

抗辣椒炭疽病菌盘长孢状刺盘孢的木霉菌的筛选

李叶彤^{1,2}, 马玉坤^{1,2}, 杨仕佳^{1,2}, 李玉¹, 朱兆香^{1*}

1 吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118

2 吉林农业大学植物保护学院, 吉林 长春 130118

摘要: 本试验通过对峙培养法筛选出 28 株具有强拮抗能力和 15 株中等拮抗能力的木霉菌。使用玻璃纸培养法进一步复筛出 6 株木霉菌(104、393、424、402、451 和 123T), 其非挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢的抑制率高达 92%以上。通过平板对峙培养法发现木霉菌 424 (*Trichoderma atroviride*)以及 123T (*T. paratroviride*)的挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢也具有抑制作用, 抑制率分别为 57.12%和 60.43%。试验还对 9 个辣椒品种进行了盘长孢状刺盘孢的果实致病性评价, 发现红尖椒属于高度易感病品种。在对该品种进行针尖刺伤法处理后, 喷施木霉菌 424 和 123T 的分生孢子悬浮液后可以提高其对病菌的抗性。此外, 试验还发现上述 2 株木霉菌的孢子悬浮液对辣椒种子萌发及幼苗生长具有促进作用, 其将辣椒种子的发芽率由 38.9%提高至 70.0%。同时, 辣椒幼苗经木霉菌分生孢子处理后, 株高、根长、茎粗、鲜重和干重分别增加了 52.5%、96.0%、104.0%、372.0%和 224.0%。综上所述, 本试验筛选的木霉菌 424 和 123T 能够充分发挥其生防能力, 为进一步开发辣椒炭疽病的生防制剂提供了重要理论依据。

关键词: 盘长孢状刺盘菌; 木霉菌; 拮抗能力; 促生作用; 生物防治

[引用本文]

李叶彤, 马玉坤, 杨仕佳, 李玉, 朱兆香, 2023. 抗辣椒炭疽病菌盘长孢状刺盘孢的木霉菌的筛选. 菌物学报, 42(12): 2374-2387
Li YT, Ma YK, Yang SJ, Li Y, Zhu ZX, 2023. Screening of antagonistic *Trichoderma* strains against *Colletotrichum gloeosporioides* in pepper. Mycosystema, 42(12): 2374-2387

资助项目: 科技部重点研发专项(2018YFE0107800)

This work was supported by the Key Project on Research and Development of Ministry of Science and Technology (2018YFE0107800).

*Corresponding author. E-mail: zhuzx1985@163.com

ORCID: ZHU Zhaoxiang (0000-0002-8330-918X)

Received: 2023-05-23; Accepted: 2023-07-07

Screening of antagonistic *Trichoderma* strains against *Colletotrichum gloeosporioides* in pepper

LI Yetong^{1,2}, MA Yukun^{1,2}, YANG Shijia^{1,2}, LI Yu¹, ZHU Zhaoxiang^{1*}

¹ Engineering Research Center of Edible and Medicinal Fungi of Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

² College of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

Abstract: Twenty-eight *Trichoderma* isolates with strong antagonistic abilities and 15 isolates with moderate antagonistic abilities were screened through dual culture assays. Further screen using cellophane filtration membrane method resulted in the acquirement of six *Trichoderma* strains (104, 393, 424, 402, 451, and 123T) having non-volatile secondary metabolites that demonstrated potent inhibitory effects against *Colletotrichum gloeosporioides*, with inhibition rates exceeding 92%. The inhibition rates of volatile secondary metabolites of *Trichoderma atroviride* 424 and *T. paratroviride* 123T against *C. gloeosporioides* were 57.12% and 60.43%, respectively. Pathogenicity evaluations of nine tested *Capsicum annuum* cultivars revealed high susceptibility. However, treatment of pepper fruits with needle puncture followed by spraying with spore suspensions of *Trichoderma* strains 424 and 123T significantly increased the resistance to *C. gloeosporioides*. The spore suspensions of these *Trichoderma* strains promoted pepper seed germination and seedling growth. The germination rate of seeds treated with 123T increased from 38.9% to 70.0%. Moreover, pepper seedlings treated with the spore suspensions of 424 and 123T exhibited significant increases in plant height, root length, stem thickness, fresh weight, and dry weight, with improvements of 52.5%, 96.0%, 104.0%, 372.0%, and 224.0%, respectively. *Trichoderma* strains 424 and 123T highlight the biocontrol potential against *C. gloeosporioides* and hopefully can be developed as biological control agents.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides*; *Trichoderma*; antagonistic ability; growth promotion; biological control

辣椒 *Capsicum annuum* L.为一年生或多年生草本植物，既是蔬菜也是重要的调味品原料，其年种植面积约为 2.13×10^6 hm²，是我国栽培面积最大的蔬菜作物之一(邹学校等 2020; 郑佳秋等 2023)。目前，我国主要以贵州、四川、江西及湖南等省份种植最为密集。辣椒营养丰富，是人们日常生活中最为常见的调味品。

近年来，炭疽病在我国多省暴发，给辣椒种植产业造成了重大经济损失。每年因辣椒炭疽病造成的生产损失在 13%–18%，在恶劣条件下可高达 50% (张明良 2000)。周传波(2008)研究表明，盘长孢状刺盘孢导致的果实炭疽病

已经成为海南省澄迈县白连镇辣椒产区的一大威胁，其危害程度占调查病果的 92%。盘长孢状刺盘孢 *Colletotrichum gloeosporioides* penz. & Sacc.是引起辣椒炭疽病的主要真菌病害之一，其隶属于子囊菌门 Ascomycota、粪壳菌纲 Sordariomycetes、小丛壳目 Glomerellales、小丛壳科 Glomerellaceae。辣椒植株病残体和种子上的菌丝体或分生孢子是导致胶孢炭疽病初次感染的主要源头，可侵染整个辣椒生长过程(姚剑等 2008)。如果没有有效的预防和控制措施，辣椒果实的收获量将急剧减少，最终可能出现绝收的局面。

目前,盘长孢状刺盘孢的防治主要以喷施化学药剂为主,给人类健康和环境带来了严重的负面影响。生物防治则是一种环境友好且有效的方法,可以减少病原菌对植物造成的损害,还可以在保持生产力的同时替代化学防治(Ryu *et al.* 2014; Rahman *et al.* 2023)。木霉菌被认为是最具有生防潜力的真菌物种之一,作为生物防治制剂,其被广泛应用于农业领域,以减少对化肥和农药的依赖(操一凡等 2019; Sood *et al.* 2020; Thambugala *et al.* 2020; 张慧等 2021)。市场数据显示,与木霉菌相关的生防制剂注册率高达 60% (Kuma & Khurana 2021)。近年来登记使用的可用于防治辣椒炭疽病的生防制剂较少(朱方宇等 2013; 莫佳强和麦接超 2018; 周建波等 2020),因此,开展木霉菌抗盘长孢状刺盘孢相关研究对辣椒种植业可持续生产和生态保护具有重要意义。

本试验通过筛选对盘长孢状刺盘孢具有较好拮抗能力的木霉菌株,证明了木霉菌可以通过竞争作用和抗生作用等机制抵御盘长孢状刺盘孢,试验为进一步研究并利用木霉菌进行辣椒炭疽病的生物防治提供了重要理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株及辣椒种子

