

网络出版时间:2015-01-05 08:59

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.02.024

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150105.0859.024.html>

# 番茄灰霉病菌室内毒力测定及药效试验

黄海, 张鑫, 邹杭, 杨海艳, 曹晶晶, 安德荣

(旱区作物逆境生物学国家重点实验室/西北农林科技大学植物保护学院, 陕西 杨凌 712100)

**【摘要】**【目的】研究解淀粉芽孢杆菌对番茄灰霉病的防治效果, 为该药剂的应用提供参考。【方法】采用菌丝生长速率法和孢子萌发法, 分别测定了解淀粉芽孢杆菌(WP)、枯草芽孢杆菌(WP)、40%多菌灵(WP)、50%异菌脉(WP)和40%啞霉胺(WP)对番茄灰霉病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用及有效抑制中质量浓度( $EC_{50}$ ); 采用盆栽试验和田间试验, 分别测定了以上5种药剂对番茄灰霉病的防治效果。【结果】解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、40%多菌灵、50%异菌脉和40%啞霉胺对番茄灰霉病菌菌丝生长抑制的  $EC_{50}$  分别为 946.28, 757.19, 75.36, 8.95 和 5.53  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 对孢子萌发抑制的  $EC_{50}$  分别为 1 665.56, 1 416.16, 241.90, 37.32 和 21.35  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。盆栽试验结果显示, 解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、40%多菌灵、50%异菌脉和40%啞霉胺750倍液的保护效果分别为68.47%, 70.14%, 74.18%, 74.13%和80.63%。田间试验结果显示, 解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、40%多菌灵、50%异菌脉和40%啞霉胺750倍液的防治效果分别为63.37%, 64.83%, 69.56%, 73.49%和75.55%。【结论】解淀粉芽孢杆菌对番茄灰霉病菌的室内毒力作用和田间防治效果与枯草芽孢杆菌相当, 可以作为田间防治番茄灰霉病菌的一种辅助药剂。

**【关键词】** 解淀粉芽孢杆菌可湿性粉剂; 番茄灰霉病; 药效试验; 辅助药剂

**【中图分类号】** S436.412.1<sup>+</sup>3

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2015)02-0184-07

## Toxicity and control efficiency of fungicides against *Botrytis cinerea*

HUANG Hai, ZHANG Xin, ZOU Hang, YANG Hai-yan,  
CAO Jing-jing, AN De-rong

(State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas /College of Plant Protection,  
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】The toxicity of *Bacillus amyloliquefaciens* wettable powder (WP) on *Botrytis cinerea* and the control effect on tomato gray mold were studied to improve the application of *Bacillus amyloliquefaciens*. 【Method】The inhibitory effects of five fungicides including  $1 \times 10^9$  CFU/g *B. amyloliquefaciens* WP,  $1 \times 10^9$  CFU/g *B. subtilis* WP, 40% carbendazim WP, 50% iprodione WP and 40% pyrimethanil WP against tomato gray mold pathogen were determined using hyphae growth rate method and spore germination method, and their control effects were determined in pot and field experiments. 【Result】The 50% effective concentrations ( $EC_{50}$ ) of *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, 40% carbendazim, 50% iprodione and 40% pyrimethanil against the growth of the hyphae were 946.28, 757.19, 75.36, 8.95 and 5.53  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively, and their  $EC_{50}$  against the germination of conidia were 1 665.56, 1 416.16, 241.90, 37.32 and 21.35  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The control effects of five fungicides (diluted 750

【收稿日期】 2013-10-23

【基金项目】 高等学校创新引智计划项目(B07049); 国家“863”计划项目(2007AA021503)

【作者简介】 黄海(1987—), 男, 贵州兴义人, 在读硕士, 主要从事微生物资源利用研究。E-mail: yellowsea87@126.com

【通信作者】 安德荣(1963—), 男, 陕西大荔人, 教授, 博士生导师, 主要从事微生物资源利用和植物病毒学研究。

E-mail: anderson323@163.com

times solution) were 68.47%, 70.14%, 74.18%, 74.13% and 80.63% in pot experiment and 63.37%, 64.83%, 69.56%, 73.49% and 75.55% in field experiment. 【Conclusion】 The toxicity and control effect *B. amyloliquefaciens* WP in field experiment of were equivalent to those of *B. subtilis* WP. Therefore, *B. amyloliquefaciens* WP can be used as assistant biofungicides to control tomato gray mold.

