

中图分类号: S532; S435.32 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2023)06-0527-09

病虫害防治

DOI: 10.19918/j.cnki.1672-3635.2023.06.005

防治多种链霉菌引起的马铃薯疮痂病生防芽孢杆菌的筛选

尚书妍¹, 王金辉¹, 郭卫卫², 张 岱¹, 潘 阳¹, 赵冬梅¹, 李 倩¹, 朱杰华¹, 杨志辉^{1*}

(1. 河北农业大学植物保护学院, 河北 保定 071000; 2. 河北省邯郸市武安市综合职业技术教育中心, 河北 武安 056300)

摘 要: 马铃薯疮痂病(Potato common scab)是世界范围内普遍发生的土传病害, 由致病链霉菌(*Streptomyces* spp.)引起。为筛选得到可较好抑制马铃薯疮痂病菌的芽孢杆菌(*Bacillus* spp.), 通过室内平板抑菌试验进行抑菌活性测定, 利用邻接法建立基于 *gyrB* 序列的系统发育树进行种类分子鉴定。试验检测了 13 株芽孢杆菌对 *S. scabies* HP4 抑制作用, 5 株芽孢杆菌菌株 BEV2、BAM7、GF3、BPU6 和 BMO8 对 *S. scabies* HP4 抑菌圈直径均大于 9.0 mm。系统发育树鉴定 BEV2 和 GF3 为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), BAM7 为解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*), BPU6 为短小芽孢杆菌(*B. pumilus*), BMO8 为莫海威芽孢杆菌(*B. mojavensis*)。检测 4 种芽孢杆菌及其组合对 3 种致病链霉菌及其组合抑菌活性, 其中 BEV2+BAM7 对致病链霉菌的抑菌圈直径至少达到 (29.5 ± 2.7) mm, 当多种致病链霉菌同时出现时仍表现出较好抑菌效果, 表明 BEV2+BAM7 对多种马铃薯疮痂病菌有稳定防治效果。该试验筛选出能拮抗不同致病链霉菌的多种芽孢杆菌, 可扩大对马铃薯疮痂病菌的抑菌谱、提高病害防治效果的稳定性, 为马铃薯疮痂病生物防治及生物菌剂的开发奠定基础。

关键词: 马铃薯; 疮痂病; 生物防治; 芽孢杆菌; 致病链霉菌

Screening of Bio-control *Bacillus* Against Potato Common Scab Caused by Various *Streptomyces*

SHANG Shuyan¹, WANG Jinhui¹, GUO Weiwei², ZHANG Dai¹, PAN Yang¹,ZHAO Dongmei¹, LI Qian¹, ZHU Jiehua¹, YANG Zhihui^{1*}

(1. College of Plant Protection, Hebei Agriculture University, Baoding, Hebei 071000, China;

2. Wuan Comprehensive Vocational Education Center, Wuan, Hebei 056300, China)

Abstract: Potato common scab is a common soil-borne disease worldwide, which is caused by *Streptomyces* spp. In order to screen *Bacillus* spp. that may have a good inhibitory effect on scab pathogen, plate antibacterial tests in laboratory were conducted for determination of antibacterial activity, and the phylogenetic tree was constructed for molecular identification of *Bacillus* species based on *gyrB* sequence by neighbor joining (NJ) method. The inhibition effect of 13 strains of *Bacillus* on *S. scabies* HP4 was detected, and it was found that the inhibition zone diameter of the five strains of BEV2, BAM7, GF3, BPU6 and BMO8 on *S. scabies* HP4 was greater than 9.0 mm. BEV2 and GF3 were identified as *B. velezensis*, BAM7 as *B. amyloliquefaciens*, BPU6 as *B. pumilus*, and BMO8 as *B. mojavensis* based on the phylogenetic tree. The antibacterial activity of four strains of *Bacillus* and their combinations against three pathogenic

收稿日期: 2023-10-13

基金项目: 河北省薯类产业技术体系创新团队专项基金(HBCT2023060205); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-09-P18)。

作者简介: 尚书妍(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物病理学。

*通信作者(Corresponding author): 杨志辉, 教授, 研究方向为马铃薯真细菌病害防控, E-mail: bdyangzhihui@163.com。

bacteria were determined. Among them, BEV2+BAM7 had an inhibitory circle diameter of at least (29.5 ± 2.7) mm against pathogenic *Streptomyces*. When multiple pathogenic *Streptomyces* appeared simultaneously, it still showed good inhibitory effect, indicating that BEV2+BAM7 have a stable control effect on various potato common scab pathogens. In this experiment, various strains of *Bacillus* that antagonize different pathogenic *Streptomyces* are screened, which could expand the antibacterial spectrum against potato common scab and improve the stability of disease prevention and control effects. This may lay the foundation for the biological control of potato common scab and the development of biological agents.

