

研究报告

防治南方根结线虫的植物内生真菌 JDC158 的筛选与鉴定

宁硕瀛¹, 孙晓宇², 赵玲侠², 门欣², 丁昌萍¹, 陈川¹, 瞿佳^{*2}

1 陕西省动物研究所 陕西省秦岭生态安全重点实验室, 陕西 西安 710032

2 陕西省微生物研究所, 陕西 西安 710043

宁硕瀛, 孙晓宇, 赵玲侠, 门欣, 丁昌萍, 陈川, 瞿佳. 防治南方根结线虫的植物内生真菌 JDC158 的筛选与鉴定[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2545-2556.

NING Shuoying, SUN Xiaoyu, ZHAO Lingxia, MEN Xin, DING Changping, CHEN Chuan, QU Jia. Screening and identification of a plant endophytic fungal strain JDC158 against *Meloidogyne incognita*[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2545-2556.

摘要:【背景】南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)是我国农作物中最常见的一种根结线虫、危害严重,给设施蔬菜生产造成了巨大经济损失。【目的】分离鉴定用于防治南方根结线虫的植物内生真菌,并验证其生防效果。【方法】采用稀释涂布法分离真菌,利用 24 孔板液体筛选模型筛选具有抗线虫活性的菌株,通过形态学特征和 ITS 序列分析进行鉴定,测定其对南方根结线虫卵孵化的抑制作用和 2 龄幼虫的致死作用,并利用盆栽试验评价其生防效果。【结果】筛选到一株对南方根结线虫具有较强杀线虫活性的菌株 JDC158。经形态特征观察、ITS 序列分析,将其鉴定为紧密帚枝霉(*Sarocladium strictum*)。菌株发酵滤液对南方根结线虫卵和 2 龄幼虫均有高毒杀活性,经原液处理 96 h 对卵的校正抑制率达 86.18%,对 2 龄幼虫的校正死亡率达 97.98%。不同浓度菌株发酵液处理的盆栽防效均高于 43.93%,显著优于 5%阿维菌素乳油处理,还可以促进黄瓜幼苗生长。【结论】本研究新增了一种防治南方根结线虫的植物内生真菌,为植物线虫病的生物防治提供了新的微生物资源。

关键词: 南方根结线虫; 生防菌株; 鉴定; 防效; 黄瓜

资助项目: 陕西省重点研发计划(2024NC-YBXM-052, 2024NC-YBXM-057, 2025JC-YBQN-229); 陕西省创新能力支撑计划(2024CX-GXPT-02); 陕西省科学院科技计划(2021k-13, 2023k-11, 2024p-08); 西安市农业技术研发项目(22NYZF025, 23NYGG0023, 24NYGG0099)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Shaanxi Province (2024NC-YBXM-052, 2024NC-YBXM-057, 2025JC-YBQN-229), the Innovation Capability Support Program in Shaanxi Province (2024CX-GXPT-02), the Science and Technology Program of Shaanxi Province Academy of Sciences (2021k-13, 2023k-11, 2024p-08), and the Xi'an Agricultural Technology Research and Development Program (22NYZF025, 23NYGG0023, 24NYGG0099).

*Corresponding author. E-mail: q_jia@163.com

Received: 2024-12-09; Accepted: 2025-02-23; Published online: 2025-03-20

Screening and identification of a plant endophytic fungal strain JDC158 against *Meloidogyne incognita*

NING Shuoying¹, SUN Xiaoyu², ZHAO Lingxia², MEN Xin², DING Changping¹, CHEN Chuan¹, QU Jia^{*2}

1 Shaanxi Key Laboratory of Qinling Ecological Security, Shaanxi Institute of Zoology, Xi'an 710032, Shaanxi, China

2 Shaanxi Institute of Microbiology, Xi'an 710043, Shaanxi, China

Abstract: [Background] *Meloidogyne incognita* is a common species of root-knot nematodes damaging plants in China, causing dramatic economic losses in greenhouse vegetable production. [Objective] To isolate and identify endophytic fungal strains against *M. incognita* and determine their biocontrol effects. [Methods] The fungal strains were isolated with the dilution-plate coating method and the strains with nematicidal activity were screened by the 24-well plate fluid model. The target strain was identified based on morphological properties and ITS gene sequence. The inhibitory effects of the strain fermentation liquid on the egg hatching and the survival of the second-stage juveniles of *M. incognita* were tested. Furthermore, a pot experiment was conducted to verify the biocontrol effect of the target strain on *M. incognita* infecting cucumber seedlings. [Results] A fungal strain JDC158 with strong nematicidal activity was screened out and identified as *Sarocladium strictum*. The fermentation liquid of strain JDC158 exhibited high toxicity to the eggs and second-stage juveniles of *M. incognita*, with a relative inhibition rate of 86.18% on egg hatching and causing the corrected mortality of 97.98% in second-stage juveniles after treatment for 96 h. The pot experiment showed that the biocontrol effects of the fermentation liquid of strain JDC158 at different concentrations all exceeded 43.93%, which were significantly higher than that of 5% avermectin EC. Moreover, the fermentation liquid of this strain promoted the growth of cucumber seedlings. [Conclusion] JDC158 could be considered as an endophytic fungal strain with biocontrol potential against *M. incognita*, providing a new microbial resource for the biocontrol of nematode diseases in plants.

Keywords: *Meloidogyne incognita*; biocontrol strain; identification; control effect; cucumber

根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是农业生产中危害最严重的一类根部病原物,分布范围广,可寄生粮食、蔬菜等多种寄主植物^[1],在我国主要种类有4种,其中南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)最为常见^[2]。根结线虫通常在寄主根部为害,严重时造成根系腐烂,引起植物早衰^[3]。近年来,随着我国设施蔬菜生产规模的不断扩大,集约化、区域化发展迅速,持续连作导致根结线虫危害逐年加重。南

方根结线虫(*M. incognita*)在我国设施黄瓜中普遍发生、危害严重,传统化学防治手段易造成环境污染、降低产品品质,亟待寻找生态友好型防治方法^[4]。

生物防治因其高效、无污染、不易产生抗性等优点,在植物病原线虫防治中应用广泛^[5]。可用于根结线虫防治的微生物资源种类很多,包括细菌(如寄生细菌、根际细菌)、放线菌和真菌(如捕食真菌、寄生真菌)等^[6]。在杀线虫真菌

资源中,我国研究应用较多的主要包括淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)和后坦普奇尼亚菌(*Pochonia chlamydosporia*),均已产业化生产,广泛用于蔬菜根结线虫防治^[7]。植物内生菌是指存在于植物组织且不对寄主植物正常生长及表型产生显著影响的微生物,大量研究表明,植物体内可定殖多种具根结线虫拮抗活性的内生真菌,受土壤、温度等环境因素影响更小,田间防效稳定,更容易实现持续稳定、精准高效防治^[8],已报道的可用于根结线虫防治的内生真菌包括尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)、交枝顶孢菌(*Acremonium implicatum*)、球毛壳菌(*Chaetomium globosum*)和粉红螺旋聚孢霉(*Clonostachys rosea*)等,应用开发潜力巨大^[9]。

