



寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫 3 号生理小种毒力和防效研究

许艳丽¹,鲁建聪¹,宋 洁^{1,2}

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所,黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 哈尔滨商业大学 外语学院,黑龙江 哈尔滨 150028)

摘 要:为验证淡紫拟青霉菌、镰孢菌属和厚垣轮枝菌对大豆胞囊线虫的抑制作用,实验室条件下探讨了 3 个属的 12 种供试菌株发酵液对大豆胞囊线虫 3 号生理小种胞囊、卵孵化的抑制作用和对 2 龄幼虫的致死作用。结果表明:这 3 个属的 12 个菌株的发酵液对大豆胞囊线虫各种虫态均有抑制作用,抑制线虫的胞囊和卵孵化,对二龄幼虫有致死作用。供试菌株发酵原液对胞囊孵化抑制率为 57. 5% ~81. 2%,稀释 5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍发酵液对胞囊孵化也具有抑制作用,抑制率为 23. 0% ~77. 0%。发酵液对线虫卵孵化抑制率为 41. 6% ~80. 6%。菌株发酵液均对大豆胞囊线虫 2 龄幼虫具有致死作用,原液处理 1 h 有 83. 0% 菌株对胞囊线虫幼虫出现致死毒性,48 h 致死作用达到 80. 0% 以上。供试菌株中以镰孢菌的 F-9、淡紫拟青霉菌的 P-E 和厚垣轮枝菌 V-25 发酵液对大豆胞囊线虫抑制作用最显著,以此 3 种菌株进行盆栽试验的结果显示,真菌发酵液可降低盆栽大豆根部雌虫、胞囊、卵量和根内 J2 的密度,促进植物生长和增加大豆鲜重。

关键词:大豆胞囊线虫; 镰孢菌; 厚垣轮枝菌; 淡紫拟青霉菌; 发酵液; 防效

Virulence and Control Effect of Parasitic Fungi on Race 3 of Soybean Cyst Nematode

XU Yan-li¹, LU Jian-cong¹, SONG Jie^{1,2}

(1. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. College of Foreign Languages, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: In order to test the inhibition of *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium* spp. and *Verticillium chlamydosporium* on SCN, the inhibition of their fermentation filtrates on cyst, egg hatching and mortality of the second instar larvae (J2) of SCN race 3 were tested under laboratory conditions. The results showed that the fermentation filtrates of 12 strains of *Fusarium* spp., *V. chlamydosporium* and *P. lilacinus* had inhibitory effects on various morphology of SCN. The fermentation filtrates inhibited cysts and egg hatching of SCN, and had a lethal effect on J2. The fermentation filtrates of the tested strain inhibited the cyst from 57. 5% to 81. 2%, The 5-, 10-, 20- and 50-fold dilutions of the fermentation filtrates also showed an inhibitory effect on cyst of SCN with inhibition rate of 23. 0% ~77. 0%. The fermentation filtrates inhibited the hatching rate of eggs of SCN from 41. 6% to 80. 6%. The fermentation filtrates of 12 strains had a lethal effect on J2 of SCN. The fermentation filtrates of 83. 0% strains had lethal toxicity on J2 of SCN when J2 was treated for 1 h, and the lethal effect reached more than 80. 0% after 48 h of treatment among the tested strains, the fermentation filtrates the F-9 strain of *Fusarium*, P-E strain of *P. lilacinus*, and V-25 strain of *V. chlamydosporium* significantly inhibited soybean cyst nematodes. In pot experiments with these strains, fungus fermentation filtrates reduced the density of females, cysts and eggs of soybean roots and J2 in the roots of soybean. The fungus fermentation filtrates also promoted plant growth and increased fresh weight of soybeans.

Keywords: Soybean cyst nematode; *Fusarium* spp.; *Verticillium chlamydosporium*; *Paecilomyces lilacinus*; Fermentation filtrate; Control effect

由大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*) 引起的大豆胞囊线虫病 (soybean cyst nematode, SCN) 是普遍发生且危害严重的世界性大豆病害。一般情况下连作后大豆胞囊线虫病发生严重,但在大豆产区连作十多年后易出现大豆胞囊线虫自然衰退现象^[1-2],该现象主要表现为大豆胞囊线虫病危害减轻、单胞囊卵量减少^[3]。在大豆胞囊线虫自然衰退土壤和连作豆田中,存在众多的大豆胞囊线虫天

敌,报道最多的是食线虫真菌,包括卵寄生菌和胞囊寄生菌,该类寄生菌在防控大豆胞囊线虫上应用前景最好,其中 *Fusarium*、*Verticillium* 和 *Paecilomyces* 等属的真菌较常见^[4],这些真菌大多为土壤习居菌、适应性广,在农田土壤中有较强的竞争能力而成为大豆胞囊线虫生防菌中最具生防潜力的类群^[5]。宋洁等^[6]在 22 年定位试验区的大豆连作和轮作(小麦-玉米-大豆)等茬口上分离和鉴定了

土壤中大豆胞囊线虫胞囊、卵和二龄幼虫(J2)等不同虫态寄生真菌,发现在大豆22年连作田的线虫寄生菌厚垣轮枝菌(*Verticillium chlamydosporia*)、尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)和淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)分离的数量显著高于连作3年和轮作22年,其中厚垣轮枝菌的数量最高,认为厚垣轮枝菌可能是引起大豆胞囊线虫自然衰退的主要寄生真菌。Song等^[7]采用DGGE方法研究大豆连作23年和2年的大豆胞囊线虫胞囊寄生真菌,鉴定出的优势菌也是以上述3种为主,且连作23年优势寄生真菌多于连作2年和轮作。孙漫红等^[2]从双河、宝泉岭和白城大豆胞囊线虫抑制性土壤中及定殖的胞囊、雌虫和卵中分离真菌发现,主要是淡紫拟青霉、厚垣轮枝菌、茄腐镰孢菌(*Fusarium solani*)和柱孢菌(*Cylindrocarpum* spp.)等,淡紫拟青霉为宝泉岭定殖真菌的优势种。为研究这些优势寄生真菌在大豆胞囊线虫自然衰退土壤中所起的作用,近年研究者针对多种优势寄生真菌开展了大量研究,先后报道了厚垣轮枝菌^[8]、淡紫拟青霉^[9-10]、镰孢菌^[11]、明尼苏达被毛孢菌(*Hirsutella minnesotensi*)^[12]及其它真菌^[13-14]对大豆胞囊线虫的抑制作用,推断这些寄生真菌的存在可能有效地控制了大豆胞囊线虫密度,使连作田大豆胞囊线虫衰退。但研究目标多是针对线虫卵孵化的抑制和对二龄幼虫的致死作用,在大豆生产田胞囊线虫主要是以胞囊形式存在于土壤中,因此,探讨寄生真菌对大豆胞囊线虫胞囊的作用更能进一步证明其抑制作用。本研究以在长期连作大豆田分离鉴定的大豆胞囊线虫优势寄生真菌厚垣轮枝菌、淡紫拟青霉和镰孢菌为材料,研究寄生菌发酵液对中国大豆产区优势小种—3号小种大豆胞囊线虫胞囊和卵孵化的抑制作用,及对二龄幼虫的致死作用,探讨作用明显的菌株对胞囊线虫温室防治的效果,以期为生物防治植物寄生线虫病提供依据,研究结果也会对揭示大豆胞囊线虫自然衰退机制具有一定的学术价值。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆为感病品种合丰25,该品种对大豆胞囊线虫3号生理小种感病。

