



新疆天池放线菌的分离及其抑菌活性

王秀爽^{1,2}, 田江丽¹, 邵胜楠¹, 崔志浩¹, 潘崇乐¹, 张国强¹

(1. 石河子大学 农学院, 新疆石河子 832003; 2. 石河子大学 生命科学学院, 新疆石河子 832003)

摘 要 为了充分挖掘和利用新疆特色放线菌资源, 开发新型微生物源农药, 采用选择性分离方法对新疆天池放线菌进行分离, 结合离体和活体试验筛选抑菌活性较高的放线菌, 并利用形态学和分子生物学手段进行菌株鉴定。结果共分离得到 213 株放线菌, 其中从天池草甸土中得到的放线菌数量最多, 占 40.38%; 离体活性测定结果显示, 有 5 株放线菌对立枯丝核菌和番茄灰霉病菌均具有较好的抑制作用; 盆栽试验结果显示, 放线菌 TC-50 对黄瓜立枯病的防治效果最高, 为 89.98%, 并且可提高黄瓜种子的发芽率, 促进黄瓜幼苗生长; 经鉴定, 放线菌 TC-50 属于链霉菌(*Streptomyces* sp.)。可见, 链霉菌 TC-50 有望开发为具有新疆特色的微生物源农药。

关键词 链霉菌; 病原真菌; 天池; 拮抗

中图分类号 S482.7; Q939.96

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2018)11-1660-07

放线菌是一类极具开发价值的微生物, 它不仅能够产生多种抗生素^[1], 还能代谢产生极具商业价值的多糖或蛋白质类物质^[2], 其中不乏一些具有农用开发价值的生物活性物质。因此, 放线菌资源的挖掘一直是各国学者关注的焦点。植物病害严重威胁着中国农业生产, 以放线菌为基础开发微生物源农药既可在一定程度上挽回病害损失, 还能降低对环境的污染。中国新疆地域广阔, 拥有多种特殊的自然环境, 蕴藏着丰富的微生物资源。因此, 深入挖掘新疆微生物资源, 开发具有新疆特色的微生物源农药, 对中国植保领域的发展具有重要意义。近年来国内外多家科研单位对新疆放线菌资源开展深入挖掘工作, 主要对罗布泊、艾比湖、于田盐池、哈密盐湖等干旱或高盐环境中的放线菌进行研究^[3-8], 发现大量放线菌新种, 如 *Streptomyces luteus*、*Nocardiosis ake-suensis*、*Saccharothrix lopnurensis*、*Glycomyces xinjiangensis* 等^[9-12]。然而, 对于这些新疆特色放线菌的农用活性研究相对较少, 加之国内外对新疆放线菌资源的挖掘主要集中在南疆的荒漠和盐湖地区, 对天山天池地区放线菌资源的农用活性研究则更为稀少。因此, 有必要开展新疆天池

放线菌资源挖掘及农用活性研究。本研究对天池地区土壤样品中的放线菌进行选择分离, 结合离体和活体试验筛选对植物病原菌具有抑制作用的放线菌, 并进行初步分类鉴定, 以期获得具有研究与开发价值的资源放线菌, 为开发新疆特色微生物源农药奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 土壤样品 采自新疆天池地区(海拔 1 900 m 左右, 88.12° ~ 88.15° N, 43.85° ~ 43.92° E, 采集时间为 2016 年 12 月)的 12 份土壤样品, 按照土壤类型混合为 4 种土样, 分别为砂土、壤土、草甸土以及河底泥土, 阴干, 备用。

1.1.2 分离及纯化培养基 GA 培养基: 可溶性淀粉 20 g, KNO₃ 1 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, NaCl 0.05 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4~7.6。

PDA 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4~7.6。

NA 培养基: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4~7.6。

收稿日期: 2018-04-01 修回日期: 2018-05-10

基金项目: 石河子大学高层次人才科研启动项目(RCSX201722); 大学生创新创业训练计划(201710759002)。

第一作者: 王秀爽, 女, 博士, 研究方向为植物病虫害生物防治。E-mail: xswang@shzu.edu.cn

通信作者: 张国强, 男, 讲师, 从事微生物源农药的研究与开发。E-mail: gqzhang@shzu.edu.cn

TPA 培养基:海藻糖 5 g,脯氨酸 1 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g, NaCl 1 g, CaCl_2 2 g, K_2HPO_4 1 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g, 硫酸素 50 μg , 核黄素 50 μg , 烟酸 50 μg , 泛酸钙 50 μg , 维生素 B_6 50 μg , 肌醇 50 μg , 对-氨基苯甲酸 50 μg , 生物素 25 μg , 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.2。

