

# 不同大豆品种根系对大豆胞囊线虫趋化性的影响

王 雪,段玉玺,陈立杰,王媛媛

(沈阳农业大学,中国北方植物线虫研究所,辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**以 4 种不同抗性大豆品种为试材,研究了离体大豆胞囊线虫二龄幼虫对不同抗性大豆品种幼根和不同时期根系分泌物的趋化性。结果表明:在不同抗性不同苗龄大豆根系分泌物作用下,二龄幼虫在根系分泌物周围 0 ~ 1 cm 区间内的分布存在明显差异。感病品种辽豆 10 在根系分泌物周围 0 ~ 1 cm 区间内的平均分布率最高,达到 12.21%,最高峰出现在 6 d 苗龄。而灰皮支黑豆等抗病品种对二龄幼虫的吸引高峰均出现在大豆出苗 18 d 后。研究二龄幼虫对离体幼根的趋性时发现,感病品种辽豆 10 的幼根对大豆胞囊线虫的二龄幼虫具有强烈的吸引力,而抗病品种灰皮支黑豆的幼根对大豆胞囊线虫的二龄幼虫具有排斥作用。

**关键词:**大豆;根系分泌物;大豆胞囊线虫;趋化性

**中图分类号:**S435.6      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-9841(2008)06-1015-04

## Effects of Root from Different Soybean Cultivars on the Affinity Between Soybean Cyst Nematode and Soybean Root

WANG Xue, DUAN Yu-xi, CHEN Li-jie, WANG Yuan-yuan

(Shenyang Agricultural University, Nematology Institute of Northern China, Shenyang 110161, Liaoning, China)

**Abstract:** Soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) is one of the most important pests affecting soybean production, and the main preventing and controlling methods depend on the application of resistant variety. Four kinds of soybean with different degree of resistance to soybean cyst nematode were selected as test material. The affinity of *in vitro* second stage juveniles ( $J_2$ ) of SCN to different young root and root exudation was studied. Results indicated that the distribution rate of  $J_2$  acting under root exudates of different soybean cultivar's young root and different time, had significant differences in the range of 0 ~ 1 cm. In this interval, the average distribution rate of susceptible variety Liaodou 10 was highest. The distribution rate reached 12.21%, at the sixth day reached the highest. However, the peaks of resistant cultivars including Huipizhi black soybean were detected after 18 days of seedling. Further work showed that the *in vitro* young root of Liaodou 10 had great attraction to the  $J_2$  of SCN, while the effect in resistant cultivars was just contrary.

**Key words:** Soybean; Root exudation; Soybean cyst nematode; Affinity

大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines* Ichinohe) 病是大豆生产中流行性、毁灭性的病害之一,在美国中北部地区每年因大豆胞囊线虫危害造成的经济损失达 2 亿美元<sup>[1]</sup>。该病害是一种典型的土传病害,由大豆胞囊线虫感染形成的伤口可为其它病原菌的侵入提供便利条件,引起其它根部病害,造成复合侵染,给大豆生产造成极大的损失。利用抗病品种是防治该病的主要途径,目前生产上可利用的丰产抗病品种很少。而弄清大豆对大豆胞囊线虫的抗病机制,将为该病的抗病育种和防治工作提供理论依据。

根系分泌物是指植物根系释放到周围环境中的各种物质<sup>[2]</sup>。自 1795 年 Plenck 首次发现植物能通过根系向外分泌一些物质后,根系分泌物与植物营养、农业生态环境之间的关系,成为人们研究的热点。研究表明,根系分泌物中的可溶性和高扩散性成分,如氨基酸(脂肪族和芳香族)及它们的衍生物和可溶性糖、蛋白质及几种其他离子都与植物抗性有关。由于大豆胞囊线虫从寄主根部侵入,线虫卵的孵化又受到根系分泌物等诸多因素的影响<sup>[3-5]</sup>,因此根系分泌物在抗病中的作用就显得十分重要。

