab. 1 Physiological and biochemical identification of biocontrol strains

| 项目 Item     | PpHyHNCJ2 | PpHyHNCJ5 | 项目 Item | PpHyHNCJ2 | PpHyHNCJ5 |
|-------------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|
| 氧化酶         | —         | —         | 葡萄糖发酵   | +         | +         |
| 接触酶         | +         | +         | 蔗糖发酵    | +         | +         |
| 甲基红测定       | —         | —         | 果糖发酵    | +         | +         |
| 乙酰甲基甲醇测定    | +         | +         | 山梨醇发酵   | —         | —         |
| 淀粉水解        | +         | +         | 甘露醇发酵   | +         | +         |
| 2%NaCl 可生长  | +         | +         | 利用葡萄糖产气 | +         | +         |
| 5%NaCl 可生长  | +         | +         | 利用蔗糖产气  | +         | +         |
| 7%NaCl 可生长  | +         | +         | 利用果糖产气  | —         | —         |
| 10%NaCl 可生长 | —         | —         | 利用山梨醇产气 | +         | +         |
| 厌氧生长        | +         | +         | 利用甘露醇产气 | +         | +         |
| 明胶液化        | +         | +         | 硝酸盐还原   | +         | +         |

注：+为阳性反应，—为阴性反应。  
Note: + means positive reaction, — means negative reaction.

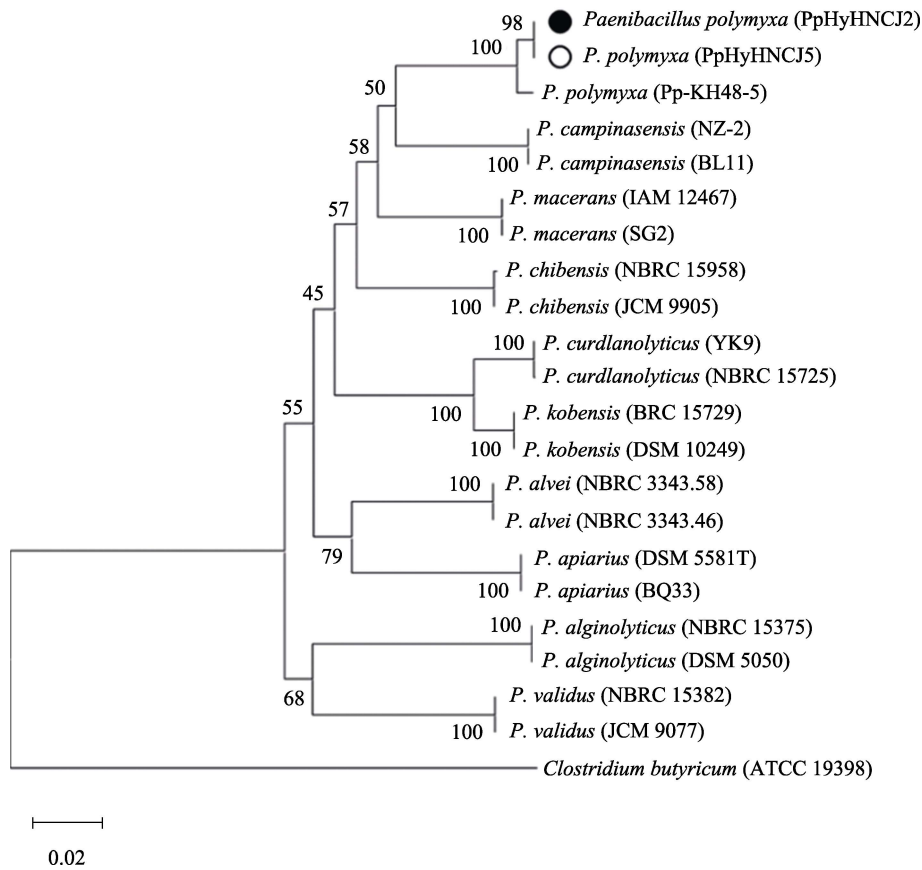


图 4 生防菌系统发育树  
Fig. 4 Phylogenetic tree diagram of biocontrol bacteria

和可可毛色二孢菌的抑制率较低，均为 62.44%；菌株 PpHyHNCJ5 对可可毛色二孢菌抑菌率较差，仅为 61.03%（表 2）。

2.4 生防菌促生特性分析

生防菌促生特性结果分析表明，生防菌

PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 均不具有产植物激素 IAA 的能力（图 6A）。在解有机磷培养基和解无机磷培养基上，PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 菌落周围均出现透明晕圈（图 6B，图 6C），在解钾培养基上菌落周围出现透明油滴状晕圈（图 6D），

