

真菌发酵滤液对大豆胞囊线虫二龄幼虫趋性的影响

鲁建聪^{1,2}, 宋洁^{1,2}, 许艳丽²

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态院重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:采用滤纸片法和直接法,通过考察大豆胞囊线虫二龄幼虫(J2)在WA平板上不同区域内的分布率,研究淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)、镰孢菌属(*Fusarium* spp.)和厚垣轮枝菌(*Pochonia chlamydosporium*)的12个不同菌株代谢物滤液对大豆胞囊线虫J2趋性的影响。滤纸片法结果显示,WA培养基上0~1 cm区间内,大豆胞囊线虫二龄幼虫(J2)在12个寄生真菌菌株代谢物滤液中分布率均较低,F-9-3、V-2、F-5和V-1菌株代谢物滤液中的分布率分别为17.3%、17.3%、18.0%和18.3%,显著低于对照水的分布率26.0%,也低于J2在根系分泌物中的分布率32.3%($P<0.05$)。直接法结果与滤纸片法基本一致,大豆幼根蘸取寄生真菌代谢物滤液后,线虫幼虫在0~1 cm区间内分布率范围为18.0%~31.3%,显著低于幼根蘸清水对照($P<0.05$),说明大豆胞囊线虫J2对12个寄生真菌菌株代谢物滤液存在一定的趋避性。

关键词:大豆胞囊线虫二龄幼虫;寄生真菌;趋性;发酵滤液;根浸提液
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.04.0671

Effects of Parasitic Fungal Fermentation Filtrate on Chemotaxis of Soybean Cyst Nematode Juvenile

LU Jian-cong^{1,2}, SONG Jie^{1,2}, XU Yan-li²

(1. College of Agronomy, Northeast Agriculture University, Harbin 150040, China; 2. Key Laboratory of Mollisols Agroecology/Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

Abstract: The soybean cyst nematode (SCN) is one of the serious diseases in soybean production. With the current emphasis on environmental pollution and the demand for pollution-free agricultural products, nematodes biological control research received more attention. The effect of 12 parasitic fungal isolates filtrates which were made by *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium* spp. and *Pochonia chlamydosporium* was tested on SCN. It was investigated by investigated the difference of J2 distribution rate on WA. The methods of filtering paper and direct test were conducted in our laboratory. Both methods showed that SCN J2 were repelled by 12 parasitic fungal isolates filtrates in different degrees. The results of filtering paper method showed that the distribution rate of J2 with treatments of 12 parasitic fungal isolates filtrates was low on 0-1 cm area. The distribution rates of soybean cyst nematode juvenile (J2) with the treatment of F-9-3, V-2, F-5 and V-1 isolates filtrates were 17.3%, 17.3%, 18.0% and 18.3% in the 0-1 cm area, respectively. It was significantly lower than control in water and root diffusate by 26.0% and 32.3% ($P<0.05$). The same result was indicated in direct test. The distribution rates of soybean cyst nematode Juvenile (J2) were between 18.0%-31.3%, in 0-1 cm area with the treatments of soybean root dipped with 12 parasitic fungal fermentation filtrates. It was significantly lower than the control. It was proved that soybean cyst nematode juveniles (J2) were repelled by 12 parasitic fungal fermentation filtrates.

Keywords: Soybean cyst nematode juvenile (J2); Parasitic fungal; Chemotaxis; Fermentation filtrate; Soybean root diffusate

大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)病是危害大豆的重要病害。因其病原大豆胞囊线虫分布广、危害重、传播途径多且休眠体(胞囊)存活时间长,而成为一种极难防治的土传病害^[1]。目前,对大豆胞囊线虫病的防治主要依靠轮作、抗病育种、化学防治和生物防治等措施。生物防治作为一种高效环境友好型防治方法受到研究者的关注。

