

辣椒疫病生防放线菌筛选及其对辣椒根系微生物区系的影响

涂 璇^a, 薛泉宏^b, 张宁燕^b, 牛晓磊^b

(西北农林科技大学 a 生命科学学院; b 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 为了获得对辣椒疫病具有实际防效的生防放线菌菌株, 在盆栽条件下检验了 108 株辣椒疫霉拮抗放线菌对辣椒疫病的防病和促生作用, 并对拮抗菌接种后土壤和辣椒根系微生物区系的影响进行了研究。结果表明, 经无菌土纸钵初筛和未灭菌自然土盆栽复筛试验, 从 108 株辣椒疫霉拮抗放线菌中筛选出 2 株防效最佳的拮抗放线菌 0108 和 0110。在盆栽条件下, 接种 0108 和 0110 拮抗放线菌 14 d 后相对防效分别达到 75 % 和 81 %, 21 d 后相对防效分别达到 65 % 和 56 %, 且 2 株拮抗放线菌都能通过影响辣椒根系微生物数量控制辣椒疫霉菌的生长繁殖, 降低辣椒疫霉对根系的侵染, 并对辣椒根系生长有显著促进作用。

[关键词] 放线菌; 辣椒疫霉; 生物防治; 根系微生物

[中图分类号] S436.418

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)06-0141-06

Screening bio-control actinomycetes to control pepper phytophthora blight and the impact of microbial population of pepper's rhizosphere

TU Xuan^a, XUE Quan-hong^b, ZHANG Ning-yan^b, NIU Xiao-lei^b

(a College of Life Sciences, b College of Resources Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract : In order to gain the effective value of bio-control agents of actinomycetes to control pepper phytophthora blight, 108 strains of antagonism actinomycetes against *Phytophthora capsici* were tested for disease control and promotion value under green house condition, and the effect of the microbes quantities of pepper's rhizosphere and soil was studied after inoculated antagonism actinomycetes. The result showed that 2 strains (0108 and 0110) were screened out via sterile soil and natural soil in pot experiments which had better control effect to pepper phytophthora blight. Their relative control efficiency was 75 % and 81 %, respectively, in the 14 d. and were 65 % and 56 %, respectively, in the 21 d after inoculated strain 0108 and 0110. They both obviously impacted the soil microorganism population to control the development and reproduction of *Phytophthora capsici* in different part of pepper roots, reduce infection of ytophthora capsic to the pepper roots, and promote the growth of pepper roots.

Key words : actinomycetes; *Phytophthora capsici*; bio-control; rhizosphere microbial

辣椒疫病是由辣椒疫霉 (*Phytophthora capsici*) 引起的一种世界性土传病害, 除我国外, 在法国、

澳大利亚、韩国^[1] 以及印度^[2] 等国均有发生。高温、大水漫灌和温室栽培条件下发病尤为严重, 常造成

†收稿日期] 2006-04-28

[基金项目] 陕西省科技攻关项目 (2003 K03- G2, 2004 K02- G7); 国家“十五”科技攻关项目 (2002BA516A09)

[作者简介] 涂 璇 (1974 -), 女, 湖北宜昌人, 在读博士, 主要从事微生物资源研究。

[通讯作者] 薛泉宏 (1957 -), 男, 陕西白水人, 教授, 博士生导师, 主要从事微生物资源研究。

E-mail : xuequanhong @public. xa. sn. cn

辣椒大幅度减产甚至绝收。由于化学农药很难从根本上防治该病,导致辣椒疫病已成为限制我国设施条件下辣椒生产的毁灭性病害。辣椒疫病的发生源于辣椒根区土壤微生态环境中辣椒疫霉病原菌的存在及其对辣椒根系的侵染,故将辣椒疫霉拮抗菌导入辣椒根区土壤,有可能从根本上控制辣椒疫病的大规模发生。关于辣椒疫病的生物防治,国内外均有相关报道^[3-6],朱宗源等^[7]也对一些生防制剂的运用进行了初步研究,但目前尚无用于辣椒生产的生防菌剂问世。探索新的筛选方法,筛选有实用价值的生防菌,优化辣椒疫病生防菌活菌制剂发酵工艺,都是辣椒疫病生物防治研究的关键问题。司美茹等^[8]运用抑菌圈-定殖力双重测定法,筛选出具有双重功能的生防菌。在此基础上,本研究通过广泛的活体生测法筛选具有实际防效的生防放线菌,并就生防菌接种后对土壤和辣椒根系微生物区系的影响进行初步探索,旨在为辣椒疫病生防菌剂的开发提供菌种和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种 (1)放线菌:供试的 108 株拮抗放线菌是本研究室从青海高原土壤分离纯化所得 3 000 余株放线菌中,通过对辣椒疫霉病菌 P3 (*Phytophthora capsici*) 的平皿抑制试验筛选所得。

