

倪春辉, 李惠霞, 刘永刚, 等. 甘肃党参中花生茎线虫的鉴定与记述 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(4): 99-105.
NI Chunhui, LI Huixia, LIU Yonggang, et al. Identification and description of *Ditylenchus arachis* from *Codonopsis pilosula* in Gansu Province[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(4): 99-105.

甘肃党参中花生茎线虫的鉴定与记述

倪春辉¹, 李惠霞¹, 刘永刚², 韩 变¹, 石明明¹, 魏雪娟¹, 李文豪¹, 徐雪芬¹

(1 甘肃农业大学 植物保护学院/甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070;

2 甘肃省农业科学院 植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】明确甘肃省渭源县党参 *Codonopsis pilosula* 病样中的茎线虫种类。【方法】采用形态学特征、ITS-rDNA 与 28S-rDNA 序列系统发育分析、特异性引物 PCR 扩增、PCR-ITS-RFLP 相结合的方法进行种类鉴定。【结果】甘肃省党参茎线虫群体形态特征与花生茎线虫 *Ditylenchus arachis* 相似, 形态测量均值虽存在差异, 但是范围值基本一致; 系统发育分析显示, 该线虫与花生茎线虫聚为一支, 特异性引物 PCR 扩增片段、PCR-ITS-RFLP 图谱均与花生茎线虫相同。【结论】结合形态特征与分子特征分析, 将甘肃党参茎线虫群体鉴定为花生茎线虫, 表明该线虫已在甘肃发生分布。

关键词: 花生茎线虫; 形态特征; 系统发育; 特异性引物; ITS-RFLP

中图分类号: S435.313.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)04-0099-07

Identification and description of *Ditylenchus arachis* from *Codonopsis pilosula* in Gansu Province

NI Chunhui¹, LI Huixia¹, LIU Yonggang², HAN Bian¹, SHI Mingming¹, WEI Xuejuan¹, LI Wenhao¹, XU Xuefen¹

(1 College of Plant Protection, Gansu Agricultural University/Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of

Gansu Province, Lanzhou 730070, China; 2 Institute of Plant Protection, Gansu Academy of

Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract: 【Objective】To clarify the species of stem nematode from diseased sample of *Codonopsis pilosula* in Gansu Province. 【Method】Species identification of stem nematode was carried out by combing morphological analysis, phylogenetic analyses of ITS-rDNA and 28S-rDNA sequences, PCR with species-specific primers as well as PCR-ITS-RFLP. 【Result】The morphological characteristics of the stem nematode population from *C. pilosula* in Gansu was similar to those of *Ditylenchus arachis*. The ranges of measurement values were basically agreed with those of *D. arachis* although some average values were different. The phylogenetic analyses revealed that the tested population was clustered into the same branch with *D. arachis*. The fragment amplified with specific primers, and PCR-ITS-RFLP map of this population were consistent with those of *D. arachi*. 【Conclusion】The stem nematode population from *C. pilosula* in Gansu was identified as *D. arachis* based on morphological and molecular characters. *D. arachis* has occurred and distributed in Gansu.

Key words: *Ditylenchus arachis*; Morphological character; Phylogeny; Specific primer; ITS-RFLP

收稿日期: 2021-11-27 网络首发时间: 2022-05-23 15:13:16
网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220523.1129.004.html>
作者简介: 倪春辉, 硕士研究生, 主要从事植物病原线虫分类研究, E-mail: 2719723977@qq.com; 通信作者: 李惠霞, 教授, 博士, 主要从事植物病原线虫综合防治研究, E-mail: lihx@gsau.edu.cn
基金项目: 国家自然科学基金 (31760507); 国家重点研发计划 (2018YFC1706301-5); 甘肃省现代农业产业体系 (中草药)(GARS-ZYC-4)

茎属线虫 *Ditylenchus* Filipjev 隶属于动物界 Animalia 线虫门 Nematode 垫刃目 Tylenchida 粒科 Anguinidae^[1], 已报道的茎属线虫近 100 种^[2], 但目前被承认的茎属线虫有效种只有 60 多个^[3]。与其他线虫相比, 茎属线虫具有食性较广的特点, 多数种以真菌为食, 只有少数种可以侵染高等植物。一般为害植物的块茎、球茎和鳞茎, 也可为害地上部分, 引起组织变色、坏死、腐烂和畸形, 造成重大的经济损失^[4]。茎属线虫中危害较大的有水稻茎线虫 *D. angustus*、鳞球茎线虫 *D. dipsaci*、腐烂茎线虫 *D. destructor*、非洲茎线虫 *D. africanus* 与食菌茎线虫 *D. myceliophagus*^[2, 5]。其中, 鳞球茎线虫、腐烂茎线虫和水稻茎线虫, 可对农业生产造成严重危害^[5]。鳞球茎线虫寄主范围超过 500 种, 主要发生于气候温和地带, 危害植物鳞茎及地上部分^[6]。腐烂茎线虫可侵染 200 多种植物, 主要发生于温带地区, 为害植物地下部分, 在缺少高等植物的情况下还可取食多种真菌^[7]。2014 年 Zhang 等^[8] 在中国花生主要种植地区发现 1 种新的茎线虫, 并将其鉴定为花生茎线虫 *D. arachis*。

