

朱杰, 郑利乐, 钟鸣鸾, 等. 洋葱伯克霍尔德菌 GD1-1 的分离鉴定及对香蕉枯萎病的生防潜力 [J]. 华南农业大学学报, 2025, 46(1): 72-80.
ZHU Jie, ZHENG Lile, ZHONG Mingluan, et al. Isolation and identification of *Burkholderia contaminans* strain GD1-1 and its bio-control potential against Fusarium wilt of banana[J]. Journal of South China Agricultural University, 2025, 46(1): 72-80.

洋葱伯克霍尔德菌 GD1-1 的分离鉴定及对香蕉枯萎病的生防潜力

朱杰^{1†}, 郑利乐^{2†}, 钟鸣鸾¹, 童灵洁¹, 李洁玲¹, 李华平¹, 李云锋¹, 聂燕芳²

(1 广东省微生物信号与作物病害重点实验室/华南农业大学 植物保护学院, 广东 广州 510642;

2 华南农业大学 材料与能源学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】从香蕉根际土壤中筛选出对香蕉枯萎病具有良好防治效果的生防菌。【方法】采用对峙培养法, 从健康香蕉根际土壤中筛选对尖孢镰刀菌古巴专化型热带 4 号小种 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4, Foc TR4) 具有拮抗作用的生防菌株, 根据菌落形态和生理生化特征并利用分子生物学技术对生防菌株进行鉴定。通过显微观察分析该菌株对 Foc TR4 菌丝生长和分生孢子萌发的影响, 通过对峙培养法分析其抑菌谱, 通过盆栽试验分析该菌株对香蕉枯萎病的防治效果和促生潜力。【结果】筛选出了 1 株对 Foc TR4 具有显著抑制作用的拮抗菌 GD1-1, 鉴定为洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans*。菌株 GD1-1 对 Foc TR4 菌丝生长的抑制率为 72.5%, 对分生孢子萌发的抑制率为 99.8%, 并可以导致 Foc TR4 菌丝膨大变粗、畸形等。菌株 GD1-1 具有解钾、解磷、产蛋白酶和产铁载体的能力, 对 10 种植物病原真菌均具有较好的抑制效果, 表现出广谱抑菌作用。盆栽试验结果表明, 菌株 GD1-1 对香蕉枯萎病的防效为 55.6%, 且对香蕉植株具有良好的促生作用。【结论】洋葱伯克霍尔德菌 GD1-1 对 Foc TR4 具有明显的抑制作用, 对香蕉枯萎病具有良好的防治效果, 对香蕉植株具有促生作用。作为优质的生防菌源, 菌株 GD1-1 具有一定的开发应用潜力。

关键词: 香蕉枯萎病; 尖孢镰刀菌古巴专化型; 洋葱伯克霍尔德菌; 拮抗作用; 生物防治

中图分类号: S436.68

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2025)01-0072-09

Isolation and identification of *Burkholderia contaminans* strain GD1-1 and its bio-control potential against *Fusarium* wilt of banana

ZHU Jie^{1†}, ZHENG Lile^{2†}, ZHONG Mingluan¹, TONG Lingjie¹, LI Jieliang¹, LI Huaping¹, LI Yunfeng¹, NIE Yanfang²

(1 Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control/ College of Plant Protection,

South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 College of Materials and

Energy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To isolate and screen antagonistic bacteria against Fusarium wilt disease from healthy banana rhizosphere soil. 【Methods】The bacterial strain antagonizing *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

收稿日期: 2024-04-26 网络首发时间: 2024-08-08 11:46:40

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20240808.0955.002>

作者简介: 朱杰, 博士研究生, 主要从事植物病原真菌学研究, E-mail: 863238253@qq.com; 郑利乐, 硕士研究生, 主要从事植物病原真菌学研究, E-mail: 875399339@qq.com; †表示同等贡献; 通信作者: 李云锋, 教授, 博士, 主要从事病原真菌与植物互作机制研究, E-mail: yunfengli@scau.edu.cn; 聂燕芳, 副教授, 博士, 主要从事病原真菌与植物互作机制研究, E-mail: yanfangnie@scau.edu.cn

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金 (2022A1515140114); 国家香蕉产业技术体系建设专项 (CARS-31); 国家自然科学基金 (31600663); 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目 (2023KJ134)

tropical race 4 (Foc TR4) was screened from banana rhizosphere soil using the plate confrontational culture method. The antagonistic strain was identified by colony morphology, physiological and biochemical characteristics, and phylogenetic analysis of multiple genes including 16S rDNA, *GyrB*, *AtpD* and *GltB*. The effect of this strain on Foc TR4 hyphae growth and spore germination was analyzed by microscopic observation, the antifungi spectrum was determined by the plate confrontation culture method, the biological control and growth-promoting efficiency were tested by banana plant inoculation assay in greenhouse. 【Result】An antagonistic strain of GD1-1 was screened with the inhibition rate of 72.5% on Foc TR4 hyphal growth and the inhibition rate of 99.8% on Foc TR4 spore germination, which was identified as *Burkholderia contaminans*. The strain GD1-1 could cause hyphal distortion, enlargement and malformation of Foc TR4 under microscope observation. The strain GD1-1 possessed the broad-spectrum antibacterial activity with a good inhibitory effect on the selected ten phytopathogenic fungi. The results of pot inoculation experiment showed that the strain GD1-1 successfully promoted the growth of banana seedlings and suppressed the incidence of banana Fusarium wilt with the biocontrol efficacy of 55.6%. 【Conclusion】The strain GD1-1 has the significant inhibitory effect on Foc TR4 with a good control effect on banana wilt disease, and promotes the growth of banana plant. As a high-quality source of biocontrol bacteria, the strain GD1-1 has certain potential for development and application.