(2)靶标菌:供试靶标菌中真菌于 PDA 斜面培养,细菌于 NA 斜面培养,4 °C 保存。辣椒疫霉病菌 P3 (*P. capsici*),由青海省农科院植保所杨君丽研究员提供;黄瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumarinum*)、西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*) 及棉花枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium* f. sp. *vasinfectum*),均由西北农林科技大学植保学院宗兆峰教授提供;桔青霉菌 (*Penicillium brevicompactum*)、假丝酵母菌 (*Candida utilis*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 及大肠杆菌 (*Escherichia coli*),均由西北农林科技大学资源环境学院微生物实验室提供。

1.1.2 供试辣椒品种 本试验选用的辣椒品种为陕西关中地区的主栽品种线辣椒 8819,温室育苗,待幼苗长至 4~7 片真叶时供盆栽试验用。

1.1.3 培养基^[9] 高氏 1 号琼脂培养基 (GA)、马铃薯浸汁培养基 (PDA)、改良黄豆粉浸汁琼脂培养基 (SPA)、腐殖酸琼脂培养基 (HVA)、牛肉膏蛋白胨琼脂培养基 (NA)。

1.1.4 营养液^[10] 营养液中含硝酸钙 945 mg/L,硝酸钾 607 mg/L,磷酸铵 115 mg/L,硫酸镁 493 mg/L,铁盐溶液 2.5 mg/L,微量元素 5 mg/L, pH = 6.0。

1.1.5 供试土壤 采自西北农林科技大学农作一站的耕层土壤,过 10 mm 筛备用。

1.2 拮抗放线菌灭菌土纸钵初筛试验

1.2.1 接种菌剂孢子悬液的制备 (1)辣椒疫霉病菌 P3 孢囊悬液的制备。将辣椒疫霉病菌菌体接种到固体玉米粉培养基上,25 °C 培养 5 d 即为辣椒疫霉病菌 P3 固体培养物,取 25 g 辣椒疫霉病菌 P3 固态培养物,加入 50 mL 无菌水,充分搅匀,制成辣椒疫霉病菌孢囊悬液备用。(2)拮抗放线菌孢子悬液及其与辣椒疫霉病菌混合悬液的制备。向培养 5 d 的拮抗放线菌高氏 1 号琼脂培养基平板上加入 10 mL 无菌水,然后用竹签将平板上的孢子轻轻刮下,将孢子悬液平均分成 2 份,其中 1 份直接接种,向另一份 (5 mL) 拮抗放线菌孢子悬液中加入 0.5 mL 辣椒疫霉病菌孢囊悬液混匀,制成放线菌与辣椒疫霉病菌混合菌悬液,其中辣椒疫霉病菌孢囊浓度约为 10^5 mL⁻¹。

1.2.2 纸钵准备 向普通一次性纸杯中加入 200 g 耕层土壤,120 °C 湿热灭菌 60 min 备用。

1.2.3 辣椒幼苗接种与栽植 将培养至 4 叶期的辣椒幼苗用自来水冲净根部土,用无菌水反复冲洗 2~3 次后备用;将辣椒幼苗的根分别浸在拮抗放线菌孢子与辣椒疫霉病菌孢囊混合悬液以及拮抗放线菌孢子悬液中,浸根 2 h 后将辣椒幼苗移栽至装有灭菌土的纸杯中,浇入 40 mL 的营养液,14 d 后观察记录辣椒幼苗发病状况。以单接辣椒疫霉病菌 (P3) 和不接菌分别作为病原对照和清水对照,每处理 6 次重复。根据辣椒发病率分为 5 个等级:Ⅰ级,发病率为 0;Ⅱ级,发病率 ≤ 20%;Ⅲ级,20% < 发病率 ≤ 50%;Ⅳ级,50% < 发病率 < 100%;Ⅴ级,发病率为 100%。

