DOI:10.16861/j.cnki.zggc.2024.0328

# 福鼎槟榔芋疫病生防菌剂 C202201 的田间施用效果分析

董晓菲[1,2],杨　聪[1],潘　虹[1],林志斌[1,2],阙玉林[3],叶祖云[1,2]

(1.宁德师范学院生物科学与工程学院　福建宁德　352100;　2.福建省特色药用植物工程技术研究中心　福建宁德　352100;　3.福鼎市农业科学研究所　福建福鼎　355200)

**摘　要:**福鼎槟榔芋是福鼎市特产,其植株生长长期受疫病影响,目前化学防治方法不佳且易污染环境。本研究对实验室保存的具有分解几丁质作用的 3 株菌株进行筛选,以期筛选出对槟榔芋疫病有防治效果的生防菌,并对筛选到的生防菌剂进行田间试验(以不喷施生防菌剂为对照,CK),分析生防菌对槟榔芋球茎生长指标、收获率,叶片疫病的防治效果和根际土壤微生物族群的影响。结果表明,筛选得到了对槟榔芋疫病有生防效果的菌株 C202201,结合全基因测序结果,确定菌株 C202201 为副炭疽芽孢杆菌(*Bacillus paranthracis*)。同时研究结果也表明,施用 C202201 菌剂可显著降低疫病叶片病情指数,提高槟榔芋球茎收获率。其中施用 C202201 菌剂球茎收获率为 93.33%、叶片病情指数为 19.19,达到了高抗病水平,与 CK 相比,球茎收获率增加了 8.33 百分点,叶片病害防治效果为 57.91%;与 CK 相比,施用 C202201 菌剂后土壤微生物族群菌数发生了变化,几丁质分解菌数显著增多,说明施用功能性 C202201 菌剂可调节土壤微生物群落结构,降低病原菌的相对丰度,进而减少病害的发生。本试验筛选的生防菌株 C202201 可为槟榔芋疫病生物防治产品的研究提供参考。

**关键词:**槟榔芋;疫病;生防菌株;芽孢杆菌;土壤微生物

**中图分类号:**S632.3　　**文献标志码:**A　　**文章编号:**1673-2871(2025)09-199-08

# Field application effects of biocontrol agent C202201 against binglang taro leaf blight in Fuding

DONG Xiaofei[1,2], YANG Cong[1], PAN Hong[1], LIN Zhibin[1,2], QUE Yulin[3], YE Zuyun[1,2]

(*1. College of Biological Science and Engineering, Ningde Normal University, Ningde 352100, Fujian, China; 2. The Engineering Technology Research Center of Characteristic Medicinal Plants of Fujian, Ningde 352100, Fujian, China; 3. Fuding Agricultural Science Research Institute, Fuding 355200, Fujian, China*)

**Abstract:** Binglang taro is a specialty of Fuding city. Its plant has been affected by leaf blight for a long time during their growth period. At present, chemical control methods are not good and are prone to environmental pollution. Therefore, in this study, three strains with chitin degrading properties preserved in the laboratory were used to screen for biocontrol bacteria that have a preventive effect on binglang taro leaf blight. After screening, field tests were conducted to spray biocontrol agents and CK(without spraying), and taro bulb growth indicators, harvest rate, leaf disease control effect and changes in soil microbial population were measured. The results showed that strain C202201, which had a biological control effect on leaf blight disease was screened. Combined with the results of whole gene sequencing, strain C202201 was identified as *Bacillus paranthracis*. The application of C202201 bacterial agent can significantly reduce the disease index of taro leaves affected by blight and improve the yield of taro underground corms. The yield of the C202201 group was 93.33% and the leaf disease index was 19.19, reaching a high level of disease resistance. Compared with CK, the corm harvest rate increased by 8.33 percentage points, and the leaf disease control effect was 57.91%. After the application of C202201 bacterial agent, the structure of soil microbial community changed, and compared with the CK, the number of chitin decomposing bacteria increased significantly. This indicates that the application of functional C202201 bacterial agent can regulate the structure of soil microbial community, reduce the relative abundance of pathogenic bacteria, and thus reduce the occurrence of diseases. The strain C202201 provides a reference for the research of biological control

**收稿日期:**2024-05-14 **修回日期:**2025-04-21

**基金项目:**福建省自然科学基金项目(2022J011210);宁德师范学院中青年教师科研项目(2022ZQ108)

**作者简介:**董晓菲,女,硕士,研究方向为植物病害学。E-mail:dongxiaofei0817@126.com

**通信作者:**叶祖云,男,教授,研究方向为植物遗传育种学。E-mail: zyye0593@163.com

products for the leaf blight disease of binglang taro.

