

生防链霉菌 Q2-02 的分离、鉴定及其抑菌活性研究

许仁伟[#], 杨琳, 何颜言, 王兰英^{*}

(海南大学热带农林学院, 海南 儋州 571737 中国)

摘要: 为了解生防链霉菌的抑菌活性, 采用梯度稀释法, 从海南岛不同地区的 6 个土壤样品中分离放线菌; 通过对峙培养法对获得的放线菌菌株进行筛选; 利用形态、生理生化特征和分子生物学方法对菌株进行鉴定; 通过浸果法和盆栽试验测定活性菌株的潜在应用价值。本研究共分离获得放线菌菌株 285 株, 经筛选菌株 Q2-02 抑菌活性最高, 其对芒果蒂腐病菌(*Botryodiplodia theobromae*)、芒果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*) 和水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*) 的抑制率分别为 92.8%、90.0% 和 88.2%, 对其他 6 种病原菌的抑制率也超过 60.0%; 经鉴定发现, Q2-02 为卢娜林瑞链霉菌(*Streptomyces lunalinharesii*); 盆栽实验表明, 菌株发酵上清 10 倍稀释液对芒果蒂腐病及水稻纹枯病的防效均显著高于阳性对照 45% 噻菌灵悬浮剂 800 倍液和 10% 井冈霉素水剂 1 000 倍液, 表明菌株 Q2-02 具有进一步开发应用的价值。

关键词: 农用活性; 菌株鉴定; *Streptomyces lunalinharesii*

中图分类号: S476.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7054(2026)02-0207-08

许仁伟, 杨琳, 何颜言, 等. 生防链霉菌 Q2-02 的分离、鉴定及其抑菌活性研究[J]. 热带生物学报(中英文), 2026, 17(2): 207–214. DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20240177 CSTR: 32425.14.j.cnki.rdswwb.20240177



在农业生产过程中, 病虫害为害一直以来都是造成农作物产量损失的主要原因, 化学农药的使用在农业生产中发挥了极大的作用^[1]。然而, 传统化学农药的过度使用带来很多问题, 例如有害生物的抗药性增加、人类重要生存资源的污染等, 因此绿色农药的研发成为当今研究的热点^[2-3]。在国家的大力支持下, 微生物源生物农药逐渐成为绿色农药的主流^[4-6]。放线菌一直被认为是微生物农药的主要来源, 从链霉菌中寻求具有潜在生防价值的菌株具有重要的意义。众多研究表明, 许多来源于土壤的链霉菌具有防治植物病害的能力, 如张琦等^[7]从云南省土壤中分离出淡紫灰链霉菌 LY4 对蔬菜根结线虫具有杀伤活性; Meena 等^[8]通过从绿豆根际土壤中分离出对丝核菌根腐病具有良好防效的根际链霉菌; 韦坤逢等^[9]从辣椒根际土壤中分离出蓝微褐链霉菌 WKFF34 对多种植物病原细菌、真菌均具有较好的抑制效果。因此, 土壤链霉菌的分离鉴定工作对农业病害防治十分重

要。海南岛具有独特的生态环境, 被称为中国天然的“物种基因库”^[10], 其土壤中的生防链霉菌资源还未被充分开发。本研究通过对海南岛不同区域的土壤进行链霉菌的分离和鉴定, 并通过皿和活体实验, 系统地筛选生防链霉菌, 以期获得有潜在应用价值的链霉菌, 从而丰富农用活性生防菌株资源库, 为绿色农药研发提供菌株资源。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤样品 样品 Q1、Q2 分别采自海南岛琼海市东平农场荒芜地带和山区; H3 采自海南省海口市火山口地质公园; S4 采自海南省海口市琼山区橡胶林荒芜地带; W5 采自海南省文昌市红树林; D6 采自海南省热带植物园。

1.1.2 供试培养基 供试培养基为高氏一号固体培养基、高氏一号培养液和 PDA 培养基^[11]。

1.1.3 供试病原菌 橡胶炭疽病菌(*Colletotrichum*



收稿日期: 2024-11-25

修回日期: 2025-01-11

基金项目: 海南省重点研发计划项目(ZDYF2022XDNY274)