**Key word:** *Bacillus amyloliquefaciens* wettable powder; tomato gray mold; pryinethanil efficacy trials; assistant biofungicides

随着番茄生产的发展,保护地番茄栽培面积的不断f大,番茄上的各种病害也在逐年增加,已成为番茄生产中的一大障碍。其中由灰葡萄孢引起的番茄灰霉病为当前番茄生产上的重要病害,已在全国各地普遍发生,并造成严重减产减收。一般发病田块番茄灰霉病造成的产量损失为 20%~40%,重病田块达到 60%以上<sup>[1]</sup>。种植抗病品种能最大限度地降低番茄灰霉病危害,但是由于抗源材料的缺乏,番茄抗灰霉病育种基本处于停滞状态<sup>[2]</sup>。因此目前防治番茄灰霉病以化学药剂为主,防治过程中存在用药量大、成本高、防效差、污染重、农药残留超标等问题<sup>[3]</sup>。而在番茄灰霉病发生普遍的地区,使用拮抗微生物进行防治,可以减少化学农药的使用,解决农药残留问题,延缓病菌抗药性产生<sup>[4]</sup>。随着人们对环境问题的日益关注和对绿色食品需求的提高,微生物防治日益成为控制番茄灰霉病的一条重要而有效的途径。国内外报道了多种细菌、真菌及放线菌对番茄灰霉菌具有一定的抑制作用,其中芽孢杆菌防治番茄灰霉病是近年的研究热点<sup>[5]</sup>。但对于芽孢杆菌生防菌株的研究大多仍处于实验室研究阶段,开发成为生防制剂的较少。主要原因之一是微生物制剂的剂型加工相比化学农药困难。目前,已成功商品化的芽孢杆菌生防制剂有枯草芽孢杆菌、多粘类芽孢杆菌等<sup>[6]</sup>。

解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)是一种与枯草芽孢杆菌亲缘性很高的细菌,在其自身的生长过程中可以产生一系列的代谢产物,抑制真菌和细菌的活性<sup>[7-14]</sup>。因此,解淀粉芽孢杆菌也是近几年芽孢杆菌中的研究热点<sup>[15]</sup>。但关于其生防菌剂的应用开发发展较晚,2014-04月美国 Certis 公司才开始销售解淀粉芽孢杆菌杀菌剂产品。在我国,由陕西加仑多作物科学有限公司生产的解淀粉芽孢杆菌生防菌剂于 2013-01 获得正式农药批号。解淀粉芽孢杆菌在农业上一直作为菌肥使用,其作为生防菌剂在田间的防治效果还有待于检测。本研究采用菌丝生长速率法和孢子萌发法,测定了解淀粉芽孢杆菌对番茄灰霉菌的室内毒力和田间药效,

为该药剂应用于田间防治番茄灰霉病提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试药剂:解淀粉芽孢杆菌( $1 \times 10^9$  CFU/g *B. amyloliquefaciens*, WP),陕西加仑多作物科学有限公司生产;枯草芽孢杆菌( $1 \times 10^9$  CFU/g *B. subtilis*, WP),云南星耀生物制品有限公司生产;40%多菌灵(40% carbendazim, WP),四川国光农化股份有限公司生产;50%异菌脲(50% iprodione, WP),江西禾益化工有限公司生产;40%嘧霉胺(40% pyrimethanil, WP),山东青岛瀚正益农生物科技有限公司生产。

