

辣椒炭疽病生防菌筛选及抗菌活性初步研究

秦刚, 吴庆丽

(成都农业科技职业学院 农学园艺分院, 四川 成都 611130)

摘要:对辣椒炭疽病生防菌进行了筛选, 并对其抗菌活性进行了初步研究。结果表明: N-193、N-246、N-216、N-69 和 L-5 对辣椒炭疽病具有抗菌活性。其中, N-193、N-246、N-216 和 N-69 为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), L-5 疑似放线菌。枯草芽孢杆菌对辣椒炭疽病具有明显的拮抗作用, 其中 N-193 抑制作用更明显。

关键词:辣椒炭疽病; 生防菌; 抗菌活性

中图分类号:S 436. 418. 1⁺¹ **文献标识码:**B **文章编号:**1001—0009(2012)06—0124—05

辣椒炭疽病是辣椒生产上重要的病害之一,在全国均有发生,在辣椒产区四川发生尤为严重。单纯依靠化学防治容易造成农药残留、抗药性等问题,而且严重污染环境。因此开展该病的生物防治具有重要的意义。采用生防菌控制辣椒炭疽病是综合防治该病的一条重要措施。它具有不污染环境、对人畜无害、对植物无副作用等优点,对土传病害的控制尤为适用。但防治效果一般不及化学农药显著,防效受环境条件影响较大,一般生防制剂的防治效果达到 60%~70%,即可认为是较理想的^[1]。

第一作者简介:秦刚(1978-),男,硕士,讲师,现主要从事植物保护教学及科研工作。E-mail:qingang178@163.com。

收稿日期:2011—12—19

[2] 潘佑找,柯尊涛,赵宇瑛. 不同外植体对兰州百合组织培养的影响[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(19): 242-245.

[3] 潘佑找,赵金萍,曾祥秒,等. 野生乳头百合组织培养及快速繁殖研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(14): 8256-8258.

[4] 葛蓓宇,杨青杰,吴萍,等. 细叶百合组织培养植株再生[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(5): 54-56, 59.

植物病害的生物防治研究国内外已广泛开展^[2], 研究的主要内容是应用各种具有生防作用的有益微生物及其他生代谢产物对植物病害进行防治。在各种植物病害中,以真菌病害的生物防治研究最广泛,已有许多成功的报道。研究表明,许多有益微生物,如多种真菌、细菌和一些放线菌都可应用于真菌病害的生物防治,并已取得良好的应用效果^[3-16]。拮抗性细菌、放线菌主要用于土传真菌病害的生物防治,常用的有以下一些属:芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单孢菌属(*Pseudomonas*)、黄单孢菌属(*Xanthomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、游动放线菌属(*Actinoplanes*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、小单孢菌属(*Micromonospora*)和根瘤

[5] 张艺萍,屈云慧,吴学尉,等. 大理百合组织培养和快速繁殖[J]. 北方园艺, 2007(8): 189-190.

[6] Xu L F, Ma F W, Liang D. Plant regeneration from in vitro cultured leaves of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 119: 458-461.

Study on Tissue Culture and Micropropagation of *Lilium asiatic* Hybrids Prato

SONG Li-li¹, SI Liang¹, YU Dian-si¹, WEI Lu-yu², GUO Chang-hong¹

(1. Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025; 2. Agricultural and Sideline Base of 65246 Troops, Hegang, Heilongjiang 154107)

Abstract: The leaves of ‘Prato’ were selected as explants, the tissue culture of *Lilium asiatic* Hybrids Prato were studied. The results showed that the optimal medium for leaf induction was MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+0.1 mg/L 2,4-D, the induction rate was 73.3%; MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA was the optimal medium for the callus differentiation; the 1/2MS+0.5 mg/L NAA was successful for rapid rooting.

