

陈小尘, 徐金荣, 高培妍, 等. 老枞根际放线菌鉴定及其对可可毛色二孢抑制效果研究 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (9): 1103-1111.
CHEN X C, XU J R, GAO P Y, et al. Identification and Inhibitory Effect on *Lasiodiplodia theobromae* of Actinomycetes in *Camellia sinensis* Rhizosphere Soil [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (9): 1103-1111.

老枞根际放线菌鉴定及其对可可毛色二孢抑制效果研究

陈小尘^{1,2}, 徐金荣¹, 高培妍¹, 罗正朵¹, 郑智胜¹, 吴宝川¹,
周 艳³, 黄兆斌¹, 陈洪彬¹, 张秋芳^{1*}

(1. 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建 泉州 362000; 2. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002;
3. 武夷山国家公园科研监测中心, 福建 南平 354300)

摘 要:【目的】从老枞根际土壤分离可培养放线菌, 获取潜在新物种, 并筛选可可毛色二孢拮抗菌株。【方法】采用土壤稀释涂布法和三区划线法进行分离和纯化, 获得放线菌菌株; 通过比对 16S rRNA 基因序列和构建系统发育树, 对菌株进行初步分类和鉴定; 采用平板对峙法进行抑菌活性筛选。【结果】(1) 共获得 81 株不同放线菌菌株, 分别隶属于链霉菌 *Streptomyces* (54.32%)、节杆菌 *Arthrobacter* (27.16%)、微杆菌 *Microbacterium* (11.11%)、北里孢菌 *Kitasatospor* (4.94%) 和短小杆菌 *Curtobacterium* (2.47%) 5 个属; (2) 与已知模式菌株相比, 相似度小于 98.65% 的潜在新种共有 20 株; (3) 经可可毛色二孢平板对峙试验筛选后, 获得 7 株高抑菌活性链霉菌, 其中链霉菌 ON316885 的抑菌率最高, 达到 63.92%。【结论】武夷山老枞根际土壤中蕴含着丰富的放线菌资源, 具有深度挖掘研究的价值, 其中一些链霉菌具有较高的生防应用价值。

关键词: 老枞根际土壤; 放线菌; 可可毛色二孢; 16S rRNA 基因

中图分类号: TS201.3 文献标志码: A 文章编号: 1008-0384 (2023) 09-1103-09

Identification and Inhibitory Effect on *Lasiodiplodia theobromae* of Actinomycetes in *Camellia sinensis* Rhizosphere Soil

CHEN Xiaochen^{1,2}, XU Jinrong¹, GAO Peiyan¹, LUO Zhengduo¹, ZHENG Zhisheng¹, WU Baochuan¹,
ZHOU Yan³, HUANG Zhaobin¹, CHEN Hongbin¹, ZHANG Qiufang^{1*}

(1. College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362000, China; 2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350007, China; 3. Research Monitoring Center, Wuyishan National Park, Nanping, Fujian 354300, China)

Abstract: 【Objective】 Actinomycetes collected from the rhizosphere soils of old tea plants were isolated to screen for species unknown previously and their potential pathogenic inhibitory effect. 【Method】 Soil specimens were gathered from the target lots at Shuixian, Fujian to isolate actinomycetes by plate culture. Phylogenetic trees based on 16S rRNA gene for the isolates were constructed and diversity index calculated in the tea plant rhizosphere soils. 【Result】 (1) Eighty-one actinomycete strains were obtained that belonged to *Streptomyces* (54.32%), *Arthrobacter* (27.16%), *Microbacterium* (11.11%), *Kitasatospora* (4.94%), and *Curtobacterium* (2.47%). (2) In comparing with the reference strain, 20 of the 81 taxa showed less than 98.65% similarity. (3) Seven strains of the *Streptomyces* significantly inhibited the growth of *Lasiodiplodia theobromae*, of which, the one code-named WYS-24 reached the highest rate at 63.92%. 【Conclusion】 Abundantly diverse actinomycetes resided in the rhizosphere of old tea plants in Wuyishan region. They were a rich resource for in-depth studies and development for biological inhibitors against plant pathogens.

Key words: Rhizosphere; *Camellia sinensis*; *Lasiodiplodia theobromae*; 16S rRNA gene

收稿日期: 2023-04-17 修回日期: 2023-06-13
作者简介: 陈小尘 (1997—), 男, 硕士研究生, 主要从事放线菌抗菌活性物质提取研究, E-mail: 872771920@qq.com
* 通信作者: 张秋芳 (1973—), 女, 博士, 教授, 主要从事环境微生物生态、生物资源利用和生态修复研究, E-mail: qfzhang@163.com
基金项目: 福建省科技计划引导性项目 (2020N0032)

