

陕西关中棉花黄萎病菌遗传多样性的 ISSR 分析

毛 岚, 宋培玲, 杨家荣

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

【摘 要】 【目的】优化棉花黄萎病菌 ISSR 反应体系, 筛选特异性引物, 对陕西关中棉花黄萎病菌的分子水平遗传变异及其与地理来源之间的关系进行研究。【方法】用优化好的反应体系和筛选出的引物, 对采集自陕西关中 6 个地区的棉花黄萎病菌和 3 个参照菌系(新疆和田、陕西泾阳、河南安阳)的亲缘关系进行聚类分析。【结果】优化的反应体系(25 μ L)为: dNTP、引物的浓度和 *Taq* DNA 聚合酶用量分别为 150 μ mol/L, 0.5 μ mol/L, 1.5 U。筛选到多态性强的引物 842 和 834。在遗传相似系数为 0.36 处, 将 16 个菌株分为 2 个遗传类群。【结论】陕西关中棉花黄萎病菌 13 个菌株与新疆和田、河南安阳菌系的亲缘关系较远, 与泾阳菌系的亲缘关系较近, 且来源于同一地域的菌株亲缘关系较近。

【关键词】 棉花黄萎病菌; ISSR 标记; 反应体系优化; 聚类分析; 遗传多样性

【中图分类号】 S435.621

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)05-0149-06

ISSR Analysis of *Verticillium Dahliae* of Cotton in Shaanxi Guanzhong Area

MAO Lan, SONG Peng-ling, YANG Jia-rong

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

Abstract: 【Objective】 The ISSR-PCR reaction system was optimized. The primers which produced clear and rich polymorphism bands were screened. The genetic similarity and their sources of *Verticillium dahliae* from Shaanxi were tested. 【Method】 13 isolated *V. dahliae* strains from Shaanxi of *V. dahliae* and 3 standard strains (from Xinjiang hetian, Shaanxi jingyang and Henan anyang) were tested so as to find out the correlation between genetic diversity of *Verticillium dahliae*. 【Result】 The optimal concentration reaction system was 0.5 μ mol/L primer, 1.5 U *Taq* DNA polymerase, 150 μ mol/L dNTP. Two primers 842 and 834 were screened. The isolated *Verticillium dahliae* strains were clustered into 2 genetic line ages at 0.36 genetic similarity. 【Conclusion】 The strains from Shaanxi have a distant relationship with *V. dahliae* strains from Xinjiang and Anyang, and shows some relation with their geographical originals.

Key words: *Verticillium dahliae*; ISSR marker; reaction system optimization; cluster analysis; genetic diversity

棉花黄萎病菌是由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)引起的世界性土传植物微管束萎蔫病害, 该病原菌适生性强、分布广、寄主多、危害重、传播途径复杂、防治难度大, 是棉花生产的主要障碍^[1]。

目前, 棉花黄萎病菌的致病力变异较快, 单纯依靠棉苗温室接种及田间鉴定, 不仅工作量大, 而且试验结果容易受环境条件和人为因素的影响^[2]。已有研究大多根据鉴别寄主的表现型, 及病原菌的培养

* [收稿日期] 2008-07-08

[基金项目] 欧盟科技合作项目(ICA4-CT-2001-10001)

[作者简介] 毛 岚(1981—), 女, 陕西汉中, 在读博士, 主要从事植物病理学研究。E-mail: yezi1981318@hotmail.com

[通信作者] 杨家荣(1956—), 男, 四川蓬溪人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物病害综合防治研究。

E-mail: yljryang@yahoo.com.cn

特性、营养亲和性研究黄萎病菌的变异和分化,其中进行寄主的表现型鉴别时,目前还缺乏一套公认的鉴别寄主,使结果有时难于进行比较;进行营养体亲和性测定时,需标准菌系,而有些标准菌系或难以产生 nit 突变体、或自身的非亲合性、或具有交叉亲合反应等,使其应用受到了一定限制,且营养体亲和性测定并不能准确反映其致病性。因此,研究如何快速准确地进行棉花黄萎病原菌种群鉴定,及其菌株的亲缘关系和变异程度,对该病的综合防治及抗病品种的选育具有十分重要的意义。

