

昆虫病原线虫共生菌对香蕉灰纹菌的影响研究

王 欢¹, 刘 限¹, 董 辉¹, 丛 斌², 孙莉娟¹

(1. 沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110161; 2. 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要: 利用不同品系昆虫病原线虫的共生菌菌株对香蕉灰纹菌进行抑菌活性测定, 得到一株抑菌效果良好的共生菌菌株 0385D, 抑菌圈平均半径为 17.33 mm, 并对高毒力菌株的抗逆性(包括不同温度、紫外照射)进行了初步探索, 结果表明: 共生菌菌株 0385D 在 50℃ 下处理 60 min 和 100℃ 10 min., 其抑菌活性依旧很高; 18W 紫外线照射 120 min 对共生菌 0385D 的抑菌活性的影响不明显。

关键词: 昆虫病原线虫; 共生菌; 抑菌活性

中图分类号: S 436.67 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0194-03

香蕉灰纹病是香蕉的重要病害之一, 在南方蕉区常见且危害严重, 目前主要是以药剂防治为主。随着人们对“无公害水果”需求的日益增加以及化学防治所带来的环境污染日益加重, 发展生物防治、生态防治和其它可替代防治技术迫在眉睫, 它不仅可以满足人民需要, 同时也是实现有害生物可持续控制和大幅度降低化学农药使用的主要途径^[1]。

昆虫病原线虫共生菌是一种新型的生防因子, 它存在于昆虫病原线虫肠道内, 两者互惠共生, 目前已证明昆虫病原线虫共生菌的次生代谢产物具有杀虫、抑菌、抗肿瘤和杀线虫等多种生物活性, 因此, 在农药和医药卫生领域具有较大的应用前景, 特别是一些抗真菌的代谢产物及其衍生物在农业上有较好的商业潜力^[2-5]。研究通过生物测定对不同品系昆虫病原线虫共生菌菌株的抑菌活性进行评价, 并对高毒力菌株的抗逆性进行了研究, 包括不同温度、紫外灯照射对共生菌抑菌活性的影响, 为共生菌的开发利用提供基础数据和试验方法, 为实现其市场化奠定了良好的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株: 41 株共生菌菌株。供试真菌: 香蕉灰纹菌。供试培养基: NA 培养基, NBTA 培养基, 牛肉汤培

养基, PDA 培养基。

1.2 方法

1.2.1 共生菌发酵液的制备 将保存的共生菌划线于 NA 培养基平板上, 27℃ 培养 24~48 h, 挑取单菌落, 再划线于 NBTA 培养基平板上, 27℃ 培养 24~48 h, 挑取单菌落接入牛肉汤培养基中, 于 160 r/min、27℃ 水浴恒温摇床振荡培养 48 h, 4℃ 保存备用。

1.2.2 共生菌对香蕉灰纹菌的抑菌活性 将直径为 6 mm 的无菌滤纸片在共生菌发酵液中浸润 5 min, 放入 PDA 培养基平板中心, 将香蕉灰纹菌分 4 块放在滤纸片的四周, 距培养皿边沿 2 cm 处。每个菌株 3 次重复, 设置无菌发酵液为对照, 放置于 27℃ 恒温培养箱中培养 5 d 后测量抑菌圈大小, 对各数据用 SPSS 11.5 版统计分析软件进行单因素方差分析。

1.2.3 抗逆性的研究 不同温度对共生菌抑菌活性的影响: 将共生菌发酵液分别放 50、100℃ 水浴中作为供试样, 每一温度设一同样处理的无菌发酵液为对照, 未做任何处理的菌株发酵液为阳性对照, 按 1.2.2 方法进行生测。紫外照射对共生菌抑菌活性的影响: 将发酵液暴露于 18W 紫外灯下 60 cm 处照射 10、20、30、60、120 min 后作为供试样, 设无菌发酵液为空白对照, 未做任何处理的菌株发酵液为阳性对照, 按 1.2.2 方法进行生测。

2 结果与分析

2.1 昆虫病原线虫共生菌对香蕉灰纹菌的抑菌活性

由表 1 可见, 多数共生菌菌株对香蕉灰纹菌均有一定的抑菌活性。NC34-2 的抑菌活性在 41 个菌株中最高, 对香蕉灰纹的抑菌圈的平均半径为 18.33 mm, 而抑菌圈的平均半径与 NC34-2 无显著差异的菌株为 A24-1、A24-3、A24-4、Otio-2、NC34-1、NC34-4、15-2、HZ-3、1、03100C-2R、03121H-3R、0312-4、0312-4-2R、0384q、0385D、0386L、0389、0389-1R、0389-2R、0397C2、0397C2-2R、0398

第一作者简介: 王欢(1977-), 女, 讲师, 博士, 现从事昆虫病理学及害虫生物防治的研究。E-mail: zanhuan@163.com.

