

胡一凤,井涛,王梦颖,等. 抗 FOC4 香蕉内生放线菌的筛选及菌株 NJQG-3A1 鉴定[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):127-131.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.043

抗 FOC4 香蕉内生放线菌的筛选及菌株 NJQG-3A1 鉴定

胡一凤^{1,2}, 井涛^{2,3}, 王梦颖^{1,2}, 周登博², 高祝芬², 黄绵佳¹, 张锡炎²

(1. 海南大学园艺园林学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南海口 571101;

3. 中国热带农业科学院海口试验站香蕉研究所, 海南海口 570102)

摘要:以海南临高和皇桐 2 地采集的 3 个品种(系)健康和已感染枯萎病的香蕉植株为样品,采用组织匀浆法进行内生放线菌的分离,共获得内生放线菌 142 株,并以尖孢镰刀菌 4 号生理小种为靶标菌株,通过平板对峙试验,筛选出 6 株抗性菌株,其中分离得到的 NJQG-3A1 菌株对尖孢镰刀菌菌丝生长抑制作用最强,抑制率可达 83.21%。对菌株 NJQG-3A1 进行形态与生理生化特征、16S rRNA 基因序列测定及系统发育树比对分析,结果表明,菌株 NJQG-3A1 为 *Streptomyces phaeoluteichromatogenes*,其发酵液对温室盆栽香蕉枯萎病的相对防效可达 82.46%,具有良好的开发应用前景。

关键词:香蕉枯萎病;内生放线菌;分离鉴定;拮抗;菌株 NJQG-3A1

中图分类号: S436.68⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0127-05

香蕉枯萎病是由尖孢镰刀菌古巴专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, FOC) 侵染维管束而引起坏死的一种毁灭性真菌性病害,近年来我国香蕉产业深受其害,华南地区尤其严重^[1-2]。目前,生产上还未见对香蕉枯萎病有效的化学药剂^[3-4],且农药残留还会带来一系列环境污染问题^[5-6],运用生物防治方法对香蕉枯萎病进行综合防控已成为国内外的研究热点^[7]。放线菌在病害防治、促进作物生长、提高作物

产量等方面起到重要作用,正在被人们越来越多地开发和应用^[8-9]。国内外已经报道多种香蕉枯萎病的拮抗微生物,但这些微生物大部分都是从植株体外的环境中分离筛选得到的^[10-11],在香蕉体内定殖能力较弱,严重影响防控效果^[12]。从植物内生菌中筛选生防菌,可以防治植物病害、克服定殖障碍,使生物防治保持长期的效果^[13]。本研究以尖孢镰刀菌 4 号生理小种(FOC4)为靶标菌,对香蕉植株进行放线菌分离筛选,并通过盆栽试验检测拮抗菌株对香蕉枯萎病的防控效果,以期筛选出对防控香蕉枯萎病具有应用前景的内生放线菌。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病原菌 尖孢镰刀菌 4 号生理小种,由中国热带农业科学院生物技术研究所曾会才实验室提供。

收稿日期:2013-12-10

基金项目:现代农业产业技术体系专项(编号:CARS-32)。

作者简介:胡一凤(1984—),女,硕士,从事香蕉枯萎病防控研究。

E-mail:sunmoonfeng@126.com。

通信作者:黄绵佳,教授,从事植物生理研究,E-mail:hjmj886@163.com;

张锡炎,研究员,从事香蕉枯萎病防治研究,E-mail:zxyan1981@163.com。

[2]陈宇飞,文景芝,李立军. 葡萄灰霉病研究进展[J]. 东北农业大学学报,2006,37(5):693-699.

[3]雷百战,李国英,石在强. 葡萄灰霉病病原鉴定和生物学特性研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2004,22(增刊):145-149.

[4]黄启良,李凤敏,王敏. 40% 啉霉胺悬浮剂防治黄瓜灰霉病药效试验[J]. 植物保护,2000,26(2):44-45.

[5]陈月凤,马丽敏,高豫汝,等. 几种新型杀菌剂对葡萄灰霉病的防治效果[J]. 南京农专学报,2002,18(2):39-40,56.

[6]赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2002:251.

