

调 查 研 究

Investigations

河南省小麦主产区菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫发生情况调查

刘荣荣, 王 暄, 李红梅*, 王 珍, 刘海璐

(南京农业大学植物保护学院, 农作物生物灾害综合治理教育部重点实验室, 南京 210095)

摘要 为了解河南省小麦主产区菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫的发生情况, 作者分别于 2014 年和 2015 年 5 月通过随机采样调查方法, 从商丘、漯河、许昌、新乡、鹤壁、安阳、濮阳、焦作等八地区 19 个县市采集到 61 份小麦孢囊线虫(CCN)的根围土壤样品, 分析了样品的孢囊密度, 发现来自商丘、新乡、鹤壁、安阳和濮阳地区的样品孢囊密度普遍较高, CCN 发生比较严重; 利用双重 PCR 技术对样品的 CCN 种类进行了快速检测鉴定, 检测出禾谷孢囊线虫单一侵染的样品有 33 份; 菲利普孢囊线虫单一侵染的样品有 9 份, 与禾谷孢囊线虫复合侵染的样品有 19 份。菲利普孢囊线虫主要采自商丘、漯河、许昌、新乡、焦作等五个地区, 其中商丘地区发生比较普遍。该研究可为河南省小麦的品种布局和孢囊线虫的综合防治提供指导。

关键词 菲利普孢囊线虫; 禾谷孢囊线虫; 复合侵染; 群体密度; 双重 PCR 检测

中图分类号: S 512.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.05.027

Survey of the occurrence of *Heterodera filipjevi* and *H. avenae* on wheat in main growing area in Henan Province

Liu Rongrong, Wang Xuan, Li Hongmei, Wang Zhen, Liu Hailu

(Key Laboratory of Integrated Management of Crop Diseases and Pests, Ministry of Education, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract In order to clear the occurrence of *Heterodera filipjevi* and *H. avenae* on wheat in main growing area of Henan Province, China, we carried out the field survey by random sampling during May of year 2014 and 2015. Total 61 samples of cereal cyst nematodes (CCN) with root and soil were collected from 19 counties of 8 districts, including Shangqiu, Luohe, Xuchang, Xinxiang, Hebi, Anyang, Puyang and Jiaozuo, and the cyst densities of samples were analyzed. The results showed that the cyst densities of samples collected from district Shangqiu, Xinxiang, Hebi, Anyang and Puyang were higher and the CCN occurrence was severer than those from other three districts. The CCN species of samples were rapidly identified using the duplex-PCR technique. The detection analysis revealed that 33 samples were collected from wheat field solely infected with *H. avenae*, 9 samples solely infected with *H. filipjevi*, and 19 samples co-infected with *H. filipjevi* and *H. avenae*. *H. filipjevi* was mainly collected from Shangqiu, Luohe, Xuchang, Xinxiang and Jiaozuo districts and it was the most common CCN species in Shangqiu district. The study provided the useful information for distribution of wheat varieties cultivation and integrated control of CCN in Henan Province.

Key words *Heterodera filipjevi*; *H. avenae*; co-infection; population density; duplex-PCR detection

小麦孢囊线虫 cereal cyst nematode(CCN)是危害小麦、大麦、燕麦等作物的重要病原线虫类群, 目

前在欧洲、亚洲、澳洲、美洲及非洲的 40 多个国家有发生和危害^[1], 对世界禾谷类作物尤其是小麦的生

收稿日期: 2016-12-10

修订日期: 2017-03-29

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201503114); 国家自然科学基金(31471751)

* 通信作者 E-mail: lihm@njau.edu.cn

产和种植造成了极大的损失。CCN 是由 11 个种组成的复合种群^[2], 其中禾谷孢囊线虫 *Heterodera avenae*、菲利普孢囊线虫 *H. filipjevi* 和麦类孢囊线虫 *H. latipons* 被认定是最具经济影响力、危害最为严重的种类^[3]。禾谷孢囊线虫于 1989 年首次报道在我国湖北省天门县小麦上有发生^[4], 迄今已在河南、河北、山东、安徽、江苏等 16 个省市有分布^[5], 发生面积高达 300 万 hm^2 , 且有继续扩大蔓延的趋势^[6]。菲利普孢囊线虫于 2010 年在河南省临颍、许昌、卫辉、延津首次被发现^[7], 此后在河南省博爱县^[8]和安徽省宿州^[9]的小麦上也发现了菲利普孢囊线虫, 因此, 摸清菲利普孢囊线虫在我国小麦种植大省河南省的发生分布以及与禾谷孢囊线虫复合侵染的危害情况已迫在眉睫。

禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫不仅在形态上存在差异^[7], 而且在 2 龄幼虫的孵化特性上也存在差异。2 龄幼虫是 CCN 侵染小麦根系的唯一虫态, 2 龄幼虫的孵化和侵染与小麦的生长发育期密切相关。在我国冬小麦产区, 禾谷孢囊线虫群体需要经过一段时间的低温($5\sim 7^\circ\text{C}$)处理打破滞育后才能够大量孵化 2 龄幼虫^[10-11], 2 龄幼虫的侵染高峰出现在春季小麦返青期^[12]; 而菲利普孢囊线虫没有滞育现象, 自然条件下, 2 龄幼虫从冬小麦播种的 10 月就开始孵化, 一直到来年的 4 月结束, 高峰出现在 10 月和来年的 2 月^[13-14], 只要有合适的寄主存在, 2 龄幼虫就会孵化, 因此对小麦根系的持续侵染期更长, 造成的危害也更为严重。此外, 在我国黄淮麦区还存在菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫的多种致病型混合侵染小麦的现象^[15], 二者的复合侵染加重了小麦的产量损失, 同时给抗病品种的推广以及小麦孢囊线虫的防控带来了极大的挑战。

河南省每年小麦种植面积在 530 万 hm^2 以上, 位居全国第一^[16], CCN 的发生面积已达 117 万 hm^2 , 且呈现不断加重的趋势^[17]。在 2014 年和 2015 年的小麦抽穗扬花期, 作者对河南省小麦主产区的 8 个地级市 19 个县市小麦田进行了菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫发生情况的调查, 分析了采集样品的孢囊密度, 并利用双重 PCR 检测技术^[18]进行了样品 CCN 种类的快速鉴定, 克服了传统形态学鉴定对技能要求高、耗时长、人为误差大的劣势。本文通过系统了解菲利普孢囊线虫和禾谷孢囊线虫在河南省的单独侵染或复合侵染的发生情况和危害程度, 为指导河南省

小麦品种布局 and CCN 综合防治提供依据, 对稳定我国小麦生产, 保障粮食安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 田间调查和采样方法

分别在 2014 年和 2015 年的 4-5 月小麦抽穗扬花和灌浆期对河南省小麦主产区进行菲利普孢囊线虫和禾谷孢囊线虫单独或复合侵染发生的初步调查。在河南省商丘、漯河、许昌、新乡、鹤壁、安阳、濮阳、焦作等 8 个地区 19 个县市的小麦田, 采取田间 5 点随机取样的方法, 并有针对性地选取植株矮小、叶片发黄和生长稀疏的小麦地块进行采样。拔取小麦植株, 观察根系是否成团, 须根是否分叉较多, 根系上是否有白色亮晶状的雌虫存在。在发现有 CCN 的田块, 按 5 点法随机拔取小麦植株, 剪去植株地上部分, 同时取根际 10 cm 深的土样约 1 kg 与小麦根样混合装袋, 密封标记后运回实验室, 同时详细记录采集地的地理信息数据和农业栽培相关信息, 包括小麦品种、前茬作物、土壤质地以及灌溉情况等。

1.2 孢囊的分离和计数

在室内将根际土样自然风干后取混合均匀的土样 100 mL, 采用漂浮过筛法分离孢囊^[19], 收集 100 目筛网上的残余物, 将其淋洗入有滤纸的漏斗, 过滤后在体视镜下, 用毛笔和挑针将滤纸上的孢囊全部挑出, 分别统计饱满孢囊和空孢囊的数量。每个样品重复分离 3 次。从每个样品的饱满孢囊中随机挑取 20 个, 分别放在载玻片上的水滴中, 用挑针压破使孢囊中的虫卵全部散出, 统计单孢囊的卵量。计算总孢囊量、饱满孢囊率和卵量(粒/孢囊), 并运用 S-Plus 软件对所有数据进行统计方差分析。

1.3 CCN 种类的双重 PCR 检测

挑取各样品的饱满孢囊 10 个, 参考王暄等^[20]的方法分别提取单个孢囊的 DNA。将单孢囊置于预先滴加 20 μL 裂解缓冲液的载玻片上, 用挑针挑破孢囊并把卵压碎, 再回收至 200 μL PCR 管中; 液氮中冷冻 1 min, 65°C 水浴 2 min, 重复 3 次; 最后 65°C 温育 1.5 h, 95°C 处理 10 min, 14 000 r/min 离心 1 min, 取上清液于 -20°C 保存备用。

利用双重 PCR 技术对各样品的 10 个单孢囊 DNA 样品分别进行检测, 利用基于线粒体细胞色素氧化酶 1 区(mtDNA-CO I)序列设计的禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫的上游特异性引物 HaF8(5'-

