

李 涵,康业斌,徐 敏,等. 洛阳地区烟株内生放线菌的分离鉴定及其生物学功能测定[J]. 江苏农业科学,2024,52(13):126-131.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.13.016

洛阳地区烟株内生放线菌的分离鉴定 及其生物学功能测定

李 涵¹,康业斌¹,徐 敏²,何 雷²,王 惠³,李淑君⁴,苗 圃³,周俊学³

(1. 河南科技大学园艺与植物保护学院,河南洛阳 471023; 2. 中国烟草总公司河南省公司,河南郑州 450046;

3. 河南省烟草公司洛阳分公司,河南洛阳 471023; 4. 河南省农业科学院烟草研究所,河南许昌 461000)

摘要:为明确洛阳地区烟株内生放线菌的种类及其生物学功能,采用稀释涂布平板法分离健康烟株内生放线菌,通过形态学观察、生理生化测定并结合 16S rDNA 序列分析鉴定其种类;采用平板对峙法、菌丝生长速率法测定内生放线菌株对烟草疫霉的拮抗作用;采用紫外分光光度计法测定菌株产 IAA 含量。结果表明,从健康烟株体内共分离获得 10 株内生放线菌,菌株 LBY2、LBY3、LTJ4、LTC2、SG4 为淀粉酶链霉菌(*Streptomyces diastaticus*),菌株 SG3、RG4、LTJ5、LBY4 为嗜热一氧化碳链霉菌(*S. thermocarboxydus*),菌株 RG3 为娄氏链霉菌(*S. rochei*)。淀粉酶链霉菌与娄氏链霉菌对烟草疫霉的抑制率均达到 50% 以上;所有菌株均可产生吡啶乙酸,其中娄氏链霉菌发酵液中吡啶乙酸含量高达 20.43 mg/L。由此说明洛阳地区烟株内生放线菌主要为淀粉酶链霉菌、娄氏链霉菌与嗜热一氧化碳链霉菌,其中淀粉酶链霉菌与娄氏链霉菌对烟草疫霉菌菌丝生长具有较强的抑制作用与产吡啶乙酸功能。

关键词:烟草;内生放线菌;形态学;生理生化;分子生物学;拮抗作用;促生作用;洛阳地区

中图分类号:S572.01;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)13-0126-05

烟株内生放线菌广泛分布于烟草不同生长时期的各组织器官中,具有丰富的生物多样性^[1]。近年来的研究表明,烟草内生菌能够与宿主协同进化,产生能抑制病原菌菌丝生长^[2-4]、促进植物生长等的次级代谢产物^[5-7],内生菌生物学功能研究已成为该领域的热点之一^[8-9]。Conn 等首次报道了内生放线菌具有诱导植物产生抗病性的功能^[10];Liotti 等从巴西香可可体内分离鉴定了能抑制尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)与灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)生长的灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*) R132,抑制率达到 46.7% 与 73.9%^[11];陈红兵等从辣椒体内分离鉴定了对黄瓜灰霉病菌(*B. cinerea*)有较强抑制作用的娄氏链霉菌(*S. rochei*) Lj20 菌株^[12];王靖从白菜与油菜等材料中分离鉴定了能够

抑制白菜和油菜根肿病菌(*Plasmodiophora brassicae*)生长的灰红链霉菌(*S. griseoruber*) A310 与灰褐类链霉菌(*Streptomyces* sp.) A10^[13];李庆蒙等从江西庐山珙桐树中分离鉴定了对烟草疫霉(*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*)、稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)等植物病原真菌抑制率高达 90% 以上的奈良链霉菌(*S. naraensis*)^[14]。因此,本研究对洛阳地区烟株内生放线菌分离鉴定及其生物学功能测定的结果,为内生放线菌资源在生物防治方面的开发利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物:烤烟(*Nicotiana tabacum*)品种 LY1306。

