

中文核心期刊 中国科学引文数据库来源期刊 中国科技核心期刊

Vol.33 No.1 Feb.2024
第33卷 第1期 2024年2月

ISSN 2095-1787
CN 35-1307/Q

生物安全学报 (中英文)

JOURNAL OF BIOSAFETY



ISSN 2095-1787



02>

9 772095 178247



主 办

Sponsored by

中国植物保护学会

China Society of Plant Protection

福建省昆虫学会

Entomological Society of Fujian

JBS

www.jbscn.net

中国 · 福州

Fuzhou, China



办刊宗旨

面向国际,共同应对国际生物安全的挑战,关注自然和人类社会健康发展中的生物安全焦点与热点(生物入侵、农业转基因生物、农用化学品、新技术等带来的生物安全科学问题),引领国际生物安全领域的研究与发展前沿,主导国际生物安全领域的科技潮流,及时刊载生物安全科学研究的新理论、新技术与新方法,全面报道生物安全领域最新的高端研究成果。坚持百花齐放与百家争鸣、科学提升与知识普及相结合的方针,办成具备科学与技术于一体的国际主流学术刊物(中英文)。

刊载内容

《生物安全学报(中英文)》致力于涉及生物安全领域的学科发展,聚焦于生物安全领域各学科的前沿性与前瞻性原创性研究论文和综述论文,重点刊载:(1)入侵生物学学科发展的新理论与新假设;外来有害生物入侵的特性与特征、入侵的生态过程与后果、入侵种与本地种的相互作用关系;生态系统对生物入侵的响应过程与抵御机制;生物入侵的预防预警、检测监测、根除扑灭、生物防治与综合治理的新技术与新方法。(2)农业转基因生物的生态与社会安全性,安全性评价的理论体系,定性定量评估的技术与方法,安全交流与安全管理。(3)农用化学品对生物急性/慢性毒性累加过程与效应,生物对农用化学品的抗性与适应性机制,毒性缓解、抗药性治理与调控技术。(4)高端新技术(如生物改良技术、物理纳米技术、生化辐射技术等)产品潜在危害的识别与判定、安全性评价方法与技术指标。

《生物安全学报(中英文)》同时开辟学术聚焦、科技论坛、政策通讯、科技书评等栏目,快速报道生物安全领域的新思想与新发现,鼓励针对学术新观点的辨析与讨论,提倡新思想的及时交流与沟通,发表科技著作的评述,交流生物安全的科技政策与行政管理措施。

Aims and Scope:

The Journal of Biosafety is a quarterly peer-reviewed scientific international journal focusing on important biosafety issues concerning human-dominated and natural ecological systems. It aims to publish papers on global biosafety problems related to biological invasions, transgenic organisms, application of chemicals and new biotechniques.

A goal of Journal of Biosafety is to provide a forum to exchange information and promote sound biosafety and biosecurity initiatives connected to sustainable development; publish new research in biosafety; provide information on best biosafety practices and pertinent policy issues and to provide a forum for biosafety and biosecurity information exchange in China and abroad.

Manuscripts in all areas pertinent to biosafety will be considered, including:

- New theories and hypotheses in biological invasions, the characteristics, ecological processes as well as the consequences of invasions in all kinds of ecosystems, interactions between alien and native species, reactions and mechanisms of ecosystems to invasion, new technologies of early warning, monitoring and integrated management of biological invasions;

- Risk assessment and management of new organisms in agriculture, generated by transgenic or other means, the communication and management of risk assessment theory, methodology, systematic analysis on risk assessment;

- Acute as well as chronic toxicity of agro-chemicals, resistance mechanisms in pests (insofar as it touches on biosafety aspects), and the technologies for safe environmental use of agro-chemicals;

- Risk assessment theory and biosafety procedures of the new technologies, including biotechnology, nanotechnology and radiation technology.

JBS will consider manuscripts of the following types:

- Review Articles
- Research Articles
 - ◆ Biological Invasions
 - ◆ Agricultural Transgenic Organisms
 - ◆ Agro-chemicals
 - ◆ Biosafety of New Technologies
- Scientific Focus
- Technical Communication
- Policy Forum
- Book Reviews

Occasionally, the journal will consider comments, and letters to the editor. If relevant, the authors of articles commented on will be invited to reply. Comments to articles

生物安全学报(中英文)

第 33 卷 第 1 期 2024 年 2 月

目次

◎ 论坛

- 1 植物种质资源引进风险分析方法概述 王坤, 石娟, 孙双艳

◎ 综述论文

- 7 外来植物肿柄菊对入侵生境的生态影响及其防控对策 吴甜, 申科, 贾涛, 夏体渊, 蒋智林

◎ 生物入侵

- 12 基于 mtDNA CO I 基因对榕属植物上粉蚧的分子鉴定和系统发育分析 傅卫民, 刘志红, 蔡波, 李惠萍, 吴福中
19 基于判别分析预测马铃薯甲虫发生与出土时间 廖江花, 牛富帅, 李超, 刘娟, 关志坚
24 吉林省豚草瘦果形态及微结构特征 王玉莹, 于忠亮, 吴生海, 兰雪涵, 杨春波, 杜凤国
32 PEG 模拟干旱胁迫对加拿大飞蓬种子萌发及幼根生长的影响 吴生海, 王玉莹, 杨春波, 李黎明, 张一, 杜凤国
38 根际细菌在长刺蒺藜草氮素利用中的作用 马涛, 宋振, 付卫东, 张岳, 王忠辉, 袁至立, 王伊, 张国良

◎ 农用化学品

- 48 4 种烟碱受体激动剂对松材线虫的毒杀活性 于金英, 吕耀平, 王国丽, 刘冬梅, 雷秋艳, 贺小如, 汪治

◎ 风险评估

- 54 外来入侵杂草假苍耳在新疆地区的适生性分析及风险评估 冯佳楠, 依米提·热苏力, 史博, 张兴, 方艳, 马德英
60 基于 MaxEnt 模型的气候变化下杏树鬃球蚧在中国的潜在地理分布预测 郭发城, 王玉丽, 欧阿力别克·巴依朱马, 高桂珍
68 云斑尖塘鳢在水产养殖中的风险评估及适生区分析 韦慧, 张铭斯, 韦波, 余梵冬, 舒璐, 徐猛, 房苗, 胡隐昌, 顾党恩

◎ 生物防治

- 77 独蒜兰提取物对植物病原真菌的抑菌活性 傅佳蕊, 刘世林, 牛泽岳, 郑丽莹, 徐会有, 倪林

◎ 植物保护

- 83 蚕豆象的线粒体基因组研究及系统发育分析 林兴雨, 宋南

◎ 技术前沿

- 93 纳米孔测序技术在实蝇类害虫检疫鉴定中的应用 姜帆, 丁新华, 梁亮, 付开赞, 郭文超, 朱水芳

◎ 研究简报

- 99 新入侵害虫葡萄花翅小卷蛾的生物学特性 阿地力·沙塔尔, 王洁, 李俊峰, 郭文超

◎ 其他

- 106 征订启事

封面照片: 马樱丹。提供人: 刘长明(福建农林大学)。

Front cover photo: *Lantana camara* L. Provided by LIU Changming (Fujian Agriculture and Forestry University).

CONTENTS

Forum

1 Overview of risk analysis methods for the introduction of plant germplasm resources WANG Kun, SHI Juan, SUN Shuangyan

Review article

7 Ecological effects of the exotic plant *Tithonia diversifolia* on invasive habitats and its control strategies ... WU Tian, SHEN Ke, JIA Tao, XIA Tiyan, JIANG Zhilin

Biological invasions

12 Molecular identification and phylogenetic analysis of mealybug species in *Ficus* spp. based on mitochondrial CO I gene FU Weimin, LIU Zhihong, CAI Bo, LI Huiping, WU Fuzhong

19 Prediction of *Leptinotarsa decemlineata* occurrence and aboveground period based on linear discriminant analysis LIAO Jianghua, NIU Fushuai, LI Chao, LIU Juan, GUAN Zhijian

24 Characteristics of achene morphology and microstructure of *Ambrosia artemisiifolia* in Jilin Province WANG Yuying, YU Zhongliang, WU Shenghai, LAN Xuehan, YANG Chunbo, DU Fengguo

32 Effects of PEG simulated drought stress on *Conyza canadensis* seed germination and young root growth ... WU Shenghai, WANG Yuying, YANG Chunbo, LI Liming, ZHANG Yi, DU Fengguo

38 Research on the effect of rhizosphere bacteria on nitrogen utilization on *Cenchrus longispinus* MA Tao, SONG Zhen, FU Weidong, ZHANG Yue, WANG Zhonghui, YUAN Zhili, WANG Yi, ZHANG Guoliang

Agro-chemical

48 The activity of four nicotinic receptor agonists against *Bursaphelenchus xylophilus* YU Jinying, LÜ Yaoping, WANG Guoli, LIU Dongmei, LEI Qiuyan, HE Xiaoru, WANG Ye

Risk assessments

54 Adaptability analysis and risk assessment of alien invasive weed *Cyclachaena xanthiifolia* (Nuttall) Frese-
nius in Xinjiang FENG Jianan, YIMITI · Resuli, SHI Bo, ZHANG Xing, FANG Yan, MA Deying

60 Prediction of potential geographical distribution of *Sphaerolecanium prunastri* under different climate change
scenarios based on MaxEnt model GUO Facheng, WANG Yuli, BAYIZHUMA · Oalibiek, GAO Guizhen

68 Risk analysis and potential distribution prediction for non-nativefish *Oxyleotris marmorata* in aquaculture
..... WEI Hui, ZHANG Mingsi, WEI Bo, YU Fandong, SHU Lu, XU Meng, FANG Miao, HU Yinchang, GU Dang'en

Biological control

77 Antifungal activity of *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe extract against plant pathogenic fungi FU Jiarui, LIU Shilin, NIU Zeyue, ZHENG Lijun, XU Huiyou, NI Lin

Plant protection

83 The mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Bruchus rufimanus* (Boheman, 1833) LIN Xingyu, SONG Nan

Advanced technique

93 Preliminary investigation of quarantine and identification of Tephritidae based on nanopore sequencing tech-
nology JIANG Fan, DING Xinhua, LIANG Liang, FU Kaiyun, GUO Wenchao, ZHU Shuifang

Research note

99 The biological characteristics of a new invasive pest, *Lobesia botrana* ADILI · Shataer, WANG Jie, LI Junfeng, GUO Wenchao

植物种质资源引进风险分析方法概述

王 坤^{1,2}, 石 娟^{1,2*}, 孙双艳^{3*}

¹森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083; ²北京林业大学, 中法欧亚森林入侵生物联合实验室, 北京 100083; ³海关总署国际检验检疫标准与技术法规研究中心, 北京 100013

摘要: 种质资源作为生物资源的重要组成部分,是培育作物优质、高产、抗病(虫)、抗逆新品种的物质基础。近年来,为满足我国种业飞速发展的需要,我国不断从国外引入大量的种质资源,种质资源相比其他植物产品携带有害生物的风险更高。种质资源引进过程中不可避免地携带有害生物,可能会带来严重危害。目前,美国、澳大利亚等国家已制定了关于种质资源的风险分析方法,但我国缺少针对种质资源有害生物统一的风险分析方法。本文分析了国际植物检疫措施标准、主要的贸易国家及我国有害生物风险分析标准方法的主要内容,针对引进种质资源过程中亟需解决的有害生物风险分析问题开展讨论,并对种质资源有害生物风险分析系统其未来展开工作提出以下建议:设置符合种质资源风险分析特性的指标;采用半定量风险评估方法对种质资源进行风险分析;根据不断的学习和实际工作的需要,对风险评估指标体系进行验证和适当修改。

关键词: 种质资源; 植物引进; 风险分析



开放科学标识码
(OSID 码)

Overview of risk analysis methods for the introduction of plant germplasm resources

WANG Kun^{1,2}, SHI Juan^{1,2*}, SUN Shuangyan^{3*}

¹Key Laboratory for Forest Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing 100083, China; ²Sino-French Joint Laboratory for Invasive Forest Pests in Eurasia, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ³Research Center of GACC for International Inspection and Quarantine Standards and Technical Regulations, Beijing 100013, China

Abstract: As an important part of biological resources, germplasm resources are the material basis for breeding new varieties of crops with high quality, high yield, disease resistance (insect), and stress resistance. In recent years, to meet the needs of the rapid development of the national seed industry, China has consistently introduced a large number of germplasm resources from abroad. The germplasm resources present a higher risk than other plant products, which is inevitably carried out during the introduction process. The introduction of pests will cause serious harm to China. At present, the United States of America, Australia, and other countries have developed risk analysis methods for germplasm resources, but China lacks a unified risk analysis method for germplasm pests. In this review, the main contents of international plant quarantine standards, major trading countries, and Chinese pest risk analysis standard methods are described. Given the urgent pest risk analysis problems in the process of introducing germplasm resources, some suggestions are put forward for future work relating to the development of a germplasm pest risk analysis system: to establish indexes in line with the characteristics of the risk analysis of germplasm resources, a semi-quantitative risk assessment method should be adopted. With further research, the risk assessment index system can be verified and modified appropriately.

Key words: germplasm resources; introduction of plants; risk analysis

为满足种业飞速发展的需要,我国需要不断从国外引入大量的种质资源(又称遗传资源或基因资源)。建设全球植物种质资源引进中转基地,对确

保国家的粮食安全和种业安全、加快推动农业科技创新、促进现代农业的飞速发展、推动民族种业创新具有重要的战略意义(李健,2020)。引进种质资

收稿日期(Received): 2022-11-14 接受日期(Accepted): 2023-03-25

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC2600601); 国家自然科学基金项目(32171794)

作者简介: 王坤,女,硕士研究生。研究方向: 森林保护。E-mail: 2128768684@qq.com

* 通信作者(Author for correspondence), 石娟, E-mail: shi_juan@263.net; 孙双艳, E-mail: sunshyan2008@163.com

源的同时,也带来了大量有害生物,如番茄褐色皱果病毒(*Tomato brown rugose fruit virus*) (刘慧等, 2019)、皱匕果芥 *Rapistrum rugosum* (L.) All. (王亚锋等, 2022)、大豆北方茎溃疡病病菌 *Diaporthe phaseolorum caulivora* (张莹等, 2018)、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (侯沁文等, 2020)、马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* (Zeller) (杜霞等, 2021) 等。国际广阔的大环境为外来物种的入侵和传播创造了条件,特别是在共享生物多样性资源的过程中,世界各个国家之间的物种引进和资源交换增加了外来物种入侵的风险。植物种质资源是一种特殊的货物,涉及到生物安全风险问题,但不能就此禁止贸易,而是需要通过国际组织合作、国际贸易协定以及专业技术和规则合作规避风险(沈玉良, 2021)。

若在植物种质资源进口之前进行科学合理的有害生物风险分析(pest risk analysis, PRA),采取科学合理的管理措施降低其携带的有害生物入侵风险,即可有效防控有害生物传入的风险。从 1995 年至今,国际植物保护公约(International Plant Protection Convention, IPPC)制定了 47 个国际植物检疫措施标准(international standards for phytosanitary measures, ISPMs)。此外,一些主要贸易国家专门制定了有害生物风险分析的相关标准,例如美国农业部动植物检疫局制定了关于杂草的风险评估方法,澳大利亚制定了生物安全入境风险分析指导方针。我国也在积极应对植物种质资源传带的风险,采取了检疫审批及有害生物风险分析等多种措施。

1 国外种质资源有害生物风险评估方法

目前,世界各国专门针对植物种质资源的风险分析方法研究比较少,只是在有害生物风险分析的标准中涉及到种质资源风险评估的相关内容。

1.1 国际植物检疫措施标准

国际植物检疫措施标准是国际植物保护公约制定的标准,各国均参考执行。目前在 ISPM 中,有 3 个标准涉及有害生物风险分析。

ISPM No.2《有害生物风险分析准则》(FAO/IPPC, 2007)提供了有害生物风险分析的具体框架,是国际上进行有害生物风险分析的参考依据。该标准将有害生物风险分析划分为起始、有害生物风险评估和有害生物风险管理 3 个阶段。该标准包括种植的植物、农业、林学活体转基因生物的风险

评估,涉及种质资源的有害生物风险分析。该标准认为:评估植物品种在有害生物危险性分析地区成为有害生物时,应主要考虑该植物品种对各种生态条件的适应性、在植物中具有较强竞争力、高繁殖率、繁殖体的高流动性和杂交能力等特点;对活体转基因生物的有害生物风险进行评估时,除了考虑定殖和扩散的风险,还应考虑基因型特征。

ISPM No.11《检疫性有害生物风险分析准则》(FAO/IPPC, 2013)详细介绍了有害生物风险分析工作,确定检疫性有害生物的风险分析分为起始、风险评估和风险管理 3 个过程,风险评估是整个风险分析的关键部分,需从有害生物的进入、定殖、扩散和经济影响 4 个方面进行分析。该标准除了针对有害生物,还包括对植物、活体转基因生物(living modified organism, LMO)的风险分析。该标准认为:对拟输入的植物进行评估时,不需要评估其进入的可能性,但需要评估这些植物可能携带的有害生物进入的可能性;评估定殖可能性,除了分析寄主的存在、数量和分布、环境适宜性等指标外,还应考虑非预定生境是否可以生存等情况;扩散的可能性评估取决于自然扩散途径、预定用途等因素之外,还应考虑是否在非预定生境扩散并定殖;应评估潜在的经济影响,得出风险评估结果。

该标准对活体转基因生物进行分析时,首先在进行有害生物认定时,需重点考虑其遗传结构等方面的特性。评估活体转基因生物传入的可能性需要分析预期或非预期的传入途径和预定用途;对其定殖可能性评估,除了分析有害生物繁殖方法外,还应考虑活体转基因在没有人类干预情况下的生存能力和基因型和表现型是否稳定;评估潜在经济影响时,分析其本身有害生物性质对目标和非目标植物或植物产品的影响,以及由于其本身特性造成的其他方面影响。

ISPM No.21《限定的非检疫性有害生物风险》(FAO/IPPC, 2004)是关于限定的非检疫性有害生物风险分析的准则,确定与种植用植物有关的有害生物的风险分析。有害生物的风险评估过程分为 3 个步骤:首先根据有害生物特性等对其进行分类,对有害生物和寄主的生活史、有害生物侵染源的相对经济影响等进行分析;其次是确定种植用植物是否是有害生物侵染这些植物的主要来源;最后根据有害生物的影响等指标判断种植用植物原定用途

的经济影响。由于限定的非检疫性有害生物已经在分析地区发生,所以不需要对其进行定殖可能性的评估或长期经济影响的评估。最后根据风险评估结果确定管理措施力度。

1.2 美国风险分析的方法

美国联邦政府制定的《植物保护法》是美国植物检疫最主要的法律依据,是植物检疫的总要求。美国农业部动植物检疫局(Animal and Plant Health Inspection Service, APHIS)成立了一支专门负责植物有害生物风险分析工作的队伍。《Post-entry Quarantine》《Plants for Planting Manual》等手册都明确规定了种质资源进入美国的具体标准与方法。美国植物保护与检疫处每年通过查阅各个国家对种质资源的限定状况、海关截获情况、查询资料等方法,一旦认为某种种质资源是有害生物或可能携带检疫性有害生物,则会将该种种质资源列入待有害生物风险分析后批准入境(not authorized pending pest risk analysis)类名单和列入《种植用植物手册》名单。美国科研机构、企业等需要引进名单上的种质资源时,需要获得官方出具的植物检疫证书和 APHIS 签发的进境许可证,经过严密的风险分析以及隔离检疫处理才可引进(刘慧等,2020)。

APHIS 没有针对种质资源的风险分析,但制定了关于杂草的风险评估方法,即采用逻辑斯蒂回归建立评判公式分类方法(何善勇等,2020)。整个风险分析分为杂草风险分析起始阶段和杂草风险分析评估阶段:杂草风险起始阶段主要确定风险分析起始途径、参考以前的风险评估报告和确定杂草的身份,明确杂草的学名、分类地位、生物学及形态学特征和分布地区等基本信息(伏建国等,2009);杂草风险评估是整个评估的关键步骤,调查该杂草在美国的限定状况,确定是否在进境植物限定性有害生物名单中,将定殖潜力、扩散潜力、经济和环境的影响作为传入后果的因素,评估传入可能性,依据该种生物特性、用途和生态特点等进行评估。该评估方法共设了 41 个指标,每个评价指标风险高低分别给予 0~3 分,由传入后果风险与传入可能性风险综合决定最终的潜在风险:11~18 分为低、19~26 分为中、27~33 分为高(孙双艳等,2019)。

1.3 澳大利亚风险分析的方法

2015 年,澳大利亚制定了《生物安全法》,该法生效后,制定了配套条例管理本国的生物安全。在

有害生物风险分析方面,澳大利亚制定了生物安全入境风险分析指导方针。采用国际推荐的生物安全风险评估方法,利用风险分析矩阵工具,综合分析有害生物传入、扩散的可能性与潜在的影响,定性判断风险的大小,以及是否需要采取风险管理措施(王媛媛等,2016)。

澳大利亚杂草风险评估系统(weed risk assessment, WRA)是一个以提问的形式评估拟引入外来植物的杂草潜力的系统(李惠茹等,2022),系统分为 A 生物地理学、B 不良属性、C 生物学/生态学 3 个模块,共设置了 49 个问题。WRA 系统允许知识缺口,系统要求至少回答 A 部分的 2 个问题、B 部分的 2 个问题和 C 部分的 6 个问题,无需回答所有问题。WRA 针对信息较少或新发现的外来物种改进了风险预测的能力,为风险管理者提供充足的科学依据(陈良燕等,2001)。每题需依据评判标准,选择“是”“否”或“不作答”。对照 WRA 的赋分说明进行计分,未作答者不计分,累计总分越高,则风险越大。根据风险评估结果划分为低风险植物(得分<1),允许输入;需要进一步评估(得分 1~6);高风险植物(得分>6),禁止输入。

WRA 系统评估内容包括外来种的现状、生物学特性、气候和分布传播特点及繁殖特性等,根据最终风险值确定是否需要对其进行进一步评估(Pheloung *et al.*, 1999)。该系统可操作性强,已经用于多种引进外来植物的风险评估,并且在多个国家和地理区域进行了测试,被广泛认为是初步评估植物引种风险的一种方法,可信力较高。在引进新植物时,澳大利亚杂草风险评估系统可作为一种普遍应用的评估系统(McClay *et al.*, 2010)。新西兰等多个国家或地区对其进行改良并且用于本国的杂草风险评估(Rouget *et al.*, 2001)。

2 国内主要有害生物生物风险评估方法

2.1 进出境植物和植物产品有害生物风险分析技术要求(国家质量监督检验检疫总局和国家标准化管理委员会,2007)

进出境植物和植物产品有害生物风险分析分 2 个阶段:第一阶段进行风险评估;第二阶段提出风险管理措施建议。首先,对于引进的植物本身,根据在我国的分布情况和查阅相关文献确认其是否会成为杂草,如果可能成为有害生物,则需要进行评估,并咨询权威专家是否应该禁止或限制引

进。根据植物可能携带的有害生物的种类、分布、管制情况识别出检疫性有害生物和非检疫性有害生物。对检疫性有害生物继续进行风险评估,非检疫性有害生物则停止评估。在正式的风险评估过程中,应按照以下顺序对检疫性有害生物评估传入和扩散的可能性,即有害生物在种质资源输出国的危害能力、生存能力、有害生物是否在 PRA 地区扩散并定殖、是否入侵非 PRA 地区并对经济重要区域造成危害。定性分析考虑以上造成风险事件发生的风险因素,可以将可能性分为 5 级:很高、高、中、低、很低。尤其是用于种植目的的植物,其导致有害生物传入的可能性比其他用途的植物产品要高。其次,分析有害生物是否会依靠植物传播、扩散并造成严重后果,根据有害生物在植物上的生活史、有害生物的生物性以及植物本身的抗性、预定用途等指标进行评估。以种植目的引进的植物,需评估有害生物对经济的影响,最后通过定性或定量的方法评估检疫性有害生物和非检疫性有害生物的后果,并提出检疫管理措施。

2.2 林业有害生物风险分析(全国植物检疫标准技术委员会林业分技术委员会,2016)

《林业有害生物风险分析准则》用于确定国内林业有害生物风险程度,适用于林业检疫性有害生物、林业危险性有害生物等林业有害生物。在正式评估前,根据林业有害生物预评估评价表进行预评估,根据相关情况确定为一般关注、重点关注和转入风险评估 3 个档次。对于引进的种质资源,采用“林业有害植物风险分析指标体系”对种质资源本身进行风险评估,尤其应考虑在运输过程中种子的成活率、自然扩散的能力以及适生区域等指标;其次,采用“林业有害生物(不含林业有害植物)风险分析指标体系”对可能携带入境的林业有害生物进行评估,重点分析受害寄主的经济重要性。体系均分为目标层、准则层、指标层 3 个层次。对指标层设置赋分区间并加权计算得出风险值(R),划分林业有害生物风险等级为低度危险($0 \leq R < 1.5$)、中度危险($1.5 \leq R < 2$)、高度危险($2 \leq R < 2.5$)、特别危险($2.5 \leq R < 3$)。最后根据风险等级判断是否进入风险管理阶段、提出管理措施。

2.3 杂草风险分析(国家认证认可监督管理委员会,2007)

《杂草风险分析技术要求》规定杂草风险分析

共分为开始、评估杂草风险、结论 3 部分,风险评估分为杂草传入后果评估和传入可能性评估 2 部分。传入后果评估包括环境适生能力、繁殖和定殖后扩散能力、经济影响能力和环境影响能力 4 个风险因子。根据用途、活力、传入频率及传入数量、季节和范围等 4 个方面的情况确定传入可能性风险的级别,每个风险因子的风险值按风险高低分别为忽略(0 分)、低(1 分)、中(2 分)、高(3 分)。最后,根据传入可能性风险和传入后造成后果风险的级别判断杂草潜在风险的等级,具有中高风险(风险值 7~10)或高风险(风险值 11~12)的植物被列为有害杂草。目前,杂草风险分析主要利用定性和半定量化的风险分析方法,但不同国家理解准则的深度不同,如可利用信息、技术知识水平等方面,造成各国在制定杂草风险分析系统和方法上存在差异,这种差异影响了有害杂草风险评估的客观性。

2.4 外来昆虫引入风险评估(中华人民共和国农业农村部,2010)

《外来昆虫引入风险评估技术规范》规定了外来昆虫从国外(含境外)引入时进行风险评估的程序和方法,适用于首次从国外(含境外)将外来昆虫引入的单位、个人及其相应的行业管理部门进行外来昆虫引入时的风险管理决策。引进种质资源的过程中,有的昆虫可能会随种质资源一起引入,所以需要对外来昆虫进行风险评估,判断其是否为有害生物。对外来昆虫在原产地发生情况、是否会成为我国有害生物的传播媒介、在我国的适生范围、昆虫的繁殖扩散能力、可能会产生的经济生态影响等指标层的风险值分别设置为 0、1、2、3 分,按照多指标综合评判分析方法进行计算并得出风险评估值,判断风险等级,若种质资源附带的昆虫可能为高风险,则需要重新考虑是否引进该种质资源或做好防治措施后暂缓引入。

2.5 活体转基因生物风险分析(国家质量监督检验检疫总局,2012)

《活体转基因生物风险分析方法》适用于活体转基因潜在的植物检疫风险分析。引入基因繁殖材料或注入基因的植物等种质资源可能有植物检疫的风险,需要进行有害生物风险分析。根据活体转基因的寄主范围以及寄主范围是否改变、表现型和基因型不稳定和基因流动等指标对潜在植物检疫风险进行评估,确定分析地区、收集活体转基因

特性以及结合原有的风险分析报告判断是否具有植物检疫的风险。

活体转基因风险分析过程分成归类、评估传入和扩散可能性及评估潜在经济重要性3步。根据特性、管制状况等信息对活体转基因生物进行判断,如果是潜在的检疫性有害生物,则继续进行风险分析。该方法采用场景分析、定性和定量方法对传入和扩散过程进行评估。对经济影响进行评估时,要重点考虑生物本身的性质对植物或植物产品产生的负面影响。

2.6 外来物种环境风险评估(中华人民共和国环境保护部,2011)

《外来入侵物种环境风险评估技术规范》适用于规划和建设项目可能导致外来物种造成生态危害的评估。在评估开始之前,要重点考虑在引种、繁殖、运输等途径是否可能带来外来物种,掌握原产地、扩散可能、管制状况、已有的外来物种风险评估情况等,列出拟评估的外来物种名单,决定是否对外来物种进行风险分析。在风险评估过程中,首先是针对引进可能性的评估,对于有意引进的种质资源,重点考虑引进的目的。其次是进行建立自然种群可能性、扩散可能性和生态危害的评估。除满足基本要求外,把外来物种归类为植物、动物或微生物分别进行定性分析。

3 讨论

3.1 设置进行种质资源风险分析的指标

引进的种质资源具有本地区植物没有的优良性状,是改良本地种质资源的重要育种材料。与一般有害生物的风险分析方法相比,引进种质资源需重点考虑可能携带的有害生物定殖的可能性及对本地区可能造成的危害影响,在设置风险分析指标时,从进入可能性、定殖可能性、扩散可能性、危害影响、危险性管理的难度5个方面进行风险评估。(1)从引进种质资源的数量、运输过程中有害生物存活率、有害生物被截获的可能性、各国的重视情况对有害生物进入可能性进行评估;(2)在评估定殖可能性时,需要充分考虑有害生物的生物特性及国内是否有适生性环境;(3)从传播方式、国外的分布情况、天敌存在可能性进行扩散可能性评估;(4)有害生物入侵后果的影响不仅包括经济危害,还应考虑对生态环境的影响、对栽培寄主和人类身体健康的危害,应设置受害栽培寄主的种类、受害

栽培寄主的种植面积、是否为其他检疫性有害生物的传播媒介、潜在经济影响、生态影响、是否具有毒性或为过敏原等指标;(5)根据检疫鉴定难度、除害处理难度、根除难度综合评估危险性管理的难度。

通过以上指标对种质资源携带的有害生物进行针对性的风险分析,以制定符合种质资源特性的风险分析指标,便于对最终风险分析结果准确判断。若风险较大,则暂时停止引进该种质资源,待采取严格的管理措施后再重新考虑引进;若风险较小,则可顺利开展种质资源引进工作。

3.2 研究种质资源的风险分析方法

国内外相关学者研究了一系列外来入侵风险评估系统(Batz & Kowarik, 2019; Richardson *et al.*, 2000; Tollington *et al.*, 2017),但针对种质资源的风险评估方法还不完备。针对种质资源的半定量风险评估方法被广泛应用于杨潜叶蜂 *Messatianaensis* Xiao et Zhou (陶万强等, 2003)、西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (杜予州等, 2005)、红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren (郑华和赵宇翔, 2005)等多种外来有害生物的风险性分析。其中,最常用的是多指标综合评价法,该方法主要包括多指标综合评价模块和综合评价计算模块。多指标综合评价模块包括18个指标,各个指标从低到高依次赋分0、1、2、3、4个评判等级,将结果逐级传递并进行计算,最终得到综合评价值(R)。划分的4个危险等级分别为特别危险($2.50 \leq R < 3.00$)、高度危险($2.00 \leq R < 2.50$)、中度危险($1.00 \leq R < 2.00$)、低度危险($0 \leq R < 1.00$)。

3.3 对种质资源风险分析方法进行验证

对于新创建的种质资源引进风险分析方法,要对其正确性及实用性进行验证。首先,验证设置的风险分析的指标是否合适,不断改进指标;其次,通过实例验证,比较种质资源风险分析系统与现有发挥功能的风险分析评价体系的风险结果,若种质资源风险分析系统的结果与现有发挥功能的风险分析评价体系的风险结果处于同一危险等级并更精确,则证明种质资源风险分析方法正确及具有实用性。随着不断学习和实际研究,对风险评估指标进行修改和细化,终将能提出一套适合我国引进种质资源的风险分析方法。

参考文献

- 陈良燕, 徐海根, 2001. 澳大利亚外来入侵物种管理策略及对我国的借鉴意义. 生物多样性, 9(4): 466-471.
- 杜霞, 刘霞, 周文武, 杨艳丽, 周先奇, 高玉林, 2021. 马铃薯块茎蛾生物防治研究进展与展望. 中国生物防治学报, 37(1): 60-69.
- 杜予州, 戴霖, 鞠瑞亭, 顾杰, 刁春友, 龚伟荣, 2005. 入侵害虫西花蓟马在中国的风险性初步分析. 中国农业科学, 38(11): 217-221.
- 伏建国, 安榆林, 杨晓军, 2009. 杂草风险分析概述. 植物检疫, 23(S1): 39-44.
- 国家认证认可监督管理委员会, 2007. 杂草风险分析技术要求: SN/T 1893-2007. 北京: 中国标准出版社.
- 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化委员会, 2007. 进出境植物和植物产品有害生物风险分析技术要求: GB/T 20879-2007. 北京: 中国标准出版社.
- 国家质量监督检验检疫总局, 2012. 活体转基因生物风险分析方法: SN/T 3168-2012. 北京: 中国标准出版社.
- 侯沁文, 白海艳, 李云玲, 于成龙, 2020. 马铃薯甲虫在中国的适生区. 生态学杂志, 39(10): 3311-3319.
- 何善勇, 徐飞, 张宁, 温俊宝, 印丽萍, 2020. 美国杂草风险评估方法对我国入侵植物的可应用性. 林业科学, 56(4): 197-208.
- 李惠茹, 严靖, 杜诚, 闫小玲, 2022. 中国外来植物入侵风险评估研究. 生态学报, 42(16): 6451-6463.
- 李健, 2020. 稳步推进全球动植物种质资源引进中转基地建设. 海南日报, 2020-04-15 (A08).
- 刘慧, 朱莉, 赵守歧, 宋震, 2019. 警惕番茄褐色皱果病毒传入我国. 中国植保导刊, 39(8): 73-76, 82.
- 刘慧, 赵守歧, 马晨, 2020. 美国农业植物种质资源的引进与隔离检疫管理. 中国植保导刊, 40(9): 96-98, 110.
- 全国植物检疫标准技术委员会林业分技术委员会, 2016. 林业有害生物风险分析准则: LY/T 2588-2016. 北京: 中国标准出版社.
- 沈玉良, 2021. 海南自由贸易港植物种质资源进出境监管体系研究. 南海学刊, 7(1): 22-31.
- 孙双艳, 马菲, 王振华, 2019. 中国与主要贸易国家植物有害生物风险分析体系比较研究. 植物检疫, 33(6): 10-14.
- 陶万强, 关玲, 禹菊香, 薛洋, 张宝增, 2003. 杨潜叶叶蜂的危险性分析和风险性管理. 中国森林病虫, 22(4): 8-10.
- 王亚锋, 付志玺, 郭云霞, 陶振华, 马蓓, 郑跃鸣, 2022. 入侵性杂草皱叶果芥在中国的适生区预测及分析. 生物安全学报, 31(4): 356-363.
- 王媛媛, 孙淑芳, 庞素芬, 刘陆世, 姜雯, 魏荣, 2016. 澳大利亚新生物安全进口风险分析体系介绍. 中国动物检疫, 33(7): 65-68.
- 张莹, 罗加凤, 刘鹏, 胡佳续, 廖芳, 唐芳, 2018. 加拿大进境燕麦种子中大豆北方茎溃疡病菌的检疫鉴定. 中国植保导刊, 38(2): 76-80.
- 郑华, 赵宇翔, 2005. 外来有害生物红火蚁风险分析及防控对策. 林业科学研究, 18(4): 479-483.
- 中华人民共和国环境保护部, 2011. 外来物种环境风险评估技术导则: HJ 624-2011. 北京: 中国环境科学出版社.
- 中华人民共和国农业农村部, 2010. 外来昆虫引入风险评估技术规范: NY/T 1850-2010. 北京: 中国标准出版社.
- BATZ R, KOWARIK I, 2019. Assessing the environmental impacts of invasive alien plants: a review of assessment approaches. *NeoBiota*, 43: 69-99.
- FAO/IPPC, 2004. *ISPM No. 21 Pest risk analysis for regulated non-quarantine pests*. Rome: FAO.
- FAO/IPPC, 2007. *ISPM No. 2. Guidelines for pest risk analysis*. Rome: FAO.
- FAO/IPPC, 2013. *ISPM No. 11 Pest risk analysis for quarantine pests*. Rome: FAO.
- MECLAY A, SISSONS A, WILSON C, DAVIS S, 2010. Evaluation of the Australian weed risk assessment system for the prediction of plant invasiveness in Canada. *Biological Invasions*, 12(12): 4085-4098.
- PHILOUNG P C, WILLIAMS P A, HALLOY S R, 1999. A weed risk assessment model for use as a biosecurity tool evaluating plant introductions. *Journal of Environmental Management*, 57(4): 239-251.
- RICHARDSON D M, PYEK P, REJMÁNEK M, BARBOUR M G, WEST C J, 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, 6(2): 93-107.
- ROUGET M, RICHARDSON D M, MILTON S J, POLAKOW D, 2001. Predicting invasion dynamics of four alien *Pinus* species in a highly fragmented semi-arid shrubland in South Africa. *Plant Ecology*, 152(1): 79-92.
- TOLLINGTON S, TURBÉ A, RABITSCH W, GROOMBRIDGE J J, SCALERA R, ESSL F, SHWARTZ A, 2017. Making the EU legislation on invasive species a conservation success. *Conservation Letters*, 10(1): 112-120.

(责任编辑: 郭莹)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.002

外来植物肿柄菊对入侵生境的生态影响及其防控对策

吴 甜^{1,2}, 申 科², 贾 涛³, 夏体渊^{1*}, 蒋智林^{2*}

¹昆明学院农学与生命科学学院, 云南 昆明 650214; ²普洱学院普洱市绿色经济发展研究院, 云南 普洱 665000; ³农业农村部农业生态与资源保护总站, 北京 100125

摘要: 入侵杂草肿柄菊对我国热带和亚热带地区的生物多样性和生态系统功能产生严重影响,且其入侵呈现快速扩张态势。为提高对肿柄菊入侵危害的认识水平,加强对肿柄菊的监测预警及防控,本文通过搜集、整理和分析相关文献资料,总结肿柄菊在世界各国不同地区的入侵情况及其影响,分析肿柄菊在我国入侵的历史、分布现状及其入侵对遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性的影响。结合肿柄菊生态入侵防控研究与应用实践,指出肿柄菊入侵防控存在的主要问题和面临的挑战,并针对肿柄菊监测和高效防控技术体系提出高度重视肿柄菊入侵危害影响的分类风险评价、多元化开展肿柄菊入侵扩张的基础科学研究、建立早监测早预防的预警机制和构建针对肿柄菊入侵防控的综合技术体系等防控对策。

关键词: 肿柄菊; 入侵杂草; 生境; 防控对策



开放科学标识码
(OSID 码)

Ecological effects of the exotic plant *Tithonia diversifolia* on invasive habitats and its control strategies

WU Tian^{1,2}, SHEN Ke², JIA Tao³, XIA Tiyuan^{1*}, JIANG Zhilin^{2*}

¹College of Agronomy and Life Sciences, Kunming University, Kunming, Yunnan 650214, China; ²Pu'er Green Economy Development Research Institute, Pu'er University, Pu'er, Yunnan 665000, China; ³Rural Energy and Environment Agency, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China

Abstract: The invasive weed, *Tithonia diversifolia* A. Gray poses a considerable threat to biodiversity and ecosystem function in the tropical and subtropical regions of China, due to its rapid expansion. To improve awareness of the impact caused by *T. diversifolia*, it is imperative to enhance monitoring, early warning, and control measures. This study is a thorough review of a range of literature. We present a comprehensive analysis of the impacts of *T. diversifolia* invasion and expansion across various countries and regions. The historical background and distribution and its impact on genetic, species, and ecosystem diversity are described. Combined with scientific research and application practices of the ecological invasion prevention and control technology of *T. diversifolia*, the main problems and challenges of the ecological invasion prevention and control technology of *T. diversifolia* are presented. To effectively monitor and prevent the ecological invasion of *T. diversifolia*, a multi-level risk assessment should be conducted. Diversified scientific research should be conducted on the expansion of the invasion. Early monitoring, prevention, and warning mechanisms should be established; and a comprehensive technical system for prevention and control should be constructed.

Key words: *Tithonia diversifolia*; invasive weeds; habitat; prevention and control strategies

外来入侵植物指从原生地传播到新生境后快速生长、繁殖、扩散,并威胁、破坏当地生态系统的植物(梁景等,2021;杨期和等,2002)。植物入侵途径主要有无意引进、自然传入和有意引进3种,其中,有意引进是主要的传播方式(王磊等,2016)。入侵植物因具有适应性强、繁殖能力高、扩散速度快等特点,对入侵生境中其他植物的生长产生严重抑制甚至灭绝影响,从而形成外来入侵植物单优种

群,降低生境生物多样性与生态系统的稳定性(张文馨等,2020),进而改变生境群落结构和生态功能,甚至影响经济发展和人类健康安全(翟元杰和梁佩芳,2021)。随着经济和人类活动全球化,尤其是跨区域的交通运输和旅游频繁化,外来植物入侵态势愈发复杂和严峻(赵添羽等,2022)。同时,由于治理难度大和不易彻底治理,外来植物入侵给农业生产、生态环境、经济发展和人类健康安全等造成严重威胁(陈宝雄等,2020;高尚宾,2017;唐龙等,2021)。因此,如何预防、监测和有效控制外来植物入侵已成为生物安全领域重要的课题之一。

肿柄菊 *Tithonia diversifolia* A. Gray 原产于墨西哥及中美洲地区,其入侵给世界多地带来了颇为严重的影响。研究发现,肿柄菊能在不同类型的土壤中生长,在湿润肥沃的土壤中生长最盛且容易形成单优种群(中国科学院植物研究所,1987)。很多学者陆续对肿柄菊的地理分布现状(朱枫等,2018)、繁殖(张应青,2017)、生长特性(焦杨等,2020)、种群和群落特征(陈剑等,2020)、活性成分分析(赵立华等,2017)、化感作用(蒋智林等,2020;田学军等,2015)以及其趋利避害特性与应用(黄琳芸等,2018;张余杰和秦小萍等,2013)等开展了相关研究。对肿柄菊的入侵扩张影响研究表明,肿柄菊入侵东南亚、非洲、太平洋等热带和亚热带地区,其快速扩张对入侵生境的生物多样性和生态系统功能造成严重影响(Jama *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2012)。肿柄菊在我国公路沿线和撂荒地等区域的入侵也呈现快速扩散趋势,由于其种子依附交通工具、人畜和其他媒介远距离传播,扩散分布变得更为复杂(陈剑等,2021;焦杨等,2020)。鉴于此,本文通过文献研究法和资料归类分析法,对肿柄菊入侵扩张与分布状况、生态影响、存在的主要问题与面临的挑战等进行综述,并提出对肿柄菊的防控对策与建议,以期提高人们对入侵杂草肿柄菊的认知水平,提升对肿柄菊的科学防治能力。

1 肿柄菊入侵扩张与分布状况概述

肿柄菊常被作为观赏性花卉、绿肥资源和水土保持植物引种到世界各地,并广泛扩散分布于不同生境。早在 100 年前,肿柄菊就被引入非洲的乌干达,后被作为观赏植物、有机肥料、饲料等引种到亚洲、非洲、美洲和澳洲等 70 余个国家和地区(Laduke *et al.*, 1982),在热带、亚热带地区一些国

家和地区大量分布并已成为重要的入侵杂草,逐渐形成单一优势种群,给入侵地生境的农业生产和生物多样性带来严重影响(Jama *et al.*, 2000; Kriticos & Kriticos, 2021; Obiakara *et al.*, 2018)。20 世纪 90 年代,肿柄菊被引入泰国后外逸,在泰国北部山地广泛蔓延形成入侵,导致入侵生境生物多样性降低(Tongma *et al.*, 1999)。近年来,肿柄菊已广泛分布于乌干达、肯尼亚、坦桑尼亚、南非、马拉维和赞比亚等部分地区,而在津巴布韦分布较少(Shackleton *et al.*, 2019)。Kriticos & Kriticos (2021)研究表明,在赞比亚,肿柄菊对原生植被、物质流动性或获取、水供应、作物产量和动物健康等产生了较大负面影响。在印度,肿柄菊被作为观赏和水土保持植物应用后发生逃逸扩散而造成入侵,对入侵生境生物多样性造成严重影响。

肿柄菊在我国亦有较长的入侵历史和较大的扩散范围。20 世纪 30 年代,肿柄菊被作为绿肥和饲料引入到中国云南,后被作为观赏植物引种到广东、海南、福建等地(王四海等,2004),其种子借助交通工具、动物和鸟类媒介以及水流和风传等广泛扩散,逸散到广西壮族自治区和台湾省,破坏生境原有植物群落甚至生态系统的结构和功能,对入侵生境植物多样性和农业生产等造成不同程度的威胁(邓自发等,2006;国怀亮和柳江,2014;王四海等,2019)。

2 肿柄菊对入侵生境生态影响分析

2.1 对遗传多样性的影响

遗传多样性是生物长期进化的产物,是其生存适应和发展进化的前提。肿柄菊通过异速生长和杂交进化,改变其体内遗传物质从而获得生存和生态位优势,排挤本地物种的生长和繁衍。如肿柄菊能快速适应环境获得生存并繁殖后代,衍变出异速生长(强大的克隆繁殖能力),其靠近地表的茎能生出不定根克隆繁殖,且不同分枝基茎粗度、分枝长度、枝密度和花序数都表现出显著的异序数(焦杨等,2020),表现为从母体向四周蔓延,从而抑制周边其他植物生长,最终形成单优种群(王四海等,2008)。

肿柄菊还能通过调整植株各部位之间的关系改变生长方式,表现为植株各部位的异速生长特征和遗传特性(王四海等,2004;王峥峰和彭少麟,2003);肿柄菊与其他物种种群的遗传相似性较低,

但遗传多样性水平高,同一物种个体之间遗传信息交流频繁(Obiakara & Fourcade, 2018)。当肿柄菊有与当地物种杂交机会时,便会趁机通过杂交实现基因重组,导致肿柄菊基因发生变异从而更加适应生存环境;但与肿柄菊杂交的本地物种遗传基因常被同化,造成其遗传特异性减少或丧失(王钊等, 2022; 王峥峰和彭少麟, 2003)。此外,对肿柄菊群体的遗传多样性和变异研究亦发现,其自身能够保持较高的遗传多样性水平和抗性,而本地物种由于肿柄菊入侵而发生群体间异交,导致入侵生境本地物种的遗传多样性水平降低和抗性下降(Yang *et al.*, 2012)。

2.2 对物种多样性的影响

肿柄菊进入新环境后迅速生长并扩散,通过适应、竞争、化感、遮蔽、覆盖等作用,与当地物种竞争生存空间与养分,排挤当地植物,成为优势种群,导致物种多样性显著降低。肿柄菊结籽量多、种子量大和繁殖能力强,能够快速侵占入侵生境,造成当地物种多样性减少甚至单一化,且其由于生态适应性强,不断向北和高海拔地区扩散,给入侵生境的物种多样性带来越来越大的影响和潜在威慑(陈剑等, 2021, 2020; 王四海等, 2019; 朱枫等, 2018)。化感作用相关研究表明,肿柄菊对绿豆 *Vigna radiata* (L.) Wilczek、水稻 *Oryza sativa* L. 和鬼针草 *Bidens pilosa* L. 等种子萌发和生长具有较强的化感抑制作用,给入侵生境农业生产和物种多样性丰富度带来较大影响(田学军等, 2015; 杨海艳等, 2011)。

2.3 对生态系统多样性的影响

肿柄菊入侵会破坏原有生态系统平衡,造成功能紊乱,导致物质循环、能量流动和信息传递不能正常进行,从而影响生态系统的完整性和多样性(陆树刚等, 2006; 殷根深等, 2023; Xu *et al.*, 2022)。肿柄菊常通过改变生态环境使自身达到生长和繁衍最佳条件(张应青, 2017),霸占当地植物的生存空间并抑制其生长,导致入侵生境的物种结构和功能发生变化、生态系统丰富度和稳定性降低(徐成东等, 2007; 翟元杰和梁佩芳, 2021; Yelenik & D'antonio, 2013)。如在养分贫瘠的生境,肿柄菊能通过腐解增加土壤中的可利用 N、P、K 含量,促进自身生长,同时产生化感物质破坏周围植物种子细胞膜、降低种子活力及抑制幼苗生长(李军和王瑞龙, 2015; 蒋智林等, 2020; 杨海艳等, 2011)。

在生态系统中,因肿柄菊生物量能够快速达到环境承载力饱和程度,从而破坏生态平衡导致生态系统多样性功能紊乱(彭少麟和向言词, 1999; Parepa *et al.*, 2013);此外,由于肿柄菊花颜色鲜明、花冠大、散发特殊气味而吸引昆虫访花频率明显高于当地植物,自身授花传粉高从而影响当地植物授花传粉(林慧等, 2018; 万方浩, 2002; 吴冉冉等, 2019; Aronson *et al.*, 2007),给入侵生境生态系统植物群落的正常建立、物种组成机构和功能多样性带来不利影响。

3 肿柄菊入侵防控面临的主要问题与挑战

3.1 入侵危害和潜在机理研究不透

外来物种对入侵生境的危害和影响机理研究在我国起步较晚,肿柄菊没有被列入外来重点入侵防控物种目录,对其缺乏相应认识与研究投入。一方面,对肿柄菊入侵危害认知存在盲区或滞后。目前,部分群众尚不清楚肿柄菊属于入侵物种,对于肿柄菊的危害认识较少,部分群众甚至认为其花朵艳丽,将其视作观赏植物。另一方面,对肿柄菊入侵的潜在机理认识薄弱或存在缺失。由于对肿柄菊入侵影响和专业技术知识的科普宣传较少,目前对其入侵的生态机理研究不深,对其入侵的原因尚不清楚,导致肿柄菊的生态防控缺乏成熟的理论基础与技术支持。

3.2 入侵扩张监测与风险评估薄弱

我国是全球外来入侵物种最多和受入侵影响最为严重的国家和地区之一(段婷婷等, 2022)。一直以来,对外来入侵物种缺乏全面普查和调查,关于外来入侵物种的监测和风险评估较薄弱。目前,仅针对农林业生产密切相关和人类生命健康安全具有较大威慑的入侵物种开展了研究,而对诸多外来入侵物种尚未实施监测和风险评估,对肿柄菊的发生监测和风险评估也不够重视,其生态入侵扩展速度、扩散途径和入侵影响等相关研究数据匮乏。

3.3 高效防控技术和模式尚未形成

自 20 世纪 80 年代来,我国对肿柄菊的各类研究报道约 80 余篇,内容主要集中于其形态特征、繁殖栽培、地理分布和扩散格局、生态危害和化感影响等方面,鲜见针对肿柄菊的发生规律、替代控制、生态抵御与生物多样性防控等方面的研究,尤其是关于肿柄菊的防治技术尚停留在传统物理清除和简单的化学灭除,肿柄菊的高效防控

技术体系没有切实构建起来,尚未形成有效的防控实践应用模式。

4 肿柄菊防控对策与研究展望

4.1 科学推进肿柄菊的监测与风险评估

我国对于外来入侵物种的监测和防控工作日益重视。2019 年,农业农村部印发《关于做好农业生态环境监测工作的通知》,提出加强入侵物种的调查和监测;2021 年 4 月 15 日,《中华人民共和国生物安全法》正式施行,强化了防范外来物种入侵在国家生物安全治理体系中的重要地位;2021 年 10 月,中共中央、国务院在《关于进一步加强生物多样性保护的意见》中明确提出,提升外来入侵物种防控管理水平,开展外来入侵物种普查。开展肿柄菊的普查和监测调查是我国外来入侵物种防控的重要组成部分之一,应将其列入入侵植物重点监测的范畴,进一步掌握肿柄菊的发生危害特征和扩散风险,全面提高防控能力。

目前,我国肿柄菊风险评估尚存在数据信息不全、适应扩展分析方法应用缺乏、风险评估体系尚未科学构建等 3 方面的问题。应加大对肿柄菊基础和和应用基础研究的投入,构建肿柄菊信息数据库;并在此基础上,应用气候模型或生态位模型等精准开展肿柄菊的专项或系统风险评估,科学掌握肿柄菊的入侵影响和潜在风险。

4.2 肿柄菊物理根除、化学杀灭和生态防控措施

肿柄菊不仅能通过种子有性繁殖,其根、茎也能进行无性繁殖,应在肿柄菊刚进入新生境且植株密度较小时,在其花期之前开展物理清除,在清除过程中要对其根和茎进行灭活性处理,避免根、茎再次长成植株并形成入侵。

应用绿色生物药剂开展有害生物防控是当今和未来的重要选择(王小武等,2017; Tagne *et al.*, 2018)。在对肿柄菊的化学杀灭措施中,应选用低毒、安全、高效易分解、对生态环境影响小的环境友好型生物药剂,并结合肿柄菊的生长发育和生理生态特征,择时定量用药进行精准防控从而达到高效灭除。同时,可通过多种方式对肿柄菊实施生态防控:一是利用当地植物与微生物间的反馈机制形成微生物群落抵抗或抵御肿柄菊入侵;二是控制生态环境因子(光照、温度、水分、养分)限制或控制肿柄菊入侵扩张;三是利用植物间的化感作用反向抵御或抑制肿柄菊的生长。

4.3 加强对肿柄菊防控技术创新研究和综合利用

加强肿柄菊防控的基础与应用研究是实施高效防控肿柄菊的科技支撑和决策依据。在基础研究方面,应加强对肿柄菊繁育生理生态竞争特征、定殖和扩散规律、生境适应机理及其与环境因子互作关系、化感影响以及生态反馈效应等方面的研究,明确肿柄菊生存和扩张的限制性或控制性机理。在应用研究方面,开展不同生境、不同措施对肿柄菊综合防控技术示范,建设天敌繁育和扩繁基地,探索科学化、综合化和社会化治理多元融合,构建高效、可复制、易推广的综合治理技术模式。

挖掘肿柄菊功效并予以应用是控制肿柄菊的重要方向:一是肿柄菊具有美学价值,常用作观赏植物;二是肿柄菊具有药用价值,可入药;三是肿柄菊在开发新型绿色农药、化感作用及有机肥料方面具有较广阔的应用前景。对肿柄菊的趋利避害特性开展系统研究并进行应用实践,在综合利用中提高对其的防控。

此外,在外来入侵物种普查和防控体系下,加强对肿柄菊入侵和防控知识普及宣传,引导并提高公众对肿柄菊入侵危害的认识与防控意识,实施肿柄菊防控技术实践,建立全面、深层次防控肿柄菊入侵工作体系、管控制度和全民参与机制。

参考文献

- 陈宝雄, 孙玉芳, 韩智华, 黄宏坤, 张宏斌, 李垚奎, 张国良, 刘万学, 2020. 我国外来入侵生物防控现状、问题和对策. *生物安全学报*, 29(3): 157-163.
- 陈剑, 王四海, 杨卫, 吴超, 2020. 外来入侵植物肿柄菊群落动态变化特征. *生态学杂志*, 39(2): 469-477.
- 陈剑, 王四海, 朱枫, 袁春明, 2021. 外来入侵植物肿柄菊在云南的扩散风险研究. *广西植物*, 41(5): 789-798.
- 邓自发, 安树青, 智颖飙, 周长芳, 陈琳, 赵聪蛟, 方淑波, 李红丽, 2006. 外来种互花米草入侵模式与爆发机制. *生态学报*, 26(8): 2678-2686.
- 段婷婷, 何文亮, 杨嘉琦, 林梓颖, 赖广志, 卢柏铖, 吴钿, 李进, 2022. 湛江市外来植物入侵状况. *生物安全学报*, 31(3): 245-251.
- 高尚宾, 张宏斌, 孙玉芳, 张国良, 2017. 植物替代控制 3 种入侵杂草技术的研究与应用进展. *生物安全学报*, 26(1): 18-22, 102.
- 国怀亮, 柳江, 2014. 路域生态系统中外来入侵植物分布格局及其影响因素研究综述. *云南大学学报(自然科学版)*,

- 36(S1): 148–153.
- 黄琳芸, 黄瑞松, 屈信成, 2018. 壮药肿柄菊的生药学研究. 中国民族医药杂志, 24(5): 43–44.
- 蒋智林, 杨丽萍, 申科, 刘万学, 2020. 4种菊科入侵植物叶水浸提液对狗牙根种子萌发的化感作用. 西南农业学报, 33(12): 2943–2947.
- 焦杨, 程希平, 王四海, 2020. 外来入侵植物肿柄菊的异速生长特征. 西部林业科学, 49(1): 156–161.
- 李军, 王瑞龙, 2015. 入侵植物肿柄菊叶片凋落物化感潜力的研究. 生态科学, 34(6): 100–104.
- 梁景, 黄瑞鹏, 韩其昌, 2021. 外来植物入侵及防控探析. 现代农业科技(8): 92–94.
- 林慧, 张明莉, 王鹏鹏, 马森, 2018. 外来入侵植物意大利苍耳的传粉生态学特性. 生态学报, 38(5): 1810–1816.
- 陆树刚, 徐成东, 董晓东, 段玉清, 王奕, 2006. 中国西南纵向岭谷区外来入侵植物对生物多样性的影响(英文). 云南植物研究, 28(6): 607–614.
- 彭少麟, 向言词, 1999. 植物外来种入侵及其对生态系统的影响. 生态学报, 19(4): 560–568.
- 唐龙, 李绍军, 周庆诗, 高扬, 汪承焕, 2021. 外来植物入侵力主要理论与展望. 地球环境学报, 12(6): 585–594.
- 田学军, 沈云玫, 陶宏征, 沈登荣, 何超, 2015. 入侵植物肿柄菊对三叶鬼针草的化感作用. 生态环境学报, 24(7): 1128–1131.
- 万方浩, 郭建英, 王德辉, 2002. 中国外来入侵生物的危害与管理对策. 生物多样性, 10(1): 119–125.
- 王钿, 付开赞, 丁新华, 何江, 吐尔逊·阿合买提, 张国良, 付卫东, 文俊, 加马力丁·吾拉扎汗, 王兰, 郭文超, 2022. 基于 ISSR 的豚草和三裂叶豚草遗传多样性研究. 生物安全学报, 31(2): 128–134.
- 王磊, 张彤, 卢训令, 王晓辉, 谷艳芳, 2016. 河南省鸡公山国家级自然保护区外来入侵植物 1994–2014 年间的变化. 植物科学学报, 34(3): 361–370.
- 王四海, 陈剑, 李宁云, 孙卫邦, 吴超, 2019. 外来植物肿柄菊结籽量影响因素分析. 生态环境学报, 28(7): 1369–1378.
- 王四海, 孙卫邦, 成晓, 2004. 逃逸外来植物肿柄菊在云南的生长繁殖特性、地理分布现状及群落特征. 生态学报, 24(3): 444–449.
- 王四海, 孙卫邦, 成晓, 杨宇明, 2008. 外来植物肿柄菊(*Tithonia diversifolia*)的繁殖特性及其地理扩散. 生态学报, 28(3): 1307–1313.
- 王小武, 丁新华, 吐尔逊·阿合买提, 付开赞, 何江, 付文君, 郭文超, 2017. 不同生物药剂对稻水象甲的毒力、拒食活性及防效分析. 生物安全学报, 26(1): 68–74.
- 王峥峰, 彭少麟, 2003. 杂交产生的遗传危害——以植物为例. 生物多样性, 11(4): 333–339.
- 吴冉冉, 刘林德, 张莉, 侯玉平, 王丽娟, 2019. 入侵植物美洲商陆的传粉生态学特性. 生态学杂志, 38(8): 2420–2425.
- 徐成东, 杨雪, 陆树刚, 2007. 中国的外来入侵植物肿柄菊. 广西植物, 27(4): 564–569.
- 杨海艳, 罗中泽, 李桂花, 徐成东, 2011. 肿柄菊对绿豆和水稻种子的化感作用. 安徽农业科学, 39(13): 7576–7578.
- 杨期和, 叶万辉, 邓雄, 许凯扬, 2002. 我国外来植物入侵的特点及入侵的危害. 生态科学, 21(3): 269–274.
- 殷根深, 张双双, 程文磊, 席辉辉, 董洪进, 2023. 云南省外来入侵植物的区系成分及多样性分析. 生物安全学报, 32(1): 16–24.
- 翟元杰, 梁佩芳, 2021. 外来植物入侵对乡土植物土壤氮素及其代谢酶活性的影响. 水土保持通报, 41(6): 29–33, 42.
- 张文馨, 王蕙, 范小莉, 囤兴建, 房用, 梁玉, 2020. 山东刺槐林对林下植物物种多样性及谱系多样性的影响. 生态学杂志, 39(9): 2868–2877.
- 张应青, 2017. 入侵植物肿柄菊(*Tithonia diversifolia*)生长和繁殖功能性状研究. 硕士学位论文. 昆明: 云南大学.
- 张余杰, 秦小萍, 2013. 肿柄菊有机肥料的研究进展. 化学与生物工程, 30(11): 15–18.
- 赵立华, 董家红, 苏晓霞, 李顺林, 张洁, 徐弢, 周晓吉, 张仲凯, 陈海如, 2017. 肿柄菊中倍半萜类化合物对番茄斑萎病毒的抑制活性分析. 烟草科技, 50(6): 21–25.
- 赵添羽, 何蕊, 华玉涛, 2022. 我国“十三五”时期重要外来物种入侵防控科技进展与展望. 生物安全学报, 31(2): 95–102.
- 中国科学院植物研究所, 1987. 中国高等植物图鉴: 第四册. 北京: 科学出版社.
- 朱枫, 王四海, 陈剑, 李宁云, 吴超, 2018. 外来入侵植物肿柄菊在云南的分布特征及其影响因素. 生态学杂志, 37(9): 2573–2580.
- ARONSON M F, HANDEL S N, CLEMANTS S E, 2007. Fruit type, life form and origin determine the success of woody plant invaders in an urban landscape. *Biological Invasions*, 9(4): 465–475.
- JAMA B, PALM C A, BURESH R J, NIANG A, GACHENGO C, NZIGUHEBA G, AMADALO B, 2000. *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya: a review. *Agroforestry Systems*, 49(2): 201–221.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.003

基于 mtDNA CO I 基因对榕属植物上粉蚧的分子鉴定和系统发育分析

傅卫民^{1,2}, 刘志红³, 蔡波⁴, 李惠萍⁵, 吴福中^{1,2,6*}

¹深圳城市职业学院, 广东 深圳 518116; ²深圳技师学院, 广东 深圳 518116; ³惠州市惠城区农业技术推广中心, 广东 惠州 516001; ⁴海口海关热带植物隔离检疫中心, 海南 海口 570105; ⁵太原海关技术中心, 山西 太原 030006; ⁶惠州海关综合技术中心, 广东 惠州 516006

摘要:【目的】榕属植物是我国华南地区普遍种植的园林植物,本研究旨在明确榕属植物上发生危害的粉蚧种类。【方法】测定榕属植物上发生为害的9种粉蚧的COI基因序列,利用生物信息学软件分析其序列同源性、遗传结构及系统进化关系。【结果】测出38条粉蚧的COI基因序列相似度达到99.25%~100.00%,9种粉蚧的种间遗传距离为0.070~0.173,其中堆蜡粉蚧与菠萝灰粉蚧遗传距离最大,而康氏粉蚧与橘小粉蚧遗传距离最小,说明康氏粉蚧与橘小粉蚧亲缘关系较近。构建的系统发育树中,每种粉蚧与GenBank数据库下载的已知序列聚在一支,系统发育树结果与形态学鉴定结果一致。【结论】线粒体COI基因序列能够快速准确鉴定榕属植物上的粉蚧,也揭示了榕属植物上粉蚧的遗传结构和系统进化关系,为农林业监测和精准防治粉蚧类害虫提供科学依据。

关键词: 榕属植物; 粉蚧; 分子鉴定; 线粒体COI基因; 系统发育



开放科学标识码
(OSID 码)

Molecular identification and phylogenetic analysis of mealybug species in *Ficus* spp. based on mitochondrial CO I gene

FU Weiming^{1,2}, LIU Zhihong³, CAI Bo⁴, LI Huiping⁵, WU Fuzhong^{1,2,6*}

¹City Polytechnic of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518116, China; ²Shenzhen Institute of Technology, Shenzhen, Guangdong 518116, China; ³Agricultural Technology Promotion Center at Huicheng District Huizhou City, Huizhou, Guangdong 516001, China; ⁴Post-Entry Quarantine Station for Tropical Plant, Haikou Customs District, Haikou, Hainan 570105, China; ⁵Technology Center of Taiyuan Customs District, Taiyuan, Shanxi 030006, China; ⁶Technology Center of Huizhou Customs House, Huizhou, Guangdong 516006, China

Abstract:【Aim】*Ficus* spp. are commonly planted garden plants in the South China. The aim is to identify the species of mealybugs in *Ficus* spp.【Method】The COI gene sequences of 9 species of mealybugs in *Ficus* spp. were amplified, and their sequence homology, genetic structure, and phylogenetic relationship were analyzed using bioinformatics software.【Result】The similarity of 38 sequences of mitochondrial CO I gene reached 99.25%–100.00%, and the interspecific genetic distance of 9 mealybugs was 0.070–0.173. *Nipaecoccus viridis* and *Dysmicoccus brevipes* had the highest genetic distance, while *Pseudococcus comstocki* and *Pseudococcus cryptus* was the smallest, which indicated that *Pseudococcus comstocki* and *Pseudococcus cryptus* were highly closely related. The phylogenetic tree was constructed with each mealybug clustered together using known mealybug sequences downloaded separately from the GenBank database. The results of molecular identification were found to be the same as those of morphological identification.【Conclusion】The mitochondrial COI gene could rapidly and accurately identify mealybugs in *Ficus* spp. and reveal the genetic structure and phylogenetic relationship of mealybugs. It provided a scientific basis for the monitoring, prevention, and precise control of mealybugs in agriculture and forestry.

