

中国2种伞滑刃属线虫记述 (线虫门:寄生滑刃科)

卓侃¹ 王宏洪¹ 李迅东² 廖金铃¹

1. 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642; 2. 云南省农业科学院农业环境资源研究所, 昆明 650205

摘要 运用线虫比较形态学和 rDNA-ITS-RFLP 及 rDNA-ITS 序列分析技术, 对采自广东省的伞滑刃线虫进行鉴定。在广东番禺小叶榕(*Ficus microcarpa*)的栽培介质中和东莞木包装上分别发现了食菌伞滑刃线虫(*Bursaphelenchus fungivorus*)和豆伞滑刃线虫(*B. doui*), 其中食菌伞滑刃线虫是中国的新记录种, 豆伞滑刃线虫是中国大陆的新记录种。

关键词 食菌伞滑刃线虫; 豆伞滑刃线虫; 新记录; 中国

中图分类号 Q 959.17; S 432.4⁺5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)03-0305-07

伞滑刃属(*Bursaphelenchus*)线虫包括了许多重要的植物病原线虫, 如松材线虫(*B. xylophilus*)、椰子红环腐线虫(*B. cocophilus*), 其分类鉴定是近年发展最快、最热门的研究内容之一。伞滑刃线虫的描述最早可追溯到 20 世纪 30 年代^[1], 目前报道的伞滑刃线虫有 100 多种^[2-14], 其中在 2000 年后至今不到 10 年的时间里, 报道的伞滑刃属线虫新种就达到 40 余种^[2-14]。在我国, 自从程瑚瑞等^[15] 1983 年报道发现松材线虫后, 伞滑刃线虫的鉴定越来越受到人们的重视。目前从我国松树上或木包装上分离报道的伞滑刃线虫约有 15 种^[10-13, 16-18]。2005—2010 年, 笔者结合形态学和分子生物学技术对采自中国广东省的伞滑刃线虫进行了鉴定, 旨在明确广东省伞滑刃线虫的最新分布情况。现已鉴定出包括松材线虫在内的 8 种伞滑刃线虫, 其中食菌伞滑刃线虫(*B. fungivorus*)为首次在中国发现, 而豆伞滑刃线虫(*B. doui*)则是首次在中国大陆发现。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2005—2010 年在广东省的广州、东莞、番禺等地共采集了 533 份松木样品、259 份木包装样品和 322 份花卉培养介质样品。采用贝曼漏斗法^[18]分离线虫, 挑取分离到的伞滑刃线虫单条成熟雌虫, 置于

已长满拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis* sp.)真菌的 PDA 上纯化培养, 待用。

1.2 线虫形态观察

观察雄虫和雌虫的形态特征, 线虫的杀死、固定和形态鉴定方法详见文献^[18]。交合刺的长度沿中弧线进行测量。形态测量值的计算采用 De Man 公式, 测量与统计采用的英文及缩略词参详见文献^[19]和^[20]。

1.3 线虫 DNA 提取

采用微量 DNA 提取法提取线虫 DNA, 操作方法详见文献^[21]。

1.4 rDNA-ITS 区扩增

采用引物 5'-CGTAACAAGGTAGCTGTAG-3'^[22]和 5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3'^[23]对 rDNA-ITS 区进行扩增。PCR 反应体系为: DNA 模板 10~20 ng, *Ex Taq* (5 U/ μ L) 0.125 μ L, 10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5 μ L, dNTP (2.5 mmol/L) 2 μ L, 引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, 加无菌水至 25 μ L。扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 3 min; 接着 94 $^{\circ}$ C 1 min, 50 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2 min 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 10 min; 扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶中电泳分离, 每 100 mL 琼脂糖凝胶加入 5 μ L EB 替代物 GoldView。电泳缓冲液为 0.5 $\times$ TBE, 以 5 V/cm 电压电泳约 30 min。用凝胶图象分析系统照相并储存到电脑中。

收稿日期: 2010-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871628)和广东省科技计划项目(2004B20501005)

卓侃, 博士, 助理研究员。研究方向: 植物线虫学。E-mail: zhuokan@scau.edu.cn

通讯作者: 廖金铃, 博士, 教授。研究方向: 植物线虫学。E-mail: jlliao@scau.edu.cn

1.5 RFLP 分析

用 *Rsa* I、*Hae* III、*Msp* I、*Hinf* I 和 *Alu* I (大连宝生物) 5 种限制性内切酶对 rDNA-ITS 区的 PCR 扩增产物进行酶切, 酶切程序按说明书进行。酶切产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳分离, 每 100 mL 琼脂糖凝胶加入 5 μ L EB 替代物 GoldView。电泳缓冲液为 0.5 $\times$ TBE, 以 5 V/cm 电压电泳约 30 min。用凝胶图象分析系统照相并储存在电脑中。

