

三种拮抗菌对苗木立枯病病原菌的影响

周秀华¹, 崔磊², 武术杰¹, 刘菊秋³

(1. 长春大学 生物科学技术学院, 吉林 长春 130012; 2. 哈尔滨工业大学 食品科学与工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150010;

3. 吉林上营森林经营局, 吉林 舒兰 132607)

摘要:采用 PDA 综合培养基对 3 种拮抗菌和 2 种苗木立枯病病原菌进行对峙培养, 研究 3 种拮抗菌对苗木立枯病病原菌的抑制效果。结果表明:绿色木霉(*Trichoderma viride*)、桔绿木霉(*Trichoderma citrinovirideus*)、球毛壳(*Chaetomium globosum*) 3 种拮抗菌对 2 种苗木立枯病病原菌尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)均有抑制作用, 对 *Fusarium oxysporum* 的抑制效果最好的为 *Trichoderma citrinovirideus*, 对 *Fusarium solani* 抑制效果最好的为 *Trichoderma viride*。

关键词:木霉菌; 球毛壳; 尖镰孢菌; 腐皮镰刀菌; 拮抗作用

中图分类号:S 718.87 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)24-0167-03

苗木立枯病是一种世界性病害,在我国各地苗圃中普遍发生。寄主范围广,主要危害红松、樟子松、落叶松、油松、赤松、杉等针叶树苗。针叶树育苗每年不同程度的发病,严重时发病率高达 70%~90%,甚至造成绝产^[1]。危害松、杉苗的病原菌主要是尖镰孢(*Fusarium oxysporum* Schl.)、腐皮镰孢(*Fusarium solani* (Mart.) App. et Wollenw.); 茄丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn.); 德巴利腐霉(*Pythium deharmanum* Hesse.)、瓜果腐霉(*P. aphanidermatum* (Eds.) Fitz.)^[1]。

目前,苗木立枯病的防治,主要以栽培技术措施为主,在土壤消毒和苗木出土后的管理上还是极大地依赖于化学药剂^[2-5]。由于病原菌抗药性问题导致防治效果极大的下降,并且环境污染、生态系统自然平衡的破坏等诸多弊端也随之而来。

木霉菌(*Trichoderma* spp.)和毛壳菌(*Chaetomium* spp.)是植病学者重点研究的生物防治菌^[6-7]。它们普遍存在于土壤、根围、叶围、种子等生态环境中,具有广泛的适应性及多机制性。该研究拟利用土壤真菌间的拮抗作用,寻找抑制苗木立枯病的生物防治菌种,从而为调节土壤真菌的微生态环境和可持续控制苗木立枯病的发生提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种 苗木立枯病病原菌:2 个菌种,尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)、腐皮镰刀菌(*Fusarium*

solani),由苗圃土壤中分离纯化得到。拮抗菌:3 个菌种,桔绿木霉(*Trichoderma citrinoviride*)、绿色木霉(*Trichoderma viride*)、球毛壳(*Chaetomium globosum*),由苗圃土壤中分离纯化得到。

1.1.2 培养基 PDA 综合培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g, KH_2PO_4 3 g, MgSO_4 1.5 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 自然。

1.1.3 基础培养 将供试菌种在 PDA 综合培养基上培养 3 d,供拮抗培养所用,试验所用培养皿直径均为 90 mm。

1.2 试验方法

1.2.1 拮抗(对峙)培养 在 PDA 平板培养基上,相距 30 mm 分别接入直径 10 mm 的近乎同质等量的苗木立枯病病原菌与拮抗菌菌落,对照则在平板中心各自接入直径 10 mm 的各种真菌菌落,5 次重复,置于生化培养箱中 25℃ 下暗培养。由 16 h 开始,每隔 8 h 采用十字交叉法测量菌落半径,包括:对峙培养的病原菌和拮抗菌的相向半径以及 2 种真菌各自单独培养的半径^[8]。

1.2.2 拮抗效果计算 由于在拮抗菌抑制病原菌的同时,其自身也被病原菌所抑制,因此在计算拮抗效果时,采用相对抑制效果。被抑制率 = (单独培养菌落半径 - 菌落趋向半径) / 单独培养菌落半径 × 100%; 相对抑制效果 = 病原菌被抑制率 / 拮抗菌被抑制率。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌对病原菌尖镰孢菌的抑制作用

由表 1 可知,病原菌的被抑制率总体呈上升趋势,至 72 h 或 96 h 达到最高值,由高到低分别为: *Trichoderma virid* (59.80%), *Trichoderma citrinoviride* (53.30%), *Chaetomium globosum* (45.98%)。拮抗菌的被抑制率明显低于病原菌的被抑制率,尤其是