中药党参为桔梗科 Campanulaceae 植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch) Nannf. 素花党参 *C. pilosula* (Franch) Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L.T.Shen 或川党参 (*C. tangshen* Oliv.) 的干燥根, 主要功效为补血、降压、补中益气、增强机体抵抗能力、增加血红蛋白与红细胞、治疗贫血和降低血压等^[9]。在甘肃省, 党参主要产于定西、陇南、天水和平凉等地, 产量约占全国产量的 70% 和出口量的 80%, 已成为甘肃省农民增收的重要经济作物之一^[10]。目前, 已报道的危害党参的茎线虫仅有腐烂茎线虫^[11]。2019 年甘肃农业大学植物保护学院线虫实验室在甘肃党参主产区调查党参线虫病发生分布时, 发现 1 种与腐烂茎线虫差异较大的茎线虫群体, 本文拟通过形态与分子生物学相结合的方法, 明确党参中分离的茎线虫分类地位, 为该线虫的有效防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试线虫分离自甘肃省渭源县 (104° 15' 5.76"E, 35° 11' 30.84 "N) 党参病样。

1.2 方法

1.2.1 线虫分离 将党参病样冲洗干净, 自然晾干后拍照观察。采用改良贝曼漏斗法^[12] 分离线虫, 将病根切成约 1 cm 小段, 放入漏斗内铺垫的两层面巾纸上, 加水浸没党参根段。10~12 h 后, 收集指形

管中的线虫悬浮液, 备用。

将线虫悬浮液移入 1.5 mL 离心管, 用有效氯为 5 g/L 的 NaClO 溶液消毒 2 min 后, 3 000 r/min 离心 2 min, 弃上清液, 随后将下层线虫悬浮液用无菌水冲洗 2~3 遍。以 5 g/L 硫酸链霉素与 5 g/L 氨苄青霉素混合液消毒 10 min 后, 再次离心, 吸出消毒液, 无菌水冲洗 3 遍后定容, 在 4 °C 条件下保存备用, 方法参考文献 [13]。

1.2.2 形态学鉴定 参照谢辉等^[14] 方法将线虫温热杀死固定后, 在 Axio Lab.A1 显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司) 下观察形态特征, 并进行形态特征测量, 参照文献 [2, 7] 方法计算测量值。

1.2.3 分子生物学鉴定 参照王江岭等^[15] 方法略有改进, 提取单条线虫 DNA。挑取单条雌虫于无菌水中清洗 3 遍, 然后挑入装有 10 μL 线虫裂解液 (Worm lysis buffer, WLB) 的 200 μL PCR 反应管中, 离心后依次在液氮中处理 1 min, 85 °C 水浴 2 min, 步骤重复 2 次。随后加入 1 mg/mL 蛋白酶 K 1 μL, 于 PCR 仪中 65 °C 温育 1 h, 保持 95 °C 10 min 使蛋白酶 K 失活, 14 000 r/min 离心 5 min, 最后于 4 °C 条件下保存备用。

采用线虫 ITS 区通用引物 18S: 5'-TTGATT ACGTCCCTGCCCTTT-3'、26S: 5'-TTTCACT-CGCCGTTACTAAGG-3'^[16] 与 TW81: 5'-G-TTTCCGTAGGTGAACCTGC-3'、AB28: 5'-ATATG-CTTAAGTTCAGCGGGT-3'^[17]; 28S 区引物 D2A: 5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3'与 D3B: 5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3'^[18], 对线虫 ITS-rDNA、28S D2/D3 基因序列进行 PCR 扩增。反应采用 25 μL 体系: 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, 2× San Taq Fast PCR Master Mix (含蓝色染料) 12.5 μL (上海生工), DNA 模板 3 μL, ddH₂O 7.5 μL。

扩增程序: 94 °C 4 min; 94 °C 10 s, 55 °C 20 s, 72 °C 15 s, 38 个循环; 72 °C 5 min, 于 4 °C 条件下保存备用。

扩增产物经电泳检测后送往北京擎科西安分公司测序, 使用软件 SeqMan 进行序列拼接, 于 NCBI 进行 BLAST 比对, 下载相似性较高的序列, 以 BI 法构建系统发育树; 使用 MAFFT 比对分析后, 用 DAMBE 检测饱和度, 用软件 MrMTgui 连接 PAUP 与 MrModelTest 进行模型选择, 最后使用 Mrbayes 以最佳模型构建系统发育树, 用 FigTree 修正发育树。

