

七株植物内生放线菌对苹果树 腐烂病的防治作用

郜佐鹏 柯希望 韦洁玲 陈银潮 康振生 黄丽丽*

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

摘要: 通过分生孢子萌发试验、菌丝抑制试验、接种离体枝条试验及田间病斑涂抹药剂防治试验, 研究了7株植物内生放线菌对苹果树腐烂病的防治效果。结果表明, 7株植物内生放线菌无菌发酵滤液对病原菌分生孢子萌发及菌丝生长均有明显的抑制作用, 2倍稀释液对孢子萌发抑制率均达85%以上, 20倍稀释液对菌丝生长抑制率均达80%以上。显微观察发现, Hhs. 015 (BAR1-5)菌株无菌发酵滤液可导致病菌芽管、菌丝畸形。在人工接种条件下, 无菌发酵滤液原液对离体枝条病斑扩展具有明显的抑制作用, 其中 AR1-14、Hhs. 015 (BAR1-5) 和 TGYXCSA-7 处理5天后防治效果分别达83.2%、69.7%和85.6%。田间刮除病斑后涂抹放线菌发酵原液也可明显抑制病斑复发, 防效均达80%以上。

关键词: 植物内生放线菌; 孢子萌发率; 病斑面积; 苹果树腐烂病菌

Biocontrol efficacy of apple tree valsa canker by endophytic actinomycetes

Gao Zuopeng Ke Xiwang Wei Jieling Chen Yinchao Kang Zhensheng Huang Lili*

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

Abstract: The effect and control efficacy of 7 strains of endophytic actinomycetes on *Valsa ceratosperma*, the pathogen of apple tree valsa canker, were tested by conidial germination, mycelial growth as well as twigs lesion control in excised twigs and in field trial. The inhibition rates of 7 strains of endophytic actinomycetes on conidia germination were more than 85% after treated with 2 times dilution of cell-free fermentation liquid. The inhibition rates on mycelial growth were more than 80% after treated with 20 times dilution of cell-free fermentation liquid. It was found that the germ tubes and mycelium of *V. ceratosperma* exhibited obvious malformation after treated with the cell-free fermentation liquid of Hhs. 015 (BAR1-5) strain. After spreading the wound with the cell-free fermentation liquid of the 7 stains of endophytic actinomycetes and inoculating the mycelia cake on excised twigs, development of lesions were inhibited remarkably 5 d later. The control efficiency of AR1-14, Hhs. 015 and TGYXCSA-7 were 83.2%, 69.7% and 85.6%, respectively. In the field trails, the control efficiency in lesion recrudescence were more than 80% after spreading the fermentation liquids of actinomycete strains on the wounds.

Key words: endophytic actinomycetes; conidial germination rate; lesion size; *Valsa ceratosperma*

基金项目: 国家自然科学基金(30771396), 现代农业产业技术体系(苹果), 公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-055), 高等学校学科创新引智计划资助项目(B07049)

作者简介: 郜佐鹏, 男, 1981年生, 硕士研究生, 研究方向为植物病害生物防治, email: gaozuopeng1234@163.com

* 通讯作者(Author for correspondence), email: huanglili@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2009-04-14

