

几种化学药剂和微生物菌剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

张 妞¹, 王 东^{1*}, 赵远征², 邱廷艳³, 符永程¹,
孟焕文¹, 周洪友^{1*}, 王 新⁴

(1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古自治区农牧业科学院植物保护研究所, 呼和浩特 010031; 3. 内蒙古喀喇沁旗农牧局植保植检站, 喀喇沁旗 024409;
4. 北京中植科华农业技术有限公司, 北京 101149)

摘要 本研究比较了 5 种化学药剂和 4 种微生物菌剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性, 并在此基础上进一步探究了化学药剂与微生物菌剂复合使用的效果。结果表明, 在 5 种供试化学药剂推荐浓度条件下, 70% 噁霉灵可湿性粉剂 26.92 g/L 对腐烂茎线虫的触杀效果最好, 72 h 的校正死亡率可达 87.32%, 20% 噻唑膦水乳剂 6.06 g/L 与 41.70% 氟吡菌酰胺悬浮剂 5.21 g/L 对腐烂茎线虫的触杀活性次之; 用以上 3 种化学药剂 100 倍稀释液处理腐烂茎线虫, 72 h 后 20% 噻唑膦水乳剂 2.00 g/L 与 70% 噁霉灵可湿性粉剂 7.00 g/L 的效果最好, 腐烂茎线虫的校正死亡率分别为 84.61% 和 81.68%。在供试的 4 种微生物菌剂中, 推荐用量条件下, 有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂粉剂 500 g/L 对腐烂茎线虫的触杀效果最好, 72 h 的校正死亡率达 76.48%, 其次为 10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌可湿性粉剂 66.6 g/L。有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂粉剂在推荐用量基础上增加 25% 用量可提高对腐烂茎线虫的触杀效果, 72 h 校正死亡率达到 85.58%。同时, 化学药剂与微生物菌剂在一定浓度条件下复合使用可以显著提高对腐烂茎线虫的触杀效果, 其中有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂粉剂与 70% 噁霉灵可湿性粉剂复合处理的效果最好, 腐烂茎线虫在 48 h 的校正死亡率达到 93.30%; 其次为有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂粉剂与 20% 噻唑膦水乳剂的组合, 48 h 的校正死亡率达到 81.68%。本研究为腐烂茎线虫的有效防控提供了新的思路和方法。

关键词 腐烂茎线虫; 化学药剂; 微生物菌剂; 触杀活性

中图分类号: S 435.3 **文献标识码:** B **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2020091

Indoor contact activities of several chemicals and microbial agents against *Ditylenchus destructor*

ZHANG Niu¹, WANG Dong^{1*}, ZHAO Yuanzheng², QIU Tingyan³, FU Yongcheng¹,
MENG Huanwen¹, ZHOU Hongyou^{1*}, WANG Xin⁴

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;
2. Institute of Plant Protection, Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China;
3. Plant Protection and Plant Quarantine Station, Agricultural and Pastoral Bureau of Karakqin Banner, Karakqin Banner 024409, China; 4. Beijing Zhongzhi Kehua Agricultural Technology Co., Ltd, Beijing 101149, China)

Abstract Indoor contact toxicity of five chemical agents and four microbial agents against *Ditylenchus destructor* were determined in different concentration levels, and the complex effect of chemical and microbial agents on the nematode were also evaluated. The results showed when using the recommended dose hymexazol 70% WP at 26.92 g/L had the strongest contact toxicity with 87.32% corrected death rate 72 h after treatment, followed by

收稿日期: 2020-02-24 修订日期: 2020-05-17

基金项目: 内蒙古自治区科技计划(2019GG180); 国家重点研发计划(2017YFD0201101); 内蒙古自治区科技成果转化专项(2019CG026); 内蒙古农业大学优秀博士人才培育项目(NDYB2018-53)

* 通信作者 E-mail: 王东 wangdong19852008@163.com; 周洪友 hongyouzhou2002@aliyun.com

fosthiazate 20% EW at 6.06 g/L and fluopyram 41.70% SC at 5.21 g/L. Treated by the above three agents at 100 times dilution, hymexazo 70% WP at 7.00 g/L and fosthiazate 20% EW at 2.00 g/L had high toxicity, with the corrected death rate of 81.68% and 84.61% 72 h after treatment, respectively. In four microbial agents, when using the recommended dose anti-root-knot nematode agent $\geq 2 \times 10^{10}$ cfu/g DP at 500 g/L showed strongest contact toxicity with 76.48% corrected death rate 72 h after treatment, followed by *Bacillus subtilis* 1×10^9 spore/g WP at 66.6 g/L. Corrected death rate rose to 85.58% after treated with anti-root-knot nematode agent 125% DP in 72 h. Contact toxicity of chemical agents became stronger when treated with microbial agents in certain concentration. Among which hymexazo 70% WP combined with anti-root-knot nematode agent $\geq 2 \times 10^{10}$ cfu/g DP at 500 g/L showed strongest contact toxicity with 93.30% corrected death rate 48 h after treatment, followed by fosthiazate 20% EW combined with anti-root-knot nematode agent $\geq 2 \times 10^{10}$ cfu/g DP at 500 g/L with 81.68% corrected death rate in 48 h. This study provided new ideas and methods for *Ditylenchus destructor* control.

