

药用植物龙葵内生真菌分离及其抑菌活性初探

毕江涛¹, 杨志伟², 黄盼盼³, 王 静¹, 关晓庆²

(1. 宁夏大学 新技术应用研究开发中心, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021;

3. 宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以药用植物龙葵为试材,通过组织块法对其内生真菌进行分离,并选择5种植物病原真菌和4种细菌作为指示菌,采用平板对峙法和改进的菌块法测定抑菌活性以研究内生真菌多样性及其抑菌活性特征。结果表明:从龙葵根、茎、叶分离出29株内生真菌,其中根部最多;经形态学初步分类鉴定归于2目2科4属。79.3%的菌株对2种或多种植物病原真菌有不同程度的抑制作用,41.4%的菌株对1种或多种细菌指示菌具有不同程度的抑制作用;菌株‘SNEFL012’对4种病原真菌具有明显抑制作用,菌株‘SNEFS005’对2种细菌和2种真菌指示菌具有明显抑制作用,菌株‘SNEFL012’和‘SNEFS005’分属于曲霉属和梭孢霉属。药用植物龙葵具有较为丰富的抑菌活性内生真菌资源,其抑菌活性值得进一步研究。

关键词:药用植物;龙葵;内生真菌;分离;抑菌活性

中图分类号:Q 93;S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0161-05

龙葵(*Solanum nigrum*)属茄科(Solanaceae)茄属(*Solanum*)1 a 生草本植物,主要分布在宁夏等北方省区,全草入药,具有清热解毒、活血、利尿、消肿等功效,主治疮痈肿毒、皮肤湿疹、尿路感染、慢性支气管炎和前列腺炎等。近年来随着龙葵抗癌活性成分的发现^[1-2],龙葵的研究得到了越来越多人的关注。前人对龙葵的研究主要集中在化学成分、药理学、组织培养、栽培种植与开发利用等方面^[3-6],但对其内生真菌的研究尚鲜见报道。

研究表明,内生真菌在宿主植物中普遍存在,可以提高宿主植物的生物和非生物胁迫抗性,对植物生长发育具有促进作用,并能够产生生理活性物质,是天然药物或先导化合物的重要来源^[7-11],内生真菌目前已成为药用植物资源研究的重要方面,是有待开发的重要资源^[12-13]。根据植物-内生菌共生原理,该研究对龙葵内生真菌抑菌活性进行初步研究,以期发掘龙葵内生真菌资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

药用植物龙葵于2011年8月采自宁夏银川市西夏

区,地理位置为东经106°7'39",北纬38°30'18",海拔高度1 099 m。挑选健康无病害症状的龙葵植株样品,带回实验室进行预处理,用自来水冲去泥土等杂物,然后随机取植株根、茎、叶进行表面消毒。供试植物病原真菌枸杞黑果病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumeris*)、番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、小麦全蚀病菌(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*)由宁夏农林科学院植物保护研究所提供;细菌指示菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)由西北农林科技大学无公害农药研究中心提供;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)由宁夏医科大学第一附属医院检验科提供。

仪器:生物显微镜 FL-107CCD、灭菌器 GMSX-280、热空气消毒箱 GRX-9053A、生化培养箱 STX-250、超净工作台 HJ-CJ-2D 等。

培养基和染色剂主要有:营养琼脂培养基(NA),马铃薯葡萄糖培养基(PDA),乳酸石炭酸棉蓝。

1.2 试验方法

1.2.1 内生真菌的分离、纯化和初步分类 内生真菌的分离采用植物组织块法^[14],将植物材料预处理后,随机挑选无病斑和缺损的叶、茎和根组织,将根和茎剪切成长约5~7 cm的片段,分别称量约5~10 g,盛入灭菌烧杯中。然后用75%的酒精灭菌、0.1%的升汞、无菌水表面消毒,然后用灭菌剪刀将叶剪成(3~5) mm×(3~5) mm、

第一作者简介:毕江涛(1964-),男,宁夏中宁人,博士,副研究员,现主要从事微生物资源与微生物生态等研究工作。E-mail: 731507283@qq.com.

