



李敏,杨帆,刘春来,等.五株虫生真菌生物学特性及拮抗潜力初步研究[J].黑龙江农业科学,2021(8):42-47.

五株虫生真菌生物学特性及拮抗潜力初步研究

李 敏,杨 帆,刘春来,刘兴龙,王 爽,蒋希峰,曹大为,李新民

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所/农业部哈尔滨作物有害生物科学观测实验站,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为得到性状优良且具有生防潜力的虫生真菌,本试验对已获得的虫生真菌进行了基础生物学测定并对 6 种主要病原菌抑菌活性进行测定。结果表明:菌株 FNS5 和 FYS3 的最适生长温度分别为 25~28 ℃ 和 28~30 ℃,菌株 FYS3 的最适产孢温度较广,为 20~30 ℃。菌株 FNS5 的最适产孢温度为 20~25 ℃。48 h 镜检菌株 FNS5 在 25 ℃ 处理下萌发率最高为 68%,与其他处理差异显著。菌株 FNS5、FYS3 均表现出广谱且较强的抑制作用,平皿对峙试验,金龟子绿僵菌 FYS3 对水稻稻瘟病的抑制率达 47.13%,琼脂扩散法试验,金龟子绿僵菌 FNS5、FYS3 的代谢产物对番茄灰霉病菌具有拮抗作用,抑菌圈直径分别为(3.22±0.19) cm 和(3.51±0.29) cm,是两株具有进一步研究价值的生防菌株。

关键词:虫生真菌;生物学特性;拮抗作用

虫生真菌是昆虫病原微生物中最大的一个类群,是重要的生物防治资源,在农、林、卫生害虫生物防治方面发挥了重要作用^[1-2]。我国的虫生真菌资源极为丰富,黑龙江省位于中国东北部,土地面积广阔,生态环境及土壤类型多样,蕴藏着丰富的虫生真菌资源。研发、生产和应用虫生真菌资源,开展“以菌治虫”是生物防治工作的重要组成部分。大量研究表明,虫生真菌无论分离自土壤还是昆虫罹病体,不同生境条件下分离获得的同一种类的菌株间在数量和生防潜力等方面存在着显著差异^[3-4]。这就使研究者要对所获得的菌株进行常规筛选,以便得到指标优良的菌株,其中菌株的产孢量、菌落生长速率及孢子活力等是筛选优良菌株的重要指标^[5-6]。对于虫生真菌的研究除了基础生物学特性和分子生物学外,主要集中在害虫防治方面,多数菌株通过罹病虫体分离和土壤诱集获得^[7-8]。借助分子标记证实,虫生真菌在自然界里除了对靶标害虫具有致病性外,还表现出在土壤根际的定殖、促生作用以及对植物病原菌的拮抗作用^[3,9]。

本研究以前期对黑龙江省不同生态环境、不同土壤类型及昆虫罹病体通过大蜡螟诱集法获得

的虫生真菌为材料,通过研究部分虫生真菌的生物学特性及对主要作物病原菌的拮抗作用进行测定,评价虫生真菌的生防潜能,为筛选高效、广谱虫生真菌及扩大虫生真菌生防范围提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*:FNS5、FNKY、FYS3,球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*:FMWD、FBA21。

1.2 方法

1.2.1 菌株生长和产孢量测定 PDA 平皿活化 5 株菌株,打取各菌株菌落边缘 7 mm 菌碟,分别接种到 PDA 平皿中央,分别置于 12,14,15,20,25,28,30,35,37 和 40 ℃ 梯度培养箱培养,各处理重复 5 皿。每隔 2 d 采用十字交叉法测量菌落直径,至 14 d 结束,并在 14 d 收集每皿分生孢子,用吐温水配成孢子悬浮液,测定菌株产孢量。

1.2.2 菌株孢子萌发和芽管生长 1%葡萄糖无菌营养液收集培养 14 d 的各菌株分生孢子,调整孢悬液浓度,使其在显微镜 400 倍下每视野约 50 个孢子。孢子萌发试验采用载玻片悬滴法^[3],分别在 24 和 48 h 镜检孢子萌发率,各处理 3 次重复。