寄生真菌可寄生大豆胞囊线虫各个虫态,并在线虫生长发育和代谢过程中产生多种具有拮抗性、

竞争性的次级代谢产物或酶类物质,通过直接或间接作用,抑制或杀死大豆胞囊线虫^[2]。其中研究较多的真菌包括:厚垣轮枝菌(又称厚孢普可尼亚菌 *Pochonia chlamydosporium*)、淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)、蜡蚧轮枝菌(*Verticillium. lecanii*)、被毛孢(*Hirsutella rhossiliensis*)和镰孢菌(*Fusarium* spp.)等^[3]。厚垣轮枝菌易培养而且能够产生抗逆性很强的厚垣孢子,易于在土壤中存活和对线虫具有高寄生率^[4],范圣长等^[5]对黑龙江、辽宁、山东和山西

收稿日期:2014-11-24
基金项目:国家自然科学基金(39071900)。
第一作者简介:鲁建聪(1989-),女,硕士,主要从事大豆胞囊线虫防治研究。E-mail:cong1048063166@163.com。
通讯作者:许艳丽(1958-),女,研究员,博导,主要从事植物线虫病害、作物病虫害生物生态控制和土壤微生物生态研究。E-mail: xyll@iga.ac.cn。

等地区的大豆田土进行真菌分离,并筛选出了6株寄生能力较强的真菌,其中厚垣轮枝菌对胞囊的寄生率达到100%。赵晓辉等^[6]分离到6株厚垣轮枝菌对大豆胞囊线虫的二龄幼虫(J2)均表现出强烈的抑制作用。除活菌外,寄生菌代谢产物也有很好的抑制线虫效果,孙漫红等^[7]报道了淡紫拟青霉 M-14 发酵滤液对大豆胞囊线虫卵孵化具有强烈抑制作用,其二龄幼虫在滤液原液及1倍稀释液中72 h后死亡率分别达到96.8%和90.5%,对大豆胞囊线虫病的防治产生较好效果。赵晓辉等^[8]研究发现禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)和尖孢镰孢芬芳变种(*F. oxysporum* var. *redolens*)对大豆胞囊线虫的卵孵化和J2具有明显抑制作用。

钱洪利等^[9]研究了明尼苏达被毛孢代谢物对大豆胞囊线虫二龄幼虫的影响,发现明尼苏达被毛孢1~10代谢物可显著降低J2对大豆根的趋向性,然而,不同菌株对其趋性的研究却很少,因此,本研究在实验室条件下探讨了大豆胞囊线虫J2对12株寄生真菌代谢物滤液的趋性,为利用生防寄生真菌防治大豆胞囊线虫病的应用提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 寄生真菌菌株 淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)4个菌株:P-1、P-V-7-2、P-40-4、P-E-13-2;镰孢属(*Fusarium* spp.)4个菌株:F-1、F-5、F-9-3、F-V-1-4;厚垣轮枝菌(*Pochonia chlamydosporium*)4个菌株:V-25-3、V-1、V-2、V-21-2,以上菌株均为本实验室从大豆胞囊线虫胞囊中分离获得。

1.1.2 线虫 大豆胞囊线虫3号生理小种,在中国地理与农业生态研究所大豆试验田分离获得。

1.1.3 大豆品种 以合丰25为大豆品种。

1.1.4 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:土豆200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,蒸馏水1 000 mL。

马铃薯葡萄糖(PDB)培养液:土豆200 g,葡萄糖20 g,蒸馏水1 000 mL。

水琼脂(WA)培养基:琼脂20 g,蒸馏水1 000 mL。

1.2 方法

1.2.1 菌株活化 将供试菌株挑取菌丝在PDA培养基上活化。

1.2.2 寄生真菌代谢物制备 将活化7 d后的菌株打取直径为4 mm的菌块15块,接种于100 mL PDB培养液中,置于摇床上于30℃,180 r·min⁻¹振荡24 h,作为种子液,取4 mL种子液接种于120 mL

的PDB培养液中,置于摇床上于30℃,180 r·min⁻¹振荡5 d。在4℃下10 000 r·min⁻¹离心20 min,上清液用细菌过滤器过滤后为代谢产物发酵原液。

