



### 3 株生防真菌的杀线虫活性及种类鉴定

陈秀菊, 李惠霞, 徐志鹏, 罗 宁, 韩尚明

(甘肃农业大学 植物保护学院/甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

**摘 要:**大豆胞囊线虫是影响大豆产量的重要线虫, 为了获得更多防治该线虫的真菌资源, 在室内测定了生防菌 D1、D7 和 A1 孢子悬浮液对卵的寄生作用和发酵液的杀线虫活性。结果表明: 孢子悬浮液处理 12 d 后, 3 株生防菌对大豆胞囊线虫卵的寄生率分别为 68.83%、81.33% 和 79.50%。发酵液处理 14 d 后, 3 株生防菌 1 × 发酵液对卵孵化的抑制率分别为 70.00%、77.78% 和 68.89%。3 株生防菌发酵液处理 3 d 后, 对二龄幼虫的校正死亡率分别为 90.01%、86.74% 和 80.03%。通过形态学和 rDNA-ITS 序列比对及系统发育树分析, 将菌株 D1、D7 和 A1 分别鉴定为曲霉属 (*Aspergillus* sp.)、烟曲霉 (*A. fumigatus*) 和寄生曲霉 (*A. parasiticus*)。

**关键词:**大豆胞囊线虫; 生防真菌; 杀线活性; 鉴定

### Nematocidal Activities and Species Identification of Three Biocontrol Fungi

CHEN Xiu-ju, LI Hui-xia, XU Zhi-peng, LUO Ning, HAN Shang-ming

(College of Plant Protection of Gansu Agricultural University/Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Soybean cyst nematode (SCN) is an important nematode affecting soybean yield. In order to obtain more biocontrol fungi against SCN, we detected parasitic effects of spore suspensions of biocontrol fungi D1, D7 and A1 on eggs and nematocidal activity of fermentation broth on juveniles in laboratory. The results showed that after treated 12 d, the parasitic rate of spore suspension of the three strains on eggs respectively were 68.83%, 81.33% and 79.50%. After treated 14 d, the inhibition rates of fermentation broth of D1, D7 and A1 on egg hatching were 70.00%, 77.78% and 68.89%, respectively. After treated 3 d, the mortality rates of fermentation on the second-stage juveniles were 90.01%, 86.74% and 80.03%, respectively. The strains D1, D7 and A1 were identified as *Aspergillus* sp., *A. fumigatus*, and *A. parasiticus* respectively according to morphological characteristics, rDNA-ITS sequence alignment and analysis of phylogenetic tree.

**Keywords:** Soybean cyst nematode; Biocontrol fungi; Nematicidal activity; Identification

大豆胞囊线虫 (soybean cyst nematode, SCN) 属于土传的内寄生植物线虫, 是当前大豆 [*Glycine max* (L.) Merrill] 生产中重要的病原之一<sup>[1-2]</sup>。其危害表现在寄生大豆根部、破坏根系结构和功能、阻滞根系的发育、降低大豆根部根瘤菌的数量。大豆胞囊线虫在全世界普遍发生, 每年造成的经济损失可达 30 亿美元<sup>[3-4]</sup>。目前, 在我国黑龙江、吉林、辽宁、河北、安徽和新疆等 18 个省份均有大豆胞囊线虫病的发生<sup>[5-6]</sup>, 面积超过 266 万  $\text{hm}^2$ , 经济损失高达 1.2 亿美元。甘肃省常年大豆种植面积约 13.92 万  $\text{hm}^2$ , 主要分布在陇南、陇东和河西地区<sup>[7]</sup>。罗宁等<sup>[8]</sup>调查发现, 甘肃省大豆胞囊线虫胞囊检出率超过 71.8%, 其种类为 *Heterodera glycine*, 全省约 2/3

以上的大豆受大豆胞囊线虫病为害。

国内外对大豆胞囊线虫病的控制措施主要有选育抗病品种、农业防治、化学药剂防治和生物防治。在选育抗性品种方面, 抗性鉴定工作量大、易受环境因素影响<sup>[9]</sup>。农业防治如轮作在我国大豆主产区难以推广, 化学防治成本高, 对环境污染大<sup>[10]</sup>, 因此生物防治备受人们的关注。生防微生物是自然界中控制线虫数量的重要生物因子, 开发和利用微生物资源具有重要的意义<sup>[11]</sup>。目前, 研究较多的防治大豆胞囊线虫生防微生物有细菌, 如枯草芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌<sup>[12-13]</sup>、根瘤菌<sup>[14-15]</sup>, 放线菌有链霉菌<sup>[16-17]</sup>, 真菌有黑曲霉、厚垣普奇尼亚菌和草酸青霉<sup>[18]</sup>等, 其中厚垣普奇尼亚菌已在多个国家

收稿日期: 2019-02-03

基金项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201503114); 甘肃省科技支撑计划 (1604NKCA053-2)。