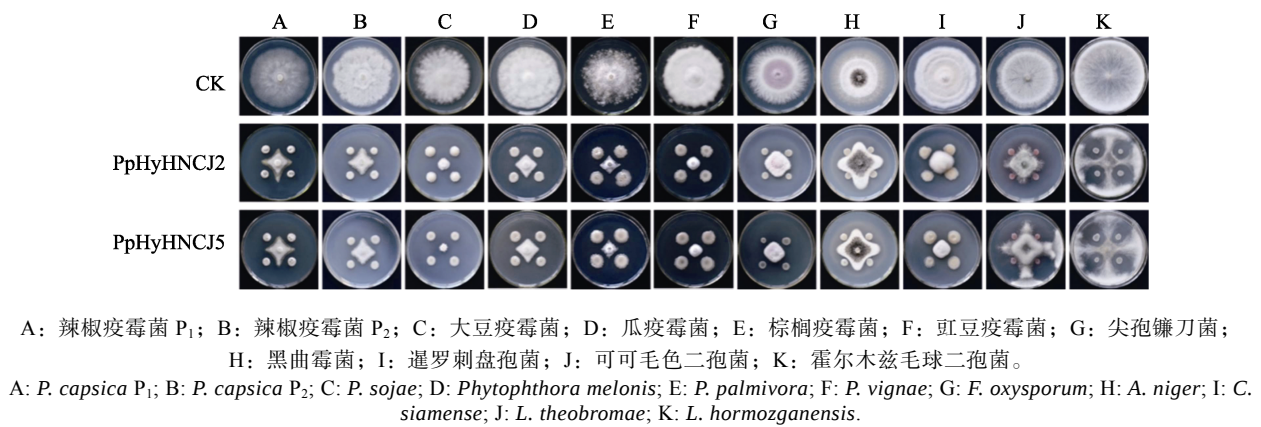


图 5 生防菌株对 11 种病原菌抑制效果

Fig. 5 Inhibitory effect of biocontrol strains on 11 pathogenic bacteria

表 2 生防菌株的对不同病原菌菌丝生长的抑制作用

Tab. 2 Inhibitory effect of biocontrol strains on mycelial growth of different pathogens

| 病原菌<br>Pathogen      | 抑制率 Inhibition rate/%   |                          |
|----------------------|-------------------------|--------------------------|
|                      | PpHyHNCJ2               | PpHyHNCJ5                |
| 辣椒疫霉菌 P <sub>1</sub> | 76.06±1.41 <sup>d</sup> | 75.82±0.41 <sup>d</sup>  |
| 辣椒疫霉菌 P <sub>2</sub> | 77.70±1.07 <sup>d</sup> | 77.00±1.07 <sup>cd</sup> |
| 大豆疫霉菌                | 88.26±1.08 <sup>a</sup> | 93.89±1.77 <sup>a</sup>  |
| 瓜疫霉菌                 | 80.75±0.81 <sup>c</sup> | 78.64±0.40 <sup>c</sup>  |
| 棕榈疫霉菌                | 84.27±2.27 <sup>b</sup> | 84.04±1.78 <sup>b</sup>  |
| 豇豆疫霉菌                | 85.21±1.22 <sup>b</sup> | 85.21±0.71 <sup>b</sup>  |
| 尖孢镰刀菌                | 68.08±1.77 <sup>f</sup> | 71.60±1.08 <sup>e</sup>  |
| 黑曲霉菌                 | 62.44±0.81 <sup>g</sup> | 64.32±1.07 <sup>g</sup>  |
| 暹罗刺盘孢菌               | 70.66±0.41 <sup>e</sup> | 78.40±1.47 <sup>c</sup>  |
| 可可毛色二孢菌              | 62.44±1.07 <sup>g</sup> | 61.03±1.07 <sup>h</sup>  |
| 霍尔木兹毛球二孢菌            | 67.49±0.94 <sup>f</sup> | 68.31±0.95 <sup>f</sup>  |

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).