Key words: Fusarium wilt of banana; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; *Burkholderia contaminans*; Antifungal effect; Biological control

中国是世界第二大香蕉 *Musa nana* Lour. 生产国, 也是世界第一大香蕉消费国^[1], 香蕉产业已成为我国热带地区乡村振兴的重要支柱产业。香蕉枯萎病是香蕉生产上的一种毁灭性土传病害, 其病原菌为尖孢镰刀菌古巴专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)。感染枯萎病的香蕉植株会出现叶片黄化、枯萎, 球茎和维管束组织变褐坏死等症状, 病情严重的会整株死亡。根据对香蕉品种致病力的差异, Foc 可分为 3 个生理小种, 其中以 4 号生理小种 (Foc4) 危害最为严重; 根据病害发生的地理区域等因素, Foc4 可分为热带和亚热带 4 号生理小种 (Foc TR4 和 Foc STR4); 在我国主要以 Foc TR4 为主, Foc TR4 可导致所有的香蕉栽培品种发病^[2-4]。香蕉枯萎病是一种维管束系统性病害, 其病原菌以不同形式存在于土壤中, 因此化学农药对其防治效果并不理想。筛选拮抗菌并开展其对香蕉枯萎病菌的抑菌机理研究, 是当前香蕉枯萎病防控研究的热点^[5]。近年已报道了一些对 Foc 具有良好抑制作用的拮抗菌。周登博等^[6]从蕉园土壤中分离得到了 1 株拮抗菌 T3-G-59, 被鉴定为多产色链霉菌 *Streptomyces polychromogenes*, 其对 Foc TR4 菌丝生长和分生孢子萌发的抑制率分别为 86.4% 和 81.0%。黄建凤等^[7]分离获得 2 株拮抗细菌 H-2 和 H-7, 分别被鉴定为枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 和解淀粉芽孢杆菌 *B. amyloliquefens*, 对香蕉枯萎病的防效分别为 59.1% 和 53.0%。李锦等^[8]从香蕉

植株的球茎和假茎中分离了 2 株内生菌, 分别被鉴定为贝莱斯芽孢杆菌 *B. velezensis* 和暹罗芽孢杆菌 *B. siamensis*, 对 Foc TR4 的抑菌率分别为 64.6% 和 60.9%。伯克霍尔德菌 *Burkholderia* sp. 是一类常见的植物根际防病促生菌, 已报道的至少有 25 个种, 洋葱伯克霍尔德菌 *B. contaminans* 是其中的一类重要生防菌。在已开展的洋葱伯克霍尔德菌研究中, 大多是利用该菌进行瓜果采后病害的防治^[9]。例如, Shen 等^[10]从健康葡萄土壤中分离获得 1 株洋葱伯克霍尔德菌 B-1, 其对葡萄灰霉病 *Botrytis cinerea* 的防治效果为 51.2%。关于洋葱伯克霍尔德菌对香蕉枯萎病防效的研究鲜见报道。本文以健康香蕉根际土壤为材料, 从中分离得到 1 株对 Foc TR4 具有良好拮抗作用的生防细菌 GD1-1; 通过菌落形态、生理生化特征和多基因序列分析等, 对生防菌 GD1-1 进行了鉴定; 通过抑菌谱分析、盆栽防效试验等对其生防潜力进行了评价, 以期对香蕉枯萎病防控提供优质的生防菌资源, 也为进一步研发该类生物菌肥和生物菌剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用香蕉枯萎病菌热带 4 号生理小种 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4, Foc TR4) 菌株 DZ1 和 1 号生理小种 (Foc1) 菌株 C2 为华南农业大学植物病理生理学研究室保存, 所用巴

西蕉幼苗购自中国科学院华南植物园。健康香蕉根际土壤采自广东省博罗县柏塘镇的一个健康蕉园,栽培品种为‘巴西蕉’*Musa acuminata* AAA Cavendish cv. Brazilian。

1.2 方法

1.2.1 拮抗细菌的分离筛选 采用稀释涂布法分离拮抗菌,将土壤悬浮液涂布于 NA 培养基 (每升培养基中含牛肉膏 5 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g, pH 7.2~7.4), 28 ℃ 培养 2 d 后利用连续划线培养法获取单菌落。采用对峙培养法,将 Foc TR4 接种至 PDA 培养基,在 2.5 cm 处接种拮抗细菌, 28 ℃ 培养 5~7 d; 以仅接种 Foc TR4 作为对照。抑菌率计算公式为:

抑菌率 = $\frac{\text{对照组直径} - \text{处理组直径}}{\text{对照组直径}} \times 100\%$ 。

1.2.2 拮抗菌 GD1-1 的鉴定 1) 形态学鉴定: 将拮抗菌落涂布于 NA 培养基, 25 ℃ 培养 2 d, 观察菌落大小、颜色、表面特征等, 并用高分辨率场发射扫描电子显微镜 (FEI Verios 460) 观察其超显微结构。2) 生理生化鉴定: 参照《常见细菌系统鉴定手册》^[11] 测定拮抗菌的生理生化特征。3) 分子生物学鉴定: 以拮抗菌基因组 DNA 为模板, 以 27-F/1 492-R、*GyrB*-F/ *GyrB*-R、*AtpD*-F/*AtpD*-R、*GltB*-F/ *GltB*-R 为引物 (表 1), 分别扩增 16S rDNA、*GyrB*、*AtpD* 和 *GltB* 基因序列; 将 PCR 扩增产物进行测序, 测序结果分别在 NCBI 数据库中进行比对, 用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建系统发育树。

表 1 本文所用引物
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	参考 文献 Reference
27-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	[12]
1492-R	GGTTACCTTGTTACGACTT	
<i>GyrB</i> -F	ACCGGTCTGCAYCACCTCGT	[12]
<i>GyrB</i> -R	YTCGTTGWARCTGTCGTTCCACTGC	
<i>AtpD</i> -F	ATGAGTACTRCTGCTTTGGTAGAAGG	[12]
<i>AtpD</i> -R	CGTGAAACGGTAGATGTTGTCTG	
<i>GltB</i> -F	CTGCATCATGATGCGCAAGTG	[13]
<i>GltB</i> -R	CTTGCCGCGGAARTCGTTGG	

1.2.3 拮抗菌 GD1-1 生长曲线的建立 将拮抗菌 GD1-1 菌悬液 (终浓度为 1×10^6 CFU/mL) 接种于 NA 液体培养基, 28 ℃、180 r/min 振荡培养, 在接种不同时间后取样, 利用稀释平板法测定其活菌数^[14]。

