

根结线虫生物防治研究进展^{*}

汪来发¹, 杨宝君¹, 李传道²

(1. 中国林业科学研究院, 北京 100091; 2. 南京林业大学, 江苏 南京 210037)

摘要:介绍了目前根结线虫生物防治的现状,列举了一些真菌和细菌防治根结线虫的实例,指出根结线虫生物防治的途径是通过增强自然发生的拮抗物活性或引入其它的拮抗物来实现的。提出了根结线虫生物防治的一些急需解决的问题,如风险性评价、抑制线虫土壤的特性、天敌的流行学,并对未来发展方向进行了讨论。

关键词:生物防治;根结线虫;研究进展

中图分类号:S763.06

文献标识码:A

文章编号:1000 - 2006(2002)01 - 0064 - 05

A Review of Biological Control of Root-Knot Nematodes

WANG Lai-fa¹, YANG Bao-jun¹, LI Chuan-dao²

(1. Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The widely distributed root-knot nematodes infect various kinds of plants, and are one of important pathogens. Biological control of root-knot nematodes may be one desirable approach to nematode management in practice. The paper reviews the current status and achievements in the studies of biological control of root-knot nematodes. Some examples of fungi and bacteria to control root-knot nematodes are given. Biological control of root-knot nematodes is conducted by enhancing the activity of naturally occurring antagonists or by introducing other antagonists. A lack of urgent information on some aspects such as risk analysis of biological control, nature of suppressive soil, pathogenic diversity and epidemiology is put forward. Possible new approaches and future directions are discussed.

Key words: Biological control; Root-knot nematodes; Review

根结线虫(*Meloidogyne*)在全世界广泛分布,寄主范围广泛,植物受害严重,病害发生后,一般减产 10% 左右,严重的高达 75% 以上。同时它能使真菌和细菌易于侵染植物,是诱发植物病害的重要原因之一^[1]。对于根结线虫的防治,历来以化学药剂为主,化学杀线剂对环境污染严重,使用过程中对人、畜也不安全,许多杀线剂已被禁用;许多发展中国家,尤其是热带或亚热带地区,其气候均适宜线虫活动和繁殖,多年生植物和在同一块地中连年种植的作物,时常受到线虫非常严重的危害,而发展中国家需要的食物量很大,必须依靠多年生作物和作物连作,因此很少应用轮作防治根结线虫;抗性品种的应用目前还不广泛,一是由于受农艺性状限制,二是由于在一个地区连续种植一个抗病品种之后,抗病品种的选择作用使线虫的群体发生变化,使该品种不抗的少数线虫类型的数量增加,从而逐渐丧失抗性^[2]。由于以上原因,人们除继续探索一些高效、低毒、低残留、高选择性的杀线剂外,还应从生态角度寻求新的方法,而生物防治是其中之一。

根结线虫的天敌,主要有真菌、细菌、病毒、立克氏体、放线菌、捕食性线虫、涡虫和原生动物等,其中对真菌和细菌的生物防治作用研究甚多,而对其他天敌的研究相对较少,目前还不具备应用的条件^[3,4]。

* 收稿日期:2001 - 01 - 09

修回日期:2001 - 12 - 23

基金项目:原林业部“根结线虫寄生真菌开发研究”(1995~1999)课题资助项目

作者简介:汪来发(1964 -),男,安徽望江人,中国林业科学研究院森保所副研究员,博士。

1 天敌真菌及细菌

1.1 捕食真菌

捕食真菌通过捕食器官来捕食线虫。其中应用于根结线虫生防的属有 3 个:

(1) 节丛孢属 (*Arthrobotrys*), 主要种 *A. robusta*, *A. irregularis*, *A. conoides*, *A. oligospora*, *A. dactyloides*, 其中不规则节丛孢 (*A. irregularis*) 已制成商品制剂 R350, 在大田防治根结线虫时, 如果线虫密度较低时有一定效果^[5];

(2) 单顶孢霉属 (*Monacrosporium*), *M. ellipsosporium* 已用于南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 生物防治^[6];

