

# 芦笋茎枯病的生物防治及机理研究\*

马利平 郝变青 秦 曙 乔雄梧

(山西省农业科学院 山西省农药重点实验室 太原 030031)

**摘 要** 利用拮抗芽孢杆菌菌株 B96-II 对芦笋茎枯病菌进行了室内抑菌试验和田间防治及机理研究, 结果表明: B96-II 对芦笋茎枯病菌有明显抑制作用。稀释 50~1 600 倍后平皿试验, 生长速率抑制率为 97.37%~92.98%; 离体组织培养对菌斑的抑制率为 94.40%; 田间防治效果为 93.40%。显微观察发现, B96-II 处理后可导致菌丝和孢子严重破损, 使细胞内容物外渗。处理后 24 h, 菌液电导率( $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$ )和总溶解固体(TDS)比不处理的对照明显提高, 处理中 B96-II 培养液浓度从 1% 升到 10% 时, 电导率增加量从 47.50% 提高到 518.33%, 总溶解固体增加量从 176.10% 提高到 797.60%。经测定, B96-II 可抑制病原菌菌丝呼吸, 处理中 B96-II 培养液浓度从 1% 升到 10% 时呼吸抑制率从 25.00% 升至 196.40%。生物测定表明, B96-II 的主要抑菌物为拮抗蛋白。

**关键词** 芦笋茎枯病 拮抗菌 电导率 呼吸 拮抗蛋白

**中图分类号:** S436.412.1+9; S476.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2009)06-1229-05

## Antagonistic inhibition analysis and biocontrol of asparagus stem blight *Phomopsis asparagi*

MA Li-Ping, HAO Bian-Qing, QIN Shu, QIAO Xiong-Wu

(Shanxi Key Laboratory of Pesticide Science, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

**Abstract** The inhibition effects of an antagonistic Bacillus strain B96-II on asparagus stem blight (*Phomopsis asparagi* Sacc.) were investigated under laboratory *in vitro* and field conditions. The results demonstrate that B96-II effectively inhibits the pathogen. In-habitation rates on *P. asparagi* growth rate are between 97.37% and 92.98%, when the cultures treated with 50 to 1 600 times dilution of B96-II fermentation brew. Under *in vitro* conditions, colonial growth on asparagus stem reduces by 94.40% compared with the control samples, and under field trials by 93.40%. Microscopic observation reveals that the mycelia and spore walls of *P. asparagi* are destroyed and cell contents released after B96-II treatment. Conductivity of the inoculum liquid of *P. asparagi* increases significantly 24 h after treatments. As B96-II inoculum liquid concentration increases from 1% to 10%, its conductivity increment increases from 47.50% to 518.33% and total dissolved solids (TDS) increment increases from 176.10% to 797.60%. B96-II also restricts *P. asparagi* mycelial respiration at an inhibition rate of 25.00% by addition of 1% B96-II and 196.40% by addition of 10% B96-II. Based on the analysis, the main active substances in B96-II are antagonistic proteins.

**Key words** Asparagus stem blight, Antagonist, Conductivity, Respiration, Antagonistic protein

(Received Nov. 14, 2008; accepted March 26, 2009)

芦笋茎枯病是一种分布广、危害重的毁灭性病害, 在世界各芦笋产区几乎都有发生。近年来, 我国芦笋种植规模不断扩大, 该病随之加重<sup>[1]</sup>。对茎枯病的防治目前还主要依赖化学农药, 但化学农药的残留大大降低了芦笋的营养价值和经济价值。随着农产品贸易全球化步伐的加快, 芦笋的国际、国内市场将更为广阔, 对芦笋产品质量要求也日益提高。

市场消费以安全、营养、无公害、方便为基本内涵的蔬菜正在成为人们的追求。中国作为世界贸易组织的一员, 芦笋等蔬菜产品的安全性及品质已成为我国蔬菜产品参与国际市场竞争的关键因素。芽孢杆菌是一群好氧或兼性厌氧的 G<sup>+</sup>杆菌的总称, 分布极其广泛, 是土壤和植物体表根际的重要微生物种群。我国利用芽孢杆菌防治植物病害的应用研究也