1.2.3 极端条件菌株孢子活力测定 湿度对分生孢子萌发的影响:利用不同浓度溶液设置相对湿度 41%、50%、61%、76%、80%和 100%。孢子

收稿日期:2021-04-28

基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划重大项目(GA19B104-5);黑龙江省农业科学院科研项目计划(2019YY YF037)。

第一作者:李敏(1964—),女,高级农艺师,从事作物病虫害生物防治。E-mail:biology405@126.com。

萌发试验参照 1.2.2,24 h 镜检 5 株菌株孢子萌发率,各处理 3 次重复。

温度对分生孢子萌发的影响:设置 15,20,25,30 和 35 ℃ 培养温度,孢子萌发试验参照 1.2.2,24 h 镜检 5 株菌株孢子萌发率,各处理 3 次重复。

高温胁迫对分生孢子萌发的影响:挑取各菌株的分生孢子粉,置于灭菌试管底部,将试管置于 50 ℃ 水浴锅中分别水浴加热 5,15 和 25 min。孢子萌发试验参照 1.2.2,24 h 镜检 5 株菌株孢子萌发率,以未经水浴加热的分生孢子萌发率为对照,各处理 3 次重复。

紫外照射对分生孢子萌发的影响:挑取各菌株的分生孢子粉,置于 10 mL 1% 的蛋白胨无菌溶液中,调整孢悬液浓度,使其在显微镜 400 倍下每视野约 50 个孢子。将菌悬液置于超净工作台的紫外灯(30 W)下 40 cm 处,分别照射 5,15 和 25 min。孢子萌发试验参照 1.2.2,24 h 镜检孢子萌发率,以未经紫外照射的分生孢子菌悬液为对照,各处理 3 次重复。

1.2.4 菌株对植物病原菌拮抗作用研究 菌株对植物病原菌菌丝生长的抑制作用:无菌水收集各虫生菌株分生孢子,制成孢悬液,每 400 μL 孢悬液涂布于 SADY 平皿,植物病原菌 7 mm 菌碟接种于 PDA 平皿中央,25 ℃ 培养箱黑暗培养 3 d,待用。

采用双重对峙培养法评价各菌株对病原菌菌丝的抑制作用,各处理重复 4 次。

菌丝生长抑制率(IMG)/%=(对照菌落半径-病原菌菌落半径)/对照菌落半径×100

菌株代谢产物对植物病原真菌菌丝生长的抑制作用:萨氏培养基活化虫生真菌,25 ℃ 培养 5 d 后打取菌落边缘 5 mm 菌碟,接种到 100 mL 萨氏液体培养基中,每三角瓶 3 个菌碟,25 ℃、180 r·min⁻¹ 振荡培养 5 d。发酵液 8 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,收集上清液,上清液用 0.22 μm 细菌过滤器过滤,获得无菌发酵滤液,置 4 ℃ 冰箱中保存备用。

采用平板扩散法评价各菌株代谢产物对病原菌菌丝的抑制作用,待对照菌落长满培养皿,测量抑菌圈直径,各处理 4 次重复。

1.2.5 数据分析 试验数据采用 SPSS 19.0 进行处理。

2 结果与分析

2.1 虫生真菌菌株的生长及产孢量

由表 1 可知,不同温度处理下,各菌株在 40 ℃ 下均不生长,12 ℃ 各菌株生长极其缓慢。菌株 FNS5 在 30 ℃ 下虽生长,但菌落稀疏,其最适生长温度为 25~28 ℃,菌株 FBA21、FMWD、FYS3 的最适生长温度为 28~30 ℃,菌株 FNKY 的最适生长温度为 25~30 ℃。

由表 2 可知,菌株 FNKY、FYS3 虽在 12 ℃ 能生长,但不产孢。菌株 FMWD、FNKY、FYS3 的最适产孢温度为 20~30 ℃,菌株 FBA21 的最适产孢温度为 25~28 ℃,菌株 FNS5 的最适产孢温度为 20~25 ℃。

