

用啤酒厂废料生产淡紫拟青霉菌剂及防效试验

潘沧桑 林 竞 徐 腾 丘文杰

(厦门大学生物学系 厦门 361005)

摘要 从寄生在番茄的南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 卵块中分离到一种破坏线虫的内寄生真菌淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus*), 并利用啤酒厂的废渣、废液生产出菌剂。该菌剂每克样品含孢子量为 3.4×10^6 , 用其进行防治根结线虫的盆栽试验。每 1600ml 土壤施 8g 比施 1g 菌剂的根结指数、虫瘿、卵块、雌虫和幼虫分别减少 65%、94.0%、94.0%、95.9% 和 97.9%。

关键词 淡紫拟青霉菌剂, 生物防治, 根结线虫, 啤酒厂废料

拟青霉属 (*Paecilomyces*) 是与青霉属 (*Penicillium*) 十分接近的一个属。近年的研究表明, 该属中的一些种具有生防价值。Lysek 最先观察到淡紫拟青霉 (*P. lilacinus*) 与线虫卵的关系^[1]。Jatala 等在秘鲁发现它寄生于南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 的卵中^[2]。随后相继报告它与许多地方的根结线虫和胞囊线虫有联系。现在这种菌剂国外已商品化, 菲律宾的商品名为“Biocon”^[3,4]。国内王明祖^[5]、刘杏忠^[6]、马承铸^[7]先后开展了这方面的研究。

1994 年作者从根结线虫的卵块中分离到真菌, 其中一种鉴定为淡紫拟青霉^[4,8]。为了把这一生防因子应用于生产实践, 同时解决某些工厂的排污问题, 我们用啤酒厂的废渣、废液生产该菌菌剂, 用它进行防治根结线虫的试验, 结果报告如下。

1 材料与方法

淡紫拟青霉菌种 P1₉₄₁₀ 是从厦门本岛户外番茄根部寄生的南方根结线虫卵块中分离得到的, 用 PDA 和 CMA 培养基^[9]常规保存和繁殖。供试南方根结线虫繁殖于烟草。洗根解剖虫瘿挑取卵块备用。

1.1 用啤酒厂的废渣废液制造菌剂的方法

1.1.1 一级培养: PDA 斜面(加废啤酒酵母

等)接种 P1₉₄₁₀, 25 ~ 28 °C 下培养 7 ~ 10d。

1.1.2 二级培养: 液体摇瓶发酵。配方(g)为: 麦芽糟 5, 废啤酒酵母 5, 鸡毛 0.5。加麦芽糟榨出汁 100ml 入三角瓶中, 经高压灭菌后接种一级培养物, 28 °C 下振荡培养 7d。

1.1.3 三级培养: 麦芽糟榨干, 掺入废啤酒酵母膏 5%, 再按 1:1 体积比拌入烘干的麦芽糟, 湿热灭菌后接入二级培养物, 28 °C 下培养 10d, 风干后成饼块状菌剂(施用之前粉碎)。

1.2 菌剂对植物的保护效果测定

直径 17cm、深度 17cm 的小花盆 12 个。每盆装沃土 1600mg, 湿热灭菌后分别接种淡紫拟青霉菌剂 1g、2g、4g 和 8g, 每种剂量各接 3 盆。3d 后每盆植入根结线虫卵块 3 个, 移入番茄苗 2 株, 温室(15 ~ 25 °C)中培育 50、56 和 65d 后分别称重冠部和根部, 并洗净根系检查根结发生量, 然后解剖根系计数虫体。

2 结果

2.1 菌剂孢子含量

用啤酒厂的废渣、废液制造的淡紫拟青霉菌剂为淡紫色, 结成饼块状, 肉眼可见麦芽粒

表 1 不同剂量的淡紫拟青霉菌剂对番茄生长和根结线虫发育的影响

剂量 (g)	天数 (d)	冠部重 (g)	根部重 (g)	根结 指数	虫瘿 (个)	卵块 (个)	雌虫 (只)	幼虫 (只)
1	50	48.7	10.9	3	214	69	218	13
	56	24.9	13.3	3	286	238	455	11
	65	42.5	16.2	3	256	373	391	24
	小计	116.1	40.4	3	756	680	1064	48
2	50	46.8	10.7	3	202	159	198	8
	56	31.2	7.5	3	272	203	312	2
	65	31.6	17.2	4	1450	293	442	1078
	小计	109.6	35.4	3.3	1924	655	952	1088
4	50	31.3	10.3	1	36	16	34	6
	56	29.8	12.8	4	355	221	273	116
	65	37.5	15.5	4	330	75	206	132
	小计	98.4	38.6	3	721	312	513	254
8	50	29	8.6	1	24	21	23	1
	56	50	13.9	1	21	20	21	0
	65	53.2	16.9	0	0	0	0	0
	小计	132.2	39.4	0.7	45	41	44	1
2g-1g				P>0.1	P>0.1	P>0.1	P>0.1	P>0.1
4g-1g				P>0.1	P>0.1	P>0.1	P>0.1	P>0.1
8g-1g				P<0.05	P<0.005	P>0.05	P<0.01	P<0.025

