

许媛,成玮,颜伟中,等. 上海地区草莓枯萎病病原菌的鉴定及对 4 类杀菌剂的敏感性[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):115-121.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.019

上海地区草莓枯萎病病原菌的鉴定 及对 4 类杀菌剂的敏感性

许媛¹,成玮²,颜伟中²,肖婷¹,王建华¹,吉沐祥¹,杨敬辉¹

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏句容 212400; 2. 上海市农技推广中心,上海 200000)

摘要:为阐明上海地区草莓枯萎病病原菌分类地位及对药剂的敏感性。运用真菌形态学和分子生物学分类方法,对上海地区不同草莓种植区分离得到的 34 株病原菌进行鉴定,并采用菌丝生长速率法测定了病原菌群体对 4 种不同作用机制杀菌剂的敏感性。结果表明,34 株病原菌均鉴定为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*),病原菌群体对多菌灵、咪鲜胺、戊唑醇和吡唑醚菌酯的抑制中浓度(EC_{50})范围分别为 0.302 7~0.556 2、0.001 1~0.148 2、0.036 1~0.299 7、0.036 8~1.721 6 mg/L。病原菌群体对多菌灵和戊唑醇的 EC_{50} 比值分别为 1.8、8.3,而对咪鲜胺和吡唑醚菌酯的 EC_{50} 比值分别达 134.7、46.8。上海市域范围内不同地区间的尖孢镰刀菌对同种杀菌剂的敏感性之间无显著性差异,对 4 类不同作用机制杀菌剂之间的敏感性也无显著相关性($P>0.05$)。本研究结果明确了上海地区草莓枯萎病病原菌的分类地位,可以为合理选用杀菌剂防治病害及病原菌抗药监测提供参考。

关键词:草莓枯萎病病原菌;病原菌鉴定;多菌灵;戊唑醇;咪鲜胺;吡唑醚菌酯;敏感性

中图分类号: S436.68⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)04-0115-06

上海地区草莓种植面积约为 2 000 hm²,主要分布在嘉定、青浦、金山和浦东等地区。近几年,在上海地区部分大棚草莓移栽初期土传病害危害严重,尤其以枯(黄)萎病为盛。发病植株地上部分新生心叶呈黄绿色、不对称,呈大小叶状,地下根呈黑褐色,严重时整株枯死,对大棚草莓的产量和品质造成了极大的影响。由于该病田间危害症状与黄萎病极其相似,仅从田间表现形态上难以准确区分。因此,本研究对从上海地区草莓主产区显枯(黄)症草莓植株上分离得到病原菌群体进行鉴定,并检测病原菌群体对 4 种不同作用机制杀菌剂的敏感性,旨在为探明上海地区草莓枯萎病病原菌群体的分类地位,明确病原菌群体对不同作用机制杀菌剂的敏感性现状,以及为科学防控和抗药性监测提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试培养基

马铃薯琼脂培养基(potato dextrose agar,简称 PDA),用于病原菌的分离、保存、鉴定和药剂敏感性测定。

1.2 菌株采集与分离

于 2016 年 9 月草莓移栽初期,从上海市嘉定区、青浦区和金山区大棚草莓园内采集初发病症的新鲜草莓根部组织,洗净并用乙醇表面消毒后,采用常规的组织分离方法^[1],每个大棚分离 3~5 株,经单孢纯化后共得到 34 株菌株,将各菌株编号并保存于 PDA 斜面上,置 4℃ 冰箱保存备用。

1.3 供试药剂

97.09% 多菌灵原药,由上海升联化工有限公司提供;95.2% 咪鲜胺,由江苏辉丰农化股份有限公司提供;95% 戊唑醇,由江苏盐城利民农化有限公司提供;95% 吡唑醚菌酯,由德国巴斯夫股份(中国)有限公司提供。多菌灵用 0.1 mol/L 盐酸溶解,其余原药均用丙酮溶解,各药剂均配制 10 000 mg/L 的母液。99% 水杨肟酸(salicylhydroxamic acid,简称 SHAM),购自 Sigma-Aldrich 公司,用甲醇配制成 20 000 mg/L 的母液。所有母液均置于 4℃ 保存备用。

收稿日期:2018-12-26

基金项目:江苏省第五期“333”工程培养基金(编号: BRA2017149);