Key words: *Lilium asiatic* Hybrids ‘Prato’; tissue culture; callus; explant

菌(*Rhizobium*)等^[17~24]。总之,细菌、真菌在植病生物防治中的应用研究已广泛开展,并已取得良好的应用效果。

为寻找新的生防资源用于辣椒炭疽病生物防治,现以不同地区的土壤为材料,分离了大量菌株,通过广泛筛选,获得了多个具有生防潜力的菌株。围绕这些菌株的拮抗机理、抗菌能力、抗菌物质的性质、产生条件和分离纯化等开展了相关研究。旨在探明这些菌株的生防机理和生防应用潜力,为植物病害的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 标本的采集 2007~2010年,在成都及附近郊区的菜地与市场采集辣椒炭疽病病果120份、土壤标本300份(选择辣椒植株下面的土壤,铲去表土层,取5~10 cm深的带辣椒根系的土壤10~20 g);按类别分装到塑料采集袋中,每个样本1袋,标明采集时间、地点,带回实验室备用。采集到的标本应及时进行分离,如一次采集的标本较多,不能及时处理,可放入4℃冰箱短时保存。

1.1.2 供试菌株 该试验采用的植物病原真菌为辣椒炭疽病菌-胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*);测试菌为经过复筛选拮抗活性稳定的土壤拮抗菌。

1.1.3 培养基 PDA(或PSA)培养基用于培养辣椒炭疽菌;PDA(或PSA)+0.5%牛肉浸膏培养基:马铃薯200 g、葡萄糖(或蔗糖)20 g、琼脂20 g、牛肉浸膏5 g、水1 000 mL,用于土壤拮抗菌株的分离、对峙培养和土壤拮抗菌的菌种保存;PDA(或PSA)+0.5%牛肉浸膏培养液:马铃薯200 g、葡萄糖(或蔗糖)20 g、牛肉浸膏5 g、水1 000 mL,用于土壤拮抗菌株的发酵培养。

1.2 试验方法

1.2.1 辣椒炭疽病菌菌株的分离 辣椒炭疽病菌菌株从采集标本的病果或病叶的发病部位以常规组织分离法^[27]进行分离。具体方法如下:配制PDA(Potatodextroseagar,PDA:马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g)培养基,并制备分离平板;采集的标本应先用自来水将标本冲洗干净,晾干;在病健交界处切取4~5 mm的小组织块,先用70%酒精浸泡5~10 s,再用0.1%的升汞进行表面消毒1~2 min,然后用镊子取出组织块,用无菌水清洗4~5次,除去残留的消毒剂;将组织块放在无菌滤纸上晾干后,接到PDA培养基平板上进行培养,每个平板接种3~5个组织块,25℃下培养。待长出菌落后进行纯化,转接到新的培养基平板上或试管斜面培养、保存备用;或直接用挑针挑起有粘孢团病果上的孢子进行平板培养,再进行纯化,转接到新的培养基平板上或试管斜面培养、保存备用。

1.2.2 辣椒炭疽病菌菌株的纯化 为了保证试验结果的准确性,该试验对以上组织分离得到的辣椒炭疽病菌进行了单孢子分离。制备5%的水琼脂平板和孢子悬浮液(1×10^5 /mL),用微量移液器吸取适量的孢子悬浮液加入到水琼脂平板上,均匀涂布,在无菌的条件下吹干,用无菌刀片将涂布的区域切成网状小格(大约2 mm×2 mm),25℃的条件下恒温培养8 h后,在低倍显微镜下观察,当观察到只有单孢子萌发的小格时,在平板的背面做上记号,并用接种针从一角小心挑起单孢子的小格,接种到PDA平板培养基上,25℃恒温培养。