木霉菌株: 100 株木霉菌(附表, 国家微生物科学数据中心 NMDCX0000233), 均由吉林农业大学菌物中心提供。

致病菌: 盘长孢状刺盘孢 *Colletotrichum gloeosporioides* 由吉林农业大学植物病理教研室提供。

1.1.2 辣椒种子

辣椒种子: 好再来 003, 长春鑫宇公司。

1.1.3 培养基

培养基: PDA 和 PDB 培养基参照方中达 (1979)的方法。

1.2 方法

1.2.1 不同木霉菌株对盘长孢状刺盘孢竞争作用的测定

采用平板对峙法, 分别将 100 株木霉菌菌丝块和盘长孢状刺盘孢菌丝块(d=5 mm)接种到直径为 90 mm 的 PDA 平板上(提前 2 d 接种盘长孢状刺盘孢菌丝块), 两菌块间距 50 mm, 以单独接种盘长孢状刺盘孢的平板作为对照。参照 Bell (1982)、张玉博和庄文颖(2017)报道的拮抗程度分级标准, 根据木霉菌丝占据平板的比例对木霉菌的拮抗能力进行分级, 将木霉菌的拮抗能力等级划分为强、中、弱以及无(表 1)。

1.2.2 木霉菌次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢抑制作用的测定

非挥发性次生代谢产物对病原菌抑制作用: 采用玻璃纸培养法, 将直径为 90 mm 的无菌玻璃纸置于 PDA 培养基表面, 分别将 43 株木霉菌块 (d=5 mm)接种于玻璃纸中心, 25 °C下恒温培

表 1 拮抗程度评价标准

Table 1 Antagonistic degree evaluation criteria of *Trichoderma*

拮抗能力	菌丝生长状态
Antagonism capacity	Status of mycelial growth
强	木霉菌丝占据整个培养皿 100%
Strong antagonism	<i>Trichoderma</i> mycelium occupies 100% of the Petri dish
中	木霉菌丝占据整个培养皿 75%–100%
Moderate antagonism	<i>Trichoderma</i> mycelium occupies 75%–100% of the Petri dish
弱	木霉菌丝占据整个培养皿 50%–75%
Weak antagonism	<i>Trichoderma</i> mycelium occupies 50%–75% of the Petri dish
无	木霉菌菌丝占据整个培养皿 50%以下
Absence of antagonism	<i>Trichoderma</i> mycelium occupies less than 50% of the Petri dish

养 72 h 后，去除玻璃纸，并取直径为 5 mm 的盘长孢状刺盘孢菌块接种于平板中心，每个处理 3 个重复，经过 7 d 的培养，用十字交叉法测量盘长孢状刺盘孢菌落直径并计算抑菌率，将以仅接种盘长孢状刺盘孢的平板作为对照。

挥发性次生代谢产物对病原菌抑制作用：采用平板对扣法测定木霉挥发性代谢产物的抑菌活性，将木霉菌块(d=5 mm)接种于直径 90 mm 的 PDA 平板中心部位，培养 2 d 后，去掉皿盖，换上一个大小相等接有盘长孢状刺盘孢菌块(d=5 mm)的平板，2 个培养皿皿底对扣后，在连接处密封，25 °C 下恒温培养 7 d，对照组为仅接种盘长孢状刺盘孢，每个处理 3 个重复，测量盘长孢状刺盘孢菌落直径并计算抑菌率。

抑菌率(%)=(对照病原菌菌落直径-处理病原菌菌落直径)÷对照病原菌菌落直径

1.2.3 木霉菌对辣椒种子、幼苗及果实的影响

木霉菌悬浮液的配制：将木霉菌在 PDA 培养基上纯化，25 °C 培养 7 d，用灭好菌的打孔器在木霉菌的菌落边缘打 5 mm 的菌饼，放入无菌的离心管中，混匀，通过血球计数板计算木霉菌培养液浓度，用无菌水将其配制成 1×10⁸ 个/mL 的孢子悬浮液。

木霉菌对辣椒种子萌发率的影响：将 2 层滤纸用蒸馏水润湿后置于培养皿底部，设置 4 个处理：T1 处理(木霉菌株 123T)、T2 处理(木霉菌株 424)、T3 处理(木霉菌株 123T 和 424 的混

合)以及清水对照，每个处理 30 粒且重复 3 次，分别加入同等量的孢子悬浮液和无菌水，将培养皿放入 25 °C 的恒温培养箱中进行发芽试验，5 d 后计算辣椒种子的发芽率。

萌发率(%)=(正常发芽种子数/供试种子数)×100%

木霉菌对辣椒幼苗生长的促进作用：将辣椒种子播种于经高压消毒的土壤中，设置与种子萌发率测定相同的 4 个处理：T1 处理、T2 处理、T3 处理以及清水对照，在辣椒幼苗处分别施加木霉菌 1×10⁸ 个/mL 孢子悬浮液，每个平行处理 20 棵辣椒幼苗。经过 30 d 培育后，幼苗经烘箱 105 °C，杀菌 30 min 后，转为 80 °C 烘干至恒重，测定各处理辣椒幼苗的生长指标：株高、鲜重、干重、茎粗和根长。

盘长孢状刺盘孢对辣椒果实致病性的评价：选取红尖椒、青杭椒、樟树港辣椒、小米椒、青线椒、青牛角椒、二荆条青线椒、红螺丝椒和墨西哥辣椒共 9 个辣椒品种，辣椒果实表面用 1% 次氯酸钠冲洗 5 min，并用 75% 乙醇擦拭，无菌水漂洗 3 次后进行风干。将果实置于无菌塑料容器中，采用针刺接种法(de Silva *et al.* 2017)，取直径为 5 mm 的盘长孢状刺盘孢块接种于针刺部位，以无菌琼脂块作为对照，置于 25 °C 恒温培养箱内培养并保持湿度，每 24 h 观察辣椒果实病害症状，根据接种后第 7–10 天辣椒果实上病斑的大小，评估盘长孢状刺盘孢发病程度(Montri *et al.* 2009)，评价标准见表 2。

表 2 评估接种部位病原菌的症状及发病程度
Table 2 The symptoms and severity caused by the pathogen at the inoculation site

发病程度	症状详细信息
Severity	Symptom
高度抗性	无感染
Highly resistant	No infection
中度抗性	坏死病斑占辣椒果实的 5%–15%
Moderately resistant	Necrotic lesions occupy 5%–15% of the pepper fruit
敏感	坏死病斑占辣椒果实的 15%–50%
Susceptible	Necrotic lesions occupy 15%–50% of the pepper fruit
高度敏感	坏死病斑占辣椒果实的 50% 以上
Highly susceptible	Necrotic lesions occupy more than 50% of the pepper fruit

木霉菌分生孢子悬液对辣椒果实的保护作用：通过果实致病性评价试验，选取高度敏感的红尖椒品种作为研究对象，并同样设置 T1、T2、T3 以及清水对照 4 个处理，每个处理 3 次重复。采用针刺接种法，将木霉菌孢子悬浮液(1×10^8 个/mL)涂于刺伤部位，以无菌水作为空白对照，将辣椒置于 25 °C 恒温培养箱中。接种后的第 5 天，将盘长孢状刺盘孢菌块接种于刺伤处，同时在刺伤处

