

冯 辉, 聂国媛, 陈 曦, 等. 拟禾谷根结线虫江苏分离群体形态学和分子鉴定[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 794-801.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.011

拟禾谷根结线虫江苏分离群体形态学和分子鉴定

冯 辉^{1,2}, 聂国媛¹, 陈 曦¹, 张金凤¹, 周冬梅¹, 魏利辉^{1,2}

(1.江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 2.江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所/省部共建国家重点实验室培育基地——江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 从江苏省泰州地区水稻根结组织中分离获得单一种群的寄生线虫, 其雌虫、雄虫和二龄幼虫的 de-Man 形态学特征与已报道的拟禾谷根结线虫 (*Meloidogyne graminicola*) 基本一致。应用 ITS-rRNA 和 28S rRNA D2-D3 扩展区分子标记 PCR 扩增分别获得 579 bp 和 766 bp 条带, 其序列与 *M. graminicola* 台湾、福建、广东、海南等地区部分分离群体的相似度均达 99%。贝叶斯系统发育树显示, *M. graminicola* 江苏分离群体与供试的其他种群均位于同一进化分支。*M. graminicola* 江苏分离群体的鉴定结果表明, 该线虫从南至北开始向中国其他稻区扩展蔓延, 因此亟待采取相关措施以防止水稻根结线虫病的大发生。

关键词: 拟禾谷根结线虫; 形态学特征; ITS-RNA; 28 rRNA; 进化树分析

中图分类号: S435.111.4⁺8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)04-0794-08

Morphological and molecular identification of *Meloidogyne graminicola* isolated from Jiangsu province

FENG Hui^{1,2}, NIE Guo-ai¹, CHEN Xi¹, ZHANG Jin-feng¹, ZHOU Dong-mei¹, WEI Li-hui^{1,2}

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Food Quality Safety and Detection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Lab of Food Quality and Safety of Jiangsu Province——State Key Laboratory Breeding Base, Nanjing 210014, China)

Abstract: A single species of parasitic nematode was isolated from root-knot tissues of rice in the paddy fields of Jiangsu province. The external morphology and de-Man morphometrics of the female, male and second instar larvae of nematode were basically identical to other known *Meloidogyne graminicola* isolates. Molecular markers of ITS-rRNA and 28S rRNA D2-D3 expansion regions were adopted for the identification of a 579-bp and a 766-bp fragments by PCR from the isolated nematode. The sequences were similar to those of *M. graminicola* from Taiwan, Fujian, Guangdong and Hainan in China. The Bayes phylogenetic tree revealed that the Jiangsu isolate was grouped with Chinese and other populations of *M. graminicola* into a same clade. Occurrence of *M. graminicola* in Jiangsu province indicates that this nematode has spread to the rice-growing regions from south to north in China, and related measures should be taken for preventing the outbreak of rice root nematode disease in China.

Key words: *Meloidogyne graminicola*; morphological characteristic; ITS-RNA; 28 rRNA; phylogeny

收稿日期: 2017-02-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401728); 省部共建国家重点实验室培育基地自主研究课题(4911406)

作者简介: 冯 辉(1985-), 男, 陕西西安人, 博士, 助理研究员, 主要从事植物线虫学研究。

通讯作者: 魏利辉, (Tel) 025-84392995; (E-mail) weilihui@jaas.ac.cn

水稻(*Oryza sativa* L.)是全世界 3.5×10^9 人口的主粮, 每年因水稻寄生线虫所造成的产量损失达 20%^[1]。拟禾谷根结线虫 (*Meloidogyne graminicola*), 又称水稻根结线虫, 隶属于垫刃目(Tylenchida)根结科(Meloidogynidae)根结属(*Meloidogyne* spp.), 是水稻上最重要

的病原线虫之一^[2]。作为固生性内寄生线虫的一种, *M. graminicola* 能适应旱地、灌溉地、低洼地和深水等多种水稻生态环境,能使水稻根尖形成典型的钩状根结,破坏根部维管系统,阻遏水分和养分的运输,导致植株黄化、矮缩、分蘖数减少、成熟期延迟等症状,并最终导致 16%~97% 的产量损失^[2-3]。

