

## 6 株野生植物内生放线菌防病促生作用的初步研究

梁亚萍,宗兆锋,马 强

(西北农林科技大学 植物保护学院,陕西省农业分子生物学重点实验室,陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 为了寻找具有内生习性的植病生防放线菌,从采自秦岭的 14 种野生植物中分离得到 29 株内生放线菌,对其进行了皿内拮抗试验、发酵液抑菌试验和温室防病促生试验。结果发现,有 6 株菌表现出显著的抑菌活性,其中菌株 SF1 对粉红聚端孢、SF4 对苹果炭疽菌、SF20 对灰葡萄孢均有较强的抑制作用;菌株 SG2 的代谢产物具有很高的抑菌活性,其发酵滤液对茄链格孢的抑菌圈直径达到 35 mm;菌株 SG2 对温室番茄早疫病的防治效果达到 89.72%,菌株 SF4 对黄瓜白粉病的温室防效达到 89.61%,菌株 SF20 对番茄和黄瓜具有明显的促生作用。可见,从野生植物中分离具有内生习性和抑菌作用的放线菌,直接用于生物防治是可行的。

**[关键词]** 野生植物;内生放线菌;生物防治;促生作用

**[中图分类号]** S476+.19

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2007)07-0131-06

### Inhibiting and promoting effect on plants of six strains endophytic actinomycetes isolated from wild plants

LIANG Ya-ping, ZONG Zhao-feng, MA Qiang

(College of Plant Protection, Northwest A & F University, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** In order to find new endophytic actinomycetes for biological control, twenty-nine strains of endophytic actinomycetes were isolated from surface-sterilized plant tissues harvested from QinLing. The isolates had been assayed for antagonistic activity, fermentation activity in vitro and greenhouse experiment. The results indicated that SF1 strain had significant inhibiting effect on *Trichothecium roseum*, SF4 on *Colletotrichum gloeosporioides* and strain SF20 on *Botrytis cinerea*. The fermentation filtrate of SG2 metabolites was detected to have stronger antagonism against *Alternaria solani*, and inhibiting zone got 35 mm. In greenhouse experiment, 89.72% control ratio to *A. solani*, and 89.61% to *Sphaerotheca fuliginea* were found by strain SG2 and SF4, respectively, and strain SF20 could promote the growth of tomato and cucumber. The conclusion was drawn that it was feasible for isolated endophytic actinomycetes from wild plants to be applied in biological control.

**Key words:** wild plant; endophytic actinomycete; biological control; promoting growth

植物内生菌可有效定殖于寄主植物体内,在适宜的环境中发挥相应的防病促生作用,其不与外界环境中的微生物直接竞争,可以克服外源生防菌本身存在的局限性。内生放线菌通过同化营养物质和

产生次生代谢物质在植物的健康生长发育过程中起重要作用<sup>[1]</sup>。放线菌产生的耐热和抗干燥孢子可以在不利环境下长期存活,产生的菌丝体在植物体内的定殖能力较强,有利于诱导寄主产生系统抗性。

\* [收稿日期] 2007-01-25

[基金项目] 教育部创新团队发展计划项目(200558);国家高等学校学科创新引智计划(B07049);西北农林科技大学创新团队项目

[作者简介] 梁亚萍(1980-),女,陕西礼泉人,在读硕士,主要从事植物病害生物防治研究,E-mail:llypnancy628@163.com。

[通讯作者] 宗兆锋(1956-),男,陕西泾阳人,教授,主要从事植物病害生物防治研究,E-mail:zfzong@nwsuaf.edu.cn。

目前,开发利用内生放线菌作为植物病害生防菌的成功事例越来越多<sup>[2-3]</sup>,但多数是集中在栽培作物上,尚缺乏对植物内生放线菌全面系统的研究,其基础理论研究也有待于进一步完善。本研究从采自秦岭的野生植物中分离筛选能够在非寄主作物上定殖、并对常见植物病原真菌有抑制作用的内生放线菌,以期改良现有的生防菌株提供菌源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试靶标菌 灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、粉红聚端孢(*Trichothecium roseum*)、瓜果腐霉(*Pythium aphanidermatum*)、梨状毛霉(*Mucor piriformis*)、大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)、茄链格孢(*Alternaria solani*)、西瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum f. sp. niveum*)、黄枝孢(*Fulvia fulva*)和黄瓜白粉病菌(*Sphaerotheca fuliginea*),均由本实验室提供。

