

生防菌苗床接种对辣椒根域微生态及产量的影响

郭志英^a,薛泉宏^a,张晓鹿^b,杨 斌^b,许英俊^b,周永强^b

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

【摘 要】 【目的】研究苗床拌土接种生防菌制剂对辣椒根域微生态及产量的影响。【方法】以真菌 F、放线菌 Act 2 和 Act 8 为供试生防菌,采用苗床拌土法接种辣椒,平皿涂抹法测定各处理辣椒根区、根表土壤和根内微生物数量,小区试验研究接种生防菌对辣椒产量的影响。【结果】苗床拌土接种 2 株生防放线菌和 1 株生防真菌制剂:(1)可明显增加辣椒根域土壤中细菌和放线菌数量,减少真菌数量,改变根域土壤中微生物组成,促使辣椒根域土壤微生物类型由真菌型向细菌型转变。其中接种生防真菌 F 后,小区辣椒根区土壤细菌、放线菌数量较对照分别增加了 166.7%和 46.2%,细菌、放线菌与真菌的数量比 B/F、A/F 分别较对照增加了 207.7%和 72.2%。(2)显著增加辣椒根表土壤芽孢杆菌数量,减少根区土壤芽孢杆菌数量,根表芽孢杆菌数量增幅和根区土壤芽孢杆菌数量降幅分别为 7.5%~246.8%和 11.9%~74.5%。(3)显著增加了辣椒根内细菌和放线菌数量,其中芽孢杆菌数量增加明显;接种生防放线菌 Act 2 后,细菌、芽孢杆菌和放线菌数分别增加 314.8%,409.1%和 77.3%。(4)显著提高了小区辣椒产量,其中接种生防放线菌 Act 8 后,鲜椒总产量较对照增加了 48.8%。苗床接种生防菌后,在辣椒收获期,小区辣椒根区、根表土壤中仍有大量生防放线菌检出($10^5\sim10^6\text{ g}^{-1}$),表明接入的生防菌可在辣椒根区土壤中长时间定殖、存活,持续发挥生防作用。【结论】苗床拌土接种生防菌可显著改变辣椒根域微生物组成和数量,具有明显的促生、增产作用;苗床拌土接种育苗是一种可用于土传病害生物防治的、值得深入研究的接种方法。

【关键词】 生物防治;辣椒疫病;苗床接种;根域微生态;生防放线菌;生防真菌

【中图分类号】 S436.418.1⁺9 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2008)04-0159-07

Effect of the inoculation with the antagonistic fungi and actinomycetes in seedbed on micro ecological systems of capsicum rooting zone and yield of capsicum

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

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

Abstract: 【Objective】 The objective was to research the effect of the inoculation with the antagonistic fungi and actinomycetes in seedbed on micro ecological systems of capsicum rooting zone and yield of capsicum. 【Method】 The effect of inoculated with antagonistic microbial on improving the capsicum's growth and increasing the yield was studied by inoculated in the seedbed and plot experiment, and the microorganism numbers in the capsicum rhizosphere, root surface soil and root were determined by Petri dish smearing method. 【Result】 Compared with the control, inoculation with one strain of antagonistic fungi and two

* [收稿日期] 2007-04-10
[基金项目] 陕西省科技攻关专项(2003K03-G2-04, 2004k02-G7)
[作者简介] 郭志英(1982—),女,山西祁县人,在读硕士,主要从事放线菌资源与应用研究。E-mail: guozhiying8212@126.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: xueqhong@public.xa.sn.cn

strains of antagonistic actinomycetes in seedbed;(1)could significantly increase the quantity of the bacteria and the actinomycetes,reduce the fungi number in capsicum rooting zone soil of plot experiment. The microbial flora of capsicum rooting zone soil changed markedly from fungi type to bacteria type. When inoculated with the antagonistic fungi F in the seedbed,the number of the bacteria and actinomycetes in the capsicum rhizosphere soil of plot experiment increased significantly by 166.7% and 46.2%,the ratio of bacteria to fungi and actinomycetes to fungi increased by 207.7% and 72.2%;(2)could significantly increase the number of *Bacillus* sp in capsicum rhizosphere soil,and reduce the number of *Bacillus* sp in capsicum root surface soil. The scope of increase and lessen were 7.5%—246.8% and 11.9%—74.5%;(3)could significantly increase the number of bacteria and actinomycetes in the capsicum root,among them the number of *Bacillus* sp also increased significantly;when inoculated with Act2,the number of bacteria,*Bacillus* sp and actinomycetes increased by 314.8%,409.1% and 77.3%;(4)could significantly increase the yield of capsicum in plot experiment. When inoculated with Act8,the yield of capsicum increased by 48.8% compared with the control. Inoculated with the antagonistic fungi and actinomycetes in seedbed,a large amount of antagonistic actinomycetes also been checked in capsicum rhizosphere and root surface soil of the capsicum harvest period($10^5 - 10^6 \text{ g}^{-1}$),which indicated that inoculation with the antagonistic microbial in the seedbed could colonized in the capsicum rhizosphere, and lasts a long time,it could make full use of the micro control strains continuance. 【Conclusion】 Inoculated with the antagonistic fungi and actinomycetes in the seedbed could significantly change the microbial buildup and quantity,which could make good use of the yield of the capsicum. So inoculation with antagonistic microbial in the seedbed was worth studying for soil borne disease.

