

吴博宇, 严冬, 武波晓, 等. 樟叶越橘内生真菌的生防潜力菌株筛选[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(22): 140–146.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.22.021

樟叶越橘内生真菌的生防潜力菌株筛选

吴博宇¹, 严冬², 武波晓¹, 刘云³, 杨晓琴¹, 朱国磊¹, 解思达¹, 赵平^{1,3}

(1. 西南林业大学西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室, 云南昆明 650224;

2. 高黎贡山国家级自然保护区泸水管护分局, 云南泸水 673200; 3. 西南林业大学西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650224)

摘要:为挖掘对常见农业病害菌彩绒革盖菌(*Coriolus versicolor*)、密黏褶菌(*Gloeophyllum trabeum*)、腐皮镰孢(*Fusarium solani*)等具有高拮抗作用的植物内生真菌资源, 采用平板对峙法对樟叶越橘内生真菌进行筛选, 通过菌落观察、菌丝生长抑制率和菌丝生长动态数据进行分析, 初步研究了拮抗菌株的抗逆特性及其对常见农业病害菌的防治效果。结果表明, 1 株穗状弯孢(*Curvularia spicifera*) VDBF-28 对尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*) 的抑制效果最好, 抑菌率为 69.02%; 1 株首都叶点霉(*Phyllosticta capitalensis*) VDBF-29 对密黏褶菌、灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、芸苔链格孢(*Alternaria brassicicola*) 的抑制效果最好, 抑菌率分别为 84.90%、70.39%、70.98%; 1 株腐皮镰孢(*F. solani*) VDBF-34 表现出较强广谱拮抗能力, 其中对彩绒革盖菌、禾谷镰孢(*F. graminearum*) 的抑制效果最好, 抑菌率分别为 79.02%、76.86%; 1 株扁孔腔菌属(*Lophiostoma* sp.) VDBF-41 表现出较强广谱拮抗能力, 其中对腐皮镰孢的抑制效果最好, 抑菌率为 67.84%。供试 12 株樟叶越橘内生真菌中, 有 5 种菌株对 7 株病原真菌均具有较强的拮抗活性。综上所述, 樟叶越橘内生真菌具有较高的生防潜力, 可用于常见农业病害菌生防菌剂的开发。

关键词:樟叶越橘; 农业病害菌; 生防潜力; 内生真菌; 抗真菌活性; 生物防治

中图分类号:S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)22-0140-07

人口的增长和极端天气的频繁发生使得人类面对的粮食危机愈发严重, 植物病害导致的农业减产致使了食物危机的加重, 而面对层出不穷的病害挑战, 人们选择了采用化学农药进行统一防治, 解决了当下的病害问题却带来了更大的土地污染等问题, 随之而来的是食品安全问题。化学农药的难降解和无差别攻击使残留在土壤里的农药破坏了土壤微生物平衡, 降低了土壤肥力, 而农作物上的农药残留也危害人体健康^[1]。抗病品种的作物研发是防治植物病害的途径之一, 但因育种时间长, 致病菌变异速度快而使作物抗病性消失^[2]。因此, 当前社会需要应用新的植物病害防控方法, 其中生物防治是符合社会发展需要的重要研究方向。

微生物菌剂的环境友好、低毒易降解等优点使其在作物病害防治方面具有广阔应用前景, 而生防菌的开发则尤其重要。目前, 生防菌在植物病害防

治方面已有显著的应用成果。生防菌中与生防真菌相关的研究多集中于木霉菌(*Trichoderma* sp.)、盾壳霉(*Coniothyrium* sp.)、拟青霉(*Paecilomyces* sp.)、黏帚霉(*Gliocladium* sp.) 和酵母菌(*Saccharomyces* sp.) 等, 而真菌生防制剂研究最多的是木霉菌^[3]。与生防菌有关的研究进展结合了当代农林环境友好型的防治要求, 在促进增产增收、降低农残、人类健康和社会发展等方面发挥了积极作用。

植物内生真菌是一类与植物共生的微生物, 可在植物体内或周围生长并对宿主植物无明显致病性, 且在生长过程中一定阶段或全部阶段生活在状态良好的植物体内^[4-5]。植物内生真菌广泛存在于宿主植物体内的各部位, 且随着宿主生境的变化, 其种类和数量也会改变, 并且会在一定程度上增强宿主植物的抗逆性及促进宿主植物生长发育^[6-7]。在植物内生真菌中有超过 1/3 数量的真菌表现出对植物病原真菌有较强的抑制活性^[8], 因此植物内生真菌也成为了生防菌的重要来源, 其绿色环保的防治特点使其备受关注^[9], 已有大量国内外研究专注于其生防特点进行机制研究和产品开发^[10-11]。杜鹃花科(*Ericaceae*)越橘属植物樟叶越橘(*Vaccinium dunalianum*)主要分布于云南、四川等地, 其叶芽经

收稿日期: 2023-10-10

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 32060107、32060327)。

作者简介: 吴博宇(1999—), 女, 湖北鄂州人, 硕士研究生, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: 1356725893@qq.com。

通信作者: 赵平, 博士, 研究员, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: hypzhao2022@163.com。

