



长枝木霉 T6 与阿维菌素复配对 禾谷孢囊线虫的室内毒杀效果

吉宝丽,毛维兴,张树武,徐秉良

(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,兰州 730070)

摘 要 旨在采用室内毒力测定法测定长枝木霉与阿维菌素复配对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀效果。试验结果表明,单一长枝木霉 T6 菌株分生孢子悬浮液和阿维菌素对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫均表现出较好的毒杀效果,且不同浓度之间存在显著差异,随着处理浓度和时间的增加,毒杀作用增强。经 2.0×10^7 cfu $\cdot$ mL⁻¹ 的木霉分生孢子悬浮液和 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的阿维菌素溶液处理 2 龄幼虫 48 h 后,线虫死亡率分别达到 71.43% 和 60.28%;当长枝木霉 T6 与 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的阿维菌素溶液按 1:1 比例复配时,其对 2 龄幼虫的毒杀活性最佳,处理 48 h 后线虫死亡率高达 96.30%,其毒杀作用显著优于单一长枝木霉 T6 和单一阿维菌素溶液。

关键词 长枝木霉;禾谷孢囊线虫;阿维菌素;复配;毒杀作用

中图分类号 S432.4⁺5

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2022)02-0233-07

小麦禾谷孢囊线虫(*Heterodera avenae*)是一种危害禾谷类作物和禾本科牧草根部的土传病原线虫,属于固着性寄生线虫,在农业生产中造成严重的产量损失^[1]。该线虫于 1874 年在德国被首次发现,目前已经在全球近 40 个国家的小麦种植区发生和危害^[2];在澳大利亚的小麦种植区,导致粮食减产 23%~89%,每年造成高达 7 000 万美元的经济损失^[3];在西班牙重发区高达 90%^[4]。在中国,该病原线虫于 1989 年在湖北首次被发现,目前已在青海、山西、江苏、河北等 16 个省(市)广泛分布^[5-6],危害面积达小麦种植面积的 80%,导致小麦产量损失达 20%~70%^[7-8]。另外,禾谷孢囊线虫发生危害时造成小麦根部损伤,增加了土壤中植物病原菌侵染的机会,进一步加重小麦产量的损失^[9]。因此,小麦禾谷孢囊线虫病已成为制约中国小麦生产和粮食安全的重要因素。

当前,在农业生产中,主要采用化学防治(如米乐尔和好年冬)以及抗耐病品种等措施对植物

病原线虫进行防治^[10]。但是,目前中国大面积种植的小麦品种抗性较差,同时,抗耐性品种的选育是一项长期的战略^[11-12];化学防治效果可达 90%以上,但其具有土壤残留高和毒性大,以及危害土壤中有益微生物等缺陷,且随着人们环保和安全意识的提高,化学农药的使用正在不断减少^[13]。因此,寻找绿色高效生物农药防治禾谷孢囊线虫已成为必然的趋势。

木霉菌(*Trichoderma* spp.)是一种丝状真菌,其特点是分布广泛、抑菌谱广、环境适应强,目前已被证实对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、腐霉菌(*Pythium* spp.)、镰刀菌(*Fusarium* spp.)等多种植物病原菌具有拮抗作用^[14-15]。同时,木霉菌对植物病原线虫也有一定的防治效果,如使用拟康氏木霉(*T. pseudokoningii*)防治根结线虫能够显著降低卵的孵化率,同时对 2 龄幼虫也具有较强的毒杀作用^[16]。张树武等^[17]研究表明,长枝木霉菌(*T. longibrachiatum*)分生孢子悬浮液对小麦禾谷孢囊线虫卵具有明显的寄生和致

收稿日期:2020-10-09 修回日期:2020-11-01

基金项目:陇原青年创新创业人才项目(LYRC2019-35);国家自然科学基金(31860526);甘肃省杰出青年基金(18JR3RA161);甘肃农业大学人才专项经费(2017RCZX-07);甘肃农业大学学科建设基金(GAU-XKJS-2018-147);甘肃农业大学“伏羲杰出人才培养计划”(Gaufx-03J03)。