在阿须贝无氮培养基上生长良好（图 6E），CAS 在固体培养基上菌落周围出现橘黄色晕圈（图

6F），表明菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 具有解有机磷能力、解无机磷能力、解钾能力、固氮能力和产铁能力。

### 3 讨论

剑麻斑马纹病是为害剑麻 H.11648 的严重病害。目前，针对剑麻斑马纹病的防治主要以预防为主，优先采取农业技术措施防治，化学药剂防治为辅，结合抗病育种等综合防治措施<sup>[15]</sup>。农业措施、药剂防治和抗病育种对剑麻斑马纹病的防治研究已经相对深入，但是农业防治<sup>[28]</sup>人工成本高，工人操作技术参差不齐，一些农业措施工作繁琐，很难达到精细化的管理。化学药剂主要有敌克松、甲基托布津、疫霜灵和金雷<sup>[29-30]</sup>等，防治过程中容易产生死角，加上剑麻叶片表面带有蜡质层，存在药液不易吸附的问题而影响药效，而且大量施药也容易造成病原抗药性提高和环境污染。另外，由于剑麻生长周期长，种质资源缺乏，剑麻遗传背景模糊等问题，加上抗病育种本

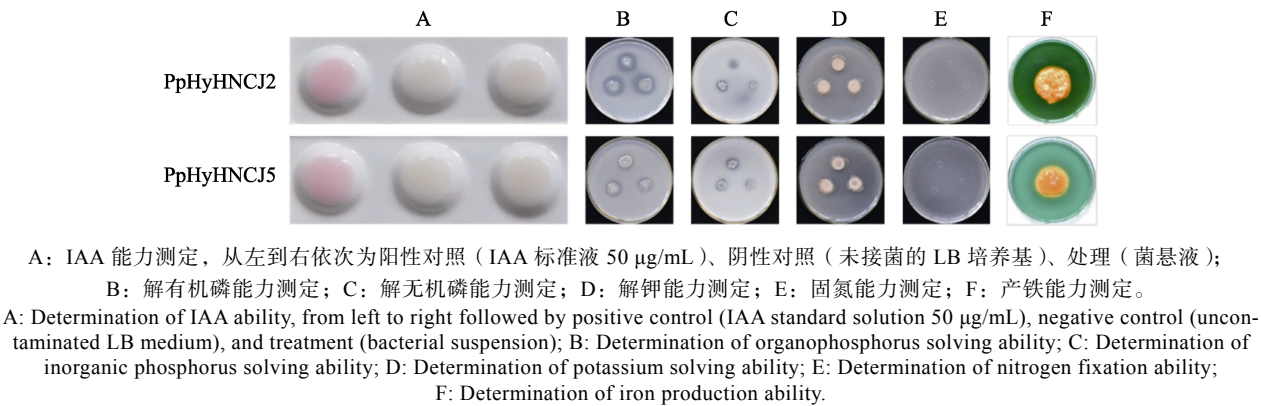


图 6 生防菌株的促生效果

Fig. 6 Growth promotion effect of biocontrol strains

身难度大, 育种周期长、效率低, 至今未能育成既抗病又高产优质的剑麻新品种<sup>[31-32]</sup>。因此, 利用“以菌治菌”的措施对剑麻斑马纹病进行防控, 完善和丰富剑麻斑马纹病的综合防治方式显得尤为重要。本研究从火龙果病茎中分离筛选获得 2 株对烟草疫霉菌具有显著抑制效果的菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5, 其抑制率分别达 85.92% 和 83.10%, 根据菌株形态学观察、生理生化测定以及分子鉴定构建系统发育树, 最终菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 鉴定为多粘类芽孢杆菌 (*P. polymyxa*)。

