

Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活性的影响

刘 霆^{1,2}, 王 莉³, 段玉玺¹, 陈立杰¹, 王 雪¹

(1. 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161; 2. 北京市农林科学院 植物保护环境保护研究所, 北京 100097;
3. 中国农业大学 理学院, 北京 100083)

摘要: 研究了 Snf907 真菌代谢物原液及不同稀释液对甘薯茎线虫活性及运动行为的影响。结果表明, 在 1, 5, 10, 20, 50 倍稀释液浓度下二龄幼虫的校正死亡率分别是 87. 06%, 78. 73%, 41. 21%, 24. 37%, 14. 00%, 均与无菌水对照差异显著; 其不同浓度的代谢物对甘薯茎线虫的行为影响不同, 随着浓度的增大和时间的延长, 对甘薯茎线虫活动频率的抑制也增强。

关键词: 真菌代谢物; 甘薯茎线虫; 校正死亡率; 运动行为

中图分类号: S435. 313⁺. 4 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 3268(2007)06 - 0063 - 03

Effects of Snf907 Fungus Metabolites on the Juvenile Mortality and Movement of *Ditylenchus destructor*

LIU Ting^{1,2}, WANG Li³, DUAN Yuxi¹, CHEN Lijie¹, WANG Xue¹

(1. Plant Protection College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China;
2. Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science, Beijing 100097, China; 3. College of Science of China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The effect of Snf907 fungus metabolites on the juvenile of *Ditylenchus destructor* were investigated. The corrected mortality rate of juveniles were 87. 06%, 78. 73%, 41. 21%, 24. 37%, and 14. 00%, respectively, at 1×, 5×, 10×, 20× and 50× dilution. The difference between these treatments and water control were significant. The different dilution of fungus had different effects on the behavior of *D. destructor*. The restrain on moving frequency of *D. destructor* was enhanced with the increased concentration and extended time.

Key words: Fungus metabolites; *Ditylenchus destructor*; Corrected mortality; Behavior

甘薯茎线虫病又名糠腐线虫病、糠心病, 是一种严重影响甘薯产量和品质的线虫病害, 20 世纪 50 年代被列为对内检疫对象之一, 在某些地区已成为毁灭性病害。近几年, 该病在很多地区呈蔓延趋势, 危害程度加深, 轻者减产 20% ~ 30%, 重则减产 50% ~ 60%, 甚至绝产。我国是世界上甘薯的主产国, 常年甘薯种植面积在 600 万 hm² 左右, 占世界总面积的 70% 左右。辽宁省大连地区种植面积达

2. 3 万 hm², 仅瓦房店市种植面积就达 1. 3 万 hm², 年均损失甘薯 2400 万 kg 左右。该病病原线虫为马铃薯腐烂线虫(*D. destructor*), 该线虫除了危害马铃薯、甘薯, 还危害豌豆、花生等, 在甘薯整个生长期及贮藏期不断危害。目前国内防治甘薯茎线虫病的药剂都是高毒、高残留、高用量、高成本, 农民接受难, 推广难, 因此, 研制开发一种高效、低毒、低残留、低成本而又方便农民使用的生物型杀线虫剂是农民

收稿日期: 2007 - 01 - 30

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(20372064, 30300231)

作者简介: 刘 霆(1975 -), 男, 河南信阳人, 博士, 主要从事生物农药的研制与开发工作。

通讯作者: 段玉玺(1964 -), 男, 辽宁海城人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物寄生线虫病害防治研究。

迫切需要的^{1,2}。随着可持续农业和有机农业的发展,人们已将线虫防治工作的重点转向了生物防治。从真菌代谢产物中寻找对线虫有作用的药剂成为近年来一个热点。国外在真菌的杀线虫活性的研究方面取得了显著的成果,已经从真菌中分离和鉴定出近百种具有杀线虫活性的化合物,包括醌类、生物碱类、萜类、大环内酯类、萘类、肽类、脂肪酸类、烃类等。国内近年来在真菌代谢产物杀线虫方面的研究进展很快。向红琼就粗皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)对线虫的作用进行了研究,获得了对植物寄生线虫具有较强毒杀活性的粗提物。孙漫红报道了淡紫拟青霉的代谢物对大豆胞囊线虫和根结线虫都有很明显的抑制作用。林茂松报道了尖镰孢菌对根结线虫卵的孵化抑制作用。孙建华报道了 Sr18 的代谢物对南方根结线虫、甘薯茎线虫、大豆胞囊线虫都具有较强的作用^[3~9]。云南大学张克勤等也在这方面取得了很大的成就。笔者从真菌资源中筛选出 1 株(代号 Snf907)对甘薯茎线虫、大豆胞囊线虫、根结线虫都有很强的杀线虫作用的菌株,并探讨了该菌株的代谢物对甘薯茎线虫活性、运动频率的影响以及对其中毒症状进行了观察和研究。

