

芒果蒂腐病拮抗菌的筛选、鉴定及生防机理研究

樊佳烨¹, 郭雪松², 田丽波², 商 桑^{1*}

1. 海南大学生命健康学院, 海南海口 570228; 2. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228

摘 要: 为丰富芒果蒂腐病拮抗菌资源, 寻找替代化学杀菌剂的无毒无污染的采后防治方法, 以可可球二孢菌 (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) 和拟茎点霉菌 (*Phomopsis mangiferae* Ahmad) 为指示菌, 使用平板稀释法、双重培养法从芒果树根际土壤中分离筛选出对蒂腐病菌有拮抗作用的放线菌, 并明确其分类地位, 测试活体防效, 初步探究其抑菌机理。结果表明: 筛选到对可可球二孢菌和拟茎点霉菌均有抑菌效果、遗传稳定性良好的拮抗菌 A2、B85、D16, 且对芒果胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、芒果拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis mangiferae*)、芒果链格孢 (*Alternaria alternata*)、番茄灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 均有抑制效果, 抑菌谱广。活体试验中, 接种后第 3 天, 拮抗菌株 A2、B85、D16 处理的果实病斑直径 (分别为 8.58、8.50、7.83 mm) 和咪鲜胺处理 (6.33 mm) 无显著差异, 但均显著低于对照 (20.58 mm)。经形态特征、培养特征、生理生化特征和分子鉴定将菌株 A2、B85 鉴定为马来西亚链霉菌 (*Streptomyces malaysiensis*), D16 为利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*)。菌株 A2、B85、D16 通过产生具有抑菌效果的活性物质, 抑制可可球二孢菌孢子萌发、营养竞争, 提高果实超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性来抑制蒂腐病的发生, 其中 D16 菌株还可产生具有抑菌效果的挥发性有机化合物来抑制蒂腐病的发生。研究表明这 3 个菌株均对蒂腐病菌有一定的拮抗作用, 可进一步深入研究。

关键词: 芒果蒂腐病; 拮抗放线菌; 筛选; 鉴定; 抑菌机理

中图分类号: S436.67; S476 文献标志码: A

Screening, Identification and Biocontrol Mechanism of Antagonistic Actinomycetes of Mango Stem-end Rot

FAN Jiaye¹, GUO Xuesong², TIAN Libo², SHANG Sang^{1*}

1. School of Life and Health Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. School of Tropical Agricultural and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: The study aimed to find non-toxic and pollution-free post-harvest prevention and treatment methods replacing chemical fungicides to enrich the resources of mango stalk rot antagonist bacteria. *Botryodiplodia theobromae* Pat. and *Phomopsis mangiferae* Ahmad were used as the indicator fungi, and actinomycetes with antagonistic effects on stalk rot fungi were isolated and screened from the rhizosphere soil of mango trees by the plate dilution and dual culture method. The classification status, live prevention effects, and the antimicrobial mechanism were preliminary studied. Antagonists A2, B85 and D16 were selected, which had antimicrobial effects and good genetic stability against both *Botryodiplodia theobromae* Pat. and *Phomopsis mangiferae* Ahmad, and had inhibitory effects on *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis mangiferae*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*, with a wide antifungal spectrum. In the live test, on the 3rd day after inoculation, there were no significant differences in the diameter of the fruit lesions treated with antagonist strains A2, B85 and D16 (8.58, 8.50, 7.83 mm) and the imimerine-treated group (6.33 mm), but significantly lower than that of the control group (20.58 mm). Strains A2 and B85 were identified as *Streptomyces malaysiensis*, and D16 was *Streptomyces lydicus*. Strains A2, B85 and D16 inhibited the occurrence of pedicle rot by producing active substances with antimicrobial effects, inhibiting spore germination of dipodol, nutritional competition, and improving

收稿日期 2025-05-12; 接受日期 2025-08-05

基金项目 海南省研究生创新科研课题(No. Qhyb2023-57, No. Qhys2023-263);海南大学创新创业基金项目(No. XJ2400005243)。

作者简介 樊佳烨(2004—), 女, 本科生, 研究方向: 生防拮抗菌。*通信作者(Corresponding author): 商 桑(SHANG Sang),
E-mail: fair.play@163.com。

the activity of fruit SOD, POD and CAT. Among the three antagonistic strains, the D16 could also produce volatile organic compounds with antimicrobial effects to inhibit the occurrence of pedicle rot fungi. The three strains had certain antagonistic effects on pedicle rot bacteria and could be further studied.

Keywords: mango stem-end rot; antagonistic actinomycetes; screening; identification; antimicrobial mechanism

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.11.015

近年来, 芒果 (*Mangifera indica* L.) 逐渐成为世界流行的热带水果, 芒果产业也在我国经济上占有十分重要的地位。据 2023 年统计数据, 我国芒果种植面积已达到 37.46 万 hm^2 。热带果蔬贮藏保鲜的主要问题是腐烂、贮藏期病害和褐变等, 而采后病害是引起腐烂的最主要原因。芒果蒂腐病是主要的采后病害之一, 小穴壳菌 (*Dothiorella dominicana* Cif.)、拟茎点霉菌 (*Phomosis mangiferae* Ahmad) 和可可球二孢菌 (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) 是引起蒂腐病的优势菌^[1]。病原微生物在幼果期潜伏于果皮内, 采后病斑迅速向果身扩展, 致使全果腐烂, 对运输及贮藏产生极大影响, 造成严重的经济损失。

为保证芒果的产量和品质, 应采取相应的防治措施, 而目前采用的防治方法存在诸多局限。化学防治是一种最普遍的手段, 主要依赖于杀菌剂控制芒果病害的发生。然而, 化学防治是一把双刃剑, 杀菌剂的长期大量使用导致病原菌出现较强的抗药性, 并且在杀灭病原菌的同时, 也会破坏土壤中对芒果生长发育有益的微生物。难以降解的有毒化学试剂的残留也会对生态环境和食品安全产生一定影响, 与可持续发展的战略要求不相符^[2]。因此, 生物防治显得尤为重要, 明确生防机理则是开发生防菌剂的重中之重。生防菌防控采后病害的机理十分复杂, 目前尚未完全清晰。生防菌、病原菌与寄主在外界环境的影响下互相作用, 在多种机理作用下产生防治效果, 包括竞争营养与空间、寄生作用、分泌抑菌物质和诱导寄主产生抗病性^[3-4]。DROBY^[5]研究表明, 将绿霉菌 (*Penicillium digitatum*) 和季也蒙毕赤酵母 (*Pichia guilliermondii*) 在不充足的营养条件下共培养, 酵母菌的繁殖速度远快于绿霉菌, 是绿霉菌的 200 倍, 致使绿霉菌不能正常繁殖。研究表明, 有些生防菌能附着定殖在致病菌菌丝上, 对病原菌形成直接寄生, 且通过分泌 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶等胞外水解酶来分解致病菌的菌丝体, 进而抑制致病菌的正常生长^[6]。WISNIEWSKI 等^[7]研究发现, 酵母菌定殖于果实

伤口处时会产生抑菌物质, 以抑制致病菌生长, 缓解果实发病; WANG 等^[8]通过深入研究发现, 抑菌物质是糖蛋白或蛋白质。拮抗菌可以作为生物激发子来诱导采后果蔬抗病性的产生^[9], TORRES 等^[10]研究表明, 成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*) 诱导柑橘内部产生酚类物质, 从而增强了果实相关抗氧化酶的活性。

近年来, 已有研究表明, 马来西亚链霉菌 (*Streptomyces malaysiensis*) 及利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*) 是具有显著生防潜力的放线菌。最新分离出的 1 株马来西亚链霉菌 HSL-9B, 其提取物对芒果炭疽病菌菌丝生长和孢子萌发有明显的抑制作用^[11]。利迪链霉菌 A02 通过提高净光合速率与植物内源激素含量, 能够有效抑制西瓜枯萎病的发生^[12]; 余小兰等^[13]分离筛选出的利迪链霉菌 D2 对甜瓜枯萎病菌有较强的拮抗活性。

