

不同地理来源的拟禾本科根结线虫对温度胁迫的耐受性

彭思源^{1#}, 喻曼^{2#}, 丁中¹, 阳祝红¹, 叶姗^{1*}

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 湖南省慈利县农业农村局, 张家界 427200)

摘要 为明确拟禾本科根结线虫不同地理群体对温度胁迫的耐受性, 本文比较了河南新乡、湖南平江、湖南益阳、湖南望城、广西融安、广西临桂、广东湛江、海南临高等 8 个地理群体的 2 龄幼虫和卵对 0、4℃ 和 37℃ 的耐受性以及 2 龄幼虫经 4℃ 预处理 5 d 后在 0℃ 下的存活率。结果表明: 不同地理来源的拟禾本科根结线虫对温度的耐受性存在差异。2 龄幼虫在 0℃ 和 4℃ 低温下存放不同时间, 其死亡率由低到高为: 新乡群体 < 平江、望城、益阳群体 < 融安、临桂、湛江、临高群体, 表现出随纬度增加耐寒性增强的趋势; 不同纬度群体卵在 0℃ 或 4℃ 存放不同时间后其孵化率由高到低为: 新乡、平江、望城、益阳、融安、临桂群体 > 湛江、临高群体。卵经 37℃ 高温处理 10 d 后, 低纬度的临高群体的孵化率明显高于其他纬度较高的地理群体, 显示临高群体对高温具有较强的适应性。4℃ 低温预处理可以提高各群体在 0℃ 下的存活率, 湖南平江、望城、益阳群体的存活率提高最明显, 表明湖南 3 个群体对低温具有较高的适应性。

关键词 拟禾本科根结线虫; 温度胁迫; 耐受性; 地理群体

中图分类号: S435.111.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021492

Tolerance of different geographical populations of *Meloidogyne graminicola* to temperature stress

PENG Siyuan^{1#}, YU Man^{2#}, DING Zhong¹, YANG Zhuhong¹, YE Shan^{1*}

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Agricultural and Rural Bureau of Cili County, Hunan Province, Zhangjiajie 427200, China)

Abstract In order to understand the differences in temperature tolerance among geographical populations of *Meloidogyne graminicola*, we collected eight *M. graminicola* populations from Xinxiang, Henan province, Pingjiang, Yiyang, Wangcheng, Hunan province, Rongan, Lingui, Guangxi Zhuang Autonomous region, Zhanjiang, Guangdong province and Lingao, Hainan province, respectively. The temperature tolerance of second-stage juveniles (J_2) and eggs of different geographical populations were investigated at 0, 4℃ and 37℃, and the survival rate of J_2 was measured at 0℃ after pretreated at 4℃ for five days. The results showed that *M. graminicola* displayed geographical difference in temperature tolerance. At 0℃ or 4℃, the cold tolerance of different geographical populations of *M. graminicola* increased with increasing latitude. The mortality of J_2 of populations from different latitudes obviously varied, from low to high: Xinxiang population < Pingjiang, Wangcheng, Yiyang populations < Rongan, lingui, Zhanjiang, Lingao populations. The hatching rate of eggs of Xinxiang, Pingjiang, Wangcheng, Yiyang, Rongan and Lingui populations was higher than that from the Zhanjiang, Lingao populations. After exposure to 37℃ for 10 days, the egg hatching of Lingao population in lower-latitude was higher than that from other higher-latitude populations, indicating a high adaptability of Lingao population to high temperature. The survival rate of J_2 from different geographical populations at 0℃ could be enhanced after low temperature acclimation at 4℃ for five days, and the increase of the survival rate of

收稿日期: 2021-09-07 修订日期: 2021-11-22

基金项目: 湖南省植保植检站植物防疫防控科研项目(HNZB202003); 公益性行业(农业)科研专项(201503114)

致谢: 在线虫样本的采集过程中得到华南农业大学植物保护学院文艳华副教授、广西农业科学院植物保护研究所刘志明研究员、中国热带农业科学院环境与植物保护研究所刘海波博士的帮助, 一并表示感谢!

* 通信作者 E-mail: yeshan@hunau.edu.cn

为并列第一作者

populations from Pingjiang, Wangcheng, Yiyang, Hunan province was obviously higher than that of other populations, suggesting a high adaptability of the three populations to cold exposure.

Key words *Meloidogyne graminicola*; temperature stress; tolerance; geographical population

拟禾本科根结线虫 *Meloidogyne graminicola* 已成为亚洲水稻生产上最重要的限制性生物因素之一,可在广泛的水稻生态系统包括灌溉水稻和雨养水稻生态系统、低地水稻和高地水稻生态系统、深水水稻和热带需氧水稻生态系统对水稻产量造成严重的经济损失^[1-4]。该线虫主要分布于亚洲、热带美洲以及南非、马达加斯加^[5]和南欧的意大利^[6]等水稻种植区。我国自 2001 年在海南发现该线虫以来^[7],广东、广西、福建、湖南、江西、湖北、江苏、浙江、河南等地陆续发现该线虫的分布,且发生和危害面积逐年增加,危害日益严重^[8-10]。在如此广泛的地理分布空间,拟禾本科根结线虫作为变温动物,不同地理群体对温度可能存在不同的耐受性。对温度的耐受性和适应性是生物应对气候变化并在环境温度变化的条件下生存所必须具备的能力^[11]。同时温度胁迫也是种群适应性反应的进化动力,物种对不同温度胁迫的适应必然会导致种的分化^[12]。

