



生防制剂禾力素不同处理方式对大豆胞囊线虫病及根腐病防效的影响

陈井生¹, 官远福², 李海燕², 于吉东^{1,2}, 林志伟², 周园园³, 李 炜³, 来永才³

(1. 黑龙江省农业科学院 大庆分院, 黑龙江 大庆 163316; 2. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163316; 3. 黑龙江省农业科学院 耕作栽培研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:为研究生物制剂禾力素对大豆生长及对根部病害的影响, 采用包衣、叶面喷施及纳米富硒包衣 3 种禾力素处理方式, 测定了不同时期各处理对大豆植株生理活性和大豆胞囊线虫及根腐病防效的影响。结果表明: 生防菌剂禾力素不同处理方式对大豆幼苗生长均有一定促进作用, 可以提高大豆幼苗的生理活性, 叶绿素、蛋白质、可溶性总糖含量与对照相比, 种子包衣处理分别增加了 1.53, 0.83 和 0.82 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 纳米富硒包衣处理分别增加了 1.48, 0.69 和 0.26 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 禾力素叶面喷施处理则分别增加 1.14, 0.37 和 0.36 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。禾力素不同处理方式对大豆胞囊线虫病均有一定的防治效果, 种子包衣处理防病效果大于纳米富硒包衣处理, 大于叶面喷施, 其 4 个生育时期的平均防效为 54.77%、33.43% 和 25.95%。

关键词:生防制剂; 大豆胞囊线虫; 蛋白质; 叶绿素; 可溶性还原总糖

Effects of Different Treatments of Biocontrol Agent Helisu on Soybean Cyst Nematode and Root Rot Control Effect

CHEN Jing-sheng¹, GONG Yuan-fu², LI Hai-yan², YU Ji-dong^{1,2}, LIN Zhi-wei², ZHOU Yuan-yuan³, LI Wei³, LAI Yong-cai³

(1. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing 163316, China; 2. Agricultural College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163316, China; 3. Institute of Crop Tillage and Cultivation, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 163316, China)

Abstract: In this experiment, the effects of biocontrol agents Helisu on SCN and Root Rot were studied by seed coating, foliar spraying and Nano-Se-rich coating. The results showed that the different treatments of biocontrol agents Helisu could promote the growth of soybean seedlings, the physiological activity, chlorophyll, protein and total soluble sugar content of soybean seedlings. The seed coating treatments increased 1.53, 0.83 and 0.82 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ compared with the contrast. The Nano-Se-rich coating treatments increased 1.48, 0.69 and 0.26 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. The foliar spraying treatments increased 1.14, 0.37 and 0.36 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. All tested treatments had a certain control effect on SCN, the effect of seed coating treatment was greater than the Nano-Se-rich coating treatment, and than the foliar application. The average control effect of the four stages of seed coating was 54.77%, 33.43% and 25.95%, respectively.

Keywords: Biocontrol agents; Soybean cyst nematode; Protein; Chlorophyll; Total soluble sugar

大豆胞囊线虫(soybean cyst nematode, SCN)病和大豆根腐病是两种导致大豆产量损失的重要土传病害。大豆胞囊线虫自 1899 年在黑龙江省首次发现, 至今, 该病害在东北地区和黄淮海等几个大豆主产区发生极为普遍。其中, 在黑龙江省的东部大豆连作区、西部风沙干旱盐碱大豆种植区和北部大豆主产区发生尤为严重, 通常造成产量的损失高达 10%~30%, 严重地块甚至绝产^[2]。

大豆胞囊线虫依靠口针刺入寄主体内进行寄生活动, 给大豆镰刀菌、疫霉菌、腐霉菌和立枯丝核菌侵染提供便利条件, 从而引起并加重了大豆根腐病的发生, 导致大豆根部腐烂并危害根系, 造成大豆植株根部的相关物质活性受到影响, 从而减弱植株根系吸收土壤中水分和养分。通常使大豆减产

