



陕西省西洋参根结线虫病的发生和病原鉴定

耿英杰¹, 陈德经², 商文静¹

(1. 西北农林科技大学 植物保护学院, 农业部西北黄土高原作物有害生物综合治理重点实验室, 陕西杨凌 712100;

2. 秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室, 陕西理工大学 生物科学与工程学院, 陕西汉中 723001)

摘要 为明确陕西省西洋参根结线虫病病原, 采用常规形态鉴定结合分子生物学方法, 对在陕西省留坝县严重发生的西洋参根结线虫病进行病原鉴定。结果表明: 二龄幼虫蠕虫形, 口针基部球小而圆, 尾部透明区明显, 尾尖钝圆; 雌虫虫体梨形或近椭圆形, 口针杆部后部稍宽, 口针基部球近圆形较小有缢缩。雌虫会阴花纹呈近圆形, 线纹平滑呈波浪状, 尾端区有刻点, 背弓较为低平。结合特异性 PCR 扩增及根结线虫属 rDNA-ITS 序列系统发育树构建结果, 该病原鉴定为北方根结线虫 *Meloidogyne hapla*。

关键词 西洋参; 北方根结线虫; 病原鉴定

根结线虫(*Meloidogyne* spp.) 是世界上危害最严重的植物病原线虫之一, 其寄主范围极为广泛, 且为害过程中易与其他病原物发生交互影响, 从而加剧危害, 世界范围每年因此造成的经济损失超过数十亿美元^[1-2]。根结线虫种类繁多, 现已报道的世界范围有效种有 89 个, 中国现有根结线虫有效种 39 个^[3-4]。在已报道的根结线虫种类中, 分布最为普遍, 危害最为严重的有南方根结线虫(*M. incognita*)、北方根结线虫(*M. hapla*)、花生根结线虫(*M. avenaria*) 以及爪哇根结线虫(*M. javanica*), 数量占总群体数量的 95% 以上, 且在中国均有分布^[2,5]。

西洋参(*Panax quinquefolium* L.) 也称花旗参, 是五加科人参属多年生草本植物, 原产于加拿大与美国。中国于 1975 年进行生产性引种后, 逐渐形成吉林省抚松县、山东省文登市和陕西省留坝县三大主要西洋参优势栽培区, 目前中国已经成为世界西洋参第一大消费国和第二大生产国^[6-8], 特别是 2021 年西洋参进入药食同源的名贵作物序列试点后, 其市场需求量将会进一步提高。西洋参的根、茎、叶和果实均可入药, 性寒、味甘微苦, 具有补气养阴、清热去津、保护心脏、降血糖、降血脂、增强免疫功能和记忆、抑制血小板凝

集、抗疲劳、抗休克、抗缺氧等功效, 具有极高的药用和保健价值^[9]。西洋参为典型的收根植物, 在长达 4~5 a 的生长发育过程中, 土传病害的发生和危害尤为严重, 特别是西洋参根结线虫病的发生, 不但直接影响西洋参参根的产量和品质, 同时加重西洋参根腐病、锈腐病和菌核病等多种病害的危害, 增加防治难度和成本^[10-13]。

2019 年, 陕西省汉中市留坝县西洋参产区普遍出现西洋参地上部植株生长势衰弱, 叶片褪绿变黄且失水凋零, 茎秆瘦弱黄化易折等现象。经多次现场踏查发现, 罹病西洋参根部具有大量肉眼可见的结节, 尤以须根部明显, 部分地块发生严重, 根部结节率为 100%, 初步判定该病为西洋参根结线虫病。西洋参生产和加工是留坝县支柱产业, 也是当地农户脱贫致富的主要途径, 基于根结线虫病对西洋参产量和品质的潜在威胁, 加之不同种类的根结线虫对不同作物的种类或品种具有较强专化性, 故准确鉴定病原种类、明确田间根结线虫优势种对预防和防治根结线虫病具有重要意义。因此, 2020 年至 2021 年笔者对留坝县西洋参根结线虫病作了系统调查, 并采集样本进行室内鉴定。

收稿日期: 2022-03-21 修回日期: 2022-04-06

基金项目: 陕西省区域创新能力引导计划(2020QFY12-06); 秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室开放基金(SLG-PT2019KF04-03); 西北农林科技大学试验示范站(基地)科技成果推广项目(TGZX2019-32)

第一作者: 耿英杰, 硕士研究生, 从事植物病害综合治理研究。E-mail: gengyingjie434@163.com

通信作者: 商文静, 博士, 副教授, 从事植物病害综合治理研究。E-mail: shangwj@nwsuaf.edu.cn

1 材料与方法

1.1 样品采集

2020 年 7 月至 2021 年 10 月,多次对陕西省留坝县西洋参种植区不同地块西洋参根结线虫病进行调查,记录发病情况。随机采取带根结病根及根际 5~15 cm 深处土壤共同装袋,记录采样时间、地点等信息并编号。