加无菌琼脂块作为对照。接种后第 7–10 天，根据病斑大小评估木霉菌对辣椒果实的保护作用。

2 结果与分析

2.1 木霉菌拮抗能力的评价

2.1.1 对盘长孢状刺盘孢拮抗能力强的木霉菌株

对峙培养实验结果见图 1，根据设定的拮抗

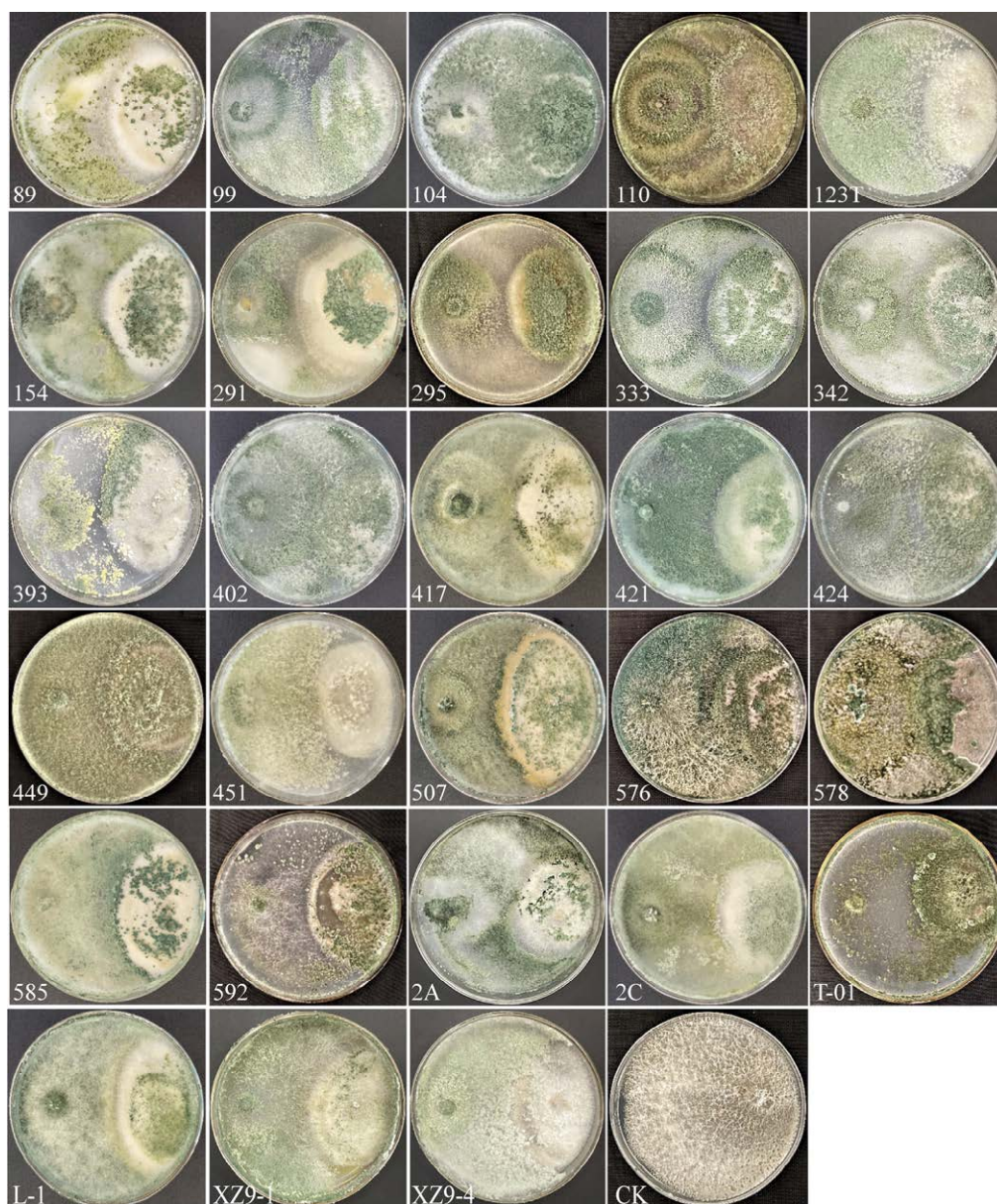


图 1 具有强拮抗能力的木霉菌(左)和盘长孢状刺盘孢(右)的对峙培养

Fig. 1 Dual confrontation culture assays of *Trichoderma* strains with strong antagonism and *Colletotrichum gloeosporioides*. The left side shows *Trichoderma* strains, and the right side shows *C. gloeosporioides*.

等级对木霉菌株进行分类, 共有 28 株木霉菌对盘长孢状刺盘孢具有较强的拮抗能力, 它们分别为 89、99、104、110、123T、154、291、295、333、342、393、402、417、421、424、449、451、507、576、578、585、592、2A、2C、T-01、L-1、XZ9-1 和 XZ9-4。对峙培养过程中, 可以观察到上述木霉菌株生长速度较快, 其菌丝能够抑制病原菌生长进而占满整个培养皿, 同时在盘长孢状刺盘孢菌落上产生大量木霉菌的分生孢子。

2.1.2 对盘长孢状刺盘孢拮抗能力中等的木霉菌株

根据设定的拮抗等级对木霉菌株进行分类, 共有 15 株木霉菌对盘长孢状刺盘孢具有中度拮抗能力(图 2), 它们分别为 152、251、411、419、457、509、526、539、587-1、1399、XZ1-3、XZ1-4、XZ5-5、L-2 和 SQ-7, 经过 12 d 的对峙培养试验后, 木霉菌的菌丝占据了整个培养皿 75%–100% 的空间, 能在盘长孢状刺盘孢的菌落上产生孢子并抑制病原菌的生长。

2.1.3 对盘长孢状刺盘孢拮抗能力弱的木霉菌株

对峙培养试验结果见图 3, 对盘长孢状刺盘

孢具有较弱拮抗能力的木霉菌株共 47 株, 它们分别为 64、116、145、153、156、174、175、176、180、218、219、220、224、225、242、256、285、299、307、315、375、376、391、438、439、446、453、504Y、587-2、588、593、1271、1275、1276、1283、1304、1428、3A、3C、MSL-1、MSL-3、QZ-1、XZ1-6、XZ1-8、XZ5-2、XZ9-3 和 XZ10-3, 经过 12d 的对峙培养试验可以观察到上述木霉菌的菌丝占据整个培养皿的 50%–70%, 木霉菌与盘长孢状刺盘孢生长速度势均力敌, 在盘长孢状刺盘孢菌落上产生的木霉菌分生孢子很少甚至没有。

2.1.4 对盘长孢状刺盘孢没有拮抗能力的木霉菌株

根据设定的拮抗等级对木霉菌株进行分类, 共有 10 株木霉菌对盘长孢状刺盘孢没有拮抗能力(图 4), 它们分别为 91、115、148、204、239、338、370、521、1408 和 L-3, 在为期 12 d 的对峙培养试验中, 这些菌株的生长速度极其缓慢, 没有表现出对抗作用, 木霉菌的菌落小于培养皿的 50%, 部分木霉菌株甚至被盘长孢状刺盘孢的菌落覆盖。

