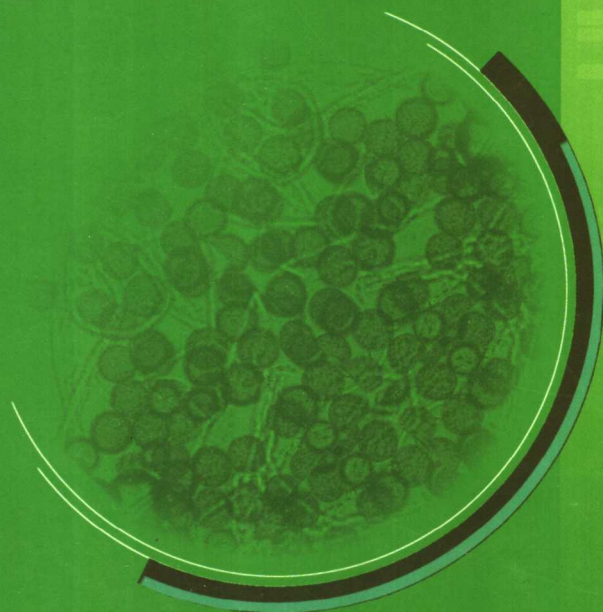


中国植物病理学会第八届青年学术研讨会论文选编

植物病理学 研究进展

■ 王 琦 姜道宏 主编



中国农业科学技术出版社

中国植物病理学会第八届青年学术研讨会论文选编

植物病理学 研究进展

■ 王 琦 姜道宏 主编

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物病理学研究进展/王琦, 姜道宏主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2007. 10

ISBN 978 - 7 - 80233 - 390 - 1

I. 植… II. ①王…②姜… III. 植物病理学 - 研究
IV. S432.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 142535 号

责任编辑 冯凌云

责任校对 贾晓红 康苗苗

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 68919704 (发行部) (010) 62150862 (编辑室)
(010) 68919703 (读者服务部)

传 真 (010) 62189012

网 址 <http://www.castp.cn>

经销者 新华书店北京发行所

印刷者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787 mm × 1 092 mm 1/16

印 张 27.25

字 数 600 千字

版 次 2007 年 10 月第 1 版 2007 年 10 月第 1 次印刷

定 价 60.00 元

《植物病理学研究进展》编辑委员会

主 编：王琦 姜道宏

副主编：侯明生 李金云 赵廷昌 黄俊斌 李国庆

编 委：（按姓氏笔画为序）

马占鸿	王云月	王凤乐	王宗华	王建明
王宽仓	王艳青	王雪薇	王 琦	冯 岩
冯 锋	田国忠	任金平	刘大群	刘伟成
刘西莉	刘润进	孙广宇	孙国昌	朱友林
朱水芳	朱有勇	邢 岩	吴元华	吴建宇
吴献忠	张力群	张克勤	张建平	张振臣
李大伟	李国庆	李明福	李洪连	杨小滨
杨家荣	邱 艳	陆悦建	陈万权	陈立杰
陈柏刚	周立刚	周国梁	周明国	周益林
周雪平	国立耘	林壁润	苗洪芹	范坤成
郑传临	郑建秋	金社林	南志标	侯明生
姜道宏	胡东维	赵廷昌	赵奎华	高学彪
曹丽华	曹克强	梅丽艳	黄俊斌	黄 富
彭德良	董金皋	谢建军	简桂良	廖咏梅

中国植物病理学会第八届 青年学术研讨会组织委员会

主 任：姜道宏 王琦

副主任：侯明生 李金云 黄俊斌

李国庆 赵廷昌 邹菊华

委 员：(按姓氏笔画为序)

马占鸿 王云月 王凤乐 王宗华 王建明

王宽仓 王艳青 王雪薇 王 琦 冯 岩

冯 锋 田国忠 任金平 刘大群 刘伟成

刘西莉 刘润进 孙广宇 孙国昌 朱友林

朱水芳 朱有勇 邢 岩 吴元华 吴建宇

吴献忠 张力群 张克勤 张建平 张振臣

李大伟 李国庆 李明福 李洪连 杨小滨

杨家荣 邱 艳 陆悦建 邹菊华 陈万权

陈立杰 陈柏刚 周立刚 周国梁 周明国

周益林 周雪平 国立耘 林壁润 苗洪芹

范坤成 郑传临 郑建秋 金社林 南志标

侯明生 姜道宏 胡东维 赵廷昌 赵奎华

高学彪 曹丽华 曹克强 梅丽艳 黄俊斌

黄 富 彭德良 董金皋 谢建军 简桂良

廖咏梅

前 言

中国植物病理学会第八届青年学术研讨会论文选编《植物病理学研究进展》共收集了120篇研究论文、简报、摘要和综述。内容涉及植物病原真菌及真菌病害、原核生物及其病害、病毒及其病毒病害、线虫等其他病原及其病害、抗病性及抗病育种、病害流行及预测、植物检疫、生物防治、种子病理与杀菌剂、病害综合防治、分子生物学及其应用等方面,基本上反映了近两年来我国青年植物病理工作者在植物病理学各分支学科基础理论、应用基础和病害防治实践等方面所取得的研究进展。

