网络出版时间:2026-02-04 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.08.014

魔芋内生细菌DS4的鉴定及其生防促生特性研究

段杉[1,2],李奕斐[1,2],刘晨钰[1,2],王郑琪[1,2],张亚丽[1,2],
赵靖靖[1,2],SHAH Faisal[3],何斐[1,2]

(1 富硒魔芋陕西省高校工程研究中心,陕西 安康 725000;
2 安康学院 现代农业与生物科技学院,陕西 安康 725000;
3 白沙瓦农业大学 农学系,开伯尔-普赫图赫瓦省白沙瓦 23060,巴基斯坦)

[摘 要] 【目的】分离筛选具有生防促生潜力的花魔芋内生细菌,为魔芋土传病害的防治提供菌种资源。【方法】采用纯培养法从健康魔芋球茎中分离内生细菌,用滤纸片扩散法和平板对峙法分别检测分离菌株DS4对病原细菌和病原真菌的拮抗能力;采用硫酸铵沉淀、盐酸沉淀甲醇抽提和乙酸乙酯萃取法提取内生细菌DS4中的抑菌活性物质,用比浊法测定内生细菌的抑菌活性;并采用平板法检测菌株产酶、溶解磷酸盐和固氮能力,比色法检测菌株产IAA能力;通过形态特征和16S rDNA序列分析鉴定菌株DS4的分类地位,用盆栽试验检测该菌株对魔芋生长的影响及其对魔芋土传病害的生防潜力。【结果】从健康魔芋植株分离获得16株内生细菌,采用平板对峙法从分离的内生细菌中筛选出1株对魔芋白绢病、干腐病和软腐病病原菌有明显抑制作用的内生细菌DS4,该菌株被鉴定为反硝化无色杆菌(*Achromobacter denitrificans*)。DS4对齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii*)和尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)菌丝生长的抑制率分别达81.3%和61.9%。硫酸铵沉淀、盐酸沉淀甲醇抽提和乙酸乙酯萃取法提取的内生细菌DS4抑菌物质对7种魔芋软腐病菌均有抑制作用,其中盐酸沉淀甲醇抽提的提取效果最好,病原菌接种培养12,24和48 h,其提取物对7种软腐病原菌的抑菌率分别为81.3%~94.4%,88.6%~97.2%和88.3%~98.1%。该菌具有产IAA、蛋白酶、淀粉水解酶、纤维素酶、溶解磷酸盐和固氮的能力。在盆栽条件下,先接种DS4再接种病原菌处理对魔芋软腐病有一定的防效,其在接种病原菌后10和20 d以及收获期的发病率均为20%,防效分别为33.3%,33.3%和50.0%,同时显著提高了魔芋球茎鲜质量、根茎鲜质量和根茎数量。【结论】花魔芋内生细菌DS4兼具防病和促生能力,具有开发为促进魔芋生长和防治魔芋土传病害生物菌肥的潜力。

[关键词] 魔芋;内生细菌;抑菌作用;魔芋软腐病;促生作用
[中图分类号] S182;S632.3 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)08-0129-09

Identification and characterization of biocontrol and plant growth-promoting traits of endophytic bacteria strain DS4 isolated from *Amorphophallus konjac*

DUAN Shan[1,2],LI Yifei[1,2],LIU Chenyu[1,2],WANG Zhengqi[1,2],ZHANG Yali[1,2],
ZHAO Jingjing[1,2],SHAH Faisal[3],HE Fei[1,2]

(1 *Engineering Research Center of Selenium-rich Konjac,Universities of Shaanxi Province,Ankang,Shaanxi* 725000,*China*;
2 *School of Modern Agriculture & Biotechnology,Ankang University,Ankang,Shaanxi* 725000,*China*;
3 *Department of Agronomy,The University of Agriculture Peshawar,Khyber Pakhtunkhwa* 23060,*Pakistan*)

[收稿日期] 2025-06-23 [修回日期] 2025-10-18
[基金项目] 陕西省科技厅项目(2025-JC-QN-1597,2025NC-YBXM-378);陕西省教育厅项目(24JR002);国家级大学生创新创业训练计划项目(202311397029)
[作者简介] 段杉(2002—),女,陕西榆林人,在读硕士,主要从事植物与微生物互作研究。E-mail:3355132534@qq.com
[通信作者] 何斐(1988—),女,陕西南郑人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事农业微生物资源开发与利用研究。E-mail:hefei6000@163.com

Abstract:【Objective】The study aims to isolate and screen endophytic bacteria from konjac (*Amorphophallus konjac*) with biocontrol and plant growth-promoting potential, to provide strain resources for the prevention and control of soil-borne diseases of konjac.【Method】Endophytic bacteria were isolated from healthy konjac corms using pure culture techniques. Antagonistic activity of strain DS4 against pathogenic bacteria and fungi was assessed via the agar diffusion and dual-culture confrontation assays, respectively. Bioactive antimicrobial compounds produced by strain DS4 were extracted through ammonium sulfate precipitation, acid precipitation followed by methanol extraction, and ethyl acetate extraction. The antimicrobial activity was quantified by turbidimetric assays. Enzymatic activities, phosphate solubilization, nitrogen fixation, and indole-3-acetic acid (IAA) production were evaluated using plate assays and colorimetric methods. Strain DS4 was taxonomically classified based on morphological characteristics and 16S rDNA sequencing. A pot experiment was carried out to detect the effects of this strain on the growth of konjac and its biocontrol potential.【Result】Sixteen endophytic bacterial isolates were obtained from healthy konjac tissues. Using the plate confrontation method, one endophytic bacterial strain DS4 was selected from the isolates for its significant antagonism against the pathogens causing konjac southern blight, dry rot, and soft rot. Strain DS4 was identified as *Achromobacter denitrificans*. The inhibition rates of strain DS4 against the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium oxysporum* reached 81.3% and 61.9%, respectively. Extracts from DS4 demonstrated broad-spectrum antimicrobial activity against seven konjac soft rot pathogens. The highest efficacy was observed in the acid precipitation-methanol extract, showing inhibition rates of 81.3%－94.4%, 88.6%－97.2%, and 88.3%－98.1% at 12, 24, and 48 h post-inoculation, respectively. The strain exhibited multiple plant growth-promoting traits, including IAA synthesis, the production of protease, amylase, and cellulase, phosphate solubilization, and nitrogen fixation. In greenhouse trials, pre-inoculation with DS4 reduced soft rot incidence to 20% at 10 and 20 d post-inoculation and at harvest, corresponding to control efficacies of 33.3%, 33.3% and 50.0%. Additionally, significant improvements were observed in tuber fresh weight, rhizome quality, and rhizome biomass.【Conclusion】Strain DS4 demonstrates both biocontrol activity and plant growth-promoting capabilities, indicating its potential application as a biofertilizer and biocontrol agent in konjac cultivation to mitigate soil-borne diseases.