Key Words: potato; common scab; biological control; *Bacillus*; pathogenic *Streptomyces*

马铃薯疮痂病(Potato common scab)是由致病链霉菌(*Streptomyces* spp.)引起侵染马铃薯块茎的土传病害,在世界各马铃薯主产区均有发生,是马铃薯四大主要病害之一^[1]。马铃薯疮痂病能降低马铃薯商品性,严重时会引起出苗延迟甚至幼苗死亡,给马铃薯产业造成经济损失^[2]。马铃薯疮痂病主要表现为块茎表皮发生木栓化病斑,常见病斑类型主要包括凸起型病斑、凹陷型病斑和平型病斑3种^[3]。

引起马铃薯疮痂病的链霉菌种类复杂多样,截至2018年已报道35种^[2],常见致病链霉菌有*S. scabiei*、*S. luridiscabiei*、*S. puniscabiei*、*S. acidiscabiei*、*S. stelliscabiei*、*S. niveiscabiei*、*S. reticuliscabiei*、*S. turgidiscabiei*、*S. europaeiscabiei*、*S. ipomoeae*等^[4]。其中*S. scabiei*是分离频率最高、分布最广的优势种群,在中国、加拿大、美国、南非、韩国、印度、巴基斯坦等地较为常见^[4-6]。中国对马铃薯疮痂病研究起步较晚,赵伟全^[7]研究发现在中国东北、华北、西南、西北等各大马铃薯主产区均有疮痂病发生,在河北、安徽、湖南、云南、福建、宁夏、山西等地均有*S. scabiei*分布;近年多种致病链霉菌被陆续鉴定出来。目前,河北省发现致病链霉菌除优势种*S. scabiei*和*S. acidiscabiei*^[1]外还有一些种被报道,包括*S. europaeiscabiei*、*S. diastatochromogenes*、*S. galilaeus*、*S. enissocaesilis*、*S. bobili*,由此可见病原菌种群结构较为复杂。

芽孢杆菌属革兰氏阳性细菌^[8],不仅具有抑菌活性高、拮抗广谱性高、绿色环保等优点,还具有抗逆性强、易保存、易存活、繁殖速度快等生物学特性,因此在生物防治中被广泛应用,并已成为研究热点,是极具应用前景的生物防治剂^[9-11]。芽孢

杆菌对植物病原物的生防作用主要包括空间位置和营养物质竞争、对病原物的拮抗作用、促进植物体生长和诱发植物抗性等几种作用形式。但是,芽孢杆菌的生防效能并不是某一作用形式,而是多种作用形式间相辅相成、相互作用的结果^[12,13]。

近年来,马铃薯疮痂病的发生及发病程度日趋严重,世界各国学者持续在化学药剂防治、农业防治、生物防治和选育抗病品种等方面对马铃薯疮痂病开展研究,但未发现能够有效防治该病害的方法。本研究联合多种芽孢杆菌对马铃薯疮痂病菌复合侵染防治效果进行初步探索,为马铃薯疮痂病防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 培养基

(1)燕麦琼脂培养基(Oatmeal agar, OMA):燕麦粒/燕麦片30 g,琼脂20 g,加蒸馏水定容至1 000 mL。用于马铃薯疮痂病菌纯化及扩繁培养。

(2)水琼脂培养基(Water agar):琼脂10 g,加蒸馏水定容至1 000 mL。用于马铃薯疮痂病菌初步分离培养。

(3)固体LB(Luria-bertani agar)培养基:氯化钠10 g,酵母浸粉5 g,蛋白胨10 g,琼脂20 g,调整pH为7.0,加蒸馏水将其定容至1 000 mL。用于生防芽孢杆菌培养。

(4)液体LB培养基:氯化钠10 g,酵母浸粉5 g,蛋白胨10 g,调整pH至7.0,加蒸馏水将其定容至1 000 mL。用于芽孢杆菌种子液培养。

1.1.2 试验仪器设备

NanoDrop One(赛默飞世尔科技公司), 高速离心机(Eppendorf AG), PCR仪(Applied Biosystems), 凝胶成像系统(Bio-Rad Laboratories), 高压灭菌锅(日本 Hirayama 公司), 电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司), 恒温振荡器(上海右一仪器有限公司), 超净工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司), 恒温培养箱(宁波市科技园江南仪器有限公司), 电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司], 数显恒温水浴锅(金坛市金坛杰瑞尔电器有限公司)。

1.1.3 试验试剂

细菌核酸提取所用试剂: Easy Pure Bacteria Genomic DNA 提取试剂盒(北京全式金生物技术有限公司), 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(北京天根生化科技有限公司)。

