

解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌的 抗生作用

朱 娜, 张树武*, 徐秉良*, 刘 佳

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要 为明确解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌的抗生作用, 采用平板对峙法和菌丝生长速率法以及孢子萌发法测定了解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌菌落生长和孢子萌发的抑制作用。结果表明: 菌株 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌具有显著的抑制作用, 其菌液对病菌的抑制率高达 70.4%; 其发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制率随着发酵液浓度的增加而升高, 尤其当发酵液浓度为 15% 时, 其抑菌率为 59.0%; 发酵液处理苹果炭疽叶枯病菌孢子 24 h 后, 其萌发抑制率与芽管生长抑制率分别为 78.2% 与 64.3%, 且芽管出现畸形; 利用 TS-1203 发酵液处理苹果离体叶片后接种炭疽叶枯病菌, 其防效为 70.1%。综合分析表明, 解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌具有良好的抑制作用。

关键词 苹果炭疽叶枯病菌; 解淀粉芽胞杆菌; 菌落生长; 孢子萌发; 抑制作用

中图分类号: S 436.611.12 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2020174

Inhibitory effects of *Bacillus amyloliquefaciens* TS-1203 on *Glomerella cingulata*

ZHU Na, ZHANG Shuwu*, XU Bingliang*, LIU Jia

(College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Biological Control Engineering Laboratory of
Crop Diseases and Insect Pests in Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract The inhibitory effect of *Bacillus amyloliquefaciens* TS-1203 on the mycelial growth and spore germination of *Glomerella cingulata* were studied by using confrontation method, mycelial growth rate method and spore germination method. The results showed that the strain TS-1203 had a significant inhibitory effect on *G. cingulata*. The inhibitory rate was as high as 70.4%. The inhibitory rate of its fermentation broth on *G. cingulata* increased with increasing fermentation broth concentration. At the concentration of 15%, the inhibition rate was 59.0%. After treatment with the fermentation broth for 24 h, the inhibitory rates of germination and germ tube growth were 78.2% and 64.3%, respectively, with deformed germ tubes. The application of TS-1203 fermentation broth treated leaves before inoculation with *G. cingulata* *in vitro*, showed the control effect of 70.1%. Our results indicate that *B. amyloliquefaciens* TS-1203 had significant inhibitory effect on *G. cingulata*.

Key words *Glomerella cingulata*; *Bacillus amyloliquefaciens*; colony growth; spore germination; inhibitory effect

苹果炭疽叶枯病(*Glomerella* leaf spot)是苹果树近年来严重发生的一种病害^[1]。1988 年, Leite 等^[2]首次报道该病害是由病原菌有性态围小丛壳 *Glomerella cingulata*, 无性态胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 引起。该病害主要发生在

‘金冠’、‘嘎啦’和‘乔纳金’等苹果品种的叶片上, 还可危害‘金冠’、‘富士’和‘秦冠’等品种的果实^[3-4]。同时, 该病害的病原菌寄主范围较广, 可侵染 1 000 多种植物^[5], 发生严重时可导致苹果树叶片快速干枯脱落, 果面形成大量褐色圆形小斑点, 导致严重减

收稿日期: 2020-04-06

修訂日期: 2020-05-21

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0201100); 甘肃农业大学人才专项经费(2017RCZX-07); 甘肃农业大学国家重点实验室开放基金(GSCS-2017-1)

* 通信作者 E-mail: 张树武 zhangsw704@126.com; 徐秉良 xubl@gsau.edu.cn

产和经济损失^[6-7]。目前,国内外有关苹果炭疽叶枯病的防治已有报道,主要以化学防治为主^[8-9]。宋梁栋等^[10]研究发现波尔锰锌与代森锰锌对苹果炭疽叶枯病防效理想。韩文启等^[11]发现波尔多液,溴菌腈与甲基硫菌灵与吡唑醚菌酯对苹果炭疽叶枯病具有很好防效。但随着化学药剂长时间的大量使用,病原菌抗药性的产生,导致防治效果大幅降低。Spalding 等^[12]研究发现芒果炭疽菌对苯菌灵产生高水平抗性;陈聘等^[13]报道浙江省葡萄炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 对甲基硫菌灵与乙霉威产生了严重的抗性。同时,化学杀菌剂的长期大量使用造成的农药残留和生态环境污染问题也很严重^[14]。