Key words: *Amorphophallus konjac*; endophytic bacteria; antibacterial effect; *Amorphophallus konjac* soft rot disease; growth-promoting effect

魔芋(*Amorphophallus konjac*)是天南星科(Araceae)魔芋属(*Amorphophallus*)单子叶多年生草本植物,其块茎富含葡甘聚糖。葡甘聚糖有着极高的应用价值,广泛应用于食品、农业、医药和化工等领域[1]。我国魔芋主产区主要在云南、贵州、四川、陕西等贫困山区,其中陕南秦巴山区的魔芋种植面积约占全国魔芋适生区总面积的25%,特别是以汉中、安康为代表,魔芋已成为陕南区域特色经济的主导产业。然而,魔芋种植过程中面临多种挑战,包括病虫害防治、土壤与水肥管理等。其中最大的障碍是软腐病频发,轻则减产30%～70%,重则绝收[2]。由于魔芋抗病品种缺乏,施用化学药剂是防治魔芋软腐病、白绢病等病害的主要措施,但由此带来了农药残留、重金属超标及病原菌耐药性等系列问题。魔芋软腐病属于细菌性维管束系统性侵染病害,既可以种传,也可以土传,生产上施用化学药剂对该病的防效不佳[3]。因此,魔芋土传病害亟需安全、绿色、高效、可持续的防治方法。

生物防治是利用有益微生物拮抗、捕食、竞争或诱导植物产生系统获得性抗性等方式防控土传病害的有效方法[4],生防功能菌的筛选是生物防治的关键。植物内生菌存在于植物器官、组织、细胞及细胞间隙中,与植物长期协同进化,通过分泌酶、抗菌素、挥发性或非挥发性物质等次级代谢产物,以及与病原菌竞争营养或诱导植物免疫反应等方式保障植物健康,是生防功能菌的重要资源库[5]。魔芋内生菌的研究目前集中在其多样性[6]及抑菌蛋白[7]等方面,对其抑菌促生作用的研究较少。本研究从健康魔芋球茎分离内生细菌,筛选具有高效抑菌能力的菌株,并探究其对魔芋软腐病的生防作用及其对魔芋生长的促生潜力,旨在为魔芋土传病害的生物防治提供菌种资源。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试魔芋　健康岚皋花魔芋植株采自岚皋县蔺河镇林下魔芋种植基地（108.94° E，32.31° N）。用铁锹小心挖出整株植物，避免造成伤口，抖掉根部土壤，装入无菌自封袋中，立即带回实验室进行处理。

1.1.2　供试病原菌　方中达氏迪克氏菌（*Dickeya fangzhongdai*）菌株CZSB4、HR7B14，胡萝卜软腐果胶杆菌（*Pectobacterium carotovorum*）菌株ZYH1、ZY1B17，环状果胶杆菌（*Pectobacterium aroidearum*）菌株MY410、MY411、MY101，魔芋干腐病病原菌尖孢镰孢菌（*Fusarium oxysporum*），均由安康学院现代农业与生物科技学院农业微生物资源开发与利用课题组提供；魔芋白绢病病原菌齐整小核菌（*Sclerotium rolfsii*），由西北农林科技大学资源环境学院微生物课题组提供。

1.1.3　培养基　配制牛肉膏蛋白胨培养基进行魔芋内生细菌的分离、纯化及保存，配制PDA培养基进行魔芋干腐病和白绢病病原菌的活化。

1.2　魔芋内生细菌的分离与纯化

用自来水冲洗魔芋球茎表面泥土和尘埃，将其切成1 cm左右小块，并进行表面消毒。再用体积分数75%酒精浸泡3 min，无菌水冲洗5次；质量分数1%升汞浸泡5 min，无菌水冲洗5次。吸取50 μL最后一次清洗液均匀涂布于牛肉膏蛋白胨培养基上，28 ℃培养5 d，无菌落产生表明消毒彻底，样品可用于内生细菌的分离。将消毒后的样品转入加有5 mL无菌水的研钵内研磨成匀浆，取0.5 g匀浆均匀接种在牛肉膏蛋白胨培养基上，28 ℃培养5 d。在平板上挑取大小、颜色不同的菌落，采用平板划线法反复纯化3次，直至获得纯菌株。

1.3　魔芋内生细菌形态特征观察

观察记录分离菌株在固体培养基上的菌落生长形态、大小、颜色及菌落个体表面和边缘的生长状况。

1.4　魔芋内生菌株拮抗病原菌能力的测定

采用平板对峙法[8]测定魔芋内生菌对病原真菌的拮抗作用，具体为：将待测魔芋内生细菌划线接种在牛肉膏蛋白胨固体培养基上，28 ℃培养2 d，挑取单菌落于无菌水中制成菌悬液。将供试病原真菌齐整小核菌和尖孢镰孢菌接种至PDA培养基中，28 ℃培养至菌丝长满培养皿备用。用无菌打孔器取病原真菌菌饼接种至新的PDA平板中央，用无菌接种针取待测细菌在菌饼四周呈“口”字形划线，28 ℃培养7 d后测定病原真菌菌落直径。

