

## 研究报告

## 利迪链霉菌 M01 对番茄生长、青枯病发病率及根际细菌群落组成的影响

李志丹<sup>#1</sup>, 黄奇<sup>#2</sup>, 林剡<sup>3</sup>, 陈浩<sup>4</sup>, 薛健<sup>1</sup>, 雷鹏<sup>4</sup>, 王瑞<sup>4</sup>, 李莎<sup>4</sup>, 徐虹<sup>4</sup>, 谷益安<sup>\*4</sup>

1 南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏 南京 211816

2 湖州市农业科技发展中心, 浙江 湖州 313000

3 雷州市农业技术推广中心, 广东 雷州 524200

4 南京工业大学食品与轻工学院, 江苏 南京 211816

李志丹, 黄奇, 林剡, 陈浩, 薛健, 雷鹏, 王瑞, 李莎, 徐虹, 谷益安. 利迪链霉菌 M01 对番茄生长、青枯病发病率及根际细菌群落组成的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2508-2518.

LI Zhidan, HUANG Qi, LIN Gui, CHEN Hao, XUE Jian, LEI Peng, WANG Rui, LI Sha, XU Hong, GU Yian. Effects of *Streptomyces lydicus* M01 on growth, bacterial wilt incidence, and rhizosphere bacterial community composition of tomatoes[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2508-2518.

**摘要:** 【背景】利迪链霉菌(*Streptomyces lydicus*)对多种作物均有较好的促生效果, 且对病原真菌具有广谱抑制作用, 但该菌对细菌性青枯病的防控研究较少。【目的】探究利迪链霉菌 M01 能否促进番茄生长并抑制番茄青枯病, 以及 M01 对番茄生长的影响是否通过影响根际细菌群落结构实现。【方法】采用温室盆栽试验和扩增子高通量测序技术研究 M01 对番茄生长、青枯病发病率及根际细菌群落组成的影响。【结果】施用利迪链霉菌 M01 的番茄植株鲜重、干重、株高、用土壤与作物分析开发(soil and plant analyzer development, SPAD)方法测量的叶绿素浓度、根系活力和植株 P 含量比对照分别提高了 22.7%、12.5%、16.0%、28.1%、18.4%和 17.9%, 其中对株高、SPAD 值和植株磷含量影响显著( $P<0.05$ )。M01 处理延缓了番茄青枯病的发病时间, 接种 9 周后发病率比对照降低了 41.8%。此外, M01 对番茄根际细菌群落无显著影响(门水平群落组成,  $P=0.4$ ; 属水平群落组成,  $P=0.4$ )。【结论】利迪链霉菌 M01 可促进番茄植株生长并抑制番茄青枯病, 利迪链霉

资助项目: 国家自然科学基金(42177271); 江苏省重点研发计划(BE2019390); 中国博士后科学基金(2022M711604); 国家级大学生创新创业计划项目(202210291008Z)

<sup>#</sup>对本文贡献相同

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42177271), the Key Research and Development Program of Jiangsu Province (BE2019390), the Postdoctoral Research Foundation of China (2022M11604), and the National Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (202210291008Z).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: yian.gu@hotmail.com

Received: 2022-09-03; Accepted: 2022-11-03; Published online: 2022-12-20

菌 M01 对番茄生长的影响并非通过调控根际细菌群落实现。

关键词: 利迪链霉菌; 番茄; 青枯病; 根际细菌群落组成

## Effects of *Streptomyces lydicus* M01 on growth, bacterial wilt incidence, and rhizosphere bacterial community composition of tomatoes

LI Zhidan<sup>#1</sup>, HUANG Qi<sup>#2</sup>, LIN Gui<sup>3</sup>, CHEN Hao<sup>4</sup>, XUE Jian<sup>1</sup>, LEI Peng<sup>4</sup>,  
WANG Rui<sup>4</sup>, LI Sha<sup>4</sup>, XU Hong<sup>4</sup>, GU Yian<sup>\*4</sup>

1 College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

2 Huzhou Agricultural Science and Technology Development Center, Huzhou 313000, Zhejiang, China

3 Leizhou Agricultural Technology Popularization Center, Leizhou 524200, Guangdong, China

4 College of Food Science and Light Industry, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

**Abstract:** [Background] *Streptomyces lydicus* can efficiently promote the growth of many crops and inhibit many pathogenic fungi. However, there are few studies on the biocontrol effects of *S. lydicus* on bacterial wilt disease. [Objective] To explore whether *S. lydicus* M01 can promote tomato growth and inhibit tomato bacterial wilt disease and whether the effect of *S. lydicus* M01 on tomato growth is achieved by affecting the bacterial community structure in the rhizosphere. [Methods] The effects of *S. lydicus* M01 on plant growth, bacterial wilt incidence, and rhizosphere bacterial community composition of tomatoes were explored by the greenhouse pot experiments and high-throughput amplicon sequencing. [Results] Compared with the control, *S. lydicus* M01 increased fresh weight, dry weight, plant height, chlorophyll concentrations measured using soil and plant analyzer development methods, root vigor, and P content of tomato plants by 22.7%, 12.5%, 16.0%, 28.1%, 18.4%, and 17.9%, respectively. *S. lydicus* M01 significantly increased plant height, SPAD value, and P content of tomato plants ( $P < 0.05$ ). *S. lydicus* M01 delayed the onset time of bacterial wilt and decreased bacterial wilt incidence by 41.8% at 9 weeks after pathogen inoculation. Additionally, *S. lydicus* M01 had no significant effects on rhizosphere bacterial community composition ( $P = 0.4$  for microbiome composition at the phylum level and  $P = 0.4$  for microbiome composition at the genus level). [Conclusion] *S. lydicus* M01 can promote plant growth of tomatoes and suppress bacterial wilt of tomatoes, and these effects are not achieved by regulating rhizosphere bacterial community composition.