0 引言

【研究意义】武夷水仙 (*Camellia sinensis*, “Fujian Shuixian”) 是武夷岩茶主要品种, 通常把树龄大于 50 年的植株称为老枞。经过漫长生长, 老枞植株从树干到树茎都布满绿色青苔, 形成了具有青苔味、粽叶味和木质味等独特“枞味”茶叶而闻名于世^[2-3]。放线菌是最具经济和生物技术应用价值的微生物^[4], 产生的次级代谢产物是新医药和农药研制的重要源头^[5-6]。根际土壤是植物-微生物相互作用中有益微生物群落的关键生态位, 所含的放线菌物种多样性丰富, 其中一些放线菌产生独特的活性代谢物, 不仅具有抑制病原微生物作用, 同时也会促进植物生长, 在农业和生物医药领域具有巨大应用潜力^[7-8]。尽管当前微生物组学技术已成为探究微生物物种多样性的重要手段, 但只有成功分离培养的菌株才能更好地开发和利用^[9-10]。可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*) 是一种多寄主世界性的土传病原菌, 能在茶树^[11]、橡树^[12]、百香果^[13]及菠萝等^[14] 500 余种热带和亚热带地区的植物上广泛寄生和分布, 会引发叶斑、溃疡、枯死和根腐等病害, 造成了严重的经济损失, 但当前缺乏有效的应对手段。因此分离并筛选出具有可可毛色二孢拮抗潜力的放线菌菌株, 对今后采取生物防治手段应对可可毛色二孢具有重要意义。【前人研究进展】经过数十年的筛选挖掘, 已经很难从普通土壤生境中获得新颖的放线菌菌株。目前, 海洋环境、高温热泉、高盐环境、高寒地区、植物内部及植物根际等特殊生境正成为寻找新型放线菌资源的重要来源^[15-20]。此前, 研究者从丹参^[21]和枸杞^[22]等植物根际分离到了新型放线菌, 并证明它们具有一定生防或促生功能。目前已有许多关于生物防治菌株运用于植物病害防治和果蔬保鲜的报道, 如枯草芽孢杆菌已经应用于防治梨、番茄和草莓等水果的病害^[23]; Zhou 等^[24]将链霉菌 (*Streptomyces*. sp. HSL-9B) 运用于芒果的采后保鲜, 其发酵液提取物能有效防治芒果采后炭疽病的侵染, 防治率高达 79.70%。目前有关可可毛色二孢拮抗菌的报道较少, 刘双龙等^[25]分离到一株粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 对可可毛色二孢具有良好的抑制作用。【本研究切入点】微生物、植物和土壤之间存在着复杂的相互作用, 根际是微生物与植物相互作用的特殊区域, 直接受到根系分泌物的影响^[26]。老枞植株长期生长过程中向根际土壤释放生物活性物质的大量积累, 形成独特微生态环境, 富集了适应该环境条件的特异微生物群落^[27], 其中可

能含有新的放线菌物种; 而且老枞根际独特的微生态环境中蕴藏的放线菌可能产生独特活性代谢物, 具有抑制病原微生物的作用, 但对老枞植株长期生长所形成的根际土壤微生境中的放线菌资源的挖掘研究还有待深入进行。【拟解决的关键问题】以典型武夷山老枞茶树植株的根际土壤为研究对象, 分离和纯化根际土壤中的可培养放线菌菌株, 应用分子生物学方法进行鉴定和分类, 以期分离得到老枞根际土壤特殊环境下具应用潜力的新型放线菌资源; 同时以可可毛色二孢为指示菌, 对放线菌进行抗病原真菌效果的初步筛选, 为老枞根际放线菌资源的挖掘与利用提供试验基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集和制备

采集武夷山国家公园内 11 个具代表性和典型的武夷水仙老枞茶园的植株根际土壤, 每个采样点采集 10 份, 共 110 份土样。WYS1~WYS11 分别表示程墩、吴三地、马坊、樟树、古井、慧苑坑、流香涧、九龙窠、悟源涧、九龙窠和马头岩, 老枞茶园采样点位置如图 1 所示, 老枞生长年限均大于 50 年。参照 Berhongaray 等^[28]的方法, 轻轻刨开距土壤表层 5~20 cm 深处寻找细根, 用无菌剪刀剪断后, 装入无菌保鲜袋中, 保存于 4 ℃ 低温采样箱中, 迅速运回实验室。

附着在根部约 1 mm 厚的土壤被定义为根际土壤^[29]。在超净工作台内将粘附有根际土壤的根系转移并浸没于无菌 10 mmol·L⁻¹ PBS 溶液中, 于摇床室温下、120 r·min⁻¹ 振荡 20 min, 挑除根系后的土壤悬浮液后, 9 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 收集获得沉淀的根际土壤^[30]。

1.2 放线菌分离、纯化、鉴定和系统发育树构建

使用高氏 1 号和 ISP2 固体培养基进行根际土壤放线菌菌株的分离和培养: 称取根际土壤样品 2 g, 置于装有 18 mL 无菌生理盐水离心管中, 180 r·min⁻¹ 振荡 30 min 后, 制备成土壤悬液, 稀释 10³ 倍后, 均匀涂布于培养基平板上, 28 ℃ 下培养 3~5 d。将培养得到的不同形态的菌落进行分离培养, 采用三区划线法进行 3 次纯化。纯化获得的单菌落接入液体培养基, 于 28 ℃、180 r·min⁻¹ 培养 24~72 h 后获得菌体, 用 DNA 提取试剂盒 (上海赛百盛基因技术有限公司) 提取 DNA。用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTA CCTTGTTACGACTT-3') 进行扩增^[31]。PCR 反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变

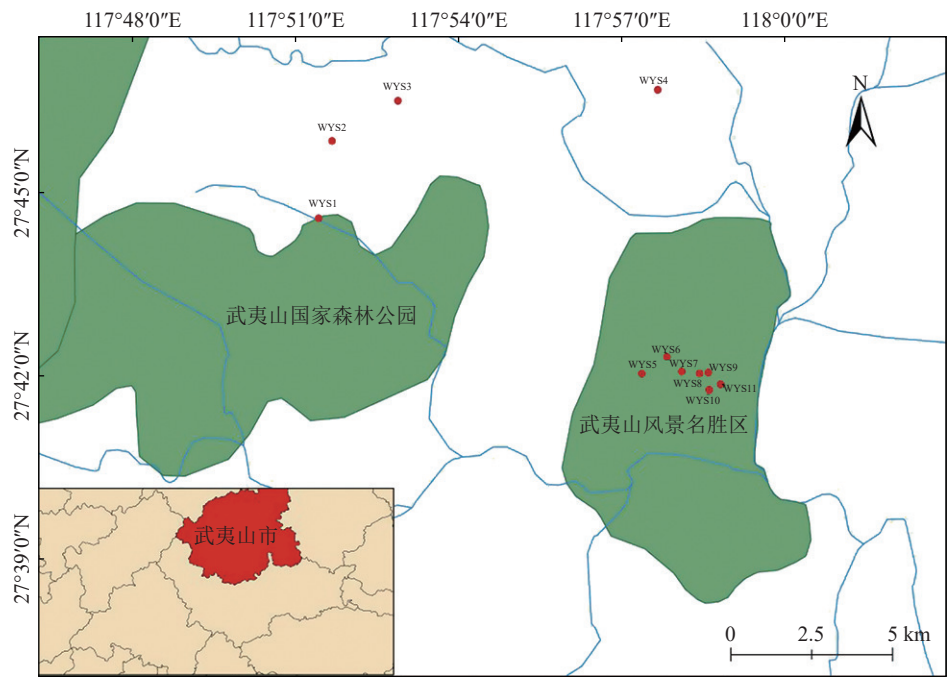


图 1 武夷山老枞茶园根际土壤采样点分布

Fig. 1 Sites for sampling actinomycetes in old tea plant rhizosphere soils at plantations in Wuyishan