供试病原菌:烟草疫霉(*P. parasitica* var. *nicotianae*),保存于河南科技大学植物病害分子鉴定与绿色防控实验室。

供试培养基:参照陈奇园等分离烟株根围拮抗放线菌所用的培养基^[15]。

1.2 烟株内生放线菌的分离纯化

1.2.1 样品采集及处理 2021 年在河南省洛阳市洛宁、宜阳、汝阳等县的烟田于烟草团棵期、旺长

收稿日期:2023-07-18

基金项目:中国烟草总公司重大科技项目[编号:110202101051(LS-11)];中国烟草总公司河南省公司重点科技项目(编号:2023410000240022)。

作者简介:李 涵(1997—),男,河南洛阳人,硕士,主要从事植物病理学研究。E-mail:lh1939954153@outlook.com。

通信作者:康业斌,博士,教授,主要从事植物免疫学研究。E-mail:kangyb999@163.com。

期、成熟期(6—8 月)采用五点取样法或随机取样法选取健康烟株,带回实验室,参照陈华红等的方法^[16]对样品进行预处理。

1.2.2 烟株内生放线菌的分离及纯化 每一烟株分根、茎、叶 3 个部分,每一部分再分上、中、下 3 个部位取样,每一部分称取样品 5 g,经 3% 次氯酸钠、70% 无水乙醇消毒处理后并用无菌水冲洗^[17],留取最后一次冲洗水涂布平板作对照试验;采用稀释平板涂布法^[18]分离内生放线菌,纯化培养直至长出单一菌落,于 4 ℃ 冰箱中保存。

1.3 烟株内生放线菌的鉴定

1.3.1 内生放线菌的培养特征及形态学观察 参照《链霉菌鉴定手册》^[19],采用插片法^[20]、革兰氏染色法在 100 倍油镜下观察内生菌株菌丝体有无隔膜、孢子链、孢子的形态特征。

1.3.2 生理生化特征鉴定 参照《放线菌分类鉴定》^[21]与《植病研究法》^[22]进行放线菌生理生化指标测定试验,观察生理生化特征。

1.3.3 烟株内生放线菌的 16S rDNA 序列分析 使用南京诺唯赞生物科技股份有限公司细菌基因组 DNA 抽提试剂盒进行菌株总 DNA 的抽提,通用引物 27F 和 1492R 对提取的 DNA 模板进行 PCR 扩增;由生工生物工程(上海)股份有限公司对 PCR 产物进行测序。序列提交 GenBank 数据库后,选取 GenBank 比对同源性高的序列,利用 MEGA 6 软件邻接法构建进化树,将测序菌株的 16S rDNA 序列提交至 NCBI 获得登录号。

1.4 烟株内生放线菌的生物学功能测定

1.4.1 烟株内生放线菌的抑菌功能 通过改良的平板对峙培养法^[23]筛选对烟草疫霉菌丝生长具有拮抗作用的内生放线菌菌株;用菌丝生长速率法^[24]测定菌株发酵液对烟草疫霉的抑制作用;参照丁玥琪的拮抗微生物相互作用的评价标准^[25],筛选出抑菌率 > 50% 的菌株。

1.4.2 烟株内生放线菌产 IAA 功能

1.4.2.1 菌株发酵液的制备 参照汤玲玲的方法^[26]制备放线菌菌株发酵液。

1.4.2.2 菌株发酵液中 IAA 的测量 (1) IAA 标准曲线的制作。参照 Defe 等的 IAA 浓度检测方法^[27],制备不同浓度梯度 IAA 溶液,吸取 2.0 mL IAA 标准溶液与 2.0 mL 的 Salkowski 比色液(1 mL 0.5 mol/L FeCl₃ 与 50 mL 35% HClO₄ 混合^[28])混合,使用紫外分光光度计法测定吸光度值,横坐标

