

土壤扰动对寄生真菌代谢物温室防治大豆胞囊线虫的影响

鲁建聪<sup>1,2</sup>, 许艳丽<sup>2</sup>, 宋洁<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**大豆胞囊线虫是影响大豆产量的主要限制性病原。大豆胞囊线虫的自然抑制性是存在的,并且日益受到关注,然而在胞囊线虫生态抑制方面的研究却很少。研究在温室条件下接种真菌后以扰动(土壤过 0.5 cm 孔筛)为土壤微环境并与无干扰对比,用厚垣轮枝菌(*Pochonia chlamydosporium*)、镰孢菌(*Fusarium* spp.)和淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)的混合代谢物分别对大豆胞囊线虫进行处理,探讨其对大豆胞囊线虫温室盆栽防效的影响。在接种二龄幼虫(J2)35 d 后,对大豆胞囊线虫密度调查结果表明:土壤扰动条件下,接种混合代谢物与不接种混合代谢物相比,雌虫数量降低 20.0%~35.9%,胞囊数量降低 18.3%~35.0%,卵量降低 21.5%~38.5%,根内 J2 数量降低 14.6%~35.3%,其中以 4 号混合代谢物扰动对大豆胞囊线虫密度降低作用显著;土壤不扰动下,接种混合代谢物与不接种混合代谢物相比,雌虫密度降低 19.5%~32.7%,胞囊密度降低 19.5%~35.2%,卵量降低 21.1%~37.8%,J2 数量降低 8.0%~27.6%,仅雌虫和根内 J2 数量与不接种混合代谢物对照差异显著,菌株之间差异不显著。对大豆植株生长发育调查结果表明:扰动可能会促进植株生长、植株鲜重增加,但与不扰动差异不显著。试验证明:扰动对盆栽大豆胞囊线虫雌虫、胞囊、卵和 J2 的密度有一定的影响,扰动有增强寄生真菌代谢物对胞囊线虫温室防效效果的趋势,对降低大豆胞囊线虫密度起到积极作用。真菌对大豆胞囊线虫生长发育具有抑制作用,土壤扰动干扰和真菌代谢物的配合应用会降低土壤中胞囊线虫的密度,并影响真菌在土壤中的生防效果。

**关键词:**扰动;大豆胞囊线虫;寄生真菌;代谢物  
**中图分类号:**S565.1      **文献标识码:**A      **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2016.01.0106

Effect of Soil Disturbance to the Biological Control of Fermentation Filtrate of Parasitic Fungi on Soybean Cyst Nematode in Glasshouse

LU Jian-cong<sup>1,2</sup>, XU Yan-li<sup>2</sup>, SONG Jie<sup>1,2</sup>

(1. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences/Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Harbin 150081, China; 2. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** Soybean cyst nematode (SCN), *Heterodera glycines*, remains a major yield-limiting pathogen of soybean. Natural suppression of SCN exists and becomes increasingly attractive. However, ecological mechanism leading to the suppressive state of cyst nematode is rarely studied. The glasshouse experiments were performed to determine the effects of soil disturbance and fermentation filtrate of parasitic fungal on soybean cyst nematode. Soil disturbance was simulated by soil passing through a sieve (aperture 0.5 cm) and compared with no-disturbance (non-sieve) treatment. Different fermentation filtrate of parasitic fungi were mixed by applying *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium* spp. and *Pochonia chlamydosporium*. Density of SCN were investigated 35 days after soybeans planted in each pot. It showed that the SCN female, density of cyst, egg and J2 were significantly reduced with 20.0%-35.9%, 18.3%-35.0%, 21.5%-38.5% and 14.6%-35.3% respectively in the treatment of soil disturbance with mixed fermentation filtrate compared with soil disturbance without mixed fermentation, and the disturbance of the 4th mixed fermentation filtrate on soybean cyst nematode density was the most significantly. Without soil disturbance, applying mixed fermentation filtrate could reduce the SCN female, density of cyst, egg and J2 by 19.5%-32.7%, 19.5%-35.2%, 21.1%-37.8% and 8.0%-27.6% respectively. Compared with control treatments, there were no significant difference in the population of SCN female, when J2 treated with different mixed fermentation filtrate. This study also showed that soil disturbance could stimulate the growth of soybean, and increase the fresh weight of soybean plants, but there were no significant difference between those without disturbance. These results indicated that mixed fermentation filtrate could inhibit the development of the SCN female, density of cyst, egg and J2. Soil disturbance could promote preventive effectiveness of fungus metabolism in glasshouse and play an active role on reducing the population density of SCN. Fungi inhibit the growth and development of SCN, coordination application of soil disturbance interference and fungal metabolites might induce the population density of SCN and affect its biological control efficiency in soil.

