

引用格式:

杨学宇, 谭琳, 张玉丹, 杨艺帅, 邓玉莲, 任佐华, 胡秋龙. 茶轮斑病原菌的分离鉴定及其拮抗菌筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(2): 195–200.

YANG X Y, TAN L, ZHANG Y D, YANG Y S, DENG Y L, REN Z H, HU Q L. Identification of pathogen from tea leaves with gray blight disease and screening of biocontrol strain [J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(2): 195–200.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



# 茶轮斑病原菌的分离鉴定及其拮抗菌筛选

杨学宇<sup>1,2</sup>, 谭琳<sup>3</sup>, 张玉丹<sup>1,2</sup>, 杨艺帅<sup>3</sup>, 邓玉莲<sup>1,2</sup>, 任佐华<sup>3</sup>, 胡秋龙<sup>1,2\*</sup>

(1.茶学教育部重点实验室, 湖南 长沙 410128; 2.湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128; 3.湖南农业大学植物保护学院, 湖南 长沙 410128)

**摘 要:** 从湖南省武陵山区 4 个茶叶种植基地采集茶轮斑病病叶, 采用组织分离法对病原菌进行分离, 通过致病性、形态学、分子生物学鉴定, 确定病原菌为茶拟盘多毛孢(*Pseudopezalotiopsis theae*)。以病原菌为指示菌, 采用平板对峙法从病叶中筛选得到效果最佳的拮抗菌 kc-6, 抑菌率为 79.86%, 经鉴定为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。分析拮抗菌对病原菌菌丝生长的抑制效果, 对茶树离体叶片的防效、继代培养稳定性以及对 10 种作物病原菌的拮抗效果进行评价。结果表明: 拮抗菌 kc-6 可使茶轮斑病原菌菌丝萎缩变细, 部分膨大; 其发酵液原液、稀释 10 倍液和 100 倍液对茶树离体叶片的防效分别为 72.73%、52.55%、3.03%; 连续转接培养 25 次后的抑菌率仍保持 70.33%; kc-6 菌株对 10 种作物病原真菌均有抑制效果, 其中对茄子褐纹病菌(*Phomopsis vexans*)、黄瓜枯萎病菌(*Phytophthora melonis*)、茭白镰刀菌(*Fusarium graminearum*)的抑制效果较好, 抑制率分别为 83.00%、80.00%、76.00%。

**关 键 词:** 茶轮斑病; 茶拟盘多毛孢; 解淀粉芽孢杆菌; 生物防治

中图分类号: S435.711

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)02-0195-06

## Identification of pathogen from tea leaves with gray blight disease and screening of biocontrol strain

YANG Xueyu<sup>1,2</sup>, TAN Lin<sup>3</sup>, ZHANG Yudan<sup>1,2</sup>, YANG Yishuai<sup>3</sup>, DENG Yulian<sup>1,2</sup>, REN Zuohua<sup>3</sup>, HU Qiulong<sup>1,2\*</sup>

(1.Key Lab of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 3.College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** The pathogen was isolated and purified from diseased leaves collected from 4 tea-producing bases and identified as *Pseudopezalotiopsis theae* by morphological and molecular biological identification plus pathogenicity test. The identified pathogen was used as indicators to screen the antagonistic strain from diseased leaves by plate confrontation method. Strain kc-6 with the strongest antagonistic effect was identified as *Bacillus amyloliquefaciens* and the antifungal rate was 79.86%. The antagonistic ability of strain kc-6 was further investigated by analyzing pathogen mycelial growth, in vitro inhibitory effect on the pathogen, subculture stability of strain kc-6 and the antagonistic effect on 10 pathogens. The result showed that strain kc-6 can cause the pathogenic fungal mycelium to shrivel up and become thin and partially expanded; the relative inhibition rate of original fermentation broth, the 10 times diluted fermentation broth and the 100 times diluted fermentation broth of strain kc-6 to *Pseudopezalotiopsis theae* were 72.73%, 52.55% and 3.03% respectively; the inhibition rate of strain kc-6 remained at 70.33% after subcultured 25 times; strain kc-6 could inhibit 10 tested pathogens and the inhibition rate against *Phomopsis vexans*, *Phytophthora melonis* and *Fusarium graminearum* were 83.00%, 80.00% and 76.00%, respectively.

