

doi:10.11937/bfyy.20170140

## 抗扑海因枇杷内生木霉菌株 PY2 与原始菌株 Y2 生物学特性差异分析

鲁海菊<sup>1</sup>, 董慧婷<sup>1</sup>, 祁建珉<sup>2</sup>, 王传铭<sup>1</sup>, 曾垒钢<sup>3</sup>

(1. 红河学院 生命科学与技术学院, 云南 蒙自 661199; 2. 屏边县茶果站, 云南 屏边 661299;  
3. 屏边县植保植检站, 云南 屏边 661299)

**摘要:**以抗扑海因枇杷内生木霉 PY2 菌株和原始菌株 Y2 为研究对象, 采用菌丝生长速率及血球计数法, 研究了不同培养基、碳氮源、pH、温度和光照对其菌丝生长及产孢的影响, 以期探索二者生物学特性差异。结果表明: 2 个菌株最大的差异在于产孢性状不同, 抗扑海因菌株 PY2 产孢能力明显强于原始菌株 Y2。PY2 菌株菌丝生长最佳条件为 PDA、CDA 或 BDA 培养基, 葡萄糖, 酵母膏, pH 5、6、8、9、10, 温度为 15~28 ℃, 全黑暗或全光照; 其产孢最佳条件为 CDA 培养基, D-果糖, 牛肉膏, pH 3, 25 ℃, 全光照。

**关键词:**木霉; 抗扑海因; 生物学特性

**中图分类号:**S 667.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0001-06

扑海因(iprodione)是一种广谱杀菌剂, 能防治水果、蔬菜等 30 余种农作物病害, 畅销于美国、英国等 20 多个国家<sup>[1]</sup>。木霉(*Trichoderma*)是一种重要的植物病害生防菌, 抗菌谱广、适应性强、作用机制多样<sup>[2]</sup>。木霉防治植物病害的同时, 对植物有促生作用<sup>[3-6]</sup>, 并具有降解纤维素<sup>[7]</sup>、解磷及解钾功能<sup>[8-9]</sup>。可作为防病增产的生物菌肥来开发利用。木霉发挥多大功效往往取决于其定殖能力, 它在土壤中的定殖能力, 通常会受到土壤农药残留因素的限制。因此, 众多学者着手筛选抗化学农药的木霉菌株, 已筛选获得耐多菌灵<sup>[10]</sup>、速克灵<sup>[11-12]</sup>, 能降解敌敌畏<sup>[13]</sup>、毒死蜱和甲胺磷<sup>[14]</sup>等的木霉菌株。鉴于此, 该研究从具有抗枇杷根腐病菌活性的枇杷内生木霉中, 筛选到

1 个抗扑海因菌株 PY2。为弄清此菌株的其它性状是否衰退, 有必要明确其与原始菌株 Y2 的生物学特性差异。该试验测定不同培养基、碳氮源、pH、温度和光照对 PY2 和 Y2 2 个菌株菌丝生长及其产孢的影响, 以期为其工业发酵提供参考依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

##### 1.1.1 供试菌株

木霉 Y2 菌株是从枇杷叶片中采用常规组织分离法<sup>[15]</sup>进行分离纯化获得, PY2 是含扑海因药剂(100 mg · L<sup>-1</sup>)的 PDA 培养基中生长的 Y2 抗药性菌株。置于斜面培养基低温(4 ℃)保存, 现保存于云南省红河学院生命科学与技术学院植物病理教学实验室。

##### 1.1.2 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA): 20% 马铃薯浸汁, 2% 葡萄糖, 水 1 000 mL; 胡萝卜葡萄糖琼脂培养基(CDA): 20% 胡萝卜浸汁, 2% 葡萄糖, 水 1 000 mL; 香蕉葡萄糖琼脂培养基(BDA):

