

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.03.011

黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松树萎蔫病的防治效果及其增菌条件

黄晨颖¹, 张艳芬^{2,3*}, 吴守欣⁴, 赵莉茜^{2,3}, 石娟^{1*}
¹北京林业大学, 中法欧亚森林入侵生物联合实验室, 北京 100083; ²中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101; ³中国科学院大学, 中国科学院生物互作卓越创新中心, 北京 100049; ⁴河南省卢氏县森林病虫害防治检疫站, 河南 三门峡 472200

摘要:【目的】从松材线虫的媒介天牛蛹室及其气管中获得的黏质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* AHPC29 对松材线虫具有致病能力, 本研究旨在探究黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松材线虫引起的松树萎蔫病的防治效果以及该菌株在实验室的增菌条件。【方法】通过对温室内人工感染松材线虫的松树灌溉菌剂, 分析黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松树萎蔫病的作用效果; 通过单组分筛选和正交实验确定培养基组分和培养条件对其生长的影响, 探究黏质沙雷氏菌 AHPC29 的最佳增菌条件。【结果】对于感染松材线虫的松树, 灌溉黏质沙雷氏菌 AHPC29 菌液的处理组生长状态优于对照组, 并且树内松材线虫含量显著降低; 黏质沙雷氏菌 AHPC29 增菌的最佳培养基配比为 0.1% 乳糖、0.5% 复合氨基酸、0.5% KNO₃、1.5% MgSO₄, 其中影响最大的组分为氮源; 培养时其菌液最佳接种量为 7%, 最佳装液量为 40%, 最佳转速为 180 r·min⁻¹, 最佳温度为 30 ℃, 最适培养时长为 36 h。【结论】本研究获得了黏质沙雷氏菌 AHPC29 的最佳增菌条件, 并证实该菌具有良好的松树萎蔫病防治应用潜力, 为其作为生防菌的应用提供了理论基础。

关键词: 生防菌; 黏质沙雷氏菌; 松材线虫; 培养条件优化



开放科学标识码
(OSID 码)

Control effect of *Serratia marcescens* AHPC29 on pinewood wilt disease and optimization of culture conditions for the bacteria

HUANG Chenying¹, ZHANG Yanfen^{2,3*}, WU Shouxin⁴, ZHAO Lilin^{2,3}, SHI Juan^{1*}
¹Sino-France Joint Laboratory for Invasive Forest Pests in Eurasia, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ³CAS Center for Excellence in Biotic Interactions, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ⁴Forest Pest Control and Quarantine Station of Lushi County, Sanmenxia, Henan 472200, China

Abstract: 【Aim】*Serratia marcescens* AHPC29, which was isolated from the pupa chamber of *Monochamus alternatus*, a vector of the pinewood nematode, has been shown to be pathogenic to the pinewood nematode. The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, is an important invasive forest pest that can cause pine wilt disease. This study was carried out to investigate the effect of *S. marcescens* AHPC29 on pine wilt disease under conditions of increasing strain in a laboratory setting. 【Method】The effects of *S. marcescens* AHPC29 on pine wilt disease were analyzed by irrigating bacteria cultures into pine trees that had been artificially infected with pinewood nematodes in a greenhouse. The effects of culture medium components and culture conditions on the growth of *S. marcescens* AHPC29 were determined by single-component screening and orthogonal experiments to explore the optimal conditions for the growth of *S. marcescens* AHPC29. 【Result】For the pines infected with pinewood nematodes, the growth status of the treatment group irrigated with the AHPC29 strain was better than that of the control group, and the pinewood nematode content in the trees was significantly reduced. The optimal medium composition was 0.1% lactose, 0.5% complex amino acids, 0.5% KNO₃, and 1.5% MgSO₄, among which the most influential component was the nitrogen source. The optimal inoculation ratio was 7%, the optimal filling

收稿日期 (Received): 2022-09-14 接受日期 (Accepted): 2022-12-14
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (NSFC 31970466); 国家重点研发计划 (2019YFC1200504)
作者简介: 黄晨颖, 女, 硕士研究生。研究方向: 森林病虫害生物防治。E-mail: 1226002849@qq.com
* 通信作者 (Author for correspondence), 张艳芬, E-mail: yanfenzhang@ioz.ac.cn; 石娟, E-mail: shi_juan@263.net

ratio was 40%, the optimal rotate speed was $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, the optimal temperature was $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the optimal culture time was 36 h. 【Conclusion】 In this study, the optimal conditions for the growth of *S. marcescens* AHPC29 were obtained, and it was confirmed that the strain had good application potential in the control of pine wilt disease, which provided a theoretical basis for its application as a biocontrol bacterium.