1 材料和方法

1.1 Snf907 真菌代谢物的制备

Snf907 菌株在液体发酵摇瓶中 25℃培养 1 周后,发酵液布氏漏斗抽滤,取粗滤液过 0.25μm 微孔滤膜去除孢子,制备无菌滤液(即 1 倍液),依次稀释成 5, 10, 20, 50 倍备用。

1.2 甘薯茎线虫的获得

甘薯茎线虫(*Ditylenchus destructor*),采自瓦房店病薯,带回实验室分离^[7]。

1.3 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活性的影响

在经灭菌的 24 孔细胞培养板中加入不同浓度的 Snf907 真菌代谢物各 1 mL,以加 1 mL 无菌水作为对照,然后分别向处理和对照中各加入新分离的甘薯茎线虫 100 条/孔。处理和对照各 3 次重复。放入 25℃培养箱中,24h 后记录线虫死亡率,计算校正死亡率,所得数据经 SPSS 软件处理。线虫死活判断采用 NaOH 刺激法^[8]。

1.4 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活动频率的影响

取不同浓度的 Snf907 真菌代谢物(1, 5, 10, 20, 50 倍)各 1 mL,加 0.1 mL 甘薯茎线虫液(约 50 条线虫)于特制贝氏小皿中,分别于 30 min, 1 h, 3 h, 6 h,

12 h, 24 h, 在双目解剖镜下来观察线虫活动频率(以头尾各摆动 1 次作为 1 次运动),每条线虫记录 30 s,每个处理记录 10 条线虫,取平均数,以清水作为对照。

1.5 甘薯茎线虫中毒症状观察

甘薯茎线虫处理同 1.4,在双目解剖镜下,于不同时间观察线虫的中毒反应和症状表现。

1.6 计算方法^[9]

$$\begin{aligned} \text{线虫死亡率} &= \frac{\text{死亡线虫数}}{\text{供试线虫数}} \times 100\% \\ \text{校正死亡率} &= \frac{\frac{\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}}{1 - \text{对照线虫死亡率}}}{1 - \text{对照线虫死亡率}} \times 100\% \end{aligned}$$

2 结果与分析

2.1 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活性的影响

Snf907 菌液原液及不同稀释倍数对甘薯茎线虫都具有一定的抑杀作用。方差分析表明,各浓度之间均存在显著差异,与对照比差异亦都达到了显著水平(表 1)。

表 1 Snf907 真菌代谢物不同稀释倍数对甘薯茎线虫活性的影响 (%)

稀释倍数 (倍)	死亡率				校正死亡率
	I	II	III	平均	
1	83.20	89.40	90.50	87.70a	87.06
5	76.78	80.14	82.39	79.77b	78.73
10	41.89	46.23	44.18	44.10c	41.21
20	25.76	29.31	29.17	28.08d	24.37
50	16.58	19.47	18.61	18.22e	14.00
无菌水(ck)	6.67	4.35	3.70	4.91f	-

2.2 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活动频率的影响

从图 1 可以看出,Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫的活动能力有抑制作用,从 50 倍液到 1 倍液,随着浓度的增大,对甘薯茎线虫活动频率的抑制也增强。Snf907 真菌代谢物 1 倍液在 0.5 h 就对甘薯茎线虫的活动具有很强的抑制作用,说明 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫的作用具有速效性。较低浓度的真菌代谢物,随着时间的延长,对甘薯茎线虫活动能力的抑制也加强。

2.3 甘薯茎线虫中毒症状观察

不同浓度的 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫的行为影响不同,其 1 倍液和线虫接触后,线虫便有剧烈的反应。线虫虫体活动加快,强烈地扭动,头尾无规则地向腹、背和两侧卷曲,约 20 min 后虫体的