已有的根结线虫对温度的适应性研究表明,不同地理区域的根结线虫对冷冻具有不同的耐受性:北方根结线虫 *M. hapla* 对低温具有较高的耐受性,主要分布于北方寒冷和南部高海拔地区^[13-14];爪哇根结线虫 *M. javanica* 耐寒性较差,南方根结线虫 *M. incognita* 的耐寒性则介于两种线虫之间^[15]。由于阳光温室设施在我国北方的普及,爪哇根结线虫和南方根结线虫在我国南、北方均有分布。北方根结线虫^[16]、松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus*^[17]、海滨斯氏线虫 *Steinernema litorale*^[18] 以及秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 均可通过冷驯化提高对寒冷的耐受性来提高生存率。有关拟禾本科根结线虫对温度胁迫的耐受性目前尚无相关报道。已知拟禾本科根结线虫的生活史相对较短,受环境温度的影响,不同地理群体的生活史有差异。如孟加拉国的拟禾本科根结线虫在 22~29℃ 下完成生活史需 19 d^[19],美国群体在 26℃ 下完成生活史需要 23~27 d^[20],我国福建政和群体在夏季 26~37℃ 下完成生活史最短只需要 18 d^[8]。据报道拟禾本科根结线虫原仅分布在我国南方沿海一带,现已在长江以北的河南新乡等多地发现其发生和危害^[21-22],意味着拟禾本科根结线虫可能已经对长江

以北冬季较低的温度产生了适应,适生区逐渐往北扩展。我国不同纬度的拟禾本科根结线虫对温度的耐受性是否存在差异以及是否可通过冷驯化来适应寒冷的环境目前均还未明确。为此,本试验采集了河南新乡、湖南平江、湖南益阳、湖南望城、广西融安、广西临桂、广东湛江、海南临高等 8 个不同纬度的拟禾本科根结线虫地理群体,在室内研究了不同地理群体 2 龄幼虫和卵对温度的反应以及冷驯化对不同地理来源线虫耐寒性的影响,旨在为全球变暖趋势下该线虫病害发生的预测预报、地理群体扩张以及合理防治策略的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

本试验所用的虫源分别于 2020 年 6 月—9 月采自河南新乡(35°27'N, 113°46'E)、湖南平江(28°34'N, 113°39'E)、湖南望城(28°15'N, 112°48'E)、湖南益阳(28°37'N, 112°27'E)、广西融安(25°14'N, 109°23'E)、广西临桂(25°20'N, 110°03'E)、广东湛江(21°17'N, 110°19'E)和海南临高(19°41'N, 109°41'E)的水稻田,寄主为水稻。将具有典型危害状的水稻根系带回实验室后用自来水冲洗干净,并在体视显微镜下剖开根结,收集卵囊,置于无菌清水中 30℃ 黑暗条件下让其孵化,将孵化的 2 龄幼虫接种至种植于 Pluronic gel F-127(Sigma)^[23] 的 4 叶期水稻根系,置于 30℃ 人工气候箱内培养,光周期 L//D=16 h//8 h。接种 20 d 后收集根结内卵囊并进行孵化,每天收集初孵的 2 龄幼虫。取 F₁~F₃ 代的卵囊和初孵的 2 龄幼虫用于试验。对各地收集的 2 龄幼虫采用特异性引物 Mg-F3(5'-TTATCGCATCATT TTTATTG-3')和 Mg-R2(5'-CGCTTTGTTAGAAAATGACCCT-3')进行 PCR 分子鉴定^[24],确定供试的各地线虫均为拟禾本科根结线虫。

1.2 方法

1.2.1 线虫卵粒和 2 龄幼虫悬浮液的制备

卵粒悬浮液:将接种 20 d 的水稻根结剪下并破开,得到新鲜的卵粒悬浮液,于显微镜下计数,稀释至 1 000 粒/mL。

2 龄幼虫悬浮液:将不同地理种群的新鲜卵粒

在 30℃ 黑暗条件下孵化,每天收集获得初孵 2 龄幼虫,于显微镜下计数,稀释至 1 000 条/mL。

1.2.2 温度对不同地理来源拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫存活的影响

将不同地理来源的拟禾本科根结线虫的初孵 2 龄幼虫悬浮液分别置于控温冰箱(青岛海尔股份有限公司,BCD-328WDGF)0、4℃ 低温环境中保存 1、3、5、7、10 d,处理结束后,将线虫转移至 30℃ 黑暗条件下放置 24 h,使其恢复活性,观察线虫死亡情况。同时将未经低温处理的 2 龄幼虫直接置于 30℃ 黑暗条件下观察其死亡情况。分别统计各处理温度下线虫的死亡数,计算其死亡率。每处理时间设置 5 个重复。线虫存活判断标准:用移液枪吸打数次,经物理刺激后,在显微镜下观察,能进行较强的卷曲和伸展运动的、头部有轻微卷曲,或尾部微弱摆动的线虫均判为存活线虫,不动的线虫判为死亡线虫。

死亡率 = 死亡 2 龄幼虫数 / 总 2 龄幼虫数 × 100%。

1.2.3 温度对不同地理来源拟禾本科根结线虫卵粒孵化的影响

将不同地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒悬浮液,置于冰箱 0、4℃ 低温环境和 37℃ 恒温培养箱中分别保存 0、1、3、5、7、10 d。处理结束后,将线虫卵粒转移至 30℃ 恒温培养箱黑暗条件下孵化,记录统计 20 d 的孵化线虫数和未孵化卵粒数,计算卵粒孵化率。每处理设置 5 个重复,试验重复 3 次。