干燥加工后在彝族民间作为传统茶饮长期饮用至今^[12-14]。研究发现,樟叶越橘含有丰富的咖啡酰熊果苷类活性物质,具有良好的开发应用前景^[15-17],该类物质在樟叶越橘中的高含量蓄积,推测除了其本身遗传、生境因素外,还可能与其内生真菌和宿主之间的互作相关^[18-19]。

前期研究表明,樟叶越橘的不同部位中均含有种类丰富的内生真菌^[20-22],樊苗苗等和严冬等发现,叶和嫩枝中的大多数内生真菌对三七丝核病菌(*Verticillium cinnabarium*)等病原真菌具有较强的抑制作用,且发现嫩枝内的活性菌株种类比叶内生活性真菌更为丰富^[23-24]。为进一步挖掘樟叶越橘中具有生防潜力的内生菌株,本研究以彩绒革盖菌(*Coriolus versicolor*)等 2 种木腐菌和芸苔链格孢(*Alternaria brassicicola*)等 5 种病原真菌为指示菌,采用平板对峙法测定从樟叶越橘分离鉴定出的 12 株内生真菌的拮抗活性,以期为樟叶越橘内生真菌资源进一步的开发利用提供参考并为常见植物病害的生物防治提供新的微生物资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试内生真菌 供试内生真菌归属见表 1,菌株于 2016 年从云南省武定县樟叶越橘中分离,经形态鉴别及分子鉴定后由西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室(西南林业大学)提供保存。

表 1 樟叶越橘 12 株内生真菌菌株归属

编号	菌株归属
VDBF-12	二型伞霉(<i>Umbelopsis dimorpha</i>)
VDBF-20	<i>Diaporthe heveae</i>
VDBF-26	<i>Penicillium cairnsense</i>
VDBF-28	穗状弯孢(<i>Curvularia spicifera</i>)
VDBF-29	首都叶点霉(<i>Phyllosticta capitalensis</i>)
VDBF-32	梅奇酵母属(<i>Metschnikowia</i> sp.)
VDBF-34	腐皮镰孢(<i>Fusarium solani</i>)
VDBF-36	杂色曲霉(<i>Aspergillus versicolor</i>)
VDBF-38	短毛粒毛盘菌(<i>Lachnum brevopilosum</i>)
VDBF-39	细极链格孢菌(<i>Alternaria tenuissima</i>)
VDBF-41	扁孔腔菌属(<i>Lophiostoma</i> sp.)
VDBF-45	<i>Diaporthe</i> cf. <i>heveae</i>

1.1.2 供试指示菌 供试 7 种指示菌株为病原真菌,彩绒革盖菌(*Coriolus versicolor*)和密黏褶菌(*Gloeophyllum trabeum*)2 种木腐菌购自中国林业微

生物保藏管理中心,腐皮镰孢(*Fusarium solani*)、禾谷镰孢(*F. graminearum*)、灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、尖孢镰孢(*F. oxysporum*)和芸苔链格孢(*Alternaria brassicicola*)5 种植物病原真菌购自中国科学院微生物研究所菌种保藏中心。

1.1.3 供试培养基 PSA 培养基:200 g 马铃薯,20 g 蔗糖,18 g 琼脂,1 L 蒸馏水。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株培养 将供试菌株从保存冷冻管里用接种针挑取出并将其接种在含有 20 mL PSA 培养基、直径为 8.5 cm 的培养皿正中间,28 ℃ 恒温培养 7 d。

1.2.2 拮抗活性测试 拮抗活性测试于 2021 年 1—5 月在西南林业大学西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室进行。采用五点对峙法进行供试樟叶越橘内真菌拮抗真菌筛选测试^[23-24]。培养皿直径统一为 8.5 cm,菌饼直径统一为 0.5 cm。在 PSA 培养基中心点接种病原菌菌饼,以病原菌菌饼为中心,并通过中心进行十字交叉后把内生真菌菌饼放到交叉线上,形成 4 个 2.5 cm 的间隙,每组设置 3 个重复,28 ℃ 黑暗恒温培养,从培养 3 d 起每天测量菌落直径和抑菌带距离,对照组长满时停止测量并进行抑菌率计算。

1.3 数据分析

通过使用 WPS Office 2023 和 SPSS 21.0 软件开展对拮抗真菌的筛选测试数据的方差分析,当 $P < 0.05$ 时,说明差异具有显著性。

2 结果与分析

2.1 供试 12 株内生真菌对 2 种木腐菌的拮抗活性筛选结果

研究发现,在拮抗活性测试中,当抑制率 $\geq 75\%$ 时,该内生真菌具有强拮抗能力,当 $50\% \leq$ 抑制率 $< 75\%$ 时,该菌具有较强拮抗能力,当抑制率 $< 50\%$ 时,该菌则具有弱拮抗能力^[23-24]。由表 2 可知,对彩绒革盖菌抑菌效果达标的活性菌株有 9 株,占内生真菌总数的 75.00%;对密黏褶菌抑菌效果达标的活性菌株有 11 株,占内生真菌总数的 91.67%,表明樟叶越橘内生真菌对供试 2 种木腐菌具有广泛较强的拮抗作用。供试内生真菌中,*Diaporthe heveae* (VDBF-20)、*Curvularia spicifera* (VDBF-28)、*Phyllosticta capitalensis* (VDBF-29)、*Fusarium solani* (VDBF-34)、*Lophiostoma* sp. (VDBF-41)对彩绒革盖菌和密黏褶菌的抑制率均 $> 70\%$ 。