表 1 不同温度下虫生真菌菌株生长速率					单位:cm·d ⁻¹
温度/℃	球孢白僵菌		金龟子绿僵菌		
	FBA21	FMWD	FNKY	FNS5	FYS3
12	0.05±0.007 f	0.05±0.008 d	0.03±0.003 ef	0.01±0.005 g	0.02±0.004 g
14	0.09±0.007 de	0.13±0.003 c	0.11±0.010 d	0.09±0.011 f	0.13±0.018 ef
15	0.09±0.003 d	0.12±0.007 c	0.06±0.003 e	0.08±0.003 f	0.11±0.002 f
20	0.15±0.026 c	0.24±0.007 b	0.20±0.011 c	0.17±0.002 e	0.22±0.011 d
25	0.26±0.023 b	0.23±0.006 b	0.30±0.008 b	0.28±0.181 a	0.25±0.015 c
28	0.33±0.026 a	0.35±0.039 a	0.31±0.003 b	0.25±0.009 bc	0.44±0.033 a
30	0.31±0.062 a	0.35±0.015 a	0.35±0.019 a	0.27±0.011 ab	0.30±0.015 b
35	0.06±0.013 ef	0.06±0.006 d	0.18±0.025 c	0.24±0.022 c	0.20±0.035 d
37	0.03±0.018 fg	0.01±0.008 e	0.21±0.084 c	0.21±0.045 d	0.15±0.000 e
40	0 g	0 e	0 f	0 g	0 g

注:同列数据不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著,下同。

表 2 不同温度下虫生真菌菌株产孢量

单位:孢子·皿⁻¹

温度/℃	球孢白僵菌		金龟子绿僵菌		
	FBA21	FMWD	FNKY	FNS5	FYS3
12	(3.57±1.09)×10 ⁷ c	(5.96±3.12)×10 ⁶ b	0 b	(1.54±0.75)×10 ⁶ e	0 b
14	(6.83±3.75)×10 ⁷ c	(2.08±1.54)×10 ⁸ b	(7.67±0.33)×10 ⁷ b	(3.14±1.22)×10 ⁸ cd	(2.08±0.13)×10 ⁷ b
15	(1.35±0.54)×10 ⁹ c	(3.18±1.55)×10 ⁸ b	(1.57±0.45)×10 ⁷ b	(1.68±0.81)×10 ⁸ de	(2.91±0.91)×10 ⁸ b
20	(1.11±0.27)×10 ⁹ c	(2.69±1.29)×10 ⁹ a	(5.92±1.66)×10 ⁸ a	(8.75±4.02)×10 ⁸ b	(1.28±0.47)×10 ⁹ a
25	(4.29±1.42)×10 ⁹ b	(2.14±0.90)×10 ⁹ a	(5.88±3.33)×10 ⁸ a	(1.39±0.27)×10 ⁹ a	(1.30±0.30)×10 ⁹ a
28	(6.38±2.88)×10 ⁹ a	(2.75±0.87)×10 ⁹ a	(2.71±1.30)×10 ⁷ b	(4.38±1.41)×10 ⁸ c	(2.31±0.43)×10 ⁷ b
30	(7.94±4.72)×10 ⁸ c	(2.29±1.10)×10 ⁹ a	(1.90±0.86)×10 ⁸ a	(5.11±1.98)×10 ⁸ c	(1.30±0.80)×10 ⁹ a
35	(1.50±0.35)×10 ⁷ c	(5.94±0.90)×10 ⁷ b	(2.67±3.36)×10 ⁶ b	(1.28±0.43)×10 ⁸ de	(1.79±1.62)×10 ⁸ b
37	(6.56±2.06)×10 ⁷ c	(2.33±0.32)×10 ⁷ b	(3.50±3.05)×10 ⁶ b	(4.07±2.51)×10 ⁷ e	(4.66±0.19)×10 ⁷ b
40	0 c	0 b	0 b	0 e	0 b