1.2 拮抗马铃薯疮痂病菌的芽孢杆菌筛选及鉴定

1.2.1 马铃薯疮痂病菌靶标菌悬液制备

鉴于河北省马铃薯主产区疮痂病菌优势种为 *S. scabies*, 本研究选用 *S. scabies* HP4(分离于河北省承德市)作为拮抗菌首轮筛选的对峙培养靶标菌。用移液枪吸取 6 mL 无菌水至长满马铃薯疮痂病菌的 OMA 平板中, 用涂布器轻轻刮下病原菌体, 用装有脱脂棉的无菌注射器过滤掉菌丝体, 暂放-20℃冰箱保存。将滤液(大部分为孢子)梯度稀释至 10^{-6} , 取 50 μ L 在 OMA 培养基上涂布, 5 d 后对单菌落计数计算孢悬浮液浓度, 并将孢悬浮液浓度调整至 10^6 CFU/mL。在后期逐层筛选中加入 *S. turgidiscabies* 和 *S. stelliscabiei* 作为后期对峙培养的靶标菌。

1.2.2 拮抗马铃薯疮痂病菌的芽孢杆菌筛选

本课题组在 2015~2020 年从马铃薯根际土样品中分离到 766 株芽孢杆菌, 通过首轮对峙培养选取其中拮抗效果相对较好 13 株(BEV2、BAM7、GF3、BPU6、BMO8、Q3911、HZ7、FM2-4、Q395、HZ15、Q394、F17 和 F7)作进一步筛选。平皿上抑菌拮抗试验参照 Wanner^[14]方法。取 100 μ L 浓度为 10^6 CFU/mL 的 *S. scabies* HP4 菌悬液均匀涂布于 OMA 培养基平板上; 在培养皿中心放置直径为 5 mm 无菌滤纸片, 滴加 5 μ L 浓度为 10^8 CFU/mL

芽孢杆菌菌液; 设置等量无菌水作为清水对照组, 每株芽孢杆菌设置 4 个重复; 最后将 OMA 培养皿置于 28℃ 培养箱内倒置培养 7 d, 测量抑菌圈直径(减去滤纸片直径)。不同芽孢杆菌菌株间抑菌圈差异使用 SPSS 19.0 软件的 ANOVA 进行统计推断。

1.2.3 芽孢杆菌种类分子鉴定

选取对疮痂病菌 *S. scabies* HP4 抑菌效果较好的 5 株芽孢杆菌分离株(BEV2、BAM7、GF3、BPU6 和 BMO8)进行分子鉴定, 以明确其系统分类地位。用细菌 DNA 提取试剂盒提取芽孢杆菌总 DNA, 使用 *gyrB* 通用引物(正向引物 *gyrB*-F: 5'-TGRCGGHRGYGGHTATAAAGT-3', 反向引物 *gyrB*-R: 5'-TCCDCCSTCAGARTCWCCTC-3')对该位点进行 PCR 扩增, 扩增程序为: 预变性 95℃ 5 min; 变性 94℃ 30 s, 退火 55℃ 1 min, 延伸 72℃ 2 min, 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存^[15]。将 PCR 扩增产物于 1% 琼脂糖凝胶上进行电泳分离纯化后测序(上海生工生物有限公司)。利用邻接法(Neighbour-joining, NJ)建立基于 *gyrB* 序列的系统发育树。

1.2.4 4 种芽孢杆菌及组合对其他 3 种马铃薯疮痂病菌的抑菌活性

因芽孢杆菌 BEV2 与 GF3 已鉴定为同属解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*), 所以只保留抑菌效果更好的 BEV2 作后续种间组合优化。病原靶标菌除 *S. scabies* HP4 外, 还选择分离于张北地区的 *S. scabies* SCA3, 用于检验芽孢杆菌对不同地域分离株拮抗效果稳定性。同时, 选择除优势种 *S. scabies* 外其他 2 种较常见疮痂病菌 *S. turgidiscabies* SUR1 和 *S. stelliscabiei* STE2 作为靶标菌。继而测定多种(2~4 种)芽孢杆菌混合时, 分别对 3 种疮痂病菌抑菌效果。混合菌株处理组的菌量按照菌株数量等比例混合, 菌液浓度均为 10^8 CFU/mL。测定了 6 个混合菌株处理组(菌株两两组合: BEV2+BAM7、BPU6+BAM7、BMO8+BAM7; 3 种菌的组合: BEV2+BAM7+BPU6、BEV2+BAM7+BMO8、BAM7+BPU6+BMO8; 4 种菌的组合: BEV2+BAM7+BPU6+BMO8)对靶标菌抑菌效果, 测定方法与 1.2.2 一致。