(3) 小指孢霉属 (*Dactylella*), *D. oviparasitica* 对桃园里的根结线虫具有控制作用^[7]。

1.2 内寄生真菌

内寄生真菌能以粘性或非粘性孢子附着于线虫体表, 或通过线虫的口腔、肛门或阴门侵入线虫体, 引起线虫致病或杀死线虫, 目前已应用的有两属。

(1) 轮枝霉属 (*Verticillium*), 能寄生根结线虫的目前已发现 8 种, 即 *V. catenulatum*, *V. chlamydosporium*, *V. sinense*, *V. lamellicola*, *V. lecanii*, *V. leptobactrum*, *V. psalliotae*, *V. insectorum*。其中 *V. insectorum* 对南方根结线虫有较好的控制作用, 用每克土 10^6 个孢子接种于南方根结线虫卵, 有 71%~89.1% 的雌虫被寄生^[6]。*V. chlamydosporium* 是北方根结线虫的卵及成熟雌虫的有效寄生菌, 同时又能侵染南方根结线虫的雌虫^[8]。

(2) *Meria coniospora*, 专性寄生于根结线虫的二龄幼虫, 温室防治试验表明, 该菌能使根结线虫数量减少。该菌与根结线虫的“识别”机制已有较深入的研究^[9]。

1.3 卵寄生真菌

尽管对捕食性真菌和内寄生真菌防治根结线虫进行了大量研究, 但由于根结线虫幼虫在土壤中活动时间极短, 使捕食性真菌及内寄生真菌与根结线虫幼虫相遇机会不多, 并且这些真菌专化性不强, 因此其重要性被根结线虫卵寄生真菌所代替。

根结线虫寄生真菌的研究历史不长, 目前已报道的种类有: *Acremonium strictum*, *A. spp.*, *Alternaria alternata*, *Arthrobotrys oligospora*, *Aspergillus spp.*, *Aureobasidium pullulans*, *A. sp.*, *Catenaria anguillulae*, *Cylindrocarpon destructans*, *C. didymum*, *C. gracile*, *C. heteronema*, *C. olidium*, *Dactylella oviparasitica*, *Fusarium equiseti*, *F. lateritium*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sp.*, *Gliocladium catenulatum*, *G. roseum*, *G. virens*, *Humicola fuscoatra*, *Idriella lunata*, *Nectria radicola*, *Paecilomyces lilacinus*, *P. sp.*, *Penicillium spp.*, *Pseudopulospora kendrickii*, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma hamatum*, *T. harzianum*, *Trichosporium populaeum*, *Verticillium catenulatum*, *V. chlamydosporium*, *V. lamellicola*, *V. leptobactrum*, *V. insectorum*, *V. cephalosporium*, *V. fungicola*, *V. sinense*, *V. sp.*, *Volutella ciliata*, *Xenokylindria obovata*^[10~13]。目前研究最多的是 *Paecilomyces lilacinus*, 这是一种重要的卵寄生菌, 同时也可侵染幼虫及成虫, 广泛分布于土壤中, 尤其是在植物根际及根内。最近的研究表明, *P. lilacinus* 可以产生促进生产的物质^[14,15]。Cayrol 等 (1989) 报道了 *P. lilacinus* 的培养滤液中有杀线虫的物质, 已被各国学者广泛用于根结线虫的生防并成为商用制品^[16]。*Verticillium spp.* 也能有效地寄生根结线虫卵, 被认为是最有希望用于根结线虫生物防治的真菌^[8]。

