胡江涛,杨勇,宋倩,等.赣南设施丝瓜根结线虫种类鉴定及杀线剂对其防效测定[J].山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(5):40-48.
Hu J T, Yang Y, Song Q,et al.Identification of root-knot nematode species in green house sponge gourd in Gannan area and efficacy of Nematicides[J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2024,44(5):40-48.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202401055

赣南设施丝瓜根结线虫种类鉴定及杀线剂对其防效测定

胡江涛[1,2],杨勇[3],宋倩[1,2],熊春晖[1,2],张静燕[1,2],钟秋璘[1,2],朱启寒[4],骆振营[1,2],戈伶俐[1],周英[3*],扶京龙[1,2*]

(1.赣州市蔬菜花卉研究所,江西 赣州 341413;2.江西省设施蔬菜技术创新中心,江西 赣州 341413;
3.赣南科学院,江西 赣州 341000;4.江西农业大学 农学院,江西 南昌 330045)

摘　要:[目的]针对赣南地区设施蔬菜根结线虫病危害严重问题,鉴定赣南地区设施丝瓜根结线虫病病原物种类,明确化学杀线剂对病原物的毒力活性并进行田间防效试验,为丝瓜根结线虫病的防控提供理论支撑。[方法]采用五点取样法采集南康区具有丝瓜根结线虫病典型特征病害样品进行分离、纯化及致病性测定,观察分离物的形态特征,通过rDNA－ITS序列和28S rDNA D2D3序列进行测序分析。以该根结线虫二龄幼虫(J2s)为材料,进行室内毒杀活性测定和田间防效试验。[结果]丝瓜根结线虫分离纯化后进行室内回接,丝瓜产生明显根结,且与自然发病典型特征一致,再分离后得到与接种病原线虫形态特征一致的线虫。该病原线虫的形态特征与南方根结线虫*Meloidogyne incognita*基本一致,rDNA－ITS序列及28S rDNA D2D3序列与Genebank中*M. incognita*相似性达99%以上,构建系统发育树发现该病原线虫与*M. incognita*聚在一支。室内毒力测定结果表明:5%阿维菌素EC对*M. incognita*毒杀活性最高,24 h时EC_{50}为1.106 5 mg•L^{-1},41.7%氟吡菌酰胺SC、11%阿维·噻唑膦GR和20%噻唑膦EW依次减弱,24 h和72 h时EC_{50}分别为1.891 9 mg•L^{-1}和0.355 2 mg•L^{-1}、5.476 2 mg•L^{-1}和3.707 8 mg•L^{-1}、39.861 6 mg•L^{-1}和32.149 8 mg•L^{-1}。田间防效试验结果表明:5%阿维菌素EC和41.7%氟吡菌酰胺SC处理对土壤中根结线虫相对防效分别为70.49%和77.99%,作物根结防治效果分别为58.41%和68.71%,均高于其它处理。[结论]赣南地区设施丝瓜根结线虫病病原物为*M. incognita*,5%阿维菌素EC和41.7%氟吡菌酰胺SC对*M. incognita*室内毒力和田间防治效果均较好。

关键词:赣南地区;设施丝瓜;根结线虫;病原鉴定;防效测定
中图分类号:S432.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2024)05-0040-09

丝瓜是葫芦科(Cucurbitaceae)丝瓜属(*Luffa* Mill.)一年生攀缘性草本植物,是我国主要瓜类蔬菜之一[1]。其肉质疏软多汁,蛋白质、氨基酸等营养物质丰富且具有清热解毒、化痰生津、美白美容等医药功效[2-3]。截止2023年,赣南地区设施蔬菜产业建设面积超过1.95万hm^2,且还在稳步增长中。近年来随着保护地设施蔬菜栽培面积逐年增加,根结线虫病越来呈逐年加重之势,所以明确赣南地区设施丝瓜根结线虫种类及筛选高效杀线剂对于精准防治根结线虫具有重要意义。根结线虫(Root-Knot Nematode)是一种世界性植物病原物[4],目前已经超过细菌和病毒,成为仅次于真菌的第二大病原[5-6],是致病性最强的植物寄生线虫之一[7]。目前已经有超过100种根结线虫被报道,其中南方根结线虫、北方根结线虫(*M. hapla*)、爪哇根结线虫(*M. javanica*)、花生根结线虫(*M. arenaria*)是分布最广泛、危害最大的4种根结线虫,在全球均有发生[8-9]。据统计,根结线虫可以侵

收稿日期:2024-01-21　　**修回日期**:2024-04-11
基金项目:江西南方地区设施蔬菜提质增效关键技术研究与示范(20212BBF61004);赣南设施蔬菜土壤根结线虫鉴定及综合防治技术研究(赣市科发[2019]60号);油菜饼粕对设施蔬菜根结线虫的防控应用研究(赣市科发[2023]44号);赣南地方丝瓜主要农艺性状研究(赣市科院字[2022]20号)
作者简介:胡江涛(ORCID:0000-0001-5416-8974),硕士研究生,农艺师,研究方向:作物病虫害防治,1303485637@qq.com
*通信作者:扶京龙(ORCID:0009-0001-3965-2255),硕士研究生,农艺师,研究方向:作物病虫害防治,E-mail: 1007674018@qq.com
周英(ORCID:0000-0002-2323-3005),硕士研究生,农艺师,研究方向:作物病虫害防治,E-mail:1373583449@qq.com