**Keywords:** *Streptomyces lydicus*; tomatoes; bacterial wilt; rhizosphere bacterial community composition

化肥和农药是保障农作物产量的重要生产资料,但是我国种植业普遍存在化肥、农药过量施用的现象,设施蔬菜种植业尤甚。过量化肥和

农药施用导致一系列负面问题,例如土壤酸化、土壤生物活性降低、农药残留和环境污染等<sup>[1-2]</sup>。在保障作物产量的前提下实现“肥药双减”是促

进农业高效绿色发展的重要途径。根际是植物与微生物互作的主要场所,植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是一类定殖于植物根际并促进植物生长、协助作物抵抗病害或非生物胁迫的微生物<sup>[3]</sup>。PGPR 菌剂符合绿色、可持续的农业发展理念,因而受到越来越多的关注,利用 PGPR 菌剂部分替代农药和化肥已成为世界范围内的研究热点<sup>[4-6]</sup>。

番茄是广受人们喜爱的果蔬,其产量在我国设施蔬菜中高居首位<sup>[7]</sup>。设施番茄常出现产量锐减和土传病害暴发。例如青枯病就是一种常见的番茄土传病害,其致病菌为青枯劳尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)。该病菌可在土壤和灌溉水中潜伏数年之久,继而入侵番茄根际,通过根部自然孔口或机械损伤进入植株内部,并在植物导管中大量扩繁同时释放毒性因子,最终引起植物萎蔫和死亡<sup>[8-9]</sup>。青枯菌可伴随死亡植株进入土壤并完成下一轮侵染循环。研究表明施用 PGPR 菌剂可有效防控番茄青枯病并促进番茄生长和产量提升<sup>[10-12]</sup>。

利迪链霉菌(*Streptomyces lydicus*)属于放线菌门放线菌纲链霉菌目链霉菌科链霉菌属,作为一种重要的植物根际促生菌,对西瓜、豌豆、棉花和玉米等作物均有较好的促生效果<sup>[13-14]</sup>,且对镰刀菌(*Fusarium*)、腐霉菌(*Phytophthora*)和丝核菌(*Rhizoctonia*)等病原真菌具有良好的抑制作用<sup>[13-14]</sup>。与假单胞菌等革兰氏阴性菌菌剂相比,*S. lydicus* 可利用碳源种类广泛,易于在土壤和植物根际定殖,大部分类群可产生抗逆性的分生孢子,有利于抵抗不良环境的胁迫<sup>[15-16]</sup>,另外其代谢产物对植物病原菌具有广谱抑制作用<sup>[14,17]</sup>,因此展示出良好的应用前景,但目前国内未见 *S. lydicus* 微生物肥料和微生物农药的产品登记。我们前期利用 PDA 培养基从南京老山森林(30°11'N, 118°62'E)豆梨根际土壤样品中筛选到

了 *S. lydicus* M01, 并发现其可提高黄瓜植株鲜重 49.7%, 对黑斑病防效达 65.3%<sup>[18]</sup>, 此外该菌具有调控土壤微生物群落结构的潜能。

以往研究表明放线菌对植物病原真菌具有广谱抑制作用<sup>[14,17,19]</sup>, 近期研究发现放线菌同样对青枯病具有较好防效<sup>[20-21]</sup>, 但相关报道仍较为缺乏。我们前期研究发现 M01 能抑制链格孢真菌, 尚不清楚其是否可抑制植物细菌病害<sup>[18]</sup>。因此本研究以番茄-青枯劳尔氏菌作为寄主-病原菌模型, 利用盆栽试验探究利迪链霉菌(*S. lydicus*) M01 是否可以促进番茄生长、降低番茄青枯病发病率及其对番茄根际细菌群落组成的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

利迪链霉菌(*S. lydicus*) M01<sup>[18]</sup>筛自豆梨根际; 青枯劳尔氏菌(*R. solanacearum*) QL-Rs1115 筛自番茄根际, 该菌经柯赫氏法则确定为番茄青枯病致病菌<sup>[22]</sup>。

供试番茄品种: 合作 903, 购买于江苏省种子子公司。

ISP2 培养基(g/L)<sup>[18]</sup>: 葡萄糖 20.0, 可溶性淀粉 10.0, 酵母提取物 10.0, 蛋白胨 5.0, 硫酸铵 2.5, 七水合硫酸镁 1.5, 磷酸二氢钾 0.3, 氯化钠 5.0, 碳酸钙 4.0, pH 6.5-7.0; 改良 NA 培养基(g/L)<sup>[23]</sup>: 葡萄糖 10.0, 酵母提取物 0.5, 牛肉膏 3.0, 蛋白胨 5.0, pH 7.3±0.1。

供试土壤: 采自南京工业大学江浦校区(32°06'N, 118°39'E), 自然风干后过 10 目筛。

PowerSoil DNA 提取试剂盒, Qiagen 有限公司。紫外可见分光光度计, 上海 INESA 有限公司; 叶绿素仪, Konica Minolta 控股公司; NanoDrop One/One C 微量核酸仪, Thermo Fisher 科技公司。

## 1.2 菌液制备

将利迪链霉菌(*S. lydicus*) M01 接种至装有 ISP2 培养基的挡板摇瓶中, 30 °C、170 r/min 条件下培养 5 d, 随后将菌液 8 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清并用无菌生理盐水清洗 3 次, 根据吸光度( $OD_{600}$ )将菌液稀释到适当浓度。

*R. solanacearum* QL-Rs1115 为番茄青枯病致病菌。将 *R. solanacearum* QL-Rs1115 接种于 NA 培养基中, 30 °C、170 r/min 培养 36 h, 随后将菌液 8 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清并用无菌生理盐水清洗 3 次, 根据吸光度( $OD_{600}$ )将菌液稀释到适当浓度。

## 1.3 盆钵设置

供试土壤化学性质为: pH 6.8, 有机质 22.1 mg/kg, 速效磷 128.9 mg/kg, 速效钾 432.9 mg/kg, 总氮 1.76 g/kg。过筛土壤加入 0.01% 史丹利三安复合肥及 1% 营养基质(芽美佳, 江苏淮安)作为基肥。将加入基肥的土壤转移到盆钵中, 每个盆钵装 1.1 kg 土壤。

