

温湿度及酸碱度对南方根结线虫生长发育的影响

伏召辉¹, 杜超², 仵均祥¹

(1. 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 鄂尔多斯市东胜区园林局, 内蒙古 鄂尔多斯 017000)

摘要:通过室内不同温湿度及酸碱度条件培养, 观察温湿度和酸碱溶液对南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 卵孵化和 2 龄幼虫 (J2) 存活的影响, 为南方根结线虫种群动态的准确预测和科学防治提供理论依据。结果表明: 南方根结线虫卵孵化的适宜温度范围是 15~30℃, J2 适宜存活温度是 10~25℃; 土壤含水量在 10%~30% 内, 南方线虫均可生长发育, 但含水量为 30% 时, 对卵孵化和 J2 存活均具有明显的抑制作用; pH 5~8 时, 南方根结线虫卵孵化率与 J2 存活率均较高, 表明该虫在弱酸弱碱和中性环境中更易生存。由此可见, 不同的温湿度和酸碱溶液对南方根结线虫卵孵化和 J2 存活均有显著影响。

关键词:南方根结线虫; 温度; 湿度; 酸碱度

中图分类号:S 436.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0137-04

南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 属植物根系定居型内寄生物, 是危害多种农作物和蔬菜的重要病原线虫之一^[1]。它主要危害茄科、葫芦科、十字花科等植物根部, 形成串珠瘤状根结, 破坏根组织的分化和生理活动, 抑制地上部正常生长, 进而严重影响作物产量和品质^[2]。近年来, 随着农业种植结构的调整, 保护地茄科、葫芦科蔬菜种植面积逐年增加, 为南方根结线虫的发生创造了良好的条件, 导致大部分蔬菜产区根结线虫发生日趋严重, 发病田常年减产 15%~20%, 严重时达到 70% 以上^[3]。

目前, 生产上对根结线虫的防治仍然是以化学防治为主, 但化学杀线剂普遍存在毒性大、残效期长、环境污染严重等问题。在大力提倡无公害生产、保护环境、保持生态平衡的今天, 利用生态控制技术有效地防治根结线虫病害愈来愈受到重视。据报道, Barker K R 等^[4]研究表明, 温湿度对根结线虫的生长发育有一定的影响; Oka Y 等^[5-6]研究表明, 氢氧化铵在碱性土壤中对爪哇根结线虫的杀虫效果明显; Zasada I A 等^[7]和 Margarita R 等^[8]利用温湿度与生防因子的相互作用来防治南方根结线虫。而我国对根结线虫病害的研究起步较晚, 除常规的化学药剂、生防因子的筛选外, 人们较少注意到

通过控制温湿度和土壤酸碱度来防治根结线虫。因此, 研究我国不同地区不同种类根结线虫对温湿度及土壤酸碱度的反应具有重要意义。现利用室内培养技术研究了不同温湿度和酸碱溶液对南方根结线虫卵孵化和其 2 龄幼虫 (J2) 存活的影响, 以期能为不同地区设施园艺进一步实施生态控制根结线虫病害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试线虫采自陕西杨凌西魏店黄瓜温室大棚内, 根据制作雌虫会阴花纹, 测量 J2 体长、体宽及口针长度, 鉴定结果为南方根结线虫 (*M. incognita*)^[9]。试验中所用南方根结线虫卵囊是从黄瓜根部挑取新鲜且大小一致的黄褐色卵块, J2 是卵块在室温 22℃ 下用蒸馏水孵化 4 d 所得。

