

学校编码: 10384

学号: 200426102

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

松材线虫移行的研究和灰葡萄孢菌液中活性物质的提取及其对松材线虫的诱引

**Studies on Migration of *Bursaphlenchus xylophilus* and the Extracts from medium cultured with *Botrytis cinerea* and it's Inducing Activity to *B. xylophilus***

龙瑞敏

指导教师姓名: 潘沧桑教授

专业名称: 动物学

论文提交日期: 2007 年 6 月

论文答辩时间: 2007 年 7 月

学位授予日期: 2007 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2007 年 7 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密 ( ), 在年解密后适用本授权书。
2. 不保密 ( )

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

## 目 录

摘要.....	6
Abstract.....	7
<b>第一章 绪论</b> .....	9
<b>1.1 松材线虫病概述</b> .....	9
<b>1.2 松材线虫行为学研究进展</b> .....	10
1.2.1 松材线虫的侵染行为.....	10
1.2.2 松材线虫的运动和移行.....	11
1.2.3 松材线虫的取食行为.....	12
1.2.4 松材线虫的繁殖行为.....	12
<b>1.3 松材线虫的快速检测</b> .....	13
1.3.1 形态学检测法.....	14
1.3.2 化学生化检测法.....	15
1.3.3 分子生物学检测法.....	16
1.3.4 检测管的相对优点.....	19
<b>1.4 灰葡萄孢代谢物研究概况</b> .....	19
1.4.1 酶.....	20
1.4.2 多糖.....	21
1.4.3 植物毒素.....	21
1.4.4 植物激素.....	22
<b>1.5 本实验的研究内容和意义</b> .....	22
<b>参考文献</b> .....	24
<b>第二章 沙盘诱引松材线虫实验</b> .....	33
<b>2.1 引言</b> .....	33
<b>2.2 实验材料与方法</b> .....	33
<b>2.3 结果与分析</b> .....	36

2.3.1 沙盘含水率对诱引实验的影响.....	36
2.3.2 病木、天牛幼虫与灰葡萄孢对松材线虫的诱引对比.....	39
2.3.3 病木、金龟子幼虫与灰葡萄孢对松材线虫的诱引对比.....	40
2.3.4 病木、高压灭菌后病木、天牛幼虫、松皮浸出液与灰葡萄孢 对松材线虫的诱引对比.....	42
<b>2.4 讨论.....</b>	<b>44</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>46</b>
<b>第三章 松材线虫水琼脂平板移行.....</b>	<b>48</b>
<b>3.1 引言.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2 实验材料与方法.....</b>	<b>48</b>
<b>3.3 结果与分析.....</b>	<b>51</b>
3.3.1 不同真菌对松材线虫移行的影响.....	51
3.3.2 不同预置时间的真菌菌块对松材线虫的移行影响.....	53
3.3.3 不同浓度水琼脂平板对松材线虫的移行影响.....	55
3.3.4 不同移行时间对松材线虫的移行影响.....	56
<b>3.4 讨论.....</b>	<b>58</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>59</b>
<b>第四章 灰葡萄孢菌液提取物对松材线虫的诱引活性分析.....</b>	<b>60</b>
<b>4.1 引言.....</b>	<b>60</b>
<b>4.2 实验材料与方法.....</b>	<b>60</b>
<b>4.3 结果与分析.....</b>	<b>64</b>
4.3.1 灰葡萄孢菌液粗提物对松材线虫的诱引活性实验.....	64
4.3.2 胞外乙酸乙酯相再分离物对松材线虫的诱引活性实验.....	64
<b>4.4 讨论.....</b>	<b>69</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>71</b>
<b>第五章 总结.....</b>	<b>73</b>
<b>致谢.....</b>	<b>75</b>