1.2 西洋参根结线虫的分离与保存

去除病根表面土粒杂物,置于适量无菌水中,体视显微镜下用眼科手术刀与镊子挑取根结表面乳白色梨形雌虫、雄虫和卵囊,卵囊用 1% 的次氯酸钠消毒,用无菌水漂净,置于装有 50 μL 无菌水的 1.5 mL 离心管中,25 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱内孵化 72 h,得到 2 龄幼虫,雄虫和 2 龄幼虫在 60~65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内温热杀死,4% 甲醛溶液固定用于形态学鉴定。采用贝尔曼漏斗法分离、富集样品土壤中线虫,单卵囊接种番茄植株根部进行纯化、扩繁用以分子鉴定及回接。

1.3 线虫形态观察

雌虫形态观察参考方中达^[14]方法并加以改良。挑取 20 头雌虫分别置于体积分数为 45% 的乳酸中,用眼科手术刀切下雌虫尾端后部约 1/4 处,使其切口向下,轻轻地按压去除尾端组织内容物,转移至纯甘油滴中,使其表面朝上,用眼科手术刀修整至会阴花纹部分平整制片,在显微镜下观察、拍照及记录形态特征。观察 2 龄幼虫形态,记录头部特征、口针特征,测量体长、最大体宽、口针长和 DEGO(背食道腺开口至口针基部球的距离)等形态指标,每样品测量不少于 20 头,数值用以统计分析。

1.4 西洋参根结线虫的分子生物学鉴定

1.4.1 DNA 提取 采用微量提取法,参照王江岭等^[15]的方法稍作修改提取样本 DNA。挑取 ddH₂O 清洗后的单头供试线虫雌虫于 200 μL PCR 管中,加入 8 μL ddH₂O 与 1 μL 10 $\times$ PCR Buffer(Mg²⁺ free),用眼科手术刀将管中雌虫破碎,瞬时离心后置于液氮 1 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 min,重复 4 次。加入 1 μL 蛋白酶 K(1 mg/mL),58 $^{\circ}\text{C}$ 加热 1 h,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min,得到样品 DNA 用于进行 PCR 扩增。

1.4.2 病原线虫 rDNA-ITS 序列的扩增 采用根结线虫 ITS 扩增通用引物^[16](V5367: 5'-TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3' 和 26S: 5'-

TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3')以及北方根结线虫特异性引物^[17](Mh-F: 5'-CGAAT-AGTCTCAACGTTTATC-3' 和 Mh-R: 5'-ATGTGACAGCGAAAAGAATT-3')进行供试根结线虫 rDNA 的 ITS 序列特异性 PCR 扩增,引物均委托北京擎科生物技术有限公司西安分公司合成。25 μL PCR 扩增反应体系:12.5 μL PrimeSTAR Max Premix(2 $\times$),上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 1 μL ,2 μL DNA 模板,8.5 μL dd H₂O。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 或 53 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s(引物 18S/26S 退火温度 56 $^{\circ}\text{C}$,引物 Mh-F/Mh-R 退火温度为 53 $^{\circ}\text{C}$),72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,35 个循环;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。16 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。用 1 $\times$ TAE 作为电泳缓冲液,PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶 130 V 电泳 20 min,凝胶成像系统观察、拍照。PCR 产物由 DNA 胶回收试剂盒(Magen)回收、纯化,具体操作步骤参照试剂盒操作说明。

1.4.3 rDNA-ITS 序列的克隆、测序及数据分析

将纯化后的 PCR 产物克隆至质粒载体 pEASY[®]-Blunt Zero Cloning Vector 上,选取 2 个阳性克隆委托北京擎科生物技术有限公司西安分公司测序。测序结果登录 NCBI 进行 BLAST 比对分析,以秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)(X03680)的 ITS 序列作为外群。利用 MEGA7.0 软件通过最大似然法(Maximum likelihood)构建系统发育树,分析样品亲缘关系。构建的系统发育树作自展检验(Bootstrap)以获得分支的支持率,自展检验中重复抽样次数为 1 000 次。

1.5 线虫致病性检测

前期扩繁、纯化得到的西洋参根结线虫二龄幼虫用于回接,接种浓度为 1 000 头/mL,接种方法采用灌根法,无菌水接种为对照,接种植物材料为沙培健康 3 a 生西洋参植株。接种后连续观察,记录发病情况,对发病植株上的根结线虫进行再分离与鉴定。

