

丁晓帆,黄小筛,唐琦,等.不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响及田间防效[J].江苏农业科学,2016,44(1):146-148.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.040

不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响及田间防效

丁晓帆,黄小筛,唐琦,周珊虹,兀旭辉

(海南大学环境与植物保护学院,海南海口 570228)

摘要:采用室内浸渍法研究不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响,并在田间测定了 3 种药剂与有机肥配施对根结线虫的防治效果。结果表明:供试药剂均对线虫卵胚胎发育起抑制作用,多数胚胎停在原肠期和 1 龄幼期阶段,其中 9.00 mg/L 1.8% 阿维菌素乳油,16.00、32.00 mg/L 3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂的死亡卵比例分别高达 48.49%、49.97%、54.23%,均显著高于灭菌水对照;不同药剂与有机肥配施对白菜根围土壤中的侵染性根结线虫幼虫均有较好的防控效果,药后 18 d,10.5% 阿维·噻唑磷颗粒剂速效性最好,线虫减退率为 46.76%,防效达 49.36%;药后 35 d,3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂持效性最好,线虫减退率为 85.42%,防效达 90.36%。

关键词:药剂;根结线虫;胚胎发育;防治效果

中图分类号: S433.89 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)01-0146-02

海南岛地处热带,可为发展反季节农业提供良好的环境与气候条件,因此反季节蔬菜已经成为海南省热带高效农业的支柱产业^[1]。根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是一类植物土传病原物,据调查,海南岛大部分地区瓜菜根结线虫病株发病率在 50% 以上,以南方根结线虫(*M. incognita*)为优势种群^[2]。大棚蔬菜由于其特殊的栽培环境,蔬菜生长周期短,土地复种指数高,根结线虫主要以卵、卵囊和幼虫在土壤中持续危害,线虫无明显越冬越夏现象,虫口密度大,最终造成严重的经济损失。基于蔬菜对农药残留的特殊要求,适用于线虫防治的药剂较少,目前登记用于蔬菜根结线虫病防治的药剂仅十几种,国家明令禁止高毒农药用于蔬菜线虫病防治^[3]。为了筛选高效、低毒、低残留且对蔬菜安全的杀线虫剂和施用方法,笔者以南方根结线虫为靶标,测定不同药剂处理对线虫卵胚胎发育的抑制效果,并通过田间试验比较了不同药剂与有机肥配施对根结线虫的防治效果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试农药及肥料 主要农药有:(1)1.8% 阿维菌素乳油,江苏丰源生物工程有限公司产品;(2)3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂(甲氨基阿维菌素苯甲酸盐含量 0.2%、氯氰菊酯含量 3%),上海沪联生物药业(夏邑)股份有限公司产品;(3)10.5% 阿维·噻唑磷颗粒剂(阿维菌素含量 0.5%、噻唑磷含量 10%),北京燕化永乐农药有限公司产品。供试肥料:双春牌有机肥料粉剂[总养分含量(N+P₂O₅+K₂O)≥5%,

有机质含量≥45%],澄迈恒富肥业科技有限公司产品。

1.1.2 试验材料 试验材料为南方根结线虫,由海南大学环境与植物保护学院线虫实验室采用番茄苗培养扩繁获得。供试植物为大白菜(*Brassica campestris*)(早京皇白皮球大白菜),由汕头市金韩种业有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响 将番茄根结线虫病根洗净后挑取卵囊,用 0.5% 次氯酸钠溶液振荡消毒 15 min,过 325、500 目筛,用灭菌水冲洗直至没有次氯酸钠气味。回收 500 目筛上的卵悬液,用移液器吸取 10 粒单胞卵到单凹玻片上,分别加入不同稀释浓度的药剂各 100 μL,其中 1.8% 阿维菌素乳油为 9.00(2 000 倍液)、6.00 mg/L(3 000 倍液)、3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂为 32.00(1 000 倍液)、16.00(2 000 倍液)、10.67 mg/L(3 000 倍液)。每个处理设 6 次重复,以灭菌水作为空白对照(CK₀),将单凹玻片置于保湿的培养皿中,于 25℃ 培养;48 h 后将药液除去,置换成灭菌水后继续保湿培养^[4-5];6 d 后于解剖镜下观察记录胚胎各个发育阶段的卵数,并按 Duncan's 新复极差法测验各处理的差异显著性^[6]。

