

DOI: 10.11689/sc.2023100603

吴黎黎, 谢倚帆, 常豆豆, 等. 昆虫病原线虫共生菌及代谢产物对根结线虫的防治作用[J]. 土壤与作物, 2024, 13(3): 381–389.
WU L L, XIE Y F, CHANG D D, et al. Control effect of symbiotic bacteria and their metabolites from entomopathogenic nematode on *Meloidogyne* spp. [J]. Soils and Crops, 2024, 13(3): 381–389.

昆虫病原线虫共生菌及代谢产物对 根结线虫的防治作用

吴黎黎^{1,2}, 谢倚帆^{1,2}, 常豆豆^{1,2}, 黄铭慧¹, 姜野^{1,2}, 秦瑞峰^{1,2}, 蒋丹^{1,2}, 韦柳利¹, 王旋^{1,3},
赵亚男^{1,4}, 窦悦文^{1,2}, 王从丽¹, 李春杰¹

(1. 中国科学院东北地理与农业生态研究所大豆分子设计育种院重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150081;
2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 铁力市农业农村局, 黑龙江铁力 152500;
4. 齐齐哈尔市农业技术推广中心, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要: 为探讨不同种昆虫病原线虫 (EPN) 共生菌对根结线虫病的防治效果, 开展了温室盆栽定量接种试验; 为明确 EPN 共生菌的代谢产物对根结线虫卵孵化和二龄幼虫活性的影响, 进行了室内生测试验。结果表明, *Meloidogyne incognita* (*M. incognita*) 在中蔬 4 号番茄上接种剂量为 1 000、2 000 和 5 000 个卵·株⁻¹ 时, 昆虫病原线虫共生菌 Xb-IGA 和 PI-IGA 对 *M. incognita* 卵的繁殖均有较好的抑制效果, 抑制效果为 59.4%~73.9%。*Meloidogyne hapla* (*M. hapla*) 在 VFNT 番茄上接种剂量为 2 000 个卵·株⁻¹ 时, 昆虫病原线虫共生菌 PI-IGA 对 *M. hapla* 卵的繁殖抑制效果最好, 可达 74.5%, 与常规药剂阿维菌素 (82.2%) 差异不显著。4 种 EPN 共生菌均能有效降低 *M. incognita* 和 *M. hapla* 侵染后的发病程度, 对番茄根部生长有不同程度的促进作用。在生测试验 7 d 时, 4 种昆虫病原线虫共生菌代谢产物的 2 倍稀释液和 5 倍稀释液对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵孵化抑制率为 55.1%~94.8%, 对 *M. incognita* 二龄幼虫校正死亡率为 34.2%~47.8%, 对 *M. hapla* 二龄幼虫校正死亡率为 59.6%~79.9%。因此, 昆虫病原线虫共生菌及其代谢产物对根结线虫是非常有潜力的生物杀线虫资源。
关键词: 根结线虫; 昆虫病原线虫; 共生菌; 代谢产物; 防效

中图分类号: S154.38+6 文献标识码: A

Control effect of symbiotic bacteria and their metabolites from entomopathogenic nematode on *Meloidogyne* spp.

WU Lili^{1,2}, XIE Yifan^{1,2}, CHANG Doudou^{1,2}, HUANG Minghui¹, JIANG Ye^{1,2}, QIN Ruifeng^{1,2}, JIANG Dan^{1,2}, WEI Liuli¹,
WANG Xuan^{1,3}, ZHAO Yanan^{1,4}, DOU Yuewen^{1,2}, WANG Congli¹, LI Chunjie¹

(1. Key Laboratory of Soybean Molecular Design Breeding, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Tieli City Agriculture and Rural Bureau, Tieli 152500, China; 4. Qiqihar Agricultural Technology Extension Center, Qiqihar 161006, China)

Abstract: In order to assess the control effects of symbiotic bacteria of different species entomopathogenic nematode (EPN) on *Meloidogyne* spp. as well as the metabolites of those symbiotic bacteria on egg hatching and larval activity of root-knot nematodes, we conducted a pot experiment with quantitative inoculation in greenhouse and a bioassay test in laboratory. The results showed that symbiotic bacteria of entomopathogenic nematode Xb-IGA and PI-IGA exhibited good suppressive effect on the reproduction of *M. incognita* eggs, and the inhibition rate ranged 59.4%~73.9% when *M. incognita* was inoculated with 1 000, 2 000 and 5 000 eggs·plant⁻¹ on Zhongshu 4 tomato. When *M. hapla* was inoculated with 2 000 eggs·plant⁻¹ on VFNT tomato, the inhibition

收稿日期: 2023-10-06; 修回日期: 2024-03-22.

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项 (A 类) (XDA28070305); 长春市科技创新合作专项 (23SH17); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系 (CAR-04)。

第一作者简介: 吴黎黎 (1999-), 女, 硕士研究生, 主要从事农业生态学研究. E-mail: wull@iga.ac.cn.

通信作者: 李春杰 (1976-), 女, 研究员, 主要从事农作物根部病虫害生物生态防控机理与应用研究. E-mail: lichunjie@iga.ac.cn.

rate of EPN symbiotic bacteria PI-IGA reached the maximum value of 74.5%, which was not significantly different from the conventional control, i.e. avermectin (82.2%). Symbiotic bacteria of four species EPN effectively reduced the incidence of *M. hapla* and *M. incognita* infection, also promoted the root growth of tomato. After 7 days of bioassay, the 2× and 5× dilutions of metabolites by four species of symbiotic bacteria exhibited significant inhibition on the egg hatching of *M. incognita* and *M. hapla*. The corrected mortality of *M. incognita* larvae was 34.2% ~ 47.8%, and that of *M. hapla* was 59.6% ~ 79.9%. Therefore, symbiotic bacteria of entomopathogenic nematode and their metabolites showed great potential as biological nematicide resources for controlling root-knot nematode.