通讯作者: 丛斌。E-mail: cong_bin@21cn.com.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170625); 国家“十五”攻关课题资助项目(2004BA509B04); 辽宁省自然科学基金资助项目(20022084); 沈阳农业大学青年教师科研基金资助项目(2005002)。

收稿日期: 2008-02-23

B-2R、5-5B、0399H-02R、0399H-1R, 抑菌圈的平均半径分别为 12、10. 33、15、11. 67、10. 67、10. 11.67、16. 67、10、12. 67、11、11. 33、14. 33、16. 33、17. 33、15. 67、14. 33、16. 33、16. 67、12.67、10.67、10、15. 67、8. 67、16. 33 mm, 共生菌菌株 HZ-4、A 24-2 的抑菌活性在 41 个菌株中最低, 抑菌圈的平均半径分别为 3. 33、3. 67 mm。经 SPSS 分析, 发现抑菌圈的平均半径与 HZ-4 和 A 24-2 无显著差异的菌株为 A24-1、A 24-3、Otio、Otio-6、NC34-1、NC34-3、NC34-4、15-2、15-2-5、HZ、HZ-1、HZ-2、HZ-4、1、Ht1、03100C-1、03101Y-3R、03121H-3R、0312-4、0397C2-1R、0397C2-2R、5-5B, 抑菌圈的平均半径分别为 12、10.33、9. 33、7.33、10. 67、8. 33、10、11. 67、8. 67、9、8. 33、4、4. 33、8、10、4.67、8、4. 67、11、11. 33、8. 67、10. 67、10、8.67 mm。

2. 2 不同温度对共生菌高毒力菌株发酵液抑菌活性的影响

表 1 昆虫病原线虫共生菌对香蕉灰纹的抑菌活性

菌株	抑菌圈半径 / mm	菌株	抑菌圈半径 / mm	菌株	抑菌圈半径 / mm
A24-1	12 ^{ABCD} EF	15-2-5	8. 33 ^{ABCD}	0384q	16. 33 ^{DEF}
A24-2	3. 67 ^A	HZ	4 ^{AB}	0385D	17. 33 ^{EF}
A24-3	10. 33 ^{ABCD} EF	HZ-1	4. 33 ^{AB}	0386L	15. 67 ^{CDEF}
A24-4	15 ^{CD} EF	HZ-2	8 ^{ABCD}	0389	14. 33 ^{CDEF}
Otio	9. 33 ^{ABCDE}	HZ-3	16. 67 ^{DEF}	0389-1R	16. 33 ^{CDEF}
Otio-2	11. 67 ^{CDEF}	HZ-4	3. 33 ^A	0389-2R	16. 67 ^{DEF}
Otio-6	7. 33 ^{ABC}	1	10 ^{ABCD} EF	0397C2	12. 67 ^{BCDEF}
NC34-1	10. 67 ^{ABCD} EF	Ht1	4. 67 ^{AB}	0397C2-1R	8. 67 ^{ABCDE}
NC34-2	18. 33 ^F	03100G-1R	8 ^{ABCD}	0397C2-2R	10. 67 ^{ABCD} EF
NC34-3	8. 33 ^{AB} CD	03100G-2R	12. 67 ^{BCDEF}	0398B-2R	10 ^{ABC} DEF
NC34-4	10 ^{ABCD} EF	03101Y-3R	4. 67 ^{AB}	0399H-1R	15. 67 ^{CDEF}
15-2	11. 67 ^{ABCD} EF	03121H-3R	11 ^{ABCD} EF	0399H-02R	16. 33 ^{DEF}
15-2-1	8. 67 ^{ABCDE}	0312-4	11. 33 ^{ABCDEF}	5-5B	8. 67 ^{ABCDEF}
15-2-4	9 ^{ABCDE}	0312-4-2R	14. 33 ^{CDEF}		