设置为 IAA 浓度、纵坐标设置为吸光度值绘制标准曲线。(2) IAA 定性检测与定量检测。参照张烨等的方法^[29],进行 IAA 定性检测与定量检测。

2 结果与分析

2.1 烟株内生放线菌的分离及纯化

从洛宁(L)、嵩县(S)、汝阳(R)3 个烟区所采集的烟株样品根(G)、茎(J)、叶(Y)中共分离纯化内生放线菌菌株 10 株,其中洛宁县烟区采集样品根部分离 1 株,茎部分离 2 株,叶部分离 3 株,小计 6 株;嵩县烟区采集样品根部分离 2 株;汝阳县烟区采集样品根部分离 2 株。

2.2 烟株内生放线菌的鉴定

2.2.1 形态及培养特征观察 在普通光学显微镜 100 倍油镜观察下,菌株 LBY2、LBY3、LTJ4、LTG2、SG4 孢子丝弯曲,孢子为圆柱形;菌株 SG3、RG4、RG3、LBY4 孢子丝呈螺旋形,孢子为杆状;菌株 LTJ5 孢子丝呈直形,孢子为杆状(图 1)。

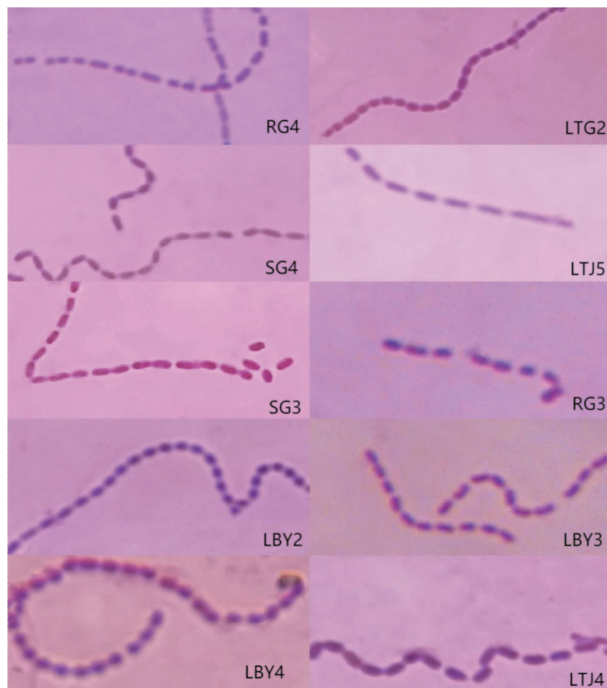


图1 放线菌菌株的孢子丝和孢子形态

2.2.2 生理生化特征 对 10 株内生放线菌菌株进行生理生化特征测定,结果(表 1)显示,10 株内生放线菌菌株均可利用葡萄糖、麦芽糖、棉籽糖等碳源;纤维素水解均为阳性即可利用葡萄糖、麦芽糖、棉籽糖等碳源;而硫化氢与黑色素的产生均为阴性,说明无硫化氢与黑色素产生。

2.2.3 16S rDNA 序列分析 将 10 株内生放线菌

表 1 拮抗菌株的生理生化特征

菌株 编号	生理生化特征													
	葡萄糖	蔗糖	棉籽糖	乳糖	甘露醇	肌醇	麦芽糖	明胶液化	牛奶凝固与胨化	淀粉水解	纤维素水解	硫化氢产生	黑色素产生	
LBY2	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	
LBY3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	
LTJ4	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
LTG2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	
RG4	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	
LBY4	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	
LTJ5	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	
SG3	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	
SG4	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	
RG3	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	

注：“-”表示阴性反应；“+”表示阳性反应。

LBY2、LBY3、LTJ4、LTG2、RG4、LBY4、LTJ5、SG3、SG4、RG3 的 16S rDNA 序列提交至 NCBI,分别获得 OR186289、OR186291、OR186292、OR186290、OR186285、OR186283、OR186284、OR186288、OR186293、OR195348 的登录号,通过 BLAST 比对菌株的 16S rDNA 序列得到的对比结果显示,结果表明,菌株 LBY2、LBY3、LTJ4、LTG2、SG4 与淀粉酶链霉菌(MZ389928)等序列同源性大于 97%,菌株 RG4、LTJ5、LBY4、SG3 与嗜热一氧化碳链霉菌(AB894408)等序列同源性大于 97%,菌株 RG3 与娄彻氏链霉菌(MN795132)等序列同源性达 99%。在 MEGA 6.0 软件上采用邻接法进行系统发育树的构建(图 2)。