采用滤纸片扩散法[9]测定魔芋内生菌对供试病原细菌的拮抗作用，具体为：将活化的病原细菌靶标菌和内生细菌以体积分数2%分别接种于牛肉膏蛋白胨液体培养基中，28 ℃培养2 d得到菌液；将内生细菌菌液以6 000 r/min离心15 min后取上清液，上清液经孔径0.22 μm无菌滤膜过滤后，将直径6 mm无菌滤纸片放入过滤后的内生细菌滤液中浸泡10 min，用无菌镊子取出，再放入采用混菌法接种50 μL病原细菌靶标菌菌液的牛肉膏蛋白胨平板上，每皿等距离放入4个内生细菌菌液处理过的滤纸片。28 ℃培养2～3 d，观察记录抑菌圈直径。

1.5　魔芋内生细菌抑菌活性物质的提取及其抑菌活性检测

参考文献[9]分别采用质量分数60%硫酸铵沉淀、盐酸沉淀甲醇抽提和乙酸乙酯萃取法提取内生细菌中的抑菌活性物质。以7个魔芋软腐病原细菌为靶标，按照体积比2%接种靶标菌，处理组分别添加400 μL/mL内生细菌的抑菌活性物质[10]。采用分光光度比浊法[11]测定上述3种提取方法获得粗提物对靶标菌的抑菌活性。分别在靶标菌接种培养12，24，48 h取样，于600 nm波长条件下测定吸光值（OD），计算抑菌率[12]。

$$抑菌率=(OD_{对照}-OD_{处理})/OD_{对照}\times 100\%。$$

1.6　魔芋内生细菌促生能力的测定

采用磷酸盐代谢检测培养基测定菌株DS4的溶磷能力，利用无氮培养基测定其固氮能力，采用加鲁戈氏碘液透明圈法测定其分泌淀粉水解酶的能力，利用蛋白酶检测培养基测定其产蛋白酶的能力，利用降解圈法测定该菌株产生纤维素酶的能力，采用Salkowski试剂测定其产生IAA的能力[13]。

1.7　魔芋内生细菌菌株DS4的鉴定

采用细菌基因组DNA提取试剂盒提取该菌株DNA，使用原核生物16S rRNA基因的保守序列通用引物27F（5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′）和1492R（5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′）进行PCR扩增。PCR反应体系（50 μL）：2×*Taq* PCR Master Mix 25 μL，10 μmol/L上下游引物各1 μL、DNA模板1 μL，ddH_2O 22 μL。

PCR扩增条件:94 ℃预变性5 min;94 ℃变性30 s,55 ℃退火30 s,72 ℃延伸1 min,循环35次;72 ℃延伸10 min,4 ℃保存。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测,用DNA回收试剂盒进行PCR产物纯化,纯化后的DNA片段送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。利用NCBI中BLAST程序,将上述所得测序结果与GenBank数据库中的已知序列进行同源性分析,并使用MEGA11软件以Neighbor-Joining法[14]构建系统发育树。

1.8 魔芋内生细菌DS4防病促生效果测定

试验设置4个处理,分别为:(1)空白对照(CK);(2)接种内生细菌DS4菌液(DS4);(3)接种软腐病菌(P);(4)内生细菌DS4与软腐病菌混接(DS4+P)。每处理重复10盆,每盆1株魔芋。试验于2024年4—10月在安康学院农学大棚进行。取大田耕层土黄棕壤(前茬单作小麦)过筛去杂,添加50 g/kg有机肥,充分混匀,每盆(25 cm×25 cm的营养钵)装土6 kg。挑选质量40 g顶芽健壮的花魔芋球茎为供试材料,种芋播种后置于60%荫蔽度遮阳网下,按常规措施进行水肥管理,保持土壤含水量达到最大饱和持水量的70%。在盆栽魔芋出苗展叶前,将内生细菌DS4平板扩大培养后,用无菌水配置成1×10^8 CFU/mL的菌悬液,每盆灌入200 mL,CK灌入等量无菌水。第1次灌根后间隔10和20 d,采用相同的方法分别再灌根1次;第3次灌根结束后间隔2 d,将提前扩大培养的7株供试魔芋软腐病病原菌分别配置成1×10^6 CFU/mL的菌悬液,每盆灌入7株病原菌各10 mL,CK用无菌水代替。植株可见明显软腐症状[15],即记为发病株。见病株后每日观察记录发病植株数量。以灌根病原菌为起始日,在整个生长期观察记录发病情况,计算发病率。在魔芋株高基本恒定后,观察测定株高和地径。于10月魔芋收获时,测定每个处理魔芋球茎鲜质量和根茎鲜质量,统计根茎数量。魔芋软腐病发病率采用以下公式进行计算:

发病率=发病植株数/调查植株总数×100%。

1.9 数据处理

单因素方差分析采用t检验法进行差异显著性检验,以$P<0.05$时表示差异显著;双因素方差分析采用邓肯氏法进行多重比较,以$P<0.05$时表示差异显著;采用SPSS 25.0进行试验数据统计分析,采用Excel 2016绘图。

2 结果与分析

2.1 魔芋内生细菌拮抗菌株的分离筛选

从健康魔芋植株分离获得16株内生细菌,采用平板对峙法筛选得到1株显著抑制魔芋白绢病和干腐病病原菌的内生细菌DS4(图1)。在PDA平板上,DS4对白绢病菌(*S. rolfsii*)的抑菌率为81.3%,对干腐病菌(*F. oxysporum*)的抑菌率为61.9%。在牛肉膏蛋白胨平板上,DS4对7株供试魔芋软腐病菌均有不同程度的抑制作用,其平均抑菌圈直径为7.3~10.5 mm。因此,将DS4菌株作为后续试验材料,探究其分类地位及生防促生潜力。

