

## pH 值对大豆胞囊线虫孵化影响研究

郑雅楠, 段玉玺, 孙晶双, 陈立杰

(沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:**大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)病是大豆生产中的主要病害, 孵化是其生活史中的重要环节, 为探索大豆胞囊线虫卵孵化的适宜 pH 条件, 测试了 5 种酸(硫酸、盐酸、磷酸、钼酸和乙酸), 2 种碱(氢氧化钠、氢氧化钾)在不同的 pH 条件下对大豆胞囊线虫卵孵化的影响。结果表明: 酸性处理中, pH 为 4.0、4.5、5.0 的硫酸, 5.0、5.5、6.0 的钼酸及 6.0 的磷酸对 SCN 卵的孵化表现刺激作用; 碱性处理中, pH 为 9.0 氢氧化钾和 8.0、8.5、9.0 的氢氧化钠对 SCN 卵的孵化存在刺激作用, 其余处理表现抑制作用。在刺激卵孵化的处理中, pH 为 5.0 的硫酸和 9.0 氢氧化钾校正孵化率相对较高, 分别为 51.00% 和 114.86%, 孵化持续时间分别为 14.33 和 20.00 d。因此, 最适宜大豆胞囊线虫孵化的酸性条件为 pH 5.0 的硫酸, 碱性条件为 pH 9.0 的氢氧化钾。

**关键词:**大豆胞囊线虫; pH; 孵化; 刺激; 抑制

**中图分类号:** S565.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-9841(2009)02-0275-03

## Effect of pH Values on Hatching of Soybean Cyst Nematode

ZHENG Ya-nan, DUAN Yu-xi, SUN Jing-shuang, CHEN Li-jie

(Plant Protection College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

**Abstract:** Soybean cyst nematode is one of the major diseases affecting soybean production, and hatching is an important stage in its life circle. In order to research the most suitable pH values to hatching of soybean cyst nematode, the effects of five kinds of acids and two alkalis in different pH value on eggs hatching of *Heterodera glycines* were tested in laboratory. The results showed that:  $H_2SO_4$  of pH 4.0, 4.5, 5.0,  $H_2MoO_4$  of pH 5.0, 5.5, 5.0, NaOH of pH 8.0, 8.5, 9.0, pH 6.0  $H_3PO_4$  and pH 9.0 KOH stimulated hatching of SCN, other treatments inhibited hatching of SCN. Hatching rate of pH 5.0  $H_2SO_4$  and pH 9.0 KOH treatments were higher than other treatments. Their corrected hatching rates are 51.00% and 114.86%, incubation times are 14.33 and 20.00 days respectively. Thus, pH 5.0  $H_2SO_4$  and pH 9.0 KOH are the most suitable acidic and alkaline pH values respectively.

**Key words:** *Heterodera glycines*; pH; Hatch; Stimulate; Inhibit

大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*, SCN)病害是大豆生产中重要的毁灭性病害之一。目前, 在中国、美国、加拿大、巴西等大豆主产国广泛发生, 全世界每年可减产 11%<sup>[1-2]</sup>。由于 SCN 在不同的季节存在休眠的现象<sup>[3-4]</sup>, 从 9 月份到次年 3 月份之间胞囊的孵化率较低, 给 SCN 的研究带来了很大的阻力。由于前人关于 pH 值对大豆胞囊线虫卵孵化影响的方面研究较少, 且研究结果不一致<sup>[5]</sup>。因此, 借鉴打破昆虫滞育的方法<sup>[6]</sup>, 测定了 5 种酸, 2 种碱在不同的 pH 值条件下对 SCN 卵孵化的影响, 旨在找到能够刺激 SCN 卵孵化的 pH 条件, 为在休眠期

人工打破休眠提供技术支持和理论指导。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

1.1.1 供试胞囊 大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)3 号生理小种。

1.1.2 供试药剂 硫酸( $H_2SO_4$ )、盐酸(HCl)、磷酸( $H_3PO_4$ )、钼酸( $H_2MoO_4$ )、醋酸( $C_2H_4O_2$ )、氢氧化钠(NaOH)、氢氧化钾(KOH)和硫酸锌( $ZnSO_4 \cdot 12H_2O$ ), 以上药剂均为分析纯。

收稿日期: 2008-11-03

基金项目: 现代大豆产业技术体系资助项目。

作者简介: 郑雅楠(1980-), 女, 硕士, 研究方向为植物线虫学。

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

## 1.2 方法

1.2.1 不同 pH 值条件对 SCN 卵孵化的影响 设置 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 七个酸性 pH 梯度,8.0、8.5、9.0 三个碱性 pH 梯度。同时选用 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> 硫酸锌溶液 (pH = 7) 和无菌水 (pH = 7) 为对照。每个处理 20 个胞囊,设 3 次重复。调查 J2 每日的孵化数量、孵化持续时间,统计 20 d 内的孵化总量,并计算校正孵化率。

