

杨思华, 赵立荣, 唐世侨, 等. 以番茄为寄主的香蕉穿孔线虫不同群体的致病性差异[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(6): 118-127.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.06.013

以番茄为寄主的香蕉穿孔线虫不同群体的致病性差异

杨思华¹, 赵立荣², 唐世侨¹, 杨帅¹, 谢辉¹, 徐春玲¹

1. 植物检疫线虫检测与防疫研究中心/华南农业大学植物保护学院, 广州 510642;

2. 广州海关技术中心, 广州 510623

摘要 为了建立一种简单易操作的室内香蕉穿孔线虫侵染寄主的致病性测定体系, 本研究在(25±1)℃下, 通过室内试管石英砂培养的方法, 以金丰1号番茄为寄主, 以不同接种量和接种处理时间接种不同种群, 检测线虫繁殖率、根系病害严重度和植株生长量, 以分析不同种群的致病力差异。结果显示: 以50、100、150和200条/株分别接种4个不同种群雌虫(HN6、SZ-FZ、GJ-LY323和DBSR)至30 d苗龄植株上, 在接种9、16、23和30 d后进行观察分析, 发现香蕉穿孔线虫主要侵染番茄根系的皮层细胞并在根系内发育繁殖; 不同接种量和接种时间对番茄的致病存在差异, 线虫繁殖率、根系病害严重度随接种量和时间的增加而增加, 而植株生长量则减少; 在以150条/株接种23 d后, 各项指标差异最显著, 能区分不同种群间的致病性; 对香蕉穿孔线虫8个种群以150条/株接种30 d苗龄植株23 d后, 发现其致病力从大到小依次为SZ-SWK>HaiN-YJ>HL-XY>SZ-FZ>GJ-LY323>DBSR>HN6>ML-HG。以上结果表明番茄是香蕉穿孔线虫的良好寄主, 在室内以150条/株接种量接种30 d苗龄的番茄, 在接种23 d后分析线虫繁殖率、根系病害严重度和植株生长量3项指标可以评估不同种群的致病力差异。

关键词 香蕉穿孔线虫; 番茄; 寄生性; 致病性; 病害防控

中图分类号 S436.412.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)06-0118-10

香蕉穿孔线虫(*Radopholus similis*(Cobb, 1893) Thorne, 1949)是全球十大植物病原线虫之一^[1], 是一种毁灭性的迁移性内寄生植物线虫, 其寄主多达350多种, 包括香蕉、柑橘、番茄等多种经济作物^[2]和天南星科、棕榈科^[3]及竹芋科^[4]等观赏花卉植物, 被90多个国家、地区或组织列为检疫性植物有害生物^[5]。该线虫主要通过口针刺入寄主细胞中取食, 造成植物细胞结构的破坏, 使受侵染的根组织产生空腔, 随着病害的加重, 根组织变黑腐烂^[6]。其在寄主植物根的韧皮部和皮层取食、发育和繁殖后代, 但不进入根的中柱, 在病根横切面的韧皮部和形成层中可见空腔^[7]。此外, 其他病原物也能随香蕉穿孔线虫侵染造成的伤口而侵入, 使根系病害加重^[8]。

番茄(*Lycopersicon esculentum*)具有生命周期短、容易被高效转化、易于自交留种、相对较小的基

因组等这些生物学性状, 使其成为功能基因组研究的理想模式植物之一^[9]。目前, 番茄作为模式植物应用于植物线虫和寄主互作或植物线虫和其他病原微生物互作的研究主要集中在根结线虫(*Meloidogyne* spp.), 如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)与爪哇根结线虫(*M. javanica*)的互作^[10]、木霉菌(*Trichoderma*)与南方根结线虫(*M. incognita*)的互作^[11]、南方根结线虫效应子*MjTTL5*的研究^[12]及番茄对根结线虫的自身抗病基因的相关研究^[13]等, 在香蕉穿孔线虫中尚无相关报道。Kaplan等^[14]证实番茄为香蕉穿孔线虫的寄主植物, 但目前尚未发现以番茄为寄主的香蕉穿孔线虫不同种群致病性强弱评估的报道以及相关的组织病理学研究。本研究在实验室沙培试管条件下对不同香蕉穿孔种群进行接种测试, 以期建立一种室内简单易操作的香蕉穿孔线虫侵染寄

收稿日期: 2022-04-11

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目(2021A1515011273); 国家自然科学基金面上项目(31071665)

杨思华, E-mail: 724743763@qq.com

通信作者: 徐春玲, E-mail: xuchunling@scau.edu.cn

主的致病性测定体系,为进一步利用番茄作为模式寄主研究香蕉穿孔线虫的致病机制和防治方法提供重要科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本研究用于致病性测定的8个供试香蕉穿孔线虫种群及其来源见表1,所有种群由华南农业大学植物线虫研究室采集、分离和鉴定,在(25±1)℃黑暗培养箱的胡萝卜愈伤组织中培养和保存^[15]。对HN6、SZ-FZ、GJ-LY323和DBSR种群进行不同接种虫量处理并在接种后的4个时间段进行调查,筛选最佳接种模式。对HN6、SZ-FZ、GJ-LY323、DBSR、SZ-SWK、HL-XY、ML-HG和HaiN-YJ种群进行番茄致病性差异测定。

供试的番茄品种为金丰1号番茄,番茄种子购于广州长合种子有限公司。种植番茄的介质为石英砂(直径1~1.5 mm),购于先科联园林花卉有限公司。

表1 供试香蕉穿孔线虫的种群信息

Table 1 Population information of *Radopholus similis*

序号 No.	种群编号 Population coding	寄主 Hosts
1	HN6	巴西蕉 <i>Musa</i> AAA Giant Cavendish cv. 'Baxi'
2	SZ-FZ	粉掌 <i>Anthurium andraeanum</i>
3	SZ-SWK	散尾葵 <i>Chrysalidocarpus lutescens</i>
4	GJ-LY323	柑橘(芦柑) <i>Citrus reticulata</i>
5	DBSR	大巴水溶 <i>Anubias nana</i>
6	HL-XY	天鹄绒竹芋 <i>Maranta arundinacea</i>
7	ML-HG	红果 <i>Crataegus pinnatifida</i>
8	HaiN-YJ	姜黄(郁金) <i>Curcuma longa</i>