Key words *Ditylenchus destructor*; chemical agent; microbial agent; contact activity

腐烂茎线虫 *Ditylenchus destructor*^[1] 属于迁移性植物内寄生线虫,是国际上重要的检疫性线虫。该线虫寄主范围广,已知寄主大约 120 种,主要寄主为马铃薯和甘薯。由该线虫引起的病害在美国、加拿大、德国、法国、中国、日本、澳大利亚等国均有发生^[2]。近年来随着我国马铃薯、甘薯种植面积不断扩大,该线虫的分布也越来越广。资料显示,腐烂茎线虫病在北京、天津、山东、河北、河南、江苏、新疆、甘肃等地均有发生,并以山东、河北两省的发生最为严重,已成为北方甘薯最严重的病害之一^[3]。该病害一般可造成甘薯和马铃薯减产 30%~50%,严重时可减产 80%以上,甚至绝收,严重威胁着马铃薯、甘薯等相关产业的发展^[4-6]。由于腐烂茎线虫抗逆性强且寄主范围极广,可在土壤、病残体中长期存活,对于该病害的防控极其困难,效果甚微^[7-9]。

化学防治是防控线虫病害的重要手段。漆永红等^[10]的研究发现,20%丁硫克百威乳油 2 000 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.8%阿维菌素乳油 180 $\mu\text{g/mL}$ 对腐烂茎线虫的防治效果较好。张大帆等^[11]的研究表明,溴氰菊酯对马铃薯腐烂茎线虫具有一定的杀灭活性,且对其运动扩散和摄食能力具有较高的抑制活性。李鹏程等^[12]的研究结果表明,53.8%氢氧化铜水分散粒剂结合 3%阿维菌素乳油 1 000 倍液蘸根处理当归种苗,对由腐烂茎线虫引起的当归麻口病有良好的防治效果,且对当归生产安全,能有效提高当归的产量。但化学防治也存在一定的局限性,过去常用的甲基异柳磷、氯唑磷、丙溴磷、硫线磷、灭线磷、苯线磷等有机磷类和涕灭威、丁硫克百威等氨基甲酸酯

类杀线虫剂,都因高毒及对生态环境的破坏而被禁用或限用^[13]。且目前多数研究将根结线虫作为药剂筛选的靶标,而部分化学药剂虽然对根结线虫等植物线虫有效但对于腐烂茎线虫的防效较差。夏彦飞等^[14]研究表明,100 g/L 吡虫啉可湿性粉剂处理花生根结线虫、程氏滑刃线虫、贝西滑刃线虫、松材线虫和腐烂茎线虫 48 h 后致死率分别为 91.00%、65.70%、45.70%、44.00% 和 9.67%,花生根结线虫对吡虫啉最为敏感,腐烂茎线虫最不敏感,因此有必要针对腐烂茎线虫进一步筛选高效、低毒、安全的化学药剂。

生物防治具有对非靶标生物安全、致毒作用小、环境兼容性好、不产生抗药性等优点,已成为防控腐烂茎线虫病害的重要手段。张国锋等^[15]的研究表明,施用 30 kg/hm² 的厚孢轮枝菌(2.5 亿孢子/g)和 45 kg/hm² 的淡紫拟青霉颗粒剂(5 亿孢子/g)可有效防治甘薯茎线虫,防治效果分别达 70.94% 和 67.56%。有研究表明,苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis* 对腐烂茎线虫具有较高毒力,巨大芽胞杆菌 *B. megaterium* 菌株 D45 对腐烂茎线虫具有一定的杀线活性^[16-17]。Zeng 等^[18]分离获得的芽胞杆菌菌株 SMrs28 的发酵液粗提物表现出较强的杀线虫活性,其主要化合物对腐烂茎线虫具有毒杀作用。因此,进一步开发、筛选高效的生物菌剂并对其使用方法进行合理优化,必将有助于腐烂茎线虫的防控。

本试验利用 5 种化学药剂和 4 种微生物菌剂进行腐烂茎线虫的室内触杀活性研究,通过设置不同浓度或用量处理,旨在筛选出对该线虫具有良好触

杀效果的化学药剂和微生物菌剂,并进一步探索了化学药剂和微生物菌剂联合应用的效果,旨在为腐烂茎线虫的有效防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试化学药剂及推荐用量

20%噻唑膦水乳剂(EW)750~1 000 mL/667 m²,山东海而三利生物化工有限公司;5%阿维菌素悬浮剂(SC)16~20 mL/667 m²,青岛奥迪斯生物科技有限公司;41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂(SC)0.024~0.03 mL/株,拜耳股份公司;70.00%噁霉灵可湿性粉剂(WP)1.25~1.75 g/m²,青岛鑫润生物科技有限公司;5%高氯·甲维盐微乳剂(ME)6~12 mL/667 m²,佳木斯兴宇生物技术开发有限公司。