孵化率 = 孵化的 2 龄幼虫数 / 总卵粒数 × 100%。

1.2.4 低温预处理对线虫低温适应性的影响

取 100 μL 孵化 5 d 的 2 龄幼虫悬浮液于 12 孔

板,置于 4℃ 低温处理 5 d,再转置于 0℃ 处理 5 d,设为 4℃ 预处理组。未经 4℃ 低温预处理的线虫悬浮液 30℃ 下放置 5 d 后转入 12 孔板,置于 0℃ 条件下进行低温处理 5 d,为对照组。0℃ 低温处理结束后,将线虫转移至 30℃ 黑暗条件下 24 h,使其恢复活力,随后观察线虫情况,统计线虫的存活数,计算其存活率。每个处理设 5 个重复。

存活率 = 存活的 2 龄幼虫数 / 总 2 龄幼虫数 × 100%。

1.3 数据分析

运用 SPSS 20.0 软件对所有数据进行统计分析,采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 温度对不同地理来源的拟禾本科根结线虫初孵 2 龄幼虫存活的影响

由表 1 可知,不同地理来源的拟禾本科根结线虫初孵 2 龄幼虫在 30℃ 下保存均表现出随保存时间的延长死亡率逐渐增加的趋势,但保存 10 d 的死亡率均低于 20%。其中保存 5 d 时,河南新乡、湖南平江、湖南望城、湖南益阳、广西融安群体的死亡率均超过 10%,广东湛江、海南临高群体的死亡率最低,为 1.7%;保存 7 d,海南临高群体的死亡率最低,为 5.6%,显著低于除广东湛江外的其他群体(P<0.05);保存 10 d,临桂和临高种群死亡率最低,分别为 15.0%和 15.1%,显著低于其他群体(P<0.05)。由此可知,纬度较低的海南临高群体较其他纬度较高的地理群体在 30℃ 下具有较高的存活率。

表 1 不同地理来源拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫在 30℃ 下保存不同时间后的死亡率¹⁾

Table 1 Mortalities of *Meloidogyne graminicola* J₂ from different geographical populations after storage at 30℃ for different time

地理群体 Geographical population	死亡率/% Mortality				
	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡 Xinxiang, Henan	(0.6±0.3)b	(4.3±2.1)b	(12.5±4.8)a	(14.7±2.7)ab	(19.0±1.6)a
湖南平江 Pingjiang, Hunan	(0.5±0.2)b	(5.2±2.9)b	(14.6±0.6)a	(16.9±4.0)ab	(17.8±2.2)a
湖南望城 Wangcheng, Hunan	(1.7±0.7)a	(8.5±1.5)a	(16.6±3.1)a	(18.2±1.9)a	(18.9±1.2)a
湖南益阳 Yiyang, Hunan	(0.0±0.0)b	(6.1±1.8)ab	(13.5±2.6)a	(14.8±3.1)ab	(19.3±0.8)a
广西融安 Rongan, Guangxi	(0.0±0.0)b	(2.4±1.3)b	(15.7±0.4)a	(16.1±2.3)a	(18.0±1.2)a
广西临桂 Lingui, Guangxi	(0.0±0.0)b	(1.8±1.2)b	(7.7±1.4)a	(12.6±2.2)ab	(15.0±2.0)b
广东湛江 Zhanjiang, Guangdong	(0.0±0.0)b	(0.0±0.0)b	(1.7±1.2)b	(10.7±2.4)bc	(18.1±2.2)a
海南临高 Lingao, Hainan	(0.0±0.0)b	(2.4±1.4)b	(1.7±2.5)b	(5.6±1.2)c	(15.1±2.2)b

1) 数据为平均值±标准误。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验存在显著差异(P<0.05)。下同。

The data are mean±standard errors. Different letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level by Duncan's new multiple range test. The same applies below.

由表 2 可知,不同地理来源的拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫对 0℃ 低温的耐受性较差,随保存时间的增加均表现出死亡率增加较快、死亡率较高的特点。0℃ 下保存 3 d 后,各地理群体 2 龄幼虫的死亡率均在 20% 以上,其中广西临桂、广东湛江、海南临高群体的死亡率均高于 60%,河南新乡群体的死亡率最低,为 24.5%;保存 5、7、10 d 后,新乡群体的死亡率仍然最低,分别为 59.9%、75.4% 和 84.2%,融安、临桂、湛江和临高群体的死亡率则明显高于湖南 3 地群体的死亡率。结果表明,纬度较高的河南新乡群体 2 龄幼虫对 0℃ 的耐受性最强,湖南平江、望城、益阳 3 地群体的次之,低

纬度的融安、临桂、湛江、临高群体 2 龄幼虫对 0℃ 的耐受性较差。

由表 3 可知,不同地理来源的拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫在 4℃ 下随保存时间的增加也均表现出死亡率增加较快、死亡率较高的特点,且纬度最高的小乡群体对 4℃ 的耐受性最强,其保存 7 d 和 10 d 后的死亡率最低,分别为 56.1% 和 65.3%,临高群体的死亡率分别为 98.2%、100%,均显著高于其他地理种群 ($P < 0.05$)。上述结果表明,纬度较高的河南新乡的 2 龄幼虫同样对 4℃ 的耐受性最强,较低纬度的海南临高群体的 2 龄幼虫对 4℃ 的耐受性最差。

表 2 不同地理来源的拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫在 0℃ 下保存不同时间后的死亡率

Table 2 Mortalities of *Meloidogyne graminicola* J₂ from different geographical populations after storage at 0℃ for different time