1.2 供试番茄的种植

在玻璃培养试管(直径2.5 cm,高15 cm)中装入约1/3高度的干燥石英砂,在125℃20 p.s.i.(约137.8 kPa)高温高压下灭菌2次,每次灭菌1 h,2次灭菌间隔8 h。番茄种子放到无菌水中浸泡1 d(促进发芽)后,用无菌水洗涤3次,75%的乙醇处理1 min、12.5% NaClO消毒30 min,再用无菌水洗涤7次,每次2 min,将番茄种子放在铺有湿润滤纸的9 cm直径培养皿上,在(25±1)℃条件萌发7 d后,挑选长势相

同的幼苗移栽到装砂的玻璃培养试管中,在(25±1)℃、光照强度为1 200 lx、16 h光照和8 h黑暗交替的光照培养箱中培养,期间以每2 d浇水1次,湿度维持在约3%(w/w),培养23 d(4叶龄)后接种线虫。

1.3 线虫的接种

挑取香蕉穿孔线虫雌虫至一离心管中,制备线虫接种悬浮液,用无菌水洗3次,参考丁莎等^[15]的线虫消毒方法。将线虫悬浮液用滴管接入到供试番茄苗根部深1 cm处,然后将试管放置于(25±1)℃(16 h光照,8 h黑暗)及光照强度为1 200 lx的光照培养箱中培养。

1.4 供试线虫对番茄的致病性测定

将香蕉穿孔线虫雌虫(SZ-FZ、GJ-LY323、DBSR和HN6)以200条/株的数量接种到植株根部,分别于接种后9、16、23和30 d对接种的根系进行观察和拍照,选取有病害症状的根组织进行染色并观察根内线虫,初步确定供试香蕉穿孔线虫侵染番茄根系后,再选取相同处理的根组织,制作石蜡切片,观察根系的组织病理学变化。植物根系染色方法参考冯志新^[16]的染色方法进行,常规石蜡切片。使用尼康Eclipse 90i显微镜对玻片进行镜检和拍照。

1.5 供试线虫接种量和接种时间对番茄发病的影响

将香蕉穿孔线虫雌线虫(SZ-FZ、GJ-LY323、DBSR和HN6)分别以50、100、150和200条/株的接种量,接种于番茄植株根部,于侵染9、16、23和30 d后,观察和拍照记录植株表现的症状,测量植株高度、根系鲜质量,分离统计线虫数量并调查统计病害严重程度。病害严重程度分级参照文献^[17]中的标准进行改进,根据根部的病斑面积或病根数量占整个根系的比例将病害严重程度分为6个等级:0级,根部没有病害症状;1级,根部有零星病斑,病根数量小于整个根系的5%;2级,根部病斑较多,病根数量大于整个根系5%且小于25%;3级,根部开始坏死腐烂,病根数量大于整个根系25%且小于50%;4级,根部腐烂加重,病根数量大于整个根系50%且小于75%;5级,根部腐烂严重,病根数量大于整个根系75%。每个处理设10次重复,以接种清水植株为空白对照。根据此试验结果初步确定测定香蕉穿孔线虫种群致病性差异的最佳接种模式。

1.6 香蕉穿孔线虫致病性测定方法的适用性检测

选取寄主来源不同的香蕉穿孔线虫 HN6、SZ-FZ、GJ-LY323、DBSR、SZ-SWK、HL-XY、ML-HG 和 HaiN-YJ 8 个种群,以 150 条/株的接种量接种于番茄植株根部,23 d 后统计植株高、根系鲜质量、植株根系病害严重度、根际线虫数量和根内线虫数量,结合各参数分析不同种群的致病性差异,检测所采用接种方法和条件的适用性。

1.7 供试线虫的分离和计数

线虫的分离方法参照改良的贝曼漏斗分离法和 Kaplan^[14]的方法进行改进,具体如下:试管中加入自来水使砂子悬浮,将根系和砂子轻轻地从管中取出并分离。砂子悬浮液置于贝曼漏斗上进行线虫分离,在体视镜下统计线虫数量并标记为 N_1 ;将分离出来的根系切成 1 cm 长的小段然后放置于 10 mL 带盖试管中,将试管直立置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱中黑暗培养 7 d,以孵化根部的虫卵。取出根系并用搅拌机捣碎,加入适量无菌蒸馏水,在涡旋振荡机上振荡,使线虫从根系中分离出来,然后进一步用孔径为 0.15 mm 和 0.03 mm 的套筛淘洗,冲洗收集 0.03 mm 孔径筛上的线虫,在体视镜下统计线虫数量并标记为 N_2 。每株根际总虫量为 $N_1 + N_2$ 。

