

胡萝卜愈伤组织上长期培养和红掌上复壮繁殖对相似穿孔线虫耐低温能力的影响

武玉环^{1,2}, 谢辉¹, 徐春玲¹, 张超¹, 金惺惺¹

(1 华南农业大学 资源环境学院植物线虫研究室/植物检疫线虫检测与防疫研究中心, 广东 广州 510642;

2 河北北方学院, 河北 张家口 075000)

摘要:利用从观赏植物上截获的相似穿孔线虫 *Radopholus similis* 6 个种群, 研究在胡萝卜愈伤组织上长期培养繁殖和在红掌 *Anthurium andraeanum* 上接种繁殖复壮后, 相似穿孔线虫耐低温能力的变化. 将经 2 种方式培养繁殖的相似穿孔线虫接种在胡萝卜愈伤组织上, 测定其耐低温能力. 结果表明, 在胡萝卜愈伤组织上长期(6 代)连续培养后, 相似穿孔线虫的耐低温能力降低, 在低温下的生存能力和繁殖能力明显降低; 通过在自然寄主植物红掌根系上接种繁殖后, 相似穿孔线虫在低温下的生存和繁殖能力又可得到不同程度的恢复, 即耐低温能力得到复壮. 胡萝卜愈伤组织上长期培养繁殖对相似穿孔线虫不同群体耐低温能力的影响不同, 相似穿孔线虫不同种群在红掌上繁殖后耐低温能力的恢复程度也有所不同.

关键词:相似穿孔线虫; 红掌; 胡萝卜愈伤组织; 低温

中图分类号: S852.65

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2013)02-0162-05

The Tolerance Ability to Low Temperature of *Radopholus similis* Reduced Cultured Longterm on Carrot Callus and Recovered Rejuvenated on *Anthurium andraeanum*

WU Yuhuan^{1,2}, XIE Hui¹, XU Chunling¹, ZHANG Chao¹, JING Xingxing¹

(1 Laboratory of Plant Nematology/Research Center of Nematodes of Plant Quarantine, College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: The enduring fitness to low temperature of six isolates of *Radopholus similis* from ornamental plants was studied through longterm culture propagation on carrot callus and rejuvenation culturing on *Anthurium andraeanum*. The tolerance to low temperature of *R. similis* was determined by culturing on carrot callus. The results showed that the tolerance to low temperature of *R. similis* reduced after successive culturing on carrot callus for six generations, and the survival and fecundity decreased significantly. After rejuvenation on *A. andraeanum*, the survival and fecundity of *R. similis* could recover in different degrees, namely the resistant capacity to low temperature was enhanced. The tolerance to low temperature of *R. similis* was different in longterm cultured carrot callus according to the varying nematode groups. Similarly, the degree of recovery of the resistance to low temperature was also different after being cultured on *A. andraeanum*.

Key words: *Radopholus similis*; *Anthurium andraeanum*; carrot callus; low temperature

收稿日期: 2012-02-21 网络出版时间: 2013-01-22

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20130122.1708.001.html>

作者简介: 武玉环(1981—), 女, 讲师, 硕士; 通信作者: 谢辉(1963—), 男, 教授, 博士, E-mail: xiehui@scau.edu.cn

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903040); 国家自然科学基金(31071665)

