主持人：缪卫国，吴少英　　Open Access

芽孢杆菌 LTB49 对黄瓜枯萎病生防潜力研究

钱运龙[#]，赵　玉，杨　琳，张云飞，张淑静[*]
（海南大学 热带农林学院，海南 儋州 571737 中国）

摘　要：为筛选高效防治黄瓜枯萎病的生防细菌菌株，本研究利用梯度稀释和平板对峙法从黄瓜枯萎病发病根际土壤中分离筛选出一株具有较强拮抗活性的芽孢杆菌 LTB49（拮抗率 55.26%）。通过形态学、生理生化反应及分子生物学将该菌株鉴定为贝莱斯芽孢杆菌 *Bacillus velezensis*。LTB49 发酵滤液 10 倍稀释液对黄瓜枯萎病病菌菌丝生长具有较强的抑制作用，抑制率达 42.16%，对病菌孢子萌发的抑制率高达 90.82%。盆栽结果显示，LTB49 对黄瓜枯萎病具有良好的防效（43.37%），与商品菌剂解淀粉芽孢杆菌 QST713 防效（50.60%）相比没有显著性差异。进一步研究表明，该菌株通过诱导超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性上升抵御枯萎病，并能抑制镰刀菌对黄瓜植株生长的矮化影响。上述结果显示，贝莱斯芽孢杆菌 *Bacillus velezensis* LTB49 在防治黄瓜枯萎病方面具有较高的应用潜力。

关键词：黄瓜枯萎病；贝莱斯芽孢杆菌；生防潜力
中图分类号：S476.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674 − 7054(2026)01 − 0075 − 09
钱运龙, 赵玉, 杨琳, 等. 芽孢杆菌 LTB49 对黄瓜枯萎病生防潜力研究[J]. 热带生物学报 (中英文), 2026, 17(1): 75−83.　DOI: 10.15886/j.cnki.rdswxb.20250056　CSTR: 32425.14.j.cnki.rdswxb.20250056

黄瓜（*Cucumis sativus* L.）是世界上广泛种植的一种蔬菜，在中国种植面积高达 128×10^4 hm^2，总产量居世界首位[1]。据《海南统计年鉴 2024 年》数据显示，海南省的黄瓜种植面积达 8 000 hm^2，总产量 23.49 万 t，并呈逐年增加的趋势，已经成为当地一种重要的蔬菜作物[2]。近年来，由尖孢镰刀菌黄瓜专化型（*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*，Foc）引起黄瓜枯萎病日趋严重，防治困难，可造成 10% ~ 20% 减产，严重时可导致绝产绝收[3-6]。目前，适宜推广种植的黄瓜抗枯萎病品种仍较少，嫁接、轮作等农业防治措施存在操作繁琐、工作量大且成本较高的缺点[7-8]，而传统的化学农药[9]、土壤熏蒸等化学防治措施容易带来病原菌抗药性增加、毒性残留及环境污染等问题[10]。利用有益微生物防治黄瓜枯萎病具有操作简单、绿色高效等优点，并在生产实践中得到了应用，已成为镰刀枯萎病绿色防治的一项重要措施[11]。

目前，多种有益微生物被报道用于黄瓜枯萎病的防治，主要包括芽孢杆菌（*Bacillus*）等生防细菌[12]、木霉（*Trichoderma*）等生防真菌[13] 和链霉菌（*Streptomyces*）等生防放线菌[14]。其中，芽孢杆菌具有抗逆性强、易于土壤定殖且具有防病促生等多种功效，已被广泛报道用于黄瓜枯萎病的生物防治[15]。目前，已分离出解淀粉芽孢杆菌（*Bacillus amyloliquefaciens*）、巨大芽孢杆菌（*Bacillus megaterium*）、枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）等多种能有效拮抗黄瓜枯萎病的菌株[16-18]。贝莱斯芽孢杆菌是芽孢杆菌属的一个新成员，具有广谱的抑菌活性和促生能力，可用于枯萎病的防治。例如，贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*）菌株 F9 能拮抗病原菌丝生长，盆栽试验对黄瓜枯萎病有 42.86% 的防效[19]；菌株 FJ17-4 影响镰刀菌菌丝生长的同时还能抑制孢子萌发[20]。

尽管包括芽孢杆菌在内的多种生防微生物被

收稿日期：2025−04−11　　修回日期：2025−04−23
基金项目：宁夏回族自治区农业科技自主创新资金（NGSB-2021-10-04）；海南省自然科学基金高层次人才项目（322RC562）
[#]第一作者：钱运龙（2000—），男，海南大学热带农林学院 2022 级硕士研究生。E-mail: hainanuqyl@hainanu.edu.cn
[*]通信作者：张淑静（1990—），女，讲师，博士。研究方向：微生物农药创制，有益微生物互作及抑菌机制。E-mail: sjzhang@hainanu.edu.cn

报道用于黄瓜枯萎病的防治，但商品化的菌株仍然有限，在生产中常用解淀粉芽孢杆菌防治该病。现有生防菌株往往具有环境依赖性强、田间防效不稳定的弊端，因此从不同生境中挖掘高效的生防菌资源一直是该领域的一项长期重要的基础性工作。本研究从海南热带土壤生境中分离并鉴定黄瓜枯萎病拮抗菌，研究高活性菌株的生防潜力，以期拓展现有黄瓜枯萎病高效生防菌资源库。

