

史海静,徐明江,朱银城,等.半夏病害生防菌的筛选及其生物有机肥促生防病效果[J].华中农业大学学报,2025,44(2):212-220.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.02.021

半夏病害生防菌的筛选及其生物有机肥促生防病效果

史海静¹,徐明江¹,朱银城²,朱国锋³,任竹青¹,吴健¹

1. 华中农业大学动物科学技术学院、动物医学院,武汉 430070; 2. 宜昌市夷陵区动物疫病预防控制中心,宜昌 443100; 3. 宜昌市夷陵区农产品质量安全服务中心,宜昌 443100

摘要 半夏病害是阻碍半夏产业化发展的重要因素,为筛选促进半夏生长、抗病害的优良菌株,对半夏根际土壤的菌株进行分离筛选,得到9株对尖孢镰刀菌、茄病镰刀菌、链格孢和辣椒疫霉等多种半夏病原菌均有拮抗作用的菌株,对上述菌株进行鉴定及抑菌能力测定,并研制成微生物肥料,研究该生物有机肥对半夏促生长及病害防治效果。结果显示,菌株21-2抑菌效果最好,经鉴定该菌株为多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)。菌株21-2对半夏5种常见病原菌均有较好的抑制作用,对半夏种子的萌发具有显著促进作用。菌株21-2菌悬液对半夏病害防效为45.83%,能显著提高半夏的株高、鲜质量、球茎质量和叶绿素含量。将多粘类芽孢杆菌21-2与秸秆生物炭及鸡粪有机肥混合制成的生物有机肥对半夏病害的防效可达61.90%。以上结果表明,多粘类芽孢杆菌21-2菌株可应用于半夏病害防治,对半夏生长有促进作用,具有较好的发展潜力与应用前景。

关键词 半夏;真菌病害;多粘类芽孢杆菌;生物防治;生物有机肥

中图分类号 S435.67 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)02-0212-09

半夏(*Pinellia ternata*)是天南星科半夏属植物,其干燥块茎是我国的一种常用中药,为第22位高频率使用药材,市场需求和药用价值不断提升^[1]。人工种植是半夏供应的主要来源,但在种植过程中极易发生病害,块茎腐烂病(镰刀菌真菌*Fusarium* sp.、尖孢镰刀菌*Fusarium oxysporum*、茄病镰刀菌*Fusarium solani*等引起)、枯萎病(瓜笄霉*Choanephora cucurbitarum*感染引起)、叶斑灰霉病(灰霉病菌*Botrytis cinerea*感染引起)、病毒病(芋花叶病毒*Dashen mosaic virus*引起)等是半夏种植过程中常见的病害^[2-4]。辣椒疫霉(*Phytophthora capsica*)是一种丝状病原体卵菌,可在广泛的寄主范围内引起根腐病、果实腐病、叶腐病等^[5]。此外,链格孢属(*Alternaria* sp.)在谷物、蔬菜等生产和储存过程中也可以感染宿主导致茎癌、叶斑病和黑点病的发生^[6]。这些病害均可能造成半夏产量和品质的下降,成为阻碍半夏产业化发展的因素。

半夏病害防治可分为农业防治、化学防治和生物防治等3种防治措施^[7]。农业防治有利于生态稳定、平衡,但见效时间相对较长,有一定的局限性;化

学防治见效快周期短,但长期使用不仅会造成环境污染,还会造成农药残留和农药抗性等影响半夏产量和品质的问题^[8]。生物防治能够有效抑制病原菌的生长,且不会造成环境污染,对于人工种植半夏过程中病害的防治具有重要的意义。微生物肥料作为生物防治的主要手段,是一种安全、无公害的绿色防治方式,既能增加土壤肥效、促进植物生长,还能提高生态系统中有益菌群的群落数量,抑制土壤中病原菌的定殖生长,对于人工种植半夏的可持续性发展有着重要的意义^[9-11]。

本研究拟从半夏根际土壤筛选抗半夏病害的优良功能菌株,并通过盆栽试验探究其生物有机肥对半夏促生防病效果,旨在为畜禽粪便的高值化利用和半夏病害的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采集湖北省天门市半夏种植基地地表下约2~15 cm深、距主根1 cm处健康的半夏根际土壤;半夏块茎购自湖北康顺达农业发展有限公司;秸秆生物

收稿日期:2023-11-23

基金项目:国家重点研发计划项目(2023YFD1301904);湖北省重点研发项目(2024BBB067);湖北省自然科学基金项目(2022CFD033)

史海静, E-mail: shihj@webmail.hzau.edu.cn

通信作者:吴健, E-mail: wujian@mail.hzau.edu.cn

炭购自立泽环保科技有限公司;有机肥购自武汉木兰绿源生物科技有限公司;番茄种子和幼苗购自禾之元种业有限公司。

病原真菌镰刀菌(*Fusarium* sp.) CFCC 编号 5400,尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*) CFCC 编号 84715,链格孢(*Alternaria* sp.) CFCC 编号 5171,茄病镰刀菌(*F. solani*) CFCC 编号 89131,均购自中国林业微生物保藏中心。辣椒疫霉(*Phytophthora capsica*) ACCC 编号 37401,购自中国农业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 功能菌株的筛选与鉴定

1) 筛选。将5 g新鲜土样加入45 mL无菌水再依次配成 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 梯度的土壤悬液,取100 μ L均匀涂布于添加5种病原菌的PDA培养基上,每组3个重复,28 $^{\circ}$ C培养3~5 d,挑取有拮抗作用的菌落纯化培养。在培养7 d后的病原菌平板上拓取菌饼(直径7 mm),置于PDA平板培养基中心,在距中心2 cm处对称接种功能菌株;25 $^{\circ}$ C培养7 d,测定菌落直径并计算抑菌率。对抑菌性能较好的菌株进行生理生化鉴定。

$$I = \frac{D-d}{D} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, I :抑菌率; D :对照组菌落直径,cm; d :处理组菌落直径,cm。