2.3 烟株内生放线菌的生物学功能

2.3.1 对烟草疫霉的拮抗作用 采用平板对峙法测定 LBY2、LBY3、LTJ4 与 RG3 菌株对烟草疫霉菌菌丝生长的抑制率,均在 50% 以上(表 2)。采用菌丝生长速率法测定 LBY3、LBY2、LTJ4、RG3 菌株的发酵液对烟草疫霉菌菌丝生长的抑菌率,仍在 50% 以上,抑制等级为Ⅳ级。RG4、SG3、LTJ5、LBY4、LTG2、SG4 菌株的发酵液对烟草疫霉菌丝的抑菌率较低,抑制等级为Ⅲ级(表 3)。

2.3.2 产 IAA 的能力

2.3.2.1 IAA 标准曲线 以吸光度值 $D_{535\text{ nm}}$ 为纵坐标(y)、IAA 的浓度为横坐标(x)绘制标准曲线,得到线性回归方程 $y=0.013\ 7x-0.121\ 8,r^2=0.997\ 1$ 。

2.3.2.2 菌株发酵液 IAA 定性与定量测定 采用 Salkowski 比色试验,10 株内生放线菌发酵液显色反应均为粉红色,说明菌株在代谢过程中均能够产生吲哚乙酸(IAA)。根据标准曲线计算菌株发酵液中

IAA 含量,测量 2 次求均值。菌株 LBY2 发酵液中 IAA 的含量为 19.87 mg/L,菌株 LBY3 发酵液中 IAA 的含量为 12.47 mg/L,菌株 LTJ4 发酵液中 IAA 的含量为 19.04 mg/L,菌株 RG3 发酵液中 IAA 的含量为 20.43 mg/L,菌株 LTJ5 发酵液中 IAA 含量为 12.73 mg/L,菌株 RG4 发酵液中 IAA 含量为 12.91 mg/L,菌株 LTG2 发酵液中 IAA 含量为 12.21 mg/L,菌株 LBY4 中发酵液中 IAA 含量为 13.02 mg/L,菌株 SG3 发酵液中 IAA 含量为 13.68 mg/L,菌株 SG4 发酵液中 IAA 含量为 11.37 mg/L(表 4)。

3 讨论

内生放线菌通过产生拮抗植物病原菌活性的抑菌物质^[30]或通过与病原菌进行营养物质的争夺、破坏其生长环境等进而使病原菌死亡。Li 等报道淀粉酶链霉菌对大丽轮枝菌(*Verticilliumd ahliae* Kleb.)与硫色镰刀菌(*F. sulphureum*)有较强的抑制效果^[31]。熊瑶瑶等报道娄彻氏链霉菌 FR02 菌株对禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)、水稻纹枯病菌(*Thanatephorus cucumeris*)、车前草核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)与胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)的抑制率分别为 70%、45%、58% 和 65%^[32];Zhang 等报道娄彻氏链霉菌 A-1 菌株能抑制由苹果轮纹病菌(*Botryosphaeria dothidea*)引起的苹果果实腐烂问题^[33];马林等报道娄彻氏链霉菌 Lj20 菌株对油菜菌核病(*S. sclerotiorum*)、番茄灰霉病菌(*B. cinerea*)与番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)的抑制率分别达 88.2%、60.0% 与 53.2%^[34]。本研究从洛阳地区烟

