一株番茄早疫病拮抗菌筛选鉴定及其抗菌脂肽合成基因分析*

于 航[1]，王国栋[2,3]，李全胜[2,3†]

(1. 新疆农垦科学院 科研管理处，新疆 石河子 832000；2. 新疆农垦科学院 农田水利与土壤肥料研究所，新疆 石河子 832000；
3. 农业农村部西北绿洲节水农业重点实验室/水肥资源高效利用兵团重点实验室，新疆 石河子 832000)

摘　要：新疆加工番茄产业地位重要，但番茄早疫病频发严重制约其发展. 随着绿色健康可持续农业发展的需求，生物防治成为研究热点. 采用系列稀释涂布法从新疆长期连作番茄农田的根际土壤中分离细菌，利用平板对峙法筛选番茄早疫病拮抗细菌，经过形态学观察、生理生化实验及16S rDNA基因序列分析鉴定菌株属种分类，采用PCR扩增法检测其抗菌肽合成基因，获得一株对番茄早疫病菌（*Alternaria solani*）高效拮抗菌株KM432，其抑菌率达61.45%，可在pH 9.0和6%氯化钠条件下生长. 菌株KM432含有*srfAA*、*ituC*、*bacA*、*bmyB*共4种抗菌肽合成基因. 以上结果表明菌株KM432兼具耐盐碱和拮抗病原真菌功能，有在番茄病害绿色防控中应用的潜力.

关键词：番茄早疫病；耐盐碱；拮抗细菌；抗菌脂肽合成基因

中图分类号：Q933　**文献标识码**：A　**文章编号**：2097-5333(2025)01-0048-010

引文格式：于航，王国栋，李全胜. 一株番茄早疫病拮抗菌筛选鉴定及其抗菌脂肽合成基因分析[J]. 新疆大学学报（自然科学版 汉文、维吾尔文），2025，40(1)：48-57.

英文引文格式：YU Hang，WANG Guodong，LI Quansheng. Screening and identification of an antagonistic bacterium against tomato early blight and analysis of its antimicrobial peptide synthesis genes[J]. Journal of Xinjiang University(Natural Science Edition in Chinese and Uyghur)，2025，40(1)：48-57.

0　引 言

番茄产业是新疆特色优势农业产业的重要构成部分. 2023年，新疆加工番茄栽植面积约为5.6万公顷，产量达641万吨，占全国总产量八成以上，是我国主要番茄酱生产和出口的基地，对当地经济发展起到重要支撑作用[1−2]. 在新疆加工番茄产业化进程中，规模化连作种植模式引发的真菌性病害呈现加剧趋势，其中番茄早疫病（病原菌：*Alternaria solani*）已成为全域性爆发的主要病害[3]. 田间监测数据显示，该病害在新疆加工番茄主产区普遍发生，部分感病品种在湿热条件下发病率可达100%，造成10%∼30%的直接产量损失，对年产值超百亿元的加工番茄产业链形成持续性威胁[4].

茄链格孢菌（*Alternaria solani*）是番茄早疫病的致病菌，可在番茄整个生育期（包括苗期和成株期）造成危害. 目前生产上主要依赖化学防治番茄早疫病，但长期使用化学农药将导致环境问题[5−7]. 在健康意识提升和绿色农业发展的背景下，采用微生物拮抗技术防控植物病害，正成为实现农业生态可持续发展的重要途径[8]. 微生物源抗菌脂肽因其独特的抗菌活性，已成为植物病害生物防治研究的热点. 这类由微生物合成的次生代谢产物，通过多样化的作用机制展现差异化的抗菌特性，为绿色防控提供了新的解决方案[9−10]. 研究表明，含有抗菌脂肽合成基因的微生物菌株在防治多种植物病害中表现出良好效果. 例如，携带表面活性素合成基因的芽孢杆菌菌株，可有效抑制黄瓜枯萎病菌的生长，显著降低黄瓜枯萎病的发病率[11]；含丰原素合成基因的菌株对番茄灰霉病菌有较强的抑制作用，能够减少番茄灰霉病的发生[12].

然而，引进的拮抗菌株难以适应新疆干旱、盐碱的生态环境，导致其定殖和繁殖能力较差，限制了实际应用效果. 而从新疆农田中筛选耐盐碱、高效拮抗菌株，不仅能够提高菌株的环境适应能力，还可为开发适应干

* 收稿日期：2025-05-23
基金项目：新疆生产建设兵团科技攻关与成果转化计划（2016AD029）；新疆生产建设兵团英才青年项目（2024）.
作者简介：于航（1988—），女，硕士，助理研究员，从事农业生物环境与能源工程的研究，E-mail：18999323663@163.com.
† 通信作者：李全胜（1986—），男，硕士，副研究员，主要从事土壤微生物发掘及利用的研究，E-mail：moucheng2005@126.com.

旱、盐碱生态环境的生防菌剂提供优良菌种资源[13−14]. 因此，本文旨在从新疆长期连作番茄农田的根际土壤中分离筛选对早疫病具有显著拮抗活性的细菌，对其耐盐碱特性及抗菌脂肽合成基因潜力进行研究，以期为新疆番茄产业的可持续发展提供兼具生态安全性与经济可行性的技术方案.

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　病原菌菌株

材料为石河子大学农学院植物病理教研室保存的番茄早疫病病原菌株AS19（*Alternaria solani*），菌株保存于4 ℃冰箱.

1.1.2　供试土壤

于新疆石河子市147团16连加工番茄长期连作田块随机选择5株健康植株，分别在距离植株5 cm的范围内采集根围土壤样品后混合、密封，置于4 ℃保存.

1.1.3　培养基

营养琼脂培养基（NA）：蛋白胨10 g、牛肉浸膏3 g、氯化钠5 g、琼脂粉15 g，蒸馏水定容至1 000 mL，调整pH为7.0~7.2.

