

施用杀线剂对大豆根际真菌的影响

武 贺,段玉玺,陈立杰

(沈阳农业大学植物保护学院线虫学研究室,辽宁 沈阳 110161)

摘 要:采用田间小区试验,以化学杀线剂(呋喃丹、涕灭威)和生物杀线剂(Sn907的发酵液、Snf0407009的发酵液)为材料,探讨杀线剂对大豆根际真菌多样性的影响。采取拉丁方设计,对大豆根际土壤定期取样、分离和鉴定,研究不同处理根际土壤真菌的动态变化。结果表明:化学杀线剂对大豆根际土壤真菌的影响较大,减少了根际土壤真菌的种类;而生物杀线剂对大豆根际真菌数量影响较小,真菌的数量和种类变化均不明显,维系了大豆根际真菌的动态平衡。在大豆成熟期根际真菌的数量比其他时期数量明显增加,可通过向生物杀线剂中添加根际真菌中的青霉菌、拟青霉菌和木霉菌来提高生物杀线剂的防治效果。

关键词:大豆;生物杀线剂;化学杀线剂;根际真菌

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2008)04-0715-05

Effect of Nematicide on Rhizosphere Fungi in the Root of Soybean

WU He, DUAN Yu-xi, CHEN Li-jie

(Plant Nematology Laboratory, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

Abstract: The soil of soybean field were treated with chemical nematicides (Carbofuran, Aldicarb) and bio-nematicides (the shaking flask liquids of Sn907 and Snf0407009) to study the effect of nematicide on the diversity of soil fungus. Fungus from sampling soil treated with different types of nematicide were separated and identified. Results showed that chemical nematicides reduced not only the quantity but also the diversity of rhizosphere fungi, while bio-nematicides had little effect on soil fungus and could in favor of the rhizosphere fungi balance. The populations of rhizosphere fungi at maturity of soybean were obviously higher than other growth stage. The better control effects of bio-nematicides could be realized by adding *Penicillium*, *Paecilomyces* and *Trichoderma*.

Key words: Soybean; Bio-nematicide; Chemical nematicide; Rhizosphere fungi

大豆是重要的粮食和经济作物,大豆胞囊线虫病在东北和黄淮海地区发生普遍,个别地区发生严重,目前,在中国、美国、加拿大、巴西、阿根廷等大豆生产国广泛发生,胞囊线虫病使全世界大豆每年减产11%^[1-2],严重发生的地块减产达到30%以上,甚至是颗粒无收。而土壤微生物在大豆根系土营养元素循环过程中起着十分关键的作用^[3]。近年来随着对农业和生态环境意识的提高,人们开始探索利用生物防治的方法最大限度的降低化学农药的使用量,从而减少化学农药对环境的污染。大豆胞囊线虫病害通常是利用杀线剂和抗病品种进行防治,由于农药残留和育种工作的时间限制,促使人们开始寻求更为有效的生物防治的方法。生物制剂施入土壤后,处于一个复杂的微生态环境,土壤微生物之

间存在着各种各样的相互作用。土壤真菌与生防真菌之间的作用更为重要^[4]。在生物防治技术方面,生防细菌和木霉是应用较多的有益微生物。郭荣君等从大豆根际分离筛选出的芽孢杆菌BH1防治大豆病害,在温室防效可达56.1%^[5]。

利用两种生物杀线剂和两种化学杀线剂对大豆根际土壤真菌动态研究,检测对大豆根际真菌的影响,寻求合理的杀线剂,为大豆生产和合理使用杀线剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

化学杀线剂:呋喃丹(Carbofuran),化学名称:2,

收稿日期:2008-04-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30300231);辽宁省优秀人才支持计划资助项目;霍英东青年教师基金资助项目(101033)。

作者简介:武贺(1977-),男,硕士研究生,研究方向为土壤线虫及微生物分类。E-mail:hewusy@126.com。

通讯作者:段玉玺,教授,博士生导师。E-mail:duanyx6407@163.com。

3-二氢-2,2-二甲基-7-苯并咪唑基-甲基氨基甲酸酯;山东华阳农药化工集团有限公司生产,75%母粉。涕灭威(Aldicarb, Temik),化学名称:0-(甲基氨基甲酰基)-2-甲基-2-甲硫基丙醛肟;山东省宁阳农药厂生产,15%颗粒剂型。

