

# 核桃内生真菌对几种致病菌的拮抗试验研究

赵姝荣<sup>1</sup>,高智辉<sup>2,\*</sup>,王云果<sup>2</sup>

(1.咸阳市职业技术学院,陕西 咸阳 712000;2.西北农林科技大学 林学院,陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**用 25 种核桃内生真菌,分别与玉米小斑、小麦赤霉、番茄灰霉病原菌进行两点对峙培养拮抗实验,结果表明:23 种核桃内生菌抑菌活性对玉米小斑病原菌极强者 5 属,对小麦赤霉病原菌极强者 1 属,对番茄灰霉病原菌没有极强者。小卵孢霉对玉米小斑病、小麦赤霉病和番茄灰霉病原菌的抑菌活性都极强,可以初步作为防治这 3 种作物病害的生物源农药首选菌种;单孢枝霉对该 3 种病原菌的抑菌活性强,壳大卵孢霉对小麦赤霉病和番茄灰霉病原菌,粘盘孢属对玉米小斑病和番茄灰霉病原菌抑菌活性强,单孢枝霉、壳大卵孢霉和粘盘孢属也可以作为防治这 3 种作物病原菌的优选菌株。

**关键词:**核桃;内生真菌;拮抗作用;抑菌活性

中图分类号:S718.81

文献标识码:A

文章编号:1001-2117(2012)06-0018-04

## Antagonistic Test of Endophytic Fungi of Walnuts Against Several Pathogenic Bacteria

ZHAO Shu-rong<sup>1</sup>,GAO Zhi-hui<sup>2,\*</sup>,WANG Yun-guo<sup>2</sup>

(1. Xianyang Vocational & Technical College, Xianyang, Shaanxi 712000;

2. Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:**25 walnut endophytic fungi were applied for antagonism test resisting, respectively, pathogens of *Bipolaris maydis*, *Fusarium graminearum*, and *Botrytis cinerea* Pets. The results showed that 5 genera had strong resistance on *Bipolaris maydis*, 1 genus had very strong resistance on *Fusarium graminearum* and none for *Botrytis cinerea* Pets. Spore mould of small egg had strong antibacterial activity to *Bipolaris maydis*, *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinerea* Pets pathogens. It could be applied as the germ source of germicide. *Hormodendrum* performed well in inhibiting the activities of three pathogens. *Acremonium Sphaeropsis* has strong inhibition to the activities of *Bipolaris maydis*, *Fusarium graminearum* pathogens *Myxosporium* Link ex Corda spore genera well inhibited the activities of *Fusarium graminearum*, and *Botrytis cinerea* Pets. *Myxosporium* only performed well in inhibiting the activities of *Bipolaris maydis* and *Botrytis cinerea* Pets. The three endophytic fungi would be selected as the strains for control of the three crop diseases pathogens.

**Key words:**walnut;endophytic fungi;antagonism;antibacterial activity

核桃(*Juglans regia*)被誉为“世界四大著名干果”之一,不但经济价值高,还有一定的药用价值;核桃叶可用于治疗伤口、皮肤病、肠胃病及全身瘙痒等;枝条制取液或加龙葵全草制成的核葵注射液,对宫颈癌、甲状腺癌等有不同程度的疗效;核桃青皮既可以治疗一些皮肤疾病及胃神经痛等。针对“核桃树下不长草”现象,多年来,国内

外有关核桃属植物农药活性方面的研究报道越来越多,主要集中在核桃树体器官及其浸提液在除草杀虫、化感、抗病毒、抑菌等方面<sup>[1-9]</sup>,对内生真菌的抑菌作用研究不多。为此,我们从 2009 年起,把核桃根、茎、叶中分离出的 25 种核桃内生真菌,分别与玉米小斑(*Helminthosporium maydis*

收稿日期:2012-08-19

作者简介:赵姝荣(1963-),女,陕西礼泉县人,实验师,从事植物保护教学和研究。

通讯作者:高智辉(1963-),男,陕西周至人,高级实验师,主要从事植物保护教学与科研工作。

Nisik & Miy)、小麦赤霉(*FusaHum graminea-rum* Seh.w.)和番茄灰霉(*Botrytis cinerea* Pers.) 3种病原菌进行两点对峙培养拮抗实验,旨在为利用核桃内生真菌防治农作物病害提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 供试菌种

1.1.1 核桃内生菌菌种 25种纯菌株,从西北

农林科技大学教学苗圃试验田核桃种植区 5a 生核桃树的根、茎、叶分离得到(见表 1)。  
1.1.2 农作物致病菌菌种 有番茄灰霉病原菌 *Botrytis cinerea* Pers.、小麦赤霉病原菌 *Fusari-um graminearum* Seh.w. 和玉米小斑 *Helmintho-sporium maydis* Nisik & Miy,由西北农林科技大学无公害农药研究中心提供。

