# 辽宁松材线虫及其伞滑刃属近缘种的种群结构

夏蕤!张瑞芝! 李丹蕾! 吴昊<sup>2</sup> 姜生伟<sup>2</sup> 王峰<sup>1,2\*</sup>

(1. 东北林业大学林学院,黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点实验室,黑龙江哈尔滨 150040;

2. 沈阳工学院, 辽宁省危险性林业有害生物防控重点实验室, 辽宁 沈阳 110001)

**摘要:**为明确辽宁省松材线虫及其伞滑刃属近缘种的种类和分布,揭示以松材线虫作为优势种的伞滑刃属线虫遗 传多样性。通过对辽宁省14个市的萎蔫死亡松木样本进行系统调查,采用形态计量学与分子系统发育学相结合 的方法,开展伞滑刃属线虫鉴定及遗传结构分析研究。结果显示:1)形态学与分子鉴定共确认4种伞滑刃属线虫, 其中松材线虫为优势种,拟松材线虫为次优势种。2)采集到的伞滑刃属线虫与对应的物种的rDNA-28S D2-D3 区 序列的同源性高达99%,与形态学鉴定结果一致,辽宁省松材线虫种内虫株间存在密切的遗传关系,总体遗传多样 性较高(*H*<sub>a</sub>=0.967, *P*<sub>i</sub>=0.011)。3)松材线虫6个地理种群存在中等程度遗传分化(*F*<sub>sr</sub>=0.216),大部分遗传变异来源于 地理种群内虫株间(6个地理种群内变异占比78.36%, *σ*<sup>2</sup>=3.379),表明辽宁省存在多源性入侵路径。研究结果揭示 了辽宁省松材线虫复合种的生物多样性格局及种群遗传结构特征,为该病害的分子流行病学溯源及区域化精准 防控提供了重要的理论基础和数据支撑。

关键词:松材线虫;伞滑刃属;系统发育;遗传多样性

中图分类号: S763.6 文献标识码: A 文章编号: 2097-5279(2025)02-0069-12

# Population structure of *Bursaphelenchus xylophilus* and its closely related *Bursaphelenchus* species in Liaoning province

XIA Rui<sup>1</sup> ZHANG Ruizhi<sup>1</sup> LI Danlei<sup>1</sup> WU Hao<sup>2</sup> JIANG Shengwei<sup>2</sup> WANG Feng<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Alien Forest Pest Detection and Control-Heilongjiang Province, College of Forestry, Northeast Forestry University,

Harbin 150040, China; 2. Liaoning Provincial Key Laboratory of Dangerous Forest Pest Management and Control,

Shenyang Institute of Technology, Shenyang 110001, China)

**Abstract:** In order to clarify the species and distribution of *Bursaphelenchus xylophilus* and its related species of *Bursaphelenchus* in Liaoning Province, and reveal the genetic diversity of *Bursaphelenchus* with *B. xylophilus* as the dominant species. Based on the systematic investigation of wilting dead pine samples in 14 cities of Liaoning Province, the identification and genetic structure analysis of *Bursaphelenchus* were carried out by combining morphometrics and molecular phylogeny. The results showed that: 1) Four species of *Bursaphelenchus* were identified by morphological and molecular identification, among which *B. xylophilus* was the dominant species and *B. mucronatus* was the subdominant species. 2) The sequence homology of rDNA-28S D2-D3 region between the collected nematodes and the corresponding species was as high as 99%, which was consistent with the results of morphological identification. The results of phylogenetic and genetic diversity analysis showed that there was a close genetic relationship among the intraspecific strains of *B. xylophilus* in Liaoning Province, and the overall genetic diversity was high ( $H_a$ =0.967 0,  $P_i$ =0.010 91). 3) There was moderate genetic differentiation among the six geographical populations of *B. xylophilus* ( $F_{sr}$ =0.216 43), and most of the genetic variation was derived from the strains within the geographical population (the variation within the six geographical populations accounted for 78.36%,  $\sigma^2$ =3.379 12), indicating that there was a multi-source invasion path in Liaoning Province. This study revealed the biodiversity pattern and population genetic structure characteristics of *B. xylophilus* complex in Liaoning Province, and province, and province, and province, and province, and province invasion path in Liaoning Province. This study revealed the biodiversity pattern and population genetic structure characteristics of *B. xylophilus* complex in Liaoning Province, and province, and provided important theoretical basis and data suppo

Keywords: Bursaphelenchus xylophilus; Bursaphelenchus; phylogeny; genetic diversity

收稿日期: 2025-03-10;修回日期: 2025-04-03。

基金项目:国家自然科学基金项目(31971656)。

<sup>\*</sup>通信作者: 王峰(E-mail: fengwang@nefu.edu.cn), 教授。

伞滑刃属 Bursaphelenchus 隶属于侧尾腺纲 Secernentea、滑刃目 Aphelenchida 和寄生滑刃科 Parasitaphelenchidae, 是一类主要通过鞘翅目 Coleoptera 昆虫传 播的食菌或植物寄生线虫(谢辉, 2005; Manuel et al., 2008; 蒋立琴, 2006)。根据伞滑刃属部分线虫的分子 进化分析,已证实伞滑刀属内存在组(group)的分化。 根据目前较完善的分组鉴定系统, 伞滑刃属可分为 xylophilus 组、tokyoensis 组和 hofmanni 组等。其中, xylophilus 组松材线虫 B. xylophilus 为外来入侵物种,不仅 给经济带来重大损失,还破坏生物多样性,严重威胁 森林生态系统安全(顾建锋和王江岭, 2011; 顾建锋, 2014)。由松材线虫引起的松树萎蔫病(pine wilt disease,又称松材线虫病)是树木医学领域的重要防 范对象。2016年,松材线虫首次在东北地区(辽宁大 连沙河口区)发现后迅速扩散至沈阳、抚顺、丹东、 本溪、辽阳和铁岭等地(张瑞芝, 2023; 于海英和吴昊, 2018;于海英等, 2019)。2021年, 松材线虫扩散至吉 林省延边朝鲜族自治州汪清县(2024年已撤销)(王 佳楠等,2024)。

目前,松材线虫病疫情防控面临着多重挑战。 首先,松材线虫与其他伞滑刃属近缘种在形态上具 有高度相似性,进一步增加了其鉴定的难度(顾建锋 和王江岭,2011;顾建锋,2014;何洁和顾建锋,2016)。 这给基层工作人员在疫情监控和病害防治等方面带 来了很大的困难。其次,松材线虫的病害流行学研 究中鉴别单一虫株入侵、多个虫株同时单次入侵和 不同虫株多次入侵的难度较大。第三,作为外来入 侵物种,松材线虫可能因遗传漂变(genetic drift)、奠 基者效应(founder effect)以及快速适应性进化 (adaptive evolution)等过程而导致遗传多样性和种群 遗传结构的变化。因此,深入研究松材线虫和其他 伞滑刃属线虫的遗传多样性及其在不同生态环境中 的适应性变化,对于明确树木病害的传播机制和制 定防控策略至关重要。