病原菌:番茄灰霉菌(*Botrytis cinerea*),由旱区作物逆境生物学国家重点实验室保藏。

### 1.2 方 法

1.2.1 无菌药液的制备<sup>[16]</sup> 分别称取药剂 1.0 g,加 20 mL 20 mmol/L pH 8.0 磷酸盐缓冲液于 100 mL 烧杯中,充分振荡 10 min,倒入 40 mL 离心杯中,8 000 r/min 离心 15 min,取上清液。沉淀中加入 5 mL 体积分数 100% 甲醇(AR)浸泡 20 min,减压过滤,取滤液与上清液合并,转入 25 mL 容量瓶中,用磷酸盐缓冲液定容至刻度,其中解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的定容液用微孔滤膜( $\leq 0.22 \mu\text{m}$ )过滤,最终得各药剂的 25 倍稀释液,即 40 mg/mL 的无菌工作母液。

1.2.2 番茄灰霉菌孢子悬浮液的制备 采用孢子萌发法<sup>[17]</sup>测定 5 种药剂对番茄灰霉菌孢子萌发的抑制作用。将番茄灰霉菌在 PDA 培养基上于 22 ℃ 培养 5~7 d,待病原真菌长出大量孢子后,用去离子水从培养基上洗脱、过滤,1 000 r/min 离心 5 min,倒去上清液,加入去离子水,再离心。最后用质量分数 10% 蔗糖溶液重悬浮孢子至  $6 \times 10^6$  /mL,调节悬浮液的 pH 至 2。

1.2.3 5 种药剂对番茄灰霉菌菌丝生长的抑制作用 采用菌丝生长速率法<sup>[18]</sup>测定。在溶化 PDA 培养基的同时,用移液枪吸取 1 mL 2 mg/mL 硫酸

链霉素于 25 mL 的无菌刻度管,再在各管中分别加入解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌工作母液 1 000, 500, 250, 125, 62.5, 32  $\mu\text{L}$ , 混匀, 倒入冷却至 60  $^{\circ}\text{C}$  左右的 PDA 培养基至 20 mL 刻度处(相当于将各药液质量浓度再稀释 20 倍), 迅速摇匀并倒入直径 9 cm 的培养皿中, 制成含不同质量浓度(2 000, 1 000, 500, 250, 125, 62.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )药剂的平板。同样的方法处理 40%多菌灵、50%异菌脲和 40%啞霉胺, 制成含不同质量浓度(24, 12, 6, 3, 1.5, 0.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )药剂的平板。待培养基凝固后, 用灭菌的打孔器沿菌落边缘打取直径为 6 mm 的菌饼, 将有菌丝的一侧贴于培养基中心, 每皿 1 片, 共 3 皿。设不加样品液的平皿作空白对照(CK)。22  $^{\circ}\text{C}$  培养 120 h 后, 观察番茄灰霉病菌菌落的生长情况, 用游标卡尺测量菌落直径, 精确到 0.02 mm, 取其平均值, 将数据经过转化后进行回归分析, 求取各药剂的毒力回归方程、有效抑制中质量浓度( $\text{EC}_{50}$ )和相对毒力指数。

1.2.4 5 种药剂对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用 用移液枪从低质量浓度至高质量浓度, 依次吸取用无菌水溶解的药液 0.5 mL, 分别加入 2.0 mL 的灭菌离心管中, 然后吸取制备好的番茄灰霉病菌孢子悬浮液 0.5 mL, 使药液与番茄灰霉病菌孢子悬浮液等量混合均匀, 配制成含番茄灰霉病菌孢子的 200, 400, 800, 1 200 和 1 600 倍稀释药液。用移液枪吸取上述混合液滴到凹玻片上, 然后架放于带有润湿滤纸片的培养皿中, 于 22  $^{\circ}\text{C}$  的培养箱中加

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相对病级值})}{\text{调查总叶数} \times \text{最高代表级值}} \times 100. \quad (1)$$

$$\text{防治效果} = \frac{\text{空白对照的病情指数} - \text{药剂处理后的病情指数}}{\text{空白对照的病情指数}} \times 100\%. \quad (2)$$