Keywords: root-knot nematode; entomopathogenic nematode; symbiotic bacteria; metabolite; control effect

0 引言

植物寄生线虫 (Plant parasitic nematode, PPN) 是危害作物的重要病原微生物之一, 寄主广泛, 可以侵染 114 科 3 000 多种植物^[1], 严重影响作物的产量和品质。农业生产过程中主要采用化学防治该类病害, 但大多数化学杀线虫剂毒性较高, 易造成农产品中农药残留超标和环境污染。因此, 急需筛选高效的生物杀线虫剂, 其中利用真菌、细菌、植物等提取物或次生代谢物防治植物寄生线虫病对于农业可持续发展具有重要意义。

昆虫病原线虫 (Entomopathogenic nematodes, EPN) 在害虫生物防治中发挥着重要作用。自由生活在土壤环境中的昆虫病原线虫, 能主动寻找并侵入合适的寄主昆虫, 随后释放体内共生细菌到寄主血腔内, 细菌迅速繁殖并产生毒素, 使寄主于 48 h 内患败血症而死亡^[2]。这类共生细菌在昆虫病原线虫的整个生命周期中起着尤为重要的作用, 昆虫病原线虫依赖于共生细菌协助杀死其寄主昆虫, 并且在生态位竞争中会产生一些抗生素控制害虫和病原菌的危害^[3]。

利用拮抗微生物防治植物寄生线虫病是可替代化学防治方法的有效途径之一^[4], 很多年前就有学者研究发现昆虫病原线虫与植物寄生线虫之间存在拮抗作用^[5-6]。EPN 在田间和温室盆栽试验中对多种植物寄生线虫, 如对 *Criconeoides* spp.、*Belonolaimus longicaudatus*^[7]、*Rotylenchulus reniformis*^[8]、*Globodera rostochiensis*^[9] 和 *Meloidogyne* spp.^[10-13] 等均有不同程度的防控作用。应用不同种 EPN 侵染期线虫对 *Meloidogyne* spp. 的卵量^[14] 和卵块数^[13] 以及根部二龄幼虫的侵染及卵的孵化^[15] 都有抑制作用。关于昆虫病原线虫对植物寄生线虫的防控机制主要分为空间竞争和化感作用两部分。Li 等^[16] 从线虫行为学方面发现了 EPN 及共生细菌对番茄根结线虫向根系迁移过程具有抑制作用。EPN 共生细菌 (*Photorhabdus luminescens* 和 *Xenorhabdus szentirmaii*) 及其代谢产物 (菌液上清) 对 *Meloidogyne* spp. 二龄幼虫具有毒杀作用, 在温室试验中发现可抑制植物寄生线虫的侵染^[17]。因此, EPN 体内的共生细菌是对 PPN 非常具有开发潜力的生防资源。

然而, 不同种 EPN 体内共生细菌对不同种 PPN 的控制效果缺乏系统研究, 而且不同种 EPN 共生细菌代谢产物对不同种 PPN 卵孵化和幼虫活性的影响尚不明确。因此, 本研究针对这些未知开展不同接种剂量的 *M. incognita* 和 *M. hapla* 盆栽防治试验, 通过对根部虫瘿指数、根鲜重和每克鲜根内卵量影响等指标进行综合评价, 探讨 EPN 共生细菌对植物寄生线虫 *M. hapla* 和 *M. incognita* 的防效和植物根鲜重的影响, 挖掘有潜力的生防菌株, 以为根结线虫的生物防治提供新材料, 为更充分利于昆虫病原线虫这一生防资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

根结线虫: 南方根结线虫 (*M. incognita*) 和北方根结线虫 (*M. hapla*) 在智能温室中感病番茄品种上繁殖^[18]。

番茄品种为中蔬 4 号, 对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 均表现为感病; 另一番茄品种为 VFNT, 由实验室保存和繁殖, 对 *M. hapla* 表现感病, 而对 *M. incognita* 表现免疫^[19]。

昆虫病原线虫共生细菌: 嗜菌异小杆线虫 *Heterorhadtis bacteriphora*-NJ 和 *H. bacteriophora*-IGA 的共生细菌均为 *Photorhabdus luminescens*, 分别标注为 PI-NJ 和 PI-IGA; 小卷蛾斯氏线虫 *Steinernema carpocapsea*-All 的共生细菌为 *Xenorhabdus nematophila*, 标注为 Xn-All; 芜菁夜蛾斯氏线虫 *S. feltiae*-IGA 的共生细菌为 *X. bovienii*, 标注为 Xb-IGA。其中, 线虫 *H. bacteriophora*-IGA 和 *S. feltiae*-IGA 是从黑龙江省哈尔滨市分离获得, 线虫 *H. bacteriophora*-NJ 和 *S. carpocapsea*-All 是从美国引进。从 4 种昆虫病原线虫分离和纯化的细菌分别标注为 PI-NJ、PI-IGA、Xn-All 和 Xb-IGA, 于 -80 °C 甘油中保存。

1.2 试验方法

共生细菌发酵液制备。分别接种到 TSY 培养液 (TSY 液体培养基: 胰大豆肉汤 60 g, 酵母提取物 7.5 g, 蒸馏水 1 500 mL) 中^[20-21], 置于 25 °C、200 rpm·min⁻¹ 恒温摇床上培养 48 h, 共生菌浓度约为 3×10^5 cfu·mL⁻¹, 用无菌水稀释至 2 倍、5 倍和 10 倍, 4 h 内备用。