1.2.3 土壤拮抗菌株的分离 土壤拮抗菌株的分离从各地采集的土壤标本中采取划线分离的方法获得。具体方法如下。配制肉汤蛋白胨固体培养基:牛肉膏5 g、蛋白胨10 g、NaCl5 g、琼脂20 g、水1 000 mL, pH 7.5, 0.1 MPa, 121℃灭菌20 min, 并制备分离平板。制备无菌生理盐水:250 mL三角瓶中加入99 mL 0.85% NaCl(加20个左右的玻璃珠);250 mL三角瓶中加入100 mL 0.85% NaCl(作10倍稀释用)。土壤稀释液制:称取土样1.0 g放入盛有99 mL无菌水并带有玻璃珠的三角瓶中,置摇床振荡30 min使土样均匀分散在稀释液中成为土壤悬液(10^{-2})。用1 mL的无菌吸头从中吸取1 mL土壤悬液注入盛有9 mL无菌0.85%食盐水的试管中,吹吸3次,振荡混匀(10^{-3})。然后再用同一支1 mL吸头,从此管中吸取1 mL注入另一盛有9 mL无菌0.85%食盐水的试管中(10^{-4}),依此类推制成 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 各种稀释度的土壤溶液。涂布培养基平板:用1支1 mL无菌吸头分别从稀释度 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 和 10^{-5} 的土壤稀释液中各吸取0.1 mL对号加入已写好稀释度的牛肉浸膏蛋白胨培养基平板上,用无菌三角玻璃棒在培养基表面轻轻地涂布均匀。涂布时从低浓度到高浓度分别在培养基表面轻轻地涂布,可转动皿底一定角度,继续涂布,直至均匀。涂布均匀后在无菌条件下晾干待培养。每个浓度做3个平板。拮抗菌培养:将涂布均匀的平板晾干后倒置于30℃恒温培养箱中培养48 h待用。

1.2.4 土壤拮抗菌株的筛选 土壤拮抗菌株的筛选采用对峙培养法进行。具体方法:首先将低温保存的分离菌株和辣椒炭疽病菌接种到PDA培养基上进行活化培养;待辣椒炭疽病菌菌落生长到一定程度时,用直径为9 mm的打孔器在菌落边缘打孔,切取直径为9 mm的菌块,然后用接种针挑取1个菌块接在1个对峙培养平板中央,再用无菌牙签在距对峙平板中央2.5 cm十字交叉位置处接种土壤拮抗菌。对峙平板28℃恒温培养,分别于24、48、72 h观察并记录结果。土壤拮抗菌株的筛选分2轮进行:初筛:用辣椒炭疽病菌对所有土壤拮抗菌株进行初筛,可以采用1:4或1:8,从而筛选出效果较好

的部分菌株。复筛:再用辣椒炭疽病菌对经初筛效果较好的菌株进行再次筛选,提高试验结果的准确和科学性,采用1:2或1:1筛选获得对病原菌作用效果明显、稳定的试验菌株用于进一步研究。

1.2.5 土壤拮抗菌株的纯化 一般用土壤稀释法和划线分离法即可得到土壤拮抗菌株纯培养,不过这些方法也可能混有其它菌株,为了保证试验结果的准确性,该试验对经过初筛和复筛拮抗效果好的多个分离菌进行多次划线分离,纯化后转入试管斜面保存备用。

1.2.6 土壤拮抗菌株的形态鉴定 将纯化后的土壤拮抗菌株置于PDA+0.5%牛肉浸膏培养基平板上培养,观察记载菌落特征:菌落形状和大小、边缘形状、表面特征、隆起形状、透明度、质地、菌落及培养基的颜色等。根据相关的研究资料进行鉴定。

1.2.7 对峙培养 方法同1.2.4,但在测定土壤拮抗菌对病原菌的作用效果时,每一个土壤拮抗菌对病原真菌做一个平板,先接种拮抗菌24 h后再接种辣椒炭疽病菌,24 h后观察记录,4次重复。然后根据试验数据,计算抑菌率。抑菌率(%)=(A-B)/A,其中A为对照平板上的菌落半径,B是对峙培养平板上向拮抗菌方向生长的菌落半径。

1.2.8 拮抗菌N-193无菌滤液的制备 将培养24 h的拮抗菌接种于马铃薯葡萄糖+0.5%牛肉浸膏培养液中,于150 r/min 30℃振荡培养48 h,取适量发酵液,室温下4 800 r/min离心20 min,取上清液用孔径为0.45 μm的细菌过滤器过滤,即得无菌滤液,置于4℃冰箱中保存备用。

1.2.9 拮抗菌N-193无菌滤液对炭疽病菌菌丝生长的影响 采用平板稀释法,按1/10、1/50、1/100倍的比例将无菌滤液分别加入50℃左右的PDA培养基中,混匀后倒入9 cm的培养皿中,以常规PDA为对照。待培养基凝固后,各平板中央接种辣椒炭疽菌菌丝块,28℃培养,4次重复。分别于24、48、72、96 h用十字交叉法测量菌落直径,并计算抑菌率。