**Key words:** Bignlang taro; Leaf blight of taro; Biological control bacterial strain; *Bacillus*; Soil microorganisms

槟榔芋为天南星科（Araceae）芋属（*Colocasia*）单子叶宿根性草本植物，是福建省福鼎特产，故也叫福鼎芋，是全国农产品地理标志保护产品[1]。槟榔芋球茎椭圆形、外表粗糙呈黄褐色、芋肉乳白带紫红色槟榔纹，以个大、味道香郁且营养丰富而畅销各地，是当地农民收入的支柱产业[2]。槟榔芋喜湿喜温，植株高大，展开度可达 160 cm×80 cm，全生育期在 200 d 以上，但易受病虫害侵害，其中疫病（真菌性病害）对槟榔芋具有毁灭性危害，发病率为 20%~30%，严重时可达 100%[3]。疫病可侵害叶片、叶柄和球茎，叶上初生黄褐色圆斑点并带有暗绿或黄色水渍晕圈，病斑中央多见腐败穿孔，严重时仅残留叶脉呈破伞状，地下球茎染病后变褐腐烂，且植株染病后会相互传染，严重影响槟榔芋球茎品质和产量[4-5]。当前槟榔芋疫病防治以喷施多种农药为主，翻耕轮作、合理密植、人工铲除病株为辅，但喷施农药易产生环境污染和食品农药残留等问题，而单靠翻耕轮作、合理密植等防治方法效果不佳[5]，生物防治选择对农作物或农产品不造成危害的微生物，利用微生物之间的拮抗、竞争等作用机制[6]，来抑制病原菌的生长，高效无毒又环保[7-9]。目前在防控植物病害上应用较多的生防菌主要有芽孢杆菌（*Bacillus*）和链霉菌（*Streptomyces*），周丽洪等[10]分离鉴定了两株芽孢杆菌对魔芋软腐病具有显著防控作用；孙莉等[11]筛选得到的放线菌 X54 和芽孢杆菌 P3 对黄瓜疫霉病有很好的抑制效果；任建军等[12]筛选的枯草芽孢杆菌 RN-61 对多种植物真菌病害有较好抑制作用。几丁质是真菌细胞壁和昆虫外壳的组成成分，自然界中有的微生物具有分解几丁质作用，可将几丁质分解为几丁寡糖。有研究表明，几丁寡糖具有广谱抗菌抑菌性能[13-14]，有些几丁寡糖能通过使 DNA 转录受阻杀死病原菌，有些也可以作为植物调节剂，不仅具有促进植物生长发育、活化细胞、促进蛋白质合成等作用，还可以改善土壤理化性质[15]，具有这些功能的微生物可作生防菌株防治植物病害。

目前对应用在其他农作物病害防治的生物菌株的研究已较为常见，但对槟榔芋疫病的防治仍集中在种植管理和药剂防治等方面[5]，关于槟榔芋疫病生物菌剂田间防治尚未见报道。本研究从本实验室保存的 3 株可以分解几丁质的菌株中筛选出对疫病有防治效果的菌株作为生防活菌制剂，并对田间槟榔芋叶片和根部土壤进行喷施试验，测定其防治效果和对土壤微生物族群菌数的影响，以期为槟榔芋疫病的生物防治产品的研发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为福鼎槟榔芋，由福鼎农业科学研究所提供；供试菌株为宁德师范学院生物科学与工程学院微生物实验室保存的具有分解几丁质作用的 3 株菌株 C202201、C202202、C202203 和槟榔芋疫病病原菌（*Phytophthora colocasiae*）。

### 1.2 方法

1.2.1 生防菌株离体筛选 将本实验室保存的待测菌株 C202201、C202202、C202203、疫病病原菌分别接种于 LB 液体培养基中，于 30 ℃、220 r·min$^{-1}$ 摇床培养 8 h，备用。选取健康槟榔芋球茎，洗净并风干后，切取长 3 cm×3 cm×0.7 cm 的组织块，经 75%乙醇和 0.1%氯化汞表面消毒后，用无菌水充分涤荡干净，再放入有滤纸的无菌培养皿中，每皿放入一组织块，用无菌刀和镊子在组织块中央划 1 cm×1 cm×0.3 cm 的十字伤口，接种待测菌和疫病病原菌的混合液（体积比 1∶1）20 μL 于组织块十字中央。以只接种疫病病原菌为阳性对照（CK$^{+}$），以接种待测菌为阴性对照，以无菌水为空白对照，每个处理 3 次重复，置于 30 ℃恒温培养 7 d，观察槟榔芋组织块是否腐烂并拍照记录，选择待测菌组织块和混合液组织块都没有腐烂的菌株为生防菌株。

1.2.2 菌株分子鉴定 对上述试验中得到的生防菌株进行分子试验，采用 TSINGKE 植物 DNA 提取试剂盒（TSP101）提取生防菌株 DNA 并进行 PCR 扩增，使用 16S rRNA 基因通用引物 27F（5′- AGTTTGATCMTGGCTCAG- 3′）和 1492R（5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′），扩增程序为 94 ℃预变性 10 min，94 ℃变性 45 s，55 ℃退火 45 s，72 ℃延伸 90 s，30 个循环，72 ℃延伸 10 min，4 ℃保存，委托北京擎科生物科技股份有限公司测序后用 MEGA 5 的邻接法（NJ）（Model：Maximum Composite Likelihood 和 Bootstrap method：1000）构建系统发育树，将生防菌株接种于 LB 肉汤培养基中，在 30 ℃、220 r·min$^{-1}$ 条件下摇床培养 24 h，收集菌体委托北京擎科生物科技股份有限公司完成全基因组测序。