1.4 细菌

对寄生根结线虫的细菌研究不多, 但巴氏杆菌 *Pasteuria penetrans* 能够侵染根结线虫已有广泛研究^[17]。*P. penetrans* 由于其具有内生孢子, 易于附着线虫体壁和侵染线虫, 寄生后又可产生大量孢子, 再次侵染, 且性能稳定, 对许多寄生线虫防效显著, 但存在致病力和形态上的分化, 从根结线虫上分离的只能侵染根结线虫, 防治根结线虫效果好, 如每千克土壤用 600 g 孢子粉处理可以降低 *Meloidogyne javanica* 线虫 28.1%。由于 *P. penetrans* 为专性寄生菌, 必须依靠线虫才能大量繁殖, 而线虫的生长又必须通过寄主植物来实现, 因此大量生产 *P. penetrans* 制剂存在很大困难^[18]。用根际细菌如 *Pseudomonas spp.* 和 *Bacillus spp.* 防治根结线虫近些年已开始研究, Becker 等 (1987, 1988) 报道根际细菌对

南方根结线虫(*M. incognita*)有防效,减少了根结数,根系增大,根重增加^[19,20]。

2 生物防治的实施

Kerry(1988)将线虫的生物防治概括为两大类型,一是自然控制(natural control),即通过土壤本身存在的生物调控来抑制有害线虫的群体数量。二是引入控制(induced control),即将天敌生物制成生防剂施入土壤中,直接防治线虫。

2.1 自然控制

自然控制是指通过土壤中本身存在的拮抗生物来控制线虫数量。根结线虫的自然控制在一些地区已经发现。Ferris等(1976)在加尼福尼亚发现一个受根结线虫严重侵染的桃园中,一些年后根结线虫种群密度自然降低了^[21]。随后对这一现象进行研究,发现了侵染根结线虫卵的寄生真菌 *Dactylella oviparasitica*(Stirling 和 Mankau,1978)。Stirling(1979)全年取样发现 *D. oviparasitica* 侵染卵百分率为20%~60%,Stirling(1979)认为实际寄生率远高于此,原因是许多寄生卵在计算前已经消失;把 *D. oviparasitica* 加入灭菌土能减少桃树根结和降低土壤中线虫数量^[22,23]。Mckenry 和 Kretsch(1987)提出设想:桃园根结线虫种群数量降低是由于树龄增大,导致抗性增加^[24]。在非洲毛里求斯、南非和澳大利亚发现专性寄生菌 *Pasteuria penetrans* 能够抑制根结线虫的繁殖力(Williams,1960;Spaull,1984)^[25,26],在温室里经过长期培养根结线虫,由于 *P. penetrans* 寄生而使根结线虫降到低水平。Minton 和 Sayre(1989)在连续20多年栽植根结线虫寄主的小块土地上,发现花生根结线虫(*Meloidogyne arenaria*)种群降到只轻微影响植物产量水平,同时在抑制性土壤中 *M. arenaria* 大多数线虫都被 *P. penetrans*(条线虫多于25个孢子)寄生^[27]。对于非专业化自然控制现象的估计是相当困难的。

2.2 引入控制

人为用线虫的天敌防治线虫的方法不是现在提出的。Cobb(1917,1920)、Thorne(1924)试图用捕食性线虫 *Mononchus aquaticus* 和 *Iotonchus amphigonicus* 来防治 *Heterodera schachtii*^[28,29]。用天敌真菌防治线虫的历史始于1937年(Linford,1937;linford,1938),用捕食线虫真菌 *Monacrosporium ellipsosporium* 来防治根结线虫,但未获得成功^[30,31]。以后的 Mankau & Wu(1985)、Cayrol(1983)等用捕食线虫真菌进行了大量的防治试验,用天敌真菌 *Arthrobotrys irregularis* 制成的制剂 R350,以麦粒作基物,大田防治每公顷施1.4 t 菌剂对番茄根结线虫有一定防效。在根结线虫危害很轻时,温室防治试验比单独使用化学剂和其它方法均好^[4,32]。用 *Paecilomyces lilacinus* 制成的防治根结线虫制剂在菲律宾已大量生产,商品名为 Bioact,以麦粒、稻谷等有机物作基物生产,大田每公顷施用0.4 t,对根结线虫有显著防治效果,极大地降低线虫在大田的群体密度^[33]。用13个 *P. lilacinus* 分离物防治南方根结线虫,来自秘鲁的分离物防效最好,线虫根结、根部坏死和线虫繁殖力分别被抑制了76%、90%和84%,番茄生长茂盛^[34]。*Verticillium* spp. 有8个种可以寄生在异皮科线虫上,能有效地侵染根结线虫卵,*V. chlamydosporium* 是有效用于作物根结线虫生物防治的真菌。由于土壤抑制作用等因素,使引入生防制剂的防效极不稳定。Kerry(1989)详细地讨论了生防制剂的特性及类型,提出了生防制剂应具备下列特性:①迅速在土壤中定殖;②有持久性;③强致病性;④防效显著;⑤容易生产和应用;⑥易贮存;⑦成本低;⑧与农业和农业措施相适应;⑨无公害^[35]。Jatala(1985)发现 *P. lilacinus* 寄生南方根结线虫卵的效果好即是一例。