性 45 s, 55 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 1 min (30 个循环); 最后 72 ℃ 延伸 10 min。取部分 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳在自动凝胶成像仪上进行观察检测后, 将约在 1 500 bp 处具有明亮 DNA 条带的 PCR 产物送至厦门铂瑞生物科技有限公司, 使用 ABI3730I 测序仪进行双向测序。

使用 Seqman 软件对测序所得的 16S rRNA 基因序列末端杂峰进行裁剪拼接后, 上传至 EzBioCloud (<https://www.Ezbiocloud.net/identify>) 进行比对, 确定与之亲缘关系最近的物种; 当与最相似模式菌株的 16S rRNA 基因序列相似度 < 98.65% 时, 判断为潜在新物种^[32]。应用 MEGA 10 软件, 以邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建菌株系统发育树, 重复计算次数为 1 000 次^[33], 并用 iTOL (<https://itol.embl.de>) 进一步完善和美化进化树。

1.3 可可毛色二孢拮抗放线菌筛选

以可可毛色二孢为指示病原菌, 在 PDA 培养基上, 采用平板对峙法筛选对其具有抑制效果的放线菌: 在距离平板中心 2 mm 四周划线接种放线菌, 30 ℃ 培养 1 d, 待放线菌略长出菌丝后, 在培养基中央放置一块可可毛色二孢菌饼 (Φ=7 mm), 每处理设重复 3 次, 并加设只接种病原菌不接种放线菌为对照 (CK), 于 30 ℃ 培养 5 d 后, 用 Shinesso 全自动菌落计数联用仪 (杭州迅数科技有限公司) 拍照和测量可可毛色二孢菌落直径大小, 并按照下列公式计算抑菌率^[34]。

抑制率/%=[(对照病原菌菌落直径—处理病原菌菌落直径)/(对照病原菌菌落直径—菌饼直径)]×100

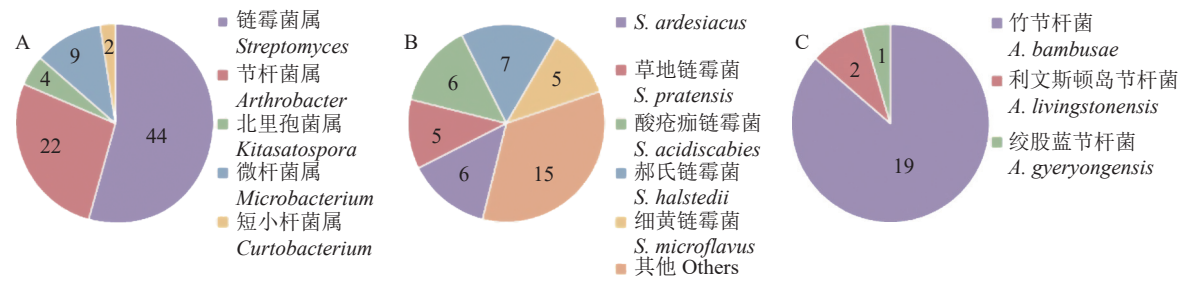
2 结果与分析

2.1 老枞根际土壤可培养放线菌物种组成

分离和纯化培养后获得的老枞根际土壤放线菌菌株, 经 16S rRNA 基因序列分析和比对后, 共获得 81 株相互之间相似度小于 99% 的放线菌菌株, 隶属于 5 个属, 分别为: 链霉菌 (*Streptomyces*)、节杆菌 (*Arthrobacter*)、北里孢菌 (*Kitasatospora*)、微杆菌 (*Microbacterium*) 和短小杆菌 (*Curtobacterium*)。其中, 链霉菌属共分离到 44 株, 占 54.32%, 为老枞根际土壤可培养放线菌的最优势物种; 其次是节杆菌属 22 株, 占 27.16% (图 2)。这些菌株的 16S rRNA 基因序列已上传至 GenBank 数据库, 登录号为 ON165519~ON165538, ON316876~ON316894, ON533543~ON533566。

2.2 老枞根际土壤可培养放线菌潜在的新物种

如表 1 和图 3 所示, 本研究获得与已知模式菌株相似度小于 98.65% 的潜在新物种 20 株, 包括链霉菌属 12 株、节杆菌属 4 株、微杆菌属 3 株和北里孢菌属 1 株, 占所获得可培养菌株总数的 24.69%。其中, 相似度小于 97.0% 菌株 1 株 (ON165533), 介于 97.00%~98.00% 潜在新物种 10 株 (ON165521、ON165522、ON165523、ON165524、ON165527、ON165528、ON165530、ON165531、ON165537 和



A. 放线菌属水平物种组成；B. 链霉菌组成；C. 节杆菌组成。
A: Genera of Actinomycetes; B: species of *Streptomyces*; C: species of *Arthrobacter*.

图 2 放线菌物种组成
Fig. 2 Actinomycetes taxa

ON165538), 98.00%~98.65% 的潜在新物种 9 株 (ON165519、ON165520、ON165525、ON165526、ON165529、ON165532、ON165534、ON165535 和 ON165536)。