\* 山西省科技攻关项目(2006031033)、山西省归国留学人员项目(2006 年 82 号)、山西省自然科学基金项目(2006 重点实验室开放基金)、山西省青年基金项目(2007021037)资助

马利平(1957~), 女, 学士, 研究员, 研究方向为微生物农药研究及开发。E-mail: maliping808@126.com

收稿日期: 2008-11-14 接受日期: 2009-03-26

达到了世界先进水平,已开发的芽孢杆菌有 B916、B908、B3、B903、BLO3 等<sup>[2]</sup>。山西省农业科学院山西省农药重点实验室筛选出的广谱拮抗菌芽孢杆菌 BC98-I 和 B96-II 发酵液对多种蔬菜土传病害有明显的防治效果。高芬等<sup>[3]</sup>研究表明,蜡质芽孢杆菌 BC98-I 发酵液及其分泌的抑菌物对外界环境有很强的适应力和稳定的抑菌特性。有研究报道, B96-II 菌液处理青椒、黄瓜和西瓜后,其多酚氧化酶、过氧化氢酶等均有明显提高<sup>[4]</sup>。相关文献检索发现,到目前为止,应用在芦笋上的生物农药不足化学农药的 2%,开发生物农药势在必行。自 2006 年开始,笔者利用 B96-II 发酵液对芦笋茎枯病菌进行了系统的室内抑菌试验和大田防治试验,取得了一致且明显的效果<sup>[5]</sup>。本文从 B96-II 抑菌现象、对菌丝细胞壁的破损程度和抑菌物分析等方面进行进一步研究,以探明其抑菌机制。

## 1 材料与方法

供试材料芦笋茎枯病菌(*Phomopsis asparagi* Sacc.)分离自山西省永济市田间芦笋茎枯病株,山西省农药重点实验室回接鉴定。病菌在 PDA 平皿 28℃ 培养 7 d 备用。芽孢杆菌 B96-II 为山西省农药重点实验室筛选的广谱拮抗菌,用马铃薯液体培养基于 36℃、165 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 48 h,发酵菌液浓度为 10<sup>10</sup> cfu·mL<sup>-1</sup> 左右。

### 1.1 B96-II 对芦笋茎枯病菌菌丝生长的抑制作用

采用生长速率法<sup>[6]</sup>:将 B96-II 发酵液与 PDA 培养基在 45℃ 左右,分别配成 50 倍、100 倍、200 倍、400 倍、800 倍、1 600 倍 6 个浓度,以不含 B96-II 发酵液的 PDA 培养基为空白对照,共 7 个处理,每处理重复 5 次,混匀后倒 5 个皿,凝后接入直径为 0.4 cm 的茎枯菌片,置 28℃ 培养箱中,在 3 d、7 d、14 d、21 d、28 d 和 35 d 时,以十字交叉法记录菌落直径。以每处理 35 d 的生长速率(cm·d<sup>-1</sup>)做多重比较,并计算生长速率抑制率。

抑制率(%)=(对照生长速率-处理生长速率)/对照生长速率×100% (1)

### 1.2 B96-II 对茎枯病的室内抑制作用

采用离体组织培养法<sup>[7]</sup>:取芦笋嫩茎,用 75% 酒精棉将表面擦洗干净,剪成 7 cm 长的小段,每段针刺 5 个小孔,置于灭菌的平皿内,每皿 2 段,皿内垫 2 层滤纸,用水浸湿。处理 1[B96-II(1)]先用 200 倍的 B96-II 发酵液喷芦笋茎段,每皿喷 20 mL,2 h 后,用手式喷雾器将芦笋茎枯病菌孢子悬浮液(10×40 倍下每视野含孢子 100 个左右)均匀喷散在茎杆上,每皿喷 20 mL。处理 2[B96-II(2)]采用同样方

法先对芦笋茎段喷孢子悬浮液,2 h 后再用 B96-II 发酵液喷。处理 3(CK)为只喷芦笋茎枯病菌孢子悬浮液的空白处理。以上处理各重复 5 次,置 28℃ 温箱培养,每天定时观察发病情况,7 d 时计数芦笋茎段上的病斑数,并测量病斑的大小,计算病斑抑制率。