陕西省是我国苹果优生区之一,苹果种植面积占全国总种植面积的近 1/3,占世界总种植面积的 1/7^[1]。苹果树腐烂病(apple tree valsa canker)在我国苹果产区普遍发生,可危害苹果树的主枝、主干和果实等部位,轻者造成主枝、主干枯死,重者全株枯死,甚至全园毁灭,已成为影响苹果生产及其产业发展的主要制约因素之一^[2]。2007 年陕西渭北地区盛果期苹果树腐烂病发生严重,该地区 13 年生红富士苹果树腐烂病病株率平均达 56.14%^[3]。目前,生产上在禁用福美砒后还没有可替代的高效化学药剂,作者等前期的研究表明,戊唑醇和苯醚甲环唑能有效抑制苹果树腐烂病菌孢子萌发和菌丝生长。生物农药具有无毒、无害、无污染、不易导致抗药性产生等优点,不仅符合人们对绿色食品的需求,而且为农业可持续发展提供了保障^[4]。利用植物内生放线菌防治植物病害是农药研究的一个新领域,也是有机农业生产过程中病害的主要控制措施。迄今为止,利用植物内生放线菌及其代谢产物防治苹果树腐烂病的报道很少。马晓东等^[5]和佟树敏等^[6]研究表明,瑞拉菌素和 0.6% 苦·小檗碱等能有效抑制苹果树腐烂病菌菌丝生长。因此,寻求对环境友好且高效的防治药剂已成为亟待解决的问题。作者等在前期研究中发现,蔬菜和药材等植物的内生放线菌能有效抑制多种植物病原菌菌丝生长,特别是对苹果树腐烂病菌有明显的抑制作用。本研究采用孢子萌发法、抑制菌丝生长法、离体枝条接种法,并结合田间试验,研究 7 株活性菌株对苹果树腐烂病的防治效果。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物内生放线菌:AR1-14、TCNBA-13 和 Hhs.015 (BAR1-5) 分别分离于黄瓜根部,GCLA-4 分离于黄瓜叶部,GPLA-9 分离于辣椒叶部,TGYXC-SA-1 和 TGYXC-SA-7 分离于牛腥草茎部,均由西北农林科技大学植物保护学院植物病害综合防治实验室提供,按常规方法在黄豆粉固体培养基上保存、繁殖。7 株放线菌内生性已经被证实,且经过初步验证对苹果树腐烂病菌有明显的抑制作用。

供试靶标菌:苹果树腐烂病菌 *Valsa mali* 03-8 分离株,采自陕西省乾县,由西北农林科技大学植物保护学院植物病害综合防治实验室分离获得,按常规方法在 PDA 培养基上繁殖保存。

供试药剂:25% 戊唑醇(tebuconazole)WP,江苏省盐城市双宁农化有限公司生产;10% 苯醚甲环唑(difenoconazole)WP,先正达(苏州)作物保护有限公司生产。

主要培养基:PDA 培养基、1% 糖琼脂培养基(蔗糖 20 g、琼脂 10 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 7.0~7.2)、黄豆粉培养液(黄豆粉 20 g、淀粉 5 g、蔗糖 10 g、酵母粉 2 g、蛋白胨 2 g、NaCl 2 g、CaCO₃ 1 g、MgSO₄·7H₂O 0.105 g、K₂HPO₄ 0.105 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 7.2~7.4),黄豆粉固体培养基配方同液体培养基,但添加 10 g 琼脂。

1.2 方法

1.2.1 植物内生放线菌菌株活性检测及其无菌发酵滤液的制备

采用琼脂块皿内对峙法^[7],分别取在黄豆粉培养基平板上暗培养 5 天的植物内生放线菌菌饼(直径 5 mm)接种于 PDA 平板中心,并将暗培养 3 天的苹果树腐烂病菌菌落边缘菌饼(直径 5 mm)对称接种在距中心 2 cm 处,重复 3 皿,以不接植物内生放线菌只接靶标菌为对照。25 ± 1 °C 暗培养 4 天后测量抑菌圈大小,同时挑取边缘菌丝在显微镜下观察形态变化。

将活化 5 天的植物内生放线菌菌饼(直径 7 mm)接入黄豆粉培养液暗培养 48 h 后即为种子液,之后按 10% 的接种量转接到黄豆粉培养液中,28 ± 1 °C、150 r/min 振荡,黑暗培养 5 天后 10 000 r/min 离心 30 min,取上清液经细菌过滤器过滤后即无菌发酵滤液原液,并将其涂抹在黄豆粉培养基平板上验证是否无菌。将原液用无菌水稀释得到不同梯度的稀释液作为供试药液。