## 1.4 番茄促生试验

将表面消毒(75%乙醇浸泡 1 min, 1%次氯酸钠浸泡 5 min, 然后用无菌水清洗 4 次)并在暗条件下 30 °C 催芽 2 d 的番茄种子(合作 903)播种到 1.3 中的盆钵, 每个盆钵 6 粒种子, 7 d 后每个盆钵仅保留长势相似的 3 株番茄幼苗, 同时加入 50 mL 的 *S. lydicus* M01 菌液使土壤终浓度为  $5 \times 10^6$  CFU/g, 菌剂浓度参考以往报道<sup>[24-25]</sup>, 对照组仅添加等量无菌水。每个处理 3 个重复, 每个重复 3 个盆钵。所有盆钵均置于(28±3) °C 的日光温室中, 各盆钵随机排列。播种 7 周后收集根际土样(-80 °C 保存)并分别测定植株株高、鲜重和干重, SPAD 值通过叶绿素仪测定, 根系活力和植株磷含量分别采用 TTC 法<sup>[26]</sup>和钼锑抗比色法<sup>[27]</sup>检测。

## 1.5 青枯病菌防控试验

采用牛津杯法检测 *S. lydicus* M01 发酵液对

青枯菌生长的影响。通过盆栽试验测定菌株 M01 对番茄青枯病的防控效果, 将表面消毒(方法同 1.4)并在暗条件下 30 °C 催芽 2 d 的番茄种子播种到 1.3 中的盆钵, 每个盆钵 2 粒种子, 7 d 后各盆钵仅保留长势相似的 1 株番茄幼苗同时根部灌菌。共设置 3 个处理: (1) 青枯菌处理, 加入终浓度为  $2 \times 10^6$  CFU/g 土壤的 *R. solanacearum* QL-Rs1115 菌液; (2) 青枯菌+M01 处理, 同时加入终浓度为  $2 \times 10^6$  CFU/g 土壤的 *R. solanacearum* QL-Rs1115 菌液及终浓度为  $5 \times 10^6$  CFU/g 土壤的 *S. lydicus* M01 菌液; (3) 对照, 仅添加等量无菌水。每个处理 3 个重复, 每个重复 6 个盆钵。所有盆钵均置于(28±3) °C 的日光温室中。每周记录植株发病情况并计算发病率。病害分级调查标准: 0: 无萎焉; 1: 1%–25%叶面积萎焉; 2: 26%–50%叶面积萎焉; 3: 51%–75%叶面积萎焉; 4: 76%–100%叶面积萎焉或死亡。发病率(%)=[ $\sum$ (病级数值×该病级植株数)/(最高级数×调查植株数)]×100。

## 1.6 土壤 DNA 提取及高通量测序

利用 PowerSoil DNA 提取试剂盒提取 1.4 中采集的番茄根际土壤 DNA, 操作步骤按照产品说明书。提取的 DNA 浓度和质量采用 NanoDrop One/One C 微量核酸仪测定。采用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')对 16S rRNA 基因 V4–V5 区进行扩增, PCR 反应体系和反应条件详见参考文献[28]。PCR 扩增片段委托上海派森诺生物科技有限公司进行 Novaseq-PE250 测序。测序数据降噪采用 UPARSE 标准操作流程<sup>[29]</sup>, 将同一样品的双向序列进行拼接, 滤除低质量碱基及过短片段, 然后使用 UNOISE 将序列按 100%相似性指派为 zero-radius OTU (zOTU)<sup>[30]</sup>。zOTU 分类地位通过比对 RDP 数据库获得<sup>[31]</sup>。

## 1.7 数据分析

利用独立样本 *t* 检验分析对照和处理间植株生长指标差异显著性(SPSS 21.0 软件)。利用主成分分析(principal component analysis, PCA)和 Adonis 方法(R 语言, vegan 包)分析处理间根际细菌群落组成差异。*S. lydicus* M01 对番茄根际主要细菌门和属相对丰度的影响采用 STAMP 进行显著性分析<sup>[32]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 番茄生长对 *Streptomyces lydicus* M01 的响应

与无菌水对照相比, *S. lydicus* M01 可明显

促进番茄生长, 鲜重、干重、株高、SPAD 值、根系活力和植株 P 含量分别提高了 22.7%、12.5%、16.0%、28.1%、18.4%和 17.9% (表 1), 其中对株高、SPAD 值和植株磷含量促进作用显著( $P<0.05$ )。

### 2.2 番茄青枯病对 *Streptomyces lydicus* M01 的响应

平板试验表明菌株 M01 发酵液对青枯菌具有明显抑制作用(图 1A)。盆栽试验中, 无菌水对照在整个番茄生长季未出现青枯症状(图 1B)。青枯菌处理发病率动态呈“S”型, 在接种后第 4 周即出现发病症状, 而后发病率呈指数增长, 接种后第 8 周发病率趋于平稳。*S. lydicus* M01 推迟

表 1 利迪链霉菌 M01 对番茄植株生长的影响

Table 1 The effects of *Streptomyces lydicus* M01 on growth of tomato plants

处理	鲜重	干重	株高	SPAD 值	根系活力	植株磷含量
Treatment	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Plant height (m)	SPAD value	Root vigour ( $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ )	Plant P content (%)
对照 Control	5.15 $\pm$ 0.57a	0.48 $\pm$ 0.04a	0.25 $\pm$ 0.04b	30.40 $\pm$ 2.60b	4.67 $\pm$ 0.76a	0.28 $\pm$ 0.01b
M01 处理	6.32 $\pm$ 0.91a	0.54 $\pm$ 0.04a	0.29 $\pm$ 0.04a	38.93 $\pm$ 3.23 a	5.53 $\pm$ 1.01a	0.33 $\pm$ 0.02a

M01 treatment

不同小写字母代表差异显著

Different lowercase letters represent significant difference.