1.2.10 拮抗菌N-193无菌滤液抗菌活性物质的热稳定性研究 将拮抗菌N-193无菌滤液于30、45、65、85、100、121℃分别处理10、30、60 min,与50℃的PDA培养基混匀,制成含无菌滤液浓度为10%的PDA平板,以不经热处理的无菌滤液和无菌水为对照,4次重复。接种辣椒炭疽病菌菌丝块(9 mm)在28℃下培养。72 h后观察并用十字交叉法测量菌落直径,计算抑菌率。

1.2.11 拮抗菌无菌滤液对炭疽菌分生孢子萌发的影响

用无菌水将PDA平板培养的炭疽病菌孢子洗下,用1层无菌滤纸过滤。按1/10、1/50、1/100倍的比例将无菌滤液分别加入孢子悬浮液中,制成每视野(10倍物镜)含20~30个孢子的孢子悬浮液。25℃下用凹玻片悬滴法

培养,分别于12、24 h观察孢子的萌发情况,并计算其萌发率。不加无菌液处理作为对照。

2 结果与分析

2.1 土壤拮抗菌株分离、筛选

通过以辣椒炭疽病菌-胶孢炭疽菌(*Colletotrichum-gloeosporioides*)为拮抗对象进行初筛,共获得45个对辣椒炭疽病菌有较好作用效果的菌株;通过复筛,最后筛选获得5个对辣椒炭疽病菌作用效果明显、稳定的菌株N-193、N-246、N-216、N-69和L-5。

2.2 土壤拮抗菌株的鉴定

菌株N-193在PDA+0.5%牛肉浸膏培养基平板上培养,28℃培养24、48 h,菌落扩展速度较快,圆形或近圆形,呈淡白色,中央微隆,边缘较整齐,粘稠湿润,菌落变厚、不透明,直径0.1~10 mm。3 d后菌落中央皱缩。菌株N-193显微特征如下:革兰氏染色阳性(G⁺),菌体杆状,两端钝圆,大小为(0.70~0.82) μm×(2.15~2.40) μm,周生鞭毛。芽孢椭圆形,中生或近中生。

依据菌株N-193的形态特征和生理生化特性,鉴定该菌株为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。菌株菌株N-246、N-216及N-69的形态特征与N-193一致,也鉴定为枯草芽孢杆菌。

2.3 土壤拮抗菌株的生防作用研究

2.3.1 土壤拮抗菌株活体对辣椒炭疽病菌的抑菌率测定 由表1可知,N-69、N-193、N-216、及N-246对辣椒炭疽病菌均有较强的抑制作用,其中菌株N-193作用效果更为明显;并且抑菌作用随时间的变化而变化,接种辣椒炭疽病72 h后抑菌率达到最大。

2.3.2 N-193无菌滤液对辣椒炭疽病菌的抑菌率测定

由表2可知,拮抗菌N-193无菌滤液对辣椒炭疽病菌也有一定的抑制作用,能够减缓菌丝的生长,表明其无菌滤液含有抑制病菌生长的拮抗物质。无菌滤液浓度越高对病原菌的抑制作用就越强,并且72 h测得的抑菌率达到最大(42.54%、30.56%、22.49%),表明抑菌物质与病原菌相互作用需要一定的时间。

表1 拮抗菌对辣椒炭疽病菌菌丝生长抑制作用

Table 1 Antagonistic effect of the biocontrol strain to the mycelia of *C. gloeosporioides*

Treatment	24 h		48 h		72 h		96 h	
	菌落半径 Colony radius/cm	抑菌率 Inhibition ratio /%						
CK	1.07		1.82		2.65		3.51	
N-69	0.95	11.21	1.33	27.20	1.41	46.70	1.91	45.69
N-193	0.90	15.89	1.24	32.01	1.34	49.53	1.86	47.11
N-216	0.94	12.38	1.38	24.45	1.51	42.92	2.04	41.77
N-246	0.95	11.21	1.40	23.08	1.55	41.51	2.10	40.06

表 2 拮抗菌 N-193 无菌滤液对辣椒炭疽病菌菌丝生长的抑制作用

Table 2 Antagonistic effect of the aseptic filtrate of the biocontrol strain N-193 to the mycelia of *C. gloeosporioides*