10%~60%, 严重时甚至绝产^[3]。大豆根部病害的防治一直是大豆育种家和植物病理学家研究的热点和难点。

抗性品种和生物防治是防治大豆根部病害的有效手段, 但是由于抗病品种比较少, 尤其兼抗两个根部病害的品种极为匮乏, 因此生物防治是目前研究的热点^[4]。应用生物种衣剂对大豆进行种子处理是防治大豆胞囊线虫病和大豆根腐病的重要措施之一^[5-7]。禾力素主要成份为解淀粉芽孢杆菌和 2,4-表油菜素内酯, 具有促进植物生长, 增强植物抗性, 提高产量; 提高植物免疫功能, 预防和抑制病虫害发生; 促进农作物中的农药残留分解; 减轻除草剂等农药和重金属毒害等作用。本文研究禾力素不同使用方式对大豆生长特性及主要根部病

收稿日期: 2017-10-17

基金项目: 黑龙江省农垦总局科技项目(HNK135-02-06-04); 大庆市科技局指导性项目(zd-2017-36); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划(UNPYSCT-2016146)。

第一作者简介: 陈井生(1982-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事大豆抗线虫遗传育种和线虫病害防治研究。E-mail: jingsheng6673182@163.com。

通讯作者: 李海燕(1966-), 女, 博士, 教授, 主要从事植物线虫学教学与研究。E-mail: byndlihy@126.com。

害胞囊线虫病及根腐病的防效,旨在为禾力素的进一步推广应用奠定试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试品种 合丰 50,由黑龙江省农业科学院大庆分院大豆所保存。

1.1.2 供试菌剂 禾力素,黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所提供。

1.2 试验设计

试验于 2016 年在黑龙江省农科院大庆分院红旗泡连作大豆试验地进行,土质为砂壤土,前茬为大豆,秋翻地秋起垄,地势平缓。采用大区对比试验,每个处理 300 m²。共设置 4 个处理,CK 为空白对照。

禾力素叶面喷施(HT1):叶面喷施时将禾力素(用量 300 mL·hm⁻²)均匀叶面喷施大豆叶面,4 片三出复叶开始喷施,每隔 10 d 喷施 1 次,共喷 3 次。

禾力素包衣处理(HT2):每 1 kg 种子加入 20 mL 禾力素包衣,处理后种子铺开干燥 1 h,直接播种。

禾力素纳米富硒包衣(HT3):每 1 kg 种子加入 20 mL 禾力素包衣,处理后种子铺开干燥 1 h,直接播种。

分别于大豆营养生长阶段的不同生育时期(V2、V3、R1 和 R2 期)取样,每个不同处理每次随机取 10 株,调查大豆胞囊着生量及根腐病的发生情况,测量株高、根长、根数以及地上和地下部分的鲜重及生理指标,另取 5 株对大豆根进行根内线虫染色,观察侵入的线虫数量。

1.3 方法

1.3.1 根腐病分级标准

- 0 级:植株茎基部和主根均无病斑;
- 1 级:茎基部和主根有少量病斑;
- 3 级:茎基部或主根上病斑较多,病斑面积占茎和根总面积的 1/4 ~ 1/2;
- 5 级:茎基部及主根上病斑多且较大,病斑面积占茎基部和根总面积的 1/2 ~ 3/4;
- 7 级:茎基部或主根上病斑连片,形成绕茎现象,但根系并未死亡;
- 9 级:根系死亡,植株地上部萎焉或死亡。

1.3.2 根组织内线虫检测 参照刘维志^[8]的方法,采用次氯酸钠-酸性品红对侵入根组织内的线虫进行染色。步骤如下:在烧杯中加入 50 mL 蒸馏水,随机选取 3 个根组织,幼根加入 10 mL NaClO 溶液,中等程度的根加入 20 mL NaClO 溶液,NaClO 溶液浓度为 5.25%,光照下待变白后用蒸馏水冲洗 3 次,加入 50 mL 浓度 2% 酸性品红,煮沸 30 s,漂

洗、加入 30 mL 的酸性甘油至褪色,在解剖镜下观察根内线虫数量。计算每克根内的线虫数。

1.3.3 叶绿素含量的测定 参照张宪政^[9]的丙酮乙醇混合液法,用 HITACIU-2900E 测定 652 nm 处光密度值。

$$\text{叶绿素含量}(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{\text{OD}_{652} \times V}{34.5 \times W}$$

