

谈 韞,樊 航,张紫瑶,等. 绿色木霉菌株发酵液及分生孢子悬浮液对南方根结线虫二龄幼虫活性的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(12):114-120.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.12.019

# 绿色木霉菌株发酵液及分生孢子悬浮液 对南方根结线虫二龄幼虫活性的影响

谈 韞<sup>1</sup>,樊 航<sup>1</sup>,张紫瑶<sup>1</sup>,李玉平<sup>2</sup>,周晓馥<sup>1</sup>

(1. 吉林师范大学吉林省植物资源科学与绿色生产重点实验室,吉林四平 136000;

2. 吉林省四平市铁东区石岭镇农技推广站,吉林四平 136000)

**摘要:**为研究绿色木霉(*Trichoderma viride*)菌株对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)二龄幼虫(J2)活性的影响,采用不同浓度绿色木霉菌株发酵液(简称发酵液)和绿色木霉分生孢子悬浮液(简称孢子液)触杀二龄幼虫(J2),分别在24、36、48 h测定发酵液和孢子液对二龄幼虫(J2)致死效果。以5%阿维菌素乳油5 000倍液和无菌水为对照,同时对幼虫形态特征变化进行显微观察,探究发酵液和孢子液触杀二龄幼虫(J2)的原因,并通过盆栽试验对发酵液、孢子液预防和防治南方根结线虫的效果进行评价。结果表明,孢子液杀线过程主要依靠分生孢子的寄生作用,孢子寄生于幼虫体腔和体壁,幼虫活力随着孢子生长而降低;发酵液杀线过程主要依靠绿色木霉真菌在发酵过程中产生的拮抗物质。48 h内发酵液处理和孢子液处理中幼虫校正死亡率最高达86%和71%,均对幼虫具有较强致死效果,高于阿维菌素对照(51%),发酵液杀线效果和作用时效均优于孢子液。在盆栽试验中,绿色木霉发酵液和孢子液对南方根结线虫的预防效果分别为60.00%和49.99%,防治效果分别为66.67%和47.62%,生防作用显著。绿色木霉菌株对南方根结线虫的生防效果研究具有很高应用价值,为生物防治植物根结线虫病提供了良好的理论基础和研究依据。

**关键词:**南方根结线虫;绿色木霉;致死效果

**中图分类号:** S432.4<sup>+</sup>5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)12-0114-07

根结线虫(*Meloidogyne*)是一种杂食性植物病原线虫,被列为全球十大植物寄生线虫之首<sup>[1]</sup>。其寄主范围广,致病性强,在二龄幼虫(J2)时期可寄生于植物根部通过口针吸取植物根部营养,导致植物的根部形成不均等的球状根瘤,使植物地上部吸收营养困难,出现叶片发黄、植株矮化等问题<sup>[2-3]</sup>。根结线虫入侵造成的伤口,使土壤中其他病原物的侵入更加容易,形成复合性病害,每年对我国农副产品造成大量减产等严重经济损失<sup>[4-5]</sup>。

南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)是垫刃目(Tylenchida)异皮科(Heteroderidae)根结线虫属(*Meloidogyne*)植物寄生线虫,是我国分布最广的根结线虫之一。由于根结线虫极难防治,目前对于南方根结线虫的防治仍以化学手段为主,因其高毒、

高污染、残留药物难降解等特性,部分化学药剂被禁用或限制使用<sup>[6-7]</sup>。即使是市面最常使用的生物类杀虫剂阿维菌素乳油,虽然能有效杀死线虫,但过多稀释会导致杀线效果减退,浓度过高会对人体健康和生态环境造成影响,远不能满足市场的需求<sup>[8-9]</sup>。随着绿色环保的农业发展需要,运用安全高效的生物防治手段就愈发重要,多方生物防治技术也成为将来主要防治研究方向。

木霉属真菌(*Trichoderma* spp.)是丝孢纲(Hyphomycetes)丝孢目(Moniliales)丛梗孢科(Moniliales)木霉属(*Trichoderma*)在自然界广泛分布的一种生防真菌,通常存在于土壤环境和植物根系<sup>[1,10]</sup>。研究发现,木霉菌对根结线虫具有拮抗作用,可产生拮抗物质或通过寄生作用达到防治根结线虫的效果<sup>[10-12]</sup>。绿色木霉(*Trichoderma aviride*)作为应用最广的木霉菌之一,具有促进植物生长、使用安全、价格低廉等多种优点<sup>[13-14]</sup>。目前,木霉菌在对根结线虫的生防研究方面已经取得了重要的进展,但绿色木霉对植物根结线虫病的防治效果相关研究还不完善,本研究将对绿色木霉菌株发酵液及分生孢子悬浮液对南方根结线虫二龄幼虫

收稿日期:2021-09-07

基金项目:吉林省科技发展规划(编号:20190301059NY);中央指导地方科技发展资金吉林省基础研究专项(编号:202002016JC)。

作者简介:谈 韞(1996—),男,甘肃兰州人,硕士研究生,主要从事植物遗传学研究。E-mail:554979397@qq.com。

通信作者:周晓馥,女,博士,教授,博士生导师,主要从事植物分子生物学研究。E-mail:zhouxiaofu@jlnu.edu.cn。

(J2)活性的影响进行探究,进一步为绿色木霉在植物根结线虫病防治方面提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