分子技术的发展使遗传多样性检测手段日益成熟,常用的方法有随机扩增片段多态性(RAPD)、扩增片段长度多态性(AFLP)、简单重复序列(SSR)等。马峙英等^[3]采用 RAPD 技术分析了河北省棉区黄萎病菌系的遗传多样性,将供试菌系划分为 2 个 RAPD 群。刘学堂等^[4-5]对我国 12 个省主要产棉区 26 个黄萎病菌进行 RAPD 分析认为,26 个棉花黄萎病菌可分成 A、B 两群,其中 B 群又分为 Ba、Bb 两亚群;不同黄萎单孢菌 RAPD 分析有差异,说明棉花黄萎病菌中存在单孢变异现象。但 RAPD 技术重复性较差、检测位点不多。邹亚飞等^[6]对 41 个棉花黄萎病菌的代表菌系进行 AFLP 分析,将菌系分为落叶型和非落叶型,其中落叶型又包括 1 个

过渡型菌系。但 AFLP 分析程序复杂、成本高。ISSR 是 Zietkiewicz 等^[7](1994)提出的一种多态性分子标记,其根据真核生物基因组中广泛存在的简单重复序列,设计出能与各种 SSR 序列结合的 PCR 单一引物,对 2 个距离较近、方向相反的 SSR 序列间的约 20 个核苷酸 DNA 区段进行扩增。该标记具有重复性好、多态性水平高、DNA 用量少、成本低等特点,已广泛应用于植物种内和种间的变异研究,也可作为构建遗传图谱的工具^[8-11]。目前,尚未见有关于棉花黄萎病 ISSR(inter-simple sequene repeat)标记研究的报道。本研究对棉花黄萎菌 IS-SR 反应体系进行进一步的优化,从通用引物中筛选出具有特异性的引物,对陕西关中 6 个地区棉花黄萎菌的遗传多样性进行分析,以期从分子水平了解其遗传机理及与地理来源之间的关系,为该地区棉花黄萎病菌的综合防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试菌株为采自陕西关中 6 个地区病株的 13 个单孢分离物,并以河南安阳、新疆和田和陕西泾阳的菌系作为参照菌株(表 1),以上菌株均由西北农林科技大学植物病理实验室提供。

表 1 陕西关中地区棉花黄萎病菌的来源和采集地点

Table 1 Sampling places and sampling dates of *V. dahliae* from Shaanxi Guanzhong Area

菌株编号 Strain code	采集地点 Sampling place	采集时间 Sampling date	菌株编号 Strain code	采集地点 Sampling place	采集时间 Sampling date
V ₃₂	陕西乾县 Qianxian, Shaanxi	2007-08	V ₄₉	陕西杨凌 Yangling, Shaanxi	2006-09
V ₃₆	陕西乾县 Qianxian, Shaanxi	2007-08	V ₅₃	陕西杨凌 Yangling, Shaanxi	2006-09
V ₁₀₂	陕西泾燕 Jingyan, Shaanxi	2005-09	V ₆₉	陕西眉县 Meixian, Shaanxi	2005-09
V ₁₁₂	陕西斗口 Doukou, Shaanxi	2005-09	V ₁₃₀	陕西眉县 Meixian, Shaanxi	2005-09
V ₉₇	陕西斗口 Doukou, Shaanxi	2005-09	V ₁₀₆	陕西眉县 Meixian, Shaanxi	2005-09
V ₂₉	陕西斗口 Doukou, Shaanxi	2005-09	V ₂₀	河南安阳 Anyang, Henan	2004-09
V ₇₀	陕西兴平 Xingpin, Shaanxi	2006-09	V ₁₄₀	新疆和田 Hetian, Xinjiang	2004-08
V ₄₁	陕西兴平 Xingpin, Shaanxi	2006-09	V ₅₆	陕西泾阳 Jingyang, Shaanxi	2005-09

1.2 棉花黄萎病菌 DNA 的提取

将采集的棉花黄萎病菌单孢分离物转到查氏液体培养基中,置于摇床(150 r/min) 25 ℃培养 30 d,所得菌丝体经纱布过滤,冷冻干燥机中干燥(FD-1Heto-HoltenA/S),贮于-20 ℃条件下备用。采用改进的 SDS-CTAB 方法^[12]提取菌株的 DNA,10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,凝胶成像系统(Dolphin-Doc WealTec)观察并照像,用分光光度计测定 DNA 纯度。