1.1.2 供试微生物菌剂及推荐用量

有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂粉剂(DP)15 kg/667 m²(有效成分:枯草芽胞杆菌和黑曲霉),河北上瑞化工有限公司;20 亿芽胞/g 蜡质芽胞杆菌可湿性粉剂(WP)兑水稀 600~1 000 倍,广东植物龙生物技术有限公司;10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌可湿性粉剂(WP)75~100 g/667 m²,保定市科绿丰生化科技有限公司;≥2 亿孢子/g 木霉菌肥效剂粉剂(DP)1 600 株/kg,山东省科学院生物研究所与无锡几丁生物新材料科技发展有限公司联合研制。

1.1.3 供试线虫

腐烂茎线虫 *Ditylenchus destructor* 采自发病的甘薯,并转接于健康的甘薯薯块中进行扩繁,室温条件下保存于内蒙古农业大学园艺与植保学院植物病理研究室。

1.2 试验方法

1.2.1 线虫分离

采用改良的贝曼漏斗法^[19]从发病的甘薯薯块中分离线虫。

1.2.2 线虫悬浮液制备

参考徐进军等^[20]的方法收集线虫,并制备线虫悬浮液(约 1 000 条/mL),备用。

1.2.3 药液的配制

化学药剂的配制:参考供试化学药剂说明书的

推荐用量,将 20%噻唑膦 EW、5%阿维菌素 SC、41.7%氟吡菌酰胺 SC、70%噁霉灵 WP、5%高氯·甲维盐 ME 分别配制成有效浓度为 6.06、0.033、5.21、26.92、0.02 g/L 的药液备用;分别将 20%噻唑膦 EW、41.7%氟吡菌酰胺 SC 和 70%噁霉灵 WP 3 种化学药剂稀释 100 倍(有效浓度分别为 2.00、4.17、7.00 g/L)、300 倍(有效浓度分别为 0.67、1.39、2.33 g/L)和 500 倍(有效浓度分别为 0.40、0.83、1.40 g/L),备用。

微生物菌剂的配制:参考供试微生物菌剂说明书推荐的用量,将有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP、20 亿芽胞/g 蜡质芽胞杆菌 WP、10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP、≥2 亿孢子/g 木霉菌肥效剂 DP 分别配制成 500.00、8.33、66.67、83.00 g/L 的药液备用;在此基础上,分别按照增加 25%和减少 25%菌剂用量进行配制,备用。

复合药液的配制:按照推荐使用浓度或用量,将触杀活性效果好的 3 种化学药剂(20%噻唑膦 EW、70%噁霉灵 WP 和 41.7%氟吡菌酰胺 SC)分别配制成有效浓度为 6.06、26.92 g/L 和 5.21 g/L 的药液,将 2 种微生物菌剂(有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 和 10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP)分别配制成 500.00 g/L 和 66.67 g/L 的水溶液,再按照化学药剂与生物菌剂 1:1 的比例进行混合,配制复合药液。

1.2.4 腐烂茎线虫的室内触杀试验

采用直接接触杀法,用移液枪吸取 100 μL 线虫悬浮液(含腐烂茎线虫约 100 条)至 1.5 mL 离心管,3 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,加入配制好的药液 1.5 mL,与线虫振荡混合均匀后,用移液枪吸入到细胞培养板的小孔中,每个处理重复 3 次,以无菌水作为对照。用橡皮筋固定,放入聚乙烯塑料袋中,25℃恒温培养 24、48、72 h 后在显微镜下进行观察,记录腐烂茎线虫的总数以及死亡数。

1.3 数据分析

计算腐烂茎线虫的死亡率和校正死亡率,并使用 IBM SPSS Statistics 24 对数据进行显著性分析。

线虫死亡率=死虫数/供试线虫数×100%;

校正死亡率=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100%。

2 结果与分析

2.1 化学药剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

2.1.1 推荐浓度下 5 种化学药剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

结果表明,推荐浓度下药剂处理 24 h,70%噁霉灵 WP 和 20%噻唑膦 EW 对腐烂茎线虫的触杀效果最好,线虫校正死亡率分别达到 58.44% 和 55.09%,均与其他药剂处理差异显著,但二者之间无显著差异;其次 41.7%氟吡菌酰胺 SC 效果也较好,校正死亡率达到 50.60%。药剂处理 48 h,70%噁霉灵 WP 对腐烂茎线虫的校正死亡率达

75.23%,显著高于其他处理;20%噻唑膦 EW 的触杀效果次之,校正死亡率达 70.27%;41.7%氟吡菌酰胺 SC 处理的线虫校正死亡率也达到了 66.11%。药剂处理 72 h,70%噁霉灵 WP 对腐烂茎线虫的触杀效果依然最好,线虫校正死亡率达 87.32%,且与其他药剂处理差异显著;20%噻唑膦 EW 和 41.7%氟吡菌酰胺 SC 对腐烂茎线虫的触杀效果次之,但二者差异不显著,线虫校正死亡率分别为 75.24%和 73.95%(表 1)。推荐浓度下,5%高氯·甲维盐 ME 和 5%阿维菌素 SC 对腐烂茎线虫的触杀效果较差,72 h 的线虫校正死亡率均未达到 50%。

表 1 5 种化学药剂推荐用量对腐烂茎线虫的触杀活性¹⁾

Table 1 Indoor contact activity of five chemical agents against *Ditylenchus destructor*