## CONTENTS

<b>ABSTRACT(in Chinese)</b> .....	6
<b>ABSTRACT(in English)</b> .....	7
<b>CHAPTER 1 INTRODUCTION</b> .....	9
<b>1.1 Introduction to pine wood nematode disease</b> .....	9
<b>1.2 Progress in <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> behavior studies</b> .....	10
1.2.1 Invasion of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> .....	10
1.2.2 Movement and migration of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> .....	11
1.2.3 Feeding behavior of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> .....	12
1.2.4 Propagation of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> .....	12
<b>1.3 Fast Detection of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i></b> .....	13
1.3.1 Morphologic detection.....	14
1.3.2 Chemical-biochemical detection.....	15
1.3.3 Molecular biology detection.....	16
1.3.4 Advantages of detecting tube.....	19
<b>1.4 Recent researches on <i>Botrytis cinerea</i> metabolized wastes</b> .....	19
1.4.1 Enzyme.....	20
1.4.2 Amylose.....	21
1.4.3 Plant toxin.....	21
1.4.4 Phytohormone.....	22
<b>1.5 Research content and meaning of this dissertation</b> .....	22
<b>References</b> .....	24
<b>CHAPTER 2 EXPERIMENTS on <i>BURSAPHELENCHUS</i></b>	
<b><i>XYLOPHILUS</i> INDUCED on SAND TRAY</b> .....	33
<b>2.1 Introduction</b> .....	33
<b>2.2 Materials and methods</b> .....	33

<b>2.3 Results and analysis.</b> .....	36
2.3.1 Effect of sand tray moisture ratio on inducing test. ....	36
2.3.2 Comparison of inducing tests among sick wood, alternatus larva and <i>Botrytis cinerea</i> . ....	39
2.3.3 Comparison of inducing tests among sick wood, chafer larva and <i>Botrytis cinerea</i> . ....	40
2.3.4 Comparison of inducing tests among sick wood, high pressure steam sterilizing sick wood, alternatus larva, pine bark lixivium and <i>Botrytis cinerea</i> . ....	42
<b>2.4 Discussion.</b> .....	44
<b>References.</b> .....	46
 <b>CHAPTER 3 BURSAPHELENCHUS XYLOPHILUS MIGRATION</b>	
<b>on AGAR FLAT.</b> .....	48
<b>3.1 Introduction.</b> .....	48
<b>3.2 Materials and methods.</b> .....	48
<b>3.3 Results and analysis.</b> .....	51
3.3.1 Effect of fungus on migration of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> . ....	51
3.3.2 Effect of fungus with different depositing time on migration of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> . ....	53
3.3.3 Effect of the agar concentration on migration of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> . ....	55
3.3.4 Effect of the migration time on migration of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> . ....	56
<b>3.4 Discussion.</b> .....	58
<b>References.</b> .....	59
 <b>CHAPTER 4 STUDIES of BOTRYTIS CINEREA EXTRACTS on</b>	
<b>MIGRATION ACTIVITY.</b> .....	60
<b>4.1 Introduction.</b> .....	60
<b>4.2 Materials and methods.</b> .....	60
<b>4.3 Results and analysis.</b> .....	64
4.3.1 Migration activity of <i>Botrytis cinerea</i> primary extracts. ....	64

4.3.2 Migration activity of reseparation in extracellular organic phase(ethyl acetate)	64
<b>4.4 Discussion.</b> .....	69
<b>References.</b> .....	71
<b>CHAPTER 5 SUMMARIZATION</b> .....	73
<b>ACKNOWLEDGEMENT.</b> .....	75

厦门大学博硕士学位论文摘要库



## 摘 要

“松材线虫早期检测管诊断管”能从松树上诱引到松材线虫(Bx)，为了研究其作用的机理，本论文设计了一条新的思路，分别以灭菌的淡水沙和水琼脂平板为基质，研究了各种因素对 Bx 移行的影响，并从灰葡萄孢发酵液中逐级分离提取各种组分，以滤纸片法分析其中对 Bx 移行起诱引作用的物质。主要结果如下：

病木对 Bx 的诱引力较强，经高压灭菌后诱引能力虽有所下降，但差值不大，说明在病木中对 Bx 起诱引作用的物质并没有因高压灭菌而完全失去，这与某些人“吸引物质为挥发性物质”的推测相左；但松皮浸出液对 Bx 并没有什么明显的吸引作用，而灰葡萄孢对 Bx 的诱引力一直比较稳定。

Bx 对不同真菌的选择性强弱依次为：灰葡萄孢 > 盘多毛 > 酵母 > 空白，证明灰葡萄孢是其中对 Bx 最具吸引力的真菌。而真菌在平板上预置后对 Bx 的吸引效果更好，因为培养时间长，有效代谢产物多，对 Bx 的吸引力更强。同时，平板上琼脂浓度越低，或沙子的含水率越高(10~20%范围内)，Bx 移行的自由度和选择能力就越强，不同真菌对 Bx 的吸引效果差别越显著；而移行时间越长，不同真菌对 Bx 的吸引效果差别越不明显。

