

在我国发现的根结线虫病原菌及其用作生物防治的探讨

潘沧桑 林 竞 倪子锦 王生元*

(厦门大学生物学系, 厦门 361005)

穿刺芽孢杆菌 (*Bacillus penetrans*) 是引起植物寄生线虫和土壤线虫致命性疾病的一种寄生菌。最初被 Thorne(1940) 误认为原生动物的担孢子 *Duboscia penetrans*, 后来 Mankau (1975) 把它重新命名为 *Bacillus penetrans*^[1]。据国外报道, 该菌可寄生于根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 等多种植物寄生线虫体内, 吸取其营养, 使组织细胞崩解, 因此许多农业害虫的虫口密度明显减少, 所以是对有害线虫进行生物防治的一种有希望的研究对象^[2,3]。

1982 年作者在观察柑桔 (*Citrus reticulata*) 根结线虫的季节动态时看到幼虫体表有此菌寄生; 1985 年在研究吊灯花 (*Hibiscus schizopetalus*) 根结线虫的时候, 发现某些雌虫体内有非常多的孢子。于是对其形态进行了光镜和扫描电镜的观察, 并在厦门进行根结线虫感染此菌情况的调查及孢子接种线虫的试验, 现将结果报告如下。

材 料 与 方 法

(一) 穿刺芽孢杆菌的形态观察

从寄主植物的根部虫瘿剖出根结线虫雌虫, 放在载玻片上, 加一小滴蒸馏水, 逐个挑破, 在显微镜下测量并摄影。

从虫瘿剖出卵块, 在 25 °C 培养箱内, 待孵出幼虫后滴入含穿刺芽孢杆菌的悬浮液 (制法同三), 数日后取出在光镜下检查, 若幼虫已被感染, 则浓集幼虫。样品按常规经戊二醛和锇酸双重固定, 酒精系列脱水, HCP-2 临界点干燥, IB-3 镀金 100Å, S-520 SEM 扫描。

(二) 根结线虫雌虫被穿刺芽孢杆菌感染情况的调查

从每一种寄主的根部剖出根结线虫雌虫, 逐个挑破、压扁, 检查绽出的内脏团中是否有穿刺芽孢杆菌, 同时鉴定虫种, 然后分别计算其感染率。

(三) 穿刺芽孢杆菌人工接种植物线虫的试验

从寄主 [土牛膝 (*Achyranthes aspera*)] 根部剖出 10 只被感染的雌虫 [爪哇根结线虫 (*M. javanica*)], 放在小表面皿中, 加 0.5ml 蒸馏水, 将内脏团挤出后剥去表皮, 加蒸馏水至 10ml 搅匀即制成每毫升约含 2.1×10^6 个孢子的悬浮液。将各种线虫放在小表面皿中, 分别加入此悬浮液, 3-5 天后各吸取每份样品中的线虫镜检有无孢子附着。

本文于 1991 年 12 月 9 日收到。

* 厦门进出口商品检验局。

结 果

(一) 穿刺芽孢杆菌的形态及被感染虫体的症状

穿刺芽孢杆菌的孢子形状像安全帽,其中央有高度折光的内生孢子,系中心致密的球形结构,其外围是孢子的外壁(图版 I-3-5)。根据 30 个孢子(土牛膝的爪哇根结线虫)测量:孢子直径为 3.6—4.1(平均 4.1) μm ,高度为 2.1—2.1(2.1) μm ,内生孢子直径为 1.5—2.1(1.5) μm 。孢子通常以它凹面的边附着到根结线虫幼虫及其他易感线虫体表的任何部位,个别孢子是侧向附着的。附着的孢子多时幼虫显得笨拙,活动力降低(图版 I-1,6),甚至死亡(图版 I-2)。被寄生的雌虫体内充满孢子,若挑破虫体则迸出孢子及崩解的内脏团。孢子附着力很强,留在玻片上干了以后很难被水冲掉;同时孢子比重较大,往往沉于水下且粘在皿底。孢子本身是不运动的。

被寄生的雌虫都不产卵,但虫体仍呈乳白色,且甚肥大,外观与正常的雌虫没有什么区别。根据从虫瘿随机剖出的 32 只雌虫检查结果(接种番茄苗后 40 天),阳性雌虫 13 只(占 40.6%),其中虫体完整的 6 只,经测量:平均体长为 768.1 μm ,体宽为 619.5 μm ,颈长为 193.4 μm ,颈宽为 133.3 μm ;阴性的 19 只雌虫,虫体完整的 12 只,经测量:平均体长为 783.3 μm 体宽为 508.6 μm ,颈长为 197.7 μm ,颈宽 130.7 μm 。虽然前者的体长比后者减少 19.2 μm ,但体宽增加 110.9 μm ,因此整个虫体的体积反而增加了。

(二) 根结线虫雌虫被穿刺芽孢杆菌感染的情况

检查了 11 种寄主的南方根结线虫,其中吊灯花、少花龙葵 (*Solanum nigrum*) 和茄子 (*S. melongera*) 的根结线虫雌虫感染率分别为 16.7%, 7.1% 和 7%; 检查了 4 种寄主的爪哇根结线虫,其中土牛膝的根结线虫雌虫感染率为 4.2%,而在其他寄主的根结线虫中均未查到该菌。还检查了白茅的福建根结线虫 (*M. fujianensis*) 雌虫,也未找到该菌(表 1)。

(三) 穿刺芽孢杆菌人工接种植物线虫的试验

多次试验表明,南方根结线虫(寄主:吊灯花)、爪哇根结线虫(土牛膝)、福建根结线虫(柑桔)、花生根结线虫 (*M. arenaria*)(榕树)和北方根结线虫 (*M. hapla*) (采自青岛,寄主鉴定为菊科艾属)的幼虫以及短体线虫 (*Pratylenchus* spp.)(菊花)会受穿刺芽孢杆菌感染,但仙人掌胞囊线虫的幼虫和肾形肾脏线虫的幼虫不受此菌感染。