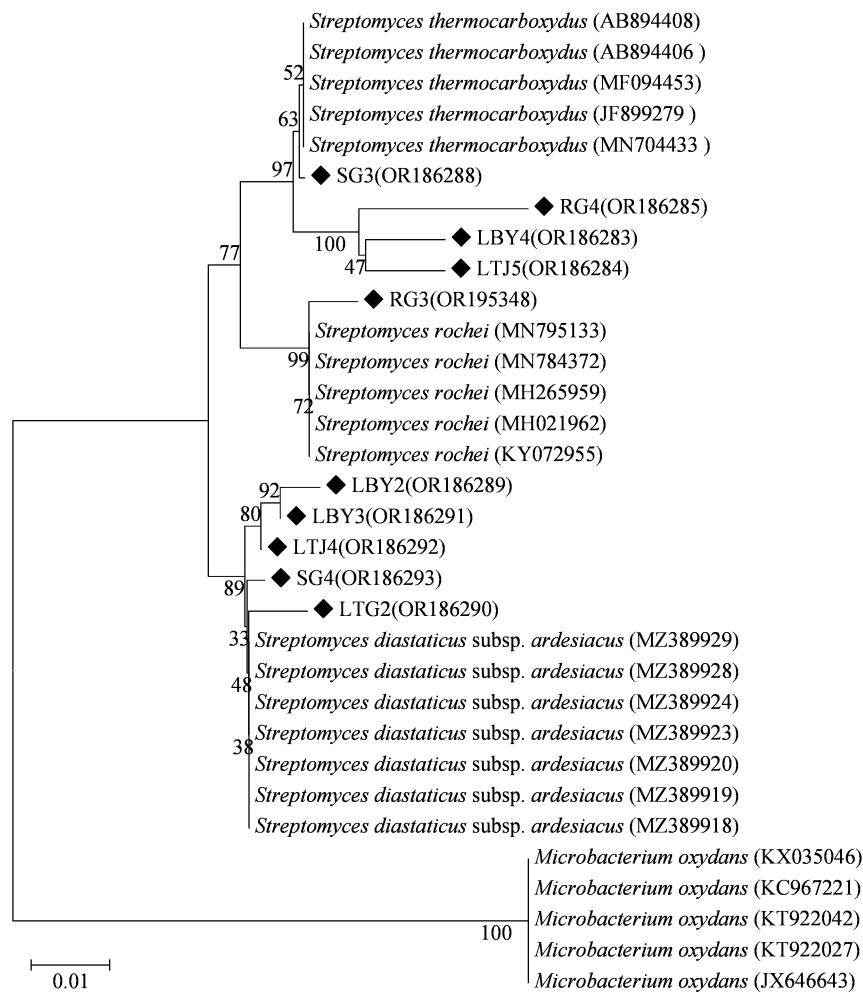


图2 内生放线菌菌株 16S rDNA 基因序列构建的系统发育树

表 2 烟株内生放线菌对烟草疫霉的平板抑制作用

菌株 编号	菌落直径 (cm)		抑菌率 (%)	抑制等级
	对照	处理		
LBY2	6.51	2.45	62.37	IV
LBY3	5.99	2.42	59.60	IV
LTJ4	8.32	3.75	54.93	IV
RG3	7.65	3.35	56.21	IV
RG4	6.77	4.52	33.23	III
SG3	6.62	3.67	44.56	III
LTJ5	6.73	4.67	30.61	III
LBY4	7.85	4.45	43.31	III
LTC2	6.95	4.67	32.81	III
SG4	6.60	4.45	32.58	III

表 3 烟株内生放线菌发酵液对烟草疫霉菌的拮抗作用

菌株 编号	菌落直径 (cm)		抑菌率 (%)	抑制等级
	对照	处理		
LBY3	6.77	3.15	53.47	IV
LBY2	6.78	3.23	52.36	IV
LTJ4	6.37	3.11	51.18	IV
RG3	6.44	3.21	50.16	IV
LBY4	6.32	3.39	46.36	III
LTJ5	6.42	3.49	45.64	III
SG3	6.35	3.50	44.88	III
SG4	6.41	3.55	44.62	III
RG4	6.50	3.75	42.31	III
LTC2	6.30	3.65	42.06	III