辽宁省松材线虫病防控工作也面临着上述挑战。因此,迫切需要开展辽宁省伞滑刀属线虫的调查,明确伞滑刀属线虫的种类组成、丰度和寄主范围,以及 松材线虫与其他伞滑刀属近缘种之间的亲缘关系, 并进一步探讨松材线虫不同地理种群(geographical population)之间的遗传关系。为此,本研究拟通过调 查辽宁省伞滑刀属线虫的种类和分布,结合系统发 育分析,揭示以松材线虫为优势种的伞滑刀属线虫 遗传多样性,为深入了解种群结构、生态功能及种内 遗传差异提供基础数据。通过对辽宁省松材线虫种 群结构及遗传多样性的深入研究,可为树木病害的 预警机制和防控措施提供数据支持,推动树木医学 领域在入侵物种管理和森林生态保护中的应用。

1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

调查地点为辽宁省 14 个市的松材线虫病疫区 (点),采样工作从 2016 年持续至 2024 年,每年同一 采样点重复 3 次(表 1)。采样涵盖多种树种,包括黑 松 Pinus thunbergii Parl、油松 P. tabuliformis Carrière、红 松 P. koraiensis Siebold & Zucc.等。根据疫点林相图及 向导指引,在疫点内采伐萎蔫死亡的松科植物,并从 木材上、中、下 3 部分锯取或劈取约 0.5 cm × 0.5 cm × 5.0 cm 的木条。同时,以疫点萎蔫死亡松树为圆心, 向外踏查半径 5 km 范围内受蛀干害虫侵害的衰弱松 科植物,取其树干木材或萎蔫枝条(直径>0.5 cm)。

本研究将实验室条件下由单一亲本扩繁形成 且稳定遗传的伞滑刃属线虫种群定义为1个虫株 (strain)。以市级行政区划为单位分隔开的伞滑刃属 同一物种的不同亚种群被定义为1个地理种群 (geographical population),包括大连种群、本溪种群、 抚顺种群、丹东种群、辽阳种群和沈阳种群等。例 如,本溪种群为一个地理种群,包含BXBx1、BXBx2、 BXBx3和BXBx4等共4个虫株。在25℃避光条件下, 将线虫于灰葡萄孢 Botrytis cinerea Persoon 菌苔上单 一的亲本扩繁(曹淑可等, 2021),采用贝尔曼漏斗法 分离培养后的线虫。供试伞滑刃属线虫保存于东北 林业大学黑龙江省外来林木病虫害监测与防控重点 实验室,松材线虫保存于辽宁省危险性林业有害生 物防控重点实验室。本文所涉及的松材线虫活体试 验均在疫区实验室开展,相关材料均已在试验后进 行无害化处理。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 线虫形态学特征观察及鉴定

解剖镜下挑取单条线虫成虫,使用热杀死方法 将线虫制成临时玻片并在显微镜下观察虫体状态。 分别观察 20条雌成虫和雄成虫的主要形态特征,包 括口针、食道球、雌成虫阴门、阴门盖、尾部形态、 雄成虫交合刺和交合伞等,进行初步鉴定。按照 De Man 公式,测量虫体相关部位数据,包括体长(L)、 体长与最大体宽之比(a)、体长与尾长之比(c)、头端 至阴门的长度与体长之比(V)、口针长度(St)和交合 刺长度(Sp)(张瑞芝, 2023)。

使用 Excel 2023 计算松材线虫和拟松材线虫雌、

虫株 Strain	种类 Class	种名 Latin names	寄 主 Host	寄主种名 Latin name of the host	来 源 Source	复检结果 Re-inspection result	疫区(点)撤销 <sup>*</sup> Revocation of epidemic areas(points)
FSBx1	松材线虫	B. xylophilus	红松	P. koraiensis Siebold & Zucc.	抚顺市东洲区 (41.914 855°N, 124.148 324°E)	阴性	否
FSBx2	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	抚顺市东洲区 (41.953 890°N, 124.227 236°E)	阴性	否
LYBx	松材线虫	B. xylophilus	红松	P. koraiensis Siebold & Zucc.	辽阳市灯塔市 (41.336 284°N, 123.574 700°E)	阴性	否
DLBx1	松材线虫	B. xylophilus	黑松	P. thunbergii Parl.	大连市沙河口区 (38.900 616°N, 121.553 964°E)	阴性	是
DLBx2	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	大连市长海县獐子岛 (39.025 590°N, 122.728 403°E)	阴性	否
DLBx3	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	大连市长海县獐子岛 (39.012 788°N, 122.754 659°E)	阴性	否
DLBx4	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	大连市长海县獐子岛 (39.020 266°N, 122.753 294°E)	阴性	否
DLBx5	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	大连市长海县獐子岛 (39.033 113°N, 122.717 702°E)	阴性	否
DLBx6	松材线虫	B. xylophilus	黑松	P. thunbergii Parl.	大连市长海县獐子岛 (39.011 212°N, 122.754 003°E)	阴性	否
DLBx7	松材线虫	B. xylophilus	黑松	P. thunbergii Parl.	大连市长海县獐子岛 (39.030 338°N, 122.730 278°E)	阴性	否
BXBx1	松材线虫	B. xylophilus	樟子 松	P. sylvestris var. mongholica Litv	. 本溪市溪湖区 (41.474 171°N, 123.659 73°E)	阴性	否
BXBx2	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市溪湖区 (41.474 236°N, 123.659 139°E)	阴性	否
BXBx3	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市明山区 (41.381 603°N, 123.779 866°E)	阴性	否
BXBx4	松材线虫	B. xylophilus	樟子 松	P. sylvestris var. mongholica Litv	. 本溪市溪湖区 (41.363 689°N, 123.781 537°E)	阴性	否
DDBx	松材线虫	B. xylophilus	樟子 松	P. sylvestris var. mongholica Litv	. 丹东市振兴区 (40.133 275°N, 124.376 420°E)	阴性	是
SYBx	松材线虫	B. xylophilus	油松	P. tabuliformis Carrière	沈阳市浑南区 (41.838 810°N, 123.596 556°E)	阴性	否
BXBm1	拟松材线虫	B. mucronatus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市明山区 (41.377 955°N, 123.777 719°E)	阴性	否
BXBm2	拟松材线虫	B. mucronatus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市明山区 (41.299 279°N, 123.947 475°E)	阴性	否
BXBm3	拟松材线虫	B. mucronatus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市明山区 (41.308 879°N, 123.941 656°E)	阴性	否
BXBm4	拟松材线虫	B. mucronatus	油松	P. tabuliformis Carrière	本溪市明山区 (41.377 955°N, 123.777 719°E)	阴性	否
Вр	小刺伞滑刃线虫	B. parvispicularis	黑松	P. thunbergii Parl.	大连市长海县獐子岛 (39.024 771°N, 122.731 561°E)	阴性	否
Bt	东京伞滑刃线虫	B. tokyoensis	黑松	P. thunbergii Parl.	大连市长海县广鹿岛 (39.161 965°N, 122.356 680°E)	阴性	是

## 表 1 辽宁省伞滑刃属线虫种类 Tab. 1 Species of *Bursaphelenchus* in Liaoning Province

\*注: 疫区(点)撤销数据截至2024年。

\* Notes: The cancellation data of epidemic areas(points) is as of 2024.