上海市农业委员会示范推广计划[编号:沪农推字(2015)第 2-7 号];江苏省农业工程[编号: SXGC(2017)214]。

作者简介:许媛(1991—),女,江苏兴化人,硕士,助理研究员,主要从事植病生防和化保方面的研究。Tel: (0511)80978081; E-mail: xyyuan007@163.com。

通信作者:杨敬辉,博士,研究员,主要从事农作物病害防控方面的研究。Tel: (0511)80978081; E-mail: yjhnn32@126.com。

表 1 草莓枯萎病病菌菌株信息

采样地点	菌株数 (株)	菌株编号
上海市嘉定区	5	16cf 01、16cf 02、16cf 03、16cf 04、16cf 05
上海市青浦区	9	16cf 07、16cf 08、16cf 09、16cf 10、16cf 11、16cf 12、16cf 13、16cf 14、16cf 17
上海市金山区	20	16cf 18、16cf 19、16cf 20、16cf 21、16cf 22、16cf 24、16cf 25、16cf 26、16cf 27、16cf 28、16cf 29、16cf 30、16cf 31、16cf 33、16cf 34、16cf 35、16cf 36、16cf 37、16cf 38、16cf 39

1.4 病原菌形态观察

将经单孢分离得到的菌株移置于 PDA 培养基上,置于 25 ℃ 黑暗条件下培养,并观察其菌落形态、颜色、质地等特征。

1.5 病原菌的致病性测定

1.5.1 病原菌分生孢子液的制备 沿病原菌(25 ℃、PDA 上培养 5 d)边缘打取直径为 4 mm 的菌饼,每个菌株分别挑取 4 块菌饼置于装有 80 mL 马铃薯液体培养液的体积为 250 mL 的三角瓶中,每个病原菌接种 1 个三角瓶,置于 25 ℃、120 r/min 条件下振荡培养 5 d,培养液经双层无菌纱布过滤后,于显微镜下用血球计数板计数,并用无菌水稀释菌液分生孢子浓度至 $1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ 个/mL,每个病原菌保留 100 mL 稀释好的孢子悬浮液,置于 4 ℃ 冰箱备用。

1.5.2 病原菌的接种方法 取红颊草莓幼苗,洗净根部,将苗浸于上述(“1.5.1”节)孢子液中 30 s 后移栽于装有灭菌基质与田土混合(体积比为 2 : 8)的草莓钵钵中,每个菌株接种 3 株草莓苗,以无菌水浸根草莓苗作对照,苗钵置于草莓大棚内培养,21 d 后调查发病情况。取样接种发病的草莓根部组织,参照柯赫氏法则进行病原菌的再分离。

1.6 rDNA - ITS 基因部分序列的测定

1.6.1 基因组 DNA 的提取 在 PDA 平板上新鲜生长的分离菌边缘处打取直径为 4 mm 的菌块,接种于置有灭菌玻璃纸的 PDA 平板上,25 ℃ 暗培养 72 h。将玻璃纸上的新鲜菌丝刮下置于 1.5 mL 离心管中,于 65 ℃ 烘箱中烘干,用镊子捣碎备用。真菌基因组的提取参照 OMEGA 真菌基因组提取试剂盒说明书进行。

1.6.2 PCR 扩增及生物信息学分析 rDNA - ITS 引物采用真菌 rDNA - ITS 序列的通用引物^[2]: ITS1/ITS4(5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG/TCCTCGCTTATTGATATGC - 3'),预期扩增长度为 570 bp。PCR 反应程序:95 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 40 s,55 ℃ 退火 40 s,72 ℃ 延伸 1 min,共进行 40

个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min;取 5 μL 扩增产物,经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送至南京金斯瑞生物科技有限公司进行纯化和测序。将所得序列用 BLAST 搜索软件在 NCBI 数据库中进行同源性搜索比对分析。