Key words: biocontrol bacterium; *Serratia marcescens*; pinewood nematode; growth condition optimization

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) 是一种林业重大入侵生物,可引起被称为松树“癌症”的松树萎蔫病,造成重大的生态环境危害和经济损失(赵添羽等,2022; Mamiya, 1983)。自1982年入侵我国以来,松材线虫在传播媒介松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 的协助下,已扩散至19个省(区、市)、732个县级行政区(国家林业和草原局2022年第6号公告),累计致死松树超过6亿株(宁静等,2018; 张志国,2020)。目前,在对松树萎蔫病的所有防治措施中,生物防治是对环境最友好的方法(李恩杰等,2019)。

黏质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 广泛分布于自然界,是水和土壤中的长居菌群。近年来研究发现,黏质沙雷氏菌在生防领域具有良好的应用潜力。傅仁杰等(2019)、Fu *et al.* (2021)从被感染的黑翅土白蚁 *Odontotermes formosanus* (Shiraki) 上筛选到的黏质沙雷氏菌 SM1 可以使健康的白蚁身体变红死亡;涂爽等(2009)从中华蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 肠道中分离到的黏质沙雷氏菌 GEI 通过产生的几丁质酶能防治蜜蜂病害狄斯瓦螨 *Varroa destructor* Anderson & Trueman;傅慧静等(2020)研究发现,分离自松墨天牛肠道的黏质沙雷氏菌 HX-3 可通过产生木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶实现其对木质素的降解功能,从而降低蛀干害虫的营养摄入。此外,还有不同黏质沙雷氏菌株防治亚洲柑橘木虱 *Diaphorina citri* (Kuwayama) 若虫(邝凡,2019; Hu *et al.*, 2021)、黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* Saussure (冯书亮等,2002)、褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stal)、二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) (王渭霞等,2014)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hubner) (杨建云等,2015; 赵晓峰,2017) 等的报道。不同种类的黏质沙雷氏菌还对不同的植物病原细菌(Press *et al.*, 1997)、真菌(Purkayastha *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2013) 和病毒(Ge *et al.*, 2021)有抗菌活性。

本研究团队从松墨天牛的蛹室及其气管中筛选到一株黏质沙雷氏菌 AHPC29,发现该菌对松材

线虫及其传播媒介松墨天牛具有致死作用(Tian *et al.*, 2022),但其对松树萎蔫病的作用效果尚不清楚。为确定黏质沙雷氏菌 AHPC29 作为松树萎蔫病生防菌剂的可行性,本研究测试了黏质沙雷氏菌 AHPC29 对人工感染松材线虫松树萎蔫病的防治效果,并研究了培养基组分和培养条件对其生长的影响,以期为该菌株作为生防菌剂进行生产应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

材料:菌株 *Serratia marcescens* AHPC29 分离自安徽天牛蛹室(Tian *et al.*, 2022)。松材线虫虫株从中国陕西省柞水县发现的松材线虫病枯死松树中分离得到(Meng *et al.*, 2020),在实验室内用灰葡萄孢菌饲养。

试剂:LB 培养基(酵母粉 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、胰蛋白胨 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaCl $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、葡萄糖、蔗糖、牛肉膏、可溶性淀粉、乳糖、蛋白胨、尿素、谷氨酸、豆粉、复合氨基酸、 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 NH_4Cl 、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 FeSO_4 、 MgSO_4 。

仪器:LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌锅(上海申安)、YP5002 电子天平(上海越平)、OptiMair 超净工作台(新加坡 ESCO)、HZQ-F100 全温振荡培养箱(上海培英)、SpectraMaxi3 酶标仪(美国 Molecular Devices)。

1.2 方法

1.2.1 黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松树萎蔫病作用效果 选取生长状态相近的2年生黑松 *Pinus thunbergii* Parlature 幼苗15株,以人工接皮法向每株黑松接种2000条线虫,在 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下在 LB 培养基上培养48 h 后,将 AHPC29 原菌液根灌溉至5株接种过松材线虫的黑松幼苗根部,每棵20 mL,无菌水处理的5株作为对照组,于温室 $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 继续培养。每周根灌一次,45 d 后,对照组黑松全部死亡,采集所有松树样品带回实验室,采用贝尔曼漏斗法对线虫进行分离,使用倒置显微镜对线