营养肉汤培养基（NB）：蛋白胨10 g、牛肉浸膏3 g、氯化钠5 g，蒸馏水定容至1 000 mL，调整pH为7.0~7.2.

马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）：新鲜马铃薯浸出液200 g、葡萄糖20 g，琼脂5 g，蒸馏水定容至1 000 mL，调整pH为7.0~7.2.

1.2　方法

1.2.1　菌株的分离纯化

土壤微生物分离纯化操作流程：首先，准确称量10 g土壤样本，加入90 mL经灭菌处理的去离子水，在150 r/min的摇床中震荡混匀30 min，获得原始土壤菌悬液. 其次，采用十倍稀释法进行梯度稀释，依次选取10^{-3}、10^{-4}和10^{-5} 3个稀释梯度的菌悬液各100 μL，使用无菌涂布棒在NA平板上进行均匀涂布，每个梯度设置3个平行重复. 将接种后的平板置于28 ℃恒温培养箱中避光培养24 h. 待菌落形成后，根据菌落形态特征和颜色差异筛选目标菌株，通过划线法开展纯化培养. 接种至NA斜面培养基，培养24 h后，对菌株进行编号并转移至4 ℃保存以供后续使用.

1.2.2　拮抗细菌的筛选

采用平板对峙法，将斜面保存的番茄早疫病菌接种到PDA平板上进行活化培养，待真菌菌落直径达到80 mm后，用灭菌的打孔器制备6 mm的菌饼，通过灭菌的接种针挑取菌饼并转接到PDA平板中心，在PDA平板上以病原菌为中心，于半径20 mm的圆周处接种待测细菌，并以单独接种病原菌的平板作为对照组. 28 ℃恒温培养，7 d后观察并测量病原菌的菌落直径，计算抑菌率[15]. 筛选出拮抗菌菌株为KM432.

1.2.3　菌株KM432鉴定

形态观察及生理生化测定：参照《现代微生物学实验技术》[16]和《伯杰细菌鉴定手册》[17]中的方法对菌株KM432的菌落形态进行观察和革兰氏染色镜检，并测定其糖类化合物利用、硝酸盐还原、各种酶类利用情况，以及不同盐度（氯化钠0~10%）和pH梯度（5.0~9.0）条件下的耐受性等生理生化指标.

分子生物学鉴定：采用细菌基因组DNA提取试剂盒（DP302，天根生化科技(北京)有限公司）完成菌体总DNA的纯化制备. 以所提基因组DNA作为PCR扩增模板，选用文献[18]报道的通用引物27F（5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′）和1492R（5′-GGCTACCTTGTTACGACTT-3′）对16S rDNA基因靶标片段进行特异性扩增. 扩增产物经纯化后送交测序平台完成双向测序，获得高质量序列数据. 通过NCBI数据库的BLAST在线工具将测序结果与已知菌株进行核苷酸序列相似性比对分析. 使用MEGA 7.0生物信息学软件基于邻接法（Neighbor-Joining）构建系统发育树，确定该菌株在进化树中的分类学地位.

1.2.4　菌株KM432抗菌脂肽合成基因的检测

采用分子生物学方法对菌株KM432的抗菌脂肽合成基因进行检测分析. 以该菌株的基因组DNA作为PCR扩增模板，针对6种典型抗菌脂肽（包括Iturin、Subtilin、Surfactin、Fengycin、Bacylisin和Bacillomycin）的编码基

因设计特异性引物(表1),通过PCR进行目标基因片段的特异性扩增检测.

表 1 抗菌脂肽合成基因检测的引物序列及目的片段长度

抗菌脂肽种类	基因	引物序列(5′→3′)	目的片段长度/bp
Surfactin	*srfAA*	TCGGGACAGGAAGACATCAT CCACTCAAACGGATAATCCTGA	201
Fengycin	*fenD*	GGCCCGTTCTCTAAATCCAT GTCATGCTGACGAGAGCAAA	269
Bacillomycin	*bmyB*	GAATCCCGTTGTTCTCCAAA GCGGGTATTGAATGCTTGTT	370
Subtilin	*spaS*	GGTTTGTTGGATGGAGCTGT GCAAGGAGTCAGAGCAAGGT	375
Iturin	*ituC*	GGCTGCTGCAGATGCTTTAT TCGCAGATAATCGCAGTGAG	423
Bacylisin	*bacA*	CAGCTCATGGGAATGCTTTT CTCGGTCCTGAAGGGACAAG	498

2 结果与分析

2.1 菌株KM432的分离和筛选

实验共分离出菌落形态学差异明显的菌株36株. 通过抗病原菌活性筛选,获得5株能有效抑制番茄早疫病菌生长的菌株(抑制率大于等于50%). 结果显示,菌株KM432对茄链格孢菌有较强的抑菌活性,当对照菌落直径长至83 mm时,对峙菌落直径仅长至32 mm,菌丝生长抑制率为61.45%;正常的茄链格孢菌可形成完整的辐射状菌落,而拮抗菌株对峙后的菌落菌丝生长变慢、颜色加深,且在抑菌带处可见因菌丝卷缩形成的明显边际线(图1).