基金项目:宁夏银川市科技攻关资助项目(银财 2010452)。

收稿日期:2013-05-20

根和茎剪成约 5~7 mm 长的片段。将剪好的根茎叶组织片段分别置于 PDA 平板上,每皿中均匀接 4~5 块,用封口膜密封平板,置于培养箱中 28℃ 下培养 3~5 d,期间注意观察植物组织片段切口长出的菌丝(菌落),将菌丝转接至新的 PDA 平板上继续培养,采用尖端菌丝挑取法纯化培养直至单菌落,最后编号保存^[15-17]。另外,利用组织印迹法将经过表面消毒但未剪切的植物组织片段直接在 PDA 培养基表面轻抹,在相同条件下培养作为对照,3 d 后若对照 PDA 平板中无真菌生长,证明分离到的真菌为龙葵内生真菌。以点植培养法活化纯化好的内生真菌,取干净载玻片 1 张,于中央滴加乳酸石炭酸棉蓝液 1 滴,用灭菌接种环挑取菌落边缘菌丝体 1 块放入乳酸石炭酸棉蓝液滴中,制成水浸片进行镜检,观察菌丝有无隔膜、孢子形状、大小和着生方式,初步确定真菌至属^[18-19]。

1.2.2 病原真菌拮抗菌株初步筛选 植物病原真菌拮抗内生真菌菌株的初步筛选采用平板对峙法^[20-23],将 5 种植物病原真菌指示菌分别接种于 PDA 平板中央,分 4 点将内生真菌菌株均匀接种于与病原真菌相距 25 mm 处,用封口膜密封后将 PDA 平板置于 28℃ 下恒温培养 3~5 d,然后观察病原真菌和内生真菌菌落变化,测定病原真菌和内生真菌之间的距离即拮抗带宽度,以拮抗带

宽度作为内生真菌拮抗活性强弱的指标。

1.2.3 病原细菌拮抗菌株的初步筛选 采用改进的菌块法^[24-25],按无菌操作法接入 2~3 环活化的细菌指示菌于培养皿中,将灭菌后冷却至约 45℃ 的 NA 培养基倒入直径 90 mm 无菌培养皿中制成带菌平板,待培养基凝固后迅速用灭菌接种环取直径约 5 mm 的内生真菌菌饼 3 块,分 3 点等距离放入平板中,距培养皿边缘距离大于 10 mm,将菌块正面接在培养基表面,然后置 28℃ 下恒温培养 3~5 d,观察内生真菌抑菌圈,以抑菌圈直径作为内生真菌拮抗活性强弱的指标,初步筛选出具有拮抗活性的内生真菌菌株。

2 结果与分析

2.1 内生真菌分布和种群构成

从表 1 可以看出,从药用植物龙葵中分离到内生真菌 29 株,其中根、茎、叶分别为 11、9、9 株,分别占分离菌株总数的 37.93%、31.03%、31.03%,根部分离的菌株数量最多,茎部和叶部次之。通过菌落和显微特征观察,将分离的内生真菌初步分为 4 属,分别为梭孢霉属、曲霉属、组丝核菌属和束丝菌属,其中梭孢霉属有 21 株菌,占分离菌株总数的 72.41%,为优势菌属。分离的内生真菌在龙葵根、茎、叶中的分布以及在种群构成上存在一定的差异。