1 材料与方法

1.1 供试材料 本研究所使用的尖孢镰刀菌黄瓜专化型，由海南大学热带农林学院实验室分离保存；供试土壤样品采自海南大学儋州农科基地的黄瓜发病土壤。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤细菌分离 在海南省儋州市黄瓜枯萎病发生地，采集不同植株根际土壤样品，用稀释涂布法进行土壤细菌分离，最后根据形态特征归类并纯化保藏。

1.2.2 土壤拮抗细菌筛选 以 Foc 作为靶标菌，采用平板对峙法对分离得到的土壤细菌进行抑菌活性筛选。平板对峙法使用打孔器挑取 0.5 cm 直径的植物病原菌菌饼置于 9 cm 的培养皿中央，在菌饼 2 cm 两侧挑取纯化的细菌画菌线，以仅接种病原菌的培养基为空白对照，在（25±0.5）℃ 的黑暗条件下进行培养；待对照培养皿中病原菌直径长到培养皿直径约三分之二时，用十字交叉法测量病原菌菌落直径并计算抑菌率，采用 SPSS 26 软件进行数据统计分析，利用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析。

$$抑菌率（\%）= \frac{（CK病原菌直径-处理病原菌直径）}{CK病原菌直径}\times 100 \quad (1)$$

1.2.3 菌株 LTB49 形态、生理生化及分子鉴定 将 LTB49 菌液置于 NA 固体培养基上稀释并涂布培养，（28±0.5）℃ 条件培养 24 h，在自然光下观察单菌落形态特征；生理生化特性测定参照《伯杰氏细菌鉴定手册》的相关标准对菌株 LTB49 进行测试[21]，所涉及内容为：革兰氏染色反应、过氧化氢酶试验、明胶液化试验、甲基红试验、V-P 试验、淀粉水解试验、果聚糖生成试验、二羟基丙酮生成试验、硫化氢生成试验、酪朊水解试验、酪氨酸水解试验、苯丙氨酸脱氨酶试验。以上测试均设置三组生物学重复。

利用细菌 DNA 提取试剂盒（Cat: YZ-D3350，北京索莱宝科技有限公司）提取芽孢杆菌 LTB49 的 DNA，选用 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增，测序结果使用 Ezbiocloud 网站（https://www.ezbiocloud.net）与相似模式菌株序列对比分析，根据 MEGA 11 软件的 N-J 法构建 16S rDNA 基因序列的系统发育树。

1.2.4 菌株 LTB49 对 Foc 抑菌活性的测定 采用菌丝生长速率法及孢子萌发法探究芽孢杆菌 LTB49 滤液对 Foc 的抑菌活性，所有测试均设置 3 组生物学重复。生长速率法试验：将 LTB49 接种在 LB 培养液中，（28±0.5）℃ 下振荡 24 h 得到发酵液，调整其 OD_{600}=1，4 ℃、5000 r·min^{-1} 离心 10 min；取上清液用 0.2 μm 滤膜过滤得到无菌发酵滤液，将其按照 1:9 的体积比混于 PDA 培养基，挑取 0.5 cm 直径的病原菌菌饼，在（25±0.5）℃ 的黑暗条件下进行培养；以无滤液处理为对照组，待对照组病原菌直径长到培养皿直径三分之二时，十字交叉法测量测试组直径并按照公式（1）计算抑菌率；孢子萌发试验中，收集 Foc 孢子悬液并调整浓度至 1×10^5 ~ 1×10^6 CFU·mL^{-1}，设置对照组（无生防菌）和处理组（LTB49 发酵菌液）。将孢子悬液和处理菌液（OD_{600}=1）等量混合，滴加到载玻片上，用盖玻片覆盖后放入密封培养皿，在（28±0.5）℃ 恒温培养箱中培养 12 h，随后使用光学显微镜观察孢子萌发结果并按照公式（2）计算孢子萌发抑制率；判断标准为芽管长度大于孢子半径则表明孢子萌发。

$$抑制率（\%）= \frac{（对照孢子萌发数量-处理孢子萌发数量）}{对照孢子萌发数量}\times 100 \quad (2)$$

1.2.5 菌株 LTB49 防治黄瓜枯萎病盆栽试验 选取长势基本一致的黄瓜苗进行盆栽试验，在黄瓜苗移栽前 1 d 进行灌施：空白对照组为 50 mL Foc 孢子液（1×10^7 CFU·mL^{-1}）与 50 mL 蒸馏水；阳性对照组为 50 mL Foc 孢子液（1×10^7 CFU·mL^{-1}）与 50 mL 解淀粉芽孢杆菌（1×10^8 CFU·mL^{-1}）；处理

组为 50 mL Foc 孢子液(1×10^7 CFU·mL^{-1})与 50 mL 芽孢杆菌 LTB49 菌悬液(1×10^8 CFU·mL^{-1})。每组重复 10 株苗,所有处理均设置 3 个重复。然后在室温 16 h/8 h 昼/夜光照下培养 30 d,统计每组黄瓜的发病情况并测量黄瓜生长期的生物指标(株高、茎粗、根长、地上地下部新鲜质量),使用公式(3)和(4)计算防治效果,严重度分级标准参考行业标准[22]。阳性对照为拜尔卓润微生物菌剂分离得到的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*, QST713),试验采用 SPSS 26 软件进行数据统计分析,利用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析。