生物杀线剂:Snf907的发酵液,原液。Snf0407009的发酵液,原液。2种杀线剂均为沈阳农业大学线虫研究室研制。

供试作物:大豆(*Glycine max*),辽豆11。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验于2006年在沈阳农业大学实验地进行,该试验田是常年种植大豆不施用任何有机肥或化学品的土壤。选取地势平坦的地块设置小区试验,进行药剂处理并设置对照试验,采用拉丁方设计,随机排列,5行区,行长2 m,行距60 cm,5次重复。在播种时分别进行施药,施药量分别为,呋喃丹:1 m左右长沟内施75%颗粒剂0.5 g,沟施10~15 cm,而后点播大豆种子,覆土。涕灭威:1 m左右长沟内施15%颗粒剂1.5 g,沟施10~12 cm,而后点播大豆种子,覆土。Snf907与Snf0407009发酵液:直接施入大豆土壤中,用量为50 mL·m⁻¹,然后点播大豆,覆土。以不施任何药剂为空白对照。

1.2.2 取样方法 在大豆播种期(5月7日)、出苗期(5月19日)、开花期(7月18日)、结荚期(8月8日)和成熟期(9月25日)进行土样的采集。共采集5次,每一个处理样方内采用5点法取样,先去掉表土,然后用取样铲挖取根际土壤装袋,封口,做好标签,带回实验室处理。

1.2.3 根际真菌的分离 称取5 g大豆根际土壤,放入45 g的无菌水中,在165 r·min⁻¹摇床中摇动20 min,静置30 s,取1 mL放入9 mL无菌水中。稀释成10⁻³,进行真菌的分离。取该土壤稀释液,用无菌玻璃棒涂抹于PDA培养基上,涂抹好静置20~30 min后,设3次重复,置于25~28℃温箱中培养3~5 d后进行菌落形态鉴定^[6-9]。

1.2.4 根际真菌的计数 以菌落形成单位(colony forming units, CFU)对生长出来的真菌进行计数,选取合适菌落的培养皿,真菌为每皿10~100个菌落,进行计数,得到特定稀释的微生物菌落数。每毫升中菌落形成单位(CFU·mL⁻¹)=同一稀释度3次重复的平均菌落数×稀释倍数^[10]。

1.2.5 根际真菌的鉴定方法 真菌在PDA培养基上的菌落形态,采用压片法制片,进行真菌显微结构

的观察,了解菌丝的形态,产孢体的结构,孢子着生方式,进行鉴定^[11]。

2 结果与分析

2.1 土壤中真菌的动态变化

化学杀线剂和生物杀线剂施入土壤中对大豆根际真菌产生影响,在大豆生育期间,4种杀线剂处理的土壤中真菌变化的总体趋势与空白对照基本一致(图1)。播种期到开花期真菌的数量逐渐增加,而在结荚期真菌的数量急剧下降。在大豆生育期间真菌数量不断地增加是由于播种后土壤温度有所上升加速了真菌的繁殖。而在结荚期真菌的数量又急剧下降,此时根际营养物质很多,土壤中的线虫和其他微生物繁殖加快吞食了部分种类的真菌。同时根际中的大部分营养物质被根吸收用于大豆种子的发育。在这4种杀线剂处理的土壤中化学杀线剂中真菌变化的趋势最为明显。而生物杀线剂处理的变化不明显。

