

根结线虫的发育受穿刺巴斯德氏柄菌抑制的观察*

何 元¹ 潘沧桑²

摘要 用人工的方法使根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 幼虫被穿刺巴斯德氏柄菌 (*Pasteuria penetrans*) 孢子附着, 其中以离心法效果较好, 但孢子容易脱落。该菌孢子的萌发率为 2%, 幼虫被孢子附着后活动力降低。受感染的线虫 (简称阳性线虫) 的发育比未受感染的线虫 (简称阴性线虫) 差, 其成虫生殖腺长度只及阴性线虫的 1/3 且较细, 因而不能产卵, 也不分泌胶质。该菌的生长经过微菌落、孢子幼体、成熟孢子等阶段, 在 30.2°C 条件下经 18 天 (积温 544.8°C) 开始成熟。

关键词 穿刺巴斯德氏柄菌 根结线虫 发育 微菌落 孢子

巴斯德氏柄菌 (*Pasteuria*) 是一类新型有前途的植物线虫生防因子, 世界性分布, 至 1998 年已从分隶于 116 个属的 323 种自由生活线虫、捕食性线虫、植物寄生线虫和昆虫寄生线虫中报道有该菌寄生 (Chen, 1998)。同时, 许多观察显示巴氏柄菌具有不同的“型”或种, 这些种具有不同的宿主范围, 许多“群”还可以用显微镜加以区分 (Sturhan, 1988)。Sturhan 将主要寄生根结线虫的寄生菌定名为穿刺巴氏柄菌 (*P. penetrans*), 原称穿刺芽孢杆菌 (*Bacillus penetrans*), 主要寄生短体线虫的寄生菌定名为索恩巴氏柄菌 (*P. thornei*), 并建议将这一类线虫寄生菌统称为穿刺巴斯德氏柄菌群 (*Pasteuria penetrans* group)。后来从大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*) 上又分离到一种巴氏柄菌, 与以上两种菌又有所不同 (孙漫红等, 1994; Noel *et al.*, 1994)。

穿刺巴氏柄菌的生活史国外学者曾经研究, 它包括自由孢子、附着、萌发、微菌落和孢子幼体、成熟孢子等阶段 (Sayre *et al.*, 1985; Stary *et al.*, 1988; Verdejo *et al.*, 1988); 不过, 从线虫生活史的角度研究该菌的作用却鲜见于文献。为了阐明穿刺巴氏柄菌的作用机理, 遂对受该菌感染的根结线虫 (以下简称阳性线虫) 和未受该菌感染的根结线虫 (以下简称阴性线虫) 的发育作比较研究, 现将研究结果报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试虫种: 根结线虫混合种 (*Meloidogyne* spp.), 其中爪哇根结线虫 (*M.*

收稿日期: 1999-03-16

* 国家自然科学基金 (39422006) 和国家“九·五”科技攻关资助项目 (96C01-02-02), 福建省自然科学基金和福建省经济发展总公司给予资助

1. 厦门大学寄生动物研究室, 厦门 361005

2. 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005

javanica) 与南方根结线虫 (*M. incognita*) 之比为 4: 1

1. 1. 2 供试植物: 厦茄 5号番茄种子 (厦门农科所提供) 播于灭菌土壤中, 长到 10~ 15cm 时移入经灭菌的花盆土中, 每盆一株, 7~ 10天内接种根结线虫幼虫。

1. 2 方法

在感染爪哇根结线虫和南方根结线虫的植株上挑取大量卵块, 放在表面皿中清水孵化, 每天收集幼虫, 保存在 5~ 10℃冰箱中待用。从穿刺巴氏柄菌专用温室栽培的烟草根部挑取阳性雌虫, 用匀浆器破碎制成菌悬液, 经尼龙布过滤后保存在冰箱中待用。用一小块塑料刮擦穿刺巴氏柄菌容器的底部并摇匀, 吸取一滴菌液用血球计数板计数, 并计算其浓度 (Hewlett, 1993), 根据浓度计算孢子数量。吸取 1.0×10^5 个穿刺巴氏柄菌孢子和 3.0×10^4 只根结线虫幼虫到离心管中, 调节体积为 4mL, 5 550g 离心 5min 然后把各管混合, 摇匀, 取 30条幼虫在 400倍显微镜下计数每条幼虫附着的孢子数 N (只计正常附着的孢子)。