微生物农药作为现代农药发展的重要方向, 生防菌能产生多种活性次级代谢产物, 这类天然产物对环境无污染, 同时可避免病原菌产生抗药性。但目前关于放线菌其他生防机理的研究报道仍较少。因此, 为寻找能有效抑制芒果蒂腐病的生防菌, 本研究从芒果树根际土壤中分离筛选出对蒂腐病菌具有抑制作用的拮抗放线菌, 开展活体拮抗试验, 并对优势菌株进行形态、培养特征、生理生化特征观察及分子鉴定, 进一步明确其生防机理, 为芒果采后蒂腐病的防控提供更加有效的防治措施。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病原菌: 芒果可可球二孢蒂腐病菌 (*Botryodiplodia theobromae* Pat.)、芒果拟茎点霉菌 (*Phomosis mangiferae* Ahmad)、芒果拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis mangiferae*)、芒果链格孢 (*Alternaria alternate*)、芒果胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 等病原菌株均由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所高

兆银老师提供。番茄灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 由海南大学园艺系刘永华老师课题组提供。

供试土样: 海南大学实验教学基地芒果园 (110°32'31"E, 20°3'24"N) 土样。

供试培养基: 高氏 1 号合成培养基^[14]和马铃薯培养基 (PDA)^[15]。灭菌条件均为 121 °C, 30 min。

1.2 方法

1.2.1 拮抗放线菌的分离和筛选 (1) 菌株的分离。选择透气性良好且干燥的土壤, 去除表层 5 cm 左右的浮土, 采集适量土样。剔除其中的残留根系、石砾等杂质, 风干备用。称取 10 g 处理后的土样于锥形瓶中, 加入 100 mL 无菌水, 置于 200 r/min 摇床中, 20 min 后取上清液。采用平板稀释法分离放线菌^[16], 将上清液用无菌蒸馏水进行梯度稀释, 得到稀释为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 的土壤悬液。分别吸取 200 μ L 土壤悬液于高氏 1 号平板培养基上, 用无菌玻璃珠涂布均匀, 封口, 倒置培养。待菌株长好后, 挑取不同形态特征的菌落进行划线纯化, 并对不同的菌株编号保存。

(2) 拮抗菌的离体筛选。通过在 PDA 平板上双重培养病原菌和放线菌的方法^[17], 对芒果蒂腐病拮抗放线菌进行离体筛选。在距离 PDA 平板边缘 3 cm 处进行划线接种待测放线菌, 将平板置于生化培养箱中于 28 °C 培养 2 d 后, 在距 PDA 平板另一侧边缘 3 cm 处分别接种 2 种病原菌菌饼 (直径 6 mm)。对照仅接种可可球二孢菌、拟茎点霉菌菌饼。每个处理 3 次重复, 做好标记, 封口, 28 °C 下培养 3 d。当对照组病原菌长满整个平板时, 观察待测放线菌对 2 种病原菌的抑制情况, 挑选有抑菌效果的拮抗菌株。根据公式计算拮抗菌对病原菌的抑制率, $\text{抑制率} = [(R_1 - R_2) / R_1] \times 100\%$, 式中, R_1 为对照组病原菌菌丝生长的半径, R_2 为处理组病原菌菌丝生长的半径。

(3) 拮抗放线菌抑菌活性稳定性测定。为了确定拮抗放线菌对 2 种病原菌 (可可球二孢菌、拟茎点霉菌) 的抑菌活性稳定性, 将拮抗放线菌在高氏 1 号培养基上进行 5 次连续传代培养, 每次挑取 28 °C 下培养 5 d 的单菌落在新的 1 号培养基上进行划线培养^[18]。测定第 5 次传代后的拮抗放线菌对 2 种蒂腐病病原菌的抑菌率, 方法同 1.2.1-(2), 每种菌株重复 3 次。

(4) 拮抗放线菌抗菌谱的测定。采用 1.2.1-(2) 中的方法, 测定离体抑菌效果较好的 3 株拮

抗放线菌 (A2、B85、D16) 对芒果可可球二孢蒂腐病菌、拟茎点霉菌、胶孢炭疽菌、拟盘多毛孢、链格孢、番茄灰霉菌的抑菌活性。

(5) 活体拮抗试验。选取离体抑菌效果较好的 3 株拮抗放线菌 (A2、B85、D16) 进行活体拮抗试验, 并以这 3 株拮抗放线菌进行后续试验。

选取体积大小、成熟程度一致的新鲜无病虫害侵染的金煌芒果实, 浸入 2% NaClO 溶液 2 min, 用自来水冲洗后晾干备用。每个处理组取 3 个芒果, 在每个果实赤道两侧对称打 2 个孔, 形成直径为 5.0 mm、深为 2.0 mm 的伤口。在伤口处分别接种 20 μ L 拮抗菌发酵液, 2 h 后接种 20 μ L 病原菌孢子悬浮液 (1×10^5 CFU/mL), 以接种无菌水为对照 (CK), 并设置 250 mg/L 咪鲜胺处理作比较, 每个处理重复 3 次。将处理后的芒果晾干, 置于保鲜袋 (30 cm $\times$ 40 cm) 中, 扎口, 于 25 °C 室温贮藏, 保持 95% 相对湿度^[19]。每天记录发病孔数, 测定病斑直径, 并计算发病率, $\text{发病率} = (\text{发病孔数} / \text{接种总孔数}) \times 100\%$ 。

1.2.2 拮抗放线菌的鉴定 (1) 形态及培养特征观察。采用平皿插片法^[20], 将放线菌单菌落分别接种于高氏 1 号、查彼克、淀粉铵、葡萄糖酵母膏培养基上, 将盖玻片倾斜插片, 密封后于 28 °C 培养 7 d, 记录菌株的培养特征, 同时取出平板中的盖玻片, 置于光学显微镜下观察菌丝及孢子形态。

(2) 生理生化特征观察。参考 WILLIAMS 等^[21]、SHIRLING 等^[22]的方法, 包括明胶液化、牛奶凝固与胨化、淀粉水解、纤维素水解、硫化氢产生和不同碳源利用试验, 每个试验设 3 个重复。

(3) 放线菌分子鉴定。利用 CTAB 法提取放线菌 16S rDNA, 采用引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 进行 PCR 扩增, PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2 min, 35 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。PCR 扩增后将产物于 1% 琼脂糖凝胶中电泳, 在紫外灯下进行观察。16S rDNA 测序, 在 NCBI 的 Blast 数据库上进行比对, 搜索同源性高的序列, 利用 MEGA7.0 软件构建系统发育树^[23-24]。

1.2.3 拮抗菌抑菌机理的初步研究 (1) 拮抗菌发酵上清液的抑菌效果。上清液的制备方法: 将发酵液倒入离心管中, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 将上清液用 0.22 μ m 微孔过滤器过滤, 制得

无菌发酵上清液。

采用菌丝生长速率法测定拮抗菌发酵上清液的抑菌效果。将上清液与 PDA 培养基按 1 : 9 的比例混合倒平板, 对照用无菌水代替上清液, 用无菌打孔器打取直径为 6 mm 的可可球二孢菌菌饼, 接种于混合平板的中央, 在 28 ℃ 下培养至对照组病原菌长满平板, 测量上清液处理组病原菌的菌落直径, 并计算抑菌率, 每个处理重复 3 次。抑菌率=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-6 mm)]×100%。

(2) 挥发性有机化合物的抑菌效果。采用平板对扣法^[25], 吸取 100 μL 的拮抗菌发酵液, 均匀涂布于高氏 1 号平板上, 28 ℃ 培养 2 d 后, 在 PDA 培养基中央放置直径 6 mm 的可可球二孢菌菌饼, 将两板对扣后用密封膜封口。以只接种可可球二孢菌菌饼的 PDA 平板为对照, 待对照组病原菌长满平板后测量处理组病原菌的菌落直径, 并统计抑菌率, 方法同 1.2.3-(1), 每个处理重复 3 次。