1.1.2 植物材料 在秦岭山区选择采集生长旺盛、健康的一年蓬(*Erigeron annuus*)、蟹甲草(*Cacalia adenoslylioides*)、倒刨牛(*Rasa multiflora*)、石竹(*Dianthus chinensis*)、葎草(*Humulus scandens*)、天门冬(*Asparagus cochinchinensis*)、野大豆(*Glycine soja*)、火棘(*Pyrantha fortuneana*)、括楼(*Trichosarthes kirilowii*)、苔藓(*Funaria hygrometrica*)、益母草(*Leonurus artemisis*)、商陆(*Phytolacca acinosa*)、栒子(*Cotonester zapeli*)和白英(*Solanum lyratum*)等植物材料,保存于保鲜袋中备用。

### 1.2 方法

1.2.1 植物内生放线菌的分离 分别将植物根、茎组织(0.5~1.0 cm)以及叶片组织块(4.0 cm × 4.0 cm)依次用体积分数 75%乙醇处理 5 min、0.01 g/mL NaClO 处理 20 min 和 0.1 g/mL NaHCO<sub>3</sub> 处理 10 min,进行表面消毒。将消毒的根、茎组织块(5 mm × 5 mm)分别置于 3 种分离培养基(S 培养基<sup>[4]</sup>、腐殖酸培养基<sup>[5]</sup>和高氏一号培养基)中 28℃ 培养。消毒的叶片捣碎后加入无菌水(1 g/mL)充分混匀,过滤,用移液枪吸取滤液 200 μL 于无菌培养皿内,然后用三角玻棒均匀涂布,28℃ 下培养。采用无菌水检验法<sup>[6]</sup>和存活试验<sup>[7]</sup>进行植物材料表面消毒效果检测。

1.2.2 内生放线菌在非寄主植物体内的定殖 将

大豆、番茄、黄瓜种子进行表面消毒,28℃ 下催芽,待发芽后用筛选获得的内生放线菌菌悬液浸泡 5~10 min,播种到无菌土中,出苗 7 d 后再用内生放线菌菌悬液灌根,30 d 后取接种植物的根、茎和叶片组织分离,以确定放线菌在靶标植物上的定殖情况。

1.2.3 内生放线菌的离体拮抗作用测定 利用平板对峙法<sup>[8-10]</sup>对分离得到的内生放线菌进行初筛。入选的菌株用 SNB 培养液在 150 r/min、28℃ 下振荡培养 5 d,将发酵液 5 000 r/min 离心 10 min,上清液用细菌过滤器过滤获得发酵滤液。将靶标菌均匀涂布于 PDA 平板培养基上,2 h 后用直径 5 mm 的打孔器在平板上均匀打 4 个孔,将入选内生放线菌的发酵液、发酵滤液分别注入孔内,每孔 30 μL,于 28℃ 温箱内培养 5 d 后测量抑菌圈直径,每处理重复 3 次。

将入选内生放线菌的 SNB 发酵滤液与靶标菌的孢子悬浮液,按照体积比 1:1 和 2:1 混合,以 SNB 滤液为对照,用水琼脂平板法测定发酵滤液对 6 种靶标菌分生孢子萌发的抑制作用<sup>[11-12]</sup>,每处理重复 3 次。

1.2.4 内生放线菌对温室番茄早疫病和黄瓜白粉病的防治效果 在温室番茄(新世纪粉王)和黄瓜(津杂 2 号)株高 30 cm 时,将入选菌株的发酵液(10<sup>8</sup> cfu/g)和菌悬液(10<sup>8</sup> cfu/g)均匀喷洒在幼苗上。3 d 后将直径 5 mm 的茄链格孢菌饼倒贴在番茄植株叶片上,用湿润滤纸覆盖保湿;黄瓜白粉病采用涂抹法<sup>[13]</sup>接种到黄瓜叶片上。以喷清水为对照,每处理 5 盆。接种后的植株移入保湿温室内,维持空气相对湿度在 90%以上。7 d 后按照番茄早疫病和黄瓜白粉病的分级标准进行病情调查<sup>[14]</sup>,统计发病率,计算防效。