表 1 龙葵内生真菌菌株分布和种群构成

目	科	属	根	茎	叶	合计/株
无孢目	无孢科	组丝核菌属(<i>Phacodium</i> sp.)	'SNEFR014'			1
Agnomycetales	Agonomycetaceae	束丝菌属(<i>Oxonium</i> sp.)	'SNEFR008'	'SNEFS007'	'SNEFL004'	6
			'SNEFR011'		'SNEFL009'	
					'SNEFL014'	
丝孢目	丛梗孢科	梭孢霉属(<i>Fusidium</i> sp.)	'SNEFR003'	'SNEFS001'	'SNEFL001'	21
Hyphomycetales	Moniliaceae		'SNEFR005'	'SNEFS003'	'SNEFL006'	
			'SNEFR009'	'SNEFS005'	'SNEFL010'	
			'SNEFR016'	'SNEFS006'	'SNEFL013'	
			'SNEFR018'	'SNEFS008'	'SNEFL015'	
			'SNEFR019'	'SNEFS009'		
			'SNEFR020'	'SNEFS010'		
		曲霉属(<i>Aspergillus</i> sp.)	'SNEFR023'	'SNEFS011'	'SNEFL012'	1

注:“SN”为龙葵,“EF”为内生真菌,“R”为根,“S”为茎,“L”为叶。

2.2 植物内生真菌拮抗活性

从表 2 可以看出,其中 23 株菌对 2 种或 2 种以上供试植物病原真菌有不同程度的拮抗作用,为分离菌株数量的 79.3%,6 株菌分别对 2 种以上病原真菌拮抗作用明显,为分离菌株数量的 20.7%,其中菌株'SNEFL012'对番茄灰霉病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌 4 种植物病原真菌具有明显拮抗作用,菌株'SNEFL004'对黄瓜枯萎病菌、枸杞黑果病菌、小麦全蚀病菌 3 种植物病原真菌拮抗作用明显,菌株'SNEFL010'对番茄灰霉病菌、枸杞黑果病菌和小麦全蚀病菌 3 种植物病原真菌有明显拮抗作用,菌株'SNEFL013'对枸杞黑

果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌有明显拮抗作用。龙葵内生真菌对供试植物病原真菌具有不同程度的拮抗作用,抗菌谱较广,抑菌活性明显。

从表 3 可以看出,12 株菌株对 1 种或多种病原细菌有明显拮抗作用,占分离菌株总数的 41.4%,其中 10 株菌对枯草芽孢杆菌有明显拮抗作用,占分离菌株总数的 34.5%,所有分离菌株对金黄色葡萄球菌无拮抗活性;菌株'SNEFS005'对大肠杆菌和铜绿假单胞菌有明显拮抗作用,菌株'SNEFS009'对铜绿假单胞菌有明显拮抗作用;菌株'SNEFS005'不仅对植物病原真菌枸杞黑果病菌、小麦全蚀病菌有明显拮抗作用,而且对病原细菌大

表 2 龙葵内生真菌拮抗植物病原真菌活性

菌株编号	番茄灰霉 病菌	黄瓜枯萎 病菌	枸杞黑果 病菌	黄瓜立枯 病菌	小麦全蚀 病菌
‘SNEFR003’	—	—	+	—	—
‘SNEFR005’	+	+	+	—	++
‘SNEFR008’	—	+	++	++	+
‘SNEFR009’	—	—	—	—	—
‘SNEFR011’	—	—	—	—	—
‘SNEFR014’	—	+	+	—	+
‘SNEFR016’	—	—	+	—	—
‘SNEFR018’	—	—	++	++	+
‘SNEFR019’	++	—	++	+	+
‘SNEFR020’	—	—	++	—	—
‘SNEFR023’	—	—	—	—	—
‘SNEFS001’	—	+	++	+	++
‘SNEFS003’	+	+	++	+	++
‘SNEFS005’	+	+	+++	+	+++
‘SNEFS006’	+	++	++	—	++
‘SNEFS007’	+	—	++	++	++
‘SNEFS008’	+	+	++	+	++
‘SNEFS009’	—	—	+	—	+
‘SNEFS010’	—	+	++	+	++
‘SNEFS011’	—	—	+++	++	+++
‘SNEFL001’	+	+++	++	—	++
‘SNEFL004’	—	+++	+++	—	+++
‘SNEFL006’	—	—	++	—	++
‘SNEFL009’	+	+	+++	+	+++
‘SNEFL010’	+++	+	+++	++	+++
‘SNEFL012’	+++	++	+++	+++	+++
‘SNEFL013’	++	++	+++	+++	+++
‘SNEFL014’	++	+	+++	++	+++
‘SNEFL015’	—	—	+++	—	+++