(3) 发酵液对孢子萌发的抑制作用。在装有 2 mL PDB 培养基的 5 mL 离心管中, 分别加入 100 μL 拮抗菌发酵液, 对照为 100 μL 无菌水, 再往每管中滴加 100 μL 1×10⁵ CFU/mL 可可球二孢菌孢子悬浮液。于 28 ℃ 下 200 r/min 摇床中培养 24 h, 利用光学显微镜进行观察, 每处理各观察 100 个孢子, 统计各处理病原菌孢子萌发数, 计算萌发率。以芽管长度超过孢子的一半视为萌发, 每处理重复 3 次。萌发率=(孢子萌发数/观察的孢子总数)×100%。

(4) 营养竞争。采用双重培养方法, 方法同 1.2.1-(2), 通过拮抗菌在含有不同营养浓度的 PDA 培养基上抑制真菌病原菌的生长来判断营养的竞争^[26]。设置 4 种不同的营养浓度: 正常营养浓度 (46.0 g/L PDA 粉)、正常营养浓度的 1/2 (23.0 g/L PDA 粉)、正常营养浓度的 1/4 (11.5 g/L PDA 粉) 和正常营养浓度的 1/10 (4.6 g/L PDA 粉)。以只接种可可球二孢菌菌饼的 PDA 平板为对照, 28 ℃ 下培养 3 d 后测量处理组病原菌的菌落直径, 并计算抑菌率, 方法同 1.2.1-(2), 每个处理重复 3 次。

(5) 拮抗菌发酵液诱导果实抗性的研究。果实前期处理方法同 1.2.1-(2), 在伤口处接种 20 μL 拮抗菌发酵液, 以无菌水为对照, 晾干, 装入保鲜袋, 扎口, 保持 95% 相对湿度, 25 ℃ 下贮藏 5 d, 每隔 1 d 取 1 次果实伤口附近果肉, 用于果实相

关抗氧化酶活性的测定, 每个处理重复 3 次。测定指标包括过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。CAT 活性采用过氧化氢法测定, POD 活性采用愈创木酚法测定, SOD 活性采用氮蓝四唑法^[27]测定。

1.3 数据处理

使用 Excel 和 SPSS19.0 软件对试验数据进行处理和分析, 采用 ANOVA 进行邓肯氏差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 拮抗放线菌的分离和筛选

2.1.1 菌株的分离和离体筛选 从海南大学实验教学基地芒果园采集的土样中, 以添加 0.005% 重铬酸钾的高氏 1 号培养基为放线菌分离培养基, 根据菌落的生长形态等特征进行编号, 挑取不同菌株的单菌落进行纯化, 共分离获得 223 株放线菌。经双重培养法筛选获得对可可球二孢菌 (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) 和拟茎点霉菌 (*Phomopsis mangiferae* Ahmad) 均有抑菌效果的活性菌株共 9 株, 其中 A2、B85、D16 的抑菌效果较好, D16 对 2 种病原菌的抑制效果最佳, 抑菌率均为 55.04%, B85 的抑菌效果次之, 对可可球二孢菌和拟茎点霉菌的抑菌率分别为 48.45%、51.85%, A2 对 2 种病原菌的抑菌率分别为 45.74%、47.68% (表 1)。

表 1 拮抗菌株对可可球二孢菌和拟茎点霉菌的抑制率
Tab. 1 Inhibition rate of antagonistic strains against *B. theobromae* Pat. and *P. mangiferae* Ahmad

菌株 Strain	抑菌率 Antifungal rate/%	
	可可球二孢菌 <i>B. theobromae</i> Pat.	拟茎点霉菌 <i>P. mangiferae</i> Ahmad
A2	45.74±3.70 ^b	47.68±1.85 ^b
A28	38.76±2.54 ^c	45.37±0.93 ^{bc}
B85	48.45±0.39 ^b	51.85±0.93 ^a
D1	47.29±1.40 ^b	43.03±1.16 ^c
D7	39.54±1.78 ^c	44.57±1.03 ^{bc}
D16	55.04±0.39 ^a	55.04±1.40 ^a
D18	36.82±0.39 ^c	37.60±0.77 ^d
D21	35.66±0.39 ^c	35.27±1.69 ^d
D23	39.92±1.03 ^c	44.57±1.40 ^{bc}

注: 同列不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

2.1.2 抗蒂腐病菌活性菌株的遗传稳定性 用群体传代法考察 9 株拮抗菌连续传代 5 次的稳定性,其中效果较好的 3 株拮抗菌为 A2、B85、D16,且对 2 种病原菌的抑菌率均在 46.00%以上,说明这 3 株拮抗菌遗传稳定性好。D23 在传代 5 次后,对 2 种病原菌均无抑菌效果,说明该菌株在传代过程中丧失抑菌活性,遗传稳定性差(表 2)。故以 A2、B85、D16 拮抗菌株进行后续试验。

2.1.3 3 株拮抗放线菌的抗菌谱 由表 3 知,3 株拮抗菌除了对引起蒂腐病的 2 种病原菌可可球二孢菌和拟茎点霉菌有抑菌效果外,同时还对胶孢炭疽菌、拟盘多毛孢、链格孢、灰霉菌具有抑菌效果,抑菌谱较广。

表 3 3 株拮抗菌的抑菌谱
Tab. 3 Antifungal spectrum of three antagonistic strains

菌株 Strain	抑菌率 Antifungal rate/%					
	可可球二孢菌 <i>B. theobromae</i> Pat.	拟茎点霉菌 <i>P. mangiferae</i> Ahmad	胶孢炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>	拟盘多毛孢 <i>P. mangiferae</i>	链格孢 <i>A. alternate</i>	灰霉菌 <i>B. cinerea</i>
A2	45.74±3.70	47.68±1.85	51.37±1.04	55.43±0.78	51.77±1.80	22.22±4.42
B85	48.45±0.39	51.85±0.93	49.33±1.85	57.36±2.16	46.28±1.41	18.25±6.50
D16	55.04±0.39	55.04±1.40	53.33±0.79	55.04±1.03	53.33±0.79	27.78±5.56

2.1.4 活体拮抗试验 接种后第 3 天,CK 果实开始出现明显病斑,而拮抗菌和咪鲜胺处理的发病情况不明显;第 5 天时,CK 的病斑几乎扩展至整个果实,发病情况严重,而拮抗菌和咪鲜胺处理的部分孔出现较明显的病斑(图 1)。接种后,在整个贮藏期间拮抗菌和咪鲜胺处理的果实病斑直径和发病率均显著低于 CK。接种后第 3 天,A2、B85、D16 拮抗菌处理的果实病斑直径分别为 8.58、8.50、7.83 mm,与咪鲜胺处理(6.33 mm)无显著差异,而显著低于 CK(20.58 mm);A2 处理的果实发病率为 38.89%,显著高于咪鲜胺处理(11.11%),而 B85、D16 处理的果实发病率分别为 27.78%、33.33%,与咪鲜胺处理组无显著差异,且拮抗菌处理之间差异不显著。接种后第 5 天,拮抗菌和咪鲜胺处理的病斑直径无显著差异,而 B85、D16 处理的果实发病率(72.22%、72.22%)显著高于咪鲜胺处理(38.89%),但与 A2 处理的果实发病率(61.11%)无显著差异(图 2)。结果表明,前期拮抗菌处理后均能较好地抑制蒂腐病的发生及病斑扩展,且与 250 mg/L 咪鲜胺处理效果相当,但拮抗菌在防治效果与稳定性上和咪鲜

表 2 第 5 代拮抗菌对可可球二孢菌和拟茎点霉菌的抑制率
Tab. 2 Inhibition rate of fifth-generation antagonistic strains against *B. theobromae* Pat. and *P. mangiferae* Ahmad

