

## 研究报告

## 鄂尔多斯高原地区的黏细菌资源及其拮抗致病疫霉活性

李俊达<sup>#</sup>, 丁一秀<sup>#</sup>, 刘涛, 张玉, 尚少杰, 赵晓静, 刘惠荣<sup>\*</sup>

内蒙古农业大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010018

李俊达, 丁一秀, 刘涛, 张玉, 尚少杰, 赵晓静, 刘惠荣. 鄂尔多斯高原地区的黏细菌资源及其拮抗致病疫霉活性[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 815-831.

LI Junda, DING Yixiu, LIU Tao, ZHANG Yu, SHANG Shaojie, ZHAO Xiaojing, LIU Huirong. Myxobacterium resources in Ordos Plateau: distribution and antagonistic activity against *Phytophthora infestans*[J]. Microbiology China, 2024, 51(3): 815-831.

**摘要:**【背景】黏细菌是一类可以产生丰富且结构新颖代谢产物的原核生物类群, 在抗菌和抗肿瘤等方面存在应用价值。致病疫霉(*Phytophthora infestans*)是马铃薯晚疫病的致病菌, 对马铃薯生产具有强大的破坏力。鄂尔多斯高原地区地理环境条件特殊, 但该地区的黏细菌资源分布及其对马铃薯晚疫病菌的拮抗活性尚不清楚。【目的】探明鄂尔多斯高原地区可培养黏细菌资源的分布情况及其拮抗致病疫霉的活性, 为黏细菌用于马铃薯晚疫病的防治奠定基础。【方法】采集内蒙古鄂尔多斯高原地区的46份土壤样品, 分离、鉴定该地区的黏细菌资源, 探究黏细菌分布与土壤类型、植被类型和环境因子之间的相关性, 以及黏细菌拮抗致病疫霉的活性。【结果】该地区土壤干旱且肥力较差。从样品中共富集培养得到191个菌株, 纯化102株, 最终鉴定到65株黏细菌, 分属于橙色黏球菌(*Myxococcus fulvus*)、变绿黏球菌(*M. virescens*)、弱小珊瑚球菌(*Coralloccoccus exiguus*)、*Coralloccoccus interemptor*、珊瑚状珊瑚球菌(*C. coralloides*)、匣状黏球菌(*Pyxidicoccus fallax*)、小原囊菌(*Archangium minus*)、过渡原囊菌(*Ar. gephyra*)和深褐色囊杆菌(*Cystobacter fuscus*)5个属9个种, 优势菌属为黏球菌属(*Myxococcus*), 优势菌种为 *M. fulvus* 和 *M. virescens*。黏细菌较多分布于潮土和风沙土中, 稀有黏细菌较多分布于灰钙土和栗褐土中。黏细菌的分布呈现出林地>耕地>草地>荒地的规律。89.40%的黏细菌菌株对致病疫霉有拮抗作用, 拮抗菌株遍布所分离黏细菌的所有种, *M. fulvus* 是抗优势黏细菌菌种。【结论】鄂尔多斯高原地区具有丰富的黏细菌资源, 该地区大部分黏细菌菌株具有拮抗致病疫霉的活性。本研究为开发基于黏细菌的新型拮抗马铃薯晚疫病的生物农药奠定了基础。**关键词:** 黏细菌; 致病疫霉; 相关性分析; 鄂尔多斯

资助项目: 内蒙古自治区科技计划(2021GG0079); 国家自然科学基金(32260696, 31370058)

<sup>#</sup>对本文贡献相同

This work was supported by the Science and Technology Project of Inner Mongolia Autonomous Region (2021GG0079) and the National Natural Science Foundation of China (32260696, 31370058).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: lh217@126.com

Received: 2023-10-08; Accepted: 2023-10-19; Published online: 2023-12-07

## Myxobacterium resources in Ordos Plateau: distribution and antagonistic activity against *Phytophthora infestans*

LI Junda<sup>#</sup>, DING Yixiu<sup>#</sup>, LIU Tao, ZHANG Yu, SHANG Shaojie, ZHAO Xiaojing, LIU Huirong<sup>\*</sup>

College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, Inner Mongolia, China

**Abstract:** [Background] Myxobacteria are a group of prokaryotes producing abundant metabolites with novel structures, which endow myxobacteria with antimicrobial and antitumor activities. *Phytophthora infestans* is the pathogen causing potato late blight and has a destructive effect on potato production. The distribution of myxobacteria in Ordos Plateau as a special habitat and the antagonistic activity of these myxobacteria against *P. infestans* remain unclear. [Objective] To investigate the distribution of culturable myxobacteria and their antagonistic activity against *P. infestans* in the Ordos Plateau area, so as to lay a foundation for the use of myxobacteria in the prevention and control of potato late blight. [Methods] In this study, 46 soil samples were collected from Ordos Plateau of Inner Mongolia, from which myxobacteria were isolated and identified. The correlations of the distribution of myxobacteria with soil types, vegetation types, and environmental factors were determined, and the antagonistic activities of myxobacterial strains against *P. infestans* were examined. [Results] The soil in this area was dry and had poor fertility. Among the 191 strains cultured, 102 strains were purified, of which 65 strains were identified, belonging to 9 species of 5 genera, including *Myxococcus fulvus*, *M. virescens*, *Coralloccoccus exiguus*, *C. interemptor*, *C. coralloides*, *Pyxidicoccus fallax*, *Archangium minus*, *Ar. gephyra*, and *Cystobacter fuscus*. The dominant genus was *Myxococcus*, and the dominant species were *M. fulvus* and *M. virescens*. Myxobacteria were mainly distributed in fluvo-aquic soils and aeolian soils, while abundant rare species of myxobacteria were mainly distributed in sierozems and castano-cinnamon soils. Myxobacteria were the most common in woodland, which was followed by cultivated land, grassland, and wasteland. Among the isolated myxobacterial strains, 89.40% showed antagonistic effects on *P. infestans*. All the identified species had antagonistic strains, and *M. fulvus* was the dominant species with high resistance to *P. infestans*. [Conclusion] There are abundant myxobacterium resources in Ordos Plateau, and most myxobacterial strains in this area have antagonistic activity against *P. infestans*. This study lays a foundation for the development of novel agents from myxobacteria for the biocontrol of potato late blight.

**Keywords:** myxobacteria; *Phytophthora infestans*; correlation analysis; Ordos

黏细菌(myxobacteria)广泛分布于各种环境中,被誉为“自然界的药柜”<sup>[1]</sup>。黏细菌介于原核和真核生物间的独特生物学地位以及复杂的社会性行为<sup>[2]</sup>,使其备受研究者的关注。黏细菌可产生丰富且结构新颖及生物抗性良好的代谢

产物<sup>[3-4]</sup>,这也造就了黏细菌在生物医药领域的独特地位,根据黏细菌捕食类型的差异,可将其分为溶细菌(bacteriolytic group)和溶纤维素(cellulolytic group)这2个类群<sup>[5]</sup>,但由于黏细菌在生长过程中大量分泌黏液,导致其在分离纯

化上存在较大困难,限制了黏细菌在生物医药领域的发展。

致病疫霉(*Phytophthora infestans*)是引起马铃薯晚疫病的重要病原菌,是导致马铃薯减产的重要因素之一<sup>[6]</sup>,甚至可造成马铃薯绝产,目前主要采用化学药剂、生物农药、农艺和抗病育种的方式进行防治<sup>[7]</sup>。化学药剂的使用在短期上效果明显,但易导致耐药菌株的出现<sup>[8]</sup>,进而造成药剂失效,而开发新型生物制剂农药是避免产生抗药性的重要途径<sup>[9]</sup>,也是绿色农业发展的重要举措。本课题组前期研究发现,黏细菌对致病疫霉具有较高的抗性,在呼和浩特地区分离得到的黏细菌中,有 81.8%的菌株对致病疫霉具有抗性<sup>[10]</sup>,表明黏细菌对致病疫霉的生物抗性较为普遍,是防治马铃薯晚疫病良好的生物防治菌。

鄂尔多斯高原地区是我国西北干旱区的重要组成部分,属温带半干旱大陆性季风气候,大部分区域海拔处于 1 000–1 500 m,最高可达 2 149 m。该区域地势复杂,处于生态过渡带,生态环境较为脆弱,包括平原、丘陵、高原和沙漠在内的多种地貌区,其多种多样的地貌形态也使得该地区土壤种类多样、特色鲜明<sup>[11]</sup>,分离该地区独特生境下的黏细菌资源对丰富我国黏细菌资源有着重要意义。

本研究通过多种方法分离鄂尔多斯高原地区土壤样品中的可培养黏细菌资源,并通过数据分析探究了黏细菌种群分布与土壤理化性质之间、黏细菌的种类与土壤类型之间的关系。在此基础上,筛选检测该区域黏细菌菌株对致病疫霉的拮抗作用和拮抗活性,以期丰富和完善内蒙古地区甚至我国的黏细菌菌种资源,以及生产研发抗马铃薯晚疫病的黏细菌生物制剂奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 土壤样品及菌株

采集自鄂尔多斯高原地区(包括鄂尔多斯及乌海地区)的 46 份土壤样品,其中鄂尔多斯地区 32 份、乌海地区 14 份,共包括 10 个土壤类型,20 个土壤亚类,4 种土地利用方式。供试菌株为本实验室保存的大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 $\alpha$  和致病疫霉(*P. infestans*) HQK8-3。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

DL2000 DNA Marker, Biometra 公司;其他常规化学分析纯试剂,国药集团化学试剂有限公司。霉菌培养箱,上海一恒科技仪器有限公司;生物安全柜,苏州安泰空气技术有限公司;全自动高压灭菌锅, Hirayama 公司;电子天平,赛多利斯公司;数字精密 pH 计,哈纳公司;体式显微镜, Nikon 公司;超低温冰箱, Thermo Fisher Scientific 公司。