1.3 拮抗放线菌未灭菌自然土盆栽复筛试验

1.3.1 接种剂制备 将在高氏 1 号琼脂培养基平板上培养 5 d 的拮抗放线菌 (22 株初筛防效较好的菌株) 孢子粉或菌块刮入灭菌研钵中,加入少量灭菌细砂研磨,再加入 30 mL 无菌水后转入广口瓶中,加入 10 mL 辣椒疫霉病菌孢囊悬液,定容至 200 mL,混合均匀,使混合接种剂中辣椒疫霉病菌孢囊浓度约为 10^5 mL⁻¹。

1.3.2 辣椒幼苗接种与栽植 将 7~8 叶期辣椒幼

苗的根用自来水冲净,再把洗净的辣椒根浸入拮抗放线菌和辣椒疫霉病菌的混合菌悬液中,浸根 8 h 后将辣椒幼苗移栽至装有 2 kg 未灭菌自然土的塑料盆中,浇入营养液,分别于培养的 7,14,21 d 后观察记录辣椒发病率。以单接辣椒疫霉病菌(P3)和不接菌分别作为病原对照和清水对照,每处理设 8 个重复。

发病率/ % = (单接辣椒疫霉病菌后发病植株数 - 混合接种后发病植株数) / 处理的总植株数 × 100 % ,
相对防效/ % = 100 % - 发病率。

1.4 0108 和 0110 拮抗放线菌的皿内抑菌试验

采用琼脂块皿内对峙法^[11]:分别取在改良黄豆粉浸汁培养基平板上培养 5 d 的放线菌菌饼、PDA 斜面上培养的靶标真菌和 NA 斜面上培养的靶标细菌,分别均匀涂布在 PDA 平板和 NA 平板上,放线菌菌饼对称接种在距中心 2 cm 处,3 个重复皿,真菌于 25 °C 培养 3~5 d,细菌于 30 °C 培养 1 d 后,用十字交叉法测量抑菌圈的有无和大小。

1.5 辣椒根系不同部位土壤中微生物区系的分布

1.5.1 土壤悬液的制备 根区土指辣椒根系分布范围内的土壤;根际土指与辣椒根系紧密接触的土壤;根表土指从辣椒根系表面洗下的少量土壤。

(1)根区土悬液的制备。将盆栽辣椒苗轻轻拔出,在无菌纸上轻轻抖动,使根上的大量土壤落下,即得根区土。称取根区土 10 g 于装有石英砂和无菌水的三角瓶中,在摇床上振荡 30 min 后备用。(2)根际土悬液的制备。将采过根区土的辣椒根系用无菌纸包裹轻轻揉搓,使紧紧依附在根系上的土落在无菌纸包中,即得根际土。称取根际土 10 g,置于装有石

英砂和无菌水的三角瓶中,在摇床上振荡 30 min 后备用。(3)根表土悬液的制备。将采过根际土的辣椒根系剪下,称质量 (m_1) 后置于装有石英砂和无菌水的三角瓶中,在摇床上振荡 30 min 后取出,用吸水纸将根周围的水吸干后称质量 (m_2),两次质量之差即为根表土的质量。在三角瓶内制成土壤悬液备用。

1.5.2 根内微生物的分离 将洗去根表土的根系放入体积分数 75 % 酒精中处理 30 s,再用 0.1 % 的升汞处理 5 min,用无菌水冲洗 5 次后,在灭菌研钵中加入 10 mL 无菌水和无菌石英砂,充分研磨后 (3~5 min) 加无菌水定容至 10 mL 备用。

1.5.3 测定方法 土壤微生物测定采用稀释平板涂布法:放线菌用高氏 1 号琼脂培养基,真菌用 PDA 培养基,细菌用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基,试验 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 生防放线菌的筛选

2.1.1 灭菌土纸钵初筛试验结果 本试验将对辣椒疫霉病菌有抑制作用的 108 株拮抗放线菌进行灭菌土纸钵初筛试验,以检验拮抗放线菌接入土壤后对辣椒疫病有无实际防效,并观察这些拮抗放线菌对辣椒植株有无致病性或毒副作用。从表 1 可以看出,供试的 108 株拮抗放线菌中,有 13 株在混合接种 14 d 后均不发病,占供试菌株的 12.0 %,将这 13 株拮抗放线菌的抗病等级定为 I 级;全部发病的有 17 株,占供试菌株的 15.8 %,将其抗病等级定为 V;抗病等级为 II、III、IV 的拮抗放线菌分别为 19,28 和 31 株,占供试菌株的 17.6 %,25.9 % 和 28.7 %。