3 问题与展望

随着科学技术的迅速发展,人类对生存环境的刻意追求,农业资源的持续利用、保护与再生、野生生物的物种多样性以及环境保护等方面的研究形成现代生物科学发展的新趋势,现代生物防治的理论、方法和技术也不可避免地面临新的问题。

3.1 风险性评价

传统生物防治的“无生态破坏、无副作用、无环境污染”的涵义随着现代生物防治的深入研究和领域的扩展已受到新的冲击,活体微生物的应用可能对其它自然界微生物群、人、畜体内的微生物群产生生态干扰^[36]。线虫的天敌真菌对哺乳动物的毒性惟一有关的是 *Paecilomyces lilacinus*,该菌可以侵染眼

睛,引起人的面部损伤并也可侵染家畜(Chandler 等,1980),但在许多实验室里将 *P. lilacinus* 制成菌剂已有 10 多年历史,并没有引起明显的伤害,这个危险是很小的。因此在生物制剂释放前要进行毒性测定,以确保人的安全和对环境最小的影响(Sayre,1986)^[37]。某些生防作用物存在一定风险,但如果应用这种作用物所获得的收益远远大于其有限的可忽略的风险,则这种生物作用物可有条件地加以应用,因此在公正评价生防作用物的利弊、防止可能出现的各种研究失误、健全生物防治研究工作的规范化程序等方面,应加强对生防作用物风险评价。

3.2 影响根结线虫生物防治的一些重要因素

3.2.1 抑制线虫土壤(nematode-suppressive soil)的特性

抑制线虫土壤是指由于土壤中各因子抑制线虫增长,使线虫种群处在低密度。线虫分布的变化以往往往归结于物理因子或栽培历史的影响,但不可否认有些地方线虫的抑制是由于生物因子而造成的,如果对生物的自然发生系统进一步很好地了解,才能使这个系统发展更快。研究应集中在对线虫拮抗的微生物或增强自然控制的效力,使其扩展到其它地区。

3.2.2 致病多样性

一些线虫的拮抗物存在着多样性问题,这个问题应当值得注意。选择有毒力的线虫天敌是生物防治的第一步,还应加强对生物化学或基因性质等因子与毒力关系的研究,以便进一步了解天敌生物毒力分化的机制^[38]。同时,应加强其它特性的研究,如寄主专化性、根际定殖能力、腐生竞争能力以及在无寄主和极限环境下生存能力的研究,这样才能对筛选出来的拮抗物是否能用于生物防治有全面的了解。

3.2.3 流行学的研究

当评价寄生物的生物防治效果以及增强对线虫种群致病力时必须要考虑天敌的流行学。目前对这些方面缺少资料。加强对线虫种群动态及天敌动态模型的研究是生物防治研究必须加强的领域。

