

河南省温县铁棍山药根腐线虫种类鉴定

赵伟超, 秦朝, 张江利, 李明军, 杨清香*, 高锦

(河南师范大学生命科学学院, 河南省农业微生物生态与技术国际联合实验室, 新乡 453007)

摘要 为明确河南省温县铁棍山药病原线虫种类,在温县铁棍山药种植区采集有明显症状的块茎进行线虫分离,观察线虫的雌、雄成虫的形态特征,并扩增 rDNA 的 28S D2-D3 序列对其进行分子生物学鉴定。结果表明,从山药块茎中分离出的根腐线虫形态学特征及测量指标与咖啡短体线虫 *Pratylenchus coffeae* 基本一致,其 28S D2-D3 序列与 *P. coffeae* 相似性达 99.87%~100%。本研究明确了河南省温县地区铁棍山药根腐线虫为咖啡短体线虫,为山药线虫病的鉴别及防控提供了科学依据。

关键词 咖啡短体线虫; 铁棍山药; 病原; 鉴定

中图分类号: S435.39 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021487

Identification of the nematode pathogen causing root lesion nematode disease in *Dioscorea polystachya* in Wenxian, Henan province

ZHAO Weichao, QIN Zhao, ZHANG Jiangli, LI Mingjun, YANG Qingxiang*, GAO Jin

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Henan International Joint Laboratory of Agricultural Microbial Ecology and Technology, Xinxiang 453007, China)

Abstract In order to clarify the nematode pathogen species of *Dioscorea polystachya* root lesion nematode rot disease in Wenxian of Henan province, the tubers with obvious symptoms were collected for isolating nematodes from the planting region of yam in November, 2020. The pathogenic nematodes were identified by observing the traditional morphological characteristics of female and male adults, and molecular biological identification was carried out based on 28S D2-D3 sequence of rDNA. The results showed that the morphological characteristics and measurement indexes of root lesion nematodes isolated from yam tubers were consistent with those of *Pratylenchus coffeae*, and the 28S D2-D3 sequence was 99.87%–100% identical to that of *P. coffeae*. This study confirmed for the first time that the root lesion nematode of *D. polystachya* in Wenxian of Henan province was *P. coffeae*, and provided a scientific basis for the identification and control of yam nematode diseases.

Key words *Pratylenchus coffeae*; *Dioscorea polystachya*; pathogen; identification

铁棍山药 *Dioscorea polystachya* ‘Tiegün’ 原产于河南怀区(温县、沁阳、武陟等地),是山药中的优良品种^[1–2],在河南、河北、山东等山药主产区广泛种植,是我国种植面积最大的山药品种。铁棍山药地下块茎的营养成分和药用成分含量很高,品质极佳,深受广大消费者青睐^[3],市场前景广阔。

目前,我国发现的危害山药的线虫主要分为两个属,分别是根结线虫属 *Meloidogyne* 和短体线虫属 *Pratylenchus*^[4]。根结线虫主要危害山药的根系和块茎,受害植株前期地上部分无明显症

状;中后期叶片变小,严重时叶片变黄脱落。在线虫侵入点周围凸起,产生如米粒大小的根结,严重时多个根结愈合形成疙瘩,块茎生长点受到损伤,影响其膨大及发育。短体线虫也被称为根腐线虫(root-rot nematode),初期危害山药的种薯和幼根,在侵染点附近可形成小的枯斑,严重时联合形成黑色复合病斑,导致根系死亡;后期主要危害山药块茎,先形成浅褐色小点,随后转变为近圆形或不规则形的褐色病斑,受害的块茎病斑形成大片黑褐色斑块,引起山药块茎的腐烂,

收稿日期: 2021-09-05 修订日期: 2021-10-31

基金项目: 河南省自然科学基金(202300410229);河南省高等学校重点科研项目计划(21A180012, 21A180013);国家中药材产业技术体系(CARS-21)