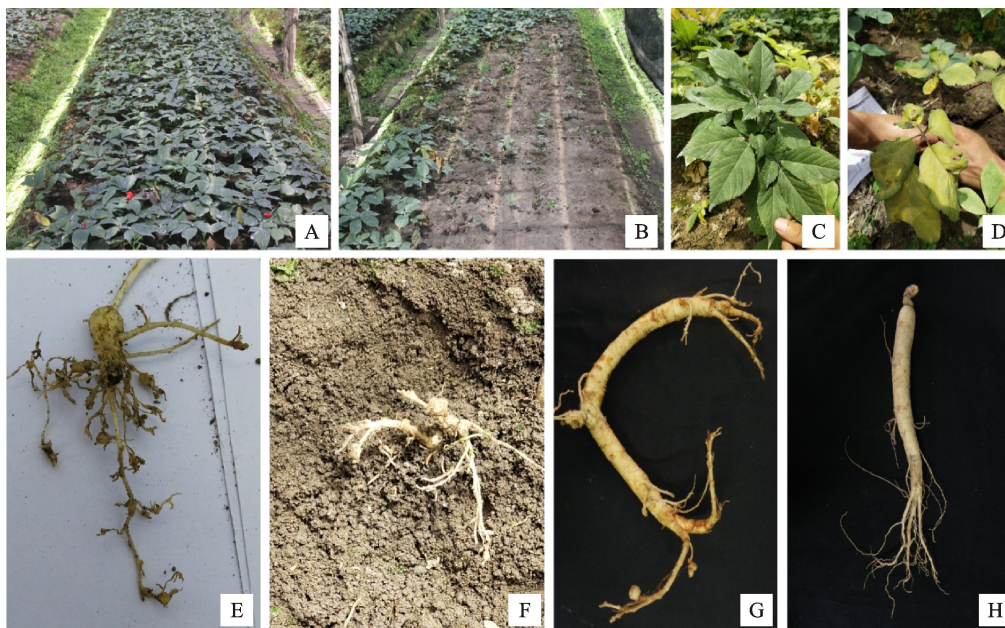
2 结果与分析

2.1 西洋参根结线虫症状及发病情况

田间观察及室内回接结果表明,根结线虫侵染西洋参后,植株地上部长势衰弱矮小,叶片萎蔫,发黄褪绿(图 1-A~1-D);根部膨大形成根,根结大小不等且多发生在支根和须根上(图 1-E,1-F),侵染严重时根结呈念珠状,后融合在一起形

成较大根结,大量乳白色到浅褐色卵囊暴露在根结表面(图 2-A);将带根结的支根剪断,用水洗净表面土粒,在体视显微镜下可以观察到埋藏在根部表皮中的雌虫和雄虫,剖开卵囊可以观察到卵圆形透明虫卵(图 2-B)。

根结线虫病为典型土传病害,病原以卵囊、成虫在田间土壤、病残体上越冬,加之西洋参为宿根植物,田间种植期达 4~5 a,目前生产上缺乏对根结线虫病发生规律的了解,也缺乏针对性防治措施,该病存在进一步加重和蔓延趋势。



A. 健康西洋参田块;B. 受西洋参根结线虫危害田块;C. 健康西洋参植株地上部分;D. 受根结线虫危害的西洋参地上部分;E、F. 带有根结的西洋参根部;G. 受根结线虫危害西洋参根部;H. 健康西洋参根部

A. healthy American ginseng plot;B. the American ginseng field in fected with RKNs. C. the leaves of health plants;D. the leaves of plant infected with RKNs;E and F. RKN-infected roots of American ginseng plant;G. the healthy American ginseng root;H. the American ginseng root infected with RKNs

图 1 西洋参根结线虫病田间症状

Fig. 1 Field symptoms of American ginseng plants in fected with root-knot nematodes

2.2 西洋参根结线虫形态学鉴定

线虫形态观察结果表明,西洋参根结线虫卵囊浅褐色到白色,附着在西洋参根表皮外,卵椭圆形,无色透明(图 2-A,2-B);二龄幼虫体长 329.10~427.87 μm ,头部钝圆光滑,尾部尖细;口针明显,长 9.59~13.41 μm ,口针基部球小而圆,背食道腺开口到口针基部球距离(DEOG)为 3.28~4.12 μm ;尾尖钝圆有明显透明区,长度为 47.77~67.63 μm (图 2-E~2-G,表 1);雌虫虫体梨形或近椭圆形,白色或乳白色,颈短不明显;口针发达,口针杆部后部稍宽,口针基部球较小,有缢缩,近圆形(图 2-C);雌成虫会阴花纹整体外观呈近圆形,背弓较为低平,线纹平滑至波浪状,侧区一侧或两侧延伸形成翼状,部分样本背腹线在侧线处相交,但无明显侧线,尾端区有刻点(图 2-D)。根据以上形态特征,参照文献[18]初步鉴定西洋