1.2.3　田间防效试验　试验于2023年4—11月在福建省福鼎市贯岭镇松洋村槟榔芋种植地进行，采用随机区组设计，设置不喷施生防菌剂（CK）和喷施筛选到的生防菌剂2个处理，3次重复。小区面积60 $m^2$，垄宽1.2 m，垄高25 cm，垄沟深40 cm，株距30 cm，行距60 cm，共穴植120株，每20 d对槟榔芋叶片和根部土壤喷施浓度为$10^7$ CFU·$mL^{-1}$的活菌菌剂，每个处理喷施5000 mL。

采样：共取3次土样，分别为喷施菌剂前（定植移栽后，2023年4月23日）、喷施菌剂种植中期（2023年6月15日）、喷施菌剂种植后期（2023年10月16日）。使用采土器对槟榔芋根际土壤进行采样，分别取土壤表层（距土表0~15 cm）和土壤深层（距土表30~40 cm）的土样，小区内每个处理各随机选取2个采样点（相距3~5 m），然后将2个点采样后的同层土样混合，土样密封标记并置于冰盒保存备用。2023年11月9日收获槟榔芋球茎（槟榔芋每株结一个大母芋和几个留种小子芋，本试验只计算母芋数据），记录收获健康球茎株数、球茎生长数据（长度、直径、质量等）、叶片发病数据等，并计算球茎收获率、发病率以及叶片病情指数和病害防治效果，公式如下：

收获率/%=收获株数/栽种株数×100；

发病率/%=（种植株数-收获株数）/栽种株数×100。

叶片发病率调查方法：参考叶泉清等[16]的方法略有改动，为防止收获时植株枯萎影响叶斑调查，要在收获前进行叶片发病率调查，于2023年9月15日进行，每小区植株全部调查，每株从顶叶往下按顺序选取5片叶，记录发病叶片数和病级，计算病情指数和病害防治效果。

各病级分类标准如下：0级，无病斑；1级，病斑面积占整张叶面积的5%以下；3级，病斑面积占整张叶面积的5%~10%；5级，病斑面积占整张叶面积的11%~25%；7级，病斑面积占整张叶面积的26%~50%；9级，病斑面积占整张叶面积的51%及以上。

叶片病情指数=[∑（各级病叶数×相对级数值）/（调查总叶数×最高相对级数值）]×100；

病害防治效果/%=[（对照区病情指数值-处理区病情指数值）/对照区病情指数值]×100。

抗性水平[17]：用叶片病情指数（DI）评价抗性水平，将槟榔芋对疫病抗性级别划分6个类型：DI=0为免疫（I）；0＜DI≤20为高抗（HR）；20＜DI≤40为抗病（R）；40＜DI≤60为中抗（MR）；60＜DI≤80为感病（S）；DI＞80为高感（HS）。

1.2.4　土壤微生物族群菌数测定　称3 g土样放入盛有27 mL无菌水的锥形瓶中，振荡，摇匀，制成$10^{-1}$ g·$mL^{-1}$的稀释液，再依次稀释成$10^{-4}$、$10^{-5}$、$10^{-6}$、$10^{-7}$ g·$mL^{-1}$ 4种梯度的稀释液，分别取100 μL均匀涂抹在无菌培养基平板上，同时每个梯度重复设置3个培养皿，于25 ℃恒温箱中培养5 d，每天观察生长情况。

本试验使用以下7种培养基[18-19]，分别用于测定土壤中可培养的总微生物、总真菌、总溶磷菌、总固氮菌、总纤维素分解菌、总果胶质分解菌和总几丁质分解菌的活菌数量。

（1）总微生物活菌数：以营养琼脂培养基（NA）（青岛海博）平板计数法测定。

（2）总真菌活菌数：以Rose Bengal培养基（RB）（青岛海博）平板计数法测定。

（3）总溶磷菌活菌数：以Phosphate-solubilizing microbes培养基（PVK）平板计数法测定。配方：葡萄糖10.0 g，$Ca_3(PO_4)_2$ 5.0 g，$(NH_4)_2SO_4$ 1.0 g，KCl 0.2 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 g，NaCl 0.2 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.002 g和$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002 g，琼脂15.0 g，蒸馏水1000 mL，pH 6.5 ± 0.1。

（4）总固氮菌活菌数：以Winograsky’s无氮培养基平板计数法测定。配方：葡萄糖10.0 g，$CaCO_3$ 0.1 g，$KH_2PO_4$ 0.25 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.125 g，NaCl 0.125 g，$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.005 g，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.005 g，琼脂15.0 g，蒸馏水1000 mL，pH 7.0 ± 0.1。

（5）总纤维素分解菌活菌数：以羧甲基纤维素钠为唯一碳源的改良式Mandels-Reese培养基（CMC-Na）平板计数法测定。配方：CMC-Na 10.0 g，尿素0.3 g，$(NH_4)_2SO_4$ 2.4 g，$KH_2PO_4$ 2.0 g，$CaCl_2$ 0.3 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3 g，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.014 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.016 g，$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.002 g，琼脂15.0 g，蒸馏水1000 mL，pH 7.5± 0.1。

（6）总果胶分解菌活菌数：以果胶质为唯一碳源的改良式Mandels-Reese培养基平板计数法测定。配方：果胶10.0 g，尿素0.3 g，$(NH_4)_2SO_4$ 2.4 g，$KH_2PO_4$ 2.0 g，$CaCl_2$ 0.3 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3 g，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.014 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.016 g，$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.002 g，琼脂15.0 g，蒸馏水1000 mL，pH 7.5 ± 0.1。

