

寄生台湾长果桑的螺旋线虫种类鉴定

章淑玲, 丁玲

(福建农业职业技术学院 350119)

摘要: 于福州从多株长势衰退的台湾长果桑植株的根系及根际土壤中分离出虫口密度较大的螺旋线虫, 经形态学观察及 rDNA-ITS 区与 28S rDNA-D2/D3 区序列分析, 鉴定为双官螺旋线虫, 台湾长果桑是其新记录寄主。

关键词: 台湾长果桑; 双官螺旋线虫; 新记录寄主

DOI: 10.13651/j.cnki.fjnykj.2016.07.004

Identification of *Helicotylenchus* species parasitizing in Taiwan *Morus laevigata*

ZHANG Shu-ling, DING Ling

(Fujian Agricultural Vocational College, Fujian Province 350119)

Abstract: *Helicotylenchus* with high density were isolated from the roots and rhizosphere soil of several plants of Taiwan *Morus laevigata* in Fuzhou, which the growing vigor was declined. By morphological observation and sequence analysis on rDNA-ITS and 28S rDNA-D2/D3, it was proved to be *Helicotylenchus dihystra*.

Key words: Taiwan *Morus laevigata*; *Helicotylenchus dihystra*; new recorded host

台湾长果桑又名超级果桑、紫金蜜桑, 是近年来从台湾引进的新品种, 因其富含多种维生素, 且对土壤的要求不严, 现已在福建省多个县市种植。

2015年在福州市一台湾长果桑种植园内发现多株果桑植株呈黄化、矮小状, 且根系退化, 根皮层脱落, 采集其根系及根际土壤样本, 从中分离出大量形态特征一致的螺旋线虫群体。螺旋属线虫是10个最重要的植物寄生线虫属之一, 对作物危害性大。本文通过形态学及分子生物学方法对采集到的

收稿日期: 2016-07-01

作者简介: 章淑玲, 女, 1978年生, 讲师。

基金项目: 福建农业职业技术学院2014年重点课题(14-ZZ-01)。

2 结果与分析

用3种剂量的30%啮虫酰胺悬浮剂处理(处理1、处理2、处理3)防治茶假眼小绿叶蝉, 药后1d(9月8日)防效分别为94.70%、96.16%、96.70%, 药后3d(9月10日)防效分别为97.22%、98.34%、98.33%, 药后7d(9月14日)防效分别为98.01%、98.61%、99.01%。对照药剂10%联苯菊酯乳油处理, 药后1d、3d、7d的防效分别为87.35%、91.25%、94.67%(表2)。

方差分析结果表明, 30%啮虫酰胺悬浮剂处理对茶假眼小绿叶蝉防效在94.70%~99.01%之间, 防效均极显著高于对照药剂10%联苯菊酯乳油处

理, 且3种剂量处理间没有显著差异。

试验期间观察, 各药剂处理对茶树安全无药害, 对其他非靶标生物无影响。供试药剂对烟翅叶蝉的成虫、若虫也具有一定的防治效果。

3 结论

30%啮虫酰胺悬浮剂对茶假眼小绿叶蝉的防效较高, 持效性好, 持效期7d以上, 且对茶树安全。考虑到用药成本, 生产上推荐每667m²用15~20mL兑水60kg喷施, 防治适期为茶假眼小绿叶蝉若虫发生初期, 防治指标为百叶虫量6~12头或每平方米虫量15~27头。

(责任编辑: 刘新永)

螺旋线虫进行鉴定, 现将结果记述如下。

1 材料与方 法

1.1 线虫的采集与分离

采集因受线虫为害生长衰退的台湾长果桑植株根系及根际土壤样本, 采用改良贝尔曼漏斗法分离样本中的病原线虫^[1]。

1.2 线虫的形态鉴定

分离的线虫样本经 60~65℃ 温热杀死后, 以三乙醇胺福尔马林固定液为浮载剂, 用 Leica DM6000 显微镜对线虫形态特征进行观察和度量, 形态计量采用 De Man 公式^[1]。

1.3 线虫的分子鉴定

线虫 DNA 的提取与 PCR 扩增参照文献 [2]。ITS 区引物为通用引物 ITSA (5' - TTGATTACGTC-

CCTGCCCTTT - 3') 和 ITSB (5' - TTTCCTCGC-CGTTACTAAGG - 3')^[3], D2/D3 区引物为通用引物 D2A (5' - ACAAGTACCGTGAGGGAAAAGTTG - 3') 和 D3B (5' - TCGGAAGGAACCAGCTACTA - 3')^[4]。