参根结线虫为北方根结线虫。

2.3 西洋参根结线虫分子生物学鉴定

利用根结线虫 ITS 通用引物 V5367 和 26S 对西洋参根结线虫的 rDNA-ITS 区域进行 PCR 扩增,扩增产物经回收、克隆与序列测定,得到 768 bp 大小的目的片段。测序结果登录 GeneBank (MW019969.1 与 MT951634.1) 进行 BLAST 比对,结果显示,供试根结线虫 ITS 序列与北方根结线虫(MT249016.1 与 KJ572385.1) 相似,相似度达 100%。

基于 ITS 序列利用 MEGA7.0 软件中的 Maximum likelihood 法构建系统发育树(图 3),结果显示,供试西洋参根结线虫(4-1,4-2)与北方根结线虫位于同一分支,支持率为 100%,同时与其他常见根结线虫明显区分开,分支间系统发育关系清晰。使用北方根结线虫特异性引物 Mh-F

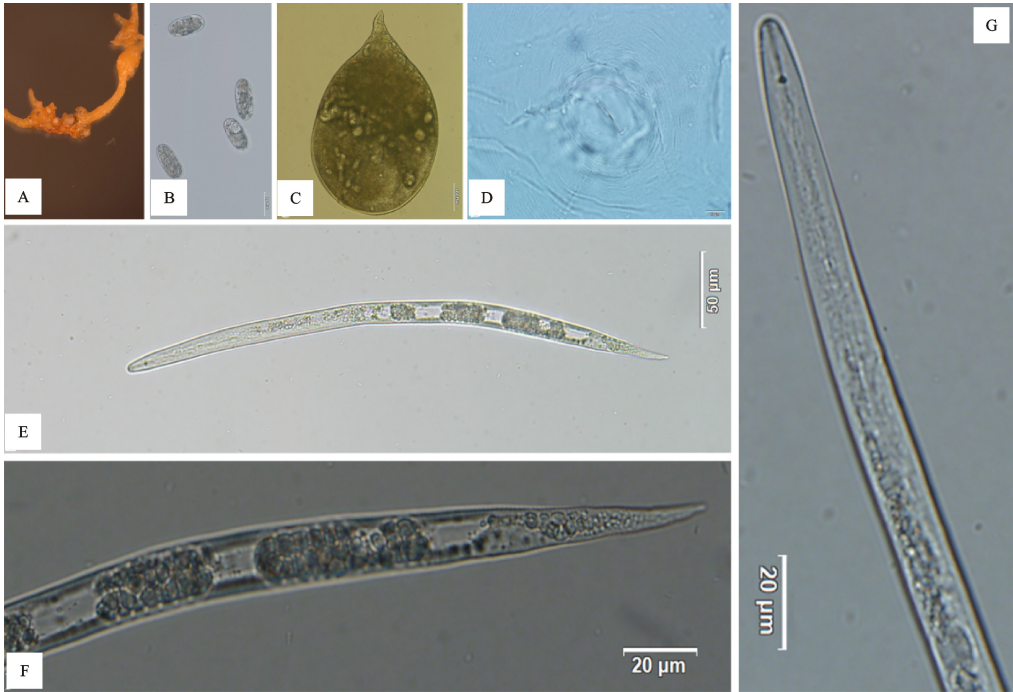
与 Mh-R 对样品 DNA 进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测得到约 462 bp 大小的片段(图 4),与冯光泉等^[17]描述一致,表明西洋参根结线虫为北方根结线虫。

以上形态学特征以及 ITS 系统发育树以及特异性扩增产物等分子生物学鉴定结果表明,在陕西省留坝县发生的西洋参根结线虫病病原为北

方根结线虫(*Meloidogyne hapla*)。

2.4 西洋参根结线虫致病力检测

回接检测结果表明,接种 4 周后,病株地上部分出现部分长势衰弱,植株矮小,叶片褪绿变黄(图 5-A)。参根上须根减少,且出现明显根结(图 5-C),从根结上分离出根结线虫经鉴定为 *M. hapla*。



A. 西洋参根结线虫卵;B. 西洋参根结线虫单卵块;C. 西洋参根结线虫雌虫;D. 西洋参根结线虫雌虫会阴花纹;E. 西洋参根结线虫二龄幼虫;F. 二龄幼虫尾部;G. 二龄幼虫头部

A. Infected tender roots of American ginseng plant with galls and egg masses;B. Eggs;C. Adult female;D. Perineal pattern morphology;E. Second-stage juvenile;F. Second-stage juvenile tail;G. Anterior end of second-stage juvenile