剑麻斑马纹病的主要致病菌为烟草疫霉, 目前已有许多生防菌对烟草疫霉有较好防治效果的相关报道<sup>[33-34]</sup>, 如生防细菌有枯草芽孢杆菌<sup>[35]</sup>、铜绿假单胞杆菌<sup>[36]</sup>、解淀粉芽孢杆菌<sup>[37]</sup>等, 生防真菌有哈茨木霉菌<sup>[38]</sup>、绿色木霉菌<sup>[39]</sup>、寡雄腐霉菌<sup>[40]</sup>等, 生防放线菌主要以链霉菌为主<sup>[41-43]</sup>。多粘类芽孢杆菌是一种重要的生防细菌, 具有促生长和生物防治两方面的作用, 一是通过固氮、溶解磷、获取铁和产生植物生长调节剂促进植物生长; 二是通过诱导植物产生系统抗性、产生杀菌物质, 实现生物防治<sup>[44]</sup>。前人研究显示从烟草根际土壤中分离的多粘类芽孢杆菌 C-5 菌株<sup>[45]</sup>和多粘类芽孢杆菌 LB-9<sup>[46]</sup>对烟草疫霉的抑菌率分别为 71.10% 和 60.60%; 王波等<sup>[47]</sup>发现多粘类芽孢杆菌 XZ-2 对大豆疫霉病菌、大豆炭疽病菌和大豆菌核病菌菌丝均有较强的抑制作用, 并可抑制大豆炭疽病菌孢子的萌发; 郝芳敏等<sup>[48]</sup>发现多粘类芽孢杆菌 NBmelon-1 对甜瓜多种真菌病害的病原菌均有抑制作用, 且对甜瓜幼苗的生长具有促生长作用。此外, 多粘类芽孢杆菌被美国国家环境保护局定为可作商用的微生物之一<sup>[49]</sup>。魏鸿刚等<sup>[50]</sup>利用多粘类芽孢杆菌成功开发出防治植物青枯病和枯萎病的新型、高效微生物农药康地蕾得, 该农药对植物青枯病、枯萎病等土传病害防治效果显著, 促生增产明显。本研究发现多粘类芽孢杆菌菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 对烟草疫霉菌菌丝体有较强的抑制作用, 致使菌丝体出现分支增多、膨大增粗、缠绕等现象, 其抑制率分别为 85.92%、83.10%, 均高于前人的报道; 且抑菌谱广, 对辣椒疫霉菌、尖孢镰刀菌、黑曲霉菌等 11 种病原菌的生长表现出较好的抑制效果。另一方面, 菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5 具有解有机磷能力、解无机磷能力、解钾能力、固氮

作用和产铁作用。研究结果还显示本研究分离的多粘类芽孢杆菌的耐盐性为 7%, 均高于大多数多粘类芽孢杆菌, 如菌株 C-5 的耐盐性为 3.5%<sup>[45]</sup>、菌株 SH15 的耐盐性为 5%<sup>[51]</sup>等, 但其相关机理还有待进一步研究。本研究结果表明: 本研究分离的 2 株多粘类芽孢杆菌既具有杀菌作用, 又能够促进植物生长, 具有良好的生防潜力, 研究结果为该生防菌进一步的实际应用提供理论依据。

虽然关于抑制烟草疫霉菌的生防菌已有较多研究, 但能真正成为产品, 应用于病害防治的少之又少, 本研究分离获得 2 株多粘类芽孢杆菌(菌株 PpHyHNCJ2 和 PpHyHNCJ5), 其对剑麻斑马纹病菌抑制率均达 83.10% 以上, 且抑菌谱广, 具有一定的促生能力, 下一步将开展这 2 株生防菌株对剑麻斑马纹病的盆栽及田间防治效果的验证, 以期对剑麻斑马纹病的生物防治提供依据。

**致谢** 本文得到中国热带农业科学院环境与植物保护研究所热带粮食与特色作物病害研究组贺春萍、陆英、梁艳琼、黄兴等老师和海南大学郭灵杭、钱鑫、徐刚等同学们的大力支持和帮助, 特此感谢!

## 参考文献

- [1] 李道和. 剑麻栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.  
LI D H. Cultivation of sisal hemp[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998. (in Chinese)
- [2] 高洪. 剑麻的性能及应用[J]. 山东纺织科技, 2010, 51(3): 44-45.  
GAO H. Property and application of sisal[J]. Shandong Textile Science & Technology, 2010, 51(3): 44-45. (in Chinese)
- [3] 胡建鹏, 邢东, 张燕. 麻纤维增强聚乳酸可生物降解复合材料的进展[J]. 塑料, 2020, 49(5): 108-111.  
HU J P, XING D, ZHANG Y. Research process and prospect in bast fiber reinforced polylactide acid biodegradable composite[J]. Plastics, 2020, 49(5): 108-111. (in Chinese)
- [4] 谢心. 表面纹理对水润滑轴承材料的摩擦学性能影响[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2020.  
XIE X. Influence of surface texture on tribological property of water lubricated bearing materials[D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2020. (in Chinese)
- [5] LÓPEZ-ROMERO J C, AYALA-ZAVALA J F, GONZÁLEZ-AGUILAR G A, PEÑA-RAMOS E A, GONZÁLEZ-RÍOS H. Biological activities of *Agave* by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(7): 2461-2474.
- [6] 李燕婧, 周桂芬, 韦善新, 钟正贤. 剑麻皂素药理作用的