1.2.3 大豆胞囊线虫胞囊分离 在大豆生长期,取根围5~20 cm耕层土置于1 000 mL的烧杯中,加清水搅拌,浸泡1 h后过20、80目套筛,将80目筛上的残留物用63%蔗糖收集于50 mL的离心管中,2 500 r·min⁻¹离心5 min,上清液收集于80目筛上用清水反复冲洗,洗去残留蔗糖后转移到装有划好分区滤纸的漏斗中,待水滤干后将滤纸置于体式显微镜下,挑取大小均一且饱满的大豆胞囊线虫胞囊,置于4℃冰箱保存备用。

1.2.4 大豆胞囊线虫卵悬液制备 将挑取的成熟饱满大豆胞囊线虫胞囊放入200目、500目的套筛中研磨,收集500目筛上卵,用0.5% NaClO溶液消毒3 min,灭菌水反复冲洗后,收集于50 mL离心管中,将其浓度调整为5 000个·mL⁻¹。置于4℃冰箱中保存备用。

1.2.5 大豆胞囊线虫J2制备 将制备的大豆胞囊线虫卵悬液,置于420目筛网布上,放入装有0.4 mol·L⁻¹ ZnCl₂溶液的24孔细胞培养板中,在培养箱中25℃下避光孵化2~3 d,收集新孵化出的J2,浓度为10 000条·mL⁻¹,4℃冰箱中保存备用。

1.2.6 大豆根浸提液制备 大豆种子用3% NaClO溶液消毒3 min,在无菌土温室中盆栽种植,出苗后21 d,取出豆根,剪取根部,流水冲洗去除根上泥土,将根放在无菌水中浸泡24 h,收取根浸提液。

另用无菌蛭石培育大豆苗,培养箱中25℃避光生长7 d,取出豆根,剪取根部,流水冲洗去除根上蛭石,用无菌水冲洗备用。

1.2.7 寄生真菌代谢物对J2分布影响测定 采用两种方法模拟土壤中大豆根附近的J2寻找寄主过程,滤纸片法(间接法)是采用根系分泌物模拟大豆环境,直接法是采用大豆幼根模拟大豆环境。

(1)滤纸片法:参照钱洪利等^[9]的方法,取灭菌培养皿(直径10 cm)(图1),以皿底中央为圆心,划直径0.5 cm区域,培养皿中倒入WA培养基待凝固后,滴加20 μL(约100条)新孵化的J2悬浮液;此区域外每隔1 cm半径划定测量区间,共三个区间;在三个区间外放置蘸有不同寄生真菌代谢物和对照的滤纸片圆环(半径0.5 cm),置于WA平板培养基上,24 h后检测J2在不同区间范围内的分布,计数。计算J2在不同区域的分布率。

线虫分布率(%) = 各区域分部线虫数/供试线虫数 × 100

处理液边缘内侧记为0点。试验设2个对照:

大豆根浸提液和无菌水,每个处理 4 次重复。

(2)直接法:参照钱洪利等^[9]的方法。将生长 7 d 的大豆幼根蘸寄生真菌代谢物代替滤纸片放置在三区间外围,其余同上,测定大豆胞囊线虫 J2 在平板不同区间内的分布,以大豆幼根蘸无菌水为对照。每个处理 4 次重复。

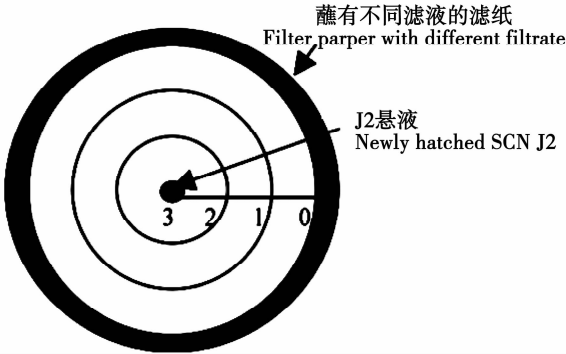


图 1 WA 平板检测 J2 趋性区域示意图
Fig. 1 Diagram for testing SCN J2 attraction on WA plate

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 和 Spass 17.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 滤纸片法测定不同寄生真菌代谢物对大豆胞囊线虫的趋性影响