雄成虫不同形态指标的变异系数(CV)。采用 SPSS 24.0 对形态测量值数据进行 Z-score 标准化处理,接着利 用 MVSP 软件,基于 UPGMA 法计算 Euclidean 距离, 分别对松材线虫和拟松材线虫雌、雄成虫进行聚类 分析(孔青青, 2021)。

$$CV = { 标准差 \over 平均值} \times 100\%$$
 (1)

1.2.2 线虫分子生物学鉴定

ddH<sub>2</sub>O 清洗线虫后挑取单条线虫放入 200 μL PCR 管中, PCR 管中含有 8 μL ddH<sub>2</sub>O 和 1 μL 10×PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> free), 于液氮中放置 1 min 后 85 ℃加热 2 min。随后,向 PCR 管中加入 1  $\mu$ L 1 mg/mL 蛋白酶 K, 56 °C 加热 15 min, 95 °C 加热 10 min,得到 DNA 提取 液(王江岭等, 2011)。用引物 D2A(5'-ACAAGTACC-GTGAGGGAAAG-3')和 D3B(5'-TCGGAAGGAACC-AGCTACTA-3')对 rDNA-28S D2-D3 区进行扩增(Ye et al., 2013)。PCR 反应程序为 95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 45 s, 72 °C 1 min, 72 °C 10 min, 共 45 个循环;最 后 72 °C 10 min。扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶中进行 电泳检测(Ye et al., 2007)。

1.2.3 线虫系统发育关系分析与松材线虫遗传多样 性分析

PCR 扩增伞滑刀属线虫 rDNA-28S D2-D3 区序列, 通过 MEGA 7.0 比对序列。选用 Kimura 双参数模型 计算种群间遗传距离(genetic distance, D)(钟天星等, 2024),以水稻干尖线虫 Aphelenchoides besseyi 为外群, 结合松材线虫美国种群 USBx、日本种群 JPBx 和中 国宁波种群 NBBx,采用邻接法(neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树,分支的可信度(bootstrap value, BV) 用自展法重复检测 1 000 次。

利用 DnaSP 5.0 计算种群遗传多样性参数,包括 单倍型多样性( $H_a$ )、核苷酸多样性( $P_i$ )等(于家荣等, 2020)。以 H<sub>4</sub>=0.5 和 P<sub>1</sub>=0.005 为临界标准, H<sub>2</sub>>0.5 为 高单倍型多样性, H<sub>d</sub><0.5 为低单倍型多样性, P<sub>i</sub>>0.005 为高核苷酸多样性, Pi<0.005为低核苷酸多样性, 二 者数值越大反映种群的遗传多样性越高(钟天星等, 2024; Grant et al., 1998)。采用 Arlequin 3.11 软件计算 种群间遗传分化指数(fixation statistic, F<sub>st</sub>), 通过 10 000 次重复抽样评估两两种群遗传差异的显著性(孙丽 婷等, 2019), 并对松材线虫不同地理种群进行分子 变异模型分析(AMOVA)(于家荣等, 2020;何震晗, 2021)。采用 R 4.3.2 对种群内虫株间的遗传距离和 地理距离进行 Mantel 检验(于家荣等, 2020)。由于 低于3个虫株的地理种群不足以代表整个种群的遗 传变异,误差极大。因此,本研究仅针对大连种群和 本溪种群进行遗传多样性分析。

2 结果与分析

#### 2.1 辽宁省伞滑刃属线虫形态学特征

2016—2024年,共调查了辽宁省14个市(跨暖温 带和中温带,属于温带季风气候)的伞滑刃属松材线 虫。使用贝曼漏斗法分离松木内线虫,仅在6个市 (大连市、抚顺市、沈阳市、本溪市、辽阳市和丹东 市)的罹病松木内发现并鉴定出4种伞滑刃属线虫: 松材线虫、拟松材线虫 B. mucronatus、小刺伞滑刃线 虫 B. parvispicularis和东京伞滑刀线虫 B. tokyoensis。 其中,松材线虫为优势种有16个虫株、拟松材线虫 为次优势种有4个虫株、小刺伞滑刃线虫有1个虫 株以及东京伞滑刃线虫有1个虫株。

采用 De Man 公式测量虫体各部位数据,结果表 明,所有虫株均符合伞滑刀属线虫的形态特征。其 中,中食道球呈圆形至卵圆形,符合侧尾腺纲植物线 虫的特征。对不同松材线虫和拟松材线虫的虫株进 行聚类和变异分析结果表明,松材线虫不同地理种 群内虫株的形态指标均表现出显著的变异。基于形 态指标对松材线虫和拟松材线虫雌雄虫的聚类分析 表明,仅凭形态测量值判断种内聚类关系并不准确, 还需结合更多分子标记进行遗传关系分析。

通过形态学观察及测量,松材线虫雌成虫:L= 881 μm(695~1070 μm); a=31.95(23.96~39.94); c=22.54 (15.18~29.90); V=76.52(68.19~84.85); St=11.64 μm (7.89~15.39 μm)。雌虫尾端亚圆锥形,末端较宽,呈圆 形,无尾尖突。雄成虫:L=753 μm(598~871 μm); a= 34.26(23.82~44.71); c=13.10(10.19~16.00); St=11.12 μm (8.03~14.21 μm); 交合 Sp=25.13 μm(21.18~29.08 μm), 喙突显著,远端膨大如盘状、尾圆锥形,向腹弯曲似 鸟爪(表 2)。结果显示,不同的松材线虫株间形态有 一定差异,雄虫的体长和体宽都比雌虫小。16 个虫 株的体长存在差异,其中LYBx体长最长,DLBx3体 长偏短(图 1A)。

对16个虫株的5个形态指标测量值进行聚类分析结果显示,16个虫株可分为2大类。在雌成虫的形态聚类中,SYBx与USBx的关系最为密切,距离系数为0.008(图1B);而在雄成虫中,SYBx与JPBx的关系最为密切,距离系数为0.018(图1C)。根据不同松材线虫虫株的形态学变异分析结果,同一形态指标的变异程度在不同虫株中有所不同,而不同形态指标的变异程度在同一虫株中也存在差异。在雌成虫中,5个形态指标的变异程度最大的是FSBx2,最小的是BXBx4(图1D);在雄成虫中,最大变异程度为FSBx2,最小变异程度为BXBx2(图1E)。

拟松材线虫雌成虫: L=900 μm(690~1120 μm); a=36.83(28.40~45.25); c=24.31(16.30~32.33); V=76.80 (65.38~88.23); St=11.56 μm(7.50~15.63 μm)。雌虫尾 部呈亚圆柱形,端生明显的尾尖突,尾尖突与尾端 缢缩明显。雄成虫: L=730 μm(590~870 μm); a=41.40 (28.68~54.13); c=12.86(10.43~15.30); St=10.94 μm(7.50~ 14.38 μm); Sp=25.94 μm(21.88~30.00 μm)(表 2)。结 果显示,不同拟松材线虫虫株间形态存在一定差异,