1.2.4 拮抗菌 GD1-1 对 Foc TR4 的抑制作用

1) 对菌丝生长的影响: 将拮抗菌 GD1-1 与 Foc TR4 于 PDA 培养基中进行对峙培养, 6 d 后取对峙培养边缘的 Foc TR4 菌丝进行显微观察。2) 对孢子萌发的影响: 将拮抗菌 GD1-1 接种于 NA 液体培养基, 28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h; 取 1 mL 接种于 100 mL 的 NA 液体培养基, 振荡培养 24 h, 6 000 r/min 离心 10 min, 将上清液用 0.22 μm 细菌过滤器过滤, 得到拮抗菌的发酵上清液; 将 2×10^6 mL⁻¹ Foc TR4 分生孢子悬浮液与等体积的 GD1-1 发酵上清液混匀, 置于 96 孔板, 28 ℃ 放置 7 h 后观察分生孢子萌发情况, 每次观察至少 900 个孢子; 试验重复 3 次。

1.2.5 拮抗菌 GD1-1 的抑菌谱分析 采用对峙平板法, 对菌株 GD1-1 的抑菌谱进行分析, 所用病原菌为: 尖孢镰刀菌番茄专化型 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*(Fol)、尖孢镰刀菌冬瓜专化型 *F. oxysporum* f. sp. *benincasae*(Fob)、尖孢镰刀菌苦瓜专化型 *F. oxysporum* f. sp. *momordicae*(Fom)、腐皮镰刀菌 *F. solani*、变红镰刀菌 *F. incarnatum*、禾谷镰刀菌 *F. graminearum*、链格孢菌 *Alternaria alternata*、多主棒孢菌 *Corynespora cassiicola* 和香蕉炭疽病菌 *Colletotrichum musae*, 上述病菌由华南农业大学舒灿伟博士和仲恺农业工程学院董章勇博士惠赠。每次试验每个处理至少设置 3 个培养皿, 试验重复 3 次。

1.2.6 拮抗菌 GD1-1 对香蕉枯萎病的防效分析 将 3 叶期的巴西蕉幼苗移栽至含灭菌营养土的花盆中, 待长至 4 叶期后进行处理。1)GD1-1 处理: 将 50 mL 拮抗菌 GD1-1 菌悬液倒入香蕉幼苗的土壤中, 使其终浓度为 1×10^8 CFU/g, 2 d 后用伤根处理法接种 Foc TR4 分生孢子悬浮液, 使其终浓度为 1×10^5 g⁻¹; 5 d 后再次接种拮抗菌 GD1-1 菌悬液。2) 阴性对照: 用灭菌 ddH₂O 代替上述所有接种处理。3) 阳性对照: 只接种 Foc TR4, 用灭菌 ddH₂O 代替拮抗菌 GD1-1 接种。每处理接种 30 株香蕉幼苗, 重复 3 次, 在 Foc TR4 接种 25 d 后进行调查, 病害分级标准参照黄素梅等^[15] 的方法。

病情指数 = $\frac{\text{每个等级的病株数} \times \text{等级值}}{\text{香蕉植株总数} \times \text{最高等级}} \times 100$,

防治效果 = $\frac{\text{阳性对照的病情指数} - \text{拮抗菌处理的病情指数}}{\text{阳性对照的病情指数}} \times 100\%$ 。

1.2.7 拮抗菌 GD1-1 的促生作用分析 将菌株

GD1-1 接种于 NKA 培养基^[16], 28 ℃ 培养 3 d 后评估其解钾活性; 将菌株 GD1-1 接种于 NPA 培养基^[17] 或牛奶培养基^[18], 28 ℃ 培养 7 d 后评估其溶磷活性或产蛋白酶能力; 将菌株 GD1-1 接种于苯胺蓝-PDA 培养基^[19] 或 CAS 培养基^[20], 28 ℃ 培养 5 d 后评估其分解木质素的能力或产铁载体能力。每个处理接种 5 个培养皿, 重复 3 次。

菌株 GD1-1 对香蕉促生作用的测定方法: 将 50 mL 菌株 GD1-1 菌悬液倒入香蕉幼苗的花盆土壤 (终浓度为 1×10^8 CFU/g), 5 d 后再次接种 GD1-1 菌悬液, 第 2 次接种后 25 d 调查香蕉植株的鲜质量和球茎直径, 以灭菌 ddH₂O 接种作为对照。每处理接种 30 株香蕉幼苗, 重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌的分离筛选结果

采用稀释分离法对健康巴西蕉根际土壤细菌进行分离, 共获得 186 株细菌。平板对峙培养试验

结果表明, 菌株 GD1-1 对 Foc TR4 具有良好的抑制效果, 抑制率为 72.5%(图 1)。

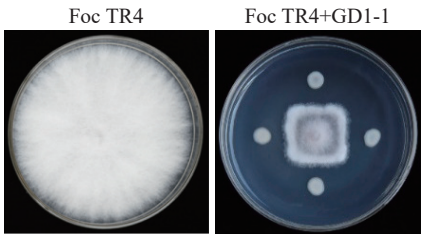
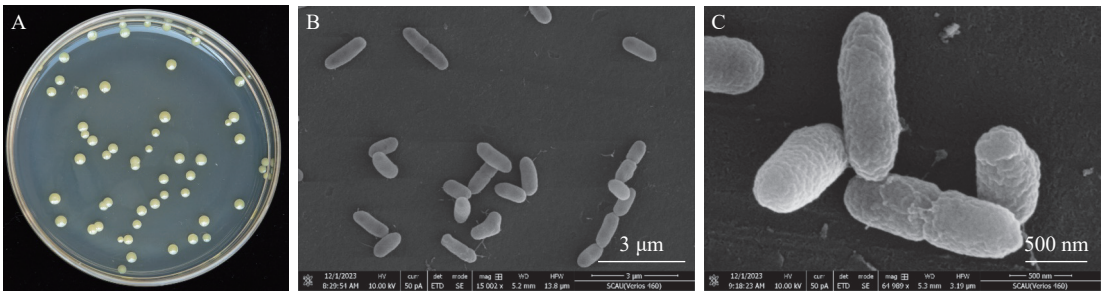


图 1 菌株 GD1-1 对 Foc TR4 的抑制作用
Fig. 1 The antifungal activity of strain GD1-1 against Foc TR4

2.2 拮抗菌 GD1-1 的形态鉴定结果

将菌株 GD1-1 涂布于 NA 培养基, 培养 2 d 后观察发现, 培养皿中出现绿色圆形菌落, 菌落隆起、有光泽度、表面光滑、边缘整齐 (图 2 A), 有淡淡的橡胶味。电子显微镜观察 (图 2 B 和 2C) 表明, 其菌体呈卵圆形, 表面有皱缩, 菌体大小为 (0.5~2.0) $\mu\text{m}\times(0.4\sim0.6)$ μm 。



A: NA 培养基; B 和 C: 扫描电镜。
A: NA medium; B and C: Scanning electron micrograph.