（7）总几丁质分解菌活菌数：以几丁质为唯一碳源的改良式Mandels-Reese培养基平板计数法测

定。配方：几丁质 10.0 g，尿素 0.3 g，$(NH_4)_2SO_4$ 2.4 g，$KH_2PO_4$ 2.0 g，$CaCl_2$ 0.3 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3 g，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.014 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.016 g，$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.002 g，琼脂 15.0 g，蒸馏水 1000 mL，pH 7.0 ± 0.1。

### 1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 软件进行数据整理；采用 SAS 9.1 软件进行数据分析；采用 Duncan's 法进行多重比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 生防菌株的离体筛选

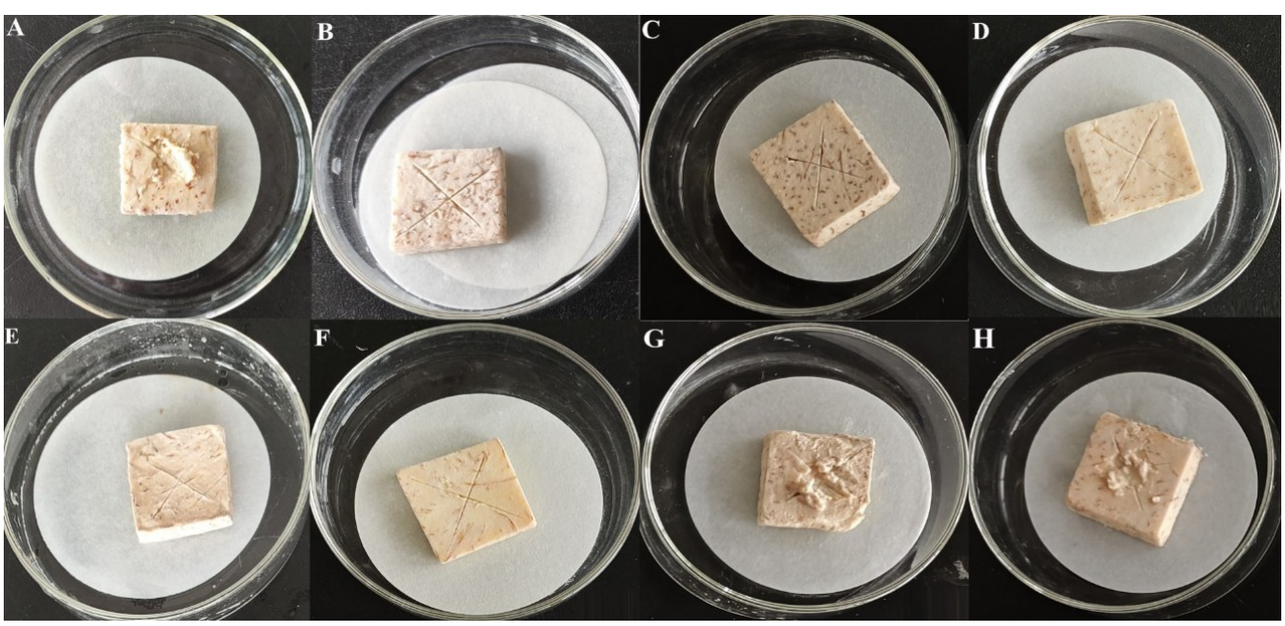
7 d 后组织块发病情况如图 1 所示，只接种病原菌的槟榔芋组织块（$CK^+$）完全腐烂并有臭味，无菌水组没有出现腐烂，只接种待测菌株 C202201、C202202、C202203 的组织块均没有出现腐烂；接种待测菌和病原菌混合菌液的组织块中，接种 C202201 菌株混合液的组织块没有腐烂，接种 C202202 菌株混合液和 C202203 菌株混合液的组织块上层腐烂并略有臭味，C202201 菌株对槟榔芋疫病的生防效果较好，可进行下一步试验。

### 2.2 菌株分子鉴定

对有生防效果的 C202201 菌株提取 DNA 进行扩增，得到 1 条清晰明亮条带，分子质量约 1500 bp，与通用引物扩增的片段大小预期一致（图 2-A）。对 C202201 菌株 DNA 进行全基因组测序，测序结果显示序列大小为 1466 bp。将序列上传至 NCBI，进行 DNAMAN 序列分析和 BLAST 对比，并用 MEGA 5 构建系统发育树（图 2-B），结果显示 C202201 菌株与副炭疽芽孢杆菌（*Bacillus paranthracis*）的相似性达 100%，在基于 16S rRNA 系统发育树上，两者聚于同一分支。结合全基因组测序结果，鉴定 C202201 菌株为副炭疽芽孢杆菌（*B. paranthracis*），测序组装后得到的基因组大小为 5 501 503 bp，GC 含量为 35.21%，编码基因总长度为 4 682 508 bp，编码基因平均长度为 826 bp，编码区总长度占全基因组的 85.11%，共预测出 5667 个基因，其中有蛋白质编码基因 5569 个，rRNA 基因 12 个，tRNA 基因 85 个，tmRNA 基因 1 个（GenBank: JBHOQF000000000.1）。

