

# 对番茄枯萎病具防效的海洋源赤杆菌YH-07的发酵条件探究

唐彤彤<sup>1,2</sup>, 孙星<sup>3</sup>, 董元华<sup>1,2</sup>, 刘勤<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 滁州学院, 滁州 239000)

**摘要:**一株分离自连云港海域的赤杆菌 *Erythrobacter* sp. YH-07 对番茄枯萎病病原菌有较好的平板抑菌效果。通过单因子水平试验、正交试验对该菌株的培养基配方及摇瓶发酵条件进行优化, 最优培养基配方为酵母浸膏 0.25%、蔗糖 1%、蛋白胨 1%、NaCl 3% 和 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.03%; 最优发酵条件组合为培养温度 30 ℃, 140 r/min 摇床培养, 接种量 1%, 装液量 50 mL/250 mL, 初始 pH 7.0。优化后的平板抑菌能力提高了 9.4%。温室盆栽试验表明, 赤杆菌 YH-07 对番茄枯萎病有显著抑制作用, 防治效果保持在 50% 以上。同时显著降低番茄根际土的真菌数量, 增加细菌和放线菌数量。综上所述, 赤杆菌 YH-07 能有效防治番茄枯萎病害, 改善根际微生物数量结构, 具有进一步开发应用的前景。

**关键词:** 赤杆菌; 番茄枯萎病; 发酵条件优化; 拮抗作用; 生防效果

中图分类号: S476 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2018)05-0753-09

## Optimization of Fermentation Conditions for *Erythrobacter* sp. YH-07 Suppressing *Fusarium* Wilt of Tomato

TANG Tongtong<sup>1,2</sup>, SUN Xing<sup>3</sup>, DONG Yuanhua<sup>1,2</sup>, LIU Qin<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Chuzhou University, Chuzhou 239000, China)

**Abstract:** A marine bacteria *Erythrobacter* sp. YH-07 with high biocontrol activity against *Fusarium oxysporum* was isolated from Lianyungang beach. We used single factor experiments and orthogonal experiments to investigate the best condition for fermentation of strain YH-07. The best composition of the medium was 0.25% (W/V) yeast extract, 1% (W/V) source, 1% (W/V) tryptone, 3% (W/V) NaCl and 0.03% (W/V) MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. The optimal fermentation conditions were the combination of temperature 30 ℃, initial pH 7.0, 140 r/min, 1% inoculum volume percentage and medium volume 50 mL/250 mL. Under the optimum fermentation medium and culture conditions, the inhibitory rate of strain YH-07 was 9.4% higher than before. Pot experiments indicated that H7+R treatment could significantly lower the incidence rate of *Fusarium* wilt disease up to 50%, increase the total number of bacteria and actinomycetes, and decrease the number of fungi in rhizosphere soil. Strain YH-07 can effectively control *Fusarium* wilt of tomato and improve microbial community structure in rhizosphere, and it has potential development and application prospect.

**Key words:** *Erythrobacter* sp.; tomato *Fusarium* wilt; optimization of fermentation condition; antagonism; biocontrol efficiency

番茄枯萎病的病原菌是尖孢镰刀菌番茄转化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder et Hansen, 病菌多在分苗、定植时从根系伤口、自然裂口、根毛侵入, 到达维管束, 在维管束内繁殖, 堵塞导管, 阻

收稿日期: 2018-02-01

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200604); 国家自然科学基金(31400464)

作者简介: 唐彤彤, 博士研究生, E-mail: tttang@issas.ac.cn; \*通信作者, 研究员, E-mail: qliu@issas.ac.cn.

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2018.05.015

碍植株吸水吸肥,导致叶片萎蔫、枯死<sup>[1]</sup>。针对番茄枯萎病的防治采用高温闷棚的措施,效果并不理想,连作障碍发生依然严重;化学药剂的大量使用会污染土壤和水体等自然环境,并对人类健康构成危害<sup>[2-4]</sup>,而且病原菌会产生耐药性,导致防效降低。因此,研发高效、绿色、安全的防治番茄枯萎病的方法显得尤为重要。生物防治因其对人畜无害、环境友好等特点,成为行之有效的防治方法,已被各国广泛采用<sup>[5,6]</sup>。运用生防细菌防治番茄枯萎病害已有大量报道,如刘邰洲等<sup>[7]</sup>从作物根际土壤中获得一株解淀粉芽胞杆菌 B1619,对番茄枯萎病菌有很强的抑制作用;崔萍<sup>[8]</sup>以番茄枯萎病病原菌为靶标菌,从山地土壤中筛选出多株对病原菌有很强拮抗作用的真菌菌株,詹发强等<sup>[9]</sup>通过盆栽试验发现生防菌 S-13 对番茄枯萎病的防效在 90% 以上。