*第一作者: 许仁伟(1998—), 男, 海南大学热带农林学院 2022 级硕士研究生。E-mail: 15233899707@163.com

*通信作者: 王兰英(1976—), 女, 教授, 博士, 博士生导师。研究方向: 植物病理学和农药学。E-mail: daivemuwly@126.com

gloeosporioides Penz., ATCC 12097), 橡胶落叶棒孢霉病菌(*Corynespora cassicola* (Berk. & Curt.) Wei, ATCC 42584), 芒果蒂腐病菌(*Botryodiplodia theobromae* Pat., CBS 164.96), 香蕉炭疽病菌(*Colletotrichum musae* Berk. & Curt., ACCC 31244), 水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* Kühn, ATCC 16125), 椰子灰斑病菌(*Pestalotiopsis palmarum* (Cooke) Steyaert, K(M) 92651), 西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, ACCC 36116), 橡胶黑团孢病菌(*Periconia heveae* Stevenson & Imle, BPI 71424), 芒果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*, ATCC12097), 以上菌种均由海南大学热带农林学院植物保护系骆焱平课题组提供。

1.1.4 供试药剂及植物材料 可溶性淀粉购自上海麦克林生化科技有限公司; K_2HPO_4 购自上海源叶生物科技有限公司; 葡萄糖、 $MgSO_4$ 、 $NaCl$ 、 KNO_3 均购自西陇科学股份有限公司; 琼脂粉购自北京索莱宝科技有限公司; 质量分数为 45% 的噻菌灵悬浮剂购自拜耳(中国)有限公司; 质量分数为 10% 的井冈霉素水剂购自江苏瑞德邦化工科技有限公司; ‘台农 1 号’芒果果实采自三亚南田农场; 水稻(*Oryza sativa*)种子为‘博 II 优 15 号’; 灭菌土采自海南大学热带农林学院教学基地, 过 20 目(0.85 mm)筛, 160 °C 灭菌 2 h。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离 按照陈乙煌等^[12]的方法从采集的土壤中分离放线菌。然后采用逐级划线法纯化放线菌。

1.2.2 拮抗放线菌的筛选 按照李桂花等^[13]的方法将分离获得的放线菌株与供试靶标菌株进行对峙培养, 将靶标菌接在 PDA 培养基中央作为对照。观察放线菌对病原菌的抑制效果, 测量菌落直径, 按照下列公式计算抑菌率。将具有抑制作用的菌株按照对峙培养的方法进行再次筛选。

抑菌率=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/对照组菌落直径×100%。

1.2.3 生防菌株 Q2-02 的鉴定用插片法^[14]对菌株 Q2-02 进行形态学鉴定, 在显微镜下观察其形态特征并拍照。将放线菌 Q2-02 接种到高氏一号培养基平板上, 待菌落长到适合大小切取 2 mm × 3 mm 大小的样品, 进行扫描电镜样品处理, 干燥喷金后用电镜观察放线菌气生菌丝和孢子^[15]。

提取菌株 Q2-02 的总 DNA, 使用 16S rDNA 通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 1492R: 5'-CCTTACCTTGTACGACTT-3')^[16], 进行 16S rDNA 的 PCR 扩增。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 5 min; 4 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。使用琼脂糖凝胶电泳进一步纯化 PCR 产物后, 由上海生工生物工程股份有限公司进行双向测序。使用 NCBI 进行同源性比对, 通过 MEGA 11 软件进行系统进化树的构建。

参照《链霉菌鉴定手册》^[17]对菌株 Q2-02 进行生理生化特性测定, 包括明胶液化、牛奶凝固与胨化、淀粉水解、纤维素水解、硫化氢产生、碳源利用等生理生化特征。

1.2.4 Q2-02 发酵液对芒果采后病害的防效测定

经过实验发现, Q2-02 具有广谱抑菌活性, 其中, 对芒果蒂腐病菌的抑菌率最高。因此, 选择 Q2-02 进行下一步活性测定。将链霉菌 Q2-02 接种到高氏一号培养基上, 28 °C 培养 5 d。用移液枪移取 1 mL 10^7 CFU·mL⁻¹ 的 Q2-02 孢子悬浮液加入至高氏一号培养液中, 28 °C、180 r·min⁻¹ 振荡培养 4 d 获得菌株发酵液, 1000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 将上清液依次稀释至 10、50、100 倍, 备用。

选择无病虫害、无机械损伤、成熟一致的芒果果实, 平肩剪蒂, 用大量自来水冲洗干净, 阴干。将处理好的芒果放入上述不同稀释倍数的 Q2-02 发酵液中浸泡 5 min, 自然晾干。每个处理 4 次重复, 每次重复 10 个果。28 °C、相对湿度 80%~90% 的条件下贮藏。以 45% 噻菌灵悬浮剂 800 倍液处理作为药剂对照, 以无菌水处理作为空白对照。根据果实成熟情况, 每隔 3 d 观察 1 次, 记录果实的发病等级, 计算其发病率、病害指数及防治效果。