供试真菌为淡紫拟青霉菌(*Paecilomyces lilacinus*)4个菌株(P-1、P-V、P-40和P-E)、镰孢菌属(*Fusarium* spp.)4个菌株(F-1、F-5、F-9和F-V)和厚垣轮枝菌(*V. chlamydosporium*)4个菌株(V-25、V-1、V-2和V-21)。供试真菌菌株均由中国科学院黑土区农业生态重点实验室从大豆胞囊线虫抑制

性土壤中分离、鉴定并保存的寄生大豆胞囊线虫的优势真菌。

供试线虫大豆胞囊线虫3号生理小种,线虫保存在温室盆栽大豆合丰25上。

1.2 试验设计

温室盆栽试验设4个处理:空白对照、接种大豆胞囊线虫J2、浇灌寄生真菌发酵液、浇灌寄生真菌发酵液+接种大豆胞囊线虫J2。供试3个菌是选择在室内测定结果中对大豆胞囊线虫3种虫态毒力强的,每个菌中选择1个菌株(F-9、P-E、V-25),进行日光温室盆栽试验。试验用土取自蔬菜地,经分离测定无大豆胞囊线虫胞囊,加入土和河沙均过20目孔筛,121℃高压灭菌1h。将土和沙子按2:1比例混合,盆中加入300cm³灭菌沙土。花盆底径7cm、口径10cm、高8cm。在温室内无菌蛭石中播种大豆,7d后每盆移栽豆苗2株,置于温室中生长,4次重复。大豆胞囊线虫J2接种量为1500条·株⁻¹,寄生真菌发酵液浇灌量为100mL^[15]。

大豆出苗35d后扣盆,用清水冲洗掉根系土壤,测定大豆株高、大豆地上和根系鲜重。清水冲洗根系后计数根上大豆胞囊线虫雌虫数量。分析寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫温室防效及大豆生长的影响。

1.3 方法

1.3.1 菌悬液和线虫卵及幼虫悬浮液制备 寄生真菌发酵液制备:菌株活化供试培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)、马铃薯葡萄糖培养液(PDB)^[16]。挑取供试菌株的菌丝在PDA培养基上活化7d,然后打取直径4mm菌块,接种到100mLPDB培养液里,在30℃、180r·min⁻¹震荡培养24h作为种子液。取4mL该种子液接种到120mLPDB培养液中,再以同样条件震荡培养5d,4℃离心20min(10000r·min⁻¹),将上清液用细菌过滤器进行过滤,即成为寄生真菌发酵原液。

大豆胞囊线虫的胞囊分离:取大豆根围5~20cm土进行大豆胞囊线虫的胞囊分离。取新鲜土在玻璃烧杯中加清水搅拌,浸泡1h后过套筛(20和80目),80目筛上的残留物用63%蔗糖收集至离心管中,2500r·min⁻¹离心5min,对残留物过滤,挑取成熟且饱满的线虫胞囊,于4℃冰箱保存备用。

大豆胞囊线虫卵悬浮液制备:取饱满胞囊放到套筛(200和500目)中研磨,然后收集残留物,用0.5%NaClO溶液消毒,并用清水冲洗,用灭菌水制备线虫卵悬浮液,调整浓度为5000个·mL⁻¹,置于4℃冰箱保存备用。

大豆胞囊线虫J2悬浮液制备:将制备的大豆胞囊

线虫卵置于 420 目筛网布上,放入装有 0.4 mmol·L⁻¹ ZnCl₂溶液的孵化池中,25 ℃ 培养箱中孵化获得,根据需要制成相应浓度的 J2 悬浮液。

1.3.2 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫胞囊孵化毒力测定 将分离出的新鲜饱满胞囊置于 24 孔细胞培养板内(每孔 10 个),每孔加入 2 mL 寄生真菌发酵液原液、5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍稀释液,以清水为对照,置于 25 ℃ 培养箱中培养,3 次重复。20 d 后记录孵化出的线虫数,并计算孵化抑制率。胞囊孵化抑制率(%)=(对照胞囊孵化线虫数-处理胞囊孵化线虫数)/对照胞囊孵化线虫数×100。

1.3.3 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫卵孵化毒力测定 在细胞培养板中加入大豆胞囊线虫卵悬浮液,每孔加 0.4 μL(约 200 粒),各孔再分别加入 2 mL 寄生真菌发酵液原液、5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍稀释液,以清水为对照,置于 25 ℃ 培养箱中培养,3 次重复。20 d 后记录孵化出的线虫数,并计算线虫卵孵化率和相对抑制率。线虫卵孵化率(%)=孵化线虫数/供试卵数×100。相对抑制率(%)=(对照孵化率-处理孵化率)/对照孵化率×100。

1.3.4 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫 J2 毒力测定 于细胞培养板中加入大豆胞囊线虫 J2 悬浮液(每孔约 50 条),各孔再加入 2 mL 寄生真菌发酵液原液、5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍稀释液,以清水为对照,置于 25 ℃ 培养箱中培养,3 次重复。分别在 1,6,12,24,48 和 72 h 后记录线虫死亡数量,并计算线虫死亡率和相对死亡率。大豆胞囊线虫 J2 死亡率(%)=死亡线虫数/供试线虫数×100。

1.3.5 大豆根内大豆胞囊线虫 J2、胞囊及卵分离和测定 将新鲜去土的大豆根在-20 ℃ 冰箱中冷冻 24 h,取出室温下融化,加适量水后在组织捣碎机中捣碎。将溶液转移到套筛网上(上层 80 和 500 目),500 目筛上物用蔗糖离心法分离^[17],同时将黏在离心管壁和盖内的线虫进行收集清洗。体式显微镜下计数 J2 数量。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 进行数据分析和处理。

2 结果与分析

2.1 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫胞囊的毒力

2.1.1 发酵原液对大豆胞囊线虫胞囊孵化抑制作用 处理 20 d 后,寄生真菌发酵原液对大豆胞囊线虫 3 号生理小种胞囊孵化有很高的抑制作用,12 个菌株对胞囊孵化抑制率范围为 57.5%~81.2%,均

超过 50%;供试 3 个属真菌的抑制率由高到低依次为镰孢菌(71.0%~81.2%)、淡紫拟青霉(62.6%~81.2%)和厚垣轮枝菌(57.5%~67.3%)。其中镰孢菌属的 F-9 菌株和淡紫拟青霉 P-E 发酵原液孵化抑制率最高,均是 81.2%,这 2 个菌液与本属内其它 3 个菌株差异显著($P<0.05$),与厚垣轮枝菌的 4 个菌株也差异性显著(表 1)。可能由于不同寄生菌发酵液中含有的活性成分存在差异,因此对胞囊线虫胞囊孵化作用不尽相同。

表 1 寄生真菌发酵原液中大豆胞囊线虫胞囊孵化抑制率
Table 1 Hatch inhibition rates of SCN cyst in fermentation filtrate of parasitic fungi (%)

菌株 Strain	胞囊孵化抑制率 Inhibition rates of cyst hatch
F-1	71.9 ± 5.7 ab
F-9	81.2 ± 1.5 a
F-V	71.0 ± 8.0 ab
F-5	71.9 ± 2.7 ab
P-V	62.6 ± 1.5 bc
P-E	81.2 ± 6.5 a
P-40	62.7 ± 6.9 bc
P-1	62.7 ± 1.0 bc
V-1	57.5 ± 1.7 c
V-25	67.3 ± 5.1 bc
V-2	62.6 ± 2.8 bc
V-21	57.5 ± 2.9 c

不相同字母表示 $P\leq 0.05$ 水平差异显著。下同。
Different lowercase indicates significant difference at $P\leq 0.05$ level.
The same below.