2.2 虫生真菌菌株的孢子萌发情况

根据预备试验结果,菌株 FNS5、FNKY 镜检 48 h 孢子萌发率,其余 3 株镜检 24 h 孢子萌发率,由表 3 可知,15 ℃ 处理下各菌株不萌发。24 h 镜检,菌株 FMWD 在 25 ℃ 及 30 ℃ 下萌发率分别为 72% 和 71%,无显著差异,与其他处理在 0.05 水平下差异显著。48 h 镜检,菌株 FNS5 在 25 ℃ 处理下萌发率最高,为 68%,与其他处理在 0.05 水平下差异显著。

表 3 不同温度下虫生真菌菌株孢子萌发率

温度/ ℃	萌发率/%				
	球孢白僵菌		金龟子绿僵菌		
	FBA21	FMWD	FNKY	FNS5	FYS3
15	0 c	0 c	0 d	0 d	0 d
20	22±11 b	20±5 b	19±4 c	52±6 b	41±13 c
25	39±3 a	72±10 a	31±7 b	68±13 a	82±5 a
30	27±10 b	71±13 a	30±6 b	54±14 b	70±11 b
35	24±7 b	39±8 b	44±7 a	23±13 c	43±8 c

2.3 湿度对虫生真菌菌株孢子萌发的影响

本试验中 25 ℃ 下,除相对湿度 100% 处理外,其余处理下的各菌株孢子均不萌发,故得出湿度对虫生菌孢子萌发的影响最大。

2.4 高温胁迫对虫生真菌菌株孢子萌发的影响

由表 4 可知,经高温处理 5 min,除菌株 FBA21 外各菌株的孢子萌发率显著低于对照,菌株 FBA21 的萌发率与对照差异不显著,可见其抗高温能力较强于其他菌株。水浴加热 25 min 后,也仅有菌株 FBA21 孢子萌发率在 15% 左右,显

著高于其他 4 株菌株孢子萌发率。

2.5 紫外照射对虫生真菌菌株孢子萌发的影响

由表 5 可知,经紫外照射 5 min 后,各菌株的孢子萌发率显著低于对照,菌株 FMWD 的抗紫外照射能力较强于其他菌株,经照射 25 min 后,各菌株基本不萌发。

表 4 高温胁迫不同时间下虫生真菌菌株孢子萌发率

时间/ min	萌发率/%				
	球孢白僵菌		金龟子绿僵菌		
	FBA21	FMWD	FNKY	FNS5	FYS3
CK	39±3 a	72±10 a	31±7 a	68±13 a	82±5 a
5	35±9 a	0 b	8±3 b	21±17 b	16±2 b
15	15±7 b	0 b	6±3 b	4±3 c	14±6 b
25	15±9 b	0 b	0 b	2±2 c	4±2 c

表 5 紫外照射不同时间下虫生真菌菌株孢子萌发率

时间/ min	萌发率/%				
	球孢白僵菌		金龟子绿僵菌		
	FBA21	FMWD	FNKY	FNS5	FYS3
CK	39±3 a	72±10 a	31±7 a	68±13 a	82±5 a
5	12±5 b	70±13 a	8±3 b	8±4 b	28±7 b
15	4±2 c	20±8 b	3±2 b	8±4 b	8±6 c
25	2±2 c	6±2 c	2±2 b	4±3 c	1±1 c