1.2.4 特异性引物 PCR 扩增 参照 Zhang 等^[19] 花生茎线虫 ITS 区特异性引物 DARF (5'-GGGAA

GGCGAAGCTAAGCTA-3') 与 DARR(5'-AACTTAGAGGCCAACGAAGCC-3'), 对“1.2.3”中提取的 DNA 模板和腐烂茎线虫群体 DNA 模板进行 PCR 扩增, 扩增程序为: 94 ℃ 4 min; 94 ℃ 10 s, 52 ℃ 20 s, 72 ℃ 15 s, 38 个循环; 72 ℃ 5 min, 4 ℃ 保存。取 5 μL 扩增产物用 25 g/L 的琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统观察、拍照。

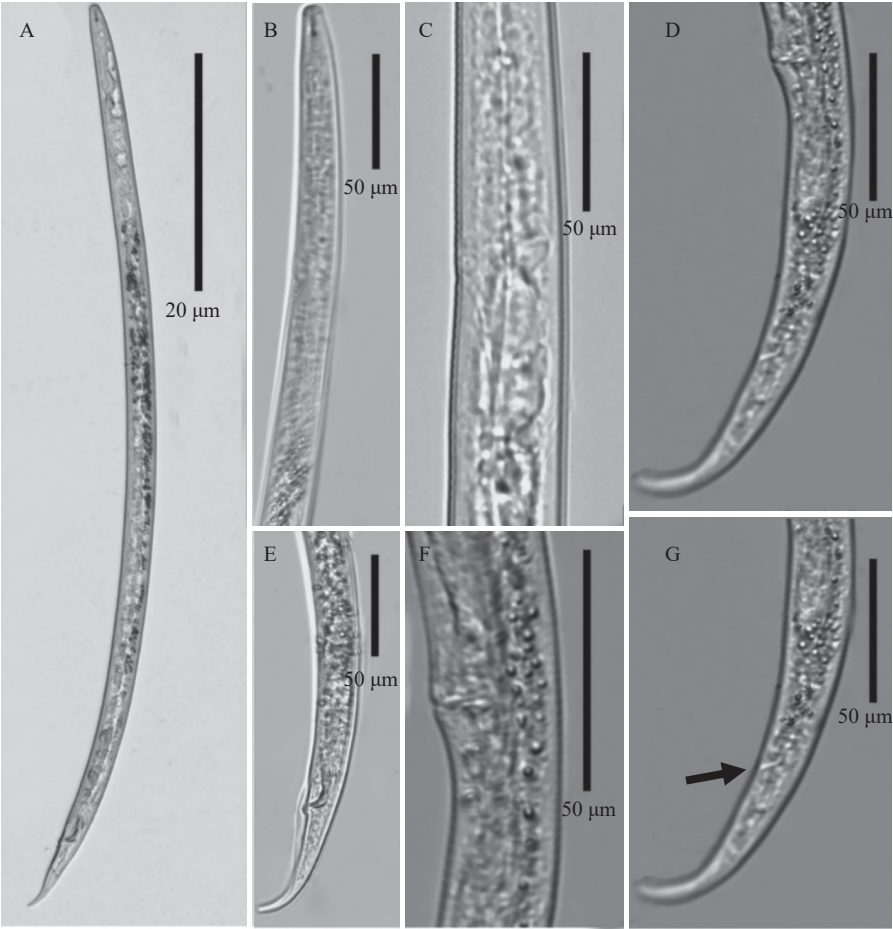
1.2.5 ITS-rDNA 区段 PCR-RFLP 分析 选用 *Dde* I、*Hinf* I、*Tru9* I (*Mse* I)、*Sdu* I 这 4 种内切酶, 参照 Subbotin 等^[20] 的方法对线虫 ITS-rDNA 区 PCR 产物进行酶切。酶切体系 20 μL: PCR 纯化产物 8 μL, 内切酶 (10 U/μL) 1 μL, 与内切酶相对应的 Buffer 2 μL, ddH₂O 9 μL。37 ℃ 条件下反应 1.5 h, 以腐烂茎线虫作为对照。反应产物用 20 g/L 的琼脂

糖凝胶电泳, 使用凝胶成像系统观察、拍照。使用在线软件 Wbcuter 2.0(<http://www.firstmarket.com/cutter/cut2.html>) 分析酶切片段长度。

2 结果与分析

2.1 形态学描述

雌虫: 虫体圆柱形, 两端较细, 经温热杀死后呈“J”字型, 尾部稍向腹部弯曲 (图 1A)。唇区低平, 稍有溢缩。口针长 8.2~9.8 μm。中食道球梭形, 有瓣。基部球较发达 (图 1B), 半月体较清晰, 位于排泄孔前 1 至数个体环处 (图 1C)。食道腺稍覆盖于肠背部。侧线 6 条。阴门横裂, 稍有突起, 位于虫体后端。单生殖腺前伸, 后阴子宫囊发达, 长度是肛阴距的 55%。尾部向末端逐渐变窄, 端圆 (图 1D、1G)。