校正孵化率 (%) = (处理孵化总量 - CK 中孵化总量) / CK 中孵化总量 × 100

1.2.2 数据分析 采用 DPS 软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同酸性条件对 SCN 卵孵化的影响

由表 1 看出,除硫酸外,其他供试酸均对 SCN 卵孵化的抑制作用随着 pH 的降低增强。盐酸和醋酸在 7 个 pH 条件下对 SCN 卵的孵化均表现抑制作用。硫酸在 pH 为 4.0、4.5、5.0 时促进 SCN 卵的孵化;磷酸仅在 pH 6.0 时促进孵化;pH 值为 5.0、5.5、6.0 的钼酸对 SCN 的孵化表现促进作用。在所有处理中,pH 5.0 硫酸对 SCN 卵孵化的刺激作用最强,校正孵化率达 51.00%。

表 1 酸性条件对 SCN 卵孵化的影响

Table 1 Effect of acidic treatments on hatching of SCN

pH	20 日内孵化总量 (TN) 和校正孵化率 (CHR)									
	Total hatching number of J2 within 20 days and corrected hatching rate									
	盐酸 HCl		硫酸 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		醋酸 C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		磷酸 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>		钼酸 H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	
	TN	CHR/%	TN	CHR/%	TN	CHR/%	TN	CHR/%	TN	CHR/%
3.0	39.00gG	-96.00	359.33gE	-63.67	1.00fF	-99.90	32.00gG	-96.73	28.67fF	-97.00
3.5	163.67fF	-83.25	679.33eD	-30.33	14.00IEF	-98.57	139.67fF	-85.72	39.33fF	-96.00
4.0	587.00dD	-40.00	991.00dC	1.67	58.67eE	-94.00	970.00cC	-0.82	226.33eE	-76.67
4.5	462.67eE	-52.75	1071.67cC	9.67	178.330dD	-81.77	891.00dCD	-8.90	944.67dD	-3.33
5.0	476.00eE	-51.25	1474.67aA	51.00	187.33dD	-80.85	789.33eE	-19.29	1247.00cC	27.67
5.5	499.33eE	-49.00	440.67fE	-55.00	602.67cC	-38.38	821.67eDE	-15.98	1340.00bB	37.00
6.0	668.33cC	-31.75	54.67hF	-94.41	630.67cC	-35.51	1071.00bB	9.51	1461.33aA	49.67

表中数据均为 3 次重复的平均值。同列数据后不同大小写字母分别表示在 1% 和 5% 水平时差异显著。下同。

The data are the average of three replicates. The different capital and lowercase letters in the same column indicatesignificant at 1% and 5% level, respectively. The same as below.

### 2.2 不同碱性条件对 SCN 卵孵化的影响

由表 2 可以看出,在碱性处理中,pH 为 9.0 的氢氧化钾和 8.0、8.5、9.0 的氢氧化钠对 SCN 卵的孵化有促进作用,作用顺序为 pH 9.0 KOH > pH 8.0 NaOH > pH 8.5 NaOH > pH 9.0 NaOH。

表 2 碱性条件对 SCN 卵孵化的影响

Table 1 Effect of alkaline treatments on hatching of SCN

供试碱 Tested alkaline	pH	20 日内孵化总量 (TN) 和校正孵化率 (CHR)	
		Total hatching number of J2 within 20 days and corrected hatching rate	
		TN	CHR/%
氢氧化钾 KOH	8.0	965.33cC	-1.03
	8.5	557.00dD	-43.05
	9.0	2101.33aA	114.86

### 2.3 不同处理对 SCN 卵孵化的促进作用

由图 1 可以看出,在对 SCN 孵化存在促进作用

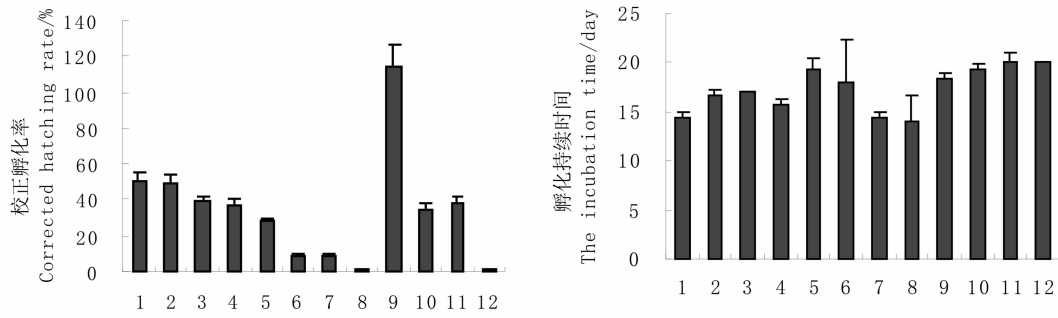
的处理中,pH 9.0 KOH 和 pH 5.0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>对 SCN 卵的孵化促进作用较大,且校正孵化率均大于 50%。

pH 4.5 和 5.0 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>处理孵化持续时间最少,均为 14.33d,其次是 pH 5.5 H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>为 15.67 d,所用时间最多的是 pH 8.0 和 9.0 的 NaOH,均为 20.00 d。