收稿日期: 2022-09-17

修回日期: 2023-01-05

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2022NK2051); 湖南省科技创新重大专项(2021NK1020)

作者简介: 杨学宇(1998—), 男, 山西大同人, 硕士研究生, 主要从事茶树病害及其生物防治研究, 1743501922@qq.com; \*通信作者, 胡秋龙, 博士, 副教授, 主要从事病原微生物与茶树互作、生防微生物资源利用研究, huqiulongnet@126.com

**Keywords:** tea gray blight disease; *Pseudopezalotiopsis theae*; *Bacillus amyloliquefaciens*; biocontrol

在受茶轮斑病严重影响的茶园, 茶叶产量损失可达 10%~20%<sup>[1-3]</sup>。不同茶叶产区茶轮斑病的致病菌存在着差异<sup>[4]</sup>: 卢声洁等<sup>[5]</sup>鉴定了贵州省湄潭县的茶轮斑病病原菌为卵圆新拟盘多毛孢菌(*Neopezalotiopsis ellipsospora*); 游雨欣等<sup>[6]</sup>鉴定了福建省福州市茶轮斑病病原菌为茶拟盘多毛孢(*Pseudopezalotiopsis theae*); 李冬雪等<sup>[7]</sup>鉴定贵州省惠水县的茶轮斑病病原菌为茶假拟盘多毛孢(*Pseudopezalotiopsis camelliae-sinensis*)。这些可能与不同地区、不同气候及环境条件和茶树选择性等有关, 表明茶轮斑病病原菌具有多样性与适应性<sup>[8]</sup>。

现有对茶轮斑病的防控措施仍以化学防治为主<sup>[9]</sup>, 但其引起的环境污染、耐药性、食品安全等一系列问题亟待解决。病原拮抗菌的挖掘为这一问题提供了解决方法: 李佳勋<sup>[10]</sup>从茶树叶片中分离得到多株内生真菌, 其中 1 株对茶轮斑病抑制率达 87%, 且抑制效果稳定; 卢声洁等<sup>[11]</sup>从茶树根际土壤中筛选得到 7 株对茶轮斑病病原菌拮抗能力大于 70% 的木霉菌, 进一步研究发现其中 1 株短密木霉(*Trichoderma brevicompactum*)的发酵液也具有抑菌活性, 并有助于提高茶叶中氨基酸与儿茶素的含量; 朱咏珊等<sup>[12]</sup>从茶树根际土壤中筛选到 1 株拮抗细菌, 对茶炭疽病抑制率为 81%, 现已投入生产并推广应用。

笔者从湖南省石门县和保靖县茶轮斑病发病严重的茶园采集病叶, 采用组织分离法分离病原菌, 通过形态学与分子生物学方法明确病原菌种类; 采集发病程度轻的茶树病叶进行拮抗菌的筛选并鉴定, 测定其对病原菌的抑制效果及稳定性, 以期在当地茶轮斑病的生物防治提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

于湖南省石门县的寨堰村和邱家堰村, 保靖县的葫芦村和黄金村的茶轮斑病发病较严重茶园采集茶轮斑病病叶。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 茶轮斑病致病菌的分离与鉴定

参考周鹏泽等<sup>[13]</sup>的方法进行病原菌的分离、纯化。接种于 PDA 平板上培养, 定期观察菌落形态, 并将致病菌菌丝与孢子制成临时玻片, 置于显微镜

下观察其形态特征。

依据科赫氏法则, 采用针刺接种法<sup>[14]</sup>在健康离体茶树叶片上接种病原菌, 观察发病情况并将出现典型症状的叶片进行病原菌的再分离。

致病菌的分子生物学鉴定采用全式金 EasyPure® GenomicDNA Kit 提取病原菌基因组 DNA, 并以真菌通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对其 ITS 序列进行扩增。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后送上海生工生物工程技术服务有限公司测序。将测序后得到的序列在 GenBank 数据库进行同源性比较, 筛选近缘物种的序列, 通过 MEGA11 构建系统发育树。

#### 1.2.2 茶轮斑病拮抗菌的筛选与鉴定

参照廖海浪等<sup>[15]</sup>的方法, 筛选茶轮斑病拮抗菌; 参照邹秋霞等<sup>[16]</sup>的方法, 采用平板对峙法检测拮抗菌的防效; 对抑菌效果较好的菌株进行鉴定。

