

混合接种对辣椒疫病生防菌定殖、辣椒生长及诱导抗性的影响

张晓鹿^a, 薛泉宏^b, 郭志英^b, 杨斌^a, 周永强^a, 许英俊^a

(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】【目的】探索供试生防放线菌 Act1、Act8 和 Act11 与生防真菌 C、D、M1 和 M2 混合接种对辣椒根系生长、生防菌定殖能力及辣椒叶片和根系诱导抗性的影响。【方法】采用皿内拮抗试验确定适宜的生防真菌与生防放线菌组合,以甜椒和线椒幼苗为供试材料,蘸根接种处理后,于 30 和 31 d 时测定生防菌在辣椒根部的定殖量及辣椒叶片和根系的多酚氧化酶(PPO)活性,研究不同接种处理对生防菌在辣椒根部定殖能力及辣椒叶片和根系 PPO 活性的影响。【结果】(1) 4 株生防真菌与 3 株拮抗性生防放线菌形成的 12 个组合中有 7 个组合混接种之间无相互拮抗作用。(2) 生防菌混合接种时甜椒叶片 PPO 活性的增率大于生防菌单独接种,混和接种处理的最大接种增率约为单接处理的 5 倍。(3) 生防菌单独接种可使甜椒根系 PPO 酶活异常升高,但生防菌混接(除 Act1+C、Act11+C、Act11+M1 和 Act11+M2 外)会导致甜椒根系 PPO 活性降低。(4) Act1 与生防真菌 C、M1、M2 混接和 Act8 与 D、M1、M2 混接均可明显促进甜椒根系生长。(5) 在混接处理中,供试生防真菌不能促进生防放线菌在甜椒根内定殖,但 M1 可促进生防放线菌在甜椒根表的定殖;供试生防放线菌均能促进真菌 M2 在甜椒根内的定殖。【结论】生防真菌与生防放线菌混合接种(除 Act8+D、Act11+D 外)对辣椒叶片 PPO 活性的提高幅度大于单独接种,混合接种(除 Act11+C、Act11+M1、Act11+M2 外)对根系 PPO 活性的降低幅度大于单独接种;混合接种不能促进生防放线菌在辣椒根内定殖,但能显著促进根系生长。

【关键词】 生物防治;辣椒疫病;植物免疫;多酚氧化酶;放线菌;混合接种

【中图分类号】 S436.418.1⁺9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)04-0151-08

Effect of the inoculation with the fungi and actinomycetes against *Phytophthora capsici* and the colonization capability and the growth and PPO activity of capsicum's leaf and root

ZHANG Xiao-lu^a, XUE Quan-hong^b, GUO Zhi-ying^b, YANG Bin^a,
ZHOU Yong-qiang^a, XU Ying-jun^a

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

Abstract:【Objective】This study is to research the associative inoculation's effects on colonization capability and promoting the growth and PPO activity of Capsicum.【Method】Biocontrol fungi and actinomycetes compounding group were selected after the antimicrobial experiment on the antimicrobial actinomycetes against the fungi and general mensuration of PPO activity. The fungi and actinomycetes associative inoculation to Capsicum were applied by dipping root method then the colonization capability and the Capsicum leaf and root PPO activities were measured.【Result】(1) Four strains of biocontrol fungi and three

* [收稿日期] 2007-04-10

[基金项目] 陕西省科技攻关专项“生物农药研究与产业化”(2003K03-G2-04)

[作者简介] 张晓鹿(1983—),女,河南新乡人,在读硕士,主要从事微生物资源研究。E-mail: xiaolubati123@163.com

[通讯作者] 薛泉宏(1957—),男,陕西白水人,教授,主要从事微生物资源研究。E-mail: xuequanhong@163.com

strains of antimicrobial actinomycetes were selected. There are 12 associative inoculation groups. In 7 groups, there are no effects between fungi and actinomycetes. (2) The associative inoculation of biological control fungi and actinomycetes can increase the PPO activity of pimiento's leaf and better than individual inoculation. The highest rate is nearly 5 times than individual inoculation. (3) Except Act1+C, Act11+C, Act11+M1 and Act11+M2, overrun inoculation can abnormally increase the PPO activities; associative inoculation can reduce the PPO activity of pimiento's root. (4) Associative inoculation (Act1 with D, M1 and M2, Act8 with these 4 kind of fungi) can increase the weight of pimiento's root prominently. (5) Associative inoculation can not promote the colonization of actinomycetes in pimiento's root, only M1 can help the colonization of actinomycetes on pimiento's root. The biocontrol actinomycetes can increase the colonization densities of M2 in pimiento's root. 【Conclusion】 The associative inoculation of biocontrol fungi and antimicrobial actinomycetes (except Act8+D, Act11+D) can increase the PPO activities of pimiento's leaves, associative inoculation (except Act11+C, Act11+M1, Act11+M2) reduce the PPO activities of pimiento's roots after individual inoculation of biological control fungi and antimicrobial actinomycetes, can not help actinomycetes colonized in pimiento's root, but can promote the root growth prominently.