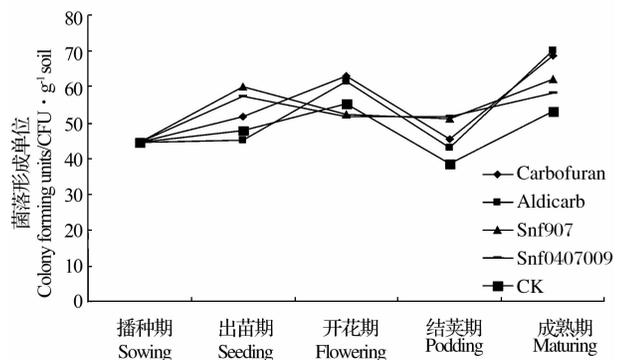


图1 5种处理大豆根际真菌数量变化

Fig. 1 Rhizosphere fungus of five treated soybean soil

2.2 杀线剂对真菌动态变化的影响

化学杀线剂施入后在出苗期和开花期真菌数量变化不明显,而在结荚期和成熟期大豆根际真菌的种类明显少于施入生物杀线剂处理的土壤。其主要原因是在大豆生长成熟的阶段,根际中有益真菌被化学杀线剂杀死或者抑制,而其病原真菌迅速增长,虽然在数量上没有减少但真菌的种类减少,影响了根际真菌的多样性。生物杀线剂处理后,大豆根际土壤中真菌的数量和种类与对照差异较小,可以看出生物杀线剂对根际土壤真菌没有灭绝性。对照中的真菌种类和数量一直趋于一个相对稳定的范围,说明根际真菌在大豆生长发育过程中起着十分重要的作用(表1)。在大豆全生育期间,使用生物杀线剂处理的土壤中真菌的变化趋势与空白对照基本一

表 1 5 种处理大豆根际土壤真菌动态变化

Table 1 Rhizosphere fungus of five treated soybean soil/10⁻³ CFU · g⁻¹ soil

属 Genus	播种期 Sowing					出苗期 Seedling					开花期 Flowering					结荚期 Podding					成熟期 Maturing									
	F	T	S	H	CK	F	T	S	H	CK	F	T	S	H	CK	F	T	S	H	CK	F	T	S	H	CK					
枝顶孢属 <i>Acremonium</i>	1.67	1.67	2.34	5.34	5.67	1.67	1.67	2.00	1.00	2.00	1.34	5.00	2.34	4.00	2.34	1.67	3.00	3.00	2.00	3.00	3.00	3.00	2.00	2.00	3.00	2.34	2.00	2.34	2.00	3.00
链格孢属 <i>Alternaria</i>	3.34	3.33	1.67	8.00	7.67	4.00	6.00	7.00	4.00	5.00	3.34	5.00	2.34	4.00	2.34	1.67	3.00	3.00	2.00	3.00	6.00	6.00	5.00	10.00	5.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
曲霉属 <i>Aspergillus</i>	3.00	4.00	3.00	3.00	5.00	5.00	5.00	1.67	2.00	2.00	1.67	7.00	4.00	5.00	4.00	1.00	5.00	5.00	2.00	1.00	2.00	2.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
镰孢菌属 <i>Fusarium</i>	10.33	6.00	8.00	6.67	7.00	6.00	10.34	8.67	6.00	6.67	2.00	4.00	2.67	3.00	3.00	5.00	9.00	6.00	4.00	4.67	6.34	8.34	4.34	4.34	2.34	1.00	3.00	1.00	1.00	2.00
粘帚霉属 <i>Gliocladium</i>	11.00	6.34	7.00	7.00	5.34	13.00	13.00	9.00	5.00	6.00	6.34	11.00	6.34	6.00	6.34	6.00	7.00	6.00	7.00	6.34	25.00	21.00	25.00	21.00	16.00	16.00	13.67	16.00	13.67	10.00
毛霉属 <i>Mucor</i>	4.67	10.00	8.33	6.00	5.00	3.00	13.00	11.34	8.00	8.00	3.00	3.00	6.00	6.00	4.00	6.00	8.67	7.00	7.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
拟青霉属 <i>Paeciliomyces</i>	1.34	3.34	3.00	6.00	5.00	2.00	3.34	3.00	6.00	5.00	3.00	6.00	6.00	5.00	3.00	3.00	3.00	3.00	4.00	3.00	3.00	3.00	3.00	4.00	3.00	3.00	4.00	3.00	4.00	3.34
木霉属 <i>Trichoderma</i>	2.00	2.00	1.67	1.00	1.00	1.00	1.00	3.00	1.00	1.00	1.00	3.00	1.00	1.00	3.00	2.00	2.00	4.00	4.00	2.00	3.00	4.00	3.00	4.00	4.00	4.00	1.00	4.00	1.00	3.00
腐霉属 <i>Pythium</i>	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34
白僵菌属 <i>Beauveria</i>	2.00	2.67	2.00	2.00	3.00	2.00	2.00	1.00	4.00	3.00	1.67	4.00	1.67	4.00	3.00	0.67	3.00	3.00	3.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.34	1	2.34	1	1
丝核菌属 <i>Rhizoctonia</i>	2.34	7.67	5.67	6.67	6.00	5.00	5.00	4.00	3.00	4.00	4.00	4.00	3.00	4.00	4.00	4.00	3.00	4.00	4.00	4.33	17.00	21.00	17.00	15.00	14.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
酵母菌 <i>Saccharomyces</i>	6.67	5.34	4.67	6.00	6.67	8.00	4.00	5.00	5.00	5.00	4.00	4.00	4.00	5.00	4.00	4.00	4.00	4.00	5.00	4.34	7.00	5.34	7.00	4.34	5.00	5.00	8.34	5.00	5.00	8.34
其他菌 <i>Else fungus</i>	44.36	51.69	45.03	60.02	57.35	47.67	63.02	61.35	52.35	51.67	55.35	45.34	51.01	51.67	38.39	68.68	70.02	62.00	58.34	53.00	58.34	53.00	58.34	53.00	58.34	53.00	53.00	53.00	53.00	53.00
总数 Sum	9	11	10	11	11	10	10	11	13	12	13	8	8	12	11	12	7	8	11	12	7	8	7	8	11	10	11	10	11	11

