

纠敏, 李晶晶, 李伟山, 等. 大豆疫霉病菌生防放线菌的筛选、鉴定及生防效果[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(5): 1137-1142.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.05.007

## 大豆疫霉病菌生防放线菌的筛选、鉴定及生防效果

纠敏<sup>1,2</sup>, 李晶晶<sup>1</sup>, 李伟山<sup>1,2</sup>, 冯辉<sup>2</sup>, 刘瑞显<sup>3</sup>, 魏利辉<sup>2</sup>, 周冬梅<sup>2</sup>

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 3. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为了开发对大豆疫霉病菌具有拮抗作用的放线菌资源, 从健康大豆根际土壤中分离筛选获得 2 株对大豆疫病具有显著抑制效果的生防放线菌菌株 JAX-13 和 JAX-14。经生理生化和分子生物学鉴定, 菌株 JAX-13 和 JAX-14 分别为放线菌属细菌(*Actinomycetales bacterium*)和链霉菌(*Streptomyces*)。平板拮抗试验结果表明, 2 种菌株对大豆疫霉病菌的抑制率分别为 56.26% 和 50.06%; 光学显微镜观察发现, 菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理的大豆疫霉病菌菌丝排列杂乱无章, 菌丝生长受到抑制并且菌丝内部出现原生质聚集成块现象。盆栽试验结果表明, 经菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理的大豆对大豆疫霉病菌的防效分别达 56.56% 和 72.22%, 且菌株发酵液对大豆植株具有一定的促生作用。总体来看, 菌株 JAX-13 和 JAX-14 生防效果优良, 是 2 种具有潜在应用价值的放线菌。

**关键词:** 放线菌; 链霉菌; 生物防治; 大豆疫病; 大豆疫霉病菌

**中图分类号:** S482.2<sup>+</sup>92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)05-1137-06

## Screening, identification and biocontrol effect of actinomycetes against *Phytophthora sojae*

JIU Min<sup>1</sup>, LI Jing-jing<sup>1,2</sup>, LI Wei-shan<sup>1,2</sup>, FENG Hui<sup>2</sup>, LIU Rui-xian<sup>3</sup>, WEI Li-hui<sup>2</sup>, ZHOU Dong-mei<sup>2</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** To develop actinomycete resources with antagonistic effect on *Phytophthora sojae*, two strains of biocontrol actinomycetes JAX-13 and JAX-14 were isolated and screened from healthy soybean rhizosphere soil, which had significant inhibitory effect on soybean *Phytophthora* blight. Through physiological, biochemical analysis and molecular biology identification, strains JAX-13 and JAX-14 were identified as *Actinomycetales bacterium* and *Streptomyces*, respectively. The results of plate confrontation test showed that, the inhibition rates of two strains to *P. sojae* were 56.26% and 50.06%, respectively. Through optical microscope observation, it was found that the hyphae of *P. sojae* treated by the fermentation broth of JAX-13 and JAX-14 strains arranged disorderly, the growth of hyphae was inhibited and the protoplasm in hyphae gathered into lumps. The results of pot experiment showed that, after treated with fermentation broth of JAX-13 or JAX-14 strain, the control effects of soybeans against *P. sojae* were 56.56% and 72.22%, respectively, and the fermentation broth showed some promoting effects on the growth of soybean plants. In general, strains JAX-13 and JAX-14 are two kinds of actinomycete with good biocontrol effect and show potential application value.

**Key words:** actinomycete; *Streptomyces*; biological control; soybean blight; *Phytophthora sojae*

收稿日期: 2020-02-01

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201005); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(18)2005]

作者简介: 纠敏(1971-), 女, 河南杞县人, 博士, 副教授, 主要从事双生病毒与媒介昆虫互作及机制研究。(E-mail) jiumin0912@163.com

大豆疫病是由大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)感染引起的一种分布范围广、危害极其严重的全球性土传病害, 防治十分困难<sup>[1-2]</sup>。大豆疫霉病菌在大豆的整个生育期内都可以进行侵染, 造成种子、根、茎等