1.2 试验方法

1.2.1 温度处理 采用 ZPQ-280B 型人工气候箱 (黑龙江东拓仪器制造有限公司), 设置 10、15、20、25、30、35℃ 6 个温度处理 (温度误差 ±0.5℃), 光周期 0 : 24 (L : D) h, 相对湿度 (20±10)%。将卵囊置于盛有 0.5% NaClO 的培养皿中消毒 30 s, 用无菌水冲洗 3 次, 转入盛有蒸馏水的培养皿中, 每皿 1 个卵囊, 3 次重复, 连续观察 12 d, 每 2 d 换 1 次蒸馏水并记录已孵出 J2 数量。12 d 后用 1% 的 NaClO 溶解卵囊, 计数未孵化卵数和死卵数, 未孵化卵用酸性品红染色, 能染上色的为死卵, 染不上色的为不孵化活卵 (即蛰伏卵)^[10]。同时, 每皿盛 1 粒单胞卵于不同温度下培养, 3 次重复, 每 12 h 观察 1 次, 记录孵化出 J2 所需时间。将同一时间段 (12 h 内) 孵化的初孵幼虫放入直径 6 cm 培养皿中, 每皿 50 头, 置不同温度下培养, 3 次重复, 连续观察 12 d, 每 2 d 观察 1 次并记录 J2

第一作者简介:伏召辉 (1986-), 女, 四川广元人, 在读硕士, 现主要从事害虫综合治理研究工作。E-mail: fzhaohui@163.com。

责任作者:仵均祥 (1961-), 男, 陕西凤翔人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事农业昆虫研究工作。E-mail: junwx@nwsuaf.edu.cn。

基金项目:陕西省“2009 年百万亩设施蔬菜工程示范县建设”资助项目。

收稿日期:2011-12-26

存活数量。

1.2.2 湿度处理 将用 60 目网筛过筛后的细沙土经电热恒温培养箱烘干后,装入培养皿中,加无菌水分别配置成含水量为 10%、15%、20%、25%、30% 的细沙土。将 1 个卵囊和 50 条 J2 分别放入盛有不同含水量沙土的培养皿内,在皿盖内加湿滤纸保湿,并用封口膜密封。在室温 22℃ 下,卵囊在置有不同含水量沙土的培养皿内孵化 4 d, J2 在置有不同含水量沙土的培养皿内培养 6 d, 3 次重复。每天检查 1 次,每次检查完后称重补水、密封,调查时利用漏斗法分离活的 J2,记录卵孵化数及 J2 的存活数。土壤含水量测定方法如下:土壤含水量=(原土质量-烘干土质量)/烘干土质量×100%。

1.2.3 不同 pH 溶液的处理 用 Na_2HPO_4 、NaOH、柠檬酸和甘氨酸,制备 pH 分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 和 11.0 的缓冲溶液。在室温 22℃ 下,将 1 个卵囊和 50 条 J2 分别放入盛有不同缓冲溶液的培养皿中培养 2 d, 3 次重复,记录卵孵化数及 J2 存活数。

1.3 数据处理

采用 DPS 软件进行方差分析,差异显著性测验采用 Duncan's 方法。

2 结果与分析

2.1 温度对卵孵化的影响

由图 1 可知,随处理时间的延长,在供试 6 个温度处理条件下,根结线虫卵孵化数基本上呈逐渐递减趋势。除 20℃ 处理外,其它温度处理都是处理 2 d 的孵化数较多,其中 25、30℃ 下卵孵化数分别达到 164.67、161.67 条。20 和 25℃ 下孵化出的 J2 数量较多,15 和 30℃ 次之,10 和 35℃ 最差。综上可知,15~30℃ 是南方根结线虫卵孵化的适宜温度。

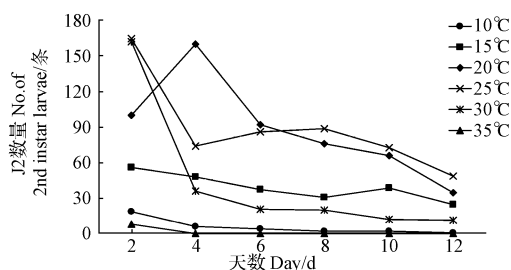


图 1 不同温度与时间处理对南方根结线虫卵孵化的影响

Fig. 1 Effect of different temperature and time on eggs hatching of *M. incognita*

由表 1 可知,不同温度对南方根结线虫卵孵化有显著影响。在 25 和 20℃ 条件下,南方根结线虫卵孵化率较高,分别为 80.94% 和 77.50%,显著高于其它温度处理;其次是 30 和 15℃,卵孵化率分别为 40.32% 和 34.76%;在 10 和 35℃ 下,卵孵化率分别为 5.82% 和 1.36%,显著低于其它处理($F=283.39, P<0.01$)。该卵在 10℃ 条件下,蛰伏率最高,达 78.28%;其次是 15℃ 和

