黄暗色链霉菌A15的广谱抑菌活性、发酵条件优化及对植物的促生作用

李光哲[1,2] 杨晶婷[1,3] 黄 但[1,3] 朱 峰[4] 王平平[5] 颜 霞[1,2]
杨明明[1,3*] 黄丽丽[1,3*]

（1. 西北农林科技大学，作物抗逆与高效生产全国重点实验室，陕西 杨凌 712100；2. 西北农林科技大学生命科学学院，陕西 杨凌 712100；3. 西北农林科技大学植物保护学院，陕西 杨凌 712100；4. 陕西省烟草公司安康市公司，安康 725000；5. 中国烟草总公司陕西省公司，西安 710061）

摘要：为明确本实验室前期获得的菌株A15的生防潜力，采用皿内抑菌法测定其对丁香假单胞菌烟草致病变种*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*的抑制效果，通过形态学观察和*16S rRNA-atpD-gyrB-recA-rpoB*多基因系统发育分析对其进行鉴定，采用单因素试验和正交试验对其发酵条件进行优化，并对其发酵液无菌滤液的抑菌谱、离体防效及促生能力进行测定。结果表明：菌株A15对丁香假单胞菌烟草致病变种具有显著拮抗效果，其抑菌圈直径为1.86 cm，经鉴定该菌株为黄暗色链霉菌*Streptomyces xanthophaeus*。该菌株最佳发酵培养基配方为可溶性淀粉10 g/L、酵母提取物10 g/L、NaCl 15 g/L。菌株A15的发酵液无菌滤液对多种病原细菌和真菌均表现出较好的拮抗效果，且对烟草野火病、苹果树腐烂病和猕猴桃细菌性溃疡病具有较好的防治效果。此外，菌株A15能产生吲哚乙酸和嗜铁素，其发酵液具有促进烟草幼苗根长和地上部分干物质积累的效果。综上所述，菌株A15具有良好的生防潜力，可作为多种植物病害生物防治的备选菌种资源。

关键词：黄暗色链霉菌；发酵条件优化；生物防治；促生能力；鉴定；抑菌谱

Broad-spectrum antimicrobial activity, fermentation optimization and plant growth-promoting effects of *Streptomyces xanthophaeus* strain A15

Li Guangzhe[1,2] Yang Jingting[1,3] Huang Dan[1,3] Zhu Feng[4] Wang Pingping[5] Yan Xia[1,2]
Yang Mingming[1,3*] Huang Lili[1,3*]

（1. State Key Laboratory for Crop Stress Resistance and High-Efficiency Production, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 3. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 4. Ankang Branch of Shaanxi Tobacco Company, Ankang 725000, Shaanxi Province, China; 5. Shaanxi Provincial Tobacco Corporation of China National Tobacco Corporation, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China）

Abstract: To evaluate the biocontrol potential of bacterium strain A15 previously isolated in our laboratory, its antagonistic activity against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* was assessed using an *in vitro* antagonism assay. The strain was identified based on morphological characteristics and multilocus phylogenetic analysis of the *16S rRNA*, *atpD*, *gyrB*, *recA* and *rpoB* genes. Fermentation conditions were optimized using single-factor experiments and an orthogonal experimental design. The antimicrobial

基金项目：中国烟草总公司重大科技项目(110202101056(LS-16))，中国烟草总公司陕西省公司科技项目(KJ-2021-02)
* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：yangming862@126.com，huanglili@nwsuaf.edu.cn
收稿日期：2025-10-22

spectrum, *ex vivo* biocontrol efficacy, and plant growth-promoting ability of the sterile filtrate from the fermentation broth were subsequently evaluated. The results showed that strain A15 exhibited significant antagonistic activity against *P. syringae* pv. *tabaci*, with an inhibition zone diameter of 1.86 cm. The strain was identified as *Streptomyces xanthophaeus*. The optimal fermentation medium consisted of 10 g/L soluble starch, 10 g/L yeast extract, and 15 g/L NaCl. The sterile filtrate of the fermentation broth exhibited broad-spectrum antagonistic activity against multiple bacterial and fungal pathogens and showed good control efficacy against tobacco wildfire disease, apple *Valsa* canker, and kiwifruit bacterial canker. Additionally, strain A15 produced indole-3-acetic acid (IAA) and siderophores, and its fermentation broth promoted tobacco seedling root elongation and shoot dry matter accumulation. In conclusion, strain A15 possesses considerable biocontrol potential and may serve as a promising microbial resource for the biological control of multiple plant diseases.

Key words: *Streptomyces xanthophaeus*; fermentation optimization; biological control; plant growth-promoting activity; identification; antimicrobial spectrum

植物病害严重威胁着农业的高质高量生产，是制约农业可持续发展的关键因素之一。近年来，随着农业集约化程度的不断提高，各种植物病原菌的传播速度加快，加之气候变化加剧了病害发生的频率与强度，使得植物病害防控面临严峻的挑战。例如，由丁香假单胞菌烟草致病变种 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 引起的烟草野火病在陕西省烟区扩散蔓延，导致烤烟品质下降和经济价值丧失，给该地区烟草生产带来重大经济损失，并成为当地烟草的主要病害之一（张广民等，2002）；由丁香假单胞菌猕猴桃致病变种 *P. syringae* pv. *actinidiae* 引起的猕猴桃细菌性溃疡病严重制约猕猴桃产业的健康发展，该病在田间全年均可发生，典型症状包括叶斑、花腐、枝干流脓，严重时导致整株死亡甚至毁园（秦虎强等，2013）；由苹果黑腐皮壳菌 *Valsa mali* 引起的苹果树腐烂病严重损伤苹果枝干，导致树皮腐烂、枝条枯死甚至树体枯亡，目前该病害的防控仍高度依赖戊唑醇、石硫合剂等化学药剂，给苹果产业的绿色可持续发展带来巨大压力（李富东，2023）。

我国自2015年开展农药化肥减量增效工作以来，市场对环境友好型生物制剂的需求持续攀升。在此背景下，构建高效安全的生态防控体系已成为植物保护领域的关键研究方向。生物防治技术利用有益微生物及其代谢产物实现病虫害控制，被公认为替代传统化学防治的核心策略。植物根际促生菌是一类定居于植物根部区域的有益微生物，通过增强作物对养分的吸收效率、抑制病原菌活性、缓解非生物胁迫压力以及合成植物生长调节物质等途径，在植物健康发育和土壤生态系统稳定方面发挥着关键作用（马雪晴等，2025）。基于植物根际促生菌开发的微生物制剂在农业生产中展现出多重生态效益，不仅可促进植物生长，还能增强植物抗病能力、提升非生物胁迫耐受性及优化土壤环境等。在众多植物根际促生菌资源中，链霉菌属 *Streptomyces* 细菌因其独特的生防潜力备受关注。该类微生物在国际生物农药市场已形成规模化应用，但我国在链霉菌生防制剂的产业化进程方面仍存在明显差距，商业化产品种类相对匮乏（吕昂等，2025）。因此，构建以生物防治为核心的绿色防控技术体系，加强链霉菌生防制剂的研发与推广应用，对进一步减少化学农药依赖、保障农作物生产的绿色可持续发展具有重要战略意义。

链霉菌可产生丰富的次级代谢产物，其中约50%的种类具有抗生素合成能力。目前，全球已知抗生素中超过70%的种类源自链霉菌的次级代谢产物，这使其在生物防治和新型抗菌药物研发领域占据重要地位（Hoertz et al.，2012）。链霉菌及其次级代谢产物在植物中表现出多种功能，如抗菌、抗虫和促生等。黄军等（2024）从耐旱稗 *Echinochloa crus-galli* 根际分离鉴定到1株对真菌及革兰氏阳性菌具有抑制效果的李维斯链霉菌 *S. levis* L2，该菌株具有产嗜铁素和吲哚乙酸（indole-3-acetic acid，IAA）的功能，且其基因组含鲁霉素合成基因簇。姚经武等（2024）鉴定出1株娄彻氏链霉菌 *S. rochei* YC117，该菌株具有广谱抑菌活性，其菌剂在稀释100倍和200倍后对烟草黑胫病的盆栽防效分别为61.54%和50.77%。然而，当前应用于植物病害防治的链霉菌制剂仍然较少，亟待深入挖掘和开发。本研究团队前期获得1株拮抗菌株A15，以丁香假单胞菌烟草致病变种为指示菌测定其拮抗效果，在对其进行形态学和分子

生物学鉴定的基础上，采用单因素试验和正交试验优化其发酵条件，并通过皿内抑菌试验明确其发酵液无菌滤液的广谱抑菌活性、防病效果和促生能力，以期为烟草野火病、猕猴桃细菌性溃疡病和苹果树腐烂病等植物细菌和真菌病害的生物防治及生长调节提供菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试分离菌株及病原菌：菌株A15由西北农林科技大学果树病害病原生物学与综合防控实验室分离并提供。病原菌包括由本实验室分离保存的丁香假单胞菌烟草致病变种YW52（Yang et al.，2026）、丁香假单胞菌猕猴桃致病变种M228（Zhao et al.，2019）、丁香假单胞菌角斑专化型*P. syringae* pv. *angulata* PA2、解淀粉欧文氏菌*Erwinia amylovora* 4-1-8、苹果黑腐皮壳菌（Wang et al.，2021）、梨黑腐皮壳菌*Valsa pyri*（Yuan et al.，2023）、腐皮镰刀菌*Fusarium solani*（Li et al.，2025），由西北农林科技大学植物保护学院实验平台提供的丁香假单胞菌菜豆致病变种*P. syringae* pv. *phaseolicola* 1448A（Thwaites et al.，2004）、果生刺盘孢菌*Colletotrichum fructicola*（Han et al.，2024）、茶蔗子葡萄座腔菌*Botryosphaeria ribis*（Pooler et al.，2002）、茄链格孢菌*Alternaria alternata*（Yang et al.，2022）、哈锐炭疽菌*Colletotrichum horii*（Fan et al.，2022）、灰葡萄孢菌*Botrytis cinerea*（Silva et al.，2023），由安徽农业大学提供的丁香假单胞菌猕猴桃致病变种K3和KW30（Ciarroni et al.，2015），由贵州大学提供的丁香假单胞菌番茄致病变种*P. syringae* pv. *tomato* DC3000（Zhao et al.，2022），由西南大学提供的青枯雷尔氏菌*Ralstonia solanacearum* CQPS-1（Liu et al.，2017）。