#### 1.1.3 培养基

黏细菌菌株分离纯化使用的 WCX 培养基、VY/2 培养基、LB 培养基、CNST 培养基参考文献<sup>[12]</sup>配制, CAS 培养基和 ST21CX 培养基参考文献<sup>[13]</sup>配制;致病疫霉的扩培及平板对峙试验使用黑麦培养基<sup>[14]</sup>。

### 1.2 土壤样品理化性质测定

对采集自鄂尔多斯高原地区的土壤样品,参照国家农业行业标准(NY/T 1121.2—2006),使用电位法测定土壤 pH 值<sup>[15]</sup>;参照国家林业行业标准(LY/T 1213—1999),使用烘干法测定土壤含水量(water content, WC)<sup>[16]</sup>。对采集自鄂尔多斯高原地区的土壤样品进行风干处理,参照国家农业行业标准(NY/T 1121.6—2006),使用重铬酸钾法测定土壤有机质(organic matter, OM)含量<sup>[17]</sup>;参照国家农业行业标准(NY/T 1121.7—2006),使用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定土壤有效磷

(available phosphorus, AP)含量<sup>[18]</sup>; 参照国家农业行业标准(NY/T 889—2004), 使用硝酸钠浸提-四苯硼钠比浊法测定土壤速效钾(available potassium, AK)含量<sup>[19]</sup>; 使用碱解扩散法测定土壤碱解氮(alkali hydrolyzed nitrogen, AN)含量<sup>[20]</sup>。上述土壤样品理化性质测定均设置3个重复试验。

### 1.3 菌株的分离及鉴定

用于黏细菌分离的土壤样品风干过60目筛后置于灭菌的培养皿中, 于58℃烘箱内放置1h, 以除去其他杂菌和线虫等, 加入100 μg/mL放线菌酮过夜除去真菌<sup>[21]</sup>, 采用兔粪诱导法、大肠杆菌划线法、大肠杆菌点种法和滤纸片诱导法<sup>[12]</sup>对黏细菌进行富集及分离, 之后反复转接直至纯化, 分别转接于VY/2固体培养基和CAS液体培养基中, 在VY/2固体培养基上30℃培养7d, 观察子实体的形态是否一致、颜色是否均一; 在CAS液体培养基中28℃、180 r/min振荡培养过夜, 观察CAS液体培养基是否浑浊。菌株纯化后采用20%甘油保藏。对生长状态良好的黏细菌菌株通过体式显微镜观察其菌落和子实体的形态, 并参照文献<sup>[22]</sup>初步判断菌株种属。

采用CTAB/NaCl法提取黏细菌基因组DNA<sup>[13]</sup>, 使用通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-CTACGGCTACCTTGTTACGA-3')对黏细菌16S rRNA基因片段进行扩增。PCR反应体系(50 μL): 10×PCR Buffer 5 μL、dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μL、基因组DNA (80 ng/μL) 1 μL、27F (20 μmol/L) 0.5 μL、1492R (20 μmol/L) 0.5 μL、*ExTaq* (5 U/μL) 0.3 μL、ddH<sub>2</sub>O补足50 μL。PCR反应条件: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 53℃ 45 s, 72℃ 90 s, 30个循环; 72℃ 5 min。PCR产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳检测后送至北京博迈德公司进行测序。将测序结果在NCBI网站上进行BLAST比对, 根据比

对结果选择相似度较高的相关序列, 通过MEGA 7.0构建系统发育树。

### 1.4 拮抗致病疫霉黏细菌菌株的筛选

将马铃薯晚疫病病原菌致病疫霉(*P. infestans*)菌饼置于黑麦培养基中心位置, 待测黏细菌菌饼倒置于距致病疫霉菌饼2.5 cm处, 使用VY/2培养基饼块作空白对照(CK), 置于18℃恒温培养箱培养7d, 测量抑菌圈直径。

### 1.5 数据统计与相关性分析

土壤样品理化性质数据处理及分析采用SPSS 17.0软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤样品理化性质的测定结果

对采集自鄂尔多斯高原地区46份土壤样品的pH、含水量、有机质、有效磷、速效钾和碱解氮含量进行测定(表1)。

将鄂尔多斯高原地区采集的46份土壤样品的土壤理化指标参考侯素素等<sup>[23]</sup>的土壤养分分级标准进行比对, 可以得知该地区整体pH呈现中性偏碱性, 26.09%为中性土壤, 63.04%为微碱性土壤, 10.87%为强碱性土壤; 在土壤含水量方面, 91.30%的土壤样品显示该区域存在旱情, 其中71.74%的土样处于中旱至重旱, 19.56%的土样处于轻旱, 仅有8.70%的土样处于适宜或偏湿; 该地区有机质含量整体处于低等水平, 其中91.30%的土样有机质含量处于低等及其以下水平, 仅有4.35%的土样有机质含量处于中等水平, 4.35%的土样有机质含量处于高等及以上水平; 该地区有机磷含量大部分处于中、低等水平, 其中63.04%的土样有效磷含量处于低等及其以下水平, 30.44%的土样有效磷含量处于中等水平, 仅有6.52%的土样有效磷含量处于高等及以上水平; 该地区速效钾含量整体处于中、低等水平, 其中52.17%的土样速效钾含量处于低等及其以下水平,

表 1 土壤理化性质的测定

Table 1 Physical and chemical indicators of soil samples

| 土样编号<br>Soil samples No. | pH        | 含水量<br>WC (%) | 有机质<br>OM (g/kg) | 有效磷<br>AP (mg/kg) | 速效钾<br>AK (mg/kg) | 碱解氮<br>AN (mg/kg) |
|--------------------------|-----------|---------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| ER-01                    | 7.41±0.05 | 11.90±0.36    | 14.63±0.96       | 16.92±0.87        | 105.12±0.15       | 30.5±1.44         |
| ER-02                    | 7.45±0.04 | 12.46±0.19    | 12.9±0.16        | 4.67±0.66         | 109.89±0.10       | 38.8±1.40         |
| ER-03                    | 8.74±0.05 | 13.70±0.09    | 5.36±0.33        | 4.75±0.26         | 15.46±0.68        | 15.4±1.39         |
| ER-04                    | 8.76±0.03 | 8.72±0.14     | 8.01±0.41        | 5.31±0.14         | 90.51±0.38        | 12.1±0.81         |
| ER-05                    | 7.60±0.07 | 10.76±0.44    | 13.78±0.41       | 14.26±2.19        | 60.58±0.68        | 24.5±0.81         |
| ER-06                    | 7.24±0.11 | 8.87±0.24     | 9.13±0.99        | 20.53±0.19        | 84.66±3.83        | 43.0±2.11         |
| ER-07                    | 7.50±0.05 | 8.44±0.08     | 8.59±0.18        | 4.34±0.05         | 55.37±2.10        | 13.0±2.13         |
| ER-08                    | 7.41±0.08 | 9.54±0.14     | 16.60±0.48       | 1.91±0.03         | 105.14±1.78       | 26.70±1.39        |
| ER-09                    | 7.50±0.02 | 10.46±0.13    | 10.79±0.16       | 2.00±0.20         | 93.64±2.50        | 26.3±2.11         |
| ER-10                    | 7.25±0.04 | 58.84±0.37    | 8.59±0.47        | 2.43±0.05         | 106.27±1.30       | 86.8±1.38         |
| ER-11                    | 7.10±0.04 | 12.88±0.10    | 13.10±0.87       | 9.95±0.57         | 100.76±1.49       | 35.2±1.10         |
| ER-12                    | 7.68±0.03 | 12.34±0.43    | 12.66±0.20       | 3.07±0.44         | 107.74±0.71       | 19.6±1.39         |
| ER-13                    | 8.05±0.07 | 10.25±0.09    | 12.73±0.68       | 33.27±0.91        | 101.56±2.26       | 23.3±2.14         |
| ER-14                    | 8.34±0.06 | 9.55±0.19     | 11.61±0.68       | 3.31±0.52         | 113.29±3.31       | 10.7±0.81         |
| ER-15                    | 7.47±0.07 | 13.49±0.34    | 10.79±0.20       | 18.18±0.60        | 72.58±4.57        | 38.9±1.38         |
| ER-16                    | 7.52±0.03 | 20.23±0.13    | 12.72±0.54       | 12.57±0.98        | 99.64±2.82        | 32.8±0.81         |
| ER-17                    | 7.39±0.06 | 19.77±0.24    | 20.43±0.92       | 11.44±0.51        | 115.5±3.02        | 37.5±0.36         |
| ER-18                    | 8.00±0.04 | 25.89±0.96    | 22.47±0.66       | 6.97±0.22         | 148.39±1.01       | 33.7±1.40         |
| ER-19                    | 7.26±0.05 | 6.19±0.10     | 12.15±0.64       | 8.31±0.55         | 107.31±4.34       | 29.8±2.13         |
| ER-20                    | 7.09±0.07 | 7.52±0.23     | 12.8±0.26        | 17.94±0.42        | 133.01±0.36       | 39.5±1.42         |
| ER-21                    | 7.50±0.06 | 10.52±0.25    | 12.15±0.30       | 6.47±0.07         | 77.95±1.31        | 36.8±0.81         |
| ER-22                    | 7.52±0.08 | 6.33±0.17     | 15.58±0.52       | 11.75±0.06        | 70.91±0.76        | 27.9±1.40         |
| ER-23                    | 7.80±0.05 | 7.22±0.13     | 12.32±0.68       | 7.53±0.37         | 106.63±2.50       | 38.0±1.38         |
| ER-24                    | 8.63±0.09 | 5.01±0.36     | 12.9±0.41        | 4.38±0.26         | 55.28±0.31        | 14.4±1.76         |
| ER-25                    | 7.93±0.05 | 2.34±0.13     | 14.89±0.31       | 5.20±0.21         | 95.20±1.87        | 24.4±1.45         |
| ER-26                    | 7.41±0.12 | 5.77±0.53     | 14.12±0.41       | 7.58±0.41         | 89.82±1.45        | 40.3±2.42         |
| ER-27                    | 7.26±0.10 | 5.39±0.08     | 12.42±0.36       | 5.36±0.64         | 99.29±0.86        | 29.4±1.37         |
| ER-28                    | 7.63±0.05 | 2.28±0.03     | 7.60±0.16        | 4.82±0.26         | 30.52±1.75        | 19.1±1.60         |
| ER-29                    | 7.56±0.03 | 2.99±0.10     | 7.84±0.21        | 5.31±0.11         | 79.47±1.20        | 29.8±0.84         |
| ER-30                    | 7.80±0.05 | 1.05±0.10     | 7.84±0.16        | 4.53±0.45         | 47.62±1.28        | 14.7±1.86         |
| ER-31                    | 7.75±0.02 | 3.94±0.24     | 9.64±0.42        | 8.39±0.38         | 114.2±0.93        | 54.1±0.04         |
| ER-32                    | 7.59±0.07 | 0.37±0.11     | 8.15±0.26        | 5.25±0.84         | 94.12±1.01        | 15.1±1.07         |
| WH-01                    | 8.49±0.04 | 7.06±0.15     | 8.45±1.07        | 2.92±0.62         | 58.07±0.80        | 9.7±1.38          |
| WH-02                    | 8.50±0.04 | 7.84±0.10     | 13.71±0.51       | 6.84±0.88         | 67.93±0.43        | 19.3±1.44         |
| WH-03                    | 7.73±0.05 | 6.33±0.34     | 7.37±0.20        | 6.13±0.31         | 90.76±1.98        | 15.8±1.60         |
| WH-04                    | 7.82±0.02 | 2.51±0.20     | 7.23±0.29        | 4.27±0.41         | 128.57±1.25       | 45.6±1.76         |
| WH-05                    | 7.64±0.05 | 12.75±0.12    | 13.99±0.18       | 12.00±0.08        | 78.30±1.94        | 36.9±1.59         |
| WH-06                    | 8.10±0.03 | 14.01±0.03    | 11.54±0.88       | 14.45±0.76        | 131.25±1.39       | 35.6±1.39         |
| WH-07                    | 8.80±0.02 | 14.48±0.18    | 56.14±1.40       | 18.29±0.25        | 109.85±1.70       | 18.4±0.44         |
| WH-08                    | 8.24±0.04 | 8.12±0.27     | 9.50±0.27        | 11.50±0.16        | 110.28±1.08       | 13.7±0.71         |
| WH-09                    | 7.71±0.05 | 13.00±0.09    | 6.00±0.54        | 62.13±0.98        | 116.89±1.94       | 42.3±1.47         |
| WH-10                    | 7.89±0.03 | 1.72±0.08     | 10.52±0.37       | 11.22±0.47        | 126.36±0.46       | 21.2±1.07         |
| WH-11                    | 7.74±0.06 | 9.69±0.05     | 19.86±0.51       | 10.84±0.01        | 101.12±1.93       | 11.6±0.82         |
| WH-12                    | 7.64±0.05 | 7.84±0.10     | 62.65±3.82       | 10.73±0.41        | 134.93±1.22       | 50.3±0.77         |
| WH-13                    | 8.16±0.05 | 3.21±0.08     | 8.17±0.27        | 5.14±0.63         | 87.00±1.42        | 14.0±2.13         |
| WH-14                    | 7.78±0.05 | 6.43±0.10     | 9.98±0.42        | 2.38±0.76         | 88.54±1.82        | 29.3±0.81         |