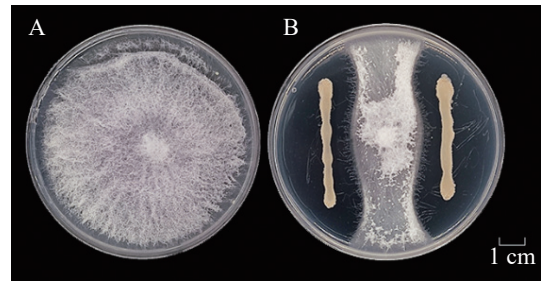
$$\text{病情指数}(\%) = \frac{\Sigma(\text{各级发病株}\times\text{对应级数})}{\text{供试植株总数}\times\text{最高级数}}\times 100 \quad (3)$$

$$\text{相对防治效果}(\%) = \frac{(\text{对照病情指数}-\text{处理病情指数})}{\text{对照病情指数}}\times 100 \quad (4)$$

1.2.6　不同处理对黄瓜叶片和根部防御酶活性的影响测试　不同处理组如 1.2.5 所述,待培养 30 d 时对不同黄瓜处理植株相同位置的叶片、主根和侧根进行取样,每组将 10 棵苗样品混匀保存于 −80 ℃ 冰箱中,使用试剂盒(Cat: BC5165, BC0090,北京索莱宝科技有限公司)对各处理黄瓜叶片和根部的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性进行测定。

2　结果与分析

2.1　黄瓜枯萎病菌拮抗细菌的筛选　分离纯化得到一株编号为 LTB49 的细菌,其对 Foc 表现出良好的抑菌效果(图 1),对峙试验结果表明其抑菌率为 55.26%。相较于对照组,处理组显著抑制了菌丝的生长。



A. 正常 Foc 菌落; B. 受 LTB49 抑制的 Foc 菌落。
A. Normal Foc colony; B. Foc colony inhibited by LTB49.

图 1　菌株 LTB49 对尖孢镰刀菌黄瓜专化型(Foc)的抑制效果

Fig. 1　Inhibitory effect of bacterial strain LTB49 on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*(Foc)

2.2　菌株 LTB49 形态、生理生化及分子鉴定结果　LTB49 在 NB 培养基培养 24 h 后所得菌落形态如图 2-A 所示,LTB49 菌落呈浅乳白色、近圆形且表面粗糙;其革兰氏染色为紫色(图 2-B),为革兰氏阳性菌。生理生化鉴定结果如表 1 所示,LTB49 在明胶液化试验、V-P 试验、淀粉水解试验、硫化氢生成试验、酪朊水解试验中都呈阳性,

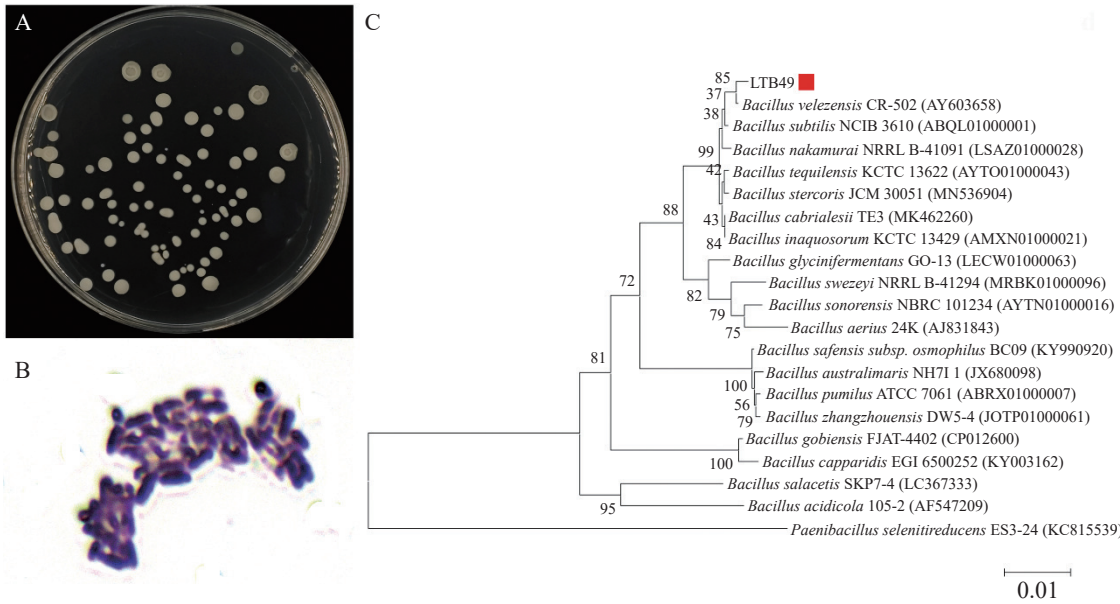


图 2　菌株 LTB49 菌落形态(A)、革兰氏染色(B)及系统进化树(C)

Fig. 2　Colony morphology (A), Gram-staining characteristics (B) and phylogenetic tree reconstruction of strain LTB49 based on 16S rRNA gene sequences (C)

表 1 菌株 LTB49 的生理生化特征

Tab. 1 Physiological and biochemical characteristics of the bacterial strain LTB49

生理生化特性 Physiological and biochemical characteristics	结果 Results
过氧化氢酶 Peroxidase	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	+
甲基红 Methyl red	–
V-P	+
淀粉水解 Starch hydrolysis	+
果聚糖生成 Fructan production	–
二羟基丙酮生成 Dihydroxyacetone formation	+
硫化氢生成 Hydrogen sulfide generation	+
酪朊水解 Casein hydrolysis	+
酪氨酸水解 Tyrosine hydrolysis	–
苯丙氨酸脱氨酶 Phenylalanine deaminase	–