表 2 内生真菌对 2 种木腐菌的拮抗效果

菌株编号	彩绒革盖菌		密黏褶菌	
	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)
VDBF-12	4.73 ± 0.32c	44.31 ± 3.78g	3.55 ± 0.05b	58.24 ± 0.59e
VDBF-20	2.42 ± 0.16fgh	71.57 ± 1.89bcd	2.15 ± 0.39e	74.71 ± 4.59b
VDBF-26	2.83 ± 0.15e	66.67 ± 1.80e	2.17 ± 0.03e	74.51 ± 0.3b
VDBF-28	2.40 ± 0.05gh	71.76 ± 0.59bc	2.17 ± 0.40e	74.51 ± 4.75b
VDBF-29	2.52 ± 0.03fg	70.39 ± 0.34cd	1.28 ± 0.03f	84.90 ± 0.34a
VDBF-32	3.60 ± 0.30d	57.65 ± 3.53f	3.35 ± 0.05bc	60.59 ± 0.59de
VDBF-34	1.78 ± 0.03i	79.02 ± 0.34a	1.40 ± 0.36f	83.53 ± 4.24a
VDBF-36	3.43 ± 0.03d	59.61 ± 0.34f	2.93 ± 0.06cd	65.49 ± 0.68cd
VDBF-38	5.18 ± 0.10b	39.02 ± 1.22h	3.55 ± 0.43b	58.24 ± 5.03e
VDBF-39	7.42 ± 0.03a	12.75 ± 0.34i	8.50 ± 0.00a	0.00 ± 0.00f
VDBF-41	2.15 ± 0.05h	74.71 ± 0.59b	1.40 ± 0.26f	83.53 ± 3.06a
VDBF-45	2.72 ± 0.15ef	68.04 ± 1.80de	2.72 ± 0.26d	68.04 ± 3.02c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

由图 1 可知,VDBF-34 有明显的抗菌活性,它能在有限的培养空间内与病原菌产生空间或营养竞争,通过在短时间内充分利用培养基中的营养物质并与病原真菌产生空间或营养竞争从而抑制真菌生长。拮抗活性测试中,对彩绒革盖菌的拮抗能

力最强的是 VDBF-34,抑菌率为 79.02%,其次是 VDBF-41,抑菌率为 74.71%。对密黏褶菌表现出最高抑制率的是 VDBF-29,抑菌率为 84.90%;其次是 VDBF-34 和 VDBF-41,抑菌率均为 83.53%。

