DOI:10.19789/j.1004-9398.2019.05.009

植物病害生物防治菌的筛选*

曹 翠[1] 宋瑞清[1,2]**

(1. 渭南师范学院美术学院,陕西 渭南 714099; 2. 东北林业大学林学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基对7株拮抗菌和3株云杉八齿小蠹伴生真菌进行对峙培养,研究7株拮抗菌对伴生真菌的抑制效果. 结果表明,快速生长菌中,木霉属菌(*Trichoderma atroviride*)对2株云杉八齿小蠹伴生真菌[*Ophiostoma penicillatum*1(OP1)和*Ophiostoma penicillatum*2(OP2)]有显著的抑制效果,对伴生真菌[*Ophiostoma* sp(OS)]抑制效果显著的为*Trichoderma citrinoviride*;慢速生长菌中,对OP1拮抗效果最佳的菌株为*Fusarium tricinctum*,次之为*Gibberella moniliformis*;对OP2拮抗效果最佳的菌株为*Alternaria tenuissima*,次之为*Fusarium tricinctum*;对OS有抑制效果的菌株为*Gibberella moniliformis*、*bionectria ochroleuca*. 以此筛选出数种拮抗菌株均具备作为生物防治资源的潜力.

关键词: 植物病害;伴生真菌;生物防治;筛选
中图分类号: S763.7

0 引 言

云杉八齿小蠹(*I. typographus*)属于鞘翅目(Coleoptera)、小蠹虫科(Scolytidae)、齿小蠹属(Ips)[1]. 主要危害云杉属、冷杉属和松属等植物,猖獗发生时可导致树木成片枯死. 小蠹虫伴生菌是指那些由小蠹虫携带、传播到寄主植物上,使寄主植物无法正常生长的一种病原真菌[2]. 小蠹虫伴生菌是植物-小蠹虫-伴生菌系统中削弱树木抗性、协助小蠹虫侵害的重要因子[3]. 在小蠹虫-伴生菌的危害体系中,人们倾向于重视小蠹虫的防治,而忽视了伴生菌的防治.

通常情况下,在防治害虫和病原菌的过程中,人们多倾向于使用杀菌剂,而化学农药的大量使用在防治植物病虫害的同时,也杀死了环境中的有益微生物,提高了植物病原菌的抗药性,同时也严重破坏了农业生态系统,造成环境污染. 随着生物科技的发展,拮抗真菌在植病生物防治中的应用受到研究者的重视,即用生物方式来防治植物病害,在无人工干预条件下,采用一类或多类生物来减少病原菌数量或病害发生和减弱一些致病的病原体的生存活力,旨在减少由病原菌所导致的灾害. 目前已有多种微生物具有生物防治作用,在20世纪30年代,研究显示木霉菌对植物病原菌的拮抗作用[4]. 自20世纪70年代以来,国内外对木霉菌的拮抗作用及其机制作了许多深入研究,证实了木霉对病原菌的重寄生现象,同时在温室及田间试验中也取得了较好的效果,已经有商品化的木霉制剂问世[5]. 在防治病害危害植物的前提下应该首先保护植物,文献中,作者强调对植物的保护,同时需要维持生态系统的多样性和平衡性,故利用生物防治病虫害对植物侵害的道路任重而道远[6]. 因此,本研究以3株云杉八齿小蠹伴生真菌为拮抗目标,通过平板对峙培养法进行拮抗菌的筛选,选择对伴生真菌拮抗效果明显的拮抗菌,为遭受病害的生物提供功能性的菌株.

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

研究使用的云杉八齿小蠹伴生真菌和拮抗菌株均由东北林业大学林学院宋瑞清老师实验室提供. 其中,伴生真菌包括*Ophiostoma penicillatum*1(OP1)、*Ophiostoma penicillatum* 2(OP2)、*Ophiostoma* sp(OS). 拮抗菌株包括快速生长菌,包括*Trichoderma citrinoviride*、*Trichoderma atroviride*、*Trichoderma viride*和慢速生长菌,包括*Alternaria tenuissima*、*Bionectria ochroleuca*、*Fusarium tricinctum*、*Gibberella moniliformis*.