本研究从黄瓜植株根系中筛选获得对南方根结线虫(*M. incognita*)具有杀虫活性的内生真菌,随后结合形态特征、ITS 序列分析对菌株进行鉴定,并进一步测定目标菌株的抑制卵孵化和杀线虫活性,评价盆栽防效和促生作用,旨在为南方根结线虫的生物防治提供新的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 样品

从陕西省西安市临潼区设施黄瓜大棚内采集发病较重、根结明显的黄瓜病根,用于功能菌株的分离。供试南方根结线虫(*M. incognita*)于陕西省动物研究所温室内黄瓜根系上扩繁^[10],黄瓜品种为‘津优 35’,杨凌农科种业有限公司。育苗营养土,西安世园农林科技有限公司。温室环境条件为室温 25℃,光周期为 16L:8D。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基和马铃薯葡萄糖肉汤(potato dextrose broth, PDB)培养基参考文献[11]配制。

1.3 主要试剂和仪器

PCR 扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;真菌基因组提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;DNA marker、2×Ex Taq Premix, TaKaRa 公司;5%阿维菌素乳油,江西中迅农化有限公司。高速冷冻离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;恒温培养箱,北京科伟永兴仪器有限公司;气浴恒温振荡器,陕西德祥实验设备有限公司;光学显微镜,莱卡公司;体式显微镜,奥林巴斯公司;电泳仪,北京六一生物科技有限公司;基因扩增仪, Biometra 公司;人工气候箱,中仪国科(北京)科技有限公司。

1.4 南方根结线虫卵悬液和 2 龄幼虫悬液的制备

采用改良的振荡分离法收集线虫的卵^[12],于温室大棚中取根结线虫侵染的黄瓜根系,流水清洗后在 1% NaClO 溶液中浸泡 5 min,无菌水清洗 3 次后用粉碎机粉碎,随后装入 500 mL 灭菌三角瓶中加水振荡摇匀 2 min,悬浮液过 100、200 和 500 目筛,收集滤液。将滤液于离心机中 3 500 r/min 离心 3 min,弃上清,加入含有 20 mL 40%蔗糖溶液的 50 mL 离心管中,3 500 r/min 离心 5 min,取上清液过 500 目筛,用无菌水清洗去除蔗糖后将卵冲入三角瓶,加水制备成卵悬液^[13]。通过血球计数法测定^[14],配制浓度为 2 000 粒/mL。

将上述卵悬液置于贝曼漏斗中,加入无菌水 25℃遮光培养 4 d,收集二龄幼虫至灭菌三角瓶中,加水制备 2 龄幼虫悬液^[15]。使用时将幼虫悬液经 420 目滤膜过滤^[16],配制浓度为 1 000 条/mL。

1.5 黄瓜根系内生真菌的分离

参考彭双等^[17]、王丽菲等^[18]的方法,选择直径约 1.0 cm 未腐烂根结,流水清洗表面泥土后用无菌刀削去根结表皮,75%乙醇中浸泡 1 min,无菌水清洗 5 次,1% NaClO 溶液中浸泡 5 min,使用无菌水清洗 5 次,切碎加入研钵

中研磨成浆,加入 10 mL 无菌水,静置 5 min 后吸取上层液体,涂于含有 100 $\mu\text{g/L}$ 链霉素的 PDA 平板,25 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 7 d,根据菌落颜色、形态挑取单菌落,于 PDA 培养基上采用平板划线法进行再一次纯化,获得纯化菌株。待菌落在 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 7 d 后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.6 杀线虫活性菌株的筛选

将分离后纯化的菌株接种于 PDB 培养基,25 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 振荡培养 7 d,发酵液于 4 000 r/min 离心 30 min,取上清液经 0.22 μm 滤膜过滤,制成发酵滤液。

采用 24 孔板法初筛活性菌株^[19],在 24 孔板中加入 500 μL 无菌发酵液和 100 μL 2 龄幼虫悬液(约 100 条 2 龄幼虫),混合均匀,以 PDB 培养基为对照,25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 24 h 和 48 h 后在显微镜下观察,针触法检验,以虫体僵直或卷曲不动视为死亡^[20],各处理重复 5 次,计算死亡率和校正死亡率。

死亡率(%)=死亡试虫数/供试总虫数 $\times 100$;

校正死亡率(%)=(处理死亡率-对照死亡率)/(1-对照死亡率) $\times 100$ 。

校正死亡率超过 85% 的菌株随后继代培养 3、5 代^[21],测定发酵液 24、48 h 的杀虫效果,方法同上,计算死亡率和校正死亡率^[10],筛选杀虫活性强的菌株。

1.7 目标菌株的鉴定

形态学观察:用 6 mm 打孔器取菌株 JDC158 菌饼,接种于 PDA 培养基中央,25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后观察菌落形态,采用插片法^[22]观察菌丝体和分生孢子梗。

分子生物学鉴定:利用真菌基因组提取试剂盒提取菌株 JDC158 的基因组 DNA,采用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 扩增 ITS 片段^[23]。PCR 反应体系(20 μL): DNA (200 ng/ μL) 1 μL ,引物 ITS1 (10 $\mu\text{mol/L}$) 和 ITS4 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.8 μL ,2 $\times$ Ex Taq Premix 10.0 μL ,ddH₂O 7.4 μL 。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;

95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后测序,测序结果提交至 GenBank 数据库,通过 NCBI 官网的 BLAST 功能(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)搜索查找相似性序列并参考文献报道的帚枝霉(*Sarocladium*)菌株的 ITS 序列^[24-25],采用 Clustal 软件比对分析相似序列间的同源性,使用 MEGA 软件中的邻接法(neighbor-joining method)构建系统发育树,自展次数设置为 1 000 次^[22],确定其分类地位。

1.8 菌株 JDC158 发酵滤液对南方根结线虫卵孵化和 2 龄幼虫的影响

在 24 孔板中每孔加入 50 μL 卵悬液(约 100 粒卵),加入 500 μL 的发酵滤液,分别以原液、稀释 2、5 和 10 倍作为处理,以无菌 PDA 培养基为对照,通过体式显微镜镜检,分别于 48、72 和 96 h 观察并统计卵的孵化数量,各处理重复 5 次,计算卵孵化抑制率和相对抑制率^[26]。孵化率(%)=孵化卵数/供试卵总数 $\times 100$;相对抑制率(%)=(对照孵化卵数-处理孵化卵数)/对照孵化卵数 $\times 100$,各处理重复 5 次。