1.2.2 孢子萌发试验

采用玻片法^[7],将田间采集带有成熟苹果树腐烂病菌分生孢子器的病枝条保湿培养,待其产生分生孢子角后,挑取分生孢子角于 2% 葡萄糖溶液中,并用血球计数板在光学显微镜 10 × 40 倍下观察统计并调整孢子浓度至 1 × 10⁶ ~ 9 × 10⁶ 个/mL 为母液备用。将母液与植物内生放线菌无菌发酵滤液原液、5 倍稀释液、10 倍稀释液按 1:1 的比例(体积比)混匀,即得无菌发酵滤液 2、10 和 20 倍稀释液,母液与无菌水 1:1 (体积比)混匀为对照。吸取 25 μL 制备好的稀释液涂抹在置于灭菌载玻片上的 1 cm² 1% 糖琼脂培养基上,25 °C 暗培养 24 h 后镜检,每玻片观察 5 个视野,观察孢子萌发情况,统计萌发

率并计算抑制率。

抑制率(%) = [(对照萌发率 - 处理萌发率) / 对照萌发率] × 100

1.2.3 菌丝生长试验

参照杯碟法^[7],将灭菌的牛津杯置于PDA平板中央,杯中加入0.2 mL无菌发酵滤液原液,离牛津杯中央2 cm处对称接种暗培养3天的直径为5 mm的苹果树腐烂病菌菌饼,重复3皿,以牛津杯中加无菌水为对照。25 ± 1 °C暗培养4天后测量抑菌圈大小。

采用摇培法,在250 mL三角瓶中装入100 mL PD培养液,灭菌冷却后分别加入0.1、0.5、1.0和5.0 mL的植物内生放线菌无菌发酵滤液原液,使无菌发酵滤液原液分别稀释1 000、200、100和20倍,然后接种培养3天的直径为7 mm的苹果树腐烂病菌菌饼,每处理重复3次,以不加发酵滤液为对照。25 °C、120 r/min振荡暗培养4天后抽滤并将菌丝80 °C烘干,称重,计算抑制率。

抑制率(%) = [(对照菌丝干重 - 处理菌丝干重) / 对照菌丝干重] × 100

1.2.4 离体枝条接种试验

采用烫伤接种法^[8]:采集田间2~3年生矮化红富士品种枝条,剪取15 cm长、粗细一致的枝段,75%乙醇溶液消毒10 min后用无菌水冲洗3次,两头封蜡。用7 mm钉头烫伤后涂抹植物内生放线菌无菌发酵滤液原液,静置2 h后接种培养3天的苹果树腐烂病菌菌饼(直径7 mm),每处理重复5个枝条,以不涂抹无菌发酵滤液只接种菌饼的枝条为对照。25 °C黑暗保湿培养,5天和10天后分别测量病斑大小,按照椭圆面积公式计算病斑面积和防治效果。 $S = \pi \times a \times b$,其中 S , π , a , b 分别表示椭圆面积、圆周率、椭圆的长半轴和短半轴的长。

防治效果(%) = [1 - (处理病斑面积 - 菌饼面积) / (对照病斑面积 - 菌饼面积)] × 100

1.2.5 田间刮除病斑防治试验

试验于陕西省杨凌区东卜村进行,共设10个处理,分别为:7种植物内生放线菌发酵液原液、0.2 g/L苯醚甲环唑、0.5 g/L戊唑醇,无菌水为空白对照。施药前将病斑部位及其周边2 cm处的健康部位用刀立刮,刮至韧皮部,周围露出健康组织,然后用毛刷将搅拌均匀的药剂涂抹于伤口处及周围3 cm范围内的健康树皮上。每处理重复15块病斑,2007

年12月19—20日刮除病斑,测量病斑长度和宽度后涂抹药剂,2008年3月10日进行第2次药剂涂抹,6月10日、9月10日、12月10日分别调查病斑复发情况,计算防效。处理间的差异显著性分析采用Duncan氏新复极差检测法。