表 1 108 株拮抗放线菌对辣椒疫病的盆栽防治效果

Table 1 Control effect of 108 strains of antagonism actinomycetes to *P. capsici* in pot

处理 Treatment	抗病等级 Grade	发病率/ % Disease incidence	菌株数 Strain numbers	占总菌株数比例/ % Rate	代表性菌株 Representative strains
拮抗放线菌与 辣椒疫霉病 菌 P3 混合接种	I	0	13	12.0	0108,0204,0205,0206,0210,
Inoculated antagonism actinomycetes and <i>P. capsici</i>	II	0~20	19	17.6	0107,0109,0110,0201,0208,
	III	20~50	28	25.9	0101,0103,0104,0106,0203,
	IV	50~100	31	28.7	0102,0105,0202,0207,0209,
单接拮抗放线菌 Inoculated antagonism actinomycetes only	V	100	17	15.8	0302,0505,0608,0706,0903,
		100 *	7	6.5	0301,0610,0709,0808,0901,
		0 *	101	93.5	

注: * 死亡率。
Note: * death rate。
在单接拮抗放线菌处理中,除有 7 株拮抗放线菌接种后导致辣椒幼苗死亡率达到 100 % 外,其余辣椒幼苗生长良好,未出现萎蔫和死亡,表明这 101 株拮抗放线菌对辣椒幼苗无致病或毒害作用。这 7

株拮抗放线菌可能是产生了某种影响辣椒幼苗植株正常生长的化学物质,导致接入这 7 株拮抗放线菌后辣椒幼苗全部死亡^[12-13]。

2.1.2 未灭菌自然土盆栽复筛试验结果 从表 1

中抗病等级为Ⅰ、Ⅱ级的 32 株拮抗放线菌中,筛选出 22 株单独接种时辣椒生长良好、不发病,且对辣椒疫霉病菌有明显抑制作用的菌株进行大盆复筛试验。

从表 2 可以看出,在供试的 22 株拮抗放线菌中,接入拮抗放线菌和辣椒病霉病菌混合菌悬液 7 d 后发病率低于 20 %的菌株共有 8 株,分别是 0501, 0703, 0408, 0108, 1106, 0110, 0704 和 1003 其中 0501 和 0703 的发病率最低,只有 6 %;培养 14 d 后,除 0110 和 0703 的发病率低于 20 %,相对防效均为 81 %外,其他接种处理后的辣椒幼苗发病率都有不同程度上升;培养 21 d 后,只有 0108, 0110 和 0206 保持较低的发病率,其相对防效分别为 65 %, 56 %和 56 %。

0206 虽然也有较强防效,但是处理后的辣椒幼苗生长较弱,予以淘汰。只选择 0108 和 0110 进行进一步试验。

从整个试验期来看,0108 和 0110 这两株拮抗放线菌在盆栽条件下对辣椒疫病具有较稳定持续的防治效果,而 0703, 0501, 0408, 1003, 1106 和 0704 这 6 株菌在接种 7 d 后有较明显的防治效果,但随着时间的推移,防效降低较快。通过皿内抑菌试验发现(表 3),0108 和 0110 对 4 种病原真菌和假丝酵母菌有很好的抑制作用,尤其对尖孢镰刀菌类的黄瓜枯萎病菌和棉花枯萎病菌有较强的抑制作用,但是对桔青霉菌和细菌没有明显的抑制活性。