参照文献<sup>[17-18]</sup>对菌落进行描述并进行生理生化特征的检测。

将提取得到的拮抗菌基因组 DNA 以细菌通用引物 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3')对其 16S rDNA 进行扩增, 经琼脂糖电泳检测后送上海生工生物工程技术服务有限公司进行测序。将所得序列在 GenBank 数据库中进行比对后筛选近缘物种的序列, 通过 MEGA11 构建系统发育树。

#### 1.2.3 茶轮斑病拮抗菌的防效测定

通过平板对峙法验证拮抗菌对病原菌菌丝生长的抑制效果并计算抑菌率; 分别将对照组与处理组病原菌菌落边缘的菌丝制片后在显微镜下观察形态<sup>[19]</sup>。

参照于爽等<sup>[20]</sup>的方法, 分别将拮抗菌原液( $1.98 \times 10^8$  cfu/mL)稀释 10 倍、100 倍, 接种于茶树品种‘碧香早’新生枝条上叶龄相近、大小相似的健康叶片后, 置于气候箱 26℃、12 h 光暗交替培养。每天观察叶片症状, 测量病斑直径, 计算各处理的抑制率。

将拮抗菌接种在 PDA 平板上, 在 28℃ 恒温箱中倒置培养, 每隔 24 h 转接 1 次, 共转接 25 次, 并通过平板对峙法分别测定第 5、10、15、20、25 次转接的菌株对病原菌的抑制效果<sup>[21]</sup>。

1.2.4 茶轮斑病拮抗菌抗菌谱的测定

采用平板对峙法测定拮抗菌对油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、黄瓜枯萎病菌(*Phytophthora melonis*)、茭白镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、柑橘沙皮病菌(*Diaporthe citri*)、棉花枯萎病菌(*Verticillium dahlia*)、马铃薯早疫病菌(*Alternaria solani*)、草莓疫病菌(*Phytophthora fragariae*)、玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、茄子褐纹病原菌(*Phomopsis vexans*)10 种作物病原真菌(保存于湖南农业大学植物病原微生物及水稻病害实验室)的拮抗效果。

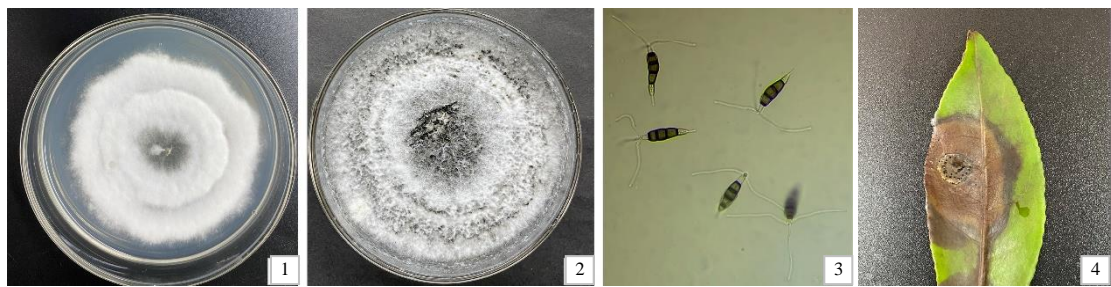
2 结果与分析

2.1 茶轮斑病病原菌的鉴定结果

从具有典型茶轮斑病症状的病叶中分离纯化共得到 17 个菌株。采用针刺接种法进行致病性试

验,发现在叶片接种 3 d 后表现出典型的茶轮斑病病斑(图 1-1)的有 7 个菌株。这 7 个菌株在菌落形态和分生孢子形态上一致。选择菌株 7-1-2 为代表菌株进行鉴定。

将病原菌 7-1-2 于 PDA 上 25 °C 培养,9 d 后菌落布满 75 mm 的培养皿;菌落正面呈白色棉絮状,边缘不整齐,具轮纹(图 1-1);随培养时间延长,菌落表面出现黑色油状液滴(图 1-2);培养至产孢后,用无菌水洗下镜检(图 1-3),分生孢子长 25~30 μm,宽 7~9 μm;纺锤形,部分有略微弯曲;具 4 个分隔,5 个细胞中两端细胞透明,中间 3 个细胞颜色均为褐色,隔膜颜色变暗,接近黑色;顶端细胞着生 2~3 根附属丝,基部着生 1~2 根附属丝。结合菌落形态及分生孢子形态,初步鉴定该菌株为拟盘多毛孢属真菌。