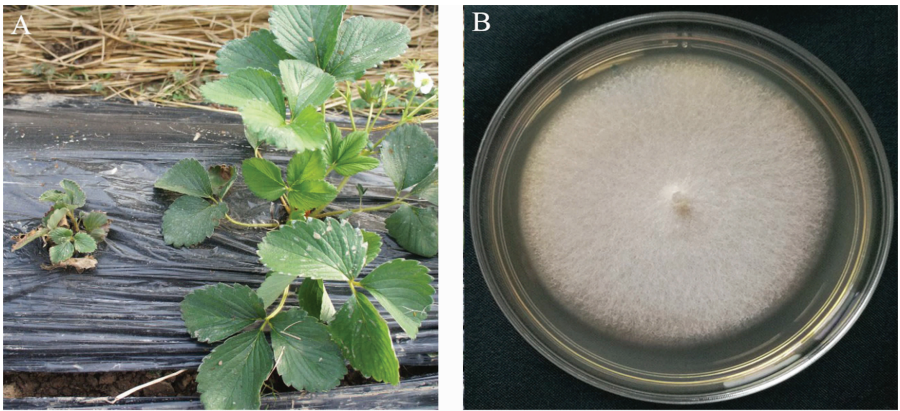
1.7 草莓枯萎病病菌对 4 种杀菌剂的敏感性测定

采用菌丝生长速率法^[3],将保留的供试菌种移植到 PDA 平板中,25 ℃ 活化 96 h,然后在菌落边缘用打孔器制取直径为 4 mm 的菌块,移到含系列梯度药剂浓度 PDA 平板正中央。多菌灵系列浓度为 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80、1.60、3.20 mg/L;咪唑胺系列浓度为 0.005、0.010、0.020、0.040、0.080、0.160、0.320 mg/L;戊唑醇系列浓度为 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80、1.60、3.20 mg/L;吡唑醚菌酯系列浓度为:0.625、1.250、2.500、5.000、10.000、20.000 mg/L,吡唑醚菌酯测定时所有平板中都含 100 mg/L SHAM。采用无菌水作对照,每个处理重复 3 次。25 ℃ 培养 72 h 后用十字交叉法测量各处理的菌落直径(cm),计算各处理的菌落直径平均值,并按照下列公式计算菌丝生长平均抑制率:菌丝生长平均抑制率 = [(对照菌落直径均值 - 处理菌落直径均值)/(对照菌落直径均值 - 接种菌饼直径)] × 100%。利用 DPS 软件,通过浓度对数值(*x*)与抑制率概率值(*y*)之间的线性回归关系,求出毒力回归方程和有效抑制中浓度(EC₅₀)。

2 结果与分析

2.1 病害症状及病原菌培养性状观察

发病草莓植株地上部分复叶呈黄绿色、卷曲,呈现大小叶状,叶缘变褐、萎蔫至枯死;地下部分呈黑褐色,维管束变褐。采用组织分离法,从上海市嘉定区、青浦区、金山区的不同草莓大棚的草莓病株根颈内组织上共分离纯化得到 34 株单孢菌株(表 1)。分离株在 PDA 培养基上菌丝形态呈白色、质密、絮状(图 1)。



A. 草莓枯萎病田间症状 B. 分离菌菌落形态

图1 草莓枯萎病的发病症状及病原物的分离培养

2.2 病原菌致病性测定

在人工接种草莓幼苗 21 d 后,地上部分新生心叶变黄、呈现大小叶,或叶缘变褐出现萎蔫症状,病情进一步发展后植株死亡,剖开根颈可见内部变褐,与田间观察到的症状一致。从接种发病的草莓根颈内分离得到的菌株与接种所用菌株的菌落形

态相似。由此可见接种所用的菌株是引起草莓枯萎病的病原菌(图 2)。

2.3 rDNA - ITS 的 PCR 扩增及序列测定

菌株 rDNA - ITS 的 PCR 扩增产物电泳结果表明,所有菌株的扩增条带都清晰、明亮,大小均约为 570 bp 的片段,而且不见明显的非特异性杂带,符



接种发病株根部横切

未接种健株根部横切

图2 病原菌孢子悬浮液接种草莓苗发病症及根部横切

合预期的扩增结果。测序和同源性序列进行比对分析结果表明,所有菌株均为尖把镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)。

2.4 草莓枯萎病病菌对 4 种杀菌剂的敏感性检测

采用菌落生长直径法测得多菌灵、咪鲜胺、戊唑醇和吡唑醚菌酯对 34 株草莓枯萎病病菌的 EC_{50} 值分别为 $(0.449\ 4 \pm 0.077\ 7)$ 、 $(0.025\ 5 \pm 0.031\ 6)$ 、 $(0.122\ 7 \pm 0.059\ 1)$ 、 $(0.467\ 5 \pm 0.415\ 9)$ mg/L。34 株草莓枯萎病群体对多菌灵和戊唑醇的敏感性差异较小,最大和最小 EC_{50} 比值分别为 1.8、8.3;而对咪鲜胺和吡唑醚菌酯的敏感性差异较大,最大和