表 1 试验用内生真菌

| 序号 | 中文名称   | 学名                                                             |
|----|--------|----------------------------------------------------------------|
| 1  | 皮核菌属   | <i>Acinula</i> Fr.                                             |
| 2  | 交链孢霉属  | <i>Alternaria</i> Nees ex Wallr.                               |
| 3  | 矮棒曲霉   | <i>Aspergillus clavatonanicus</i> Bat.                         |
| 4  | 棒曲霉    | <i>Aspergillus clavatus</i> Desm.                              |
| 5  | 烟曲霉原变种 | <i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.                             |
| 6  | 头孢霉属   | <i>Cephalosporium</i> Corda                                    |
| 7  | 刺孢壳属   | <i>Chaetomella</i> Fucke                                       |
| 8  | 筒梗霉属   | <i>Chromosporium</i> Corda                                     |
| 9  | 盾壳霉属   | <i>Coniothyrium</i> Corda                                      |
| 10 | 单梗孢霉属  | <i>Corethrospis</i> Cda.                                       |
| 11 | 茎叶核菌属  | <i>Ectostroma</i> Fr.                                          |
| 12 | 柔毛镰刀菌  | <i>Fusarium flocciferum</i> Corda                              |
| 13 | 串珠镰刀菌  | <i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon                            |
| 14 | 茄类镰刀菌  | <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.                           |
| 15 | 白地霉    | <i>Geotrichum candidium</i> Lk. Ex Pers.                       |
| 16 | 单孢枝霉属  | <i>Hormodendrum</i> Bon.                                       |
| 17 | 核桃黑盘孢菌 | <i>Melanconium juglandium</i> Kunge                            |
| 18 | 串珠霉属   | <i>Monilia</i> Pers. ex Fr.                                    |
| 19 | 粘盘孢属   | <i>Myxosporium</i> Link ex Corda                               |
| 20 | 球黑孢霉   | <i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) Mason                      |
| 21 | 小卵孢霉属  | <i>Ovularia</i> Sace.                                          |
| 22 | 大豆茎点霉  | <i>Phoma glycines</i> Sawadaex J. K. Baiet G. Z. Lu comb. Nov. |
| 23 | 丝核菌属   | <i>Rhizoctonia</i> DC. Ex Fr.                                  |
| 24 | 小核菌属   | <i>Sclerotium</i> Tode ex Fr.                                  |
| 25 | 壳大卵孢霉  | <i>Sphaeropsis</i> Lév.                                        |

1.2 试验方法

1.2.1 植物病原菌的转接和活化<sup>[10-12]</sup> 从西北农林科技大学无公害农药研究中心转接番茄灰霉病原菌、小麦赤霉病原菌、玉米小斑病原菌菌种于平面培养基内活化培养 3~5 d 保存备用。  
1.2.2 拮抗实验—平板对峙法<sup>[10-12]</sup> 采用对峙平板培养法测定核桃内生真菌对番茄灰霉病原菌、小麦赤霉病原菌、玉米小斑病原菌的抑制效果,并筛选出具有较强抑制作用的拮抗真菌菌株。具体做法是:

(1)在培养皿底面预先用记号笔做记号,记号点以培养皿中心轴为对称,两点间距 3 cm,然后

再标记点上接种菌饼。  
(2)用直径为 3 mm 的打孔器,将其灭菌后,在培养 5 d 的同质等量的内生真菌和病原菌的菌落边缘打孔,打出菌饼,然后,在无菌条件下取菌丝块(菌饼)接种在已标记好 PDA 平板培养基的标点上,于 28 ℃ 恒温箱中培养 5 d 后观察。依据对峙菌落之间有无抑菌带、菌丝有无萎缩畸变等现象来确定它们之间是否有拮抗作用。每组处理 2 个重复,取其平均值记录。  
1.2.3 结果观察与评定 供试 3 种病原菌与内生真菌对峙生长 5 d 后,分别用尺子量取和记录其抑菌带宽度(单位为 mm);每个皿处理测量 3 个

点,最后取其平均值作为抑菌效果的依据。之后,依据抑菌带宽度(T)大小评判抑菌活性,并分为5个级别:“—”代表无抑菌活性,菌丝交叉,T=0;“+”表示有抑菌活性,0<T<1 mm;“++”表示抑菌活性较强,1 mm≤T<2 mm;“+++”表示抑菌活性强,2mm≤T(平均抑菌带宽)<5 mm;“++++”表示抑菌活性极强,T≥5 mm。