F: 吡嗪丹; T: 涕灭威; S: Sn0407009 发酵液; H: Sn0407009 发酵液; CK: 对照

F: treating with Carbofuran; T: Treating with Aldicarb; S: treating with the shaking flask liquids of sn0407009; H: treating with the shaking flask liquids of sn0407009; CK: check

致,对微生物的整体影响不大。而化学杀线剂抑菌效果明显,影响其种类。由于化学农药对土壤微生物的代谢、繁殖影响较大,会减少土壤中正常微生物的数量,破坏其多样性。由此可见化学农药在对环境的影响上确实与生物农药存在一定差距^[12]。

2.3 杀线剂对土壤中优势真菌的影响

在大豆全生育期间,粘帚霉(*Gliocladium*)、拟青霉(*Paecilomyces*)和酵母菌(*Saccharomyces*)都存在。可以断定在大豆生长发育阶段这些真菌与大豆根际有密切的关系。施入两类杀线剂后,粘帚霉属(*Gliocladium*)和拟青霉属(*Paecilomyces*)在大豆的出苗期、开花期和结荚期变化不明显,但在成熟期真菌数量明显增高。可以推测到此时杀线剂的药效已经极低,这两种真菌对防治大豆根际寄生线虫病害有效果。

在大豆播种期和出苗期,土壤中的链格孢属(*Alternaria*)、镰孢菌属(*Fusarium*)、毛霉属(*Mucor*)的数量很少,但是在大豆的开花期和结荚期数量明显增多。镰孢菌属是一个庞大的属,广泛存在于土壤中,该属多数是致病菌,也有一些是非致病菌^[13]。杀线剂在杀死线虫的同时抑制了根际真菌的种类,使根际真菌的数量明显的减少。各种杀线剂对土壤线虫产生的影响是十分巨大的,而且由于杀线机理和线虫的营养类群不同^[14],吞食根际真菌的能力也不同,因而对根际真菌产生的影响也不同。

3 结论与讨论

施入两类杀线生物后,对大豆根际真菌的动态变化的研究表明:生物杀线剂对于大豆根际真菌的总体种类和数量影响不大;而化学杀线剂对大豆根际真菌的数量具有抑制性,在以后的农业生产和农田实验中要谨慎使用。在大豆生育期间两类杀线剂对大豆根际真菌均有影响,但生物杀线剂对根际真菌没有杀伤性,而化学杀线剂对大豆根际土壤真菌数量影响较大,甚至对部分种类的真菌有灭绝性。在大豆的全生育期根际真菌均发生不同的变化,并在成熟期达到高峰,其中青霉菌(*Penicillium*)、拟青霉菌(*Paecilomyces*)和木霉菌(*Trichoderma*)数量明显增多。说明这些真菌与寄生线虫及大豆胞囊线虫的病害有一定的联系,在制取发酵液时加入这些真菌,可以更好的控制线虫病害的发生。也有研究表明生物杀线剂(包括种衣剂)对大豆胞囊线虫的成虫具有杀伤作用,减轻其对根部的危害,起到了防治胞囊线虫的作用^[15-16]。