1.2.2 不同药剂与有机肥配施防治大白菜根结线虫病的田间小区试验 (1)试验地点:试验地点设在海南省现代农业展示示范园区,立柱蔬菜大棚,试验田平坦,根结线虫病普遍发生。(2)试验方法。本试验共设 5 个处理,4 次重复,共 20 个小区,随机区组排列,小区面积 10 m²(1.2 m×8.0 m),小区间以排水沟作为隔离保护行。有机肥作基肥的处理在整地时撒入拌匀,使用量 0.6 kg/m²。施药后 2 d 撒播大白菜种子,除受控因子外,田间管理按当地习惯进行,各小区其他管理一致。具体处理如下:T₁ 处理:有机肥作基肥,耙平后用 10 mL 1.8% 阿维菌素乳油稀释 2 000 倍(9 mg/L)均匀浇洒土壤;T₂:有机肥作基肥,耙平后用 10 mL 3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂稀释 2 000 倍(16 mg/L)均匀浇洒土壤;T₃:有机肥作

收稿日期:2015-02-01

基金项目:海南省自然科学基金(编号:313029);中西部高校项目(编号:ZXBJH-XK005、ZXBJH-XK004、MWECS-RT08)。

作者简介:丁晓帆(1979—),女,广东潮州人,硕士,讲师,主要从事植物线虫学研究。E-mail:dingxiaofan526@163.com。

基肥,用 10 g 10.5% 阿维·噻唑磷颗粒剂拌毒土,与有机肥一起在整地时撒入拌匀; T_4 :6 kg 有机肥作基肥,整地时撒入拌均匀;CK:整地时拌入 6 kg 细沙并浇水作为空白对照。(3)调查方法:分别在药前、药后 18 d、药后 35 d 采用 5 点取样法取大白菜根围(0~20 cm 深)土样,每个小区土样充分混匀后量取 200 mL 采用浅盘法^[7]分离线虫,在体视解剖镜下统计侵染性线虫数量,并用以下公式计算线虫减退率和防治效果^[8]。

$$\text{线虫减退率} = \frac{\text{施药前线虫数} - \text{施药后线虫数}}{\text{施药前线虫数}} \times 100\% ;$$
$$\text{防治效果} = \frac{PT - CK}{1 - CK} \times 100\% .$$

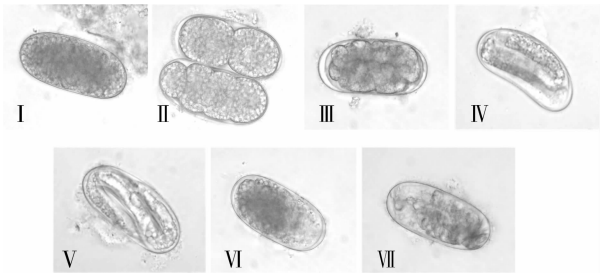
式中:CK 为空白对照区线虫减退率,%;PT 为药剂处理区线虫减退率,%。

2 结果与分析

2.1 不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响

图 1 中 I 至 V 为南方根结线虫胚胎正常发育各个阶段的卵,VI、VII 为停止发育的死亡卵,可以看出正常发育的卵内含物清晰可辨,而死亡卵内含物模糊,细胞处于离析降解状态。

结合图 1、表 1 分析可知,随着药剂浓度的增高,死亡卵的比例呈正相关增加,9.00 mg/L 1.8% 阿维菌素乳油,16.00、32.00 mg/L 3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂处理组的死亡卵比例分别高达 48.49%、49.97%、54.23%,差异不显著,但与灭菌水对照相比均差异显著;各处理组卵胚胎发育多数停止在原肠期、1 龄幼期阶段,正常孵化的 2 龄幼虫比例均为 0,而灭菌水对照中 2 龄幼虫期所占比例高达 59.60%,且在 6 d 后镜检时原肠期前卵态已极少,仅见 1.85% 的多胞期卵。



I—单胞期; II—二胞期和四胞期; III—多胞期; IV—原肠期; V—1 龄幼期; VI—死亡卵; VII—死亡卵

图1 南方根结线虫胚胎发育及死亡卵(40×)

表 1 不同药剂处理对南方根结线虫胚胎发育的影响

药剂	处理浓度 (mg/L)	不同类型胚胎占比(%)				
		单胞至四胞期	多胞期	原肠期及 1 龄幼期	2 龄幼期	死亡卵
1.8% 阿维菌素乳油	9.00	0	0	51.51	0	48.49aAB
	6.00	1.52	0	78.29	0	20.19bB
3.2% 甲维盐·氯氰微乳剂	32.00	2.08	0	43.69	0	54.23aA
	16.00	2.08	0	47.95	0	49.97aAB
	10.67	2.08	0	61.20	0	36.72abAB
CK ₀		0	1.85	22.35	59.60	16.20bB