第一作者简介: 陈秀菊 (1992 -), 女, 在读硕士, 主要从事植物病原线虫研究。E-mail: 1249852796@qq.com。

通讯作者: 李惠霞 (1972 -), 女, 博士, 教授, 主要从事植物线虫学研究。E-mail: lihx@gsau.edu.cn。

生产成制剂<sup>[19]</sup>。由于真菌来源广、易分离、侵染方式多样和靶标性强<sup>[20]</sup>,展现出广阔的应用前景。

本试验以前期分离筛选得到的 3 株对大豆胞囊线虫有强烈抑制作用的菌株 D1、D7 和 A1 为材料,测定了这 3 株生防菌孢子悬浮液对卵的寄生作用及发酵液的杀线虫活性,并采用形态学和分子生物学相结合的方法进行鉴定,明确其种类,以期为大豆胞囊线虫生防菌的利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试菌株 D1 和 D7 分离自大豆胞囊线虫,菌株 A1 由甘肃农业大学植物线虫学实验室保存。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆胞囊线虫孢囊、卵和 2 龄幼虫悬浮液制备 孢囊采集:在甘肃省宁县大豆胞囊线虫发生较严重的地块,用 Z 字形取样法采集土样,去除表层干土,取 0~20 cm 层的土壤,将多点土样混合后装入封口塑料袋中,带回实验室。用漂浮法分离孢囊,在体式显微镜下观察,挑取饱满的棕色孢囊,于 4℃ 冰箱保存备用。

线虫卵悬浮液的制备:挑取饱满的棕色孢囊,加入 1% NaClO 溶液,表面消毒 1 min,灭菌水清洗 3~5 次后,用橡皮塞轻轻研磨,将卵的悬浮液倒入 200 目和 500 目套筛中,用无菌水冲洗数遍后收集卵液,将卵悬浮液浓度调整为约 1 000 粒·mL<sup>-1</sup>。

二龄幼虫悬浮液的制备:将收集到的卵液于 26℃ 黑暗条件下孵化,4 d 后收集二龄幼虫,将浓度调整为 1 000 条·mL<sup>-1</sup>线虫悬浮液。

1.2.2 真菌孢子悬浮液及发酵液的制备 孢子悬浮液的制备:选取在 PDA 平板上培养 7 d 的菌株,加入适量 Tween 80 和 2 mL 无菌水冲洗,使其分生孢子脱落,即得到分生孢子悬浮液,用血球计数板计数,调整浓度为 1×10<sup>7</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> (指单位体积中的活菌个数)备用。

发酵液的制备:将 2 mL 浓度为 1×10<sup>7</sup> 的分生孢子悬浮液接种在 100 mL PD 培养液中 (150 mL 三角瓶),26℃,150 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 120 h。10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,用 0.22 μm 细菌过滤器过滤为 1×发酵液,同时制备 5×和 10×发酵液,4℃ 保存备用。

1.2.3 真菌孢子悬浮液对卵的寄生作用 在灭菌

的 96 孔细胞培养板的小孔中加入 200 μL 的大豆胞囊线虫卵悬浮液,然后再加入 100 μL 浓度为 10<sup>7</sup> × CFU·mL<sup>-1</sup> 的真菌孢子悬浮液,以加入 100 mL 无菌水作为对照,每个处理 3 次重复。试验在 26℃ 下进行,每隔 2 d 在显微镜下观察菌株对卵的寄生作用。8 d 后镜检、记录各菌株孢子悬浮液对卵的寄生情况,统计卵寄生率。

卵 相 对 寄 生 率 ( % ) = 
$$\frac{\text{处理卵寄生数量} - \text{对照卵寄生数量}}{\text{供试卵数量}} \times 100$$

1.2.4 真菌发酵液对卵孵化抑制作用 分别吸取 100 μL 生防菌 1×、5×、10×发酵液,加入到灭菌的 96 孔细胞培养板中,然后向每个孔加入 200 μL 卵悬浮液。每个浓度重复 3 次,以空白培养基滤液为对照。试验在 26℃ 下进行,每隔 2 d 在显微镜下观察 1 次。14 d 后镜检、记录各菌株发酵液对卵孵化的抑制情况,并计算卵孵化抑制率。

孵 化 抑 制 率 ( % ) = 
$$\frac{\text{对照孵化线虫数量} - \text{处理孵化线虫数量}}{\text{对照孵化线虫数量}} \times 100$$

1.2.5 真菌发酵液对 J2 的致死作用

分别吸取 100 μL 生防菌 1×、5×、10×发酵液,加入无菌 96 孔细胞培养板中,每个浓度重复 3 次,然后分别向每个孔加入 200 μL 二龄幼虫悬浮液。试验在 26℃ 下进行,以空白培养滤液为对照,每个处理重复 3 次。分别在 1 d、2 d 和 3 d 镜检各处理中线虫的死亡情况,用 NaOH 法确定线虫的死活,计算线虫的死亡率和校正死亡率。

线虫死亡率 ( % ) = 
$$\frac{\text{死亡线虫数}}{\text{供试线虫数}} \times 100$$

校 正 死 亡 率 ( % ) = 
$$\frac{\text{处理线虫死亡率} - \text{对照线虫死亡率}}{1 - \text{对照死亡率}} \times 100$$