相似穿孔线虫 *Radopholus similis* 也称香蕉穿孔线虫,是一种毁灭性的植物病原线虫,是中国禁止进境的植物检疫性有害生物,也是国际公认的重大检疫性植物寄生线虫。该线虫属于线虫门(Nemato-da)、侧尾腺纲(Secernentea)、垫刃目(Tylenchida)、短体科(Pratylenchidae)、穿孔属 *Radopholus*^[1]。相似穿孔线虫寄主范围广,已知的寄主植物超过 250 种^[2-3]。近几年,相似穿孔线虫随着观赏植物的引进传入中国,对中国观赏植物造成了严重危害^[4-7]。为了阻止该线虫的进一步扩散和为害,必须对相似穿孔线虫的生物学特性、病理学特性和防治方法进行研究。目前进行相似穿孔线虫研究所用的线虫均是利用植物愈伤组织培养的,其中应用最多的是胡萝卜愈伤组织。病原生物在长期人工培养下会发生生物学特性等方面的变化,因此研究胡萝卜愈伤组织长期培养对相似穿孔线虫生物学特性的影响,将有助于准确掌握该线虫的相关生物特性,对研究该线虫在我国的适生性、科学评估其危害、制定科学有效的防控措施具有重要意义。温度是影响相似穿孔线虫生存和繁殖的重要因素,在自然条件下,相似穿孔线虫主要分布在热带亚热带地区,因此其耐低温能力弱。据报道,相似穿孔线虫发育繁殖的适宜温度是 24~30℃,在田间,温度低于 12℃时,其难于生存或繁殖,但不同种群的耐低温能力有差异^[8]。Elbadri 等^[9]报道,相似穿孔线虫在胡萝卜愈伤组织上繁殖的适宜温度为 25℃,在供试的 17 个种群中只有 3 个种群可以在 15℃进行繁殖。陈淳等^[10]对来自观赏植物的相似穿孔线虫 10 个种群的耐低温能力进行了测定,发现在 10℃处理 35 d 后,其生活能力均有所下降,但仍能够存活和繁殖;在 8℃,处理 15 d 后有 9 个种群能存活,处理 25 d 后有 8 个种群能存活,处理 35 d 则只有 6 个种群能够存活。相似穿孔线虫耐低温的能力决定了其在自然条件下的地理分布范围,我国地域辽阔,跨越温带、亚热带和热带地区,研究传入我国的相似穿孔线虫的耐低温能力是确定该线虫在我国适生性及其可能扩散分布范围的基础。本研究明确了在胡萝卜愈伤组织上长期培养对相似穿孔线虫耐低温能力的影响,试验结果对进一步科学地研究和准确地掌握传入我国的相似穿孔线虫的耐低温能力,研究其发生危害规律及制定防疫措施具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试相似穿孔线虫种群

供试相似穿孔线虫由植物检疫部门从进境观赏植物上截获,由华南农业大学植物线虫研究室分离、

鉴定并在胡萝卜愈伤组织上培养保存(25℃)。供试的 6 个种群来源见表 1。将此 6 个种群 RSO1~RSO6 分别接种到红掌 *Anthurium andraeanum* 根上复壮繁殖得到 RSA1~RSA6 群体,然后将 RSA1~RSA6 群体分别在胡萝卜愈伤组织上连续培养 6 代得到 RSB1~RSB6 群体,同时将 RSA1~RSA6 群体分别接种到红掌根上进行第 2 次复壮繁殖得到 RSC1~RSC6 群体。2 次复壮繁殖均在温室内进行,温度为 25~30℃。在胡萝卜愈伤组织上培养相似穿孔线虫的方法参考 Stoffelen 等^[11]。

表 1 供试的相似穿孔线虫种群
Tab. 1 List of tested *Radopholus similis* populations

种群 编号	寄主	采集时间
RSO1	红掌 <i>Anthurium andraeanum</i>	2004-12-30
RSO2	孔雀竹芋 <i>Calathea makoyana</i>	2005-03-24
RSO3	散尾葵 <i>Chrysalidocarpus lutescens</i>	2005-03-24
RSO4	孔雀竹芋 <i>Calathea makoyana</i>	2005-06-08
RSO5	富贵椰子 <i>Howea belmoreana</i>	2005-05-18
RSO6	天鹅绒竹芋 <i>Calathea zebrina</i>	2005-05-18

