# 一种防治蚜虫寄生曲霉的分离与防效试验

李静,王建红,张伊帆,王树伟 (鹤壁市人元生物技术发展有限公司,河南鹤壁 458030)

摘要 从自然染菌死亡的蚜虫体内分离得到一种杀蚜真菌,经鉴定为寄生曲霉(Aspergillus parasiticus),具有感染流行性,相对湿度75% 以上,对蚜虫的侵染率达95%以上,对培养条件进行优化。结果表明,接种量为2.5%(重量比),五米面和麸皮比例1:1,水分含量60%, 28℃,相对湿度80%,培养时间72h,产孢量最高达3.0×10°CFU/g;该株杀蚜真菌对蚜虫持效期达15d以上,明显优于10%吡虫啉和40%毒死蜱防治效果。

关键词 蚜虫;生防;寄生曲霉;分离;防效 中图分类号 S433.39 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2019)22-0142-04 doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2019.22.043

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Isolation of an Aspergillus parasiticus on Controlling Aphids and Control Effect LI Jing, WANG Jian-hong , ZHANG Yi-fan et al (Hebi City Renyuan Blological Technology Development Co., Ltd., Hebi, Henan 458030)

**Abstract** An killing fungus was isolated from aphids that died from natural infection. It was identified as *Aspergillus parasitus* of aphid fungus, which had infection prevalence. When the relative humidity was above 75%, the infection rate of aphid was above 95%. By optimizing the culture conditions, the test results showed that the inoculation amount was 2.5% (according to the weight ratio of liquid seeds and solid materials); corn flour and bran ratio was 1:1, moisture 60%, 28 °C, relative humidity 80%, 72 h, the quantity of spore was  $3.0 \times 10^9$  CFU/g; the effort on a-phid was more than 15 days, which was obviously better than the control effect of 10% Imidacloprid and 40% Chlorpyrifos. **Key words** Aphid; Bio-control; *Aspergillus parasiticus*; Isolation; Control effect

目前已发现的蚜虫约4400种,共有10个科<sup>[1]</sup>,蚜虫具 有种类多、数量大、繁殖快、世代重叠、危害大、分布广、寄主 杂等特点。以尖利的口器刺吸植物汁液,引起植物生长率降 低,出现叶斑、泛黄、卷叶、枯萎等甚至死亡。据统计,2010— 2011年我国26万hm<sup>2</sup>小麦中,有62.5%遭受了蚜虫的严重 危害,尤其是麦长管蚜,造成华北平原、长江中游等地区小麦 产量下降15%~60%<sup>[2]</sup>。蚜虫以群居方式吸取植株的养分且 传播病毒病,间接危害严重,目前已知病毒的昆虫传播介体 有600种,其中275种属于蚜虫,居世界传病毒昆虫之首,如 桃蚜(Myzus persicae)是超过110种植物病毒的载体<sup>[3]</sup>。由于 蚜虫危害严重,其防治措施的研究一直是植物保护研究工作 的重大课题。

蚜虫的防治技术可分为化学防治、物理防治以及生物防 治,化学防治仍是防治蚜虫的主要手段。化学方法防治蚜虫 效果显著且使用方便,但会污染环境,破坏生态系统。物理 方法防治蚜虫具有不产生抗性、无残留、对环境污染小等优 点,还能较快降低蚜虫数量,可充分发挥天敌自然控蚜的能 力。近年来,蚜虫生物防治技术受到广大学者的普遍关注, 包括天敌、生防菌、植物源农药等<sup>[4-5]</sup>。

高效、安全、害虫不易产生抗药性的防治蚜虫微生物农 药的开发及应用,已是各国植保工作者的研究重点。真菌、 细菌、病毒等蚜虫病原性微生物也可广泛用于防治蚜虫,如 白僵菌、绿僵菌、蜡蚧轮枝菌、菊欧文氏杆菌,禾谷缢管蚜病 毒(RhPV)、链霉菌等病原微生物对蚜虫的防治均取得了显 著效果<sup>[6-7]</sup>。昆虫病原真菌有显著的流行性及方便生产的特 性<sup>[8-9]</sup>。笔者从自然染菌死亡的蚜虫体内分离出杀蚜真菌寄