表 2 22 株拮抗放线菌对辣椒疫病的盆栽防治效果

Table 2 Control effect of 22 strains of antagonism actinomycetes to <i>P. capsici</i> in pot test							%
菌株 Strain	7 d		14 d		21 d		
	发病率 Disease incidence	相对防效 Relative control efficiency	发病率 Disease incidence	相对防效 Relative control efficiency	发病率 Disease incidence	相对防效 Relative control efficiency	
0108	15	85	25	75	35	65	
0110	17	83	19	81	44	56	
0206	27	73	29	71	44	56	
0305	42	58	58	42	88	12	
0306	48	52	67	33	94	6	
0310	65	35	75	25	77	23	
0401	59	41	75	25	75	25	
0402	73	27	79	21	85	15	
0404	58	42	67	33	92	8	
0408	11	89	27	73	67	33	
0409	67	33	73	27	85	15	
0501	6	94	37	63	69	31	
0502	27	73	29	71	56	44	
0703	6	94	19	81	79	21	
0704	17	83	35	65	48	52	
1003	17	83	57	43	52	48	
1106	15	85	36	64	48	52	
1204	27	73	27	73	65	35	
1210	33	67	69	31	69	31	
1308	31	69	73	27	81	19	
1310	21	79	42	58	75	25	
1402	44	56	85	15	75	25	
P3	79	21	94	6	94	6	
CK	0	100	0	100	0		

表 3 2 株生防放线菌(0108 和 0110)对靶标菌的皿内抑菌作用

Table 3 Inhibitory effect of 2 bio-control actinomycete strains (0108 &0110) on target pathogen in plate					
靶标菌 Target pathogen	抑菌圈直径/ mm Inhibition zone		靶标菌 Target pathogen	抑菌圈直径/ mm Inhibition zone	
	0108	0110		0108	0110
辣椒疫霉病菌 <i>P. capsici</i>	9.9 ±0.1	21.8 ±0.3	桔青霉菌 <i>P. brevicompactum</i>	0	0
黄瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporium</i> f. sp <i>cucumarinum</i>	22.1 ±0.1	19.3 ±0.1	假丝酵母菌 <i>C. utilis</i>	22.3 ±0.2	19.7 ±0.2
西瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	21.7 ±0.2	12.5 ±0.1	金黄色葡萄球菌 <i>S. arureus</i>	0	0
棉花枯萎病菌 <i>F. oxysponon</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	26.3 ±0.1	19.4 ±0.1	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	0	0

2.2 拮抗放线菌对辣椒根系不同部位微生物区系的影响

2.2.1 细菌 由表 4 可知,接入 0108 后,辣椒根内、根际土和根区土的细菌数量分别为 2.34×10^7 , 3.83×10^7 和 $40.3 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照分别减少 80 %,83 %和 35 %,但是根表土的细菌数量为 $1.26 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照增加 11 %;接入 0110 后,除根内细菌数量为 $11.50 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照减少 3 %外,根表土、根际土及根区土的细菌数量分别为 $2.47 \times$

10^7 , 23.8×10^7 及 $88.1 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照分别增加 117 %,7 %及 41 %。接入辣椒疫霉病菌后,辣椒根际土的细菌数量为 $2.79 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照减少 88 %;根内、根表土及根区土的细菌数量分别为 339.6×10^7 , 1.32×10^7 及 $53.8 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$,较清水对照分别增加 2761 %,16 %和 14 %。接入辣椒疫霉病菌的辣椒植株由于根部染病,组织溃烂,致使各种腐生细菌大量增殖并入侵根内,导致单接辣椒疫霉病菌处理辣椒根内细菌数量大幅度增加。

表 4 接种拮抗放线菌 0108 和 0110 后辣椒根系不同部位微生物数量

Table 4 Microbial quantities in different places of pepper's rhizosphere after inoculated the actinomycete strains 0108 and 0110

检测微生物 Detect microbe	接种菌株 Inoculated strains	根内 Endo-roots		根表土 Soil of roots surface		根际土 Soil of rhizosphere		根区土 Soil around roots	
		数量 * Quantities	较清水对照增减/ % Reduction than CK	数量 * Quantities	较清水对照增减/ % Reduction than CK	数量 * Quantities	较清水对照增减/ % Reduction than CK	数量 * Quantities	较清水对照增减/ % Reduction than CK
细菌 Bacteria	0108 + P3	2.34	- 80	1.26	11	3.83	- 83	40.3	- 35
	0110 + P3	11.50	- 3	2.47	117	23.8	7	88.1	41
	P3	339.6	2 761	1.32	16	2.79	- 88	53.8	14
	清水 CK Water (CK)	11.87	-	1.14	-	22.3	-	62.4	-
真菌 Fungi	0108 + P3	0	0	2.10	8	0.534	- 34	0.476	- 89
	0110 + P3	0	0	5.80	97	0.833	4	1.67	- 60
	P3	0	0	5.50	182	1.78	121	9.97	137
	清水 CK Water (CK)	0	0	1.95	-	0.805	-	4.2	-
放线菌 Actinomycete	0108 + P3	0	0	2.65	155	2.47	23	2.04	- 15
	0110 + P3	0	0	2.76	165	2.7	34	2.62	9
	P3	0	0	0	- 100	3.05	52	2.69	12
	清水 CK Water (CK)	0	0	1.04	-	2.01	-	2.4	-