1.2 相似穿孔线虫的接种培养及处理

参考 Moody 等^[12]和 Reise 等^[13]的方法,在直径为 6 cm 的培养皿中制备胡萝卜愈伤组织。在解剖镜下,从供试的相似穿孔线虫 24 个群体中分别挑取 50 条雌虫,放入 1.5 mL 硫酸链霉素溶液(2 g/L)中 3 h 进行表面消毒,用无菌水清洗 2 次后,把线虫接到制备的胡萝卜愈伤组织上,用封口膜密封培养皿,放入 25℃的培养箱中黑暗培养 5 d,然后将其转入 12℃的培养箱中黑暗培养。每个群体做 10 个重复。30 d 后,每个群体取 5 个重复分离、统计线虫数量,每个群体的另外 5 个重复转入 25℃的培养箱中继续黑暗培养 50 d。

把接种供试线虫培养到期的胡萝卜愈伤组织取出,放入搅拌器中加入适量的自来水搅拌 10 s,间隔 5 s,重复 3 次。将搅拌后得到的悬浮液通过 100 目(孔径为 0.150 mm)、500 目(孔径为 0.025 mm)组合筛,用自来水反复冲洗后,用洗瓶冲洗收集 500 目筛上的线虫至烧杯中并定容,充分混匀后用移液管吸取 1 mL 线虫悬浮液放入培养皿中,在解剖镜下分别统计雌虫、雄虫、幼虫和卵的数量,重复 3 次取平均值,然后根据定容的体积计算出各群体每个接种重复的总虫量。

1.3 数据分析

用 SPSS V13.0 软件处理所得试验数据,并进行方差分析,用邓肯氏新复极差检验法(DMRT 法),在显著水平 $P=0.05$ 进行多重比较,计算标准误(SE)。

2 结果与分析

2.1 相似穿孔线虫在 12 ℃条件下的生存繁殖能力

在 12 ℃条件下,所有供试相似穿孔线虫群体均能存活 30 d,但同一种群经在胡萝卜愈伤组织上长期培养和在自然寄主植物根系上复壮繁殖的生存繁殖能力,以及相同培养处理的不同种群之间的生存繁殖能力都存在差异(表 2).经 1 次接种复壮的群体 RSA1、RSA2、RSA4、RSA5 和 RSA6 比在胡萝卜愈伤组织上长期培养保存的 RSO 和 RSB 的相应群体生存繁殖能力强;经连续 2 次接种复壮的群体 RSC1、RSC3、RSC4、RSC5 和 RSC6 比 RSA 的相应群体生存繁殖能力强,表明供试相似穿孔线虫在胡萝卜愈伤组织上长期培养后,在低温下的生存和繁殖能力明显下降,即耐低温能力降低;但经接种到自然寄主植物根系上复壮繁殖后,在低温下的生存繁殖能力得到提高,即耐低温能力得到不同程度的恢复,多数种群的耐低温能力经 1 次复壮繁殖即

能明显恢复,少数种群耐低温能力需经 2 次复壮繁殖才能明显恢复.在相同培养繁殖处理中,在 12 ℃的生存繁殖能力最大的分别是 RSO3、RSA2、RSB4 和 RSC4,最小的分别是 RSO6、RSA1、RSB1 和 RSC2.在后代的虫态中,一般是卵占总虫量的比例最大,其次是雌虫和幼虫,雄虫的比例最小.但 RSO1、RSO2 和 RSO6 不能产卵,其繁殖倍数也均小于 1,说明这 3 个群体在 12 ℃下处于休眠状态,只能存活不能增殖.

2.2 相似穿孔线虫经 12 ℃处理后移到 25 ℃条件下的繁殖能力

供试相似穿孔线虫群体在胡萝卜愈伤组织上置于 12 ℃培养 30 d 后,移到 25 ℃条件下,繁殖能力均明显有不同程度的恢复,但同一种群经在胡萝卜愈伤组织上长期连续培养群体和在自然寄主植物根系上复壮繁殖后群体的繁殖能力,以及相同培养繁殖处理的不同种群之间的繁殖能力仍都存在差异(表 3).经 1 次复壮的 RSA 各群体均比长期在胡萝卜愈伤