1.6 序列分析

将 rDNA-ITS 的 PCR 产物直接送交上海英骏生物技术有限公司, 用 3730 全自动测序仪测定序列。序列结果在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 上进行核酸同源性检索。检索程序采取 nucleotide blast, 即核酸序列对核酸序列数据库的检索。序列相似性分析采用软件 DNA Star 进行。

2 结果与分析

2.1 食菌伞滑刃线虫 (图 1)

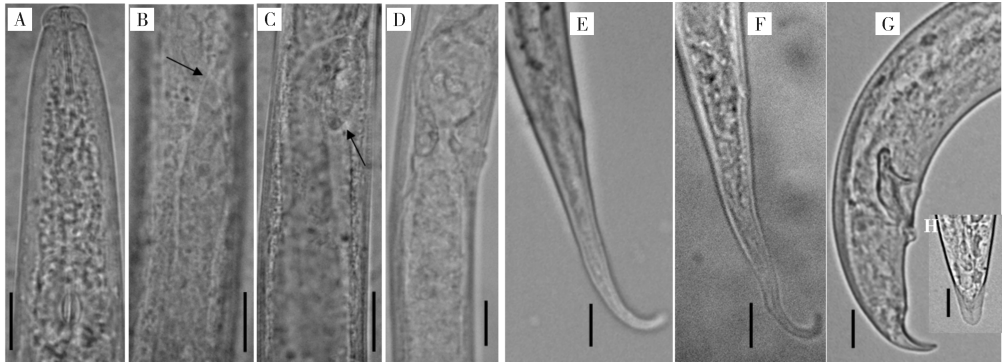
Bursaphelenchus fungivorus Franklin & Hooper, 1962

形态测量值及与文献记述的比较见表 1。

雄虫: 热杀死后虫体呈“J”形; 体环细, 侧区具 4 条侧线; 唇区高 2.5~4.0 μ m, 宽 7.0~8.0 μ m, 与体部缢缩显著; 口针细弱, 基部略增厚, 杆部约占口针长的 2/3; 食道前体部圆柱形; 中食道球发达, 卵圆形, 瓣门位于中食道球中部; 食道腺长叶状, 从背部覆盖肠, 长度约为体宽的 3~4 倍; 排泄孔位于神经环水平处; 单精巢, 前伸, 少数精巢前端向后转折, 精母细胞多行排列; 交合刺中等大小, 喙突尖, 踝突较高, 钝圆; 交合刺的喙突、踝突、背面上部及腹面明显骨化, 远端无刺帽; 尾端腹弯, 具 1 小的长卵形端生交合伞; 尾乳突 7 个, 1 个位于泄殖腔前, 1 对位于泄殖腔区, 2 对位于泄殖腔后近交合伞起始处。

雌虫: 虫体热杀死后向腹面弯曲; 虫体前部与雄虫相似; 阴门位置较后, 无阴门盖, 阴门唇略突起; 单生殖腺, 前伸, 约占体长的 40%~70%, 卵母细胞多行排列; 后阴子宫囊占肛阴距的 48.9%~70.2%; 尾细长, 末端细圆, 强烈腹弯, 呈钩状。

样品来源: 2010 年 4 月从采自广东省番禺培养小叶榕 (*Ficus microcarpa*) 的栽培介质中分离得到。



A. 雄虫体前部 Male anterior region; B,C. 雄虫精巢, 箭头表示精巢前端 Male testis, arrows show frond end of testis; D. 雌虫阴门区 Female vulval region; E,F. 雌虫尾 Female tail; G. 雄虫尾和交合刺 Male tail and spicule; H. 交合伞 Bursa; 标尺均为 10 μ m All scale bars are 10 μ m.

图 1 食菌伞滑刃线虫

Fig. 1 *Bursaphelenchus fungivorus* Franklin & Hooper, 1962

2.2 豆伞滑刃线虫 (图 2)