HVA 培养基:腐殖酸 1 g, CaCO_3 0.02 g, Na_2HPO_4 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, KCl 1.7 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, 硫酸素 50 μg , 核黄素 50 μg , 烟酸 50 μg , 泛酸钙 50 μg , 维生素 B_6 50 μg , 肌醇 50 μg , 对-氨基苯甲酸 50 μg , 生物素 25 μg , 琼脂 18 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4。

CA 培养基:几丁质 4 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mg, 琼脂 20 g, 硫酸素 50 μg , 核黄素 50 μg , 烟酸 50 μg , 泛酸钙 50 μg , 维生素 B_6 50 μg , 肌醇 50 μg , 对-氨基苯甲酸 50 μg , 生物素 25 μg , 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4。

GB 培养基:可溶性淀粉 20 g, KNO_3 1 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, NaCl 0.05 g, 蒸馏水 1 L, pH 为 7.4~7.6。

1.1.3 抑制剂 放线菌酮和萘啶酸均为分析纯试剂。

1.1.4 供试病原菌 立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、番茄灰霉病原菌(*Botrytis cinerea*),由石河子大学农学院植物病理实验室提供。

1.1.5 供试种子 黄瓜种子(‘荷兰 35’,感病品种),由新疆建设兵团第十师北屯市农科所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 土样采集方法 在每个采样地区选取多个采样点,采用蛇形采样法进行取样,土层深度为 0~5 cm。取样品 200~500 g 采用四分法进行混合。将所采土样装入布袋或聚乙烯塑料袋,内外均应附标签,标明采样编号、名称、采样深度、采样地点、日期、采集人等信息。

1.2.2 土样中微生物含量测定方法 称取 0.5 g 风干土样,用无菌水系列稀释至 10^{-4} ,取 100 μL 分别按照以下方式处理:细菌在 28~30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用 NA 培养基恒温培养,放线菌用 GA 培养基培养,真菌用 PDA 培养基培养,采用平板计数法统计每克干土中细菌、放线菌和真菌的个数。

1.2.3 土壤放线菌分离方法 将供试土样风干磨碎过 200 目筛后,采用 3 种方法进行处理:(1)称取 0.5 g 风干土样,置于 10 mmol/L 磷酸缓冲液(pH=7.0)中 30 $^{\circ}\text{C}$ 处理 60 min,1 500 g 离心

20 min,然后静置 10 min,取上清液系列稀释至 10^{-4} 后取 100 μL 涂于分离培养基平板上分别于 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 22 $^{\circ}\text{C}$ 培养 15~30 d,挑出放线菌后于 GA 培养基中纯化培养。(2)称取 0.5 g 风干土样,置于 1.5% 苯酚(5 mmol/L 磷酸缓冲液 pH=7.0 配置)中 30 $^{\circ}\text{C}$ 处理 20 min 后取上清液系列稀释至 10^{-4} ,取 100 μL 涂于分离培养基平板上培养 15~30 d,挑出放线菌后于 GA 培养基中纯化培养。(3)称取 0.5 g 风干土样,用无菌水悬浮后,系列稀释至 10^{-4} ,取 100 μL 涂于分离培养基平板上培养 15~30 d,挑出放线菌后于 GA 培养基中纯化培养。所有分离培养基内均含有 50 mg/L 放线菌酮和 50 mg/L 萘啶酸。

1.2.4 放线菌发酵液制备 将放线菌接种于 GA 培养基平板上,27 $^{\circ}\text{C}$ 培养 5~7 d,取 8 个 6 cm 菌饼接种至 GB 液体培养基(100 mL)中,28 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 摇床培养 5~7 d,取上清过 0.45 μm 无菌滤膜后备用。

1.2.5 抑菌活性测定 对峙法:在培养皿上穿过中心作一条线,将放线菌接种于线上 1/3 处,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2~3 d 至完全定殖后,将病原真菌菌块接种至放线菌菌落对称位置,继续培养 3~5 d 后,测量放线菌菌落之间的真菌菌落宽度。

牛津杯法:在 GA 培养基平板表面直接对称放置 2 个牛津杯,轻轻加压,使其与培养基接触无空隙。在杯中加入 200 μL 发酵液无菌滤液,在 2 个牛津杯中间接种病原真菌,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d 后测量抑菌圈直径。