虫进行计数,统计最终每株树苗中的线虫量。

1.2.2 培养基单组分筛选及其组合优化 以 LB 培养基为基础,分别选用葡萄糖、蔗糖、牛肉膏、可溶性淀粉、乳糖作为碳源,蛋白胨、尿素、谷氨酸、豆粉、复合氨基酸作为有机氮源, KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 NH_4Cl 作为无机氮源, K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 FeSO_4 、 MgSO_4 作为无机盐,对培养基组分进行优化。碳源、氮源和无机盐质量百分比浓度均参考 LB 培养基配方,分别为 0.5%、1% 和 1%。进行各组分优化时,其余组分在 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下在 LB 培养基上培养 48 h,结束后用分光光度法测定光密度 $D_{600\text{ nm}}$,每处理 3 个重复。

基于培养基组分的单因素实验结果筛选出的最优碳源、有机氮源、无机氮源和无机盐组分,通过正交实验确定各组分浓度,正交实验方案采用 $L_9(3^4)$ 正交表。实验条件为 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,培养 48 h 后用分光光度法测定光密度 $D_{600\text{ nm}}$,每处理 3 个重复。

1.2.3 培养条件的影响 在以上已优化的培养基的基础上,继续设置单因素实验对以下因素进行筛选:接种量(1%、3%、5%、7%、9%、11%、13%)、装液量(10%、20%、30%、40%、50%、60%)、摇床转速(0、60、120、180、240 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)、培养温度(25、28、30、35、37 $^\circ\text{C}$)、培养时长(12、24、36、48、60、72 h)。原始增菌的培养条件为接种量 5%、装液量 30%、摇床转速 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、温度 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、时长 24 h,以每一培养条件优化后的结果为基础进行下一步培养条件的优化。

1.3 数据分析

统计分析使用 IBM SPSS Statistics 21 软件,结果绘图采用 OriginPro 2017 软件。黏质沙雷氏菌 AHPC29 防治松材线虫实验结果统计分析采用独立样本 T 检验,培养基单组分筛选实验结果和增菌条件优化实验结果采用单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松材线虫的作用效果

黏质沙雷氏菌 AHPC29 对感染松材线虫松树的作用效果如图 1 所示。待对照组松树全部死亡后,菌液处理组的松树生长状态依然良好,接种菌液组松树的松材线虫的数量与对照组相比降低 88.5% ($P=0.0016<0.01$),说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松树萎蔫病的防治具有良好效果。

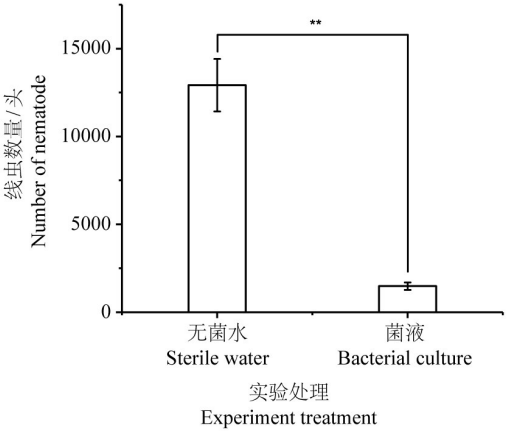


图 1 黏质沙雷氏菌 AHPC29 对松树萎蔫病的作用效果
Fig.1 Control effect of *S. marcescens* AHPC29 on pine wilt disease

2.2 培养基组分对黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长的影响

不同碳源条件下的黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长情况(图 2A)表明,黏质沙雷氏菌 AHPC29 在以乳糖为碳源时有最高 $D_{600\text{ nm}}$ 值,与以牛肉膏为碳源时的生长情况相近,且 2 种碳源条件下的生长效果均显著优于其他碳源。以葡萄糖和蔗糖为碳源时,生长情况相对较差,说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 对葡萄糖和蔗糖的利用率低于乳糖和牛肉膏。当以可溶性淀粉为碳源时,利用率最低。