Key words: biocontrol; *Phytophthora capsici* Leonian; phyto-immunology; PPO; actinomycetes; associative inoculation

辣椒疫病(*Phytophthora capsici* Leanian)是辣椒的一种毁灭性土传病害,分布广,危害大^[1]。目前,虽已探明了辣椒疫病病原菌及病害发生规律,并从改善栽培措施、遗传育种和化学防治方面进行了一系列研究,但仍未从根本上解决辣椒疫病的防治难题^[2-3],寻找新的防治途径是目前亟待解决的问题。有研究表明,接种辣椒疫霉特异性生防菌,可通过改变辣椒根区微生物生态组成控制该病的流行,是一条具有良好前景的防治途径^[3]。严占勇等^[4]从辣椒根际土壤中筛选出对辣椒疫霉菌有较强拮抗作用的 5 个芽孢菌株;马艳等^[5]筛选到 1 株对辣椒疫霉具有拮抗作用的真菌 F-310,该菌能强烈抑制辣椒疫霉菌丝生长、孢子囊形成及孢子萌发;司美茹等^[6]利用抑菌圈一定殖力双重测定法,筛选出 6 株辣椒疫霉拮抗放线菌;朱宗源等^[7]用生物制剂“防疫 I 号”与土壤按一定比例混合后施入田间,防治青椒疫病效果明显。梁军峰等^[8]研究表明,放线菌单独接种可提高辣椒叶片多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性,对辣椒的诱导抗性有显著影响,但放线菌不能在辣椒根系定殖;放线菌与辣椒疫霉混合接种可促进放线菌定殖,且对辣椒叶片 PPO、PAL 活性的提高幅度大于单独接种。由于单个微生物因子在环境中发挥功效的不稳定性,人们越来越多地把注意力集中到利用多个生物因子构成的多功能菌群协同作用发挥生态效应的研究上^[9]。但目前的混合接种研究仅涉及生防菌与病原菌混接,未见生防真菌与放线菌混接对生防菌定殖及辣

椒根系 PPO 活性诱导作用的报道。为此,本试验研究了 4 株辣椒疫霉生防真菌与 3 株生防放线菌混接对其在辣椒根部的定殖能力及辣椒叶片和根系 PPO 活性的影响,旨在探索供试放线菌与生防真菌混合接种对辣椒疫病的生防潜力及混接与辣椒诱导抗性的关系,为辣椒疫病生防机理研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌株 供试菌株为 Act1、Act2、Act4、Act8、Act10、Act11、Act12 7 株拮抗放线菌及毛壳菌 C、E、D、I、Q 和木霉 M1、M2、M9 等 8 株生防真菌,均由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室分离筛选。

1.1.2 放线菌活菌制剂 Act1、Act8、Act11 采用固态发酵法制备,菌数分别为 9.0×10^7 , 2.5×10^5 和 5.5×10^7 g⁻¹。

1.1.3 供试辣椒品种 线椒品种为 8819,购自杨凌种子公司,在苗圃中培育 40 d 后,移栽到钵钵中。

甜椒品种为绿宝 E,由西北农林科技大学园艺学院杨兴娟提供。

1.1.4 盆栽土壤 从柳林制药厂实验田采集耕层土,过筛(10 mm×10 mm),装盆,每盆 1.5 kg。

1.1.5 培养基 生防放线菌和生防真菌的分离及测数,分别用改良黄豆粉浸汁琼脂^[8]、GA 琼脂^[10]与 PDA 琼脂^[10]。

1.2 生防真菌与生防放线菌的皿内拮抗试验

为了了解生防真菌与生防放线菌的相互关系,须进行皿内拮抗实验。

1.2.1 生防放线菌琼脂块的制备 在改良黄豆粉浸汁琼脂平皿上涂匀生防放线菌孢子悬液,28℃培养9d,用9mm打孔器打出菌饼。

1.2.2 生防真菌发酵液的制备 在液体PDA培养基中接种供试生防真菌,28℃摇床分别培养7d和14d,粗滤后用灭菌微孔细菌滤膜($D=0.2\mu\text{m}$)过滤,即得无菌滤液。

1.2.3 拮抗试验 将生防放线菌琼脂块置于均匀涂抹供试生防真菌孢子悬液的PDA平板上,28℃培养3d,观察、测定生防放线菌对生防真菌的抑制效果。将灭菌牛津杯置于均匀涂抹生防放线菌孢子悬液的改良黄豆粉浸汁琼脂平皿上,向牛津杯中注入120mL供试生防真菌发酵滤液,28℃培养7d,观察供试生防真菌对生防放线菌的拮抗作用。

1.3 线椒幼苗接种处理

试验设单接生防真菌和CK(不接菌)2个处理,每处理重复3盆。

1.3.1 生防真菌孢子悬液的制备 将活化好的生防真菌接种到PDA琼脂培养基上,28℃培养5d,加无菌水充分搅拌,制得浓孢子悬液,用血球计数板计数。取一定量浓孢子悬液,加无菌水调整孢子悬液浓度为 10^5mL^{-1} 。