47.83%的土样速效钾含量处于中等水平;该地区碱解氮含量整体处于低等及以下水平,其中97.83%的土样碱解氮含量处于很低及以下水平,仅有2.17%土样碱解氮含量处于低水平,这表明该地区土壤干旱且肥力较差,与该地区特点相吻合。

## 2.2 黏细菌的分离鉴定结果

利用多种方法对采集自鄂尔多斯高原地区的46份土壤样品进行黏细菌分离,得到191株黏

细菌,进一步通过子实体反复转接、子实体冷冻以及添加抗生素抑制杂菌等方法纯化得到102株溶细菌类群黏细菌,分离得到41株溶纤维素类群黏细菌但均未成功纯化。通过肉眼及体式显微镜观察菌落及子实体形态(图1),参考文献[22]的分类标准,根据分离黏细菌菌株的菌落和子实体形态学特征对191株分离菌株进行初步形态学分类鉴定。

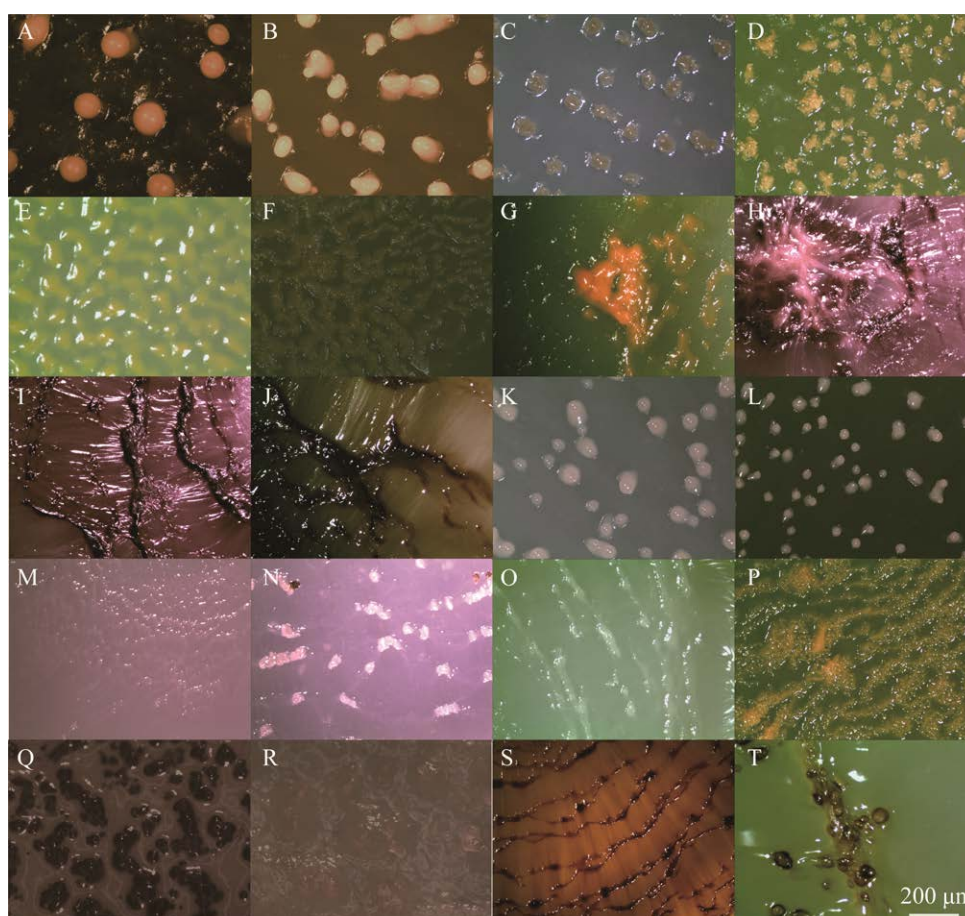


图1 黏细菌子实体形态 A、B: 黏球菌属(*Myxococcus*). C、D: 珊瑚球菌属(*Corallocooccus*). E、F: 匣状球菌属(*Pyxicoccus*). G、H: 囊球菌属(*Angiococcus*). I、J: 孢囊杆菌属(*Cystobacter*). K、L: 标桩菌属(*Stigmatella*). M、N: 原囊菌属(*Archangium*). O: 侏囊菌属(*Nannocystis*). P: 单囊菌属(*Haploangium*). Q、R: 堆囊菌属(*Sorangium*). S、T: 未知种属

Figure 1 Fruiting body morphology of some myxobacterial strains. A, B: *Myxococcus*. C, D: *Corallocooccus*. E, F: *Pyxicoccus*. G, H: *Angiococcus*. I, J: *Cystobacter*. K, L: *Stigmatella*. M, N: *Archangium*. O: *Nannocystis*. P: *Haploangium*. Q, R: *Sorangium*. S, T: Unknown species of bacteria.