将获得的 PCR 产物送交上海生工生物技术有限公司进行回收、克隆、测序, 并将测序结果序列输入 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 中进行序列的登录及 Blast 比对。

2 结果与分析

2.1 形态测量值

台湾长果桑螺旋线虫形态测量值见表 1, 与双宫螺旋线虫的文献值^[5]大致相符。

表 1 台湾长果桑螺旋线虫形态测量值与文献记述比较

测量项目	测量值 平均数 ± 标准差 (范围值)	双宫螺旋线虫文献值 ^[5]
测量线虫数(头)	30	10
体长(μm)	643 ± 38.5 (580 ~ 730)	590 ~ 790
体长/最大体宽	26.8 ± 1.8 (25 ~ 30)	27 ~ 35
体长/头端至食道与肠连接处的距离	6.2 ± 0.3 (5.6 ~ 6.7)	5.8 ~ 6.9
体长/头端至食道腺末端的距离	4.7 ± 0.2 (4.4 ~ 5.6)	4.4 ~ 5.9
体长/尾长	41.2 ± 0.2 (36 ~ 48)	35 ~ 49
尾长/肛门	0.9 ± 0.1 (0.7 ~ 1.1)	0.8 ~ 1.2
阴门至头顶距离 × 100 / 体长 (%)	62.4 ± 0.5 (61 ~ 66)	60 ~ 65
口针长(μm)	26.2 ± 0.7 (24.0 ~ 27.5)	25.0 ~ 28.0
针锥长 × 100 / 口针长 (%)	46.5 ± 1.8 (44 ~ 51)	46 ~ 50
口针基部球至背食道腺开口距离 × 100 / 口针长 (%)	40 ± 2.4 (37 ~ 47)	37 ~ 46

2.2 形态描述

通过显微镜观察发现台湾长果桑螺旋线虫的雌虫虫体经温热杀死后呈螺旋状 (图 1 - A), 体环明显。唇区半球形, 可见 4 个或 5 个不明显的头环。口针发达, 基部球前端稍平, 针锥约为口针长度的 1/2。排泄孔位于半月体后 1~3 个体环处。食道腺覆盖于肠的侧腹面 (图 1 - B)。侧区可见明显的 4 条侧线, 网格化 (图 1 - F)。阴门位于虫体中后部, 双卵巢, 对伸, 受精囊内无精子 (图 1 - C)。尾朝腹面弯曲, 圆锥形, 腹尾突有 (图 1 - E) 或无 (图 1 - D)。侧尾腺口位于肛门前的 4~12 体环处 (图 1 - G)。未发现雄虫。与双宫螺旋线虫的形

态特征描述^[5]相符。

2.3 分子生物学鉴定

经 PCR 扩增后寄生台湾长果桑的螺旋线虫 rDNA - ITS 区和 28S rDNA - D2/D3 区的序列片段长度分别为 1317 bp 和 787 bp, GenBank 登录号为 KX822141 和 KX822142。通过 Blast 比对分析, 发现该线虫的 rDNA - ITS 序列与双宫螺旋线虫 (KF441235、DQ309585、LC030374) 的相似性最高, 序列相似性为 98%~99%。另外, 该线虫的 28S rDNA - D2/D3 序列也与双宫螺旋线虫 (KF443217、KF486503、AB933469) 的同源性最高, 序列相似性为 99%。

