

网络出版时间:2013-09-22 16:57

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130922.1657.011.html>

特殊生境下耐药性生防放线菌的 生物学习性研究

张伟卫, 贾琳, 陈金凤, 宗兆锋

(西北农林科技大学 植物保护学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**明确从特殊生境中获得的生防放线菌的耐药性及其生物学习性, 为生防菌的筛选提供新思路。**【方法】**通过比较 6 种供试生防放线菌各种发酵液的抑菌活性及发酵产物的干物质量, 初步确定其最佳发酵和营养条件; 用对峙法测定供试生防菌的耐药性及抑菌谱; 用平板稀释法测定供试生防菌在盆栽试验中的根际定殖能力。**【结果】**发酵和营养条件试验表明, 高氏 1 号为菌株 JSJF7 的最佳培养液, 菌株 JSGF10、GXDM6、JSGF4、JSCK14 和 JSJF5 的最佳培养液均为 SNB; 供试生防菌对 50% 多菌灵、40% 五氯硝基苯和 25% 氰烯菌酯的耐药性较强; 供试生防菌对选用的多种靶标病原菌均表现出一定的抑菌活性, 抑菌谱较广; 供试的 6 株生防菌均能在茄子根际定殖, 但以菌株 GXDM6 的定殖能力最强。**【结论】**从特殊生境中获取耐药生防菌使菌药混用成为可能, 同时也为特种有益菌的筛选提供了新思路。

【关键词】 特殊生境; 拮抗放线菌; 耐药性; 生物学习性; 发酵条件

【中图分类号】 Q939.13⁺2.05; S482.2⁺92 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2013)10-0143-06

Biological features of tolerant biocontrol actinomycetes from the special environment

ZHANG Wei-wei, JIA Lin, CHEN Jin-feng, ZONG Zhao-feng

(State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Plant Protection,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** This study explicated the pesticide tolerance and biological features of biocontrol actinomycetes which were isolated from special environments, aiming to develop a new method for screening biological control strains. **【Method】** The conditions of fermentation and nutrition were preliminarily determined by analyzing and comparing the suppressive activities of the fermentation broth and the dry weight of fermentation products of candidate biocontrol actinomycetes. The pesticide tolerance and inhibition spectrums of candidate strains with bio-control ability were tested on agar plate and the colonization ability in pot experiment was tested using dilution plate method. **【Result】** The test demonstrated that Gause's NO. 1 medium was optimal for the strain JSJF7 and SNB was the optimal culture media for strains JSGF10, GXDM6, JSGF4, JSCK14 and JSJF5. The candidate bio-control strains showed strong tolerance to 50% benomyl, 40% PCNB and 25% JS399-19. The candidate strains showed antagonistic activity to the tested target pathogens, which suggested that they had wider inhibition spectrum. They could colonize in the rhizosphere of eggplant and the strain GXDM6 showed stronger colonization ability. **【Conclusion】** The

【收稿日期】 2012-12-10

【基金项目】 教育部创新团队发展计划项目(200558); 西北农林科技大学创新团队项目

【作者简介】 张伟卫(1986—), 男, 河南驻马店人, 在读硕士, 主要从事植物病害综合防治研究。E-mail: zngvv@163.com

【通信作者】 宗兆锋(1956—), 男, 陕西泾阳人, 教授, 主要从事植物病害综合防治研究。E-mail: zfzong@nwsuaf.edu.cn

biological control strains with pesticide tolerance from special environments were obtained and integrated use of bio-control strains culture and pesticides could be achieved. The research also provided a new idea for screening the strains with specific functions.