### 2.3 田间防效试验结果

由表 1 可知，CK 种植槟榔芋 60 株，收获 51 株健康球茎，球茎收获率为 85.00%，发病率为 15.00%；喷施 C202201 菌剂处理种植 60 株，收获 56 株健康植株球茎，球茎收获率为 93.33%，发病率为 6.67%，较 CK 收获率增加了 8.33 百分点。CK 槟榔芋球茎长度、直径、质量分别为 23.60 cm、11.07 cm、1.38 kg，喷施 C202201 菌剂处理球茎长




注：A. $CK^+$；B. C202201；C. C202202；D. C202203；E. 无菌水；F. C202201 混合液；G. C202202 混合液；H. C202203 混合液。

Note: A. $CK^+$; B. C202201; C. C202202; D. C202203; E. Sterile water; F. C202201 mixed solution; G. C202202 mixed solution; H. C202203 mixed solution.

**图 1 生防菌株离体筛选**

**Fig. 1 *In vitro* screening of biocontrol strains**

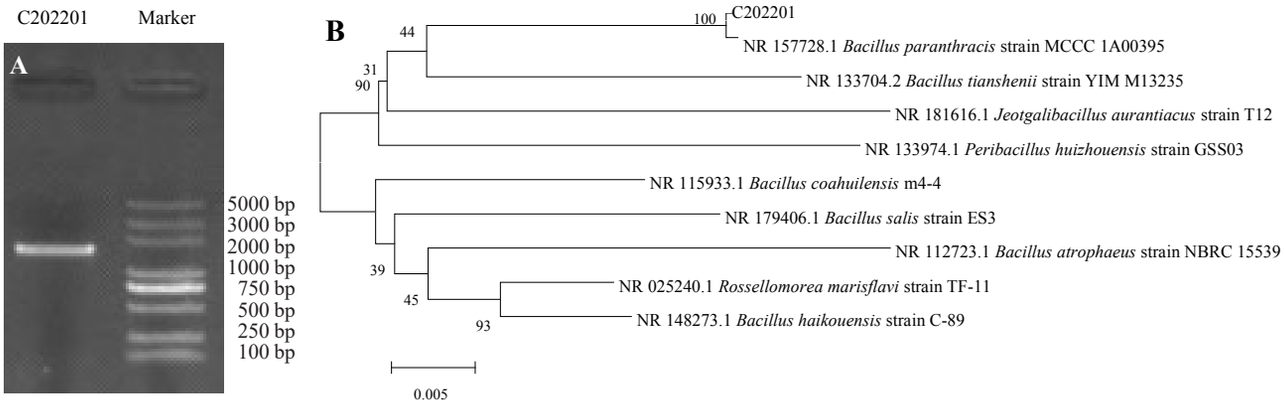



**图 2　C202201 菌株 DNA PCR 电泳图（A）和系统发育树（B）**

**Fig. 2　DNA PCR electrophoretogram（A）and phylogenetic tree of strain C202201（B）**

**表 1　田间防效试验分析**

**Table 1　Analysis of field efficacy test**

| 处理 Treatment | 种植株数 Planting quantity | 收获株数 Harvest quantity | 收获率 Harvest rate/% | 发病率 Incidence rate/% | 球茎长度 Corm length/cm | 球茎直径 Corm diameter/cm | 质量 Mass/kg | 叶片病情指数 Leaf disease index | 叶片病害防治效果 Control effect of leaf diseases/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CK | 60 | 51 | 85.00 | 15.00 | 23.60±1.35 | 11.07±0.22 | 1.38±0.09 | 45.59±0.83* | |
| C202201 | 60 | 56 | 93.33 | 6.67 | 23.92±0.62 | 10.88±0.21 | 1.38±0.05 | 19.19±1.22 | 57.91 |

注：*表示同列数据在 0.05 水平上差异显著。

Note：*represents the data in the same column indicate significant difference at 0.05 level.

度、直径、质量分别为 23.92 cm、10.88 cm、1.38 kg，与 CK 无显著差异。CK 叶片病情指数为 45.59，喷施 C202201 菌剂处理的叶片病情指数为 19.19，根据抗性水平分类已达到高抗病水平，较 CK 显著降低了 57.91%。以上结果说明，施用 C202201 菌剂对槟榔芋球茎生长指标（长度、直径、质量）无显著影响，但可显著降低叶片病情指数，降低球茎发病率，提高槟榔芋收获率。

### 2.4　土壤微生物族群菌数测定

2.4.1　*第 1 次土壤微生物族群菌数检测结果分析*　土壤喷施菌剂前进行第 1 次土壤微生物族群菌数检测，结果如表 2 所示，喷施 C202201 菌剂处理与 CK 表层土壤所含的总活菌数、总真菌数、总溶磷菌数、总纤维素分解菌数、总果胶质分解菌数、总固氮菌数、总几丁质分解菌数和总放线菌数均无显著差异，深层土壤微生物族群菌数之间也均无显著差异。其中，两处理表层和深层土壤中总几丁质分解菌和总放线菌数量较其他菌群少很多。