大会的召开和论文集的出版得到了中国科学技术协会和中国植物病理学会的资助。挂靠单位中国农业大学给予了关心和指导。我国植病界多位专家、教授给予了关心、指导和帮助。大会承办单位华中农业大学和湖北省植物病理学会,以及编委会的同志们付出了辛勤劳动,中国农业科学技术出版社给予了大力支持和帮助。在此,我们表示衷心的感谢!

由于大会征集论文数量较多,编辑工作量大,时间仓促;同时,本着尊重作者意愿和文责自负的原则,对论文的内容一般未作改动,仅在编辑体例上进行了处理。因此,错误和不足之处在所难免,诚请论文作者和读者批评指正!

编 者

2007年10月

目 录

真菌及真菌病害

辣椒及其种子内生真菌的分离及鉴定	位增辉 王远路等 (3)
肾叶打碗花锈病在青岛地区发生的报道	金 静 罗 丽等 (8)
分子标记技术在马铃薯晚疫病病菌研究中的应用	陈 茜 刘波微等 (11)
湖北省大蒜白斑病菌生物学特性的初步研究	郑 露 刘 佳等 (16)
毛喉鞘蕊花枯萎病原鉴定	刘 佳 董伊丹等 (17)
稻瘟病菌 T-DNA 插入致病突变体的筛选与初步分析	陈晓峰 林 艳等 (19)
虫草属资源研究进展	丁 婷 邵 颖 (26)
高羊茅褐斑病病原鉴定	董伊丹 郑 露等 (29)
观赏海棠轮纹病原的初步研究	刘宝军 韦广琴等 (30)
灰葡萄孢不同菌株对番茄的致病力分化研究	李喜玲 高智谋等 (32)
姜叶斑病的病原鉴定	刘亚利 江蓓蓓等 (34)
武汉梅树炭疽病的病原多样性分析	吕锐玲 付艳革等 (38)
一种提高农杆菌介导转化核盘菌的新方法	余 洋 江 明等 (40)
First Report of Onion Bulb Rot Caused by <i>Botrytis aclada</i> in China	JING Zhang QIN Zou, et al. (41)
柴胡根腐病原菌鉴定及其生物学特性初步研究	李 勇 丁万隆等 (43)
小麦黑胚病菌链格孢 (<i>Alternaria alternata</i>) 毒素生物活性及其理化性质	周 慧 郜瑞敏等 (49)
狗牙根草黑粉病初报	王 婧 姜道宏等 (55)
武汉豆瓣菜菌核病初探	司凤举 吴仁锋等 (56)
稻曲病 <i>Ustilaginoidea vriesii</i> 厚垣孢子侵染水稻方式研究	张 舒 常向前等 (58)

原核生物及其病害

番茄茎髓黑腐病病原菌的鉴定	赵廷昌 陈 新等 (63)
植物细菌性病害研究初探	彭 炜 (72)
洋葱伯克霍尔德菌的研究进展	韩莉莉 陈京元等 (77)
茄科青枯菌的分子分析	余小漫 何自福等 (85)
柑橘溃疡病菌单链抗体文库构建及高亲和性特异单链抗体筛选	袁 青 夏玉先等 (86)
玫瑰和绣线菊丛枝病的分子鉴定	高 瑞 王 洁等 (88)
桑树萎缩型植原体延伸因子基因和核糖体蛋白基因序列分析	刘永光 孔令广等 (94)
应用 Nested-PCR 检测黄皮黄龙病病原及其 16S rDNA 的克隆与序列 分析	邓晓玲 冯 震等 (98)
自然环境与人体洋葱伯克氏菌的毒力比较	张立新 谢关林 (100)