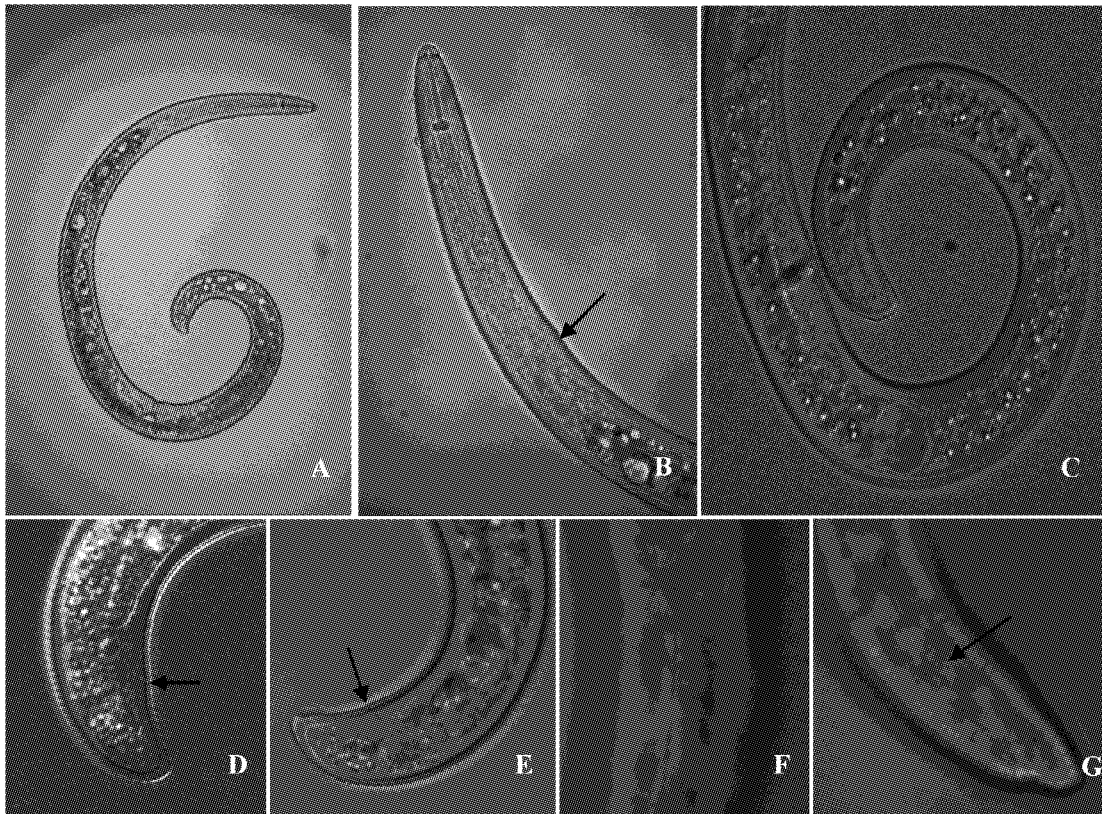


图1 双宫螺旋线虫形态特征

注: A. 雌虫整体; B. 雌虫前体部(箭头所指位置为排泄孔); C. 雌虫后部; D-E. 雌虫尾部(箭头所指位置为肛门); F. 雌虫虫体中部侧线; G. 雌虫尾部侧尾腺口(箭头所示)。

3 讨论

经形态学及分子生物学鉴定,确定寄生台湾长果桑的螺旋线虫为双宫螺旋线虫。双宫螺旋线虫为世界性分布的植物寄生线虫,是螺旋属线虫中危害性最大的一种^[5]。该线虫寄主范围广,可危害多种蔬菜、果树及观赏植物和药用植物等^[6],台湾长果桑是其新记录寄主。双宫螺旋线虫主要寄生在寄主植株的根部皮层,使其根皮层组织细胞发生崩解,表皮细胞脱落,根系停止生长,根萎缩变短,吸收养分和水分的功能衰退,从而植株地上部表现出矮化、黄化,甚至整株枯死的症状^[1,7]。本研究中的双宫螺旋线虫在台湾长果桑根部的种群密度较大,其危害性值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 张绍升. 植物线虫病害诊断与治理 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1999: 15-16, 73-74, 171-172.
[2] ZHANG S L, LIU G K, JANSSEN T, et al. A New Stem Nematode Associated with Peanut Pod Rot in China: Morphological and Molec-

ular Characterization of *Ditylenchus arachis* n. sp. (Nematoda: Anguinidae) [J]. *Plant Pathology*, 2014, 63 (5): 1193-1206.

- [3] VRAIN T C, WAKARCHUK D A, LEVESQUE A C, et al. Intraspecific rDNA Restriction Fragment Length Polymorphism in the *Xiphinema americanum* Group [J]. *Fundamental and Applied Nematology*, 1992, 15 (6): 563-573.
[4] SUBBOTIN S A, STURHAN D, CHIZHOV V N, et al. Phylogenetic Analysis of Tylenchida Thorne, 1949 as Inferred from D2 and D3 Expansion Fragments of the 28S rRNA Gene Sequences [J]. *Nematology*, 2006, 8 (3): 455-474.
[5] SIDDIQI M R. *Helicotylenchus dihystra* [M] // Commonwealth Institute of Helminthology. Descriptions of plant-parasitic nematodes (1). London: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1972: 9.
[6] 刘维志. 植物线虫志 [M]. 中国农业出版社, 2004: 199-201.
[7] WOUTS W M, YEATES G W. *Helicotylenchus* Species (Nematoda: Tylenchida) from Native Vegetation and Undisturbed Soil in New Zealand [J]. *New Zealand Journal of Zoology*, 1994, 21 (2): 213-224.

(责任编辑: 林芸青)