

网络出版时间:2022-04-20 08:08 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.10.008
网络出版地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220418.1009.009.html>

山西长治玉米根腐线虫病病原鉴定及致病性测定

刘焱琨, 王硕, 徐菲菲, 夏艳辉, 王珂, 李洪连, 李宇

(河南农业大学 植物保护学院, 小麦玉米作物学国家重点实验室, 河南 郑州 450002)

[摘要] 【目的】明确从山西长治玉米根际分离到的一种根腐线虫病的病原种类及其对玉米的致病性,为玉米根腐线虫病害的识别和有效防治提供科学依据。【方法】采用贝曼漏斗法对采集的样品进行分离,采用形态学与分子生物学相结合的方法对分离的根腐线虫进行种类鉴定,并采用室内盆栽接种的方法测定其对玉米的致病性。【结果】形态学分析发现,待鉴定的短体线虫与斯克里布纳短体线虫(*Pratylenchus scribneri*)的形态特征较为一致;rDNA-ITS、rDNA 28S D2~D3 区和 mtDNA-COI 区序列分析发现,该短体线虫种群与 NCBI 数据库中斯克里布纳短体线虫的序列具有高度相似性;基于 rDNA-ITS、rDNA 28S D2~D3 区和 mtDNA-COI 序列构建的系统进化树显示,该短体线虫种群与其他斯克里布纳短体线虫种群位于同一高度支持的分支,据此将山西长治玉米根际分离到的短体线虫鉴定为斯克里布纳短体线虫。与对照组玉米植株相比,接种供试斯克里布纳短体线虫 60 d 后,玉米表现出植株矮小,生长缓慢,地上部鲜质量和根鲜质量显著减轻,根部出现明显的褐色病斑甚至坏死腐烂的发病症状,斯克里布纳短体线虫在玉米根际的繁殖系数(R_f)达到 19.44。【结论】山西长治玉米根腐线虫病的病原种类为斯克里布纳短体线虫,其对玉米具有较强的致病性。

[关键词] 玉米根际; 根腐线虫病; 病原鉴定; 线虫致病性; 山西长治

[中图分类号] S435.132

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2022)10-0078-09

Identification and pathogenicity of a root-lesion nematode on corn in Changzhi, Shanxi

LIU Yankun, WANG Shuo, XU Feifei, XIA Yanhui, WANG Ke, LI Honglian, LI Yu

(National Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】This study identified the pathogenic species and pathogenicity of a root-lesion nematode separated from corn in Changzhi, Shanxi to provide basis for the identification and effective control of corn root-lesion nematode disease. 【Method】The collected samples were isolated by Baermann funnel method. The extracted root-lesion nematodes were identified based on morphological and molecular biological methods. The pathogenicity of the root-lesion nematodes to corn was also tested by pot experiment in a greenhouse. 【Result】Based on morphological characteristics, the *Pratylenchus* collected in this study was identified as *Pratylenchus scribneri*. The rDNA-ITS, rDNA 28S D2—D3 and mtDNA-COI sequences of the root-lesion nematode from corn had highly identities with the sequence of *P. scribneri* in NCBI database. The Bayesian tree inferred from rDNA-ITS, rDNA 28S D2—D3 and mtDNA-COI sequences showed that the root-lesion nematode collected in this study had a highly supported clade with other *P. scribneri*

[收稿日期] 2021-11-19

[基金项目] 河南省玉米产业技术体系植保岗位专家科研专项(S2015-02-G05);河南农业大学科技创新基金项目(KJCX2018A11);河南省高等学校重点科研项目(21B210003)

[作者简介] 刘焱琨(1995—),男,河南商丘人,硕士,主要从事植物病原线虫学研究。E-mail:liuyk18@163.com

[通信作者] 李宇(1985—),男,河南信阳人,副教授,博士,主要从事植物土传病害研究。E-mail:liyuzhibao@henau.edu.cn

population. Therefore, the root-lesion nematode was identified as *P. scribneri*. Compared with corn plants in the control group, 60 days after inoculation with *P. scribneri*, the corn growth and height were reduced and the roots showed distinct brown spots and even heavily necrosis and rot. The reproductive factor (R_f) of the *P. scribneri* in corn rhizosphere reached 19.44.【Conclusion】The pathogen of the corn root-lesion nematode disease in Shanxi was *P. scribneri*, and it had strong pathogenicity to corn.

Key words: corn rhizosphere; root-lesion nematode disease; pathogen identification; nematode pathogenicity; Changzhi, Shanxi

玉米(*Zea mays L.*)是一种非常重要的粮食作物,其在维护我国粮食安全中具有举足轻重的地位^[1]。玉米生长过程中极易受到多种病原物的侵染危害,病害不仅影响玉米的品质,还对玉米产量造成严重损失。根部病害是影响玉米生长和产量的直接因素之一,植物寄生线虫是玉米根际的一种重要病原物。植物寄生线虫可以在玉米的整个生长期持续发生危害,由于其个体微小,侵染具有隐蔽性,其对玉米等作物根系的侵染危害常常被忽视。