- 实验研究[J]. 时珍国医国药, 2006(10): 1958-1959.
- LI Y J, ZHOU G F, WEI S X, ZHONG Z X. The pharmacological studies of tigogenin[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2006(10): 1958-1959. (in Chinese)
- [7] 覃旭, 黄显雅, 杨祥燕, 吴密, 金刚, 彭欣怡, 覃剑峰, 崔明勇, 刘明, 陈涛. 剑麻麻渣腐熟剂筛选及其腐熟效应研究[J]. 农业研究与应用, 2021, 34(3): 48-53.
- QIN X, HUANG X Y, YANG X Y, WU M, JIN G, PENG X Y, QIN J F, CUI M Y, LIU M, CHEN T. Selection and effects of different decomposing agent of sisal residue[J]. Agricultural Research and Application, 2021, 34(3): 48-53. (in Chinese)
- [8] 陈叶海. 剑麻在园林绿化中的应用[J]. 云南热作科技, 2000(1): 40-41.
- CHEN Y H. Application of sisal in landscaping[J]. Journal of Yunnan Tropical Crops Science & Technology, 2000(1): 40-41. (in Chinese)
- [9] 黎宇, 谢国炎, 熊谷良, 张瑞香, 何宏彬. 世界麻类原料生产与贸易概况(IV)[J]. 中国麻业科学, 2007(2): 102-109.
- LI Y, XIE G Y, XIONG G L, ZHANG R X, HE H B. World hemp raw material production and trade overview (IV)[J]. Plant Fiber Sciences in China, 2007(2): 102-109. (in Chinese)
- [10] 陈士伟, 李栋宇. 我国剑麻产业发展现状及展望[J]. 中国热带农业, 2016(3): 10-12, 6.
- CHEN S W, LI D Y. Development situation and prospect of sisal industry in China[J]. China Tropical Agriculture, 2016(3): 10-12, 6. (in Chinese)
- [11] 黄艳. 世界剑麻生产现状及未来展望[J]. 中国热带农业, 2008(5): 25-27.
- HUANG Y. Present situation and future prospect of sisal hemp production in the world[J]. China Tropical Agriculture, 2008(5): 25-27. (in Chinese)
- [12] 郑金龙, 高建明, 张世清, 陈河龙, 刘巧莲, 易克贤. 剑麻斑马纹病原鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(12): 59-64.
- ZHENG J L, GAO J M, ZHANG S Q, CHEN H L, LIU Q L, YI K X. Pathogen identification of zebra disease of sisal[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(12): 59-64. (in Chinese)
- [13] 赵艳龙, 何衍彪, 詹儒林. 我国剑麻主要病虫害的发生与防治[J]. 中国麻业科学, 2007, 29(6): 334-338.
- ZHAO Y L, HE Y B, ZHAN R L. The occurrence control of the main diseases in sisal hemp in China[J]. Plant Fiber Sciences in China, 2007, 29(6): 334-338. (in Chinese)
- [14] 王革, 郑小波, 陆家云, 李天飞. 烟草黑胫病菌厚垣孢子和菌丝体在土壤中的存活状态[J]. 南京农业大学学报, 1998(1): 44-48.
- WANG G, ZHENG X B, LU J Y, LI T F. Survival of chlamydospores and mycelia of *Phytophthora nicotianae* in soil[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1998(1): 44-48. (in Chinese)