A: 雄虫虫体; B: 线虫体前端; C: 半月体和排泄孔; D: 雌虫尾; E: 雄虫尾; F: 阴门; G: 肛门
A: Male entire body; B: Anterior body; C: Hemizonid and excretory pore; D: Female tail; E: Male tail; F: Vulva; G: Anus

图 1 花生茎线虫的光学显微镜结果

Fig. 1 Light photomicrographs of *Ditylenchus arachis*

雄虫: 除生殖系统外, 与雌虫相似。交合刺后端向腹面弯曲, 引带较短; 交合伞明显, 较长, 自交合刺前端向后延伸, 约至尾长的 70%(图 1E)。

2.2 形态特征指标

对分离得到的茎线虫群体进行形态特征测量, 将

其测量值与花生茎线虫河北群体测量值进行比较 (表 1), 甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫河北群体的形态特征测量均值虽存在差异, 其中, 甘肃党参茎线虫群体除体长、阴门至头端的长度与体长的比值、尾长均值略大外, 其他均值均略小。但是所有测量

表 1 甘肃党参茎线虫群体与河北原始群体测量值比较¹⁾

Table 1 Morphometrics comparison of *Ditylenchus arachis* population from *Codonopsis pilosula* in Gansu with original Hebei population of *D. arachis*

群体 Population	来源 Origin	n	L/ μ m	a	b	c	c'	V/%	口针/ μ m Stylet	体宽/ μ m	尾长/ μ m	交合刺长/ μ m
										Body width	Tail length	Spiculum length
雌虫 Female	甘肃 Gansu	15	909 $\pm$ 44 (855~976)	35 $\pm$ 2.7 (30~39)	6.9 $\pm$ 0.6 (6.0~7.8)	14 $\pm$ 0.9 (13~16)	3.8 $\pm$ 0.5 (3.4~4.6)	82 $\pm$ 0.8 (80~83)	9.1 $\pm$ 0.5 (8.7~9.8)	27 $\pm$ 1.7 (23~29)	66 $\pm$ 4.6 (56~70)	
	河北 Hebei	20	893 $\pm$ 78 (680~1 007)	37 $\pm$ 5.7 (28~48)	7.1 $\pm$ 0.9 (6.0~9.6)	14 $\pm$ 1.2 (11~16)	4.5 $\pm$ 0.6 (3.3~5.6)	81 $\pm$ 0.9 (80~83)	8.9 $\pm$ 0.4 (8.6~9.8)	25 $\pm$ 4.9 (16~33)	63 $\pm$ 5.7 (53~75)	
雄虫 Male	甘肃 Gansu	15	844 $\pm$ 30 (787~870)	35 $\pm$ 2.2 (32~38)	6.5 $\pm$ 0.4 (6.0~7.1)	13 $\pm$ 1.7 (12~16)	3.7 $\pm$ 0.5 (3.0~4.3)		8.9 $\pm$ 0.4 (8.2~9.5)	24 $\pm$ 1.8 (22~27)	64 $\pm$ 6.5 (50~69)	19 $\pm$ 1.8 (16~22)
	河北 Hebei	20	884 $\pm$ 91 (730~1 022)	41 $\pm$ 4.0 (39~48)	6.8 $\pm$ 0.6 (5.6~7.8)	15 $\pm$ 1.3 (12~17)	4.4 $\pm$ 0.5 (3.7~5.1)		9.1 $\pm$ 0.4 (8.5~9.6)	22 $\pm$ 3.0 (18~28)	59 $\pm$ 3.8 (49~63)	21 $\pm$ 2.2 (16~24)

1)n 代表样本数;L 为体长;a 为体长与最大体宽的比值;b 为体长与头端至食道与肠连接处长度的比值;c 为体长与尾长的比值;c' 为尾长与肛门处体宽的比值;V 为阴门至头端的长度与体长的比值 $\times 100$;括号内数据表示范围

1)n: Number of specimens;L: Total body length;a: Body length/the maximum body width;b: Body length/distance from head end to junction of oesophagus and intestine;c: Body length/tail length;c': Tail length/body width at anus;V: Distance from vulva to head/body length $\times 100$; The range is represented by the data in parentheses

范围值基本一致, 故根据形态学特征初步将甘肃党参茎线虫群体鉴定为花生茎线虫。

2.3 特异性引物检测

采用花生茎线虫特异性引物对甘肃党参茎线虫群体与腐烂茎线虫群体进行 PCR 扩增, 结果(图 2)显示, 甘肃党参茎线虫群体扩增条带为 150~200 bp, 符合花生茎线虫特异性引物扩增条带长度(171 bp), 而腐烂茎线虫未扩增到任何片段。