鉴于化学防治存在的不足,急需寻求安全且对苹果炭疽叶枯病高效的防治措施。因此,生物防治已成为国内外苹果炭疽叶枯病防治研究的新趋势。张颖等^[15]研究表明,水杨酸可通过提高叶片中防御酶活性以及调节 SA 信号途径相关基因的表达量,诱导‘嘎啦’苹果叶片对炭疽叶枯病的抗性。朱学明等^[16]的研究结果表明,内生放线菌 A-1 对苹果炭疽叶枯病的防效达 70.42%,但是目前应用生防菌对苹果炭疽叶枯病的防治主要集中于诱导寄主产生抗病性,而且报道较少。因此,本试验通过生防菌株解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 对苹果炭疽叶枯病菌菌落及孢子萌发抑制作用的室内和离体测定,旨在为苹果炭疽叶枯病的生物防治提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试病原菌和生防菌:苹果炭疽叶枯病菌 *Glomerella cingulata* 和解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* (TS-1203)均由甘肃农业大学植物保护学院植物病理学实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 TS-1203 菌液与发酵液制备

参考侯宝宏等^[17]的方法。将 NA 培养基上活化 24 h 的 TS-1203 菌株取一环接种于 100 mL NB 培养液中,置于黑暗,28℃,180 r/min 振荡培养 12 h 后获得种子液。取 5 mL 种子液接种于无菌 NYBD 培养基中,置于黑暗,28℃,180 r/min 振荡 48 h 后得到菌液。发酵产物经 4℃ 10 000 r/min,离心 30 min,2 次离心后将上清液用无菌的微孔滤膜过滤器(孔径 0.22 μm)过滤 2 次,最终获得液体为发酵液无菌原

液,4℃ 保存待用。

1.2.2 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

采用滤纸片扩散法测定 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌抑制活性。将直径为 5 mm 的滤纸片经 121℃ 灭菌 25 min 后干燥备用。然后,将经灭菌的滤纸片置于 TS-1203 菌液中浸泡,待其完全浸湿后置于无菌超净工作台中晾干备用。同时,将 25℃ 光照条件下培养 5 d 的苹果炭疽叶枯病菌菌饼($d=0.5$ cm)接种于 PDA 培养基中央,沿菌饼四周等距离(距菌饼 2 cm 处)放置 4 个浸有菌液的滤纸片,并置于 25℃,L//D=16 h//8 h 光照培养箱中培养。试验以等距离浸有等量无菌水的滤纸片作为对照,且每个处理和对照均为 3 个重复。培养 24、48、72、96 h 后采用“十字交叉法”测定苹果炭疽病菌的菌落直径,并计算其抑菌率。培养 96 h 后,挑取处理和对照中的苹果炭疽病菌的菌丝,比较和观察其形态特征。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - 0.5} \times 100\%。$$

1.2.3 不同浓度 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

采用菌落生长速率法测定。取 0.1、0.2、0.5、1、2、3 mL 发酵原液,分别加入 19.9、19.8、19.5、19.18、17 mL 未冷却的 PDA 中,其终浓度分别为 0.5%、1%、2.5%、5%、10%、15%。在病原菌菌落边缘打取菌饼($d=0.5$ cm)将其接种于上述培养基中央,在 25℃ 下光照培养。以加入与发酵原液等量无菌水的 PDA 培养基为对照,每处理 3 次重复。培养 5 d 后采用十字交叉法测量菌落直径,计算其抑菌率。

1.2.4 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌孢子萌发的影响

用无菌水将炭疽叶枯病菌的分生孢子配制成 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液备用。然后,将孢子悬浮液与发酵原液按 1:1 的比例混匀,取 60 μL 均匀涂布于水琼脂培养基,置于 25℃ 光照培养箱中培养,以孢子悬浮液与无菌水按 1:1 的比例混匀为对照,分别于处理后 6、12、18、24 h 观察分生孢子形态,计算萌发抑制率及芽管生长抑制率^[18]。试验共设置 3 个重复,每个重复观察 5 个视野。