注: 不同字母代表差异水平显著 ($P<0.01$)。

表 2 不同温度对共生菌高毒力菌株发酵液抑菌活性的影响

处理	常温	50℃				100℃
		5 min	10 min	30 min	60 min	10 min
抑菌圈/ mm	17. 33 ^{AB}	20. 00 ^B	12. 33 ^A	23. 00 ^B	19. 00 ^B	19. 33 ^B

注: 不同字母代表差异水平显著 ($P<0.01$)。

由表 2 可以看出, 在经过 50℃处理 10 min 后, 抑菌圈大小与常温时相比, 由 17. 33 mm 减小到 12.33 mm, 经 SPSS 分析, 两者无显著差异; 处理 5、30、60 min 后, 抑菌圈大小与常温时相比, 由 17. 33 mm 增大到 20. 00 mm、23. 00 mm 和 19. 00 mm, 经 SPSS 分析, 四者无显著差异。经过 100℃处理 10 min 后, 抑菌圈大小与常温时相比由 18. 33 mm 增大到 19. 33 mm, 经 SPSS 分析, 二者无显著差异。

2. 3 紫外照射对共生菌高毒力菌株发酵液抑菌活性的影响

由表 3 可以看出, 随着紫外照射时间的延长, 共生菌对香蕉灰纹菌的抑菌活性依旧稳定。在紫外照射

10 min 时, 0385D 的抑菌圈大小由未照射时的 17. 33 mm 减小到 14. 33 mm, 在紫外照射 20 min 时, 抑菌圈大小没有变化, 在紫外照射达到 30 min 时, 抑菌圈大小由未照射时的 17. 33 增大为 18. 33 mm, 在紫外照射 60 min 时, 抑菌圈大小由未照射时的 17. 33 mm 减小到 15. 33 mm, 在紫外照射 120 min 时, 共生菌抑菌圈大小由未照射时的 17. 33 mm 减少到 13. 66 mm, 经 SPSS 分析, 都没有显著差异, 说明紫外照射过程中对共生菌抑菌活性的影响不明显。

表 3 紫外灯照射对共生菌高毒力菌株发酵液抑菌活性的影响

处理	未照射	照射/ min				
		10	20	30	60	120
抑菌圈/ mm	17. 33 ^A	14. 33 ^A	17. 33 ^A	18. 33 ^A	15. 33 ^A	13. 66 ^A

注: 不同字母代表差异水平显著 ($P<0.01$)。

3 结论与讨论

利用生物测定对 41 株共生菌菌株的抑菌活性进行了评价, 其中共生菌 0385D 的抑菌效果最好。不同线虫品系共生菌的抑菌活性不尽相同; 即使是同一品系的共生菌菌株, 其抑菌活性也有一定差异。通过对高毒力菌株抗逆性的初步研究, 发现高毒力共生菌菌株在 50℃处理 60 min 后仍具有较高的抑菌活性, 在 18W 紫外灯照射 120 min 后仍具有高毒活性。通过大量的生物测定, 筛选出高毒力共生菌菌株 0385D, 该菌株对香蕉灰纹菌的抑菌圈半径为 17.33 mm, 而菌株 NC34-2 的抑菌圈半径为 18. 33 mm, 但经 SPSS 分析, 两者抑菌活性无显著差异, 由于 NC34-2 是从国外引种的, 很多相关的研究在国外已经进行, 而 0385D 则是由该实验室从辽宁本溪采集的土样中分离得到的, 故立足于本国资源, 将 0385D 作为抗逆性及将来后续研究的供试菌株。

利用昆虫病原线虫共生菌防治香蕉灰纹病, 可以减少化学农药使用量, 保证产品的安全性, 促进无公害和绿色农业发展。通过不同温度和紫外照射对共生菌 0385D 抑菌活性产生的影响, 发现菌株 0385D 对高温和紫外照射具有一定的抗逆性, 该结果为昆虫病原线虫共生菌的利用提供基本的数据和理论依据, 为香蕉灰纹病的生物防治提供新型的生物绿色杀菌资源和技术。

参考文献

[1] 沈寅初, 张一宾. 生物农药 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 11.
[2] Hu K, Li J, Webster J M. Nematicidal metabolites produced by *Photorhabdus luminescens* bacterial symbiont of entomopathogenic nematodes [J]. *Nematology*, 1999(1): 457-469.
[3] Webster J M, Li J, Chen G. A anticancer property of dithiopyrrolones [N]. U S. 6020360, 2000-02-01.
[4] 吕秋军, 简恒, 刘卫京, 等. 从嗜线虫杆菌分离的吡啶衍生物抗肿瘤活性的研究 [J]. *中国新药杂志*, 2002(11): 850-852.
[5] 王立鑫, 杨怀文, 简恒. 昆虫病原线虫共生细菌的代谢产物 [J]. *微生物学报*, 2001, 41(6): 753-756.