1.2.5 菌株 SG2 和 SF4 对温室植株生长的影响 分别将津杂 2 号黄瓜种子和新世纪粉王番茄种子播入营养钵内育苗,于第 1 片真叶展平时,移栽于用内生放线菌菌株发酵液浇灌的土壤中,每克土壤接种量约为 10<sup>8</sup> cfu,移栽 30 d 后重复浇灌。60 d 后随机取样,测其株高、叶片数、倒 3 叶的相对面积(长 × 宽)、鲜重、干重以及叶绿体色素含量<sup>[15]</sup>。

文中数据均采用 SAS 软件<sup>[16]</sup>进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 植物内生放线菌的分离

从采自秦岭的 14 种野生植物上共分离得到 29

株内生放线菌(表 1),编号分别为 SF1~SF26、SY、SG1 和 SG2,其中在石竹和野大豆 2 种植物中分离得到的内生放线菌最多。在植物不同组织中所获得的内生放线菌以根部最多,达到 15 株,其次为叶部 8 株,茎部 6 株,这可能与内生放线菌进入植物组织的途径有关。不同培养基的分离效果有一定差异,其中用 S 培养基分离得到的内生放线菌最多,高氏

一号和腐殖酸培养基次之。不同方法处理样品后的分离效果也有差别,以组织块法获得的菌株数明显高于组织研磨法。

利用无菌水检验法和存活试验进行表面消毒效果检测发现,用本试验消毒方法对植物材料消毒后,皿内无菌落生长,表明内生放线菌分离过程中采用的消毒方法可行,分离获得的菌株为植物内生放线菌。

表 1 不同植物样品中分离的内生放线菌菌株数

Table 1 Numbers of isolates of endophytic actinomycetes from different plants

宿主植物 Host plants	培养基 Media	分离菌株数 Number of strain			
		总数 Total	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf
一年蓬 <i>Erigeron annuus</i>	S/ G/ HV	3	2	1	
蟹甲草 <i>Cacalia adenoslylioides</i>	S	2	1		1
倒刨牛 <i>Rasa multiflora</i>	S/ G	1	1		
石竹 <i>Dianthus chinensis</i>	S/ G	4	2		2
葎草 <i>Humulus scandens</i>	S/ G	2	1	1	
天门冬 <i>Asparagus cochinchinensis</i>	G	1			1
野大豆 <i>Glycine soja</i>	S/ G/ HV	4	3		1
火棘 <i>Pyrantha fortuneana</i>	S	1	1		
括楼 <i>Trichosarthes kirilowii</i>	S	2	1		1
苔藓 <i>Funaria hygrometrica</i>	S	1	1		
益母草 <i>Leonurus artemisis</i>	HV	2		1	1
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i>	G	2		1	1
桐子 <i>Cotonester zapeli</i>	G	1	1		
白英 <i>Solanum lyratum</i>	S/ G	3	1	2	

注:S.S培养基;G.高氏一号培养基;HV.腐殖酸培养基。

Note:S.S medium;G. Gause (No. 1) medium;HV. Humic acid+vitamin (HV) agar.

2.2 内生放线菌在非寄主植物体内的定殖

选择菌株 SF1、SF2、SF3、SF4、SF5、SF6、SF14、SF19、SF20、SF21、SY 和 SG2 进行内生性检测,结果表明,从大豆、番茄和黄瓜 3 种植物组织中均可分离到 12 株内生放线菌。从不同植物以及同种植物不同部位分离得到的入选菌株数量差异很大。从黄瓜茎中分离得到的内生放线菌最多,其次是番茄茎;从 3 种植物的根和叶中获得的内生放线菌均较少。说明这些内生放线菌具有较强的定殖能力,能够在植物体内存活,并且可在植物不同组织中移动。