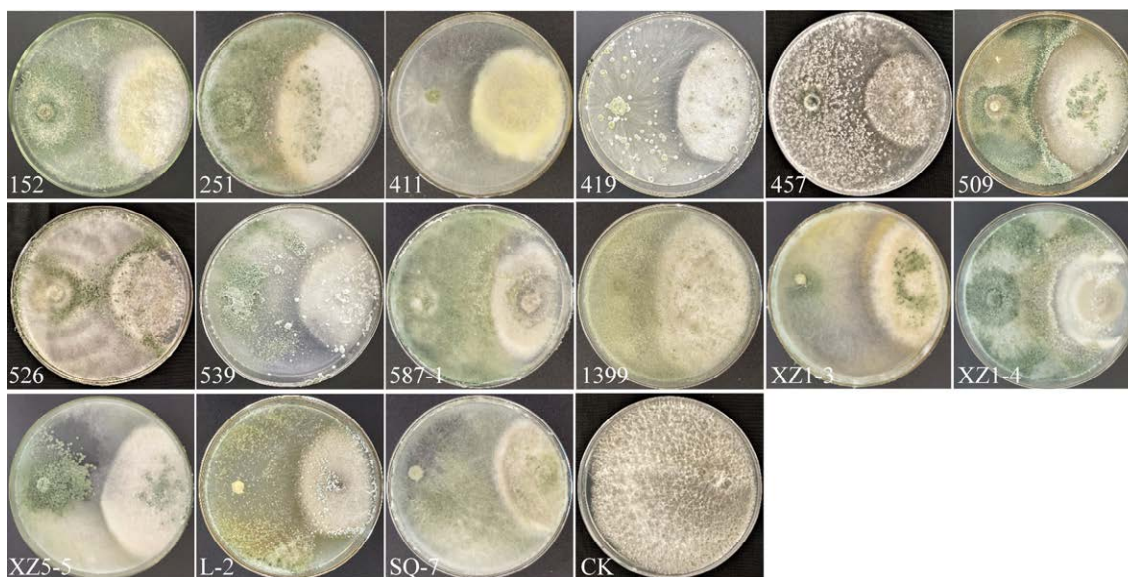


图 2 具有中等拮抗能力的木霉菌(左)和盘长孢状刺盘孢(右)的对峙培养

Fig. 2 Dual confrontation culture assays of *Trichoderma* strains with moderately antagonism and *Colletotrichum gloeosporioides*. The left side shows *Trichoderma* strains, and the right side shows *C. gloeosporioides*.

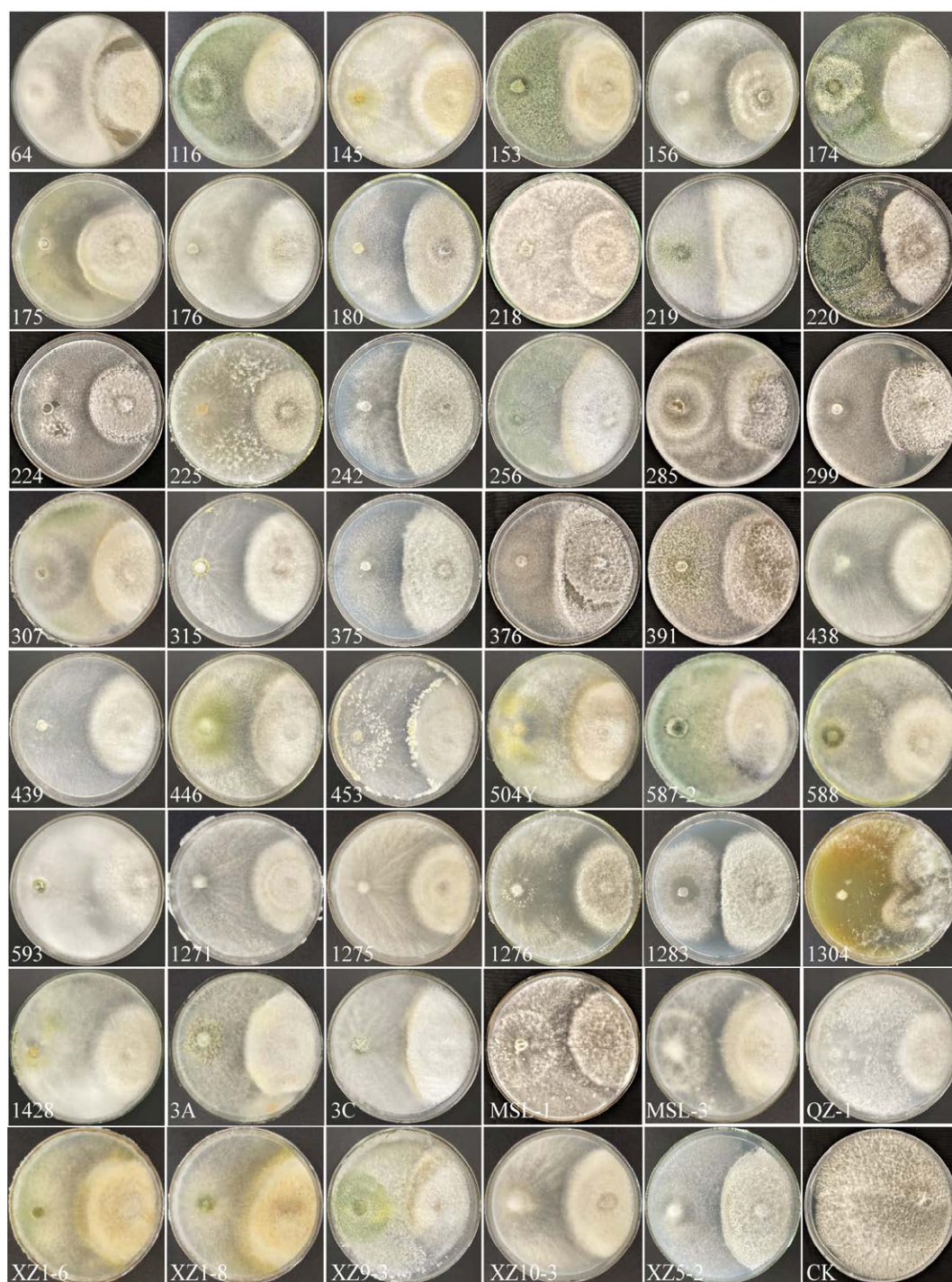


图3 具有弱拮抗能力的木霉菌(左)和盘长孢状刺盘孢(右)的对峙培养

Fig. 3 Dual confrontation culture assays of *Trichoderma* strains with weak antagonism and *Colletotrichum gloeosporioides*. The left side shows *Trichoderma* strains, and the right side shows *C. gloeosporioides*.

2.2 木霉菌代谢产物抗生作用的评价

2.2.1 非挥发性次生代谢产物抗生作用的评价

不同木霉菌株所产生的非挥发性代谢产物,在抑制盘长孢状刺盘孢生长方面存在差异(图5,

表3),木霉菌株1399、342、110和154产生的非挥发性次生代谢产物在抑制盘长孢状刺盘孢过程中,其菌落表现出了极明显的黑色同心圆环。对2.1平板对峙培养法筛选出的43株木霉菌

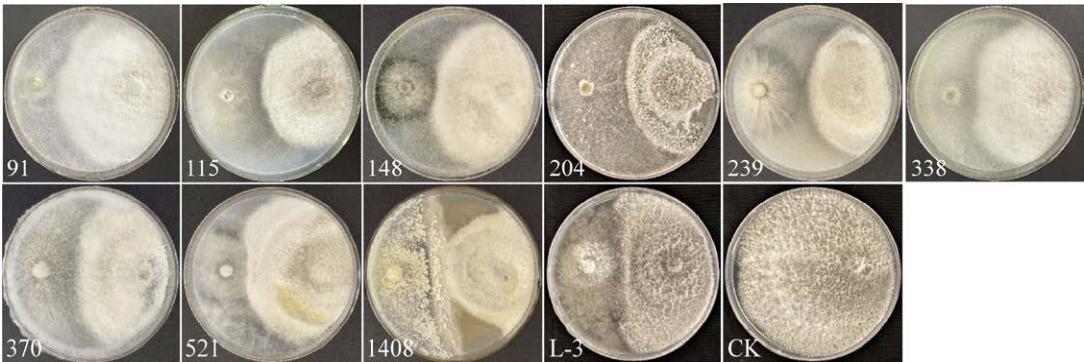


图 4 没有拮抗能力的木霉菌(左)和盘长孢状刺盘孢(右)的对峙培养
Fig. 4 Dual confrontation culture assays of *Trichoderma* strains with non-antagonism and *Colletotrichum gloeosporioides*. The left side shows *Trichoderma* strains, and the right side shows *C. gloeosporioides*.