Key words: special environments; antagonistic actinomycetes; pesticide tolerance; biological habits; fermentation conditions

如何提高生防菌在田间的防病效果,一直是生防工作者密切关注的问题,菌药结合不失为一条极为有效的途径^[1-3]。生防放线菌的耐药性决定了其与杀菌剂混用的潜力^[4]。Tian 等^[5]和 Fan 等^[6]研究表明,丝孢酵母与扑海因混用控制苹果采后灰霉病和青霉病及抑制根霉的效果,明显优于单独使用相同剂量的拮抗菌和杀菌剂。Kloepper 等^[7]研究认为,生防菌防病效果的好坏,取决于其在根际和植株内的定殖能力。Kus’Mina 等^[8]发现,用枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)在田间接种小麦,高接种量能显著增加其根际定殖量。近年来,西北农林科技大学植物病害生物防治实验室从常规生境中筛选出 Am3、153、F46、SC11 等多种对植物枯、黄萎病具有高拮抗活性的生防放线菌^[9-12],其中具有较强耐药性和定殖能力的菌株相对较少。为此,本研究以从特殊生境中获得的生防放线菌为材料,研究其生物学习性^[13-15],了解其耐药性与定殖能力的相关性,以期为生防菌的筛选提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

供试生防菌为西北农林科技大学植物病害生物防治实验室从采自江苏和广西农化厂特殊生境下的标样中分离筛选出的 JSGF10、GXDM6、JSJF4、JSJF7、JSCK14 和 JSJF5 共 6 株放线菌;供试靶标菌包括大丽轮枝孢(*Verticillium dahliae*)、尖镰孢萎蔫专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)、胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、苹果黑腐皮壳

菌(*Valsa mali*)、玉蜀黍赤霉菌(*Gibberella zeae*)、梨状毛霉菌(*Mucor piriformis*)、瓜果腐霉菌(*Pythium aphanidermatum*)、梨生囊壳孢(*Physo-lospora piricola*)、果生链核盘菌(*Monilinia fructigena*)和大斑突脐蠕孢(*Exserohilum turcicum*),均由西北农林科技大学植物保护学院植物病害生物防治实验室提供;六叶茄种子购自西安市好丰种苗有限公司;试验所用主要培养基有 PDA 培养基、高氏 1 号培养基^[16]、SNB 培养液^[13-14]、小米培养液及放线菌分类鉴定常规培养基^[15]。

1.2 方法

1.2.1 生防放线菌培养液的选择 微生物代谢产物受培养条件的影响很大^[16-17],为了优化发酵条件,提高发酵效率及产量,试验通过称量发酵产物干质量和测定发酵滤液抑菌活性的方法,初步选择最佳培养液种类。备选培养液有小米营养液、SNB 培养液、高氏 1 号培养液。靶标真菌有大丽轮枝孢、尖镰孢萎蔫专化型、灰葡萄孢、胶孢炭疽菌和苹果黑腐皮壳菌。

将 3 种培养液各 100 mL 分别置于 250 mL 的锥形瓶中,每瓶放入 5 块生长状况良好的 6 株待测放线菌菌饼($d=5$ mm),置于摇床中振荡培养 4 d,将各锥形瓶内发酵液离心去上清液,收集菌体,于 80 °C 烘箱中通风烘干 3 h 后称质量。

取上述各上清液 10 mL 分别加入 90 mL 冷却的 PDA 中,以未加发酵液的 PDA 作为对照(CK),倒平板。采用抑制菌丝生长法测定不同发酵滤液对靶标菌菌丝生长的抑制作用,按照公式(1)^[18-19]计算抑制率(%)。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照菌落生长直径(mm)} - \text{处理菌落生长直径(mm)}}{\text{对照菌落生长直径(mm)}} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.2 生防放线菌耐药性的测定 向高氏 1 号培养基中分别加入 75% 百菌清、70% 代森锰锌、70% 甲基托布津、4% 农抗 120、50% 多菌灵、40% 五氯硝基苯和 25% 氰烯菌酯 7 种杀菌剂,制成不同质量浓度的培养基平板,以不加杀菌剂的高氏 1 号培养基为对照。将 JSGF10、GXDM6、JSJF4、JSJF7、JSCK14 和 JSJF5 6 株供试放线菌菌悬液均匀涂于

带药培养基平板上,25 °C 暗培养 3 d 后,观察并记录单菌落数的生长状况^[10],每处理重复 3 次。

1.2.3 生防放线菌抑菌能力的测定 选择不同种属的 9 种病原真菌作为靶标菌,采用对峙法^[20]检测入选放线菌的抑菌能力。各平板于 25 °C 培养一定时间后,测量靶标菌菌落生长半径,按公式(1)计算抑制率。