腐烂,植株枯死,大豆产量严重损失<sup>[3]</sup>。大豆疫病防治的最有效方法是选育抗病品种,但是其抗病资源极为有限<sup>[4]</sup>。目前,预防和控制疫病主要依赖化学防治方法,但化学防治方法的长期使用会造成农药残留、环境污染、危害人类及动物健康等问题<sup>[5]</sup>。生物防治方法利用微生物资源来防治植物病害,具有绿色、安全、无污染等特点,是一种具有发展潜力的防治方法<sup>[6]</sup>。因此,开发具有防病抗病、绿色无污染的生物防治方法是一种大豆疫病防控的良好途径。

放线菌属于一类能够产生多种活性代谢产物且分布广泛的细菌类微生物。目前,研究人员开发出来的抗生素种类中70%以上均由放线菌产生<sup>[7-8]</sup>。链霉菌是一种在土壤中含量较多的放线菌,能够在土壤中产生多种具有生物活性的次生代谢产物,具有促生和抗病等多种功能<sup>[9-10]</sup>,具有潜在的研究和应用价值。刘婷婷等<sup>[11]</sup>从白山市的人参根围筛选到1株对多种病原真菌都具有较强抑菌作用的放线菌 TL-007,并鉴定出其为黑胡桃链霉菌(*Streptomyces nogalater*),该菌株对锈腐病的抑菌率为85.93%,在农业生产上具有应用价值。林睿等<sup>[12]</sup>从内蒙古土壤样品中分离到2株链霉菌属(*Streptomyces* sp.)放线菌 WH4-57 和 WH4-58,其对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等都具有较强的广谱抗性。黄军等<sup>[13]</sup>从多年连作的健康辣椒植株根中分离到1株鲤链霉菌(*S. carpaticus*) PES-A23,其对辣椒疫霉病病菌(*Phytophthora capsici*)、辣椒镰刀枯萎病病菌(*Fusarium* spp.)、辣椒炭疽病病菌(*Colletotrichum* spp.)、辣椒金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等均具有显著的抑制效果。

目前,已有芽孢杆菌(*Bacillus*)和假单胞菌(*Pseudomonas*)用于防治大豆疫病的广泛报道<sup>[14-18]</sup>,但关于放线菌防治大豆疫病的相关报道较少<sup>[19-21]</sup>。为进一步开发对大豆疫霉病病菌具有拮抗作用的放线菌资源,本研究从江苏省大豆田未发病大豆根际土壤中分离得到对大豆疫霉病病菌具有抑制作用的放线菌 JAX-13 和放线菌 JAX-14。本研究发现的生防放线菌为大豆疫病的控制提供有效资源,并为下一步分离其中的有效成分提供基础,对利用放线菌开展大豆疫病的生物防治具有十分重要的意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

土壤样品采自江苏省宿迁市未发病的大豆根际

土壤。供试病原菌菌株为大豆疫霉病病菌,由南京农业大学王源超实验室提供。

放线菌的筛选和抑菌活性测定参照牛红杰<sup>[22]</sup>的方法进行,培养基分别为高氏一号培养基和马铃薯琼脂(PDA)培养基。放线菌的蛋白酶活性和几丁质酶活性测定参照徐刘平<sup>[23]</sup>的方法进行,培养基分别为蛋白质培养基和以胶体状几丁质为唯一碳源的培养基(Chi-Ayers)。放线菌的纤维素酶活性测定参照 Ghose<sup>[24]</sup>的方法进行,培养基为纤维素酶活性测定培养基。嗜铁素的产生参照 Shin<sup>[25]</sup>的方法进行测定,培养基为嗜铁素检测培养基(CAS)。