GCT CAT CAT ATA TTT GTT GTT GGT-3′)和 HfF9(5′-ATT TTG CCG GCA TTT GGT CTG G-3′),以及下游通用引物 HafR8(5′-CCC TTA AAC CTC CAA CAG TA-3′)^[18],在 25 μL 反应体系中,DNA 模板 1 μL,引物 HaF8:HfF9:HafR8 浓度比为 0.24:0.16:0.4 μmol/L,2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,10×*Ex Taq* Buffer 2.5 μL,25 mmol/L MgCl₂ 2 μL 以及 *Ex Taq* DNA 聚合酶 0.1 μL,ddH₂O 补足至 25 μL。扩增反应条件为:94℃ 3 min;94℃ 30 s,退火温度 58℃ 30 s,72℃ 30 s,35 个循环;72℃ 延伸 10 min。扩增产物在 1.2% 琼脂糖凝胶上电泳检测。根据各样品 10 个孢囊 DNA 样品扩增出的条带大小来判断所采集的田间样品是禾谷孢囊线虫和非利普孢囊线虫的单一侵染还是复合侵染。

2 结果与分析

2.1 CCN 在河南省的发生调查及群体密度分析

从河南省 8 个地区 19 个县市共采集了 61 份 CCN 的小麦根围土样,土壤质地主要是旱地沙壤土,采样地的耕作体系主要是小麦和玉米轮作。从调查结果(表 1)可以看出,各地区样品的平均饱满孢囊密度差别较大,CCN 发生严重程度由高到低依次为商丘、鹤壁、安阳、新乡、濮阳、许昌、焦作、漯河,其中,商

丘地区样本的平均饱满孢囊密度最大,达 43.0 个/100 mL 土,其次是鹤壁地区,样本的平均饱满孢囊密度达到 18.1 个/100 mL 土,安阳、新乡和濮阳地区样品的平均饱满孢囊密度分别为 14.4、11.9 和 11.4 个/100 mL 土。

不同县市采样地块中的孢囊密度也存在较大的差别,小麦孢囊线虫发生最严重的是商丘地区虞城县,病田的 CCN 孢囊密度达 107.4 个/100 mL 土,平均饱满孢囊率高达 73.0%,且平均单孢囊卵量达 225.2 粒;此外,鹤壁地区淇滨区和新乡地区延津县的麦田发病也较重,其中淇滨区病田的平均孢囊密度达 86.3 个/100 mL 土,平均饱满孢囊率为 35.1%,平均单孢囊卵量达 201.4 粒;延津县病田的平均孢囊密度为 68.6 个/100 mL 土,平均饱满孢囊率为 28.9%,平均单孢囊卵量为 139.9 粒。而临颍县、许昌县、原阳县、淇县和濮阳县病田的平均孢囊密度均小于 20 个/100 mL 土。调查结果表明,CCN 在商丘地区发生普遍而严重,病田的孢囊密度、平均饱满孢囊率和平均单孢囊卵量都较高,这与我们在小麦抽穗扬花期调查时,在该地区常发现点片状发病严重的田块情况相吻合。病株呈现明显矮化,叶片枯黄早衰,麦穗短小,根系呈现严重的须根团状,可见大量的白雌虫。

表 1 河南省八地区不同县市小麦 CCN 种类发生和群体密度分析
Table 1 Occurrence and population density of cereal cyst nematodes on wheat in different counties of eight districts from Henan Province

地区 District	县/市 County/City	样本数/个 Number of samples				土壤中孢囊密度/ 个·(100 mL) ⁻¹		饱满 孢囊率/% Average fresh cyst rate	单孢 囊卵量/粒 Eggs per cyst	土壤中饱满孢囊密度/ 个·(100 mL) ⁻¹
		采集总数 Total collection	禾谷	非利普	混合发生	Number of cysts in the soil	Average fresh cyst rate			
			孢囊线虫 <i>H. avenae</i>	孢囊线虫 <i>H. filipjevi</i>	Mix infection					
商丘 Shangqiu	永城市 Yongcheng	15	5	6	4	38.5	59.2	141.1±34.1	43.0	
	夏邑县 Xiayi	5	—	2	3	55.9	49.9	137.2±39.5		
	虞城县 Yucheng	3	1	—	2	107.4	73.0	225.2±41.8		
漯河 Luohe	临颍县 Linying	7	4	—	3	13.2	37.1	142.2±25.2	4.9	
许昌 Xuchang	许昌县 Xuchang	6	2	—	4	14.5	44.8	137.3±47.2	6.5	
新乡 Xinxiang	卫辉市 Weihui	2	1	—	1	38.8	11.6	152.7±2.7	11.9	
	延津县 Yanjin	3	3	—	—	68.6	28.9	139.9±51.3		
	原阳县 Yuanyang	3	3	—	—	16.2	49.4	172.1±62.3		
	新乡县 Xinxiang	2	2	—	—	63.6	24.1	184.1±54.5		
鹤壁 Hebi	淇县 Qi	2	2	—	—	16.5	36.4	114.6±3.2	18.1	
	淇滨区 Qibin	1	1	—	—	86.3	35.1	201.4±76.7		
安阳 Anyang	汤阴县 Tangyin	1	1	—	—	40.3	31.5	145.5±83	14.4	
	滑县 Hua	1	1	—	—	37.7	20.4	92.2±36.4		
	安阳县 Anyang	1	1	—	—	50.3	45.1	230.3±79.8		
濮阳 Puyang	南乐县 Nanle	2	2	—	—	31.4	39.8	187.2±13.0	11.4	
	清丰县 Qingfeng	3	3	—	—	39.0	36.9	152.9±64.4		
	濮阳县 Puyang	1	1	—	—	12.3	59.3	115.3±89.6		
焦作 Jiaozuo	博爱县 Boai	2	—	1	1	35.2	9.9	203.4±47.5	5.2	
	焦作市 Jiaozuo	1	—	—	1	24.3	28.8	140.1±47.6		
合计 Total		61	33	9	19					