M. graminicola 最早在美国路易斯安那州稗草 (*Echinochloa colonum* L.) 上被发现^[4],随后在许多国家被鉴定。目前, *M. graminicola* 主要分布于印度、菲律宾、缅甸、孟加拉国、老挝、泰国、越南、尼泊尔、中国等东南亚国家,在美国和欧洲部分地区也有分布^[5]。在中国, *M. graminicola* 在海南^[6]、福建^[7] 和广西^[8] 等热带和亚热带水稻产区相继被发现,然而, *M. graminicola* 在中国其他稻区的发生和危害鲜有报道。自 2016 年 7 月开始,笔者从江苏省泰州市水稻田中陆续发现大面积黄化、分蘖数减少、拔节和抽穗困难、小穗翘粒等症状的水稻植株。本研究对从泰州市发病水稻根结组织中分离获得的寄生线虫进行形态学和分子生物学鉴定。

1 材料与方法

1.1 线虫来源

从 2016 年 8 月至 10 月,对江苏省泰兴市根思乡多个水稻田块进行随机调查取样,调查稻田土壤为沙壤土,水稻品种为常规粳稻。观察记录田间症状和发病情况,选取根系具有典型根结症状的病株及根际土壤带回实验室。

1.2 形态学观察

清洗根组织,在体视显微镜下,分别从根部根结处和卵囊处挑取雌虫和雄虫,二龄幼虫由卵囊孵化获得。线虫的杀死、固定、会阴花纹等标本制作均参照文献^[9]。通过光学显微镜 (Eclipse E200, 日本尼康公司产品) 和体视显微镜 (M125, 德国莱卡公司产品) 观察雌虫、雄虫和幼虫的虫体形态,测算 de-Man 值和其他形态参数值。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增、克隆和测序

DNA 提取按照文献^[10] 的方法进行。ITS 区域 (包括 ITS1、5.8S rRNA 和 ITS2) 采用引物 TW81 (5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3') 和 AB28 (5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGCT-3') 扩增^[11]; 28S rRNA 的 D2-D3 延伸区用引物 D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGG-GAAAGTTG-3') 和 D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGC-

TACTA-3') 扩增^[12]。50 μ l PCR 反应体系含有 2 \times Taq Plus Master Mix (南京诺唯赞生物科技有限公司产品) 25 ml、正反向引物各 20 pmol、线虫 DNA 粗体液 10 μ l。反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s,共 35 个循环;最后再 72 $^{\circ}$ C 反应 5 min。PCR 产物通过 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒 (杭州爱思进生物技术有限公司产品) 回收纯化后,转化 Trans10 感受态细胞 (北京全式金生物技术有限公司产品)。收集活化后的菌体,用玻璃棒均匀涂布于 LB 筛选平板 (含 100 μ g/ml Amp、40 μ g/ml X-Gal、10 μ g/ml IPTG) 上,置于 37 $^{\circ}$ C 培养过夜。挑选阳性克隆,接种在 LB 液体培养基 (含 100 μ g/ml Amp) 中,37 $^{\circ}$ C、150 r/min 摇动 5 h。随后以菌液为模板进行 PCR 扩增,反应体系和仪器参数设置同前。菌液 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测,与回收产物大小一致的新鲜菌液送生物公司进行测序。

1.4 序列分析及系统发育树构建

分别以江苏分离群体 ITS 和 28S D2-D3 扩展区序列在 NCBI 数据库中进行 Blast 比对 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>),选择与对应分子标记序列相似度较高的线虫序列构建进化树,并根据序列比对差异选择适宜的外群序列。将新获得的序列和下载的对应该序列用 ClustalX 1.83 进行多重序列比对,用 Gblock 0.91b 进行序列保守区的选择^[13],用 DAMBE 进行核苷酸替换饱和度检测^[14],用 MrModeltest 2.3 选择最优化的核苷酸替换模型并计算相关参数,用 Mrbayes 3.2.6 构建贝叶斯系统发育树^[15]。贝叶斯系统发育树采用马尔可夫链蒙特卡罗方法 (Markov chain monte carlo, MCMC) 构建,每条马尔可夫链运行 2×10^6 代,每 1 000 代采样 1 次,每个 MCMC 分析运行 4 次。抛弃 25% 老化样本进行聚合评估,剩余样本用于后续分析,构建一致性为 50% 的发育树。