Key words: biological control;*Phytophthora capsici* Leonian;inoculation in the seedbed;microecological systems of capsicum rooting zone;antagonistic actinomycete;antagonistic fungi

辣椒疫病是由辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)引发的土传病害,对辣椒生产危害很大,在流行严重的年份会导致绝收。在该病的防治方面,由于抗病育种未能从根本上解决问题,化学防治又效果不佳,因此寻找新的防治途径是目前亟待解决的首要问题。鉴于该病的发生是由于连茬次数增加、辣椒根区土壤中辣椒疫霉病原菌数量增多导致微生物失衡引起的,故根据生态学原理,通过向辣椒根表及根区土壤中接种拮抗微生物、对辣椒根区的微生物生态进行人为调整,有可能从根本上控制该病。目前,此方面的初步研究已取得了较好的效果^[1-2],证明这是一条值得探索的新途径。马艳等^[3]、尹敬芳等^[4]、梁军锋等^[5]和孙敬祖等^[6]采用蘸根、灌根和叶面喷雾等接种方法进行了皿内拮抗和盆栽试验,结果表明,浇灌和蘸根接种生防菌对辣椒疫病有较好防效,且对辣椒叶片保护性酶活性有较强的诱导作用。但灌根接种工作量大,难以在生产中实施;蘸根接种,易在辣椒根部形成泥团,对根系发育有一定影响。苗床拌土育苗接种简单易行,菌剂用量少,菌剂在根区分布均匀,与根系接触充分,可在幼苗期产生诱导抗性,是一种值得探索的生防菌接种方法。但目前尚未见辣椒苗床拌土接种育苗的研究报道。本

试验采用苗床拌土接种的方法,研究了 2 株生防放线菌和 1 株生防真菌对辣椒根域微生态及产量的影响,旨在探索苗床拌土接种对辣椒疫病生物防治的微生态机制,为苗床拌土接种育苗的可行性提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌剂 真菌 F 及放线菌 Act 2 和 Act 8 菌剂经固态发酵制成,其活菌数分别为 5.0×10^9 、 7.5×10^9 和 $9.2 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ 。该 3 株菌由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室从青海温室辣椒健株根区土壤和自然农田土壤中分离,并经“抑菌圈一定殖力双重筛选法”和小区试验筛选得到。

1.1.2 培养基 试验用培养基有牛肉膏蛋白胨琼脂(BPA),马铃薯蔗糖琼脂(PDA)和高氏 1 号(GA)^[7]。

1.1.3 供试辣椒 品种为“线椒 8819”,购自陕西省杨凌区种子公司。

1.2 方法

1.2.1 试验方案 苗床和小区试验均设对照 CK(不接菌)及接种生防菌 F、Act 2 和 Act 8 4 个处理。

小区每处理设 4 个重复,每重复 15 棵辣椒苗,株距为 25 cm,行距为 30 cm。

1.2.2 育苗、移栽管理 按常规方法准备苗床基质,接入菌剂,接种量为 2.5 g/kg,将菌剂与育苗基质充分混匀后播种。40 d 后将带有苗床土的辣椒苗移栽到小区。苗床和小区管理采用常规方法。在苗床保留少量辣椒苗,继续生长至产椒,以观察在接种量 2.5 g/kg 条件下辣椒的生长和接种菌的定殖状况。

1.2.3 辣椒产量的测定 待辣椒成熟后(9 月中旬)一次收获,将红、绿辣椒分别称重,得总产量;将红辣椒在烘干前后称重,得商品椒的鲜重和干重;将辣椒植株连根挖出,冲洗干净粘附于根系上的土,称植株总鲜重。根据以上结果计算经济产量、生物产量和商品鲜椒中干物质含量。