$$\text{附着强度 } N = 1/30 \sum_{i=1}^{30} N_i$$

$$\text{附着率 } (\%) = \text{阳性幼虫} / 30 \times 100\%$$

按常规方法 (潘沧桑、林竞, 1997) 用已被穿刺巴氏柄菌孢子附着的根结线虫幼虫接种番茄苗, 10 000只/株, 共接 20盆; 同时接种相同数量的对照株 (接种等量无孢子附着的根结线虫幼虫)。在温度 23.0~ 34.5 (平均 27.8)℃条件下生长。每 1~ 3天从阳性株和阴性株解剖出线虫, 对照观察阴性虫体和阳性虫体, 方法同前文 (何元和潘沧桑, 2000), 着重观察其生殖腺的发育情况。前期以微菌落为阳性幼虫鉴别依据, 后期以孢子幼体和孢子出现为准。

所有标本均在光学显微镜下观察、测量、绘图及摄影。

2 结果

2. 1 离心法使根结线虫的侵袭期幼虫被穿刺巴氏柄菌孢子附着

2. 1. 1 孢子的附着: 在不同的幼虫密度和孢子密度下离心不同时间, 根结线虫侵袭期幼虫被穿刺巴氏柄菌孢子附着的效果如表 1。

2. 1. 2 孢子的脱落: 一批用离心法使孢子附着的根结线虫幼虫其附着率为 100%, 附着强度为 12.77 ± 11.41 孢子/线虫, 用这些幼虫接种番茄植株, 2天后解剖 30条幼虫, 经重新镜检计数, 幼虫的附着率和附着强度分别为 97% 和 7.33 ± 5.73 , 推算有 42.66% 的孢子脱落。而用通气法处理的根结线虫幼虫 (19~ 26℃, 5天), 其附着率为 91%, 附着强度 10.2 ± 5.6 孢子/线虫, 用以感染番茄, 3天后解剖 63条幼虫并镜检, 其附着强度降低为 10.0, 孢子脱落率为 2.9%。

2. 2 根结线虫的发育受穿刺巴氏柄菌的抑制

根结线虫在温室 24~ 35℃ (平均 30.6℃) 时经 16天 (积温 489.1℃) 完成寄生阶段的发育 (表 2); 穿刺巴氏柄菌在温室 24~ 35℃ (平均 30.2℃) 时经 18天 (积温 544.8℃) 发育完成 (表 3)。其具体阶段如下:

接种后 2天: 仍为活泼的第二期幼虫, 阳性幼虫体表还可见到孢子。

接种后 7天: 阳性幼虫和阴性幼虫均已发育至豆荚期 (图 1), 阳性株和阴性株均出现

明显的虫瘿

表 1 不同条件下根结线虫幼虫被穿刺巴氏柄菌孢子附着的情况

Tab. 1 Attaching to *Meloidogyne* spp. juveniles by *Pasteuria penetrans* endospores under different condition

处理号	幼虫数 (10 ⁴ 条) Number of juvenile (10 ⁴ juvenile)	孢子数 (10 ⁵ 个) Number of spore (10 ⁵ spore)	体积 (mL) Volume (mL)	时间 (min.) Time (min.)	附着率 (%) Rate of attachment (%)	附着强度 (个/条) Attachitivity (Spore/juvenile)
1	3.0	5.0	8.0	5.0	90.0	2.80
2	3.0	5.0	8.0	5.0	100.0	15.47
3	3.0	7.7	4.0	1.0	100.0	7.87
4	3.0	5.0	8.0	6.0*	100.0	5.07
5	3.0	4.0	8.0	5.0	97.0	4.27
6	3.0	4.0	7.0	5.0	97.0	3.73
7	1.0	1.5	8.0	5.0	97.0	3.83

* 孢子在 -20℃ 保存 3 天; ** 分为 2 个 3min, 中间用吸管吹散幼虫

* Spores stored under condition -20℃; ** Including 2 three minutes. During the interval juveniles are scattered by a ping.