Bursaphelenchus doui Braasch, Gu, Burgermeister & Zhang, 2004

形态测量值及与文献记述的比较见表 2。

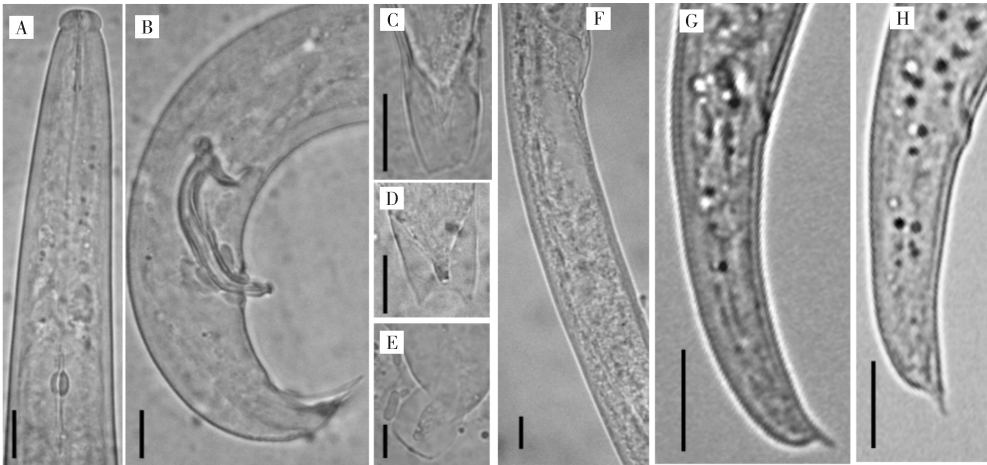
雄虫: 热杀死后虫体呈“J”形; 体环细, 侧区具 4 条侧线; 唇区高 3.3~4.5 μ m, 宽 7.5~8.8 μ m, 与体部缢缩显著; 口针细弱, 基部略增厚, 杆部约占口针长的 2/3; 食道前体部圆柱形; 中食道球发达, 卵

圆形, 瓣门位于中食道球中部; 食道腺长叶状, 从背部覆盖肠, 长度约为体宽的 2~3 倍; 排泄孔位于中食道球水平处; 单精巢, 前伸, 精母细胞多行排列; 交合刺大, 弓形, 中部直, 喙突尖, 基顶钝圆, 远端具刺帽; 尾端腹弯, 具 1 小的端生交合伞, 交合伞末端平或凹陷或呈锯齿状; 尾乳突 7 个, 1 个位于泄殖腔前, 1 对位于泄殖腔区, 2 对位于泄殖腔后近交合伞起始处。

表 1 食菌伞滑刃线虫中国种群测量值及与文献记述的比较
Table 1 Morphometric comparison of *Bursaphelenchus fungivorus* from China with literature descriptions

形态指标 Diagnostic character	中国种群 Population of China		文献 Literature ^[26]		文献 Literature ^[27]		文献 Literature ^[27]	
	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀
<i>n</i>	20	20	25	25	6	7	10	10
<i>L</i> /μm	658±45 (585~716)	676±60 (608~790)	850 (570~1 030)	980 (770~1 160)	677±67 (553~732)B	637±94 (431~700)	637±92 (523~859)	737±65 (589~800)
<i>a</i>	30.6±1.8 (26.7~33.1)	30.7±1.3 (28.6~32.1)	36(31~45)	36(28~43)	33.0±1.9 (30.6~35.3)	31.0±2.4 (29.0~35.0)	34.8±4.7 (27.6~40.5)	34.1±3.4 (29.3~41.6)
<i>b</i>	7.9±0.4 (7.3~8.6)	8.3±0.6 (7.2~9.2)	10.8 (8.1~12.4)	12.3 (9.8~14.2)	8.3±0.3 (7.8~8.7)	7.0±1.1 (5.2~7.8)	7.0±1.1 (5.7~9.1)	8.9±3.3 (6.5~17.5)
<i>c</i>	22.9±1.2 (20.1~24.5)	12.1±0.5 (11.6~13.1)	22.4 (17.9~25.4)	13.0 (10.1~15.2)	23.7±2.7 (18.9~26.2)	13.4±1.3 (11.9~16.0)	19.4±1.9 (16.4~22.9)	13.4±1.2 (11.6~15.5)
<i>c'</i>	2.2±0.2 (1.9~2.4)	5.6±0.5 (4.7~6.3)	2.5	6~7	2.2±0.14 (2.1~2.5)	5.3±0.54 (4.4~5.9)	2.4±0.2 (2.2~2.6)	5.8±0.6 (4.9~6.6)
Stylet/μm	13.9±1.1 (12.5~15.0)	14.8±1.7 (12.5~17.5)	14.5 (14.0~15.0)	15.5 (14.0~16.0)	14.9±0.8 (13.4~15.6)	14.0±1.9 (10.3~15.6)	17.6±1.5 (16.4~20.9)	17.9±1.9 (15.8~22.0)
Tail/μm	28.8±1.8 (25.0~30.0)	55.8±4.4 (52.5~65.0)	40.2*	67.1*	28.6±1.8 (25.2~30.2)	38.6±7.1 (33.6~54.8)	32.8±3.4 (29.4~38.9)	55.0±4.1 (50.8~62.1)
T	69.7±3.3 (65.6~74.5)	—	68 (62~78)	—	—	—	—	—
Spicule/μm	19.1±1.4 (17.5~21.3)	—	18.3*	—	19.2±1.4 (17.3~21.2)	—	19.6±1.7 (17.0~23.7)	—
V/%	—	72.9±1.0 (71.7~74.4)	—	70 (67~73)	—	71.8±1.4 (69.0~80.0)	—	71.6±1.07 (68.7~72.7)
PUS/μm	—	77.3±13.1 (57.5~100.0)	—	117.5*	—	—	—	—
PUS/VA (%)	—	60.6±7.3 (48.9~70.2)	—	50	—	—	—	—