第一作者:吉宝丽,女,硕士研究生,研究方向为植物病害生物防治。E-mail:2049384462@qq.com

通信作者:张树武,男,博士,副教授,研究方向为作物病害及综合治理。E-mail:zhangsw704@126.com

徐秉良,女,博士,教授,研究方向为植物病害生物防治。E-mail:xubl@gsau.edu.cn

死作用,从而降低 2 龄幼虫的数量。阿维菌素是一种广谱、高效、安全、稳定的神经毒剂类生物农药,对农业上许多害虫包括植物寄生线虫具有一定的防治效果,且在土壤中降解迅速,无累积、无残留^[18]。张同庆等^[19]研究表明,1%阿维菌素对铁棍山药根结线虫的防效为 60.54%。但是在农业生产中单一使用阿维菌素容易引起小麦禾谷孢囊线虫的抗药性和效果不稳定等问题^[20]。

生防真菌与生物农药混配使用,不仅能够提高防治效果,还能起到扩大防病谱、延缓线虫抗性等作用^[21-22]。因此,本试验以禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫为研究对象,测定长枝木霉 T6、阿维菌素及其不同比例混用对其室内毒杀效果,以期获得一种高效的复配型生物农药,为新型生防制剂的开发与应用提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 甘肃农业大学植物病毒学和分子生物学实验室提供在 PDA 培养基上生长的长枝木霉 T6 菌株,于 2016 年保藏于中国科学院微生物研究所,保藏号为 CGMCC No. 13183。

1.1.2 供试土样 采用五点取样法于 2015 年 7 月在河南省小麦禾谷孢囊线虫发生较严重的地块采集土样,取样时先去除土块的表层干土,然后取 0~20 cm 层的土壤,将多点土样混匀,备用。

1.1.3 供试药剂 有效成分含量为 1.8% 的阿维菌素乳油,浙江世佳科技有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫分离 采用“漂浮法”^[23]分离孢囊。向河南采集的病田土样中加入一定量的自来水,充分搅拌至土样全部溶解,静置 2~3 min 即为土壤悬浮液,利用嵌在 65 目网筛中的 25 目网筛缓慢过滤悬浮液,重复 3 次,以防止孢囊被过滤掉。去掉 25 目网筛,用干净的水缓慢冲去 65 目网筛中的泥沙,将剩余物倒入垫有双层擦镜纸的漏斗内。然后将过滤后的剩余物移入干净的培养皿中,用竹签在体式显微镜下挑取新鲜、饱满的棕色孢囊,置于 4℃ 冰箱,备用。挑取的孢囊用 1% NaClO 溶液消毒 1 min,并用无菌水冲洗 6 次。然后将消毒的孢囊放入垫有擦镜纸的线虫分离器中,置于 15~20℃ 的恒温培养箱中孵化 13~22 d,每天收集孵化的 2 龄幼虫,置于显微镜下利用血球计数板配制浓度为 200 mL⁻¹ 的

2 龄幼虫悬浮液,4℃ 下保存,备用。

1.2.2 长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液的制备

取 25℃ 恒温培养箱培养 6 d 的长枝木霉 T6 菌株 PDA 平板,加入 100 μL Tween 80 及 5 mL 无菌水,用无菌毛刷将孢子刷入无菌的 10 mL 离心管中充分震荡,即获得分生孢子悬浮液,利用血球计数板配制使终浓度为 2.0×10^7 cfu · mL⁻¹,备用。

1.2.3 阿维菌素溶液的制备 将 1.8% 的阿维菌素乳油用无菌水分别配制成 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 μg · mL⁻¹ 溶液,备用。

1.2.4 长枝木霉 T6 孢子悬浮液与阿维菌素溶液复配剂的制备 按体积比为 1:1、2:1、3:1 的比例分别复配浓度为 2.0×10^7 cfu · mL⁻¹ 的长枝木霉 T6 分生孢子悬浮液和上述 5 个浓度的阿维菌素溶液,充分震荡使其混合均匀,备用。

1.2.5 长枝木霉与阿维菌素及其复配对 2 龄幼虫毒杀作用的测定 利用无菌的 96 孔细胞培养板测定单剂和复配剂的杀线活性,每孔中先加入 10 μL 浓度为 2×10^2 mL⁻¹ 的 2 龄幼虫悬浮液,再分别加入 90 μL 长枝木霉 T6 与阿维菌素复配剂、单一长枝木霉 T6 孢子悬浮液和不同浓度的阿维菌素溶液,以加入等量的无菌水作为对照处理。每个处理 16 个重复,置于 25℃ 恒温培养箱中培养,每隔 24 h 在显微镜下观察并记录线虫的死亡虫数,根据记录数据计算其校正死亡率、致死中量并进行方差分析。