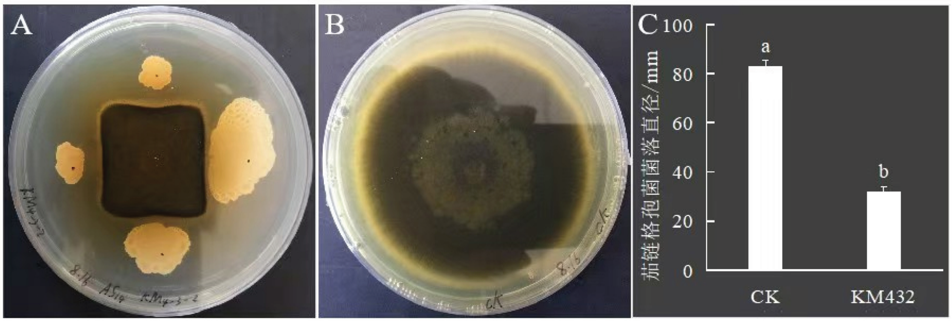

图 1 菌株KM432在PDA平板上对茄链格孢菌的拮抗作用

注:A为对峙平板菌落形态(KM432);B为对照平板菌落形态(CK);C为对照和对峙平板菌落直径,不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

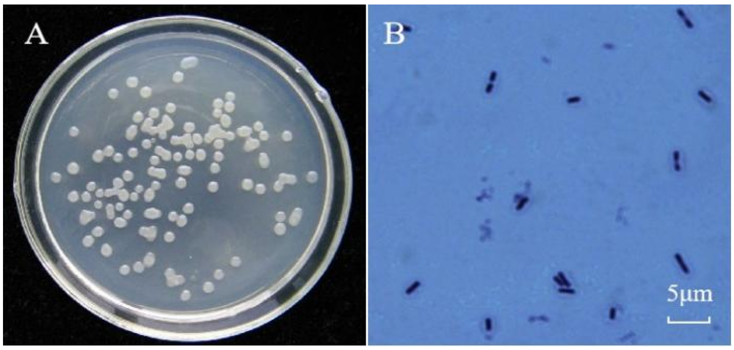

图 2 菌株KM432菌落形态及显微形态

注:A为菌株KM432菌落形态;B为菌株KM432革兰氏染色显微形态

2.2　菌株KM432的鉴定

2.2.1　表型特征与生理生化特征

将拮抗菌株涂布在NA平板上于30 ℃培养48 h，观察发现菌株KM432单菌落形态呈圆形，中间凸起，边缘不整齐，乳白色，有光泽，湿润黏稠状（图2A）；革兰氏染色结果显示该菌株为革兰氏阳性菌，菌体呈杆状，长度为2~3 μm（图2B）；部分生理生化实验结果如表2所示.

表 2　菌株KM432生理生化特征

测试指标	结果	测试指标	结果
硝酸盐还原	+	V-P	+
木糖	+	硫化氢	−
葡萄糖	+	苯丙氨酸脱氨酶	−
阿拉伯糖	+	精氨酸脱羧酶	−
甘露醇	+	淀粉水解	+
明胶液化	+	酪氨酸水解	+

注：+表示阳性反应，−表示阴性反应

菌株KM432在32 ℃、180 r/min条件下培养16 h后OD_{600}达到3.70，此时菌株生长进入平台期（图3A）；该菌株能在含0~7%氯化钠的NB中生长，但浓度大于6%后，菌体生长受到明显抑制（图3B）；该菌株能在pH 5.0~9.0的NB中生长，当pH大于9.0时，菌体生长受到严重抑制（图3C）.