1.3 引物

引物根据哥伦比亚大学(University of Columbia)公布的 ISSR 引物序列(表 2),由上海生物工程

技术有限公司合成。

表 2 ISSR 引物的序列

Table 2 Sequences of primers

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	引物 Primer	序列(5'-3') Sequence(5'-3')
890	VHV(GT) ₇	842	(GA) ₈ YG
811	(GA) ₈ C	844	(CT) ₈ RC
812	(GA) ₈ A	845	(CT) ₈ RG
814	(CT) ₈ A	848	(CA) ₈ RG
834	(AG) ₈ YT	852	(TC) ₈ RA

注(Nore):R=A,G;Y=C,T;B=C,G,T;V=A,C,G;D=A,G,T;H=A,C,T。

1.4 ISSR PCR 反应体系的优化

以菌株 V32 的 DNA 为模板,采用 25 μL 反应体系进行 ISSR 扩增,扩增体系包括 10× Buffer (MgCl₂ 20 mmol/L),dNTP 10 mmol/L,引物 14.5 μmol/L,DNA 模板 2 mg/L, *Taq* DNA 聚合酶 2 U/μL,用无菌双蒸水调整体系终体积为 25 μL。其中 dNTP 的终浓度分别设置为 100,150 和 200

μmol/L,引物终浓度分别设置为 0.2,0.5 和 1.8 μmol/L, *Taq* DNA 聚合酶用量分别为 1.0 和 1.5 U (表 3)。PCR 反应条件^[13]:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s, 57~60 ℃ (依引物而定)退火 45 s,每循环降低 1 ℃,72 ℃ 延伸 2 min,10 个循环;94 ℃ 变性 30 s, 47~50 ℃ (依引物而定)退火 45 s,72 ℃ 延伸 2 min, 33 个循环;72 ℃ 延伸 5 min;25 ℃ 保存备用。

表 3 PCR 反应中 dNTP、引物和 *Taq* DNA 聚合酶的组合

Table 3 Combinations of dNTP,primers, *Taq* DNA polymerase in PCR

序号 Code	灭菌双蒸水/μL Sterile ddH ₂ O	10×Buffer/μL (Mg ²⁺)	dNTP/ (μmol·L ⁻¹)	引物/(μmol·L ⁻¹) Primers	<i>Taq</i> DNA 聚合酶/U <i>Taq</i> DNA polymerase	DNA 模板/ (mg·L ⁻¹) DNA template
1	18.2	2.5	200	0.8	1.5	2
2	18.7	2.5	200	0.5	1.5	2
3	19.2	2.5	200	0.2	1.5	2
4	18.9	2.5	150	0.8	1.5	2
5	19.4	2.5	150	0.5	1.5	2
6	19.9	2.5	150	0.2	1.5	2
7	19.0	2.5	100	0.8	1.5	2
8	19.5	2.5	100	0.5	1.5	2
9	20.0	2.5	100	0.2	1.5	2
10	18.5	2.5	200	0.8	1.0	2
11	19.0	2.5	200	0.5	1.0	2
12	19.5	2.5	200	0.2	1.0	2
13	19.2	2.5	150	0.8	1.0	2
14	19.7	2.5	150	0.5	1.0	2
15	20.2	2.5	150	0.2	1.0	2
16	19.3	2.5	100	0.8	1.0	2
17	19.8	2.5	100	0.5	1.0	2
18	20.3	2.5	100	0.2	1.0	2

1.5 引物的筛选

利用 1.4 中优化的反应体系与反应条件,对合成的 10 条 ISSR 通用引物进行 PCR 扩增,筛选出多态性较强的引物。

1.6 棉花黄萎病菌的 ISSR 分析

利用 1.4 中优化的 ISSR PCR 反应体系和反应条件,及 1.5 中筛选出的多态性最强的引物,对采自陕西关中 6 个地区的棉花黄萎病菌进行 PCR 扩增。