处理 Treatment	24 h		48 h		72 h	
	菌落直径 Colony diameter /cm	抑菌率 Inhibition ratio /%	菌落直径 Colony diameter /cm	抑菌率 Inhibition ratio /%	菌落直径 Colony diameter /cm	抑菌率 Inhibition ratio /%
	/cm	/%	/cm	/%	/cm	/%
CK	2.06		3.45		5.11	
1/10	1.49	27.88	2.01	41.67	2.94	42.54
1/50	1.69	18.18	2.39	30.80	3.55	30.56
1/100	1.91	7.27	2.76	19.93	3.96	22.49

2.3.3 N-193 无菌滤液抗菌物质的热稳定性 无菌滤液中抗菌物质热稳定性具有阶段性,在 65℃ 及其以下热稳定性好,而在 85℃ 及其以上高温热稳定性差。由表 3 可知,30~65℃ 处理 10~60 min 对抑菌率影响较小,85℃ 及其以上温度处理 10~60 min 对抗菌活性有较大影响,与对照相比下降 11%~33.5%,这点表明抑菌物质不耐 85℃ 及其以上高温,但在 65℃ 及其以下抑菌活性相对稳定;从时间处理的长短看,对抑菌作用也有影响,85~121℃ 处理 10~60 min 抑菌率下降 8.4%~10.3%,表明抑菌物质耐热性较差。

表 3 菌株 N-193 无菌滤液的热稳定性测定

Table 3 The result of tolerance to hightemperature of the strain N-193

菌株 Strain	处理时间 Time after treatment /min	处理温度 Temperature /℃						对照 Comparison
		30	45	65	85	100	121	
辣椒炭疽病菌 <i>C. gloeosporioides</i>	10	43.06	41.87	40.91	32.78	26.79	20.57	43.78
	30	42.58	40.67	39.95	26.08	19.62	15.79	
	60	41.63	40.67	39.71	24.40	16.75	10.29	

注:表中数据均为 72 h 测得的数据。

2.3.4 N-193 无菌过滤液对辣椒炭疽病菌分生孢子萌发率测定 无菌滤液对辣椒炭疽病菌孢子萌发抑制作用比较显著。由表 4 可知,1/10、1/50、1/100 浓度无菌滤液处理 12 h 后,对孢子萌发抑制率分别为 93.56%、89.26%、77.91%,表明抑制作用明显,且随着浓度的提高抑制性更强;相同浓度无菌滤液处理 12 与 24 h 后孢子萌发抑制率无明显差异。

表 4 拮抗菌 N-193 无菌滤液对辣椒炭疽病菌孢子萌发的抑制作用

Table 4 The influence of the biocontrol strain N-193 to the spore of *C. gloeosporioides*

处理 Treatment	12 h		24 h	
	孢子萌发率 Germination rate of spore /%	孢子萌发抑制率 Inhibition ratio /%	孢子萌发率 Germination rate of spore /%	孢子萌发抑制率 Inhibition ratio /%
	—	—	—	—
CK	81.50	—	93.50	—
1/10	5.25	93.56	5.50	94.12
1/50	8.75	89.26	10.50	88.77
1/100	18.00	77.91	20.75	77.81

子萌发抑制率相差 0.1%~0.6%,这表明孢子萌发抑制率与无菌滤液处理时间关系较小。

3 结论与讨论

从成都及附近地区采集大量的辣椒炭疽病菌及菜地土壤标本,通过组织分离法和稀释法分离到大量菌株。将组织培养分离得到的辣椒炭疽病菌分离纯化,通过形态学鉴定发现为害成都地区的辣椒炭疽病菌大部分为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*);以辣椒炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)为拮抗对象进行多次筛选,最后获得 5 个对辣椒炭疽病菌作用效果明显、稳定的菌株 N-193、N-246、N-216、N-69 和 L-5。依据菌落特性及形态特征行鉴定,N-246、N-216 及 N-69 的形态特征与 N-193 一致,鉴定为枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*);L-5 疑似放线菌。