1.2.6 生防真菌形态学与分子生物学鉴定 形态学鉴定挑取待测真菌菌丝于 PDA 培养基上,在 25℃ 条件下培养 7 d 后,观察菌株生长速度、菌落颜色及表面特征等,在显微镜下观察菌丝、孢子及其着生方式,记录其形态特征。

分子学鉴定按照生工真菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取真菌基因组 DNA, -20℃ 保存备用。采用通用引物 ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGG-GAAGTAA-3') 和 ITS4 ( 5'-TCCTCCUCTTAT-TUATATUC-3') 进行 PCR 扩增。扩增产物送西安擎

科有限公司测序,在 NCBI 数据库上通过 Blast 比对分析,用 MEGA 6.0 软件中的 N-J 法 (Neighbor-joining) 构建系统发育树。

1.3 数据处理

用 Excel 2003 进行数据处理和表格绘制,并采用 SPSS 19.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生防菌对卵的寄生作用

随着处理时间的延长,3 株生防菌孢子悬浮液对大豆胞囊线虫卵的寄生率呈增加趋势。在处理 后第 8 天,3 株生防菌孢子悬浮液对大豆胞囊线虫卵的寄生率均高于 53.83%。在处理 后第 10 天,3 株菌对卵的寄生率均高于 61.50%,其中 A1 对卵的寄生率达 73.50%,显著高于 D1 和 D7 ( $P<0.05$ )。在第 12 天时,菌株 D1 对卵的寄生率为 68.83%,菌株 A1 和 D7 寄生率分别为 79.50% 和 81.33%,显著高于菌株 D1 的寄生率 ( $P<0.05$ ) (表 1)。综上所述 3 株菌均对大豆胞囊线虫卵具有一定的寄生作用,其中菌株 D7 的寄生作用最强,A1 次之,D1 最差。

表 1 3 株生防菌株对大豆胞囊线虫卵的寄生率

Table 1 The parasitism rate of three biocontrol fungi on SCN eggs

菌株 Strain	时间 Time /d		
	8	10	12
D1	59.67 ± 1.26 a	62.67 ± 1.76 b	68.83 ± 2.02 b
D7	59.17 ± 1.61 a	61.50 ± 0.5 b	81.33 ± 1.89 a
A1	53.83 ± 1.53 b	73.50 ± 2.78 a	79.50 ± 1.32 a

2.2 生防菌发酵液对线虫卵孵化的抑制作用

发酵液对卵孵化抑制作用测定结果表明,随着发酵液稀释倍数的增加抑制率稍有降低。处理 14 d 后,D7 的 1× 发酵液对卵孵化抑制作用最强,抑制率为 77.78%,5×、10× 发酵液的抑制率分别是 51.48% 和 42.59%,且这 3 个处理之间差异显著 ( $P<0.05$ )。D1 的 1× 发酵液抑制率是 70.00%,5×、10× 发酵液抑制率均高于 60%。A1 的 1× 发酵液对卵孵化抑制率为 68.89%,显著高于 5×、10× 液 ( $P<0.05$ )。3 株生防菌 1× 发酵液对大豆胞囊线虫卵孵化抑制作用最好,抑制率均高于 68.89% (图 1)。

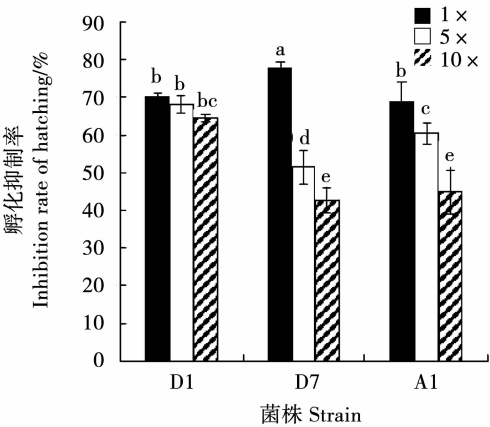


图 1 3 株生防菌发酵液对大豆胞囊线虫卵孵化的影响

Fig. 1 Effects of three fungal fermentation broth on SCN eggs

2.3 生防菌发酵液对 2 龄幼虫的致死作用

发酵液处理后 1 d,3 株生防菌对 2 龄幼虫即有致死作用,且随着发酵液稀释倍数的增加,2 龄幼虫的校正死亡率呈减小的趋势 (表 2)。处理后 3 d,D1、D7 和 A11× 发酵液对二龄幼虫校正死亡率分别为 90.01%、86.74% 和 80.03%。其中,D1 和 A1 的 1× 发酵液校正死亡率显著高于 5×、10× 发酵液

( $P<0.05$ ),D7 的 1×、5× 发酵液处理 3 d 后线虫校正死亡率均高于 80%,且差异不显著 ( $P>0.05$ )。3 株生防菌发酵液对 2 龄幼虫均具有较高的致死作用,其中 D1 致死作用最高,D7 和 A1 稍低。且 1× 发酵液致死作用最强,5× 发酵液次之,10× 发酵液较低。