收稿日期: 2018-11-19
* 2019年陕西省教育厅项目(19JS028);渭南师范学院2018年校级自然科学类研究项目(18YKP04)
** 通信作者: ccaaoo112255@163.com

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 实验方法

采用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板对峙培养法进行真菌培养,实验分为实验组和对照组. 培养基直径 90 mm,相距 45 mm 分别接入培养 6 d、等量的直径 1 cm 菌落. 实验组接入拮抗菌与病原菌菌落,对照组接入各菌株单独培养. 菌丝一面向下的菌饼来直接接触培养基.

按照生长速度,将 7 株拮抗菌株分为快速生长菌株(3 株)和慢速生长菌株(4 株). 培养快速生长菌株时,首先接种伴生菌株,3 d 后再接入快速生长菌株;培养慢速生长菌株时,同时接种慢速生长菌株和伴生菌株. 每组平行 3 次,培养温度 25℃,每 12 h 测量菌落的相对生长半径(共 4 个半径),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[7]. 在进行拮抗结果计算时,采用两菌落之间的相向半径进行拮抗生长测定.

被抑制率的定义是拮抗菌和病原菌被对方抑制的抑制率,相对抑制效果的定义为拮抗菌在抑制病原菌时本身同时被抑制消耗,自己被抑制一个单位,即 1% 时所得到的抑菌效果[8]. 在同一环境下,真菌群落的各个成员存在着相互的作用,相对抑制效果更加显现拮抗菌的真实作用,1 是相对抑制效果的阈值. 相对抑菌效果和被抑制率的数学定义如下[7]:

$$\text{被抑制率} = \frac{d_1 - d_2}{d_1} \times 100\%.$$

式中,d_1 为单独培养菌落半径;d_2 为菌落趋生半径. 相对抑菌效果 = 病原菌被抑制率/拮抗菌被抑制率.

2 结 果

2.1 拮抗菌株单独培养菌落直径

在相同培养基和相同温度下,不同菌株的生长速度完全不同,菌落直径数据列于表 1、2. 结果显示,2 株云杉八齿小蠹伴生真菌 OP1 和 OP2 均在 24 h 时菌落已扩展,直径分别为 1.15 和 1.20 cm,伴生真菌 OS 在 24 h 后开始生长,在 144 h 时,3 株伴生真菌菌落直径已达到最大值,分别为 8.50、8.43 和 8.05 cm;4 株慢速生长菌(*Alternaria tenuissima*、*Bionectria ochroleuca*、*Fusarium tricinctum* 和 *Gibberella moniliformis*)在 144 h 内菌落以不同速度在生长,在 144 h 时直径分别达到 6.70、3.95、7.45 和 5.65 cm;3 株快速生长菌(*Trichoderma itrinoviride*、*Trichoderma viride*、*Trichoderma atroviride* 生长速度快,在 48 h 时直径均达到最大值 8.50 cm.

表 1 慢速生长菌株单独培养菌落直径/cm

培养时间/h	*Ophiostoma penicillatum*1	*Ophiostoma penicillatum* 2	*Ophiostoma* sp	*Alternaria tenuissima*	*Bionectria ochroleuca*	*Fusarium tricinctum*	*Gibberella moniliformis*
24	1.15	1.20	1.00	1.93	1.25	1.73	1.20
48	1.98	2.63	2.38	3.28	1.70	2.65	1.53
72	3.70	4.78	3.88	4.13	2.15	3.95	2.20
96	5.83	6.75	5.45	5.10	2.65	5.25	3.23
120	7.80	7.83	6.73	5.90	3.08	6.50	4.33
144	8.50	8.43	8.05	6.70	3.95	7.45	5.65

表 2 快速生长菌株单独培养菌落直径/cm

培养时间/h	*Trichoderma itrinoviride*	*Trichoderma viride*	*Trichoderma atroviride*
12	2.83	2.00	2.50
24	5.95	4.53	5.38
36	8.50	8.05	8.50
48	8.50	8.50	8.50

2.2 拮抗菌株与 OP1 菌株拮抗效果

慢生长菌株与 OP1 菌株的拮抗数据列于表 3,相关图像如图 1 所示. 在慢速生长菌与伴生真菌的拮抗过程中,伴生真菌的被抑制率总体呈上升趋势,至 72 或 96 h 开始相互抑制;在 *Fusarium tricinctum* 与 OP1 的对峙培养中,72 h 后才产生相互之间抑制作用,各自的抑制率随着时间的增加被逐渐增大,最大值在 144 h(55.29%)处;在 *Alternaria tenuissima* 与 OP1 的对峙培养中,48 h 之前 *Alternaria tenuissima* 对 OP1 的生长有促进作用,72 h 后出现抑制作用,随时间的增加,OP1 的抑制率在逐渐增大,144 h 达到最大(51.76%);在 *Bionectria*