供试大豆种子:合丰35号。

### 1.2 试验方法

1.2.1 放线菌的分离纯化 将采集的3g新鲜土壤样品添加到含27ml无菌水的玻璃三角瓶中,150r/min振荡培养30min。从三角瓶中取1ml土壤悬浮液加入到含9ml无菌水的试管中,混匀后,利用梯度稀释法制成 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 的土壤稀释液。用玻璃涂布棒在高氏一号培养基上均匀涂100 $\mu$ l上述各浓度的稀释液,每个浓度设3个重复,28 $^{\circ}$ C连续培养3d。选取菌落总数在50~300CFU的平板,计数并依次挑取长出的菌落,在高氏一号固体培养基上纯化后,用接种环挑取单一菌落接种于盛有5ml高氏一号液体培养基的试管中,28 $^{\circ}$ C、200r/min振荡培养24~28h,取悬浮液与等体积50%甘油溶液混匀,于-80 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2.2 抗性放线菌的筛选与鉴定 平板对峙试验:用打孔器从大豆疫霉病病菌平皿中打取大小为6mm $\times$ 6mm的大豆疫霉病病菌琼脂块,倒置于PDA平板上,同时用接种环分别挑取待测菌,在距中心2cm的边缘划线,并设置空白对照。28 $^{\circ}$ C培养5~7d后,观察是否有抑菌现象。挑选抑菌效果显著的菌株进行保存,用于后续研究。分子鉴定:按照细菌基因组DNA提取试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司产品]说明书提取放线菌基因组DNA。16SrDNA的PCR扩增使用通用引物:27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和149R(5'-AGGAGGTGATCCAGCCGACA-3')。25.0 $\mu$ lPCR反应体系:dNTP Mix(10mmol/L)0.5 $\mu$ l,Phanta Max Super-Fidelity DNA聚合酶0.5 $\mu$ l,27F1.0 $\mu$ l,149R1.0 $\mu$ l,灭菌蒸馏水21.0 $\mu$ l,提取的总DNA1.0 $\mu$ l。PCR反应程序:94 $^{\circ}$ C4min;94 $^{\circ}$ C1min,57 $^{\circ}$ C55s,

72 ℃ 2 min, 30 个循环; 72 ℃ 10 min。PCR 产物电泳后测序, 将测序结果用 NCBI 的 BLAST 进行同源性检索, 从而鉴定菌株。

1.2.3 是否具有蛋白酶活性的测定 用接种针挑取生防菌接种在蛋白质培养基上, 25 ℃ 下培养 3 d 后观察, 如果菌落周围有透明圈, 则表示有蛋白酶活性, 否则表示没有蛋白酶活性。

1.2.4 能否产生嗜铁素的测定 用消毒灭菌针或牙签挑取放线菌接种在 CAS 培养基中, 25 ℃ 连续培养 3 d, 若放线菌菌落周围出现橘黄色的小晕圈, 则表明放线菌菌株具有产生嗜铁素的能力, 否则表示不具有产生嗜铁素的能力。

1.2.5 能否产生纤维素酶的测定 用消毒灭菌针或牙签挑取放线菌, 接种在纤维素酶活性测定培养基中, 25 ℃ 下培养 3 d 后将其取出, 用刚果红(1 000 mg/L)加水染色 1 h 后, 用氯化钠(1 mol/L)加水浸泡 1 h, 若放线菌菌落周围产生透明圈, 则表明放线菌菌株具有产生纤维素酶的能力, 否则表示不能直接产生纤维素酶。

1.2.6 能否产生几丁质酶的测定 用消毒灭菌针或牙签挑取放线菌菌落, 接种在 Chi-Ayers 培养基中, 25 ℃ 下培养 5 d 后, 若放线菌菌落周围有透明圈, 则表明放线菌菌株能产生几丁质酶, 否则表示放线菌菌株不能产生几丁质酶。

1.2.7 放线菌的液体培养 在 100 ml 高氏一号液体培养基中接种 100 μl 放线菌菌液, 28 ℃ 下连续培养 5 d 后, 取 20 ml 菌液接种到含 300 ml 高氏一号液体培养基的玻璃三角瓶中, 28 ℃、180 r/min 连续培养 7 d 后, 8 000 r/min 离心 20 min, 收集发酵液, 4 ℃ 保存备用。