		1 0			•	0	
虫株	Strain	L/µm	a	с	St/µm	V/%	Sp/µm
FSBx1	♀ female	901.00±98.29	29.92±4.69	19.09±4.87	13.50±1.49	74.57±3.77	_
	♂ male	842.00±94.34	33.29±6.64	14.07±3.09	12.75±1.60	-	22.37±1.89
FSBx2	$\bigcirc$ female	819.50±123.69	30.84±5.87	18.18±3.89	9.87±2.49	76.87±4.83	-
	$\sqrt[n]{}$ male	719.50±92.53	30.83±3.86	12.83±1.58	9.87±2.74	-	26.62±2.59
LYBx	$\bigcirc$ female	1 071.75±167.45	32.75±5.55	34.22±6.76	13.62±1.51	70.93±4.72	-
	$\delta$ male	928.75±108.96	31.91±3.65	16.45±1.75	13.12±1.11	-	25±2.14
DLBx1	$\bigcirc$ female	995.00±106.20	28.51±3.33	28.45±5.68	13.75±1.52	75.41±4.88	—
	♂ male	838.50±98.47	28.72±4.05	15.31±1.62	13.25±1.64	—	23.12±2.12
DLBx2	$\bigcirc$ female	801.00±65.36	31.73±4.42	20.57±2.43	9.50±2.64	75.98±3.41	-
	$\sqrt[3]{}$ male	672.50±43.87	30.93±4.33	11.73±1.28	9.00±2.20	-	25.25±2.42
DLBx3	$\bigcirc$ female	755.00±60.39	29.87±4.24	17.01±2.74	12.25±3.23	74.45±1.61	-
	$\delta$ male	676.50±66.19	32.73±5.66	11.88±1.49	13.37±2.84	-	25.37±2.59
DLBx4	$\bigcirc$ female	783.50±103.53	28.17±2.77	20.62±2.94	8.37±2.59	74.92±2.41	-
	$\sqrt[3]{}$ male	664.00±59.32	31.14±4.99	12.13±1.23	8.75±2.22	-	25.50±2.64
DLBx5	$\bigcirc$ female	796.00±66.04	26.77±2.06	22.38±4.32	10.87±3.06	75.83±4.68	-
	$\sqrt[3]{}$ male	677.50±68.04	30.72±4.61	12.17±0.94	10.50±2.87	-	25.12±2.06
DLBx6	$\bigcirc$ female	852.00±122.24	33.76±2.66	20.39±3.24	9.00±2.62	75.86±2.63	-
	$\sqrt[3]{}$ male	758.50±96.04	33.42±4.22	12.41±1.80	8.00±1.31	-	26.87±2.67
DLBx7	$\bigcirc$ female	830.50±98.38	32.38±5.09	22.27±2.96	8.75±1.91	75.61±2.11	-
	$\sqrt[3]{}$ male	697.00±84.79	34.51±5.48	12.07±1.69	8.25±1.17	-	23.62±2.36
BXBx1	$\bigcirc$ female	813.00±126.74	26.98±4.07	19.26±4.47	8.50±2.35	76.94±4.41	-
	$\sqrt[n]{}$ male	690.00±54.96	33.47±10.18	12.18±1.38	8.62±1.51	-	26.50±1.88
BXBx2	$\bigcirc$ female	756.00±59.51	32.99±3.75	17.19±1.78	8.62±1.89	74.77±3.30	-
	$\sqrt[n]{}$ male	661.00±43.51	33.23±3.29	$12.06 \pm 0.74$	8.50±2.05	-	23.87±1.89
BXBx3	$\bigcirc$ female	817.50±74.40	30.05±2.58	17.06±3.01	8.87±2.97	75.50±3.01	-
	$\delta$ male	670.00±41.54	30.67±4.09	11.87±1.12	8.87±2.06	-	24.87±1.89
BXBx4	$\bigcirc$ female	758.50±48.15	24.98±3.14	14.23±1.02	9.75±2.28	74.41±1.76	-
	$\delta$ male	700.50±48.93	28.88±3.17	12.77±1.45	9.37±2.42	-	23.62±2.21
DDBx	$\bigcirc$ female	809.00±88.37	28.55±4.23	18.39±3.37	9.62±2.47	75.41±3.51	—
	$\delta$ male	728.00±84.33	31.22±4.38	12.67±1.60	8.87±2.06	-	25.87±2.18
SYBx	$\bigcirc$ female	858.00±124.63	32.35±4.92	23.11±2.64	14.50±2.24	74.98±3.35	—
	$\delta$ male	716.50±112.07	33.48±3.64	12.72±1.52	13.37±1.46	-	24.50±3.20
BXBm1	$\bigcirc$ female	844.00±103.28	36.13±4.45	20.59±3.77	10.50±3.31	76.64±4.36	-
	$\delta$ male	766.50±85.61	35.78±4.42	12.99±1.17	8.00±1.02	-	25.87±3.06
BXBm2	$\bigcirc$ female	835.00±97.03	39.04±5.16	23.92±2.55	11.12±3.57	77.47±5.81	-
	$\delta$ male	757.50±69.34	39.17±3.92	12.64±0.97	8.62±1.89	-	23.87±2.06
BXBm3	$\bigcirc$ female	918.00±157.56	32.19±3.94	26.15±7.64	9.25±2.03	77.94±5.80	-
	$\delta$ male	766.50±92.46	36.03±5.32	12.89±1.36	$10.00 \pm 3.14$	-	26.75±2.16
BXBm4	$\bigcirc$ female	871.50±87.25	35.12±3.96	26.23±4.25	9.50±2.37	77.02±2.94	-
	♂ male	708.00±69.47	41.06±9.35	12.27±1.57	9.00±2.21	-	24.87±2.06
Вр	$\bigcirc$ female	942.50±89.55	33.75±3.68	32.66±10.82	14.00±3.47	75.49±3.69	-
	♂ male	908.00±73.81	31.66±3.61	19.34±1.93	15.12±1.51	-	15.12±2.62
Bt	$\bigcirc$ female	646.50±70.51	28.20±4.05	32.73±5.64	12.63±1.27	78.53±3.98	-
	$\delta$ male	585.00±61.34	30.22±6.69	14.56±2.37	12.37±1.71	-	12.37±0.56

#### 表 2 辽宁省伞滑刃属线虫形态学测量值

Tab. 2 The morphological measurement value of Bursaphelenchus species in Liaoning Province

注:表中数值为"平均值±标准差"。"-"表示该形态指标在雌虫或雄虫中不存在。

Notes: Data in the table are presented as "mean value ± standard deviation". "-" indicates that this morphological index does not exist in females or males.

雄虫体长小于雌虫,4个虫株的体长有显著差异。其中 BXBm3体长最长,BXBm2体长偏短(图 2A)。

对4个虫株的5个形态指标测量值进行聚类分析结果显示,这4个虫株可分为2大类。在雌成虫中, BXBm4与BXBm1的关系最为密切,距离系数为0.999 (图2B);雄成虫中,BXBm4与BXBm2的关系最为密 切,距离系数为0.809(图2C)。根据不同拟松材线虫 虫株的形态学变异分析结果,雌成虫中5个形态指标 变异程度最大的是 BXBm3, 最小的是 BXBm2(图 2D); 在雄成虫中, 变异程度最大的是 BXBm4, 最小变异程 度为 BXBm2(图 2E)。

小刺傘滑刃线虫雌成虫: L=942.50 µm(790.00~ 1 110.00 µm); a=33.75(28.70~40.90); c=32.66(22.60~ 66.00); V=75.49(67.90~86.00); St=14.00 µm(12.50~ 17.50 µm)。雌虫阴门盖不明显,尾部渐细,显著腹弯, 末端圆。雄成虫: L=908.00µm(810.00~1070.00 µm); a=





注: A. 形态照片; B. 雌虫形态聚类分析; C. 雄虫形态聚类分析; D. 雌虫形态变异分析; E. 雄虫形态变异分析(L: 体长; a: 体长/最大体宽; c: 体长/尾长; V: 体前端至阴门的距离×100/体长; St: 口针长)。

Notes: A. Morphological photos; B. Cluster analysis of females morphology; C. Cluster analysis of males morphology; D. Analysis of morphological variation of females; E. Analysis of morphological variation of males (L: body length; a: body length / maximum body width; c: body length/tail length; V: distance from the front end of the body to the vulva×100/body length; St: stylet length).