* 通信作者 E-mail: yangqx@htu.edu.cn

严重影响山药的产量与品质。

根腐线虫病引起的我国山药损失主要是由穿刺短体线虫 *P. penetrans*^[5]、薯蓣短体线虫 *P. dioscarea*^[6]、咖啡短体线虫 *P. coffeae*^[7] 造成。由于根腐线虫存在种内变异、种间形态相似等特点,常造成形态鉴定结果不准确^[8-10],需结合分子标记技术对其进行进一步鉴定。线虫的 rDNA LSU D2-D3 区作为种间相对稳定的序列,已广泛应用于线虫的种类鉴定^[11]。从广西淮山^[12]、瑞昌山药^[13]及山西省窖藏薯蓣^[14]块茎中分离鉴定出寄生病原咖啡短体线虫至今,未见其他有关山药根腐线虫病的报道。2020 年 11 月我们对温县铁棍山药种植区的山药根腐线虫病害进行了发病症状观察以及病原鉴定,旨在明确铁棍山药根腐线虫病的病原种类,为根腐线虫的防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病样:2020 年 11 月在河南温县中西部的张寺村、祥云镇村、韩郭作村的三块山药种植地采集具有典型根腐线虫病症状的山药块茎,其中每块种植地取样各 2 份,共采集样本 6 份,编号为 WX-1~WX-6。收获时,每块地随机选择 5 个区域,每个区域共 50 株山药进行调查,观察并统计其根腐线虫发病率。样品带回实验室进行线虫分离。

1.2 根腐线虫病的田间症状观察

将采集的山药样本 WX-1~WX-6 用自来水冲洗后稍微晾干,观察其块茎症状并拍照(索尼 ILCE-7RM3)。

1.3 根腐线虫分离及固定

取根腐线虫病害山药块茎用清水洗干净,切成小块后,采用改良贝曼漏斗法分离线虫,将得到的线虫提取液置于 65℃ 水浴中 2 min,后放在室温自然冷却。随后用甲醛-冰醋酸(FA)固定液(40% 甲醛 10 mL,冰醋酸 1 mL,加蒸馏水至 100 mL)将线虫固定^[15]。

1.4 根腐线虫的形态学鉴定

在载玻片上加一滴水,将固定好的线虫用解剖针挑取 1~2 条置于水中,封盖盖玻片后,小心吸取多余的水,贴上标签后用于普通光学显微镜观察拍照(OLYMPUS BX51),并对虫体相关部位进行测量和记录,采用德曼氏公式(De Man)计算形态测量

值,比对有关文献资料鉴定其种类^[15-17]。

1.5 根腐线虫种类的分子鉴定

线虫 DNA 的提取:病原线虫 DNA 的提取方法参照黄金玲等^[12]。在显微镜下,吸取线虫 1 条至具有 100 μ L 去离子水的载玻片上,反复漂洗 3 次,而后将线虫转移至含有 16 μ L 去离子水的 1.5 mL 离心管中,加入 2 μ L 10 $\times$ PCR Buffer,放入液氮中 1 min,转入 95℃ 水浴锅中加热 2 min,反复冻融 3 次后,加入 1 μ L 1 mg/mL 的蛋白酶 K,置于 65℃ 水浴锅中 1~2 h,95℃ 条件下保温 10 min,使蛋白酶失活。取出后 12 000 r/min 离心 1 min 取上清液用于 PCR 扩增或者置于一 20℃ 保存备用。