芒果蒂腐病的分级标准如下: 0 级, 无病; 1 级, 病斑面积占果实面积的 5% 以下; 3 级, 病斑面积占果实面积的 6%~15%; 5 级, 病斑面积占果实面积的 16%~25%; 7 级, 病斑面积占果实面积的 26%~50%; 9 级, 病斑面积占果实面积的 50% 以上^[18]。

发病率=(病果数/处理总果数)×100%,

病害指数= Σ (病果级别×该级别果数)/(最高病果级别×处理总果数)×100%,

防治效果=[(空白对照区病害指数-实验处理后病情指数)/空白对照区病害指数]×100%。

1.2.5 Q2-02 发酵液对水稻纹枯病的盆栽防效测定 选取优良水稻种子,用质量分数为 5% 的次氯酸钠消毒 5 min, 30 ℃ 催芽至露白。选取露白、健壮的种子播种于育苗钵中,待出苗后 20 d 移栽至口径为 30 cm 装有灭菌土的花盆中,每盆 2 丛,每丛 10 株。待水稻分蘖盛期,用供试菌株 Q2-02 发酵液以喷雾的方式处理水稻植株,每盆每丛喷施 20 mL。待发酵液稍干后将制备好的带有水稻纹枯病菌的秸秆夹在水稻丛中,每丛 4 根秸秆。设无菌水为空白对照,10% 井冈霉素水剂 100 倍液作为药剂对照,每处理 10 盆。20 d 后统计病害指数及防效。

水稻纹枯病害分级标准如下:0 级:全株无病;1 级:第 4 叶及其以下各叶鞘、叶片发病(以顶叶为第 1 片叶);3 级:第 3 叶片及其以下各叶鞘、叶片发病;5 级:第 2 叶片及其以下各叶鞘、叶片发病;7 级:剑叶叶片及其以下各叶鞘、叶片发病;9 级:全株发病,提早枯死^[19]。

发病率=(病株数/处理总株数)×100%,

病害指数=Σ(病株级别×该级别株数)/(最高病株级别×处理总株数)×100%,

防治效果=[(空白对照区病害指数-实验处理后病情指数)/空白对照区病害指数]×100%。

1.3 统计分析 调查数据使用 SAS 软件 Duncan 新复极差法进行多重比较,使用 Excel 表格进行制表。

2 结果与分析

2.1 放线菌分离纯化 采用梯度稀释分离法对分别来自海南不同地区 6 个土样进行分离、纯化,共得到放线菌 285 株。从表 1 可知,从海南不同地区采集的 6 个土壤样品中,5 号土样分离得到菌株最多,有 88 株,占所分离株的 30.8%;其次是 2 号土样,有 77 株,占所分离株的 26.9%;1 号土样分离出 55 株放线菌,占所分离株的 29.2%;3 号土样分离出 44 株放线菌,占所分离株的 15.4%;4 号土样和 6 号土样中分离出放线菌 11 株,均占所分离株的 3.8%。

2.2 放线菌筛选

2.2.1 放线菌的初筛 以 9 种植物病原菌作为靶

表 1 放线菌分离结果

Tab. 1 Isolations of actinomycetes

土样编号 Soil sample number	土样来源 Source of soil samples	菌株数量/株 Number of strains/sytrain
Q1	海南省琼海市东平农场荒芜地带	55
Q2	海南省琼海市东平农场荒芜山区	77
H3	海南省海口市火山口地质公园	44
S4	海南省海口市琼山区橡胶林荒芜地带	11
W5	海南省文昌市红树林	88
D6	海南省热带植物园	11
合计		285

标菌,对分离纯化得到的 285 株放线菌进行皿内拮抗初筛,有拮抗活性的菌株编号及菌落特征见表 2。测定发现,有抑制效果的放线菌共 12 株,占分离菌株的 4.2%,其中,5 株拮抗菌株产生了可溶性色素。在海南不同地区采集的 6 种土样中,琼海土样 Q2 分离出有效菌株的抑菌效果最为理想,有 5 株,占有有效菌株比例 41.7%。文昌土样 W5 次之,有 3 株,占有有效菌株比例 25.0%。琼海土样 Q1 和火山口土样 H3 有效菌株都为 2 株,都占有有效菌株比例 16.7%。