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

*ochroleuca*与 OP1 的对峙培养试验中,OP1 的生长在 72 h 之前一直是促进状态,96 h 时处于抑制状态;在 *Gibberella moniliformis* 与 OP1 的对峙培养中,OP1 的抑制率随时间的增加而增大,144 h 达最高(65.88%).伴生菌株的抑制率明显高于拮抗菌株的抑制率,特别是 *Fusarium tricinctum* 在 72 h 之前,*Fusarium tricinctum* 和 OP1 处于相互促进生长作用(抑制率为负值);120 h 之前 *Bionectria ochroleuca* 的生长基本处于不显著的促进状态,之后才逐渐抑制;72 h 之前 *Gibberella moniliformis* 生长处于促进状态,96 h 后生长抑制. 相对抑制效果在 144 h 时由高至低为: *Fusarium tricinctum*、*Gibberella moniliformis*、*Bionectria ochroleuca*、*Alternaria tenuissima*,最高值分别达到 34.70、6.77、3.98、2.48. 综上,对 OP1 相对抑制效果相对好的菌株为 *Fusarium tricinctum*(34.70).

表 3　慢生长菌株与 OP1 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		伴生菌株	拮抗菌株	
Fusarium tricinctum	24	0.00	-7.25	—
	48	-6.33	-13.21	—
	72	13.51	-11.39	—
	96	33.05	0.95	34.70
	120	51.28	18.46	2.78
	144	55.29	28.86	1.92
Alternaria tenuissima	24	-4.35	9.09	—
	48	-24.05	6.87	—
	72	2.70	5.45	0.50
	96	26.18	11.76	2.23
	120	46.15	18.64	2.48
	144	51.76	26.87	1.93
Bionectria ochroleuca	24	-4.35	0.00	—
	48	-21.52	2.94	—
	72	-21.62	-4.65	—
	96	2.15	-3.77	—
	120	29.49	-5.69	—
	144	35.29	8.86	3.98
Gibberella moniliformis	24	4.35	-4.17	—
	48	18.99	-8.20	—
	72	29.73	-4.55	—
	96	53.65	31.78	1.69
	120	64.10	12.14	5.28
	144	65.88	9.73	6.77

注: —指无数据

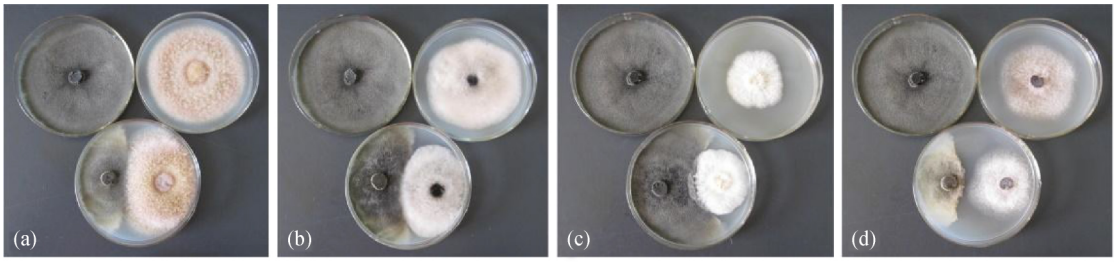


图 1　慢生长菌株与 OP1 菌株的拮抗效果

(a) OP1 与 *Fusarium tricinctum* 对峙; (b) OP1 与 *Alternaria tenuissima* 对峙; (c) OP1 与 *Bionectria ochroleuca* 对峙; (d) OP1 与 *Gibberella moniliformis* 对峙

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

快速生长菌株与 OP1 菌株的拮抗数据列于表 4,相关图像如图 2 所示. 在快速生长菌 *Trichoderma citrinoviride*、*Trichoderma viride* 和 *Trichoderma atroviride* 与 OP1 的对峙培养中,12 h 之前 OP1 生长处于促进状态,与 OP1 菌落在 36 h 时接触,接触以后即出现对峙之势,两菌落停止生长,呈现显著的抑菌带. 可能原因是,本研究先接入 OP1 在培养基中培养,含有充足的营养和具有大量的空间,OP1 的抑制率小于快速生长菌. 3 株生长快速的菌株与 OP1 之间均出现显著的抑菌带,抗生素在短时间内产生了. 在全部对峙培养中,均没有超过 1,全部在 60 h 达到最大(0.29、0.29 和 0.35). 综上所述,表明 *Trichoderma atroviride* 对 OP1 有显著的抑制效果,其他 2 个菌株有较好的抑制作用.