盆栽法:取籽粒饱满的黄瓜种子在 $\varphi=75\%$ 乙醇中表面消毒 3 min,用无菌水清洗 3 次,然后放于铺有湿润滤纸的培养皿中,置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下催芽 48 h。试验使用的土壤中含有立枯病菌 1.5 g/kg。试验时将 10 粒黄瓜种子浅播于花盆中,并加入 20 mL 放线菌菌株发酵液。设无菌水为对照,每个处理重复 3 次。每隔 3 d 加 1 次发酵液,培养 9 d 时检查植株发病率、株高以及发芽率。

1.2.6 放线菌鉴定 形态学鉴定:采用插片法^[13]在 GA 培养基平板上培养放线菌 3~5 d 后,在 400 倍电子显微镜下观察菌丝及孢子丝形态,然后利用鉴定手册进行分类鉴定^[14]。

放线菌菌株在 GB 液体培养基中培养 24 h 后,用 EasyPure Bacteria Genomic DNA Kit(全式金,中国)进行放线菌基因组 DNA 提取;使用通用引物 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCT-

CAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACG-ACTT5-3'), 结合 EasyTaq PCR SuperMix (全式金, 中国) 进行 16S rDNA 进行扩增; PCR 反应程序为: 94 ℃ 预变性 5 min, 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 2 min, 72 ℃ 延伸 2 min, 循环 30 次, 72 ℃ 再延伸 10 min。反应结束后进行电泳检测, PCR 产物由上海生工生物工程有限公司进行纯化与测序。测序结果进行 BLAST, 选取相似度较高的菌株序列, 利用 MEGA7.0 进行系统发育树构建 (使用 NJ 法建树, Bootstrap 法进行 1 000 次重复, 利用 Kimura 2-parameter 法计算进化距离)。

1.2.7 数据统计分析 采用 SPSS19 软件对数

据进行统计分析, 采用 Duncun's 新复极差法对数据进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 天池地区不同类型土壤中的微生物含量差异

新疆天池地区的 4 类土壤样品中含有大量微生物, 包括真菌、细菌和放线菌。从表 1 可看出, 4 种土壤样品中细菌含量最高, 其次为放线菌, 真菌最少。其中草甸土中放线菌数量最多, 为 1.58×10^8 CFU/g。而砂土中的放线菌数量最少, 为 2.67×10^7 CFU/g。

表 1 天池地区不同类型土壤微生物含量
Table 1 Microbial content in different soil types of Tianchi

土壤类型 Soil type	微生物含量/(CFU/g) Microbial content			
	放线菌 Actinomycete	真菌 Fungus	细菌 Bacteria	
草甸土 Meadow soil	1.58×10^8	2.82×10^5	6.47×10^8	
壤土 Loam	7.20×10^7	1.67×10^5	4.55×10^8	
砂土 Sandy soil	2.67×10^7	4.29×10^5	3.78×10^8	
河底泥土 Sediment	1.02×10^8	1.15×10^5	4.07×10^8	

2.2 天池放线菌的分离与纯化

采用 2 种预处理方法和 3 种分离培养基对供试的 4 类土壤样品中放线菌进行选择分离, 共分离得到 213 株放线菌。从表 2 可以看出, 草甸土样品中分离得到的放线菌数量最多, 壤土次之, 两者得到的放线菌数量分别为 86 株和 79 株, 占放线菌分离总数的 40.38% 和 37.09%。

表 2 各土样中放线菌的分离情况
Table 2 Data of actino mycetei solation from soil samples

土壤样品 Soilsample	放线菌数量 Sum of actinomycete	所占比例/% Proportion
草甸土 Meadow soil	86	40.38
壤土 Loam	79	37.09
砂土 Sandy soil	15	7.04
河底泥土 Sediment	33	15.49

2.3 天池放线菌的抑菌活性

采用菌株对峙法测定 213 株放线菌对立枯丝核菌和番茄灰霉病菌的拮抗作用, 结果发现有 14 株放线菌对立枯丝核菌的拮抗效果在 70% 以上 (表 3), 8 株放线菌对番茄灰霉病菌的拮抗效果在 60% 以上 (表 4)。其中有 5 株放线菌 (TC-33、TC-50、TC-52、TC-95 和 TC-174) 对立枯丝核菌和番茄灰霉病菌均具有抑制作用。