**Keywords:** Disturbance; Soybean cyst nematode; Parasitic fungi; Fermentation filtrate

收稿日期:2014-06-12  
基金项目:国家自然科学基金(39071900)。  
第一作者简介:鲁建聪(1989-),女,硕士,主要从事大豆胞囊线虫防治研究。E-mail:cong1048063166@163.com。  
通讯作者:许艳丽(1958-),女,研究员,博导,主要从事植物线虫病害、作物病虫害生物生态控制和土壤微生态研究。E-mail:xyll@iga.ac.cn。

大豆胞囊线虫(soybean cyst nematode, SCN)病是由大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)引起的,又称大豆黄萎病、“火龙秧子”,其分布广、危害重、传播途径多、休眠体(胞囊)存活时间长,是大豆生产中一种严重的土传病害。该病于1899年在我国东北首次发现,随后亚洲、美洲和欧洲各国家相继报道了该线虫病害的发生和危害<sup>[1]</sup>。目前,对大豆胞囊线虫的防治主要依赖轮作、抗病育种、化学防治和生物防治等措施,其中生物防治成为研究的新热点和新趋势。

大豆胞囊线虫病是一种定居性的内寄生土传病害,大豆长期连作导致土壤中的胞囊大量累积,线虫病害愈加严重。但大豆胞囊线虫存在自然衰退现象<sup>[2]</sup>,并且日益引起学者关注。许艳丽<sup>[3]</sup>在2004年对中国科学院海伦农业生态试验站的大豆连作和轮作长期定位试验研究发现,大豆在连作8~11年的情况下,土壤中胞囊数量会显著减少,由每克土壤中139个胞囊减少到52个。Chen<sup>[4]</sup>在2007年研究发现,大豆长期连作,即使是在种植感病品种情况下,大豆胞囊线虫种群密度较当地平均感染水平会显著降低。孙玉秋等<sup>[5]</sup>在2011年研究发现,土壤中线虫胞囊在大豆连作15年和轮作中数量相接近,并且胞囊中的卵含量明显下降。有研究发现在自然衰退土壤中添加杀真菌剂或对土壤进行物理如高温处理后,该土壤中线虫群体密度会显著上升,土壤丧失抑制性<sup>[6]</sup>,试验表明抑制性土壤具有生物源性,微生物可能是导致大豆胞囊线虫衰退的重要抑制性因子。其中研究较多的微生物真菌包括厚垣轮枝菌(*Pochonia chlamydosporium*)、淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)、蜡蚧轮枝菌(*Verticillium lecanii*)、被毛孢(*Hirsutella rhossiliensis*)和镰孢菌(*Fusarium* spp.)等<sup>[7]</sup>。厚垣轮枝菌(*V. chlamydosporium*)是一种兼性寄生菌,能够寄生大豆胞囊线虫卵、幼虫和成虫不同型态,在自然条件下对植物寄生线虫种群密度的控制起着重要作用<sup>[8]</sup>。赵晓辉等<sup>[9]</sup>在2011年从大豆胞囊线虫抑制性土壤中分离获得6株厚垣轮枝菌,这些菌株均可以强烈抑制大豆胞囊线虫二龄幼虫的生长发育。淡紫拟青霉菌(*P. lilacinus*)可以寄生胞囊线虫等多种植物病原线虫的不同虫态,并且能够产生具有活性并杀死线虫的代谢物质,对卵孵化和二龄幼虫发育具有显著抑制作用,是一种防治线虫病害的重要生防菌资源<sup>[10]</sup>。孙玉秋等<sup>[11]</sup>在2001年对来自不同省市

的17份大豆胞囊线虫抑制性土样进行真菌分离,研究发现从土壤中分离得到的真菌以淡紫拟青霉数量最多,是土壤中的主要优势菌之一。镰孢菌(*Fusarium* spp.)是一类庞大真菌系,陈立杰<sup>[12]</sup>在2009年对连作6年的大豆田土壤进行真菌分离,研究发现镰孢菌的分离率为88.1%,在土壤中是最高的。赵晓辉等<sup>[13]</sup>在2011年研究发现从自然衰退土壤和线虫胞囊上分离得到的镰孢菌具有很高的寄生率,其中二株菌株禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)和尖孢镰孢芬芳变种(*F. oxysporum* var. *redolens*)能够显著抑制大豆胞囊线虫卵孵化并抑制二龄幼虫发育。然而,在大豆胞囊线虫生态抑制方面却很少报道。