绿色木霉菌株(*Trichoderma viride*)由吉林省植物资源科学与绿色生产重点实验室分离鉴定保存,南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)卵块由农业应用技术北京市重点实验室分离鉴定,北京农学院王绍辉教授惠赠。

1.1.1 绿色木霉分生孢子悬浮液的制备 在培养 7 d 绿色木霉的 PDA 平板上中加入 5 mL 无菌水充分振荡,使绿色木霉分生孢子脱落在无菌水中,即得到绿色木霉分生孢子悬浮液(简称 Tvs),采用血球计数板计数孢子液的浓度(浓度为  $1.6 \times 10^7$  CFU/mL),并稀释成  $1.6 \times 10^6$  CFU/mL;  $3.2 \times 10^5$  CFU/mL;  $1.6 \times 10^5$  CFU/mL(简称 Tvs10; Tvs50; Tvs100)3 个梯度的浓度备用。

1.1.2 绿色木霉发酵液的制备 取配制好的绿色木霉孢子悬浮液 2 mL 加入含有 100 mL PDB 培养基 250 mL 三角瓶中,黑暗振荡培养 7 d (28 ℃, 180 r/min),后采用灭菌的滤纸滤去发酵液中的菌丝团、孢子等即得到绿色木霉发酵液(简称: Tv),并稀释 10、50、100 倍得到 3 个浓度(简称: Tv10, Tv50, Tv100)放入 4 ℃ 冰箱,保存备用。PDB 培养基配方: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、蒸馏水 1 000 mL, pH 值为 7。

1.1.3 南方根结线虫的活体培养 将番茄种子(番茄品种为常丰中蔬四号)浸泡在 50 ℃ 温水中 3~5 h,采用 1% NaClO 溶液消毒,洗净后放入装有少量温水的培养皿中(下垫 1 层滤纸防止种子淹死),在 28 ℃ 培养箱中催芽至种子露白。将露白番茄种子播种至装有灭菌的草炭土和蛭石 1:1 塑料钵中,待番茄发育到 4~5 真叶时在距离植株根部约 1.5 cm 处用 1 mL 移液器枪头打 4 个约 2 cm 深的小孔,每孔接种 1 000 条南方根结线虫二龄幼虫。

1.1.4 南方根结线虫二龄幼虫(J2)悬浮液的制备 挑取接种南方根结线虫植株根系的淡黄色卵块浸泡在 1% NaClO 溶液中 5 min,洗净后置于灭菌的培养皿中,加入少量无菌水,26 ℃ 恒温培养箱中黑暗培养 3 d,逐天收集孵化的二龄幼虫,计数,加无菌水配制成 10 000 条/mL 的二龄幼虫(J2)悬浮液,放入 4 ℃ 冰箱保存备用。

1.2 绿色木霉发酵液和分生孢子悬浮液直接杀线作用

向灭菌的 96 孔细胞培养板中依次加入 100  $\mu$ L 南方根结线虫二龄幼虫(J2)悬浮液(1 000 条)、不同浓度的绿色木霉孢子悬浮液和绿色木霉发酵液 100  $\mu$ L,同时设置加 100  $\mu$ L 无菌水的空白对照和加 100  $\mu$ L 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液对照,共 10 个样本,3 次生物学重复,置于 26 ℃ 恒温培养箱中黑暗培养,分别在 24、36、48 h 采用体态法(活动弯曲的线虫代表存活,僵直的线虫代表死亡)统计南方根结线虫二龄幼虫死亡情况,并校正其死亡率。

线虫死亡率 = (死亡线虫数/供试总线虫数)  $\times$  100% ;

校正死亡率 = (处理线虫死亡率 - 空白对照线虫死亡率)/(1 - 空白对照线虫死亡率)  $\times$  100% 。

### 1.3 盆栽试验

1.3.1 绿色木霉发酵液和分生孢子悬浮液对南方根结线虫的预防作用 将黄瓜种子(黄瓜品种为津研四号)播种在营养土中,待出苗后移栽至填装无菌土的盆中,每盆无菌土 2 kg,2 株苗。移苗 7 d 后在黄瓜植株根系周围施入绿色木霉发酵液(Tv)和孢子悬浮液(Tvs)15 mL,同时设置施加清水和 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液作为对照,共 4 组处理,3 次生物学重复。施入绿色木霉 15 d 后在距离每棵黄瓜植株根部约 1.5 cm 处采用 1 mL 移液器枪头打 2 个约 2 cm 深小孔,每孔接种 1 000 条南方根结线虫二龄幼虫(J2)。接种线虫 30 d 后统计根结数,计算根结减退率,评价发酵液和孢子液对南方根结线虫的预防效果,种植期间适量补充水分。