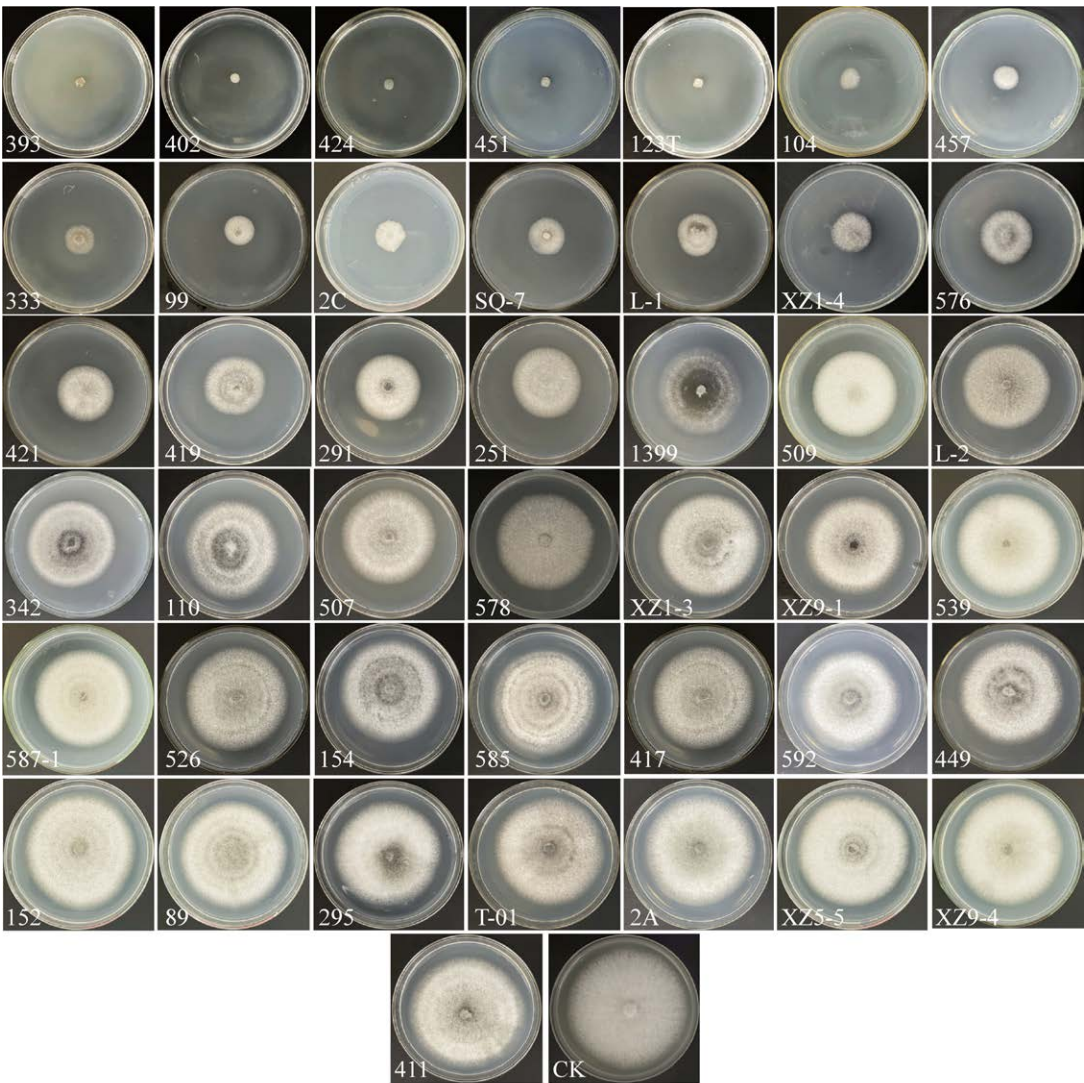


图 5 木霉菌非挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢的抑制作用
Fig. 5 Inhibitory effects of non-volatile secondary metabolites of *Trichoderma* strains on *Colletotrichum gloeosporioides*.

表 3 木霉菌非挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢的抑制作用

Table 3 Inhibitory effects of non-volatile secondary metabolites of *Trichoderma* strains on *Colletotrichum gloeosporioides*

木霉菌株 <i>Trichoderma</i> strain	菌落直径 Colony diameter (mm)	抑制率 Inhibition ratio (%)	木霉菌株 <i>Trichoderma</i> strain	菌落直径 Colony diameter (mm)	抑制率 Inhibition ratio (%)
393	5.00±0a	93.5	110	56.91±0.50mn	25.5
402	5.00±0a	93.5	507	57.61±0.99n	24.6
424	5.00±0a	93.5	578	57.77±0.78n	24.4
451	5.00±0a	93.5	XZ1-3	58.20±0.45n	23.9
123T	5.41±0.69a	92.9	XZ9-1	59.08±0.21o	22.7
104	7.62±0.61b	90.5	587-1	60.48±0.62pq	20.9
457	8.49±0.27b	90.2	539	60.52±1.26pq	20.8
333	8.57±0.28b	88.8	526	61.16±1.56q	20.0
99	8.83±0.39b	88.4	154	61.65±1.33q	19.3
2C	10.85±0.46c	85.8	585	62.14±0.95rs	18.7
SQ-7	14.14±0.21d	81.5	417	62.74±1.25rs	17.9
L-1	31.01±2.01de	79.1	592	63.97±0.58st	16.3
XZ1-4	16.39±0.53e	78.6	449	64.56±0.69u	15.5
576	19.68±0.26f	74.2	152	64.74±0.42u	15.3
421	25.01±0.13g	67.3	89	65.03±0.73v	15.3
419	28.95±0.49h	62.1	295	66.24±0.8w	14.9
291	31.48±0.47i	58.8	T-01	66.43±0.79w	13.3
251	35.54±0.69j	53.5	2A	66.94±0.48wx	13.1
1399	44.41±0.49k	41.9	XZ5-5	67.57±0.66x	12.4
509	46.06±0.7k	39.7	XZ9-4	67.83±0.9x	11.6
L-2	51.84±0.37l	32.2	411	68.43±0.32y	8.4
342	55.40±0.61m	27.5	CK	73.24±0.98z	

同列不同小写字母之间有显著差异($P<0.05$). 下同

There was a significant difference ($P<0.05$) between groups with different lowercase letters in the same column. The same below.

进行复筛,采用玻璃纸培养法,共筛选出 6 株木霉菌,即 393 (*T. atroviride*)、402 (*T. paratroviride*)、424 (*T. atroviride*)、451 (*T. paratroviride*)、123T (*T. paratroviride*)和 104 (*T. atroviride*),与其他 37 株木霉菌比较,这 6 株抑制盘长孢状刺盘孢效果较好。因此,筛选出 6 株木霉菌所产生的非挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢具有较强的抑制作用。

2.2.2 挥发性次生代谢产物抗生作用的评价

采用平板对扣培养方法,评价 6 株木霉菌在盘长孢状刺盘孢平板上产生的挥发性次生代谢产物是否可以抑制盘长孢状刺盘孢生长(图 6,表 4),木霉菌 424 抑制盘长孢状刺盘孢效果最好,其抑制率为 60.43%;菌株 123T 抑制盘长孢

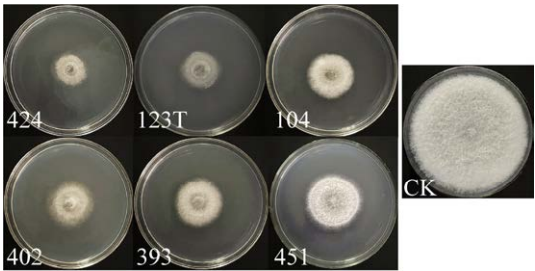


图 6 木霉菌挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢的抑制作用

Fig. 6 Inhibitory effects of volatile secondary metabolites of *Trichoderma* strains on *Colletotrichum gloeosporioides*.