表 4 快速生长菌株与 OP1 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		伴生菌株	拮抗菌株	
Trichoderma citrinoviride	12	-11.59	64.60	—
	36	12.82	69.41	0.18
	60	20.00	69.41	0.29
Trichoderma viride	12	-11.59	50.00	—
	36	14.10	66.46	0.21
	60	20.00	69.41	0.29
Trichoderma atroviride	12	-6.44	60.00	—
	36	16.67	65.88	0.25
	60	23.53	67.06	0.35

注: —指无数据

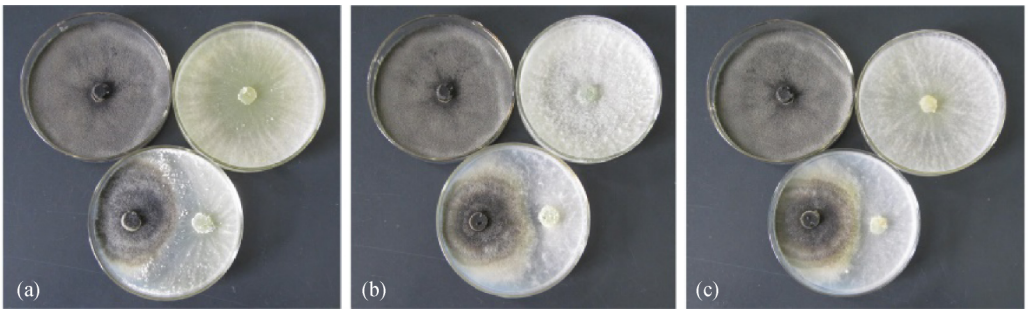


图 2 快速生长菌株与 OP1 菌株的拮抗效果

(a) OP1 与 *Trichoderma citrinoviride* 对峙; (b) OP1 与 *Trichoderma viride* 对峙; (c) OP1 与 *Trichoderma atroviride* 对峙

2.3 拮抗菌株与 OP2 菌株的拮抗效果

慢速生长菌株与 OP2 菌株的拮抗数据列于表 5,相关图像如图 3 所示. 在慢速生长菌与伴生真菌的拮抗过程中,伴生真菌的抑制率总体呈上升趋势,*Fusarium tricinctum*、*Alternaria tenuissima* 和 *Gibberella moniliformis* 与 OP2 的对峙培养中,随着时间的增加,OP2 的抑制率在增大,144 h 达最高,抑制率分别为 56.08%、51.34%、53.71%; *Bionectria ochroleuca* 与 OP2 的对峙培养中,24 h 之前 OP2 的生长处于促进状态,48 h 后处于抑制状态. 拮抗菌株的抑制率明显低于伴生菌株的抑制率,72 h 之前伴生真菌 OP2 对 *Fusarium tricinctum* 的生长有显著的促进作用,96 h 后才产生抑制作用; 24 h 之前 OP2 对 *Alternaria tenuissima* 的生长有促进作用,48 h 后双方生长处于相互抑制状态; 120 h 之前 *Bionectria ochroleuca* 和 *Gibberella moniliformis* 的生长状态一直处于显著的促进状态,之后才逐渐抑制. 相对抑制效果在 144 h 时由高至低为: *Alternaria tenuissima*、*Fusarium tricinctum*、*Bionectria ochroleuca*、*Gibberella moniliformis*,最高值分别达到 33.69、14.78、9.77、8.67. 因此,对 OP2 相对抑制效果好的菌株为 *Alternaria tenuissima* 和 *Fusarium tricinctum*.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 5　慢速生长菌株与 OP2 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		伴生菌株	拮抗菌株	
Fusarium tricinctum	24	4. 17	-7. 25	—
	48	-6. 67	-20. 75	0. 32
	72	12. 04	-13. 92	—
	96	42. 22	2. 86	14. 78
	120	52. 72	20. 00	2. 64
	144	56. 08	30. 20	1. 86
Alternaria tenuissima	24	0. 00	-1. 30	—
	48	4. 76	0. 76	6. 24
	72	20. 42	0. 61	33. 69
	96	39. 26	1. 96	20. 02
	120	47. 60	15. 25	3. 12
	144	51. 34	25. 37	2. 02
Bionectria ochroleuca	24	-4. 17	-4. 00	—
	48	2. 86	-8. 82	—
	72	1. 57	-13. 95	—
	96	18. 52	-16. 98	—
	120	29. 71	-17. 07	—
	144	37. 09	3. 80	9. 77
Gibberella moniliformis	24	0. 00	-8. 33	—
	48	16. 19	-37. 70	—
	72	24. 61	-45. 45	—
	96	43. 70	-27. 13	—
	120	50. 16	-10. 98	—
	144	53. 71	6. 19	8. 67