灰葡萄孢菌液粗分离后得到的胞外乙酸乙酯相对Bx具有明显的诱引作用，该相经葡萄糖凝胶LH-20柱层析得到的各合并组分中又以P3和P4的诱引活性较好。将P3和P4合并为Pz，经硅胶柱层析得到的Pz-2诱引活性相对较稳定；Pz经凝胶柱层析得到的Pz-B、Pz-C和Pz-E则诱引活性较低。将Pz-2用凝胶层析法进一步分离，得到Pz-2-a、Pz-2-a'，前者诱引活性较高，后者诱引活较低。而Pz-2-a经不同分离方法得到的分离物诱引活性均降低且重复性较差。由此可见，灰葡萄孢菌液的活性物质主要存在于胞外有机相（乙酸乙酯相）中；可能是醇溶性化合物。但随着混合物的逐步分离，对Bx的吸引力和稳定性逐渐降低，证明对松材线虫的吸引活性是灰葡萄孢菌液的胞外有机相中几种物质协同作用的结果。

关键词：松材线虫；移行；灰葡萄孢

## Abstract

The present *Bursaphelenchus xylophilus* (Bx) rapid detecting tube prepared by our lab can induce the Bx from the pine trees. To study the inducing mechanism, in this paper, we designed a new way to study the influence of different factors on the *Bursaphelenchus xylophilus* migration behavior based on the sterile sand tray and agar flat as the migration matrixes. We also separated different extracts from the medium cultured with *Botrytis Cinerea* by filter paper method and studied the extracts on inducing activity to *Bursaphelenchus xylophilus*. The main results are listed as follows.

First, the sick wood has a strong inducing force to the Bx. The inducing effect decreases after high pressure sterilization but the difference isn't obvious which means the effective inducing substance isn't removed entirely by the high pressure. This result is different from the presumption that the inducing substance is the volatility substance. The inducing force of *Botrytis cinerea* toward Bx is stable while the pine skin lixivium hasn't obvious inducing effect.

Second, *Bursaphelenchus xylophilus* has obvious tendency to different strains (*Botrytis cinerea* > *Pestalotia* > *Microzyme* > Contrast), which means the *Bursaphelenchus xylophilus* presents more tendency to *Botrytis cinerea*. The attracting efficiency difference gets more obvious when we prolong the depositing time accompanying with the accumulative available metabolic products getting more. Furthermore, agar concentration has significant influence on the migration behavior, which means the migration and free selection ability of *Bursaphelenchus xylophilus* increase with agar concentration decreasing.

Finally, we investigated the active components which could attract the *Bursaphelenchus xylophilus* from the *Botrytis Cinerea* extracts by different separation methods. Results showed that active substances mainly existed in extracellular organic phase (ethyl acetate phase) which might be ethanol soluble compounds. With the separation continuing step by step, the attraction efficiency decreased. Based on

the results above, we could draw the conclusion that the inducing activity depended on the synergistic action of these extracts.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*; Migration; *Botrytis cinerea*

厦门大学博硕士论文摘要库

## 第一章 绪论

### 1.1 松材线虫病概述

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle 是毁灭性的森林病害——松材线虫病(又叫松树萎蔫病)的病原物, 主要危害针叶树木, 尤其是松属树种 (*Pinus* spp.)。松材线虫原广泛分布于北美, 但在其原产地并不造成严重危害。20 世纪初传入日本后, 导致本地松树严重死亡, 尤其是20 世纪70 年代后, 松材线虫病在日本大量爆发流行, 日本松林由此遭到毁灭性的破坏。由于松材线虫病发病致死速度快、传播蔓延迅速、防治难度大, 因而被称为松树的“癌症”。我国于1982 年首次在江苏南京发现有松材线虫病后, 在短短的十几年中, 此病迅速扩展蔓延, 造成我国松林资源的严重破坏和不良的生态后果, 经济损失巨大<sup>[1,2]</sup>。