1.2.4 辣椒根系土壤样品的采集 辣椒收获后,将植株小心挖出,轻轻抖动,去掉与根系结合不紧密的土壤,然后将根系及紧密附着在辣椒根系上土壤放入采样袋中,带回实验室分析。

1.2.5 辣椒根域微生物区系的测定 (1)根区土样的准备。轻轻揉搓采样袋内的根系,使根上附着的土壤落入袋中,即得根区土土样。称取根区土样 10.00 g,置于装有少量石英砂和 90 mL 无菌水的三角瓶中,在摇床上振荡 30 min,备用。

(2)根表土样的准备。将除去根区土壤的根剪下,称重(W_1)后置于装有少量石英砂和 90 mL 无菌水的三角瓶中,在摇床上振荡 30 min,备用。同时取出根,用吸水纸将根表面水吸干后称重(W_2), W_1-W_2 即为根表土质量。

(3)根系样品的准备。将洗去根表土的辣椒根在体积分数为 75%的酒精中处理 30 s,再用 1 g/L 升汞处理 2 min,用无菌水冲洗 5 次,放于无菌研钵中,加入 10 mL 无菌水和石英砂充分研磨,备用。

(4)微生物区系的分离测数。对制备好的样品采用稀释平板涂抹法^[7]进行微生物分离计数,并与同步培养的生防菌菌落形态进行比较鉴定,测定生防菌的定殖量,鉴定优势细菌。

1.2.6 结果的计算 接种增率(Δ):表示生防菌接入引起的细菌、真菌、放线菌数量及辣椒经济产量或生物量的增长率,计算公式如下:

$$\Delta/\%=[(X-CK)/]\times100\%。$$

式中: X 为接种处理微生物数量或辣椒产量或生物量。生防菌(或某优势细菌)比例 P :指生防放线菌(或某优势细菌)在放线菌总数(或在细菌总数)中所占比例,计算公式如下:

$$P/\%=(\text{生防放线菌数}/\text{放线菌总数})\times100\%;$$
$$\text{或 } P/\%=(\text{优势细菌数}/\text{细菌总数})\times100\%。$$

2 结果与分析

2.1 苗床接种生防菌对辣椒根域微生物数量的影响

2.1.1 根 区 (1)苗床试验。由表 1 可知,接种生防真菌 F 后,苗床辣椒根区土壤细菌(B)和放线菌(A)数量较对照分别增加了 64.7%和 140.8%,真菌(F)数量略有降低,细菌、放线菌与真菌数量比(B/F、A/F)分别约为对照的 2 倍和 3 倍。接种生防放线菌 Act 2 和 Act 8 处理苗床辣椒根区土壤放线菌数量分别较对照增加了 28.6%和 87.8%。接种 Act 2,苗床辣椒根区土壤细菌和真菌数量分别较对照降低了 52.9%和 16.8%;接种 Act 8,细菌和真菌数量与对照差异不大。接种生防放线菌 Act 2 和 Act 8 后,放线菌与真菌数量比(A/F)均较对照增加;接种 Act 2 时,B/F 和 B/A 较对照分别下降了 44.1%和 63.8%,接种 Act 8 时 B/F 与对照相同。

(2)小区试验。由表 1 可知,接种生防真菌 F 后,辣椒根区土壤细菌、放线菌数量较对照分别增加 166.7%和 46.2%,而真菌数量略有下降;B/F、B/A 和 A/F 分别较对照增加了 207.7%,82.4%和 73.1%。接种生防放线菌 Act 2、Act 8 后,辣椒根区细菌数量较对照增加了 88.9%,放线菌数量分别增加了 28.8%和 46.2%;真菌数量在接种 Act 2 时较对照略有增加,接种 Act 8 时无明显差异;B/F、B/A 和 A/F 较对照均增加。

由以上结果可知,苗床接种生防菌后,苗床辣椒根区土壤细菌与放线菌数量增加,真菌数量下降,B/F 和 A/F 均增加;小区辣椒根区土壤中细菌、真菌和放线菌数量及 B/F、B/A 和 A/F 均增加。表明苗床接种生防菌后,可使苗床土壤微生物区系向有利于作物生长的“细菌型”转变,并可持续到辣椒收获期。

2.1.2 根 表 (1)苗床试验。由表 1 可知,辣椒苗床根表土壤细菌数量除接种生防菌 Act 2 较对照下降了 60.8%外,其他处理与对照相比均无明显差异;各处理真菌数量较对照均略有降低;与对照相比,接种 Act 2 处理放线菌数量无明显差异,接种 F 和 Act 8 处理放线菌数量分别下降了 37.6%和 32.3%。除接种 Act 2 处理 B/F 和 B/A 降低外,其他处理 B/F 和 B/A 较对照均增加;不同处理间 A/F 差异不大。