在 24 孔板中每孔加入 100 μL 幼虫悬液(约 100 条 2 龄幼虫),加入 500 μL 的发酵滤液,分别以不稀释、稀释 2、5 和 10 倍作为处理,以无菌 PD 培养基为对照,通过体式显微镜镜检,分别于 48、72 和 96 h 观察并统计 2 龄幼虫死亡数量,各处理重复 5 次,计算死亡率和校正死亡率^[27]。死亡率和校正死亡率计算方法同上。

1.9 菌株 JDC158 发酵液对黄瓜南方根结线虫的盆栽试验

使用灭菌后的营养土(草炭土:蛭石=2:1,V/V)育黄瓜苗,分装至直径 14 cm、高 16 cm 塑料花盆中,每盆装入基质 600 g,移栽黄瓜幼苗。待移栽后的黄瓜幼苗生长至两叶一心期时,使用孢子浓度为 1×10^6 、 1×10^7 和 1×10^8 个/mL 的菌株发酵液 10 mL 灌根处理,以加入稀释 1 000 倍的 5% 阿维菌素乳油作为阳性对照,并以无菌水和 PDB 培养基作为阴性对照。灌根 5 d 后向黄

瓜根系中接种根结线虫，在距根系 2 cm 基质中均匀打 4 个深 1 cm 的小孔，分别加入 5 mL 稀释 20 倍的幼虫悬液，接种虫数约 1 000 条，置于人工气候箱中培养，每个处理随机调查 10 株。培养条件为 25 ℃、光周期 16L:8D，湿度(60±5)% RH，其间每隔 10 d 浇水 1 次。接种线虫 30 d 后，测定株高、根长、地上部分鲜重、根鲜重。参考 Bridge 等^[28]观察评估根际感染情况，按 Garabedian 等^[29]的方法分级(表 1)，计算病情指数、根结指数和防治效果。病情指数=Σ(各级病株数量×级数)/(调查总株数×最重病级数)×100%；根结指数=单株根结数/单株根鲜重；防治效果=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数×100%。

1.10 数据统计分析

使用 Excel 软件整理数据，通过 SPSS 软件统计分析数据，差异显著性采用 Duncan’s 新复极差法比较分析($P<0.05$)。

表 1 根结分级标准

Table 1 Scale for severity of the root-knot

等级 Level	分级标准 Grading standard
0	根系无感染根结 No root knotted
1	感染根结根系的比例小于 20% The proportion of knotted root were less than 20%
2	感染根结根系的比例为 21%–40% The proportion of knotted root ranged from 21% to 40%
3	感染根结根系的比例为 41%–60% The proportion of knotted root ranged from 41% to 60%
4	感染根结根系的比例为 61%–80% The proportion of knotted root ranged from 61% to 80%
5	感染根结根系的比例超过 81% The proportion of knotted root were more than 81%

表 2 不同菌株发酵滤液对南方根结线虫 2 龄幼虫的活性测定

Table 2 Nematicidal activity of sterile fermentation solution from different strains against *Meloidogyne incognita* J2

序号 No.	菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality (%)		序号 No.	菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality (%)	
		24 h	48 h			24 h	48 h
1	JDC158	94.17±0.80a	95.18±0.37a	8	JAC115	57.76±1.51g	58.57±1.23h
2	JDC202	91.16±1.08ab	91.77±0.74ab	9	JDC89	74.70±1.83e	76.11±1.66ef
3	JBC98	44.58±1.15h	47.99±1.01i	10	JEC6	86.18±1.30bc	87.19±1.51c
4	JCC345	71.78±0.93e	72.79±0.76f	11	JFC156	63.84±1.47f	64.85±1.35g
5	JBC245	93.98±0.72a	94.59±0.61ab	12	JFC119	90.16±1.79ab	91.37±1.46
6	JCC61	81.91±1.55cd	82.91±1.11d	13	JEC52	93.38±0.52a	93.79±0.49ab
7	JAC53	61.93±1.96fg	63.73±1.83g	14	JEC59	75.96±1.39d	76.96±1.29e

表中数据代表平均值±标准误。不同小写字母代表同列各数据之间结果差异显著($P<0.05$)。下同。
The data are means±SE. Different lowercase letters in same column indicate significant difference at $P<0.05$ level between treatments. The same below.

2 结果与分析

2.1 防治南方根结线虫黄瓜内生真菌的分离筛选

从黄瓜根系中分离得到内生真菌 30 株，初筛获得对南方根结线虫(*M. incognita*) 2 龄幼虫具有杀虫活性的菌株 14 株，占已分离真菌总数的 46.67% (表 2)，其中有 6 株菌杀虫活性较高，24 h 和 48 h 校正死亡率均超过 85%。连续继代培养 5 代后，有 3 株菌的校正死亡率仍超过 90%，其中菌株 JDC158 最高，24 h 和 48 h 校正死亡率分别达到 96.20%和 96.58%，表明其具有较强的抗根结线虫活性和稳定性(表 3)。

2.2 活性菌株 JDC158 的鉴定结果

2.2.1 形态学特征

菌株 JDC158 在 PDA 固体培养基上培养 7 d 后菌落平均直径为(37.90±0.84) mm。菌落正面

白色、背面浅橙色，表面平坦、质地紧密，絮状，边缘整齐，色素不渗入培养基(图 1A、1B)。菌丝直径为 $(1.66\pm 0.24)\mu\text{m}$ ，分生孢子梗特化不

明显，产孢细胞被针形，多数弯曲；分生孢子近柱状或长椭圆形，无色，在产孢细胞顶端聚集成团(图 1C、1D)。

表 3 不同菌株发酵滤液对南方根结线虫 2 龄幼虫的稳定性测定

Table 3 The genetic stability of nematocidal activity of sterile fermentation solution from different strains against *Meloidogyne incognita* J2

序号 No.	菌株 Strain	培养第 3 代 3rd cultured generation		培养第 5 代 5th cultured generation	
		24 h 校正死亡率 Corrected mortality (%)	48 h 校正死亡率 Corrected mortality (%)	24 h 校正死亡率 Corrected mortality (%)	48 h 校正死亡率 Corrected mortality (%)
1	JDC158	95.00±0.71a	95.37±0.53a	96.20±0.58a	96.58±0.4a
2	JDC202	93.00±0.71ab	93.39±0.51ab	90.00±1.30b	90.77±1.31b
3	JBC245	91.80±1.24ab	91.79±1.24b	85.20±1.28c	85.14±1.28c
4	JEC6	82.20±1.16c	82.13±1.14c	76.00±1.14d	75.86±1.11d
5	JFC119	90.80±1.56b	90.78±1.56b	90.20±0.97b	90.16±0.97b
6	JEC52	93.00±0.71ab	92.95±0.72ab	85.20±1.02c	85.14±0.10c