表 2 相似穿孔线虫不同群体各 50 条雌虫接种于胡萝卜愈伤组织上 12 ℃培养 30 d 的虫量¹⁾
Tab. 2 Comparative reproduction of different populations of *Radopholus similis* on carrot callus for 30 days after inoculation with 50 females, incubated at 12 ℃

群体编号 ²⁾	雌虫	雄虫	幼虫	卵	总虫量	繁殖倍数 ³⁾
RSO1	35 ± 1.20Bab	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Ab	0 ± 0.00Cd	35 ± 1.20Cc	0.70 ± 0.02Cc
RSA1	36 ± 3.84Bb	0 ± 0.00Aa	8 ± 5.60Ac	54 ± 4.63Af	98 ± 5.71ABe	1.96 ± 0.11ABe
RSB1	49 ± 3.74Abc	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Ab	42 ± 4.35Bc	91 ± 7.52Bd	1.82 ± 0.15Bd
RSC1	54 ± 2.53Ac	0 ± 0.00Ab	0 ± 0.00Ab	59 ± 3.57Ae	113 ± 4.39Ae	2.25 ± 0.09Ae
RSO2	28 ± 1.40Bbc	0 ± 0.00Ba	0 ± 0.00Bb	0 ± 0.00Cd	28 ± 1.40Cc	0.57 ± 0.03Cc
RSA2	35 ± 5.39Bb	0 ± 0.00Ba	0 ± 0.00Bc	378 ± 3.83Aa	413 ± 2.23Aa	8.27 ± 0.04Aa
RSB2	46 ± 2.31Abc	0 ± 0.00Ba	9 ± 3.61Aa	58 ± 3.00Bc	113 ± 5.27Bd	2.26 ± 0.11Bd
RSC2	48 ± 3.18Ac	9 ± 3.61Aa	0 ± 0.00Bb	54 ± 3.75Be	111 ± 5.96Be	2.21 ± 0.12Be
RSO3	26 ± 3.56Cbc	0 ± 0.00Aa	22 ± 0.49Aa	317 ± 2.99Aa	365 ± 4.73Aa	7.30 ± 0.09Aa
RSA3	53 ± 4.91ABa	0 ± 0.00Aa	25 ± 4.25Ab	110 ± 3.75De	189 ± 2.29Cc	3.78 ± 0.05Cc
RSB3	42 ± 3.75Bc	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Bb	130 ± 10.09Cab	172 ± 12.49Cb	3.44 ± 0.25Cb
RSC3	62 ± 3.92Ac	0 ± 0.00Ab	0 ± 0.00Bb	172 ± 4.28Bc	234 ± 3.10Bc	4.68 ± 0.06Bc
RSO4	42 ± 4.63Ca	0 ± 0.00Aa	22 ± 1.58Ba	107 ± 4.32Dc	171 ± 3.98Db	3.42 ± 0.08Db
RSA4	57 ± 4.23BCa	0 ± 0.00Aa	46 ± 3.49Aa	286 ± 8.16Ab	389 ± 11.88Ba	7.78 ± 0.24Ba
RSB4	72 ± 5.21Ba	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Cb	141 ± 9.40Ca	213 ± 7.61Ca	4.26 ± 0.15Ca
RSC4	236 ± 10.60Aa	0 ± 0.00Ab	15 ± 6.12Ba	224 ± 7.16Bb	475 ± 6.45Aa	9.49 ± 0.13Aa
RSO5	40 ± 2.77Ca	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Bb	133 ± 10.33Cb	173 ± 12.28Cb	3.46 ± 0.25Cb
RSA5	36 ± 5.71Cb	0 ± 0.00Aa	5 ± 3.10ABc	215 ± 14.58Bc	256 ± 12.15Bb	5.12 ± 0.24Bb
RSB5	57 ± 4.87Bb	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Bb	124 ± 7.51Cab	181 ± 6.41Cb	3.62 ± 0.13Cb
RSC5	100 ± 7.02Ab	0 ± 0.00Ab	11 ± 4.77Aa	283 ± 6.46Aa	394 ± 13.23Ab	7.88 ± 0.26Ab
RSO6	21 ± 3.57Bc	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Ab	0 ± 0.00Bd	21 ± 3.57Cc	0.42 ± 0.07Cc
RSA6	22 ± 3.23Bb	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Ac	136 ± 10.77Ad	158 ± 12.73Bd	3.16 ± 0.25Bd
RSB6	29 ± 3.37Bd	0 ± 0.00Aa	0 ± 0.00Ab	116 ± 6.48Ab	145 ± 8.51Bc	2.90 ± 0.17Bc
RSC6	63 ± 5.62Ac	0 ± 0.00Ab	0 ± 0.00Ab	127 ± 5.89Ad	190 ± 5.27Ad	3.80 ± 0.11Ad