化学药剂 Chemical agent	推荐用量/g·L ⁻¹ Recommended dosage	校正死亡率/% Corrected mortality rate		
		24 h	48 h	72 h
20%噻唑膦 EW fosthiazate 20% EW	6.06	(55.09±1.97)a	(70.27±2.51)b	(75.24±1.73)b
5%阿维菌素 SC abamectin 5% SC	0.033	(35.73±2.17)c	(30.54±1.88)e	(42.36±2.34)c
41.7%氟吡菌酰胺 SC fluopyram 41.7% SC	5.21	(50.60±2.07)b	(66.11±1.73)c	(73.95±1.65)b
70%噁霉灵 WP hymexazol 70% WP	26.92	(58.44±2.70)a	(75.23±2.87)a	(87.32±1.41)a
5%高氯·甲维盐 ME beta-cypermethrin·emamectin benzoate 5% ME	0.02	(36.32±1.61)c	(36.45±0.96)d	(45.46±2.13)c

1) 表中数据为平均值±标准误,同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 0.05 水平差异显著。下同。
Data in the table are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test. The same applies below.

2.1.2 不同稀释浓度下化学药剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

在推荐使用浓度的基础上,分别将 20%噻唑膦 EW、41.7%氟吡菌酰胺 SC 和 70%噁霉灵 WP 稀释 100、300、500 倍,测定其对腐烂茎线虫的室内触杀活性。结果表明,3 种化学药剂对腐烂茎线虫的触杀活性均随着稀释倍数的增加有所降低;在不同时间点(24、48、72 h),各药剂稀释 100 倍时的线虫校正死亡率均为最高,且显著高于其他稀释倍数。

药剂处理 24 h,41.7%氟吡菌酰胺 SC 对腐烂茎线虫的触杀效果均最好,稀释 100 倍时的线虫校正死亡率最高,为 38.16%,稀释 300 倍和 500 倍的线虫校正死亡率也分别达到 35.47%和 32.19%;其次为 70%噁霉灵 WP,稀释 100 倍时的线虫校正死亡率为 33.00%;20%噻唑膦 EW 效果

较差,不同稀释倍数处理的线虫校正死亡率均未超过 30%。

但随着时间的推移,3 种药剂对腐烂茎线虫的触杀活性发生变化,在药剂处理 48 h 和 72 h,20%噻唑膦 EW 和 70%噁霉灵 WP 100 倍稀释液的效果较好,药剂处理 48 h 时,线虫校正死亡率分别达 55.63%和 55.24%,均显著高于 41.7%氟吡菌酰胺 SC 100 倍稀释液的线虫校正死亡率(43.49%)。药剂处理 72 h,3 种药剂对腐烂茎线虫的触杀活性进一步增强,各浓度处理的线虫校正死亡率均高于 50%;20%噻唑膦 EW 和 70%噁霉灵 WP 100 倍稀释液的线虫校正死亡率分别达 84.61%和 81.68%,且显著高于线虫校正死亡率为 65.50%的 41.7%氟吡菌酰胺 SC 100 倍稀释液;20%噻唑膦 EW 和 70%噁霉灵 WP 300 倍稀释液的线虫校正死亡率也较高,分别达 67.28%和 68.76%(表 2)。

表 2 不同浓度化学药剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

Table 2 Indoor contact activity of chemical agents with different dilution multiples against <i>Ditylenchus destructor</i>				
化学药剂 Chemical agent	稀释倍数/倍 Dilution multiple	校正死亡率/% Corrected mortality rate		
		24 h	48 h	72 h
20%噻唑膦 EW fosthiazate 20% EW	100	(23. 11±1. 46)c	(55. 63±2. 02)a	(84. 61±4. 11)a
	300	(17. 60±1. 90)d	(48. 92±1. 03)b	(67. 28±3. 11)b
	500	(13. 80±0. 69)d	(41. 82±2. 32)c	(55. 83±1. 05)d
70%噁霉灵 WP hymexazol 70% WP	100	(33. 00±4. 97)b	(55. 24±1. 59)a	(81. 68±2. 26)a
	300	(24. 40±2. 03)c	(35. 25±3. 21)d	(68. 76±3. 05)b
	500	(21. 59±0. 46)c	(25. 88±1. 49)e	(62. 50±1. 49)c
41. 7%氟吡菌酰胺 SC fluopyram 41. 7% SC	100	(38. 16±2. 76)a	(43. 49±2. 62)c	(65. 50±3. 10)bc
	300	(35. 47±1. 56)ab	(37. 89±2. 84)d	(56. 04±0. 57)d
	500	(32. 19±0. 45)b	(35. 08±1. 03)d	(51. 25±2. 57)e

2.2 不同用量条件下微生物菌剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

推荐用量下不同时间点(24、48 h 和 72 h),有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 均好于其他菌剂处理,对腐烂茎线虫的触杀效果最为显著,24、48 h 和 72 h 时线虫的校正死亡率分别达60.89%、69.14%和 76.48%;其次为 10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP,3 个时间点线虫的校正死亡率分别达 47.06%、55.77%和 63.31%;而≥2 亿孢子/g 木霉菌肥效剂 DP 对腐烂茎线虫的触杀效果最不理想,3 个时间点的线虫校正死亡率均在 30%以下(表 3)。