目前应用于番茄枯萎病防治的生防菌主要包括芽胞杆菌 *Bacillus* spp.和假单胞菌 *Pseudomonas* spp.等<sup>[10]</sup>,且大部分生防菌株都是从土壤或植物根际分离所得,从海洋中筛选生防菌用于番茄枯萎病害的防治较少,而且越来越多的研究表明许多具有开发前景的抑菌活性物质是由海洋微生物产生的<sup>[11]</sup>。

本研究以番茄枯萎病菌 *F. oxysporum* 为指示菌,从连云港海域筛选出一株对其有抑制作用的海洋细菌 YH-07,经鉴定为赤杆菌 *Erythrobacter* sp.。平板对峙试验显示菌株 YH-07 能抑制尖孢镰刀菌菌丝的生长,为了提高菌株的抗菌能力通过单因素筛选和正交试验对菌株 YH-07 的摇瓶发酵条件进行了优化。并通过温室盆栽试验探究 YH-07 对番茄枯萎病的防治效果以及对根际土壤微生物数量的影响,研究结果证实生防菌 YH-07 在防治番茄枯萎病方面具有潜在的研究价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 赤杆菌 YH-07 分离自连云港东西连岛海泥样品,由本实验室保存;尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 由南京农业大学海洋生物学重点实验室提供。

1.1.2 培养基 海洋细菌 2216E 培养基参照 Sun 等<sup>[12]</sup>的方法配置;番茄枯萎病用 PDA 培养基、细菌用牛肉膏蛋白胨培养基、放线菌用高氏一号培养基、真菌用马丁氏培养基均参照文献<sup>[13]</sup>配制。

1.1.3 供试作物 番茄盆栽试验品种为“浙粉 202”(浙江省杭州市)。

1.1.4 供试土壤 从江苏省蔬菜与花卉研究所采集,装盆前风干,过 2 mm 筛。

### 1.2 方法

1.2.1 菌株 YH-07 的分离和筛选 于 2016 年 3 月在连云港连岛采集海泥样品,4℃ 保存备用。将采集的海泥用生理盐水稀释 10 倍后,吸取 100 μL 在 2216E 培养基上均匀涂布,28℃ 培养 48 h。分别挑取颜色、形状、大小不同的菌落划线纯化。采用平板对峙法<sup>[7]</sup>,将番茄枯萎病接入到 PDA 中央,同时将拮抗菌点接在距离平板中心 2.5 cm 处,28℃ 恒温培养 48 h,筛选出抑菌作用最强的拮抗菌。

1.2.2 培养基的单因素筛选 以 2216E 培养基为基本培养基,在此基础上通过对碳源、氮源、无机盐的筛选研究 YH-07 的最佳培养基。氮源:分别以有机氮源(牛肉浸膏、酵母粉、蛋白胨)和无机氮源(硫酸铵、硝酸铵和尿素)替代 2216E 培养基中的氮源,不加氮源为对照,重复 3 次。碳源:分别以葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉替代 2216E 培养基中的碳源,以不加碳源为对照,重复 3 次。无机盐:分别用 NaCl、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、CaCl<sub>2</sub>、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、MnCl<sub>2</sub>、ZnSO<sub>4</sub>、CoCl<sub>2</sub> 和 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 替代 2216E 培养基中的无机盐,以不加无机盐为对照,重复 3 次。以上试验温度 28℃、150 r/min 培养 24 h。按 1.2.2 的方法测定菌株 YH-07 的抑菌活性。

1.2.3 正交试验设计 以上述单因子筛选的基础上以蔗糖、酵母粉、蛋白胨、NaCl、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 为考察因素,按正交设计表 L16<sup>(45)</sup>设计 5 个因素、4 个水平的正交试验(表 1),以确定最适配比。

1.2.4 发酵培养条件的优化 采用最适培养基配方,依次进行以下条件的优化,每次都应将上一优化结果应用于下一因素的优化。温度:10、15、20、25、30、35、40℃;接种量:以最佳装液量的 0.05%、0.1%、0.25%、0.5%、1%、5%;装液量:30、50、70、90、110、130、150 mL/250 mL;转速:50、80、100、120、150、180、200 r/min;初始 pH 分别为 3、4、5、6、7、8、9、10。每个处理 3 次重复,按 1.2.3 的方法测定菌株 YH-07 的抗菌活性。

1.2.5 优化前后抑菌效果比较 用优化后的培养条件（蛋白胨 1%，酵母粉 0.25%，蔗糖 1%，NaCl 3%，MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.03%，pH 7.0，装液量 50 mL/250 mL，接种量 1%，温度 30℃，转速 140 r/min 摇瓶发酵 24 h）对菌株 YH-07 进行发酵培养。吸取 200 μL 发酵液至 PDA 培养基上，用无菌涂布棒均匀涂布，随后在 PDA 培养基中央接种番茄枯萎病菌饼（直径 = 5 mm）。置于 28℃ 恒温培养，48 h 后测算菌落直径及抑菌率（%）=（对照菌落直径-处理菌落直径）/对照菌落直径 × 100，以使用 2216E 培养基在原始培养条件下的抑菌率为对照，重复 3 次。