图 2 西洋参根结线虫病病原的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of pathogen of *Panax quinquefolium* root-knot nematode disease

表 1 西洋参根结线虫形态测量值

Table 1 Morphometrics of root knot nematode in American ginseng

虫态 Stage	体长/ μm Body length	口针长/ μm Stylet length	背食道腺口距/ μm DEGO	尾长/ μm Tail length
二龄幼虫 Second-stage juvenile($n=20$)	373.3 ± 28.4 (329.10~427.87)	11.5 ± 1.05 (9.59~13.41)	3.8 ± 0.25 (3.28~4.12)	60.5 ± 6.53 (47.77~67.63)

注:数据为平均值±标准差。
Note:Data in the table are mean±SD.

3 结论与讨论

针对近年来陕西留坝县西洋参根结线虫病的发生情况,本研究采用田间调查结合实验室分析的方法,对该病进行了系统研究。结果表明,当地西洋参根结线虫病发生较为普遍,2020 年至 2021

年田间发病率达 40%~60%,且有进一步蔓延加重趋势。同时,利用形态学鉴定结合分子生物学方法,对采集自陕西省留坝县西洋参种植区的西洋参根结线虫病样品进行了病原鉴定。鉴定结果表明,侵染当地西洋参的根结线虫为北方根结线虫,鉴定结果准确可靠。北方根结线虫是分布最

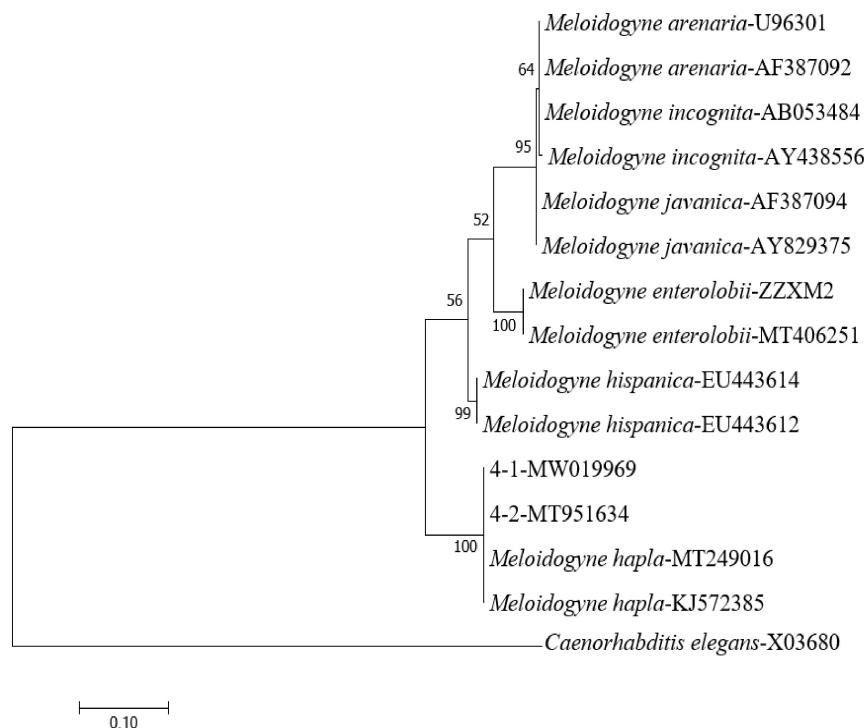
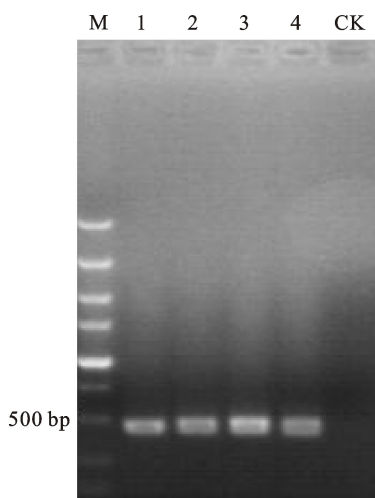


图 3 基于 rDNA-ITS 序列构建的样品西洋参根结线虫系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of root-knot nematodes on *Panax quinquefolium* based on rDNA-ITS fragment sequences



M, DL 5000; 1-4, 西洋参根结线虫; CK, 阴性对照

M, DL 5000 Marker (Takara, Japan); 1-4, individual female genomic DNA as template, respectively; CK, the negative control