2.2.2 放线菌的复筛 从表 3 可知,供试的 12 株放线菌中,菌株 Q2-02 抑菌效果最好,对 9 种靶标菌均有较好的拮抗效果,尤其对芒果蒂腐病菌及芒果炭疽病菌的抑制率均大于 90%,对其余的靶标菌抑菌率均大于 60%,可见该菌株抑菌谱较广。其次,菌株 Q2-03、Q2-01、Q2-06、Q09 也有较好的抑菌效果,但均不如 Q2-02 抑菌谱广。

2.3 拮抗菌株 Q2-02 的鉴定

2.3.1 菌株形态学分子生物学鉴定 在高氏一号培养基上培养的 Q2-02 菌株,其菌落颜色为灰白色,培养基有淡棕色素沉淀,菌落大小适中,近圆形,气生菌丝生长不茂盛(图 1-a)。经插片培养,观察到菌丝形态如图 1-b 所示,Q2-02 菌落成灰白色绒粉状,菌株的菌丝茂盛,气生菌丝多分支,直线形。

链霉菌的孢子丝形态和孢子形态是链霉菌的非常重要的鉴定特征,由图 1-c 和图 1-d 可以看出,菌株 Q2-02 的孢子丝较长呈螺旋状,孢子表面

表 2 拮抗菌株编号及菌落特征

Tab. 2 Antagonistic strain number and colony characteristics

放线菌编号 Actinomycetes number	菌落正面/反面色泽 Front/Back color of colony	可溶性色素 Soluble pigment	菌落大小 Colony size	菌丝状态 Mycelial state
Q09	牡丹粉红/南瓜黄	极光红	近圆形, 大小适中	较茂盛
Q11	灰白/桂皮淡棕	浅芒果棕	近圆形, 大小适中	不茂盛
Q2-01	咖啡/咖啡	无	近圆形, 较小	较茂盛
Q2-02	灰白/灰白	淡棕	近圆形, 大小适中	不茂盛
Q2-03	咖啡/灰白	无	近圆形, 大小适中	较茂盛
Q2-06	粉红/淡可可棕	无	近圆形, 大小适中	较茂盛
Q2-07	灰白/橙皮黄	无	近圆形, 较小	较茂盛
H01	银鼠灰/玉粉红	玫瑰粉	近圆形, 大小适中	不茂盛
H02	咖啡和乳白相间/咖啡和乳白相间	无	无规则密布	较茂盛
W16	淡茜红/灰白	无	近圆形, 大小适中	较茂盛
W18	象灰/淡红灰	无	近圆形, 大小适中	较茂盛
W19	灰白/深牵牛紫	湛汁紫	近圆形, 大小适中	较茂盛

表 3 12 种放线菌对 9 种靶标菌的抑菌率

Tab. 3 The inhibition rate of 12 actinomycetes against 9 target bacteria

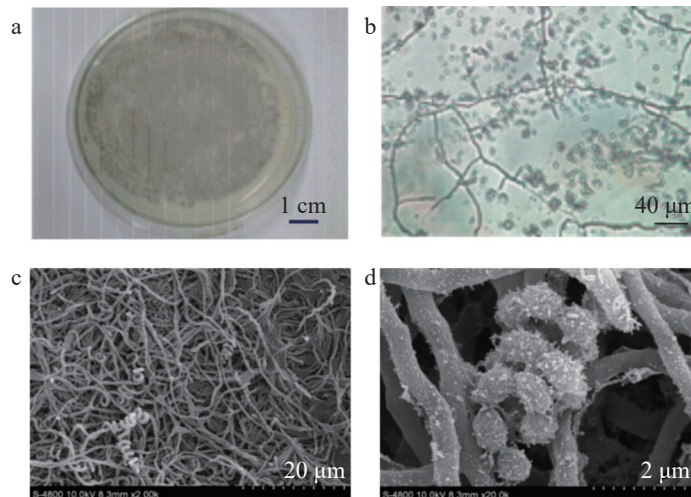
靶标菌 Target bacteria	Q2-01	Q2-02	Q2-03	Q2-06	Q2-07	Q09	Q11	H02	H01	W16	W18	W19
芒果蒂腐病菌 <i>Botryodiplodia theobromae</i>	0	92.8	77.8	77.8	76.7	74.4	0	0	0	0	0	0
芒果炭疽病菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	80.0	90.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	68.9
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	56.0	88.2	75.0	77.5	65.0	75.0	12.0	12.0	25.0	0	0	16
橡胶炭疽病菌 <i>C. gloeosporioides</i>	45.5	79.1	73.8	21.4	0	0	0	13.6	0	0	0	64.0
橡胶黑团孢病菌 <i>Periconia heveae</i>	71.1	74.9	82.9	72.9	77.1	71.4	0	7.9	16.7	57.1	21.1	50.0
香蕉炭疽病菌 <i>C. musae</i>	83.3	71.1	66.7	0	0	50.0	0	55.6	0	0	0	71.1
西瓜枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum f.sp. niveum</i>	56.7	70.2	75.6	57.8	64.4	55.6	0	0	0	0	0	13.3
椰子灰斑病菌 <i>Pestalotiopsis palmarum</i>	55.6	68.9	73.3	66.7	70.0	66.7	0	8.3	66.7	33.3	18.6	16.7
橡胶落叶棒孢霉病菌 <i>Corynespora cassiicola</i>	26.1	63.5	0	0	0	0	4.4	17.4	0	0	26.1	30.4