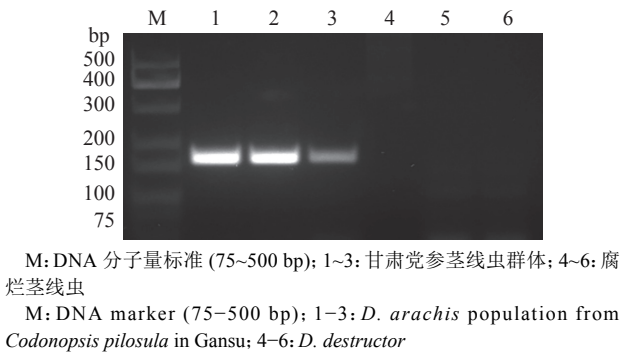


图 2 甘肃党参茎线虫群体与腐烂茎线虫 ITS 特异性引物扩增电泳图

Fig. 2 Electrophoresis of PCR products amplified from *Ditylenchus arachis* from *Codonopsis pilosula* in Gansu and *D. destructor* using species-specific ITS primers

2.4 分子生物学特征

采用线虫 ITS 区通用引物 18S、26S 与 TW81、AB28 双向测序后拼接序列, 比对后得到引物 TW81、AB28 扩增的具体序列长度, 为 816 bp, 上传至 NCBI 获得序列号为 MW207369 和 MW207370。28S 区引物 D2A 与 D3B 双向测序后拼接序列, 得

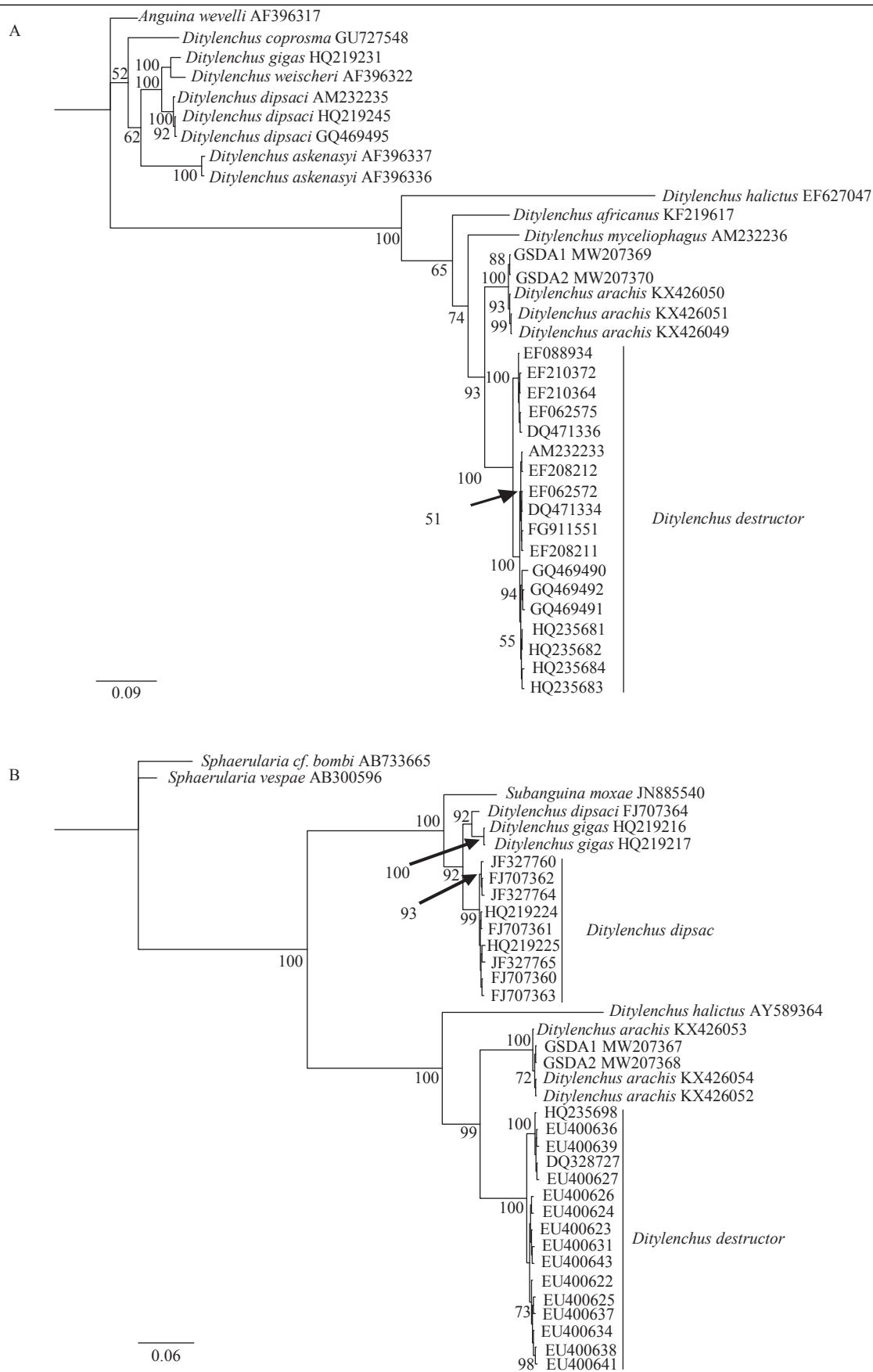
到序列长度为 777 bp, 上传至 NCBI, 获得序列号为 MW207367 和 MW207368。NCBI 中 BLAST 比对发现, 甘肃党参茎线虫群体 ITS-rDNA 序列与河北花生茎线虫群体 KX426050 序列相似性为 99.75%, 仅存在 2 个碱基差异; 28S D2/D3 区序列与河北花生茎线虫群体 KX426054 序列相似性为 100%, 无碱基差异。