1.2.5 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

选取‘富士’苹果树枝条前端完全展开的叶片,

用1%次氯酸钠溶液进行表面消毒30 s,无菌水冲洗2~3次,在超净工作台上自然晾干,用滴有无菌水的无菌脱脂棉包裹叶柄基部。于叶面(直径5 mm的圆形区域内)采用“针刺法”进行伤口处理,刺伤部位避开叶片主脉,将发酵液均匀涂抹在叶片表面待风干后将培养好的苹果炭疽叶枯病菌菌饼($d=5\text{ mm}$)接种于伤口处,试验设无菌水处理作为对照,每个处理3个重复,于25℃光照培养箱中培养,接种后观察病斑扩展情况。接种5 d后采用“十字交叉法”测量病斑大小,并计算抑制率^[19]。

抑制率= $\frac{\text{对照病斑直径}-\text{处理病斑直径}}{\text{对照病斑直径}} \times 100\%$ 。

1.3 数据处理

采用Excel 2010 软件对数据进行统计分析,并采用SPSS软件和Duncan氏新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

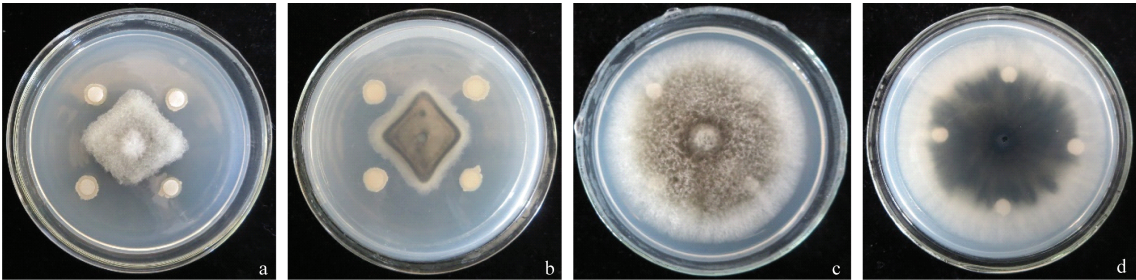
与对照相比,TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌

具有显著的抑制作用(图 1)。处理 24 h 时,TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌的抑菌率为 62.5%,随着时间延长抑菌率显著增加,处理 96 h 的抑制率为 70.4%(表 1),苹果炭疽叶枯病菌菌落生长至靠近滤纸片后菌丝停止向滤纸片方向生长(图 1a 和 b),而对照菌落生长正常,近乎长满整个培养皿(图 1c 和 d)。

培养 96 h 后挑取处理组菌丝及对照菌丝观察发现,对照菌丝生长正常(图 2a),而 TS-1203 菌液处理组菌丝出现畸形膨大(图 2b)和部分消解断裂(图 2c)。

2.2 不同浓度 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

不同浓度 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌生长具有显著的抑制作用,而且随着浓度的增加其抑制作用显著增加(图 3)。与对照相比,经浓度为 0.5%、1%、2.5%、5%、10%、15%的 TS-1203 发酵液处理 5 d 后的病原菌菌落直径均显著小于对照,随着浓度增加其菌落直径显著减小,不同浓度之间存在显著差异。当 TS-1203 发酵液浓度为 15%时,对苹果炭疽叶枯病菌抑菌率最高,为 59.0%(表 2)。



a~b: TS-1203菌液处理的菌落正面和反面; c~d: 对照菌落正面与反面
a and b are the front and reverse colonies of *G. cingulata* after treated with TS-1203 bacterial liquid; c and d are the front and reverse colonies of *G. cingulata* in the control group

图 1 培养 96 h 后 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌菌落生长的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effects of TS-1203 bacterial liquid on the growth of *Glomerella cingulata* after 96 h

表 1 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌菌落生长的抑制率¹⁾

Table 1 Inhibitory rates of TS-1203 bacterial liquid on the growth of *Glomerella cingulata*

时间/h Time	菌落直径/cm Colony diameter		抑制率/% Inhibitory rate
	处理 Treatment	对照 Control	
24	0.8±0.43	1.3±0.57	62.5 c
48	1.5±0.36	3.4±0.45	65.5 c
72	2.1±0.45	5.5±0.64	68.0 b
96	2.6±0.35	7.6±0.65	70.4 a