2) 鉴定。选用天根生化(北京)公司DNA提取试剂盒提取DNA,PCR扩增后测序,使用NCBI中Blast比较序列相似性,MEGA进行多重序列比较建立系统进化树,1 000次自展分析置信度检测系统发育树。

1.3 多粘类芽孢杆菌21-2的抑菌能力测定

取 10^5 CFU/mL病原菌液100 μ L均匀涂布于PDA平板上,打2个7 mm孔,每个孔点 10^8 CFU/mL多粘类芽孢杆菌21-2菌悬液100 μ L,28 $^{\circ}$ C培养72 h观察抑菌圈大小。

在培养7 d的尖孢镰刀菌平板上拓取菌饼(直径7 mm),置于PDA培养基中心,距平板中心2 cm处对称接种多粘类芽孢杆菌21-2;25 $^{\circ}$ C培养7 d,显微镜观察抑菌带的变化。

1.4 多粘类芽孢杆菌21-2对半夏的促生效果检测

将多粘类芽孢杆菌21-2按2%(体积分数)接种于LB液体培养基中37 $^{\circ}$ C培养24 h,离心重悬,稀释成10、20、50、100倍菌悬液。半夏种子用800倍液多菌灵浸泡1 min后无菌水冲洗,35 $^{\circ}$ C温水浸泡4~5 h

后,浸泡在不同浓度的菌悬液中,每组3个重复,每个重复3颗半夏种子,以相同条件下用无菌水浸泡的半夏种子作为空白对照(CK)。置于有光照的25 $^{\circ}$ C恒温温室培养15 d,统计出苗芽长。取芽长5~7 cm的半夏幼苗移入营养钵(每个营养钵3株),分别用上述菌悬液浇灌(20 mL/钵,1次/7 d),30 d后测量生长指标。

1.5 多粘类芽孢杆菌21-2对半夏病害的防治效果检测

将尖孢镰刀菌接种到PDA液体培养基中,28 $^{\circ}$ C、170 r/min培养5 d。滤去菌丝,配制成 6×10^5 CFU/mL的孢子悬浮液并接种在健康土壤中(50 mL/kg)放置3 d。将多粘类芽孢杆菌21-2培养48 h后离心重悬制成10、20、50、100倍菌悬液。半夏种子消毒后25 $^{\circ}$ C培养,取长度3~7 cm的幼苗移入营养钵(每个处理栽6棵),用不同稀释倍数的菌悬液浇灌(20 mL/钵)。60 d后检测。

半夏发病情况等级:0级,无发病症状;1级,叶片轻微枯黄,嫩叶完好,茎部出现水渍状褐变;2级,叶片明显枯黄,嫩叶完好,茎部出现水渍状褐变;3级,整株枯黄,根系褐变干枯,茎部和假茎部褐变连片;4级,半夏出现倒苗死亡,整株植物严重褐变干枯死亡。根据以下公式计算病情指数及防病效果。

$$D = \frac{\sum N \times n}{Q} \times P \times 100 \quad (2)$$

$$E = \frac{A-a}{A} \times 100\% \quad (3)$$

式(2)中, D :病情指数; N :各级发病; n :该级代表数; Q :发病总数; P :最高级代表值。式(3)中, E :防病效果; A :对照病情指数; a :处理病情指数。

1.6 生物有机肥的制备及发酵条件确定

将15 g鸡粪有机肥(添加生物炭0%、5%、10%、15%、20%和25%, m/m)和15 mL无菌水混合,接种多粘类芽孢杆菌21-2功能菌悬液至终质量浓度 1×10^7 CFU/g,35 $^{\circ}$ C,180 r/min培养2 d,计数细菌菌落数以确定生物炭的最佳用量。将15 g鸡粪有机肥和15 mL无菌水混合后,接种功能菌悬液至终质量浓度为 0.5×10^7 、 1.0×10^7 、 1.5×10^7 、 2.0×10^7 、 2.5×10^7 和 3.0×10^7 CFU/g,35 $^{\circ}$ C、180 r/min培养2 d。取1 mL混合物稀释涂布到LB平板上,测定菌落数以确定功能菌株的最佳用量,设置3次重复。

功能菌株固态发酵基质(鸡粪有机肥和秸秆生物炭比例85:15, m/m)接种功能菌株至终质量浓度 1×10^7 CFU/g,孵育7 d。选取温度、含水率、翻转次

数与发酵时间 4 个因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验(表 1) 以确定最佳发酵条件。

表 1 发酵条件设置				
Table 1 Exploration on fermentation conditions				
水平 Level	A:温度/℃ Temperature	B:含水率/% Moisture content	C:翻转次 数/(次/d) Flip times	D:发酵时间/d Fermentation time
1	25	45	0	3
2	30	50	1	5
3	37	55	2	7

1.7 生物有机肥的应用效果检测

将 6×10^5 CFU/mL 的尖孢镰刀菌孢子悬浮液按照 50 mL/kg 剂量接种在健康土壤中,放置 3 d 后备用。试验设置 6 个组:CK:无任何处理土壤;OF:添加功能菌液;CMO:添加鸡粪有机肥;OC:添加功能菌液和鸡粪有机肥;BIO:添加生物有机肥;IF:添加无机肥。测定鸡粪有机肥和生物有机肥的肥效(表 2),除空白对照和 OF 组外,其余组统一施肥每千克 ± 0.70 g N、 0.64 g P_2O_5 、 0.52 g K_2O 。挑选长度 3~7 cm 的半夏幼苗移入营养钵中,每个处理移栽 3 棵半夏幼苗,设 3 个重复。30 d 后分析半夏病害情况及防治效果。