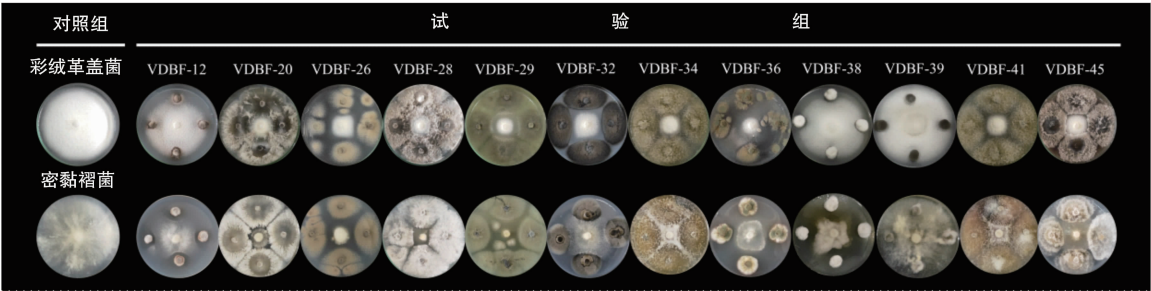


图1 12 株樟叶越橘内生真菌对 2 种木腐菌的拮抗效果

由图 2-a 可知,在与彩绒革盖菌对峙过程中,大部分内生真菌对峙组在 4~8 d 内出现彩绒革盖

菌直径生长拐点,达到直径生长最大值,且真菌直径在拐点出现后的 5 d 内达到稳定。VDBF-39 对

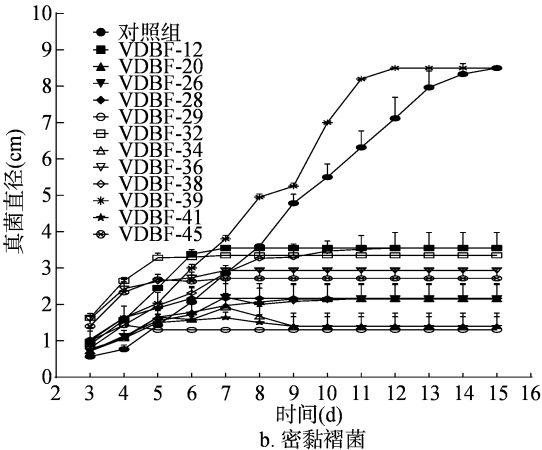
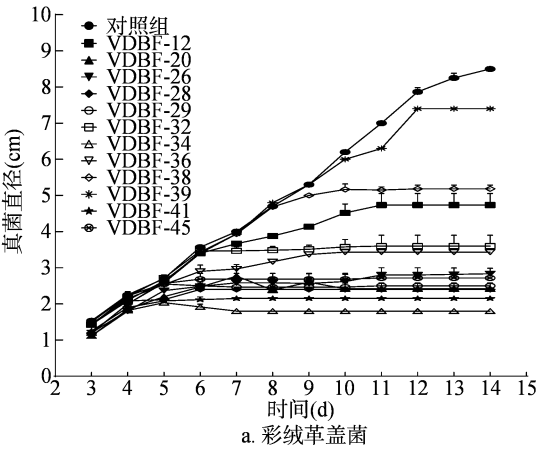


图2 2 种木腐菌在 12 株樟叶越橘内生真菌对峙下的直径变化

彩绒革盖菌的促生长现象并不明显。供试的大部分樟叶越橘内生真菌均可在培养中期表现出对彩绒革盖菌的抑制作用,且抑制作用较强。

由图 2-b 可知,在与密黏褶菌对峙过程中,大部分内生真菌在 3~8 d 中显示出对密黏褶菌的生长促进效果,但会在促进效果出现后 3~5 d 内表现出对密黏褶菌的生长抑制作用。VDBF-39 在对峙全程中表现出对密黏褶菌的生长促进作用。供试的大部分樟叶越橘内生真菌对密黏褶菌都具有较强抑制作用,且表现为先促进后抑制。

2.2 供试 12 株内生真菌对 5 种病原真菌的拮抗活性筛选结果

由表 3 可知,有 6 株菌株能够有效抑制腐皮镰孢,在供试内生真菌中占比高达 50.00%。对灰葡萄孢有较强抑菌能力的菌株数达 7 株,菌数占比 58.33%;对禾谷镰孢有较强或强抑菌能力的菌株则达 9 株,占比高达 75.00%。对尖孢镰孢和芸苔链格孢具有较强或强抑菌能力的菌株数量与禾谷镰孢一致。在拮抗活性测试中,有 5 株内生真菌对 5 种病原真菌呈现广泛较强抑制效果,其中,包括菌株 *Penicillium cairnsense* (VDBF-26)、VDBF-29、VDBF-34、*Aspergillus versicolor* (VDBF-36) 和 VDBF-41。由图 3 可知,VDBF-34 和 VDBF-41 对禾谷镰孢呈现强拮抗能力,抑制率分别为 76.86% 和 76.08%。

在与灰葡萄孢拮抗作用结果中,*Lachnum brevipilosum* (VDBF-38) 在与其对峙中呈现出抑菌圈。由图 3 可知,VDBF-38 培养 5 d 后,在其与灰葡萄孢对峙交界处出现明显的抑制现象,接近 VDBF-38 的菌落前沿菌丝出现萎缩现象。

在与腐皮镰孢对峙过程中,大部分内生真菌在 3~5 d 中出现对病原真菌的生长促进作用,在促进作用出现后 1~2 d 内转为抑制作用并达到病原真菌直径稳定状态。VDBF-41 对腐皮镰孢的生长促进效果在 3~5 d 内不高,在培养 5 d 时腐皮镰孢菌落直径达到最大值,在 5~7 d 中腐皮镰孢的菌落直径逐渐变小并最终达到稳定。

由图 4 可知,供试的大部分樟叶越橘内生真菌对腐皮镰孢均具有较强抑制作用,表现为先促进后抑制。在与禾谷镰孢对峙过程中,大部分内生真菌的表现与在彩绒革盖菌中相似,而普遍出现真菌直径拐点的时间范围为 5~8 d,供试的大部分樟叶越橘内生真菌对禾谷镰孢均有较强抑制作用。在与