[7]Schwinn F. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of plant pathogens to fungicides; method for fungicide resistance in late blight of potato[J]. Plant Protection Bulletin,1982(30):69-71.

[8]礼茜. 浙江省两地草莓灰霉病菌对异菌脲和啉霉胺的抗性评价及其分子机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2007.

[9]马晓东. 葡萄灰霉病防治工作的进展及存在问题[J]. 农药译丛,1996,18(3):53-57.

[10]杨敬辉,陈宏州,吴琴燕,等. 啉酰菌胺对草莓灰霉病菌的毒力测定及田间防效[J]. 江西农业学报,2010,22(9):94-95,98.

[11]沈迎春. 啉菌环胺对葡萄灰霉病室内毒力测定和田间药效试验[J]. 农药,2010,49(4):306-307.

[12]张传清,张雅,魏方林,等. 设施蔬菜灰霉病菌对不同类型杀菌剂的抗性检测[J]. 农药学报,2006,8(3):245-249.

[13]周明国,叶钟音,杭建胜,等. 对多菌灵具有抗性的草莓灰霉病菌菌株形成与分布研究[J]. 南京农业大学学报,1990,13(3):57-60.

[14]刘波,叶钟音,刘经芬,等. 对多菌灵、速克灵具多重抗性的灰霉病菌菌株性质的研究[J]. 南京农业大学学报,1993,16(3):50-54.

[15]纪明山,祁之秋,王英姿,等. 番茄灰霉病菌对啉霉胺的抗性[J]. 植物保护学报,2003,30(4):396-400.

[16]张鹏,刘长远,梁春浩,等. 7 种杀菌剂对葡萄灰霉病的室内抑菌活性测定[J]. 园艺与种苗,2012(1):61-64.

[17]张娜,田淑芬. 几种杀菌剂对葡萄灰霉病的抑制效果研究[J]. 北方园艺,2010(13):184-186.

1.1.2 主要培养基 内生放线菌分离培养基采用改良高氏 (Gause's)1 号培养基 (GS)、1/10 ATCC 合成培养基、葡萄糖天门冬氨酸培养基 (GA)、腐殖酸培养基 (HV)、改良高氏 2 号培养基 (GPT) 和改良淀粉酪素培养基 (SIM)^[14-18], 为抑制杂菌生长, 在各分离培养基中均加入终浓度为 75 mg/L 的重铬酸钾、100 mg/L 的制霉菌素和 20 mg/L 的茶啉酮酸^[18]; 放线菌纯化培养保存采用 YE 培养基^[15]; 抑菌试验采用马铃薯琼脂培养基 (PDA); 液体发酵采用淀粉-大豆粉液体培养基^[17]; 形态特征观察采用国际链霉菌计划 (ISP) 推荐的培养基, 参考 Shirling 等的方法^[19-20] 进行配制。

1.1.3 样品采集与处理 2012 年 11 月 3 日从海南省临高南宝蕉园 (19°47'1"N, 109°51'17"E) 和皇桐蕉园 (19°49'58"N, 109°50'E) 采集香蕉植株样品 (表 1)。每个品种随机采集香蕉植株 10 株, 混匀。

表 1 样品采集信息

| 采集地点 | 根部土壤 pH 值 | 香蕉植株 | 采集植株部位 |
|--------|-----------|-------------|-----------|
| 皇桐美台蕉园 | 4.35 | 农科健康植株 (NK) | 根、球茎、假茎、叶 |
| 临高南宝蕉园 | 4.17 | 南天健康植株 (NJ) | 根、球茎、假茎、叶 |
| 临高南宝蕉园 | 5.54 | 南天感病植株 (NB) | 根、球茎、假茎、叶 |
| 临高南宝蕉园 | 4.17 | 巴西健康植株 (BJ) | 根、球茎、假茎、叶 |
| 临高南宝蕉园 | 5.54 | 巴西感病植株 (BB) | 根、球茎、假茎、叶 |