1.3.2 绿色木霉发酵液和分生孢子悬浮液对南方根结线虫的防治作用 移苗前处理同“1.3.1”节。移苗 7 d 后在距离每棵黄瓜植株根部约 1.5 cm 处采用 1 mL 移液器枪头打 2 个约 2 cm 深的小孔,每孔接种 1 000 条南方根结线虫二龄幼虫(J2);接种线虫 15 d 后在黄瓜植株根系周围施入绿色木霉发酵液(Tv)和孢子悬浮液(Tvs)15 mL,同时设置施加清水和 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液作为对照,共 4 组处理,3 次生物学重复。施入绿色木霉 30 d 后统计根结数,计算根结减退率,评价发酵液和孢子液对南方根结线虫的防治效果,种植期间适量补充水分。

参考 Bridge 等的方法<sup>[3]</sup>对根结进行分级:0 级,无根结,根系健康;1 级,有不明显的小根结,且根结

之间不连接,占总根系 1% ~ 10%;2 级,有明显的小根结,有些根结之间相互连接,占总根系的 11% ~ 30%;3 级,有明显的大根结,部分侧根发生畸变,占总根系 31% ~ 50%;4 级,主侧根出现大量根结,部分主侧根发生畸变,占总根系 51% ~ 75%;5 级:根结大且密集,大部分根结相互连接,多数主侧根发生畸变,占总根系 76% 以上。

盆栽试验时间:2021 年 5 月 6 日至 6 月 28 日;  
试验地点:吉林师范大学吉林省植物资源科学与绿色生产重点实验室。

根结指数 =  $\Sigma$  (各级病株数 × 相对应根结分级) / (该处理组调查总株数 × 最高级别数) × 100;

预防效果(防治效果) = (对照根结指数 - 处理根结指数) / 对照根结指数 × 100%;

根结减退率 = (对照组根结数 - 处理组根结数) / 对照组根结数 × 100%。

#### 1.4 数据处理

数据均运用 SPSS 25.0 软件分析处理,邓肯氏(Duncan's)法进行差异显著性检验( $\alpha = 0.05$ )。

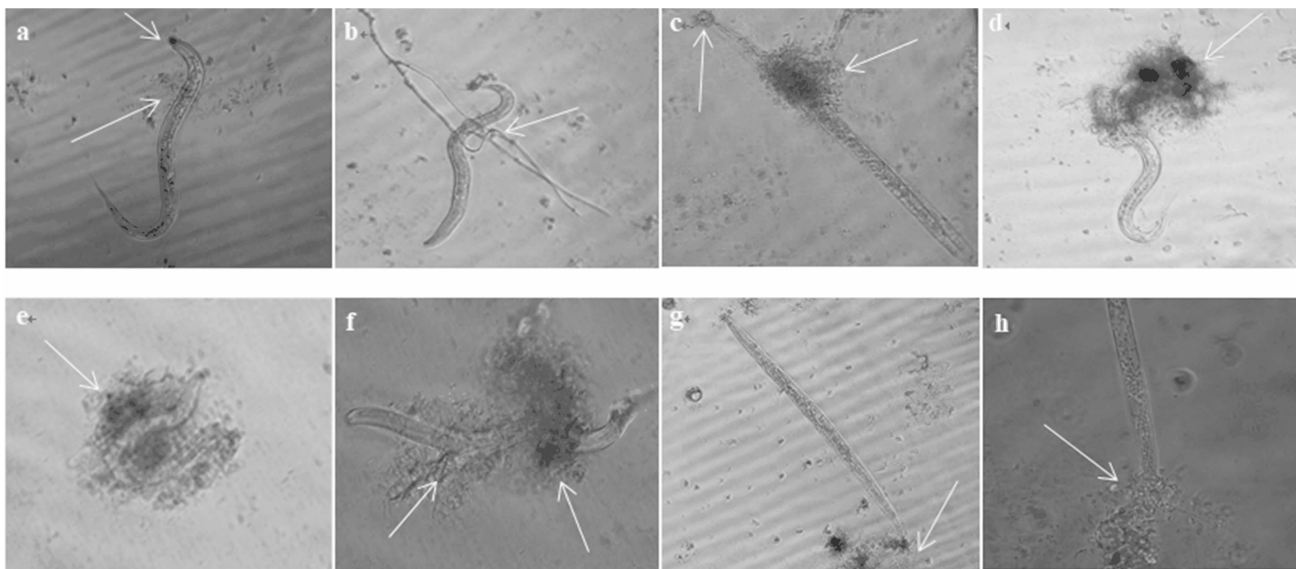
## 2 结果与分析

### 2.1 南方根结线虫二龄幼虫(J2)在绿色木霉发酵液和孢子悬浮液中形态特征变化的分析与比较

绿色木霉发酵液和孢子悬浮液中南方根结线虫二龄幼虫(J2)形态变化的镜检显示,初期不同处理加入新孵化的幼虫时,幼虫活性较高,行动不受影响。由图 1 可知,0 ~ 24 h 分生孢子及菌液发酵物