染超过3000种植物,为害潜力极大[10],2013年全球因植物寄生线虫导致作物减产损失1570亿美元,其中超过50%是由根结线虫导致[11-12]。目前防治根结线虫病以化学农药为主,噻唑膦、氟吡菌酰胺和阿维菌素是较为常用的3种杀线剂,据报道,它们对柑橘、番茄和黄瓜根结线虫具有较好的防治效果[13-18]。该研究拟从田间采集具根结线虫典型发病特征的丝瓜样品,对其进行病原物分离,对分离得到的病原物进行致病性检测及形态学与分子生物学鉴定,明确根结线虫种类,进一步通过室内毒杀活性试验和田间防效试验明确各杀线剂对其活性程度。该研究拟明确赣南地区设施丝瓜根结线虫种类,并通过各杀线剂的室内毒杀活性测定和田间防效试验为赣南地区设施丝瓜根结线虫病的防控提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试线虫

2023年3月从江西赣南地区南康区龙华镇新文村(N:;E)通过五点取样法采集具有明显根结的丝瓜植株发病样品,用塑封袋装好完整根结和根际土,贴上标签后带回实验室进行显微镜观察、分离和鉴定。J2s:称取根际土5 g,通过漏斗法分离根际土中的J2s;受害根系洗干净后,挑取单个卵囊装有1.5 mL dd H_2O的2 mL离心管中,28 ℃恒温培养箱中孵化获取J2s。雌成虫:受害根系清洗干净后,体式显微镜下解剖根结,挑取雌成虫,观测形态特征和用于分子生物学鉴定。

1.1.2　供试植株

供试植株为丝瓜,品种为'兴蔬短棒'。

1.1.3　供试试剂和农药

试剂盒:Ezup柱式血液基因组DNA抽提试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)。

杀线剂:20%噻唑膦水乳剂,山东绿德地生物科技有限公司生产;41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂,拜耳作物科学(中国)有限公司生产;5%阿维菌素乳油,河北兴柏农业科技有限公司生产;11%阿维·噻唑膦颗粒剂,华北制药集团爱诺有限公司生产。

1.2　方法

1.2.1　致病性测定

自然土121 ℃高温高压灭菌30 min后装于40 cm×60 cm盆钵,丝瓜幼苗两叶一心时移栽,缓苗7 d后,用移液枪吸取含约3000头J2s 5 mL ddH_2O接种于丝瓜苗根际,28 ℃、相对湿度65%恒温培养箱进行培养,35 d后观察丝瓜苗地上部和地下部发病情况;5 mL ddH_2O接种于丝瓜苗根际作为空白对照,每个处理3次重复,每个重复3株植株。

1.2.2　形态学鉴定

J2s和雌成虫:在光学显微镜下进行形态观察,测量并记录数据。线虫的杀死和固定按照《植病研究方法》[19]进行操作,通过光学显微镜进行形态特征观察及直接测量J2s和雌成虫的最大体长。

1.2.3　分子生物学测定

DNA提取与PCR扩增:挑取受害根系雌成虫约20头,利用Ezup柱式血液基因组DNA抽提试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)提取雌成虫的基因组DNA,采用引物rDNA-ITS(F194:5′-CGTAACAAGGTAGCTGTAG-3′,PXB481:5′-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3′)[20]和28S rDNA D2D3(D2A:5′-ACAAGTACCGTG-AGGGAAAGT-3′,D3B:5′-TCGGAAGGAA-CCAGCTACTA-3′)[21]进行PCR扩增,PCR扩增总体积25 μL,包括上下游引物各1 μL,模板DNA 1 μL,10×Taq Master Mix 2.5 μL,Taq酶0.2 μL,ddH_2O 19.3 μL。PCR扩增程序:预变性95 ℃ 5 min;变性94 ℃ 30 s,退火58 ℃ 30 s,延伸72 ℃ 30 s,30个循环,72 ℃延伸10 min,扩增产物4 ℃保存。PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测,将PCR扩增产物送至上海生工生物工程股份有限公司进行测序,测序结果在NCBI中BLAST比对分析;通过MEGA X软件中的邻位加入法(neighbor-joining,NJ)构建系统发育树,结合病原线虫形态学特征明确待鉴定线虫的种类。

1.2.4　室内毒杀活性测定

挑取根结线虫单卵置于10 mL无菌水中28 ℃培养3 d,获取J2s;化学农药按有效成分用无菌水稀释成8个质量浓度梯度的药液(表1),用移液枪混匀后吸取2 mL药液加入直径35 mm培养皿中制作含药梯度平板,每个梯度挑取30条左右活跃的根结线虫2龄幼虫,置于28 ℃恒温培养箱中培养24 h和72 h取出,在体视显微镜下观察并记录线虫死亡数。同时,将处理24 h和72 h的线虫用清水复苏24 h,再次于体式显微镜下检查并记录线

虫活虫数和死虫数,2 mL无菌水培养作为空白对照,每个处理3次重复,计算线虫的毒力回归方程、EC_{50}值和相关系数。

$$校正死亡率=\frac{处理组死亡率-对照组死亡率}{1-对照组死亡率}\times 100\%$$

表1 杀线剂不同浓度处理

Table1 Nematocide treatment of different concentrations

杀线剂 Nematocides	处理24 h药剂浓度/(mg·L^{-1}) Treatment concentration (24 h)	处理72 h药剂浓度/(mg·L^{-1}) Treatment concentration (72 h)
41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂	25,12.5,6.25,3.13,1.56,0.78,0.39,0.2	25,12.5,6.25,3.13,1.56,0.78,0.39,0.2
11%阿维·噻唑膦颗粒剂	220,110,55,27.5,13.75,6.88,3.44,1.72	220,110,55,27.5,13.75,6.88,3.44,1.72
5%阿维菌素乳油	62.5,31.25,15.63,7.81,3.91,1.95,0.98,0.49	250,125,62.5,31.25,15.63,7.81,3.91,1.95
20%噻唑膦水乳剂	500,250,125,62.5,31.25,15.63,7.81,3.91	500,250,125,62.5,31.25,15.63,7.81,3.91
20%噻唑膦水乳剂+5%阿维菌素乳油	——	200,100,50,25,12.5,6.25,3.13,1.56