防治效果(%) = [(对照复发率 - 处理复发率) / 对照复发率] × 100

2 结果与分析

2.1 植物内生放线菌对病原菌分生孢子萌发的抑制作用

前期的预试验发现,7株植物内生放线菌发酵原液中病原菌孢子完全被抑制,抑制率为100%。稀释后的7株植物内生放线菌无菌发酵滤液均能有效抑制苹果树腐烂病菌分生孢子的萌发,稀释2倍时,抑制率均达85%以上,且不同内生放线菌之间无显著性差异;但稀释10、20倍时,对孢子萌发抑制效果不断降低,且菌株之间显示出明显的差异(表1)。

显微观察结果表明,对照的苹果树腐烂病菌分生孢子萌发时芽管粗细均匀,表面光滑,有或无分支(图1-a);而经Hhs. 015 (BAR1-5)菌株无菌发酵滤液处理后,分生孢子萌发的芽管明显畸形,表现为芽管粗细不均匀、顶端膨大等(图1-b)。

2.2 对病原菌菌丝生长的抑制作用

结果表明,7株植物内生放线菌活菌体及无菌发酵滤液原液对苹果树腐烂病菌菌丝生长均有明显的抑制作用,但不同菌株之间抑菌效果差异很大。AR1-14、Hhs. 015 (BAR1-5)、GCLA-4、GPLA-9、TGNBA-13、TGYXCSA-1和TGYXCSA-7活菌体在皿内对峙时平均抑菌圈直径分别为21.6、23.6、16.9、19.7、17.6、20.4和16.4 mm,无菌发酵滤液的平均抑菌圈直径分别为16.0、18.5、13.4、11.7、13.9、15.6和14.4 mm。

经液体培养后,7株植物内生放线菌无菌发酵滤液在稀释200倍范围内对苹果树腐烂病菌菌丝生长均有一定的抑制作用,但不同菌株之间差异很大。菌株Hhs. 015 (BAR1-5)和GPLA-9的抑菌效果在各稀释度均显著高于其它菌株。稀释200倍时,菌株AR1-14、GPLA-9、Hhs. 015 (BAR1-5)和TGNBA-13的抑制率均达50%,而菌株GCLA-4、TGYXCSA-1和TGYXCSA-7的抑制率较低(表2)。

表 1 7 株植物内生放线菌对苹果树腐烂病菌分生孢子萌发的影响
Table 1 Inhibitory effect of cell-free fermentation liquid of 7 endophytic actinomycetes
on conidial germination of *Valsa ceratosperma*

放线菌株	稀释倍数	萌发率 (%)	抑制率 (%)	放线菌株	稀释倍数	萌发率 (%)	抑制率 (%)
Endophytic	Dilution	Germination	Inhibition	Endophytic	Dilution	Germination	Inhibition
actinomycete strain	time	rate	rate	actinomycete strain	time	rate	rate
AR1-14	2	14.1	85.4 b	TGNBA-13	2	10.5	89.1 ab
	10	79.2	18.0 c		10	27.7	71.3 a
	20	94.7	2.1 c		20	87.8	9.2 ab
GCLA-4	2	11.6	88.0 ab	TGYXCSA-1	2	9.9	89.7 ab
	10	23.8	75.4 a		10	23.1	76.1 a
	20	84.1	13.0 a		20	89.2	7.8 bc
GPLA-9	2	12.5	87.0 ab	TGYXCSA-7	2	10.3	89.3 ab
	10	26.9	72.2 a		10	52.0	46.2 b
	20	89.9	7.0 bc		20	83.3	13.8 a
Hhs.015 (BAR1-5)	2	7.4	92.3 a	CK		96.7	
	10	22.6	76.6 a				
	20	83.2	13.9 a				

注:表中数据均为 5 次重复的平均值。相同小写字母表示差异不显著 (Duncan 氏新复极差检测, $P=0.05$)。Note: Data in the table were means of 5 replicates. The same letters showed no difference between different strains in the same dilution (Duncan's multiple range test, $P=0.05$).