1.2.8 放线菌发酵液对大豆疫霉病病菌的抑制效果 将放线菌上清液和 PDA 培养基以 1:5 (体积比) 混合制成培养基。将大豆疫霉病病菌菌碟菌丝朝下接种在平板(大小为 6 mm×6 mm) 中央, 于 25 ℃ 培养 6 d 后测量菌落半径(对照组测量大豆疫霉病病菌的菌落半径, 处理组测量靠近生防菌的大豆疫霉病病菌的菌落半径), 以加无菌水处理的 PDA 平板作为对照, 计算抑菌率<sup>[26]</sup>, 计算公式: 抑菌率 = (对照组菌落半径 - 处理组菌落半径) / 对照组菌落半径 × 100%。

1.2.9 放线菌发酵液对大豆疫霉病病菌菌丝的影响 为了准确检测放线菌在体外对大豆疫霉病病菌

菌丝的拮抗作用, 分别取 5 ml JAX-13 和 JAX-14 发酵液, 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min, 然后用 0.22 μm 细菌过滤器过滤发酵液, 获得无菌放线菌发酵液。用显微镜(型号: LEIGC DM2500) 观察 JAX-13、JAX-14 发酵液对大豆疫霉病病菌菌丝的影响, 以灭菌水作为对照, 每组 3 次重复, 观察并拍照记录。

1.2.10 放线菌发酵液对大豆疫霉病病菌拮抗作用的离体试验 分别将大豆叶片完全浸在 JAX-13、JAX-14 的发酵液或无菌水中 1 min, 然后从生长 5 d 的大豆疫霉病病菌菌落边缘挑取 1 个菌碟接种于经处理的叶片中心。接种 48 h 后, 用 75% 乙醇对叶片进行脱色处理后, 统计病斑直径, 定量评价 2 种放线菌对大豆疫霉病病菌的拮抗作用。每组处理 6 张叶片, 重复 3 次。

1.2.11 放线菌发酵液防治大豆疫霉病病菌的温室试验 大豆生长 14 d 后, 取长势一致的植株, 每株大豆根围接种 2 ml 放线菌发酵液(对照组接种 2 ml 灭菌水)。接种放线菌发酵液 7 d 后, 采用下胚轴接种法<sup>[27]</sup>接种大豆疫霉病病菌, 即在大豆植株的下胚轴 1 cm 处用手术刀划取伤口后接种大豆疫霉病病菌菌饼(直径为 6 mm), 将处理后的大豆植株放在 25 ℃、湿度 80% 和 16 h 光照/8 h 黑暗的条件下培养 4 d, 统计发病情况。每个处理 18 株大豆植株, 重复 3 次。

### 1.3 数据处理

数据处理和分析使用 Microsoft Excel 2010 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 生防放线菌对大豆疫霉病病菌的拮抗作用与菌种鉴定

从大豆根际土壤中共获得 14 株放线菌菌株。将测序结果在 NCBI 网站上进行 BLAST 比对后发现, 主要为放线菌属细菌 (*Actinomycetales bacterium*)、链霉菌 (*Streptomyce sp.*) 和疮痂链霉菌 (*Streptomyces scabiei*) (表 1)。平板拮抗试验结果表明, 对大豆疫霉病病菌有抑制作用的放线菌共有 11 株, 其中 JAX-13 (*Actinomycetales bacterium*) 和 JAX-14 (*Streptomyce sp.*) 对大豆疫霉病病菌具有显著的抑制效果(图 1), 抑菌率分别为 56.26% 和 50.06%。

### 2.2 生防菌 JAX-13 和 JAX-14 的酶活性检测

由图 2 可知, 菌株 JAX-13 可以分泌蛋白酶、嗜铁素、纤维素酶和几丁质酶, 菌株 JAX-14 可以分泌纤维素酶、嗜铁素和蛋白酶, 但不能分泌几丁质酶。

表 1 生防放线菌对大豆疫霉病菌的拮抗作用与菌种鉴定结果  
Table 1 Antagonistic effect of biocontrol actinomycetes against *Phytophthora sojae* and strain identification