(2)小区试验。由表 1 可知,接种生防菌后,细

菌、真菌和放线菌数量较对照均明显增加,其中接种 F、Act 2 和 Act 8 处理的细菌数量分别增加 228.9%,157.7%和 233.8%,真菌数量分别增加 469.8%,619.5%和 604.7%,放线菌数量分别增加 255.7%,295.2%和 581.3%。接入供试生防菌 Act 2 和 Act 8 后,B/F 均较对照降低,降幅为42.8%~

64.3%,B/A 和 A/F 也呈降低趋势。

综上可知,苗床接种生防菌后,辣椒根表细菌(除 Act 8 处理外)、真菌和放线菌数量均较对照降低,但 B/F 和B/A均增加(接种 Act 2 处理除外);小区辣椒根表细菌、真菌和放线菌数量均较对照明显增加,但 B/F、B/A和 A/F 均有所降低。

表 1 苗床接种生防菌对辣椒根域土壤微生物数量的影响

Table 1 Effect of the inoculation with the antagonistic microbial in seedbed on microbes quantity of capsicum's rooting-zone											
部位 Position	试验 Experiment	处理 Treatment	细菌 Bacteria(B)		真菌 Fungi(F)		放线菌 Actinomycetes(A)		(细菌/ 真菌)/ ($\times 10^2$) B/F	细菌/ 放线菌 B/A	放线菌/ 真菌 A/F
			数量/ ($\times 10^7 \cdot$ g^{-1})	$\Delta/\%$	数量/ ($\times 10^3 \cdot$ g^{-1})	$\Delta/\%$	数量/ ($\times 10^6 \cdot$ g^{-1})	$\Delta/\%$			
			Quantity		Quantity		Quantity				
根区 Rhizosphere	苗床 Seedbed	CK	3.4	—	10.1	—	4.9	—	34	6.9	485
		F	5.6	64.7	7.8	−22.8	11.8	140.8	72	4.7	1 513
		Act2	1.6	−52.9	8.4	−16.8	6.3	28.6	19	2.5	750
		Act 8	3.6	5.9	10.5	4.0	9.2	87.8	34	3.9	876
	小区 Plotl	CK	0.9	—	7.1	—	5.2	—	13	1.7	732
		F	2.4	166.7	6.0	−15.5	7.6	46.2	40	3.1	1 267
		Act 2	1.7	88.9	8.6	21.1	6.7	28.8	20	2.5	779
		Act 8	1.7	88.9	7.4	4.2	7.6	46.2	23	2.2	1 027
根表 Root surface	苗床 Seedbed	CK	31.6	—	47.0	—	9.3	—	67	33.9	198
		F	28.5	−9.8	37.1	−21.1	5.8	−37.6	77	49.1	156
		Act 2	12.4	−60.8	37.1	−21.1	8.3	−10.8	33	14.9	224
		Act 8	35.4	12.0	30.0	−36.2	6.3	−32.3	118	56.2	210
	小区 Plot	CK	14.2	—	16.9	—	28.9	—	84	4.9	1 710
		F	46.7	228.9	96.3	469.8	102.8	255.7	48	4.5	1 067
		Act 2	36.6	157.7	121.6	619.5	114.2	295.2	30	3.2	939
		Act 8	47.6	233.8	119.1	604.7	196.9	581.3	40	2.4	1 653

2.2 苗床接种生防菌对辣椒根域芽孢杆菌数量与组成的影响

据报道,芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)可以产生防治植物病害的抗菌物质,并产生纤维素酶、植酸酶和几丁质酶等,对水稻纹枯病、稻瘟病、节瓜和冬瓜枯萎病、苦瓜枯萎病、辣椒疫病和茄子黄萎病等农作物病害均有较好的防治效果,是重要的植物病害生防微生物^[8-13]。因此,接种生防菌后土壤中芽孢杆菌数量的变化,可指示土壤微生物生态体系的抗病性。

2.2.1 苗床辣椒根域芽孢杆菌的数量 由表 2 可知,接种生防菌后,辣椒根区土壤芽孢杆菌总数及其占细菌总数的比例均较对照降低,接种 F、Act 2 和 Act 8 后,芽孢杆菌总数分别较对照下降了 15.0%,74.6%和 40.4%,其占细菌总数比例较对照分别下降了 47.9%,47.3%和 44.3%;蜡样芽孢杆菌数量及其占细菌总数的比例较对照均降低;枯草芽孢杆菌数量及其占细菌总数的比例各处理间无明显规律。与对照相比,接入生防真菌 F 后,辣椒根表土壤蜡样芽孢杆菌数量和芽孢杆菌总数及其占细菌总数的比例较对照均略有增加,枯草芽孢杆菌数量及