长有排列稀疏的尖刺状凸起。

对菌株进行 16S rDNA 序列测定, 共获得 1 447 个碱基, 将其在 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 上进行注册, 获得注册号为 KP890853, 将 Q2-02 的序列在 NCBI 中进行同源性比对, 通过 MEGA 11 软件构建系统进化树, 结果表明 (图 2), 供试菌株 Q2-02 与 2 株卢娜林瑞链霉菌 (*Streptomyces lunalinharesii*) 亲缘关系最近,

支持率为 87%。

2.3.2 菌株培养特征鉴定 由表 4 可知, 菌株 Q2-02 在不同的培养基上其培养特征不同。其中, 在高氏一号培养基、马铃薯浸汁琼脂培养基、葡萄糖酵母膏琼脂培养基和马铃薯块培养基上, 菌丝生长比较茂盛; 气生菌丝的颜色在高氏一号、察氏一号、马铃薯浸汁琼脂培养基上均为灰白色, 葡萄糖天门冬素琼脂、马铃薯块上均为粉白色; 基内菌丝



a. 菌株 Q2-02 在高氏一号培养基上的菌落图; b. 插片法观察菌株 Q2-02 菌丝形态图; c. 扫描电镜观察菌株 Q2-02 菌丝形态图(2 000 倍); d. 扫描电镜观察菌株 Q2-02 孢子形态图(20 000 倍)。

a. Colony diagram of strain Q2-02 on Gause's synthetic agar; b. Mycelial morphology diagram of strain Q2-02 by insert method; c. Mycelial morphology diagram of strain Q2-02 by scanning electron microscope (2 000×); d. Spore morphology diagram of strain Q2-02 by scanning electron microscope (20 000×).

图 1 菌株 Q2-02 的培养特征形态图

Fig. 1 Morphological characteristics of strain Q2-02



图 2 菌株 Q2-02 系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain Q2-02

均为白色, 有灰白、乳白、粉白 3 种; 菌株 Q2-02 在高氏一号培养基、马铃薯块培养基和葡萄糖酵母膏琼脂上产生可溶性色素, 其颜色分别为淡棕、白色和淡可可棕。

2.3.3 菌株生理生化特征鉴定 由表 5 可知, 菌株 Q2-02 能液化明胶, 不能使牛奶凝固, 也不能使其胨化, 能水解淀粉, 不能在纤维素上生长, 不产生硫化氢沉淀; 对不同的碳源利用情况不同, 不能利用葡萄糖、蔗糖和甘露醇, 可以利用果糖、肌醇、木糖、阿拉伯糖、鼠李糖。结合菌落形态和其生理生化特征发现, 菌株 Q2-02 与报道^[20] 的卢娜林瑞链

霉菌(*Streptomyces lunalinharesii*)RCQ1071 的生理生化特征也基本一致, 因此, 可将菌株 Q2-02 初步鉴定为卢娜林瑞链霉菌。

2.4 菌株 Q2-02 发酵液对芒果蒂腐病的防效 采用浸果法测定 Q2-02 发酵液不同稀释倍数下对芒果贮藏期间芒果蒂腐病的防效。结果发现(表 6), Q2-02 发酵液上清液对芒果蒂腐病的防效均有浓度依赖效应, 即随着稀释倍数的降低防效显著提升。供试的 3 个稀释倍数中, 发酵上清液稀释 10 倍防效最为理想, 对芒果蒂腐病的防效均达 83.2% 以上, 显著高于药剂对照质量分数为