最小 EC_{50} 比值分别为 134.7、46.8。

2.5 不同地理来源菌株对 4 种杀菌剂的敏感性差异

分别比较取自嘉定区、青浦区和金山区的草莓枯萎病病菌对供试药剂的敏感性差异。结果(图 3)表明,对多菌灵的敏感性表现为金山区 > 青浦区 > 嘉定区(图 3-A),对咪鲜胺、戊唑醇和吡唑醚菌酯的敏感性均表现为嘉定区 > 金山区 > 青浦区;不同地区来源的草莓枯萎病病菌对同种杀菌剂的敏感性之间存在差异,但上述差异均未达显著水平($P > 0.05$)。

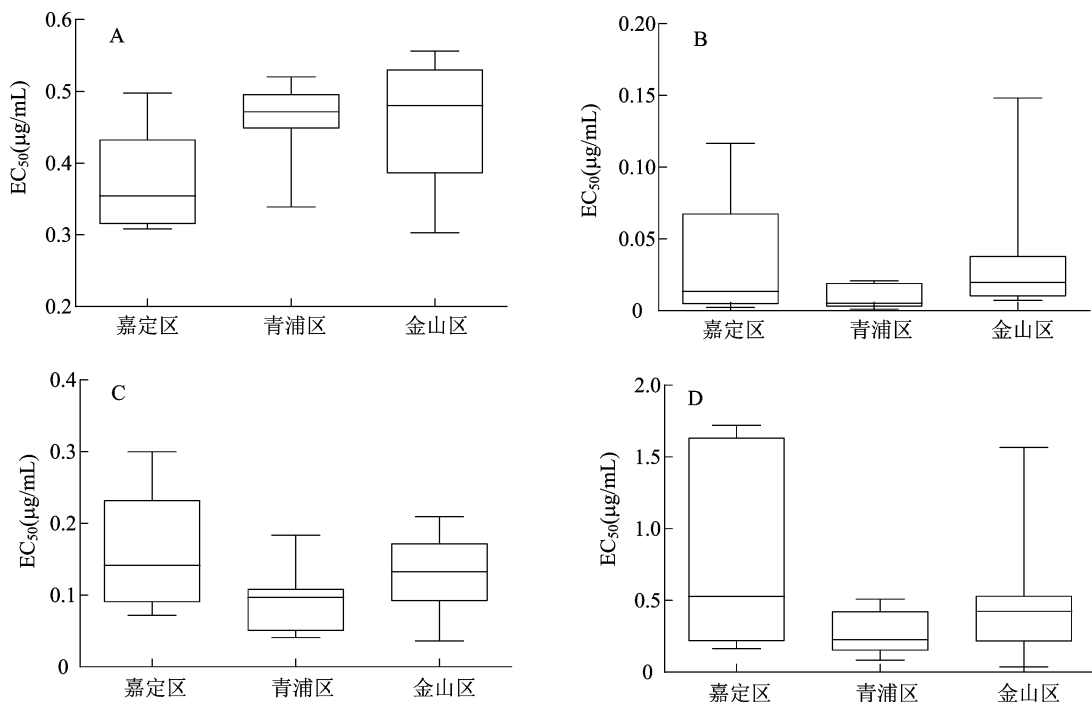


图3 不同地区来源的草莓枯萎病病菌对多菌灵(A)、咪鲜胺(B)、戊唑醇(C)、吡唑醚菌酯(D)的敏感性比较

2.6 草莓枯萎病病菌对 4 种杀菌剂敏感性的相关性

通过敏感性(EC_{50})线性回归分析(图 4)得出,多菌灵与咪鲜胺、多菌灵与戊唑醇、多菌灵与吡唑醚菌酯、咪鲜胺与戊唑醇、咪鲜胺与吡唑醚菌酯及戊唑醇与吡唑醚菌酯的决定系数分别为 0.004 6、0.011 4、0.063 1、0.200 9、0.046 8、0.007 6,在 $P = 0.05$ 水平上均不显著,表明草莓枯萎病病菌对这 4 种不同作用机制的杀菌剂的敏感性之间均无显著相关性。

3 结论与讨论

植物病原菌的鉴定及对药剂的室内敏感性测

定与筛选工作,是正确指导田间病害防治的前提。本研究首次系统分离了上海市主要草莓产区呈现草莓枯(黄)萎综合症样株的病原菌种群,并采用传统的形态学和现代分子生物学相结合的方法,对病原菌进行鉴定。鉴定结果表明,所有分离菌株均属尖孢镰刀菌,其分类地位为半知菌亚门、瘤座菌科、镰孢属、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*),该结果与吴祥等的报道^[4-7]相一致。