其占细菌总数比率无明显差异;接种生防放线菌 Act 2 和 Act 8 后,均无枯草芽孢杆菌检出;接种 Act 2 后,芽孢杆菌总数比对照降低 59.9%,但占总菌数的比例无明显差异;接种 Act 8 后,蜡样芽孢杆菌和芽孢杆菌总数及其占细菌总数的比例均明显增加,其中数量分别增加了 125.8%和 123.1%,占细菌总数的比例分别增加了101.4%和 99.2%。

2.2.2 小区辣椒根域芽孢杆菌的数量 由表 2 可知,接种生防真菌 F 后,辣椒根区土壤枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌和芽孢杆菌总数分别较对照增加了 154.5%,338.7%和 290.5%;除枯草芽孢杆菌外,蜡样芽胞杆菌数量和芽孢杆菌总数及其占细菌总数的比例与对照相比呈增加趋势;接种生防放线菌 Act 2 后枯草芽孢杆菌数量、蜡样芽孢杆菌数量和芽孢杆菌总数及其占细菌总数的百分比均降低;接种生防放线菌 Act 8 后,除枯草芽孢杆菌数量及其占细菌总数的百分比增加外,蜡样芽孢杆菌数量和芽孢杆菌总数及其占细菌总数的百分比均降低。除接种 Act 8 处理无枯草芽孢杆菌检出外,接种生防菌后,辣椒根表土壤枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌

和芽孢杆菌总数均明显增加,但其占细菌总数的比例,有的略有降低有的略有增加。

表 2 苗床接种生防菌对辣椒根域土壤芽孢杆菌数量及组成的影响

Table 2 Effect of the inoculation with the antagonistic microbial in seedbed • on <i>Bacillus spp.</i> number of capsicum's rooting-zone												
试验 Experiment	部位 Position	处理 Treatment	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilist</i>		蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>		芽孢杆菌总数 Totalnumber of <i>Bacillus spp.</i>			其他 Others		总数/ ($\times 10^6 \cdot$ g^{-1}) Total Number
			数量/ ($\times 10^6 \cdot$ g^{-1})	P/%	数量/ ($\times 10^6 \cdot$ g^{-1})	P/%	数量/ ($\times 10^6 \cdot$ g^{-1})	Δ /%	P/%	数量/ ($\times 10^7 \cdot$ g^{-1})	P/%	
			Quantity		Quantity		Quantity			Quantity		
苗床 Seedbed	根区 Rhizosphere	CK	1.8	5.4	22.2	65.2	24.0	—	70.6	10.0	29.4	34.0
		F	5.5	9.9	14.9	26.9	20.4	—15.0	36.8	35.1	63.2	55.5
		Act 2	0.3	2.1	5.8	35.1	6.1	—74.6	37.2	10.3	62.8	16.5
		Act 8	1.8	4.9	12.5	34.4	14.3	—40.4	39.3	22.1	60.7	36.4
	根表 Root surface	CK	1.4	0.4	114.3	36.2	115.7	—	36.6	200.2	63.4	315.9
		F	1.1	0.4	123.3	43.2	124.4	7.5	43.6	160.8	56.4	285.2
		Act 2	0	0	46.4	37.3	46.4	—59.9	37.3	77.9	62.7	124.3
		Act 8	0	0	258.1	72.9	258.1	1 23.1	73.0	95.6	27.0	353.7
小区 Plot	根区 Rhizosphere	CK	1.1	12.0	3.1	33.7	4.2	—	45.7	5.0	54.3	9.2
		F	2.8	0.7	13.6	57.4	16.4	290.5	69.2	7.3	30.8	23.7
		Act 2	0.8	4.5	1.9	10.9	2.7	—35.7	15.4	14.4	84.6	17.1
		Act 8	2.5	15.1	1.2	7.3	3.7	—11.9	22.3	12.9	77.7	16.6
	根表 Root surface	CK	1.0	0.7	91.3	64.4	92.3	—	65.1	49.5	34.9	141.8
		F	24.1	5.2	173.4	37.1	197.5	114.0	42.3	269.8	57.7	467.3
		Act 2	1.9	0.5	200.2	54.7	202.1	119.0	55.2	163.7	44.8	365.8
		Act 8	0	0	320.1	67.3	320.1	246.8	67.3	155.8	32.7	475.9

