

茶树内生真菌的种类及分布

卢东升^{1,2}, 王金平¹, 吴小芹², 叶建仁²

(1. 信阳师范学院 生命科学学院, 河南 信阳 464000; 2. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 对豫南地区茶树内生真菌的种类及分布进行了初步研究。结果表明, 该区茶树内生真菌种类丰富, 有 7 科 15 属 18 种, 这些真菌由子囊菌与半知菌构成, 未发现担子菌与接合菌种类。在这些真菌中, *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis* sp. 1, *Phomopsis* sp., *Macrophoma* sp. 1 等 4 种真菌分布普遍, 且分离率高, 为茶树优势内生真菌。研究还表明, 不同茶园茶树内生真菌的群落结构不同, 这与茶园的生态环境密切相关; 不同的茶树器官, 其内生真菌的种类也不同, 叶片内生真菌种类最多, 未发现种子有内生真菌存在; 茶树同一器官不同组织的内生真菌种类不同。

关键词: 茶树; 内生真菌; 种类; 分布

中图分类号: S432.4⁺4 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2007)10-0054-04

The Species and Distribution of Endophytic Fungi in Tea Trees

LU Dong sheng^{1,2}, WANG Jin ping¹, WU Xiao qin², YE Jian ren²

(1. College of Life Science, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China;

2. Faculty of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The species and distribution of endophytic fungi in tea trees were studied in southern Henan province. The result showed that the species of endophytic fungi in tea trees was abundant in this area, and a total of 18 species of 15 genera in 7 families were found. Among them, *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp. 1, *Phomopsis* sp. and *Macrophoma* sp. 1 were the predominant fungi. The fungi were composed of Ascomycetes and imperfect fungi, but on Zygomycetes and Basidiomycetes were found. The community of endophytic fungi in tea plants had close relation to the tea plantation environment, and there were different endophytic fungi in different tea organs. There were more endophytic fungi in tea leaves than in other organs and no endophytic fungi was found in seeds. Moreover, the species of endophytic fungi was also different in different tissues of the same organ.

Key words: Tea tree; Endophytic fungi; Species; Distribution.

内生真菌(endophytic fungi)是指那些在生活史中的某一阶段生活于植物组织内, 对植物组织没有引起明显病害症状的真菌, 它包括那些在其生活史中的某一阶段营表生的腐生菌, 对宿主暂时没有伤害的潜伏性病原菌和菌根菌^[1]。内生真菌广泛存在于陆生及水生植物体内, 是自然界生物资源和生物多样性的的重要组成部分。内生真菌可产生多种活

性代谢产物, 促进宿主植物生长, 增加宿主对环境胁迫的抗性, 在生态系统中扮演着重要的角色^[2]。因而, 对植物内生真菌的研究已引起人们的广泛关注。茶树(*Camellia chinensis* Ktze.) 是重要的经济植物, 在我国广泛栽培, 有关此植物根围及叶面微生物已有研究^[3~5], 但对茶树内生真菌的系统调查未见报道。笔者于 2005 年 8 月至 2006 年 6 月对豫南茶

收稿日期: 2007-06-25

基金项目: 河南省科技攻关计划项目(0124050041)

作者简介: 卢东升(1963-), 男, 河南平舆人, 教授, 博士, 主要从事真菌学与植物微生物生态学教学与科研工作。

树内生真菌种类及分布进行了初步研究,旨在为茶树内生真菌生态功能研究以及茶树有益内生菌的筛选提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试茶树品种及内生真菌分离用培养基

本试验所用茶树品种为信阳大叶种,分离内生真菌所用培养基为添加抗生素的PSA培养基(每升含氯霉素60mg)。

1.2 标样的采集

依据生境的不同在豫南选取10个茶园样地,在不同季节用无菌剪刀及纸袋在各茶园随机采集健康嫩叶、成叶、老叶各100片,当年新枝、2~3年生10~20cm长的老枝枝段各30支,健康幼果50个,经编号后当天带回实验室放入4℃冰箱内用于分离内生真菌。