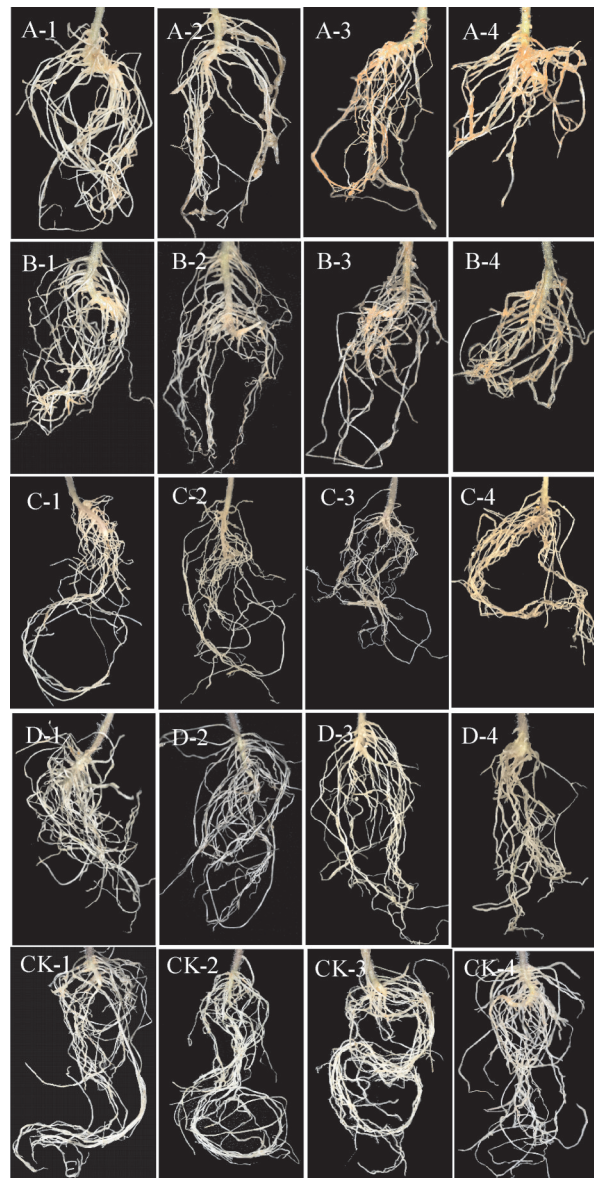
1.8 数据处理

试验数据的统计、绘图采用 SPSS 14.0 和 Excel 2013 软件进行,结果以“平均值±标准误”表示,采用 One-Way ANOVA 进行方差分析,采用邓肯氏新复极差法(Duncan's multiple ranager test, DMRT)进行多重比较,显著性水平设为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 香蕉穿孔线虫侵染番茄引起的症状和根系组织病理学

香蕉穿孔线虫 4 个不同寄主来源的种群(SZ-FZ、GJ-LY323、DBSR 和 HN6)接种番茄植株后,番茄根系均表现出明显的症状,但发病程度有差异(图 1)。接种后 9 d 的番茄根系开始出现病斑,根系病斑和坏死根数随接种时间的增加而逐渐增多,到接种后 30 d 时,整个根系已明显变褐坏死和腐烂。因此,4 个供试香蕉穿孔线虫种群均能侵染番茄根系,并引起植物根系数量减少和形成褐色病斑为主的受害症状,同时随着接种时间的增加,已发病根系症状逐渐



A-D: 寄主来源分别为粉掌(SZ-FZ)、柑橘(芦柑)(GJ-LY323)、大巴水溶(DBSR)和巴西蕉(HN6)的香蕉穿孔线虫种群以 200 条/株接种的番茄根系;1-4:分别为接种 9、16、23 和 30 d 后的番茄根系;CK 为健康对照组。A-D: Different populations of *R. similis*: A. SZ-FZ from *Anthurium andraeanum*, B. GJ-LY323 from *Citrus reticulata*, C. DBSR from *Anubias nana*, D. HN6 from *Musa* AAA Giant Cavendish cv. 'Baxi'; 1-4: The tomato root system of 9 d, 16 d, 23 d, 30 d post infection with 200 nematodes per plant; CK: Control tomato root system without inoculating nematodes.

图 1 香蕉穿孔线虫对番茄根系的危害症状

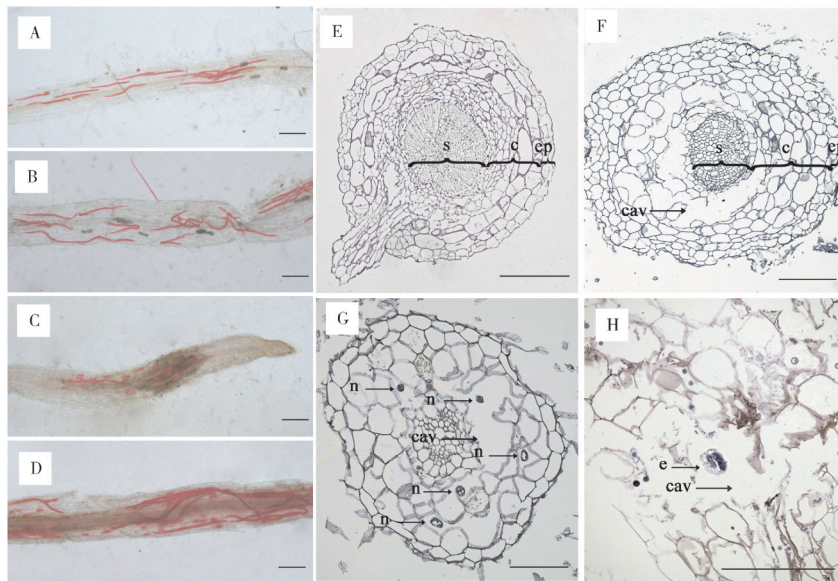
Fig.1 Symptoms of *Lycopersicon esculentum* roots infected by *Radopholus similis*

加重直至坏死腐烂。

香蕉穿孔线虫侵染发病的根系经品红染色制片(图 2A-D)显示,在接种后 9 d,就有大量线虫侵入根系皮层(图 2A),在接种后 23 d,根系内观察到线虫的

虫卵(图2C)。接种后30 d的处理根系石蜡切片结果(图2E-G)显示,被线虫侵染的根系皮层细胞明显被破坏分解并产生空腔,其中有线虫存在;中柱细胞没有明显崩溃分解,其中也没有线虫,但与健康对照根系中柱相比,线虫侵染的根系中柱细胞膨大松散,外围细胞被明显破坏。因此香蕉穿孔线虫侵染番茄根系,主要在根系皮层寄生,并产卵繁殖,导致皮层细胞几乎完全分解、组织腐烂,线虫不侵入中柱,但中柱细胞也受到一定程度的破坏。

病根数量小于整个根系的5%;在接种16 d后,各种群和接种量处理的根系均能观察到病害症状,GJ-LY323种群在150、200条/株接种量处理的病害严重度最大并显著大于其余种群,病害症状明显。在接种23 d后,各种群和接种量处理的根系均能观察到明显病害症状,在150条/株接种量处理中,除了DB-SR与HN6种群处理间的病害严重度无显著差异外,其余种群间病害严重度均存在显著差异,在200条/株接种量处理中,SZ-FZ、GJ-LY323和DBSR种群处



A~D:分别为接种9、16、23和30 d番茄根系品红染色结果;E:未接种线虫的健康根组织;F~H:线虫侵染后根组织。c:根系皮层细胞;ep:根系表皮细胞;s:根系中柱;cav:线虫感染引起的空腔;n:线虫的横截面;e:线虫虫卵的横截面;比例尺=200 μm。A-D:Staining of *Lycopersicon esculentum* roots after 9 d, 16 d, 23 d and 30 d of nematode infection, respectively; E: Paraffin section of healthy root tissue without inoculation nematode; F-H: Paraffin section of root tissue after nematode infection; c: The root cortex; ep: The root epidermis; s: The root stele; cav: Cavity caused by nematode infection; n: Nematode cross-section; e: Cross section of nematode eggs; scale bars = 200 μm.