1.2.6 5 种药剂对番茄灰霉病防治的田间试验 将 5 种药剂的 750 倍稀释液和清水(对照)以 1 050 L/hm<sup>2</sup> 药液量对感染番茄灰霉病的成熟期番茄植株进行喷雾。小区面积 15 m<sup>2</sup>, 每处理重复 4 次, 共 24 个小区, 随机区组排列。每小区调查 5 点, 每点 3 株, 调查全部叶片, 分级方法同 1.2.5。在第 1 次施药前调查发病基数, 3 次施药后 10 d, 调查病情, 计算病情指数和防治效果, 并对防治效果进行方差分析和多重比较。

$$\text{防治效果} = \left(1 - \frac{\text{CK}_0 - \text{Pt}_n}{\text{CK}_n \times \text{Pt}_0}\right) \times 100\%. \quad (3)$$

式中:  $\text{CK}_0$  为对照处理前叶片的病情指数,  $\text{CK}_n$  为对照处理后叶片的病情指数;  $\text{Pt}_0$  为药剂处理前叶

盖保湿培养。每处理 3 次重复, 并设不含药剂的处理为空白对照。培养 12 h, 空白对照孢子萌发率达到 90%以上, 检查各处理孢子的萌发情况。光学显微镜下, 每处理随机观察 5 个视野, 调查孢子总数不少于 300 个, 分别记录孢子萌发数和孢子总数, 将数据经过转化后进行回归分析, 求取各药剂的毒力回归方程、有效抑制中质量浓度( $\text{EC}_{50}$ )和相对毒力指数。

1.2.5 5 种药剂对番茄灰霉病防治的盆栽试验 用清水将 5 种药剂配制成 750, 1 000 和 1 250 倍稀释药液。保护性试验: 将不同稀释倍数药液均匀喷施于叶面至全部润湿, 待叶面药液自然风干 24 h 后, 将番茄灰霉病菌孢子悬浮液喷雾接种于成熟期番茄植株。治疗性试验: 将番茄灰霉病菌孢子悬浮液喷雾接种叶面 24 h 后, 将不同稀释倍数药液均匀喷施于叶面至全部润湿。每处理 3 盆, 4 次重复, 以清水处理为空白对照。接种后移至温室中黑暗条件下培养 24 h, 然后在 22  $^{\circ}\text{C}$  及 12 h 光照、12 h 黑暗交替条件下培养 7 d, 分级调查各处理发病情况, 每处理至少调查 30 片叶, 计算各处理的病情指数和防治效果。

病情指数分级标准为: 0 级, 无病斑; 1 级, 病斑面积占整个叶面积的 5%以下; 3 级, 病斑面积占整个叶面积的  $\geq 5\% \sim < 15\%$ ; 5 级, 病斑面积占整个叶面积的  $\geq 15\% \sim < 25\%$ ; 7 级, 病斑面积占整个叶面积的  $\geq 25\% \sim < 50\%$ ; 9 级, 病斑面积占整个叶面积的 50%以上。

片的病情指数,  $\text{Pt}_n$  为药剂处理后叶片的病情指数。

## 2 结果与分析

### 2.1 5 种药剂对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制作用

5 种药剂对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制作用如表 1 所示。由表 1 可以看出, 啞霉胺和异菌脲对番茄灰霉病菌菌丝生长具有较强的抑制作用,  $\text{EC}_{50}$  分别为 5.53 和 8.95  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 其次为多菌灵,  $\text{EC}_{50}$  为 75.36  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对番茄灰霉病菌菌丝生长的抑制作用较弱,  $\text{EC}_{50}$  分别为 946.28 和 757.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 5 种药剂对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用

5 种药剂对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用如表 2 所示。从表 2 可以看出,啞霉胺和异菌脲对番茄灰霉病菌孢子萌发具有较强的抑制作用,EC<sub>50</sub>

分别为 21.35 和 37.32 μg/mL;其次为多菌灵,EC<sub>50</sub> 为 241.90 μg/mL;解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对番茄灰霉病菌孢子萌发的抑制作用较弱,EC<sub>50</sub> 分别为 1 665.56 和 1 416.16 μg/mL。