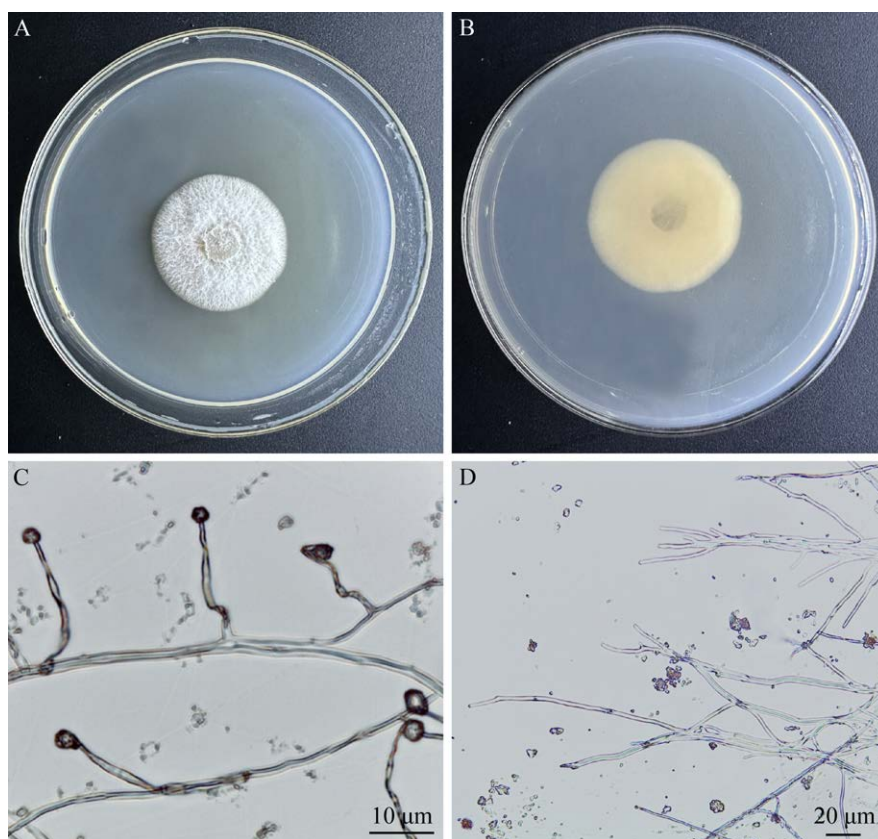


图 1 菌株 JDC158 在 PDA 培养基上的形态特征

A: 菌落正面; B: 菌落背面; C-D: 产孢结构及孢子。

Figure 1 Morphological of strain JDC158 on PDA. A: The front side of colony; B: The reverse side of colony; C-D: The sporulation structure and conidia.

2.2.2 系统发育学分析

菌株 JDC158 的 ITS 序列长度为 528 bp, 提交至 GenBank 获得登录号为 PQ686275。经 BLAST 软件搜索比对、相似序列同源性分析、系统发育树构建, 结果表明: 菌株 JDC158 与紧密帚枝霉(*Sarocladium strictum*)聚于同一分支, 序列相似性为 98%, 亲缘关系接近(图 2), 结合菌株形态特征, 将其鉴定为紧密帚枝霉(*Sarocladium strictum*)。

2.3 菌株 JDC158 发酵滤液抑制南方根结线虫卵孵化及 2 龄幼虫存活的测定

随着处理时间增加, 南方根结线虫卵的孵

化率逐渐降低, 校正抑制率逐渐增加。菌株发酵液原液对南方根结线虫卵 48、72 和 96 h 的校正抑制率分别为 92.01%、88.21%和 86.18%; 发酵滤液稀释 10 倍时, 48、72 和 96 h 对南方根结线虫卵的校正抑制率分别为 68.09%、63.03%、61.31% (表 4)。

菌株发酵滤液对南方根结线虫 2 龄幼虫具有高杀虫活性, 菌株发酵液原液处理 48、72 和 96 h 的校正死亡率分别为 94.96%、95.93%、97.98%; 发酵滤液稀释 10 倍时, 处理 48、72 和 96 h 的校正死亡率分别为 79.08%、84.89%、85.93% (表 5)。

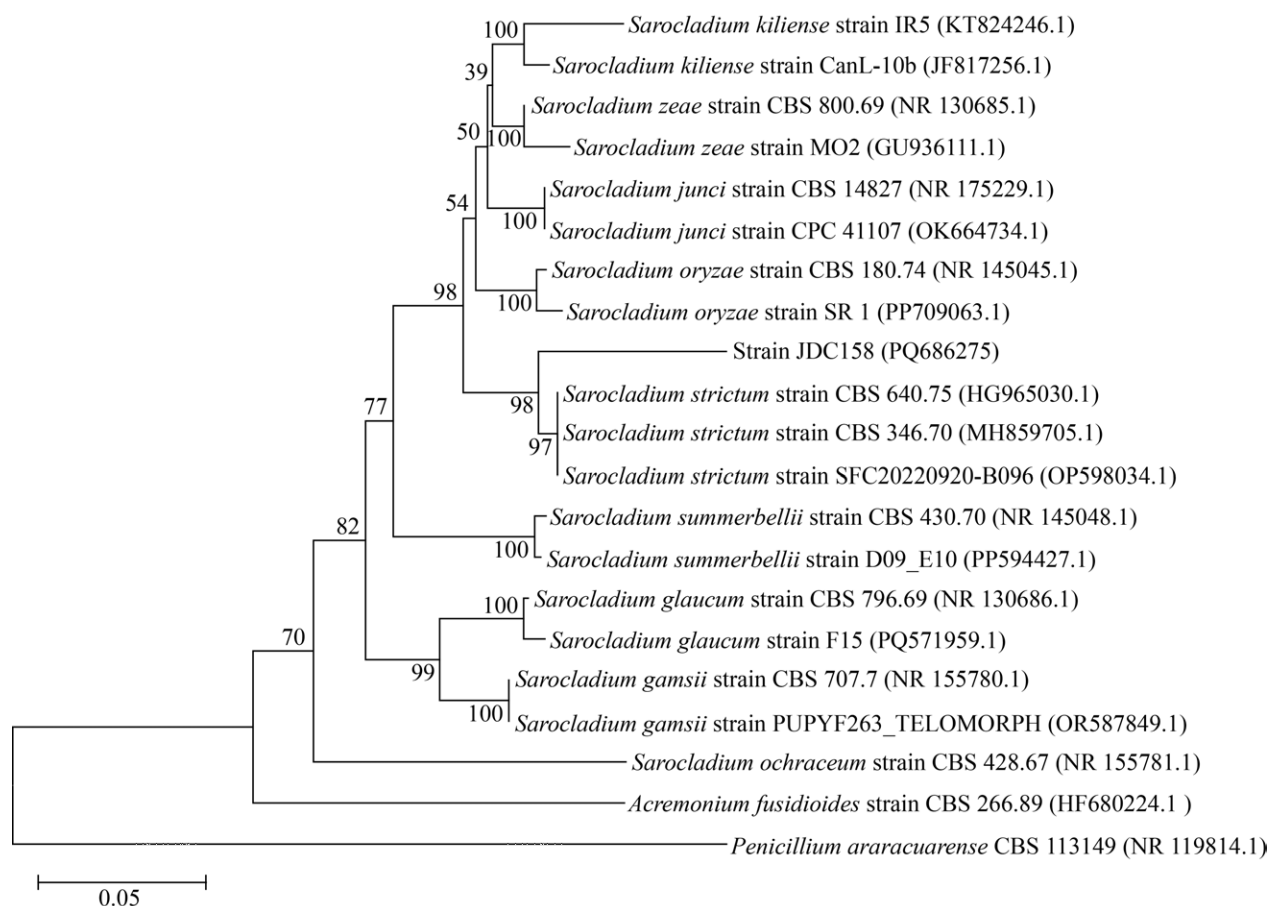


图 2 菌株 JDC158 基于 ITS 序列的系统发育树 括号内序号为菌株 GenBank 登录号; 标尺 0.05 代表序列偏差值; 分支点的数字代表计算 1 000 次聚类的概率。