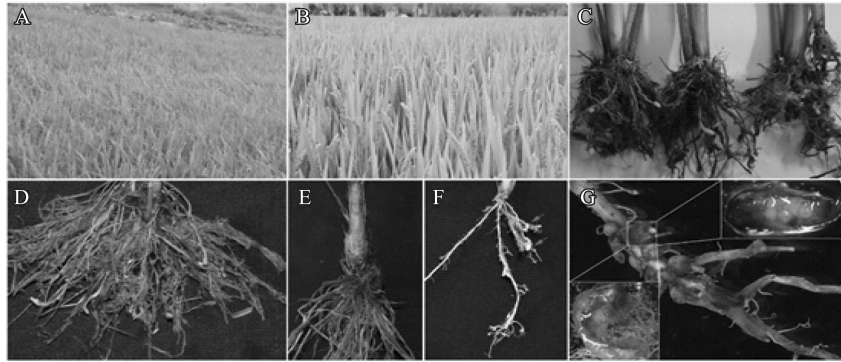
2 结果

2.1 水稻根结线虫病田间症状和线虫形态特征

田间调查结果表明水稻植株根部根结发生率达 100%。8 月中旬正值水稻拔节孕穗期,发病株水稻长势差,严重时叶黄化,纤弱,不抽穗或抽穗推迟,穗形小 (图 1-A);水稻成熟期表现“直立翘穗”症状,结实少,秕谷多 (图 1-B)。受害水稻根系发育受阻,

根系易折断。幼根根结膨大后弯曲,成钩状或纺锤状,老根变棕褐色易腐烂(图 1-C、图 1-D),且伴生“倒生根”(图 1-E)。倒茬期新生水稻仍可发病,产生典型钩状根结(图 1-F)。雌虫完全埋在根组织根

结或附近组织,根结可产生毛绒状细长侧根(图 1-G)。卵囊完全产生于根皮层内,不外露,卵粒间松散,卵可在根内孵化,剖开完整根结,可见大量孵化的二龄幼虫,在根结卵囊处常见雄虫。



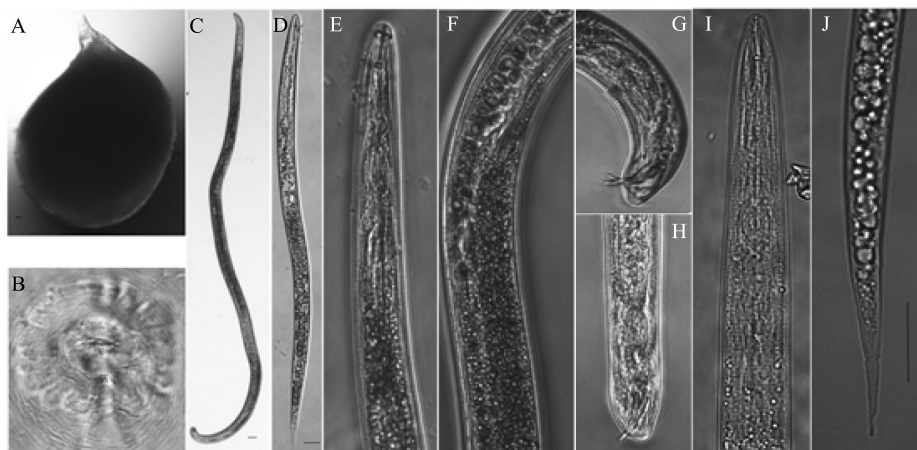
A: 孕穗期田间症状; B: 黄熟期田间症状; C: 孕穗期根部; D、G: 黄熟期根部; E: 根部倒生根; F: 稻桩期新生根。

图 1 水稻根结线虫病田间表现和根部症状

Fig.1 The aboveground symptoms and characters of the rice roots infected with *Meloidogyne graminicola* in paddy field

分离的线虫主要形态特征如下:雌虫虫体球形至梨形,细颈明显,头架不发达,口针纤细且短,口针基部球光滑、突出,略向后倾斜,排泄孔明显,位于口针基部之后,中食道球大,近圆形,瓣门发达,食道腺发达(图 2-A);会阴花纹卵圆形或近圆形,侧区无明显界限,背弓高、近方形,线纹平滑细密,环绕会阴,尾尖明显,阴门区一般无线纹(图 2-B)。雄虫虫体蠕虫状,体环明显,头架中等发达,头冠高、圆,与头环分离,头区不突出,平滑,口针基杆圆柱形,与口针基部球连接处稍变窄,口针基部球卵圆形,与杆部界