根结线虫卵悬液的制备。参照 Hussey 等^[22] 线虫接种方法, 略有改进。取被根结线虫侵染 40~42 d 的番茄根系, 洗净后放入 1% 的次氯酸钠 (NaClO) 溶液中, 用力震荡 3~4 min。然后将根及溶液一起倒入从上到下依次为 200 目和 500 目的筛子上, 用高压水枪冲洗。收集 500 目筛子上的卵至烧杯中, 制成卵悬液, 用磁力搅拌器将卵悬液混合均匀, 在显微镜下调查卵的数量, 重复 3 次取平均值, 计算线虫卵悬液的浓度^[23], 使线虫卵悬液浓度控制在 2 000~3 000 个·mL⁻¹, 备用。

移栽培养番茄幼苗。试验在智能温室中进行, 温度为 22 °C~28 °C, 光照时间为 16 h·d⁻¹。将供试番茄中蔬 4 号和 VFNT 两个品种在蛭石营养钵 (5 cm×5 cm) 中培养至 6 cm 左右移栽到装有灭菌沙土 ($V_{\text{沙}}:V_{\text{土}}=2:1$) 的塑料钵 (12 cm×10 cm) 中, 每钵 1 株苗, 根据番茄长势的需要每天浇水 1~2 次。

接种根结线虫卵悬液。温室中培养至株高 10 cm 左右。因番茄中蔬 4 号为 *M. incognita* 的感病品种, 故将 *M. incognita* 卵悬液接种到中蔬 4 号根部; 因番茄 VFNT 为 *M. hapla* 的感病品种, 故将 *M. hapla* 卵悬液接种到 VFNT 根部。设置 3 个接种剂量, 分别为 1 000 个卵·株⁻¹、2 000 个卵·株⁻¹、5 000 个卵·株⁻¹; 用 1 mL 移液器在距番茄根周围 1 cm 处均匀打 5 cm 深的 3 个孔, 然后吸取卵悬液, 将卵悬液均匀接入每个孔中, 然后覆盖灭菌的沙土。

浇灌 EPN 共生细菌悬液。接种根结线虫卵悬液后浇灌 EPN 共生细菌悬液。将 4 株昆虫病原线虫共生菌 10 倍悬液 50 mL 浇灌到接种线虫的番茄根部, 以同体积的阿维菌素 (1.8% 微乳剂, 750 倍液) 为药剂对照, 清水为空白对照, 每个处理 10 盆, 整个试验重复 2 次。

调查根结线虫的防治效果。*M. incognita* 和 *M. hapla* 接种后 42 d 调查番茄根部虫瘿级别、根鲜重和根内卵量 3 个指标, 虫瘿级别参照虫瘿指标进行评估^[24-25]。取样时从第一子叶剪掉植物茎部, 留 3.0 cm 主茎, 将植株根部的泥沙用自来水洗净, 调查虫瘿级别后, 吸干表面明水, 称根鲜重, 然后提取根内卵^[23], 于显微镜下计数卵量, 计算每株番茄根内平均卵量。

EPN 共生菌代谢产物对根结线虫卵孵化的影响。将 EPN 共生菌悬液经微孔滤膜 (0.22 μm) 过滤除菌, 得到无菌悬液, 即为 EPN 共生菌代谢产物^[26]。将 EPN 共生菌代谢产物用无菌水稀释成 3 个浓度 (2 倍液、5 倍液和 10 倍液), 以等体积无菌水为对照。在直径为 35 mm 无菌培养皿中加入 1 mL 代谢产物不同倍数稀释液, 并加入 80~100 个根结线虫的卵, 每个处理 3 个皿, 置于 28 °C 恒温培养箱内。7 d 时于显微解剖镜 (OLYMPUS, SZX-16) 下调查每皿内卵孵化出的二龄幼虫数, 计算孵化率和相对抑制率^[27]。整个试验重复 2 次以验证重现性。

EPN 共生菌代谢产物对根结线虫二龄幼虫活性的影响。方法同上, 用根结线虫二龄幼虫替代卵, 在 7 d 后调查根结线虫二龄幼虫的死亡数, 计算幼虫死亡率和校正死亡率。

1.3 统计分析

试验中调查所得原始数据采用 Excel 软件完成, 利用 SPSS 25.0 软件对数据进行单因素 (One-way

ANOVA) Duncan 差异显著性分析 ($P < 0.05$), 绘图使用 Origin 2022 软件。数据处理过程中涉及以下计算:

$$\text{孵化率}(\%) = \text{孵化线虫数} / \text{初始卵数} \times 100$$

$$\text{孵化抑制率}(\%) = (\text{对照孵化率} - \text{处理孵化率}) / \text{对照孵化率} \times 100$$

$$\text{死亡率}(\%) = \text{死亡线虫数} / \text{总线虫数} \times 100$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = (\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}) / (1 - \text{对照线虫死亡率}) \times 100$$