黏球菌科 (*Myxococcaceae*) 黏球菌属 (*Myxococcus*), 子实体呈现球形或椭球形, 颜色介于黄色至红橙色之间, 下端收紧, 或有半透明的膜状黏液包被(图 1A、1B); 珊瑚球菌属 (*Corallococcus*), 子实体形状不规则, 黄褐色或亮黄色, 贴附于基质上, 下端收缩有短柄状结构, 似不规则珊瑚状团块, 子实体周围有黏液分布(图 1C、1D); 匣状球菌属 (*Pyxicoccus*), 子实体形状不规则, 亮黄色或黄褐色, 柔软黏滑、蜿蜒起伏, 无明显的色素沉着, 边界不明显(图 1E、1F); 囊球菌属 (*Angiococcus*), 子实体中间聚集成团、形状不规则, 亮橙色或深紫色, 黏液分泌浓密, 将子实体包裹, 紧密贴合在基质上, 有蜿蜒成行状的形态特征(图 1G、1H)。孢囊杆菌科 (*Cystobacteraceae*) 孢囊杆菌属 (*Cystobacte*), 子实体成群分布, 呈线状或盘卷状, 紫色或深褐色, 有明显的黏液包被, 包裹在一个次生黏液层中(图 1I、1J); 标桩菌属 (*Stigmatella*), 子实体球形或囊球状, 颜色介于白色与粉白色之间, 单个或成簇分布, 着生处常在囊基膜上, 有黏液包被(图 1K、1L); 原囊菌属 (*Archangium*), 子实体形状不规则, 似肠状卷曲或似缠绕的棒状, 分布稠密, 反射光下为淡粉色或肉色, 黏液较少(图 1M、1N)。侏囊菌科 (*Nannocystaceae*) 侏囊菌属 (*Nannocystis*), 子实体不规则, 形状多为卵圆形或圆形, 包裹于黏液中, 白色, 稠密, 黏液丰富(图 1O); 单囊菌属 (*Haploangium*), 子实体不规则, 形状多为球形, 聚集表面有皱, 与基质贴合较为紧密(图 1P)。多囊黏细菌科 (*Polyangiaceae*) 堆囊菌属 (*Sorangium*), 子实体不规则, 常为圆柱状, 浅褐色或褐色, 聚集成团, 有黏液包被(图 1Q、1R)。根据形态特征初步确定种属的菌株共有 163 株, 属于黏细菌的 4 个科 10 个属, 而未能确定种属的菌株有 28 株。

参照 1.4.2 中的方法提取经纯化的 102 株溶细菌类群黏细菌菌株的基因组 DNA, 使用细菌通用引物扩增 16S rRNA 基因序列并测序, 成功测序其中 82 株菌株, 经序列比对, 共有 65 株黏细菌菌株, 17 株是与黏细菌形态相似的其他菌株类群。

选取 10 株具有代表性的纯化菌株, 搜索与其相似性较高菌株的相关模式菌株序列, 通过 MEGA 7.0 软件构建系统发育树(图 2), 菌株 W5、W6 与黏球菌属橙色黏球菌 (*Myxococcus fulvus*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E11 与匣状球菌属匣状黏球菌 (*Pyxidicoccus fallax*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E46 与黏球菌属变绿黏球菌 (*Myxococcus virescens*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E10 与珊瑚球菌属弱小珊瑚球菌 (*Corallococcus exiguus*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E38 与珊瑚球菌属 *Corallococcus interemptor* 的模式菌株在同一分支; 菌株 E12 与珊瑚球菌属的珊瑚状珊瑚球菌 (*Corallococcus coralloides*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E1 与原囊菌属小原囊菌 (*Archangium minus*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E9 与孢囊杆菌属深褐色囊杆菌 (*Cystobacter fuscus*) 的模式菌株在同一分支; 菌株 E8 与原囊菌属过渡原囊菌 (*Archangium gephyra*) 的模式菌株在同一分支。

结合菌株子实体和菌落形态, 将上述成功测序得到的 65 株溶细菌的黏细菌进行分类, 将 W5、W6 等 26 株菌株鉴定为黏球菌属橙色黏球菌 (*M. fulvus*), 占比 40%; E46 等 19 株菌株被鉴定为黏球菌属变绿黏球菌 (*M. virescens*), 占比 29.23%; E12 等 4 株菌株被鉴定为珊瑚球菌属的珊瑚状珊瑚球菌 (*C. coralloides*); E10 等 3 株菌株被鉴定为珊瑚球菌属弱小珊瑚球菌 (*C. exiguus*); E11 等 2 株菌株被鉴定为匣状球菌属匣状黏球菌 (*P. fallax*); E38 菌株被鉴定为

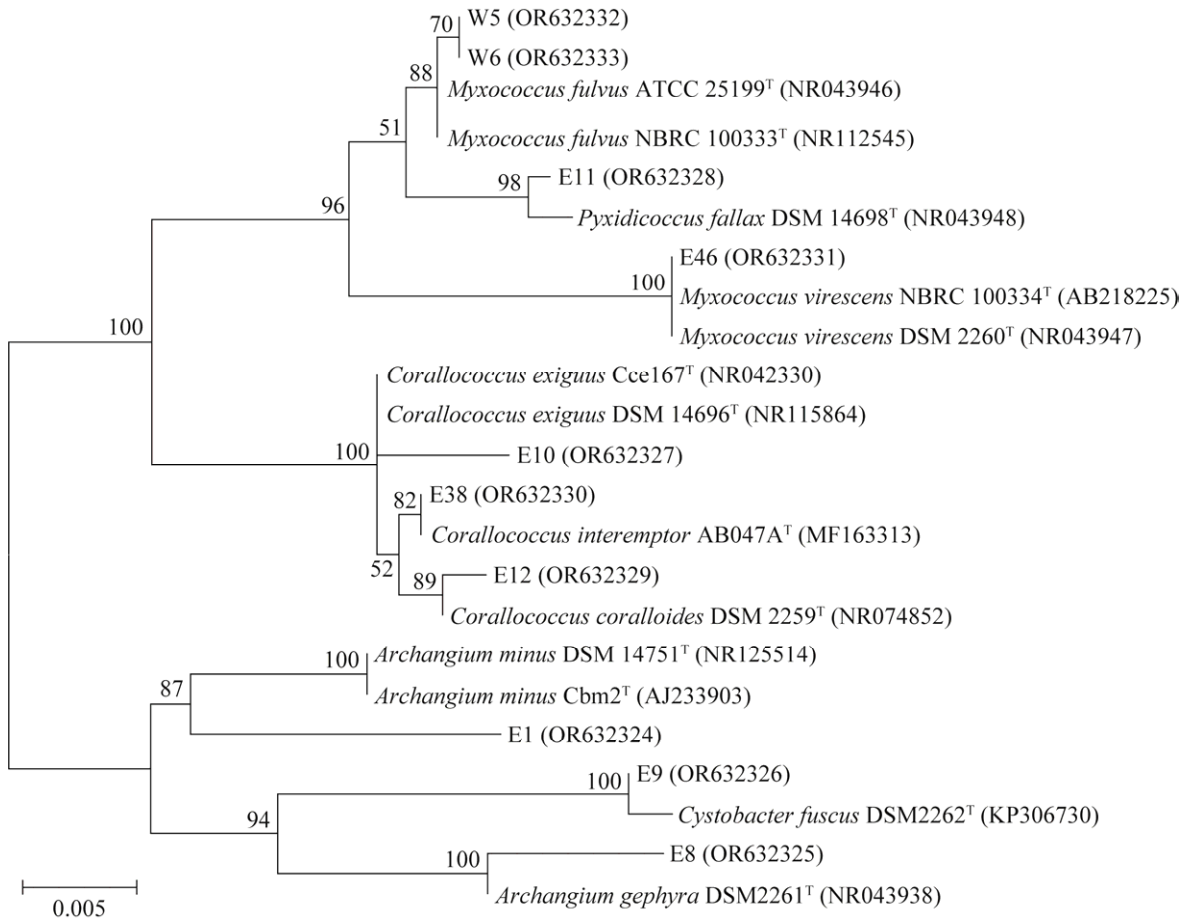


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的黏细菌系统发育树 括号内数字为菌株 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中的登录号; 发育树分支上的数值为 1 000 次 bootstrap 分析所得值; 标尺 0.005 为进化距离  
Figure 2 The phylogenetic tree of myxobacteria based on 16S rRNA gene sequences. The data in brackets are the accession numbers of the 16S rRNA gene sequences of the strains in GenBank; The value on the branch of phylogenetic tree is obtained from 1 000 bootstrap analyses; 0.005 represents the evolutionary distance.

珊瑚球菌属 *C. interemptor*; E1 菌株被鉴定为原囊菌属小原囊菌(*Ar. minus*); E9 菌株被鉴定为孢囊杆菌属深褐色囊杆菌(*Cy. fuscus*); 菌株 E8 被鉴定为原囊菌属过渡原囊菌(*Ar. gephyra*), 共计 5 个属 9 个种的黏细菌, 其中, 黏球菌属为优势菌属, 橙色黏球菌、变绿黏球菌为优势菌种。

### 2.3 鄂尔多斯高原地区溶细菌类群黏细菌的分布特征

根据上述试验结果统计了溶细菌类群黏细

菌在不同土壤类别和不同植被的分布情况, 在本次研究中, 共鉴定到 65 株溶细菌类群黏细菌, 其在不同土壤类型中的分布具有较大差异(表 2), 从出菌土壤总数和平均数量来看, 溶细菌类群黏细菌较多分布于潮土和风沙土, 在石质土中未见分布; 从溶细菌类群可培养黏细菌的多样性来看, *M. fulvus* 分布最为广泛, 分布于 9 种土壤类型中, 其中潮土、风沙土、灰钙土和栗褐土中分布的溶细菌类群的种类丰富, 而灰钙土和栗褐土含有的稀有黏细菌种类丰富。