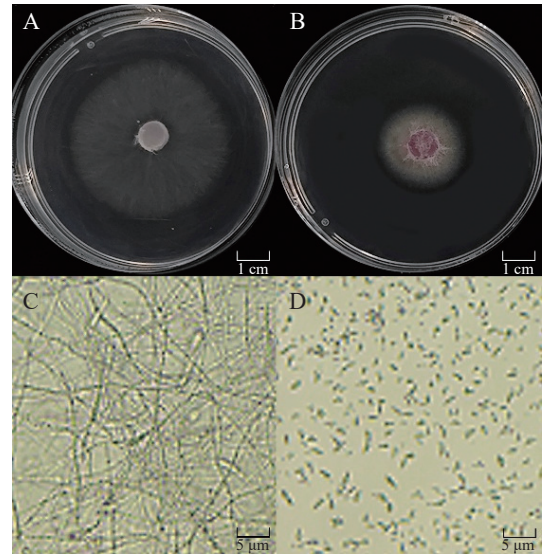
注：“+”表示阳性，“-”表示阴性。

Note: "+" indicates positive reaction, "–" indicate negative reaction.

表明 LTB49 可以利用糖类物质水解淀粉。

分子鉴定结果显示，菌株 LTB49 的 16S rDNA 序列在 Ezbiocloud 网站比对与模式菌株 *Bacillus velezensis* 的相似性为 99.79%。使用 MEGA11.0 软件对 LTB49 及其相似序列进行比对分析，然后选择邻接法进行系统进化树构建，结果如图 2-C 所示，菌株 LTB49 处于芽孢杆菌（*Bacillus*）大的分支中，与贝莱斯芽孢杆菌聚合在一起。通过将形态学观察、生理生化特性与分子学鉴定结合分析，菌株 LTB49 被鉴定为贝莱斯芽孢杆菌。

2.3 菌株 LTB49 发酵液对 Foc 抑菌活性测定结果 芽孢杆菌 LTB49 发酵滤液对 Foc 菌丝生长及孢子萌发的抑制效果如图 3 所示。菌丝生长试验结果表明，LTB49 发酵滤液稀释 10 倍时具有较为显著的抑菌活性，相较于空白对照组（图 3-A），抑菌率为 42.16%（图 3-B）。孢子萌发试验结果表明，在正常浓度（OD_{600}=1）下，经过 LTB49 发酵液处理的 Foc 孢子萌发受到严重抑制，空白对照组的孢子萌发率为 98%（图 3-C），而经过 LTB49 发酵液处理后的 Foc 孢子萌发率仅为 9%，抑制率达到 90.82%（图 3-D）。结果表明，芽孢杆菌 LTB49 具有优异的抗 Foc 孢子萌发效果，有作为抗孢子萌发药剂使用的潜力。



A. 正常 Foc 菌落；B. 受 LTB49 发酵滤液抑制的 Foc 菌落；C. 正常萌发的 Foc 分生孢子；D. 受菌株 LTB49 发酵菌液抑制的 Foc 分生孢子。

A. Normal Foc colony; B. Foc colony inhibited by LTB49 fermentation filtrate; C. Normally germinated Foc conidia; D. Foc conidia inhibited by strain LTB49 fermentation broth.

图 3 菌株 LTB49 对 Foc 的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effect of strain LTB49 on Foc

2.4 芽孢杆菌 LTB49 防治黄瓜枯萎病盆栽试验结果 芽孢杆菌 LTB49 防治黄瓜枯萎病盆栽试验结果如图 4-A 所示，病情指数及防效在表 2 中呈现。试验结果表明，贝莱斯芽孢杆菌 LTB49 处理黄瓜生长状况良好，相较于施加了枯萎病原菌的空白对照组，处理组长势较为优异。其中，空白对照组发病严重，大部分植株呈现叶片萎蔫植株枯萎状，该处理黄瓜的病情指数为 76.85；而经过生防菌处理的黄瓜盆栽仅有部分植株发病，其中，生防菌 LTB49 处理病情指数降低为 43.52，防效达到 43.37%，略低于阳性对照组（50.60%）。这说明该生防菌在盆栽中起到了明显的抑菌效果，具有作为生防菌的开发价值。

每组黄瓜植株生长期的生物指标结果如图 4-B 所示。试验结果表明，空白对照组植株枯萎病发病率显著升高，普遍表现出典型矮化症状，茎基部开始出现缢缩现象。相比对照，芽孢杆菌 LTB49 处理组发病程度显著降低，生长状态明显提升，包括新鲜质量（地上部增加 58.36%、地下部增加 79.66%）、株高（增加 22.62%）、根长（增加 33.22%）及茎粗（增加 37.28%）都有所改善。上述数据表明，芽孢