1.2.6 盆栽防效试验 番茄种子经消毒后，置于 25℃ 恒温培养箱中催芽。72 h 后选取发芽一致的种子播种于温室内装有 1000 g 供试土的塑料盆（15 cm × 12 cm × 14 cm）中，每盆 2 粒。播种后每盆浇灌 50 mL 番茄营养液，营养液配方为 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 886 mg/L、KNO<sub>3</sub> 303 mg/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 204 mg/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 247 mg/L、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 33 mg/L 和 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 218 mg/L。

菌株 YH-07 悬液的制备及接种：将制备好的菌株 YH-07 发酵液用生理盐水稀释成 10<sup>8</sup> CFU/mL 的菌悬液，待番茄幼苗长至一叶一心时灌根接种 20 mL；病原菌孢子悬浮液的制备及接种：将枯萎病病原菌接种到装有 50 mL PDA 液体培养基的 250 mL 三角瓶中，28℃、180 r/min 振荡培养一周，无菌纱布过滤所得菌液后，用无菌水稀释成浓度为 10<sup>8</sup> CFU/mL 的孢子悬浮液，待番茄幼苗长至一叶一心时灌根接种 20 mL。

试验设 4 个处理：只接种菌株 YH-07 孢子悬浮液（YH-07）；同时接种菌株 YH-07 孢子悬浮液和病原菌孢子悬浮液（H7 + R）；只接种病原菌孢子悬浮液（R）；清水对照（CK）。每处理 10 盆，随机排列。

1.2.7 发病调查 分别在播种后第 15 和 45 d 调查和记录各个处理番茄的病株数、发病症状，计算发病率、病情指数和防治效果<sup>[14]</sup>。

1.2.8 番茄盆栽中根际土壤微生物数量变化 番茄盆栽种植一个月后，每个处理随机采集 5 株植株根际土，混匀后装入自封袋，于 4℃ 保存。采用稀释平板法<sup>[15]</sup>，对番茄根际土中的细菌、放线菌、真菌进行数量分析。

### 1.3 数据统计与分析

采用 Excel 对数据进行整理和绘图；采用 SPSS 17.0 中的 Dunnett 多重比较法对数据进行显著性差异分析，正交试验极差分析采用直观分析法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株 YH-07 的分离和筛选

通过稀释平板涂布、划线法分离得到不同颜色、大小的菌株，采用对峙法筛选得到了一株对番茄枯萎病菌有抑制效果，菌株 YH-07 的抑菌率达 65.4%（图 1），以菌株 YH-07 为拮抗菌株进行下一步研究。

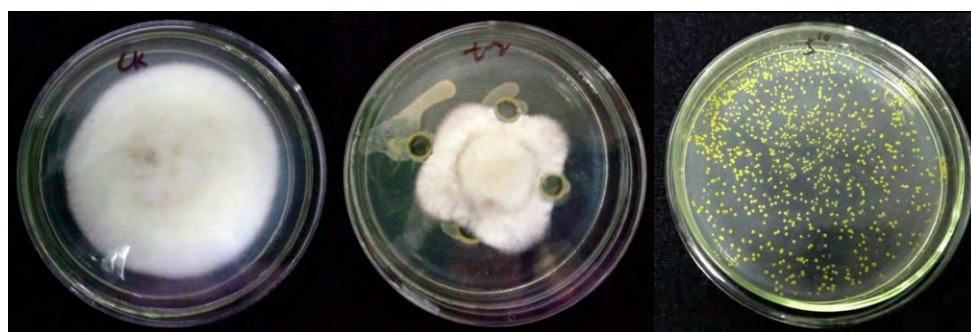


图 1 菌株 YH-07 的平板抑菌效果及其形态特征

Fig. 1 The antimicrobial effect and morphological characteristics of strain YH-07

### 2.2 发酵培养基的优化

2.2.1 氮源的优化 有机氮源、无机氮源对菌株 YH-07 的抗菌活性影响差异显著，硫酸铵、硝酸铵、尿素的加入使菌株抑菌率较对照显著降低，说明无机氮不利于菌株抗菌物质的产生；而以有机氮为氮源时，抑菌率明显高于对照。其中，蛋白胨、酵母粉为氮源时，抑菌率均达 64% 以上（图 2）。因此，选用蛋白胨、酵母粉作为最佳氮源。