1.2.5 测定 3 株芽孢杆菌对不同疮痂病菌组合的抑菌活性

为测定当多种病原菌同时出现时, 芽孢杆菌对混合病原菌拮抗效果稳定性, 本研究设置 SUR1+STE2、SUR1+SCA3、STE2+SCA3 及 SUR1+STE2+SCA3 病原菌 4 个混合处理组, 检测当施加芽孢杆菌 BEV2、BAM7 和 BPU6 的其中一种时对多种混合病原菌抑菌效果。病原菌混合处理组中病菌量按照等比例混合, 病原菌菌液浓度均为 10⁶ CFU/mL。测定方法见 1.2.2。

2 结果与分析

2.1 拮抗马铃薯疮痂病菌优势种 *S. scabies* 的芽孢杆菌筛选与鉴定

室内拮抗试验结果表明, 13 株芽孢杆菌中 BEV2 对马铃薯疮痂病菌 *S. scabies* HP4 抑菌效果最好, 抑菌圈直径达到 (12.3 ± 0.6) mm, 与其他菌株抑菌圈直径差异显著 (BAM7 除外)。BAM7、GF3、BPU6 和 BMO8 抑菌圈直径均达到 9.0 mm 以上 (表 1、图 1)。基于 *gyrB* 序列系统发育树表明, BEV2 为贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensi*); BAM7 为解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*); GF3 为贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensi*); BPU6 为短小芽孢杆菌 (*B. pumilus*); BMO8 为莫海威芽孢杆菌 (*B. mojavensis*) (图 2)。鉴于 BEV2 和 GF3 均为贝莱斯芽孢杆菌, 因此淘汰拮抗效果相对较差的 GF3。

2.2 4 种芽孢杆菌及组合对 3 种马铃薯疮痂链霉菌的抑菌活性

室内拮抗试验表明 (表 2), 11 个处理中解淀粉

芽孢杆菌 BAM7 对 *S. turgidiscabies* SUR1 抑菌效果最好, 抑菌圈直径达到 (34.5 ± 3.1) mm; BAM7+ BPU6 + BMO8、BMA7 + BPU6 及 BAM7 + BMO8 对 STE2 抑菌效果较好; 对 SCA3 抑菌效果较好处理是 BAM7+BPU6。上述处理对 3 株马铃薯疮痂病菌抑菌圈直径均超过 29.0 mm。

表 1 13 株芽孢杆菌对马铃薯疮痂病菌 HP4 的抑菌活性测定

Table 1 Determination of antibacterial activity of 13 strains of *Bacillus* against potato common scab HP4

菌株编号	抑菌圈直径 (mm)
Code of bacterial strain	Inhibitory zone diameter
BEV2	12.3 ± 0.6 a
BAM7	11.3 ± 0.6 ab
GF3	10.7 ± 1.2 bc
BPU6	10.0 ± 1.0 bcd
BMO8	9.3 ± 0.6 cd
Q3911	9.0 ± 1.0 d
HZ7	9.0 ± 1.0 d
FM2-4	9.0 ± 1.7 d
Q395	6.3 ± 0.6 e
HZ15	4.0 ± 1.0 f
Q394	1.5 ± 0 g
F17	1.2 ± 0 g
F7	1.0 ± 0 g

注: 不同小写表示 0.05 水平差异显著, 采用最小显著差数 (LSD) 法。下同。
Note: Different lowercase letter(s) indicate significant difference at 0.05 level, as tested using least significant difference (LSD) method. The same below.

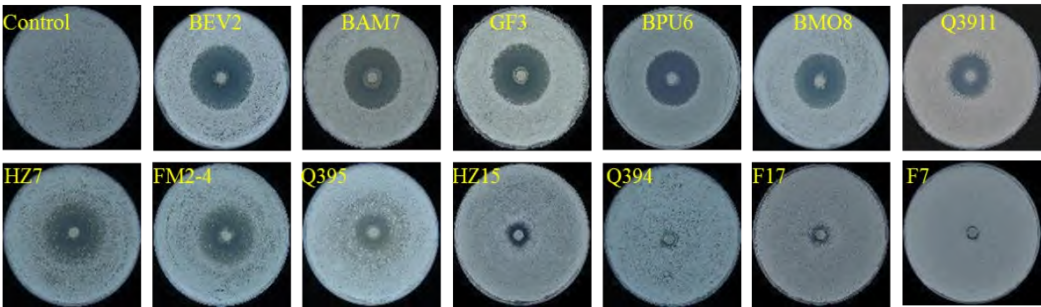


图 1 13 株芽孢杆菌对马铃薯疮痂病菌 HP4 的抑菌作用
Figure 1 Antibacterial effect of 13 strains of *Bacillus* against potato common scab HP4