作者简介 李静(1985—),女,河北秦皇岛人,农艺师,硕士,从事农业 微生物研究。 收稿日期 2019-09-28 生曲霉(Aspergillus parasiticus)并探索其最优培养条件,以期 扩充杀蚜真菌的资源库、提高蚜虫生防真菌杀蚜广谱性,为 开发新型杀蚜微生物农药提供技术基础。

### 1 材料与方法

1.1 菌株来源 菌株来源于河南省郑州市德谷元有机生态 园区3号地块种植的萝卜叶片上发现染菌死亡的蚜虫,2016 年11月12日09:30用无菌的塑料管采集感染蚜虫,密封后, 常温保存带回实验室内,-20℃进行保存。

1.2 杀蚜菌株的筛选

**1.2.1** 培养基。PDA 固体培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖20 g、 琼脂 15~20 g、蒸馏水 1 000 mL、pH 7.0。PDA 液体培养基: PDA 固体培养基中不加琼脂。

**1.2.2** 杀蚜菌株的分离纯化。将采集的染菌死亡蚜虫,经 75%乙醇浸泡 30 min,用无菌蒸馏水清洗干净,PDA 平板中 加入 20 μL Amp,直接将虫体放置于 PDA 固体平板中,于 28 ℃培养 72 h。

**1.2.3** 杀蚜菌株液体发酵。在 250 mL 三角瓶中装入 150 mL PDA 液体培养基, 121 ℃、0.15 MPa 下灭菌 30 min。将获得的纯种 3 号杀蚜菌株孢子接入灭菌后的 PDA 液体培养基中,置于 28 ℃、150 r/min 摇床中恒温培养 24 h,得到杀蚜真菌的液体菌丝。

**1.3 杀蚜真菌的固体发酵优化** 设置不同碳氮比的固体物 料进行固体发酵<sup>[10]</sup>,麸皮与玉米面(重量比)按照 1:1、1:2、 1:3进行配比;水分按照 55%、60%进行组合(表 1),将液体发 酵菌丝转接至经 121 ℃灭菌 60 min 的固体发酵料上,28 ℃ 培养 72 h,相对湿度 75%以上。产生孢子后,经 3 d 自然风 干,粉碎后获得杀蚜菌株的固体孢子粉,通过 PDA 平板活菌 计数来确定最优的发酵组合<sup>[11-12]</sup>。

表1 不同碳氮比、水分固体发酵料组合

Table 1 Different C/N and moisture of the solid medium

组合 Group	麸皮 、玉米面比例 Ratio of bran and corn flour	水分含量 Moisture content//%		
I	1:1	55		
Π	1:2	55		
Ш	1:3	55		
IV	1:1	60		
V	1:2	60		
VI	1:3	60		

1.4 蚜虫防效测定 试验 1:在郑州市中牟县德谷园蔬菜大棚内,供试作物品种是小西葫芦,选定被蚜虫寄生的区域。 杀蚜菌株孢子粉与水稀释比按照 1:500、1:750、1:1 000 倍稀 释,并设置清水空白对照。每个试验处理小区面积 15 m<sup>2</sup>,重 复 3 次试验,小区随机区组排列,采用背负式手动喷雾器喷 雾,喷液量为 600 kg/hm<sup>2</sup>,于傍晚前喷雾并保证棚内相对湿 度≥85%。为了防止处理间相互干扰,施药时用塑料膜遮隔 相邻小区。处理前在小区内 5 点取样,每个点选 2 株植株, 并在选定植株上标定 3 片无翅成蚜寄生量不少于 50 头的叶 片,调查虫口基数,于处理后 3、5、7 d 统计蚜虫数量,计算防 治效果,具体计算公式:

虫口减退率=(处理前虫口基数-处理后各天残留虫 数)/处理前虫口基数×100%<sup>[13]</sup>

防治效果=(处理区虫口减退率-对照区虫口减退率)/ (100-对照区虫口减退率)×100%<sup>[14]</sup>

试验2:在河南安阳棉花基地,供试作物品种是棉花蚜 虫。杀蚜菌株与水稀释比按照1:750倍稀释(作为A组),以 清水(作为CK)、化学农药10%吡虫啉(作为B组)和40%毒 死蜱(作为C组)进行防效试验对比。每个试验处理小区面 积15 m<sup>2</sup>,重复3次试验,小区随机区组排列,采用背负式手 动喷雾器喷雾,喷液量为600 kg/hm<sup>2</sup>。为了防止处理间相互 干扰,施药时用塑料膜遮隔相邻小区。处理前在小区内5点 取样,每个点选2株植株,并在选定植株上标定3片无翅成 蚜寄生量不少于50头的叶片,调查虫口基数,于处理后3、5、 7、15 d 统计蚜虫死亡情况,计算防治效果,具体计算公式:

虫口减退率=(处理前虫口基数-处理后各天残留虫数)/处理前虫口基数×100%

防治效果=(处理区虫口减退率-对照区虫口减退率)/ (100-对照区虫口减退率)×100%

**1.5** 杀蚜菌株鉴定 形态学鉴定:观察菌株培养特征、菌落 形态,显微镜观察菌丝及孢子形态特征。参照《真菌鉴定手 册》<sup>[15]</sup>进行形态学鉴定。分子生物学鉴定:提取目的菌株基 因组 DNA,以通用引物进行 PCR 扩增。引物序列为 ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGC; ITS4: TCCTCCGCTTATTGATAT-GC; PCR 反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 40 s,35 个循环;72 ℃ 10 min。扩增产物进行 1.0% 琼脂糖凝 胶电泳分离、检测,切胶纯化后送至上海生工科技有限公司 测序,所得 18S rDNA 基因序列在 NCBI 数据库中进行 Blast 基因同源性比对。

2 结果与分析

2.1 分离结果 在 PDA 平板中出现 4 种不同真菌菌落,用 接种针分别将上述 4 株菌挑取到 PDA 平板中进行纯化。将 纯化后的 4 株菌株分别再进行平板产孢培养,72 h 后,制成 相同浓度的孢子悬浮液 100 mL(添加 0.2%的吐温 80),对萝 卜蚜虫进行喷雾,选出 3 号菌株对蚜虫具有杀灭作用,得到 具有杀蚜活性的纯化菌株。

2.2 杀蚜真菌的固体发酵孢子含量 按照 2%接种量接种 到不同碳氮比、水分固体物料上,28 ℃培养 72 h,相对湿度 75%以上,产生孢子后,经过 3 d 的自然风干,粉碎后获得杀 蚜菌株的固体孢子粉,采用 PDA 平板活菌计数方法<sup>[16]</sup>,统计 分析有效活菌数,结果见表 2。由表 2 可知,固体发酵料组合 Ⅳ对于发酵杀蚜真菌而言最适合,有效活菌含量达 3.0× 10° CFU/g,是较理想的杀蚜真菌固体发酵料。

#### 表 2 不同碳氮比、水分固体物料有效活菌数

Table 2 The effective viable count of different C/N and moisture of the solid medium

组合 Group	麸皮 、玉 米面比例 Ratio of bran and corn flour	水分含量 Moisture content//%	有效活菌数 Effective viable count CFU/g		
I	1:1	55	2.1×10 <sup>9</sup>		
П	1:2	55	$1.8 \times 10^{9}$		
Ш	1:3	55	$1.5 \times 10^{3}$		
IV	1:1	60	3.0×10 <sup>9</sup>		
V	1:2	60	2.2×10 <sup>9</sup>		
VI	1:3	60	2.1×10 <sup>9</sup>		