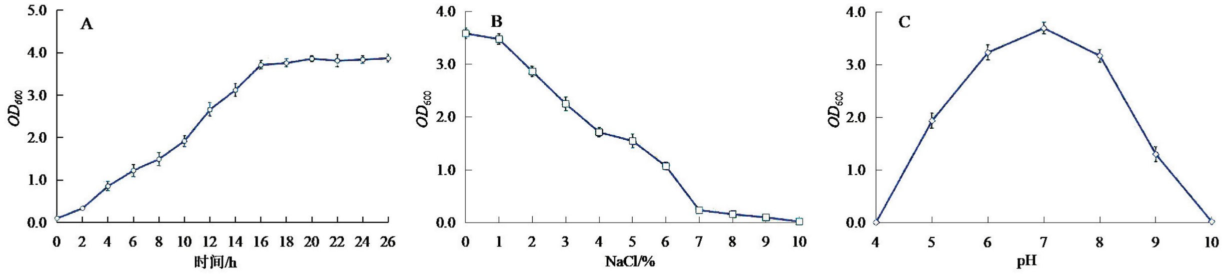

图 3　菌株KM432生长曲线及其耐盐碱特性检测

注：A为生长曲线；B为耐盐特性检测；C为耐碱特性检测

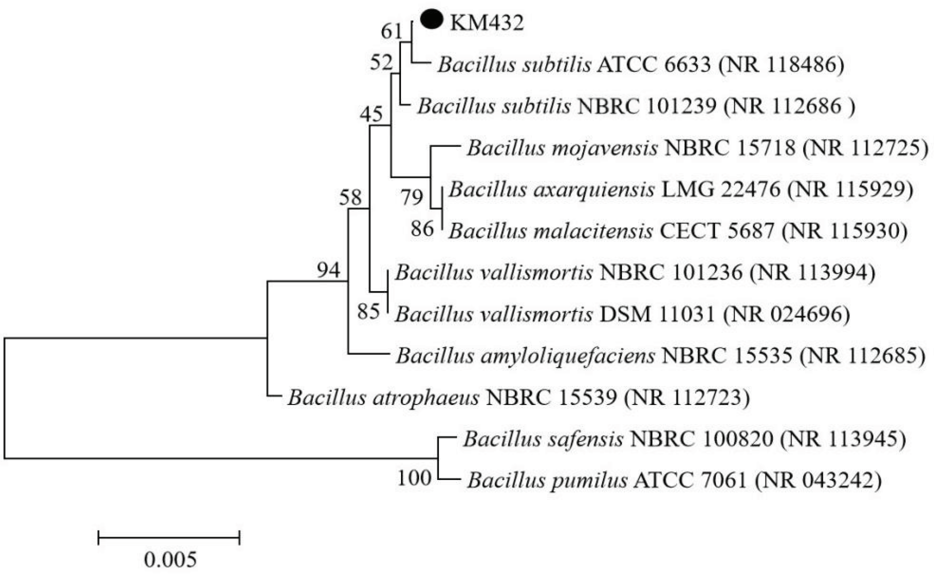

图 4　基于16S rDNA基因序列构建菌株KM432的系统发育树

2.2.2 分子生物学鉴定

以菌株KM432的基因组DNA为模板，扩增获得其16S rDNA基因序列长度为1 452 bp. 运用NCBI数据库的BLAST程序对KM432的16S rDNA基因序列进行同源比对分析以及系统发育树构建，发现菌株KM432与芽孢杆菌属显示出99%以上的同源性，并且与标准菌株*Bacillus subtilis* ATCC 6633序列同源性最高（99.86%），且位于同一进化分支（图4）. 通过形态学观察和生理生化检测综合分析，鉴定菌株KM432为枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*），该菌株已在中国普通微生物菌种保藏管理中心储存，编号为CGMCC19301；GeneBank序列号为PV875221.

2.2.3 菌株KM432抗菌脂肽合成基因的检测

通过6对引物对菌株KM432进行PCR检测，扩增出4个与目标大小匹配的抗菌脂肽合成基因（*srfAA*、*ituC*、*bacA*、*bmyB*）（图5）. 序列比对结果表明：*srfAA*基因序列与菌株*Bacillus subtilis* DSM 21393（CP120614.1）对应的基因序列相似性为98.5%；*ituC*基因序列与菌株*Bacillus amyloliquefaciens* LL3（CP002634.1）对应的基因序列相似性为97.0%；*bacA*基因序列与菌株*Bacillus subtilis* JCL16（CP054177.1）对应的基因序列相似性为99.4%；*bmyB*基因序列与菌株*Bacillus atrophaeus* BA59（CP024051.1）对应的基因序列相似性为92.4%.

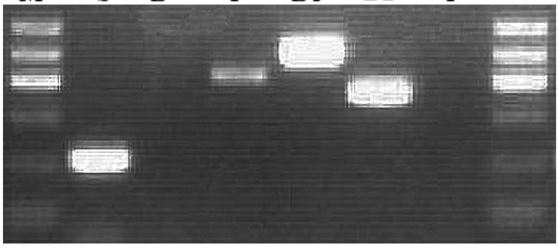

图 5 PCR检测菌株KM432的抗菌脂肽合成基因

注：M为DNA Marker；S为*srfAA*；B为*spaS*；I为*ituC*；B1为*bacA*；B2为*bmyB*；F为*fenD*

3 讨 论

新疆是我国加工番茄种植的核心产区，产业规模位居全国首位. 然而，番茄早疫病的持续暴发对该产业健康发展构成严重威胁. 尽管化学农药在病害防控方面具有一定效果，但会引发病原菌抗药性增强以及农产品安全风险等问题. 在此背景下，具有生态安全性高、不易诱导抗性等特点的生物防治技术，正逐步发展为化学农药的重要替代方案[8,19].

本文筛选的拮抗菌菌株KM432表现出良好的抑菌效果，对茄链格孢病原菌菌丝生长抑制率达61.45%. 该结果与以往研究中部分拮抗细菌对番茄早疫病菌的抑制效果相当[20−21]. 通过表型特征、生理生化特征及分子生物学鉴定，确定其为枯草芽孢杆菌. 这种微生物作为重要的生防资源，在植物病害防控中展现出多重抑菌机制：既能通过次级代谢产物（如抗生素类物质）直接抑制病原菌，又可通过生态位竞争（包括营养争夺和生存空间抢占）间接限制病原菌的生长发育，因而在农业生物防治实践中具有显著的应用价值[22−23]. 研究结果表明，抗菌脂肽合成基因检测发现菌株KM432含有*srfAA*、*ituC*、*bacA*、*bmyB*共4种抗菌脂肽合成基因，这些基因编码的抗菌脂肽具有抗菌、抗病毒等多种功能[24−25]，表明菌株KM432可通过分泌多种抗菌脂肽协同作用，抑制番茄早疫病菌的生长. 本文仅在实验室条件下对菌株KM432的拮抗效果和基因特性进行了初步探究，在实际应用中，还需进一步对其抗菌脂肽产物进行定量分析，并开展盆栽及田间实验，研究其在田间环境中的定殖能力、与其他微生物的相互作用以及对番茄生长和品质的影响. 同时，应优化发酵条件，提高其芽孢和抗菌脂肽的产量，降低生产成本.

4 结 论

从新疆长期连作番茄农田的根际土壤中成功分离筛选出对番茄早疫病病原菌（茄链格孢菌）具有显著拮抗活性的菌株KM432，经鉴定为枯草芽孢杆菌，可在pH 9.0和6%氯化钠条件下生长，有分泌多种抗菌脂肽的能力，能抑制番茄早疫病菌. 本研究为新疆干旱、盐碱生态环境下的农田番茄早疫病生物防治提供了新的菌种资源.