地理群体 Geographical population	死亡率/% Mortality				
	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡 Xinxiang, Henan	(2.4±1.1)b	(24.5±0.9)c	(59.9±1.7)c	(75.4±3.8)c	(84.2±2.0)c
湖南平江 Pingjiang, Hunan	(2.7±0.7)b	(46.4±0.9)b	(76.3±9.8)b	(83.9±1.9)b	(93.1±0.7)ab
湖南望城 Wangcheng, Hunan	(6.3±2.1)b	(37.6±4.0)bc	(79.9±6.2)b	(84.2±4.0)b	(95.4±1.0)b
湖南益阳 Yiyang, Hunan	(4.3±2.1)ab	(28.8±7.9)c	(79.3±9.9)b	(87.0±4.8)b	(92.3±1.3)b
广西融安 Rongan, Guangxi	(8.6±3.1)a	(47.9±2.1)b	(94.1±4.3)a	(98.9±1.4)a	(100±0.0)a
广西临桂 Lingui, Guangxi	(2.0±1.5)b	(64.5±9.8)a	(93.9±5.4)a	(98.9±1.5)a	(100±0.0)a
广东湛江 Zhanjiang, Guangdong	(3.9±1.3)ab	(72.9±6.2)a	(88.5±3.7)a	(94.9±0.9)a	(100±0.0)a
海南临高 Lingao, Hainan	(3.4±1.3)ab	(75.6±6.2)a	(94.7±4.2)a	(99.3±1.2)a	(100±0.0)a

表 3 不同地理来源的拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫在 4℃ 下保存不同时间后的死亡率

Table 3 Mortalities of *Meloidogyne graminicola* J₂ from different geographical populations after storage at 4℃ for different time

地理群体 Geographical population	死亡率/% Mortality				
	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡 Xinxiang, Henan	(5.7±2.0)c	(16.6±6.1)c	(45.6±9.1)bc	(56.1±3.3)d	(65.3±1.0)d
湖南平江 Pingjiang, Hunan	(3.5±1.1)c	(18.8±8.9)c	(34.2±3.8)c	(65.3±1.7)c	(74.6±6.7)c
湖南望城 Wangcheng, Hunan	(10.6±3.0)b	(31.7±3.0)b	(48.5±8.1)bc	(73.7±0.8)b	(77.0±2.1)c
湖南益阳 Yiyang, Hunan	(1.5±2.2)c	(18.5±5.1)c	(42.1±7.4)bc	(64.0±2.8)c	(77.8±4.8)c
广西融安 Rongan, Guangxi	(8.7±3.7)b	(16.7±7.9)c	(66.1±4.3)a	(73.0±5.3)b	(85.9±2.2)b
广西临桂 Lingui, Guangxi	(2.1±1.5)c	(20.0±3.1)c	(52.7±3.4)b	(68.6±3.3)c	(82.2±3.5)b
广东湛江 Zhanjiang, Guangdong	(1.0±1.5)c	(15.5±1.1)c	(41.3±2.3)bc	(78.2±0.5)b	(80.9±0.7)b
海南临高 Lingao, Hainan	(15.1±3.8)a	(79.1±6.5)a	(83.0±1.2)a	(98.2±1.5)a	(100±0.0)a

2.2 温度对不同地理来源拟禾本科根结线虫卵粒孵化的影响

由表 4 可知,各地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒在 0℃ 下保存不同时间后,其孵化率均受到不同程度地影响,明显低于未经低温保存在 30℃ 下的孵化率,且随着 0℃ 保存时间的延长其孵化率表现出下降的趋势。其中海南临高和广东湛江群体卵的孵化率受 0℃ 低温抑制最显著,保存在 0℃ 下 1 d 的卵孵化率分别为 18.5% 和 26.8%,保存 5 d 其孵化

率分别为 2.8% 和 4.1%,保存 10 d 后则无孵化。0℃ 低温对广西融安和临桂群体卵孵化的影响次之,其卵粒在 0℃ 下保存 5 d 的孵化率分别为 25.7% 和 28.8%,保存 10 d 的孵化率分别为 15.4% 和 24.7%,均低于湖南平江、望城、益阳和河南新乡群体。上述结果表明,0℃ 低温对低纬度的海南临高和广东湛江群体卵的孵化影响大,对广西融安和临桂群体的影响次之,湖南平江、望城、益阳和河南新乡群体的卵受 0℃ 低温的影响较小,孵化率较高。

表 4 不同地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒在 0℃ 下保存不同时间后的孵化率

Table 4 Hatching percentages of *Meloidogyne graminicola* eggs from different geographical populations after storage at 0℃ for different time

地理群体 Geographical population		孵化率/% Hatching rate					
		0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡	Xinxiang, Henan	(63.2±5.6)d	(47.4±4.7)c	(46.3±2.6)a	(45.4±4.5)b	(46.3±8.0)a	(46.2±0.7)a
湖南平江	Pingjiang, Hunan	(81.1±3.4)ab	(75.4±1.3)a	(62.2±9.2)b	(61.0±6.0)a	(43.9±7.3)ab	(37.8±5.8)bc
湖南望城	Wangcheng, Hunan	(68.6±7.0)cd	(47.2±3.5)c	(44.7±6.9)c	(41.0±5.6)b	(28.4±2.5)c	(31.6±3.2)cd
湖南益阳	Yiyang, Hunan	(86.5±2.1)a	(75.0±2.3)a	(61.3±7.2)b	(51.2±5.8)b	(50.3±3.9)a	(41.6±4.4)ab
广西融安	Rongan, Guangxi	(85.9±2.0)a	(62.1±1.1)a	(53.0±8.5)b	(25.7±3.5)c	(22.6±9.8)c	(15.4±5.4)e
广西临桂	Lingui, Guangxi	(73.2±5.1)bc	(55.4±9.2)b	(36.5±7.6)c	(28.8±4.1)c	(32.0±5.8)bc	(24.7±4.6)de
广东湛江	Zhanjiang, Guangdong	(70.7±6.6)c	(26.8±5.2)d	(11.9±3.0)d	(4.1±1.3)d	(1.7±1.5)d	(0.0±0.0)f
海南临高	Lingao, Hainan	(66.4±3.1)cd	(18.5±1.8)d	(11.9±3.0)d	(2.8±0.6)d	(1.3±1.2)d	(0.0±0.0)f