2 结果

2.1 EPN 共生菌对根结线虫的防治效果

2.1.1 EPN 共生菌对根结线虫卵量的抑制效果

EPN 共生菌对番茄中疏 4 号根部 *M. incognita* 每克根内卵量抑制效果如表 1 所示。接种剂量为 1 000 个卵·株⁻¹ 时, EPN 的共生菌 Xb-IGA、PI-NJ、PI-IGA 与 AVM (阿维菌素) 间均无显著差异, 且防效均可达 70% 以上, 而 Xn-All 的防效则显著低于阿维菌素及其它各处理 ($P < 0.05$); 接种剂量为 2 000 个卵·株⁻¹ 时, 各处理间均无显著差异, 抑制效果均达 54.0% 以上; 接种剂量为 5 000 个卵·株⁻¹ 时, EPN 的共生菌 Xb-IGA 和 PI-IGA 与阿维菌素无显著差异, 抑制效果可达 59.4% 以上, 而 EPN 的共生菌 PI-NJ 和 Xn-All 的防效却显著低于阿维菌素 ($P < 0.05$)。可以看出线虫的共生菌 Xb-IGA 和 PI-IGA 对 3 个接种剂量抑制效果较好, 且效果较稳定, 即可以有效抑制 *M. incognita* 卵的繁殖。

表 1 EPN 共生菌对每克植物根内 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵量的抑制效果
Table 1 Inhibition rate of EPN symbiotic bacteria on egg quantity of *M. incognita* and *M. hapla* per gram fresh root %

处理 Treatment	<i>M. incognita</i>			<i>M. hapla</i>		
	1 000 个卵·株 ⁻¹	2 000 个卵·株 ⁻¹	5 000 个卵·株 ⁻¹	1 000 个卵·株 ⁻¹	2 000 个卵·株 ⁻¹	5 000 个卵·株 ⁻¹
Xb-IGA	70.9±3.21 a	69.4±3.71 a	59.7±10.6 ab	-3.90±12.3 c	67.1±4.62 b	30.7±10.4 a
PI-NJ	70.5±4.01 a	54.0±8.12 a	42.2±7.41 b	40.0±7.51 b	58.8±5.01 bc	24.0±9.20 a
Xn-All	49.0±8.22 b	75.2±5.70 a	53.0±2.82 b	27.2±10.9 b	51.0±7.42 c	33.1±7.21 a
PI-IGA	73.9±2.81 a	65.3±8.42 a	59.4±3.71 ab	21.2±5.82 b	74.5±3.40 ab	19.2±9.62 a
AVM	84.2±2.53 a	64.6±6.11 a	81.9±2.70 a	88.1±1.90 a	82.2±1.42 a	42.8±8.41 a

注: 不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

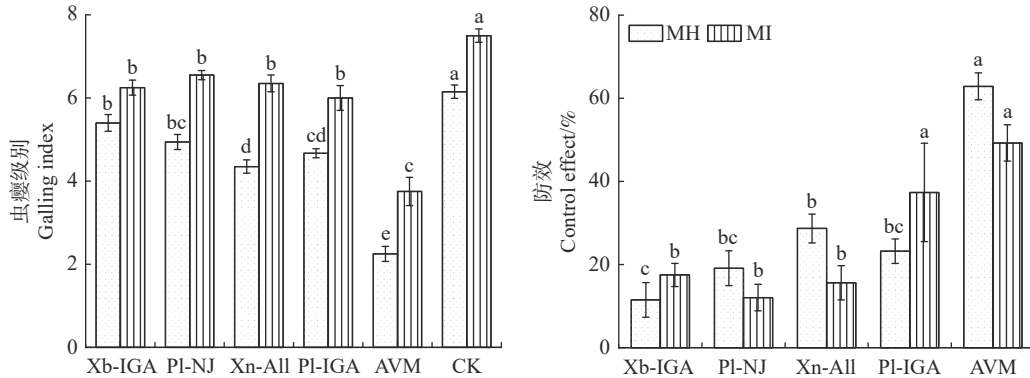
Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

EPN 共生细菌对 *M. hapla* 每克根内卵量抑制效果盆栽试验调查结果如表 1 所示。在 3 个接种剂量处理中, 阿维菌素的抑制效果分别为 88.1%、82.2% 和 42.8%。接种剂量为 1 000 个卵·株⁻¹ 时, 线虫共生菌 Xb-IGA、PI-NJ、Xn-All、PI-IGA 与阿维菌素均存在显著差异 ($P < 0.05$); 接种剂量为 2 000 个卵·株⁻¹ 时, 线虫共生菌 PI-IGA 与阿维菌素间差异不显著, 抑制效果可达 74.5%, 而其它各处理与阿维菌素间差异均显著, 其中共生菌 Xn-All 与阿维菌素间差异最为显著 ($P < 0.05$); 接种剂量为 5 000 个卵·株⁻¹ 时, 各处理间均无显著差异, 对每克根内卵量的抑制效果均较低。PI-IGA 共生菌对接种植量为 2 000 个卵·株⁻¹ 的抑制最好, 即可以有效抑制 *M. hapla* 卵的繁殖。

2.1.2 EPN 共生菌对根结线虫发病程度的影响

EPN 共生菌对接种植量均为 2 000 个卵·株⁻¹ 的 *M. incognita* 和 *M. hapla* 侵染后虫瘿级别的影响如图 1 所示。无论是被 *M. incognita* 侵染还是被 *M. hapla* 侵染的番茄根部, 各处理的虫瘿级别均显著低于对照组 CK, 其中阿维菌素与 CK 间差异最为显著 ($P < 0.05$)。可以看出 4 种 EPN 共生菌均有效控制 *M. incognita*

和 *M. hapla* 侵染后的发病程度, 并且南方根结线虫的发病程度普遍高于北方根结线虫。通过计算防治效果可以看出, EPN 共生菌 PI-IGA 对 *M. incognita* 的防治效果最好 (37.4%), 与阿维菌素差异不显著, 其他处理对根结线虫侵染番茄根部并致病的控制效果低于 PI-IGA (图 1)。