蜡样芽孢杆菌毒素的研究进展	王利国 王 琦 (101)
---------------------	---------------

病毒及病毒病害

警惕台湾番茄曲叶病毒病发生为害	张纯霄 吴永汉等 (109)
ASPV cp 基因克隆及植物表达载体的构建	范 锦 洪 霓等 (111)
来源于梨的苹果茎痘病毒的分离与鉴定	王 君 洪 霓等 (112)
苹果褪绿叶斑病毒干扰性 hp-dsRNA 表达载体构建	宋艳芬 洪 霓等 (113)
朱槿曲叶病样中烟粉虱传双生病毒的分子检测	何自福 毛明杰等 (114)
灰飞虱体内沃尔巴克氏体的检测	邱垫平 苗洪芹等 (117)
二种方法检测灰飞虱携带水稻条纹叶枯病毒比较	孙祥良 王华弟等 (121)
甜菜花叶病毒莴苣分离物 3'-cDNA 片段的克隆及序列分析	王红艳 刘媛媛等 (126)
来自安徽不同寄主马铃薯 Y 病毒 CP 基因的克隆及序列分析	陈 伟 李 爽等 (132)
利用反向遗传学技术研究植物病毒基因功能	李向东 于晓庆等 (133)
温州市发现一种新的由烟粉虱传播的蔬菜病害——番茄曲叶病毒病	林定鹏 (136)
Research on the Relationship between Prevention of the Small Brown Planthoppers (<i>Laodelphax striatellus</i>) in Rice Seedling Bed and the Incidence of Rice Stripe Virus	WANG Hua-di, ZHANG Xiao-jie, et al. (139)
Discrepancy of Transmission Rate of the Rice Stripe Virus by Nymphs and Adults of the Small Brown Planthopper <i>Laodelphax striatellus</i> Fallen (Homoptera: Delphacidae)	SUN Xiang-liang, WANG Hua-di, et al. (145)

植物抗病性

“中二软占”空间诱变抗稻瘟病品系的抗性遗传分析	肖武名 杨祁云等 (153)
“中二软占”空间诱变品系的抗稻瘟病研究	杨祁云 陈志强等 (158)
晚粳糯品种(系)对抗条纹叶枯病抗性测定	蔡国梁 王华弟等 (159)
玉米种质资源对两种病毒病的抗性鉴定	贾志森 智建奇等 (163)
诱导不同叶位叶片对番茄抗灰霉病的影响	余朝阁 杜妍妍等 (168)
Evaluation of Rice Varieties Resistant to Rice Stripe Virus	WANG Hua-di, SUN Qiang-liang, et al. (170)
两种寡糖类激发子诱导烟草抗烟草花叶病毒研究初探	卢 航 赵小明等 (175)
寡聚半乳糖醛酸诱导烟草抗烟草花叶病毒研究初探	卢 航 赵小明等 (179)
壳寡糖诱导油菜抗油菜菌核病初步研究	尹 恒 李曙光等 (183)
Oligochitosan Induces Programmed Cell Death in Tobacco Cell Suspension	WANG Wen-xia, LI Shu-guang, et al. (187)
Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Signaling in Tobacco Resistance to Tobacco Mosaic Virus Induced by Oligogalacturonic Acid	LU Hang, ZHAO Xiao-ming, et al. (193)
基因表达研究方法在植物病理学中的应用	张月娟 朱秀秀等 (204)
甘蓝型油菜抗病毒病相关基因的初步研究	蔡 丽 侯明生 (209)
过表达来自油菜的拟南芥 MPK4 同源物激活 JA 信号防御反应	王 政 刘胜毅 (210)
核盘菌非寄主抗性的初步研究	郭学兰 董彩华等 (211)

油菜菌核病抗性鉴定方法——装备喷雾系统的田间病圃法	刘胜毅 刘越英等 (213)
---------------------------------	----------------

预测预报与综合防治

苹果腐烂病的流行原因分析与防治关键技术探讨	姚明辉 李树才等 (217)
冀北地区苹果锈病大发生的原因与防治技术研究	李树才 姚明辉 (221)
Study on Epidemic Pattern of Rice Stripe Virus and Its Control	WANG Hua-di, ZHU Jin-liang, et al. (224)
水稻条纹叶枯病发生动态与防治技术研究	宁国云 王华弟等 (229)
水稻条纹叶枯病发病与为害损失测定结果初报	朱金良 王华弟等 (234)
Selection of the Predicting Factors for Rice Stripe Virus and the Application of Forecasting Model	WANG Hua-di, XU Zhi-hong, et al. (238)
水稻播种期对秧田灰飞虱虫量与条纹叶枯病发病影响的试验	王华弟 孙祥良 (243)
水稻条纹叶枯病发病率与为害损失关系的测定	孙祥良 王华弟 (248)
水稻秧田不同播种期与条纹叶枯病发生的探讨	朱金良 王华弟 (254)
豫西地区辣椒病毒病发生流行特点及综合防治方法	上官建宗 (258)
天津地区保护地黄瓜新病害	刘春艳 王 勇等 (261)
辣椒“三落”的原因及防治对策	黄秀丽 (264)
棉花枯、黄萎病的防治探索	郭慧卿 (266)
苹果霉心病综合防治技术研究	宋长友 (268)
渑池县小麦腥黑穗病发生原因及综合防治技术	上官晨霞 (271)
水稻条纹叶枯病在开封市连年重发的原因及防治对策	郭慧卿 (274)
水稻条纹叶枯病发病流行因素分析	蔡国梁 王华弟等 (276)
早春保护地薄皮甜瓜苗期病害的发生与防治	高新建 马井玉等 (283)
甜菊苗期病害的发生与防治	郭新平 高发瑞等 (286)
不同耕作方式大豆田捕食性线虫与植物线虫的多样性及指示作用研究	王 旭 陈立杰等 (289)
Strategies to Prevent Spread of <i>Leptosphaeria maculans</i> (Phoma Stem Canker) onto Oilseed Rape Crops in China; Costs and Benefits	B. D. L. Fitt, B. C. Hu, et al. (295)