30℃,卵蛰伏率分别为 53.64% 和 45.17%;在 20 和 25℃ 下,卵蛰伏率分别为 18.08% 和 15.42%,显著低于其它处理($F=302.70, P<0.01$)。在 35℃ 处理下,12 d 后卵囊中尚未孵化的卵全为死卵,因此蛰伏率为 0。即该卵在 35℃ 条件下,死亡率最高,达 98.64%,显著高于其它处理;20 和 25℃ 处理下的死卵率较低,分别为 4.42% 和 3.64%,显著低于其它处理;10、30℃ 和 15℃ 处理下的死卵率介于上述二者之间($F=250.79, P<0.01$)。

在 15~30℃,随着温度的升高,南方根结线虫卵孵化的时间显著缩短。30℃ 处理下,卵孵化所需的时间最短,为 9.33 d;15℃ 下,所需时间最长,为 27.83 d,显著长于其它处理($F=178.17, P<0.01$)。南方根结线虫单个卵在 10 和 35℃ 条件下不能孵化成 2 龄幼虫。10℃ 下的卵大多数仍然保持完好,在 12 d 后恢复室温(22℃)还可以正常孵化,说明此温度对于南方根结线虫卵的孵化具有较明显的抑制作用。而 35℃ 处理下的卵在恢复室温后依然不能孵化,且有少数卵壳破裂,表明此温度可能破坏了部分卵的生理活性。

表 1 不同温度对南方根结线虫卵发育和孵化的影响

Table 1 Effect of different temperatures on development and hatching of *M. incognita* eggs

温度 Temperature /℃	孵化率 Hatching rate /%	蛰伏率 Dormancy rate /%	死卵率 Dead rate /%	卵期 Egg period /d
10	5.82±0.72 cC	78.28±1.77 aA	15.90±2.48 bB	—
15	34.76±2.90 bB	53.64±2.06 bB	11.60±2.59 bBCD	27.83±0.73 aA
20	77.50±2.04 aA	18.08±0.71 dD	4.42±2.51 cCD	17.50±0.29 bB
25	80.94±2.50 aA	15.42±1.37 dD	3.64±1.19 cD	15.33±0.73 cB
30	40.32±2.26 bB	45.17±2.64 cC	14.51±3.37 bBC	9.33±0.44 dC
35	1.36±0.16 cC	0±0	98.64±0.16 aA	—

注:表中数据为“平均值±标准误差”,标于同一列数据后不同大小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)和差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Data in the table are 'mean±SE'. Data belonged to the same category and followed by different lowercase letters are significantly different at $P<0.05$ level; by different capital letter are significantly different at $P<0.01$ level. The same below.

2.2 温度对 J2 存活的影响

由图 2 可知,在不同温度处理条件下,随处理时间的延长,2 龄幼虫存活率逐渐下降。整个试验期间(12 d),南方根结线虫 2 龄幼虫在 10~25℃ 下的存活率较高,都在 84% 以上,且变化趋势相似。在 30℃ 条件下,

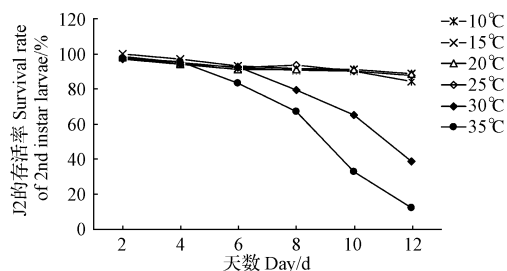


图 2 温度对南方根结线虫 J2 存活的影响

Fig. 2 Effect of different temperature on survival of 2nd stage larvae of *M. incognita*