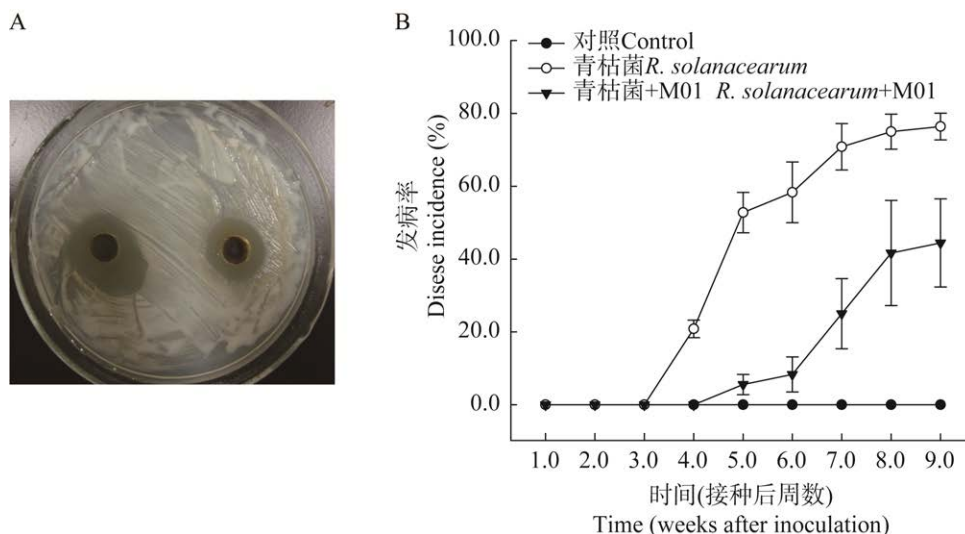


图 1 利迪链霉菌 M01 对青枯菌生长及番茄青枯病发病率的影响

Figure 1 The effects of *Streptomyces lydicus* M01 on *Ralstonia solanacearum* and bacterial wilt incidence of tomato.

了发病症状首次出现时间, 青枯菌接种后第 5 周才出现发病症状。与青枯菌处理相比, 施用 *S. lydicus* M01 在第 5–9 周分别使发病率降低了 89.5%、85.7%、64.7%、44.4%和 41.8%。

### 2.3 番茄根际细菌群落组成对 *Streptomyces lydicus* M01 的响应

前期研究发现 *S. lydicus* M01 可改变黄瓜土壤细菌群落组成<sup>[18]</sup>。为探究 *S. lydicus* M01 是否通过调控番茄根际细菌群落促进番茄生长和抗病, 采用扩增子高通量测序技术检测 *S. lydicus* M01 对门水平细菌群落组成无显著影响(Adonis,  $P=0.4$ , 图 2A), 但 *S. lydicus* M01 处理明显提高了番茄根际细菌群落的变异程度。

番茄根际主要细菌门包括 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes*、*Acidobacteria*、*Gemmatimonadetes* 和 *Bacteroidetes*, 但 *S. lydicus* M01 对上述细菌门的相对丰度均无显著影响(图 2B)。

进一步分析了属水平细菌群落组成, 主成分分析双轴解释了 99.6%细菌群落组成的变异, *S. lydicus* M01 对属水平细菌群落组成无显著影响(Adonis,  $P=0.4$ , 图 3A)。番茄根际主要细菌属包括 *Pseudomonas*、*Flavisolibacter*、*Luteimonas*、*Sphingomonas*、*Acinetobacter*、*Bacillus* 和 *Ralstonia* 等, *S. lydicus* M01 对上述细菌属的相对丰度均无显著影响(图 3B)。

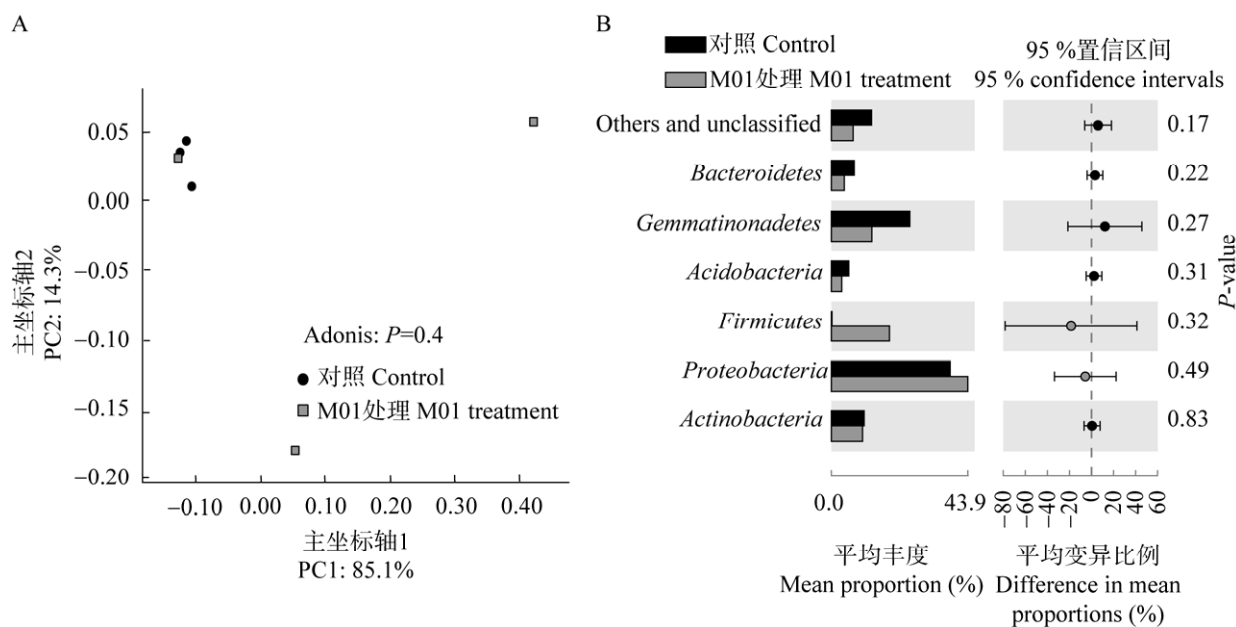


图 2 利迪链霉菌 M01 对番茄根际门水平细菌群落组成的影响 A: 利迪链霉菌 M01 对番茄根际门水平细菌群落组成的主成分分析图. B: 利迪链霉菌 M01 对番茄根际细菌门相对丰度的影响