2.1.2 发酵稀释液对大豆胞囊线虫胞囊孵化抑制作用 处理 20 d 后,寄生真菌发酵液稀释 5~50 倍后均对大豆胞囊线虫胞囊孵化具有抑制作用,3 个属的菌液抑制作用都是随着菌液的稀释倍数升高而逐渐降低,5 倍稀释液的抑制作用最强,50 倍稀释液的抑制作用最弱。3 个属寄生菌 5 倍的胞囊孵化抑制率为 64.5%~77.0%,10 倍为 53.5%~73.0%,20 倍为 30.5%~46.5%,50 倍为 23.0%~38.3%(表 2)。相同稀释倍数的 3 个寄生菌之间胞囊孵化抑制率差异不大。但同一寄生菌有的菌株之间抑制率差异显著,如镰孢菌的 F-9 在 4 个稀释液中的 10 倍和 50 倍里与其它 3 个菌株之间差异显著,表现出明显的抑制优势。

表2 寄生真菌发酵稀释液对大豆胞囊线虫胞囊孵化抑制率

Table 2 Hatch inhibition rates of SCN cyst in diluent of fermentation filtrate of parasitic fungi (%)

菌株 Strain	5 倍 5-fold	10 倍 10-fold	20 倍 20-fold	50 倍 50-fold
F-1	65.5 ±2.1 ab	53.5 ±4.9 c	38.0 ±7.1 ab	25.5 ±0.7 bc
F-9	77.0 ±2.8 a	73.0 ±2.8 a	46.5 ±4.9 a	38.3 ±7.1 a
F-V	73.3 ±2.8 ab	57.5 ±0.7 bc	38.3 ±7.1 ab	30.5 ±7.7 ab
F-5	74.5 ±7.1 ab	57.5 ±0.7 bc	39.0 ±4.2 ab	34.5 ±2.1 ab
P-V	73.3 ±2.8 ab	66.3 ±12.7 ab	42.5 ±0.7 ab	23.0 ±8.4 c
P-E	73.3 ±2.8 ab	65.5 ±2.1 ab	38.5 ±7.1 ab	30.5 ±7.7 ab
P-40	73.3 ±2.8 ab	61.0 ±4.2 bc	38.3 ±7.1 ab	30.5 ±7.79 ab
P-1	64.5 ±9.2 b	53.5 ±4.9 c	30.5 ±7.8 b	23.9 ±8.4 c
V-1	73.3 ±2.8 ab	65.5 ±2.1 ab	34.5 ±2.1 ab	23.9 ±8.4 c
V-25	73.3 ±2.8 ab	69.0 ±2.8 ab	34.5 ±2.1 ab	23.9 ±8.4 c
V-2	73.3 ±2.8 ab	65.5 ±2.1 ab	34.0 ±12.7 ab	23.9 ±8.4 c
V-21	64.5 ±9.2 b	61.0 ±4.2 bc	34.5 ±2.1 ab	23.9 ±8.4 c

2.2 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫卵的毒力

2.2.1 发酵原液对大豆胞囊线虫卵孵化抑制作用

处理 20 d 后,胞囊线虫卵在寄生真菌 12 个菌株发酵原液中的孵化率远低于灭菌水对照,多数菌株不到灭菌水中的 50%,寄生真菌发酵原液卵孵化率为 2.6%~4.4%,12 个菌株发酵原液中卵孵化率均与灭菌水(7.8%)差异显著($P<0.05$)。12 个菌株发酵原液对线虫卵孵化相对抑制率为 41.6%~67.4%,说明这些菌株发酵液对胞囊线虫卵孵化具有很强的抑制作用。3 种寄生菌之间差异不明显,但同一菌内菌株间有的抑制作用明显,如淡紫拟青霉的 P-E 在 12 个菌株里对线虫卵孵化抑制作用最大,抑制率为 67.4%,除了厚垣轮枝菌的 V-25 菌株外,与同种的其它 3 个菌株及另外 2 个菌的 7 个菌株均有显著差异($P<0.05$);厚垣轮枝菌的 V-25 抑制率为 64.9%,也与同种的其它 3 个菌株及另外 2 个菌的 7 个菌株均有显著差异($P<0.05$)(表 3)。说明发酵原液 P-E 和 V-25 对线虫卵孵化具有明显的抑制作用。

2.2.2 发酵稀释液对大豆胞囊线虫卵孵化毒力

处理 20 d 后发酵液中线虫卵孵化率随寄生真菌发酵液稀释倍数的增加而升高(表 4),5 倍稀释液中卵孵化率为 2.5%~3.1%,10 倍稀释液中卵孵化率为 2.7%~3.7%,20 倍稀释液中卵孵化率为 4.2%~5.9%,50 倍稀释液中卵孵化率为 6.2%~7.3%,而无菌水对照的孵化率为 13.5%,4 个稀释浓度与无菌水均有显著差异($P<0.05$)。3 种菌液之间的孵化率差别不大,除个别菌株外,差异不显著。F-9 在 5 倍和 10 倍稀释液中较同属菌低,分别为 2.5%和

2.7%。V-25 在 5 倍稀释液中是同种菌中孵化率最低的,仅为 2.5%。

表3 寄生真菌发酵原液中大豆胞囊线虫卵孵化率
和相对抑制率

Table 3 Hatch rates and relative hatch inhibition rates of
SCN eggs in fermentation filtrate of parasitic fungi (%)

菌株 Strain	孵化率 Hatch rates	相对抑制率 Relative hatch inhibition rates
F-1	4.4 ±0.8 b	41.6 ±6.7 bc
F-9	3.8 ±0.5 bc	53.2 ±6.3 bc
F-V	3.6 ±1.2 bc	54.6 ±3.3 bc
F-5	3.2 ±0.0 bc	59.6 ±0.7 bc
P-V	3.2 ±0.2 bc	59.6 ±3.8 bc
P-E	2.6 ±0.1 c	67.4 ±2.8 a
P-40	3.4 ±0.1 bc	56.4 ±2.8 bc
P-1	4.1 ±1.5 bc	47.8 ±0.8 bc
V-1	3.9 ±0.1 bc	50.0 ±0.0 bc
V-25	2.8 ±0.1 c	64.9 ±0.0 a
V-2	2.9 ±0.1 bc	62.8 ±7.7 bc
V-21	3.4 ±0.1 bc	56.4 ±0.7 bc
灭菌水 Sterile water	7.8 ±0.2 a	—