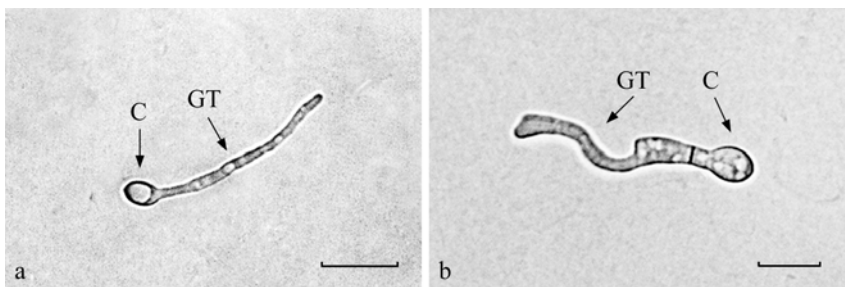


图 1 植物内生放线菌菌株 Hhs.015 无菌发酵滤液对苹果树腐烂病菌分生孢子萌发的影响
Fig. 1 Inhibiting effect of endophytic actinomycete strain Hhs.015 (BAR1-5)
on conidial germination of *Valsa ceratosperma*

注: a; 25℃暗培养 24 h 时分生孢子萌发情况; b; 分生孢子经 Hhs.015 (BAR1-5) 菌株无菌发酵滤液 2 倍稀释液处理后培养 24 h 时分生孢子萌发情况。C: 分生孢子, GT: 芽管。标尺 = 10 μm。Note: a; Conidial germination of *V. ceratosperma* 24 h after incubation at 25℃ in dark; b; conidial germination of *V. ceratosperma* was inhibited and showed malformation of germ tubes 24 h after incubation in 2 times dilution of cell-free fermentation liquid of strain Hhs.015 (BAR1-5) at 25℃ in dark. C: Conidia, GT: germ tube. Bars = 10 μm.

显微镜观察发现, PDA 培养基上正常生长的苹果树腐烂病菌菌丝纤细、表面光滑、粗细均匀、顶端略尖细 (图 2 - a), 而经 Hhs.015 (BAR1-5) 无菌发酵滤液原液处理后, 病原菌菌丝明显畸形, 表现为菌丝分支增多、不规则弯曲、顶端钝圆、菌丝原生质体外溢 (图 2 - b)。

2.3 对离体枝条病斑扩展的影响

7 株植物内生放线菌无菌发酵滤液原液涂抹烫伤后的苹果枝条, 再接种苹果树腐烂病菌, 对病斑的扩展有明显的抑制效果。处理 5 天后的调查结果显

示, 各菌株无菌发酵滤液均有一定程度的防病效果, 病斑面积和病斑长度显著小于无菌水对照, 其中, AR1-14、Hhs.015 (BAR1-5) 和 TGYXCSA-7 菌株防治效果明显高于其它菌株, 但明显低于化学药剂戊唑醇和苯醚甲环唑。处理 10 天后的结果与 5 天时相似, TGYXCSA-7、AR1-14 和 Hhs.015 (BAR1-5) 的防治效果相对较好 (表 3)。

2.4 对田间刮除病斑的保护效果

调查结果显示, 果园中刮除苹果树腐烂病病斑后涂抹植物内生放线菌发酵原液, 可以有效抑制病

表 2 7 株植物内生放线菌对苹果树腐烂病菌菌丝生长的影响

Table 2 Inhibitory effect of cell-free fermentation liquid of 7 endophytic actinomycetes on mycelial growth of *Valsa ceratosperma*

放线菌株 Endophytic actinomycete strain	稀释倍数 Dilution time	菌丝干重(mg) Mycelia dry weight	抑制率(%) Inhibition rate	放线菌株 Endophytic actinomycete strain	稀释倍数 Dilution time	菌丝干重(mg) Mycelia dry weight	抑制率(%) Inhibition rate
AR1-14	20	38	86.8 bc	TGNBA-13	20	33	88.3 bc
	100	85	70.2 c		100	70	75.4 b
	200	120	57.9 a		200	117	58.9 a
	1 000	254	10.9 d		1 000	256	10.2 d
GCLA-4	20	41	85.6 cd	TGYXCSA-1	20	53	81.5 e
	100	100	64.9 d		100	113	60.4 e
	200	166	41.8 c		200	175	38.5 c
	1 000	251	11.9 d		1 000	245	14.0 d
GPLA-9	20	28	90.2 ab	TGYXCSA-7	20	48	83.2 de
	100	64	77.5 b		100	96	66.3 cd
	200	121	57.5 a		200	145	49.1 b
	1 000	158	44.6 a		1 000	215	25.6 c
Hhs. 015 (BAR1-5)	20	19	93.4 a	CK		285	
	100	48	83.2 a				
	200	125	56.2 a				
	1 000	182	36.1 b				