表 4 菌株 Q2-02 的培养特征

Tab. 4 Culture characteristics of strain Q2-02

培养基 Medium	气生菌丝 Aerial mycelium	基内菌丝 Substrate mycelium	可溶性色素 Soluble pigment
高氏一号琼脂 Gause's synthetic agar	灰白 grayish white	乳白 creamy white	淡棕 light brown
克氏一号琼脂 Kligler's agar	象灰 Elephant gray	灰白 grayish white	无 without
察氏琼脂 Czapek's agar	灰白 grayish white	灰白 grayish white	无 without
葡萄糖天门冬素琼脂 Glucose asparagine agar	粉白 Pink white	粉白 Pink white	无 without
葡萄糖酵母膏琼脂 Glucose yeast extract agar	粉白 Pink white	灰白 grayish white	淡可可棕 pale cocoa brown
马铃薯浸汁琼脂 Potato dextrose agar	灰白 grayish white	灰白 grayish white	无 without
马铃薯块 Potato	粉白 Pink white	粉白 Pink white	白色 white

注: 以最后一次观察结果为准。

Note: Based on the last observation results.

表 5 生理生化特征

Tab. 5 Physiological and biochemical characteristics

测定项目 Characteristics	测定结果 Results	测定项目 Characteristics	测定结果 Results
明胶液化能力 Gelatin liquefaction ability	+	果糖 Fructose	+
牛奶凝固 Milk clotting	-	蔗糖 Sucrose	-
牛奶胨化 Milk peptonization	-	肌醇 Inositol	+
淀粉水解能力 Starch hydrolysis ability	+	木糖 Xylose	+
纤维素利用能力 Cellulose utilization ability	-	甘露糖 Mannose	-
H ₂ S沉淀 H ₂ S precipitation	-	阿拉伯糖 Arabinose	+
葡萄糖 Glucose	-	鼠李糖 Rhamnose	+

注: “+”表示阳性, “-”表示阴性。

Note: "+" denotes positive; "-" denotes negative.

45% 的硫苯唑悬浮剂 800 倍液; 其次 50 倍稀释液对 2 种病害也有较好的防效, 与药剂对照效果相当; 相比之下 100 倍稀释液对 2 种病害基本没有防治效果, 可能是发酵液中抑菌物质较少所致。

2.5 菌株 Q2-02 发酵液对水稻纹枯病的盆栽防效
在对水稻纹枯病的盆栽防效测定中, Q2-02 发酵液呈现很好的防治效果, 防效可达 76.9%, 显著高于 10% 井冈霉素水剂 1 000 倍液(表 7)。

表 6 Q2-02 发酵液上清液对芒果蒂腐病防效

Tab. 6 The control effect of Q2-02 fermentation broth supernatant on mango stem rot

处理 Treatment	发病率/% Incidence	病害指数 Disease index	防效/% Efficacy
稀释10倍 Diluted 10 times	15.0	4.9	83.2 ^{Aa}
稀释50倍 Diluted 50 times	25.0	13.9	52.3 ^{Bb}
稀释100倍 Diluted 100 times	50.0	27.0	6.9 ^{Cc}
45%噻菌灵悬浮剂800倍 45% thiabendazole SC 800 times	35.0	11.9	58.9 ^{Bb}
无菌水 Sterile water	60.0	29.0	

注: 小写英文字母表示 $\alpha=0.05$ 水平的差异显著性, 大写英文字母表示 $\alpha=0.01$ 水平的差异显著性。下同。

Note: The lowercase letters indicate the significant difference at the level of $\alpha = 0.05$, and the uppercase letters indicate the significant difference at the level of $\alpha = 0.01$. Similarly hereinafter.

3 讨论

链霉菌在植物病害绿色防控领域发挥着重要的作用, 如王兰英等^[21]从海南香蕉根系土壤中分离出对香蕉枯萎病具有良好防治作用的金黄垂直链霉菌 HN6; 王蕊等^[22]从甘肃省嘉峪关七一冰川土样中分离的链霉菌 QY-26 能够很好地控制胶孢炭疽菌引起的橡胶树炭疽病。海南岛地理位置独特, 生态环境多样, 广受微生物领域科研者们关

表 7 Q2-02 发酵液对水稻纹枯病的盆栽防效

Tab. 7 Potted control effect of Q2-02 fermentation broth on rice sheath blight

处理 Treatment	发病率/% Incidence/%	病害指数 Disease index	防效/% Efficacy/%
Q2-02发酵液 Q2-02 fermentation broth	11.2	16.8	76.9 Aa
10%井冈霉素水剂 10% validacin WA 1 000 times 无菌水 Sterile water	20.5	27.4	62.3 Bb
	80.7	72.6	-