式中:V-提取液体积(mL),W-叶片鲜重(g)。

1.3.4 可溶性糖含量的测定 参照张志良等^[10]蒽酮比色法。

1.3.5 可溶性糖的测定 参照 Moerschbacher 等^[11]的方法测定。

1.3.6 蛋白含量的测定 参照 Bradford^[12]的方法测定。

1.4 数据分析

采用 SPSS 17.0 的 Duncan's 进行差异显著性分析(P < 0.05),试验数据采用 Excel 2007 进行整理。

2 结果与分析

2.1 不同生育时期不同禾力素处理方式对大豆生长的影响

从表 1 可知,总体来看 V2、V3、R2 时期大豆不同禾力素处理的株高、根长、地上鲜重、地下鲜重均比对照有所提高,且差异显著。在 4 个时期不同禾力素处理均可以提高大豆幼苗叶绿素、蛋白质和可溶性还原糖的含量,与对照相比,种子包衣处理分别增加了 1.53,0.83 和 0.82 mg·g⁻¹;纳米富硒包衣处理分别增加了 1.48,0.69 和 0.26 mg·g⁻¹;叶面喷施处理分别增加了 1.14,0.37 和 0.36 mg·g⁻¹。其中 V2 期禾力素富硒包衣处理的叶绿素含量、可溶性糖含量及蛋白质含量均显著高于其它处理,3 个处理在 4 个不同生育时期的平均值分别高于对照 0.48,0.66 和 0.48 mg·g⁻¹;V3 期禾力素包衣处理的可溶性糖含量及蛋白质含量均显著高于其它处理。可见禾力素处理能够促进大豆生长,提高品质。

2.2 不同生育时期 3 种禾力素处理对大豆胞囊线虫及根腐病防效的影响

2.2.1 大豆胞囊线虫病 由表 2 可知:经禾力素处理的大豆根内线虫数均显著低于对照。叶面喷施、包衣处理、纳米富硒包衣处理对大豆胞囊线虫的平均防效为 25.95%、54.77%、33.43%。其中,禾力素包衣处理大豆种子在 4 个时期根上胞囊数最少,对大豆胞囊线虫的防效最高(V3 期除外)。

2.2.2 大豆根腐病 禾力素处理对大豆根腐病具有较好的防效,叶面喷施、包衣及纳米富硒包衣 3 种处理方式在 4 个生育时期的平均防效为 33.60%、59.97%、47.50%。除 V2 期外,禾力素包衣处理的病情指数均表现为最低,平均防效表现为最高(表 2)。

表 1 禾力素不同处理对不同时期大豆生长的影响

Table 1 Effects of different treatments on biological characteristics and physiological indexes of soybean seedlings in different growth stages