之间菌丝生长旺盛。经血球计数板测定,孢子含量为 3.4×10^6 个孢子/g 样品。

2.2 菌剂对根结线虫发育的影响

接种菌剂后在温室中生长 50、56 和 65d 的番茄解剖结果见表 1。

3 讨 论

我国 1991 年农作物种植业产值 4662.76 亿元^[10],按“线虫造成的损失约占世界收成的 5%”计算^[11],全国农作物种植业因线虫病每年约损失 233 亿元。化学杀线虫药虽有一定效果,但污染农产品和环境。所以,生物防治势在必行。这方面效果较好的有穿刺芽孢杆菌菌剂^[12]和淡紫拟青霉菌剂^[7]等。

据报道,淡紫拟青霉的菌丝可穿透线虫的卵粒,使卵壳的类脂层和几丁质崩解,以致卵壳不能起保护幼虫发育的作用,最后,整个卵

内容物破坏。因此,淡紫拟青霉是根结线虫等许多植物寄生线虫很好的生防因子^[3]从三组实验的统计结果可以看出,在 1~8g 的范围内,用啤酒糟制造的菌剂,随着施用剂量的增加,虫口密度有较大幅度的减少。本试验没有设空白对照,因为淡紫拟青霉是土壤及多种植物根际习居菌,所以以 1g 为对照,这样可能更有说服力。从表 1 可见, ($P<0.05$),虫瘿减少 94.0% ($P<0.005$),卵块减少 94.0% ($P>0.05$),雌虫减少 95.9% ($P<0.01$),幼虫减少 97.9% ($P<0.025$)。施 4g、2g 则虫口密度减少均不够显著 ($P>0.1$)。至于 4g 与 8g 之间哪一个剂量更合适,还要做进一步试验。不过,根据现有的实验已经可以得出结论:用啤酒厂废料等制造的菌剂也能使虫口密度降低。上述实验是以每 1600ml 土壤移栽 2 株番茄、接种 3 个卵块为对象的,如果增加卵块的接种数量,保护效果可能更显

著。诚然, 如果将卵块离散成卵粒计数接种, 实验结果可能会更准确些, (因为每一个卵块所含的卵数量不一样)。但是在自然界中根结线虫毕竟不是以单个卵粒存在于土中的, 所以用卵块接种也不失其意义。最好是两种实验都做, 以便互相比, 今后这方面的工作还要继续进行。

致谢 1993 级寄生虫专业赖鑫富、凌洪博同学参加部分工作, 承博士后武文杰同志协助数理统计, 微生物教研室杨淑专副教授鉴定拟青霉标本, 厦华啤酒厂黄钦元等同志提供研究材料, 我系微生物教研室、固氮教研室提供摇床等设备支持, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- [1] Lysek H. Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae, 1976, 41: 73 ~ 106.
- [2] Jatala P, Kaltenbach R, Bocangel M, *et al.* Journal of Nematology, 1979, 11: 303.
- [3] Davide R G. In Integrated pest management for tropical root and tuber crops. Proceedings of the global status of and prospects for integrated pest management of root and tuber crops in the Tropics, 25~30 October 1987 at Ibadan, Nigeria. International Institute of Tropical Agriculture, 1990, 156 ~ 163.
- [4] Stirling G R. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes Progress, Problems and Prospects. C. A. B International, 1991, 137 ~ 142.
- [5] 王明祖. 华中农业大学学报, 1992, 11(1): 52 ~ 56.
- [6] 刘杏忠, 张东升, 武修英等. 北京农业大学学报, 1991, 17(3): 87 ~ 91.
- [7] 马承铸, 钱振官, 钱国琛等. 上海农学院学报, 1995, 13(增): 73 ~ 77.
- [8] H L Barnett, B B Hunter. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, 3rd. Burgess Publishing Company, 1972, 90.
- [9] [日] 土壤微生物研究会编, 叶维青等译. 土壤微生物实验法. 北京: 科学出版社, 1983, 647 ~ 650.
- [10] 国家统计局编. 中国统计年鉴—1992. 北京: 中国统计出版社, 1993, 331.
- [11] 泰勒等著, 杨宝君等译. 植物根结线虫 生物学分类鉴定和防治. 北京: 科学出版社, 1983, 3.
- [12] 潘沧桑, 林竞, 倪子绵等. 微生物学报, 1993, 33(4): 313 ~ 316.