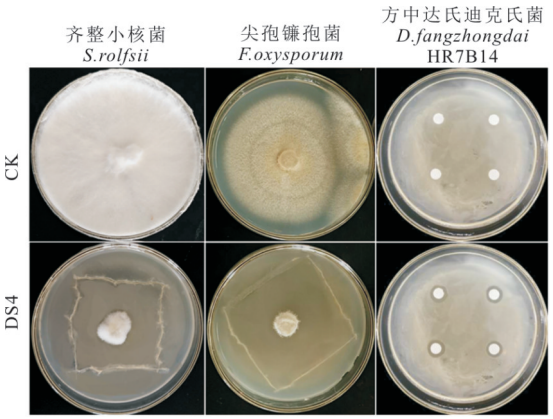


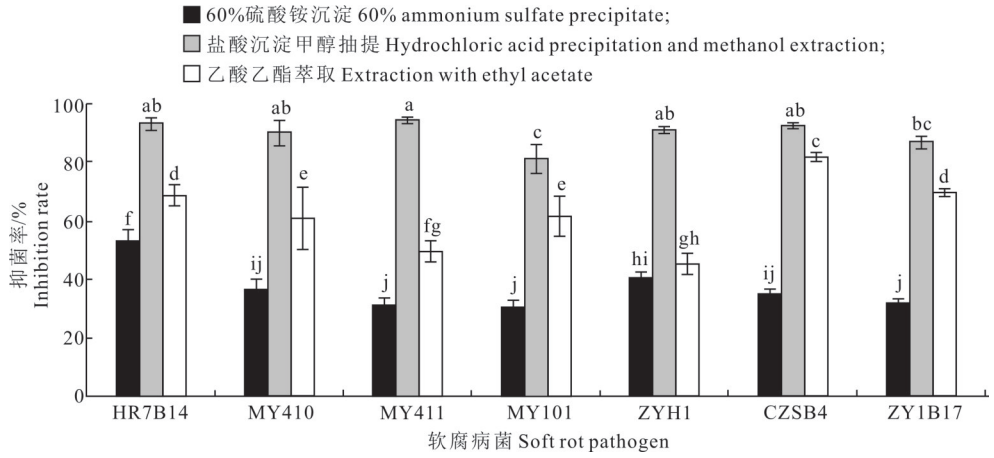
图1 菌株DS4对魔芋白绢病、干腐病及软腐病病原菌生长的影响

Fig. 1 Effects of DS4 on the growth of pathogens causing southern blight, dry rot and soft rot of konjac

2.2 DS4菌株粗提物的抑菌活性检测

分别采用质量分数60%硫酸铵沉淀、盐酸沉淀甲醇抽提和乙酸乙酯萃取3种方法提取魔芋内生细菌DS4的抑菌活性物质,并采用分光光度比浊法测定不同方法提取的抑菌活性物质对7株魔芋软腐病原菌的抑菌作用。结果(图2~4)表明,不同方法提取的DS4抑菌活性物质对7株供试魔芋软腐病原菌均有抑菌作用,其中盐酸沉淀甲醇抽提的提取效果最好,其次是乙酸乙酯萃取法。

由图2可知,在病原菌接种培养12 h时,内生细菌DS4盐酸沉淀甲醇抽提的粗提物对7株软腐病原细菌的抑菌率为81.3%~94.4%。在病原菌接种培养24 h时,盐酸沉淀甲醇抽提的内生细菌DS4粗提物对7株软腐病原细菌的抑菌率为88.6%~97.2%(图3)。在病原菌接种培养48 h时,DS4盐酸沉淀甲醇抽提的粗提物对7株软腐病原细菌的抑菌率保持在88.3%~98.1%之间(图4)。



图柱上不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。下同。

Different lowercase letters above the bars indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

图 2　魔芋内生细菌 DS4 粗提物对魔芋软腐病菌的抑菌作用（12 h）

Fig. 2　Antibacterial effects of crude extract from endophytic bacterium DS4 on konjac soft rot pathogens (12 h)

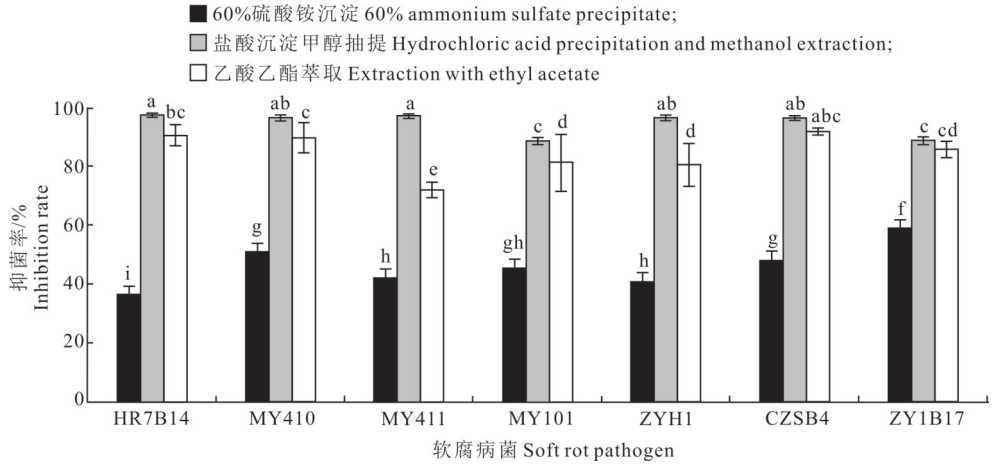


图 3　魔芋内生细菌 DS4 粗提物对魔芋软腐病菌的抑菌作用（24 h）

Fig. 3　Antibacterial effects of crude extract from endophytic bacteria DS4 on konjac soft rot pathogens (24 h)