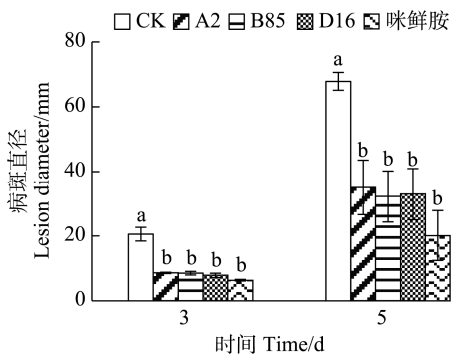
菌株 Strain	抑菌率 Antifungal rate/%	
	可可球二孢菌 <i>B. theobromae</i> Pat.	拟茎点霉菌 <i>P. mangiferae</i> Ahmad
A2	47.88±0.39 ^b	54.78±0.39 ^a
A28	42.82±0.67 ^c	52.44±0.68 ^a
B85	46.71±0.39 ^b	52.83±1.03 ^a
D1	43.21±0.39 ^c	43.86±1.17 ^b
D7	39.32±0.67 ^d	43.47±1.70 ^b
D16	52.94±0.78 ^a	54.78±0.67 ^a
D18	36.60±1.03 ^e	36.45±0.39 ^c
D21	36.60±0.39 ^e	41.91±3.04 ^b
D23	0±0 ^f	0±0 ^d

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

胺存在一定差距。这表明拮抗菌株 A2、B85、D16 对蒂腐病有一定的抑制效果。

2.2 拮抗菌的分类鉴定

2.2.1 形态及培养特征 A2、B85、D16 拮抗菌在高氏 1 号、查彼克、葡萄糖酵母膏、淀粉铵培养基上菌能正常生长。A2 在高氏 1 号培养基上气生菌丝呈白色,基内菌丝淡黄色,产生乳白色色素(图 3),孢子丝长,直线形(图 4);B85 在高



不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 1 不同处理的果实病斑直径
Fig. 1 Lesion diameter of fruits under different treatments

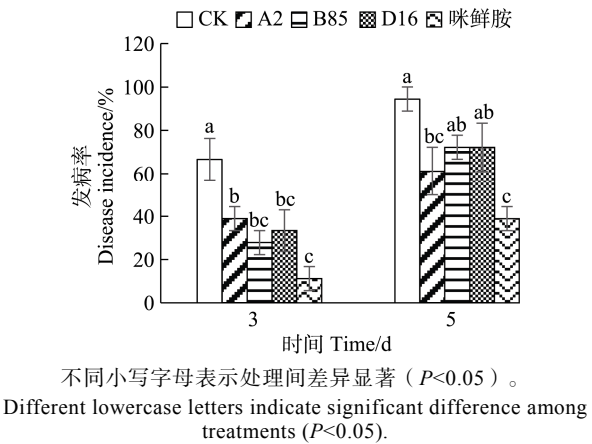


图 2 不同处理的果实发病率
Fig. 2 Disease incidence of fruits under different treatments

氏 1 号培养基上气生菌丝呈白色,基内菌丝黄色,产生乳白色色素(图 3),孢子丝短,松螺旋形(图 4); D16 在高氏 1 号培养基上气生菌丝白色至浅灰色,基内菌丝淡黄色,产生乳白色色素(图 3),孢子圆形(图 4)。3 株拮抗菌在查彼克、葡萄糖酵母膏、淀粉铵培养基上具体特征见表 4。3 株拮抗菌在 4 种培养基上菌落形态相差不大。

2.2.2 生理生化特征 菌株 A2、B85 的明胶液化、纤维素水解反应均呈阳性,对牛奶凝固但不胨化,菌株 D16 明胶液化、牛奶凝固胨化反应均呈阳性,但纤维素水解反应呈阴性,具体生理生化特征见表 5。

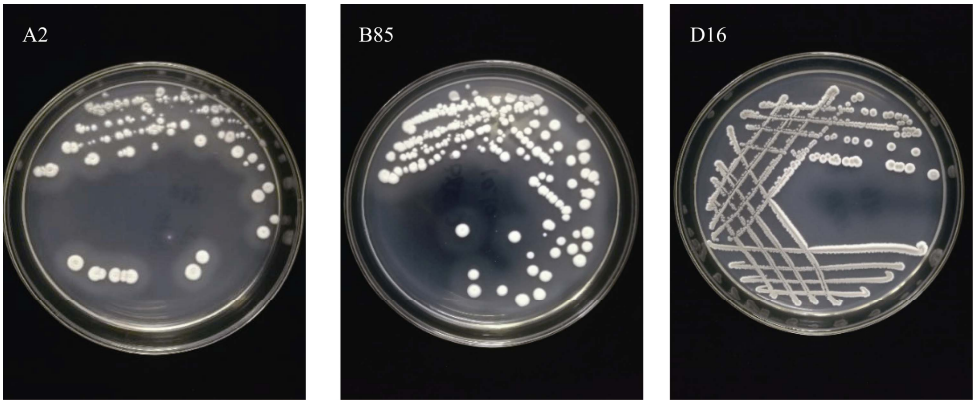


图 3 高氏 1 号培养基上 3 株拮抗菌的培养形态
Fig. 3 Culture morphology of 3 antagonistic strains on Gao's medium No. 1

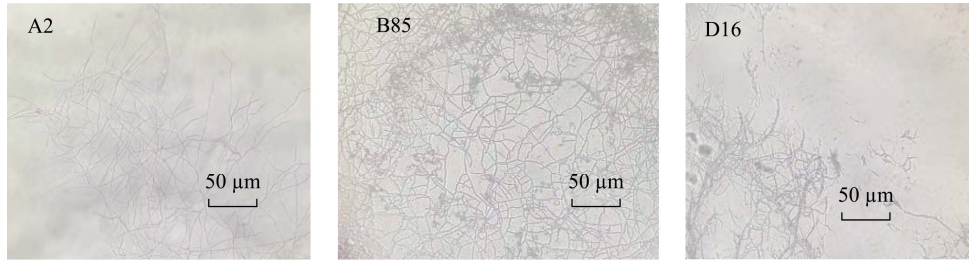


图 4 显微镜下 3 株拮抗菌的菌丝形态 (400×)
Fig. 4 Hypha morphology of three antagonistic strains under microscope (400×)

表 4 3 株拮抗菌的培养特征
Tab. 4 Culture characteristics of three antagonistic strains

菌株 Strain	项目 Item	高氏 1 号 Gao's No. 1	查彼克 Czapek	葡萄糖酵母膏 Glucose yeast extract	淀粉铵 Ammonium starch
A2	气生菌丝	白色	白色至灰色	浅黄色	白色至浅灰色
	基内菌丝	浅黄色	白色至灰色	黄色	浅黄色
	可溶色素	乳白色	无	无	乳白色
B85	气生菌丝	白色	白色至灰色	白色至浅灰色	白色至浅灰色
	基内菌丝	黄色	白色至灰色	黄色	浅黄色
	可溶色素	乳白色	无	无	乳白色
D16	气生菌丝	白色至浅灰色	黑褐色	浅黄色	白色至褐色
	基内菌丝	浅黄色	黑褐色	黄色	浅黄色
	可溶色素	乳白色	无	无	乳白色

表 5 3 株拮抗菌的生理生化特征
Tab. 5 Physiological and biochemical characteristics of three antagonistic strains

特征 Characteristic	A2	B85	D16
明胶液化	+	+	+
牛奶凝固	+	+	+
牛奶脓化	-	-	+
纤维素水解	+	+	-
淀粉水解	-	-	+
H ₂ S 产生	-	-	-
D-葡萄糖	+	+	+
D-果糖	+	+	+
D-木糖	-	-	-
L-鼠李糖	-	+	-
D-甘露糖	+	+	+
蔗糖	+	+	+
L-阿拉伯糖	-	-	+
棉子糖	+	+	-
L-肌醇	+	+	+

注：+表示阳性；-表示阴性。
Note: + means positive; - means negative.