生育时期 Growth stage	处理 Treatment	株高 Plant height /cm	根长 Root length /cm	地上鲜重 Shoot fresh weight/g	地下鲜重 Root fresh weight/g	叶绿素含量 Chlorophyll content /(mg·g ⁻¹)	可溶性糖含量 Soluble sugar content /(mg·g ⁻¹)	蛋白质含量 Protein content /(mg·g ⁻¹)
V2	HT1	12.40 a	15.37 ab	0.82 a	1.36 b	1.43 b	0.96 cd	0.47 b
	HT2	13.35 a	17.38 a	0.74 ab	1.62 a	1.50 b	1.21 bc	0.57 b
	HT3	12.17 a	13.60 bc	0.72 ab	1.53 a	2.01 a	1.79 a	0.72 a
	CK	10.51 b	11.70 cd	0.88 a	0.90 c	1.39 b	0.81 d	0.31 c
V3	HT1	30.47 a	15.17 a	4.66 b	1.61 ab	1.66 a	0.80 c	0.47 c
	HT2	28.76 a	14.16 a	6.88 a	1.97 a	2.05 a	1.26 a	0.92 a
	HT3	23.21 b	11.09 c	3.27 bc	1.20 c	2.00 a	1.12 b	0.36 c
	CK	17.82 c	11.33 b	2.24 c	1.25 bc	0.52 b	0.43 d	0.10 d
R1	HT1	38.90 a	19.00 a	26.14 a	3.46 a	3.35 a	1.09 b	0.39 bc
	HT2	39.60 a	16.00 b	18.71 b	3.07 ab	3.20 a	0.96 c	0.60 ab
	HT3	38.86 a	17.53 ab	16.85 b	3.04 ab	3.29 a	1.43 a	0.64 a
	CK	38.80 a	15.16 b	10.72 c	2.93 b	2.75 a	0.61 d	0.34 c
R2	HT1	47.30 b	17.54 ab	6.12 a	66.18 a	3.47 ab	0.81 bc	0.58 a
	HT2	46.62 b	19.67 a	4.14 b	28.55 bc	3.45 ab	1.33 a	0.42 ab
	HT3	53.23 a	18.46 ab	4.16 b	35.33 b	3.38 a	0.63 cd	0.62 a
	CK	32.52 c	15.98 b	3.25 bc	21.28 cd	3.48 ab	0.49 d	0.23 b

同列不同小写字母分别表示在 5% 水平上差异显著,下同。

Values within a column followed by different lowercase are significantly different at 5% probability level. The same as below.

表 2 禾力素不同处理对大豆胞囊线虫及根腐病的影响

Table 2 Effect of different treatments on SCN and root rot disease in different growth stages

生育时期 Growth stage	处理 Treatment	根内线虫数 Numbers of nematodes inside soybean roots	根上胞囊数 Numbers of cyst on soybean roots	防效 Control effect/%	根腐病病指数 Soybean root rot disease index	防效 Effect/%
V2	HT1	10.00 b	42.10 ab	18.41	2.81 bc	32.60
	HT2	2.00 d	27.10 b	47.48	3.85 ab	7.93
	HT3	7.00 c	44.30 a	14.14	2.09 c	50.00
	CK	13.70 a	51.60 a	—	4.18 a	—
V3	HT1	6.66 c	33.00 a	3.08	2.05 bc	50.00
	HT2	8.33 c	25.70 a	24.52	1.15 c	71.95
	HT3	14.00 b	25.45 a	25.25	2.35 b	42.68
	CK	21.00 a	34.05 a	—	4.10 a	—
R1	HT1	6.33 b	26.61 ab	14.43	1.45 ab	21.26
	HT2	8.33 b	11.30 b	63.65	0.15 c	91.89
	HT3	5.33 b	23.80 ab	23.47	0.55 bc	70.27
	CK	17.67 a	31.10 a	—	1.85 a	—
R2	HT1	3.66 c	18.21 b	67.87	0.35 bc	61.11
	HT2	2.33 c	10.35 b	83.43	0.10 c	88.89
	HT3	7.00 b	20.06 b	70.84	0.15 c	83.33
	CK	10.67 a	62.45 a	—	0.90 ab	—

3 结论与讨论

生防菌剂禾力素不同的处理方式下均可提高大豆的生物学指标,使大豆对胞囊线虫和根腐病的抗性增强,病情指数下降。生防菌剂主要依靠菌自身的繁殖,与病原菌争夺生活空间与资源,或分泌代谢产物抑制病原菌生长发育。所以要给予生防菌良好的生活环境,其本身方可定殖与繁殖。在本试验中禾力素叶面喷施处理对大豆胞囊线虫的防治效果低于种子包衣处理,可能与叶面的湿度不高,不利于繁殖或定殖数量少有关。而且喷施在叶表面,即使能够正常繁殖,只是对地上部的有促生长作用,但无法与土壤中的病原菌进行竞争,因而4个生育时期的平均防效仅为25.95%,效果不明显。