Figure 2 The effects of *Streptomyces lydicus* M01 on rhizosphere bacterial community composition of tomato at phylum level. A: PCA analysis chart of bacterial community composition in tomato rhizosphere phylum level by *Streptomyces lydicus* M01. B: Effect of *Streptomyces lydicus* M01 on relative abundance in tomato rhizosphere phylum level.

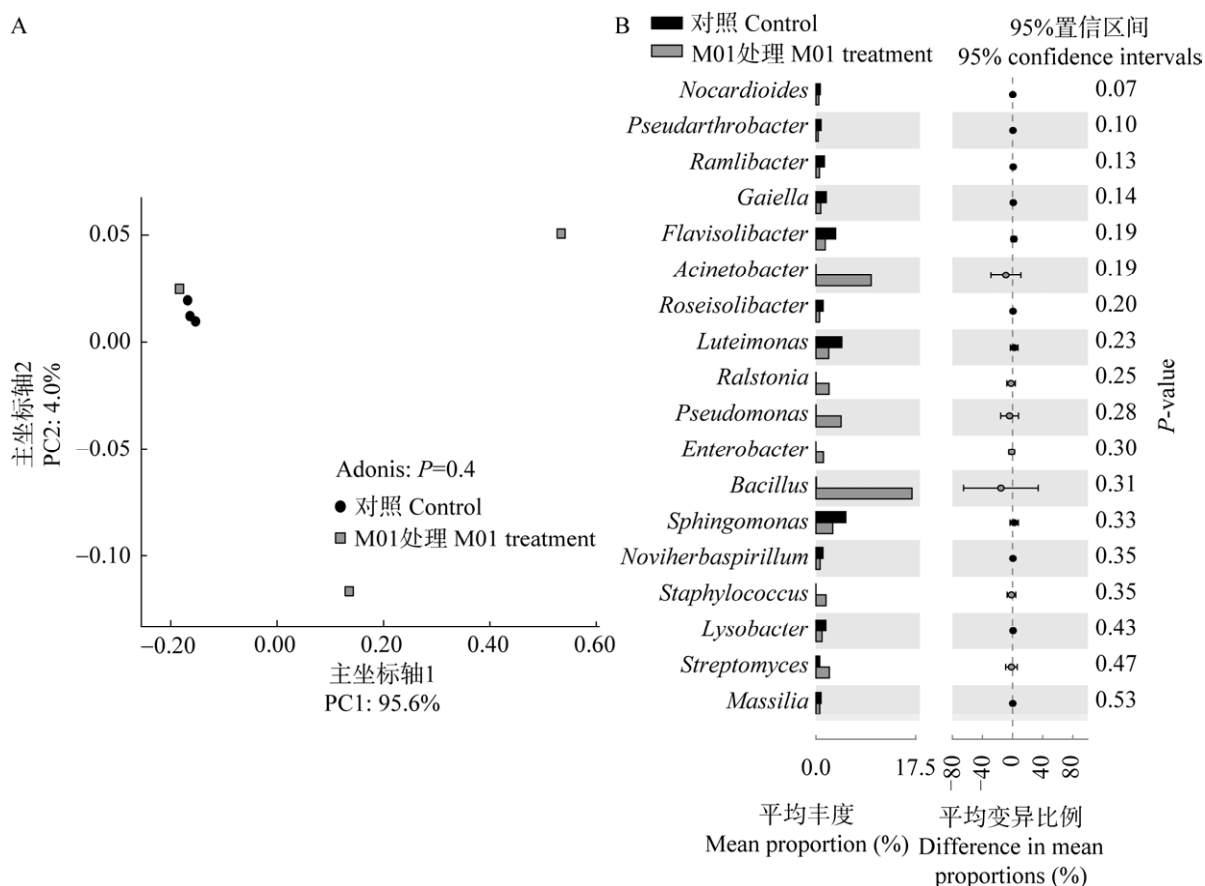


图3 利迪链霉菌 M01 对番茄根际属水平细菌群落组成的影响 A: 利迪链霉菌 M01 对番茄根际属水平细菌群落组成的主成分分析图. B: 利迪链霉菌 M01 对番茄根际细菌属相对丰度的影响

Figure 3 The effects of *Streptomyces lydicus* M01 on rhizosphere bacterial community composition of tomato at genus level. A: PCA analysis chart of bacterial community composition in tomato rhizosphere genus level by *Streptomyces lydicus* M01. B: Effect of *Streptomyces lydicus* M01 on relative abundance in tomato rhizosphere genus level.