特异片段扩增:引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物对分别为 D2A/D3B 和 PC28sF/PC28sR。反应体系及扩增条件如下:25 μ L 体系包括 DNA 提取物 2 μ L,上下游引物各 0.5 μ mol/L,0.2 mmol/L dNTPs, 1 $\times$ PCR Buffer, 1.5 mmol/L MgCl₂ 以及 0.75 U *Taq* DNA 酶。D2A(5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3')/D3B(5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3')对根腐线虫核糖体 DNA 的 28S D2-D3 区进行扩增^[11],扩增条件为 94℃ 5 min;94℃ 30 s,55℃ 1 min,72℃ 1 min,40 个循环;72℃ 5 min。选用 Bell 等^[18]设计的根腐线虫特异性引物 PC28sF(5'-CCGTGAGG-GAAAGTTGAAAA-3')/PC28sR(5'-GCTCCTA-ACGGAAACGTTCA-3')对线虫基因组 DNA 的 28S rDNA 进行扩增,扩增条件为 94℃ 5 min;94℃ 10 s,62℃ 30 s,72℃ 30 s,40 个循环;72℃ 5 min。取 5 μ L PCR 产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,剩余产物于一 20℃ 保存备用。

28S rDNA 目的片段测序:PCR 产物用凝胶回收试剂盒(TaKaRa 9762)进行纯化回收后,连接至 pMD19-T 克隆载体(TaKaRa 6013),再将连接产物转入感受态细胞 DH5 α 中,得到阳性克隆后,使用 TIANGEN DP103 试剂盒提取质粒,送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,将所得目的片段序列在 NCBI 进行 BLAST 比对。

系统进化分析:测序结果于 GenBank 进行 BLAST 相似性分析后,从 GenBank 数据库中下载同源性较高的相关根腐线虫种群的 rDNA 28S D2-D3 区序列,使用 MEGA 软件中的 Clustal W 工具对序列进行比对分析^[19],选用邻接法(neighbor-

joining)构建供试病原线虫与其他根腐线虫 rDNA 28S D2-D3 区序列进化树,分析根腐线虫亲缘性,发育树中以禾谷孢囊线虫 *Heterodera avenae* 作为属外种参考。

2 结果与分析

2.1 铁棍山药根腐线虫病症状

在温县铁棍山药种植区,根腐线虫病在山药整个生育期均可发病,一般近收获期 11 月中下旬发病最为严重,且连作地块较新种植地块发病更重。三块山药种植地中,祥云镇村为一年连作(1 200 m²),张寺村(3 333 m²)和韩郭作村(6 667 m²)为首次耕种。经调查统计,三地区的根腐线虫发病率分别为 20.4%,6.0%和 8.8%。发病植株地上部表现为部分叶色偏淡,严重时叶片发黄,植株矮化。地下部分表现为发病初期根系表面出现黄褐色伤口,并逐渐缢缩为黑褐色斑点,后期受害山药块茎部分呈现浅黄色斑点,后蔓延为不规则形状的深褐色病斑,且块茎外表伴有大小不等的瘤状物,表面有龟裂,块茎上的病斑从外向里由黄褐色变为深褐色(图 1)。



图 1 铁棍山药根腐线虫病块茎症状

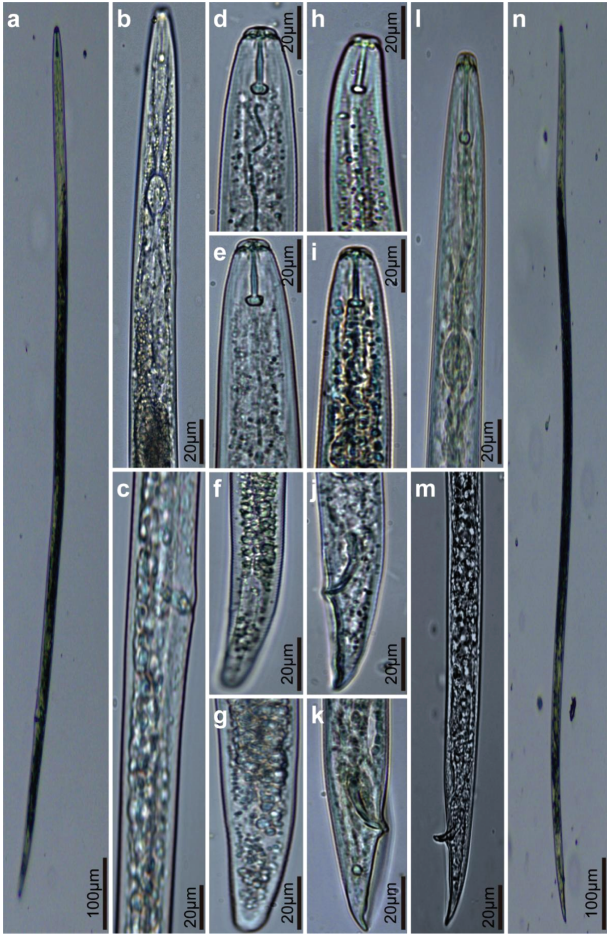
Fig. 1 Tuber symptoms of *Dioscorea polystachya* root lesion nematode disease