3.3 展望

线虫的生物防治在线虫的综合治理中起着极为重要的作用,目前的研究展现出可喜的应用前景,但离大规模应用还有距离,还有许多基础研究工作急需加强,应开展对一些新的领域的研究,如遗传工程及生物技术应用在线虫的生防方面。现在已有将 *Bacillus thuringiensis* 的一个毒素基因转到根际细菌 *Pseudomonas fluorescens* 产生毒素蛋白的报道^[39]。尽管还没有将线虫天敌微生物的基因应用到线虫生防上,但这种可能性是存在的,如将几丁质酶基因转移到天敌微生物上,将有助于增强分解卵壳的能力。分子生物学和生物技术将对生物防治有很大的影响,可以对天敌微生物进行检测、鉴定和计数。许多线虫天敌微生物在形态学、培养特性及致病力方面存在着很大变化,以及很难区别有无毒力菌株。用免疫技术如单克隆抗体和酶联免疫技术可以用来区别专化性微生物的血清类型。限制性片断长度多态性可以用来研究微生物的基因变化,以此来进行分类。用 DNA 探针可以检测和计数土壤中稳定的微生物(Trevors 和 van Elsas,1989)^[40];用分子生物学技术可解决一些目前面临的问题。无疑,根结线虫的生物防治仍需要广泛深入研究,随着研究的不断深入,线虫的生防必将取得长足的发展和辉煌的成就。

[参 考 文 献]

- [1] 杨宝君,曾大鹏. 植物根结线虫(生物学、分类鉴定和防治)[M]. 北京:科学出版社,1983.
- [2] 刘维志. 抗病基因对大豆胞囊线虫 1 号生理小种的选择作用[A]//刘 仪. 植物病害研究与防治[C]. 北京:中国农业科学出版社,1998.
- [3] Webster J M. Nematodes and biological control[A]//Webster J M. Economic Nematology[C]. London and New York:Academic Press Inc,1972. 469 - 496.
- [4] Sayre R M. Biotic influences in soil environment Vol. I[A]//Zuckerman B M,Mai W F,Rohde R A. Plant Parasitic Nematodes[C]. New York and London:Academic Press. 1971. 235 - 256.
- [5] Cayrol J C. Lutte biologique contre les Meloidogyne au moyend d' Arthrobotry irregularis[J]. Revue de Nematologie,1983,(6):265 - 273.
- [6] 何胜洋,葛起新. 植物线虫的寄生真菌简介[J]. 植物保护学报,1987,14(1):29 - 32.
- [7] Stirling G R,Mankau R. Parasitism of Meloidogyne eggs by a new fungal parasite[J]. Journal of Nematology,1978,(10):236 - 240.
- [8] De Lij F A, Kerry B R. The potential of Verticillium chlamydosporium as a biological control agent against root knot nematodes (Meloidogyne spp.) [J]. Journal of Nematology,1989,(10):571.
- [9] Jansson H B,Dackman C,Zuckman B M. Adhesion and infection of plant parasitic nematodes by the fungus Drechmeria coniospora[J]. Nematologica,1987,(33):480 - 487.