图 4 北方根结线虫特异性引物

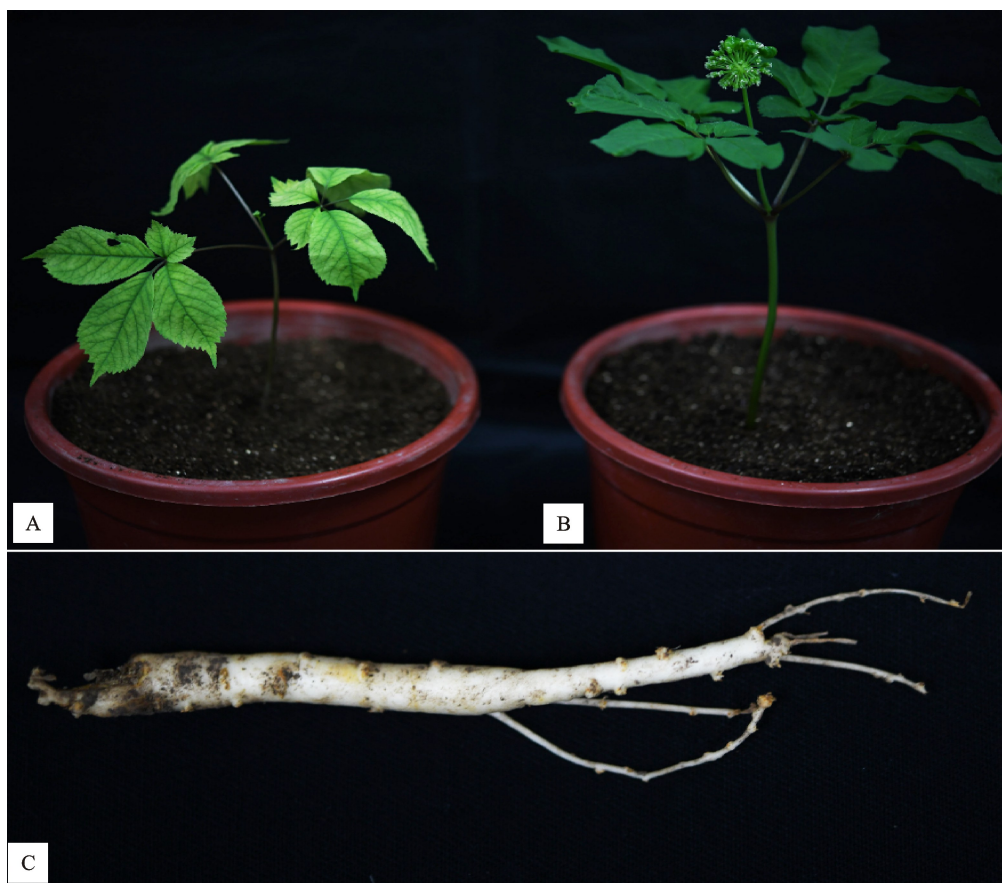
Mh-F/Mh-R PCR 扩增结果

Fig. 4 Species-specific PCR amplification results of root-knot nematodes on *Panax quinquefolium* in specific primers Mh-F/Mh-R

广泛的根结线虫之一,是冷凉作物产区最主要的植物病原线虫,主要分布在北纬 $34^{\circ} \sim 43^{\circ}$ 及南纬 45° 以南的低海拔地区^[19]。在中国内蒙古、辽宁、

山东、安徽、福建、云南、河南、江苏、河北、北京、吉林、山西、陕西等地均有北方根结线虫发生危害的报道^[20-23]。北方根结线虫寄主广泛,是经济作物根结线虫病的主要病原之一,目前,国内报道的人参属药用植物,如人参、三七等根结线虫病的病原均为北方根结线虫^[17,23-24]。1997 年,莫明和等^[21]报道北方根结线虫可以侵染西洋参引起根结线虫病,但受当时鉴定技术的局限,仍缺乏科学的鉴定证据。由于北方根结线虫对不同作物的种类或品种具有较强专化性,故准确鉴定病原种类、明确田间为害根结线虫优势种对预防和防治根结线虫病具有重要意义。

目前,国内外研究者普遍采用形态学特征结合分子生物学方法对根结线虫进行分类鉴定^[25-26],摆脱了单纯依赖雌虫会阴花纹特征的局限,大大提高了鉴定结果的准确性和可靠性。本研究中,供试根结线虫的会阴花纹尾区有明显的刻点结构,与谢辉^[18]描述的北方根结线虫会阴花纹特征相似,且 2 龄幼虫指标的测量值均与北方根结线虫相应指标相符,但形态鉴定对研究者的操作技能与经验有较高要求,且根结线虫雌虫会阴花纹存在一定程度的种内变异而不精确,因此,本研究利用分子生物学方法,结合 rDNA-ITS 序



A. 接种后发病植株;B. 健康对照;C. 回接发病植株根结

A. Chlorosis of leaves after being inoculated;B. The negative control;C. Root galls of American ginseng plants after being inoculated

图5 供试线虫回接西洋参后症状表现

Fig. 5 Symptoms of American ginseng plants inoculated by *Meloidogyne hapla*.