1.2 方法

1.2.1 内生放线菌的分离 参考阮继生分离弗兰克氏菌的方法^[21]对样品进行表面消毒, 采用组织块匀浆法^[22]进行内生放线菌分离。

1.2.2 香蕉枯萎病内生拮抗放线菌筛选 以尖孢镰刀菌 4 号生理小种 (FOC4) 为靶标菌, 采用平板对峙法进行初筛; 对初筛有活性的菌株用平板对峙法进行复筛, 计算抑菌率, 公式为: 抑菌率 = [(对照组菌落半径 - 处理组菌落半径) / 对照组菌落半径] × 100%。采用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析和 Duncan's 多重比较。

1.2.3 拮抗菌株发酵液对 FOC4 的抑菌活性 拮抗菌株接种于大豆粉液体发酵培养基, 28 °C、200 r/min 振荡培养 7 d; 取发酵液 50 mL, 离心, 用微孔滤膜过滤上清液除菌; 采用含药介质法, 将 1 mL 活性菌株滤液与 9 mL 熔融态的 PDA 培养基混合均匀倒平板; 冷却, 接种直径为 6 mm 的 FOC4 靶标菌于平板中央。以等量大豆粉液体发酵培养基直接发酵培养的上清液倒平板、接种 FOC4 靶标菌为对照。每处理重复 3 次, 28 °C 倒置培养 5 d, 计算抑菌率。

以无菌水冲洗、收集 FOC4 孢子, 并稀释成浓度为 1 × 10⁶ CFU/mL 的孢子悬浮液; 把活性菌株发酵滤液与 FOC4 孢子悬浮液等体积混合均匀, 置于无菌滤纸片保湿的凹玻片内, 28 °C、相对湿度 80% 的人工气候箱中光照培养 24 h; 取出玻片, 以孢子萌发的芽管长度达到或超过孢子半径定为萌发^[23], 在显微镜下观察孢子萌发情况, 计算各处理孢子萌发抑制率, 公式为: 孢子萌发抑制率 = [(对照孢子萌发率 - 处理孢子萌发率) / 对照孢子萌发率] × 100%。以大豆粉液体培养基为对照, 每处理重复 3 次。

1.2.4 拮抗菌株对香蕉枯萎病的防效 采用盆栽试验, 共设

3 个处理: 处理 1: 不接种 FOC4 病原菌和 NJQG-3A1 拮抗菌, 使用等量的清水; 处理 2: 接种 FOC4 病原菌, 不接种 NJQG-3A1 拮抗菌; 处理 3: 接种 FOC4 病原菌和 NJQG-3A1 拮抗菌株。接种用的病原菌 27 °C、120 g/min PDA 培养液上摇瓶培养 6 d, 匀浆, 稀释成 10⁶ CFU/mL 量级的病原菌孢子悬浮液; 除去香蕉杯苗根部的营养土, 处理 2 和处理 3 伤根, 浸泡在病原菌孢子悬浮液中 30 min; 蕉苗移栽到盆中, 处理 3 用拮抗菌发酵液进行灌根处理, 处理 1、处理 2 灌入等量清水, 每次浇灌 200 mL, 每隔 7 d 浇灌 1 次, 共计 7 次; 香蕉杯苗移栽后 48 d, 观察记录香蕉植株叶片及根茎部枯萎病发病情况, 病情分级标准参照方中达等的方法^[24], 进行病情指数统计。在整个盆栽期间, 各处理其他管理措施一致。

1.2.5 活性菌株鉴定 形态特征观察采用平板插片法^[14]。将菌株接种在改良高氏 1 号固体培养基上做插片, 扫描电镜观察其形态特征; 培养特征观察参照《放线菌的分类和鉴定》和《链霉菌鉴定手册》的方法^[23,25]; 生理生化特征参照 Shirling 等的方法^[19-20] 进行鉴定。