抑制率(%)=(对照平均每皿芦笋茎段上菌斑面积-经处理的平均每皿芦笋茎段上病斑面积)/对照平均每皿芦笋茎段上病斑面积×100% (2)

### 1.3 B96-II 对茎枯病的田间防治

试验地点设在山西省太原市清徐县集义乡,种植绿芦笋 1 300 hm<sup>2</sup>。防治对象为 5 年生的绿芦笋,芦笋茎枯病发病率为 30%~40%。采笋前半个月(2007 年 4 月 20 日)和采笋后半个月(6 月 20 日),用稀释 300 倍的 B96-II 发酵液灌根,每穴灌 500 mL,对照药剂为 800 倍的 50% 复方多菌灵,设空白处理。小区面积 60 m<sup>2</sup>,每处理重复 3 次。调查方法为随机抽样,每小区调查 10 株,计数每植株总茎数和发病茎数,与对照比较计算防治效果。

### 1.4 B96-II 对芦笋茎枯病菌抑制现象观察

将 B96-II 发酵液与马铃薯液体培养基按 1:200 在 100 mL 三角瓶内混和,接入培养 7 d、直径为 0.8 cm 的芦笋茎枯病菌菌片 8 枚,以空白培养液为对照,接入相同数量的菌片,设 3 次重复,在 28℃、150 r·min<sup>-1</sup> 的水浴摇床上培养 48 h,每处理制玻片 1 枚并在显微镜下随机镜检 30 个视野(10×40 倍),观察并记数孢子产生和萌发情况。

孢子抑制率(%)=(对照孢子数-处理孢子数)/对照孢子数×100% (3)

### 1.5 B96-II 对芦笋茎枯病菌损伤程度测定

电导率法:将在 PDA 上培养 1 周的芦笋茎枯病菌用灭菌过的打孔器打 0.8 cm 直径的菌片,接入 50 mL·150 mL<sup>-1</sup> 三角瓶液体马铃薯培养基内,每瓶 2 片,28℃、150 r·min<sup>-1</sup> 培养 12 h,然后每瓶接入 B96-II 菌液,分别配成 100 倍、50 倍、20 倍、10 倍浓度和空白对照,另设 B96-II 菌液相应浓度的空白处理(不含茎枯病菌),每处理重复 3 次,置 28℃ 温箱培养,在 2 h、6 h、24 h 用德国生产的 CON200 电导率仪测定溶液电导率和总固体溶解度。

电导率=空白处理电导率-B96-II 相应浓度处理电导率 (4)

总溶解固体=空白总溶解固体-B96-II 相应浓度处理总溶解固体 (5)

### 1.6 B96-II 对芦笋茎枯病菌呼吸抑制率测定

处理同 1.5 电导率测定,但 B96-II 处理液为经 8 000 r·15 min<sup>-1</sup> 离心的上清液,以消除液体本身的呼吸耗氧。在相同时间用美国生产的 YSI550A 溶氧

仪测定液体中溶解氧浓度，经与对照比较计算呼吸抑制率。

1.7 B96-II 抑菌物提取及活性稳定性测定<sup>[8]</sup>

将 B96-II 发酵液静置 12 h, 4 ℃ 下 8 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min。取上清液，加入饱和度为 25%、45%、65%、85% 的硫酸铵，4 ℃ 下沉淀过夜，10 000 r · 15 min<sup>-1</sup> 离心，以此蛋白粗提液进行抑菌活性测定。制 PDA 平板，每皿打直径为 0.8 cm 孔 2 个，每孔滴入 60 μL 粗提液，之后接入培养 7 d、直径为 0.4 cm 的菌片，置 28 ℃ 温箱培养，在 3 d、7 d 时测量菌落直径，与对照比较计算抑菌率。对 65% 硫酸铵沉淀物进行如下处理后，按上述方法测定抑菌率：温度处理，在 40 ℃、60 ℃、80 ℃、120 ℃ 下各处理 20 min；紫外光处理，在距紫外灯 10 cm 处分别照射 20 min、40 min、60 min，以上两个对照为不处理的沉淀物。酸碱度处理，将 pH 为 3、5、7(对照)、9、11 酸碱液分别与拮抗物 1 : 1 混合 30 min。蛋白酶处理，取稀释 10 倍的蛋白酶 K、胃蛋白酶和胰蛋白酶与拮抗物以 1 : 1 混和，37 ℃ 反应 30 min。盐处理，2 mol · L<sup>-1</sup>、0.5 mol · L<sup>-1</sup>、0.1 mol · L<sup>-1</sup>、0.02 mol · L<sup>-1</sup>[NaCl] 液体与拮抗物以 1 : 1 混合反应 30 min。上述 3 个处理的对照均为无菌水。