注。本研究对海南岛不同地区的土壤样品进行分离和活性筛选, 获得一株拮抗链霉菌 Q2-02, 进行分子生物学鉴定发现, 该菌株与卢娜林瑞链霉菌 (*S. lunalinharesii*) 亲缘关系最近, 其生理生化特性与 Souza 等^[20] 报道的卢娜林瑞链霉菌一致。有研究表明, 卢娜林瑞链霉菌可以有效防治香蕉枯萎病^[23], 但关于该菌株在芒果保鲜和水稻病害防控领域的研究还未见报道。芒果和水稻作为热带重要的农作物在海南省广泛种植。王晨光^[24] 的研究表明, 由于长期的化学防治, 芒果蒂腐病原菌对田间常用的防治药剂苯醚甲环唑和咪鲜胺的敏感性出现下降, 且敏感性下降在传代实验中表现出稳定遗传。不同地区的水稻纹枯病菌也对部分化学防治药剂的敏感性产生了下降^[25-26], 生防菌剂对延缓抗药性, 保障农业生产具有重要意义。本研究发现, 菌株 Q2-02 发酵液稀释 10 倍后对芒果蒂腐病的防效可达 83.2%, 对水稻纹枯病的盆栽防效也可达 76.9%, 均显著高于相应的阳性对照噻菌灵和井冈霉素。可见菌株 Q2-02 具有很好的生防菌剂开发潜力, 具有进一步开发为防治芒果蒂腐病以及水稻纹枯病生防制剂的价值。

众所周知, 链霉菌次生代谢产物一直以来都是科研者开发生物农药的资源。如春雷霉素可以用来防治多种植物病害^[27]。本研究发现, 菌株 Q2-02 具有广谱的抑菌特性, 并且其发酵液滤液可以有效防治芒果蒂腐病和水稻纹枯病。因此, 后续开展次生代谢产物的研究对微生物农药的研制也具有重要的意义。

4 结 论

本研究在采集到的海南 6 个地区的土样中分

离出 285 株放线菌, 通过平板对峙法筛选出具有良好农用活性的链霉菌 Q2-02, 经过分子生物学、生理生化和形态学实验, 初步将菌株 Q2-02 鉴定为卢娜林瑞链霉菌 (*S. lunalinharesii*), 防效实验表明, 其发酵上清液对芒果蒂腐病及水稻纹枯病的防效均显著高于阳性对照 45% 噻菌灵悬浮剂和 10% 井冈霉素水剂。本研究丰富了中国生防菌资源库, 为新的活体生防菌剂的开发利用打下基础。

参考文献:

- [1] 陈献礼. 化学农药在农业有害生物控制中的作用及科学评价[J]. 江西农业学报, 2006, 18(4): 134-135. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-8581.2006.04.051>
- [2] Aioub A A A, Ghosh S, Al-Farga A, et al. Back to the origins: biopesticides as promising alternatives to conventional agrochemicals [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2024, 169(4): 697-713. <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02865-6>
- [3] 魏启文, 曾娟, 秦萌, 等. 新时期我国化肥农药减量增效与农产品质量安全提升的探讨[J]. *农产品质量与安全*, 2023(1): 6-9. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-8255.2023.01.002>
- [4] 黎家, 李传友. 新中国成立 70 年来植物激素研究进展[J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(10): 1227-1281.
- [5] 张震. 生物农药的发展现状与趋势分析[J]. *农业开发与装备*, 2018(7): 93-94. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-9205.2018.07.073>
- [6] 王佳丽, 马燕, 高倩, 等. 我国植物源杀菌剂的活性组分和应用概况[J]. *浙江农业科学*, 2025, 66(01): 138-145. <https://doi.org/10.16178/j.issn.0528-9017.20231018>
- [7] 张琦, 申帅, 胡先奇. 蔬菜根结线虫生防放线菌 LY4 的筛选及其鉴定[J]. *江西农业大学学报*, 2020, 42(6): 1107-1115.
- [8] Indhu Meena L, Rajeswari E, Ahiladevi P, et al. Antifungal potential of *Streptomyces rameus* GgS 48 against mungbean root rot [*Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler] [J]. *Journal of Biosciences*, 2022, 47: 10. <https://doi.org/10.1007/s12038-021-00244-5>
- [9] 韦坤逢, 王丽, 李灿灿, 等. 辣椒根际链霉菌 WKFF34 的分离鉴定及拮抗作用[J]. *江西农业大学学报*, 2018, 40(1): 78-88.
- [10] 魏伟, 曾诗瑶, 尹力, 等. 近 40 年海南岛国土空间格局演化的生态效应及其影响因素[J]. *生态学报*, 2024, 44(12): 5083-5101.
- [11] 杨鹭, 袁源, 方志锴, 等. 一株链霉菌的鉴定及其产格尔德霉素的发酵工艺研究[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(6): 299-309.
- [12] 陈乙煌, 吴一铮, 冉松, 等. 胡杨根际土壤来源放线菌分离及其拮抗活性筛选[J]. *生物资源*, 2024, 46(3): 231-237.
- [13] 李桂花, 谭琳, 沈程文, 等. 茶树根腐病拮抗放线菌分离、鉴定及生防潜能研究[J]. *植物保护*, 2024, 50(5): 87-96.
- [14] 张晶, 钱玉婷, 曲萍, 等. 秸秆降解放线菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *中国农业大学学报*, 2023, 28(12): 75-83. <https://doi.org/10.11841/j.issn.1007-4333.2023>