由表 5 可知,各地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒在 4℃ 下保存不同时间后,其孵化率也受到不同程度地影响,4℃ 对各地地理群体卵孵化率的影响与 0℃ 的影响相似,但总体上对其的影响要小于 0℃。在所测试的地理群体中,4℃ 对海南临高群体卵的孵化率影响仍然较大,保存在 4℃ 下 1、5 d 和 10 d 的卵粒孵化率仅为 8.0%、6.9% 和 1.4%。4℃ 对广东湛江群体的卵孵化率影响次之,其保存在 4℃ 下 5 d 和 10 d 的卵粒孵化率为 13.9% 和 3.3%。

广西、湖南和河南群体的卵总体上对 4℃ 的耐受性要高于湛江、临高群体。

由表 6 可知,在所测试的地理群体中,海南临高群体的卵对 37℃ 的高温表现出与其他地理群体不一样的特性,其保存 7 d 和 10 d 后的孵化率分别为 72.1% 和 81.4%,高于未经高温处理在 30℃ 下的孵化率,表现出 37℃ 的高温处理可刺激其孵化的特性。而其他地理群体的卵粒经 37℃ 保存后孵化率均有不同程度的下降,其中卵粒在 37℃ 保存 10 d 后,

表 5 不同地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒在 4℃ 下保存不同时间后的孵化率

Table 5 Hatching rate of *Meloidogyne graminicola* eggs from different geographical populations after storage at 4℃ for different time

地理群体 Geographical population		孵化率/% Hatching rate					
		0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡	Xinxiang, Henan	(63.2±5.6)d	(56.8±0.8)c	(55.4±6.4)c	(46.7±2.5)b	(41.7±4.5)ab	(38.5±9.9)ab
湖南平江	Pingjiang, Hunan	(81.1±3.4)ab	(77.1±5.5)ab	(78.6±1.4)a	(73.0±4.2)a	(51.9±8.5)a	(48.7±8.4)a
湖南望城	Wangcheng, Hunan	(68.6±7.0)cd	(64.0±2.4)b	(57.2±3.4)c	(33.3±5.9)c	(24.2±6.0)cd	(17.8±3.3)c
湖南益阳	Yiyang, Hunan	(86.5±2.1)a	(73.9±3.8)ab	(71.4±3.0)b	(53.3±8.1)b	(31.3±8.6)bc	(29.3±0.5)bc
广西融安	Rongan, Guangxi	(85.9±2.0)a	(82.6±5.0)a	(78.3±4.3)a	(74.0±5.0)a	(53.9±2.9)a	(22.0±6.3)c
广西临桂	Lingui, Guangxi	(73.2±5.1)bc	(49.7±9.2)c	(41.7±3.1)c	(33.1±6.9)c	(21.5±5.9)d	(3.0±2.2)d
广东湛江	Zhanjiang, Guangdong	(70.7±6.6)c	(28.1±5.2)d	(21.2±1.5)d	(13.9±4.9)d	(3.6±0.7)e	(3.3±1.4)d
海南临高	Lingao, Hainan	(66.4±3.1)cd	(8.0±2.0)e	(7.8±1.5)e	(6.9±2.6)d	(1.5±0.6)e	(1.4±1.3)d

表 6 不同地理来源的拟禾本科根结线虫卵粒在 37℃ 下保存不同时间后的孵化率

Table 6 Hatching rate of *Meloidogyne graminicola* eggs from different geographical populations after storage at 37℃ for different time

地理群体 Geographical population		孵化率/% Hatching rate					
		0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d
河南新乡	Xinxiang, Henan	(63.2±5.6)d	(63.7±1.2)cd	(57.9±2.5)c	(42.6±7.5)c	(46.7±4.2)d	(36.7±2.6)f
湖南平江	Pingjiang, Hunan	(81.1±3.4)ab	(76.5±3.5)ab	(73.8±1.2)ab	(62.5±8.2)bc	(69.3±1.8)ab	(55.7±6.9)cd
湖南望城	Wangcheng, Hunan	(68.6±7.0)cd	(57.3±4.6)e	(44.6±9.4)d	(46.9±8.6)bc	(46.7±1.9)d	(42.9±4.9)ef
湖南益阳	Yiyang, Hunan	(86.5±2.1)a	(83.9±3.2)a	(76.4±2.7)ab	(76.9±5.0)a	(63.1±7.3)bc	(44.2±3.4)ef
广西融安	Rongan, Guangxi	(85.9±2.0)a	(83.0±3.2)a	(81.1±3.1)a	(75.1±6.6)a	(71.8±6.5)a	(68.5±1.4)b
广西临桂	Lingui, Guangxi	(73.2±5.1)bc	(70.8±2.1)bc	(65.8±3.6)bc	(68.1±7.5)ab	(61.2±4.1)bc	(58.3±1.2)cd
广东湛江	Zhanjiang, Guangdong	(70.7±6.6)c	(69.0±2.8)bc	(61.1±3.1)c	(59.0±5.6)b	(54.3±3.2)cd	(51.0±4.1)de
海南临高	Lingao, Hainan	(66.4±3.1)cd	(65.4±2.3)cd	(70.4±5.7)abc	(68.9±5.5)ab	(72.1±2.3)a	(81.4±3.6)a