注: MI 表示 *M. incognita*; MH 表示 *M. hapla*。AVM 代表阿维菌素。不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

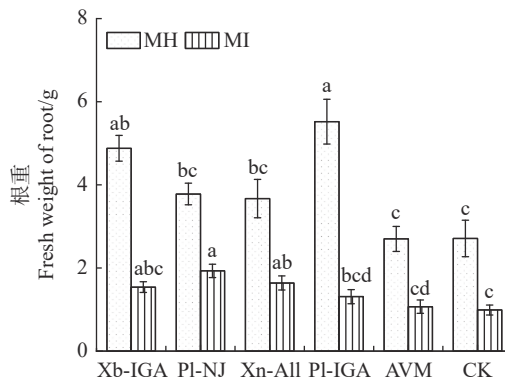
Note: MI and MH stand for *M. incognita* and *M. hapla*, respectively. AVM indicates abamectin. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

图 1 EPN 共生菌对根结线虫病发生程度和防治效果的影响 (2 000 个卵·株⁻¹)

Fig. 1 Effect of EPN symbiotic bacteria on the gall index and control effect of root-knot nematodes of tomato after inoculation with 2 000 eggs·plant⁻¹

2.1.3 EPN 共生菌对番茄根鲜重的影响

接种剂量均为 2 000 个卵·株⁻¹的 *M. incognita* 和 *M. hapla* 侵染后对番茄根鲜重调查结果如图 2 所示。被 *M. incognita* 侵染的番茄, 线虫 PI-NJ 和 Xn-All 共生菌处理后的根鲜重显著高于对照组 CK, 其它 3 个处理间差异均不显著; 被 *M. hapla* 侵染的番茄, 线虫 Xb-IGA 和 PI-IGA 共生菌处理后的根鲜重显著高于对照组 CK 和阿维菌素 (AVM) 处理, 而 PI-NJ 和 Xn-All 处理与 CK 间差异均不显著。可以看出 4 种 EPN 共生菌对番茄根部生长未见抑制作用, 并且接种北方根结线虫的番茄根鲜重高于南方根结线虫。



注: 不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

图 2 EPN 共生菌对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 侵染后番茄根鲜重的影响 (2 000 个卵·株⁻¹)

Fig. 2 Effect of EPN symbiotic bacteria on root fresh weight of tomato after infected by *M. incognita* and *M. hapla* with 2 000 eggs·plant⁻¹

2.2 EPN 共生菌代谢产物对根结线虫卵孵化和二龄幼虫活性的影响

2.2.1 EPN 共生菌代谢产物对根结线虫卵孵化的影响

EPN 共生菌代谢产物稀释液对 *M. incognita* 卵孵化影响调查结果如表 2 所示。在孵化 7 d 时, 2 倍稀释液对卵孵化的抑制率最高, 达 79.8% ~ 86.1%, 4 种 EPN 共生菌之间差异不显著; 而 5 倍稀释液中,

PI-NJ 的抑制率显著低于 Xb-IGA、Xn-All、PI-IGA，且 Xb-IGA、Xn-All、PI-IGA 三者之间无显著性差异；10 倍稀释液中 Xb-IGA 与 PI-IGA 对南方根结线虫的卵孵化逐渐失去抑制作用。可以看出，随着代谢产物稀释倍数的增大，对 *M. incognita* 孵化的抑制作用呈现减弱的趋势。

表 2 EPN 共生菌代谢产物对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵孵化抑制率的影响
Table 2 Effects of metabolites of EPN symbiotic bacteria on the inhibition rate of egg hatching of *M. incognita* and *M. hapla*

处理 Treatment	<i>M. incognita</i>			<i>M. hapla</i>			%
	2倍稀释液 2× dilutions	5倍稀释液 5× dilutions	10倍稀释液 10× dilutions	2倍稀释液 2× dilutions	5倍稀释液 5× dilutions	10倍稀释液 10× dilutions	
Xb-IGA	84.6±1.04 a	70.0±2.81 a	-9.30±11.9 b	94.8±4.21 a	72.3±9.21 a	48.4±11.9 b	
PI-NJ	81.1±1.30 a	55.1±3.22 b	51.7±7.02 a	84.3±2.70 a	84.8±6.72 a	78.9±2.01 a	
Xn-All	86.1±2.21 a	79.3±2.83 a	30.8±22.1 ab	80.1±5.31 a	83.2±8.61 a	61.9±4.21 ab	
PI-IGA	79.8±3.12 a	74.3±4.72 a	-24.0±6.80 b	79.7±5.92 a	76.2±4.80 a	66.4±0.91 ab	

注：不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

4 种 EPN 共生菌代谢产物 3 个稀释液对 *M. hapla* 卵孵化抑制率如表 2 所示。在孵化 7 d 时，EPN 代谢产物稀释液对 *M. hapla* 卵孵化的抑制作用均较强，其中 2 倍稀释液和 5 倍稀释液对卵孵化的抑制率较高，达 76.2% ~ 94.8%，且各处理之间差异不显著；而稀释倍数为 10 倍时，线虫共生菌 Xb-IGA 代谢产物的抑制率则显著低于 PI-NJ ($P < 0.05$)，但与 PI-IGA 和 Xn-All 之间并没有达到显著性水平。可以看出 4 种 EPN 共生菌的代谢产物对北方根结线虫卵孵化均有较强的抑制作用。