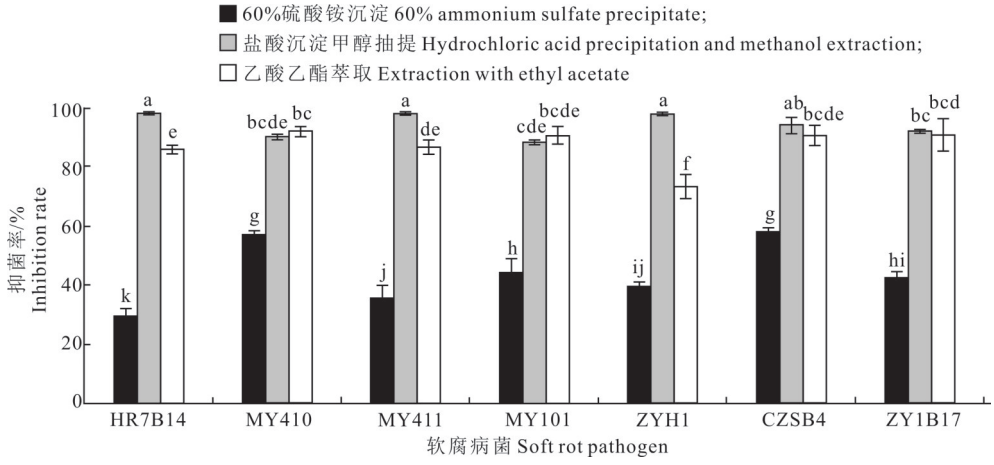
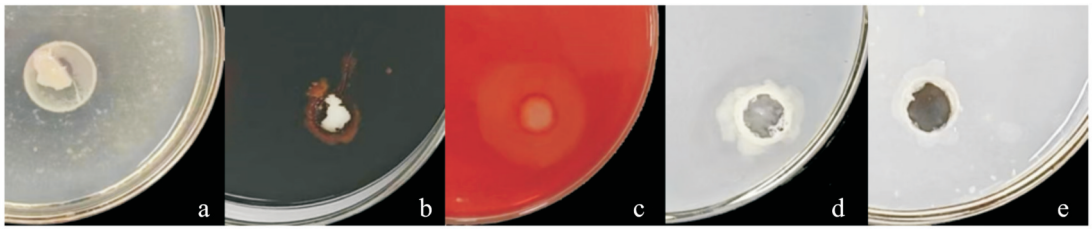


图 4　魔芋内生细菌 DS4 粗提物对魔芋软腐病菌的抑菌作用（48 h）

Fig. 4　Antibacterial effects of crude extract from endophytic bacteria DS4 on konjac soft rot pathogens (48 h)

2.3　DS4 促生能力测定

试验结果表明，菌株 DS4 分泌 IAA，其分泌量为 2.96 mg/L。由图 5 可知，菌株 DS4 不仅具有分泌蛋白酶、淀粉水解酶、纤维素酶的能力，还具有溶磷和固氮能力。



a. 产蛋白酶;b. 产淀粉水解酶;c. 产纤维素酶;d. 溶解磷酸盐;e. 固氮。

a. Protease production;b. Amylolytic enzyme production;c. Cellulase production;d. Phosphate dissolution;e. Nitrogen fixation.

图5 魔芋内生细菌菌株DS4分泌酶和解磷固氮活性测定

Fig. 5 Assessment of enzymatic activity, nitrogen fixation, and phosphorus solubilization capabilities of the endophytic bacterial strain DS4 isolated from konjac

2.4 菌株DS4的形态特征

菌株DS4在培养基上的形态特征如图6所示。



图6 菌株DS4的形态特征

Fig. 6 Morphological characteristics of strain DS4

由图6可知,菌株DS4在牛肉膏蛋白胨固体培养基上培养4 d,其菌落米白色不透明,边缘光滑、湿润且凸起,直径大约4.5 mm。

2.5 菌株DS4的分类地位鉴定

对菌株DS4的16S rRNA基因进行PCR扩增,扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,获得1 467 bp目标条带。利用NCBI中的BLAST程序,将测序结果与GenBank数据库中的已知序列进行同源性分析,并建立菌株DS4的系统发育树。结果(图7)表明,菌株DS4与无色杆菌属(*Achromobacter*)聚为一个分支,其中与反硝化无色杆菌(*Achromobacter denitrificans*)DSM 30026^T(NR 042021.1)的相似性最高,为99.84%。综上,将菌株DS4鉴定为反硝化无色杆菌(*Achromobacter denitrificans*)。

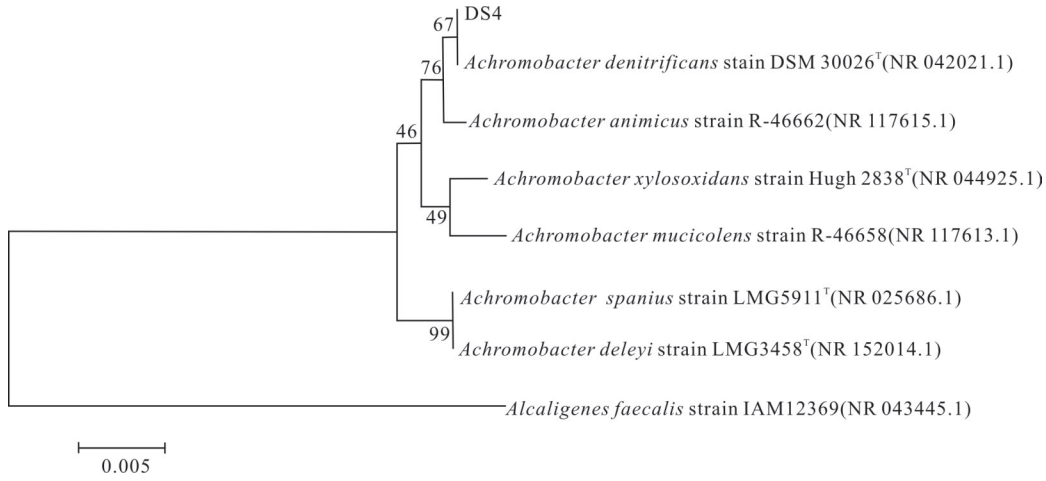


图7 基于16S rRNA序列同源分析的DS4菌株系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree of strain DS4 based on 16S rRNA sequence homology analysis