接种后 12 天: 阳性幼虫体表有孢子残体, 体内出现微菌落, 对 1 条已发育的二期幼虫观察表明, 阳性幼虫假体腔内充满微菌落, 从体前至体后均有分布 (图 2), 但尾部没有; 压破阳性幼虫后释放出大量脂肪颗粒, 微菌落散布其间, 有时也从颗粒中间游离出来。菌落直径约 $8.19 \mu\text{m} \pm 1.38 \mu\text{m}$, 菌落致密, 在 400 倍显微镜下难以看清单个菌体, 菌落边缘粗糙。

接种后 14 天: 阳性幼虫和阴性幼虫均已完成第 4 次蜕皮。在阳性株上大量幼虫木质化, 而阴性株这种现象不明显。阳性株上雄虫较少, 压破以后也观察到微菌落 (图 3); 而阴性株上雄虫较多。阳性雌虫在完成蜕皮以后体表没有孢子残体。

接种后 15 天: 虫体继续发育, 阴性虫体体后开始出现小的胶质块, 无色透明, 虽然其中尚无卵; 但是其生殖腺中已经有未成熟的卵 (观察 1 只雌虫, 其 2 条生殖腺不对称, 1 条生殖腺有卵, 而另 1 条没有); 而所有阳性的虫体均未产生胶质块, 其生殖腺中也没有卵 (图 5)。

接种后 16 天: 阴性雌虫产卵, 卵块中含有几个到几十个卵。阳性虫体仍未见产卵, 其假体腔中开始出现分叉状孢子幼体, 它和微菌落共同存在: 孢子幼体一般丛生, 为多分叉状, 由 2~4 个或更多幼体形成 (图 4), 亦有单个游离者。

接种后 18 天: 阴性雌虫的卵块包含上百粒卵, 而阳性雌虫体内分叉的孢子幼体大量存在, 在一条雌虫中观察到伞状的成熟孢子, 成熟孢子中央有一折光性呈浅蓝色的芽孢, 其直径为孢子囊的 $1/3 \sim 1/2$ (图 4)。

接种后 20 天: 大多数阳性雌虫已出现成熟孢子, 在这些雌虫体内, 成熟孢子与微菌落和孢子幼体共同存在。

接种后 23 天: 阳性雌虫体内成熟孢子数量继续增加, 微菌落已不多见。

表 2 穿刺巴氏柄菌阳性根线虫寄生阶段的发育 (30.6°C)

Tab. 2 The postinfection development of *Meloidogyne* spp. infected with *P. penetrans* (30.6°C)

接种 天数 (d)	发育 阶段	积温 (DTC)	虫体 长×宽 (μ)	口针 长度 (μ)	口针 基座 (μ)	DGO*	中食道球 (μ)	HEB** (μ)	卵巢输 卵管长 (μ)	子宫长 (μ)	卵巢宽 (μ)	子宫宽 (μ)	受精囊 长×宽 (μ)	卵块 Egg mass	微菌落 Micro- colony	孢子 幼体 Young spore	成熟 孢子 Mature spore	尾长 (μ)
Days after inoculation	Develop- ment stage	Accu- mulate temp- erature	Body (length× width)	Stylet length	Stylet knob length	Styler length	Meta- corpus (length× width)	HEB** (μ)	Ovary and oviduct length	Uterus length	Ovary width	Uterus width	Sperma- theca (length× width)	Egg mass	Micro- colony	Young spore	Mature spore	length
2	J ₂	61.5												+	-	-	-	
7	J ₂	214.7	384.2×72.6	13.2	1.6	2.1	22.4×22.2	29.8***						-	-	-	-	37.8
12	J ₂	368.3	393.4×70.7	13.6	1.6	2.4	22.8×24.0	50.8	120***					-	+	-	-	38.4
14	YF	430.1	372.1×103.1	14.4	2.4	2.4	28.7×26.1	55.2	360.0		21.6	24.0	20.4×25.0	-	+	-	-	消失
15	YF	459.3	538.9×164.9	15.2	2.0	2.4	35.9×32.9	66.7	385.5	408.0	22.5	19.1	31.2×38.1	-	+	-	-	
16	YF	489.1	473.5×289.9	16.8	2.4	2.4	42.4×41.5	69.7	878.4		32.4	33.6	54.0×74.4	-	+	+	-	
18	YF	544.8	536.8×331.8	16.8	2.3	2.0	40.8×39.2	67.2	833.7	707.0	43.2	33.6	36.0×50.4	-	+	+	+	
20	YF	599.1	582.4×377.4	13.2	2.4	2.6	38.4×38.4	60.8	756.4	634.4	43.2	37.6	54.4×76.0	-	+	+	+	
23	YF	686.5	648.4×478.2	13.6	2.4	2.4	40.0×38.4	66.4	950.7	1073.0	40.8	37.2	48.0×79.2	-	+	+	+	
25	YF	744.9	556.3×393.6	14.4	2.4	2.4	38.4×38.4	69.6	1015.0	878.3	35.5	37.9	56.6×77.8	-	+	+	+	