2.2.2 EPN 共生菌代谢产物对根结线虫幼虫活性的影响

4 种 EPN 共生菌代谢产物的稀释液对 *M. incognita* 二龄幼虫活性生测结果如表 3 所示。卵孵化 7 d 时，与对照组相比 4 种 EPN 共生菌代谢产物 3 个稀释倍数对 *M. incognita* 二龄幼虫校正致死率为 34.2% ~ 47.8%，处理间差异不显著。可以看出 EPN 共生菌代谢产物 2 倍、5 倍和 10 倍稀释液对南方根结线虫的二龄幼虫均有毒杀作用。

表 3 EPN 共生菌代谢产物对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 二龄幼虫活性的影响
Table 3 Effects of metabolites of EPN symbiotic bacteria on corrected mortality of juvenile of *M. incognita* and *M. hapla*

处理 Treatment	<i>M. incognita</i>			<i>M. hapla</i>			%
	2倍稀释液 2× dilutions	5倍稀释液 5× dilutions	10倍稀释液 10× dilutions	2倍稀释液 2× dilutions	5倍稀释液 5× dilutions	10倍稀释液 10× dilutions	
Xb-IGA	40.2±4.10 a	45.1±4.01 a	37.9±5.50 a	69.1±4.30 a	79.9±5.81 a	67.3±12.0 a	
PI-NJ	47.8±1.53 a	36.1±5.71 a	38.7±7.71 a	66.4±1.71 a	68.2±3.63 a	65.8±9.01 a	
Xn-All	40.5±2.62 a	37.8±2.41 a	39.1±3.52 a	59.6±12.6 a	59.7±4.91 a	59.3±5.02 a	
PI-IGA	42.2±5.31 a	34.2±2.93 a	36.7±3.32 a	59.9±2.70 a	62.5±5.23 a	45.0±3.51 a	

注：不同小写字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

M. hapla 二龄幼虫活性生测结果如表 3 所示。EPN 共生菌代谢产物不同稀释液对 *M. hapla* 二龄幼虫的校正死亡率差异不显著，4 株菌的 3 个稀释倍数对 *M. hapla* 二龄幼虫均有较强的致死作用，并且对 *M. hapla* 二龄幼虫致死作用有高于 *M. incognita* 的趋势，表明 4 株菌的代谢产物对北方根结线虫的毒杀作用很强。

3 讨 论

有研究报道, EPN 共生菌对根结线虫具有防治作用^[28-31], 即共生菌 *Xenorhabdus* 和 *Photorhabdus* 代谢产物对根结线虫具有毒杀作用^[28,32], 本研究结果进一步证实了前人的研究发现。4 株 EPN 共生菌对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵繁殖的抑制效果存在差异, 如接种剂量为 1 000 个卵·株⁻¹ 和 5 000 个卵·株⁻¹ 时, 对 *M. incognita* 的抑制效果好于 *M. hapla*。这可能是由于不同种 EPN 共生菌对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 的亲性和或者分泌物毒害物质的差异所致^[33]。在接种剂量为 5 000 个卵·株⁻¹ 时, 除阿维菌素 (AVM) 外, 4 株 EPN 共生菌对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵量的抑制效果均小于 60%。可以推测当土壤中根结线虫卵量密度过大时, 或根结线虫发病很严重时, EPN 共生菌的抑制效果也随之下降。同时发现, EPN 共生菌对番茄有不同程度的促生作用, 被北方根结线虫感染时, Xb-IGA 和 PI-IGA 共生菌处理后的根鲜重显著高于对照组; 被南方根结线虫感染时, PI-NJ 和 Xn-All 处理后的根鲜重显著高于对照组, 另外两个处理也高于对照, 但差异不显著。可以看出 EPN 共生菌对番茄根的生长至少没有抑制作用。

已有学者研究发现, *S. carpocapsae*、*S. feltiae* 和 *H. bacteriophora* 共生菌代谢产物能抑制爪哇根结线虫 *M. javanica* 的卵孵化^[34]; 番茄幼苗根部在移栽之前浸入 *X. bovienii* 上清液中能够抑制 *M. incognita* 卵的数量, 并增加植株高度^[13]。Caccia 等^[17] 研究表明, *H. bacteriophora*、*Steinernema* spp. 和 *S. rarum* 等线虫体内共生菌的代谢产物能使根结线虫繁殖系数降低 62%~90%, 线虫体内共生菌中发挥杀线作用的化学物质为氨、吡啶和苯乙烯衍生物^[35-36], 并且苯乙烯衍生物和氨具有选择性杀线虫能力^[37]。但是这些物质对不同种根结线虫的毒杀作用是否存在差异和是否存在剂量效应还不清楚, 需要进一步的研究。

目前国内关于 EPN 共生菌对根结线虫防治的研究鲜有报道, 而本研究通过盆栽试验探究了 EPN 共生菌对根结线虫的防治效果, 但只做了中蔬 4 号和 VFNT 两个番茄品种, 对于其它番茄品种的防效还不清楚, 仍需进一步研究; 在室内生测中仅初步明确了 EPN 共生菌代谢产物在防治作用中的重要作用, 但具体是哪些化学物质在起主要作用及其作用途径还需深入研究。

关于生防菌对根结线虫的防治效果的评价指标不尽一致。如林茂松和张治宇^[38] 在温室盆栽试验中利用“每克根卵囊数”的多少判定防效高低; 霍建飞等^[39] 通过利用“根结指数”来判定防效高低。本研究选用两个供试番茄品种中蔬 4 号和 VFNT, 定量接种不同剂量的南方根结线虫和北方根结线虫, 通过对根部虫瘿指数、根鲜重和卵量/克根鲜重进行综合评价, 来判断 EPN 共生菌对根结线虫的防治效果, 探讨 EPN 共生菌对植物寄生线虫 *Meloidogyne* spp. 的防效和对植株生长的影响, 挖掘有应用潜能的生防菌株, 以期这些生防资源的开发利用提供理论依据。