基于 ITS-rDNA 构建的系统发育树(图 3A), 甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫聚为一枝, 与腐烂茎线虫聚为一大枝, 结果表明甘肃茎线虫群体 ITS-rDNA 序列与花生茎线虫亲缘关系最近, 其次为腐烂茎线虫, 与其他茎属线虫距离较远。

采用贝叶斯法构建 28S D2/D3 区系统发育树(图 3B)。结果显示, 甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫聚为一支, 与腐烂茎线虫聚为一大支, 表明甘肃党参茎线虫群体 28S D2/D3 区序列与花生茎线虫亲缘关系最近, 其次为腐烂茎线虫, 与其他茎属线虫距离较远。据此, 将甘肃党参茎线虫群体鉴定为花生茎线虫。

2.5 ITS-rDNA 区段 PCR-RFLP 分析

在 NCBI 数据库中下载花生茎线虫序列 KX426050, 使用软件 BioEdit 与线虫 ITS-rDNA 通用引物 TW81/AB28 比对, 截去序列两端, 得到以引物 TW81/AB28 扩增的花生茎线虫序列。以软件 Wbcuter 2.0 使用 4 种内切酶 *Dde* I、*Hinf* I、*Sdu* I、*Tru9* I (*Mse* I) 对甘肃党参茎线虫群体、花生茎线虫与腐烂茎线虫进行酶切, 得到酶切片段数量及大



最佳模型均为 GTR+I+G, 分支上数字表示后验概率
All best model were GTR+I+G; The posterior probability values exceeding 50% are given on appropriate clades

图 3 基于 ITS-rDNA (A) 和 28S D2/D3 (B) 的甘肃党参茎线虫 (GSDA1、GSDA2) 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of stem nematode (GSDA1、GSDA2) from *Codonopsis pilosula* in Gansu Province based on ITS-rDNA (A) and 28S D2/D3 (B)

小(表 2)。由表 2 可知,甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫群体酶切片段大小一致,且明显区别于腐烂茎线虫。以内切酶 *Dde* I、*Hinf* I、*Tru9* I (*Mse* I) 和 *Sdu* I 对甘肃党参茎线虫群体与腐烂茎线虫 ITS-rDNA

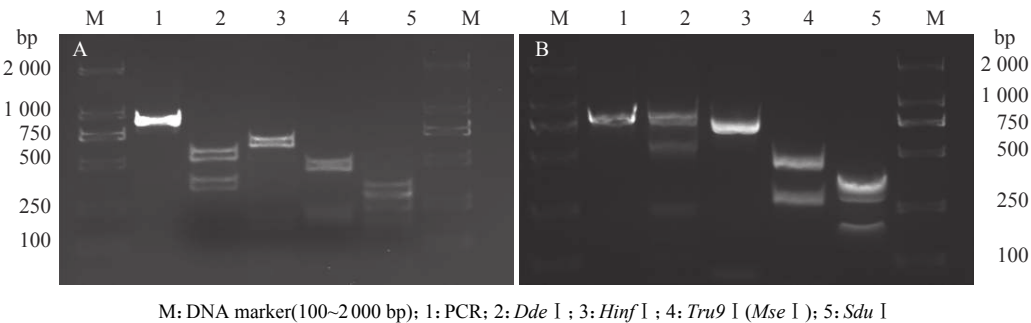
区 PCR 纯化产物进行酶切,结果如图 4 所示,结果与使用软件 Wbcuter 2.0 的酶切结果一致,甘肃党参茎线虫群体与腐烂茎线虫群体酶切结果存在明显差异。