在寄生真菌代谢物和根浸提液处理 24 h 后,J2 在 WA 平板上分布的结果显示与水 and 根浸提液相比较大豆胞囊线虫 J2 均对 12 个寄生真菌菌株代谢物表现出一定的趋避性(表 1)。在根浸提液作用下 0~1 cm 区间内 J2 的分布率为 32.3%,显著高于无菌水对照,说明根浸提液对大豆胞囊线虫具有一定的趋向性,而 WA 平板上在靠近菌代谢物滤液 0~1 cm 区间内,J2 分布显著减少($P<0.05$)。J2 在 12 种寄生真菌菌株代谢物滤液中分布率范围为 17.3%~21.7%,均低于无菌水和根浸提液。其中在镰孢菌菌株 F-9-3 和 F-5、厚垣轮枝菌菌株 V-2 和 V-1 代谢物滤液中,0~1 cm 区间分布率分别为 17.3%、17.3%、18.0% 和 18.3%,显著低于对照无菌水的分布率 26.0% ($P<0.05$),也低于在根浸提液中的分布率。并且在 0~1 cm 区域内,大豆胞囊线虫 J2 在镰孢菌属、淡紫拟青霉菌、厚垣轮枝菌不同菌株代谢物中分布率范围分别是 17.3%~21.3%、20.7%~21.7%、17.3%~18.7%,其中厚垣轮枝菌的 4 个菌株的分布率最低,但是各菌株之间差异不显著。说明大豆胞囊线虫 J2 对 12 个寄生真菌菌株代谢物均具有明显的趋避性。

表 1 滤纸片法中 J2 线虫在 WA 培养基上分布率

Table 1 Distribution rates of SCN J2 on WA plate in filtering paper method

滤液 Filtrate	J2 线虫在不同区域分布率 Distribution rates of SCN J2 on different area/%		
	0~1 cm	1~2 cm	2~3 cm
F-1	20.2±0.6 c	24.5±5.5 ab	55.3±5.7 ab
F-9-3	17.3±1.5 c	21.0±1.0 bc	61.7±3.0 a
F-V-1-4	21.3±4.0 bc	21.0±1.0 bc	57.7±5.5 ab
F-5	18.0±2.6 c	21.7±1.2 bc	60.3±4.2 a
P-V-7-2	21.7±3.8 bc	19.3±1.5 c	59.0±5.3 a
P-E-13-2	20.7±5.5 c	21.0±1.7 bc	58.3±6.7 ab
P-40-4	20.7±1.5 c	22.3±3.1 bc	56.0±4.6 ab
P-1	20.7±0.6 c	18.3±5.0 c	61.0±5.0 a
V-1	18.3±1.2 c	18.3±2.1 c	63.4±3.2 a
V-25-3	18.7±3.2 c	21.3±2.5 bc	60.0±6.1 a
V-2	17.3±2.3 c	19.4±1.2 bc	62.3±3.1 a
V-21-2	18.7±2.1 c	20.0±0.6 bc	61.3±2.1 a
根浸提液 Soybean root diffusate	32.3±2.1 a	27.7±4.2 a	40.0±3.6 c
无菌水 Sterile water	26.0±1.7 b	24.0±1.0 ab	50.0±2.6 b

数字后字母为 Duncan's 新复极差测验结果;同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Means in column followed by the same letter are not significantly difference according to the Duncan's multiple range test. The same below.

2.2 直接法测定不同寄生真菌代谢物对大豆胞囊线虫的趋性影响

将蘸有不同寄生真菌菌株代谢物作用下的大豆幼根同大豆胞囊线虫二龄幼虫作用 24 h 后测定 J2 在 WA 平板上的分布率,结果表明寄生真菌代谢物处理的大豆幼根对线虫幼虫在 0~1 cm 区间的分布与无菌水处理的幼根差异显著,代谢物处理能显著降低大豆胞囊线虫对大豆根的趋向性(表 2)。线虫幼虫在 0~1 cm 区间内分布率范围为 18.0%~31.3%,均显著低于幼根蘸无菌水对照($P<0.05$),其中镰孢菌菌株 F-V-1-4 在 0~1 cm 区间 J2 分布率最低,为 18%,淡紫拟青霉 P-1 菌株与其它菌株代谢物相比最高,为 22.7%,但是不同菌株之间 J2 分布率差异不显著($P<0.05$),且仍然显著低于幼根蘸无菌水对照的分布率 31.3%。说明大豆胞囊线虫 J2 对 12 种寄生真菌菌株代谢物滤液都产生了一定的趋避作用,在一定程度上影响了大豆胞囊线虫对大豆幼根的亲和力。