逐渐发挥作用,部分幼虫身体逐渐僵直、行动迟缓、头部口器和身体中发现少量孢子,身躯周围也被少量孢子团所包围。与孢子液处理不同,发酵液处理组中还出现大量被菌丝缠绕的幼虫,由于菌丝缠绕致使幼虫无法脱离,限制其活动能力。24 ~ 48 h 镜检发现,孢子液处理中出现许多僵直死亡的幼虫,幼虫口器和身体内可以清晰发现大量的孢子,并且躯干中部被大量孢子包围,一些孢子寄生于幼虫体内和体壁上,整个虫体还被大量孢子团和菌丝团所包裹,幼虫身躯麻痹,生命力极低,一些寄生在幼虫体内的孢子萌发出少量菌丝穿透体壁。发酵液处理中死亡幼虫尾部出现溶解现象,躯干并无孢子寄生和缠绕,体内流出大量孢子和器官,虫体相对完整。接下来 72 h 观察中,孢子液处理中被孢子寄生的虫体在寄生部位发生溶解现象,虫体分解成断裂的几部分,无法保持完整形态。

综上,绿色木霉孢子悬浮液对根结线虫二龄幼虫(J2)的作用主要依靠分生孢子的寄生作用,孢子从幼虫口器进入虫体内部,寄生于体腔,外部孢子寄生于幼虫体壁,幼虫活力随着孢子生长而降低,虫体最终也被溶解成分裂的几段。相较于孢子悬浮液处理,发酵液处理组由于孢子和菌丝被滤除,孢子较少,死亡的幼虫大多虫体完整,寄生现象少,证明绿色木霉真菌在发酵过程中会产生使二龄幼虫(J2)致死的拮抗物质,其作用发生过程中使幼虫尾部溶解,从体腔内流出组织和体液,导致幼虫死亡。



a—头部及四周被少量孢子包围的二龄幼虫(J2); b—菌丝缠绕的二龄幼虫(J2); c—孢子寄生过程的二龄幼虫(J2); d~f—大量孢子包围和寄生的二龄幼虫(J2); g~h—尾部溶解的二龄幼虫(J2)

图1 南方根结线虫二龄幼虫(J2)在绿色木霉发酵液及孢子悬浮液形态特征变化

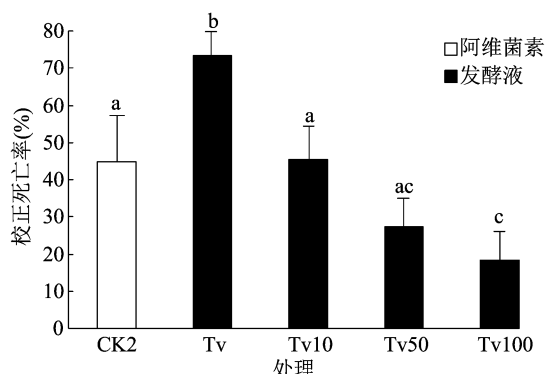
## 2.2 绿色木霉发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响

2.2.1 24 h 不同浓度发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响 24 h 二龄幼虫(J2)在 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液对照与发酵液处理中校正死亡率分别高达 36.78% 和 58.03%, 与无菌水对照相比幼虫死亡数显著增大( $P < 0.05$ ), 证明发酵液能够对幼虫起到良好的致死效果, 由表 1 可知, 24 h 杀线效果优于阿维菌素。

表 1 24 h 不同浓度绿色木霉发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响

处理	线虫死亡数 (头)	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
CK1	228.00 ± 22.27a	22.80	
CK2	512.00 ± 62.86bc	51.20	36.78
Tv	676.00 ± 30.20c	67.60	58.03
Tv10	448.00 ± 103.46abc	44.80	28.50
Tv50	324.00 ± 128.19ab	32.40	12.43
Tv100	290.00 ± 45.21ab	29.00	8.03

注: CK1(对照): 无菌水; CK2(对照): 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液; Tv: 绿色木霉发酵液; Tv10、Tv50、Tv100: 绿色木霉发酵液 10、50、100 倍稀释液; 同列数据后不同字母表示显著差异( $P < 0.05$ )。下同。

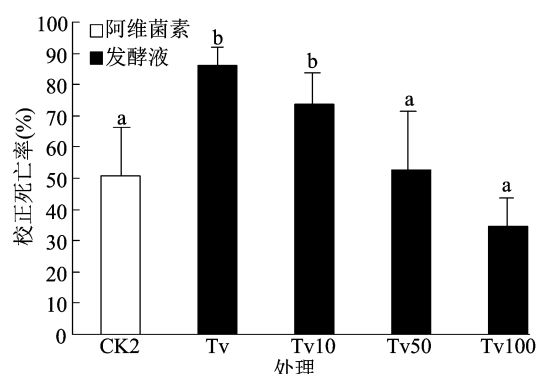


A. 36 h 发酵液对幼虫活性影响

2.2.2 36 h 不同浓度发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响 由图 2 - A 可知, 36 h 4 个浓度发酵液处理, 二龄幼虫(J2)死亡数均显著大于无菌水处理, 杀线效果显著。幼虫在发酵液(Tv)中校正死亡率(73.32%)显著大于阿维菌素处理(44.84%)( $P < 0.05$ )。此时, 发酵液(Tv)杀线效果远好于 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液。10 倍稀释液杀线效果(45.36%)和阿维菌素对照不显著, 提示在 36 h, 10 倍稀释液杀线效果已和阿维菌素相近, 4 个浓度发酵液处理幼虫校正死亡率  $Tv > Tv10 > Tv50 > Tv100$ 。