* : 根据文献的形态图测量所得。Measured from illustration in literature.



A. 雄虫体前部 Male anterior region; B. 雄虫尾和交合刺 Male tail and spicule; C~E. 交合伞 Bur-sa; F. 雌虫阴门区 Female vulval region; G~H. 雌虫尾 Female tail; 标尺均为 10 μm All scale bars are 10 μm.

图 2 豆伞滑刃线虫
Fig.2 *Bursaphelenchus doui* Braasch,Gu,Burgermeister & Zhang,2004

表 2 豆伞滑刃线虫中国种群测量值及与文献记述的比较

Table 2 Morphometric comparison of *Bursaphelenchus doui* from China with literature descriptions

形态指标 Diagnostic character	中国种群 Population of China		文献 Literature ^[25]		文献 Literature ^[28]		文献 Literature ^[28]	
	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀	雄虫 ♂♂	雌虫 ♀♀
<i>n</i>	20	20	15	15	20	20	20	20
<i>L</i> /μm	798±36 (730~855)	894±45 (810~963)	811±84 (629~948)	876±113 (634~1 143)	718±78 (556~886)	820±63 (722~1 019)	731±87 (608~920)	863±152 (660~1 226)
<i>a</i>	32.9±2.0 (30.2~37)	35.2±3.1 (30.7~42.8)	28.8±4.5 (25~33)	32.6±3.5 (26.6~37.3)	31.6±3.4 (21.8~37.5)	33.3±3.7 (24.9~36.7)	33.4±2.0 (29.1~36.5)	32.4±2.7 (26.1~37.3)
<i>b</i>	8.6±0.4 (8.1~9.2)	9.8±0.8 (8.1~11.0)	8.4±0.8 (6.3~9.7)	9.5±1.8 (6.5~12.9)	10.2±0.7 (8.5~11.4)	11.3±0.7 (10~12.9)	9.4±0.8 (8.3~11.1)	10.8±1.6 (8.5~14.5)
<i>c</i>	22±1.7 (19.8~24.5)	23.3±1.8 (21.2~27.5)	21.9±3.4 (17.5~30.7)	23.4±2.2 (19.7~28.6)	21.1±1.5 (18.4~24.6)	20.2±1.5 (18~22.5)	22.2±2.2 (19.4~27.4)	23.2±3.6 (18.4~30.5)
<i>c'</i>	1.9±0.2 (1.7~2.4)	3.6±0.2 (3.3~4.0)	1.9±0.2 (1.5~2.3)	6±0.3(2.8~4.2)	2±0.1 (1.7~2.2)	4.3±0.4 (3.6~5)	2±0.1 (1.8~2.1)	3.8±0.3 (3.4~4.4)
Stylet/μm	15±0.8 (13.8~16.3)	15.3±1.0 (13.8~17.5)	15.2±0.7 (14.1~15.9)	15.1±0.8 (13~16.2)	15±1.1 (13~17)	16.5±0.7 (15~18.5)	15.5±0.5 (14.5~16.5)	16±1.1 (15~20)
Tail/μm	36.5±2.5 (32.5~40)	38.5±3.2 (32.5~42.5)	40*	42*	34±3.6 (26~40)	41±2.5 (37~45)	33±2.3 (29~38)	37±2.4 (34~44)
T	73.2±4.2 (68.2~80.5)	—	50~75	—	43±8.6 (31.2~64.2)	—	59±6.2 (41.4~66.6)	—
Spicule/μm	35±1.8 (32.5~37.5)	—	39.6±2.5 (33.8~43.3)	—	37±2.9 (30~42)	—	35±1.4 (32~38)	—
V	—	75.0±0.5 (73.9~75.4)	—	74.9±1.7 (72.1~78.3)	—	73.1±1.1 (70.3~74.8)	—	73.9±1.4 (70.8~77.1)
PUS/μm	—	131.8±12.6 (112.5~150)	—	111.2±10.7 (100~120.4)	—	119±11.0 (93~136)	—	120±17.0 (92~147)
PUS/VA (%)	—	71.1±4.7 (64.8~78.9)	—	80	—	66.2±6.3 (51.3~76.2)	—	64.6±5.3 (53.7~74.4)

*：根据文献的形态图测量所得。Measured from illustration in literature.