**第一作者简介:**鲁海菊(1978-), 女, 博士, 教授, 现主要从事植物真菌病害及其生物防治等研究工作。E-mail: luhaiju2011@126.com.

**基金项目:**红河学院应用型科学研究重点资助项目(XJY15Z06); 国家自然科学基金资助项目(31660147); 云南省应用基础研究计划资助项目(2016FB066)。

**收稿日期:**2017-03-31

20%香蕉浸汁,2%葡萄糖,水 1 000 mL;查氏培养基(CM):蔗糖 30.00 g、NaNO<sub>2</sub> 2.00 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.00 g、KCl 0.50 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.50 g、水 1 000 mL。

### 1.1.3 供试试剂

碳源(可溶性淀粉、 $\alpha$ -乳糖、麦芽糖、葡萄糖、D-果糖、蔗糖、鼠李糖、甜醇、D-甘露醇)、氮源(硫酸铵、硝酸铵、磷酸二氢铵、酵母膏、牛肉膏、蛋白胨、甘氨酸、尿素)。盐酸、氢氧化钠和扑海因。均购自农贸市场及试剂公司,试剂均为分析纯。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 不同培养基对菌丝生长及其产孢的影响

将 Y2 和 PY2 菌株接种到已灭菌的 PDA 培养基中央,28℃扩大培养 7 d。在培养基同一半径周围用打孔器,取直径为 5 mm 的菌块,同时接种于 PDA、CDA、BDA、CM 4 种培养基平板中央,设 3 次重复,在 28℃下恒温培养 7 d,十字交叉法测定菌落直径,用血球计数板计数产孢量。

### 1.2.2 不同碳源、氮源对菌丝生长及其产孢的影响

以查氏(Czapek's medium)培养基为基础培养基,分别用相等质量分数的碳(可溶性淀粉、 $\alpha$ -乳糖、麦芽糖、葡萄糖、D-果糖、蔗糖、鼠李糖、甜醇、D-甘露醇)和氮(硫酸铵、硝酸铵、磷酸二氢铵、酵母膏、牛肉膏、蛋白胨、甘氨酸、尿素)替换蔗糖和硝酸钠,设不加碳、氮为对照。每个处理 3 次重复,28℃下培养 7 d。十字交叉法测直径,血球计数板计数产孢量。接种及测量方法同 1.2.1<sup>[11]</sup>。

### 1.2.3 不同 pH 对菌丝生长及其产孢的影响

以 PDA 为供试培养基,分别用 0.1%盐酸及 0.1%氢氧化钠溶液将 pH 调至 3、4、5、6、7、8、9、10,之后倒平板,每个处理重复 3 次。接种及测量

方法同 1.2.1<sup>[11]</sup>。

### 1.2.4 不同温度对菌丝生长及其产孢的影响

以 PDA 为供试培养基,接种后分别在 10、15、20、25、28、30、35、40℃下恒温培养,每个处理重复 3 次,接种及测量方法同 1.2.1<sup>[11]</sup>。

### 1.2.5 不同光处理对菌丝生长及其产孢的影响

以 PDA 为供试培养基,接种后分别在光暗交替(12 h 光照 12 h 黑暗)、全黑暗和全光照 3 种光处理下培养,每个处理重复 3 次。接种及测量方法同 1.2.1<sup>[11]</sup>。以上所有配制好的培养基用高压蒸汽灭菌锅 121℃灭菌 25 min。

## 1.3 数据分析

所有试验数据均采用 SPSS 19.0 统计软件 Duncan's 多重比较法进行统计分析,计算处理间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 1 可知,参试菌株在供试的 4 种培养基中均能生长,在 PDA、CDA 和 BDA 3 种培养基中菌落直径差异不显著,CM 培养基上菌落直径与其余 3 种培养基差异极显著,菌落直径最小。针对产孢量而言,原始 Y2 菌株在 4 种培养基中均不产孢,抗扑海因 PY2 菌株在 4 种培养基中,产孢量差异极显著,其中,在 CDA 中产孢量最大,为  $6.13 \times 10^6$  个·mL<sup>-1</sup>,BDA 中产孢量最小,为  $0.38 \times 10^6$  个·mL<sup>-1</sup>,相差近 200 倍。说明抗扑海因 PY2 菌株营养适应性更强,更容易产孢。CDA 培养基最适合 PY2 菌株生长。