讨 论

Mankau 和 Imbriani(1975) 及 Mankau 和 Prasad(1977) 指出:“被感染的雌虫可被识别,它们呈暗乳白色到琥珀色”,“与健康雌虫的亮白色不同”^[2,3]。Mankau(1975) 又指出:“一般比从同一部位剖出的健康雌虫略小一些,而且通常不产卵”^[4]。Dropkin(1980) 则认为:“只产少数卵或不产卵”^[5]。但据上述观察结果,被感染的雌虫仍呈乳白色,而且非常肥大,外观与健康的雌虫没有什么区别,甚至反而更肥。这是由于穿刺芽孢杆菌破坏了雌虫生殖腺,因此,不妨称之为“细菌性阉割”。被感染的雌虫绝对不产卵,而不是“通常不产卵”,更不是“只产少数卵或不产卵”。

1989—1990 年作者共检查 16 种植物的 1529 只根结线虫雌虫,其中 75 只雌虫受该菌感染,感染率为 4.9%。如果把所查 5 种农作物单列计算,感染率仅 1.8%。由此看来,穿刺芽孢杆菌在自然界中的数量是不多的。欲利用此菌进行生物防治单靠其自然繁殖不可能奏效,而必须首先解决孢子的生产(大量增殖)问题。

表 1 厦门地区根结线虫雌虫受穿刺芽孢杆菌感染的情况

虫种	寄主植物	检查的植株数	感染的植株数	检查的雌虫数	感染的雌虫数	雌虫的感染率 (%)
南方根结线虫	吊灯花	7	7	269	45	16.7
	少花龙葵	4	1	168	12	7.1
	茄子	1	1	100	7	7.0
	蕹菜	3	0	122	0	0
	南瓜	1	0	30	0	0
	冬瓜	3	0	100	0	0
	葡萄	1	0	38	0	0
	仙人球	1	0	70	0	0
	车前草	2	0	63	0	0
	马兰*	1	0	59	0	0
爪哇根结线虫	马鞭草*	1	0	50	0	0
	土牛膝	7	3	260	11	4.2
	嫩茄	1	0	20	0	0
	一点红	1	0	4	0	0
福建根结线虫	白雪花	3	0	99	0	0
	白茅*	1	0	77	0	0
合计		38	12	1529	75	4.9

注: 除作*号者采自南靖县外均采自厦门。此外, 在香蕉、薯达菜和柑桔的根结线虫雌虫中都碰见过该菌。

参 考 文 献

- [1] Mankau, R.: *J. Protozool.*, 22(1): 31—34, 1975.
- [2] Mankau, R. et al.: *J. Nematol.*, 9(1): 40—45, 1977.
- [3] Mankau, R. et al.: *Nematologica*, 21: 89—94, 1975.
- [4] Mankau, R.: *J. Invert. Pathol.*, 26(3):333—339, 1975.
- [5] Dropkin, V. H.: 植物线虫学导论 (潘沧桑等译), 第 196—198 页, 厦门大学出版社, 厦门, 1992 年。

STUDY ON THE PATHOGENIC BACTERIA PARASITIZING ROOT-KNOT NEMATODES DISCOVERED IN CHINA AND THEIR APPLICATION TO BIOLOGICAL CONTROL

Pan Cangsang Lin Jing Ni Zimian Wang Shengyuan

(Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005)

The paper reports an obligate parasite of some plant-parasitic nematodes — *Bacillus penetrans*, which was found to be new to China. The optical microphotographes and scanning electronic microphotographes of the spores of this kind of bacteria were taken, and the symptom of the infected larvae and females of rootknot nematodes were also described. The infection rates of *B. penetrans* in a number of plants in Xiamen were investigated and the tests of inoculation of the spores were conducted. The results indicate that *Pratylenchus* sp. and the larvae of *N. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* and *M. fujianensis* are easily infected with spores of *B. penetrans*, and the latter has been found to be new record of the host-nematode of this kind of bacteria, while the larvae of *Heterodera cacti* and *Rotylenchulus reniformis* are not be infected. The infected larvae decrease their activity and even will die. The bodies of the infected females are full of spores and can not produce egg. Therefore, it is hopeful that *B. penetrans* will get plant nematodes under control.

Among 3 species of root-knot nematodes parasitizing 16 species of host plants investigated, only the females of both *M. incognita* parasitizing *Hibiscus schizopetalus*, *Solanum nigrum*, and *S. melongena* and *M. javanica* parasitizing *Achyranthes aspera* have the spores of this kind of bacteria. There are only few *B. penetrans* in the nature according as they have been searched out only in 4.9% of 1529 females of all plants investigated (1.8% of 390 females of crops). Therefore, the authors think that the biological control of root-knot nematodes will become practical only after finding a way out of a difficulty of the mass production of the spores of this superparasite.

Key words *Bacillus penetrans*; *Meloidogyne*; Biological control

图 版 说 明

穿刺芽孢杆菌 (*Bacillus penetrans*): 1. 菊花的短体线虫被感染 ($\times 260$); 2. 吊灯花的南方根结线虫幼虫被感染 ($\times 230$); 3. 从土牛膝的爪哇根结线虫雌体内流散出的孢子 ($\times 2200$); 4-6. 附着在南方根结线虫幼虫体表的孢子 (SEM): 4, 5. 上方的一个孢子分别为底面观和侧面观, 其余为顶面观 ($\times 12000$); 6. 被严重感染的幼虫体前部 ($\times 2400$)。