1.7 数据处理

将 PCR 产物电泳,在电泳图谱上的每条带均视为 1 个分子标记,代表 1 个引物的结合位点。按凝胶同一位置上 DNA 带的有无进行统计,有带的记为 1,无带的记为 0,生成 0 /1 矩阵,仅记录清晰、可重复的条带。采用 Dice 系数计算菌株间的相似系数 S_{ij} :

$$S_{ij}=2N_{ij}/(N_i+N_j)。$$

式中: N_i 为菌株 i 的条带数目, N_j 为菌株 j 的条带数目, N_{ij} 为菌株 $i、j$ 共有的条带数目。采用 UPG-MA 法进行聚类分析。上述计算均采用软件

NYSTS 2.0^[14] 进行。

2 结果与分析

2.1 棉花黄萎病菌 DNA 的提取

经琼脂糖凝胶电泳检测,采用改进的 SDS-CTAB 方法提取的 DNA 条带明晰,含量为 0.416 μg/μL,用分光光度计测定 DNA 纯度(A_{260}/A_{280})平均值为 1.74,质量和纯度均符合 PCR 的要求。

2.2 ISSR PCR 反应体系的优化

2.2.1 dNTP 浓度对 PCR 的影响 由图 1 可以看出,PCR 扩增产物的条带随着 dNTP 浓度的增加而变得更清晰,在第 5 泳道,即当 dNTP 浓度为 150 μmol/L 时,扩增条带已经很清晰,故选定 150 μmol/L 为 dNTP 最佳浓度。

2.2.2 *Taq* DNA 聚合酶用量对 PCR 的影响 由图 1 可以看出,当 *Taq* DNA 聚合酶的用量为 1.5 U 时,PCR 扩增条带较 *Taq* DNA 聚合酶用量为 1.0 U 时清晰、明亮,故选定 1.5 U 为 *Taq* DNA 聚合酶最佳用量。

2.2.3 引物浓度对 PCR 的影响 由图 1 可见,引物浓度为 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 时,已经可以扩增出清晰的条带。考虑到节约试剂的原则,确定该浓度为引物的最佳浓度。

综合以上试验结果可以确定,棉花黄萎病菌 IS-SR 最优反应体系(25 μL)中 dNTP 和引物浓度分别为 150 和 0.5 $\mu\text{mol/L}$, *Taq* DNA 聚合酶的用量为 1.5 U。

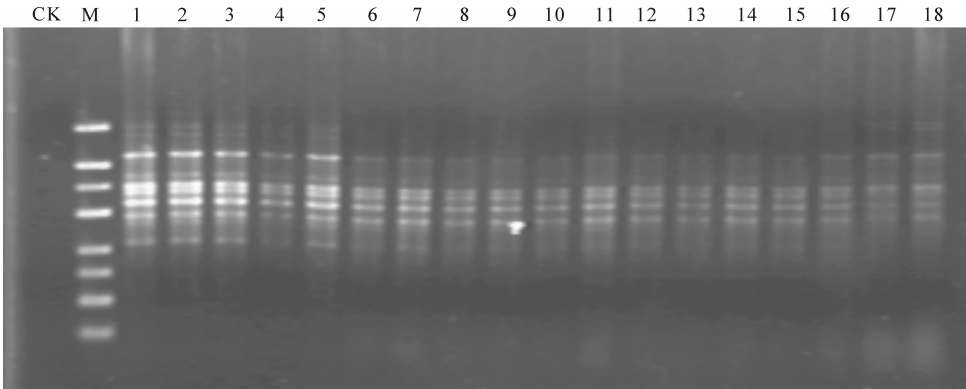


图 1 棉花黄萎病菌 ISSR 不同反应体系的 PCR 扩增结果
CK. 无菌水;M. Marker;1~18 依次与表 3 中序号 1~18 对应

Fig. 1 PCR amplifications of different components of the ISSR of *Verticillium dahliae*
CK. Sterile distilled water;M. Marker;1—18 correspondingly are table 3

2.3 引物的筛选

利用优化的 ISSR 体系,从 10 条引物中筛选出特异性强的 842 和 834 2 个引物,其中用 842 引物扩增出 13 条条带,具有多态性的条带 10 条,占 70.7%;用 834 引物扩增出 10 条条带,具有多态性的条带 8 条,占 80%。