1.3.2 接种与移栽 将大小基本一致且带少量土的线椒幼苗根部浸入上述生防真菌孢子悬液中,使接种物均匀粘附在辣椒根部。将接种的线椒幼苗移栽到装土1.5kg的花盆中,每盆3株,按常规措施管理,观察。

1.4 甜椒幼苗接种处理试验

试验共设20个处理:不接菌CK;单接生防放线菌Act1、Act8、Act11;单接生防真菌C、D、M1、M2;生防放线菌与生防真菌混合接种:Act1+C、Act1+D、Act1+M1、Act1+M2,Act8+C、Act8+D、Act8+M1、Act8+M2,Act11+C、Act11+D、Act11+M1、Act11+M2,每处理重复3盆。

1.4.1 接种 生防放线菌接种量:菌剂0.6g/株;真菌接种量:孢子悬液5mL/株。(1)单接生防真菌处理。接种方法同1.2.2。(2)单接生防放线菌处理。将甜椒根系放入放线菌活菌制剂菌粉中轻轻摇动,让菌粉均匀沾附在根系上。(3)生防放线菌与生防真菌混合接种处理。将大小基本一致且带少量土的甜椒幼苗(6片真叶)根部浸入1.2.2制备

的生防真菌孢子悬液中,再在生防放线菌菌粉中蘸根,使菌粉均匀粘附在甜椒根部。

1.4.2 移栽 将对照和已接种的甜椒幼苗按每盆1株移栽到营养钵中,按常规措施管理,观察。

1.5 生防放线菌与生防真菌在辣椒根部的定殖能力测定

甜椒幼苗栽植40d时从营养钵中挖出,剪下根系,用无菌水冲洗干净,收集洗液并用吸水纸吸干根表水分,剪下须根。在天平上称取1.00g须根样品,将其扎成小捆,在体积分数75%酒精中浸泡30s,除去根表气泡,然后将其在1g/L的升汞溶液中浸泡2.5min,取出用无菌水冲洗5次。将消毒好的须根放入含9mL无菌水的无菌研钵中充分研磨,使根内定殖的放线菌和真菌释放出来。研磨后的液体和收集的洗液经适当稀释后,分别涂于GA平板和乳酸酸化的PDA平板上,28℃培养。将培养物与同步培养平板上的相应放线菌和真菌菌株进行形态比较鉴定后计数,计算每克根表和每克根内定殖的放线菌和真菌数。

1.6 辣椒PPO活性的测定

辣椒叶片和根系PPO活性的测定参考文献[11]的方法进行,甜椒PPO活性测定在接种后30d时进行,线椒PPO活性测定分别于接种后30和31d时进行。

1.7 辣椒根重的测定

将植株从根茎交界处剪开,在天平上称取每个处理的根系总质量,计算单株根重。

1.8 结果计算

接种增率: ΔPPO 指单独或混合接种较对照处理植株根系和叶片的PPO活性的增率; Δ 根重指单独或混合接种较对照处理植株根系质量的增率。计算公式为:

$$\Delta\text{PPO}/\% = ((\text{接种处理PPO活性} - \text{对照PPO活性}) / \text{对照PPO活性}) \times 100\%;$$

$$\Delta\text{根重}/\% = ((\text{接种处理根系质量} - \text{对照根系质量}) / \text{对照根系质量}) \times 100\%;$$

混接效应(Δh),指混接处理生防菌的定殖量较单接的增率(%),计算公式为: $\Delta\text{h}/\% = ((\text{混接处理生防菌定殖量} - \text{单接处理生防菌定殖量}) / \text{单接处理生防菌定殖量}) \times 100\%。$

2 结果与分析

2.1 生防真菌与生防放线菌的皿内拮抗实验结果

2.1.1 生防放线菌对生防真菌的抑制作用 从表

1 可以看出, Act1 和 Act2 均不抑制毛壳菌及 M2 的生长,但对 M1、M9 有较强抑制作用;Act1 能促进毛壳菌 I 孢子生成。Act4 对所有供试生防真菌无抑制作用。Act10 不能抑制所有供试毛壳菌菌丝生长,但能抑制其孢子生成,能抑制供试木霉 M1 菌

丝生长,表明 Act10 不能与毛壳菌 C、D、E、I、Q 和木霉 M1 混合接种;Act10 对 M2 和 M9 无抑制作用,表明 Act10 与 M2 和 M9 可混合接种。Act11 和 Act12 对供试毛壳菌均无抑制作用,但对供试木霉均有较强抑制作用,抑菌圈直径达 13~28 mm。

表 1 生防放线菌对生防真菌的抑制作用
Table 1 Inhibitory effect of the actinomycetes to fungi

靶标真菌 Target fungi	拮抗圈直径/ mm Diameter of inhibitory zone					
	Act1	Act 2	Act 4	Act 10	Act 11	Act 12
C	0	0	0	18 *	0	0
E	0	0	0	15 *	0	0
D	0	0	0	20 *	0	0
I	13 * *	0	0	15 *	0	0
Q	0	0	0	17 *	0	0
M1	11	12	0	8	22	22
M2	0	0	0	0	13	14
M9	26	24	0	0	28	14

注: * 表示琼脂块周围无孢子区的直径; * * 表示琼脂块周围孢子密集区的直径。表 2 同。
Notes: * represents inhibiting spores producing zone diameter; * * represents facilitating spores producing.