有研究表明硒不仅是动物体内的必要营养元素之一,同时也是植物所需的有益营养元素,硒对大豆生理指标有很大的促进作用,如提高大豆的叶绿素和蛋白质含量、提高根活力、增强抗氧化、抵御不良环境等^[13],由于叶面施硒可对大豆的产量及籽粒质量有较高的作用,所以成为了提高大豆产量的有效措施^[14]。生防菌剂禾力素叶面喷施、种子包衣、纳米富硒包衣处理对大豆幼苗生长均有一定促进作用,可以提高大豆幼苗的生理活性,叶绿素、蛋白质、可溶性总糖含量。在促进大豆幼苗生长及生理指标上,禾力素包衣处理好于纳米富硒包衣处理好于禾力素喷施处理。

本试验中禾力素包衣处理效果最为明显,4个生育时期对大豆胞囊线虫的平均防效为54.77%,其次是纳米富硒包衣为33.43%而禾力素叶面喷施仅达到了25.95%。禾力素包衣处理的防治效果好于禾力素叶面喷施和纳米富硒包衣处理,建议在生产上推广使用。

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: 285-288. (Liu W Z. Plant pathogen nematology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 285-288.)

[2] Wrather J A, Stienstra W C, Koenning S R. Soybean disease loss estimates for the United States from 1996 to 1998[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2001, 23(2):122-131.

[3] 文景芝,杨建华. 黑龙江省几种常用大豆种衣剂对大豆根腐病防治效果[J]. 东北农业大学学报,1997,28(1):39-43. (Wen J Z, Yang J H. The effectiveness of several seed-coated chemicals

usually utilized in Heilongjiang province on soybean root rot[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 1997, 28 (1): 39-43.)

[4] 孙漫红,刘杏忠,缪作清. 大豆胞囊线虫病生物防治研究进展[J]. 中国生物防治,2000,16(3):136-141. (Sun M H, Liu X Z, Miao Z Q. Biological control of soybean cyst nematode[J]. Chinese Journal of Biological Control,2000,16(3):136-141.)

[5] 陈立杰,万传浩,朱晓峰,等. Sne253 生物种衣剂防治大豆胞囊线虫的研究[J]. 大豆科学,2011,30(3):459-462. (Chen L J, Wan C H, Zhu X F, et al. Control effects of sne253 biological seed coating on soybean Cyst Nematode[J]. Soybean Science, 2011, 30(3):459-462.)

[6] 郭宁,陈立杰,段玉玺,等. 控制大豆胞囊线虫生物种衣剂的研制及沈阳田间小区防效的初步试验[J]. 植物保护,2009,35(2):158-162. (Guo N, Chen L J, Duan Y X, et al. Preparation and effects of biological seed coating on soybean cyst nematode in-soybean plots in Shenyang[J]. Plant Protection, 2009, 35 (2): 158-162.)

[7] 许艳丽,张红骥,张匀华,等. 施用根腐病生防颗粒剂后对大豆田土壤微生物区系的影响[J]. 大豆科学,2007,26(2):198-203. (Xu Y L, Zhang H J, Zhang Y H, et al. The effect of biocontrol agents of trichoderma against soybean root roton soil microorganisms[J]. Soybean Science, 2007, 26 (2):198-203.)

[8] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1995. (Liu W Z. Research techniques of plant nematology [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1995.)

[9] 张宪政. 植物叶绿素含量测定-丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学,1986(3):26-28. (Zhang X Z. Determination of chlorophyll content in plants - acetone ethanol mixture method[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 1986(3):26-28.)

[10] 张志良,瞿伟菁. 植物生理实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003. (Zhang Z L, Qu W Q. Guidance of plant physiological experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.)

[11] Moerschbacher B M, Noll U M, Flott B E, et al. Lignin biosynthetic enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1988, 33(1):33-46.

[12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72:248-254.

[13] 胡丹丹. 富硒发芽大豆成分变化及其对加工性能的影响[D]. 南京:南京财经大学,2015. (Hu D D. Effect of ingredients changes of se-enrichment germinating soybean on processing properties[D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics, 2015.)

[14] 黄丽美. 叶面施硒对大豆生长发育、产量、籽粒品质的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2016. (Huang L M. Effect of foliar application of se fertilizers on growth, yield, quality of soybean grain[D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2016.)