2.2 形态学鉴定

对分离自温县地区铁棍山药病样中的线虫进行显微观察,发现从所有样本中分离的根腐线虫形态特征基本一致,对供试线虫进行纯培养,获得 1 个纯种群。

种群形态特征:1)雌虫:加热杀死的虫体略弯呈

字母 C 状或僵直(图 2a),头架角质化,唇区有环纹,口针粗短,长度 16.42~18.44 μm,口针基部球发达呈椭圆形(图 2d, e)。中间食道球为卵圆形(图 2b),阴门在虫体后部,卵巢向前伸展,具有后阴子宫囊(图 2c),尾端钝圆,尾长为肛门处虫体直径的 1.24~1.94 倍(图 2f, g)。2)雄虫:体前端与雌虫特征基本类似,与雌虫相比,雄虫体型略短且纤细一些(图 2n)。唇区及口针基部球较雌虫略弱(图 2h, i),虫体尾部的交合刺细长,并且略向内侧弯曲,尾部较尖(图 2j, k, m)。测量值(表 1)与短体线虫属中咖啡短体线虫 *Pratylenchus coffeae* 的形态特征和相关测量数据一致,故从形态上将其初步鉴定为咖啡短体线虫。



雌虫(a~g): a: 整体; b: 体前部; c: 阴门区; d, e: 唇区; f, g: 尾区。雄虫(h~n): h, i: 唇区; j, k, m: 尾区; l: 体前部; n: 整体
Female (a-g): a: Entire body; b: Anterior region; c: Vulval region; d, e: Lip region; f, g: Tail region. Male (h-n): h, i: Lip region; j, k, m: Tail region; l: Anterior region; n: Entire body

图 2 温县铁棍山药根腐线虫的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of *Dioscorea polystachya* pathogenic root lesion nematode disease in Wenxian

表 1 温县铁棍山药根腐线虫种群与咖啡短体线虫形态测量值比较¹⁾

Table 1 Morphology comparison of <i>Dioscorea polystachya</i> pathogenic root lesion nematode and <i>Pratylenchus coffeae</i>				
特征值 Character value	雌虫 Female (n=18)	雄虫 Male (n=17)	雌虫 Female ^[13]	雄虫 Male ^[13]
L/ μ m	623.49±88.329(451.31~744.67)	622.85±52.32(508.88~720.1)	674.5(589.3~714.2)	596.54(478.8~673.1)
a	23.42±4.71(18.45~33.47)	26.39±4.06(20.22~35.77)	24.6(16.4~28.3)	26.53(20.7~30.9)
b	5.47±0.76(3.99~6.48)	5.66±1.09(4.15~7.99)	6.1(5.8~6.7)	7.37(6.6~8.3)
b'	4.34±0.6(3.47~5.67)	4.7±0.72(3.77~6.13)	4.9(4.3~5.8)	5.3(4.9~6.3)
c	21.72±3.19(16.9~30.32)	22.21±2.56(18.03~28.13)	17.6(13.8~22.7)	16.6(15.4~21.3)
c'	1.59±0.35(1.11~2.3)	1.60±0.30(1.2~2.53)	2.0(1.7~2.8)	2.3(1.6~2.7)
尾长/ μ m Tail length	29.06±4.62(21.65~34.72)	28.26±2.95(23.64~32.97)	N/A	28.8(19.8~33.4)
口针长/ μ m Stylet length	16.53±1.91(12.81~18.89)	15.57±1.93(12.8~18.89)	16.8(16.2~17.9)	15.2(14.2~18.8)
V	84.92±5.33(76.57~92.19)	—	74.5(71.5~83.2)	—
交合刺长/ μ m Spicule length	—	18.10±1.15(16.54~20.86)	—	18.37(17.7~21.3)