1.3 内生真菌的分离与鉴定

1.3.1 叶片内生真菌的分离 随机取茶树叶片20片,先用清水冲洗干净,把叶片分割为叶尖、叶中、叶基、叶柄4部分,无菌条件下将叶各部分放入70%乙醇、1%有效氯次氯酸钠、70%乙醇中分别消毒2min,10min,1min,每次消毒后均用无菌水反复冲洗3~4次,最后用无菌吸水纸吸去表面水,再将各部分进一步分割为0.5cm×0.5cm的组织块,将组织块转接于PSA平板培养基上,每皿接6块,每样接3皿。将培养皿放在28℃恒温箱内培养,当组织块边缘出现明显菌落后,挑取先端菌丝转入斜面培养基,25℃培养纯化后,重新接入PSA平板培养

基培养并诱导产孢,依据其形态特征,参考有关专著^[6~10]进行鉴定,并统计每种真菌的分离率。

1.3.2 枝内生真菌的分离 将茶树枝段充分混合后随机取10支,先用清水洗净,然后将枝段切成长约1~1.5cm的短段。表面消毒方法同1.3.1,将消毒后的枝段纵剖为4~6份,随机取枝段组织接入PSA平板培养基上,每皿接6块,每样接3皿,内生真菌的纯化与鉴定方法同1.3.1。统计每种真菌的分离率。

1.3.3 果内生真菌的分离 随机取果实10个,先用清水冲洗干净,然后按1.3.1方法进行表面消毒,无菌条件下将果皮与种子分离,并切成0.5cm×0.5cm的组织块,分别接入PSA平板培养基,每皿接6块,每样接3皿,内生真菌的纯化及鉴定方法同1.3.1。统计每种真菌的分离率。

2 结果与分析

2.1 茶树内生真菌的种类及分布特点

本研究共取茶树组织块5760块,分离纯化内生真菌菌株579个,经鉴定,得到内生真菌7科15属18种。这些真菌由子囊菌与半知菌构成,其中,半知菌种类较多,未发现担子菌与接合菌种类。茶树内生真菌的种类与分布状况见表1。由表1可知,除种子外,茶树各种器官内均存在内生真菌,但各内生真菌在不同的茶园、不同的茶树器官内的分布有较大差异。*Colletotrichum* sp.,*Pestalotiopsis* sp.1,*Phomopsis* sp.,*Macrophoma* sp.1等4种真菌在各茶园样地均有分布,除种子外,几乎在茶树