广东湛江、广西融安和临桂群体的孵化率为 51.0%~68.5%，湖南平江、益阳和望城群体的孵化率为 42.9%~55.7%。河南新乡群体的卵受 37℃ 高温的影响较大，其保存 10 d 后的孵化率仅为 36.7%。

从以上试验结果还观察到，在 2 龄幼虫、卵的耐寒性和耐热性方面，相似纬度的融安和临桂群体之间以及平江、望城和益阳群体之间也存在一定的差异，但其差异明显小于纬度差异大的群体之间的变异。

2.3 低温预处理对不同地理来源的拟禾本科根结线虫低温适应性的影响

拟禾本科根结线虫可通过冷驯化提高其耐寒性。经 4℃ 低温预处理后湖南平江群体在 0℃ 下保存 5 d 的存活率最高，为 62.4%，其次是新乡、望城、益阳群体，其存活率为 47.4%~55.7%；融安、临桂、湛江、临高群体的存活率为 10.9%~17.1% (表 7)。经 4℃ 低温预处理后，低纬度海南临高、广东湛江和广西融安、临桂群体在 0℃ 下的存活率依然明显低于高纬度湖南平江、望城、益阳和河南群体的存活率，表明 4℃ 低温预处理不会改变各群体对低温耐受性的本质。湖南平江、望城、益阳群体通过低温预处理后存活率提高最明显。

表 7 不同地理来源拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫经 4℃ 低温预处理 5 d 后在 0℃ 下保存 5 d 的存活率

Table 7 Survival rates of *Meloidogyne graminicola* J₂ from different geographical populations stored at 0℃ for five days after pre-treatment at 4℃ for five days

地理群体 Geographical population	存活率/% Survival rate	
	低温预处理 Cold acclimation	对照 Control
河南新乡 Xinxiang, Henan	(55.7±1.7)b	(47.1±3.0)a
湖南平江 Pingjiang, Hunan	(62.4±9.7)a	(15.8±2.1)bc
湖南望城 Wangcheng, Hunan	(50.6±6.2)b	(16.1±1.2)bc
湖南益阳 Yiyang, Hunan	(47.4±7.9)b	(26.3±4.4)b
广西融安 Rongan, Guangxi	(14.3±1.8)c	(7.6±0.8)c
广西临桂 Lingui, Guangxi	(17.1±3.5)c	(7.1±1.7)c
广东湛江 Zhanjiang, Guangdong	(15.5±2.4)c	(8.2±0.6)c
海南临高 Lingao, Hainan	(10.9±2.8)c	(5.9±2.1)c

3 结论与讨论

本试验结果表明，不同地理来源的拟禾本科根结线虫对温度的耐受性存在差异。从 2 龄幼虫的耐寒性来看，高纬度(35°N)的河南新乡群体的 2 龄幼

虫对 0℃ 低温的耐受力最强，湖南平江、望城、益阳 3 地(28°N)的群体次之，较低纬度的广西融安、临桂(25°N)群体，广东湛江(21°N)、海南临高(19°N)群体的 2 龄幼虫对 0℃ 的耐受性较差，存活率最低；从卵的耐寒性来看，不同地理群体卵的耐寒性表现出与 2 龄幼虫的耐寒性同样的趋势，低纬度临高、湛江群体的卵对 0℃ 和 4℃ 的耐寒性明显低于其他地理群体；从耐热性来看，低纬度海南临高群体更耐热。这种海南群体的耐热性较强而耐寒性较差的现象和耐寒性与耐热性存在均衡的假说相符^[25]，也即当线虫获得耐热性时，其耐寒性会因此丧失^[26]。但同时本试验也发现，纬度较高具有较高耐寒性的湖南平江、望城、益阳群体的卵粒在 37℃ 下保存 10 d 后仍然有 40% 以上的孵化率，经低温处理后 2 龄幼虫的存活率和卵的孵化率均高于低纬度的广西、广东和海南群体，且经低温预处理后其存活率要明显高于低纬度的临高、湛江、融安和临桂群体，表明湖南群体对温度的耐受范围及适应性比低纬度的海南群体要宽且可塑性强，同时也说明了不同地理群体的拟禾本科根结线虫在耐寒性和耐热性的均衡上同样也存在差异，与其他无脊椎动物相似，其耐寒性和耐热性也可相互独立^[27]。研究表明，纬度高的生物种群通常比纬度低的种群更耐寒，这是生物通过进化途径或自然选择获得的对当地环境压力的适应性，且对温度胁迫具有遗传适应性^[28-30]。本研究发现地处温带的湖南、河南，年均温度低于海南，来源于湖南、河南的线虫的低温存活率要高于海南，其机制除了通过阶段降温和冷驯化促进耐冷冻相关物质的生物合成提高了生物的耐寒性^[31-33]外，其耐寒性、耐热性的差异也可能是因为不同地理群体的分化而形成了不同的生物型。

随着全球气候变暖加剧，中国 35°N 以南的南方地区冬季整体呈升温趋势^[34]。冬季气温的升高可增加冬季拟禾本科根结线虫 2 龄幼虫和卵在土壤中的存活率，影响春季土壤中的虫口基数和危害程度。同时，在全球变暖背景下，中国冬季极端冷暖事件明显增多^[35-36]，夏季南方双季稻区极端高温的发生频率呈明显增加趋势，且高温持续时间有所延长^[37-38]。拟禾本科根结线虫作为变温动物，生活在寄主的根系及根际土壤，与其他线虫一样易受土壤温度波动的影响，其对极端温度的耐受性和对温度适应的可