2 结果与分析

2.1 B96-II 对芦笋茎枯病菌菌丝生长的抑制作用

B96-II 在稀释 50 倍到 1 600 倍时对芦笋茎枯病菌菌丝生长均有明显抑制作用。处理 7 d 后茎枯病菌菌落不仅直径小，且菌丝稀疏，与对照比较密度

明显降低，降低程度随 B96-II 浓度增高而增高。以 35 d 时的生长速率与对照比较，生长速率抑制率均在 90% 以上，经统计分析 B96-II 所有处理与对照在 0.05 水平上差异显著(表 1)。

2.2 B96-II 对芦笋茎枯病的室内抑制作用

B96-II 对芦笋茎枯病具有明显抑制作用。无论接菌前处理，还是接菌后处理，芦笋茎枯病菌菌丝稀少，病斑面积小，而对照病斑多，面积大，甚至连片。解剖镜下观察，对照菌丝体茂密成团，茎杆泛黄，B96-II 处理的菌丝体稀少，茎杆新鲜翠绿(表 2)。

2.3 B96-II 对芦笋茎枯病的田间防治效果

经调查，B96-II 灌根 2 次茎枯病明显降低，30 d 的防治效果为 93.40%，多菌灵处理为 65.12%，与对照比较在 0.05 水平内差异显著。同时 B96-II 处理具有良好的持效性，120 d 时，防治效果为 40.84%，比多菌灵高 25.20%。另外，B96-II 对芦笋植株有明显的促生效果，B96-II 处理区芦笋植株高大茂密，每株平均茎数 28.60，对照区芦笋低矮稀疏，每株平均茎数 13.80(表 3)。

2.4 B96-II 对芦笋茎枯病菌的抑菌现象观察

显微观察发现：B96-II 对芦笋茎枯病菌孢子产生和形成具有强烈的抑制作用。处理视野内孢子稀少，平均为 2.9 个，而对照视野内孢子多而清晰，平均 715.3 个，处理与对照比较孢子抑制率为 99.60%；B96-II 处理后不仅孢子数量锐减，且菌丝生长受到极大抑制，菌丝短而分支少，菌丝膨大或破裂的居多；另外，B96-II 处理后可导致菌丝和孢子严重破损，视野内杂质多，被溶解的孢子痕和残体多(图 1)。

表 1 B96-II 对芦笋茎枯病菌菌丝生长的抑制作用  
Tab. 1 Inhibition effect of antagonistic strain B96-II to mycelial growth of *P. asparagi*

B96-II 浓度 B96-II concentration	菌落直径 Colony diameter (cm)						生长速率 Growth rate (cm · d <sup>-1</sup> )	抑制率 Inhibition rate (%)
	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d		
50 倍 50 folds	0	0.16	0.32	0.55	0.77	1.08a	0.03	97.37
100 倍 100 folds	0	0.20	0.35	0.65	0.95	1.43b	0.04	96.49
200 倍 200 folds	0.05	0.28	0.49	0.88	1.32	1.72c	0.05	95.61
400 倍 400 folds	0.08	0.31	0.45	0.89	1.34	1.74c	0.05	95.61
800 倍 800 folds	0.09	0.39	0.64	1.11	1.61	2.24d	0.06	94.74
1 600 倍 1 600 folds	0.41	0.52	0.84	1.54	2.14	2.89e	0.08	92.98
CK	3.21	7.45	14.9	22.35	29.8	39.76f	1.14	—

数据后不同小写字母表示差异显著，下同。Different small letters following the data mean significant difference. The same below.