2 龄幼虫的存活率在 6 d 后开始骤然下降;在 35℃ 时,则在 4 d 后就开始明显下降。综上可知,10~25℃ 是南方根结线虫 2 龄幼虫适宜存活温度。

2.3 湿度对卵孵化和 J2 存活的影响

由表 2 可知,湿度对南方根结线虫卵孵化和 2 龄幼虫的存活的影响显著不同 ($F_{\text{卵孵化}} = 50.01$, $F_{\text{J2存活}} = 19.64$, $P < 0.01$)。在含水量为 25% 的土壤里孵化出的 2 龄幼虫最多,为 154.00 条,极显著高于其它处理;当土壤含水量为 30% 时孵化出的 2 龄幼虫最少,为 69.00 条,极显著低于含水量为 15%、20% 和 25% 的处理。南方根结线虫 2 龄幼虫在含水量为 25% 的土壤里存活率最高,为 86.67%,极显著高于含水量为 10%、15% 和 30% 的处理;当土壤含水量为 30% 时,2 龄幼虫的存活量最低,为 48.00%,极显著低于含水量为 20% 和 25% 的处理。由此可见,当土壤含水量为 25% 时,最有利于南方根结线虫卵孵化和 2 龄幼虫存活;含水量为 30% 时,对南方根结线虫卵孵化和 2 龄幼虫的存活均有一定的抑制作用。

表 2 湿度对南方根结线虫卵孵化和 2 龄幼虫存活的影响

Table 2 Effect of moisture on eggs hatching and 2nd stage larvae survival of *M. incognita*

土壤含水量 Soil water content /%	卵囊孵化 J2 数 No. of 2nd instar larvae hatched /条	J2 存活率 Survival rate of 2nd instar larvae /%
10	80.00±1.73cdD	54.00±2.65bcC
15	112.00±5.20bB	64.67±1.20bcB
20	97.00±4.16bcC	78.00±1.73abA
25	154.00±6.80aA	86.67±1.45aA
30	69.00±4.04dD	48.00±1.73cC

2.4 南方根结线虫对不同 pH 值溶液的适应性

由图 3 可知,不同 pH 值溶液对南方根结线虫卵孵化和其 J2 的存活均有极显著影响 ($F_{\text{卵孵化}} = 187.50$, $F_{\text{J2存活}} = 234.82$, $P < 0.01$),且趋势一致。当 pH 在 5~8 时,其卵孵化率与 J2 存活率分别在 80% 和 86% 以上;当 pH 小于 5 或大于 8 时,其卵孵化率与 J2 存活率都呈逐渐递减趋势。由此可见,南方根结线虫对 pH 溶液的适应范围较广,在弱酸弱碱和中性环境中更易生存。

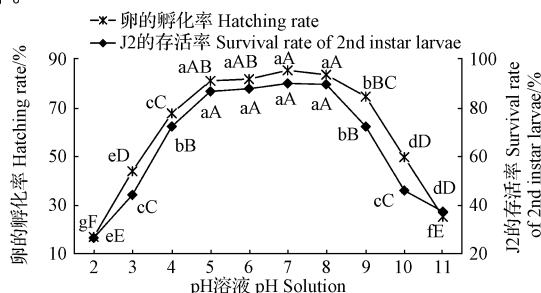


图 3 南方根结线虫对不同 pH 值溶液的适应性

Fig. 3 Adaptability of *M. incognita* to the solution with different pH values

3 结论与讨论

根结线虫病是一种典型的土传有害生物,适宜的土壤环境是根结线虫孵化、存活以及完成生活史的必要条件,如土壤中的离子、酸碱性、温度、湿度、土壤类型和微生物等。迄今为止,有关利用温湿度变化或调节土壤酸碱度来控制根结线虫的研究报道很少。印度有人研究过此方面,但由于印度是高温干旱气候,因此在低温研究方面较为欠缺^[11]。我国气候差异很大,利用温湿度变化或调节土壤酸碱度来控制南方根结线虫的危害有一定的可行性。该试验结果表明,南方根结线虫卵孵化的适宜温度范围是 15~30℃,J2 适宜存活温度是 10~25℃,35℃ 对其卵孵化和 J2 存活均具有一定的抑制作用。前人对南方根结线虫在其它寄主上生长发育的温度也做了大量研究。陈立杰等^[12] 研究认为,番茄上南方根结线虫卵孵化的适宜温度是 15~30℃,其 2 龄幼虫可正常存活的温度是 15~20℃。吴庆丽等^[13] 研究认为,温度对南方根结线虫的生长发育有较大影响,该线虫在马铃薯上生长繁殖的温度范围是 24~35℃,但最适温度是 24~28℃。李树庆等^[14] 研究表明,香蕉上南方根结线虫卵孵化的适宜温度是 15~30℃。该试验的研究结果与他们的研究结果不完全一致,其原因可能是由于根结线虫对当地环境适应的结果或是与种内分化有关。