短体线虫(*Pratylenchus* Flipjev)又称根腐线虫,是一类重要的迁移性内寄生线虫,在植物组织内和土壤中完成整个生活史,主要在寄主植物的根部皮层取食,对植物根系造成损伤,引起根部坏死和腐烂。受线虫危害的玉米大多表现出植株矮小、长势弱、叶片黄化等症状^[2]。短体线虫寄主非常广泛,在我国严重危害玉米^[3]、小麦^[4]、大豆^[5]、花生^[6]、番茄^[7]、烟草^[8]等多种粮食作物和经济作物^[9]。高学彪等^[10]报道,斯克里布纳短体线虫(*P. scribneri*)在华北五省玉米根际普遍存在。王汝贤^[11]从陕西玉米根际分离得到玉米短体线虫(*P. zeae*)和六裂短体线虫(*P. hexincisus*)。刘维志等^[12]对采自我国北方地区玉米根际的寄生线虫进行了系统分类鉴定,共鉴定出14属36种线虫,其中短体属有10个种。郭宁等^[13]调查了我国北部及中东部9个省份玉米根际土壤中的线虫种类,发现短体属线虫为河南和辽宁两省玉米根际的优势属。Li等^[3]首次在内蒙古赤峰市玉米根际发现斯克里布纳短体线虫的侵染危害。夏艳辉等^[14]对河南省3个地区玉米根际的短体线虫进行种类鉴定,发现采自商丘的样品中存在咖啡短体线虫(*P. coffeae*)和斯克里布纳短体线虫复合侵染的现象,且3个地区的样品中均有斯克里布纳短体线虫的存在。但上述研究大多集中在玉米根际短体线虫的分离鉴定上,并未对鉴定种群的致病性进行更进一步分析。为此,本研究对采自山西省长治市的玉米根系以及根际土壤进行了短体线虫的分离和单条雌虫的扩繁培养,通过形态学和分子生物学相

结合的方法进行了种类鉴定,并通过温室盆栽接种测定了其对玉米的致病性,旨在明确山西长治玉米根腐线虫病的病原种类及潜在危害,进而为玉米根腐线虫病害的识别和有效防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与线虫分离

在山西省长治市黎城县东阳关镇下湾村玉米田采集玉米根系及玉米根际土壤样品。将采集的玉米病根组织剪碎后与根际土壤混匀,利用改良的贝曼漏斗法^[15]分离样品中的短体线虫。

1.2 短体线虫的纯化培养

在体视显微镜下挑取分离得到的短体线虫单条雌虫,用质量分数0.3%硫酸链霉素溶液消毒8 h,再用无菌水清洗5次后,于超净工作台内将其接种到胡萝卜愈伤组织上,25℃恒温黑暗扩繁培养^[4],3~4月后即可得到纯化培养的短体线虫种群。

1.3 短体线虫的形态学鉴定

参照谢辉^[15]的蜡圈法制作短体线虫的永久玻片,在显微镜(Nikon Eclipse Ti-S)下观察短体线虫形态,测量其特征值并拍照。

1.4 短体线虫的分子学鉴定

参照王江岭等^[16]的方法提取单条线虫的DNA。以该DNA为模板,采用通用引物D2A(5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3')和D3B(5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3')PCR扩增rDNA 28S D2~D3区^[17];采用引物18S(5'-TT-GATTACGTCCCTGCCCTTT-3')和26S(5'-TT-TCACTCGCCGTTACTAAGG-3')扩增rDNA-ITS区^[18];采用引物JB3(5'-TTTTTGGGCATCCT-GAGGTTAT-3')和JB5(5'-AGCACCTAACT-TAAAACATAATGAAAATG-3')扩增mtDNA-COI区域片段^[19]。参照KOD FX DNA聚合酶(Toyobo)说明书配制PCR反应体系。PCR反应体系为:2×PCR Buffer for KOD FX 12.5 μL, 2 mmol/L dNTPs 5 μL, 上下游引物各0.75 μL, DNA模板2

μL , KOD FX DNA polymerase $0.5 \mu\text{L}$, 灭菌水补足 $25 \mu\text{L}$ 。PCR 反应程序: 94°C 预变性 2 min ; 98°C 变性 10 s , 59.1°C (ITS 区)、 51.7°C (28S D2~D3 区) 或 51.9°C (COI 区) 退火 30 s , 68°C 延伸 90 s , 35 个循环; 72°C 终延伸 10 min 。PCR 产物纯化回收后连接至 pJET1.2/blunt 克隆载体 (Thermo Scientific), 转化至大肠杆菌 JM109 感受态细胞, 涂布于 LB 固体培养基平板上, 37°C 培养 12 h , 挑取阳性克隆菌液送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将新获得的序列提交至 GenBank 数据库, 并在 NCBI 上进行 BLAST 比对。从数据库中分别下载短体线虫 rDNA-ITS、rDNA 28S D2~D3 和 mtDNA-COI 区序列, 采用 MrBayes 重建短体线虫的系统发育树^[20]。

1.5 短体线虫的致病力测定

挑选健康饱满的玉米种子种植于直径 19 cm 的花盆中, 15 d 后挑选长势一致的玉米幼苗, 将在胡萝卜愈伤组织上扩繁培养的短体线虫制成 500 条/mL 的短体线虫悬浮液, 接种在玉米根系四周, 接种量为 1000 条/株 , 设置不接线虫的玉米植株作为对照, 各设置 5 个重复。温室中(25°C , 14 h 光照/ 10 h 黑暗

表 1 山西长治玉米根际短体线虫雌虫种群的形态指标

Table 1 Morphometrics of *Pratylenchus* population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi

形态指标 Morphological index	山西长治玉米根际短体线虫 <i>Pratylenchus</i> population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi	斯克里布纳 短体线虫 ^[22] <i>P. scribneri</i>	形态指标 Morphological index	山西长治玉米根际短体线虫 <i>Pratylenchus</i> population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi	斯克里布纳 短体线虫 ^[22] <i>P. scribneri</i>
<i>n</i>	15	50	口针杆部长/ μm	7.1 ± 0.4	—
<i>L</i> / μm	463.9 ± 21.9 ($421.5 \sim 499.9$)	504.4 ± 23.0 ($436.8 \sim 553.2$)	Stylet shaft 口针基部球高度/ μm	($6.5 \sim 8.0$)	2.4 ± 0.1
<i>a</i>	27.3 ± 1.6 ($22.9 \sim 29.5$)	26.3 ± 1.6 ($21.4 \sim 29.0$)	Stylet knob height 口针基部球宽度/ μm	($2.0 \sim 3.0$)	($2.4 \sim 3.0$)
<i>b</i>	5.2 ± 0.4 ($4.7 \sim 6.3$)	6.3 ± 0.3 ($5.7 \sim 7.0$)	Stylet knob width 食道腺覆盖长度/ μm	($4.0 \sim 4.5$)	4.5 ± 0.3 ($4.2 \sim 4.8$)
<i>b'</i>	3.8 ± 0.3 ($3.3 \sim 4.4$)	—	Pharyngeal overlap 最大体宽/ μm	32.6 ± 7.7 ($14.8 \sim 43.5$)	—
<i>c</i>	18.1 ± 1.3 ($15.3 \sim 19.5$)	18.4 ± 0.8 ($16.9 \sim 20.6$)	Tail length 尾长/ μm	17.0 ± 1.5 ($15.4 \sim 21.2$)	19.3 ± 1.5 ($16.8 \sim 23.4$)
<i>c'</i>	2.6 ± 0.2 ($2.4 \sim 2.9$)	—	尾部体环数 No. of tail annuli	25.8 ± 1.6 ($23.5 \sim 29.5$)	27.3 ± 1.6 ($24.0 \sim 30.6$)
<i>V</i> / $\%$	77.2 ± 1.9 ($75.0 \sim 79.4$)	77.4 ± 1.2 ($75.0 \sim 82.0$)	尾门到阴门长度/ μm 肛门到阴门距离/ μm	21.9 ± 0.3 ($21.0 \sim 22.0$)	—
DGO/ μm	2.4 ± 0.2 ($2.0 \sim 3.0$)	2.2 ± 0.3 ($1.8 \sim 2.4$)	Vulva to annus distance 后阴子宫囊长度/ μm	79.8 ± 6.1 ($62.8 \sim 87.3$)	82.4 ± 7.6 ($57.6 \sim 100.4$)
EP/ μm	77.8 ± 3.1 ($71.3 \sim 83.3$)	80.9 ± 3.1 ($74.0 \sim 86.0$)	Post-uterine sac length 唇区宽度/ μm	24.0 ± 2.3 ($20.1 \sim 28.0$)	—
口针长/ μm	15.3 ± 0.5	15.0 ± 0.4	Lip width 唇区高度/ μm	7.6 ± 0.3 ($7.0 \sim 8.3$)	7.8 ± 0.1 ($7.2 \sim 7.8$)
Stylet length	($13.9 \sim 15.9$)	($14.4 \sim 16.8$)	Lip height Lip height	1.7 ± 0.4 ($1.1 \sim 2.3$)	2.3 ± 0.2 ($1.8 \sim 2.4$)

注:*n*. 测量标本数量;*L*. 线虫体长;*a*. 体长/最大体宽;*b*. 体长/体前端至食道与肠连接处的距离;*b'*. 体长/体前端至食道腺末端的距离;*c*. 体长/尾长;*c'*. 尾长/肛门处体宽;*V*. 体前端至阴门的距离/体长 $\times 100\%$; DGO. 背食道腺开口至口针基部球的距离; EP. 排泄孔至体前端的距离。“—”指文献报道中无测量值。

Note:*n*. Number of specimens measured; *L*. Body length; *a*. Body length/Max body width; *b*. Body length/Length from the lips to the junction of esophageal gland and intestine; *b'*. Body length/Length from the lips to esophageal gland end; *c*. Body length/ Tail length; *c'*. Tail length/Tail length; *V*. Distance of vulva from the lips/body length $\times 100\%$; DGO. Distance between dorsal esophageal gland opening and stylet knobs; EP. Length from anterior end to excretory pore. “—” refers to no measured value.

的光周期)培养 60 d 后, 调查玉米株高、地上鲜质量和地下鲜质量等生长参数, 分离统计玉米根际的线虫数量并计算线虫的繁殖系数(*R_f*): $R_f = \text{根际最终分离的虫量}/\text{起始接种虫量}$ 。

1.6 玉米根组织内线虫的检测

将玉米植株从花盆中取出, 用清水冲洗干净根部的泥土, 参照 Byrd 等^[21]的方法对根系进行染色, 然后于显微镜下进行检测。

1.7 数据处理

采用 SPSS 22.0 软件对试验数据进行整理分析, 对玉米株高、地上部鲜质量和根鲜质量分别进行独立样本 *t* 检验分析, 在 $P=0.05$ 显著水平进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 短体线虫的种类鉴定

2.1.1 形态学鉴定 表 1 所示为山西长治玉米根际短体线虫雌虫(雄虫未发现)的形态测量值及其与斯克里布纳短体线虫相应指标的比较, 其形态特征的显微观察结果见图 1。

由表 1 和图 1 可知,山西长治玉米根际短体线虫雌虫热杀死后,虫体呈现略向腹部弯曲的状态,头架骨化明显,向体后延伸;虫体唇区低且略微缢缩,唇环 2 条;口针粗壮,口针基部球呈椭圆形或圆形,前缘向内凹陷。口针基部球到背食道腺开口距离为 $2.0\sim3.0\ \mu\text{m}$,中食道球呈卵圆形;食道腺从腹面覆盖肠的前端,覆盖长度为 $14.8\sim43.5\ \mu\text{m}$;受精囊退化,呈椭圆形,腔内中空,未见精子;后阴子宫囊长度

为 $20.1\sim28.0\ \mu\text{m}$,略大于阴门处体宽;尾长 $23.5\sim29.5\ \mu\text{m}$,尾部表皮光滑无纹,呈亚圆型或锥形。将测量值与 Roman 等^[22]描述的斯克里布纳短体线虫的相应数据进行比较,可见 L 、 b 、 c 和 V 值略小, a 值略大,其他测量值基本一致。故将山西长治玉米根际采集到的短体线虫种群初步鉴定为斯克里布纳短体线虫。