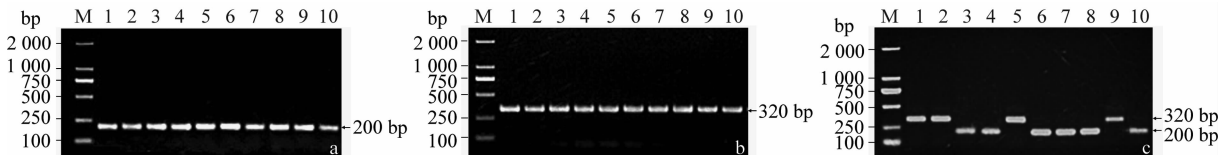
2.2 双重 PCR 检测 CCN 种类发生情况

利用双重 PCR 技术对采集的 61 份样品的 CCN 种类进行了检测,每份样品选取 10 个单孢囊 DNA 为模板,利用禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫特异性上游引物 HaF8、HfF9,以及二者共同下游引物 HafR8,扩增 mtDNA-CO I 区,结果揭示,有 33 份为禾谷孢囊线虫单一侵染样品,占总样品数的 54.1%,有 9 份为菲利普孢囊线虫单一侵染样品,其余 19 份样品为菲利普孢囊线虫和禾谷孢囊线虫复合侵染样品。

电泳结果显示,每个单孢囊 DNA 模板均能扩增出单一条带,禾谷孢囊线虫单孢囊 DNA 可扩增出约 200 bp 的特异性条带,而菲利普孢囊线虫单孢囊 DNA 可扩增出约 320 bp 的条带。若 1 份 CCN 样品中随机挑取 10 个孢囊所提取的 DNA 均扩增出约 200 bp 的条带,表明为禾谷孢囊线虫单群体,即来自禾谷孢囊线虫单独侵染的田间样本,例如安阳市滑县庄营样本(图 1a);若均扩增出 320 bp 的条带,即来自菲利普孢囊线虫单独侵染的田间样本,如商丘市永城市酇阳镇翟楼村样本(图 1b);若扩增出的单一条带大小有 200 bp 或 320 bp 两种,表明它们为禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫群体的混合,来

自二者复合侵染的田间样本,例如商丘市永城陈官庄镇胡庄村样本(图 1c)。

双重 PCR 技术检测出采自安阳、鹤壁、濮阳 3 个地区的 12 份样品均为禾谷孢囊线虫单群体,而其他 5 个地区的样品则为菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫群体分别单独侵染或二者复合侵染的样品(表 1)。菲利普孢囊线虫单一侵染样品有 9 份,其中有 8 份采自商丘地区,有 1 份采自焦作地区,样品具体采集地理信息及孢囊群体密度见表 2。从表中可以看出,夏邑县何营乡孟大桥村的菲利普孢囊线虫发生严重程度最高,平均总孢囊密度达 135.3 个/100 mL 土,平均饱满孢囊率高达 92.7%,土里卵量为 208.8 粒/mL,已经严重超过了小麦正常生长允许的经济阈值。此外,菲利普孢囊线虫单一侵染主要集中在商丘的永城市,其中酇阳镇翟楼村、十八里镇方庄和芒山镇张庄村样品的平均总孢囊密度分别为 102.3、89.0、56.0 个/100 mL 土,土里卵量分别为 145.4、55.0 和 22.4 粒/mL,也都超过了经济阈值。焦作地区博爱县清化镇罗庄村样品的平均总孢囊密度为 14.0 个/100 mL 土,平均单孢囊卵量达 237.0 粒,土里卵量为 2.6 粒/mL,菲利普孢囊线虫发生程度相对较轻。



a: 安阳市滑县庄营禾谷孢囊线虫群体; b: 商丘市永城市酇阳镇翟楼村菲利普孢囊线虫群体; c: 商丘市永城陈官庄镇胡庄村菲利普孢囊线虫和禾谷孢囊线虫混合群体(泳道 1~2, 5, 9 是菲利普孢囊线虫, 泳道 3~4, 6~8, 10 是禾谷孢囊线虫)
a: *Heterodera avenae* population from Zhuangying Village, Hua County, Anyang; b: *H. filipjevi* population from Zhailou Village, Cuoyang Town, Yongcheng, Shangqiu; c: Mixed populations of *H. avenae* and *H. filipjevi* populations from Huzhuang Village, Chenguanzhuang Town, Yongcheng, Shangqiu (Lanes 1-2, 5 and 9 are *H. filipjevi*, lanes 3-4, 6-8 and 10 are *H. avenae*)