表 3 供试 12 株内生真菌对 5 种病原真菌的拮抗活性筛选结果

菌株编号	腐皮镰孢		禾谷镰孢		灰葡萄孢		尖孢镰孢		芸苔链格孢	
	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)
VDBF-12	4.50 ± 0.25c	47.06 ± 2.94e	4.52 ± 0.32b	46.86 ± 3.78f	4.13 ± 0.20cd	49.02 ± 1.80def	4.15 ± 0.15cd	51.18 ± 1.76cd	4.28 ± 0.19bc	49.61 ± 2.23ef
VDBF-20	4.48 ± 0.20c	47.25 ± 2.38e	3.03 ± 0.15d	64.31 ± 1.80d	3.93 ± 0.10def	53.73 ± 1.22cd	4.32 ± 0.10c	49.22 ± 1.22d	2.65 ± 0.13fg	68.82 ± 1.56ab
VDBF-26	3.97 ± 0.23e	53.33 ± 2.72c	3.07 ± 0.23d	63.92 ± 2.65d	3.97 ± 0.62de	53.33 ± 7.31cd	3.18 ± 0.40e	62.55 ± 4.72b	2.83 ± 0.29ef	66.67 ± 3.40bc
VDBF-28	4.28 ± 0.03cd	49.61 ± 0.34de	2.33 ± 0.08ef	72.55 ± 0.90bc	3.53 ± 0.06efg	58.43 ± 0.68bc	2.63 ± 0.03f	69.02 ± 0.34a	2.53 ± 0.10fg	70.20 ± 1.22ab
VDBF-29	3.45 ± 0.05f	59.41 ± 0.59b	2.62 ± 0.08e	69.22 ± 0.90c	2.52 ± 0.03h	70.39 ± 0.34a	3.00 ± 0.05e	64.71 ± 0.59b	2.47 ± 0.06g	70.98 ± 0.68a
VDBF-32	4.48 ± 0.10c	47.25 ± 1.22e	3.52 ± 0.08c	58.63 ± 0.90e	4.67 ± 0.29b	45.10 ± 3.40fg	4.12 ± 0.03cd	51.57 ± 0.34cd	3.98 ± 0.23cd	53.14 ± 2.72de
VDBF-34	3.38 ± 0.08f	60.20 ± 0.90b	1.97 ± 0.18g	76.86 ± 2.07a	3.47 ± 0.14fg	59.22 ± 1.70b	2.87 ± 0.08ef	66.27 ± 0.90ab	2.48 ± 0.18g	70.78 ± 2.07a
VDBF-36	3.97 ± 0.03e	53.33 ± 0.34c	3.30 ± 0.18cd	61.18 ± 2.12de	4.13 ± 0.03cd	51.37 ± 0.34de	3.95 ± 0.09d	53.53 ± 1.02c	3.13 ± 0.03e	63.14 ± 0.34c
VDBF-38	5.07 ± 0.14b	40.39 ± 1.70f	4.27 ± 0.15b	49.80 ± 1.80f	4.80 ± 0.17b	43.53 ± 2.04g	4.92 ± 0.20b	42.16 ± 2.38e	4.33 ± 0.06b	49.02 ± 0.68f
VDBF-39	8.50 ± 0.00a	0.00 ± 0.00g	8.33 ± 0.06a	1.96 ± 0.68g	8.50 ± 0.00a	0.00 ± 0.00h	8.50 ± 0.00a	0.00 ± 0.00f	8.50 ± 0.00a	0.00 ± 0.00g
VDBF-41	2.73 ± 0.06h	67.84 ± 0.68a	2.03 ± 0.06fg	76.08 ± 0.68ab	3.33 ± 0.15g	60.78 ± 1.80b	2.90 ± 0.17ef	65.88 ± 2.04ab	2.63 ± 0.13fg	69.02 ± 1.48ab
VDBF-45	4.17 ± 0.19de	50.98 ± 2.23cd	3.12 ± 0.06d	63.33 ± 0.68d	4.48 ± 0.19bc	47.25 ± 2.23efg	3.90 ± 0.15d	54.12 ± 1.76c	3.95 ± 0.09d	53.53 ± 1.02d