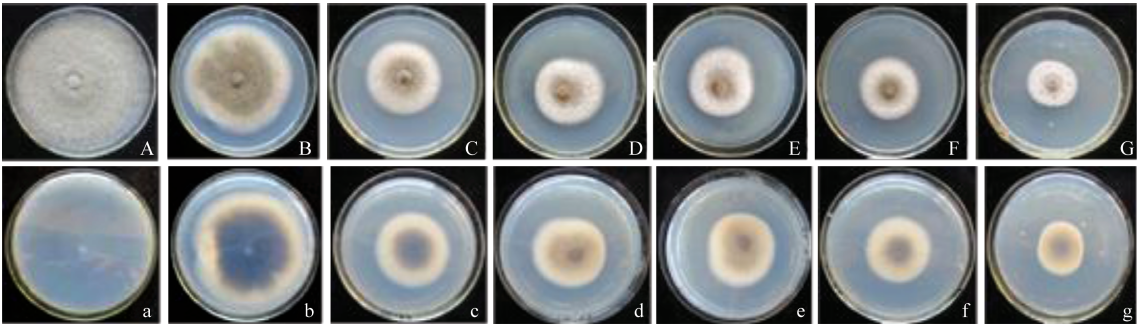
1) 同列不同小写字母表示 0.05 水平差异显著。下同。
Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 level. The same applies below.



a: 对照病原菌菌丝; b~c: TS-1203菌液处理的病原菌菌丝
a: The hyphal characteristics of the control; b~c: The hyphal characteristics after treated with TS-1203 bacterial liquid

图 2 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌菌丝形态的影响(40×)

Fig. 2 Effects of TS-1203 bacterial liquid on the hyphal characteristics of *Glomerella cingulata* (40×)



A~G: 分别为培养5 d后对照、0.5%、1%、2.5%、5%、10%、15%发酵液处理的菌落正面生长情况; a~g: 菌落背面生长情况
A~G: Front colonies of *Glomerella cingulata* in the control group and treated by 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 10%, 15% fermentation broths after cultured for five days; a~g: Reverse colonies

图 3 培养 5 d 后不同浓度 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌生长的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effects of TS-1203 fermentation broth at different concentrations on the growth of *Glomerella cingulata* after five days

表 2 不同浓度 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌菌落生长的抑制效果¹⁾

Table 2 Inhibitory effects of TS-1203 fermentation broth at different concentrations on colony growth of *Glomerella cingulata*

发酵液浓度/% Concentration of TS-1203 fermentation broth	菌落直径/cm Colony diameter	抑菌率/% Inhibitory rate
0.5	(7.0±0.48)b	21.7 f
1.0	(6.4±0.46)c	28.9 e
2.5	(5.4±0.38)d	41.0 d
5.0	(4.8±0.23)e	48.2 c
10.0	(4.5±0.37)f	51.8 b
15.0	(3.9±0.28)g	59.0 a
CK	(8.8±0.20)a	—

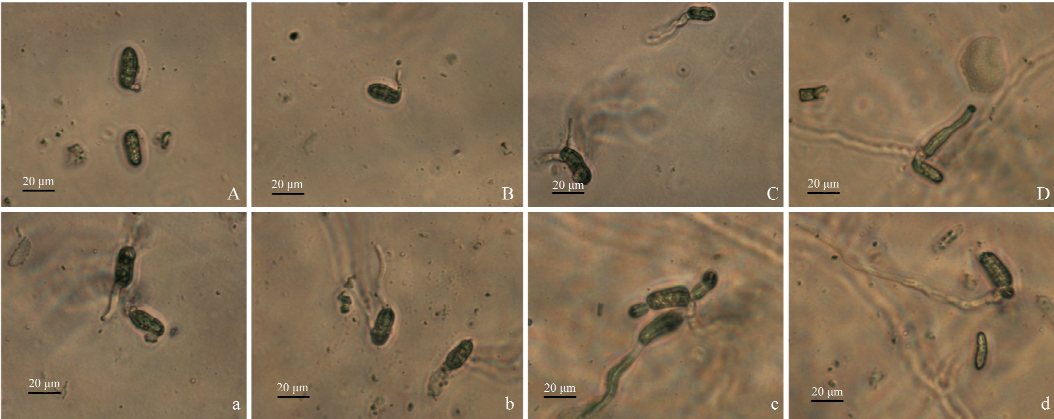
1) 菌落直径均为处理 5 d 后所得的数据,CK: 以等量无菌水作为对照。
The colony diameters are obtained at the 5th day after treatment; the same amount of sterile water is used as the control.