注:“+”:拮抗带宽度<2 mm,“++”:2 mm≤拮抗带宽度≤5 mm,“+++”:拮抗带宽度>5 mm,“—”:拮抗带宽度=0。

表 3 龙葵内生真菌抑制病原细菌活性

菌株编号	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌
‘SNEFR003’	—	—	—	—
‘SNEFR005’	+++	—	—	—
‘SNEFR008’	+++	—	—	—
‘SNEFR009’	—	—	—	—
‘SNEFR011’	+++	—	—	—
‘SNEFR014’	—	—	—	—
‘SNEFR016’	+++	—	—	—
‘SNEFR018’	—	—	—	—
‘SNEFR019’	—	—	—	—
‘SNEFR020’	—	—	—	—
‘SNEFR023’	+++	—	—	—
‘SNEFS001’	—	—	—	—
‘SNEFS003’	+++	—	—	—
‘SNEFS005’	—	+++	—	+++
‘SNEFS006’	—	—	—	—
‘SNEFS007’	—	—	—	—
‘SNEFS008’	—	—	—	—
‘SNEFS009’	—	—	—	+++
‘SNEFS010’	—	—	—	—
‘SNEFS011’	+++	—	—	—
‘SNEFL001’	+++	—	—	—
‘SNEFL004’	+++	—	—	—
‘SNEFL006’	—	—	—	—
‘SNEFL009’	+++	—	—	—
‘SNEFL010’	—	—	—	—
‘SNEFL012’	—	—	—	—
‘SNEFL013’	—	—	—	—
‘SNEFL014’	—	—	—	—
‘SNEFL015’	—	—	—	—

注:“—”:无抑菌圈,“+”:抑菌圈直径>10 mm,“++”:10 mm≤抑菌圈直径≤15 mm,“+++”:抑菌圈直径>15 mm。

肠杆菌和铜绿假单胞菌有明显拮抗作用。可见,龙葵内生真菌对病原细菌拮抗作用具有选择性特点。

2.3 高拮抗活性菌株菌属分布

龙葵内生真菌菌株‘SNEFL012’对番茄灰霉病菌、枸杞黑果病菌、黄瓜立枯病菌、小麦全蚀病菌 4 种病原真菌具有明显拮抗作用,菌株‘SNEFS005’对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、枸杞黑果病菌、小麦全蚀病菌有明显拮抗作用,抑菌谱较宽,为高活性菌株。菌株‘SNEFL012’和‘SNEFS005’分别属于丝孢目丛梗孢科曲霉属和梭孢霉属,2 株高活性菌株分别来源于龙葵叶部和茎部。菌株‘SNEFL012’和‘SNEFS005’对部分病原菌拮抗活性见图 1A~1D。

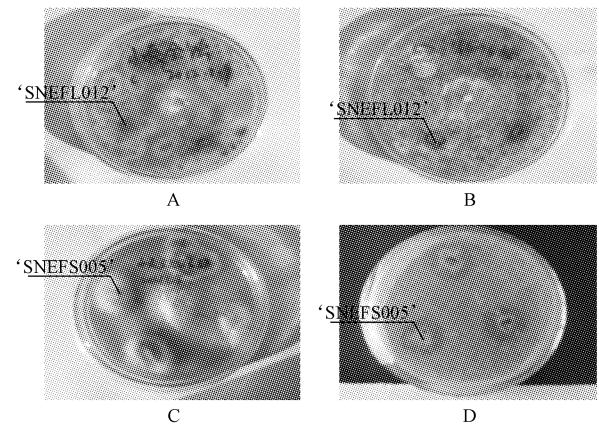


图 1 菌株‘SNEFL012’和‘SNEFS005’对部分病原菌拮抗效果
注:A为‘SNEFL012’对小麦全蚀病菌;B为‘SNEFL012’对黄瓜立枯病菌;C为‘SNEFS005’对小麦全蚀病菌;D为‘SNEFS005’对铜绿假单胞菌。