死亡率 = 死亡 2 龄幼虫数量 / 供试 2 龄幼虫数量 × 100%

校正死亡率 = (处理死亡率 - 对照死亡率) / (1 - 对照死亡率) × 100%

1.3 数据分析

利用 Microsoft Excel 2017 对试验数据进行统计分析,并利用 SPSS 19.0 进行方差分析,差异显著性检验采用 Duncan 氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液对线虫毒杀活性

长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液处理禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫表现出较好的毒杀活性,并且随处理时间的增大活性增强,与对照相比存在显著差异(表 1)。

2.2 不同浓度阿维菌素溶液对线虫毒杀活性

阿维菌素溶液对 2 龄幼虫具有较好的毒杀活性,随着阿维菌素浓度和处理时间的增加而不断增强,且不同浓度对 2 龄幼虫的致死作用存在显

表 1 长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀效果

Table 1 Toxic effect of *T. longibrachiatum* T6 spore on the second stage juveniles of *H. avenae*

时间/h Time	浓度/ (cfu · mL ⁻¹) Concentration	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Corrected mortality
24	2.0×10 ⁷	57.14±3.09 b	57.14±2.78 b
	0(CK)	0.00±0.00 c	—
48	2.0×10 ⁷	71.43±2.57 a	71.43±2.59 a
	0(CK)	0.00±0.00 c	—

注:不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P<0.05$),下同。

Note: Different lowercase letters within the same column indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

表 2 不同浓度阿维菌素对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀效果

Table 2 Toxic effect of different concentrations of Avermectin on second stage juveniles of *H. avenae*

时间/h Time	浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Corrected mortality	毒力回归方程 Liner regression equation	相关系数(r) Related coefficient	致死中浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC ₅₀
24	0.1	24.52±2.49 d	24.52±2.49 d	$y=0.784\ 6x+5.097\ 3$	0.991 8	0.751 5
	0.2	33.33±2.18 c	33.33±2.18 c			
	0.3	37.26±2.02 bc	37.26±2.02 bc			
	0.4	40.00±1.95 b	40.00±1.95 b			
	0.5	45.77±2.17 a	45.77±2.17 a			
	0(CK)	0.00±0.00 e	—			
48	0.1	31.74±1.59 c	31.74±1.59 c	$y=1.045\ 2x+5.603\ 4$	0.981 0	0.264 7
	0.2	48.15±1.85 b	48.15±1.85 b			
	0.3	50.00±3.69 b	50.00±3.69 b			
	0.4	58.89±1.74 a	58.89±1.74 a			
	0.5	60.28±1.21 a	60.28±1.21 a			
	0(CK)	0.00±0.00 d	—			

注: x 为浓度, y 为校正死亡率。下同。

Note: x represents concentrations, y represents corrected mortality. The same below.

浓度为 2.0×10^7 cfu · mL⁻¹ 的长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与 $0.5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的阿维菌素按体积比 2 : 1 复配处理 2 龄幼虫 24 h 和 48 h 后的死亡率分别为 64.44% 与 91.24%(表 4);两者按体积比 3 : 1 复配处理 2 龄幼虫 24 h 和 48 h 后的死亡率分别为 74.29% 与 91.07%(表 5)。试验结果表明,长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与阿维菌素溶液按不同体积比复配后对禾谷孢囊线虫 2

著差异。由毒力回归方程和 LC₅₀ 可知,阿维菌素溶液对 2 龄幼虫的致死作用与其浓度以及处理时间呈正相关(表 2)。

2.3 长枝木霉 T6 菌株和阿维菌素复配溶液对线虫毒杀活性

长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与阿维菌素溶液复配后对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫具有较强的毒杀作用,其活性明显高于单一木霉菌株或单一阿维菌素,显著提高单一木霉或单一阿维菌素对 2 龄幼虫的毒杀效果。浓度为 2.0×10^7 cfu · mL⁻¹ 的长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与 $0.5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的阿维菌素按体积比 1 : 1 复配处理 2 龄幼虫 48 h 后的死亡率高达 96.30%,校正死亡率为 96.30%(表 3)。由毒力回归方程和 LC₅₀ 可知,长枝木霉孢子悬浮液与不同浓度阿维菌素复配对 2 龄幼虫的毒杀作用与阿维菌素浓度以及处理时间呈正相关。