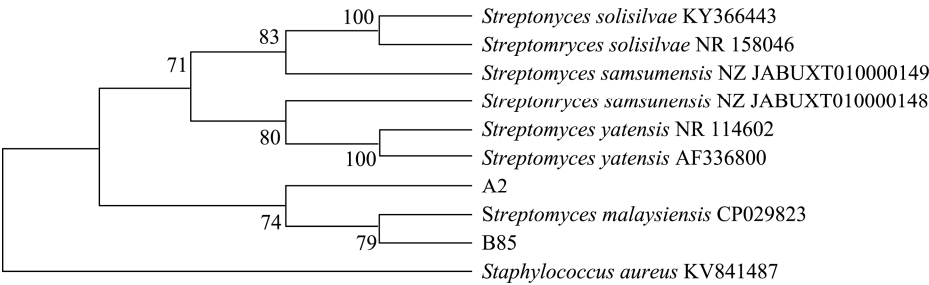
2.2.3 16S rDNA 序列测定及其系统发育分析
通过对 3 株拮抗菌株进行 PCR 扩增，获得其 16S rDNA 近全长序列,A2 共 1420 bp,B85 共 1403 bp, D16 共 1431 bp。将 3 株拮抗菌的 16S rDNA 序列上传至 GenBank 数据库，登录号分别为 PV798802、

PV798803、PV798804。在 NCBI 的 Blast 数据库上进行比对，搜索同源性高的序列，构建系统发育树。发现 A2、B85 均与 *Streptomyces malaysiensis* 同源性最高（分别为 99.65%、99.86%），且聚在同一个分支（图 5）；D16 与 *Streptomyces lydicus* 同源性最高（99.85%），且聚在同一个分支（图 6）。结合形态特征、培养特征及生理生化特征，初步鉴定 A2、B85 为马来西亚链霉菌（*Streptomyces malaysiensis*），D16 为利迪链霉菌（*Streptomyces lydicus*）。

2.3 拮抗菌抑菌机理的初步研究

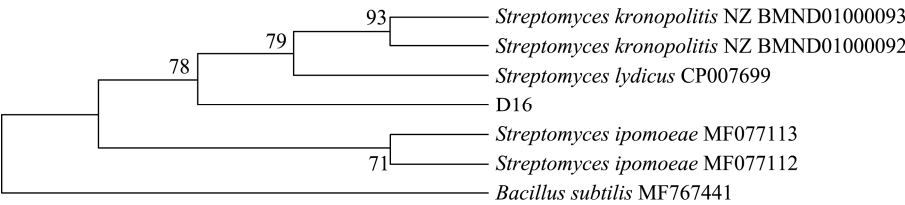
2.3.1 拮抗菌发酵上清液的抑菌效果 由图 7 可知，当 CK 中可可球二孢菌长满整个平板时，在发酵上清液和 PDA 混合的平板上可可球二孢菌的生长受到明显的抑制。菌株 A2 的发酵上清液对可可球二孢菌的抑菌率高达 96.25%，显著高于菌株 B85（83.54%）和 D16（76.46%）。说明 3 株拮抗菌的发酵上清液均能有效地抑制可可球二孢菌的生长。

2.3.2 挥发性有机化合物的抑菌效果 当 CK 中可可球二孢菌长满整个平板时，拮抗菌处理的可可球二孢菌生长受到不同程度的抑制（图 8）。菌株 D16 处理的可可球二孢菌菌落直径为 75.67 mm，显著低于 CK、A2 和 B85 处理，而 A2、B85 处理



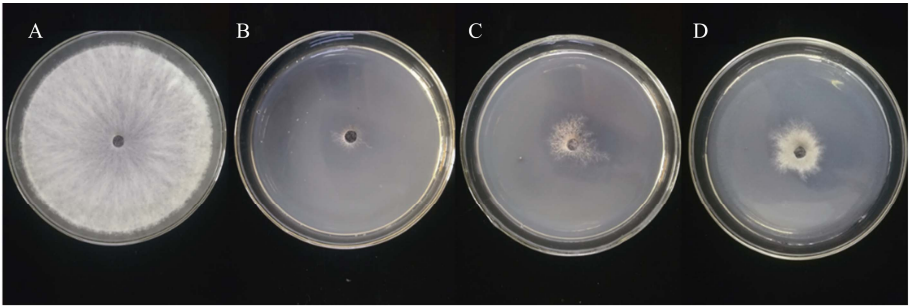
分支上的数字表示构建系统发育树时 1000 次计算形成该节点的百分比。
The number on the branch indicates the percentage of the node that was calculated 1000 times when the phylogenetic tree was constructed.

图 5 基于 16S rDNA 序列构建的 A2 和 B85 的系统发育树
Fig. 5 Phylogenetic tree of A2 and B85 constructed based on 16S rDNA sequence

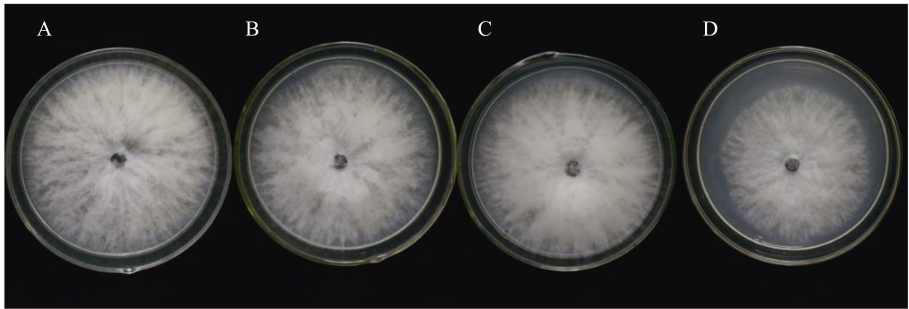


分支上的数字表示构建系统发育树时 1000 次计算形成该节点的百分比。
The number on the branch indicates the percentage of the node that was calculated 1000 times when the phylogenetic tree was constructed.

图 6 基于 16S rDNA 序列构建的 D16 的系统发育树
Fig. 6 Phylogenetic tree of D16 constructed based on 16S rDNA sequence



A: CK; B: A2; C: B85; D: D16.
图 7 3 株拮抗菌发酵上清液对可可球二孢菌的抑制效果
Fig. 7 Inhibitory effect of the fermentation supernatant of three antagonistic strains against *B. theobromae* Pat.



A: CK; B: A2; C: B85; D: D16.
图 8 3 株拮抗菌挥发性有机化合物对可可球二孢菌的抑菌效果
Fig. 8 Antifungal effect of volatile organic compounds of three antagonistic strains against *B. theobromae* Pat.

的可可球二孢菌菌落直径与 CK 无显著差异。结果表明，菌株 D16 产生的挥发性有机化合物对可可球二孢菌的生长有一定的抑制作用。

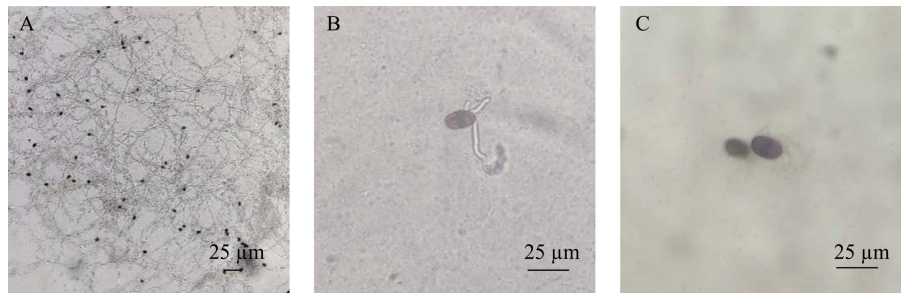
2.3.3 发酵液对可可球二孢菌孢子萌发的抑制作用

显微镜下观察到 CK 处理中可可球二孢菌萌发的分生孢子呈椭圆形，成熟时黑色双胞、中间有横隔（图 9A、图 9B）；发酵液处理的未萌发分生孢子（图 9C）。由图 10 可知，CK 的可可球二孢菌分生孢子萌发率为 99.33%，与 CK 相比，3 株拮抗菌的发酵液均能显著抑制可可球二孢菌分生孢子的萌发，其中菌株 A2 的发酵液抑制效果