图 2 拮抗菌 D1-1 的菌落形态

Fig. 2 Colony morphology of antagonistic strain GD1-1

2.3 拮抗菌 GD1-1 的生理生化和分子生物学鉴定结果

生理生化试验结果表明, 菌株 GD1-1 为革兰阴性菌, 不能分解纤维素、不能水解淀粉、不能产生脲酶、不能还原硝酸盐, 能将明胶液化、能产生 H₂S 气体, 具有脂酶活性。参照《常见细菌系统鉴定手册》^[11] 发现, 菌株 GD1-1 与伯克霍尔德菌属 *Burkholderia* 细菌的生理生化特性一致, 将该菌初步鉴定为伯克霍尔德菌 *Burkholderia* sp.。

经基因组 DNA 提取、PCR 扩增和测序, 并将其序列进行 BLAST 比对, 结果表明: 1) 菌株 GD1-1 的 16S rDNA 基因序列长度为 1424 bp, 与洋葱伯克霍尔德菌 *B. contaminans* (CP046609.1) 和 *B. contaminans*(CP028809.1) 序列相似性均为 100%; 2) 菌株 GD1-1 的 *GyrB* 基因序列长度为 688 bp,

与 *B. contaminans*(CP009744.1) 序列相似性为 100%; 3) 菌株 GD1-1 的 *AtpD* 基因序列长度为 707 bp, 与 *B. contaminans*(CP013390.1) 和 *B. contaminans* (CP009744.1) 序列相似性为 100%; 4) 菌株 GD1-1 的 *GltB* 基因序列长度为 617 bp, 与 *B. contaminans* (CP009744.1) 序列相似性为 100%。基于多基因序列构建的系统发育树结果 (图 3) 表明, 菌株 GD1-1 与 *B. contaminans* 聚为一支。

综合形态特征、生理生化特性和分子生物学分析结果, 菌株 GD1-1 被鉴定为洋葱伯克霍尔德菌 *B. contaminans*。

2.4 拮抗菌 GD1-1 的生长曲线

采用稀释平板法对菌株 GD1-1 生长曲线进行测定, 结果 (图 4) 表明, 菌株 GD1-1 的生长曲线分布: 0~8 h 为延迟期, 8~16 h 为对数生长期, 16~

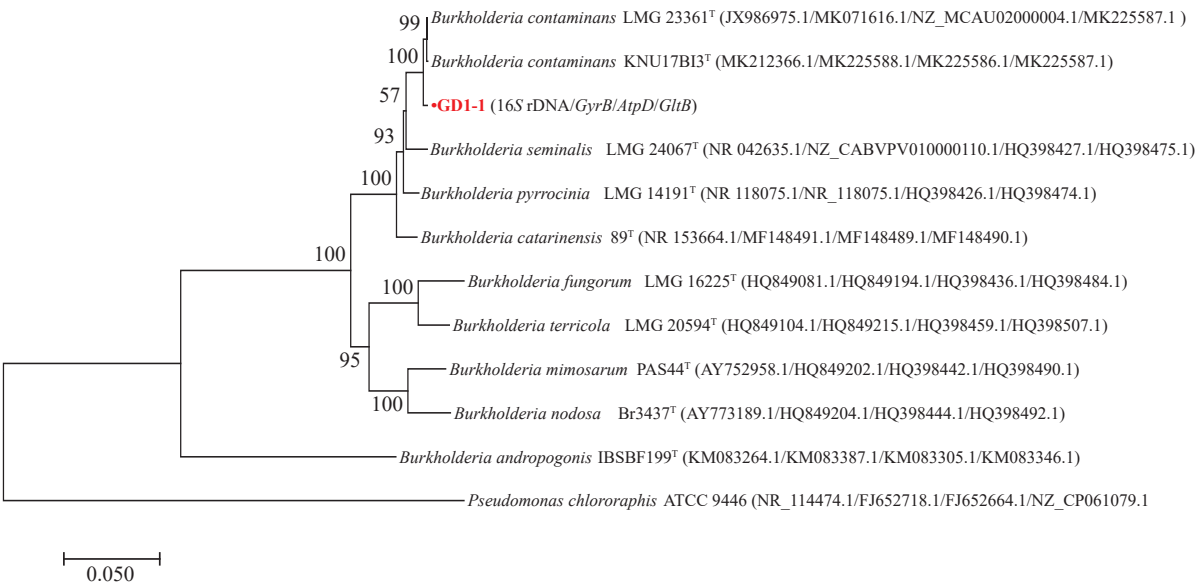


图 3 基于 16S rDNA、GyrB、AtpD 和 GltB 基因序列构建的菌株 GD1-1 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain GD1-1 based on concatenated sequences of 16S rDNA, GyrB, AtpD and GltB genes

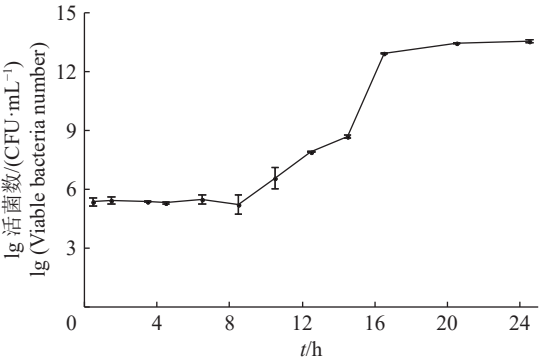


图 4 菌株 GD1-1 在 NA 培养基中的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of the strain GD1-1 in NA culture medium