Figure 2 Phylogenetic tree of strain JDC158 based on ITS gene sequence. The GenBank accession number of aligned sequences are shown in the brackets; Value of 0.05 represents the sequence deviation; Numbers at branch nodes present bootstrap value of 1 000 replicates.

表 4 菌株 JDC158 发酵滤液对南方根结线虫卵孵化的影响

Table 4 Inhibitory effects of strain JDC158 fermentation liquid on egg hatching of *Meloidogyne incognita*

稀释倍数 Dilution time	48 h		72 h		96 h	
	孵化率 Egg hatching rate (%)	校正抑制率 Relative inhibition rate (%)	孵化率 Egg hatching rate (%)	校正抑制率 Relative inhibition rate (%)	孵化率 Egg hatching rate (%)	校正抑制率 Relative inhibition rate (%)
0	3.52±0.36d	92.01±1.01a	5.86±0.66c	88.21±1.42a	7.35±0.90d	86.18±1.67a
2	4.31±0.42c	90.37±0.97b	5.50±0.41c	89.06±0.77a	9.34±0.74c	82.24±1.49a
5	8.80±0.45b	80.38±1.17c	13.08±0.65b	74.09±1.48b	16.11±0.46b	70.26±1.13 b
10	14.58±0.48a	68.09±0.85d	18.63±0.42a	63.03±0.78c	21.21±0.69a	61.31±1.08c

表 5 菌株 JDC158 发酵滤液对南方根结线虫 2 龄幼虫存活的影响

Table 5 Inhibitory effects of strain JDC158 fermentation liquid on survival of *Meloidogyne incognita* J2

稀释倍数 Dilution time	48 h		72 h		96 h	
	死亡率 Mortality (%)	校正死亡率 Corrected mortality (%)	死亡率 Mortality (%)	校正死亡率 Corrected mortality (%)	死亡率 Mortality (%)	校正死亡率 Corrected mortality (%)
0	95.20±0.49a	94.96±0.53a	96.00±0.55a	95.93±0.55a	98.00±0.95a	97.98±0.94a
2	92.00±1.14b	91.64±1.17b	95.00±0.71b	94.89±0.72b	96.20±0.58a	96.19±0.58a
5	86.80±0.97c	86.03±0.98c	90.80±1.28c	90.60±1.33c	91.00±1.09b	91.00±1.09b
10	80.20±1.28d	79.08±1.45d	85.20±1.11d	84.89±1.15d	86.00±1.41c	85.93±1.44c

2.4 菌株 JDC158 发酵液对接种南方根结线虫黄瓜幼苗的盆栽防效及其生长的影响

分别施加孢子浓度为 1×10^6 、 1×10^7 和 1×10^8 个/mL 菌株 JDC158 发酵液后,病情指数分别为 40.67、34.67 和 24.00,随着浓度增加而降低;防效分别为 43.93%、51.29%和 66.26%,随着浓度增加而升高。经不同浓度菌株发酵液处理后,盆栽防效高于 43.93%,显著高于 5%阿维菌素乳油(表 6)。

施加菌株 JDC158 发酵液后,相较于 5%阿维菌素乳油和无菌水,株高、根长、茎粗、地上部分鲜重和地下部分鲜重显著增加。当孢子浓度为 1×10^8 个/mL 时,株高、根长、茎粗、地上部分鲜重和地下部分鲜重分别为 23.90 cm、14.30 cm、6.02 mm、25.97 g 和 2.83 g,促生效果最好(表 7)。

表 6 菌株 JDC158 发酵液对接种南方根结线虫黄瓜幼苗的盆栽防效

Table 6 Control effects of strain JDC158 fermentation broth on cucumber seedling inoculated with *Meloidogyne incognita*

处理 Treatment	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficiency (%)
1×10^6	40.67±1.15b	43.93±0.36c
1×10^7	34.67±0.67c	51.29±2.15b
1×10^8	24.00±1.15d	66.26±2.31a
5% avermectin EC	42.67±1.76b	40.23±1.20d
PDB medium	71.33±1.76a	—
Sterile water	72.00±2.30a	—

3 讨论

植物内生真菌具有存在范围广、种类多样、易于培养等特点,是分离筛选线虫生防材料的优质菌种资源,近年来备受学者关注^[30]。本研

表 7 菌株 JDC158 发酵液对接种南方根结线虫黄瓜幼苗生长的影响

Table 7 Effect of strain JDC158 fermentation broth on growth of cucumber seedling inoculated with *Meloidogyne incognita*

处理 Treatment	株高 Shoot length (cm)	根长 Root length (cm)	茎粗 Stem diameter (mm)	地上部分鲜重 Shoot fresh weight (g)	根鲜重 Root fresh weight (g)
1×10^6	22.58±1.52c	12.23±0.99b	5.63±0.24c	24.60±0.87b	2.73±0.19b
1×10^7	23.83±1.23b	12.96±0.95b	5.68±0.18b	25.11±0.88ab	2.70±0.15b
1×10^8	23.90±1.51a	14.30±1.22a	6.02±0.17a	25.97±0.96a	2.83±0.20a
5% avermectin EC	16.71±0.78d	9.73±0.45c	5.18±0.36d	19.20±0.76c	1.74±0.18c
PDB medium	11.46±0.75e	5.19±0.51d	5.02±0.28e	14.52±0.74d	1.45±0.16d
Sterile water	11.43±0.81e	5.21±0.46d	4.97±0.27e	14.48±0.58d	1.46±0.27d