1.2.4 生防放线菌在茄子体内定殖能力及根际存活能力的测定 将入选放线菌株的 SNB 发酵液分别以 10^6 cfu/g 拌入灭菌土壤中,混匀后分装于营养钵中。六叶茄种子经 50 g/L NaClO 表面消毒、催芽后播种,每钵播种 5 粒,以清水为 CK1,SNB 为 CK2,每处理重复 3 次。待幼苗长至四叶期,取根、茎、叶组织,采用组织研磨涂抹法,在含有 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的高氏 1 号选择培养基平板上测定放线菌株在茄子组织内的定殖能力^[21]。每隔 30 d 采用土壤稀释法^[17]在含 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的高氏 1 号选择培养基平板上测定供试放线菌株的根际存活能力。

1.3 统计分析

用 Microsoft Excel 2007 进行试验数据处理,用

表 1 不同发酵液对 6 株生防放线菌菌体干质量的影响

Table 1 Effects of fermentation broth on dry weights of 6 candidate biocontrol actinomycetes g

培养液 Nutrient solutions	JSGF10	GXDM6	JSGF4	JSJF7	JSCK14	JSJF5
G	0.683±0.005 c	1.095±0.007 b	0.845±0.005 b	1.455±0.018 a	0.865±0.009 c	0.840±0.006 c
S	1.035±0.009 a	1.550±0.010 a	0.920±0.009 a	1.430±0.012 a	1.645±0.008 a	1.575±0.012 a
X	0.965±0.014 b	1.150±0.055 b	0.855±0.013 b	1.245±0.021 b	1.245±0.016 b	1.485±0.030 b

注:“G”代表高氏 1 号培养液,“S”代表 SNB 培养液,“X”代表小米营养液,表 2 同;同列数据后标不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著,表 4 同。

Note:“G” means Gause 1 nutrient solution,“S” means soybean meal culture,“X” means millet nutrition solution,the same as table 2;Different lowercase letters after date of same train indicate significant difference at $P=0.05$ level,The same as table 4.

表 2 6 株生防放线菌不同发酵滤液对 5 种靶标真菌的抑制率

Table 2 Inhibition rates of 6 candidate biocontrol actinomycetes fermentation broth on target pathogens %

菌株 Strains	培养液 Nutrient solutions	尖镰孢萎蔫专化型 <i>F. o. f. sp. vasinfectum</i>	胶胞炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>	灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	大丽轮枝孢 <i>V. dahliae</i>	苹果黑腐皮壳菌 <i>V. mali</i>
JSGF10	G	33.3±1.6 b	53.3±3.4 c	48.1±1.9 b	52.3±1.9 b	54.8±4.3 b
	S	56.1±5.5 a	81.7±2.6 a	75.0±4.4 a	72.2±1.0 a	64.5±1.6 a
	X	24.2±1.8 b	70.0±2.8 b	55.6±3.0 b	50.0±0.7 b	61.3±1.7 a
GXDM6	G	47.0±1.8 c	73.3±2.7 b	69.4±2.7 b	61.1±1.7 b	64.5±3.4 a
	S	77.3±2.4 a	81.7±1.8 a	87.0±2.0 a	69.4±2.7 a	67.7±2.1 a
	X	68.2±1.0 b	81.7±2.7 a	85.2±1.4 a	69.4±2.2 a	58.1±1.1 b
JSGF4	G	16.3±1.4 b	36.7±1.5 b	18.8±1.5 a	37.5±1.2 a	27.9±1.5 b
	S	30.0±2.3 a	46.7±2.8 a	18.2±1.0 a	37.5±0.7 a	37.2±1.5 a
	X	21.3±0.8 b	45.0±1.7 a	9.7±0.3 b	34.4±1.1 b	23.3±1.5 b
JSJF7	G	23.4±1.7 a	56.7±1.2 a	52.6±1.2 a	43.8±1.4 a	51.2±1.4 a
	S	20.0±2.0 b	53.3±1.0 b	18.8±1.0 b	34.4±1.3 b	47.7±2.2 a
	X	12.5±0.7 c	51.7±1.4 b	16.9±1.4 b	46.7±2.5 a	51.6±2.2 a
JSCK14	G	29.3±0.8 b	63.2±2.0 c	37.5±0.8 b	54.5±1.0 c	12.9±1.7 c
	S	72.8±1.3 a	85.5±3.2 a	87.5±0.7 a	75.0±1.3 a	38.7±2.7 a
	X	15.2±1.4 b	73.7±0.7 b	30.5±1.5 b	61.4±1.5 b	25.8±1.0 b
JSJF5	G	28.3±1.6 b	47.4±1.3 c	44.2±1.1 b	59.1±2.6 b	16.1±0.4 b
	S	52.2±1.4 a	80.3±1.2 a	72.5±0.9 a	72.7±1.2 a	38.7±1.2 a
	X	18.5±1.0 c	75.0±1.2 c	30.0±1.3 c	50.0±1.9 b	22.6±1.1 b