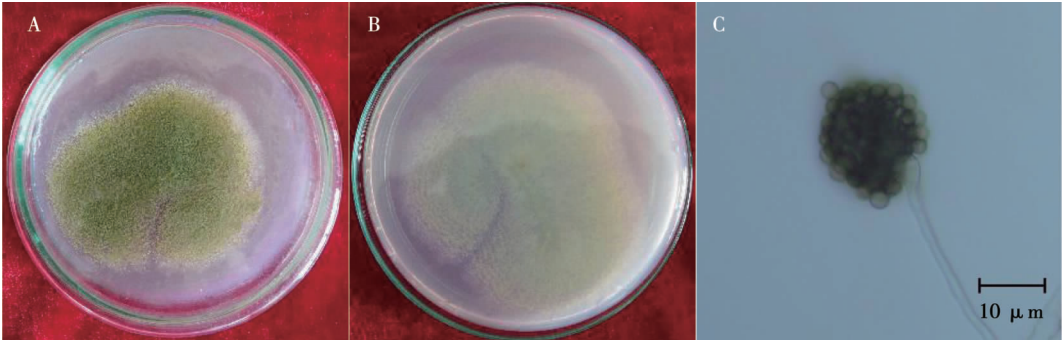
表 2 真菌发酵液对大豆胞囊线虫 2 龄幼虫的致死作用  
Table 2 Effects of fungal fermentation broth on J2 of SCN

菌株	时间	最终稀释倍数	死亡线虫数量	死亡率	校正死亡率
Strain	Time/d	Final dilution ratio	Number of dead nematodes	Mortality/%	Corrected mortality/%
D1	1	1 ×	89 ± 7. 21 A	44. 50	43. 94 ± 3. 64 a
		5 ×	50. 67 ± 2. 52 B	25. 33	24. 58 ± 1. 27 b
		10 ×	47 ± 2. 00 B	23. 50	22. 73 ± 1. 01 b
		CK	2 ± 1. 00 C	1. 00	—
	2	1 ×	151. 33 ± 8. 14 A	75. 67	75. 12 ± 4. 16 a
		5 ×	64 ± 4. 58 B	32. 00	30. 47 ± 2. 34 b
		10 ×	56. 33 ± 7. 02 B	28. 17	26. 55 ± 3. 59 b
		CK	4. 67 ± 1. 53 C	2. 20	—
	3	1 ×	180. 33 ± 5. 69 A	90. 33	90. 01 ± 2. 65 a
		5 ×	92. 33 ± 5. 13 B	46. 17	44. 39 ± 2. 65 b
		10 ×	57. 33 ± 3. 06 C	28. 67	26. 31 ± 1. 58 c
		CK	6. 67 ± 1. 53 D	3. 20	—
D7	1	1 ×	76. 00 ± 4. 58 A	38. 00	37. 37 ± 2. 31 a
		5 ×	67. 00 ± 3. 00 B	33. 50	32. 83 ± 1. 52 b
		10 ×	37. 00 ± 2. 65 C	18. 00	17. 17 ± 1. 01 C
		CK	2. 00 ± 1. 00 D	1. 00	—
	2	1 ×	143. 67 ± 6. 03 aA	71. 83	71. 2 ± 3. 08 b
		5 ×	154. 17 ± 3. 5 bA	77. 08	76. 57 ± 1. 79 a
		10 ×	45. 00 ± 3. 61 cB	22. 50	20. 76 ± 1. 84 C
		CK	4. 67 ± 1. 53 dC	2. 20	—
	3	1 ×	174. 33 ± 5. 13 A	87. 17	86. 74 ± 2. 65 a
		5 ×	169. 83 ± 1. 5 A	84. 92	84. 42 ± 0. 78 a
		10 ×	54. 67 ± 2. 52 B	27. 33	24. 93 ± 1. 30 B
		CK	6. 67 ± 1. 53 C	3. 20	—
A1	1	1 ×	86. 33 ± 4. 51 A	43. 17	42. 59 ± 2. 28 aA
		5 ×	61. 67 ± 8. 96 B	30. 83	30. 14 ± 4. 53 bB
		10 ×	45. 33 ± 4. 16 C	22. 67	21. 89 ± 2. 10 cB
		CK	2 ± 1. 00 D	1. 00	—
	2	1 ×	120. 00 ± 7. 00 A	60. 00	59. 1 ± 3. 58 A
		5 ×	70. 33 ± 6. 11 B	35. 17	33. 71 ± 3. 12 B
		10 ×	50. 00 ± 3. 00 C	25. 00	26. 65 ± 4. 51 B
		CK	4. 67 ± 1. 53 D	2. 20	—
	3	1 ×	161. 33 ± 7. 51 A	80. 67	80. 03 ± 3. 88 A
		5 ×	79. 00 ± 3. 61 B	39. 50	37. 5 ± 1. 86 B
		10 ×	60. 33 ± 1. 53 C	30. 17	27. 86 ± 0. 79 C
		CK	6. 67 ± 1. 53 D	3. 20	—