2.3 内生放线菌的离体拮抗作用

皿内拮抗作用研究结果表明,测定的 29 株内生

放线菌中有 6 株表现出较高的抑菌活性。由表 2 可以看出,同一菌株对不同靶标菌的作用效果不同,不同菌株对同一种靶标菌的作用效果差异也较大。其中,菌株 SF20 对灰葡萄孢的拮抗作用最强,抑制率达到 88.0% (图 1),对粉红聚端孢的抑制率达 80.0%;菌株 SF19 对灰葡萄孢的抑制率达 79.2%;菌株 SF6 和 SF4 对瓜果腐霉的抑制率分别达 76.0% 和 72.0%,对大丽轮枝菌的抑制率分别达到 60.0% 和 68.0%,对梨状毛霉的抑制率均达到 65.2%;菌株 SF1 对粉红聚端孢的抑制率达 66.7%;菌株 SG2 对胶孢炭疽菌的抑制率达到 60.9%。

表 2 6 株内生放线菌对 6 种靶标菌的皿内抑菌作用

Table 2 Inhibiting effect of six strains of endophytic actinomycetes on target pathogens

靶标菌 Target pathogens	抑制率/ % Inhibiting rate					
	SF1	SF4	SF6	SF19	SF20	SG2
灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	56.0	63.7	56.0	79.2	88.0	52.0
大丽轮枝菌 <i>V. dahliae</i>	56.0	68.0	60.0	43.5	32.0	40.0
粉红聚端孢 <i>T. roseum</i>	66.7	62.5	66.7	65.2	80.0	52.0
梨状毛霉 <i>M. piriformis</i>	56.5	65.2	65.2	56.5	45.0	54.5
瓜果腐霉 <i>P. aphanidermatum</i>	52.0	72.0	76.0	20.5	42.0	60.0
胶孢炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>	60.9	68.2	63.6	44.0	52.0	60.9

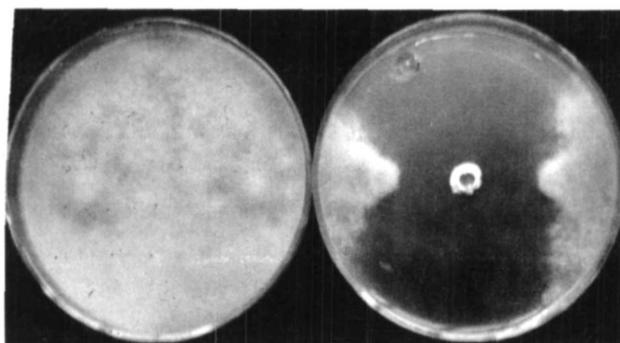


图 1 菌株 SF20 对灰葡萄孢的拮抗作用(左边为对照,右边为抑菌效果)

Fig. 1 Antifungal activity of strain SF20 to *B. cinerea* (Control on left;inhibiting effect on right)

2.4 内生放线菌发酵液的抑菌作用

表 3 结果表明,筛选的内生放线菌发酵液均有不同程度的抑菌作用,其中菌株 SF4 和 SG2 的抑菌活性最强。而发酵滤液除菌株 SG2 外,其余均没有

抑菌活性。菌株 SG2 的发酵滤液对茄链格孢的抑菌圈直径达到 35 mm,对大丽轮枝菌的抑菌圈直径达到 30 mm。表明菌株 SG2 发酵液中含有某种抑菌活性物质,这尚有待于进一步研究。

表 3 内生放线菌发酵液和发酵滤液的抑菌作用

Table 3 Inhibiting effect of fermentation broth and filtrate of endophytic actinomycetes on target pathogens

靶标菌 Target pathogens	抑菌圈直径/ mm Inhibiting zone											
	发酵液 Fermentation broth						发酵滤液 Fermentation filtrate					
	SF1	SF4	SF6	SF19	SF20	SG2	SF1	SF4	SF6	SF19	SF20	SG2
灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	0	28	0	20	0	19	0	0	0	0	0	12
西瓜枯萎病菌 <i>F. o. niveum</i>	0	0	15	0	0	20	0	0	0	0	0	25
黄枝孢 <i>F. fulva</i>	0	14	18	15	0	18	0	0	0	0	0	22
茄链格孢 <i>A. solani</i>	0	18	16	23	0	25	0	0	0	0	0	35
粉红聚端孢 <i>T. roseum</i>	0	13	0	17	20	18	0	0	0	0	0	25
大丽轮枝菌 <i>V. dahliae</i>	0	17	0	0	0	20	0	0	0	0	0	30