* DGO 代表食道腺开口至口针基座的距离; ** HEB 代表头至中食道球中央的距离; *** 为整条生殖腺的长度; + 代表有, - 代表无。J₂, J₃, J₄ 分别代表第二、第三、第四期幼虫; YF 代表年轻雌虫(因始终不产卵, 姑且都称为年轻雌虫)。

* DXG=Dorsal gland opening from stylet base; ** HEB=Head apex from centre of metacarpus; *** Length of whole gonad; + represent "there is", - represent "there is not". J₂, J₃, J₄ represent second-, third-, fourth-stage juveniles, respectively; YF represents young female. MF represents mature female.

表3 穿刺巴斯德氏柄菌阴性根结线虫寄生阶段的发育(30.6 C)
 Tab. 3 The postinfection development of *Meloidogyne* spp. without infection with *P. penetrans*(30.6 C)

接种 天数 (d)	积温 (DC)	发育 阶段 Develop- ment stage	虫体 长×宽 (μ)	口针 长度 (μ)	口针 基座 (μ)	DGO*	中食道球 (μ)	HEB** (μ)	卵巢输 卵管长 (μ)	子宫长 (μ)	卵巢宽 (μ)	子宫宽 (μ)	受精囊 长×宽 (μ)	卵块 Egg mass	微菌落 Micro- colony	孢子 幼体 Young spore	成熟 孢子 Mature (μ)	尾长 (J)
Days after inocu- lation	Accu- mulate tempe- rature	Develop- ment stage	Body (length× width)	Stylet length knob	Stylet length	Stylet knob width	Meta- corpus (length× width)	HEB** (μ)	Ovary and oviduct length	Uterus length	Ovary width	Uterus width	Sperma- theca (length× width)	Egg mass	Micro- colony	Young spore	Mature (μ)	Tail length
7	214.7	J ₂	375.4×59.4	11.8	1.5		20.8×20.4	47.7	31.8**									33.4
12	383.3	J ₂	393.5×71.0	13.1	1.4	2.2	21.7×21.7	47.3	140.0									59.4
14	430.1	YF	378.0×84.9	13.8	2.2	2.3	28.8×26.6	57.0	888.5	28.8	25.6		50.4×58.4					
15	459.3	YF	612.6×286.1	14.4	2.6	2.3	41.1×36.7	68.5	1338.0	1071.6	45.2	52.4	65.2×90.2					
16	489.1	MF ⁽¹⁾	571.0×390.1	12.4	2.4	2.4	39.2×38.4	66.4	1415.1	1244.0	48.8	52.0	71.2×98.4	+				
18	544.8	MF	584.9×443.3	18.0	2.1		44.4×44.4	74.4	2146.0		58.0	58.0	98.6×69.6	+				
20	599.1	MF	652.3×351.3	13.2	2.4	2.4	42.4×39.2	60.0	2349.0	1508.0	53.8	53.3	60.3×90.0	+				
23	686.5	MF	672.1×460.8	13.2	2.4	3.0	43.2×38.4	69.6	1951.7		43.2	46.8	67.2×90.0	+				
25	744.9	MF	642.5×452.2	12.0	2.2	2.4	39.6×40.8	71.2	2244.8		57.6	65.4	75.6×109.2	+				

* DGO 代表背食道腺开口至口针基部的距离; * HEB 代表头颈至中食道球中央的距离; ** 为整条生殖腺的长度; + 代表有, - 代表无。J₂, J₃, J₄ 分别代表第二、第三、第四期幼虫; YF 代表年轻雌虫; MF 代表成熟雌虫。

* DGO = Dorsal gland opening from stylet base; * HEB = Head apex from centre of metacorpus; ** * Length of whole gonad; + represent "there is", - represent "there is not". J₂, J₃, J₄ represent second-, third-, fourth-stage juveniles, respectively; YF represents young female; MF represents mature female.