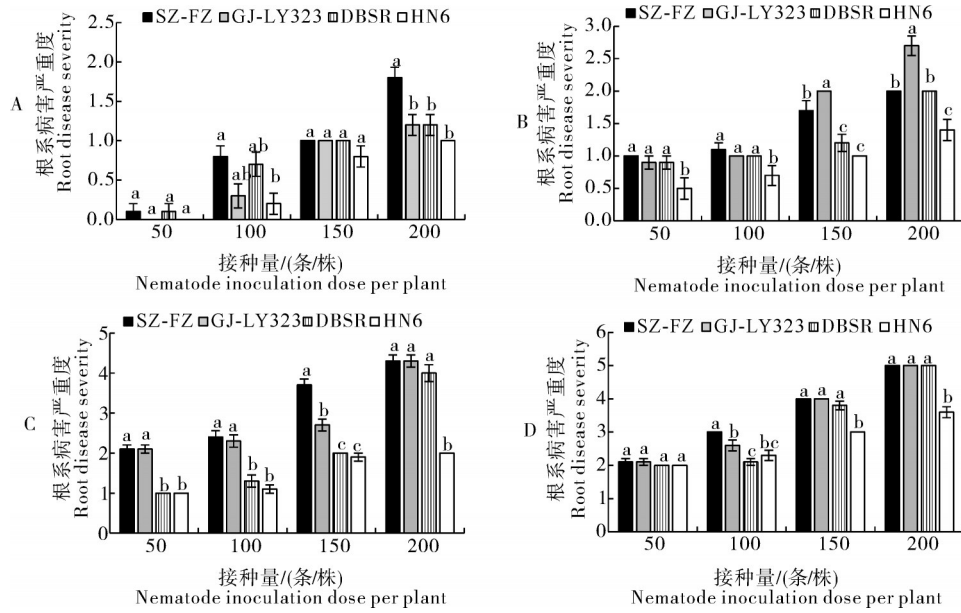
图2 感染香蕉穿孔线虫(SZ-FZ)的番茄根系的品红染色和石蜡切片(横切面)

Fig.2 Fuchsin staining and paraffin section of *Lycopersicon esculentum* roots (cross section) infected by *Radopholus similis* (SZ-FZ)

2.2 接种虫量和时间对根系症状和线虫繁殖率的影响

在(25±1)℃条件下,将SZ-FZ、GJ-LY323、DB-SR和HN6种群分别以50、100、150和200条/株的接种量接种于番茄植株根际,于接种9、16、23和30 d后观察其根系病害症状。接种处理后的番茄根系病害严重度随接种时间和接种量的增加而增加(图3),在接种9 d后,除以50条/株接种量接种的GJ-LY323和HN6种群处理无病害症状、病害严重度为0外,其余接种量和种群处理均能观察到轻微病害症状,病害严重度均小于2,即根部有零星病斑,大部分处理

理的根系病根数量占整个根系的50%以上,病害严重度显著大于HN6种群;在接种30 d后,除了100条/株接种量处理外,其余接种量处理中均有3个或以上种群的病害严重度无显著差异,200条/株接种量处理中SZ-FZ、GJ-LY323和DBSR种群处理的根系病害严重,病害严重度达到5级根系,病根数量大于整个根系的75%。因此,在(25±1)℃条件下,结合番茄的病害症状和病害严重度,评估香蕉穿孔线虫对番茄致病的严重程度较优的接种条件为150条/株23 d后调查。



A-D: 分别为侵染 9、16、23 和 30 d 后的结果。SZ-FZ、GJ-LY 323、DBSR 和 HN6: 来源寄主分别为粉掌、柑橘(芦柑)、大巴水溶和巴西蕉的香蕉穿孔线虫种群; 图中数据为 10 次重复的平均值±标准误; 图中同一接种量处理内不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。A-D: Results of 9 d, 16 d, 23 d, and 30 d after nematode infection, respectively; SZ-FZ, GJ-LY323, DBSR and AHN6: *R. similis* populations originated from *Anthurium andraeanum*, *Citrus reticulata*, *Anubias nana* and *Musa* AAA Giant Cavendish cv. 'Baxi', respectively; disease severity: a numerical representation of the severity of plant root damage, which classified into 0-5 six levels from low to high according to the lesion area on the roots; the data in the figure was the mean ± standard error of 10 repetitions; the different lowercase letters in the same inoculation dose treatments showed significant difference at the level of 0.05 (DMRT). The same as below.

图3 香蕉穿孔线虫侵染番茄后番茄根系病害严重度

Fig.3 The disease severity of *Lycopersicon esculentum* roots infected by *Radopholus similis*

线虫的繁殖量随接种时间的增加而增加,然而不同接种量条件下,线虫的繁殖量存在差异(图4)。在接种后 9、16 d 时,各接种量处理的繁殖率均小于 1。在接种后 23 d 时,以 100、150 和 200 条/株接种量的处理中各种群间的繁殖率存在显著差异 ($P < 0.05$)。在接种后 30 d 时,各种群和各接种量处理的线虫繁殖率均大于 1,但 SZ-FZ、GJ-LY323 和 DBSR 种群处理的 100、150 和 200 条/株处理的繁殖量增长不明显。因此,在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下,测定香蕉穿孔线虫以番茄为寄主时其繁殖量变化的较优的接种条件是 150、200 条/株于接种后 23 d 调查或 50、100 条/株接种后 30 d 调查。