表 1 不同培养基对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

Table 1 Effects of medium on growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

培养基 Medium	菌落直径 Colony diameter/mm		产孢量 Sporulation quantity/( $\times 10^6$ 个·mL <sup>-1</sup> )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
马铃薯葡萄糖琼脂培养基 PDA	88.0aA	88.0aA	0.00aA	1.75cC
查氏培养基 CM	44.3bB	45.7bB	0.00aA	3.75bB
胡萝卜葡萄糖琼脂培养基 CDA	88.0aA	88.0aA	0.00aA	6.13aA
香蕉葡萄糖琼脂培养基 BDA	88.0aA	88.0aA	0.00aA	0.38dD

注:经 Duncan's 多重比较,不同小写字母代表在  $P < 0.05$  水平差异显著;不同大写字母代表在  $P < 0.01$  水平差异极显著,下同。

Note: Data with different capital and lowercase letters are significantly different at 0.01 and 0.05 levels, respectively by Duncan's multiple range test. The same below.

2.2 不同碳源对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 2 可知,参试菌株在供试的 9 种碳源中菌落直径差异极显著,其中,原始菌株 Y2 和抗药菌株 PY2 分别以 D-果糖和葡萄糖为碳源时菌落直径最大,分别为 86.5、64.0 mm,均以甜醇为碳源时菌落直径最小,分别为 10.7、12.8 mm。抗药菌株 PY2 比原始菌株 Y2 生长较缓慢。另外,

原始菌株 Y2 在 9 种碳源中均不产孢,抗药菌株 PY2 除在可溶性淀粉、甜醇和 D-甘露醇 3 种碳源中不产孢之外,在其余 6 种碳源中均产孢,且产孢量差异极显著。其中,在 D-果糖中产孢量最大,为  $1.41\times 10^7$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,在麦芽糖中最少,为  $0.13\times 10^7$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,相差 10 余倍。说明抗扑海因菌株 PY2 更容易产孢。葡萄糖最适合 PY2 菌丝生长, D-果糖最适合其产孢。

表 2 不同碳源对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响  
Table 2 Effects of carbon source on the growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

碳源 Carbon source	菌落直径 Colony diameter/mm		产孢量 Sporulation quantity/( $\times 10^7$ 个 $\cdot$ mL $^{-1}$ )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
可溶性淀粉 Starch	59.7eE	42.0fF	0.00bB	0.00gG
$\alpha$ -乳糖 Lactose	75.5cC	48.5cC	0.00bB	0.14eE
麦芽糖 Maltose	85.0bB	53.5bB	0.00bB	0.13fF
葡萄糖 Glucose	74.0dD	64.0aA	0.00bB	0.55cC
D-果糖 Fructose	86.5aA	32.2hH	0.00bB	1.41aA
蔗糖 Sucrose	44.3fF	45.7dD	0.00bB	0.88bB
甜醇 Mitolactol	10.7iJ	12.8jJ	0.00bB	0.00gG
鼠李糖 Rhamnose	34.3gG	37.0gG	0.00bB	0.55cC
D-甘露醇 Mannitol	32.3iI	29.8iI	0.00bB	0.00gG
无碳对照 Carbon free contrast	32.8hH	43.2eE	0.69aA	0.39dD

2.3 不同氮源对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 3 可知,参试菌株在供试的 8 种氮源中,菌落直径与对照差异极显著。其中,原始菌株 Y2 在尿素中不生长,在其余 7 种氮源中均能生长。甘氨酸中菌落直径与其余 6 种氮源差异极显著,菌落直径较小,为 87.0 mm,其余 6 种氮源中菌落直径差异不显著,菌落直径均为 88.0 mm,对照菌落直径为 43.5 mm。抗扑海因菌株 PY2 在硝酸铵中不生长,在其余 7 种氮源中均能生长。在蛋白胨及甘氨酸中菌落直径差异不显著,其余 6 种氮源与蛋白胨和甘氨酸,两两之间菌落直径