注:各菌株同列数据后标不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note:Different lowercase after date of same train indicate of the same strain significant difference at $P=0.05$ level.

综合表 1、表 2 可以看出,SNB 可作为 6 株放线菌的通用培养液。各培养液中菌丝团大小及个数略有不同,高氏 1 号培养液中的菌丝团多于 SNB 及小

SPSS19.0 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 生防放线菌培养液的选择

由表 1 和表 2 可以看出,菌株 JSGF10、GX-DM6、JSGF4、JSCK14 和 JSJF5 在 SNB 培养液中菌体的干质量和抑菌活性最大,初步确定 SNB 为其最佳培养液;菌株 JSJF7 在高氏 1 号培养液中培养物的干质量最大,且表现出最强的抑菌活性,这 2 项指标均略高于 JSJF7 在 SNB 培养液中培养物的干质量和抑菌活性,初步确定高氏 1 号培养液为 JSJF7 的最佳培养液。

米培养液,而小米培养液中的菌丝团较 SNB 及高氏 1 号的大。JSGF10 在高氏 1 号培养液中发酵产物产生微红色素,在其余 2 种发酵液中无色素产生。

2.2 生防放线菌的耐药性

由表 3 可以看出,6 株生防放线菌对 50%多菌灵、40%五氯硝基苯和 25%氰烯菌酯有较强的耐药性,各菌株在 500 μg/mL 下都能生长,对 4%农抗 120 的耐药范围在 10~50 μg/mL,对 70%甲基托布

津的耐药范围在 1~5 μg/mL,对 70%代森锰锌的耐药范围在 5~10 μg/mL。6 株生防放线菌对 75%百菌清极敏感,菌株在 1 μg/mL 的低质量浓度下也不生长。菌株 JSJF7 和 JSCK14 的耐药性较其他菌株差,但差异不明显。

表 3 6 株生防放线菌对常用杀菌剂的耐药性

Table 3 Tolerance of 6 actinomycete strains with biocontrol ability to the tested fungicides

供试菌剂 Selected fungicides	质量浓度/ (μg·mL ⁻¹) Concentration	JSGF4	JSGF10	GXDM6	JSJF5	JSJF7	JSCK14
75%百菌清 Chlorothalonil	0.1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	0.5	++	++	++	++	++	+
	1.0	—	—	—	—	—	—
70%代森锰锌 Mancozeb	1.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	10.0	+	+	+	+	+	—
70%甲基托布津 Thiophanatemethyl	1.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5.0	++	++	++	+	+	+
	10.0	—	—	—	—	—	—
4%农抗 120 TF120	10.0	++	+++	+++	+++	+++	+++
	50.0	+	++	++	++	++	+
	100.0	—	—	—	—	—	—
50%多菌灵 Carbendazim	100.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	250.0	++	++	++	++	+	+
	500.0	+	+	++	+	—	—
40%五氯硝基苯 Quintozene	100.0	+++	++	++	++	++	++
	250.0	++	+	+	+	++	+
	500.0	++	+	+	+	++	+
25%氰烯菌酯 JS399-19	100.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	250.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	500.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++

注:“—”表示无单菌落;“+”表示菌落数极少;“++”表示菌落数量级较对照低一级;“+++”表示菌落数量级与对照一致。
Note:“—” means no colony;“+” means a little of colonies;“++” means orders of magnitude worse than CK;“+++” means the orders of magnitude is the same with CK.