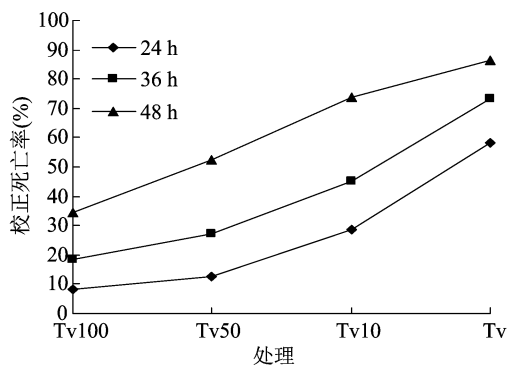
2.2.3 48 h 不同浓度发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响 由图 2 - B 可知, 在 48 h 发酵液(Tv)杀线效果(86.21%)和 10 倍发酵液稀释液杀线效果(73.74%)无显著差异, 提示发酵液杀线效果接近峰值。50 倍和 100 倍稀释液对幼虫致死率与阿维菌素对照(50.66%)无显著差异, 二龄幼虫(J2)校正死亡率  $Tv > Tv10 > Tv50 > CK2 > Tv100$ , 呈现明显梯度关系, 在 0 ~ 100 倍稀释浓度范围内, 浓度越高杀线效果越好。

综上, 由图 3 - A 可知, 绿色木霉发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)有良好的致死作用, 校正死

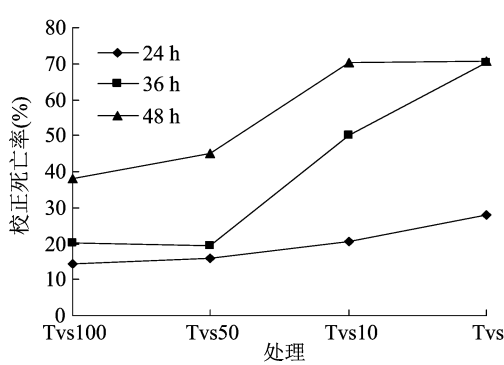


B. 48 h 发酵液对幼虫活性影响

图2 不同浓度发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响



A. 绿色木霉发酵液



B. 绿色木霉孢子悬浮液

图3 相同时间二龄幼虫(J2)在不同浓度发酵液和孢子悬浮液校正死亡率变化

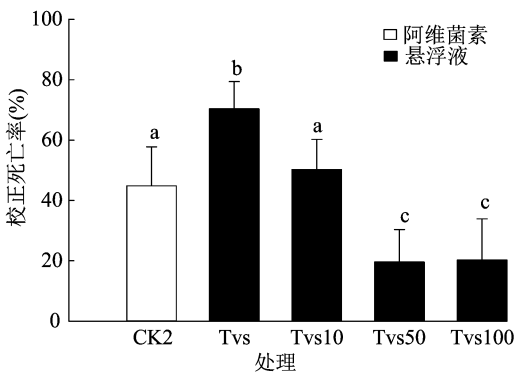
亡率在 48 h 内最高可达 86%,效果要好于阿维菌素处理的 51%,不同浓度的发酵液对应二龄幼虫(J2)死亡率呈明显的线性关系,在 0~100 倍稀释浓度范围内,幼虫死亡率随浓度升高而上升。

2.3 绿色木霉孢子悬浮液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响

2.3.1 24 h 不同浓度孢子液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响 由表 2 可知,24 h 南方根结线虫二龄幼虫(J2)在 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液对照与 Tvs 处理( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)中校正死亡率为 36.78% 和 27.98%, $Tvs < CK2$ ,阿维菌素杀线效果优于孢子液。不同浓度孢子液处理中幼虫死亡数与无菌水对照相比无显著差异,提示在 24 h 不同浓度孢子液对幼虫活性影响不显著。

表 2 24 h 不同浓度绿色木霉孢子悬浮液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响			
处理	线虫死亡数(条)	死亡率(%)	校正死亡率(%)
CK1	228.00 ± 22.27a	22.80	
CK2	512.00 ± 62.86b	51.20	36.78
Tvs	444.00 ± 106.51ab	44.40	27.98
Tvs10	388.00 ± 43.27ab	38.80	20.72
Tvs50	352.00 ± 41.57ab	35.20	16.06
Tvs100	340.00 ± 99.52ab	34.00	14.51