该试验结果表明,N-193、N-246、N-216 和 N-69 都有明显的拮抗作用,其中枯草芽孢杆菌 N-193 抑制作用更明显。N-193 无菌滤液对辣椒炭疽病菌抑菌效果明显,且抑制作用随无菌滤液浓度升高而增强,1/10 浓度 72 h 测得的抑菌率达到 42.54%。

热稳定性试验表明,N-193 无菌滤液在 65℃ 及其以下抑菌活性相对稳定,抑菌物质不耐 85℃ 及其以上高温。根据 N-193 无菌过滤液对辣椒炭疽病菌分生孢子萌发率测定得出,无菌滤液对辣椒炭疽病菌孢子萌发抑制作用明显且随着浓度的提高抑制性更强。

微生物是植物病害生物防治的重要资源之一,而合适的分离和筛选方法是能否发现更多具有生防潜力微生物的关键。拮抗菌的分离可通过以下途径获得:从植物体内分离^[24-25]、从果蔬表面分离^[26-27]、从昆虫生物防治菌中得到^[28]、从土壤中分离^[27,29]。与其它途径相比从土壤中分离比较简易,得到的菌株更有利应用于生产中防治辣椒炭疽病。该试验拮抗菌主要从辣椒植株根际土壤中分离筛选获得。

前人的研究结果表明,微生物之间的相互拮抗机理主要包括拮抗、竞争、诱导和重寄生^[9,11,29]等。该试验选获得的枯草芽孢杆菌 N-193 在 PDA 对峙平板上,对辣椒炭疽病菌有明显的拮抗效果。在病原真菌向拮抗菌生长的方向,菌丝生长受到抑制,菌丝在生长前沿集结成一条线,初期挑取菌丝发现在菌丝顶端或中部肿胀,形成大量囊状体,菌丝直径变得较肿大,后期挑取菌丝发现囊状菌丝细胞壁破裂。结果表明,该菌株与病原菌竞争营养空间同时还分泌抗菌物质直接破坏病原菌细胞,导致病菌丧失对植物的侵染能力和在植物上定殖的能力。

该试验结果对生防菌分离与筛选及阐明拮抗菌的抑菌机理具有重要的意义,同时为更好地利用此生防菌奠定基础。该试验仅对生防菌的抗菌活性进行了初步

探索,未对生防菌的培养及其抑菌机理作深入的研究,如拮抗菌发酵条件(温度条件、酸碱条件、盐浓度、碳氮源以及最适培养时间等)筛选、拮抗菌的抗菌谱测定、抗菌物质的成分结构与性质、提取方法、拮抗菌在辣椒植株上或根际土壤中的定殖情况、抗菌物质对辣椒果实防效测定等。