生物防治

青枯病生防菌株 SH7 的摇瓶发酵条件的筛选	王 静 王 振等 (299)
生防假单胞菌 2P24 中双因子系统 GacS - GacA 和 RpoS 对群体感应系统的调控作用	闫 庆 吴小刚等 (304)
荧光假单胞菌 2P24 防病机制研究进展	张力群 (305)
荧光假单胞杆菌 2P24 的信号分子合成基因 <i>pcol</i> 在转录水平受 GacS/GacA 双因子系统调控	吴小刚 魏海雷等 (306)
杨树内生细菌的分离鉴定及对杨树水泡溃疡病菌的抑制作用	胥丽娜 徐 亮等 (307)
枯草芽孢杆菌 Xi-55 液体发酵条件的优化	朱建义 张 敏等 (309)
生物制剂“绿液”对采后主要病原菌的抑制作用	檀根甲 李 丽等 (316)
黄皮果实炭疽病病原菌鉴定及其拮抗性内生菌的筛选	胡美姣 郑 婧等 (319)

放线菌次生代谢产物对大豆胞囊线虫二龄幼虫活性影响的初步研究

- 陈立杰 陈井生等 (324)
- 生物土壤添加剂减轻黄瓜连作障碍的机制初探 郝永娟 魏 军等 (328)
- 棉花黄萎病菌拮抗菌的筛选与鉴定 汪敬鑫 盛 晟等 (331)
- 黄瓜内生细菌对黄瓜灰霉病的生物防治研究 安瑞平 马 青等 (338)
- 大豆低温保护性细菌筛选的初步研究 刘大伟 段玉玺等 (339)
- 盾壳霉 ZS-1 菌株对核盘菌弱毒株 Ep-1PN 影响的初步研究 唐 清 付艳苹等 (342)
- 盾壳霉产孢相关基因 *CMPEX2-like* 的克隆及其功能验证 郭育林 吴素真等 (344)
- 盾壳霉在土壤中随水分进行的扩散研究 杨 龙 李国庆等 (345)
- 筛选拮抗性酵母防治哈密瓜细菌性果斑病的研究 王晓东 李国庆 (346)
- 核盘菌弱毒相关病毒 (SsDRV) 感染雪腐核盘菌的研究 腾 飞 谢甲涛等 (347)
- 蜡芽孢杆菌 905 铜锌超氧化物歧化酶基因的克隆及原核表达
..... 莫小丹 王勇军等 (348)
- 葡萄土壤杆菌 E26 中 *chvA_{E26}* 基因的克隆及序列分析 李 磊 未 庆等 (351)
- 生防土壤杆菌 E26 防治葡萄根癌病相关基因的克隆及功能分析
..... 杨毅玲 未 庆等 (352)
- 源于水稻植株的一株链霉菌 F-1 的鉴定和防病潜力研究 万明国 邓建良等 (353)
- 植物寄生线虫生防因子的研究进展 张飞跃 孙炳剑等 (355)
- 拮抗放线菌 B1 的初步鉴定及对番茄灰霉病的防效 谢晨昭 杨毅玲等 (362)
- 枯草芽孢杆菌 C27 对番茄采后灰霉病的防效初探 冯瑞轩 李金云等 (363)
- 绿色木霉菌 Tr9701 的抑病机理及其在黄瓜叶片、根部定殖初探
..... 王 勇 王万立等 (364)
- 绿色木霉 Tr9701 人工发酵培养条件的研究 王 勇 王万立等 (368)
- 抗根癌菌剂 2 号工厂化生产关键技术研究 李金云 王金利等 (375)
- 纳米颗粒对 *Bacillus cereus* 905 在黄瓜叶围存活的影响 王 爽 常立艳等 (376)