A、E. 雌虫整体;B. 雌虫前体部;C、F. 头部;D. 生殖腺前端;G. 中食道球;H. 阴门;I. 后阴子宫囊;J、K、L. 尾部。

标尺:A、E 为 $50\ \mu\text{m}$;B~D、F~L 为 $20\ \mu\text{m}$

A、E. Whole female body;B. Anterior region;C、F. Lip region;D. Anterior end of genital gland;G. Median bulb;H. Vulva region;I. Post-vulval region;J、K、L. Tail region. Scale bar: A、E $50\ \mu\text{m}$; B~D, F~L $20\ \mu\text{m}$

图 1 山西长治玉米根际短体线虫雌虫的光学显微观察

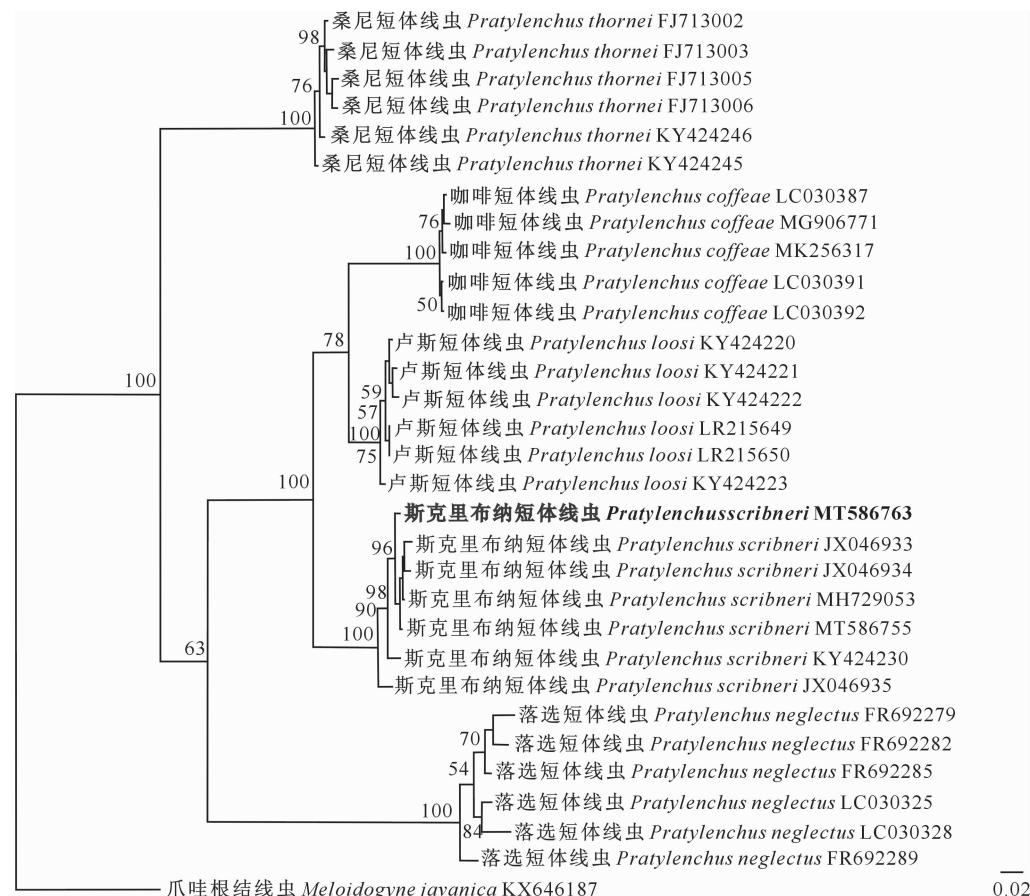
Fig. 1 Light micrographs of *Pratylenchus* population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi

2.1.2 分子生物学鉴定 对山西玉米短体线虫的 rDNA-ITS、rDNA 28S D2~D3 和 mtDNA-COI 区分别进行 PCR 扩增并测序,获得 3 条长度分别为 1 108,786 和 447 bp 的序列片段(图 2)。在 NCBI

上进行 BLAST 分析,结果表明,本研究获得的山西长治玉米根际短体线虫 rDNA-ITS 区序列(GenBank 登录号:MT586763)、rDNA 28S D2~D3 区序列(GenBank 登录号:MT695624)、mtDNA-COI 序

列(GenBank 登录号:OK036485),与 GenBank 数据库中斯克里布纳短体线虫的 rDNA-ITS 区、rDNA 28S D2~D3 区和 mtDNA-COI 区序列的相似性分别为 99.38%~99.78%, 98.09%~99.87% 和 99.04%~99.78%。

2.1.3 系统发育分析 基于山西长治玉米根际短体线虫 rDNA-ITS、rDNA 28S D2~D3 和 mtDNA-COI 区序列分别构建系统进化树。其中 rDNA-ITS 和 rDNA 28S D2~D3 区序列以爪哇根结线虫 (*Meloidogyne javanica*) 作为外群, mtDNA-COI 区序列以北方根结线虫 (*M. hapla*) 作为外群。系统进化分析结果(图 3、图 4、图 5)表明,本研究获得的短体线虫序列与已报道的斯克里布纳短体线虫聚在同一高度支持的分支,进一步表明本研究所获得的玉米短体线虫山西种群为斯克里布纳短体线虫。

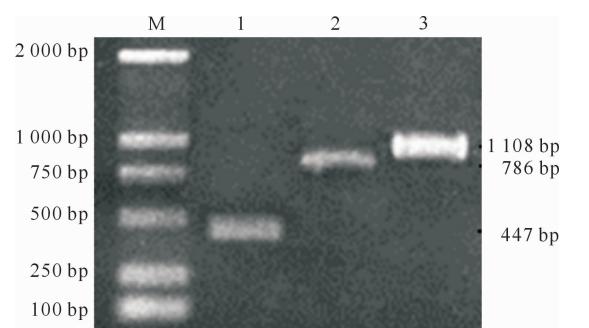


超过 50% 的后验概率显示在相应的分支上,新获得的序列加粗显示。图 4,5 同

Posterior probabilities more than 50% are given for appropriate clades and newly obtained sequences are indicated in bold font. Fig. 4 and Fig. 5 are the same