值得与同行探讨的是,本研究取样时间为草莓定植期初期,取样病株为枯(黄)萎病综合症病株,即发病幼苗新生叶失绿变黄或弯曲畸形、复叶上的两侧小叶不对称呈畸形(典型的大小叶)、叶色黄化的病株,而非萎蔫枯死的枯萎病症株。组织分离均

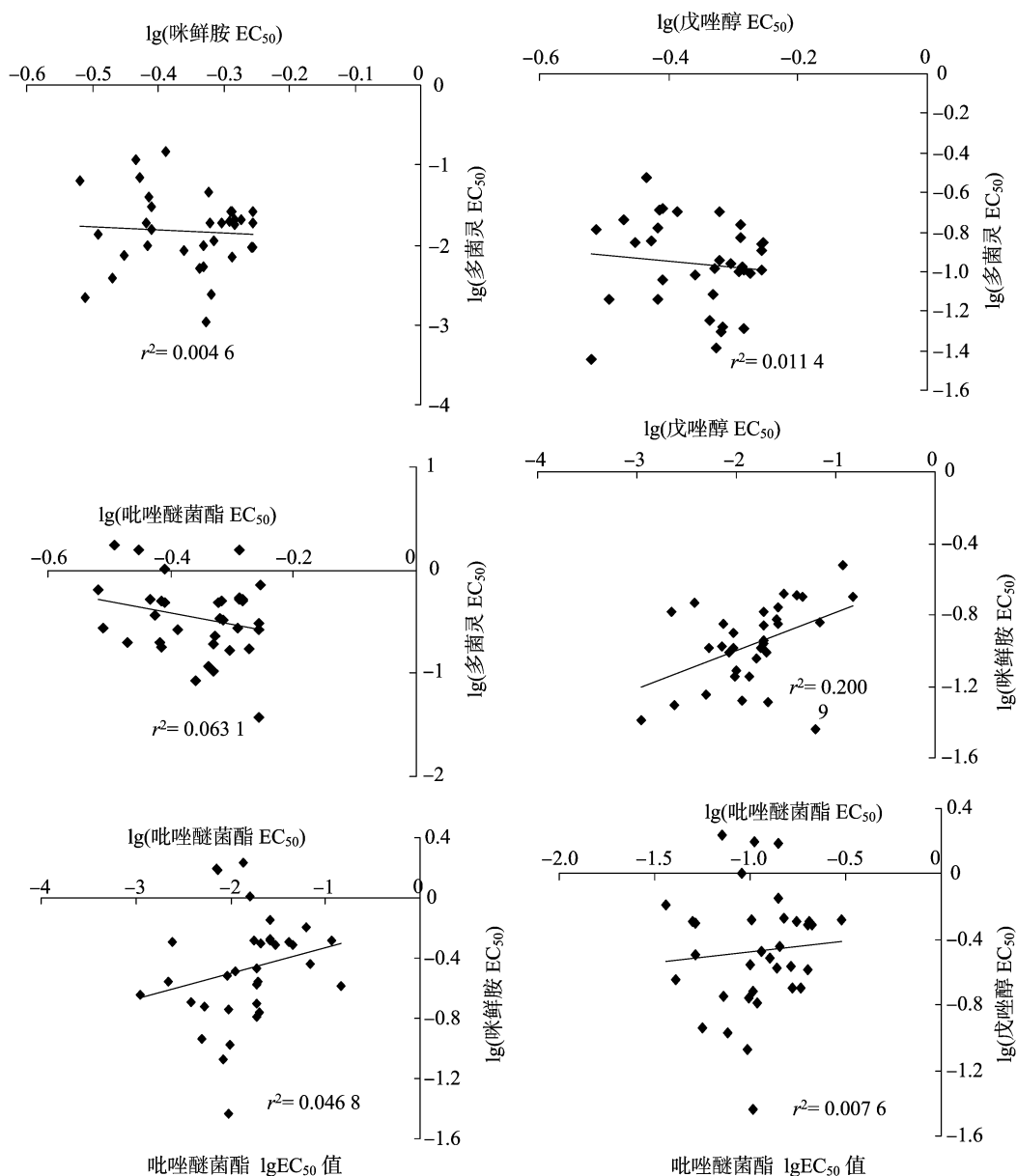


图4 草莓枯萎病病菌对 4 种杀菌剂敏感性的相关性分析结果

用根颈内部的褐色组织,所有分离菌株从菌落培养特征上可以初步判定为镰孢霉属(*Fusarium* spp.),没有一个菌株的菌落形态类似轮枝孢属(*Verticillium* spp.)。类似的,从江苏省苏南地区镇江市、苏州市和无锡市的显枯(黄)复合症病株上,也只分离得镰孢霉属致病真菌。为此,从上述病原菌分离鉴定结果似乎可以得出,苏南和上海地区危害草莓根部显枯(黄)萎病症的病原菌,都是镰孢霉属真菌,而非轮枝孢属真菌。

本研究检测了上海市嘉定区、青浦区和金山区 3 个草莓主产区的草莓枯萎病病群体,对目前生产上常用的苯并咪唑类、咪唑类、甾醇脱甲基抑制

剂类和甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的敏感性。上海地区草莓枯萎病菌种群对多菌灵的 EC_{50} 均值为 0.449 4 mg/L,略小于顾春波等报道的山东省草莓枯萎病病菌对多菌灵的敏感基线 EC_{50} 均值(0.561 mg/L)^[8],而与陈宏州等报道的江苏省草莓枯萎病病菌抗多菌灵菌株的 EC_{50} 均值(24.278 3 mg/L)^[9],和杨焕青等报道的山东省抗多菌灵的草莓枯萎病病菌菌株的 EC_{50} (49.490 0 mg/L)有极显著性差异^[10]。本研究草莓枯萎病病菌种群间对多菌灵的最大与最小 EC_{50} 的比值只有 1.8(0.302 7 ~ 0.556 2 mg/L),且菌株敏感性频率分布呈连续性单峰曲线,可以把 EC_{50} 均

值(0.449 4 mg/L)作为上海地区草莓枯萎病种群抗药性检测的敏感基线。综上分析,可以得出上海地区草莓枯萎病菌种群对多菌灵敏感。