## 2 结果与分析

### 2.1 核桃内生菌对玉米小斑病病原菌的抑菌效果

实验结果显示(表2),23种核桃内生菌对玉米小斑病病原菌的抑菌效果不尽相同,其中抑菌活性极强者5属,分别是刺孢壳属、单孢枝霉属、盾壳霉属、茎叶核菌属和小卵孢霉属;抑菌活性强者2属,是大豆茎点霉和粘盘孢属;抑菌活性较强3属,是矮棒曲霉、单梗孢霉属和小核菌属;有抑菌活性者4属或变种,为串珠霉属、交链孢霉属、壳大卵孢霉、烟曲霉原变种;9属或种无抑菌活性,2属受污染,没结果。

### 2.2 核桃内生菌对小麦赤霉病病原菌的抑菌效果

从表2可以看出,23种核桃内生菌对小麦赤霉病病原菌的抑菌效果,抑菌活性极强者1属,为卵孢霉属;抑菌活性强者2属,是棒曲霉、壳大卵孢霉;抑菌活性较强2属,是串珠霉属和单孢枝霉属;有抑菌活性者10属或种,为白地霉、刺孢壳

属、单梗孢霉属、盾壳霉属、交链孢霉属、茎叶核菌属、皮核菌属、柔毛镰刀菌、头孢霉属和小核菌属;8属或种无抑菌活性,2属受污染,没结果。

### 2.3 核桃内生菌对番茄灰霉病病原菌的抑菌效果

表2显示,23种核桃内生菌对番茄灰霉病病原菌的抑菌效果,抑菌活性极强者没有;抑菌活性较强者6属或变种,是矮棒曲霉、单孢枝霉属、壳大卵孢霉、小卵孢霉属、烟曲霉原变种和粘盘孢属;抑菌活性者较强8属或种,为棒曲霉、刺孢壳属、单梗孢霉属、盾壳霉属、核桃黑盘孢菌、头孢霉属、球黑孢霉和茄类镰刀菌;有抑菌活性者4属或种,是核菌属、交链孢霉属、丝核菌属和大豆茎点霉有抑菌活性;无抑菌活性5属或种,2属受污染,没结果。

### 2.4 核桃内生菌初步的筛选

试验的23种核桃内生真菌中,小卵孢霉对玉米小斑病、小麦赤霉病和蕃茄灰霉病病原菌的抑菌活性都极强;单孢枝霉对该3种病原菌的抑菌活性强;壳大卵孢霉对小麦赤霉病和蕃茄灰霉病病原菌有强的抑菌活性;粘盘孢属玉米小斑病和蕃茄灰霉病病原菌有强的抑菌活性。所以,核桃内生真菌小卵孢霉可以初步作为防治玉米小斑、小麦赤霉、番茄灰霉生物源农药的首选菌种,其次是单孢枝霉。壳大卵孢霉、粘盘孢属也可以作为防治玉米褐斑病、蕃茄灰霉病、小麦赤霉病的病原菌的初步优选菌。

表2 活性菌株统计

| 序号 | 名称     | 番茄灰霉 | 小麦赤霉 | 玉米小斑 | 序号 | 名称     | 番茄灰霉 | 小麦赤霉 | 玉米小斑 |
|----|--------|------|------|------|----|--------|------|------|------|
| 1  | 矮棒曲霉   | +++  | —    | ++   | 13 | 壳大卵孢霉  | +++  | +++  | +    |
| 2  | 白地霉    | —    | +    | —    | 14 | 皮核菌属   | —    | +    | —    |
| 3  | 棒曲霉    | ++   | +++  | —    | 15 | 茄类镰刀菌  | ++   | —    | —    |
| 4  | 串珠霉属   | —    | ++   | +    | 16 | 球黑孢霉   | ++   | —    | —    |
| 5  | 刺孢壳属   | ++   | +    | ++++ | 17 | 柔毛镰刀菌  | —    | +    | —    |
| 6  | 大豆茎点霉  | +    | —    | +++  | 18 | 丝核菌属   | +    | —    | —    |
| 7  | 单孢枝霉属  | +++  | ++   | ++++ | 19 | 头孢霉属   | ++   | +    | —    |
| 8  | 单梗孢霉属  | ++   | +    | ++   | 20 | 小核菌属   | +    | +    | ++   |
| 9  | 盾壳霉属   | ++   | +    | ++++ | 21 | 小卵孢霉属  | +++  | ++++ | ++++ |
| 10 | 核桃黑盘孢菌 | ++   | —    | —    | 22 | 烟曲霉原变种 | +++  | —    | +    |
| 11 | 交链孢霉属  | +    | +    | +    | 23 | 粘盘孢属   | +++  | —    | +++  |
| 12 | 茎叶核菌属  | —    | +    | ++++ |    |        |      |      |      |