本实验室研究报道了在大豆长期定位连作试验田中大豆胞囊线虫的自然衰退现象<sup>[6]</sup>,并从线虫抑制性土壤中分离得到多种真菌,对大豆胞囊线虫病防治起到至关重要的作用<sup>[14]</sup>。因此,本研究以土壤接种真菌后扰动(过0.5 cm孔筛)为土壤微环境,在温室试验中探讨抑制性土壤中分离保存的2个淡紫拟青霉(*P. lilacinus*)菌株、2个镰孢菌属(*Fusarium* spp.)菌株和2个厚垣轮枝菌(*V. chlamydosporium*)菌株对大豆胞囊线虫线虫的影响,为大豆胞囊线虫田间防治提供一定的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试真菌 采用2个淡紫拟青霉(*P. lilacinus*)菌株P-V-7-2和P-E-13-2、2个镰孢菌(*Fusarium* spp.)菌株F-9-3和F-V-1-4、2个厚垣轮枝菌(*V. chlamydosporium*)菌株V-25-3和V-21-2,共6个菌株试验,供试菌株均分离自大豆胞囊线虫抑制性土壤,由本实验室保存。

### 1.1.2 供试线虫和大豆品种

供试线虫:大豆胞囊线虫3号生理小种(分离自黑龙江哈尔滨)。

供试大豆品种:合丰25。

### 1.1.3 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g、蒸馏水1 000 mL。

马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB):马铃薯200 g、葡萄糖20 g、蒸馏水1 000 mL。

## 1.2 方法

1.2.1 寄生真菌代谢物制备 将供试菌株挑取菌丝在PDA培养基上活化7 d。然后将活化后的菌株打取直径为4 mm的菌块15块,接种于100 mL的

PDB 培养基中,置于摇床上于 30℃,180 r·min<sup>-1</sup> 震荡 24 h,作为种子液,取 4 mL 种子液接种于 120 mL 的 PDB 培养基中,置于摇床上于 30℃,180 r·min<sup>-1</sup> 震荡 5 d。在 4℃ 下 10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,上清液用细菌过滤器过滤后为代谢产物发酵原液。将原液 1:1:1 比列混合<sup>[15-16]</sup> (表 1),制备成混合代谢物,-4℃ 冰箱保存待用。

表 1 混合代谢物  
Table 1 Mixed fermentation filtrate

| 编号<br>No. | 代谢物<br>Fermentation filtrate |
|-----------|------------------------------|
| 1         | F-V-1-4                      |
|           | P-V-7-2                      |
|           | V-21-2                       |
| 2         | F-V-1-4                      |
|           | P-E-13-2                     |
|           | V-25-3                       |
| 3         | P-V-7-2                      |
|           | V-25-3                       |
|           | F-9-3                        |
| 4         | F-9-3                        |
|           | P-E-13-2                     |
|           | V-21-2                       |
| 5         | P-E-13-2                     |

1.2.2 大豆胞囊线虫 J2 的制备 取田间大豆根围 5~20 cm 耕层土进行大豆胞囊线虫胞囊筛取。将取回的新鲜土样置于 1 000 mL 的烧杯中,加清水搅拌,浸泡 1 h 后过 20,80 目套筛,将 80 目筛上的残留物用 63% 蔗糖收集于 50 mL 的离心管中,2 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,将上清液用清水反复冲洗,洗去残留蔗糖,再将残留物转移到装有划好分区滤纸的漏斗中,待水滤干后将滤纸置于体式显微镜下,挑取大小均一旦饱满的大豆胞囊线虫胞囊。将挑取的成熟饱满的大豆胞囊线虫胞囊放入套筛(200 目、500 目)中研磨,收集 500 目筛上物,制备卵悬液,用 0.5% NaClO 溶液对卵消毒 3 min,反复冲洗后,将卵置于 420 目筛网布上,放入装有 0.4 mmol·L<sup>-1</sup> ZnCl<sub>2</sub> 溶液的孵化池中,25℃ 培养箱中孵化 3 d,收集 J2。

1.2.3 大豆苗培育 无菌蛭石中播种大豆合丰 25,温室 25℃ 培养 7 d 待用。

1.2.4 试验用土 盆栽土取自本所温室内不含胞囊用土,并将盆栽土与河沙均过 20 目筛,121℃ 高压灭菌 1 h。将土和沙子按 2:1 比例混合<sup>[17]</sup>。

1.2.5 试验设计 采用温室盆栽试验,试验设 6 个处理:扰动+混合代谢物+J2,不扰动+混合代谢物+J2,扰动+混合代谢物,不扰动+混合代谢物,以扰动和不扰动为对照。用量筒在盆中加入寄生真菌代谢物 100 mL,充分混合后 25℃ 保湿放置 5 d,以接种真菌后,对土壤过筛(筛孔 0.5 cm)为扰动方法<sup>[18]</sup>,每盆移无菌豆苗 2 株,J2 接种量为 1 500 条·株<sup>-1</sup>,置于温室中生长,定时浇水,保证水量充足。试验 4 次重复。