2.1.2 生防真菌对生防放线菌的抑制作用 由表 2 可知,培养 7 d 时,毛壳菌 E、Q 和木霉 M9 发酵液对 Act1 生长均有较强的抑制作用,抑菌圈分别为 20,13 和 12 mm,表明 Act1 不能与毛壳菌 E、Q 和木霉 M9 配合。除 M9 可促进 Act4 孢子生成外,其他生防真菌对生防放线菌的生长均无影响,表明这些生防真菌均可与生防放线菌混合接种。

由以上研究结果可知, 5 株供试毛壳菌 C、E、D、I、Q 均可与 Act1、Act2、Act4、Act10、Act11 和 Act12 6 株供试生防放线菌混接;供试木霉 M1 可与 Act4 混接;M2 可与 Act1、Act2、Act4 和 Act10 混接;M9 可与 Act4 和 Act10 混接,但由于 M9 产孢量太少,所以舍去 M9。

表 2 生防真菌对生防放线菌的抑制作用
Table 2 Inhibitory effect of the fermentation liquor by fungi to actinomycetes

靶标放线菌 Target actinomycetes	拮抗圈直径/mm Diameter of inhibitory zone															
	C		D		E		I		Q		M1		M2		M9	
	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d	7 d	14 d
Act 1	0	0	0	0	20	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0
Act 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13 * *	0
Act 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Act 10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Act 11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Act 12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.2 生防菌对辣椒叶片和根系 PPO 活性的影响
2.2.1 单接生防真菌的影响 (1)线椒叶片 PPO 活性。由表 3 可以看出,单接毛壳菌时,可诱导线椒叶片 PPO 活性升高,其中以毛壳菌 C 的接种增率(ΔPPO)最大,为 10.26%,其余供试菌的接种增率(ΔPPO)均较小;M1 可使线椒叶片 PPO 酶活降低,其接种增率(ΔPPO)为-10.26%。

的变化趋势与 30 d 时相似。生防真菌接种引起线椒根系 PPO 活性降低是否意味着抗病性降低尚待进一步研究证实。

表 3 单接生防真菌对线椒叶片 PPO 活性的影响
Table 3 Effect on PPO activities in chilli leaves after the inoculation with the fungi

处理 Treatment	PPO 活性/ (U · g ⁻¹ · h ⁻¹) PPO Activity	ΔPPO/%
CK	3 900±150	0.00
C	4 300±60	10.26
I	4 000±120	2.56
Q	4 180±50	7.15
M1	3 500±0	-10.26

(2)线椒根系 PPO 活性。从表 4 可以看出,在 30 d 测定时,单接毛壳菌线椒根系 PPO 活性的接种增率为-25.56%~-35.34%,木霉 M1、M9 的接种增率均为-14.3%;单接 M2 线椒根系 PPO 活性接种增率为 8.27%。31 d 时,线辣根系 PPO 活性

表 4 单接生防真菌对线椒根系 PPO 活性的影响

Table 4 Effect on PPO activities in chilli roots after the inoculation with the fungi

处理 Treatment	30 d		31 d	
	PPO 活性/ (U · g ⁻¹ · h ⁻¹)	ΔPPO/%	PPO 活性/ (U · g ⁻¹ · h ⁻¹)	ΔPPO/%
	PPO Activity		PPO Activity	
CK	1 330±40	0.00	1 000±20	0.00
C	990±50	-25.56	840±20	-16.00
D	970±0	-27.07	640±100	-36.00
E	880±30	-33.83	690±20	-31.00
I	900±30	-32.33	900±30	-10.00
Q	860±60	-35.34	780±30	-22.00
M1	1 140±30	-14.30	820±10	-18.00
M2	1 440±40	8.27	1 000±20	0.00
M9	1 140±10	-14.30	870±40	-13.00

2.2.2 生防真菌与生防放线菌混合接种对甜椒 PPO 活性的影响 (1)甜椒叶片 PPO 活性。由表 5 可以看出,供试生防真菌、生防放线菌单接时,甜椒叶片 PPO 活性增加不明显。生防真菌与生防放线菌混合接种时,甜椒叶片的 PPO 活性(除 Act8+D、Act11+D 外)均提高,其中接种增率较大的混合接种组合为:Act1+C、Act1+D、Act1+M2、Act11+C、Act11+M1 和 Act11+M2。表明混合接种较单独接种更有利于甜椒叶片诱导抗性的提高。本实验中