注: —指无数据

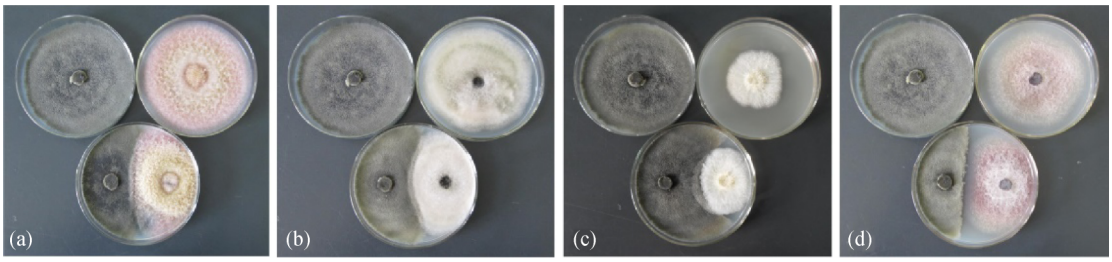


图 3　慢生长菌株与 OP2 菌株的拮抗效果

(a) OP2 与 *Fusarium tricinctum* 对峙; (b) OP2 与 *Alternaria tenuissima* 对峙; (c) OP2 与 *Bionectria ochroleuca* 对峙; (d) OP2 与 *Gibberella moniliformis* 对峙

快速生长菌株与 OP2 菌株的拮抗数据列于表 6,相关图像如图 4 所示. 在快速生长菌株 *Trichoderma citrinoviride*、*Trichoderma viride*、和 *Trichoderma atroviride* 与 OP2 的对峙培养中,12 h 后产生抑制作用,*Trichoderma citrinoviride* 与 OP2 接触后即呈现对峙之势,2 种菌落停止生长,且出现明显的抑菌带,*Trichoderma viride* 和 *Trichoderma atroviride* 与 OP2 接触后,菌落分别继续生长侵入 OP2 的菌落而使 OP2

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

菌落减小,也呈现显著的抑菌带. 被抑制率均随时间的增加而增大,60 h 达到最高; OP2 首先被接入培养基培养,具有充足的营养和空间,致使 OP2 的被抑制率小于快速生长菌的. 3 种生长快速的菌落与 OP2 的对峙培养均产生明显的抑菌带,表明在短时间内抗生素被产生出来. 在全部对峙培养试验中,均没有超过 1,全部在 60 h 达到最大,分别是 0. 30、0. 24 和 0. 35. 综上,表明 *Trichoderma atroviride* 对 OP2 有显著的抑制效果,其次 *Trichoderma citrinoviride* 也有较好的抑制效果.

表 6 快速生长菌株与 OP2 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		伴生菌株	拮抗菌株	
Trichoderma citrinoviride	12	2. 22	64. 60	0. 03
	36	13. 10	62. 35	0. 21
	60	18. 10	61. 18	0. 30
Trichoderma viride	12	0. 74	50. 00	0. 01
	36	9. 27	71. 43	0. 13
	60	16. 91	71. 76	0. 24
Trichoderma atroviride	12	12. 59	60. 00	0. 21
	36	15. 65	68. 24	0. 23
	60	22. 85	65. 88	0. 35