收稿日期:2008-04-24

基金项目:农业部现代农业技术体系资助项目(413010211-1101-01031908002)。

作者简介:王雪(1981-),女,博士,从事大豆胞囊线虫抗性研究。E-mail: wangxue813@126.com。

通讯作者:段玉玺,教授,博士生导师。E-mail: duanyx6407@163.com。

到目前为止,有关根系分泌物对线虫的吸引和排斥作用方面的研究报道较少。研究主要探讨了不同抗性大豆品种根系分泌物及其离体幼根对大豆胞囊线虫二龄幼虫趋性的影响,探讨其与大豆胞囊线虫的抗性关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试大豆品种 感病品种:辽豆 10;抗病品种:灰皮支黑豆、哈尔滨小黑豆、小粒黑豆ZDD1412。  
1.1.2 供试线虫 大豆胞囊线虫 3 号生理小种,采自沈阳农业大学试验地。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆根及根系分泌物的制备 于感染大豆胞囊线虫 3 号生理小种的试验田播种大豆,出苗后 6、12、18、24、30 d 分别取样。采用开放系统自然条件下获取大豆根分泌物,提取方法参照 Tefft 等<sup>[4]</sup>,略有改动。将田间取回的大豆苗,用自来水和蒸馏水冲洗干净,置于 50 mL 的大离心管中,加入蒸馏水至淹没大豆根部,记录蒸馏水体积,室温下(18 ~ 22℃)下避光培养收集 24 h,然后将大豆根部剪下,滤纸吸干,称鲜重。根系分泌物的浓度用 RGH (root-gram-hours per milliliter)表示,1 个 RGH 的值即是 1 g 根在 1 mL 蒸馏水中分泌 1h 的量。各个样品的浓度用蒸馏水调成同一浓度。将收集到的根系分泌物置于旋转蒸发仪中,在 50℃下减压浓缩到 5 mL,于 -20℃冷冻保存,备用。

1.2.2 大豆幼根的制备 用蒸馏水将大豆种子冲洗干净,于 0.05% NaClO 溶液中消毒 3 min,再用蒸馏水冲洗数次,将种子吸胀 4 h 后置于铺有蛭石的育苗盘中,25℃下催芽。待根系长约 10 cm 时,取出根,用蒸馏水冲洗干净,备用。

1.2.3 大豆胞囊线虫卵的孵化及二龄幼虫的制备 淘洗过筛法分离获得成熟、大小均一的胞囊,将胞囊在 0.05% NaClO 溶液中消毒 3 min,用无菌水反复冲洗数次后,将灭菌的胞囊放入孵化池中,在 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub> 溶液中 25℃孵化。5 d 后开始收集幼虫,制备 J<sub>2</sub>悬液。

1.2.4 滤纸片法测定大豆根系分泌物对大豆胞囊线虫二龄幼虫分布的影响 参照孙漫红等<sup>[6]</sup>方法。取无菌记数培养皿(直径 6 cm),底部刻有以 1 cm 和 2 cm 为半径的同心圆。培养皿中倒入 0.08% WA 培养基,待培养基凝固后在培养皿中心放置浸

有不同品种根系分泌物的滤纸片(0.5 cm × 0.5 cm),挑取新孵化的、活跃的二龄幼虫 30 条均匀分布在半径 2 ~ 3 cm 范围内,24 h 后检测 J<sub>2</sub>在记数培养皿中距根系分泌物不同区间范围的分布。无菌水处理作对照,3 次重复。

1.2.5 直接法测定离体幼根对大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>趋化性的影响 用培育好的大豆幼根代替滤纸片,每个皿中挑取活跃的二龄幼虫 10 条均匀分布在距幼根 1 ~ 2 cm 范围内,每一个品种的根置于一个培养皿内,24℃下,12 h 后记录大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>在平板上不同区间内的分布。

2 结果与分析

2.1 不同抗性品种根系分泌物对大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>趋化性的影响

不同时期、不同抗性品种根系分泌物作用下,大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>在 WA 平板上有不同的分布规律。虽然平板上的线虫大多集中在原始位点附近,即 2 ~ 3 cm 范围内,但在靠近中心根系分泌物附近的 0 ~ 1 cm 区间内,二龄幼虫的分布存在一定的差异性(表 1)。

大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>与浸有 6 d 苗龄大豆根系分泌物的滤纸片对峙放置 24 h 后,抗病品种与感病品种之间差异极显著。在感病品种辽豆 10 6 d 苗龄根系分泌物的作用下,二龄幼虫在 0 ~ 1 cm 区间内的分布率最高,达到 17.7%,比清水对照高出 15.2%,而在这一时期的抗病品种灰皮支黑豆和哈尔滨小黑豆根系分泌物作用下的分布率为 0。相对于感病品种而言,抗病品种对二龄幼虫的吸引高峰一般表现出苗后 18 d,这可能与不同抗性品种根系分泌物中对线虫有吸引性的物质分泌的时期、分泌的量不同有关,感病品种前期就大量分泌活性物质吸引二龄幼虫,使线虫顺利侵入寄主植物进而发育繁殖。而抗病品种需要在中后期才能够逐渐得到积累,随着根系的发育老化对线虫的侵入定殖造成影响,既而形成抗扩展抗繁殖的抗病机制。