表1 茶树内生真菌的种类与分布

内生真菌	嫩叶				成叶				老叶				新枝	老枝	果皮	种子	茶园样地编号
	叶尖	叶中	叶基	叶柄	叶尖	叶中	叶基	叶柄	叶尖	叶中	叶基	叶柄					
<i>Eurotium</i> sp.	0	0	0	0	0	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GE 1, XS 1
<i>Chaetomium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	XS 1, 4
<i>Glomerella</i> sp.	8.3	33.3	8.3	11.1	8.3	0	0	0	8.3	0	15.3	0	0	0	0	0	XS 1, 3, 4, GE 1
<i>Guignardia</i> sp.	0	25	8.3	5.6	0	0	0	0	94.4	69.5	94.4	66.7	5.6	0	38.9	0	GE 1, XS 1, 3
<i>Cladosporium</i> sp.	8.3	8.3	0	0	0	0	0	0	0	8.3	8.3	0	0	0	0	0	XJH 1, XJH 3, XS 1, 4
<i>Alternaria</i> sp.	8.3	0	0	0	0	0	0	8.3	0	0	8.3	5.6	6.3	0	0	0	XJH 3, XS 1~4, GE 1, XY 1
<i>Fusarium</i> sp.	8.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.2	0	0	0	XJH 1, XS 1, 4
<i>Epicoecum</i> sp.	0	0	0	0	0	0	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	XJH 2, XS 1
<i>Colletotrichum</i> sp.	9.7	30.6	27.8	14.8	33.3	45.1	34.7	0	39.2	29.8	40.9	24.4	23.3	22.2	13.9	0	XJH 1~3, XS 1~4, BE 1, XY 1, GE 1
<i>Gloeosporium</i> sp.	0	10.3	0	5.6	3.2	12.3	9.3	5.6	13.1	9.5	13.5	8.5	12.1	11.4	4.3	0	XJH 1~3, XS 1~4, BE 1, XY 1, GE 1
<i>Pestalotiopsis</i> sp.1	8.3	33.3	0	8.3	8.3	8.3	33.3	8.3	8.3	23.6	27.8	8.3	2.8	4.8	0	0	XJH 1~3, XS 1~4, GE 1, XY 1, BE 1
<i>Pestalotiopsis</i> sp.2	0	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	GE 1, XS 1
<i>Pestalotiopsis</i> sp.3	0	0	0	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	XS 1
<i>Phomopsis</i> sp.	20.2	22.2	20.5	18.5	38.9	16.1	15.6	30	16.1	32.1	19.4	28.0	29.9	69.9	27.8	0	XJH 1~3, XS 1~4, BE 1, XY 1, GE 1
<i>Macrophoma</i> sp.1	23.6	32.9	30.5	19.4	41.7	29.4	24.5	18.7	44.1	50.3	37.4	24.3	9.7	0	27.8	0	XJH 2~3, XS 1~4, GE 1, XY 1, BE 1
<i>Macrophoma</i> sp.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.3	11.1	83.3	68.4	16.7	0	GE 1, XS 1, BE 1, XY 1
<i>Fusicoccum</i> sp.	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.7	0	0	0	GE 1, XS 1, XY 1
<i>Dothiorella</i> sp.	0	0	0	0	0	16.7	5.6	0	0	5.6	5.6	0	0	0	0	0	XS 1

注:表中数据为真菌检出率,检出率=检出该菌的接种块数/该处理接种块总数×100%

各器官均可分离到, 它们是茶树体内的优势内生真菌。 *Fusarium* sp., *Eurotium* sp., *Chaetomium* sp., *Fusicoccum* sp., *Pestalotiopsis* sp. 2, *Pestalotiopsis* sp. 3 等真菌只在个别茶园有分布, 而且仅在茶树个别器官分离到。说明各种真菌在茶树体内具有一定的分布范围。

同一种茶树内生真菌在茶树体内的分布是不均匀的, 在各器官内存在的数量有较大差异。如 *Phomopsis* sp. 存在于茶树各器官, 但以老枝数量最多, 分离率达 69.9%。 *Guignardia* sp. 主要分布于茶树老叶内, 且在叶尖与叶基数量较多, 分离率达 94.4%。茶树不同的器官, 甚至同一器官的不同组织, 内部结构均有明显的差别, 植物组织的生理状态及化学物质组成也有不同, 因此, 形成了不同的微生态环境, 这可能是导致内生真菌在植物体内分布的异质性的主要原因。

2.2 内生真菌的群落分布

各茶园样地的内生真菌丰度见图 1。从图 1 可以看出, 不同的茶园茶树内生真菌的群落结构明显不同, 如茶园 XS-1, 茶树内生真菌种类最多, 有 18 种, 茶园 BL-1, XY-1, XS-2, XJH-2 等茶园茶树内生真菌的种类较少, 有 5~7 种。这可能与茶园的生境有关, 茶园 XS-1 海拔为 76 m, 四周有麻栎、马尾松、化香、构树等乔木林, 茶园湿度较高。而 BL-1, XY-1 茶园地处海拔 340~580 m, 四周较开阔, 茶园受光量较大。