注:表中数据为3次重复的平均值。相同小写字母表示差异不显著(Duncan氏新复极差检测, $P=0.05$)。Note: Data in the table were means of 3 replicates. The same letters showed no difference between different strains in the same dilution (Duncan's multiple range test, $P=0.05$).

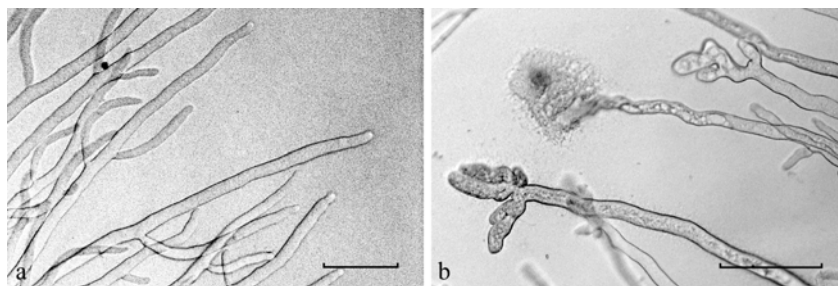


图 2 植物内生放线菌菌株 Hhs. 015 无菌发酵滤液对苹果树腐烂病菌菌丝生长的影响

Fig. 2 Inhibiting effect of endophytic actinomycete strain Hhs. 015 (BAR1-5) on mycelial growth of *Valsa ceratosperma*

注:a:苹果树腐烂病菌在PDA平板上25℃暗培养24h时的生长情况;b:苹果树腐烂病菌与Hhs. 015菌株皿内对峙暗培养24h(25℃)时的菌丝形态。标尺=50 μm。Note: a: Mycelia of *V. ceratosperma* grown on PDA at 25℃ in dark for 24 h; b: mycelia of *Valsa ceratosperma* grown on PDA inhibited by Hhs. 015 (BAR1-5) at 25℃ in dark for 24 h showed malformation. Bars = 50 μm.

斑复发。各处理刮治病斑15块,对照处理的病斑复发13块,复发率为86.7%;植物内生放线菌AR1-14、Hhs. 015 (BAR1-5)、GPLA-9、TGNBA-13、TGYXCSA-7发酵原液及杀菌剂戊唑醇、苯醚甲环唑处理后90、180和270天,防治效果均达100%,另外,GCLA-4和TGYXCSA-1处理分别有2块和1块病斑复发,相对复发率为13.4%和6.7%,说明植物内生放线菌及其代谢产物可以作为生防制剂应用于苹果树腐烂病的防治。

3 讨论

目前苹果树腐烂病尚无有效防治方法,因此,急需开发筛选出高效的药剂。本研究使用的戊唑醇和苯醚甲环唑均属三唑类杀菌剂,其主要作用是抑制真菌麦角甾醇的合成。迟福梅等^[9]和曲健禄等^[10]研究表明,戊唑醇和苯醚甲环唑能有效防治苹果树轮纹病、苹果斑点落叶病等。本研究结果表明,戊唑醇和苯醚甲环唑对人工接种离体枝条和果园树

表 3 植物内生放线菌无菌发酵滤液在离体枝条上对苹果树腐烂病的防治效果
Table 3 Control effect of fermentation supernatant of endophytic actinomycetes on excised
twigs inoculated with *Valsa ceratosperma*