1.2.5 田间防效测定

选取根结线虫病发生程度中等的设施大棚进行田间试验,试验设置5个处理,分别为41.7%氟吡菌酰胺SC、11%阿维·噻唑膦GR、5%阿维菌素EC、20%噻唑膦EW以及空白对照,每个处理3个小区,共计15个小区,每个小区70.2 m^2,小区随机排列。杀线剂按照厂家推荐剂量(41.7%氟吡菌酰胺SC 0.03 mL·株$^{-1}$,5%阿维菌素EC 225 mL·hm^{-2},11%阿维·噻唑膦GR 22 500 g·hm^{-2},20%噻唑膦EW 12 000 mL·hm^{-2})和使用方法施用,41.7%氟吡菌酰胺SC于丝瓜定植后20 d施用1次;11%阿维·噻唑膦GR定植前施用于土壤中;5%阿维菌素EC于丝瓜定植后20 d施用1次,之后每隔45 d施用1次,连用3次;20%噻唑膦EW于丝瓜定植后20 d施用1次,之后每隔45 d施用1次,连用3次;其他田间管理一致,于丝瓜拉秧时进行J2s和根结指数的测定并计算防效。丝瓜定植时间为2023年3月14日,拉秧时间为2023年9月28日。

J2s测定:在丝瓜定植前和丝瓜拉秧时,每个小区采用随机五点取样法分别收集土壤和丝瓜根际土1 kg,通过贝曼式漏斗法分离土壤线虫并进行镜检。

根结指数测定及分级标准:丝瓜拉秧时,每个小区随机测定6株丝瓜根结指数。

0级:无根结;1级:仅有少量根结,占全根系的11%以下;3级:根结明显,占全根系的11%~25%;5级:根结特别明显,占全根系的26%~50%;7级:根结数量很多,占全根系的51%~75%;9级:根结数量特多,占全根系的75%以上[22]。

J2s相对防效=1-(处理前清水对照线虫密度×处理后小区线虫密度)/(处理后清水对照线虫密度×处理前小区线虫密度)×100%

根结指数防治效果=(清水对照根结指数-处理后根结指数)/清水对照根结指数×100%

1.3 数据与分析

采用Microsoft Excel 2021和DPS7.05进行数据统计和分析,将线虫校正死亡率转换为机率值(y),浓度换算成浓度对数(x),利用DPS软件建立毒力回归方程y=ax+b,计算各药剂的EC_{50}。使用邓肯氏新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 设施丝瓜根结线虫病田间症状

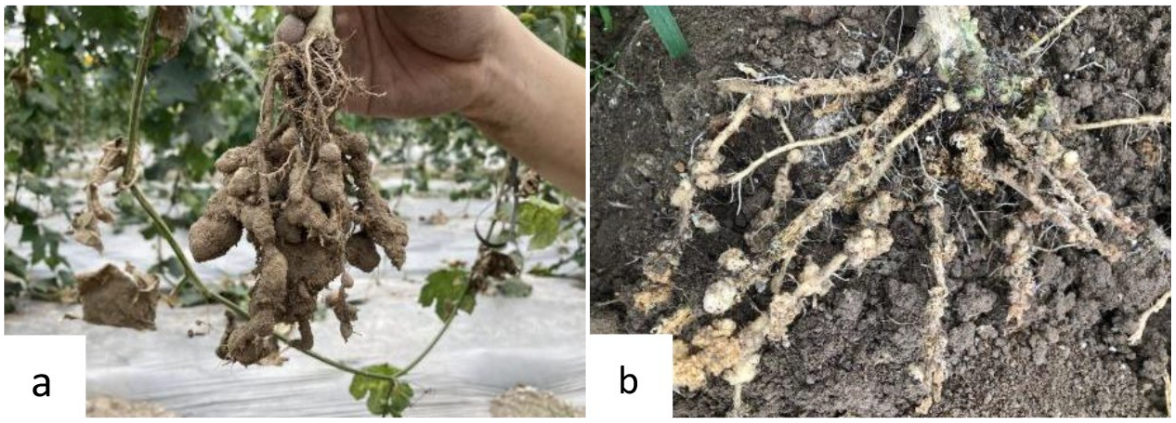
丝瓜根结线虫病发病初期地上部症状不明显,地下部丝瓜根系出现轻微根结,随着病情发展,地上部主要表现为生长缓慢,叶片黄化,与其它病害或生理性损伤不好区分;地下部症状明显,受害根系产生明显根结(虫瘿),发病严重时一条根系上长满根结,发病后期受害根系腐烂中空。

2.2 致病性测定

处理组丝瓜苗发病率达100%,根结症状明显(图2 b),且与设施丝瓜自然发病症状一致;空白对照不发病,丝瓜苗长势良好(图2 a)。对处理组发病植株根部进行病原物再分离,得到与接种线虫形态特征一致的病原线虫。

2.3 病原物形态特征和胚胎发育不同阶段特征

J2s虫体细小,约312.85~410.71 μm,蠕虫



a:前期;b:后期

a: early stage, b: later stage

图1　设施丝瓜根结线虫病地下部发病症状

Fig. 1　Symptoms of root-knot nematode disease in the underground parts of facility *Luffa*