2.5 内生放线菌发酵滤液对靶标菌孢子萌发的影响

表 4 结果表明,筛选的内生放线菌发酵滤液对 6 种靶标菌的孢子萌发,均有很好的抑制作用。同一菌株的发酵滤液对不同靶标菌孢子萌发的抑制效果不同,不同菌株的发酵滤液对同种靶标菌孢子萌发的抑制效果差异也很大。其中,用等量的发酵滤液处理后,菌株 SF6 对粉红聚端孢孢子萌发的抑制

率达到 100%;菌株 SF1 灰葡萄孢孢子的萌发抑制率达到 90.8%;菌株 SG2 对黄枝孢孢子萌发的抑制率达到 97.6%,对西瓜枯萎病菌和大丽轮枝菌孢子萌发的抑制率达到 100%。用倍量发酵滤液处理后,筛选的内生放线菌对 6 种靶标菌的孢子萌发抑制效果明显加强。除粉红聚端孢外,菌株 SG2 对其他靶标菌孢子萌发的抑制率均达到 100%。

表 4 内生放线菌发酵滤液对靶标病原菌孢子萌发的抑制作用

Table 4 Inhibiting effect of fermentation filtrate of endophytic actinomycetes on conidia germination of pathogens

靶标菌 Target pathogen	萌发抑制率/ % Inhibiting rate on conidia germination of pathogens													
	等量 Equal dose							倍量 Double dose						
	CK	SF1	SF4	SF6	SF19	SF20	SG2	CK	SF1	SF4	SF6	SF19	SF20	SG2
粉红聚端孢 <i>T. roseum</i>	63.4	71.9	88.9	100	57.0	- 24.6	40.4	92.0	93.6	70.1	100	65.5	51.9	96.2
黄枝孢 <i>F. fulva</i>	80.3	62.0	33.9	86.4	31.3	47.6	97.6	98.0	82.9	28.6	81.6	69.8	51.1	100
西瓜枯萎病菌 <i>F. o. niveum</i>	100	23.1	0	15.6	0	54.8	100	99.0	70.3	59.9	54.6	14.1	84.8	100
胶孢炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>	65.3	55.9	55.2	63.7	62.9	53.1	73.5	95.5	100	78.9	71.1	71.8	9.8	100
大丽轮枝菌 <i>V. dahliae</i>	86.7	79.9	71.2	82.6	75.4	65.7	100	80.0	93.8	54.5	87.5	90.0	88.2	100
灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	67.5	90.8	55.6	55.5	44.4	44.4	70.6	95.0	97.4	73.7	59.2	57.9	69.1	100

注:等量指内生放线菌发酵滤液与病原菌孢子悬浮液的体积比为 1 : 1;倍量指放线菌发酵滤液与病原菌孢子悬浮液体积比为 2 : 1。

Note: Equal dose: filtrate volume/ suspension volume = 1 : 1; double dose: filtrate volume/ suspension volume = 2 : 1.

### 2.6 内生放线菌菌株对温室番茄早疫病和黄瓜白粉病的防治作用

由表 5 可以看出,发酵液处理中除菌株 SF1 和 SF19 外,其他菌株发酵液对番茄早疫病均有一定的防治效果,其中 SG2 的防效最好,可达到 89.72%;SF20 的防效较好,达到 73.27%。菌株 SF4 对黄瓜白粉病的防效较好,达到 89.61%;其次是 SF20,防

效达到 78.08%。用菌悬液处理发现,菌株 SG2 和 SF20 对番茄早疫病,菌株 SF4 和 SF20 对黄瓜白粉病均有较好的防治效果。对比两种处理可以明显看出,发酵液的处理效果优于菌悬液处理,这可能与发酵液中含有内生放线菌分泌的、抑制病原真菌的次生代谢物质有关。

表 5 内生放线菌菌株对温室番茄早疫病和黄瓜白粉病的防治效果

Table 5 Control effect of endophytic actinomycetes on *A. solani* and *S. fuliginea* in greenhouse