由上述分析可知,苗床接种生防菌后,除个别处理外,苗床和小区中芽孢杆菌总数的变化趋势为:辣椒根区土壤芽孢杆菌总数下降,根表芽孢杆菌总数增加,根表芽孢杆菌数量增幅和根区芽孢杆菌数量降幅分别为 7.5%~246.8%和 11.9%~74.5%。根表芽孢杆菌总数的增加是否能提高辣椒的抗病性,还有待进一步研究。

2.3 苗床接种生防菌对辣椒根内微生物组成的影响

能在作物根内生存的微生物被称为内生菌。内生菌及其产生的代谢产物对作物生长发育影响很大,植物内生菌研究已成为微生物生态研究的热点

之一。

由表 3 可知,接种生防菌后,苗床辣椒根内无真菌检出;细菌和放线菌的数量均较对照高。接种真菌 F、放线菌 Act 2 及 Act 8 后,辣椒根内细菌总数分别较对照增加了1 031.8%,63.6%和 731.8%,蜡样芽胞杆菌较对照分别增加了2 136.0%,100%和 1 245.5%,放线菌较对照分别增加了 19.5%,97.6%和 256.1%。细菌与放线菌的比值(B/A),接种 Act2 处理与对照相比差异不大,接种 F 和 Act 8 处理分别为对照的 10 倍和 2.6 倍。

表 3 苗床接种生防菌对辣椒根内微生物数量的影响

Table 3 Effect of the inoculation with the antagonistic microbial in seedbed on microbes' quantity of capsicum's root										
试验 Experiment	处理 Treatment	细菌 Bacteria					真菌数量 Fungi Quantity	放线菌 Actinomycetes		细菌/ 放线菌 B/A
		细菌总数 Total number		蜡芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>				含量/ ($\times 10^7 \cdot$ g^{-1}) Quantity	Δ /%	
		数量/ ($\times 10^7 \cdot$ g^{-1})	Δ /%	数量/ ($\times 10^7 \cdot$ g^{-1})	Δ /%	P/%				
		Quantity		Quantity						
苗床 Seedbed	CK	2.2	—	1.1	—	50.0	0	4.1	—	0.5
	F	24.9	1 031.8	24.6	2 136.0	98.9	0	4.9	19.5	5.1
	Act 2	3.6	63.6	2.2	100.0	62.7	0	8.1	97.6	0.4
	Act 8	18.3	731.8	14.8	1 245.5	85.3	0	14.6	256.1	1.3
小区 Plot	CK	6.1	—	4.4	—	71.4	0	4.4	—	1.4
	F	21.3	249.2	19.1	334.1	89.8	0	6.3	43.2	3.4
	Act 2	25.3	314.8	22.4	409.1	88.5	0	7.8	77.3	3.2
	Act 8	10.4	70.5	6.7	52.3	64.5	0	5.8	31.8	1.8

由表 3 还可知,接种生防菌后,小区辣椒根内无真菌检出,而细菌和放线菌数量均较对照明显增加。接种 F、Act 2 和 Act 8 处理细菌总数分别较对照增加 249.2%,314.8%和 70.5%,蜡样芽胞杆菌数量分别增加 334.1%,409.1%和 52.3%,放线菌分别增加 43.2%,77.3%和 31.8%。接种 Act 8 处理 B/A 与对照相比差异不大,接种 F 和 Act 2 处理 B/A 分别为对照的 2.4 倍和 2.3 倍。

以上分析表明,接种生防菌 F 和放线菌 Act 2 及 Act 8 后,苗床和小区辣椒根内细菌和放线菌数量大幅度增加。生防菌 F 具有合成与分泌纤维素酶能力,可能对根系表皮细胞壁有一定破坏作用,导致土壤中的细菌进入根内定殖。目前,对 Act 2 和 Act 8 放线菌促进辣椒根内细菌数量增加的机理尚不清楚,需进一步深入研究。

2.4 苗床接种生防菌的定殖情况

生防菌接种后能否在根内、根表和根区土壤中定殖直接影响着菌剂的防效,能在作物根内定殖者防效稳定,能在根表和根区定殖者防效较好,不能定殖防效较差或无效。接入后能长时间定殖的生防菌防效较为稳定。收获后的生防菌在根内的定殖量可用于生防菌的作用评价。