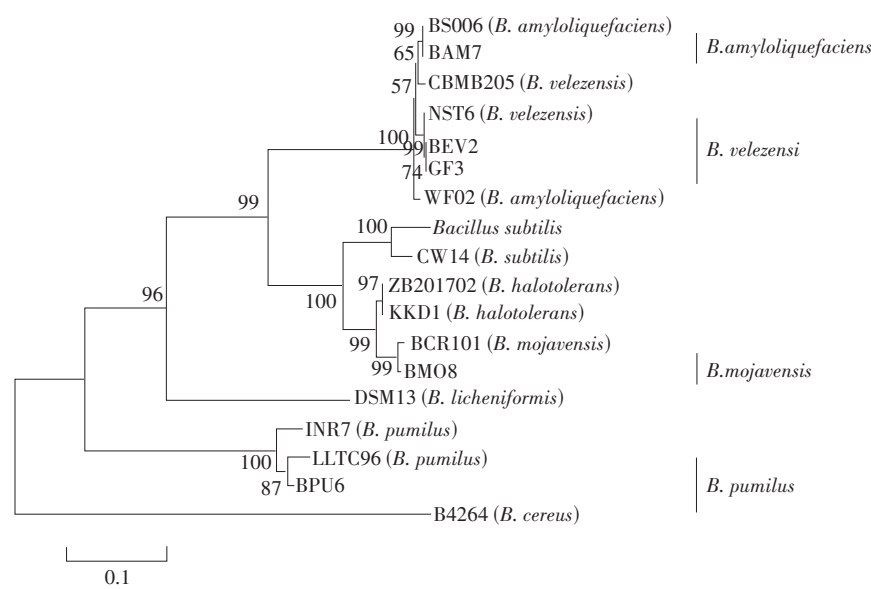


图2 基于 *gyrB* 序列构建的芽孢杆菌系统发育树

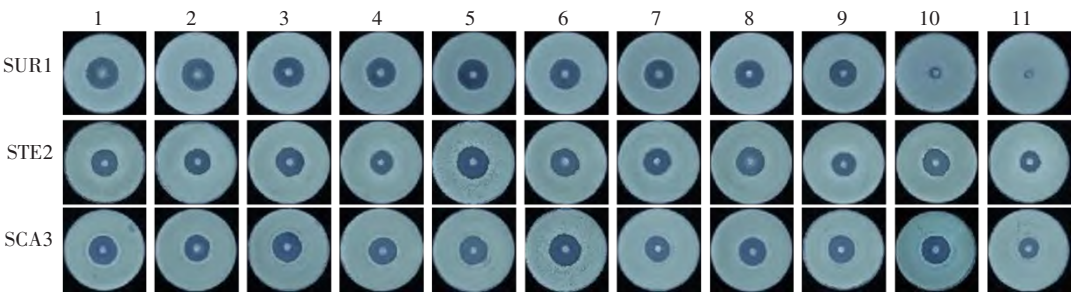
Figure 2 Construction of phylogenetic tree of *Bacillus* based on *gyrB* sequence

表2 4株芽孢杆菌及其组合对3种致病菌抑菌活性测定

Table 2 Determination of antibacterial activity of four strains of *Bacillus* and their combinations against three pathogenic bacteria

序号 Serial number	芽孢杆菌 <i>Bacillus</i>	抑菌圈直径(mm) Inhibitory zone diameter		
		SUR1(<i>S. turgidiscabies</i>)	STE2(<i>S. stelliscabiei</i>)	SCA3(<i>S. scabies</i>)
1	BAM7	34.5 ± 3.1 a	29.3 ± 1.9 ab	29.3 ± 1.0 ab
2	BAM7+BEV2	33.3 ± 1.0 ab	26.8 ± 1.3 bc	25.0 ± 3.3 c
3	BAM7+BPU6	31.8 ± 1.0 bc	29.8 ± 2.0 a	31.5 ± 1.3 a
4	BAM7+BEV2+BPU6+BMO8	31.5 ± 2.4 bc	20.8 ± 1.0 ef	27.5 ± 1.3 bc
5	BAM7+BPU6+BMO8	31.3 ± 1.5 bc	30.5 ± 0.6 a	28.5 ± 0.6 abc
6	BAM7+BEV2+BPU6	31.0 ± 1.4 bc	28.8 ± 1.9 ab	28.5 ± 1.7 abc
7	BAM7+BEV2+BMO8	30.8 ± 1.5 bc	22.8 ± 2.2 de	26.0 ± 3.7 bc
8	BAM7+BMO8	30.0 ± 0 c	30.0 ± 2.2 a	29.5 ± 1.73 ab
9	BEV2	29.6 ± 2.4 c	24.8 ± 1.7 cd	27.8 ± 2.6 bc
10	BPU6	0 ± 0 d	28.3 ± 0.5 ab	29.0 ± 0.8 ab
11	BMO8	0 ± 0 d	18.5 ± 1.3 f	20.5 ± 1.3 d