1.2.6 大豆生长指标测定 接种二龄幼虫 35 d 后,扣盆,用清水冲洗去根系土壤,测单株株高、地上和地下鲜重。

1.2.7 大豆胞囊线虫密度测定 计数每盆大豆根上雌虫和根内 J2 数量<sup>[19]</sup>,并从每盆土壤中分离胞囊,在显微镜下计数胞囊和胞囊内卵量。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 进行数据分析处理。

2 结果与分析

2.1 土壤扰动对大豆胞囊线虫密度的影响

温室盆栽试验接种二龄幼虫 35 d 后对土壤扰动盆栽大豆根上的雌虫、土壤中胞囊、卵密度和根内二龄幼虫调查结果显示(表 2),土壤扰动条件下,接种混合代谢物与不接种混合代谢物相比,盆栽大豆雌虫密度降低 20.0%~35.9%,胞囊量降低 18.3%~35.0%,卵量降低 21.5%~38.5%,根内 J2 数量降低 14.6%~35.3%,均与不接种混合代谢物对照差异显著,其中 4 号混合代谢物对大豆胞囊线虫抑制作用最强烈,与其它混合代谢物在根内 J2 数量差异显著。土壤不扰动条件下,接种混合代谢物与不接种混合代谢物相比,雌虫数量降低 19.5%~32.7%,胞囊数量降低 19.5%~35.2%,卵量降低 21.1%~37.8%,根内 J2 数量降低 8.1%~27.6%,其中,4 号和 3 号混合代谢物对胞囊抑制作用强烈,与接种混合代谢物对照的胞囊量差异显著,除 3 号混合代谢物外,接种其它混合代谢物都与对照的根内 J2 量差异显著( $P < 0.05$ )。这表明所有混合代谢物均会对胞囊线虫产生抑制作用,起到防治效果,但不同混合代谢物对线虫的抑制作用存在差异。土壤扰动后线虫密度降低水平稍高于不扰动中线虫密度,但二者差异不显著,这说明土壤扰动可以增强混合代谢物对大豆胞囊线虫的防治效果,对其抑制有一定的增强趋势。

表 2 土壤扰动对线虫控制效果

Table 2 Control effects of soil disturbance on SCN

| 处理<br>Treatment                 | 代谢物<br>Filtrate | 雌虫<br>Female per pot | 防效               |                | 胞囊<br>Cyst per pot | 防效                 |      | 卵<br>Eggs per pot | 防效               |  | J2<br>J2 per pot | 防效               |  |
|---------------------------------|-----------------|----------------------|------------------|----------------|--------------------|--------------------|------|-------------------|------------------|--|------------------|------------------|--|
|                                 |                 |                      | Control          |                |                    | Control            |      |                   | Control          |  |                  | Control          |  |
|                                 |                 |                      | efficiency<br>/% |                |                    | efficiency<br>/%   |      |                   | efficiency<br>/% |  |                  | efficiency<br>/% |  |
| 扰动 + J2<br>Disturbance + J2     | 1               | 45.3 ± 4.5 b         | 20.0             | 46.9 ± 6.4 abc | 18.3               | 5053.3 ± 846.2 ab  | 21.5 | 527.5 ± 21.7 bcd  | 14.6             |  |                  |                  |  |
|                                 | 2               | 41.8 ± 4.9 b         | 26.1             | 43.6 ± 9.3 c   | 24.0               | 4810.5 ± 1320.3 ab | 25.3 | 476.7 ± 13.7 cdef | 22.9             |  |                  |                  |  |
|                                 | 3               | 39.6 ± 5.8 b         | 30.0             | 41.4 ± 6.0 c   | 27.9               | 4425.0 ± 1404.1 ab | 31.3 | 411.7 ± 23.6 fg   | 33.4             |  |                  |                  |  |
|                                 | 4               | 36.3 ± 6.7 b         | 35.9             | 37.3 ± 3.6 c   | 35.0               | 3957.5 ± 1252.2 b  | 38.5 | 400.0 ± 57.8 g    | 35.3             |  |                  |                  |  |
|                                 | 5               | 40.5 ± 2.6 b         | 28.4             | 44.8 ± 6.2 bc  | 22.0               | 4329.2 ± 511.2 ab  | 32.8 | 480.0 ± 61.9 cdef | 22.3             |  |                  |                  |  |
|                                 | CK              | 56.6 ± 2.3 a         |                  | 57.4 ± 8.2 ab  |                    | 6439.2 ± 1603.0 a  |      | 617.9 ± 68.2 a    |                  |  |                  |                  |  |
| 不扰动 + J2<br>No disturbance + J2 | 1               | 45.8 ± 6.0 b         | 19.5             | 47.8 ± 7.4 abc | 19.5               | 5211.7 ± 1174.0 ab | 21.1 | 565.0 ± 58.3 ab   | 8.1              |  |                  |                  |  |
|                                 | 2               | 43.5 ± 8.3 b         | 23.6             | 46.5 ± 8.2 abc | 21.7               | 4868.3 ± 1259.1 ab | 26.3 | 536.7 ± 30.1 bc   | 12.7             |  |                  |                  |  |
|                                 | 3               | 40.8 ± 9.5 b         | 28.3             | 42.9 ± 6.8 c   | 27.8               | 4728.3 ± 1144.2 ab | 28.4 | 455. ± 15.2 defg  | 26.0             |  |                  |                  |  |
|                                 | 4               | 38.3 ± 6.5 b         | 32.7             | 38.5 ± 2.4 c   | 35.2               | 4109.2 ± 1085.9 b  | 37.8 | 445.0 ± 45.9 efg  | 27.6             |  |                  |                  |  |
|                                 | 5               | 40.8 ± 4.9 b         | 28.3             | 46.8 ± 5.6 abc | 21.2               | 4869.2 ± 632.7 ab  | 26.3 | 510.4 ± 57.5 bcde | 17.0             |  |                  |                  |  |
|                                 | CK              | 56.9 ± 1.7 a         |                  | 59.4 ± 10.4 a  |                    | 6605.0 ± 1344.5 a  |      | 614.6 ± 18.2 a    |                  |  |                  |                  |  |