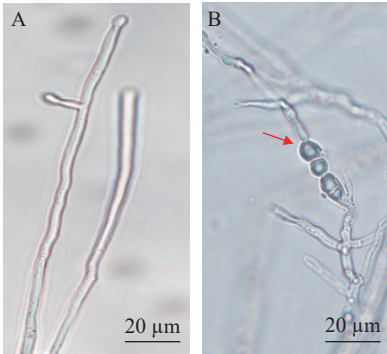
24 h 为稳定生长期, 24 h 后进入衰亡期; 在 20~24 h 时, 菌株 GD1-1 的活菌数可达到 1×10^{13} CFU/mL。

2.5 拮抗菌 GD1-1 的抑制作用

2.5.1 对 Foc TR4 菌丝生长的影响 采用平板对峙法, 并对 Foc TR4 菌丝进行显微观察, 结果表明, Foc TR4 正常菌丝形态饱满, 粗细均匀, 细长而光滑, 有很好的完整性和连续性, 无明显断裂现象 (图 5A); 受菌株 GD1-1 影响的 Foc TR4 菌丝出现畸形, 部分菌丝膨大变粗 (图 5B)。

2.5.2 对 Foc TR4 分生孢子萌发的影响 将菌株 GD1-1 发酵上清液与 Foc TR4 分生孢子共培养, 结果 (图 6) 表明, 正常 Foc TR4 分生孢子的萌发率为 90.6%; 受菌株 GD1-1 发酵上清液影响的 Foc TR4 分生孢子萌发率仅为 1.5%, 抑制率达到了 99.8%。

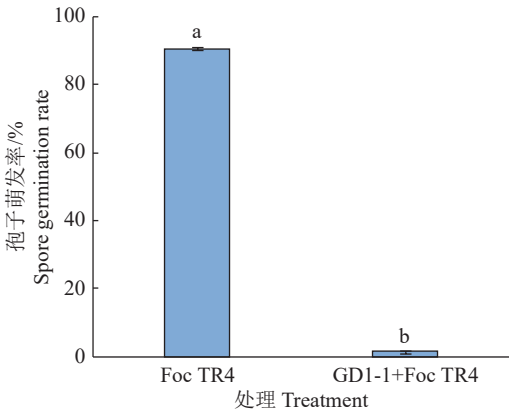
2.5.3 拮抗菌 GD1-1 的抑菌谱 以 10 种植物病



A: Foc TR4 正常菌丝形态; B: 菌株 GD1-1 导致 Foc TR4 菌丝畸形。
A: Normal mycelia of Foc TR4; B: Deformed mycelia of Foc TR4 treated with strain GD1-1.

图 5 菌株 GD1-1 抑制 Foc TR4 菌丝生长

Fig. 5 Inhibition of hyphal growth of Foc TR4 by the strain GD1-1



柱子上不同小写字母表示处理间的差异显著 ($P < 0.05$, Duncan's 法)。
Different lowercase letters on the pillar indicated significant difference between treatments ($P < 0.05$, Duncan's method).

图 6 菌株 GD1-1 抑制 Foc TR4 分生孢子萌发

Fig. 6 Inhibition of conidial germination of Foc TR4 by the strain GD1-1

原真菌为靶标菌, 对菌株 GD1-1 的抑菌谱进行测定。结果 (图 7 和表 2) 表明, 菌株 GD1-1 对这 10 种植物病原真菌均有不同程度的抑制效果, 抑制率均在 66.0% 以上; 菌株 GD1-1 对尖孢镰刀菌番茄专化型、香蕉炭疽病菌、链格孢菌、腐皮镰刀菌的

抑菌效果好, 抑制率均在 75.0% 以上; 对尖孢镰刀菌不同专化型的抑制效果存在差异, 如对番茄专化型的抑制率为 78.0%, 但对苦瓜专化型仅为 71.3%。表明菌株 GD1-1 具有较广的抑菌谱。

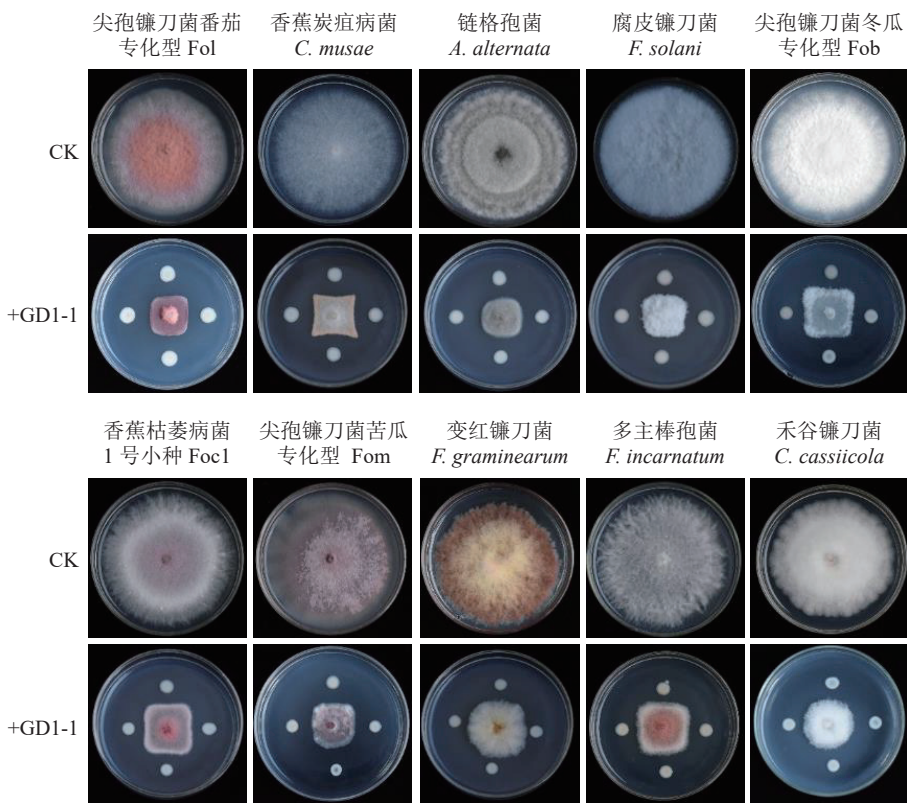


图 7 菌株 GD1-1 对不同植物病原真菌的平板对峙
Fig. 7 Antagonistic effects of strain GD1-1 on different phytopathogenic fungi