种子病理与杀菌剂

- 植物源提取物 Vegard 防治小麦和瓜类白粉病试验 杨立军 曾凡松等 (383)
- 两种有毒植物对黄瓜枯萎病菌的抑菌活性测定 仲嘉伟 董海龙等 (387)
- 瑞香狼毒甲醇提取物对番茄灰霉病活性初步研究 张勇智 董海龙等 (391)
- 中药细辛提取物对番茄早疫病菌的抑制作用 董海龙 张勇智等 (394)
- 植物提取物对杨树溃疡病的防治作用 周亚明 刘 浩等 (399)
- 内吸性杀菌剂对卵菌的作用机理及抗药性机理概述 陈小霞 袁会珠 (401)
- Evaluation of Pesticides for Control of Konjac Soft-Rotting Bacteria
..... CHEN G H, FEI F H, et al. (407)
- 植物精油抗菌活性的研究进展 黄永富 龚佑文等 (413)
- 番茄灰霉病菌线粒体分离方法的研究 龚双军 刘西莉等 (415)
- 杀菌剂对玉米丝黑穗病、瘤黑粉病和小斑病的抑菌作用 云晓敏 黄中乔等 (420)
- 北京地区玉米种子健康检验及病害传播风险初步研究 黄中乔 云晓敏等 (421)
- 几种杀菌剂对番茄晚疫病菌的毒力测定及田间防效分析 吴仁锋 司凤举等 (423)

真菌及真菌病害

辣椒及其种子内生真菌的分离及鉴定

位增辉^{1*} 王远路² 罗 丽² 金 静² 刘建萍²

(1. 莱阳柏林庄镇农业技术推广站, 山东莱阳 265200;

2. 青岛农业大学植物保护学院, 山东青岛 266109)

摘 要: 从新鲜辣椒植株的叶、茎及种子内, 采用组织分离法、稀释分离法及种子诱培法得到 168 个菌株, 鉴定为 14 属 20 种暗色丝孢菌及淡色丝孢菌, 分别是弯孢属 *Curvularia*、细基格孢属 *Ulocladium*、皮司霉属 *Pithomyces*、链格孢属 *Alternaria*、平脐蠕孢属 *Bipolaris*、芽枝孢属 *Cladosporium*、黑团孢属 *Periconia*、黑附球属 *Epicoccum*、矛束霉属 *Doratomyces*、拟青霉属 *Paecilomyces*、青霉属 *Penicillium*、曲霉属 *Aspergillus*、枝顶孢属 *Acremonium*、镰刀菌属 *Fusarium* 和一些不孕菌丝。以稀释分离法得到的菌株数较多, 叶片和茎秆上分离到的菌株数无多大差别。

关键词: 内生真菌; 辣椒; 种子; 鉴定

Isolation and Identification of Endophytic Fungi from Hot Pepper

WEI Zeng-hui^{1*}, WANG Yuan-lu¹, LUO Li², JIN Jing², LIU Jian-ping²

(1. Agricultural Technology Extension Station of Bolin Town Laiyang City,

Laiyang 265200, China; 2. Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: A total of 168 endophytic fungi were isolated from the leaves, stem fragments and seeds collected of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) plants grown in the field and a greenhouse in 2005. The fungi belonged to fourteen genera, 20 species, among them nine were dematiaceous genera (*Curvularia*, *Ulocladium*, *Pithomyces*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Periconia*, *Epicoccum*, *Doratomyces*) and five were non-dematiaceous genera (*Paecilomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium* and *Fusarium*), and along with some sterile mycelia. More isolates were gained by dilution method. No difference was found in the number of fungi isolated from leaves and stems.

Key words: endophytic fungi; hot pepper; seed; identification

内生真菌是指那些生活在植物组织内的真菌, 用以区分生活在植物表面的真菌。对植物内生真菌的研究可追溯至 19 世纪末, 在 100 多年的研究中取得了丰硕的成果^[1-3,7-9]。内生真菌与植物之间存在密切的互利共生关系, 对植物的生理代谢调控和生长发育有较大的影响, 目前还未发现不存在内生真菌的植物种类。我国也从大量的植物中报道了内生真菌的存在, 寄主种类涉及林木、蔬菜及花卉植物^[10-16], 但还有相当数量的植物内生菌没有被研究过, 进一步深入开展植物内生菌的研究, 对于丰富各类菌物的生物多样性知识和植物内生菌资源的应用开发具有十分重大意义。

辣椒是国民经济中重要的蔬菜作物, 但发生在辣椒上的病害较多, 对辣椒的生产带来了不利的影响, 在内生真菌表现巨大生防潜力的前提下, 未见到辣椒内生真菌的报道, 因而开

* 第一作者: 位增辉 (1974 ~), 女, 山东莱阳人, 大学本科, 农艺师, 现主要从事农业技术推广与研究工作; E-mail: wei.zenghui@yahoo.com.cn.