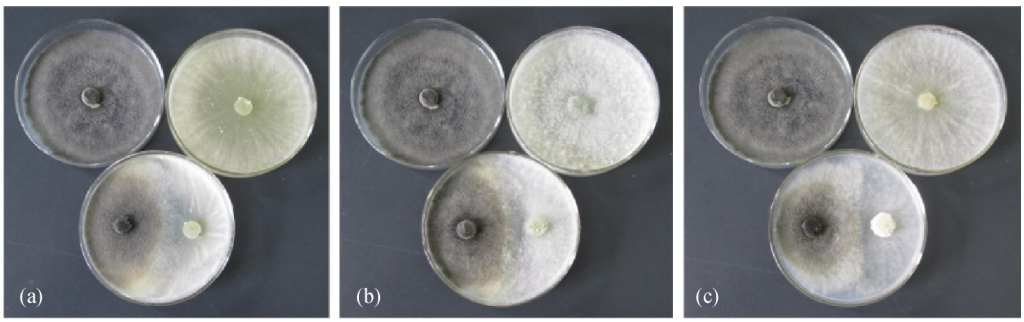


图 4 快速生长菌株与 OP2 菌株的拮抗效果

(a) OP2 与 *Trichoderma citrinoviride* 对峙; (b) OP2 与 *Trichoderma viride* 对峙; (c) OP2 与 *Trichoderma atroviride* 对峙

2.4 拮抗菌株与 OS 菌株的拮抗效果

慢速生长菌株与 OS 菌株的拮抗数据列于表 7,相关图像如图 5 所示. 在慢速生长菌与伴生真菌的拮抗过程中,伴生真菌的被抑制率总体呈上升趋势,至 72 或 96 h 开始相互抑制,在 *Fusarium tricinctum*、*Alternaria tenuissima* 和 *Bionectria ochroleuca* 与 OS 的对峙培养中,72 h 之前处于相互促进中,*Alternaria tenuissima* 对 OS 的生长有显著的促进作用; 在 96 h 后相互之间才产生抑制作用,随时间的增加各自的被抑制率逐渐增大,144 h 达最大(分别为 46. 58%、45. 34% 和 35. 4%); 在 *Gibberella moniliformis* 与 OS 的对峙培养中,48 h 之前 OS 的生长处于促进状态,72 h 后产生了抑制作用,被抑制率随时间的增加而增大,144 h 达到最高(56. 52%); 拮抗菌株的被抑制率明显低于伴生菌株的被抑制率,在整个对峙培养过程中,OS 对 *Alternaria tenuissima* 和 *Gibberella moniliformis* 的生长一直处于抑制状态,随时间的延长作用一直增大,144 h 被抑制率达到最高; OS 与 *Bionectria ochroleuca* 的对峙培养中,120 h 之前 *Bionectria ochroleuca* 的生长处于不显著的促进状态,之后逐渐抑制. 相对抑制效果在 144 h 时由高至低为: *Gibberella moniliformis*、*Bionectria ochroleuca*、*Fusarium tricinctum*、*Alternaria tenuissima*,最高值分别达到 4. 26、3. 11、1. 48、1. 32. 因此,对 OS 相对抑制效果好的菌株为 *Gibberella moniliformis*.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 7　慢速生长菌株与 OS 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		伴生菌株	拮抗菌株	
Fusarium tricinctum	24	-20.00	-10.14	—
	48	-5.26	-9.43	—
	72	-3.23	-1.27	—
	96	10.09	8.57	1.18
	120	31.60	24.62	1.28
	144	46.58	31.54	1.48
Alternaria tenuissima	24	-40.00	6.49	—
	48	-17.89	16.03	—
	72	-0.65	15.15	—
	96	21.10	17.65	1.20
	120	34.57	27.12	1.27
	144	45.34	34.33	1.32
Bionectria ochroleuca	24	-45.00	-12.00	—
	48	-9.47	-5.88	—
	72	-13.55	-6.98	—
	96	4.59	-1.89	—
	120	22.68	-0.81	—
	144	35.40	11.39	3.11
Gibberella moniliformis	24	-40.00	4.17	—
	48	-13.68	8.20	—
	72	20.00	11.36	1.76
	96	33.94	10.08	3.37
	120	47.96	14.45	3.32
	144	56.52	13.27	4.26