表 2 B96-II 对芦笋茎枯病的室内离体防治试验结果  
Tab. 2 Control effect on *P. asparagi* on asparagus stem cutting of B96-II in *in vitro* experiment

处理 Treatment	病斑/皿 Spots/plate	病斑面积 Area of spots (cm <sup>2</sup> )	抑制率 Inhibition rate (%)
B96-II(1)	1.60	0.32	95.60
B96-II(2)	2.00	0.40	94.40
CK	9.00	7.20	—

表 3 B96-II 对芦笋茎枯病的田间防治效果  
Tab. 3 Control efficiency of B96-II to *P. asparagi* in field trial

处理 Treatment	调查时间 Investigating time (d)	病茎率 Percentage of infected stems (%)			平均数 Mean	防治效果 Control efficiency (%)
		I	II	III		
B96-II	30	1.2	0	3.03	1.41a	93.40
多菌灵 Carbendazim	30	6.50	6.90	9.45	7.45a	65.12
对照 Control	30	15.51	19.15	29.41	21.36b	—
B96-II	120	26.67	41.30	30.43	32.80a	40.84
多菌灵 Carbendazim	120	43.18	57.14	40.00	46.77ab	15.64
对照 Control	120	62.07	40.63	63.64	55.44b	—

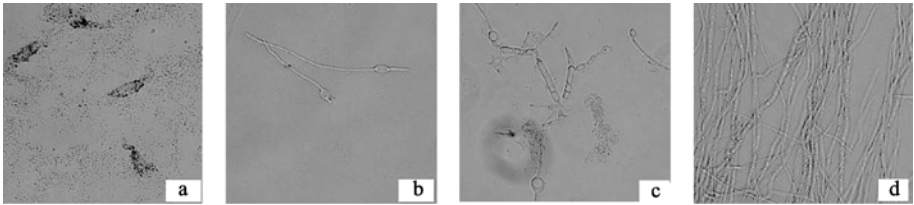


图 1 B96-II 处理后孢子及菌丝变化情况

Fig. 1 Inhibition effect of B96-II on *P. asparagi* spores(a,b) and mycelia(c,d)

a 处理后溶解的孢子 Spores treated with B96-II; b 对照孢子 Normal spores; c 处理后变形菌丝 Mycelia treated with B96-II; d 对照菌丝 Normal mycelia.

表 4 B96-II 处理后芦笋茎枯病菌菌液电导率和总溶解固体的变化(24 h)

Tab. 4 Changes of conductivity and total dissolved solid of *P. asparagi* inoculum after treated with B96-II for 24 h

B96-II 浓度 B96-II concentration	菌液电导率 Conductivity of <i>P. asparagi</i> inoculum		总溶解固体 Total dissolved solid	
	测量值 Measured value ( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	提高 Increase (%)	测量值 Measured value ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	提高 Increase (%)
CK	2 025–1 905=120	—	1 431–1 499=68	—
100 倍 100 folds	2 120–1 943=177	47.50	1 523–1 471=52	176.10
50 倍 50 folds	2 240–2 020=220	83.33	1 546–1 470=76	221.50
20 倍 20 folds	2 393–2 080=313	161.08	1 727–1 546=181	366.90
10 倍 10 folds	2 560–1 818=742	518.33	1 826–1 354=472	797.60

2.5 B96-II 菌液处理茎枯菌液的电导率和总溶解固体含量

B96-II 处理 24 h 后菌液电导率和总溶解固体(TDS)比对照明显提高, 提高幅度随 B96-II 浓度增高而增高(表 4)。B96-II 浓度为 100 倍时, 溶液电导率比对照提高 47.50%, 总溶解固体提高 176.10%; B96-II 浓度升到 10 倍时, 电导率提高 518.33%, 总溶解固体提高 797.60%(表 4)。