图 1 河南省小麦孢囊线虫群体的双重 PCR 检测

Fig. 1 Duplex-PCR detection of cereal cyst nematodes on wheat in Henan Province

2.3 菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫复合侵染

在调查中发现 19 份菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫混合发生的样品,主要采自商丘地区的永城市、夏邑县和虞城县,漯河地区的临颍县以及许昌地区的许昌县,具体采集地理信息及 CCN 群体密度见表 3。利用双重 PCR 技术对混合发生样品中菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫的孢囊占比进行了分析,从表 3 可以看出,商丘地区夏邑县的会亭镇关仓村和关常楼村、虞城县站集镇东叶庄和利民镇蔡庄村、许昌地区许昌县的将官池镇秋湖村以及焦作地区的博爱县清化镇倒槐树村等 6 份复合侵染样品中,菲

利普孢囊线虫的孢囊占比在 70%~90%之间,表明菲利普孢囊线虫在复合侵染群体中占优势;而商丘地区永城市的茴村镇小李庄、十八里镇七里店村以及夏邑县郭店乡郭店村、漯河地区临颍县的窝城镇湖里曹村、王孟乡宋庄村和前杨村、许昌地区许昌县将官池镇郭集村以及新乡地区的卫辉市汲水镇八里屯村等 8 个复合侵染样品中,禾谷孢囊线虫的孢囊占比在 70%~90%之间,表明禾谷孢囊线虫在复合侵染群体中占优势。在其余 5 份复合侵染样品中,禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫各自孢囊占比在 40%~60%之间,表明两种线虫的群体密度相当。

表 2 非利普孢囊线虫在河南省小麦主产区单独侵染的发生情况

Table 2 Occurrence of the pure infection of <i>Heterodera filipjevi</i> on wheat in main growing area of Henan Province							
地区 District	采样地点 Collection location	东经 East longitude	北纬 North latitude	土壤中孢囊密度/ 个·(100 mL) ⁻¹ Number of cysts in the soil	平均饱满 孢囊率/% Average fresh cyst rate	单孢 囊卵量/粒 Eggs per cyst	土壤中卵量/ 粒·mL ⁻¹ Number of eggs in the soil
商丘 Shangqiu	永城市十八里镇方庄 Fangzhuang, Shibali, Yongcheng	116°19'50.49"	33°57'04.52"	89.0	48.3	128.0±46.3	55.0
	永城市十八里镇魏庄 Weizhuang, Shibali, Yongcheng	116°19'07.35"	33°57'35.22"	19.0	12.0	152.1±86.4	3.5
	永城市鄆阳镇翟楼村 Zhailou, Cuoyang, Yongcheng	116°14'17.63"	33°59'47.69"	102.3	65.3	217.7±71.6	145.4
	永城市鄆阳镇郑北村 Cuobei, Cuoyang, Yongcheng	116°13'10.36"	34°00'20.78"	11.0	7.0	130.0±61.2	1.0
	永城市芒山镇张庄村 Zhangzhuang, Mangshan, Yongcheng	116°28'36.19"	34°09'43.49"	56.0	31.7	126.1±79.3	22.4
	永城市薛湖镇王新庄村 Wangxinzhuang, Xuehu, Yongcheng	116°27'36.04"	34°08'48.52"	7.7	2.3	95.4±70.5	0.2
	夏邑县济阳镇济西村 Jixi, Jiyang, Xiayi	115°57'24.59"	34°10'10.31"	30.7	13.7	146.2±50.5	6.1
	夏邑县何营乡孟大桥村 Mengdaqiao, Heying, Xiayi	116°06'39.92"	34°11'20.29"	135.3	92.7	166.5±89.4	208.8
	焦作 Jiaozuo	113°05'10.79"	35°08'06.65"	14.0	7.7	237.0±114.0	2.6