2.4.2　*第 2 次土壤微生物族群菌数检测结果分析*　在种植中期进行第 2 次土壤微生物族群菌数检测，结果如表 3 所示，表层土壤中，喷施 C202201 菌剂处理总活菌数显著低于 CK，但总真菌数、总溶磷菌数、总几丁质分解菌数、总放线菌数均显著高于 CK，总几丁质分解菌数较 CK 显著提高了 43.03%。深层土壤中，喷施 C202201 菌剂处理总真菌数、总几丁质分解菌数、总放线菌数均显著高于 CK，总几丁质分解菌较 CK 显著提高了 45.81%。说明施用 C202201 菌剂可提高土壤中总几丁质分解菌的数量。

2.4.3　*第 3 次土壤微生物族群菌数检测结果分析*　在种植后期进行第 3 次土壤微生物族群菌数检测，结果如表 4 所示，表层土壤中，喷施 C202201 菌剂处理总几丁质分解菌数和总放线菌数均显著高于 CK，总几丁质分解菌数较 CK 显著提高了 86.02%。深层土壤中，喷施 C202201 菌剂处理总溶磷菌数、总几丁质分解菌数和总放线菌数均显著高于 CK，总几丁质分解菌数较 CK 显著提高了 51.05%。

经第 2 次和第 3 次土壤微生物检测发现，喷施 C202201 菌剂处理的几丁质分解菌数量均显著高于 CK，说明 C202201 菌剂施入土壤后几丁质分解菌是可以稳定存在的。长期施用 C202201 菌剂后改变了土壤微生物族群结构，可减少病害的发生。

表 2 第 1 次土壤微生物族群菌数检测

Table 2 First soil microbial population detection （$10^7$ CFU·mL$^{-1}$）

| 土层类别 Soil layer category | 总活菌数 Total number of viable becteria | 总真菌数 Total number of fungal | 总溶磷菌数 Total number of phosphorus-solubilizing becteria | 总纤维素分解菌数 Total number of cellulose-degrading becteria | 总果胶分解菌数 Total number of pectin-degrading becteria | 总固氮菌数 Total number of nitrogen-fixing becteria | 总几丁质分解菌数 Total number of chitin-degrading becteria | 总放线菌数 Total number of actinomycetes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CK 表层 CK surface layer | 51.60±1.40 a | 1.62±0.30 a | 8.10±0.90 a | 16.80±1.80 a | 25.10±2.70 a | 4.90±1.00 a | 0.12±0.03 a | 0.77±0.16 a |
| C202201 表层 C202201 surface layer | 49.20±2.70 a | 0.83±0.18 a | 9.80±0.70 a | 17.40±2.10 a | 25.60±5.10 a | 7.60±1.70 a | 0.11±0.03 a | 0.29±0.05 a |
| CK 深层 CK deep layer | 50.70±2.60 A | 1.06±0.22 A | 17.70±1.60 A | 18.80±0.10 A | 26.70±3.10 A | 5.80±1.40 A | 0.12±0.03 A | 0.12±0.03 A |
| C202201 深层 C202201 deep layer | 47.40±1.90 A | 1.18±0.16 A | 16.70±3.20 A | 17.90±1.30 A | 27.90±4.10 A | 7.10±0.80 A | 0.08±0.03 A | 0.21±0.07 A |

注：同列不同小写字母表示表层差异显著（$P$<0.05），同列不同大写字母表示深层差异显著（$P$<0.05）。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference（$P$<0.05）in the surface soil, while different uppercase letters in the same column indicate significant difference（$P$<0.05）in the deep soil. The same below.

表 3 第 2 次土壤微生物族群菌数检测

Table 3 Second soil microbial population detection （$10^7$ CFU·mL$^{-1}$）

| 土层类别 Soil layer category | 总活菌数 Total number of viable becteria | 总真菌数 Total number of fungal | 总溶磷菌数 Total number of phosphorus-solubilizing becteria | 总纤维素分解菌数 Total number of cellulose-degrading becteria | 总果胶分解菌数 Total number of pectin-degrading becteria | 总固氮菌数 Total number of nitrogen-fixing becteria | 总几丁质分解菌数 Total number of chitin-degrading becteria | 总放线菌数 Total number of actinomycetes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CK 表层 CK surface layer | 50.20±0.70 a | 0.29±0.07 b | 5.30±0.20 b | 24.00±1.40 a | 6.50±1.00 a | 10.70±1.90 a | 16.50±1.20 b | 0.65±0.13 b |
| C202201 表层 C202201 surface layer | 44.20±2.70 b | 0.79±0.13 a | 9.20±0.50 a | 20.10±4.60 a | 9.10±2.60 a | 13.10±0.40 a | 23.60±1.40 a | 9.71±1.06 a |
| CK 深层 CK deep layer | 47.50±4.00 A | 0.23±0.08 B | 21.70±2.40 A | 17.10±2.10 A | 19.20±6.30 A | 18.80±4.70 A | 15.50±0.60 B | 3.98±0.45 B |
| C202201 深层 C202201 deep layer | 47.70±1.10 A | 1.95±0.59 A | 18.10±1.10 A | 14.90±1.30 A | 15.20±3.20 A | 18.40±4.80 A | 22.60±2.40 A | 9.61±0.77 A |