差异极显著,其中,在酵母膏中菌落直径最大,为 88.0 mm,在尿素中直径最小,为 50.0 mm。针对产孢量而言,原始菌株 Y2 在牛肉膏中能产孢,为  $0.06\times 10^7$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,在其余氮源中均不产孢。抗扑海因 PY2 菌株在牛肉膏、酵母膏、蛋白胨和甘氨酸 4 种氮源中,均能产孢,且产孢量差异极显著,其中,在甘氨酸中产孢量最少,为  $0.33\times 10^7$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,在牛肉膏中最大,为  $2.65\times 10^7$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,相差近 10 倍。比原始菌株 Y2 多近 100 倍,说明抗扑海因 PY2 菌株更容易产孢。酵母膏最适合 PY2 菌丝生长,牛肉膏最适合其产孢。

表 3 不同氮源对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响  
Table 3 Effects of nitrogen source on growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

氮源 Nitrogen source	菌落直径 Colony diameter/mm		产孢量 Sporulation quantity/( $\times 10^7$ 个 $\cdot$ mL $^{-1}$ )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
牛肉膏 Beef extract	88.0aA	70.0cC	0.06aA	2.65aA
酵母膏 Yeast extract	88.0aA	88.0aA	0.00bB	1.23cC
蛋白胨 Peptone	88.0aA	75.3bB	0.00bB	1.28bB
硝酸铵 Ammonium nitrate	88.0aA	0.0hH	0.00bB	0.00eE
硫酸铵 Ammonium sulfate	88.0aA	52.7eE	0.00bB	0.00eE
磷酸二氢铵 Ammonium phosphate monobasic	88.0aA	54.8dD	0.00bB	0.00eE
甘氨酸 Glycine	87.0bB	75.2bB	0.00bB	0.33dD
尿素 Urea	0.0dD	50.0fF	0.00bB	0.00eE
无氮对照 Nitrogen free contrast	43.5cC	37.7gG	0.00bB	0.00eE

## 2.4 不同 pH 对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 4 可知,原始菌株 Y2 在 pH 3~10 8 种培养基中均能正常生长,菌落直径差异不显著,均为 88.0 mm。抗扑海因 PY2 菌株在培养基 pH 为 5、6、8、9、10 时,菌落直径差异不显著,均为 88.0 mm,pH 为 3、7 时,菌落直径差异也不显著,分别为 87.2、87.3 mm,pH 4 与其余 pH 条件下菌落直径差异极显著,为 86.3 mm,直径最小。说明抗扑海因 PY2 菌株比原始菌株 Y2 对 pH 的适应性较差。针对产孢量而言,原始菌株 Y2 在 pH 3~10 8 种培养基中均不产孢,相反,抗扑海因 PY2 菌株均能产孢,且产孢量差异极显著,其中,pH 3 中产孢量最大,为  $2.80 \times 10^8$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,pH 7 中最小,为  $1.75 \times 10^7$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,相差近 20 余倍。说明抗扑海因 PY2 菌株更容易产孢。pH 5~10 最适合 PY2 菌丝生长,pH 3 最适合产孢。

表 4 pH 对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

Table 4 Effects of pH on growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

pH	菌落直径		产孢量	
	Colony diameter		Sporulation quantity	
	/mm		/( $\times 10^7$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
10	88.0aA	88.0aA	0aA	7.13cC
9	88.0aA	88.0aA	0aA	2.75gG
8	88.0aA	88.0aA	0aA	4.88fF
7	88.0aA	87.3bB	0aA	1.75hH
6	88.0aA	88.0aA	0aA	5.63dD
5	88.0aA	88.0aA	0aA	9.75bB
4	88.0aA	86.3cC	0aA	5.25eE
3	88.0aA	87.2bB	0aA	28.00aA

## 2.5 不同温度对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 5 可知,参试菌株在 10~30 ℃ 菌丝均能生长,其中,10、30 ℃ 时,菌落直径与其余温度差异极显著,10 ℃ 时 Y2 和 PY2 菌株菌落直径最