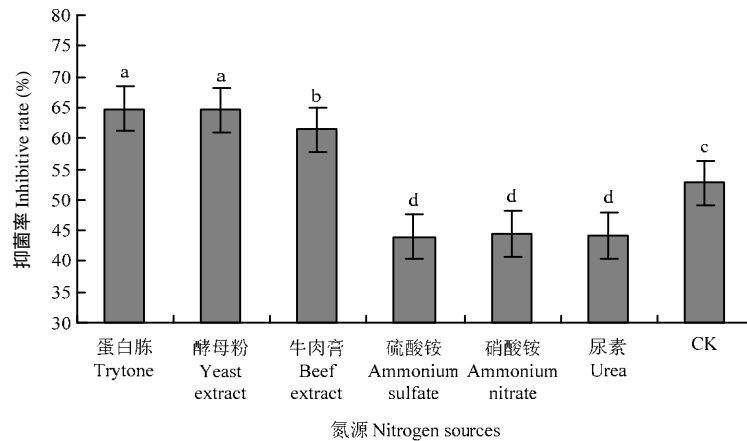


图2 不同氮源发酵液的抑菌活性

Fig. 2 The inhibitive rate of fermentation broth using different nitrogen sources

2.2.2 碳源的优化 不同碳源的加入, 菌株 YH-07 的抗菌活性有明显差异, 但都显著高于对照组。其中, 蔗糖为碳源时抑菌率达 67.4%; 其次为麦芽糖, 抑菌率为 64.2% (图 3)。由此可见, 蔗糖是碳源的最佳选择。

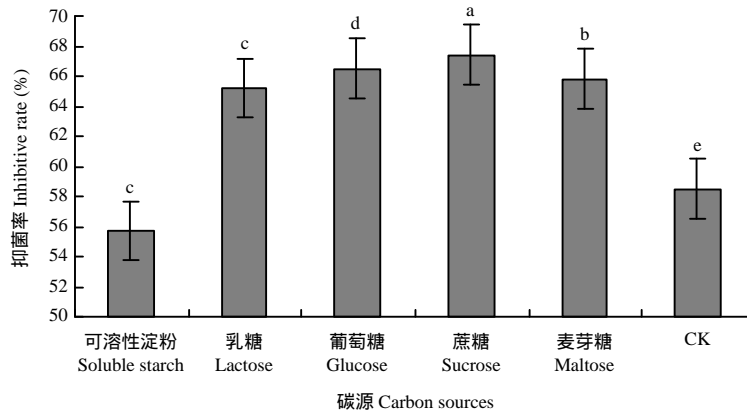


图3 不同碳源发酵液的抑菌活性

Fig. 3 The inhibitive rate of fermentation broth using different carbon sources

2.2.3 无机盐筛选 在只含蛋白胨和蔗糖的培养基中, 分别加入不同无机盐, 菌株 YH-07 的抑菌结果表明, 只有在添加 NaCl、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  为无机盐的培养基中, 菌株 YH-07 抑菌率较对照显著升高, 分别为 68.9% 和 68.1%, 其他无机盐的加入使 YH-07 的抑菌率较对照显著降低 (图 4)。

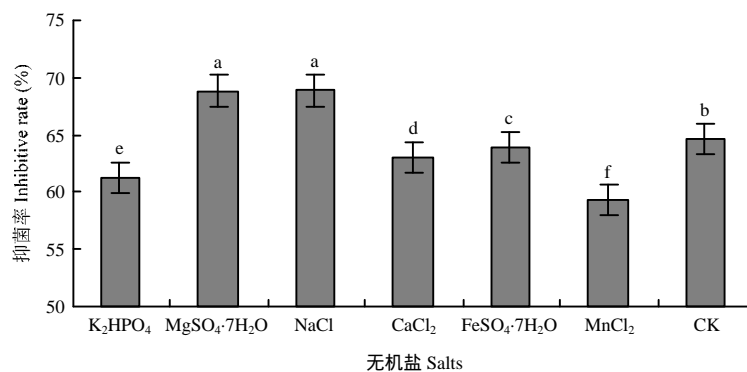


图4 不同无机盐发酵液的抑菌活性

Fig. 4 The inhibitive rate of fermentation broth using different inorganic salts



2.3.2 接种量的优化 当接种量低于 0.1%时,菌株的生长受到限制,抑菌率也受到影响。菌株 YH-07 的抑菌率在接种量为 1%时达到最高,之后接种量增加,抑菌率变化不大(图 6)。考虑到经济性,选择最适接种量为 1%。

2.3.3 装液量的优化 当装液量为 50 mL/250 mL 时,菌株 YH-07 的抑菌率最高,为 67.8%。但当装液量继续增加时,菌株 YH-07 抑菌率反而呈现下降的趋势(图 7)。因此,选择 50 mL/250 mL 为最佳装液量。