## 3 结论与讨论

最适宜 SCN 卵孵化的碱性处理是 pH 9.0 氢氧化钾,最适宜的酸性处理是 pH5.0 硫酸。在所有处理中,pH 9.0 氢氧化钾校正孵化率最高,在 pH5.0 的硫酸处理下 SCN 卵孵化的持续时间最短。

以往关于酸碱度对 SCN 卵孵化影响的研究结论不一致。有学者研究表明<sup>[7]</sup>,pH 在 4.5 到 10.5 之间均有二龄幼虫从 SCN 胞囊内孵化,孵化的最适宜 pH 值为 9.5。远方的研究表明,碱性比酸性



1: pH 5.0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2: pH 6.0 H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 3: 5mM ZnSO<sub>4</sub>, 4: pH 5.5 H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 5: pH 5.0 H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 6: pH 6.0 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 7: pH 4.5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 8: pH 4.0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 9: pH 9.0 KOH, 10: pH 8.0 NaOH, 11: pH 8.5 NaOH, 12: pH 9.0 NaOH

图1 不同处理对 SCN 卵孵化促进作用和孵化持续时间的比较

Fig. 1 Comparison among different simulative treatments and the incubation time

条件更适合 SCN 孵化<sup>[8]</sup>。试验得出的结果与其相似, pH 9.0 氢氧化钾较 pH 5.0 硫酸更能促进 SCN 卵的孵化。Ellenby 研究发现随着 pH 从 6.7 降到 4.0, 线虫的孵化率下降<sup>[9]</sup>。但在相同的 pH 值条件下, 不同酸和碱对 SCN 孵化的影响不同。由于在相同的 pH 值条件下, H<sup>+</sup> 浓度是相同的, 此时作用的差异可能是阴离子不同的结果, 但具体机制仍需进一步研究。

曾有研究报道, 硫酸锌可以显著提高 SCN 卵的孵化率<sup>[10-11]</sup>。本试验结果表明, pH 值为 5.0 硫酸和 9.0 氢氧化钾同 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> 硫酸锌相比, 对 SCN 孵化的刺激作用更大, 二者与 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> 硫酸锌在 1% 和 5% 水平差异显著。因此, 在 SCN 的休眠期可以考虑应用 pH 5.0 硫酸和 9.0 氢氧化钾代替硫酸锌来刺激孵化。该结果也可为 SCN J2 及休眠期卵孵化的进一步研究提供技术支持和理论基础。

## 参考文献

- [1] 段玉玺, 吴刚. 植物线虫病害防治 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2002: 122-130. (Duan Y X, Wu G. Plant nematode disease control [M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 2002: 122-130.)
- [2] 许艳丽, 温广月. 大豆主要病虫害研究概况 I 大豆线虫病 [J]. 大豆通报, 2005 (1): 5, 7 (Xu Y L, Wen G Y. Research general situation of the major diseases and pests [J]. Soybean Bulletin, 2005 (1): 5, 7.)
- [3] Evans AAF. Diapause in nematodes as a survival strategy [A]. In: Veech JA, Dickson DW. Vistas on Nematology [M]. Maryland, USA: Society of Nematologists, 1987, 180-187.)
- [4] 吴海燕, 段玉玺, 李秀侠. 大豆胞囊线虫休眠 [J]. 动物学报, 2006, 52 (3): 498-503. (Wu H Y, Duan Y X, Li X X. Dormancy of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* [J]. Acta Zoologica Sinica, 2006, 52 (3): 498-503.)
- [5] 吴海燕. 大豆与大豆胞囊线虫相互关系研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2003. (Wu H Y, The Interaction of resistant soybeans and *Heterodera glycines* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2003.)
- [6] 沈爱英, 赵林川, 刘慧婷. 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 活化家蚕滞育性卵的研究 [J]. 蚕业科学, 2003; 29 (3): 311-313. (Shen A Y, Zhao L C, Liu H T. Study on the activation of silkworm diapause eggs with hydrogen peroxide [J]. Canye Kexue, 2003, 29 (3): 311-313.)
- [7] 刘维志. 植物病原线虫学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000 (Liu W Z, Plant pathogen nematology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 285-288.)
- [8] 远方. 大豆胞囊线虫 3 号生理小种抗性机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2001. (Yuan F. Resistant Mechanisms to the race 3 of soybean cyst nematode [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2001.)
- [9] Ellenby C. The influence of crucifers and mustard oil on the emergence of larvae of the potato root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber [J]. Annals of Applied Biology, 1945, 32 (1): 67-70.
- [10] Tetft P M, Rende J F, Bone L W. Factors influencing egg hatching on the soybean cyst nematode, *Heterodera glycine* race 3 [J]. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 1982, 49: 258-265.
- [11] Behm J E, Tylka G L, Niblack T L, et al. Effects of zinc fertilization of corn on hatching of *Heterodera glycines* in soil [J]. Journal of Nematology, 1995, 7 (2): 164-171.