图2　丝瓜苗接种根结线虫35天后的根系症状

Fig. 2　Symptoms of root system of *Luffa* seedlings inoculated with root-knot nematodes in 35 d

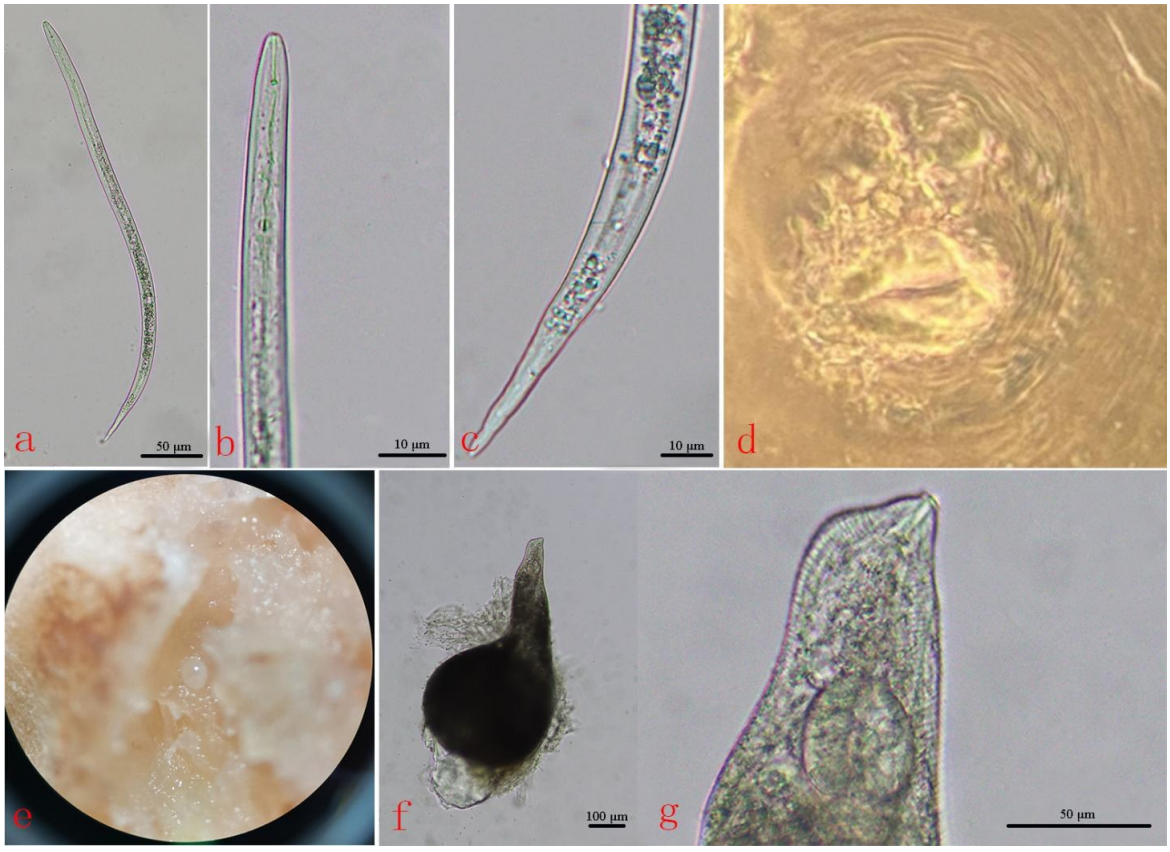
形,头冠前端平宽,头部无突出与缢缩,有不完整环纹;口针纤细,锥部与杆部中等宽,基部缢缩且向后倾斜;尾有透明区,透明区短或不显著(图3 a-c)。雌成虫乳白色(图3 e),虫体膨大呈梨圆形,652.08~926.63 μm,具突出颈,头架弱,口针纤细,口针基部球球形或椭圆形,中食道球和食道腺发达(图3 f-g);雌成虫会阴花纹呈圆形,背弓高,线纹波浪形,在侧面分叉,侧线不明显,顶部平滑,线纹弯向阴门,尾端区无刻点(图3 d)。

2.4　分子生物学鉴定

以供试线虫基因组DNA为模板,利用引物rDNA-ITS和28S rDNA D2D3扩增,均能扩增到相应目的片段,分别为629 bp和766 bp。将获得的2段序列与NCBI数据库中已有序列作同源性比对,结果显示均与南方根结线虫*M. incognita*同源性达99%以上;将该2段序列上传至NCBI Genebank,得到序列号分别为OQ780280和OQ780281;利用MEGA X Neighbor-Joining构建其系统发育树,结果表明这2段序列均与*M. incognita*聚为一支(图4-图5)经形态学和分子生物学鉴定,明确赣南地区设施丝瓜根结线虫种为*M. incognita*。

2.5　室内毒杀活性测定

试验24 h后(表2),CK处理J2s无死亡现象,4种杀线剂对J2s均有一定程度的毒杀效果。5%阿维菌素乳油毒杀活性最强,EC_{50}值为1.106 5 mg·L^{-1},前3个浓度梯度校正死亡率平均值达100%;其次为



a:J2s,b:J2s头部,c:J2s尾部,d:会阴花纹,e—f:雌虫,g:雌虫头部

a: Overall appearance of the second—stage juvenile, b: Head of the second—stage juvenile, c: Tail of the second—stage juvenile, d: Perineal pattern of female adult, e—f:Overall appearance of female adult, g: Head of female adult

图3 丝瓜根结线虫病原物形态特征

Fig. 3 Morphological Characteristics of pathogen of *Luffa* Root-Knot Nematode disease