2.4 生防菌株种类鉴定

2.4.1 形态学鉴定 菌株 D1 的菌落为灰绿色,边缘白色。分生孢子球形或近球形,直径(2.5~3.4)  $\mu\text{m}$   $\times$  (2.1~3.2)  $\mu\text{m}$ ,分生孢子梗顶端膨大成球形(图2)。菌株 D7 初形成白色绒毛状菌落,随着培养时间的延长,菌落中心开始逐渐变成墨绿色,反面浅黄绿色。显微观察可见,向上突起的菌丝在球形顶囊上分生出粗糙的孢子梗,孢子梗中长出许多分

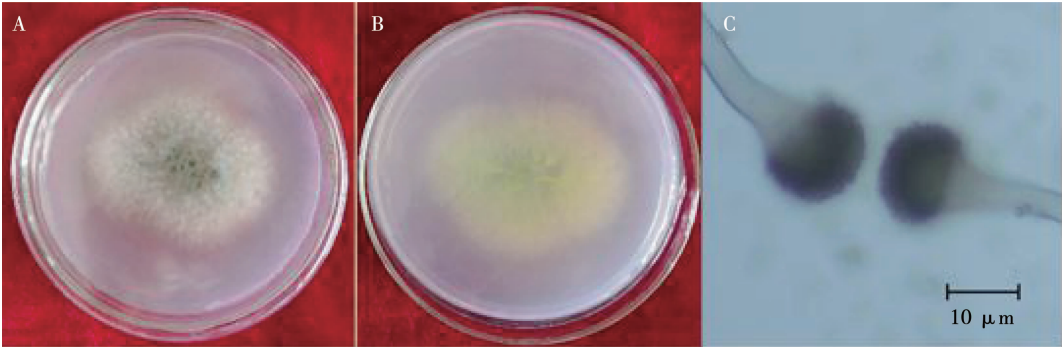
生孢子,顶囊为半球状,分生孢子球形,直径(1.0~2.0)  $\mu\text{m}$   $\times$  (1.0~1.5)  $\mu\text{m}$ (图3)。菌株 A1 的菌落正面黄色至暗绿色,中央有放射状沟纹(图4)。菌落背面奶油色至淡褐色,分生孢子梗顶端产生烧瓶形顶囊,表面着生许多小梗,小梗上产生成串的球形分生孢子,(4.0~6.5)  $\mu\text{m}$   $\times$  (4.5~6.0)  $\mu\text{m}$ ,这3株生防真菌都初步鉴定为曲霉属(*Aspergillus*)真菌。



A: 菌落正面;B:菌落背面;C:分生孢子梗。  
A: Face view of colony; B: Reverse view of colony; C: Conidiophore.

图2 菌株 D1 的培养性状及形态特征

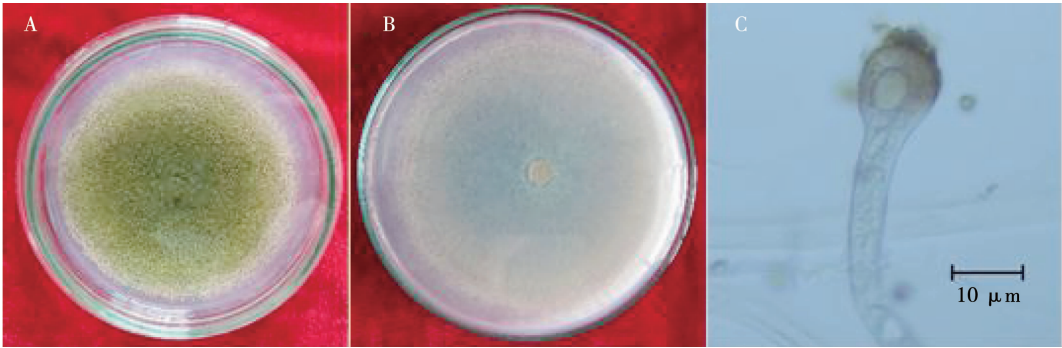
Fig. 2 Culture characterization and morphology of strain D1



A: 菌落正面; B: 菌落背面 C: 分生孢子梗。  
A: Face view of colony; B: Reverse view of colony; C: Conidiophore.