表 2 软件 Wbcuter 酶切甘肃党参茎线虫和腐烂茎线虫 ITS 序列结果

Table 2 Enzyme digestion results of *Ditylenchus arachis* population from *Codonopsis pilosula* in Gansu and *D. destructor* ITS sequences by Wbcuter

bp

处理 Treatment	河北花生茎线虫群体 <i>D. arachis</i> population in Hebei	甘肃党参茎线虫群体 <i>D. arachis</i> population from <i>Codonopsis pilosula</i> in Gansu	腐烂茎线虫 <i>D. destructor</i>
Unrestricted PCR	816	816	915
<i>Dde</i> I	485,151,103, 34, 33, 10	485, 151,103, 34, 33,10	551, 354, 10
<i>Hinf</i> I	751,65	751, 65	649,174, 57, 35
<i>Tru9</i> I (<i>Mse</i> I)	469, 307, 31, 9	469, 307, 31, 9	468, 215,192, 31, 9
<i>Sdu</i> I	347, 321,148	347, 321, 148	319, 256,191,149



M: DNA marker(100~2 000 bp); 1: PCR; 2: *Dde* I ; 3: *Hinf* I ; 4: *Tru9* I (*Mse* I) ; 5: *Sdu* I

图 4 腐烂茎线虫 (A) 与甘肃党参茎线虫 (B)ITS-rDNA 区段 PCR-RFLP 结果

Fig. 4 Electrophoresis of ITS-rDNA amplified by PCR-RFLP for *Ditylenchus destructor* (A) and *D. arachis* population in Gansu (B)

3 讨论与结论

茎线虫属是植物线虫病害中一类重要的病原,也是最难进行种类鉴定的属之一,大多数种类的特征描述仍然存在着不完善的问题^[2,4]。花生茎线虫病普遍发生于我国花生主产区,一段时间误认为是腐烂茎线虫为害,章淑玲^[21]对采集到的线虫群体,进行形态特征与分子特征的比对分析,发现该种虽与腐烂茎线虫亲缘关系较近,却与腐烂茎线虫存在差异,明显区别于其他茎属线虫,将其命名为花生茎线虫 *D. arachis*。本研究对采集的甘肃党参茎线虫群体进行鉴定,通过形态特征与分子特征比对分析,发现该线虫群体形态特征与花生茎线虫相符,形态测量值除体长、阴门至头端的长度与体长比、尾长均值略大外,其他测量值均值均略小,但是所有测量范围基本一致,差异可能是地理环境因素造成的。通过 ITS-rDNA 与 28S D2/D3 区序列系统发育分析,发现甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫群体聚为一支,明显区别于腐烂茎线虫。花生茎线虫特异性引物 PCR 扩增与 ITS-rDNA 区段 PCR-RFLP 结果显

示,甘肃党参茎线虫群体与花生茎线虫群体 ITS-rDNA 区段无明显差异。综上所述,将甘肃党参茎线虫群体鉴定为花生茎线虫。

花生茎线虫主要为害花生地下部分,发病植株呈现矮化、黄化症状,严重时可导致全株枯死,植株地下部分表现出根系发育不良、固氮根瘤减少、结荚数减少、果荚表面呈黑褐色腐烂斑、种皮褐变皱缩等症状,线虫可侵染花生的果荚、种粒、胚栓及根茎,研究表明,2 年内干燥的果荚和种皮还可分离出线虫^[22]。本研究采集的发病党参,芦头部表面呈黑褐色腐烂斑、表皮褐变皱缩等症状,与花生茎线虫为害花生果荚症状相似,但由于分离得到的线虫群体较少,未得到大量繁殖群体,致病性测定困难,故花生茎线虫是否为害党参及为害时具体症状需要进一步研究。

研究表明该线虫适生性强、食性广、抗逆性强,对其他作物有潜在危害风险,是一种危害较大的病原线虫^[23-25]。该线虫经缓慢脱水处理,在-80℃条件下保存 35 d 后,仍有部分线虫可以复苏为害^[24]。

花生性喜温暖, 种子萌发温度较高, 生长最适温度为 23~30 ℃^[26-27]。党参喜冷凉湿润气候, 最适温度 18~20 ℃^[28]。渭源县党参种植区温度较低, 由于采集环境存在较大差异, 本研究采集线虫群体与河北地区花生茎线虫群体在致病性、适生性等方面是否存在差异, 有待进一步研究分析。

本研究对甘肃省渭源县党参病样中分离的茎线虫, 结合形态特征与分子特征进行鉴定, 将其鉴定为花生茎线虫, 结果表明花生茎线虫已在甘肃省定殖。甘肃省渭源县以中药材和马铃薯为主要经济作物, 其产品为地下块根和块茎, 而线虫主要为害植物地下部, 因此, 应该对该地区线虫病害予以足够的重视。

参考文献:

[1] ANON. Tylenchida parasites of plants and insects[J]. *Journal of Phytopathology*, 2001, 149(7/8): 491. doi: 10.1046/j.1439-0434.2001.0596k.x.