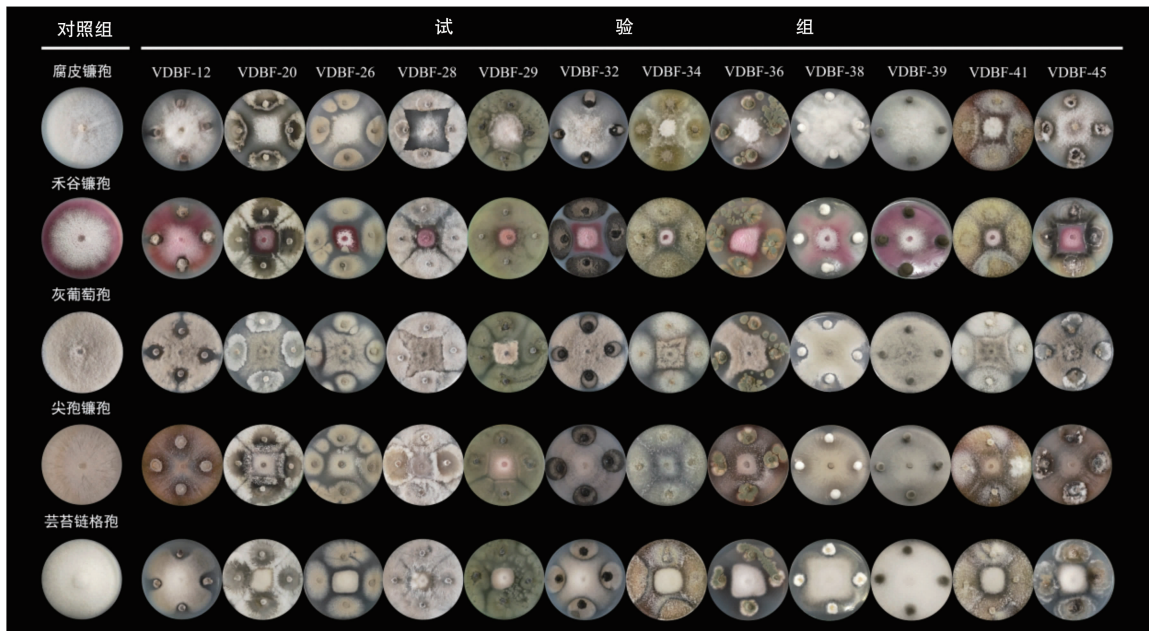


图3 12株樟叶越橘内生真菌对5种病原真菌的拮抗效果

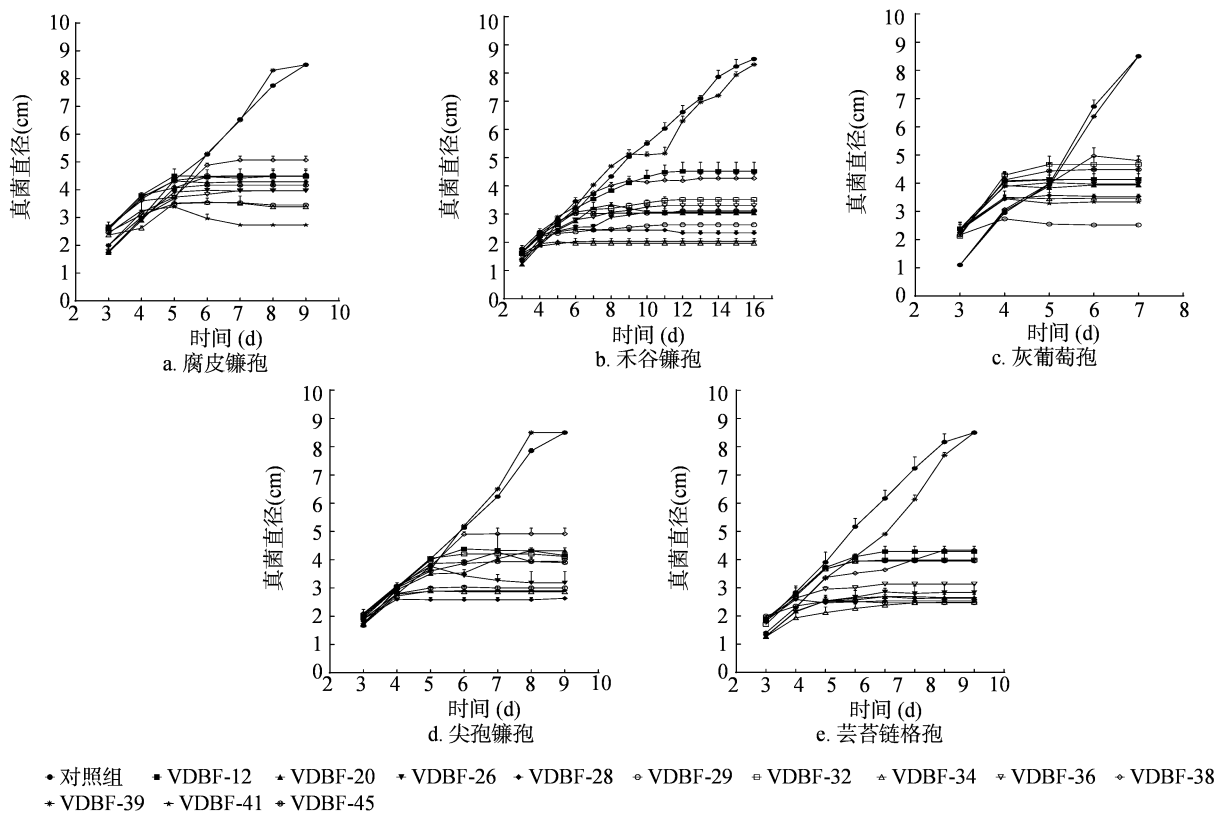


图4 5种病原真菌在12株樟叶越橘内生真菌对峙下的直径变化

灰葡萄孢对峙过程中,大部分的内生真菌在3~5 d中出现真菌生长促进作用,达真菌直径生长拐点,并在5~6 d转为生长抑制作用,达到病原真菌生长直径稳定状态,但VDBF-39对灰葡萄孢的生长影响并不明显,供试的大部分樟叶越橘内生真菌对腐

皮镰孢均具有较强抑制作用,表现为先促进后抑制。在与尖孢镰孢和芸苔链格孢的对峙过程中,大部分的内生真菌在3~5 d中出现真菌直径生长拐点,表现出拮抗作用,并在拐点出现后的3 d内达到病原真菌生长直径稳定状态。