表 2 菌株 GD1-1 对不同植物病原真菌的抑制作用
Table 2 Inhibition of different phytopathogenic fungi by the strain GD1-1

病原菌 Pathogen	抑制率 ¹⁾ / % Inhibition rate	病原菌 Pathogen	抑制率 ¹⁾ / % Inhibition rate
尖孢镰刀菌番茄专化型 Foc1	78.0±0.3a	香蕉枯萎病菌1号小种 Foc1	72.0±0.5bc
香蕉炭疽病菌 C. musae	77.9±0.3a	尖孢镰刀菌苦瓜专化型 Fom	71.3±0.3bc
链格孢菌 A. alternata	76.8±1.1a	变红镰刀菌 F. incarnatum	69.9±0.5cd
腐皮镰刀菌 F. solani	76.4±0.9a	多主棒孢菌 C. cassiicola	67.9±0.2de
尖孢镰刀菌冬瓜专化型 Fob	73.5±0.4b	禾谷镰刀菌 F. graminearum	66.1±2.6e

1)表中数据为平均值±标准误, 不同小写字母表示差异显著(P<0.05, Duncan’s 法)。
1) Values were the means ± SE and different lowercase letters indicated significant difference (P<0.05, Duncan’s method).

2.6 拮抗菌 GD1-1 对香蕉枯萎病的防效分析

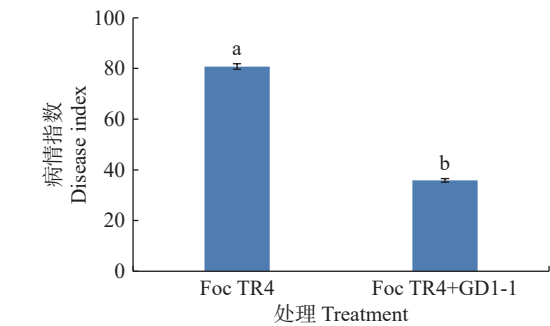
采用室内盆栽试验法分析了拮抗菌 GD1-1 对香蕉枯萎病的防效。结果 (图 8) 表明, 仅用 ddH₂O 处理的巴西蕉植株生长正常, 未表现任何异常症状; 仅接种 Foc TR4 的巴西蕉植株叶片黄化, 球茎变褐, 表现出了典型的香蕉枯萎病症状; 而用菌株

GD1-1 处理的巴西蕉植株黄化程度和球茎变褐面积明显减少。病情指数统计结果 (图 9) 表明, Foc TR4 处理的巴西蕉病情指数为 80.75, 而菌株 GD1-1 处理后的巴西蕉病情指数降至 35.86, 防治效果为 55.6%。说明菌株 GD1-1 对香蕉枯萎病具有较好的防效。



图 8 香蕉枯萎病症状

Fig. 8 Disease symptoms of banana Fusarium wilt



柱子上不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)。
Different lowercase letters on the pillar indicated significant difference ($P<0.05$, Duncan's method).

图 9 香蕉枯萎病病情指数

Fig. 9 Disease index of banana Fusarium wilt

2.7 拮抗菌 GD1-1 对香蕉植株的促生作用

室内盆栽试验结果表明, 与 ddH₂O 处理相比, 菌株 GD1-1 可促进香蕉植株的生长 (图 10), 其鲜

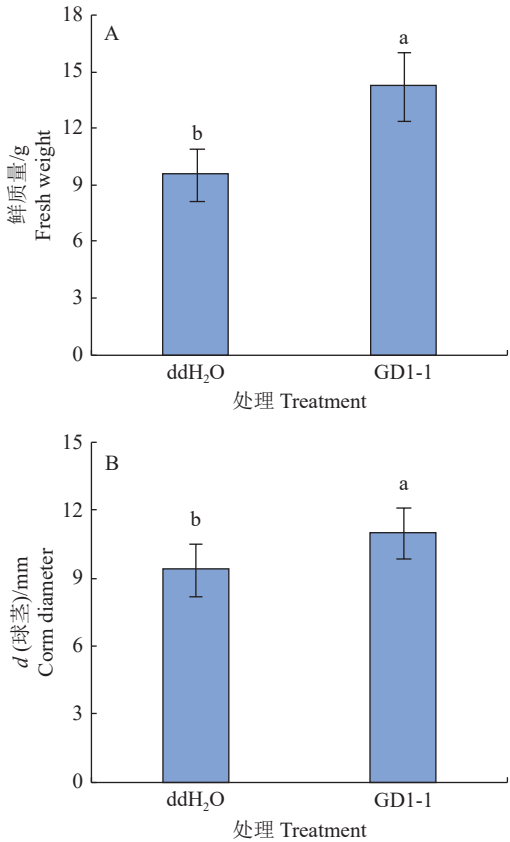


图 10 香蕉苗生长情况

Fig. 10 The growth of banana seedlings

质量 (图 11A) 和球茎直径 (图 11B) 分别增加了 48.8% 和 17.0%, 说明菌株 GD1-1 对香蕉植株具有显著的促生作用。

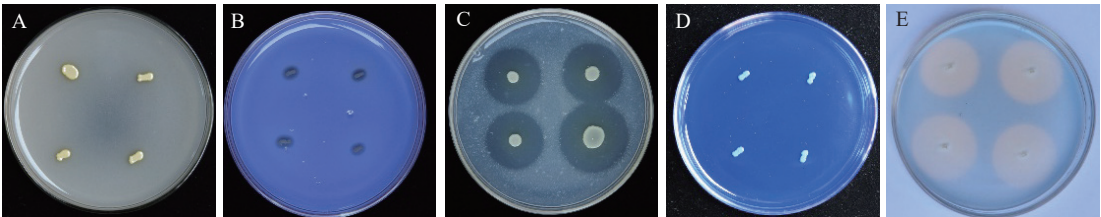
菌株 GD1-1 促生潜力分析结果 (图 12) 表明, 菌株 GD1-1 可在 NKA 培养基上生长, 菌落周围有透明的油滴状出现, 说明菌株 GD1-1 具有解钾能力; 菌株 GD1-1 可在 NPA 培养基和牛奶培养基生长, 且菌落周围都有透明圈, 说明其具有分解无机磷和产蛋白酶的能力; 菌株 GD1-1 在苯胺蓝-PDA 培养基中没有褪色圈的出现, 说明其不具有降



柱子上不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)。
Different lowercase letters on the pillar indicated significant difference ($P<0.05$, Duncan's method).