增加 25%用量后,有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 不同时间点(24、48 h 和 72 h)的触杀活性依然显著好于其他菌剂处理,24 h 时腐烂茎线虫的校正死亡率达 63.27%,但与推荐用

量处理相比差异不显著;在48 h和 72 h 时,菌剂加量 25%后表现出对腐烂茎线虫更强的触杀效果,线虫的校正死亡率分别达到 82.39%和 85.58%,显著好于推荐用量。其次为 10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP 加量 25%,24 h 对腐烂茎线虫的校正死亡率达 51.12%,但与推荐用量处理差异不显著;在处理48 h和 72 h 时,线虫的校正死亡率分别达到 63.54%和 73.45%,比推荐用量的触杀效果更为显著(表 3)。

4 种微生物菌剂分别减少用量 25%对腐烂茎线虫的触杀效果有所减弱,但有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 对腐烂茎线虫的触杀效果仍然较好,72 h 时线虫的校正死亡率达 63.47%;其次为 10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP,72 h 时线虫的校正死亡率达 58.94%(表 3)。

表 3 微生物菌剂对腐烂茎线虫的室内触杀活性

Table 3 Indoor contact activity of microbial agent against <i>Ditylenchus destructor</i>				
微生物菌剂 Microbial agent	处理 Treatment	校正死亡率/% Corrected mortality rate		
		24 h	48 h	72 h
有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP Anti-root-knot nematode agent ≥2×10 ¹⁰ cfu/g DP	推荐用量	(60. 89±3. 92)a	(69. 14±1. 30)b	(76. 48±1. 10)b
	加量 25%	(63. 27±2. 30)a	(82. 39±2. 67)a	(85. 58±1. 97)a
	减量 25%	(52. 24±3. 24)b	(60. 04±2. 88)cd	(63. 47±0. 86)c
10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP <i>Bacillus subtilis</i> 1×10 ⁹ spore/g WP	推荐用量	(47. 06±1. 53)c	(55. 77±1. 61)d	(63. 31±0. 69)c
	加量 25%	(51. 12±2. 48)bc	(63. 54±2. 62)c	(73. 45±2. 35)b
	减量 25%	(40. 07±1. 60)d	(49. 51±1. 85)e	(58. 94±2. 08)d
20 亿芽胞/g 蜡质芽胞杆菌 WP <i>Bacillus cereus</i> 2×10 ⁹ spore/g WP	推荐用量	(31. 88±1. 50)e	(37. 90±5. 03)g	(50. 07±2. 62)e
	加量 25%	(37. 52±4. 17)d	(43. 78±3. 77)f	(56. 99±3. 28)d
	减量 25%	(13. 08±1. 17)g	(19. 39±0. 46)hi	(34. 36±5. 02)g
≥2 亿孢子/g 木霉菌肥效剂 DP <i>Trichoderma fertilizer</i> ≥2×10 ⁸ spore/g DP	推荐用量	(21. 70±1. 25)f	(23. 37±1. 75)h	(29. 08±2. 46)h
	加量 25%	(28. 98±2. 47)e	(35. 21±3. 66)g	(44. 76±2. 16)f
	减量 25%	(13. 66±0. 86)g	(15. 75±2. 64)i	(18. 38±1. 64)i

2.3 化学药剂与微生物菌剂复合使用对腐烂茎线虫的室内触杀活性

参考推荐使用浓度或用量,将筛选获得的触杀活性效果好的 3 种化学药剂(20%噻唑膦 EW、70%噁霉灵 WP、41.7%氟吡菌酰胺 SC)和 2 种微生物菌剂(有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP、10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP)分别按照化学药剂与生物菌剂 1:1 的比例混合后进行室内触杀活性试验。结果表明:有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结

线虫菌剂 DP 与 70%噁霉灵 WP 复合处理的效果最好,24 h 和 48 h 的腐烂茎线虫校正死亡率分别达到 79.53%和 93.30%,均显著高于其他处理;有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 与 20%噻唑膦 EW 复合处理后效果也较好,48 h 线虫的校正死亡率达 81.68%;其他复合处理的效果也较好,24 h 的线虫校正死亡率均在 60%以上(64.65%~70.16%),48 h 后线虫的校正死亡率均在 70%以上(72.26%~77.78%)(表 4)。

表 4 化学药剂与微生物菌剂联合使用对腐烂茎线虫的触杀活性

Table 4 Contact activity of chemical agents combined with microbial agents against *Ditylenchus destructor*