塑性对其生存至关重要。湖南群体对温度具有的耐受性和可塑性的特点可能是近年来拟禾本科根结线虫在湖南各地蔓延的原因之一。

河南新乡是目前发现有拟禾本科根结线虫危害纬度最高的地区^[22]。该地区1月最冷,平均气温0.2℃,极端最低气温为-9.65℃,冬季0~20 cm的平均地温在2.4℃至4.4℃之间。冬季新乡稻田土壤含水量少且干燥,与南方稻田土壤环境有较大的差异。本研究发现,新乡群体的2龄幼虫和卵较其他低纬度的群体具有较高的耐寒性,并且2龄幼虫可通过低温驯化获得更高的耐寒性。该线虫能在新乡越冬,与其耐寒及耐冻有关。拟禾本科线虫采用避免冷冻、耐冻以及低温保护脱水三种策略^[39-40]中的哪些策略来获得对低温冰冻的抗性,则有待进一步研究。

参考文献

- [1] PLOWRIGHT R, BRIDGE J. Effect of *Meloidogyne graminicola* (Nematoda) on the establishment, growth and yield of rice cv Ir36 [J]. *Nematologica*, 1990, 36: 81-89.
- [2] PADGHAM J L, DUXBURY J M, MAZID A M, et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh [J]. *The Journal of Nematology*, 2004, 36: 42-48.
- [3] WAELE D D, DAS K, ZHAO D, et al. Host response of rice genotypes to the root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) under aerobic soil conditions [J]. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2013, 46(6): 670-681.
- [4] WIN P P, DE WAELE D, KYI P P, et al. Effect of different water regimes on nematode reproduction, root galling, plant growth and yield of lowland and upland Asian rice varieties grown in two soil types infested by the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* [J]. *Russian Journal of Nematology*, 2015, 3: 99-112.
- [5] CHAPUIS E, BESNARD G, ANDRIANASETRA S, et al. First report of the root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) in Madagascar rice fields [J/OL]. *Australasian Plant Disease Notes*, 2016, 11: 32. DOI: 10.1007/s13314-016-0222-5.
- [6] FANELLI E, COTRONEO A, CARISIO L, et al. Detection and molecular characterization of the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in Italy [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2017, 149: 467-476.
- [7] 赵洪海, 刘维志, 梁晨, 等. 根结线虫在中国的一新纪录种——拟禾本科根结线虫 *Meloidogyne graminicola* [J]. *植物病理学报*, 2001(2): 184-188.
- [8] 刘国坤, 王玉, 肖顺, 等. 水稻根结线虫病的病原鉴定及其侵染源的研究[J]. *中国水稻科学*, 2011, 25(4): 420-426.
- [9] 叶梦斐, 孙晓棠, 张磊, 等. 江西水稻根结线虫病的发生及鉴定[J]. *生物灾害科学*, 2018, 41(1): 52-54.
- [10] 杜树勋. 早稻秧田稻根结线虫病的发生调查初报[J]. *广西植保*, 2003, 16(1): 3-4.
- [11] OKAHATA M, OHTA A, MIZUTANI H, et al. Natural variations of cold tolerance and temperature acclimation in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2016, 186(8): 985-998.
- [12] SRENSSEN J G, KRISTENSEN T N, LOESCHCKE V. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins [J]. *Ecology Letters*, 2003, 6(11): 1025-1037.
- [13] WU Xiaojing, ZHU Xiaofeng, WANG Yuanyuan, et al. The cold tolerance of the northern root-knot nematode, *Meloidogyne hapla* [J/OL]. *PLoS ONE*, 2018, 13(1): e0190531. DOI: 10.1371/journal.pone.0190531.
- [14] WHITEHEAD A G. The distribution of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in tropical Africa [J]. *Nematologica*, 1969, 15(3): 315-333.
- [15] TAYLOR A L, SASSERJ N, NELSON L A. Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of *Meloidogyne* species in agricultural soils [M]. North Carolina: North Carolina State University Graphics Raleigh, 1982: 35-42.
- [16] FORGE T A, MACGUIDWIN A E. Impact of thermal history on tolerance of *Meloidogyne hapla* second-stage juveniles to external freezing [J]. *The Journal of Nematology*, 1992, 24(2): 262-268.
- [17] LIU Zhenkai, LI Yongxia, PAN Long, et al. Cold adaptive potential of pine wood nematodes overwintering in plant hosts [J/OL]. *Biology Open*, 2019, 8(5): bio041616. DOI: 10.1242/bio.041616.
- [18] 张旭霞, 韩岚岚, 赵奎军, 等. 低温驯化对海滨斯氏线虫生化物质含量及其生生活力的影响[J]. *应用昆虫学报*, 2018, 55(4): 679-685.
- [19] BRIDGE J, PAGE S L J. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*, on deep water rice (*Oryza sativa* subsp. *indica*) [J]. *Revue de Nématologie*, 1982, 5(2): 225-232.
- [20] YIK C P, BIRCHFIELD W. Host studies and reactions of rice cultivars to *Meloidogyne graminicola* [J]. *Phytopathology*, 1979, 69(5): 497-499.
- [21] 黄文坤, 向超, 刘莹, 等. 水稻拟禾本科根结线虫发生与防治[J]. *植物病理学报*, 2018, 48(3): 289-296.
- [22] LIU Maoyan, LIU Jing, HUANG Wenkun, et al. First report of *Meloidogyne graminicola* on rice in Henan province, China [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(10): 3308.
- [23] WANG C L, LOWER S, WILLIAMSON V M. Application of Pluronic gel to the study of root-knot nematode behaviour [J]. *Nematology*, 2009, 11(3): 453-464.
- [24] HTAY C C, PENG Huan, HUANG Wenkun, et al. The development and molecular characterization of a rapid detection