1 病原菌菌落(未产孢); 2 病原菌病斑; 3 病原菌菌落(产孢); 4 病原菌孢子。

图 1 致病菌 7-1-2 的形态学特征

Fig.1 Morphological characteristics of pathogen strain 7-1-2

通过 PCR 扩增菌株 7-1-2 基因组的 ITS 片段,并对其进行测序,得到长度为 560 bp 的片段。在 NCBI 进行 BLAST 比对并选取相似度较高的序列,采用邻接法构建系统发育树,发现其 ITS 序列与

*Pseudopezalotiopsis theae* strain CGAJ-82 聚为一支(图 2)。结合形态学与分子生物学特征鉴定结果,确定茶轮斑病病原菌为茶拟盘多毛孢(*Pseudopezalotiopsis theae*)。

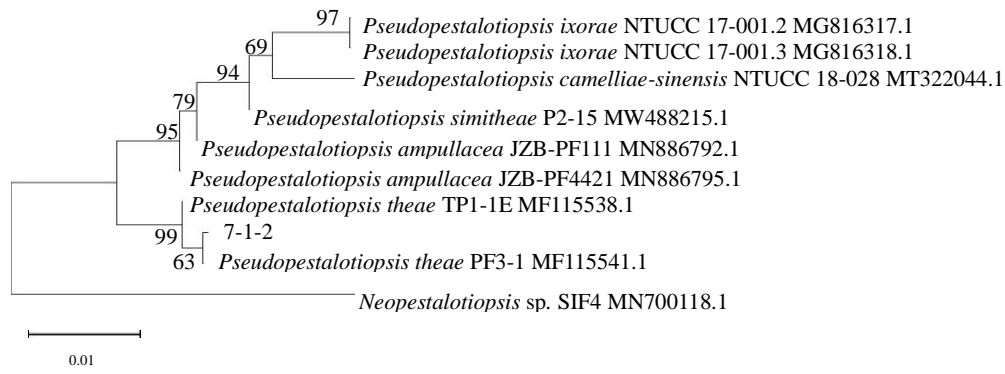
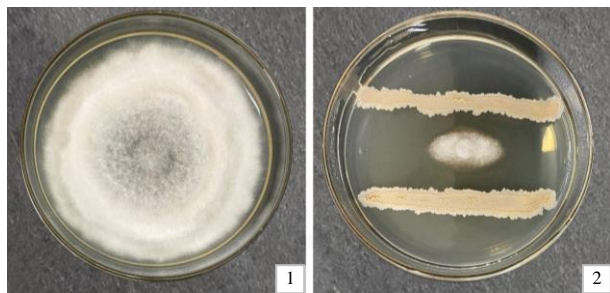


图 2 茶轮斑病致病菌 7-1-2 的 ITS 序列系统发育树

Fig.2 ITS phylogenetic tree of strain 7-1-2

## 2.2 茶轮斑病拮抗菌的鉴定结果

从湖南省石门县和保靖县茶园采集的茶轮斑病病叶中筛选得到 5 株对病原菌具有较好拮抗效果的菌株, 命名为 kc-25、kc-42、kc-46、kc-53、kc-6。基于平板对峙法, 其中菌株 kc-6 对茶拟盘多毛孢的拮抗效果最佳(图 3), 抑制率达 79.86%。



1 对照组; 2 处理组。

图 3 拮抗菌 kc-6 对病原菌 7-1-2 的拮抗效果

Fig.3 Antagonistic effect of strain kc-6 on pathogen strain 7-1-2

将拮抗菌 kc-6 置于 NA 平板上培养, 菌落呈淡黄色, 不透明, 黏稠, 表面有褶皱, 不易挑起, 菌落边缘呈不规则状(图 4-1)。经生理生化特征测验, 拮抗菌 kc-6 革兰染色呈蓝紫色(图 4-2), 明胶液化试验、淀粉水解试验、甲基红试验、V.P.试验、硝酸盐还原试验、接触酶试验、石蕊牛奶试验结果均呈阳性, 硫化氢试验、吡啉试验、苯丙氨酸脱氨酶试验结果呈阴性, 与芽孢杆菌特征吻合。