数字后字母为 Duncan’s 新复极差测验结果;小写英文字母表示差异显著( $P < 0.05$ );字母相同者为差异不显著。  
Means in column followed by the same letter are not significantly difference according to the Duncan’s multiple range test.

2.2 土壤扰动对大豆生长发育的影响

温室盆栽试验中接种二龄幼虫 35 d 后对大豆株高、地上鲜重、根重、总鲜重调查结果显示(表 3),土壤扰动条件下,接种混合代谢物与不接种混合代谢物相比,可增加植株鲜重总重 6.0% ~ 14.9%,土壤不扰动条件下,无论是否接种混合代谢物,植株总鲜重没有增加,二者在植株高度差异不显著,这可能是由于代谢物的活性及扰动在一定程度上改变了土壤生态,促进了根系生长发育。土壤扰动条

件下,接种 J2 和真菌代谢物与接种 J2 不接种混合代谢物相比,植株鲜重可增加 6.6% ~ 23.0%,而土壤不扰动条件下,接种 J2 和混合代谢物与接种 J2 不接种混合代谢物相比,植株鲜重总重增加 16.1% ~ 32.1%,二者在植株高度上差异不显著,这可能是由于真菌代谢物的加入,在一定程度上抑制线虫生长发育,从而促进了植株生长。扰动后,大豆在植株高度和总鲜重上均高于不扰动,但二者之间差异不显著,这表明扰动对大豆生长发育有促进作用。

表 3 土壤扰动对单株大豆生长发育影响

Table 3 Effects of soil disturbance on growth of soybean

| 处理             | 代谢物                   | 植株高度         | 地上鲜重         | 根鲜重          | 总鲜重          | 总鲜重增加率           |
|----------------|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------------|
| Treatment      | Fermentation filtrate | Plant height | Fresh weight | Fresh weight | Fresh weight | Fresh weight     |
|                |                       | /cm          | of shoot /g  | of roots /g  | of plant /g  | increase rate /% |
| 扰动             | 1                     | 23.7 ±2.5 ab | 4.0 ±0.5 a   | 3.4 ±0.8 b   | 7.4 ±1.4 ab  | 10.4             |
| Disturbance    | 2                     | 25.5 ±0.8 a  | 4.0 ±0.5 a   | 3.5 ±0.6 ab  | 7.5 ±1.0 a   | 11.9             |
|                | 3                     | 24.7 ±2.3 a  | 4.0 ±0.4 a   | 3.7 ±0.5 a   | 7.7 ±0.9 a   | 14.9             |
|                | 4                     | 25.8 ±0.8 a  | 4.0 ±0.5 ab  | 3.4 ±0.7 ab  | 7.4 ±1.2 ab  | 10.4             |
|                | 5                     | 23.6 ±2.0 ab | 3.8 ±0.5 ab  | 3.3 ±0.6 b   | 7.1 ±1.1 ab  | 6.0              |
|                | CK                    | 22.7 ±2.9 ab | 3.7 ±0.6 ab  | 3.0 ±1.0 bc  | 6.7 ±1.6 b   |                  |
| 不扰动            | 1                     | 23.2 ±2.4 ab | 3.7 ±0.7 ab  | 3.2 ±0.9 bc  | 6.9 ±1.6 b   |                  |
| No disturbance | 2                     | 23.5 ±2.0 ab | 3.9 ±0.6 ab  | 3.2 ±0.9 bc  | 7.1 ±1.0 ab  |                  |
|                | 3                     | 23.9 ±2.5 ab | 3.9 ±0.5 ab  | 3.2 ±0.8 b   | 7.1 ±1.4 ab  |                  |
|                | 4                     | 24.8 ±2.4 a  | 3.9 ±0.6 ab  | 3.4 ±0.9 ab  | 7.3 ±1.4 ab  |                  |
|                | 5                     | 23.7 ±2.4 ab | 3.9 ±0.5 ab  | 3.2 ±0.9 b   | 7.1 ±1.1 ab  |                  |
|                | CK                    | 24.3 ±1.6 a  | 4.0 ±0.5 ab  | 3.5 ±0.5 ab  | 7.5 ±1.1 a   |                  |