采用 16S rRNA 基因序列分析活性菌株。用溶液型细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取活性菌株基因组 DNA, 试剂盒购买于北京百泰克生物技术有限公司。根据放线菌的 16S rRNA 基因的结构特点和保守区, 采用通用引物进行 16S rRNA 基因扩增, 通用引物 27F、1492R 购于上海生物工程公司, 扩增片段长度约 1 400 bp, 正向引物 27F: 5'-AGAGTTT-GATCATGGCTCAG-3', 反向引物 1492R: 5'-GGTTACCTT-GTTACGACTT-3'。反应体系为 25 μL: 模板 1 μL、引物 1492R 1 μL、引物 27F 1 μL、PCR Mix 12 μL、ddH₂O 10 μL。PCR 扩增程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1.5 min, 35 个循环; 72 °C 终延伸 10 min, 4 °C 保存。PCR 产物送至上海生工生物工程技术有限公司测序, 序列通过 EzTaxon 在线比对服务 (<http://www.eztaxon.org/>) 进行相关有效种的相似性搜索, 下载相似性较高的放线菌 16S rRNA 基因序列用 Clustal X 1.8 软件进行序列比对, 用 Mega 6.0 软件构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 内生放线菌的分离

将印迹平板于 28 °C 下培养 14 d, 观察到无菌生长, 证实从香蕉样品中共分离得到的 142 株代表菌株均为内生放线菌。由图 1 可见, 在抗病品种南天健康植株中分离得到的内生放线菌最多, 共计 51 株, 其次是巴西健康植株, 为 49 株, 最少是巴西感病植株, 为 7 株; 不同品种香蕉植株内生放线菌分离呈现南天健康植株 (NJ) > 巴西健康植株 (BJ) > 农科健康植株 (NK) > 南天感病植株 (NB) > 巴西感病植株 (BB) 的规律, 健康株内生放线菌远远多于感病植株。

由图 2 可见, 各组织中内生放线菌分离数量, 呈现根 > 球茎 > 假茎 > 叶的规律; 根分离的内生放线菌最多, 为 68 株, 其次是球茎, 为 58 株, 叶中最少, 仅 6 株; 香蕉植株根与球茎共分离 126 株内生放线菌, 假茎与叶共分离 16 株, 地下部位组织分离内生放线菌的菌株数大于地上部组织。由图 3 可见, 巴西健康植株各组织均有内生放线菌的分布, 而巴西感病植株体内内生放线菌分布比较单一。

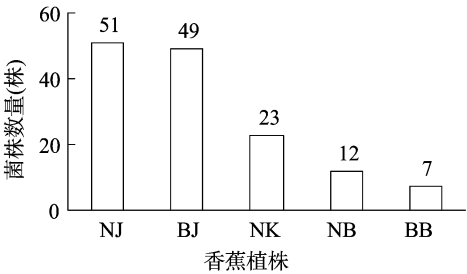


图1 不同品种香蕉植株内生放线菌的分离情况

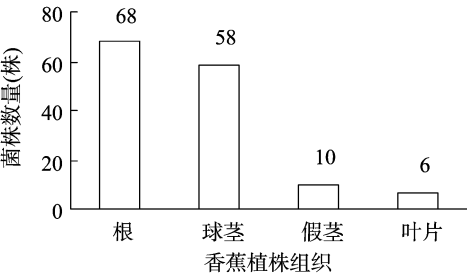


图2 不同香蕉植株组织内生放线菌的分离情况

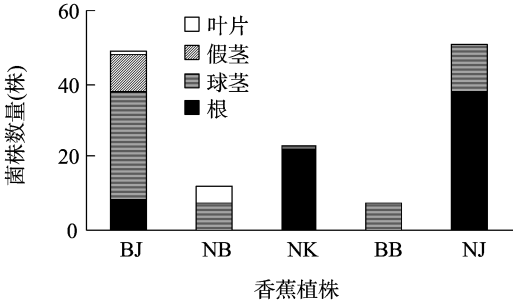


图3 不同品种香蕉植株各组织分离内生放线菌的分布情况

由图 4 可见,腐殖酸培养基分离的内生放线菌最多,为 62 株;改良高氏 2 号培养基分离的内生放线菌最少,为 4 株;6 种选择培养基分离内生放线菌菌株数量由多到少的次序为:腐殖酸培养基(HV) > 葡萄糖天门冬酸培养基(GA) > 改良高氏 1 号培养基(GS) > 改良高氏 2 号培养基(GPT) > 1/10 ATCC 合成培养基 > 改良淀粉酪素培养基(SIM)。