#### 图 2 不同拟松材线虫虫株的形态学差异 Fig. 2 Morphological differences of different *B. mucronatus* strains

注: A. 形态照片; B. 雌虫形态聚类分析; C. 雄虫形态聚类分析; D. 雌虫形态变异分析; E. 雄虫形态变异分析(L: 体长; a: 体长/最大体宽; c: 体长/尾长; V: 体前端至阴门的距离×100/体长; St: 口针长)。

Notes: A. Morphological photos; B. Cluster analysis of females morphology; C. Cluster analysis of males morphology; D. Analysis of morphological variation of females; E. Analysis of morphological variation of males (L: body length; a: body length / maximum body width; c: body length / tail length; V: distance from the front end of the body to the vulva×100 / body length; St: stylet length).

31.66(24.90~40.40); c=19.34(16.00~23.50); St=15.12 μm (12.50~22.50 μm); Sp=15.12 μm(12.50~17.50 μm)(表2), 交合刺小而宽,基顶短,呈方圆形,远端无盘状突 (图 3A)。

东京傘滑刀线虫雌成虫: L=646.50  $\mu$ m(510.00~740.00  $\mu$ m); a=28.20(20.40~34.85); c=32.73(24.80~45.30); V=78.53(70.40~85.70); St=12.63  $\mu$ m(10.00~15.00  $\mu$ m)。雌虫尾短,末端呈锥形或有小尾尖突状。雄成虫: L=585.00 $\mu$ m(510.00~710.00  $\mu$ m); a=30.22 (18.54~47.33); c=14.56(9.38~20.33); St=12.3  $\mu$ m(10.00~12.50  $\mu$ m); Sp=12.37  $\mu$ m(12.50~17.50  $\mu$ m)(表 2), 交合刺基顶很小,略呈方形,不显著。末端钝圆,无盘状突(图 3B)。其中,东京伞滑刃线虫是继广东省黑松和北京市油松后(扈丽丽等, 2017; 刘乐乐等, 2020),

首次在辽宁省黑松上分离到的。

## 2.2 辽宁省伞滑刃属线虫系统发育关系及松材线虫 遗传多样性

PCR 扩增 rDNA-28S D2-D3 区序列均产生 750 bp 左右的片段(图 4A)。分离得到的松材线虫、拟松材 线虫、小刺伞滑刃线虫和东京伞滑刃线虫,与对应的 物种的同源性高达 99%, 22 个虫株经鉴定无误。对 包括 USBx、JPBx 和 NBBx 在内的 25 个虫株的 rDNA-28S D2-D3 区序列进行分析,A、T、G 和 C 的平均含 量分别为 20.61%、24.42%、34.27% 和 20.68%,A+T 含 量(45.03%)低于 G+C 含量(54.95%),平均发生碱基 转换 22 个,颠换 22 个。共检测到 427 个保守位点和 312 个变异位点,其中有 116 个简约信息位点,192 个 单变异位点,变异位点占 41.6%(图 4B)。序列分析表



图 3 其他伞滑刃属线虫形态 Fig. 3 Morphology of other Bursaphelenchus species 注: A. 小刺伞滑刃线虫; B. 东京伞滑刃线虫。 Notes; A. B. parvispicularis; B. B. tokyoensis.

明,22个虫株在rDNA-28S D2-D3区序列存在显著变 异位点。系统发育分析结果表明,25个虫株明显聚 成3个组,即xylophilus组、tokyoensis组和hofmanni组(图4C),该分类结果与形态学鉴定完全一致。遗传距离分析结果显示,xylophilus组种群内平均遗传距离为0.015,xylophilus组、tokyoensis组和hofmanni组种群间平均遗传距离为0.047。

对16个松材线虫虫株进行分析。结果显示,根据 遗传距离16个虫株可以被划分为6个类群,包括类群1 (SYBx、FSBx2、DLBx3 和 DLBx5)、类 群 2(DLBx4、 DLBx1、DLBx2、FSBx1、BXBx2 和 LYBx)、类群 3(BX-Bx1、DLBx7和DDBx)、类群4(DLBx6)、类群5(BX-Bx3)和类群 6(BXBx4)(图 5A)。其中,类群 1 和类群 3的整体遗传距离较近(D=0.012),类群1和类群2的 整体遗传距离较远(D=0.017)。相同类群内的虫株遗传 距离较近,但地理来源存在差异,表明辽宁省松材线 虫可能存在跨地区传播情况。类群1表现出高单倍 型多样性( $H_d$ =1.000)和中等核苷酸多样性( $P_i$ =0.012), 类群 2(H<sub>d</sub>=1.000, P<sub>i</sub>=0.013) 和类群 3(H<sub>d</sub>=1.000, P<sub>i</sub>=0.00 8)与类群1的结果相似,可能经历了种群扩张事件, 导致新单倍型积累,但核苷酸差异尚未充分增加。最终, 随着种群数量的增加和分布的扩展,松材线虫在辽 宁省内的传播和扩散加剧,从而使得不同地区的虫 株之间具有较近的遗传关系。相同类群内存在同一 虫株与其他多个虫株遗传距离相似的情况。比如, BXBx1和 DLBx7(D=0.004, BV=58.5%), 与 BXBx1和



图 4 辽宁省伞滑刃属线虫系统发育分析



注: A. rDNA-28S D2-D3 区序列 PCR 扩增结果; B. 序列比对; C. 系统发育树。

Notes: A. The results of PCR amplification of rDNA-28S D2-D3 region gene; B. Sequence alignment; C. Phylogenetic tree.



#### 图 5 辽宁省松材线虫遗传多样性分析 Fig. 5 Genetic diversity map of *B. xylophilus* in Liaoning Province

注: A. 松材线虫种内系统发育树; B. 不同地理种群遗传关系(黄色: 类群 1; 蓝色: 类群 2; 紫色: 类群 3; 橘色: 类群 4; 灰色: 类群 5; 粉色: 类群 6。虚线的粗细 与遗传距离呈正相关。其中, D 为遗传距离, BV 为可信度。三角形代表遗传多样性, 红色面积与遗传多样性呈正相关); C. 本溪种群虫株间遗传距离与地 理距离相关性分析; D. 大连种群虫株间遗传距离与地理距离相关性分析。

Notes: A. Phylogenetic trees of different strains of *B. xylophilus*; B. Genetic relationships among different geographical populations (yellow; group 1; blue; group 2; purple; group 3; orange; group 4; grey; group 5; pink; group 6. The dashed line represents the genetic distance. The thickness of dashed line was positively correlated with genetic distance. D is genetic distance, BV is reliability. The triangle represents genetic diversity, and the red area is positively correlated with genetic diversity); C. Analysis of the correlation between genetic and geographic distances between strains of *B. xylophilus* in geographic populations of Benxi; D. Analysis of the correlation between genetic and geographic distances between strains of *B. xylophilus* in geographic populations.