图3 菌株 D7 的培养性状及形态特征

Fig. 3 Culture characterization and morphology of strain D7



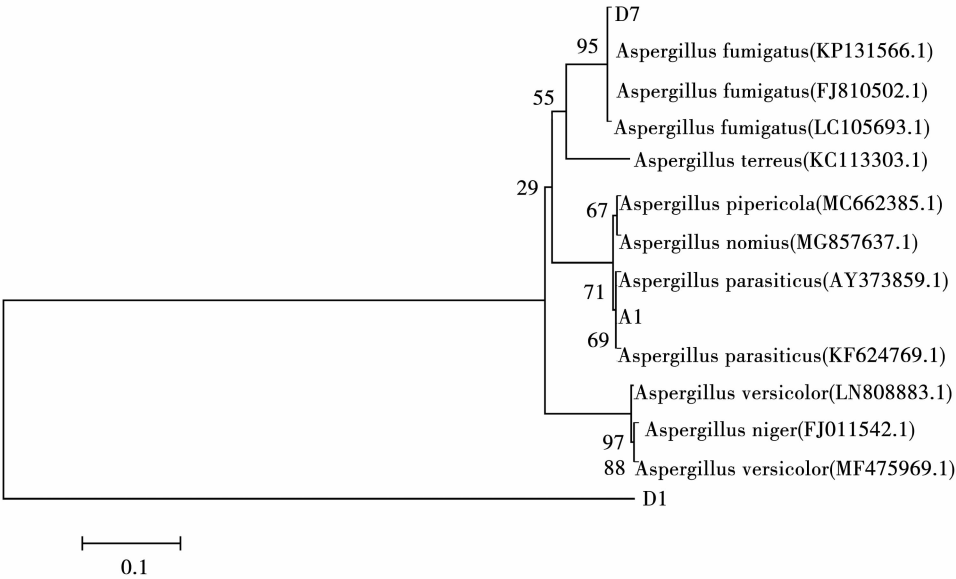
A: 菌落正面; B: 菌落背面 C: 分生孢子梗。  
A: Face view of colony; B: Reverse view of colony; C: Conidiophore.

图4 菌株 A1 的培养性状及形态特征

Fig. 4 Culture characterization and morphology of strain A1

2.4.2 分子生物学鉴定 真菌 ITS 测序结果表明,菌株 D1、D7 和 A1 的 ITS 序列全长分别为 571,599 和 594 bp, GenBank 登录号分别为 MK431430、MK431431 和 MH 937578。经 Blast 分析,菌株 D1、D7 的序列都与曲霉属真菌的 ITS 序列具有很高的相似性,菌株 D7 与 *Aspergillus fumigatus* (序列号为 FJ810502.1) 的 ITS 序列相似性为 99%,且在系统发

育树中与其聚为同一簇群(图 5)。结合形态学特征,鉴定为烟曲霉(*A. fumigatus*)。菌株 D1 与杂色曲霉(*Aspergillus versicolor*) (序列号为 MF475969.1) 的 ITS 序列相似性为 99%,但在系统发育树上并未聚为一支,结合形态学特征,鉴定为曲霉属真菌(*Aspergillus* sp.)。菌株 A1 经鉴定,为寄生曲霉(*A. parasiticus*)。



系统树分支点处的数字为系统树的自展值(1 000次重复);标尺长度代表遗传距离;括号中编号为所用菌株在 GenBank 中的登录号。

The number in each branch point indicates the number of trees from 1 000 bootstrap replications in which the branch occurs; Scale length represented genetic distance; GenBank accession numbers were shown in the parentheses.

图5 菌株 D1、D7 和 A1 的系统发育树

Fig. 5 Phylogenic tree of ITS sequences of strains D1, D7 and A1

3 讨论

在农业生产上,生防菌应用价值取决于菌株对线虫固定能力的强弱<sup>[21]</sup>,因此本试验测定了生防菌株对卵的寄生作用。生防菌 D1、D7 和 A1 均对大豆胞囊线虫的卵具有良好的寄生性,侵染 7 d 后,寄生率超过 55%,且随着处理时间的延长,3 株生防菌对卵的寄生率逐渐增大。这与坚晋卓等<sup>[22]</sup>的研究结果基本一致。

试验结果显示,3 株生防菌除了对大豆胞囊线虫卵有寄生作用外,对卵的孵化有抑制作用,对 2 龄幼虫也具有一定杀线活性。其中,D7 的孢子悬浮液对卵的寄生率及 1 × 发酵液对卵孵化抑制率均最高。生防菌 D1 1 × 发酵液对 J2 致死率最高,但对卵的寄生率较低。生防菌 A1 对卵的寄生率处于中等水平,其 1 × 发酵液处理后,卵孵化抑制率和 J2 致死率均较低。由于生防菌种类不同,对线虫的作用方式不同,作用效果也不同,这与其它植物线虫的

生防菌类似<sup>[23]</sup>。李婷等<sup>[18]</sup>研究表明黑曲霉 10 × 发酵液对大豆胞囊卵孵化抑制率较高,但对 J2 致死率较低。梁晨等<sup>[24]</sup>发现生防真菌 S01324 对燕麦胞囊线虫有很强的寄生能力,其发酵原液对 J2 有很高的致死活性。

近年来发现曲霉属(*Aspergillus*)真菌能产生多种具有生物活性的化合物,许多曲霉菌的代谢物对植物寄生线虫具有良好的防效,王帅等<sup>[25]</sup>发现聚多曲霉 Snef210 的发酵液对南方根结线虫 J2 有较强的毒性作用,也能显著抑制南方根结线虫卵孵化。张辉明等<sup>[26]</sup>发现黑曲霉属真菌 HN214 与曲霉属真菌 HN132 的 4 × 稀释液,对禾谷胞囊线虫的校正死亡率分别为 99.66% 和 96.56%。本试验中,3 株曲霉发酵液对 J2 都有一定的致死作用,随着菌株发酵液稀释倍数的增加,J2 死亡率相应降低。D1、D7 和 A1 的 1 × 发酵液处理 3 d 后,二龄幼虫校正死亡率分别为 90.01%、86.74% 和 80.03%。因此,这 3 株生防菌具有较好的开发潜力。但对于生防菌在