表 3 14 株放线菌对立枯丝核菌的抑制效果 (对峙法)
Table 3 Inhibition of 14 strains against R. solani (Antagonistic method)

菌株 Strain	抑制率/% Inhibition rate	菌株 Strain	抑制率/% Inhibition rate
TC-23	95.57 a	TC-73	86.55 c
TC-26	91.32 b	TC-74	84.72 d
TC-33	90.02 b	TC-88	83.25 d
TC-48	74.83 f	TC-95	88.54 bc
TC-50	89.52 b	TC-100	90.21 b
TC-52	86.95 c	TC-122	78.64 e
TC-64	72.92 j	TC-174	91.22 b

注: 数据后标有不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。
Note: Values followed by the different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$). The same below.

表 4 8 株放线菌对番茄灰霉病菌的抑制效果 (对峙法)
Table 4 Inhibition of eight strains against B. cinerea (Antagonistic method)

菌株 Strain	抑制率/% Inhibition rate	菌株 Strain	抑制率/% Inhibition rate
TC-31	97.42 a	TC-64	79.62 e
TC-33	85.40 c	TC-92	66.43 g
TC-50	84.54 cd	TC-95	74.58 f
TC-52	93.21 b	TC-174	83.17 de

利用牛津杯法对 5 株放线菌的菌株代谢物的抑菌活性进行测定,结果显示该 5 株放线菌的代谢物对立枯丝核菌和番茄灰霉病菌均具有较强的抑制作用(表 5),说明抑菌活性物质主要为胞外代谢产物。

利用盆栽法测定 5 株放线菌对黄瓜立枯病的防治效果,结果显示放线菌 TC-33、TC-50

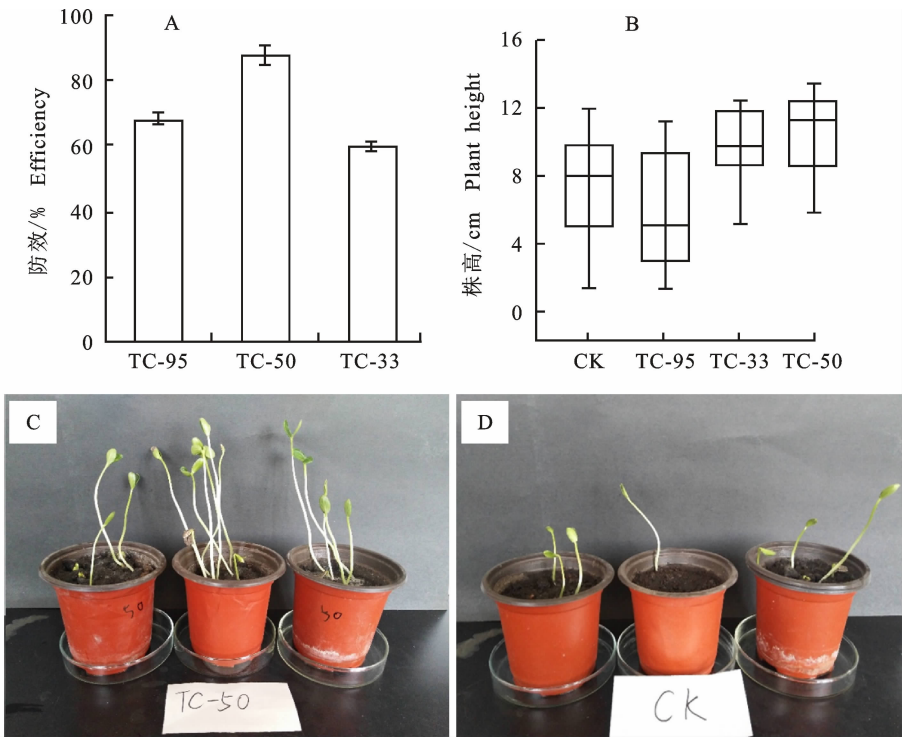
表 5 5 株放线菌发酵液对 2 种病原菌的抑制作用(牛津杯法)

菌株 Strain	抑制率/% Inhibition rate	
	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	番茄灰霉病菌 <i>B. cinerea</i>
TC-33	91.66 cd	88.23 b
TC-50	97.28 a	91.64 a
TC-52	92.43 c	87.62 b
TC-95	89.14 d	74.21 d
TC-174	95.15 b	84.72 c