供试培养基：LB（Luria-Bertani）液体培养基成分为酵母提取物5 g/L、胰蛋白胨10 g/L、NaCl 10 g/L；LB固体培养基则是在此基础上添加15 g/L琼脂粉；马铃薯葡萄糖琼脂（potato dextrose agar，PDA）培养基成分为马铃薯200 g/L、葡萄糖20 g/L、琼脂粉15 g/L；铬天青S（chrome azurol S agar，CAS）培养基成分为铬天青S 60.5 mg/L、十六烷基三甲基溴化铵72.9 mg/L、$FeCl_3·6H_2O$ 2.645 mg/L、$NaH_2PO_4·2H_2O$ 295.25 mg/L、$Na_2HPO_4·12H_2O$ 1 213.5 mg/L、NH_4Cl 125 mg/L、KH_2PO_4 37.5 mg/L、NaCl 62.5 mg/L、$MgSO_4·7H_2O$ 100 mg/L、葡萄糖10 g/L、胰蛋白胨10 g/L、酸水解酪蛋白10 g/L、琼脂粉15 g/L；改良阿须贝氏培养基成分为葡萄糖10 g/L、$CaCO_3$ 5 g/L、KH_2PO_4 0.2 g/L、$MgSO_4·7H_2O$ 0.2 g/L、K_2SO_4 0.2 g/L；无机磷培养基成分为葡萄糖10.0 g/L、$(NH_4)_2SO_4$ 0.5 g/L、NaCl 0.3 g/L、$MgSO_4·7H_2O$ 0.3 g/L、$MnSO_4·H_2O$ 0.03 g/L、K_2SO_4 0.3 g/L、$FeSO_4·7H_2O$ 0.03 g/L、$Ca_3(PO_4)_2$ 5 g/L、琼脂粉15 g/L；有机磷培养基成分为葡萄糖10.0 g/L、$(NH_4)_2SO_4$ 0.5 g/L、酵母浸粉0.5 g/L、NaCl 0.3 g/L、KCl 0.3 g/L、$MgSO_4·7H_2O$ 0.3 g/L、$MnSO_4·H_2O$ 0.03 g/L、$FeSO_4·7H_2O$ 0.03 g/L、卵磷脂0.2 g/L、$CaCO_3$ 1.0 g/L、琼脂粉15 g/L；解钾培养基成分为葡萄糖5 g/L、$(NH_4)_2SO_4$ 0.5 g/L、酵母浸粉0.5 g/L、$MgSO_4·7H_2O$ 0.3 g/L、$Na_2HPO_4·12H_2O$ 2 g/L、$FeSO_4·7H_2O$ 0.03 g/L、$MnSO_4·H_2O$ 0.03 g/L、钾长石2 g/L、琼脂粉15 g/L。以上培养基均用蒸馏水定容至1 L，121 ℃灭菌20 min。

供试植物、基质和肥料：本氏烟*Nicotiana benthamiana*种子由本实验室保存并提供，在直径10 cm、高8 cm的花盆中种植，每盆留苗1株，于室内自然生长至4~6叶期供试。猕猴桃品种为红阳，取嫩叶供试；苹果品种为富士，取一年生枝条供试；均由杨凌新天地猕猴桃基地提供。育苗基质与Pindstrup 0-6有机肥均购自承德裕丰种业有限公司。

试剂和仪器：Chelex-100螯合树脂，上海麦克林生化科技股份有限公司；2×Rapid *Taq* Master Mix，南京诺唯赞生物科技股份有限公司；DNA Marker，北京擎科生物科技股份有限公司；IAA标准品，上海源叶生物科技有限公司；其余试剂均为国产分析纯。S-4800场发射扫描电子显微镜，日本日立公司；Applied Biosystems™ Veriti 96-Well Thermal Cycler PCR仪，美国Thermo Fisher Scientific公司；JY600C电泳仪，北京君意东方电泳设备有限公司；ChampChemi™ Professional Plus凝胶成像系统，北京赛智创业科技有限公司；UV-1100紫外可见分光光度计，上海美普达仪器有限公司；DHP-9082电热恒温培养箱，上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株A15对烟草致病变种的拮抗效果测定

采用皿内抑菌法（申哲等，2008）检测菌株A15对丁香假单胞菌烟草致病变种YW52的拮抗能力。取保存的菌株A15接种至LB固体平板上，于28 ℃培养5 d，在菌落边缘打取直径约5 mm的菌饼，备用。将菌株YW52接种至LB液体培养基中，于28 ℃、220 r/min条件下培养至对数生长期，按体积比1∶100加入已融化并冷却至40 ℃以下的LB固

体培养基中，混匀后倒平板，静置使其自然凝固并晾干表面水分后备用。取菌株A15菌饼倒置贴于上述含病原菌的LB固体平板上，28 ℃培养48 h，观察琼脂块周围是否形成透明抑菌圈，评估其抑菌效果。

1.2.2 拮抗菌株A15的鉴定

挑取拮抗菌株A15的单菌落划线接种于LB固体平板上，28 ℃培养5 d，随机观察5个菌落，记录菌落的颜色、质地、大小及边缘形态等宏观特征。随后，取菌落样本经固定、梯度乙醇脱水、置换、干燥及喷金处理后，利用场发射扫描电子显微镜对其表面超微结构进行观察，随机选取5个视野观察并拍照。同时，刮取LB固体平板表面的菌体，采用Chelex-100螯合树脂提取菌株A15的全基因组DNA，以提取的DNA为模板，以*16S rRNA*通用引物对27-F/1492-R以及*atpD*、*gyrB*、*recA*和*rpoB*基因特异性引物对（表1）进行PCR扩增（Rong & Huang，2010）。本研究所有引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。30 μL PCR扩增体系：2×Rapid *Taq* Master Mix 15 μL、DNA模板2 μL、正反向引物各1 μL、ddH_2O补足至30 μL；PCR反应程序：95 ℃预变性3 min；95 ℃变性15 s，57 ℃退火15 s，72 ℃延伸45 s，30个循环；72 ℃终延伸5 min。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后，送至北京擎科生物科技股份有限公司测序。将测序所得序列通过NCBI数据库进行BLAST比对，筛选并下载高同源性菌株序列，选择贝莱斯芽胞杆菌*Bacillus velezensis* FZB42作为外群，利用MEGA 12.0.11软件对扩增的每个基因进行多序列比对，用SequenceMatrix 1.7.8软件串联拼接各基因比对文件后，利用MEGA 12.0.11软件以邻接法构建*16S rRNA-atpD-gyrB-recA-rpoB*基因联合系统发育树，以明确菌株的分类地位。

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

引物 Primer	序列（5′−3′） Sequence (5′−3′)	扩增片段大小 Amplicon size/bp	退火温度 Annealing temperature/℃
27-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	982	52
1492-R	GGTTACCTTGTTACGACTT		47
atpD-F	ATGACCACCACTGTTGAGACCGCGA	430	64
atpD-R	TCAGGAGACGCCCAGCTCCTTGGCG		69
gyrB-F	GTGGCCGATTCCGGCAACCCCAACG	480	66
gyrB-R	TCAGATGTCGAGGAAGCGGACGTCC		65
recA-F	ATGGCAGGAACCGACCGCGAGAAGG	1 000	67
recA-R	TCAGCTCTTGGCCGCCGCGGCCTTG		72
rpoB-F	TTGGCCGCCTCGCGCAATGCCTCGA	530	72
rpoB-R	TCAGACCTCTTCGACGCTGCTCGGC		68

1.2.3 拮抗菌株A15发酵培养基的优化

将菌株A15分别接种至LB固体培养基上，于28 ℃培养5 d，挑取单菌落接种至5 mL的LB液体培养基中，于28 ℃、220 r/min条件下振荡培养2 d，制备得到种子液，备用。参考张子奇等（2024）方法，采用单因素试验筛选拮抗菌株发酵培养基的关键组分。以LB液体培养基为基础，依次优化其碳源、氮源和无机盐。分别以10 g/L的葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖和果糖替代LB培养基中原有的碳源5 g/L酵母提取物，配制系列LB液体培养基。按质量体积比1∶100的接种量将菌株A15种子液分别转接至上述不同碳源发酵培养基中，于相同条件下培养5 d获得发酵液，经过滤除菌后制成发酵液无菌滤液。取30 μL发酵液无菌滤液滴加至灭菌滤纸片上并吹干，将其贴附于含丁香假单胞菌烟草致病变种YW52的LB固体平板（参照1.2.1方法制备）表面，28 ℃培养48 h测量抑菌圈直径，每个处理3次重复。在确定最优碳源的基础上进一步筛选最优氮源，用等量$NaNO_3$、$(NH_4)_2SO_4$、酵母提取物和大豆蛋白胨替换原有氮源10 g/L胰蛋白胨。最后，在最优碳源和氮源的基础上对无机盐组分进行优化，候选无机盐为NaCl、K_2HSO_4、$MgSO_4$和$CaCl_2$，浓度均为10 g/L。测定方法同碳源筛选。

基于上述单因素试验结果，进一步设计正交试验优化碳源、氮源及无机盐的组合配比。正交试验采用$L_9(3^4)$正交表，选取最优碳源、最优氮源和最优无机盐作为3个考察因素，每个因素设置3个水平，各水平浓度分别设定为5、10和15 g/L，共设计9组