放线菌	菌株种类	对大豆疫霉病菌的拮抗作用
JAX-1	<i>Streptomyces scabiei</i>	-
JAX-6	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-8	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-9	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-11	<i>Streptomyces scabiei</i>	-
JAX-12	<i>Actinomycetales bacterium</i>	-
JAX-13	<i>Actinomycetales bacterium</i>	+
JAX-14	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-15	<i>Streptomyces scabiei</i>	+
JAX-16	<i>Streptomyces scabiei</i>	+
JAX-17	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-18	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-19	<i>Streptomyce</i> sp.	+
JAX-23	<i>Streptomyce</i> sp.	+

表中“+”表示对大豆疫霉病菌有拮抗作用;“-”表示对大豆疫霉病菌无拮抗作用。

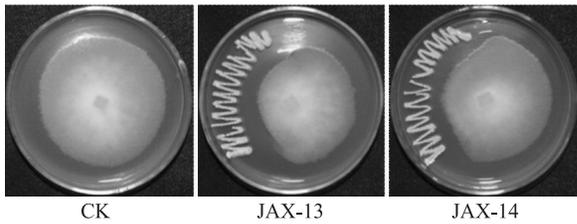


图 1 菌株 JAX-13 和 JAX-14 对大豆疫霉病菌的抑制效果  
Fig.1 Inhibitory effect of strains JAX-13 and JAX-14 on *Phytophthora sojae*

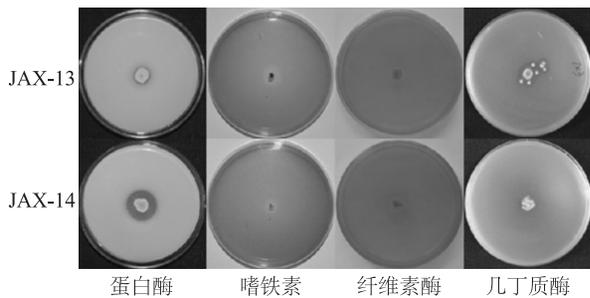


图 2 菌株 JAX-13 和 JAX-14 拮抗物质的检测  
Fig.2 Detection of antagonistic substance in strains JAX-13 and JAX-14

2.3 放线菌发酵液对大豆疫霉病菌菌丝的影响

显微镜观察结果表明,对照组生长正常,菌丝光滑、均匀,菌丝末端分枝近似直角,菌丝体不发生弯曲。放线菌菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理过的大豆疫霉菌菌丝杂乱无章,菌丝的部分位置弯曲变

粗,分枝的角度发生改变,分枝数量减少,且菌丝内部原生质集中成块(图 3)。

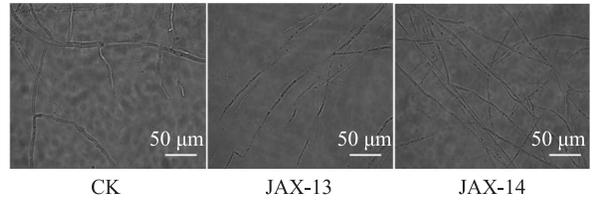


图 3 菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液对大豆疫霉病菌菌丝形态的影响

Fig.3 Effect of strains JAX-13 and JAX-14 fermentation broth on mycelial morphology of *Phytophthora sojae*

2.4 放线菌发酵液对大豆疫霉病菌的离体防效

菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液对大豆叶片中大豆疫霉病菌的拮抗作用研究表明,在接种 2 d 后,相比经 H<sub>2</sub>O 处理过的对照组(CK),大豆疫霉病菌能轻微侵染 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理的叶片,但病斑直径较小(图 4)。其中经 JAX-13 发酵液处理过的病斑直径为 1.30 cm,经 JAX-14 发酵液处理过的病斑直径为 1.60 cm,对照组病斑直径为 2.00 cm(图 5)。