12 株寄生菌的 5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍发酵稀释液对线虫卵孵化都具有较强抑制能力,5 倍稀释液中抑制率为 77.6%~81.8%,10 倍稀释液中抑制率为 73.3%~80.6%,20 倍稀释液中抑制率为 57.0%~63.6%,50 倍稀释液中抑制率为 46.6%~55.2%。3 种菌比较差异不大,均对卵孵化有明显的抑制作用(表 5)。

表 4 寄生真菌发酵稀释液中大豆胞囊线虫卵孵化率

Table 4 Hatch rates of SCN eggs in diluent of fermentation filtrate of parasitic fungi (%)

菌株 Strain	5 倍 5-fold	10 倍 10-fold	20 倍 20-fold	50 倍 50-fold
F-1	2.7 ±0.2 b	3.4 ±0.3 bc	5.4 ±0.3 bc	6.7 ±0.0 cde
F-9	2.5 ±0.0 b	2.7 ±0.2 c	5.3 ±0.1 bc	6.6 ±0.3 cde
F-V	2.7 ±0.2 b	3.4 ±0.1 bc	5.3 ±0.0 bc	6.3 ±0.2 de
F-5	2.7 ±0.0 b	3.7 ±0.0 b	5.0 ±0.2 bc	6.2 ±0.2 e
P-V	3.1 ±0.1 b	3.7 ±0.2 b	5.5 ±0.2 bc	6.8 ±0.1 bede
P-E	2.8 ±0.3 b	3.3 ±0.3 bc	5.5 ±0.4 bc	6.4 ±0.1 de
P-40	3.1 ±0.1 b	3.6 ±0.3 b	5.7 ±0.0 b	6.8 ±0.1 bede
P-1	2.8 ±0.2 b	3.4 ±0.1 bc	5.6 ±0.1 bc	6.6 ±0.1 cde
V-1	2.8 ±0.1 b	3.3 ±0.1 bc	5.5 ±0.0 bc	6.5 ±0.2 cde
V-25	2.5 ±0.2 b	3.2 ±0.4 bc	4.2 ±1.8 c	6.8 ±0.0 bed
V-2	2.8 ±0.2 b	3.4 ±0.1 bc	5.9 ±0.3 b	7.3 ±0.2 b
V-21	2.9 ±0.3 b	3.6 ±0.5 b	5.5 ±0.0 bc	7.1 ±0.3 bc
灭菌水 Sterile water	13.8 ±0.5 a	13.8 ±0.5 a	13.8 ±0.5 a	13.8 ±0.5 a

表 5 寄生真菌稀释液中大豆胞囊线虫卵孵化相对抑制率

Table 5 Relative hatch inhibition rates of SCN eggs in diluent of fermentation filtrate of parasitic fungi (%)

菌株 Strain	5 倍 5-fold	10 倍 10-fold	20 倍 20-fold	50 倍 50-fold
F-1	80.6 ±2.5 ab	75.2 ±1.5 b	60.6 ±0.8 abc	51.5 ±2.1 abc
F-9	81.8 ±0.7 a	80.6 ±0.8 a	61.8 ±0.8 ab	52.2 ±0.5 abc
F-V	80.6 ±0.8 ab	75.1 ±1.9 b	61.2 ±1.6 ab	53.9 ±3.6 ab
F-5	80.6 ±0.8 ab	73.3 ±1.0 b	63.6 ±0.1 a	55.2 ±0.2 a
P-V	77.6 ±0.1 b	73.4 ±0.5 b	60.0 ±0.0 abc	50.9 ±1.3 abc
P-E	79.9 ±3.4 ab	76.3 ±3.6 ab	60.0 ±1.6 bc	53.3 ±1.1 ab
P-40	77.6 ±0.1 b	74.0 ±1.4 b	58.7 ±1.7 bc	50.9 ±1.3 abc
P-1	79.4 ±0.8 ab	75.1 ±1.9 b	59.3 ±2.6 c	52.1 ±2.9 abc
V-1	80.0 ±1.6 ab	76.3 ±1.8 ab	60.0 ±1.7 bc	52.7 ±0.3 abc
V-25	81.8 ±0.9 a	77.0 ±2.4 ab	60.0 ±1.7 bc	50.3 ±2.1 bed
V-2	79.4 ±0.8 ab	75.2 ±0.2 b	57.0 ±0.7 c	46.6 ±0.6 d
V-21	78.8 ±1.6 ab	74.0 ±3.1 b	60.0 ±1.7 bc	48.5 ±0.3 cd

2.3 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫 J2 毒力

2.3.1 发酵原液对大豆胞囊线虫 J2 毒力 对寄生真菌发酵原液中大豆胞囊线虫 J2 死亡率调查表明,12 株寄生真菌发酵原液均对大豆胞囊线虫二龄幼虫致死作用明显,与灭菌水对照相比均差异显著 ($P<0.05$),并且抑制作用随着作用时间的延长增加,J2 在发酵原液中作用 1 h,10 个菌株的发酵液的线虫 J2 出现死亡,作用 6 h,12 个菌株均出现死亡

J2。而在灭菌水对照中 12 h 才出现死亡 J2,处理 24 h 后在菌液里 J2 死亡都超过了 60%,48 h 时 J2 死亡为 80%~90%,3 d 后 J2 死亡率在 8 个菌株发酵液里达到了 100%,而此时在灭菌水对照中只有 42.0%。3 种菌发酵液间 J2 死亡率差别不大,并且相同的作用时间里作用效果也相近(表 6)。12 个菌株中 F-9、P-E 和 V-2 总体作用效果明显好于同种的其它菌株。

表 6 寄生真菌发酵原液中大豆胞囊线虫 J2 死亡率

Table 6 Death rate of SCN J2 in fermentation filtrate of parasitic fungi

(%)