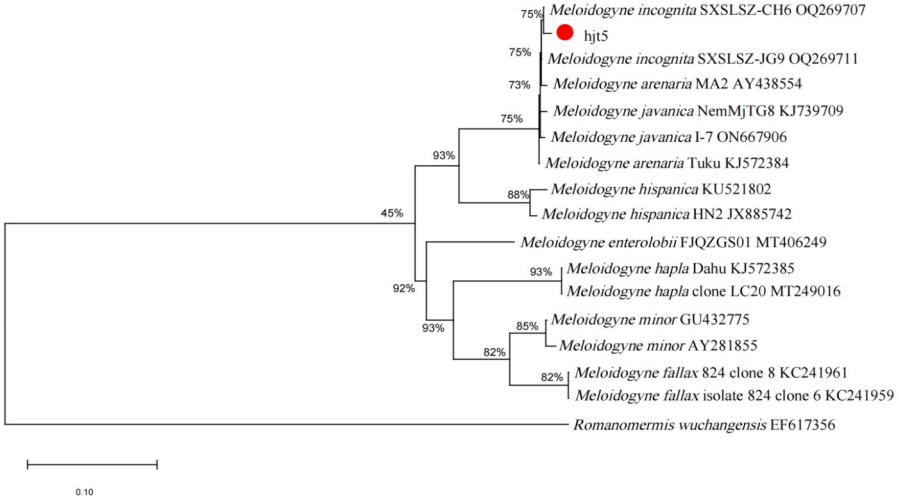


图4 基于rDNA-ITS分子序列通过邻接法构建根结线虫属发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *Meloidogyne* spp. based on the nucleotide sequences of rDNA-ITS using the neighbor-joining method

41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂,EC_{50}值为1.8919 mg·L^{-1}。试验72 h后(表3),CK处理J2s平均死亡率为10%,5%阿维菌素乳油毒杀活性最强,前7个浓度梯度校正死亡率平均值达100%;41.7%氟吡菌酰

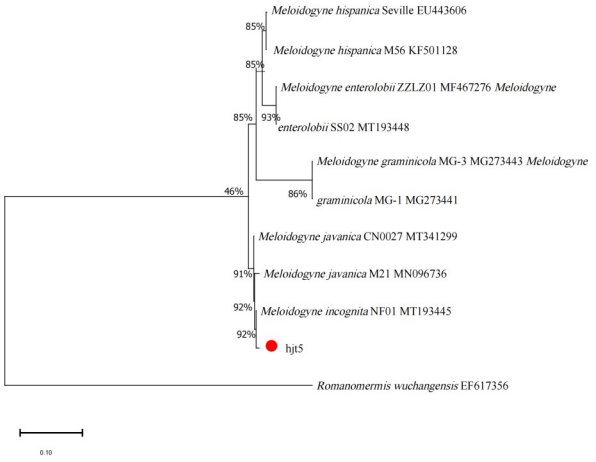


图5　基于28S rDNA D2D3分子序列通过邻接法构建根结线虫属发育树

Fig. 5　Phylogenetic tree of *Meloidogyne* spp. based on the nucleotide sequences of 28S rDNA D2D3 using the neighbor-joining method

胺悬浮剂 EC_{50}值为0.355 2 mg·L^{-1}。

2.6　田间防效

经杀线剂处理后土壤中J2s数量及根结指数如表4所示。所有杀线剂处理对土壤中线虫数量和根结数均有一定的抑制作用,就杀线剂对土壤中J2s减退效果来看,41.7%氟吡菌酰胺SC效果最好,相对防效为77.99%;其次是5%阿维菌素EC,相对防效为70.49%,这2种杀线剂均显著高于20%噻唑膦EW和11%阿维·噻唑膦颗粒剂效果。就杀线剂对作物根结指数影响及其防治效果来看,所有杀线剂处理根结指数均显著低于清水对照,41.7%氟吡菌酰胺SC效果最好,防治效果为68.41%,显著高于5%阿维菌素EC和11%阿维·噻唑膦GR,20%噻唑膦EW防治效果最差,为47.83%。

3　讨论

根结线虫种类的准确鉴定是防治作物根结线虫病的基础和关键,结合形态学和DNA分子生物学技术进行种类鉴定是比较科学有效的手段[23]。传统形态学鉴定主要是根据线虫不同发育阶段如二龄幼虫、雌虫和成虫等的体态特征进行判断[24],其中会阴花纹是鉴定根结线虫属的一个重要形态特征[25],该研究观察到的雌虫会阴花纹呈圆形,线纹波浪形,背弓高,没有明显的侧线,顶部平滑,与已报道的南方根结线虫形态特征相似[26-28]。但是有报道表明根结线虫雌虫会阴花纹存在种内变异现象和同种根结线虫会阴花纹差异较大现象[29],而且由于环境条件和寄主差异,同种根结线虫形态特征也可能会有较大变化,不同种间根结线虫形态测量值存在严重重叠现象,根结线虫相似性非常高,单纯靠传统形态学鉴定很可能出现判断错误情况[30],所以结合基于DNA分子生物学技术鉴定无疑能更精准鉴定根结线虫种类[31]。

目前对于根结线虫的防治无论是物理防治、生物防治还是农业防治都存在见效慢、成本大、实

表2　杀线剂对丝瓜根结线虫室内毒杀活性(24 h)

Table 2　Indoor bioactivity of nematicides against *Luffa* root－knot nematodes (24 h)