处理 Treatment	浓度(g/L) Concentration	病斑长度(cm) Average lesion length		病斑面积(cm ²) Average lesion size		防治效果(%) Control effect	
		涂药后 5 d 5 d after treatment	涂药后 10 d 10 d after treatment	涂药后 5 d 5 d after treatment	涂药后 10 d 10 d after treatment	涂药后 5 d 5 d after treatment	涂药后 10 d 10 d after treatment
AR1-14	原液 Fermentation supernatant	1.50 cd	4.48 bc	1.18	10.73	83.2 b	51.5 b
GCLA-4	原液 Fermentation supernatant	2.97 ab	7.54 b	5.44	16.90	22.9 e	23.6 d
GPLA-9	原液 Fermentation supernatant	2.57 b	6.86 bc	4.55	15.34	35.6 d	30.7 cd
Hhs.015 (BAR1-5)	原液 Fermentation supernatant	1.83 c	5.72 c	2.14	13.88	69.7 bc	37.3 bc
TGNBA-13	原液 Fermentation supernatant	2.40 bc	7.07 b	3.04	17.68	52.1 c	20.1 d
TGYXCSA-1	原液 Fermentation supernatant	3.40 ab	7.19 b	5.34	14.84	24.4 e	32.9 c
TGYXCSA-7	原液 Fermentation supernatant	1.50 cd	4.36 d	1.02	10.27	85.6 b	53.6 b
戊唑醇 Tebuconazole	0.2	1.19 d	1.22 e	0.39	0.41	94.5 a	98.0 a
苯醚甲环唑 Difenoconazole	0.5	1.20 d	2.11 e	0.62	2.65	91.2 ab	88.0 a
CK		3.36 a	8.94 a	7.06	22.13	—	—

注:表中数据均为 5 次重复的平均值。同列内相同字母表示差异不显著(Duncan 氏新复极差检测, $P=0.05$)。防治效果由病斑面积计算得出。Note: Data in the table were means of 5 replicates. Data in the same column followed by the same letters are not significantly different(Duncan's multiple range test, $P=0.05$). The control effect was calculated based on the average lesion size.

干病斑的扩展均具有显著的防治效果,两者可以作为苹果树腐烂病田间防治的药剂推广使用。

近年来国内外学者在苹果树腐烂病等枝干病害的生物防治方面进行了大量研究,主要包括以下几个方面:①植物源活性物质,如邻烯丙基苯酚、骆驼蓬醇提取物^[11-12];②微生物及其次生代谢产物,如螺旋毛壳 ND35 β -1-3 葡聚糖酶、1.2% 瑞拉菌素^[13];③植物内生菌及其次生代谢产物,如杜仲和无花果^[14-15]内生真菌。以上研究初步探索了苹果树腐烂病的生物防治,但目前均停留在实验室阶段,未能在田间得到证实。植物内生放线菌可以产生抗生素、水解酶、生物碱、生长调节剂^[16-17]等,能够与植物病原菌竞争营养物质,诱导植物产生抗性,在植物的健康生长发育过程中起重要作用,是一种重要的潜在生物防治因子。

本研究结果表明,无菌发酵滤液能显著抑制病原菌分生孢子萌发和菌丝生长,说明 7 株植物内生

放线菌在发酵过程中能够产生抑制苹果树腐烂病菌分生孢子萌发和菌丝生长的活性物质。申哲等^[18]鉴定菌株 GCLA-4 属于淡紫灰链霉菌,对 G⁺ 和 G⁻ 细菌及多种病原真菌抑制效果明显,该菌株发酵后的粗提物 100 倍稀释液对猕猴桃溃疡病田间防治的相对防效达 64.9%;姚敏等^[19]报道菌株 Hhs.015 (BAR1-5)对番茄叶霉病菌等多种病原真菌抑制作用明显。本研究还发现该菌株活性稳定,繁殖 10 代后仍能持续有效地抑制苹果树腐烂病菌孢子萌发和菌丝生长。在田间试验中,刮除病斑后涂抹植物内生放线菌发酵原液能够有效抑制病斑复发,这可能是由于发酵原液中的植物内生放线菌活菌能够在苹果树病斑上定殖,并持续产生次生代谢产物,有效抑制了苹果树腐烂病菌的生长^[20]。因此,有必要对菌株 Hhs.015 (BAR1-5) 和 GCLA-4 作进一步研究,将其开发成为新型生防制剂。