2.3 生防放线菌的抑菌能力

由表 4 可以看出,6 株生防放线菌菌株对选用的病原真菌均表现出一定的抑菌活性,抑菌谱较广,但各生防放线菌菌株之间的抑菌活性存在一定差异,且活性也不高。有些菌株表现出一定的选择性,如 JSGF10 对玉蜀黍赤霉菌的抑制作用较强,抑制

率达 56.8%,但对其他病原菌作用一般。从放线菌株对各个供试病原菌的抑制效果来看,放线菌对灰葡萄孢的抑制作用明显弱于其他 8 种病原菌。抑制率超过 50%的放线菌有:菌株 JSGF10 对大斑突脐蠕孢和玉蜀黍赤霉菌;菌株 GXDM6 对瓜果腐霉菌和苹果黑腐皮壳菌;菌株 JSJF7 对胶孢炭疽菌。

表 4 6 株生防放线菌对 9 种病原真菌的抑菌能力

Table 4 Inhibition effects of 6 candidate biocontrol actinomycetes on the target pathogens

靶标菌 Target fungies	抑制率/% Inhibiting rate					
	JSGF4	JSGF10	GXDM6	JSJF5	JSJF7	JSCK14
灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	36.2±0.7 d	34.5±0.8 e	26.7±0.5 e	32.4±0.8 c	46.3±2.0 bc	30.3±0.9 d
胶孢炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>	42.9±0.6 c	46.6±1.5 c	42.9±0.7 c	42.7±0.9 b	50.3±0.9 a	46.1±1.6 ab
玉蜀黍赤霉菌 <i>G. zeae</i>	43.8±0.6 c	56.8±0.9 a	39.6±0.5 d	33.3±0.8 c	41.7±0.5 d	33.3±1.3 c
梨状毛霉菌 <i>M. Piriiformis</i>	46.2±0.1 b	42.0±0.8 d	44.4±0.6 c	34.3±0.4 c	38.6±0.3 e	34.7±0.7 c
瓜果腐霉菌 <i>P. aphanidermatum</i>	42.3±0.8 c	42.1±0.5 d	52.5±1.0 a	42.8±0.6 b	44.0±0.9 cd	48.5±0.5 a
梨生囊核孢 <i>P. piricola</i>	32.4±0.7 e	42.5±0.3 d	48.2±0.4 b	48.8±0.5 a	46.5±1.1 bc	36.1±0.8 c
苹果黑腐皮壳菌 <i>V. mali</i>	36.4±0.5 d	34.1±0.9 e	50.0±0.6 b	34.1±0.5 c	43.2±0.9 d	22.7±0.7 e
果生链核盘菌 <i>M. fructigena</i>	46.6±0.7 ab	44.3±1.2 cd	48.8±1.2 b	46.6±0.7 a	48.2±0.2 ab	48.2±0.7 a
大斑突脐蠕孢 <i>E. turcicum</i>	48.4±0.8 a	50.7±1.4 b	44.3±0.6 c	42.8±0.9 b	42.6±0.7 d	44.0±0.3 b

2.4 生防放线菌在茄子植株体内的定殖能力及根际存活能力

盆栽试验结果表明,在 6 株生防放线菌株处理下,茄子幼苗的根部、茎部及叶片内均未检测到供试放线菌株,说明供试菌株均不能在植物体内定殖;供试生防菌株均能在植株根际土壤中存活,其中 GX-DM6 的存活能力最强,其在茄子根际土壤中的含量达到 3×10^6 cfu/g,其余菌株在根际土壤中的含量均高于 5×10^5 cfu/g,与初始接入生防放线菌的含量相当,且 90 d 内其含量基本保持动态平衡状态,说明供试生防菌均具有较强的根际定殖能力。