两种植物源农药防治山楂叶螨田间药效试验

刘忠智, 韩颖

(辽宁省朝阳农业学校 辽宁 朝阳 122000)

摘要: 苦参碱和印楝素两种植物源农药对山楂叶螨防治效果的试验表明: 0.36%苦参碱水剂 500 倍液和 0.3%印楝素乳油 1 200 倍液防治山楂叶螨效果显著, 药后第 3 天防效近 85%, 药后第 5、7、15 天防效均在 95%以上; 两种农药除了速效性稍差外, 与常规使用的农药 1.8%阿维菌素乳油 4 000 倍液的防治效果无显著差异, 且有持效期长、环保、无公害等优点。

关键词: 0.36%苦参碱水剂; 0.3%印楝素乳油; 防效; 山楂叶螨

中图分类号: S 482.2⁺ 92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0196-02

螨类是梨树的主要害虫, 目前螨类害虫对许多常规杀虫杀螨剂产生了较强的抗性, 导致防治效果很差。苦参碱和印楝素作为植物源杀虫杀螨剂, 以其绿色、环保、对害虫天敌相对安全、在自然界中易降解、无残留等优点, 成为无公害农产品生产的理想植物保护剂。为了明确 0.36%苦参碱水剂和 0.3%印楝素乳油对山楂叶螨的防治效果, 以及探讨与 1.8%阿维菌素乳油常规杀虫杀螨剂在防治效果上的差异, 于 2006 年在梨园进行了药效试验, 取得了较好效果, 现将试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验园基本情况

第一作者简介: 刘忠智(1964), 男, 辽宁朝阳人, 高级讲师, 主要从事园艺植物保护的教学和研究工作。E-mail: liuzhongzhi2004@163.com。

收稿日期: 2008-02-23

试验在辽宁省朝阳农业学校果园进行。试验梨树品种为 15 a 生锦丰, 行株距 5 m×3 m, 试验区果树生长基本一致, 山楂叶螨发生严重。

1.2 试验药剂

0.36%苦参碱水剂(江苏植物调节剂中心农药厂生产), 0.3%印楝素乳油(青岛浩海高新技术有限公司生产), 对照药剂为 1.8%阿维菌素乳油(浙江海正化工股份有限公司生产)。

1.3 试验设计

8 个处理: 0.36%苦参碱水剂 500、1 000、1 500 倍液; 0.3%印楝素乳油 1 000、1 200、1 500 倍液; 对照药剂 1.8%阿维菌素乳油 4 000 倍液; 喷清水作空白对照。每个处理重复 3 次, 每小区 2 株树, 小区间隔株, 随机排列。2006 年 7 月 15 日将药液均匀喷于梨树全株叶片正反面, 喷到叶片刚好滴水为止, 施药时天气晴朗, 试验期间无雨。喷药前各小区按东、西、南、北、中 5 个方位各调查

Antibiotic Activities of Symbiotic Bacteria to *Cordana musae* (zimm.)

Hohn and the Adversity Resistance

WANG Huan¹, LIU Xian¹, DONG Hui¹, CONG Bin², SUN Li-juan¹

(1. College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China; 2. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: In this study, antibiotic activities of 41 strains symbiotic bacteria were examined by bioassays. The highly virulent strain was selected through a large number of bioassays. 0385D had highly antibiotic activity to *Cordana musae* (zimm.) Hohn, the radius of inhibition zone was 17.33 mm. The adversity resistance showed that the highly virulent strain had antibiotic activity to *Cordana musae* (zimm.) Hohn at 50 °C 60 min and 100 °C 10 min. The culture broth waved by ultraviolet rays from 10 min to 120 min, the insecticidal activity was still stable.

Key words: Entomopathogenic nematodes; Symbiotic bacteria; Antibiotic activity