1) 表中数据为 5 次重复的平均值 ± SE,其中同一种群不同培养处理的同列数据后凡具有相同大写字母者表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著(DMRT 法);同种培养处理不同种群的同列数据后凡具有相同小写字母者表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著(DMRT 法);2)RSA 群体为 RSO 群体在红掌上复壮繁殖所得,RSB 群体为 RSA 群体在胡萝卜愈伤组织上培养所得,RSC 群体为 RSA 群体在红掌上复壮繁殖所得;3)繁殖倍数=分离线虫总数/接种线虫量.

表 3 相似穿孔线虫不同群体在 12 ℃ 30 d 后移置 25 ℃ 培养 50 d 的虫量¹⁾

Tab. 3 Comparative reproduction of different populations of *Radopholus similis* cultured on carrot callus at 12 ℃ for 30 days, then transferred and incubated at 25 ℃ for 50 days

群体编号 ²⁾	雌虫	雄虫	幼虫	卵	总虫量	繁殖倍数 ³⁾
RSO1	6 409 ± 317. 90Aa	606 ± 18. 70Cb	5 828 ± 297. 03Ba	5 068 ± 131. 96Ca	17 911 ± 311. 87Ca	358. 22 ± 6. 24Ca
RSA1	6 845 ± 110. 22Ab	1 634 ± 54. 37Bc	6 484 ± 172. 49Bd	5 632 ± 75. 19Bd	20 595 ± 259. 00Bd	411. 90 ± 5. 18Bd
RSB1	978 ± 51. 62Cd	461 ± 24. 62Cc	3 548 ± 148. 04Cc	658 ± 26. 67Dc	5 644 ± 181. 48Dd	112. 88 ± 3. 63Dd
RSC1	4 011 ± 156. 60Bc	1 936 ± 115. 26Aa	17 669 ± 860. 29Aa	7 374 ± 250. 39Ac	30 990 ± 697. 66Ab	619. 80 ± 13. 95Ab
RSO2	2 588 ± 156. 75Bd	329 ± 42. 58Bd	2 387 ± 117. 09De	2 233 ± 129. 78Bed	7 536 ± 190. 74Cd	150. 73 ± 3. 81Cd
RSA2	4 046 ± 157. 25Ac	671 ± 25. 44Ae	3 253 ± 122. 93Ce	12 583 ± 483. 95Aa	20 552 ± 560. 31Ad	411. 05 ± 11. 21Ad
RSB2	1 440 ± 81. 45De	680 ± 26. 42Ab	7 737 ± 273. 68Aa	1 468 ± 88. 42Bb	11 325 ± 375. 95Bb	226. 50 ± 7. 52Bb
RSC2	1 986 ± 82. 77Cd	749 ± 65. 46Ab	6 183 ± 448. 49Bc	2 182 ± 115. 69Bd	11 099 ± 518. 26Bd	221. 99 ± 10. 37Bd
RSO3	4 347 ± 172. 59Cb	481 ± 35. 28Dc	3 243 ± 181. 78Cd	3 410 ± 80. 01Cb	11 481 ± 259. 71Cb	229. 61 ± 5. 19Cb
RSA3	7 170 ± 331. 30Bb	2 399 ± 155. 43Ab	9 255 ± 263. 32Aab	9 105 ± 174. 07Bb	27 929 ± 751. 65Bb	558. 57 ± 15. 03Bb
RSB3	2 197 ± 163. 19Db	454 ± 24. 21Bc	1 844 ± 96. 38De	537 ± 28. 35Dc	5 032 ± 251. 76Dd	100. 65 ± 5. 04Dd