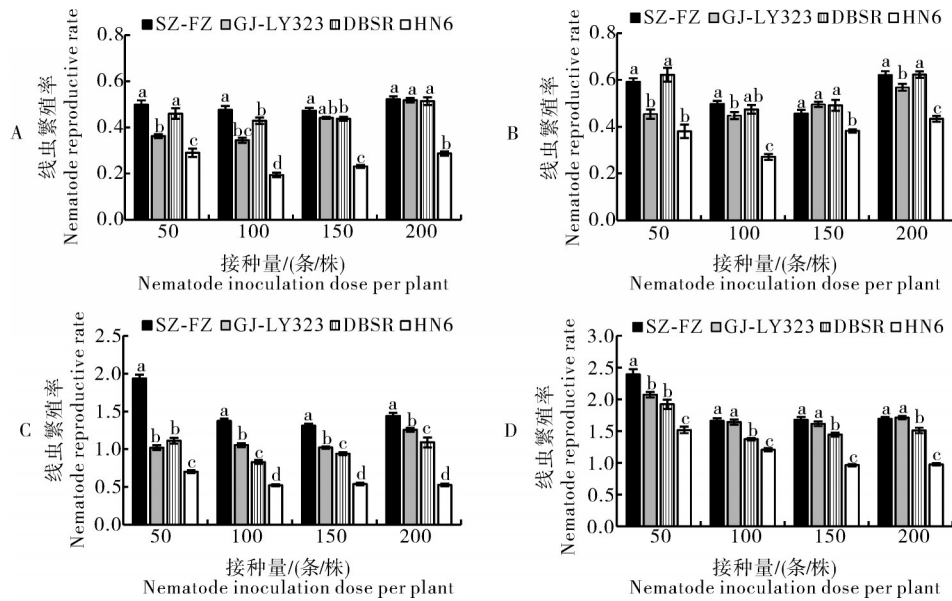
2.3 接种虫量和时间对番茄生长量的影响

植株株高测量统计结果显示,与对照组相比,接种 9 d 后,株高具有显著性差异 ($P < 0.05$) (图 5)。在同一接种量处理中,株高随接种时间的增加而增加,但增长速率逐渐减少。在同一接种时间后,株高随

着接种量的增加而减小,但每个接种量处理中,均有 3 个或以上的种群处理株高差异不显著。因此,株高因素能反映香蕉穿孔线虫对番茄具有一定的致病性,但不适合用于区分和评估香蕉穿孔线虫不同种群对番茄的致病力差异。

植株根系鲜质量测量统计结果显示,与对照组相比,接种 9 d 后,番茄根系鲜质量显著减少 ($P < 0.05$) (图 6)。在所有接种条件处理中,50 条/株接种 16 d 以及 150 条/株接种 16、23 和 30 d 这 4 个接种条件下,所有种群接种后的根系鲜质量差异均显著 ($P < 0.05$)。因此,依据根系鲜质量的受影响情况,在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下,测定香蕉穿孔线虫的侵染对番茄根系鲜质量的影响较合适的接种条件为接种 50 条/株 16 d 后调查或接种 150 条/株 16、23 d 或 30 d 后调查。

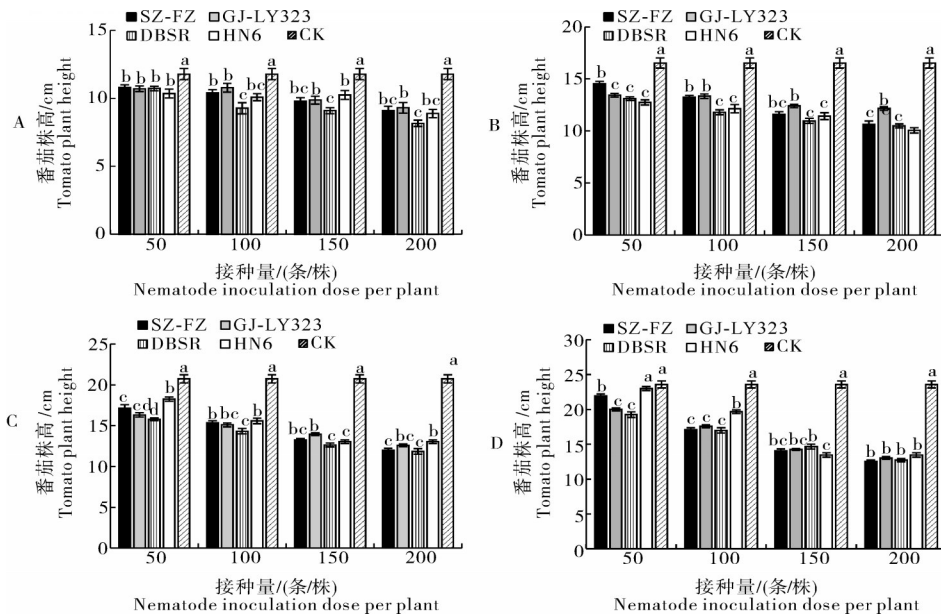
综合上述“2.2”、“2.3”结果,根据根系发病症状严重度、线虫繁殖率和寄主生长量 3 个因素,分析不同种群、接种量和接种时间对香蕉穿孔线虫侵染番茄的影响,可以得出在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下,最



A-D: 分别为侵染9、16、23和30 d后番茄中线虫的繁殖率。A-D: Nematode reproductive rate of *R. similis* at 9 d, 16 d, 23 d, and 30 d after inoculated *L. esculentum*, respectively.

图4 香蕉穿孔线虫接种番茄后线虫繁殖率

Fig.4 The nematode reproductive rate of *Radopholus similis* after inoculated *Lycopersicon esculentum*



A-D: 分别为侵染9、16、23和30 d后番茄株高。A-D: Plant height of *L. esculentum* after 9 d, 16 d, 23 d, and 30 d of nematode infection, respectively.