雌虫：虫体热杀死后向腹面弯曲；虫体前部与雄虫相似；阴门位置较后，具 1 大的阴门盖，长 12.5~19.0 μm；单生殖腺，前伸，约占体长的 60%~85%，卵母细胞多行排列；后阴子宫囊占肛阴距的 65%~79%；尾圆锥形，略向腹面弯，末端腹面通常具 1 短的尾尖突，尾尖突锐尖或呈发状，长 1~4 μm。

样品来源：2005 年 9 月从采自广东省东莞的木包装材料上分离得到。

2.3 rDNA-ITS-RFLP 图谱

对 2 种伞滑刃线虫的 rDNA-ITS 扩增后，采用 5 种限制性内切酶对该产物进行酶切，所获得的 rDNA-ITS-RFLP 图谱见图 3-A 和图 3-B。这 2 个图谱分别与前人报道的食菌伞滑刃线虫 RFLP 图谱(图 3-C)^[24]和豆伞滑刃线虫的 RFLP 图谱(图 3-D)^[25]一致。

2.4 rDNA-ITS 序列分析

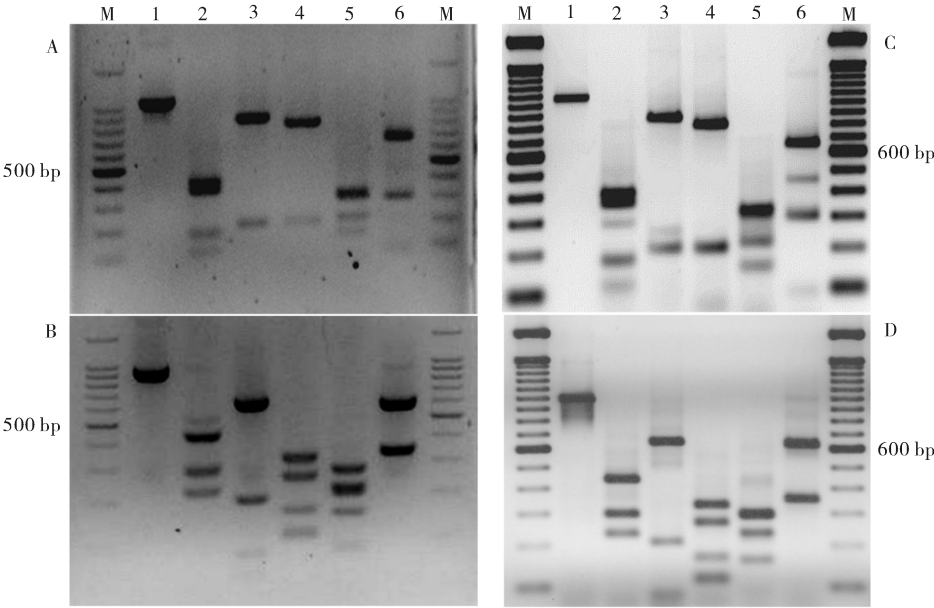
对扩增获得的 2 种伞滑刃线虫的 rDNA-ITS 进行测序，结果表明 2 条序列分别为 1 058 bp(Gen-

Bank 登录号为 HQ402559)和 982 bp(GenBank 登录号为 FJ520230)。

在 NCBI 上进行 BLAST 比对，结果表明与序列 HQ402559 同源性最高的是 1 条食菌伞滑刃线虫的 rDNA-ITS 序列(GenBank 登录号为 AM179516)，两者序列相似性高达 100%；与序列 FJ52023 同源性最高的有 3 条豆伞滑刃线虫的 rDNA-ITS 序列(GenBank 登录号分别为 AM157743、AB299224 和 AB299223)，相似性分别为 98.9%、99.1%和 98.6%。

3 讨 论

笔者运用比较形态学和分子生物学相结合的方法，在中国广东省发现了 2 种伞滑刃属线虫(*Bursaphelenchus*)：食菌伞滑刃线虫(*B. fungivorus*)和豆伞滑刃线虫(*B. doui*)。食菌伞滑刃线虫的形态特征、形态测量值、rDNA-ITS-RFLP 图谱及 rDNA-ITS 序列与前人报道的完全一致^[24,26-27]，而豆伞滑