杀线剂 Nematocides	毒力回归方程 Virulence regression equation	EC_{50}/(mg·L^{-1})	95%置信限 Confidence interval	相关系数(r) Correlation coefficient
41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂	y=4.615 8+1.387 4x	1.891 9	1.511 2～2.368 6	0.948 0
11%阿维·噻唑膦颗粒剂	y=4.025 2+1.320 0x	5.476 2	4.353 7～6.888 2	0.984 5
5%阿维菌素乳油	y=4.940 7+1.347 9x	1.106 5	0.807 7～1.515 9	0.971 1
20%噻唑膦水乳剂	y=3.113 2+1.178 9x	39.861 6	32.442 8～48.977 0	0.987 2

表3　杀线剂对丝瓜根结线虫室内毒杀活性(72 h)

Table 3　Indoor bioactivity of nematicides against *Luffa* root－knot nematodes (72 h)

杀线剂 Nematocides	毒力回归方程 Virulence regression equation	EC_{50}/(mg·L^{-1})	95%置信限 Confidence interval	相关系数(r) Correlation coefficient
41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂	y=5.694 4+1.462 8x	0.355 2	0.242 1～0.464 1	0.968 8
11%阿维·噻唑膦颗粒剂	y=4.030 3+1.703 8x	3.707 8	2.511 2～5.474 7	0.958 5
20%噻唑膦水乳剂	y=3.434 2+1.038 9x	32.149 8	25.951 8～39.827 9	0.984 9
20%噻唑膦水乳剂＋5%阿维菌素乳油	y=3.493 0+1.314 2x	14.017 9	10.402 1～18.890 6	0.971 4

表4 杀线剂对根结线虫的田间防治效果

Table 4 Field control efficacy of nematicides against *Luffa* root－knot nematodes

杀线剂 Nematocides	J2s基数·10g^{-1} Nematode population base	拉秧时J2s数量·10g^{-1} population of J2s while uprooting	相对防效/% Relative control efficacy	根结指数 Gall index	防治效果/% Control efficacy
41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂	126.00±9.17	42.00±6.00	77.99±4.82a	13.58±3.86d	68.41±6.80a
11%阿维·噻唑膦颗粒剂	174.00±11.14	92.67±10.07	65.15±3.81b	17.90±2.83c	57.60±8.71ab
5%阿维菌素乳油	109.00±10.15	49.00±5.57	70.49±3.91ab	12.96±3.71d	58.77±9.71ab
20%噻唑膦水乳剂	122.00±10.58	63.67±8.50	65.19±8.81b	22.22±2.90b	47.83±10.56b
清水对照	121.67±9.29	186.00±11.14	——	42.59±4.90a	——

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note:Different lowercase letters in the same column indicated significant difference ($P<0.05$)

施困难等问题,化学防治依然是第一选择[14]。有研究报道41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂对根结线虫病田间防效在内蒙古和济宁分别为65.09%～81.88%和60.8%～64.4%;20%和30%噻唑膦颗粒剂在对根结线虫的田间防效分别为64.7%和80%,1.8%阿维菌素乳油对根结线虫的防效为64.09%[18,32],这些结论表明不同药剂或同种药剂在不同地域对根结线虫的防治效果有明显差异,这可能与地域、施药方式、人为因素以及线虫种类有关。该研究表明,5%阿维菌素乳油对*M. incognita*的室内毒杀活性最强,处理24 h和72 h后,7.81 mg·L^{-1}和3.91 mg·L^{-1}阿维菌素乳油对*M. incognita*的毒杀活性均达到100%,这个结论与林小漫等[17]的研究结果一致,在大田试验中,其对根结线虫的防治效果要差于氟吡菌酰胺,推测可能与阿维菌素的理化性质、作用机制和工艺流程有关,具体原因需要进一步的试验研究探索,但林小漫等研究表明阿维菌素EC对柑橘根结线虫的田间防效一般,这可能与线虫种类以及施药次数有关;20%噻唑膦EC防效较差,这与林小漫等研究结果不同,推测可能是与人为因素、剂型及线虫种类有关;室内结果与田间防效结论有时相差较大,推测与席先梅等[18]、王淑霞等[32]结论相似,即可能与地域、施药方式、人为因素以及线虫种类有关,具体差异较大原因需要进一步的试验研究探索;41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂25 mg·L^{-1}对*M. incognita*的24 h室内校正死亡率为96.67%,EC_{50}值为1.891 9 mg·L^{-1},72 h后3.13 mg·L^{-1}41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂的室内校正死亡率为100%,这与现有研究结论基本相符[33]。

4 结论

该研究以形态学观察结合基于rDNA-ITS和28S rDNA D2D3序列分析的分子生物学鉴定,明确赣南地区设施丝瓜根结线虫为*M. incognita*;通过进一步的室内毒杀活性测定和田间防效试验明确5%阿维菌素EC和41.7%氟吡菌酰胺SC对其具有高毒力活性和较好的田间防效,为赣南地区设施丝瓜根结线虫病的防控奠定了理论依据。

参考文献

[1]舒迎澜.主要瓜类蔬菜栽培简史[J].中国农史,1998,17(3):94-99.
Shu Y L. Brief history of cultivation of main melon vegetables [J]. Agricultural History of China,1998,17(3):94-99.

[2]Partap S, Kumar A, Sharma N K, et al. *Luffa* cylindrica: an important medicinal plant [J]. Journal of Natural Product and Plant Resources,2012,2(1):127-134.

[3]曾美娟,刘建汀,李祖亮,等.普通丝瓜GH3基因家族全基因组鉴定及表达分析[J].江苏农业科学,2022,50(18):82-87.
Zeng M J,Liu J T,Li Z L,et al. Genome-wide identification and expression analysis of GH3 gene family of *Luffa cylindrica* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022,50(18):82-87.