2.3 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌孢子萌发及芽管长度的影响

TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌分生孢子萌发和芽管的生长具有明显的抑制作用。显微观察发现,发酵原液处理 6 h 后分生孢子开始萌发,但芽管的生长受到显著抑制(图 4A),而无菌水对照处理的孢子芽管长度是发酵原液处理的 2 倍(图 4a)。发酵原液处理 12 h 后,孢子与对照处理(图 4b)相比芽管生长缓慢(图 4B)。随着处理时间增加,发酵液处理

与无菌水处理的孢子萌发率和芽管长度均增加,但发酵原液处理 18 h 后,病原菌的芽管明显受到了抑制(图 4C),而对照芽管生长正常(图 4c)。发酵原液处理 24 h 后,病原菌芽管出现粗细不均、生长缓慢的现象(图 4d),而无菌水处理的芽管生长速度较快且生长正常(图 4d)。

处理 6、12、18 和 24 h 后,发酵原液对病原菌孢子萌发的抑制率均高于 60%,其中处理 6 h 的孢子萌发抑制率最低,为 66.7%;处理 12 h 和 18 h 的孢



Λ-D分别为发酵原液处理6、12、18、24 h;a~d: 无菌水处理后6、12、18、24 h
Λ-D: 6, 12, 18, 24 h after treated with TS-1203 fermentation broth;a~d: 6, 12, 18, 24 h after treated with sterile water

图 4 TS-1203 发酵原液对苹果炭疽叶枯病菌芽管生长的影响

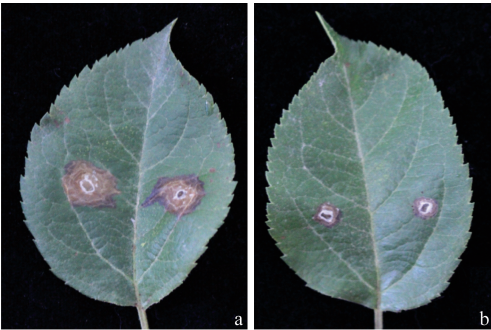
Fig. 4 Effects of TS-1203 fermentation broth on the growth of *Glomerella cingulata* germ tubes

子萌发抑制率分别为 68.2%和 72.4%,处理 24 h 后孢子萌发抑制率最高,达 78.2%(表 3)。随着处理时间增加,对芽管生长抑制率逐渐增大,处理 24 h 后芽管生长抑制率最高,为 64.3%(表 4)。

2.4 TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的抑制作用

经 TS-1203 发酵液处理的苹果离体叶片接种炭疽叶枯病菌后保湿培养 3 d 后,苹果叶片均未出现明显病斑,5 d 后苹果叶片发病但病斑面积较小,且扩展缓慢。而以无菌水作为对照处理的苹果叶片发病较快,接种 3 d 后叶片出现褐色病斑,发病率为 100%,5 d 后出现不规则形褐色坏死斑,病斑直径为 18.4 mm;TS-1203 发酵原液处理组发病轻且缓慢,5 d 后病斑直径仅 5.5 mm(图 5,表 5)。同时,与对照相比,处理 5 d 后,TS-1203 发酵原液对苹果炭疽

叶枯病菌的抑制率高达 70.1%(表 5)。



a: 无菌水处理; b: 发酵液处理
a: Lesion characteristics of the control; b: Lesion characteristics after treated with TS-1203 fermentation broth

图 5 菌株 TS-1203 发酵液在离体叶片上对苹果炭疽叶枯病菌的抑制效果

Fig. 5 Inhibitory effects of TS-1203 fermentation broth on the growth of *Glomerella cingulata* in vitro

表 3 TS-1203 发酵原液处理不同时间对苹果炭疽叶枯病菌分生孢子萌发的影响

Table 3 Effects of TS-1203 fermentation broth on the germination of *Glomerella cingulata* conidia at different time points

时间/h Time	萌发率/% Germination rate		孢子萌发抑制率/% Inhibitory rate
	处理 Treatment	对照 Control	
6	(2.3±0.19)d	(6.9±0.39)d	66.7 c
12	(6.1±0.29)c	(19.2±0.43)c	68.2 c
18	(17.6±0.35)b	(63.8±1.64)b	72.4 b
24	(21.3±0.61)a	(97.9±0.58)a	78.2 a