株中分离鉴定的淀粉酶链霉菌和娄彻氏链霉菌对烟草疫霉的抑制率均达 50% 以上,与前人的研究结果相一致。

内生放线菌通过产生或者能够促进寄主植物产生植物激素来促进植物生长^[30]。魏晓丽报道淀

粉酶链霉菌无菌发酵液的多个稀释梯度对棉花胚根和胚轴生长均具有促进作用^[35];李威等报道娄彻氏链霉菌 XL-6 菌株的无菌发酵液能显著提高茄子种子发芽率、叶片叶绿素含量及根系活力,增加植株鲜重^[36];路来风等报道嗜热一氧化碳链霉菌

表 4 烟株内生放线菌发酵液中 IAA 含量

编号	IAA 含量 (mg/L)		
	重复 I	重复 II	平均值
LBY2	15.09	24.66	19.87
LBY3	14.44	10.50	12.47
LTJ4	22.98	15.09	19.04
RG3	22.54	18.31	20.43
LTJ5	13.20	12.25	12.73
RG4	12.39	13.42	12.91
LTC2	12.90	11.52	12.21
LBY4	13.64	12.39	13.02
SG3	13.71	13.64	13.68
SG4	12.39	10.35	11.37

Fs-1 菌株对玉米、小麦和番茄生长均具有促进作用^[37]。本研究测定解淀粉霉链霉菌菌株 LBY2、LBY3、LTJ4 发酵液中 IAA 含量分别为 19.87、12.47、19.04 mg/L, 娄彻氏链霉菌菌株 RG3 发酵液中 IAA 的含量达 20.43 mg/L, 为解释内生放线菌对烟株的促生作用提供了理论基础。

4 结论

从洛阳地区烟株体内分离获得的 10 株内生放线菌, 结合形态学特征、16S rDNA 序列分析结果及生理生化特征指标, 菌株 LBY2、LBY3、LTJ4、LTC2、SG4 被鉴定为淀粉酶链霉菌 (*S. diastaticus*), 菌株 RG3 鉴定为娄彻氏链霉菌 (*S. rochei*), 菌株 SG3、RG4、LTJ5、LBY4 鉴定为嗜热一氧化碳链霉菌 (*S. thermocarboxydus*)。其中, 解淀粉霉链霉菌 LBY2、LBY3、LTJ4 菌株发酵液对烟草疫霉菌丝生长的抑菌率为 52.36%、53.47%、51.18%, 发酵液中 IAA 含量分别为 19.87、12.47、19.04 mg/L; 娄彻氏链霉菌 RG3 的菌株发酵液对烟草疫霉菌丝生长的抑菌率为 50.16%, 发酵液中 IAA 含量为 20.43 mg/L, 且在烟草黑胫病生物防治方面的研究中, 首次报道淀粉酶链霉菌对烟草疫霉具有较好拮抗作用。

参考文献:

[1] 黄晓辉, 李 珊, 谭周进, 等. 植物内生放线菌研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(1): 42-46.

[2] 闵长莉, 汪学军, 刘文博. 春兰内生真菌的分离及其抑菌活性的初步研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(3): 596-599.

[3] 李玲玲, 罗合春, 张先淑. 柴胡内生真菌鉴定与抑菌活性筛选[J]. 生物技术通报, 2015, 31(10): 165-170.

[4] Pathania A S, Guru S K, Ashraf N U, et al. A novel stereo bioactive

metabolite isolated from an endophytic fungus induces caspase dependent apoptosis and STAT-3 inhibition in human leukemia cells[J]. European Journal of Pharmacology, 2015, 765: 75-85.

[5] 侯晓强, 郭顺星. 铁皮石斛促生长内生真菌的筛选与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3232-3237.

[6] 王雅俊, 孟志霞, 于雪梅, 等. 促进金线莲生长发育的内生真菌筛选研究[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(13): 976-979.

[7] Spaepen S, Dobbelaere S, Croonenborghs A, et al. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants[J]. Plant and Soil, 2008, 312(1): 15-23.