表2 直接法中 J2 线虫在 WA 培养基上分布率
Table 2 Distribution rates of SCN J2 on
WA plate in direct method

滤液 Filtrate	J2 线虫在不同区域分布率 Distribution rates of SCN J2 on different area/%		
	0 ~ 1 cm	1 ~ 2 cm	2 ~ 3 cm
F-1	20.6 ± 2.1 b	21.1 ± 3.6 bc	58.3 ± 5.7 ab
F-9-3	19.0 ± 1.0 b	20.7 ± 0.6 bc	60.3 ± 1.5 ab
F-V-1-4	18.0 ± 1.7 b	19.7 ± 0.6 c	62.3 ± 2.5 a
F-5	21.7 ± 1.5 b	20.0 ± 0.6 bc	58.3 ± 2.5 abc
P-V-7-2	20.4 ± 4.2 b	19.3 ± 0.6 c	60.3 ± 4.0 ab
P-E-13-2	20.0 ± 4.4 b	18.3 ± 0.6 c	61.7 ± 5.2 ab
P-40-4	21.0 ± 0 b	23.3 ± 3.2 b	55.7 ± 2.6 bc
P-1	22.7 ± 2.9 b	22.3 ± 1.5 bc	55.0 ± 2.5 c
V-1	19.3 ± 0.6 b	20.7 ± 0.6 bc	60 ± 0 ab
V-25-3	19.7 ± 1.2 b	20.3 ± 1.2 bc	60.0 ± 0.6 ab
V-2	20.0 ± 0.6 b	21.7 ± 1.2 bc	58.3 ± 0.6 abc
V-21-2	19.7 ± 0.6 b	22.0 ± 0 bc	58.3 ± 0.6 abc
无菌水 Sterile water	31.3 ± 1.5 a	29.0 ± 1.0 a	40.7 ± 2.1 c

3 结论与讨论

大豆根浸提液、寄生真菌代谢物对大豆胞囊线虫二龄幼虫的活动有重要影响。大豆胞囊线虫与其寄主植物存在一定的亲和关系(即趋向性),表现为幼虫在靠近根浸提液的区域内分布率相对较高,这可能是由于根浸提液作用下线虫识别、运动的结果^[10-11]。本研究中水、根浸提液、淡紫拟青霉(*P. lilacinus*)、厚垣轮枝菌(*V. chlamydosporium*)和镰孢菌属(*Fusarium* spp.)不同菌株发酵滤液与大豆胞囊线虫 J2 作用后,水各区间内分布率较为平均,对 J2 基本没有作用,而根浸提液对 J2 具有趋向性,靠近发酵液的位置 J2 分布率与根系分泌物和水相比显著降低,说明 J2 对 12 个寄生菌菌株产生了一定的趋避性。这可能是由于 12 种寄生真菌菌株发酵滤液影响线虫与大豆根系的亲和关系,在一定程度上阻碍了线虫对豆根的侵染。或者是由于寄生真菌代谢物产生的次生代谢物在一定程度上破坏了线虫和大豆根系的亲和性,降低了线虫对根系的寄生作用^[12]。

目前关于生防真菌代谢物对大豆胞囊线虫的作用机制问题尚不明确,只有产生酶类物质、毒素以及其它对线虫有毒害的次生代谢物质的报道^[13],表明生防菌代谢物中存在具有抑制线虫或杀死线

虫的活性物质。在厚垣轮枝菌的液体培养菌丝中可以提取出丝氨酸蛋白酶(serine protease)和枯草杆菌蛋白酶(VCP1),有关试验表明这些酶是线虫侵染过程中的主要抑制酶类^[14]。淡紫拟青霉(*P. lilacinus*)能够产生乙酸,它是一种重要的具有选择性杀线虫活性的代谢物质,可以影响多种植物寄生线虫的卵及幼虫发育,致使线虫胚胎产生气泡,停止发育或畸形,对幼虫具有麻痹致死作用^[15]。