### 3 讨论与结论

与贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) JTB8-2、巨大芽孢杆菌 (*Bacillus Megaterium*) HT517 和胶质类芽孢杆菌 (*Paenibacillus mucilaginosus*) PM12<sup>[33-34]</sup> 这些菌剂相比, *S. lydicus* M01 不仅可以显著提高番茄株高和植株磷含量, 还可以增加植株 SPAD 值。 *S. lydicus* M01 具有 1-氨基环丙烷 -1- 羧酸 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC) 脱氨酶活性<sup>[18]</sup>, ACC 脱氨酶可增加根际土壤中的 N 源<sup>[35]</sup>, 而叶片叶绿素含量与含 N 量成

正比<sup>[36]</sup>, 因此 *S. lydicus* M01 可能通过 ACC 脱氨酶提高叶片 SPAD 值。 *S. lydicus* M01 具有溶磷能力<sup>[18]</sup>, 因此可提高番茄植株的磷含量。

本研究中, *S. lydicus* M01 可较好地抑制青枯菌的生长并有效降低番茄青枯病发病率。利迪链霉菌能分泌多种抗菌物质。例如, *S. lydicus* NRRL2433 分泌的利迪链霉素具有广谱抗菌作用<sup>[37]</sup>, *S. lydicus* A02 分泌的纳他霉素可拮抗番茄灰霉病菌<sup>[38]</sup>, *S. lydicus* 15748 可分泌抗大肠杆菌的苹果酸氧霉素<sup>[39]</sup>; 此外, *S. lydicus* WYEC108 分泌的几丁质酶可破坏真菌细胞壁结

构<sup>[40]</sup>。然而, *S. lydicus* M01 拮抗青枯菌的活性物质仍需进一步研究。

微生物群落结构与土壤肥力和植物健康密切相关<sup>[41-42]</sup>。土壤微生物可通过提高土壤养分有效性、分泌生长素或抗菌活性物质等途径促进植物生长和抗病<sup>[43-44]</sup>。高通量测序结果发现番茄根际细菌群落主要由 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes*、*Acidobacteria*、*Gemmatimonadetes*、*Bacteroidetes* 等细菌门和 *Pseudomonas*、*Flavisolibacter*、*Luteimonas*、*Sphingomonas* 等细菌属组成, 这与以往研究结果<sup>[45-46]</sup>类似。添加 *S. lydicus* M01 对番茄根际细菌群落结构无显著影响, 表明 *S. lydicus* M01 对番茄的促生和抗病作用并非通过调控番茄根际细菌群落组成实现, 同时也表明 *S. lydicus* M01 对土壤微生物的生态风险较小。*S. lydicus* M01 可改变黄瓜土壤细菌群落组成<sup>[18]</sup>, 这与本研究结果不同, 可能是由于 *S. lydicus* M01 对黄瓜土壤细菌群落的影响是由黄瓜介导的<sup>[28]</sup>, 而 *S. lydicus* M01 无法通过影响番茄植株改变根际细菌群落结构。另外, 高通量测序结果发现施用 *S. lydicus* M01 并未影响青枯菌所在 *Ralstonia* 的丰度, 因此除直接抑制病原菌外, *S. lydicus* M01 还可能通过某些间接途径降低青枯病发病率。例如, *S. lydicus* M01 可能与青枯菌竞争根际空间从而阻碍青枯菌根际定殖, 进而降低青枯病发病率<sup>[4]</sup>。因此, 后续可以探究 *S. lydicus* M01 抑制病原菌的具体途径。

## REFERENCES

- [1] GUO JH, LIU XJ, ZHANG Y, SHEN JL, HAN WX, ZHANG WF, CHRISTIE P, GOULDING KWT, VITOUSEK PM, ZHANG FS. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [2] 刘鑫, 王蕾, 胡飞龙, 马月, 于赐刚, 卢晓强, 刘立, 郑苏平. 《生物多样性公约》下有关农药化肥减量要求及我国的对策建议[J]. 生态与农村环境学报, 2021, 37(9): 1129-1136.
- [3] LIU X, WANG L, HU FL, MA Y, YU CG, LU XQ, LIU L, ZHENG SP. Requirements for reduction of pesticides and fertilizers under the convention on biological diversity and the countermeasure suggestions for China[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2021, 37(9): 1129-1136 (in Chinese).
- [4] NADEEM SM, AHMAD M, ZAHIR ZA, JAVAID A, ASHRAF M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments[J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(2): 429-448.
- [5] TAN S, GU Y, YANG C, DONG Y, MEI X, SHEN Q, XU Y. *Bacillus amyloliquefaciens* T-5 may prevent *Ralstonia solanacearum* infection through competitive exclusion[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 52(3): 341-351.
- [6] SUN L, CHENG L, MA YH, LEI P, WANG R, GU YA, LI S, ZHANG FH, XU H. Exopolysaccharides from *Pantoea alhagi* NX-11 specifically improve its root colonization and rice salt resistance[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209(Pt A): 396-404.
- [7] MATILLA MA, RAMOS JL, BAKKER PAHM, DOORNBOS R, BADRI DV, VIVANCO JM, RAMOS-GONZ MI. *Pseudomonas putida* KT2440 causes induced systemic resistance and changes in *Arabidopsis* root exudation[J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(3): 381-388.
- [8] 李乐, 田敏娇, 高艳明, 李建设. 硒肥对基质培番茄生长和矿质元素积累的影响[J]. 浙江农业学报, 2020, 32(2): 253-261.
- [9] LI L, TIAN MJ, GAO YM, LI JS. Effect of selenium fertilizer on growth and mineral element accumulation of tomato in substrate culture[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2020, 32(2): 253-261 (in Chinese).
- [10] DALSING BL, TRUCHON AN, GONZALEZ-ORTA ET, MILLING AS, ALLEN C. *Ralstonia solanacearum* uses inorganic nitrogen metabolism for virulence, ATP production, and detoxification in the oxygen-limited host xylem environment[J]. mBio, 2015, 6(2): e02471.
- [11] 谷益安, 孙晨, 陈嘉欣, 刘雪, 董珂. 添加葡萄糖和胞外多糖条件下土壤细菌多样性与青枯病病原菌入侵关