B96-II 处理后, 同一浓度在 2 h、6 h、24 h 测定的电导率和总溶解固体呈规律性变化, 即随处理时间延长, 电导率不断增高, 总溶解固体也逐步上升。在同一时间内, 随 B96-II 浓度增高, 电导率和总溶解固体也在增高。在不含 B96-II 的对照中, 在前 6 h 电导率和总溶解固体出现负增长, 其原因是菌丝生长消化吸收了培养基内的物质, 使之数值比初始的空白液减少。到 24 h 时虽有回升, 但明显低于其他处理(图 2)。

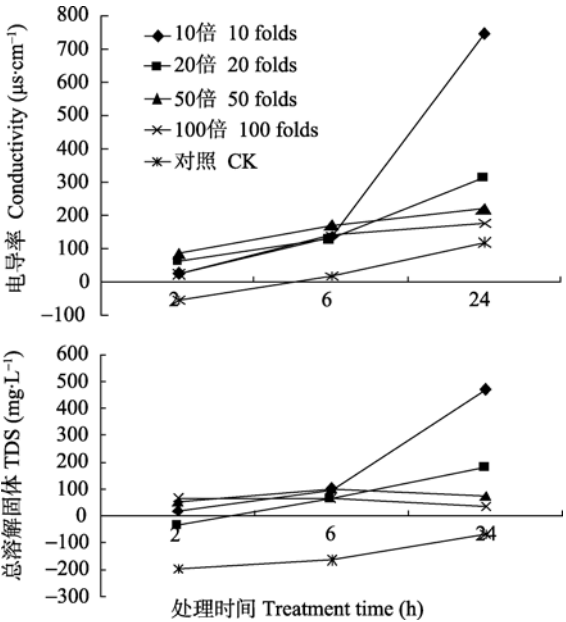


图 2 B96-II 菌处理不同时间后芦笋茎枯病菌菌液电导率和总溶解固体的变化

Fig. 2 Changes of conductivity and total dissolved solid (TDS) after treatment with B96-II

## 2.6 B96-II 对芦笋茎枯病菌呼吸抑制率测定结果

处理后 24 h 测定表明, B96-II 处理后溶解氧浓度较对照明显提高。其中 100 倍、50 倍、20 倍、10 倍处理的溶解氧分别为 3.50%、4.20%、4.60% 和 8.30%, 较对照的 2.80% 分别提高 25.00%、50.00%、64.30% 和 196.40%, 幅度随处理浓度而变化, 即 B96-II 浓度越高菌液中溶解氧越高, 菌丝的耗氧量越低, 对菌丝的呼吸抑制率越高。

## 2.7 B96-II 拮抗物活性测定结果

经活性测定, 45%、65%、85% 硫酸铵浓度所得沉淀物对芦笋茎枯病菌有抑菌作用, 抑菌带半径分别为 0.3 cm、0.6 cm、0.5 cm, 菌落半径分别为 1.7 cm、1.4 cm、1.5 cm, 与对照比较 7 d 的抑制率分别为 51.90%、61.10% 和 58.30%。B96-II 拮抗物稳定性研究发现 40~60 处理对其活性没有影响, 120 时则完全失活; 紫外光对活性影响很小, 60 min 处理活性降低 10%; 盐浓度对活性基本没有影响, 最高浓度  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理后, 活性降低 8.60%; 酸碱度对其影响明显; 在 3 种蛋白酶, 即蛋白酶 K、胰蛋白酶、胃蛋白酶的作用下活性基本丧失。故分析认为 B96-II 抑菌物主要是拮抗蛋白。