2.6 DS4对魔芋软腐病的防效评价

由图8可知,在盆栽魔芋整个生长期内,对照(CK)和单接种DS4处理(DS4)的魔芋均无软腐病害发生;单接种病原菌处理(P)的魔芋在接种后10,20和140 d(收获期)发病率分别为30.0%,30.0%和40.0%;而先接种DS4再接种病原菌处理(DS4+P)对魔芋软腐病有一定的防效,其在接种病原菌10,20和140 d(收获期)的发病率均为20.0%,防效分别为33.3%,33.3%和50.0%。

2.7 DS4对魔芋生长的影响

由表1可知,DS4接种处理的魔芋植株株高、地径、球茎鲜质量、根茎鲜质量和单株根茎数分别较对照显著增加了10.8%,11.5%,17.7%,8.4%和107.7%。与单接种病原菌相比,先接种DS4再接种

病原菌处理的魔芋植株株高、球茎鲜质量和根茎鲜质量分别显著增加了 9.0%，24.8% 和 13.8%。

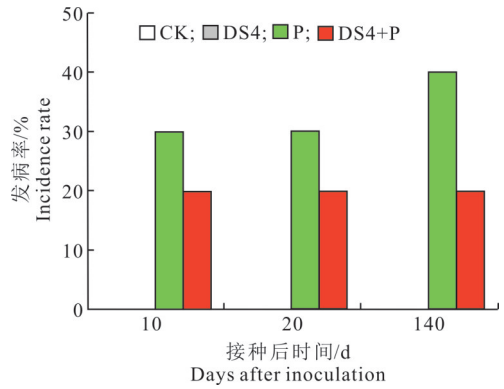


图 8　内生细菌 DS4 对魔芋软腐病的盆栽防病效果

Fig. 8　Biocontrol efficacy of endophytic bacteria DS4 against soft rot disease of konjac

3　讨　论

利用有益微生物进行作物土传病害生物防治已成为农业可持续发展的重要途径。常用于防治土传软腐病的有益微生物主要包括哈茨木霉（*Trichoderma harzianum*）、贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*）等，已在姜[16]、茄子[17]和猕猴桃[18]等植物上被研究报道。分离自魔芋根际的贝莱斯芽孢杆菌（*B. velezensis*）、抗生素溶杆菌（*Lysobacter antibioticus*）对魔芋软腐病菌均有一定的抑制作用[19-20]。然而利用魔芋内生细菌防治土传软腐病的研究报道较少。本研究从健康岚皋花魔芋球茎中分离内生细菌，筛选到 1 株显著抑制魔芋软腐病原菌、白绢病菌和干腐病菌的菌株 DS4。基于菌落形态和 16S rRNA 基因系统发育树结果，DS4 被鉴定为反硝化无色杆菌（*Achromobacter denitrificans*）。已有研究表明，反硝化无色杆菌在植物促生、硒强化等方面有巨大潜力，如分离自江苏南京芦苇地的氧化亚氮还原细菌 *A. denitrificans* YSQ030 显著促进水稻生长[21]；*A. denitrificans* GPB1-5 显著提高土壤可交换态硒含量，在土壤微生物硒强化中具有潜在的应用价值[22]。

表 1　内生细菌 DS4 对魔芋生长的影响

Table 1　Effects of endophytic bacteria DS4 on the growth of konjac

处理 Treatment	株高/cm Plant height	地径/cm Ground diameter	球茎鲜质量/(g·株$^{-1}$) Fresh mass of corm	根茎鲜质量/(g·株$^{-1}$) Fresh mass of rhizome	根茎数/(个·株$^{-1}$) Number of rhizomes
CK	12.0±0.9 b	1.48±0.11 b	110.7±3.5 c	21.4±0.6 b	1.3±0.6 b
DS4	13.3±0.3 a	1.65±0.04 a	130.3±2.0 a	23.2±0.4 a	2.7±0.6 a
P	12.2±0.3 b	1.46±0.04 b	97.2±2.0 d	18.8±0.7 c	1.3±0.6 b
DS4+P	13.3±0.2 a	1.56±0.03 ab	121.3±1.7 b	21.4±0.4 b	1.7±0.6 ab

注：同列数据后标不同小写字母表示处理间差异显著（$P<0.05$）。

Note: Different lowercase letters following the values in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

分泌代谢物质抑制病原菌是生防菌防治土传病害的重要作用机制，该机制常作为室内生防菌初筛的重要指标，抑菌物质的分离和鉴定对生防菌肥的研发也具有重要意义[5,23]。据报道，生防细菌可产生多种抗菌活性物质，如抗生素[24]、醇酮和酸等挥发性物质[25]、脂肽类等非挥发性抑菌物质[26]。本研究采用了 60% 硫酸铵沉淀、盐酸沉淀甲醇抽提和乙酸乙酯萃取 3 种方法提取反硝化无色杆菌 DS4 的抗菌活性物质。结果显示，上述 3 种方法提取的 DS4 粗提物对 7 株魔芋软腐病菌均有较强的抑菌活性，说明菌株 DS4 可能分泌了蛋白类、脂肽类和聚酮类等多种抗菌活性物质，这对后续进行抗菌活性物质的分离纯化及鉴定具有重要的指导作用。本研究证实，DS4 可以分泌蛋白酶、淀粉水解酶和纤维素酶，这些酶类可以直接破坏病原菌的细胞壁，导致细胞内含物流失，最终造成病原菌裂解失活[27]。综上所述，DS4 对软腐病菌的抑菌作用机理主要是分泌了具有抑菌活性的次级代谢产物，包括蛋白类、脂肽类、聚酮类及酶类等物质，以上代谢物质的鉴定及其作用机理解析将有助于深入理解 DS4 的生防机制，为下一步微生物制剂研发与应用奠定基础。