表 1 5 种药剂对番茄灰霉病菌菌丝的毒力

Table 1 Toxicity of five fungicides against the mycelium of tomato gray mold

药剂 Fungicides	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC <sub>50</sub> /(μg·mL <sup>-1</sup> )	相对毒力指数 Relative toxicity index
解淀粉芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus amylolique faciens</i>	y=1.574 6+1.151 0x	0.950 2	946.28	1.00
枯草芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus subtilis</i>	y=1.994 4+1.043 9x	0.961 5	757.19	1.25
40%多菌灵(WP) 40% carbendazim	y=3.457 7+0.824 3x	0.971 5	75.36	12.56
50%异菌脲(WP) 50% iprodione	y=3.534 8+1.539 5x	0.992 6	8.95	105.73
40%啞霉胺(WP) 40% pyrimethanil	y=3.552 9+1.947 6x	0.970 8	5.53	171.12

注:y 为抑制率几率值,x 为药剂质量浓度的对数值。下表同。

Note:y is the probability value of inhibitory rate,x is the log value of fungicides concentration. The same below.

表 2 5 种药剂对番茄灰霉病菌孢子的毒力

Table 2 Toxicity of five fungicides against the spores of tomato gray mold

药剂 Fungicides	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC <sub>50</sub> /(μg·mL <sup>-1</sup> )	相对毒力指数 Relative toxicity index
解淀粉芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus amylolique faciens</i>	y=1.482 7+1.091 8x	0.964 7	1 665.56	1.00
枯草芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus subtilis</i>	y=0.823 3+1.325 5x	0.986 8	1 416.16	1.18
40%多菌灵(WP) 40% carbendazim	y=-4.986 0+4.189 4x	0.992 3	241.90	6.89
50%异菌脲(WP) 50% iprodione	y=1.278 9+2.367 2x	0.981 4	37.32	44.62
40%啞霉胺(WP) 40% pyrimethanil	y=1.152 2+2.894 6x	0.975 3	21.35	78.02

2.3 5 种药剂对番茄灰霉病的盆栽防治效果

由表 3 可以看出,解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、40%多菌灵、50%异菌脲和 40%啞霉胺稀释 750,1 000 和 1 250 倍时,均对番茄叶片灰霉病具有明显的治疗作用和保护作用。以上 5 种药剂稀释

750 倍液处理的保护作用最好,防治效果分别为 68.47%,70.14%,74.18%,74.13%和 80.63%,其中解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的保护作用显著低于其他 3 种药剂。

表 3 5 种药剂对番茄灰霉病的盆栽防治效果

Table 3 Control efficiency of five fungicides against tomato gray mold in pot tests

药剂 Fungicides	稀释倍数 Treatment Times	病情指数 Disease index		防治效果/% Control efficiency	
		治疗作用 Therapeutic effect	保护作用 Protective effect	治疗作用 Therapeutic effect	保护作用 Protective effect
解淀粉芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus amylolique faciens</i>	750	56	53	66.59	68.47 c
	1 000	67	71	60.25	57.83
	1 250	82	86	51.24	48.89
枯草芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus subtilis</i>	750	53	50	68.37	70.14 c
	1 000	65	62	61.51	63.44
	1 250	77	81	54.22	52.19
40%多菌灵(WP) 40% carbendazim	750	45	44	73.15	74.18 b
	1 000	57	57	66.46	66.23
	1 250	70	73	58.54	56.70

续表 3 Continued table 3

药剂 Fungicides	稀释倍数 Treatment Times	病情指数 Disease index		防治效果/% Control efficiency	
		治疗作用 Therapeutic effect	保护作用 Protective effect	治疗作用 Therapeutic effect	保护作用 Protective effect
50%异菌脲(WP) 50% iprodione	750	36	44	78.94	74.13 b
	1 000	52	55	69.43	67.36
	1 250	70	69	58.82	59.03
40%嘧霉胺(WP) 40% pyrimethanil	750	31	33	81.74	80.63 a
	1 000	43	46	74.45	72.92
	1 250	65	60	61.54	64.71
CK	—	169	169	—	—

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同。

Note: Different lowercase letters within the same column represented significant difference ( $P < 0.05$ ). The same below.