表 1 老枞根际土壤可培养放线菌代表菌株与最相似模式菌株比较

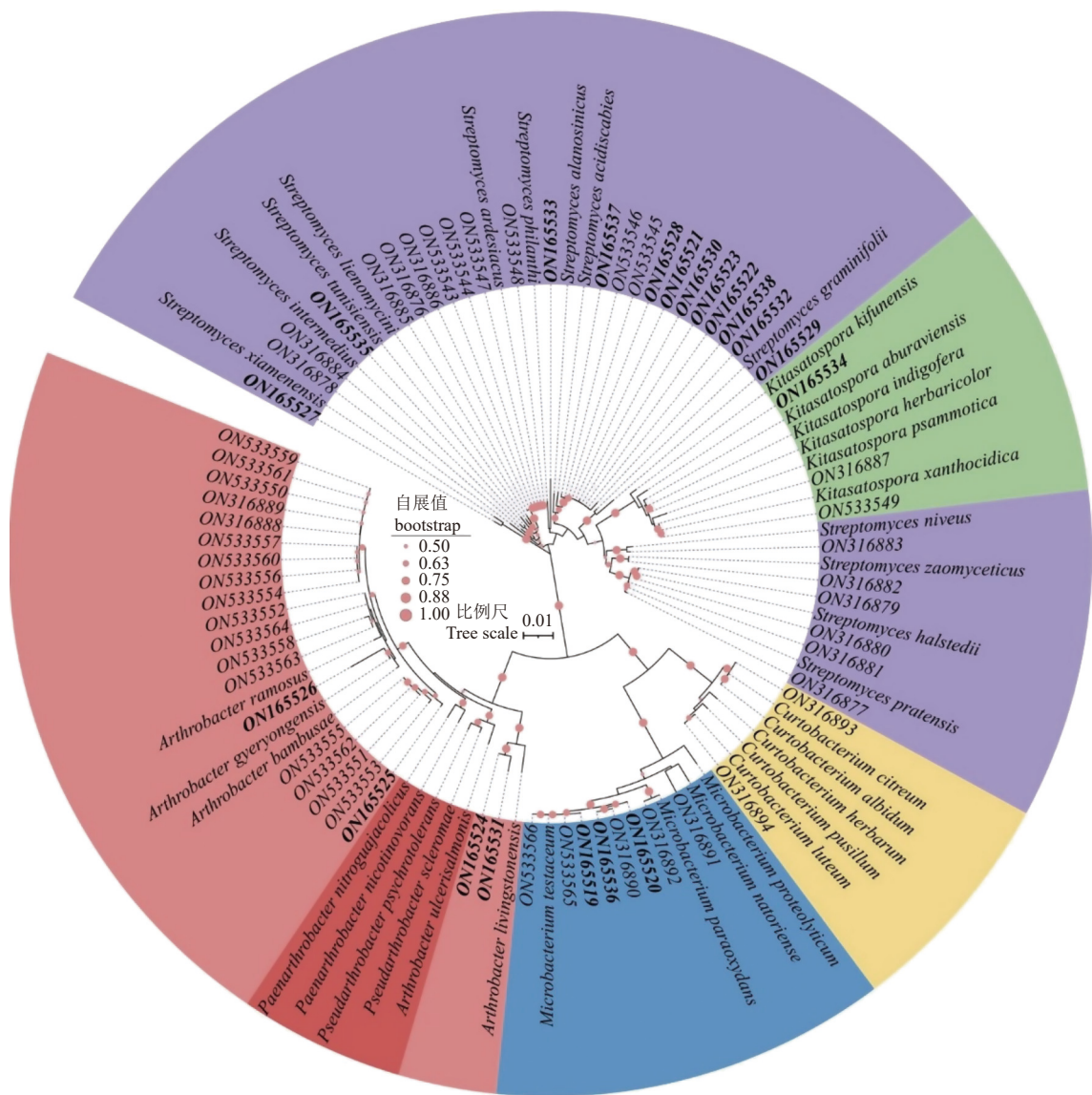
Table 1 Comparison between actinomycetes isolated from old tea plant rhizosphere and that closest to reference strain

菌株登录号 Accession No. of strain	最相似菌株及登录号 The closest type strain and its accession	中文名称 Chinese name	相似度 Similarity/%
ON165519	<i>Microbacterium proteolyticum</i> (KM359785)	蛋白水解微杆菌	98.08
ON165520	<i>Microbacterium testaceum</i> (BJML01000022)	种皮微杆菌	98.53
ON165521	<i>Streptomyces acidiscabies</i> (D63865)	酸性疮链霉菌	97.91
ON165522	<i>Streptomyces pseudovenezuelae</i> (KQ948163)	金霉素链霉菌	97.56
ON165523	<i>Streptomyces acidiscabies</i> (D63865)	酸性疮链霉菌	97.94
ON165524	<i>Arthrobacter livingstonensis</i> (GQ406811)	利文斯顿岛节杆菌	97.97
ON165525	<i>Arthrobacter bambusae</i> (KF150696)	竹节杆菌	98.63
ON165526	<i>Arthrobacter bambusae</i> (KF150696)	竹节杆菌	98.42
ON165527	<i>Streptomyces xiamenensis</i> (EF012099)	厦门链霉菌	97.55
ON165528	<i>Streptomyces alanosinicus</i> (AB184442)	阿拉诺链霉菌	97.43
ON165529	<i>Streptomyces graminifolii</i> (HQ267984)	禾叶链霉菌	98.58
ON165530	<i>Streptomyces acidiscabies</i> (D63865)	酸性疮链霉菌	97.96
ON165531	<i>Arthrobacter livingstonensis</i> (GQ406811)	利文斯顿岛节杆菌	97.46
ON165532	<i>Streptomyces acidiscabies</i> (D63865)	酸性疮链霉菌	98.56
ON165533	<i>Streptomyces philanthi</i> (DQ375802)	嗜酸链霉菌	96.73
ON165534	<i>Kitasatospora psammotica</i> (MT760550)	—	98.54
ON165535	<i>Streptomyces intermedius</i> (AB184277)	中间型链霉菌	98.61
ON165536	<i>Microbacterium proteolyticum</i> (KM359785)	蛋白水解微杆菌	98.22
ON165537	<i>Streptomyces griseocarneus</i> (MT760576)	灰色链霉菌	97.80
ON165538	<i>Streptomyces aquilus</i> (MH718844)	棕色链霉菌	97.78
ON316876	<i>Streptomyces ardesiacus</i> (DQ026631)	桔橙链霉菌	99.16
ON316877	<i>Streptomyces pratensis</i> (JQ806215)	草地链霉菌	99.56
ON316878	<i>Streptomyces mexicanus</i> (AF441168)	墨西哥链霉菌	98.92
ON316879	<i>Streptomyces halstedii</i> (AB184142)	郝氏链霉菌	99.86
ON316880	<i>Streptomyces microflavus</i> (AB184284)	细黄链霉菌	99.36
ON316881	<i>Streptomyces badius</i> (AY999783)	栗褐链霉菌	99.03
ON316882	<i>Streptomyces zaomyceticus</i> (AB184346)	沙阿霉素链霉菌	98.95
ON316883	<i>Streptomyces niveus</i> (DQ442532)	雪百链霉菌	100.00
ON316884	<i>Streptomyces xylanilyticus</i> (LC128341)	—	99.92