不同有机氮源的测试分析结果表明,以复合氨基酸为有机氮源时, $D_{600\text{ nm}}$ 值最高,且显著高于以蛋白胨、尿素、豆粉和谷氨酸为氮源的生长情况(图 2B)。以谷氨酸为有机氮源时, D_{600} 值最低。蛋白胨、尿素、豆粉作为氮源时,生长情况之间无显著差异。

不同无机氮源的测试分析结果(图 2C)表明,以硝酸钾作为无机氮源时,黏质沙雷氏菌 AHPC29 有最高的 $D_{600\text{ nm}}$ 值,但是与以硝酸钙作为无机氮源之间无显著差异。以氯化铵为无机氮源时,生长状况最差,其 $D_{600\text{ nm}}$ 值显著低于以硝酸钾、硝酸钙为无机氮源的结果。

不同无机盐的测试分析结果表明,以硫酸镁作为无机盐时,黏质沙雷氏菌 AHPC29 有最高 $D_{600\text{ nm}}$ 值,但是与以磷酸二氢钾、硫酸亚铁作为无机盐之间无显著差异。以磷酸氢二钾为无机盐时,生长情况最差,其 $D_{600\text{ nm}}$ 值显著低于以磷酸二氢钾、硫酸亚铁和硫酸镁作为无机盐时的结果(图 2D)。

综合以上结果,增菌培养基的碳源、有机氮源、无机氮源和无机盐组分最佳选择分别为乳糖、复合氨基酸、硝酸钾和硫酸镁。

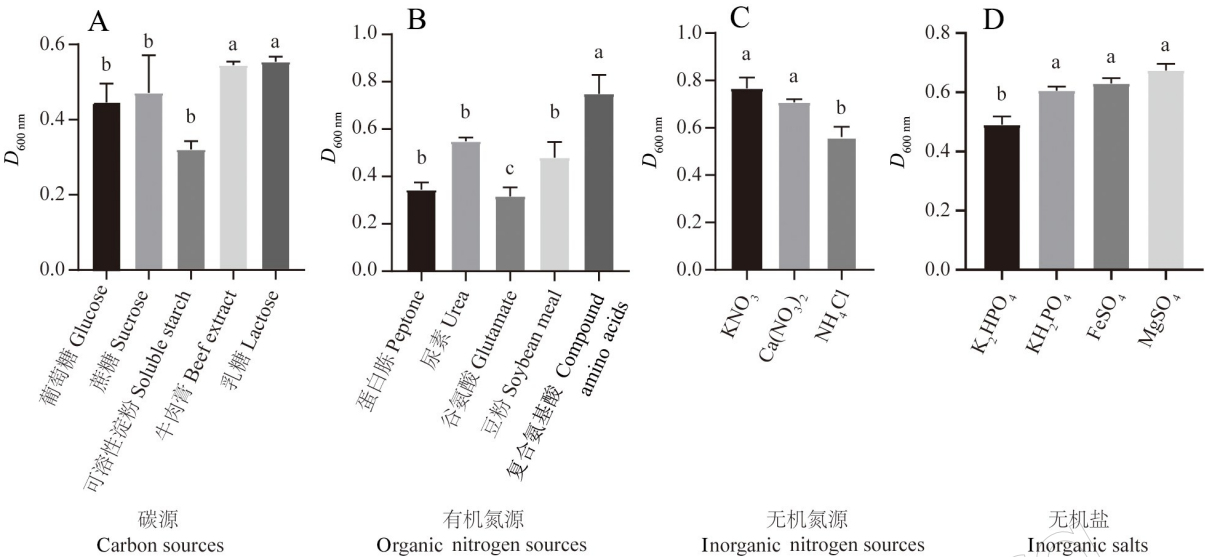


图2 不同培养基组分对黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长的影响
Fig.2 Effect of different media on the growth of *S. marcescens* AHPC29

2.3 培养基组合优化

根据上述筛选出的最佳碳源、有机氮源、无机氮源、无机盐,进行四因素正交实验,各因素均取3个水平,因素水平表见表1,正交实验方案及结果分析见表2。极差值的大小可以表明该因素水平的改变对结果的影响大小,根据各因素下极差值的大小可以看出,各因素对黏质沙雷氏菌 $D_{600\text{ nm}}$ 值影响的主次顺序为复合氨基酸>乳糖> MgSO_4 > KNO_3 。根据各因素下不同水平上实验结果的平均值(k)可以看出,乳糖的最优水平为水平1代表的0.1%浓度,复合氨基酸的最优水平为水平1代表的0.5%浓度, KNO_3 的最优水平为水平1代表的0.5%浓度, MgSO_4 的最优水平为水平3代表的1.5%浓度,即培养基的最优组合为0.1%乳糖、0.5%复合氨基酸、0.5% KNO_3 、1.5% MgSO_4 。