图5 香蕉穿孔线虫接种番茄后植株株高

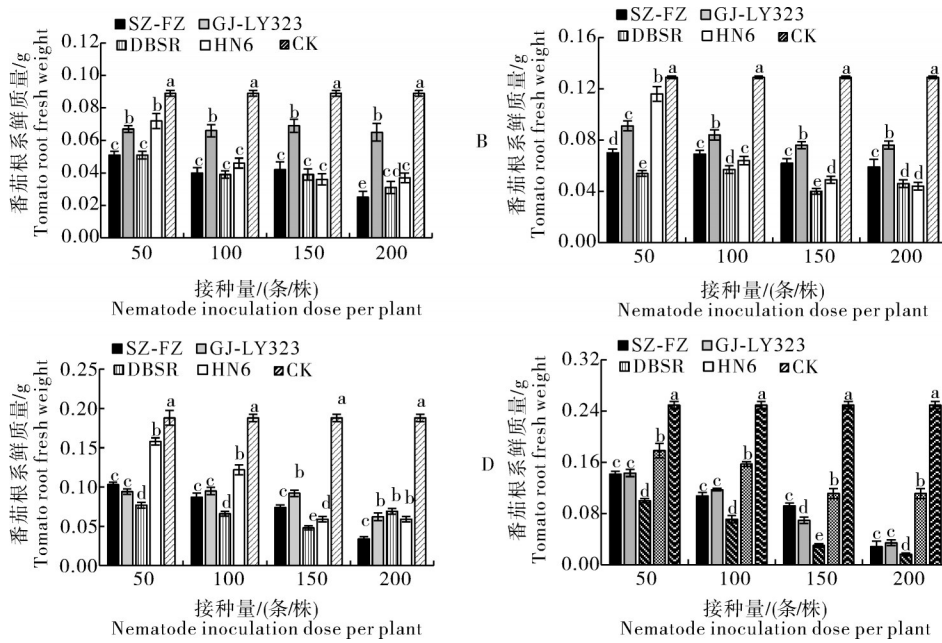
Fig.5 Plant height of *Lycopersicon esculentum* after infected by *Radopholus similis*

佳接种量为150条/株,最佳调查时间为接种后23 d。

2.4 香蕉穿孔线虫不同种群致病性测定结果

(25±1) °C条件下,以150条/株的接种量接种番茄23 d后观察结果,测定比较8个不同寄主来源

的香蕉穿孔线虫种群对番茄致病性(表2),结果显示,8个种群在根内线虫数量上差异最大,除HaiN-YJ和HL-XY种群、GJ-LY323和SZ-FZ种群、ML-HG和HN6种群差异不显著外,其余各种群处理间均显著差异(P<0.05)。HaiN-YJ种群在根际沙子



A-D: 分别为侵染9、16、23和30 d后番茄根质量。A-D: Root fresh weight of *L. esculentum* after 9 d, 16 d, 23 d, and 30 d of nematode infection.

图6 香蕉穿孔线虫接种番茄后植株根质量

Fig.6 Root fresh weight of *Lycopersicon esculentum* infected by *Radopholus similis*

表2 香蕉穿孔线虫不同寄主来源种群对番茄的致病性

Table 2 Pathogenicity of *Radopholus similis* populations to *Lycopersicon esculentum*

线虫种群 ¹⁾ Nematode populations	植物株高/cm Plant height	根系鲜质量/g Root fresh weight	根际线虫数量 Nematodes in rhizosphere sand	根内线虫数量 Nematodes in root	病害严重度 ²⁾ Disease severity
CK	18.98±0.533a	0.36±0.015a	0±0f	0±0f	0±0e
HaiN-YJ	14.60±0.312de	0.18±0.012ef	56.60±3.290b	140.20±3.912b	3.90±0.100a
ML-HG	16.45±0.466bc	0.32±0.014b	31.50±2.504e	48.90±2.121e	2.10±0.100d
GJ-LY323	15.24±0.022cd	0.26±0.017cd	39.00±2.129cd	103.00±5.779c	3.10±0.100b
SZ-SWK	13.84±0.299e	0.16±0.013f	88.60±3.170a	174.10±11.845a	4.10±0.233a
HL-XY	14.82±0.633de	0.19±0.014e	44.00±3.350c	138.90±4.357b	3.80±0.133a
HN6	16.53±0.339b	0.27±0.015c	31.90±2.163de	62.00±3.033e	2.20±0.133d
SZ-FZ	15.09±0.498de	0.24±0.013d	44.70±2.329c	117.50±9.404c	3.30±0.153b
DBSR'	15.44±0.362bcd	0.26±0.014cd	38.20±0.814cde	83.40±4.868d	2.60±0.163c

注:1) CK:不接种线虫的对照组;香蕉穿孔线虫种群寄主来源依次为姜黄(郁金)、红果、柑橘(芦柑)、散尾葵、天鹅绒竹芋、巴西蕉、粉掌和大巴水溶;2) 病害严重程度:植物根系损伤严重程度的数值表示,根据 Zhang 等^[17]的方法分为0~5级,由低到高;表中的数据是10次重复的平均±标准误差;表中同一列相同小写字母表示在0.05水平上无显著差异(DMRT)。Note:1) CK: Control group without inoculation nematode; the coded *Radopholus similis* populations were originated orderly from *Curcuma longa*, *Crataegus pinnatifida*, *Citrus reticulata*, *Chrysalidocarpus lutescens*, *Maranta arundinacea*, *Musa*, *Anthurium andraeanum*, and *Anubias nana*. 2) Disease severity: A numerical representation of the severity of plant root damage, which classified into 0-5 six levels from low to high according to the method of Zhang et al^[17]; data in the table was the mean ± standard error of 10 repetitions; the same lowercase letters in the same column in the table show no significant difference at the level of 0.05 (DMRT).

中的线虫数量显著高于HL-XY种群($P < 0.05$),因此认为HaiN-YJ种群致病性强于HL-XY。HN6种群在根系鲜质量参数上显著低于ML-HG种群($P < 0.05$),因此认为HN6种群致病性强于ML-HG种群。根据前期根系病害症状结果分析,认为SZ-FZ种群的致病性稍强于GJ-LY323种群。结合植株生长量参数、根际和根内线虫数量以及植株病害程度结果分析,8个种群致病性由高到低为:SZ-SWK>HaiN-YJ>HL-XY>SZ-FZ>GJ-LY323>DBSR>HN6>ML-HG。