线明显,前缘平或略向后斜(图 2-C、图 2-E);精巢单条,前伸,精巢内充满精子(图 2-F),交合刺发达(图 2-G、图 2-H)。二龄幼虫头冠前端平、宽大,头区圆、平滑,口针锥和基杆窄,口针基部球小、突出,中食道球椭圆形,食道腺延伸较长,覆盖肠腹面,尾部长、细,尾端透明区长、窄,尾尖略呈棍棒状(图 2-D、图 2-I、图 2-J)。雌虫、雄虫和二龄幼虫 de-Man 参数值见表 1。雌虫、雄虫和二龄幼虫的 de-Man 形态学特征与已报道的拟禾谷根结线虫(*Meloidogyne graminicola*)基本一致。



A: 雌虫; B: 雌虫会阴花纹; C: 雄虫; D: 二龄幼虫; E: 雄虫头部; F: 雄虫储精囊; G、H: 雄虫尾部; I: 二龄幼虫头部; J: 二龄幼虫尾部。

图 2 拟禾谷根结线虫形态学特征

Fig.2 Photomicrographs of *M. graminicola* isolated from rice root

表 1 拟禾谷根结线虫江苏分离群体雌虫、雄虫和二龄幼虫形态特征

Table 1 Morphological characters of Jiangsu isolate of *M. graminicola*

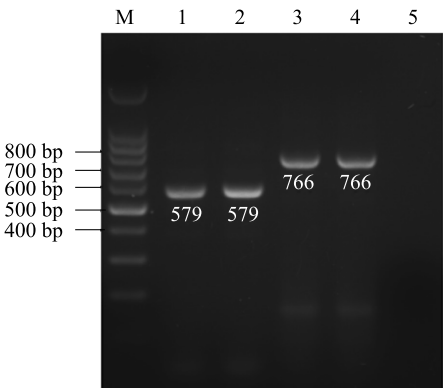
de-Man 参数	雌虫	雄虫	二龄幼虫
<i>n</i>	20	15	20
<i>L</i> (μm)	585.20±84.23	1 302.85±132.74	447.36±21.10
<i>W</i> (μm)	438.70±106.65	32.55±4.31	16.30±1.37
<i>a</i>	1.43±0.55	39.63±2.68	27.62±2.83
<i>c</i>	—	125.50±27.99	6.28±0.52
<i>EP</i> (μm)	24.23±4.39	105.16±8.75	—
<i>ST</i> (μm)	11.26±2.22	17.25±1.51	13.15±0.79
<i>DGO</i> (μm)	3.89±0.62	3.34±0.32	3.99±0.51
<i>Tail</i> (μm)	—	10.84±2.53	71.56±4.95
<i>h</i> (μm)	—	—	19.94±2.45
<i>SPI</i> (μm)	—	27.20±2.69	—
<i>T</i> (%)	—	50.89±5.10	—
<i>VSL</i> (μm)	23.08±3.19	—	—
<i>AVD</i> (μm)	16.31±1.98	—	—

n:样品数量;*L*:体长;*W*:最大体宽;*a*:体长/最大体宽;*c*:体长/尾长;*EP*:排泄孔至头端距离;*ST*:口针长度;*DGO*:背食道腺开口至口针基部球距离;*Tail*:尾长;*h*:尾后部的透明区长;*SPI*:交合刺长度;*T*:泄殖腔至精巢最前端距离/体长;*VSL*:阴门裂长;*AVD*:肛门至阴门中心距离。—:无数据。

2.2 拟禾谷根结线虫的分子生物学特征和进化树分析

应用 ITS-rRNA 和 28S rRNA D2-D3 扩展区分子标记 PCR 扩增分别获得 579 bp 和 766 bp 条带(图 3)。通过与 NCBI 数据库登录的序列进行比对,江苏分离群体与其他分离群体 ITS 相似度为 97%~99%,其中与中国福建分离群体(KR604730)、广东分离群体(KR604731、KR604732)、海南分离群体(KU646999, KR604733)以及缅甸分离群体(KR604734、KR604736、KR604739、KR604742)相似度最高(1~2 个碱基插入或替换),而与印度群体(KM921775)序列差异较大,具有 86%的相似性(82 个碱基插入或替换),与其他根结线虫种类序列相似度为 82%~97%(19~105 个碱基插入或替换)。江苏分离群体与报道的其他拟禾谷根结线虫 28S rRNA 序列相似性为 99%,与其他根结线虫 28S rRNA 序列相似性为 88%~96%(3~17 个碱基插入或替换)。以短体线虫(*Pratylenchus* spp.)为外群,