A. 食菌伞滑刃线虫中国种群 *B. fungivorus* from China; B. 豆伞滑刃线虫中国种群 *B. doui* from China; C. 食菌伞滑刃线虫文献 [24] *B. fungivorus* literature [24]; D. 豆伞滑刃线虫文献 [25] *B. doui* literature [25]; 泳道 M. 100 bp DNA 分子标记 DNA marker (100 bp ladder); 泳道 1: rDNA-ITS 区的 PCR 产物 Lane 1: uncleaved rDNA-ITS-PCR product; 泳道 2~6 分别为 *Rsa* I、*Hae* III、*Msp* I、*Hinf* I、*Alu* I 5 种限制性内切酶的酶切产物 Lanes 2-6; restriction fragments obtained with *Rsa* I, *Hae* III, *Msp* I, *Hinf* I and *Alu* I .

图 3 食菌伞滑刃线虫和豆伞滑刃线虫中国种群 rDNA-ITS-RFLP 图谱及与文献记述的比较

Fig. 3 rDNA-ITS-RFLP patterns of *B. fungivorus* and *B. doui* from China and comparisons with literature descriptions

刃线虫除交合伞形态有差异外，其余的形态特征、形态测量值和 rDNA-ITS-RFLP 图谱均与前人的报道一致^[25,28]，且 rDNA-ITS 序列与已报道的豆伞滑刃线虫的 ITS 序列相似性也达到 98.6% 以上。原始描述的豆伞滑刃线虫交合伞形态为卵圆形，末端呈圆弧形或平^[25]；本研究发现的豆伞滑刃线虫除具有上述类型的交合伞外，还具有末端凹陷和末端呈锯齿状的交合伞。由于有些伞滑刃线虫的交合伞形态具有种内变异的情况^[5,7,11]，因此，本研究中豆伞滑刃线虫新的交合伞形态应属于种内变异，故将这 2 种线虫分别鉴定为食菌伞滑刃线虫和豆伞滑刃线虫。

食菌伞滑刃线虫最早是 1962 年在威尔士腐烂的梔子花花芽上发现的^[26]，1999 年从德国一温室天竺葵 (*Pelargonium*) 的栽培介质上分离到该线虫^[29]，其后又分别在捷克和俄罗斯输往德国的松树皮上及西班牙的海岸松 (*Pinus pinaster*) 和松直缝小蠹 (*Orthotomicus erosus*) 上分离到该线虫^[27,30-31]。笔者在广东分离到的食菌伞滑刃线虫为中国首次发现，是中国的新记录种。食菌伞滑刃线虫是目前唯一一个既能在松树上又能在包含土壤的

介质中繁殖的伞滑刃属线虫种^[27]，而且 Braasch 等^[29]通过接种试验表明该线虫能导致 3 年生的欧洲赤松 (*P. sylvestris*) 死亡 70%，并导致另外 20% 的松树局部枯萎。本研究发现的食菌伞滑刃线虫是从栽培介质中分离得到的，该线虫在我国的松树上是否有分布及对松树是否有危害有待进一步研究。

豆伞滑刃线虫是伞滑刃线虫松材组 (*xylophilus* group) 的一个成员，在形态上与我国广泛分布的拟松材线虫 (*B. mucronatus*) 十分相似，该线虫是 Braasch 等^[25]2004 年从韩国和我国台湾的木包装上分离报道的一个新种，2008 年 Kanzaki 等^[28]从日本的赤松 (*P. densiflora*) 和东亚花墨天牛 (*Monochamus subfasciatus*) 上也分离到该线虫，并通过接种试验证明该线虫对黑松 (*P. thunbergii*) 基本无致病性。2009 年 Han 等^[32]在韩国死亡的鹅掌楸 (*Liriodendron tulipifera*) 上也发现了该线虫。笔者在广东省发现的豆伞滑刃线虫是中国大陆的新记录种，也是中国大陆发现的第 3 个伞滑刃线虫松材组的成员。该线虫是从广东省东莞的木包装 (材种不详) 上分离得到的，应深入调查和系统研究，以明确该线虫在我国的自然分布情况，并了解其是否

对林木具有危害性。

近年来,伞滑刃属线虫新种不断被发现,导致该属线虫的鉴定越来越困难。由于仅根据形态特征定种,有可能造成误定,尤其是对在形态上十分相似,包括松材线虫(*B. xylophilus*)、拟松材线虫、豆伞滑刃线虫等松材组线虫的鉴定,因此,越来越多的学者已在形态学基础上结合 rDNA-ITS-RFLP 图谱对伞滑刃属线虫进行准确鉴定。据统计,目前超过 50 种的伞滑刃线虫已经建立了 rDNA-ITS-RFLP 图谱^[3,6-10,14,24],RFLP 图谱已成为伞滑刃属线虫鉴定的一个重要依据。