2.4.1 土壤中的定殖量 由表 4 可知,接种生防真菌 F 后,苗床和小区试验辣椒根区、根表土壤中均

无 F 检出;接种生防放线菌后,Act 2、Act 8 在苗床和小区辣椒根区土壤中均被检出,在苗床辣椒根区土壤中的检出量分别为 $1\,034\times10^3\text{ g}^{-1}$ 和 $761.8\times10^3\text{ g}^{-1}$,分别占根区放线菌总数的 16.4%和 8.3%;在小区试验辣椒根区的检出量分别为 $463.4\times10^3\text{ g}^{-1}$ 和 $687.7\times10^3\text{ g}^{-1}$,分别占根区放线菌总数的 6.9%和 9.0%;在根表土壤中,仅有 Act 2 检出,苗圃和小区的检出量分别为 $333.9\times10^3\text{ g}^{-1}$ 和 $2\,808\times10^3\text{ g}^{-1}$,分别占放线菌检出量 4.0%和 2.5%。

2.4.2 根内定殖量 从表 4 可看出,在接种生防菌 F、Act 2 和 Act 8 处理中,辣椒根内均无生防放线菌和真菌检出。

以上结果表明,辣椒收获时在根区土壤中,Act 2 和 Act 8 菌在苗床和小区中均有定殖;在根表土壤中,仅有 Act 2 有定殖;在辣椒根内无生防菌定殖。

司美茹等^[14]报道,接种处理后辣椒培养 7 d,F、Act 2 在辣椒幼苗根茎部的定殖能力较强(定殖密度大于 $2.6\times10^4\text{ g}^{-1}$)。本试验结果表明,在收获时,辣椒根区、根表土壤中仍有生防放线菌定殖,但在根内则无接入的生防放线菌定殖。在辣椒生育期不同阶段接种生防菌,其在土壤和辣椒根内的定殖情况,尚待进一步研究。

表 4 苗床接种对辣椒根域生防菌定殖量的影响

Table 4 Effect of the inoculation with the antagonistic microbial in seedbed on colonization of inoculated strains

部位 Position	生防菌 Inoculated strains	苗床试验 Seedbed Experiment			小区试验 Plot Experiment		
		生防菌检出数量/ ($\times10^3\cdot\text{g}^{-1}$)	总菌数/ ($\times10^3\cdot\text{g}^{-1}$)	P/%	生防菌检出数量/ ($\times10^3\cdot\text{g}^{-1}$)	总菌数/ ($\times10^3\cdot\text{g}^{-1}$)	P/%
		Checked strains	Total number		Checked strains	Total number	
根区 Rhizosphere	F	0	7.8	0	0	6.0	0
	Act 2	1 034.0	6 290.0	16.4	463.4	6 721.0	6.9
	Act 8	761.8	9 226.0	8.3	687.7	7 642.0	9.0
根表 Root surface	F	0	37.1	0	0	96.3	0
	Act 2	333.9	8 377.0	4.0	2 808.0	114 200	2.5
	Act 8	0	6 295.0	0	0	196 900	0
根内 Root	F	0	0	0	0	0	0
	Act 2	0	8.1	0	0	7.8	0
	Act 8	0	14.6	0	0	5.8	0

表 5 苗床接种生防菌对小区辣椒产量的影响

Table 5 Effect of the inoculation with the antagonistic microbial in seedbed on yield of capsicum

处理 Treatment	总产量 Total yield		商品鲜重 Fresh weight		商品干重 Dry weight		鲜椒干物质含量 Solids content		茎根总鲜重 Total fresh weight of stem and root	
	平均值/ ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)	$\Delta/\%$	平均值/ ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)	$\Delta/\%$	平均值/ ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)	$\Delta/\%$	平均值/ ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)	$\Delta/\%$	平均值/ ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)	$\Delta/\%$
CK	101.0	—	74.7	—	12.6	—	16.9	—	130	—
F	149.0	47.5	100.0	33.9	18.1	43.7	18.1	7.1	151.7	16.7
Act 2	125.6	24.3	88.2	18.1	15.6	23.8	17.7	4.7	129.2	—0.6
Act 8	150.3	48.8	92.1	23.3	17.2	36.5	18.6	10.1	128.2	—1.3

2.5 苗床接种生防菌对辣椒产量的影响

由表5可知,接种生防菌后,小区辣椒总产量、商品辣椒干(鲜)重、鲜椒干物质含量较对照均明显增加,接种F、Act 2和Act 8辣椒总产量分别较对照增加47.5%,24.3%和48.8%,鲜椒干物质含量增加7.1%,4.7%和10.1%。表明将苗床接种生防菌育成的辣椒苗移栽到田间后,生防菌仍在发挥促生增产的作用。