究从黄瓜植株根系中分离获得 14 株对南方根结线虫 2 龄幼虫具有杀虫活性的内生真菌, 其中 6 株杀虫活性较高, 菌株 JDC158 活性最强。

通过菌落形态观察和 ITS 序列分析, 将菌株 JDC158 鉴定为紧密帚枝霉(*S. strictum*)。早期, 紧密帚枝霉(*S. strictum*)在分类学上隶属于枝顶孢霉属(*Acremonium*)^[31], 2011 年后调整至帚枝霉属(*Sarocladium*)^[24]。相较于其他紧密帚枝霉(*S. strictum*)菌株, 本研究获得的菌株 JDC158 的 ITS 序列相似性为 98%, 在 PDA 培养基上 25 °C 培养 7 d 的菌落培养特征也相似, 比如质地紧密、絮状、边缘整齐、色素不渗入培养基等, 但菌落颜色、大小存在些许差异^[25,32-33]。菌株 JDC158 菌落正面白色、背面浅橙色, 与菌株 CBS654.96、菌株 FSS8 基本一致, 而菌株 ICMP 19976 的菌落正面白色、背面橙色, 菌株 CBS 346.70、UTFC-EP36 菌落正面、背面均为橙色^[24-25]。现有文献报道紧密帚枝霉(*S. strictum*)其他菌株在 PDA 培养基上 25 °C 培养 7 d 的菌落直径为 20–60 mm^[24-25,32-33], 菌株 JDC158 的菌落直径为(37.90±0.84) mm。因此, 将菌株 JDC158 鉴定为紧密帚枝霉(*S. strictum*)。

目前, 已报道的紧密帚枝霉(*S. strictum*)来源为土壤、植物组织甚至昆虫, 通常具有分解腐殖质的能力, 能够对多种植物和真菌宿主致病, 某些菌株则具有生物防治潜力^[34-36]。El-Sayed 等^[37]从短羊角子草(*Cynanchum acutum*)叶片分离

到 1 株对海灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis*)具有杀虫活性的紧密帚枝霉(*S. strictum*); Hajek 等^[38]从斑衣蜡蝉(*Lycorma delicatula*)僵虫上分离到 1 株具有杀虫活性的紧密帚枝霉(*S. strictum*), 但具有杀线虫活性的紧密帚枝霉(*S. strictum*)未见报道。

国内外报道的可用于防治根结线虫的植物内生真菌主要来源于西红柿, 比如尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*) (抑制 2 龄幼虫发育和线虫产卵)^[39]、交织枝顶孢霉(*A. implicatum*) (直接杀死线虫、抑制卵孵化)^[40]、棘孢木霉(*T. asperellum*) (直接杀死线虫、抑制卵孵化)^[41]、叶点霉菌(*Phyllosticta* spp.) (抑制线虫产卵)^[42]等, 而从黄瓜中分离获得的菌株较少, 例如球囊霉菌(*Glomus* spp.) (寄生线虫, 直接杀死线虫)、木霉(*Trichoderma* sp.) (寄生线虫, 直接杀死线虫、诱导植物抗性)和拟青霉(*Paecilomyces* sp.) (寄生线虫, 抑制线虫产卵、直接杀死线虫、诱导植物抗性)^[43], 本研究报道的菌株 JDC158 来源于黄瓜根系, 发酵滤液抑制线虫卵、2 龄幼虫存活测定表明, 该菌株对南方根结线虫的卵和 2 龄幼虫均有致死作用。另外, 盆栽试验表明孢子浓度为 1×10^8 个/mL 的菌株 JDC158 发酵液的防效达 66.26%, 较国内已报道可用于防治黄瓜南方根结线虫的淡紫拟青霉(*Purpureocillium lilacinum*) YES^[43]、粉红螺旋聚孢霉(*C. rosea*) 67-1^[44]、哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)

TRI2^[45]、绿色木霉(*Trichoderma viride*) Tvir-6^[46]等的防治效果好。此外,该菌株对黄瓜幼苗还表现出一定程度的促生作用,具有较好的开发应用前景。

本研究首次从黄瓜根系中分离获得1株可用于防治南方根结线虫的紧密帚枝霉(*S. strictum*),补充了一种根结线虫生防植物内生真菌。由于生防菌株的实践及应用开发受到如菌株定殖能力弱、产生抗生素浓度低、纯化及批量生产难等因素影响,为了最大程度地发挥其生防潜力,有关紧密帚枝霉 JDC158 的杀线虫作用机制、发酵生产工艺等有待进一步研究。

4 结论

本研究从黄瓜植株根系中筛选分离出1株对南方根结线虫具有较高杀虫活性的内生真菌,经形态学、分子生物学方法将其鉴定为紧密帚枝霉。该菌株发酵液对南方根结线虫卵和2龄幼虫均具有较高毒杀活性,并且对黄瓜幼苗具有促生作用。本文新增了一种防治南方根结的线虫的植物内生真菌,并为杀线虫活性植物内生菌的分离筛选及活性研究提供了参考。

作者贡献声明

宁硕瀛:课题设计,完成实验,分析数据,撰写、修改论文稿件;孙晓宇:参与完成供试样品采集、菌株分离、纯化;赵玲侠:参与完成菌株形态观察、拍照、分子鉴定;门欣:参与完成菌株培养、保藏,整理数据;丁昌萍:参与完成线虫培养、杀线虫活性测定、分析数据;陈川:参与完成分析数据,修改论文稿件;瞿佳:课题设计,完成实验,修改论文稿件。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

[1] AL ABADIYAH RALMI NH, KHANDAKER MM,

- MAT N. Occurrence and control of root knot nematode in crops: a review[J]. Australian Journal of Crop Science, 2016, 10(12): 1649-1654.
- [2] TRUDGILL DL, BLOK VC. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens[J]. Annual Review of Phytopathology, 2001, 39: 53-77.
- [3] 陈志杰, 张淑莲, 张锋. 设施蔬菜根结线虫防治基础与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- CHEN ZJ, ZHANG SL, ZHANG F. Control Basis and Techniques of Root-knot Nematode in Protected Vegetables[M]. Beijing: Science Press, 2013 (in Chinese).
- [4] 席先梅, 白全江, 张庆萍, 李玉民, 郭金涛, 李敏. 设施黄瓜根结线虫化学防治技术研究[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 235-240.
- XI XM, BAI QJ, ZHANG QP, LI YM, GUO JT, LI M. Optimization of nematicide application in controlling cucumber root-knot nematode in greenhouse[J]. Plant Protection, 2017, 43(2): 235-240 (in Chinese).
- [5] SUBEDI S, THAPA B, SHRESTHA J. Root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its management: a review[J]. Journal of Agriculture and Natural Resources, 2020, 3(2): 21-31.
- [6] 金娜, 刘倩, 简恒. 植物寄生线虫生物防治研究新进展[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 789-800.
- JIN N, LIU Q, JIAN H. Advances on biological control of plant-parasitic nematodes[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(5): 789-800 (in Chinese).
- [7] 金娜, 陈永攀, 刘倩, 简恒. 我国蔬菜根结线虫发生、致害和绿色防控研究进展[J]. 植物保护学报, 2022, 49(1): 424-438.
- JIN N, CHEN YP, LIU Q, JIAN H. Research progresses in occurrence, diagnoses, pathogenic mechanisms and integrated management of vegetable root-knot nematodes in China[J]. Journal of Plant Protection, 2022, 49(1): 424-438 (in Chinese).
- [8] KUMAR KK, DARA SK. Fungal and bacterial endophytes as microbial control agents for plant-parasitic nematodes[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(8): 4269.
- [9] 易希, 廖红东, 郑井元. 植物内生真菌防治根结线虫研究进展[J]. 生物技术通报, 2023, 39(3): 43-51.
- YI X, LIAO HD, ZHENG JY. Research progress in plant endophytic fungi for root-knot nematode control[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(3): 43-51 (in Chinese).
- [10] 彭双, 杨茹, 闫淑珍, 陈双林. 杀线虫植物内生细菌和根际放线菌对根结线虫的防效[J]. 植物保护学报, 2012, 39(1): 63-69.
- PENG S, YANG R, YAN SZ, CHEN SL. Control effect of the antinematode endophytic bacteria and rhizosphere actinomycetes to root-knot nematodes of tomato plant[J]. Journal of Plant Protection, 2012, 39(1): 63-69 (in Chinese).
- [11] 丁浩, 张帆, 曹研, 吕龙, 杜木英. 马铃薯葡萄糖培养基制作方法的改进[J]. 中国酿造, 2012, 31(4): 141-144.
- DING H, ZHANG F, CAO Y, LÜ L, DU MY. Improvement of potato dextrose agar medium preparation[J]. China Brewing, 2012, 31(4): 141-144 (in Chinese).