表 2 不同肥料的肥效				
Table 2 Fertilizer efficiency of different fertilizers				
肥料 Fertilizer	有机质 Organic matter	N	P_2O_5	K_2O
g/kg				
鸡粪有机肥 Chicken manure organic fertilizer	255.00	16.30	15.40	8.50
生物有机肥 Bio-organic fertilizer	345.68	14.74	13.39	10.63

1.8 数据处理及分析

通过 IBM SPSS Statistics 20 方差齐性检验、独立样本 t 检验、ANOVA 单因素分析进行试验数据显著性差异分析;使用 Graphpad Prism 和 Excel 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 半夏抗病功能菌株的筛选与鉴定

通过平板稀释涂布法从健康半夏根际土壤中共分离出 51 株对半夏病原菌具有拮抗作用的菌株,随后采用平板对峙法,得到 9 株对尖孢镰刀菌、茄镰刀菌、镰刀菌、辣椒疫霉和链格孢 5 种半夏常见病原菌均有拮抗作用的功能菌株,对尖孢镰刀菌、茄镰刀菌、镰刀菌、链格孢、辣椒疫霉的抑菌率分别为 70.0%、54.0%、77.5%、76.7%、78.8%,其中菌株 21-2 的抑菌效果最佳,具有开发成生防功能菌株的潜力。

菌株 21-2 表面光滑,米白色,呈不规则形状,不透明,革兰氏染色结果为阳性;菌株 21-2 的生理生化鉴定结果显示,菌株 21-2 能分解葡萄糖产生丙酮酸,进一步代谢产生甲酸、丙酸等;具有分泌淀粉酶水解淀粉能力;可以利用乳糖和葡萄糖 2 种营养物质作为生长的碳源;能分泌明胶酶水解明胶,具有液化能力;能分泌脲酶,具有分解尿素产氨的能力。通过 PCR 扩增获得菌株 21-2 的 16S rDNA 基因片段,将测序数据进行 Blast 比对,构建菌株 21-2 的系统发育树(图 1);综合 21-2 形态学观察、生理生化鉴定及系统进化树分析结果,菌株 21-2 为多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)。

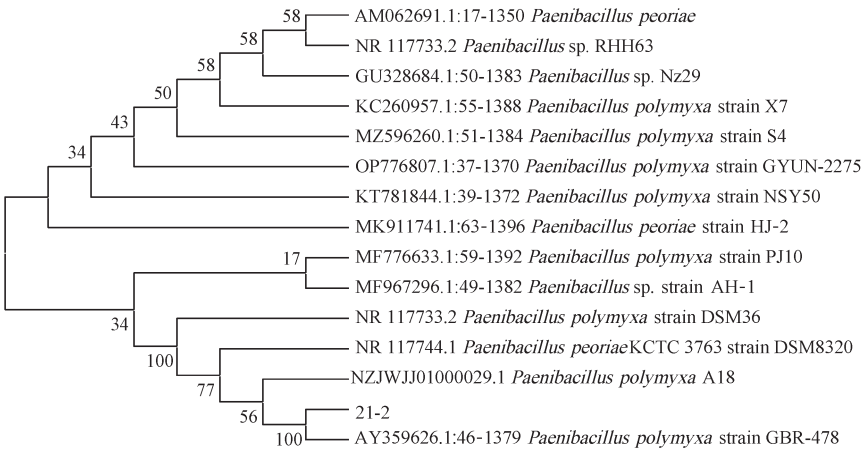


图 1 菌株 21-2 的系统进化树分析
Fig. 1 Phylogenetic analysis tree of strain 21-2

2.2 多粘类芽孢杆菌 21-2 的抑菌能力

打孔抑菌试验结果(图 2)显示,多粘类芽孢杆菌 21-2 对 5 种半夏常见病原菌都达到高度抑菌的效果(抑菌圈≥20 mm),链格孢、镰刀菌、辣椒疫酶、尖孢镰刀菌及病镰刀菌的抑菌圈大小分别为 31、27、25、

28、20 mm,其中对链格孢病原菌的抑菌效果最好。图 3 显示,多粘类芽孢杆菌 21-2 可导致病原菌菌丝分支增多,形态结构发生弯曲、畸形,生长停滞,表明多粘类芽孢杆菌 21-2 对尖孢镰刀菌能够产生较强的抑菌作用。

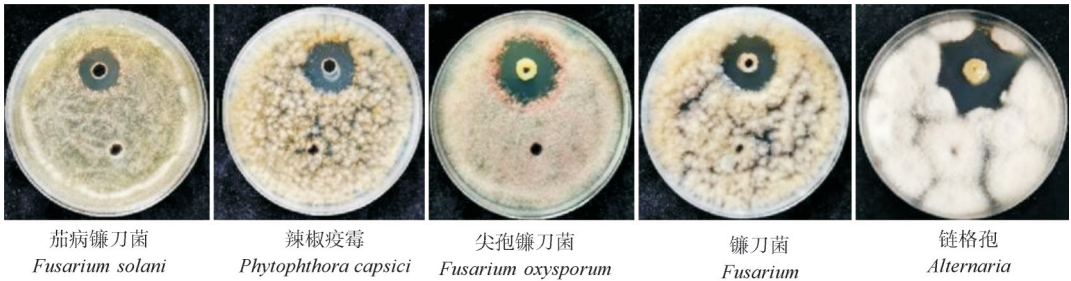
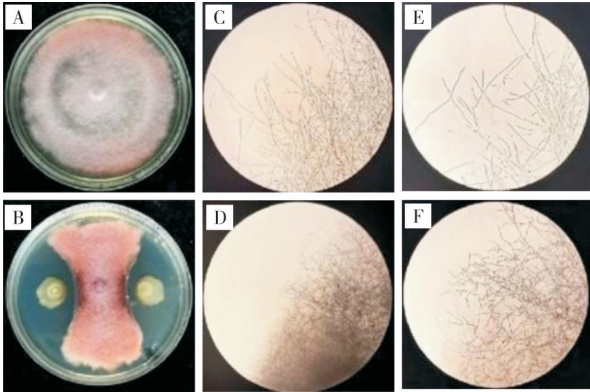