3 讨论

Blake^[7]早期研究香蕉穿孔线虫侵染香蕉根系时发现,该线虫取食时可刺激取食部位邻近细胞变大,线虫直接取食细胞质,导致细胞壁破裂,形成空腔。O'Bannon^[18]推测香蕉穿孔线虫侵入根系在表皮层内迁移取食,导致根系表皮层产生淡红棕色的病斑,随着线虫取食和邻近细胞壁的破裂,皮层形成的病斑和空腔会向内皮层扩展,从而阻止线虫向中柱侵入。本研究发现该香蕉穿孔线虫侵染番茄金丰1号时,主要侵染番茄根系皮层,使细胞产生空腔,虽不侵入中柱,但会使中柱细胞受到一定程度的破坏,进一步确定香蕉穿孔线虫侵染致病主要在根系皮层。目前虽未有香蕉穿孔线虫危害番茄生产的报道,但番茄已被证实为香蕉穿孔线虫的寄主^[19],而Kaplan^[14]在香蕉穿孔线虫对柑橘的致病性研究中曾选择番茄作为对照植物,接种200条香蕉穿孔线虫侵染番茄30d后,虽然线虫数量增多,但比在柑橘上的线虫数量少很多。Sarah等^[19]分别对来自非洲、亚洲、中美洲和加勒比海的6个香蕉穿孔线虫种群进行致病性研究,证实了香蕉穿孔线虫致病性与线虫的繁殖率和植物病害程度有关。香蕉穿孔线虫在25~32℃时的生活史是20~25d^[20]。本研究中繁殖率在接种线虫23和30d后大于1,说明香蕉穿孔线虫不仅可以侵染番茄并且可以繁殖,推测随着接种后处理时间的延长,症状会越来越明显,线虫后代会越来越多。

植物线虫对寄主的致病性测定或植物对线虫的抗病性测定主要受接种虫量、接种时间和接种环境条件的影响,处理不当,会对评估结果带来困难。Opoku-Asiama等^[21]研究番茄品种对根结线虫不同接种量的影响,证实了接种量过高会造成抗病性弱

的植物在试验结束前已死亡,不利于研究线虫致病性,随着线虫接种后处理时间的延长,接种处理的株高与健康对照株高的差异越大。根质量常被认为是研究线虫致病性差异的最佳指标^[22],Hahn等^[23]在对10个不同寄主来源的香蕉穿孔线虫种群在不同品质的香蕉上的繁殖率和致病性的研究中认为根质量是反映不同种群致病性的最有用指标。本研究通过将4个不同寄主和地理来源的种群接种番茄后,分析不同接种量和接种时间对番茄生长量的影响,包括株高和根质量两个方面,发现在不同种群处理中,均有3个种群株高差异不显著。因此,我们认为株高因素能反映香蕉穿孔线虫对番茄具有致病性,但不适合作为分析种群致病性差异的指标。本研究结合根系病害症状和线虫繁殖率因素,认为香蕉穿孔线虫侵染番茄最佳的接种条件为150条/株接种量,于接种23d后观察。

目前,普遍认为香蕉穿孔线虫不同寄主和地理来源种群的致病力差异,有可能是由于线虫为适应不同的环境而长期不断进化的结果^[24]。同一香蕉穿孔线虫不同寄主或地理来源种群在同一寄主植物上的致病力有差异^[25]。Pinochet^[26]报道,来自巴拿马和哥斯达黎加的香蕉穿孔线虫种群的致病力明显高于来自洪都拉斯的种群。Sarah等^[19]报道来自斯里兰卡和马提尼克岛的香蕉穿孔线虫种群对香蕉的致病力明显强于自瓜德罗普岛、哥斯达黎加、肯尼亚、象牙海岸的种群。秦丹等^[27]对传入中国的6个香蕉穿孔线虫观赏植物种群进行了寄主研究,发现来源于竹芋和红果的2个种群与来自孔雀竹芋、天鹅绒竹芋和红掌的种群相比,对巴西蕉具有更强的致病力。

本研究在实验室沙培试管条件下对不同香蕉穿孔种群进行接种测试,明确了该线虫在实验室条件下对番茄的致病性,建立了在实验室条件下香蕉穿孔线虫侵染番茄的致病性接种体系,这可为进一步利用番茄作为模式寄主研究香蕉穿孔线虫的致病机理和防治方法提供重要科学依据,但在大田条件下香蕉穿孔线虫对番茄的致病性有待进一步研究。

参考文献 References

- [1] JONES J T, HAEGEMAN A, DANCHIN E G J, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology[J]. *Molecular plant pathology*, 2013, 14(9):946-961.