- [12] NTALLI NG, MENKISSOGLU-SPIROUDI U, GIANNAKOU IO, PROPHETOU-ATHANASIADOU DA. Efficacy evaluation of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) formulation against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*[J]. Crop Protection, 2009, 28(6): 489-494.
- [13] 田阳, 李平, 张莉, 孙建华, 高丙利. 海洋放线菌 M1D14 代谢产物对几种重要植物寄生线虫的抑制作用[J]. 植物保护, 2012, 38(4): 96-100.
TIAN Y, LI P, ZHANG L, SUN JH, GAO BL. Inhibition of the metabolic products of the marine *Actinomyces* M1D14 on plant parasitic nematodes[J]. Plant Protection, 2012, 38(4): 96-100 (in Chinese).
- [14] 吕星光, 刘润进, 李敏. 丛枝菌根真菌对西瓜嫁接苗抗南方根结线虫病的影响[J]. 菌物学报, 2017, 36(7): 1018-1027.
LYU XG, LIU RJ, LI M. Effects of AMF on resistance of grafted watermelon seedlings against root-knot nematodes[J]. Mycosystema, 2017, 36(7): 1018-1027 (in Chinese).
- [15] GRAY NF. Ecology of nematophagous fungi: Comparison of the soil sprinkling method with the Baermann funnel technique in the isolation of endoparasites[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1984, 16(1): 81-83.
- [16] 胡栋, 何欢, 李洪涛, 张翠绵, 贾楠, 王占武, 彭杰丽. 亚低温条件下防控番茄南方根结线虫生防菌株的筛选与鉴定[J]. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1891-1898.
HU D, HE H, LI HT, ZHANG CM, JIA N, WANG ZW, PENG JL. Screening and identification of biocontrol strains on controlling tomato *Meloidogyne incognita* under sub-low temperature[J]. Microbiology China, 2017, 44(8): 1891-1898 (in Chinese).
- [17] 彭双, 闫淑珍, 陈双林. 具杀线虫活性植物内生细菌的筛选和活性产物[J]. 微生物学报, 2011, 51(3): 368-376.
PENG S, YAN SZ, CHEN SL. Screening endophytic bacteria against plant-parasitic nematodes[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(3): 368-376 (in Chinese).
- [18] 王丽菲, 武小斌, 朱晓峰, 王媛媛, 赵迪, 杨宁, 刘晓宇, 段玉玺, 范海燕, 陈立杰. 南方根结线虫生防真菌的筛选鉴定及防效研究[J]. 植物保护, 2024, 50(6): 62-70, 125.
WANG LF, WU XB, ZHU XF, WANG YY, ZHAO D, YANG N, LIU XY, DUAN YX, FAN HY, CHEN LJ. Screening, identification and efficacy of biocontrol fungi against southern root-knot nematode[J]. Plant Protection, 2024, 50(6): 62-70, 125 (in Chinese).
- [19] 黄惠琴, 袁维道, 王英, 魏华, 朱军, 孙前光, 鲍时翔. 1 株根结线虫拮抗放线菌新种的分离与鉴定[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(5): 37-41.
HUANG HQ, YUAN WD, WANG Y, WEI H, ZHU J, SUN QG, BAO SX. Isolation & identification of a new *Actinomycetes* sp. with root knot nematode antagonism[J]. Journal of Microbiology, 2013, 33(5): 37-41 (in Chinese).
- [20] SCHOUTEN A. Mechanisms involved in nematode control by endophytic fungi[J]. Annual Review of Phytopathology, 2016, 54: 121-142.
- [21] LEE YS, NANING KW, NGUYEN XH, KIM SB, MOON JH, KIM KY. Ovicidal activity of lactic acid produced by *Lysobacter capsici* YS1215 on eggs of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 24(11): 1510-1515.
- [22] 李祥荣, 郑洪利, 张宗艺, 徐燕妮, 郭雷. 抗副溶血弧菌海洋真菌 HL-3 菌株的鉴定及其活性物质的分离[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 1999-2008.
LI XR, ZHENG HL, ZHANG ZY, XU YN, GUO L. Identification of marine fungus HL-3 with activity against *Vibrio parahaemolyticus* and separation of its active substances[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 1999-2008 (in Chinese).
- [23] 张义军, 王捷, 裴宁宁, 秦丽, 王士娟, 彭凡. ‘海螺’望春花内生真菌 EF-WCH-51 鉴定及其抑制葫芦科刺盘孢活性成分分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 3997-4009.
ZHANG YJ, WANG J, PEI NN, QIN L, WANG SJ, PENG F. Endophytic fungus EF-WCH-51 from *Yulania denudata* ‘Hailuo’: strain identification and determination of active component against *Colletotrichum orbiculare*[J]. Microbiology China, 2023, 50(9): 3997-4009 (in Chinese).
- [24] SUMMERBELL RC, GUEIDAN C, SCHROERS HJ, de HOOG GS, STARINK M, ROSETE YA, GUARRO J, SCOTT JA. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*[J]. Studies in Mycology, 2011, 68: 139-162.
- [25] GIRALDO A, GENÉ J, SUTTON DA, MADRID H, de HOOG GS, CANO J, DECOCK C, CROUS PW, GUARRO J. Phylogeny of *Sarocladium* (*Hypocreales*)[J]. Persoonia, 2015, 34: 10-24.
- [26] 赵劲捷, 王帅, 范海燕, 赵迪, 刘晓宇, 朱晓峰, 王媛媛, 段玉玺, 陈立杰. 防治南方根结线虫的根瘤内生细菌的筛选及鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(5): 811-820.
ZHAO JJ, WANG S, FAN HY, ZHAO D, LIU XY, ZHU XF, WANG YY, DUAN YX, CHEN LJ. Screening and identification of endophytic bacteria isolated from root nodules for control of *Meloidogyne incognita*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2020, 36(5): 811-820 (in Chinese).
- [27] 姚亚楠, 丰叶青, 耿晶晶, 徐玉梅, 赵增旗, 王建明. 假格里尼翁苍白杆菌 A-29 对南方根结线虫的防治效果及其鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2): 367-373.
YAO YN, FENG YQ, GENG JJ, XU YM, ZHAO ZQ, WANG JM. Control efficacy of *Ochrobactrum pseudogrignone* A-29 against southern root-knot nematode and its identification[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(2): 367-373 (in Chinese).
- [28] BRIDGE J, PAGE SLJ. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart[J]. Tropical Pest Management, 1980, 26(3): 296-298.
- [29] GARABEDIAN S, van GUNDY SD. Use of avermectins for the control of *Meloidogyne incognita* on tomatoes[J]. Journal of Nematology, 1983, 15(4): 503-510.
- [30] BACON CW, WHITE JF. Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants[J]. Symbiosis, 2016, 68(1): 87-98.