表 2 不同类别的土壤中溶细菌类群黏细菌的分布

Table 2 Distribution of bacteriolytic myxobacteria in different types of soil samples

| 土壤类型<br>Soil type              | 样品数<br>Number of samples | 出菌样数<br>Number of samples from which strains were isolated | 菌株总数<br>Total number of strains | 样品分离菌株平均数<br>Average number of strains isolated from samples | 溶细菌类群黏细菌种属构成及数量<br>Species composition and number of cellulolytic group myxobacteria  |
|--------------------------------|--------------------------|--|---------------------------------|--|---|
| 草甸盐土<br>Meadow solonchaks      | 4                        | 4  | 7                               | 1.75   | <i>M. fulvus</i> 4<br><i>M. virescens</i> 3   |
| 潮土<br>Fluvo-aquic soils        | 6                        | 6  | 13                              | 2.17   | <i>M. fulvus</i> 4<br><i>M. virescens</i> 5<br><i>C. coralloides</i> 2<br><i>Myxococcus</i> sp. 1<br><i>Corallococcus</i> sp. 1             |
| 粗骨土<br>Skeletal soils          | 3                        | 1  | 1                               | 1  | <i>M. virescens</i> 1   |
| 风沙土<br>Aeolian sandy soils     | 12                       | 9  | 17                              | 1.89   | <i>M. fulvus</i> 8<br><i>M. virescens</i> 5<br><i>Corallococcus</i> sp. 1<br><i>C. exiguus</i> 1<br><i>C. coralloides</i> 2                 |
| 灰钙土<br>Sierozems               | 5                        | 4  | 6                               | 1.5  | <i>M. fulvus</i> 2<br><i>Corallococcus</i> sp. 1<br><i>P. fallax</i> 1<br><i>A. minus</i> 1<br><i>C. interemptor</i> 1                      |
| 灰漠土<br>Gray desery soils       | 2                        | 1  | 2                               | 2  | <i>M. fulvus</i> 2  |
| 栗钙土<br>Castanozems             | 7                        | 5  | 8                               | 1.6  | <i>M. fulvus</i> 4<br><i>M. virescens</i> 3<br><i>Myxococcus</i> sp. 1  |
| 栗褐土<br>Castano-cinnam on soils | 4                        | 4  | 7                               | 1.75   | <i>M. fulvus</i> 1<br><i>C. exiguus</i> 2<br><i>A. gephyra</i> 1<br><i>P. fallax</i> 1<br><i>Cy. fuscus</i> 1<br><i>Corallococcus</i> sp. 1 |
| 石质土<br>Litho soils             | 1                        | 0  | 0                               | 0  | – 0   |
| 棕钙土<br>Brown pedocals          | 2                        | 2  | 4                               | 2  | <i>M. fulvus</i> 1<br><i>M. virescens</i> 2<br><i>Corallococcus</i> sp. 1   |
| 总计 Total                       | 46                       | 36   | 65                              | 1.81   | 65  |

65株溶细菌类群黏细菌在不同植被类型中的分布存在一定的规律性(表3),不同植被类型的土壤之间出菌率和出菌数量均存在差异,从出菌样数来看,林地>耕地>草地>荒地;单从分离菌株数目及菌株种类上来看,草地和耕地分菌情况较为丰富;而林地土壤样品中出菌率最高,有7份土壤样品有溶细菌类群黏细菌,并且黏细菌分离种类较丰富;荒地土样出菌率与分离黏细菌数量均最低,从溶细菌类群黏细菌的多样性来看,*M. fulvus*分布最为广泛,在4种植被类型中均有分布,其中草地的可培养黏细

菌种类最多,多样性最高。

此外,通过SPSS 17.0软件进一步分析土样中分离黏细菌分布与其理化特性的相关性。结果显示(表4),黏细菌与土壤pH无明显相关性,黏细菌菌株数与土壤含水量、有效磷和碱解氮的含量相关性不强。然而在土壤速效钾和有机质上,黏细菌分布表现出显著的相关性,其中速效钾的含量与溶细菌类群黏细菌分布显著正相关,相关系数为0.462;有机质的含量与溶细菌类群和溶纤维素类群均呈现显著正相关,相关系数分别为0.690和0.543。其次,对

表3 不同植被的土壤中黏细菌的分布

Table 3 Distribution of myxobacteria in soil samples with different vegetation

| 植被类型<br>Vegetation type | 样品数<br>Number of samples | 出菌样数<br>Number of samples from which strains were isolated | 菌株总数<br>Total number of strains | 样品分离菌株平均数<br>Average number of strains isolated from samples | 溶细菌类群黏细菌种属构成及数量<br>Species composition and number of cellulolytic group myxobacteria |
|-------------------------|--------------------------|--|---------------------------------|--|--|
| 草地<br>Grassland         | 18                       | 14   | 21                              | 1.5  | <i>M. fulvus</i> 6   |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>M. virescens</i> 7  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>Corallococcus</i> sp. 3   |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>C. coralloides</i> 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>C. exiguus</i> 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>C. interemptor</i> 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>Cy. fuscus</i> 1  |
| 耕地<br>Cultivated land   | 17                       | 14   | 28                              | 2  | <i>P. fallax</i> 1   |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>M. fulvus</i> 13  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>M. virescens</i> 7  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>Myxococcus</i> sp. 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>Corallococcus</i> sp. 2   |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>C. coralloides</i> 3  |
| 荒地<br>Uncultivated land | 4                        | 1  | 2                               | 2  | <i>C. exiguus</i> 2  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>M. fulvus</i> 2   |
| 林地<br>Forest            | 7                        | 7  | 14                              | 2  | <i>M. fulvus</i> 5   |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>M. virescens</i> 5  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>Myxococcus</i> sp. 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>A. gephyra</i> 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>A. minus</i> 1  |
|                         |                          |  |                                 |  | <i>P. fallax</i> 1   |
| 总计 Total                | 46                       | 36   | 65                              | 1.81   | 65   |

表 4 土壤中两类黏细菌分布与理化性质的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between the distribution and physicochemical properties of two types of myxobacteria in soil

| 土壤理化性质<br>Soil physical and<br>chemical properties | 溶细菌类群<br>Bacteriolytic group<br>myxobacteria | 溶纤维素类群<br>Cellulolytic group<br>myxobacteria |
|--|--|--|
| pH   | -0.213                                       | -0.054                                       |
| 含水量 WC   | 0.215  | 0.060  |
| 碱解氮 AN   | 0.267  | 0.000  |
| 速效钾 AK   | 0.462**                                      | 0.150  |
| 有机质 OM   | 0.690**                                      | 0.543**                                      |
| 有效磷 AP   | -0.053                                       | -0.016                                       |

\*\* :  $P < 0.01$ .

测序的 65 株溶细菌类群黏细菌与土壤理化性质进行相关性分析, 结果表明 65 株溶细菌类群黏细菌与土壤理化性质无明显相关性。

## 2.4 抗致病疫霉活性菌株的筛选结果

对于鉴定的 65 株黏细菌菌株, 采用平板对峙法筛选拮抗马铃薯晚疫病致病疫霉活性菌株, 通过测量抑菌圈直径确定黏细菌抑菌活性的水平(表 5)。部分黏细菌抗 *P. infestans* HQK8-3 的活性如图 3 所示。

筛选结果显示, 共有 42 株黏细菌对供试致病疫霉表现出程度各异的拮抗作用, 占全部筛选菌株的 89.4%, 所有菌属菌株均具有 *P. infestans*

表 5 鄂尔多斯高原地区土样分离的黏细菌信息及其拮抗致病疫霉活性

Table 5 Information of myxobacteria isolated from soil samples in Ordos Plateau region and their antagonistic activity against *Phytophthora infestans*

| 菌株编号<br>Strain No. | GenBank 登录号<br>GenBank accession<br>No. | 土样编号<br>Soil sample<br>No. | 亲缘关系最近的模式菌株及 GenBank 登录号<br>Closest type strain and GenBank accession No. | 相似性<br>Similarity<br>(%) | 抑菌直径<br>Inhibitory<br>diameter (mm) |
|--------------------|---|----------------------------|---|--------------------------|-------------------------------------|
| E8                 | OR632325                                | ER-08                      | <i>Archangium gephyra</i> DSM2261 (NR043938)                              | 99.00                    | 12                                  |
| E1                 | OR632324                                | ER-30                      | <i>Archangium minus</i> 9x13 (HQ623104)                                   | 99.31                    | 10                                  |
| E43                | OR668720                                | ER-26                      | <i>Corallococcus</i> sp. S125 (KP017551)                                  | 100.00                   | 14                                  |
| E49                | OR668721                                | ER-32                      | <i>Corallococcus</i> sp. 19 (MK968804)                                    | 98.01                    | 20                                  |
| W27                | OR668722                                | WH-10                      | <i>Corallococcus</i> sp. S124 (KP017550)                                  | 99.67                    | 10                                  |
| E14                | OR668723                                | ER-10                      | <i>Corallococcus</i> sp. PY1 (ON076561)                                   | 99.69                    | 12                                  |
| E34                | OR668724                                | ER-18                      | <i>Corallococcus</i> sp. PY1 (ON076561)                                   | 99.67                    | 20                                  |
| E44                | ON564749                                | ER-16                      | <i>Corallococcus coralloides</i> LA43 (ON076910)                          | 99.34                    | -                                   |
| E42                | OR668725                                | ER-17                      | <i>Corallococcus coralloides</i> LA43 (ON076910)                          | 99.65                    | 10                                  |
| E1901              | OR668726                                | ER-19                      | <i>Corallococcus coralloides</i> DSM51434 (AJ811617)                      | 98.47                    | -                                   |
| E12                | OR632329                                | ER-19                      | <i>Corallococcus coralloides</i> H8-II-1 (MN121615)                       | 100.00                   | 24                                  |
| E41                | OR668727                                | ER-23                      | <i>Corallococcus exiguus</i> DSM14696 (NR115864)                          | 99.12                    | 10                                  |
| E10                | OR632327                                | ER-23                      | <i>Corallococcus exiguus</i> DSM14696 (NR115864)                          | 99.21                    | 26                                  |
| E39                | OR668728                                | ER-14                      | <i>Corallococcus exiguus</i> Cc e100 (AJ233932)                           | 99.93                    | 22                                  |
| E38                | OR632330                                | ER-32                      | <i>Corallococcus interemptor</i> CG50 (OK513260)                          | 99.93                    | 12                                  |
| E9                 | OR632326                                | ER-09                      | <i>Cystobacter fuscus</i> NBRC100088 (AB218223)                           | 99.79                    | 10                                  |
| E2-1               | OR668729                                | ER-02                      | <i>Myxococcus</i> sp. 5K501 (MK156407)                                    | 99.62                    | 6                                   |
| W2                 | OR668730                                | WH-05                      | <i>Myxococcus</i> sp. MH01 (ON024041)                                     | 99.65                    | 18                                  |
| E701               | ON564751                                | ER-01                      | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 100.00                   | 6                                   |
| E705               | ON564753                                | ER-05                      | <i>Myxococcus fulvus</i> LiTo2005 (MK1111110)                             | 100.00                   | -                                   |
| E703               | ON564752                                | ER-06                      | <i>Myxococcus fulvus</i> CL1 (OP522264)                                   | 100.00                   | -                                   |
| E702               | OR668731                                | ER-07                      | <i>Myxococcus fulvus</i> 18 (MK968803)                                    | 100.00                   | -                                   |
| E58                | OR668732                                | ER-10                      | <i>Myxococcus fulvus</i> CL1 (OP522264)                                   | 100.00                   | 10                                  |