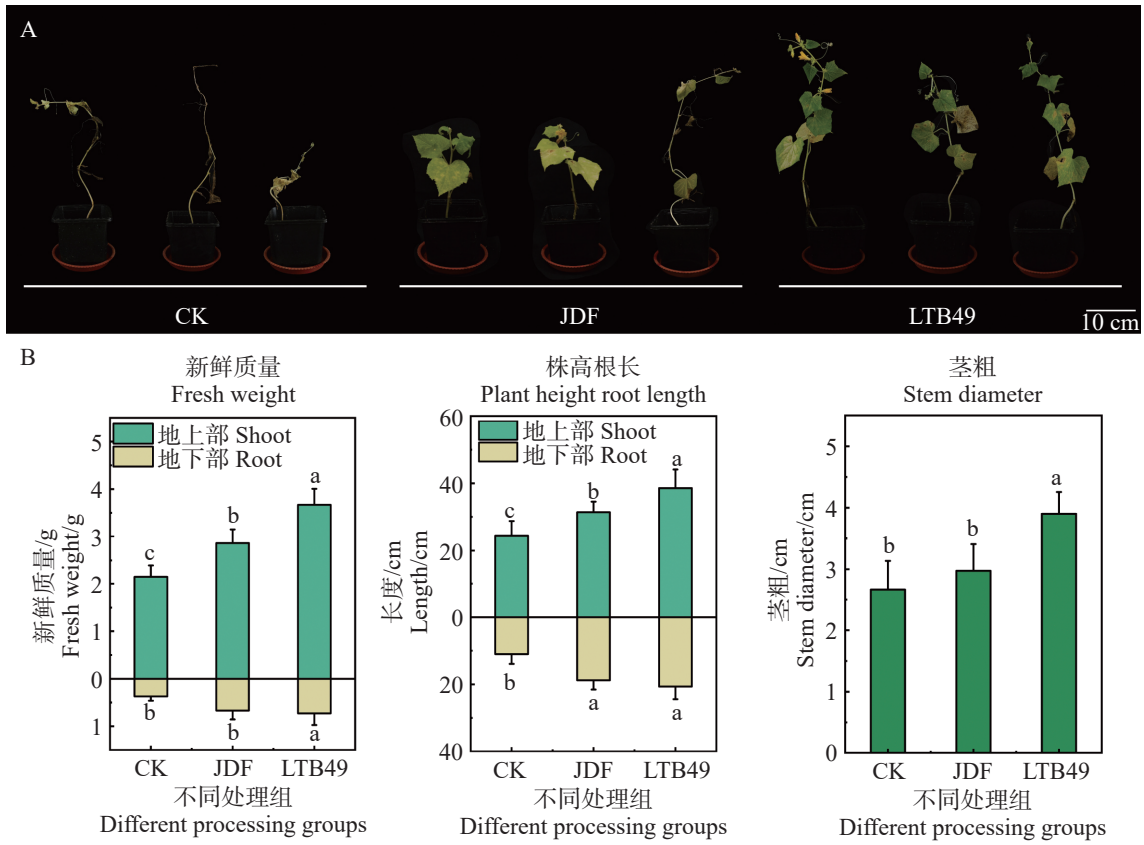


图 4　黄瓜枯萎病盆栽防治试验(A)及生物量比对(B)

Fig. 4　Control of cucumber *Fusarium* wilt in pot experiments (A) and biomass comparison (B)

表 2　芽孢杆菌 LTB49 对黄瓜枯萎病盆栽防治效果

Tab. 2　Effect of *Bacillus* strain LTB49 on control of potted cucumber wilt

处理 Treatment	病情指数/% Disease index	相对防治效果/% Relative control effect
CK	76.85±1.60[a]	–
JDF	37.96±3.21[b]	50.60±4.17
LTB49	43.52±4.24[b]	43.37±5.52

注: 同一列中不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at $P < 0.05$ by Duncan's new multiple range test.

杆菌 LTB49 处理可有效增强黄瓜植株对 Foc 的抗性并促进植株生长, 缓解病原菌侵染引发的植株矮化效应。说明芽孢杆菌 LTB49 对盆栽的活体具有一定防治效能。

2.5　芽孢杆菌 LTB49 对黄瓜叶片和根部防御酶活性影响结果　过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性指标可以用于说明植株的抗逆水平。芽孢杆菌 LTB49 对黄瓜叶片和根部 SOD 和 POD 活性影响结果如图 5 所示。在图 5-A 中, 相较于空白处理组, 在植株施加阳性对照菌剂 JDF 和生防菌 LTB49 后黄瓜植株叶片的 POD 活性显著下降, 而主根和侧根的活性均显著上升。不同部位 SOD 活性在施加生防菌后产生了显著的变化(图 5-B), 在施加阳性对照菌剂 JDF 和生防菌 LTB49 后叶片和侧根的 SOD 酶活性显著上升, 主根 JDF 和 LTB49 处理展示出相反的结果, JDF 呈现出显著的下降, 而 LTB49 的处理组活性有所上升, 这些结果可能与植株的发病及生长情况有关。整体上, LTB49 处理后黄瓜根部抗逆酶活性得到了一定的增强, 这有助于加强植株对 Foc 的抵制作用。

3　讨　论

由尖孢镰刀菌黄瓜专化型(Foc)引起的黄瓜枯萎病是一种常见的土传病害, 大面积发病对作物生产危害严重。为减少化学农药依赖, 筛选新菌株用于丰富生防菌库、筛选黄瓜枯萎病生防菌株和增加生物防治技术手段具有重要意义。本研究从海南热带发病土壤中分离纯化出一种对 Foc 具有良好抑菌效果的芽孢杆菌 LTB49, 通过形态学