Tab. 3 Sequence analysis of rDNA-28S D2-D3 region of <i>B. xylophilus</i> in Liaoning Province based on AMOVA							
遗传变异来源	自由度	平方和	方差组分	方差占比	遗传分化指数		
Source of variation	Degree of freedom	Sum of variance	Variance components	Percentage of variation	$F_{\rm st}$		
群体间	5	30.650	0.933 36	21.64			
群体内	13	43.929	3.379 12	78.36	0.216		
总计	18	74.579	4.312 48	100			

表 3 基于 AMOVA 分析辽宁省松材线虫 rDNA-28S D2-D3 区序列

DDBx(D=0.003, BV=75.4%)的遗传距离相近(图 5B)。 说明邻近地区的虫株间存在基因交流,导致遗传距 离相近。

第2期

AMOVA 分析显示, 松材线虫 6 个地理种群整体 遗传分化指数为 F<sub>sr</sub>=0.216, 表明存在中等程度遗传 分化。其中, 6 个地理种群间遗传变异占总变异的 21.64%(σ<sup>2</sup>=0.933), 表明种群间的遗传分化程度较低; 而 6 个地理种群内变异占比达 78.36%(σ<sup>2</sup>=3.379), 表 明绝大多数遗传变异来源于种群内虫株之间的差异 (表 3)。利用单倍型多样性指数和核苷酸多样性指 数量化松材线虫不同地理种群的遗传变异水平,结 果显示,辽宁省松材线虫整体遗传多样性较高(H<sub>d</sub>=0.967, P<sub>i</sub>=0.011)。相比其他地理种群,本溪种群(H<sub>d</sub>·P<sub>i</sub>=0.019) 积累了更多的遗传变异,种群内所有虫株在单倍型 上都有显著差异,且虫株间的核苷酸差异较大,表现 遗传多样性较高。大连种群(H<sub>d</sub>·P<sub>i</sub>=0.013)遗传多样 性次之。为进一步判断本溪种群和大连种群内遗传 分化原因是否由地理距离驱动,对地理种群内虫株 间的遗传距离和地理距离进行了 Mantel 检验。结果 显示,本溪种群内虫株间的遗传距离与地理距离具 有显著的弱相关性(r=0.381 2, P=0.041 7)(图 5C),大 连种群内虫株间的遗传距离与地理距离无显著的弱 相关性(r=0.050 7, P=0.2780)(图 5D)。

每个地理种群内可能存在多个类群,如大连种 群(类群1有DLBx3、DLBx5、DLBx7;类群2有DLBx1、 DLBx2、DLBx4; 类群 4: DLBx6)、本 溪 种 群 (类群 2 有 BXBx2; 类群 3 有 BXBx1; 类群 5 有 BXBx3; 类群 6 有 BXBx4)、抚顺种群(类群 1 有 FSBx2; 类群 2 有 FSBx1)、丹东种群(类群3有DDBx)、辽阳种群(类 群2有LYBx)和沈阳种群(类群1有SYBx)。其中, 本溪种群存在4个类群,虫株间亲缘关系存在远近差 异,类群5和6与其他2个类群遗传关系较远。大连 种群存在3个类群,其中类群4与其他2个类群的遗 传关系较远(图 5B)。由此表明,本溪种群内的4个 类群和大连种群内的3个类群可能是多次入侵事件 导致部分虫株间的遗传距离较远,从而形成了丰富 的遗传多样性。同一地理种群内仅由单个虫株组成 的类群,可能是由于新入侵种群尚未在更广泛的区 域传播扩散。

### 3 讨论

伞滑刃属线虫具有显著的物种多样性特征,即 伞滑刃线虫属内物种或组的多样性(王宏毅, 2008)。 根据形态学分析, 伞滑刃属线虫的形态特征存在差 异。这些差异可能受寄主种类和地理环境的影响, 且影响程度不同。所有形态指标在松材线虫的各虫 株之间表现出一定程度的变异。即使地理来源和寄 主来源相同、地理来源相同但寄主不同的虫株之间, 也存在形态特征差异(孔青青, 2021)。基于形态指 标对松材线虫雌雄成虫进行聚类分析发现,同一虫 株雌雄成虫聚类结果存在矛盾,对于判断虫株间的 遗传关系具有干扰性。松材线虫的形态变异主要体 现在与取食相关的特征上,这可能是其大范围表型 溯源的关键指标,但雌雄成虫的形态变异程度及方 向存在不一致(李志红等, 2025)。因此, 仅凭形态测 量值判断种内聚类关系并不准确,还需结合更多分 子标记综合分析其遗传关系。

遗传多样性是生物适应与进化的核心要素,直接反映了物种的环境适应潜力(沈浩和刘登义,2001)。 值得注意的是,北美原产地的松材线虫种群具有较高遗传多样性,而入侵地种群则普遍表现出遗传多 样性降低的特征(Cheng et al., 2008;黄金思等,2019)。 本研究采用 rDNA-28S D2-D3 序列作为分子标记,该 区域兼具保守序列与高变区的分子特性(Onkendi et al., 2013;杨金宏和孔卫青,2019)。根据遗传多样性分析, 辽宁省松材线虫不同地理种群间存在密切的遗传关 系,其传播呈现跳跃式扩散,并与邻近地区的虫株发 生基因交流。比如,本溪种群和大连种群、丹东种群 和本溪种群、大连种群和抚顺种群等,两两种群内虫 株间均存在一定的遗传关系,但传播方向不明。同 时,多次入侵的随机性可能会导致遗传距离与地理 距离相关性不显著。综合结果推测,多重入侵源引 发的种群扩张效应可能是导致松材线虫短期内种群 数量激增及地理分布扩展的主要驱动力,而松材线 虫的复杂入侵史导致多源引入现象频发,进一步形 成了丰富的遗传多样性特征(谢丙炎等,2009;孟丽 华等,2024)。

在入侵过程中保持高遗传多样性可能是松材线 虫入侵成功的遗传机制之一,这为深入研究提供了 基本背景信息,有助于全面解释松材线虫的入侵机 制(赵双修, 2016; Zhao et al., 2017; Zhao et al., 2023)。 当前研究多采用 SNP 分子标记技术,借助多态位点 丰富、检测灵敏度高等优势,显著提升了遗传多样性 分析的精度(唐立群等, 2012)。2019年, 基于 SNP标 记的广东省松材线虫种群研究表明,该地区虫株存 在显著遗传分化,聚类分析形成的3个独立类群暗示 多源头入侵特征(黄金思等, 2019)。2022年, 利用 SNP标记跨区域比较研究进一步推测广东省大部分 地区和江苏省的松材线虫具有不同的传播来源,而 广东省韶关市和汕头市虫株与江苏省虫株具有相同 的传播来源(丁晓磊等, 2022)。但是, 基于全基因组 SNP标记分析松材线虫不同地理种群的遗传多样性, 难以追溯母系遗传或父系遗传的历史。未来将增加 样本量,并结合双亲、母系和父系标记,全面解析松 材线虫不同地理种群的遗传多样性,为探讨松材线 虫的传播与溯源提供参考。此外,还将考虑松材线 虫是否因长期适应不同环境或寄主而发生变化,进 而产生适应性进化,最终影响遗传多样性和种群遗 传结构。