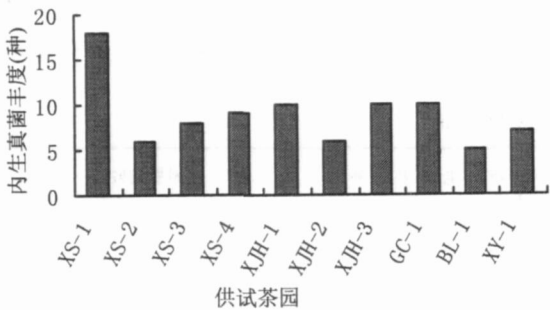


图 1 各茶园茶树内生真菌的丰度

茶树各器官内的内生真菌群落也有明显区别, 在叶内的种类最多为 18 种, 其次为枝内内生菌, 有 10 种, 果皮内有 6 种, 而种子内未发现内生真菌(图 2); 茶树叶内生真菌在不同叶龄的树叶内的丰度区别较小, 一般有 11 到 12 种, 但群落结构有明显区别, *Glomerella* sp., *Pestalotiopsis* sp. 2, *Pestalotiopsis* sp. 3, *Fusicoccum* sp. 等真菌主要分布在嫩叶, *Guignardia* sp. 等真菌主要分布在老叶; 在叶片各部位内生真菌的分布也不一样, 一般在叶片的基部

内生真菌种类最多, 叶尖与叶中部内生真菌丰度接近, 叶柄内生真菌相对较少(图 2)。以上结果说明茶树内生真菌具有器官和组织水平上的特异性。

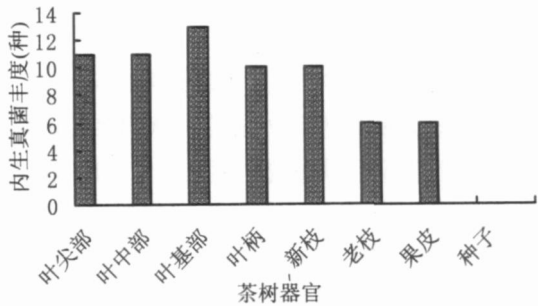


图 2 茶树各器官内生真菌的丰度

3 结论与讨论

通过本研究可得出如下结论: ①茶树体内存在有丰富的内生真菌资源, 这些真菌主要由子囊菌与半知菌构成; ②不同茶园茶树内生真菌的群落结构不同, 这与茶园的生态环境密切相关; ③不同的茶树器官, 其内生真菌的种类不同, 叶片内生真菌种类最多, 种子没有或极少有内生真菌存在; ④茶树同一器官不同组织的内生真菌种类不同。

据研究, 不同的植物体分离到内生真菌的数量的数量明显不同, 少者十几种, 多者近百种, Fisher 等^[11]从 *Eucalyptus nitens* 上分离出 60 多种内生真菌, 而 Hyde 等在澳大利亚热带棕榈树上分离内生真菌平均每种棕榈树达 100 种^[12]。其主要原因可能与植物种类本身及所取植物样本多少, 样地周围环境因子有关。由此可以推测, 随着调查范围的扩大, 茶树品种的增多, 将会有更多的内生真菌被发现。

植物内生真菌依据其来源和系统特征可被划分成具有明显区别的两大生态类群: 麦角类系统禾草内生真菌和非麦角类系统内生真菌(树木与灌丛内生真菌)。其主要区别表现在禾草内生真菌在植物不同组织内广泛分布, 传播方式为垂直传播, 而非麦角类系统内生真菌在植物不同组织内的分布具有限制性, 传播方式为水平传播^[2]。本研究结果说明, 茶树内生真菌具明显的非麦角类系统内生真菌特征, 因此, 应归为非麦角类系统内生真菌类型。

据报道, 在同一地区同一种植物上内生真菌类群基本相似, 但是有的内生真菌在不同年龄植株和组织上的丰度和分布明显不同^[13], 本研究结果也说明了植物内生真菌分布的现象。

Carroll 等^[14]研究了 7 种分布在(下转第 80 页)