表 3 禾谷孢囊线虫和非利普孢囊线虫在河南省小麦主产区复合侵染的发生情况

Table 3 Occurrence of the mixed infection of <i>Heterodera avenae</i> and <i>H. filipjevi</i> on wheat in main growing area of Henan Province							
地区 District	采样地点 Collection location	东经 East longitude	北纬 North latitude	土壤中孢囊密度/ 个·(100 mL) ⁻¹ Number of cysts in the soil	平均饱满 孢囊率/% Average fresh cyst rate	混合群体中孢囊占比/% Percentage of cysts in mixed populations	
						禾谷孢囊线虫 <i>H. avenae</i>	非利普孢囊线虫 <i>H. filipjevi</i>
商丘 Shangqiu	永城市陈官庄镇胡庄村 Huzhuang, Chenguanzhuang, Yongcheng	116°35'22.36"	34°00'57.57"	88.0	65.9	60	40
	永城市茴村镇小李庄 Xiaolizhuang, Huicun, Yongcheng	116°31'04.91"	33°58'43.00"	53.0	52.8	90	10
	永城市十八里镇七里店村 Qilidian, Shibali, Yongcheng	116°19'43.46"	33°57'21.10"	15.7	66.0	90	10
	永城市马牧镇胡暗楼 Hu'anlou, Mamu, Yongcheng	116°11'10.14"	34°01'31.01"	12.7	47.4	60	40
	夏邑县会亭镇关仓村 Guancang, Huiting, Xiayi	116°05'45.89"	34°04'44.65"	75.3	28.3	10	90
	夏邑县会亭镇关常楼村 Guanchanglou, Huiting, Xiayi	116°05'46.18"	34°04'45.37"	2.3	71.4	30	70
	夏邑县郭店乡郭店村 Guodian, Guodian, Xiayi	116°05'25.40"	34°08'34.98"	35.7	29.0	90	10
	虞城县站集镇东叶庄 Dongye, Zhanji, Yucheng	115°52'39.40"	34°13'09.41"	191.7	81.0	20	80
	虞城县利民镇蔡庄村 Caizhuang, Limin, Yucheng	115°42'23.26"	34°18'37.26"	12.7	73.7	10	90
漯河 Luohe	临颍县窝城镇湖里曹村 Hulicao, Wocheng, Linying	114°02'23.38"	33°55'23.34"	40.0	19.2	90	10
	临颍县王孟乡宋庄村 Songzhuang, Wangmeng, Linying	113°56'29.13"	33°56'28.78"	1.7	20.0	90	10
	临颍县王孟乡前杨村 Qianyang, Wangmeng, Linying	113°57'21.27"	33°56'58.69"	1.3	50.0	70	30
许昌 Xuchang	许昌县将官池镇南文庄村 Nanwenzhuang, Jiangguanchi, Xuchang	113°55'40.68"	33°58'21.64"	34.3	45.6	50	50
	许昌县将官池镇齐庄村 Qizhuang, Jiangguanchi, Xuchang	113°55'08.43"	33°58'22.64"	4.0	33.3	40	60
	许昌县将官池镇秋湖村 Qiuhu, Jiangguanchi, Xuchang	113°55'51.23"	33°59'20.81"	4.7	21.4	30	70
	许昌县将官池镇郭集村 Guoji, Jiangguanchi, Xuchang	113°55'07.43"	33°58'13.66"	22.3	62.7	90	10

续表 3 Table 3(Continued)

地区 District	采样地点 Collection location	东经 East longitude	北纬 North latitude	土壤中孢囊密度/ 个·(100 mL) ⁻¹ Number of cysts in the soil	平均饱满 孢囊率/% Average fresh cyst rate	混合群体中孢囊占比/% Percentage of cysts in mixed populations	
						禾谷孢囊线虫 <i>H. avenae</i>	菲利普孢囊线虫 <i>H. filipjevi</i>
新乡 Xinxiang	卫辉市汲水镇八里屯村 Balitun, Jishui, Weihui	114°02′55.71″	35°26′42.22″	52.0	8.3	90	10
焦作 Jiaozuo	博爱县清化镇倒槐树村 Daohuaishu, Qinghua, Boai	113°07′08.47″	35°10′25.68″	56.3	9.5	30	70
	焦作市中站区朱村 Zhu, Zhongzhan, Jiaozuo	113°09′22.54″	35°12′37.94″	24.3	28.8	60	40

3 讨论

目前,危害我国麦类作物的 CCN 种类只有禾谷孢囊线虫和菲利普孢囊线虫这两种,禾谷孢囊线虫在我国 16 个省市自治区有分布^[5],而菲利普孢囊线虫已报道在河南省漯河地区临颍县、许昌地区许昌县、新乡地区卫辉市和延津县以及焦作地区博爱县以及安徽省宿州有分布^[7-9],但关于这些地区是否存在菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫混合发生的情况尚不得而知。本文作者对 2014 年至 2015 年间采集的河南省小麦主产区 8 个地区 19 县市 61 份 CCN 样品的孢囊密度进行了分析,并结合双重 PCR 检测技术进行了 CCN 种类鉴定,揭示出菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫不仅在前人报道的临颍县、许昌县、卫辉市和博爱县有混合发生,且在本文调查的商丘地区永城市、夏邑县和虞城县发生也很普遍。从与安徽和山东两省接壤的商丘地区采集的 23 份样品中,有菲利普孢囊线虫侵染的样品高达 73.9%,其中菲利普孢囊线虫单一侵染样品有 8 份,与禾谷孢囊线虫混合发生的样品有 9 份,禾谷孢囊线虫单一侵染样品只有 6 份;此外,菲利普孢囊线虫单一侵染主要发生在与安徽省接壤的永城市和夏邑县,侵染田块的孢囊密度普遍较高,夏邑县何营乡孟大桥村、永城市酃阳镇翟楼村、十八里镇方庄以及芒山镇张庄村样品的平均总孢囊密度都高于 50 个/100 mL 土,表明商丘地区是河南省菲利普孢囊线虫的重发区。