收稿日期(Received): 2022-12-01 接受日期(Accepted): 2023-09-18

基金项目: 广东省科技项目(2019A141401001); 广东省科技奖入库培育项目(2021C0405004); 海南省自然科学基金(321RC666); 惠州市科技项目(2017C0424040); 深圳技师学院科研项目(2031001、2314001)

作者简介: 傅卫民, 男, 硕士, 高级讲师、高级技师。研究方向: 园林绿化和病虫害防治。E-mail: fwmgood@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), 吴福中, E-mail: zhongwfu@163.com

Key words: *Ficus* spp.; mealybugs; molecular identification; mitochondrial COI gene; phylogenetic

粉蚧是半翅目 Hemiptera 胸喙亚目 Sternorrhyncha 蚧总科 Coccoidea 粉蚧科 Pseudococcidae 昆虫的统称,该类害虫全球分布,危害各种农作物、森林树种、园林观赏树木、花卉以及果树等。粉蚧通过刺吸寄主植物的叶片、茎干、果实等幼嫩部位,使寄主植物缺乏营养,从而影响植物的生理活动,导致植物叶片枯黄、萎蔫,果实掉落。粉蚧分泌的蜜露,引发“煤烟病”,影响植物生长,使植物失去商品价值。有些种类在刺吸寄主、吸食汁液的同时还传播病毒(吴福中等,2016a,2016b; Wu *et al.*, 2014, 2015)。粉蚧是一类在植物上营寄生生活、体型极微小和形态特征特化的昆虫(吴福中,2015; 吴福中等,2020a,2020b,2014),种类鉴定十分困难,需要通过制作玻片标本观察其显微特征才能开展形态学鉴定,但有些种类存在“相似种”和“姊妹种”,很难通过形态学特征进行识别,野外更是无法通过肉眼观察进行区分。因此,有必要利用分子生物学方法开展粉蚧类微小害虫的分子鉴定研究。

应用分子生物学方法对物种进行鉴定以及大量的基因片段广泛应用于物种鉴定中,极大地促进了物种鉴定的发展。Hebert *et al.* (2003b) 应用线粒体 COI 基因解决鳞翅目 200 个近似种的鉴定难题,并提出线粒体 COI 基因适合作为动物鉴定系统的核心标记基因片段,可以应用于物种鉴定的 DNA 条形码。褚栋等(2009)用线粒体 COI 基因对海南扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 种群进行测序,比较了美国佛罗里达扶桑绵粉蚧种群,发现扶桑绵粉蚧形成 2 个支系。徐浪等(2013)用线粒体 COI 基因设计了 2 条特异性探针,应用荧光 PCR 对 2 种粉蚧进行了快速准确的鉴定。吴福中等(2020c)利用 DNA 条形码技术对外来物种扶桑绵粉蚧及其近似种进行了快速准确的鉴定。以上研究主要针对苗木花卉和水果上发生的粉蚧进行了分子鉴定,但很少见对园林树木发生危害的粉蚧开展分子鉴定,尤其是榕属植物上粉蚧类害虫。

本研究对危害我国热带榕属植物粉蚧类害虫开展了广泛的调查,并采集了大量的粉蚧害虫的标本,在形态学鉴定的基础上,开展分子快速鉴定方法研究和系统进化分析,为加强该类害虫的精准防治,防止粉蚧类害虫种群增长,保护我国园林景观

生态安全,也为防治园林病虫害提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2012—2020 年,对广东、广西、福建、海南、云南等地的公园、校园、景点、住宅小区等生境进行调查,调查的榕属植物品种有榕树 *Ficus microcarpa* Linn. f.、橡胶榕 *Ficus elastica* Roxb.、雅榕 *Ficus concinna* Miq.、黄葛榕 *Ficus virens* Aiton、垂叶榕 *Ficus benjamina* L.、竹叶榕 *Ficus stenophylla* Hemsl.、高山榕 *Ficus altissima* Blume、大果榕 *Ficus auriculata* Lour. 等。调查采集的虫源置于盛有 95% 酒精的指形管中保存,通过制作玻片标本,在蔡氏电动体视镜(ZEISS SteREO Discovery.V20)下观察玻片标本的形态显微特征,依据 Williams (2004) 和吴福中(2015)关于粉蚧特征描述,确认具体种类。调查到的粉蚧种类有 9 种,分别为橘小粉蚧 *Pseudococcus cryptus* Hempel、康氏粉蚧 *Pseudococcus comstocki* Kuwana、暗色粉蚧 *Pseudococcus viburni* Signoret、南洋臀纹粉蚧 *Placoccus lilacinus* Cockerell、橘臀纹粉蚧 *Placoccus citri* Risso、堆蜡粉蚧 *Nipaecoccus viridis* Maskell、双条拂粉蚧 *Ferrisia virgata* Cockerell、木槿曼粉蚧 *Maconellicoccus hirsutus* Green 和菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus brevipes* Cockerell,其中,南洋臀纹粉蚧为检疫性粉蚧,列入中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录。在调查的榕属植物寄主中,粉蚧主要寄生在榕树上危害,其次是橡胶榕,其他品种较少危害,危害都达到中等程度。从粉蚧危害部位看,粉蚧喜寄生在植物新生的根茎和气生根上,植物主干、枝叶上较少。

1.2 基因组 DNA 提取

参照 Promega 试剂盒提取动物组织 DNA 步骤提取供试样品 DNA, -20 °C 保存备用。

1.3 PCR 扩增

PCR 扩增引物序列参照 Simon *et al.* (1994) 所用引物,扩增的目的片断为 COI 基因序列中的 650 bp 片断。引物序列为 PCO-F1 (5'-CCTTCAAC-TAATCATAAAAATATYAG-3') 和 LEP-R1 (5'-TA-AACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3')。PCR 反应和凝胶电泳参照吴福中等(2020c)扶桑绵粉蚧鉴定,标准 Marker 作为参照进行比较,若电泳的条带

清晰,收集 25 μ L PCR 产物,送上海立菲生物技术服务有限公司进行双向测序。

1.4 序列分析和系统发育树构建

测得的序列用 BIO-edit 软件核查、编辑、拼接,并在 GenBank 数据库 ([https:// www. ncbi. nlm. nih. gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) 中 BLAST,进行同源性分析,查找目标序列。从 GenBank 数据库中下载康氏粉蚧、橘臀纹粉蚧、南洋臀纹粉蚧、暗色粉蚧、菠萝灰粉蚧、堆蜡粉蚧、木槿曼粉蚧、橘小粉蚧和双条拂粉蚧序列,登录号分别为 JQ085562、HM474278、HM474306、JQ085549、JQ085558、MH290520、HM474229、HM474370 和 KP692715。

应用 DnaSP 5.0 软件计算单倍型多样性、核苷酸多样性、基因流等,并进行 Tajima's D 中性检验。Tajima's D 值为正值时说明进化方式为平衡选择,且有一些单倍型分化;Tajima's D 值为负值时为负向选择或群体扩张;而 Tajima's D 值接近 0 时,表明群体处于稳定状态。

选取 K2P 双参模型计算遗传距离,以刷毛绵蚧 *Pulvinaria psidii* Maskell 作为外群,用 Mega 5.0 软件计算榕属植物上粉蚧的种间遗传距离,采用邻接法 (neighbor-joining method, NJ) 构建粉蚧的系统发育树,验证形态鉴定结果。

2 结果与分析

2.1 粉蚧 COI 基因片段的扩增

如图 1 所示,粉蚧 COI 基因 PCR 反应扩增产物长度为 650 bp,扩增质量好,可以进行后续试验。

2.2 相似性比对

序列经正反向拼接、比对和校对,得到长度为

650 bp 的 COI 基因片段 38 条,经与 GenBank 数据库比对,相似度达到 99.25%~100.00% (表 1)。

2.3 榕属植物上粉蚧遗传多样性分析

测定的 38 条 COI 基因序列,涉及 9 种粉蚧,其中橘小粉蚧有 5 个单倍型,康氏粉蚧有 4 个单倍型,堆蜡粉蚧、木槿曼粉蚧、双条拂粉蚧和菠萝灰粉蚧有 3 个单倍型,暗色粉蚧和南洋臀纹粉蚧有 2 个单倍型,而橘臀纹粉蚧只有 1 个单倍型。9 种粉蚧的多态性位点为 0~35,单倍型多样性指数为 0.000~1.000,核苷酸多样性为 0.00000~0.02960,核苷酸平均差异数为 0.000~19.200。Tajima's D 值为 -1.88947~0.83395,表明粉蚧种间差异显著 (表 2)。

2.4 榕属植物上粉蚧遗传距离分析

基于 K2P 双参模型计算榕属植物上 9 种粉蚧的种间遗传距离为 0.070~0.173,其中堆蜡粉蚧与菠萝灰粉蚧遗传距离最大,为 0.173,而康氏粉蚧与橘小粉蚧遗传距离最小,为 0.070,说明两者亲缘关系较近,其他粉蚧间的遗传距离详见表 3。

2.5 榕属植物上粉蚧遗传结构和基因流

通过 DnaSP 软件对榕属植物上粉蚧的 38 条 COI 基因序列分析表明,9 种粉蚧都有不同程度的遗传变异,种间遗传变异高于种内遗传变异,说明榕属植物上的 9 种粉蚧遗传分化来自种群内部。群体间的遗传分化系数是反映不同群体间的分化程度,基因流表示群体间基因交流的水平及影响遗传分化的现象。榕属植物上粉蚧的群体间的遗传分化系数为 0.95,各种群间的平均基因流为 0.01,说明种群间遗传分化不明显。

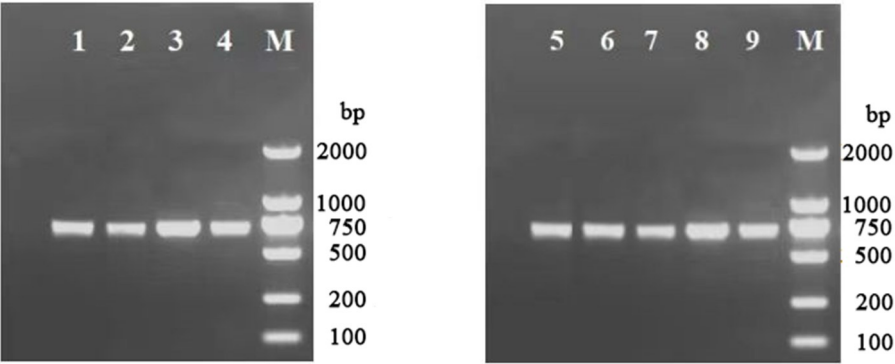


图 1 粉蚧 PCR 扩增图

Fig.1 PCR amplification of mealybugs

1: 康氏粉蚧; 2: 橘臀纹粉蚧; 3: 南洋臀纹粉蚧; 4: 暗色粉蚧; 5: 菠萝灰粉蚧; 6: 堆蜡粉蚧; 7: 木槿曼粉蚧; 8: 双条拂粉蚧; 9: 橘小粉蚧; M: Marker 2000。

1: *Pseudococcus comstocki*; 2: *Placoccus citri*; 3: *Placoccus lilacinus*; 4: *Pseudococcus viburni*; 5: *Dysmicoccus brevipes*; 6: *Nipaecoccus viridis*; 7: *Maconellicoccus hirsutus*; 8: *Ferrisia virgata*; 9: *Pseudococcus cryptus*; M: Marker 2000.

表 1 研究标本与序列信息
Table 1 The information of the mealybug samples and sequences

序号 Slno.	采集地 Locality	采集日期 Collection date	寄主 Host plant	种类 Species	危害程度 Damage rate	凭证标本 Specimen voucher	相似度 Similarity /%
1	厦门 Xiamen	2013-07-10	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	+	FJXM-01	99.85
2	芒市 Mangshi	2014-05-30	雅榕 <i>Ficus concinna</i>	康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	++	YNMS-02	99.25
3	深圳 Shenzhen	2019-08-23	黄葛榕 <i>Ficus virens</i>	康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	++	GDSZ-03	99.70
4	惠州 Huizhou	2020-03-28	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	++	GDHZ-04	99.55
5	蒙自 Mengzi	2012-10-03	雅榕 <i>Ficus concinna</i>	橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	++	YNMZ-01	99.25
6	惠州 Huizhou	2014-02-16	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	++	GDHZ-04	99.80
7	龙岩 Longyan	2013-07-06	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	++	FJLY-02	99.55
8	厦门 Xiamen	2013-07-10	大果榕 <i>Ficus auriculata</i>	橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	++	FJXM-03	99.85
9	惠州 Huizhou	2020-03-28	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>	++	GDHZ-03	100.00
10	深圳 Shenzhen	2019-11-09	垂叶榕 <i>Ficus benjamina</i>	暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>	++	GDSZ-02	100.00
11	河口 Hekou	2013-10-16	竹叶榕 <i>Ficus stenophylla</i>	暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>	++	YNHK-01	99.85
12	汕头 Shantou	2012-08-21	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	+++	GDST-01	99.70
13	梅州 Meizhou	2012-08-22	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	++	GDMZ-02	100.00
14	深圳 Shenzhen	2012-08-23	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	+++	GDSZ-03	100.00
15	中山 Zhongshan	2012-08-25	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	+	GDZS-04	100.00
16	广州 Guangzhou	2012-09-09	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	++	GDGZ-05	100.00
17	版纳 Bannan	2012-10-06	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	++	YNBN-06	99.85
18	厦门 Xiamen	2013-07-10	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	++	FJXM-07	99.85
19	惠州 Huizhou	2014-05-21	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	++	GDHZ-08	99.85
20	韶关 Shaoguan	2012-08-17	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	++	GDSG-01	100.00
21	漳州 Zhangzhou	2013-07-10	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	++	FJZZ-02	100.00
22	芒市 Mangzhi	2014-05-30	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	++	YNMS-03	100.00
23	云浮 Yunfu	2012-07-26	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	堆蜡粉蚧 <i>Nipaeococcus viridis</i>	+	GDYF-01	99.85
24	文昌 Wenchang	2012-08-10	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	堆蜡粉蚧 <i>Nipaeococcus viridis</i>	+++	HNWC-02	99.85
25	深圳 Shenzhen	2019-11-09	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	堆蜡粉蚧 <i>Nipaeococcus viridis</i>	+++	GDSZ-03	100.00
26	深圳 Shenzhen	2012-08-23	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	++	GDSZ-01	99.70
27	版纳 Banna	2012-10-06	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	+	YNBN-02	100.00
28	河口 Hekou	2013-10-16	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	++	YNHK-03	99.70
29	儋州 Danzhou	2012-08-14	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	HNDZ-01	100.00
30	深圳 Shenzhen	2012-08-23	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	GDSZ-02	99.85
31	思茅 Simao	2012-10-10	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	YNSM-03	99.40
32	宾川 Bingchuan	2014-06-03	高山榕 <i>Ficus altissima</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	+	YNBC-04	99.85
33	宾川 Bingchuan	2014-06-05	雅榕 <i>Ficus concinna</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	YNBC-05	99.40
34	深圳 Shenzhen	2019-11-30	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	GDSZ-06	100.00
35	深圳 Shenzhen	2019-12-15	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	GDSZ-07	99.85
36	惠州 Huizhou	2020-04-19	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	++	GDHZ-08	99.85
37	版纳 Banna	2012-10-06	橡胶榕 <i>Ficus elastica</i>	菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>	++	YNBN-01	99.85
38	福州 Fuzhou	2013-07-15	榕树 <i>Ficus microcarpa</i>	菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>	++	FJFZ-02	99.70
39	版纳 Banna	2012-10-06	金心果 <i>Chrysophyllum cainito</i>	刷毛绵蚧 <i>Pulvinaria psidii</i>			100.00
40	法国 France			康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>		JQ085562	
41	越南 Vietnam			橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>		HM474278	
42	菲律宾 Philippines			南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>		HM474306	
43	法国 France			暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>		JQ085549	
44	法国 France			菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>		JQ085558	
45	美国 American			堆蜡粉蚧 <i>Nipaeococcus viridis</i>		MH290520	
46	泰国 Thailand			木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>		HM474229	
47	韩国 South Korea			橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>		HM474370	
48	中国 China			双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>		KP692715	

调查寄主植物每株雌成虫虫量 10 头以下（含 10 头）为轻度危害,以“+”表示;每株雌成虫虫量 10~30 头（含 30 头）为中等程度危害,以“++”表示;每株雌成虫虫量大于 30 头为严重危害,以“+++”表示。

The number of female adults of mealybugs in each host plant was less than 10 (including 10), between 10 to 30 (including 30) and more than 30, which was considered as mild harm, moderate harm, serious harm, and marked as "+", "++" and "+++", respectively.

表 2 榕属植物上粉蚧 COI 基因单倍型及核苷酸多样性分析

Table 2 The analysis of haplotype and nucleotide diversity for COI gene of mealybugs in Ficus spp.						
物种 Species	多态性位点 Polymorphic sites	单倍型 Haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	核苷酸平均差异数 Averagenumber of nucleotide differences	中性检验 Tajima's test
康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	15	4	0.900	0.01020	6.600	-0.62926 **
橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	35	5	1.000	0.02960	19.200	0.83395 **
暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>	3	2	0.500	0.00300	1.500	-0.75445 **
南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	1	2	0.222	0.00034	0.222	-1.08823 **
橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	0	1	0.000	0.00000	0.000	
堆蜡粉蚧 <i>Nipaecoccus viridis</i>	9	3	0.833	0.00693	4.500	-0.82943 **
木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	3	3	1.000	0.00400	2.000	
双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	13	3	0.417	0.00447	2.889	-1.88947 *
菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>	3	3	1.000	0.00400	2.000	

* 表示差异显著 ($P<0.05$), ** 表示差异极显著 ($P<0.01$)。
* indicate significant differences ($P<0.05$), ** indicate extremely significant differences ($P<0.01$).

表 3 榕属植物上 9 种粉蚧的种间遗传距离
Table 3 The genetic distances of 9 mealybugs in Ficus spp.

物种 Species	菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>	双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	堆蜡粉蚧 <i>Nipaecoccus viridis</i>	橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	康氏粉蚧 <i>Pseudo-coccus comstocki</i>	橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>
菠萝灰粉蚧 <i>Dysmicoccus brevipes</i>	0.000								
双条拂粉蚧 <i>Ferrisia virgata</i>	0.105	0.000							
木槿曼粉蚧 <i>Maconellicoccus hirsutus</i>	0.125	0.106	0.000						
堆蜡粉蚧 <i>Nipaecoccus viridis</i>	0.173	0.159	0.161	0.000					
橘臀纹粉蚧 <i>Placoccus citri</i>	0.123	0.096	0.130	0.158	0.000				
南洋臀纹粉蚧 <i>Placoccus lilacinus</i>	0.107	0.094	0.106	0.157	0.082	0.000			
康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i>	0.110	0.098	0.092	0.138	0.110	0.091	0.000		
橘小粉蚧 <i>Pseudococcus cryptus</i>	0.121	0.092	0.112	0.138	0.099	0.078	0.070	0.000	
暗色粉蚧 <i>Pseudococcus viburni</i>	0.112	0.110	0.136	0.101	0.101	0.099	0.101	0.092	0.000

2.6 榕属植物上粉蚧系统发育分析

以刷毛绵蚧为外群,用 Mega 5.0 软件采用邻接法构建粉蚧的系统发育树(图 2),康氏粉蚧、橘臀纹粉蚧、南洋臀纹粉蚧、暗色粉蚧、菠萝灰粉蚧、堆蜡粉蚧、木槿曼粉蚧、双条拂粉蚧和橘小粉蚧序列与 GenBank 下载的目标序列 JQ085562、HM474278、HM474306、JQ085549、JQ085558、MH290520、HM474229、KP692715 和 HM474370 分别聚在一起,每种粉蚧单独聚在一支。

系统发育树显示,南洋臀纹粉蚧广东汕头、广州、深圳、梅州、中山、惠州种群,云南版纳种群,福建厦门种群与菲律宾种群聚在一支;橘臀纹粉蚧云南、广东、福建种群与越南种群单独聚为一支;而南洋臀纹粉蚧与橘臀纹粉蚧属于臀纹粉蚧属,亲缘关系较近,所以又聚在一起。在橘小粉蚧种群中,云南蒙自种群、广东惠州种群聚与韩国种群聚在一支,后又与福建厦门、龙岩种群聚在一起,说明橘小粉蚧不同地理种群之间存在遗传距离,部分种群为适应环境发

生了变异。康氏粉蚧云南、广东、福建种群和法国种群聚在一支,但与法国种群存在遗传距离。暗色粉蚧云南、广东种群与法国种群聚在一支,该种群与橘小粉蚧种群、康氏粉蚧种群同属于粉蚧属,但与橘小粉蚧种群、康氏粉蚧种群遗传距离较大。堆蜡粉蚧、木槿曼粉蚧、双条拂粉蚧和菠萝灰粉蚧种群分别与 MH290520(美国种群)、HM474229(泰国种群)、KP692715(中国种群)和 JQ085558(法国种群)独立聚在一支。结果显示,臀纹粉蚧属与粉蚧属亲缘关系较近,堆粉蚧属和曼粉蚧属亲缘关系较近。危害榕属植物害虫粉蚧同属不同种类聚在一支,相同种类的粉蚧不同地理种群也聚在一支,每种粉蚧都各自聚为一支,表明 CO I 基因片段序列能够将为害榕属植物不同种类的粉蚧很好地区分,分子鉴定结果与形态学鉴定结果相同。因此,线粒体 CO I 基因是粉蚧类害虫理想的分子标记,可以用于开展粉蚧等微小害虫的分子鉴定和系统发育分析。

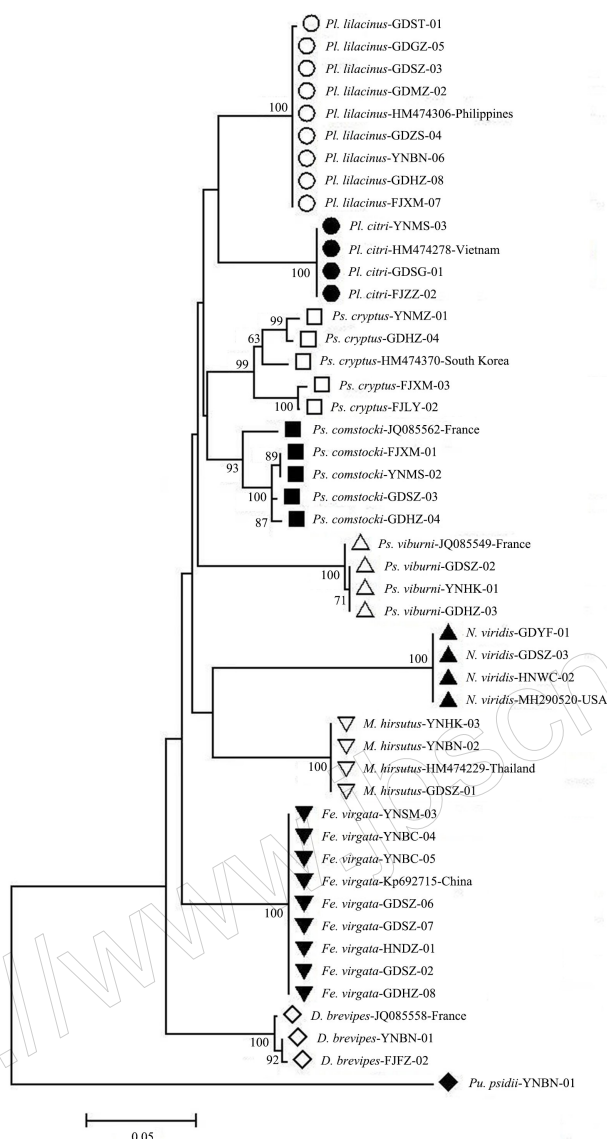


图2 基于 mtDNA COI 基因构建的榕属植物上粉蚧的 NJ 系统发育树

Fig.2 The NJ phylogenetic tree of mealybugs in *Ficus* spp. based on the mtDNA CO I sequences

3 讨论

物种的准确鉴定关系到分类学的发展,传统的分类受研究对象的发育阶段、不同部位以及鉴定人的专业知识和鉴定经验等因素限制,影响了物种鉴定。传统的形态鉴定要求鉴定者具有深厚的专业知识和丰富的鉴定经验,而利用分子生物学方法能够快速、准确鉴定不同粉蚧种类,甚至只用昆虫的部分器官或一段躯体就可鉴定。因此,分子生物学方法可用于微小害虫等有害生物的鉴定,在口岸检疫和农林业害虫防控等领域有广泛的应用前景。

本研究对危害榕属植物的 9 种粉蚧的 CO I 基因进行提取、序列测序以及在 GenBank 数据库中比对分析,结果表明,CO I 基因序列同源性在 99.25% 以上,说明此段序列可信度高。构建的系统发育

树,同种粉蚧单独聚为一支,不同粉蚧种间差异明显,置信度高,系统进化树得出的结果与形态学分类结果一致。榕属植物上 9 种粉蚧的种间遗传距离为 0.070~0.173,其中堆蜡粉蚧与菠萝灰粉蚧遗传距离最大,为 0.173,而康氏粉蚧与橘小粉蚧遗传距离最小,为 0.070,说明两者亲缘关系较近。本研究也符合 Hebert *et al.* (2003a) 利用 CO I 基因鉴定物种时,提出的种间遗传距离应大于种内遗传距离 10 倍、最小种间遗传距离为 2% 的结论。

研究者通过 18S、EF-1 α 、ITS2 和 28S 等基因对粉蚧类进行了鉴定(王玉生等, 2016; 吴媛等, 2022; Alina *et al.*, 2021; Melissa & Monica, 2017; Wu *et al.*, 2014), 结果表明, 线粒体细胞色素 C 氧化酶基因 CO I 具有引物通用性高和进化速率快等

优点,且种内遗传距离小于 1%,是适宜用于开展昆虫等生物鉴定的理想 DNA 条形码,可用于系统发育和遗传进化分析。本研究为国内首次对榕属植物上发生危害的 9 种粉蚧开展分子鉴定,线粒体 CO I 基因序列数据结果与形态鉴定结果一致,说明 CO I 基因开展粉蚧类群的物种鉴定具有可行性,解决了基层农林人员缺乏专业知识和鉴定经验等问题,为农林业害虫的早期预警和精准防治以及口岸防控外来有害生物入侵提供了科学手段。

参考文献

- 褚栋, 刘国霞, 付海滨, 徐卫, 2009. 线粒体细胞色素氧化酶 I (mtCOI) 序列分析揭示扶桑绵粉蚧复合种存在隐存谱系. *昆虫学报*, 52(11): 89-93.
- 王玉生, 周培, 田虎, 万方浩, 张桂芬, 2016. DNA 条形码技术对重大入侵害虫大洋臀纹粉蚧的鉴定有效性研究. *昆虫学报*, 59(7): 747-758.
- 吴福中, 2015. 重要粉蚧的调查、鉴定和遗传多样性研究. 博士学位论文. 广州: 华南农业大学.
- 吴福中, 李惠萍, 付海滨, 2020a. 扶桑绵粉蚧及其近似种的形态鉴定. *植物检疫*, 34(1): 21-25.
- 吴福中, 李惠萍, 付海滨, 2020b. 危害园林树木扶桑的粉蚧调查和形态鉴定. *环境昆虫学报*, 42(3): 760-765.
- 吴福中, 李惠萍, 刘志红, 付海滨, 奚国华, 谭章龙, 王小勇, 李桂文, 李林鹏, 王徐玫, 胡学难, 2016a. 警惕芒果蚜蚧传入我国. *生物安全学报*, 25(2): 123-126.
- 吴福中, 刘海军, 刘志红, 李惠萍, 王小勇, 胡学难, 付海滨, 奚国华, 2016b. 发生在云南与东盟边境的一种新害虫——热带拂粉蚧. *生物安全学报*, 25(3): 181-184.
- 吴福中, 刘志红, 沈鸿, 于飞, 陈爽爽, 王徐玫, 伍和平, 白学慧, 胡永亮, 曾玲, 2014. 扶桑绵粉蚧对华南地区不同生境园林植物的危害调查及分析. *植物检疫*, 28(4): 64-69.
- 吴福中, 王徐玫, 李惠萍, 付海滨, 2020c. 扶桑绵粉蚧及其近似种的 DNA 条形码鉴定. *植物检疫*, 34(2): 42-47.
- 吴媛, 黄蓬英, 廖富荣, 方志鹏, 林玲玲, 马克争, 陈劲松, 2022. 甘蔗簇粉蚧的形态和分子鉴定. *植物检疫*, 36(6): 37-41.
- 徐浪, 余道坚, 焦懿, 2013. 新菠萝灰粉蚧及其近似种的 DNA 条形码鉴定. *植物检疫*, 27(3): 66-69.
- ALINA P, SARAH W Z, STEPHANIE S, JEROME N, JEAN-PHILLIPE M, 2021. Molecular identification of mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) affecting *Theobroma cacao* for improved pest management. *Proceedings*, 68: 3-7.
- HEBERT P, CYWINSKA A A, BALL S, DEWAARD J, 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B-biological Sciences*, 270: 313-321.
- HEBERT P, RATNASINGHAM S, DEWAARD J, 2003b. Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B-biological Sciences*, 270: 96-99.
- MELISSA P J, MONICA B M, 2017. Morphological and molecular identification of *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Costa Rica. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(2): 1211-1218.
- SIMON C, FRATI F, BECKENBACH A, CRESPI B, LIU H, FLOOK P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society America*, 87(6): 651-701.
- WILLIAMS D J, 2004. *Mealybugs of Southern Asia*. Kuala Lumpur, Malaysia: Southdene Sdn. Bhd.
- WU F Z, MA J, HU X N, ZENG L, 2015. Homology difference analysis of invasive mealybug species *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in South China with COI gene sequence variability. *Bulletin of Entomological Research*, 105(1): 32-39.
- WU F Z, LIU Z H, SHEN H, YU F, MA J, HU X N, ZENG L, 2014. Morphological and molecular identification of *Paracoccus marginatus* (Hemiptera pseudococcidae) in Yunan, China. *Florida Entomologist*, 97(4): 1469-1473.

(责任编辑:陈晓雯)

基于判别分析预测马铃薯甲虫发生与出土时间

廖江花¹⁺, 牛富帅¹⁺, 李超^{1*}, 刘娟¹, 关志坚²

¹新疆农业大学农学院, 农林有害生物监测与安全防护重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830052;

²察布查尔县农业技术推广站, 新疆伊犁 835300

摘要:【目的】马铃薯甲虫是马铃薯生产过程中的毁灭性害虫。温度是影响马铃薯甲虫发生的重要因素, 明确马铃薯甲虫越冬期及发生期的温度对其发生的影响, 可为该害虫未来发生情况的预测和防治提供理论支持。【方法】采用逐步判别分析法对 1994—2021 年马铃薯甲虫越冬及发生期(上一年 12 月—当年 9 月)新疆察布查尔县马铃薯甲虫发生等级及出土时间进行判别分类, 建立发生预测模型。【结果】在训练组中, 马铃薯甲虫的发生等级、出土时间判别准确率分别为 100.00%、80.00%; 在预测组中, 马铃薯甲虫的发生等级、出土时间总判别准确率分别为 69.23%、76.92%, 认为判别结果较可信。【结论】通过对影响发生程度、出土时间判别的因素筛选发现, 察布查尔县马铃薯甲虫的出土和发生判别均受到 4 月温度的影响。

关键词: 马铃薯甲虫; 温度; 发生等级; 出土时间; 判别分析



开放科学标识码
(OSID 码)

Prediction of *Leptinotarsa decemlineata* occurrence and aboveground period based on linear discriminant analysis

LIAO Jianghua¹⁺, NIU Fushuai¹⁺, LI Chao^{1*}, LIU Juan¹, GUAN Zhijian²

¹Key Laboratory of the Pest Monitoring and Safety Control on Crop and Forest, College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China; ²Qapqal County Agricultural Extension Station, Ili, Xinjiang 835300, China

Abstract: 【Aim】*Leptinotarsa decemlineata* is a destructive pest affecting potato production. Temperature is an important factor affecting the occurrence of *L. decemlineata*. The influence of this factor on *L. decemlineata* occurrence during its overwintering period and occurrence duration was determined. Our study provides theoretical support for the future prediction and control of *L. decemlineata* occurrence and insights into the prediction of the occurrence of this pest in other areas. 【Method】We collected samples of *L. decemlineata* and used the stepwise discriminant analysis method to discriminate and classify the occurrence degree and aboveground periods of these beetles in Qapqal County from 1994 to 2021. 【Result】In the training group, the accuracy of the occurrence degree and aboveground period of *L. decemlineata* were 100.00% and 80.00%, respectively. In the prediction group, the accuracies of the occurrence degree and aboveground period of *L. decemlineata* were 69.23% and 76.92%, respectively; the results were considered to be credible. 【Conclusion】Through screening, the factors affecting the occurrence degree and aboveground period, the temperature in April were found to affect both the aboveground period and occurrence of *L. decemlineata* in Qapqal County.

Key words: *Leptinotarsa decemlineata*; temperature; occurrence grade; aboveground period; discriminant analysis

判别分析是根据已知对象的分类, 利用影响该分类的变量值建立判别函数, 再根据判别函数对未知对象进行判别分类的一种分析方法(黄圆圆, 2020; 张家齐等, 2020; Belshaw *et al.*, 2003)。逐步

判别分析是逐步进入变量, 找出显著影响的变量, 剔除不显著的变量, 是对变量进行筛选后建立判别分析函数的判别分析方法。判别分析法既考虑了各个主体出现的先验概率, 又考虑到了因为错判而

收稿日期(Received): 2023-02-10 接受日期(Accepted): 2023-05-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1400200); 国家自然科学基金(31660545); 农业农村部西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理重点实验室开放基金(KFJJ201905); 新疆维吾尔自治区天山英才计划资助(2021282)

作者简介: 廖江花, 女, 硕士研究生。研究方向: 昆虫生态与害虫防治。E-mail: ljh111196@163.com; 牛富帅, 男, 硕士研究生。研究方向: 昆虫生态与害虫防治。E-mail: niufushuai2023@163.com

+ 同等贡献作者(The two authors contribution equally to this work)

* 通信作者(Author for correspondence), 李超, E-mail: lichao@163.com

造成的损失,预测性能良好,回判估计的误判率低。病虫害发生预测可为病虫害防治确定合理的防治时间,起到减施增效的作用(李鸿筠等,2021;刘祖建等,2013;张眉等,2020)。前人曾利用马尔科夫链模型、回归分析等方法对病虫害的发生等级、发生量进行预测分析,与实际相比达到了较高的预测精确度(康爱国等,2012;李超等,2022)。张梅(2020)利用逐步判别分析对四川稻区迁飞性害虫的发生等级进行预测,张家齐等(2020)建立玉米茎腐病发生等级判别分析模型对该病害的发生程度进行预测,两者的预测结果均较准确。

病虫害的发生预测预报对保障农业生产、提高绿色防控水平具有重要意义(刘小平,2018;周杰等,2016;Williams & Liebhold, 2002)。温度是影响昆虫发生、越冬出土、发育繁殖的重要因素之一,也是昆虫发生预测需考虑的重要因素。张胜男等(2021)利用不同温度下昆虫卵巢发育速度,建立卵巢发育速率预测模型,预测昆虫发育;刘小宇等(2022)利用昆虫的适温范围、发育起点温度和有效积温预测昆虫在不同地区的发生世代数;刘孝贤等(2021)利用连续低温天数统计预测昆虫的越冬边界。利用温度对昆虫的发生分布进行预测,有助于准确掌握在不同温度下昆虫的发生、发育及可能的分布情况,可为昆虫的及时防治提供有利的理论支持。

马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* (Say) 为茄科植物上的毁灭性害虫,对马铃薯产业造成重大损失(Alyokhin *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2014)。在我国新疆地区,马铃薯甲虫一般发生 1~3 代,以 2 代为主,以成虫越冬;成虫在 4 月下旬—5 月中旬出土,寻找寄主植物、产卵,8 月下旬—9 月上旬入土越冬(郭文超等,2011;吐尔逊·阿合买提等,2010)。发生期和越冬期的温度是影响马铃薯甲虫越冬代出土与发生程度的关键因素(Li *et al.*, 2014; Liao *et al.*, 2021)。本研究以新疆察布查尔县为例,利用逐步判别分析对当地马铃薯甲虫的发生等级和出土时间进行分类,通过对影响马铃薯甲虫发生的关键温度因子进行筛选,建立判别模型,为该甲虫种群预测预报与综合防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据资料

马铃薯甲虫发生等级、出土数据由察布查尔县

植保站提供,主要包括 1994—2021 年数据。线性判别温度数据选择离察布查尔县最近气象基准站点,伊宁气象站点的 1993—2021 年马铃薯甲虫发生期和越冬期的温度数据,具体数据参数如下。

马铃薯甲虫发生等级预测: $T_{m,n}$ 、 $L_{m,n}$ 、 $H_{m,n}$ 为预报气象因子, T 为平均温度, m 取值为 1~9 (当年 1—9 月)、12 (上一年 12 月), n 取值为 1~3 (上、中、下旬); L 为最低温度, m 取值为 1~5 (当年 1—5 月)、12 (上一年 12 月); H 为最高温度, m 取值为 6~9 (当年 6—9 月)。如 $T_{12,1}$ 代表上一年 12 月上旬平均温度。马铃薯甲虫越冬期与发生期温度均可影响发生等级,上一年 12 月—第二年 3 月通常为西北地区的冬季低温时期(赵锐锋等,2017),第二年 4 月马铃薯甲虫越冬代开始出土,4—5 月多降雨,也存在偶发低温情况,6 月逐渐开始升温,并出现高温天气,一直持续到 9 月(李彦斌等,2017),本研究选择对马铃薯甲虫发生影响最大时期的温度因素进行研究。

马铃薯甲虫出土时间预测: T_{mn} 、 L_{mn} 为预报气象因子, m 取值为 1~5 (当年 1—5 月)、12 (上一年 12 月), T 为平均温度, L 为最低温度。马铃薯甲虫出土时间的预测重点选取马铃薯甲虫出土前期的温度进行研究。

1.2 发生等级、出土时间分级

马铃薯甲虫发生等级划分:根据叶片的受损情况,将马铃薯甲虫的发生危害等级分为 5 级,叶片未受损或少数缺刻时为 0 级,叶片被取食 1%~25% 时为 1 级,26%~75% 叶片受害时为 2 级,76%~100% 叶片受害时为 3 级,叶片被完全取食、植株枯死时为 4 级(李超等,2011)。

马铃薯甲虫出土时间划分:结合前人研究与察布查尔县马铃薯甲虫历史出土数据,马铃薯甲虫的出土时间一般为 4 月下旬—5 月中上旬,本研究将马铃薯甲虫出土时间在 4 月 30 日之前(包含 4 月 30 日)定为出土时间 1,在 4 月 30 日之后为出土时间 2(吴立等,2016)。

1.3 线性判别分析方法

利用 SPSS 21.0 软件,采用逐步判别分析方法,筛选出判别关键变量,经过多次模型测试后,选择出预测准确率较高的模型,建立函数判别式。

选用伊宁气象站的温度数据作为参数,选用 1994—2008 年马铃薯甲虫的发生等级与出土时间

数据作为训练组,建立马铃薯甲虫发生等级、出土时间判别模型。2009—2021 年马铃薯甲虫的发生等级与出土时间数据作为预测组,利用建立的判别模型进行验证。在逐步分析中,本研究设定的进入模型的变量 F 值为 3.84,删除变量 F 值为 2.71。

判别函数的总体判别正确率/%=(预测正确个数/预测总个数)×100

2 结果与分析

2.1 马铃薯甲虫发生程度判别分析

2.1.1 马铃薯甲虫发生程度的线性判别函数建立 运用 1993—2021 年马铃薯甲虫越冬及发生期(上一年 12 月—当年 9 月),各旬的平均温度及高低温对马铃薯甲虫的发生等级进行判别分类,建立了 2 个判别函数,利用逐步判别筛选出对判别起显著性作用的 10 个变量,分别为 12 月中旬平均温度 $T_{12,2}$ 、4 月中旬平均温度 $T_{4,2}$ 、4 月下旬平均温度 $T_{4,3}$ 、7 月上旬平均温度 $T_{7,1}$ 、8 月下旬平均温度 $T_{8,3}$ 、9 月中旬平均温度 $T_{9,2}$ 、1 月中旬最低温度 $L_{1,2}$ 、3 月上旬最低温度 $L_{3,1}$ 、4 月下旬最低温度 $L_{4,3}$ 、5 月上旬最低温度 $L_{5,1}$ 。利用 SPSS 软件建立各发生等级判别函数如下。

$$Y_1 = -5.832T_{12,2} + 3.280T_{4,2} + 2.124T_{4,3} + 24.055T_{7,1} + 8.847T_{8,3} + 5.922T_{9,2} + 4.414L_{1,2} + 0.384L_{3,1} - 2.089L_{4,3} - 1.481L_{5,1} - 831.539$$

$$Y_2 = 1.222T_{12,2} + 0.654T_{4,2} - 2.480T_{4,3} + 2.845T_{7,1} - 3.317T_{8,3} + 1.433T_{9,2} + 0.698L_{1,2} + 0.691L_{3,1} + 1.249L_{4,3} - 2.665L_{5,1} - 41.863$$

式中, Y_1 表示马铃薯甲虫发生等级为 2 级, Y_2 表示马铃薯甲虫发生等级为 3 级。

2.1.2 马铃薯甲虫发生程度的线性判别结果 训练组结果(表 1)显示,马铃薯甲虫实际发生程度为 2、3、4 级,经过判别分析后,判别正确率均为 100.00%;判别函数的总体判别正确率为 100.00%。

预测组结果(表 1)显示,马铃薯甲虫实际发生程度为 2 级的共 6 次,经过判别分析后,发生等级为 2 级的为 5 次,判别正确率为 83.33%;实际发生程度为 3 级的共有 7 次,经判别分类后,发生等级为 3 级的有 4 次,3 级判别的正确率为 57.14%;实际发生程度为 4 级的有 0 次,经判别分析后,发生等级为 4 级的有 0 次,4 级判别的正确率为 100.00%。判别函数的总体判别正确率为 69.23%。

表 1 马铃薯甲虫发生程度判别结果

Table1 Discriminant statistical table of the occurrence degree of <i>L. decemlineata</i>												
组别 Group	等级 Grade	预测个数 Number of predictions						预测率 Prediction rate/%				
		2 级 Grade 2	3 级 Grade 3	4 级 Grade 4	2 级 Grade 2	3 级 Grade 3	4 级 Grade 4	2 级 Grade 2	3 级 Grade 3	4 级 Grade 4		
训练组 Forecasting grades	2	9	0	0	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00		
	3	0	5	0	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00		
	4	0	0	1	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00		
合计 Total		9	5	1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00		
预测组 Prediction grades	2	5	3	0	83.33	42.86	0.00	83.33	42.86	0.00		
	3	0	4	0	0.00	57.14	0.00	0.00	57.14	0.00		
	4	1	0	0	16.67	0.00	100.00	16.67	0.00	100.00		
合计 Total		6	7	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00		

2.2 马铃薯甲虫出土时间判别分析

2.2.1 建立马铃薯甲虫出土时间线性判别函数 在马铃薯甲虫的出土等级判别分类中,建立了一个判别函数 Y_4 ,筛选出对判别起着显著性作用的一个变量,为 4 月下旬的平均温度 $T_{4,3}$ 。利用 SPSS 建立的各出土等级的线性判别函数如下。

$$Y_3 = 0.636T_{4,3} - 5.836$$

$$Y_4 = 0.198T_{4,3} - 2.727$$

式中, Y_3 表示马铃薯甲虫不出土, Y_4 表示马铃薯甲虫出土。

2.2.2 马铃薯甲虫出土时间的线性判别结果 训练组判别结果(表 2)显示,马铃薯甲虫实际出土时

间为 1 级的共有 9 次,判别分析后,出土时间为 1 级的有 8 次,1 级判别的正确率为 88.89%;实际出土时间为 2 级的有 6 次,判别分析后,出土时间为 2 级的有 4 次,2 级判别的准确率为 66.67%;判别分析总体判别正确率为 80.00%。

预测组判别结果(表 2)显示,马铃薯甲虫实际出土时间为 1 级的共有 9 次,判别分析后,出土时间为 1 级的有 9 次,1 级判别的正确率为 100.00%;马铃薯甲虫实际出土时间为 2 级的有 4 次,判别分析后,出土时间为 2 级的有 1 次,2 级判别的准确率为 25.00%;判别分析总体判别正确率为 76.92%,函数判别分析可信。

表 2 马铃薯甲虫出土时间判别结果
Table 2 Discriminant statistical table of the unearthed time of *L. decemlineata*

组别 Group	等级 Grade	预测个数 Number of predictions		预测率 Prediction rate/%	
		1 级 Grade 1	2 级 Grade 2	1 级 Grade 1	2 级 Grade 2
训练组 Forecasting grades	1	8	2	88.89	33.33
	2	1	4	11.11	66.67
合计 Total		9	6	100.00	100.00
预测组 Prediction grades	1	9	3	100.00	75.00
	2	0	1	0.00	25.00
合计 Total		9	4	100.00	100.00

3 结论与讨论

在判别分类中,发生程度训练组的总体判别分类正确率为 100.00%,预测组的总体判别分类正确率为 69.23%,认为判别结果可信(吴立等,2016)。在训练组的判别分类中,出土时间的总体判别分类正确率为 80%,在预测组的判别分类中,出土时间的总体判别分类正确率为 76.92%,认为判别结果可信。

本研究通过逐步回归分析后发现,对察县地区马铃薯甲虫出土等级判别起显著作用的变量是 4 月下旬的平均温度,前人研究发现,该甲虫在 4 月下旬—5 月中上旬出土,出土前温度积累状况将影响出土时间(梁忆冰等,1999;吐尔逊·阿合买提等,2010)。4 月中旬平均温度、4 月下旬平均温度、3 月上旬最低温度、4 月下旬最低温度、5 月上旬最低温度影响马铃薯甲虫的发生等级判别,可能原因是温度开始回暖,温度的高低会影响马铃薯甲虫越冬出土温度的积累,由此影响出土数量(李超等,2014;吐尔逊·阿合买提等,2010)。12 月中旬平均温度、1 月中旬最低温度影响马铃薯甲虫的发生等级判别,可能原因是冬季低温会降低马铃薯甲虫越冬存活率(李超等,2011; Huan & Tan,2000),从而影响后期的发生虫量。7 月上旬平均温度、8 月下旬平均温度影响马铃薯甲虫发生等级的原因可能为其产卵盛期在 7 月上旬—7 月下旬,故 7 月的温度将影响马铃薯甲虫的产卵,而 8 月温度将影响马铃薯甲虫卵孵化、幼虫的发育,且马铃薯甲虫二代成虫的羽化盛期在 8 月上旬—8 月下旬,因此,8 月的温度是影响马铃薯甲虫发生等级的重要因素(吐尔逊·阿合买提等,2010)。9 月中旬平均温度对马铃薯甲虫的发生程度判别有关,可能因为 8 月中下旬马铃薯甲虫开始入土越冬,少数发育较晚的第 2 代成虫最晚于 9 月底—10 月初越冬,因此,9 月中旬平均温度将影响马铃薯甲虫越冬虫量,从而

影响翌年出土虫量和发生程度。因此,本研究所获得影响马铃薯甲虫发生等级、出土时间的温度因素与实际情况相符。

本研究利用马铃薯甲虫的越冬期、发生期、出土期的上中下旬平均温度和高低温对马铃薯甲虫的发生、出土建立判别函数,判别的准确率均在 60%以上,且筛选出的温度变量与实际马铃薯甲虫发生、出土的情况相符,因而本研究所建立的判别函数是可行的,该判别函数的预测结果与李超等(2022)利用马尔科夫链模型预测马铃薯甲虫发生程度的预测结果较一致。但马尔科夫模型必须建立在大量统计数据的基础上,这也是运用马尔科夫预测方法预测环境事件的最基本的条件,故该方法一般适用于短期的趋势分析与预测。本研究中,判别函数处理分布不均匀的数据时表现出尤其明显的优势,且不需要辅助计算机程序或进行复杂的函数计算即可得到预测结果,操作简单方便,可为基层植保工作者预测预报提供简单可行的方法(王贝伦,2021)。

本研究仅利用察布查尔县马铃薯甲虫的出土、发生、温度数据建立判别函数,可能仅对当地的判别效果显著,但相关思路与结果可为其他地区该甲虫的发生、出土预测提供部分参考。本研究未考虑的其他一些环境因素,如土壤温度、降水量等,也有可能影响马铃薯甲虫的发生动态,在后续的实际应用和判别函数研究中还需进一步探索。

参考文献

郭文超, 邓春生, 李国清, 邓建宇, 姜卫华, 吴家和, 王佩玲, 谭万忠, 张青文, 2011. 我国马铃薯甲虫生物防治技术研究进展. 新疆农业科学, 48(12): 2217-2222.
黄圆圆, 2020. 天然沉香形成方式判别分析与国产沉香商品规格等级划分研究. 硕士学位论文. 广州: 广东药科大学.
康爱国, 姜玉英, 王贺军, 张玉慧, 李强, 庞红岩, 沈成,

- 李金有, 2012. 应用马尔科夫链模型对草地螟发生程度的预测. *应用昆虫学报*, 49(5): 1243-1248.
- 李超, 程登发, 郭文超, 刘怀, 张云慧, 孙京瑞, 2014. 新疆越冬代马铃薯甲虫出土规律及其影响因子分析. *植物保护学报*, 41(1): 1-6.
- 李超, 廖江花, 刘娟, 孙函函, 关志坚, 2022. 马尔科夫链模型在察布查尔马铃薯甲虫发生程度预测中的应用. *中国植保导刊*, 42(1): 36-39.
- 李超, 张智, 郭文超, 张云慧, 孙京瑞, 程登发, 刘怀, 2011. 基于 GIS 的马铃薯甲虫扩散与河流关系研究: 以新疆沙湾县为例. *生态学报*, 31(21): 6488-6494.
- 李鸿筠, 刘浩强, 姚廷山, 冉春, 胡军华, 2021. 柑橘矢尖蚧发生期预测回归方程研究. *植物保护*, 47(2): 83-87.
- 李彦斌, 程相儒, 李芳, 张燕, 白昀璐, 2017. 2016 年第六师垦区作物生育期气象条件分析与评述. *新疆农垦科技*, 40(1): 68-69.
- 梁忆冰, 林伟, 王跃进, 徐亮, 翟图娜, 陆平, 克依木, 张兰, 1999. 生态因子在马铃薯甲虫地理分布中的作用. *植物检疫*, 13(5): 257-262.
- 刘小平, 2018. 基于 SVM 的烟粉虱发生等级预测研究. 硕士学位论文. 广州: 华南农业大学.
- 刘小宇, 荣志云, 王连刚, 姚超, 张路生, 迟金强, 林倩, 董秀霞, 姚晓灵, 徐德坤, 萧玉涛, 李向东, 郑方强, 2022. 草地贪夜蛾的有效积温和发育始点及其发生世代预测. *环境昆虫学报*, 44(1): 1-10.
- 刘孝贤, 韩鹏, 张鑫, 张苹, 罗迪, 王婷, 吕昭智, 2021. 番茄潜麦蛾地理分布范围及越冬边界预测. *生态学杂志*, 40(10): 3243-3251.
- 刘祖建, 陈冰, 陈蔚烨, 王春霞, 梁盛铭, 陈观浩, 2013. 广东省西南部稻飞虱发生期和发生程度的气象预测模型. *中国农业气象*, 34(2): 204-209.
- 吐尔逊·阿合买提, 许建军, 郭文超, 刘建, 何江, 夏正汉, 付文君, 张冬梅, 2010. 马铃薯甲虫主要生物学特性及发生规律研究. *新疆农业科学*, 47(6): 1147-1151.
- 王贝伦, 2021. 机器学习. 南京: 东南大学出版社.
- 吴立, 霍治国, 杨建莹, 肖晶晶, 张蕾, 于彩霞, 张桂香, 2016. 基于 Fisher 判别的南方双季稻低温灾害等级预警. *应用气象学报*, 27(4): 396-406.
- 张家齐, 张毅, 石洁, 张笑晴, 郭宁, 张海剑, 2020. 基于判别分析的玉米茎腐病发生程度预测模型. *植物保护*, 46(2): 85-90.
- 张眉, 吴斌, 姜珊珊, 辛志梅, 郭霞, 王升吉, 辛相启, 2020. 济南地区葡萄霜霉病发生规律、流行关键气象因子分析及预测. *山东农业科学*, 52(12): 93-98.
- 张梅, 2020. 四川稻区主要迁飞性害虫种群动态研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.
- 张胜男, 李国平, 田彩红, 黄建荣, 封洪强, 2021. 桃蛀螟卵巢发育过程及其与温度的关系. *植物保护*, 47(5): 134-138.
- 赵锐锋, 苏丽, 祝稳, 2017. 1961—2012 年西北干旱区极端温度事件季节性时空分析. *中国农学通报*, 33(12): 63-73.
- 周文杰, 赵庆展, 靳光才, 尹小君, 戴建国, 2016. 基于温湿系数的棉蚜发生等级预报模型. *植物保护学报*, 43(6): 986-994.
- ALYOKHIN A, BAKER M, MOTA-SANCHEZ D, DIVELEY G, GRAFIUS E, 2008. Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85(6): 395-413.
- BELSHAW R, GRAFEN A, QUICKE D L J, 2003. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 139(2): 213-228.
- HUAN D W A, TAN C S, 2000. Overwintering densities and survival of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in and around tomato (Solanceae) fields. *The Canadian Entomologist*, 132(1): 103-105.
- LI C, LIU H, HUANG F N, CHENG D F, WANG J J, ZHANG Y H, SUN J R, GUO W C, 2014. Effect of temperature on the occurrence and distribution of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in China. *Environmental Entomology*, 43(2): 511-519.
- LIAO J H, LIU J, GUAN Z J, LI C, 2021. Duration of low temperature exposure affects egg hatching of the Colorado potato beetle and emergence of overwintering adults. *Insects*, 12(7): 609.
- WILLIAMS D W, LIEBHOLD A M, 2002. Climate change and the outbreak ranges of two north American bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology*, 4(2): 87-99.

(责任编辑:陈晓雯)

吉林省豚草瘦果形态及微结构特征

王玉莹¹, 于忠亮², 吴生海¹, 兰雪涵³, 杨春波¹, 杜凤国^{1*}

¹ 北华大学林学院, 吉林 吉林 132013; ² 吉林省林业科学研究院, 吉林 长春 130000;

³ 集贤县林业和草原局, 黑龙江 双鸭山 155900

摘要: 【目的】研究吉林省不同地区豚草瘦果形态及微结构特征, 为豚草的识别及防控提供参考。【方法】采集吉林省吉林市磨盘山、吉林市龙潭山、桦甸市、蛟河市、长春市、四平市、公主岭市、通化市、白山市、白城市、松原市和乾安县 12 个地区不同豚草种群的瘦果进行扫描电镜观察、描述和拍照, 分析豚草瘦果表型性状与地理-气候因子的相关性, 并对瘦果形态及微结构特征进行聚类分析。【结果】豚草果皮纹饰有条状纹饰、网状纹饰和穴状纹饰; 瘦果的喙长度随年均降水量增加而增加、随纬度升高而减少; 果形系数随经度升高及年均降水量的增加而增加。根据形态和微结构性状聚类分析结果, 将豚草瘦果分为 3 类(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ)。其中, Ⅰ类瘦果果皮纹饰网状、中果形、短喙类, 种源主要来自蛟河市、通化市、公主岭市、松原市和乾安县; Ⅱ类瘦果果皮纹饰条状、小果形、中长喙类, 种源主要来自吉林市磨盘山、吉林市龙潭山、桦甸市、长春市和四平市; Ⅲ类瘦果果皮纹饰穴状、大果形、长喙类, 种源主要来自白山市和白城市。【结论】吉林省豚草瘦果形态及微结构存在差异, 低纬度、高降水量有利于豚草瘦果生长发育。

关键词: 豚草; 瘦果; 微结构; 扫描电镜; 吉林省



开放科学标识码
(OSID 码)

Characteristics of achene morphology and microstructure of *Ambrosia artemisiifolia* in Jilin Province

WANG Yuying¹, YU Zhongliang², WU Shenghai¹, LAN Xuehan³, YANG Chunbo¹, DU Fengguo^{1*}

¹ College of Forestry, Beihua University, Jilin, Jilin 132013, China; ² Jilin Provincial Academy of Forestry Sciences, Changchun, Jilin 130000, China; ³ Jixian County Forestry and Grassland Bureau, Shuangyashan, Heilongjiang 155900, China

Abstract: 【Aim】To investigate the achene morphology and microstructural characteristics of *Ambrosia artemisiifolia* in various regions of Jilin Province, with the aim of providing an identification basis for its prevention and control. 【Method】In this study, achenes from different populations of *A. artemisiifolia* were collected from 12 regions of Mopan Mountain and Longtan Mountain in Jilin City, Huadian City, Jiaohe City, Changchun City, Siping City, Gongzhuling City, Tonghua City, Baishan City, Baicheng City, Songyuan City, and Qian'an County for scanning electron microscopic observation, description, and photography. The correlation between the achene phenotype and geo-climatic factors was analyzed, and the phenotypic characteristics of achenes were examined using cluster analysis. 【Result】*A. artemisiifolia* achene epidermis sculpture was striped-, reticular- and cave-shaped. The beak length of achenes increased with annually increasing precipitation and decreased with increasing latitude, while the achene shape coefficient increased with increasing longitude and annual precipitation. *A. artemisiifolia* was divided into three groups based on the results of cluster analysis of morphological and microstructural characteristics. The first group, which included specimens collected from Jiaohe City, Tonghua City, Gongzhuling City, Songyuan City, and Qian'an County, was reticular, mesocorpherical, and short-beaked. The second group, which included specimens collected from Mopan Mountain in Jilin City, Longtan Mountain in Jilin City, Huadian City, Changchun City, and Siping City, was characterized by its strip-shaped, small-shaped, and medium-long proboscis. The third group of sculptures was cave-shaped, large-shaped, and short-beaked, and included specimens collected from Baishan City and Baicheng City. 【Conclusion】The achene morphology and microstructure of *A. artemisiifolia* differed across Jilin Province, and low latitude and high precipitation are favorable to the growth and development of *A. artemisiifolia* achenes.