参考文献：

[1] 江应红，宋玉兰，赵鑫，等. 新疆蔬菜产业发展现状分析及对策建议[J]. 中国蔬菜，2024(11)：7-12.
JIANG Y H，SONG Y L，ZHAO X，et al. Current situation of vegetable industry development in Xinjiang and countermeasures[J]. China Vegetables，2024(11)：7-12. (in Chinese)

[2] 李荣霞，刘磊，刘伟，等. 新疆加工番茄种植现状、问题及建议[J]. 中国蔬菜，2022(4)：4-8.
LI R X，LIU L，LIU W，et al. Present situation，problems and suggestions of processing tomato planting in Xinjiang[J]. China Vegetables，2022(4)：4-8. (in Chinese)

[3] 郭开发，陈荣毅，赵思峰，等. 新疆加工番茄早疫病发生因素的初步分析[J]. 中国农学通报，2011，27(25)：142-146.
GUO K F，CHEN R Y，ZHAO S F，et al. The preliminary analysis on occurring factor of processing tomato early blight in Xinjiang[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2011，27(25)：142-146. (in Chinese)

[4] 林青，史应武，王娜，等. 加工番茄系统抗性诱导促生菌的筛选鉴定及其促生防病效果[J]. 新疆农业科学，2022，59(6)：1466-1474.
LIN Q，SHI Y W，WANG N，et al. Screening and identification of systemic resistant inducing growth-promoting bacteria and their effects on growth and disease prevention of processing tomatoes[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2022，59(6)：1466-1474. (in Chinese)

[5] 赵坚，鲍浩，张艳. 番茄早疫病可见光图像识别模型研究[J]. 江苏农业科学，2024，52(12)：209-217.
ZHAO J，BAO H，ZHANG Y. Study on visible light image recognition model of tomato leaf early blight[J]. Jiangsu Agricultural Sciences，2024，52(12)：209-217. (in Chinese)

[6] 王莹莹，纪明山，李宝聚. 番茄早疫病病原菌鉴定及综合防治技术[J]. 中国蔬菜，2016(1)：85-87.
WANG Y Y，JI M S，LI B J. Identification of pathogen of tomato early blight and its integrated control techniques[J]. China Vegetables，2016(1)：85-87. (in Chinese)

[7] 刘升学，李思琪，王晓东，等. 番茄早疫病菌dsRNA多样性分析[J]. 新疆农业科学，2023，60(12)：3057-3064.
LIU S X，LI S Q，WANG X D，et al. Diversity analysis of dsRNA in *Alternaria solani*[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2023，60(12)：3057-3064. (in Chinese)

[8] 张礼生，陈红印. 生物防治作用物研发与应用的进展[J]. 中国生物防治学报，2014，30(5)：581-586.
ZHANG L S，CHEN H Y. Advances in research and application of biological control agents in China[J]. Chinese Journal of Biological Control，2014，30(5)：581-586. (in Chinese)

[9] 李道明，王瑛，陈超，等. 芽孢杆菌几种重要抗菌脂肽研究进展[J]. 生物工程学报，2022，38(5)：1768-1783.
LI D M，WANG Y，CHEN C，et al. Advances in several important antimicrobial lipopeptids from *Bacillus* spp.[J]. Chinese Journal of Biotechnology，2022，38(5)：1768-1783. (in Chinese)

[10] 曲晓旭，刘洪霞，高玲，等. 芽孢杆菌产抗菌脂肽调控基因快速检测[J]. 南京农业大学学报，2016，39(5)：858-864.
QU X X，LIU H X，GAO L，et al. Rapid identification of the encoding genes of antimicrobial lipopeptides producted by *Bacillus*[J]. Journal of Nanjing Agricultural University，2016，39(5)：858-864. (in Chinese)

[11] 叶敏，毛雪，田小卫. 黄瓜枯萎病拮抗昆虫共生菌的筛选及抑菌机制初步研究[J]. 江苏农业科学，2024，52(19)：143-150.
YE M，MAO X，TIAN X W. Screening of antagonistic insect symbiotic bacteria of cucumber fusarium wilt and preliminary study on its inhibitory mechanism[J]. Jiangsu Agricultural Sciences，2024，52(19)：143-150. (in Chinese)

[12] 张丝雨，高文静，张丙翠，等. 甲基营养型芽胞杆菌NKG-1对番茄灰霉病的防治效果及全基因组分析[J]. 中国生物防治学报，2024，40(3)：679-689.
ZHANG S Y，GAO W J，ZHANG B C，et al. Control effect of *Bacillus methylotrophicus* NKG-1 on tomato gray and its genome-wide analysis[J]. Chinese Journal of Biological Control，2024，40(3)：679-689. (in Chinese)

[13] 王超，郭坚华，席运官，等. 拮抗细菌在植物病害生物防治中应用的研究进展[J]. 江苏农业科学，2017，45(18)：1-6.
WANG C，GUO J H，XI Y G，et al. Research progress on application of antagonistic bacteria in biological control of plant diseases[J]. Jiangsu Agricultural Sciences，2017，45(18)：1-6. (in Chinese)

[14] 刘海洋，王伟，张仁福，等. 利用生防菌防治棉花黄萎病效果的制约因素[J]. 新疆农业科学，2022，59(1)：155-161.
LIU H Y，WANG W，ZHANG R F，et al. A brief analysis of the factors restricting the effectiveness of controlling cotton *Verticillium wilt* by using biocontrol bacteria in the field[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2022，59(1)：155-161. (in Chinese)

[15] 赵美荣，李永春，张志超. 1株拮抗禾谷镰刀菌生防菌株的筛选鉴定[J]. 江苏农业科学，2024，52(11)：128-133.

ZHAO M R, LI Y C, ZHANG Z C. Screening and identification of a biocontrol strain against *Fusarium graminearum*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2024, 52(11): 128-133. (in Chinese)

[16] 朱旭芬. 现代微生物学实验技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2011: 10-16.

ZHU X F. Modern experimental technique of microbiology[M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2011: 10-16. (in Chinese)

[17] BUCHANAN R E, GIBBONS N E（著）. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组（译）. 伯杰细菌鉴定手册（第八版）[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 729-795.

BUCHANAN R E, GIBBONS N E (Writer). Translation Team of *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences (Translator). Bergey's manual of determinative bacteriology (8th Edition)[M]. Beijing: China Science Press, 1984: 729-795. (in Chinese)

[18] 李全胜, 谢宗铭, 张国丽, 等. 棉花黄萎病拮抗芽孢杆菌S12的筛选鉴定及拮抗机制的分析[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(3): 402-408.