#### 2.4 5种药剂对番茄灰霉病的田间防治效果

由表 4 可以看出,嘧霉胺和异菌脲的 750 倍液对番茄灰霉病的防治效果较好,分别为 75.55% 和 73.49%,两者之间无显著差异;多菌灵的 750 倍液

防治效果较低,为 69.56%;解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的 750 倍液防治效果均较低,分别为 63.37% 和 64.83%,两者无显著性差异但均显著低于其他 3 种药剂。

表 4 5种药剂对番茄灰霉病的田间防治效果

Table 4 Control efficiency of five fungicides against tomato gray mold in field tests

药剂 Fungicides	稀释倍数 Time	病情指数 Disease index		防治效果/% Control efficiency
		施药前 Before spraying fungicides	施药后 After spraying fungicides	
解淀粉芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	750	176	459	63.37 c
枯草芽孢杆菌(WP) <i>Bacillus Subtilis</i>	750	141	353	64.83 c
40%多菌灵(WP)40% carbendazim	750	173	375	69.56 b
50%异菌脲(WP)50% iprodione	750	155	292	73.49 a
40%嘧霉胺(WP)40% pyrimethanil	750	167	291	75.55 a
CK	750	138	982	—

### 3 讨论

目前,筛选微生物拮抗菌已成为植物病害防治的热点<sup>[19-20]</sup>。在筛选拮抗菌的过程中,一般采用无菌发酵液对病原菌生长和孢子萌发的有效抑制中浓( $EC_{50}$ )作为室内毒力测定项目,但目前关于生防菌剂产品中生防菌抗菌代谢产物生物效价的测定尚无统一标准<sup>[16]</sup>。本试验中,2种微生物杀菌剂对番茄灰霉菌菌丝和孢子的  $EC_{50}$  值均较大,明显高于化学农药。许彦等<sup>[21]</sup>研究表明,微生物生防菌剂对植物病原菌的  $EC_{50}$  远大于化学农药,主要原因是化学农药的产品标准为有效抑菌物质含量,且有效抑菌物质纯度高,而微生物菌剂产品是以产品中活菌数作为出厂指标,所含的直接抑菌物质含量及纯度均较低。

本研究的盆栽试验中,解淀粉芽孢杆菌的防治效果随着药剂稀释倍数的增大而减小,表明其防效与药剂稀释倍数呈负相关;大田试验中,2种微生物杀菌剂在稀释 750 倍时的防治效果与 3 种化学杀菌剂虽然也存在显著差异,但均达到了 63.37% 以上。

这与微生物拮抗菌株产生了拮抗物质,其与病原菌竞争空间和营养、诱导植物产生抗病性、促进植物生长<sup>[22]</sup>等多种作用机制有关。而 2 种微生物杀菌剂的防治效果无显著差异,表明解淀粉芽孢杆菌对番茄灰霉病的防治效果与枯草芽孢杆菌相当。

微生物生防制剂在防治植物病害时其田间防效往往不稳定。这是由于生物活体进入自然环境中,受寄主和其他微生物、营养、温度以及水分等各种生物及非生物因素的影响,导致生防微生物很难长时间占有优势并保持功效<sup>[23]</sup>。解决微生物生防制剂防效不稳定的方法是将其与化学农药复配,一方面可减少化学农药的使用,降低化学药剂残留超标风险;另一方面克服了微生物生防制剂防效不稳定的问题<sup>[24]</sup>。本试验对解淀粉芽孢杆菌防治番茄灰霉病的效果进行了研究,其与化学农药复配防治番茄灰霉病的效果还有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 唐容容,杨文革,胡永红,等.蜡芽孢杆菌 CGMCC4348 菌株防治番茄灰霉病的效果及机理研究[J].湖北农业科学,2013,