不同的发酵培养基配方组合。参照单因素试验测定菌株A15经各组发酵培养基培养后，其发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种YW52的拮抗效果。最后，根据抑菌圈直径计算各因素各水平的K值（对每个因素的同一水平求和）和极差R（用该因素K值的最大值减去最小值），以极差大小判断各因素对拮抗能力影响的主次顺序，选取各因素中K值最大的水平组合作为理论最优配方，并开展验证试验以确认优化效果，方法同单因素试验。

1.2.4 *拮抗菌株A15发酵液无菌滤液的抑菌谱测定*

采用滤纸片法检测拮抗菌株A15对多种病原细菌的抑制作用。参照1.2.1方法分别制备含丁香假单胞菌番茄致病变种DC3000、猕猴桃致病变种M228、K3、KW30、角斑专化型PA2、菜豆致病变种1448A、解淀粉欧文氏菌4-1-8及青枯雷尔氏菌CQPS-1的LB固体平板。按照1.2.3优化后的发酵条件制备拮抗菌株A15的发酵液无菌滤液，取30 μL滴加至灭菌滤纸片上，吹干后贴附于上述制备的各含菌LB固体平板上，28 ℃培养48 h测量抑菌圈直径，每个处理3次重复。

采用菌丝生长速率法（Li et al.，2023）评估拮抗菌株A15对病原真菌的抑制作用。将上述获得的发酵液无菌滤液与融化的PDA培养基按10%体积比混合倒板，冷却后备用。取苹果黑腐皮壳菌、梨黑腐皮壳菌、果生刺盘孢菌、茶蔗子葡萄座腔菌、腐皮镰刀菌、茄链格孢菌、哈锐炭疽菌及灰葡萄孢菌分别接种至PDA平板上，于25 ℃培养5~7 d，待菌落长满培养皿后，用打孔器在菌落边缘打取直径5 mm的菌饼。将这8种病原菌的菌饼分别接种至上述含A15发酵液无菌滤液的PDA平板中央，以接种至未加发酵液无菌滤液的PDA平板为对照，每个处理3次重复。28 ℃培养3~5 d，采用十字交叉法测量菌落直径，计算抑制率。抑制率=（对照菌落直径−处理菌落直径）/对照菌落直径×100%。

1.2.5 *拮抗菌株A15的离体防效测定*

按照1.2.3中优化后的发酵条件制备拮抗菌株A15的发酵液，用无菌水稀释10倍后测定其对烟草野火病、苹果树腐烂病和猕猴桃细菌性溃疡病的离体防效。选择生长至4~6叶期的本氏烟幼苗，每株喷施拮抗菌株A15发酵液10倍稀释液10 mL，对照组喷施等量无菌水，2 d后于叶片背面用无菌注射器（无针头）穿刺注射接种终浓度为1×10^8 CFU/mL的丁香假单胞菌烟草致病变种YW52的菌悬液（制备方法同1.2.1），以菌液浸润整个叶片为准，25 ℃光照培养3 d采用十字交叉法测量病斑直径。每个处理重复3盆。参考Xu et al.（2023）方法，选取一年生富士苹果枝条，用灭菌解剖刀在枝条中部制造伤口，伤口直径约5 mm，深度达韧皮部。每个伤口接种菌株A15发酵液10倍稀释液20 μL，对照组接种等量无菌水，待晾干后在伤口处覆盖直径5 mm的苹果黑腐皮壳菌菌饼，于25 ℃保湿培养3 d后刮去表皮测量病斑长度。每个处理重复3根枝条。参考Zhao et al.（2019）方法，选择健康、新生的完全展开的红阳猕猴桃嫩叶，用0.6% NaClO进行表面消毒，使用打孔器将叶片制成直径为11 mm的叶盘，用压力为0.1 MPa的真空泵渗透拮抗菌株A15发酵液10倍稀释液，直至叶盘浸湿面积达90%以上，对照组渗透等量无菌水。渗透完成后用无菌水将叶盘浸洗3次，再用无菌滤纸吸干表面水分。将叶盘正面朝下紧贴于0.8%水琼脂平板上，每个平板15个叶盘为1个重复，每个处理重复3次。于光周期18 L/6 D、昼夜温度16 ℃/10 ℃、相对湿度90%条件下培养2 d，按照相同的真空渗透方法接种丁香假单胞菌猕猴桃致病变种M228菌株的1×10^4 CFU/mL菌悬液（制备方法同1.2.1）。相同条件下继续培养5 d，用吸水纸吸干叶盘表面水分，拍照并通过Image J软件计算病斑面积。去除样品中误差较大的叶盘数据后，计算平均发病面积和病斑面积占比。

1.2.6 *拮抗菌株A15次生代谢产物的测定*

产IAA能力测定：将拮抗菌株A15的单菌落接种至LB液体培养基中，28 ℃、220 r/min条件下振荡培养2 d获得种子液，按1%接种量转接至含100 mg/L L-色氨酸的LB液体培养基中，相同条件下继续培养5 d获得发酵液。经过滤除菌后制成发酵液无菌滤液，并按1∶1体积比加入Salkowskis比色液，避光室温显色30 min测定在波长530 nm处的吸光度。试验设3个生物学重复，3个技术重复。设置IAA标准溶液对照与蒸馏水空白对照。同时配制0、5、10、15、20、25 mg/L的IAA标准系列溶液，按相同方法显色并测定吸光度，制作标准曲线，基于样品的$A_{530\ nm}$通过标准曲线拟合计算样品中IAA浓度。

产铁载体能力测定：在CAS平板中央打孔，滴加20 μL拮抗菌株A15发酵液，28 ℃培养7 d观察是否产生透明圈。产生透明圈表明可产铁载体，反之则不产。试验设3个生物学重复，3个技术重复。

固氮能力测定：向5 mL改良阿须贝氏液体培养基中接种20 μL拮抗菌株A15发酵液，对照组加入20 μL无菌水，均在28 ℃培养7 d，观察培养基是否

发生浑浊。若发生浑浊表示具有固氮能力。试验设3个生物学重复,3个技术重复。

解无机磷、解有机磷及解钾能力测定:在无机磷培养基、有机磷培养基及解钾培养基表面分别接种20 μL拮抗菌株A15发酵液,28 ℃培养7 d观察是否产生透明圈。若产生透明圈表示拮抗菌株具备上述能力。试验设3个生物学重复,3个技术重复。

1.2.7 拮抗菌株A15发酵液的促生能力测定

参考曹洋(2022)方法对拮抗菌株A15发酵液的促生能力进行测定。

发酵液无菌滤液浸种试验:将本氏烟种子用75%酒精浸泡消毒30 s,再用无菌水清洗3次。将消毒后的种子置于用优化后的最优发酵培养基发酵获得的拮抗菌株A15发酵液无菌滤液(制备方法同1.2.3)中,浸泡6 h,以在无菌水中浸泡6 h的种子为对照。在培养皿内铺一层湿润的无菌滤纸,均匀平铺50粒浸泡过的种子(1个重复),每个处理3次重复。各处理种子于25 ℃培养10 d观察发芽及生根情况,每个培养皿随机选取30株幼苗测量根长,并计算平均值。

盆栽促生试验:将育苗基质与有机肥按体积比3∶1混合,加水搅拌至土壤聚拢成块、轻晃可散开的状态,然后分装到直径10 cm、高8 cm的花盆中,播入烟草种子,待幼苗长至4叶期时,移栽到相同规格的花盆中,每盆1株,并在移栽2 d后向烟株根际土壤灌入拮抗菌株A15发酵液10倍稀释液(制备方法同1.2.5),每株烟苗用量为10 mL,对照组用等量无菌水处理。每隔7 d浇灌1次,共浇灌4次。每个处理5个重复,每个重复1盆。烟草移栽30 d后观察植株长势,并测量对照组和处理组烟草苗的株高,称量地上部分鲜重和地上部分干重。

1.3 数据分析

采用GraphPad Prism 8.3.0软件对试验数据进行方差分析,使用Duncan氏新复极差法或*t*检验法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌株A15的拮抗能力及其分类地位

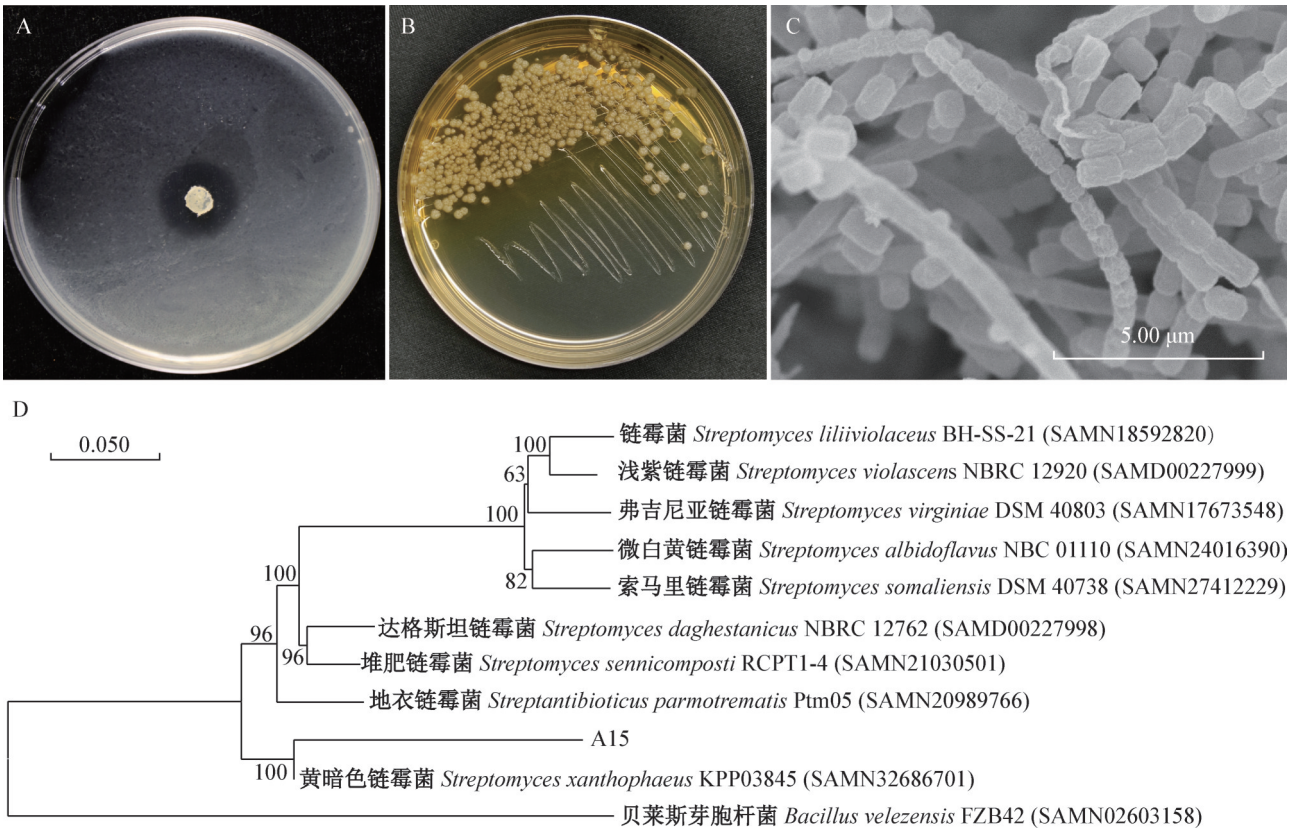
菌株A15在含丁香假单胞菌烟草致病变种YW52的LB平板上于28 ℃培养48 h,菌株A15的周围产生了明显的透明抑菌圈,抑菌圈直径为1.86 cm(图1-A),表明其对丁香假单胞菌烟草致病变种YW52具有良好的拮抗效果。