3 结论与讨论

目前大多数生防菌在大田防治植物土传病害的效果及稳定性均不理想,若将生防菌与低剂量的杀菌剂混合使用,既可减少杀菌剂的使用量,又可达到对病害的持续控制作用。获得耐药性较强的生防菌是菌药结合持续有效控制病害的前提。本研究发现,JS GF10、GXDM6、JS GF4、JS JF7、JS CK14 和 JS JF5 6 株供试生防菌对 50% 多菌灵、40% 五氯硝基苯、25% 氰烯菌酯和 4% 农抗 120 等杀菌剂的耐受性均高于常规生境下分离出的生防菌^[22],这可能是高农药残留的极端环境定向选择了高耐药性的生防菌;不同菌株对同一杀菌剂的耐药性差异不大,说明环境定向选择使同一环境下分离出的生防放线菌的抗逆性机理几乎相同;耐药性强的菌株其大田根际存活能力也比较强,其耐药性和定殖能力同为抗逆性的表现,可能是菌株在控制其耐药性和定殖能力上具有相同的遗传结构。综上所述,可以根据需要到特定的环境中寻找具有相应特性的有益目标菌,从特殊生境中获得生防放线菌,是提高病害防治稳定性和持久性的有效途径,对获得的耐药性较强的菌株可直接用于大田病害生物防治,简化了生防菌的开发步骤。

选自不同环境的生防菌,其耐药性可能存在一定差距,不同环境中存在不同的选择压力,各环境中的选择压力也较单一,因此很难从某一特殊生境中分离到对各种杀菌剂都具有较强抗逆性的有益菌。但可以尝试借助基因工程的方法,将不同抗逆性基因整合到同一生防菌株中,以获得广泛抗逆性菌株,用于生产实际实现菌药混用,提高病害防治效果。

[参考文献]

[1] 郭小芳,宗兆锋. 6 株放线菌定殖能力测定及对苹果灰霉病控

制效果 [J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 116-118, 136.

Guo X F, Zong Z F. Colonized ability of six strains of actinomycetes and their control effect on apple diseases [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2009, 18(5): 116-118, 136. (in Chinese)

[2] Porat R, Daus A, Weiss B, et al. Effects of combining hot water, sodium Bicarbonate and biocontrol on postharvest decay of citrus fruit [J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2002, 77: 441-445.

[3] Karabulut O A, Cohen L, Wiess B, et al. Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists [J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 24: 103-111.

[4] 李 勃, 马 瑜, 党 永. 生防菌防治果蔬采后病害的研究进展 [J]. 保鲜与加工, 2009, 9(4): 1-4.

Li B, Ma Y, Dang Y. Research progress of biological control on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables by microbial antagonists [J]. Storage & Process, 2009, 9(4): 1-4. (in Chinese)

[5] Tian S P, Fan Q, Xu Y, et al. Effects of *Trichosporon* sp. in combination with calcium and fungicide on biocontrol of postharvest diseases in apple fruits [J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(5): 501-505.

[6] Fan Q, Tian S P. Postharvest biological control of *Rhizopus* rot of nectarine fruits by *Pichia membranefaciens* [J]. Plant Dis, 2000, 84: 1212-1216.

[7] Kloepper J W, Beauchamp C J. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1992, 38(6): 667-672.

[8] Kus' Mina L, Melent' Ev A I. Seed bacterization and rhizosphere of wheat seedlings colonization by *Bacillus Cohn* [J]. Mikrobiologiia, 2003, 72(2): 268-274.

[9] 马 强, 宗兆锋, 梁亚萍. 凤县几种野生植物内生放线菌的分离筛选 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(3): 269-273.

Ma Q, Zong Z F, Liang Y P. Isolation and screening of endophytic actinomycetes from several wildings collected in Fengxian of Shaanxi Province [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2007, 16(3): 269-273. (in Chinese)

[10] 宗兆锋, 乔宏萍, 何杞真. 2 株重寄生菌的分离和对靶标菌的抑制作用 [J]. 西北农业学报, 2002, 11(4): 1-3.

Zong Z F, Qiao H P, He Q Z. Isolation of 2 strains of hyperparasite and its inhibiting effects on target pathogens [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2002, 11(4): 1-3. (in Chinese)

[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(增刊): 153-156.