4 结 论

(1) EPN 共生菌 Xb-IGA 和 PI-IGA 可有效控制 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵的繁殖, 但线虫 Xb-IGA 共生菌对 *M. hapla* 卵繁殖的防效受接种剂量影响较大。

(2) 4 种 EPN 共生菌均能有效降低 *M. incognita* 和 *M. hapla* 感染后的发病级别, 对番茄根部生长有不同程度的促生作用。

(3) 4 种 EPN 共生菌代谢产物的 2 倍和 5 倍稀释液对 *M. incognita* 和 *M. hapla* 卵孵化均有很强的抑制作用, 对二龄幼虫具有毒杀作用。

参考文献 (References):

- [1] 李戌清, 郑经武, 郑积荣, 等. 番茄根结线虫研究进展 [J]. 浙江农业学报, 2012, 24(4): 748-752.
LI X Q, ZHENG J W, ZHENG J R, et al. Research advances in tomato root knot nematode disease [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2012, 24(4): 748-752.
- [2] KAYA H K, GAUGLER R. Entomopathogenic nematodes [J]. Annual Review of Entomology, 1993, 38: 181-206.

- [3] DAVID I S, SELCUK H, ITAMARI G. Basic and applied research: entomopathogenic nematodes, microbial control of insect and mite pests[M]. Holland: Academic Press, 2017, 91–105.
- [4] VAGELAS I, GOWEN S R. Control of *Fusarium oxysporum* and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with *Pseudomonas oryzae* habitans[J]. Phytopathology, 2012, 24: 32–38.
- [5] BIRD A. F, BIRD J. Observations on the use of insect parasitic nematodes as means of biological control of root-knot nematodes[J]. *Parasitology International*, 1986, 16: 511–516.
- [6] ISHIBASHI N, KONDO E. *Steinernema feltiae* (DD-136) and *S. glaseri*: persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes[J]. *Journal of Nematology*, 1986, 18(3): 310–316.
- [7] GREWAL P S, MARTIN W R, MILLER R W, et al. Suppression of plant-parasitic nematode populations in turfgrass by application of entomopathogenic nematodes[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 1997, 7(3): 393–400.
- [8] LONE J A, PARVEEN G, KHAN T A. Comparison of concomitant and sequential inoculation of *Steinernema* sp. in the management of reniform (*Rotylenchulus reniformis*) nematode infecting eggplant[J]. *Journal of Science and Technology*, 2014, 2: 97–111.
- [9] PERRY R N, HOMINICK W M, BEANE J, et al. Effect of the entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *S. carpocapsae*, on the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, in pot trials[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 1998, 8(1): 175–180.
- [10] KHAN, MEHBOOB, KHAN U. Interaction of the entomopathogenic nematode *Steinernema masoodi* and the root-knot nematode *Meloidogyne*[J]. *Nematologia Mediterranea*, 2010, 38(2): 179–185.
- [11] KHAN S A, JAVED N, KAMRAN M, et al. Management of *Meloidogyne incognita* Race 1 through the use of entomopathogenic nematodes in tomato[J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2016, 48: 763–776.
- [12] RAZA M S, IMRAN M, YASMIN T, et al. Screening of entomopathogenic nematodes for the management of *Meloidogyne incognita* in brinjal[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2015, 6: 19–31.
- [13] KEPENEKCI I, HAZIR S, LEWIS E E. Evaluation of entomopathogenic nematodes and the supernatants of the *in vitro* culture medium of their mutualistic bacteria for the control of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*[J]. *Pest Management Science*, 2016, 72(2): 327–334.
- [14] PÉREZ E E, LEWIS E E. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla* with entomopathogenic nematodes on greenhouse peanuts and tomatoes[J]. *Biological Control*, 2004, 30(2): 336–341.
- [15] MOLINA J P, DOLINSKI C, SOUZA R M, et al. Effect of entomopathogenic nematodes (*Rhabditida: Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) on *Meloidogyne mayaguensis* rammah and hirschmann (*Tylenchida: Meloidoginidae*) infection in tomato plants[J]. *Journal of Nematology*, 2007, 39(4): 338–342.
- [16] LI J J, LI Y, WEI X Q, et al. Direct antagonistic effect of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria on root-knot nematodes migration toward tomato roots[J]. *Plant and Soil*, 2023, 484(1): 441–455.
- [17] CACCIA M, MARRO N, DUEÑAS J R, et al. Effect of the entomopathogenic nematode-bacterial symbiont complex on *Meloidogyne hapla* and *Nacobbus aberrans* in short-term greenhouse trials[J]. *Crop Protection*, 2018, 114: 162–166.
- [18] 李春杰, 胡岩峰, 王从丽. 黑龙江省大庆市大棚蔬菜根结线虫种类和小种的鉴定 [J]. 土壤与作物, 2016, 5(2): 105–109.
LI C J, HU Y F, WANG C L. Identification of species and races of root-knot nematodes in greenhouse from Daqing City in Heilongjiang Province[J]. *Soils and Crops*, 2016, 5(2): 105–109.
- [19] 赵亚男, 王旋, 常豆豆, 等. 黑龙江省番茄栽培品种对南方根结线虫的抗性评价 [J]. 土壤与作物, 2022, 11(3): 329–335.
ZHAO Y N, WANG X, CHANG D D, et al. Evaluation of tomato resistance to *Meloidogyne incognita* in Heilongjiang Province[J]. *Soils and Crops*, 2022, 11(3): 329–335.
- [20] 李春杰. 昆虫病原线虫大量繁殖技术研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2006.
LI C J. Mass production technology for entomopathogenic nematodes [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2006.
- [21] 王鑫鹏, 王从丽, 李春杰. 昆虫病原线虫共生细菌对南方根结线虫卵孵化的影响 [J]. 土壤与作物, 2017, 6(4): 256–262.
WANG X P, WANG C L, LI C J. Effect of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes on egg hatching of *Meloidogyne incognita*[J]. *Soils and Crops*, 2017, 6(4): 256–262.
- [22] HUSSEY R S, BARKER K R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique[J]. *Plant Disease*, 1973, 57: 1025–1028.
- [23] 王鑫鹏. 根结线虫生防细菌的作用效果及机制初探 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.
WANG X P. The Effect and mechanism of biological bacteria against root knot nematodes [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018.
- [24] NYCZEPIR A P, O'BANNON J H, SANTO G S, et al. Incidence and distinguishing characteristics of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* in potato from the northwestern United States[J]. *Journal of Nematology*, 1982, 14(3): 347–353.
- [25] LI C J, HUA C, HU Y F, et al. Response of soybean genotypes to *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in Heilongjiang Province in China[J]. *Russian Journal of Nematology*, 2016, 24(2): 89–98.