裴龙飞等报道 112 株蔬菜尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)对咪鲜胺的平均 EC_{50} 为 0.030 1 mg/L,并将此值定为抗性检测的敏感基线^[11]。本研究取样的 34 个菌株 EC_{50} 均值(0.025 5 mg/L)小于报道的敏感基线值,但菌株间的最大和最小 EC_{50} 比值达到 134.7(0.001 1~0.148 2 mg/L),且菌株敏感性频率呈不连续分布,因此种群中可能产生了敏感性下降的亚群体。本研究取样菌群中只有 6 株菌株的 EC_{50} (0.040 6~0.148 2 mg/L)超过报道值,其余 28 株菌株中 EC_{50} 值小于 0.01 mg/L (0.0010~0.009 9 mg/L)的有 13 株菌株,有 15 株菌株的 EC_{50} 在 0.0100~0.029 8 mg/L 之间。基于上述原因,在上海地区草莓枯萎病病菌对咪鲜胺的敏感基线 EC_{50} 的确立时,应取去除 EC_{50} 陡然增高的 2 株菌株(16cf25 和 16cf04)后的 EC_{50} 均值(0.018 8 mg/L)为抗药性检测的敏感基线较为适合,还需要从分子水平确定 EC_{50} 陡然增高的 2 株菌株是抗性菌株,还是种群间的极端变异株菌株。

上海地区草莓枯萎病病菌取样种群对戊唑醇的 EC_{50} 均值为 0.122 7 mg/L,低于顾春波等报道的山东省草莓枯萎病菌敏感菌株种群对戊唑醇的 EC_{50} (0.213 0、0.357 0、0.470 5 mg/L)^[8,10,12],近似于陈宏州报道江苏省草莓枯萎病菌对戊唑醇的 EC_{50} (0.154 4 mg/L)^[9]。本研究草莓枯萎病病菌种群间对戊唑醇的最大与最小 EC_{50} 比值为 8.3 (0.036 1~0.299 7 mg/L),且种群敏感性频率分布呈连续性单峰曲线,可以把取样种群 EC_{50} 均值(0.122 7 mg/L)作为上海地区草莓枯萎病病菌对戊唑醇抗药性检测的基线,并指出上海地区草莓枯萎病病菌种群对戊唑醇敏感,没有出现敏感性下降的亚群体。