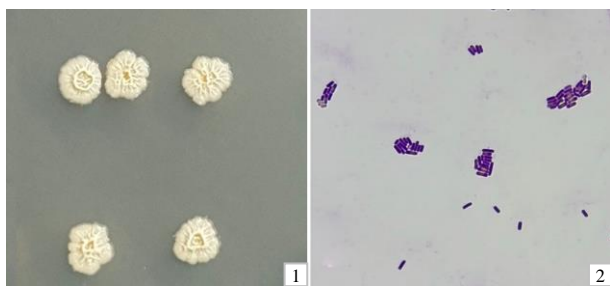


图 4 拮抗菌 kc-6 的形态特征及革兰染色结果

Fig.4 Staining and morphological characteristics of strain kc-6

通过 PCR 扩增基因组 16S rDNA 片段, 并对其进行测序, 得到长度为 1500 bp 的片段。将测序结果置 BLAST 进行同源性比对, 选取同源性较高的序列构建系统发育树。结果(图 5)表明, 拮抗菌 kc-6 的 16S rDNA 序列与 GenBank 中登录号为 KJ86586.1 *Bacillus amyloliquefaciens* 的相似度为 100%, 结合生理生化与形态学特征, 鉴定其为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。

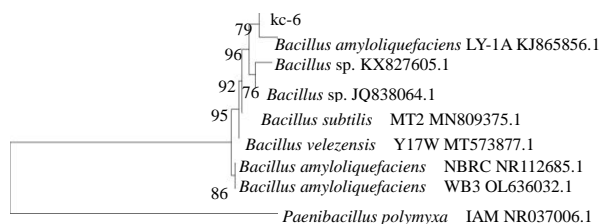
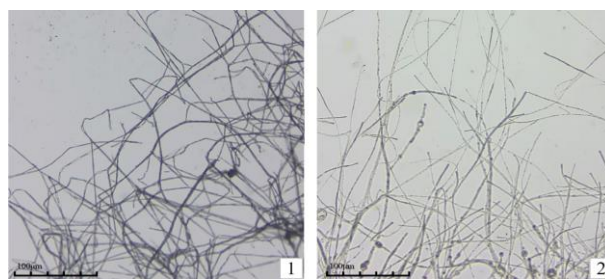


图 5 拮抗菌 kc-6 的系统发育树

Fig.5 Phylogenetic tree of strain kc-6

## 2.3 拮抗菌对茶轮斑病的防治效果

刮取处理组与对照组菌落边缘菌丝在光学显微镜下观察对比, 处理组相较对照组菌丝萎缩变细, 部分膨大(图 6), 表明拮抗菌 kc-6 对茶拟盘多毛孢菌丝生长具有抑制作用。



1 对照组; 2 处理组。

图 6 拮抗菌 kc-6 处理的病原菌 7-1-2 的菌丝形态

Fig.6 The morphology of mycelium of pathogen strain 7-1-2 under strain kc-6

室内防效试验结果(表 1)表明, 拮抗菌 kc-6 发酵液对茶轮斑病有一定的防治效果。接种后, 除对照组外的所有处理均出现褐色病斑, 但发酵液原液与稀释 10 倍液均能显著减少病斑面积; 发酵液原液防效达 72.73%, 10 倍液与 100 倍液对茶轮斑病的防效分别为 54.55% 和 3.03%, 随着稀释倍数的增加, 抑菌率显著下降。

表 1 拮抗菌 kc-6 对病原菌 7-1-2 活体接种的防治效果

Table 1 The in vitro inhibition rate of strain kc-6 against pathogen strain 7-1-2

拮抗菌浓度/(cfu mL <sup>-1</sup> )	病斑面积/mm <sup>2</sup>	抑菌率/%
对照组	(5.5±0.00)a	
1.98×10 <sup>8</sup>	(1.5±0.41)d	72.73
1.98×10 <sup>7</sup>	(2.5±0.41)c	54.55
1.98×10 <sup>6</sup>	(5.5±0.41)b	3.03