小,分别为 11.0、9.8 mm。15、20、25、28 ℃ 菌落直径差异不显著,且菌落直径最大,均为 88.0 mm。针对产孢量而言,原始菌株 Y2 在 10~40 ℃ 均不产孢,抗扑海因 PY2 菌株在 20~30 ℃ 均能产孢,且产孢量差异极显著,其中,25 ℃ 产孢量最大,为  $3.78 \times 10^9$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,28 ℃ 产孢量最小,为  $0.16 \times 10^7$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,相差近 300 倍。说明抗扑海因 PY2 菌株更容易产孢。15~28 ℃ 最适合 PY2 菌丝生长,25 ℃ 最适合产孢。

表 5 温度对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

Table 5 Effects of temperature on growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

温度 Temperature /℃	菌落直径		产孢量	
	Colony diameter		Sporulation quantity	
	/mm		/( $\times 10^7$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
40	0.0dD	0.0dD	0aA	0.00eE
35	0.0dD	0.0dD	0aA	0.00eE
30	87.3bB	85.0bB	0aA	0.20cC
28	88.0aA	88.0aA	0aA	0.16dD
25	88.0aA	88.0aA	0aA	37.80aA
20	88.0aA	88.0aA	0aA	0.69bB
15	88.0aA	88.0aA	0aA	0.00eE
10	11.0cC	9.8cC	0aA	0.00eE

## 2.6 不同光处理对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

由表 6 可知,在光暗交替(12 h 光照 12 h 黑暗)、全黑暗和全光照 3 种光处理下,原始菌株 Y2 均不产孢,菌落直径差异不显著,均为 88.0 mm。抗扑海因 PY2 菌株在光暗交替时,菌落直径与其余 2 种处理差异极显著,菌落直径最小,为 85.0 mm。全黑暗和全光照菌丝生长差异不显著,菌落直径最大,为 88.0 mm。针对产孢量而言,全黑暗时不产孢,其余 2 种处理能产孢,且产孢量差异极显著,其中,全光照产孢量最大,为  $47.4 \times 10^8$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,光暗交替为  $0.69 \times 10^8$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ,相差近 100 倍。说明抗扑海因 PY2 菌株更容易产孢。全黑暗或全光照最适合 PY2 菌丝生长,全光照最适合 PY2 产孢。

表 6 不同光处理对 Y2 和 PY2 菌株菌丝生长及产孢的影响

Table 6 Effects of different illumination treatment on growth and sporulation of Y2 and PY2 strains

光处理 Illumination treatment	菌落直径 Colony diameter/mm		产孢量 Sporulation quantity/( $\times 10^8$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	Y2	PY2	Y2	PY2
光暗交替 Alternate light and shade	88.0aA	85.0bB	0aA	0.69bB
全黑暗 Dark	88.0aA	88.0aA	0aA	0.00cC
全光照 Light	88.0aA	88.0aA	0aA	47.40aA

### 3 讨论

近年来,由于大量持续使用化肥和农药,使土壤环境发生了很大变化。施入土壤的木霉受到土壤因子的影响,包括残留农药(多数为有机磷农药)对其的抑制作用。导致木霉菌剂在田间防效不稳定。因此,研究杀菌剂对生防木霉的敏感性,对于生物防治与化学防治相结合,安全可持续控制植物病害具有重要意义。段银芝等<sup>[16]</sup>研究发现吡虫啉、咪唑乙烟酸和咪唑烟酸 3 种农药能促进哈茨木霉菌丝生长及产孢。田连生等<sup>[17]</sup>报道木霉菌剂与多菌灵混配防治灰霉病,有协同增效作用。任凤山等<sup>[18]</sup>发现木霉与几种杀菌剂混配,能增强对苹果轮纹病的防治效果。由于大多数杀菌剂对木霉有抑制作用,因此,化学农药与木霉协同防治植物病害的研究报道不多。