(待续)

(续表 5)

| 菌株编号<br>Strain No. | GenBank 登录号<br>GenBank accession No. | 土样编号<br>Soil sample No. | 亲缘关系最近的模式菌株及 GenBank 登录号<br>Closest type strain and GenBank accession No. | 相似性<br>Similarity (%) | 抑菌直径<br>Inhibitory diameter (mm) |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------------|---|-----------------------|----------------------------------|
| E51                | OR668733                             | ER-11                   | <i>Myxococcus fulvus</i> HBUM93103 (GQ246603)                             | 100.00                | 22                               |
| E13                | OR668734                             | ER-15                   | <i>Myxococcus fulvus</i> YZS (ON024058)                                   | 99.88                 | —                                |
| E704               | OR668735                             | ER-17                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 100.00                | 8                                |
| E36                | OR668736                             | ER-18                   | <i>Myxococcus fulvus</i> MT466 (ON024046)                                 | 100.00                | 10                               |
| E55                | OR668737                             | ER-19                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 99.89                 | 6                                |
| E57                | OR668738                             | ER-21                   | <i>Myxococcus fulvus</i> CL1 (OP522264)                                   | 100.00                | —                                |
| E25                | OR668739                             | ER-26                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 99.42                 | 10                               |
| E59                | OR668740                             | ER-30                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 100.00                | 20                               |
| E56                | OR668741                             | ER-31                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 100.00                | 14                               |
| W6                 | OR632333                             | WH-01                   | <i>Myxococcus fulvus</i> 1 (MK968786)                                     | 100.00                | 24                               |
| W1                 | OR668742                             | WH-01                   | <i>Myxococcus fulvus</i> HH4 (OP522278)                                   | 100.00                | 20                               |
| W9                 | OR668743                             | WH-04                   | <i>Myxococcus fulvus</i> 1 (MK968786)                                     | 99.61                 | 0                                |
| W5                 | OR632332                             | WH-06                   | <i>Myxococcus fulvus</i> HBUM93172 (GQ246524)                             | 99.42                 | 22                               |
| W15                | OR668744                             | WH-06                   | <i>Myxococcus fulvus</i> LiTo2005 (MK111110)                              | 99.89                 | 16                               |
| W3                 | OR668745                             | WH-07                   | <i>Myxococcus fulvus</i> HH4 (OP522278)                                   | 100.00                | 20                               |
| W8                 | OR668746                             | WH-08                   | <i>Myxococcus fulvus</i> Mxf428 (KF267728)                                | 100.00                | —                                |
| W22                | OR668747                             | WH-10                   | <i>Myxococcus fulvus</i> Mxf428 (KF267728)                                | 100.00                | 10                               |
| W16                | OR668748                             | WH-10                   | <i>Myxococcus fulvus</i> WCH734 (ON406568)                                | 100.00                | 8                                |
| W25                | OR668749                             | WH-11                   | <i>Myxococcus fulvus</i> xj3 (KC862601)                                   | 99.67                 | 16                               |
| W17                | OR668750                             | WH-12                   | <i>Myxococcus fulvus</i> UM01 (MN811202)                                  | 100.00                | 8                                |
| W14                | OR668751                             | WH-12                   | <i>Myxococcus fulvus</i> LiTo2005 (MK111110)                              | 100.00                | 0                                |
| E601               | OR668752                             | ER-01                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | —                                |
| E2-2               | OR668753                             | ER-01                   | <i>Myxococcus virescens</i> AB056 (MF163355)                              | 99.67                 | —                                |
| E602               | OR668754                             | ER-02                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | 0                                |
| E4-1               | OR668755                             | ER-04                   | <i>Myxococcus virescens</i> AB025B (MF163296)                             | 100.00                | 20                               |
| E603               | ON564750                             | ER-11                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | 0                                |
| E1202              | ON564755                             | ER-12                   | <i>Myxococcus virescens</i> 2a (MZ544386)                                 | 100.00                | 12                               |
| E1201              | ON564754                             | ER-12                   | <i>Myxococcus virescens</i> HH2 (OP522273)                                | 99.89                 | —                                |
| E53                | OR668756                             | ER-15                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | 8                                |
| E3-1               | OR668757                             | ER-15                   | <i>Myxococcus virescens</i> AB056 (MF163355)                              | 99.67                 | —                                |
| E37                | OR668758                             | ER-16                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | 22                               |
| E46                | OR632331                             | ER-21                   | <i>Myxococcus virescens</i> TF_YJC-7 (MW216934)                           | 99.93                 | 12                               |
| E52                | OR668759                             | ER-24                   | <i>Myxococcus virescens</i> 2a (MZ544386)                                 | 100.00                | —                                |
| E60                | OR668760                             | ER-27                   | <i>Myxococcus virescens</i> HH2 (OP522273)                                | 99.89                 | —                                |
| E54                | OR668761                             | ER-27                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 99.89                 | —                                |
| W18                | OR668762                             | WH-05                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | 18                               |
| W13                | OR668763                             | WH-05                   | <i>Myxococcus virescens</i> HH2 (OP522273)                                | 99.89                 | —                                |
| W10                | OR668764                             | WH-10                   | <i>Myxococcus virescens</i> NX0083 (MN945898)                             | 100.00                | —                                |
| W11                | OR668765                             | WH-12                   | <i>Myxococcus virescens</i> HH2 (OP522273)                                | 100.00                | 0                                |
| W12                | OR668766                             | WH-14                   | <i>Myxococcus virescens</i> 1x3 (HQ623121)                                | 100.00                | —                                |
| E33                | OR668767                             | ER-08                   | <i>Pyxidicoccus fallax</i> 16 (KX572746)                                  | 99.66                 | 12                               |
| E11                | OR632328                             | ER-28                   | <i>Pyxidicoccus fallax</i> DSM14698 (NR043948)                            | 99.51                 | 24                               |

—: 因污染未能测得抑菌直径

-: Failure to measure inhibitory diameter due to contamination.

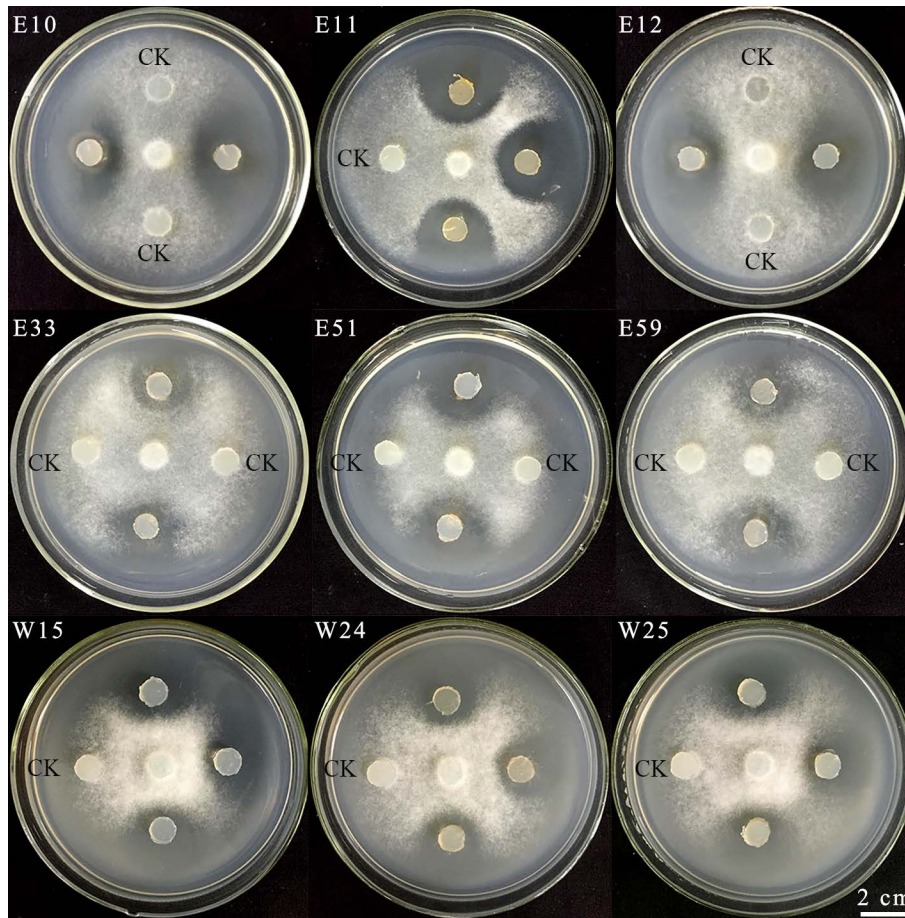


图3 部分黏细菌菌株拮抗致病疫霉活性

Figure 3 Antagonistic activity of some myxobacterial strains against *Phytophthora infestans*.