Act8+D 和 Act11+D 混合接种甜椒叶片 PPO 活性略有降低,其原因尚待进一步研究。

(2)甜椒根系 PPO 活性。由表 6 可以看出,供试生防真菌、生防放线菌单接时(除单接 M1、M2 和 Act11 外),甜椒根系 PPO 活性均明显升高。其原因可能与接种抑制甜椒根系生长有关。混接时(除 Act1+C、Act11+C、Act11+M1 和 Act11+M2 外),甜椒根系 PPO 活性均降低。

表 5 生防真菌与生防放线菌对甜椒叶片 PPO 活性的影响

Table 5 Effect on PPO activities in pimiento leaves after the inoculation with the fungi and actinomycetes

处理 Treatment	PPO 活性/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹) PPO Activity	ΔPPO/%	处理 Treatment	PPO 活性/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹) PPO Activity	ΔPPO/%
CK	2 300±30	0.00	Act8	2 100±30	-8.40
C	2 000±20	-11.90	Act8+C	2 300±60	0.90
D	2 300±70	2.20	Act8+D	2 200±20	-4.90
M1	2 300±50	4.00	Act8+M1	2 500±10	8.40
M2	2 400±40	7.40	Act8+M2	2 500±20	10.20
Act1	2 300±10	0.00	Act11	2 400±40	6.20
Act1+C	3 000±60	33.20	Act11+C	2 700±80	17.30
Act1+D	2 800±50	25.20	Act11+D	2 200±30	-10.40
Act1+M1	2 500±20	9.70	Act11+M1	2 800±30	22.10
Act1+M2	2 800±50	25.70	Act11+M2	3 100±50	38.10

表 6 生防真菌与生防放线菌对甜椒根系 PPO 活性的影响

Table 6 Effect on PPO activities in pimiento roots after the inoculation with the fungi and actinomycetes

处理 Treatment	PPO 活性/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹) PPO Activity	ΔPPO/%	处理 Treatment	PPO 活性/(U · g ⁻¹ · h ⁻¹) PPO Activity	ΔPPO/%
CK	1 900±70	0.00	Act8	8 100±280	336.76
C	3 900±40	110.80	Act8+C	1 500±40	-20.54
D	7 400±200	300.50	Act8+D	1 600±30	-11.89
M1	1 800±10	-3.20	Act8+M1	1 400±170	-23.78
M2	2 100±30	12.40	Act8+M2	1 600±180	-13.50
Act1	5 600±130	200.50	Act11	1 920±20	3.78
Act1+C	2 100±60	10.80	Act11+C	2 550±10	37.84
Act1+D	1 700±10	-7.60	Act11+D	1 600±20	-13.51
Act1+M1	1 400±20	-25.40	Act11+M1	2 470±20	33.51
Act1+M2	1 200±50	-37.30	Act11+M2	2 500±70	35.10

由以上分析可知,单接生防菌时甜椒叶片 PPO 活性无明显升高,个别(单接 C 和 Act8 时)降低;生

防真菌与生防放线菌混合接种时(除 Act8+D 和 Act11+D 外)甜椒叶片 PPO 活性均有所升高。甜椒根系 PPO 活性变化规律与叶片相反:单接时(除单接 M1、M2 和 Act11 外)较对照明显升高,混接(除 Act1+C、Act11+C、Act11+M1 和 Act11+M2 外)时则有所降低。

2.3 生防菌对甜椒根重的影响

由表 7 可以看出,单接 Act1、Act8 及 Act11,甜椒根重接种增率分别为-31.51%,-70.55%及

-22.88%,表明单接生防放线菌对甜椒根系生长有显著的抑制作用;单接生防真菌时,甜椒根重变化不大。生防真菌与生防放线菌混合接种时,Act1 与生防真菌 C、M1、M2 混接和 Act8 与 D、M1、M2 混接时,甜椒根重明显增加,其中 Act1+C、Act1+M2 及 Act8+M1 的接种增率(Δ 根重)达到59.86%,78.90%,57.53%。Act11 与 4 种生防真菌混接时甜椒根重均降低。

表 7 生防真菌与放线菌对甜椒根重的影响

Table 7 Effect on weights of pimiento roots after the inoculation with the fungi and actinomycetes

处理 Treatment	根重/(g·株 ⁻¹) RW	Δ 根重/% Δ RW	处理 Treatment	根重/(g·株 ⁻¹) RW	Δ 根重/% Δ RW
CK	0.73	0.00	Act8	0.22	-70.55
C	0.63	-14.38	Act8+C	0.64	-12.74
D	0.89	21.92	Act8+D	0.87	18.77
M1	0.79	7.76	Act8+M1	1.15	57.53
M2	0.84	15.07	Act8+M2	0.86	17.81
Act1	0.50	-31.51	Act11	0.56	-22.88
Act1+C	1.17	59.86	Act11+C	0.61	-16.45
Act1+D	0.61	-16.03	Act11+D	0.50	-31.92
Act1+M1	0.80	10.00	Act11+M1	0.42	-42.47
Act1+M2	1.36	78.90	Act11+M2	0.54	-26.44