状刺盘孢的效果仅次于菌株 424,其抑制率为 57.12%。由于木霉菌株 424 与 123T 中存在挥发性次生代谢产物而导致盘长孢状刺盘孢菌落生

长受到抑制。故筛选出菌株 424 和 123T，用于后续试验。

2.3 木霉菌对辣椒种子、果实及幼苗的影响

2.3.1 木霉菌孢子悬浮液对辣椒果实的保护作用

盘长孢状刺盘孢对辣椒果实致病性的评价：辣椒果实致病性评价的结果见图 7，在保湿培养的过程中，红尖椒、樟树港辣椒和小米椒品种上可见白色菌丝；在青杭椒品种上，可以看到大量橘黄色黏孢团；樟树港辣椒品种则表现凹陷现象；青线椒品种的发病部位呈黑色，果实颜色由绿色变为黄色；青牛角椒品种的接种部位仅出现少量白色菌丝；在二荆条青线椒品种上观察到果实变色，没有出现其他病症；红螺丝椒和墨西哥辣椒品种则没有出现感病部位的病症。对照处理的部位均未感病。

由此可见，红尖椒品种高度敏感，其次是小米椒品种、青杭椒品种、樟树港辣椒品种敏感，中度抗性有青线椒、青牛角椒、二荆条青线椒，高度抗性的有红螺丝椒和墨西哥辣椒品种。

木霉菌分生孢子悬液对辣椒果实的保护作用：在接种盘长孢状刺盘孢后，发现木霉菌 123T 孢子悬浮液处理后的红尖椒抗性差(图 8)，而在

表 4 木霉菌挥发性次生代谢产物对盘长孢状刺盘孢的影响

Table 4 Inhibitory effects of volatile secondary metabolites of *Trichoderma* strains on *Colletotrichum gloeosporioides*

木霉菌株	菌落直径	抑制率
<i>Trichoderma</i> strain	Colony diameter (mm)	Inhibition ratio (%)
424	32.18±1.50a	60.43
123T	34.87±1.35ab	57.12
104	35.43±1.18ab	56.43
402	36.00±0.74ab	55.73
451	36.65±1.80b	54.93
393	38.36±1.02b	52.83
CK	81.32±0.81c	

接受木霉菌 424 孢子悬浮液处理的表现较好，菌株 123T 和 424 分生孢子混合悬浮液培养处理的红尖椒抗性最好。对于辣椒果实的处理，木霉菌 123T 和 424 孢子混合悬浮液处理后的红尖椒抗性最佳。

2.3.2 木霉菌对辣椒种子萌发率的影响

不同木霉菌分生孢子悬浮液对辣椒种子的萌芽效果不同，与清水对照处理相比，T1、T2 与 T3 处理均显著提高了辣椒种子的萌发；其中 T3 处理促进作用具有显著差异(表 5)。对照组的



图 7 盘长孢状刺盘孢对不同品种辣椒果实的致病性评价 A：红尖椒. B：青杭椒. C：樟树港辣椒. D：小米椒. E：青线椒. F：青牛角椒. G：二荆条青线椒. H：红螺丝椒. I：墨西哥辣椒

Fig. 7 Pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* on different pepper varieties. A: *Capsicum annuum* var. *annuum*. B: *C. annuum* var. *longum*. C: *C. frutescens*. D: *C. frutescens*. E: *C. chinense*. F: *C. annuum*. G: *C. annuum*. H: *C. annuum*. I: *C. annuum* var. *jalapeño*.

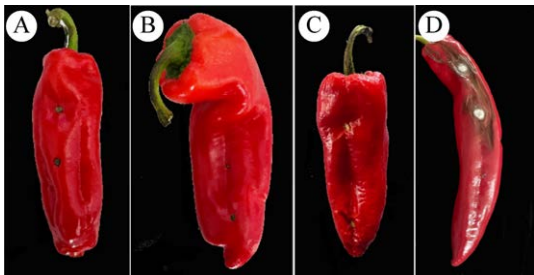


图 8 不同木霉菌孢子悬浮液对红尖椒的保护作用
A: T1 处理=木霉菌株 123T. B: T2 处理=木霉菌株 424. C: T3 处理=木霉菌株 123T 和 424 的混合. D: 对照. 下同

Fig. 8 The protective effects of spore suspensions of different strains of *Trichoderma* on *Capsicum annuum*. A: Treatment T1=*Trichoderma* strain 123T. B: Treatment T2=*Trichoderma* strain 424. C: Treatment T3=*Trichoderma* strain 123T and 424. D: Control. The same below.

萌发率为 38.90%，T1 处理和 T2 处理的种子萌发率为 56.67%和 52.23%;T3 处理下的辣椒种子萌发率高达 70%，提高了 31.1%。因此，2 株木霉菌分生孢子混合悬浮液对辣椒种子的萌发具有一定的促进作用。

表 5 不同木霉菌对辣椒种子萌发率的影响
Table 5 Effects of different *Trichoderma* strains on the germination rate of pepper seeds

处理	发芽率
Treatment	Germination rate (%)
T1 (123T)	56.67±0.577b
T2 (424)	52.23±0.882b
T3 (424+123T)	70.00±0.333a
CK	38.90±0.882c

2.3.3 木霉菌对辣椒幼苗生长的促进作用

与清水对照处理比较,木霉菌分生孢子悬浮液处理后的辣椒幼苗的各项指标存在显著差异(图 9)。T1、T2 以及 T3 处理的幼苗,其生长状况显著好于对照组,T3 处理下其毛细根系比对照组更发达(表 6),以 T3 处理的辣椒幼苗株高为最大,其次是 T2 和 T1 处理,与对照组相比分别增加了 53%、34%和 25%;T3 处理的幼苗根系最长,比对照增加了 96%,T2 和 T1 处理分别增加了 43%和 17%;T3 和 T2 处理的茎粗也有所增加,与对照组相比,分别增加了 104%和 75%;T2、T1 和 T3 处理植株的鲜重分别比对照



图 9 不同木霉菌处理对辣椒幼苗的促进效果
Fig. 9 The promotion effects of different *Trichoderma* strains on the growth of pepper seedlings.