列特异性 PCR 扩增及系统发育树构建,进一步明确鉴定西洋参的根结线虫病病原为北方根结线虫,鉴定结果准确、可靠。

西洋参从栽培到收获至少需要生长 3~5 a, 由于栽培时间过长,使得其根系长期暴露于各种土壤环境中病原物的威胁下,特别是西洋参根结线虫病地上部症状不典型,在西洋参栽培过程中很难及时发现并采取措施,且根结线虫虫体小,群体增加速度快,可能导致土壤中根结线虫的虫口密度的迅速累积,分布面积急剧扩大,对西洋参连作或后茬作物种植具有极大的潜在威胁,可能成为西洋参连作障碍形成的又一重要原因。因此,准确鉴定病原种类、研发快速鉴定技术以及筛选低毒高效的防治药剂,可以为预防和防治西洋参根结线虫病以及消灭西洋参连作障碍提供必要的技术支撑。

参考文献 Reference:

[1] MANTELIN S, BELLAFIORE S, KYNDT T. *Meloidogyne*

graminicola; a major threat to rice agriculture[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2017, 18(1): 3-15.

[2] 李怀方, 刘凤权, 郭小密. 园艺植物病理学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001: 329-330.

LI H F, LIU F Q, GUO X M. *Horticultural Plant Pathology* [M]. Beijing: China Agriculture University Press, 2001: 329-330.

[3] HUNT D J, HANDOO Z A. Taxonomy, Identification and Principal Species[M]//PERRY R N, MOENS M, STARR J L. *Root-knot Nematodes*. Wallingford: CABI Publishing, 2009: 55-97.

[4] 刘维志. 植物线虫志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 36-42.

LIU W ZH. *Plant Nematode*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004: 36-42.

[5] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 56-78.

LIU W ZH. *Plant Pathogenic Nematology* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 56-78.

[6] 王章淮. 西洋参栽培技术与加工[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 1-4.