[8] 史佳琴, 周松林, 王梅霞, 等. 槐树内生真菌抗氧化活性的初步研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 250-253.

[9] Lucas G B. Diseases of tobacco[M]. 3rd ed. Fuquay Varina: Harold E. Parker & Sons Printer, 1975.

[10] Conn V M, Walker A R, Franco C M M. Endophytic Actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(2): 208-218.

[11] Liotti R G, da Silva Figueiredo M I, Soares M A. *Streptomyces griseocarneus* R132 controls phytopathogens and promotes growth of pepper (*Capsicum annuum*) [J]. Biological Control, 2019, 138: 104065.

[12] 陈红兵, 马 林, 韩巨才, 等. 放线菌 Lj20 抗真菌物质的分离及其在病害防治中的作用[J]. 植物保护学报, 2011, 38(1): 42-46.

[13] 王 靖. 十字花科作物根肿病生防放线菌研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.

[14] 李庆蒙, 王世强, 李昆太, 等. 拮抗放线菌 JD211 的抑菌活性及其鉴定[J]. 生物灾害科学, 2013, 36(4): 394-398.

[15] 陈奇闻, 丁钥琪, 赵世民, 等. 洛阳烟区烟株根围抗烟草疫霉放线菌的筛选与鉴定[J]. 烟草科技, 2019, 52(1): 22-28.

[16] 陈华红, 杨 颖, 姜 怡, 等. 植物内生放线菌的分离方法[J]. 微生物学通报, 2006, 33(4): 182-185.

[17] 张金丽, 秦玉丽, 熊子君, 等. 植物内生放线菌的选择性分离[J]. 微生物学通报, 2013, 40(7): 1305-1313.

[18] Niemann H, Lösekann T, de Beer D, et al. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink[J]. Nature, 2006, 443: 854-858.

[19] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1975.

[20] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.

[21] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京: 科学出版社, 1992.

[22] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.

[23] 宋喜乐. 洛阳地区烟草根际土壤拮抗细菌的筛选鉴定[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2017: 15-16.

[24] 姚晨虢. 烟草镰刀菌根腐病生防细菌与真菌的筛选鉴定[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2022: 16.

[25] 丁琪琪. 烟田拮抗微生物的互作及其应用效果研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2017.

[26] 汤玲玲. 三种促生微生物代谢产物中 IAA 含量的测定及其对烟草促生作用研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2022.

叶柳健,王小虎,韩佳临,等. 沃柑霉腐病原菌的鉴定、生物学特性及拮抗菌株筛选[J]. 江苏农业科学,2024,52(13):131-138.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.13.017

沃柑霉腐病原菌的鉴定、生物学特性及拮抗菌株筛选

叶柳健¹,王小虎¹,韩佳临²,何双¹,翁瑜婷³,周礼芹¹

(1. 广西科学院生物科学与技术研究所/非粮生物质能技术全国重点实验室/国家非粮生物质能源工程技术研究中心,广西南宁 530007;

2. 广西职业技术学院农业工程学院,广西南宁 530226; 3. 广西大学生命科学与技术学院,广西南宁 530004)

摘要:沃柑霉腐病原菌的鉴定、生物学特性研究及其拮抗菌株筛选,将有助于沃柑的生物防腐研究。目前对于柑橘霉腐的病原菌已经分离出意大利青霉、指状青霉、扩展青霉等,未见文献报道针对武鸣地区沃柑霉腐病原菌的鉴定及生物学特性研究。为了明确武鸣地区沃柑霉腐病的主要病原菌及其生物学特性,以在武鸣沃柑种植核心示范区生产基地采集的霉腐沃柑果实为试验材料,利用组织培养法和平板划线法分离病原菌并通过科赫法则验证明确病原菌,形态学和分子生物学分析结合鉴定病原菌,进一步分析病原菌的生物学特性和生物防治菌谱。结果表明,皮壳青霉(*Penicillium crustosum*)是引起武鸣沃柑霉腐病的病原菌,它在不同培养基、pH 值以及温度的环境下生长各不相同,能够适应多种营养环境,生命力强,最适生长 pH 值为 7,最适生长温度为 20 ℃,高盐浓度的环境会抑制病原菌的生长。生物防治菌谱的研究表明,解淀粉芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌、非脱羧勒克菌以及季也蒙氏酵母对该病原菌的生长有抑制作用,具有开发成为病原菌生物防治菌剂的潜力。综上,本研究鉴定了武鸣地区沃柑霉腐病原菌为皮壳青霉,并研究了其生物学特性,明确其最适生长环境条件和生物防治菌谱,为防治沃柑霉腐病害提供了理论依据。