图 2 多粘类芽孢杆菌 21-2 对 5 种病原菌的抑菌能力

Fig. 2 Antifungal ability of *Paenibacillus polymyxa* 21-2 against five pathogenic fungi



A:病原菌平皿图;B:拮抗菌对峙平皿图;C:病原菌菌株边缘(不接拮抗菌)(40×);D:病原菌菌株边缘(接拮抗菌)(40×);E:病原菌菌株边缘(不接拮抗菌)(100×);F:病原菌菌株边缘(接拮抗菌)(100×)。A: Pathogen plate diagram; B: Antagonist bacteria confrontation plate diagram; C: Pathogen strain edge (without antagonist) 10×4 times; D: Pathogen strain edge (with antagonist) 10×4 times; E: Pathogen strain edge (without antagonist) 10×10 times; F: 10×10 times the edge of pathogenic bacteria strains (antagonistic bacteria).

图 3 多粘类芽孢杆菌 21-2 对尖孢镰刀菌菌丝的抑制作用
Fig. 3 Inhibitory effect of *Paenibacillus polymyxa* 21-2 on the hyphae of *Fusarium oxysporum*

2.3 多粘类芽孢杆菌 21-2 的促生效果

多粘类芽孢杆菌 21-2 对半夏种子萌发的作用如图 4 所示,CK 组芽长为 19.57 mm,稀释 10、20、50 和 100 倍的芽长分别为 27.43、33.41、43.21、32.82 mm,促生长率分别为 40%、71%、121% 和 68%,不同稀释倍数的菌悬液对半夏种子的萌发均有促进作用,其中稀释 50 倍的促生效率最佳,表明合适的菌悬液浓度对半夏种子的萌发能够起到较好的促生作用。

图 5、图 6 显示,合适的菌液稀释倍数对半夏的株

高、鲜质量和球茎质量等生长性状都有显著的促进作用。当菌株稀释倍数为 10、20 倍时,菌株对半夏的株高、鲜质量和球茎质量促进作用显著。其中,菌液稀释 20 倍时,对半夏的促生长作用最显著。而当多粘类芽孢杆菌 21-2 菌液的稀释倍数为 50、100 倍时促生长作用不显著。多粘类芽孢杆菌 21-2 处理对半夏叶绿素 a 含量没有显著影响,但当多粘类芽孢杆菌 21-2 稀释倍数在为 10、20 倍时,半夏叶绿素 b 和总叶绿素含量显著高于空白对照组,表明多粘类芽孢杆菌 21-2 能够促进半夏叶绿素的合成,进而提高其光合作用能力。

2.4 多粘类芽孢杆菌 21-2 对半夏病害的防治效果

如表 3 所示,随着稀释倍数升高,菌液对半夏病害的防治效果呈现下降的趋势,当稀释倍数为 100 倍时,对半夏病害没有防治效果,其原因可能是菌液浓度低,对病原菌没有起到抑制的作用。当菌液未进行稀释时,对半夏病害的防治效果可达 45.83%,对半夏病害的防治效果最好(图 7)。

2.5 生物有机肥发酵条件的优化

通过设置不同生物炭浓度梯度,探究生物炭的最佳添加量,结果如图 8 所示,当生物炭的添加量为 15% 和 20% 时,其有效活菌数含量最高,且与其他浓度梯度差异显著。因秸秆生物炭成本较高,实际生产过程中应考虑降低预算,由此确定生物炭最佳添加量为 15%。通过设置多粘类芽孢杆菌 21-2 不同浓度梯度,探究多粘类芽孢杆菌 21-2 的最佳添加量,当多粘类芽孢杆菌 21-2 的添加量为 1.5×10^7 CFU/g 时,其有效活菌数含量较高,且和 2.0×10^7 、 2.5×10^7 CFU/g 添加组无显著差异,由此确定多粘类芽孢杆

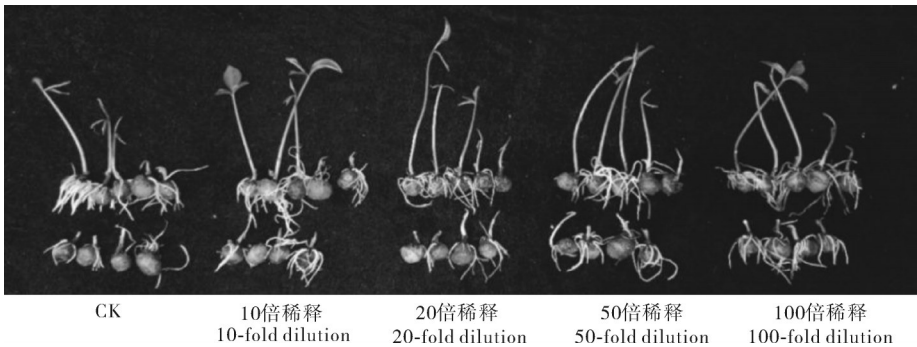


图4 多粘类芽孢杆菌21-2处理半夏种子萌发情况

Fig. 4 Conditions of *Paenibacillus polymyxa* 21-2 on seed germination of *Pinellia ternata*