LI Q S, XIE Z M, ZHANG G L, et al. Screening and identification of antagonistic spore bacterium S12 against cotton *Verticillium wilt* and preliminary study on its antagonistic mechanisms[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2015, 38(3): 402-408. (in Chinese)

[19] 程亮, 游春平, 肖爱萍. 拮抗细菌的研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(5): 732-737.

CHENG L, YOU C P, XIAO A P. Advance in the study on antagonistic bacteria[J]. Acta Agriculturae Universitis Jiangxiensis, 2003, 25(5): 732-737. (in Chinese)

[20] 孙广正, 侯栋, 岳宏忠, 等. 番茄早疫病菌拮抗细菌的筛选及其抑制作用[J]. 草原与草坪, 2015, 35(1): 32-36+43.

SUN G Z, HOU D, YUE H Z, et al. Screening of bacteria antagonizing *Alternaria solani* and its inhibitory effects[J]. Grassland and Turf, 2015, 35(1): 32-36+43. (in Chinese)

[21] 杨星月, 陆跃岭, 金东林, 等. 抗番茄早疫病海洋细菌221-11的鉴定及其生防效果评价[J]. 植物医学, 2024, 3(5): 18-27.

YANG X Y, LU Y L, JIN D L, et al. Identification and biocontrol evaluation of marine bacteria 221-11 on tomato early blight[J]. Plant Health and Medicine, 2024, 3(5): 18-27. (in Chinese)

[22] 黄曦, 许兰兰, 黄荣韶, 等. 枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2010, 26(1): 24-29.

HUANG X, XU L L, HUANG R S, et al. Research advance in controlling plant diseases by *Bacillus subtilis*[J]. Biotechnology Bulletin, 2010, 26(1): 24-29. (in Chinese)

[23] 刘雪, 穆常青, 蒋细良, 等. 枯草芽孢杆菌代谢物质的研究进展及其在植病生防中的应用[J]. 中国生物防治, 2006, 22(S1): 179-184.

LIU X, MU C Q, JIANG X L, et al. Research progress of the metabolic substances produced by *Bacillus subtilis* and their application on biocontrol of plant disease[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2006, 22(S1): 179-184. (in Chinese)

[24] 朱洪磊, 马超, 郭洁心, 等. 芽孢杆菌抗菌肽调控基因的PCR检测及其抑菌活性[J]. 山西农业科学, 2020, 48(3): 304-308.

ZHU H L, MA C, GUO J X, et al. PCR detection of regulation gene of antibacterial lipopeptide from *Bacillus* sp. and its antifungal activity[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2020, 48(3): 304-308. (in Chinese)

[25] ZHOU L, SONG C X, LI Z B, et al. Antimicrobial activity screening of rhizosphere soil bacteria from tomato and genome-based analysis of their antimicrobial biosynthetic potential[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 29.

责任编辑: 张自强

Screening and Identification of an Antagonistic Bacterium Against Tomato Early Blight and Analysis of Its Antimicrobial Peptide Synthesis Genes

YU Hang[1], WANG Guodong[2,3], LI Quansheng[2,3]

(*1. Scientific Research and Management Office, Xinjiang Academy of Agricultural Reclamation Sciences, Shihezi Xinjiang 832000, China; 2. Institute of Farmland Water Conservancy and Soil-Fertilizer, Xinjiang Academy of Agricultural Reclamation Sciences, Shihezi Xinjiang 832000, China; 3. Key Laboratory of Northwest Oasis Water-Saving Agriculture, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Efficient Utilization of Water and Fertilizer, Shihezi Xinjiang 832000, China*)

Abstract： The processing tomato industry in Xinjiang holds significant importance, but the frequent occurrence of early blight severely hampers its development. With the growing demand for green, healthy, and sustainable agriculture, biological control has become a research hotspot. In this study, bacteria are isolated from the rhizosphere soil of tomatoes in long-term continuous cropping fields in Xinjiang using a serial dilution plating method. Antagonistic bacteria against tomato early blight are screened using a dual-culture plate assay. The isolated strain is identified to genus and species level through morphological observation, physiological and biochemical tests, and 16S rDNA gene sequence analysis. Their antimicrobial peptide synthesis genes were detected using PCR amplification. A highly effective antagonistic strain, KM432, against *Alternaria solani* (the pathogen causing tomato early blight) is obtained, with an inhibition rate of 61.45%. This strain can grow under conditions of pH 9.0 and 6% NaCl. Strain KM432 possesses four antimicrobial peptide synthesis genes: *srfAA*, *ituC*, *bacA*, and *bmyB*. These results indicate that strain KM432 combines saline-alkali tolerance with pathogenic fungus antagonism, demonstrating potential for application in the green management of tomato diseases.

Key words： tomato early blight; saline-alkali resistance; antagonistic bacteria; antimicrobial peptide synthesis gene

Fund Project: Science and Technology Program of XPCC (2016AD029); Corps Talent Support Program Youth Project of XPCC (2024).

Author Profile: YU Hang (1988—), female, master, research associate, research field: agricultural bioenvironment and energy engineering, E-mail: 18999323663@163.com.

Correspinding author Profile: LI Quansheng (1986—), male, master, associate researcher, research field: soil microbial exploration and utilization, E-mail: moucheng2005@126.com.