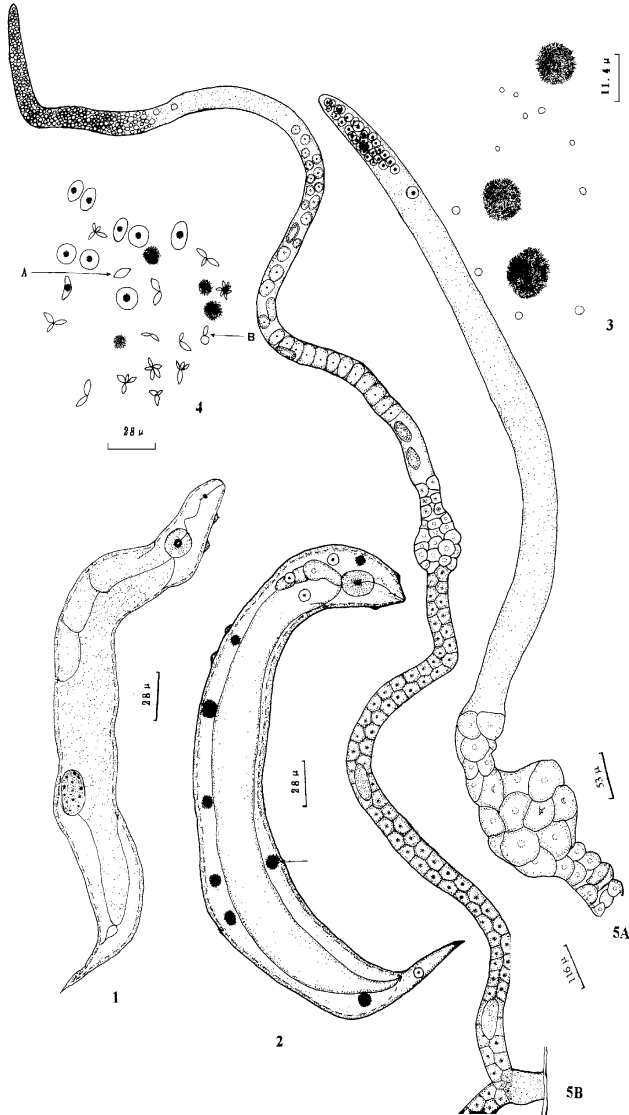


图 1-5 根结线虫的发育受穿刺巴斯德氏柄菌的抑制

1-2 穿刺巴氏柄菌感染的根结线虫幼虫: 1. 第三期幼虫 (接种后第 14 天), 示旧皮上的孢子残体; 2. 第二期幼虫 (第 12 天), 示微菌落; 3. 穿刺巴氏柄菌的微菌落 (来自雌虫); 4. 穿刺巴氏柄菌的成熟孢子、孢子幼体及微菌落碎片: 4A. 单个孢子幼体, 4B. 不对称发育的孢子幼体; 5. 接种番茄后 15 天的根结线虫雌虫生殖腺: 5A. 幼虫感染穿刺巴氏柄菌 (阳性), 5B. 幼虫未感染穿刺巴氏柄菌 (阴性)

Fig. 1-5 The controlling of *Meloidogyne* spp. development by *Pasteruria penetrans*

1-2 Juvenile of *Meloidogyne* infected with *Pasteruria penetrans*: 1. Third-stage juvenile (14th day after inoculation), show spore remains attached to old cuticle. 2. Second-stage juvenile (12th day), show microcolonies. 3. Microcolonies of *Pasteruria penetrans* (from females). 4. Mature spores, young spores and microcolony's pieces of *Pasteruria penetrans*: 4A. Single young spore, 4B. Young spore developed insymmetrically. 5. Female gonad of *Meloidogyne* at 15th day after inoculation of tomato: 5A. With juveniles infected with *Pasteruria penetrans*, 5B. With juveniles uninfected.

接种后 25天:微菌落几乎不再出现,但孢子幼体和成熟孢子仍旧共存,少数虫体内全部变成成熟孢子。

接种后 33天:阳性雌虫体内含有大量孢子。在 2株阳性番茄苗上共分离出 2条阳性雄虫,其中 1条压破后可以见到微菌落,另 1条雄虫体内可观察到成熟的孢子。同时,在 1条阳性雌虫体内观察到孢子簇。

接种后 41天:阳性雌虫整个虫体被成熟孢子所充满,体内不再出现孢子幼体。在 3株阴性番茄上分别收获雄虫 34只、74只和 45只;而在 2株阳性番茄上收获雄虫仅 5只和 4只,其中阳性雄虫分别占 4只和 1只,第 1株的 4只阳性雄虫中,有 1只具有穿刺巴氏柄菌的孢子簇;另外 4只阳性雄虫均含有普通的穿刺巴氏柄菌孢子。同时还发现 1只雌虫也有孢子簇