- [15] 张燕梅, 赵艳龙, 周文钊. 剑麻斑马纹病研究进展[J]. 热带作物学报, 2016, 37(8): 1627-1633.
- ZHANG Y M, ZHAO Y L, ZHOU W Z. Research progress of zebra leaf disease on sisal[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(8): 1627-1633. (in Chinese)
- [16] 梁宏合, 杜国冬, 王春田. 我国剑麻主要病虫害研究进展[J]. 广东农业科学, 2012, 39(22): 84-87.
- LIANG H H, DU G D, WANG C T. Research progress on main diseases and insect pests of sisal in China[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39(22): 84-87. (in Chinese)
- [17] 赵艳龙, 李俊峰, 姚全胜, 何衍彪, 柳凤, 吴婧波, 李国平, 杨洁. 剑麻 3 种主要病害研究进展及其展望[J]. 热带农业科学, 2020, 40(1): 72-82.
- ZHAO Y L, LI J F, YAO Q S, HE Y B, LIU F, WU J B, LI G P, YANG J. Research progress and prospects of three main diseases of sisal[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2020, 40(1): 72-82. (in Chinese)
- [18] 陈河龙, 郭朝铭, 刘巧莲, 高建明, 张世清, 郑金龙, 易克贤. 龙舌兰麻种质资源抗斑马纹病鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(4): 546-550.
- CHEN H L, GUO C M, LIU Q L, GAO J M, ZHANG S Q, ZHENG J L, YI K X. Identification of resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in *Agave* germplasm[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(4): 546-550. (in Chinese)
- [19] 田书鑫, 刘南南, 王桂清. 对峙培养法在生防菌抑制效果研究中的应用[J]. 河南农业科学, 2019, 48(8): 1-6.
- TIAN S X, LIU N N, WANG G Q. Application of confrontation culture method in the study of inhibitory effect of bio-control microorganisms[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2019, 48(8): 1-6. (in Chinese)
- [20] 杨树, 刘海霞, 范万泽, 李兴昱, 薛应钰. 苹果树腐烂病菌拮抗细菌筛选及鉴定[J]. 甘肃农业大学学报, 2019, 54(4): 100-106.
- YANG S, LIU H X, FAN W Z, LI X Y, XUE Y Y. Screening and identification of antagonistic bacteria against *Cytospora* spp.[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2019, 54(4): 100-106. (in Chinese)
- [21] 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.
- DONG X Z, CAI M Y. Manual of identification of common bacteria system[M]. Beijing: Science Press, 2001. (in Chinese)
- [22] LI B J, LI H L, SHI Y X, XIE X W. First report of *Pseudomonas cichorii* causing leaf spot of vegetable sponge gourd in China[J]. Plant Disease, 2014, 98(1): 153.
- [23] 张昊鑫, 王中华, 牛兵, 郭慷, 刘璐, 姜瑛, 张仕祥. 产 IAA 兼具溶磷解钾高效促生菌的筛选、鉴定及其广谱性应