2.3.4 转速的优化 当摇床转速在 50~200 r/min 时,菌株 YH-07 的抑菌率随转速的增加呈先升高后下降的趋势,在转速为 180 r/min 时,菌株 YH-07 的抑菌率最高,为 62.4%(图 8)。

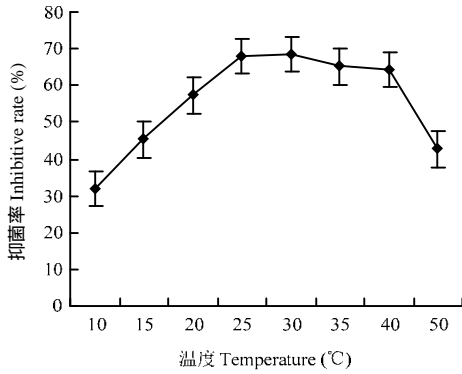


图 5 温度对菌株 YH-07 抑菌率的影响

Fig. 5 Effects of temperature on inhibitive rate of strain YH-07

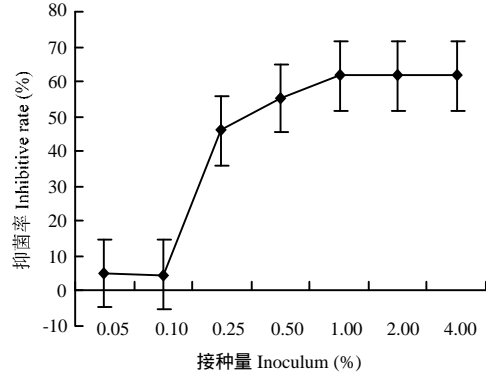


图 6 接种量对菌株 YH-07 抑菌率的影响

Fig. 6 Effects of inoculum on inhibitive rate of strain YH-07

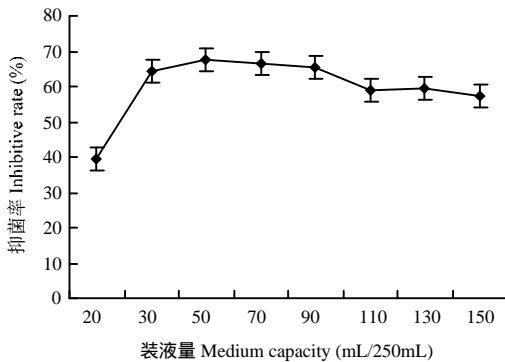


图 7 装液量对菌株 YH-07 抑菌率的影响

Fig. 7 Effects of medium capacity on inhibitive rate of strain YH-07

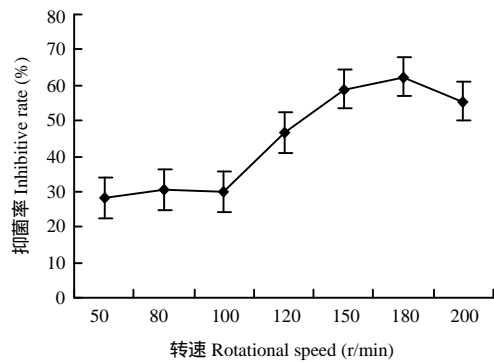


图 8 转速对菌株 YH-07 抑菌率的影响

Fig. 8 Effects of rotational speed on inhibitive rate of strain YH-07

2.3.5 初始 pH 的优化 菌株 YH-07 对 pH 的适应性较宽。当 pH 高于 5.0 后, YH-07 的抑菌率显著提升,在 pH 为 7.0 时,抑菌率最高,为 66.7%。之后随着 pH 升高,抑菌率又呈现逐渐下降的趋势(图 9)。

2.4 优化培养条件与原始条件比较

采用优化后的培养条件 24 h 发酵液对尖孢镰刀菌的抑菌率达 86.7%, 相较优化前抑菌率提高了 9.4%, 说明优化后的培养条件更有利于菌株 YH-07 产抑菌活性物质(图 10)。