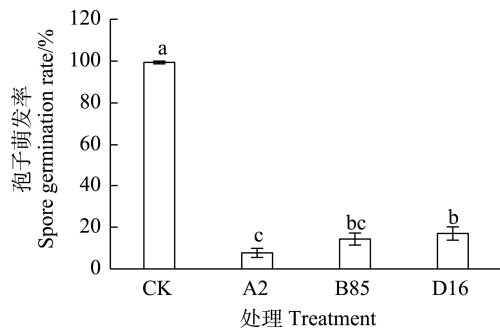
最佳，处理后的分生孢子萌发率仅为 7.67%。

2.3.4 营养竞争

在含有 4 种不同营养浓度（正常浓度、正常浓度的 1/2、正常浓度的 1/4 和正常浓度的 1/10）的 PDA 平板上双重培养拮抗菌和可可球二孢菌，以明确拮抗菌与病原菌之间的营养竞争。结果表明，随着 PDA 培养基中营养物质浓度的降低，所有拮抗菌株均表现出对病原菌可可球二孢菌更高的生长抑制作用（表 6）。当 3 株拮抗菌和可可球二孢菌分别在 PDA 平板上以正常营养浓度的 1/10（4.6 g/L PDA 粉）进行双重培养时，抑制作用均最高。结果表明，3 株拮抗菌和



A、B: CK 中萌发的分生孢子；C: 发酵液处理未萌发的分生孢子。
A, B: Germinated conidia in the control group; C: Ungerminated conidia treated with fermentation broth.
图 9 孢子萌发的观察
Fig. 9 Observation of spore germination



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 10 拮抗菌发酵液对可可球二孢菌孢子萌发的影响
Fig. 10 Effect of fermentation broth of antagonistic strains on the germination of *B. theobromae* Pat. spores

可可球二孢菌之间均存在营养竞争。
2.3.5 拮抗菌发酵液诱导果实抗性 在贮藏期间, 各处理果实的 SOD 活性均呈波动上升的趋

势, 在第 5 天达到最大值; 第 2 天时, 菌株 D16 处理显著诱导果实 SOD 活性的增加, 是 CK 的 1.20 倍; 第 4 天时, 菌株 A2、B85 处理的果实 SOD 活性显著高于 CK, 分别是 CK 的 1.23 倍和 1.12 倍(图 11A)。各处理果实的 POD 活性在贮藏期间整体呈先升后降的趋势, CK 的 POD 活性在第 1~3 天逐渐上升, 第 3 天达到峰值; 在第 4~5 天, 菌株 A2、B85、D16 处理的 POD 活性均显著高于 CK (图 11B)。在贮藏前 3 d, CK 与菌株 D16 处理的果实 CAT 活性逐渐上升, 第 3 天时活性最大, 菌株 D16 处理的 CAT 活性是 CK 的 1.44 倍, 差异显著; 而菌株 A2 处理的 CAT 活性呈逐渐上升的趋势, 在 4~5 d 时显著高于 CK, 分别是 CK 的 1.50 倍和 1.78 倍; 在贮藏前期, 菌株 B85 处理的 CAT 活性逐渐上升, 第 4 天达到峰值, 显著诱导了果实 CAT 活性的增加, 是 CK 的 1.72 倍(图 11C)。

表 6 不同营养条件下拮抗菌对可可球二孢菌的抑制效果
Tab. 6 Inhibitory effect of antagonistic strain against *B. theobromae* Pat. under different nutrient concentrations

菌株 Strain	抑制率 Inhibition rate/%			
	46.0 g/L PDA 粉 46.0 g/L PDA powder	23.0 g/L PDA 粉 23.0 g/L PDA powder	11.5 g/L PDA 粉 11.5 g/L PDA powder	4.6 g/L PDA 粉 4.6 g/L PDA powder
A2	38.92±1.55 ^b	48.63±1.71 ^b	50.32±1.47 ^b	52.38±1.49 ^b
B85	43.23±1.29 ^a	50.20±0.39 ^b	50.74±1.13 ^b	54.45±1.65 ^{ab}
D16	45.38±0.43 ^a	56.86±1.39 ^a	57.54±0.85 ^a	58.17±0.42 ^a

注: 同列同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

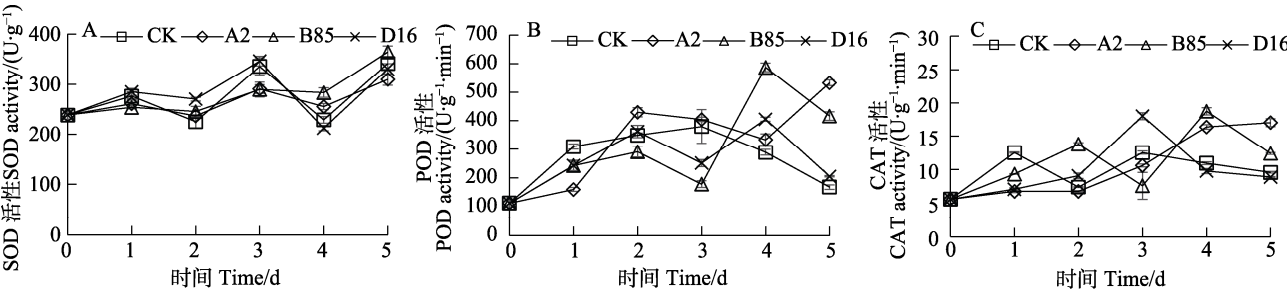


图 11 拮抗菌对果实 SOD、POD、CAT 活性的影响
Fig. 11 Effect of antagonistic strains on activities of SOD, POD, CAT

3 讨论

随着生物防治的推广, 已有大量微生物投入到实际生产应用中。土壤中含有大量的拮抗微生物, 其中放线菌种类繁多、资源丰富。放线菌作为目前广泛应用的生防菌之一, 越来越受到研究者的重视, 关于其生物防治作用的报道也越来越多。孙平等^[28]从土壤中分离筛选得到 1 株拮抗菌 L-30, 该菌株可以有效抑制梨灰霉病菌, 且可

以有效延缓梨灰霉病的发生; 张凯等^[29]发现放线菌 gz-8 能有效拮抗胶孢炭疽菌, 且当菌株发酵液的粗提物浓度为 1000 mg/L 时, 对果实炭疽病的防效与同浓度的百菌清相当。
目前关于拮抗放线菌防治芒果蒂腐病的研究仍较少。因此本研究采用平板划线法分离出 223 株放线菌, 经过双重培养的方法筛选到 9 株活性菌株对芒果蒂腐病菌 *Botryodiplodia theobromae*

Pat.、*Phomopsis mangiferae* Ahmad 均有抑制作用, 其中 A2、B85、D16 的抑制效果最佳, 具有较强的遗传稳定性且抑菌谱较广, 因此具备良好的生防潜力, 有重要的研究价值。经初步鉴定, A2、B85 为马来西亚链霉菌 (*Streptomyces malaysiensis*), D16 为利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*)。

随着研究的深入, 杨胜远等^[30]分离得到对芒果蒂腐病有较强抑制作用的芽孢杆菌 X-98-2, 其发酵液可明显抑制芒果的新陈代谢, 切断病原菌的入侵。王兰英等^[31]研究证实菌株 SCK-Y9 抑菌谱广, 对芒果蒂腐病菌的抑制率可达 80% 以上。本研究分别通过离体试验和活体试验对 3 株拮抗菌的抑菌效果进行测定, 研究结果与上述报道中生防菌的防治效果基本一致。在离体试验中, 证实 A2、B85、D16 均对蒂腐病菌的生长有一定的抑制作用, 其中 D16 的抑菌效果最佳; 在活体试验中, 证实 A2、B85、D16 在前期均对蒂腐病的发生及病斑扩展有一定的抑制效果, 但无显著差异, 且与 250 mg/L 咪鲜胺抑制病斑扩展的效果相当。而武峥^[32]筛选出的酵母菌 MA-3 在离体试验中对青霉菌有一定的抑制效果, 在活体试验中, 接种到果实上的菌株对青霉菌几乎无抑制效果。这一现象说明拮抗菌的拮抗作用可能受到多种因素的影响, 如培养条件、营养成分等。