处理 Treatments	菌株 Strains	番茄早疫病 <i>Alternaria solani</i>			黄瓜白粉病 <i>Sphaerotheca fuliginea</i>		
		发病率/ % Disease incidence	病情指数 Disease index	防效/ % Control effect	发病率/ % Disease incidence	病情指数 Disease index	防效/ % Control effect
发酵液 Fermentation broth	SF4	35.62 c	14.70 d	59.65 c	12.10 e	2.16 e	89.61 a
	SF1	45.31 b	23.50 b	35.58 e	28.50 bc	14.84 b	28.62 e
	SG2	15.89 e	3.75 f	89.72 a	24.00 cd	9.89 c	52.45 d
	SF6	33.49 cd	14.52 d	60.19 c	19.04 d	6.27 d	69.85 c
	SF20	30.12 d	9.75 e	73.27 b	19.25 d	4.56 d	78.08 b
	SF19	49.05 a	21.15 c	42.02 d	48.92 a	19.11 a	8.12 f
菌悬液 Actinomycetes suspension	SF4	42.11 b	23.52 c	35.53 e	15.35 d	3.15 d	84.86 a
	SF1	47.94 a	30.40 b	16.67 f	31.33 b	19.84 a	4.16 d
	SG2	22.76 d	8.80 e	75.88 a	25.17 c	11.25 b	45.91 c
	SF6	42.19 b	15.60 d	57.23 c	21.28 c	7.77 c	62.64 b
	SF20	32.24 c	11.20 e	69.30 b	10.98 d	2.42 d	88.36 a
	SF19	50.05 a	21.45 b	41.20 d	47.39 a	19.74 a	5.09 d
清水对照 CK		48.82 ab	36.48 a	-	31.97 b	20.80 a	-

注: 同列数据后标不同字母者差异显著 ( $P < 0.05$ )。下表同。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ). The following table is the same.

### 2.7 内生菌株对温室番茄和黄瓜生长的影响

由于筛选获得的 6 株菌均可定殖于黄瓜和番茄,所以选择二者为测试植物。表 6 结果表明,与清水处理对照相比,6 株内生放线菌发酵液对番茄和黄瓜植株生长均有不同程度的影响,其中菌株 SF20

除叶片数外,对黄瓜其他各项生理指标的影响均达到显著水平,对番茄植株的影响明显大于清水对照;其次是菌株 SF19,其对番茄植株株高、叶片数、叶片面积、鲜重和干重的影响与对照相比均达显著水平。分析可能是菌株的分泌物具有促进植株生长的功能。

表 6 6 株放线菌发酵液对温室盆栽番茄和黄瓜生长的影响

Table 6 Effect of fermentation broth of six strains on development of tomato and cucumber

植物 Plants	菌株 Strains	株高/ cm Plant height	叶片数 Leaf number	叶片面积/ mm <sup>2</sup> Leaf area	植株质量/ g Plant weight		叶绿素/ (mg · g <sup>-1</sup> ) Chlorophyll		总含量 Total
					鲜重 Fresh weight	干重 Dry weight	a	b	
黄瓜 Cucumber	CK	136.9 d	13.0 ab	461.0 b	86.5 d	5.9 d	1.207 d	0.603 b	2.070 d
	SF1	127.3 e	10.0 d	321.7 c	95.5 b	3.8 f	1.037 e	0.500 c	1.854 e
	SF4	133.2 d	11.0 cd	288.6 d	87.9 d	5.3 e	1.350 b	0.615 b	2.309 b
	SF6	154.1 c	10.5 d	314.5 c	63.9 f	5.8 d e	0.989 f	0.437 d	1.704 f
	SF19	163.4 b	12.0 bc	323.0 c	91.8 c	8.3 b	1.235 c	0.677 a	2.204 c
	SG2	145.5 c	13.0 ab	505.2 a	80.7 e	7.6 c	0.841 g	0.303 e	1.371 g
	SF20	169.5 a	14.0 a	523.0 a	98.2 a	9.3 a	1.437 a	0.688 a	2.514 a
番茄 Tomato	CK	79.5 c	8.5 b	344.1 d	54.9 d	4.8 d	1.314 a	0.379 g	2.077 c
	SF1	82.5 c	8.5 b	365.5 c	46.2 d	4.2 d	1.009 e	0.746 e	1.812 d
	SF4	81.2 c	7.5 c	290.2 e	54.9 d	3.3 e	1.055 bc	1.228 b	2.317 b
	SF6	69.7 d	8.5 b	311.7 e	74.7 c	9.8 a	0.672 f	1.099 c	1.903 d
	SF19	97.5 a	9.5 a	441.0 a	115.3 a	9.7 a	1.028 d	0.672 f	2.222 b
	SG2	87.2 b	8.0 bc	352.3 d	50.1 d	4.7 c	1.049 c	0.943 d	2.074 c
	SF20	94.0 a	8.5 b	397.8 b	104.9 b	8.9 b	1.063 b	1.401 a	2.472 a