2.5 菌株 YH-07 对番茄枯萎病的防治作用

接种生防菌的番茄(YH-07、H7+R)发病率明显低于未接种生防菌的处理(R、CK)。在接种 15 d

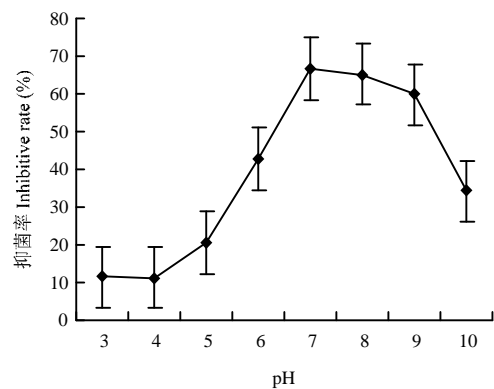
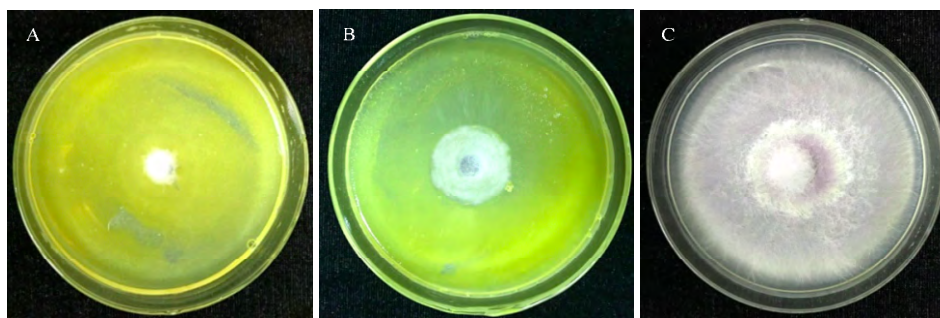


图 9 初始 pH 对菌株 YH-07 抑菌率的影响

Fig. 9 Effects of pH on inhibitive rate of YH-07 strain



A：优化发酵条件 Optimized fermentation condition；B：原始发酵条件 Original fermentation condition；C：CK

图 10 优化培养条件和原始培养条件抑菌能力对比

Fig. 10 Comparison of inhibitory effect under optimized fermentation condition and original fermentation condition

后，对番茄枯萎病的防治效果为 51.06%。随着种植天数的增加，番茄的病情指数也不断增加，但接种过生防菌 YH-07 的处理（YH-07、H7 + R）病情指数上升幅度最小，均显著低于 CK 的病情指数。在种植 45 d 后，同时接种拮抗菌和致病菌（H7 + R）对枯萎病的防效为 53.13%，保持着较好的效果，表明接入 YH-07 可减轻番茄枯萎病的发生（表 3）。

表 3 不同处理对番茄枯萎病的防治效果

Table 3 Effect of different treatments on *Fusarium* wilt of tomato

处理方式 Treatment	15 d			45 d		
	发病率 Incidence (%)	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficiency (%)	发病率 Incidence (%)	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficiency (%)
YH-07	20.39 ± 1.96 d	11.06 ± 1.07 d	-	22.36 ± 2.92 c	12.64 ± 1.47 d	-
H7 + R	28.06 ± 1.75 b	19.33 ± 1.81 b	51.06 ± 1.43	33.62 ± 2.53 c	28.51 ± 0.33 c	53.13 ± 1.03
R	47.33 ± 1.56 a	39.50 ± 1.64 a	-	68.89 ± 0.99 a	60.83 ± 2.79 a	-
CK	23.33 ± 1.37 c	13.83 ± 2.31 c	-	55.69 ± 1.96 b	47.76 ± 1.03 b	-

注：YH-07，只接种生防菌处理；H7 + R，同时接种生防菌和病原菌处理；R，只接种病原菌处理；CK，清水对照。表中字母表示在  $P < 0.05$  水平上差异显著。下同。

Note: YH-07, suspension of the antagonist treatment; H7 + R, suspension of antagonist and pathogen treatment; R, spore suspension of the pathogen treatment; CK, water treatment. The letters in the table indicated significant difference at the  $P < 0.05$  level. The same below.

### 2.6 菌株 YH-07 对盆栽番茄根际微生物的影响

生防菌 YH-07 对根际微生物数量有显著影响，随着种植天数的增加，生防菌处理（YH-07、H7 + R）的根际真菌数量减少了 26.9% 和 28.8%，而细菌数量分别增加了 46.8% 和 40.5%，放线菌数量分别增加了 8.1% 和 26.2%（表 4）。

表 4 不同处理对番茄根际土壤微生物的影响

Table 4 Effect of different treatments on the density of microorganisms in rhizosphere

时间 Time	处理方式 Treatment	微生物数		
		细菌数 Number of bacteria ( $10^6$ CFU/g)	放线菌数 Number of actinomycetes ( $10^4$ CFU/g)	真菌数 Number of fungi ( $10^5$ CFU/g)
15 d	YH-07	1.71 ± 0.95 a	5.09 ± 0.35 a	1.77 ± 1.12 c
	H7 + R	1.53 ± 0.82 ab	3.43 ± 0.46 c	2.85 ± 0.53 b
	R	1.48 ± 0.75 b	2.67 ± 1.10 d	5.48 ± 1.22 a
	CK	1.63 ± 0.56 ab	4.47 ± 0.82 b	1.19 ± 0.76 c
45 d	YH-07	2.51 ± 0.31 a	5.50 ± 0.53 a	1.31 ± 1.21 bc
	H7 + R	2.15 ± 0.36 b	4.33 ± 0.27 b	2.03 ± 0.85 b
	R	1.67 ± 0.75 c	2.48 ± 0.98 d	6.41 ± 0.84 a
	CK	1.74 ± 0.63 c	3.66 ± 1.02 c	2.57 ± 0.84 bc