注: * 表示细菌/ ($\times 10^7 \text{ g}^{-1}$),真菌/ ($\times 10^4 \text{ g}^{-1}$),放线菌/ ($\times 10^6 \text{ g}^{-1}$);P3. 辣椒疫霉病菌。

Note :Bacteria/ ($\times 10^7 \text{ g}^{-1}$),Fungi/ ($\times 10^4 \text{ g}^{-1}$),Actinomycetes/ ($\times 10^6 \text{ g}^{-1}$);P3. *P. capsici*.

2.2.2 真菌 从表 4 可知,接入拮抗放线菌 0108,0110 和辣椒疫霉病菌 P3 的混合悬液后,在根内均未检测到真菌。接入 0108 后,根表土、根际土及根区土中真菌数量分别为 2.10×10^4 , 0.534×10^4 及 $0.476 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$,在 3 个测定部位中,根表土真菌数量最多,但根际土和根区土较对照分别减少 34 %和 89 %。接入 0110 后,根表土真菌数量同样最多,为 $5.80 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$,但根际土和根区土中真菌数量较少,且根区土中的真菌数量较对照减少了 60 %。由此可知,拮抗放线菌 0108,0110 对辣椒根际、根区真菌有较为强烈的抑制作用,这种作用可能是这 2 株拮抗放线菌控制辣椒疫病的机制之一。接入辣椒疫霉病菌后,辣椒根表土 ($5.50 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$)、根际土 ($1.78 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) 及根区土 ($9.97 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$) 的真菌数量分别较清水对照增加 182 %,121 %及 137 %,表明接种辣椒疫霉病菌后,辣椒根系土壤中真菌数量

增加是辣椒疫病发生的原因之一。

2.2.3 放线菌 从表 4 可知,接入拮抗放线菌 0108 后,辣椒根内未检出放线菌,表明 0108 菌株未在辣椒根内定殖;辣椒根表土、根际土及根区土中放线菌数量分别为 2.65×10^6 , 2.47×10^6 及 $2.04 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$,差异很小;接种 0108 菌株后辣椒根表土和根际土中放线菌数分别较清水对照增加 155 %和 23 %,但根区土减少 15 %。接种 0110 菌株对辣椒根系不同部位放线菌数量的影响与 0108 菌株类似,但是在根区土中检测到的放线菌数较清水对照增加 9 %。接种辣椒疫霉病菌 P3 后,辣椒根表土中未检测到放线菌,但根际和根区土中放线菌数分别较清水对照增加 52 %和 12 %。尽管未在根内检测到放线菌 0108 和 0110,但辣椒根表、根际土壤中放线菌数量的大幅度增加,对抑制辣椒疫病病原菌有重要作用。

2.3 拮抗放线菌 0108 和 0110 对辣椒根系生长的影响

图 1 表明,接入拮抗放线菌 0108 和 0110 对辣椒根系生长有显著促进作用,接入生防菌的辣椒根系生长良好,须根和根毛较对照更为发达,有利于根系对土壤养分、水分的吸收利用,增强了辣椒对病原菌的抵抗能力。