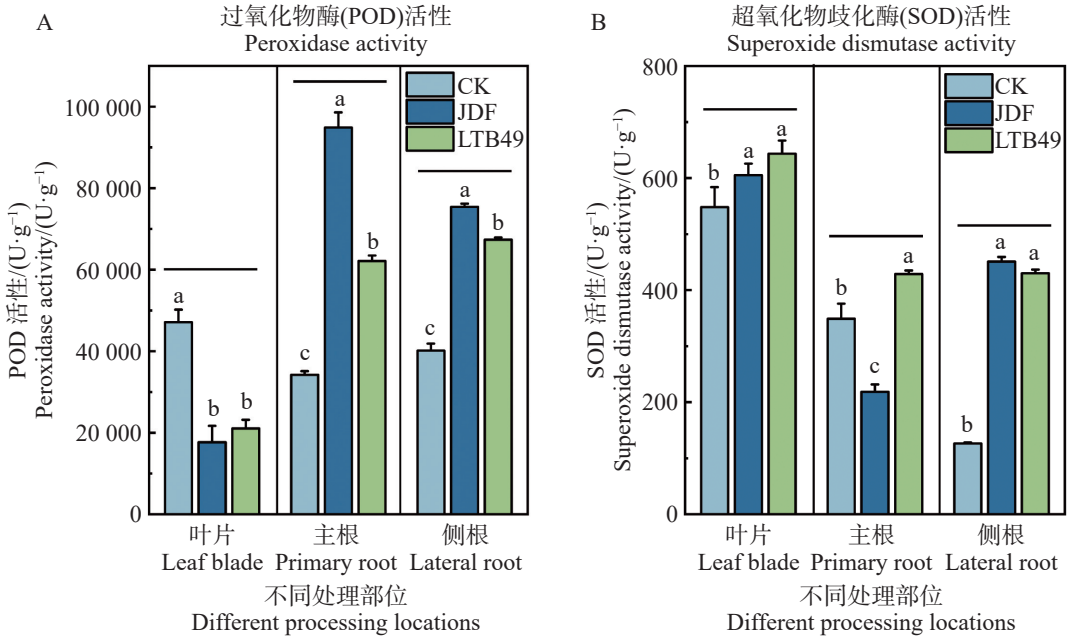


图 5　不同处理对黄瓜叶片和根部 POD（A）和 SOD（B）活性的影响

Fig. 5　Effects of different treatments on POD (A) and SOD (B) activities in cucumber leaves and roots

注：显著性差异为组内差异分析，同一组中不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著

Note: Significant differences refer to the analysis of within-group differences; different lowercase letters within the same group indicate significant differences at $P < 0.05$ level according to Duncan's new multiple range test.

观察和多种生理指标测定及 16S rRNA 基因序列比对等手段，最终确定该芽孢杆菌属于贝莱斯芽孢杆菌。所使用的技术手段全面细致可靠，具有一定的说服力。其具体的生防及促生指标如下。

3.1　芽孢杆菌 LTB49 的生防潜力与抑菌机制　芽孢杆菌作为生防菌的优势在于其多样的抑菌物质合成能力与环境适应性。本研究中，LTB49 对 Foc 的抑菌率达 55.26%，其发酵滤液对 Foc 的抑菌率为 42.16%，发酵菌液对孢子萌发的抑制率高达 90.82%，表明该菌株抑菌活性既依赖菌体本身，也与分泌的次生代谢产物密切相关。已有研究发现，贝莱斯芽孢杆菌常通过产生脂肽类物质（如表面活性素、伊枯草菌素）直接抑制病原菌菌丝生长和孢子萌发[23-24]，如 Su 等[25] 从水稻根际土壤分离的贝莱斯芽孢杆菌 JLU-1 产生多种次生代谢产物拮抗禾谷镰刀菌，推测 LTB49 的高效抑菌效果可能与其合成核糖体肽、非核糖体脂肽或聚酮化合物等抗菌物质有关。此外，通过盆栽试验评估生防菌有效性是生物防治研究的关键[26]。盆栽试验中，LTB49 处理的病情指数较对照降低 43.37%，虽低于阳性对照（解淀粉芽孢杆菌剂，50.60%），但仍展现出良好的防治效果，与 Sugiyama 等[27] 分离到的贝莱斯芽孢杆菌 AD-3 对菠菜枯萎病 44.1% 的防效相近，推测其抑菌机制可能包括直接杀菌作用与诱导植物抗性的协同效应[28]。

3.2　抗病作用与防御酶活性的响应　LTB49 对被镰刀菌侵染黄瓜生长的影响（株高、根长、生物量高于对照）与其作为植物促生菌（plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR）的特性一致[29]。芽孢杆菌可通过分泌铁载体、生长素或分解土壤有机质改善植物对营养的吸收，本研究中 LTB49 的生理生化特征（淀粉水解、明胶液化阳性）表明其具备分解复杂有机物的能力，可能为植物提供可利用的养分[30]。防御酶活性分析显示，LTB49 处理后黄瓜根部（主根和侧根）的 POD 和 SOD 活性显著升高，而叶片 POD 活性下降、SOD 活性上升，这可能反映了病原菌侵染时植物的组织特异性防御响应。根部作为病原菌入侵的首要部位，通过增强抗氧化酶活性（如 POD、SOD）清除活性氧，减轻氧化损伤，叶片 SOD 活性的升高则可能与系统获得性抗性（systemic acquired resistance, SAR）的激活有关，通过诱导全身防御基因表达增强抗病性，如 Soliman 等[31] 通过试验表明，贝莱斯芽孢杆菌 GB1 提高南瓜多种氧化酶活性来诱导植物系统抗性。阳性对照菌剂处理后叶片 POD

活性下降、主根 SOD 活性降低, 而 LTB49 处理使三个部位的 SOD 活性均显著上升, 暗示其诱导抗性的机制可能更全面, 或与不同菌株代谢产物的差异相关。