3 讨论

3.1 关于人为地使根结线虫幼虫被穿刺巴氏柄菌附着的方法

人为地使根结线虫幼虫被穿刺巴氏柄菌附着的方法主要有:(1)在土壤中包括在沙土管中进行(Stirling, 1981; Stirling *et al.*, 1990);(2)在水中通过充气或振荡进行(Dives *et al.*, 1988);(3)离心法感染(Hewlett *et al.*, 1993)作者认为离心法效果较好,因为,一是在菌液浓度相当、幼虫数也相当的情况下,离心法可以达到较高的附着率和附着强度,用 30 000只第二期幼虫和 8×10^5 个穿刺巴氏柄菌孢子,体积 4mL,在 24℃下通气作用 4天后,幼虫附着率为 56.7%,附着强度 0.77,而在相同的孢子密度、幼虫密度和温度条件下,5.550g离心 5min,附着率达 100%,附着强度达 7.87;二是可在短时间内得到大量的阳性幼虫;三是离心法死虫率低。通气法由于作用时间长,许多幼虫饥饿死亡,而用离心法时间短,即使较陈旧的幼虫也不会大量死亡。当然,离心法也有其缺点,即孢子脱落率高

幼虫身体几乎所有的部位都可以被孢子附着,只有在头部顶面没有发现孢子。

孢子附着的有效性因人工附着的方式而不同,倒扣的孢子、附在尾端的孢子以及“挂”在身上的孢子均为无效附着。在接种番茄 2天后剖出的阳性根结线虫幼虫中,用离心法附着的孢子(指正位附着者)脱落率达 42.7%,远高于通气法,这是由于在高速离心过程中,某些附着力不强的孢子也能够勉强附着幼虫,但幼虫在土壤中移行或入侵根的过程中因附着不牢而脱落,而通气法不存在强力,故无效附着少,脱落的孢子也少。

3.2 关于穿刺巴氏柄菌孢子萌发率的计算

用离心法附着根结线虫幼虫体表的孢子,由于在幼虫入侵过程中孢子大量脱落,所以不能用入侵前的附着情况计算其萌发率,根据萌发率和幼虫被孢子附着的情况及成熟雌虫阳性率之间存在关系,作者提出以下计算萌发率的准确方法:

$$\sum_{n=0}^m [En\% (1-X)^n] = (1-A)$$

其中: n ——幼虫体表孢子数即附着强度

m ——幼虫最高附着强度

$En\%$ ——附着强度为 n 的幼虫所占的百分比

X ——孢子萌发率

A——幼虫成熟后的阳性率

本实验中, $m = 31$, $A = 73.3\%$, 根据幼虫被孢子附着的百分比, 计算出孢子萌发率 X 为 21% 。使用此公式基于以下假设: (1) 萌发率与幼虫附着强度无关, 即无论一只幼虫附着多少个孢子, 每个孢子萌发率相同; (2) 感染强度不影响幼虫的死亡率。关于 (1) 尚无法讨论, 在幼虫完成蜕皮前发现大量木质化幼虫, 而阴性株上没有, 这些死亡幼虫未作研究, 建议以蜕皮前二期幼虫的阳性率代替 A 值来计算萌发率, 即可消除 (2) 的影响。也可以公式 $(1 - X)^n = 1 - A$ 粗略计算萌发率, 其中 n 为平均孢子附着个数, 则 X 为 16.5% , 与前面结果有较大差异, 为了准确, 建议使用前一公式计算萌发率。

由于 73.3% 实际上是雌虫阳性率, 未考虑雄虫, 所以 21% 严格地说只代表孢子在雌虫体表的萌发率, 但因雄虫数量少, 未作类似计算。性别与孢子萌发率关系尚待研究。

3.3 关于根结线虫虫体外形受穿刺巴氏柄菌的影响

阳性雌虫虫体总的来说较阴性虫体小, 而且较细 (表 4) 阳性雌虫的体长和体宽在大多数时候都小于阴性雌虫, 在 15~16 天时, 两者差异最为显著, 此时正是阴性雌虫产卵阶段, 也是阳性雌虫体内穿刺巴氏柄菌开始成熟的阶段, 而到了 20~23 天, 阳性雌虫体宽反而略大于阴性雌虫体宽。