- [26] 杜立新, 冯书亮, 曹克强, 等. 枯草芽孢杆菌 BS-208 和 BS-209 菌株在番茄叶面及土壤中定殖能力的研究 [J]. *河北农业大学学报*, 2004, 27(6): 78–82.
DU L X, FENG S L, CAO K Q, et al. Study on colonization of *Bacillus subtilis* strains BS-208 and BS-209 on phylloplane of tomato and soil[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2004, 27(6): 78–82.
- [27] 赵晓燕, 李纪顺, 黄玉杰, 等. BtR05 悬浮剂制备及其对南方根结线虫卵孵化的影响 [J]. *中国生物防治*, 2010, 26(S1): 19–23.
ZHAO X Y, LI J S, HUANG Y J, et al. Preparation of BtR05 suspension concentrate and its effect on hatching of *Meloidogyne incognita* eggs[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2010, 26(S1): 19–23.
- [28] GREWAL P S, LEWIS E E, VENKATACHARI S. Allelopathy: a possible mechanism of suppression of plant-parasitic nematodes by entomopathogenic nematodes[J]. *Nematology*, 1999, 1(7): 735–743.
- [29] FALLON D J, KAYA H K, GAUGLER R, et al. Effects of entomopathogenic nematodes on *Meloidogyne javanica* on tomatoes and soybeans[J]. *Journal of Nematology*, 2002, 34(3): 239–245.
- [30] PÉREZ E E, LEWIS E E. Use of entomopathogenic nematodes to suppress *Meloidogyne incognita* on greenhouse tomatoes[J]. *Journal of Nematology*, 2002, 34(2): 171–174.
- [31] 黄金玲, 刘纪霜, 刘志明, 等. 蔬菜根结线虫生防细菌的筛选 [J]. *华南农业大学学报*, 2010, 31(3): 119–120+122.
HUANG J L, LIU J S, LIU Z M, et al. Screening biocontrol bacteria to vegetable root-knot nematodes[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2010, 31(3): 119–120+122.
- [32] AATIF H M, JAVED N, KHAN S A, et al. Virulence of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria and their toxins against juvenile's immobilization of *Meloidogyne incognita*[J]. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 2012, 24: 170–174.
- [33] VALLE E D, DOUCET M. Effects of *Galleria mellonella* cadavers infected with *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema rarum*, their macerates and dead infective juveniles on *Meloidogyne javanica* suppression[J]. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 2014, 46(13): 205–211.
- [34] FATEMEH S S, MASOUD A, REZA T H, et al. Biological control of pests and plant diseases es of EPN- symbiotic bacteria on *Meloidogyne javanica*[J]. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 2019, 8(1): 17–26.
- [35] PAUL V J, FRAUTSCHY S, FENICAL W, et al. antibacterial compounds from the insect-symbiotic bacteria *Xenorhabdus* spp.[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1981, 7(3): 589–597.
- [36] RICHARDSON W H, SCHMIDT T M, NEALSON K H. Identification of an anthraquinone pigment and a hydroxystilbene antibiotic from *Xenorhabdus luminescens*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(6): 1602–1605.
- [37] HU K, LI J, WEBSTER J M. Mortality of plant-parasitic nematodes caused by bacterial (*Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus luminescens*) culture media[J]. *Journal of Nematology*, 1995, 27: 502–503.
- [38] 林茂松, 张治宇. 尖镰孢菌非致病菌株对南方根结线虫数量的控制 [J]. *南京农业大学学报*, 2001, 24(1): 40–42.
LIN M S, ZHANG Z Y. The effect of the non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strain on *Meloidogyne incognita*[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2001, 24(1): 40–42.
- [39] 霍建飞, 任文来, 郝永娟, 等. 蔬菜根结线虫生防细菌的筛选及菌株 HJT2-1 种类的初步鉴定 [J]. *北方园艺*, 2015(8): 120–123.
HUO J F, REN W L, HAO Y J, et al. The screening of biocontrol bacteria against vegetable root-knot nematode and identification of bacterial strain HJT2-1[J]. *Northern Horticulture*, 2015(8): 120–123.