关键词:沃柑;霉腐病;皮壳青霉;生物学特性;生物防治

中图分类号:S436.66 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)13-0131-08

沃柑(Orah)是以色列科研人员将“坦普尔”橘橙与“丹西”红橘杂交获得的晚熟型柑橘品种,其生

长势强,冬季果实落地少,挂果能力强^[1]。沃柑果实外观饱满喜庆,果肉嫩滑汁多,口感甜柔、低酸爽口;富含氨基酸、维生素 C、胡萝卜素以及膳食纤维等多种营养成分。我国最早在重庆、四川柑橘产区就引入种植沃柑,但种植效果不理想。2012 年沃柑从四川引种到广西南宁市武鸣区,获得了得天独厚的土壤优势和气候条件的沃柑,生长旺盛,早结丰产,而且口感清甜、外观漂亮,因而深受喜爱,沃柑

收稿日期:2023-08-15

基金项目:广西重点研发计划(编号:桂科 AB21076011);中央引导地方科技发展专项基金(编号:2020ZYX3027)。

作者简介:叶柳健(1995—),男,广西北海人,硕士,工程师,主要从事资源微生物学与生物工程研究。E-mail:yeliujian2022@126.com。

通信作者:周礼芹,博士,研究员,主要从事植物分子生物学与结构生物学研究。E-mail:gkxxyzlq@126.com。

[27] Defez R, Andreozzi A, Bianco C. The overproduction of indole-3-acetic acid (IAA) in endophytes upregulates nitrogen fixation in both bacterial cultures and inoculated rice plants[J]. Microbial Ecology, 2017, 74(2): 441-452.

[28] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796.

[29] 张 烨, 杨雅雯. 玫瑰黄链霉菌和哈茨木霉 IAA 的测定及其发酵液对烟草的影响[J]. 河南农业, 2021(19): 10-12.

[30] 康业斌, 成玉梅. 烟草土传菌病害微生态调控理论与实践[M]. 北京: 中国林业出版社, 2021: 233-237.

[31] Li Y Q, Han L, Rong H, et al. Diastaphenazine, a new dimeric phenazine from an endophytic *Streptomyces diastaticus* subsp. *ardesiacus* [J]. The Journal of Antibiotics, 2015, 68(3): 210-212.

[32] 熊瑶瑶, 敖 武, 李 怡, 等. 3 株拮抗内生放线菌的鉴定及其

抑菌活性初步研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2015, 39(2): 171-176.

[33] Zhang Q M, Yong D J, Zhang Y, et al. *Streptomyces rochei* A-1 induces resistance and defense-related responses against *Botryosphaeria dothidea* in apple fruit during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 115: 30-37.

[34] 马 林, 韩巨才, 刘慧平. 植物内生放线菌 Fq24 和 Lj20 对番茄早疫病菌的抑制作用[J]. 农药科学与管理, 2006, 27(5): 29-31, 35.

[35] 魏晓丽. 拮抗与内生链霉菌的定殖及促生作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[36] 李 威, 肖熙鸥, 李 可, 等. 娄彻氏链霉菌 XL-6 的抑菌活性及对茄子幼苗的防病促生效应[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(4): 531-536.

[37] 路来风, 孙久云, 谭红晓, 等. 一种嗜热一氧化氮链霉菌及含该菌的增效生物菌剂与应用: CN114196583A[P]. 2022-03-18.