### 3 讨论

海洋源微生物具有耐盐、耐酸碱、耐高温、耐贫瘠等特点,相比陆地微生物,能产生新颖的活性物质<sup>[16-18]</sup>,海洋微生物作为重要的生防资源,具有广阔的应用前景。国内外利用海洋微生物进行生物防治的报道较多,Tareq等<sup>[19]</sup>报道了从海洋芽胞杆菌 *Bacillus subtilis* 中分离出的3种新型线性脂肽化合物,其对尖孢炭疽病菌、水稻纹枯病菌及番茄灰霉病菌等病原性真菌显示出良好的抑菌活性;Trischman等<sup>[20]</sup>从加利福尼亚海湾中分离出了13株细菌,其中2株革兰氏阳性菌能产生抗菌活性物质;Yoshikawa等<sup>[21]</sup>发现从海藻表面分离筛选到弧菌 C-979,其培养液对一些蓝细菌生长有抑制作用。李伟等<sup>[22]</sup>从南海中分离出对黄瓜枯萎病菌有强抑制效果的枯草芽胞杆菌 3512A,田间防治效果达到70%以上。赤杆菌作为一类重要的海洋源微生物,在全球海洋碳循环和能量代谢过程中发挥着重要作用,在环境修复<sup>[23,24]</sup>、食品工程<sup>[25]</sup>和生物医学<sup>[26,27]</sup>等领域也具有应用价值。

本实验室在连云港海域采集的海泥样本中筛得了一株海洋源细菌——赤杆菌 YH-07,室内平板试验中,YH-07对番茄枯萎病具有较强的抑制作用。不同培养基营养成分和发酵条件可显著影响菌株代谢产物的产率<sup>[28,29]</sup>。为了进一步提高该菌株抑菌活性物质的产量,通过单因素试验和正交试验,优化得到最有利于YH-07产抗菌活性物质的培养基配方:蛋白胨1%,酵母粉0.25%,蔗糖1%,NaCl3%,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.03%。并进行了发酵条件的优化,得到最佳培养条件为温度30℃、接种量1%、装液量50 mL/250 mL、转速140 r/min、pH 7.0。菌株YH-07在发酵条件优化后的抑菌活性比优化前提高了9.4%。值得一提的是该菌株的耐盐性极高,推测将该菌株应用于存在盐渍化问题的设施土传病害的防治中会有较好的生防效果,本研究也会在接下来的试验中对此进行验证。

试验还发现,经YH-07发酵液处理的番茄根际土中细菌和放线菌数量显著增加。细菌是土壤物质转化的主要动力,在土壤中占绝对优势。放线菌能产生抗生素或其他激素类物质,有利于抑制病原菌的生长。土壤微生物组成在一定程度上会对植物病害的发生和为害程度产生影响,Jancvier等<sup>[30]</sup>的研究表明,微生物的密度与土壤抑制病原菌的能力呈正相关;Peng等<sup>[31]</sup>发现细菌密度的增加能够显著抑制土壤中香蕉枯萎病 *F. oxysporum* f. sp. *cubense*。本研究中的拮抗细菌YH-07盆栽生防效果尚可,说明生防菌YH-07能够通过影响土壤微生物的组成、抑制病原真菌的生长从而降低植物发病率。

综上所述,赤杆菌YH-07作为生防菌对番茄枯萎病有良好的防治效果,具有在番茄生产中的应用价值。我们也将在今后的试验中继续对生防菌在植株体内不同部位的定殖动态进行检测,并研究其与植株的防御基因表达、酶活性变化等植物诱导抗性的相关关系,从而全面揭示赤杆菌YH-07对番茄枯萎病的防治机制。