植物根际的定殖能力、田间的防治效果、代谢物中的杀线虫活性物质成分、杀线机理以及对生态环境的影响有待进一步深入的研究。

4 结 论

本研究以 D1、D7 和 A1 为候选菌株,测定了其孢子悬浮液和发酵液对大豆胞囊线虫卵的寄生作用、卵孵化的抑制作用和二龄幼虫的致死作用,并对其种类进行了鉴定。结果表明:D1、D7 和 A1 分别为曲霉属 (*Aspergillus* sp.)、烟曲霉 (*A. fumigatus*) 和寄生曲霉 (*A. parasiticus*)。这 3 株生防菌对卵有较强的寄生作用,处理 12 d 后,A1 孢子悬浮液对大豆胞囊线虫卵寄生率最高,为 81.33%。3 株菌发酵液均对大豆胞囊线虫的卵和二龄幼虫具有较强的生物活性,其中 D1 的 1×发酵液对二龄幼虫作用最为显著,校正死亡率高达 90.01%。D7 的 1×发酵液对卵孵化的抑制率最强,为 77.78%。3 株菌对线虫的作用方式有所不同,可能与各菌株在卵表面的定殖能力、代谢物的类型和浓度有关,它们对线虫的作用机理还需进一步研究。

参考文献

[1] Wrather A, Koenning S. Effects of diseases on soybean yields in the United States 1996 to 2007[J]. Plant Health Progress, 2009, 38 ( April ) [ 2019-07-20 ]. DOI: 10. 1094/PHP-2009-0401-01-RS.

[2] 王连铮. 大豆研究 50 年[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010. ( Wang L Z. 50 years of Soybean Research [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2010. )

[3] Jones J T, Haegeman A, Danchin E G, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology[J]. Molecular Plant Pathology, 2013, 14(9): 946-961.

[4] 刘世名,彭德良. 大豆的胞囊线虫抗性研究新进展[J]. 中国科学:生命科学, 2016, 46(5): 535. ( Liu S M, Peng D L. Recent progresses on soybean resistance to Soybean Cyst Nematode [J]. Science China: Life Science, 2016, 46 ( 5 ): 535. )

[5] 龙海波,陈文,裴月令,等. 贵州省大豆胞囊线虫的发生与分布[J]. 植物保护, 2017(6): 177-180. ( Long H B, Chen W, Pei Y L, et al. Occurrence and distribution of *Heterodera glycines* in Guizhou province[J]. Plant Protection, 2017 ( 6 ): 177-180. )

[6] 宋美静,朱晓峰,王东,等. 我国大豆主产区大豆胞囊线虫群体分布及致病性分化研究[J]. 大豆科学, 2016, 35(4): 630-636. ( Song M J, Zhu X F, W D, et al. Population distribution and pathogenicity differentiation of Soybean Cyst Nematode in main soybean production areas of China[J]. Soybean Science, 2016, 35(4): 630-636. )

[7] 李玥,王兴荣,张彦军,等. 13 个大豆品种在甘肃不同生态区的适应性分析[J]. 甘肃农业科技, 2018(5): 19-23. ( Li Y, Wang X R, Zhang Y J, et al. Analysis on adaptability of 13 soy-

bean cultivars in different ecological regions in Gansu[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2018(5): 19-23. )

[8] 罗宁,李惠霞,郭静,等. 甘肃省陇东南大豆胞囊线虫的发生与多样性[C]//中国植物病理学会 2018 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社,2018. ( Luo N, Li H X, Guo J, et al. Occurrence and diversity of Soybean Cyst Nematode in southeast Gansu province[C]// Proceedings of the 2018 academic annual meeting of the chinese plant pathology society. Beijing: China Science and Technology Press, 2018 )

[9] 周长军. 大豆胞囊线虫病的抗性机制研究[J]. 黑龙江农业科学, 2014(2): 139-141. ( Zhou C J. Study on the resistance mechanism of Soybean Cyst Nematode[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2014(2): 139-141. )

[10] 尉文彬,武玉环,黄建明,等. 大豆胞囊线虫生物防治研究进展[J]. 河北农业科学, 2013(5): 56-58. ( Wei W B, Wu Y H, Huang J M, et al. Research progress on biological control of *Heterodera glycines*[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2013 ( 5 ): 56-58. )

[11] 成飞雪,张德咏,刘勇,等. 生防细菌 YC-10 的杀线虫活性及其鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(2): 203-209. ( Cheng F X, Zhang D Y, Liu Y, et al. Nematicidal activities and identification of a biocontrol bacterium YC-10 strain[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 41(2): 203-209. )

[12] 史凤,武云鹏,张瑞敬,等. 野生大豆内生细菌多样性及其杀线虫活性分析[J]. 植物保护学报, 2013, 40(4): 327-332. ( Shi F, Wu Y P, Zhang R J, et al. Diversity and nematicidal activity of the endophytic bacteria in the wild soybean *Glycine soja* [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2013, 40(4): 327-332. )

[13] Ali N I, Siddiqui I A, Shaukat S S, et al. Nematicidal activity of some strains of *Pseudomonas* spp[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(8): 1051-1058.