3 结论与讨论

该试验结果表明,从龙葵根、茎、叶分离出 29 株内生真菌,其中根部最多;经形态学初步分类鉴定归于 2 目 2 科 4 属。79.3%的菌株对 2 种或多种植物病原真菌有不同程度的抑制作用,41.4%的菌株对 1 种或多种细菌指示菌具有不同程度的抑制作用;菌株‘SNEFL012’对 4 种病原真菌具有明显抑制作用,菌株‘SNEFS005’对 2 种细菌和 2 种真菌指示菌具有明显抑制作用,菌株‘SNEFL012’和‘SNEFS005’分属于曲霉属和梭孢霉属。

植物内生真菌的多样性表现在组织器官的分布、数量和种类的差异方面,并受植物不同生长阶段、地域环境条件、采样部位和表面消毒方法等因素的影响^[26-27]。不同植物或同一种植物不同组织器官都有分离几率较高的优势种群。该试验从药用植物龙葵中分离出的内生真菌初步归类为 4 个属,其中梭孢菌属为优势种群,在根、茎、叶组织中均有存在。

药用植物内生真菌次级代谢中产生丰富的生物活性物质,有些药用植物内生真菌具备合成宿主某种代谢产物的能力,利用药用植物内生真菌开发替代药源具有

极大的潜力。龙葵饮片煎剂对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌、变形杆菌、大肠杆菌、浓绿杆菌、猪霍乱杆菌有一定的抑制作用^[28],与该试验中龙葵内生真菌对一些革兰氏阳性菌、阴性菌具有抑菌活性的结果基本一致,但与该试验中分离的内生真菌对金黄色葡萄球菌无拮抗活性的结果不同。另外,龙葵全草含生物碱,内生真菌抑菌活性可能与其化学和药用成分有关。从该试验内生真菌抑菌活性看出,多数内生真菌具有不同程度的抑菌活性,显示出龙葵具有较为丰富的抑菌活性内生真菌资源。

该试验中所用的培养方法不能保证所有生活在组织内的内生真菌能够完全被分离出来,随着培养和表面消毒方法的改进和优化,相信内生真菌的种类还会增加。有关高活性内生真菌菌株的分子鉴定和代谢产物的分析将在今后的研究中进一步开展。