菌株 Strain	时间 Time					
	1 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
F-1	0.3 ± 0.4 c	11.7 ± 3.3 c	31.7 ± 2.7 ab	63.7 ± 2.3 bc	83.0 ± 2.3 b	100 ± 0.0 a
F-9	2.3 ± 0.4 ab	18.0 ± 1.8 ab	43.7 ± 10.8 ab	74.7 ± 1.8 a	95.7 ± 2.3 a	100 ± 0.0 a
F-V	0	16.7 ± 4.7 ab	35.3 ± 10.3 ab	64.7 ± 5.6 bc	84.3 ± 1.4 b	100 ± 0.0 a
F-5	1.3 ± 0.4 bc	11.3 ± 5.6 c	36.3 ± 1.7 ab	62.7 ± 2.83 c	88.7 ± 1.8 ab	99.3 ± 0.9 a
P-V	1.3 ± 1.8 bc	16.7 ± 0.9 ab	43.0 ± 6.5 ab	67.7 ± 1.4 abc	91.3 ± 2.8 ab	100 ± 0.0 a
P-E	3.7 ± 0.4 a	20.0 ± 1.8 a	48.3 ± 2.7 a	70.3 ± 3.3 ab	94.7 ± 3.7 a	100 ± 0.0 a
P-40	0	16.0 ± 0.9 ab	39.3 ± 1.3 ab	63.7 ± 0.7 bc	85.0 ± 0.4 ab	99.0 ± 1.4 a
P-1	0.7 ± 0.9 c	14.0 ± 3.7 b	35.0 ± 9.9 ab	66.3 ± 4.2 bc	87.0 ± 8.2 ab	98.7 ± 0.0 a
V-1	0.3 ± 0.4 c	13.3 ± 0.4 b	43.7 ± 5.5 ab	65.7 ± 4.4 bc	90.3 ± 8.1 ab	99.7 ± 0.4 a
V-25	1.7 ± 1.4 ab	19.3 ± 2.8 a	49.7 ± 3.7 a	71.0 ± 3.3 ab	94.3 ± 5.1 a	100 ± 0.0 a
V-2	3.7 ± 0.4 a	14.7 ± 3.7 b	50.0 ± 8.4 a	65.0 ± 0.4 bc	88.3 ± 4.2 ab	100 ± 0.0 a
V-21	1.7 ± 0.4 ab	18.3 ± 1.4 ab	47.7 ± 1.8 ab	68.0 ± 1.9 abc	90.3 ± 8.0 ab	100 ± 0.0 a
灭菌水 Sterile water	0	0	19.0 ± 3.3 b	23.0 ± 2.3 c	30.0 ± 0.9 c	41.7 ± 1.4 b

2.3.2 发酵稀释液对大豆胞囊线虫 J2 毒力 对寄生真菌发酵稀释液中大豆胞囊线虫 J2 死亡率调查显示,寄生真菌发酵 5 倍、10 倍、20 倍和 50 倍稀释液对大豆胞囊线虫 J2 均有致死作用,并随着发酵液稀释倍数的升高,J2 的死亡率降低,但随着作用时间的延长,J2 死亡率升高。在不同的稀释倍数中,5 倍稀释液毒力最高,50 倍的最弱。对作用 3 d 的 4 个稀释浓度分析,处理 1 h 后多数的菌株 5 倍、10 倍和 20 倍稀释液中有 J2 死亡,而在对照灭菌水中 12 h 才有 J2 死亡,6 h 时所有菌株的 4 个浓度稀

释液中都有 J2 死亡。在 72 h 内除了 12 h 的 20 倍和 50 倍、24 h 的 20 倍、48 h 的 50 倍、72 h 的 20 倍和 50 倍外,所有菌株的 J2 死亡率均与对照灭菌水差异显著($P<0.05$),即 5 倍和 10 倍稀释液里任何作用时间 12 个菌株都与对照灭菌水差异显著。F-9、P-E 和 V-25 发酵稀释液在不同作用时段的不同倍数稀释液中都对 J2 有明显的抑制作用。72 h 结果显示 12 个菌株的 5 倍稀释液对大豆胞囊线虫 J2 的致死率都超过 80% (表 7)。

表 7 寄生真菌发酵稀释液中不同时间大豆胞囊线虫 J2 死亡率

Table 7 Mortality of SCN J2 in diluent fermentation filtrate of parasitic fungi after different time

(%)

菌株 Strain	1 h				6 h			
	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍
	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold
F-1	0.7 ± 0.7 ab	0.2 ± 0.9 b	0	0	8.9 ± 1.9 e	6.4 ± 2.2 d	2.9 ± 0.8 efg	2.0 ± 0.0 de
F-9	1.3 ± 0.0 ab	0.2 ± 0.9 b	0	0	11.6 ± 0.7 cd	6.2 ± 1.2 de	3.8 ± 0.9 cde	2.0 ± 0.0 de
F-V	0.5 ± 0.9 b	0	0	0	8.4 ± 2.2 e	4.2 ± 0.9 f	2.0 ± 1.3 f	0.2 ± 0.3 f
F-5	0	0	0	0	9.6 ± 0.9 de	4.2 ± 0.9 f	3.1 ± 0.8 cdef	0.9 ± 1.2 ef
P-V	0.7 ± 0.6 ab	0.5 ± 0.9 ab	0	0	11.1 ± 0.8 cd	7.6 ± 0.7 cd	4.4 ± 0.8 c	3.6 ± 0.9 c
P-E	1.1 ± 0.8 ab	0.9 ± 0.7 ab	0.4 ± 0.9 b	0	12.7 ± 0.7 bc	9.1 ± 0.7 bc	6.5 ± 0.8 b	4.9 ± 1.2 b
P-40	0	0	0	0	11.3 ± 0.7 cd	7.8 ± 1.2 cd	4.2 ± 1.9 cd	2.9 ± 1.2 cd
P-1	0	0	0	0	7.6 ± 1.9 e	4.5 ± 0.9 ef	2.5 ± 0.9 ef	0.4 ± 0.7 f
V-1	1.3 ± 0.7 ab	0.7 ab	0.9 ± 0.8 a	0	12.7 ± 0.7 bc	8.9 ± 1.9 bc	6.2 ± 0.9 b	5.6 ± 0.9 ab
V-25	1.6 ± 0.9 a	1.3 ± 0.7 a	0.1 ± 0.9 c	0	15.6 ± 0.7 a	11.8 ± 0.7 a	8.7 ± 0.7 a	6.0 ± 1.3 ab
V-2	1.1 ± 0.8 ab	0.5 ± 0.9 ab	0	0	14.0 ± 1.3 ab	933 ± 0.7 bc	7.3 ± 0.7 ab	6.4 ± 1.2 a
V-21	1.6 ± 0.9 a	0.9 ± 0.8 ab	0.4 ± 0.7 b	0	14.2 ± 0.9 ab	10.2 ± 0.7 ab	7.3 ± 1.5 ab	5.8 ± 0.9 ab
灭菌水 Sterile water	0	0	0	0	0	0	0	0