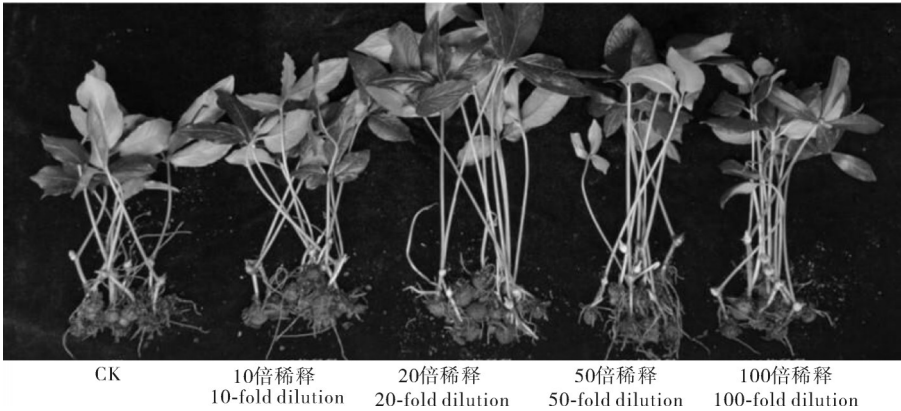
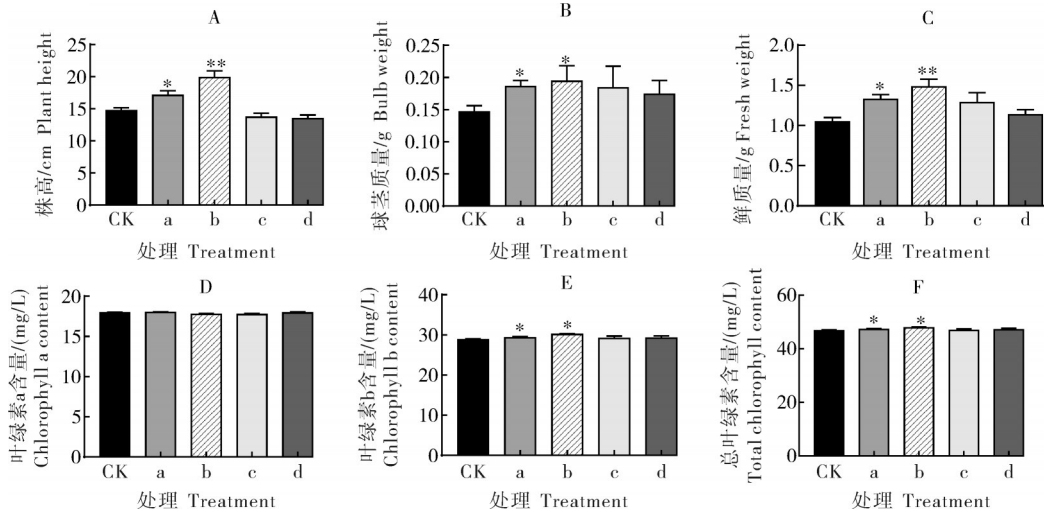


图5 多粘类芽孢杆菌21-2对半夏生长的促进效果

Fig. 5 Effect of *Paenibacillus polymyxa* 21-2 on the growth of *Pinellia ternata*



*, $P<0.05$; **, $P<0.01$. a: 稀释10倍 10-fold dilution; b: 稀释20倍 20-fold dilution; c: 稀释50倍 50-fold dilution; d: 稀释100倍 100-fold dilution.

图6 多粘类芽孢杆菌21-2对半夏株高(A)、球茎质量(B)、鲜质量(C)、叶绿素a(D)、叶绿素b(E)和总叶绿素(F)的作用效果

Fig. 6 Effect of *Paenibacillus polymyxa* 21-2 on the height (A), bulb weight (B), fresh weight (C), chlorophyll a (D), chlorophyll b (E) and total chlorophyll (F) of *Pinellia ternata*

菌21-2最佳添加量为 1.5×10^7 CFU/g。(时间) $>$ C(翻转次数),比较k值可得最佳发酵条件
根据平均极差R结果(表4)可知,影响生物有机为 $A_2B_1C_3D_2$ 即温度30℃,含水率45%,翻转次数2
肥活菌数的主次顺序为A(温度) $>$ B(含水率) $>$ D次/d,发酵时间5d。

表 3 不同稀释倍数菌液对半夏病害的防治效果统计
Table 3 Statistics on the control effects of different dilution ratios of bacterial solutions on *Pinellia ternata* diseases

处理 Treatment	病情指数 Disease severity index	防治效果/% Control efficiency
X0	54.17	45.83
X5	70.83	29.17
X10	79.17	20.83
X50	91.67	8.33
X100	100.00	—
CK	100.00	—

注：X0：无稀释菌液；X5：稀释 5 倍；X10：稀释 10 倍；X20：稀释 20 倍；X50：稀释 50 倍；X100：稀释 100 倍；CK：不加菌液。“—”表示没有防治效果。Note: X0: Undiluted bacterial solution; X5: 5-fold dilution; X10: 10-fold dilution; X20: 20-fold dilution; X50: 50-fold dilution; X100: 100-fold dilution; CK: No bacterial solution. “—” means no control effect.



图 7 不同稀释倍数菌液对半夏病害的防治效果
Fig. 7 Control effects of different dilutions of bacteria solution on *Pinellia ternata* disease

2.6 生物有机肥的应用效果

如表 5 所示，施用多粘类芽孢杆菌 21-2 菌株处理组对尖孢镰刀菌引起的半夏病害防效为 23.81%，表明该菌株在实际生产过程中，对半夏病害具有防治效果；与单独加多粘类芽孢杆菌 21-2 功能菌液相比，多粘类芽孢杆菌 21-2 功能菌液＋有机肥对半夏病害防效为 47.62%，表明有机肥的存在更有利于菌株定殖生长并发挥其防治效果；生物有机肥对半夏病害的防治效果最佳，防效为 61.90%，表明经二次发酵处理后，能够提高菌株的浓度和活性，有利于多粘芽孢杆菌 21-2 定殖土壤，发挥防治效果；有机肥和无机肥处理组对半夏病害也有一定的防治效果，原因可能是其肥效能够促进半夏的生长，进而增强半夏自身抵抗病害的能力，达到防治病害发生的效果；在相同肥效下，有机肥组比无机肥组防效更高，其原因可能是有机肥中含有少量有益菌，对病原菌具有抑制作用。