Act1、Act8 与生防真菌混接处理的甜椒根重均大于其单接处理,且单接 Act1 和 Act8 的甜椒根重较小,这可能与表 5 中相应根系的酶活明显升高有关,说明接种生防放线菌 Act1、Act8,会抑制甜椒根系生长,而生防真菌与其混接则可减轻接种的抑制效应,并促进甜椒根系生长。

2.4 生防菌在甜椒根表和根内的定殖能力

2.4.1 根 表 由表 8 可以看出,Act1 与生防真菌混合接种时,除 M1 使其在甜椒根表的定殖量大

幅度增加外,其他真菌均未能促进 Act1 在根表的定殖;生防真菌与 Act8 混接时,可使 Act8 在根表的定殖量降低;Act11 与生防真菌混接时,除 M2 可使其在根表的定殖量略有增加外,其他真菌均导致 Act11 在根表的定殖量降低。生防真菌与生防放线菌混合接种(除 Act8+ M1、Act8+ M2 和 Act11+ M1 处理外),均不能促进生防真菌在甜椒根表的定殖。

表 8 生防真菌和放线菌单独或混合接种对其在甜椒根表定殖量的影响

Table 8 Effect of colonization densities of actinomycetes and fungi on pimiento roots after the inoculation with the fungi and actinomycetes

处理 Treatment	生防放线菌 Actinomycetes		生防真菌 Fungis		处理 Treatment	生防放线菌 Actinomycetes		生防真菌 Fungis	
	定殖量/ ($\times 10^6$ g ⁻¹) Colonization densities	Δ h/%	定殖量/ ($\times 10^4$ g ⁻¹) Colonization densities	Δ h/%		定殖量/ ($\times 10^6$ g ⁻¹) Colonization densities	Δ h/%	定殖量/ ($\times 10^4$ g ⁻¹) Colonization densities	Δ h/%
CK	0.0	0.0	—	—	Act8	44.0	0.0	0.0	0.0
C	0.0	0.0	0	0.0	Act8+C	5.1	-88.4	0.0	0.0
D	0.0	0.0	35	0.0	Act8+D	7.7	-82.5	7.5	-78.6
M1	0.0	0.0	68	0.0	Act8+M1	18.0	-59.1	75	10.3
M2	0.0	0.0	140	0.0	Act8+M2	4.8	-89.1	200	42.9
Act1	45.0	0.0	0.0	—	Act11	9.4	0.0	0.0	0.0
Act1+C	22.0	-51.1	7.8	—	Act11+C	4.0	-57.4	0.0	0.0
Act1+D	17.0	-62.2	1.7	-95.1	Act11+D	6.5	-30.9	23.0	-34.3
Act1+M1	99.0	120	1.4	-97.9	Act11+M1	6.0	-36.2	77.0	13.2
Act1+M2	23.0	-48.9	1.8	-98.7	Act11+M2	9.9	5.3	20.0	-85.7

2.4.2 根 内 由表 9 可以看出,生防真菌与放线

菌混合接种均未达到促进放线菌在根内定殖的目

的,甚至出现相反结果,其中毛壳菌 C 与 Act11 混合接种降低了 Act11 在甜椒根系的定殖量;混合接种处理中,放线菌的存在显著降低了 D 和 M1 在甜椒根内定殖量,但显著提高了 M2 在甜椒根内的定

殖量,Act1 + M2、Act8 + M2 和 Act11 + M2 处理 M2 的混接效应(Δh)分别为 209.1%,290.9%和 672.7%。

表 9 生防真菌和放线菌单独或混合接种对其在椒根内定殖量的影响

Table 9 Effect of colonization densities of actinomycetes and fungi in pimientto roots after the inoculation with the fungi and actinomycetes

处理 Treatment	生防放线菌 Actinomycetes		生防真菌 Fungis		处理 Treatment	生防放线菌 Actinomycetes		生防真菌 Fungis	
	定殖量/ ($\times 10^2\text{ g}^{-1}$) Colonization densities	$\Delta h/\%$	定殖量/ ($\times 10^2\text{ g}^{-1}$) Colonization densities	$\Delta h/\%$		定殖量/ ($\times 10^2\text{ g}^{-1}$) Colonization densities	$\Delta h/\%$	定殖量/ ($\times 10^2\text{ g}^{-1}$) Colonization densities	$\Delta h/\%$
CK	0.0	0.0	—	—	Act8	0.0	0.0	0.0	0.0
C	0.0	0.0	0	0.0	Act8+C	0.0	0.0	0.0	0.0
D	0.0	0.0	230.0	0.0	Act8+D	0.0	0.0	120	−47.8
M1	0.0	0.0	9.1	0.0	Act8+M1	0.0	0.0	0.22	−97.6
M2	0.0	0.0	1.1	0.0	Act8+M2	0.0	0.0	4.3	290.9
Act1	0.0	0.0	0.0	0.0	Act11	39.0	0.0	0.0	0.0
Act1+C	0.0	0.0	0.0	0.0	Act11+C	4.1	−89.4	0.0	0.0
Act1+D	0.0	0.0	74.0	−67.8	Act11+D	0.0	0.0	150.0	−34.8
Act1+M1	0.0	0.0	8.8	−3.3	Act11+M1	0.0	0.0	8.5	−6.6
Act1+M2	0.0	0.0	3.4	209.1	Act11+M2	0.0	0.0	8.5	672.7