续表 7

菌株 Strain	12 h				24 h			
	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍
	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold
F-1	22.9±2.7 abc	16.4±2.4 d	12.2±2.7 abc	10.2±0.9 a	40.9±2.4 d	31.3±2.4 d	25.8±1.2 bcd	18.9±0.7 cd
F-9	24.0±0.0 abc	18.9±1.9 b	8.8±3.4a bc	8.4±1.3 abc	51.6±1.0 a	40.9±0.8 a	27.1±2.5 abcd	20.7±0.7 bc
F-V	22.2±0.0 abc	12.0±0.0 g	9.5±3.34 abc	7.0±1.2 c	41.1±4.4 bc	30.4±1.2 d	22.9±2.4 cde	18.5±0.9 cd
F-5	20.7±1.7 abc	13.6±1.9 fg	9.6±1.2a bc	8.2±1.3 abc	40.2±3.5 cd	26.4±5.9 e	20.4±4.4 ef	20.0±1.6 bc
P-V	17.3±12.1 c	16.9±1.2 cd	11.1±2.4 abc	8.5±1.8 abc	45.3±1.4 bc	32.9±2.3 cd	25.6±2.9 bed	19.8±1.2 ab
P-E	26.0±2.1 ab	19.8±0.7 ab	13.6±3.8 ab	10.5±0.9 a	51.3±1.6 a	38.0±1.3 ab	30.0±2.1 ab	22.9±2.4 ab
P-40	21.6±0.7 abc	15.1±0.8 def	8.7±1.7 bc	7.6±0.9 c	41.3±1.4 cd	30.0±1.6 d	24.7±2.1 cde	19.8±0.9 cd
P-1	20.2±1.9 bc	14.2±0.7 ef	9.6±2.2 abc	7.1±0.7 a	40.0±1.6 d	30.4±1.2 d	24.7±1.7 cde	20.4±1.0 bc
V-1	23.8±1.0 abc	16.0±0.0 de	11.1±2.7 abc	9.1±1.3 abc	39.3±6.7 d	36.0±0.0 bc	29.8±2.4 ab	17.1±3.8 d
V-25	28.0±1.3 a	21.1±0.7 a	13.8±2.0 a	10.4±1.2 a	50.9±1.2 a	40.0±0.0 a	28.9±2.4 abc	23.6±1.2 a
V-2	26.0±1.6 ab	18.4±0.7 bc	12.7±2.0 abc	9.8±1.2 ab	45.3±1.4 bc	38.9±1.9 ab	29.8±1.2 ab	18.9±0.8 cd
V-21	24.0±5.1 abc	18.5±0.9 bc	13.3±2.0 ab	10.4±13 a	49.8±0.7 ab	39.3±1.5 ab	30.9±3.2 a	19.8±0.9 cd
灭菌水 Sterile water	8.0±0.7 d	8.0±0.7 h	8.0±0.7 c	8.0±0.7 bc	19.3±2.0 e	19.3±2.0 f	19.3±2.0 f	19.3±2.0 cd

续表 7

菌株 Strain	48 h				72 h			
	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍	5 倍	10 倍	20 倍	50 倍
	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold	5-fold	10-fold	20-fold	50-fold
F-1	65.6±2.2 ab	54.4±1.9 de	35.1±1.2 e	31.8±0.9 f	81.3±1.5 bc	73.1±1.3 abc	50.9±2.4 c	42.9±1.2 g
F-9	74.2±0.7 a	57.1±5.8 cd	39.8±0.9 d	32.7±0.6 ef	92.0±2.1 a	79.1±1.3 ab	56.7±3.7 bc	54.0±0.7 bed
F-V	69.1±0.8 ab	58.7±2.1 cd	40.7±1.4 d	31.3±1.5 f	85.6±2.1 b	76.7±2.4 abc	57.8±3.5 b	48.0±1.5 f
F-5	62.4±2.8 ab	50.4±2.8 e	38.7±2.1 d	32.0±1.6 f	77.1±0.7 c	66.9±2.4 c	54.4±2.0 bc	48.2±1.2 ef
P-V	71.8±1.9 a	60.7±1.6 bc	41.3±1.7 d	35.1±2.4 de	85.6±0.7 b	69.4±14.2 bc	56.2±2.4 bc	53.3±3.5 bede
P-E	77.3±1.4 a	63.8±1.9 ab	50.0±3.6 ab	37.6±1.2 cd	93.3±2.0 a	78.9±1.0 ab	69.3±0.7 a	58.5±1.8 ab
P-40	66.0±2.4 ab	54.2±0.7 de	38.4±1.0 d	30.0±2.4 f	77.1±0.8 c	68.7±2.0 bc	58.2±1.3 b	53.1±0.3 cdef
P-1	68.4±1.3 ab	54.0±1.3 de	40.0±1.3 d	32.2±1.0 ef	83.6±5.6 b	74.5±8.0 abc	57.3±2.0 b	50.9±1.4 def
V-1	69.6±0.7 ab	55.3±2.0 d	47.3±2.0 bc	39.3±1.4 bc	93.1±0.7 a	76.5±0.9 abc	64.9±0.8 a	59.8±1.2 a
V-25	76.9±2.0 a	66.7±2.4 a	51.8±1.4 a	42.7±1.3 a	96.7±1.7 a	81.6±1.3 a	67.8±3.6 a	60.7±0.7 a
V-2	67.8±1.2 ab	56.2±0.9 cd	48.7±1.4 ab	40.4±1.4 ab	93.1±0.7 a	76.2±1.3 abc	66.2±3.6 a	56.4±2.14 abc
V-21	68.2±1.9 ab	56.4±3.1 cd	45.3±1.7 c	38.7±1.5 bc	96.0±2.0 a	77.8±5.7 ab	66.2±1.2 a	59.6±0.9 a
灭菌水 Sterile water	30.0±2.0 c	30.0±2.0 f	30.0±2.0 f	30.0±2.0 f	54.2±8.7 d	54.2±8.7 d	54.2±8.7 bc	54.2±8.7 bed

2.4 寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫温室防效及大豆生长的影响

2.4.1 对温室防效的影响 选择室内测定中对大豆胞囊线虫抑制作用明显的 3 个菌株进行盆栽试验,接种二龄幼虫 35 d 后调查优势寄生真菌发酵原液对大豆胞囊线虫温室盆栽防效。试验结果表明,寄生真菌发酵液可有效地控制大豆胞囊线虫为害,降低盆栽大豆根部雌虫、胞囊、卵量和根内 J2 的密

度。浇灌寄生真菌发酵液后,对盆栽中雌虫防效为 27.3%~40.5%,胞囊防效为 30.0%~39.6%,卵量防效为 27.5%~33.5%,根内 J2 数量防效为 41.4%~50.0%,均与不接种对照差异显著($P<0.05$)(表 8)。试验结果说明,寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫有显著地控制作用,抑制其根部雌虫、胞囊、卵和根内 J2 的数量,其中,淡紫拟青霉 P-E 菌株较其它菌对大豆胞囊线虫防治效果更高。

表 8 寄生真菌代谢物原液对线虫控制效果
Table 8 Control efficiency with fermentations filtrate of parasitic fungi on nematode

处理 Treatment	雌虫 Female		孢囊 Cyst		卵 Egg		J2	
	数量 Number	防效	数量 Number	防效	数量 Number	防效	数量 Number	防效
		Control efficiency /%		Control efficiency /%		Control efficiency /%		Control efficiency /%
F-9 + J2	53.3 ± 3.2 b	27.3	53.3 ± 5.7 b	33.4	5790.3 ± 925.3 ab	27.7	546.7 ± 130.6 b	41.4
V-25 + J2	53.3 ± 8.1 b	27.3	56.0 ± 3.0 b	30.0	5807.3 ± 1042.3 ab	27.5	524.0 ± 60.6 b	43.8
P-E + J2	43.6 ± 4.7 b	40.5	48.3 ± 4.2 b	39.6	5330.3 ± 1200.4 b	33.5	467.0 ± 63.7 b	50.0
J2	73.3 ± 13.6 a	—	80.0 ± 11.9 a	—	8013.7 ± 1709.9 a	—	933.0 ± 484.1 a	—