4株芽孢杆菌中，BAM7对3株疮痂病菌都有较强抑菌效果。BPU6对SCA3有较强抑菌效果，抑菌圈直径为(29.0 ± 0.8)mm，STE2次之，对SUR1没有明显抑菌效果。BEV2对3株疮痂病菌均有一定抑菌效果，但是抑菌效果相对较弱。BMO8对SUR1没有明显抑菌效果，对STE2和SCA3有抑菌效果但相对较弱，且与其他芽孢杆菌混合后对靶标菌抑菌效果没有明显提升，故淘汰该菌株(图3)。



注：序号与表 2 序号相对应，指表 2 中相对应的芽孢杆菌处理。
Note: The serial number correspond to table 2, indicating the corresponding *Bacillus* treatment in table 2.

图 3 4 株芽孢杆菌及其组合对 3 种致病菌抑菌效果

Figure 3 Antibacterial effect of four strains of *Bacillus* and their combinations against three pathogenic bacteria

2.3 3 株芽孢杆菌对 3 种马铃薯疮痂病菌组合的抑菌活性测定

室内拮抗试验表明，BEV2 与其他 2 种芽孢杆菌相比对 4 组混合处理组均有明显抑制作用。BAM7 对 STE2+SCA3 和 SUR1+STE2+SCA3 有明显

抑制效果，抑菌圈直径均大于 34.0 mm，对 SUR1+STE2 和 SUR1+SCA3 有一定抑制效果但相对较弱。当多种疮痂链霉菌同时出现，BPU6 抑菌效果较差，这与 2.2 中 BPU6 对 SUR1 无拮抗效果结果一致（图 4，表 3）。

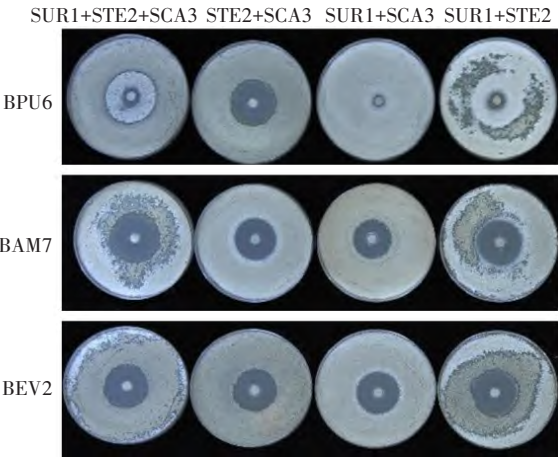


图 4 3 株芽孢杆菌对 3 株链霉菌组合的抑菌效果

Figure 4 Antibacterial effect of three strains of *Bacillus* against combinations of three *Streptomyces* species

表 3 3 株芽孢杆菌对 3 种链霉菌组合的抑菌活性测定

Table 3 Determination of antibacterial activity of three strains of *Bacillus* against combinations of three *Streptomyces* species

靶标菌组合 Target bacteria combination	抑菌圈直径(mm) Inhibitory zone diameter		
	BPU6(<i>B. pumilus</i>)	BEV2(<i>B. amyloliquefaciens</i>)	BAM7(<i>B. velezensis</i>)
STE2+SCA3	34.0 ± 0.8 a	28.8 ± 1.7 a	35.3 ± 2.4 a
SUR1+STE2	0 ± 0 b	32.0 ± 1.4 a	31.0 ± 0.8 b
SUR1+SCA3	0 ± 0 b	32.0 ± 3.6 a	30.5 ± 1.0 b
SUR1+STE2+SCA3	0 ± 0 b	31.5 ± 1.0 a	34.0 ± 1.4 a

2.4 2株芽孢杆菌及其组合对3种疮痂链霉菌组合的抑菌活性

室内拮抗试验表明(表4, 图5), BEV2+BAM7对STE2+SCA3抑菌效果显著高于BAM7和BEV2, 抑菌圈直径达到(33.3 ± 4.0)mm。该菌株组合对

4组马铃薯疮痂病菌混合处理组抑菌效果与BEV2和BAM7相比无减弱;与此同时, BEV2+BAM7比BAM7单独添加时效果均有提升。综上所述, 当多种致病霉菌同时出现时BEV2+BAM7表现出较为稳定抑制效果。