Key words: *Ambrosia artemisiifolia*; achene; microstructure; scanning electron microscope; Jilin Province

收稿日期 (Received): 2022-12-28 接受日期 (Accepted): 2023-06-28

基金项目: 吉林省科技发展规划项目(20190301041NY)

作者简介: 王玉莹, 女, 硕士研究生。研究方向: 野生动植物保护与利用。E-mail: 2621687525@qq.com

* 通信作者 (Author for correspondence), 杜凤国, E-mail: dfg4656@beihua.edu.cn

豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L. 为菊科豚草属的一年生风媒传粉草本植物(包颖,2018;康芬芬等,2010;李成宏等,2020;吴海荣等,2004)。我国于2003 年将豚草列入“中国第一批外来入侵种名单”(国家环保总局,2003),于2022 年12 月20 日将豚草列入《重点管理外来入侵物种名录》。吉林省是豚草的主要入侵区域之一,并且有快速扩散的趋势(杜凤国和兰雪涵,2021)。豚草以种子繁衍后代,其种子产量大,单株种子产量可达到3000~62000 粒(邓旭,2010),这也为豚草的繁殖、传播和扩散提供了丰富的来源。豚草入侵后对周围生态环境造成极大影响,导致农作物减产,其花粉可致人过敏、甚至死亡,对人类健康造成不良影响。

外来植物的入侵能力与其性状之间的关系是入侵生态学中的基本问题之一。内部结构和外部特征是植物的最主要性状,目前,植物繁殖性状功能的研究多聚焦于瘦果和种子,两者的变异决定了植物的扩散效率(李耀琪和王志恒,2023),故探讨豚草瘦果的形态及微结构特征对豚草的识别及其防控具有重要意义。近年来,豚草研究主要集中在豚草入侵及扩散特征(董合干等,2017)、生物量特征(王梅芳等,2021)、豚草种子解剖结构(邢艳芳,2012)、繁殖特性(李成宏等,2020)、种实及群落特征(李成宏,2021)、危害与防治(陈红松等,2009)、种子干旱胁迫(袁梦琦等,2021)等方面,而鲜见对豚草瘦果微结构特征的研究。基于此,本研究对吉林省12 个地区豚草瘦果进行扫描电镜的观察、描述和拍照,分析豚草瘦果的表型性状与地理环境因子的相关性,并对瘦果形态及微结构特征进行聚类分析,以期对识别和有效防治豚草提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

基于吉林省豚草分布地调查结果,采集12 个不同豚草种群的瘦果作为供试材料:吉林市磨盘山(126°22'34"E, 43°44'27"N,海拔230 m,年平均温度4.5℃,年平均降水量668.1 mm,无霜期130 d)、吉林市龙潭山(126°36'09"E,43°52'28"N,海拔210 m,年平均温度3.9℃,年平均降水量700.0 mm,无霜期130 d)、桦甸市(126°44'49"E,42°58'22"N,海拔264 m,年平均温度3.9℃,年平均降水量748.0 mm,无霜期126 d)、蛟河市(127°18'27"E,43°43'42"N,海拔296 m,年平均温度4.0℃,年平均降水

量710.0 mm,无霜期125 d)、长春市(125°31'03"E, 43°43'43"N,海拔272 m,年平均温度4.8℃,年平均降水量700.0 mm,无霜期145 d)、四平市(124°25'56"E,43°08'08"N,海拔212 m,年平均温度7.0℃,年平均降水量572.0 mm,无霜期142 d)、公主岭市(124°48'07"E,43°28'38"N,海拔243 m,年平均温度5.5℃,年平均降水量594.8 mm,无霜期144 d)、通化市(125°58'53"E,41°45'27"N,海拔405 m,年平均温度6.9℃,年平均降水量842.0 mm,无霜期136 d)、白山市(126°27'23"E,41°57'24"N,海拔500 m,年平均温度3.7℃,年平均降水量776.4 mm,无霜期130 d)、白城市(123°01'49"E,44°58'52"N,海拔150 m,年平均温度6.6℃,年平均降水量332.4 mm,无霜期162 d)、松原市(124°50'18"E,45°05'30"N,海拔138 m,年平均温度4.6℃,年平均降水量420.6 mm,无霜期145 d)和乾安县(124°01'52"E,44°59'57"N,海拔149 m,年平均温度5.6℃,年平均降水量420.0 mm,无霜期146 d)。

1.2 研究方法

选取外形完整、颗粒饱满、自然干燥的豚草瘦果,用小刀将瘦果外包被木质总苞切开,取出豚草种子,将瘦果作为观察材料。徒手将豚草瘦果横切,将待观察的瘦果用双面胶按背面(向上)、横切面(向上)的方式粘贴于样品台上。将样品置于溅射仪(Hita-chiE-1010,日本)进行真空镀金20 min,镀金后对样品进行观察和拍照。通过超景深三维显微镜(VHX-2000,日本)测量豚草瘦果的横径、纵径、喙(中刺)长度、边刺长度和果皮横向厚度。计算果形系数和果皮横向厚度,其中,果形系数=瘦果纵径/瘦果横径;果皮横向厚度=(瘦果横径-种子宽度)/2。

1.3 数据统计分析

采用WPS Excel 对豚草的表型性状数据进行整理。采用SPSS 20 对豚草瘦果相关指标进行统计分析,采用系统聚类法计算欧氏距离进行聚类分析,并构建树状聚类图(许佳丹等,2019);通过非相似性度量(Euclidean 距离)方法量化豚草瘦果表型性状与地理-气候因子间的关系来进行相关性分析($P<0.05$ 为显著相关),并计算豚草瘦果表型性状与地理-气候因子的相关系数。

2 结果与分析

2.1 豚草瘦果形态及微结构特征

吉林省各地区瘦果的表面粗糙、呈倒卵形,顶端

具喙,周围有数个尖锐突起。喙呈圆锥状,顶端窄,形态及纹饰特征等个性化特点见表 1、图 1~5。基部宽。瘦果形态特征、表面纹饰及附属物特征、喙

表 1 吉林省不同地区豚草瘦果形态特征、瘦果表面纹饰及附属物特征和喙形态及纹饰特征
Table 1 Morphological characteristics of *A. artemisiifolia* achene, characteristics of achene surface sculpture and appendages, and characteristics of beak morphology and sculpture in different regions of Jilin Province

地区 Region	瘦果形态特征 Morphological characteristics of achenes	瘦果表面纹饰及附属物特征 Characteristics of achenes surface sculptures and appendages	喙形态及纹饰特征 Beak morphology and sculpture characteristics
吉林市磨盘山 Mopan Mountain in Jilin City	瘦果上端表面有大量毛,有大量绒毛附着在表面	瘦果表面纹饰类型为条状纹饰,条壁较宽厚,表面光滑,起伏较小,凹陷较浅;表面具毛,扁柱状,表面有连续条状凸起	喙顶端封闭,喙生长少量绒毛;喙表面纹饰呈山脊状不规则突起,有少量裂缝,大小深浅不同
吉林市龙潭山 Longtan Mountain in Jilin City	瘦果上半部表面有少量毛,有大量类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为条状纹饰,条壁较厚,表面粗糙,起伏明显,凹陷深;表面具毛,毛呈柱状,表面具有间断条状凸起	喙顶端凹缺并伴有大量绒毛生长在上方,喙周围生长少量绒毛,有大量类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈不规则隆起和凹陷,凹陷深浅不同,相互交错,具有大小深度不同的孔隙
桦甸市 Huadian City	瘦果突起上有零星毛,瘦果表面粗糙,有大量类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为条状纹饰,表面粗糙,条壁山脊状隆起,凹凸不平,粗细不均,隙宽窄不同,无定形;表面无毛,有表面具刺的花粉附着在表面	喙顶端凹缺,生长较多球状物;喙表面纹饰呈条状不规则隆起和凹陷,凸凹不平,凹陷深浅不同,条隙间有较多不规则球状突起
蛟河市 Jiaohe City	瘦果每个突起下延成 1 个纵棱,在喙和突起的根部区域有毛分布,有大量类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为网状纹饰,网壁粗细不均,表面粗糙,凸凹不平,网眼大,凹陷深浅不同;表面具毛,毛呈扁柱状,不规则扭曲,表面有间断条状凸起	喙顶端封闭,喙基部有少量绒毛,有大量类球状物附着在基部表面成辐射状;喙表面粗糙,纹饰呈不规则突起和凹陷,凸凹不平,表面有细小孔隙,大小深浅不同
长春市 Changchun City	瘦果上端表面有较多毛	瘦果表面纹饰类型为条状纹饰,表面粗糙,条壁山脊状隆起,凹凸不平,粗细不均,隙宽窄不同;无定形,表面有细小孔隙;表面具毛,毛呈扁柱状,不规则扭曲,表面有间断条状凸起	喙顶端封闭,喙有较多绒毛,顶端密集,有少量类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈条状不规则隆起和凹陷,起伏高低、凹陷深浅不同,各条壁间偶有相连,个别略有孔隙
四平市 Siping City	瘦果上半部表面有较多毛,瘦果下部表面光滑,有少量类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为条状纹饰,条壁宽窄不同,隙浅且宽,隙间有许多大小不同的类球状凸起,有短横向条壁与纵向条壁构成的凹凸不平的平面;表面具毛,毛呈柱状,表面具有间断条状凸起	喙顶端凹缺,表面具绒毛,喙周围有少量绒毛,有较多大小不同的类球状物附着在表面;喙表面具有条状纹饰,条壁窄,呈山脊状隆起,隙深浅不一
公主岭市 Gongzhuling City	瘦果喙和突起的区域有较粗的密集毛分布,瘦果中上部表面有较多毛,有较多类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为网状纹饰,网壁粗,表面粗糙,起伏较大;网眼大,凹陷深;表面具毛,毛呈柱状,表面具有间断条状凸起	喙顶端凹缺,喙周围有大量绒毛,有少量偏大的类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈条状,条壁隆起不同,隙深,宽窄不同
通化市 Tonghua City	瘦果每个突起下延成 1 个纵棱,各个纵棱之间有山脊状突起的棱结成网;瘦果表面有大量毛	瘦果表面纹饰类型为网状纹饰,网壁粗细不均,表面粗糙,凸凹不平,网眼大,凹陷深浅不一;表面具毛,毛呈扁柱状,表面具有连续斜条状凸起	喙顶端封闭,喙基部有大量绒毛,有大量类球状物附着在基部表面并呈辐射状;喙表面纹饰呈条状不规则隆起和凹陷,表面有缝隙,大小深浅不同
白山市 Baishan City	瘦果每个突起下延成 1 个纵棱;瘦果被有少量毛,有少量类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为穴状纹饰,壁粗细不均,表面粗糙,凸凹不平,穴大小、凹陷深浅不同;表面具毛,毛呈扁柱状、不规则扭曲,表面具有连续斜条状凸起	喙顶端凹缺,喙表面有零星绒毛,有大量大小不同的类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈条状,条壁呈山脊状隆起,隙宽,深浅不同;有类球状物聚集一起且有孔隙
白城市 Baicheng City	瘦果表面有较多毛,较多类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为穴状纹饰,由不规则分布的小穴组成,穴较小,壁较厚;表面具毛,毛呈扁柱状扭曲,扭曲成多个孔,表面具有不规则隆起或凹陷	喙顶端凹缺,喙表面有零星绒毛,有大量大小不一的类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈条状,条壁呈山脊状隆起,起伏,隙宽窄、深浅不同
松原市 Songyuan City	瘦果突起小,上部有少量毛,有大量小类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为网状纹饰,网壁粗细不均,表面粗糙,凸凹不平;网眼大不同,凹陷深浅不同;表面具毛,毛呈扁柱状、不规则扭曲,表面具有间断条状凸起	喙呈长圆锥状,顶端窄,基部宽,顶端封闭,喙表面有零星绒毛,有大量大小不同的类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈不规则片状凸起,表面有大小,深浅不同的缝隙
乾安县 Qian'an County	瘦果上部有少量毛,有大量小类球状物附着在表面	瘦果表面纹饰类型为网状纹饰,网壁粗细不均,表面粗糙,凸凹不同,网眼大,凹陷深浅不同;有毛生长在表面,毛呈扁柱状,表面具有连续条状凸起	喙顶端封闭,喙表面有零星绒毛,有大量大小不同的类球状物附着在表面;喙表面纹饰呈不规则隆起或凹陷,有大小不一的孔隙

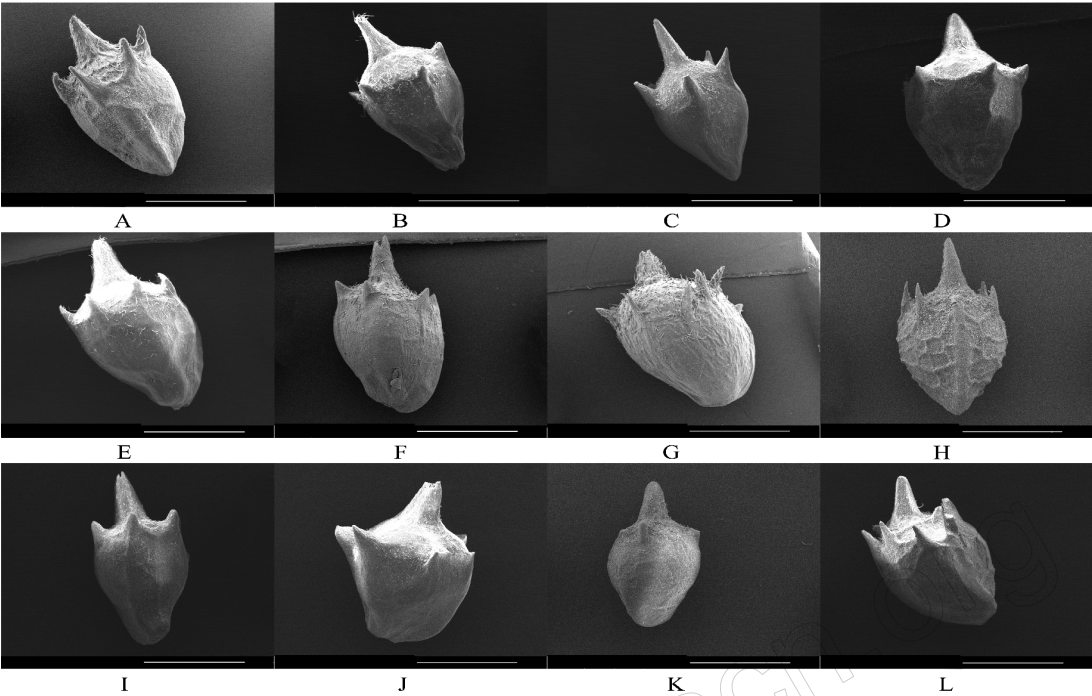


图 1 吉林省不同地区豚草瘦果形态扫描电镜照片 (×25)

Fig.1 Scanning electron microscope photos of the morphology of *A. artemisiifolia* achenes in different regions of Jilin Province (×25)
A: 吉林市磨盘山; B: 吉林市龙潭山; C: 桦甸市; D: 蛟河市; E: 长春市; F: 四平市; G: 公主岭市; H: 通化市; I: 白山市; J: 白城市; K: 松原市; L: 乾安县。图中比例尺为 2.0 mm。
A: Mopan Mountain in Jilin City; B: Longtan Mountain in Jilin City; C: Huadian City; D: Jiaohe City; E: Changchun City; F: Siping City; G: Gongzhuling City; H: Tonghua City; I: Baishan City; J: Baicheng City; K: Songyuan City; L: Qian'an County. The scale is 2.0 mm.

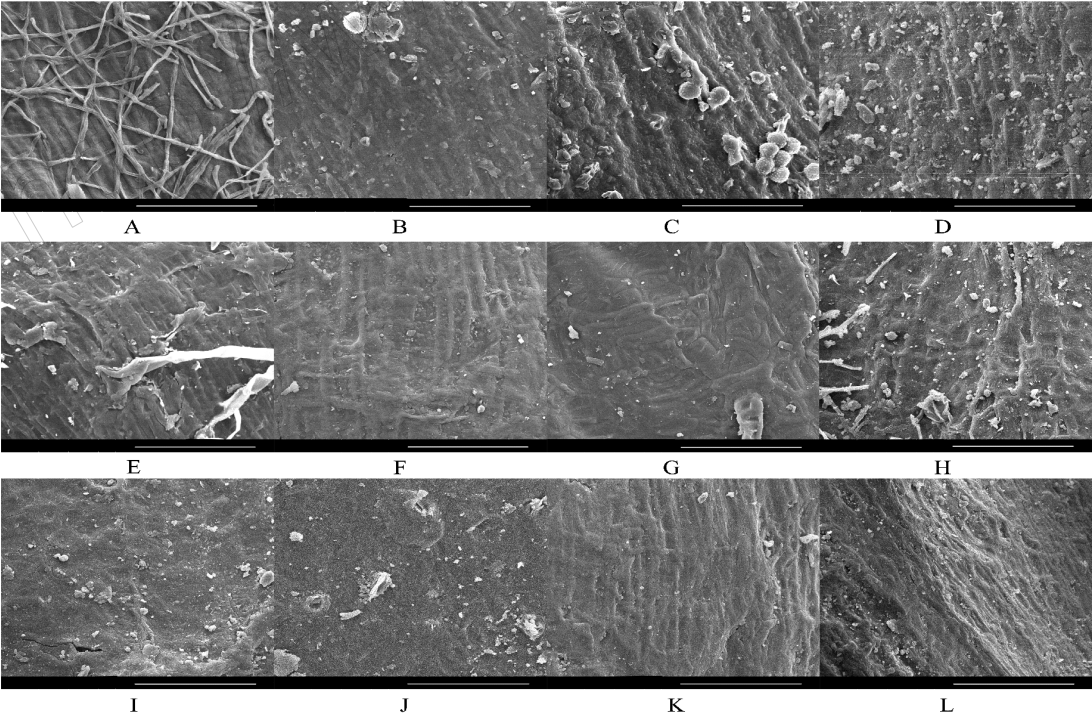


图 2 吉林省不同地区豚草瘦果表皮纹饰特征扫描电镜照片 (×600)

Fig.2 Scanning electron microscope photos of the epidermal decoration characteristics of *A. artemisiifolia* achenes in different regions of Jilin Province (×600)
A: 吉林市磨盘山; B: 吉林市龙潭山; C: 桦甸市; D: 蛟河市; E: 长春市; F: 四平市; G: 公主岭市; H: 通化市; I: 白山市; J: 白城市; K: 松原市; L: 乾安县。图中比例尺为 100.0 μm。
A: Mopan Mountain in Jilin City; B: Longtan Mountain in Jilin City; C: Huadian City; D: Jiaohe City; E: Changchun City; F: Siping City; G: Gongzhuling City; H: Tonghua City; I: Baishan City; J: Baicheng City; K: Songyuan City; L: Qian'an County. The scale is 100.0 μm.

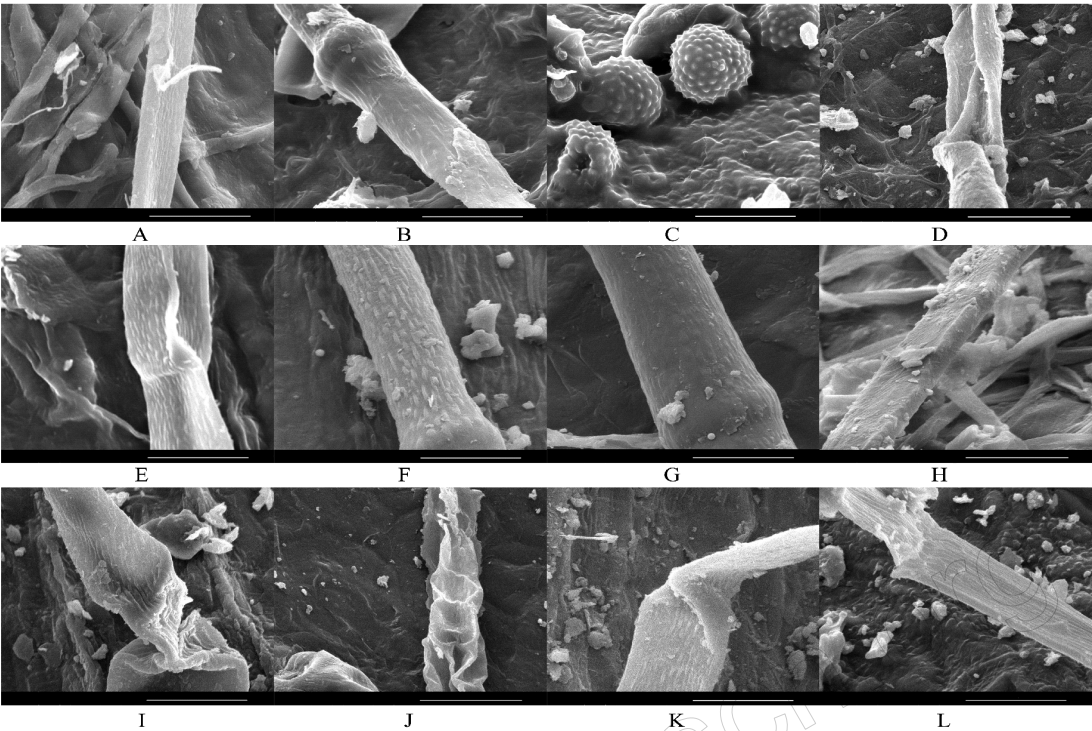


图 3 吉林省不同地区豚草瘦果中部表面附属物扫描电镜照片 (×5000)

Fig.3 Scanning electron microscope photos of the surface appendages of the middle part of *A. artemisiifolia* achenes in different regions of Jilin Province (×5000)

A: 吉林市磨盘山; B: 吉林市龙潭山; C: 桦甸市; D: 蛟河市; E: 长春市; F: 四平市; G: 公主岭市; H: 通化市; I: 白山市; J: 白城市; K: 松原市; L: 乾安县。图中比例尺为 20.0 μm。
A: Mopan Mountain in Jilin City; B: Longtan Mountain in Jilin City; C: Huadian City; D: Jiaohe City; E: Changchun City; F: Siping City; G: Gongzhuling City; H: Tonghua City; I: Baishan City; J: Baicheng City; K: Songyuan City; L: Qian'an County. The scale is 20.0 μm.

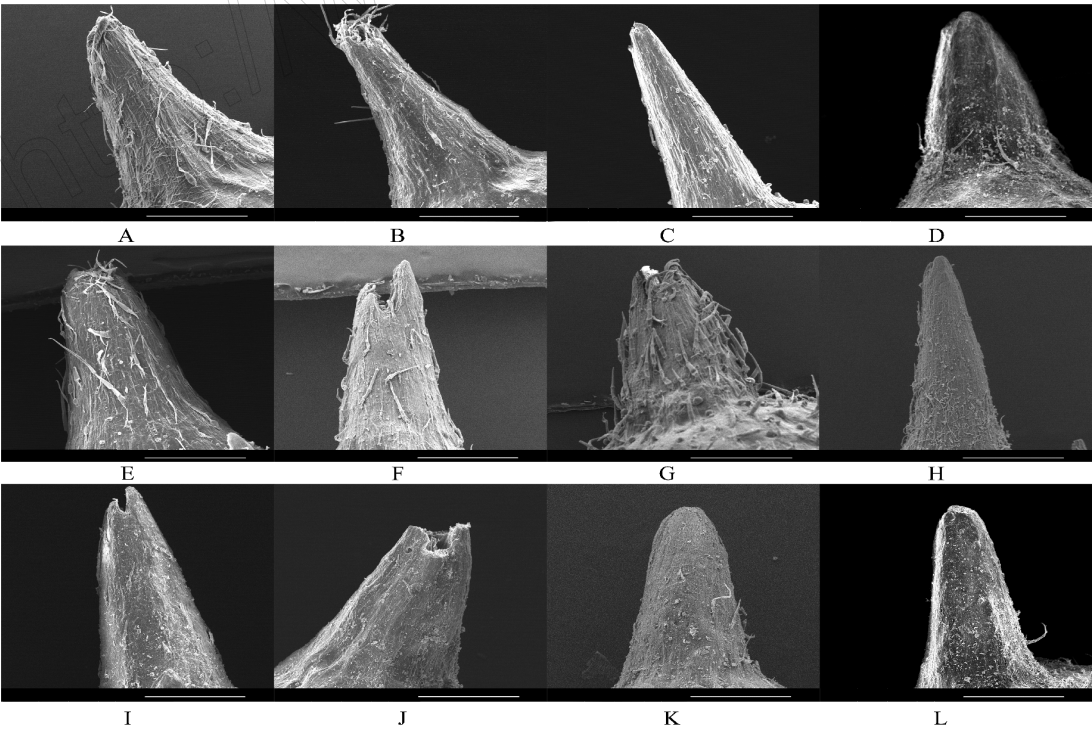


图 4 吉林省不同地区豚草喙电镜扫描照片 (×100)

Fig.4 Scanning electron microscope photos of *A. artemisiifolia* beaks in different regions (×100)

A: 吉林市磨盘山; B: 吉林市龙潭山; C: 桦甸市; D: 蛟河市; E: 长春市; F: 四平市; G: 公主岭市; H: 通化市; I: 白山市; J: 白城市; K: 松原市; L: 乾安县。图中比例尺为 500.0 μm。
A: Mopan Mountain in Jilin City; B: Longtan Mountain in Jilin City; C: Huadian City; D: Jiaohe City; E: Changchun City; F: Siping City; G: Gongzhuling City; H: Tonghua City; I: Baishan City; J: Baicheng City; K: Songyuan City; L: Qian'an County. The scale is 500.0 μm.

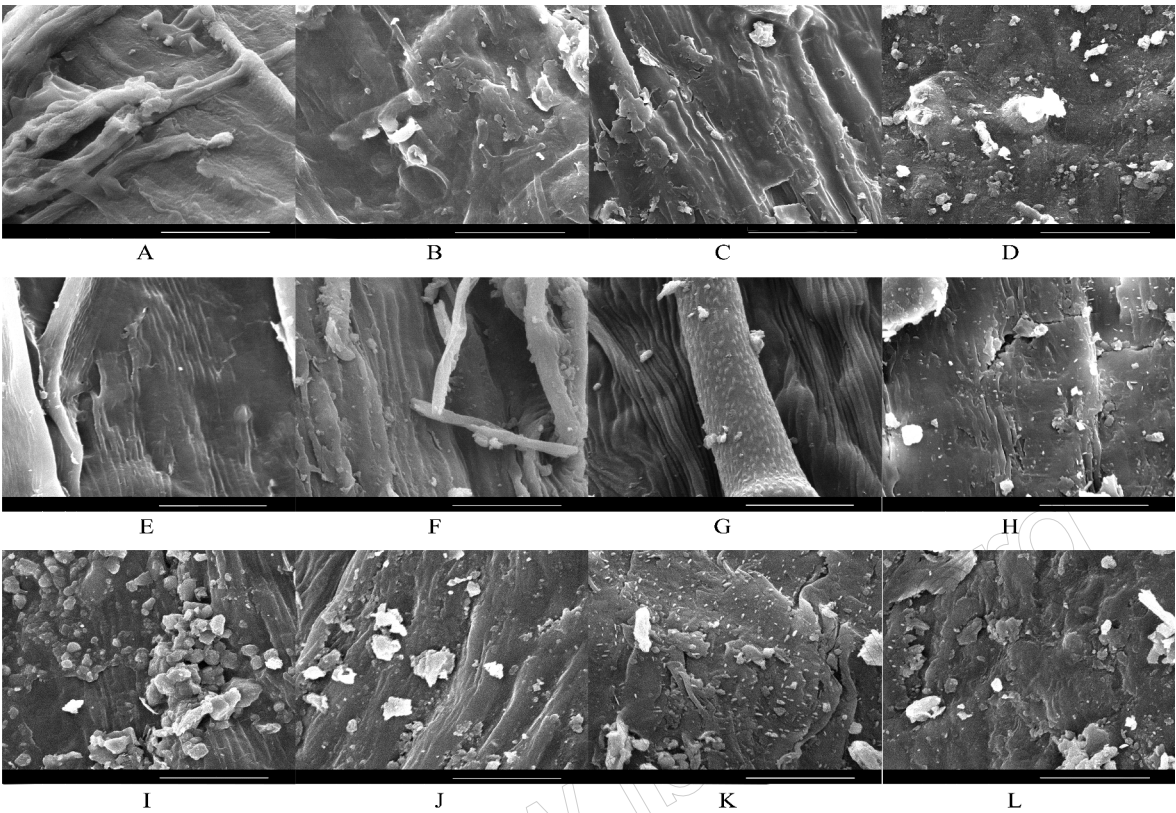


图 5 吉林省不同地区豚草瘦果喙表皮纹饰特征扫描电镜照片 (×2500)

Fig.5 Scanning electron microscope photos of the epidermal decoration characteristics of *A. artemisiifolia* achene beak in different regions of Jilin Province (×2500)

A: 吉林市磨盘山; B: 吉林市龙潭山; C: 桦甸市; D: 蛟河市; E: 长春市; F: 四平市; G: 公主岭市; H: 通化市; I: 白山市; J: 白城市; K: 松原市; L: 乾安县。图中比例尺为 20.0 μm。

A: Mopan Mountain in Jilin City; B: Longtan Mountain in Jilin City; C: Huadian City; D: Jiaohe City; E: Changchun City; F: Siping City; G: Gongzhuling City; H: Tonghua City; I: Baishan City; J: Baicheng City; K: Songyuan City; L: Qian'an County. The scale is 20.0 μm.

2.2 豚草瘦果表型性状与地理-气候因子的相关性分析

由表 2 可知,豚草瘦果的喙长度与纬度呈显著负相关,相关系数为-0.598,与年均降水量呈显著

正相关,相关系数为 0.595;豚草瘦果的果形系数与经度、年均降水量呈显著正相关,相关系数分别为 0.619和 0.592,与纬度和无霜期呈显著负相关,相关系数分别为-0.590 和-0.691。

表 2 吉林省不同地区豚草瘦果表型性状与地理-气候因子的相关系数

Table 2 Correlation coefficient between phenotypic traits of *A. artemisiifolia* achenes and geographical-climate factors in different regions of Jilin Province

表型性状 Phenotypic trait	与地理-气候因子的相关系数 Correlation coefficient with geographic-climatic factors					
	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude	年均气温 Annual mean Temperature	年均降水量 Annual mean Precipitation	无霜期 Frostless Period
瘦果横径 Achene transverse diameter	-0.447	0.176	-0.151	0.476	-0.245	0.537
瘦果纵径 Vertical diameter of achene	0.045	-0.385	0.352	0.171	0.308	0.012
喙长度 Beak length	0.396	-0.598 *	0.492	-0.103	0.595 *	-0.443
边刺长度 Edge thorn length	0.430	-0.319	0.196	-0.190	0.444	-0.461
果形系数 Achene shape coefficient	0.619 *	-0.590 *	0.545	-0.499	0.592 *	-0.691 *
果皮横向厚度 Transverse thickness of pericarp	-0.294	0.468	-0.486	0.173	-0.342	0.425

* 表示 2 个对应指标间显著相关 ($P<0.05$)。

* represents significant correlation between the two corresponding indexes ($P<0.05$).

2.4 豚草瘦果聚类分析

从图 6 可以看出,在欧式距离为 10 时,12 个地区的瘦果可分为 3 类:第Ⅰ类为果皮纹饰网状、中果形、短喙类,包括蛟河市、通化市、公主岭市、松原市和乾安县种源;第Ⅱ类为果皮纹饰条状、小果形、中长喙类,包括吉林市磨盘山、桦甸市、吉林市龙潭

山、长春市和四平市种源;第Ⅲ类为果皮纹饰穴状、大果形、长喙类,包括白山市和白城市种源。

3 类瘦果的形态性状如表 3 所示,豚草的果形系数和果皮横向厚度表现为Ⅲ>Ⅰ>Ⅱ,瘦果纵径、瘦果横径和喙长度表现为Ⅲ>Ⅱ>Ⅰ,3 类豚草瘦果性状存在差异。

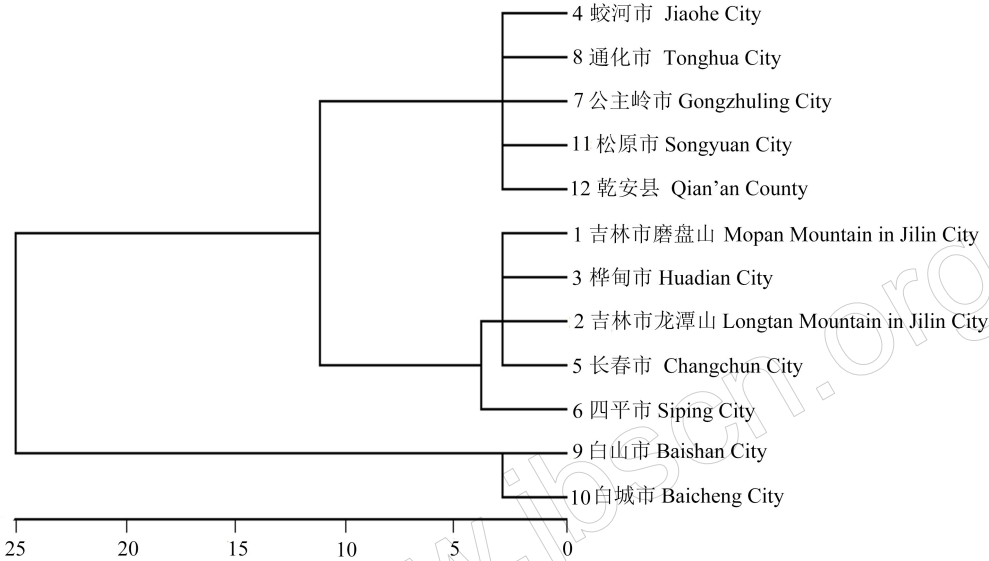


图 6 吉林省不同地区豚草瘦果聚类分析树状图
Fig.6 Cluster analysis of *A. artemisiifolia* achenes in different regions of Jilin Province using dendrogram analysis

表 3 不同类别豚草瘦果聚类分析结果

Table 3 Cluster analysis results of *A. artemisiifolia* achene category

类别 category	瘦果纵径 Vertical diameter of achene/mm	瘦果横径 Achene transverse diameter/mm	果形系数 Achene shape coefficient	喙长度 Beak length /mm	边刺长度 Edge thorn length/mm	果皮横向厚度 Transverse thickness of pericarp/mm
Ⅰ	3.640±0.128	2.027±0.083	1.807±0.059	0.942±0.070	0.407±0.046	0.075±0.011
Ⅱ	3.706±0.151	2.076±0.102	1.794±0.058	0.980±0.081	0.433±0.046	0.072±0.013
Ⅲ	3.821±0.172	2.085±0.008	1.845±0.076	1.015±0.066	0.418±0.035	0.089±0.004

3 结论与讨论

3.1 豚草瘦果的形态特征、瘦果表面纹饰及附属物特征、喙形态及纹饰特征

豚草瘦果形状均为倒卵形,可细分为窄倒卵形和宽倒卵形。豚草瘦果表面纹饰分为条状纹饰、网状纹饰和穴状纹饰。豚草瘦果中部被毛或无毛,毛分为圆柱状毛和扁柱状毛。豚草瘦果顶端都具有锥状喙,喙顶端封闭或具有凹缺。豚草瘦果边刺可分为较长边刺和较短边刺。豚草瘦果喙表面微结构分为 2 种:一种具有明显的条状纹饰,另一种表面呈不规则隆起或凹陷。

从豚草瘦果形态特征中可以观察到,通化市豚草瘦果的表型性状较为特殊,这可能与通化市在 12 个地区中纬度最低,年均降水量最大有关。吉林省

12 个地区豚草瘦果形态和微结构存在差异,这与李成宏(2021)得出的吉林省豚草种实表型性状变异较为丰富的结论一致。不同地区复杂的生境条件可能是造成豚草不同种群间瘦果表型性状和微结构差异较大的原因。

3.2 豚草瘦果性状与地理-气候因子的相关性

瘦果的喙长度随着年均降水量的增加而增加,随着纬度的升高而减少;果形系数随着经度的升高和年均降水量的增加而增加,说明豚草喜在雨水丰富的地区生长。果形系数随着纬度的升高和无霜期的延长而减小,该结论与于忠亮等(2020)对吉林东部不同野生居群兴安杜鹃 *Rhododendron dauricum* L.种实表型性状变异研究中得出的多数种实表型性状与纬度呈负相关的结果相似。吉林省豚草瘦

果表型性状与海拔相关性不显著,可能由于采集豚草瘦果地区的海拔均低于 500 m,海拔高度相差较小;而吉林省豚草瘦果表型性状与年均气温相关性不显著,可能由于吉林省季节性温差较大,冬季较冷,导致平均温度较低。

3.3 豚草瘦果性状的变异

本研究表明,3 类豚草瘦果形态和微结构性状聚类分析结果与瘦果表皮纹饰类型相吻合,低纬度、高降水量有利于豚草瘦果生长发育。同一物种不同产地形态上的差异是遗传型和环境因子共同作用的结果,而且差异越大,可能存在的遗传变异也越大(岳华峰等,2010)。不同地区间豚草瘦果形态和微结构有明显差异说明豚草种群对环境的适应能力强。对于豚草的防治,可以针对不同类群及生境关系有针对性地制定防控策略。

豚草的结实量大、种子繁殖速度快、抗旱和适应环境能力强,加之豚草果皮具有刺(喙),很容易附着在人类和动物体上。随着旅游业发展,人员流动频繁,加快了豚草的传播速度。豚草多分布于铁路沿线城市并向外扩散,给豚草防控带来了困难。因此,通过研究和普及豚草瘦果形态、结构特征的知识,可以提高普通大众、生物安全工作人员、海关检疫人员等对豚草瘦果的鉴别能力,从源头传播上进行控制,为更好地阻止豚草的传播提供依据。豚草为一年生植物、当年植株枯死,但其瘦果会留在土壤里、笠年会继续萌发,此外,豚草与蒿属一些植物从叶片上很难区别,但容易从瘦果形态进行识别。因此,通过早期植株脱落和宿存瘦果快速、准确识别豚草,预估豚草笠年发生的可能性,并在豚草结实前根除豚草,可为有效防控豚草提供参考。

参考文献

包颖, 2018. 外来入侵物种豚草研究进展. 吉林林业科技, 47(2): 37-39, 42.
陈红松, 周忠实, 郭建英, 王沫, 彭兆普, 2009. 豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L. 种群控制研究概况. 植物保护, 35(2): 20-24.

杜凤国, 兰雪涵, 2021. 吉林省外来入侵植物豚草潜在适生区预测. 北华大学学报(自然科学版), 22(4): 432-436.
邓旭, 2010. 外来物种豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L. 入侵生态学. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学.
董合干, 周明冬, 刘忠权, 郝晓云, 刘延, 艾尼瓦尔·阿不都瓦依提, 刘彤, 2017. 豚草和三裂叶豚草在新疆伊犁河谷的入侵及扩散特征. 干旱区资源与环境, 31(11): 175-180.
国家环保总局, 2003. 关于发布中国第一批外来入侵物种名单的通知. 中华人民共和国国务院公报 (23): 41-46.
康芬芬, 魏亚东, 杨菲, 张瑞峰, 程瑜, 刘勇, 印丽萍, 2010. 不同处理对豚草种子休眠与萌发的影响. 植物检疫, 24(6): 14-16.
李成宏, 2021. 吉林省豚草种实性状及群落特征的研究. 硕士学位论文. 吉林: 北华大学
李成宏, 于忠亮, 苑景淇, 王梅芳, 周梅妹, 兰雪涵, 付聪, 杜凤国, 2020. 外来入侵植物豚草在吉林市路边生境下繁殖特性调查. 植物检疫, 34(4): 12-16.
李耀琪, 王志恒, 2023. 植物功能生物地理学的研究进展与展望. 植物生态学报, 47(2): 145-169.
邢艳芳, 2012. 豚草和三裂叶豚草在吉林省内的分布及解剖结构研究. 硕士学位论文. 长春: 东北师范大学.
吴海荣, 强胜, 段惠, 林金成, 2004. 豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L. 杂草科学 (2): 52-54.
王梅芳, 兰雪涵, 李黎明, 刘羿辰, 周梅妹, 李成宏, 付聪, 袁梦琦, 檀婷婷, 杜凤国, 2021. 外来入侵植物豚草构件生物量特征. 植物检疫, 35(3): 24-28.
许佳丹, 王书平, 蒋费涛, 朱雅君, 叶军, 李飞, 2019. 我国口岸瓜实蝇监测样本的 SSR 分子标记分析. 生物安全学报, 28(4): 259-268.
于忠亮, 苑景淇, 李成宏, 周梅妹, 王梅芳, 杜凤国, 2020. 吉林东部不同野生居群兴安杜鹃种实表型性状变异研究. 植物资源与环境学报, 29(3): 26-33.
袁梦琦, 王梅芳, 李黎明, 檀婷婷, 兰雪涵, 杜凤国, 2021. 干旱胁迫对豚草种子萌发及幼根生长的影响. 植物检疫, 35(6): 27-32.
岳华峰, 邵文豪, 井振华, 卢萍, 黄琳, 姜景民, 2010. 苦楮种子形态性状的地理变异分析. 林业科学研究, 23(3): 453-456.

(责任编辑:郑姗姗)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.006

PEG 模拟干旱胁迫对加拿大飞蓬种子萌发及幼根生长的影响

吴生海¹, 王玉莹¹, 杨春波¹, 李黎明¹, 张 一¹, 杜凤国^{1,2*}
¹北华大学林学院, 吉林 吉林 132013; ²长白山特色森林资源保育与
高效利用国家林业局重点实验室, 吉林 吉林 132013

摘要:【目的】研究干旱胁迫对加拿大飞蓬种子萌发及幼根生长的影响,为科学防控加拿大飞蓬入侵提供依据。【方法】以当年生加拿大飞蓬成熟种子为材料,分别用蒸馏水(CK)和不同浓度5%、10%、15%、20%、25%的聚乙二醇溶液(PEG)(分别表示轻度、中度、重度、极度和极重度干旱胁迫强度)对加拿大飞蓬种子进行处理。测定日相对发芽率、发芽率、发芽势等指标,分析加拿大飞蓬种子萌发情况;测定幼苗根系宽、根系高、根平均直径、根面积、总根尖数及根分叉数,分析其幼苗根生长情况;并测定种子恢复萌发情况。【结果】无干旱胁迫的加拿大飞蓬种子萌发指标最高,随着干旱胁迫强度增加,种子萌发指标减小,极重度干旱胁迫下加拿大飞蓬种子不萌发。与CK相比,轻度干旱胁迫和重度干旱胁迫对加拿大飞蓬根平均直径影响不显著,但会促进侧根与不定根生长;重度干旱胁迫下,加拿大飞蓬的总根尖数和分叉数显著增加。加拿大飞蓬种子在PEG浓度为20.13%的干旱胁迫下不发芽。种子在极度和极重度干旱胁迫下不萌发,但当水分条件充足时,种子依然具有萌发的能力。【结论】建议在加拿大飞蓬种子尚未成熟前进行人工拔除,或在加拿大飞蓬入侵地种植耐旱强、生长快、根系发达、竞争性强的植物,以控制加拿大飞蓬的生长发育。

关键词: 加拿大飞蓬; 干旱胁迫; 种子萌发; 幼根生长; PEG 溶液



开放科学标识码
(OSID 码)

Effects of PEG simulated drought stress on *Conyza canadensis* seed germination and young root growth

WU Shenghai¹, WANG Yuying¹, YANG Chunbo¹, LI Liming¹, ZHANG Yi¹, DU Fengguo^{1,2*}
¹College of Forestry, Beihua University, Jilin, Jilin 132013, China; ²Key Laboratory of State Forestry Administration on Conservation and Efficient Utilization of Precious and Rare Forest Resources in Changbai Mountain, Jilin, Jilin 132013, China

Abstract: 【Aim】 We investigated the effect of drought stress on *Conyza canadensis* seed germination and radicle growth, aiming to provide a scientific basis for the prevention and control of *C. canadensis* invasion. 【Method】 Mature *C. canadensis* seeds from the current year were treated with distilled water and polyethylene glycol (PEG) solutions of different mass fractions (5%, 10%, 15%, 20%, and 25%). These mass fractions represented mild, moderate, severe, extreme, and extremely severe drought stress intensities, respectively. We measured various indices, including daily relative germination rate, germination rate, and germination potential, to analyze the seed germination potential of *C. canadensis*. Additionally, we measured seedling root width, root length, average root diameter, root area, total number of root tips, and root branching number to assess radicle growth capacity. Seed recovery germination was also measured. 【Result】 Germination indicators were highest for *C. canadensis* seeds not exposed to drought stress. As drought stress intensity increased, seed germination indicators decreased, and *C. canadensis* seeds did not germinate under extremely severe drought stress. Compared with control seeds, mild drought stress and severe drought stress had no significant effect on the average root diameter of *C. canadensis* but did promote the growth of lateral and indefinite roots. These studies summarize the impact of PEG induced drought stress on the germination and radicle growth of *C. canadensis* seeds. *C. canadensis* seeds do not germinate under drought stress with a PEG mass fraction of 20.13%. Seeds do not germinate under extreme and severe drought stress, but when water conditions become sufficient, seeds regain the ability to germinate. 【Conclusion】 These results suggest manual removal of plants before *C. canadensis* seeds have matured or the planting of drought-resistant, fast-growing, well-rooted, and highly competitive plants in *C. canadensis* invasion areas to control the growth and development of *C. canadensis*.

Key words: *Conyza canadensis*; drought stress; seed germination; young root growth; PEG solution

收稿日期(Received): 2023-03-23 接受日期(Accepted): 2023-07-24
基金项目: 国家林业和草原局林业外来物种调查与研究专项(KJZXSA202019)
作者简介: 吴生海, 男, 硕士研究生。研究方向: 野生植物保护与利用。E-mail: 283103059@qq.com
* 通信作者(Author for correspondence), 杜凤国, E-mail: dfg4656@qq.com

加拿大飞蓬 *Conyza canadensis* (L.) Cronq. 又称小蓬草、飞蓬、小白酒草, 属菊科 Compositae 飞蓬属 *Conyza* 一年生草本植物, 原产于北美洲。1860 年, 加拿大飞蓬在我国烟台地区首次被发现, 现在我国各地广泛分布, 是一种区域性恶性杂草, 可对入侵区域的生物多样性和作物造成影响, 严重破坏城市绿化景观(万方浩等, 2005; 中国科学院中国植物志编辑委员会, 1978)。目前, 关于加拿大飞蓬的研究主要集中在群落特征(阿腾古丽·艾思木汗, 2021)、胚胎学(黄衡宇等, 2009)、生物学和生态学特性(诸葛晓龙等, 2011)、化感作用(高兴祥等, 2010, 2015)、危害及防治(陈韶军, 2014)等方面。加拿大飞蓬对环境条件的适应力较强, 可以生长在林缘、河边草地等湿生环境, 也可以在旷野、荒地、田边、乡村路旁、硬质封盖地缝等干旱环境下生长。

外来植物的入侵能力与繁殖能力呈正相关, 种子是植物的繁殖器官, 在外来植物的入侵过程中有举足轻重的作用。加拿大飞蓬种子每株产量约为 30~40 万粒(陈韶军, 2014), 数量巨大的种子为其繁殖、传播和扩散提供了支持。植物根系的形态特征在一定程度上受植物生长生境的影响(丁雪丹等, 2019)。入侵植物在入侵过程中会遭遇干旱环境且表现出一定的适应性。干旱环境条件对植物根系性状指标产生影响, 因此, 在研究根系对干旱胁迫响应时, 根长、根表面积和根总尖数等成为主要性状指标(丁国华等, 2020; 聂伟燕等, 2014)。干旱环境会影响加拿大飞蓬种子的萌发, 其根系可对干旱环境做出一定响应(Wensuo & Jianhua, 2008)。但是, 何种程度的干旱条件会对种子萌发有抑制作用, 对根系生长性状产生何种影响尚未明晰。因此, 有必要开展试验, 研究干旱环境对加拿大飞蓬种子和幼根的抑制作用。聚乙二醇(polyethyleneglycol, PEG) 为一种高分子化合物, 无法给种子提供营养物质, 为模拟干旱环境理想的试验材料。目前, PEG 已经在模拟种子干旱胁迫的研究中被广泛应用(李盈, 2014)。但关于干旱胁迫环境下加拿大飞蓬种子萌发情况和幼根在极端干旱情况下的响应, 以及种子在解除干旱胁迫后复萌状况尚未见报道。基于此, 本研究通过设置不同浓度 PEG 模拟加拿大飞蓬种子在不同干旱胁迫环境下的生根及发芽情况, 旨在为探究加拿大飞蓬入侵扩散原因及防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料采自吉林省吉林市北华大学校园内经过鉴定的加拿大飞蓬成熟种子。试验用品主要为锥形瓶、培养皿、移液枪、滤纸、Epson Expression 12000XL 植物根系扫描仪; 试验试剂为高锰酸钾、蒸馏水和聚乙二醇。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料处理 配制浓度为 3% 的高锰酸钾溶液并将加拿大飞蓬种子放置在盛有该溶液的烧杯中, 消毒 15 min; 消毒后用蒸馏水对种子进行反复冲洗, 直至冲洗干净后存放于阴凉处自然阴干。

1.2.2 试验设计 在培养皿内放置滤纸(直径 110 mm), 润湿后在每个培养皿内均匀放置 30 粒颗粒饱满的加拿大飞蓬种子。通过预试验得知, 加拿大飞蓬种子在 PEG 浓度为 20% 时几乎不萌发, 参照王玉莹等(2022)关于 PEG 浓度梯度设置方法, 分别将浓度为 5%、10%、15%、20%、25% 的 PEG 溶液和蒸馏水(CK) 各 3 mL 加到培养皿中并使溶液完全浸透滤纸, 5 个浓度梯度分别表示轻度、中度、重度、极度和极重度干旱胁迫强度, 设置 3 个重复。将培养皿放置在恒温生物培养箱中, 温度恒定 24 ℃, 于每日中午 12:00 在每个培养皿中加入 2.5 mL 蒸馏水或对应浓度 PEG 溶液, 使培养皿中的滤纸保持一定的湿润度, 以放入种子当日为第 1 天。以胚根露白为种子发芽标准(吴敏等, 2017), 之后每日 15:00 记录种子发芽数量, 10 d 后结束培养, 并对相关指标进行测定。在种子发芽结束(第 10 天)时从各培养皿中随机选取发芽的 3 株幼苗, 使用 Epson Expression 12000XL 植物根系扫描仪进行根系扫描。种子复萌试验则是将 20%、25% PEG 溶液处理的种子分别使用蒸馏水反复进行冲洗, 直到种子表面无黏腻感为止。清洗后将种子放置在已被蒸馏水完全浸湿的单层滤纸的培养皿中, 将培养皿放入恒温生物培养箱中培养 10 d, 使用与之前相同的培养条件观察种子复萌状况。

1.3 统计分析

加拿大飞蓬种子发芽及根系测定相关指标参考徐振朋等(2015)的方法并稍作修改。使用 Excel 2016 对试验数据进行计算和处理; 使用 SPSS 20 进行显著性分析; 使用 Origin 2022 进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 PEG 模拟干旱胁迫条件下加拿大飞蓬种子日相对萌发率变化

由图 1 可知,不同浓度的 PEG 溶液对加拿大飞蓬种子萌发有不同的影响。从整体来看,随着 PEG 浓度的增加种子的萌发率逐渐降低。CK 组加拿大飞蓬种子在第 3 天萌发率达到最大值,日相对萌发率为 23.33%;PEG 浓度为 5%处理的加拿大飞蓬种子在第 4 天萌发率达到最大值,日相对萌发率为 12.22%;10% PEG 质量分数处理的加拿大飞蓬种子在萌发的第 2 天萌发率达到最高值,日相对萌发率为 5.56%;而 20%和 25% PEG 浓度处理的加拿大飞蓬种子均未萌发。

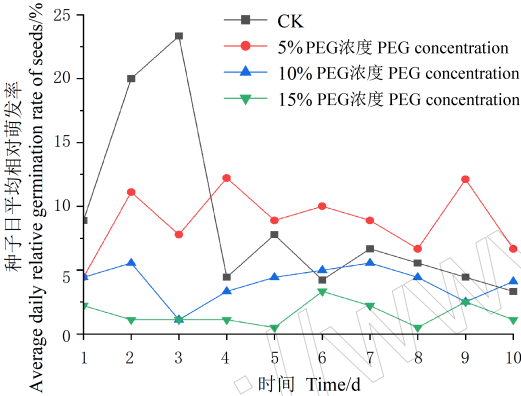


图 1 加拿大飞蓬种子日相对发芽率

Fig.1 Daily relative germination rate of *C. canadensis* seeds

2.2 PEG 模拟干旱胁迫条件下加拿大飞蓬种子萌发指标的变化

如表 1 所示,加拿大飞蓬种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数随着干旱胁迫强度的增加而逐渐降低。发芽率和发芽指数的各组别之间差异显著($P<0.05$);CK 与浓度为 5%、10%、15% PEG 溶液处理的加拿大飞蓬种子发芽势差异显著($P<0.05$),不同浓度 PEG 溶液处理间的差异不显著;CK 与浓度为 10%和 15% PEG 溶液处理的加拿大飞蓬种子活力指数差异显著($P<0.05$),CK 与浓度为 5% PEG 溶液处理的差异不显著,5%和 10% PEG 溶液处理的差异不显著,5%和 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<0.05$),10%和 15% PEG 溶液处理的差异不显著。在干旱胁迫条件下,加拿大飞蓬种子的萌发指标均有下降。与对照组相比,PEG 浓度为 5%、10%和 15%的加拿大飞蓬种子发芽率分别下降 8.89%、47.78%和 82.23%;发芽势分别下降 34.44%、41.11%和 47.79%;发芽指数分别下降 3.19%、6.06%和 8.76%;活力指数分别下降 4.93%、6.74%和 10.18%。

PEG 浓度与加拿大飞蓬种子萌发率之间的关系见图 2。拟合方程为 $y = 0.0115x^3 - 0.3204x^2 - 3.0069x + 96.5440$, $R^2 = 0.9964$ 。令 $y = 0$,可得出 $x \approx 20.13$,即 PEG 溶液浓度为 20.13%时的加拿大飞蓬种子发芽率为 0。

表 1 不同浓度聚乙二醇的加拿大飞蓬种子萌发指标

Tab.1 Germination indexes of *C. canadensis* seeds with different mass fractions of PEG

PEG 浓度 PEG mass fractions/%	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index/%	活力指数 Viability index
0 (CK)	96.67±1.92a	52.22±5.88a	10.15±0.49a	11.62±1.80a
5	87.78±1.01b	17.78±2.94b	6.96±0.72b	6.69±1.29ab
10	48.89±2.22c	11.11±4.84b	4.07±0.78c	4.88±1.72bc
15	14.44±1.11d	4.43±1.93b	1.39±0.34d	1.44±0.33c
20	0	0	0	0
25	0	0	0	0

同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Date followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at 0.05 level.

2.3 PEG 模拟干旱胁迫条件下加拿大飞蓬幼根相关指标的变化

由表 2 可知,随着 PEG 溶液浓度升高,加拿大飞蓬的根系宽、根系高及总根投影单位面积呈下降趋势,根系平均直径呈先上升后下降的趋势,总根尖数和根系分叉数呈上升趋势。加拿大飞蓬幼根根系宽,CK 与 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<$

0.05),5%和 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<0.05$),其余各组之间差异不显著;加拿大飞蓬幼根根系高,CK 与 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<0.05$),5%和 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<0.05$),其余各组之间差异不显著;加拿大飞蓬幼根总根投影单位面积,CK 与 15% PEG 溶液处理的差异显著($P<0.05$),5%与 15% PEG 溶液处理的

差异显著 ($P<0.05$), 其余各组之间差异不显著; 加拿大飞蓬幼根根平均直径, 5% 与 15% PEG 溶液处理的差异显著 ($P<0.05$), 其余各组之间差异不显著。加拿大飞蓬幼根总根尖数和根分叉数, CK 与 15% PEG 溶液处理的差异显著 ($P<0.05$), 其余各组之间差异不显著。

在干旱胁迫条件下, 加拿大飞蓬幼根生长指标有不同程度的变化。与 CK 相比, PEG 浓度为 5%、10% 和 15% 的加拿大飞蓬幼根的总根投影单位面积平均值分别下降 0.002、0.011 和 0.016 mm; 根系宽平均值分别下降 0.24、0.37 和 0.64 mm; 根系高平均值分别下降 0.09、0.28 和 0.59 mm; 根平均直径平均值先上升 0.08 mm 后分别下降 0.06 和 0.16 mm; 总根尖数平均值分别上升 1.67、2.28 和 8.14 个; 根

分叉数平均值分别上升 0.28、0.73 和 1.87 个。

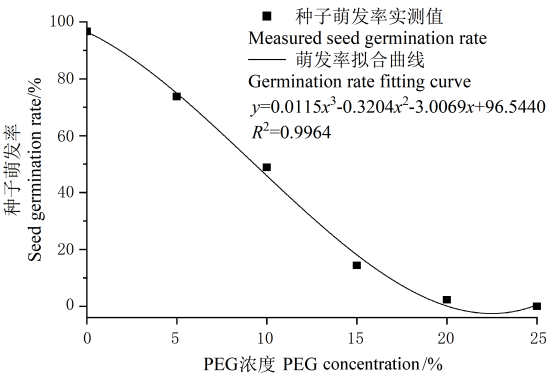


图 2 不同浓度聚乙二醇与加拿大飞蓬种子萌发率之间的关系

Fig.2 Relationship between different mass fractions of PEG and seed germination rate of *C. canadensis*

表 2 不同浓度聚乙二醇对加拿大飞蓬幼根生长的影响
Tab.2 Effects of different mass fractions of PEG on the growth of young roots of *C. canadensis*

PEG 浓度 PEG mass fractions/%	总根投影单位面积 Total root projection unit area/mm ²	根系宽 Root width /mm	平均直径 Average diameter /mm	根系高 Root height /mm	总根尖个数 Total number of root tips	分叉个数 Number of branching
0 (CK)	0.037±0.011a	1.590±0.445a	0.350±0.147ab	1.410±0.359a	7.720±4.212b	0.660±1.154b
5	0.035±0.012a	1.350±0.253a	0.430±0.176a	1.320±0.364a	9.390±6.222ab	0.940±0.416ab
10	0.026±0.007ab	1.220±0.336ab	0.290±0.141ab	1.130±0.365ab	10.000±7.211ab	1.390±0.777ab
15	0.021±0.001b	0.950±0.261b	0.190±0.009b	0.820±0.098b	15.860±9.156a	2.530±2.748a

同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Date followed by different lowercase letters in the same column are significantly different at 0.05 level.

2.4 解除极度、极重度干旱胁迫后加拿大飞蓬种子复萌情况

加拿大飞蓬种子在解除干旱胁迫后仍可继续萌发, 2 种浓度的加拿大飞蓬种子复萌情况见图 3。在浓度 20% PEG 溶液中的加拿大飞蓬种子在解除干旱胁迫后的第 2 天可萌发, 首次萌发率为 5.67%; 种子日萌发率最高在第 5 天, 日萌发率为 25.83%。10 天内累计萌发率为 93.07%; 在浓度 25% PEG 溶液中的加拿大飞蓬种子在解除干旱胁迫后同样在第 2 天可萌发, 首次萌发率为 3.33%。种子日萌发率最高在第 6 天, 为 21.66%。10 d 累计萌发率为 75.75%。

3 讨论与结论

本研究中, 不同干旱胁迫强度对加拿大飞蓬幼根生长指标影响不同。根平均直径随着干旱胁迫程度的增加呈现先增长后下降的趋势, 在达到轻度

胁迫后, 根平均直径开始下降。随 PEG 溶液浓度的增加, 根系面积、根系高、根系宽均下降, 根分叉数和总根尖数升高。

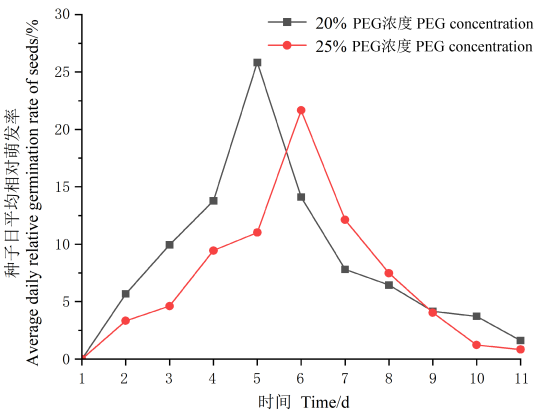


图 3 极度、极重度干旱胁迫解除后加拿大飞蓬种子平均日相对发芽率

Fig.3 Average daily relative germination rate of *C. canadensis* seeds after the lifting of extreme and severe drought stress

解除干旱胁迫后加拿大飞蓬种子仍有复萌能力。在极度和极重度干旱胁迫下加拿大飞蓬种子均不能萌发,但将种子残留的 PEG 溶液清洗干净且培养环境中具有充足水分条件时,种子仍然具有一定的复萌能力。而且随着干旱胁迫程度增加,复萌率逐渐下降,说明种子的复萌能力逐渐减弱。

加拿大飞蓬种子在水分条件良好的情况下具有良好的发芽率及根系生长力。但在干旱缺水情况下,种子萌发受到抑制,根系生长的各项指标如根面积、根尖数、侧根数等也随着环境条件的变化发生改变。Wang *et al.* (2019) 研究表明,PEG 模拟干旱环境影响薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. 种子的萌发率,随着 PEG 浓度的增加,薏苡种子的发芽势、发芽指数和活力指数均有不同程度的下降,与本研究结果相似。王玉莹等(2022)研究表明,在 PEG 模拟干旱条件下,三裂叶豚草 *Ambrosia trifida* L. 种子随 PEG 浓度的增加而下降,根系宽、根面积随 PEG 浓度的增加而下降,根分叉数和总根尖数的数量上升,根系相关指标变化与本研究结论一致。齐淑艳等(2014)对牛膝菊 *Galinsoga parviflora* Cav. 进行干旱模拟试验,结果显示,20% 和 25% 浓度 PEG 处理的牛膝菊种子在适宜的条件下可以恢复萌发,但在相同侵种条件下,20% 处理的种子复萌率大于 25% 处理的种子,该结论与本研究的复萌情况相似。

加拿大飞蓬对环境的适应性强,其种子在不同干旱胁迫条件下发芽率不同,但都具备一定的发芽能力,且在解除极度和极重度干旱胁迫条件后,加拿大飞蓬也具有非常强的萌发能力,因此,应加强对加拿大飞蓬的综合防治。建议通过物理方法对小范围的加拿大飞蓬植株进行人工拔除;如果加拿大飞蓬已经形成一定规模的群落,则可通过机械设备进行铲除。也可以因地制宜地选择使用生物防治技术(高尚宾等,2017)阻止加拿大飞蓬的入侵。王宇超等(2023)研究表明,蒿属的一些植物如黄花蒿 *Artemisia annua* Linn. 和猪毛蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. 可对加拿大飞蓬的生长产生抑制作用。黄花蒿在我国全境都有分布,猪毛蒿也广泛分布于我国西北、华北和东北等地,二者均是防止加拿大飞蓬泛滥的理想植物。此外,有研究表明,白条银纹夜蛾 *Argyrogramma albostriata* Bremer *et* Grey 为寡食性昆虫,其食料植物多为菊科外来植物(陈谦等,2016),可在加拿大飞蓬侵入地投放该昆虫,

即可有效抑制加拿大飞蓬的生长发育,又不会对其野生植物和农作物产生影响,是抑制加拿大飞蓬生长的理想昆虫。综上,可将物理方法和生物方法相结合,防控加拿大飞蓬的入侵、繁殖和扩散。

参考文献

- 阿腾古丽·艾思木汗, 2021. 入侵植物小蓬草在新疆的群落特征及气候变化下的潜在分布估计. 硕士学位论文. 乌鲁木齐: 新疆大学.
- 陈谦, 王强, 何家庆, 2016. 加拿大一枝黄花天敌: 白条银纹夜蛾的寄主专性研究. 北京大学学报(自然科学版), 52(5): 776-784.
- 陈韶军, 2014. 加拿大一枝黄花和小飞蓬入侵潜力综述. 湖北林业科技, 43(1): 24-28.
- 丁国华, 白良明, 曹良子, 周劲松, 王彤彤, 洛育, 夏天舒, 杨光, 谢婷婷, 刘凯, 姜辉, 陈磊, 王荣升, 李坤, 王雪扬, 殷大伟, 湛立伟, 孙世臣, 2020. 干旱胁迫对寒地水稻不同种质资源萌发特性及幼苗生长的影响. 种子, 39(11): 38-43.
- 丁雪丹, 张继红, 梅雅茹, 蔡军火, 高璜, 唐山, 桂丽静, 季巍, 郑育桃, 2019. 干旱胁迫对 5 种花境植物形态的影响. 中南林业科技大学学报, 39(2): 53-58.
- 高尚宾, 张宏斌, 孙玉芳, 张国良, 2017. 植物替代控制 3 种入侵杂草技术的研究与应用进展. 生物安全学报, 26(1): 18-22, 102.
- 高兴祥, 李美, 房锋, 2015. 小飞蓬不同部位对野燕麦和多花黑麦草的化感作用. 安徽农业科学, 43(15): 114-116.
- 高兴祥, 李美, 高宗军, 赵亚, 张宏军, 李志强, 宋国春, 2010. 外来入侵植物小飞蓬化感物质的释放途径. 生态学报, 30(8): 1966-1971.
- 黄衡宇, 龙华, 李鹏, 2009. 小蓬草的胚胎学研究. 武汉植物学研究, 27(3): 233-241.
- 李盈, 2014. 聚乙二醇(PEG)处理对植物种子的影响. 甘肃农业(14): 65-66.
- 聂伟燕, 赵尊练, 夏云飞, 房清鹏, 胡建超, 郭长美, 史联联, 徐乃林, 郭建伟, 2014. 水分胁迫对线辣椒根系生长及产量的影响. 干旱地区农业研究, 32(4): 30-36.
- 齐淑艳, 段继鹏, 郭婷婷, 董晶晶, 2014. 入侵植物牛膝菊种子萌发对 PEG 模拟干旱胁迫的响应. 生态学杂志, 33(5): 1190-1194.
- 万方浩, 郑小波, 郭建英, 2005. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社.
- 吴敏, 张文辉, 马闯, 周建云, 2017. 干旱胁迫对栓皮栎种子萌发能力的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 45(5): 91-100.

王宇超, 吕金林, 毛祝新, 李倩, 2023. 本土蒿属植物浸提液对农田入侵杂草生长的化感效应. 西北农业学报, 32(1): 117-129.

王玉莹, 袁梦琦, 吴生海, 兰雪涵, 徐炳芳, 张凯鹏, 徐海峰, 杜凤国, 2022. 干旱胁迫对三裂叶豚草种子萌发及幼根生长的影响. 北华大学学报(自然科学版), 23(4): 449-454.

徐振朋, 宛涛, 蔡萍, 张雅荣, 于静, 孟超, 2015. PEG 模拟干旱胁迫对罗布麻种子萌发及生理特性的影响. 中国草地学报, 37(5): 75-80.

中国科学院中国植物志编辑委员会, 1978. 中国植物志(第五十四卷). 北京: 科学出版社.

诸葛晓龙, 朱敏, 季璐, 崔旭红, 2011. 入侵杂草小飞蓬和

钻形紫菀种子风传扩散生物学特性研究. 农业环境科学学报, 30(10): 1978-1984.

WANG C, ZHOU L B, ZHANG G B, XU Y, GAO X, JIANG N, ZHANG L Y, SHAO M B, 2019. Effects of drought stress simulated by polyethylene glycol on seed germination, root and seedling growth, and seedling antioxidant characteristics in job's tears. *Agricultural Sciences*, 9(8): 991-1006.

WENSUO J, JIANHUA Z, 2008. Stomatal movements and long distance signaling in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 3(10): 772-777.

(责任编辑: 陈晓雯)

(上接第 11 页)

KRITICOS J M, KRITICOS D J, 2021. Pretty (and) invasive: the potential global distribution of *Tithonia diversifolia* under current and future climates. *Invasive Plant Science and Management*, 14(4): 205-213.

LADUKE J C, 1982. Revision of *Tithonia*. *Rhodora*, 84: 453-522.

OBIAKARA M C, FOURCADE Y, 2018. Climatic niche and potential distribution of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in Africa. *PLoS ONE*, 13(9): e0202421.

PAREPA M, FISCHER M, BOSSDORF O, 2013. Environmental variability promotes plant invasion. *Nature Communications*, 4(1): 1604.

SHACKLETON R T, NUNDA W, BEALE T, VAN WILGEN B W, WITT A B, 2019. Distribution of invasive alien *Tithonia* (Asteraceae) species in eastern and southern Africa and the socioecological impacts of *T. diversifolia* in Zambia. *Bothalia-African Biodiversity & Conservation*, 49(1): 1-11.

TAGNE A M, MARINO F, COSENTINO M, 2018. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray as a medicinal plant: a com-

prehensive review of its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacotoxicology and clinical relevance. *Journal of Ethnopharmacology*, 220: 94-116.

TONGMA S, KOBAYASHI K, USUI K, 1999. Allelopathic activity and movement of water leachate from Mexican sunflower *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray leaves in soil. *Journal of Weed Science and Technology*, 44(1): 51-58.

XU H W, LIU Q, WANG S Y, YANG G S, XUE S, 2022. A global meta-analysis of the impacts of exotic plant species invasion on plant diversity and soil properties. *Science of the Total Environment*, 810: 152286.

YANG J, TANG L, GUAN Y L, SUN W B, 2012. Genetic diversity of an alien invasive plant Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia*) in China. *Weed Science*, 60(4): 552-557.

YELENIK S G, D'ANTONIO C M, 2013. Self-reinforcing impacts of plant invasions change over time. *Nature*, 503: 517-520.