第一作者简介:周秀华(1978-),女,博士,讲师,现从事植物保护研究工作。E-mail:zhouxiuhua905@yahoo.com.cn。

收稿日期:2011-09-08

Trichoderma citrinoviride 的被抑制率在 16~32 h 之间为负值,说明在此时间段内病原菌促进了其生长。

相对抑制效果由高至低为:*Trichoderma citrinoviride*vs、*Trichoderma viride*、*Chaetomium globosum*,最高值分别达到 18.76、3.66、2.74。*Trichoderma*

*citrinoviride*vs 对病原菌的相对抑制效果在 40 h 达到最高值,而后呈较大幅度下降。*Trichoderma viride* 对病原菌的相对抑制效果在 1.12 和 3.66 间波动,56 h 达到最高值。*Chaetomium globosum* 对病原菌的相对抑制效果在 0.85 和 2.74 间波动,40 h 达到最高值。

表 1

拮抗菌与病原菌尖镰孢菌的拮抗效果

Table 1

The antagonist effect of inhibitory action and pathogens of *Fusarium oxysporum*

对峙培养菌名 Fungal name	培养时间 Culture time/h	被抑制率 Suppressed rate/%	拮抗菌 Strains	病原菌 Pathogens	相对抑制效果 Relative antagonistic effect
<i>Trichoderma citrinoviride</i> vs	16	—11.23	0	—	—
Vs	24	—8.75	—15.43	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	32	—5.67	8.68	—	—
	40	0.89	16.70	18.76	
	48	7.51	33.33	4.44	
	56	16.60	40.09	2.42	
	64	18.05	48.10	2.66	
	72	22.14	53.30	2.41	
<i>Trichoderma viride</i>	16	4.50	0	—	—
Vs	24	11.15	12.50	1.12	
<i>Fusarium oxysporum</i>	32	12.50	15.67	1.25	
	40	10.06	30.08	3.06	
	48	20.08	26.70	1.28	
	56	12.13	44.44	3.66	
	64	33.33	54.50	1.64	
	72	38.09	59.80	1.57	
<i>Chaetomium globosum</i>	16	1.25	0	—	—
Vs	24	2.50	2.12	0.85	
<i>Fusarium oxysporum</i>	32	7.83	16.70	2.13	
	40	11.76	32.25	2.74	
	48	7.41	13.63	1.84	
	56	25.08	21.70	0.87	
	64	22.20	25.96	1.17	
	72	21.15	43.30	2.05	
	80	21.10	25.25	1.20	
	88	25.32	43.30	1.71	
	96	30.44	45.98	1.51	

2.2 拮抗菌对病原菌腐皮镰刀菌的抑制作用

由表 2 可知,病原菌的被抑制率总体呈上升趋势,至 72 h 或 96 h 达到最高值,由高到低分别为:*Trichoderma virid* (62.10%)、*Trichoderma citrinoviride*(58.63%)、*Chaetomium globosum*(52.88%)。拮抗菌的被抑制率明显低于病原菌的被抑制率,尤其是 *Chaetomium globosum* 的被抑制率在 40~48 h 之间为负值,说明在此时间段内病原菌促进了其生长。

相对抑制效果由高至低为:*Trichoderma viride*、*Trichoderma citrinoviride*vs、*Chaetomium globosum*,最高值分别达到 8.22、6.88、4.94。*Trichoderma citrinoviride*vs 对病原菌的相对抑制效果在 24 h 达到最高值,而后呈不断下降趋势。*Trichoderma viride* 对病原菌的相对抑制效果在 1.30 和 8.22 间波动,40 h 达到最高值。*Chaetomium globosum* 对病原菌的相对抑制效果呈先上升后下降趋势,在 32 h 达到最高值。

3 结论与讨论

3 种拮抗菌 *Trichoderma viride*、*Trichoderma*

*citrinoviride*vs、*Chaetomium globosum* 对 2 种苗木立枯病原菌 *Fusarium oxysporum*、*Fusarium solani* 均有抑制作用,对 *Fusarium oxysporum* 抑制效果最好的为 *Trichoderma citrinoviride*vs,对 *Fusarium solani* 抑制效果最好的为 *Trichoderma viride*。2 种木霉以其生长速率优势,能够较先占领营养和生存空间,从而有效抑制了病原菌的扩展。试验所用球毛壳菌相对病原菌虽然不具备较快的生长优势,没有较高的相对抑制效果,但其抑制作用相对持续平稳。