- [10] 马承铸,张大业,钱振官,等. 北方根结线虫寄生真菌调查[J]. 杀虫微生物,1991,(3):202-207.
- [11] Townshend J L, Meskine M, Barron G L. Biological control of *Meloidogyne hapla* on tomato with the fungus *Meria coniospora*[J]. Journal of Nematology, 1989, (21):179-183.
- [12] Stirling G R, Mankau R. *Dactylella oviparasitica*, a new fungal parasite of *Meloidogyne* eggs[J]. Mycologia, 1978, 70:774-783.
- [13] 汪来发,杨宝君,李传道. 根结线虫寄生真菌调查[J]. 菌物系统, 2001, 20(2):264-267.
- [14] Jatala P, Kaltenbach R, Bocange M. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on potatoes[J]. Journal of Nematology, 1979, (11):303.
- [15] 刘杏忠,罗科,张青文. 淡紫拟青霉发酵液生理活性的初步研究[J]. 北京农业大学学报, 1991, 17(3):87-91.
- [16] Cayrol J C, Dijan C, Pijarowski L. Study of the nematocidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*[J]. Revue de Nematologie, 1989, (12):331-336.
- [17] 孙漫红,刘杏忠. 巴氏杆菌——一类新的有潜力的植物寄生线虫生防菌[J]. 生物防治通报, 1994, 10(4):178-182.
- [18] Davies K G, Kerry B R, Flynn C A. Observation on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes[J]. Annual of Applied Biology, 1988, (112):491-451.
- [19] Becker J O, Schroth M N, Hancock J G, et al. New methods of screening microorganisms deleterious to nematodes[J]. Phytophthology, 1987, (77):1764.
- [20] Becker J O, Zavaleta-Mejia E, Colbert S F, et al. Effect of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation[J]. Phytopathology, 1988, (78):1466-1469.
- [21] Ferris H, McKenney H M. Spatial distribution of nematodes in peach orchards[J]. Plant Disease Reporter, 1976, (60):18-22.
- [22] Stirling G R. Techniques for detecting *Dactylella oviparasitica* and evaluating its significance in field soils[J]. Journal of Nematology, 1979a, (11):99-100.
- [23] Stirling G R. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne incognita* eggs by *Dactylella oviparasitica*[J]. Nematologica, 1979b, (25):104-110.
- [24] Mckenry M V, Kretsch J. Peach tree and nematode responses to various soil treatments under two irrigation regimes[J]. Nematologica, 1987, (33):343-354.
- [25] Spaul V W. Observations on *Bacillus penetrans* infecting *Meloidogyne* in sugar cane fields in south Africa[J]. Revue de Nematologie, 1984, (7):277-282.
- [26] Williams J R. Studies on the nematode soil fauna of sugarcane fields in Mauritius. 5. Notes upon a parasite of root-knot nematodes[J]. Nematologica, 1960, (5):37-42.
- [27] Minton N A, Sayre R M. Suppressive influence of *Pasteuria penetrans* in Georgia soils on reproduction of *Meloidogyne arenaria*[J]. Journal of Nematology, 1989, (21):574-575.
- [28] Cobb N A. The mononchs *Mononchus* Bastian, 1866, a genus of free living predatory nematodes[J]. Soil Science, 1917, (3):431-486.
- [29] Thorne G. The life history, habits and economic importance of some mononchs[J]. Journal of Agricultural Research, 1927, (34):265-286.
- [30] Linford M B. Stimulated activity of natural enemies of nematodes[J]. Science, 1937, (85):123-124.
- [31] Linford M B. Reduction of soil populations of the root-knot nematode during decomposition of organic matter[J]. Soil Science, 1938, (45):127-141.
- [32] Mankau R, Wu X. Effects of the nematode trapping fungus, *Monacrosporium ellipsosporium* on *Meloidogyne incognita* populations in field soil[J]. Revue de Nematologie, 1985, (8):147-153.
- [33] Davide R G, Zorilla R A. Evaluation of a fungus, *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Sanson, for the biological control of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis* Woll. as compared with some nematodes[J]. Philoppine Agriculturist, 1983, (66):397-404.
- [34] Cabanillas E, Barker K R. Impact of *Paecilomyces lilacinus* inoculum levels and application time on control of *Meloidogyne incognita* on tomato[J]. Journal of Nematology, 1989, (21):115-120.
- [35] Kerry B R. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes[A]// Whipps J M, Lumsden R D C(eds). Biotechnology of fungi for improving plant growth. Combridge:Cambridge university Press. 1989. 153-170.
- [36] Guillebeau L P. Risk-benefit analysis of Pesticides:the U. S. environmental protection agency perspective[J]. American Entomologist, 1994, 173-179.
- [37] Sayre R M. Pathogens for biological control of nematodes[J]. Crop Protection, 1986, (5):268-276.
- [38] 汪来发,杨宝君,李传道. 寄生真菌对根结线虫的致病力评价[J]. 林业科学, 1999, 35(3):41-47.
- [39] Perlak F J, Obukowicz M G, Watrud L S, et al. Development of genetically engineered microbial biocontrol agents[A]// Hedlin P A, Menn J J, Hollingworth R M. Biotechnology for crop protection[C]. Washington:American Chemical Society, 1988.
- [40] Trevors J T, Elsas J D. A review of selected methods in environmental microbial genetics[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1989, (35):895-902.

(责任编辑 朱 凯)