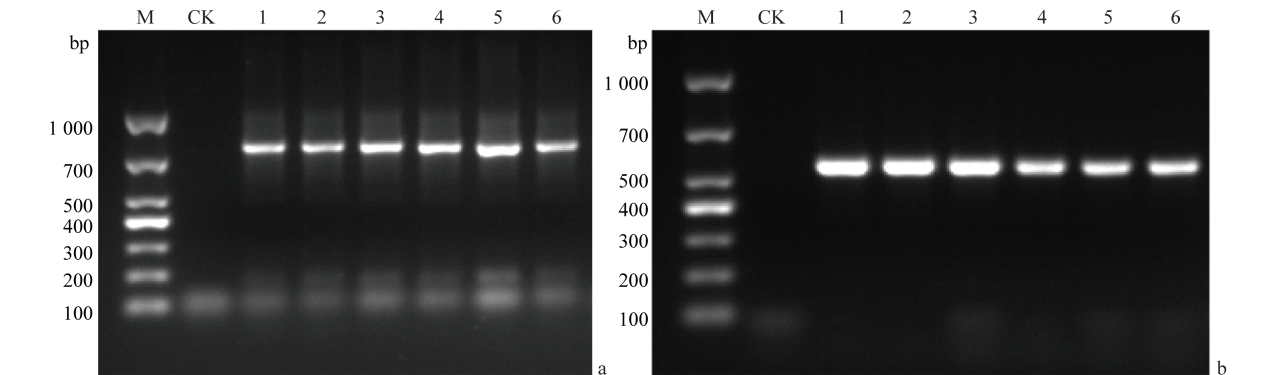
1) n: 测量样本数; L: 体长; a: 体长/体宽; b: 体长/唇至食道腺与肠交界处的长度; b': 体长/唇至食道腺末端的长度; c: 体长/尾长; c': 尾长/肛尾径; V: 外阴距唇距离×100/体长。
n: Number of specimens measured; L: Body length; a: Body length / greatest body width; b: Body length/length from the lip to the junction of esophageal gland and intestine; b': Body length / length from the lip to esophageal gland end; c: Body length/ tail length; c': Tail length / tail diameter at anus; V: Distance of vulva from the lip × 100 / body length.

2.3 分子生物学鉴定

对铁棍山药病害组织中提取的根腐线虫的 rDNA 28S D2-D3 区段进行扩增并测序,6 份样本均能扩增出大小为 781 bp 的片段(图 3a)。经 BLAST 比对分析显示,6 份样本的根腐线虫 rDNA 28S D2-D3 序列一致(GenBank 登录号分别为 MZ188915.1、OL616098.1、OL629163.1、OL629176.1、OL635167.1、OL635166.1),均与咖啡短体线虫(GenBank 登录号为 MT586754.1)的序列相似性最高,相似度为 99.87%~100%。基于 rDNA 28S

D2-D3 区序列构建系统发育树,本研究得到的序列与已知咖啡短体线虫序列(GenBank 登录号分别为 MT586754.1、HQ688681.1 和 KC857659.1)聚为一个分支,且与其他种的 13 条序列明显区分开(图 4),因此将其认定为咖啡短体线虫。