3 讨 论

目前,关于化学药剂、病原菌侵染和单独接种生防菌对诱导酶活性影响的研究较多。王艳杰等^[12]研究表明,喷施啮肽霉素后,辣椒植株各种防御酶系活性明显增强。有研究表明,参与酚类氧化或缩合的多酚氧化酶(PPO)不仅与寄主的抗病反应有密切关系,而且有助于酚类物质的聚集、木质素的积累和植保素的合成等^[13-15]。冉在青等^[16]发现,辣椒疫霉侵染的辣椒叶片 PPO 活性增加,并出现新的同功酶谱,表明植物体内多酚氧化酶(PPO)等保护酶与植物抵抗病原菌入侵有密切关系。梁军锋等^[8]研究表明,接种生防放线菌后,辣椒叶片 PPO、PAL 酶活均升高;辣椒疫霉与生防放线菌混合接种可促进放线菌在辣椒根系内的定殖。目前,对 PPO 等保护酶的研究仅局限于植株叶片,尚未看到生防菌混合接种对植株根系诱导酶活性及对生防菌定殖效果影响的研究报道。由于辣椒疫病为土传病害,辣椒疫霉的主要侵染部位为根系,所以关于生防真菌与放线菌混合接种对根系 PPO 活性的诱导作用及对放线菌在根内定殖的研究是很有意义的。本试验研究了生防真菌与放线菌混合接种对辣椒叶片和根系 PPO 活性、生防菌在根内定殖量及根重的影响,这将为生防放线菌防治辣椒疫病机制的研究提供新的思路和证据。

从本研究结果可以看出,生防木霉和毛壳菌与

生防放线菌混接时,生防真菌并不能协助生防放线菌在甜椒根内定殖,但除个别处理外,甜椒叶片 PPO 活性的提高幅度和根系 PPO 活性降低的幅度均大于单独接种;单独接种生防木霉和毛壳菌对线椒根系 PPO 活性的影响结果与甜椒一致。叶片酶活升高是否能提高辣椒抗病性,根系酶活降低是否意味着抗病性减弱,还有待于下一步的抗病试验证明。另外,在皿内实验时发现,Act1 和 Act11 分别对 M1、M2 有抑制作用,而在混接试验中则未发现明显的相互影响,促生效应和诱导抗性效果也较好,说明皿内单向拮抗关系在生物试验中并不一定能表现出来。除个别处理外,混合接种可增强叶片诱导抗性、促进根系生长及减轻接种生防放线菌对根系产生的抑制作用,其原因可能与 2 种生防菌在辣椒根表生长时与辣椒根系互换代谢产物、促进其根系活性物质分泌有关,其详细机理尚待进一步研究。

4 结 论

本研究结果表明:(1) 4 株生防真菌(木霉 M1、M2 和毛壳菌 C、D)与 3 株生防放线菌 Act1、Act8、Act11 之间可两两混合接种;生防真菌与生防放线菌之间虽然存在单向拮抗关系,但在生物试验中并未反映出抑制作用。(2)除个别处理外,生防真菌与生防放线菌混合接种对甜椒叶片 PPO 活性的提高幅度大于生防放线菌单独接种,混合接种可使甜椒根系 PPO 活性较对照降低。(3)生防真菌和生防放

线菌混合接种(除个别处理外)对辣椒根系的促生效应优于单独接种,并可减轻生防放线菌接种对根系的抑制效应。(4)混合接种虽不能促进供试生防放线菌在甜椒根部的定殖,但混接产生的促生效应对叶片 PPO 活性的强烈诱导效应不容忽视。