T5 最高, 与处理 T8, T6, T7, T3 相比差异显著, 而处理 T2 最差。这说明 B 基质的综合协调能力相对其他基质较好, 而草炭配方远远不如工厂化生产的基质。

3 结论

- 1) 通过试验验证了以玉米秸秆、花生壳为主料经发酵处理生产的有机栽培基质的应用效果, 说明玉米秸秆和花生壳混合发酵基质能够取代草炭而成为一种成本低廉、效果优良的育苗栽培基质。
- 2) 从各种指标可以看出, 以 A 基质配比的处理 T2, T3, T4 不适宜在矮牵牛育苗中使用。但从栽培后期生长状况和指标看, A 基质在栽培中通过淋洗或加入辅料, 使 EC 值达到栽培的标准, 也能成为很好的基质。
- 3) 通过对所用基质的充分比对, B 基质的综合性状优于其他基质, 特别是以 B 基质为主的处理

T8, 不管是在育苗期, 还是在栽培生长期, 都表现出了优良的性状, 可以代替成熟的草炭基质配比。B 基质的发酵配方比为: 玉米秸秆粉碎料 100 kg+ 花生壳粉碎料 65 kg+ 烘干鸡粪 20 kg+ 中温发酵菌 0.3%+ 水 220 kg; 处理 T8 的配比为, B 基质 : 过磷酸钙 : 蛭石 = 21 : 1 : 2。

参考文献:

[1] Carlile W R, Papadopoulos A P. The effects of environment lobby on the selection and use of growing media[J] . Acta Hort, 1999, 481: 587 – 596.

[2] Schmilewski G K. Quality control and use of composted organic wastes as components of growing media in the Federal Republic of Germany[J] . Acta Horticultwae, 1991, 294: 89 – 98.

[3] 白宝璋. 植物生理学实验教程(下)[M] . 北京: 中国农业出版社, 1996.

[6] 魏景超. 真菌鉴定手册[M] . 上海: 上海科学技术出版社, 1979.

[7] 戴芳澜. 真菌的形态和分类[M] . 北京: 科学出版社, 1987.

[8] 裘维蕃. 菌物学大全[M] . 北京: 科学出版社, 1998.

[9] 中国科学院神农架真菌地衣考察队. 神农架真菌与地衣[M] . 北京: 世界图书出版公司, 1989.

[10] 邵力平, 沈瑞祥, 张素轩. 真菌分类学[M] . 北京: 中国林业出版社, 1984.

[11] Fisher P J, Petrini O, Sutton B C. A comparative study of fungal endophytes in leaves, xylem and bark of *Eucalyptus nitens* in Australlia and England[J] . Sydowia, 1993, 45: 338 – 345.

[12] Hyde K D, Frohlich J, Taylor J. Diversity of ascomycetes on palms in the tropics[M] //Biodiversity of tropical microfungi. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1997: 141 – 156.

[13] Espinosa Garcia F J, Langenheim J H. The leaf fungal endophytic community of a coastal redwood population diversity and spatial patterns[J] . New Phytol, 1990, 116: 89 – 97.

[14] Carroll F E, Muller E, Sutton B C. Preliminary studies on the incidence of needle endophytes on some European conifers[J] . Sydowia, 1997, 29: 87 – 103.

[1] Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves[M] //Andrews J H, Hirano S S(eds.). Microbial ecology of leaves. Springer Verlag, New York, 1991: 179 – 197.

[2] 郭良栋. 内生真菌研究进展[J] . 菌物系统, 2001, 20(1): 148 – 152.

[3] 卢东升, 吴小芹. 豫南茶园树栖真菌分类研究[J] . 茶叶科学, 2004, 24(4): 243 – 248.

[4] 卢东升, 吴小芹. 豫南茶园树栖真菌群落结构研究[J] . 生态学杂志, 2005, 24(10): 1151 – 1154.

[5] 卢东升, 吴小芹. 豫南茶园芽及叶柄真菌种群的演替[J] . 南京林业大学学报, 2006, 30(1): 41 – 44.