DS4 对魔芋软腐病原菌表现出较强的抑制作用，本研究进一步探究了 DS4 在盆栽条件下对花魔芋软腐病的防病促生效果。盆栽条件下，由于接种的生防菌受到土壤中各种土著微生物的影响，有些在室内具有明显抑菌作用的菌株在室外可能没有表现出防病效果[28]。然而，反硝化无色杆菌 DS4 在盆栽条件下对魔芋软腐病具有一定的防治效果，防效为 33.3%～50.0%。与直接接种病原菌处理（P）相比，预防性接种 DS4 后再进行病原菌处理（DS4+P）可降低软腐病的发病率，说明该内生细菌具有一定的生防潜力。此外，DS4 还显著提高了魔芋球茎鲜质量、根茎鲜质量和根茎数，亦表现出较好的促

生效果。推测其促生作用可能与其分泌IAA及溶解磷酸盐、固氮的特性紧密相关。IAA是最主要的天然生长素,能促进细胞分裂和扩展,是植物生长发育的核心调控者[29]。从DS4溶解磷酸盐的特性推测,其可能分泌有机酸,利用酸解或螯合作用使土壤中难溶性磷变成能被植物直接吸收利用的磷素[30]。非共生固氮的反硝化无色杆菌DS4还可以通过固氮作用为土壤增加氮素营养,增强植物根系对周围营养元素的吸收,进而促进植物生长[31]。

4 结 论

本研究从健康魔芋球茎分离到1株内生细菌DS4,该菌对软腐病、白绢病和干腐病病原菌均具有明显抑制作用。盆栽试验证实该菌不仅可以降低魔芋软腐病的发病率,而且还可以提高魔芋块茎质量,表现出较好的防病促生潜能,其潜在作用机制包括分泌酶类、脂肽类、聚酮类化合物及IAA。形态特征及系统发育分析结果表明,DS4为反硝化无色杆菌(*A. denitrificans*),该菌株具有开发成为促进魔芋生长和防治魔芋土传病害生物菌肥的潜力。

[参考文献]

[1] HU Q R, HUANG G L, HUANG H L. Extraction, structure, activity and application of konjac glucomannan[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2025, 116: 107315.

[2] YANG M, QI Y, GAO P H, et al. Changes in the assembly and functional adaptation of endophytic microbial communities in *Amorphophallus* species with different levels of resistance to necrotrophic bacterial pathogen stress[J]. Communications Biology, 2025, 8: 766.

[3] WU J P, ZHOU J, YANG C Z, et al. The composition of root exudates between resistant and susceptible konjac species against soft rot disease[J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2025, 132(2): 83.

[4] WANG G, WANG Y T, HU J Q, et al. Strain prioritization for lipopeptide-producing bacteria with antagonistic effects against *Fusarium graminearum*[J]. Microbial Pathogenesis, 2025, 206: 107758.

[5] 邹兰,王茜,李慕仪,等. 乌头内生细菌JY-3-1R的鉴定及其生防和促生能力研究[J]. 生物技术通报,2023,39(10):246-255.
ZOU L, WANG Q, LI M Y, et al. Identification, biocontrol and plant growth promoting potential of endophytic bacterial strain JY-3-1R from *Aconitum carmichaelii* Debx[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(10): 246-255.

[6] YANG M, GAO P H, GUO J W, et al. The endophytic fungal community plays a crucial role in the resistance of host plants to necrotic bacterial pathogens[J]. Physiological Plantarum, 2024, 176(2): e14284.

[7] BAN H F, CHAI X L, LIN Y J, et al. Transgenic *Amorphophallus konjac* expressing synthesized acyl-homoserine lactonase (*aiiA*) gene exhibit enhanced resistance to soft rot disease[J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(12): 1847-1855.

[8] DAI X X, HE Y Q, SU Y, et al. Pathogen identification, antagonistic microbe screening, and biocontrol strategies for *Aconitum carmichaelii* root rot[J]. Microorganisms, 2025, 13: 2202.

[9] 马玥,来航线,韦小敏,等. 新疆荒漠盐碱环境中抗动物病原菌的放线菌筛选与鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2013,41(3):133-140.
MA Y, LAI H X, WEI X M, et al. Screening and identification of antagonistic actinomycetes against animal pathogen from saline-alkali soil in desert of Xinjiang[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2013, 41(3): 133-140.

[10] 许本宏. 暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)JFL15抗菌物质的纯化鉴定及其生物合成途径解析[D]. 广州:华南农业大学,2018.
XU B H. Purification, identification and biosynthesis pathway analysis of antimicrobial compounds produced by *Bacillus siamensis* JFL15[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.

[11] XU B H, YE Z W, ZHENG Q W, et al. Isolation and characterization of cyclic lipopeptides with broad-spectrum antimicrobial activity from *Bacillus siamensis* JFL15[J]. 3 Biotech, 2018, 8(10): 444.

[12] WU M Q, QU F, ZHAO Y L, et al. Microcalorimetry and turbidimetry to investigate the anti-bacterial activities of five fractions from the leaves of *Dracontomelon dao* on *P. aeruginosa*[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016, 123(3): 2367-2376.

[13] SHI M X, ZHANG L S, SUN H, et al. The plant growth-promoting bacterium *Bacillus cereus* LpBc-47 can alleviate the damage of saline-alkali stress to *Lilium pumilum*[J]. Microorganisms, 2025, 13(6): 1248.

[14] WU C L, ZHANG Z W, QIAO C C, et al. First report of *Enterobacter kobei* and *Enterobacter mori* causing ginger bacterial wilt in China[J]. Plant Disease, 2025, 109(6): 1374.

[15] 刘长命,覃晓冉,汪可清,等. 解鸟氨酸拉乌尔菌引起魔芋软腐病的首次报道[J]. 植物病理学报,2025,55(3):545-549.
LIU C M, QIN X R, WANG K Q, et al. First report of *Raoultella ornithinolytica* causing soft rot on konjac[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2025, 55(3): 545-549.