树木健康问题已成为全球森林保护与生态安全 的重要议题。松材线虫等外来入侵物种严重威胁树 木健康和生态系统稳定。树木医学作为防治树木病 害的重要手段,通过病害诊断与治疗,维持树木健康 和生态平衡。然而,松材线虫病防控工作面临诸多 挑战,特别是与其他伞滑刃属线虫在形态上的高度 相似,给疫情监控与病害防治带来困难。本研究聚 焦辽宁省伞滑刃属线虫的种类及分布,系统解析了 伞滑刃属线虫的系统发育关系及以松材线虫为优势

种的遗传多样性,研究结果为理解松树病害的传播 机制和防控策略提供了参考。后续需进一步研究松 材线虫更多地理种群的遗传多样性,为弄清松材线 虫病在辽宁省的传播与溯源提供依据。此外,对萎 蔫死亡松木的持续调查对于松材线虫病防控具有重 要的指导意义,能够及时阻断松材线虫的自然传播, 为防控工作提供有效保障。本研究涉及的多个松材 线虫虫株采样地在疫情除治后已成功撤销疫区。本 研究完成了标本采集,为松材线虫病害流行学研究 提供了珍贵的实验材料,可作为基层工作人员对松 材线虫进行形态学鉴定的依据。同时,本研究对松 材线虫的鉴定工作为辽宁省松材线虫病防控工作提 供了科学依据与实践保障。当前辽宁省虽在松材线 虫病防控方面取得阶段性成果,但仍面临传播途径 复杂化和入侵源头多元化等挑战, 需继续加强监测 和管理,巩固疫情防控成果。

#### 4 结论

由于自然扩散和人为传播等因素,辽宁省存在 多个不同的松材线虫入侵来源,并发生多次入侵现 象,导致松材线虫种群扩张,种群数量在短时间内显 著增加,地理分布范围也随之扩大。本研究发现辽 宁省松材线虫具有丰富的变异位点,表现出较高的 遗传多样性。通过多年持续的伞滑刃属线虫普查与 鉴定工作,本研究为辽宁省松材线虫病疫情防控提 供了重要的基础数据支持。辽宁省已成功撤销多个 疫区,有效阻断了松材线虫病疫情的扩散,为后续防 控工作提供了坚实保障。

#### 参考文献

- 曹淑可,零雅茗,吴昊,等.2021.松材线虫效应因子基因筛选及 Bx-Hhgrl 功能研究[J].北京林业大学学报,43(9):87-93.
- Cao S K, Ling Y M, Wu H, et al. 2021. Screening of effector genes of Bursaphelenchus xylophilus and the function of Bx-Hh-grl[J]. Journal of Beijing Forestry University, 43(9): 87–93. (in Chinese)
- 丁晓磊, 汪青桐, 林司曦, 等. 2022. 广东省与江苏省松材线虫种群遗传 结构差异分析[J]. 林业科学, 58(8): 1-9.
- Ding X L, Wang Q T, Lin S X, et al. 2022. Analysis of genetic variations of Bursaphelenchus xylophilus populations between Guangdong and Jiangsu Provinces with SNP marker[J]. Scientia Silvae Sinicae, 58(8): 1–9. (in Chinese)
- 顾建锋,王江岭.2011. 伞滑刀属线虫形态和分子鉴定[M]. 厦门: 厦门大 学出版社.
- Gu J F, Wang J L. Morphological and molecular identification of Bursaphelenchus[M]. Xiamen, China: Xiamen University Press. (in Chinese)
- 顾建锋. 2014. 松材线虫及其近似种的鉴定技术:续《伞滑刃属线虫形态

和分子鉴定》[M]. 厦门: 厦门大学出版社.

- Gu J F. Identification technology of pine wood nematode and its similar species: continued from morphological and molecular identification of *Bursaphelenchus*[M]. Xiamen, China: Xiamen University Press. (in Chinese)
- 何洁,顾建锋.2016. 松材线虫组 DNA 条形码筛选[J]. 植物检疫, 30(1): 14-20.
- He J, Gu J F. 2016. Screening DNA barcode markers for the *xylophilus* group of the genus *Bursaphelenchus*[J]. Plant Quarantine, 30(1): 14–20. (in Chinese)
- 扈丽丽, 王宏洪, 陶冶, 等. 2017. 中国新纪录种: 东京伞滑刃线虫 (Bursaphelenchus tokyoensis)[J]. 热带作物学报, 38(11): 2124-2128.
- Hu L L, Wang H H, Tao Y, et al. 2017. Bursaphelenchus tokyoensis, a new record in China[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 38(11): 2124-2128. (in Chinese)
- 黄金思,奚晓桐,丁晓磊,等.2019.基于 SNP 标记的广东省松材线虫种 群分化研究[J].南京林业大学学报(自然科学版),43(6):25-31.
- Huang J S, Xi X T, Ding X L, et al. 2019. Study on the population differentiation of *Bursaphelenchus xylophilus* in Guangdong Province by SNP markers[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 43(6): 25–31. (in Chinese)
- 何震晗,肖珊,王韶韶,等. 2021. 黄鳍棘鲷线粒体 D-loop 序列的遗传结构[J]. 水产学报, 45(3): 345-356.
- He Z H, Xiao S, Wang S S, *et al.* 2021. Genetic structure of D-loop sequence in *Acanthopagrus latus*[J]. Journal of Fisheries of China, 45(3): 345–356. (in Chinese)
- 蒋立琴. 2006. 伞滑刃线虫属和外滑刃线虫属部分种群的分类及分子鉴 定研究[D]. 杭州:浙江大学.
- Jiang L Q. 2006. Taxonomy and molecular identification of some Bursaphelenchus and Ektaphelenchoides species[D]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 孔青青. 2021. 中国松材线虫南北种群变异的研究[D]. 南京: 南京林业 大学.
- Kong Q Q. 2021. Analysis of the population variation of *Bursaphelenchus xylophilus* in Northern and Southern China[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University. (in Chinese)
- 刘乐乐, 方亦午, 刘曦, 等. 2020. 北京油松上东京伞滑刀线虫的鉴定[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 49(4): 447-452.
- Liu L L, Fang Y W, Liu X, et al. 2020. Identification of Bursaphelenchus tokyoensis found in Pinus tabulaeformis from Beijing, China[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 49(4): 447–452. (in Chinese)
- 李志红,张威,赵新康,等.2025.浙江省不同发生区松材线虫表型变异 [J].林业科学,61(1):137-149.
- Li Z H, Zhang W, Zhao X K, *et al.* 2025. Phenotypic variation of *Bursaphelenchus xylophilus* in different occurrence areas of Zhejiang Province[J]. Scientia Silvae Sinicae, 61(1): 137–149. (in Chinese)
- 孟丽华,何子婷,张育华,等.基于 mtCOI 序列的广西松材线虫遗传多样 性和遗传分化的初探[J/OL].热带生物学报,1-7[2025-02-02]. https:// doi.org/10.15886/j. cnki. rdswxb. 20240135.
- Meng L H, He Z T, Zhang Y H et al. Genetic diversity and genetic

differentiation of *Bursaphelenchus xylophilus* in Guangxi based on mt COI sequences[J/OL]. Journal of Tropical Biology, 1–7[2025-02-02]. https://doi.org/10.15886/j.cnki.rdswxb.20240135. (in Chinese)