2.2 不同抗性品种离体根对大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>趋化性的影响

将不同品种的幼根与大豆胞囊线虫 J<sub>2</sub>对峙培养,12 h 后观察记录二龄幼虫向幼根的移动(图 1)。DPS 软件统计分析表明,感病品种辽豆 10 幼根周围 0 ~ 1 cm 区间内 J<sub>2</sub>的平均分布率达到 59.9%,与其他抗性品种之间差异极显著( $P < 0.01$ ),说明感病

表 1 不同大豆品种根系分泌物对 SCN 二龄幼虫趋化性的影响

Table 1 The influence of affinity of SCN I<sub>2</sub> toward different soybean cultivars root exudates

处 理 Treatment	感染 SCN 的 6 日龄根系分泌物 6-day-old root exudates			感染 SCN 的 12 日龄根系分泌物 12-day-old root exudates			感染 SCN 的 18 日龄根系分泌物 18-day-old root exudates			感染 SCN 的 24 日龄根系分泌物 24-day-old root exudates			感染 SCN 的 30 日龄根系分泌物 30-day-old root exudates		
	0—1 cm	1—2 cm	2—3 cm	0—1 cm	1—2 cm	2—3 cm	0—1 cm	1—2 cm	2—3 cm	0—1 cm	1—2 cm	2—3 cm	0—1 cm	1—2 cm	2—3 cm
对照 CK	2.4±4.1cBC	11.1±2.8	86.5±6.9	5.4±5.1aAB	13.3±4.8	81.3±7.0	8.3±7.9aA	5.5±5.6	86.3±6.4	7.4±1.8aA	9.3±1.7	83.3±1.4	5.1±4.4bB	10.7±4.1	84.2±7.0
辽豆 10 Liaodou 10	17.7±0.9aA	14.6±4.9	70.7±3.5	8.04±2.7aA	12.4±5.3	80.0±5.0	9.7±4.0aA	24.4±3.7	65.9±2.9	10.2±2.9aA	24.0±10.1	65.8±11.1	15.4±1.2aA	12.5±7.8	72.1±6.8
哈尔滨小黑 豆 Harbinxiao- heidou 灰皮支黑豆	0±0cC	11.8±5.9	88.2±5.9	0±0bB	3.3±5.8	96.7±5.8	0±0bA	30.2±8.1	69.8±8.1	6.2±1.8aA	18.2±4.2	75.6±2.5	14.6±2.5aAB	20.5±7.8	64.9±5.4
Huipizhihei- dou	0±0cC	0±0	100±0	0±0bB	9.8±2.3	90.2±2.3	10.8±2.2aA	22.4±4.2	66.8±3.2	6.8±1.3aA	21.9±4.2	71.3±4.8	5.3±4.6bB	11.2±4.8	83.5±8.0
小粒黑豆 Xiaoliheidou	7.2±0.5bB	9.2±8.0	83.6±7.6	0±0bB	5.7±5.6	94.3±5.6	11.6±4.4aA	26.5±1.3	61.9±3.1	9.6±3.8aA	10.6±3.8	79.9±7.4	12.3±3.1aAB	11.8±6.0	75.8±6.6

表中数字后标记为 Duncan's 新复极差测验结果,不同大、小写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )和差异显著( $P<0.05$ ).  
Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's multiple range test. Capital and small letters indicate  $P<0.01$  and  $P<0.05$ , respectively.

品种辽豆 10 的幼根对 J<sub>2</sub> 有较强的吸引作用。而抗病品种灰皮支黑豆在距离幼根 2 ~ 3 cm 范围内二龄幼虫的分布率达到 66.7%, 对二龄幼虫具有极强的排斥作用。哈尔滨小黑豆和小粒黑豆对大豆胞囊线虫二龄幼虫也表现出了一定的排斥作用。

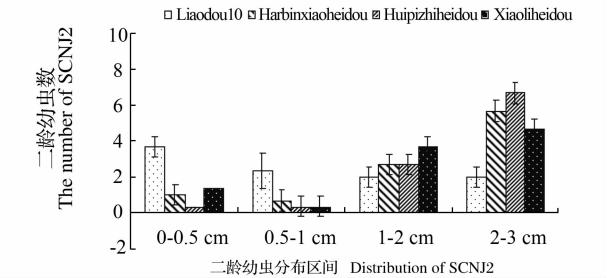


图 1 大豆幼根对大豆胞囊线虫二龄幼虫趋性的影响  
Fig. 1 Attraction of SCN J<sub>2</sub> on WA plate toward soybean young root