- 用[J]. 生物技术通报, 2022, 38(5): 100-111.
- ZHANG H X, WANG Z H, NIU B, GUO K, LIU L, JIANG Y, ZHANG S X. Screening, identification and broad-spectrum application of efficient IAA-producing bacteria dissolving phosphorus and potassium[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(5): 100-111. (in Chinese)
- [24] LIBBERT E, MANTEUFFEL R. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism[J]. Physiologia Plantarum, 1970, 23(1): 93-98.
- [25] 张文韬, 杨皓, 毛国豪, 庄家尧, 陈新峰. 一株高地芽孢杆菌的鉴定与促生能力研究[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(5): 225-229.
- ZHANG W T, YANG H, MAO G H, ZHUANG J Y, CHEN X F. Identification and growth promotion ability of a strain of *Bacillus upland*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(5): 225-229. (in Chinese)
- [26] 李章雷, 刘爽, 王艳宇, 周妍, 刘权, 殷奎德. 5 株耐盐碱促生细菌的筛选鉴定及其对红小豆的促生作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(5): 1580-1592.
- LI Z L, LIU S, WANG Y Y, ZHOU Y, LIU Q, YIN K D. Screening and identification of five saline-alkali tolerant bacteria for growth promotion of red adzuki bean[J]. Microbiology China, 2021, 48(5): 1580-1592. (in Chinese)
- [27] 彭云, 李舒馨, 俞泽, 汤曼利, 吴海霞, 陈莹莹, 王亚楠, 马桂珍, 暴增海. 一株海洋放线菌的鉴定及其促生作用机理[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3515-3526.
- PENG Y, LI S X, YU Z, TANG M L, WU H X, CHEN Y Y, WANG Y N, MA G Z, BAO Z H. Identification and growth promoting effect of a marine actinomycete[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3515-3526. (in Chinese)
- [28] 谢红辉, 黄兑武, 韦艳明, 施国驹, 尹金春, 钟正, 吕辉. 广西剑麻病虫害发生现状及防治对策[J]. 中国热带农业, 2012(5): 47-49.
- XIE H H, HUANG D W, WEI Y M, SHI G J, YIN J C, ZHONG Z, LYU H. The present situation and control countermeasures of sisal diseases and insect pests in Guangxi[J]. China Tropical Agriculture, 2012(5): 47-49. (in Chinese)
- [29] 刘巧莲, 郑金龙, 张世清, 高建明, 陈河龙, 江程记, 易克贤. 13 种药剂对剑麻斑马纹病菌病原菌的室内毒力测定[J]. 热带作物学报, 2010, 31(11): 2010-2014.
- LIU Q L, ZHENG J L, ZHANG S Q, GAO J M, CHEN H L, JIANG C J, YI K X. The indoor toxicity determination of 13 fungicides against *Phytophthora nicotianae* isolates from sisal[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2010, 31(11): 2010-2014. (in Chinese)
- [30] 郑金龙, 高建明, 张世清, 陈河龙, 刘巧莲, 习金根, 易克贤. 6 种杀菌剂对剑麻斑马纹病的田间药效试验[J]. 江西农业学报, 2011, 23(11): 115-116, 127.
- ZHENG J L, GAO J M, ZHANG S Q, CHEN H L, LIU Q L, XI J G, YI K X. Field experiments of control effects of six fungicides on sisal zebra disease[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2011, 23(11): 115-116, 127. (in Chinese)
- [31] ROBERT M L, LIM K Y, HANSON L, SANCHEZ T F, BENNETT M D, LEITCH A R, LEITCH I J. Wild and agronomically important *Agave* species (Asparagaceae) show proportional increases in chromosome number, genome size and genetic markers with increasing ploidy[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2008, 158: 215-222.
- [32] LV L, SUN G, XIE J, ZANG X, HU Y, DUAN J. Determination of chromosomal ploidy in *Agave* ssp.[J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(20): 5248.
- [33] 王正浩, 王维超, 毋彦彬, 姚云鹏, 张朝阳, 蔡宝才, 孟黎明. 烟草黑胫病绿色防控技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(10): 18-21, 24.
- WANG Z H, WANG W C, WU Y B, YAO Y P, ZHANG C Y, CAI B C, MENG L M. Progress in the research of green control technology of tobacco black shank[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 47(10): 18-21, 24. (in Chinese)
- [34] 杨兵, 刘慧美, 龙章富. 微生物防治烟草黑胫病的研究进展[J]. 农药, 2015, 54(9): 629-634.
- YANG B, LIU H M, LONG Z F. Recent advances in microbiological control of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*[J]. Agrochemicals, 2015, 54(9): 629-634. (in Chinese)
- [35] 何明川, 曾舒泉, 王志江, 詹筱国, 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)
- [36] 千慧敏, 文艺, 赵辉, 倪云霞, 刘新涛, 邱睿, 李小杰, 赵新贝, 李淑君, 刘红彦. 烟草黑胫病和根黑腐病生防假单胞杆菌的筛选与鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(6): 940-948.
- QIAN H M, WEN Y, ZHAO H, NI Y X, LIU X T, QIU R, LI X J, ZHAO X B, LI S J, LIU H Y. Screening and identification of pseudomonas against tobacco black shank and tobacco root black rot[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2019, 35(6): 940-948. (in Chinese)
- [37] 罗玉英, 彭丽娟, 丁继林, 付顺, 李雨. 烟草黑胫病生防芽孢杆菌的筛选及其田间防效[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(1): 59-64.
- LUO Y Y, PENG L J, DING J L, FU S, LI Y. Screening and field control effect of biological control *Bacillus* strains against tobacco black shank[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2019, 47(1): 59-64. (in Chinese)