پەمىدۇر بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسىلگە قارشى تۇرغۇچى باكتېرىيەنى تاللاپ بېكىتىش ۋە ئۇنىڭ زەمبۇرۇغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېنى ئۈستىدە ئانالىز

يۈ خاڭ[1]، ۋاڭ گودۇڭ[2،3]، لى چۈەنشېڭ[2،3]

(1. شىنجاڭ بوزيەر ئۆزلەشتۈرۈش پەنلەر ئاكادېمىيەسى، پەن تەتقىقات باشقارمىسى، شىنجاڭ شىخەنزە 832000؛ 2. شىنجاڭ بوز يەر ئۆزلەشتۈرۈش پەنلەر ئاكادېمىيەسى ئېتىز ـ ئېرىق سۇچىلىقى ۋە تۇپراق، ئوغۇت تەتقىقات ئورنى، شىنجاڭ شىخەنزە 832000؛ 3. يېزا ـ يېزا ئىگىلىكى مىنىستىرلىقى غەربىي شىمال بوستانلىقلىرى سۇ تېجەش يېزا ئىگىلىكى نۇقتىلىق تەجرىبىخانىسى / سۇ ـ ئوغۇت بايلىقىدىن ئۈنۈملۈك پايدىلىنىش بىڭتۇەن نۇقتىلىق تەجرىبىخانىسى، شىنجاڭ شىخەنزە 832000)

1. مەقسەت

شىنجاڭ بولسا دۆلىتىمىزدىكى پەمىدۇر پىششىقلاپ ئىشلەش ئاساسىي رايونى. نۆۋەتتە پەمىدۇر بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسىلى شىنجاڭنىڭ پەمىدۇر پىششىقلاپ ئىشلەش كەسپى تەرەققىياتىغا ئېغىر تەھدىت ئېلىپ كەلمەكتە. بۇنىڭغا قارىتا خىمىيەلىك ئالدىنى ئېلىش ـ داۋالاشتا يەنىلا نۇرغۇن مەسىلىلەر مەۋجۇت بولغاچقا، بىيولوگىيەلىك ئالدىنى ئېلىش ـ داۋالاش مۇھىم يۆنىلىشكە ئايلاندى. لېكىن، سىرتتىن كىرگۈزۈلگەن قارشى تۇرغۇچى باكتېرىيە تۈرلىرىنىڭ شىنجاڭنىڭ قۇرغاق، شورلۇق مۇھىتىغا ماسلىشىشى قىيىن بولماقتا. شۇڭا، بۇ تەتقىقاتتا شىنجاڭدىكى ئۇزاق مۇددەت ئۇدا تېرىپ كېلىنگەن دېھقانچىلىق مەيدانلىرىدىكى پەمىدۇر يىلتىزلىرى ئەتراپىدىكى تۇپراقتىن پەمىدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسىلگە قارشى تۇرۇشتا كۆرۈنەرلىك ئاكتىپلىققا ئىگە باكتېرىيە ئايرىپ ئېلىنىپ، ئۇنىڭ تۈز ـ ئىشقارغا چىداملىقى ۋە زەمبۇرۇغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېن يوشۇرۇن كۈچى تەتقىق قىلىندى. بۇنىڭدا ئاساسلىقى شىنجاڭ پەمىدۇر كەسپىنىڭ سىجىل تەرەققىياتىغا ئېكولوگىيە جەھەتتىن بىخەتەر، ئىقتىسادىي جەھەتتىن ئەمەلىي ئىشلىتىلىشچان تېخنىكا لايىھەسى ۋە ئەلا باكتېرىيە تۈرى بايلىقى بىلەن تەمىنلەش مەقسەت قىلىنغان.

2. ماتېرىيال ۋە ئۇسۇل

ماتېرىيال: كېسەللىك زەمبۇرۇغى شىخەنزە داشۆدە ساقلانغان پەمىدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسىلى زەمبۇرۇغى تۈپى ــــ AS19؛ تەجرىبە قىلىنغان تۇپراق شىنجاڭ ئىشلەپچىقىرىش ـ قۇرۇلۇش بىڭتۇەنى 8 ـ شى 147 ـ تۇەن 16 ـ لىيەندىكى پەمىدۇر ئېتىزلىرىدىكى ساغلام تۈپلەرنىڭ يىلتىزى ئەتراپىدىن ئېلىنغان؛ ئۆستۈرگۈچلەر NA، NB، PDA قاتارلىقلارنى ئۆز ئىچىگە ئالىدۇ.

ئۇسۇل: سۇيۇقلاندۇرۇپ قاپلاش ئۇسۇلى ئارقىلىق تۇپراقتىن باكتېرىيەنى ئايرىپ ساپلاشتۇرۇش؛ تاختىدا قارىمۇ ـ قارشىلاشتۇرۇش ئۇسۇلى ئارقىلىق قارشى تۇرغۇچى باكتېرىيەنى تاللاپ، ئۇنىڭ زەمبۇرۇغقا قارشى تۇرۇش نىسبىتىنى ھېسابلاش؛ شەكلىنى كۆزىتىش، فىزىيولوگىيەلىك ـ بىيوخىمىيەلىك تەجرىبە ھەم

ئاپتور: يۈ خاڭ (1988 ــ)، ئايال، ماگىستىر، ياردەمچى تەتقىقاتچى، يېزا ئىگىلىك جانلىقلىرى مۇھىتى ۋە ئېنېرگىيە قۇرۇلۇشى تەتقىقاتى بىلەن شۇغۇللىنىدۇ، E - mail:18999323663@163com.

ئالاقىلەشكۈچى ئاپتور: لى چۈەنشېڭ (1986 ــ)، ئەر، ماگىستىر، كاندىدات تەتقىقاتچى، تۇپراق مىكرو ئورگانىزملىرىدىن قېزىپ پايدىلىنىش تەتقىقاتى بىلەن شۇغۇللىنىدۇ، E - mail: moucheng2005@126.com.

16S rDNA گېن تەرتىپى ئانالىزىنى بىرلەشتۈرۈپ باكتېرىيە تۈرىنى ئېنىقلاش؛ PCR كېڭەيتىش ئۇسۇلى ئارقىلىق ئۇنىڭ زەمبۇرغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېنىنى تەكشۈرۈش.