松材线虫属于侧尾腺口纲 SECERNENTEA 滑刃目 APHELENCHIDA 滑刃超科 Aphelenchoidoidea 滑刃科 Aphelenchoididae 伞滑刃属 *Bursaphelenchus*。松材线虫的生活史有繁殖周期和分散周期。繁殖周期全部在松树体内, 当携带松材线虫的媒介昆虫在健康松树枝条上取食时, 线虫进入到松树体内, 开始了繁殖周期, 重复出现卵、幼虫和成虫。在25℃条件下, 松材线虫卵30h左右就孵化了, 2龄幼虫出卵壳后很快开始觅食, 蜕3次皮后成为成虫, 这过程大约需要4天。雌雄虫交配后, 雌虫开始产卵, 产卵期30天左右, 大约产80个卵, 1条雌虫15天后可繁殖到26万条松材线虫。如此快的发育和旺盛的繁殖能力保持了松材线虫相当高的种群密度。雌虫产完卵后不久便死亡。松材线虫在松树体内经过上述的发育过程, 不断繁殖更多的后代。当松树针叶开始变色时, 即是线虫个体增加的高峰期, 这时已是夏末秋初了。树体内的线虫进入了分散型3龄幼虫, 开始了松材线虫的分散周期。随着时间的推移, 分散型3龄幼虫不断增多蜕皮后逐渐成为持久型(休眠型)4龄幼虫, 天牛携带的就是这种持久型4龄幼虫。持久型4龄幼虫通过媒介昆虫扩散传播到新的寄主植物上, 在寄主植物体内蜕皮成为成虫, 交配、产卵, 进入繁殖周期, 循环往复。

分散型3龄幼虫的出现导致线虫个体增大过程中发生质的变化, 使线虫具备了在恶劣环境条件下也能生存的特性。分散型3龄幼虫角质膜增厚, 体腔内含物浓稠, 肠内积聚类脂小滴, 使整个虫体呈深色, 尾端钝圆、较宽。这类幼虫特别

耐饥饿，也能抵抗干燥和低温等不良环境。春末，病树中的分散型3龄幼虫蜕皮成为持久型4龄幼虫，这种持久型4龄幼虫和繁殖周期的4龄幼虫有很大的不同，它的角质膜增厚、头部半圆形、口针和食道退化。持久型4龄幼虫肠内除积聚类脂外，还贮存糖原，体表覆盖黏性物质。持久型4龄幼虫特别抗干燥，适合媒介昆虫的传播<sup>[1]</sup>。

## 1.2 松材线虫行为学研究进展

20世纪50年代以来，对植物寄生线虫的行为学研究越来越多，主要集中在取食行为、寄主植物对线虫的吸引、感觉器官的超微结构以及线虫性引诱物质等4个领域<sup>[3]</sup>。然而，关于松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 行为学的研究相对较少。松材线虫病的防治问题一直是个难题，加强松材线虫行为学方面的研究对于加快对现有松材线虫检测技术和探索新的检测及防治途径具有重要意义<sup>[4]</sup>。

### 1.2.1 松材线虫的侵染行为

松材线虫为寄生专化性较强的植物寄生线虫。松材线虫侵入寄主体内主要是随着松墨天牛 (*Monochamus alternatus* Hope) 等取食松枝条时进行的。除此之外，在密度较大的松林中，病害还可以通过病株与健康株根部接触、愈合而传播，但这是个别现象<sup>[5]</sup>，还有待林间试验进一步证实。在此过程中，寄主植物对天牛的引诱起着重要的作用。

松材线虫和天牛共栖于病死松木中，松材线虫要借助天牛来传播扩散就必须在天牛羽化出孔前进入天牛体内。松材线虫能主动迁移到未羽化的天牛体上，在此过程中天牛的挥发性物质及CO<sub>2</sub>起重要作用<sup>[6,7]</sup>。大多数扩散型四龄松材线虫(以LIV表示，下同)通过天牛腹部气门进入，并遍布天牛全身的气管。天牛羽化后飞至健康松树，取食幼嫩的枝条。Linit的研究<sup>[8]</sup>认为，松材线虫体内的类脂含量高低可能是决定松材线虫是否脱离媒介昆虫天牛的关键。类脂含量低的LIV向天牛补充营养或产卵时造成并散发着β-香叶烯的伤口运动，继而进入健康或衰弱病树。Aikawa等的研究<sup>[9]</sup>表明，松材线虫具有从松墨天牛上自然脱离的特性，松树体内挥发性物质对松材线虫脱离传播媒介松墨天牛有明显的影响。LIV转移至

松枝上的途径大都是先通过天牛气门从气管移出,爬向天牛尾尖,最后脱离天牛到达松枝伤口<sup>[4]</sup>。

植物内寄生线虫较易从伤口和裂口侵入,此外也可以从气孔、皮孔等自然孔口或从表皮直接侵入。松材线虫主要通过天牛成虫在健康树上补充营养和在衰弱树上产卵所造成的伤口侵入寄主松树体内。Ichihara等<sup>[10]</sup>研究表明,成熟茎段的周皮和松材线虫侵入后形成的愈伤周皮可以限制松材线虫的最初侵入。挥发性物质,尤其是 $\beta$ -香叶烯被认为在松材线虫从天牛迁移入树体内起重要作用<sup>[11]</sup>。