3.3　生物防治的挑战与菌株优化方向　尽管化学防治仍是当前控制黄瓜枯萎病的主要手段, 但其环境风险与耐药性问题亟待解决。大量研究表明, 筛选高效生防菌是减少化学农药依赖的可行路径[32]。然而, 生物防治的推广面临菌株稳定性、作用持续性及与其他生防措施协同等挑战。未来可通过以下途径优化: 1)利用基因工程技术增强 LTB49 的抗菌物质合成能力或促生功能; 2)开发复合菌剂, 结合多种生防菌的协同作用提高防治效率; 3)探究 LTB49 与有机肥、抗病品种的配合使用策略, 构建综合防治体系。

4　结　论

1) 从海南黄瓜发病土壤中分离得到 1 株生防细菌 LTB49, 鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), 该菌对黄瓜枯萎病原菌具有拮抗效果, 抑菌率达 55.26%。

2) LTB49 发酵菌液对黄瓜枯萎病原菌孢子萌发抑制活性高, 抑制率达 90.82%。

3) LB49 在活体盆栽试验中对黄瓜枯萎病有 43.37% 的防治效果, 抑制病害对黄瓜生长的矮化影响, 同时提高了防御酶活性。

参考文献:

[1] 杨倩, 薛璐, 郭慧, 等. 植物根际促生菌防治黄瓜枯萎病的研究进展[J]. 中国瓜菜, 2022, 35(1): 1−8. https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-2871.2022.01.001

[2] 海南省统计局, 国家统计局海南调查总队. 海南统计年鉴 2024[M]. 北京: 中国统计出版社, 2024: 2

[3] Zhang X Z, Meng X H, Jiao X D, et al. Physiological mechanism beneath the inhibition of *Cleome spinosa* against the morphology and reproduction of *Fusarium oxysporum* [J]. Heliyon, 2023, 9(12): e22622. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22622

[4] Ye X F, Li Z K, Luo X, et al. A predatory myxobacterium controls cucumber Fusarium wilt by regulating the soil microbial community [J]. Microbiome, 2020, 8(1): 49. https://doi.org/10.1186/s40168-020-00824-x

[5] Yang F, Jiang H Y, Chang G Z, et al. Effects of rhizosphere microbial communities on cucumber *Fusarium* wilt disease suppression [J]. Microorganisms, 2023, 11(6): 1576. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061576

[6] Ahn I P, Chung H S, Lee Y H. Vegetative compatibility groups and pathogenicity among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* [J]. Plant Disease, 1998, 82(2): 244−246. https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.244

[7] Cabrera De La Fuente M, Felix Leyva J T, Delgado Martinez R, et al. Grafting and soil with drought stress can increase the antioxidant status in cucumber [J]. Agronomy, 2023, 13(4): 994. https://doi.org/10.3390/agronomy13040994

[8] Nishioka T, Marian M, Kobayashi I, et al. Microbial basis of Fusarium wilt suppression by *Allium* cultivation [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 1715. https://doi.org/10.1038/s41598-018-37559-7

[9] Piasai O, Anyong T, Khewkhom N, et al. Fungicides control black rot in *Vanda*: a strategy to avoid fungicide resistance [J]. European Journal of Plant Pathology, 2024, 169(2): 247−257. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02824-1

[10] Islam T, Danishuddin, Tamanna N T, et al. Resistance mechanisms of plant pathogenic fungi to fungicide, environmental impacts of fungicides, and sustainable solutions [J]. Plants, 2024, 13(19): 2737. https://doi.org/10.3390/plants13192737

[11] Xu M, Shi Y, Fan D L, et al. Co-culture of white rot fungi *Pleurotus ostreatus* P5 and *Bacillus amyloliquefaciens* B2: a strategy to enhance lipopeptide production and suppress of Fusarium wilt of cucumber [J]. Journal of Fungi, 2023, 9(11): 1049. https://doi.org/10.3390/jof9111049

[12] Karačić V, Miljaković D, Marinković J, et al. *Bacillus* species: excellent biocontrol agents against tomato diseases [J]. Microorganisms, 2024, 12(3): 457. https://doi.org/10.3390/microorganisms12030457

[13] Li M, Ma G S, Lian H, et al. The effects of *Trichoderma* on preventing cucumber fusarium wilt and regulating cucumber physiology [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18(3): 607−617. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62057-X

[14] Lu D D, Ma Z, Xu X H, et al. Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* [J]. Journal of Basic Microbiology, 2016, 56(8): 929−933. https://doi.org/10.1002/jobm.201500666

[15] 王猛, 吴含, 段海明, 等. 解淀粉芽胞杆菌 SJ1606 产脂肽粗提物协同代森锰锌对 2 种植物病菌的抑制效果[J]. 安徽农业大学学报, 2024, 51(2): 223−229. https://doi.org/10.13610/j.cnki.1672-352x.20240510.016

[16] Jia K, Gao Y H, Huang X Q, et al. Rhizosphere inhibition of cucumber fusarium wilt by different surfactin-excreting strains of *Bacillus subtilis* [J]. The Plant Pathology Journal, 2015, 31(2): 140−151. https://doi.org/10.