表 4 穿刺巴斯德氏柄菌阳性雌虫和阴性雌虫的体长、体宽比较

Tab. 4 Comparing body's length and width between the females infected with *Pasteuria penetrans* and uninfected

时间 (天) Time (day)	7	12	14	15	16	18	20	23
体长* Body length	1102.3	100	99.4	88.0	82.9	91.7	89.3	96.5
体宽* Body width	122.2	99.6	121.4	57.6	74.3	74.7	107.4	103.8

* 阳性/阴性 $\times 100\%$ * Infected/Uninfected $\times 100\%$

部分老熟的阳性雌虫体形硕大, 虫体很宽, 但颈部却很短, 与未成熟的阳性雌虫不同。作者认为这是由于: 在初期, 阳性雌虫体内的穿刺巴氏柄菌数量呈几何级数增长, 大量夺取虫体的营养, 使生殖腺不能正常发育, 到菌体开始成熟时, 其夺取的营养达到最大值, 致使阴、阳性虫体体积相差最大。根据上述实验观察, 接种后第 16 天阴性雌虫卵块中含有几个到几十个卵, 至第 18 天卵数达到上百个, 而阳性雌虫仍未见产卵, 此后亦然。可以看出, 这一阶段阴性雌虫消耗了大量营养, 而阳性雌虫体内菌体高度增长, 微菌落、孢子幼体和成熟孢子相继达到最大值; 同时由于生殖腺被破坏, 养分不必用于造卵, 所以虫体变得肥大。作者之一称这种现象为“细菌性阉割” (潘沧桑和林竞, 1993)。

3.4 关于根结线虫的生殖受穿刺巴氏柄菌的破坏

穿刺巴氏柄菌阳性根结线虫与阴性根结线虫最明显的差异在于是否产卵 (潘沧桑等, 1993; Verdejo *et al.*, 1988; Davies *et al.*, 1988)。根据作者的实验观察, 阳性雌虫无一

例外都不产卵,而且体后亦无胶质卵块,说明不仅雌虫的生殖能力受穿刺巴氏柄菌破坏,而且其直肠腺也受破坏。阳性雌虫由于缺乏具备溶组织功能的酶,无一例外均被包裹在根中。

阳性雌虫和阴性雌虫最根本的区别在于生殖腺。压破老熟的阳性雌虫时,往往看不到成形的生殖腺,必须以极细的玻璃针在解剖镜下挑出。阴性雌虫成熟的生殖腺中可以见到卵,无卵的部位细胞较透明;而阳性雌虫生殖腺中没有卵,且颜色较暗。接种后 7~12 天阳性雌虫生殖腺的全长相当于阴性雌虫的 90% 左右(表 5)。接种 15 天以后相当于阴性雌虫生殖腺长度的 35% 左右。14~25 天阳性雌虫卵巢输卵管长度相当于阴性雌虫的 28.8%~62.1% (平均 42.3%),其宽度相当于阴性卵巢宽度的 49.8%~94.4% (71.7%); 子宫长度相当于阴性子宫的 40% 左右,其宽度相当于阴性雌虫子宫的 36.5%~93.8% (65.8%); 阳性雌虫受精囊长度相当于阴性雌虫受精囊的 36.5%~90.2% (62.4%),其宽度相当于阴性雌虫受精囊宽度的 42.2%~88.0% (68.1%)。生殖腺严重发育不良是阳性雌虫不能产卵的直接原因。

表 5 穿刺巴斯德氏柄菌阳性雌虫和阴性雌虫的生殖腺比较

Tab. 5 Comparing germinate gonad between the females infected with *Pasteuria penetrans* and uninfected

时间 (天) Time (day)	卵巢输卵管长 Ovary and oviduct length	子宫长 Uterus length	卵巢宽 Ovary width	子宫宽 Uterus width	受精囊长 Spermatheca length	受精囊宽 Spermatheca width	生殖腺全长 Length of whole gonad [*]
7	—	—	—	—	—	—	93.7
12	—	—	—	—	—	—	85.7
14	40.5	—	75.0	93.8	40.4	42.8	—
15	28.8	38.0	49.8	36.5	47.9	42.2	33.3
16	62.1	—	66.4	64.6	75.8	75.6	—
18	38.8	—	74.4	57.9	36.5	72.4	—
20	32.2	42.1	80.3	70.5	90.2	84.4	36.8
23	48.7	—	94.4	79.5	71.4	88.0	—
25	45.2	—	61.6	58.0	74.9	71.2	—
平均 Average	42.3	40.1	71.7	65.8	62.4	68.1	—