续上表

菌株登录号 Accession No. of strain	最相似菌株及登录号 The closest type strain and its accession	中文名称 Chinese name	相似度 Similarity/%
ON316885	<i>Streptomyces rochei</i> (MUMD01000370)	罗氏链霉菌	98.88
ON316886	<i>Streptomyces coelicoflavus</i> (AB184650)	天蓝黄链霉菌	98.95
ON316887	<i>Kitasatospora xanthocidica</i> (AB184427)	—	99.50
ON316888	<i>Arthrobacter bambusae</i> (KF150696)	竹节杆菌	99.50
ON316889	<i>Arthrobacter gyeryongensis</i> (JX141781)	绞股蓝节杆菌	99.06
ON316890	<i>Microbacterium proteolyticum</i> (KM359785)	—	99.02
ON316891	<i>Microbacterium azadirachtae</i> (JYIT01000023)	—	99.29
ON316892	<i>Microbacterium paraoxydans</i> (BCRH01000180)	—	99.22
ON316893	<i>Curtobacterium citreum</i> (X77436)	柠檬色短小杆菌	99.36
ON316894	<i>Curtobacterium albidum</i> (AM042692)	—	98.79

粗体表示与模式菌株的相似度小于98.65%。
Bold font indicates a less than 98.65% similarity with reference strain.



粗体表示与模式菌株相似度小于98.65%。
Bold font indicates less than 98.65% similarity with reference strain.

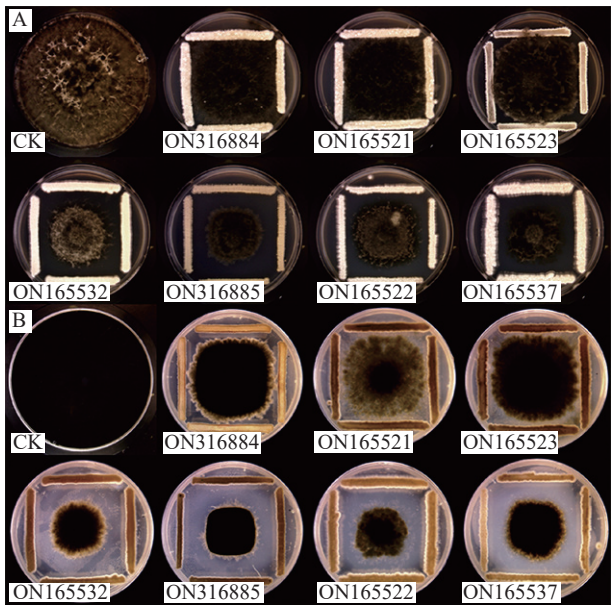
图 3 老枞根际土壤中可培养放线菌系统发育进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of culturable actinomycetes in old tea plant rhizosphere soil

如 图 3 所示，介于酸性疮链霉菌 (*S. acidiscabies*) 与禾叶链霉菌 (*S. graminifolii*) 之间的分支上共有 10 个菌株，这些菌株均为与培养基紧密结合的白色干燥菌落。竹节杆菌 (*A. bambusae*) 右侧分支上 14 个菌株中，ON533552 与之相似度最高 (99.71%)，ON165526 相似度最低 (98.42%)。ON165520 所在的分支有 3 个菌株，其菌落均呈黄色湿润状，其中 ON316890 和 ON165536 与蛋白水解微杆菌 (*M. proteolyticumd*) 的相似度分别为 99.02% 和 98.22%，ON165520 与种皮微杆菌 (*M. testaceum*) 的相似度为 98.53%。与厦门链霉菌 (*S. xiamenensis*) 相似度为 97.55% 的 ON165527 与其他链霉菌不属于同一大支，其菌落基内菌丝为白色，气生菌丝黑白相间，干燥致密。与嗜酸链霉菌 (*S. philanthi*) 相似度为 96.73% 的 ON165533，是本次研究中已知模式菌相似度最低的菌株，其菌落呈黄色，干燥，与培养基结合紧密。上述结果表明，老枞根际土壤中蕴含着丰富的放线菌潜在新物种资源。

2.3 可可毛色二孢拮抗放线菌筛选结果

抑制效果如图 4 和表 2 所示，共筛选到 7 株对可可毛色二孢具有具明显抑制作用的放线菌，其 NCBI 登录号分别为 ON316884、ON165521、ON165523、ON165532、ON316885、ON165522 和 ON165537，均为链霉菌属。当可可毛色二孢生长 5 d 时，菌落平均



A. 平板正面; B. 平板背面。

A: Front of petri dish; B: back of petri dish.