影响土壤微生物的因子是复杂的,主要包括土壤类型、杀线剂的种类、施用方法和微生物的自然属性。试验中生物杀线剂的使用和用量以及以后如何应用于生产,还有待进一步研究。而化学杀线剂对土壤中的优势种群均有抑制作用,同时也破坏了土壤生态环境和微生物区系的动态平衡。

参考文献

- [1] 刘维志,段玉玺.植物病原线虫学[M].北京:中国农业出版社,2000:281-294. (Liu W Z, Duan Y X. Pathogen nematology of plant[M]. Beijing: Agriculture Press, 2000, 281-294.)
- [2] Wang J, Donald P A, Lniblack T L, et al. Soybean cyst nematode reproduction in the North Central States [J]. Plant Disease Workers, 1993; 31-37
- [3] 张黎明,冯亚敏.大豆根系土壤中微生物的初步研究[J].吉林林业科技,2003,2:1-2. (Zhang L M, Feng Y M. A preliminary study on soil microorganism in soybean root system [J]. Jilin Forestry Science and Technology, 2003, 2:1-2.)
- [4] 梁晨,赵洪海.施用农用化学品及生防制剂的大豆胞囊线虫根际真菌区系动态[J].沈阳农业大学学报,2001,32(3):209-211. (Liang C, Zhao H H. The rhizosphere mycobiota of soybean in soils with cyst nematodes treated with chemicals and bio-control preparations. [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2001, 32 (3) : 209 - 211.)
- [5] 郭荣君,刘杏忠,杨怀文,等.芽孢杆菌BHI防治大豆根腐病的效果及机制.[J].中国生物防治,2003,19(4):180-184. (Guo R J, Liu X Z, Yang H W, et al. Mechanism of rhizobacteria BHI (*Bacillus* sp.) to suppress soybean root rot disease caused by *Fusarium* spp. [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2003, 19 (4) : 180-184.)
- [6] Gams W. *Tolypocladium*, eine hypomycetengattung mit geschwollenen phialiden [J]. Persoonia, 1971, 6(2):185-191.
- [7] Pitt J I. The genus penicillium and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *talaromyces* [M]. London: Academic Press, 1979: 634-636.
- [8] Domsch K H, Gams W, Anderson T H. Compendium of soil fungi [M]. London: Academic Press, 1980:856-859.
- [9] Davet P. Detection and isolation of soil fungi [M]. Paris: Science Publishers Inc, 1997:183-185.
- [10] 胡开辉.微生物学实验[M].北京:中国林业出版社,2004. (Hu K H. Experiments method of microbiology [M]. Beijing: Forestry Press, 2004.)
- [11] 方中达.植物研究方法(第三版)[M].北京:中国农业出版社,1998. (Fang Z D. Research method of phytopathology (3rd edition) [M]. Beijing: Agriculture Press, 1998.)
- [12] 乔雄梧,王静,秦曙,等.四种农药对土壤微生物的影响II—氮素矿质化的变化.[J].应用与环境生物学报,1999,5(Suppl):158-161. (Qiao X W, Wang J, Qin S, et al. Effect of 4 pesticides on soil microorganisms(II): Changing in N mineralization [J]. Chi-