展辣椒内生真菌的研究,以期从中筛选出有生防价值的内生真菌,必将会促进辣椒的生产并带来不可估量的经济和生态效益。

1 材料与方法

1.1 供试辣椒及采样方法

山东省莱阳市莱阳农学院园艺系蔬菜大棚种植干制椒型辣椒。选择生长性良好、无病虫害症状的健康辣椒植株的叶片、茎秆及果实,分别于发芽期、幼苗期、开花坐果期和结果期采样。植株采下后装入无菌塑料袋中,带回实验室立即进行分离。

1.2 研究方法

1.2.1 内生真菌的组织分离法 所有的叶片和茎秆样品在蒸馏水冲洗2次,然后浸没在70%酒精1min,3%次氯酸钠4min,然后再在70%酒精中浸没30s,灭菌水中洗3次,每次洗1min。经过表面消毒的组织,切成5~7mm的组织块,无菌操作下转移至PDA培养基(pH值6.8,马铃薯200g;葡萄糖20g;琼脂15g;121℃灭菌15min)上,倒平板前加入100 μ g/ml的土霉素以抑制细菌的生长,取最后一次冲洗组织的灭菌水倒于平板上,以检查表面消毒是否彻底。

1.2.2 内生真菌的稀释分离法 组织表面消毒的方法同1.2.1,将经过表面消毒的叶片和茎秆在灭菌的研钵中研碎,加入等体积的灭菌水稀释,然后用移液器吸取1ml组织悬浮液转于PDA培养基(加入100mg/ml的土霉素)上,然后用灭菌玻棒涂平。

1.2.3 种子内部真菌的分离 将种子用70%酒精浸泡30s,很快放入无菌水中冲洗3次,然后置于铺有灭菌滤纸的培养皿内,并加入少量灭菌水,加入的量以润湿滤纸为佳,每皿中放入5粒种子。

1.2.4 内生真菌的培养、纯化、保藏及计数 为了便于分离生长缓慢的真菌和产孢能力低的真菌的生长,将一半平板放入26℃培养箱中培养,另一半平板放入37℃中培养。每天进行检查,一直到30天后,将长出的真菌及时进行分离、纯化及保藏(4℃,PDA斜面)以便进一步进行鉴定,并记录不同部位分离出的菌株数。

1.2.5 内生真菌的鉴定 从培养的菌落上挑取菌丝制成临时玻片进行观察,如果观察的菌丝及分生孢子梗大量聚集在一起,不易看清结构,则应先将菌丝置于滴有1滴70%酒精的载玻片上10s,然后将玻片倾斜倒去酒精,并用吸水纸将酒精彻底吸净后,再在菌丝及分生孢子梗上滴1滴水制成临时玻片放在光学显微镜下观察,拍照,测量孢子大小,并记录形态特征,所有鉴定的菌种均以在PDA培养基上生长的特性为标准,参考有关书籍进行鉴定^[4~6]。

2 结果与分析

2.1 不同分离方法对辣椒内生真菌分离的影响

采用不同的分离方法得到的菌株数不同,稀释分离法得到的菌株数较多,而经组织分离法得到的菌株数少(表1),但稀释分离法得到的菌株不易纯化,而组织分离法得到的菌株易纯化。从种子中分离得到的内生真菌数量较少,仅占到总分离菌株数的7.8%;叶片和茎秆上分离到的菌株数无多大差别。

Table 1 The comparison of endophytic fungi isolated by different methods

tissue	diluted isolation method		tissue isolation method	
	number of isolates	frequence of isolation	number of isolates	frequence of isolation
leaf	47	30.0	32	19.1
stem	40	23.8	36	21.4
seed	—	—	13	7.8

2.2 内生真菌的种类

经过对辣椒叶片、茎及种子 823 份材料中内生真菌的分离，共得到 168 株菌株，定殖率为 20.4%，图 1 表明了暗色丝孢菌是最常见的分离菌。经鉴定属于 14 属 20 种真菌（表 2）。其中，弯孢属 *Curvularia*、链格孢属 *Alternaria*、平脐蠕孢属 *Bipolaris*、芽枝孢属 *Cladosporium*、黑附球属 *Epicoccum*、细基格孢属 *Ulocladium*、皮司霉属 *Pithomyces*、拟青霉属 *Paecilomyces*、青霉属 *Penicillium*、曲霉属 *Aspergillus*、枝顶孢属 *Acremonium*、镰刀菌属 *Fusarium* 是常见的内生真菌，而黑团孢属 *Periconia* 和矛束霉属 *Doratomyces* 是首次分离到的内生真菌，从种子中分离获得，对其形态学特征描述见 2.3。大多数的菌株在 28℃ 分离培养获得，而在 37℃ 得到的是一些不孕性菌丝。

2.3 一些种类的特征描述

2.3.1 小孢矛束霉（图 1~图 2）

Doratomyces microsporus (Sacc.) F. J. Morton & G. Smith, Mycol. Pap. 86: 77, 1963.