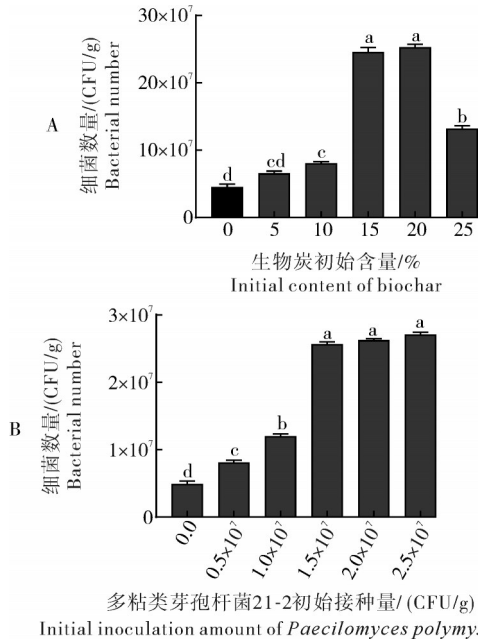


图 8 生物炭(A)和多粘类芽孢杆菌 21-2 添加量(B)的确定
Fig. 8 The addition of biochar (A) and *Paenibacillus polymyxa* 21-2 (B)

3 讨 论

本研究从半夏根际土壤分离得到 1 株对引起半夏病害的 5 种病原菌均有抑菌效果的细菌，经过菌落形态学观察、生理生化鉴定及分子生物学鉴定，确认该细菌为多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)。多粘类芽孢杆菌是一类重要的生防菌株，也是作物重要的有益根际细菌，具有广泛的寄主范围^[12]。有研究表明，多粘类芽孢杆菌能够抑制灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)等多种植物病原菌，具有抑菌广谱性，是一种有应用前景的植物根际促生防病细菌^[13-14]。它作为一类根际有益菌，能够通过分泌抗菌物质直接杀死病原体或在不同作物宿主的根周围形成紧密的生物膜，促进对植物根和土壤颗粒的黏附，发挥生物防治剂的作用，同时能增加植物对土壤养氮、磷或铁的获取^[15-16]。本研究通过设置不同稀释倍数的菌悬液，探究多粘类芽孢杆菌对半夏种子萌发的影响，结果表明不同的稀释倍数对半夏种子萌发均具有促进作用。多粘类芽孢杆菌 21-2 菌悬液能够促进半夏种子的萌发，对半夏病害防效为 45.83%，稀释倍数为 20 倍时，对半夏的株高、鲜质量、球茎和叶绿素含量等均有较好的提高作用。盆栽试验结果表明，当菌液稀释倍数为 10、20 倍时，半夏的株高、鲜质量、球茎和叶绿素含量等生长指标均显著高于空白对照，表

表 4 制备生物有机肥的正交试验

Table 4 Orthogonal test for preparing bio-organic fertilizer

项目 Item		因素 Factor				活菌数/ ($\times 10^7$ CFU/mL) Viable count
		A	B	C	D	
试验组编号 Experimental group number	1	1	1	1	1	9.30
	2	1	2	3	2	7.05
	3	1	3	2	3	4.35
	4	2	1	2	2	1.24
	5	2	2	1	3	7.40
	6	2	3	3	1	8.40
	7	3	1	3	3	4.20
	8	3	2	2	1	2.08
	9	3	3	1	2	1.77
K	K_1	2.07×10^8	2.59×10^8	1.85×10^8	1.98×10^8	
	K_2	2.82×10^8	1.65×10^8	1.88×10^8	2.12×10^8	
	K_3	8.05×10^7	1.45×10^7	1.97×10^7	1.60×10^7	
k	k_1	6.90×10^7	8.60×10^7	6.17×10^7	6.60×10^7	
	k_2	9.40×10^7	5.50×10^7	6.27×10^7	7.07×10^7	
	k_3	2.68×10^7	4.83×10^7	6.57×10^7	5.33×10^7	
极差 R Range		6.72×10^7	3.77×10^7	0.40×10^7	1.74×10^7	

注: K_i 表示在 A、B、C、D 各因素第 i 个水平下的各活菌数总和; k_i 表示对应的 K_i 的算术平均值, 即 $k_i = K_i/3$; 极差 R 代表 k_i 中最大值与最小值的差 ($i = 1, 2, 3$)。Note: K_i represents the total number of viable bacteria at the i -th level of factors A, B, C, and D; k_i represents the arithmetic mean of the corresponding K_i , i.e., $k_i = K_i/3$. The range (R) is defined as the difference between the maximum and minimum values of k_i ($i = 1, 2, 3$).

表 5 不同处理组对半夏病害的防治效果统计

Table 5 Statistics on the control effects of different treatment groups on *Pinellia ternata*

处理组别 Experimental groups	病情指数 Disease severity index	防治效果/% Control efficiency
CK	65.63	—
IF	50.00	23.81
CMO	43.75	33.33
OF	50.00	23.81
OC	34.38	47.62
BIO	25.00	61.90

注: CK: 无任何处理土壤; IF: 添加无机肥; CMO: 添加鸡粪有机肥; OF: 添加功能菌液; OC: 添加功能菌液和鸡粪有机肥; BIO: 添加生物有机肥。Note: CK: Untreated soil; IF: Inorganic fertilizer addition; CMO: Addition of chicken manure organic fertilizer; OF: Addition of functional bacterial liquid; OC: Addition of functional bacterial liquid and chicken manure organic fertilizer; BIO: Addition of bio-organic fertilizer.

