

深绿木霉 (*Trichoderma atroviride*) ZYTA11 具有对木本植物溃疡病的良好生防特征

张宗侠 邓德法 曹阳 刘振宇

(山东农业大学植物保护学院, 山东泰安, 271018)

从板栗病枯枝条上, 发现木霉寄生病原菌, 在病原菌子座上产生典型的木霉子实体, 呈圆球形粉状孢子堆, 初期白色, 后期产孢后变为绿色。经分离培养, 获得木霉纯培养 ZYTA11。

测定了该木霉在PDA上的生长性状, 其在PDA 培养基上菌丝体初为纯白色菌丝, 生长迅速, 2d即可长满直径为9cm的平板, 培养4d后开始产生大量的绿色孢子, 无气味, 无色素渗出到培养基上, 菌落背面由白色变为浅黄色。其分生孢子梗由菌丝直立生出, 无色, 分枝多, 近似直角伸出, 对生或互生, 在分枝末端形成瓶状小梗, 底端稍有缢缩, 中间稍有隆起, 产孢瓶体端部尖削, 微弯, 尖端生分生孢子团成树枝状排列, 分生孢子球形、近球形至倒卵形, 光滑, 孢子大小为 $2.96\sim 3.68\mu\text{m}\times 2.55\sim 3.31\mu\text{m}$, 平均 $3.21\mu\text{m}\times 2.93\mu\text{m}$ 。

采用引物ITS1和ITS4从木霉ZYTA11基因组DNA中扩增出607 bp的ITS片段, 经分析其与深绿木霉(*T. atroviride*)的同源性为99% ~ 100%; 用 $\beta\text{t}2\text{a}$ 和 $\beta\text{t}2\text{b}$ 对菌株ZYTA11进行 $\beta\text{-tubulin}$ 序列的 PCR 扩增, 得到356bp的 $\beta\text{-tubulin}$ 的序列, 用引物 EF1-728F和EF1-986R 对菌株ZYTA11进行EF1-延伸因子序列的 PCR 扩增, 获得EF1-延伸因子区大小为346bp, 将其与GenBank中已有的DNA序列进行同源性比较, 发现与ZYTA11的 $\beta\text{-tubulin}$ 和EF1序列同源性最高菌株均为木霉和深绿木霉 (*Trichoderma atroviride*)。因此, 根据培养性状、形态学、分子特征等, 鉴定该木霉ZYTA11为深绿木霉 (*T. atroviride*)。

测定了深绿木霉ZYTA11对樱花溃疡病菌、核桃溃疡病菌、核桃拟茎点霉、杨树水泡溃疡菌、苹果腐烂病菌等木本植物溃疡类病菌的抗菌作用。对峙培养结果显示, 木霉ZYTA11对5种溃疡类病原菌都有较强的抗菌作用, 在PDA培养基上病原菌生长明显受到该木霉菌株生长的抑制, 并随时间发展, 木霉菌包围或覆盖病原菌菌落, 侵染病原菌菌丝, 并在病原菌菌丝上大量生长, 伴随着病原菌菌丝的死亡。在光学显微镜下, 发现病原菌菌丝体表现为典型的被木霉菌寄生特征, 木霉菌菌丝在病原菌的菌丝上平行或波浪式生长, 并在其上产生钩状分支, 吸器或附着胞吸附于病原菌的菌丝上, 或穿透病原菌的菌丝生长, 或使病原菌的菌丝细胞原生质浓缩和菌丝断裂、扭曲溶解等现象。可以发现, 该木霉对几种溃疡病菌拮抗机制主要是竞争、溶菌、抗生和重寄生。在杨树和苹果树枝条的活体接种试验, 深绿木霉ZYTA11也表现出明显的抑制病原菌侵染杨树和苹果树枝条, 并抑制发病的典型特征。

关键词: 深绿木霉, 生物防治, 溃疡病菌, 重寄生

刘振宇, **E-mail:** cosmosliu@163.com; **Tel:** +86-538-8247781-8805

本研究得到国家自然科学基金(30972367)的资助。