处理 Treatment	使用剂量/g·L ⁻¹ Dosage	校正死亡率/% Corrected mortality rate	
		24 h	48 h
有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP+70%噁霉灵 WP Anti-root-knot nematode agent ≥2×10 ¹⁰ cfu/g DP + hymexazol 70% WP	500.00+26.92	(79.53±2.00)a	(93.30±1.45)a
有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP+20%噻唑膦 EW Anti-root-knot nematode agent ≥2×10 ¹⁰ cfu/g DP+ fosthiatzate 20% EW	500.00+6.06	(67.77±2.09)b	(81.68±1.91)b
有效活菌数≥200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP+41.7%氟吡菌酰胺 SC Anti-root-knot nematode agent ≥2×10 ¹⁰ cfu/g DP+fluopyram 41.7% SC	500.00+5.21	(66.89±0.91)b	(74.04±1.92)c
10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP+70%噁霉灵 WP <i>Bacillus subtilis</i> 1×10 ⁹ spore/g WP + hymexazol 70% WP	66.67+26.92	(70.16±2.50)b	(77.78±1.14)bc
10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP+20%噻唑膦 EW <i>Bacillus subtilis</i> 1×10 ⁹ spore/g WP+ fosthiatzate 20% EW	66.67+6.06	(64.65±2.09)b	(74.32±2.23)c
10 亿活芽胞/g 枯草芽胞杆菌 WP+41.7%氟吡菌酰胺 SC <i>Bacillus subtilis</i> 1×10 ⁹ spore/g WP + fluopyram 41.7% SC	66.67+5.21	(69.30±1.40)b	(72.26±1.82)c

3 讨论

噁霉灵作为一种常用杀菌剂,通常被应用于防治水稻立枯病^[21]、西瓜枯萎病^[22]等土传真菌病害。本研究发现了杀菌剂 70%噁霉灵 WP 无论是在推荐浓度条件下还是经过不同稀释倍数对腐烂茎线虫均具有较好的触杀效果,是杀菌剂的新利用,有必要继续开展田间防控试验。

噻唑膦和氟吡菌酰胺是生产上常用的化学药剂,但由于氟吡菌酰胺成本较高,其使用范围受到了一定的影响,而噻唑膦的使用更为普遍。鲁旭鹏等^[23]的研究表明,10%噻唑膦颗粒剂 2 000 倍液对黄瓜和番茄根结线虫病的防效分别为 72.75%和 67.79%,可有效抑制黄瓜和番茄根部根结的形成。本研究发现 20%噻唑膦 EW 与 41.70%氟吡菌酰胺 SC 对腐烂茎线虫具有较强的触杀效果,这与多位学者报道结果较为一致。例如,杨锋等^[24]报道,10%

噻唑膦颗粒剂穴施可以有效防控甘薯茎线虫病,平均防效达 94.68%;张淑玲^[25]报道,41.7%氟吡菌酰胺 SC 稀释 200 倍对腐烂茎线虫的触杀效果为 61.93%。已有研究表明,氟吡菌酰胺水溶液对南方根结线虫和肾形盘旋线虫有较好的触杀作用,主要表现为麻痹作用,受药后的线虫活力下降直至虫体僵直死亡,但去除药剂冲洗线虫 24 h 后部分线虫的活力可恢复^[26]。本研究也发现,41.70%氟吡菌酰胺 SC 在处理 24 h 时对腐烂茎线虫的触杀效果较为明显,特别是在相同稀释倍数条件下,24 h 的线虫校正死亡率显著高于其他药剂,这可能是由于 41.70%氟吡菌酰胺 SC 在短时间内对线虫具有较强的毒杀作用和击倒活性;但是随着处理时间的延长,该药剂对腐烂茎线虫的触杀效果有所减弱。与 41.70%氟吡菌酰胺 SC 不同,20%噻唑膦 EW 在稀释条件下,短时间内(24 h)对腐烂茎线虫的触杀效果并不突出,但随着处理时间的延长触杀效果逐渐

增强,即使在较低浓度条件下也表现出较高的触杀活性。

阿维菌素和高氯·甲维盐也是经常用于线虫病害防控的药剂。本研究表明,这两种药剂对腐烂茎线虫的触杀效果不理想,这与高德良等^[27]的研究结果不一致;但张淑玲^[25]研究发现 1.8%阿维菌素悬浮剂和 3%高氯·甲维盐悬浮剂稀释 200 倍,72 h 时对腐烂茎线虫的校正死亡率仅为 14.26%和 9.36%,与本研究结果较为一致。

4 种微生物菌剂对腐烂茎线虫的触杀活性试验表明,有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 对腐烂茎线虫表现出最强的触杀活性,而该菌剂的主要成分是黑曲霉和枯草芽胞杆菌。关于黑曲霉和枯草芽胞杆菌防治根结线虫和孢囊线虫的报道较多。李颂等^[28]研究发现,不同浓度的黑曲霉 Snf009 次生代谢产物均能降低番茄植株的根结指数和根结线虫种群数量;李婷等^[29]发现,用生防真菌黑曲霉 NBC001 发酵液 2 倍稀释液处理大豆孢囊线虫其 24 h 的校正死亡率约 90%,孵化抑制率在 68%以上;张辉民等^[30]发现,曲霉属真菌 HN214 和 HN132 的发酵液对禾谷孢囊线虫的校正死亡率分别为 99.66%和 96.56%。高旭利等^[31]发现,枯草芽胞杆菌 ZJSS 能够有效抑制根结线虫的侵染和根结的形成,同时提高黄瓜产量;彭双等^[32]的研究表明,枯草芽胞杆菌发酵上清液稀释 3 倍处理 24 h 杀线虫率达到 95%以上。但是,多数研究是将根结线虫和孢囊线虫作为靶标,而本研究表明,以黑曲霉和枯草芽胞杆菌为主要成分的抗根结线虫菌剂对腐烂茎线虫也具有较好的触杀活性,今后有必要进一步开展田间试验,明确其对腐烂茎线虫病的防治效果,使得该菌剂拥有更为广阔的应用前景。