(责任编辑: 郑姗姗)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.007

根际细菌在长刺蒺藜草氮素利用中的作用

马涛, 宋振, 付卫东, 张岳, 王忠辉, 袁至立, 王伊, 张国良*
中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081

摘要:【目的】入侵植物长刺蒺藜草在贫瘠土壤中能够快速生长和扩张,形成单一优势群落。本研究分析长刺蒺藜草入侵对土壤氮循环及相关微生物群落的影响,以期揭示其入侵的微生物生态学机理提供理论依据。【方法】利用 16S rRNA 和 *nifH* 基因扩增子高通量测序技术分析长刺蒺藜草、披碱草、冰草、狗尾草根际土壤细菌及固氮菌群落结构和功能的差异。【结果】长刺蒺藜草入侵显著增加了土壤全氮和硝态氮含量,显著降低了水溶性氮和铵态氮的含量。根际土壤高通量分析结果表明:芽孢杆菌、蓝细菌、念珠藻、鱼腥藻、厚壁菌门在长刺蒺藜草固氮菌群落中有明显富集;长刺蒺藜草可能通过增加变形菌门的相对丰度,降低蓝细菌和厚壁菌门的相对丰度来提高其固氮能力,促进对氮素的吸收利用;硝化螺旋菌属和阿菲波菌属在长刺蒺藜草对氮素的利用过程中影响较小。【结论】长刺蒺藜草通过改变入侵地根际土壤细菌和固氮菌的群落结构,影响根际土壤的氮素环境,以利于自身生长。

关键词: 长刺蒺藜草; 根际细菌; 氮素利用机制; 入侵



开放科学标识码
(OSID 码)

Research on the effect of rhizosphere bacteria on nitrogen utilization of *Cenchrus longispinus*

MA Tao, SONG Zhen, FU Weidong, ZHANG Yue, WANG Zhonghui,
YUAN Zhili, WANG Yi, ZHANG Guoliang*

Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: 【Aim】The invasive plant *Cenchrus longispinus* can grow rapidly and expand its population in nutrient-poor sandy soils, forming a single dominant community. This study analyzed the effect of *C. longispinus* on soil nitrogen cycle-related microbial communities to provide a theoretical basis for revealing the microbiological mechanisms of its invasion. 【Method】High-throughput sequencing of 16S rRNA and *nifH* gene amplicons was applied for analyzing the differences in community structures and functions of bacteria and nitrogen-fixing microorganisms in the rhizosphere soils of *C. longispinus*, *Elymus dahuricus*, *Agropyron cristatum*, and *Setaria viridis*. 【Result】*C. longispinus* could significantly elevate the levels of total nitrogen and nitrate nitrogen and reduce the contents of water-soluble nitrogen and ammonium nitrogen in soil. The results of soil high-throughput sequencing showed that *Bacillus*, *Cyanobacteria*, *Nostocales*, *Anabaena*, and *Firmicutes* were enriched in the nitrogen-fixing communities around the rhizosphere soil of *C. longispinus*. *C. longispinus* increased the relative abundance of *Proteobacteria* and decreased those of *Cyanobacteria* and *Firmicutes*, promoting its capacity for nitrogen fixation and utilization. *Nitrospirota* and *Afipia* were barely involved in nitrogen utilization by *C. longispinus*. 【Conclusion】*C. longispinus* could affect the community structures of bacteria and nitrogen-fixing microorganisms in the rhizosphere soil of invasive areas to improve soil nitrogen for its growth.

Key words: *Cenchrus longispinus*; rhizosphere bacteria; nitrogen utilization mechanism; intrusion

长刺蒺藜草 *Cenchrus longispinus* (Hack.) Fern 入侵植物(曲波等,2011; 万方浩等,2002; 王瑞等, 2018; 朱明星,2012)。长刺蒺藜草原产于北美洲 为禾本科蒺藜草属 *Cenchrus* 一年生草本植物(郭琼 及热带沿海地区(高晓萍和杨旋,2008; 李振宇和 霞,2011; 孙英华等,2011),是危害性极大的外来

解焱,2002)。在国内主要分布于辽宁省西北部、内蒙古自治区东部、吉林省南部三省交会地区,总面积超过 100 万 hm^2 (安瑞军等,2014;董文信等,2010;高金会等,2022b;孙忠林等,2020)。长刺蒺藜草具有极强的耐旱、耐贫瘠等特性,可在短时间内形成单一优势群落,抑制其他牧草的生长,使草场的品质下降,优良牧草产量降低,对农牧业生产造成严重的经济损失。长刺蒺藜草刺苞非常坚硬,被牛羊等牲畜食用后,容易刺伤牛羊的口腔、肠胃,严重时造成肠胃穿孔引起死亡(王巍和韩志松,2005)。长刺蒺藜草现已成为对我国农牧区危害极大的外来入侵杂草(张小丽等,2023),并于2022年被列入中华人民共和国农业农村部科技教育司发布的《重点管理外来入侵物种名录》。

目前,对外来植物入侵机制的研究主要集中在营养元素利用、根际微生物群落等方面(戴沛良,2019;王慧敏,2018;周雨露,2016)。国内围绕长刺蒺藜草的入侵影响、防治技术、生物学特性、风险评估等开展了一系列研究(田迅等,2015;王坤芳和纪明山,2013;徐军等,2012;张婷等,2017;周立业等,2013,2014)。近年来,也有不少围绕其入侵机制特别是氮素利用的研究,如:王然(2020)研究表明,长刺蒺藜草入侵显著增加了根际土壤解磷菌的数量,从而提高了对磷元素的利用效率;高金会等(2022a)研究指出,长刺蒺藜草可通过改变入侵地根际土壤的解磷菌群落结构,从而间接影响根际土壤的磷素环境,以利于自身生长;张婷等(2017)研究发现,长刺蒺藜草入侵改变了土壤氮矿化速率、硝化速率和氨化速率,且有一定生物固氮能力。由此可见,长刺蒺藜草可以在贫瘠土地中快速生长,且对土壤氮素具有高效的利用机制,但其对根际细菌特别是固氮菌的作用,还缺乏深入探讨。

有鉴于此,本研究利用 16S rRNA 和 *nifH* 基因扩增子高通量测序技术分析长刺蒺藜草与主要伴生牧草根际土壤细菌及固氮菌群落结构和功能的差异,探讨长刺蒺藜草对氮素利用过程中根际细菌及固氮菌起到的具体作用,以期揭示其入侵的微生物生态学机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物 长刺蒺藜草种子为野外(采自吉林省白城市通榆县玉米 *Zea mays* L.田周边)成熟期

种子;选取披碱草 *Elymus dahuricus* Turcz.、狗尾草 *Setaria viridis* (L.) P. Beauv.和冰草 *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn. 3种在长刺蒺藜草发生生境中常见的伴生植物作为本土对照植物,对照植物的种子均购于北京金土地农业技术研究所。挑取健康饱满的种子,2%的 NaClO 溶液消毒 10 min 后,用蒸馏水反复冲洗至澄清,室内自然晾干,供试验使用。

1.1.2 供试土壤 试验土壤采于长刺蒺藜草发生地科尔沁沙地南缘的辽宁省彰武县阿尔乡白音花农场,为原位砂质土。去除杂草等杂物及 2 cm 表层土壤,采集 2~10 cm 土层土壤带回实验室,过 1 mm 筛,作为盆栽试验用土。

1.1.3 主要试剂及仪器 土壤基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司];Pac Bio 三代高通量测序平台(美国太平洋生物科学公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设置及采样 试验在中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所实验室进行。以长刺蒺藜草主要入侵地生境的原位砂质土壤为培养基质(花盆直径约 22 cm,高约 20 cm),设置 4 个处理(T1:种植冰草;T2:种植长刺蒺藜草;T3:种植狗尾草;T4:种植披碱草),每个处理 5 个重复,试验期间(2022 年 12 月 10 日—2023 年 1 月 26 日)保持培养条件一致。培养结束后采集土壤样品,此时植物生长达到旺盛期。采样时先去除表层土壤(2 cm 左右),然后采用抖土法获取植物根际土壤,分别将每个处理(5 个重复)的根际土壤样品充分混匀,再用四分法取约 10 g 新鲜土壤样品送测序公司(上海美吉生物医药科技有限公司)进行 16S rRNA 和 *nifH* 基因扩增子高通量测序;剩余的土壤样品自然风干后过筛,用于测定土壤理化性质。

1.2.2 土壤理化性质测定 土壤样本的理化性质由中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所分析测试中心测得。包括土壤 pH 值(电极法)、硝态氮和铵态氮(流动注射法)、全氮(半微量开氏法)、全磷(碳酸氢钠钼蓝法)、全钾(火焰光度法)、水解性氮(碱解扩散法)、有效磷(碳酸氢钠法)、速效钾(火焰光度法)等指标。

1.2.3 高通量测序 以土壤总 DNA 为模板,分别扩增 16S rRNA 基因和 *nifH* 基因序列,对扩增产物进行文库制备和库检——利用 Illumina HiSeq 平台对上述扩增子产物进行高通量测序,测序原始数据

经拼接、筛选、过滤后进行 OTU (operational taxonomic units) 聚类, 然后对数据进行 α -多样性、 β -多样性分析, 以及物种注释分类。并在上述分析基础上, 进行测序数据的高级分析, 包括组间物种差异显著性分析、组间群落结构差异分析以及环境因子关联分析等。

1.3 数据分析

根际土壤理化性质比较采用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理, 采用 SPSS 16.0 (SPSS Inc. Chicago, IL) 进行单因素 ANOVA 方差分析及 LSD 多重比较。

Illumina 测序得到的 PE reads 进行样本拆分后, 先根据测序质量对双端 Reads 进行质控和过滤, 同时根据双端 Reads 之间的 overlap 关系进行拼接, 获得质控拼接之后的优化数据。使用序列降噪方法 (DADA2/Deblur 等) 处理优化数据, 获得扩增子序列变体 (amplicon sequence variant, ASV) 代表序列和丰度信息。基于 ASV 代表序列及丰度信息进行物种分类学分析、群落多样性分析以及物种差

异分析、相关性分析等一系列的统计学或可视化分析; 利用美吉生信云平台 (<http://www.majorbio.com/>) 进行生物信息学分析。

2 结果与分析

2.1 根际土壤的理化性质比较

由表 1 可知, 冰草 (T1)、长刺蒺藜草 (T2)、狗尾草 (T3) 处理的土壤全氮含量显著高于种植披碱草 (T4) ($P<0.05$); 冰草 (T1) 处理的土壤全磷、有效磷含量显著高于其他 3 个处理 ($P<0.05$); 长刺蒺藜草 (T2) 处理的土壤水溶性氮含量显著低于冰草 (T1) 处理 ($P<0.05$); 披碱草 (T4) 处理的土壤全钾含量显著高于狗尾草 (T3) 处理 ($P<0.05$); 披碱草 (T4)、狗尾草 (T3) 处理的 pH 值显著高于其他处理 ($P<0.05$); 各处理之间速效钾含量差异不显著 ($P>0.05$); 冰草 (T1)、长刺蒺藜草 (T2) 处理的土壤硝态氮含量显著高于狗尾草 (T3) 和披碱草 (T4) 处理 ($P<0.05$); 狗尾草 (T3) 处理的铵态氮含量显著高于其他 3 个处理 ($P<0.05$)。

表 1 不同处理根际土壤理化性质
Table 1 The physical and chemical properties of different treatment

处理 Treat- ment	有效磷含量 Available phosphorus content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾含量 Rapidly available potassium content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮含量 Total nitrogen content /%	全磷含量 Total phosphorus content /%	水溶性氮 含量 Water- soluble nitrogen content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全钾含量 Total potassium content /%	pH 值 pH value	硝态氮含量 Nitrate nitrogen content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	铵态氮含量 Ammonium nitrogen content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
T1	26.90±0.65a	42.4±3.20a	0.035±0.0004a	0.041±0.001a	24.76±1.56a	1.61±0.16ab	8.18±0.04c	2.03±0.03a	0.881±0.0224b
T2	10.87±0.34b	47.6±11.84a	0.034±0.0003a	0.028±0.001b	15.68±0.75b	1.52±0.19ab	8.46±0.02b	1.98±0.02a	0.007±0.0004d
T3	5.18±0.24c	24.4±1.28a	0.030±0.0008ab	0.028±0.002b	12.84±0.50b	1.16±0.16b	8.62±0.01a	0.66±0.02c	1.200±0.0616a
T4	5.74±0.26c	64.6±36.54a	0.029±0.0023b	0.031±0.001b	16.54±2.10b	1.83±0.15a	8.60±0.00a	0.78±0.03b	0.332±0.0076c

T1、T2、T3、T4 分别代表冰草、长刺蒺藜草、狗尾草、披碱草处理。同列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$, LSD test)。
T1, T2, T3 and T4 respectively represent *Agropyron cristatum*, *Cenchrus longispinus*, *Setaria viridis* and *Elymus dahuricus* treatment. Different letters in the same column indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$, LSD test).

2.2 根际土壤微生物和固氮微生物群落样本层级聚类分析

基于 Bray-Curtis 距离, 对长刺蒺藜草、冰草、狗尾草、披碱草共 20 例根际土壤样本的属水平物种组成进行展示并进行层级聚类分析。样本中根际微生物群丰度排名靠前的菌群分别是 *RB41*、*Vicinamibacteraceae*、芽孢杆菌 *Bacillus* Cohn.、鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* sp.、*Vicinamibacterales*、*JG30-KF-CM45*、芽单胞菌科、*Gemmatimonadaceae*、微枝形杆菌属 *Microvirga* sp.、*KD4-96*。从图 1 中可以看出, 长刺蒺藜草 (T2) 与冰草 (T1) 处理微生物种群最为

靠近且枝长较短, 狗尾草 (T3) 处理次之, 披碱草 (T4) 处理距离最远且枝长较长, 说明长刺蒺藜草 (T2) 与冰草 (T1) 处理的土壤微生物种群相似性最高, 狗尾草 (T3) 处理次之, 与披碱草 (T4) 处理的土壤微生物种群相似性最低; 根际土壤固氮菌群落样本中丰度排名靠前的菌群分别是斯克尔曼氏菌属 *Skermanella*、固氮氢自养单胞菌属 *Azohydromonas*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium* Jordan.、芽孢杆菌、鞘氨醇单胞菌、类芽孢杆菌属 *Paenibacillus* Ash, Priest, Collin.、鱼腥藻 *Anabaena* Bory.、甲基杆菌 *Methylobacterium* Green, Bousfield.。

从图 2 中可以看出,长刺蒺藜草(T2)与冰草(T1)处理微生物种群最为靠近且枝长较短,披碱草(T4)次之,狗尾草(T3)距离最远且枝长较长,说明长刺蒺藜草(T2)与冰草(T1)处理的根际土壤固氮

菌种群相似性最高,披碱草(T4)次之,与狗尾草(T3)处理的土壤微生物种群相似性最低。综上可以看出总体微生物和固氮微生物在长刺蒺藜草(T2)与冰草(T1)处理中种群相似性最高。

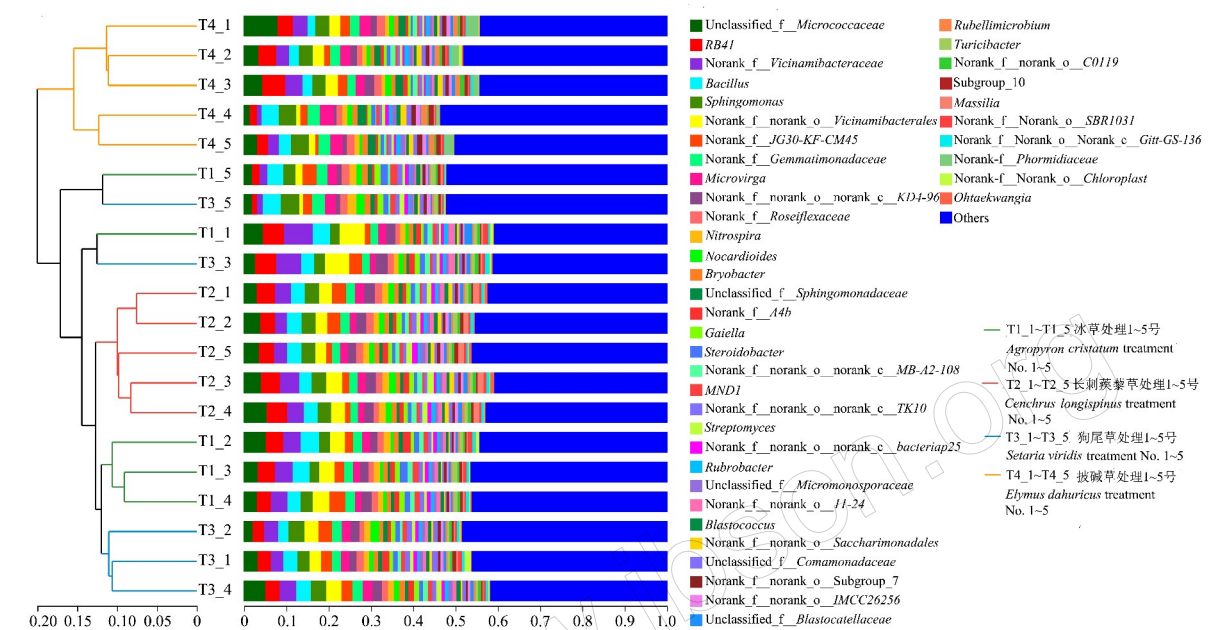


图 1 根际土壤微生物样本层级聚类树图

Fig.1 Hierarchical clustering tree of rhizosphere soil microbial samples

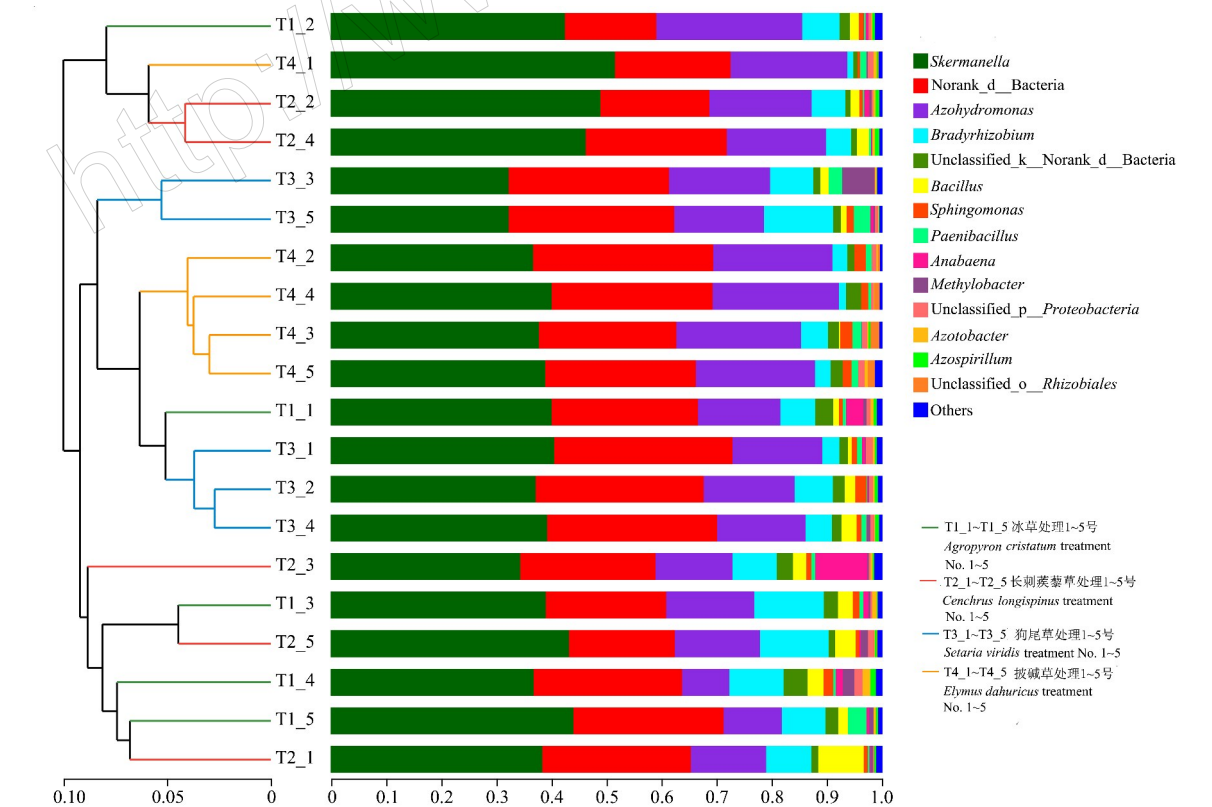


图 2 根际土壤固氮微生物样本层级聚类树图

Fig.2 Hierarchical clustering tree of rhizosphere soil nitrogen-fixing microorganism samples

2.3 根际土壤微生物和固氮微生物群落 PCA 分析

由图 3A 可以看出,冰草(T1)、长刺蒺藜草(T2)、狗尾草(T3)处理均位于 PC1 负半轴,与位于 PC1 正半轴的披碱草(T4)处理的根际土壤微生物群落组成明显区分开,长刺蒺藜草(T2)与狗尾草(T3)处理的微生物种群距离最近,说明长刺蒺藜草(T2)与狗尾草(T3)处理的根际土壤微生物群落结

构相似值最高。长刺蒺藜草(T2)处理与其伴生植物根际土壤总体微生物群落之间差异显著($R = 0.3163, P = 0.002$);由图 3B 可以看出,长刺蒺藜草(T2)与冰草(T1)根际土壤固氮微生物群落结构相似性最高。长刺蒺藜草(T2)与其伴生植物根际土壤固氮微生物群落之间差异显著($R = 0.3183, P = 0.001$)

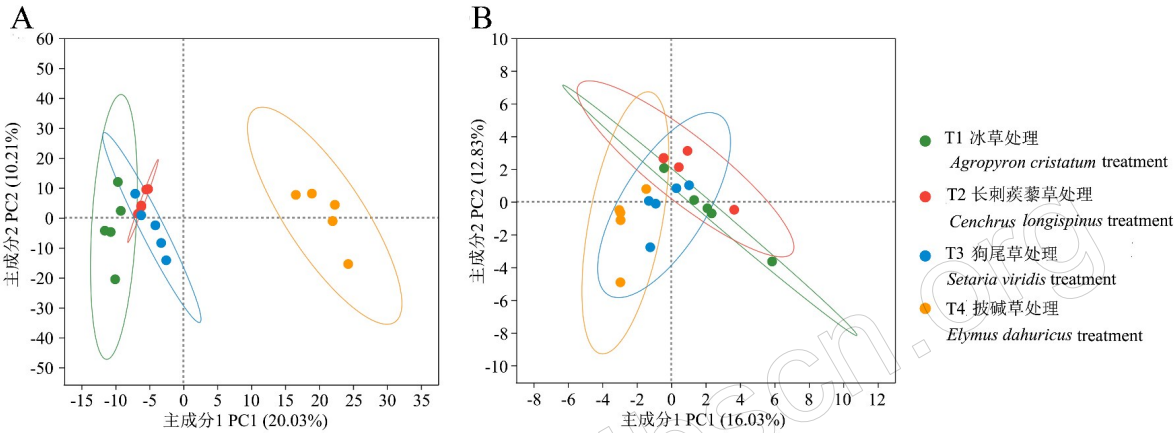


图 3 根际土壤微生物 (A) 与固氮微生物 (B) PCA 散点图

Fig.3 PCA scatter plot of rhizosphere soil microorganisms (A) and nitrogen-fixing microorganisms (B)

2.4 根际土壤微生物和固氮微生物群落 Venn 图分析

由图 4A 可知,根际土壤微生物 4 个处理共有的 OTU 为 391 个,其中披碱草(T4)根际土壤微生物群落数最高,为 610 个 OTU;冰草(T1)次之,为 588 个 OTU;再次是狗尾草(T3),为 579 个 OTU;长刺蒺藜草(T2)的根际土壤微生物群落数最低,为 528 个 OTU。长刺蒺藜草(T2)特有的 OTU 为 25

个,占长刺蒺藜草根际土壤微生物 OTU 总数的 4.7%;由图 4B 可知,根际土壤固氮微生物 4 个处理共有的 OTU 为 15 个,其中狗尾草(T3)根际土壤固氮微生物群落数最高,为 28 个 OTU;长刺蒺藜草(T2)和冰草(T1)次之,为 25 个 OTU;披碱草(T4)的根际土壤固氮微生物群落数最低,为 20 个 OTU。长刺蒺藜草(T2)特有的 OTU 为 1 个,占长刺蒺藜草根际土壤固氮微生物 OTU 总数的 4%。

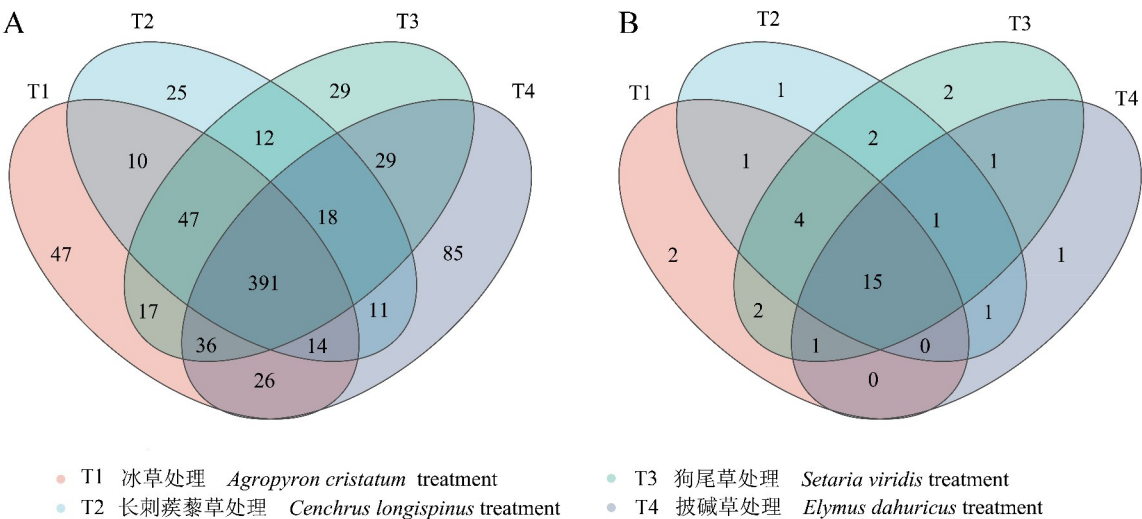


图 4 根际土壤微生物 (A) 与固氮微生物 (B) Venn 图

Fig.4 Venn diagram of rhizosphere soil microorganisms (A) and nitrogen-fixing microorganisms (B)

2.5 根际土壤微生物和固氮微生物群落 Bar 图分析

群落柱形图展示冰草(T1)、长刺蒺藜草(T2)、狗尾草(T3)、披碱草(T4) 4 种处理的不同样本在门水平上的根际土壤微生物群落组成。从图 5 中可以看出, 变形菌门 Proteobacteria、放线菌门 Actinobacteriota、酸杆菌门 Acidobacteriota、绿弯菌门 Chloroflexi 在根际土壤微生物群落样本中丰度占比

较高,硝化菌门 Nitrospirota、蓝细菌门 Cyanobacteria 和其他菌门在根际土壤微生物群落样本中丰度占比较低;变形菌门、厚壁菌门 Firmicutes 在根际土壤固氮微生物群落样本中丰度占比较高,蓝细菌门和其他菌门在根际土壤固氮微生物群落样本中丰度占比较低。

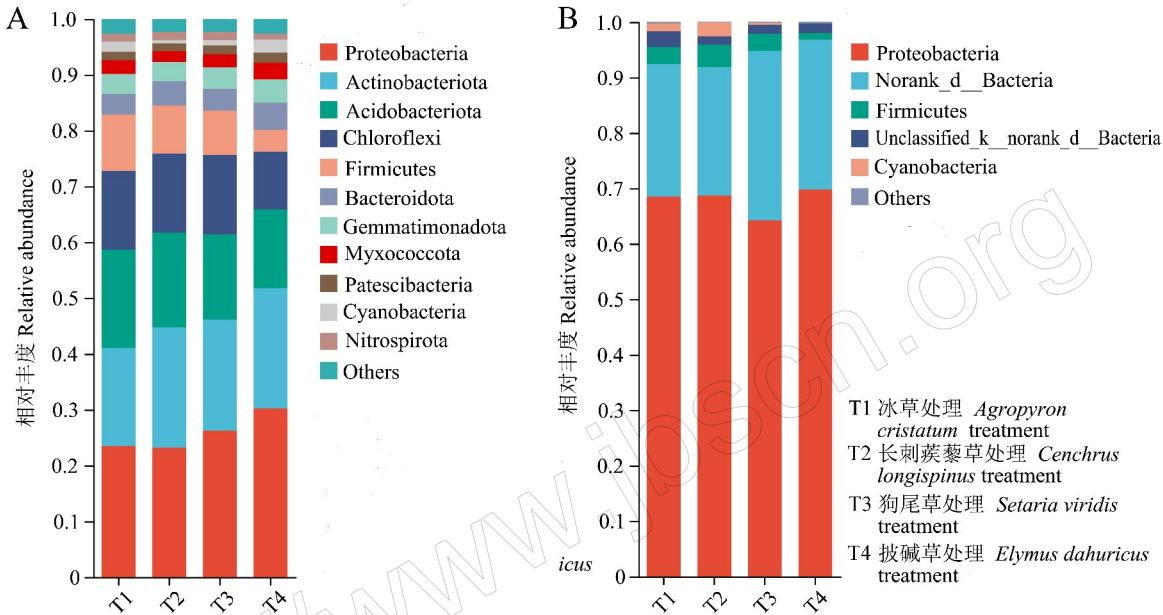


图 5 根际土壤微生物 (A) 与固氮微生物 (B) 群落 Bar 图
Fig.5 Bar diagram of rhizosphere soil microorganism (A) and nitrogen-fixing microbial (B) communities

2.6 根际土壤微生物和固氮微生物群落组比较分析

将根际土壤微生物进行属水平上的多组差异比较分析,由图 6 可知,长刺蒺藜草(T2)处理的根际土壤微生物链霉菌属 *Streptomyces* 丰度高于其他处理;长刺蒺藜草(T2)处理的微枝形杆菌属丰度低于其他处理。由图 7 可见,长刺蒺藜草(T2)处理的根际土壤固氮微生物芽孢杆菌、鱼腥藻丰度高于其他处理;固氮自养单胞菌属、慢生根瘤菌属、芽孢杆菌、鱼腥藻、甲基杆菌在长刺蒺藜草(T2)处理及其伴生植物根际土壤固氮菌群落之间差异显著 (Kruskal-Wallis 秩和检验, FDR 多重检验校正, Tukey-kramer 检验)。

2.7 根际土壤微生物和固氮微生物群落 LEfSe 分析

对根际土壤微生物进行由门到属水平上的 LEfSe 比较分析,结果(图 8A)发现,根际土壤微生物群落中没有与长刺蒺藜草(T2)处理显著富集的菌群;而图 8B 中,根际土壤固氮菌群落中有厚壁菌门 p_Firmicutes、芽孢杆菌纲 c_Bacilli、芽孢杆菌目

o_Bacillales、芽孢杆菌科 f_Bacillaceae、芽孢杆菌 g_Bacillus、蓝细菌 p_Cyanobacteria、念珠藻目 o_Nostocales、念珠藻科 f_Nostocaceae、鱼腥藻 g_Anabaena在长刺蒺藜草(T2)处理中显著富集 (LDA 阈值为 4)。

2.8 根际土壤微生物和固氮微生物群落相关性 Heatmap 图分析

对根际土壤微生物排名前 20 的属与环境因子进行 Spearman 相关性分析,结果如图 9 所示。在根际土壤微生物群落中,鞘氨醇单胞菌属与水溶性氮呈显著负相关($P<0.05$);硝化螺旋菌属 *Nitrospira* 与硝态氮呈显著正相关($P<0.05$);黄色类固杆菌属 *Fiavobacterium* Bergey.、MND1 与铵态氮呈极显著正相关($P<0.01$, 图 9A)。在根际土壤固氮菌群落中(图 9B),阿菲波菌属 *Afipia* 与全氮呈显著负相关($P<0.05$),鱼腥藻、固氮菌与全氮呈显著正相关($P<0.05$);芽孢杆菌、鱼腥藻与硝态氮呈显著正相关($P<0.05$)。

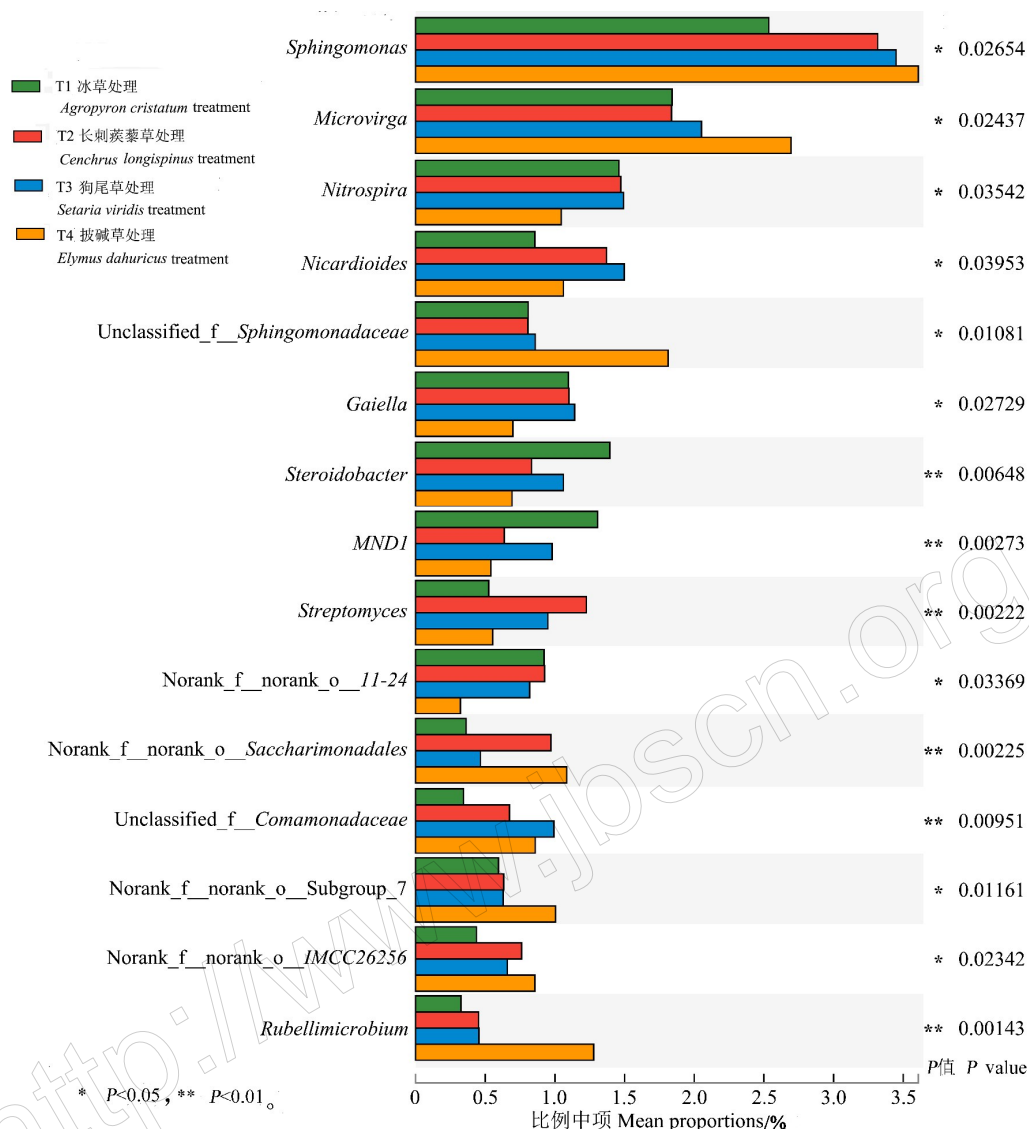


图 6 根际土壤微生物多组比较柱状图
Fig.6 Rhizosphere soil microorganism multi-group comparison bar graph

3 讨论

研究表明,入侵植物可以通过改变土壤微生态环境来促进自身的入侵。如:美洲商陆 *Phytolacca americana* L.入侵显著降低根际土壤的全氮、全磷和硝态氮含量,提高速效钾含量,且不同生长年限的美洲商陆根际土壤微生物群落中细菌群落的β多样性差异显著,特定细菌功能群的丰度显著增加(孟昀昊,2022);互花米草 *Spartina alterniflora* Lois.入侵增加了土壤微生物的群落多样性,提高了土壤中微生物群落的丰富度和均匀度,Shannon、Richness、Pielou 指数均有增加(李慧颖,2021);紫茎泽兰 *Ageratina adenophora* (Sprengel) R. M. King & H. Robinson.入侵则依靠其根际的固

氮菌促进自身生长(王咏舟,2014),并改变了土壤中微生物群落结构,提高了土壤的硝态氮、氨态氮、氨氧化细菌和真菌的数量(Niu *et al.*,2007);糖蜜草 *Melinis minutiflora* p.Beauv.的入侵增加了土壤硝态氮含量,降低了土壤铵态氮含量,通过改变氨氧化细菌丰富度使氨态氮转化为硝态氮(Ribeiro *et al.*,2017)。本研究结果表明,长刺蒺藜草与其伴生植物根际土壤细菌及固氮菌群落之间差异显著,且与狗尾草和冰草种群相似性最高;其入侵提高了土壤全氮和硝态氮含量,降低了水溶性氮和土壤铵态氮含量(Daims *et al.*,2015),改变了土壤环境,这可能是加速其扩散蔓延的原因之一。

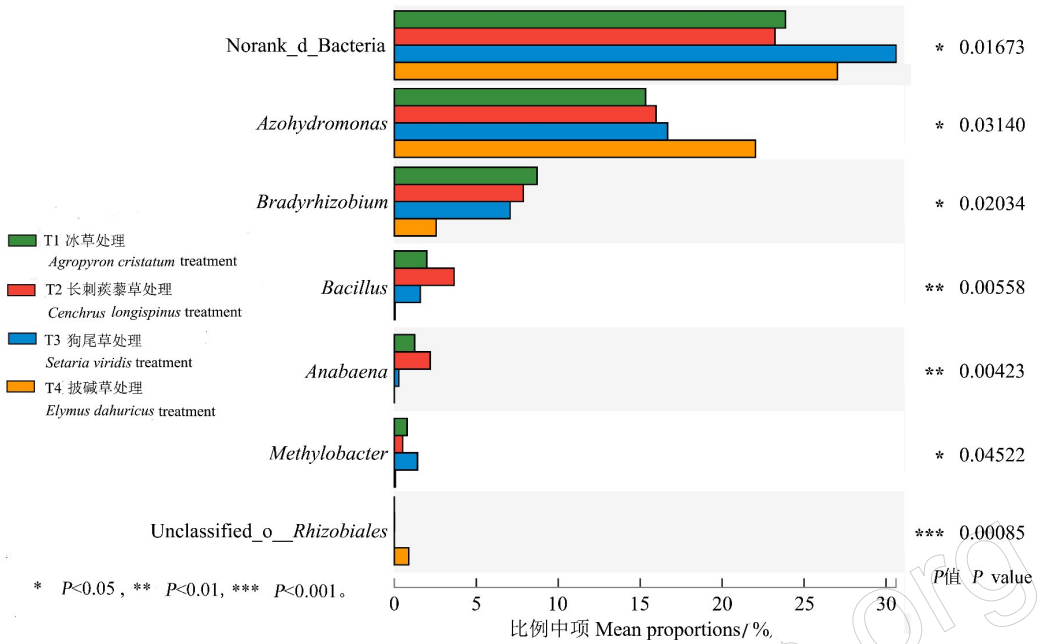


图 7 根际土壤固氮微生物多组比较柱状图

Fig.7 Rhizosphere soil nitrogen-fixing microbes multi-group comparison bar graph

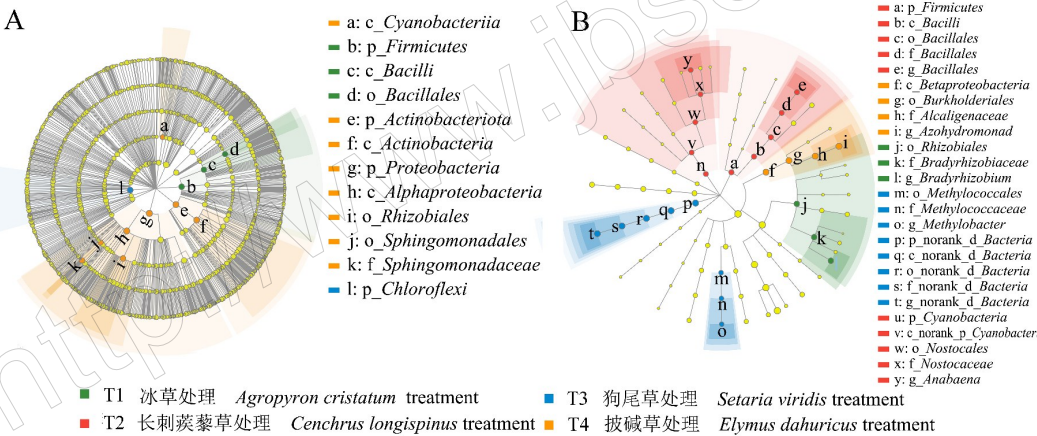


图 8 根际土壤微生物 (A) 与固氮微生物 (B) LEfSe 多级物种层级树图

Fig.8 Hierarchical tree of multilevel species LEfSe of rhizosphere soil microorganisms (A) and nitrogen-fixing microorganisms (B)

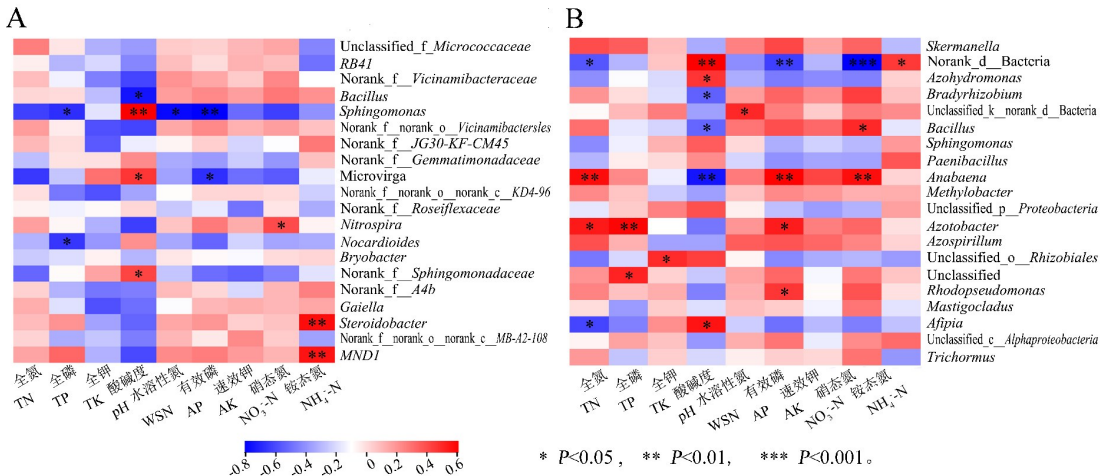


图 9 根际土壤微生物 (A) 与固氮微生物 (B) 与环境因子相关性 Heatmap 图

Fig.9 Heatmap of correlations between rhizosphere soil microorganisms (A) and nitrogen-fixing microorganisms (B) with environmental factors

综上所述,变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、链霉菌属、硝化螺旋菌属、黄色类固醇杆菌属、*MND1* 可能是长刺蒺藜草氮素利用中起主要作用的根际土壤细菌群落,Daims *et al.* (2015) 研究也表明硝化螺旋菌属是氮循环微生物群落的关键组成部分。在本研究中,硝化螺旋菌属与硝态氮呈显著正相关,表明在本研究中硝化螺旋菌属的变化对长刺蒺藜草氮素利用影响很大。鞘氨醇单胞菌属与水溶性氮呈显著负相关,阿菲波菌属与全氮呈显著负相关,表明在本研究中鞘氨醇单胞菌属与阿菲波菌属的变化对氮素利用影响不大。长刺蒺藜草处理中显著富集且与其他处理有显著性差异的固氮菌类群有芽孢杆菌、蓝藻、念珠藻、鱼腥藻,表明其在长刺蒺藜草对于氮素的利用中可能起重要的作用。综上,变形菌门、厚壁菌门、芽孢杆菌、鱼腥藻、固氮自养单胞菌属、慢生根瘤菌属、甲基杆菌、蓝藻、念珠藻、固氮菌可能是长刺蒺藜草氮素循环中起主要作用的根际土壤固氮菌群落。孙圆圆(2020)对蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 介导的紫茎泽兰及其天敌泽兰实蝇的生态适应性机制的研究表明,蜡样芽孢杆菌对紫茎泽兰生长具有偏利作用,与本研究芽孢杆菌对长刺蒺藜草生长具有正反馈作用结果一致。

本研究中,形成特殊固氮微生物类群的可能原因:一是长刺蒺藜草入侵提高了土壤全氮和硝态氮含量,降低了水溶性氮和铵态氮的含量,这可能会创造对其自身有利的土壤环境;二是在干旱和半干旱地区长刺蒺藜草具有控制其耐旱能力和促进其传播的独特分子机制(柏超,2018);三是长刺蒺藜草根分泌的固氮酶释放量显著高于伴生植物冰草、狗尾草和披碱草,以适应干旱贫瘠的生境。本研究深入分析了长刺蒺藜草根际土壤细菌及固氮菌与氮素循环相关的重要微生物类群结构,初步探究了根际细菌在长刺蒺藜草氮素利用中的重要作用,为长刺蒺藜草入侵的生态学机理研究奠定了一定的理论基础。

参考文献

安瑞军,王永忠,田迅,王汉朋,2014. 外来恶性杂草少花蒺藜草重发区的调查研究现状. 杂草科学, 32(2): 28-32.
柏超,2018. 基于 iTRAQ 技术的少花蒺藜草耐旱性的分子

机制研究. 博士学位论文. 北京:中国农业科学院.
戴沛良,2019. 红树植物与互花米草根际微生物群落对不同潮位梯度的响应. 硕士学位论文. 厦门:厦门大学.
董文信,赵桂玲,陈明川,李秀华,2010. 光梗蒺藜草生物学特性调查. 内蒙古林业, 413(1): 22.
高金会,王然,宋振,郭玲玲,付卫东,王忠辉,马涛,王伊,张国良,2022. 少花蒺藜草入侵对根际土壤磷细菌群落多样性的影响. 生物安全学报, 31(4): 327-335.
高金会,张国良,付卫东,马涛,袁至立,宋振,2022. 基于宏基因组测序解析长刺蒺藜草入侵对根际土壤氮循环的影响. 植物保护学报, 49(5): 1349-1357.
高晓萍,杨旋,2008. 疏花蒺藜在阜新的分布、危害及防控措施. 植物检疫, 22(1): 64-65.
郭琼霞,2011. 长刺蒺藜草 (*Cenchrus longispinus*) 传入中国的风险性研究. 江西农业学报, 23(12): 68-70.
李慧颖,2021. 广西北部湾滩涂入侵植物互花米草根际微生物群落分析及促生菌、新种的挖掘. 硕士学位论文. 南宁:广西民族大学.
李振宇,解焱,2002. 中国外来入侵种. 北京:中国林业出版社.
孟昀昊,2022. 美洲商陆入侵的植物——土壤反馈机制探究. 硕士学位论文. 烟台:鲁东大学.
曲波,朱明星,王巍,韩志松,吕林有,李天来,2011. 4 种环境因子对少花蒺藜草 (*Cenchrus pauciflorus* Benth.) 种子萌发的影响. 种子, 30(3): 28-30, 35.
孙英华,吕林有,赵艳,2011. 少花蒺藜草入侵风险评估及其防控策略. 安徽农业科学, 39(8): 4580-4581.
孙圆圆,2020. 蜡样芽孢杆菌介导的紫茎泽兰及其天敌泽兰实蝇的生态适应性机制. 硕士学位论文. 扬州:扬州大学.
孙忠林,淑琴,高凯,周立业,田迅,郭福纯,王海滨,2020. 少花蒺藜草入侵现状、适应机制和防控策略. 草地学报, 28(5): 1196-1202.
田迅,张志新,陈艳东,2015. 科尔沁沙地不同地区少花蒺藜草种子库与种子活力结构特征. 中国草地学报, 37(6): 85-90.
万方浩,郭建英,王德辉,2002. 中国外来入侵生物的危害与管理对策. 生物多样性, 10(1): 119-125.
王慧敏,2018. 刺萼龙葵和银毛龙葵对根际土壤微生物群落的影响. 硕士学位论文. 北京:中国农业科学院.
王坤芳,纪明山,2013. 几种除草剂对入侵生物少花蒺藜草的防治效果. 生物安全学报, 22(1): 38-42.
王然,2020. 少花蒺藜草对磷元素高效利用的土壤微生态机制. 硕士学位论文. 北京:中国农业科学院.
王瑞,周忠实,张国良,郭建英,高尚宾,孙玉芳,付卫东,张付斗,万方浩,2018. 重大外来入侵杂草在我国的分布

危害格局与可持续治理. 生物安全学报, 27(4): 317-320.

王巍, 韩志松, 2005. 外来入侵生物——少花蒺藜草在辽宁地区的危害与分布. 草业科学, 22(7): 63-64.

王咏舟, 2014. 根际共生固氮菌对紫茎泽兰 (*Ageratina adenophora*) 入侵力的影响研究. 硕士学位论文. 昆明: 云南大学.

徐军, 李青丰, 王树彦, 2012. 科尔沁沙地外来入侵植物光梗蒺藜草的种子库分布格局. 干旱区资源与环境, 26(11): 184-187.

张婷, 付卫东, 张瑞海, 宋振, 柏超, 黄成成, 张国良, 2017. 少花蒺藜草入侵对沙质草地氮库的影响. 应用生态学报, 28(5): 1522-1532.

张小丽, 陈泽柠, 武正军, 2023. 气候变化情景下少花蒺藜草在中国的分布区变化. 广西植物, 43(4): 658-669.

周立业, 汪丽萍, 刘庭玉, 2013. 科尔沁沙地人工固沙林群落中少花蒺藜草种群动态及群落多样性研究. 草地学报, 21(1): 87-91.

周立业, 张玉霞, 杨秀梅, 田迅, 姜健, 2014. 科尔沁沙地典型人工固沙林群落中少花蒺藜草入侵地土壤特性. 草地学报, 22(6): 1381-1384.

周雨露, 2016. 外来入侵植物对本地物种生长及氮素获取策略的影响. 硕士学位论文. 北京: 北京林业大学.

朱明星, 2012. 危害严重的外来入侵植物少花蒺藜草. 新农业 (13): 20-21.

DAIMS H, LEBEDEVA E V, PJEVAC P, HAN P, HERBOLD C, ALBERTSEN M, JEHLICH N, PALATINSZKY M, VIERHEILIG J, BULAEV A, KIRKEGAARD R H, VON BERGEN M, RATTEI T, BENDINGER B, NIELSEN P H, WAGNER M, 2015. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, 528: 504-509.

NIU H B, LIU W X, WAN F H, LIU B, 2007. An invasive aster (*Ageratina adenophora*) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives. *Plant and Soil*, 294(1/2): 73-85.

RIBEIRO P C D, MENENDEZ E, DA SILVA D L, BONIECK D, RAMÍREZ-BAHENA M H, RESENDE-STOIANOFF M A, PEIX A, VELÁZQUEZ E, MATEOS P F, SCOTTI M R, 2017. Invasion of the Brazilian campo rupestre by the exotic grass *Melinis minutiflora* is driven by the high soil N availability and changes in the N cycle. *Science of the Total Environment*, 577: 202-211.

(责任编辑: 郑姗姗)



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.008

4 种烟碱受体激动剂对松材线虫的毒杀活性

于金英^{1,2}, 吕耀平¹, 王国丽¹, 刘冬梅¹, 雷秋艳¹, 贺小如¹, 汪 冶^{1*}

¹丽水学院生态学院, 浙江 丽水 323000; ²浙江理工大学生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310002

摘要:【目的】探究 4 种烟碱受体激动剂对松材线虫的杀虫作用。【方法】采用浸渍法以及马尾松松枝水培试验分别进行杀线虫活性测定,并测定 4 种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫体内三磷酸腺苷酶(ATP)、过氧化氢酶(CAT)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、超氧化物歧化酶(SOD)的影响。【结果】盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶 4 种烟碱受体激动剂对松材线虫有良好的毒杀活性,4 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h,半致死浓度 LC_{50} 值分别为 0.09、0.31、0.08、0.14 $mg \cdot mL^{-1}$;马尾松水培试验处理 12 d 后结果显示,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 31%,"CK+线虫"松枝枝叶完全变黄萎蔫,病情指数为 100%;4 种烟碱受体激动剂水溶液浸渍处理 48 h 后松材线虫体内 ATP、CAT、AChE、SOD 酶活性均低于对照组 ($P<0.05$)。【结论】盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶对松材线虫有良好的防治潜力,具有进一步深入研究和开发利用的前景。

关键词: 盐酸左旋咪唑; 盐酸四咪唑; 烟碱; 酒石酸噻吩嘧啶; 松材线虫; 杀线活性; 酶活性



开放科学标识码
(OSID 码)

The activity of four nicotinic receptor agonists against *Bursaphelenchus xylophilus*

YU Jinying^{1,2}, LÜ Yaoping¹, WANG Guoli¹, LIU Dongmei¹, LEI Qiuyan¹, HE Xiaoru¹, WANG Ye^{1*}

¹College of Ecology, Lishui University, Lishui, Zhejiang 323000, China;

²College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang 310002, China

Abstract:【Aim】To investigate the insecticidal effect of four nicotine receptor agonists against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*.【Method】The nematicidal activity was measured on pine branches of *Pinus massoniana* grown in hydroponics. The effects of nicotinic receptor agonists in aqueous solution were examined on the activities of adenosine triphosphate (ATP), catalase (CAT), acetylcholinesterase (AChE), and superoxide dismutase (SOD) in *B. xylophilus*.【Result】Levamisole hydrochloride (LH), tetraimidazole hydrochloride (TH), nicotine (N), and thiophene pyrimidine tartrate (TPT) had significant toxic activity against *B. xylophilus*. The LC_{50} values of the four drugs were 0.09, 0.31, 0.08, and 0.14 $mg \cdot mL^{-1}$, respectively, when immersed in water for 48 h. The results of the hydroponic experiments after 12 d showed that the pine branches in the LH, TH, N, and CK treatment groups did not suffer from the disease (index=0). Some branches and leaves in the TPT treatment group turned yellow, with a disease index of 31%. The branches and leaves of "CK+nematode" pine completely turned yellow and wilted, with a disease index of 100%. ATP, CAT, AChE, and SOD activities in *B. xylophilus* treated with nicotinic receptor agonists (LH, TH, N, and TPT) for 48 h were lower than those in the control group ($P<0.05$).【Conclusion】In conclusion, nicotinic receptor agonists (LH, TH, N, and TPT) have potential as good biological controls against *B. xylophilus*, and have the prospect of further in-depth research, development, and utilization.

Key words: levamisole hydrochloride; tetraimidazole hydrochloride; nicotine; pyrantel tartrate salt; *Bursaphelenchus xylophilus*; nematicidal activity; enzymatic activity

收稿日期(Received): 2022-12-15 接受日期(Accepted): 2023-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801306); 浙江省自然科学基金项目(Y3110477)

作者简介: 于金英, 女, 硕士研究生。研究方向: 生物资源开发利用。E-mail: 1421501922@qq.com

* 通信作者(Author for correspondence), 汪冶, E-mail: 33301816@qq.com

松材萎蔫病(pine wilt disease, PWD)是由松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle 引起的最具破坏性的松树病害,已造成重大的经济和生态损失(田浩楷等,2017)。松材线虫最早发现于北美,1982年我国首次在南京中山陵的黑松 *Pinus thunbergii* Parl.上分离到该线虫。此后,松材线虫病在我国迅速蔓延,对松树生态系统造成了毁灭性破坏(赵捷等,2017)。通过注干技术施用(半)合成农药被认为是最有效的直接控制松材线虫的策略之一,并在亚洲国家得到了广泛应用(叶建仁,2019)。目前,已报道可防治松材线虫的药剂主要有阿维菌素、甲维盐等,剂型为乳剂和水乳剂。由于溶解性等问题,这些药剂在使用过程中需要使用助溶剂,大大增加了药剂的使用成本。此外,长期用药不仅使目标生物容易产生耐药性,而且对非目标生物体有害,能引发环境和人类健康等问题(李铭等,2013)。因此,迫切需要高效且廉价的防治松材线虫病的农药制剂。

盐酸左旋咪唑是一种广谱的白色结晶粉末,为低毒杀线虫剂,对许多动物的胃肠道线虫具有高效杀虫效果但对哺乳动物宿主无害(Vielela *et al.*, 2018);盐酸四咪唑是盐酸左旋咪唑的中间体,常用作驱虫剂和抗蛔虫药;烟碱是一种从烟叶的水提取物中提取到的植物杀虫剂,早在17世纪,烟叶粉就已在民间用于杀虫,是农用杀虫剂的重要成分,对昆虫具有拒食、凋亡和生殖毒性的作用(吴映捷, 2017);酒石酸噻吩嘧啶常用于治疗动物寄生虫病(Betancourt *et al.*, 2015)。4种化合物均作用于蠕虫或昆虫烟碱受体,产生拟胆碱作用,引起虫体肌肉剧烈收缩,导致痉挛性麻痹,目前还没有应用于植物寄生线虫的防治。本试验采用室内浸渍法以及松枝水培法测定4种化合物对松材线虫的毒杀作用,为开发新型农药制剂防治松材线虫病提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试药品 盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶(上海源叶生物科技有限公司, 98%)。各取20 mg药物以蒸馏水溶解并稀释为5 mg · mL⁻¹的母液,置于4℃保存备用

1.1.2 供试线虫 试虫于浙江省丽水市莲都区大港头森林防疫站提供的马尾松 *Pinus massoniana*

Lamb.疫木中分离得到、经浙江省农业科学院鉴定为松材线虫,置于长有灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* Pers 的培养皿中,28℃避光饲养。

1.1.3 主要仪器 体视显微镜(Leica EZ4W,德国徕卡,德国)、离心机(凯达TG16G,湖南凯达科学仪器有限公司,中国)、紫外-可见分光光度计(日本岛津UV-1780,岛津公司,日本)、旋转薄膜蒸发仪(BUCHI-R210,瑞士步琦有限公司,瑞士)、恒温振荡培养箱(KS 4000i control, IKA, 德国)、超净工作台(博迅SW-CJ-1CU,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司,中国)、超声波清洗器(SG250H,上海冠特超声仪器有限公司,中国)、旋涡混合器(GL-88B,海门市其林贝尔仪器制造有限公司,中国)、生化培养箱(SHP-150,上海森信实验仪器有限公司,中国)、电子天平(SQP,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,中国)。

1.1.4 其他材料 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、三磷酸腺苷酶(adenosine triphosphate, ATP)、乙酸胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)试剂盒(南京建成生物工程研究所);乙酸乙酯、二甲基亚砜等试剂(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 室内毒力测定 参照黄正杰等(2013)方法,用M9缓冲液收集处于J4期的线虫,冲洗3次后加入裂解液(裂解液:M9缓冲液=7:3),涡旋5 min,5000 r · min⁻¹离心5 min后弃上清,加入M9缓冲液,重复3次最终得到线虫卵,并打入灰葡萄孢培养基上,培养2~3 d即得到同一生长期的松材线虫,使用贝尔曼漏斗法收集线虫至离心管中,于4000 r · min⁻¹离心5 min,用0.9%生理盐水冲洗3次,配制成100条 · mL⁻¹的线虫悬浮液,在24孔板中每孔加入0.5 mL的线虫悬浮液,再加入等量药液,以背景溶液作为空白对照,设置3个平行试验,分别于处理后12、24、36和48 h,在体视显微镜下观察线虫的存活状况。虫体运动且为S形判定为活虫。由于线虫存在假死现象,对虫体不运动且身体僵直的线虫采用针刺法反复刺激,若仍僵直不动,判定为死虫。计算死亡率和校正死亡率(尹晓燕等,2013)。

死亡率/%=(死虫数/供试虫数)×100;

校正死亡率/%=[(处理组死亡率-对照组死亡

率)/(1-对照组死亡率)]×100。

1.2.2 马尾松松枝水培试验 将 4 种活性化合物分别配制质量分数为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,然后取 200 mL 药液装入 300 mL 的三角瓶中,并将处理好的健康松枝插入药液中,瓶口用脱脂棉密封。并设置 CK(蒸馏水)处理、“CK+松材线虫”处理作对照。参考王玉嫄等(1985)方法,选用截枝套管法接种线虫:选择松枝的一个侧枝,剪掉离主枝约 5 cm 的枝梢,使截面朝上,在截面处包裹少许脱脂棉,覆盖长度约 10 cm 的乳胶管,用绳子将乳胶管的基部绑住,从管口接种松材线虫悬浮液(约 1000 条),然后用湿润的脱脂棉塞住管口,以保持乳胶管内的湿度。接种后,每 3 d 观察一次松枝外部病症,观察 12 d,设置 3 个平行试验。参考谈家金和冯志新(2001)、翁群芳等(2005)方法,对各松枝病情分级并计算病情指数,病情分为 0 级:针叶绿色,松枝正常;1 级:松枝 1/4 以下针叶发黄;2 级:松枝 1/4~3/4 针叶发黄;3 级:松枝 1/4 以上针叶发黄,1/2 以下针叶枯萎;4 级:松枝 1/2 以上针叶枯萎,松枝濒死或死亡。

$$\text{病情指数}/\% = \frac{\sum (X_i \times a_i)}{\sum (X_i \times a_{\max})} \times 100$$

式中, X_i 为各病级的松枝数, a_i 为各病级, $a_{\max}$ 为最高病级。

1.2.3 对松材线虫酶活力的影响 取 4 mL 松材线虫(约 10 万条),分别加入 1 mL 配制好的药物溶液,溶液的终浓度为药物 48 h 的半致死浓度,充分混匀,以背景溶液作为对照,每处理设 3 次重复。将各管置于 28 ℃ 培养箱中避光培养,分别于 12、24、36 和 48 h 充分摇匀后取出 1 mL, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,去上清,无菌水清洗 3 次。加入适量生理盐水冰浴匀浆, $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清,生理盐水定容至 1 mL。使用考马斯亮蓝 G250 染色法测定线虫匀浆液的蛋白含量,并根据酶试剂盒说明测定酶的活性,设置 3 个平行试验(吴佳雯等,2022)。

1.3 数据分析

利用 Graphpad Prism 8.0 (GraphPad Software; 美国)处理数据、图表。采用 Graphpad Prism 8.0 软件计算半数致死浓度(LC_{50})、进行方差分析(analysis of variance, ANOVA),使用 Tukey 检验($P =$

0.05)比较数据之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对松材线虫的杀虫活性

将松材线虫置于不同系列浓度(0.50、0.25、0.10和0.05 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的药物溶液中,浸渍处理后 12、24、36 和 48 h,分别观察松材线虫的存活状况并计算校正死亡率(图 1)。图 1 表明,药物对松材线虫的毒杀活性随着样品浓度的提高而增加,其中杀线活性由高到低依次为盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶。在 0.50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下,4 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h 后,均表现出良好的杀虫活性,其中盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱 3 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h 后,松材线虫的校正死亡率为 100%。

2.2 半致死浓度 LC_{50}

运用 Graphpad Prism 8.0 对松材线虫暴露于药物溶液中的校正死亡率数据进行拟合,得到 LC_{50} 值以及毒力回归方程(表 1)。结果显示,药物溶液对不同处理时间点对松材线虫均表现出显著的杀虫活性,在 48 h 时松材线虫死亡率达到最高值,盐酸四咪唑、酒石酸噻吩嘧啶、盐酸左旋咪唑、烟碱的 LC_{50} 值分别为 0.09、0.31、0.08、0.14 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 松枝水培试验结果

松枝水培试验结果表明(表 2),处理 3 d 后,4 种烟碱受体激动剂处理组松枝均不发病,病情指数为 0,与 CK 处理组的病情指数相同,“CK+线虫”处理组开始出现针叶失水病情;处理 6 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组个别枝叶有失水情况,“CK+线虫”松枝枝叶变黄萎蔫,病情指数为 65%;处理 9 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 19%,“CK+线虫”松枝枝叶持续变黄萎蔫,病情指数为 75%;处理 12 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 31%,“CK+线虫”松枝枝叶完全变黄萎蔫,病情指数为 100%。整体结果可看出,4 种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫引起的松树萎蔫病有一定的防治效果,能明显延缓松材线虫病的发展。

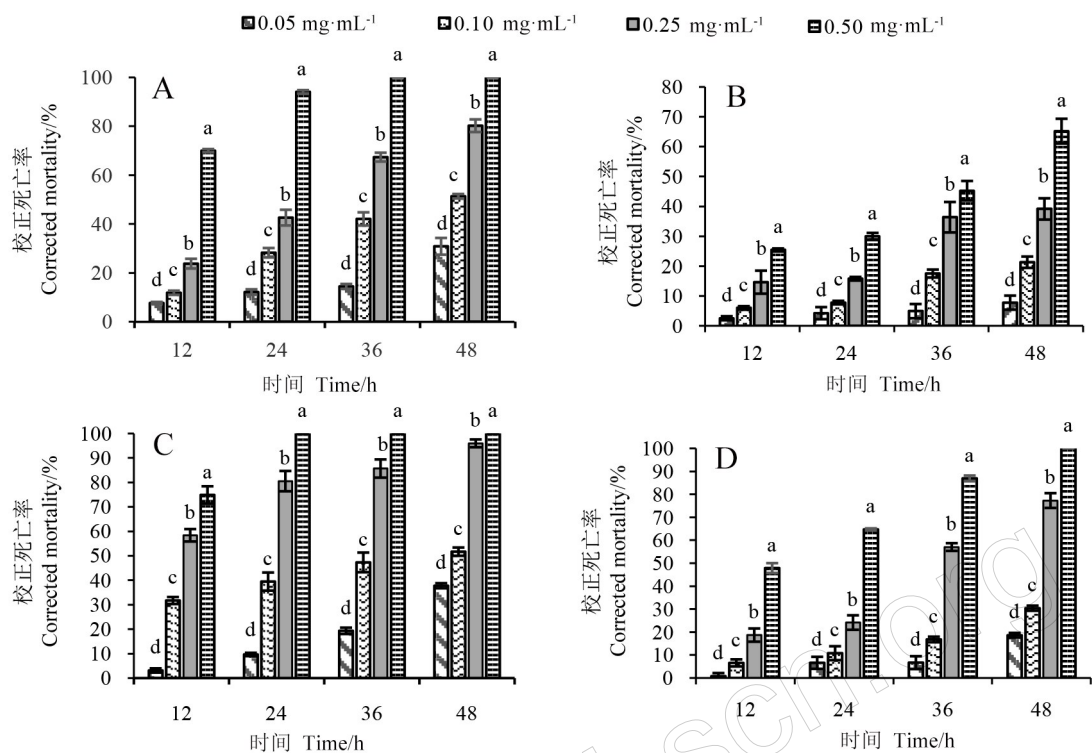


图 1 4 种药物对松材线虫的校正死亡率

Fig.1 Corrected mortality of pine branches exposed to the four drugs against *B. xylophilus*

A: 盐酸四咪唑; B: 酒石酸噻吩嘧啶; C: 盐酸左旋咪唑; D: 烟碱。同组不同小字母表示 0.05 水平上差异显著。
A: Tetraimidazole hydrochloride; B: Thiophene pyrimidine tartrate; C: Levamisole hydrochloride; D: Nicotine.