[4]Johnson A W,Dowler C C,Glaze N C,et al. Role of nematodes, nematicides, and crop rotation on the productivity and quality of potato, sweet potato, peanut, and grain sorghum [J]. Journal of Nematology,1996,28(3):389-399.

[5]Feyisa B. Factors associated with plant parasitic nematode (PPN) population: a review [J]. Animal and Veterinary Sciences,2022,10(2):41-45.

[6]罗宁,焦阳,茆振川,等.木霉菌对根结线虫和孢囊线虫防治机理研究进展[J].生物技术通报,2023,39(2):35-50.
Luo N, Jiao Y, Mao Z C, et al. Advances of Trichoderma in controlling root knot nematodes and cyst nematodes [J]. Biotechnology Bulletin,2023,39(2):35-50.

[7]Xiang N, Lawrence K S, Kloepper J W, et al. Biological control of meloidogyne incognita by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton[J]. Plant Disease, 2017, 101(5):774-784.

[8]Donkers-Venne D H T M, Fargette M, Zijlstra C. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays[J].Nematology, 2000, 2(8):847-853

[9]Jones J T, Haegeman A, Danchin E G J, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology[J]. Molecular Plant Pathology, 2013, 14(9):946-961.

[10]Sikandar A, Zhang M Y, Wang Y Y, et al. *In vitro* evaluation of *penicillium chrysogenum* snef1216 against *meloidogyne incognita* (root-knot nematode)[J].Scientific Reports, 2020, 10(1):8342.

[11]Youssef R M, Kim K H, Haroon S A, et al. Post-transcriptional gene silencing of the gene encoding aldolase from soybean cyst nematode by transformed soybean roots [J]. Experimental Parasitology, 2013, 134(2):266-274.

[12]Kim T Y, Jang J Y, Jeon S J, et al. Nematicidal activity of kojic acid produced by *Aspergillus oryzae* against *Meloidogyne incognita*[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 26(8):1383-1391.

[13]Hajihassani A, Davis R F, Timper P. Evaluation of selected nonfumigant nematicides on increasing inoculation densities of *Meloidogyne incognita* on cucumber[J]. Plant Disease, 2019, 103(12):3161-3165.

[14]Medina-Canales M G, Terroba-Escalante P, Manzanilla-López R H, et al. Assessment of three strategies for the management of *Meloidogyne arenaria* on carrot in *Mexico* using *Pochonia chlamydosporia* var. *mexicana* under greenhouse conditions[J]. Biocontrol Science and Technology, 2019, 29(7):671-685.

[15]何成毅,邵红军,王红旗,等. 10%噻唑膦颗粒剂防治保护地茄子根结线虫效果研究[J]. 陕西农业科学, 2010, 56(6):16-17.
He C Y, Shao H J, Wang H Q, et al.Study on the control effect of 10% thiamethoxam granules on eggplant root-knot nematodes in protected fields [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2010, 56(6):16-17.

[16]李今朝. 滴灌施用氟吡菌酰胺防治茄子根结线虫的初步研究[D]. 南宁:广西大学, 2019.
Li J Z. Preliminary research on fluopyram against eggplant *Meloidogyne incognita* spp. via chemigation [D]. Nanning: Guangxi University, 2019.

[17]林小漫,田威,陈绵才,等. 8种杀线剂对柑橘根结线虫的防治效果评价[J]. 农药, 2020, 59(10):766-769.
Lin X M, Tian W, Chen M C, et al. Evaluation of the control effect of 8 kinds of nematicides against *Citrus Meloidogyne panyuensis*[J]. Agrochemicals, 2020, 59(10):766-769.

[18]席先梅,白全江,李玉民,等. 41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂不同施药时期对黄瓜根结线虫的防治效果[J]. 植物保护, 2021, 47(5):314-319.
Xi X M, Bai Q J, Li Y M, et al. Control effect of fluopyram 41.7% SC applied at different time on cucumber root-knot nematode[J].Plant Protection, 2021, 47(5):314-319.

[19]方仲达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1998.
Fang Z D. Research methods for plant diseases[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998.

[20]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.

[21]Ferris V R, Ferris J M, Faghihi J, et al. Comparisons of isolates of *Heterodera avenae* using 2-D PAGE protein patterns and ribosomal DNA [J]. Journal of Nematology, 1994, 26(2): 144-151.

[22]吴青松,郭连兴,李学斌,等. 土壤熏蒸结合机械化深耕处理防治连作土壤西瓜根结线虫效果评价[J]. 植物保护, 2016, 42(3):244-249.
Wu Q S, Guo L X, Li X B, et al. Effect of soil fumigation in combination with deep tillage on controlling root-knot nematodes in continuous cropping watermelon system [J]. Plant Protection, 2016, 42(3):244-249.

[23]Powers T O, Mullin P G, Harris T S, et al. Incorporating molecular identification of *Meloidogyne* spp. into a large-scale regional nematode survey[J]. Journal of Nematology, 2005, 37(2):226-235.

[24]Eisenback J D , Triantaphyllou H H. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races [M]. Manual of Agricultural Nematology, Nickle, W.R. (Eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, 1991:191- 274.

[25]Chitwood B G. Root-knot nematodes-Part I. A revision of the genus *Meloidogyne Goeldi* [J]. Proc Helminthol Soc Wash, 1949, 2:90-114.

[26]贾本凯,王会芳,陈绵才. 海南岛茄果类蔬菜根结线虫种类鉴定[J]. 广东农业科学, 2012, 39(7):104-106.
Jia B K, Wang H F, Chen M C. Species identification of root-knot nematode on solanaceous vegetable in Hainan Island[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39(7):104-106.