2.3 **蚜虫防效分析** 在大棚西葫芦和露天棉花上进行蚜虫 的防治效果试验,通过蚜虫减退率和防效 2 个技术指标,确 定该菌株使用稀释浓度(含量),与化学杀蚜农药进行对比, 比较该株菌剂对蚜虫的持续控制时间<sup>[17-21]</sup>。不同稀释比例 的杀蚜菌株对西葫芦蚜虫的防治效果见表 3,杀蚜菌株与化 学农药蚜虫防效比较见表 4。

从表 3 可以看出,喷雾处理 3 d 后,稀释倍数 1:500 与稀释倍数 1:750 的寄生曲霉菌孢子粉产品对蚜虫的防治效果 差异不显著,而稀释倍数 1:500 和 1:750 与稀释倍数 1:1 000 的寄生曲霉菌孢子粉产品存在显著差异。同时,喷雾处理后 3 d 稀释倍数 1:500 与 1:750 蚜虫防效均在 90%以上,稀释 倍数 1:1 000 的蚜虫防效也在 89%以上。表明寄生曲霉对蚜 虫的防治效果显著,说明喷施 5 d 后蚜虫基本均被感染,7 d 后也是持续控制状态。

1:750 杀蚜菌株对棉蚜有明显的控制效果,1~3 d 后,杀 蚜菌株与 10% 吡虫啉和 40% 毒死蜱差异不显著,随着处理时 间的延长,处理 5~15 d 后,其防效维持在 98% 以上,与 10% 吡虫啉和 40% 毒死蜱防治效果存在显著差异。

2.4 杀蚜菌株的鉴定结果 所得菌落初为白色,黄绿色,继 而变成黄褐色,分生孢子头呈放射形,少有疏松柱状,分生孢 子梗多为单层,少有双层,分生孢子椭圆形(图1、2)。将在

表 3	不同稀释比例的杀蚜菌株对西葫芦蚜虫的防治效果	
-----	------------------------	--

Table 3 The control effect of aphid at different dilution ratio on aphid of zucchini

稀释倍数 <sup>崩</sup> U Dilution  an ratio    L∕	施量	基数 Cardinal number	喷雾后 3 d Spraying after 3 d			喷雾后 5 d Spraying after 5 d			喷雾后 7 d Spraying after 7 d		
	Usage amount L/hm <sup>2</sup>		虫口 Population	減退率 Decline rate//%	防效 Control effect // %	虫口 Population	减退率 Decline rate//%	防效 Control effect//%	虫口 Population	減退率 Decline rate//%	防效 Control effect//%
1:500	600	208	30	85.58	92.57 aA	5	97.60	99.18 aA	0	100	100 aA
1:750	600	205	32	84.39	91.96 bA	7	96.59	98.84 aA	2	99.02	99.70 aA
1:1 000	600	198	40	79.80	89.60 cB	15	92.42	97.42 bB	5	97.47	99.23 bA
СК	600	189	367	-94.18	0	556	-194.18	0	623	-229.63	0

注:同列不同大小写字母表示不同稀释比例间差异极显著(P<0.01)和显著(P<0.05)

Note: Different capital and lowercase letters stand for significant differences at 0.01 level and significant differences at 0.05 level between different dilution ratios