〔参考文献〕

- [1] 吕和平,郭满库,陈雨天,等. 辣椒疫病流行类型及流行因素分析[J]. 西北农业学报,1999,8(3):40-42.
Lu H P,Guo M K,Chen Y T,et al. Analysis on the epidemic types and factors of Pepper *Phytophthora* blight [J]. Acta Agricul-tural Boreali Sinica,1999,8(3):40-42. (in Chinese)
- [2] 任华中,沈火林. 辣椒抗疫病遗传与育种研究进展[J]. 中国农业大学学报,1996,22(3):21-23.
Ren H Z,Sheng H L. The advances in the study of inheritance and breeding of resistance to *Phytophthora capsici* Leon. in Capsicum [J]. Journal of China Agricultural University,1996,22(3):21-23. (in Chinese)
- [3] 易图永,谢丙炎,张宝玺. 辣椒疫病防治研究进展[J]. 中国蔬菜,2002(5):52-55.
Yi T Y,Xie B Y,Zhang B X. The advances in the study of pre-vention and cure to *Phytophthora capsici* Leon [J]. Chinese Vegetables,2002(5):52-55. (in Chinese)
- [4] 严占勇,肖崇刚,易 龙,等. 防治辣椒疫病的芽孢菌株的筛选及其抑菌效果的测定[J]. 中国蔬菜,2005(6):18-20.
Yan Z Y,Xiao C G,Yi L,et al. Screening test and inhibiting effect of spore bacteria to *Phytophthora capsici* [J]. Chinese Vegetables,2005(6):18-20. (in Chinese)
- [5] 马 艳,常志州,朱万宝,等. 拮抗真菌 F-310 对辣椒疫霉菌的抗生活性及防效[J]. 江苏农业学报,2004,20(3):180-183.
Ma Y,Chang Z Z,Zhu W B,et al. Antagonistic activity of exu-date of fungi F-310 against *Phytophthora capsici* L. and its biocontrol effect [J]. Jiangsu J of Agr Sci,2004,20(3):180-183. (in Chinese)
- [6] 司美茹,薛泉宏,余 博,等. 辣椒疫霉生防菌的双重筛选[J]. 植物保护学报,2006(3):42-46.
Si M R,Xue Q H,Yu B,et al. The selection of biocontrol acti-nomycetes against *Phytophthora capsici* by the method as-sessed inhibiting zones and root colonizing capacity [J]. Acta Phytophylacica Sinica,2006(3):42-46. (in Chinese)
- [7] 朱宗源,周新根,宋荣浩,等. 用生物制剂防治青椒疫病[J]. 上海农业学报,1993,11(1):64-68.
Zhu Z Y,Zhou X G,Song R H,et al. Controlling *Phytophthora capsicum* blight with biological “Fangyi-I” [J]. Acta Agricul-turae Shanghai,1993,11(1):64-68. (in Chinese)
- [8] 梁军锋,薛泉宏,牛小磊,等. 7 株放线菌在辣椒根部定殖及对辣椒叶片 PAL 与 PPO 活性的影响[J]. 西北植物学报,2005,25(10):2118-2123.

- Liang J F,Xue Q H,Niu X L,et al. Root colonization and effects of seven strains of actinomycetes on leaf PAL and PPO activities of capsicum [J]. Acta Bot Boreal-occident Sin,2005,25(10):2118-2123. (in Chinese)
- [9] 张 昕,张炳欣,赵宇华,等. 多功能菌群混合施用的生态效应[J]. 应用生态学报,2005,16(10):1909-912.
Zhang X,Zhang B X,Zhao Y H,et al. Ecological effects of mul-tifunctional micro-flora agent in environment [J]. Chinese Journal of Applied ecology,2005,16(10):1909-1912. (in Chi-nese)
- [10] 程丽娟,薛泉宏. 微生物与实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:80-83,104-105.
Cheng L J,Xue Q H. Microbiology and experimental tech-nique [M]. Xi'an:World Books Publication Company,2000:80-83,104-105. (in Chinese)
- [11] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:203-204.
Gao J F. Experimental technique in plant-physiology [M]. Xi'an:World Books Publication Company,2000:203-204. (in Chinese)
- [12] 王艳杰,杜春梅,宫占元,等. 噬肽霉素对辣椒植株体内防御酶系活性变化的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2006,18(1):18-21.
Wang Y J,Du C M,Gong Z Y,et al. Influence of cytosintetid-emycin on the activity of defense enzymes in Pepper [J]. Jour-nal of Heilongjiang August First and Reclamation University,2006,18(1):18-21. (in Chinese)
- [13] 孔庆科,丁爱云,刘招舰,等. 茄子感染黄萎病菌前后酶活性的动态反应和同工酶变化[J]. 山东农业大学学报,2001,32(3):271-274.
Kong Q K,Ding A Y,Liu Z J,et al. Some changes of enzyme activities and isozymes from susceptible and resistant eggpla-nts after inoculation with *Verticillium dahliae* Klab [J]. Journal of Shandong Agriculture University,2001,32(3):271-274. (in Chinese)
- [14] Liu Y G,Li H Y,Yang Q K. Study on the relationship be-tween resistance of soybean infected by *Cercospora soja* Ha-ra [J]. Soybean Science,2002,21(3):195-198.
- [15] Scheneider S,Ullrich W. Differential. Induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers [J]. Physiol Mol Plant Pathol,1994,45:291-304.
- [16] 冉在青,利容千. 辣椒感染疫霉菌后几种酶活性及同工酶谱带变化[J]. 植物病理学报,1997,27(2):156.
Ran Z Q,Li R Q. Some changes of enzyme activities and isozyme bands from pepper cultvars after inoculation with *Phytophthora capsici* [J]. Acta Phytopathologica Sinica,1997,27(2):156. (in Chinese)