- 12.07
- [15] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [16] 杨琳, 闫向楠, 王兰英, 等. 一株放线菌 SW20 防病促生效应研究[J]. 江西农业大学学报, 2023, 45(1): 69–77.
- [17] 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.
- [18] 王兰英, 廖凤仙, 骆焱平. 九里香内生细菌 HBS-1 的鉴定及其对芒果采后病害的防效[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(1): 41–45. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-4440.2012.01.008>
- [19] 中华人民共和国农业部. 农药 田间药效试验准则 (一) 杀菌剂防治水稻纹枯病: GB/T 17980.20-2000 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [20] De Souza R F, Coelho R R R, Macrae A, et al. *Streptomyces lunalinharesii* sp. nov., a chitinolytic streptomycete isolated from cerrado soil in Brazil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, 58(Pt 12): 2774–2778.
- [21] 王兰英, 王琴, 骆焱平. 金黄垂直链霉菌 HN6 对香蕉的防病促生作用[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2015, 43(5): 163–167.
- [22] 王蕊, 王丽娟, 和桂青, 等. 7 株橡胶树胶孢炭疽菌拮抗放线菌的分离及拮抗活性初步评价[J]. 江西农业学报, 2022, 34(6): 81–85.
- [23] 周登博, 井涛, 起登凤, 等. 抗香蕉枯萎病菌的卢娜林瑞链霉菌的分离及防效鉴定[J]. 园艺学报, 2017, 44(4): 664–674.
- [24] 王晨光. 芒果可可毛色二孢对苯醚甲环唑、咪鲜胺的抗性研究[D]. 海口: 海南大学, 2022.
- [25] 何海永, 谭清群, 谢海呈, 等. 贵州水稻纹枯病菌 AG1-1A 融合群对己唑醇的敏感性[J]. 中国植保导刊, 2022, 42(3): 11–15. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-6820.2022.03.002>
- [26] 牟文君. 水稻纹枯病菌对噻呋酰胺的抗性风险评估及抗性机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [27] Kasuga K, Sasaki A, Matsuo T, et al. Heterologous production of kasugamycin, an aminoglycoside antibiotic from *Streptomyces kasugaensis*, in *Streptomyces lividans* and *Rhodococcus erythropolis* L-88 by constitutive expression of the biosynthetic gene cluster [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(10): 4259–4268. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8189-5>

Isolation, identification and antibacterial activity of biocontrol *Streptomyces* Q2-02

Xu Renwei[#], Yang Lin, He Yanyan, Wang Lanying*

(School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan, 571737, China)

Abstract: In order to understand the anti-actinomycetes with biocontrol value isolated and screened from the soil in Hainan Island, actinomycetes were isolated from six soil samples from different regions of Hainan by using a gradient dilution method, and the actinomycete strains were screened by using the confrontation culture method and identified based on their morphology, physiological and biochemical characteristics and molecular biology methods. The potential application value of the active strains was determined by fruit soaking method and pot experiment. A total of 285 actinomycete strains were isolated from the soil samples, and the strain Q2-02 had the highest antibacterial activity. Its inhibition rates of *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizoctonia solani* were 92.8%, 90.0% and 88.2%, respectively, and the inhibition rates of the other six pathogens were also more than 60.0%. The identification of this strain showed that the strain Q2-02 was *Streptomyces lunalinharesii*. The pot experiments showed that the control effect of the 10-fold dilution of the fermented supernatant of the strain on mango stem end rot and rice sheath blight was significantly higher than that of the positive control 45% thiophandazim suspension diluted 800 times and 10% validacin aqueous solution diluted 1000 times, indicating that the strain Q2-02 has the value of further development and application.

Keywords: Agricultural activity; strain identification; *Streptomyces lunalinharesii*

(责任编辑: 潘学峰)