			-	表4 杀蚜菌株毕	可化学农药蚜虫	1防效比较				
	Та	ble 4 The	comparison of a	phid control effe	ect between ap	hid killing strain	and chemical j	pesticide		
	药前虫口		药	后1d After1day		药后 3 d After 1 day				
处理 Treatment			虫口 Population	減退率 防效 虫□ on Decline Control Popula rate//% effect//%		虫口 Population	减退率 Decline rate//%		防效 Control effect // %	
СК	1 212	2	1 270	-5.31	0	1 256	-4.71		0	
А	1 603	;	701	56.04	58.23 aA	108	93.28 92		93.53 aA	
В	1 623		503	65.25	69.93 bB	134	91.44 91.85		91.85 bB	
С	1 308		404	68.67 70.29 cB		116	91.14		91.47 cB	
	药	后 5 d After	r 5 day 药后 7 d After 7 day			day	y药后 15 d After 15 day			
处理 Treatment	虫口 Population	减退率 Decline rate//%	防效 Control effect // %	虫口 Population	减退率 Decline rate//%	防效 Control effect//%	虫口 Population	减退率 Decline rate//%	防效 Control effect//%	
CK	1 249	-4.47	0	1 231	-2.92	0	1 230	-2.10	0	
А	18	98.91	98.93 aA	5	99.71	99.71 aA	2	99.86	99.86 aA	
В	32	97.98	$98.07~\mathrm{bB}$	157	89.85	90.20 bB	423	72.68	73.36 bB	
С	28	97.96	97.95 cB	182	85.90	86.30 cC	567	56.20	57.09 cC	

注:同列不同大小写字母表示不同稀释比例间差异极显著(P<0.01)和显著(P<0.05)

Note: Different capital and lowercase letters stand for significant differences at 0.01 level and significant differences at 0.05 level between different dilution ratios

固体培养基中培养 3~5 d 后得到的菌株菌落,提取其基因组 DNA,并采用常规的寄生曲霉菌 DNA 扩展引物对该 DNA 进 行扩增,并分别用琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,切 割所需 DNA 目的条带对该菌株 ITS DNA 序列的 PCR 产物 进行测序,通过 NCBI 数据库中 Blast 基因同源性比对,该菌 株与曲霉属(*Aspergillus*)的寄生曲霉(*Aspergillu sparasiticus*) 基因同源性概率达 98%以上,综合该菌株的菌落形态、分生 孢子形态、培养条件及分子生物学鉴定结果表明,该菌株属 于曲霉属(*Aspergillus*)的寄生曲霉(*Aspergillu sparasiticus*)。



图 1 杀蚜真菌菌丝孢子梗 Fig.1 The mycelium sporophore of aphid fungus



图 2 杀蚜真菌孢子 Fig.2 The spores of aphid fungus

## 3 讨论

蚜虫病原真菌主要分布在接合菌亚门和半知菌亚门。 在接合菌亚门真菌中,虫霉目(Entomophthorales)真菌是一类 世界性广布的虫生真菌,在控制蚜虫方面占有重要地位。据 统计,到目前为止,在虫霉目中以蚜虫为寄主的种类有6属 21种<sup>[22]</sup>。卷枝毛霉(*Mucorcircinelloides* Van Tieghem)对蚜虫 (*Entalonia nigronervosa* Coq)具有较好的致死效果,在蚜虫生 物防治中应用最广的真菌杀虫剂是蜡蚧轮枝菌(*V.lecanii*), 属于半知菌亚门,在热带、亚热带和温带都有分布<sup>[23]</sup>。蜡蚧 轮枝菌寄主范围广,主要在蚧壳虫和蚜虫上。虫生镰刀菌 (Fusarium sp.)在自然界普遍分布,在一定条件下对控制蚜 虫种群起着重要作用<sup>[24]</sup>。寄生曲霉(Aspergillus parasiticus)、 金龟子绿僵菌(Metarhizium anisopliae)、青霉(Pencillium sp.)、球孢白僵菌(Beauveria bassiana)、粉质拟青霉(Paecilomyces farinosus)和布氏白僵菌(B.brongniartii)侵染蚜虫的报 道也不少,鲜见成熟应用的案例。