拮抗微生物进行生物防治的机理较为复杂, 目前关于其防控机制尚未明确。生防菌对采后病害的防治主要依赖于多种机理作用的相互结合。已有研究证实, 放线菌可以通过产生次级代谢产物来抑制病原菌的生长, 诱导植株产生抗病性, 此外还可以分泌生长素等活性物质起到促生作用^[33]。大部分生防菌以迅速生长繁殖的优势, 通过与病原菌争夺寄主营养以及生长空间来抑制致病菌生长。此外, 拮抗菌也可以诱导采后芒果产生抗病性。当病原菌入侵果实后会产生应激反应, 从而产生大量活性氧, 而高浓度的活性氧会使果实细胞造成损害而坏死。当活性氧含量增加, 拮抗菌可能通过提高相关抗氧化酶的活性来清除过量活性氧, 间接提高果实对病原菌的抗性, 进而保护果实, 减缓腐烂。研究表明, 营养竞争以及 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的产生被认为是商业酵母产品的主要作用方式^[19, 34]; 酵母菌株 *Debaryomyces nepalensis* 可通过产生抗真菌挥发性有机化合物来抑制病原菌的生长^[24]; 金黄色葡萄球菌可以抑制多种病原菌的孢子萌发^[35]。

链霉菌作为一种重要的生防菌, 可产生大量具有抑菌活性的抗生素和酶。目前已有研究表明, 利迪链霉菌可产生利迪霉素 (lydimycin)、利迪链菌素 (streptolydigin)、苹果酸氧霉素 (malioxamycin) 等多种抗生素^[36-38]。此外, 也有研究证实利迪链霉菌可产生几丁质酶^[39]、那他霉素^[12]。陈恩^[40]从利迪链霉菌发酵液中也提取出了 β -1,3-葡聚糖酶, 该物质可特异性地分解真菌细胞壁中的葡聚糖, 使细胞壁变薄而暴露, 最终因渗透压差导致细胞死亡。有研究鉴定了马来西亚产抗菌代谢产物的关键合成基因簇, 并分析了其提取物中的 15 种主要化合物, 其中 12-甲基十三烷酸是提取物中的主要成分^[11]。

本研究从代谢产物的抑菌效果、产生的挥发性有机化合物的抑菌效果、对孢子萌发的抑制作用、营养竞争及诱导果实产生抗性 5 个方面探究生防机理。结果表明, 筛选得到的 3 株拮抗菌的发酵上清液均可以显著抑制可可球二孢的生长, 说明产生的某些代谢产物具有抑菌活性; 菌株 D16 产生的挥发性有机化合物在一定程度上对可可球二孢菌的生长有抑制作用, 而菌株 A2、B85 产生的挥发性有机化合物无抑菌作用; 3 株拮抗菌的发酵液均能够抑制可可球二孢分生孢子的萌发, 且 A2 的抑制作用最高; 在营养浓度最低时拮抗放线菌的抑制作用最强, 说明 3 株拮抗菌和可可球二孢之间均存在营养竞争。此外, 3 株菌也能够通过提高果实的 SOD、POD、CAT 活性, 增强果实抗性。

病原菌、拮抗菌、寄主之间的相互作用机理较为复杂, 本研究仅初步探究了拮抗菌的抑菌机理。目前, 拮抗放线菌对芒果蒂腐病的抑菌效果并未达到理想效果, 在后续研究中, 不仅要筛选出更多优质的生防菌, 还需继续对其作用机理进行深入研究, 以明确其拮抗机理, 提高拮抗菌的防治效果。

4 结论

本研究从海南大学实验教学基地芒果园土壤中分离筛选出遗传稳定性良好, 抑菌谱广, 对芒果可可球二孢蒂腐病菌、拟茎点霉菌、胶孢炭疽菌、拟盘多毛孢、链格孢、番茄灰霉菌均有抑制效果的 3 株拮抗菌株 A2、B85、D16。且对蒂腐病菌的抑制效果与 250 mg/L 咪鲜胺处理的效果相当。菌株 A2、B85 为马来西亚链霉菌

(*Streptomyces malaysiensis*), D16 为利迪链霉菌 (*Streptomyces lydicus*)。3 株拮抗菌株的抑菌机理包括: 具有抑菌效果的代谢活性物质、可抑制可可球二孢菌的孢子萌发、与可可球二孢菌存在营养竞争、可提高果实的 SOD、POD、CAT 活性。此外 D16 还可以通过产生挥发性有机化合物抑制蒂腐病的发生。

参考文献

- [1] HONG S K, LEE S Y, CHOI H W. Occurrence of stem and rot on mango fruits caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Korea[J]. The Plant Pathology Journal, 2012, 28(4): 455.
- [2] MANORI K, KONG L L, PHEBE D, KHAIRULMAZMI A, ASGAR A, YASMEEN S. Decoding the fruit microbiome: a climate smart strategy to manage postharvest decays[J]. Horticultural Plant Journal, 2024, 10(5): 1061-1072.
- [3] WILSON C L, WISNIEWSKI M E. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology[J]. Annual Review of Phytopathology, 1989, 27: 425-441.
- [4] 刘雪峰, 袁项成, 向莘苇, 马晓丽. 芽孢杆菌防控柑橘采后病害的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2024, 52(7): 10-14.
LIU X F, YUAN X C, XIANG P W, MA X L. Research progress on controlling citrus postharvest diseases by *Bacillus*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2024, 52(7): 10-14. (in Chinese)
- [5] DROBY S. Biological control of postharvest diseases of fruit: alternative to synthetic fungicides[J]. Crop Protection, 1991, 10(3): 172-177.
- [6] NUNES C A. Biological control of postharvest diseases of fruit[J]. European Journal of Plant Pathology, 2012, 133(1): 181-196.
- [7] WISNIEWSKI M, BILES C, DROBY S. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*[J]. Journal of Molecular Signaling, 1991, 39(4): 245-258.
- [8] WANG X, CHI Z M, YUE L, LI J, LI M J, WU L F. A marine killer yeast against the pathogenic yeast strain in crab (*Portunus trituberculatus*) and an optimization of the toxin production[J]. Microbiological Research, 2007, 162(1): 77-85.
- [9] JAMALIZADEH M, ETEBARIAN H R, AMINIAN H, ALIZADEH A. A review of mechanisms of action of biological control organisms against post-harvest fruit spoilage[J]. OEPP Bulletin, 2011, 41(1): 65-71.
- [10] TORRES R, NEUS T, USALL J. Anti-oxidant activity of oranges after infection with the pathogen *Penicillium digitatum* or treatment with the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2[J]. Biological Control, 2011, 57(1): 103-109.
- [11] ZHOU D B, JING T, CHEN Y F, YUN T Y, QI D F, ZANG X P, ZHANG M Y, WEI Y Z, LI K, ZHAO Y K, WANG W, XIE J H. Biocontrol potential of a newly isolated *Streptomyces* sp. HSL-9B from mangrove forest on postharvest anthracnose of mango fruit caused by *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Food Control, 2022, 135: 12.
- [12] 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 H B, LI M Y, WU H L, GUO S G, ZHANG J, REN Y, ZHANG H Y, GONG G Y, 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)
- [13] 余小兰, 邹立飞, 邹雨坤, 李光义, 李晓亮, 李勤奋. 甜瓜枯萎病拮抗菌的筛选及鉴定[J]. 南方农业学报, 2018, 49(6): 1118-1124.
YU X L, ZOU L F, ZOU Y K, LI G Y, LI X L, LI Q F. Screening and identification of antagonistic bacteria to muskmelon *Fusarium* wilt[J]. Journal of Southern Agriculture, 2018, 49(6): 1118-1124. (in Chinese)
- [14] 张敬, 何伟宏, 唐蜀昆, 周恩明, 明红, 李帅, 聂国兴, 李文均. 云南干热环境可培养高温放线菌多样性及产纤维素酶活性评价[J]. 微生物学通报, 2013, 40(6): 1109-1120.
ZHANG J, HE W H, TANG S K, ZHOU E M, MING H, LI S, NIE G X, LI W J. Diversity of culturable thermophilic actinobacteria and their producing cellulase activity in several dry-hot environments in Yunnan province[J]. Microbiology China, 2013, 40(6): 1109-1120. (in Chinese)
- [15] 谭晖, 李汇龙, 李文鑫, 吴金龙, 高剑锋, 余丕宁, 段颖, 李晓华. 抗真菌土壤放线菌的筛选鉴定、发酵培养基优化及发酵液稳定性研究[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(9): 1771-1775.
TAN H, LI H L, LI W X, WU J L, GAO J F, YU P N, DUAN Y, LI X H. Isolation and identification of an antifungal actinomycete, and study on the optimum medium and fermentation broths stability[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2012, 51(9): 1771-1775. (in Chinese)
- [16] 赵淑莉, 任飞娥, 刘金亮, 秦建春, 潘洪玉. 玉米大斑病生防放线菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1228-1236.
ZHAO S L, REN F E, LIU J L, QIN J C, PAN H Y. Screening, identification and optimization of fermentation conditions of an antagonistic actinomycetes strain to *Setosphaeria turcica*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(10): 1228-1236. (in Chinese)