3 讨论与结论

腐皮镰孢、尖孢镰孢等常见农作物病害菌严重影响作物产量与质量,传统的化学农药法带来的土地污染和研究的新抗病品种抗性降低等问题难以满足绿色可持续的发展需要。为了满足农作物产量质量和绿色、生态的发展要求,生物防治成为了农业领域的研究重点。具有生防活性的微生物是生物防治中的主角,大量研究表明利用生防菌进行生物防治是一种切实可行的方法。生防菌可通过帮助植物对抗非生物胁迫(如干旱、高温、低温等)和生物胁迫(如病原菌和虫害)来增强植物的抗性^[25],减轻植物的应激反应并缓解病害的影响^[26]。一些生防菌可分泌黏液使根系更好地吸收水分和养分,并通过与其他微生物协同作用,改善土壤结构、提高土壤保持水分和有机质含量^[27]。又可分泌次生代谢产物,这些代谢产物具有显著的抗菌和杀菌活性,可以帮助保护植物免受病原菌侵害^[28]。樟叶越橘内生真菌种类丰富,本试验中对供试指示菌具有广谱较强拮抗活性的 5 株内生真菌分别属于青霉属、叶点霉属、镰刀菌属、曲霉属和扁孔腔菌属菌株,这些属的菌株均有关于在生防菌应用方面的相关研究报道,如 Ding 等从喜树(*Camptotheca acuminata*)中分离得到的青霉属菌株对植物病原菌水稻纹枯病(*Rhizoctonia solani*)、藤仓赤霉(*Gibberella fujikuroi*)、稻瘟病菌(*Pyricularia grisea*)、小麦赤霉病(*Gibberella zeae*)、青椒枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*)的病原菌生长均有抑制作用^[29]。汪滢等从黄精(*Polygonatum sibiricum*)青霉属菌株中分离得到灰黄霉素等化合物,表现出广谱抗真菌活性,对灰葡萄孢、炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*)、蔓枯病菌(*Didymella bryoniae*)和核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)具有良好的抑菌效果^[30]。Tran 等从柑橘(*Citrus reticulata*)中分离得到的首都叶点霉可有效防治柑橘黑斑病^[31],杜衍等从北柴胡(*Bupleurum chinense*)中分离得到的腐皮镰孢 BCR-097 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、层生镰刀菌(*F. proliferatum*)、尖孢镰孢、腐皮镰孢有良好的抑菌作用^[32]。从樟叶越橘分离得到的 VDBF-34 与北柴胡中分离得到的 BCR-097 呈现出同样对尖孢镰孢的高抑菌活性和对植物致病真菌的广谱抗

性。Mohamed 等从杂色曲霉代谢产物中分离得到的二芳基醚对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等显示有较高的抑菌率^[33],Mao 等发现从罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)中分离得到的扁孔腔菌属真菌产生的 3,4-二氢异香豆素衍生物具有良好的抑菌活性^[34]。针对供试广谱活性内生真菌,系统开展其活性物质及其与宿主的互作关系等研究,将为进一步的生防菌剂开发应用提供参考。

值得注意的是,在抑菌试验菌落直径变化观察中,部分内生真菌在前期未接触病原菌菌丝时促进病原菌生长,但在后期对病原菌生长具有高度抑制效果,其原因可能是内生真菌来源的挥发性物质对病原真菌的生长有影响,但在生长后期随着内生真菌生长速度加快及次生代谢物的产生,病原真菌生长得到抑制。对于生防菌的利用多集中于生防菌的非挥发性成分抑菌效果,却很少关注真菌挥发性有机物的抑菌作用,对生防菌的挥发性成分与病原真菌生长关系的研究是较少的,这一点需要在生防菌开发和利用方面加以完善。

在抑菌试验菌落直径变化观察的后期,部分病原真菌出现“反扑”现象,原本被抑制的病原菌随着时间增长在原内生真菌菌落上长出自己的菌丝,这一点是需要关注的,因为真菌生长的试验时间设计往往是参考病原真菌生长速率的,这意味着如果延长试验设计时间可能会有病原真菌严重反扑的现象,而发现这种现象的可能在常见的试验时长中是很难得见且加以重视的。因此,在抑菌试验设计上,针对长势极快的内生真菌或病原真菌,应该以更完善的观察来研究真菌间的相互作用情况,以预防未来应用生防菌时出现“时间效应”的可能。

本研究从云南武定地区的樟叶越橘内分离得到的 12 株内生真菌中筛选出 5 株对 7 株供试指示菌均具有较强拮抗活性的菌株,分别为 VDBF-26、VDBF-29、VDBF-34、VDBF-36 和 VDBF-41,以上具有广泛拮抗作用的内生真菌具有开发成广谱生物农药的开发潜力。VDBF-28、VDBF-29、VDBF-34、VDBF-41 因其专一高拮抗活性的特点,具有开发成有针对性的微生物制剂的潜力。

参考文献:

- [1] 朱书生,黄惠川,刘屹湘,等. 农业生物多样性防控作物病害的研究进展[J]. 植物保护学报,2022,49(1):42-57.
- [2] Miah G, Rafii M Y, Ismail M R, et al. Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches [J].