续表 3

| 处理<br>Treatment                 | 代谢物<br>Fermentation filtrate | 植株高度<br>Plant height<br>/cm | 地上鲜重<br>Fresh weight<br>of shoot /g | 根鲜重<br>Fresh weight<br>of roots /g | 总鲜重<br>Fresh weight<br>of plant /g | 总鲜重增加率<br>Fresh weight<br>increase rate /% |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|
| 扰动 + J2<br>Disturbance + J2     | 1                            | 24.5 ± 0.7 a                | 3.4 ± 0.7 bc                        | 3.1 ± 0.5 bc                       | 6.5 ± 1.2 b                        | 6.6  |
|                                 | 2                            | 24.5 ± 0.8 a                | 3.7 ± 0.4 ab                        | 3.2 ± 0.4 bc                       | 6.9 ± 0.9 b                        | 13.1                                       |
|                                 | 3                            | 24.7 ± 0.9 a                | 3.7 ± 0.4 ab                        | 3.5 ± 0.4 ab                       | 7.2 ± 0.8 ab                       | 18.0                                       |
|                                 | 4                            | 25.3 ± 0.6 a                | 3.9 ± 0.4 ab                        | 3.6 ± 0.5 ab                       | 7.5 ± 0.9 a                        | 23.0                                       |
|                                 | 5                            | 25.2 ± 0.4 a                | 3.8 ± 0.2 ab                        | 3.4 ± 0.5 ab                       | 7.2 ± 0.8 ab                       | 14.8                                       |
|                                 | CK                           | 23.6 ± 0.4 ab               | 3.2 ± 0.4 bc                        | 2.9 ± 0.6 c                        | 6.1 ± 1.1 bc                       |  |
| 不扰动 + J2<br>No disturbance + J2 | 1                            | 22.4 ± 0.9 ab               | 3.4 ± 0.6 bc                        | 3.1 ± 0.5 bc                       | 6.5 ± 1.1 bc                       | 16.1                                       |
|                                 | 2                            | 23.2 ± 1.2 ab               | 3.6 ± 0.4 ab                        | 3.1 ± 0.5 bc                       | 6.7 ± 1.0 b                        | 19.6                                       |
|                                 | 3                            | 23.7 ± 1.3 ab               | 3.6 ± 0.4 ab                        | 3.3 ± 0.3 b                        | 6.9 ± 0.7 b                        | 23.2                                       |
|                                 | 4                            | 24.2 ± 1.8 a                | 3.9 ± 0.4 ab                        | 3.5 ± 0.5 ab                       | 7.4 ± 0.9 ab                       | 32.1                                       |
|                                 | 5                            | 24.8 ± 1.7 a                | 3.9 ± 0.5 ab                        | 3.4 ± 0.5 ab                       | 7.3 ± 1.1 ab                       | 30.4                                       |
|                                 | CK                           | 20.5 ± 2.2 b                | 3.0 ± 0.7 c                         | 2.6 ± 0.6 c                        | 5.6 ± 1.4 c                        |  |

数字后字母为 Duncan's 新复极差测验结果;小写英文字母表示差异显著( $P < 0.05$ );字母相同者为差异不显著。  
Means in column followed by the same letters are not significantly difference according to the Duncan's multiple range test.