图 4 强拮抗活性菌株对可可毛色二孢生长的抑制效果

Fig. 4 Inhibitory effects of highly active actinomycetes against *L. theobromae*

表 2 强拮抗活性菌株对可可毛色二孢的抑制作用
Table 2 Inhibitory effects of highly active actinomycetes against *L. theobromae*

菌株登记号 Accessions of strain	病原菌直径 Diameter of pathogen/mm	抑制率 Inhibition rate/%
CK	90.000	—
ON316884	59.725±0.111	33.64±0.37
ON165521	54.923±0.086	38.97±0.25
ON165523	52.211±0.095	41.99±0.25
ON165532	34.106±0.108	62.10±0.19
ON316885	32.476±0.106	63.92±0.18
ON165522	35.657±0.097	60.38±0.18
ON165537	39.736±0.062	55.85±0.12

直径和平均抑菌率如表 2 所示，其中 4 株抑制率大于 50%，抑制率最高的菌株为 ON165585，达 63.92%。

3 讨论与结论

本研究首先从老枞根际独特的土壤微环境中分离、培养放线菌菌株，共获得了相似度小于 98.65% 的不同菌株共 20 株，可能为潜在新放线菌物种。本次分离获得的所有放线菌菌株中，链霉菌占比为 54.32%，为最优势菌，其次是节杆菌，占 27.16%，还分离到了北里孢菌、微杆菌和短小杆菌 3 个属的菌株，这与以往从常规土壤和茶园根际土壤中分离放线菌研究的结果均有所不同。一般土壤生境中，可培养放线菌优势种群主要为链霉菌、诺卡氏菌 (*Nocardia*) 和小单孢菌 (*Micromonaspora*) 属，且各优势种群数量占比与所在地区土壤类型和理化性质等因素密切关系^[7,35-36]。从老枞根际土壤中分离到的节杆菌属物种数达 22 株、占比高达 27.16%，且有 19 株与竹节杆菌相似度较高；竹节杆菌最初由 Park 等^[37] 从竹林土壤中分离获得并命名，它能分解秦皮甲素 (Aesculin)、尿素和吐温 20 等多种物质，这可能是老枞茶叶具有独特“枞味”的原因之一。已有研究表明，老枞茶叶中所含的“枞味”随着树龄的增长而愈醇厚，其茶汤中的乙酸戊酯、戊醛、芳樟醇、苯甲醛和苯乙酮等挥发性香气物质含量显著高于普通水仙^[3]，但其他茶园根际土壤中并未分离到节杆菌或所占比例较低^[38-40]。因此，我们猜测老枞具有的特殊风味可能是与茶树吸收了根际土壤中富含节杆菌分泌的代谢物有关。链霉菌属被认为是放线菌群中最具优势的突出物种之一，目前大多数商业抗生素主要是由链霉菌属生产的，但链霉

菌作为生物防治的研究和应用在农业领域还非常有限^[41]。本次研究中分离获得的链霉菌物种桔橙链霉菌、草生链霉菌、酸性疮痂链霉菌、赫氏链霉菌和细黄链霉菌在根际土壤样品中出现的频率较高，这些链霉菌均已开展功能性研究的报道。如：桔橙链霉菌可产生使斑马鱼神经兴奋的多种信息素^[42]；草生链霉菌具防治马铃薯疮痂病的功能，而 *S. acidiscabies* 和 *S. halstedii* 则导致马铃薯感染疮痂病^[43-44]，赫氏链霉菌还可合成具抗真菌活性的大环内酯及可用于生产磷脂酰丝氨酸^[45-46]；细黄链霉菌具生物防治的应用潜力^[47]，且能促进植物生长^[48]。因此，在老枞根际土壤中获得这些链霉菌菌株可能也存在相似的应用价值和开发前景。将分离培养获得的所有放线菌菌株对常见植物病原真菌可可毛色二孢进行拮抗作用的初步试验和比较筛选，获得了4株抑制率大于50%的菌株，其中，ON165522、ON165532和ON165537均为潜在新种，具有深入挖掘其价值；菌株ON316885与罗氏链霉菌的相似度为98.88%，已有研究发现罗氏链霉菌产生的挥发性化合物可通过改变高粱籽粒致病菌串珠镰刀菌（*Fusarium moniliforme*）和玉米弯孢菌（*Curvularia lunata*）的菌丝结构来抑制菌丝体生长和产生孢子，菌丝生长抑制率可达60%以上^[49]，这说明ON316885可能具有类似功能，有待于进一步鉴定和研究。

综上所述，本研究通过对武夷山老枞茶树根际土壤独特生境中所富集生长的放线菌资源的挖掘，获得了一批可能具有较大开发和应用潜力菌株和潜在新物种，有望作为宝贵的微生物资源进行深入研究和开发利用。