龄幼虫均具有较强的毒杀作用,与单一木霉或单一阿维菌素处理 2 龄幼虫的毒杀效果相比,均有显著提高,表明长枝木霉孢子悬浮液与阿维菌素有很好的兼容性,而且当阿维菌素浓度为 $0.5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,长枝木霉孢子悬浮液与其按 1 : 1、2 : 1、3 : 1 的体积比混合处理 2 龄幼虫 24 h,对线虫毒杀活性有显著差异,而在处理 48 h 后毒杀活性无显著差异。

表 3 长枝木霉与阿维菌素 1 : 1 混剂对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀作用

Table 3 Toxic effect of *T. longibrachiatum* and Avermectin 1 : 1 mixture on second stage juveniles of *H. avenae*

时间/h Time	浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Corrected mortality	毒力回归方程 Liner regression equation	相关系数(<i>r</i>) Related coefficient	致死中浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC ₅₀
24	0.1	57.94±3.43 d	57.94±3.43 d	$y=1.307x+6.4156$	0.9643	0.0826
	0.2	65.00±3.67 c	65.00±3.67 c			
	0.3	73.89±3.89 b	73.89±3.89 b			
	0.4	82.22±4.64 ab	82.22±4.64 ab			
	0.5	86.67±4.57 a	86.67±4.57 a			
	0(CK)	0.00±0.00 e	—			
48	0.1	73.89±3.89 e	73.89±3.89 e	$y=1.5021x+7.0052$	0.9080	0.0462
	0.2	80.55±2.78 d	80.55±2.78 d			
	0.3	83.33±3.89 c	83.33±3.89 c			
	0.4	91.67±5.33 b	91.67±5.33 b			
	0.5	96.30±3.70 a	96.30±3.70 a			
	0(CK)	0.00±0.00 f	—			

表 4 长枝木霉与阿维菌素 2 : 1 混剂对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀作用

Table 4 Toxic effect of *T. longibrachiatum* and Avermectin 2 : 1 mixture on second stage juveniles of *H. avenae*

时间/h Time	浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Corrected mortality	毒力回归方程 Liner regression equation	相关系数(<i>r</i>) Related coefficient	致死中浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC ₅₀
24	0.1	58.09±0.95 c	58.09±0.95 c	$y=0.2252x+5.4250$	0.9251	0.0130
	0.2	61.09±2.00 b	61.09±2.00 b			
	0.3	60.34±2.26 b	60.34±2.26 b			
	0.4	63.64±1.25 a	63.64±1.25 a			
	0.5	64.44±2.00 a	64.44±2.00 a			
	0(CK)	0.00±0.00 d	—			
48	0.1	63.06±1.95 d	63.06±1.95 d	$y=1.4460x+6.7149$	0.9848	0.0652
	0.2	73.33±1.67 c	73.33±1.67 c			
	0.3	81.66±2.56 b	81.66±2.56 b			
	0.4	87.21±1.90 a	87.21±1.90 a			
	0.5	91.24±1.13 a	91.24±1.13 a			
	0(CK)	0.00±0.00 e	—			

表 5 长枝木霉与阿维菌素 3 : 1 混剂对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的毒杀作用

Table 5 Toxic effect of *T. longibrachiatum* and Avermectin 3 : 1 mixture on second stage juveniles of *H. avenae*

时间/h Time	浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration	死亡率/% Mortality	校正死亡率/% Corrected mortality	毒力回归方程 Liner regression equation	相关系数(<i>r</i>) Related coefficient	致死中浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) LC ₅₀
24	0.1	61.09±2.00 c	61.09±2.00 c	$y=0.5002x+5.7557$	0.9603	0.0308
	0.2	65.28±1.39 bc	65.28±1.39 bc			
	0.3	66.87±2.58 bc	66.87±2.58 bc			
	0.4	71.03±2.41 ab	71.03±2.41 ab			
	0.5	74.29±2.86 a	74.29±2.86 a			
	0(CK)	0.00±0.00 d	—			
48	0.1	68.89±3.22 c	68.89±3.22 c	$y=1.2785x+6.6925$	0.9545	0.0474
	0.2	73.15±3.34 bc	73.15±3.34 bc			
	0.3	86.67±4.34 ab	86.67±3.34 ab			
	0.4	87.74±2.26 a	87.74±2.26 a			
	0.5	91.07±4.49 a	91.07±4.49 a			
	0(CK)	0.00±0.00 d	—			