Wang Y L, Zong Z F, Liu Z P. Isolation and screening of biocontrol actinomycetes against *Verticillium dahliae* and *Botrytis cinerea* [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2005, 33(suppl): 153-156. (in Chinese)

[12] 宗兆锋, 卫亚红, 高 利, 等. 几丁质降解放线菌对棉花枯、黄

萎菌的作用 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(6):63-65.

Zong Z F,Wei Y H,Gao L,et al. Effects of chitinolytic actinomycetes on *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum and *Verticillium dahliae* [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition,2003,31(6):63-65. (in Chinese)

[13] 张文婷,张秋丽,冀媛媛,等. 特殊生境中植物枯、黄萎病拮抗放线菌的筛选及鉴定 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2011,39(9):187-192.

Zhang W T,Zhang Q L, Ji Y Y, et al. Screening and identification of antagonistic actinomycetes on *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* from special habitats [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition,2011,39(9):187-192. (in Chinese)

[14] 陈金凤,张福成,宗兆锋. 特殊生境中土壤放线菌的筛选与鉴定 [J]. 西北农业学报,2012,21(9):154-159.

Chen J F,Zhang F C,Zong Z F. Screening and identification of actinomycetes from special habitats [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2012, 21 (9): 154-159. (in Chinese)

[15] 魏玉珍,张玉琴,赵莉莉,等. 广西山口红树林内生放线菌的分离、筛选及初步鉴定 [J]. 微生物学通报,2010,37(6):823-828.

Wei Y Z,Zhang Y Q,Zhao L L,et al. Isolation, screening and preliminary identification of endophytic actinobacteria from mangroves at Shankou of Guangxi Province [J]. Microbiology China,2010,37(6):823-828. (in Chinese)

[16] 涂 璇,黄丽丽,高小宁,等. 黄瓜内生放线菌的分离、筛选及其活性菌株鉴定 [J]. 植物病理学报,2008,38(3):244-251.

Tu X,Huang L L,Gao X N,et al. Endophytic actinomycetes of cucumber: Isolation, antagonistic activity and identification [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2008,38(3):244-251. (in Chinese)

[17] 王海雁,刘 健,赵淑江. 南麂岛海域沉积物中海洋放线菌的分离研究 [J]. 海洋科学,2010,34(1):48-51.

Wang H Y,Liu J,Zhao S J. Isolation of marine actinomycetes strains from sediments in Nanji island offshore [J]. Marine Sciences,2010,34(1):48-51. (in Chinese)

[18] 屈海泳,魏素华,郭 虎,等. 木霉菌的分离对淮安市园艺作物主要真菌病害的抑制作用 [J]. 中国农学通报,2012,28(4):141-145.

Qu H Y, Wei S H, Guo H, et al. Isolation of trichoderma viride and their control of horticulture pathogenic fungi in Huai'an [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2012,28(4):141-145. (in Chinese)

[19] 宋洪允,韩立荣,冯俊涛,等. 94 株土壤放线菌抑菌活性的初步筛选 [J]. 西北农业学报,2010,19(12):172-176.

Song H Y,Han L R,Feng J T,et al. Screening of 94 strains of soil actinomycetes with antifungal activity [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010, 19 (12): 172-176. (in Chinese)

[20] Getha K,Vikineswary S. Antagonistic effects Streptomyces violaceus niger strain G10 on *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4: Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process [J]. J Indust Microb,2002,28:303-310.

[21] 史学群,宋海超,刘 柱. 海南省土壤拮抗放线菌分离方法初探 [J]. 中国农学通报,2006,22(10):431-435.

Shi X Q,Song H C,Liu Z. Study on isolation of antabonistic actinomyces from soil in Hainan Province [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2006,22(10):431-435. (in Chinese)

[22] 刘 亮,宋 春,金雪菲,等. 原生质体融合提高非致病性尖镰孢 FO47 的生防效果 [J]. 西北农业学报,2009,18(5):105-108.

Liu L,Song C,Jin X F,et al. The improvement of the biocontrol effect of *Fusarium oxysporum* FO47 by protoplast fusion [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2009, 18 (5):105-108. (in Chinese)