参考文献：

- [1] 王飞权. 不同树龄武夷岩茶品质差异形成的机理[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
WANG F Q. *The formation mechanism of the quality difference of Wuyi rock tea made from different tree ages*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2020. (in Chinese)
- [2] 徐邢燕. 基于代谢组学的武夷肉桂茶不同烘焙程度、等级及地域品质差异研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2020.
XU X Y. *Metabolome analysis reveals quality differences of baking degrees, grades and areas in Wuyi Rougui tea*[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020. (in Chinese)
- [3] 商虎, 朱陈松, 叶婷婷, 等. 老枞水仙品质特征分析[J]. 中国农学通报, 2022, 38 (10): 141-148.
SHANG H, ZHU C S, YE T T, et al. The quality characteristics of *Camellia sinensis* 'Fujian Shuixian' [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38 (10): 141-148. (in Chinese)
- [4] KIM E S. Recent advances of actinomycetes [J]. *Biomolecules*, 2021, 11 (2): 134.
- [5] MAST Y, STEGMANN E. Actinomycetes: The antibiotics producers [J]. *Antibiotics*, 2019, 8 (3): 105.
- [6] JAGANNATHAN S V, MANEMANN E M, ROWE S E, et al. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products [J]. *Marine Drugs*, 2021, 19 (7): 365.
- [7] DUTTA J, THAKUR D. Diversity of culturable bacteria endowed with antifungal metabolites biosynthetic characteristics associated with tea rhizosphere soil of Assam, India [J]. *BMC Microbiology*, 2021, 21 (1): 216.
- [8] DHAR PURKAYASTHA G, MANGAR P, SAHA A, et al. Evaluation of the biocontrol efficacy of a *Serratia marcescens* strain indigenous to tea rhizosphere for the management of root rot disease in tea [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (2): e0191761.
- [9] WANG Q M, YANG R J, PENG W S, et al. Tea plants with gray blight have altered root exudates that recruit a beneficial rhizosphere microbiome to prime immunity against aboveground pathogen infection [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 774438.
- [10] WASCHULIN V, BORSETTO C, JAMES R, et al. Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing [J]. *The ISME Journal*, 2022, 16 (1): 101-111.
- [11] 任亚峰, 包兴涛, 李冬雪, 等. 茶叶叶斑病原菌可可毛色二孢菌的鉴定[J]. 植物病理学报, 2019, 49 (6): 857-861.
REN Y F, BAO X T, LI D X, et al. Identification of the pathogen *Lasiodiplodia theobromae* causing tea leaf spot [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2019, 49 (6): 857-861. (in Chinese)
- [12] 戴利铭, 刘一贤, 施玉萍, 等. 橡胶树可可毛色二孢叶斑病原菌生物学特性及药剂筛选试验[J]. 广东农业科学, 2018, 45 (7): 87-93.
DAI L M, LIU Y X, SHI Y P, et al. The biological characteristics of *Lasiodiplodia theobromae* causing leaf spot on rubber tree and the selection of fungicides in laboratory [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2018, 45 (7): 87-93. (in Chinese)
- [13] 黄艳花, 宁平, 黄远光, 等. 百香果茎基腐病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 西南农业学报, 2022, 35 (1): 105-112.
HUANG Y H, NING P, HUANG Y G, et al. Identification and biological characterization of stem rot pathogens from passion fruit [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35 (1): 105-112. (in Chinese)
- [14] 唐中发, 秦春秀, 缪卫国, 等. 海南菠萝一种叶斑病原菌的分离与鉴定及多基因序列分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40 (3): 1219-1226.
TANG Z F, QIN C X, MIAO W G, et al. Isolation, identification and analysis of multiple gene sequences of a pathogen of leaf spot disease on pineapple in Hainan [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40 (3): 1219-1226. (in Chinese)
- [15] 卜旭堂, 任敏, 万传星, 等. 帕米尔高原可培养需氧冷适应细菌及古菌多样性[J]. 微生物学报, 2022, 62 (7): 2568-2581.
BU X Y, REN M, WAN C X, et al. Diversity of aerobic cold-adapted bacteria and Archaea isolated from the Pamir Plateau [J]. *Acta*

- Microbiologica Sinica*, 2022, 62 (7) : 2568–2581. (in Chinese)
- [16] CHEN J W, CHEN J, WANG S Q, et al. Amycolachromones A-F, isolated from a streptomycin-resistant strain of the deep-sea marine actinomycete *Amycolatopsis* sp. WPI [J]. *Marine Drugs*, 2022, 20 (3) : 162.
- [17] 马瑞, 张发, 王传琪, 等. 云南荷花温泉放线菌物种多样性及其生物活性 [J]. 大理大学学报, 2019, 4 (12) : 69–74.
- MA R, ZHANG F, WANG C Q, et al. Species diversity and biological activity of Actinobacteria in Hehua hot spring of Yunnan Province [J]. *Journal of Dali University*, 2019, 4 (12) : 69–74. (in Chinese)
- [18] 关伟, 向慧平, 冯栩, 等. 硝尔库勒湖可培养放线菌多样性及其功能酶和抗菌活性 [J]. 微生物学报, 2018, 58 (10) : 1864–1874.
- GUAN T W, XIANG H P, FENG X, et al. Diversity and antibacterial activity of culturable Actinobacteria from xiaoerkule lake [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58 (10) : 1864–1874. (in Chinese)
- [19] 王梦雨, 黄美娟, 李茜, 等. 云南金铁锁根可培养放线菌多样性及其抗菌活性研究 [J]. 微生物学报, 2022, 62 (5) : 1905–1918.
- WANG M Y, HUANG M J, LI Q, et al. Diversity and antimicrobial activities of culturable endophytic actinomycetes in the roots of *Psammosilene tunicoides* in Yunnan Province [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62 (5) : 1905–1918. (in Chinese)
- [20] 吴佳, 李晓霞, 舒伟学, 等. 缙草内生菌和根际放线菌的分离及安莎类抗生素的筛选 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47 (6) : 107–114.
- WU J, LI X X, SHU W X, et al. Isolation of endophytic and rhizospheric actinomycetes of Valerian and screening of ansamycins antibiotics [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2019, 47 (6) : 107–114. (in Chinese)
- [21] 杜用玺. 丹参根际放线菌的防病促生功能研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- DU Y X. Study on the function of disease prevention and growth-promotion of rhizosphere actinomycetes from *Salvia miltiorrhiza* bge. [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2021. (in Chinese)
- [22] 查艳景, 姜国银, 张炳炎, 等. 枸骨根际放线菌ZY-2的分离鉴定及其抑菌活性检测研究 [J]. 昆明学院学报, 2022, 44 (3) : 105–110.
- ZHA Y J, JIANG G Y, ZHANG B Y, et al. Isolation, identification and bacteriostatic activity of actinomycete ZY-2 from the rhizosphere soil of *Ilex cornuta* L [J]. *Journal of Kunming University*, 2022, 44 (3) : 105–110. (in Chinese)
- [23] WANG Z R, ZHONG T, CHEN K W, et al. Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* ZX and potential biocontrol of blue mold decay on postharvest citrus [J]. *Food Control*, 2021, 120: 107499.
- [24] ZHOU D B, JING T, CHEN Y F, et al. 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: 108836.
- [25] 刘双龙, 杨德洁, 牛晓庆, 等. 可可毛色二孢拮抗菌的鉴定及发酵条件优化 [J]. 南方农业学报, 2022, 53 (8) : 2186–2195.
- LIU S L, YANG D J, NIU X Q, et al. Identification and fermentation condition optimization of antagonistic bacteria against *Lasiodiplodia theobromae* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53 (8) : 2186–2195. (in Chinese)
- [26] LI M Y, WANG J L, YAO T, et al. Bacterial diversity and community structure in the rhizosphere of four halophytes [J]. *Current Microbiology*, 2021, 78 (7) : 2720–2732.
- [27] 范中茵. 四川阿坝红花绿绒蒿内生及根际放线菌多样性[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- FAN Z H. Diversity of endophytic Actinobacteria and rhizosphere soil Actinobacteria from *Meconopsis punicea* sampled in Aba, Sichuan[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [28] BERTHONGARAY G, JANSSENS I A, KING J S, et al. Fine root biomass and turnover of two fast-growing poplar genotypes in a short-rotation coppice culture [J]. *Plant and Soil*, 2013, 373 (1) : 269–283.
- [29] EDWARDS J, JOHNSON C, SANTOS-MEDELÍN C, et al. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112 (8) : E911–E920.
- [30] BECKERS B, OP DE BEECK M, WEYENS N, et al. Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees [J]. *Microbiome*, 2017, 5 (1) : 25.
- [31] SAMMUT D, ELLIOT C A, KIELY D G, et al. Central venous catheter-related blood stream infections in patients receiving intravenous iloprost for pulmonary hypertension [J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2013, 32 (7) : 883–889.
- [32] KIM M, OH H S, PARK S C, et al. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(Pt 2): 346–351.
- [33] XIE C L, NIU S W, ZHOU T T, et al. Chemical constituents and chemotaxonomic study on the marine actinomycete *Williamsia* sp. MCCC 1A11233 [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 67: 129–133.
- [34] 刘一贤, 施玉萍, 戴利铭, 等. 橡胶褐根病拮抗放线菌17-7的筛选、鉴定及发酵条件优化 [J]. 微生物学通报, 2020, 47 (1) : 118–129.
- LIU Y X, SHI Y P, DAI L M, et al. Screening, identification and fermentation optimization of an antimicrobial actinomycete strain 17-7 to *Phellinus noxius* [J]. *Microbiology China*, 2020, 47 (1) : 118–129. (in Chinese)
- [35] 高雪, 辜运富, 尼玛扎西, 等. 西藏青裸根际土壤可培养放线菌的遗传多样性及其促生功能分析[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(6): 777–784.
- GAO X, GU Y F, NYIMA T S, et al. Analysis of the genetic diversity and promoting functions of the culturable actinomycetes in the rhizosphere of highland barley in Tibet[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, .