表 4 TS-1203 发酵原液处理不同时间对苹果炭疽叶枯病菌芽管长度的影响

Table 4 Effects of TS-1203 fermentation broth on the germ tube length of *Glomerella cingulata* at different time points

时间/h Time	芽管长度/μm Germ tube length		抑制率/% Inhibitory rate
	处理 Treatment	对照 Control	
6	(14.7±0.86)d	(26.8±1.04)d	45.1 c
12	(21.7±1.21)c	(54.1±1.70)c	59.9 b
18	(46.2±1.84)b	(118.8±2.26)b	61.1 b
24	(60.4±1.59)a	(169.4±2.81)a	64.3 a

表 5 TS-1203 发酵液对离体叶片上苹果炭疽叶枯病菌生长的抑制作用¹⁾

Table 5 Inhibitory effects of TS-1203 fermentation broth on the growth of *Glomerella cingulata* on apple leaves *in vitro*

处理 Treatment	病斑直径/mm Lesion diameter	抑制率/% Inhibition rate
发酵液处理 Fermentation broth treatment	(5.5±0.17)b	70.1
对照 Control	(18.4±0.22)a	—

1) 菌落直径均为处理 5 d 后所得的数据。
The colony diameters are obtained after five days.

3 讨论

解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 是一种安全且对逆境条件有良好耐受力和抵抗力的菌株^[20],它与枯草芽胞杆菌极为相似,可作为根围有益菌促进植物生长^[21-23]。同时也可以产生抗生素和抑菌蛋白等活性物质抑制植物病原菌。陈成等^[24]报道解淀粉芽胞杆菌 HN06 对黑曲霉 *Aspergillus niger*、稻瘟菌 *Magnaporthe oryzae*、水稻纹枯菌 *Rhizoctonia solani* 和苦瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *momdicae* 均有良好的抑制作用。陈士云等^[25]研究发现解淀粉芽胞杆菌菌株 CH-2 不仅可以抑制油菜核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 菌丝的生长,而且能抑制菌核的形成。解淀粉芽胞杆菌的抑菌机理主要包括抑制菌丝生长使其菌丝畸形消融、变细,原生质体渗漏,以及抑制孢子萌发^[26]。

关于解淀粉芽胞杆菌的抑菌作用,刘超等^[27]报道解淀粉芽胞杆菌菌株 BA-26 使灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 菌丝生长受阻、膨大变粗、并能抑制其孢子萌发。本研究发现解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 菌液对苹果炭疽叶枯病菌具有显著地抑制作用(70.1%);显微观察发现病原菌菌丝出现畸形、膨大、缢缩、断裂等现象,表明解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 可通过接触病原菌菌丝使其菌丝不能正常生长从而达到抑制病原菌的作用。TS-1203 发酵液对苹果炭疽叶枯病菌的孢子萌发以及芽管生长均具有显著的抑制作用,且抑制率随着发酵液浓度的增加而上升。不同时间段显微观察发现,TS-1203 发酵液可导致病菌分生孢子萌发时间延迟、萌发率降低,芽管畸形、生长缓慢。随着萌发时间的延长,孢子的萌发抑制率与芽管的生长抑制率也显著增加。说明菌株 TS-1203 发酵液可通过抑制病原菌的孢子萌发及生长达到抑制病原菌的目的。李扬等^[28]发现解淀粉芽胞杆菌 ZJ01 对枣黑斑病菌 *Alternaria alternata* 的抑制率达

到 53.3%,且发酵液处理过的病原菌菌丝出现了顶端膨大、原生质割裂、孢子萌发受抑制等现象。

另外,在芽胞杆菌对病斑扩展的抑制作用研究中,纪兆林等^[29]发现地衣芽胞杆菌 *Bacillus licheniformis* W10 对炭疽病菌菌丝生长、分生孢子萌发都有明显的破坏或抑制作用,且对病斑扩展具有明显的抑制作用。本试验中 TS-1203 发酵液处理苹果树离体叶片并接种病原菌后发病迟缓且发病较轻,说明解淀粉芽胞杆菌可以有效地抑制植物病原菌的侵染并对离体叶片上的病斑扩展有显著的抑制作用。

因此,本试验研究发现解淀粉芽胞杆菌 TS-1203 菌株及其发酵液对苹果炭疽叶枯病菌具有显著的抑制作用,研究结果为后期的生物防治提供了基础,但是对 TS-1203 菌株的抑菌机理和抑菌活性物质的研究及 TS-1203 菌株在田间防治苹果炭疽叶枯病尚需进一步研究。

参考文献

[1] 李保华,王彩霞,董向丽. 我国苹果主要病害研究进展与病害防治中的问题[J]. 植物保护, 2013, 39(5): 46-54.