### 参 考 文 献

- [1] Ajilogba C F, Babalola O O. Integrated management strategies for tomato *Fusarium wilt*[J]. *Biocontrol Science*, 2013, 18(3): 117-127.
- [2] 葛晓颖,孙志刚,李涛,等. 设施番茄连作障碍与土壤芽胞杆菌和假单胞菌及微生物群落的关系分析[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(3): 514-523.
- [3] 徐艳辉,李焯,许向阳. 番茄枯萎病的研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2008, 39(11): 128-134.
- [4] Weller D M, Raaijmakers J M, Gardener B B M, et al. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2002, 40(1): 309-348.
- [5] Knox O, Killham K, Leifert C. Effects of increased nitrate availability on the control of plant pathogenic fungi by the soil bacterium *Bacillus subtilis*[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(2): 227-231.
- [6] 马成涛,胡青,杨德奎. 土壤有益微生物防治植物病害的研究进展[J]. *山东科学*, 2007, 20(6): 61-67.
- [7] 刘邮洲,陈志谊,梁雪杰,等. 番茄枯萎病和青枯病拮抗细菌的筛选、评价与鉴定[J]. *中国生物防治学报*, 2012, 28(1): 101-108.
- [8] 崔萍,安慧,张楠,等. 番茄枯萎病病原菌鉴定与拮抗菌筛选[J]. *西南农业学报*, 2013, 26(3): 1038-1043.
- [9] 詹发强,侯敏,杨蓉,等. 一株番茄枯萎病生防菌的鉴定、定殖与盆栽防效研究[J]. *新疆农业科学*, 2013, 50(7): 1277-1287.
- [10] 杨秀荣,刘水芳,孙淑琴,等. 生防细菌防治土传病害的研究进展[J]. *天津农业科学*, 2008, 14(4): 38-42.



- [11] Bhatnagar I, Kim S K. Pharmacologically prospective antibiotic agents and their sources: a marine microbial perspective[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, 34(3): 631-643.
- [12] Sun X, Zhao G M, Gu C H, *et al.* Screening for and identification of an anti-clam *Vibrio* marine bacterium from an Aquaculture Pond in the Yellow Sea[J]. *Clean-Soil, Air, Water*, 2016, 44(3): 304-308.
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [14] 梁雪杰, 张婷婷, 乔俊卿, 等. 番茄土传病害拮抗菌的筛选、评价及鉴定[J]. *西南农业学报*, 2014, 27(3): 1096-1103.
- [15] 张斌, 杨晓云, 陈志谊. 番茄枯萎病致病镰刀菌种类鉴定及优势种群的研究[J]. *植物病理学报*, 2016, 46(4): 561-565.
- [16] 柏凤月, 倪孟祥. 海洋微生物来源的抗菌活性物质研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2016(5): 15-19.
- [17] Habbu P, Warad V, Shastri R, *et al.* Antimicrobial metabolites from marine microorganisms[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2016, 14(2): 101-116.
- [18] 刘全永, 胡江春, 薛德林, 等. 海洋微生物活性物质研究[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(7): 901-905.
- [19] Tareq F S, Lee M A, Lee H S, *et al.* Gageostatins A-C, antimicrobial linear lipopeptides from a marine *Bacillus subtilis*[J]. *Marine Drugs*, 2014, 12(2): 871-885.
- [20] Trischman J A, Oeffner R E, de Luna M G, *et al.* Competitive induction and enhancement of indole and a diketopiperazine in marine bacteria[J]. *Marine Biotechnology*, 2004, 6(3): 215-220.
- [21] Yoshikawa K, Adachi K, Nishijima M, *et al.*  $\beta$ -Cyanoalanine production by marine bacteria on cyanide-free medium and its specific inhibitory activity toward cyanobacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(2): 718-722.
- [22] 李伟, 胡江春, 王书锦. 海洋细菌 3512A 对黄瓜枯萎病的防治及促进植株生长的效应[J]. *沈阳农业大学学报*, 2008, 39(2): 182-185.
- [23] Alonso-Gutiérrez J, Figueras A, Albaigés J, *et al.* Bacterial communities from shoreline environments (costa da morte, northwestern Spain) affected by the prestige oil spill[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(11): 3407-3418.
- [24] Teramoto M, Suzuki M, Hatmanti A, *et al.* The potential of *Cycloclasticus* and *Altererythrobacter* strains for use in bioremediation of petroleum-aromatic-contaminated tropical marine environments[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, 110(1): 48-52.
- [25] Feng X M, Mo Y X, Han L, *et al.* *Qipengyuania sediminis* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Erythrobacteraceae*, isolated from subterrestrial sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(10): 3658-3665.
- [26] Hu Y C, MacMillan J B. Erythrazoles A-B, cytotoxic benzothiazoles from a marine-derived *Erythrobacter* sp.[J]. *Organic Letters*, 2011, 13(24): 6580-6588.
- [27] Hu Y C, Legako A G, Espindola A P D M, *et al.* Erythrolic acids A-E, meroterpenoids from a marine-derived *Erythrobacter* sp.[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2012, 77(7): 3401-3407.
- [28] 臧超群, 安福涛, 刘长远, 等. 生防细菌 SY286 发酵条件优化[J]. *中国农学通报*, 2015, 25: 157-163.
- [29] Younis M A M, Hezayen F F, Nour-Eldein M A, *et al.* Optimization of cultivation medium and growth conditions for *Bacillus subtilis* KO strain isolated from sugar cane molasses[J]. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 2010, 7(1): 31-37.
- [30] Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, *et al.* Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators?[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(1): 1-23.
- [31] Peng H X, Sivasithamparam K, Turner D W. Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(10): 1363-1374.