[2] 谢辉. 植物线虫分类学[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2005.

[3] VOVLAS N, TROCCOLI A, PALOMARES-RIUS-RIUS J E, et al. A new stem nematode, *Ditylenchus oncostemae* n. sp. (Nematoda: Tylenchida), parasitizing sowthistle from Adriatic coast dunes in southern Italy[J]. *Journal of Helminthology*, 2016, 90(2): 152-165.

[4] STURHAN D, BRZESKI M W, NICKLE W R. Stem and bulb nematodes, *Ditylenchus* spp.[M]. Boca Raton: CRC Press, 2020.

[5] 段玉玺. 植物线虫学[M]. 北京: 科学出版社, 2011.

[6] 龙海, 齐小峰, 谢泳桂, 等. 影响全球食品安全的植物线虫综述[J]. *中国植保导刊*, 2017, 37(12): 78-83.

[7] 赵洪海, 梁晨, 张浴, 等. 腐烂茎线虫 (*Ditylenchus destructor* Thorne, 1945) 生物学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(7): 45-55.

[8] ZHANG S L, LIU G K, JANSSEN T, et al. A new stem nematode associated with peanut pod rot in China: Morphological and molecular characterization of *Ditylenchus arachis* n. sp. (Nematoda: Anguinidae)[J]. *Plant Pathology*, 2014, 63(5): 1193-1206.

[9] 杜毛笑, 邱黛玉, 任凤英, 等. 间作植物和茬口对连作党参生长和品质产量的影响[J]. *西北植物学报*, 2021, 41(11): 1884-1892.

[10] 徐雪芬, 倪春辉, 李惠霞, 等. 党参根腐病原菌鉴定及其室内毒力测定[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(1): 96-103.

[11] NI C H, ZHANG S L, LI H X, et al. First report of potato rot nematode, *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 infecting *Codonopsis pilosula* in Gansu province, China[J]. *Journal of Nematology*, 2020, 52: e2020-e2087. doi: 10.21307/jofnem-2020-087.

[12] HOOPER D J. Extraction and processing of plant and soil nematodes[M]//LUC M, SIKORA R A, BRIDGE J. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford: CAB International, 1990: 45-68.

[13] 徐鹏刚. 甘肃定西马铃薯腐烂茎线虫的发生、病原学研究及品种抗性评价[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.

[14] 谢辉, 冯志新. 丝尾垫刃属新种的描述 (线虫门: 垫刃科) II: 异头丝尾垫刃线虫新种和香港丝尾垫刃线虫新种[J]. *植物病理学报*, 1996, 26(3): 283-288.

[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.

[16] VRAIN T C, WAKARCHUK D A, LEVESQUE A C, et al. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group[J]. *Fundamental and Applied Nematology*, 1992, 15(6): 563-573.

[17] 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.

[18] 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.

[19] ZHANG S L, CHENG X, LIU G K, et al. Development of species-specific primer pairs for the molecular diagnosis of *Ditylenchus arachis*[J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2019, 21(1): 99-104.

[20] SUBBOTIN S A, DEIMI A M, ZHENG J W, et al. Length variation and repetitive sequences of Internal Transcribed Spacer of ribosomal RNA gene, diagnostics and relationships of populations of potato rot nematode, *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 (Tylenchida: Anguinidae)[J]. *Nematology*, 2011, 13(7): 773-785.

[21] 章淑玲. 花生茎线虫 (*Ditylenchus arachis* n. sp.) 新种鉴定、生物学及快速检测技术[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.

[22] 王文玉. 花生茎线虫 (*Ditylenchus arachis*) 的生物学特性及种群多样性[D]. 福州: 福建农林大学, 2017.

[23] 邓明雪, 肖顺, 王文玉, 等. 花生茎线虫对花生根的趋向、定位及侵染特性[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2018, 47(2): 148-152.

[24] 陈思怡, 邓明雪, 陈晶伟, 等. 花生茎线虫的脱水存活方式及耐低温能力[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2020, 49(5): 577-582.

[25] 章淑玲, 林谷园, 肖顺. 花生茎线虫 *Ditylenchus arachis* 在真菌上的培养条件研究[J]. *植物保护*, 2018, 44(2): 100-103.

[26] 谢明惠, 陈浩梁, 张光玲, 等. 温度、土壤湿度和播种深度对花生种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *花生学报*, 2017, 46(2): 52-59.

[27] 中国农业百科全书总编辑委员会农业经济卷编辑委员会, 中国农业百科全书编辑部. 中国农业百科全书: 农业经济卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991.

[28] 王静. 中兽医中草药党参的临床应用与育苗栽培技术[J]. *中兽医学杂志*, 2019(5): 105.