表 4 第 3 次土壤微生物族群菌数检测

Table 4 Third soil microbial population detection （$10^7$ CFU·mL$^{-1}$）

| 土层类别 Soil layer category | 总活菌数 Total number of viable becteria | 总真菌数 Total number of fungal | 总溶磷菌数 Total number of phosphorus-solubilizing becteria | 总纤维素分解菌数 Total number of cellulose-degrading becteria | 总果胶分解菌数 Total number of pectin-degrading becteria | 总固氮菌数 Total number of nitrogen-fixing becteria | 总几丁质分解菌数 Total number of chitin-degrading becteria | 总放线菌数 Total number of actinomycetes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CK 表层 CK surface layer | 53.60±0.90 a | 2.27±0.91 a | 19.50±3.80 a | 15.80±2.30 a | 19.10±1.90 a | 12.00±2.50 a | 9.30±1.60 b | 0.98±0.34 b |
| C202201 表层 C202201 surface layer | 48.40±5.30 a | 1.35±0.25 a | 21.60±1.70 a | 17.00±0.60 a | 21.40±4.70 a | 14.10±2.20 a | 17.30±0.40 a | 3.70±0.88 a |
| CK 深层 CK deep layer | 54.00±1.00 A | 1.76±0.46 A | 17.30±0.40 B | 22.10±3.50 A | 17.60±0.40 A | 19.50±3.90 A | 14.30±2.10 B | 1.00±0.14 B |
| C202201 深层 C202201 deep layer | 52.80±0.30 A | 1.36±0.18 B | 19.90±0.30 A | 22.00±1.40 A | 20.30±3.50 A | 16.20±1.30 A | 21.60±1.40 A | 4.52±0.93 A |

## 3　讨论与结论

槟榔芋疫病在福建省范围内发病严重，严重威胁槟榔芋的产量和品质，筛选可抑制病原菌生长或减轻植物发病程度的生防微生物，是生物防治研究的重要方向。本试验对实验室保存的3株可以分解几丁质的菌株进行离体筛选试验，筛选出了对槟榔芋疫病有防治效果的菌株C202201，对此菌株进行分子鉴定，经全基因组测序鉴定该菌株为副炭疽芽孢杆菌。用菌株C202201制作生防菌剂进行田间喷施试验，发现施用C202201菌剂的槟榔芋的球茎长度、直径、质量与CK均无显著差异，但降低了槟榔芋球茎发病率，提高了球茎的收获率，同时显著降低了叶片的病情指数，提高了叶片病害防治效果。施用生防菌剂前的第1次土壤检测结果是两处理土壤所含的总活菌数、总真菌数、总溶磷菌数、总固氮菌数、总纤维素分解菌、总果胶质分解菌、总几丁质分解菌和总放线菌菌数均无显著差异，施用生防菌剂后的第2次和第3次土壤检测发现，施用C202201菌剂处理总几丁质分解菌数和总放线菌数均较CK显著提高，说明施用生防菌剂C202201后土壤微生物族群结构发生了变化，几丁质分解菌数量均提高了43%以上，可使病原菌的相对丰度降低，减少病害的发生；另外放线菌的数量也较CK显著提高，土壤中几丁质分解菌和放线菌可能存在互助关联。几丁质是真菌细胞壁和甲壳类昆虫甲壳的组成部分，几丁质分解菌可分解土壤中甲壳类昆虫和真菌的细胞壁[14]，形成新的根际微生物区系平衡，还可增加土壤养分，促进植物生长，增强生物防治效果，这种多功能性的微生物作为生防菌是值得关注的。芽孢杆菌是植物生物防治的“主力军”之一，防治魔芋[10]、小麦[20]、橡胶树[21]等植物病害的生防菌中很多都是芽孢杆菌，说明筛选出的菌株C202201作为生防菌株具有一定的开发潜力。副炭疽芽孢杆菌是芽孢杆菌属的微生物，原产地太平洋（中国分离），国家菌种资源平台报道其用途为无机污染物抗性菌[22]。近年来偶见副炭疽芽孢杆菌的报道，李静[23]筛选到的*B.paranthracis* Ba4对红小豆田间的胞囊线虫的抑制率达60%，且菌株Ba4处理后的红小豆株高、主根长、地上部鲜质量、地下部鲜质量都有增加，促生效果明显；盛定红[24]从植物根际土壤中筛选的解磷细菌*B.paranthracis* TH会分泌有机酸将难溶性磷转换为可溶性磷，用它处理煤矸石作肥料可促进烟草生长，提高土壤肥效；麦日艳古·亚生等[25]在分析传统自制乳制品中乳酸菌的多样性时，发现分离出的38株菌株中有1株*B. paranthracis* WSM17-4对大肠杆菌有很强的抑制效果；杨军伟等[26]发现了1种兼具烟碱降解和促植物生长的*B. paranthracis* G2-13并申请了专利（CN113913341）。虽然目前没有关于副炭疽芽孢杆菌菌株防治芋类植物病害的报道，但综上所述副炭疽芽孢杆菌是一类应用广泛且具有应用前景的生防菌，有助于槟榔芋疫病的无害化防治目标的实现。