明多粘类芽孢杆菌 21-2 对半夏的生长能够起到促进作用。其原因可能是多粘类芽孢杆菌能够产生作物激素吲哚乙酸 (IAA), 进而对半夏种子的萌发起促进作用^[17-18]。

与化学农药相比, 生物防治是一种控制植物疾

病更加环保的方式, 是管理植物病害和减少作物损失最经济和长期有效的策略之一^[19]。微生物肥料是一种新型绿色肥料, 在显著提高作物产量和品质的同时有效防治病害的发生, 是保持长期土壤肥力的可再生能源, 具有广阔的应用前景^[20]。有研究表明, 施用多粘类芽孢杆菌生物防治剂可促进南瓜生长, 缓解草莓植株叶片上的灰霉病症状, 降低病害严重程度^[21]。生物有机肥底施处理降低了黄瓜植株叶片霜霉病的发病率以及土壤中根结线虫数量^[22]。秦立金等^[23]发现微生物菌肥与生物有机肥复配显著降低了甜瓜土壤中根结线虫的数量, 线虫减退率最高可达 44.41%。另外, 还有研究采用牛粪堆肥和菜籽粕经芽孢杆菌 (芽孢杆菌属 XG-1) 发酵形成生物有机肥, 通过控制镰刀菌枯萎病、调节土壤性质, 促进西瓜生长, 消除了西瓜连作屏障^[24]。本研究中, 生防菌多粘类芽孢杆菌 21-2 对半夏病害的发生具有一定的抑制作用, 与单一菌剂或无机肥添加相比, 含有多粘类芽孢杆菌 21-2 的生物有机肥对半夏病害防效可达 61.90%, 防治效果更佳。本研究为多粘类芽孢杆菌 21-2 及其生物有机肥应用于半夏病害的防治提供一定理论和应用依据, 在半夏生产中, 可适量施用生物有机肥, 为外源功能微生物的定殖繁衍创造合适的

条件,进而提高生防效果。

参考文献 References

- [1] 周佳,陈巧环,许佳伟,等.半夏白绢病病原菌鉴定、生物学特性测定及防治药剂筛选[J].中国中药杂志,2022,47(19): 5209-5216. ZHOU J, CHEN Q H, XU J W, et al. Identification, biological characteristics, and control of pathogen causing southern blight of *Pinellia ternata* [J]. China journal of Chinese materia medica, 2022, 47(19): 5209-5216 (in Chinese with English abstract).
- [2] 王觉,聂春鹏,罗夫来,等.半夏连作障碍与土壤微生物数量变化初步探究[J].南方农业,2016,10(19): 101-105. WANG J, NIE C P, LUO F L, et al. Preliminary study on the obstacle of continuous cropping of *Pinellia ternata* and the change of soil microbial quantity [J]. South China agriculture, 2016, 10(19): 101-105 (in Chinese).
- [3] WANG F, TANG T, MAO T, et al. First report of blight on *Pinellia ternata* (Banxia) caused by *Choanephora cucurbitarum* in China [J/OL]. Plant Dis, 2021, 105(12): 4165 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2558-PDN>.
- [4] 张和,刘永红,陈静,等.中药材半夏无公害病虫害防治技术[J].陕西农业科学,2021,67(1): 98-101. ZHANG H, LIU Y H, CHEN J, et al. Techniques for pest control of pollution-free traditional Chinese medicinal materials *Pinellia ternata* [J]. Shaanxi journal of agricultural sciences, 2021, 67(1): 98-101 (in Chinese with English abstract).
- [5] BELLINI A, FERROCINO I, CUCU M A, et al. A compost treatment acts as a suppressive agent in *Phytophthora capsici*-*Cucurbita pepo* pathosystem by modifying the rhizosphere microbiota [J/OL]. Front Plant Sci, 2020, 11: 885 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00885>.
- [6] XU X, ZHANG L, YANG X, et al. *Alternaria* spp. associated with leaf blight of maize in Heilongjiang Province, China [J]. Plant Dis, 2022, 106(2): 572-584.
- [7] 杨必洪,李帅,周红霞.潜半夏病虫草害综合防治措施[J].现代农业科技,2018,47(9): 155-158. YANG B H, LI S, ZHOU H X. Comprehensive control measures of latent *Pinellia ternata* disease, weeds and pests [J]. Modern agricultural science and technology, 2018, 47(9): 155-158 (in Chinese).
- [8] 徐志强.半夏栽培技术和田间管理[J].种子科技,2018,36(12): 38-39. XU Z Q. Cultivation techniques and field management of *Pinellia ternata* [J]. Seed science & technology, 2018, 36(12): 38-39 (in Chinese).
- [9] NAYAK M. Microbial fertilizer effect in soil enhancement [J/OL]. Journal of microbial & biochemical technology, 2021, 13(4): 1 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.35248/1948-5948.21.13.465>.
- [10] 张曼,郝科星,张焕,等.菌肥与生物炭配施对设施西瓜生长及土壤理化性质的影响[J].中国瓜菜,2023,36(5): 72-77. ZHANG M, HAO K X, ZHANG H, et al. Effects of bacterial fertilizer combined with biochar on watermelon growth and soil physical and chemical properties in greenhouse [J]. China cucurbits and vegetables, 2023, 36(5): 72-77 (in Chinese with English abstract).
- [11] 穆阳芬.微生物肥料:土壤污染的“克星”[N].中华合作时报,2023-01-31(A07). MU Y F. Microbial fertilizer: the nemesis of soil pollution [N]. China cooperation times, 2023-01-31 (A07) (in Chinese).
- [12] JEONG H, CHOI S K, RYU C M, et al. Chronicle of a soil bacterium: *Paenibacillus polymyxa* E681 as a tiny guardian of plant and human health [J/OL]. Frontiers in microbiology. 2019, 10: 467 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00467>.
- [13] 邓云.一株拮抗性多粘类芽孢杆菌的鉴定及其对小麦赤霉病的田间防效[J].福建农林大学学报(自然科学版),2022,51(1): 21-26. DENG Y. Identification of an antagonistic *Paecilomyces polymyxa* and its field control effect on wheat scab [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (natural science edition), 2022, 51(1): 21-26 (in Chinese with English abstract).
- [14] ABDELKHALEK A, AL-ASKAR A A, ELBEAINO T, et al. Protective and creative activities of *Paenibacillus polymyxa* against zucchini yellow mosaic virus infestation in squash plants [J/OL]. Biology (Basel), 2022, 11(8): 1150 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.3390/biology11081150>.
- [15] PANDEY A K, BARBETTI M J, LAMICHHANE J R. *Paenibacillus polymyxa* [J]. Trends microbiol, 2023, 31(6): 657-659.
- [16] LANGENDRIES S, GOORMACHTIG S. *Paenibacillus polymyxa*, a jack of all trades [J]. Environ Microbiol, 2021, 23(10): 5659-5669.
- [17] KHAN M S, GAO J L, CHEN X Q, et al. Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria *Paenibacillus polymyxa* SK1 from *Lilium lancifolium* [J/OL]. Biomed research international, 2020, 2020(1): 8650957 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.1155/2020/8650957>.
- [18] WESELOWSKI B, NATHOO N, EASTMAN A W, et al. Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production [J/OL]. BMC microbiology, 2016, 16(1): 244 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0860-y>.
- [19] COLLINGE D B, JENSEN D F, RABIEY M, et al. Biological control of plant diseases: what has been achieved and what is the direction? [J]. Plant pathology, 2022, 71(5): 1024-1047.
- [20] SEENIVASAGAN R, BABALOLA O O. Utilization of microbial consortia as biofertilizers and biopesticides for the production of feasible agricultural product [J/OL]. Biology, 2021, 10(11): 1111 [2023-11-23]. <https://doi.org/10.3390/biology10111111>.
- [21] TSAI S H, CHEN Y T, YANG Y L, et al. The potential biocontrol agent *Paenibacillus polymyxa* TP3 produces fusaricidin-type compounds involved in the antagonism against gray mold pathogen *Botrytis cinerea* [J]. Phytopathology, 2022, 112

