

淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫 的寄生及防治效果

许天委, 郝慧华, 林春光, 秦奋人

(琼台师范高等专科学校 数理系, 海南 海口 571100)

摘要: 为探索海南白木香根结线虫的生物防治方法, 采用双温测定法, 在室内测定淡紫拟青霉对白木香根结线虫卵的寄生效果。结果表明, 处理 18 d 后, 3×10^7 个/mL 的孢子悬浮液对卵的相对寄生率为 91.10%。田间小区试验结果表明, 淡紫拟青霉固体菌剂能抑制海南白木香根结线虫的繁殖和危害, 菌剂施用量越大, 防效越好。以 50 g/株剂量处理 60 d, 根结线虫病的病情指数仅为 9, 防治效果达 87.50%, 白木香株高增长率为 32.1%, 地上部鲜质量增长率为 46.6%。该菌株的固体菌剂对海南白木香根结线虫病表现出了较为显著而持久的防病作用。淡紫拟青霉不仅能有效地抑制海南白木香根结线虫的寄生与繁殖, 而且能促进海南白木香植株的生长。

关键词: 寄生性真菌; 淡紫拟青霉; 药用植物; 白木香; 根结线虫; 寄生率; 防治效果

中图分类号: S476 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)03-0101-03

Parasitic and Control Effects of *Paecilomyces lilacinus* against *Aquilaria sinensis* Root Knot Nematode in Hainan Province

XU Tian-wei, HAO Hui-hua, LIN Chun-guang, QIN Fen-ren

(Department of Mathematics and Physics, Qiongtai Teachers College, Haikou 571100, China)

Abstract: The parasitic effect of *Paecilomyces lilacinus* against *Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg root knot nematode eggs was determined indoors with double temperature determination in Hainan province. The result showed that 91.10% of the eggs were parasitized by the fungus at 18 days after inoculation with spore suspension of 3×10^7 spores/mL. The result of field experiment showed that *Paecilomyces lilacinus* solid inoculant could inhibit reproduction and harm of *Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg root knot nematode, the bigger the agent dosage, the better the control effect. At 60 days after treated by the fungus solid culture at dose of 50 g/plant, the disease index was only 9, and the control effect reached 87.50%. Meanwhile, the plant height of *Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg increased by 32.1%, and the fresh weight of the above ground part increased by 46.6%. The fungus solid inoculant showed a significant and lasting prevention effect on *Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg root knot nematode disease. *Paecilomyces lilacinus* can not only inhibit parasitism and reproduction of *Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg root knot nematode, but also promote the plant growth.

Key words: parasitic fungi; *Paecilomyces lilacinus*; medicinal plant; *Aquilaria sinensis*; root knot nematode; parasitic rate; prevention effect

淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)属于内寄生性真菌, 是目前具有前途的线虫生防真菌之一, 国外对该菌的利用进行了一系列研究^[1]。近年来,

国内外均开展了利用淡紫拟青霉防治植物根结线虫的研究^[2-3], 并进行了淡紫拟青霉对南方根结线虫和花生北方根结线虫的防治试验, 证明该菌有较高的

收稿日期: 2011-09-28

基金项目: 海南省教育厅高等学校科学研究项目(Hjkj2010-52); 琼台师范高等专科学校重点课题(qtkj200905)

作者简介: 许天委(1980-), 男, 海南东方人, 讲师, 主要从事微生物农药研究。E-mail: xtw77@189.cn

寄生率,能有效控制土壤中根结线虫的数量,明显降低其危害^[4-6]。白木香〔*Aquilaria sinensis* (Lour) Gilg〕,又称土沉香,属瑞香科沉香属植物,是一种热带及亚热带常绿乔木,为我国特有的珍贵药用植物。近年来,海南白木香产量减少、质量降低^[7],其中一个最主要的原因是根结线虫的不断累积、传播、蔓延和危害。目前,有关淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫的寄生作用及防治效果尚未见报道。为此,研究了淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫的生物防治效果,以提高海南白木香结香的数量和质量,为淡紫拟青霉菌剂的大量开发和田间应用提供试验依据。

1 材料和方法

1.1 菌种

淡紫拟青霉菌株由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所微生物农药资源研究室提供。

1.2 淡紫拟青霉的培养和孢子液的配制

将淡紫拟青霉菌株接种在马铃薯琼脂培养基(PDA)上,25℃下培养1周后,用灭菌水冲洗3次,收集培养基上的孢子,最后用无菌水配制成 3×10^7 个/mL的孢子液。