文献检索表明,国内外有关草莓枯萎病病菌对吡唑醚菌酯敏感基线的研究尚未见报道,本研究中取样种群对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 均值为 0.467 5 mg/L,种群间对吡唑醚菌酯的最大与最小 EC_{50} 比值为 46.78 (0.036 8~1.721 6 mg/L)。取样的 34 株菌株中有 4 株菌株的 EC_{50} 陡增,超过 1.0 mg/L。因此,在确定种群对吡唑醚菌酯的敏感性基线时,应取去除 EC_{50} 陡增的 4 株菌株后种群的 EC_{50} 均值为宜,本研究中确定的草莓枯萎病病菌对吡唑醚菌酯的抗药

性检测基线的 EC_{50} 为 0.334 7mg/L,仅供参考。取样种群病菌对吡唑醚菌酯的敏感性频率呈不连续分布,说明上海地区草莓枯萎病对吡唑醚菌酯可能产生了敏感性下降的亚种群。我们还需要从分子水平上确定 EC_{50} 陡增的 4 株菌株是抗性菌株,还是极端变异菌株。

草莓枯萎菌是土壤传播病害,病原菌抗药性在跨区域间流行传播的可能性较小。本研究表明,不同地区间枯萎病病菌种群对同一药剂的敏感性间有天然异质性差异(除试验操作外)的可能性,但相邻地区来源的草莓枯萎病病菌对同种杀菌剂的敏感性之间没有显著性差异($P > 0.05$)。因此,有必要研究上海地区草莓枯萎病病菌种群对药剂的敏感性,便于与其他省份的报道相对比。本研究中确定的上海地区草莓枯萎病病菌种群对多菌灵、咪鲜胺和戊唑醇的敏感基线值都小于其他省份的报道值,说明不能通过直接参考其他省份的数据,来当作上海地区草莓枯萎病病菌种群对药剂的敏感性基线。

在本研究中,虽然取样菌株不是未接触过药剂的野生菌株,但鉴于上海地区还未有草莓枯萎病病菌种群对苯并咪唑类、咪唑类、甾醇脱甲基抑制剂类和甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的敏感性研究。因此,可以把本研究中草莓枯萎病病菌种群的平均 EC_{50} (有些去除陡增大的值)作为抗药性检测的敏感基线。需指出的是,由于任何敏感基线的建立都是各自实验室特有的,因此,本研究中建立的敏感基线值仅供同行研究时参考。

参考文献:

- [1] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:农业出版社,1979:124-125.
- [2] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[J]. PCR Protocols, 1990, 38:315-322.
- [3] Chen L, Zhu S, Lu X, et al. Assessing the risk that *Phytophthora melonis* can develop a point mutation (V1109L) in CesA3 conferring resistance to carboxylic acid amide fungicides[J]. PLoS One, 2012, 7(7):e42069.
- [4] 吴祥, 姚克兵, 吉沐祥, 等. 句容地区草莓枯萎病病原菌的分离鉴定及田间防治[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(4):764-770.
- [5] 伊海静, 陈艳, 刘正坪, 等. 草莓枯萎病菌的分离鉴定及防治药剂筛选[J]. 西北农业学报, 2016, 25(4):626-635.
- [6] 于红梅, 赵密珍, 王静, 等. 草莓枯萎病菌的分离、鉴定及生物学特性[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(11):124-127.
- [7] 王振华, 张建坤, 龚国祥, 等. 草莓枯萎病菌的分离与鉴定[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(14):3297-3299.

杨吕娟,张子俊,张卫红. 新疆农牧区拟蛹螺属 2 种蜗牛形态特征和分子数据的比较研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):121-126.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.020

新疆农牧区拟蛹螺属 2 种蜗牛形态特征 和分子数据的比较研究

杨吕娟, 张子俊, 张卫红

(新疆大学生命科学与技术学院,新疆乌鲁木齐 830046)