小麦孢囊线虫于 1990 年在河南省郑州市郊区须水乡麦田被发现,受害麦苗呈现大面积变黄、矮化,严重的成片枯死^[21],随后于 1997 年在河南省安阳市原种场的小麦根部发现了大量的孢囊,经鉴定确认为禾谷孢囊线虫^[22]。2005 年在河南省安阳、新乡、郑州部分地区的小麦上孢囊线虫的发生已经比较普遍,一般使小麦减产 20%~30%,严重地块减

产可达 50%以上,甚至毁种绝收^[23]。河南农业大学和河南省植保植检站于 2007 年对河南省小麦禾谷孢囊线虫发生情况进行普查,发现除信阳和南阳地区外,其他 16 个地区市均有小麦孢囊线虫的发生,部分地块小麦产量损失严重^[24]。河南省地处我国黄淮冬麦区的东部,是全国小麦播种面积和总产量最高的地区,对中国的粮食安全影响巨大^[25]。由于受地形、降水、气温、日照、土壤等因素的相互叠加影响,河南省低山丘陵与平原分界明显,小麦产量的区域差异比较明显;东部黄淮海平原和南阳盆地中部及东南部为河南省的小麦主产区和高产区,豫北、豫西丘陵山区和南阳盆地边缘丘岗地区是全省的主要旱作区,为小麦的较适宜种植区^[26]。本文对河南省小麦主产区的 CCN 发生危害情况进行了初步调查,区域包括了豫西北的焦作和新乡地区、豫东北的安阳、鹤壁和濮阳地区以及豫东平原区的商丘、许昌和漯河等 8 个地区,发现 CCN 在河南小麦主产区普遍发生,而且群体密度普遍偏高;CCN 在商丘、鹤壁、安阳这 3 个地区的群体密度相比其他 5 个地区要高;在安阳、鹤壁和濮阳地区的 CCN 病田主要为禾谷孢囊线虫单一侵染,而其他 5 个地区为菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫的单一侵染和复合侵染发生区域。本文首次较为详细地报道了 CCN 在河南省小麦主产区的种类及发生和危害情况。

长期以来人们认为在中国发生的小麦孢囊线虫都是禾谷孢囊线虫。2010 年 Peng 等^[7]首次报道在河南省有菲利普孢囊线虫的发生。菲利普孢囊线虫不仅形态学特征与禾谷孢囊线虫不同,其生物学特性也有较大差异。在我们调查的商丘地区,菲利普孢囊线虫与禾谷孢囊线虫的复合侵染发生很普遍,而且菲利普孢囊线虫单独侵染田块的孢囊密度普遍较高,例如夏邑县何营乡孟大桥村土壤中菲利普孢囊线虫卵量可达 208.8 粒/mL,已经严重超过了小麦正常生长允许的经济阈值;在澳大利亚南部土壤中 CCN

的卵初始密度为 5 粒/g 土时,可造成小麦产量损失 10%^[27]。我们的调查结果表明,非利普孢囊线虫对河南省小麦产量的影响是显而易见的,田间危害症状很明显,穗短、穗枯、植株早衰现象严重。

小麦孢囊线虫主要通过土壤和水流传播,也可通过农业机械、农事操作、人畜携带的方式传播,农业耕作制度的改变以及联合收割机的推广应用,为 CCN 远距离传播提供了便利条件^[28]。非利普孢囊线虫借助现代农业机械从河南省快速蔓延至周边省份的可能性很大,近期在安徽省宿州地区发现了非利普孢囊线虫的新分布^[9],表明非利普孢囊线虫从河南省扩散传播至接壤的江苏、安徽和山东等省的潜在态势非常严峻。因此,我国农业主管部门对非利普孢囊线虫的危害严重性应有所认识,应加大防控力度来延缓 CCN 在我国蔓延扩散的速度,保障我国粮食生产的安全。