本研究表明, ≥ 2 亿孢子/g 木霉菌肥效剂 DP 对腐烂茎线虫的触杀活性最差。许多研究表明,木霉菌作为生防因子可以用来防控根结线虫病害。马金慧等^[33]报道木霉 TRI2 发酵液在 48 h 时可以 100%杀死根结线虫,在盆栽试验中使黄瓜根结减退率达到 63.5%,在田间对黄瓜根结线虫病的防治效果达到 72.2%。但与根结线虫等其他植物线虫相比,腐烂茎线虫较为特殊,除了可以寄生植物之外,还可在木霉属 *Trichoderma*、镰孢属 *Fusarium*、葡

萄孢属 *Botrytis*、轮枝孢属 *Verticillium* 等约 40 个属 70 余种真菌上繁殖^[34-35]。一般来说,大多数木霉不仅不能抑制腐烂茎线虫生长,而且利于其繁殖;徐鹏刚^[36]研究发现,30℃条件下用长枝木霉 *T. longibrachiatum* 接种 1 000 条腐烂茎线虫,30 d 后繁殖线虫多达 18 750 条。当然一些生防木霉菌株经过发酵,产生大量具有杀线虫活性的次级代谢产物,可能会对腐烂茎线虫具有一定的触杀作用,但与根结线虫等其他植物线虫相比,其对腐烂茎线虫的活性可能会减弱;如段玉玺等^[37]研究表明,哈茨木霉 Snf85 发酵液的 5 倍稀释液对根结线虫、水稻干尖线虫和大豆孢囊线虫的毒力均较强(处理 48 h 校正死亡率 94.18%~100%),但对腐烂茎线虫的毒力一般(处理 48 h 校正死亡率 55.64%)。

化学药剂与微生物菌剂复合使用可以有效减少化学药剂的使用量,对于线虫病害的绿色防控意义重大。而且,本研究发现二者的复合处理,比单一菌剂或药剂对腐烂茎线虫的触杀活性更高,使用效果更好。张桂娟等^[38]的研究发现,10%噻唑膦颗粒剂分别与黑曲霉 Y61 和 3%芽胞杆菌微乳剂复合使用对土壤中根结线虫 2 龄幼虫均具有一定的抑制作用,对芹菜根结线虫病防治效果分别为 75.3%和 52.1%,且分别增产 17.2%和 2.7%。万景旺等^[39]利用枯草芽胞杆菌 Jdm2 分别与阿维菌素、苦参碱、印楝素、藜芦碱混用,表明生防菌与生物源农药混用可对黄瓜根结线虫的防治起到增效作用。本研究初步筛选出对腐烂茎线虫的触杀效果较为明显的 2 个复合处理——有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 与 70%噻霉灵 WP 混合使用和有效活菌数 ≥ 200.0 亿/g 抗根结线虫菌剂 DP 与 20%噻唑膦 EW 混合使用,为腐烂茎线虫病害的防控提出了新的解决方法。

参考文献

- [1] THORNE G. *Ditylenchus destructor* n. sp. the potato rot nematode and *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936, the teasel nematode (Nematode: Tylenchidae) [J]. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, 1945, 12(2): 27-33.
- [2] 黄健. 腐烂茎线虫种内不同群体形态及遗传分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2008: 1-11.
- [3] 杨宝君, 李静华. 当归麻口病病因初步探讨[J]. *植物病理学*