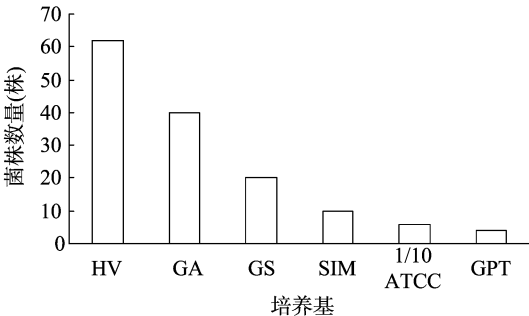


图4 不同培养基内生放线菌的分离情况

2.2 内生拮抗放线菌的筛选

以 FOC4 为检测菌,经初筛和复筛,共筛选出 6 株拮抗效果较好的放线菌,占分离株数的 4.23%,其中,菌株 NJQG-3A1 活性最强,对 FOC4 抑菌率可达 83.21%(表 2)。

2.3 活性菌株 NJQG-3A1 发酵液对 FOC4 的抑菌效果

经含药介质法检测,结果显示,菌株 NJQG-3A1 发酵液

表 2 复筛菌株对 FOC4 的抑菌效果

| 菌株 | 菌落半径 (cm) | 抑菌率 (%) |
|----------|--------------|---------|
| NJQG-3A1 | 0.47 ± 0.033 | 83.21A |
| BJQG-A3 | 1.00 ± 0.115 | 64.29B |
| BJQG-121 | 1.13 ± 0.033 | 59.64B |
| NJGg-A4 | 1.23 ± 0.067 | 56.07BC |
| BJQG-12 | 1.13 ± 0.033 | 59.64B |
| NBGH-F | 1.63 ± 0.186 | 41.79C |
| CK | 2.80 ± 0.100 | 0 D |

注:同列数据后不同大写字母表示数据间有极显著性差异 ($P < 0.01$)。

对 FOC4 菌丝生长的抑制率为 90.74%(图 5)。由图 6 可见,对照组的 FOC4 孢子完全萌发,NJQG-3A1 发酵液对 FOC4 孢子萌发的抑制率达到 100%。

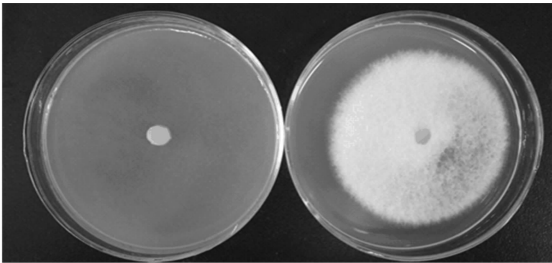


图5 菌株 NJQG-3A1 发酵液对 FOC4 菌丝生长的影响

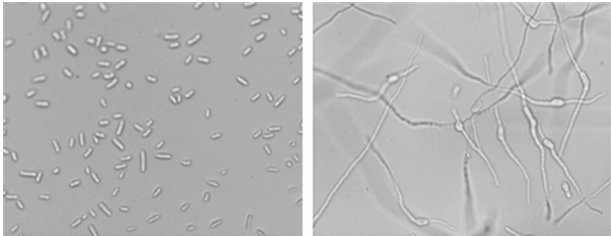


图6 菌株 NJQG-3A1 发酵液对 FOC4 孢子萌发的影响

2.4 活性菌株 NJQG-3A1 对香蕉枯萎病的防控效果

由表 3 可见,接种病原菌和 NJQG-3A1 发酵液(处理 3)的香蕉植株,其病情指数为 15.00,对香蕉枯萎病相对防效为 82.46%,菌株 NJQG-3A1 对香蕉枯萎病具有良好的防控作用,与仅接种病原菌(处理 2)相比,差异极为显著。

表 3 菌株 NJQG-3A1 对香蕉枯萎病盆栽防治效果

| 不同处理 | 发病率 (%) | 病情指数 | 相对防效 (%) |
|-----------------|---------|-------|----------|
| 处理 1(清水) | 5.00 | 5.00 | 94.15 |
| 处理 2(病原菌) | 100.00 | 85.50 | 0 |
| 处理 3(病原菌 + 发酵液) | 15.00 | 15.00 | 82.46 |