基于 ITS 和 28S rRNA 的 D2-D3 扩展区序列所构建的贝叶斯进化树显示,拟禾谷根结线虫江苏分离群体与其他分离种群均位于同一个进化分支($PP=100$),其中 ITS 贝叶斯进化树将中国台湾、福建、海南、广东、湖南、江苏以及缅甸、孟加拉国和印度部分群体划归为一个次级分支,而将侵染香蕉的中国福建种群和印度种群归为一个次级分支(图 4);28S rRNA 贝叶斯进化树将拟禾谷根结线虫划分为 2 个次级分支,江苏群体与福建群体(KM111530、KM236561)和台湾群体(KF751067)处于同一级进化分支(图 5)。



M 为 DNA 分子标准,1、2 分别为雌虫和雄虫 ITS-rRNA,3、4 分别为雌虫和雄虫 28S rRNA D2-D3 扩展区,5 为阴性对照。

图 3 通用引物对拟禾谷根结线虫江苏分离群体的 PCR 扩增
Fig.3 PCR amplification of Jiangsu isolate of *M. graminicola* using universal primer sets

3 讨论

目前,*M. graminicola* 主要在东南亚热带和亚热带水稻种植地区发生和为害,在中国也仅在海南、广东、福建等华南地区有报道。本研究鉴定的 *M. graminicola* 江苏群体为中国长江以北地区首次发现,从初步调查结果看,主要在泰兴市根思乡水稻田块发生为害,发病田块一般可造成 40%的水稻产量损失。与之前的报道相似,多个 *M. graminicola* 雌虫常聚集在一起,诱导产生的钩状根结表面又新生许多纤细毛绒状根,随着雌虫产卵完成,二龄幼虫直接孵化在新生根上建立新的取食位点^[2]。本研究还发现,在水稻生长后期受 *M. graminicola* 严重侵染的植株常产生“倒生根”现象。