Data with different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level.

表 1 4 种药物毒杀松材线虫作用 48 h 的 LC₅₀ 值

Table 1 LC₅₀ values of the four drugs against *B. xylophilus*

药剂 Drugs	斜率±标准误 Slope±SE	半致死浓度(95%置信限) LC ₅₀ (95% CL)/(mg·mL ⁻¹)	R ²	χ ²	P	df
盐酸四咪唑 Tetraimidazole hydrochlorid	2.856±0.431	0.09 (0.07~0.11)	0.8678	2.640	0.267	2
酒石酸噻吩嘧啶 Pyrantel tartrate salt	1.061±0.188	0.31 (0.25~0.38)	0.9670	0.368	0.832	2
盐酸左旋咪唑 Levamisole hydrochloride	0.044±173.000	0.08 (0.05~0.11)	0.9142	0.049	0.976	2
烟碱 Nicotine	3.127±0.397	0.14 (0.11~0.17)	0.8921	2.343	0.310	2

表 2 4 种药物水溶液对松枝试验病情指数的影响

Table 2 Effect of the four drug aqueous solutions on disease index of pine branch test

处理 Treatment	病情指数 Disease index/%			
	3 d	6 d	9 d	12 d
盐酸四咪唑 Tetraimidazole hydrochlorid	0.00	0.00	0.00	0.00
酒石酸噻吩嘧啶 Pyrantel tartrate salt	0.00	0.00	19.00	31.00
盐酸左旋咪唑 Levamisole hydrochloride	0.00	0.00	0.00	0.00
烟碱 Nicotine	0.00	0.00	0.00	0.00
CK+松材线虫 CK+nematode	0.00	65.00	75.00	100.00
CK	0.00	0.00	0.00	0.00

2.4 对松材线虫酶活力的影响

2.4.1 对松材线虫乙酰胆碱酯酶活性的影响 松材线虫乙酰胆碱酯对药物非常敏感,处理过程中,对照组 AChE 酶活力变化平缓,4 组给药处理组 AChE 酶活力均呈下降趋势,6 h 时给药组酶活力低于对照组 ($P<0.05$),但给药组与对照组酶活力相差

较小。6~48 h 间,给药组酶活力急剧下降,整个过程中酶活力显著低于对照组 ($P<0.05$) (图 2A)。

2.4.2 对松材线虫三磷酸腺苷酶活性的影响 由图 2B 可知,给药处理组与对照组变化趋势相对一致,均处于下降趋势,给药处理组的 ATP 酶活力在不同时间点均低于对照组的 ATP 酶活力,并且存在

显著差异($P<0.05$)。

2.4.3 对松材线虫超氧化物歧化酶的影响 图 2C 显示,在松材线虫暴露 12 h 之前,给药处理组松材线虫的超氧化物歧化酶(SOD)活力显著高于对照组($P<0.05$),在 12 h 时,对照组松材线虫的 SOD 酶活力相近给药处理组,但是随着中毒时间的延长,给药处理组 SOD 酶活力逐渐被抑制,而对照组 SOD 酶活力有小幅提升,对照组 SOD 酶活力高于给药处理组($P<0.05$),表明 4 种药物均可以抑制

松材线虫的 SOD 的活性。

2.4.4 对松材线虫过氧化氢酶活性的影响 图 2D 显示,在松材线虫暴露前期,给药处理组松材线虫的 CAT 酶活力显著高于对照组($P<0.05$),在 12~24 h 间的某个时间节点,3 组松材线虫的 CAT 活力相近,但是随着中毒时间的延长,给药处理组 CAT 酶活力逐渐被抑制,对照组 CAT 酶活力高于给药处理组($P<0.05$)。

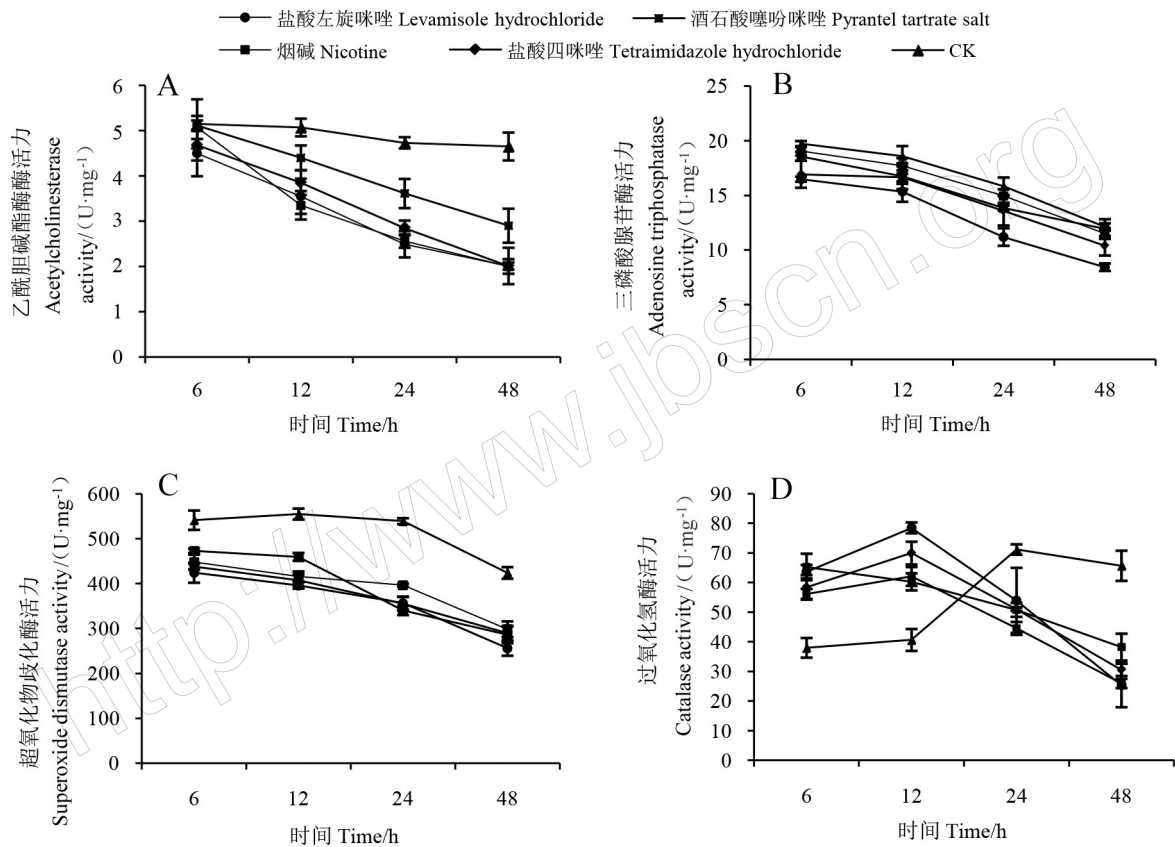


图 2 4 种药物对松材线虫体内乙酰胆碱酯酶(A)、磷酸腺苷酶(B)、超氧化物歧化酶(C)和过氧化氢酶(D)活性的影响

Fig.2 Effect of the four drugs on AChE (A), ATP (B), SOD (C) and CAT (D) activities in *B. xylophilus*

3 讨论

盐酸四咪唑、酒石酸噻吩嘧啶、盐酸左旋咪唑是兽医学常用的抗蠕虫药,烟碱是农用杀虫剂的重要成分,可用于寄生虫防治。盐酸左旋咪唑属于去极化神经肌肉阻断药,具有明显的烟碱样作用,即作用于蠕虫或昆虫烟碱受体,产生拟胆碱作用,一般表现症状为肌束颤动、肌力减退、肌痉挛、呼吸肌麻痹等。盐酸左旋咪唑可使肠道蠕虫单个肌细胞去极化,峰电位发放频率增加,导致虫体痉挛性麻痹,Zhang *et al.* (2019)首次提出盐酸左旋咪唑对秀

丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 乙酰胆碱受体耐药突变体起作用。后来证实,盐酸左旋咪唑选择性作用于秀丽隐杆线虫体肌和神经上的烟碱乙酰胆碱受体,导致秀丽隐杆线虫收缩和痉挛性麻痹(Duguet *et al.*, 2016; Turani *et al.*, 2018)。烟碱有很强的内吸活性、胃毒性和触杀毒性,对寄生虫的乙酰胆碱受体有很强的亲和性,与寄生虫的乙酰胆碱受体竞争性结合,使乙酰胆碱不能正常传导、阻断神经、窒息死亡。酒石酸噻吩嘧啶与盐酸四咪唑的相关研究较少,但现有文献表明其有较好的杀寄生虫

效果(吴国涛,2015)。

线虫在受到外源性伤害时,其体内与代谢相关的酶活性会发生改变(韩双双等,2020;侯金丽和冯欣,2014)。AChE 是一种参与神经传递的重要蛋白质,是有机磷酸盐和氨基甲酸酯类杀虫剂的重要靶标(Thapa *et al.*,2017)。本研究中给药处理组显著了抑制 AChE 酶活力,推测给药处理增加突触间隙内乙酰胆碱含量,增强了乙酰胆碱的生理作用。另外,作为胆碱能 N 受体激动剂致离子通道开放,产生去极化离子流,使神经细胞处于激动状态。4 种烟碱受体激动剂不能被乙酰胆碱失活,从而导致突触后受体永久性开放,其持效作用导致线虫神经系统失调,产生痉挛性麻痹,影响线虫细胞功能、新陈代谢和信号转导,最终导致线虫死亡。ATP 是一种与物质运送、能量转换以及信息传递相关的蛋白酶,与机体代谢密切相关,也是菊酯类杀虫剂的主要作用靶标之一(刘文斌等,2022)。由于 ATP 是能量转换的关键酶,推测当 ATP 酶活力被抑制时,线虫生命活动所需要的能量不能被满足,最终导致线虫死亡。SOD、CAT 等抗氧化酶有助于抵消活性氧在细胞和分子水平上引起氧化损伤的毒性。SOD 是松材线虫体内的一种富含金属离子的抗氧化酶,当 SOD 含量充足时,自由基被俘获,细胞处于健康状态,但是当 SOD 含量缺失或不足时,细胞受自由基侵害,发生变异、衰老或死亡。当松材线虫的 SOD 活性受到抑制时,将会影响线虫体内清除氧自由基的效率,从而造成线虫体内毒素堆积,使细胞膜产生过氧化,导致线虫细胞正常的生理代谢遭到干扰,最终线虫死亡(Wang *et al.*,2018)。CAT 是一种四亚基血红素酶,是松材线虫体内的解毒相关酶。松材线虫体内的过氧化氢对细胞高度有害,其积累将导致 DNA、蛋白质和脂质的氧化,从而导致细胞凋亡。CAT 通过将过氧化氢分解为水和分子氧来阻止细胞产生活性氧,使细胞免受过氧化氢的伤害(Mahasetg & Kuzminov,2017)。给药处理组线虫前期 CAT 酶活力明显高于对照组以满足松材线虫中毒后的解毒需求,但是随着中毒时间的延长,给药组 CAT 酶活力逐渐被抑制,松材线虫在药物的作用下体内的过氧化氢得不到分解,从而在体内积累,产生毒性很大的氢氧自由基,细胞功能受损,最终线虫死亡。

本研究采用室内浸渍法测定 4 种烟碱受体激

动剂对松材线虫的毒杀作用,研究表明,4 种化合物对松材线虫具有较强的致死作用,马尾松水培试验结果显示,4 种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫引起的松树萎蔫病有一定的防治效果,对松材线虫体内代谢活动相关酶(AchE、SOD、ATP、CAT)活性均有不同程度的抑制作用。对 4 种烟碱受体激动剂毒杀松材线虫的作用机制有待深入研究明确。

参考文献

- 韩双双,谭周倩,黄晓德,钱骅,陈斌,赵伯涛,陈双林,闫淑珍,2020. 异硫氰酸丙烯酯毒杀松材线虫作用机制初步研究. 农药学报, 22(1): 48-53.
- 黄正杰,崔建云,任发政,赵慧,2013. 大鲵粗提物延缓秀丽线虫衰老的研究. 食品工业, 34(1): 122-125.
- 侯金丽,冯欣,2014. Sr18 菌代谢产物对松材线虫蛋白质和酶活力的影响. 湖北农业科学, 53(19): 4604-4606, 4610.
- 李铭,冯伟,李术,2013. 阿维菌素类药物对非靶动物毒理学的研究进展. 东北农业大学学报, 44(12): 126-130.
- 刘文斌,段辛乐,夏晓峰,黄少康,2022. 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的毒性和影响. 生物安全学报, 31(1): 1-8.
- 谈家金,冯志新,2001. 松材线虫病病理生理学研究进展. 江西科学, 19(1): 27-30.
- 田浩楷,张帅,柳小龙,张志伟,赵莉茜,2017. 扩散型与繁殖型松材线虫数字基因表达谱对比分析. 生物安全学报, 26(2): 111-121.
- 吴国涛,2015. 绵羊胃肠道线虫驱除效果对比试验. 山东畜牧兽医, 36(7): 12-13.
- 吴佳雯,尹艳楠,谈家金,郝德君,2022. 蜡样芽孢杆菌 NJSZ-13 菌株诱导马尾松抗松材线虫病研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 46(4): 53-58.
- 翁群芳,钟国华,胡美英,罗建军,李晓刚,2005. 骆驼蓬提取物对松材线虫的生物活性及生理效应. 中国农业科学, 38(10): 2014-2022.
- 吴映捷,2017. 烟碱的提取工艺优化及其杀虫活性研究. 硕士学位论文. 上海: 上海海洋大学.
- 王玉嫵,石运琳,周新胜,柏桂华,柳俊,1985. 南京地区黑松萎蔫线虫病发病规律的初步观察. 森林病虫通讯(2): 15-17.
- 叶建仁,2019. 松材线虫病在中国的流行材线虫病四种现状、防治技术与对策分析. 林业科学, 55(9): 1-10.
- 尹晓燕,王羽,牛秋红,2022. 根系土壤假丝酵母菌 *Candida* sp. YIN9 对大丽轮枝菌和全齿复活线虫的抑制作用. 生物安全学报, 31(1): 56-63.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.009

外来入侵杂草假苍耳在新疆地区的适生性分析及风险评估

冯佳楠^{1,2,3}, 依米提·热苏力⁴, 史博⁴, 张兴⁵, 方艳⁵, 马德英^{1,2,3*}
¹新疆农业大学农学院, 新疆乌鲁木齐 830052; ²农业农村部西北荒漠绿洲农林外来入侵生物防控重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830052; ³农林有害生物监测与安全防护重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830052; ⁴中华人民共和国乌鲁木齐海关, 新疆乌鲁木齐 830011; ⁵中华人民共和国塔城海关, 新疆塔城 834700;

摘要:【目的】假苍耳是一种恶性入侵杂草, 预测其在新疆地区的潜在适生区并进行风险评估, 旨在为其科学防控提供参考。【方法】采用 MaxEnt 模型与 ArcGIS 10.4 软件进行分析, 预测假苍耳在新疆的潜在分布区, 并划分风险等级。运用多指标综合评估方法, 对假苍耳的危害风险性进行综合分析评估。【结果】假苍耳在新疆的适生区主要在北疆地区, 适生区范围较广。高适生区主要包括克拉玛依市、昌吉回族自治州北部及塔城地区中部。年平均温(bio1)、最干季平均温(bio9)、最冷季平均温(bio11)及最热季平均温(bio10)是影响假苍耳分布的主要环境因子。假苍耳的危险性综合评价值为 2.238, 属于高度危险的有害生物。【结论】假苍耳目前在新疆仅分布在塔城地区, 预测结果表明其在新疆地区继续扩散的趋势较大, 需要提前制定好相应的管理和控制措施。

关键词: 假苍耳; MaxEnt 模型; 适生性分析; 风险评估; 新疆



开放科学标识码
(OSID 码)

Adaptability analysis and risk assessment of alien invasive weed *Cyclachaena xanthiifolia* (Nuttall) Fresenius in Xinjiang

FENG Jianan^{1,2,3}, YIMITI · Resuli⁴, SHI Bo⁴, ZHANG Xing⁵, FANG Yan⁵, MA Deying^{1,2,3*}
¹College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China; ²Key Laboratory of Prevention and Control of Invasive Alien Species in Agriculture & Forestry of the North-western Desert Oasis (Co-construction by Ministry and Province), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Urumqi, Xinjiang 830052, China; ³Key Laboratory of Monitoring and Safety Prevention and Control of Agriculture and Forest Pests, Urumqi, Xinjiang 830052, China; ⁴Urumqi Customs District P. R. CHINA, Urumqi, Xinjiang 830011, China; ⁵Tacheng Customs District P.R. CHINA, Tacheng, Xinjiang 834700, China

Abstract: 【Aim】*Cyclachaena xanthiifolia* (Nuttall) Fresenius is an invasive weed species. The aim of predicting its potential habitat and conducting a risk assessment in Xinjiang is to provide a scientific reference for effective prevention and control in our region. 【Method】The MaxEnt model and ArcGIS 10.4 software were utilized to analyze and predict the potential distribution area of *C. xanthiifolia* in Xinjiang. Additionally, the classification of risk levels was performed. Furthermore, the multi-index comprehensive evaluation method was employed to comprehensively analyze and assess the hazard risk of *C. xanthiifolia*. 【Result】The suitable area for *C. xanthiifolia* in Xinjiang is predominantly situated in the northern region, covering a wide expanse. Highly adaptable areas include Karamay City, the northern part of Changji Hui Autonomous Prefecture, and the central part of Tacheng District. Key environmental factors influencing the distribution of *C. xanthiifolia* encompass the annual average temperature (bio1), the average temperature in the driest season (bio9), the average temperature in the coldest season (bio11), and the average temperature in the hottest season (bio10). The comprehensive risk assessment value of *C. xanthiifolia* is 2.238, indicating its classification as a highly dangerous pest. 【Conclusion】Though *C. xanthiifolia* is confined to Tacheng, Xinjiang, prediction results suggest a potential expansion of its coverage in northern Xinjiang. Therefore, proactive management and control measures should be devised accordingly.

Key words: *Cyclachaena xanthiifolia*; MaxEnt model; adaptability analysis; risk assessment; Xinjiang

随着全球化进程的发展,生物入侵的危害日趋严重(Paini *et al.*, 2016)。外来入侵植物会威胁本土物种正常生长,导致生物多样性的减少甚至丧失,破坏当地自然生态系统的平衡。假苍耳 *Cyclachaena xanthiifolia* (Nuttall) Fresenius 是一年生菊科植物,原产自北美洲,是我国入境植物检疫性有害杂草之一(李凤兰等,2020),于 20 世纪 80 年代首次在我国辽宁省发现,之后主要分布在东北地区、山东、新疆等地(王丽娟等,2021)。2012 年 8 月,杜珍珠等(2017)在新疆塔城市发现该植物。假苍耳具有较强的环境适应能力,不论是在干旱瘠薄的道路边,还是在肥沃的土壤里均能生长,破坏本地的生态环境(许志东等,2012)。假苍耳入侵大豆 *Glycine max* (L.) Merr.、玉米 *Zea mays* Linn.、向日葵 *Helianthus annuus* L.和甜菜 *Beta vulgaris* L.等农田后,降低农作物品质,造成严重的经济损失(胡庆华等,2011)。其花粉也易引起枯草热病,危害人类健康(Krštic *et al.*, 2007)。

MaxEnt 模型在预测有害生物潜在分布区时,只需要发生地的地理坐标数据,且在数据较少的情况下就能达到较高的准确度(Phillips & Dud'k, 2008)。因此,MaxEnt 模型已被广泛应用于外来入侵生物在中国的潜在适生区分析,以及农业害虫、天敌的适宜分布分析等(祝梓杰等,2017)。

新疆是我国农产品的重要生产基地(王野和孙东升,2015),为了避免假苍耳在新疆蔓延范围扩大、危害加重,本文采用 MaxEnt 模型与 ArcGIS 软件对假苍耳传入新疆的适生区进行了预测,采用 ROC 曲线(receiver operating characteristic curve)法评价模型的准确率,运用刀切法(jackknife)判断影响假苍耳潜在适生区分布的主要环境变量。通过多指标综合评估方法,分析其入侵新疆的风险,以期新疆制定假苍耳的防控措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 假苍耳分布点数据收集与处理

在塔城市货场与巴克图口岸附近进行调查,利用 GPS 记录假苍耳发生地的地理坐标点。此外,从全球生物多样性信息机构网站(Global Biodiversity Information Facility, GBIF)下载假苍耳在全球的分布资料,并通过查阅国内外公开发表的相关论文获取已报道的假苍耳主要分布点地理信息。将收集到的分布点信息保存为 CSV 格式的文件,并且按照

物种名、分布点的经度、纬度顺序保存。为降低采样偏差,采用 ArcGIS 软件进行缓冲区分析,最终获得筛选后的有效分布点 95 个。

1.2 环境变量

在 Worldclim 网站(<http://www.worldclim.org>)下载获得 19 个环境气候变量,上述数据均为 1950—2000 年各环境变量的平均值,其空间分辨率为 30 s。由于环境变量之间具有一定的相关性,易产生多重共线性问题,对模型模拟结果造成影响(卢林, 2022),利用 SPSS 软件对环境变量进行 Pearson 相关系数(r)分析。为了避免高度相关的气候数据($r>0.8$)对预测结果的影响,选择贡献率较高的变量用于模型预测(毛俐慧, 2017),最终筛选出 12 个环境变量用于 MaxEnt 模型预测(表 1)。

表 1 用于模型预测的环境变量
Table 1 Variables used in the mode

变量 Variable code	变量名称 Variable name
bio1	年平均温 Annual mean temperature
bio2	月平均昼夜温差 Monthly mean diurnal temperature range
bio3	等温性 Isothermality
bio4	温度季节变化的标准差 Standard deviation of temperature seasonal change
bio7	温度年变化范围 Range of annual temperature
bio8	最湿季平均温 Mean temperature of the wettest quarter
bio9	最干季平均温 Mean temperature of the driest quarter
bio10	最热季平均温 Mean temperature of the warmest quarter
bio11	最冷季平均温 Mean temperature of the coldest quarter
bio12	年降水量 Annual mean precipitation
bio14	最干月降水量 Precipitation during the driest month
bio18	最暖季降水量 Precipitation during the warmest quarter

1.3 参数设置

参考丁新华等(2019)的方法,将假苍耳的分布数据和筛选出的环境变量加载到 MaxEnt 软件中,随机抽取 25%的分布点数据设为测试集,其余 75%设为训练集,选择刀切法中其他参数设为默认值。本次模拟运行 10 次,选取 10 次模拟的平均预测结果作为对假苍耳潜在分布区预测的最终结果。该模型预测的结果为连续栅格数据,输出文件格式为 ASCII,再利用 ArcGIS 软件转换成 raster 格式,利用自然间断点分级法(Jenks' natural breaks)将假苍耳适生区划分为 4 个等级:高适生区($P\geq 0.5$)、中适生区($0.1\leq P<0.5$)、低适生区($0.05\leq P<0.1$)、非适生区($P<0.05$),最终得到假苍耳在新疆的潜在适生区。

ROC 曲线下面积 AUC (area under curve) 值越

大说明模型预测的结果越准确; $0.5 \leq \text{AUC 值} \leq 0.6$ 时,预测结果较差; $0.6 \leq \text{AUC 值} \leq 0.7$ 时,预测结果一般; $0.7 \leq \text{AUC 值} \leq 0.8$ 时,预测结果较准确; $0.8 \leq \text{AUC 值} \leq 0.9$ 时,预测结果很准确; $0.9 \leq \text{AUC 值} \leq 1.0$ 时,预测结果为极准确(许志东等,2012)。

1.4 假苍耳风险性评估

参照蒋青等(1995)建立的有害生物风险性评估体系,并根据假苍耳的生物学特性及其研究结果,将该杂草的风险评估指标设为 5 个一级指标和 16 个二级指标。对每个二级指标进行赋分,再计算得出一级指标的数值。

2 结果与分析

2.1 ROC 曲线的精度评价

本研究 AUC 平均值为 0.980 (图 1),表明预测结果极准确。

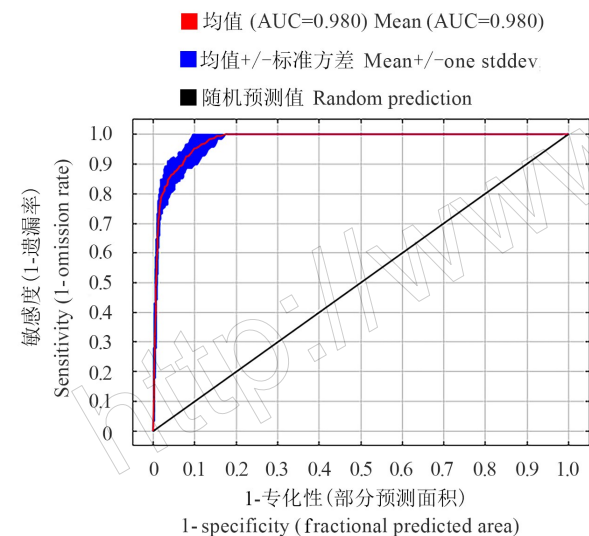


图 1 ROC 曲线验证 MaxEnt 预测结果所得的 AUC 值

Fig.1 The ROC curve verifies the AUC value obtained from MaxEnt prediction results

2.2 环境变量的重要性分析

本研究选取 12 个环境因子,完成基于 MaxEnt 模型对假苍耳在新疆潜在分布区的建模工作。由刀切法检验结果(图 2)可得,仅使用单一环境变量时,对正规化训练增益影响较大的环境变量为年平均温(bio1)、最干季平均温(bio9)、最冷季平均温(bio11)、最热季平均温(bio10),说明它们是影响假苍耳分布的主要环境因子。

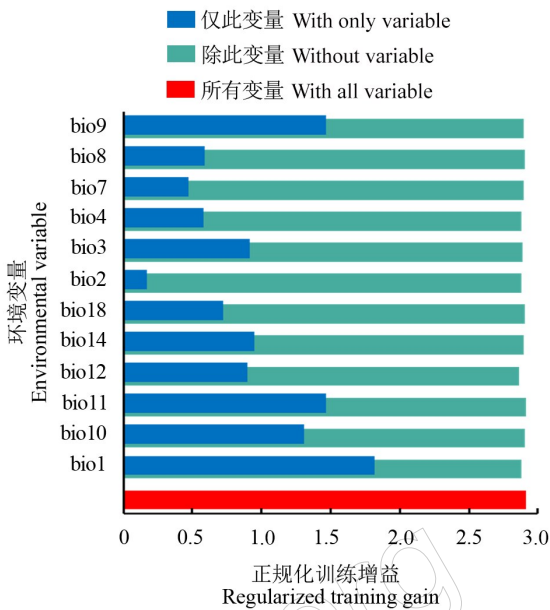


图 2 环境变量的刀切法测试

Fig.2 Jackknife test for the environmental variables

2.3 假苍耳在新疆潜在分布区的预测结果

基于 MaxEnt 预测的结果,对假苍耳的适生区进行等级划分。假苍耳在新疆的适生区主要在北疆地区,其中高适生区包括克拉玛依市、昌吉回族自治州北部及塔城地区中部;中适生区包括阿勒泰地区西部、塔城地区、昌吉回族自治州、哈密市北部、吐鲁番市北部及博尔塔拉蒙古自治州东部;低适生区包括阿勒泰地区中部及西部、塔城地区、昌吉回族自治州、乌鲁木齐市北部及中部、伊犁哈萨克自治州中部、阿克苏地区东部、吐鲁番市中部及北部、巴音郭楞蒙古自治州北部部分区域及哈密市西部、东北部区域。

2.4 假苍耳风险性评估

根据假苍耳的国内外分布、潜在危害性、经济重要性、传播可能性及危害与控制等因素进行综合评估,各评估指标详见表 2。

国外分布:假苍耳原产于北美洲,现已广泛分布在欧洲、大洋洲及亚洲多个国家(<http://www.cabi.org/isc>)。赋分 2 分。

国内分布:假苍耳广泛分布于我国东北地区,在辽宁省沈阳市、黑龙江省哈尔滨市及新疆省塔城市等均发现其分布(贾晶,2007)。赋分 2 分。

潜在的经济意义:假苍耳入侵大豆、玉米、向日葵、甜菜等农田后,降低农作物品质,造成严重的经

济损失(胡庆华,2011)。赋分 3 分。其他检疫性有害生物的媒介:假苍耳不传带其他检疫性有害生物。赋分 0 分。

国际检疫地位:美国、澳大利亚、加拿大、俄罗斯、瑞士、塞尔维亚、波兰、德国、法国等将假苍耳列为有害杂草(Ewald & Daniel,1999)。赋分 2 分。

受害寄主的种类:假苍耳主要危害的作物有大豆、玉米、向日葵、甜菜等(郑国良和孟庆国,2009)。赋分 1 分。

受害寄主的种植面积:在我国大豆、玉米、向日葵、甜菜总种植面积大于 350 万 hm²。赋分 3 分。

受害寄主的经济价值:大豆、甜菜、向日葵是重要的经济作物,玉米是重要的粮食作物,经济价值高。赋分 3 分。

截获可能性:近年来,我国各海关陆续检测出假苍耳种子,如常州检验检疫局工作人员在进境羊毛的下脚料中发现大量假苍耳种子(许志东,2012)。赋分 3 分。

运输中的存活性:假苍耳适应性强,不易受环境变化的影响,种子活力高。赋分 3 分。

国外分布范围:假苍耳现已广泛分布在北美洲、欧洲、大洋洲及亚洲多个国家。赋分 2 分。

国内定殖及适生范围:假苍耳在我国适生区较广,我国的华北地区、东北地区、华东地区、华中地区、西南地区、西北地区均存在适生区(许志东,2012)。赋分 3 分。

传播扩散能力:假苍耳能够产生大量种子,平均单株产生种子量达 55289.8 个,种子远距离传播主要靠交通工具携带传播(赵吉柱,2010)。赋分 2 分。

检疫鉴定的难度:假苍耳可通过目测或镜检鉴定。赋分 2 分。

除害处理的难度:草甘膦对假苍耳有较好的防除作用,加入生物助剂,最大株防效为 98.03% ~ 99.28%(赵微和陶波,2010)。赋分 1 分。

根除难度:根除假苍耳成本较高。赋分 2 分。

表 2 假苍耳风险评估指标
Table 2 Risk assessment index of *C. xanthiifolia*

一级指标 Primary index	二级指标 Secondary index	评价标准 Evaluation criterion	赋值 Score
P_1 国内外分布状况 Distribution at home and abroad	P_{11} 国外分布 Distribution abroad	20% ~ 50%	2
	P_{12} 国内分布 Domestic distribution	0% ~ 20%	2
P_2 潜在危害性 Potential damage	P_{21} 潜在的经济意义 The potential economic implications	重要 Important	3
	P_{22} 其他检疫性有害生物的媒介 Vectors for other quarantine pests	否 No	0
	P_{23} 国际检疫地位 International quarantine status	10 国以上 More than 10 countries	2
P_3 受害寄主重要性 Importance of damaged host	P_{31} 受害寄主的种类 Number of potential host species	4 种 Four kinds	1
	P_{32} 受害寄主的种植面积 Distribution area of damaged host	>350 万 hm ² >3.5 million hm ²	3
	P_{33} 受害寄主的经济价值 Importance of damaged economics	经济价值高 High economic value	3
P_4 传入定殖扩散可能性 Introduced habituated and dispersed possibility	P_{41} 截获可能性 Possibility of interception	经常被截获 Often intercepted	3
	P_{42} 运输中的存活性 Surviving rate during transmission	>40%	3
	P_{43} 国外分布范围 Foreign distribution range	20% ~ 50%	2
	P_{44} 国内定殖及适生范围 Domestic colonization and suitable range	>50%	3
	P_{45} 传播扩散能力 Transmission and spread capacity	主要通过交通工具携带长距离传播 Mainly carried by vehicles over long distances	2

续表 2

一级指标 Primary index	二级指标 Secondary index	评价标准 Evaluation criterion	赋值 Score
P_5 风险管理的效率 Efficiency of risk management	P_{51} 检疫鉴定的难度 The difficulty of quarantine identification	可靠性较高但费时 High reliability but time consuming	2
	P_{52} 除害处理的难度 Management difficulty of pest	除害率在 50% ~ 100% The control rate is 50%–100%	1
	P_{53} 根除的难度 Eliminating difficulty of pest	恶性杂草去除难度大, 成本较高 The removal of malignant weeds is difficult and costly	2

参照蒋青等(1995)风险评估值计算公式:

$$P_1 = 0.5P_{11} + 0.5P_{12} = 2.000$$
$$P_2 = 0.6P_{21} + 0.2P_{22} + 0.2P_{23} = 2.200$$
$$P_3 = \max(P_{31}, P_{32}, P_{33}) = 3.000$$
$$P_4 = \sqrt[5]{P_{41} \times P_{42} \times P_{43} \times P_{44} \times P_{45}} = 2.551$$
$$P_5 = (P_{51} + P_{52} + P_{53}) / 3 = 1.667$$
$$R = \sqrt[5]{P_1 \times P_2 \times P_3 \times P_4 \times P_5} = 2.238$$

根据我国有害生物危险性综合评价标准,将有害生物危险程度分为 4 级: $2.5 \leq R < 3.0$, 特别危险; $2.4 \leq R < 2.0$, 高度危险; $1.9 \leq R < 1.5$, 中度危险; $1.4 \leq R < 1.0$, 低度危险。假苍耳的危险性综合评价值为 2.238, 属于高度危险的有害生物。

3 讨论

许志东等(2012)采用 MaxEnt 模型软件对假苍耳在我国及世界的潜在适生区进行预测, 结果表明, 假苍耳的适生区较广, 世界范围内除南极洲外均存在假苍耳的适生区, 我国的华北、东北、华东、华中、西南及西北地区均存在适生区, 测试数据的 AUC 值达到 0.926, 表明预测结果较精确。但该预测结果对新疆的适生区预测较为模糊。本研究利用 MaxEnt 模型, 基于假苍耳在全球的物种分布数据和环境数据预测其在新疆的适生区。结果表明, 假苍耳在新疆的适生区主要分布在北疆地区, 这与许志东等(2012)预测的假苍耳在新疆的适生区基本一致, 但本研究对新疆的预测区域更精准, 对新疆制定相应的防控措施具有更强的实际指导意义。

目前, 应严格把控植物检疫关, 做好疫情监测, 加强对经济和旅游热点地区环境的检查和管理, 对假苍耳的入侵要做到早发现, 早铲除, 防止其进一步扩散蔓延(杜云安等, 2020)。处于苗期的假苍耳可人工拔除, 处于成熟期的假苍耳因其植株高大可采用机械割除。在假苍耳 4~6 叶期时施用草甘膦加生物助剂、氟磺胺草醚加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 最大株防

效均达到 95% 以上(赵微和陶波, 2010)。利用紫穗槐 *Amorpha fruticosa* L.、沙棘 *Hippophae rhamnoides* L.、草地早熟禾 *Poa pratensis* L. 等具有经济、绿化价值的植物替代假苍耳属植物群落, 可抑制假苍耳的生长发育(杜珍珠等, 2017)。

本研究中获得预测模型 AUC 平均值为 0.980, 表明该预测的准确性。利用刀切法检验结果表明, 年平均温(bio1)、最干季平均温(bio9)、最冷季平均温(bio11)、最热季平均温(bio10)对假苍耳的潜在分布影响较大, 说明温度是影响假苍耳分布的主要环境因子。

本研究还采用多指标综合评估方法, 通过对假苍耳在国内外分布情况、潜在危害性、受害寄主重要性、传入定殖扩散可能性和风险管理效率等方面进行赋值计算, 综合评估假苍耳入侵新疆的危险性综合评价值为 2.238, 属于高度危险的有害生物。但该评估体系未设置各个指标的权重, 评估指标之间存在一定的重复, 指标体系中生态、社会影响涉及较少。另外, 我国自然地理环境复杂, 同一外来物种在我国不同地区生态习性差异较大, 在我国分布呈现区域化(李惠茹等, 2022)。因此, 未来需构建特定区域或特定生态类型的风险评估体系, 提高风险评估系统的科学准确性, 为我国入侵植物预警机制的建立提供更可靠的理论依据。

新疆与八国接壤, 长期进行对外贸易往来, 为假苍耳随进口农产品和货物进入新疆创造了有利条件。假苍耳能适应多种土壤条件, 一旦传入, 将大肆排挤本地植物, 对多种生物资源构成巨大的威胁(赵吉柱等, 2010)。鉴于新疆其他区域尚未发现假苍耳, 因此对该杂草局部发生区域要进行彻底铲除, 防止其进一步扩散传播。严格把控进口产品和货物的检验检疫, 加强监测, 同时做好应急预案, 从而保障新疆农业的健康发展。

参考文献

- 杜珍珠, 崔瑜, 阎平, 徐文斌, 黄刚, 2017. 新疆发现外来有害杂草——假苍耳. 生物安全学报, 26(1): 95-97.
- 杜云安, 杨连勇, 杜华安, 韦玮, 唐小美, 张志雄, 向国红, 2020. 洞庭湖区外来入侵植物调查分析及防治对策. 生物安全学报, 29(3): 222-228.
- 丁新华, 李超, 王小武, 付开赞, 吐尔逊·阿合买提, 黄红梅, 木拉提·塔里木别克, 何江, 郭文超, 2019. 稻水象甲在新疆的潜在分布及适生性研究. 生物安全学报, 28(2): 116-120.
- 胡庆华, 刘菊, 于景华, 2011. 入侵植物假苍耳种群的分形特征与土壤环境因子的耦合关系. 现代化农业 (4): 28-31.
- 蒋青, 梁忆冰, 王乃扬, 姚文国, 1995. 有害生物危险性评价的定量分析方法研究. 植物检疫, 9(4): 208-211.
- 贾晶, 2007. 林业有害植物假苍耳的入侵特性研究. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学.
- 李凤兰, 武佳文, 姚树宽, 赵梓颐, 赵潇臻, 贺付蒙, 朱元芳, 石奇海, 周磊, 徐永清, 2020. 假苍耳不同部位水浸提液对5种土著植物化感作用的研究. 草业学报, 29(9): 169-178.
- 李惠茹, 严靖, 杜诚, 闫小玲, 2022. 中国外来植物入侵风险评估研究. 生态学报, 42(16): 6451-6463.
- 卢林, 张志伟, 林美英, 赵梓伊, 肖能文, 王琦, 2022. 基于MaxEnt模型预测胸窗萤在北京市的潜在适生区. 植物保护学报, 49(4): 1217-1224.
- 毛俐慧, 李垚, 刘畅, 方炎明, 2017. 基于MaxEnt模型预测细叶小羽藓在中国的潜在分布区. 生态学杂志, 36(1): 54-60.
- 王野, 孙东升, 2015. 新疆主要农作物比较优势分析——基于国内资源成本法. 新疆农业科学, 52(8): 1555-1562.
- 王丽娟, 李爱雨, 冯旭, 武佳文, 王雪, 刘丹, 李翠婷, 徐永清, 2021. 外来入侵植物假苍耳种子的萌发特性. 生态学杂志, 40(7): 1979-1987.
- 许志东, 丁国华, 刘保东, 池春玉, 肖玮, 金晓霞, 李春烨, 2012. 假苍耳的地理分布及潜在适生区预测. 草业学报, 21(3): 75-83.
- 郑国良, 孟庆国, 2009. 阜新外来林业有害杂草种类调查. 防护林科技 (6): 83, 120.
- 祝梓杰, 王桂瑶, 乔飞, 白月亮, 程家安, Kong Luen HEONG, 祝增荣, 2017. 基于MaxEnt模型的两种植食性盲蝽潜在分布区及其适生性分析. 昆虫学报, 60(3): 335-346.
- 赵吉柱, 2010. 高压静电场处理对假苍耳种子萌发影响的研究. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学.
- 赵吉柱, 滑雪, 陶波, 2010. 不同处理方法对假苍耳种子萌发的影响. 东北农业大学学报, 241(8): 15-18.
- 赵微, 陶波, 2010. 假苍耳的化学防除. 东北农业大学学报, 41(6): 32-36.
- EWALD W, DANIEL G, 1999. Evaluation of future weeds problems in Switzerland // BRUNDU G. *Proceedings of the 5th international conference on the ecology of invasive alien plants*. La Maddalena-Sardinia, Italy: 127.
- PAINI D R, SHEPPARD A W, COOK D C, BARRO P J, WÖRNER S P, THOMAS M B, 2016. Global threat to agriculture from invasive species: sub-Saharan Africa most vulnerable. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113: 7575-7579.
- PHILLIPS S J, DUD' K M, 2008. Modeling of species distribution with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, 31(2): 161-175.
- KRSTIĆ L N, ANAČKOV G T, PAL B P, IGIĆ R S, LUKOVIĆ J Ž, VUKOV D M, 2007. Analysis of anatomical and micromorphological characteristics of *Iva xanthifolia* nutt. *Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke*, 112: 49-55.

(责任编辑:郭莹)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.010

基于 MaxEnt 模型的气候变化下杏树鬃球蚧在中国的潜在地理分布预测

郭发城¹, 王玉丽², 欧阿力别克·巴依朱马³, 高桂珍^{1*}
¹新疆农业大学林学与风景园林学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; ²特克斯县林业和草原局, 新疆 特克斯 835599; ³巩留县林业和草原局, 新疆 巩留 835400

摘要:【目的】杏树鬃球蚧在天山野果林暴发成灾,对野杏的生存以及野果林的生态环境造成严重影响,同时危害栽培果园。预测未来气候情景下杏树鬃球蚧在中国的潜在适生区,可为农林部门开展防控工作提供科学依据。【方法】收集关于杏树鬃球蚧的分布点与气候数据,采用 MaxEnt 模型预测其在我国的适生区。【结果】MaxEnt 模型中的 AUC 值为 0.949,表明预测结果具有较高可靠性。最冷月最低温度、最冷季度降水量、温度季节性变化标准差、等温性是影响杏树鬃球蚧潜在分布的主要环境变量。杏树鬃球蚧在我国分布区较为广阔。该模型预测杏树鬃球蚧的高适生区主要分布在辽宁省环渤海区域、河北、北京、天津、山东、河南、陕西省中部、甘肃和陕西的临界处,以及新疆维吾尔自治区的伊犁哈萨克自治州、巴音郭楞蒙古自治州和阿勒泰地区,中适生区以高适生区为核心向外蔓延。其高、中、低适生区分别占中国陆地面积的 4.62%、6.69%、18.77%。未来气候情景下,高适生区呈进一步扩散趋势,尤其在新疆地区,高适生区大面积扩散。【结论】杏树鬃球蚧适生区面积占陆地面积的 30.08%,有继续扩张和大面积暴发风险,在我国西北地区、华北地区面临的形势更为严峻,应引起相关部门关注。
关键词: 杏树鬃球蚧; MaxEnt 模型; 潜在地理分布; 气候变化



开放科学标识码
(OSID 码)

Prediction of potential geographical distribution of *Sphaerolecanium prunastri* under different climate change scenarios based on MaxEnt model

GUO Facheng¹, WANG Yuli², BAYIZHUMA · Oalibiek³, GAO Guizhen^{1*}
¹College of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China;
²Tekesi County Forestry and Grassland Bureau, Tekesi, Xinjiang 835599, China;
³Gongliu County Forestry and Grassland Bureau, Gongliu, Xinjiang 835400, China

Abstract:【Aim】*Sphaerolecanium prunastri*, a scale insect which harms wild fruit forests in western Tianshan, Xinjiang, is inducing massive mortality of *Prunus armeniaca* and the decline of ecosystem health and services. The potential suitable habitats in China under future climate scenarios were predicted, which can provide scientific basis for the prevention and control of *S. prunastri* in agriculture and forestry departments.【Method】Based on the collection of geographical distribution points of *S. prunastri* and global meteorological data, MaxEnt model was used to predict and analyze the potential suitable habitats in China.【Result】The average AUC of the MaxEnt model was 0.949, suggesting the prediction results highly reliable. The main environmental variables affecting the potential distribution of *S. prunastri* were min temperature of coldest month, precipitation of coldest quarter, standard deviation of temperature seasonal change and isothermality. The results showed that *S. prunastri* could have a wide potential distribution in China. The model predicted that *S. prunastri*'s highly suitable habitats were mainly distributed in Bohai Coastal Region of Liaoning Province, Hebei Province, Beijing, Tianjin, Shandong Province, Henan Province, central Shaanxi Province, as well as the border area between Gansu Province and Shaanxi Province, and the Yili Kazakh Autonomous Prefecture, Bayingol Mongolian Autonomous Prefecture, and Altay region of Xinjiang Uygur Autonomous Region. The moderately suitable habitat were mainly distributed in Liaon-

收稿日期(Received): 2023-02-13 接受日期(Accepted): 2023-07-20
基金项目: 中央财政林草科技推广示范项目(2020TG09); 新疆维吾尔自治区天山英才计划
作者简介: 郭发城, 男, 硕士研究生。研究方向: 林业有害生物与防治。E-mail: 877437799@qq.com
* 通信作者(Author for correspondence), 高桂珍, E-mail: gaoguizhen1984@163.com

ing, Inner Mongolia, Shanxi, and Xinjiang. The area ratios of highly suitable habitats, moderately suitable habitats, and low suitable habitats were 4.62%, 6.69%, and 18.77%, respectively. Under the future climate scenario, the highly suitable habits showed a dispersion trend, especially in Xinjiang. 【Conclusion】 The habitats suitable for *S. prunastri* account for 30.08% of all land area, with a risk of continued spreading and invading outbreaks, especially in the northwest and north of China. Relevant departments should pay attention to it.

Key words: *Sphaerolecanium prunastri*; MaxEnt model; potential geographic distribution; climatic change

杏树鬃球蚧 *Sphaerolecanium prunastri* Fonscolombe 又名杏球蚧、圆球蜡蚧, 隶属于半翅目 Hemiptera 蚧总科 Coccoidea 蚧科 Coccidae 鬃球蚧属 *Sphaerolecanium*。2019 年杏树鬃球蚧在新疆伊犁野果林大面积暴发, 引起广泛关注。王玉丽等 (2021, 2022) 和令狐伟等 (2021) 相继对其发生危害及化学防治进行了报道。

杏树鬃球蚧最早发现于于古北区的亚热带地区, 该蚧在亚洲的格鲁吉亚 (Japoshvili, 2001)、土耳其西南部的伊斯帕尔塔省、乌兹别克斯坦、以色列、阿塞拜疆 (Ben-Dov, 1993)、叙利亚 (Saleh *et al.*, 2019)、摩尔多瓦 (Kozár & Ostafichuk, 1987)、安纳托利亚中部 (Ülgentürk & Canakcioglu, 2004)、俄罗斯的克拉斯诺达尔及我国的新疆、辽宁、河北、山东及陕西 (王琛, 2010)、欧洲的匈牙利 (Kozár *et al.*, 1977)、前南斯拉夫 (Kozár, 1983)、捷克共和国 (Kozár, 1987)、保加利亚 (Nachev & Grenchev, 1987)、希腊 (Kozár *et al.*, 1991)、比利时、乌克兰 (Karaca *et al.*, 2003)、北美洲美国的马里兰州、新泽西州、纽约州、宾夕法尼亚州等地区均有分布。

杏树鬃球蚧主要以刺吸式口器危害野杏三年生枝条 (王玉丽等, 2021), 导致枝条干枯, 同时该蚧可传播煤污病, 危害严重时可导致整株树死亡, 严重威胁野杏的生存和野果林的生态平衡 (王玉丽等, 2022)。杏树鬃球蚧为多食性昆虫, 危害范围广, 寄主植物包括番杏科 (Kfir & Rosen, 1980)、桑科 (Pellizzari *et al.*, 2011)、禾本科 (Kozár & Drozdjak, 1993)、鼠李科 (Bodenheimer, 1944) 及蔷薇科 (Kozár *et al.*, 1979) 中的一些种类, 并具有蚧科昆虫特性, 即生殖能力强、扩散速度快和对环境适应强等, 对野果林的其他野生资源和栽培果园同样具有重大威胁 (王玉丽等, 2022)。

生态位模型常用于预测物种的实际和潜在分布区域, 成为预测物种适生区的重要工具 (许仲林等, 2015)。最大熵模型 MaxEnt 具有操作流程简单、图形界面清晰、运行时间短、预测结果稳定和预

测结果精度高等特点, 在深层次的理论问题研究中更具说服力及应用价值 (张路, 2015)。MaxEnt 模型在入侵生物、物种保护、气候变化以及生物进化等领域均广泛应用, 已被用于多种害虫适生区预测, 如稻水象甲 *Lissorhuptrus oryzophilus* Kuschel (Dixon, 1977)、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* Say (Feng *et al.*, 2013)、美国白蛾 *Hyphantria cunea* Drury (Gill & Sangermano, 2016) 等, 且预测结果与物种真实分布情况相似度极高。本文采用 MaxEnt 模型分析现在及未来气候情景下杏树鬃球蚧在中国的潜在地理分布, 明确其生境喜好及限制因子, 以期合理制定综合防控策略提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 杏树鬃球蚧的分布数据与处理

从全球生物多样性机构网站 (GBIF, <http://www.gbif.org/>) 及国内外公开发表与杏树鬃球蚧有关的期刊论文获取杏树鬃球蚧的分布数据。利用缓冲区分析法校对, 甄别所得分布点, 筛选、排除距离小于 3 km 的点, 以消除干扰 (徐养诚等, 2021), 总共得到 207 个分布点, 按照 MaxEnt 格式要求转换经纬度并输入 Excel, 另存为 .csv 格式待用。

1.2 预测环境变量

1.2.1 环境变量数据来源 研究所用到的现在与未来环境变量均下载于 Worldclim 全球气候网站 (<https://www.worldclim.org/data/index.html>), 当前环境数据为 1950—2000 年, 未来气候数据为 CMIP6 气候模式中 2030、2050 年的 2 种不同碳排放程度下的情景, ssp126 情景代表一个低碳排放下的未来, ssp370 情景代表一个高碳排放下的未来 (李宛鸿和徐影, 2023)。对气候资料进行分析处理后得到各主要生物气候因子的分布图。运用 ArcGIS 软件提取 19 个影响较大的生物气候因子。

1.2.2 影响杏树鬃球蚧潜在分布关键环境变量的筛选 将下载的 19 个环境变量利用刀切法 (jack-knife test) 根据各环境变量的训练得分, 通过 EN-

Mtools 进行相关性分析,剔除影响程度小的因子和相关性超过 0.85 的因子,留下影响较大的 7 个环境因子(bio6 最冷月最低温度、bio19 最冷季度降水量、bio4 温度季节性变化标准差、bio3 等温性、bio14 最干月降水量、bio13 最湿月降水量、bio15 降水量变异系数),从而提高模型的精准度。

1.3 地图数据来源

本研究所使用的矢量地图从标准地图服务平台(<http://bzdt.ch.mnr.gov.cn/index.html>)获取。

1.4 MaxEnt 模型的操作与结果评价

在 MaxEnt Version 3.4.1 软件上加入杏树鬃球蚧分布点及环境因子数据,随机抽取 75%分布点作为训练集(traning data),建立预测模型,其余 25%杏树鬃球蚧分布点为测试集(teat data),对模型进行验证。选用刀切法检验各个气候变量的贡献值的大小,选择建立环境变量曲线,将软件参数的重复次数定为 10,剩余的参数均作为模型的默认值。

采用 ROC 曲线(receiver operating characteristic curve)下面积(area under curve, AUC)值分析法检验预测结果的精度值。AUC 值的取值范围在 0~1,结果越接近 1,表示预测结果越可靠(王运生等,2007)。AUC 值评价标准:0.5≤AUC 值<0.6,失败;0.6≤AUC 值<0.7,较差;0.7≤AUC 值<0.8,一般;0.8≤AUC 值<0.9,好;0.9≤AUC 值<1.0,极好。

1.5 杏树鬃球蚧适生等级分区

使用 Geoprocessing-ArcToolbox-Spatial Analyst

Tools-Extraction-Extract by Mask 工具与中国矢量地图(.shp 格式)进行裁剪,得到 Tiff 格式的中国范围的气候数据,将裁剪后的气候数据通过转换工具将 Tiff 格式(栅格文件)转换为 ASC 格式。

MaxEnt 软件模拟输出的 AUC 值为 0~1,AUC 值与 1 越接近,表示物种存在的可能性越高,模拟的可靠性越高。参阅政府间气候变化专门委员会(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)报告(段居琦和周广胜,2011)中有关评估可能性的划分方法,根据杏树鬃球蚧的实际情况,利用“Re-classify”功能划分分布值的级别和对应的分布范围:SI<0.1 为非适生区;0.1≤SI<0.3 为低适生区;0.3≤SI<0.5 为中适生区;SI≥0.5 为高适生区(杜志宏等,2022)。

2 结果与分析

2.1 主导环境因子及环境检验

2.1.1 影响杏树鬃球蚧潜在分布主导环境变量筛选 通过 MaxEnt 的模拟结果,得到各环境变量对杏树鬃球蚧的贡献值。剔除对物种分布区内贡献值较低的环境变量,进而筛选出对模拟分布区有较大贡献值的环境变量作为主导变量(表 1)。其中,最冷月最低温度、最冷季度降水量、温度季节性变化标准差、等温性为限制杏树鬃球蚧的主导变量,单因子贡献率较其余因子显著增高,这 4 个主导因子累计贡献百分率高达 80.7%。

表 1 影响杏树鬃球蚧分布的环境变量贡献百分率和累计贡献百分率
Table 1 Environmental variables affecting the distribution of *S. prunastri* contributed percentage and cumulative contribution percentage

环境变量 Environmental variables	贡献百分率 Percent contribution%	累计贡献百分率 Accumulated percent contribution%
最冷月最低温度 Min temperature of coldest month	34.0	33.9
最冷季度降水量 Precipitation of coldest quarter	15.3	27.6
温度季节性变化标准差 Standard deviation of temperature seasonal change	13.9	5.4
等温性 Isothermality	13.2	13.8
最干月降水量 Precipitation of driest month	9.5	8.3
最湿月降水量 Precipitation of wettest month	7.5	6.8
降水量变异系数 Precipitation seasonality	6.6	4.2

2.1.2 模型精度检验 在利用杏树鬃球蚧的分布点与贡献值大的环境变量下,模拟得出 ROC 曲线图(图 1),AUC 值为 0.949,大于 0.9,本次建立的模型模拟预测精度达到“极好”标准,表明该预测结果准确可靠,可用于杏树鬃球蚧的适生区划分。

2.2 杏树鬃球蚧地理分布与环境变量间的关系

2.2.1 刀切法检验结果 刀切试验结果能较好反映不同环境变量对分布的影响率。刀切法检验中仅此因子的数值越高,表明该因子对物种的分布贡献值越大。由图 2 可见,最冷月最低温度是影响杏

树髯球蚧分布最关键的环境变量;等温性以及最冷季度降水量也是影响其分布的关键因子。

2.2.2 MaxEnt 预测主导变量的影响 图 3 为 Max-Ent 模型所绘的主导环境变量与分布概率之间的反馈曲线,该图反映了在不同阈值下环境变量的取值范围。结果显示,bio3 等温性适宜范围为 15~23,最适等温性为 18.87,19.57~55.00 时随等温性升高

而降低。bio4 温度季节性变化标准差最适值为 30.54%,在峰值两侧显著降低。bio6 最冷月最低温度最适峰为-7℃,说明在该温度下杏树髯球蚧开启越冬。bio19 最冷季度降水量在 27 mm 左右为最适峰值。在适宜范围内,各主导环境变量变化均会影响杏树髯球蚧的存在概率,而取值在适宜范围之外,其影响杏树髯球蚧分布的可能性逐渐降低。

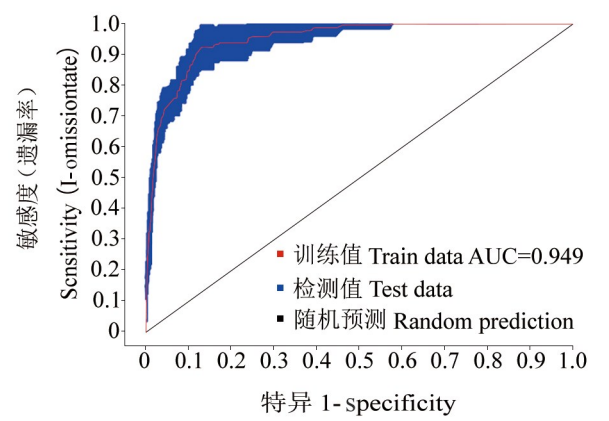


图 1 杏树髯球蚧分布预测的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of predicted distributions of *S. prunastri*

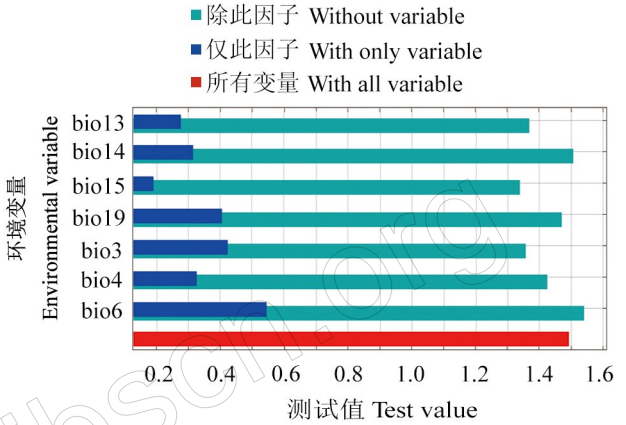


图 2 主要环境变量的刀切法测试

Fig.2 Jackknife test for key bioclimatic factors

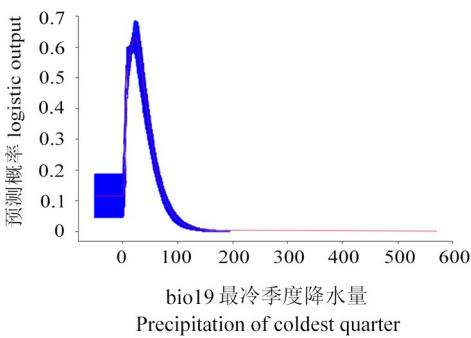
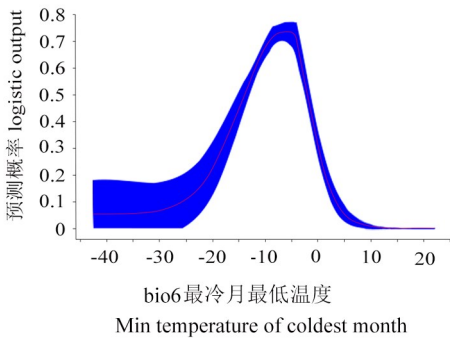
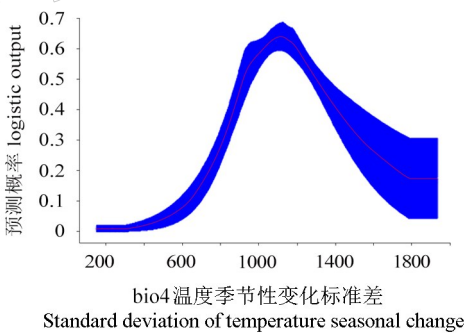
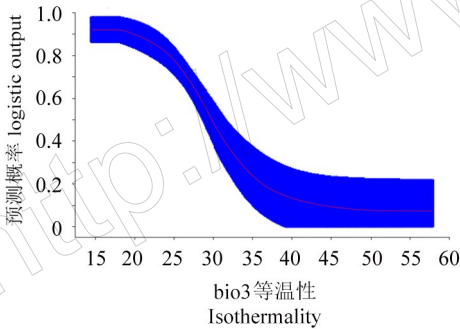


图 3 MaxEnt 模型中研究物种对主导环境变量的反馈曲线

Fig.3 The MaxEnt model studies the feedback curve of species to dominant environmental variables

2.3 杏树髯球蚧在中国的地理分布的预测 基于 7 个主导环境变量及杏树髯球蚧的分布

数据构建的模型,采用平均间距法把适宜度分为 4 个等级,得出我国杏树髯球蚧适生区图(图 4)。

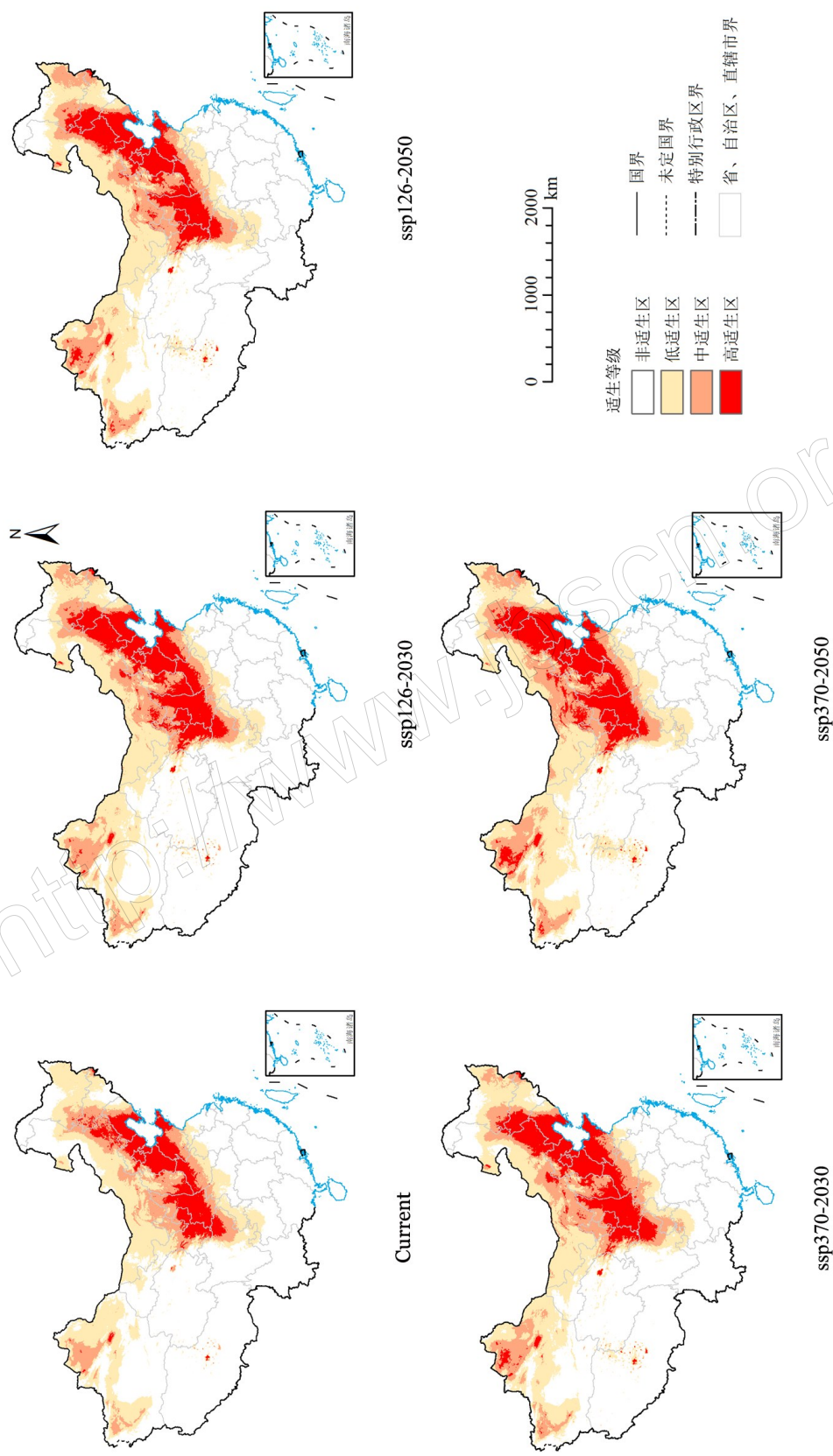


图 4 基于MaxEnt模型预测杏树鬃球蚧在中国的潜在地理分布[审图号: GS(2023)2936号]