- [17] KONSUE W, DETHOUP T, LIMTONG S. Biological control of fruit rot and anthracnose of postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves[J]. Microorganisms, 2020, 8(3): 317.
- [18] YANG Y, ZENG G D, ZHANG Y. Molecular and biochemical characterization of carbendazim-resistant *Botryodiplodia theobromae* field isolates[J]. Plant Disease, 2019, 103(8): 2076-2082.
- [19] SPADARO D, DROBY S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 47: 39-49.
- [20] 庞泽, 田国奎, 王海艳, 李凤云, 潘阳, 丁凯鑫, 李明雪, 王立春. 马铃薯疮痂病危害及其防治研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2023(9): 137-142.
PANG Z, TIAN G K, WANG H Y, LI F Y, PAN Y, DING K X, LI M X, WANG L C. Research progress on hazards and prevention of potato scab disease[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2023(9): 137-142. (in Chinese)
- [21] WILLIAMS S T, SHARPE M E, HOL T J G. Bergey's manual of systematic bacteriology[M]. Baltimore: Williams and Wilkins, 1989.
- [22] SHIRLING E B, GOTTLIEB D. Methods for characterization of *Streptomyces* species 1[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1966, 16(3): 313-340.
- [23] XU C N, ZHANG H J, ZHOU Z S, HU T L, WANG S T, WANG Y N, CAO K Q. Identification and distribution of *Botryosphaeriaceae* species associated with blueberry stem blight in China[J]. European Journal of Plant Pathology, 2015, 143(4): 737-752.
- [24] ZHOU Y, GONG G S, CUI Y L, ZHANG D X, CHANG X L, HU R P, LIU N, SUN X F. Identification of *Botryosphaeriaceae* species causing kiwifruit rot in Sichuan province, China[J]. Plant Disease, 2015, 99(5): 699-708.
- [25] 钟轲, 李蕊蕊, 荆晓妹, 汤晓宏, 李志宇, 管雪强, 孙玉霞. 拮抗酵母防治葡萄灰霉病的研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2025(1): 81-87.
ZHONG K, LI R R, JING X S, TANG X H, LI Z Y, GUAN X Q, SUN Y X. Progress in controlling of grape gray mold by antagonistic yeasts[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2015(1): 81-87. (in Chinese)
- [26] 范宗强, 冯靖涵, 郑雨雪, 王硕, 彭向前, 陈芳. 枯草芽孢杆菌 B579 对黄瓜枯萎病的防治及其诱导抗性研究[J]. 生物技术通报, 2024, 40(7): 226-234.
FAN Z Q, FENG J H, ZHENG L X, WANG S, PENG X Q, CHEN F. Study on the control and induced resistance in cucumber with *Bacillus subtilis* B579 against cucumber *Fusarium* wilt[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(7): 226-234. (in Chinese)
- [27] ZHANG H J, ZHANG N, YANG R C, WANG L, SUN Q Q, LI D B, CAO Y Y, WEEDA S, ZHAO B, REN S X, GUO Y D. Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA₄ interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. Journal of Pineal Research, 2014, 57(3): 269-279.
- [28] 孙平平, 贾晓辉, 崔建潮, 佟伟, 王文辉. 梨灰霉病拮抗放线菌 L-30 的筛选、鉴定及作用机制研究[J]. 园艺学报, 2016, 43(12): 2335-2346.
SUN P P, JIA X H, CUI J C, TONG W, WANG W H. Selection, identification and characterization of *Actinomyces* L-30 for the biocontrol of pear gray mold[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(12): 2335-2346. (in Chinese)
- [29] 张凯, 吴曼莉, 辜柳霜, 郑钧月, 柳志强, 李晓宇. 胶孢炭疽菌生防放线菌 gz-8 的鉴定及生物活性初步评价[J]. 农药学报, 2017, 19(6): 708-715.
ZHANG K, WU M L, GU L S, ZHENG J Y, LIU Z Q, LI X Y. Identification and preliminary evaluation of a biocontrol actinomycete strain gz-8 against *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2017, 19(6): 708-715. (in Chinese)
- [30] 杨胜远, 陈桂光, 肖功年, 梁智群. 芒果主要病原菌拮抗微生物的分离筛选[J]. 植物保护, 2004, 30(3): 55-58.
YANG S Y, CHEN G G, XIAO G N, LIANG Z Q. Screening of antagonistic microorganisms of the pathogens in mango[J]. Plant Protection, 2004, 30(3): 55-58. (in Chinese)
- [31] 王兰英, 王琴, 冉杜, 邓梦, 洛焱平. 三桠苦拮抗内生真菌 SCK-Y9 筛选及其抑菌活性研究[J]. 中国植保导刊, 2014, 34(8): 10-13, 29.
WANG L Y, WANG Q, RAN D, DENG M, LUO Y P. Screening of antagonistic endophytic fungi SCK-Y9 in *Evo-dia leptae* and its fungicidal activities bioassay[J]. China Plant Protection, 2014, 34(8): 10-13, 29. (in Chinese)
- [32] 武峥. 防治苹果采后病害拮抗酵母菌的分离、筛选及其抑菌效果的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
WU Z. Study on screening yeasts in biocontrol of postharvest diseases of apples and the inhibition effects of the selected antagonists[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2005. (in Chinese)
- [33] FRAVEL D R. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases[J]. Annual Review of Phytopathology, 1988, 26(1): 75-91.
- [34] 张苗苗, 张雨晨, 杨怡中, 范盈盈, 何伟忠, 王成, 黄伟, 刘峰娟. 拮抗菌防治葡萄采后病害研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(9): 410-418.
ZHANG M M, ZHANG Y C, YANG Y Z, FAN Y Y, HE W Z, WANG C, HUANG W, LIU F J. Research progress on

- antagonistic antimicrobial prevention and control of grape postharvest diseases[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(9): 410-418. (in Chinese)
- [35] DI FRANCESCO A, UGOLINI L, LAZZERI L, MARI M. Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens[J]. Biological Control, 2015, 81: 8-14.
- [36] ZHANG Z P, YAO T J. Bioactive substances produced by antibiotics and microorganisms[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 108-135.
- [37] 石玲玲, 吴慧玲, 刘铭, 董丹, 卢彩鸽, 刘伟成. 利迪链霉菌 *nsdA* 基因的克隆及其阻断载体的构建[J]. 生物技术, 2017, 27(5): 409-414, 433.
- SHI L L, WU H L, LIU M, DONG D, LU C G, LIU W C. Cloning and disruption vector construction of *nsdA* in *Streptomyces lydicus*[J]. Biotechnology, 2017, 27(5): 409-414, 433. (in Chinese)
- [38] YUAN W M, CRAWFORD D L. 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.
- [39] 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 W C, LU C G, LIU T, QIU J Y, LIU X M. Extraction and structural identification of the antifungal metabolite of *Streptomyces lydicus* A02[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 25(6): 840-846. (in Chinese)
- [40] 陈恳. 利迪链霉菌 E12 发酵液及其粗提物的抑菌活性初探[J]. 农药学报, 2016, 18(2): 258-262.
- CHEN K. Study on the antagonistic activity of fermentation broth and its crude extract produced by *Streptomyces lydicus* E12[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2016, 18(2): 258-262. (in Chinese)