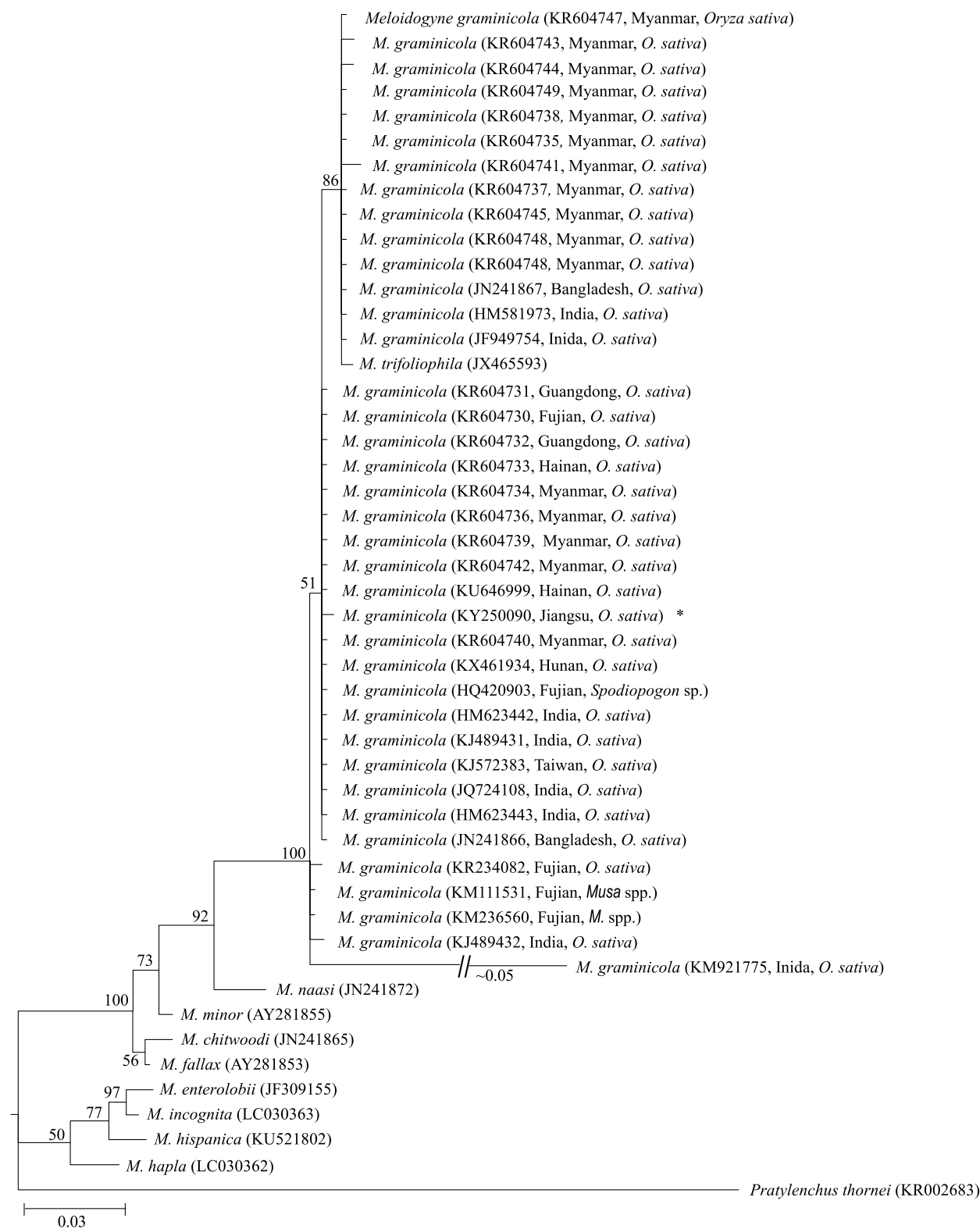


图 4 基于根结线虫属 ITS-rRNA 序列的贝叶斯进化树 (SYM+G 模型)

Fig.4 Bayesian phylogenetic tree generated from the ITS-rRNA sequence dataset of *Meloidogyne* species using SYM+G model