和 TC-95 的菌株代谢物对黄瓜立枯病均具有较好的防治效果(图 1-A),其中 TC-50 菌株代谢物的防效最高,为 89.98%。在试验中发现 TC-50 发酵液可促进黄瓜幼苗生长(图 1-B),而 TC-95 发酵液对黄瓜幼苗生长具有一定的抑制作用。3 株放线菌的代谢物均可提高黄瓜种子在含菌土壤中的发芽率,尤其是 TC-50,其菌株发酵液可使种子发芽率提高 90%以上(图 1-C)。

2.4 放线菌 TC-50 初步鉴定

经过形态学观察,放线菌 TC-50 菌落为灰白色、干燥、绒状、无色素产生(图 2-A),气生菌丝丰富,孢子丝为直线形,孢子呈椭圆形(图 2-B),属于灰白色放线菌类群;利用分子手段对放线菌 TC-50 进行分子鉴定,结果显示 TC-50 与 *Streptomyces chumphonensis* KK1-2(NR_126175)亲缘关系最近(84%),其序列相似达 98%(图 3),结合形态学分析,最终确定放线菌 TC-50 归属于链霉菌(*Streptomyces* sp.)。



A. 菌株代谢物对黄瓜立枯病的防治效果 Effects of strain's metabolites against *Rhizoctonia* rot; B. 菌株代谢物对黄瓜幼苗株高的影响 Effects of strain's metabolites on plant height of cucumber; C. 菌株代谢物对黄瓜种子发芽及生长的影响 Effects of strain's metabolites on germination and growth of cucumber seeds; D. 对照 Control

图 1 3 株放线菌菌株代谢物对黄瓜立枯病的防治效果及对黄瓜幼苗生长的影响
Fig.1 Effects of three strain's metabolites on *Rhizoctonia* rot and seedling growth of cucumber

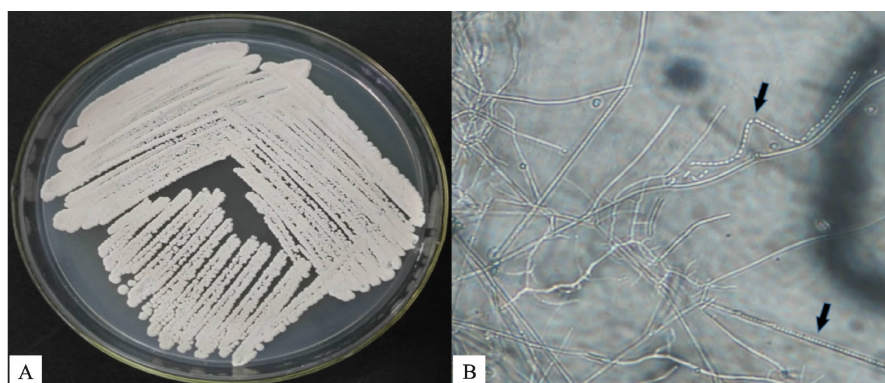


图 2 放线菌 TC-50 菌落(A)及孢子丝形态(B)

Fig. 2 Colony (A) and sporotrichial (B) of strain TC-50

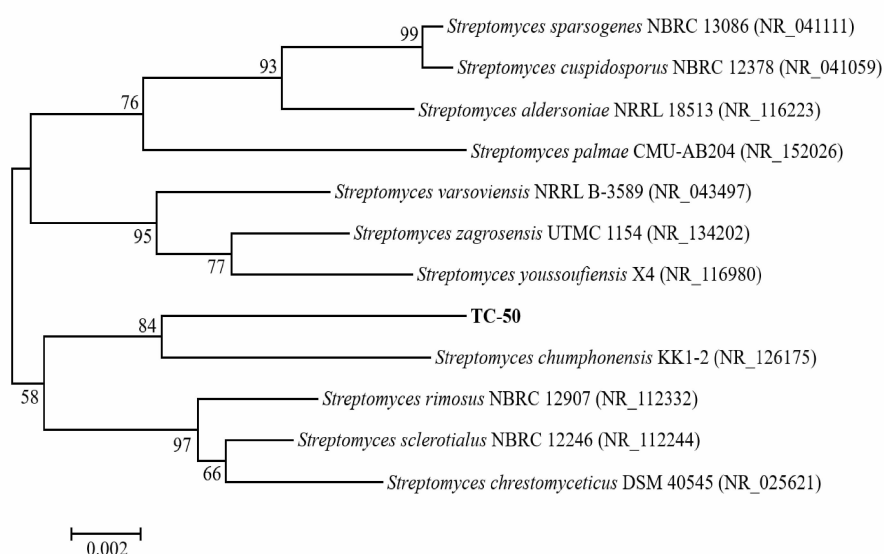


图 3 基于 16S rDNA 序列分析的放线菌 TC-50 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain TC-50 based on the sequence analysis of 16S rDNA

