

# 一种胁迫植物线虫发生内分体成虫和芽殖产卵的方法

范立学<sup>1</sup> 王奕瑄<sup>2</sup>

1 烟台林农线虫农业生物科技有限公司, 山东烟台, 264000;

2 青岛农业大学, 山东青岛, 266109;

**摘要:** 本研究旨在使用一种生物发酵菌剂胁迫植物线虫发生内分体成虫和芽殖产卵的方法, 验证了植物线虫的一种特殊的繁殖方式。在胁迫线虫实验中, 利用其它生物、化学或物理条件, 很容易使线虫产生裹膜现象, 观察不到这种特殊现象的发生。探索植物线虫在胁迫条件下的繁殖方式, 对研究植物线虫的生态适应性, 以及其致病机理具有重要意义, 为推动深入研究植物线虫局限寄生和共生发展的规律, 提供有力的技术支持。

**关键词:** 植物线虫; 胁迫; 内分体成虫; 芽殖产卵

**DOI:** 10.69979/3041-0673.25.12.033

## 引言

植物线虫在生态系统中广泛分布, 对农作物造成严重危害。了解其在不同条件下的多种繁殖方式, 对于制定有效的生物防治策略至关重要。内分体成虫和芽殖产卵作为植物线虫存在的特殊繁殖方式, 在胁迫环境中对其种群维持和扩散起到重要作用。目前, 关于诱导这种特殊的繁殖方式的方法尚且不多, 限制了对植物线虫的深入了解, 本研究致力于填补这一空白。

## 1 胁迫处理方法

### 1. 线虫样本的采集

将植物组织通过《一种植物线虫封养和无症状植物组织检出线虫的方法》进行封养, 发生线虫后再利用优势种群隔离引向培养方法进行自然筛选, 筛选线虫放培养箱内培养 60 天, 调控线虫繁殖, 使培养液中的虫口密度达到 30 条/滴以上, 取线虫培养液备用。

### 2. 胁迫因子

一种生物发酵菌剂。

### 3. 观察方法: 显微镜

### 4. 实验方法:

(1) 取 1 滴含植物线虫培养液滴在显微镜载玻片上, 上面滴上 1 滴胁迫因子溶液。

(2) 把载玻片放在 37 度恒温加热平台上加热, 使液体水分蒸发掉。

(3) 在载玻片线虫培养液和胁迫因子印痕上点一滴清水, 继续放回加热平台

加热, 水分蒸发后再滴一滴清水, 将载玻片放回显微镜观察, 即发现线虫的内分体成虫和芽殖产卵现象,

但载玻片加热干燥滴水不可重复三次以上。

(4) 用滴管吸取清水冲洗载玻片, 将清洗液移至培养皿内, 加入线虫培养液放回线虫发生培养箱, 60 分钟, 线虫卵即孵化成虫, 经胁迫处理的虫卵孵化时间比常规培养大大缩短。

## 2 有益效果

本方法能够有效地胁迫植物线虫发生内分体成虫和芽殖产卵, 为植物线虫的研究提供了一种新的手段。该方法操作简单, 稳定性可靠, 不需要复杂的实验设备和技术, 易于推广应用和观察。使用的胁迫材料价格也相对较低, 能够在短时间内获得验证结果, 以发现植物线虫的内分体和芽殖产卵现象。