2.4 培养条件对黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长的影响

在最优培养基的基础上,分别测试增菌培养过程中接种量、装液量、培养转速、培养温度对黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长的影响,其结果如图3所示。

按1%、3%、5%、7%、9%、11%、13%的接种量分别接种后的增菌结果见图3A。结果表明,接种量在1%~7%时,黏质沙雷氏菌 AHPC29 的 $D_{600\text{ nm}}$ 值呈上升趋势;接种量在7%~11%时,黏质沙雷氏菌 AHPC29 的 $D_{600\text{ nm}}$ 值逐渐下降。尽管接种量为13%时 $D_{600\text{ nm}}$ 值有小范围回升,依然低于接种量为7%时的 $D_{600\text{ nm}}$ 值。因此,选择最佳接种量7%继续进行装液

量、培养转速、培养温度和培养时间的优化。

装液量10%、20%、30%、40%、50%、60%的实验结果见图3B。由图可知,装液量为40%时沙雷氏菌 AHPC29 的 $D_{600\text{ nm}}$ 值最高,且与其他装液量的结果差异显著,因此本实验选用40%为最佳装液量。

转速为0、60、120、180、240 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的实验结果如图3C所示,其中转速0 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下的增菌结果显著低于其他转速条件。尽管60、120、180和240 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速之间的结果无显著差异,但是转速在0~180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, $D_{600\text{ nm}}$ 值呈上升趋势,转速为180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, $D_{600\text{ nm}}$ 值达到最高点,因此选择180 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 最为最佳转速。

培养温度是生长速率的关键影响因素之一,25、28、30、35、37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的增菌结果如图3D所示。结果表明,35和37 $^{\circ}\text{C}$ 的高温以及25 $^{\circ}\text{C}$ 条件均对黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长有显著抑制作用。30 $^{\circ}\text{C}$ 的增菌结果显著高于其他培养温度,最有利于沙雷氏菌 AHPC29 生长。因此本研究选择的最佳增菌温度为30 $^{\circ}\text{C}$ 。

随着培养时间的增长,黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长情况如图3E所示。结果表明,12~24 h 生长缓慢,属于其生长调整期;在24~36 h 内黏质沙雷氏菌 AHPC29 处于生长对数期;36~48 h 时 $D_{600\text{ nm}}$ 值保持稳定,说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 进入生长稳定期;培养60和72 h 时, $D_{600\text{ nm}}$ 值持续下降,说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 进入衰亡期。

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Factor level table of orthogonal experiment

单位 Unit: %

水平 Level	A 乳糖 A Lactose	B 复合氨基酸 B Compound amino acids	C KNO ₃	D MgSO ₄
1	0.1	0.5	0.5	0.5
2	0.5	1.0	1.0	1.0
3	1.0	1.5	1.5	1.5

表 2 正交实验方案及结果分析

Table 2 Orthogonal experimental scheme and results analysis

实验号 Experiment number	A 乳糖 A Lactose	B 复合氨基酸 B Compound amino acids	C KNO ₃	D MgSO ₄	<i>D</i> _{600 nm}
1	1	1	1	1	0.304
2	1	2	2	2	0.226
3	1	3	3	3	0.203
4	2	1	2	3	0.278
5	2	2	3	1	0.197
6	2	3	1	2	0.138
7	3	1	3	2	0.247
8	3	2	1	3	0.237
9	3	3	2	1	0.103
<i>K</i> ₁	0.733	0.829	0.679	0.604	
<i>K</i> ₂	0.613	0.66	0.607	0.611	
<i>K</i> ₃	0.587	0.444	0.647	0.718	
<i>k</i> ₁	0.244	0.276	0.226	0.201	
<i>k</i> ₂	0.204	0.22	0.202	0.204	
<i>k</i> ₃	0.196	0.196	0.216	0.239	
极差 Range	0.048	0.08	0.024	0.038	
主次顺序 Order	B>A>D>C				
优水平 Optimal level	A ₁	B ₁	C ₁	D ₃	
优组合 Optimal combination	A ₁ B ₁ C ₁ D ₃				

*K*₁、*K*₂、*K*₃ 分别为各因素在水平 1、水平 2、水平 3 上实验结果的加和, *k*₁、*k*₂、*k*₃ 分别为各因素在水平 1、水平 2、水平 3 上实验结果加和的平均值。

*K*₁、*K*₂ and *K*₃ are the sum of the experimental results of each factor at level 1, level 2 and level 3 respectively, while *k*₁, *k*₂ and *k*₃ are the average of the experimental results of each factor at level 1, level 2 and level 3 respectively.