3. نەتىجە

باكتېرىيە تۈرىنى ئايرىپ تاللاش: جەمئىي 36 پەرقلىق باكتېرىيە توپى ئايرىپ چىقىلدى، بۇنىڭ ئىچىدىن بەش توپىنىڭ زەمبۇرغقا قارشى تۇرۇش ئاكتىپچانلىقى يۇقىرى بولدى، بولۇپمۇ KM432نىڭ زەمبۇرغقا قارشى تۇرۇش ئۈنۈمى ئەڭ ياخشى بولۇپ، پەمدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسلى باكتېرىيەسىگە قارشى تۇرۇش نىسبىتى61.45 %كە يەتكەن.

باكتېرىيە تۈرىنى ئېنىقلاش: KM432 گېلەنشى مۇسبەت تاياقسىمان باكتېرىيە(革兰氏阳性杆状菌) بولۇپ، يەككە باكتېرىيە توپى يۇمىلاق بولۇشتەك ئالاھىدىلىكلەرگە ئىگە؛ pH 4.5 − 9.0 ، NaCl 0% − 7% بولغان شارائىتتا ئۆسەلەيدۇ، ئەڭ مۇۋاپىق ئۆسۈش مۇھىتى pH 9.0 دىن، NaCl بولسا 6% تىن تۆۋەن بولغان شارائىتتۇر؛ 16S rDNA ئارقىلىق ئېنىقلىنىشىچە، بۇ باكتېرىيە توپى قۇرۇق ئوت - چۆپ باكتېرىيەسىدىن بولۇپ، ئۇنىڭ ئۆلچەملىك باكتېرىيە تۈرى بىلەن ئوخشاشلىقى 99.86%كە يەتكەن.

گېن تەكشۈرۈش: KM432دا srfAA، ituC، bacA، bmyB قاتارلىق تۆت خىل زەمبۇرغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېن بار بولۇپ، مۇناسىۋەتلىك باكتېرىيە توپىغا ماس گېن تەرتىپىدە ئوخشاشلىق يۇقىرى.

4. خۇلاسە

بۇ تەتقىقاتتا قۇرۇق ئوت - چۆپ باكتېرىيەسى KM432 مۇۋەپپەقىيەتلىك ئايرىلىپ تاللاپ چىقىلدى، بۇ باكتېرىيە تۈرى پەمدۇر بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسلى زەمبۇرغىغا قارشى تۇرۇشتا يۇقىرى ئۈنۈمگە ئىگە بولۇپ، قارشى تۇرۇش نىسبىتى 61.45%. شۇنداقلا تۇز - ئىشقارغا چىداملىقى كۈچلۈك بولۇپ pH 9.0 ۋە NaCl 6% بولغان شارائىتتىمۇ ئۆسەلەيدۇ، ئۇ يەنە كۆپ خىل زەمبۇرغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېنغا ئىگە بولۇپ، بۇ جەھەتتە زور يوشۇرۇن كۈچكە ئىگە. بۇ باكتېرىيە تۈرى شىنجاڭنىڭ قۇرغاق، تۇزلۇق - ئىشقارلىق مۇھىتىدا پەمدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسلىنى بىيولوگىيەلىك ئالدىنى ئېلىش - داۋالاشنى ئەلا باكتېرىيە تۈرى بايلىقى بىلەن تەمىنلىدى.

5. يېڭىلىق يارىتىش نۇقتىسى

نىشانلىق تاللاش: مەۋقە جۇڭگو شىنجاڭنىڭ ئېكولوگىيەلىك مۇھىتىغا قويۇلۇپ، ئۇزاق مۇددەت ئۇدا تېرىلغان دېھقانچىلىق مەيدانلىرىدىكى پەمدۇر يىلتىزى ئەتراپىدىكى تۇپراقتىن باكتېرىيە توپى ئېلىنىپ، باكتېرىيە توپى —— KM432 تاللىۋېلىندى، بۇ باكتېرىيە شىنجاڭنىڭ قۇرغاق، تۇزلۇق - ئىشقارلىق دېھقانچىلىق مەيدانى مۇھىتىغا تېخىمۇ ئاسان ماسلىشىپ، چەتتىن كىرگۈزۈلگەن باكتېرىيە توپلىرىنىڭ ماسلىشىشچانلىقى ناچار بولۇش مەسىلىسىنى ھەل قىلالايدۇ.

باكتېرىيە تۈرىنىڭ گەۋدىلىك ئەۋزەللىكى: بۇ باكتېرىيە تۈرى پەمدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسلى زەمبۇرغىغا قارشى تۇرۇشتا ئۈنۈمى يۇقىرى ۋە تۇز - ئىشقارغا چىداملىق بولۇشتەك قوش ئالاھىدىلىككە ئىگە، شۇنداقلا يەنە كۆپ خىل زەمبۇرغقا قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېنغا ئىگە، شۇڭا ئۇنىڭ پەمدۇر كېسەللىكىنى يېشىل ئالدىنى ئېلىش - داۋالاشتا قوللىنىلىش يوشۇرۇن كۈچى زور. بۇ مۇناسىۋەتلىك بىيولوگىيەلىك ئالدىنى ئېلىش - داۋالاش تۈرىدىكى باكتېرىيە دورىسىنى تەتقىق قىلىپ ياساشنى سۈپەتلىك باكتېرىيە بايلىقى بىلەن تەمىنلەيدۇ.

ئاچقۇچلۇق سۆزلەر: پەمدۇرنىڭ بالدۇر يۇقۇملىنىش كېسەللىكى؛ شورغا چىدامچانلىق؛ قارشى تۇرغۇچى باكتېرىيە؛ باكتېرىيەگە قارشى پېپتىد ھاسىل قىلغۇچى گېن