[16] DEY U, SARKAR S, AWASTHI D P, et al. Identification, detection, and management of soft rot disease of ginger in the eastern Himalayan region of India[J]. Pathogens, 2025, 14(6): 544.

[17] ZHANG X Y, WANG J Y, XIN Y, et al. Exploring the biocontrol performance of *Bacillus velezensis* against postharvest diseases of eggplants and the underlying action mechanisms in soft rot management[J]. Postharvest Biology and Technology, 2025, 227: 113556.

[18] REN C G, LIU Y, SU W W, et al. *Bacillus velezensis* LMY35

for the biocontrol of soft rot in kiwifruit: antifungal action and underlying mechanisms[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16:1562366.

[19] 钟宇，牛莉莎，曾雨洁，等. 魔芋软腐病拮抗菌GZA12的分离鉴定及其防病促生作用[J]. 微生物学报，2024，64(10)：3916-3931.
ZHONG Y, NIU L S, ZENG Y J, et al. An antagonistic bacterial strain GZA12 against soft rot of konjac: isolation, identification, and application in disease prevention and growth promotion[J]. Acta Microbiological Sinica, 2024, 64(10): 3916-3931.

[20] 姬广海，魏兰芳，吴亚鹏. 一种新型生防细菌菌株13-1鉴定及其生物学特性[J]. 微生物学通报，2009，36(7)：974-980.
JI G H, WEI L F, WU Y P. Identification and biological characteristics on a novel strain13-1 from rhizosphere of *Amorphophallus konjac*[J]. Microbiology, 2009, 36(7): 974-980.

[21] 杨思琪，张欢欢，李庆，等. 氧化亚氮还原细菌YSQ030的筛选、鉴定及其植物促生特性[J]. 中国土壤与肥料，2024(1)：210-217.
YANG S Q, ZHANG H H, LI Q, et al. Isolation, identification and plant growth-promoting characteristics of a nitrous oxide-reducing bacterium[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2024(1): 210-217.

[22] 廖青，刘永贤，邢颖，等. 土壤富硒细菌的筛选、鉴定[J]. 土壤，2018，50(6)：1203-1207.
LIAO Q, LIU Y X, XING Y, et al. Screening and identification of Se-enriched bacteria from Se-rich soils in Guangxi[J]. Soils, 2018, 50(6): 1203-1207.

[23] MOHAMADPOOR M, AMINI J, ASHENGROPH M, et al. Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans* strain CTA8689 against common bean root rot[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2022, 117: 101769.

[24] 王麒，许婧霞，张亚妮，等. 贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) JJYY防控土传病害效果评价及其全基因组测序分析和抗菌成分鉴定[J]. 微生物学通报，2024，51(1)：155-171.
WANG Q, XU J X, ZHANG Y N, et al. *Bacillus velezensis* JJYY against soil-borne diseases: biocontrol effect, whole genome sequencing, and antimicrobial components[J]. Microbiology China, 2024, 51(1): 155-171.

[25] MAGALLÓN-ANDALÓN C G, CALDERÓN-SANTOYO M, BALOIS-MORALES R, et al. Exploring the biocontrol potential of *Bacillus thuringiensis* against *Colletotrichum gloeosporioides* in 'Hass' avocado fruits[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2025, 138: 102724.

[26] ZHANG D, YU S Q, ZHAO D M, et al. Inhibitory effects of non-volatiles lipopeptides and volatiles ketones metabolites secreted by *Bacillus velezensis* C16 against *Alternaria solani*[J]. Biological Control, 2021, 152: 104421.

[27] SABERI RISEH R, VATANKHAH M, HASSANISAADI M, et al. Unveiling the role of hydrolytic enzymes from soil biocontrol bacteria in sustainable phytopathogen management[J]. Frontiers in Bioscience, 2024, 29(3): 105.

[28] 霍宪起，陈京元. 拮抗菌C23对松苗猝倒病原菌的抑制效果及在松苗根际的定殖[J]. 山西农业科学，2009，37(11)：33-36.
HUO X Q, CHEN J Y. Inhibition effect of antagonistic bacteria C23 on pathogens of damping-off and colonization in the rhizosphere of slash pine[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2009, 37(11): 33-36.

[29] GOMES G L B, SCORTECCI K C. Auxin and its role in plant development: structure, signaling, regulation and response mechanisms[J]. Plant Biology, 2021, 23(6): 894-904.

[30] PATTNAIK S, MOHAPATRA B, GUPTA A. Plant growth-promoting microbe mediated uptake of essential nutrients (Fe, P, K) for crop stress management: microbe-soil-plant continuum[J]. Frontiers in Agronomy, 2021, 3: 689972.

[31] TIMOFEEVA A M, GALYAMOVA M R, SEDYKH S E. Plant growth-promoting soil bacteria: nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities[J]. Plants, 2023, 12(24): 4074.

（责任编辑：陈丽）

（上接第128页）

[27] 于丽萍，胡学意，袁雨凡，等. AM真菌对镉胁迫下高羊茅生理及镉富集特征的影响[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版)，2024，41(4)：243-253.
YU L P, HU X Y, YUAN Y F, et al. Effects of AM fungi on physiology and cadmium enrichment characteristics of *Festuca elata* under cadmium stress[J]. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science), 2024, 41(4): 243-253.

[28] JIANG J, SHI Y, TIAN F, et al. Bioaccumulation of microcystin-LR and induced physio-biochemical changes in rice (*Oryza sativa* L.) at vegetative stage under hydroponic culture conditions[J]. Toxins, 2024, 16(2): 82.

[29] GHASSEMI-GOLEZANI K, ABDOLI S. Improving ATPase and PPase activities, nutrient uptake and growth of salt stressed ajowan plants by salicylic acid and iron-oxide nanoparticles[J]. Plant Cell Reports, 2021, 40(3): 559-573.

（责任编辑：马秋明）