利用咖啡短体线虫特异性引物 PC28sF/PC28sR^[18] 进行 PCR 检测,6 个样本均能获得长度为 530 bp 的特异性条带(图 3b),进一步证明了寄生铁棍山药的根腐线虫为咖啡短体线虫。



M: DL1000 DNA marker; CK: 阴性对照; 1~6: WX-1~WX-6根腐线虫样品DNA的PCR扩增片段
M: DL1000 DNA marker; CK: Negative control; 1-6: PCR amplification fragments of root lesion nematode DNA from WX-1~WX-6, respectively

图 3 6 份样品中根腐线虫 rDNA 的 28S D2-D3 序列(a)及 PC28s 序列(b)PCR 扩增片段电泳图
Fig. 3 Electropherogram of PCR products of rDNA 28S D2-D3 (a) and PC28s (b) sequences from root lesion nematodes in six samples

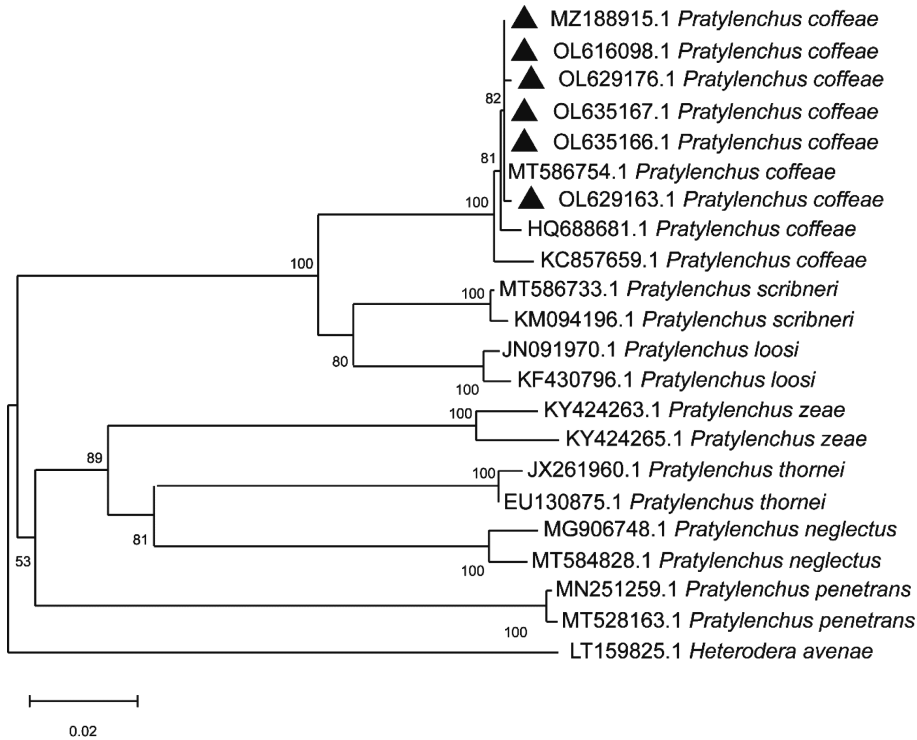


图 4 基于 28S rDNA D2-D3 区域构建的短体线虫属系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *Pratylenchus* spp. based on 28S rDNA D2-D3 sequences