1.3 淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫卵的寄生效果试验

根结线虫采自海口市演丰镇白木香植株。将根结线虫在番茄上繁殖,待其产卵后,随机取嫩根上早期发育的卵囊,用1%次氯酸钠表面消毒后,用灭菌水洗3次,备用。试验前参照 Nitao 等^[8]的方法将根结线虫卵配制成500粒/mL的悬浮液。采用双温测定法^[6]测定淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫卵的寄生效果。向每个培养皿中加入1 mL卵悬浮液,并加 3×10^7 个/mL的孢子液5 mL,置于18℃下培养7 d后,再于25℃下培养11 d,每1~2 d观察一次卵粒被寄生的情况,重复3次。以向卵悬浮液中加入灭菌水作为阴性对照(CK)。

$$\text{卵的相对寄生率} = \frac{(\text{对照孵化卵数量} - \text{处理孵化卵数量})}{\text{对照孵化卵数量}} \times 100\%。$$

1.4 淡紫拟青霉对海南白木香根结线虫的防治效果试验

淡紫拟青霉固体菌剂由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所微生物农药资源研究室提供,含孢量为 6×10^8 个/g。

选择白木香根结线虫病发生严重的地块,用淡紫拟青霉固体菌剂分别以30 g/株、40 g/株、50 g/株的用量处理白木香,处理时将淡紫拟青霉固体菌

剂与回填土按1:5的比例充分搅拌并回填,每个剂量处理20株,重复3次。每个处理间设置隔离保护行,对照不施菌剂,直接用土回填。防治小区与对照小区间隔排列。白木香按常规技术种植和管理。定植后30 d、45 d及60 d调查株高和地上部鲜质量,并小心挖出根,统计病情指数,评价防治效果。病情分级标准:0级:没有根结或卵囊;1级:每株1~5个根结或卵囊;2级:每株6~15个根结或卵囊;3级:每株16~50个根结或卵囊;4级:每株50个以上根结或卵囊。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级发病株数} \times \text{病级数})}{\text{调查总株数} \times \text{最高病级数}} \times 100。$$

2 结果与分析

2.1 淡紫拟青霉对白木香根结线虫卵的寄生效果

在室内测定淡紫拟青霉对白木香根结线虫卵的寄生能力,显微镜观察表明,当培养温度为18℃时,处理和对照的根结线虫卵发育均较慢,3 d后,在 3×10^7 个/mL淡紫拟青霉孢子液的处理中,发现菌丝开始侵入卵中,5~6 d后卵壳表面布满菌丝,表面粗糙;7 d后卵粒严重变形,同时明显变软,此时,侵入的菌丝以卵内蛋白质为营养而快速生长。当培养7 d转入25℃后,淡紫拟青霉对处理中卵的寄生进程不断加快,对照中的卵和处理中未被寄生的卵发育和孵化也相应加快。随着处理时间的延长,卵的相对寄生率不断增加,至培养18 d时,接种菌液处理中孵化出的二龄幼虫数量为32条,而对照中孵化出358条,淡紫拟青霉对根结线虫卵的相对寄生率达91.10%(表1)。

表1 淡紫拟青霉对白木香根结线虫卵的相对寄生率

温度/℃	处理时间/d	CK卵孵化幼虫数/条	处理卵孵化幼虫数/条	卵的相对寄生率/%
18	5	143	130	9.10±0.73
	7	165	147	11.10±0.73
25	8	293	231	21.10±1.61
	10	301	197	34.60±0.40
	12	311	133	56.40±1.26
	14	316	73	76.90±0.16
	16	342	56	83.60±0.43
	18	358	32	91.10±0.15

2.2 淡紫拟青霉对白木香根结线虫病的防治效果

2.2.1 淡紫拟青霉对白木香根结线虫病病情指数的影响 田间小区试验结果表明,淡紫拟青霉固体菌剂能抑制海南白木香根结线虫的繁殖和危害,菌剂使用剂量及作用时间不同,对白木香根结线虫病的防治效果不同。从表2可以看出,以剂量为50 g/株处理白木香30 d、45 d和60 d,根结线虫病的病情指数分别为52、24、9,防治效果分别达27.78%、

66.67%、87.50%,表明在同一剂量处理下,处理时间越长,防治效果越好。处理时间为60 d,处理剂量为30 g/株、40 g/株和50 g/株时,根结线虫病的病情指数分别为37、26、9,防治效果分别为48.61%、63.89%、87.50%(表2),表明菌剂施用量越大,防

表2 淡紫拟青霉固体菌剂对白木香根结线虫病的防治

剂量/ (g/株)	30 d		45 d		60 d	
	病情 指数	防治 效果/%	病情 指数	防治 效果/%	病情 指数	防治 效果/%
30	66	8.33	58	19.44	37	48.61
40	57	20.83	43	40.28	26	63.89
50	52	27.78	24	66.67	9	87.50
CK	72	—	72	—	72	—