以往在拮抗菌的筛选中,多是以拮抗菌与病原菌对峙培养时产生拮抗线的宽窄作为衡量的标准。但在自然界中,产生明显拮抗线的真菌很难在同一群落中共存,因此,被筛选出的拮抗菌在应用时,收到的效果经常不如室内理想。平板对峙培养用于研究同一生境内不同真菌间的互动,能够较好的反应相互之间的关系^[9]。该研究所用拮抗菌与病原菌生活在相同的环境中,在此条件下筛选得到的拮抗效果明显的菌种将更适合于实际的防治应用。

表 2 拮抗菌与病原菌腐皮镰刀菌的拮抗效果
Table 2 The antagonist effect of inhibitory action and pathogens of *Fusarium solani*

对峙培养菌名 Fungal name	培养时间 Culture time/h	被抑制率 拮抗菌 Strains	Suppressed rate/% 病原菌 Pathogens	相对抑制效果 Relative antagonistic effect
<i>Trichoderma</i>	16	0	1.36	—
<i>citrinovirideus</i>	24	2.66	18.30	6.88
Vs	32	7.05	27.70	3.93
<i>Fusarium</i>	40	11.30	37.44	3.13
<i>solani</i>	48	18.16	35.06	1.93
	56	23.25	40.00	1.72
	64	24.10	47.55	1.97
	72	27.69	58.63	2.12
<i>Trichoderma viride</i>	16	1.58	2.05	1.30
Vs	24	3.13	18.83	6.02
<i>Fusarium</i>	32	10.06	15.96	1.59
<i>solani</i>	40	4.69	38.57	8.22
	48	12.17	41.06	3.37
	56	8.65	52.12	6.03
	64	21.88	54.25	2.48
	72	30.60	62.10	2.03
<i>Chaetomium</i>	16	0	0	0
<i>globosum</i>	24	6.33	9.15	1.45
Vs	32	1.68	8.30	4.94
<i>Fusarium</i>	40	—2.22	7.57	—
<i>solani</i>	48	—3.14	12.50	—
	56	9.15	19.46	2.13
	64	17.14	25.00	1.46
	72	28.80	32.65	1.13
	80	32.26	39.75	1.23
	88	35.60	45.00	1.26
	96	46.13	52.88	1.15

参考文献

[1] 杜飞,张胜奇,许志远,等. 松苗立枯病的研究与防治[J]. 防护林科技,2006,73(4):119-120.
[2] 郭思琪,王清力. 松苗立枯病的无公害防治技术[J]. 林业科技,2004,29(4):23-24.
[3] 闫法霖,任东,张维维,等. 樟子松播种苗立枯病的防治方法[J]. 辽宁林业科技,2008(2):61-62.
[4] 范竹姗,王晓秋,刘景江. 杀菌剂处理种子对松树幼苗猝倒病的防治试验[J]. 防护林科技,2008,86(5):44-45.
[5] 牟义林,兰晓飏,刘福祥,等. 苗圃松苗立枯病的防治试验[J]. 林业科技,1993,18(5):29-31.

[6] 彭可为,李婵. 木霉菌的生物防治研究进展[J]. 安徽农业科学,2010,38(2):780-782.
[7] 陈利军,史洪中,陈月华. 油菜内生球毛壳菌抑菌作用初步测定[J]. 河南农业科学,2005(7):54-56.
[8] 宋瑞清,周秀华. *Trichoderma* spp. 对樟子松枯梢病原菌的影响[J]. 东北林业大学学报,2004,32(4):29-30.
[9] Mtlrphy E A, Mitchell D. Interactions between *Tricholomopsis rutilans* and *Ectomycorrhizal fungi* in paired culture and in association with seedlings of lodgepole pine and Sitka-spruce[J]. Forest Pathology, 2001,31:331-344.

Effect of Three Strains of *Trichoderma* on the Pathogen of Poplar Leaf Blight

ZHOU Xiu-hua¹, CUI Lei², WU Shu-jie¹, LIU Ju-qiu³

(1. College of Bio-Scientific and Technical, Changchun University, Changchun, Jilin 130012; 2. School of Food Science and Engineering, Harbin Insititute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150010; 3. Shangying Forest Management Bureau of Jilin Province, Shulan, Jilin 132607)

Abstract: 3 strains of antagonistic fungus and 2 pathogens of seedling damping-off were antagonistic cultured by PDA medium, the suppressed rate and the relative antagonistic effect were counted. The results showed that *Trichoderma viride*, *Trichoderma citrinovirideus* and *Chaetomium globosum* had antagonistic effect on *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. *Trichoderma citrinovirideus* had the best antagonistic effect on *Fusarium oxysporum*. *Trichoderma viride* had the best antagonistic effect on *Fusarium solani*.

Key words: *Trichoderma* spp. ; *Chaetomium globosum* ; *Fusarium oxysporum* ; *Fusarium solani* ; antagonistic effect