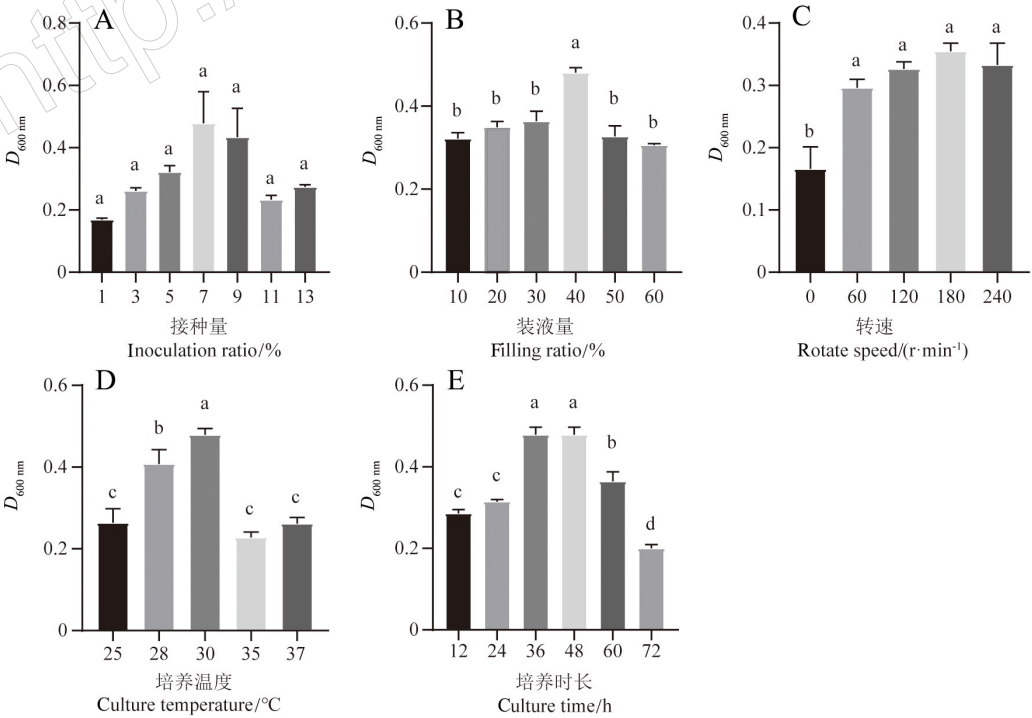


图 3 不同培养条件对沙雷氏菌 AHPC29 生长的影响

Fig.3 Effect of different culture conditions on the growth of *S. marcescens* AHPC29

3 讨论

本研究通过温室实验证实了黏质沙雷氏菌 AHPC29 对已感染松材线虫的松树具有良好的效果,表明其具有良好的松树萎蔫病防治应用前景。

根据培养基各组分对黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长影响的主次顺序可以看出,有机氮源对黏质沙雷氏菌生长的影响最大,说明有机氮源是黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长的关键组分。在微生物的培养过程中,无机氮源主要用于微生物的早期生长,有机氮源主要用于微生物中后期的生长和物质积累,因此一般将有机氮源和无机氮源混合使用(杜丽红等,2019)。在测试的有机氮源中,复合氨基酸最有利于黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长,这应该与复合氨基酸直接含有的 18 种氨基酸成分可以直接用于微生物体内蛋白质合成以及脱氨转氨作用相关(杜丽红等,2019; 卢寅泉和刘照明,1995)。而谷氨酸作为有机氮源时的结果说明,仅有谷氨酸不能有效满足黏质沙雷氏菌 AHPC29 生长对氮源的需求。豆粉、蛋白胨与尿素对黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长情况无显著差异且均低于复合氨基酸,这与它们需要进一步水解或者分解之后才能利用的特点相一致。无机氮源的测试结果表明,黏质沙雷氏菌 AHPC29 对硝态氮的利用优于氨态氮。