然而,目前对大豆胞囊线虫的研究多集中在实验室条件下研究,应用于田间对大豆胞囊线虫是否具有同样的作用仍然是目前有待解决的难题^[16]。利用生防菌活体本身防治大豆胞囊线虫病等土传病害能否成功,关键在于其能否在植物根部定殖。植物依赖生存的土壤是一个非常复杂的生态系统,生防寄生菌株势必要同其它根际微生物竞争才能生存并定殖。此外,人为加入生防菌株是否会对土壤生态系统造成不良的影响,光照、温度、水分和 pH 等在外环境因素对生防菌株的活性影响,也有待进一步研究。

致谢:感谢赵晓辉博士对试验所给予的帮助,其分离鉴定和保存的大豆胞囊线虫生防寄生真菌为试验顺利进行奠定了基础。

参考文献

[1] 董金皋. 农业植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. (Dong J G. Agricultural plant pathplogy[M]. Being;China Agriculture Press, 2001.)

[2] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 中国农业出版社, 2000:281-294. (Liu W Z. Plant pathogenic nematodes[M]. China Agriculture Press, 2000:281-294.)

[3] 陈立杰, 段玉玺, 范圣长, 等. 大豆胞囊线虫病的生防因子研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)2005, 33(S):190-194. (Chen L J, Duan Y X, Fan S C, et al. Advances in antagonists of soybean cyst nematode[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2005, 33(S):190-194.)

[4] Kerry B R. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control control of plant-parasitic nematodes[J]. Annual of Phytopathplogy, 2000,38:423-432.

[5] 范圣长, 段玉玺, 陈立杰. 大豆胞囊线虫胞囊内寄生真菌研究[J]. 大豆科学,2004,23(1):71-74. (Fan S C, Duan Y X, Chen L J. The research on the cyst entoparasitic fungi of soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2004,23(1):71-74.)

[6] 赵晓晖, 许艳丽. 厚垣轮枝菌发酵液对大豆胞囊线虫的抑制作用[J]. 大豆科技,2011(2):19-25. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Verticillium chlamydosporium* fermented filtrates on soybean cyst nematode [J]. Soybean Science and Technology, 2011(2):19-25.)

(下转第 678 页)

才有利于大量的后代材料在田间选育^[11-12]。

参考文献

[1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000: 285-288. (Liu W Z. 2000. Plant pathogen nematology [M]. Beijing:China Agriculture Press, 2000;285-288.)

[2] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 1995. (Liu W Z. Research techniques of plant nematology [M]. Shenyang:Liaoning Science and Technology Press,1995.)

[3] 陈井生,李肖白,李泽宇,等. 大豆胞囊线虫生理分化与致病性变异研究进展[J]. 中国农学通报,2010,26(12):261-265. (Chen J S,Li X B,Li Z Y,et al. Research progress of soybean cyst nematode physiological differentiation and pathogenic differentiation[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(12): 261-265.)

[4] Riggs R D, Schmitt D P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1988; 20:392-395.

[5] Niblack T L, Arelli P R, Noel G R, et al. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines* [J]. Journal of Nematology. 2002,34:279-288.

[6] Riggs R D. Race of soybean cyst nematode in People's Republic of China[J]. Journal of Nematology,1985,17(4):511.

[7] Wang D, Zhu X F, Wang Y Y, et al. A reassessment of virulence phenotypes of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in China with HG typing method [J]. Plant Disease, 2014, 98 (5):702.

[8] 田中艳,高国金,周长军,等. 大豆胞囊线虫生理小种变异研究[J]. 大豆科学, 2007; 26(2):290-292. (Tian Z Y,Gao G J, Zhou C J,et al. Study on the variation of soybean cyst nemayode [J]. Soybean Science, 2007, 26(2):290-292.)

[9] Zheng J W, Li Y H, and Chen S Y. Characterization of the virulence phenotypes of *Heterodera glycines* in Minnesota [J]. Journal of Nematology, 2006, 38(3):383-390.