效越好。同时观察到,经菌剂防治的白木香根系发达、健壮,而未防治的白木香(对照)根结严重,根系生长脆弱。防治区的白木香只有少量根结出现于老

根和上部根上,其严重度和病情指数明显低于未防治小区。由此推测,淡紫拟青霉在控制根结线虫再侵染过程中发挥了重要作用。

2.2.2 淡紫拟青霉对白木香生长发育的影响 试验结果(表3)进一步表明,以淡紫拟青霉固体菌剂防治白木香根结线虫,对白木香植株生长有明显的促进作用,株高和地上部鲜质量均较对照明显增加。30 g/株、40 g/株、50 g/株菌剂处理时间为30 d时,白木香株高增长率分别为6.0%、12.3%和17.8%,地上部鲜质量增长率分别为17.2%、35.4%和47.4%;当处理时间为60 d时,白木香株高增长率分别为10.3%、14.1%和32.1%,地上部鲜质量增长率分别为17.1%、41.6%和46.6%,表明随着剂量的增加和处理时间的延长,白木香的株高增长率和地上部鲜质量增长率均增加。

表3 淡紫拟青霉固体菌剂对白木香生长发育的影响

剂量/ (g/株)	30 d				45 d				60 d			
	株高/ cm	增长 率/%	地上部鲜 质量/g	增长 率/%	株高/ cm	增长 率/%	地上部鲜 质量/g	增长 率/%	株高/ cm	增长 率/%	地上部鲜 质量/g	增长 率/%
30	79	6.0	245	17.2	81	8.0	253	17.6	86	10.3	259	17.1
40	82	12.3	283	35.4	85	13.3	294	36.7	89	14.1	313	41.6
50	86	17.8	308	47.4	92	22.7	316	47.0	103	32.1	324	46.6
CK	73	—	209	—	75	—	215	—	78	—	221	—

3 讨论

利用淡紫拟青霉进行白木香根结线虫病的防治在国内尚属首次,并取得较好的效果。淡紫拟青霉杀线虫谱广,对根结线虫各个种都有防治效果^[9]。调查表明,海南白木香根结线虫主要有南方根结线虫(*Meloidogyne incogni*)、爪哇根结线虫(*Meloidogyne javanica*)和花生根结线虫(*Meloidogyne arenaria*),这些种可同时同一植株的同一条根上出现,但对于特定地区的样本,呈现出某一种群呈优势的趋向(另文发表)。淡紫拟青霉对培养条件要求不高,易于大量繁殖,且该菌能在土壤中存活,使用方法简单,可采用拌种、浸根、用发酵液或固体菌剂处理等方法。淡紫拟青霉侵染白木香根结线虫的卵,5 d内即可大量破坏线虫胚胎^[1]。室内试验结果表明,淡紫拟青霉接种18 d后,对根结线虫卵的相对寄生率为91.10%。另外,在试验地解剖寄主根时发现,其也能有效寄生雌成虫。小区试验结果表明,淡紫拟青霉固体菌剂能抑制海南白木香根结线虫的繁殖和危害,菌剂施用量越大,防效越好。以50 g/株菌剂处理60 d,根结线虫病的病情指数仅为9,防治效果达87.50%,白木香株高增长率为32.1%,地上部鲜质量增长率为46.6%。该菌株的固体菌剂对海南白木香根结线虫病表现出较为显著而持久的防病作用。

淡紫拟青霉不仅能有效地抑制海南白木香根结线虫的寄生与繁殖,而且能促进海南白木香植株生长,显示出良好的应用前景,是一个优良的生防菌株,值得进一步研究利用。

参考文献:

- [1] Jatala P. Biological control of plant-parasitic nematodes [J]. Ann Rev Phytopathol, 1986, 24: 435-489.
- [2] 华静月. 一种防治线虫的真菌——淡紫拟青霉[J]. 植物保护, 1989(1): 29-30.
- [3] 王祖明. 根结线虫卵寄生真菌的研究: II. 淡紫拟青霉菌生长和产孢条件[J]. 华中农业大学学报, 1992, 11(1): 52-56.
- [4] 陈品三, 彭德良. 淡紫拟青霉防治南方根结线虫1号生理小种和花生北方根结线虫试验[J]. 中国油料, 1989(3): 45-48.
- [5] 林茂松, 马民安, 沈素文, 等. 淡紫拟青霉的培养和对南方根结线虫防治试验[J]. 生物防治通报, 1993, 9(3): 116-118.
- [6] 高学彪, 邓穗儿, 周慧娟, 等. 淡紫拟青霉 MCWA 18 菌株对南方根结线虫的寄生和防治作用[J]. 中国生物防治, 1998, 14(4): 163-166.
- [7] Eisenback J D, Triantaphyllou H H. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races [C]// Nickle W R. Manual of agricultural nematology. New York: Marcel Dekker, 1991: 191-192.
- [8] Nitao J K, Meyer S L F, Chitwood D J. In vitro assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode-antagonistic fungal compounds[J]. Journal of Nematology, 1999, 31(2): 172-183.
- [9] 姜培增, 李宏园, 陈铁保. 淡紫拟青霉防治植物线虫研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2006, 8(6): 38-41.