注:表中数据为 6 次重复的平均值。同列数据后标有不同小写、大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。

2.2 不同药剂对大白菜根结线虫病的防治效果

表 2 结果表明:不同药剂与有机肥配施对大白菜根围土壤中的侵染性根结线虫幼虫均有较好的防控效果。药后 18 d,阿维·噻唑磷处理组线虫减退率为 46.76%,防效较其他 2 个药剂稍高,达 49.36%,说明阿维·噻唑磷的速效性较阿维菌素和甲维盐·氯氰好;药后 35 d,空白对照组线虫数增

多,达 2 471.25 条/L,而 3 个药剂处理组线虫数明显下降,线虫减退率均超过 70%,甲维盐·氯氰防效最高,达 90.36%,说明 3 个药剂中甲维盐·氯氰的持效性最好;同时,有机肥处理组对线虫影响不大,药后 18、35 d 线虫减退率分别仅为 9.28%、6.21%。

表 2 不同药剂对大白菜根结线虫病的防治效果

土样序号	药前线虫基数 (条/L)	药后 18 d			药后 35 d		
		线虫数(条/L)	线虫减退率(%)	防效(%)	线虫数(条/L)	线虫减退率(%)	防效(%)
T_1	1 793.75	1 071.25	40.28	43.19	515.00	71.29	81.02
T_2	1 603.75	940.00	41.39	44.25	233.75	85.42	90.36
T_3	1 718.75	915.00	46.76	49.36	390.00	77.31	85.00
T_4	1 630.00	1 478.75	9.28	13.71	1 528.75	6.21	4.11
CK	1 633.75	1 717.50	-5.13		2 471.25	-51.26	

注:表中数据均为 4 次重复的平均值。线虫基数以单位体积土壤中的线虫数计算。

3 结论与讨论

卵胚胎发育试验结果表明,随着不同药剂处理浓度的增高,根结线虫停止发育的死亡卵比例呈正相关增加,尽管发育到原肠期或 1 龄幼期的卵也不能正常孵化成 2 龄幼虫,处理浓度为 9.00 mg/L 的阿维菌素乳油与 16.00、32.00 mg/L 的

甲维盐·氯氰微乳剂对卵的致死率差异不显著,即阿维菌素较低浓度的作用效果仍与较高浓度的甲维盐·氯氰微乳剂相当,说明根结线虫卵的胚胎发育对阿维菌素的敏感性较高。漆永红等研究表明,10% 噻唑磷、3% 阿维菌素单剂分别对根结线虫卵囊、卵表现出极强的抑制作用^[9]。田间药效试验结果表明,药后 18、35 d,药剂对线虫的减退率均超过 40%、

张艳俊, 张家瑞, 栗小英, 等. TcLr35 小麦中抗病相关基因 S2A2 的抗叶锈性分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 148–151.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.041

TcLr35 小麦中抗病相关基因 S2A2 的抗叶锈性分析

张艳俊, 张家瑞, 栗小英, 王海燕, 刘大群

(河北农业大学植物保护学院/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北保定 071001)

摘要: NBS-LRR 是已克隆植物抗病基因的高度保守氨基酸区域。前期工作中, 笔者成功克隆获得了 1 个通读的 NBS 类抗病同源基因 S2A2 的 cDNA 序列, 该序列含有 NB-ARC 保守结构域和多个 LRR 结构域, 且在小麦叶片中为低丰度组成型表达。进一步根据 S2A2 基因在 TcLr35 与 Thatcher 中扩增获得的基因序列差异位点设计特异性引物, 分别以 TcLr35、Thatcher 为模板进行扩增, 筛选出了具有较高稳定性和可重复性的 3 对引物。利用 3 个多态性引物对 TcLr35、Thatcher 及其 F₂ 代群体进行扩增和遗传性分析, 并用 Mapmanager 软件计算分子标记与抗叶锈病基因之间的遗传距离, 结果发现这 3 对引物获得的标记与 Lr35 基因遗传距离较远。利用这 3 个多态性引物扩增 33 个不同小麦抗叶锈病近等基因系材料, 并回收测序, 结果表明该基因序列在不同近等基因系材料中广泛存在。