## 3 小结与讨论

试验表明, 芽孢杆菌 B96-II 对芦笋茎枯病菌具有明显的抑制作用。平皿 1 600 倍对菌落生长抑制率为 92.98%, 室内离体组织培养对菌斑的抑制率为 94.40%, 田间防治效果为 93.40%。显微观察发现, B96-II 对芦笋茎枯病菌孢子产生和形成具有强烈的抑制作用, 处理后显微观察, 视野内孢子稀少, 平均为 2.9 个, 而对照平均 715.3 个, 处理与对照比较孢子抑制率为 99.60%; B96-II 处理后不仅孢子锐减, 且菌丝生长受到极大抑制, 表现为菌丝短而分支少, 菌丝膨大或破裂居多。此外, B96-II 处理后可导致菌丝和孢子严重破损, 显微观察视野内杂质多, 被溶解的孢子痕和残体多。通过电导率仪测定, B96-II 处理后茎枯病菌溶液电导率和总溶解固体比对照明显增高, 说明菌丝细胞壁和细胞膜受到破坏, 电解质外渗。真菌细胞壁作为真菌和周围环境的分界面, 起着保护细胞的作用, 同时细胞壁是一些酶的保护场所, 调节营养物质的吸收和代谢产物分泌。真菌细胞壁的主要成分有葡聚糖、纤维素、几丁质、聚氨基葡萄糖、甘露聚糖、蛋白质、脂类和无机离子等。真菌细胞壁结构包括最外层的无定形葡聚糖、糖蛋白形成的粗糙的网、蛋白质层和质膜。进入真菌的离子和分子必须通过细胞壁和质膜, 细胞壁本身是多孔的, 一般情况下允许离子和分子通过, 而

质膜是半透性的膜, 自身可以调节溶质运输到细胞中<sup>[9]</sup>。正常而有活力的细胞能进行主动的消化吸收, 使基质中的营养物有规律减少, 由于拮抗菌的作用, 使细胞壁和膜受到破坏, 电解质外渗, 使溶液中总溶解固体增多, 电解质增多, 电导率增高。本实验室前期的研究表明, B96-II 抑制物内有几丁质酶<sup>[10]</sup>。许多病原真菌细胞壁含有几丁质, 很多芽孢杆菌一般能产生一种或多种几丁质酶, 在细胞壁分解方面起到了积极作用<sup>[2]</sup>。陈雪丽等研究表明<sup>[11]</sup>, 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 的无菌代谢产物抑制黄瓜尖孢镰刀菌和番茄枯萎病菌分生孢子和菌丝生长。其生防机制主要是分泌拮抗物质。当然作为生防芽孢杆菌的防病机制除拮抗作用还有竞争作用和诱导植物抗病性作用。本实验室前期研究表明<sup>[5]</sup>, B96-II 对芦笋保护酶具有积极的激活和诱导作用, 灌根后 30 d 测定 SOD、CAT、POD、PPO、PAL 5 种酶活性大幅度提高。通过观察测定得知, B96-II 可一定程度上抑制菌丝的呼吸; 通过电导率和电解质测定可一定程度上诠释 B96-II 对芦笋茎枯病菌的溶解和细胞破损作用的存在。

## 参考文献

- [1] 周倩. 芦笋无公害高产栽培[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 59-62
- [2] 陈中义, 张杰, 黄大昉, 等. 植物病害生防芽孢杆菌抗菌机制与遗传改良研究[J]. 植物病理报, 2003, 33(2): 97-103
- [3] 高芬, 马利平, 乔雄梧, 等. 蜡质芽孢杆菌 BC98- 发酵液与抑菌粗提物对黄瓜枯萎病菌的抑菌特性研究[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 198-192
- [4] 高芬, 郝变青, 马利平, 等. 防治蔬菜枯萎病的芽孢杆菌对植物体内酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(1): 38-40
- [5] 马利平, 郝变青, 秦曙, 等. 芽孢杆菌 B96-II 对芦笋茎枯病的防治及机制研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(2): 180-184
- [6] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1990: 161-162
- [7] 陈涛. 生物农药检测及其原理[M]. 北京: 农业大学出版社, 1993: 230-240
- [8] 童有仁, 马志超, 陈卫良, 等. 枯草芽孢杆菌 B034 拮抗蛋白的分离纯化及特性分析[J]. 微生物学报, 1999, 39(4): 339-343
- [9] 邢来君, 李明春. 普通真菌学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 28-50
- [10] 马利平, 乔雄梧, 高芬, 等. B96-II 对 3 种枯萎病的防治效果及拮抗物质初步分析[J]. 华北农学报, 2006, 21(4): 99-102
- [11] 陈雪丽, 王光华, 金剑, 等. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 446-450