- 报, 1990, 20(1): 22.
- [4] 周忠, 马代夫. 甘薯茎线虫病的研究现状和展望[J]. 杂粮作物, 2003, 23(5): 288-290.
 - [5] 朱秀珍, 田希武, 王随保, 等. 甘薯茎线虫病发生规律及综合防治[J]. 山西农业科学, 2004, 32(3): 54-57.
 - [6] MWAURA P, JÖRN NIERE B, VIDAL S. Effect of initial population densities of *Ditylenchus destructor* and *D. dipsaci* on potato tuber damage and nematode reproduction [J]. Nematology, 2015, 17: 193-202.
 - [7] HUANG Wenkun, PENG Deliang, ZHANG Dongsheng, et al. Assessment of genetic variability in population of *Ditylenchus destructor* (Thorne1945) (Tylenchida: Anguinidae) from China [J]. Russian Journal of Nematology, 2010, 18(1): 19-30.
 - [8] VILPONIS E, HIIESAAR K, KAART T, et al. Low temperature survival of post-eclosion stages of the potato rot nematode *Ditylenchus destructor* Thorne (Tylenchida: Anguinidae) [J]. Nematology, 2011, 13(8): 977-983.
 - [9] XU Zhen, ZHAO Yongqiang, YANG Dongjing, et al. Attractant and repellent effects of sweet potato root exudates on the potato rot nematode, *Ditylenchus destructor* [J]. Nematology, 2015, 17: 117-124.
 - [10] 漆永红, 杜蕙, 曹素芳, 等. 不同药剂对甘薯茎线虫病病原马铃薯腐烂茎线虫的影响[J]. 江苏农业科学, 2011(1): 150-152.
 - [11] 张大帆, 丁中, 刘建喜, 等. 溴氰菊酯对马铃薯腐烂茎线虫的毒力及对其运动和摄食的影响[J]. 农药学报, 2016, 18(3): 311-316.
 - [12] 李鹏程, 尚虎山, 肖贵. 当归麻口病防治农药组合筛选[J]. 植物保护, 2018, 44(4): 233-236.
 - [13] 安呈海. 我国杀线虫剂现状[J]. 现代农药, 2000(1): 10-11.
 - [14] 夏彦飞, 李身, 杨晨光, 等. 吡虫啉对 5 种植物寄生线虫的室内毒力测定[J]. 现代农药, 2018, 17(5): 36-38.
 - [15] 张国锋, 暴连群, 赵彦改, 等. 不同药剂对甘薯茎线虫防治效果研究[J]. 现代农业科技, 2017(9): 125-126.
 - [16] 刘金辉, 侯艳飞, 郭红森, 等. 对甘薯茎线虫具有杀虫活性的苏云金芽胞杆菌筛选及特性鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(2): 235-239.
 - [17] 姚思敏. 具杀植物线虫活性的芽胞杆菌筛选[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018: 1-36.
 - [18] ZENG Liming, JIN Hui, LU Dengxue, et al. Isolation and identification of chemical constituents from the bacterium *Bacillus* sp. and their nematocidal activities [J]. Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Morphology, Physiology, Genetics, and Ecology of Microorganisms, 2015, 55: 1239-1244.
 - [19] 张绍升. 植物线虫病诊断与治理[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1999: 73-156.
 - [20] 徐进军, 李世东, 杨之为. 马铃薯茎线虫的培养[J]. 西北农业学报, 2004, 13(4): 39-46.
 - [21] 林佩力, 李涌, 李静, 等. 恶霉灵防治水稻立枯病研究[J]. 黑龙江农业科学, 1991(2): 1-5.
 - [22] 陆致平, 项继忠, 吴雄飞. 恶霉灵防治西瓜枯萎病试验研究[J]. 现代农药, 2002(3): 44.
 - [23] 鲁旭鹏, 段玉玺, 陈立杰, 等. 阿维菌素和噻唑磷对根结线虫病的田间防效[J]. 中国植保导刊, 2015, 35(1): 63-64.
 - [24] 杨锋, 王建, 任娜. 甘薯茎线虫病药剂防治效果试验示范研究[J]. 农药科学与管理, 2016(4): 51-54.
 - [25] 张淑玲. 定西地区腐烂茎线虫群体多样性及室内毒力测定[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018: 1-43.
 - [26] FASKE T R, HUBD K. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopyram [J]. Journal of Nematology, 2015, 47(4): 316-321.
 - [27] 高德良, 于伟丽, 苗建强, 等. 几种替代杀线剂对甘薯茎线虫的毒力与活性[J]. 应用生态学报, 2011, 22(11): 3026-3032.
 - [28] 李颂, 段玉玺, 朱晓峰, 等. 黑曲霉次生代谢产物对番茄抗根结线虫病效果的影响[J]. 中国蔬菜, 2011(4): 44-49.
 - [29] 李婷, 黄文坤, 彭德良, 等. 3 株生防真菌发酵液对大豆胞囊线虫的防治效果[J]. 华中农业大学学报, 2017(1): 48-52.
 - [30] 张辉民, 黄文坤, 孔令安, 等. 禾谷胞囊线虫生防真菌的分离鉴定及初步应用[J]. 华北农学报, 2013(4): 193-197.
 - [31] 高旭利, 李永腾, 刘文宝, 等. 利用生防细菌防治黄瓜根结线虫病研究[J]. 山东农业科学, 2018, 50(8): 116-119.
 - [32] 彭双, 闫淑珍, 陈双林. 具杀线虫活性植物内生细菌的筛选和活性产物[J]. 微生物学报, 2011, 51(3): 368-376.
 - [33] 马金慧, 朱萍萍, 茆振川, 等. 哈茨木霉菌株 TRI2 的鉴定及其对黄瓜根结线虫的防治作用[J]. 中国农学通报, 2014, 30(22): 263-269.
 - [34] DONCASTER C C. Nematode feeding mechanisms. observations on *Ditylenchus destructor* and *D. myceliophagus* feeding on *Botrytis cinerea* [J]. Nematologica, 1966, 12: 417-427.
 - [35] FAUKNER L R, DARLING H M. Pathological histology, hosts and culture of the potato rot nematode [J]. Phytopathology, 1961, 5(11): 778-785.
 - [36] 徐鹏刚. 甘肃省西马铃薯腐烂茎线虫的发生、病原学研究及品种抗性评价[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016: 1-46.
 - [37] 段玉玺, 靳莹莹, 王胜君. 生防菌株 Snf85 的鉴定及其发酵液对不同种类线虫的毒力[J]. 植物保护学报, 2008, 35(2): 132-136.
 - [38] 张桂娟, 林雪, 张涛涛, 等. 几种微生物杀线剂对温室芹菜根结线虫病的防治效果[J]. 黑龙江农业科学, 2019(4): 37-39.
 - [39] 万景旺, 邵颖, 朱华, 等. 生防菌 Jdm2 与生物源农药混用防治黄瓜根结线虫病的效果[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(4): 108-110.