图 11 香蕉苗鲜质量 (A) 和球茎直径 (B)

Fig. 11 Seedling fresh weight (A) and corm diameter (B) of banana



A: NKA 培养基; B: NPA 培养基; C: 牛奶培养基; D: 苯胺蓝-PDA 培养基; E: CAS 培养基。
A: NKA medium; B: NPA medium; C: Milk medium; D: Aniline blue-PDA medium; E: CAS medium.

图 12 菌株 GD1-1 的促生潜力

Fig. 12 The growth promoting potential of strain GD1-1

解木质素的能力; 菌株 GD1-1 能在 CAS 培养基生长, 且菌落周围有明显的橘黄色分泌圈, 说明具有产铁载体的能力。可见, 菌株 GD1-1 具有明显的解钾、分解无机磷、产蛋白酶以及产铁载体的能力, 说明其具有良好的生防潜力。

3 讨论与结论

植物根际土壤拥有大量的微生物, 被称为植物的第 2 基因库, 土壤中微生物资源丰富, 是拮抗菌筛选的重要来源^[21]。本研究从健康香蕉植株根际土壤中分离筛选出了 1 株对 Foc TR4 具有良好抑制效果的菌株 GD1-1; 通过对其菌落形态、生理生化特征和多基因序列分析, 将菌株 GD1-1 鉴定为洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans*, 该菌在后续的生防菌剂研发和应用中具有良好的定殖能力。

洋葱伯克霍尔德菌是一组表型相近但基因型不同的复合物, 被称为洋葱伯克霍尔德菌群 (*B. cepacia* complex, Bcc)^[22], 广泛分布于水、土壤和植物中。截至目前, 已报道了该菌群对多种植物病害具有防治作用, 如草莓灰霉病^[9]、桃褐腐病^[23]、甜樱桃褐腐病^[24]、红苕腐病^[25]、番茄枯萎病^[26]、黄瓜枯萎病^[27] 等。本文证实菌株 GD1-1 对香蕉枯萎病的防效为 55.6%, 具有广谱的抑菌作用; 但该菌株是否对其他植物真菌病害也具有防效, 仍有待进一步研究。

本文研究发现菌株 GD1-1 可显著抑制 Foc TR4 菌丝生长, 导致菌丝畸形, 并显著抑制其分生孢子的萌发。分析菌株 GD1-1 的抑菌活性组分可以进一步揭示其抑菌机理。已有学者尝试分离纯化该菌发酵液研究洋葱伯克霍尔德菌的抑菌机理, 如权春善等^[28] 通过 Sephadex-75pg、Sephacryl S-100 柱层析分析纯化洋葱伯克霍尔德菌 *B. cepacia* CF-66 发酵液粗提液, 获得抗菌物质 CF66I, 明确该物质非核酸和蛋白质是一种带酰胺键的新型抑菌化合物。也有学者利用代谢组学开展了洋葱伯克霍尔德菌的抑菌机理研究, 发现该菌可产生硝吡咯菌素、吩嗪、苯基吡咯、Cepaciamide A 和 Cepacidine A^[27, 29]、吡咯硝啉、儿茶酚和麦角他胺^[25, 28] 等多种抑菌活性的次生代谢产物。宫安东等^[30] 采用气相色谱串接质谱法对吡咯伯克霍尔德菌 *B. pyrrocinia* WY6-5 的挥发性抑菌物质进行了分析, 鉴定其活性物质为二甲基二硫, 可抑制禾谷镰刀菌 *F. graminearum*、链格孢菌 *A. alternata* 等 8 种植物病原真菌的生长。Wang 等^[31] 通过 HPLC 技术, 分离鉴定了伯克霍尔德菌 *B. pyrrocinia* 菌株 Lyc2 的抑菌活性物质

为 Occidiofungin。

细菌的产铁载体能力是一个很重要的防病促生指标, 通过螯合土壤中的铁来改善自身营养状况, 也可以供给植物利用, 还能与病原微生物竞争铁, 以达到防病促生的目的^[32-33]。章嘉会等^[34] 研究发现, 洋葱伯克霍尔德菌菌株 JK-1 和越南伯克霍尔德菌 *B. vietnamiensis* 菌株 JK-4 具有产铁载体的能力和广谱抑菌活性, 对小麦和黄瓜种子萌发具有显著促生作用。王贻莲等^[35] 研究发现越南伯克霍尔德菌菌株 B418 具有固氮、解磷、解钾等能力和促生作用, 对根结线虫病害具有良好防效。本文研究发现菌株 GD1-1 不仅对香蕉枯萎病具有良好的防效和较广的抑菌谱, 而且具有解磷、解钾、产蛋白酶、产铁载体能力, 对香蕉具有促生作用; 菌株 GD1-1 对香蕉枯萎病具有良好的生防潜力和开发前景。

参考文献:

[1] 董梁, 许铁敏, 徐广才. 全球谷物供需格局和增产潜力及我国粮食安全策略研究[J]. 中国农业资源与区划, 2024, 45(10): 80-85.

[2] GARCIA R O, RIVERA-VARGAS L I, PLOETZ R, et al. Characterization of *Fusarium* spp. isolates recovered from bananas (*Musa* spp.) affected by *Fusarium* wilt in Puerto Rico[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2018, 152(3): 599-611.

[3] 王海希, 郝志鹏, 张莘, 等. 丛枝菌根真菌防治尖孢镰孢枯萎病的效应、机制及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2819-2837.

[4] 蔡文涌, 方香玲. 植物病原尖孢镰刀菌致病因子研究进展[J]. 分子植物育种, 2024, 22(24): 8270-8278.