2.3.2 36 h 不同浓度孢子液对南方根结线虫二龄

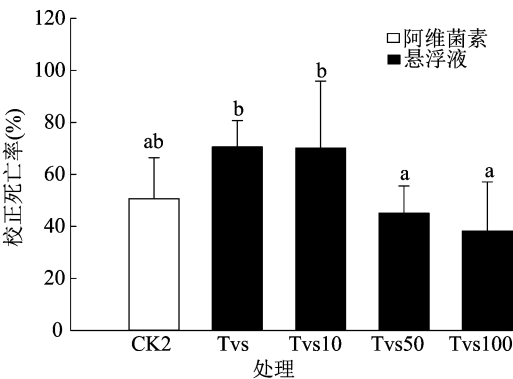


A. 36 h 孢子液对幼虫活性影响

幼虫(J2)活性的影响 由图 4 - A 可知,在 36 h, Tvs 处理( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)和 Tvs10 处理( $1.6 \times 10^6$  CFU/mL)的幼虫死亡数显著大于无菌水对照, Tvs50 和 Tvs100 处理( $3.2 \times 10^5$ 、 $1.6 \times 10^5$  CFU/mL)的幼虫死亡数杀线效果显著( $P < 0.05$ ),提示在 36 h 不同浓度孢子液开始对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性有影响。

2.3.3 48 h 不同浓度孢子液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响 由 4 - B 可知,在 48 h, Tvs ( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)的杀线效果(70.56%)和 Tvs10( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)的杀线效果(70.11%)无显著差异,显著大于幼虫在 Tvs50( $3.2 \times 10^5$  CFU/mL)和 Tvs100 ( $1.6 \times 10^5$  CFU/mL)的校正死亡率(45.09%、38.20%)( $P < 0.05$ )。幼虫在 4 个浓度孢子液的校正死亡率  $Tvs > Tvs10 > Tvs50 > Tvs100$ ,提示 48 h 幼虫校正死亡率在孢子液浓度  $3.2 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^7$  CFU/mL 范围内呈梯度关系,孢子浓度越高杀线效果越好。孢子浓度低于  $3.2 \times 10^5$  CFU/mL 时对线虫活性影响不大。

综上,绿色木霉分生孢子悬浮液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)有良好的致死作用,校正死亡率在 48 h 内最高可达 71%,效果要好于阿维菌素处理的 51%。0~24 h 幼虫活性与孢子液浓度无关,24~48 h 幼虫死亡率在孢子浓度  $3.2 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^7$  CFU/mL 范围内呈梯度关系,随着浓度升高,对线虫致死率越高。



B. 48 h 孢子液对幼虫活性影响

图 4 不同浓度孢子液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性的影响

2.4 绿色木霉发酵液和孢子悬浮液触杀南方根结线虫二龄幼虫(J2)作用时效分析

2.4.1 发酵液触杀南方根结线虫二龄幼虫(J2)作用时效分析 由图 5 - A 可知,在 0~48 h 相同浓度发酵液处理下,二龄幼虫(J2)校正死亡率随时间增长呈明显上升趋势,在 48 h 达到各个处理最高值。

0~24 h 内二龄幼虫(J2)在绿色木霉发酵液(Tv)处理中校正死亡率增长最高,致死效果最强;24~48 h 内校正死亡率增长平稳上升,趋于平缓。10、50、100 倍稀释液在 0~24 h 对二龄线虫(J2)致死效率增长低于 24~48 h,发酵液浓度越低在 0~48 h 内对二龄幼虫(J2)致死效率增长越缓慢,可能是由于发酵

液浓度越低导致对南方根结线虫二龄幼虫(J2)活性产生影响的拮抗物质越少,对二龄幼虫(J2)致死作用发挥时间越长。在 48 h 发酵液(Tv)和 10 倍稀释液对二龄幼虫(J2)活性影响无显著差异,提示在 48 h 绿色木霉发酵液对南方根结线虫二龄幼虫(J2)的活性影响已接近峰值(86.21%)。

2.4.2 孢子液触杀南方根结线虫二龄幼虫(J2)作用时效分析 由图 5 可知,在 0~24 h,相同浓度孢子液处理下二龄幼虫(J2)校正死亡率随时间的增长呈缓慢上升趋势,24~36 h 内二龄幼虫(J2)在 Tvs

( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)和 Tvs10( $1.6 \times 10^6$  CFU/mL)中校正死亡率增长最高,孢子液在此时段对幼虫触杀效果最好。36~48 h 二龄幼虫(J2)在 Tvs10( $1.6 \times 10^6$  CFU/mL)和 Tvs( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)中校正死亡率无显著差异,且在 Tvs( $1.6 \times 10^7$  CFU/mL)中校正死亡率保持较高水平,提示 48 h 孢子液对二龄幼虫(J2)触杀效果达到顶峰(70.56%)。可能是由于绿色木霉孢子对南方根结线虫二龄幼虫(J2)寄生作用主要是发生在 24~36 h,在此时段,效果最好。