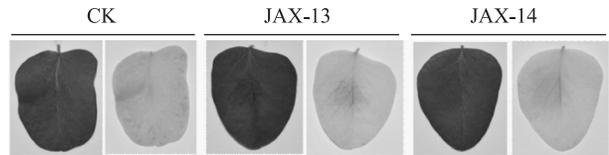


图 4 菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液对大豆疫霉病菌的离体防效  
Fig.4 In vitro control effect of strains JAX-13 and JAX-14 fermentation broth on *Phytophthora sojae*

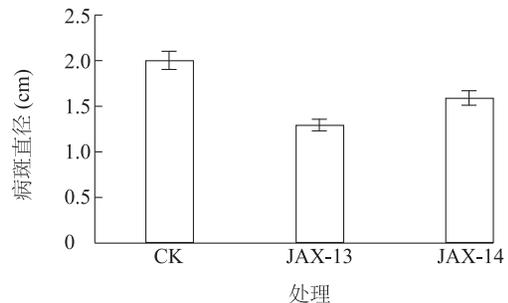


图 5 菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液对大豆疫霉病菌的离体防效

Fig.5 In vitro control effect of strains JAX-13 and JAX-14 fermentation broth on *Phytophthora sojae*

2.5 放线菌发酵液对盆栽大豆疫霉病的防效

经放线菌菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理后的植株部分出现倒伏,没有出现死亡植株;而对照组

大豆植株全部倒伏,甚至枯萎死亡(图6),表明放线菌能抵抗大豆疫霉病菌的侵染。防病率和防效的统计结果表明,经菌株 JAX-13 处理后的大豆发病率为

44.44%,防效可达 56.56%;经菌株 JAX-14 处理后的大豆发病率为 27.78%,防效可达 72.22%。相比对照组有显著差异,防治效果明显。



图6 菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液对盆栽大豆的大豆疫霉病菌防效

Fig.6 Bio-control effect of strains JAX-13 and JAX-14 fermentation broth on *Phytophthora sojae* by pot experiment

### 3 讨论

本研究分离到 2 株对大豆疫霉病菌均具有抑制效果的放线菌菌株 JAX-13 和 JAX-14,经鉴定 JAX-13 和 JAX-14 分别为放线菌属细菌和链霉菌。

链霉菌主要通过拮抗性、竞争性、重寄生性、诱因性和耐受性作用机制来防治各种动植物病害,且链霉菌不仅仅通过一种作用发挥其生防功能,通常是由多种作用共同发挥其生防功能<sup>[28]</sup>。研究表明,链霉菌产生的活性物质能够抑制病原菌的生长<sup>[29]</sup>。杨红旗<sup>[30]</sup>从菜豆中发现的几丁质酶能够抑制真菌生长,而且水稻、烟草、马铃薯、大麦、玉米产生的几丁质酶也能有效抑制多种病原菌的生长<sup>[31-32]</sup>。本研究发现,菌株 JAX-13 和 JAX-14 均能产生蛋白酶、嗜铁素、纤维素酶,其中 JAX-13 还可以产生几丁质酶。推测菌株 JAX-13 和 JAX-14 的抑菌机制可能是通过溶菌作用或竞争作用来抑制大豆疫霉菌生长,具体如何发挥作用还需进一步探究。

黄敏敏<sup>[33]</sup>从福建的土壤样品中分离到 1 株生防放线菌 Z-16,可使大豆疫霉菌菌丝出现大量分枝、歪曲、变粗变短,孢子及菌丝出现不同程度的紧缩、干瘪,一些孢子还出现不正常破裂、孢子内含物外泄等。本研究还发现,菌株 JAX-13 和 JAX-14 的发酵液对大豆疫霉病菌菌丝生长具有明显的影响,通过显微镜观察,对照组菌丝纤细光滑,生长正常,而经菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液处理的大豆疫霉病菌菌丝排列杂乱无章,分枝减少,且菌丝内部原生质聚集成块。由此可见,菌株 JAX-13 和 JAX-14 发酵液可以较好地抑制大豆疫霉病菌菌