WANG ZH H. *Cultivation Technology and Processing of*

- Amerianc Ginseng [M]. Beijing: China Forestry Press, 1989:1-4.
- [7] 程超寰. 西洋参的前世今生[J]. 家庭中医药, 2018, 25(1): 10-12.
- CHENG CH H. Past and present of American ginseng[J]. *Family and Traditional Chinese Medicine*, 2018, 25(1): 10-12.
- [8] 孙景超. 西洋参在中国的传播与影响[J]. 寻根, 2017(3): 24-27.
- SUN J CH. The spread and influence of American ginseng in China[J]. *Root Exploration*, 2017(3): 24-27.
- [9] 刘铁城. 中国西洋参[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 15-27.
- LIU T CH. American Ginseng in Chinese[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995: 15-27.
- [10] REELEDER R D, BRAMMALL R A. Pathogenicity of *Pythium* species, and to ginseng seedlings in Ontario[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1994, 4(4): 311-316.
- [11] 杨家学, 焦晓林, 高微微. 西洋参根部病害研究进展[J]. 植物保护, 2009, 35(6): 30-35.
- YANG J X, JIAO X L, GAO W W. Advances in the root diseases of *Panax quinquefolium* [J]. *Plant Protection*, 2009, 35(6): 30-35.
- [12] 钱学聪, 张天宇, 陈嘉孚. 秦巴山区西洋参病害的发生及其防治[J]. 中药材, 1993(4): 3-5.
- QIAN X C, ZHANG T Y, CHEN J F. Occurrence and control of American ginseng diseases in Qinba Mountains [J]. *Traditional Chinese Medicinal Materials*, 1993(4): 3-5.
- [13] 于树增, 隋春青, 于国利, 等. 西洋参根结线虫病防治试验[J]. 人参研究, 2001(2): 44-46.
- YU SH Z, SUI CH Q, YU G L, *et al.* Control of root knot nematode disease of American ginseng[J]. *Ginseng Research*, 2001(2): 44-46.
- [14] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1979: 316-317.
- FANG ZH D. Plant Disease Research Methods[M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1979: 316-317.
- [15] 王江岭, 张建成, 顾建锋. 单条线虫 DNA 提取方法[J]. 植物检疫, 2011, 25(2): 32-35.
- WANG J L, ZHANG J CH, GU J F. Method of extract DNA from a single nematode [J]. *Plant Quarantine*, 2011, 25(2): 32-35.
- [16] VRAIN T, WAKARCHUK D, LAPLANTELEVESQUE A, *et al.* Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group[J]. *Fundamental & Applied Nematology*, 1992, 15(6): 563-573.
- [17] 冯光泉, 董丽英, 陈昱君, 等. 三七病原根结线虫的分子鉴定[J]. 西南农业学报, 2008, 21(1): 100-102.
- FENG G Q, DONG L Y, CHEN Y J, *et al.* PCR detection of nematode isolated from *Panax notoginseng* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 21(1): 100-102.
- [18] 谢 辉. 植物线虫分类学[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2005: 246-247.
- XIE H. Taxonomy of Plant Nematodes[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2005: 246-247.
- [19] MERESSA B H, HEUER H, DEHNE H W, *et al.* First report of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* parasitizing roses in Ethiopia[J]. *Plant Disease*, 2014, 98: 1286.
- [20] 赵来顺, 杨彦杰. 北方根结线虫中草药寄主初步调查[J]. 植物病理学报, 1990, 20(2): 81-82.
- ZHAO L SH, YANG Y J. A preliminary survey of *Meloidogyne hapla* on cultivated Chinese medicinal herbs[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1990, 20(2): 81-82.
- [21] 莫明和, 桑维均, 张克勤, 等. 分布于南方的北方根结线虫初报[J]. 西南农业学报, 1997(S1): 101-104.
- MO M H, SANG W J, ZHANG K Q, *et al.* Preliminary report on the distribution of *Meloidogyne hapla*—a parasite of *Panax quinquefolium* L. from Guizhou province [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 1997(S1): 101-104.
- [22] 林丽飞, 邓裕亮, 江 楠, 等. 我国药用植物根结线虫病的分布与危害[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2004(6): 666-669.
- LIN L F, DENG Y L, JIANG N, *et al.* Distribution and damage level of root-knot nematode on medicinal plant in China[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2004(6): 666-669.
- [23] 高 月, 徐 江, 郭笑彤, 等. 药用植物根结线虫病及防治策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(15): 2762-2767.
- GAO Y, XU J, GUO X T, *et al.* Disease of root-knot nematode and control strategy in medicinal plants[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41: 2762-2767.
- [24] DONG L L, YAO H, LI Q S, *et al.* Investigation and integrated molecular diagnosis of root-knot nematodes in *Panax notoginseng* root in the field[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 137: 667-675.
- [25] SASSER J N, EISENBACK J D, CARTER C C *et al.* The international *Meloidogyne* project—its goals and accomplishments [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1983, 21: 271-288.
- [26] KHAN Z, KIM S, JEON Y, *et al.* A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99: 3016-3023.

Pathogen Identification of *Panax quinquefolium* Root-knot Nematode Disease in Shaanxi of China

GENG Yingjie¹, CHEN Dejing² and SHANG Wenjing¹

(1. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northwestern Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Yangling Shaanxi 712100, China; 2. State Key Laboratory of Qinba Biological Resources, Ecological Environment, School of Bioscience and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong Shaanxi 723001, China)

Abstract In order to clarify the pathogen species of *Panax quinquefolium* root-knot nematode disease in Shaanxi, the root samples with obvious root-knots of *Panax quinquefolium* were collected for isolating root-knot nematodes from *P. quinquefolium* planting area in Liuba County, Shaanxi Province. The pathogenic nematodes were identified by observing morphological characteristics of females, second-stage juveniles and perineal pattern, sequence alignments, phylogenetic analysis and specific PCR amplification. The results showed that the pathogen species of *P. quinquefolium* root-knot nematode disease in Shaanxi was *M. hapla*.

Key words American ginseng; *Meloidogyne hapla*; Pathogen identification

Received 2022-03-21

Returned 2022-04-06

Foundation item Regional Innovation Ability Guidance Plan of Shaanxi Province (No. 2020QFY12-06); Open Fund Project of State Key Laboratory of Biological Resources and Ecological Environment of Qinling Mountains (No. SLGPT2019KF04-03); Science and Technology Achievement Extension Project of Experimental and Demonstrative Station of Northwest A&F University (No. TGZX2019-32).

First author GENG Yingjie, male, master student. Research area: integrated plant disease management. E-mail: gengyingjie434@163.com

Corresponding author SHANG Wenjing, female, Ph. D, associate professor. Research area: integrated plant disease management. E-mail: shangwj@nwsuaf.edu.cn

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)