- 52(8):1817-1820.  
Tang R R, Yang W G, Hu Y H, et al. Control effect and mechanism of strain *Bacillus cereus* CGMCC4348 to *Botrytis cinerea* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(8): 1817-1820. (in Chinese)
- [2] 赵统敏, 余文贵, 赵丽萍, 等. 番茄抗灰霉病育种研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2011, 27(5): 1141-1147.  
Zhao T M, Yu W G, Zhao L P, et al. Research progress in breeding of tomato resistance to *Botrytis cinerea* [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2011, 27(5): 1141-1147. (in Chinese)
- [3] 张坤山, 常 瑾, 吴云峰, 等. 番茄灰霉病的防治研究 [J]. 陕西农业科学, 2011, 57(6): 98-99.  
Zhang K S, Chang J, Wu Y F, et al. The research of control of tomato grey mould [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2011, 57(6): 98-99. (in Chinese)
- [4] 葛绍荣, 牛莉娜, 李 铭, 等. 番茄灰霉病害及其微生物防治的研究进展 [J]. 生物加工过程, 2007, 5(3): 15-19.  
Ge S R, Niu L N, Li M, et al. The plant disease of *Botrytis cinerea* and progress of its microbial control [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2007, 5(3): 15-19. (in Chinese)
- [5] 孙健健. 灰霉病的微生物防治研究进展 [J]. 天津化工, 2012, 26(4): 11-14.  
Sun J J. Research progress on microbial control of *Botrytis cinerea* [J]. Tianjin Chemical Industry, 2012, 26(4): 11-14. (in Chinese)
- [6] 王 春, 汪 琨, 崔志峰, 等. 芽孢杆菌活体微生物农药研究现状及应用 [J]. 浙江农业科学, 2013(7): 830-834.  
Wang C, Wang K, Cui Z F, et al. The research status of bacillus microbial pesticide and its application [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2013(7): 830-834. (in Chinese)
- [7] 信姗姗, 祁高富, 朱发银, 等. 一株解淀粉芽孢杆菌发酵条件的优化及其对油茶炭疽病的防效 [J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(4): 411-415.  
Xin S S, Qi G F, Zhu F Y, et al. Optimization of fermentation condition for *Bacillus amyloliquefaciens* WH1 and its biological control effect on *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2011, 30(4): 411-415. (in Chinese)
- [8] Caldeira A T, Arteiro J M S, Coelho A V, et al. Combined use of LC-ESI-MS and antifungal tests for rapid identification of bioactive lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CCM1 1051 [J]. Process Biochemistry, 2011, 46(9): 1738-1746.
- [9] Yu G Y, Sinclair J B, Hartman G I, et al. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing rhizoctonia solani [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(7): 955-963.
- [10] Rao Y K, Lin H Y, Wu W S, et al. Evaluation of HPLC and MEKC methods for the analysis of lipopeptide antibiotic iturin A produced by *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. International Journal of Applied Science and Engineering, 2008, 6(2): 85-96.
- [11] 邓建良, 刘红彦, 刘玉霞, 等. 解淀粉芽孢杆菌 YN-1 抑制植物病原真菌活性物质鉴定 [J]. 植物病理学报, 2010, 40(2): 202-209.  
Deng J L, Liu H Y, Liu Y X, et al. Identification of the antifungal substances from *Bacillus amyloliquefaciens* strain YN-1 [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2010, 40(2): 202-209. (in Chinese)
- [12] Chen L, Wang N, Wang X M, et al. Characterization of two antifungal lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* SH-B10 [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8822-8827.
- [13] Sun L J, Lu Z X, Bie X M. Isolation and characterization of a co-producer of fengycins and surfactins, endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2, from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2006, 22: 1259-1266.
- [14] Chen X H, Koumoutsis A, Scholz R, et al. Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens [J]. Journal of Biotechnology, 2008, 140(1/2): 27-37.
- [15] 车晓曦, 李校堃. 解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 的研究进展 [J]. 北京农业, 2010(3): 7-10.  
Che X X, Li X K. The research on development of *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. Beijing Agriculture, 2010(3): 7-10. (in Chinese)
- [16] 顾真荣, 吴 畏, 高新华, 等. 枯草芽孢杆菌 G3 菌株的抗菌物质及其特性 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(2): 166-172.  
Gu Z R, Wu W, Gao X H, et al. Antifungal substances of *Bacillus subtilis* strain G3 and their properties [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(2): 166-172. (in Chinese)
- [17] 孙现超, 安德荣, 李爱荣, 等. 土壤拮抗放线菌 s-930-6 菌株活性产物抑菌作用 [J]. 植物保护学报, 2005, 32(1): 33-36.  
Sun X C, An D R, Li A R, et al. Effect of the metabolite of antifungal soil actinomycete s-930-6 strain [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2005, 32(1): 33-36. (in Chinese)
- [18] 冯志珍, 陈太春, 段军娜, 等. 烟草黑胫病拮抗根际芽孢杆菌 FB-16 的筛选鉴定及其抑菌活性 [J]. 植物保护学报, 2012, 39(3): 224-230.  
Feng Z Z, Chen T C, Duan J N, et al. Screening, identification and antifungal activity of antagonistic rhizospheric *Bacillus* FB-16 against tobacco black shank [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2012, 39(3): 224-230. (in Chinese)
- [19] 严婉荣, 赵廷昌, 肖彤斌, 等. 生防细菌在植物病害防治中的应用 [J]. 基因组学与应用生物学, 2013(4): 533-539.  
Yan W R, Zhao T C, Xiao T B, et al. Applications of biocontrol bacteria in plant disease control [J]. Genomics and applied biology, 2013(4): 533-539. (in Chinese)
- [20] 马成涛, 胡 青, 杨德奎. 土壤有益微生物防治植物病害的研究进展 [J]. 山东科学, 2007(6): 61-67.  
Ma C T, Hu Q, Yang D K. Progress of the prevention and treatment of the profitable soil microorganism for plants disease [J]. Shandong Science, 2007(6): 61-67. (in Chinese)