2.5 活性菌株 NJQG-3A1 的鉴定结果

从形态特征上看,菌株 NJQG-3A1 在高氏培养基上生长缓慢,菌落呈圆饼粉状,气生菌丝为白色,基内菌丝不发达,白色细丝状。电镜下扫描可以看到,紧密排列的孢子丝有较少分叉,孢子链螺旋状排列,单个成熟的孢子呈棒杆状,表面微绒(图 7)。

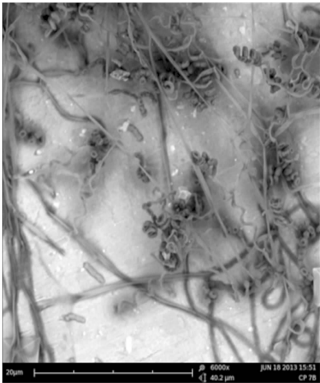


图7 扫描电镜下菌株 NJQG-3A1 的形态特征

由表 4 可见,菌株 NJQG-3A1 在 7 种鉴定培养基上均能生长;在酵母膏麦芽汁琼脂、燕麦片琼脂、胨酵母膏铁琼脂培养基上较其他培养基上生长快,产孢多,且有可溶性色素产生;在甘油天门冬酰胺琼脂培养基上无基内菌丝;在不同培养基上,基内菌丝呈现出白色、黄褐色、棕色等,气生菌丝主要为白色至棕色、黄褐色等。

生理生化特征分析结果表明,菌株 NJQG-3A1 明胶液化,不产黑色素,淀粉水解,不产 H₂S;在吡啶试验、脲酶试验、脂酶试验与硝酸还原试验中均显阳性;可以利用的碳源有核糖、可溶性淀粉、水杨苷、葡萄糖、蔗糖、肌醇等,可以利用的氮源有缬氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、精氨酸、组氨酸、丝氨酸等;最适生长 pH 值为 7.0~8.0,最适生长温度 28~30℃;NaCl 耐受性为 3%。

表 4 菌株 NJQG-3A1 在不同培养基上的生长特征

| 培养基 | 生长情况 | 气生菌丝 | 基内菌丝 | 可溶性色素 |
|-----------|---------|------------|------|-------|
| 高氏 1 号培养基 | 生长慢,产孢少 | 适中、白色 | 白色 | 无 |
| 酵母膏麦芽汁琼脂 | 生长快,产孢多 | 丰富、白色至灰棕色 | 黄褐色 | 黄褐色 |
| 无机盐淀粉琼脂 | 生长慢,产孢少 | 适中、白色至棕褐色 | 棕色 | 无 |
| 燕麦片琼脂 | 生长快,产孢多 | 丰富、白色至灰棕色 | 黄褐色 | 淡黄色 |
| 甘油天门冬酰胺琼脂 | 生长慢,产孢少 | 少,黄棕色 | 无 | 无 |
| 胨酵母膏铁琼脂 | 生长快,产孢多 | 丰富,灰白色至黄褐色 | 黄褐色 | 黄褐色 |
| 酪氨酸琼脂 | 生长慢,产孢少 | 少,白色至黄褐色 | 灰白色 | 无 |

以菌株 NJQG-3A1 基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,测得菌株 NJQG-3A1 16S rRNA 基因核苷酸序列长度为 1 421 bp,序列提交 GenBank,获得登录号为 KF703553,在 EzTaxon 数据库中经有效种的序列相似性搜索,发现与菌株 NJQG-3A1 相似性较高的都是链霉菌属成员,其中,与

Streptomyces phaeoluteichromatogenes NRRL 5799T 相似性最高,达到 99.221%。采用 BioEdit、Mega 6.0 等软件对菌株进行系统发育分析,并用邻接法 (Neighbour-Joining, NJ 法) 构建系统发育树 (图 8)。综合菌株 NJQG-3A1 的培养特征和生理生化特征,将其鉴定为 *Streptomyces phaeoluteichromatogenne*。