- (4): 775-783.
- [22] 刘阳, 钟增明, 孙漫红, 等. 生物有机肥底施对设施黄瓜促生抑病的效果[J]. 农业研究与应用, 2021, 34(6): 63-70. LIU Y, ZHONG Z M, SUN M H, et al. Growth-promoting and disease-inhibiting effects of biological organic fertilizer on facility cucumber[J]. Agricultural research and application, 2021, 34(6): 63-70 (in Chinese with English abstract).
- [23] 秦立金, 尹慧来, 王塔娜, 等. 复合微生物菌剂与生物有机肥复配对甜瓜增产提质抗病的研究[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2021, 37(12): 40-44. QIN L J, YIN H L, WANG T N, et al. Study on the combination of compound microbial inoculum and bio-organic fertilizer to increase yield, improve quality and disease resistance of melon[J]. Journal of Chifeng University (natural science edition), 2021, 37(12): 40-44 (in Chinese).
- [24] ZHANG H, HUA Z W, LIANG W Z, et al. The prevention of bio-organic fertilizer fermented from cow manure compost by *Bacillus* sp. XG-1 on watermelon continuous cropping barrier [J/OL]. International journal of environmental research and public health, 2020, 17(16): 5714[2023-11-23]. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165714>.

Screening of biocontrol bacteria against *Pinellia ternata* diseases and control effect of bio-organic fertilizer on promoting growth and preventing diseases

SHI Haijing¹, XU Mingjiang¹, ZHU Yincheng², ZHU Guofeng³, REN Zhuqing¹, WU Jian¹

1. Animal Science and Technology, College-Animal Medical College, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China;

2. Yichang Yiling District Animal Epidemic Disease Prevention Control Center, Yichang 443100, China;

3. Yichang Yiling District Agricultural Products Quality and Safety Service Center, Yichang 443100, China

Abstract *Pinellia ternata* diseases pose a significant obstacle to the industrial development of *P. ternata*. To screen for superior strains of beneficial microorganisms that promote growth and enhance resistance to *P. ternata* diseases, strains were isolated and screened from the rhizosphere soil of *P. ternata*. Nine strains exhibiting antagonistic effects against various pathogens of *P. ternata*, including *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Phytophthora capsici* and *Fusarium solani*, were successfully isolated. These strains were identified, and their antimicrobial activities were assessed. Subsequently, the strains were formulated into microbial fertilizers, and their effects on promoting growth promotion and controlling disease in *P. ternata* were evaluated. The results showed that strain 21-2 exhibited the strongest antimicrobial activity, and identification confirmed that the strain was *Paenibacillus polymyxa*. Strain 21-2 demonstrated notable inhibitory effects against five common pathogens of *P. ternata* and significantly promoted the germination of *P. ternata* seeds. The bacterial suspension of strain 21-2 exhibited a disease control efficacy of 45.83% against diseases affecting *P. ternata* and significantly enhanced the plant's height, fresh weight, bulb weight, and chlorophyll content. The bio-organic fertilizer, which consists of *P. polymyxa* 21-2, straw-derived biochar, and organic fertilizer from chicken manure, exhibited a disease control efficacy of 61.90% against diseases affecting *P. ternata*. The results indicated that the *P. polymyxa* strain 21-2 could be effectively utilized for controlling diseases in *P. ternata*, promoting its growth, and demonstrating significant potential for further development and application.

Keywords *Pinellia ternata*; fungal diseases; *Paenibacillus polymyxa*; biological control; bio-organic fertilizer

(责任编辑:边书京)