3 讨论

根腐线虫为迁移性植物内寄生线虫,严重危害植物地下根和块茎,对作物产生的危害仅次于根结线虫和孢囊线虫^[20]。根腐线虫的种类繁多,形态多样,寄主广泛,国内外均有其对山药危害的报道。在非洲发现短尾短体线虫 *P. brachyurus*、假草地短体线虫 *P. pseudopratensis* 和苏丹短体线虫 *P. sudanensis* 侵染危害山药^[10, 21-22]。在中美洲、加勒比海和太平洋地区均有咖啡短体线虫寄生危害山药的报道^[23-25]。我国的山东、河南、河北、广西、江西、山西和陕西等地发现穿刺短体线虫 *P. penetrans*、薯蓣短体线虫 *P. dioscoreae* 和咖啡短体线虫侵害山药^[4, 12-13]。山药主要以块茎进行营养繁殖。根腐线虫可在带虫块茎内越冬,次年播种后在块茎内产卵繁殖,并通过土壤及农事活动进行传播,造成的危害极大。此外,铁棍山药被根腐线虫寄生,可导致土壤中根腐线虫的虫口密度和分布面积加大,为土壤中的病原菌侵入寄主提供了有利条件,在根腐线虫以及致病菌的共同作用下,使寄主根部及块茎大面积腐烂,形成更加严重的复合病害。

利用形态学特征结合分子生物学方法对根腐线

虫种类鉴定是国内外研究者常采用的研究方法^[12-14],本研究对河南温县铁棍山药病害块茎分离得到的根腐线虫进行了形态学鉴定,与报道的根腐线虫的特征^[7]基本一致,仅个别测量数据稍有偏差,这可能是由于地域、土壤、气候等环境因子以及寄主不同造成的差异。从表 1 测量结果来看,咖啡短体线虫种群的测量值与贺哲等^[13]的描述相比,雌虫的体长及 *b* 值均较小,雄虫的体长稍长及 *b* 值偏小,因此仅靠形态特征很难得出准确的鉴定结果。本研究进一步采用分子生物学手段对目标根腐线虫种类进行鉴定,线虫的 rDNA 28S D2-D3 区是一个种间相对保守的序列,通过扩增 6 份样本上根腐线虫的 28S D2-D3 序列,获得长度为 781 bp 的目的片段,与夏艳辉等^[26]采用相同引物扩增的咖啡短体线虫 rDNA 的 28S D2-D3 片段大小一致,BLAST 比对分析及系统发育树结果显示,该根腐线虫与咖啡短体线虫亲缘关系最近。此外,本研究采用咖啡短体线虫的特异性引物 PC28sF/PC28sR 对目标根腐线虫 DNA 进行 PCR 扩增,6 份样本均能扩增出大小为 530 bp 的特异性条带,再次证明寄生铁棍山药的根腐线虫为咖啡短体线虫,这与 Bell 等^[18]的结果一致。

作为一种顽固的土传病害,山药根腐线虫病不易根治,根腐线虫的抗逆性和繁殖能力都很强,因此防治比较困难。目前,农业生产中对寄生线虫病的防治仍以化学药剂为主,但其环境污染大、毒性强、对人畜健康存在潜在威胁^[27]。生物防治主要是利用线虫的天敌如真菌和细菌等进行防治,目前仍处于试验阶段,应用于大田试验的防治效果不太稳定,且成本较高。绿色、智能、精准、高效已成为农药研究与应用的方向,筛选和设计获得具有拮抗或阻止线虫病害特有生理过程的靶标抑制剂,进而开发特异性的原创绿色分子靶标是研发山药根腐线虫新型农药的关键。本研究明确了温县铁棍山药的根腐线虫为咖啡短体线虫,这将为温县地区铁棍山药线虫病害的防治提供一定的科学依据。对咖啡短体线虫的特有生理过程及靶标抑制剂的筛选,将是下一步的研究重点。