该研究从自然感染死亡的蚜虫体中,分离出具有杀蚜活 性的寄生曲霉(Aspergillus parasiticus)菌株,采用固体发酵产 生孢子,高含量的孢子粉作为侵染单元,通过在小西葫芦上 瓜蚜进行生防试验以及在棉田中对棉蚜的防治效果进行试 验,结果显示该菌株表现出较强的侵染力和持续控制力,持 效期长达15 d 以上。扩充杀蚜真菌的资源库、提高蚜虫生防 真菌杀蚜广谱性,为开发新型杀蚜微生物农药提供技术 基础。

#### 参考文献

- [1]张永军,刘爱英,梁宗琦.真菌在蚜虫生物防治中的研究进展[J].贵州 农业科学,1998,26(3):59-62.
- [2] XIA L Q,MA Y Z,HE Y, et al.GM wheat development in China; Current status and challenges to commercialization [J]. Journal of experimental botany, 2012,63(5); 1785–1790.
- [3] NAULT L.Arthropod transmission of plant viruses: A new synthesis [J].Annals of the entomological society of America, 1977,90(5):521-541.
- [4] 李娟,安德荣捕杀特黄板对烟蚜及烟田蚜传病毒病防治效果的研究 [J].中国烟草学报,2010,16(2):70-72.
- [5] 陆剑飞,郑永利,夏永锋.蔬菜主要害虫抗药性发展现状与治理对策探 讨[J].农药科学与管理,2004,52(2):10-13.
- [6] GRENIER A M, DUPORT G, PAGÈS S, et al. The phytopathogen Dickeya dadantii (Erwinia chrysanthemi 3937) is a pathogen of the pea aphid[J]. Applied and environmental microbiology, 2006, 72(3):1956–1965.
- [7] COSTECHAREYRE D, BALMAND S, CONDEMINE G, et al. Dickeya da-

#### (上接第84页)

盖数比 CD 基因型多 0.55 只(P<0.05)。张路培等<sup>[9]</sup>研究了 生长分化因子 9(growth differentiation factor 9, GDF9)基因的 遗传变异与牛双胎性状的关系,发现在鲁西牛中 GDF9 基因 的 3' UTR 出现缺失突变,单胎牛群体与双胎牛群体基因型 分布有极显著差异(P=0.006),双胎牛群体的 B 等位基因频率 明显大于单胎牛群体。黄萌等<sup>[10]</sup>将鲁西牛群体的视黄素 X 受 体基因(retinoid X receptor-gamma,RXRG)A1941G 位点的基因 型效应与双胎性状进行相关分析,发现基因型分布在鲁西单、 双胎牛群体上存在极显著差异(P<0.01),表明基因型对牛双胎 现象有较大影响,但并未发现基因型效应与双胎性状相关,且 在其他品种群体中没有发现类似现象。

该研究试验对象来自广西区内数个奶水牛场牛群,经同期化处理后有0.26%(1/384)的多排卵现象,但没有出现双胎,而水牛双胎性状是否存在关联基因型则有待进一步研究。

#### 4 结论

奶水牛经同期化处理后出现 6.43% 的多卵泡发育现象, 但只有 0.26% 形成多排卵,多卵泡发育水牛的排卵率与单优 dantii, a plant pathogenic bacterium producing cyt-like entomotoxins, causes septicemia in the pea aphid Acyrthosiphon pisum[J].PLoS One,2012,7 (1):1–9.