表4 2株芽孢杆菌及其组合对3株致病链霉菌及其组合处理的抑菌活性测定

Table 4 Determination of antibacterial activity of two *Bacillus* strains and their combinations against three pathogenic *Streptomyces* strains and their combinations

芽孢杆菌组合 <i>Bacillus</i> combination	抑菌圈直径(mm) Inhibitory zone diameter			
	STE2+SCA3	SUR1+SCA3	SUR1+STE2+SCA3	SUR1+STE2
BEV2+ BAM7 (<i>B. velezensis</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i>)	33.3 ± 4.0 a	30.8 ± 1.5 a	29.8 ± 0.5 a	29.5 ± 2.7 a
BAM7 (<i>B. amyloliquefaciens</i>)	24.5 ± 1.0 b	28.0 ± 2.6 a	25.8 ± 2.5 b	28.0 ± 0 a
BEV2 (<i>B. velezensis</i>)	27.5 ± 2.1 b	31.3 ± 1.5 a	30.0 ± 0 a	28.3 ± 1.3 a



注: 红色框突出强调该处理的抑菌效果。
Note: Red box highlights antibacterial effect of the treatment.

图5 2株芽孢杆菌及其组合对3株致病链霉菌及其组合处理的抑菌效果

Figure 5 Antibacterial effect of two *Bacillus* strains and their combinations against three pathogenic *Streptomyces* strains and their combinations

3 讨 论

本研究测定了13株芽孢杆菌对河北省优势种 *S. scabiei* 拮抗效果, 从而筛选出5株抑菌效果较好的芽孢杆菌分别为BEV2、BAM7、GF3、BPU6、BMO8。 *gyrB* 基因已成为鉴定芽孢杆菌种群的代表性基因^[16,17]。本研究通过 *gyrB* 序列对5株芽孢杆菌

作分子鉴定, 进一步明确种群类别。结果显示BEV2和GF3为贝莱斯芽孢杆菌, BAM7为解淀粉芽孢杆菌, BPU6为短小芽孢杆菌, BMO8为莫海威芽孢杆菌。

马铃薯疮痂病菌的种类多样, 群体结构复杂。为明确4株芽孢杆菌对致病链霉菌抑菌稳定性, 本研究测定4株芽孢杆菌对3种致病链霉菌组

合处理的抑菌活性,发现莫海威芽孢杆菌BMO8和短小芽孢杆菌BPU6对混合病原菌没有明显抑菌效果或抑菌效果较弱。这一结果可能是BPU6和BMO8对*S. scabiei*有一定抑制效果,对*S. turgidiscabies*没有明显抑制效果,所以当两者同时出现,BPU6和BMO8抑菌效果就会表现较弱。因此本研究推荐将BEV2、BAM7和BEV2+BAM7用于马铃薯疮痂病的防治。

本研究室内平板抑菌试验结果显示,当多种马铃薯疮痂病菌同时出现时,2株芽孢杆菌的联合菌株与2个单菌株处理相比无明显减弱,且明显高于BAM7对多种马铃薯疮痂病菌抑菌效果。这一现象可能因不同芽孢杆菌生防机制不同,当2种芽孢杆菌同时出现会加强对病原菌抑制作用和对植物的促生作用。Liu等^[18]报道,把枯草芽孢杆菌RSS-1和解淀粉芽孢杆菌JDF3用于大豆疫霉的防治,解淀粉芽孢杆菌可诱导活性氧爆发、NO产生、胼胝质沉积和木质化,枯草芽孢杆菌可通过木质化和植物抗毒素刺激系统增强大豆抗性。Wang等^[19]将解淀粉芽孢杆菌与哈茨木霉联合用于防治马铃薯疮痂病,发现处理组与对照组相比病情指数降低30.6%~46.1%,产量增加23.0%~32.2%,且有效增加根际有益微生物群丰度。Cui等^[20]报道,内生细菌解淀粉芽孢杆菌3-5具有产生吡啶乙酸和固氮生物学功能,对马铃薯疮痂病田间抑制率为40%,显著高于其他化学药剂。王鹏程等^[21]将枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌分别组合,发现对马铃薯疮痂病有较好拮抗效果,同时促进马铃薯植株生长,提高马铃薯产量。

综上所述,不同芽孢杆菌对病原菌的生防机制不同,其可能会从不同方向攻克病原菌的致病机理,从而减弱该病原菌的致病性,因此当多种生防芽孢杆菌联合使用时可能会扩大其抑菌谱,增强其生防能力。

[参 考 文 献]