关键词: NBS-LRR; 抗病基因; 小麦叶锈病; 分子标记

中图分类号: S435.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)01-0148-04

小麦是世界上分布范围最广, 栽培面积最大, 总产量最高的粮食作物。病害是威胁小麦稳产高产的主要因素之一。由专性寄生真菌——小麦叶锈菌(*Puccinia triticina*)引起的小麦叶锈病是最严重的小麦叶部病害之一, 在世界各产麦区均有

发生^[1-2]。在北非、东南亚、中亚、东欧和南北美洲等广大地区较为严重。该病也是威胁我国小麦生产的一种常发病害, 20 世纪 70 年代, 北方麦区曾发生 3 次中度以上流行(1973 年、1975 年和 1979 年), 给我国小麦生产造成严重的损失^[3]。过去几年中我国虽然没有叶锈病大规模暴发的相关报道, 但在华北及黄淮海区, 叶锈病经常对小麦生产造成危害, 近年来该病害呈上升趋势。开发利用寄主本身的抗病性是解决病害问题的根本途径, 但由于叶锈菌毒性基因的高度变异性^[4-5]和抗锈品种的不合理使用, 导致传统抗病品种的抗性丧失。因此, 利用包括 DNA 分子标记技术在内的多种手段提高抗病基因和抗病类型的丰富度、保持品种抗锈性的持久有效, 是一项十分紧迫的任务。

成株抗叶锈病基因 Lr35 最初来源于拟斯卑尔脱山羊草

收稿日期: 2015-01-09

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31501623); 河北省高等学校科学技术研究项目(编号: QN12015171)。

作者简介: 张艳俊(1986—), 女, 河北邢台人, 硕士研究生, 主要从事分子植物病理学研究。E-mail: zyj18730222136@163.com。

通信作者: 王海燕, 博士, 副教授, 主要从事分子植物病理学研究。E-mail: ndwanghaiyan@163.com; 刘大群, 男, 博士, 教授, 主要从事植物病害生物防治和分子植物病理学研究。E-mail: ldq@mail.hebau.edu.cn。

70%, 药效均超过 40%、80%, 说明药剂对侵染性线虫有直接的致死作用, 同时影响线虫卵、卵囊的发育与孵化, 直接干扰线虫的有效侵染。本研究中, 有机肥的施用不仅起到增产作用, 而且对植物寄生线虫种群数量表现出一定的抑制作用, 说明有机肥能有效调控土壤环境、抑制侵染性线虫的种群数量^[10], 但其在土壤中施用对线虫病害的防控机制仍需进一步研究。

综合以上试验结果, 生产中建议药剂与有机肥配施, 以提高土壤肥力、增强植株的抗病虫能力, 并注意药剂轮换使用, 防止病原线虫产生抗性。对于叶菜类作物生长周期比较短的蔬菜可在播种或定植前施用 1 次药剂即可; 生长周期较长的茄科、豆科植物建议在药后 35 d 以后, 根据作物生理特点追施 1~2 次药剂。

参考文献:

- [1] 张真和, 肖日新, 赵建阳, 等. 海南和广西秋冬季蔬菜生产现状及发展建议[J]. 中国蔬菜, 2012(3): 1-4.
- [2] 黄伟明, 陈绵才, 肖彤斌, 等. 海南岛葫芦科蔬菜根结线虫危害性

- 调查与种类鉴定初报[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 134-137.
- [3] 刘刚, 崔洪香, 王祥峰, 等. 关于蔬菜线虫病防治药剂使用的几个问题[J]. 中国植保导刊, 2006, 26(3): 34, 28.
- [4] Giannakou I O, Karpouzias D G, Anastasiades I, et al. Factors affecting the efficacy of non-fumigant nematicides for controlling root-knot nematodes[J]. Pest Management Science, 2005, 61(10): 961-972.
- [5] 陆秀红, 刘志明, 黄金玲, 等. 白花曼陀罗叶提取物对南方根结线虫生长发育的影响[J]. 广西农业生物科学, 2006, 25(2): 136-139.
- [6] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 99-125.
- [7] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [8] 邹维新. 不同杀线剂对南方根结线虫的作用方式与田间防效[D]. 保定: 河北农业大学, 2009: 29.
- [9] 漆永红, 曹素芳, 吕和平, 等. 不同药剂对南方根结线虫卵孵化及 2 龄幼虫活性的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(9): 184-189.
- [10] 文廷刚, 杜小凤, 王伟中, 等. 几种复配药剂对黄瓜根结线虫的防治试验[J]. 江苏农业科学, 2009(5): 143-144.