### 1.2.2 松材线虫的运动和移行

松材线虫在接种点初期几乎不移动或移动较慢<sup>[4]</sup>。有报道认为,接种后大多数松材线虫被树脂滞留,蜕皮后再向内迁移<sup>[12,13]</sup>。刘军民等<sup>[14]</sup>用水培法试验表明,接种24小时后,松材线虫立即自接种点向接种枝深处移动,但只有极少数的松材线虫到达主枝,大部分松材线虫聚集在接种点附近。2~3天后,观察到侵入的松材线虫逐渐向主枝扩散,最初局限于与接种枝交接处,以后在主枝向上向下扩散,松材线虫向主枝基部扩散的数量和速度比向顶部的大。至接种后16天,松枝少许针叶发生枯萎时,主枝顶部和侧枝解剖也可直接观察到少量松材线虫。

松材线虫在树体内的分布是全树性的,几乎在树脂道分布处均能存在,但松针、松芽和当年生球果内尚未分离到松材线虫<sup>[15]</sup>。但也有试验表明,有少数松材线虫存在于松针<sup>[16]</sup>。松材线虫迁移的结果,造成松材线虫在树体内的分布变动较大<sup>[17]</sup>。每克木材中松材线虫的数量,在秋季时树的上部高于下部,但到次年春季则于整株树均匀分布<sup>[18]</sup>,树木枯死一段时间后,树干下部的松材线虫数量高于中上部<sup>[19]</sup>,直径小于10cm的小枝,每克干材松材线虫的数量以中心较多,而较大的枝条中则在边材较多<sup>[17]</sup>。王国明等通过对松材线虫在致病松木上的分布调查,认为在马尾松新发生区,树干胸部和基部的分布无明显差异,但以胸部为多;在马尾松和黑松树干胸高处的水平分布,一般内材数量多于边材<sup>[20]</sup>。

温度、光照、湿度、 $O_2$ 、 $CO_2$ 、不饱和脂肪酸以及寄主的种类、年龄、发育状况等均明显影响着松材线虫的运动与迁移行为。松材线虫向蛹室周围迁移、聚集的行为主要是由于松墨天牛、松材线虫及寄主植物的化学信息起作用。Mamiya称这种现象为“蛹室效应”<sup>[21]</sup>。据报道,这种效应与蛹室中高含量的棕榈酸、

油酸和亚油酸等不饱和脂肪酸及较高的含水率有关<sup>[22]</sup>。大多数植物寄生线虫在氧气浓度增大时活动能力增强, CO<sub>2</sub>浓度增大时, 活动能力受抑。而CO<sub>2</sub>浓度较低时, 对线虫的活动有促进作用, 且CO<sub>2</sub>对线虫的定向运动有一定的引诱作用<sup>[3]</sup>。Jikumaru等研究了温度对松材线虫运动的影响。结果表明, 随着环境温度从25℃降到16℃, 松材线虫的运动能力降低, 松材线虫运动的高峰期推迟。这表明低温可抑制松材线虫的运动过程<sup>[23]</sup>。Ichihara等的研究也表明低温条件下, 松材线虫不易侵入木质部树脂道和皮层组织<sup>[24]</sup>。

### 1.2.3 松材线虫的取食行为

线虫的取食是一个复杂的过程, 电视技术强化对比度的光学显微镜的应用, 为了解线虫的取食行为提供了方便<sup>[7]</sup>。研究表明, 线虫寻找食物主要是由寄主或食物释放的化学因子决定的。当线虫到达要取食的对象时, 就会发生线虫与食物之间的分子识别反应<sup>[3]</sup>。如体内类脂含量低的松材线虫能被寄主松树伤口产生的β-香叶烯所吸引<sup>[8]</sup>, 从伤口进入松树体内取食。