参考文献

- [1] 安磊,唐劲天,刘新民,等. 龙葵抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(15):1225-1226.
- [2] 黄华,周建华. 龙葵开发研究新进展及应用[J]. 食品工业科技,2009,30(1):315-318.
- [3] 巩江,倪士峰,邱莉惠,等. 龙葵素的药理、毒理及药用研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(9):4108-4109.
- [4] 刘莲芬,钱关泽. 龙葵叶的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2005,41(4):492.
- [5] 卞勇,吕冬霞. 龙葵的室内栽培及利用[J]. 生物学杂志,2003,20(4):40-41.
- [6] 文志华. 野生资源龙葵的开发利用[J]. 云南农业科技,2006(1):56-58.
- [7] Refaei J, Jones E B G, Sakayaroj J, et al. Endophytic fungi from *Rafflesia cantleyi*: species diversity and antimicrobial activity [J]. Mycosphere,2011,2(4):429-447.
- [8] Aly A H, Debbab A, Kjer J, et al. Fungal endophytes from higher plants;a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products [J]. Fungal Diversity,2010,41(1):1-16.
- [9] Rodriguez R L, White Jr J F, Arnold A E, et al. Fungal endophytes: diversity and functional roles[J]. New Phytologist,2009,182(2):314-330.
- [10] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxamycetes andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew[J]. Science,1993,260(5105):214-216.
- [11] Yu H, Zhang L, Li L, et al. Recent development and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes [J]. Microbiological Research,2010,165(6):437-439.
- [12] 赵旭,常思静,景春娥,等. 我国植物内生菌研究进展[J]. 中国沙漠,2010,30(1):87-91.
- [13] 陈向东. 植物内生菌是有待深入开发的资源宝库[J]. 微生物学通报,2012,39(2):282.
- [14] 宋萍,洪伟,吴承祯,等. 雷公藤内生真菌的抑菌活性研究[J]. 中国农学通报,2010,26(5):262-266.
- [15] 苏印泉,朱红薇,马希汉,等. 杜仲内生真菌的抑菌活性筛选[J]. 西北植物学报,2005,25(6):1153-1157.
- [16] 陈苹,戴好富,解修超,等. 海南粗榧内生真菌的分离与初步鉴定[J]. 微生物学通报,2008,35(9):1455-1460.
- [17] 王家明,宋亚琼,刘宏亮,等. 雷公藤内生真菌的分离鉴定及抗肿瘤活性菌株筛选[J]. 西北林学院学报,2011,26(5):145-148.
- [18] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1982:405-649.
- [19] 巴尼特 H L,亨特 B B. 半只菌属图解[M]. 沈崇尧,译. 北京:科学出版社,1977:64-211.
- [20] 袁保红,杜青平,邓祖军. 小连翘内生真菌种群分布及其抗菌性研究[J]. 广东药学院学报,2007,23(3):307-311.
- [21] 张苗苗,张蓉,王生荣. 高寒草地植物内生真菌的分离及其抑菌活性初探[J]. 安徽农业科学,2009,37(7):3072-3075.
- [22] 徐磊,王艳红,郑友兰. 温莪术内生真菌对植物病原真菌抑菌活性的研究[J]. 华西药理学杂志,2009,24(6):591-594.
- [23] 蔡永欣,花日茂,柏钰,等. 喜树内生真菌的分离及其对植物病原菌的抑制作用测定[J]. 安徽农业大学学报,2010,37(4):748-752.
- [24] 程丽娟,薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:104-105.
- [25] 孙奎,苏印泉. 无花果内生真菌的抑菌活性研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(23):12455-12459.
- [26] 何佳,刘笑洁,赵启美,等. 植物内生真菌分离方法的研究[J]. 食品科学,2009,30(15):180-183.
- [27] 蒋国银,杨本寿,虞泓. 两种植物内生菌分离的影响因素研究[J]. 云南大学学报(自然科学版),2011,35(5):610-614.
- [28] 徐全香. 龙葵的临床应用[J]. 中华现代中西医杂志,2005,3(11):1020-1021.

Study on the Isolation of Endophytic Fungus from *Solanum nigrum* L. and Its Microbial Inhibition Activity

BI Jiang-tao¹, YANG Zhi-wei², HUANG Pan-pan³, WANG Jing¹, GUAN Xiao-qing²

(1. Research and Development Center for New Techniques, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 3. College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Taking medicinal plant *Solanum nigrum* L. as material, the endophytic fungi strains were isolated from root, stem and leaf of the host by tissue inoculation culture and five pathogenic fungi and four bacteria strains were used as indicators to test microbial inhibition activities by agar plate antagonistic action and modified agar gel diffusion methods in order to explore the resource diversity and microbial inhibition activity of endophytic fungi from it. The results indicated that twenty-nine fungal endophytic strains were isolated from the host, most of them coming from root, then from leaf and

野生白芨叶绿素含量与 SPAD 值的测定与分析

蹇 黎, 余 丹 凤, 秦 小 军

(毕节学院 环境与生命科学系, 贵州 毕节 551700)