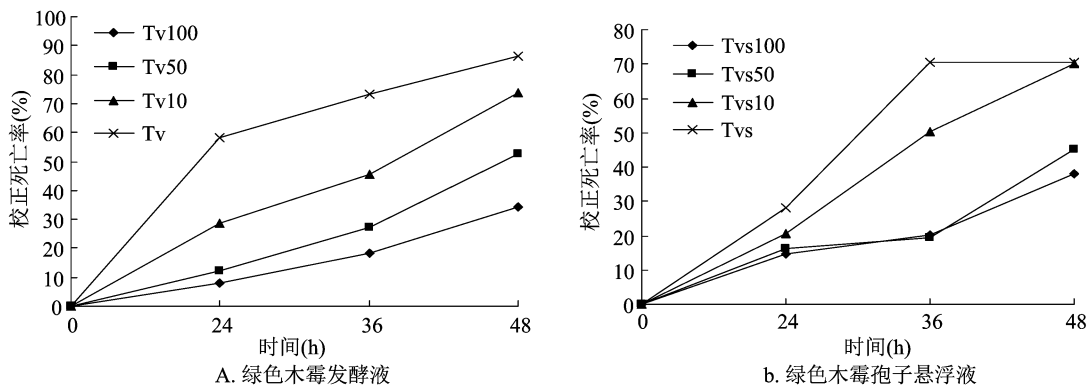


图5 0~48 h 二龄幼虫(J2)在不同浓度发酵液和孢子悬浮液校正死亡率变化

## 2.5 绿色木霉发酵液和孢子悬浮液对南方根结线虫盆栽试验的预防效果

由表 3 可知,在盆栽预防试验中,清水对照处理的黄瓜植株根结大、数量多,密集分布于整个根系,根系粗糙,平均根结数为 153.67 个,显著高于其他处理组,绿色木霉发酵液和孢子液处理的黄瓜植株根系洁白,较光滑,根结小且数量少,平均根结数量为 30.00 个和 34.00 个,两者的根结指数(33.33 和 41.67)相较于清水对照显著降低。发酵液和孢子液对南方根结线虫的预防作用明显,预防效果分别达 60.00% 和 49.99%,均高于阿维菌素对照处理的 45.00%,且 2 个处理中根结减退率分别为 79.38% 和 77.48%,高于阿维菌素对照(66.13%),提示绿色木霉发酵液和孢子悬浮液能够对根结线虫起到良好的预防作用,且效果略优于阿维菌素。

表 3 不同处理对南方根结线虫的预防效果

处理	根结数 (个)	根结指数	根结减退率 (%)	预防效果 (%)
CK1	153.67 ± 25.62a	83.33 ± 3.93a		
CK2	50.00 ± 8.57b	45.83 ± 1.97b	66.13	45.00
Tv	30.00 ± 7.92b	33.33 ± 1.97b	79.38	60.00
Tvs	34.00 ± 3.97b	41.67 ± 1.97b	77.48	49.99

## 2.6 绿色木霉发酵液和孢子悬浮液对南方根结线虫盆栽试验的防治效果

由表 4 可知,在盆栽防治试验中,清水对照处理的黄瓜植株根系根结大而密,遍布整个根系,占整体根系约 70%,平均根结数为 167.67 个,显著高于其他处理组( $P < 0.05$ ),被严重侵染,绿色木霉发酵液处理的黄瓜植株根系光滑洁白,根结小且数量少,仅占整个根系的 10%,平均根结数量为 29.00 个,显著少于清水对照和阿维菌素对照(73.67) ( $P < 0.05$ ),根结指数为 29.16,提示受线虫侵染程度较轻。发酵液和孢子液对南方根结线虫的防治作用显著,防治效果分别达 66.67% 和 47.62%,高于阿维菌素对照处理的 38.09%,且 2 个处理中根结减退率分别为 66.21% 和 60.02%,高于阿维菌素对照(54.97%),提示绿色木霉发酵液和孢子悬浮液能够对根结线虫起到良好的防治作用,发酵液显著优于阿维菌素,而孢子液和阿维菌素防效相当。阿维菌素防治效果偏低原因可能是稀释倍数过大,导致防效不理想。

## 3 结论与讨论

木霉属真菌作为自然界广泛存在具有生防作

表 4 不同处理对南方根结线虫的防治效果

处理	根结数 (个)	根结指数	根结减退率 (%)	预防效果 (%)
CK1	167.67 ± 23.80a	87.50 ± 3.40a		
CK2	73.67 ± 9.51b	54.17 ± 1.96b	54.97	38.09
Tv	29.00 ± 8.04c	29.16 ± 1.97c	66.21	66.67
Tvs	47.67 ± 9.51bc	45.83 ± 1.97bc	60.02	47.62