图 3 基于 rDNA-ITS 序列的山西长治玉米根际短体线虫的系统进化树

Fig. 3 Bayesian tree of *Pratylenchus* population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi inferred from rDNA-ITS sequences



M. DL2000 Marker; 1. mtDNA-COI 区扩增; 2. rDNA 28S D2~D3 区扩增; 3. rDNA-ITS 区扩增

M. DL 2000 Marker; 1. Amplification of mtDNA-COI; 2. Amplification of rDNA 28S D2~D3 region; 3. Amplification of rDNA-ITS region

图 2 斯克里布纳短体线虫 mtDNA-COI、rDNA 28S D2~D3 和 rDNA-ITS 区的 PCR 扩增

Fig. 2 PCR amplification of mtDNA-COI, rDNA 28S D2~D3 and rDNA-ITS region of *Pratylenchus scribneri*

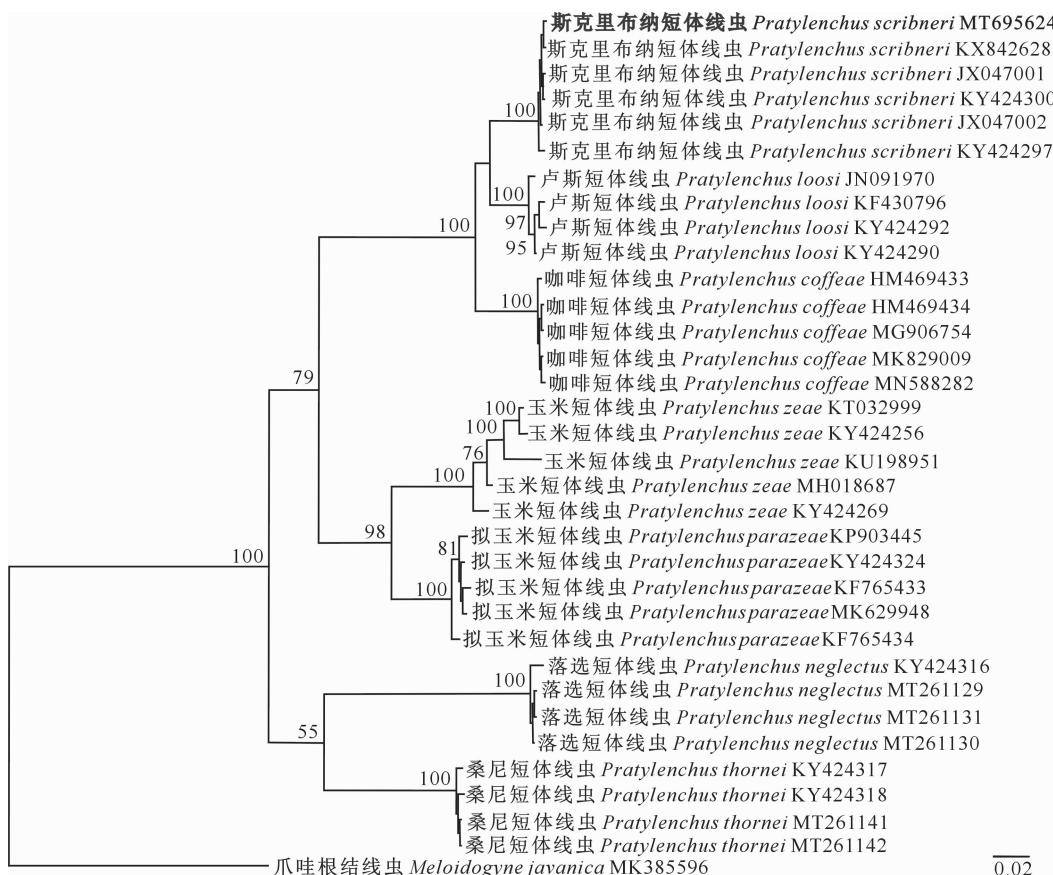


图 4 基于 rDNA 28S D2~D3 序列的山西长治玉米根际短体线虫的系统进化树

Fig. 4 Bayesian tree of *Pratylenchus* population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi inferred from rDNA 28S D2—D3 sequences