然而,近年来的研究表明,有的伞滑刃属线虫种由于酶切位点处的碱基突变会导致 RFLP 图谱产生种内变异^[24,28],因此,采用直接测序分析比对来进一步准确鉴定伞滑刃属线虫也越来越多地被学者使用^[7-9]。形态学结合分子生物学的方法在伞滑刃属线虫鉴定上的客观性和准确性已得到国际公认。笔者认为,我国在进行伞滑刃属线虫尤其是松材组伞滑刃线虫鉴定时,应建立由形态学为基础并结合分子生物学技术来鉴定的标准,以保证研究结果的权威性。

参 考 文 献

- [1] FUCHS A G. Neue parasitische und halbparasitische Nematoden bei Borkenkäfern und einige andere Nematoden. I. Teil [J]. Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere, 1937, 70: 291-380.
- [2] HUNT D J. A checklist of the Aphelenchoidea (Nematoda: Tylenchina) [J]. Journal of Nematode Morphology and Systematics, 2007, 10 (2): 99-135.
- [3] WANG J C, YU B Y, LIN M S. Description of a new species (Nematoda, Aphelenchoididae) isolated from wood packaging material [J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2005, 30(2): 314-319.
- [4] BRAASCH H, GU J, BRANDSTETTER M. *Bursaphelenchus burgermeisteri* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Japan, a second species of the 'africanus' group [J]. Journal of Nematode Morphology and Systematics, 2007, 10 (1): 39-48.
- [5] GU J, BRAASCH H, ZHEN W, et al. *Bursaphelenchus obeche* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) found in packaging wood exported from Indonesia to Ningbo, China [J]. Journal of Nematode Morphology and Systematics, 2007, 10(2): 165-175.
- [6] KANZAKI N, MAEHARA N, AIKAWA T, et al. First report of parthenogenesis in the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937: a description of *Bursaphelenchus okinawaensis* sp. nov. isolated from *Monochamus maruokai* (Coleoptera: Cerambycidae) [J]. Zoological Science, 2008, 25: 861-873.
- [7] KANZAKI N, GIBLIN-DAVIS R M, CARDOZA Y J, et al. *Bursaphelenchus rufipennis* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) and redescription of *Ektaphelenchus obtusus* (Nematoda: Ektaphelenchinae), associates from nematodes on the hind wings of *Dendroctonus rufipennis* (Coleoptera: Scolytidae) [J]. Nematology, 2008, 10(6): 925-955.
- [8] KANZAKI N, AIKAWA T, GIBLIN-DAVIS R M. *Bursaphelenchus tokyoensis* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) isolated from dead wood of the Japanese red pine, *Pinus densiflora* Sieb. & Zucc., in Japan [J]. Nematology, 2009, 11(2): 171-180.
- [9] TOMALAK M, FILIPIAK A. Description of *Bursaphelenchus populi* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae), a new member of the *xylophilus* group from aspen, *Populus tremula* L., in Europe [J]. Nematology, 2010, 12(3): 399-416.
- [10] GU J, WANG J, DUAN W, et al. Description of *Bursaphelenchus paraparvispicularis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) found in packaging wood from Hongkong, China [J]. Nematology, 2010, 12(4): 557-566.
- [11] LI H, TRINH P Q, WAHEYENBERGE L, et al. *Bursaphelenchus chengi* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) isolated at Nanjing, China, in packaging wood from Taiwan [J]. Nematology, 2008, 10(3): 335-346.
- [12] GU J, ZHENG W, BRAASCH H, et al. Description of *Bursaphelenchus macromucronatus* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Taiwan and India; a new species of the *xylophilus* group [J]. Journal of Nematode Morphology and Systematics, 2008, 18(1): 31-40.
- [13] 王宏毅, 张绍升. 中国马尾松木上伞滑刃属线虫新种记述 [J]. 动物分类学报, 2007, 32(4): 906-912.
- [14] GU J, WANG J. Description of *Bursaphelenchus braaschae* sp. n. (Nematoda: Aphelenchoididae) found in dunnage from Thailand [J]. Russia Journal of Nematology, 2010, 18(1): 59-68.
- [15] 程瑚瑞, 林茂松, 黎伟强, 等. 南京黑松上发生的萎蔫线虫病 [J]. 中国森林病虫, 1983(4): 1-5.
- [16] ZHUO K, LI X D, LI D L, et al. *Bursaphelenchus uncispicularis* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) from *Pinus yunnanensis* in China [J]. Nematology, 2007, 9(2): 237-242.
- [17] JIANG L Q, LI X Q, ZHENG J W. First record of *Bursaphelenchus rainulfi* on pine trees from eastern China and its phylogenetic relationship with intro-genus species [J]. Journal of Zhejiang University Science, 2007, 8(5): 345-351.
- [18] 王新荣, 胡月清, 朱孝伟, 等. 广东马尾松木中线虫种类的调查与鉴定 [J]. 福建林学院学报, 2008, 28(1): 85-87.
- [19] 林丽飞, 胡先奇, 刘春国. 云南省灯盏花根际土壤 2 种滑刃线虫的鉴定 [J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(6): 585-587.
- [20] 徐春玲, 谢辉, 周春娜, 等. 中国马铃薯根际滑刃属 4 种线虫记述 [J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(4): 417-420.