3 讨论

新疆地域广阔,拥有多种特殊的自然环境,造就了该地区独特的微生物资源及其特殊的代谢物。天山天池位于新疆塔里木盆地和准噶尔盆地天然分界线上,海拔 1 928 m,年均气温 2.5 ℃,冬季长期处于 -15 ℃ 以下。本研究从该地区获得 213 株放线菌,其中有 24 株耐 4 ℃ 低温的放线菌。可见,该地区的耐低温放线菌较为丰富。另外,本研究发现草甸土中的放线菌数量 (1.58×10^8 CFU/g) 显著高于其他类型土壤中的放线菌。从王启兰等^[15]的研究可见,青藏高原地区多种草甸土中平均放线菌数量显著低于本研究结果,仅为 5.676×10^4 CFU/g,但是获得的低温放线菌数量占比较高,为 32.35%,其原因可能是

青藏高原地区海拔较高,气温较低,更适合低温放线菌的生长。

本研究以立枯丝核菌和番茄灰霉病菌为指示菌株,对 213 株放线菌进行抑菌活性筛选,发现 17 株放线菌具有一定抑菌活性,占比 8.0%。笔者曾对青藏高原地区放线菌进行抑菌活性筛选,在 279 株放线菌中发现 28 株具有抑菌活性的放线菌(组织法活性测定结果大于 60%),占比 10%^[16],这与本研究结果有一定差异,主要原因在于土样来源的不同、供试病原菌差异及生物活性测定方法的不同。因此,对于天池放线菌的生物活性需要深入研究,可针对抑菌、杀虫、除草、诱抗活性等方面进行广泛筛选。

分子鉴定结果显示,菌株 TC-50 与 *S. chumphonensis* 最近缘。*S. chumphonensis* 最早是在海

洋沉积物中分离得到的,它的气生菌丝为白色至黄白色,能产生长链状的非移动性孢子^[17],而且至今仍未有文献报道该菌株具有抑菌活性,由此可见菌株 TC-50 与 *S. chumphonensis* 存在较大差异。后期将采用细胞壁成分分析、DNA 杂交等技术进一步探究两者之间的关系,并明确菌株 TC-50 的准确分类地位。

参考文献 Reference:

- [1] GENILLOUD O. Actinomycetes; still a source of novel antibiotics [J]. *Natural Product Reports*, 2017, 34(10): 1203-1232.
- [2] ZHANG G Q, HAN L R, ZHANG G F, et al. Purification and characterization of a novel glycoprotein from *Streptomyces* sp. ZX01 [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 78: 195-201.
- [3] 曹兰兰. 新疆哈密地区盐湖放线菌多样性及多相分类研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009.
CAO L L. Study on diversity and polyphasic taxonomy of actinomycetes isolated from Hami salt lakes in Xinjiang [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2009.
- [4] 关统伟. 新疆罗布泊盐湖放线菌多样性及多相分类 [D]. 成都: 四川农业大学, 2012.
GUAN T W. Diversity analysis and polyphasic taxonomy of actinobacteria of sediment samples from Lop Nur salt Lake in Xinjiang, China [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2012.
- [5] 马 玥, 来航线, 韦小敏, 等. 新疆荒漠盐碱环境中抗动物病原菌的放线菌筛选与鉴定 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(3): 133-140.
MA Y, LAI H X, WEI X M, et al. Screening and identification of antagonistic actinomycetes against animal pathogen from saline-alkali soil in desert of Xinjiang [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2013, 41(3): 133-140.
- [6] 夏占峰. 新疆极端环境放线菌多相分类及抑菌活性物质研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
XIA ZH F. Polyphasic identification and antifungal metabolite of extreme actinomycetes isolated in Xinjiang [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015.
- [7] 张永光, 刘 晴, 王宏飞, 等. 新疆阜康盐碱地可培养兼性嗜碱放线菌多样性及其酶活筛选 [J]. 微生物学报, 2014, 54(2): 183-190.
ZHANG Y J, LIU Q, WANG H F, et al. Biodiversity and enzymes of culturable facultative alkaliphilic actinobacteria in saline-alkaline soil in Fukang, Xinjiang [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(2): 183-190.
- [8] 赵卉琳. 新疆荒漠盐碱环境放线菌资源研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
ZHAO H L. Study on actinomycete resources from desert and saline-alkali soil in Xingjiang province [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2008.
- [9] LUO X X, KAI L, WANG Y, et al. *Streptomyces luteus* sp. nov., an actinomycete isolated from soil [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(3): 543-547.
- [10] GAO G B, LUO X X, XIA Z F, et al. *Nocardiopsis ake-suensis* sp. nov., an actinomycete isolated from a salt water beach [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(12): 5005-5009.
- [11] LI Y Q, LIU L, CHENG C, et al. *Saccharothrix lopnurensis* sp. nov., a filamentous actinomycete isolated from sediment of Lop Nur [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2015, 108(4): 975-981.
- [12] GUAN T W, XIANG H P, WANG P H, et al. *Glycomyces xinjiangensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a hypersaline habitat [J]. *Archives of Microbiology*, 2017, 199(9): 1231-1235.
- [13] 黄大林, 徐雅娟, 袁桂峰, 等. 放线菌扫描电镜样品简便快速的制备方法 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17): 8849-8850.
HUANG D L, XU Y J, YUAN G F, et al. A simple rapid preparation method for scanning electron microscopy sample [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(17): 8849-8850.
- [14] 闫逊初. 放线菌的分类与鉴定 [M]. 北京: 科学出版社, 1992.
YAN S C H. Classification and Identification of Actinomycete [M]. Beijing: Science Press, 1992.
- [15] 王启兰, 曹广民, 姜文波, 等. 青海高寒草甸土壤放线菌区系研究 [J]. 微生物学报, 2004, 44(6): 733-736.
WANG Q L, CAO G M, JIANG W B, et al. Study on actinomycetes population of alpine meadow soil in Qinghai [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2004, 44(6): 733-736.
- [16] 张国强, 张 宁, 韩立荣, 等. 青藏高原土壤放线菌的分离及其对番茄灰霉病菌的抑制活性 [J]. 西北农业学报, 2012, 21(6): 30-44, 40.
ZHANG G Q, ZHANG N, HAN L R, et al. Isolation of soil actinomycetes from Tibetan and screening of the antimicrobial activity against *Botrytis cinerea* [J]. *Acta Agricultrae Boreali-occidentalis Sinica*, 2012, 21(6): 30-34, 40.
- [17] PHONGSOPITANUN W, THAWAI C, SUWANBORIRUX K, et al. *Streptomyces chumphonensis* sp. nov., isolated from marine sediments [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(8): 2605-2610.

Isolation and Antifungal Activity of Actinomycetes from Tianchi in Xinjiang

WANG Xiushuang^{1,2}, TIAN Jiangli¹, SHAO Shengnan¹,
CUI Zhihao¹, PAN Chongle¹ and ZHANG Guoqiang¹

(1. College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832003, China;

2. College of Life Sciences, Shihezi University, Shehezi Xinjiang 832003, China)

Abstract In order to excavate elite actinomycete resource from Xinjiang for developing novel microbial pesticides, we isolated actinomycetes from soil of Tianchi, Xinjiang, and tested the antifungal activity in vitro and in vivo. The isolates with strong activity were classified using morphology and molecular biology methods. The results showed that 213 strains of actinomycetes were obtained, and 40.38% of them isolated from meadow soil. Five strains had strong inhibition activities against *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*. The strain TC-50 showed a strong efficiency against *Rhizoctonia* rot of cucumber with the control effect of 89.98%, which also promoted seed germination and seedling growth of cucumber; the strain TC-50, classified as a *Streptomyces* sp., has a potential to be developed as a microbial pesticide in Xinjiang province.

Key words Streptomyces; Pathogenic fungal; Tianchi; Antagonism

Received 2018-04-01

Returned 2018-05-10

Foundation item High-level Talents Research Startup Project of Shihezi University (No. RCSX201722); National Training Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (No. 201710759002).

First author WANG Xiushuang, female, Ph. D. Research area: biological control of plant diseases and pests. E-mail: xswang@shzu.edu.cn

Corresponding author ZHANG Guoqiang, male, lecturer. Research area: microbial pesticide. E-mail: gqzhang@shzu.edu.cn

(责任编辑:郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)