- [2] PARVATHA R P, KHANĀ R M, AGARWALĀ P K. Screening of banana germplasm against the burrowing nematode, *Radopholus similis* [J]. Indian journal of horticulture, 1989, 46(2): 276-278.
- [3] KOSHY P, SOSAMMA V K. Studies on the population fluctuations of *Radopholus similis* in coconut and arecanut roots [J]. Indian phytopathology, 1978, 31: 180-185.
- [4] 谢辉. 香蕉穿孔线虫及其检测和防疫控制 [J]. 植物检疫, 2006, 20(5): 321-324. XIE H. Banana piercing nematode and its detection and epidemic prevention control [J]. Plant quarantine, 2006, 20(5): 321-324 (in Chinese).
- [5] LIN B R, SHEN H F. Burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) [M/OL]//WAN F H, JIANG M X, ZHAN A B. Biological invasions and its management in China. Singapore: Springer Singapore, 2017: 23-31 [2022-04-11]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-3427-5_2. DOI: 10.1007/978-981-10-3427-5_2.
- [6] MARIN D H, SUTTON T B, BARKER K R. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis* [J]. Plant disease, 1998, 82(9): 964-974.
- [7] BLAKE C D. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus* [J]. Nematologica, 1966, 12(1): 129-137.
- [8] BABU R O, KRISHNA P B, EAPEN S J. Virtual screening and *in vitro* assay to explore novel inhibitors from black pepper against potential targets of *Radopholus similis* [J]. International journal of computer applications, 2014, 86(14): 35-43.
- [9] RICK C M. Genetics resources in *Lycopersicon* [J]. Plant biology, 1987, 4: 17-26.
- [10] LOPES E P, RIBEIRO R C F, XAVIER A A, et al. Effect of *Bacillus subtilis* on *Meloidogyne javanica* and on tomato growth promotion [J]. Journal of experimental agriculture international, 2019, 35(1): 1-8.
- [11] MARTÍNEZ-MEDINA A, FERNANDEZ I, LOK G B, et al. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. The new phytologist, 2017, 213(3): 1363-1377.
- [12] LIN B R, ZHUO K, CHEN S Y, et al. A novel nematode effector suppresses plant immunity by activating host reactive oxygen species-scavenging system [J]. The new phytologist, 2016, 209(3): 1159-1173.
- [13] 陆秀红, 张雨, 秦舒婷, 等. 番茄 NBS-LRR 抗根结线虫基因同源序列的克隆与分析 [J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(1): 67-72. LU X H, ZHANG Y, QIN S T, et al. Cloning and analysis of root knot nematode resistance gene of *NBS-LRR* analogs from tomato [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(1): 67-72 (in Chinese with English abstract).
- [14] KAPLAN D T. An assay to estimate citrus rootstock resistance to burrowing nematodes [J]. Florida state horticultural society meeting, 1994, 107: 85-89.
- [15] 丁莎, 徐春玲, 谢辉, 等. 相似穿孔线虫消毒方法筛选及其对线虫繁殖量的影响 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2014, 36(9): 37-43. DING S, XU C L, XIE H, et al. Screening of surface-sterilizing methods for *Radopholus similis* and their influences on its reproduction [J]. Journal of Southwest University (natural science edition), 2014, 36(9): 37-43 (in Chinese with English abstract).
- [16] 冯志新. 植物线虫学 [M]. 北京: 农业出版社, 2001, 179. FENG Z X. Plant nematology [M]. Beijing: Agriculture press, 2001: 179. (in Chinese).
- [17] ZHANG C, XIE H, XU C L, et al. Differential expression of *Rs-eng-1b* in two populations of *Radopholus similis* (Tylenchida: Pratylenchidae) and its relationship to pathogenicity [J]. European journal of plant pathology, 2012, 133(4): 899-910.
- [18] O'BANNON J H. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production [J]. Journal of nematology, 1977, 9(1): 16-25.
- [19] SARAH J L, SABATINI C, BOISSEAU M. Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp., cv. *pooyo*) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world [J]. Nematropica, 1993, 23(1): 75-79.
- [20] 陈淳, 裴艳艳, 谢辉, 等. 进口红掌上香蕉穿孔线虫种群的个体发育 [J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(4): 40-42. CHEN C, PEI Y Y, XIE H, et al. Ontogeny of *Radopholus similis* population from import *Anthurium andraeanum* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2009, 30(4): 40-42 (in Chinese with English abstract).
- [21] OPOKU-ASIAMA Y, YEBOAH M A. Response of tomato cultivars to different inoculum concentrations of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*, Kafoid & White, 1919) [J]. Ghana journal of agricultural science, 2003, 36(1): 87-95.
- [22] BAREKYE A, KASHAIJA I N, ADIPALA E, et al. Pathogenicity of *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus* on bananas in Uganda [C]// FRISON E A, GOLD C S, KARAMURA E B, et al. Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, 1999: 319-326.
- [23] HAHN M L, SARAH J, BOISSEAU M, et al. Reproductive fitness and pathogenicity of selected *Radopholus* populations on two banana cultivars [J]. Plant pathology, 1996, 45(2): 1-9.
- [24] TIAN Z L, SHI H L, MARIA M, et al. Pectate lyase is a factor in the adaptability for *Heterodera glycines* infecting tobacco [J].

- Journal of integrative agriculture, 2019, 18(3):618-626.
- [25] PRICE N S. Alternate cropping in the management of *Radopholus similis* and *Cosmopolites sordidus* two important pests of banana and plantain [J]. International journal of pest management, 1994, 40(3):237-244.
- [26] PINOCHET J. Research papers: comparison of four isolates of *Radopholus similis* from central America on *Valery bananas* [J]. Nematropica, 1979, 9(1):40-43.
- [27] 秦丹, 谢辉, 裴艳艳, 等. 香蕉穿孔线虫观赏植物种群对香蕉的致病性研究 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(11):3898-3903. QIN D, XIE H, PEI Y Y, et al. Pathogenicity of 6 populations of *Radopholus similis* from ornamentals to 4 banana cultivars [J]. Scientia agricultura sinica, 2009, 42(11):3898-3903 (in Chinese with English abstract).

Pathogenetic divergence of different populations in *Radopholus similis* on tomato

YANG Sihua¹, ZHAO Lirong², TANG Shiqiao¹, YANG Shuai¹, XIE Hui¹, XU Chunling¹

1. Research Center of Nematodes of Plant Quarantine/College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangzhou Customs District Technology Center, Guangzhou 510623, China

Abstract In order to establish a simple and easy method to evaluate pathogenicity of *Radopholus similis* in laboratory, and to determine the pathogenetic difference of different populations, in this study, different populations of Jinfeng No.1 tomato were inoculated with different inoculation concentration and treatment time at (25±1) °C by using quartz sand culture. The nematode reproduction rate, root disease severity and plant growth were detected. Four different populations of female worms (HN6, SZ-FZ, GJ-LY323 and DBSR) were inoculated with 50, 100, 150 and 200 worms per plant to 30-day-old plants. After 9, 16, 23 and 30 days of inoculation, it was found that *R. similis* developed, propagated, and mainly infected the cortical cells of tomato root system. The pathogenicity on tomato was different with different inoculation dose and inoculation time. The reproduction rate of nematodes and the root disease severity increased with the increase of inoculation amount and time, while plant growth decreased. After inoculation with 150 nematodes per plant for 23 days, the most significant differences were observed in each index, which could distinguish the pathogenicity difference among different populations. Eight populations of *R. similis* were inoculated to 30-day tomato with 150 nematodes per plant for 23 days, and it was found that the pathogenicity of eight populations was in order of SZ-SWK>HaiN-YJ> HL-XY>SZ-FZ>GJ-LY323>DBSR>HN6>ML-HG. The results showed that tomato was a good host for *R. similis*, and pathogenicity of different populations can be evaluated by inoculating 30-day-old tomato with 150 nematode per plant indoors for 23 days and analyzing three indexes of nematode reproduction rate, root disease severity and plant growth.

Keywords *Radopholus similis*; *Lycopersicon esculentum*; parasitism; pathogenicity; disease prevention and control

(责任编辑:边书京)