[2] LEITE J R P, TSUNETA M, KISHINO A Y. Occurrence of *Glomerella* spots in apples at the state of Parana, Brazil [Portuguese] [M]. Informe da Pesquisa-Fundacao Instituto Agromonico do Parana (Brazil), 1988; 81.

[3] GONZÁLEZ E, SUTTON T B. First report of *Glomerella* leaf spot (*Glomerella cingulata*) of apple in the United States [J]. Plant Disease, 1999, 83(11): 1074.

[4] WANG C X, ZHANG Z F, LI B H, et al. First report of *Glomerella* leaf spot of apple caused by *Glomerella cingulata* in China [J]. Plant Disease, 2012, 96(6): 912.

[5] PHOULIVONG S, CAI Lei, CHEN Hang, et al. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits [J]. Fungal Diversity, 2010, 44(1): 33-43.

[6] ARAUJO L, GONCALVES A E, STADNIK M J. Ulvan effect on conidial germination and appressoria formation of *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. Phytoparasitica, 2014, 42(5): 631-640.

[7] 董冰,李亮,王燕平,等. 浅谈苹果炭疽叶枯病的发生与防治[J]. 湖北植保, 2015(2): 33-34.

[8] 宋清,王素侠,杨春亮,等. 苹果炭疽菌叶枯病的研究初报[J]. 落叶果树, 2012, 44(2): 29-30.

[9] MCMILLIAN R T. Control of anthracnose and powdery mildew of mango with systemic and non-systemic fungicides [J]. Tropical Agriculture, 1973, 50(3):245-248.

[10] 宋梁栋,王雪莲,豆粉婷,等. 几种药剂对苹果炭疽叶枯病的防控效果[J]. 陕西农业科学, 2016, 62(11): 46-48.

[11] 韩文启,孙厚行,刘馨蔚,等. 7 种防治苹果炭疽叶枯病药剂的效果试验[J]. 落叶果树, 2018, 50(6): 49-51.

- [22] SONG Peiling, JEDRYCZKA M, IRZYKOWSKI W, et al. Efficient detection of *Leptosphaeria maculans* from infected seed lots of oilseed rape [J]. Journal of Phytopathology, 2016, 164(11/12): 1097–1104.
- [23] 周圆, 黄海龙, 李孝军, 等. 油菜茎基溃疡病菌 LAMP-LFD 检测方法的建立[J]. 植物检疫, 2016, 30(4): 32–37.
- [24] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [25] 国家认证认可监督管理委员会. 油菜茎基溃疡病菌检疫鉴定方法; SN/T 3685–2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [26] TAYLOR J L. A simple, sensitive, and rapid method for detecting seed contaminated with highly virulent *Leptosphaeria maculans* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3681–3685.
- [27] 易建平, 尚琳琳, 周国梁. 油菜茎基溃疡病菌的 PCR 检测方法 & 检测用引物; 201010142440. 2[P]. 2012–04–18.
- [28] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR Protocols: A guide to methods and applications. San Diego, California: Academic Press, 1990: 315–3226.
- [29] 李厚忠, 田新初, 贾振业, 等. 澳大利亚的油菜[J]. 世界农
- 业, 2001, 265(5): 31–33.
- [30] 邱泽森, 李旭. 澳大利亚的油菜生产[J]. 作物杂志, 2001, 17(2): 16–19.
- [31] 段维军, 严进, 蔡磊, 等. 我国进境植物检疫性菌物截获现状与展望[J]. 菌物学报, 2017, 36(10): 1311–1331.
- [32] HALL R, CHIGOGORA J L, PHILLIPS L G. Role of seed-borne inoculum of *Leptosphaeria maculans* in development of blackleg on oilseed rape [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1996, 18(1): 35–42.
- [33] 汪国平, 胡开林, JEDRYCZKA M. 波兰、英国油菜种子样本的健康测试及黑胫病原菌感染分析[J]. 华南农业大学学报, 2003, 24(4): 28–31.
- [34] 段维军, 段丽君, 陈先锋, 等. 进境乌克兰玉米中夹杂向日葵间座壳菌的鉴定[J]. 菌物学报, 2016, 35(12): 1503–1513.
- [35] 段维军, 段丽君, 郭立新, 等. 进境法国大麦中夹杂向日葵种子内大丽轮枝菌的种类鉴定[J]. 植物保护学报, 2018, 45(6): 1429–1430.
- [36] 李雪莲, 段维军. 进境美国大豆夹杂向日葵茎溃疡病菌的检疫鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(2): 292–297.
- [37] 李雪莲, 张慧丽, 段丽君, 等. 进境美国大豆夹杂向日葵黑茎病菌的检疫鉴定[J]. 植物保护学报, 2020, 47(3): 685–686.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 51 页)