RSC3	11 818 ± 497. 49Aa	2 162 ± 218. 56Aa	6 145 ± 492. 14Bc	12 266 ± 682. 82Ab	32 391 ± 545. 42Ab	647. 82 ± 10. 91Ab
RSO4	3 653 ± 133. 05Cc	465 ± 24. 53Cc	4 978 ± 191. 35Cb	1 923 ± 134. 36Cde	11 020 ± 249. 78Cb	220. 41 ± 5. 00Cb
RSA4	5 830 ± 279. 80Ab	1 442 ± 98. 74Bed	7 661 ± 381. 85Bc	12 125 ± 700. 63Aa	27 059 ± 980. 22Bb	541. 18 ± 19. 60Bb
RSB4	903 ± 37. 39Dd	643 ± 41. 74Cb	6 755 ± 271. 86Bb	537 ± 35. 31Dc	8 838 ± 331. 32Dc	176. 75 ± 6. 63Dc
RSC4	5 003 ± 194. 62Bc	1 908 ± 75. 90Aa	15 038 ± 1 025. 01Ab	7 928 ± 472. 19Bc	29 877 ± 733. 08Ab	597. 53 ± 14. 66Ab
RSO5	846 ± 20. 70Ce	243 ± 12. 21De	907 ± 40. 92Df	2 531 ± 88. 09Bc	4 527 ± 101. 09Ce	90. 54 ± 2. 02Ce
RSA5	12 940 ± 992. 21Aa	4 014 ± 157. 54Aa	8 432 ± 368. 67Bbc	5 633 ± 406. 49Ad	31 020 ± 479. 18Aa	620. 39 ± 9. 58Aa
RSB5	1 439 ± 25. 64Cc	657 ± 45. 31Cb	2 587 ± 86. 09Cd	1 181 ± 94. 93Cb	5 864 ± 90. 79Cd	117. 28 ± 1. 82Cd
RSC5	4 978 ± 299. 30Bc	1 817 ± 152. 75Ba	15 026 ± 753. 51Ab	2 626 ± 197. 85Bd	24 447 ± 1 005. 15Bc	488. 94 ± 20. 10Bc
RSO6	3 099 ± 252. 90Ccd	852 ± 25. 60Ca	4 167 ± 203. 77De	1 818 ± 76. 54De	9 936 ± 513. 60Dc	198. 72 ± 10. 27Dc
RSA6	6 428 ± 305. 99Bb	1 292 ± 86. 58Bd	9 819 ± 362. 53Aa	7 043 ± 233. 97Bc	24 582 ± 651. 08Bc	491. 64 ± 13. 02Bc
RSB6	3 077 ± 129. 92Ca	1 218 ± 106. 28Ba	6 208 ± 428. 84Cb	3 781 ± 243. 63Ca	14 284 ± 415. 29Ca	285. 67 ± 8. 31Ca
RSC6	9 026 ± 476. 21Ab	1 983 ± 127. 89Aa	7 559 ± 594. 23Bc	21 770 ± 956. 28Aa	40 337 ± 1 929. 96Aa	806. 75 ± 38. 60Aa

1) 表中数据为 5 次重复的平均值 ± SE, 其中同一种群不同培养处理的同列数据后凡具有相同大写字母者表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著 (DMRT 法); 同种培养处理不同种群的同列数据后凡具有相同小写字母者表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著 (DMRT 法); 2) RSA 群体为 RSO 群体在红掌上复壮繁殖所得, RSB 群体为 RSA 群体在胡萝卜愈伤组织上培养所得, RSC 群体为 RSA 群体在红掌上复壮繁殖所得; 3) 繁殖倍数 = 分离线虫总数/接种线虫量.