在LB固体培养基上,菌株A15形成圆形的黄色不透明菌落,表面光滑且具明显隆起,边缘呈不规则锯齿状,难以挑取,同时可使培养基呈现黄色(图1-B)。扫描电子显微镜观察显示,其菌丝无横隔结构,孢子丝通过横隔断裂形成分生孢子;分生孢子呈椭圆形,两端钝圆,表面具有轻微皱褶特征(图1-C)。通过PCR扩增得到菌株A15的*16S rRNA*、*atpD*、*gyrB*、*recA*和*rpoB*基因片段,经测序所得序列在NCBI数据库中进行BLAST比对,发现所有基因的覆盖度均大于94%,且所有基因均与黄暗色链霉菌*Streptomyces xanthophaeus*相应序列具有最高相似性,一致性介于98.15%~99.90%之间。下载相关参考菌株的对应序列,采用邻接法基于多基因串联序列构建系统发育树,显示菌株A15与黄暗色链霉菌聚类于同一进化分支,且自展支持率大于90%(图1-D)。结合该菌株的形态学特征和分子生物学分析结果,最终将其鉴定为黄暗色链霉菌*S. xanthophaeus*。

2.2 拮抗菌株A15发酵培养基的优化

以LB液体培养基为基础,通过单因素试验筛选关键营养组分,在添加10 g/L可溶性淀粉条件下,菌株A15的发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种的抑菌圈直径达1.05 cm,显著大于添加其他碳源处理(图2-A);在使用最优碳源的基础上,添加10 g/L酵母提取物后,菌株A15发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种的抑菌圈直径扩大至1.37 cm,显著大于添加其他氮源处理(图2-B);在使用最优碳源和氮源的基础上,添加10 g/L NaCl后,菌株A15发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种的抑菌圈直径为1.16 cm,显著大于添加其他无机盐处理(图2-C)。表明菌株A15发酵培养基的最优组分为可溶性淀粉、酵母提取物和NaCl。

基于$L_9(3^4)$正交试验及方差分析,各因素对菌株A15发酵液无菌滤液抑菌效果的影响主次为氮源(A)>碳源(B)>无机盐(C),其中氮源(B)的影响最大;根据极差分析确定最优组合为$A_{10}B_{10}C_{15}$,即培养基配比为可溶性淀粉10 g/L、酵母提取物10 g/L、NaCl 15 g/L(表2)。优化后的菌株A15发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种的抑制活性明显提升(图3-A~B),抑菌圈直径由LB液体培养基发酵液处理的0.90 cm增至1.35 cm,显著增加了0.45 cm(图3-C),抑菌活性显著提升了50.00%($P<0.05$),验证了优化培养基对菌株A15抑菌效能的增强作用。



A：对丁香假单胞菌烟草致病变种的拮抗效果；B：菌落形态；C：显微形态；D：基于*16S rRNA-atpD-gyrB-recA-rpoB*基因序列以邻接法构建的系统发育树。A: Antibacterial activity against *P. syringae* pv. *tabaci*; B: colony morphology; C: microscopic morphology; D: neighbor-joining phylogenetic tree constructed based on the concatenated *16S rRNA*, *atpD*, *gyrB*, r*ecA*, and *rpoB* genes sequences.

图1　菌株A15的拮抗能力检测及其鉴定结果

Fig. 1　Antagonistic activity and identification of strain A15

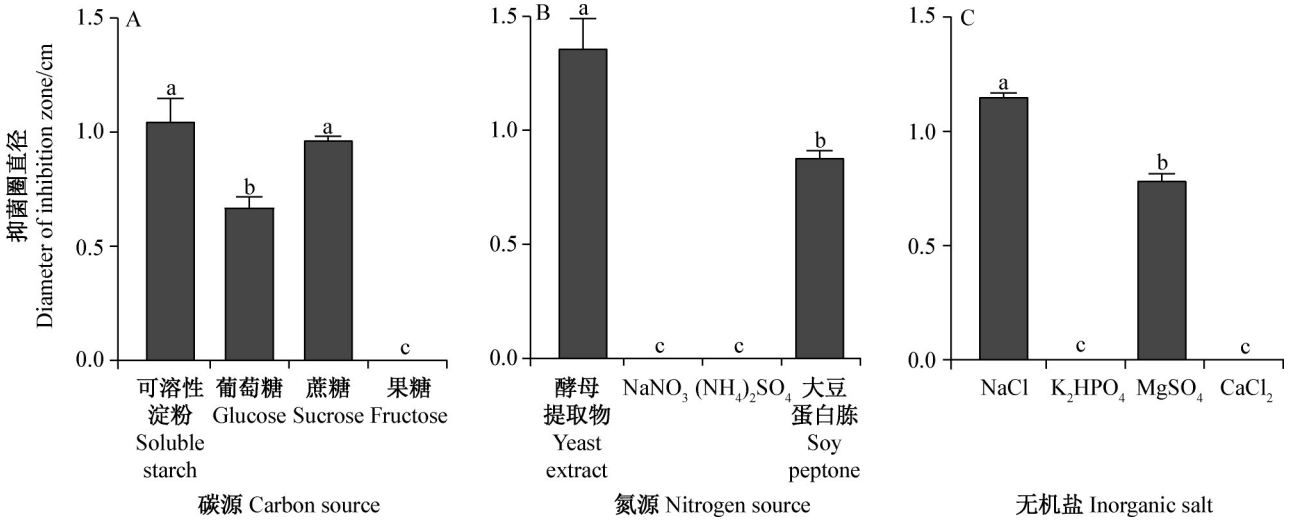


图2　LB液体培养基中添加不同碳源（A）、氮源（B）和无机盐（C）对菌株A15发酵液无菌滤液抑菌效果的影响

Fig. 2　Effects of different carbon sources (A), nitrogen sources (B) and inorganic salts (C) in LB broth on the antibacterial activity of the sterile filtrate of strain A15 fermentation broth

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示各处理间经Duncan氏新复极差法检验差异显著（P<0.05）。Data are presented as the mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments according to Duncan's new multiple range test .

2.3　菌株A15发酵液无菌滤液的抑菌谱

菌株A15发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌番茄致病变种DC3000、猕猴桃致病变种M228、K3、KW30、角斑专化型PA2、菜豆致病变种1448A、解淀

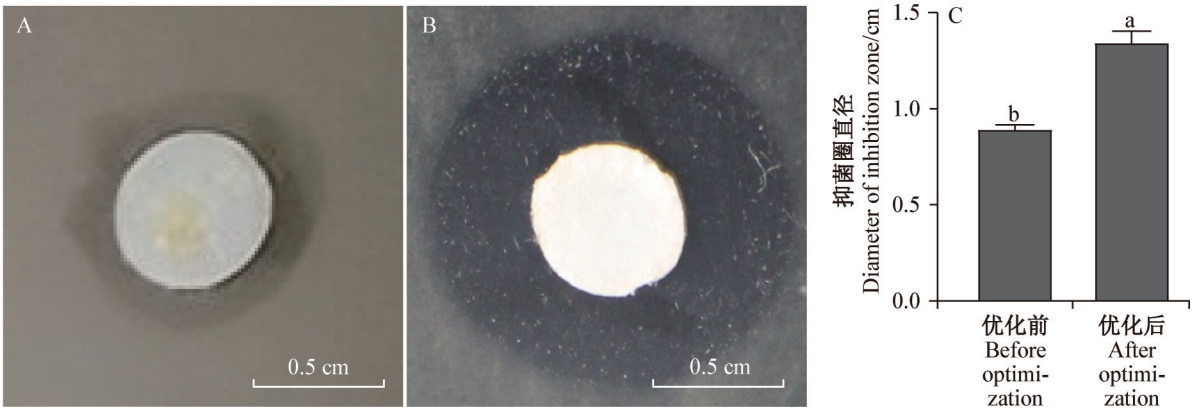
粉欧文氏菌4-1-8和青枯雷尔氏菌CQPS-1的抑菌圈直径平均分别为1.34、1.38、1.51、1.42、1.26、1.40、1.13和1.28 cm(图4),表明菌株A15对多种植物病原细菌具有明显的抑制活性。