注: —指无数据

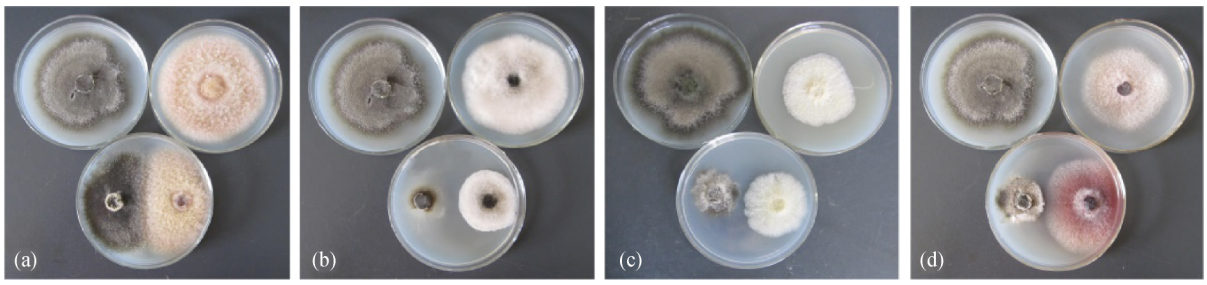


图 5　慢生长菌株与 OS 菌株的拮抗效果

(a) OS 与 *Fusarium tricinctum* 对峙; (b) OS 与 *Alternaria tenuissima* 对峙; (c) OS 与 *Bionectria ochroleuca* 对峙; (d) OS 与 *Gibberella moniliformis* 对峙

快速生长菌株与 OS 菌株的拮抗数据列于表 8,相关图像如图 6 所示. 在快速生长菌株 *Trichoderma citrinoviride*、*Trichoderma viride* 和 *Trichoderma atroviride* 与 OS 的对峙培养中,在快速生长菌接入 12 h 后与 OS 菌落接触,双方产生抑制作用,接触后快速生长菌菌落分别继续生长侵入

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

OS 的菌落而使 OS 菌落减小. 被抑制率均随时间的增加而增大,60 h 达到最高; 因 OS 先被接入培养基,具有充足的营养和巨大的空间,致使 OS 的被抑制率显著小于快速生长菌. 各对峙培养均产生明显的抑菌带,说明抗生素在短时间内产生. 在全部对峙培养试验中,在 36 h 时,相对抑制效果大于 1,全部在 60 h 达到最大(分别是 2.00、1.47 和 1.77). 因此,对 OS 相对抑制效果好的快速生长菌株为 *Trichoderma citrinoviride* 和 *Trichoderma atroviride*.

表 8 快速生长菌株与 OS 菌株的拮抗数据

菌株名称	培养时间/h	被抑制率/%		相对抑制效果
		蓝变菌株	拮抗菌株	
Trichoderma citrinoviride	12	26.61	64.60	0.41
	36	36.06	32.94	1.09
	60	56.52	28.24	2.00
Trichoderma viride	12	10.09	50.00	0.20
	36	39.03	31.68	1.23
	60	50.31	34.12	1.47
Trichoderma atroviride	12	13.76	60.00	0.23
	36	31.60	24.71	1.28
	60	54.04	30.59	1.77

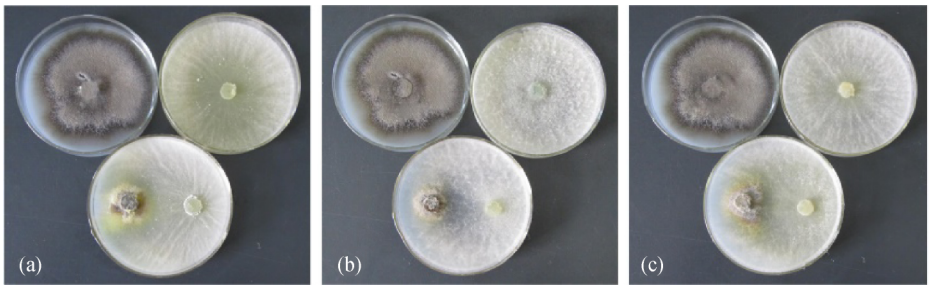


图 6 快速生长菌株与 OS 菌株的拮抗效果

(a) OS 与 *Trichoderma citrinoviride* 对峙; (b) OS 与 *Trichoderma viride* 对峙; (c) OS 与 *Trichoderma atroviride* 对峙

3 讨 论

在相同的生物环境中,通过采用平板对峙培养法[9],真菌间的相互关系能够很好的反映. 本研究通过采用平板对峙培养法,使用相对抑制率和被抑制率两个指标来共同评价 7 株拮抗菌株对 3 株伴生真菌的拮抗效果,结果表明,*Trichoderma atroviride* 以其生长较快,能较先抢占营养和生存空间,从而有效抑制了云杉八齿小蠹伴生真菌 OP1 和 OP2 的扩展,有显著的抑制效果,*Trichoderma citrinoviride* 对 OS 同样有显著的抑制效果. 慢速生长菌中,筛选出对 OP1 抑制效果最佳的菌株为 *Fusarium tricinctum* (34.70)、*Gibberella moniliformis*(6.77); 对 OP2 抑制效果好的菌株为 *Alternaria tenuissima*(33.69)、*Fusarium tricinctum*(14.78); 对 OS 抑制效果好的菌株为 *Gibberella moniliformis*(4.26)、*Bionectria ochroleuca*(3.11); 筛选出几种拮抗菌株均具备作为生物防治资源的潜力.