## 3 实施例 1

1. 实验线虫: 取松材线虫培养液 1 滴滴在在显微镜载玻片上。

2. 胁迫因子: 依照以上实验方法滴上胁迫因子。

3. 环境温度: 将载玻片放置 37 度加热平台上, 使水分蒸发掉, 点清水重复加热至干燥, 再点清水放回显微镜观察。

4. 观察记录: 用显微镜显示屏记录内分体成虫和芽殖产卵发生情况。记录图片 2 为内分体现象, 记录图片 3-4 为芽殖产卵。

## 4 实施例 2

1. 实验线虫: 取西红柿茎腐线虫培养液 1 滴滴在显微镜载玻片上。

2. 胁迫因子: 通过以上实验方法滴入胁迫因子。

3. 环境温度：将载玻片放置 37 度加热平台上，使水分蒸发掉，点清水重复加热干燥，再点清水放回显微镜观察。

4. 观察记录：用显微镜显示屏记录内分体成虫和芽殖产卵发生情况，见记录图片 6 为线虫内分体现象，图 7-8 为芽殖产卵。

## 5 实施例 3

1. 实验线虫：取谷穗线虫培养液 1 滴滴在在显微镜载玻片上。

2. 胁迫因子：通过以上实验方法滴入胁迫因子。

3. 环境温度：将载玻片放置 37 度加热平台上，使水分蒸发掉，点清水重复加热至干，再点清水放回显微镜观察。

4. 观察记录：用显微镜显示屏记录内分体成虫和芽殖产卵发生情况，见记录图片 10 为线虫内分体现象，图 11-12 为芽殖产卵。

5. 对照材料胁迫处理：分别选用标记杀线虫农药，阿维菌素和克线磷 1500 倍稀释液。用同样的方法进行胁迫线虫产生裹膜，不发生内分体成虫和芽殖产卵现象。

6. 重复实验发现：雌性线虫少部分发生内分体现象，大部分发生芽殖产卵，出芽部位大致在线虫的 1/2 处或线虫断裂处。雄性线虫均无此现象发生，个别雄性线虫



图 1：松材线虫共试样本

交合刺膨大伸出，但不能确定为芽殖现象，有待于进一步验证确认，见记录图片 13。

### 7. 附图说明

以下是该实验观察记录图片说明

图 1 为封养松材线虫（供试线虫）；

图 2 为胁迫处理后的松材线虫发生内分体成虫记录视频截图；

图 3-4 为胁迫处理后线虫出芽产卵的镜检记录图片；

图 5 为封养西红柿茎腐线虫（供试线虫）；

图 6 为胁迫处理后的西红柿茎腐线虫内分体成虫的记录视频截图；

图 7-8 为胁迫处理后的西红柿茎腐线虫出芽产卵的记录图片；

图 9 为封养谷穗线虫（供试线虫）；

图 10 为胁迫处理后的谷穗线虫内分体成虫的记录视频截图；

图 11-12 为胁迫处理后的谷穗线虫出芽产卵的记录图片；

图 13 为胁迫处理雄性交合刺膨大伸出，似出芽状，但不能说明有卵胞形成，或有待于进一步验证。

图 14 为对照胁迫线虫发生裹膜现象的记录图片。

### 8. 以下是记录图片



图 2：胁迫处理内分体成虫



图 3：胁迫处理芽殖产卵



图 4：胁迫处理发生芽殖产卵



图 5: 西红柿茎腐线虫共试样本



图 6: 胁迫处理内分体成虫



图 7: 胁迫芽殖产卵



图 8: 胁迫芽殖产卵



图 9: 谷穗线虫共试线虫样本



图 10: 胁迫内分体成虫



图 11: 胁迫芽殖产卵



图 12: 胁迫芽殖产卵



图 13：胁迫雄性交合刺伸出



图 14：对照胁迫线虫发生裹膜

## 6 综合分析

通过二种胁迫处理结果表明：不同胁迫因子对线虫繁殖方式的诱导存在很大的差异，甚至是二种截然相反的效果，这种结果将为进一步研究植物线虫，在不同环境条件下的生存繁殖提供可靠的研究依据。

## 7 讨论

本研究方法成功诱导植物线虫发生内分体成虫和芽殖产卵现象，证明了该方法的有效性。胁迫因子的作用机理虽不明确，但反映出：1、植物线虫不是孤立生存；2、它有多种多样的繁殖方式；3、它具有细菌芽孢特性；4、各种胁迫因子存在较大的差异。

## 8 研究的局限性与展望

本研究虽然成功诱导出植物线虫的特殊繁殖方式，但仍存在一定的局限性，例如：当前对植物线虫的局限寄生和共生发展缺乏系统的理论支持，对标本线虫的封养和隔离引向培养，仍处在经验手法的运用阶段，特别是对上述实验中内分体成虫和芽殖产卵也仅是对现象的一种描述，有待于继续验证确认。

本研究是在实验室条件下进行，实际环境中植物线虫面临的胁迫因素更为复杂，后续研究可通过田间实验完成，以提高方法的应用价值。

## 9 结论

本研究建立了一种通过生物胁迫诱导植物线虫发生内分体成虫和芽殖产卵的方法，得益于对植物线虫封

养经验的积累。为深入研究植物线虫的繁殖策略和生态适用性提供了重要的技术手段，尽管该方法存在一定的局限性，但为进一步探索植物线虫的生物特性，发挥极其实重要作用，有望通过对植物线虫生存环境条件的研究，为植物线虫的致病性和生物防控提供全新的思路和方法。

## 参考文献

- [1] 陈立杰, 杨帆, 范海燕, 等. 非编码 RNA 在生防菌-植物线虫-寄主互作中的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(07): 65-70.
- [2] 贺文婷, 彭德良. 植物对线虫胁迫的生理生化响应机制 [J]. 植物保护, 2007, (02): 11-15.
- [3] 曹雨晴, 黄秋玲, 黄春晖, 等. 植物线虫病感病基因研究进展及在线虫防控中的应用潜力 [J]. 植物保护, 2024, 50(06): 2-9+41.
- [4] 叶德友, 漆永红. 植物应答线虫胁迫的表观遗传调控研究进展 [J]. 植物保护, 2024, 50(06): 31-41.
- [5] 何彬, 吴迪, 赵宇, 等. 菌毛在生防细菌定殖植物病原线虫中功能的研究进展 [J]. 浙江农业科学, 2024, 65(07): 1676-1682.
- [6] 吴艳. 不同生境土壤中捕食线虫真菌的分离鉴定及对植物线虫的防效评价 [D]. 贵州大学, 2024.
- [7] 张丽婧, 林明贤, 颜培玉, 等. 杀植物线虫的 Bt 菌 Cry 蛋白研究进展 [J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2023, 36(04): 447-452.