3 讨 论

土壤中大豆胞囊线虫密度与多种因素有关,其中土壤环境是一个重要影响因子。在土壤扰动与  
否的温室盆栽试验中,扰动可以明显促进大豆生长,降低大豆胞囊线虫密度,但与不扰动差异不显著,在不同真菌间差异显著。其中以 4 号混合代谢物扰动处理最为显著,其雌虫、胞、卵和 J2 密度分别降低 35.9%、35.0%、38.5% 和 35.3%,植株鲜重增加 23.0%。这表明,以扰动为土壤微环境可以影响大豆胞囊线虫密度,降低其胞囊、雌虫、卵和 J2 的产生,真菌代谢中含有某些可以抑制或杀死线虫的物质,从而破坏线虫生长发育机制,最终杀死线虫,达到防治目的。但试验结果与 Chen<sup>[4]</sup>在 2007 年研究田间耕作对被毛孢侵染二龄幼虫的结果不一致,Chen 认为田间耕作不影响被毛孢对二龄幼虫的侵染,这可能是与扰动力度和扰动方式有关,此外,可能也与田间和温室两种环境中的各种因子不同有关。本研究证明,真菌在大豆胞囊线虫抑制及防治中具有潜在作用,土壤扰动和真菌代谢物运用可能会在一定程度上对线虫产生生态抑制,影响线虫密度及植株生长发育。

在研究中发现,4 号混合代谢物无论在植株生长,还是在抑制大豆胞囊线虫密度上,都比单一菌株 P-E-13-2 作用显著。这可能是由于单个生防菌代谢物活性对环境因子依赖性强,造成单个生防菌代谢物可能在大田复杂的生态环境下适应性不足。

微生物群落的不同生态环境能够对生防菌的定殖产生不同的影响,这些因素都会导致单个生防菌株的防效<sup>[16]</sup>。因此,运用不同生物活性的代谢物组成混合物就可能提高其环境适应性并加强对线虫的防治效果。

同时,试验中接种混合寄生真菌代谢物也会  
对大豆胞囊线虫产生一定的影响。寄生真菌代谢物可以在一定程度上抑制二龄幼虫的发育,降低温室盆栽中大豆胞囊线虫密度。目前关于生防真菌代谢物对大豆胞囊线虫的作用机制尚不明确,只有产生酶类物质、毒素以及其它对线虫有毒害的次生代谢物质的报道<sup>[20]</sup>,表明生防菌代谢物中存在能够抑制线虫或杀死线虫的活性物质。有关试验表明在厚垣轮枝菌的液体培养菌丝中可以提取出丝氨酸蛋白酶 (serine protease) 和枯草杆菌蛋白酶 (VCP1) 两种蛋白酶,这些酶在线虫侵染过程中起主要抑制作用<sup>[8]</sup>。淡紫拟青霉 (*P. lilacinus*) 能够产生一种重要的代谢物质—乙酸,它具有选择性的杀线活性,可以抑制多种病原线虫的卵孵化,导致线虫胚胎中气泡产生,使其停止发育或畸形,可以麻痹致死线虫幼虫<sup>[10]</sup>。寄生真菌在一定程度上可以抑制线虫密度,对线虫具有防控作用。

由于目前对大豆胞囊线虫的研究多集中在实验室条件下,而且多种因子如植物根际—线虫—生防真菌三者间相互作用关系、土壤生态环境、外界环境、微生物代谢产物、农药等化学物质干扰和生防真菌田间防效稳定性等都会对生防菌的防效产

生影响,田间应用对大豆胞囊线虫是否具有同样的作用效果尚不清楚。因此,加强田间土壤扰动干扰对大豆胞囊线虫防治作用需进一步研究。

参考文献

[1] 刘维志. 植物病原线虫学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 281-294. (Liu W Z. Plant pathogenic nematodes [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 281-294. )

[2] Hartwig E E. Breeding productive soybean cultivars resistant to the soybean cyst nematode for the southern United States [J]. Plant Disease, 1981, 65 (4): 303-305.

[3] 许艳丽. 土壤环境对大豆胞囊线虫卵孵化影响及线虫分子诊断研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004. (Xu Y L. The effects of soil environment on soybean cyst nematode egg hatch and nematode molecular diagnosis [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2004. )

[4] Chen S Y. Suppression of *Heterodera glycines* in soils from fields with long-term soybean monoculture [J]. Biocontrol Science and Technology, 2007, 17 (2): 125-134.