2.4.2 对大豆生长发育的影响 对大豆生长发育调查结果表明,施入寄生真菌发酵液可在一定程度上促进大豆植株高度和总鲜重增加。在同时接种 J2 和施入真菌发酵液的处理中,大豆植株高度为 25.6 ~ 27.7 cm,明显高于只接种 J2 对照的 20.9 cm,差异显著 ($P < 0.05$);植株鲜重增加 45.7% ~ 62.9%,与只接种 J2 对照差异显著。在只接种真菌发酵液处理中,植株高度为 27.8 ~ 29.0 cm,高于不

接种对照的 26.0 cm,但差异不显著 ($P < 0.05$),说明施入真菌发酵液后对大豆生长没有造成抑制作用。只接种真菌发酵液处理总鲜重增加 25.0% ~ 32.3%,与不接种对照差异显著,说明接种寄生真菌发酵液,可以降低大豆孢囊线虫产生的危害;促进植物生长和增加大豆鲜重。其中,P-E 总鲜重增加最为显著(表 9)。

表 9 寄生真菌发酵原液对大豆生长发育影响
Table 9 Effect of fermentation filtrate of parasitic fungi on soybean growth

处理 Treatment	株高 Plant height /cm	地上鲜重 Fresh weight of shoot/g	根重 Fresh weight of roots/g	总鲜重 Fresh weight of plant/g	总鲜重增加率 The increase rate of fresh weight/%
F-9 + J2	25.6 ± 1.1 b	5.1 ± 0.3 bc	4.9 ± 0.2 c	10.0 ± 0.4 c	47.1
V-25 + J2	26.6 ± 1.2 ab	5.1 ± 0.3 bc	5.0 ± 0.3 c	10.1 ± 0.6 c	48.5
P-E + J2	27.7 ± 1.1 ab	5.7 ± 0.2 ab	5.3 ± 0.4 bc	11.0 ± 0.7 bc	61.8
J2	20.9 ± 1.7 c	3.5 ± 0.4 d	3.3 ± 0.4 d	6.8 ± 0.8 d	—
F-9	28.1 ± 2.9 ab	5.8 ± 0.3 a	6.2 ± 0.7 ab	12.0 ± 0.9 ab	25.0
V-25	27.8 ± 1.1 ab	5.8 ± 0.2 a	6.3 ± 0.4 ab	12.1 ± 0.6 ab	26.0
P-E	29.0 ± 1.4 a	6.1 ± 0.2 a	6.6 ± 0.6 a	12.7 ± 0.7 a	32.3
CK	26.0 ± 1.1 ab	4.9 ± 1.4 c	4.7 ± 0.8 c	9.6 ± 1.0 c	—

3 讨 论

大豆孢囊线虫的生防因子很多^[4],如食线虫真菌、食线虫细菌、杀(抑)线虫植物、捕食性线虫、捕食性土壤动物等,但深入研究并进行应用的却只有食线虫真菌和细菌。近年国内外学者对大豆孢囊线虫自然衰退的研究逐步深入,在大豆田中分离筛选出多种生防因子,但报道较多的是寄生真菌,其中淡紫拟青霉菌、厚垣轮枝菌和镰孢属真菌为东北大豆产区大豆孢囊线虫的优势寄生真菌。范圣长等^[18]2004 年测定了中国北方分离的孢囊内寄生真菌 *Aspergillus niger*、*Paecilomyces lilacinus*、*Fusarium semitectum*、*Verticillium chlamydosporium*、*Ver-*

ticillium sp.、*Acremonium* sp. 发酵液中大豆孢囊线虫 3 号生理小种 J2 的毒性,发现 6 个菌株均对 J2 有毒杀作用。这其中有 3 个属与本试验寄生真菌相同。赵晓晖等^[11]在大豆连作 19 年耕层土壤中分离得到的 3 株镰孢菌, F-9—禾谷镰孢菌(*F. graminearum*), F-2 和 F-15—芬芳镰孢变种(*F. redolens*)。实验室条件下,研究发现这 3 株镰孢菌发酵原液对大豆孢囊线虫 3 号生理小种卵孵化抑制率在 90% 以上, F-2 和 F-9 对 J2 有强烈的致死作用。因此该属真菌对大豆孢囊线虫的毒性比较肯定,本研究在盆栽条件测定结果进一步表明了这 3 个属真菌可有效地控制根上大豆孢囊线虫雌虫和土壤中孢囊、孢囊内卵量和 J2 数量。这些研究都为大豆孢囊线虫

生防菌的开发利用提供了有力的依据。

东北是中国大豆主产区,大豆在该区域种植历史悠久,尤其在黑龙江省大豆连作比较普遍,大豆长期连作使大豆胞囊线虫与土壤中这些寄生真菌“共处”,因而导致大豆胞囊线虫自然衰退。寄生真菌的分布有其地域特点,在美国被毛孢菌(*Hirsutella* spp.)对大豆胞囊线虫自然衰退起到了重要的作用^[19]。能否在土壤中定殖,是生防菌应用的重要前提,本研究应用的 3 种生防菌均分离自大豆田,适应于大豆田土壤,本研究应用的寄生真菌也能在大豆胞囊线虫胞囊、卵和 J2 上分离出来^[6],因此,这些菌容易定殖于大豆田中,有很好的开发应用前景。真菌发酵液是大豆胞囊线虫寄生真菌的应用趋势,以往有的菌剂是以活菌为制剂,因生物活体对土壤环境因素如温度、湿度、pH 和光照等都比较敏感,而且储存的稳定性比较差,对贮存条件和时间的要求比较严格,田间应用量较大,不适于大面积机械化应用。而生防菌发酵液有很大优势,发酵菌剂适合于大规模生产和大面积应用。当前土地流转使连片种植面积增大,发酵液制成生物包衣剂适用于田间机械化作业。在中国北方大豆产区已有利用寄生真菌制成的菌剂应用于大豆胞囊线虫防治,如利用厚垣轮枝菌研制的“豆丰一号”^[20]、利用淡紫拟青霉发酵液开发的“保根菌剂”^[21-22]。

这些生防菌的开发应用还有许多工作要做,如多种寄生菌同时应用、寄生真菌能否在大豆田土壤生态中产生较强的竞争力、降低应用成本等都需要进行加速研究。植物根际是一个非常复杂的生态环境,植物根际一线虫一生防真菌三者间相互作用关系、土壤生态环境(如土壤类型、温度、湿度、施肥及 pH 等)、以及外界多种环境因子如作物残体或土壤生物的代谢产物和农药等化学物质的干扰,都会影响生防真菌在田间应用过程效果的稳定性。

4 结 论

本研究中 3 种寄生真菌发酵液可有效地抑制大豆胞囊线虫的胞囊和卵孵化,还可使 J2 致死。12 个菌株发酵原液和 5 倍稀释液对胞囊孵化抑制率分别为 57.5% ~ 81.2% 和 64.5% ~ 77.0%;原液和 5 倍稀释液对线虫卵孵化相对抑制率分别为 41.6% ~ 67.4% 和 77.6% ~ 81.8%。处理 48 h 后在发酵原液里 J2 死亡都为 80% ~ 90%,3 d 后 J2 的死亡液在 8 个菌株里达到了 100%,72 h 后 12 个菌株的 5 倍稀释液对大豆胞囊线虫 J2 的致死率都超过了 80%。寄生真菌代表菌株 F-9、P-E、V-25 在温室盆栽试验中均能促进大豆的生长,使大豆植株高度和

根重增加,控制盆中大豆胞囊线虫雌虫、胞囊、胞囊内卵和 J2 数量,其中以菌液 P-E 防治效果最好。

参考文献

[1] 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.

