

穿刺芽孢杆菌菌剂研制及其对根结线虫的防治*

潘沧桑 林 竞 王生元**

(厦门大学生物系 厦门 361005)

穿刺芽孢杆菌(*Bacillus penetrans*), 国外又称穿刺巴斯德氏柄菌(*Pasteuria penetrans*), 是根结线虫(*Meloidogyne* spp.) 等多种植物寄生线虫的专性寄生菌。作者在我国发现穿刺芽孢杆菌^[1], 为了开发利用这种细菌, 研制出了每克含 3.1×10^8 个孢子的菌剂, 并就该菌剂对根结线虫的防治效果进行了研究, 现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 穿刺芽孢杆菌菌剂

按文献[1]分离穿刺芽孢杆菌, 5~10℃保存备用。用自制的机械大量分离根结线虫的卵块并孵化出大量幼虫, 浓集后将穿刺芽孢杆菌混入, 25℃下每天振荡、充气3次, 每次30min, 经2~3d后镜检, 若每只幼虫身上都可见5个以上孢子, 则可接种于易感作物根周, 7000只/株, 待孢子成熟后收获根系。若70%以上雌虫体内有孢子, 将阳性根系剪碎匀浆后过20目和60目筛, 流下的液体加10倍清水, 再用致密的确良布过滤, 滤出液在5~10℃下反复沉淀3次, 最后风干研磨。

1.2 菌剂孢子含量的测定

称取穿刺芽孢杆菌菌剂0.1g, 加1000倍水振荡成悬浮液, 然后吸取少量滴在血球计数板上400倍显微镜下计数。

1.3 防效试验

无菌土分别培育番茄(试验一)、辣椒(试验二)以及番茄和鸡冠花(试验三)苗, 苗龄3周时各移入花盆中, 每盆一株, 经5d长定后分为3组(每组3盆): A组接种根结线虫幼虫, B组接种穿刺芽孢杆菌阳性的根结线虫幼虫(每只身上都有5个以上可见孢子), C组对照(不接种)。每盆接种量: 番茄15000只, 辣椒7000只, 番茄和鸡冠花各5000只。定期观察并解剖检查。

2 结果

2.1 穿刺芽孢杆菌菌剂的研制

按上述方法制成的穿刺芽孢杆菌菌剂呈灰色, 粉末状, 含有高密度的内生孢子, 具有较强的抗热、抗干燥能力。室温下以干粉形式贮藏2年以上活性仍然保持, 若用针头挑取少量加在含根结线虫幼虫的水中, 经24h幼虫身上便有孢子附着。

2.2 菌剂孢子的含量

1992年春用温室番茄制取的穿刺芽孢杆菌菌剂经测定每克含 3.1×10^8 个孢子, 以后制取的菌剂孢

* 本项研究获国家自然科学基金、福建省自然科学基金和福建省经济发展总公司的资助。

** 厦门进出口商品检验局。

本文于1995年3月6日收到。

子含量更高。

2.3 防效试验

试验一: 番茄接种后 22d, A₁ 株和 B₁ 株萎蔫死亡。B₁ 株根部虽有一些小虫瘿, 但卵块数量很少, 体积也不大; 而 A₁ 株主根上有许多虫瘿且色泽较暗, 其上生出许多小侧根。27d, A₂ 株和 A₃ 株除茎基部一、二个小枝条外, 株冠均呈严重萎蔫, 其后逐渐死亡; 而 B₂ 株和 B₃ 株无萎蔫状。22d B₁ 株的虫瘿、卵块、雌虫、雄虫和各期幼虫比 A₁ 株分别减少 75.4%、79%、63%、91% 和 43.5%。

试验二: 辣椒接种后 83d, B₁ 株的虫瘿、卵块、雌虫和各期幼虫比 A₁ 株分别减少 97.5%、96.7%、95.4% 和 98.7%。

试验三: 番茄接种后 75d, B₁ 株的冠部重量比 A₁ 株增加 20.8g, 根部重量减少 13.2g, 根冠比增加 52.6%, 花增加 3 朵, 但果实减少 20.3g (B₁ 株尚未结果); B₁ 株的虫瘿、卵块、雌虫、雄虫和各期幼虫比 A₁ 株分别减少 64.2%、67.6%、81%、100% 和 75.3%。鸡冠花接种后 55d, B₁ 株的冠重比 A₁ 株增加 19.2g, 根重减少 9.3g, 根冠比增加 114.6%, 花增加 4 朵; B₁ 株的虫瘿、卵块、雌虫、雄虫和各期幼虫比 A₁ 株分别减少 96%、98.5%、97.7%、100% 和 100%。