[5] 孙玉秋, 许艳丽, 李春杰, 等. 作物轮作系统对土壤中大豆胞囊线虫胞囊量和单胞囊卵量的影响 [J]. 农业系统科学与综合研究, 2011, 27 (2): 298-251. (Sun Y Q, Xu Y L, Li C J, et al. Influence of cropping rotation systems on the volume of cysts and eggs in a single cyst of soybean cyst nematode [J]. System Sciences and Comprehensive Studies Agriculture, 2011, 27 (2): 298-251. )

[6] 靳学慧, 辛惠普, 郑雯, 等. 长期轮作和连作对土壤中大豆胞囊线虫数量的影响 [J]. 中国油料作报, 2006, 28 (2): 189-193. (Jin X H, Xin H P, Zheng W, et al. The influence of soil on the long term rotation and continuous collision on soybean cyst nematode [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2006, 28 (2): 189-193. )

[7] 陈立杰, 段玉玺, 范圣长, 等. 大豆胞囊线虫病的生防因子研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33 (增): 190-194. (Chen L J, Duan Y X, Fan S C, et al. Advances in antagonists of soybean cyst nematode [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2005, 33 (S): 190-194. )

[8] 卢明科, 潘沧桑, 李舟. 厚垣轮枝孢菌 (*Verticillium chlamydosporium*) 防治植物线虫研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2004, 32 (4): 103-105. (Lu M K, Pan C S, Li Z. Advances of studies of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for plant parasitic nematodes [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2004, 32 (4): 103-105. )

[9] 赵晓晖, 许艳丽. 镰刀菌发酵液对大豆胞囊线虫的抑制作用 [J]. 大豆科学, 2011, 30 (3): 468-470. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Fusarium* spp fermented filtrates on soybean cyst

nematode [J]. Soybean Science, 2011, 30 (3): 468-470. )

[10] Sun M H, Gao L, Shi Y X, et al. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in china and their biocontrol potential [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2006, 93: 22-28.

[11] 孙玉秋, 许艳丽, 李春杰, 等. 东北地区大豆胞囊线虫卵定殖真菌的多样性研究 [J]. 华北农学报, 2011, 26 (2): 233-238. (Sun Y Q, Xu Y L, Li C J, et al. Mycofloras in eggs of soybean cyst nematode in northeast China [J]. Acta Agriculture Boreall-Sinica, 2011, 26 (2): 233-238. )

[12] 陈立杰, 刘小杰, 段玉玺, 等. 轮作和连作田大豆胞囊线虫胞囊上真菌定殖动态 [J]. 大豆科学, 2009, 28 (2): 266-270. (Chen L J, Liu X J, Duan Y X, et al. Dynamics of fungial colonization on cyst in rotation and continuous cropping of soybean [J]. Soybean Science, 2009, 28 (2): 266-270. )

[13] 赵晓晖, 许艳丽. 厚垣轮枝菌发酵液对大豆胞囊线虫的抑制作用 [J]. 大豆科技, 2011 (2): 19-25. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Verticillium chlamydosporium* fermented filtrates on soybean cyst nematode [J]. Soybean Science and Technology, 2011 (2): 19-25. )

[14] 赵晓辉. 大豆胞囊线虫抑制性土壤中寄生真菌及其作用研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011. (Zhao X H. Suppressive soil of soybean cyst nematode and parasitic fungi [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011. )

[15] 葛红莲, 郭坚华, 祁红英, 等. 复合菌剂 AR99 防治辣椒青枯病 [J]. 植物病理学报, 2004, 34 (2): 162-165. (Ge H L, Guo J H, Qi H Y, et al. Biological control of *Capsieum* baeterial wilt by compound baeterial mixture AR99 [J]. ACTA Phytopathologica Sinica, 2004, 34 (2): 162-165. )

[16] 王波, 李红梅, 王碧, 等. 淡紫拟青霉与放线菌代谢物复配对南方根结线虫的防治 [J]. 南京农业大学学报, 2009, 32 (1): 55-60. (Wang B, Li H M, Wang B, et al. Biological control of *Meloidogyne incognita* by combination of *Paecilomyces lilacinus* and *Actinomycetes* spp. [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2009, 32 (1): 55-60. )

[17] 钱洪利. 明尼苏达被毛袍对大豆胞囊线虫作用的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009. (Qian H L. The effect of *Hirsutiella minnestensisisa* on soybean cyst nematode [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009. )

[18] Bao Y, Neher D A, Chen S. Effect of soil disturbance and biocides on nematode communities and extracellular enzyme activity in soybean cyst nematode suppressive soil [J]. Nematology, 2011, 13 (6): 687-699.

[19] Jenkins W R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil [J]. Plant Disease, Report, 1964, 48: 692.

[20] 范圣长, 段玉玺, 陈立杰. 大豆胞囊线虫胞囊内寄生真菌研究 [J]. 大豆科学, 2004, 23 (1): 71-74. (Fan S C, Duan Y X, Chen L J. The reserach on the cyst entoparasitic fungi of soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2004, 23 (1): 71-74. )