[5] 李华平, 李云锋, 聂燕芳. 香蕉枯萎病的发生及防控研究现状[J]. *华南农业大学学报*, 2019, 40(5): 128-136.

[6] 周登博, 井涛, 张锡炎, 等. 香蕉枯萎病拮抗菌筛选及其抑菌活性[J]. 植物保护学报, 2016, 43(6): 913-921.

[7] 黄建凤, 张发宝, 逢玉万, 等. 两株香蕉枯萎病拮抗细菌的筛选及抑菌机理[J]. 微生物学通报, 2017, 44(4): 835-844.

[8] 李锦, 谭德东, 邱济平, 等. 香蕉抗枯萎病株系内生菌的分离鉴定及抑菌促生效果[J]. *华南农业大学学报*, 2024, 45(2): 256-265.

[9] 施俊凤, 孙常青, 张婧婷. 采前喷施洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia contaminans* 对草莓采后腐烂和品质的影响[J]. 植物保护学报, 2018, 45(2): 382-388.

[10] SHEN F, LIU Z, DU C, et al. Induction of resistance of antagonistic bacterium *Burkholderia contaminans* to postharvest *Botrytis cinerea* in *Rosa vinifera*[J]. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2022, 2022: 7134161.

[11] 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.

[12] SUKRAMA I D M, FRANCISKA J, SUARDANA I W. Evaluation of the bacteriocin produced by strain 9 lactic acid bacteria isolate for biopreservation[J]. *Veterinary World*, 2020, 13(9): 2012-2019.

[13] SPILKER T, BALDWIN A, BUMFORD A, et al. Expanded multilocus sequence typing for *Burkholderia* species[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47(8): 2607-2610.

[14] 朱艳蕾. 细菌生长曲线测定实验方法的研究[J]. *微生物学杂志*, 2016, 36(5): 108-112.

[15] 黄素梅, 韦绍龙, 韦莉萍, 等. 8 种香蕉种质对枯萎病的抗性比较与分析[J]. *热带作物学报*, 2019, 40(11): 2189-2196.

[16] 张静, 张腾, 肖耀鹏, 等. 黄骅盐碱地玉米根系内生真菌分离及耐盐促生功能[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(10): 4089-4103.

[17] 陈佳兴, 秦琴, 邱树毅, 等. 磷尾矿土壤中解磷细菌的筛选及解磷能力的测定[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(6): 183-189.

[18] 白玥, 郝青芳, 周俊栏, 等. 产蛋白酶海洋细菌 *Bacillus* sp. 4sp5 分离鉴定及降解南极磷虾原肌球蛋白的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(4): 98-105.

[19] 李雅琳, 李素艳, 孙向阳, 等. 1 株木质素降解菌的筛选、鉴定及液态发酵条件优化[J]. *浙江农林大学学报*, 2021, 38(6): 1297-1304.

[20] ZHANG H, BAI X, HAN Y, et al. Stress-resistance and growth-promoting characteristics and effects on vegetable seed germination of *Streptomyces* sp. strains isolated from wetland plant rhizospheres[J]. *Current Microbiology*, 2023, 80(5): 190.

[21] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中有作为的植物第二基因组[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 1-2.

[22] 张淑瑶, 文霞, 苏皓庭, 等. 日化产品中洋葱伯克霍尔德氏菌复合群 (Bcc) 的分类和神秘伯克霍尔德氏菌的耐药性研究[J]. *微生物学报*, 2023, 63(9): 3616-3627.

[23] PARKE J L, GURIAN-SHERMAN D. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2001, 39: 225-258.

[24] 范青, 田世平, 姜爱丽, 等. 采摘后果实病害生物防治拮抗菌的筛选和分离[J]. *中国环境科学*, 2001, 21(4): 313-316.

[25] HWANG J, BENSON D M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of *Poinsettia* with *Burkholderia cepacia* and binucleate *Rhizoctonia*[J]. *Plant Disease*, 2002, 86(1): 47-53.

[26] HEO A Y, KOO Y M, CHOI H W. Biological control activity of plant growth promoting rhizobacteria *Burkholderia contaminans* AY001 against tomato *Fusarium* wilt and bacterial speck diseases[J]. *Biology (Basel)*, 2022, 11(4): 619.

[27] 李亚莉, 侯栋, 岳宏忠, 等. 黄瓜枯萎病拮抗菌 *Burkholderia gladioli* L1-3 的分离鉴定及防病促生效果[J]. *中国蔬菜*, 2022(12): 52-58.

[28] 权春善, 郑维, 曹治明, 等. 洋葱伯克霍尔德菌 CF-66 抗菌物质的分离纯化及性质的研究[J]. *微生物学报*, 2005, 45(5): 707-710.

[29] 范三红, 李静, 施俊凤. 拮抗菌 *Burkholderia contaminans* 对玫瑰香葡萄采后灰霉病的抗性诱导[J]. *食品科学*, 2016, 37(2): 266-270.

[30] 宫安东, 朱梓钰, 路亚南, 等. 吡咯伯克霍尔德菌 WY6-5 的溶磷、抑菌与促玉米生长作用研究[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(9): 1574-1586.

[31] WANG X Q, LIU A X, GUERRERO A, et al. Occidiofungin is an important component responsible for the antifungal activity of *Burkholderia pyrrocinia* strain Lyc2[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(3): 607-618.

[32] 邓声坤, 雷锋杰, 张焕荣, 等. 人参产铁载体拮抗细菌 GR-39 的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. *中国生物防治学报*, 2024, 40(1): 167-177.

[33] 杨凯元, 韩玲娟, 梁银萍, 等. 达乌里胡枝子产铁载体根瘤内生细菌的鉴定及其促生抗逆效应[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(10): 4413-4432.

[34] 章嘉会, 魏艳丽, 李红梅, 等. 两株西洋参根际拮抗细菌的鉴定及其抑菌促生效果[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(7): 143-148.

[35] 王贻莲, 郭凯, 陈凯, 等. 越南伯克霍尔德氏菌 B418 杀线虫活性产物的稳定性研究[J]. *湖北农业科学*, 2014, 53(5): 1066-1068.

【责任编辑 周志红】