3 结论与讨论

单一阿维菌素和单一长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫均具有较好的毒杀效果,且随处理浓度和时间的增大效果增强;长枝木霉 T6 孢子悬浮液与阿维菌素有很好的兼容性,长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与不同浓度阿维菌素溶液按不同体积比复配后对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫均具有较强的毒杀作用,毒杀效果显著优于单一木霉或单一阿维菌素。

马金慧等^[24]利用哈茨木霉发酵液原液处理南方根结线虫 2 龄幼虫,48 h 后的校正死亡率达到 100%;本试验中,长枝木霉分生孢子悬浮液处理 2 龄幼虫 48 h 后,线虫的校正死亡率为 71.43%,校正死亡率的差异可能与生防真菌的种类、杀线机制以及病原线虫的不同等有关^[25]。

通过将不同作用机制的生防菌与生物农药复配后进行植物病原菌的防治,能够显著提高防治效果,同时减少农药的使用并延长农药的持效期。杨波等^[26]利用生防真菌淡紫紫孢菌颗粒剂与阿维菌素复配防治黄瓜根结线虫,复配后阿维菌素的用量显著降低,且有明显的增效作用。木霉菌与阿维菌素均与环境相容性好,复配使用生产成本低,成分多样,线虫不易产生抗药性,具有扩大防治谱和协同增效等作用^[18,27]。在本试验中,长枝木霉 T6 菌株孢子悬浮液与阿维菌素溶液以 1:1 体积比复配时,对禾谷孢囊线虫 2 龄幼虫的防效达 96.3%,所需的长枝木霉 T6 菌株分生孢子悬浮液用量少,生产成本低,具有良好的应用前景。

参考文献 Reference:

- [1] NICOL J M, ELEKIOGLU I H, BOLAT N, *et al.* The global importance of the cereal cyst nematode (*Heterodera* spp.) on wheat and international approaches to its control [J]. *Communications in Agricultural & Applied Biological Sciences*, 2007, 72(3): 677-686.
- [2] 刘 坤. 晋、浙两省小麦孢囊线虫的发生分布、鉴定及其生活史观察[D]. 杭州:浙江大学, 2012.
- LIU K. Distribution, identification and life cycle of cereal cyst nematodes on wheat in Shanxi and Zhejiang province [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [3] BROWNR H. Studies on the Australian pathotype of *Heterodera avenae* [J]. *European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin*, 1982, 12: 413-416.
- [4] PHILIS J. *Heterodera avenae* and *Pratylenchus thornei* attacking barley in Cyprus [J]. *Nematologia Mediterranea*, 1997, 25: 305-309.
- [5] 陈品三, 王明祖, 彭德良. 我国小麦禾谷孢囊线虫的发现与鉴定初报[J]. *中国农业科学*, 1991, 24(5): 89-91.
- CHEN P S, WANG M Z, PENG D L. Discovery and identification of wheat cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) in China [J]. *Agricultural Science in China*, 1991, 24(5): 89-91.
- [6] 牛雯雯, 王 暄, 李红梅, 等. 基于线粒体 DNA-COI 序列的禾谷孢囊线虫和菲利浦孢囊线虫双重 PCR 检测[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(8): 1499-1509.
- NIU W W, WANG X, LI H M, *et al.* Duplex-PCR detection for *Heterodera avenae* and *Heterodera filipjevi* based on mtDNA-COI sequences [J]. *Agricultural Science in China*, 2016, 49(8): 1499-1509.
- [7] PENG D L, NICOL J M, LI H M, *et al.* Current knowledge of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) on wheat in China [C] // Riley I T, Nicol J M, Dababat A A. Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Ankara, Turkey: CIMMY, 2009: 29-34.
- [8] 俞 翔, 吴慧平, 马 骥, 等. 安徽省颖上县禾谷类孢囊线虫发生与危害[J]. *植物保护*, 2012, 38(5): 124-127.
- YU X, WU H P, MA J, *et al.* Occurrence of and damages caused by the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* in Yingshang County of Anhui province [J]. *Plant Protection*, 2012, 38(5): 124-127.
- [9] 张 洁. 小麦孢囊线虫病的生防微生物鉴定及球孢白僵菌 08F04 菌株对土壤微生物多样性的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2016.
- ZHANG J. Identification of biocontrol microorganism of cereal cyst nematode and the influence of strain 08F04 of *Beauverria bassiana* on soil microbial diversity [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2016.
- [10] 袁虹霞, 陈 莉, 张飞跃, 等. 小麦禾谷孢囊线虫生防真菌的筛选与鉴定[J]. *植物保护学报*, 2011, 38(1): 52-58.
- YUAN H X, CHEN L, ZHANG F Y, *et al.* Isolation and identification of fungal parasites of cyst nematodes in *Heterodera avenae* group [J]. *Journal of Plant Protection*, 2011, 38(1): 52-58.
- [11] ZHANG S W, XU B L, XUE Y Y, *et al.* Lethal effects of *Trichoderma longibrachiatum* on *Heterodera avenae* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25 (7): 2093-2098.
- [12] DABABAT A, IMREN M, ERGINBAS-ORAKEI G, *et al.* The importance and management strategies of cereal cyst nematodes, *Heterodera* spp., in Turkey [J]. *Euphytica*, 2015, 202(2): 173-188.
- [13] 安翠娟, 林开创. 不同药剂拌种对小麦孢囊线虫病防治效果试验[J]. *河南农业*, 2020, 31(7): 33-34.
- AN C J, LIN K CH. Control effect of seed dressing with different chemicals on wheat cyst nematode [J]. *Henan Agricultural*, 2020, 31(7): 33-34.