HQK8-3 生物抗性，并表现出种间差异性；其中 8 株黏细菌对供试致病疫霉有较强的抗性，抑菌直径超过 20 mm，其中包括 3 个菌属 6 个菌种。在拮抗致病疫霉黏细菌活性菌株的筛选中，抑菌直径超过 20 mm 的 *Myxococcus* sp. 共有 5 株，占比 62.5%，是抗致病疫霉活性菌株的优势菌属，*M. fulvus* 有 3 株，是抗致病疫霉活性菌株的优势菌种。

### 3 讨论与结论

鄂尔多斯高原地区位于内蒙古自治区西部，是西北干旱地区的重要组成部分，地貌多变，生态环境脆弱，本研究探究了该地区黏细

菌的分布情况。该地区黏细菌资源较为丰富，分属于黏球菌属 (*Myxococcus*)、珊瑚球菌属 (*Corallocooccus*)、匣状球菌属 (*Pyxicoccus*)、原囊菌属 (*Archangium*) 和孢囊杆菌属 (*Cystobacter*) 5 个属，共有 *M. fulvus*、*M. virescens*、*C. coralloides*、*C. exiguus*、*C. interemptor*、*A. gephyra*、*A. minus*、*P. fallax* 和 *Cy. Fuscus* 这 9 个种，优势菌属为黏球菌属 (*Myxococcus*)，优势菌种为 *M. fulvus* 和 *M. virescens*。

2019 年，王雪寒等<sup>[24]</sup>探究了内蒙古自治区东部地区呼伦贝尔市的可培养黏细菌资源情况，分属于 *Myxococcus*、*Corallocooccus*、*Cystobacter* 和 *Archangium* 这 4 个属，*C. exiguus*、*M. xanthus*、

*M. fulvus*、*A. gephyra* 和 *Cy. Violaceus* 这 5 个种，并且 *Myxococcus* 为优势菌属，*C. exiguus* 和 *M. fulvus* 为优势菌种，这与本文研究类似，但在本研究中 *C. exiguus* 的出现频率并不高，而且鄂尔多斯高原地区未见 *M. xanthus* 和 *Cy. Violaceus*，但呼伦贝尔地区未见分布本研究的 *C. coralloides*、*C. interemptor*、*A. minus*、*P. fallax* 和 *Cy. fuscus*。2018 年，武志华<sup>[25]</sup>探究了内蒙古自治区中部地区黏细菌的资源，分属于 *Myxococcus*、*Corallocooccus*、*Pyxidicooccus*、*Cystobacter*、*Archangium* 和 *Melittangium* 6 个属，其中 *Myxococcus* 和 *Corallocooccus* 为优势菌属，这与本研究相似。本研究与同处于内蒙古西部地区且与鄂尔多斯高原地区毗邻的巴彦淖尔、阿拉善地区相比，黏细菌的优势菌群相似，均为 *M. fulvus*，但是各地区也出现了特殊的稀有黏细菌菌种，如鄂尔多斯高原地区分离得到的 *Cy. fuscus* 在巴彦淖尔及阿拉善地区未见分布，巴彦淖尔地区分离得到的 *Cy. violaceus* 和阿拉善地区分离得到的 *Angiococcus disciformis* 在鄂尔多斯高原地区也未见分布，这表明部分非优势菌株分布可能与环境地域相关<sup>[26-27]</sup>。这表明 *Myxococcus* sp. 的分布广泛且受气候影响较小，但不同地域的黏细菌在种类上存在差异。

李越中等<sup>[28]</sup>从我国 10 多个省市采集得到的各类样品中分离得到 500 多株黏细菌，其中 *Myxococcus* 分离频率最高，为优势菌属，这与本文研究结果相似。有学者对同处于土壤较贫瘠的新疆地区的黏细菌资源进行了研究，2022 年，白欣禾等<sup>[29]</sup>在分离新疆农田中的可培养黏细菌时发现，*Myxococcus* 是可培养黏细菌中的优势菌属；同年，王月娥等<sup>[13]</sup>对新疆艾比湖地区可培养黏细菌资源进行了研究，该地区可培养黏细菌均为 *Myxococcus* sp.。2012 年，张鲜姣等<sup>[30]</sup>

对新疆阿克苏地区的可培养黏细菌的分析同样表明 *Myxococcus* 是优势菌属。这表明 *Myxococcus* sp. 分布广泛，受环境影响因素较小，环境适应能力较强。

本研究通过相关分析探究了鄂尔多斯高原地区黏细菌分布与土壤类型和植被类型的关系，结果显示，*M. fulvus* 分布最为广泛，潮土、风沙土、灰钙土和栗褐土中分布的溶细菌类群的种类丰富，其中稀有黏细菌主要分布于灰钙土和栗褐土中。在植被类型上也展现出了一定的分布规律，即林地>耕地>草地>荒地。我们尝试在土壤理化性质与黏细菌分布之间构建联系，但发现其相关性较低，这可能与本次研究的菌株数量较少、相关性较差有关。黏细菌分布广泛，地理位置对分离数量影响不大，其主要影响黏细菌种类分布，有机质丰富的土壤样品往往黏细菌的数量会更多<sup>[31]</sup>，Dawid 等<sup>[32]</sup>分离来自七大洲的 64 个国家或地区的 1 398 个土壤样品中的黏细菌，并综合分析了黏细菌的分布规律，表明黏细菌倾向于分布在 pH 6.0–8.0 的中性范围内且营养丰富、温度较为适宜的低纬度地区。本研究的 46 份土壤样品，pH 变异系数小，大多位于该区间范围内，分离得到的黏细菌数量也较为丰富。基于高通量测序技术，Zhou 等<sup>[33]</sup>分析了采集自广东和海南的土壤样品中黏细菌分布与植被类型之间的关系，通过模拟植物生长活动，表明植物影响了其他细菌类群的丰度，进而影响黏细菌的丰度，表明黏细菌的分布与植被类型有关。

黏细菌可以产生丰富、复杂的代谢产物，使得黏细菌成为生物医药领域的明星菌株，其代谢产物具有抗细菌<sup>[34]</sup>、抗真菌<sup>[35]</sup>、抗病毒<sup>[36]</sup>和抗肿瘤<sup>[37]</sup>等相关生物抗性，是新药研发的优良菌株。在本研究中，有 89.40% 的黏细菌具有致病疫霉抗性，所有种属黏细菌均对致病疫霉

有拮抗效果,其中,通过平板对峙法筛选出8株拮抗致病疫霉 HQK8-3 活性较高的黏细菌菌株,有5株为 *Myxococcus* sp., 占比62.5%,有3株为 *M. fulvus*, 是抗致病疫霉活性菌株的优势菌株,一方面由于本研究中 *Myxococcus* sp. 菌株数目最多,可能占有更多的种属优势,另一方面, *Myxococcus* 是黏细菌抗性的优势菌属。黏细菌在植物病害生物防治上具有巨大潜力,是良好的生物农药来源菌株。2019年, Wu 等<sup>[38]</sup>研究发现分离自内蒙古包头地区的 *M. xanthus* B25-I-3 对致病疫霉有较强的生物抗性,并探究了相关机理,结果表明 *M. xanthus* B25-I-3 是一种良好的抗致病疫霉菌株,其代谢产物在马铃薯晚疫病防治方面具有良好的开发价值。Ye 等<sup>[39]</sup>研究表明 *Corallococcus* sp. EGB 可以有效防治黄瓜枯萎病。

近年来随着绿色发展理念的不断深入,绿色农业也成为热点领域,如何减少化肥和农药的使用成为绿色农业发展的一大课题。本研究通过采集内蒙古鄂尔多斯高原地区的土壤样品,筛选得到了内蒙古鄂尔多斯高原地区的黏细菌资源,并检测了其对抗马铃薯晚疫病病原菌致病疫霉的抗性,本研究一方面丰富了内蒙古地区的黏细菌菌种资源库,另一方面也为今后该地区黏细菌资源的深入研究和开发奠定了基础。

## REFERENCES

- [1] MANN J. Myxobacterial bounty[J]. *Nature*, 1997, 385(6612): 117.
- [2] MUÑOZ-DORADO J, MARCOS-TORRES FJ, GARCÍA-BRAVO E, MORALEDA-MUÑOZ A, PÉREZ J. Myxobacteria: moving, killing, feeding, and surviving together[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 781.
- [3] BABADI ZK, GARCIA R, EBRAHIMPOUR GH, RISDIAN C, KÄMPFER P, JAREK M, MÜLLER R, WINK J. *Corallococcus soli* sp. nov., a soil myxobacterium isolated from subtropical climate, Chalus County, Iran, and its potential to produce secondary metabolites[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(7): 1262.
- [4] OKOTH DA, HUG JJ, GARCIA R, MÜLLER R. Three new stigmatellin derivatives reveal biosynthetic insights of its side chain decoration[J]. *Molecules*, 2022, 27(14): 4656.
- [5] 林小瑜. *Sorangium cellulosum* So0157-2 纤维素降解酶的性质与功能分析[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2013.  
LIN XY. Characterization and function analysis of cellulases from *Sorangium cellulosum* So0157-2[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2013 (in Chinese).
- [6] ABULEY IK, HANSEN JG. Characterization of the level and type of resistance of potato varieties to late blight (*Phytophthora infestans*)[J]. *Phytopathology*, 2022, 112(9): 1917-1927.
- [7] 张欣杰, 宋文睿, 陈汉, 钱忠海, 曾娟, 董莎萌. 马铃薯晚疫病化学防控现状与展望[J]. *中国植保导刊*, 2021, 41(6): 33-39.  
ZHANG XJ, SONG WR, CHEN H, QIAN ZH, ZENG J, DONG SM. Status and prospects of chemical prevention and control of potato late blight[J]. *China Plant Protection*, 2021, 41(6): 33-39 (in Chinese).
- [8] 高梦颖, 付海燕, 孙丛, 王颜波, 刘春光, 王玉堃, 杨峰山. 马铃薯致病疫霉拮抗细菌研究进展[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(14): 136-140.  
GAO MY, FU HY, SUN C, WANG YB, LIU CG, MA YK, YANG FS. Antagonistic bacteria of *Phytophthora infestans* in potato: a review[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(14): 136-140 (in Chinese).
- [9] GUYER A, de VRIEZE M, BÖNISCH D, GLOOR R, MUSA T, BODENHAUSEN N, BAILLY A, WEISSKOPF L. The anti-*Phytophthora* effect of selected potato-associated *Pseudomonas* strains: from the laboratory to the field[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1309.
- [10] 刘沛生. 呼和浩特地区黏细菌的分离鉴定及抗马铃薯晚疫病菌活性物质的分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2014.  
LIU PS. Isolation and identification of myxobacteria from Hohhot and analysis of active substances against potato late blight pathogen[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [11] 王瑞杰, 闫峰, 张学良. 2000–2015 年鄂尔多斯高原生态承载力时空变化特征[J]. *水土保持通报*, 2020,