[21] 卓侃,胡茂秀,廖金铃,等. 广东省和海南省象耳豆根结线虫的鉴定[J]. 华中农业大学学报,2008,27(2):193-197.

[22] FERRIS V R, FERRIS J M, FAGHIHI J. Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst forming species of plant parasitic nematodes[J]. Fundamental and Applied Nematology, 1993, 16:177-184.

[23] VRAIN T C. Restriction fragment length polymorphism separates species of the *Xiphinema americanum* group[J]. Journal of Nematology, 1993, 25(3):361-364.

[24] BURGERMEISTER W, BRAASCH H, METGE K, et al. ITS-RFLP analysis, an efficient tool for differentiation of *Bursaphelenchus* species[J]. Nematology, 2009, 11(6): 649-668.

[25] BRAASCH H, GU J, BURGERMEISTER W, et al. *Bursaphelenchus doui* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Taiwan and South Korea, a new species of the *xylophilus* group[J]. Russian Journal of Nematology, 2004, 12(2):19-27.

[26] FRANKLIN M T, HOOPER D J. *Bursaphelenchus fungivorus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoidea) from rotting gardenia buds infected with *Botrytis cinerea* [J]. Nematologica, 1962 (8):136-142.

[27] ARIAS M, ROBERTSON L, GARCI-ALVAREZ A, et al. *Bursaphelenchus fungivorus* (Nematoda: Aphelenchida) associated with *Orthotomicus erosus* (Coleopter: Scolitydae) in Spain[J]. Forest Pathology, 2005, 35:375-383.

[28] KANZAKI N, AIKAWA T, MAEHARA N, et al. *Bursaphelenchus doui* Braasch, Gu, Burgermeister & Zhang, 2005 (Aphelenchida: Parasitaphelenchidae), an associate of *Monochamus subfasciatus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae) and *Pinus densiflora* Sieb. & Zucc. [J]. Nematology, 2008, 10(1):69-78.

[29] BRAASCH H, CAROPPO S, AMBROGIONI L, et al. Pathogenicity of various *Bursaphelenchus* species and implications to European forest[C]//FUTAI K, TOGASHMI K, IKEDA T. Symposium on sustainability of pine forest in relation to pine wilt and decline. Tokyo:Shokado, 1999.

[30] BRAASCH H, BENNEWITZ A, HANTUSCH W. *Bursaphelenchus fungivorus*-a nematode of the wood nematode group in growing substrate of agreenhouse and in imported wood on bark[J]. Nachricht-blatt Dtsch Pflanzensch, 2002, 54:1-4.

[31] ARIAS M, ESCUER M, BELLO A. Nematodos asociados a madder yá rboles de coníferas en pinares españoles[J]. Bol Sanid Veg Plagas, 2004, 30:581-593.

[32] HAN H, CHUNG Y J, SHIN S C. First report of *Bursaphelenchus doui* on tulip tree (*Liriodendron tulipifera*) in Korea [J]. Plant Disease, 2009, 93(11):1221.

Two species nematodes of the genus *Bursa phelenchus* in China
(Nematoda: Parasitaphelenchidae)

ZHUO Kan¹ WANG Hong-hong¹ LI Xun-dong² LIAO Jin-ling¹

1. College of Natural Resource and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. Institute of Agricultural Environment and Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China

Abstract Nematodes of the genus *Bursaphelenchus* collected from Guangdong Province were identified by using morphology, rDNA-ITS-RFLP and rDNA-ITS-PCR-sequencing. *B. fungivorus* and *B. doui* were isolated from a growing substrate for *Ficus microcarpa* in Panyu and wood packaging material in Dongguan respectively. *B. fungivorus* was a new geographic record species in China, and *B. doui* was a new geographic record species in Chinese Mainland.

Key words *Bursaphelenchus fungivorus*; *Bursaphelenchus doui*; new record species; China

(责任编辑:陈红叶)