- [14] 李小杰,李成军,姚晨琥,等.拮抗烟草疫霉菌的木霉菌株筛选鉴定及防病促生作用研究[J].中国烟草科学,2020,41(3):65-70.
LI X J, LI CH J, YAO CH X, *et al.* Screening, identification of antagonistic *Trichoderma* spp. against tobacco black shank and its growth promotion effect on tobacco [J]. *Tobacco Science in China*, 2020, 41(3): 65-70.
- [15] 张树武,徐秉良,薛应钰,等.长枝木霉对南方根结线虫致死和寄生作用的显微观察及测定[J].植物保护,2013(4):46-51.
ZHANG SH W, XU B L, XUE Y Y, *et al.* Microscopic observation of the lethal and parasitic effects of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita* [J]. *Plant Protection*, 2013(4): 46-51.
- [16] CHEN L L, LIU L J, SHI M, *et al.* Characterization and gene cloning of a novel serine protease with nematocidal activity from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2009, 299(2): 135-142.
- [17] 张树武,徐秉良,古丽君,等.长枝木霉对禾谷胞囊线虫卵的寄生和毒杀作用及其机制[J].植物保护学报,2013,40(4):320-326.
ZAHNG SH W, XU B L, GU L J, *et al.* The mechanism, parasitic and toxic effects of *Trichoderma longibrachiatum* on the eggs of *Heterodera avenae* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2013, 40(4): 320-326.
- [18] 刘 丹.阿维菌素与两种熏蒸剂混用防治南方根结线虫应用技术研究[D].长沙:湖南农业大学,2014.
LIU D. Combined application technology of avermectin and two fumigants against aourthern rook-knot nematodes [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.
- [19] 张同庆,石卫东,李军峰,等.0.5%阿维菌素颗粒剂防治铁棍山药根结线虫药效试验[J].农业科技通讯,2020(8):186-188.
ZHANG T Q, SHI W D, LI J F, *et al.* Efficacy of 0.5% avermectin granules against root knot nematode of iron stick yams [J]. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2020(8): 186-188.
- [20] 裴世安.江苏省小麦孢囊线虫的发生分布、鉴定及其化学防治研究[D].南京:南京农业大学,2011.
PEI SH A. Distribution and identification of cereal cyst nematode on wheat in Jiangsu province and their chemical control [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [21] DUFFY B. Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all on wheat [J]. *Phytopathology*, 1996, 86(2): 188-194.
- [22] 陈志谊,刘邰洲,刘永峰,等.拮抗细菌菌株之间的互作关系及其对生物防治效果的影响[J].植物病理学报,2005,35(6):539-544.
CHEN ZH Y, LIU Y ZH, LIU Y F, *et al.* Compatibility between antagonistic bacterial strains and biocontrol efficacy by different bacterial combinations against *Fusarium wilt* of vegetables [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2005, 35(6): 539-544.
- [23] 方中达.植病研究法[M].北京:中国农业出版社,1988.
FANG ZH D. Plant Disease Research Method [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1988.
- [24] 马金慧,朱萍萍,茆振川,等.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(4):263-269.
MA J H, ZHU P P, MAO ZH CH, *et al.* Identification of *Trichoderma harzianum* TRI2 and its biological control effect against root-knot nematode [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30(4): 263-269.
- [25] 陈书霞,姜永华,刘宏久,等. AM 真菌和根结线虫互作对黄瓜生长及生理特征的影响[J].植物保护学报,2012,39(3):253-258.
CHEN SH X, JIANG Y H, LIU H J, *et al.* The effects of interaction between fungus arbuscular mycorrhiza and root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on the growth and physiological characteristic of cucumber [J]. *Journal of Plant Protection*, 2012, 39(3): 253-258.
- [26] 杨 波,孟俊峰,莫陈泪,等.生防菌淡紫紫孢菌与低剂量杀线虫剂复配防治蔬菜根结线虫的研究[J].植物病理学报,2016,46(4):551-560.
YANG B, MENG J F, MO CH M, *et al.* Combination of biocontrol agent *Purpureocillium lilacinum* and low-dose nematicides for integrated control of vegetable root-knot nematodes [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2016, 46(4): 551-560.
- [27] VARGAS W A, MANDAWA J C, KENERLEY C M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plant [J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(2): 792-808.