## 3 结果与讨论

### 3.1 本实验核桃内生菌抑菌活性对玉米小斑病

病原菌极强5属,对小麦赤霉病病原菌极强者1属,对番茄灰霉病原菌没有极强者;小卵孢霉可以初步作为防治玉米小斑、小麦赤霉、番茄灰霉生物源农药的首选菌种,其次是单孢枝霉,壳大卵

孢霉、粘盘孢属也可以作为防治玉米褐斑病、蕃茄灰霉病、小麦赤霉病的病原菌的初步优选菌。

3.2 本实验利用抑菌带宽度,分级、评判了核桃23种内生菌对3种农作物和蔬菜病原菌的抑菌活性,结论正确,方法简便,克服了以往研究方法偏重定性而定量不足的问题。同时,采取对峙生长法,初步、定性判断菌株是否对被试菌株有抑菌活性,可减少不必要的工作量,节约实验时间。为进一步确定初选优良菌株的抑菌活性,今后可采用菌丝生长速率法<sup>[12]</sup>即以活性内生菌发酵产物对病原菌进行生长抑制实验,以期研究结论更具体、更严谨、更具有说服力。

3.3 本实验核桃内生菌25属或种中,只有23属或种有实验结果,另外2属菌株被污染,没有结果,主要原因是操作不当和灭菌不彻底,今后实验中应加以注意。

#### 参考文献

- [1] 翟梅枝,李晓明,林奇英,等.核桃叶抑菌成分的提取及其抑菌活性[J].西北林学院学报,2003,8(4):89-91.

- [2] 翟梅枝,王磊,何文君,等.核桃青皮乙醇提取物抑菌活性研究[J].西北植物学报,2009,29(12):2542-2547.
- [3] 翟梅枝,杨秀萍,林奇英,等.核桃叶提取物对杨毒蛾生物活性的研究[J].西北林学院学报,2003,18(2):65-67.
- [4] 翟梅枝,张凤云,刘朝斌,等.核桃叶提取物对粘虫和小菜蛾的拒食活性研究[J].西北林学院学报,2005,20(2):138-140.
- [5] 郭良栋.内生真菌研究进展[J].菌物系统,2001,20(1):148-152.
- [6] 李桂玲,王建峰,黄耀坚,等.几种药用植物内生真菌抗真菌活性的初步研究[J].微生物学通报,2001,28(6):64-68.
- [7] 刘丽莉,吕国忠,孙晓东.林木内生真菌研究进展[J].菌物研究,2006,4(2):54-59.
- [8] 杨润亚,冯培勇,李清.植物内生真菌农药活性的研究进展[J].农药,2006,45(7):440-444.
- [9] 任安芝,高玉葆.禾草类内生真菌的研究进展[J].微生物学通报,2004,31(2):130-133.
- [10] 袁秀英,白红霞,白玉明,等.杨树内生真菌的分离和拮抗生防菌的筛选[J].林业科学研究,2006,19(6):713-717.
- [11] 李桂玲,王建峰,黄耀坚,等.几种药用植物内生真菌抗真菌活性的初步研究[J].微生物学通报,2001,28(6):20-43.
- [12] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验(第三版)[M].北京:高等教育出版社,1999.

(上接第45页)

#### 2.4 不同处理对幼苗生长的影响

调查显示,开阔地段平均苗高54 cm、地径5.0 mm,最大苗高95 cm、地径6.5 mm;遮阴地段平均苗高16.5 cm、地径2.6 mm;最大苗高25 cm、地径4.5 mm;两种环境条件下,苗木的生长差别很大。作为阳性树种的毛叶木瓜,即使在小苗期,也不需要遮阴措施,否则,会影响幼苗的正常生长。

### 3 结论

毛叶木瓜播种育苗,不同试验地,不同覆盖措

施,出苗期、出苗率不同。两地块都以覆土+覆地膜出苗期早,出苗迅速。覆土+覆锯末、覆土+覆地膜均比单纯覆土出苗率高。遮阴地段,以覆土+覆锯末的出苗率最高,开阔地段,以覆土+覆遮阴地膜的出苗率高。播种密度以每50粒效果最好,出苗率可达85.3%。

#### 参考文献

- [1] 牛春山.陕西树木志[M].北京:中国林业出版社,1990.

# 核桃内生真菌对几种致病菌的拮抗试验研究

作者: 赵姝荣, 高智辉, 王云果

作者单位: 赵姝荣(咸阳市职业技术学院, 陕西咸阳, 712000), 高智辉, 王云果(西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌, 712100)

刊名: 陕西林业科技

英文刊名: Shaanxi Forest Science and Technology

年, 卷(期): 2012(6)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_sxlykj201206005.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_sxlykj201206005.aspx)