参考文献

- [1] Rivoal R, Nicol J M. Past research on the cereal cyst nematode complex and future needs [C]//Riley I T, Nicol J M, Dababat A A. Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Ankara, Turkey: CIMMYT, 2009: 3-10.
- [2] Subbotin S A, Sturhan D, Rumpenhurst H J, et al. Molecular and morphological characterisation of the *Heterodera avenae* species complex (Tylenchida: Heteroderidae) [J]. Nematology, 2003, 5(4): 515-538.
- [3] Nicol J M, Elekcioğlu I H, Bolat N, et al. The global importance of the cereal cyst nematode (*Heterodera* spp.) on wheat and international approaches to its control [J]. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 2007, 72(3): 677-686.
- [4] 陈品三,王明祖,彭德良. 我国小麦禾谷孢囊线虫(*Heterodera avenae* Wollenweber)的发现与鉴定初报[J]. 中国农业科学, 1991, 24(5): 89-91.
- [5] 李惠霞,柳永娥,魏庄,等. 西藏和新疆自治区麦田禾谷孢囊线虫的检测[C]//廖金铃,彭德良,段玉玺,等. 中国线虫学研究(第4卷). 北京:中国农业科学技术出版社,2012:164-165.
- [6] Peng Deliang, Nicol J M, Li Hongmei, et al. Current knowledge of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) on wheat in China [C]//Riley I T, Nicol J M, Dababat A A. Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Ankara, Turkey: CIMMYT, 2009: 29-34.
- [7] Peng Deliang, Ye Wenxing, Peng Huan, et al. First report of the cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) on wheat in Henan Province, China [J]. Plant Disease, 2010, 94(10): 1262.
- [8] 袁虹霞,侯兴松,付博,等. 豫北及冀南地区 4 个小麦禾谷孢囊线

- 虫群体的种类鉴定[J]. 植物病理学报,2012,42(2):219-224.
- [9] Peng Huan, Li Xin, Cui Jiangkuan, et al. First report of cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, on winter wheat from Anhui Province, China [J]. Plant Disease, 2016, 100(2): 536-537.
- [10] 郑经武,林茂松,方中达. 温度对燕麦孢囊线虫二龄幼虫孵化及生活力的影响[J]. 南京农业大学学报,1996,19(1):108-110.
- [11] 张东升,彭德良,齐淑华. 华北平原北部禾谷孢囊线虫的孵化特点[J]. 植物病理学报,1996,26(2):158.
- [12] 向桂林,宋志强,梁旭东,等. 禾谷孢囊线虫的田间侵染规律及垂直分布研究[J]. 麦类作物学报,2013,33(4):789-794.
- [13] Hajihasani A, Maafi Z T, Hajihasani M. The life cycle of *Heterodera filipjevi* in winter wheat under microplot conditions in Iran [J]. Nematologia Mediterranea, 2010, 38(1): 53-57.
- [14] Sahin E, Nicol J M, Elekcioğlu I H, et al. Hatching of *Heterodera filipjevi* in controlled and natural temperature conditions in Turkey [J]. Nematology, 2010, 12(2): 193-200.
- [15] 徐姣,刘佳,代君丽,等. 中国黄淮麦区非利普孢囊线虫淮阳和博爱致病型群体特异性 SCAR 标记的建立[J]. 麦类作物学报,2016,36(4):523-530.
- [16] 朱统泉,吴大付. 河南小麦生产现状分析[J]. 陕西农业科学,2014,60(1):78-81.
- [17] 宗莹莹,代君丽,袁虹霞,等. 普通小麦品种中育 6 号对两种禾谷孢囊线虫的抗性遗传分析[J]. 麦类作物学报,2013,33(2):249-254.
- [18] 牛雯雯,王暄,李红梅,等. 基于线粒体 DNA-CO I 序列的禾谷孢囊线虫和非利普孢囊线虫双重 PCR 检测[J]. 中国农业科学,2016,49(8):1499-1509.
- [19] 李红梅,王暄,裴世安,等. 江苏省小麦孢囊线虫病发生情况的初步调查[J]. 植物保护,2010,36(6):172-175.
- [20] 王暄,梁中伟,裴世安,等. 江苏省小麦禾谷孢囊线虫群体(*Heterodera avenae*)核糖体 DNA-ITS 区序列分析[J]. 南京农业大学学报,2010,33(6):55-62.
- [21] 王振跃,王守正,李洪连,等. 河南省小麦孢囊线虫病的初步研究[J]. 华北农学报,1993,8(S1):105-109.
- [22] 刘文成,肖敬德. 小麦禾谷孢囊线虫病发生规律调查[J]. 河南农业科学,1997(8):18-19.
- [23] 王振跃,李洪连,袁虹霞. 小麦孢囊线虫病的发生危害与防治对策[J]. 河南农业科学,2005(12):54-55.
- [24] 付博. 黄淮麦区禾谷孢囊线虫 ITS 分子特征及遗传多样性分析[D]. 郑州:河南农业大学,2011.
- [25] 叶优良,杨素勤,黄玉芳,等. 河南省小麦生产发展与展望[J]. 中国农学通报,2007,23(1):199-203.
- [26] 田燕,王国强,王令超,等. 河南省小麦生产的区域差异及其对农用地分等的影响[J]. 2006,25(3):90-93.
- [27] Fisher J M, Hancock T W. Population dynamics of *Heterodera avenae* Woll. in South Australia [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1991, 42: 53-68.
- [28] 汪涛,戚仁德,吴向辉,等. 小麦孢囊线虫病传播扩散途径研究初报[J]. 植物保护,2012,38(1):98-100.