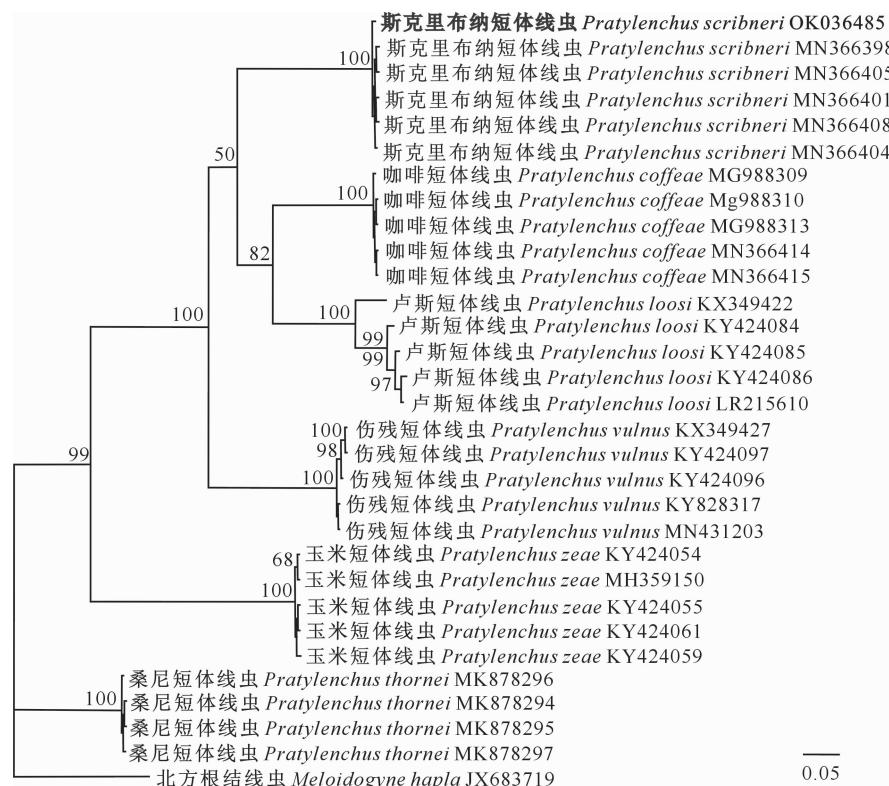


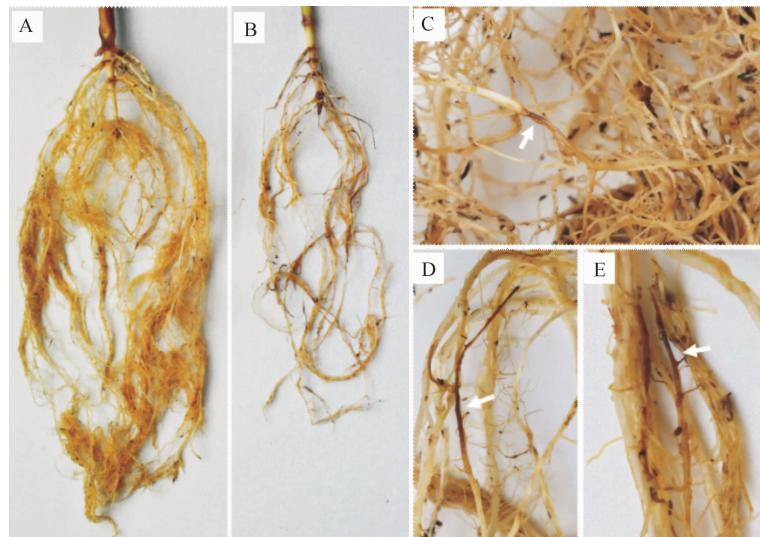
图 5 基于 mtDNA-COI 序列的山西长治玉米根际短体线虫的系统进化树

Fig. 5 Bayesian tree of *Pratylenchus* population from corn rhizosphere in Changzhi, Shanxi inferred from mtDNA-COI sequences

2.2 斯克里布纳短体线虫的危害症状与致病性

与未接虫的对照组植株相比,接种斯克里布纳短体线虫山西种群 60 d 后,处理组玉米植株地上部生长缓慢,植株矮小,长势较弱,部分叶片出现黄化现象。这主要是由于受到斯克里布纳短体线虫的侵

染危害后,玉米根系明显减少,部分根系出现坏死腐烂症状(图 6)。发病的玉米根系染色后,在显微镜下可以观察到根内含有大量的斯克里布纳短体线虫和虫卵(图 7)。

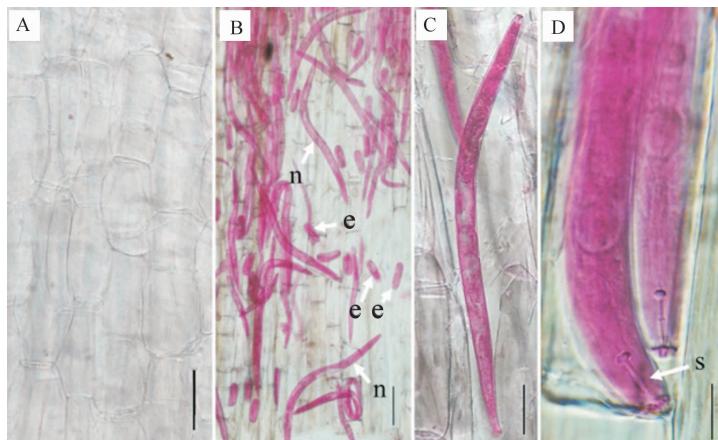


A. 健康玉米根系;B. 接种斯克里布纳短体线虫 60 d 后的玉米根系;C. 浅褐色病斑;D~E. 扩大的病斑(箭头所示为病斑)

A. Healthy corn roots;B. Corn roots infected by *P. scribneri* for 60 days;C. Light brown spot;
D~E. Expanding lesions (The arrow show spots)

图 6 玉米根系受斯克里布纳短体线虫侵染后的症状

Fig. 6 Symptoms of corn roots infected by *Pratylenchus scribneri*



A. 健康玉米根系;B. 玉米病根组织中含有大量的斯克里布纳短体线虫和卵;C~D. 侵入病根细胞的斯克里布纳短体线虫。
n. 成虫;e. 卵;s. 口针。标尺:A~C 为 25 μm,D 为 20 μm

A. Healthy corn roots;B. Large number of *Pratylenchus scribneri* and eggs in infected corn roots;C~D. *Pratylenchus scribneri* in corn pathological root cells. n. Nematode;e. Egg;s. Stylet. Scale bars: A~C 25 μm,D 20 μm

图 7 斯克里布纳短体线虫侵染玉米根系的染色观察

Fig. 7 Dyeing photomicrograph of corn pathological roots infected by *Pratylenchus scribneri*

由表 2 可知,接种斯克里布纳短体线虫山西种群 60 d 后,从玉米根系及根际土壤中分离出大量的斯克里布纳短体线虫,每株玉米根际的平均虫量为 19 435 条,繁殖系数(R_f)达到 19.44。处理组玉米