- 沈浩, 刘登义. 2001. 遗传多样性概述[J]. 生物学杂志, 18(3): 5-7, 4.
- Shen H, Liu D Y. 2001. Summary of genetic diversity[J]. Journal of Biology, 18(3): 5–7, 4. (in Chinese)
- 孙丽婷,赵峰,张涛,等. 2019. 基于线粒体 D-loop 序列的长江口中华鲟 幼鱼遗传多样性分析[J].海洋渔业,41(1):9-15.
- Sun L T, Zhao F, Zhang T, et al. 2019. Population genetic structure of Acipenser sinensis based on the mitochondrial control region sequence[J]. Marine Fisheries, 41(1): 9–15. (in Chinese)
- 唐立群,肖层林,王伟平.2012. SNP分子标记的研究及其应用进展[J]. 中国农学通报,28(12):154-158.
- Tang L Q, Xiao C L, Wang W P. 2012. Research and application progress of SNP markers[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 28(12): 154–158. (in Chinese)
- 王江岭,张建成,顾建锋.2011. 单条线虫 DNA 提取方法[J]. 植物检疫, 25(2): 32-35.
- Wang J L, Zhang J C, Gu J F. 2011. Method of extract DNA from a single nematode[J]. Plant Quarantine, 25(2): 32–35. (in Chinese)
- 王佳楠,姜生伟,张瑞芝,等. 2024. 松材线虫潜育期延长导致红松越年 枯死[J]. 林业科学, 60(10): 67-75.
- Wang J N, Jiang S W, Zhang R Z, et al. 2024. Prolonged incubation period of Bursaphelenchus xylophilus results in the over-year death of Pinus koraiensis[J]. Scientia Silvae Sinicae, 60(10): 67–75. (in Chinese)
- 王宏毅. 2008. 伞滑刃属线虫生物多样性与生物地理学[D]. 福州: 福建 农林大学.
- Wang H Y. 2008. Biodiversity and biogeography of the genus Bursaphelenchus Fuchs, 1937 (Nematoda: Parasitaphelenchidae)[D].
   Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 谢辉. 2005. 植物线虫分类学[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社.
- Xie H. 2005. Taxonomy of Plant Nematodes[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 谢丙炎, 成新跃, 石娟, 等. 2009. 松材线虫入侵种群形成与扩张机制: 国家重点基础研究发展计划"农林危险生物入侵机理与控制基础研究"进展[J]. 中国科学(C辑: 生命科学), 39(4): 333-341.
- Xie B Y, Cheng X Y, Shi J, et al. 2009. Formation and expansion mechanism of Bursaphelenchus xylophilus invasive population: Progress of national key basic research and development plan "basic research on invasion mechanism and control of agricultural and forestry dangerous organisms"
  [J]. Science in China (Series C (Life Sciences)), 39(4): 333–341. (in Chinese)
- 于海英,吴昊.2018. 辽宁发现松材线虫新寄主植物和新传播媒介昆虫[J]. 中国森林病虫, 37(5):61.
- Yu H Y, Wu H. 2018. Discovery of new host plants and new vector insects of Bursaphelenchus xylophilus in Liaoning Province[J]. Forest Pest and Disease, 37(5): 61. (in Chinese)
- 于海英, 吴昊, 张旭东, 等. 2019. 落叶松自然条件下感染松材线虫初报[J]. 中国森林病虫, 38(4): 7-10.
- Yu H Y, Wu H, Zhang X D, et al. 2019. Preliminary study on Larix spp. infected by Bursaphelenchus xylophilus in natural environment[J]. Forest Pest and Disease, 38(4): 7–10. (in Chinese)

- 于家荣,王亚东,李红梅,等.2020.我国小麦落选短体线虫群体遗传多样性分析[J].植物病理学报,50(3):320-328.
- Yu J R, Wang Y D, Li H M, et al. 2020. Genetic diversity of Pratylenchus neglectus populations on wheat in China[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 50(3): 320–328. (in Chinese)
- 杨金宏, 孔卫青. 2019. 基于 28S rDNA D2 区序列的陕南凹缘菱纹叶蝉 分子系统学与遗传多样性研究[J]. 西北农业学报, 28(8): 1358-1364.
- Yang J H, Kong W Q. 2019. Molecular phylogeny and genetic diversity of *Hishimones sellatus* (Hemiptera: Cicadellidae)based on 28S rDNA D2 region sequence of samples from south Shaanxi[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 28(8): 1358–1364. (in Chinese)
- 张瑞芝. 2023. 表儿茶素延缓红松松树萎蔫病显症[D]. 哈尔滨: 东北林 业大学.
- Zhang R Z. 2023. Epicatechin delays progression of pine wilt disease in *Pinus koraiensis*[D]. Harbin: Northeast Forestry University. (in Chinese)
- 钟天星, 袁一鑫, 王逸飞, 等. 2024. 基于 cyt b 基因序列的光唇鱼群体遗 传多样性和遗传结构分析[J]. 四川动物, 43(6): 656-663.
- Zhong T X, Yuan Y X, Wang Y F, et al. 2024. Genetic diversity and genetic structure analysis of different geographic populations of Acrossocheilus fasciatus based on cyt b gene sequences[J]. Sichuan Journal of Zoology, 43(6): 656–663. (in Chinese)
- 赵双修. 2016. 松材线虫的配偶选择特征[D]. 泰安: 山东农业大学.
- Zhao S X. 2016. Characteristics of Mate Selection of *Bursaphelenchus xylophilus*[D]. Taian: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- Cheng X Y, Cheng F X, Xu R M, *et al.* 2008. Genetic variation in the invasive process of *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchida: Aphelenchidiae) and its possible spread routes in China[J]. Heredity, 100(4): 356-365.
- Grant W, Bowen B. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation[J]. Journal of Heredity, 89(5): 415–426.
- Manuel M. Mota, Paulo Vieira. 2008. Pine wilt disease: a worldwide threat to forest ecosystems[M]. Heidelberg, Germany: Springer.
- Onkendi E M, Moleleki L N. 2013. Distribution and genetic diversity of root knot nematodes (*Meloidogyne* spp. ) in potatoes from South Africa[J]. Plant Pathology, 62(5): 1184–1192.
- Ye W, Giblin-Davis R M. 2013. Molecular characterization and development of real-time PCR assay for pine-wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae)[J]. PLOS ONE, 8(11): e78804.
- Ye W, Giblin-Davis R M, Braasch H, et al. 2007. Phylogenetic relationships among Bursaphelenchus species (Nematoda: Parasitaphelenchidae) inferred from nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequence data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 43(3): 1185–1197.
- Zhao L, Sun J. 2017. Pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and buhrer) nickle[J]. Biological Invasions and Its Management in China, 2: 3–21.
- Zhao H X, Xian X Q, Yang N W, et al. 2023. Risk assessment framework for pine wilt disease: Estimating the introduction pathways and multispecies interactions among the pine wood nematode, its insect vectors, and hosts in China[J]. Science of the Total Environment, 905: 167075.