Table 2 Kinds of endophytic fungi from hot pepper

Kinds	Species	Kinds	Species
Non demati- aceous gen- era	<i>Paecilomyces sinensis</i> Q. D. Chen	Dematia- ceous genera	<i>Curvularia lunatus</i> R. R. Nelson & Haasis
	<i>Penicillium digitatum</i> (Pers.) Sacc.		<i>Curvularia intermedia</i> Boedijn
	<i>Penicillium expansum</i> Link		<i>Ulocladium consortiale</i> (Thüm.) E. G. Simmons
	<i>Aspergillus niger</i> Tiegh		<i>Pithomyces sacchari</i> (Speg.) M. B. Ellis
	<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh		<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl
	<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tirab		<i>Alternaria brassicicola</i> (Schwein.) Wiltshire
	<i>Acremonium roseogriseum</i> (S. B. Saksena) W. Gams		<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire
	<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>lini</i> Snyder & H. N. Hansen		<i>Bipolaris australiensis</i> (Ellis) Tsuda & Ueyama
			<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link
			<i>Periconia byssoides</i> Pers.
Sterile hyphae			<i>Epicoccum nigrum</i> Link
			<i>Doratomyces microsporus</i> (Sacc.) F. J. Morton

菌落在 CMA 上平展，粉状，灰绿色或灰褐色，背面褐色，培养后期明显可见直立的孢梗束。菌丝体表生或大部分埋生，淡褐色或褐色，常形成菌丝束。孢梗束高 100~800μm，柄部暗褐色，由紧密压在一起的分生孢子梗组成，头部圆柱形。产孢小梗多个簇生在分生孢

子梗中上部。分生孢子卵形，端部多数尖，基部平钝，无色至淡棕色，聚集在一起呈暗褐色，光滑， $3.5 \sim 5.5 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 4 \mu\text{m}$ 。

2.3.2 黑团孢 (图7~图8)

Periconia byssoides Pers. ex Schweinitz, Persoon, syn. Meth. Fung. (Göttingen): 686, 1801.

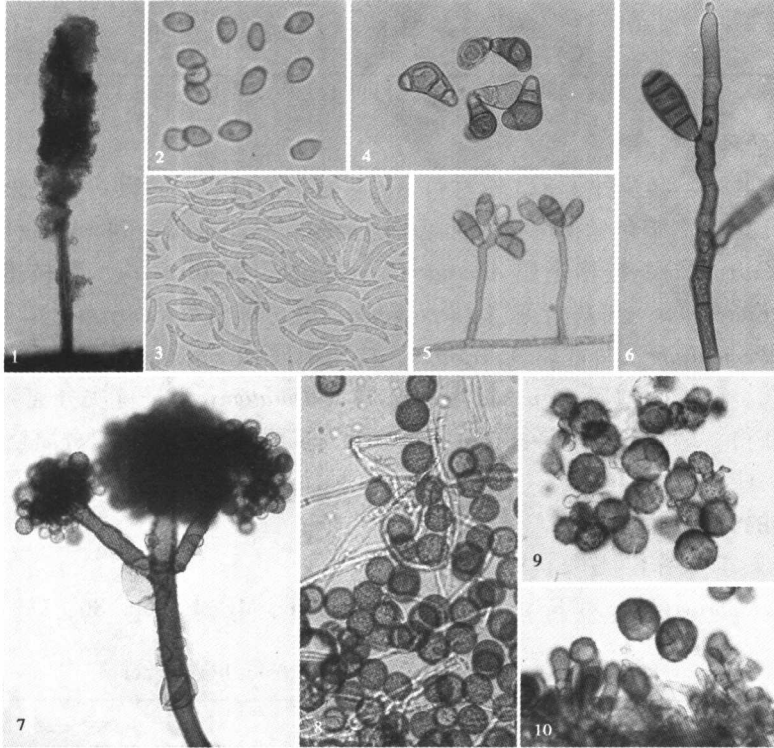


Figure 1~2 *Doratomyces microsporus* 1. Conidiophore 2. Conidia;

Figure 3 Conidia of *Fusarium oxysporum* var. *lini*;

Figure 4~5 *Cuvurlaria lunatus* 4. Conidia; 5. Conidiophores and conidia;

Figure 6 Conidiophore of *Bipolaris australiensis*;

Figure 7~8 *Periconia byssoides* 7. Conidiophores; 8. Conidia;

Figure 9~10 *Epicoccum nigrum* 9. Conidia; 10. Conidiomata

菌落在 CMA 上絮状，稀薄，白色。菌丝体表生或埋生，无色。26℃ 培养 1 周左右，单根或 2~5 个簇生、直立、黑色的分生孢子梗从菌落中长出，基部暗橄榄褐色或褐色，光滑或粗糙，不分枝，梗长 1.0~1.5mm，宽 10~15 μm ，3~6 隔膜，顶端为分生孢子和产孢细胞聚集形成的头部结构。产孢细胞近无色，椭圆形，产生单生或链生的分生孢子。分生孢子球形，初淡黄色，后暗褐色，粗糙，壁厚，直径 15~17.5 μm 。