- method for rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2016, 146(2): 281–291.
- [25] ANDERSON A R, COLLINGE J E, HOFFMANN A A, et al. Thermal tolerance trade-offs associated with the right arm of chromosome 3 and marked by the *hsv-omega* gene in *Drosophila melanogaster* [J]. *Heredity*, 2003, 90(2): 195–202.
- [26] STRATMAN R, MARKOW T A. Resistance to thermal stress in desert *Drosophila* [J]. *Functional Ecology*, 1998, 12(6): 965–970.
- [27] HOFFMANN A A, HALLAS R, SINCLAIR C, et al. Rapid loss of stress resistance in *Drosophila melanogaster* under adaptation to laboratory culture [J]. *Evolution*, 2001, 55(2): 436–438.
- [28] DAVID J R, GIBERT P, MORETEAU B, et al. The fly that came in from the cold: geographic variation of recovery time from low-temperature exposure in *Drosophila subobscura* [J]. *Functional Ecology*, 2003, 17(4): 425–430.
- [29] AYRINHAC A, DEBAT V, GIBERT P, et al. Cold adaptation in geographical populations of *Drosophila melanogaster*: phenotypic plasticity is more important than genetic variability [J]. *Functional Ecology*, 2004, 18(5): 700–706.
- [30] 陈兵, 康乐. 昆虫对环境温度胁迫的适应与种群分化[J]. *自然科学进展*, 2005(3): 11–17.
- [31] MCGAUGHRAN A, SOMMER R J. Natural variation in cold tolerance in the nematode *Pristionchus pacificus*: the role of genotype and environment [J]. *Biology Open*, 2014, 3(9): 832–838.
- [32] FORGE T A, MACGUIDWIN A E. Impact of thermal history on tolerance of *Meloidogyne hapla* second-stage juveniles to external freezing [J]. *Journal of Nematology*, 1992, 24(2): 262–268.
- [33] SINCLAIR B J. Field ecology of freeze tolerance: interannual variation in cooling rates, freeze-thaw and thermal stress in the microhabitat of the alpine cockroach *Celatoblatta quinquemaculata* [J]. *Oikos*, 2001, 93: 286–293.
- [34] 曾波, 闫彩霞, 余莲. 我国南方地区 1960–2009 年冬季气温分析[J]. *高原山地气象研究*, 2016, 36(2): 46–52.
- [35] 黄琰, 封国林, 董文杰. 近 50 年中国气温、降水极值分区的时空变化特征[J]. *气象学报*, 2011, 69(1): 125–136.
- [36] 孙建奇, 敖娟. 中国冬季降水和极端降水对变暖的响应[J]. *科学通报*, 2013, 58(8): 674–679.
- [37] TAO Fulu, ZHANG Zhao, SHI Wenjiao, et al. Single rice growth period was prolonged by cultivars shifts, but yield was damaged by climate change during 1981–2009 in China, and late rice was just opposite [J]. *Global Chang Biology*, 2013, 19(10): 3200–3209.
- [38] ZHANG Lei, YANG Bingyun, LI Sen, et al. Potential rice exposure to heat stress along the Yangtze River in China under RCP8.5 scenario [J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2018, 248: 185–196.
- [39] WHARTON D A. Cold tolerance strategies in nematodes [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 1995, 70: 161–185.
- [40] WHARTON D A. The environmental physiology of Antarctic terrestrial nematodes: a review [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2003, 173(8): 621–628.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 59 页)

参考文献

- [1] 黄冲, 姜玉英, 李春广. 1988 年—2018 年我国小麦主要病虫害发生危害及演变分析[J]. *植物保护*, 2020, 46(6): 186–193.
- [2] 刘孝坤. 我国小麦白粉病研究的进展[J]. *农牧情报研究*, 1989(8): 1–10.
- [3] 姜玉英, 曾娟. 小麦病虫害草害发生与监控[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [4] 曾士迈. 植物病害流行病学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1986.
- [5] 刘万才, 邵振润. 我国小麦白粉病的发生状况、原因及趋势浅析[M]//刘万才. 小麦白粉病测报与防治技术研究. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [6] 王海燕. 河南小麦白粉病逐年春季流行时间动态[J]. *植物保护学报*, 2000, 27(3): 238–242.
- [7] 刘娜. 四川省小麦白粉病的流行研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2013.
- [8] 李光博, 曾士迈, 李振岐. 小麦病虫害草鼠害综合治理[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1990.
- [9] 曾士迈. 植保系统工程导论[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994.
- [10] 刘万才, 邵振润, 姜瑞中. 小麦白粉病测报与防治技术研究总结报告[M]//刘万才. 小麦白粉病测报与防治技术研究. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [11] 曹克强, 王革新, 李双悦, 等. 小麦白粉病中期预测模型的建立[J]. *河北农业大学学报*, 1994, 17(1): 57–61.
- [12] 邵振润, 刘万才, 姜瑞中, 等. 豫北麦区小麦白粉病中期测报技术研究[J]. *植物保护*, 1996, 22(6): 11–14.
- [13] 刘梅, 阿不都热依木·吾斯曼. 新疆泽普县小麦病虫害无人机飞防技术[J]. *农业工程技术*, 2020, 40(32): 33.
- [14] 朱光辉. 喀什泽普县红枣间作模式的经济效益分析[J]. *中国农村市场*, 2014(34): 115–116.
- [15] 盛宝钦, 段霞瑜. 对记载小麦成株白粉病“0~9 级法”的改进[J]. *北京农业科学*, 1991(1): 38–39.

(责任编辑: 杨明丽)