- Molecular Biology Reports, 2013, 40(3): 2369–2388.
- [3] Alfiky A, Weisskopf L. Deciphering *Trichoderma* – plant – pathogen interactions for better development of biocontrol applications [J]. Journal of Fungi, 2021, 7(1): 61.
- [4] Saikkonen K, Faeth S H, Helander M, et al. FUNGAL ENDOPHYTES: a continuum of interactions with host plants [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 1998, 29: 319–343.
- [5] Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites [J]. Chemistry & Biology, 2012, 19(7): 792–798.
- [6] Rana K L, Kour D, Kaur T, et al. Endophytic microbes: biodiversity, plant growth – promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2020, 113(8): 1075–1107.
- [7] Aly A H, Debbab A, Proksch P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 90(6): 1829–1845.
- [8] Kuldau G, Bacon C. Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses [J]. Biological Control, 2008, 46(1): 57–71.
- [9] 安雪菲, 罗旭璐, 唐军荣, 等. 樟叶越橘根优势内生菌对宿主组培苗干旱胁迫生理的影响 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2022, 42(1): 108–114.
- [10] Deshmukh S K, Gupta M K, Prakash V, et al. Endophytic fungi: a source of potential antifungal compounds [J]. Journal of Fungi, 2018, 4(3): 77.
- [11] 李雨欣, 戴欣宇, 曹雪梅, 等. 生防菌在植物病害领域的研究进展 [J]. 湖南生态科学学报, 2023, 10(2): 109–116.
- [12] 方瑞征. 中国越橘属的研究 [J]. 云南植物研究, 1986, 8(3): 239–258.
- [13] 侯宽昭. 中国种子植物科属词典 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1982.
- [14] 杨芳, 邵金良, 杨斌, 等. 雀嘴茶营养成分的分析及评价 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(12): 1516–1519.
- [15] Zhao P, Tanaka T, Hirabayashi K, et al. Caffeoyl arbutin and related compounds from the buds of *Vaccinium dunalianum* [J]. Phytochemistry, 2008, 69(18): 3087–3094.
- [16] Luo X L, Li N, Xu M, et al. HPLC simultaneous determination of arbutin, chlorogenic acid and 6'-O-caffeoylarbutin in different parts of *Vaccinium dunalianum* Wight [J]. Natural Product Research, 2015, 29(20): 1963–1965.
- [17] Li N, Zeng W L, Luo X L, et al. A new arbutin derivative from the leaves of *Vaccinium dunalianum* Wight [J]. Natural Product Research, 2018, 32(1): 65–70.
- [18] 丁绍武, 张鹏, 刘梦铭. 植物内生菌对植物生长的影响研究进展 [J]. 现代农业科技, 2020(11): 132–134.
- [19] Khare E, Mishra J, Arora N K. Multifaceted interactions between endophytes and plant: developments and prospects [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2732.
- [20] Fan M, Chen X, Luo X, et al. Diversity of endophytic fungi from the leaves of *Vaccinium dunalianum* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2020, 71(5): 479–489.
- [21] 罗旭璐. 樟叶越橘原植物及其组织培养系的化学成分分析 [D]. 昆明: 西南林业大学, 2015: 114–115.
- [22] 曾为林. 樟叶越橘枝的内生菌及 *Penicillium crustosum* 次生代谢产物的分离鉴定 [D]. 昆明: 西南林业大学, 2018: 24–26.
- [23] 樊苗苗, 陈肖学, 张詠, 等. 樟叶越橘叶内生真菌的抑菌活性研究 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2018, 38(2): 141–147.
- [24] 严冬, 曾为林, 陈肖学, 等. 樟叶越橘嫩枝内生真菌的植物病原菌拮抗活性 [J]. 中南林业科技大学学报, 2021, 41(3): 64–71.
- [25] Khan A L, Hamayun M, Kang S M, et al. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10 [J]. BMC Microbiology, 2012, 12: 3.
- [26] Baltruschat H, Fodor J, Harrach B D, et al. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants [J]. The New Phytologist, 2008, 180(2): 501–510.
- [27] Philippot L, Raaijmakers J M, Lemanceau P, et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere [J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(11): 789–799.
- [28] Kusari S, Zühlke S, Spiteller M. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues [J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(1): 2–7.
- [29] Ding T, Jiang T, Zhou J, et al. Evaluation of antimicrobial activity of endophytic fungi from *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae) [J]. Genetics and Molecular Research, 2010, 9(4): 2104–2112.
- [30] 汪滢, 王国平, 王丽薇, 等. 一株多花黄精内生真菌的鉴别及其抗菌代谢产物 [J]. 微生物学报, 2010, 50(8): 1036–1043.
- [31] Tran N T, Miles A K, Dietzgen R G, et al. *Phyllosticta capitalensis* and *P. paracapitalensis* are endophytic fungi that show potential to inhibit pathogenic *P. citricarpa* on citrus [J]. Australasian Plant Pathology, 2019, 48(3): 281–296.
- [32] 杜衍, 高德民, 孙燕, 等. 北柴胡内生真菌分离鉴定及其生防促生活性分析 [J]. 山东农业科学, 2023, 55(6): 85–94.
- [33] Mohamed G A, Ibrahim S R M, Asfour H Z. Antimicrobial metabolites from the endophytic fungus *Aspergillus versicolor* [J]. Phytochemistry Letters, 2020, 35: 152–155.
- [34] Mao Z L, Xue M Y, Gu G, et al. Lophiostomin A – D; new 3, 4-dihydroisocoumarin derivatives from the endophytic fungus *Lophiostoma* sp. Sigrf10 [J]. RSC Advances, 2020, 10(12): 6985–6991.