表2 菌株A15发酵培养基组分正交试验结果与极差分析

Table 2 Orthogonal experimental design and range analysis of fermentation medium components for strain A15

试验号 Test no.	A 可溶性淀粉 Soluble starch/(g/L)	B 酵母提取物 Yeast extract/(g/L)	C NaCl/(g/L)	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone/cm
1	5	5	5	0.81±0.00 b
2	5	10	10	0.88±0.03 b
3	5	15	15	0.00±0.00 c
4	10	5	10	0.99±0.03 b
5	10	10	15	1.35±0.03 a
6	10	15	5	0.00±0.00 c
7	15	5	15	0.89±0.00 b
8	15	10	5	0.91±0.01 b
9	15	15	10	0.00±0.00 c
K_1	1.69	2.69	1.72	
K_2	2.34	3.14	1.87	
K_3	1.80	0.00	2.24	
k_1	0.56	0.90	0.57	
k_2	0.78	1.05	0.62	
k_3	0.60	0.00	0.75	
极差 Range	0.22	1.05	0.17	

K_1、K_2、K_3分别表示各因素在每个水平下对应的抑菌圈直径之和;k_1、k_2、k_3分别为各水平下抑菌圈直径的平均值(k=K/3)。抑菌圈直径数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著(P<0.05)。K_1, K_2, K_3 represent the sum of inhibition zone diameters for each factor at the three levels, respectively; k_1, k_2, k_3 are the mean inhibition zone diameters at each level (k=K/3). Data of diameter of antibacterial zone are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences by Duncan's new multiple range test (P<0.05).

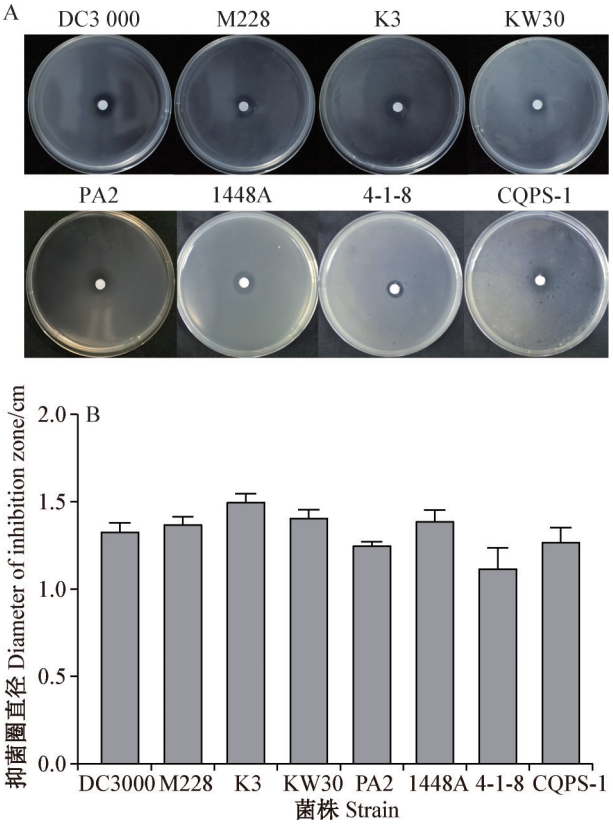


A、B:优化前后抑菌圈表型对比;C:抑菌圈直径统计结果。A, B: Phenotypic comparison of inhibition zones before and after medium optimization; C: statistical comparison of inhibition zone diameters.

图3 发酵培养基优化前后菌株A15发酵液无菌滤液对丁香假单胞菌烟草致病变种的抑制活性

Fig. 3 Antibacterial activity of cell-free fermentation filtrates of strain A15 against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* before and after fermentation medium optimization

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示对照和处理之间经t检验法检验差异显著(P<0.05)。Data are presented as the mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences between the control and treatment groups as determined by t test (P<0.05).



DC3000：丁香假单胞菌番茄致病变种；M228、K3、KW30：丁香假单胞菌猕猴桃致病变种；PA2：丁香假单胞菌角斑专化型；1448A：丁香假单胞菌菜豆致病变种；4-1-8：解淀粉欧文氏菌；CQPS-1：青枯雷尔氏菌。DC3000: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*; M228, K3, KW30: *P. syringae* pv. *actinidiae*; PA2: *P. syringae* pv. *angulata*; 1448A: *P. syringae* pv. *phaseolicola*; 4-1-8: *Erwinia amylovora*; CQPS-1: *Ralstonia solanacearum*.

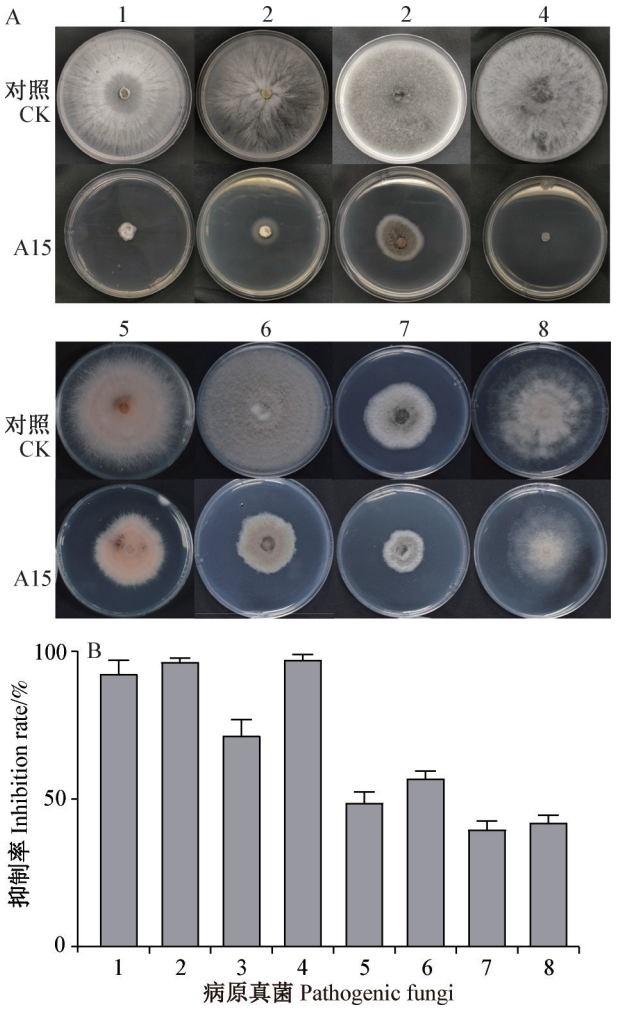
图4　菌株A15发酵液无菌滤液对病原细菌的抑制效果

Fig. 4　Inhibitory effects of the cell-free fermentation filtrate of strain A15 against pathogenic bacteria

菌株A15发酵液无菌滤液对苹果黑腐皮壳菌、梨黑腐皮壳菌、果生刺盘孢菌和茶薇子葡萄座腔菌的抑制率平均分别为93.25%、97.25%、72.25%和98.00%，表明其对这4种病原真菌有明显的拮抗作用（图5）。此外，10%菌株A15发酵液无菌滤液对腐皮镰刀菌、茄链格孢菌、哈锐炭疽菌和灰葡萄孢菌也表现出一定的拮抗效果，抑制率平均分别为49.50%、57.75%、40.50%和42.75%（图5）。这些结果表明菌株A15对多种植物病原真菌有较好的抑制能力。

2.4　菌株A15发酵液的离体防效

用菌株A15发酵液10倍稀释液处理烟草叶片后再接种丁香假单胞菌烟草致病变种，形成的病斑直径平均为0.92 cm，对照的病斑平均直径为1.72 cm，表明对烟草野火病的离体防效为46.51%（图6-A、B）。用菌株A15发酵液10倍稀释液处理苹果枝条后再接种苹果黑腐皮壳菌，其形成的病斑长度平均为3.09 cm，对照的病斑长度平均为4.77 cm，表明其对苹果树腐烂病的离体防效为35.22%（图6-C、D）。用菌株A15发酵液10倍稀释液处理猕猴桃叶片后再接种丁香假单胞菌猕猴桃致病变种，其形成的病斑面积占比平均为13.01%，对照的病斑面积占比平均为85.95%，表明其对猕猴桃细菌性溃疡病的离体防效达84.86%（图6-E、F）。这表明菌株A15发酵液对烟草野火病、苹果树腐烂病和猕猴桃细菌性溃疡病具有较好的离体防效。



1：苹果黑腐皮壳菌；2：梨黑腐皮壳菌；3：果生刺盘孢；4：茶薇子葡萄座腔菌；5：腐皮镰刀菌；6：茄链格孢菌；7：哈锐炭疽菌；8：灰葡萄孢菌。1: *Valsa mali*; 2: *V. pyri*; 3: *Colletotrichum fructicola*; 4: *Botryosphaeria ribis*; 5: *Fusarium solani*; 6: *Alternaria alternata*; 7: *C. horii*; 8: *Botrytis cinerea*.