2.4 棉花黄萎病菌的 ISSR 分析

引物 834 对 16 个棉花黄萎病菌菌株的 PCR 扩

增结果见图 2。从图 2 可以看出,供试的 16 个棉花黄萎病菌菌株具有多态性。聚类分析结表明(图 3),16 个棉花黄萎病菌菌株在遗传相似系数 0.36 处分为 2 个遗传谱系:谱系 I,包括 14 个菌株,均来源于陕西,在 0.64 处又可以分为 2 个亚图谱,其中乾县与斗口、杨凌与眉县菌株的亲源关系最近;谱系 II 包括河南安阳与新疆和田 2 个菌系。

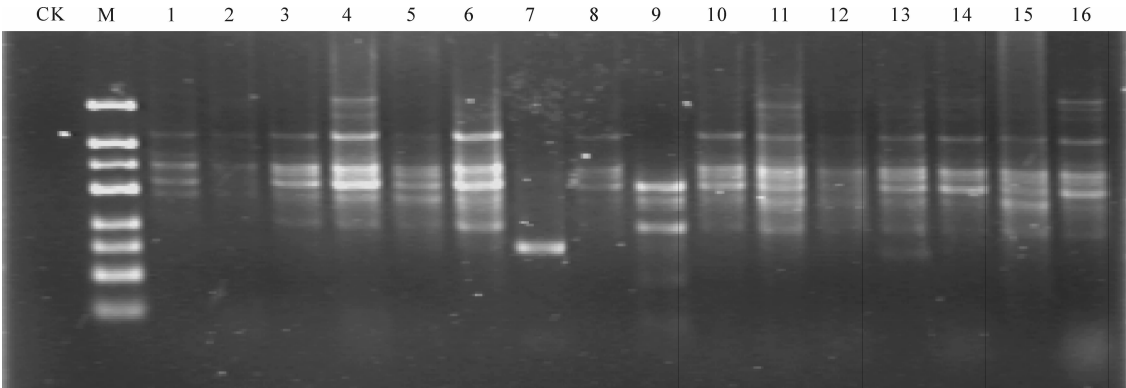


图 2 引物 834 对 16 个棉花黄萎病菌菌株的 PCR 扩增结果
CK. 无菌水;M. Marker;1~16. 依次代表菌株 V₃₂、V₃₆、V₁₀₂、V₁₁₂、V₉₇、V₂₉、V₇₀、V₄₁、V₄₉、V₅₃、V₆₉、V₁₃₀、V₁₀₆、V₂₀、V₅₆、V₁₄₀

Fig. 2 Results of primers 834 PCR amplifications of 16 *Verticillium dahliae*
CK. Sterile distilled water;M. Marker;1—16 strains correspondingly are V₃₂, V₃₆, V₁₀₂, V₁₁₂, V₉₇, V₂₉, V₇₀, V₄₁, V₄₉, V₅₃, V₆₉, V₁₃₀, V₁₀₆, V₂₀, V₅₆, V₁₄₀

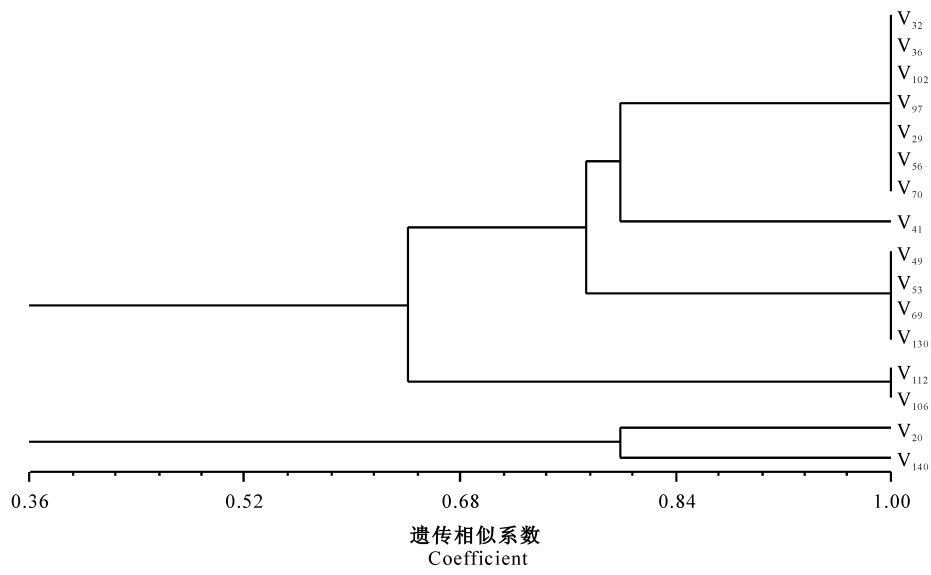


图 3 16 个棉花黄萎病菌菌株的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of genetic distances among 16 *Verticillium dahliae*