该研究首次筛选获得抗扑海因的枇杷内生木霉 PY2 菌株,发现此菌株与原始菌株 Y2 存在生物学特性差异。前者菌丝生长最佳条件为 PDA、CDA 或 BDA 培养基、葡萄糖、酵母膏, pH 5、6、8、9、10, 15~28℃、全黑暗或全光照;其产孢最佳条件为 CDA 培养基、D-果糖、牛肉膏、pH 3、25℃、全光照。后者菌丝生长最佳条件为 PDA、CDA 或 BDA 培养基、D-果糖、牛肉膏、酵母膏、蛋白胨、硫酸铵、硝酸铵和磷酸二氢铵, pH 3~10, 15~30℃, 光暗交替、全黑暗或全光照。后者除在牛肉膏中产孢外,其余条件均不产孢,二者最大的差别在于产孢能力。抗扑海因菌株 PY2 产孢能力远远强于原始菌株 Y2。说明扑海因能促进耐药性枇杷内生木霉 PY2 菌株产孢,其它生物学性状也未发现明显衰退。因此,此抗药性菌株可与扑海因混配使用,减少化学农药用量,保护农业生态环境,具有广阔的开发应用前景。

### 参考文献

- [1] 孟昭赫. 介绍一种新的杀菌剂—扑海因(roval)[J]. 环境卫生学杂志, 1986(2): 89-90.
- [2] 杨合同, 唐文华, RYDER M. 木霉菌与植物病害的生物防治[J]. 山东科学, 1999, 12(4): 7-15, 20.
- [3] 腾安娜. 木霉菌对植物的促生效果及其机理的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2010: 1-85.
- [4] 李卫平, 林福呈. 绿色木霉对蔬菜苗期病害的防治和促生作用[J]. 江苏农业学报, 2000, 12(2): 106-107.
- [5] 刘云龙, 何永红, 张旭东. 哈茨木霉对辣椒生长的影响[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(4): 345-346.
- [6] 曾华兰, 叶鹏盛, 李琼芳, 等. 哈茨木霉 T23 对花生的促生增产作用[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(1): 145-146.
- [7] 贾丙志. 多功能木霉对纤维素和农药的降解特性研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2010: 1-63.
- [8] 张曼曼, 邓春生, 马金奉. 多功能木霉的筛选及鉴定[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(8): 1571-1575.
- [9] 于雪云. 土壤中多功能木霉菌的筛选鉴定及木霉多样性分析[D]. 淄博: 山东理工大学, 2007: 1-98.
- [10] 鲁海菊, 刘云龙, 张云霞, 等. 哈茨木霉多菌灵耐药性菌株的筛选[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(3): 436-437.
- [11] 王勇, 杨秀荣, 刘水芳. 拮抗木霉耐药性菌株的筛选及其与速克灵防治灰霉病的协调作用[J]. 天津农学院学报, 2002, 9(4): 19-22.
- [12] 尹婷. 深绿木霉 T2 对微生物种群数量的影响及抗性菌株的筛选[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012: 1-65.
- [13] 付文祥. 有机磷农药降解菌木霉 FM10 的生长条件研究[J]. 生物磁学, 2005, 5(3): 29-31.
- [14] 刘新, 尤民生, 魏英智, 等. 木霉 Y 对毒死蜱和甲胺磷的降解作用[J]. 福建农林大学学报, 2002, 31(4): 455-458.
- [15] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 57-125.
- [16] 段银芝, 郎剑锋, 孔凡彬, 等. 4 种农药对哈茨木霉生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 101-102.
- [17] 田连生, 陈菲. 木霉菌剂与多菌灵协调防治灰霉病试验[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 132-133.
- [18] 任凤山, 王燕, 翟一凡, 等. 木霉与几种化学杀菌剂协调防治苹果轮纹病[J]. 北方园艺, 2015(16): 111-115.