参考文献

- [1] 刘忠阳,李存红,符德学. 山药种植技术研究进展[J]. 焦作大学学报, 2020, 11(3): 96-98.
- [2] 李明军. 提高山药商品性栽培技术问答[M]. 北京: 金盾出版社, 2013: 36-50.
- [3] 刘永康, 菅东乾. 温县铁棍山药产业化发展现状与对策分析[J]. 农业科技通讯, 2018, 554(2): 39-41.
- [4] 黄文华, 封文雅. 山药线虫病的研究进展[J]. 绿色科技, 2017(3): 154-156.
- [5] 张广民, 国庆合. 山药新病害—山药根腐线虫病[J]. 植物保护, 1991, 17(3): 50.
- [6] 杨宝君, 赵来顺. 短体属线虫一新种:(垫刃目:短体科)[J]. 动物分类学报, 1992, 17(2): 160-164.
- [7] 黄文华, 高学彪, 吕继宏. 山药根腐线虫病的病原鉴定和致病性研究[J]. 华南农业大学学报, 1994, 15(3): 35-38.
- [8] DUNCAN L W, INSERRA R N, THOMAS W K, et al. Molecular and morphological analysis of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species [J]. Nematropica, 1999, 29(1): 61-80.
- [9] CASTILLO P, VOVLAS N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management [M]. Leiden, Netherlands: Brill Academic Publishers, 2007.
- [10] KOLOMBIA Y A, KUMAR P L, ADEWUYI O, et al. Distribution, prevalence, and severity of damages caused by nematodes on yam (*Dioscorea rotundata*) in Nigeria [J]. Nematropica, 2020, 50(1): 1-18.
- [11] SUBBOTIN S A, RAGSDALE E J, MULLENS T, et al. A phylogenetic framework for root lesion nematodes of the genus *Pratylenchus* (Nematoda): Evidence from 18S and D2-D3 ex-

pansion segments of 28S ribosomal RNA genes and morphological characters [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2008, 48(2): 491-505.

- [12] 黄金玲, 陆秀红, 高淋淋, 等. 广西淮山根腐线虫病病原鉴定[J]. 南方农业学报, 2015, 46(11): 1990-1993.
- [13] 贺哲, 黄婷, 李俊科, 等. 瑞昌山药根腐线虫病病原鉴定[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(5): 879-883.
- [14] 丰叶青, 姚亚楠, 杜娟, 等. 山西省窖藏薯类块茎中2种短体线虫的种类鉴定[J]. 植物保护, 2021, 47(3): 29-36.
- [15] 段玉玺. 植物线虫学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 199-210.
- [16] 刘维志. 植物线虫志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 71-89.
- [17] 谢辉. 植物线虫分类学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 158-168.
- [18] BELL C A, ATKINSON H J, ANDRADE A C, et al. A high-throughput molecular pipeline reveals the diversity in prevalence and abundance of *Pratylenchus* and *Meloidogyne* species in coffee plantations [J]. Phytopathology, 2018, 108(5): 641-650.
- [19] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [20] JONES J T, HAEGEMAN A, DANCHIN E G, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2013, 14(9): 946-961.
- [21] ADEGBITE A A, SAKA J O, AGBAJE G O, et al. Survey of plant-parasitic nematodes associated with yams in Ogun and Osun States of Nigeria [J]. Journal of Plant Protection Research, 2008, 48(4): 421-428.
- [22] KOLOMBIA Y A, OGUNDERO O, OLAJIDE E, et al. Morphological and molecular characterization of *Pratylenchus* species from yam (*Dioscorea* spp.) in West Africa [J]. Journal of Nematology, 2020, 52: 1-25.
- [23] BRIDGE J. Plant-parasitic nematode problems in the Pacific Islands [J]. Journal of Nematology, 1988, 20(2): 173-183.
- [24] MUNIZ M, DA SILVA E J, CASTRO J M, et al. Intensity of dry rot disease of yam in the State of Alagoas, Brazil [J]. Nematropica, 2012, 42(2): 198-200.
- [25] COYNE D L, AFFOKPON A. Nematode parasites of tropical root and tuber crops [M]//Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 3rd edition. Wallingford: CAB International, 2018: 252-289.
- [26] 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的病原种类鉴定[J]. 植物病理学报, 2021, 51(4): 536-548.
- [27] GRYNBERG P, TOGAWA R, FREITAS L, et al. Comparative genomics reveals novel target genes towards specific control of plant-parasitic nematodes [J/OL]. Genes, 2020, 11: 1347. DOI: 10.3390/genes11111347.