摘 要:以 20 份野生白芨资源为试材, 利用 SPAD-502 叶绿素计和丙酮乙醇混合法对其叶片叶绿素含量进行比较分析。结果表明:不同的白芨种质资源的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量以及 SPAD 值均有所不同, 通过相关性分析, 发现叶绿素含量和 SPAD 值之间存在显著的线性相关关系, 表明利用叶片 SPAD 值可以很好的反应整个植株的叶绿素含量水平, 且方法简单易行。

关键词:白芨; 叶绿素含量; SPAD 值; 聚类分析

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0165-03

兰科是有花植物中最大科之一, 约有 25 000 余种, 占 10%。白芨(*Bletilla striata* Reichb.) 属多年生草本地生兰科(Orchidaceae)白芨属(*Bletilla* Rchb. f.) 植物, 主要分布在贵州、广西、安徽、四川、云南、陕西、甘肃等地, 其中以贵州、广西、安徽野生种质资源分布最为丰富, 白芨多生长在海拔高度为 950~3 500 m 的疏生灌木和杂草山坡多石的阔叶林下, 具有很强的适应性。白芨花色丰富, 花型端庄而优雅、叶态美观, 以干燥块茎为药用, 不但具有清热利湿、收敛止血、消肿生肌、改善皮肤营养状况和防止皱纹产生之功效, 而且在工业上还可作为涂料、糊料及浆丝绸等原料, 具有极高的观赏价值、药用价值和经济价值^[1-3]。

绿色植物的光合利用率主要取决于该植物叶片叶绿素含量的多少, 在植株的整个生育期, 可以通过植株的叶绿素含量来鉴定其营养状况。因此, 研究绿色植物

叶片中叶绿素的含量至关重要^[4]。SPAD-502 叶绿素检测仪是通过不同叶绿素含量的叶片对 2 种不同波长光的吸收不同来确定其叶绿素含量, 具有快速、简便和无损的特点, 其测量结果是植物叶片中叶绿素含量的相对值, 已在多种植物中得到应用^[5-9], 但野生白芨叶片的 SPAD 值和叶绿素含量测定及相互关系分析尚鲜见报道。该试验在这方面做了初步的探索, 旨在为快速测定野生白芨种质资源的叶绿素含量提供一种新的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 20 株野生白芨资源分别采自贵州毕节纳雍林场(编号为 1~4), 贵州毕节泰丰园周边(编号为 5~8), 贵州毕节黔西林泉(编号为 9~12), 贵州毕节赫章小山(编号为 13~16), 贵州毕节大方云龙(编号为 17~20)。

1.2 试验方法

1.2.1 SPAD-502 值的测定 对采集野生的白芨资源进行盆栽 1 a, 选取无机械性损伤、无病虫害和病斑的完整叶片, 把叶片表面的泥土和灰尘擦掉, 用 SPAD-502 叶绿素检测仪测定, 每株选 4 片叶片。测定样品用作叶绿素含量测定的样品。

第一作者简介:蹇黎(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为植物分子育种。

基金项目:贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 J 字[2012]2012 号); 毕节学院科学研究基金资助项目(院科合字 G2012011 号)。

收稿日期:2013-05-16

stem; the isolated strains attributed to four genera, two families, and two orders based on morphological characteristics; 79.3% of the total isolated strains were found to have some microbial inhibition activities against two or more indicating fungi, 41.4% of the total isolates had antibacterial activities against one or more indicating bacteria; the strain 'SNEFL012' had evident inhibition activities to four kinds of pathogenic indicators, and the strain 'SNEFS005' had evident inhibition activities to two kinds of bacterial indicators and two kinds of pathogenic indicators, the two bioactive strains with evident antimicrobial activities belonging to *Aspergillus* sp. and *Fusidium* sp., respectively. The medicinal plant *Solanum nigrum* L. showed relatively abundant endophytic fungal resource for pathogenic inhibition, and its microbial inhibition was worthwhile for further studies.

Key words: medicinal plant; *Solanum nigrum*; endophytic fungi; isolation; microbial inhibition activity