摘要:拟蛹螺属(*Pseudonapaeus*)种类多为农牧业的害虫,不仅危害各种蔬菜、花卉,其中某些种类还是家畜、家禽双腔科吸虫的中间宿主。本研究主要探究该属形态相似 2 种蜗牛的形态解剖学和分子生物学特征,确定它们分类,为该类动物的防治和系统分类学研究提供数据基础。形态结果显示,2 种蜗牛的生境,贝壳质地、大小和颜色,齿舌以及颚片的形态结构相似;但贝壳形状、壳口齿数、生殖系统的解剖特征等存在显著差异。其中,一种为钻拟蛹螺 *Pseudonapaeus miser*(Martens,1874),另一种为新种,即吐尔根拟蛹螺 *Pseudonapaeus tuegenensis* sp. nov.。分子结果显示:(1)基于 *COI* 基因序列(651 bp)构建的系统发育树中,新种和钻拟蛹螺以高支持率(后验概率 96%)形成一个单系(支系 A),显示二者有密切的亲缘关系,但是钻拟蛹螺 3 个个体以高支持率(后验概率 100%)聚为一支,与新种产生分歧;(2)基于 *ITS1* 基因序列(610 bp),新种与钻拟蛹螺之间的遗传距离为 13.7%(12.5%~15.1%)(与本属其他种间的遗传距离更大),显著高于种内遗传距离 2.5%(1.3%~3.5%)。结合 *COI* 基因系统发育树的结果,支持二者为不同种。分子分析的结果支持比较形态学的结果,确定吐尔根拟蛹螺 *P. tuegenensis* sp. nov. 不同于钻拟蛹螺 *P. miser*(Martens,1874)为一新种,利用分子系统学方法研究该属的分类问题在国内为首次。

关键词:拟蛹螺属;形态解剖;*COI* 基因;*ITS1*;新种;新疆

中图分类号:S433.89

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2020)04-0121-06

拟蛹螺属(*Pseudonapaeus*)由 Westerlund 于 1887 年建立,隶属于腹足纲(Gastropoda)柄眼目(Stylommatophora)艾纳螺科(Enidae)。该属的多数种类是农业和畜牧业的害虫,常危害各种蔬菜、花卉的幼芽、嫩叶等,其中某些种类为家畜、家禽及野生动物双腔科吸虫的中间宿主^[1-2]。陈德牛等报道双腔吸虫病在新疆牧区广为流行,大大影响家畜的体膘和产毛量,甚至引起牲畜死亡,其中间宿主为

某些陆生螺类(包括艾纳螺科的一些种类)^[3]。

拟蛹螺属地理分布较窄,主要分布于中亚以及印度半岛西北部,现记载有 40 余种^[4]。我国对该属的研究相对不足,到目前为止仅报道一种,即钻拟蛹螺 *P. miser*(Martens,1874)。该种在国外分布于塔吉克斯坦、哈萨克斯坦、吉尔吉斯斯坦、俄罗斯、土耳其等地区,在我国仅在新疆阿勒泰、木垒、库勒勒、乌什、阿克苏及天山一带农田和牧区有分布^[5-8]。本研究采用比较形态解剖学和分子分析的方法,对采自新疆伊犁贝壳相似的拟蛹螺属 2 种蜗牛的贝壳形态,齿舌、颚片的电镜扫描结构,生殖系统的解剖特征,线粒体基因(*COI*)以及核基因(*ITS1*)的 DNA 序列进行详尽的比较研究,确定它们的分类,其中一种为钻拟蛹螺 *P. miser*,另一种为新

收稿日期:2018-11-17

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260506)。

作者简介:杨吕娟(1992—),女,四川遂宁人,硕士,主要从事贝类学研究。E-mail:YLJ687592@163.com。

通信作者:张卫红,硕士,副教授,主要从事贝类学研究。E-mail:zwh6879a@163.com。

[8]顾春波,史晓斌,姜莉莉,等. 草莓枯萎病菌对多菌灵的抗性及其抗性菌株生物学特性[J]. 植物保护学报,2010,37(3):266-272.

[9]陈宏州,庄义庆,杨敬辉. 黄麻链霉菌 NF0919 菌株对草莓枯萎病的生防活性初探[J]. 江西农业学报,2014,26(11):54-57.

[10]杨焕青,王开运,范 昆,等. 草莓枯萎病菌的生物学特性及 7 种杀菌剂对其抑制作用[J]. 植物保护学报,2008,35(2):

169-174.

[11]裴龙飞,朱发娣,柴阿丽,等. 中国华北地区瓜类尖孢镰刀菌对咪鲜胺的敏感性抗药突变株生物学性状研究[J]. 农药学报,2016,18(5):575-581.

[12]林才华,王开运,顾春波,等. 山东省草莓枯萎病菌对四种三唑类杀菌剂的敏感性检测[J]. 植物保护学报,2009,36(1):55-60.