- 40(1): 91-98, 107.
- WANG RJ, YAN F, ZHANG XL. Spatiotemporal variations of ecological carrying capacity in Ordos Plateau during 2000–2015[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2020, 40(1): 91-98, 107 (in Chinese).
- [12] 廖继燕, 吴雨婧, 周偲, 龚亮, 夏立秋. 叶柄黏球菌 CA3 的分离鉴定及其抗肿瘤活性初步研究[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2018, 41(1): 24-29.
- LIAO JY, WU YJ, ZHOU C, GONG L, XIA LQ. The isolation and identification of myxobacteria new strain CA3 with pilot study on antitumor activity[J]. *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 2018, 41(1): 24-29 (in Chinese).
- [13] 王月娥, 牛艳慧, 钟镇涛, 胡文革, 李杨. 艾比湖湿地黏细菌的分离鉴定及其抗菌活性[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(8): 234-242.
- WANG Y'E, NIU YH, ZHONG ZT, HU WG, LI Y. Isolation, identification and antibacterial activity of myxobacteria from ebinur lake wetland[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(8): 234-242 (in Chinese).
- [14] 张铨哲, 姜萌, 陈梅, 周子豪, 李媛媛, 赵雪, 任雪琦, 徐浩然, 陈苏慧. 马铃薯晚疫病病菌卵孢子形成与萌发条件研究[J]. *东北农业大学学报*, 2020, 51(7): 10-19.
- ZHANG XZ, JIANG M, CHEN M, ZHOU ZH, LI YY, ZHAO X, REN XQ, XU HR, CHEN SH. Study on oospore formation and germination conditions of *Phytophthora infestans*[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2020, 51(7): 10-19 (in Chinese).
- [15] 中华人民共和国农业部. 土壤检测 第 2 部分: 土壤 pH 的测定: NY/T 1121.2—2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Soil Testing—Part2: method for determination of soil pH: NY/T 1121.2—2006[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese).
- [16] 中国林业科学研究院林业研究所森林土壤研究室. 森林土壤含水量的测定: LY/T 1213—1999[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- Research Institute of Forestry Chinese Academy of Forestry, Forest Soil Laboratory. Determination of forest soil water content: LY/T 1213—1999[S]. Beijing: China Standards Press, 1999 (in Chinese).
- [17] 中华人民共和国农业部. 土壤检测 第 6 部分: 土壤有机质的测定: NY/T 1121.6—2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Soil Testing—Part6: method for determination of soil organic matter: NY/T 1121.6—2006[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese).
- [18] 中华人民共和国农业部. 土壤检测 第 7 部分: 土壤有效磷的测定: NY/T 1121.7—2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Soil Testing—Part7: method for determination of available phosphorus in soil: NY/T 1121.7—2006[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese).
- [19] 中华人民共和国农业部. 土壤速效钾和缓效钾含量的测定: NY/T 889—2004[S]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Determination of exchangeable potassium and non-exchangeable potassium content in soil: NY/T 889—2004[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2005 (in Chinese).
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BAO SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [21] KARWOWSKI JP, SUNGA GN, KADAM S, McALPINE JB. A method for the selective isolation of *Myxococcus* directly from soil[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 16(4): 230-236.
- [22] REICHENBACH H. *Kofleria* Gen. nov.[M]//Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. New York: Springer-Verlag, 2006: 1143-1144.
- [23] 侯素素, 董心怡, 戴志刚, 巩细民, 徐志宇, 薛颖昊, 张洋洋, 李小坤, 丛日环, 鲁剑巍. 基于田间试验的秸秆还田化肥替减潜力综合分析[J]. *农业工程学报*, 2023, 39(5): 70-78.
- HOU SS, DONG XY, DAI ZG, GONG XM, XU ZY, XUE YH, ZHANG YY, LI XK, CONG RH, LU JW. Comprehensive analysis of chemical fertilizer replacement potential by straw returning in field experiments[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2023, 39(5): 70-78 (in Chinese).
- [24] 王雪寒, 马强, 田媛, 胡靖, 刘惠荣. 内蒙古呼伦贝尔地区的可培养黏细菌及其抗菌活性[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(9): 224-233.
- WANG XH, MA Q, TIAN Y, HU J, LIU HR. Cultivable myxobacteria and their antibiotic activities in the Hulun Buir area of Inner Mongolia[J].



- Biotechnology Bulletin, 2019, 35(9): 224-233 (in Chinese).
- [25] 武志华. 内蒙古中部地区黏细菌分离及其抑制马铃薯晚疫病菌的活性和成分研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2018.
- WU ZH. Isolation of myxobacteria from central Inner Mongolia and study on its activity and composition of inhibiting potato late blight[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [26] 赵璞钰. 阿拉善地区黏细菌的分离鉴定及其抗致病疫霉活性的初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2018.
- ZHAO PY. Isolation and identification of myxobacteria in Alashan area and preliminary study on their anti-pathogenic *Phytophthora* activities[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [27] 任兴波. 巴彦淖尔地区土壤中黏细菌的分离鉴定及其抗致病疫霉活性的初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2016.
- REN XB. Isolation and identification of myxobacteria from soil in Bayannaouer area and preliminary study on their anti-pathogenic *Phytophthora* activity[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [28] 李越中, 李健, 周璐, 张勇, 胡玮, 陈琦. 我国黏细菌(myxobacteria)资源的分离与鉴定[J]. 微生物学报, 2000, 40(6): 652-656.
- LI YZ, LI J, ZHOU L, ZHANG Y, HU W, CHEN Q. Isolation and identification of myxobacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2000, 40(6): 652-656 (in Chinese).
- [29] 白欣禾, 韩剑, 窦新玉, 罗明, 崔中利, 李周坤, 吕文. 新疆农田土壤中黏细菌的分离鉴定及其捕食特性[J]. 新疆农业大学学报, 2022, 45(6): 462-473.
- BAI XH, HAN J, DOU XY, LUO M, CUI ZL, LI ZK, LYU W. Isolation, identification and predation characteristics of myxobacteria from farmland soils in Xinjiang[J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2022, 45(6): 462-473 (in Chinese).
- [30] 张鲜姣, 黎志坤, 谭志远, 郭俊, 朱红惠. 新疆阿克苏地区盐碱地黏细菌分离鉴定[J]. 微生物学报, 2012, 52(2): 160-168.
- ZHANG XJ, LI ZK, TAN ZY, GUO J, ZHU HH. Isolation and identification of myxobacteria in the salinealkaline soils of Akesu in Xinjiang[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(2): 160-168 (in Chinese).
- [31] 李曙光. 黏细菌的环境分布、季节演替及其相互作用[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2014.
- LI SG. Distribution, seasonal succession and intraspecies interactions of myxobacteria[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2014 (in Chinese).
- [32] DAWID W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2000, 24(4): 403-427.
- [33] ZHOU Y, ZHANG XJ, YAO Q, ZHU HH. Both soil bacteria and soil chemical property affected the micropredator myxobacterial community: evidence from natural forest soil and greenhouse rhizosphere soil[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1387.
- [34] AHMAD BHAT M, MISHRA AK, BHAT MA, BANDAY MI, BASHIR O, RATHER IA, RAHMAN S, SHAH AA, JAN AT. Myxobacteria as a source of new bioactive compounds: a perspective study[J]. Pharmaceutics, 2021, 13(8): 1265.
- [35] LI ZK, YE XF, LIU MX, XIA CY, ZHANG L, LUO X, WANG T, CHEN Y, ZHAO YQ, QIAO Y, HUANG Y, CAO H, GU XY, FAN JQ, CUI ZL, ZHANG ZG. A novel outer membrane  $\beta$ -1,6-glucanase is deployed in the predation of fungi by myxobacteria[J]. The ISME Journal, 2019, 13(9): 2223-2235.
- [36] MULWA L, STADLER M. Antiviral compounds from myxobacteria[J]. Microorganisms, 2018, 6(3): 73.
- [37] LEE C, PARK S, AYUSH I, CHO K, KIM SS, KANG I, CHOE W, KIM YS, YOON KS. Effects of *Myxococcus fulvus* KYC4048 metabolites on breast cancer cell death[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2018, 28(5): 765-775.
- [38] WU ZH, CUI HC, SUN ZN, LIU HR. Biocontrol mechanism of *Myxococcus xanthus* B25-I-1 against *Phytophthora infestans*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2021, 175: 104832.
- [39] YE XF, LI ZK, LUO X, WANG WH, LI YK, LI R, ZHANG B, QIAO Y, ZHOU J, FAN JQ, WANG H, HUANG Y, CAO H, CUI ZL, ZHANG RF. A predatory myxobacterium controls cucumber *Fusarium* wilt by regulating the soil microbial community[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 49.