[27]李敏,白全江,席先梅,等. 内蒙古赤峰市保护地蔬菜根结线虫种类鉴定[J]. 植物病理学报, 2017, 47(2):286-288.
Li M, Bai Q J, Xi X M, et al. Identification of the root-knot nematodes on vegetables in greenhouses in Chifeng city of Inner Mongolia [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(2):286-288.

[28]Shi Q Q, Shi X, Song W W, et al. First report of southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on maize in Shandong Province of China[J]. Plant Disease, 2020, 104(10):2739.

[29]潘沧桑,林竞,王生元,等. 根结线虫的种类及其寄主植物续述[J]. 武夷科学, 1994, 10:149-157.
Pan C S, Lin J, Wang S Y, et al. Further studies on species of

root-knot nematodes and their host-plants [J]. Wuyi Science Journal, 1994,10:149-157.

[30]何清聪,王东伟,张德咏,等.湖南柑橘根结线虫种类鉴定及特异性PCR检测[J].植物保护,2020,46(1):179-184.
He Q C, Wang D W, Zhang D Y, et al. Identification and PCR detection of citrus root-knot nematode in Hunan Province[J]. Plant Protection, 2020, 46(1): 179-184.

[31]Daramola F Y, Popoola J O, Eni A O, et al. Characterization of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) associated with *Abelmoschus esculentus*, Celosia argentea and *Corchorus olitorius*[J]. Asian Journal of Biological Sciences, 2014, 8(1): 42-50.

[32]王淑霞,朱丽梅,刘艳芝,等.41.7%氟吡菌酰胺悬浮剂对黄瓜根结线虫病的防治效果[J].世界农药,2022,44(8):44-47.
Wang S X, Zhu L M, Liu Y Z, et al. Control effect of fluopyram 41.7% suspension concentrate on cucumber root-knot nematode disease[J]. World Pesticide, 2022, 44(8): 44-47.

[33]迟元凯,叶梦迪,赵伟,等.氟吡菌酰胺对南方根结线虫的作用效果[J].植物保护学报,2019,46(6):1364-1370.
Chi Y K, Ye M D, Zhao W, et al. Effect of fluopyram on root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(6): 1364-1370.

Identification of root-knot nematode species in green house sponge gourd in Gannan area and efficacy of Nematicides

Hu Jiangtao[1,4], Yang Yong[2], Song Qian[1,4], Xiong Chuihui[1,4], Zhang Jingyan[1,4], Zhong Qiuzan[1,4], Zhu Qihan[3], Luo Zhengying[1,4], Ge Lingli[1], Zhou Ying[2*], Fu Jinglong[1,4*]

(*1.Ganzhou Vegetable and Flower Research Institute, Ganzhou 341413, China; 2.Gannan Academy of Sciences, Ganzhou 341000, China; 3.Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 4.Jiangxi Facility Vegetable Technology Innovation Center, Ganzhou 341413, China*)

Abstract: [Objective] To address the serious problem of root-knot nematode disease in greenhouse vegetables in Gannan region, this study aimed to identify the pathogen species causing root-knot nematode disease in greenhouse-grown sponge gourd and to evaluate the toxicity and field control efficacy of chemical nematicides against the pathogen. The results would provide theoretical support for controlling root-knot nematodes in Luffa. [Method] Samples showing typical root-knot nematode disease symptoms were collected from Nankang district using a five-point sampling method. The sample were isolated, purified, and tested pathogenicity. The morphological characteristics of the isolates were observed, and sequencing analysis was conducted using rDNA-ITS and 28S rDNA D2D3 sequences. The second-stage juveniles (J2s) of the root-knot nematode were used as materials for toxicity determination and field control tests. [Results] After isolation and purification of the root-knot nematodes, indoor re-inoculation of sponge gourd resulted in the formation of typical root knots, consistent with the natural disease symptoms. The nematodes isolated post-reinoculation exhibited morphological characteristics consistent with the inoculated pathogenic nematodes. The morphological characteristics of the pathogenic nematode were essentially identical to those of *Meloidogyne incognita*. The rDNA-ITS and 28S rDNA D2D3 sequences showed over 99% similarity with *M. incognita* in Genbank. Phylogenetic tree construction revealed that the pathogenic nematode clustered with *M. incognita*. Toxicity testing showed that 5% abamectin EC exhibited the highest toxicity against *M. incognita*, with a 24-hour EC_{50} of 1.106 5 mg·L^{-1}. The effectiveness of 41.7% fluopyram SC, 11% abamectin-fosthiazate GR, and 20% fosthiazate EW followed, with 24-hour and 72-hour EC_{50} values of 1.891 9 mg·L^{-1} and 0.355 2 mg·L^{-1}, 5.476 2 mg·L^{-1} and 3.707 8 mg·L^{-1}, 39.861 6 mg·L^{-1} and 32.149 8 mg·L^{-1}, respectively. Field efficacy trials demonstrated that the relative control efficacy of 5% abamectin EC and 41.7% fluopyram SC on root-knot nematodes in soil was 70.49% and 77.99%, respectively, while the root knot control efficiency on crops was 58.41% and 68.71%, both higher than other treatments. [Conclusion] The pathogen causing root-knot nematode disease in Gannan area is *M. incognita*. Both 5% abamectin EC and 41.7% fluopyram SC exhibit good indoor toxicity and field control efficacy against *M. incognita*.

Keywords: Gannan area, Greenhouse-grown *Luffa*, Root-knot nematode, Pathogen identification, Control Effect

(编辑:吕俊俐)