- 系研究[J]. 土壤通报, 2020, 51(1): 115-121.
- GU YA, SUN C, CHEN JX, LIU X, DONG K. Relationships between bacterial diversities and *Ralstonia solanacearum* invasion as affected by addition of glucose and extracellular polysaccharide[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2020, 51(1): 115-121 (in Chinese).
- [10] GU Y, HOU Y, HUANG D, HAO Z, WANG X, WEI Z, JOUSSET A, TAN S, XU D, SHEN Q, XU Y, FRIMAN VP. Application of biochar reduces *Ralstonia solanacearum* infection via effects on pathogen chemotaxis, swarming motility, and root exudate adsorption[J]. Plant and Soil, 2016, 415(1-2): 269-281.
- [11] HUANG J, WEI Z, HU J, YANG C, GU Y A, MEI X, SHEN Q, XU Y, RIAZ K. *Chryseobacterium nankingense* sp. nov. WR21 effectively suppresses *Ralstonia solanacearum* growth via intensive root exudates competition[J]. BioControl, 2017, 62(4): 567-577.
- [12] 周岗泉, 张秀冬, 刘琼光, 冯杭. 抗感青枯病番茄的内生细菌数量动态分析及其对青枯病的生物防治[J]. 微生物学通报, 2007, 34(5): 885-888.
- ZHOU GQ, ZHANG XD, LIU QG, FENG H. The dynamic of endophytic bacteria at different growth stage of tomato and biological control of tomato bacterial wilt[J]. Microbiology China, 2007, 34(5): 885-888 (in Chinese).
- [13] YUAN WM, CRAWFORD DL. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(8): 3119-3128.
- [14] 孙洪宝, 李茂营, 吴慧玲, 郭绍贵, 张洁, 任毅, 张海英, 宫国义, 许勇. 生防菌链霉菌对西瓜枯萎病防治及幼苗生长的影响[J]. 科学技术与工程, 2020, 20(13): 5074-5079.
- SUN HB, LI MY, WU HL, GUO SG, ZHANG J, REN Y, ZHANG HY, GONG GY, XU Y. Biocontrol and plant growth promoting effects of *Streptomyces* against *Fusarium* wilt in watermelon[J]. Science Technology and Engineering, 2020, 20(13): 5074-5079 (in Chinese).
- [15] 云天艳. 抗香蕉枯萎病内生放线菌的分离鉴定及链霉菌 5-4 抑菌机制研究[D]. 海口: 海南大学博士学位论文, 2020.
- YUN TY. Isolation and identification of endophytic actinomycetes resistant to banana *Fusarium* wilt and study on antimicrobial mechanism of *Streptomyces* 5-4[D]. Haikou: Doctoral Dissertation of Hainan University, 2020 (in Chinese).
- [16] 邢梦玉. 两株链霉菌对荔枝霜疫病的防病潜力和防病机理研究[D]. 广州: 华南农业大学博士学位论文, 2017.
- XING MY. Study on biocontrol potential and antifungal mechanism of *Streptomyces* TJGA-19 and BWL-H1 against *Litchi* downy blight[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of South China Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [17] 卢彩鸽, 刘伟成, 刘霆, 董丹, 张涛涛, 刘德文. 利迪链霉菌 A01 活性代谢产物对甘蓝枯萎病菌的抑制作用及其机理[J]. 中国农业科学, 2012, 45(18): 3764-3772.
- LU CG, LIU WC, LIU T, DONG D, ZHANG TT, LIU DW. The antifungal activity and action mechanism of metabolite produced by *Streptomyces lydicus* strain A01 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(18): 3764-3772 (in Chinese).
- [18] WANG MX, XUE J, MA JJ, FENG XH, YING HJ, XU H. *Streptomyces lydicus* M01 regulates soil microbial community and alleviates foliar disease caused by *Alternaria alternata* on cucumbers[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 942.
- [19] WIGGINS BE, KINKEL LL. Green manures and crop sequences influence potato diseases and pathogen inhibitory activity of indigenous streptomycetes[J]. Phytopathology, 2005, 95(2): 178-185.
- [20] LING L, HAN XY, LI X, ZHANG X, WANG H, ZHANG LD, CAO P, WU YT, WANG XJ, ZHAO JW, XIANG WS. A *Streptomyces* sp. NEAU-HV9: isolation, identification, and potential as a biocontrol agent against *Ralstonia solanacearum* of tomato plants[J]. Microorganisms, 2020, 8(3): 351.
- [21] BOUKAEW S, CHUENCHIT S, PETCHARAT V. Evaluation of *Streptomyces* spp. for biological control of *Sclerotium* root and stem rot and *Ralstonia* wilt of chili pepper[J]. BioControl, 2011, 56(3): 365-374.
- [22] WEI Z, YANG XM, YIN SX, SHEN QR, RAN W, XU YC. Efficacy of *Bacillus*-fortified organic fertiliser in controlling bacterial wilt of tomato in the field[J]. Applied Soil Ecology, 2011, 48(2): 152-159.
- [23] SHARMA D, SINGH Y. Characterization of *Ralstonia solanacearum* isolates using biochemical, cultural, molecular methods and pathogenicity tests[J]. Journal of