* 阳性/阴性×100%, ** 未包括阴道长

* Infected/Uninfected×100%, ** Not contained vagina length

致谢 本研究室林竞老师等对本文给予宝贵的帮助,谨致谢忱。

参 考 文 献

- 孙漫红, 刘杏忠. 1994. 巴氏杆菌——一种新的有潜力的植物寄生线虫生防菌. 生物防治通报, 22 (4): 178~182.
- 何元, 潘沧桑. 2000. 南方根结线虫和爪哇根结线虫的生活史. 厦门大学学报, 39 (3): 537~546.
- 潘沧桑, 林竞, 倪子绵, 等. 1993. 在我国发现的根结线虫病病原菌及其用作生物防治的探讨. 微生物学报, 33 (4): 313~316.
- 潘沧桑, 林竞, 王生元. 1997. 穿刺芽孢杆菌菌剂的研制及其对根结线虫的防治. 微生物学报, 37 (6): 480~482.
- Chen, Z. X. and D. W. Dickson 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: biology, ecology, and biological control potential.

J. Nematol., **30** (3): 313~ 340.

- Davies, K. G. and B. R. Kerry *et al.* 1988. Observation on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes. *Ann. Appl. Biol.* **112** 491~ 501.
- Hewlett, T. E. and D. W. Dickson 1993. A centrifugation method for attaching endospore of *Pasteuria penetrans* to nematodes. *J. Nematol.* **25** (4s): 785~ 788.
- Noel, G. R. and B. A. Stanger 1994. First report of *Pasteuria* sp. attacking *heterodera glycines* in North America. *J. Nematol.* **26** (4s): 612~ 615.
- Sayre, R. M. and M. P. Starr 1985. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., com. n., sp. n., a Mycelial and Endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* **52**(2): 149 ~ 165.
- Starr, M. P. and R. M. Sayre 1988. *Pasteuria thornei* sp. nov *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., Mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the gene *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. *Ann. Inst. Pasteur /Microbiol.* **139** 1~ 31.
- Stirling, G. R. 1981. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. *Nematol.* **27** 458~ 462.
- Stirling, G. R., R. D. Sharma *et al.* 1990. Attachment of *Pasteuria penetrans* spores to the root knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effects on infectivity. *Nematol.* **36** 246~ 252.
- Sturhan, D., R. Winkelleide *et al.* 1994. Light and electron Microscopical studies of *Pasteuria* isolate, parasitizing the pea cyst nematode. *Appl. Nematol.* **17** (1): 29~ 42 (abstr.).
- Verdejo, S. and B. A. Juffee 1988. Reproduction of *Pasteuria penetrans* in a Tissue-culture system containing *Meloidogyne javanica* and *Agrobacterium rhizogenes*-Transformed roots. *Phytopathol.* **78** (10): 1283~ 1286.

THE INHIBITON OF *MELOIDOGYNE* SPP. DEVELOPMENT BY *PASTEURIA PENETRANS*

He Yuan¹ Pan Cangsang²

Abstract For attaching endospore of *Pasteuria penetrans* to the juvenile of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), the centrifugation method is of better result comparing with other methods. 2% of endospores can germinate, endospore-attached juveniles are less motile comparing with the uninfected ones. Infected females couldn't reproduce, and they make no gelatinoid, Its germinate gonad is approximately 2/3 shorter and is more slender than that of uninfected females. The growth of *P. penetrans* can be divided into following stages: microcolony, young spore and mature spore etc. On the 12th day after inoculation there are many microcolonies in the pseudocoelom, whose diameter is $8.19 \pm 13.8 \mu\text{m}$. On the 14th day after inoculation most juveniles became woody (this phenomenon is not obvious in control plant). On the 16th day divaricate-shaped young spores appear in the pseudocoelom. Under the condition of 30.2°C, *P. penetrans* developed to be mature endospore for the first time on the 18th day (54.8°C).

Key words *Pasteuria penetrans* *Meloidogyne* Life-cycle Microcolony Spore

1. Parasitology Research Laboratory, Xiamen University, Xiamen 361005

2. School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005