[10] 李泽宇,李肖白,陈井生,等. 大豆品种(系)抗大豆胞囊线虫 14 号生理小种的抗病鉴定研究[J]. 大豆科学, 2014, 33(3): 383-390. (Li Z Y,Li X B, Chen J S,et al. Identification of soybean varietirs for resistance to soybean cyst nemayode races 14 [J]. Soybean Science,2014, 33(3):383-390.)

[11] 刘维志. 关于加速抗胞囊线虫病大豆品种选育问题的商榷 [J]. 大豆科学, 1986, 5(1):77-82. (Liu W Z. Adiscussion for speeding up breeding soybean cultivars resistant to the soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 1986, 5(1):77-82.)

[12] Zheng J W, Chen S Y. Estimation of virulence type and level of soybean cyst nematode field populations in response to resistant cultivars [J]. Journal of Entomology and Nematology, 2011, 3 (3):37-43.

(上接第 674 页)

[7] 孙漫红,刘杏忠. 淡紫拟青霉发酵滤液对大豆胞囊线虫趋化性的影响[J]. 植物病理学报, 2004,34(4):376-379. (Sun M H, Liu X Z. Effects of *Paecilomyces lilacinus* M-14 fermentation filtrate on the affinity between soybean cyst nematode and soybean root[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(4): 376-379.)

[8] 赵晓晖,许艳丽. 镰刀菌发酵液对大豆胞囊线虫的抑制作用 [J]. 大豆科学,2011,30(3):468-470. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Fusarium*. spp fermented filtrates on soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2011,30(3):468-470.)

[9] 钱洪利,许艳丽,孙玉秋,等. 明尼苏达被毛孢代谢物对大豆胞囊线虫二龄幼虫的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(1):118-121. (Qian H L, Xu Y L, Sun Y Q, et al. Effects of *Hirsutalla Minnesotensis* metabolites on soybean cyst nematode juvenile[J]. Soybean Science, 2009, 28(1):118-121.)

[10] 司兆胜,许艳丽,李兆林,等. 不同茬口种植的大豆品种根渗出物对大豆胞囊线虫卵孵化的影响[J]. 中国油料作物学报, 2004,26(3):62-65. (Si Z S,Xu Y L,Li Z L, et al. Hatch of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* egg in root diffusate from resistant and susceptible soybean cultivars on different rotation systems[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004,26(3): 62-65.)

[11] 孙玉秋,许艳丽,李春杰,等. 东北地区大豆胞囊线虫卵定殖真菌的多样性研究[J]. 华北农学报, 2011, 26(2):233-238.

(Sun Y Q, Xu Y L, Li C J, et al. Mycofloras in eggs of soybean cyst nematode in Northeast China[J]. Acta Agriculture Boreall-Sinica, 2011, 26(2):233-238.)

[12] Racke J, Sikora R. A. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*[J]. Soil Biology and Biochemistry,1992,24:521-526.

[13] 肖顺. 根结线虫寄生真菌资源与淡紫拟青霉 PL89 的研究 [D]. 福州:福建农林大学, 2006:37-40. (Xiao S. Resource of fungal parasites of root-knot nematode and study on *Paecilomyces lilacinus* strain PL89[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2006: 37-40.)

[14] Segers R, Butt T M, Kerry B R, et al. The role of the Proteinase VCIPIP reduced by the nematophagous *Verticillium chlamydosporium* in the infection process of nematode eggs[J]. Mycological Research,1996,100(4):421-428.

[15] 孙漫红,刘杏忠. 淡紫拟青霉在大豆根际的定殖及对根际微生物的影响[J]. 微生物学通报,1998,25(3):133-136. (Sun M H, Liu X Z. Colonization of *paecilomyces lilanus* on soybean root and its effect on rhizosphere micro-organisms[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1998,25(3):133-136.)

[16] Yong B, Deborah A N,Chen S Y. Effect of soil disturbance and biocides on nematode communities and extracellular enzyme activity in soybean cyst nematode suppressive soil [J]. Nematology, 2011,13(6):687-699.