丝的生长。

链霉菌可产生多种抗菌物质,对病原菌细胞壁、蛋白质和核酸的合成等具有抑制作用<sup>[34-38]</sup>。在叶片离体试验中,菌株 JAX-13 和 JAX-14 的发酵液对大豆疫霉病菌有显著防效。在盆栽试验中,用菌株 JAX-13 和 JAX-14 的发酵液处理后的大豆发病率均有明显降低,防治效果明显,菌株 JAX-14 的防效更为显著。由于菌株 JAX-13 和 JAX-14 的发酵液通过细菌过滤器过滤除去了其中的活菌,说明菌株的防治作用不一定来自菌种之间活菌的相互竞争,可能与发酵液中的一些化学产物相关,具体机制有待进一步研究。

此外,菌株 JAX-13 和 JAX-14 还可能通过诱导植物抗性从而防治大豆疫病。金娜等<sup>[39]</sup>研究发现,链霉菌 HDZ-9-47 发酵液处理感染红灰链霉菌的番茄后,能有效提高番茄表皮中多酚氧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶和超氧化物歧化酶的活性,进而提高番茄抗性。因此,菌株 JAX-13 和 JAX-14 的生防机制可能通过多种作用相互结合进而具有稳定的效果,这种生防菌机制能够在各种复杂多变的条件和环境中较好地抑制疫霉病菌的繁殖和生长。本研究后续将对菌株 JAX-13 和 JAX-14 产生的活性物质进行分离、纯化和鉴定,对其是否引起植物诱导抗性进行验证,对其在田间的应用进行评估,以期更好地开发其生防功能,为大豆疫病的防治提供新的方法。

### 参考文献:

[1] 张鸿雁,高 擎,张琳园,等. 大豆疫病拮抗菌的筛选及促生抗病作用研究[J]. 生物技术通报, 2020, 36(10): 25-31.