- Pharmacognosy and Phytochemistry, 2019, 8(4): 2884-2889.
- [24] BASHAN Y. Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plants[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1986, 18(3): 297-301.
- [25] AGADAGBA SK, BASH E, CHITTE R, DESHMUKH S, KANEKAR P, CHUTIPONGTANATE S. Isolation of actinomycetes from Soil [J]. Journal of Microbiology Research, 2014, 3(4): 136-140.
- [26] 周欢, 刘昌森, 周辰炎, 范良苗, 唐凡, 胡欣朦, 王佩玉, 徐建明, 杨文杰. 作物根系活力检测方法改进与优化[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(9): 191-194.
- ZHOU H, LIU CS, ZHOU CY, FAN LM, TANG F, HU XM, WANG PY, XU JM, YANG WJ. Improvement and optimization of crop root activity detection method[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(9): 191-194 (in Chinese).
- [27] 李朝英, 郑路. 流动分析仪同时快速测定植物全氮、全磷含量的方法改进[J]. 中国土壤与肥料, 2021, 2021(2): 336-342.
- LI ZY, ZHENG L. Improvement of simultaneous and rapid determination of total nitrogen and total phosphorus in plants by flow analyzer[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2021, 2021(2): 336-342 (in Chinese).
- [28] GU Y, WEI Z, WANG X, FRIMAN VP, HUANG J, WANG X, MEI X, XU Y, SHEN Q, JOUSSET A. Pathogen invasion indirectly changes the composition of soil microbiome via shifts in root exudation profile[J]. Biology and Fertility of Soils, 2016, 52(7): 997-1005.
- [29] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [30] EDGAR RC. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing[J]. bioRxiv, 2016, DOI: 10.1101/081257.
- [31] WANG Q, GARRITY GM, TIEDJE JM, COLE JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [32] PARKS DH, TYSON GW, HUGENHOLTZ P, BEIKO RG. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles[J]. Bioinformatics, 2014, 30(21): 3123-3124.
- [33] 何伟, 罗文芳, 周军辉, 许建军, 孙晓军. 贝莱斯芽孢杆菌 JTB8-2 对加工番茄促生作用及其安全性评价[J]. 新疆农业科学, 2022, 59(5): 1260-1269.
- HE W, LUO WF, ZHOU JH, XU JJ, SUN XX. Growth promoting effect and safety evaluation of *Bacillus velezensis* JTB8-2 on processed tomato[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2022, 59(5): 1260-1269 (in Chinese).
- [34] 杨威, 赵英男, 张敏硕, 毛晓曦, 李翔宇, 郭艳杰, 陶晔, 马理, 刘文菊, 李博文. 温室番茄施用菌剂的促生防病效应[J]. 河北农业大学学报, 2022, 45(4): 57-63.
- YANG W, ZHAO YN, ZHANG MS, MAO XX, LI XY, GUO YJ, TAO B, MA L, LIU WJ, LI BW. Effects of microbial agents on growth promotion and disease prevention in greenhouse tomato[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2022, 45(4): 57-63 (in Chinese).
- [35] DOBBELAERE S, VANDERLEYDEN J, OKON Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2003, 22(2): 107-149.
- [36] 周晓冬, 常义军, 吴洪生, 张富存, 朱红霞. 甘蓝型油菜开花期 SPAD 值、叶绿素含量与氮素含量叶位分布特点及其相互关系[J]. 土壤, 2011, 43(1): 148-151.
- ZHOU XD, CHANG YJ, WU HS, ZHANG FC, ZHU HX. Distribution of SPAD value, contents of chlorophyll and nitrogen of different type leaves and their relationship in flower of *Brassica napus*[J]. Soils, 2011, 43(1): 148-151 (in Chinese).
- [37] GÓMEZ C, OLANO C, PALOMINO-SCHÄTZLEIN M, PINEDA-LUCENA A, CARBAJO RJ, BRANA AF, MÉNDEZ C, SALAS JA. Novel compounds produced by *Streptomyces lydicus* NRRL 2433 engineered mutants altered in the biosynthesis of streptolydigin[J]. The Journal of Antibiotics, 2012, 65(7): 341-348.
- [38] 隋勤, 刘伟成, 卢彩鸽, 刘霆, 裘季燕, 刘学敏. 利迪链霉菌 A02 抗真菌活性产物的分离和结构鉴定[J]. 生物工程学报, 2009, 25(6): 840-846.
- SUI Q, LIU WC, LU CG, LIU T, QIU JY, LIU XM. Extraction and structural identification of the antifungal metabolite of *Streptomyces lydicus* A02[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 25(6): 840-846 (in Chinese).
- [39] TAKEUCHI M, INUKAI M, ENOKITA R, IWADO S, TAKAHASHI S, ARAI M. Malioxamycin, a new antibiotic with spheroplast-forming activity. I. Producing organism, fermentation, isolation and characterization[J].

- The Journal of Antibiotics, 1980, 33(11): 1213-1219.
- [40] MAHADEVAN B, CRAWFORD DL. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1997, 20(7): 489-493.
- [41] 纪程, 孙玉香, 孟圆, 刘耀斌, 徐聪, 张永春, 谷益安, 汪吉东. 稻麦轮作体系长期秸秆还田对土壤真菌群落结构及秸秆降解潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(4): 819-825.
- JI C, SUN YX, MENG Y, LIU YB, XU C, ZHANG YC, GU YA, WANG JD. Effects of long-term straw incorporation on soil fungal community structure and straw decomposition potential in a rice-wheat rotation system[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(4): 819-825 (in Chinese).
- [42] WEI Z, GU YA, FRIMAN VP, KOWALCHUK GA, XU YC, SHEN QR, JOUSSET A. Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health[J]. Science Advances, 2019, 5(9): eaaw0759.
- [43] PEREZ-JARAMILLO JE, MENDES R, RAAIJMAKERS JM. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions[J]. Plant Molecular Biology, 2016, 90(6): 635-644.
- [44] 张杨, 王甜甜, 孙玉涵, 胡官墨, 李荣, 俞萍, 沈其荣. 西瓜根际促生菌筛选及生物育苗基质研制[J]. 土壤学报, 2017, 54(3): 703-712.
- ZHANG Y, WANG TT, SUN YH, HU GM, LI R, YU P, SHEN QR. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria from watermelon and development of bio-nursery substrates[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, 54(3): 703-712 (in Chinese).
- [45] 沈宗专, 黄炎, 操一凡, 王东升, 刘红军, 李荣, 沈其荣. 健康与罹患青枯病的番茄土壤细菌群落特征比较[J]. 土壤, 2021, 53(1): 5-12.
- SHEN ZZ, HUANG Y, CAO YF, WANG DS, LIU HJ, LI R, SHEN QR. Comparison of bacterial communities in bulk and rhizosphere soils of healthy and diseased tomato infected by bacterial wilt[J]. Soils, 2021, 53(1): 5-12 (in Chinese).
- [46] GU Y, DONG K, GEISEN S, YANG W, YAN Y, GU D, LIU N, BORISJUK N, LUO Y, FRIMAN VP. The effect of microbial inoculant origin on the rhizosphere bacterial community composition and plant growth-promotion[J]. Plant and Soil, 2020, 452(1): 105-117.