- [8] MILNIER R J.Prospects for biopesticides for aphid control[J].Entomophaga, 1997,42(1/2):227-239.
- [9] VANDENBERG J D, SANDVOL L E, JARONSKI S T, et al. Efficacy of fungi for control of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in irrigated wheat [J].Southwest Entomol, 2001, 26(1):73–85.
- [10] 刘金国,涂璇,涂晓嵘,等.种子工艺优化对链霉菌 702 发酵产抑真菌 生物活性物质的影响[J].江西科学,2007,25(3):253-257.
- [11] 沈萍,范秀荣,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社, 1996.
- [12] 李贵正,张营,郑树林,等.蓝光和黑暗培养淡紫拟青霉形态及产孢量 差异[J].湖北农业科学,2018,57(4):36-38.
- [13] 梁宗琦.昆虫病原真菌的毒力[M]//《杀虫微生物》编委会.杀虫微生物:第2卷.北京:中国农业科技出版社,1989:11-18.
- [14] 蒲蛰龙,李增智.昆虫真菌学[M].合肥:安徽科学技术出版社,1996.
- [15] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1979:235-241.
- [16] 李爱华,岳思君,马海滨,真菌孢子三种计数方法相关性的探讨[J].微 生物学杂志,2006,26(2):107-110.
- [17]于晓庆.防治小麦田蚜虫高效药种[J].农药市场信息,2018(5):52.
- [18] 周建如,张永军.高毒力杀蚜真菌菌株筛选[J].植物医生,2003,16(2): 31-33.
- [19] 唐启义,冯明光,实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002:1-8.
- [20] 顿玉慧,冯明光,应盛华,新型球孢白僵菌孢子悬乳剂的高效杀蚜活性及其评价方法[J].微生物学报,2003,43(6):781-787.
- [21] FENG M G, LI H P.Experimental epizootiology of Zoophthora anhuiensis (Entomophthorales) against Mypus petsicse(Homoptera:Aphididae) with a description of a modified Gompertz model for aphid epizooticd [J]. Eaviron Microbiol, 2003, 5(11):1203–1211.
- [22] 王未名.蚜虫寄生真菌-诺氏虫疫霉[M]//中国植物学会真菌学会虫 生真菌专业组.中国虫生真菌研究与应用:第1卷.北京:学术期刊出版社,1988:153-155.
- [23] 陈吉棣蜡蚧轮枝菌及其在生防中的应用[J].生物防治通报,1985,1 (4):32-37.
- [24] 李宏科.虫生镰刀菌的初步研究[M]//中国植物学会真菌学会虫生真 菌专业组.中国虫生真菌研究与应用:第1卷.北京:学术期刊出版社, 1988:211-255.

势卵泡发育水牛的排卵率差异不显著,没有出现多胎情况。 多卵泡发育与品种、季节、年龄等因素无关。

#### 参考文献

. + . + . + . -

- [1] 陈明棠,李辉,谭正准,等.母水牛同期发情的排卵监测[J].黑龙江畜牧 兽医,2018(18):206-208.
- [2] 赵凯,田文儒,刘焕奇,等.超声诊断技术在兽医产科上的应用[J].黑龙 江畜牧兽医,2000(9):39-40.
- [3] 顾红兵,詹国英,张月昔,等.用超声诊断仪检测牛黄体的研究进展[J]. 山东畜牧兽医,2002(2):36-37.
- [4] 陈明棠,谭正准,黄健,等.不同处理方法对水牛同期发情效果的观察
  [J].中国牛业科学,2014,40(4):16-17,20.
- [5] 马会明.B 超监测母牛同期发情和超数排卵中卵巢动态变化的研究 [D].石河子:石河子大学,2005.
- [6] 姚晓磊,李鹏飞,姜晓龙,等.卵泡发育相关基因在牛优势和从属卵泡颗 粒细胞中表达的研究[J].畜牧兽医学报,2014,45(12):1957-1963.
- [7] MESSER L, WANG L, LEGAULT C, et al. Mapping and investigation of candidate genes for litter size in French Large White pigs[J]. Animal genetics, 1996, 27(S2):101–119.
- [8] 郭晓红,储明星,周忠孝,等.小尾寒羊高繁殖力候选基因 RARG 的研究 [J].畜牧兽医学报,2006,37(8):756-760.
- [9] 张路培,张小辉,许尚忠,等.牛 GDF9和 BMP15 基因遗传变异与双胎性状的关系研究[J].畜牧兽医学报,2007,38(8):800-805.
- [10] 黄萌,许尚忠,咎林森,等.牛 RXRG 基因遗传变异与双胎性状的关联 分析[J].遗传,2008,30(2):190-194.