由于松材线虫能在人工培养的松树愈伤组织上繁殖, 表明松材线虫可以松树木质部的薄壁细胞为食。松材线虫也能以树脂道的细胞为食, 特别是在发病初期<sup>[25]</sup>。病树死亡之后, 腐生生物进入死树, 有细菌、真菌、非致病性线虫和昆虫等。松材线虫取食真菌可以维持种群存在一年多, 松材线虫可取食的真菌有灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*)、盘多毛孢属 (*Pestalotia*)、长喙壳菌 (*Ceratocystis* spp.)、色二孢菌 (*Diplodia*)、镰刀菌 (*Fusarium* spp.)、胶霉属一种 (*Gliocladium virosus*) 以及小轮枝菌 (*Verticicladiella* spp.) 等<sup>[26]</sup>。而木材内的冷杉附毛菌 (*Trichaptum abietinum*) 则对松材线虫表现出不利的影响<sup>[27]</sup>。

### 1.2.4 松材线虫的繁殖行为

线虫交配前的信号是其分泌的性信息素, 性信息素引诱现象在许多线虫中均有报道<sup>[28]</sup>, 雌雄虫分泌的性信息素引起异性产生趋向反应, 但未发现同性虫的吸引现象<sup>[30]</sup>。线虫对性信息素的反应与分泌的性信息素量有关, 过高的性信息素浓度会抑制线虫的反应。拥挤效应会导致性信息素分泌的减少<sup>[28]</sup>。Kiyohara 报

道了松材线虫雄虫与处女雌虫之间的性吸引, 并发现已受精或交配的雌虫对雄虫无吸引力。线虫产生的性信息素具有种的特异性<sup>[30]</sup>。松材线虫雄虫被处女雌虫所吸引, 且对雌虫分泌物及处女雌虫释放的挥发性物质作出反应, 同样雌虫亦被雄虫所吸引<sup>[30,31]</sup>。关于松材线虫性信息素的化学性质目前尚不甚清楚。

温度、食物、树种抗性、媒介天牛以及松树内含物等均影响松材线虫繁殖<sup>[7]</sup>。在25℃恒温条件下, 把一条雌性松材线虫和一条雄性松材线虫一起培养在灰葡萄孢菌上, 2周后可达85000条, 3周后达489210条。而在理论计算上15天的繁殖量仅为263000条<sup>[32]</sup>。培养于PDA培养基的灰葡萄孢菌更有利于松材线虫的繁殖, 松材线虫在其上的数量为单独培养于灰葡萄孢菌垫上的几倍, 这表明松材线虫通过选择性地取食幼嫩的菌丝而更快速地繁殖。在起始阶段来源于繁殖型的松材线虫要比来源于扩散型的松材线虫, 繁殖要快得多, 可能是扩散型松材线虫的生殖腺受到抑制, 而繁殖型未受限制。松材线虫不能在抗性树种中快速繁殖。松树几种内含物与松材线虫的生存和繁殖密切相关, 长叶烯、 $\alpha$ -古巴烯和去氢枞酸内含物含量高时表现为有利于松材线虫的生存和繁殖, 而 $\beta$ -蒎烯、单萜和枞酸型树脂酸等3种内含物含量高时, 表现为不利于松材线虫的生存和繁殖。徐福元等<sup>[33]</sup>研究发现, 在树脂酸组成中, 枞酸型树脂酸的含量越高, 越不利于松材线虫的生存和繁殖; 而去氢枞酸则有利于其生存和繁殖, 另外,  $\alpha$ -古巴烯和长叶烯的含量高也有利于松材线虫的生存与繁殖。添加不饱和脂肪酸如油酸和亚油酸到灰葡萄孢菌垫可加速松材线虫的生长和LIII的出现, 但很少增加其种群数量<sup>[34]</sup>; 添加从松墨松天牛及蛹提取出来的脂肪类物质到葡萄孢菌垫中可提高松材线虫的成活率, 亦可增加LIII的数量, 添加苯甲酸、儿茶酚,  $\beta$ -香叶烯等可促进松材线虫的生长, 而添加8-羟基香鞣酮、10-羟基马鞭草烯酮等可抑制松材线虫的生长<sup>[35]</sup>。

### 1.3 松材线虫的快速检测

如前所述, 松树萎蔫病, 已在世界多个国家发生和流行并呈扩展蔓延趋势。我国于1982年在江苏省南京市中山陵园梅花山风景区首次发现松材线虫病, 至此以后, 松材线虫病在我国境内迅速扩散蔓延, 危害日趋严重, 发生面积达130万亩, 累计致死松树3500多万株, 因松材线虫病造成的直接经济损失已达25亿元, 间接损失达250亿, 使我国的松木资源、自然景观、生态环境受到了严重



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库