[14] Owens L D, Thompson J F, Fennessey P V. Dihydrorhizobitoxine, a new ether amino-acid from *Rhizobium japonicum*[J]. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1972 ( 12 ): 715.

[15] 尹丽娜,段玉玺,王媛媛,等. 拮抗大豆胞囊线虫根瘤菌的研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(2): 276-279. ( Yin L N, Duan Y X, Wang Y Y, et al. Screening of rhizobia against soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2010, 29(2): 276-279. )

[16] 陈立杰,陈井生,董健,等. 放线菌次生代谢产物对不同来源大豆胞囊线虫 J2 毒性的研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(4): 637-640. ( Chen L J, Chen J S, Dong J, et al. Toxicity of secondary metabolites of Actinomycetes on *Heterodera glycines* J2[J]. Soybean Science, 2008, 27(4): 637-640. )

[17] 陈立杰,陈井生,郑雅楠,等. 放线菌 Snea253 的鉴定及对大豆胞囊线虫的抑制作用[J]. 中国生物防治学报, 2009, 25(1): 66-69. ( Chen L J, Chen J S, Zheng Y N, et al. Identification of *Actinomycetes* strain Snea253 and its activity against Soybean Cyst Nematode[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2009, 25 ( 1 ): 66-69. )

[18] 李婷,黄文坤,彭德良,等. 3 株生防真菌发酵液对大豆胞囊线虫的防治效果[J]. 华中农业大学学报, 2017(1): 42-46. ( Li T, Huang W K, Peng D L, et al. Control effect of fermentation

broth of three biocontrol fungi on Soybean Cyst Nematode [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2017(1):42-46. )

[19] Li J, Zou C, Xu J, et al. Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: Basis for biological control of plant-parasitic nematodes[J]. Annual Review of Phytopathology, 2015, 53: 67-95.

[20] 刘子卿,万宜乐,郝玉娥. 线虫内寄生真菌资源及生防应用研究进展[J]. 应用生态学报, 2019: 1-12. (Liu Z Q, Wan Y L, Hao Y E. Progress on resource and biological control of endoparasitic fungi [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019: 1-12. )

[21] 坚晋卓,徐鹏刚,张虎忠,等. 真菌 AT9 对禾谷孢囊线虫的寄生作用及种类鉴定[J]. 甘肃农业大学学报, 2016, 51(5): 71-77. (Jian J Z, Xu P G, Zhang H Z, et al. Parasitic effects of strain AT9 on *Heterodera avenae* and species identification [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2016, 51(5): 71-77. )

[22] 苏莹珍,许传坤,莫明和,等. 普可尼亚厚垣菌生物防治应用价值的室内初步评估[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2004(1): 85-89. (Su Y Z, Xu C K, Mo M H, et al. Laboratory preliminary assessment of the application value of biological control of *Pochonia chlamydosporium*[J]. Journal of Nanjing Normal University (Natural Science), 2004(1): 85-89. )

[23] 许艳丽,鲁建聪,宋洁,等. 混合寄生真菌发酵液对大豆胞囊线虫的毒力和防效[J]. 土壤与作物, 2018, 7(2): 248-256. (Xu Y L, Lu J C, Song J, et al. Toxicity and control efficacy of mixed parasitic fungal fermentation filtrates against soybean cyst nematode[J]. Soils and Crops, 2018, 7(2): 248-256. )

[24] 梁晨,黄晨,宋雯雯,等. 菌株 S01324 对燕麦孢囊线虫的杀线活性及其种类鉴定[J]. 植物病理学报, 2018, 48(6): 838-846. (Liang C, Huang C, Song W W, et al. Nematicidal activity of strain S01324 on *Heterodera avenae* and its species identification [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2018, 48(6): 838-846. )

[25] 王帅,郭龙玉,朱晓峰,等. 聚多曲霉 Snej210 对南方根结线虫毒性的研究[J]. 植物保护, 2018, 44(6):55-60. (Wang S, Guo L Y, Zhu X F, et al. Toxicity of fungus Snej210 against *Meloidogyne incognita* in tomato[J]. Plant Protection, 2018, 44(6):55-60. )

[26] 张辉民,黄文坤,孔令安,等. 禾谷孢囊线虫生防真菌的分离鉴定及初步应用[J]. 华北农学报, 2013, 28(4): 190-194. (Zhang H M, Huang W K, Kong L A, et al. Identification and preliminary application of biocontrol fungi from Cereal Cyst Nematode [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2013, 28(4): 190-194. )

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

欢迎订阅 2020 年《黑龙江农业科学》

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 25.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 25.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010~2018 年合订本每册定价 180.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部  
邮编:150086  
电话:0451-86668373  
唯一投稿网址:<http://hljnykx.haasep.cn>