表 6 不同木霉菌对辣椒幼苗生长的促进作用
Table 6 Effects of different *Trichoderma* strains on the growth of pepper seedlings

处理	株高	鲜重	干重	茎直径	根长
Treatment	Plant height (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Stem diameter (mm)	Root length (cm)
T1 (123T)	15.2±0.374b	0.314±0.012b	0.036±0.006b	0.823±0.145ab	5.4±0.548bc
T2 (424)	16.4±0.245b	0.426±0.014b	0.051±0.004b	1.086±0.038a	6.4±0.894a
T3 (424+123T)	18.6±0.548a	0.670±0.092a	0.076±0.032a	1.264±0.057a	8.6±1.817a
CK	12.2±1.304c	0.142±0.013c	0.024±0.012c	0.619±0.486b	4.6±0.577c

组处理提高了 67%、121%和 372%，同时，干重分别提高了 52%、53%和 224%。综上所述，T3 处理，即 2 株木霉菌协同作用下对辣椒幼苗具有促进作用，能够使辣椒幼苗更快地在土壤中成活，并且更加健壮。

3 讨论

本研究筛选了 2 株木霉菌 424 和 123T，分别为深绿木霉和近深绿木霉。相关研究证明，深绿木霉 LZ42 可以释放出具有多种功能的挥发性有机化合物，使其成为潜在的蔬菜植物生物刺激剂和枯萎病综合治理剂(Rao *et al.* 2022)；许圆圆等(2018)研究发现，长枝木霉的挥发性物质能有效抑制苹果腐烂病、苹果轮纹病和苹果早期落叶病；此外，Pascale *et al.* (2017)研究发现，木霉菌产生的挥发性物质，具有很强的抗真菌活性。木霉菌分泌次生代谢产物可以抑制病原菌的生长，是一种重要的防病机制。但本研究对深绿木霉 424 和近深绿木霉 123T 只测定出其具有较好的抑菌效果，未能分析具体是哪种次级代谢产物起到了抑菌作用，这将是今后进一步研究的方向。

事实证明，使用木霉菌孢子悬液可以成功地控制植物病害(Sunpapao *et al.* 2018)。相关研究表明，深绿木霉 SC1 和近深绿木霉 RTFT014 是防止杏树修剪伤口受损的候选生防制剂(Travadon *et al.* 2023)；用螺旋木霉菌 T76-1 的孢子悬液处理可以降低由灰霉病引起的生菜叶斑病的严重程度(Baiyee *et al.* 2019b)；而用木霉菌孢子悬浮液浸根，还可以激活生菜对叶斑病的防御能力(Baiyee *et al.* 2019a)；此外，已证明木霉菌处理过的植物可以免受致病性疫霉菌的感染(La *et al.* 2020)。本研究探讨了深绿木霉 424 和近深绿木霉 123T 对辣椒果实的保护作用，表明 T3 处理可以有效控制辣椒果实采收后盘长孢状刺盘孢引起的病害。建议在种植过程中尽早接种木

霉菌，而不是在发病后接种，以获得更好的效果。本研究可为进一步研究深绿木霉 424 和近深绿木霉 123T 的诱导抗性作用提供理论依据。

木霉菌不仅具有防治植物病害的能力，而且对植物具有良好的促生作用。相关研究表明，木霉菌对玉米幼苗的根系、株高、鲜重和干重等生长指标有显著提高作用(刘峰和阮盈盈 2021)；其可以促进黄瓜种子萌发、幼苗生长和生物量积累(崔雪雪等 2022)；通过将木霉菌进行灌根处理可以促进番茄幼苗及根系生长(张祖銜等 2021；梁松等 2022)；木霉菌 GYXM-1p1 对甘蓝的促生作用也很显著，甘蓝植株的总鲜重和总干重分别比清水对照增加 4.1 倍和 7.62 倍(赵玳琳等 2019)；深绿木霉能显著促进田间一年生青蒿幼株的生长(伍晓丽等 2019)。本研究结果表明 T3 处理对辣椒种子和幼苗具有一定的促生效果，其各项生长指标均有显著的提高，与上述相关研究结果基本一致。本研究筛选的 2 株木霉菌在协同作用下对辣椒的生长指标具有促进效果，为进一步探索促生机制提供了科学依据。

相关研究表明，深绿木霉可以作为真菌生防制剂来防治油菜核盘菌(Kumar & Khurana 2021)，深绿木霉 LZ42 是一种很有前途的蔬菜植物生长刺激剂和枯萎病综合治理剂(Rao *et al.* 2022)。本试验在一定程度上证实了深绿木霉和近深绿木霉菌具有一定的抑菌和促生效果，木霉菌作为生防制剂将进一步推动环境友好型疾病管理战略的发展。

致谢

感谢吉林农业大学植物病理教研室白庆荣教授提供的辣椒炭疽病病原菌。

[REFERENCES]

- Baiyee B, Ito SI, Sunpapao A, 2019a. *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce

- (*Lactuca sativa* L.). Physiological and Molecular Plant Pathology, 106: 96-101
- Baiye B, Pornsuriya C, Ito SI, Sunpapao A, 2019b. *Trichoderma spirale* T76-1 displays biocontrol activity against leaf spot on lettuce (*Lactuca sativa* L.) caused by *Corynespora cassiicola* or *Curvularia aeria*. Biological Control, 129: 195-200
- Bell DK, 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72(4): 379-379
- Cao YF, Shen ZZ, Liu SS, Jiang XT, Li R, Shen QR, 2019. Meta-analysis to evaluate the control effect of *Trichoderma* on fusarium wilt and its influencing factors in China. Acta Pedologica Sinica, 56(3): 716-727 (in Chinese)
- Cui XX, Wang QL, Zhang H, Li Z, Zheng ZH, Li R, Huang YH, Guo K, 2022. *Trichoderma viridis* Tv-1511 on cucumber growth and yield promotion and disease prevention effect. Journal of Nanjing Agricultural University, 45(3): 553-561 (in Chinese)
- de Silva DD, Ades PK, Crous PW, Taylor PWJ, 2017. *Colletotrichum* species associated with chili anthracnose in Australia. Plant Pathology, 66(2): 254-267
- Fang ZD, 1979. Research methods of plant diseases. Agriculture Press, Beijing. 1-403 (in Chinese)
- Kumar N, Khurana S, 2021. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for benefit of agriculture and environment. Biocontrol Agents and Secondary Metabolites, 3: 41-63
- La SF, Stracquandano C, Riolo M, Pane A, Cacciola SO, 2020. *Trichoderma* counteracts the challenge of *Phytophthora nicotianae* infections on tomato by modulating plant defense mechanisms and the expression of crinkler, necrosis-inducing phytophthora protein 1, and cellulose-binding elicitor lectin pathogenic effectors. Front Plant Science, 11(4): 583539
- Liang S, Wang JX, Wei TT, Zhang JL, Hu CY, Yao YP, 2022. Study on antibacterial activities of *Trichoderma viridis* T1 and *Trichoderma harziana* T21 and their growth promotion effects on tomato seedlings. Tianjin Agricultural Sciences, 28(6): 80-86 (in Chinese)
- Liu F, Ruan YY, 2021. Effects of *Trichoderma harzianum* on seedling growth and soil fertility of maize. Zhejiang Agricultural Sciences, 62(8): 1507-1510 (in Chinese)
- Mo JQ, Mai JC, 2018. Field efficacy test of four fungicides against anthracnose of capsicum anthracnose. Guangxi Plant Protection, 31(2): 7-8 (in Chinese)
- Montri P, Taylor P, Mongkolporn O, 2009. Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. Plant Disease, 93(1): 17-20
- Pascale A, Vinale F, Manganiello G, Nigro M, Lanzuise S, Ruocco M, Marra R, Lombardi N, Woo SL, Lorito M, 2017. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. Crop Protection, 92: 176-181
- Rahman M, Borah SM, Borah PK, Bora P, Sarmah BK, Lal MK, Tiwari RK, Ravinder K, 2023. Deciphering the antimicrobial activity of multifaceted rhizospheric biocontrol agents of solanaceous crops viz. *Trichoderma harzianum* MC2, and *Trichoderma harzianum* NBG. Frontiers in Plant Science, 14: 1-21
- Rao Y, Zeng L, Jiang H, Mei L, Wang Y, 2022. *Trichoderma atroviride* LZ42 releases volatile organic compounds promoting plant growth and suppressing *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings. BMC Microbiology, 22(1): 88
- Ryu H, Park H, Suh DS, Jung GH, Park K, Lee BD, 2014. Biological control of *Colletotrichum panacicola* on *Panax ginseng* by *Bacillus subtilis* HK-CSM-1. Journal of Ginseng Research, 38(3): 215-219
- Sood M, Kapoor D, Kumar V, Sheteiwy MS, Sharma A, 2020. *Trichoderma*: the “secrets” of a multitasking biocontrol agent. Plants, 9(6): 762
- Sunpapao A, Chairin T, Ito SI, 2018. The biocontrol by *Streptomyces* and *Trichoderma* of leaf spot disease caused by *Curvularia oryzae* in oil palm seedlings. Biological Control, 123: 36-42
- Thambugala KM, Daranagama DA, Phillips AJL, Kannangara SD, Promputtha I, 2020. Fungi vs. fungi in biocontrol: an overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10: 718
- Travadon R, Lawrence DP, Li S, Trouillas F, 2023. Evaluation of biological control agents for the protection of almond pruning wounds against infection by fungal canker pathogens. Phytopathology, Doi: 10.1094/PHYTO-02-23-0075-R
- Wu XL, Tan J, Cui GL, Liu F, Li LY, 2019. Growth promoting effect of *Trichoderma viridis* on *Artemisia annua*. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 41(7): 36-42 (in Chinese)
- Xu YY, Ning N, Li FK, Li P, Yao J, Xue YY, 2018. Comparison of antagonistic effects of two biocontrol bacteria on three disease pathogens in apple trees. Gansu Agricultural Science and Technology, 515(11): 24-29 (in Chinese)
- Yao J, Zhang P, Dai L, Yu XF, Fang YW, 2008. Quarantine status and prospects of import and export of vegetable seeds in China. Journal of Seeds, 27(11): 83-86 (in Chinese)
- Zhang H, Zhou YC, Liang Y, Zhang HY, Li YQ, Chen J,