### 3 结论与讨论

大豆胞囊线虫与其寄主大豆在长期协同进化的过程中形成了复杂的关系<sup>[7]</sup>。线虫寄生在植物上对植物造成一定的伤害,同时寄主植物也对线虫产生了多种抗性机制的协同作用<sup>[8]</sup>。线虫卵的孵化、线虫向根部移动及取食行为可能是受寄主释放化感信息物质控制,其中根系分泌物是主要的信息物质<sup>[9]</sup>。植物根系分泌物作为寄主自身抗病性的第一阶段(侵染前阶段)起着不可忽视的作用。已有研究报道,根系分泌物与植物的抗病性密切相关。袁虹霞等<sup>[10]</sup>在不同抗性棉花品种的根系分泌物对黄萎病研究发现中发现,感病品种的根系分泌物能刺激病原菌孢子萌发,而抗病品种的根系分泌物则抑制孢子萌发。爪哇根结线虫和南方根结线虫的幼虫可被谷氨酸吸引<sup>[11]</sup>,根部氨基酸种类和含量与植物的抗病性相关<sup>[10]</sup>。从植物根系这一角度,研究了大豆与大豆胞囊线虫的相互关系。不同抗性品种的离体幼根对二龄幼虫的趋化性的影响要明显高于根系分泌物的作用。抗感品种幼根对大豆胞囊线虫的二龄幼虫存在一定的趋避作用,这可能与根系分泌的化学物质有关。不同的抗性品种不同时期的根系分泌物对二龄幼虫的趋化性影响呈现不同规律,但总体表现为感病品种在各龄期对二龄幼虫均有较强的吸引力,而抗性品种则不明显,在易于侵染的幼根期某些抗病品种甚至还对二龄幼虫表现出了一定的排斥性。随着根系分泌物中对线虫起作用的组分的

分离,根系分泌物与抗性之间的关系将为植物抗病机制的深入研究开辟新的途径。

### 参考文献

[1] Koenning S R. Density- dependent yield of *Heterodera glycines* resistant and susceptible cultivars[J]. Supplement to the Journal of Nematology, 2000, 32(4s):502-507.

[2] 黄奔立,许云东,张顺琦,等. 根系分泌物影响黄瓜枯萎病抗性的机理研究[J]. 扬州大学学报, 2007, 28(3):77-81. (Huang B L, Xu Y D, Zhang S Q, et al. The mechanisms of the effects of root exudates on the resistance to the *Fusarium* wilt of cucumber[J]. Journal of Yangzhou University( Agricultural and life science edition), 2007, 28(3):77-81. )

[3] Clark A J, Perry R N. Hatching of cyst nematodes[J]. Nematologica, 1977, 23:350-368.

[4] Tefft P M, Bone L W. Plant- induced hatching of eggs of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* [J]. Journal of Nematology, 1985, 17(3):275-279.

[5] Tefft P M, Rende J F, Bone L W. Factors influencing egg hatching of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* Race 3[J]. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 1982, 49: 258-265.

[6] 孙漫红,刘杏忠. 淡紫拟青霉发酵滤液对大豆胞囊线虫趋化性的影响[J]. 植物病理学报, 2004, 34(4):376-379. (Sun M H, Liu X Z. Effects of *Paecilomyces lilacinus* M-14 fermentation filtrate on the affinity between soybean cyst nematode and soybean root[J] Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(4):376-379. )

[7] Schmitt D P, Riggs R D. Influence of selected plant species on hatching of eggs and development of juveniles of *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1991, 23:1-6.

[8] 吴海燕,远方,陈立杰,等. 大豆胞囊线虫病与大豆抗胞囊线虫机制的研究[J]. 大豆科学, 2001, 20(4):285-289. (Wu H Y, Yuan F, Chen L J, et al. Advances in soybean cyst nematode and mechanism of soybean resistance to *Heterodera glycine*[J]. Soybean Science, 2001, 20(4):285-289. )

[9] 吴海燕,段玉玺,李秀侠,等. SCN 侵染对不同大豆品种根系氨基酸/低分子肽类分泌物的影响[J]. 植物病理学报, 2007, 37(6):616-622. (Wu H Y, Duan Y X, Li X X, et al. Amino acids/ low molecular weight peptides in root exudation of different soybean cultivars resistance to *Heterodera glycines*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2007, 37(6):616-622. )

[10] 袁虹霞,李洪连,王烨,等. 棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响[J]植物病理学报, 2002, 32(2):127-131. (Yuan H X, Li H L, Wang Y, et al. The root exudates of cotton cult-tars with the different resistance and their effects on *Verticillium dahliae*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2002, 35(2):127-131. )

[11] Bird A F. The attractiveness of roots to the plant parasitic nema-todes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla*[J]. Nematologica, 1959, 4:322-335.