3 结论与讨论

本试验对影响棉花黄萎病菌 ISSR 技术的主要因素,如 dNTP、引物及 *Taq* DNA 聚合酶等进行分析,确定出最优反应体系(25 μ L)中 dNTP 和引物的浓度分别为 150,0.5 μ mo l/L,*Taq* DNA 聚合酶的用量为 1.5 U,该体系经反复验证稳定性和重复性良好;并从 10 条引物中筛选出特异性较强的 2 条引物,快速、准确地对棉花黄萎病菌的种群进行了鉴定,节约了人力物力,提供了可靠的方法和依据,使试验结果受环境的影响几率明显降低。本研究首次建立了陕西关中地区棉花黄萎病菌的亲缘聚类图谱,聚类结果显示,采自陕西关中的菌株与泾阳菌系亲缘关系较近,与河南安阳和新疆和田菌系的亲缘关系较远,可知来源地相似的陕西菌株亲缘关系较近,地域来源与种群的划分存在一定的相关性;采自陕西的棉花黄萎病菌属同一个大类群。

本研究得到的棉花黄萎病菌亲缘关系聚类图谱结果,不仅与赵小明等^[15]通过营养亲和性研究的陕西大丽轮枝菌起源一致的结果相同,而且与邹亚飞等^[6]对 41 个棉花黄萎病菌的代表菌系进行 AFLP 分析,发现菌系与地域来源存在一定相关性的结果也相同,表明棉花黄萎病菌的变异分化可能与环境具有一定关联。本研究中,从 ISSR 图谱分析,仅发现陕西关中地区的棉花黄萎菌存在一定程度的遗传分化现象,该现象是否与致病力的分化、生物性状存在联系以及其产生的原因等,还有待于在后续试验

中进一步研究。

[参考文献]

[1] 杨家荣,杨之为.关于加强棉花黄萎病防治研究的建议 [J]. 陕西农业科学,1997(6):36.
Yang J R, Yang Z W. Suggestion about strengthen control of *Verticillium dahliae* [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 1997(6):36. (in Chinese)

[2] 邹亚飞,简桂良.棉花黄萎病菌致病型的 AFLP 分析 [J]. 植物病理学报,2003,33(2):135-140.
Zou Y F, Jian G L. AFLP analysis of pathotype of *Verticillium dahliae* of cotton [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33 (2):135-140. (in Chinese)

[3] 马峙英,孙济中,刘金兰,等.河北省棉区黄萎病菌系基于 RAPD 的遗传分化研究 [J]. 棉花学报,1999(11):123-127.
Ma Z Y, Song J Z, Liu J L, et al. Study on genetic differentiation of *Verticillium dahliae* isolates from cotton area s of He-bei Province based on RAPD[J]. Cotton Science, 1999 (11): 123-127. (in Chinese)

[4] 刘学堂,郭金城,张元恩,等.中国主产棉区黄萎病菌的 RAPD 分析 [J]. 华北农学报,1999,14(1):107-114.
Liu X T, Guo J C, Zhang Y E, et al. RAPD analysis of cotton *Verticillium* wilt pathogens [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1999, 14(1):107-114. (in Chinese)

[5] 刘学堂,郭金城,张元恩,等.棉花枯萎病菌 gDNA 提取方法和不同单孢 RAPD 分析 [J]. 河南农业大学学报,1999,33(3):274-278.
Liu X T, Guo J C, Zhang Y E, et al. Studies on methods of g DNA extraction and RAPD analysis of cotton *Verticillium* wilt pathogen [J]. Acta Agriculturae Universitatis Henanensis, 1999, 33(3):274-278. (in Chinese)

[6] 邹亚飞,简桂良,马 存,等.棉花黄萎病菌致病型的 AFLP 分

析 [J]. 植物病理学报, 2003, 33(2): 135-141.