2021. Research progress of the biosynthesis and regulation of the antibiotic peptaibols in *Trichoderma*. *Mycosystema*, 40(8): 1905-1917 (in Chinese)
- Zhang ML, 2000. Occurrence and control of anthracnose of pepper. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2000(2): 183-187 (in Chinese)
- Zhang YB, Zhuang WY, 2017. Evaluation of the antagonistic ability of *Trichoderma* against plant pathogenic fungi in confrontational culture. *Mycosystema*, 36(9): 1251-1259 (in Chinese)
- Zhang ZX, Deng W, Li C, Xu HW, Zhou XF, 2021. Effects of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harziensis* on cucumber seedling growth. *Northern Horticulture*, 494(23): 11-20 (in Chinese)
- Zhao DL, Mao TT, Wang Q, Zhao XL, Lou X, Tao G, 2019. Field control effect of microbial agents and biocontrol *Trichoderma* on cabbage black rot and their growth-promoting effects on cabbage. *Southern Journal of Agricultural Sciences*, 50(4): 761-767 (in Chinese)
- Zheng JQ, Wang WW, Mei Y, Wu YC, Wan HJ, Pan BG, You C, Liu Z, Shen F, Feng RC, 2023. Identification and expression analysis of DREB transcription factor in pepper under waterlogging stress. *Journal of Jiangsu Agricultural Sciences*, 39(1): 148-159 (in Chinese)
- Zhou CB, 2008. Pathogen identification and control test of pepper anthracnose in Hainan Province. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2008(1): 63-64 (in Chinese)
- Zhou JB, Yin H, Lü H, Qin N, Zhao XJ, 2020. Field control effects of 8 different types of agents on anthracnoses in pepper. *Chinese Gourd Vegetables*, 33(11): 72-76 (in Chinese)
- Zhu FY, Peng W, Liu WC, Yang GM, 2013. Field experiment of four fungicides for the control of anthracnoid in pepper. *Plant Doctor*, 26(3): 2 (in Chinese)
- Zou XX, Ma YQ, Dai XZ, Li XF, Yang S, 2020. Dissemination and industrial development of pepper in China. *Chinese Journal of Horticulture*, 6(21): 1-12 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 操一凡, 沈宗专, 刘珊珊, 姜雪婷, 李荣, 沉其荣, 2019. Meta 分析评估中国木霉对枯萎病防控效果及其影响因素. *土壤学报*, 56(3): 716-727
- 崔雪雪, 王庆玲, 张豪, 李哲, 郑泽慧, 李荣, 黄艳华, 郭凯, 2022. 绿色木霉 Tv-1511 对黄瓜的促生增产作用及防病效果. *南京农业大学报*, 45(3): 553-561
- 方中达, 1979. 植病研究方法. 北京: 农业出版社. 1-403
- 梁松, 王建霞, 魏甜甜, 张静蕾, 胡春艳, 姚艳平, 2022. 深绿木霉 T1 和哈茨木霉 T21 抑菌活性及对番茄幼苗促生效果研究. *天津农业科学*, 28(6): 80-86
- 刘峰, 阮盈盈, 2021. 哈茨木霉菌剂对玉米苗期生长和土壤肥力的影响. *浙江农业科学*, 62(8): 1507-1510
- 莫佳强, 麦接超, 2018. 4 种杀菌剂防治辣椒炭疽病田间药效试验. *广西植保*, 31(2): 7-8
- 伍晓丽, 谭均, 崔广林, 刘飞, 李隆云, 2019. 深绿木霉对青蒿的促生作用. *西南大学学报(自然科学版)*, 41(7): 36-42
- 许圆圆, 宁娜, 李发康, 李培, 姚杰, 薛应钰, 2018. 2 种生防菌对苹果树 3 种病害病原菌拮抗作用比较. *甘肃农业科技*, 515(11): 24-29
- 姚剑, 张萍, 戴雷, 余晓峰, 方元炜, 2008. 我国蔬菜种子进出口检疫现状及展望. *种子*, 27(11): 83-86
- 张慧, 周于聪, 梁言, 张红艳, 李雅乾, 陈捷, 2021. 木霉菌抗菌活肽 peptaibols 合成调控机制研究进展. *菌物学报*, 40(8): 1905-1917
- 张明良, 2000. 辣椒炭疽病的发生与防治. *现代农业科技*, 2000(2): 183-187
- 张玉博, 庄文颖, 2017. 对峙培养条件下木霉拮抗植物病原真菌能力的评价. *菌物学报*, 36(9): 1251-1259
- 张祖衍, 邓薇, 李春, 徐洪伟, 周晓馥, 2021. 施加枯草芽孢杆菌和哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响. *北方园艺*, 494(23): 11-20
- 赵珉琳, 卯婷婷, 王甘, 赵兴丽, 娄璇, 陶刚, 2019. 微生物菌剂和生防木霉菌对甘蓝黑腐病的田间防效及其对甘蓝的促生作用. *南方农业学报*, 50(4): 761-767
- 郑佳秋, 王薇薇, 梅焱, 吴永成, 万红建, 潘宝贵, 尤春, 刘哲, 沈峰, 冯汝超, 2023. 辣椒 DREB 转录因子鉴定及其在涝害胁迫下的表达分析. *江苏农业学报*, 39(1): 148-159
- 周传波, 2008. 海南省辣椒炭疽病病原菌鉴定与防治试验. *现代农业科技*, 2008(1): 63-64
- 周建波, 殷辉, 吕红, 秦楠, 赵晓军, 2020. 8 种不同类型药剂对辣椒炭疽病的田间防治效果. *中国瓜菜*, 33(11): 72-76
- 朱方宇, 彭伟, 刘维川, 杨光明, 2013. 4 种杀菌剂防治辣椒炭疽病田间试验. *植物医生*, 26(3): 2
- 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 李雪峰, 杨莎, 2020. 辣椒在中国的传播与产业发展. *园艺学报*, 6(21): 1-12