基于形态学、DNA 序列和侵染力等指标,许多 *M. graminicola* 分离群体被鉴定和描述。虫体长度

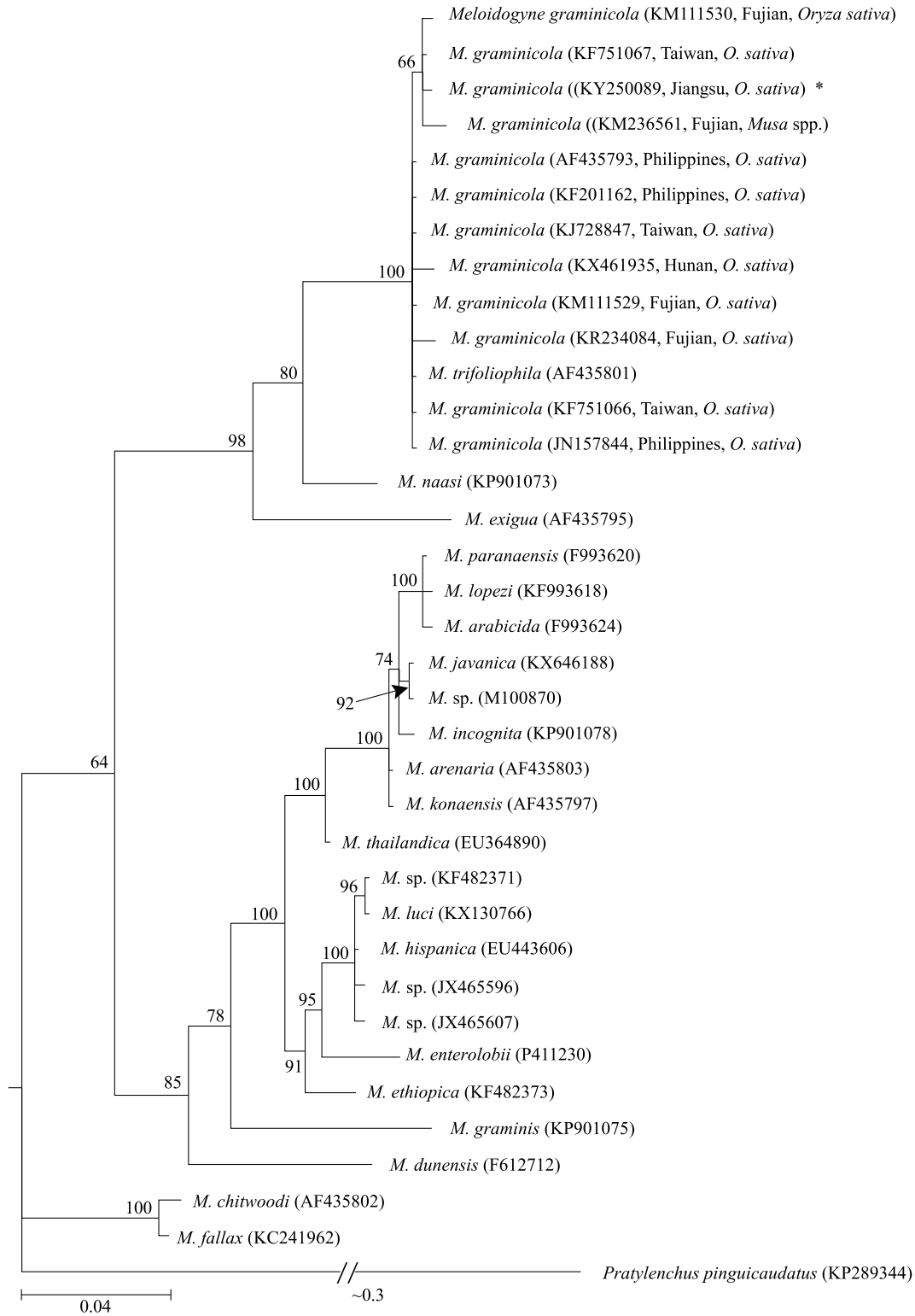


图 5 基于根结线虫属 28S rRNA D2-D3 序列的贝叶斯进化树 (GTR+G 模型)
Fig.5 Bayesian phylogenetic tree generated from the 28S rRNA D2-D3 region sequence dataset of *Meloidogyne* species using GTR+G model

(*L*)、口针长度(*ST*)、背食道腺开口至口针基部球距离(*DGO*)等是 *M. graminicola* 种群变异的重要形态参数之一。Bellafore 等^[16]对越南 21 个分离种群二龄幼虫进行了测量统计,发现不同群体 *L* 值和 *ST* 值

存在显著差异,山区分离群体的 L 值显著小于低洼地和平原群体;将各个分离群体进行室内扩繁培养后,大部分群体二龄幼虫的 L 值显著高于原始值,表明环境气候和寄主因素可能影响线虫的形态特征^[16]。通过比较发现,江苏分离群体与海南^[6]、福建^[7]等分离群体的各个形态学特征基本一致,但 L 、 ST 及 DOG 等参数略大于寄生大麦的美国分离群体^[4],反映不同地理群体存在一定的形态差异。

由于根结线虫属中的一些种类如禾本科根结线虫(*Meloidogyne graminis*)与 *M. graminicola* 的形态特征相近不易区分,因此有必要借助分子生物学技术进行精确鉴定。ITS rRNA 和 28S rRNA D2-D3 扩展区是鉴定 *M. graminicola* 最常用的分子诊断标记^[17]。*M. graminicola* 江苏群体与其他群体的 ITS 和 28S rRNA D2-D3 序列均高度相似,特别是 ITS 序列与中国福建、海南和越南部分分离群体的相似性达 99%,表明这些分离群体之间的遗传变异较小。基于 ITS 和 28S rRNA 序列构建的贝叶斯进化树显示 *M. graminicola* 在根结线虫中的遗传进化关系与之前的描述^[18-19]基本一致。另外,根据线粒体细胞色素氧化酶 II 序列差异,McClure 等^[18]将感染美国高尔夫球场草坪草的 *M. graminicola* 划分为 A 型群体,而将感染亚洲水稻的 *M. graminicola* 群体划分为 B 型群体。本研究发现,感染油芒(*Spodiopogon* sp.)和香蕉(*Musa* spp.)的 *M. graminicola* 福建群体与感染水稻的 *M. graminicola* 位为同一进化分支簇,说明这 2 个群体可能为同一基因型。

除了能寄生水稻,*M. graminicola* 还能感染小麦^[20-21]、田间杂草^[22]、洋葱^[23-24]、香蕉^[25],有些分离群体还能感染茄子、番茄、秋葵等^[26]。我们在水稻根结线虫病发生田块,发现光头稗(*Echinochloa colonum* L.)亦受 *M. graminicola* 感染,其根部出现典型的钩状结瘤。在江苏省泰兴地区水稻常和小麦轮作,*M. graminicola* 江苏群体能否侵害小麦还需要作进一步调查。总之,*M. graminicola* 江苏分离群体的鉴定结果,表明该线虫已经开始从南至北向中国其他稻区扩展蔓延,因此亟待采取相关措施以防止水稻根结线虫病的大发生。

参考文献:

- [1] MUTHAYYA S, SUGIMOTO J D, MONTGOMERY S, et al. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2014, 1324(1): 7-14.
- [2] MANTELIN S, BELLAFFIORE S, KYNDT T. *Meloidogyne graminicola*: a major threat to rice agriculture[J]. Molecular Plant Pathology, 2016, 18: 3-15.
- [3] JAIN R K, MATHUR K N, SINGH R V. Estimation of losses due to plant parasitic nematodes on different crops in India[J]. Indian Journal of Nematology, 2007, 37: 219-220.
- [4] GOLDEN A M, BIRCHFIELD W. *Meloidogyne graminicola* (Heteroderidae) a new species of root-knot nematode from grass[J]. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 1965, 32(2): 228-231.
- [5] PANKA J, SHARMA H K, PRASAD J S. The rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola*: an emerging problem in rice-wheat cropping system[J]. Indian Journal of Nematology, 2010, 40(1): 1-11.
- [6] 冯志新. 水稻根结线虫病的发现[J]. 广东农业科学, 1974(3): 35-37.
- [7] 刘国坤,王 玉,肖 顺,等. 水稻根结线虫病的病原鉴定及其侵染源的研究[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(4): 420-426.
- [8] 李正杨,雷金湘,李 树,等. 水稻根结线虫病发生为害情况初步调查[J]. 广西植保, 1997(2): 37.
- [9] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 384-400.
- [10] 冯 辉,魏利辉,周益军. 水稻细尖潜根线虫(*Hirschmanniella mucronata*)江苏分离群体形态与分子特征描述[J]. 植物病理学报, 2016, 46(4): 474-484.
- [11] SUBBOTIN S A, VIERSTRAETE A, DE LEY P, et al. Phylogenetic relationships within the cyst-forming nematodes (Nematoda, Heteroderidae) based on analysis of sequences from the ITS regions of ribosomal DNA[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 21(1): 1-16.
- [12] 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.
- [13] CASTRESANA J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis[J]. Molecular Biology and Evolution, 2000, 17(4): 540-552.
- [14] XIA X, XIE Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution[J]. Journal of Heredity, 2001, 92(4): 371-373.
- [15] RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, et al. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. Systematic Biology, 2012, 61(3): 539-542.
- [16] BELLAFFIORE S, JOUGLA C, CHAPUIS É, et al. Intraspecific variability of the facultative meiotic parthenogenetic root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) from rice fields in Vietnam[J]. Comptes Rendus Biologies, 2015, 338(7): 471-483.

- [17] HTAY C, PENG H, HUANG W, et al. The development and molecular characterization of a rapid detection method for rice root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) [J]. European Journal of Plant Pathology, 2016, 146(2): 281-291.
- [18] MCCLURE M A, NISCHWITZ C, SKANTAR A M, et al. Root-knot nematodes in golf course greens of the western United States [J]. Plant Disease, 2012, 96(5): 635-647.
- [19] YE W, ZENG Y, KERNS J. Molecular characterisation and diagnosis of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) from Turfgrasses in North Carolina, USA [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0143556.
- [20] POKHAREL R R, ABAWI G S, ZHANG N, et al. Characterization of Isolates of *Meloidogyne* from rice-wheat production fields in Nepal [J]. Journal of Nematology, 2007, 39(3): 221-230.
- [21] PADGHAM J L, DUXBURY J M, MAZID A M, et al. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh [J]. Journal of Nematology, 2004, 36(1): 42-48.
- [22] RICH J R, Brito J A, KAUR R, et al. Weed species as hosts of *Meloidogyne*: a review [J]. Nematropica, 2009, 39: 157-185.
- [23] 赵洪海, 刘维志, 梁 晨, 等. 根结线虫在中国的一新纪录种——拟禾本科根结线虫 *Meloidogyne graminicola* [J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 184-188.
- [24] GERGON E B, MILLER S A, HALBRENDT J, et al. Effect of rice root-knot nematode on growth and yield of yellow Granex onion [J]. Plant Disease, 2002, 86(12): 1339-1344.
- [25] ZHOU X, LIU G K, XIAO S, et al. First report of *Meloidogyne graminicola* infecting banana in China [J]. Plant Disease, 2015, 99(3): 420-421.
- [26] POKHAREL R R, ABAWI G S, DUXBURY J M, et al. Variability and the recognition of two races in *Meloidogyne graminicola* [J]. Australasian Plant Pathology, 2010, 39: 326-333.

(责任编辑:张震林)