5423/PPJ.OA.10.2014.0113

[17] Xu Z H, Zhang R F, Wang D D, et al. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(9): 2941−2950. https://doi.org/10.1128/AEM.03943-13

[18] 季倩茹, 陈静, 胡远亮, 等. 3 种芽孢杆菌菌剂对黄瓜枯萎病的防效及其作用机制初探[J]. 华中农业大学学报, 2020, 39(5): 101−107. https://doi.org/10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.05.014

[19] Ta Y, Fu S W, Liu H, et al. Evaluation of *Bacillus velezensis* F9 for cucumber growth promotion and suppression of *Fusarium wilt* disease [J]. Microorganisms, 2024, 12(9): 1882. https://doi.org/10.3390/microorganisms12091882

[20] 兰成忠, 甘林, 代玉立, 等. 黄瓜枯萎病菌拮抗菌的筛选、鉴定和防效测定[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(1): 184−193. https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2023.02.006

[21] 廖延雄.《伯杰氏鉴定细菌学手册》与《伯杰氏分类细菌学手册》[J]. 微生物学通报, 1992, 19(4): 249. https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.1992.04.017

[22] 中华人民共和国农业部. NY/T 1857.3—2010 黄瓜主要病害抗病性鉴定技术规程 第 3 部分: 黄瓜抗枯萎病鉴定技术规程[S]. 北京: 中国农业出版社, 2010. 3−4.

[23] Zhang L, Liu Z R, Pu Y L, et al. Antagonistic strain *Bacillus velezensis* JZ mediates the biocontrol of *Bacillus altitudinis* m-1, a cause of leaf spot disease in strawberry [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(16): 8872. https://doi.org/10.3390/ijms25168872

[24] Tahir H A S, Ali Q, Rajer F U, et al. Transcriptomic analysis of *Ralstonia solanacearum* in response to antibacterial volatiles of *Bacillus velezensis* FZB42 [J]. Archives of Microbiology, 2023, 205(11): 358. https://doi.org/10.1007/s00203-023-03697-4

[25] Su L H, Zhang J Y, Fan J Y, et al. Antagonistic mechanism analysis of *Bacillus velezensis* JLU-1, a biocontrol agent of rice pathogen *Magnaporthe oryzae* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(36): 19657−19666. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c05353

[26] Yang F, Wang X, Jiang H Y, et al. Formation of a novel antagonistic bacterial combination to enhance biocontrol for cucumber *Fusarium* wilt [J]. Microorganisms, 2025, 13(1): 133. https://doi.org/10.3390/microorganisms13010133

[27] Sugiyama T, Natsuaki K T, Tanaka N, et al. Antagonism of *Bacillus velezensis* isolate from anaerobically digested dairy slurry against *Fusarium* wilt of spinach [J]. Agronomy, 2022, 12(5): 1058. https://doi.org/10.3390/agronomy12051058

[28] Xia X Y, Wei Q H, Wu H X, et al. *Bacillus* species are core microbiota of resistant maize cultivars that induce host metabolic defense against corn stalk rot [J]. Microbiome, 2024, 12(1): 156. https://doi.org/10.1186/s40168-024-01887-w

[29] Zhou J E, Liang J F, Zhang X Y, et al. *Trichoderma brevicompactum* 6311: prevention and control of *Phytophthora capsici* and its growth-promoting effect [J]. Journal of Fungi, 2025, 11(2): 105. https://doi.org/10.3390/jof11020105

[30] Li G L, Shi M X, Wan W H, et al. Maize endophytic plant growth-promoting bacteria *Peribacillus simplex* can alleviate plant saline and alkaline stress [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(20): 10870. https://doi.org/10.3390/ijms252010870

[31] Soliman A, Matar S, Abo-Zaid G. Production of *Bacillus velezensis* Strain GB1 as a biocontrol agent and its impact on *Bemisia tabaci* by inducing systemic resistance in a squash plant [J]. Horticulturae, 2022, 8(6): 511. https://doi.org/10.3390/horticulturae8060511

[32] Kashyap N, Singh S K, Yadav N, et al. Biocontrol screening of endophytes: applications and limitations [J]. Plants, 2023, 12(13): 2480. https://doi.org/10.3390/plants12132480

Biocontrol potential of *Bacillus subtilis* LTB49 against cucumber *Fusarium* wilt

Qian Yunlong[#], Zhao Yu, Yang Lin, Zhang Yunfei, Zhang Shujing[*]
（School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China）

Abstract: To obtain an efficient biocontrol bacterial strain for managing cucumber *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Foc), a *Bacillus* strain (LTB49) with strong antagonistic activity (antagonism rate of 55.26%) was isolated and screened from the rhizosphere soil of cucumber plants affected by the wilt disease, using gradient dilution and plate confrontation methods. The strain was subsequently identified as *Bacillus velezensis* through morphological, physiological and biochemical tests, and molecular biological techniques. The 10-fold diluted fermentation filtrate of the strain LTB49 showed strong inhibition of mycelial growth of the wilt pathogen, with an inhibition rate of 42.16%, and a significant suppression of spore germination, with an inhibition rate of 90.82%. Pot experiment results demonstrated that the strain LTB49 exhibited good biocontrol efficacy against cucumber wilt disease (43.37%), with no significant difference compared to the commercial biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 (50.60% efficacy). Further studies revealed that this strain enhanced resistance to the wilt disease by inducing increased activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), and significantly suppressed the effect of the *Fusarium* species on cucumber plant growth, particularly dwarfing. These results suggest that *B. velezensis* LTB49 has a high potential for application in the biocontrol of cucumber wilt disease.

Keywords: cucumber *Fusarium* wilt; *Bacillus velezensis*; biocontrol potential

(责任编辑:邹游兴)