3 结论和讨论

美国 Mankau(1975)曾以被穿刺芽孢杆菌感染的土壤作为该菌的来源^[2], 但这种材料不便于运输和保存; 澳大利亚 Stirling 等(1980, 1991)先后用温室盆栽番茄接种和浅盘与马铃薯块茎的方法取根干燥碾粉^[3~4], 虽有所改进, 但效价仍不高。作者制取的菌剂每克含穿刺芽孢杆菌孢子 3.1×10^8 个以上(比国外最高的还高好几倍)。这种制剂不但可供田间施用以防治多种有害的线虫, 而且可作为菌种保存供下一次感染根结线虫(扩大繁殖)时使用, 因为制剂中的孢子是以休眠体的形式存在。

根据上述试验, 穿刺芽孢杆菌对寄生于番茄、辣椒和鸡冠花的根结线虫均有防治效果, 大约可使虫口密度降低 75%~80%。虽然不同的寄主、不同的生长期、不同的接种量, 表现有所不同, 但可以推断, 穿刺芽孢杆菌对一切感染根结线虫的植物都有不同程度的保护效果。根结线虫引起 2000 多种植物产生显著的根部虫瘿, 被感染的植株根部往往比正常的重些, 且冠部生长慢, 从而根冠比倒转。上述各组试验中, 用载菌线虫接种的植株根部重量均有减少, 表明穿刺芽孢杆菌使根结线虫致根变重的情況有所缓和。虽然冠部重量有的增加、有的减少, 但总的说来, 被穿刺芽孢杆菌寄生之后, 根结线虫引起根冠比倒转的情况有很大改善。根系解剖的结果更说明问题: 无论哪一种寄主, 无论接种多少幼虫(在致死的范围内), 无论经过多少天解剖, 穿刺芽孢杆菌的寄生都导致虫瘿、卵块、雌虫、雄虫以及各期幼虫明显减少。鉴于上述优良性能, 穿刺芽孢杆菌菌剂作为一种新型生物杀线虫药, 在不久的将来可大规模用于植物线虫的生物防治。

参 考 文 献

- [1] 潘沧桑. 微生物学报, 1993, 33(4): 313~316.
- [2] Mankau R, Imbriani J L. *Nematologica*, 1975, 21: 89~94.
- [3] Stirling G R, Wachtel M F. *Nematologica*, 1980, 26(3): 308~312.
- [4] Sharma R D, Stirling G R. *Nematologica*, 1991, 37(4): 483~484.

THE PREPARING OF *BACILLUS PENETRANS* PREPARATION AND THEIR CONTROLLING TO ROOT-KNOT NEMATODES

Pan Cangsang Lin Jing Wang Shengyuan

(Biology Department, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract In order to make use of *B. penetrans* the preparation of these bacteria was prepared successfully. Each gram of the specimen contains more than 3.1×10^8 spores according to determination by bloodcount plate. The method of its production are: First, infect the larvae of root-knot nematodes with the spores of *B. penetrans*. Second, inoculate infectable plants with the infected larvae. Third, beat the root-systems of inoculated plants after adding some water. The flowed liquid from a bronze sieve was mixed with the clear water, filtered, precipitated, air-dried under $5 \sim 10^\circ\text{C}$, and grinded into fine powder. When these powder was added into the water which contained the larvae of root-knot nematodes, the spores of *B. penetrans* adhered to the cuticles of these larvae in 24h. The pot experiments of tomato, chilli and cockscomb showed that the galls, egg-sacs, females, males and all-stages of larvae produced by the plant inoculated with the larvae infected with *B. penetrans* are about 75%~80% less than that without these bacteria. Thus it can be seen that the spores of *B. penetrans* can depress the populations of root-knot nematodes obviously. Therefore, it is a promising preparation for biological control.

Key words *Bacillus penetrans*, Root-knot nematode, Biological control