Zou Y F, Jian G L, Ma C, et al. AFLP analysis of pathotype of *Verticillium dahliae* of cotton [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(2): 135-141. (in Chinese)

[7] Zietkiewicz E, Rafalske A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (ssr) anchored polymerase chain reaction amplification [J]. Genome, 1994, 20: 178-183.

[8] Culley T M, Wolfe A D. Population genetic structure of the clistogamous plant species *Viola pubescens* Aiton (*Violaceae*), asindicated by allozy me and ISSR molecular markers [J]. Heredity, 2001, 86(5): 545-556.

[9] Tsumura Y, Ohba K, Strauss S H. Diversity and inheritance of inter simple sequence repeat polymorphisms in Douglasfir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*) [J]. Theor Appl Genet, 1996, 92: 40-45.

[10] 赵 谦, 杜 虹, 庄东红. ISSR 分子标记及其在植物研究中的应用 [J]. 分子植物育种, 2007, 6(5): 123-129.

Zhao Q, Du H, Zhuang D H. ISSR molecular marker and its application in plant research [J]. Molecular Plant Breeding, 2007, 6(5): 123-129. (in Chinese)

[11] 陈 龙, 王家良, 杨贤松. ISSR 分子标记及其在植物分子生物学中的应用 [J]. 种子, 2007, 26(10): 49-52.

Chen N, Wang J L, Yang X S. ISSR Polymorphism and Its Application in Plant Molecular Biology [J]. Seed, 2007, 26(10): 49-52. (in Chinese)

[12] 刘小勇, 田素忠, 秦国夫, 等. 提取植物和微生物 DNA 的 SDS-CTAB 改进法 [J]. 北京林业大学学报, 1997, 19(3): 100-103.

Liu X Y, Tian S Z, Qing G F, et al. An improved method for extracting DNA from plants and microorganisms using SDS-CTAB [J]. Journal Of Beijing Forestry University, 1997, 19(3): 100-103. (in Chinese)

[13] Gao J, Zhang S, Qi L, et al. Application of ISSR marker to fingerprinting of elite cultivars (varieties/clones) from different sections of the genus *Populus* L. [J]. Silvae Genetica, 2006, 55(1): 1-4.

[14] Rohlf F J. Ntsyspc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2. 02 [M]. New York: Exeter Software, 1998.

[15] 赵小明, 吕金殿, 吉冉中, 等. 陕西大丽轮枝孢菌系营养亲和性及致病性研究 [J]. 西北农业学报, 1996, 5(1): 22-26.

Zhao X M, Lu J D, Ji R Z, et al. Study on vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* in Shaanxi [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 1996, 5(1): 22-26. (in Chinese)

(上接第 148 页)

[15] 徐胜利, 陈小青, 陈青云. 伽师甜瓜嫁接栽培的防病增产效果研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(2): 39-43. (in Chinese)

Xu S L, Chen X Q, Chen Q Y. Effect of grafting and seedling on “Jiashi” muskmelon yield and its resistance to *Melon fusarium* Wilt [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Nat Sci Ed, 2004, 32(2): 39-43. (in Chinese)

[16] 曹荣花, 刘晓光, 高克祥, 等. 芦苇内生真菌 *Choiromyces aboriginum* Mülw1c6 的拮抗作用及其生物防治潜力 [J]. 植物保护学报, 2008, 35(2): 107-112.

Cao R H, Liu X G, Gao K X, et al. Antagonism of *Choiromyces aboriginum* Mülw1c6, an endophytic fungus isolated from common reed against phytopathogenic Fungi and its potential for biocontrol [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2008, 35(2): 107-112. (in Chinese)

[17] 司美茹, 薛泉宏, 余 博, 等. 辣椒疫霉生防菌的双重筛选 [J]. 植物保护学报, 2006, 33(1): 41-46.

Si M R, Xue Q H, Yu B, et al. The selection of biocontrol actinomycetes against *Phytophthora capsici* by the method assessed inhibiting zones and root-colonizing capability [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2006, 33(1): 41-46. (in Chinese)