植株的平均株高为 76.92 cm,地上部鲜质量和根鲜质量分别为 46.30 和 25.30 g/株,均显著低于对照组($P < 0.05$)。这表明斯克里布纳短体线虫山西种群对玉米具有明显的致病性。

表 2 接种斯克里布纳短体线虫 60 d 后的虫量及其对玉米生长的影响

Table 2 Nematode density of *P. scribneri* after inoculation for 60 d and effects on corn growth

处理 Treatment	株高/cm Height	线虫量/(条·株 ⁻¹) Number of nematodes	繁殖系数(R_f) Reproductive factors	地上部鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh shoot weight	根鲜质量/(g·株 ⁻¹) Fresh root weight
接种组 Inoculated group	76.92±2.99*	19 435±3 374.33	19.44±3.37	46.30±3.90*	25.30±0.90*
CK	88.66±3.82	0	0	55.00±0.82	41.50±0.89

注:表中数值表示 5 个重复的“平均值±标准误”,* 表示经 t 检验不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Values represent “mean± standard error” of five replicates, * indicates significant differences between treatments based on t-test ($P<0.05$).

3 讨 论

本研究采用形态学和分子生物学相结合的方法,对分离自山西长治玉米根腐线虫病的短体线虫进行了种类鉴定,明确其病原为斯克里布纳短体线虫。斯克里布纳短体线虫山西种群与文献记载的形态测量值及描述^[22]基本一致,仅个别测量值存在差异。其中,斯克里布纳短体线虫山西种群雌虫的 L 、 b 、 c 、 V 值和背食道腺开口到口针基部球的距离均小于 Roman 等^[22]所描述的相关测量值,而 a 值略大于其描述的测量值,但数值之间均有重叠,这可能是种内不同地理种群之间的差异所致。

植物寄生线虫是玉米生产上的一类重要病原物,在我国多个地区都有线虫侵染危害玉米的相关报道,能侵染危害玉米并造成一定经济损失的线虫种类主要有短体属、矮化属(*Tylenchorhynchus*)、丝尾垫刃属(*Filenchus*)、垫刃属(*Tylenchus*)、螺旋属(*Helicotylenchus*)、平滑垫刃属(*Psilenchus*)、拟盘旋属(*Pararotylenchus*)等^[23-26],短体线虫是我国玉米种植区分布最广、危害最严重的种类之一。斯克里布纳短体线虫、咖啡短体线虫、玉米短体线虫(*P. zeae*)、落选短体线虫(*P. neglectus*)、桑尼短体线虫(*P. thornei*)等多个种均可侵染危害玉米,并造成严重的经济损失^[3,10-12,14]。短体线虫在自身侵染取食等过程中不仅能够引起植株根系的坏死腐烂,而且还会给玉米的根系造成大量伤口,这些伤口为其他病原物的入侵创造了有利条件,从而引起多种病原物复合侵染的现象,大大加重了作物的受害程度^[27]。目前,国内关于玉米根腐线虫的研究大多集中于形态学鉴定,尚缺乏相关的分子数据及其对寄主的致病性分析^[12-14]。本研究采用室内盆栽接种的方法,明确山西长治玉米根腐线虫种群对玉米具有较强的致病性。高学彪等^[10]报道,斯克里布纳短体线虫在华北五省的玉米根际普遍存在,室内盆栽接种 12 周后繁殖系数(R_f)最高,为 4.34。本研究表

明,接种斯克里布纳短体线虫(1 000 条/盆)山西种群 60 d 后,每株玉米根际的平均虫量为 19 435 条,繁殖系数(R_f)达到 19.44,这种差异是由不同试验条件造成的,还是由斯克里布纳短体线虫不同种群之间繁殖力和致病力的差异所导致,还有待于进一步研究。

[参考文献]

- 李少昆,赵久然,董树亭,等.中国玉米栽培研究进展与展望[J].中国农业科学,2017,50(11):1941-1959.
Li S K, Zhao J R, Dong S T, et al. Advances and prospects of maize cultivation in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(11): 1941-1959.
- Thompson J P, Clewett T G, Sheedy J G, et al. Occurrence of root-lesion nematodes (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*) and stunt nematode (*Merlinius brevidens*) in the northern grain region of Australia [J]. Australasian Plant Pathology, 2010, 39(3):254-264.
- Li Y, Lu Q S, Wang S, et al. Discovery of a root-lesion nematode, *Pratylenchus scribneri*, infecting corn in Inner Mongolia, China [J/OL]. Plant Diseases, 2020. (2020-04-20). <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0194-PDN>.
- 秦 鑫,王亚东,李红梅,等.中国小麦短体线虫种类的分子鉴定及地理分布[J].麦类作物学报,2020,40(2):251-259.
Qin X, Wang Y D, Li H M, et al. Molecular identification and geographical distribution of *Pratylenchus* species on wheat in China [J]. Journal of Triticeae Crops, 2020, 40(2): 251-259.
- Wang K, Hao P H, Liu Y K, et al. Occurrence of *Pratylenchus coffeae* causing root rot of soybean in Shandong Province of China [J/OL]. Plant Disease, 2020. (2020-10-02). Doi: 10.1094/PDIS-08-20-1740-PDN.
- 章淑玲,廖琳琳,肖 顺.花生根际斯克里布纳短体线虫(*Pratylenchus scribneri* Steiners)的记述[J].亚热带农业研究,2016,12(4):271-274.
Zhang S L, Liao L L, Xiao S. A description of nematode *Pratylenchus scribneri* Steiners in rhizospheres of peanut plants [J]. Subtropical Agriculture Research, 2016, 12(4): 271-274.
- 李 宇,赵湘媛,宋莹莹,等.咖啡短体线虫不同种群对番茄的寄生性和致病性[J].中国农业大学学报,2021,26(10):81-89.
Li Y, Zhao X Y, Song Y Y, et al. Parasitism and pathogenicity of five populations of *Pratylenchus coffeae* to *Solanum lycopersicum* [J]. Chinese Agricultural University Journal, 2021, 26(10): 81-89.