## Differential Analysis for Biological Characteristics of Endophytic *Trichoderma* PY2 Strain Resistance to Iprodione and Wild Y2 Strain From Loquat

LU Haiju<sup>1</sup>, DONG Huiting<sup>1</sup>, QI Jianmin<sup>2</sup>, WANG Chuanming<sup>1</sup>, ZENG Longgang<sup>3</sup>

(1. Department of Life Science and Technology, Honghe College, Mengzi, Yunnan 661199; 2. Pingbian Tea and Fruit Station, Pingbian, Yunnan 661299; 3. Pingbian Station of Plant Protection and Quarantine, Pingbian, Yunnan 661299)

doi:10.11937/bfyy.20170373

## 甜瓜细菌性果斑病菌鉴定及杀菌剂毒力测定

刘丹丹, 刘畅

(沈阳化工大学 环境与安全工程学院, 辽宁 沈阳 110142)

**摘要:**以内蒙古发病甜瓜上分离的病原细菌为试材,采用形态学、生理生化测定和16S rRNA序列比对的方法,进行了病原菌的生物学鉴定,并通过离体试验和活体试验相结合的方法,研究了不同杀菌剂对致病菌的防治效果,以期为细菌性果斑病的防治提供参考依据。结果表明:试验菌株为西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*),毒力测定结果显示,不同杀菌剂对西瓜食酸菌的毒力差异较大,同一杀菌剂在离体和活体试验中的结果也不相同,需要2种试验方法相结合,才能对药剂生物活性作出准确评价。

**关键词:**瓜类细菌性果斑病;甜瓜;杀菌剂;毒力测定;16S rRNA;化学防治

**中图分类号:**S 436.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0006-05

甜瓜细菌性果斑病(bacterial fruit blotch)是由西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*)引起的毁灭性病害,在内蒙古、黑龙江、辽宁、山东、新疆、广东、海南等地均有发生,已造成了巨大经济损失<sup>[1-5]</sup>。*A. citrulli*可侵染甜瓜整个生长期。未经处理的带毒种子萌发后,病原菌从子叶侵入,引起幼苗发病。病菌也可通过伤口和气孔侵染成熟

植株,通过果皮皮孔侵染不到3周的幼果。此病害在高温高湿条件下易发生,初期植株表现为数量不等的病斑,随后叶片枯萎,后期果实腐烂。病菌主要通过种子带毒、风雨、昆虫以及农事作业传播。其寄主较广泛,包括甜瓜、西瓜、南瓜、黄瓜和西葫芦等作物。另外,该病菌的环境适应性较强,可在种子、土表越冬,造成来年的侵染源<sup>[6-7]</sup>。化学防治仍是控制甜瓜细菌性果斑病的主要措施。常用抗生素和铜制剂类药剂,通过种子处理和植株喷雾相结合的方法防治甜瓜细菌性果斑病<sup>[8]</sup>。该研究对从内蒙古地区采集的病原样本进行分离纯化,利用16S rRNA扩增和序列比对方法,对致病菌进行鉴定。并将该病菌作为防治对象,以抗

**第一作者简介:**刘丹丹(1981-),女,博士,讲师,现主要从事环境污染治理与修复及分子生物学与植物病害防治等研究工作。E-mail:liudandan.553@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31400481);辽宁省博士科研启动资助项目(20141086)。

**收稿日期:**2017-05-15

**Abstract:** In order to make clear difference of biological characteristics of *Trichoderma* PY2 resistant to iprodione and wild Y2 strain from loquat, the effects of medium, carbon and nitrogen source, pH, temperature and illumination on mycelial growth and sporulation quantity for PY2 and Y2 strains were studied by method of mycelial growth rate and cell count technique. The results showed that characteristic of generating spores was significantly different between PY2 and Y2. PY2 was more powerful than Y2 in ability of generating spores. The proper conditions of mycelial growth were mediums of PDA, CDA or BDA, glucose, yeast extract and pH 5, 6, 8, 9, 10, 15-28 °C, all dark or all light. The proper conditions of generating spores were medium of CDA, D-fructose, beef extract, pH 3, 25 °C and all light.

**Keywords:** *Trichoderma*; resistance to iprodione; biological characteristics