- [36] 郑洁, 庾利, 李伟, 等. 山西太子滩温泉土壤放线菌多样性及功能基因筛选的研究 [J]. 中国酿造, 2019, 38 (9): 49–53.
- ZHENG J, TUO L, LI W, et al. Diversity and screening of functional gene of actinomycetes isolated from soil in hot spring of Shanxi Prince Beach [J]. *China Brewing*, 2019, 38 (9): 49–53. (in Chinese)
- [37] PARK Y, KOOK M, NGO H T T, et al. *Arthrobacter bambusae* sp. nov., isolated from soil of a bamboo grove [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64 (Pt_9): 3069–3074.
- [38] PARIHAR K, GEHLOT P, MATHUR M, et al. Species composition and diversity dynamics of actinomycetes in arid and semi-arid salt basins of Rajasthan [J]. *Current Microbiology*, 2022, 79 (6): 168.
- [39] MA A A, ZHANG X F, JIANG K, et al. Phylogenetic and physiological diversity of cultivable actinomycetes isolated from alpine habitats on the qinghai-tibetan plateau [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 555351.
- [40] GOSWAMI G, DEKA P, DAS P, et al. Diversity and functional properties of acid-tolerant bacteria isolated from tea plantation soil of Assam [J]. *3 Biotech*, 2017, 7 (3): 229.
- [41] 漆思思. 产抗菌物质海洋放线菌的筛选及其次级代谢产物和活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- QI S S. Screening of marine actinomycetes producing antimicrobial substances and study on their secondary metabolites and activities[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020. (in Chinese)
- [42] 吴巧灵, 孙长利, 周镇祺, 等. 石碛来源海洋链霉菌 *Streptomyces ardesiacus* scsio LO23 中 germicidin 类化合物的分离鉴定及其生物合成分析 [J]. 微生物学报, 2022, 62 (7): 2594–2609.
- WU Q L, SUN C L, ZHOU Z B, et al. Isolation of germicidins and analysis of their biosynthetic pathways in *Streptomyces ardesiacus* SCSIO LO23, a marine-derived actinomycete from *Onchidium* sp. [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62 (7): 2594–2609. (in Chinese)
- [43] 朱展鹏. 马铃薯疮痂病原菌多样性分析及抗病种质筛选[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- ZHU Z P. Diversity analysis of potato common scab pathogens and disease-resistant germplasm screening[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [44] TOMIHAMA T, NISHI Y, SAKAI M S, et al. Draft genome sequences of *Streptomyces scabiei* S58, *Streptomyces turgidiscabies* T45, and *Streptomyces acidiscabies* a10, the pathogens of potato common scab, isolated in Japan [J]. *Genome Announcements*, 2016, 4 (2): e00062–e00016.
- [45] TAO X Y, ZHAO M, ZHANG Y, et al. Comparison of the expression of phospholipase D from *Streptomyces halstedii* in different hosts and its over-expression in *Streptomyces lividans* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2019, 366 (5): fnz051.
- [46] LIU Y H, HUANG L, FU Y, et al. A novel process for phosphatidylserine production using a *Pichia pastoris* whole-cell biocatalyst with overexpression of phospholipase D from *Streptomyces halstedii* in a purely aqueous system [J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 535–542.
- [47] CHO E, KWON O S, CHUNG B, et al. Antibacterial activity of chromomycins from a marine-derived *Streptomyces microflavus* [J]. *Marine Drugs*, 2020, 18 (10): 522.
- [48] 李堆淑, 冀玉良. 细黄链霉菌与氮磷钾肥配施对桔梗幼苗的影响 [J]. 广西林业科学, 2018, 47 (2): 155–158.
- LI D S, JI Y L. Effect of the *Streptomyces microflavus* and NPK fertilizer on *Platycodon grandiflorus* seedlings [J]. *Guangxi Forestry Science*, 2018, 47 (2): 155–158. (in Chinese)
- [49] SUDHA A, DURGADEVI D, ARCHANA S, et al. Unraveling the tripartite interaction of volatile compounds of *Streptomyces rochei* with grain mold pathogens infecting sorghum [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 923360.

(责任编辑: 林海清)