- [2] 马淑梅,李宝英.大豆疫霉根腐病菌生理小种鉴定结果初报[J].大豆科学,1999,18(2):58-60.
- [3] TYLER B M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete [J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(1):1-8.
- [4] DORRANCE A E, COSTAMILAN L M, CLEBSCH C C, et al. Pathogenic diversity of *Phytophthora sojae* pathotypes from Brazil [J]. European Journal of Plant Pathology, 2013, 135(4): 845-853.
- [5] 路粉,赵建江,刘晓芸,等.马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的抗性监测及替代药剂防治效果[J].中国农业科学,2018,51(14):2700-2710.
- [6] 张峰,李红梅,罗淑萍,等.国际应用生物科学中心与中国在生物防治领域的合作进展[J].中国生物防治学报,2015,31(4):445-452.
- [7] 孙海涛.中国黄土高原苹果产区土壤真菌群落多样性及生防放线菌菌株筛选[D].泰安:山东农业大学,2012.
- [8] 尉飞飞.三株土壤放线菌次级代谢产物的研究[D].济南:山东大学,2018.
- [9] 高芬,吴元华,魏颖颖,等.拮抗链霉菌182-2的抑菌防病作用及抗菌物质的初步鉴别[J].中国生物防治,2008,24(2):148-153.
- [10] 刘琴,徐健,祁建杭,等.娄彻氏链霉菌SR-1102对番茄枯萎病的防效及根际微生物的影响[J].江苏农业学报,2020,36(5):1133-1138.
- [11] 刘婷婷,吉丽,田春杰.一株放线菌TL-007及其应用一株放线菌TL-007及其应用:CN201911089241.7[P].2020-02-21.
- [12] 林睿,张晓燕,王双,等.链霉菌WH13的分离鉴定及其拮抗致病疫霉活性的初步探究[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2019,40(4):40-44.
- [13] 黄军,曾艳,蔡长平,等.一株辣椒内生拮抗放线菌的筛选及初步鉴定[J].湖南农业科学,2018(9):6-8,12.
- [14] 高同国,李术娜,张冬冬,等.大豆根腐病生防细菌优势菌株的筛选、鉴定及生防效果验证[J].大豆科学,2015,34(4):661-665.
- [15] 王媛媛.抗镰刀菌芽孢杆菌的分离、筛选、鉴定及其抗菌机理初步研究[D].保定:河北农业大学,2013.
- [16] 郭荣君,李世东,张晶,等.基于营养竞争原理的大豆根腐病生防芽孢杆菌的筛选及其特性研究[J].植物病理学报,2010,40(3):307-314.
- [17] 杨光红.大豆疫霉拮抗菌株的筛选、鉴定及拮抗作用[D].合肥:安徽农业大学,2012.
- [18] 李旭,马福海,王秀娟,等.大豆根腐病生防菌KJB04-11的鉴定及其产生的脂肽类抗生素[J].生态学杂志,2012,31(6):1453-1460.
- [19] 黄珊珊,韩雪,李丽珺,等.大豆根腐病生防菌株的筛选及鉴定[J].东北农业大学学报,2008,39(10):6-10.
- [20] WANG X J, ZHANG J, LIU C X. Antifungal activity of borrelidin produced by a *Streptomyces* strain isolated from soybean [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(5): 1251-1257.
- [21] WANG X J, GAO Y M, ZHANG J. Borrelidin, a potent antifungal agent: insight into the antifungal mechanism against *Phytophthora sojae* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(39): 9874-9881.
- [22] 牛红杰.黄瓜枯萎病生防放线菌的分离筛选及其发酵工艺研究[D].北京:中国农业科学院,2019.
- [23] 徐刘平.辣椒疫霉生防细菌筛选、生防潜能评估及生物防治研究[D].南京:南京农业大学,2007.
- [24] GHOSE T K. Measurement of cellulase activities [J]. Pure & Appl Chem, 1987, 59: 257-268.
- [25] SHIN S H, LIM Y, LEE S E, et al. CAS agar diffusion assay for the measurement of siderophores in biological fluids [J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, 44(1): 89-95.
- [26] 刘贵友,邹瑶,顾杨霞,等.内生真菌对连作花生土壤尖孢镰刀菌的拮抗作用[J].江苏农业科学,2016,44(12):171-174.
- [27] 曹舜.短小芽孢杆菌BS-4菌株对大豆疫病的生防作用及其机制研究[D].合肥:安徽农业大学,2015.
- [28] 毛良居,毛赫.链霉菌生物防治研究进展[J].安徽农业科学,2017,45(1):145-147.
- [29] KHAMNA S, YOKOTA A, LUMYONG S. *Actinomycetes* isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2009, 25(4): 649-655.
- [30] 杨红旗.菜豆种子几丁质酶的分离纯化及性质研究[D].长沙:湖南农业大学,1997.
- [31] 程笑笑.棉花黄萎病菌内源几丁质酶基因VDECH功能分析[D].北京:中国农业科学院,2017.
- [32] 王超.水稻CERK1介导的几丁质识别与免疫信号转导研究[D].北京:中国科学院大学,2017.
- [33] 黄敏敏.大豆疫霉生防放线菌的筛选、鉴定及生防机制初探[D].福州:福建农林大学,2014.
- [34] 甄丹妹,郭景红,韩兴,等.玫瑰黄链霉菌活性代谢产物诱导黄瓜白粉病抗性[J].江苏农业科学,2019,47(11):148-150.
- [35] 张雯龙,付岗,潘连富,等.链霉菌S417菌株发酵液的抗真菌活性及稳定性研究[J].西南农业学报,2012,25(4):1285-1288.
- [36] 李张,徐志荣,汪青松,等.链霉菌JD211所产活性物质对水稻种子萌发及叶片防御反应的影响[J].江苏农业科学,2019,47(7):95-98.
- [37] 邓永杰.放线菌JY-22抑菌机理及抑菌物质初步分离[D].重庆:西南大学,2017.
- [38] 张炳火,李汉全,徐阳,等.链霉菌JXJ402抗稻瘟病菌的活性成分[J].江苏农业学报,2009,25(2):282-285.
- [39] 金娜,卢修亮,文洋,等.红灰链霉菌HDZ-9-47对番茄生长及其防御酶的影响[J].植物病理学报,2016,46(6):833-840.

(责任编辑:陈海霞)