对于黏质沙雷氏菌 AHPC29,碳源是仅次于有机氮源的主要培养基组分。碳源是微生物生长的必需组分,为微生物提供细胞碳骨架以及生命活动所需的能量。在本研究中,作为双糖的乳糖最有利于黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长,而淀粉作为多糖最难被利用,说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 在碳源中偏好乳糖,对淀粉的利用能力较弱。牛肉膏中含有有机碳、氮、维生素以及无机盐,尽管在大多数情况下它被作为氮源,但是本研究证实其可作为碳源显著促进黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长,这与一些研究中的结果也相一致(陈雅丽,2014; 倪海军,2016)。

在微生物的生长过程中,无机盐主要作为酶的组成部分、酶的激活剂或抑制剂以及调节培养基的渗透压、pH、氧化还原电位等。无机盐的测试结果表明,黏质沙雷氏菌 AHPC29 在无机盐 KH_2PO_4 、 FeSO_4 、 MgSO_4 之间的选择无显著偏好。 K_2HPO_4 和 KH_2PO_4 中的 K^+ 是磷酸丙酮酸转磷酸酶等的辅因

子,并且可以维持电位差和渗透压,但两者在 pH 值缓冲方面的作用不一样, K_2HPO_4 溶液为碱性, KH_2PO_4 溶液为酸性。黏质沙雷氏菌 AHPC29 偏好使用 KH_2PO_4 ,同时 FeSO_4 、 MgSO_4 也为酸性溶液,说明黏质沙雷氏菌 AHPC29 偏向利用酸性无机盐。

根据培养条件的测试结果可以看出,装液量、培养温度和时长是关键的影响因素,其最佳装液量为 40%,最佳培养温度 30℃,最佳培养时长 36 h。25、35 和 37℃ 温度下的生长情况均显著低于 28 和 30℃ 的结果说明,低温和高温均不利于黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长,这与郝林华等(2006)的研究结果一致。接种量结果之间无显著差异说明接种量对黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长影响不显著。黏质沙雷氏菌为兼性厌氧菌(Smith *et al.*, 2009),可在有氧或缺氧条件下生长,无转速时的生长情况显著低于有转速的结果说明,有氧条件有利于黏质沙雷氏菌 AHPC29 的生长。

参考文献

- 陈雅丽, 2014. 植物内生细菌产杀线虫物质及其定殖与防效的研究. 硕士学位论文. 南京: 南京师范大学.
- 杜丽红, 郝亚男, 陈宁, 徐庆阳, 2019. 有机氮源及其在微生物发酵中的应用. 发酵科技通讯, 48(1): 1-4.
- 冯书亮, 曹伟平, 范秀华, 王容燕, 松本继男, 2002. 一株粘质沙雷氏菌菌株的鉴定及对黄胫小车蝗的毒力测定. 中国生物防治, 18(4): 158-161.
- 傅慧静, 胡霞, 吴松青, 王荣, 梁光红, 黄世国, 张飞萍, 2020. 松褐天牛幼虫肠道黏质沙雷氏菌培养条件与木质素降解功能. 林业科学, 56(2): 106-115.
- 傅仁杰, 祁雪连, 丰凯, 夏馨蕊, 汤方, 2019. 一株分离自黑翅土白蚁的粘质沙雷氏菌的鉴定及特性. 南京林业大学学报(自然科学版), 43(1): 76-82.
- 郝林华, 陈靠山, 牛德庆, 张玉凤, 2006. 粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)发酵培养基优化的研究. 海洋科学进展, 24(1): 66-73.
- 邝凡, 2019. 一株粘质沙雷氏菌(KH-001)对亚洲柑橘木虱若虫杀虫作用研究. 硕士学位论文. 赣州: 赣南师范大学.
- 李恩杰, 李娜, 王青华, 张永安, 王玉珠, 曲良建, 2019. 伊氏杀线真菌与苏云金芽孢杆菌对松材线虫的联合毒力研究. 林业科学研究, 32(1): 106-111.
- 卢寅泉, 刘照明, 1995. 酶技术开发动物血制取复合氨基酸营养液的研究. 食品科学, 16(7): 13-18.
- 宁静, 张宾, 田浩楷, 柳小龙, 杨炳琰, 赵莉茵, 2018. 携带与非携带松材线虫的松墨天牛 miRNA 表达谱比较分析.