- [31] GLENN AE, BACON CW, PRICE R, HANLIN RT. Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications[J]. *Mycologia*, 1996, 88(3): 369-383.
- [32] de HOOG GS, CHATURVEDI V, DENNING DW, DYER PS, FRISVAD JC, GEISER D, GRÄSER Y, GUARRO J, HAASE G, KWON-CHUNG KJ, MEIS JF, MEYER W, PITT JI, SAMSON RA, TAYLOR JW, TINTELNOT K, VITALE RG, WALSH TJ, LACKNER M, WORKING GROUP ON NOMENCLATURE OF MEDICAL FUNGI ISHAM. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(4): 1056-1062.
- [33] EBRAHIMI L, FOTOUHIFAR KB. Identification of some fungi accompanying the scab symptoms in Iran[J]. *Mycologia Iranica*, 2016, 3(1): 25-37.
- [34] OCHIENG B, HONG SK, HASSAN O, RYU H. First report of *Sarocladium strictum* causing sheath rot of rice (*Oryza sativa*) in Korea[J]. *Korean Journal of Mycology*, 2024, 52(1): 19-24.
- [35] FUENTES ME, QUINONES RA. Carbon utilization profile of the filamentous fungal species *Fusarium fujikuroi*, *Penicillium decumbens*, and *Sarocladium strictum* isolated from marine coastal environments[J]. *Mycologia*, 2016, 108(6): 1069-1081.
- [36] LI Y, GU XY, KASSON MT, BATEMAN CC, GUO JJ, HUANG Y, LI Q, RABAGLIA RJ, HULCR J. Distribution, host records, and symbiotic fungi of *Euwallacea fornicates* (Coleoptera: Curculionidae: scolytinae) in China[J]. *Florida Entomologist*, 2016, 99(4): 801-804.
- [37] EL-SAYED ASA, MOUSTAFA AH, HUSSEIN HA, EL-SHEIKH AA, EL-SHAFFEY SN, FATHY NAM, ENAN GA. Potential insecticidal activity of *Sarocladium strictum*, an endophyte of *Cynanchum acutum*, against *Spodoptera littoralis*, a polyphagous insect pest[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 24: 101524.
- [38] HAJEK AE, EVEREST TA, CLIFTON EH. Accumulation of fungal pathogens infecting the invasive spotted lanternfly, *Lycorma delicatula*[J]. *Insects*, 2023, 14(12): 912.
- [39] DABABAT AEA, SIKORA RA. Influence of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* 162 on *Meloidogyne incognita* attraction and invasion[J]. *Nematology*, 2007, 9(6): 771-776.
- [40] TIAN XL, YAO YR, CHEN GH, MAO ZC, WANG XT, XIE BY. Suppression of *Meloidogyne incognita* by the endophytic fungus *Acremonium implicatum* from tomato root galls[J]. *International Journal of Pest Management*, 2014, 60(4): 239-245.
- [41] BOGNER CW, KARIUKI GM, ELASHRY A, SICHTERMANN G, BUCH AK, MISHRA B, THINES M, GRUNDLER FMW, SCHOUTEN A. Fungal root endophytes of tomato from Kenya and their nematode biocontrol potential[J]. *Mycological Progress*, 2016, 15(3): 30.
- [42] YAN XN, SIKORA RA, ZHENG JW. Potential use of cucumber (*Cucumis sativus* L.) endophytic fungi as seed treatment agents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2011, 12(3): 219-225.
- [43] 鄢小宁, SIKORA RA, 郑经武. 七株黄瓜内生真菌对南方根结线虫二龄幼虫的不同作用[J]. *中国生物防治*, 2010, 26(2): 181-185.
- YAN XN, SIKORA RA, ZHENG JW. Activities of seven fungal endophytes from cucumber plants to the second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2010, 26(2): 181-185 (in Chinese).
- [44] 张家家, 李世东, 郭荣君, 彭毅, 孙漫红, 缪作清. 淡紫紫孢菌 YES 和粉红螺旋聚孢霉 67-1 组合对黄瓜根结线虫病的防效评价[J]. *中国生物防治学报*, 2014, 30(6): 787-794.
- ZHANG JJ, LI SD, GUO RJ, PENG Y, SUN MH, MIAO ZQ. Efficacy of combined use of *Purpureocillium lilacinum* yes and *Clonostachys rosea* 67-1 in suppressing cucumber root-knot disease caused by *Meloidogyne incognita*[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2014, 30(6): 787-794 (in Chinese).
- [45] 马金慧, 朱萍萍, 茆振川, 张晓平, 谢丙炎, 李惠霞. 哈茨木霉菌株 TRI2 的鉴定及其对黄瓜根结线虫的防治作用[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(22): 263-269.
- MA JH, ZHU PP, MAO ZC, ZHANG XP, XIE BY, LI HX. Identification of *Trichoderma harzianum* TRI2 and its biological control effect against root-knot nematode[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(22): 263-269 (in Chinese).
- [46] 翟明娟, 李登辉, 马玉琴, 朱萍萍, 茆振川, 杨宇红, 谢丙炎. 绿色木霉菌株 Tvir-6 对黄瓜根结线虫的防治效果研究[J]. *中国蔬菜*, 2017(10): 67-72.
- ZHAI MJ, LI DH, MA YQ, ZHU PP, MAO ZC, YANG YH, XIE BY. Studies on biocontrol effect of *Trichoderma viride* Tvir-6 against root knot nematode on cucumber[J]. *China Vegetables*, 2017(10): 67-72 (in Chinese).