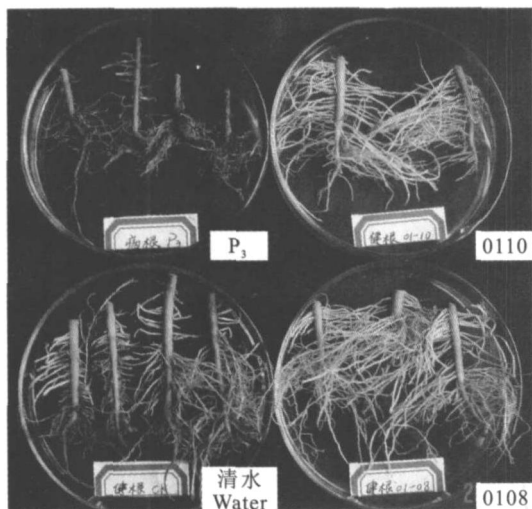


图 1 接种拮抗放线菌 0110 和 0108 对辣椒根系生长的影响

Fig.1 Growth effect of pepper's root after inoculated strains of 0110 and 0108

3 结论与讨论

土壤中栖居着大量的微生物,微生物的种类和数量均会影响植物根系组织对养分的吸收和对病原菌侵染的抵抗能力。采用无菌土初筛试验是为了减少环境微生物对供试放线菌防病效果的影响,采用自然土复筛试验,是为了验证有防效的生防放线菌在自然条件下,在植株根系土壤中的竞争生存能力。经过两次筛选后,从 108 株皿内拮抗效果较好的辣椒疫霉拮抗放线菌中,得到 2 株对辣椒疫病具有较好防效的拮抗放线菌 0108 和 0110。初步试验表明,在盆栽条件下,当 0108 和 0110 与大量辣椒疫霉菌混合接种时,供试放线菌在 14 d 与 21 d 时的相对防效分别达到 75 % 和 81 % 与 65 % 和 56 %;供试放线菌在本试验条件下未在辣椒根内定植,但能明显改变辣椒根内和根外不同部位土壤中细菌、真菌、

放线菌的数量及三者的比例,进而达到控制辣椒疫霉菌生长繁殖,降低辣椒疫霉对辣椒的侵染;同时供试放线菌对辣椒根系生长有明显促进作用。

本试验从根系微生物群落数量来反映生防菌对辣椒疫霉菌的防治机理,生防菌的接入除能够改变辣椒根系的种群外,其产生的抗生素类物质也是抑制辣椒疫霉菌生长繁殖的一个重要因素,0108 和 0110 菌株产生何种抗生素还需进一步研究验证,以便为开发具有实际应用价值的生防菌剂提供有利的理论依据。

致谢:在本试验完成过程中云南大学生物系刘颖给予了大力支持和帮助,在此表示感谢。

[参考文献]

- [1] Kim E S, Hwang K. Virulence to Korea pepper cultivars of *Phytophthora capsici* from different geographic areas [J]. Plant Disease, 1992, 76: 486-489.
- [2] Jubina P A, Grijia V K. Antagonistic rhizobacteria for management of *Phytophthora capsici*, the incidence of black pepper [J]. Journal of Mycology and Plant Pathology, 1998, 28(2): 147-153.
- [3] 马艳, 常志州, 赵江涛, 等. 一株疫病拮抗青霉 P. st10 菌株的抗菌活性及其对辣椒疫病的盆栽防效 [J]. 中国生物防治, 2006, 22(3): 239-243.
- [4] 闫淑珍, 刘维红, 方洁. 小单孢菌 E2 对辣椒疫霉的抑制及抗菌物质的初步测定 [J]. 植物保护学报, 2005, 32(4): 383-386.
- [5] 邱思鑫, 何红, 胡方平, 等. 内生芽孢杆菌 TB2 防治辣椒疫病效果及其机理初探 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(2): 173-179.
- [6] Gil-Jae Joo. Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora blight* in red-peppers by *Streptomyces halstedii* [J]. Biotechnology Letters, 2005, 27(3): 201-205.
- [7] 朱宗源, 周新根, 宋荣浩. 用生物制剂防治青椒疫病 [J]. 上海农业学报, 1995, 11(1): 64-68.
- [8] 司美茹, 薛泉宏, 余博, 等. 辣椒疫霉菌生防菌的双重筛选 [J]. 植物保护学报, 2006, 33(1): 41-46.
- [9] 程丽娟, 薛泉宏, 来航线, 等. 微生物学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [10] 白厚义, 肖俊璋. 试验研究及统计分析 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 1998: 45-46.
- [11] 方中达. 植病研究技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [12] 向梅梅, 李华平, 姜子德. 微生物除草剂研究现状与展望 [J]. 仲凯农业技术学院学报, 2005, 18(4): 64-69.
- [13] 李钊, 董锦艳, 向梅梅. 微生物源除草剂研究、应用现状及展望 [J]. 杂草科学, 2004(4): 1-7.