组织上培养繁殖的群体 RSO 和经 1 次复壮繁殖后又在胡萝卜愈伤组织上连续繁殖 6 代的群体 RSB 的相应种群繁殖量大, 连续复壮繁殖 2 次的群体 RSC1、RSC3、RSC4、RSC5 和 RSC6 比 RSB 的相应群体繁殖量大, 群体 RSC1、RSC3、RSC4 和 RSC6 比 RSA 的相应群体繁殖量大, 这表明在自然寄主植物上复壮繁殖的相似穿孔线虫大部分群体比长期在离体愈伤组织上培养繁殖的群体, 从低温移到适温条件后, 繁殖能力恢复程度更高, 可见低温对复壮繁殖的相似穿孔线虫繁殖能力影响小于在离体愈伤组织上长期培养的, 即前者的耐低温能力强于后者. 在相同培养处理中, 繁殖量最大的分别是 RSO1、RSA5、RSB6 和 RSC6, 最小的分别是 RSO5、RSA2、RSB3 和 RSC2. 所有供试相似穿孔线虫群体的繁殖倍数均大于 90, 繁殖倍数最大的是 RSC6, 最小的是 RSO5, 这说明供试相似穿孔线虫各群体繁殖量都比较大. 在后代的虫

态中, 一般是幼虫占总虫量的比例最大, 其次是雌虫和卵, 雄虫的比例最小.

3 讨论与结论

试验结果显示, 相似穿孔线虫多数种群在胡萝卜愈伤组织长期连续培养繁殖后, 在低温下的生存和繁殖能力明显降低, 而通过在自然寄主植物上复壮繁殖后, 在低温下的生存和繁殖能力明显地增强; 此外, 在胡萝卜愈伤组织长期连续培养繁殖的相似穿孔线虫, 从低温移到适温条件后的繁殖能力恢复程度, 也明显小于在自然寄主植物上复壮繁殖的相似穿孔线虫. 可见胡萝卜愈伤组织上长期连续培养降低了相似穿孔线虫的耐低温能力, 而通过在自然寄主植物上复壮繁殖, 可以不同程度地恢复其耐低温能力. 此类结果鲜见报道.

12 ℃ 培养 30 d 后, 供试相似穿孔线虫 6 个种群

的未经复壮群体(RSO)中有 3 个只能存活不能增殖,经第 1 次复壮的 6 个群体(RSA)不仅都能存活和增殖,而且其中有 5 个群体的繁殖量大于相应的在愈伤组织上连续培养的群体,因此经 1 次复壮就能使多数供试种群在低温下的生存和繁殖能力增强. 经 2 次复壮的 RSC1、RSC3、RSC4、RSC5 和 RSC6 比相应的 RSA 群体生存繁殖能力强,表明连续复壮可使种群在低温下的生存和繁殖能力提高更大. 在病原生物变异中,主要的诱变因子是病原生物本身的遗传物质和环境条件. 供试的相似穿孔线虫愈伤组织上长期连续培养后生存繁殖能力下降,经在适宜自然寄主红掌上复壮繁殖后,其繁殖能力明显恢复. 有报道称长期人工培养的生物繁殖能力降低可能与营养水平有关^[14-15]. 但本试验证实相似穿孔线虫在愈伤组织上长期连续培养后繁殖能力降低,但这是否与营养水平或其他因素有关,尚有待进一步研究.