图5　菌株A15发酵液无菌滤液对病原真菌的抑制效果

Fig. 5　Inhibitory effects of the cell-free fermentation filtrate of strain A15 against pathogenic fungi

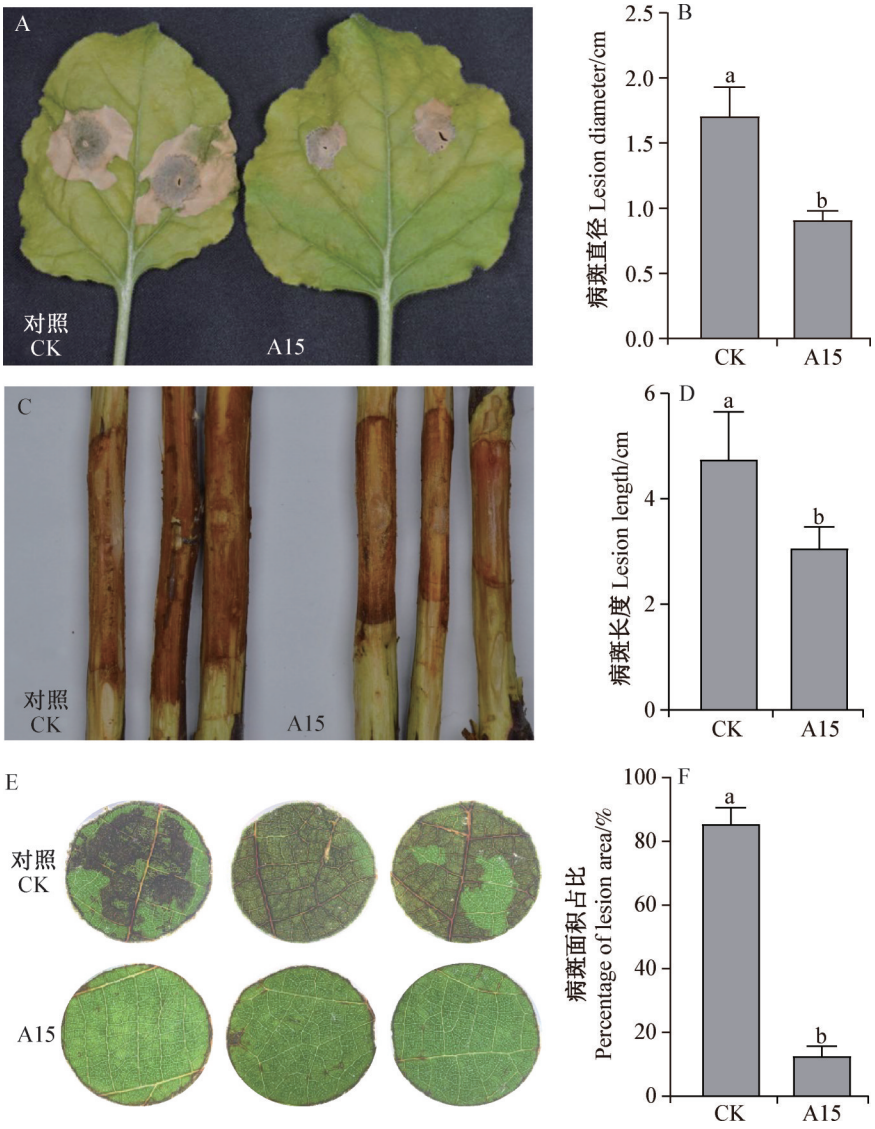


图6 菌株A15发酵液对烟草野火病(A~B)、苹果树腐烂病(C~D)和猕猴桃细菌性溃疡病(E~F)的离体防效

Fig. 6 *Ex vivo* control efficacy of the fermentation broth of strain A15 against tobacco wildfire disease (A−B), apple *Valsa* canker (C−D), and kiwifruit bacterial canker (E−F)

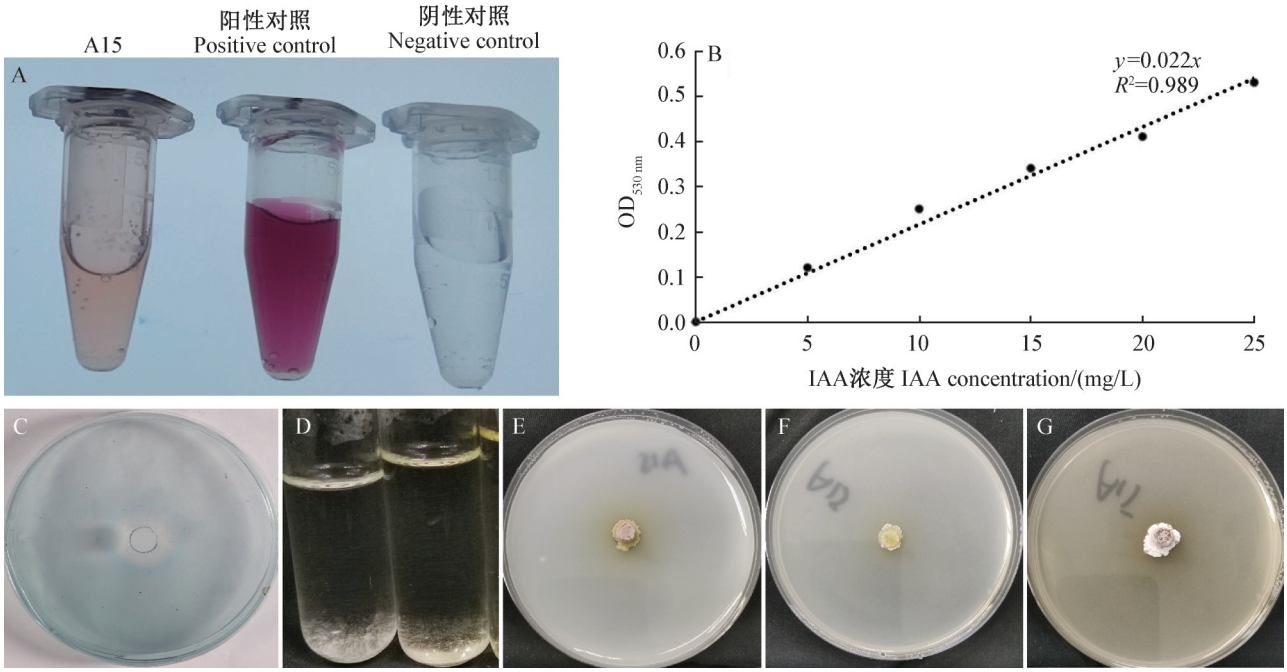
图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示对照和处理之间经*t*检验法检验差异显著(P<0.05)。Data are presented as the mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences between the control and treatment groups as determined by *t* test (P<0.05).

2.5 菌株A15能产IAA和嗜铁素

菌株A15培养5 d的发酵液无菌滤液与Salkowskis比色液反应后呈红色(图7-A),表明其具备产IAA能力。测定反应液在530 nm波长下的吸光度,通过标准曲线计算得出菌株A15培养液中的IAA浓度为7.41 mg/L(图7-B)。此外,菌株A15在CAS平板上能产生黄色透明圈(图7-C),表明其具有产嗜铁素的能力。然而,菌株A15未能使改良阿须贝氏培养基变浑浊(图7-D),也无法在无机磷培养基、有机磷培养基及解钾培养基上产生透明圈(图7-E、F、G),表明菌株A15不具备固氮、解无机磷、解有机磷及解钾的能力。

2.6 菌株A15发酵液具有促生能力

烟草种子经过菌株A15发酵液无菌滤液浸泡后,种子发芽后长势良好(图8-A),且幼苗根长较对照显著增长(表3)。这说明菌株A15发酵液无菌滤液对烟草种子的根系发育有显著促进作用。使用菌株A15发酵液10倍稀释液灌根处理后,烟草苗与对照相比长势更好(图8-B),其株高、地上部分鲜重较对照有所增加但差异不显著,地上部分干重则较对照显著增加(表3),表明菌株A15发酵液对烟草地上部分干物质积累有促进作用。



A：产IAA定性分析；B：IAA浓度标准曲线；C：产嗜铁素检测；D：固氮能力检测；E：解无机磷能力检测；F：解有机磷能力检测；G：解钾能力检测。A: Qualitative analysis of IAA production; B: standard curve for IAA quantification; C: detection of siderophore production; D: detection of nitrogen-fixing ability; E: detection of inorganic phosphorus-solubilizing ability; F: detection of organic phosphorus-solubilizing ability; G: detection of potassium-solubilizing ability.

图7 菌株A15的促生相关功能测定

Fig. 7 Evaluation of plant growth-promoting traits of strain A15

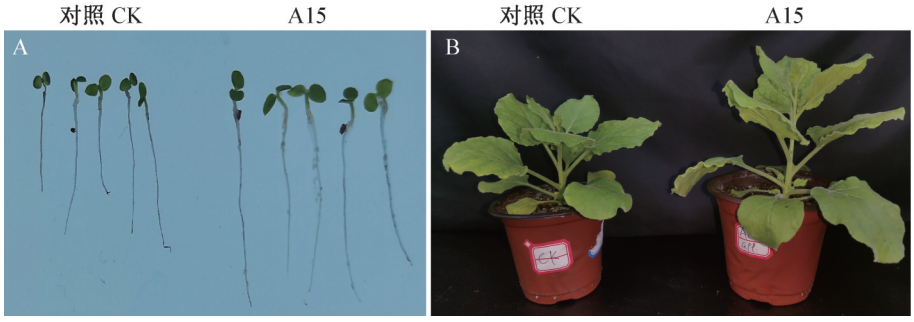


图8 菌株A15发酵液无菌滤液浸种（A）和10倍稀释液灌根（B）对烟草的促生效果

Fig. 8 Plant growth-promoting effects of seed soaking with the cell-free fermentation filtrate of strain A15 (A) and root irrigation with a 10-fold dilution of the fermentation broth (B) on *Nicotiana benthamiana*

表3 菌株A15发酵液10倍稀释液灌根对烟草的盆栽促生效果

Table 3 Effects of root irrigation with a 10-fold dilution of strain A15 fermentation broth on the growth of *Nicotiana benthamiana* in pot experiment

处理 Treatment	幼苗根长 Seedling root length/cm	株高 Plant height/cm	地上部分鲜重 Shoot fresh weight/g	地上部分干重 Shoot dry weight/g
对照CK	1.19±0.21 b	6.70±0.94 a	5.25±0.19 a	0.57±0.08 b
A15	1.68±0.20 a	10.27±1.92 a	5.99±0.79 a	0.78±0.06 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示对照与处理之间经*t*检验法检验差异显著（$P<0.05$）。Data are presented as the mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences between the control and treatment groups as determined by *t* test ($P<0.05$).