同列不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。



拮抗菌 kc-6 在培养基上转接 25 次后,对茶轮斑病的拮抗率虽稍有下降,但仍保持在 70%以上(表 2),表明其具有一定的稳定性,在一定代数内可稳定遗传。

表 2  不同代数拮抗菌 kc-6 对病原菌 7-1-2 的抑制效果

Table 2  Inhibition rate of different generations of strain kc-6 on pathogen strain 7-1-2		
代数	菌落平均直径/cm	抑制率/%
0	1.23±0.15	(79.66±0.02)a
5	1.93±0.26	(74.33±0.04)b
10	2.50±0.10	(70.33±0.01)b
15	1.93±0.22	(74.33±0.03)b
20	2.10±0.14	(72.00±0.02)b
25	2.03±0.15	(72.89±0.02)b
CK	7.50±0.00	

同列不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

拮抗菌 kc-6 对 10 种病原真菌的拮抗效果(表 3)表明, kc-6 对 10 种菌株都有抑制作用。kc-6 对茄子褐纹病的拮抗效果最好,菌丝生长抑制率达 83%,对黄瓜枯萎病、茭白镰刀菌、玉米大斑病、棉花枯萎病、油菜菌核病的抑制率分别为 80.00%、76.00%、75.77%、63.78%、60.00%;对辣椒枯萎病、马铃薯早疫病、草莓疫病的抑菌率均达到了 50%以上。对茄子褐纹病的拮抗效果与对其余病原真菌的差异达显著水平。

表 3  拮抗菌 kc-6 对 10 种作物病原真菌的抑制效果

Table 3  Inhibitory effect of the strain kc-6 against different pathogenic microorganisms	
病原菌	抑制率/%
油菜菌核病菌	(60.00±4.16)d
辣椒枯萎病菌	(51.56±4.28)de
黄瓜枯萎病菌	(80.00±0.61)ab
茭白镰刀菌	(76.00±0.66)ab
柑橘沙皮病菌	(39.33±2.91)e
棉花枯萎病菌	(63.78±3.00)cd
马铃薯早疫病菌	(58.89±8.57)d
茄子褐纹病	(83.00±0.67)a
玉米大斑病	(75.77±7.95)ab
草莓疫病	(58.89±2.14)d

同列不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

3  讨论

茶轮斑病由类似盘多毛孢真菌感染引起,

MAHARACHCHIKUMBURA 等<sup>[22]</sup>结合 ITS、 $\beta$ -tubulin 和 tef 等 3 种基因的特异性引物进行分子鉴定,结合形态学鉴定,将病原菌按分生孢子的细胞数、有色胞的数量、顶端附属丝数量分为 3 个主要进化支。CHEN 等<sup>[23]</sup>研究确定拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis*)、新拟盘多毛孢(*Neopestalotiopsis*)和假拟盘多毛孢(*Pseudopestalotiopsis*)3 个属为中国茶轮斑病的主要致病菌。笔者通过组织分离法分离病叶中病原菌,经致病性鉴定确定致病菌后,结合形态学与分子生物学对病原菌进行鉴定,确定了湖南省武陵山区茶轮斑病病原菌属于拟盘多毛孢属,并结合分子生物学鉴定,确定为茶拟盘多毛孢 *Pseudopestalotiopsi theae*。

在明确主要病原菌的同时,从叶片病部附近分离到 1 株对茶拟盘多毛孢具有拮抗作用的细菌,经鉴定确定为解淀粉芽孢杆菌(*B.amyloliquefaciens*)。解淀粉芽孢杆菌在多种经济作物的病害防治上均取得了较好的防治效果<sup>[24-25]</sup>。本研究结果显示拮抗菌 kc-6 对茶轮斑病病原菌生长有抑制作用,且其继代繁殖后抑制率仍保持一定水平; kc-6 具有广谱抗菌性,对茄子褐纹病原菌的菌丝生长抑制率较高,达 83.00%,这与郝建安等<sup>[26]</sup>报道的结果相近,表明该菌株具有作为生防资源进行开发利用的潜力。菌株 kc-6 发酵菌液原液、10 倍液与 100 倍液对茶轮斑病的防效分别为 72.73%、54.55%与 3.03%,较黄大野等<sup>[27]</sup>的结果低,且随着稀释倍数的增加抑菌效果明显下降,这可能是不同菌株的最适发酵条件存在差异。后续将进一步优化该菌株的培养条件,并对其抗菌物质的性质以及在茶树叶片上的定殖能力进行研究。

参考文献:

[1] PANDEY A K, SINNIHAH G D, BABU A, et al. How the global tea industry copes with fungal diseases-challenges and opportunities[J]. Plant Disease, 2021, 105(7): 1868–1879.