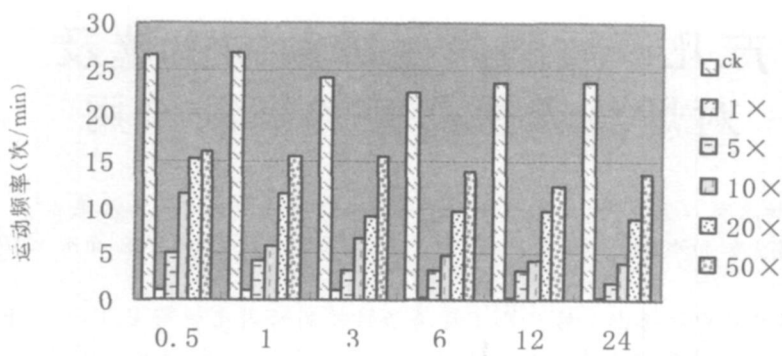


图1 Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫活动频率的影响

活动开始减慢,30min 后,虫体仅稍能活动,头尾缓慢地左右摆动,约为 0.4~1.2 次/min,和正常的线虫运动频率(约为 23.6~26.8 次/min)相差很多。6h 后,虫体几乎不活动,处于昏迷状态。Snf907 真菌代谢物浓度低时,线虫的中毒症状与 1 倍液相似,但没有 1 倍液的剧烈,线虫昏迷所用时间也较长。

3 结论与讨论

本试验中的 Snf907 菌液对甘薯茎线虫具有较强的活性,不同浓度代谢物对甘薯茎线虫活性的影响不同,各处理线虫死亡率与清水对照之间均存在显著性差异。其中 1 倍液处理甘薯茎线虫的死亡率高达 87.70%,由此可知,Snf907 对防治甘薯茎线虫具有很大的潜力,但其在田间的具体应用及防效仍有待进一步研究。

从 Snf907 菌液对甘薯茎线虫的运动频率和中毒症状来看,其 1 倍液和线虫接触后,线虫便有剧烈的反应,在 0.5 h 内线虫基本上失去运动能力,说明 1 倍液对甘薯茎线虫的作用具有速效性。从甘薯茎线虫的中毒症状来看,Snf907 真菌代谢物对甘薯茎线虫的作用可能是由于影响了线虫的正常生理代谢而引起,但其对线虫作用的具体机理也有待进一步的研究。

参考文献:

[1] 段玉玺, 吴刚. 植物线虫病害防治[M] . 北京: 中国农业出版社, 2002.

[2] 付波, 吴祖善, 王传仕, 等. 大连地区甘薯茎线虫病严重发生的原因及其防治对策[J] . 杂粮作物, 2002, 22(5): 294 - 295.

[3] 向红琼, 冯志新. 粗皮侧耳生物学特性及其与杀线虫毒力的关系[J] . 植物病理学报, 2000, 30(3): 271 - 278.

[4] 孙漫红, 刘杏忠, 晋治波. 淡紫拟青霉对大豆胞囊线虫卵及二龄幼虫的影响[J] . 植物保护学报, 2002, 29(1): 136 - 141.

[5] 林茂松, 张治宇. 尖镰孢菌非致病菌株对南方根结线虫数量的控制[J] . 南京农业大学学报, 2001, 24(1): 40 - 42.

[6] 孙建华, 宇克莉, 陈宏, 等. Sr18 真菌代谢物防治番茄根结线虫病研究[J] . 华北农学报, 2002, 17(1): 119 - 123.

[7] 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.

[8] Chen S Y, Dickison D W. A technique for determining live second stage juveniles of heterodera glycines[J] . Journal of Nematology, 2000, 32(1): 117 - 121.

[9] 韩熹莱. 中国农药百科全书(农药卷)[M] . 北京: 农业出版社, 1993. 377.

更 正

1. 本刊 2007 年第 5 期第 71 页“ 辛夷栗带角胸叶蝉(*Acutangulata tituria cicadellidae* Homoptera)” 应为:“ 辛夷栗带角胸叶蝉(*Tituria acutangulata* Distant, 1908), 隶属于同翅目 Homoptera, 叶蝉科 Cicadellidae。”

2. 本刊 2007 年第 5 期第 72 页参考文献部分:

[4] “ 39(3)” 应为“ 39(1)”; [5] “ 2006(12)” 应为“ 2007(1)”

特此更正。