用的真菌,在农业、植物病虫害防治和环境治理领域具有广阔应用前景<sup>[12]</sup>。研究表明,木霉菌对根结线虫具有多方面生防机制,Sahebani 等研究发现,木霉菌可产生可挥发抗生物质从而起到生防作用<sup>[15]</sup>; Sharon 等发现,绿色木霉可产生拮抗物质杀死根结线虫<sup>[16]</sup>; Mallikharjuna 等和 Smith 等研究表明,绿色木霉通过产生几丁质酶等细胞壁降解酶从而寄生于根结线虫虫卵或幼虫体内<sup>[17-18]</sup>。本研究中,绿色木霉菌株发酵液和孢子悬浮液均可快速高效地杀死南方根结线虫二龄幼虫(J2),48 h 内线虫减退率分别达到 86% 和 71%,进一步证明绿色木霉菌株具有稳定的防治效果。同时,通过对比发现,绿色木霉菌株发酵液和孢子悬浮液与 5% 阿维菌素乳油 5 000 倍液的防治效果存在显著差异,可能原因是阿维菌素稀释倍数过大,导致对线虫的致死效果未达到预期效果。在试验过程中还通过镜检观察了绿色木霉分生孢子对南方根结线虫二龄幼虫(J2)的寄生作用和绿色木霉菌液发酵物对二龄幼虫(J2)的拮抗作用,对二龄幼虫(J2)不同时间段不同处理显微镜下形态特征变化进行观察分析,为绿色木霉对根结线虫的寄生作用和拮抗作用提供佐证。通过绿色木霉发酵液和孢子悬浮液对南方根结线虫的预防和防治盆栽试验,进一步证明了绿色木霉在植物生长过程中对南方根结线虫的生防作用十分显著,绿色木霉发酵液和孢子液对南方根结线虫的预防效果分别为 60.00% 和 49.99%,防治效果分别为 66.67% 和 47.62%,具有稳定的防治效果。

绿色木霉大规模开发应用尚存在许多难题,如绿色木霉生长和繁殖受环境因素影响较大,产生的拮抗物质浓度较低、纯化困难等。因此,利用基因工程提高绿色木霉对不利环境的适应性成为研究热点,可为大规模应用绿色木霉提供保障。针对绿色木霉生物功能的开发尚不全面,未来仍需进一步进行研究。

参考文献:

[1] 翟明娟,李登辉,马玉琴,等. 绿色木霉菌株 Tvir-6 对黄瓜根结

线虫的防治效果研究[J]. 中国蔬菜,2017(10):67-72.

[2] 卢树昌,刘慧芹,王小波,等. 几种药剂对土壤根结线虫的防效及对番茄根系生理性状的影响[J]. 湖北农业科学,2012,51(1):70-73.

[3] 曾立,程万里,余豪,等. 多黏类芽孢杆菌 KM2501-1 发酵液对番茄根结线虫的防治效果[J]. 应用与环境生物学报,2020,26(5):1046-1050.

[4] 张树武,徐秉良,薛应钰,等. 长枝木霉 T6 菌株对黄瓜南方根结线虫的防治及其根际定殖作用[J]. 应用生态学报,2016,27(1):250-254.

[5] 范亚磊,赵敏,邓晟,等. 侵染江苏猕猴桃的北方根结线虫(*Meloidogyne hapla*)形态学描述和分子特征分析[J]. 江苏农业学报,2021,37(1):75-82.

[6] 李通,毛维兴,薛应钰,等. 绿色木霉 B3 菌株发酵液系线活性分析及其稳定性测定[J]. 西北农业学报,2019,28(9):1535-1542.

[7] 刘霆,王莉,段玉玺,等. 绿色木霉对北方根结线虫的作用[J]. 江西农业大学学报,2007,29(4):566-569.

[8] 许迪,潘竟林,刘万强,等. 多杀菌素、阿维菌素乳油和高效氯氰菊酯 3 种农药对环境生物的安全性评价[J]. 生态毒理学报,2013,8(6):897-902.

[9] 傅强. 阿维菌素与甲维盐的稳定性及农田环境安全性评价研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2013.

[10] 程丽云. 木霉菌(*Trichoderma* spp.)的种类鉴定及生防菌株的筛选[D]. 福州:福建农林大学,2007.

[11] 张树武,徐秉良,薛应钰,等. 长枝木霉对南方根结线虫致死和寄生作用的显微观察及测定[J]. 植物保护,2013,39(4):46-51.

[12] 贺超,王文全,侯俊玲. 绿色木霉对生物降解和生物防治的影响机理与应用研究进展[J]. 微生物学杂志,2019,39(3):122-128.

[13] 刘畅,张欣玥,蔡汶好,等. 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗促生作用机理的研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):156-160.

[14] 王禹佳,武估,李享,等. 发根农杆菌与绿色木霉对玉米幼苗根系生长的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(15):112-117.

[15] Sahebani N, Hadavi N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(8):2016-2020.

[16] Sharon E, Chet I, Viterbo A, et al. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix[J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 118(3):247-258.

[17] Mallikharjuna R K L N, Raju K S, Ravisankar H. Cultural conditions on the production of extracellular enzymes by *Trichoderma* isolates from tobacco rhizosphere[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2016, 47(1):25-32.

[18] Smith A, Beltrán C A, Kusunoki M, et al. Diversity of soil-dwelling *Trichoderma* in Colombia and their potential as biocontrol agents against the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary[J]. Journal of General Plant Pathology, 2013, 79(1):74-85.