该试验中发现,南方根结线虫在卵孵化的时候存在滞育卵和静止卵。滞育卵是指那些在正常条件下长期不能孵化的活卵。而静止卵是指那些在有利条件下可孵化,反之,不能孵化的活卵。在 10℃ 和 15℃ 条件下的蛰伏卵包括有静止卵和滞育卵 2 种,对于其它温度条件下的蛰伏卵,该试验尚未观察,有待今后进一步研究。

陈立杰等^[12,15] 研究认为,根结线虫对湿度不是太敏感,当土壤含水量低于 1% 或高于 30% 时,才对线虫有明显的抑制作用。郑长英等^[16] 研究表明,番茄根结线虫生长发育的最适湿度是土壤含水量为 3.90%~8.98%。该试验研究表明,南方根结线虫对湿度适应的范围较广,土壤含水量在 10%~30% 内,其线虫均可生长发育,但含水量为 30% 时,对其卵孵化和 J2 存活均具有明显的抑制作用。这与他们的研究结论有差异,主要可能是与植物寄主或种内分化有关。

Oka Y 等^[17-18] 认为,高 pH 土壤中亚硝酸离子化形成 NO_2^- 可降低杀害线虫的活性;Khan M R 等^[19] 研究表明,南方根结线虫对根的侵入、危害及其生长繁殖能力在 pH 5.6 下增强,而在 pH 3.2 时受到明显的抑制;白春明等^[20] 认为,高 pH 对南方根结线虫也只是在高浓度下才具有致死作用,并认为南方根结线虫的 2 龄幼虫对 pH 的适应范围是 4.1~11.0。该试验结果表明,南方根结线虫卵孵化和 J2 存活对 pH 值溶液的要求相似,在 pH 为 5~8 时,其卵孵化率与 J2 存活率均较高,说明该线虫在弱酸弱碱和中性环境中更易生存。这一结果与

前人的研究结果^[20-21]不完全一致,其原因可能与 pH 溶液的配制、植物寄主及种类有关,具体原因还有待进一步研究。

不同地区不同寄主上南方根结线虫卵孵化和其 2 龄幼虫存活对温度、湿度及土壤酸碱性的适应范围和可以耐受的极限值各不相同。因此,该试验中抑制南方根结线虫卵孵化及其 2 龄幼虫存活的温度、湿度及酸碱度能否真正地应用在生产上,还需对植物的特性和其栽培条件等因素进行深入的研究,从而达到控制根结线虫生长繁殖和减轻危害农作物的目的。