2.6 虫生真菌菌株对植物病原真菌菌丝生长的抑制作用

由表 6 可知,各菌株对 6 种植物病原真菌菌丝生长均有不同程度的抑制作用,产生了明显的抑菌带(图 1),金龟子绿僵菌 FNKY、FNS5、

FYS3 均表现出广谱且较强的抑制作用,球孢白
僵菌 FMWD 除了对番茄灰霉病菌和玉米茎基腐

病菌在本次试验中没有起到拮抗作用,对其他
4 株植病菌的拮抗作用较强。

表 6 虫生真菌菌株对植物病原菌菌丝的抑制率

单位: %

菌株	K3	K8	K13	K14	K15	K17
FBA21	36.80±1.43 ab	37.05±3.89 c	33.97±2.87 ab	28.92±2.15 b	32.48±4.60 b	34.63±2.03 b
FMWD	40.81±1.34 a	41.67±2.51 b	0 c	35.69±1.65 ab	37.21±2.85 a	0 c
FNKY	36.31±1.91 ab	45.45±1.93 a	39.67±10.95 ab	37.60±6.56 a	39.33±1.94 a	37.13±1.62 ab
FNS5	33.95±2.05 b	45.94±0.57 a	36.89±10.04 ab	36.78±3.61 ab	37.12±0.52 a	37.74±1.73 a
FYS3	35.42±3.00 b	47.13±3.95 a	37.46±10.35 ab	37.10±5.69 ab	37.20±2.03 a	42.10±2.30 a

注:K3 为大豆根腐病菌尖镰孢菌 *Fusarium oxysporum*,K8 为水稻稻瘟病菌 *Pyricularia grisea*,K13 为番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*,K14 为马铃薯早疫病菌 *Alternaria solani*,K15 为水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*,K17 为玉米茎基腐病菌 *Fusarium graminearum*。



图 1 部分虫生真菌菌株对植物病原菌菌丝生长的抑制作用

2.7 虫生真菌菌株代谢产物对病原菌菌丝的抑制作用

由图 2 可知,各菌株的代谢产物的拮抗作用差异较明显。仅有金龟子绿僵菌 FNS5、FYS3 的

代谢产物对番茄灰霉病菌具有拮抗作用,抑菌圈直径分别为 3.22 和 3.51 cm,金龟子绿僵菌 FYS3 的代谢产物对马铃薯早疫病菌具有拮抗作用,抑菌圈直径为 1.73 cm。