本研究仅对植物内生放线菌防治苹果树腐烂病

的效果进行了初步探索,有关植物内生放线菌活菌体的应用、抑菌物质的提取、理化性状、抑菌机制等,还有待于进一步研究。

参 考 文 献(References)

- [1] 郑春. 陕西苹果业可持续发展现状、问题及其策略研究. 经济师, 2008, 4: 256-257
- [2] 王旭丽, 臧睿, 王磊, 等. 苹果树上 *Valsa malicola* 的发现及其致病性研究. 林业科学, 2007, 43(9): 23-26
- [3] 马志峰, 王荣花, 刘文国, 等. 陕西渭北地区盛果期苹果树腐烂病调查研究. 北方园艺, 2007(10): 210-212
- [4] 梁建根, 竺利红, 吴吉安, 等. 生防菌株 B-3 对辣椒枯萎病的防治及其鉴定. 植物保护学报, 2007, 34(5): 529-533
- [5] 马晓东, 卫军锋, 张王斌, 等. 1.2% 瑞拉菌素 EW 对苹果树腐烂病菌的室内毒力测定和田间药效试验. 农药, 2007, 46(2): 138-139
- [6] 佟树敏, 李学静, 杨先芹, 等. 0.6% 苦·小檗碱杀菌水剂研制及在苹果树上的应用. 农业环境保护, 2002, 21(1): 67-69
- [7] 方中达. 植病研究方法. 北京: 中国农业出版社, 1998: 151-154
- [8] 臧睿, 黄丽丽, 康振生, 等. 陕西苹果树腐烂病菌(*Cytospora* spp.) 不同分离株的生物学特性与致病性研究. 植物病理学报, 2007, 37(4): 343-351
- [9] 迟福梅, 周宗山, 吴玉星, 等. 5 种杀菌剂对苹果轮纹病菌的室内毒力测定. 中国果树, 2008, 5: 41-43
- [10] 曲健禄, 李晓军, 张勇, 等. 戊唑醇对苹果斑点落叶病菌及轮纹病菌的毒力和药效评价. 农药学学报, 2007, 9(2): 149-152
- [11] 罗兰, 袁忠林, 孟昭礼. 邻烯丙基苯酚对植物病原真菌抑制机理初探. 农药学学报, 2006, 8(3): 279-282
- [12] 张义英, 王俊儒, 龚月桦, 等. 骆驼蓬醇提取物抑菌活性的初步研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(11): 121-124
- [13] 万慧, 刘晓光, 曹荣花, 等. 螺旋毛壳 ND35 抗生素的产生及其在病害生物防治中的作用. 植物保护学报, 2007, 34(1): 51-56
- [14] 李雅, 宋晓斌, 马养民, 等. 杜仲内生真菌对植物病原真菌的抑菌活性研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(2): 69-73
- [15] 张弘弛, 马养民, 刘瑞, 等. 无花果内生真菌的研究抗植物病原真菌活性的筛选. 西北农业学报, 2007, 16(2): 232-236
- [16] Maurhofer M, Keel C, Haas D, et al. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO with enhanced antibiotic production. Plant Pathology, 1995, 44(1): 40-50
- [17] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W F, et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(10): 895-914
- [18] 申哲, 黄丽丽, 涂璇, 等. 植物内生放线菌活性物质防治猕猴桃溃疡病. 中国生物防治, 2008, 24(4): 329-334
- [19] 姚敏, 涂璇, 黄丽丽, 等. 番茄叶霉病拮抗内生放线菌的筛选及其生防效果初报. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(10): 146-150
- [20] Xin Y F, Shang J J. Bio-control trials of *Chaetomium spirale* ND35 against apple canker. Journal of Forestry Research, 2005, 16(2): 121-124