生防菌株C202201防治疫病可能是很多作用机制互作结果，或是直接杀死病原菌、或是分泌物和次生代谢物抑制病原菌、亦或是生防菌诱导植株产生抗性等，在本研究中生防菌株C202201的具体作用机制有待进一步研究。同时生防微生物为活菌制剂，大面积田间使用时，受当地环境（温湿度、pH）、灌溉及土壤中微生物群类等外界因素影响，C202201菌株防效定殖能力会有所变化，下一步应对其抑制机制、长期防治效果、定殖规律做进一步研究。

综上所述，本试验筛选的生防菌株C202201降低了槟榔芋球茎发病率，提高了收获率，同时显著降低了叶片病情指数，达到高抗病水平，说明菌株C202201对槟榔芋疫病有好的防治效果，为推广生防菌株、减少槟榔芋农药使用和推行绿色种植奠定了基础。

### 参考文献

[1] 马静.福鼎槟榔芋特征特性与高产栽培技术[J].农业科技通讯，2006(1)：35.
[2] 袁素华，林挺兴.宁德市福鼎槟榔芋生产现状及对策措施[J].东南园艺，2013，1(2)：58-59.
[3] 崔永.芋疫病研究进展[J].中国植保导刊，2020，40(6)：22-26.
[4] 许长敏.槟榔芋常见病虫害发生与防治[J].现代农村科技，2012(24)：29-30.
[5] 李迪，王迪轩，蔡再华.芋疫病的显微识别与综合防治[J].植物医生，2019，32(2)：43-46.
[6] 黄丽丹，陈玉惠.生防菌及相关生物技术在植物病害防治中的应用[J].西南林学院学报，2006，26(1)：85-89.
[7] 高芬，闫欢，王梦亮，等.土壤微生物菌群变化对土传病害的影响及生物调控[J].中国农学通报，2020，36(13)：160-164.
[8] 郭巨先，李桂花，符梅，等.微生物有机肥对芋头产量品质性状及土壤微生物类群的影响[J].中国农学通报，2023，39(3)：20-27.
[9] 唐汉萌.微生物菌剂和生物炭对半夏产量品质及土壤微生态的影响[D].武汉：华中农业大学，2019.
[10] 周丽洪，李淼，姬广海，等.防治软腐病的魔芋内生细菌的筛选与鉴定[J].云南农业大学学报.2015，30(4)：547-553.
[11] 孙莉，易图永，粟智平，等.黄瓜疫霉菌生防菌的筛选及鉴定[J].

中国蔬菜.2015(6):23-27.
[12] 任建军,师光禄,高美娟,等.植物病原真菌拮抗细菌的筛选鉴定及活性成分分析[J].东北林业大学学报,2014,42(3):126-132.
[13] LV C Y,GU T Y,MA R,et al.Biochemical characterization of a GH19 chitinase from *Streptomyces alfalfae* and its applications in crystalline chitin conversion and biocontrol[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2021,16(7):193-201.
[14] TRAN D M,PHAM P T,VU B T,et al.Data on annotation and analysis of genome sequence of *Paenibacillus elgii* YSY-1.2,a promising chitinase-producing,plant-growth-promoting,and biocontrol agent[J].Data in Brief,2024,54:110285.
[15] 马赛买,李同源,马燕军,等.几丁质酶在农作物病虫害生物防治中的研究进展[J].生物技术通报,2023,39(10):29-40.
[16] 叶泉清,钟佳玲,陈媚,等.槟榔芋疫霉菌生物学特性、致病力测定及田间防治药剂筛选[J].南方农业学报,2016,47(4):588-593.
[17] 湖北省农业农村厅.芋疫病抗性室内离体接种鉴定技术规程:DB42/T 2106—2023[S].湖北省市场监督管理局,2023.
[18] 张政雄.耐高温溶磷微生物分离及多功能性生物肥料制作[D].中国台湾:台湾大学,2008.
[19] CHANG C H,YANG S S.Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation[J]. Bioresource Technology,2009,100(4):1648-1658.
[20] CHANDRA P,KHOBRA R,SUNDHA P,et al.*Bacillus subtilis* strain BS87 as a biocontrol agent against spot blotch disease:Effect on growth,nutrient status,and antioxidant enzymes in wheat[J].Acta Physiologiae Plantarum,2024,46(3):35.
[21] WANG M Y,ZHANG Y K,CAI H B,et al.A new biocontrol agent *Bacillus velezensis* SF334 against rubber tree fungal leaf anthracnose and its genome analysis of versatile plant probiotic traits[J].Journal of Fungi,2024,10(2):158.
[22] 国家菌种资源库.副炭疽芽孢杆菌[DB].(2023-11-20)[2024-04-30]. http://www.nimr.org.cn/Column.asp?Column_ID=334997597&model=product_detail&P_ID=1704994
[23] 李静.大豆胞囊线虫对红小豆的致病性及生防菌株筛选[D].黑龙江大庆:黑龙江八一农垦大学,2021.
[24] 盛定红.微生物解磷细菌筛选及解离煤矸石机理研究[D].贵州贵阳:贵州大学,2023.
[25] 麦日艳古·亚生,李明源,王继莲,等.塔什库尔干地区传统手工乳制品中乳酸菌多样性及其功能分析[J].微生物学通报,2024,51(3):950-969.
[26] 杨军伟,田显瑞,曾宗梁,等.一种兼具烟碱降解和促植物生长的副炭疽芽孢杆菌 G2-13 及其应用:CN113913341B[P].2023-01-20.