- [12] SPALDING D H. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases [J]. Plant Disease, 1982, 66(1): 1185.
- [13] 陈聃, 时浩杰, 吴慧明, 等. 浙江省葡萄炭疽菌对甲基硫菌灵和戊唑醇的抗药性研究[J]. 果树学报, 2013, 30(4): 665–668.
- [14] MOREIRA R R, NESI C N, LARISSA M D M L. *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control *Glomerella* leaf spot [J]. Biological Control, 2014, 72: 30–37.
- [15] 张颖, 李保华, 李桂舫, 等. 外源水杨酸诱导苹果对炭疽叶枯病的抗性研究[C]//吴学宏. 植物病理学研究进展—中国植物病理学会第十二届青年学术研讨会论文选编. 北京: 中国农业大学出版社, 2015.
- [16] 朱学明, 史祥鹏, 雍道敬, 等. 内生放线菌 A-1 诱导苹果对炭疽叶枯病的抗性[J]. 植物生理学报, 2015, 51(6): 949–954.
- [17] 侯宝宏, 徐秉良, 郇町, 等. 抗苹果树腐烂病解淀粉芽孢杆菌 TS-1203 的抑菌活性物质稳定性及抑菌谱测定[J]. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(1): 80–86.
- [18] 吴良庆, 朱立武, 衡伟, 等. 砀山梨炭疽病原鉴定及其抑菌药剂筛选[J]. 中国农业科学, 2010, 43(18): 3750–3758.
- [19] 程智慧, 张坤, 王辉, 等. 大蒜鳞茎粗提液对黄瓜霜霉病的防治效果[J]. 北方园艺, 2010(11): 175–178.
- [20] 张纪忠, 黄静娟. 微生物分类学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1990.
- [21] 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.
- [22] CHEN Xiaohua, KOUNOUTSI A, SOHLZ R, et al. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth promoting bacterium *Bacillus aylooliquefaciens* FZB 42 [J]. Nature Biotechnology, 2007, 25(9): 1007–1014.
- [23] 王英国, 王军华, 权春善, 等. 解淀粉芽孢杆菌抗菌活性物质的分离纯化及抑菌活性研究[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(12): 41–45.
- [24] 陈成, 崔堂兵, 于平儒. 一株抗真菌的解淀粉芽孢杆菌的鉴定及其抗菌性研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 36–39.
- [25] 陈士云, 杨宝玉, 高梅影, 等. 一株抑制油菜核盘菌菌核形成的解淀粉芽孢杆菌[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(3): 373–376.
- [26] 陈楠楠, 秦平伟, 尹珺伊, 等. 解淀粉芽孢杆菌抗菌机制研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2018, 30(12): 1464–1469.
- [27] 刘超, 刘洪伟, 汪步青, 等. 解淀粉芽孢杆菌 BA-26 抗菌物质分离及对灰葡萄孢抑菌作用研究[J]. 生物技术通报, 2019, 35(7): 83–89.
- [28] 李扬, 张朝红, 于秋香, 等. 解淀粉芽孢杆菌 ZJ01 对枣黑斑病菌的抑制作用[J]. 河北农业科学, 2018, 22(4): 46–48.
- [29] 纪兆林, 凌尊, 张清霞, 等. 地衣芽孢杆菌对苹果轮纹病菌和炭疽病菌的抑制及其对贮藏期苹果轮纹病的防治作用[J]. 果树学报, 2008, 25(2): 69–74.

(责任编辑: 杨明丽)