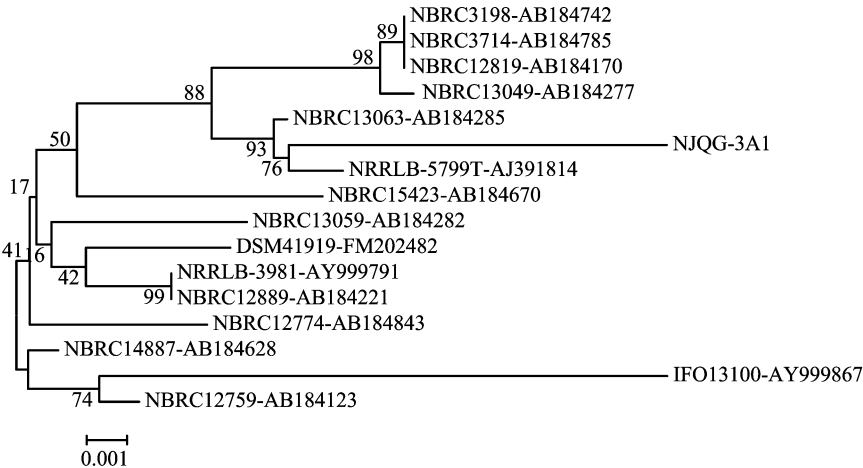


图8 菌株NJQG-3A1 16S rRNA序列系统发育树

3 结论与讨论

本研究在 6 种分离培养基上,采用组织匀浆法从 5 种香蕉植株体内共分离到 142 株内生放线菌,经平板对峙试验,筛选出 6 株对 FOC4 具有抑制作用的活性菌株,其中,活性菌株 NJQG-3A1 对 FOC4 的抑制作用最强,抑菌率达 83.21%,盆栽防效达 82.46%。

从植物组织内分离到的内生菌数量和种类受很多因素的

影响,如分离材料的来源、分离的组织部位、分离方法、分离培养基的成分、表面消毒程度及培养条件等,目前还没有一种完全适用的方法可以分离植物组织内的所有微生物,通过选择适宜的分方法,可以尽可能多地获得内生菌。研究结果表明:(1)香蕉植株各个组织中都存在大量的内生放线菌,内生放线菌数量在香蕉组织内呈现根>球茎>假茎>叶的趋势,这与曹理想等的结果^[26]相同。这一方面是由于内生微生物主要是通过根进入植株体内^[27],从而在根部分离得到的内生

放线菌相对较多;另一方面可能是在植物内生菌分离的实际操作中,次氯酸钠、乙醇等常用消毒剂对内生菌有很大的杀伤作用^[28],且消毒时间和消毒方式也会影响分离结果^[26],香蕉叶片组织表皮较薄,消毒时间过长,一部分内生菌可能会被杀死,从而导致在叶中分离到的内生放线菌数量少。(2)从健康植株分离得到的内生放线菌远远多于病株,这与林时迟等的研究结论^[29]相符,植物体内微生物种群越丰富,数量越多,植物生态系的功能与结构越稳定,越不易感病。(3)从南宝蕉园南天植株内分离得到 63 株内生放线菌,而从黄桐美台蕉园农科植株体内分离到 23 株,这可能是受土壤环境差异影响,南宝蕉园土壤的 pH 值明显高于黄桐美台蕉园,土壤相对偏碱性,碱性条件适合于放线菌的生存^[30]。(4)HV 和 GA 培养基上分离得到的内生放线菌数量分别为 62 株和 40 株,远远大于从 GS、SIM、1/10ATCC、GPT 培养基上得到的内生放线菌数量,这说明前 2 种培养基比较适合香蕉内生放线菌的分离。(5)通过平板对峙、含药介质法及孢子萌发试验,发现活性菌株 NJQG-3A1 对 FOC4 具有明显的抑制作用,为香蕉内生放线菌抗菌活性物质的开发利用提供了一定的理论与应用基础。

本试验由于受到分离手段的局限性,有些内生菌不能在人工培养基上生长,有些内生菌因为生长缓慢而被生长相对较快的菌株所掩盖,没有获得稀有的放线菌,在一定程度上减少了活性菌株的发现概率。此外,本研究主要在室内离体条件下进行,若要更准确地探究拮抗菌株 NJQG-3A1 的生防潜能,需要对该菌株抑菌活性进行更深层次的综合评价。

参考文献:

- [1] 陈琼武. 乐东县香蕉枯萎病发生状况及防治措施[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(12): 73, 78.
- [2] 胡莉莉, 窦美安, 谢江辉, 等. 香蕉枯萎病抗病性研究进展[J]. 广西热带农业, 2006, 102(1): 16-18.
- [3] Hwang S C, Ko W H. Cavendish banana cultivars resistant to fusarium wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan[J]. Plant Disease, 2004, 88(6): 580-588.
- [4] 舒肇甦. 台湾香蕉病害的防治[J]. 柑桔与亚热带果树信息, 2000, 16(2): 43-44.
- [5] 林兰稳, 奚伟鹏, 黄赛花. 香蕉镰刀菌枯萎病防治药剂的筛选[J]. 生态环境, 2003, 12(2): 182-183.
- [6] 卓国豪, 黄有宝, 吴运新, 等. 香蕉枯萎病的综合防治技术[J]. 植物检疫, 2003, 17(5): 279-280.
- [7] 王清红, 李培征. 香蕉枯萎病生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(20): 10747-10748.
- [8] 付洁, 侯军, 谢芳芹, 等. 植物内生菌农药活性研究进展[J]. 陕西农业科学, 2006(3): 66-68.
- [9] 姜钰, 董怀玉, 徐秀德, 等. 放线菌在植病生防中的研究进展[J]. 杂粮作物, 2005, 25(5): 329-331.
- [10] 秦涵洋, 杨腊英, 李松伟, 等. 香蕉镰刀菌枯萎病拮抗放线菌的分离筛选及其抑制效果的初步评价[J]. 中国生物防治, 2010, 26(2): 174-180.
- [11] Chen C Y, Wang Y H, Huang C J. Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29-3 by the chitinase encoded by *Bacillus circulans* *chiA* gene[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(6): 451-454.
- [12] Cao L X, Qiu Z Q, Dai X, et al. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of banana (*Musa acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2004, 20(5): 501-504.
- [13] Tjamos E C, Tsitsigiannis D I, Tjamos S E, et al. Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against verticillium dahliae of solanaceous hosts [J]. European Journal of Plant Pathology, 2004, 110(1): 35-44.
- [14] 沈萍, 范秀容, 李光武. 微生物学实验[M]. 北京: 人民教育出版社, 1980: 72-73.
- [15] 彭云霞, 姜怡, 段淑蓉, 等. 稀有放线菌的选择性分离方法[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(1): 86-89.
- [16] Takahashi Y, Matsumoto A, Seino A, et al. Rare actinomycetes isolated from desert soils [J]. Actinomycetologica, 1996, 10(2): 91-97.
- [17] 黄小龙, 曹树威, 周双清, 等. 一株淮山炭疽病拮抗放线菌的分离及初步鉴定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(19): 11474-11476.
- [18] 姜怡, 段淑蓉, 唐蜀昆, 等. 稀有放线菌分离方法[J]. 微生物学通报, 2006, 33(1): 181-183.
- [19] Shirling E B, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1966, 16(3): 313-340.
- [20] Williams S T, Goodfellow M, Alderson G, et al. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera [J]. Journal of General Microbiology, 1983, 129(6): 1743-1813.
- [21] 洪葵, 谢晴宜. 药用微生物资源研究技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 10-13.
- [22] 孔亚男, 陈文强, 邓百万, 等. 虎杖内生放线菌的分离鉴定及抗菌活性[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2012, 41(6): 616-621.
- [23] 阎述初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 296-1048.
- [24] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1979: 8-154.
- [25] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 链霉菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1975: 13-15.
- [26] 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: 自然科学版, 2003, 42(2): 70-73.
- [27] Gough C, Galera C, Vasse J, et al. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571 [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1997, 10(5): 560-570.
- [28] 付业勤, 蔡吉苗, 刘先宝, 等. 香蕉内生细菌分离、活性评价及数量分布[J]. 热带作物学报, 2007, 28(4): 78-83.
- [29] 林时迟, 张绍升, 周乐峰, 等. 福建省香蕉枯萎病鉴定[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(4): 465-469.
- [30] 田新莉, 曹理想, 杨国武, 等. 水稻内生放线菌类群及其对宿主病原菌的抗性研究[J]. 微生物学报, 2004, 44(5): 641-646.