- [21] 许彦,罗丰,杨礼哲,等. 几种杀菌剂对西瓜枯萎病的室内毒力测定 [J]. 热带农业科学, 2010, 30(10): 18-19, 26.  
Xu Y, Luo F, Yang L Z, et al. Toxicity of several fungicides to watermelon fusarium wilt [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2010, 30(10): 18-19, 26. (in Chinese)
- [22] 洪鹏,安国栋,胡美英,等. 解淀粉芽孢杆菌防治果蔬采后病害研究进展 [J]. 中国农学通报, 2013(12): 168-173.  
Hong P, An G D, Hu M Y, et al. Advance in research on biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by bacillus [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013 (12): 168-173. (in Chinese)
- [23] 王爽,常立艳,王琦,等. 纳米二氧化钛对植物有益蜡芽孢杆菌存活能力的影响 [J]. 微生物学杂志, 2007, 27(5): 102-105.  
Wang S, Chang L Y, Wang Q, et al. Impact of illuminated nano-tio<sub>2</sub> on the survival of *Bacillus cereus* [J]. Journal of Microbiology, 2007, 27(5): 102-105. (in Chinese)
- [24] 王文桥,马平,张小凤,等. 生物源杀菌剂与化学药剂协调防控番茄病害 [J]. 植物保护学报, 2011, 38(1): 75-80.  
Wang W Q, Ma P, Zhang X F, et al. Control effect of joint application of biofungicides and synthesized fungicides on tomato diseases [J]. Journal of Plant Protection, 2011, 38(1): 75-80. (in Chinese)

(上接第 183 页)

- [11] 王林风,程远超. 硝酸乙醇法测定纤维素含量 [J]. 化学研究, 2011, 22(4): 52-55.  
Wang L F, Cheng Y C. Determination the content of cellulose by nitric acid-ethanol method [J]. Chemical Research, 2011, 22(4): 52-55. (in Chinese)
- [12] 全国造纸标准化技术委员会. GB/T 742—2008 造纸原料、纸浆、纸和纸板灰分的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
National Standardization Technical Committee Paper. GB/T 742—2008 Fibrous raw materia, pulp, paper and board-determination of ash [S]. Beijing: Chinese Standard Press, 2008. (in Chinese)
- [13] 张喜燕. 麦秸原料的特性及其对定向结构麦秸板性能的影响 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2013: 1-43.  
Zhang X Y. Straw characteristics and its influence on the performance of OSSB [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2013: 1-43. (in Chinese)
- [14] 刘一星,赵广杰. 木质资源材料学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2007.  
Liu Y X, Zhao G J. Wood resource materials science [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2007. (in Chinese)
- [15] Pereira H, Rosa M E, Fortes M A. The cellular structure of cork from *Quercus suber* L. [J]. IAWA Journal, 1987, 8(3): 213-218.