参考文献

- [1] 张玉,郭振川,陈国华,等. 南方根结线虫伴生细菌宏基因组 fosmid 文库构建及其特征分析[J]. 植物保护学报,2009,36(6):545-549.
- [2] 段玉玺,白春明,陈立杰,等. 无机化合物对南方根结线虫行为的影响[J]. 植物保护学报,2009,36(6):537-544.
- [3] 徐建华,李红梅,沈培垠,等. 南方根结线虫群体间致病性变异的生物测定[J]. 南京农业大学学报,1999,22(3):33-36.
- [4] Barker K R, Carter C C, Sasser J N. Methodology[M]. Raleigh: North Carolina State Univ, 1985.
- [5] Oka Y, Pivonia S. Use of ammonia-releasing compounds for control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* [J]. Nematology, 2002, 4(1): 65-71.
- [6] Oka Y, Pivonia S. Effect of a nitrification inhibitor on nematicidal activity of organic and inorganic ammonia-releasing compounds against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* [J]. Nematology, 2003, 5(4): 505-513.
- [7] Zasada I A, Tenuta M. Alteration of the soil environment to maximize *Meloidogyne incognita* suppression by an alkaline-stabilized biosolid amendment[J]. Applied Soil Ecology, 2008, 40(2): 309-317.
- [8] Margarita R, Pedro F P, Jose A, et al. Effects of biosolarization as methyl bromide alternative for *Meloidogyne incognita* control on quality of soil under pepper[J]. Biology and Fertility of Soils, 2008, 45(1): 37-44.
- [9] 伏召辉, 作均祥. 杨凌地区黄瓜根结线虫种类鉴定[J]. 陕西农业科学, 2010, 56(5): 30-32.
- [10] 郑良. 植物胞囊线虫、根结线虫蛭伏特性初步研究[J]. 福建农业科技, 1995(3): 11-12.
- [11] Gaur H S, Seigal M. Effect of rate of drying of soil on the survival, infectivity and development of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* [J]. Indian Journal of Nematology, 1990, 20(1): 84-90.
- [12] 陈立杰, 魏峰, 段玉玺, 等. 温湿度对南方根结线虫卵孵化和二龄幼虫的影响[J]. 植物保护, 2009, 35(2): 48-52.
- [13] 吴庆丽, 王鲜, 廖金铃, 等. 不同光温条件对马铃薯繁殖根结线虫效果的影响[J]. 植物保护, 2006, 32(6): 27-29.
- [14] 李树庆, 刘志明, 韦刚. 香蕉根结线虫生物学特性研究[J]. 西南农业学报, 2003, 16(2): 66-69.
- [15] 陈立杰, 魏峰, 陈井生, 等. 土壤温湿度对南方根结线虫侵染能力的影响[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(6): 1375-1377.
- [16] 郑长英, 曹志平, 孙立宁. 环境条件对番茄根结线虫病的影响[J]. 莱阳农学院学报, 2004, 21(3): 231-233.
- [17] Oka Y, Nadia Tkachi. Laboratory studies on the enhancement of nematicidal activity of ammonia-releasing fertilizers by alkaline amendments [J]. Nematology, 2006, 8(3): 335-346.
- [18] Oka Y, Nadia Tkachi, Mishael Mor. Phosphite inhibits development of the nematodes *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals [J]. Nematology, 2007, 9(4): 396-404.
- [19] Khan M R, Khan M W. Effects of simulated acid rain and root-knot nematode on tomato[J]. Plant Pathology, 1994, 43: 41-49.
- [20] 白春明, 段玉玺, 陈立杰, 等. 铵类化合物对南方根结线虫 2 龄幼虫存活的影响[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 74-78.
- [21] 赵雅峰, 王晓东, 张琼, 等. 新疆甘薯茎线虫生物学特性的初步研究[J]. 石河子大学学报, 2007, 25(1): 43-45.

Effects of Temperature, Humidity and Acidity-alkalinity on Growth and Development of *Meloidogyne incognita*

FU Zhao-hui¹, DU Chao², WU Jun-xiang¹

(1. College of Plant Protection, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Garden Bureau of Dongsheng District, Erdos, Inner Mongolia 017000)

Abstract: The influence of temperature, humidity and acid-base solution on hatching and survival of second-stage juveniles (J2) of *M. incognita* was examined through indoor breeding under corresponding condition. The results showed that the optimum temperature was 15~30℃ for hatching of *M. incognita* while 10~25℃ for survival of J2. The adaptive moisture range was wide. It was tolerable for *M. incognita* to grow and develop when the soil moisture content was 10%~30%. However, the soil moisture content over 30% had the negative effect on hatching and survival of J2 of *M. incognita* significantly. Under the condition of weakly acidic, alkaline and neutral environment (pH 5~8), *M. incognita* had the higher rate of hatchability and livability for J2. In conclusion, temperature, moisture and acid-base solution were important factors which could observably influence hatching and survival of J2 of *M. incognita*.

Key words: *Meloidogyne incognita*; temperature; moisture; pH