- [1] 夏善勇,盛万民.我国马铃薯疮痂病及其防治研究进展[J].植物保护,2022,48(1):7-16.
- [2] 夏善勇,牛志敏,李庆全,等.马铃薯疮痂病菌及防控手段研究进展[J].中国瓜菜,2022,35(8):12-17.
- [3] 聂峰杰,陈虞超,巩楠,等.马铃薯疮痂病致病链霉菌分类及其致病机理研究进展[J].分子植物育种,2018,16(4):1313-1319.
- [4] Ismail S, Jiang B, Nasimi Z, et al. Investigation of *Streptomyces scabies* causing potato scab by various detection techniques, its pathogenicity and determination of host-disease resistance in potato germplasm [J]. Pathogens, 2020, 9(9): 760.
- [5] Hudec C, Novinscak A, Filion M. Diversity and virulence of *Streptomyces* spp. causing potato common scab in Prince Edward Island, Canada [J]. Phytopathology, 2021, 111(4): 617-626.
- [6] Song J, Lee S C, Kang J W, et al. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16S rRNA gene and 16S-23S rDNA internally transcribed spacer sequences [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(1): 203-209.
- [7] 赵伟全. 中国马铃薯疮痂病菌的鉴定及其致病相关基因 *nec1* 的克隆和表达 [D]. 保定: 河北农业大学, 2005.
- [8] 张华勇,李振高.土壤芽孢杆菌及其资源的持续利用[J].土壤,2001(2):92-97.
- [9] 于淑池.植物真菌病害生防芽孢杆菌的研究进展[J].通化师范学院学报,2007,28(8):52-54.
- [10] Chen X H, Koumoutsis A, Scholz R, et al. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 [J]. Nature Biotechnology, 2007, 25(9): 1007-1014.
- [11] Fan H, Ru J, Zhang Y, et al. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* 9407 plays a major role in the biocontrol of apple ring rot disease [J]. Microbiological Research, 2017, 199: 89-97.
- [12] 叶晶晶,曹宁宁,吴建梅,等.生防芽孢杆菌的应用研究进展[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2014,42(8):185-190.
- [13] 陈志谊,刘永峰,刘卹洲,等.植物病害生防芽孢杆菌研究进展[J].江苏农业学报,2012,28(5):999-1006.
- [14] Wanner L A. A survey of genetic variation in *Streptomyces* isolates causing potato common scab in the United States [J]. Phytopathology, 2006, 96(12): 1363-1371.
- [15] La Duc M T, Satomi M, Agata N, et al. *GyrB* as a phylogenetic discriminator for members of the *Bacillus anthracis-cereus-thuringiensis* group [J]. Journal of Microbiological Methods, 2004,

- 56(3): 383–394.
- [16] Li W, Lee S Y, Cho Y J, *et al.* Mediation of induced systemic resistance by the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* S2–3–2 [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(11): 8429–8438.
- [17] 朱杰, 程亮, 张纲, 等. 樱桃叶斑病生防菌株萎缩芽孢杆菌菌株 QH-588 的筛选鉴定 [J]. *南方农业学报*, 2021, 52(11): 3022–3033.
- [18] Liu D, Li K, Hu J, *et al.* Biocontrol and action mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* in soybean phytophthora blight [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(12): 2908.
- [19] Wang Z, Li Y, Zhuang L, *et al.* A rhizosphere-derived consortium of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* suppresses common scab of potato and increases yield [J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2019, 17: 645–653.
- [20] Cui L, Yang C, Wang Y, *et al.* Potential of an endophytic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* 3–5 as biocontrol agent against potato scab [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2022, 163: 105382.
- [21] 王鹏程, 金光辉, 张春雨, 等. 不同生防菌剂组合及施用方式对马铃薯疮痂病的防治效果及促生作用 [J]. *西南农业学报*, 2022, 35(4): 797–803.
-
- (上接第 513 页)
- [40] García-Martínez H, Flores-Magdaleno H, Ascencio-Hernández R, *et al.* Corn grain yield estimation from vegetation indices, canopy cover, plant density, and a neural network using multispectral and RGB images acquired with unmanned aerial vehicles [J]. *Agriculture*, 2020, 10(7): 277.
- [41] Ji Z, Pan Y, Zhu X, *et al.* Prediction of crop yield using phenological information extracted from remote sensing vegetation index [J]. *Sensors*, 2021, 21(4): 1406.
- [42] 吴智超. 基于无人机数码和高光谱影像的马铃薯生物量及产量估算 [D]. 焦作: 河南理工大学, 2020.
- [43] Yang B, Zhu W, Rezaei E E, *et al.* The optimal phenological phase of maize for yield prediction with high-frequency UAV remote sensing [J]. *Remote Sensing*, 2022, 14(7): 1559.
- [44] Zhou X, Zheng H B, Xu X Q, *et al.* Predicting grain yield in rice using multi-temporal vegetation indices from UAV-based multispectral and digital imagery [J]. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 2017, 130: 246–255.