- ersicum [J]. Journal of China Agricultural University, 2021, 26(10): 81-89.
- [8] 王硕, 刘焱琨, 夏艳辉, 等. 河南烟草根际短体线虫鉴定及其致病性分析 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(1): 85-93.
Wang S, Liu Y K, Xia Y H, et al. Identification and pathogenicity of a root-lesion nematode on tobacco in Henan Province [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2021, 49(1): 85-93.
- [9] Castillo P, Vovlas N. *Pratylenchus* (Nematoda: *Pratylenchidae*): diagnosis, biology, pathogenicity and management [J]. Journal of Pathology, 2008, 90(3): 607-609.
- [10] 高学彪, 程瑚瑞, 方中达. 玉米根腐线虫病的病原鉴定和致病性研究 [J]. 南京农业大学学报, 1992, 15(4): 50-55.
Gao X B, Cheng H R, Fang Z D. Pathogen identification and pathogenicity of the corn disease caused by lesion nematodes in north China [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1992, 15(4): 50-55.
- [11] 王汝贤. 陕西主要农作物寄生线虫种类鉴定 [J]. 西北农业学报, 1993, 2(4): 59-66.
Wang R X. A preliminary report on the identification of plant parasitic nematodes of staple crops in Shaanxi Province [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 1993, 2(4): 59-66.
- [12] 刘维志, 段玉玺, 赵洪海, 等. 我国北方地区玉米根寄生线虫的种类鉴定研究 [J]. 玉米科学, 1996, 4(4): 65-67, 77.
Liu W Z, Duan Y X, Zhao H H, et al. Species of the nematodes associated with the corn roots from northern China [J]. Maize Science, 1996, 4(4): 65-67, 77.
- [13] 郭宁, 石洁. 我国北部及中东部地区玉米根际土壤中寄生线虫种类调查研究 [J]. 玉米科学, 2012, 20(6): 132-136.
Guo N, Shi J. Investigation on species of plant parasitic nematodes in the rhizospheric soil of corn in northern and mid-eastern China [J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(6): 132-136.
- [14] 夏艳辉, 刘焱琨, 郝鹏辉, 等. 河南省玉米田根腐线虫三个病样品种的病原种类鉴定 [J]. 植物病理学报, 2021, 51(4): 536-548.
Xia Y H, Liu Y K, Hao P H, et al. Identification of pathogenic species of three root-lesion nematodes samples from corn fields in Henan Province [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(4): 536-548.
- [15] 谢辉. 植物线虫分类学 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2005.
Xie H. Taxonomy of plant nematodes [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2005.
- [16] 王江岭, 张建成, 顾建锋. 单条线虫 DNA 提取方法 [J]. 植物检疫, 2011, 25(2): 32-35.
Wang J L, Zhang J C, Gu J F. Method of extract DNA from a single nematode [J]. Plant Quarantine, 2011, 25(2): 32-35.
- [17] De L P, Felix M A, Frisse L M, et al. Molecular and morphological characterisation of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: Cephalobidae) [J]. Nematology, 1999, 1(6): 591-612.
- [18] Vrain T C, Wakarchuk D A, Lévesque A C, et al. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group [J]. Fundamental & Applied Nematology, 1992, 15(6): 563-573.
- [19] 余传金, 孙佳楠, 傅科鹤, 等. 玉米矮化病株及其根际土壤内线虫的分离与分子鉴定 [J]. 植物保护学报, 2015, 42(6): 892-898.
Yu C J, Sun J N, Fu K H, et al. Isolation and molecular identification of nematodes of main nematodes in rhizosphere soils and seedlings associated with corn dwarf [J]. Journal of Plant Protection, 2015, 42(6): 892-898.
- [20] Huelsenbeck J P, Ronquist F. MRBAYES: bayesian inference of phylogenetic trees [J]. Bioinformatics, 2001, 17(8): 754-755.
- [21] Byrd D W, Kirkpatrick T, Barker K R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes [J]. Journal of Nematology, 1983, 15(1): 142-143.
- [22] Roman J, Hirschmann H. Embryogenesis and postembryogenesis in species of *Pratylenchus* (Nematoda: *Tylenchidae*) [J]. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 1969, 36(4): 164-174.
- [23] 方羽生, 尹淦. 植物病原线虫短体属种类的研究 [J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 1994(4): 32-41.
Fang Y S, Yin G. Study on pathogenetic nematodes (*Pratylenchus*: *Pratylenchinae*) [J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 1994(4): 32-41.
- [24] 张宇, 高俊明, 李红. 太谷县玉米田植物寄生线虫种类及垂直分布 [J]. 山西农业科学, 2009, 37(10): 51-54, 96.
Zhang Y, Gao J M, Li H. Corn parasitic nematodes types and its vertical distribution in Taigu [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2009, 37(10): 51-54, 96.
- [25] 郭宁, 石洁, 王振营, 等. 玉米线虫矮化病病原鉴定 [J]. 植物保护学报, 2015, 42(6): 884-891.
Guo N, Shi J, Wang Z Y, et al. Identification of the pathogen causing maize nematode stunt disease [J]. Journal of Plant Protection, 2015, 42(6): 884-891.
- [26] Xiao D, Feng Y, Zhou Y, et al. First report of *Heterodera elachista* on *Zea mays* and *Echinochloa crusgalli* var. *mitis* in Liaoning Province, China [J]. Plant Disease, 2018, 103(6): 1433.
- [27] 段玉玺, 陈立杰, 张万民, 等. 部分玉米自交系根际线虫群体数量与玉米早衰病相关性研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 2001, 32(3): 189-191.
Duan Y X, Chen L J, Zhang W M, et al. Studies on relationship between maize early aging disease and rhizosphere nematode dynamics [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2001, 32(3): 189-191.