3 讨论

在众多生防微生物中，链霉菌属因具非凡的次级代谢产物合成能力而占据重要地位，其代谢物兼具抑菌、促生及诱导植物系统抗性等多重功能，展现出广阔的开发前景。如孙莉等（2015）分离到对黄瓜疫霉菌 *Phytophthora melonis* 有拮抗作用的链霉菌X54；蒋冬阳等（2024）筛选到能产多种裂解酶并对黄瓜枯萎病和猕猴桃细菌性溃疡病有良好防效的链霉菌2-1-2F；石妞妞等（2024）发现野尻链霉菌 *Streptomyces nojiriensis* 9-13及其发酵液不仅对引起大豆炭疽病的平头炭疽菌 *Colletotrichum truncatum* 具有强抑制活性，而且对平头炭疽菌苯醚甲环唑和啶氧菌酯抗性突变体也具有强抑制活性；项鹏等（2026）发现沙阿霉素链霉菌 *Streptomyces zaomyceticus* XFS-4可以诱导大豆抗大豆胞囊线虫 *Heterodera glycines*。黄暗色链霉菌作为链霉菌属的重要成员，其在农业病害防控中的应用价值值得关注。Singh et al.（2016）从印度农业土壤中分离筛选到1株黄暗色链霉菌，发现其对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、大肠杆菌 *Escherichia coli*、白色念珠菌 *Candida albicans* 等多种病原细菌和真菌均表现出显著的抑制活性，并从中分离纯化出色酮类、肽类及非多烯类等结构多样的抗菌代谢产物；申光辉等（2015）从草莓根际土壤分离获得的黄暗色链霉菌菌株T3-5对草莓灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 具有强拮抗作用，其无菌发酵液能显著降低贮藏草莓的腐烂率并延缓其品质下降。上述研究表明黄暗色链霉菌在开发为新型广谱生物农药方面具有良好应用前景，因此，针对丁香假单胞菌等重要病原菌，深度挖掘链霉菌资源，对于丰富生防产品库、应对复杂病害挑战具有重要意义。本研究结果表明，黄暗色链霉菌菌株A15对多种植物病原细菌和真菌均表现出广谱且较强的拮抗活性，尤其对烟草野火病、苹果树腐烂病和猕猴桃细菌性溃疡病有较好的离体防效，这直接印证了其作为广谱生防菌剂的开发潜力。

发酵培养基优化是提升生防菌剂效价的关键环节。培养基中的碳、氮源种类与比例直接影响菌体生长和次级代谢产物积累，通常需要速效与缓效成分的科学组合（刘芳等，2024）。本研究通过单因素试验与正交试验成功将菌株A15发酵液无菌滤液的抑菌活性提升了50%，抑菌圈直径增加了0.45 cm，优化效果显著。这不仅为该菌株后续的田间应用奠定了基础，也为后续目标活性代谢产物的分离纯化创造了有利条件。此外，除小分子抗生素外，许多生防菌还通过分泌几丁质酶、蛋白酶和β-葡聚糖酶等细胞壁降解酶来直接裂解病原真菌（Blake et al.，2021；彭佳乐等，2026）。鉴于菌株A15对多种病原真菌表现出显著的抑制效果，推测其可能具备产此类裂解酶的能力，具体的产酶谱系有待进一步研究。

链霉菌的生防价值不仅体现在对病原菌的直接拮抗作用，还体现在其对植物生长的直接促进作用（Oide et al.，2007；Haas，2014）。例如，Omar et al.（2022）和杨腾峰等（2024）分别证实了链霉菌通过分泌IAA、嗜铁素、溶解磷酸盐或产生细胞分裂素等途径有效促进黄瓜等作物的生长。本研究也揭示了菌株A15具备分泌IAA和嗜铁素的能力，这可能是其在烟草幼苗试验中表现出显著促生效应（促进根长和增加地上部生物量）的主要原因。尽管菌株A15未表现出溶磷、解钾或固氮能力，但其在产嗜铁素和IAA方面的优势，使其在促进植物生长、改善铁营养状况方面依然具有重要的应用价值。

本研究从烤烟根际土壤中分离鉴定的黄暗色链霉菌A15是一株兼具广谱抑菌活性与植物促生功能的优良生防菌株，并通过发酵条件优化显著提升了其生防潜力，其代谢产物可能具有较好的抑菌活性，在离体条件下对多种重要作物病害具有较好的防治效果。这为开发以菌株A15为核心的新型链霉菌源微生物农药提供了坚实的理论依据和宝贵的菌种资源。未来将开展该菌株活性物质的分离鉴定与作用机制解析，以及温室和田间防效的验证，以期推动该菌株向实际应用转化。

参 考 文 献（References）

Blake C, Christensen MN, Kovács ÁT, 2021. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 34(1): 15−25

Cao Y, 2022. Screening, identification and biocontrol effect of bacteria against tobacco mosaic[D]. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [曹洋, 2022. 烟草花叶病生防菌的筛选、鉴定及其防治效果研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学]

Ciarroni S, Gallipoli L, Taratufolo MC, Butler MI, Poulter RTM, Pourcel C, Vergnaud G, Balestra GM, Mazzaglia A, 2015. Development of a multiple loci variable number of tandem repeats analysis (MLVA) to unravel the intra-pathovar structure of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* populations worldwide[J]. PLoS ONE, 10(8): e0135310

Fan HY, Li YK, Chachar S, Yang Y, Guan CF, 2022. Genome sequence resource of *Colletotrichum horii*, an important pathogenic fungus threatening persimmon production[J]. Plant Disease, 106(3):

1052−1055

Haas H, 2014. Fungal siderophore metabolism with a focus on *Aspergillus fumigatus*[J]. Natural Product Reports, 31(10): 1266−1276

Han MQ, Wang CH, Zhu WH, Pan YM, Huang LL, Nie JJ, 2024. Extracellular perception of multiple novel core effectors from the broad host-range pear anthracnose pathogen *Colletotrichum fructicola* in the nonhost *Nicotiana benthamiana*[J]. Horticulture Research, 11(5): uhae078

Hoertz AJ, Hamburger JB, Gooden DM, Bednar MM, McCafferty DG, 2012. Studies on the biosynthesis of the lipodepsipeptide antibiotic ramoplanin A2[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 20(2): 859−865

Huang J, Tang Y, Huang BB, Li Y, Zhang CY, Guo ZH, Liu QS, 2024. Characterization of *Streptomyces levis* L2 with plant disease-inhibiting and growth-promoting effects[J]. Acta Microbiologica Sinica, 64(12): 4859−4868 (in Chinese) [黄军, 唐滢, 黄彬彬, 李晔, 张翠央, 郭照辉, 刘清术, 2024. 一株李维斯链霉菌的鉴定及其抗病促生性能[J]. 微生物学报, 64(12): 4859−4868]

Jiang DY, Wu BY, Ji WP, Chen C, Chen XJ, 2024. Identification of antagonistic actinomycetes 2-1-2F and its control effect on cucumber *Fusarium* wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 411−423 (in Chinese) [蒋冬阳, 吴冰越, 季文平, 陈宸, 陈夕军, 2024. 拮抗放线菌2-1-2F的鉴定及其对黄瓜枯萎病的防效[J]. 中国生物防治学报, 40(2): 411−423]

Li BB, Yuan BM, Duan JQ, Qin YC, Shen HF, Ren J, Francis F, Chen MH, Li GY, 2023. Identification of fcl-29 as an effective antifungal natural product against *Fusarium graminearum* and combinatorial engineering strategy for improving its yield[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 71(14): 5554−5564

Li FD, 2023. Research on the occurrence and biological control of apple *Valsa* canker in the mountains of Shaanxi[D]. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [李富东, 2023. 陕西山地苹果树腐烂病发生情况及生物防治研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学]

Li RY, Wang B, Chen W, Zhang CQ, Li N, Wang YP, Yan YK, Sun YY, He J, 2025. Effect of potato glycoside alkaloids on mitochondria energy metabolism of *Fusarium solani*, the root rot pathogen of *Lycium barbarum*[J]. Frontiers in Microbiology, 15: 1512027

Liu F, Quan TT, Wang KM, Shi LQ, Wen SH, Zhang F, Yang XP, 2024. Optimization of fermentation media through response surface methodology for *Streptomyces odonnellii* SZF-179 against *Alternaria alternata*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 40(4): 936−947 (in Chinese) [刘芳, 权婷婷, 王开梅, 石丽桥, 温少华, 张菲, 杨晓平, 2024. 响应面法优化梨黑斑病生防链霉菌SZF-179发酵培养基[J]. 中国生物防治学报, 40(4): 936−947]

Liu Y, Tang YM, Qin XY, Yang L, Jiang GF, Li SL, Ding W, 2017. Genome sequencing of *Ralstonia solanacearum* CQPS-1, a phylotype I strain collected from a highland area with continuous cropping of tobacco[J]. Frontiers in Microbiology, 8: 974

Lü A, Zhang K, Chen X, Zhu KM, Li GQ, Liu J, 2025. Progress in research on application of *Streptomyces* in biocontrol of plant diseases[J]. Acta Microbiologica Sinica, 65(9): 3869−3888 (in Chinese) [吕昂, 张凯, 陈鑫, 朱坤淼, 李国庆, 刘军, 2025. 链霉菌在作物病害生物防治中的应用研究进展[J]. 微生物学报, 65(9): 3869−3888]

Ma XQ, Ji AR, Zheng JL, Cao CX, Gong Y, Huang DY, Wang BB, 2025. Research progress on growth-promoting mechanism and application of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 27(2): 13−23 (in Chinese) [马雪晴, 冀傲冉, 郑娇莉, 曹春霞, 龚艳, 黄大野, 王蓓蓓, 2025. 植物根际促生菌促生机制及其应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 27(2): 13−23]