- 生物安全学报, 27(1): 20–30.
- 倪海军, 2016. 烟草青枯病拮抗菌的筛选及其生防应用研究. 硕士学位论文. 合肥: 合肥工业大学.
- 涂爽, 2009. 粘质沙雷氏菌几丁质酶对蜜蜂狄斯瓦螨的防治研究. 硕士学位论文. 广州: 中山大学.
- 王渭霞, 李凯龙, 陈洋, 赖凤香, 傅强, 2014. 粘质沙雷氏菌 NIM280 及作为杀虫剂的应用: CN201410344394. 2. 2014–10–22.
- 杨建云, 曹溪, 纪春艳, 赵晓峰, 张茂新, 2015. 粘质沙雷氏菌菌株 PS-1 对甜菜夜蛾种群增长的抑制作用. 中国生物防治学报, 31(4): 501–507.
- 赵添羽, 何蕊, 华玉涛, 2022. 我国“十三五”时期重要外来物种入侵防控科技进展与展望. 生物安全学报, 31(2): 95–102.
- 张志国, 2020. 国家林草局: 我国将开展松材线虫病防控 5 年攻坚行动. 绿色中国 (15): 70–71.
- 赵晓峰, 2017. 粘质沙雷氏菌 PS-1 菌株对甜菜夜蛾幼虫杀虫机理的初步研究. 硕士学位论文. 广州: 华南农业大学.
- FU R, ZHOU L, FENG K, LU X, LUO J, TANG F, 2021. Effects of *Serratia marcescens* (SM1) and its interaction with common biocontrol agents on the termite, *Odontotermes formosanus* (Shiraki). *Journal of Forestry Research*, 32(3): 1263–1267.
- GE M, GONG M, JIAO Y, LI Y, SHEN L, LI B, WANG Y, WANG F, ZHANG S, YANG J, 2021. *Serratia marcescens*-S3 inhibits potato virus Y by activating ubiquitination of molecular chaperone proteins NbHsc70-2 in *Nicotiana benthamiana*. *Microbial Biotechnology*, 15(4): 1178–1188.
- HU W, ZHENG R, LIAO Y, KUANG F, YANG Z, CHEN T, ZHANG N, 2021. Evaluating the biological potential of prodigiosin from *Serratia Marcescens* KH-001 against asian citrus psyllid. *Journal of Economic Entomology*, 114(3): 1219–1225.
- MAMIYA Y, 1983. Pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Review of Phytopathology*, 21(1): 201–220.
- MENG J, WICKHAM J D, REN W, ZHAO L, SUN J, 2020. Species displacement facilitated by ascarosides between two sympatric sibling species: a native and invasive nematode. *Journal of Pest Science*, 93(3): 1059–1071.
- PRESS C M, WILSON M, TUZUN S, KLOEPPER J W, 1997. Salicylic acid produced by *Serratia marcescens* 90-166 is not the primary determinant of induced systemic resistance in cucumber or tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10(6): 761–768.
- PURKAYASTHA G D, MANGAR P, SAHA A, SAHA D, 2018. Evaluation of the biocontrol efficacy of a *Serratia marcescens* strain indigenous to tea rhizosphere for the management of root rot disease in tea. *PLoS ONE*, 13(2): e0191761.
- SMITH J, FRATAMICO P M, UHLICH G, 2009. 2-Molecular mechanisms involved in biofilm formation by food-associated bacteria//FRATAMICO P M, ANNOUS B A, GUNTHER N W. *Biofilms in the food and beverage industries*. Cambridge: Woodhead Publishing: 42–98.
- TIAN H, KOSKI T M, ZHAO L, LIU Z, SUN J, 2022. Invasion history of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* influences the abundance of *Serratia* sp. in pupal chambers and tracheae of insect-vector *Monochamus alternatus*. *Frontiers in Plant Science*, 13: 12.
- WANG K, YAN P S, CAO L X, DING Q L, SHAO C, ZHAO T F, 2013. Potential of chitinolytic *Serratia marcescens* strain JPP1 for biological control of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin. *Biomed Research International*, 2013(4): 397142.

(责任编辑: 郭莹)