[2] 周玲红, 邓欣, 邓克尼. 茶白星病对茶鲜叶主要化学成分的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(6): 741–743.

[3] 陈雪芬. 我国茶树病害的发生趋势与绿色防控[J]. 中国茶叶, 2022, 44(6): 7–14.

[4] 唐美君, 郭华伟, 姚惠明, 等. 近 30 年我国茶树新增病害名录[J]. 中国茶叶, 2019, 41(10): 14–15.

[5] 卢声洁, 赵兴丽, 罗林丽, 等. 一株茶轮斑病病原菌

- 的分离鉴定及致病力[J]. 茶叶通讯, 2021, 48(2): 253–258.
- [6] 游雨欣, 谢勇啸, 张致宁, 等. 纳米抑菌材料的合成及对茶拟盘多毛孢的抑制活性[J]. 农药学学报, 2020, 22(6): 1069–1075.
- [7] 李冬雪, 赵晓珍, 王勇, 等. 贵州惠水县茶轮斑病病原菌的鉴定[J]. 热带作物学报, 2018, 39(9): 1827–1833.
- [8] ARIYAWANSA H A, TSAI I, GARETH JONES E B. A new cryptic species of *Pseudopezalotiopsis* from Taiwan[J]. Phytotaxa, 2018, 357(2): 133–140.
- [9] BORA P, CHANDRA BORA L, BHUYAN R P, et al. Bioagent consortia assisted suppression in grey blight disease with enhanced leaf nutrients and biochemical properties of tea(*Camellia sinensis*)[J]. Biological Control, 2022, 170: 104907.
- [10] 李佳勋. 茶树拮抗内生真菌筛选及其生物活性评价研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2022.
- [11] 卢声洁, 赵兴丽, 罗林丽, 等. 拮抗茶轮斑病菌生防木霉菌的筛选、鉴定与应用[J]. 贵州农业科学, 2021, 49(3): 44–49.
- [12] 朱咏珊, 罗晓欣, 梁浩然, 等. 一株茶树根际细菌的鉴定与生防效果研究[J]. 茶叶科学, 2022, 42(1): 87–100.
- [13] 周鹏泽, 王晓敏, 孔维康, 等. 银川市番茄白粉病病原菌的鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(2): 196–200.
- [14] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [15] 廖海浪, 钟芙蓉, 柯汶佳, 等. 黄连根腐病病原菌的分离鉴定及其拮抗菌筛选[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(9): 900–912.
- [16] 邹秋霞, 任佐华, 高诗涵, 等. 枯草芽孢杆菌 YN145 分离鉴定及抑菌活性[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(3): 421–426.
- [17] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[K]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [18] GEORGE M, JULIA A, TIMOTHY G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1994.
- [19] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [20] 于爽, 于洋, 乔婵, 等. 五个烟草野火菌株的生理小种鉴定[J]. 中国烟草学报, 2021, 27(6): 81–88.
- [21] 邹秋霞. 稻瘟病生防菌的分离鉴定与防控效果评价[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017.
- [22] MAHARACHCHIKUMBURA S S N, HYDE K D, GROENEWALD J Z, et al. *Pestalotiopsis* revisited[J]. Studies in Mycology, 2014, 79: 121–186.
- [23] CHEN Y J, ZENG L, SHU N, et al. *Pestalotiopsis*-like species causing gray blight disease on *Camellia sinensis* in China[J]. Plant Disease, 2018, 102(1): 98–106.
- [24] 刘冬, 胡九龙, 李坤缘, 等. 大豆疫霉生防菌解淀粉芽孢杆菌 JDF3 的鉴定[J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(1): 1–5.
- [25] 糜芳, 吴紫燕, 王承芳, 等. 1 株解淀粉芽孢杆菌的分离、鉴定及在马铃薯疮痂病防治上的应用[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(18): 122–127.
- [26] 郝建安, 曹志辉, 赵凤梅, 等. 解淀粉芽孢杆菌 NK10. BA<sub>h</sub>jaWT 抑真菌作用的研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(6): 903–908.
- [27] 黄大野, 杨丹, 姚经武, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 CY30 防治茶轮斑病研究[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(11): 13–18.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗 维