[2] 孙漫红,刘杏忠. 连作土壤中大豆胞囊线虫种群数量减少的原因探讨[J]. 植物病理学报, 2000, 30(4): 353-356. (Sun M H, Liu X Z. Suppressive soil of soybean cysts nematode in China [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2000, 30(4): 353-356.)

[3] 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): 248-252. (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 Science and Comprehensive Studies in Agriculture, 2011, 27(2): 248-252.)

[4] 陈立杰,段玉玺,范圣长,等. 大豆胞囊线虫病的发生因子研究进展[J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(S): 190-194. (Chen L J, Duan Y X, Fan S C, et al. Advances in antagonists of soybean cyst nematode [J]. Journal of Northwest Science-Technique University of Agricultural and Forestry (Nature Science Edition), 2005,33(S): 190-194.)

[5] Chen Z X, Chen S Y, Dickson D W. Nematology Advances and perspectives, volume 2 nematode management and utilization [M]. Beijing: Tsinghua University Press, CABI Publishing, 2004: 979-1071.

[6] 宋洁,许艳丽,姚钦. 大豆胞囊线虫主要寄生真菌对大豆耕作系统的响应[J]. 大豆科学, 2016, 35(3): 461-467. (Song J, Xu Y L, Yao Q. Response of major parasitic fungi of soybean cyst nematode on different cultivation systems [J]. Soybean Science,2016,35(3):461-467.)

[7] Song J, Li S X , Xu Y L, et al. Diversity of parasitic fungi from soybean cyst nematode associated with long-term continuous cropping of soybean in black soil[J]. Acta Agricultural Scandinavica, Section B— Soil and Plant Science,2016,66(5):432-442.

[8] 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, 20(4):20-23. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Verticillium chlamydosporium* fermented filtrates on soybean cyst nematode [J]. Soybean Science and Technology, 2011, 20(4):20-23.)

[9] Fitters P F L, Belder E, Den B E. A time-lapse technique to study the effect of fungal products on embryogenesis of nematode eggs [J]. Mededelingen van de Faculteit Landbouw wetenschappen, Universiteit Gent,1993, 58(2B): 751-756.

[10] 孙漫红,刘杏忠,晋治波. 淡紫拟青霉对大豆胞囊线虫卵及 2 龄幼虫的影响[J]. 植物保护学报, 2002, 29 (1):57- 61. (Sun M H, Liu X Z, Jin Z B. Effect *Paecilomyces lilacinus* on egg hatching and juvenile mortality of *Heterodera glycines* [J]. Acta Phytopylacica Sinica, 2002, 29 (1):57- 61.)

[11] 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, 474. (Zhao X H, Xu

Y L. Inhibition of *Fusarium* spp. fermented filtrates on soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2011, 30(3): 468-470.)

[12] 钱洪利, 许艳丽, 孙玉秋, 等. 明尼苏达被毛孢代谢物对大豆胞囊线虫二龄幼虫的影响[J]. 大豆科学, 2009, 29(1): 118-121. (Qian H L, Xu Y L, Sun Y Q, et al. Effects of *Hirsutella Minnesotensis* metabolites on soybean cyst nematode juvenile[J]. Soybean Science, 2009, 29(1): 118-121.)

[13] 刘霆, 王莉, 段玉玺, 等. Snf 907 真菌代谢物对大豆胞囊线虫卵及二龄幼虫的影响[J]. 大豆科学, 2006, 25(3): 326-328. (Liu T, Wang L, Duan Y X, et al. Effects of Snf 907 fungal metabolites on egg hatching and juvenile mortality *Heterodera glycine* [J]. Soybean Science, 2006, 25(3): 326-328.)

[14] 李永峰, 赵云和, 段玉玺, 等. 防治大豆胞囊线虫病的土壤真菌的筛选[J]. 土壤通报, 2006, 37(4): 772-775. (Li Y F, Zhao Y H, Duan Y X, et al. Screening of soil fungi inhibiting soybean cyst nematode[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37(4): 772-775.)

[15] Eyal K, Maya O, Jaacov K, et al. Soil suppressiveness to *Fusarium* disease: Shifts in root microbiome associated with reduction of pathogen root colonization[J]. Phytopathology, 2013, 103(1): 23-33.

[16] 鲁建聪, 许艳丽, 宋洁. 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[J]. 大豆科学, 2016, 35(1): 106-111. (Lu J C, Xu Y L, Song J. Effect of soil disturbance to the biological control of fermentation filtrate of parasitic fungi on soybean cyst nematode in glasshouse[J]. Soybean Science, 2016, 35(1): 106-111.)

[17] Ruan W B, Zhan L L, Xiao W, et al. An improved method for quantification of *Heterodera glycine* in plant tissues [J]. Nematropica, 2012, 42(2): 237-244.

[18] 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 research on the cyst entoparasitic fungi of soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2004, 23(1): 71-74.)

[19] Chen S Y, Liu X Z. Control of the soybean cyst nematode by the fungi *Hirsutella rhossiliensis* and *Hirsutella minnesotensis* in greenhouse studies[J]. Biological Control, 2005(32): 208-219.

[20] 陈立杰, 梁文举, 段玉玺, 等. 施用生防颗粒剂对大豆田土壤线虫生物多样性的影响[J]. 大豆科学, 2003, 22(4): 253-256. (Chen L J, Duan Y X, Fan S C, et al. Advances in antagonists of soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 253-256.)

[21] 刘杏忠, 刘文敏, 张东升. 定殖于大豆胞囊线虫的淡紫拟青霉生物学特性研究[J]. 中国生物防治, 1995, 11(2): 70-74. (Liu X Z, Zhang W M, Zhang D X. Biological characteristics of *Pacilomyces lilacinus* associated with soybean cyst nematode [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1995, 11(2): 70-74.)

[22] 张新德, 刘杏忠, 张运全, 等. 食线虫真菌防治大豆胞囊线虫的初步研究[J]. 生物防治通报, 1993, 9(2): 89-90. (Zhang X D, Liu X Z, Zhang Y Q, et al. Preliminary studies on the nematophagous fungi inhibiting soybean cyst nematode [J]. Chinese Journal of Biological Control, 1993, 9(2): 89-90.)

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2021 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 25.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 25.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010~2018 年合订本每册定价 180.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部

邮编:150086

电话:0451-86668373

唯一投稿网址:hljnykx.haasep.cn