由于接入时间的不同而使快、慢生长菌的相对抑制效果不同. 试验结果显示,有部分菌株的生长速度之所以减慢,是由于生长速度迅速的菌株抑制了其生长. 于是,Shaw 等[10] 提出缓慢生长的菌株应该早于快速生长的菌株放入培养皿. 由此,二者就可以在培养皿的中心直径处相接. 从试验中,可以得出快速生长菌与伴生真菌的各对峙培养均产生明显的抑菌带,说明在短时间内产生了抗生素. 快速生长菌在短时间内对伴生真菌产生较强的抑制作用,根据抑制效果的大小来筛选最佳的拮抗菌株.

在使用传统反方法筛选拮抗菌时,是以病原菌和拮抗菌对峙培养时拮抗线的宽窄作为评价的准

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

则. 但是在自然界中,显著拮抗的真菌在同一环境中很难同时存在. 因此,与室内结果相比,被筛选出的拮抗菌在实际应用环境中,结果并不理想. 平板对峙培养可以观察同一生境中的真菌的互相作用,对相互间的影响能够很好的反应[9]. 本研究所采用的拮抗菌与伴生真菌生活在同一环境中,在此条件下筛选获得的拮抗效果显著的菌种将更适合于实际的应用环境.

参 考 文 献

[1] 孙晓玲, 王志英, 高长启. 云杉八齿小蠹化学信息物质的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.

[2] 叶辉. 小蠹虫伴生菌研究概况[J]. 世界林业研究, 1997(1): 30 - 33.

[3] KLEPZIG K D, SIX D L. Bark beetle-fungal symbiosis: context dependency in complex associations[J]. Symbiosis, 2004, 37: 189 - 205.

[4] 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.

[5] BHUYAN S A. Antagonistic effective of *trichoderma viride*. *T. harzianum* and asperigillus terreus on rhizoctonia solani causing sheath blight of rice[J]. Journal of the Agricultural Science Society of North East India, 1994, 7(1): 125 - 127.

[6] 何强, 杜桂森. 苔藓植物多样性保护现状[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2004, 25(3): 52 - 55.

[7] 宋瑞清, 周秀华. *Trichodermo spp*. 对樟子松枯梢病病原菌的影响[J]. 东北林业大学学报, 2004, 32(4): 29 - 30.

[8] 黄永青. 红松树栖真菌群落分析[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 1993.

[9] MURPHY 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.

[10] SHAW T M, DIGHTON J, SANDERS F E. Interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi on agar and in association with seedlings of lodgepole pine(Pinus contorta)[J]. Mycological Research, 1995, 99: 159 - 165.

Screening of Strains of Biological Control for Plant Disease

CAO Cui[1]　SONG Ruiqing[1,2]*

(1. School of Art, Weinan Normal University, Weinan Shaanxi　714099;
2. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang　150040)

Abstract: This study cultivated 7 antifungal strains and 3 fungus associated with *Ips typographus* by using potato dextrose agar medium, to study the inhibition effect of 7 antagonistic fungus on associated fungus. The results showed that *Trichoderma atroviride* had an important inhibitory effect on OP1 and OP2. *Trichoderma citrinoviride* also had significant inhibitory effects on OS. When the slow growing strains were confrontedly cultured with the associated fungus, the strain with the best inhibition effect on OP1 was *Fusarium tricinctum*, and the second was *Gibberella moniliformis*. The strain with the best inhibition effect on OP2 was *Alternaria tenuissima*, and the second was *Fusarium tricinctum*. The strains with the best inhibition effect on OS were *Gibberella moniliformis* and *Bionectria ochroleuca*. Several antagonistic strains have potential as biological control resources.

Keywords: plant disease; accompany fungi; biological control; screening

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net