3 讨论

生防菌的防效与接种方法关系密切,但目前对生防菌接种方法缺乏系统研究。邱思鑫等^[12]研究了采用菌液浸种、浇灌及喷雾3种方法接种内生芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)制剂对辣椒疫病的防效,结果表明,浇灌接种效果较好。马艳等^[15]在盆栽条件下利用灌根接种法研究了F-310菌株对辣椒疫病的防效,结果显示,F-310菌培养滤液对辣椒疫病的防效可达到64.5%。孙敬祖等^[6]利用蘸根接种法研究了盆栽、温室条件下生防真菌F1对辣椒疫病的防效及作用机理,结果发现F1蘸根接种对盆栽线椒和温室甜椒的相对防效分别为83.3%和94.1%。

尽管灌根、蘸根接种效果良好,但这2种接种方法在生产中应用时均存在一定的问题。本试验提出的苗床拌土育苗接种法,可以克服现有接种方法的不足,并从苗床拌土育苗接种对辣椒根域微生态及产量的影响两方面初步证明了该方法的可行性,为生防菌的接种提供了新方法,但该接种法对辣椒疫病的田间防效尚待进一步研究。

4 结论

本试验结果表明:(1)苗床接种生防菌可明显增加辣椒根区、根表土壤中细菌和放线菌数量,减少真菌数量,改变根区和根表土壤中微生物组成比例,促使辣椒根区和根表土壤由“真菌型”向“细菌型”转变;明显增加辣椒根表土壤芽孢杆菌数量,减少根区土壤芽孢杆菌数量;明显增加辣椒根内细菌和放线菌的数量;提高辣椒产量。(2)接入的生防菌可在辣椒根区土壤中长时间定殖、存活,持续发挥生防作用。

[参考文献]

[1] 张政兵,郭海明.辣椒疫病防治研究进展[J].农药研究与应用,2006,10(8):10-12.

Zhang Z B,Guo H M. Advance on the research on the control

of *Phytophthora* blight of *capsicum* [J]. Agrochemicals Research & Application,2006,10(8):10-12. (in Chinese)

[2] 吴少华,薛春容,赵永.园艺植物病害的生物防治[J].南京林业大学学报:自然科学版,2001,4(7):72-76.

Wu S H,Xue C R,Zhao Y. Biological control of diseases in horticultural plants [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition,2001,4(7):72-76. (in Chinese)

[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.

Ma Y,Chang Z Z,Zhao J T,et al. Antifungal activity of *Penicillium striatisporum* Strain P. st10 and its inhibition against pepper blight caused by *Phytophthora* sp [J]. Chinese Journal of Biological Control,2006,22(3):239-243. (in Chinese)

[4] 尹敬芳,张文华,李健强,等.辣椒疫病生防菌的筛选及其抑菌机制初探[J].植物病理学报,2007,37(1):88-94.

Yin J F,Zhang W H,Li J Q,et al. Screening and antagonistic mechanism of bio-control agents against pepper *Phytophthora* blight [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2007,37(1):88-94. (in Chinese)

[5] 梁军锋,薛泉宏,李增波,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,Li Z B,et al. Root colonization and effects of seven strains of actinomycetes on leaf PAL and PPO activities of *Capsicum* [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica,2005,25(10):2118-2123. (in Chinese)

[6] 孙敬祖,薛泉宏,梁军锋,等.辣椒疫病生防真菌F1的生物学特性及生防作用[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(12):163-168.

Sun J Z,Xue Q H,Liang J F,et al. Study on some characteristics and the bio-control effect of fungi numbered F1 [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition,2006,34(12):163-168. (in Chinese)

[7] 程丽娟,薛泉宏.微生物学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000:4.

Cheng L J,Xue Q H. Experimental techniques of microbiology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation,2000:4. (in Chinese)

[8] 崔堂兵,刘煜平,郭勇,等.枯草芽孢杆菌培养生产农用抗真菌素初步研究[J].广东农业科学,2007(1):51-54.

Cui T B,Liu Y P,Guo Y,et al. Preliminary study on an agro-antifungal substance production by liquid-state cultivation with *Bacillus subtilis* BS-06 [J]. Journal of Guangdong Agricultural Sciences,2007(1):51-54. (in Chinese)

[9] 王慧萍,杨启银,闫淑珍.茄子黄萎病菌抗性根际芽孢杆菌的筛选与鉴定[J].微生物学杂志,2006,26(6):40-44.

Wang H P,Yang Q Y,Yan S Z. Screening and identification of rhizospheric bacillus strains resistant to egg plant verticillium wilt (*Verticillium dahliae*) [J]. Journal of Microbiology,2006,26(6):40-44. (in Chinese)