Fallas 等^[16]研究发现相似穿孔线虫在 15 ℃ 下不能在胡萝卜愈伤组织上繁殖. Elbadri 等^[9]报道相似穿孔线虫在 15 ℃ 下有少数种群可以在胡萝卜愈伤组织上进行繁殖. 本研究供试的在胡萝卜愈伤组织上长期培养的部分种群在 12 ℃ 条件下仍可以在胡萝卜愈伤组织上繁殖,经在自然寄主植物上复壮繁殖后,所有种群均能在此温度下繁殖. 因此相似穿孔线虫的耐低温能力和繁殖能力在种群间有很大差异,这与种群的内在特性和生存的外在条件均有关,同时本试验也表明传入中国的相似穿孔线虫种群具有较强的耐低温能力,这对有效保存相似穿孔线虫的试验种群和评估其适生性具有重要的参考意义.

来自孔雀竹芋 *Calathea makoyana* 的 RSO2 种群和来自散尾葵 *Chrysalidocarpus lutescens* 的 RSO3 种群,复壮繁殖后的低温生存繁殖能力与长期在胡萝卜愈伤组织上培养群体的低温生存繁殖能力的变化不同(RSA2 > RSB2 > RSC2 > RSO2, RSO3 > RSC3 > RSA3 > RSB3),这是否与复壮植物红掌不是其原始寄主,或与种群的内在特性有关,尚有待研究.

参考文献:

[1] 谢辉. 植物线虫分类学[M]. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2005.

[2] O' BANNON J H. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production[J]. J Nematol, 1977, 9(1): 16-25.

[3] 徐春玲, 陈淳, 周春娜, 等. 马铃薯根际 3 种植物成虫种类记述[J]. 华南农业大学学报, 2012, 33(2): 167-170.

[4] 符美英, 陈绵才, 吴凤芝, 等. 香蕉穿孔线虫的为害及其分类鉴定研究进展[J]. 中国植保导刊, 2011, 31(3): 18-20.

[5] 王琼, 耿丽凤, 张东升, 等. 香蕉穿孔线虫(*Radopholus similis*)特异性分子检测技术研究[J]. 植物病理学报, 2011, 41(2): 171-177.

[6] 郑小玲, 金惺惺, 张森泉, 等. 几种进境观赏植物根际香蕉穿孔线虫的鉴定和描述[J]. 植物保护, 2011, 37(2): 95-98.

[7] 刘一帆, 徐春玲, 张超, 等. 从混合线虫样品和植物组织中直接检测香蕉穿孔线虫的 ITS-PCR 方法[J]. 中国农业科学, 2011, 44(19): 3991-3998.

[8] HUGON R, GANRY J, BERTHE G. Dynamique de population du nématode *Radopholus similis* en fonction du stade de développement du bananier et du climat[J]. Fruits, 1984, 39(4): 251-253.

[9] ELBADRI G A A, WAELE D D, MOENS M. Reproduction of *Radopholus similis* isolates after inoculation of carrot disks with one or more females[J]. Nematology, 2001, 3(8): 767-771.

[10] 陈淳, 谢辉, 徐春玲, 等. 香蕉穿孔线虫不同种群耐寒性的测定[J]. 华中农业大学学报, 2008, 27(1): 49-51.

[11] STOFFELEN R, JIMENEZ M I, DIERCKXSENS C, et al. Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks[J]. Nematology, 1999, 1(3): 243-250.

[12] MOODY E H, LOWNSBERY B F, AHMED J M. Culture of the root-lesion nematode *pratylenchus vulnus* on carrot disks[J]. J Nematol, 1973, 5(3): 225-226.

[13] REISE R W, HUETTEL R N, SAYRE R M. Carrot callus tissue for culture of endoparasitic nematodes[J]. J Nematol, 1987, 19(3): 387-389.

[14] 常韶华, 杨怀文. 连续传代培养中营养对昆虫病原线虫的影响[J]. 中国生物防治, 1998, 14(3): 105-106.

[15] 马秀芬, 解志东, 王绯琳, 等. 壮观链霉菌的衰退和复壮[J]. 内蒙古大学学报, 1997, 28(2): 248-252.

[16] FALLAS G A, SARAH J L. Effect of storage temperature on the in vitro reproduction of *Radopholus similis*[J]. Nematropica, 1994, 24(2): 175-177.

【责任编辑 霍 欢】