- [38] 李梅云, 谭丽华, 方敦煌, 李天飞, 王革, 刘开启. 哈茨木霉的培养及其对烟草疫霉生长的抑制研究[J]. 微生物学通报, 2006(6): 79-83.  
LI M Y, TAN L H, FANG D H, LI T F, WANG G, LIU K Q. Cultural characteristics of *Trichoderma harzianum* and its inhibition to *Phytophthora nicotianae*[J]. Microbiology China, 2006(6): 79-83. (in Chinese)
- [39] 田艳艳, 赵世民, 李彰, 江凯, 康业斌. 洛阳地区烟田土壤木霉菌的分离鉴定及其拮抗作用测定[J]. 河南农业科学, 2015, 44(11): 79-84.  
TIAN Y Y, ZHAO S M, LI Z, JIANG K, KANG Y B. Isolation and identification of *Trichoderma* from tobacco growing soil of Luoyang and determination of their inhibition effects[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2015, 44(11): 79-84. (in Chinese)
- [40] 贾瑞莲, 耿明明, 李艳, 段玉琪, 杜如万, 吴叶宽, 黄建国. 寡雄腐霉发酵液对烤烟的促生及防黑胫病效应分析[J]. 烟草科技, 2016, 49(2): 21-28.  
JIA R L, GENG M M, LI Y, DUAN Y Q, DU R W, WU Y K, HUANG J G. Effect of *Pythium oligandrum* broth on growth promotion and black shank control of flue-cured tobacco[J]. Tobacco Science & Technology, 2016, 49(2): 21-28. (in Chinese)
- [41] 章舸. 烟草疫霉拮抗放线菌的筛选及在烟草根际定殖研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021.  
ZHANG G. Screening of antagonistic actinomycetes against *Phytophthora nicotianae* and colonization in tobacco rhizosphere[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2021. (in Chinese)
- [42] 陈倩倩. 烟草根际土壤拮抗放线菌 SA74 菌株活性代谢产物的研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2019.  
CHEN Q Q. Study on active metabolite of antagonistic actinomycete SA74 in rhizosphere soil of tobacco[D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2019. (in Chinese)
- [43] 陈奇园, 丁钥琪, 赵世民, 李淑君, 康业斌. 洛阳烟区烟株根围抗烟草疫霉放线菌的筛选与鉴定[J]. 烟草科技, 2019, 52(1): 22-28.  
CHEN Q Y, DING Y Q, ZHAO S M, LI S J, KANG Y B. Screening and identification of antagonistic actinomycetes against *Phytophthora parasitica* from rhizospheric soils in Luoyang tobacco-growing areas[J]. Tobacco Science & Technology, 2019, 52(1): 22-28. (in Chinese)
- [44] 田宇曦, 闵勇, 杨自文, 王开梅. 多粘类芽孢杆菌研究进展[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(18): 3401-3404, 3409.  
TIAN Y X, MIN Y, YANG Z W, WANG K M. Research progress of *Paenibacillus polymyxa*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(18): 3401-3404, 3409. (in Chinese)
- [45] 曹明慧, 冉炜, 杨兴明, 沈其荣, 沈标. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2011, 48(1): 151-159.  
CAO M H, RAN W, YANG X M, SHEN Q R, SHEN B. Screening of antagonist against tobacco black shank and biological effect of the strain[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(1): 151-159. (in Chinese)
- [46] 李小杰, 李成军, 刘红彦, 邱睿, 赵辉, 陈玉国, 胡亚静, 刘畅, 白静科, 李淑君. 烟草疫霉菌拮抗细菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 中国烟草科学, 2019, 40(1): 68-74.  
LI X J, LI C J, LIU H Y, QIU R, ZHAO H, CHEN Y G, HU Y J, LIU C, BAI J K, LI S J. Screening and fermentation condition optimization for antagonistic bacteria to *Phytophthora nicotianae*[J]. Chinese Tobacco Science, 2019, 40(1): 68-74. (in Chinese)
- [47] 王波, 周润楠, 黄忠勤, 王幸, 丁震乾, 常勇, 苏在兴, 周兴根. 多粘类芽孢杆菌 XZ-2 的生物学特性及其对 3 种大豆病原菌的拮抗作用研究[J]. 西南农业学报, 2018, 31(6): 1197-1202.  
WANG B, ZHOU J N, HUANG Z Q, WANG X, DING Z Q, CHANG Y, SU Z X, ZHOU X G. Biological properties of *Paenibacillus polymyxa* XZ-2 and its antagonistic effect against 3 soybean pathogens[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018, 31(6): 1197-1202. (in Chinese)
- [48] 郝芳敏, 臧全宇, 马二磊, 丁伟红, 王毓洪, 黄芸萍. 甜瓜多种真菌病害拮抗细菌 NBmelon-1 的鉴定及其促生和生防效果[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(7): 14-19.  
HAO F M, ZANG Q Y, MA E L, DING W H, WANG Y H, HUANG Y P. Identification, biocontrol and growth promoting effects of antagonistic bacteria NBmelon-1 of various fungal diseases in melon[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(7): 14-19. (in Chinese)
- [49] WANG Z W, LIU X L. Medium optimization for antifungal active substances production from a newly isolated *Paenibacillus* sp. using response surface methodology[J]. Biore-source Technology, 2008, 99(17): 8245-8251.
- [50] 魏鸿刚, 李淑兰. 防治作物青枯病和枯萎病的微生物农药——0.1 亿 CFU/g 多粘类芽孢杆菌细粒剂[J]. 世界农药, 2008(1): 51-52.  
WEI H G, LI S L. Microbial pesticides for the control of crop bacterial wilt and *Fusarium* wilt - 100 million CFU/g of *Paenibacillus polymyxa* granules[J]. World Pesticide, 2008(1): 51-52. (in Chinese)
- [51] 李玉洋. 水稻恶苗病生防拮抗菌——多粘类芽孢杆菌 SH15 的分离及抑菌活性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.  
LI Y Y. Isolation of biocontrol *Paenibacillus polymyxa* SH15 against *Fusarium moniliforme* in rice and study on antifungal activity[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2017. (in Chinese)