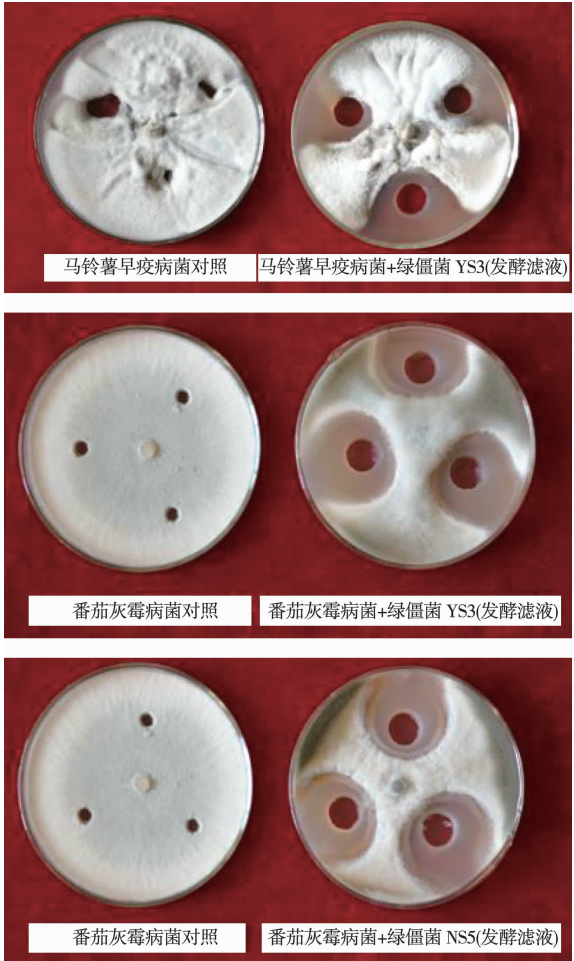


图 2 虫生真菌菌株发酵滤液对植物病原菌菌丝生长的抑制作用

3 讨论与结论

已报导的对虫生真菌的基础研究多数是集中在生物学特性方面。黄鹏等^[10-11]研究金龟子绿僵菌 FM-03 菌株培养的最适温度为 25 ℃,产孢量达 3.70×10^9 孢子·皿⁻¹,球孢白僵菌 BB-T02 培养的最适温度为 28 ℃,培养 10 d 后产孢量达 4.22×10^8 孢子·cm⁻²。练涛等^[12]研究了 6 株虫生真菌的生物学特性,2 株绿僵菌和 1 株白僵菌的产孢量均在 10^8 孢子·cm⁻²。本研究中不同温度处理下,5 株菌株在 40 ℃下均不能生长,12 ℃各菌株生长极其缓慢,且不产孢,各菌株最适生长温度有差异。菌株 FNS5 的最适生长温度为 25~28 ℃,菌株 FBA21、FMWD、FYS3 的最适生长温度为 28~30 ℃,菌株 FNKY 的最适生长温度为 25~30 ℃。菌株 FMWD、FNKY、FYS3 的最适产孢温度较广,为 20~30 ℃,菌株 FBA21 的最适产孢温度为 25~28 ℃,菌株 FNS5 的最适产孢温度为 20~25 ℃。

孢子活力始终是评价虫生真菌生防潜力的重要指标,而在实际应用过程中,温度、湿度、紫外辐射是直接影响孢子活力的因子。24 h 镜检菌株 FMWD 在 25 和 30 ℃下萌发率分别为 72% 和 71%,两处理无显著差异,与其他处理在 0.05 水平下差异显著。48 h 镜检菌株 FNS5 在 25 ℃处理下萌发率最高,为 68%,与其他处理在 0.05 水平下差异显著。极端条件处理下,各菌株只有在 100% 湿度下才能够萌发;菌株 FBA21 抗高温能力较其余 4 株菌株强;菌株 FMWD 抗紫外照射能力较其余 4 株菌株强。

虫生真菌与昆虫的互作规律与致病机理研究一直是研究热点,但对植物病原菌的拮抗作用研究也有越来越多的报道^[13-14]。本研究中,针对 6 种主要植物病原菌,金龟子绿僵菌 FNKY、FNS5、FYS3 均表现出广谱且较强的抑制作用,球孢白僵菌 FMWD 对番茄灰霉病菌和玉米茎基腐病菌没有拮抗作用,对其他 4 株靶标菌的拮抗作用较强。仅有金龟子绿僵菌 FNS5、FYS3 的代

谢产物对番茄灰霉病菌具有拮抗作用,金龟子绿僵菌 FYS3 的代谢产物对马铃薯早疫病菌具有拮抗作用。试验也印证了虫生真菌主要通过与病原菌的空间和营养竞争起到抑菌效果,且有些虫生真菌代谢产物产生的抑菌物质抑制了病原菌的生长。但有关虫生真菌抑菌机理及抑菌活性物研究有待进一步深入。

参考文献:

- [1] 李增智.我国利用真菌防治害虫的历史、进展及现状[J].中国生物防治学报,2015,31(5):699-711.
- [2] 刘春来.昆虫病原真菌在农林害虫生物防治中的应用[J].黑龙江农业科学,2017(3):68-73.
- [3] 杨帆,刘春来,王爽,等.一株平沙绿僵菌的鉴定及生防应用潜力评价[J].植物保护,2018,44(5):199-205.
- [4] 陈方新,梅玉云,张强,等.玉米根际球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)的分离与鉴定[J].核农学报,2016,30(1):58-64.
- [5] 王定锋,李良德,黎健龙,等.茶角胸叶甲高毒力球孢白僵菌菌株的筛选[J].茶叶科学,2017,37(3):229-236.
- [6] WANG Y, TANG D X, DUAN D E, et al. Morphology, molecular characterization, and virulence of *Beauveria pseudo-bassiana* isolated from different hosts[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2020(172):107333.
- [7] 蔡守平,何学友,曾丽琼,等.感染星天牛幼虫高致病力金龟子绿僵菌菌株的筛选[J].中国生物防治学报,2012,28(2):293-297.
- [8] 王爽,李新民,刘春来,等.东北地区土壤中高毒力虫生真菌菌株的筛选[J].黑龙江农业科学,2015(1):50-56.
- [9] GILLESPIE A T, CLAYDON N. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis[J]. Pest Management Science, 2010, 27(2):203-215.
- [10] 黄鹏,姚锦爱,余德亿.金龟子绿僵菌 FM-03 生物学特性及其对柑橘粉蚧的侵染[J].中国生物防治学报,2018,34(6):858-865.
- [11] 黄鹏,姚锦爱,余德亿,等.球孢白僵菌 BB-T02 生物学特性及对两种检疫性粉蚧的侵染活性[J].中国生物防治学报, <https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.05.004>.
- [12] 练涛,秦长生,揭育泽,等.六株虫生真菌的生物学特性及其对油茶象甲的致病力[J].环境昆虫学报,2019,41(3):642-649.
- [13] 李英,张云龙,苗路窑,等.一株分离自感病桑天牛的高毒