从表 6 还可以看出,用菌株 SF20 和 SF4 发酵液处理的黄瓜和番茄植株,比对照生长旺盛且叶色暗绿。菌株 SF20 处理的黄瓜叶绿素总量、叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均显著高于对照,处理的番茄叶绿素总量和叶绿素 b 的含量也显著高于对照。菌株 SF4 处理的黄瓜和番茄叶绿素总量、叶绿素 b 含量也高于对照。

### 3 结论与讨论

生物防治已经成为现代农业生产中有害生物控制的一项重要措施,生防菌对所应用环境的适应性直接影响到其对靶标有害生物的控制效果。本研究从采自秦岭的野生植物中分离获得 29 株内生放线菌,有 24.1% 的菌株不仅能在非寄主作物上定殖,而且能在离体条件下对常见植物病原真菌表现出较强的抑制作用,活体试验也表现出较好的防病效果,同时发现了具有促生作用的优良菌株。野生植物内生放线菌的特殊生境决定了其既有理论研究的广度和深度,又有多方面的应用潜力,是一个尚待开发的微生物新资源。本试验发现,一些菌株在平板对峙试验中有较好的抑菌活性,但其代谢产物却没有表现出相应的活性,其抗菌机制有待于进一步研究。本试验完成了前期研究工作,优良菌株的人工改良、新生防制剂的开发尚待逐步完成。

#### [参考文献]

- [1] Kunoh H. Endophytic actinomycetes: attractive biocontrol agents[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2002, 68: 249-252.
- [2] Cao L X, Qiu Z, You J, et al. Isolation and characterization of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2004, 39: 425-430.
- [3] 邢 鲲, 韩巨才, 刘慧平, 等. 辣椒内生放线菌的分离、鉴定和拮抗作用[J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(5): 777-778.
- [4] Baker D. Methods for the isolation, culture and characterization of the *Frankiaceae*: soil actinomycetes and symbionts of actinorhizal plants[C]. Labeda D P. Isolation of biotechnological organisms from nature. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990: 213-236.
- [5] Otoguro M, Hayakawa M, Yamazaki T, et al. An integrated method for the enrichment and selective isolation of *Actinokineospora* spp. in soil and plant litter [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 91: 118-130.
- [6] 李 萌, 张海涛, 虞星炬, 等. 蔬菜内生菌的分离及其生防功能初探[J]. *江苏农业科学*, 2003(5): 60-64.
- [7] 曹理想, 田新莉, 周世宁. 香蕉内生真菌、放线菌类群分析[J]. *中山大学学报*, 2003, 42(2): 70-73.
- [8] 方中达. 植病研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [9] 乔宏萍, 宗兆锋. 用重寄生菌防治植物病害[J]. *中国生物防治*, 2002, 18(4): 176-179.
- [10] 韩立荣, 宗兆锋. 5 株放线菌对 9 种靶标病原真菌的持续抑菌作用[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(2): 53-56.
- [11] 王兰英, 宗兆锋, 刘正坪. 大丽轮枝孢和灰葡萄孢生防放线菌的分离筛选[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2005, 33: 153-156.
- [12] 郭小芳, 宗兆锋, 杨洪俊. 6 种放线菌的抗药性标记和在植株体内定殖能力测定[J]. *西北农业学报*, 2005, 14(2): 69-73.
- [13] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 173-176.
- [14] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则(二)[M]. 北京: 中国标准出版社, 1993: 10.
- [15] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 101-103.
- [16] SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's Guide: Version 6 [M]. 4th ed. North Carolina: Cary, 1989.