Fig. 4 The predicted potential geographical distribution of *S. prunastri* in China based on MaxEnt model

在未来 2030、2050 年的 ssp126、ssp370 2 种情景下共 4 种未来情况对杏树鬃球蚧进行预测,预测结果准确性达到了极好的标准。图 4 和表 2 表明,高适生区占中国陆地面的 4.62%,主要分布在环渤海区域的大连、盘锦、锦州、葫芦岛,河北省的唐山、秦皇岛及张家口,北京、天津、山东省的烟台、威海、青岛、德州、聊城、滨州、东营和潍坊,河南省的三门峡、洛阳、开封、焦作、新乡和濮阳,山西省的临汾南

部,陕西省中部,甘肃省和陕西省的临界处,以及新疆维吾尔自治区的伊犁哈萨克自治州、巴音郭楞蒙古自治州和阿勒泰地区,中适生区则以高适生区为核心向外蔓延,高适生区由当前情景下的 4.62%,在 ssp126、ssp370 情景下进一步扩大,在 ssp370 情景 2050 年达到最高值 88.57 万 km²,占国土面积的 9.23%。

表 2 中国范围内杏树鬃球蚧潜在分布面积统计					
Table 2 Statistics on the potential distribution area of <i>S. prunastri</i> in China					单位 Unit:×10 ⁴ km ²
适生区类型 Types of suitable area	当前 Current	ssp126-2030	ssp126-2050	ssp370-2030	ssp370-2050
非适生区 Unsuitable area	671.18	539.25	518.31	583.21	566.67
低适生区 Lowly suitable area	180.20	246.69	255.39	207.29	199.71
中适生区 Moderately suitable area	64.22	96.26	110.20	91.60	105.03
高适生区 Highly suitable area	44.38	77.97	76.08	77.88	88.57

3 讨论

生物气候因子(即环境变量)的选取对所预测的生态位模型具有一定的影响(陈新美等,2012)。本项研究中所用的环境变量来自世界气候数据库,其中贡献值大和贡献值较小的气候因子均来源于下载的 19 个气候因子。这 19 个气候因素基于温度和降雨量,并根据不同的需求进行计算,因此变量之间自相关程度很高,预测时的诸多干扰、影响程度较低的环境因子对预测结果有一定影响。为了避免以上问题的发生,在建模时对环境变量进行了过滤筛选(王茹琳等,2017;殷晓洁等,2013;张路,2015)。基于各种环境因子对物种分布的贡献值,比较它们在物种分布种的重要作用,有效剔除贡献值低的环境变量,分析所选环境变量之间的相关性,将剩余的贡献值大的环境变量重建,仅用 7 个优势变量模拟,减少了其他无效环境因子或影响力较小因子的影响,使模拟结果的准确性更高。

本研究结果显示,杏树鬃球蚧主要分布在我国中低纬度地区,在未来情况下高适生区在新疆地区、华中地区、华东地区大面积扩散。温度对杏树鬃球蚧生长发育及种群发生具有重要影响,海拔越高,杏树鬃球蚧越冬死亡率高。等温性、温度季节性变化标准差、最冷月最低温度、最冷季度降水量作为影响杏树鬃球蚧的 4 个主导因子,对杏树鬃球蚧的分布变化影响显著。等温性是指某一地区的年平均温度与不同季节的温度变化程度。杏树鬃

球蚧适宜生长的温度范围比较窄,一般在 15~30℃。温度过低或过高均会影响杏树鬃球蚧的生长和繁殖。研究表明,杏树鬃球蚧的有效积温为 81.17 DD,卵的发育起点温度为 9.50℃,以 2 龄若虫在枝条上越冬,越冬死亡率高达 65% 以上(王玉丽等,2021)。此外,降水量也会影响杏树鬃球蚧的分布。综上,杏树鬃球蚧适宜在最冷季温度较低地区及极端温度发生少的地区建群并大规模扩散。

采用 MaxEnt 模型虽具有一定优势,但物种和环境概率反馈之间的曲线仅反映单一环境变量,而昆虫的生命活动同时受到众多环境因子(气候、因子、天敌、食物及栖息地)的共同作用,因此,该结果可以为评判杏树鬃球蚧与环境变量间的关系提供参考依据,但无法全面准确地说明二者的关系。

MaxEnt 模型模拟结果为基础生态位,而基础生态位通常比实际生态位大(蔡静芸等,2014),所以在实际环境条件下,种间作用、植被类型、地形特征、本地物种的分布、土壤类型等也会对预测物种的潜在分布产生重大影响(Broennimann *et al.*, 2007; Giovanelli *et al.*, 2008; Guisan & Zimmermann, 2000)。

近年来杏树鬃球蚧在新疆野果林的暴发使得野杏的生存以及野果林的生态环境受到严重影响,同时由于杏树鬃球蚧可危害栽培杏园,潜在风险极大。目前该蚧呈现扩散趋势,因此需要提高对杏树鬃球蚧的诊断鉴定能力,积极开展杏树鬃球蚧的生物学、生态学、适生区预测和防控方法研究。

参考文献

- 陈新美, 雷渊才, 张雄清, 贾宏炎, 2012. 样本量对 MaxEnt 模型预测物种分布精度和稳定性的影响. 林业科学, 48(1): 53–59.
- 蔡静芸, 张明明, 栗海军, 张海波, 2014 生态位模型在物种生境选择中的应用研究. 经济动物学报, 18(1): 47–52.
- 段居琦, 周广胜, 2011. 中国水稻潜在分布及其气候特征. 生态学报, 31(22): 6659–6668.
- 杜志宏, 刘伟, 曹学仁, 聂晓, 范洁茹, 王保通, 周益林, 刘万学, 徐向明, 2022. 气候变化情景下基于 MaxEnt 的麦瘟病在全球及中国的适生性分析. 植物保护, 48(5): 158–166.
- 令狐伟, 吕昭智, 王玉丽, 崔志军, 王强, 高桂珍, 2021. 杏树鬃球蚧防治药剂的筛选及田间防效. 西北林学院学报, 36(6): 173–180.
- 李宛鸿, 徐影, 2023. CMIP6 模式对青藏高原极端气温指数模拟能力评估及预估. 高原气象, 42(2): 305–319.
- 王琛, 2010. 陕西园林蚧虫种类调查(半翅目: 蚧总科). 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.
- 王茹琳, 李庆, 封传红, 石朝鹏, 2017. 基于 MaxEnt 的西藏飞蝗在中国的适生区预测. 生态学报, 37(24): 8556–8566.
- 王运生, 谢丙炎, 万方浩, 肖启明, 戴良英, 2007. ROC 曲线分析在评价入侵物种分布模型中的应用. 生物多样性, 15(4): 365–372.
- 王玉丽, 吕昭智, 令狐伟, 高桂珍, 2021. 新疆野果林的新害虫——杏树鬃球蚧(半翅目: 蚧总科: 蚧科). 林业科学研究, 34(5): 152–158.
- 王玉丽, 吕昭智, 令狐伟, 王强, 高桂珍, 2022. 新疆野果林杏树鬃球蚧的发生及危害. 新疆农业科学, 59(7): 1741–1747.
- 邢丁亮, 郝占庆, 2011. 最大熵原理及其在生态学研究中的应用. 生物多样性, 19(3): 295–302.
- 许仲林, 彭焕华, 彭守璋, 2015. 物种分布模型的发展及评价方法. 生态学报, 35(2): 557–567.
- 殷晓洁, 周广胜, 隋兴华, 何奇瑾, 李荣平, 2013. 蒙古栎地理分布的主导气候因子及其阈值. 生态学报, 33(1): 103–109.
- 赵浩翔, 冼晓青, 郭建洋, 张桂芬, 王瑞, 刘万学, 万方浩, 2022. 基于优化的 MaxEnt 模型预测海灰翅夜蛾潜在地理分布区. 植物保护, 48(6): 16–22.
- 张路, 2015. 基于 MAXENT 模型预测齿裂大戟在中国的潜在分布区. 生物安全学报, 24(3): 194–200.
- 朱耿平, 原雪姣, 范靖宇, 王梦琳, 2018. MaxEnt 模型参数设置对其所模拟物种地理分布和生态位的影响——以茶翅蝽为例. 生物安全学报, 27(2): 118–123.
- BEN-DOV Y, 1993. *A systematic catalogue of the soft scale insects of the world (Homoptera: Coccoidea: Coccidae)*. Gainesville: Sandhill Crane Press.
- BODENHEIMER F S, 1944. Note on the Coccoidea of Iran, with description of new species. *Bulletin de la Société Foudader Dentomologie*, 28(13): 85–100.
- BROENNIMANN O, TREIER U A, MULLER-SCHARER H, THUILLER W, PETERSON A T, GUIBAN A, 2007. Evidence of climatic nicheshift during biological invasion. *Ecology Letters*, 10(8): 701–709.
- DIXON A F G, 1977. Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. *Annual Review of Ecology & Systematics*, 8(1): 329–353.
- ELITH J, GRAHAM C H, ANDERSON R P, 2010. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, 29(2): 129–151.
- GILL N S, SANGERMANO F, 2016. Africanized honeybee habitat suitability: a comparison between models for southern Utah and southern California. *Applied Geography*, 76: 14–21.
- GIOVANELLI G R, HADDAD C F B, ALEXANDRINO J, 2008. Predicting the potential distribution of the alien invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Brazil. *Biological Invasions*, 10(5): 585–590.
- GUIBAN A, ZIMMERMANN N E, 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135: 147–186.
- JAPOSHVILI G O, 2001. The parasitoid complex and population dynamics of the plum scale, *Sphaerolecanium prunastri* Fonscolombe in Georgia. *Entomologica*, 33: 403–406.
- KARACA I, JAPOSHVILI G, DEMIROZER O, 2003. The chalcid parasitoid complex (Hymenoptera: Chalcidoidea) associated with the globose scale (*Sphaerolecanium prunastri* Fonscolombe) (Hemiptera: Coccoidea) in Isparta Province, Turkey and some east European countries. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 110(5): 505–511.
- KFIR R, ROSEN D, 1980. Biological studies of *Microterys flavus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae), a primary parasite of soft scales. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*, 43(2): 223–237.
- KOZÁR F, 1983. New and little-known scale-insect species from Yugoslavia (Homoptera: Coccoidea). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 29(1): 139–149.
- KOZÁR F, 1987. The probability of interspecific competitive situations in scale-insects (Homoptera: Coccoidea) interspecific competition of scale-insects. *Oecologia*, 73: 99–104.
- KOZÁR F, KONSTANTINOVA G M, AKMAN K, 1979. Dis-

tribution and density of scale insects (Homoptera: Coccoidea) on fruit plants in Turkey in 1976 (Survey of scale insect (Homoptera: Coccoidea) infestations in European orchards. *Acta Phytopathologica*, 14(11): 535–542.

KOZÁR F, OSTAFICHUK V G, 1987. New and little known scale-insects species from Moldavia (USSR) (Homoptera: Coccoidea). *Folia Entomologica Hungarica*, 48: 91–95.

KOZÁR F, ÖRDÖGH G, KOSZTARAB M P, 1977. New records to the Hungarian scale insect fauna (Homoptera: Coccoidea). *Folia Entomologica Hungarica*, 30: 69–75.

KOZÁR F, DROZDJÁK J, 1993. Data to the scale fauna (Homoptera: Coccoidea) of the Bükk National Park. *Folia Entomologica Hungarica*, 18: 105–113.

KOZÁR F, PALOUKIS S S, PAPADOPOULOS N, 1991. New scale insects (Homoptera: Coccoidea) in the Greek entomofauna. *Entomologia Hellenica*, 9: 63–68.

PELLIZZARI G, PORCELLI F, SELJAK G, 2011. Some additions to the scale insect fauna (Hemiptera: Coccoidea) of crete with a check list of the species known from the island. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 43(3): 291–300.

PHILLIPS S J, ANDERSON R P, SCHAPIRE R E, 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190: 231–259.

SALEH A T, BASHEER A M, AIROUZ H A, 2019. First report of the coccid *Microterys hortulanus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 37(3): 286–291.

ÜLGENTÜRK S, CANAKCIOGLU H, 2004. Scale insect pests on ornamental plants in urban habitats in Turkey. *Journal of Pest Science*, 77(2): 79–84.

(责任编辑:郭莹)

(上接第 53 页)

赵捷, 韩骁, 石娟, 2017. 低温条件下松材线虫在中国的风险分布区预测. *生物安全学报*, 26(3): 191–198.

BETANCOURT A, LYONS E T, HOROHV D W, 2015. Characterisation of the inflammatory cytokine response to antihelminthic treatment in ponies. *Equine Veterinary Journal*, 47(2): 240–244.

DUGUET T B, CHARVET C L, FORRESTER S G, WEVER C M, DENT J A, NEVEU C, BEECH R N, 2016. Recent duplication and functional divergence in parasitic nematode levamisole-sensitive acetylcholine receptors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(7): e0004826.

MAHASETH T, KUZMINOV A, 2017. Potentiation of hydrogen peroxide toxicity: from catalase inhibition to stable DNA-iron complexes. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 773: 274–281.

THAPA S, LÜ M, XU H, 2017. Acetylcholinesterase: a primary target for drugs and insecticides. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17: 1665–1676.

TURANI O, HERNANDO G, CORRADI J, BOUZAT C, 2018.

Activation of caenorhabditis elegans levamisole-sensitive and mammalian nicotinic receptors by the antiparasitic bephenum. *Molecular Pharmacology*, 94(5): 1270–1279.

VILELA V L R, FEITOSA T F, BRAGA F R, VIEIRA V D, LUCENA S C, ARAUJO J V, 2018. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of duddingtonia flagrans and levamisole hydrochloride 5. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 27(1): 27–32.

WANG Y, BRRANICKY R, NOË A, HEKIMI S, 2018. Superoxide dismutases: dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6): 1915–1928.

ZHANG P S, WAN Y M, ZHANG C, ZHAO R, SHA J, LI Y, LI T, REN B Z, 2019. Solubility and mixing thermodynamic properties of levamisole hydrochloride in twelve pure solvents at various temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 139(2): 105882.

(责任编辑:郭莹)

云斑尖塘鳢在水产养殖中的风险评估及 适生区分析

韦 慧¹, 张铭斯¹, 韦 波², 余梵冬¹, 舒 璐¹, 徐 猛¹, 房 苗¹, 胡隐昌¹, 顾党恩^{1*}

¹中国水产科学研究院珠江水产研究所/农业农村部外来入侵水生生物防控重点实验室

/中国水产科学研究院外来物种与生态安全重点实验室, 广东 广州 510380;

²桂林理工大学测绘地理信息学院, 广西 桂林 541004

摘要:【目的】引进国外优良品种极大促进了水产养殖的发展,但过去水产外来种的风险评估主要针对疫病,很少针对生态风险进行评估。本研究首次利用欧洲外来水产种养殖风险分析框架(ENSARS)和物种分布模型(MaxEnt)对外来水产种云斑尖塘鳢在南部生态区的生态风险进行评估,研究结果可为我国外来水产种引种管理提供参考。【方法】基于文献调研和实地调查收集云斑尖塘鳢生物学和生态学性状以及养殖状况等信息,用ENSARS评估该鱼的入侵风险,对其传播病原体、逃逸和产生社会经济影响的可能性进行分析,并用MaxEnt预测其在中国的适生区。【结果】云斑尖塘鳢在南部生态区具有强的入侵性,在水产养殖过程中具有中等风险,其中传播病原体的风险为中度高水平,逃逸的风险为中等水平,对社会经济产生影响的可能性较低。云斑尖塘鳢的高度适生区分布在台湾、广西、广东、海南4个省(自治区),分别占该省(自治区)面积28.71%、2.41%、14.57%、24.69%。【结论】云斑尖塘鳢的生物地理和生物生态学性状使其在南部生态区具有较强的入侵性,但在养殖过程中对逃逸、病原体传播等高风险事件的人为干预,能够在一定程度上降低逃逸并产生影响的可能性。但云斑尖塘鳢的主产区与其适生区高度重叠,逃逸到自然水域后容易建立自然种群,因此需要加强养殖逃逸方面的管理。

关键词: 生物入侵; ENSARS; AS-ISK; 养殖设施; 水产病害



开放科学标识码
(OSID 码)

Risk analysis and potential distribution prediction for non-native fish *Oxyeleotris marmorata* in aquaculture

WEI Hui¹, ZHANG Mingsi¹, WEI Bo², YU Fandong¹, SHU Lu¹,

XU Meng¹, FANG Miao¹, HU Yinchang¹, GU Dangen^{1*}

¹Key Laboratory of Prevention and Control for Aquatic Invasive Alien Species (Ministry of Agriculture and Rural Affairs), Key Laboratory of Alien Species and Ecological Security (CAFS), Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Guangzhou, Guangdong 510380, China; ²College of Geomatics and Geoinformation, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China

Abstract:【Aim】The introduction of alien species has contributed greatly to the development of the aquaculture industry. Risk assessments of introduced aquaculture species have mainly focused on quarantine pathogens, whereas the ecological risks of non-native aquaculture species have received little attention. In this study, the European Non-native Species in Aquaculture Risk Analysis Scheme (ENSARS) and the species distribution model (i.e., MaxEnt) were used to assess the ecological risk of the typical non-native aquaculture species marbled sand goby *Oxyeleotris marmorata* in the southern ecoregion. Our results can inform strategies for managing non-native species in importation and aquaculture.【Method】The biological and ecological characteristics, as well as the aquaculture status of *O. marmorata*, were investigated based on peer-reviewed literatures and field surveys. The invasiveness, risk of pathogen transmission, escaping from capacity, and socioeconomic impact of *O. marmorata* in aquaculture were assessed using ENSARS, and the potential distribution of this non-native fish in China was predicted using MaxEnt.【Result】*O. marmorata* was clas-

收稿日期(Received): 2023-05-23 接受日期(Accepted): 2023-08-20

基金项目: 广州市科技计划项目(202102020817); 国家大宗淡水鱼产业体系项目(CARS-45); 上海科技馆科研创新平台开放课题

作者简介: 韦慧, 女, 博士。研究方向: 外来鱼类入侵。E-mail: weihui@prfri.ac.cn

* 通信作者(Author for correspondence), 顾党恩, E-mail: gudangen@163.com

sified as "invasive" in the southern ecoregion. This non-native fish was categorized as moderate risk in aquaculture. The risk of pathogen transmission is moderately high. The risk of escaping capacity was medium. The risk of exerting socioeconomic impact was low. The most suitable areas for *O. marmorata* were distributed in Taiwan, Guangxi, Guangdong, and Hainan, accounting for 28.71%, 2.41%, 14.57%, and 24.69% of the total area of each province, respectively. 【Conclusion】 *O. marmorata* was categorized as "invasive" in the southern ecoregion owing to its undesirable biogeographic and bioecological characteristics. The ecological risk of *O. marmorata* could be alleviated by human intervention for high-risk events in aquaculture, including escaping from capacity and pathogen transmission. However, the main aquaculture area of *O. marmorata* overlaps with its potential distribution areas, which might facilitate population establishment of this non-native fish once escaping from capacity to natural waters. Therefore, the measures to prevent these non-native fish escaping from aquaculture facility should be strengthened.

Key words: biological invasion; ENSARS; AS-ISK; aquaculture facility; aquaculture pathogen

水产养殖在保障全球粮食安全和营养安全方面发挥着重要作用(Little & Bunting, 2016)。引进国外优良品种极大促进了水产养殖的发展(Gozlan, 2017)。据不完全统计,1970年以来,我国引进的水物种(包括鱼、虾、贝、蟹等)超过了150种(Lin *et al.*, 2015)。2000年左右颁布的《水产苗种管理办法》和《中华人民共和国渔业法》中规定了进出口水产苗种应当经农业部或省级人民政府渔业行政主管部门批准,并经过检疫后方可进行运输和销售。过去引种管理过程中的风险评估主要针对疫病,很少评估生态风险,也缺乏防止外来水产种以及病原体逃逸和传播的措施和建议(高宇等, 2017; Li *et al.*, 2020),导致尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* (Linnaeus)、麦瑞加拉鲈 *Cirrhinus mrigala* (Hamilton)、革胡子鲶 *Clarias gariepinus* (Burchell)等外来水产种逃逸并在自然水域建立种群,威胁水生生物多样性和生态系统健康(Gu *et al.*, 2018)。

外来物种风险分析是对其传入过程中的不确定事件进行识别,从而帮助管理者作出科学决策,以最小的成本将不利后果减少到最低程度的科学管理技术,包括风险识别、风险评估、风险管理和风险交流(徐海根, 2011)。外来物种风险分析主要依据有害生物风险分析制来定,如联合国粮农组织/植物保护组织有害生物风险分析准则(FAO/IPPC, 1995)、检疫性有害生物风险分析(FAO/IPPC, 2004)及欧洲和地中海植物保护组织风险分析方案(EPPPO, 1997)等。早期外来水生生物风险分析主要采用指南和决策树的方法,如基于专家委员会的外来鱼类引种评估导则以及海洋与淡水生物引种和运输实践准则(Kohler & Stanley, 1984; ICES, 1984)。Roy *et al.* (2018)提出了构建外来物种风险评估框架。在此基础上, Copp *et al.* (2005, 2014)

开发了外来水生生物风险筛查工具(aquatic species invasiveness screening kit, AS-ISK)和欧洲外来水产种养殖风险分析框架(european non-native species in aquaculture risk analysis scheme, ENSARS),用于分析外来水生生物的生态风险。这2个工具因其友好的用户设计及较高的判定敏感性等优点,在全球多个国家得到了应用(Copp *et al.*, 2014; Vilizzi *et al.*, 2021)。

ENSARS是一种基于问卷-评分系统的风险评估工具,主要包括路径模块(pathway module)、设施模块(facility module)、生物模块(organism module)、预筛查模块(pre-screen module)、社会经济模块(socio-economic impact)及病原模块(infectious agent)5个基本模块以及入口模块(entry module)、风险总结和管理模块(risk summary and risk management module)2个辅助模块,包括156个问题。这些问题分别用于评估物种的入侵性、被引入的可能性、传播的可能性、逃逸的可能性、携带病原的风险、社会经济影响等。预筛查模块(即AS-ISK)由55个问题组成,其中前49个问题为基础风险评估(basic risk assessment, BRA),分为生物地理/历史(总分范围-4~23)和生物/生态(总分范围为-17~43)2部分,剩余6个问题为气候变化评估(climate change assessment, CCA)(总分范围为-12~12)(Copp *et al.*, 2005)。

云斑尖塘鳢 *Oxyeleotris marmorata* (Bleeker), 又称笋壳鱼,原产于马来西亚、印度尼西亚等东南亚地区,是柬埔寨、泰国、越南等主产国的大宗出口水产品(Cheah *et al.*, 1994)。云斑尖塘鳢于1980年左右引入我国,主产区包括广东、海南和福建地区,消费市场主要在江苏、浙江、北京、陕西、四川等省市(张邦杰等, 2004)。云斑尖塘鳢已在海南和台

湾建立自然种群(余梵冬等,2018)。但云斑尖塘鳢的入侵性强弱及生态和社会经济影响尚不清楚。因此,本研究利用 ENSARS 和 MaxEnt 对云斑尖塘鳢的生态风险和适生区进行评估,理清外来水产种在养殖过程中存在风险的环节,以期作为引种和养殖管理提供决策支持。

1 研究方法

1.1 评估物种与研究区域

云斑尖塘鳢是暖水性鱼类,最适水温为 22~28℃。原产地位于 18.9°S~20.1°N 的马来西亚半岛、中南半岛、菲律宾和印度尼西亚地区(Froese & Pauly,2022)。根据柯本气候分类系统,云斑尖塘鳢原产地的气候类型为 Af(热带+湿润)、Aw(热带+冬季干旱)、Cwa(暖温带+冬季干旱+夏季炎热)(Kottek *et al.*,2006)。因此,本研究选择与云斑尖塘鳢气候相似的南部生态区为风险评估区域,包括西藏(部分地区)、四川、重庆、湖北(部分地区)、湖南、江西、江苏(部分地区)、上海、浙江、福建、广东、广西、贵州、云南、海南及台湾等省(自治区、直辖市)(Abell *et al.*,2008; Kottek *et al.*,2006)。

1.2 风险分析与统计

首先,利用 AS-ISK 对云斑尖塘鳢进行入侵性筛查。根据前期研究结果,南部生态区的 BRA 的风险阈值为 12.5,用该数值区分云斑尖塘鳢在南部生态区的风险等级(韦慧等,2022)。置信因子(confidence factor, CF) $CF = \sum (CL_{Q_i}) / (4 \times N_q)$ ($i = 1, \dots, 55$), CL_{Q_i} 表示每个问题的置信度,4 表示最高置信度, N_q 表示问题的数量。置信因子范围 0.25~1.00。分别回答 ENSARS 中路径、设施、生物、社会经济及病原模块中的问题,用平均分来总结评估结果和置信度,风险等级分为低风险[0~0.8)、中度低风险[0.8~1.6)、中风险[1.6~2.4)、中度高风险[2.4~3.2)、高风险[3.2~4.0)。置信度分为低(0)、中(1)、高(2)和极高(3)(Copp *et al.*,2016)。评估人为本文前 2 位作者,第二作者完成评估后,第一作者对评估结果进行审查和更正。

采用基于最大熵值法生态位模型(MaxEnt)对云斑尖塘鳢在中国的适生区进行分析(Phillips & Dudik,2008)。利用全球生物多样性信息网络(global biodiversity information facility, GBIF)、世界鱼类数据库(Fishbase)等全球物种信息网站、已发

表文献及实地调查,收集云斑尖塘鳢在全球的分布信息。用 R 中的 spThin 软件包筛选出距离大于 10 km 的分布点,最终得到 155 个分布点,其中中国境内共有 25 个分布点(Aiello-Lammens *et al.*,2015)。气候数据从 Worldclim (<http://www.worldclim.org>) 下载空间分辨率为 2.5 arc minutes (5 km×5 km) 的 19 个气候因子。

为避免气候因子间的共线性问题,在 SPSS 20.0 中对 19 个环境因子进行 Pearson 相关性分析,保留所有 Pearson 相关性系数<0.80 的气象数据,对于相关性大于 0.8 的环境因子由 MaxEnt 分析得到的贡献率来决定,留取贡献较大的环境因子。最终筛选出 11 个气候因子数据:年平均温度(Bio1)、年均日较差(Bio2)、等温性(Bio3)、温度季节性变动系数(Bio4)、最冷月份最低温度(Bio6)、多年平均降水量(Bio12)、最湿月份降水量(Bio13)、最干月份降水量(Bio14)、降水量季节性变动系数(Bio15)、最干季度降水量(Bio17)、最暖季度降水量(Bio18)。

将云斑尖塘鳢的分布和环境数据导入模型,随机选取 75% 的分布点作为训练集,25% 作为测试集,其他为软件默认参数,输出文件为 ASCII 栅格图层。利用 ArcMap 的格式转换工具将预测结果 ASCII 格式转化为 RASTER 格式,再利用空间分析工具的重分类功能设定阈值(即适合度指数, suitable index, SI)用于划分适生区等级, $0 \leq SI < 0.06$ 为不适生区, $0.06 \leq SI < 0.23$ 为低适生区, $0.23 \leq SI < 0.45$ 为中适生区, $0.45 \leq SI < 0.7$ 为中高适生区, $SI > 0.7$ 为高适生区(赵浩翔等,2022)。

2 结果

2.1 云斑尖塘鳢的入侵性筛查

根据 AS-ISK 评估结果,风险阈值为 12.5 (韦慧等,2022)。在当前气候变化背景下,云斑尖塘鳢在南部生态区具有较高的入侵风险(表 1)。其中,在“生物地理/历史”部分,“是否在别处入侵”得分较高;在“生物/生态”部分,“不受欢迎(或续存)的特征”“资源开采”和“耐受性特征”得分较高。BRA 及 BRA+CCA 结果的置信度为中等水平。除“是否在别处入侵”“资源开采”“不受欢迎(或续存)的特征”和“气候变化”答案的置信度为中到低水平外,其余皆为中到高水平。

表 1 云斑尖塘鳢在南部生态区的 AS-ISK 评估结果
Table 1 The result of risk assessment for *O. marmorata* using AS-ISK

评估项目 Assessment item	评估的特征 Characteristics for assessment	分数 Score	置信因子 Confidence factor
基础评估 Basic risk assessment (BRA)	A.生物地理/历史 A. Biogeography/historical	驯化/栽培 Domestication/cultivation	2.0
		气候、分布及引入风险 Climate, distribution and introduction risk	2.0
		是否在别处入侵 Invasive elsewhere	4.5
		合计 Total	8.5
	B.生物/生态 B. Biology/ecology	不受欢迎(或续存)的特征 Undesirable (or persistence) traits	6.0
		资源开采 Resource exploitation	5.0
		繁殖 Reproduction	0.0
		扩散机制 Dispersal mechanisms	0.0
		耐受性特征 Tolerance attributes	5.0
		合计 Total	16.0
气候变化评估 Climate change assessment (CCA)	C.气候变化 C. Climate change	气候变化 Climate change	12.0
总结 Outcome	BRA 分数 BRA Score		24.5
	CCA 分数 CCA Score		12.0
	BRA+CCA 分数 BRA+CCA Score		36.5

2.2 云斑尖塘鳢在养殖过程中的入侵风险

ENSARS 评估结果显示,云斑尖塘鳢在 5 个模块的平均得分为 1.92,说明云斑尖塘鳢在南部生态区养殖过程中的生态风险为中等水平(表 2)。

生物体模块的平均得分为 1.99,说明云斑尖塘鳢在养殖过程中的入侵性为中等水平。其中,在传入(分数为 1.67)、定殖(分数为 1.94)、传播(分数为 2.25)和产生影响(分数为 2.12)部分均为中风险。

传染源模块的平均得分为 2.43,为中度高风险。其中,以云斑尖塘鳢为寄主的病原体传入风险评估区的风险为中等水平(分数为 1.57),而病原体在风险评估区域定殖(分数为 3.00)、传播(分数为 2.67)和产生影响(分数为 2.50)为中度高风险。

设施模块的平均得分为 1.82,说明云斑尖塘鳢在养殖设施中时产生的生态风险为中等水平。其中,云斑尖塘鳢及以其为寄主的病原体从养殖设施中逃逸的风险为中等水平(分数分别为 1.83 和 1.80)。

途径模块的平均得分为 2.02,说明云斑尖塘鳢及以其为寄主的病原体在运输、养殖和商品贸易过程中产生的风险为中等水平。其中以云斑尖塘鳢为寄主的病原体在引入过程中逃逸的风险为中度低水平(分数为 1.56);在养殖过程中逃逸(分数为 2.00)及因其商品贸易模式(即最终产品形式和用

途)产生的风险(分数为 2.50)为中等水平。

社会-经济模块的平均分为 1.25,说明云斑尖塘鳢对社会-经济产生影响为中度风险。其中云斑尖塘鳢对市场产生影响为低风险(分数为 0.63),因清除云斑尖塘鳢而产生风险为中等水平(分数为 2.00),对整个地区或全国的社会经济产生影响为中度低风险(分数为 1.11)。

置信度水平的范围为 1.00~1.75,置信度为中等水平。

2.3 云斑尖塘鳢在中国的适生区分析

云斑尖塘鳢在 MaxEnt 模型训练集的 AUC 值为 0.989,测试集的 AUC 值为 0.985,说明预测精度较高。云斑尖塘鳢的适生区主要分布在广东、广西、海南、台湾、四川、重庆、福建和西藏小部分地区(表 3)。其中高适生区分布在台湾、广西、广东、海南,分别占该省(自治区)面积的 28.71%、2.41%、14.57%、24.69%;中高适生区分布在台湾、广西、广东、海南、福建,分别占该省(自治区)面积的 12.69%、8.43%、15.67%、49.94%、0.11%;中适生区分布在台湾、广西、广东、海南、福建、四川、西藏,分别占该省(自治区)面积的 12.06%、27.84%、19.38%、19.75%、1.36%、0.75%、0.43%;低适生区主要分布在广西、广东、台湾、四川、海南、福建、重庆、云南、贵州、西藏。

表 2 用 ENSARS 评估云斑尖塘鳢在养殖过程中的入侵风险
Table 2 The result of risk assessment for *O. marmorata* in aquaculture using ENSARS

模块 Module	风险等级 Risk rank	总体平均分 Overall mean score	平均 Mean score			
生物体 Organism	中风险 Medium	1.99 (1.10)	传入 Introduction 1.67 (1.00)	定殖 Establishment 1.94 (1.17)	传播 Dispersal 2.25 (1.00)	影响 Impact 2.12 (1.24)
传染源 Infectious agent	中度高风险 Moderately high	2.43 (1.45)	传入 Introduction 1.57 (1.25)	定殖 Establishment 3.00 (1.75)	传播 Dispersal 2.67 (1.67)	影响 Impact 2.50 (1.13)
设施 Facility	中风险 Medium	1.82 (1.17)	目标物种逃逸 Target organism escape 1.83 (1.33)	非目标物种逃 逸 Non-target organism escape 1.80 (1.00)		
途径模块 Pathway	中风险 Medium	2.02 (1.15)	进口 Import 1.56 (1.11)	养殖 Farming 2.00 (1.33)	最终用途 Destination use 2.50 (1.00)	
社会-经济 Socio-economic	中度低风险 Moderately low high	1.25 (1.00)	影响市场 Market impacts 0.63 (1.00)	清除成本 Eradication costs 2.00 (1.00)	对地区或全国的影响 Local/national scale impacts 1.11 (1.00)	

括号里的数值表示置信度。
Confidence levels were in parentheses.

表 3 云斑尖塘鳢的适生区面积占比
Table 3 The proportion area of the potential distribution of *O. Marmorata*

地区 Province	不适生区 Unsuitable region	低适生区 Low suitable region	中适生区 Medium suitable region	中高适生区 Medium to high suitable region	高适生区 High suitable region
台湾 Taiwan	28.39	18.15	12.06	12.69	28.71
广西 Guangxi	24.11	37.21	27.84	8.43	2.41
广东 Guangdong	18.61	31.76	19.38	15.67	14.57
海南 Hainan	0.00	5.61	19.75	49.94	24.69
四川 Sichuan	78.20	21.05	0.75	0.00	0.00
西藏 Tibet	98.87	0.66	0.43	0.03	0.00
福建 Fujian	81.92	16.61	1.36	0.11	0.00
重庆 Chongqing	77.11	22.89	0.00	0.00	0.00
云南 Yunnan	98.32	1.55	0.13	0.00	0.00
贵州 Guizhou	98.69	1.31	0.00	0.00	0.00
全国 Nationwide	94.77	2.95	1.14	0.65	0.48

3 讨论

3.1 云斑尖塘鳢的入侵性及其在养殖中的生态风险

通过早期预警从源头阻止高风险外来物种进入自然水域是降低防控成本的有效手段 (Simberloff, 2014)。本研究结果显示,云斑尖塘鳢在南部生态区具有较强的入侵性,但在养殖过程中的生态风险为中等水平。研究发现,外来鱼类通常是中小体型,具有食性杂、寿命短、性成熟早、高繁殖力、大卵径、产卵方式多样、较长的产卵季节及亲代抚育行为等性状,这些性状使外来鱼类能够获取充足的资源,提高其对不良环境的耐受能力,实现定殖和种群扩张 (Cucherousset *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2017)。云斑尖塘鳢属于中型鱼类,偏肉食性,平均体长约为 30 cm,一年可长 12~18 cm (郑文彪和潘

炯华, 1989)。另一方面,云斑尖塘鳢具有较高的繁殖力和繁殖频率,每次产卵约 5000~25000 粒,每年产卵 2~3 次,雄鱼有守卫鱼巢的行为,可提高幼鱼的成活率 (Froese & Pauly, 2022)。云斑尖塘鳢对饥饿和低氧有一定耐受性,且种群恢复能力较强,小种群倍增时间小于 15 个月 (郑文彪和潘炯华, 1989; Froese & Pauly, 2022)。这些特征有利于其快速适应新环境,实现种群扩张。气候是决定外来鱼类在新生境中是否能够定殖的主要环境因子 (Comte *et al.*, 2013)。根据 MaxEnt 预测结果,云斑尖塘鳢的高度适生区分布在台湾、广西、广东和海南,这些区域与该鱼的主产区重叠,气候类型与其原产地相似 (Kottek *et al.*, 2006),说明云斑尖塘鳢在这 4 个省 (自治区) 具有较高的入侵风险。

外来水产物种是否携带和传播病原体是风险

分析的重点之一(Tarkan *et al.*, 2020)。在进境过程中,《中华人民共和国进出境动植物检疫法》、《中华人民共和国动物防疫法》、《中华人民共和国渔业法》和《水产苗种管理办法》规定从境外引进水产苗种或国内异地引进水产苗种时,必须经过渔业行政管理部门审批,执行严格的检疫检查,合格后才能引种、运输和销售。这些措施能够很大程度降低病原体随引种目标传入的可能性。但经过长时间的养殖,外来水产种容易感染本地常见或新发病原体(Ju *et al.*, 2020)。云斑尖塘鳢是多种常见水产病害的宿主,包括指环虫、锚头蚤、车轮虫和小瓜虫等寄生虫病(潘淦等, 2009),嗜水气单胞菌、舒氏气单胞菌等细菌性疾病(张德锋等, 2015),云斑尖塘鳢虹彩病毒和弹状病毒等病毒性疾病(王庆等, 2010; Fu *et al.*, 2017)。其中,由双核糖核酸病毒、蛙病毒属虹彩病毒、嗜水气单胞菌和真菌引起的流行性溃疡综合征是云斑尖塘鳢最严重的疾病之一,云斑尖塘鳢虹彩病毒和弹状病毒是近年来新发现的病毒,两者可交互感染(王庆等, 2010; Fu *et al.*, 2017)。近年来,病原体检测技术具有便携式,操作简单等特点,适合养殖户等广大基层工作人员使用(徐晓丽等, 2013)。《中华人民共和国渔业法》和《水产养殖质量安全管理规定》也规定了渔业部门应当加强对养殖技术的指导和病害防治工作。这些措施有利于及时发现病原体,降低其在风险评估区域定殖和传播的风险。部分省市(如江苏省)出台的池塘养殖尾水排放强制性标准主要关注总氮、总磷、悬浮物等富营养污染物,很少对病原体的消杀和处理进行规定,可能会增加病原体逃逸出养殖设施的风险。这些现状说明,严格的检疫制度和精确的检测技术能够对病原体进行早期预警,降低其传入风险评估地区的风险。但养殖过程中不规范的管理可能会使病原体逃逸出养殖设施,增加其对当地的渔业资源和生态环境产生影响的危险。

养殖设施是否能够阻止外来水产种及病原体逃逸到自然水域,是评估其是否会对生态系统和社

会经济产生危害的重要方面(Ju *et al.*, 2020)。我国水产养殖模式以粗放型为主,池塘养殖是我国水产养殖的主要模式。到2021年底,全国淡水池塘养殖面积为2.6万hm²,占总面积的52.26%,其次是水库养殖,占28.88%(农业农村部渔业渔政管理局, 2022)。养殖装备大多集中于增氧和投饲,很少

配备针对鱼病和水质监测的设备,大多数养殖尾水直接排入自然水域,难以对养殖目标及病原体逃逸进行监测和阻拦(程果锋等, 2019; 黄一心等, 2020)。另一方面,池塘、水库等粗放型养殖设施对自然灾害的抵御力较弱,养殖的水产动物容易逃逸至自然水域(Ju *et al.*, 2020)。2016年,农业农村部印发《水产养殖灾后恢复生产技术措施要点》,主要对养殖设施检修、水质管理、苗种调查和疫病监测等方面的技术措施进行了说明,但未见对防范养殖目标逃逸进行指导。例如,2016年受洪水影响,湖北省网箱养殖的外来鲟鱼和杂交鲟逃逸到长江中下游干流中(高宇等, 2017)。生态工程化循环水池塘养殖模式、池塘循环水槽养殖和工厂化养殖,能够实现养殖水体净化和循环,也能在一定程度上防止养殖目标和病原体逃逸到野外,但这些新兴养殖模式和技术尚未得到全国性的推广和应用(黄一心等, 2020)。云斑尖塘鳢的养殖模式主要是池塘和水库网箱养殖(余伟暖等, 2007),因此逃逸至自然水域中的可能性较高。

3.2 ENSARS 在中国的适用性

ENSARS的问题主要包括外来水产种的生物生态学特征、病原体传入和逃逸的可能性、养殖设施防范外来水产种和病原体逃逸的可能性、在引入、养殖和运输过程中外来水产种和病原体逃逸的可能性和对社会经济的影响。尽管ENSARS是基于欧洲的水产养殖情况开发的,但这些问题是水产养殖领域常见的问题,几乎涉及了外来水产种和病原体所有可能产生风险的环节,与我国学者提出的多指标综合评价法指标中设计的内容有一定的相似性(窦寅等, 2011; 马英等, 2009; 徐旭丹等, 2022)。因此,ENSARS通用性较强,在欧洲以外的其他区域也适用(Tarkan *et al.*, 2020)。但ENSARS的语言为英语,提问方式是按西方确定性文化逻辑,与中国的模糊性哲学思维有所差异(谢幼田, 1986; 章忠民, 2013)。如在“社会经济模块”中,ENSARS将经济损失程度分为5个等级,分别定量为小于1万欧元,1万~10万欧元,10万~100万欧元,100万~1000万欧元。但在实际评估过程中,在国内很少有关于外来物种直接或间接经济损失的定量估计,因此,本研究主要通过专家咨询的方式对云斑尖塘鳢的经济损失进行间接评估,问题的答案置信度较低。因此在评估过程中需要结合中国

的实际情况来理解该框架中的问题(Copp *et al.*, 2021)。

3.3 结论

本研究利用 ENSARS 对云斑尖塘鳢在南部生态区水产养殖过程中的风险进行了分析,发现该鱼在南部生态区具有较强的入侵性。云斑尖塘鳢的主产区与其适生区高度重叠,逃逸到自然水域后容易建立自然种群,因此需要加强养殖逃逸管理。在此基础上,结合我国水产养殖的情况,提出针对外来水产种的管理建议:(1)进境过程中全程密封运输,运输车辆、容器、水等直接接触外来水产种的工具有要严格消杀后才能继续使用或丢弃。运输和接货人员接触外来水产种或暂养设备时,要进行消杀后才能离开隔离场。(2)养殖过程中要严格执行隔离场动物防疫消杀及尾水处理规定,定时检查隔离和消杀设备,按时执行消杀计划,防止外来水产种和病原逃逸。在隔离场附近设立监测点,定期监测环境中是否存在外来水产种和病原逃逸。加强应对台风等自然灾害的预案和演练,养殖设备应使用牢固性好的材料,降低自然灾害对养殖设施的破坏。(3)在外来水产种的商业应用过程中,品种选育标准除了具有较好的生长和抗病性能外,还需具备较低的环境影响(如单性不育品种)的特征。外来水产种的养殖范围应限定在有严格隔离条件的养殖场。不销售活体,采用冻鱼片等商品进行销售,并严格执行检疫程序。

致谢:谨以此文纪念国际著名鱼类学家 Gordon Copp 教授(1956.02—2023.07)。感谢中国水产科学研究院珠江水产研究所巩华副研究员提供鱼类疫病方面的信息。

参考文献

程果锋,刘兴国,王建,车轩,2019.上海池塘水产养殖设施和模式现状调查. *科学养鱼* (11): 1-2.

窦寅,吴军,黄成,2011.外来鱼类入侵风险评估体系及方法. *生态与农村环境学报*, 27(1): 12-16.

高宇,刘鉴毅,张婷婷,冯广朋,张涛,杨刚,庄平,2017.水产养殖逃逸对长江外来种入侵影响:以鲟鱼为例. *生态学杂志*, 36(6): 1739-1745.

黄一心,田昌凤,孟菲良,鲍旭腾,巩沐歌,丁建乐,梁澄,周海燕,2020.中国池塘养殖设施装备历史,现状和发展

研究. *渔业现代化*, 47(3): 10-15.

马英,熊何健,林源洪,唐森铭,2009.外来海洋物种入侵风险评估体系的构建. *水产学报*, 33(4): 617-623.

农业农村部渔业渔政管理局,2022.2021年全国渔业经济统计公报. (2022-07-21) [2023-04-27]. http://www.moa.gov.cn/xw/bmdt/202207/t20220721_6405222.htm.

潘淦,仇登高,池金泉,黎结玲,2009.泰国笋壳鱼常见疾病及其防治. *渔业致富指南*, 12(3): 56-57.

王庆,曾伟伟,刘春,李凯彬,常藕琴,潘加雄,石存斌,吴淑勤,2010.云斑尖塘鳢肿大细胞病毒属虹彩病毒的分离与鉴定. *水生生物学报*, 34(6): 1150-1156.

韦慧,刘超,胡隐昌,汪学杰,牟希东,顾党恩,徐猛,房苗,2022.基于外来水生生物风险筛选工具评估外来观赏鱼在中国的入侵风险:以甲鲈科鱼类为例. *生态与农村环境学报*, 38(4): 494-503.

谢幼田,1986.从老子宇宙观谈中国哲学思维的模糊性. *求索* (3): 104-105.

徐海根,2011.外来物种环境风险评估与控制研究.北京:科学出版社.

徐晓丽,李贺密,崔宽宽,姚学良,任涵玮,郑艳坤,张勤,2013.三种现场快速检测技术在水生动物疾病中的应用. *中国水产* (2): 70-72.

徐旭丹,刘强,黄伟,杜萍,寿鹿,曾江宁,2022.外来养殖鱼类的入侵风险评估及防控对策——以尼罗罗非鱼为例. *生物安全学报*, 31(3): 278-288.

余梵冬,王德强,顾党恩,胡隐昌,朱海,佟延南,李芳远,申志新,2018.海南岛南渡江鱼类种类组成和分布现状. *淡水渔业*, 48(2): 58-67.

余伟暖,林明辉,黄志斌,2007.泰国笋壳鱼工厂化养殖及病害防治技术. *科学养鱼* (12): 29.

张邦杰,梁仁杰,张瑞瑜,李本旺,莫介化,李春枝,黄永强,2004.尖塘鳢(笋壳鱼)的生物学及养殖概况. *淡水渔业*, 33(6): 58-61.

张德锋,刘礼辉,李宁求,任燕,林强,石存斌,吴淑勤,2015.我国南方地区鱼源气单胞菌不同种类的流行特征. *水产科学*, 34(11): 673-682.

章忠民,2013.确定性的寻求与本质主义的兴衰. *哲学研究* (1): 81-86.

赵浩翔,冼晓青,郭建洋,张桂芬,王瑞,刘万学,万方浩,2022.基于优化的MaxEnt模型预测海灰翅夜蛾潜在地理分布区. *植物保护*, 28(6): 16-22.

郑文彪,潘炯华,1989.泰国褐塘鳢的生物学及人工繁殖试验. *淡水渔业* (1): 3-5.

ABELL R, THIEME M L, REVENGA C, BRYER M, KOTTELAT M, BOGUTSKAYA N, COAD B, MANDRAK N, BALDERAS S C, BUSSING W, 2008. Freshwater ecoregions

- of the world: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *Bioence*, 58(5): 403–414.
- AIELLO-LAMMENS M E, BORJA R A, RADOSAVLJEVIC A, VILELA B, ANDERSON R P, 2015. spThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography*, 38(5): 541–545.
- CHEAH S H, SENOO S, LAM S Y, ANG K G, 1994. Aquaculture of a high-value freshwater fish in Malaysia: the marble or sand goby (*Oxyeleotris marmoratus*, Bleeker). [2023–04–09]. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:83423471>.
- COMTE L, BUISSON L, DAUFRESNE M, GRENOUILLET G, 2013. Climate-induced changes in the distribution of freshwater fish: observed and predicted trends. *Freshwater Biology*, 58(4): 625–639.
- COPP G H, GARTHWAITE R, GOZLAN R E, 2005. Risk identification and assessment of non-native freshwater fishes: a summary of concepts and perspectives on protocols for the UK. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(4): 371–373.
- COPP G H, GODARD M J, RUSSELL I C, PEELER E J, GHERARDI F, TRICARICO E, MIOSSEC L, GOULLETQUER P, ALMEIDA D, BRITTON J R, VILIZZI L, MUMFORD J, WILLIAMS C, READING A, REES E M A, MERINO-AGUIRRE R, 2016. A preliminary evaluation of the European non-native species in aquaculture risk assessment scheme applied to species listed on annex IV of the EU alien species regulation. *Fisheries Management and Ecology*, 23(1): 12–20.
- COPP G H, RUSSELL I C, PEELER E J, GHERARDI F, TRICARICO E, MACLEOD A, COWX I G, NUNN A D, OCCHIPINTI-AMBROGI A, SAVINI D, 2014. European non-native species in aquaculture risk analysis scheme—A summary of assessment protocols and decision support tools for use of alien species in aquaculture. *Fisheries Management & Ecology*, 23(1): 1–11.
- COPP G H, VILIZZI L, WEI H, LI S, PIRIA M, AL-FAISAL A J, ALMEIDA D, ATIQUÉ U, AL-WAZZAN Z, BAKIU R, BASIC T, BUI T D, CANNING-CLODE J, CASTRO N, CHAICHANA R, COKER T, DASHINOV D, EKMEKCI F G, EROS T, FERINCZ A, FERREIRA T, GIANNETTO D, GILLES A S, JR, GLOWACKI L, GOULLETQUER P, INTERESOVA E, IQBAL S, JAKUBCINOVA K, KANONGDATE K, KIM J-E, KOPECKY O, KOSTOV V, KOUTSIKOS N, KOZIC S, KRISTAN P, KURITA Y, LEE H-G, LEUVEN R S E W, LIPINSKAYA T, LUKAS J, MARCHINI A, GONZALEZ MARTINEZ A I, MASSON L, MEME-DÉMIN D, MOGHADDAS S D, MONTEIRO J, MUM-LADZE L, NADDAFI R, NAVODARU I, OLSSON K H, ONIKURA N, PAGANELLI D, PAVIA R T, J R, PERDIKARIS C, PICKHOLTZ R, PIETRASZEWSKI D, POVZ M, PREDA C, RISTOVSKA M, ROSIKOVA K, SANTOS J M, SEMENCHENKO V, SENANAN W, SIMONOVIC P, SMETI E, STEVOVE B, SVOLIKOVA K, TA K A T, TARKAN A S, TOP N, TRICARICO E, UZUNOVA E, VARDAKAS L, VERREYCKEN H, ZIEBA G, MENDOZA R, 2021. Speaking their language-development of a multilingual decision-support tool for communicating invasive species risks to decision makers and stakeholders. *Environmental Modelling & Software*, 135: 04900.
- CUCHEROUSSET J, COPP G H, FOX M G, STERUD E, VAN KLEEF H H, VERREYCKEN H, ZAHORSKA E, 2009. Life-history traits and potential invasiveness of introduced pumpkinseed *Lepomis gibbosus* populations in north-western Europe. *Biological Invasions*, 11(9): 2171–2180.
- EPPO, 1997. Guidelines in pest risk analysis—Pest risk assessment scheme. *EPPO Bulletin*, 27: 281–305.
- FAO/IPPC, 1995. *Guidelines for pest risk analysis ISPM2*. Rome: FAO.
- FAO/IPPC, 2004. *Pest risk analysis for quarantine pests ISPM11*. Rome: FAO.
- FROESE R, PAULY D, 2022. *FishBase*. [2023–04–07]. <http://www.fishbase.org>.
- FU X, LIN Q, LIANG H, LIU L, HUANG Z, LI N, SU J, 2017. The biological features and genetic diversity of novel fish rhabdovirus isolates in China. *Archives of Virology*, 162(9): 2829–2834.
- GOZLAN R E, 2017. Interference of non-native species with fisheries and aquaculture. *Springer International Publishing*. [2023–04–07]. DOI: 10.1007/978-3-319-45121-3_8.
- GU D E, HU Y C, XU M, WEI H, LUO D, YANG Y X, YU F D, MU X D, 2018. Fish invasion in the river systems of Guangdong Province, South China: several possible indicators of their success. *Fisheries Management and Ecology*, 25(1): 44–53.
- ICES, 1984. *Report of the working group on assessment of demersal stocks in the Baltic*. Copenhagen: ICES.
- JU R, LI X, JIANG J, WU J, LIU J, STRONG D R, LI B, 2020. Emerging risks of non-native species escapes from aquaculture: call for policy improvements in China and other developing countries. *Journal of Applied Ecology*, 57(1): 85–90.
- KOHLER C C, STANLEY J G, 1984. *Implementation of a re-*

- view and decision model for evaluating proposed exotic fish introductions in Europe and North America. Rome: European Inland Fisheries Advisory Commission Symposium.
- KOTTEK M, GRIESER J, BECK C, RUDOLF B, RUBEL F, 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15(3): 259–263.
- LI S, WEI H, VILIZZI L, ZHAN A, COPP G H, 2020. The future of legislation, policy, risk analysis, and management of non-native freshwater fishes in China. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2): 149–166.
- LIN Y, GAO Z, ZHAN A, 2015. Introduction and use of non-native species for aquaculture in China: status, risks and management solutions. *Reviews in Aquaculture*, 7(1): 28–53.
- LITTLE D C, BUNTING S W, 2016. 5-Aquaculture technologies for food security// MADRAMOOTOO C. *Emerging technologies for promoting food security*. Oxford: Woodhead Publishing: 93–113.
- LIU C, COMTE L, OLDEN J D, 2017. Heads you win, tails you lose: life-history traits predict invasion and extinction risk of the world's freshwater fishes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(4): 773–779.
- PHILLIPS S J, DUDIK M, 2008. Modeling of species distributions with MaxEnt: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, 31(2): 161–175.
- ROY H E, RABITSCH W, SCALERA R, STEWART A, GALLARDO B, GENOVESI P, ESSL F, ADRIAENS T, BACHER S, BOOY O, BRANQUART E, BRUNEL S, COPP G H, DEAN H, D'HONDT B, JOSEFSSON M, KENIS M, KETTUNEN M, LINNAMAGI M, LUCY F, MARTINOU A M N, NENTWIG W, NIETO A, PERGL J, PEYTON J, ROQUES A, SCHINDLER S, SCHÖNROGGE K, SOLARZ W, STEBBING P D, TRICHKOVA T, VANDERHOEVEN S, VAN VALKENBURG J, ZENETOS A, 2018. Developing a framework of minimum standards for the risk assessment of alien species. *Journal of Applied Ecology*, 55(2): 526–538.
- SIMBERLOFF D, 2014. Biological invasions: what's worth fighting and what can be won? *Ecological Engineering*, 65: 112–121.
- TARKAN A S, YOÇURTÇUOĞLU B, EKMEKÇİ F G, CLARKE S A, WOOD L E, VILIZZI L, COPP G, 2020. First application in Turkey of the European Non-native species in aquaculture risk analysis scheme to evaluate the farmed non-native fish, striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Fisheries Management and Ecology*, 27(2): 123–131.
- VILIZZI L, COPP G H, HILL J E, CLARKE S, 2021. A global-scale screening of non-native aquatic organisms to identify potentially invasive species under current and future climate conditions. *Science of the Total Environment*, 788: e47868.

(责任编辑:郭莹)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.012

独蒜兰提取物对植物病原真菌的抑菌活性

傅佳蕊¹, 刘世林¹, 牛泽岳¹, 郑丽璠^{2*}, 徐会有¹, 倪林^{1*}

¹福建农林大学植物保护学院, 福建 福州 350002; ²福建医科大学附属协和医院药理学部, 福建 福州 350001

摘要:【目的】研究独蒜兰假鳞茎乙醇提取物对植物病原真菌的抑菌作用, 为植物源杀菌剂的开发提供依据。【方法】采用菌丝生长速率法, 研究独蒜兰假鳞茎乙醇提取物对 15 种植物病原菌的抑制活性; 以西瓜尖孢镰刀菌作为供试菌, 进一步研究该提取物对病原真菌的菌丝干重、细胞膜、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)等的影响。【结果】独蒜兰假鳞茎提取物对辣椒疫霉病菌、西瓜尖孢镰刀菌、番茄灰霉病菌和非洲隐地疫霉菌的抑菌效果明显, 其 EC₅₀ 值分别为 0.849、0.782、0.813 和 1.161 mg · mL⁻¹; 经独蒜兰提取物处理后的西瓜尖孢镰刀菌菌丝干重随着药剂浓度的增加而减少; 细胞膜丙二醛含量和相对电导率增加; 菌丝体细胞内 CAT、POD 和 SOD 3 种保护酶活性增加。【结论】独蒜兰假鳞茎提取物对植物病原真菌具有较好的抑菌活性, 其抑菌作用可能与其干扰菌丝生长、使菌丝细胞膜正常功能受损等有关。

关键词: 独蒜兰; 提取物; 植物病原菌; 抑菌活性



开放科学标识码
(OSID 码)

Antifungal activity of *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe extract against plant pathogenic fungi

FU Jiarui¹, LIU Shilin¹, NIU Zeyue¹, ZHENG Lijun^{2*}, XU Huiyou¹, NI Lin^{1*}

¹College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

²Department of Pharmacy, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract: 【Aim】 This study aimed to investigate the inhibitory effects of *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe ethanol extracts on plant pathogenic fungi and to provide a basis for the development of plant-derived fungicides. 【Method】 The mycelial growth rate method was used to investigate the inhibitory activity of the extract against 15 plant pathogenic fungi. The effects of the extract on the mycelial dry weight, cell membrane, catalase (CAT), peroxidase (POD), and superoxide dismutase (SOD) activities of pathogenic fungi were further studied using the fungus *Fusarium oxysporum* as the test strain. 【Result】 The *P. bulbocodioides* extract showed significant inhibitory effects on *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, and *Phytophthora cryptogea*, with EC₅₀ values of 0.849, 0.782, 0.813, and 1.161 mg · mL⁻¹, respectively. The mycelial dry weight of *F. oxysporum* decreased with increasing extract concentrations. The malondialdehyde content of the cell membrane and relative conductivity increased. The activities of CAT, POD, and SOD, three protective enzymes in mycelia, increased. 【Conclusion】 Extracts from the pseudobulb of *P. bulbocodioides* had good inhibitory activity against plant pathogenic fungi. This inhibitory effect may be related to its interference with mycelial growth and damage to the normal functions of the mycelial cell membrane.

Key words: *Pleione bulbocodioides*; plant extracts; plant pathogenic fungi; antifungal activity

独蒜兰 *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe 为兰科 Orchidaceae 独蒜兰属 *Pleione* 植物, 在我国云南、四川、台湾等地有分布。独蒜兰生长于海拔 900 ~ 3600 m 的区域, 常常附生在腐败的高大树干上或生长在富含腐殖质的林下土壤及苔藓覆盖的岩石上(吴沙沙等, 2019; Komínek *et al.*, 2019)。独蒜兰作为传统中药有着悠久的历史, 与云南独蒜兰 *P. yunnanensis* Rolfe 一起收录为中国药典(2010 版)中的药用植物, 是《本草拾遗》中生药“山慈菇”的 2 种基原植物(国家药典委员会, 2015; 王国凯等,

2020),称为“冰球子”,其干燥假鳞茎入药,具有治疗痈肿疔毒、瘰癧痰核、蛇虫咬伤、癰疽痞块等功效(李琦等,2014;荣飞等,2020)。吴沙沙等(2020)发现,独蒜兰假鳞茎乙醇提取物对植物病原真菌有较好的抑菌作用。因此,本文采用菌丝生长速率法,评价独蒜兰假鳞茎乙醇提取物对 15 种植物病原菌的抑制活性,并以西瓜尖孢镰刀菌作为供试菌,进一步探讨该提取物对病原真菌生理生化方面的影响,为独蒜兰的开发利用以及植物源杀菌剂的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

独蒜兰假鳞茎购买于福建医科大学附属协和医院药剂科,经福建农林大学林学院邹小兴副教授鉴定为兰科 Orchidaceae 独蒜兰属 *Pleione* 独蒜兰 *Pleione bulbocodioides* (Franch.) Rolfe,样品保存于福建农林大学植物保护学院农药与制药工程系。

供试菌株由福建农林大学生物农药与化学生物学重点实验室提供:番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* Persoon、水稻稻瘟病菌 *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc、芭乐炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.、苹果黑腐皮壳病菌 *Valsa mali* Miyabe et Yamada、辣椒疫霉病菌 *Phytophthora capsici* Leonian、油菜菌核菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary、禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum* Schwabe、非洲隐地疫霉菌 *Phytophthora cryptogea* Pethybridge & Lafferty、香蕉枯萎病 4 号小种 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4、瓜果腐霉菌 *Pythium aphanidermatum* (Eds.) Fitzp.、燕麦镰孢菌 *FusaHum graminearum* Sehwa、齐整小核菌 *Sclerotium rolfsii* Sacc、西瓜尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*、链孢粘帚霉病菌 *Gliocladium catenulatum* Gilm. et Abbott。

1.2 方法

1.2.1 供试样品抑菌活性测定 采用菌丝生长速率法(中国标准化研究院,2020;Fan,2020)评价独蒜兰粗提物对 15 种植物病原真菌的抑制活性。将独蒜兰假鳞茎粉碎成粗粉,称取 10 kg,用 80 L 75% 甲醇溶解,于 80 °C 水浴中加热回流提取 2 次,每次 2 h,提取液用纱布过滤,合并 2 次提取液,减压浓缩得浸膏 2.45 kg。将浸膏溶于 30 L 纯水中,选用 D101 大孔吸附树脂进行纯化,采用水(45 L)、10%(27 L)、30%(27 L)、60%(27 L)及 90%(27 L)乙

醇溶液依次洗脱,减压浓缩得各组分浸膏。称取 60%乙醇部位提取物 1 g,用 50%甲醇溶液溶解并定容至 10 mL,从中取 1 mL 溶液加入 99 mL PDA 培养基中,混匀后倒入培养皿中,制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含药平板。对照组则加入等量的 50%甲醇溶液。用孔径为 0.5 cm 的打孔器在菌丝外圈生长一致处打孔,接种到平板中央,每组设 3 个重复,于培养箱中培养 5 d(倪林等,2022)。抑菌率/% = (对照组菌落直径 - 处理组菌落直径)/(对照组菌落直径 - 0.5) × 100。

1.2.2 供试样品对 4 种病原菌的毒力测定 采用菌丝生长速率法,测定独蒜兰提取物对辣椒疫霉病菌、西瓜尖孢镰刀菌、番茄灰霉病菌和非洲隐地疫霉菌的毒力。将供试样品用甲醇溶解,采用二倍稀释法,配制成浓度为 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含药 PDA 培养基,按照 1.2.1 方法测定抑菌活性,采用 SPSS 22.0 软件分析处理试验数据,计算 EC_{50} 、回归方程及决定系数。

1.2.3 供试样品对菌丝干重的影响 将独蒜兰粗提物配制成终浓度为 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含药 PDB 培养基。用孔径 5 mm 的打孔器打取菌饼,取生长合适的西瓜尖孢镰刀菌,将 5 个菌饼接入培养基,设置不加药的蒸馏水作为空白对照。将培养基置于振荡培养箱中($110 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 28 °C),6 d 后收集培养基中的菌丝,每处理 3 个重复(倪林等,2022)。

1.2.4 供试样品对菌丝生理生化指标的影响 用孔径 0.5 cm 的打孔器取 5 个生长合适的西瓜尖孢镰刀菌菌饼于 PDB 培养液中,振荡培养 6 d,收集清洗菌丝,加入 50%甲醇溶液溶解后的独蒜兰提取物,处理浓度为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,以不加药液的无菌水作为空白对照。收集处理 1、6、12、18、24 h 后的菌丝, -20 °C 保存备用。取 0.4 g 各时间段处理的菌丝体于研钵中,加入 2 mL Tris-HCl 缓冲液,配置成菌丝提取液,于 4 °C 研磨, $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液保存备用(倪林等,2022)。上清液用于测量菌丝体丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量和保护酶活性等。

按照试剂盒(索莱宝生化试剂盒)测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的方法,取 1 mL 不同时间处理后的菌丝提取液,分别加入 5% $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ 和 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 反应, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,再加入

5 mL 5% H₂SO₄至完全溶解,在 240 nm 下测定光密度,计算 CAT 含量(张耀等,2021)。

按照试剂盒(索莱宝生化试剂盒)测定菌丝体内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的方法,取 1 mL 不同时间处理后的菌丝提取液,反应液总体积 3 mL,分别加入 0.05 mol · L⁻¹磷酸缓冲液、0.013 mol · L⁻¹Met 溶液、0.1 μmol · L⁻¹EDTA-Na₂溶液、0.075 mmol · L⁻¹ NBT 溶液、0.002 mmol · L⁻¹核黄素溶液混匀,加入不同处理组的酶提取液,设置对照组,测定 560 nm 下的光密度,计算 SOD 含量(段秋笛等,2022)。

按照试剂盒(索莱宝生化试剂盒)测定菌丝体内过氧化物酶(peroxidase, POD)活性的方法,取 100 μL 菌丝提取液于离心管中,分别加入 3 mL 0.05 mol · L⁻¹的磷酸缓冲液(pH5.5)、1 mL 1% H₂O₂、1 mL 0.05 mol · L⁻¹的愈创木酚溶液,震荡混匀后于 37 ℃下水浴加热反应 10 min,在 470 nm 处测定光密度,计算 POD 含量(程艳,2018)。

丙二醛含量的测定:使用硫代巴比妥酸法测定经供试品处理后的西瓜尖孢镰刀菌中丙二醛含量的变化。收集各处理组菌丝提取液 2 mL 于离心管中,加入 0.5% TBA 溶液,摇匀后煮沸 10 min,待溶液冷却后放入离心机中离心(8000 r · min⁻¹, 10

min)(辛泽团等,2013)。设置 0.5% TBA 溶液为空白对照,分别在 450、532、600 nm 处测定光密度。丙二醛含量/(nmol · g⁻¹) = 5 × [12.9 × ΔA₅₃₂ - ΔA₆₀₀ - 2.58 × ΔA₄₅₀]/W, W: 样本质量。

菌丝相对电导率的测定:用 5 mm 打孔器取 5 个菌龄 6 d 的西瓜尖孢镰刀菌菌饼接入含药的 PD 培养基中,振荡培养 6 d,收集、清洗、干燥菌丝,药液最终浓度为 1.00 mg · mL⁻¹,分别取 1 g 菌丝于 25 mL 药液中,处理 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 后,测量电导率,处理 2.5 h 后将菌丝体煮沸冷却,测定最终电导率(王志芳等,2019)。以蒸馏水为空白对照,设置 3 组重复。菌丝体的相对电导率/% = (某一时间的电导率/煮沸致死后的电导率) × 100。

2 结果与分析

2.1 独蒜兰提取物的抑菌活性

对抑菌率进行差异显著性分析,结果表明,1 mg · mL⁻¹独蒜兰提取物对 15 种植物病原真菌具有良好的抑菌活性(图 1),其中,对辣椒疫霉病菌、西瓜尖孢镰刀菌、番茄灰霉病菌和非洲隐地疫霉菌的抑菌效果最为显著,抑制率分别为 65.1%、76.2%、67.4%、64.8%。故对以上 4 种抑制效果较好的病原菌进行毒力测定,结果如表 1 所示,EC₅₀ 分别为 0.849、0.782、0.813 和 1.161 mg · mL⁻¹。

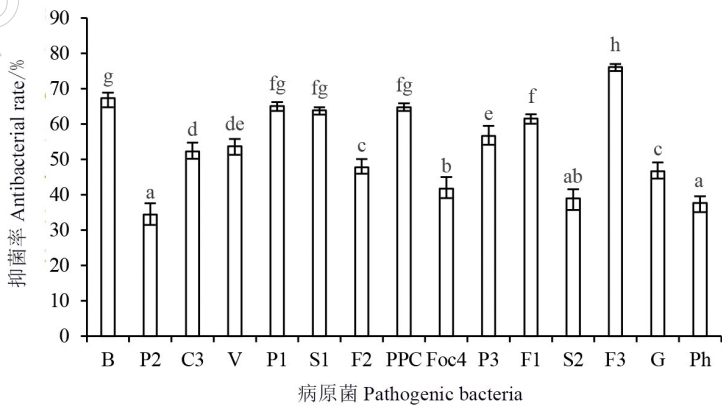


图 1 独蒜兰提取物对 15 种病原菌的抑制活性

Fig.1 Inhibitory activity of *P. bulbocodioides* extracts against 15 plant fungi

B: 番茄灰霉病菌; P2: 水稻稻瘟病菌; C3: 芭乐炭疽病菌; C3: 苹果黑腐皮壳病菌; P1: 辣椒疫霉病菌; S1: 油菜菌核菌; F2: 禾谷镰孢菌; PPC: 非洲隐地疫霉菌; Foc4: 香蕉枯萎病 4 号小种; P3: 瓜果腐霉菌; F1: 燕麦镰孢菌; S2: 齐整小核菌; F3: 西瓜尖孢镰刀菌; G: 链孢粘帚霉菌。不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

B: *Botrytis cinerea*; P2: *Pyricularia grisea*; C3: *Colletotrichum gloeos-porioides*; C3: *Valsa mali*; P1: *Phytophthora capsici*; S1: *Sclerotinia sclerotiorum*; F2: *Fusarium graminearum*; PPC: *Phytophthora cryptogea*; Foc4: *Fusarium oxysporum* f.sp.cubense tropical race 4; P3: *Pythium aphanidermatum*; F1: *FusaHum graminearum*; S2: *Sclerotium rofsii*; F3: *Fusarium oxysporum*f; G: *Gliocladium catenulatum*. Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level.