3 讨论

3.1 辣椒内生真菌种类的分析

本文首次研究了辣椒内生真菌的种类，共得到 15 属 20 种真菌，均属于无性态真菌。其中暗色丝孢菌数量及种类居多，与已报道的植物内生真菌种类及数量较一致^[10, 13~16]，但又具有一定的差异性，首次报道了黑团孢 (*P. byssoides*) 和小孢矛束霉 (*D. microsporus*) 是内

生真菌,均由种子内分离得到。总结有关内生真菌的文献,发现内生真菌多数为无性态真菌,其次为子囊菌,接合菌居第三,担子菌及鞭毛菌极少存在^[10,13~16],而本次试验分离出的全部是无性态真菌,未见其他类群的真菌,这并不说明辣椒内生真菌中就不存在其他种类的真菌,下一步应改进分离培养方法并采集不同生长时期的组织和部位进行大量分离,以期全面准确地了解辣椒内生真菌的种类,并对内生真菌进行抗活性的筛选工作。

3.2 内生真菌分离方法的局限性

组织分离是目前内生真菌分离的主要方法,简单易行,但由于有些真菌在人工基质上不能生长,因而不能得到全部的内生真菌,有很大的局限性。本文首次将组织研碎,采用稀释分离的方法分离内生真菌,获得的菌株种类上与组织分离法无多大差异,但较组织分离法获得的菌株数量多,在没有更好的内生真菌分离方法的情况下,应尝试采用多种分离方法和多种培养基进行分离,掌握合适的分离培养条件,尽可能多的得到内生真菌。

参考文献

- [1] Clay K. Fungal endophytes of grasses [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1990, 21: 275 ~ 297.
- [2] Ida C P, Chirlei G B, Juarez G, *et al.* Identification and colonization of endophytic fungi from soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] under different environmental conditions [J]. *Brazilian archives of biology and technology*, 2006, 49 (5): 705 ~ 711.
- [3] Arnold A E, Herre, E A. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae) [J]. *Mycologia*, 2003, 95, 388 ~ 398.
- [4] Ellis M B. *More Dematiaceous Hyphomycetes* [M]. Commonwealth Institute, England: Surrey, 1976: 1 ~ 608.
- [5] Barnett H L, Hunter B B. *Illustrated genera of imperfect fungi* (Fourth edition) [M]. New York: Collier Macmillan publishers, 1977, 1 ~ 218.
- [6] Institute of microbiology Chinese academy of sciences. *Frequently occurring fungi* (in Chinese) [M]. Beijing: Science Press (北京: 科学出版社), 1978: 1 ~ 317.
- [7] Zou W X, Tan R X. Recent advances on endophyte research (in Chinese) [J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 2001, 43: 881 ~ 892.
- [8] Guo L D. Advances of researches on endophytic fungi (in Chinese) [J]. *Mycosystema* (菌物系统), 2001, 20: 148 ~ 152.
- [9] He J, Liu X Z, Kang J C. Recent research advances in endophytic mycelium and its utilization in medicine (in Chinese) [J]. *Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学), 2006, 34 (3): 113 ~ 115.
- [10] Li Q, Sun G Y. Isolation and Identification of Endophytes from Hippophae (in Chinese) [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2006, 22 (10): 300 ~ 302.
- [11] Shentu X P, Yu X P. Endophytic fungi with anti-pathogenic fungi activities isolated from Ginkgo (in Chinese) [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis* (浙江农业学报), 2006, 18 (5): 317 ~ 320.
- [12] Zhan L Q, Guo B, Li H Y. Preliminary Study on the Isolation of Endophytic Fungus of *Catharanthus roseus* and Its Fermentation to Produce Products of Therapeutic Value (in Chinese) [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药), 2000, 31 (11): 805 ~ 807.
- [13] Su Y Q, Sun K, Ma Y M, *et al.* Isolation and identification of endophytic fungi from *Ficus carica* (in Chinese) [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2004, 24 (7): 1281 ~ 1285.
- [14] Chen L J, Sun G Y, Zhang R, *et al.* Isolation and Identification of Endophytic Fungi on *Brassica Napus* (in Chinese) [J]. *Journal of Shihezi University* (石河子大学学报), 2004, 22: 66 ~ 68.
- [15] Yang C Y. Preliminary research on fungal categorizing results in the root of *Diosma aurantiocaulis* (in Chinese) [J]. *Journal of Biology* (生物学杂志), 2006, 23 (6): 32 ~ 34.
- [16] Yin J W, Chen Y W, Yang L Y, *et al.* Study on Endophytic Fungi in *Aloe versa* I. Isolation and identification of endophytic fungi (in Chinese) [J]. *Journal of Microbiology* (微生物学杂志), 2004, 24 (1): 25 ~ 27.