Oide S, Krasnoff SB, Gibson DM, Turgeon BG, 2007. Intracellular siderophores are essential for ascomycete sexual development in heterothallic *Cochliobolus heterostrophus* and homothallic *Gibberella zeae*[J]. Eukaryotic Cell, 6(8): 1339−1353

Omar AF, Abdelmageed AHA, Al-Turki A, Abdelhameid NM, Sayyed RZ, Rehan M, 2022. Exploring the plant growth-promotion of four *Streptomyces* strains from rhizosphere soil to enhance cucumber growth and yield[J]. Plants, 11(23): 3316

Peng JL, Yang PG, Dong XJ, Liu SJ, Wang L, Yao YP, Hao XJ, Wang MQ, 2026. Isolation, identification of antagonistic bacterial strains, and the antagonistic mechanisms against tomato late blight pathogen[J]. Journal of Plant Protection, 53(2): 356−366 (in Chinese) [彭佳乐, 杨平鸽, 董欣杰, 刘书剑, 王磊, 姚艳平, 郝晓娟, 王美琴, 2026. 番茄晚疫病菌拮抗菌株筛选鉴定及其作用机制[J]. 植物保护学报, 53(2): 356−366]

Pooler MR, Jacobs KA, Kramer M, 2002. Differential resistance to *Botryosphaeria ribis* among *Cercis* taxa[J]. Plant Disease, 86(8): 880−882

Qin HQ, Gao XN, Zhao ZB, Zhu SC, Li JM, Huang LL, 2013. The prevalence dynamics and rules of bacterial canker of kiwi fruit in Shaanxi[J]. Journal of Plant Protection, 40(3): 225−230 (in Chinese) [秦虎强, 高小宁, 赵志博, 朱穗层, 李建民, 黄丽丽, 2013. 陕西猕猴桃细菌性溃疡病田间发生动态和规律[J]. 植物保护学报, 40(3): 225−230]

Rong XY, Huang Y, 2010. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60(Pt3): 696−703

Shen GH, Zhang ZQ, Qin W, Liu SL, Feng M, 2015. Identification of antagonistic actinomyces strain against *Botrytis cinerea* and effect of its fermentation filtrate on preservation quality of strawberry[J]. Food Science, 36(21): 185−190 (in Chinese) [申光辉, 张志清, 秦文, 刘书亮, 冯孟, 2015. 灰霉病菌拮抗放线菌的筛选鉴定及对草莓的防腐保鲜效果[J]. 食品科学, 36(21): 185−190]

Shen Z, Huang LL, Tu X, Cheng JJ, Kang ZS, 2008. Control effect of kiwifruit bacterial canker by active metabolites from plant endophytic actinomycetes[J]. Chinese Journal of Biological Control, 24(4): 329−334 (in Chinese) [申哲, 黄丽丽, 涂璇, 程晶晶, 康振生, 2008. 植物内生放线菌活性物质防治猕猴桃溃疡病[J]. 中国生物防治, 24(4): 329−334]

Shi NN, Lian JP, Qiu DZ, Ju C, Zhang N, Yin Y, Li BJ, Du YX, 2024.

Antifungal activity and action mechanism of *Streptomyces nojiriensis* 9-13 against fungal pathogens associated with soybean anthracnose[J]. Journal of Plant Protection, 51(4): 830−840 (in Chinese) [石妞妞, 连金番, 邱德柱, 居骋, 张楠, 殷越, 李本金, 杜宜新, 2024. 野尻链霉菌9-13对大豆炭疽病病原菌的抑制活性及作用机制[J]. 植物保护学报, 51(4): 830−840]

Singh V, Haque S, Singh H, Verma J, Vibha K, Singh R, Jawed A, Tripathi CKM, 2016. Isolation, screening, and identification of novel isolates of actinomycetes from India for antimicrobial applications[J]. Frontiers in Microbiology, 7: 1921

Silva CJ, Adaskaveg JA, Mesquida-Pesci SD, Ortega-Salazar IB, Pattathil S, Zhang LS, Hahn MG, van Kan JAL, Cantu D, Powell ALT, et al., 2023. *Botrytis cinerea* infection accelerates ripening and cell wall disassembly to promote disease in tomato fruit[J]. Plant Physiology, 191(1): 575−590

Sun L, Yi TY, Su ZP, Wang YF, Wei RJ, Dong J, 2015. Screening and identification of bio-control agents against *Phytophthora melonis*[J]. China Vegetables(6): 23−27 (in Chinese) [孙莉, 易图永, 粟智平, 王雅菲, 魏润洁, 董俊, 2015. 黄瓜疫霉菌生防菌的筛选及鉴定[J]. 中国蔬菜(6): 23−27]

Thwaites R, Spanu PD, Panopoulos NJ, Stevens C, Mansfield JW, 2004. Transcriptional regulation of components of the type III secretion system and effectors in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 17(11): 1250−1258

Wang WD, Nie JJ, Lv LQ, Gong W, Wang SL, Yang MM, Xu LS, Li MJ, Du HX, Huang LL, 2021. A *Valsa mali* effector protein 1 targets apple (*Malus domestica*) pathogenesis-related 10 protein to promote virulence[J]. Frontiers in Plant Science, 12: 741342

Xiang P, Li M, Yang S, Wang S, Li YJ, Li BH, You J, Zhang W, 2026. Transcriptome analysis of soybean resistance to soybean cyst nematode induced by bacterium *Streptomyces zaomyceticus* XFS-4[J]. Journal of Plant Protection, 53(2): 430−437 (in Chinese) [项鹏, 李敏, 杨树, 王舒, 李艳杰, 李宝华, 尤佳, 张武, 2026. 沙阿霉素链霉菌XFS-4诱导大豆抗大豆胞囊线虫的转录组分析[J]. 植物保护学报, 53(2): 430−437]

Xu LS, Meng YG, Liu RH, Xiao YZ, Wang YH, Huang LL, 2023. Inhibitory effects of *Bacillus vallismortis* T27 against apple *Valsa* canker caused by *Valsa mali*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 195: 105564

Yang LL, Yang MM, Zhao BB, Zhang XX, Wang L, Zhang MS, Wang B, Wang Q, Ma JB, Du XF, et al., 2026. *Pseudomonas syringae* histidine kinase BvgS acts as the sensory receptor of plant-derived putrescine to activate the type III secretion system and enhance bacterial virulence[J]. Molecular Plant, 19(4): 826−843

Yang TF, Yan JP, Hou XY, Shen HF, Duan JQ, Ren J, Zeng HM, 2024. Inhibition of *Streptomyces alfalfae* TX21 on pathogenic fungi and identification of its growth-promoting substances[J]. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 359−369 (in Chinese) [杨腾峰, 闫建培, 侯星羽, 沈洪飞, 段佳琪, 任杰, 曾洪梅, 2024. 苜蓿链霉菌TX21抑菌作用确定及促生物质的鉴定[J]. 中国生物防治学报, 40(2): 359−369]

Yang ZX, Chen Y, Wang Y, Xia HQ, Zheng SQ, Xie SD, Cao Y, Liu JM, Sehar S, Lin YC, et al., 2022. Nitrogen metabolic rate and differential ammonia volatilization regulate resistance against opportunistic fungus *Alternaria alternata* in tobacco[J]. Frontiers in Plant Science, 13: 1003534

Yao JW, Zhao YN, Li YY, Wang HC, Yuan QF, Yang D, Huang DY, Cao CX, 2024. Control efficacy of *Streptomyces* YC117 against tobacco black shank disease and the stability of its active substances[J]. Plant Protection, 50(5): 72−80, 119 (in Chinese) [姚经武, 赵亚南, 黎妍妍, 汪汉成, 袁勤峰, 杨丹, 黄大野, 曹春霞, 2024. 链霉菌YC117对烟草黑胫病的防控及活性物质稳定性研究[J]. 植物保护, 50(5): 72−80, 119]

Yuan HB, Shi BK, Wang ZN, Qin GH, Hou H, Tu HT, Wang L, 2023. Exploration of the biocontrol activity of *Bacillus atrophaeus* strain HF1 against pear *Valsa* canker caused by *Valsa pyri*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 24(20): 15477

Yuan XC, Sundin GW, Zeng Q, Johnson KB, Cox KD, Yu MD, Huang J, Yang CH, 2023. *Erwinia amylovora* type III secretion system inhibitors reduce fire blight infection under field conditions[J]. Phytopathology, 113(12): 2197−2204

Zhang GM, Lu JH, Kan GF, Wang ZF, 2002. Recent development in the study of tobacco wildfire disease[J]. Acta Tabacaria Sinica, 8(2): 34−37, 48 (in Chinese) [张广民, 吕军鸿, 阚光锋, 王智发, 2002. 烟草野火病研究概况[J]. 中国烟草学报, 8(2): 34−37, 48]

Zhang ZQ, Li GZ, Ding JY, Wang PP, Tan JQ, Chang BS, Ai SL, Wang NN, Yan X, Yang MM, et al., 2024. Optimization of fermentation conditions and study on antimicrobial substances of antagonistic bacteria YZ01 against tobacco brown spot[J]. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 347−358 (in Chinese) [张子奇, 李光哲, 丁佳玉, 王平平, 谭嘉琦, 常邦帅, 艾绥龙, 王娜娜, 颜霞, 杨明明, 等, 2024. 烟草赤星病拮抗菌YZ01发酵条件优化及抑菌活性物质初探[J]. 中国生物防治学报, 40(2): 347−358]

Zhao F, Zhi TH, Hu RJ, Fan R, Long YH, Tian FH, Zhao ZB, 2022. The OmpR-like transcription factor as a negative regulator of *hrpR*/*S* in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 23(20): 12306

Zhao ZB, Chen JL, Gao XN, Zhang D, Zhang JL, Wen J, Qin HQ, Guo M, Huang LL, 2019. Comparative genomics reveal pathogenicity-related loci in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3[J]. Molecular Plant Pathology, 20(7): 923−942

（责任编辑：李美娟）