表 1 供试样品对追踪菌的毒力测定
Table 1 Toxicity measurement of sample on fungi

病原菌 Fungi	毒力回归方程 Toxic regression equation	相关系数 (R^2) Correlation coefficient	有效中浓度 EC ₅₀ /(mg · mL ⁻¹)	95%置信度 Confidence level /(mg · mL ⁻¹)
西瓜尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f	$y=1.784x+0.190$	0.992	0.783	0.663~0.916
非洲隐地疫霉菌 <i>Phytophthora cryptogea</i>	$y=2.239x-0.146$	0.989	1.161	1.018~1.330
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	$y=1.956x+0.176$	0.990	0.813	0.699~0.941
辣椒疫霉菌 <i>Phytophthora capsici</i>	$y=1.686x+0.120$	0.976	0.849	0.715~1.001

2.2 供试样品对西瓜尖孢镰刀菌菌丝干重的影响

如图 2 所示,经独蒜兰提取物处理 6 d 后,西瓜尖孢镰刀菌菌丝生长抑制明显,随着提取物浓度不断升高,处理组菌丝干重与对照组相比明显降低;当处理组浓度为 4.00 mg · mL⁻¹时,菌丝干重为 0.6138 g,与对照组(1.7006 g)相比差异显著。

2.3 供试样品对西瓜尖孢镰刀菌细胞膜的影响

2.3.1 相对电导率 如图 3A 所示,随着处理时间的增加,菌体细胞相对电导率值随之增大,在 2.5 h 达到 75.3%,菌体细胞膜通透性改变,菌体内的细胞质渗漏出来,随着处理时间的延长,其对真菌细胞膜的破坏越严重。说明独蒜兰提取物会破坏细胞膜通透性,使菌丝内容物外泄,电导率增加,从而抑制菌丝生长。

2.3.2 丙二醛含量 西瓜尖孢镰刀菌细胞膜受损后引起脂质过氧化反应,产生 MDA,故可用 MDA 含量来反映细胞膜的受损程度。由图 3B 可知,在独蒜兰提取物浓度为 1.00 mg · mL⁻¹条件下,处理 1 h 时,MDA 含量与对照组接近,而后处理组 MDA 含

量随着时间的延长而急剧增加,在 12 h 时达到峰值(3.226 nmol · g⁻¹),随后含量逐渐降低。而对照组 MDA 含量几乎不变,且整个试验过程均低于处理组 MDA 含量,表明独蒜兰提取物可以破坏菌丝细胞膜,引起膜脂过氧化反应。

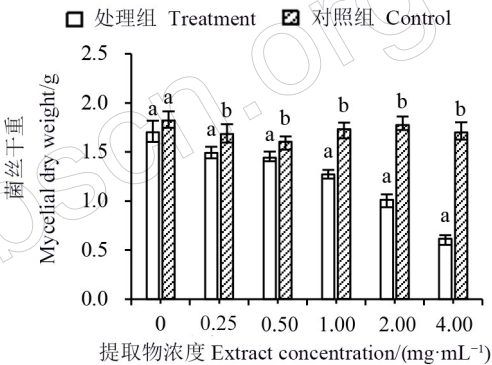


图 2 独蒜兰提取物对西瓜尖孢镰刀菌菌丝干重的影响

Fig.2 Effect of *P. bulbocodioides* extracts on mycelial dry weightof *F. oxysporum*
不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level.

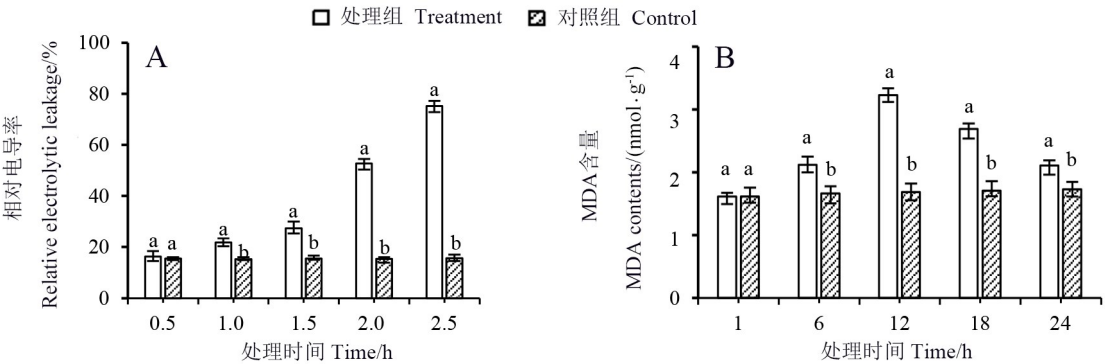


图 3 独蒜兰提取物对西瓜尖孢镰刀菌相对电导率(A)和MDA(B)的影响

Fig.3 Effect of *P. bulbocodioides* extracts on relative conductivity (A) and MDA (B) of *F. oxysporum*
不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level.

2.4 供试样品对西瓜尖孢镰刀菌CAT、POD、SOD活性的影响

图 4A 显示,随着处理时间的延长,CAT 的酶活

性与对照组的差异明显,处理组的 CAT 酶活性在处理后的 1 h 内无明显变化;在 6~12 h 内,其 CAT 酶含量迅速升高并在 12 h 达到峰值,为 386.46 U ·

g^{-1} , 是对照组的 2.31 倍; 在 12~24 h 内, 处理组的酶活性显著下降, 且在 24 h 时略低于对照组。而对照组 CAT 酶活性在各时间段内基本保持一致。

图 4B 显示, POD 含量的变化趋势与 CAT 含量相似, 随着处理时间逐渐延长, 其 POD 酶活性迅速增强, 并在 12 h 时达到峰值, 为 $114.13 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 是对照组的 1.68 倍; 12 h 后, 处理组的菌体酶活性显著下降但仍高于对照组, 而对照组的 POD 活性在各时间段内基本保持一致水平。说明提取物能影

响 POD 酶活性, 受毒害的菌体通过提高其酶活而减弱受毒害的程度。

图 4C 显示, 在处理 1 h 时, 菌体内 SOD 含量略高于对照组; 在处理 6 h 时, 该酶活性迅速上升并达到峰值, 为 $603.21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 是对照组的 3.02 倍; 随着处理时间的延长, 处理组 SOD 酶活性显著下降直至保持平稳趋势, 但 SOD 酶含量仍高于对照组。而对照组的酶活性在各时间段内基本保持一致。

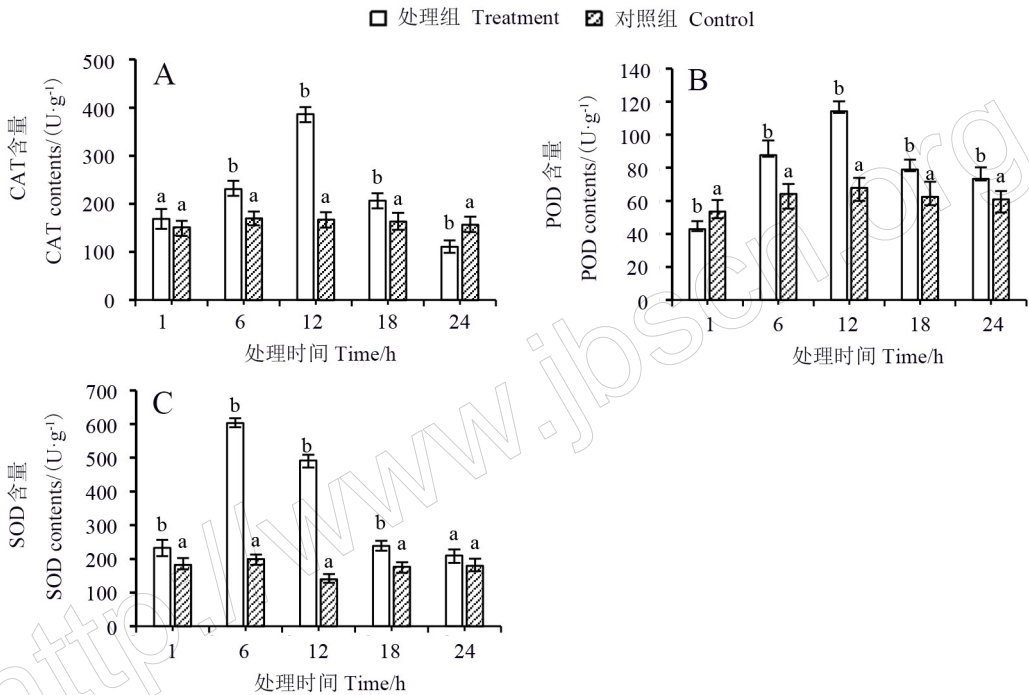


图 4 独蒜兰提取物对西瓜尖孢镰刀菌 CAT、POD、SOD 活性的影响

Fig.4 Effect of *P. bulbocodioides* extracts on CAT (A), POD (B) and SOD (C) activities of *F. oxysporum*

不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level.

3 讨论

本研究对独蒜兰假鳞茎乙醇提取物进行了抑菌活性筛选, 采用菌丝生长速率法对 15 种植物病原菌进行初筛, 结果表明, 在 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度下, 独蒜兰假鳞茎提取物具有较好的抑菌活性, 其中对辣椒疫霉菌、西瓜尖孢镰刀菌、番茄灰霉菌和非洲隐地疫霉菌的抑菌效果最显著。进一步探究独蒜兰提取物对植物病原菌生理生化的影响, 选取对提取物最敏感的西瓜尖孢镰刀菌为供试菌, 测定处理后的菌丝干重、MDA 含量、细胞渗透性及酶活性的变化。结果发现, 菌丝干重随药剂浓度的增加而降低; 而该提取物破坏了菌丝细胞膜, 引起膜脂过氧化反应, 致使内容物外泄, 渗透性增

加, MDA 含量增加; 对保护酶 (CAT、POD、SOD) 活性测定发现, 随着处理时间的延长, 其酶体系活性呈先增大后减小的趋势, 说明菌体通过调节多种酶活性而降低受毒害的程度。本试验的研究结果与梁琪等 (2021) 发现黄连 *Coptis chinensis* Franch.、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 和肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 提取物会对稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* 细胞膜通透性及物质合成产生影响的研究结果一致; 与周洁尘等 (2017) 发现垂序商陆 *Phytolacca americana* L. 和胜红蓟 *Ageratum conyzoides* L. 提取物会破坏降香黄檀炭疽病原菌膜系统、影响菌体保护酶活性的研究结果一致。说明独蒜兰假鳞茎提取物发挥抑菌作用的方式可能与其干扰菌丝生

长、使菌丝细胞膜正常功能受损以及降低菌丝体内保护酶活性等有关。本研究仅初步探讨了独蒜兰提取物对植物病原菌的作用机理,但其具体发挥抑菌作用的单体化学成分仍待深入研究。

参考文献

- 程艳, 陈璐, 米艳华, 段红平, 茶应盛, 邵金良, 杜丽娟, 2018. 水稻抗氧化酶活性测定方法的比较研究. 江西农业学报, 30(2): 108-111.
- 段秋笛, 杨旭, 赵焱, 卢丽晶, 崔秀伟, 梁宏伟, 2022. 连香树花芽发育过程中的生理生化特性研究. 湖北农业科学, 61(22): 89-93.
- 国家药典委员会, 2015. 中国药典. 2015 版. 北京: 中国医药科技出版社.
- 梁琪, 付歆崑, 李云鹏, 杨胜甫, 2021. 3 种植物提取物对稻瘟病菌的抑菌活性及其抑菌机理研究. 中国农学通报, 37(15): 120-127.
- 李琦, 陈宇纵, 辛海量, 2014. 山慈菇的化学成分及药理作用研究进展. 药学实践杂志, 32(4): 250-253, 260.
- 倪林, 郑威, 吴美婷, 颜武华, 2022. 一种香樟芝麻素类成分抑菌活性测定方法及应用. 福建省: CN115060667A. (2022-04-20).
- 荣飞, 于华静, 刘传玲, 2020. 2019 年山东省市场所售山慈菇饮片的质量分析报告. 当代医药论丛, 18(24): 128-129.
- 王国凯, 丁婉悦, 刘松照, 朱月健, 曹勇, 谢冬梅, 2020. 马鞭草本草考证. 现代中药研究与实践, 34(1): 13-15, 34.
- 吴沙沙, 李威, 沈立明, 李成儒, 林向阳, 2019. 独蒜兰: 雾境“仙葩”. 森林与人类(11): 68-77.
- 吴沙沙, 陈蕾, 赵亚梅, 郑泽新, 张衡, 翟俊文, 2020. 独蒜兰属种质资源及杂交育种研究进展. 植物遗传资源学报, 21(4): 1-12.
- 王志芳, 李贞景, 杨明冠, 路来风, 王昌禄, 李政, 张健飞, 巩继贤, 2019. *Streptomyces alboflavus* 抗真菌物质对串珠镰刀菌的抑制机理研究. 食品科学技术学报, 37(5): 64-71.
- 辛泽团, 刘湘泽, 张明进, 李伟, 陈伯华, 马学晓, 2013. 外源性心脏营养素 1: 保护 PC12 细胞和许旺细胞的可能性. 中国组织工程研究, 17(41): 7265-7271.
- 中国标准化研究院, 2020. 微生物源抗生素类次生代谢产物抗真菌活性测定——菌丝生长速率法: GB/T 38480-2020. 北京: 中国标准化研究院.
- 周洁尘, 周国英, 刘君昂, 何苑皞, 董文统, 2017. 垂序商陆及胜红蓟提取物对降香黄檀炭疽病菌的抑菌机理研究. 植物保护, 43(4): 46-50, 60.
- 张耀, 林智熠, 周文娟, 潘镇泽, 傅佳蕊, 陈景新, 倪林, 邹双全, 2021. 圆齿野鸦椿枝条抗辣椒疫霉病菌活性成分. 福建农林大学学报(自然科学版), 50(4): 472-479.
- FAN L L, LUO Z F, LI Y, LIU X Y, FAN J D, XUE W, TANG L, LI Y, 2020. Synthesis and antifungal activity of imidazo [1,2-b] pyridazine derivatives against phytopathogenic fungi. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(14): 127-139.
- KOMÍNEK P, MASSART S, PHAM K, LEEUWEN P V, KOMÍNKOVÁ M, 2019. Characterisation of a novel virus infecting orchids of the genus *Pleione*. *Virus Research*, 261: 56-59.

(责任编辑:郭莹)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.013

蚕豆象的线粒体基因组研究及系统发育分析

林兴雨, 宋 南*

河南农业大学植物保护学院, 河南 郑州 450046

摘要:【目的】蚕豆象是农业上一种重要害虫,本文测序、分析了蚕豆象的线粒体全基因组,以期为更好地理解茎甲亚科分支类群、豆象亚科和蚕豆象的系统发育提供线粒体基因组数据。【方法】在系统发育分析中,内群取样包含茎甲亚科分支类群的 22 种昆虫,外群选择 2 个肖叶甲亚科 (*Basilepta fulvipes* 和 *Basilepta melanopus*) 昆虫,分别利用最大似然法和贝叶斯法重建茎甲亚科分支类群的系统发育关系。【结果】蚕豆象的线粒体基因组全长为 16586 bp (GenBank 序列号: OP650255),包含 37 个基因(13 个蛋白质编码基因、2 个核糖体 RNA 基因和 22 个转运 RNA 基因)和一段非编码控制区。所有转运 RNA 基因中,除 *trnS1* 因缺少二氢尿嘧啶 (DHU) 臂而形成简单的环,无法构成稳定的三叶草结构外,其余转运 RNA 基因均能形成典型的三叶草结构。此外,*trnS1* 的反密码子不是常见的 GCU,而是 UCU。【结论】本研究首次获得了蚕豆象的线粒体基因组全序列。2 种不同的系统发育分析方法构建的系统发育关系显示:豆象亚科、茎甲亚科、水叶甲亚科和负泥虫亚科为单系群;豆象亚科与水叶甲亚科+负泥虫亚科为姐妹群;蚕豆象与四纹豆象为姐妹群。

关键词: 鞘翅目; 豆象亚科; 蚕豆象; 线粒体基因组; 系统发育



开放科学标识码
(OSID 码)

The mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Bruchus rufimanus* (Boheman, 1833)

LIN Xingyu, SONG Nan*

College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046, China

Abstract: 【Aim】 The *Bruchus rufimanus* is an important agricultural insect pest. In this study, we sequenced and analyzed the mitochondrial genome of *B. rufimanus*, and it will contribute to increasing our knowledge of the mitochondrial genome and the phylogeny of "Sagrinae" clade group, Bruchinae and *B. rufimanus*. 【Method】 In phylogenetic analyses, we selected 22 exemplars of "Sagrinae" clade group (Bruchinae, Sagrinae, Donaciinae and Criocerinae) as ingroups. Two species of Eumolpinae (*Basilepta fulvipes* and *Basilepta melanopus*) were used as outgroups. The phylogenetic analyses were conducted using maximum likelihood and Bayesian inference methods. 【Result】 The mitochondrial genome of *B. rufimanus* is a circular molecule of 16586 bp in length (GenBank accession No. OP650255), which contains 13 protein-coding genes, two ribosomal RNA genes, 22 transfer RNA genes and a non-coding control region. All tRNA genes can be folded into typical cloverleaf structure, with the exception of the *trnS1*, which lacks the DHU arm. Furthermore, the anticodon of *trnS1* gene is not the common GCU, but rather the UCU. 【Conclusion】 This is the first report of a complete mitochondrial genome of *B. rufimanus*. Both phylogenetic inference methods produced a similar tree topological structure: the subfamily Bruchinae, Sagrinae, Donaciinae and Criocerinae were recovered the monophyletic groups. The subfamily Bruchinae were cluster to (Donaciinae+Criocerinae) a clade. The *B. rufimanus* was sister to *Callosobruchus maculatus*.

Key words: Coleoptera; Bruchinae; *Bruchus rufimanus*; mitochondrial genome; phylogeny

蚕豆象 *Bruchus rufimanus* Boheman 属鞘翅目 Coleoptera 叶甲科 Chrysomelidae 豆象亚科 Bruchinae, 是农业上的一种重要害虫,在全世界均有分布 (来有鹏, 2019; 王昶等, 2018)。蚕豆象在我国一

年发生一代,卵为浅黄色椭圆形,幼虫体色为乳白色,有 4 个龄期,整个幼虫龄期平均约为 90 d,蛹一般为浅黄色椭圆形,成虫具有椭圆形黑色的体背,主要以蚕豆 *Vicia faba* Linn. 为食,严重时可降低蚕

豆产量 30% 左右,是蚕豆生长发育期危害最严重的一种害虫(丁国卫等,2006;董亮,2011;徐淑华,2012; Biddle & Catlin,2007; Tran *et al.*,1993)。目前,对蚕豆象的研究主要集中在生物学、化学生态学和害虫防治等方面(王昶等,2018; Gailiset *al.*, 2022; Mendesil *et al.*,2022; Segers *et al.*,2021),暂未发现蚕豆象的线粒体基因组的分子系统学研究。

近年来,随着高通量测序技术的快速发展,越来越多的昆虫线粒体基因组被公布。线粒体基因组作为一种分子遗传标记,具有基因组组织结构相对保守、进化速率快和母系遗传等优点,已经被广泛应用于鞘翅目昆虫的系统发育研究(林兴雨等,2022; Gillett *et al.*,2014; Song *et al.*,2018)。截至 2023 年 2 月,GenBank 上已经释放了超过 400 条叶甲科完整或部分的线粒体基因组数据。

叶甲科由 3 个主要的亚科类群组成:茎甲亚科 Sagrinae 分支类群(豆象亚科 Bruchinae、茎甲亚科 Sagrinae、水叶甲亚科 Donaciinae 和负泥虫亚科 Criocerinae)、肖叶甲亚科 Eumolpinae 分支类群(Spilopyrinae、肖叶甲亚科 Eumolpinae、隐头叶甲亚科 Cryptocephalinae 和 龟甲亚科 Cassidinae)和叶甲亚科 Chrysomelinae 分支类群(叶甲亚科 Chrysomelinae 和 萤叶甲亚科 Galerucinae)(Gómez-Zurita *et al.*, 2008)。然而,叶甲科 3 个主要的亚科类群之一的茎甲亚科 Sagrinae 分支类群仅有 21 条线粒体基因组数据被释放。

本研究利用高通量测序技术首次获得了完整的蚕豆象的线粒体基因组数据,对其线粒体基因组组织结构进行了注释,对密码子的使用频率、核苷酸的含量组成、转运 RNA 的二级结构等线粒体基因组特点分别进行了详细分析和预测,以期为更好地理解茎甲亚科分支类群、豆象亚科和蚕豆象的系统发育提供基因组数据。

1 材料与方法

1.1 标本采集与 DNA 提取

试验所用的蚕豆象成虫标本于 2020 年 10 月采集于河南省郑州市(34°80'N, 113°66'E)。将采集到的蚕豆象成虫标本浸泡在 95%乙醇中,置于河南农业大学植物保护学院标本馆-80℃超低温冰箱中,用于 DNA 提取。根据天根生化科技(北京)有限公司的动物基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取蚕豆象成虫胸部肌肉的总 DNA。使用 NanoDrop

2000 分光光度计和 1.5%的琼脂糖凝胶电泳分别检测样本总 DNA 的浓度及质量。

1.2 高通量测序与线粒体基因组组装

将检测质量合格以及浓度大于 20 ng · μL⁻¹的 DNA 送往北京诺禾致源科技股份有限公司构建 350 bp 的小片段文库,并进行高通量测序,使用 Illumina HiSeq 2500 测序平台对所构建的小片段测序文库进行双末端(2×150 bp PE)测序。最后,将下机的原始数据去除接头,进行质量控制,过滤、删除低质量的序列,获得 clean reads。利用 GetOrganelle v1.7.5.2 软件(Jin *et al.*,2020)进行线粒体基因组的组装以及拼接,从而得到完整的线粒体基因组数据。

1.3 线粒体基因组的注释和分析

采用组装得到的蚕豆象的线粒体全基因组数据在 MITOS 在线网站(Bernt *et al.*,2013)上进行初步的功能注释,参数设置 genetic code:05-invertebrate;reference:RefSeq 89 Metazoa,其余均按照 MITOS 默认参数进行设置。通过 MITOS 预测后得到 22 个转运 RNA 基因的二级结构,对近缘种的线粒体基因组的序列比对和验证,手动矫正线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因、*rrnL* 和 *rrnS* 核糖体基因和 22 个转运 RNA 的基因边界。将注释正确的线粒体全基因组序列上传至 GenBank 获得登陆号为 OP650255。利用 MEGA 11.0 软件(Tamura *et al.*,2021)分析和计算蚕豆象线粒体基因组全部的蛋白质编码基因的碱基组成以及密码子的使用频率情况。利用 $AT-skew = (A-T)/(A+T)$ 和 $GC-skew = (G-C)/(G+C)$ 公式分别计算蚕豆象线粒体基因组的 AT 偏倚和 GC 偏倚(Perna & Kocher,1995)。

1.4 多序列比对

利用 MAFFT version 7 软件对蚕豆象的蛋白质编码基因的核苷酸和氨基酸序列分别进行比对(Katoh & Standley,2013)。使用 trimAl v1.4 对序列中模糊比对的片段进行修剪、删除和对齐(Capella-Gutiérrez *et al.*,2009)。利用 FASconCAT-G_v1.04 进行串联线粒体基因组序列得到数据矩阵(Kück & Longo,2014)。用于构建系统发育分析的数据矩阵包括 13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列(13 PCGnt)构建的数据矩阵和 13 个蛋白质编码基因的氨基酸序列(13 PCGaa)构建的数据矩阵。

1.5 系统发育分析

利用最大似然法 (maximum likelihood) 和贝叶斯法 (Bayesian inference) 重建茎甲亚科分支类群的系统发育树。利用 IQ-TREE 2.0.6 (Nguyen *et al.*, 2015) 进行最大似然法系统发育分析, 根据贝叶斯信息法则 (Bayesian Information Criterion, BIC) 通过软件自动筛选得到最适建树模型为 GTR+F+I+G4 模型, 系统发育树的节点支持率通过自举检验置信度进行评估 (参数设置为 -bb:10000, -nm:10000, -alrt:10000)。使用 MrBayes v3.2 进行贝叶斯法系统发育分析 (Ronquist *et al.*, 2012): 使用 4 条蒙特卡罗马尔柯夫链 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 同时运行 2×10^6 代, 每运行结束 1000 代进行一次抽样, 删除 25% 的老化树, 获得多数一致树。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组分析

利用 OGDRAW Version 1.1 软件 (Greiner *et al.*, 2019) 获得蚕豆象的线粒体全基因组结构图 (图 1)。蚕豆象的线粒体基因序列全长 16586 bp, 其中, A+T 含量为 76.95%, G+C 含量为 23.05%。该线粒体全基因组包含 37 个基因 (13 个蛋白质编码基因、2 个核糖体 RNA 基因和 22 个转运 RNA 基因) 和 1 个非编码控制区 (表 1)。

在蚕豆象的线粒体基因组中, L 链 (light strand) 共编码 14 个线粒体基因, 分别包含 4 个蛋白质编码基因、8 个转运 RNA 基因以及 2 个核糖体 RNA 基因; H 链 (heavy strand) 共编码 23 个线粒体

基因, 分别包括 9 个蛋白质编码基因和 14 个转运 RNA 基因。非编码控制区位于 *rrnS* 和 *trnI* 之间, 长度为 942 bp, 其 A+T 和 G+C 含量分别为 82.06% 和 17.94%。蚕豆象的正、负链的蛋白质编码基因、负链的核糖体 RNA 基因、正、负链的转运 RNA 基因以及整个线粒体基因组的 A+T 含量丰富, 为 73.8%~80.8%。其中, 位于正链的 9 个蛋白质编码基因的 A+T 含量最低为 73.8%, 位于负链的 2 个核糖体 RNA 基因的 A+T 含量最高为 80.8%。AT 偏倚和 GC 偏倚分别为 -0.230~0.036 和 -0.187~0.343 (表 2)。

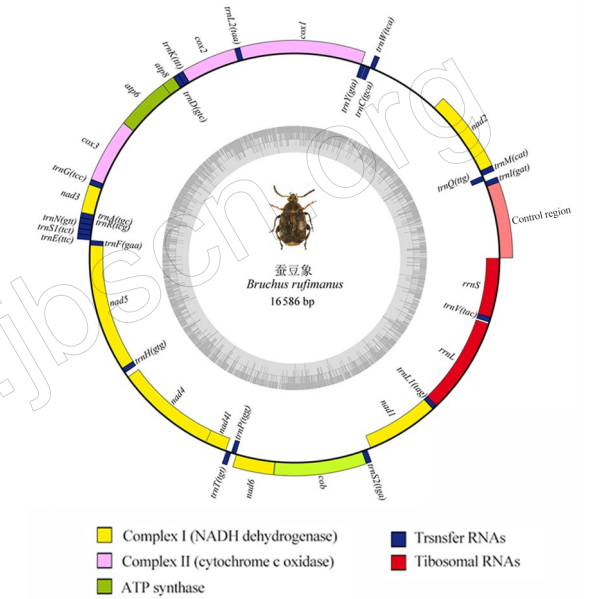


图 1 蚕豆象线粒体基因组结构
Fig.1 Structure of *B. rufimanus* mitochondrial genome

表 1 蚕豆象线粒体基因组注释
Table 1 Annotation of the mitochondrial genome of *B. rufimanus*

基因 Gene	长度 Gene length/bp	起始位置 Start position/bp	终止位置 Stop position/bp	起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	编码链 Coding strand
<i>trnI</i>	66	943	1008			H
<i>trnQ</i>	69	1090	1022			L
<i>trnM</i>	69	1090	1158			H
<i>nad2</i>	1014	1159	2172	ATT	TAA	H
<i>trnW</i>	66	3089	3154			H
<i>trnC</i>	63	3209	3147			L
<i>trnY</i>	66	3280	3215			L
<i>cox1</i>	1548	3273	4820	ATC	TAA	H
<i>trnL2</i>	65	4816	4880			H
<i>cox2</i>	685	4884	5568	ATA	T	H
<i>trnK</i>	70	5569	5638			H
<i>trnD</i>	66	5638	5703			H
<i>atp8</i>	156	5704	5859	ATT	TAA	H
<i>atp6</i>	675	5853	6527	ATG	TAA	H

续表 1

基因 Gene	长度 Gene length/bp	起始位置 Start position/bp	终止位置 Stop position/bp	起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	编码链 Coding strand
<i>cox3</i>	789	6527	7315	ATG	TAA	H
<i>trnG</i>	66	7316	7381			H
<i>nad3</i>	354	7382	7735	ATA	TAG	H
<i>trnA</i>	65	7734	7798			H
<i>trnR</i>	65	7800	7864			H
<i>trnN</i>	68	7864	7931			H
<i>trnS1</i>	67	7932	7998			H
<i>trnE</i>	65	7999	8063			H
<i>trnF</i>	67	8128	8062			L
<i>nad5</i>	1713	9797	8085	ATT	TAA	L
<i>trnH</i>	69	9866	9798			L
<i>nad4</i>	1327	11258	9932	ATG	T	L
<i>nad4l</i>	282	11533	11252	ATG	TAA	L
<i>trnT</i>	65	11544	11608			H
<i>trnP</i>	66	11674	11609			L
<i>nad6</i>	507	11680	12186	ATT	TAA	H
<i>cob</i>	1140	12186	13325	ATG	TAA	H
<i>trnS2</i>	68	13325	13392			H
<i>nad1</i>	951	14394	13444	TTG	TAG	L
<i>trnL1</i>	65	14460	14396			L
<i>rrnL</i>	1284	15721	14438			L
<i>trnV</i>	69	15809	15741			L
<i>rrnS</i>	778	16586	15809			L
Control region	942	1	942			Non-coding sequence

H:重链;L:轻链。
H: Heavy strand; L: Light strand.

表 2 蚕豆象的核苷酸组成和偏倚
Table 2 Nucleotide composition and skewness of the *B. rufimanus* mitochondrial genome.

特征 Feature	长度 Size/bp	A+T 含量 Content of A+T/%	AT 偏倚 AT-skew	GC 偏倚 GC-skew
PCGs-H	6867	73.8	-0.111	-0.144
PCGs-L	4272	78.4	-0.230	0.275
rRNAs-L	2062	80.8	-0.073	0.343
tRNAs-H	931	78.2	0.036	0.005
tRNAs-L	534	74.4	0.008	0.241
全基因组 Whole genome	16586	76.9	0.033	-0.187

PCGs:蛋白质编码基因;rRNAs:核糖体 RNA;tRNAs:转运 RNA;H:重链;L:轻链。
PCGs: Protein-coding genes; rRNAs: Ribosomal RNA; tRNAs: Transfer RNA; H: Heavy strand; L: Light strand.

2.2 蛋白质编码基因分析

蚕豆象线粒体全基因组的 13 个蛋白质编码基因全长为 11139 bp,其中 A、T、C 和 G 的含量分别为 31.81%、43.79%、12.22% 和 12.18%。在所有的蛋白质编码基因的起始密码子使用中,只有 2 个蛋白质编码基因(*cox1* 和 *nad1*)分别使用 ATC 和 TTG 作为起始密码子外,剩余的 11 个蛋白质编码基因都是以常见的 ATA、ATT 和 ATG 作为起始密码子。此外,2 个蛋白质编码基因(*cox2* 和 *nad4*)以不完整的终止密码子 T 作为结尾,其余 11 个蛋白质编码

基因都是以完整的终止密码子 TAA 或 TAG 结尾。

在 13 个蛋白质编码基因的氨基酸使用中,丙氨酸(Ala)的使用频率最多,为 39.72%,苏氨酸(Thr)和半胱氨酸(Cys)使用频率分别为 37.21%和 13.68%,甘氨酸(Gly)使用频率最少,为 9.37%,其余氨基酸没有使用。13 个蛋白质编码基因的相对密码子使用频率见表 3,密码子使用次数最多的是 AAA,共使用 465 次,密码子使用次数最少的是 CGC,共使用 2 次。

表 3 蚕豆象线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的相对密码子使用频率

Table 3 Relative synonymous codon usage of 13 protein-coding genes of the mitochondrial genome of *B. rufimanus*

密码子 Codon	数量/次 Count	RSCU	密码子 Codon	数量/次 Count	RSCU	密码子 Codon	数量/次 Count	RSCU	密码子 Codon	数量/次 Count	RSCU
UUU (F)	376	1.56	UCU (S)	100	1.89	UAU (Y)	198	1.41	UGU (C)	28	1.30
UUC (F)	106	0.44	UCC (S)	45	0.85	UAC (Y)	83	0.59	UGC (C)	15	0.70
UUA (L)	335	2.66	UCA (S)	95	1.79	UAA (*)	330	1.57	UGA (W)	73	1.46
UUG (L)	85	0.67	UCG (S)	26	0.49	UAG (*)	90	0.43	UGG (W)	27	0.54
CUU (L)	121	0.96	CCU (P)	70	1.50	CAU (H)	63	1.42	CGU (R)	7	0.70
CUC (L)	54	0.43	CCC (P)	56	1.20	CAC (H)	26	0.58	CGC (R)	2	0.20
CUA (L)	122	0.97	CCA (P)	49	1.05	CAA (Q)	103	1.39	CGA (R)	24	2.40
CUG (L)	39	0.31	CCG (P)	12	0.26	CAG (Q)	45	0.61	CGG (R)	7	0.70
AUU (I)	334	1.58	ACU (T)	90	1.59	AAU (N)	362	1.64	AGU (S)	41	0.77
AUC (I)	90	0.42	ACC (T)	40	0.71	AAC (N)	79	0.36	AGC (S)	32	0.60
AUA (M)	314	1.66	ACA (T)	84	1.49	AAA (K)	465	1.76	AGA (S)	54	1.02
AUG (M)	64	0.34	ACG (T)	12	0.21	AAG (K)	64	0.24	AGG (S)	31	0.58
GUU (V)	56	1.76	GCU (A)	43	1.95	GAU (D)	70	1.40	GGU (G)	33	1.52
GUC (V)	13	0.41	GCC (A)	25	1.14	GAC (D)	30	0.60	GGC (G)	6	0.28
GUA (V)	46	1.45	GCA (A)	17	0.77	GAA (E)	123	1.56	GGA (G)	33	1.52
GUG (V)	12	0.38	GCG (A)	3	0.14	GAG (E)	35	0.44	GGG (G)	15	0.69

RSCU: 相对密码子使用频率; *: 终止密码子。
RSCU: Relative synonymous codon usage; *: Stop codon.

2.3 tRNA 和 rRNA 基因分析

蚕豆象线粒体全基因组的 22 个转运 RNA 基因的序列全长为 1465 bp, 其中 A、T、C 和 G 的含量分别为 39.39%、37.41%、10.44% 和 12.76%。长度在 63~70 bp。其中 *trnC* 基因序列最短, 为 63 bp, *trnK* 基因序列最长, 为 70 bp。22 个转运 RNA 基因中, 14 个转运 RNA 基因位于 H 链, 8 个转运 RNA 基因位于 L 链。*rrnL* 和 *rrnS* 基因分别位于 L 链。除 *trnS1* 因缺少一个二氢尿嘧啶 (DHU) 臂导致不能形成完整的三叶草结构外, 其余转运 RNA 基因均能形成完整的三叶草结构(图 2)。此外, *trnS1* 的反密码子不是常见的 GCU, 而是 UCU。蚕豆象线粒体基因组的 2 个核糖体 RNA 序列全长为 2062 bp, 其中 A、T、C 和 G 的含量分别为 37.44%、43.36%、6.30% 和 12.90%。*rrnL* 和 *rrnS* 的全长分别为 1284 和 778 bp, A+T 含量分别为 82.01% 和 78.79%, G+C 含量分别为 17.99% 和 21.21%。

2.4 系统发育分析

基于最大似然法和贝叶斯法构建的发育分析结果如图 3、4、5 和 6 所示。2 种系统发育分析方法构建的树型拓扑结构都支持茎甲亚科分支类群中的 4 个亚科(豆象亚科、水叶甲亚科、茎甲亚科和负泥虫亚科)为单系群, 且具有较高的节点支持值 Bootstrap (BS) ≥ 99、posterior probability (PP) = 1。此外, 茎甲亚科分支类群的内部系统发育关系为茎甲

亚科+(豆象亚科+(水叶甲亚科+负泥虫亚科))。13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列矩阵利用最大似然法、13 个蛋白质编码基因的氨基酸序列矩阵利用贝叶斯法, 在豆象亚科内的系统发育结果均显示, 由于 *Bruchus* sp. EMHAU 15071302 单独形成一支, 蚕豆象与四纹豆象 *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) 形成一支, 分别导致 *Bruchus* 属和 *Callosobruchus* 属形成非单系群。此外, 2 个系统发育结果都强烈支持蚕豆象与四纹豆象的姐妹群关系, 并且具有较高的节点支持值 BS = 100、PP = 1。其余的 *Caryopemon* 属、*Acanthoscelides* 属为单系群。使用 Kimura-2-Parameter 模型计算蚕豆象与其他豆象亚科的 9 个物种(*Caryopemon giganteus*、*Bruchus* sp. EMHAU 15071302、*Callosobruchus analis*、*Callosobruchus chinensis*、*Acanthoscelides obtectus*、*Bruchidius siliquastri*、*Bruchidius uberatus*、*Bruchinae* sp. GENSP01 和 *Callosobruchus maculatus*) 之间的种间遗传距离, 结果显示: 蚕豆象与四纹豆象的遗传距离最近为 0.126; 与 *Bruchinae* sp. GENSP01、*B. uberatus*、*B.* sp. EMHAU 15071302、*A. obtectus*、*C. analis*、*C. chinensis* 和 *C. giganteus* 的遗传距离依次为 0.179、0.180、0.197、0.204、0.217、0.236 和 0.285; 与 *B. fulvipes* 的遗传距离最远, 为 0.330 (表 4)。种间遗传距离与系统发育树所显示的亲缘关系一致支持蚕豆象与四纹豆象为姐妹群关系。

3 讨论

本研究利用高通量测序技术首次获得了蚕豆象的线粒体全基因组数据,详细分析和预测了它的线粒体基因组的特点以及 22 个转运 RNA 基因的二级结构,丰富了荳甲亚科分支类群的线粒体基因组数据。蚕豆象线粒体基因组的基因的排列顺序与模式昆虫线粒体基因组排列顺序一致 (Boore, 1999),没有出现线粒体基因的丢失或重排现象。此外,在蛋白质编码基因中,位于 H 链上的蛋白质

编码基因的 AT 含量 (73.8%) 和 GC 偏倚 (−0.144) 低于 L 链上蛋白质编码基因的 AT 含量 (78.4%) 和 GC 偏倚 (0.275),但 H 链上的蛋白质编码基因的 AT 偏倚 (−0.111) 高于 L 链上的 AT 偏倚 (−0.23)。在 tRNA 基因里,位于 H 链上的 tRNA 基因 AT 含量 (78.2%) 和 AT 偏倚 (0.036) 高于 L 链上 tRNA 基因 AT 含量 (74.4%) 和 AT 偏倚 (0.008),但 H 链上 tRNA 基因的 GC 偏倚 (0.005) 低于 L 链上的 GC 偏倚 (0.241)。

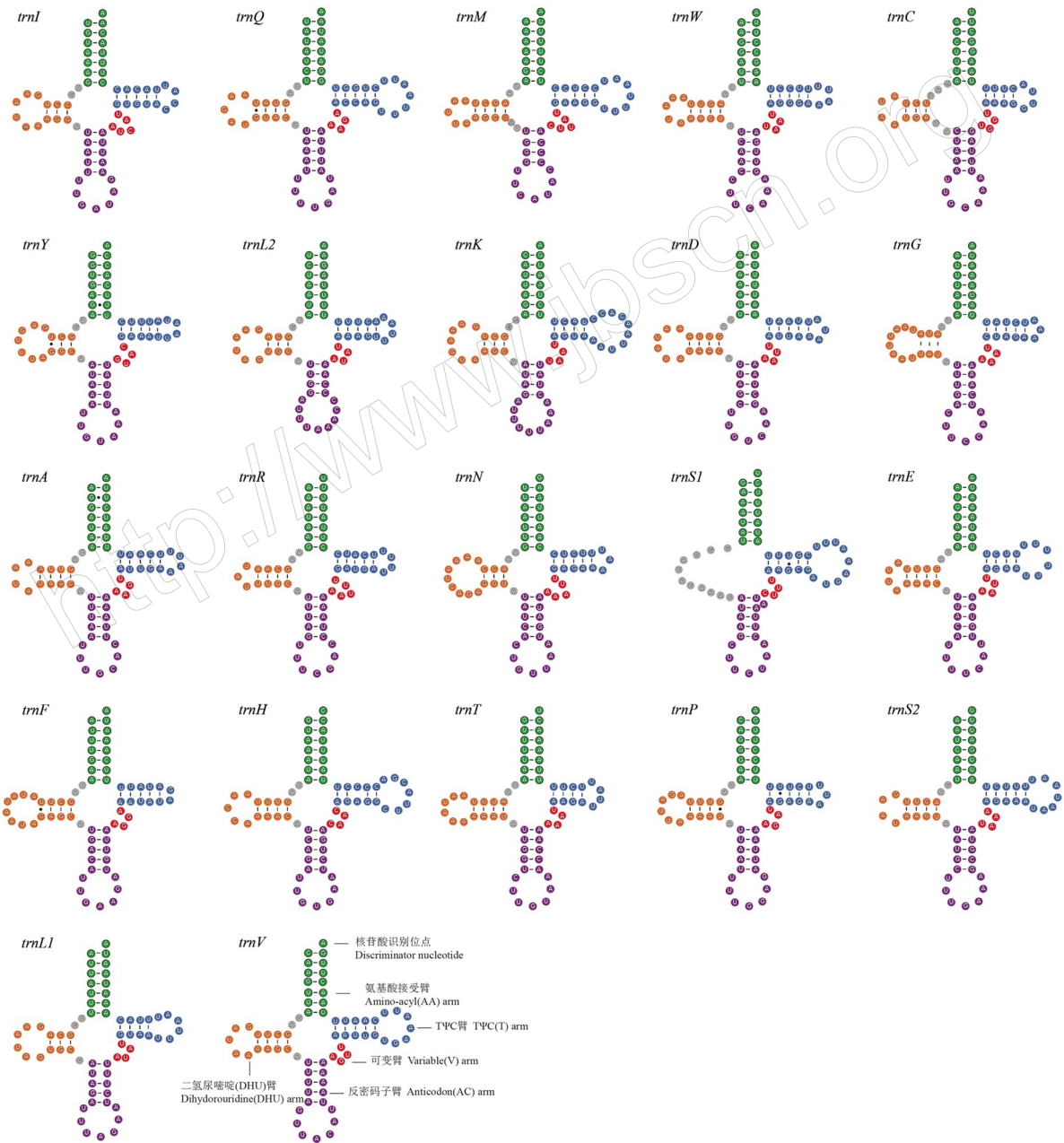


图 2 蚕豆象 22 个 tRNA 基因的二级结构
Fig.2 Secondary structure of 22 tRNAs genes of *B. rufimanus*

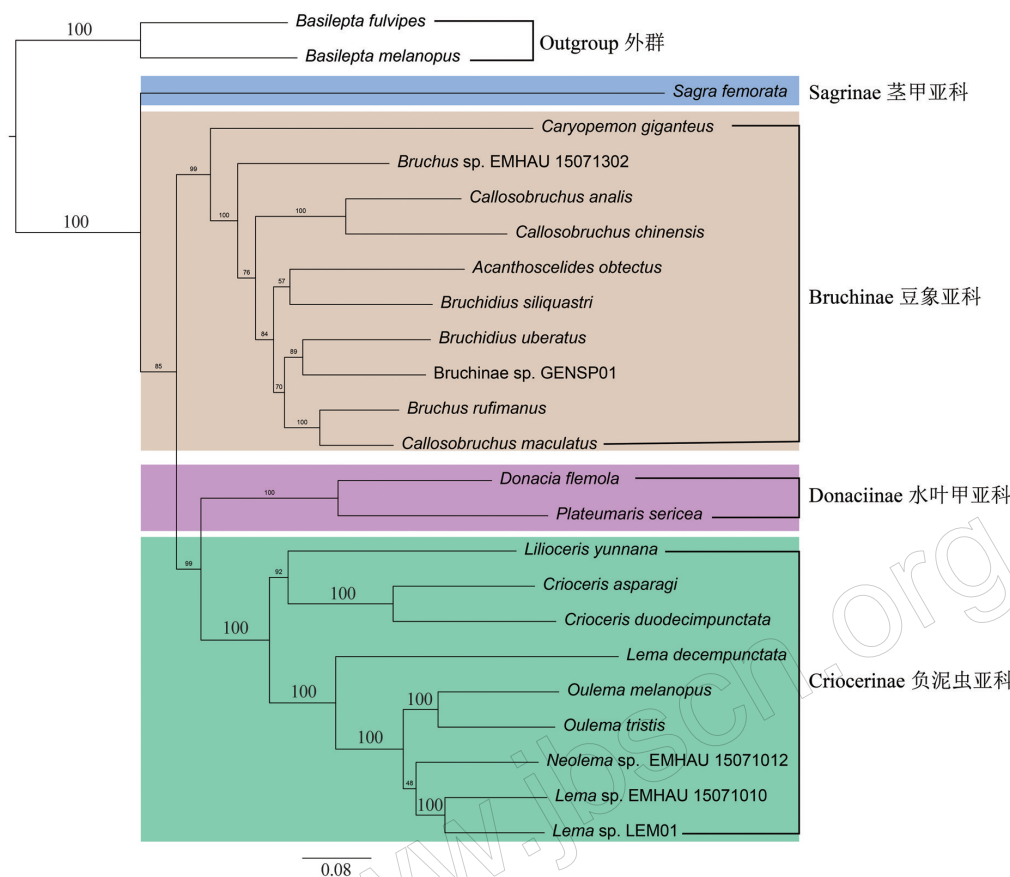


图 3 基于 13 个蛋白编码基因的核苷酸序列构建的最大似然树

Fig.3 Maximum likelihood tree inferred from the nucleotide sequences of 13 protein-coding genes

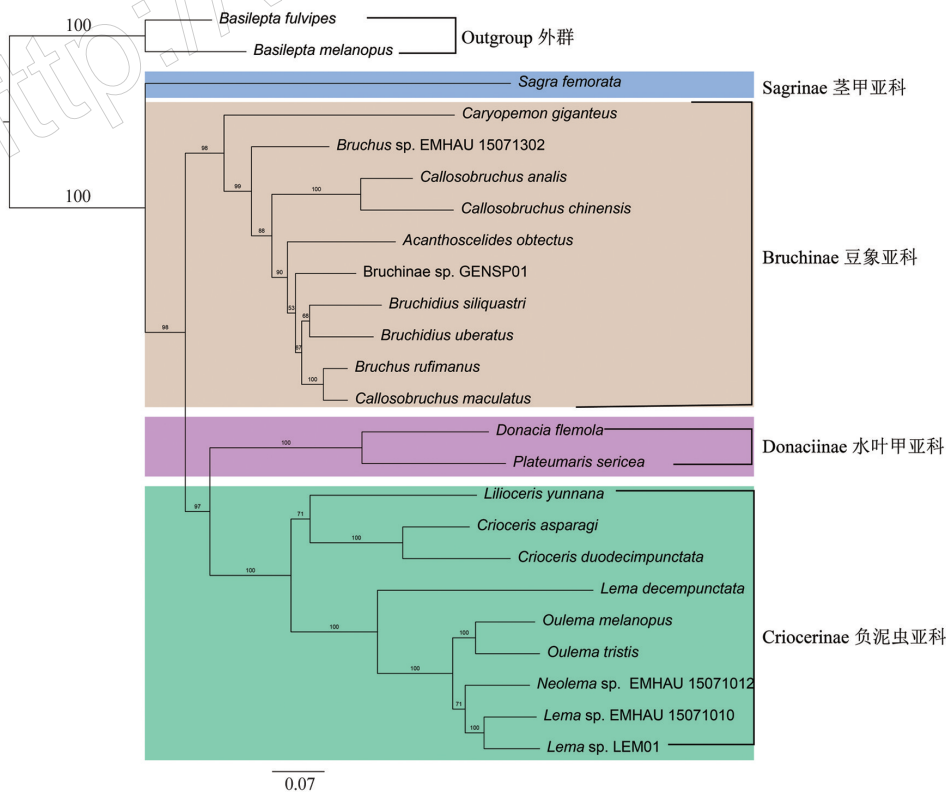


图 4 基于 13 个蛋白编码基因的氨基酸序列构建的最大似然树

Fig.4 Maximum likelihood tree inferred from the amino acid sequences of 13 protein-coding genes

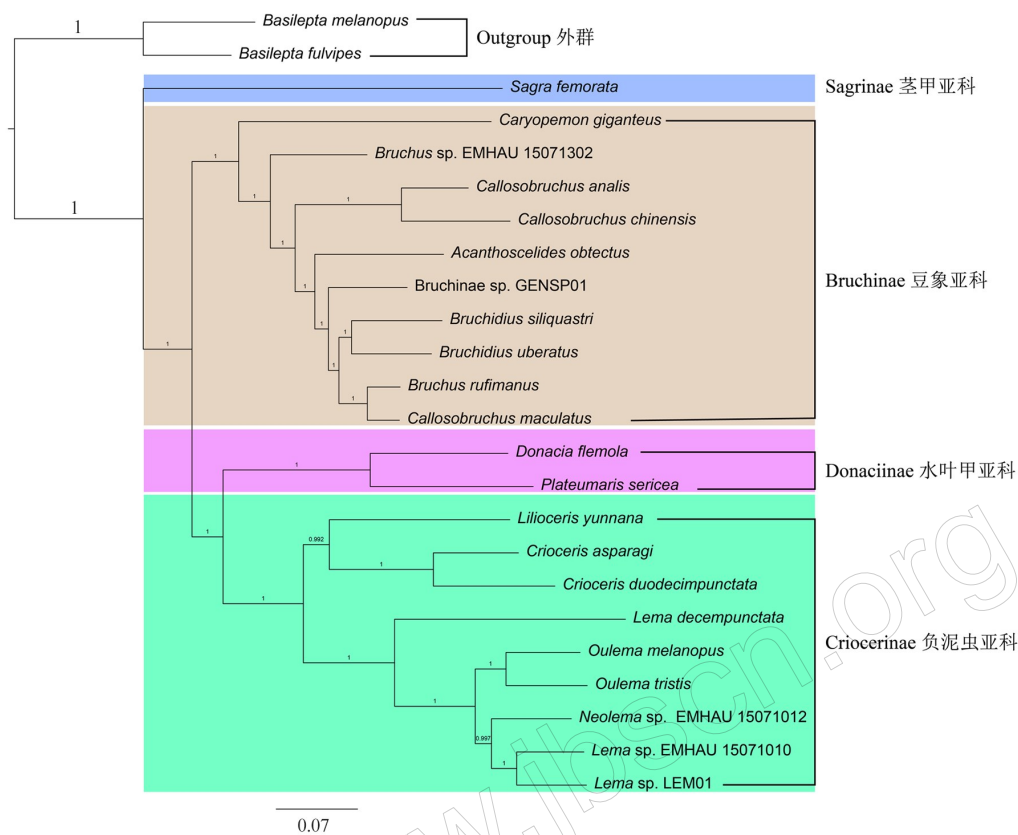


图 5 基于 13 个蛋白编码基因的氨基酸序列构建的贝叶斯树

Fig.5 Bayesian tree inferred from the amino acid sequences of 13 protein-coding genes

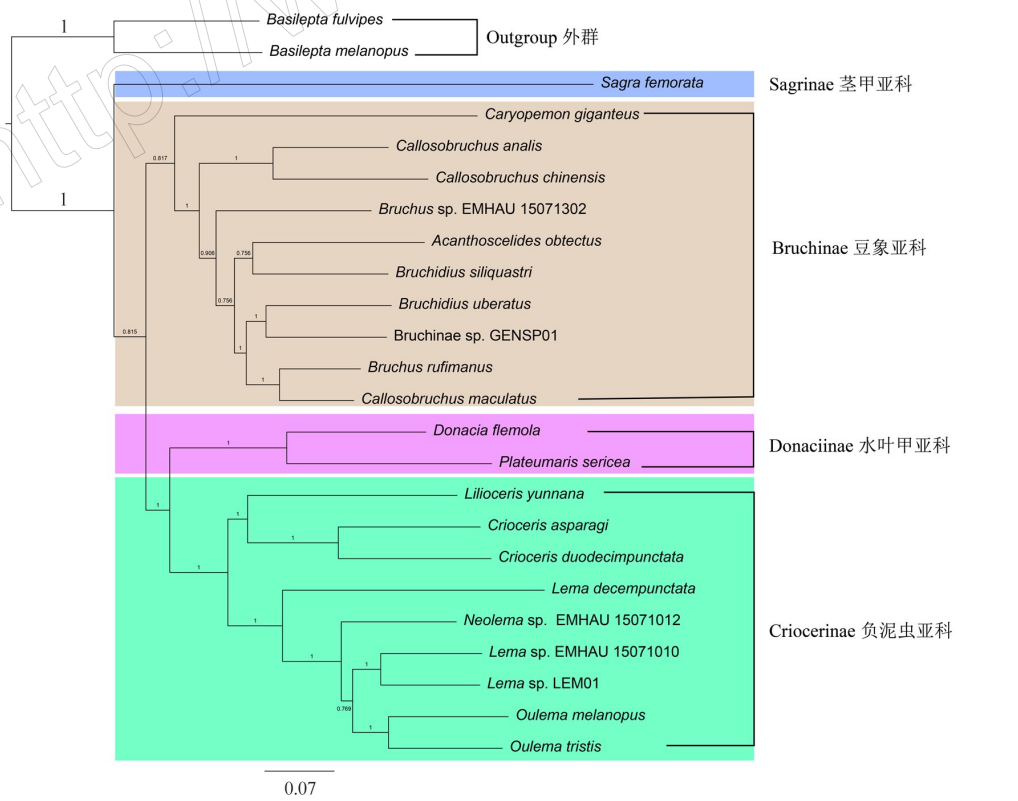


图 6 基于 13 个蛋白编码基因的核苷酸序列构建的贝叶斯树

Fig.6 Bayesian tree inferred from the nucleotide sequences of 13 protein-coding genes

表 4 蚕豆象与其他豆象亚科昆虫的线粒体蛋白质编码基因基于 Kimura-2-Parameter 模型的遗传距离
Table 4 Pairwise genetic distances of mitochondrial protein-coding gene sequences of *B. rufimanus* and other species of Bruchinae based on Kimura-2-Parameters

种 Species	<i>Acanthoscelides obtectus</i>	<i>Basilepta fulvipes</i>	<i>Bruchidius uberatus</i>	Bruchinae sp.	<i>Bruchus rufimanus</i>	<i>Bruchus</i> sp. EMHAU	<i>Callosobruchus analis</i>	<i>Callosobruchus chinensis</i>	<i>Callosobruchus maculatus</i>	<i>Caryopemon giganteus</i>
<i>Acanthoscelides obtectus</i>										
<i>Basilepta fulvipes</i>	0.351									
<i>Bruchidius uberatus</i>	0.216	0.331								
Bruchinae sp.	0.221	0.331	0.184							
<i>Bruchus rufimanus</i>	0.204	0.330	0.180	0.179						
<i>Bruchus</i> sp.	0.236	0.329	0.214	0.201	0.197					
<i>Callosobruchus analis</i>	0.249	0.348	0.226	0.232	0.217	0.237				
<i>Callosobruchus chinensis</i>	0.259	0.348	0.239	0.237	0.236	0.252	0.201			
<i>Callosobruchus maculatus</i>	0.199	0.311	0.171	0.170	0.126	0.188	0.215	0.229		
<i>Caryopemon giganteus</i>	0.308	0.368	0.289	0.295	0.285	0.286	0.315	0.318	0.279	

本研究构建了茎甲亚科分支类群的系统发育关系,研究结果与 Zhang *et al.* (2022) 的研究结果一致,支持茎甲亚科分支类群的 4 个亚科茎甲亚科、豆象亚科、水叶甲亚科和负泥虫亚科为单系群。此外,本文研究结果也支持豆象亚科与水叶甲亚科+负泥虫亚科形成姐妹群,这一结果与 Reid (1995, 2000)、Farrell & Sequeira (2004)、Bocak *et al.* (2014) 研究结论一致。但是, Gomez-Zurita *et al.* (2008) 基于叶甲科 167 个物种的 2 个核基因片段 (18S rRNA 和 28S rRNA) 和一个线粒体基因片段 (*rrnL*) 构建的茎甲亚科分支类群系统发育关系仍不清晰, Mckenna *et al.* (2015) 基于鞘翅目 367 个物种的 8 个核基因片段重建的系统发育结果支持豆象亚科和负泥虫亚科聚为一支。由此可知,目前关于豆象亚科的姐妹群关系仍然存在争议,还需进一步深入研究。

2 种系统发育分析与种间遗传距离一致显示,蚕豆象与四纹豆象形成姐妹群关系且有较高的节点支持值 BS = 100、PP = 1 和较近的遗传距离 0.126。这一现象可能是由于这 2 种昆虫在生活习性等方面具有较多的共同特点形成的。本研究丰富了茎甲亚科分支类群的线粒体基因组数据,可为后续茎甲亚科分支类群和豆象亚科的系统发育以及蚕豆象的种群遗传学等研究提供数据支持。

参考文献

丁国卫, 赵万千, 唐煜, 张廷礼, 曾建兵, 2006. 临夏州蚕豆象的生物学特性及防治措施研究. 甘肃农业科技 (3): 14–16.
董亮, 2011. 青海蚕豆象的发生与防治. 青海农林科技

(3): 20–21.
来有鹏, 2019. 蚕豆象的发生与防控研究进展. 植物检疫, 33(3): 58–62.
林兴雨, 翟卿, 宋南, 尹新明, 2022. 锯谷盗线粒体基因组及扁甲总科系统发育分析. 河南农业大学学报. [2023–02–06]. DOI: 10.16445/j.cnki.1000–2340.20220920.001.
王昶, 张丽娟, 郭延平, 闵庚梅, 2018. 6 种杀虫剂对蚕豆象成虫的室内毒力测定及田间药效评价. 植物保护, 44(4): 207–211.
徐淑华, 2012. 蚕豆象在青海省的适生性风险分析. 中国植保导刊, 32(4): 57–58.
BERNT M, DONATH A, JUHLING F, EXTERNBRINK F, FLORENTZ C, FRITZSCH G, PÜTZ J, MIDDENDORF M, STADLER P F, 2013. MITOS: improved *de novo* metazoan mitochondrial genome annotation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(2): 313–319.
BIDDLE A, CATLIN N, 2007. Pests, diseases, and disorders of peas and beans: a colour handbook. London: Manson Publishing Ltd.
BOCAK L, BARTON C, CRAMPTON-PLATT A, CHESTERS D, AHRENS D, VOGLER A P, 2014. Building the Coleoptera tree-of-life for > 8000 species: composition of public DNA data and fit with Linnaean classification. *Systematic Entomology*, 39(1): 97–110.
BOORE J L, 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(8): 1767–1780.
CAPELLA-GUTIÉRREZ S, SILLA-MARTÍNEZ J M, GABALDÓN T, 2009. TrimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 25(15): 1972–1973.
FARRELL B D, SEQUEIRA A S, 2004. Evolutionary rates in the adaptive radiation of beetles on plants. *Evolution*, 58(9): 1984–2001.