- nese Journal of Applied and Environmental Biology, 1999, 5(Suppl): 158-161.)
- [13] 刘喜梅,何晨阳,许艳丽. 非致病性尖孢镰刀菌及其在生物防治中的应用[J]. 植物保护, 2006, 32(5): 5-8. (Liu X M, He C Y, Xu Y L. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and its application to biocontrol[J]. Plant Protection, 2006, 32(5): 5-8.)
- [14] 陈立杰. 施用农用化学品对农田土壤线虫群落产生的影响[R]. 沈阳: 中国科学院沈阳应用生态研究所, 2003: 39-46. (Chen L J. Effect of agrochemicals on soil nematode communities in farmlands[R]. Shenyang: Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, 2003: 39-46.)
- [15] 刘晓帆,范彦英,郭凤英. 包衣种子在重茬大豆田中的应用效果试验[J]. 大豆通报, 2003, 2: 9. (Liu X F, Fan Y Y, Guo F Y. Effect mechanism of coating seed used in successive planting soybean[J]. Soybean Bulletin, 2003, 2: 9.)
- [16] 朱艳,陈立杰,段玉玺. 不同耕作方式对大豆胞囊线虫群体数量的影响[J]. 大豆科学, 2007, 26(2): 208-212. (Zhu Y, Chen L J, Duan Y X. Influences of tillage practices on the number of soybean cyst nematode population [J]. Soybean Science, 2007, 26(2): 208-212.)

北方大豆育种协作网正式建立

北方大豆育种协作网建立大会于2008年6月20日在黑龙江省哈尔滨市举行,来自全国农业技术推广中心、吉林省农业科学院大豆中心、吉林省农业科学院生物技术中心、吉林农业大学、吉林省长春市农业科学院、辽宁省农业科学院作物所、辽宁省铁岭市农业科学院、内蒙古自治区呼伦贝尔盟农科所、黑龙江省农业科学院、东北农业大学、黑龙江八一农垦大学及黑龙江省农垦科学院等20家育种单位的30位大豆专家参加了会议。会议旨在分析如何提高北方大豆育种效率、提高高油大豆产量问题,并对目前北方各省育种中心存在的问题及解决的途径进行讨论,在此基础上,为提高大豆高效育种技术,建立了北方大豆育种协作网。北方大豆育种协作网涵盖了我国大豆主产区最强大的育种机构和组织,代表着我国大豆育种的最高水平,它的成立必将极大地促进我国大豆育种事业的发展。会议期间20家育种单位对68份新品种、特异材料和骨干亲本进行交流,并对高效育种方法的应用和实践效果进行了交流。

刘丽君所长在讲话中指出,大豆育种协作网的成立为北方大豆育种工作者相互交流、沟通和合作提供了良好的机会,通过协作网可凝聚北方大豆育种力量,针对生产需要,培育出好品种、大品种。分析了我国大豆产业面临的形势,希望通过大豆育种协作网实现资源共享,以团队优势共同应对挑战,并且还要求大豆育种协作网为现代农业产业技术体系的建立提供经验。

参加育种网成立大会的专家就育种网的组织形式、知识产权共享等话题展开了热烈的讨论,提出了很多意见。会议决定,北方大豆育种协作网由黑龙江省农业科学院大豆研究所牵头组织;育种网设专家委员会和办公室。专家委员会是育种网的技术咨询机构,首任主任由黑龙江省农业科学院大豆研究所所长刘丽君担任,副主任由吉林省农业科学院大豆中心王曙明、辽宁省农业科学院作物所宋书宏、内蒙古呼伦贝尔盟农科所张万海担任。委员由各育种单位从事育种相关工作的人员组成;办公室是育种网的执行机构,设在黑龙江省农业科学院大豆研究所,首任秘书长由黑龙江省农业科学院大豆研究所满为群研究员担任。

北方大豆育种协作网的信息平台挂靠于大豆科技网(www.soybeansci.com)定期发布交流信息,每位协作网的科技人员均有自由交流的平台。协作网的成员单位每年至少向网络中心提供5份特异优质性状的种质资源,并附详细的介绍资料,对不履行义务的单位将无权进一步享受协作网的待遇。

北方大豆育种协作网的任务是进行大豆育种材料和技术的广泛交流,开展穿梭育种,进行异地多点鉴定和选育,为国家和省级大豆品种区域试验提供参试优良品系;加大新品种选育和推广力度,促进成果转化;为大豆生产提供优良新品种;合作申请、承担国家和地方大豆育种和推广项目;开展大豆育种基础理论和育种方法合作研究;培养大豆遗传育种人才;推动大豆育种国际合作与交流。

诚挚邀请没有参加北方大豆育种协作网的春大豆区各育种单位加入协作网,携手共同努力为振兴中国大豆产业贡献力量。

钟鹏

黑龙江省农业科学院大豆研究所