力球孢白僵菌菌株对 6 种植物病原真菌的拮抗作用研 [14] 夏龙荪,林华峰. 白僵菌对几种常见植物病原菌的拮抗作用研究[J]. 蚕业科学,2018,44(1):25-31. 用研究[J]. 中国生物防治学报,2013,29(2): 324-330.

Primary Study on Biological Characteristics and Antagonistic Potentiality of Five Strains of Entomogenous Fungi

LI Min,YANG Fan, LIU Chun-lai, LIU Xing-long, WANG Shuang,JIANG Xi-feng, CAO Da-wei, LI Xin-min

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Science/Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pest in Harbin,Ministry of Agriculture,Harbin 150086,China)

Abstract:In order to obtain entomogenous fungi with excellent traits and potential for biocontrol,this experiment carried out basic biological assays on the obtained entomogenous fungi and the antibacterial activity of 6 main species pathogens. The results showed that the optimal growth temperature of strain FNS5 and FYS3 were 25-28 ℃ and 28-30 ℃ ,respectively. The optimal sporulation temperature of strain FYS3 was wider,which was 20-30 ℃ and strain FNS5 was 20-25 ℃ . The germination rate of strain FNS5 under the 48 h microscopic examination was 68% at 25 ℃ ,which was significantly different from other treatments. Strains FNS5 and FYS3 both showed broad-spectrum and strong inhibitory effects. In the plate confrontation test,the inhibition rate of *Metarhizium anisopliae* FYS3 on *Pyricularia grisea* reached 47. 13%. The agar diffusion test showed the metabolism of *Metarhizium anisopliae* FNS5 and FYS3 had an antagonistic effect on *Botrytis cinerea* ,and the diameters of the inhibition zone were (3. 22±0. 19) cm and (3. 51±0. 29) cm,respectively. So they have further biocontrol research value.

Keywords:entomogenous fungi; biological characteristics; antagonism

(上接第 41 页)

Genetic Transformation of Glyphosate-tolerant Genes in Maize Immature Embryos

LIU Yue,WANG Li-da,LAN Ying,LI Qing-chao,ZHAO Xiu-mei,YANG Ying,ZHOU Chuan-yu
(Qiqihar Branch,Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences,Qiqihar 161006,China)

Abstract:In this study,*Agrobacterium tumefaciens*-mediated method was used to study the genetic transformation of glyphosate-tolerant genes in Hi-II maize. Immature glyphosate gene *Epsps* was transferred into Hi-II maize immature embryos,co-culture and differentiation screening,to obtain resistance to glyphosate resistance of maize plants. The conversion rate was calculated,the genetic expression and resistance of exogenous genes in offspring were studied,and the main factors influencing the transformation efficiency were analyzed in the genetic transformation of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated immature embryos. The results showed that at the 1. 5-1. 8 mm maize embryo size,the infection effect was the best,and 9 plants with glyphosate resistance were successfully transformed,glyphosate resistance of transgenic plants obtained by inter-field testing. The results of this study can provide scientific basis for the study of high quality cultivation of transgenic maize.

Keywords:*Agrobacterium tumefaciens* ; Hi-II maize; glyphosate-tolerant gene; transformation