参考文献

- [1] 葛红莲,赵红六. 辣椒青枯病和黄瓜疫病生物防治的研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2003,1-10.
- [2] 张子明. 生物农药的定义、特点和现状[J]. 农药科学与管理,1996,60(4):32-33.
- [3] 任欣正,申道林,方中达. 无致病力产细菌素拮抗菌 MA-7 防治番茄青枯病研究初报[J]. 生物防治通报,1988,4(2):65-67.
- [4] 李华荣,刘均灼. 康氏木霉对立枯丝核菌 7 个融合群及 3 个亚群拮抗作用的研究[J]. 西南农业大学学报,1992,14(4):283-285.
- [5] 薛宝娣,李娟,陈水萱. 木霉(TR-5)对病原真菌的拮抗机制和防病效果研究[J]. 南京农业大学学报,1995,18(1):31-36.
- [6] 郭建华,孔平华,吴云波. 植物细菌性青枯病的生物防治机制和途径[J]. 中国生物防治,1997,13(1):42-46.
- [7] 余桂容,张敏叶,华智. 小麦赤霉病的生物防治[J]. 四川农业大学学报,1998,16(3):314-318.
- [8] 张荣意,谭志琼,简日明. 芒果炭疽病菌生防细菌的筛选、鉴定及生防潜能的初步研究[J]. 热带作物学报,1998,19(3):21-27.
- [9] 黎芷荷,吴清平,许红立,等. 木霉和枯草芽孢杆菌的生物防治研究进展[J]. 微生物学通报,1998,25(2):284-286.
- [10] 许熠泉,唐玮宁,郑有丽. 筛选假单胞菌 M18 防治大棚黄瓜枯萎病害[J]. 上海交通大学学报,1999,33(2):210-213.
- [11] 何迎春,高必达. 立枯丝核菌的生物防治[J]. 中国生物防治,2000,16(1):31-34.
- [12] 李博强,牛小帆,纪明山. 黄瓜苗病拮抗菌的筛选与活性测定[J]. 沈阳农业大学学报,2003,31(6):546-549.
- [13] Toyoda H, Hashimoto H, Utsumi R. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of *Fusarium* wilt of tomato[J]. Phytopathology, 1988, 78:1307-1311.
- [14] Whipp J M. Status of biological disease control in horticulture[J]. Biocontrol science and technology, 1992(2):3-24.
- [15] Youssef Y A. *Plectosporium tabacinum* root rot of white lupine (*Lupinus termis* Fork.) and its biological control by *Streptomyces* species [J]. Phytopathology, 2001, 149:29-33.
- [16] Zhou T. Postharvest control of blue mold and gray mold on apples using isolates of *Pseudomonas syringae*[J]. Plant Pathology, 2001, 23:246-252.
- [17] 兰斌,王朝琪,译. 植物病原菌的生物防治[J]. 北京:中国农业出版社,1984.
- [18] 文成敬,陆家凤. 用木霉防治棉苗立枯病[J]. 西南农业大学报,1990,3(2):53-56.
- [19] 李长松. 拮抗细菌防治植物土传病害的研究进展[J]. 生物防治通报, 1992, 8(4):168-172.
- [20] 王占武,李晓芝,刘彦利,等. 拮抗菌防治草莓枯萎病[J]. 中国生物防治, 1999, 15(4):187.
- [21] Lifshiz R, Simonson C. Effect of *rhizobacteria* on the severity of *Phytophthora* root rot of soybean [J]. Plant Pathology, 1986, 8:102-106.
- [22] Arwynto T, Goto M, Tsusyumu S, et al. Biological control of bacterial wilt of tomato by an avirulent strain of *Pseudomonas soalanacearum* isolated from *strelitzia reginae*[J]. Annals of the Phytopathological society of Japan, 1994, 60(4):421-430.
- [23] Goel A K, Dadarwal K R. Pigment diverse mutants of *Pseudomonas* spp. inhibition of fungal growth and stimulation of growth of *cicer arietinum* [J]. Biologia Plantarum(prague), 2000, 43(4):563-569.
- [24] 刘云霞. 植物内生细菌的研究与应用[J]. 植物保护,1994,20(5):30-32.
- [25] Chalutz E, Wilson C L. Postharvest biocontrol of green and blue mould and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*[J]. Plant Dis, 1990, 74:134-137.
- [26] Janisiewicz W J, Roitman J. Biological control of blue and gray mould on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*[J]. PhytoPathol, 1988, 78:1697-1700.
- [27] Spurr H W, Knudsen G R. Biological control of leaf disease with bacteria [J]. See Ref, 1985, 8:45-62.
- [28] Levy E, Eyal Z, Chet I. Suppression of *Septoria tritici* blotch and leaf rust on wheat seedling leaves by *Pseudomonas* [J]. Plant Pathology, 1988, 37:551.
- [29] 刘大群. 链霉菌对植物病原真菌抑制作用的研究[C]. 第六次植物病理学会论文集. 北京:中国农业出版社,1985:512-515.

The Initial Screen of Biological Control and Study of Antimicrobial Activity of Capsicum Anthracnose

QIN Gang, WU Qing-li

(Department of Agriculture and Horticulture, Chengdu Vocational College of Agricultural Science and Technology, Chengdu, Sichuan 611130)

Abstract: The biological control of capsicum anthracnose by microbe was screened, and which of antibacterial activity was studied. The results showed that strain N-193, N-246, N-216, N-69 and L-5 had better antibacterial function against capsicum anthracnose. It was identified that N-193, N-246, N-216 and N-69 were *Bacillus subtilis*, and L-5 was suspected to actinomycetes. N-193, N-246, N-216 and N-69 had an obvious antagonistic action for capsicum anthracnose, and *Bacillus subtilis* N-193 had a better inhibitory action.

Key words: capsicum anthracnose; biological control; antagonistic action