Indoor Toxic Effect Ditermination of *Trichoderma longibrachiatum* T6 and Avermectin Combination against Cereal Cyst Nematod

JI Baoli, MAO Weixin, ZHANG Shuwu and XU Bingliang

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

Abstract Indoor toxicity determination method was used to determine the toxic effect of the *Trichoderma longibrachiatum*, avermectin and complex against second stage juveniles of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*). The results showed that the conidia suspension of *T. longibrachiatum* T6 and avermectin solution had strong toxic effect on the second stage juveniles, and significant difference existed among the treatments with different concentrations of avermectin. In addition, the mortality of nematodes increased with increase of the concentration and extension of the time. The mortality of nematodes treated with the concentrations of 2.0×10^7 cfu $\cdot$ mL⁻¹ *T. longibrachiatum* and 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹ avermectin were 71.43% and 60.28% after 48 h. The combination of *T. longibrachiatum* and 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹ avermectin solution presented the highest toxic effect on the nematodes at the ratio of 1 : 1 after inoculation. The mortality rate of nematode was 96.30% after 48 hours, which was significantly higher than the single biocontrol preparation. The results provide an important theoretical basis for obtaining an efficient compound biopesticide.

Key words *Trichoderma longibrachiatum*; *Heterodera avenae*; Avermectin; Compounding; Toxic effect

Received 2020-10-09

Returned 2020-11-01

Foundation item Longyuan Youth Innovation and Entrepreneurship Talent Project (No. LYRC2019-35); National Natural Science Foundation of China (No. 31860526); Gansu Provincial Outstanding Youth Fund (No. 18JR3RA161); Special Fund for Talents of Gansu Agricultural University (No. 2017RCZX-07); Discipline Construction Fund of Gansu Agricultural University (No. GAU-XKJS-2018-147; Fuxi Distinguished Talent Cultivation Program of Gansu Agricultural University (No. Gafux-03J03).

First author JI Baoli, female, master student. Research area: biological control of plant diseases. E-mail: 2049384462@qq.com

Corresponding author ZHANG Shuwu, male, Ph. D, associate professor. Research area: crop diseases and comprehensive management. E-mail: zhangsw704@126.com

XU Bingliang, female, Ph. D, professor. Research area: crop disease and management. E-mail: xubl@gsau.edu.cn

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)