- GILLET C P D T, CRAMPTON-PLATT A, TIMMERMAN M J T N, JORDAL B H, EMERSON B C, VOGLER A P, 2014. Bulk *de novo* mitogenome assembly from pooled total DNA elucidates the phylogeny of weevils (Coleoptera: Curculionidae). *Molecular Biology and Evolution*, 31(8): 2223.
- GAILIS J, ASTAŠOVA N, JĀKOBSONE E, OZOLINA-POLE L, 2022. Biology of broad bean seed beetle (*Bruchus rufimanus*; Coleoptera: Chrysomelidae) in Latvia. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 72(1): 4–16.
- GÓMEZ-ZURITA J, HUNT T, VOGLER A P, 2008. Multilocus ribosomal RNA phylogeny of the leaf beetles (Chrysomelidae). *Cladistics*, 24(1): 34–50.
- GREINER S, LEHWARK P, BOCK R, 2019. OrganelleGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic Acids Research*, 47(1): 59–64.
- JIN J J, YU W B, YANG J B, SONG Y, DEPAMPHILIS C W, YI T S, LI D Z, 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes. *Genome Biology*, 21: 1–31.
- KATOH K, STANDLEY D M, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772–780.
- KÜCK P, LONGO G C, 2014. FASconCAT-G: extensive functions for multiple sequence alignment preparations concerning phylogenetic studies. *Frontiers in Zoology*, 11: 1–8.
- MCKENNA D D, WILD A L, KANDA K, BELLAMY C L, BEUTEL R G, CATERINO M S, FARNUM C W, HAWKS D C, IVIE M A, JAMESON M L, LESCHEN R A B, MARVALDI A E, MCHUGH J V, NEWTON A F, ROBERTSON J A, THAYER M K, WHITING M F, LAWRENCE J F, ŚLIPINSKI A, MADDISON D R, FARRELL B D, 2015. The beetle tree of life reveals that Coleoptera survived end-Permian mass extinction to diversify during the Cretaceous terrestrial revolution. *Systematic Entomology*, 40(4): 835–880.
- MENDESIL E, KUYU C G, ANDERSON P, 2022. Effects of storage in triple-layer hermetic bags on stored field pea grain quality and infestation by the pea weevil, *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 95: 101919.
- NGUYEN L T, SCHMIDT H A, VON HAESELER A, MINH B Q, 2015. IQ-tree: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1): 268–274.
- PERNA N T, KOCHER T D, 1995. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes. *Journal of Molecular Evolution*, 41: 353–358.
- REID C A, 1995. A cladistic analysis of subfamilial relationships in the Chrysomelidae sensu lato (Chrysomeloidea). *Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera (Papers Celebrating the 80th Birthday of Roy A. Crowson)*, 2: 559–631.
- REID C A, 2000. Spilopyrinae Chapuis: a new subfamily in the Chrysomelidae and its systematic placement (Coleoptera). *Invertebrate Systematics*, 14(6): 837–862.
- RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, AYRES D L, DARLING A, HÖHNA S, LARGET B, LIU L, SUCHARD M A, HUELSENBECK J P, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3): 539–542.
- SEGRS A, MEGIDO R C, LOGNAY G, FRANCIS F, 2021. Overview of *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 (Coleoptera: Chrysomelidae): biology, chemical ecology and semiochemical opportunities in integrated pest management programs. *Crop Protection*, 140: 105411.
- SONG N, YIN X, ZHAO X, CHEN J, YIN J, 2018. Reconstruction of mitogenomes by NGS and phylogenetic implications for leaf beetles. *Mitochondrial DNA A*, 29: 1041.
- TAMURA K, STECHER G, KUMAR S, 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022–3027.
- TRAN B, DARQUENNE J, HUGNARD J, 1993. Changes in responsiveness to factors inducing diapause termination in *Bruchus rufimanus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Insect Physiology*, 39: 769–774.
- ZHANG H, SONG N, YIN X, 2022. Higher-level phylogeny of Chrysomelidae based on expanded sampling of mitogenomes. *PLoS ONE*, 17(1): e0258587.

(责任编辑:郭莹)

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.014

纳米孔测序技术在实蝇类害虫检疫鉴定中的应用

姜帆^{1,2}, 丁新华³, 梁亮⁴, 付开赞³, 郭文超³, 朱水芳^{2*}

¹三亚中国检科院生物安全中心, 海南 三亚 572025; ²中国检验检疫科学研究院, 北京 100176;

³新疆农业科学院植物保护研究所, 农业农村部西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理
重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830091; ⁴农业农村部规划设计研究院, 北京 100125

摘要:【目的】纳米孔测序技术是单分子实时测序技术的一种,正在被广泛应用于临床快速诊断及微生物检测等领域。本研究以实蝇这一类重要的检疫性有害生物为例,探究该技术在昆虫检疫鉴定中应用的可行性,为昆虫检疫鉴定提供新方法。【方法】分别采用一代测序技术和纳米孔测序技术,对14种经形态学鉴定的实蝇成虫进行DNA条形码测序,通过BOLD和NCBI数据库对测序结果进行比对分析,并比较2种测序技术所得序列结果准确性的差异。【结果】通过纳米孔测序,14个实蝇样品在44 min内获得181 Mb bases,每个样品平均得到11280条reads,单个reads的准确度为92.10%~94.53%;经一致性序列校正,所有实蝇样品均可得到与一代测序结果完全一致的序列,序列分析结果与形态学鉴定结果完全一致。【结论】采用本研究的实验流程和数据分析方法,纳米孔测序技术可以应用于实蝇类害虫的检疫鉴定,测序结果准确、高效;本研究提供的实验方案同样适用于基于扩增子测序的物种鉴定,满足大规模样品的高通量精准鉴定需求。

关键词: 纳米孔测序; 实蝇; 昆虫; 鉴定; 扩增子



开放科学标识码
(OSID 码)

Preliminary investigation of quarantine and identification of Tephritidae based on nanopore sequencing technology

JIANG Fan^{1,2}, DING Xinhua³, LIANG Liang⁴, FU Kaiyun³, GUO Wenchao³, ZHU Shuifang^{2*}

¹CAIQ Center for Biosafety, Sanya, Hainan 572025, China; ²Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176,

China; ³Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northwestern Oasis, Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091, China; ⁴Academy of Agricultural Planning and Engineering, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China

Abstract: 【Aim】Nanopore sequencing technology, a single-molecule real-time sequencing approach, plays a crucial role in rapid clinical diagnosis and microbiological detection. Using Tephritidae as a crucial example of quarantine pests, the applicability of nanopore sequencing technology was assessed for insect quarantine identification, offering a new assessment approach. 【Method】We employed Sanger sequencing technology and nanopore sequencing to obtain the DNA barcodes of 14 Tephritidae species previously identified based on morphology. Each sequencing result was cross-referenced in the NCBI and BOLD databases to confirm species accuracy. We then compared the accuracy of sequences obtained through these two distinct sequencing technologies for each species. 【Result】Nanopore sequencing generated 181-megabyte bases in just 44 min across 14 samples, with an average of 11280 reads per sample and individual read accuracy of 92.10%–94.53%. After sequence correction for consistency, the results of nanopore sequencing were consistent with those of Sanger sequencing, and the sequencing analysis findings were consistent with the outcome of morphological identification. 【Conclusion】Our study demonstrates the full applicability of nanopore sequencing technology to quarantine the identification of Tephritidae using the experimental process and data analysis methods outlined here. The sequencing results proved to be both accurate and efficient. Additionally, the experimental protocol provided in this study is suitable for species identification based on amplicon sequencing, fulfilling the requirements for high-throughput and accurate identification of large-scale samples.

Key words: nanopore sequencing; Tephritidae; insects; identification; amplicon

收稿日期(Received): 2022-12-31 接受日期(Accepted): 2023-03-30

基金项目: 三亚市科技创新专项项目(2022KJCX72); 智力援疆创新拓展人才计划

作者简介: 姜帆, 女, 副研究员。研究方向: 有害生物分子鉴定与入侵机制。E-mail: 13426369960@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), 朱水芳, E-mail: zhusf@caiq.org.cn

纳米孔测序技术是英国牛津纳米孔技术公司(Oxford Nanopore Technologies, ONT)研发的一种单分子测序技术,它依赖一个纳米级的蛋白质孔(称为“纳米孔”)作为生物传感器,嵌入一个浸没在电生理溶液的薄膜中,施加恒定的电压,通过纳米孔产生离子电流,在马达蛋白的控制下使单个核苷酸分子逐一通过纳米孔,根据不同类型核苷酸碱基带电性质的不同,通过电信号的差异识别碱基类别,从而实现测序(Deamer *et al.*, 2016)。与其他测序平台相比,纳米孔测序具有超长读长、试验周期短、实时测序、操作便捷等优势,正在被大量应用于基因组测序组装、全长转录本测序、基因突变检测、临床快速诊断以及疫情监测等领域(Wang *et al.*, 2021)。MinION 纳米孔测序仪是 2014 年 ONT 提供的第一个便携式纳米孔测序仪(Jain *et al.*, 2016),只需连接一台电脑,使用者便可在任何时间、任何地点给任何生物测序。由于其小巧易携带、操作简单,特别适用于在现场检测及病虫害监测。

目前,基于纳米孔测序技术的宏基因组测序在植物病原微生物检测方面开展了一些初步研究(陈大嵩等, 2021; 卢慧林等, 2021; Chalupowicz *et al.*, 2019; Filloux *et al.*, 2018; Naito *et al.*, 2019),而未见该技术应用于害虫检疫鉴定的报道。实蝇(双翅目 Diptera 实蝇科 Tephritidae)是具有重要经济意义的有害生物类群,在世界植物检疫中占有重要的地位,其在我国的入侵危害也日益严重,多个种属均被列为我国进境植物检疫对象和我国重点管理的外来物种(李志红等, 2013)。基于线粒体 CO I 基因的 DNA 条形码技术已被广泛应用于除复合体以外的实蝇物种鉴定(Jiang *et al.*, 2014),在以往的研究中,研究人员通常将扩增产物送至测序公司,最快也需 1 d 时间得到测序结果,然后才能进行种类鉴定分析。本研究尝试利用 MinION 纳米孔测序仪,以实蝇类害虫为研究对象,探究纳米孔测序技术在昆虫检疫鉴定中应用的可能性;特别是与一代测序技术相比,评估纳米孔测序技术对扩增子的测序效率和准确性。

1 材料与方法

1.1 供试样品

本研究所用实蝇成虫样品包括南美按实蝇 *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann)、墨西哥按实蝇 *A. ludens* (Loew)、西印度按实蝇 *A. obliqua* (Mac-

quart)、番石榴实蝇 *Bactrocera correcta* (Bezzi)、橘小实蝇 *B. dorsalis* Hendel、橘大实蝇 *B. minax* (Enderlein)、蜜柑大实蝇 *B. tsuneonis* (Miyake)、昆士兰实蝇 *B. tryoni* (Froggatt)、桃实蝇 *B. zonata* (Saunders)、枣实蝇 *Carpomya vesuviana* Costa、地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (Wiedemann)、樱桃绕实蝇 *Rhagoletis cerasi* Loew、瓜实蝇 *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett)和南亚果实蝇 *Z. tau* (Walker),共计 14 种。均来自田间采集、口岸截获以及国际原子能机构赠予。全部样品均经过形态学鉴定确认种类。

1.2 DNA 提取

采用天根生化科技(北京)有限公司“血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒”(DP304)对实蝇样品进行 DNA 提取。取实蝇单足于 1.5 mL 离心管中,向离心管中加入液氮充分研磨,再根据试剂盒说明书对样品进行 DNA 提取,得到的 DNA 于 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.3 PCR 扩增

采用 DNA 条形码所用通用引物 LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3')/HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGCTGACCAAAAAATCA-3')(Folmer *et al.*, 1994)对样品 DNA 进行扩增,目的片段为线粒体 DNA 中序列长度为 658 bp 的 CO I 基因片段。PCR 反应的总体系为 50 μ L: 2 $\times$ Taq PCR MasterMix [天根生化科技(北京)有限公司, KT201] 25 μ L, LCO1490/HCO2198 (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹)各 2 μ L, ddH₂O 19 μ L, DNA 模板 2 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 30 min、50 °C 30 s、72 °C 30 s, 共 35 个循环; 72 °C 5 min。取 5 μ L PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上进行电泳检测,将有目的条带的 20 μ L 扩增产物送至北京擎科生物科技有限公司进行一代双向测序。

1.4 纳米孔测序文库构建

使用 ONT 公司 LSK109 连接及 EXP-NBD104/114 建库试剂盒,根据北京金果壳公司的纳米孔测序 DNA 多样本辅助建库试剂盒(JC-EXP024)及其说明书进行测序文库构建。首先,采用磁珠法对剩余的 PCR 产物进行纯化,并取 1 μ L 纯化产物通过 Qubit 2.0 荧光定量仪(美国 Life Qubit)进行定量。为使每个样品测序得到相对一致的 reads 数,根据 PCR 纯化产物定量结果和说明书推荐的 300 fmol PCR 产物用量,分别对每个样品进行末端修复;每

个样品配制 54.5 μL 的混合体系于 PCR 管中进行末端修复,反应体系为 3.5 μL 末端修复缓冲液、3 μL 末端修复酶、PCR 纯化产物、加无核酸酶水补足至 54.5 μL ;末端修复反应条件:20 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;65 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;20 $^{\circ}\text{C}$ 保存;对反应产物进行磁珠纯化并进行 Qubit 定量。向每个样本添加对应条形码并记录,配制 30 μL 混合体系于 PCR 管中,反应体系为 12.5 μL 末端修复后产物、2.5 μL 条形码 Native Barcode、15 μL TA 连接预混液;反应条件:25 $^{\circ}\text{C}$ 15 min;65 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。混合所有已添加条形码的样本进行磁珠纯化,用 50 μL 无核酸酶水洗脱。最后,配制 71 μL 混合体系于 PCR 管中,反应体系为 45 μL 混合样本、5 μL 测序接头 II (AMII)、14 μL 快速连接缓冲液、7 μL T4 快速连接酶;连接反应条件:20 $^{\circ}\text{C}$ 15 min;21 $^{\circ}\text{C}$ 保存;对连接产物进行磁珠纯化,15 μL EB 洗脱,取 1 μL 纯化产物进行 Qubit 定量,其余制备好的文库用于上机测序。

1.5 纳米孔测序与分析

使用 Flow Cell R9.4.1 的测序芯片。首先,将测序芯片放入 MinION 纳米孔测序仪并连接电脑,对测序仪和芯片进行质检,保证测序芯片有 800 个以上的可用纳米孔。然后,准备将构建好的测序文库滴入芯片用来测序:从芯片的 Priming 孔吸出 20~30 μL 缓冲液除去气泡;吸取 30 μL Flush Tether 加入到一管 Flush Buffer 中混匀配制成 Priming Mix,向 Priming 孔中匀速加入 800 μL 混匀的 Priming Mix,静置 5 min;按如下体系配制总体积为 75 μL 的 Loading Mix:37.5 μL Sequencing Buffer、25.5 μL Loading Beads、12 μL 测序文库;再由 Priming 孔匀速推入 200 μL 混匀的 Priming Mix,此时需看到 Sample 孔有大液滴向上涌出;向 Sample 孔滴加混好的 75 μL 待测文库 Loading Mix,控制好滴加速度以保证文库充满芯片区域;关闭 Priming 孔和 Sample 孔,开始测序。

MinION 纳米孔测序仪运行 44 min。用 seqtk 软件将测序所得的 fastq 文件转换为 fasta 文件,下载 BOLD 数据库中实蝇科物种的基因序列作为候选比对数据库,用 blast 将 fasta 数据与候选比对数据库进行比对,过滤掉相似度低于 90%且覆盖度低于 90%的比对结果,统计比对到候选序列上的 fasta 条数,挑选比对数量最多的序列作为参考序列;使用 minimap2 将原始 fastq 比对到挑选出的参考序列上,过滤掉比对质量值小于 60 的序列,并对 bam 文

件排序,使用 medaka 软件检测突变,获得变异 vcf 文件,使用 samtools 软件统计每个位点上的深度,使用自定义脚本将深度低于 100 的位点标记为 N,使用 bcftools consensus 获得一致性序列。利用 DNAMAN 软件,将获得的每个样品的一致性序列与一代测序数据进行差异比较分析。

2 结果与分析

2.1 一代测序结果

电泳结果显示,经 PCR 扩增所有样品均产生目的扩增条带(图 1),PCR 产物的一代测序结果经与 BOLD 和 NCBI 数据库比对,也显示与形态学鉴定结果一致。

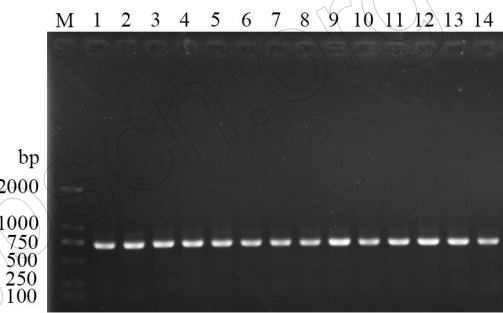


图 1 PCR 产物电泳检测结果图
Fig.1 The result of PCR products

2.2 纳米孔测序结果

纳米孔测序文库构建过程中,PCR 产物纯化后浓度如表 1 所示。为使后续每个样品测序得到相对一致的 reads 数,本研究在末端修复的步骤对每个样品浓度进行了均一化处理,从末端修复后的产物浓度可知,后续建库过程中每个样品的浓度相差不大。经 Qubit 检测,最终用于上级测序的文库浓度为 13.9 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。

MinION 纳米孔测序仪运行 44 min 后,共有 3.77 GB 数据产出,获得 181 Mb bases。序列长度分布如图 2 所示,序列长度集中分布在 700~800 bp,与目的片段的长度较一致。每个样品产生的 reads 情况如图 3 所示,14 个样品的 reads 数分布在 8863~13758,每个样品的平均 reads 数为 11280。

从每个样品的测序结果中随机挑选 10 条单条序列,经比对分析可知,与该物种的一代测序结果相比,纳米孔测序的单条序列与一代测序的序列相似度为 92.10%-94.53%。经一致性序列校正后,每个样品的一致性序列与一代测序结果完全一致。以本研究中产生 reads 数最少的枣实蝇为例,展示

单条序列和一致性校正后序列与一代测序所得序列的比对结果(图4)。

表 1 纳米孔测序文库构建各阶段结果
Table 1 Results of each stage of library construction for nanopore sequencing

序号 Number	样品种类 Species	PCR 产物纯化后浓度 Concentration of purified PCR products/(ng · μL ⁻¹)	末端修复用 PCR 纯化产物体积 Volume of purified PCR products for terminal repair/μL	末端修复后产物 浓度 Concentration of terminal repair products/(ng · μL ⁻¹)	文库浓度 Concentration of library /(ng · μL ⁻¹)
1	南美按实蝇 <i>Anastrepha fraterculus</i>	25.6	4.69	4.88	13.9
2	墨西哥按实蝇 <i>Anastrepha ludens</i>	14.5	8.28	4.44	
3	西印度按实蝇 <i>Anastrepha obliqua</i>	29.4	4.08	4.86	
4	番石榴实蝇 <i>Bactrocera correcta</i>	14.5	8.28	4.92	
5	橘小实蝇 <i>Bactrocera dorsalis</i>	14.7	8.16	4.88	
6	橘大实蝇 <i>Bactrocera minax</i>	3.7	32.26	4.82	
7	蜜柑大实蝇 <i>Bactrocera tsuneonis</i>	19.4	6.19	5.20	
8	昆士兰实蝇 <i>Bactrocera tryoni</i>	18.1	6.63	5.14	
9	桃实蝇 <i>Bactrocera zonata</i>	21.6	5.56	4.38	
10	枣实蝇 <i>Carpomya vesuviana</i>	14.7	8.16	5.00	
11	地中海实蝇 <i>Ceratitis capitata</i>	11.3	10.62	5.38	
12	樱桃绕实蝇 <i>Rhagoletis cerasi</i>	13.5	8.89	4.74	
13	瓜实蝇 <i>Zeugodacus cucurbitae</i>	20.8	5.77	4.52	
14	南亚果实蝇 <i>Zeugodacus tau</i>	3.7	32.43	4.67	

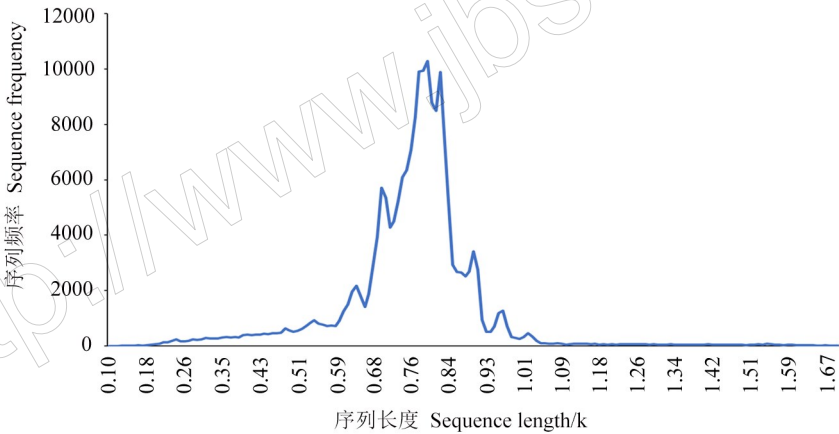


图 2 MinION 纳米孔测序序列长度分布图

Fig.2 Distribution of the sequence lengths generated by MinION nanopore sequencing

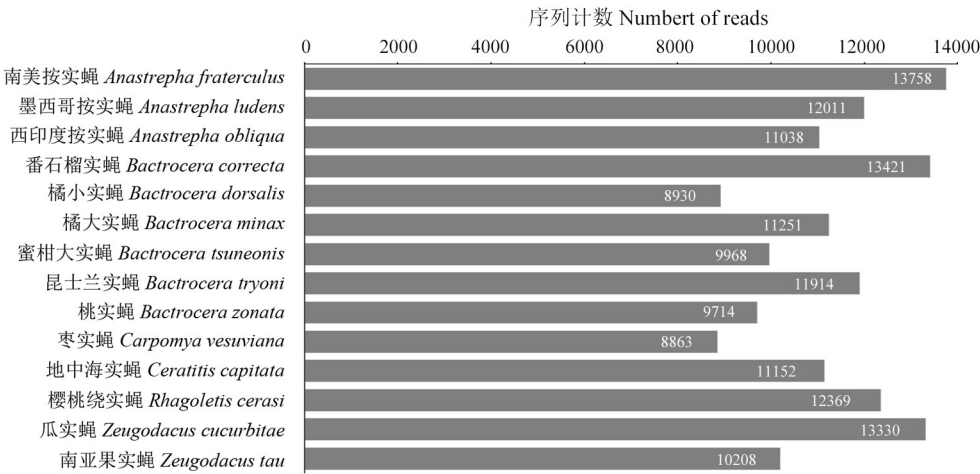


图 3 各样品序列数量统计图

Fig.3 The total number of reads for each sample generated by MinION nanopore sequencing

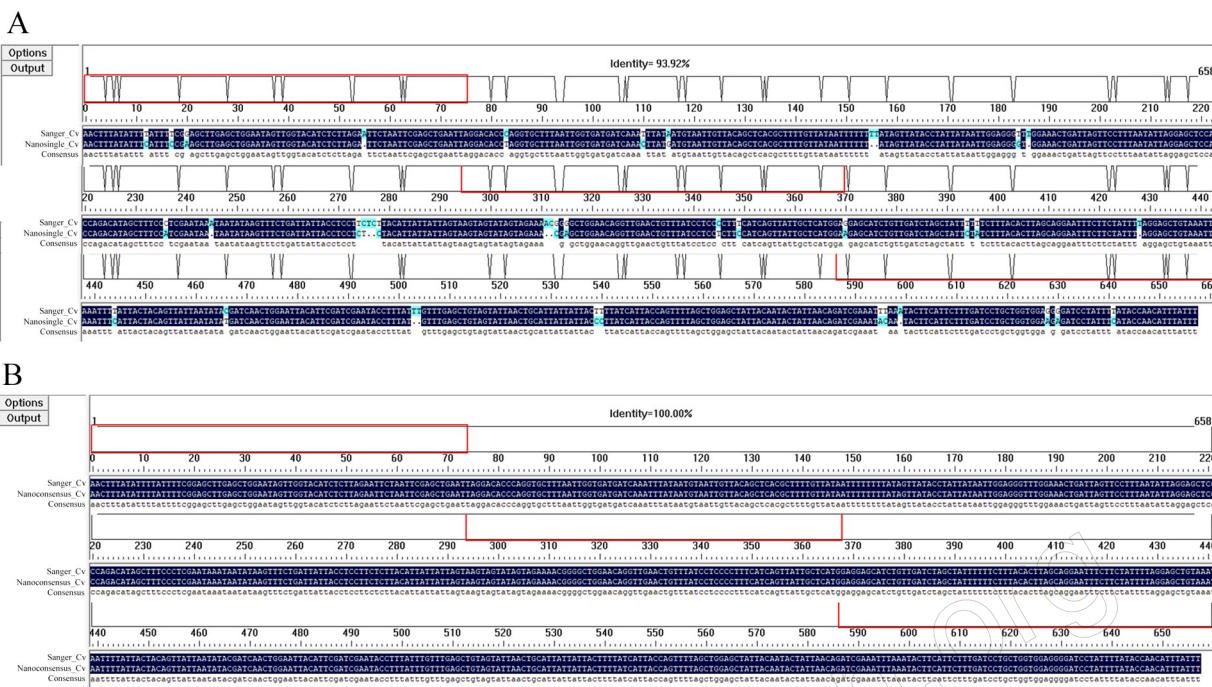


图 4 纳米孔测序与一代测序比对结果图(以枣实蝇为例)

Fig.4 Sequence alignment between nanopore sequencing and sanger sequencing (example of *C. vesuviana*)

Sanger_Cv: 枣实蝇一代测序序列; Nanosingle_Cv: 枣实蝇纳米孔测序单条序列; Nanoconsensus_Cv: 枣实蝇纳米孔测序一致性序列。
Sanger_Cv: Sanger sequencing result of *C. vesuviana*; Nanosingle_Cv: Single sequence of *C. vesuviana* based on nanopore sequencing;
Nanoconsensus_Cv: Consensus sequence of *C. vesuviana* based on nanopore sequencing.

3 讨论

本研究利用纳米孔测序技术,对 14 个实蝇样品进行了一次性高通量测序,测序结果显示,经一致性序列校正,所有实蝇样品均可得到与一代测序结果一致的序列。说明采用本研究的试验流程和数据分析方法,纳米孔测序技术可以应用于基于 DNA 条形码技术的实蝇类害虫的检疫鉴定。与一代测序相比,本研究只需 44 min 即可获得 181 Mb bases,每个样品可得到平均 11280 条 reads,且测序结果足以保证了序列的准确性,大大提高了基因序列测定的效率,缩短了基于序列分析进行检疫鉴定所需的时间。

纳米孔测序技术自问世以来,其本身的测序精度一直是限制其应用的一个主要因素。本研究结果显示,采用 R9.4.1 单个 reads 的准确度为 92.10%~94.53%,但通过一致性序列校正,测序结果可达到与一代测序结果完全一致。迄今为止,ONT 发布了 8 个系统版本,2022 年发布的最新版 R10.4.1 官方公布的准确度可达 99.6%,且双链数据的准确度达到 99.92%。R10.4.1 的穿孔速度有 260、400 及 520 bp · s⁻¹ 3 种模式,可根据准确度及测序通量要求,选择最合适的模式 (Oxford,2022)。除了测序精

度,测序通量也是检测应用特别是大规模检测中考虑的另一个重要因素。本研究采用的 MinION 测序平台,数据通量取决于活性纳米孔数量以及核苷酸分子通过纳米孔的速度和测序运行时间。本研究采用的 R9.4.1 测序芯片纳米孔每秒通过 400 个碱基,在今后的应用中可进一步缩短测序时间,即可得到准确的测序结果。

除纳米孔测序本身的技术优势外,合理的检测方案的制定也是提高检测准确性和时效性、大幅降低检测成本的重要手段。基于核酸序列分析的检测方法是除形态学鉴定外唯一有效的非靶向分子检测方法。在病原微生物高通量非靶向检测中,宏基因组测序是目前较为常用的手段 (路惠馨等, 2021)。但与微生物相比,昆虫基因组较大,若采用检测样品基因组作为物种鉴定的依据,无论从测序成本还是检测效率来说,都不是一个切实可行的方案。此外,对于昆虫来说, DNA 条形码对于大部分类群具有较好的鉴定效果 (Hebert *et al.*, 2003)。因此,扩增子测序更适用于昆虫的物种鉴定。本研究提供了一种基于纳米孔测序技术适用于扩增子测序进行物种鉴定的实验流程和数据分析方法,且能够满足大规模样品的高通量精准鉴定需求。

纳米孔测序技术以其长读长、通量高、测序精度高、测序成本低的优势,在检疫鉴定领域中有广泛的应用前景,特别是对于一代和二代测序无法一次性测通的长片段扩增子,纳米孔测序技术显示出了独一无二的优势。在今后的研究中,仍需进一步测试完善可以满足检疫鉴定工作需求的样品浓度、测序时间和数据量;特别是低浓度样品和混合样品中可实现有效检测鉴定的数据量;对于不同类群生物、不同检测目的制定不同的测序检测方案,使纳米孔测序技术在检疫鉴定领域应用中发挥实质性作用。

参考文献

- 陈大嵩, 黄鸿, 吴华, 李健雄, 戴建青, 2021. 利用纳米孔测序鉴定蓖麻蚕病害. *环境昆虫学报*, 43(1): 260–264.
- 李志红, 姜帆, 马兴莉, 方焱, 孙壮志, 秦誉嘉, 王巧铃, 2013. 实蝇科害虫入侵防控技术研究进展. *植物检疫*, 27(2): 1–10.
- 卢慧林, 陈大嵩, 陈逢浩, 叶静文, 欧阳革成, 2021. 基于纳米孔测序技术的柑橘黄龙病检测方法建立. *环境昆虫学报*, 43(6): 1596–1600.
- 路惠馨, 孙凯, 尹传林, 黄昱栋, 俞晓平, 2021. 纳米孔测序技术在植物病原检测中的应用与展望. *农业生物技术学报*, 29(9): 1817–1824.
- CHALUPOWICZ L, DOMBROVSKY A, GABA V, LURIA N, REUVEN M, BEERMAN A, LACHMAN O, DROR O, NISSAN G, MANULIS-SASSON S, 2019. Diagnosis of plant diseases using the nanopore sequencing platform. *Plant Pathology*, 68: 229–238.
- DEAMER D, AKESON M, BRANTON D, 2016. Three decades of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology*, 34(5): 518–524.
- FILLOUX D, FERNANDEZ E, LOIRE E, CLAUDE L, GALZI S, CANDRESSE T, WINTER S, JEEVA M L, MAKESH-KUMAR T, MARTIN D P, ROUMAGNAC P, 2018. Nanopore-based detection and characterization of yam viruses. *Scientific Reports*, 8: 17879.
- FOLMER O, BLACK M, HOEH W, LUTZ R, VRIJENHOEK R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294–299.
- HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, DEWAARD J R, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings the Royal Society B*, 270: 313–321.
- JAIN M, OLSEN H E, PATEN B, AKESON M, 2016. The Oxford nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology*, 17: 239.
- JIANG F, JIN Q, LIANG L, ZHANG A B, LI Z H, 2014. Existence of species complex largely reduced barcoding success for invasive species of Tephritidae: a case study in *Bactrocera* spp. *Molecular Ecology Resources*, 14: 1114–1128.
- NAITO F Y B, MELO F L, FONSECA M E N, SANTOS C A F, CHANES C R, RIBEIRO B M, GILBERTSON R L, BOITEUX L S, PEREIRA-CARVALHO R D C, 2019. Nanopore sequencing of a novel bipartite new world begomovirus infecting cowpe. *Archives of Virology*, 164: 1907–1910.
- OXFORD, 2022. *Oxford nanopore delivers technology update at annual London calling conference: bringing together years of innovation to showcase one sensing platform for all biological analyses*. [2022–05–20]. <https://nanoporetech.com/about-us/news/oxford-nanopore-delivers-technology-update-annual-london-calling-conference-bringing>.
- WANG Y, ZHAO Y, BOLLAS A, WANG Y, AU K F, 2021. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nature Biotechnology*, 39(11): 1348–1365.

(责任编辑:郭莹)

新入侵害虫葡萄花翅小卷蛾的生物学特性

阿地力·沙塔尔¹, 王 洁¹, 李俊峰¹, 郭文超^{2*}

¹新疆农业大学林学与风景园林学院, 新疆 乌鲁木齐 830052;

²新疆农业科学院植物保护研究所, 新疆农业生物安全重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830091

摘要:【目的】掌握新入侵我国的进境植物检疫性害虫葡萄花翅小卷蛾在吐鲁番市的生物学特性及种群周年发生规律, 为其综合防治提供理论依据。【方法】在田间以性引诱剂定点监测、野外网室笼罩饲养以及室内人工饲养相结合的方法, 观察葡萄花翅小卷蛾生活习性及其种群发生规律。【结果】该虫在我国新疆吐鲁番市 1 a 发生 5 代, 以蛹在葡萄藤皮下越冬。越冬蛹翌年 3 月底—4 月初(葡萄开墩)开始羽化, 4 月上旬为羽化高峰期(清明节前后), 中旬为羽化末期。越冬代成虫将卵产于花芽上, 4 月中旬第 1 代幼虫开始孵化; 第 1 代成虫于 5 月中旬开始羽化, 5 月下旬羽化结束; 第 2 代成虫于 6 月下旬开始出现, 7 月上旬为羽化高峰期; 第 3 代成虫于 7 月底开始羽化, 8 月上旬为羽化高峰期; 第 4 代成虫于 8 月底开始羽化, 9 月上旬为羽化高峰期; 越冬代幼虫 10 月上旬开始化蛹越冬, 大部分幼虫更趋向于在老树的藤皮下化蛹。成虫的飞行、取食、交配、产卵等行为多发生在黄昏。越冬代成虫将卵产于葡萄花序萼片以及花蕾上; 第 1~3 代成虫将卵产于葡萄果实表面, 第 4 代成虫将卵产于葡萄二次开的花絮上, 卵单产, 单雌产卵量为 20~40 粒左右。第 1 代幼虫取食葡萄花絮, 第 2~4 代幼虫危害葡萄果实, 并有自相残杀的习性, 糖醋液(红糖: 醋: 酒: 水=6: 3: 1: 10)对成虫有一定的诱杀效果。【结论】该虫在吐鲁番 1 a 发生 5 代, 各世代划分明显, 越冬代发生数量最大, 无世代重叠现象, 随温度升高各世代和虫态的发育历期缩短, 幼虫在葡萄整个生长季节均造成危害, 第 3、4 代幼虫危害成熟果实, 引起果实大量腐烂并造成严重经济损失。

关键词: 世界性害虫; 葡萄花翅小卷蛾; 生活史; 习性; 发生规律



开放科学标识码
(OSID 码)

The biological characteristics of a new invasive pest, *Lobesia botrana*

ADILI · Shataer¹, WANG Jie¹, LI Junfeng¹, GUO Wenchao^{2*}

¹School of Forestry and Landscape Architecture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China;

²The Key Laboratory of Agricultural Biosafety, Plant Protection Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091, China

Abstract: 【Aim】 In this study, we sought to determine the biological characteristics and annual population occurrence of the moth *Lobesia botrana* (Denis et Schiffermuller), a newly invasive plant quarantine pest in China, and to provide a theoretical basis for its integrated control. 【Method】 We examined the living habits of *L. botrana* and the regularity of population occurrence in the field by means of fixed-point monitoring using sex pheromone attractants, enclosed rearing in the field, and artificial rearing indoors. 【Result】 At the study site in Turpan, Xinjiang, China, the moth annually completes five generations. During winter, it overwinters as a pupae beneath the bark of grape vines. Overwintering pupae commence emergence from the end of March to the beginning of April, coinciding with the opening of grape buds, with peak emergence occurring in early April, around the time of Tomb-Sweeping Day, and approaches completion by mid-April. During this time, overwintering adults lay eggs on flower buds. The first generation of larvae commences hatching in mid-April, and first-generation adults start emerging in mid-May, with the period of emergence ending in late May. Second-generation adults start to appear in late June, with peak emergence occurring in early July, whereas third-generation adults emerge at the end of July, with a peak emergence in early August, and fourth-generation adults emerge at the end of August, with a peak emergence in early September. In early October, the larvae of the subsequent overwintering generation begin to pupate, with most larvae preferentially pupating beneath the bark of old vine trees. Adult insects mostly engage in flying, feeding, mating, and oviposition behaviors during dusk. Overwintering adult females lay eggs on the sepals and buds of grape inflorescences. The

收稿日期(Received): 2023-11-17 接受日期(Accepted): 2023-12-29

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC2601401)

作者简介: 阿地力·沙塔尔, 男, 教授。研究方向: 林业外来有害生物监测与防控。E-mail: adl1968@126.com

* 通信作者(Author for correspondence), 郭文超, E-mail: gwc1966@163.com

first- to third-generation females oviposit on the surface of grape fruits, whereas fourth-generation females oviposit on the tidbits of grape secondary openings. A single female lays between approximately 20 and 40 eggs. The first-generation larvae feed on grape tidbits, whereas those of the second to fourth generations cause damage to grape fruits and exhibit cannibalistic behavior. In terms of control, a sweet and sour solution comprising a mixture of brown sugar, vinegar, wine, and water (6 : 3 : 1 : 10) has been proven to have certain trapping and killing effects on adults. 【Conclusion】 In Turpan, there are five discrete non-overlapping generations of *L. botrana* within a single year. The overwintering generation is the largest in terms of population size. The duration of development for each generation and the different stages of the insect's life cycle shorten as the air temperature increases. The larvae pose a threat during the entire growing season of grapes, with the larvae of the third and fourth generations causing damage to ripened fruits, resulting in significant fruit decay and substantial economic losses.

Key words: cosmopolitan pests; *Lobesia botrana*; life history; habits; occurrence regularity

葡萄花翅小卷蛾 *Lobesia botrana* (Denis et Schiffermuller), 属鳞翅目 Lepidoptera 卷蛾科 Tortricidae 花翅小卷蛾属 *Lobesia* (Fidelibus & Matthew, 2015), 是严重危害多种经济植物花和果实的世界性害虫, 于 2007 年 5 月 29 日被列入《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》(中华人民共和国农业部, 2007)。葡萄花翅小卷蛾原产于意大利, 目前已传至欧洲绝大部分地区、亚洲的伊朗等部分地区、非洲的北部及西部、美国部分地区以及南美洲的智利等国家(白皎洋, 2021; 陈乃中, 2009; Fidelibus & Matthew, 2015; Gilligan *et al.*, 2011)。该虫主要危害葡萄 *Vitis vinifera* L.、大戟瑞香 *Daphne gnidium* L.、多种醋栗 *Ribes* spp.、橄榄 *Olea europea* L.、欧洲李 *Prunus domestica* L.、甜樱桃 *Prunus avium* L.、黑莓 *Rubus fruticosus* Pollich、猕猴桃 *Actinidia chinensis* Planch、柿 *Diospyrus kakis* L.、石榴 *Punica granatum* L.、迷迭香 *Rosmarinus officinalis* L. 等 27 科 40 余种植物(Ioriatti *et al.*, 2011)。葡萄花翅小卷蛾的发生代数与当地气候因素有密切关联, 如光照、温度等(Briere & Pracros, 1998)。据报道, 该虫在意大利 1 a 仅发生 3 代, 而在西班牙、希腊、土耳其等温暖地区地则发生 3~4 代(Thiéry, 2008; Thiéry *et al.*, 2014)。葡萄花翅小卷蛾是欧洲、北非、西亚等地葡萄上的主要害虫之一, 成虫交尾卵产于葡萄花序或果实上, 幼虫以啃食花芽或果实造成危害。在无管理的果园, 危害率高达 45%~92%(Roditakis, 1986), 给当地的葡萄产业造成巨大的经济损失。

萄花翅小卷蛾于 2014 年 6 月在新疆吐鲁番市高昌区葡萄园中首次被发现, 2015 年 9 月标本送至中国科学院动物研究所由武春生研究员鉴定。2016 年该害虫开始在吐鲁番市大面积发生, 据当地

林业和草原局数据显示, 仅 2016 年, 葡萄花翅小卷蛾对吐鲁番市的葡萄产业造成的经济损失达 4480 万元, 该虫发生区域葡萄产量损失 20%~50%, 严重区域甚至绝收。葡萄花翅小卷蛾的发生严重影响着吐鲁番市葡萄产业的发展, 若不加以严格防控, 任由其继续扩散蔓延, 将对全疆乃至全国的葡萄产业造成严重威胁(李俊峰等, 2017)。目前, 国内对该虫的相关研究暂未见报道, 本研究在吐鲁番市高昌区对该害虫进行调查研究, 以掌握其生活史、习性、田间发生规律等生物学特性, 为有效控制其危害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

试验主要使用的仪器与设备: RTOP 系列智能人工气候培养箱(浙江托普仪器有限公司)、GXZ 智能光照培养箱(宁波江南仪器厂)、体式显微镜 SZX7(舜宇仪器有限公司)、电子天平 BS323S(赛多利斯有限公司)、三角形诱捕器(中捷四方生物科技股份有限公司)、性引诱剂诱芯(剂量为 0.8 mg, 中捷四方生物科技股份有限公司)、木质养虫箱(40 cm×20 cm×20 cm)、培养皿($\Phi=10$ cm)、玻璃烧杯(500 mL)、无菌纱布、镊子、毛笔、养虫笼(15 cm×10 cm×8 cm)等。

1.2 试验地概况

气候条件: 试验地设在吐鲁番市高昌区亚尔镇戈壁村葡萄园中(危害率 $\geq 30\%$)(42°96'34"N, 89°19'84"E), 属典型的大陆性干旱荒漠气候, 冬季寒冷, 夏季高温炎热。吐鲁番市年积温 5956 °C, 大于 10 °C 积温 5372.5 °C, 无霜期 224 d, 全年温度以 1 月最冷, 7 月最热, 温度年较差 40~47.5 °C。冬季最低温度 -25.2 °C、夏季最高温度可达 47.7 °C, 平均炎热日数(最高温度 ≥ 35 °C 日数)为 98 d; 酷热

日数(最高温度≥40℃日数)为34 d左右,昼夜温差可达20℃,平均年降水16.6 mm,平均年蒸发量2844.9 mm,RH为30%左右;全年总日照时数平均为3056.4 h,年总日照时数最多达3349.6 h,最少2829.7 h,年日照百分率69%。6级以上大风(风速≥17.0 m·min⁻¹)日数,年平均80.3 h。

栽培模式和主要葡萄品种:栽植方式以棚架式(“厂”字形)为主,行距为3.5~5.0 m,树龄为10~20 a生。主要葡萄品种有无核白、无核白鸡心、淑女红、火焰无核、吐鲁番红葡萄、马奶子、波尔莱特等7大品种,以无核白品种为主。

1.3 生活史及习性观察

2015年—2016年连续2 a从3月中旬开始从野外采集受害的带虫葡萄花序,以每块样地为单位,置于15 cm×10 cm×8 cm养虫笼内,在室内恒温条件[(26±1)℃,60%±5% RH,16L:8D]下饲养,观察葡萄花翅小卷蛾各虫态的发育历期、习性、交尾及产卵等特点。

2016年3—10月,在葡萄花翅小卷蛾发生较严重的高昌区亚尔镇戈壁社区葡萄园中,选取10~15 a生无核白葡萄园,葡萄架高度在1.85 m左右,建设一座网室(3.5 m×2.5 m×2.0 m),四周用钢条支撑,铁丝网罩于葡萄树(品种为无核白)上,网室底部埋入土中。定点、定时观察记录葡萄花翅小卷蛾在室外条件下的生长发育、各虫态习性、数量变化等生物学特性及危害情况。

1.4 田间发生动态监测

在高昌区亚尔镇戈壁村隔壁葡萄庄园附近,选取一块27 hm²样地,每1 hm²地悬挂一只装有葡萄花翅小卷蛾性引诱剂的三角形诱捕器,共计27套;三角型诱捕器悬挂在葡萄架2/3处,悬挂高度距地面1.5 m。自2016年3月20日—9月30日,每日8:00准时监测记录每个诱捕器诱捕到的成虫数量,及时清理粘虫板上的死虫、杂物。

1.5 葡萄花翅小卷蛾对糖醋液的趋性

配置不同比例的糖醋液:配方A(糖:醋:酒:水=5:20:5:80)、配方B(糖:醋:酒:水=5:10:2:50)、配方C(糖:醋:酒:水=6:3:1:10)、配方D(糖:醋:酒:水=1:4:0:10)、配方E(糖:醋:酒:水=7:3:6:10)、配方F(糖:醋:酒:水=1:10:0:70)。将诱捕器放置在亚尔镇试验地内,每个诱捕器中装入250 mL

的药液,诱捕器高度距离地面1.5 m,不同类型糖醋液5个为一组,确定30个诱捕器的放置点。不同类型的诱捕器做好标记,随机排列,定点观测。每天观察一次,3 d更换一次药液,记录试验数据。

1.6 数据统计与处理

采用Excel 2010、SPSS 21 分析数据并作图。

2 结果与分析

2.1 年生活史

葡萄花翅小卷蛾在吐鲁番市高昌区1 a发生5代,以蛹在枯枝落叶中、果实内、藤皮下或土壤缝隙中结茧化蛹越冬。越冬蛹第二年的3月底—4月初(葡萄开墩)开始羽化,4月上旬为羽化高峰期(清明节前后),4月中旬为羽化末期。越冬代成虫产卵于花芽上,在4月8日首次发现,在温度24~32℃内,平均卵期为5~6 d;4月中旬幼虫开始孵化,低龄幼虫在取食花芽串后,在其上吐丝结网,幼虫10~15 d后在花芽上或卷叶边内化蛹;蛹期为8~12 d;第1代成虫5月中旬开始羽化,5月下旬结束,高峰期为5月20日—25日。第2代成虫6月下旬开始出现,羽化高峰期为7月上旬;第3代成虫从7月底开始羽化,8月5日—10日为羽化高峰期;第4代成虫从8月底—9月初开始羽化,9月5日—10日为羽化高峰期,越冬代幼虫10月上中旬开始化蛹越冬。该虫各世代划分明显,越冬代发生数量最大,无世代重叠现象(表1)。

2.2 习性

2.2.1 成虫习性 该虫的飞行、取食、交配、产卵等活动多发生在黄昏(北京时间8:00左右),阴雨、刮风天成虫不活动或活动量少。室内饲养条件下成虫寿命约为7 d。成虫羽化时间多在黄昏至夜间进行,少有白天羽化;刚羽化的成虫,并不能立即起飞,停留在蛹壳附近,行动迟缓,展翅需15~30 min,翅膀完全展开后即可起飞,湿度较低情况下部分成虫羽化后出现畸形而不能展翅。

成虫多在夜间活动,羽化当日并不立即交配,1 d后以对尾方式进行交配,日落黄昏前后(20:00—23:00)尤为活跃。多数雌虫一生只交配一次,但雄虫可多次交配,每次交尾时间为20~30 min。

越冬代成虫卵产于葡萄花絮萼片以及花蕾上;第1、2、3和4代成虫产卵于果实上,秋季世代将卵产在二次开花的花絮上。卵单产,单雌产卵量20~40粒。卵期6~9 d,孵化率可达90%以上。

表 1 葡萄花翅小卷蛾生活史(吐鲁番市高昌区,2016)
Table 1 Annual life of *L. botrana* (IDIKUT, 2016)

世代 Generation	1—3 月 January-March			4 月 April		5 月 May		6 月 June		7 月 July		8 月 August		9 月 September		10 月 October		11—12 月 November-December	
	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	上 The first ten days	中 The middle ten days	下 The last ten days	
越冬代 Overwinter generation	(○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○) (○)																		
第一代 First generation	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
第二代 Second generation																			
第三代 Third generation																			
第四代 Fourth generation																			
越冬代 Overwinter generation																			

(○):越冬蛹;●:卵;~:幼虫;○:蛹;+:成虫。
(○): Winter pupa; ●: Egg; ~: Larvae; ○: Pupa; +: Adult.

2.2.2 幼虫危害习性 第 1 代幼虫取食葡萄花序，初孵幼虫食量较小，在花蕾周围吐丝结网，致使相邻周边花序簇拥，呈“球形”，受害的花序萎蔫干枯脱落，严重影响座果率，幼虫不仅危害钻蛀花蕾，部分甚至会钻蛀到花轴中取食，老熟幼虫在花絮上吐丝结网化蛹。第 2 代幼虫危害葡萄幼果，具有转果危害习性，受害果实腐烂，一头幼虫可危害 2~3 粒果实，最多达到 4 粒，且喜选择阴面果实危害，虫道不规则，受害果实果肉被蛀空并有大量虫粪，蛀孔周围易变黑腐烂，大量提早萎缩而脱落，老熟幼虫多在干瘪的果实内化蛹。第 3 代幼虫发生期为 7 月，危害成熟果实，其危害最大，受害果实大量腐烂。第 4 代幼虫主要危害成熟果实，幼虫的危害为灰霉和黑曲霉等真菌的侵入提供有利条件，导致受害果实大量变黑腐烂。第 5 代幼虫危害二次开花的花絮或田间遗留的果实，每枚病果中仅有一头幼虫。室内饲养条件下幼虫发育历期为 8~10 d，并且幼虫对外界刺激反应尤为强烈，受惊后，身体剧烈摆动，活动敏捷，爬行速度快。幼虫具自相残杀的习性。

2.2.3 化蛹习性 老熟幼虫在化蛹前的 1~2 d 停止取食，并吐丝结茧，整个过程大约持续 10 h。化蛹结茧多选择隐蔽场所，室内饲养条件下蛹期为 8 d 左右。第 1 代幼虫多在花絮中化蛹；第 2 代~第 4 代老熟幼虫主要在葡萄果串深处果梗缝隙以及干瘪果实中化蛹。越冬代幼虫一般转移至葡萄藤皮或枯枝落叶中化蛹越冬。

在田间对越冬场所进行调查，采集越冬蛹数共计 305 头，其中在葡萄枝干藤皮上越冬蛹占所调查成虫数的 94.75%，其中在树干基部以上区（0.5~2.0 m）所采集蛹数占总数 89.18%，树干基部（0.5 m 以下）仅占 5.57%。在树下枯枝落叶、土缝中的越冬蛹仅占所调查总数的 2.30% 和 3.00%。在调查过程中，树龄 10 a 以上所发现越冬蛹数量明显多于树龄在 5 a 以下的。

2.2.4 成虫对糖醋液的趋性 通过试验发现，葡萄花翅小卷蛾对糖醋液具有一定的趋性，不同的配方也造成了不同的引诱效果（表 2）。其中，配方 C 的引诱效果略强于其他配方，引诱葡萄花翅小卷蛾成虫数较多，5 个诱捕器总共诱集 64 头；配方 D 与配方 E 差别不大，但也具有一定的引诱效果，诱集总

数分别是 20、26 头；配方 A 诱集数较少，仅 3 头。所以引诱效果由强到弱依次为 C>E>D>F>B>A。

表 2 葡萄花翅小卷蛾糖醋趋性对比

Table 2 Comparison of glutinous and vinegar in *L. botrana*

编号 Number	总平均数±标准误 Total mean±standard error	单日最高诱捕量/头 Maximum daily trap
A	0.6±0.548d	1
B	1.0±0.707d	1
C	12.8±1.924a	4
D	4.0±1.225c	2
E	5.2±0.837bc	1
F	1.2±0.837b	1

不同小字母表示 0.05 水平上差异显著。
The different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level.

2.3 田间发生规律

2016 年 3 月 30—至 9 月 26 日，通过不间断地以葡萄花翅小蛾性信息素诱捕器监测其在高昌区的发生动态（图 1）：3 月 30 日越冬代成虫开始羽化，当日单个诱捕器最高诱捕量为 17 头，成虫羽化出现 2 个亚高峰期，分别为 4 月 5 日和 4 月 8 日，这与清明节前后温度变化及大风天气有关。高峰期单个诱捕器诱捕量最高达 186 头，该世代也是诱集成虫数量最多；第 1 代成虫的发生期为 5 月 13 日—5 月 31 日，羽化高峰为 5 月 25 日，单个诱捕数最高为 10 头，与越冬代成虫数量相比，第 1 代成虫发生数量较低，并且在田间完成第 1 代的历期约为 40 d 右；第 2 代成虫发生期为 6 月 27 日—7 月 18 日，6 月 29 日为成虫羽化高峰，单个诱捕数最高达 28 头，完成第 2 代的历期约为 35 d；第 3 代成虫发生期为 7 月 28 日—8 月 25 日，8 月 1 日为第 3 代羽化高峰，单个诱捕数最高达 53 头，完成第 3 代的历期为 30 d 左右；9 月 1 日—9 月 16 日为第 4 代成虫发生期，9 月 4 日为羽化高峰，单个诱捕数最高达 88 头，相比前几代成虫发生期，该世代成虫发生期最短，完成第 4 代的历期为 25~30 d。可见，该虫越冬代成虫发生数量最大，随温度升高各世代和虫态的发育历期缩短，而无世代重叠现象。

3 讨论

国外文献报道葡萄花翅小卷蛾主要危害等 27 科 40 余种寄主植物，其中以葡萄为主（Ioriatti *et al.*, 2011）。目前，在新疆吐鲁番市，葡萄花翅小卷蛾只危害葡萄，尚未在其他寄主上发现该虫危害。

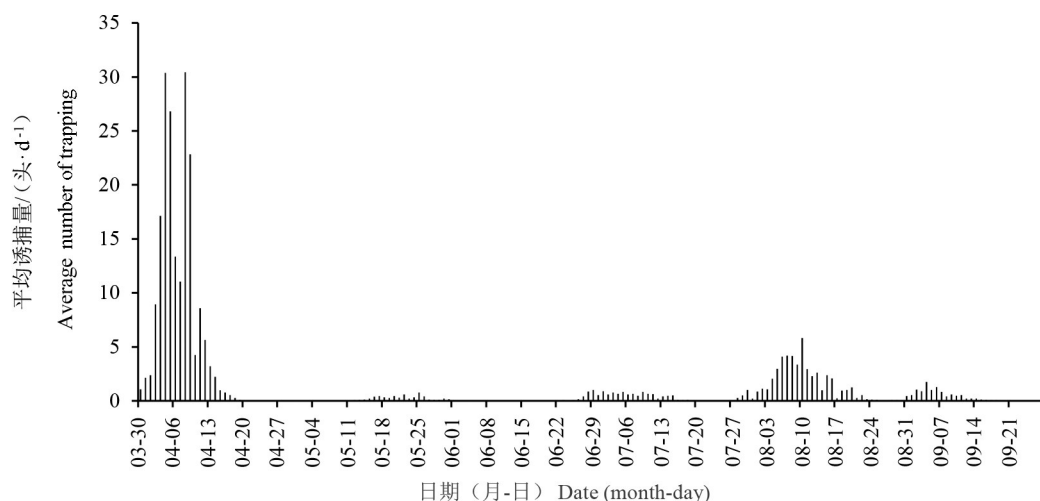


图 1 葡萄花翅小卷蛾成虫在的消长动态(吐鲁番高昌区,2016)

Fig.1 The growth and decline of *L. botrana* adult (IDIKUT, 2016)

葡萄花翅小卷蛾 1 a 可发生一至多代,在北欧部分地区 1 a 发生 2 代,南欧部分地区 1 a 发生 3 代,而西班牙(Ozlem,2014)、希腊(Rezwani,1981)、土耳其(陈乃中,2009)、约旦、埃及等地区 1 a 则可发生 3~4 代;Vassiliou (2009)报道该虫在西班牙当地年发生 3~4 代,第 4 代为不完整世代(Vassiliou, 2009);而在我国新疆吐鲁番地区 1 a 发生 5 代。葡萄花翅小卷蛾在意大利北部地区 4 月底 5 月初越冬蛹羽化为成虫,于 7 月葡萄果实收获后在枯枝落叶、杂草、葡萄藤皮及土壤缝隙中结茧化蛹越冬(Zangheri *et al.*, 1992)。我国吐鲁番的葡萄花翅小卷蛾于 3 月下旬—4 月上旬越冬蛹羽化为成虫,由于吐鲁番的葡萄有二次开花的习性,所以在 9 月初吐鲁番地区的葡萄全部采收完之后,葡萄花翅小卷蛾最后一代幼虫继续危害第二次的花穗。由此可见,在不同地区,由于温度、光照、湿度的不同,葡萄花翅小卷蛾的发生代数存在差异。

本文观察发现,葡萄花翅小卷蛾成虫产卵一般为单产,但个别出现 2~3 粒堆产的现象,室内饲养卵量为 20~40 粒左右,与牛春敬等(2013)所报道成虫卵单产,产卵量为 80~140 粒有出入。而在吐鲁番,春季第 1 代幼虫在越冬代成虫产卵 6 d 后便出现,夏季卵期最多可缩短至 3 d 左右,蛹期为 8~12 d;同时,越冬代的蛹期时间也相对较短,在吐鲁番为 160 d 左右;与牛春敬等(2013)报道的 12~15 d 和 Zangheri *et al.* (1992)报道在意大利北部越冬蛹期为 180 d 左右皆有不同。

室内饲养观察发现,幼虫有相互残杀的现象,

这与 Torres-Vila *et al.* (2005)介绍的幼虫具有强烈种间竞争有一定的关联性。Moschos *et al.* (2004)将红酒、醋、糖按照 94 : 4 : 2 的比例引诱葡萄花翅小卷蛾,雌虫怀卵率达 90% 以上。Roditakis (1986)在葡萄表面涂抹苏云金芽孢杆菌和糖醋液(水 1 : 醋 6% : 糖 0.94 g)分别喂养幼虫,涂抹苏云金芽孢杆菌的葡萄喂养幼虫后,幼虫死亡率达到 92%。Torres-Vila *et al.* (2005)将糖醋液配方进行了改良(红酒 600 mL,醋 150 mL,蔗糖 400 g)。本研究发现,糖醋液配方为红糖 : 醋 : 酒 : 水 = 6 : 3 : 1 : 10 时有一定的诱杀效果。可见,糖醋液可以利用葡萄花翅小卷蛾雌虫产卵行为引诱其雌成虫。

参考文献

- 白皎洋, 赵俊凝, 王康, 陈茂华, 2021. 基于转录组的葡萄花翅小卷蛾三类解毒酶基因家族分析. 生物安全学报, 30(1): 29-35, 60.
- 陈乃中, 2009. 中国进境植物检疫性有害生物——昆虫卷. 北京: 中国农业出版社.
- 李俊峰, 阿地力·沙塔尔, 喻峰, 买合木提·尼亚孜, 2017. 世界性害虫葡萄花翅小卷蛾入侵我国的风险分析. 生物安全学报, 26(1): 52-57.
- 牛春敬, 刘勇, 廖芳, 2013. 检疫性有害生物——葡萄花翅小卷蛾. 检验检疫学刊, 23(5): 57-59.
- 中华人民共和国农业部, 2007. 农业部公告第 862 号. (2007-05-28) [2023-12-02]. <http://www.moa.gov.cn/sjzz/zhongzhiye/zhifa/201006/P020100606580512831468.doc>.
- BRIERE J F, PRACROS P, 1998. Comparison of temperature-dependent growth models with the development of *Lobesia bo-*

- trana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 27: 94–101.
- FIDELIBUS, MATTHEW, 2015. Table grape meetings in chile and australia focus on quality. *Western Fruit Grower*, 135(1): 1.
- GILLIGAN T M, EPSTEIN M E, PASSOA S C, POWELL J A, SAGE O C, BROWN J W, 2011. Discovery of *Lobesia botrana* (Denis & schiffermüller) in california; an invasive species new to north america (Lepidoptera: tortricidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 113 (1): 14–30.
- IORIATTI C, ANFORA G, TASIN M, 2011. Chemical ecology and management of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 104(4): 1125–1137.
- MOSCHOS T, SOULIOTIS C, BROUMAS T, KAPOTHANASSI V, 2004. Control of the European grapevine moth *Lobesia botrana*, in Greece by the mating disruption technique: a three-year survey. *Phytoparasitica*, 32(1): 83–96.
- OZLEM A F, 2014. New approaches for the management of European grapevine moth (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.). *EDP Sciences*, 3: 01009.
- REZWANI A, 1981. Biology and ecology of the grapefruit moth (*Lobesia botrana* schiff.) in the tehran region. *Entomologie et Phytopathologie Appliquees*, 49(1): 35–43.
- RODITAKIS N E, 1986. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. kurstaki on the grape berry moth *Lobesia botrana* Den. and Shiff. (Lepidoptera, Tortricidae) under field and laboratory conditions in Crete. *Entomologia Hellenica*, 4 (2): 31–35.
- THIÉRY D, 2008. *Les tordeuses nuisibles à la vigne*. Bordeaux: Féret Publication.
- THIÉRY D, MONCEAU K, MOREAU J, 2014. Different emergence phenology of european grapevine moth (*Lobesia botrana*, lepidoptera: Tortricidae) on six varieties of grapes. *Bulletin of Entomological Research*, 104(3): 277–287.
- TORRES-VILA L, RODRÍGUEZ-MOLINA M C, MC MINN M, 2005. Larval food source promotes cyclic seasonal variation in polyandry in the moth *Lobesia botrana*. *Behavioral Ecology*, 16(1): 114–122.
- VASSILIOU V A, 2009. Control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in vineyards in cyprus using the mating-disruption technique. *Crop Protection*, 28(2): 145–150.
- ZANGHERI S, BRIOLINI G, CRAVEDI P, 1992. *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) // *Lepidotteri dei fruttiferi e della vite*. Milan, Italy: 85–88.

(责任编辑:郭莹)

征订启事

《生物安全学报(中英文)》是由中国植物保护学会与福建省昆虫学会共同主办的面向生物安全科学国际前沿的中英文学术刊物。本刊为季刊,每年2、5、8、11月15日出版。国内统一连续出版物号CN 35-1307/Q,国际标准连续出版物号ISSN 2095-1787。每期定价28.00元,全年112.00元(不含邮资)。

订阅方式 纸本征订:请将征订回执单和汇款凭证复印件发邮件至jbscn@fafu.edu.cn。

电子版征订:点击首页中的“RSS”或“E-mail 订阅”进行电子版订阅。

汇款办法 银行汇款或邮局汇款(汇款单上请注明“订阅《生物安全学报(中英文)》”)。收到款项后,我校财务处即开具正式发票。

银行汇款 开户银行:中国农业银行福州农大支行

开户名称:福建农林大学

账 号:13130701040000016

邮局汇款 地址:福建省福州市上下店路15号福建农林大学《生物安全学报(中英文)》编辑部
邮编:350002

《生物安全学报(中英文)》征订回执单

征订单位				邮箱	
发票抬头				税号	
详细地址				邮政编码	
收件人				电话	
单价(元)	112.00	征订份数		汇款金额	
汇款方式	() 邮局汇款 () 银行汇款			汇款时间	

主 编 Editors-in-Chief

尤民生 YOU Minsheng

Fujian Agriculture and Forestry University,
China

万方浩 WAN Fanghao

Chinese Academy of Agricultural Sciences,
China

Geoff M. Gurr

Charles Sturt University, Australia

副主编 Associate Editors

侯有明 HOU Youming

Fujian Agriculture and Forestry University,
China

刘长明 LIU Changming

Fujian Agriculture and Forestry University,
China

王进军 WANG Jinjun

Southwest University, China

王源超 WANG Yuanchao

Nanjing Agricultural University, China

周忠实 ZHOU Zhongshi

Chinese Academy of Agricultural Sciences,
China

Liette VASSEUR

Brock University, Canada

编委会 Editorial Board

陈 立 CHEN Li, Heibei University, China

陈茂华 CHEN Maohua, Northwest A&F University, China

陈智明 CHEN Zhiming, Fuzhou Customs District P.R.CHINA, China

程代凤 CHENG Daifeng, South China Agricultural University, China

褚 栋 CHU Dong, Qingdao Agricultural University, China

董莎萌 DONG Shameng, Nanjing Agricultural University, China

傅建伟 FU Jianwei, Fujian Academy of Agricultural Sciences, China

顾党恩 GU Dang'en, Pearl River Fisheries Research Institute, China

桂富荣 GUI Furong, Yunnan Agricultural University, China

郭 辉 GUO Hui, Nanjing Agricultural University, China

郭文超 GUO Wenchao, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, China

韩 鹏 HAN Peng, Yunnan University, China

洪晓月 HONG Xiaoyue, Nanjing Agricultural University, China

蒋红波 JIANG Hongbo, Southwest University, China

蒋明星 JIANG Mingxing, Zhejiang University, China

鞠瑞亭 Jǔ Ruiting, Fudan University, China

李 飞 LI Fei, Zhejiang University, China

李云河 LI Yunhe, Henan University, China

李志红 LI Zhihong, China Agricultural University, China

梁晋刚 LIANG Jingang, Development Center of Science and Technology, MARA, China

林 胜 LIN Sheng, Fujian Agriculture and Forestry University, China

刘 博 LIU Bo, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

刘万学 LIU Wanxue, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

刘文德 LIU Wende, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

陆永跃 LU Yongyue, South China Agricultural University, China

栾军波 LUAN Junbo, Shenyang Agricultural University, China

吕利华 Lǚ Lihua, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, China

吕要斌 Lǚ Yaobin, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, China

马德英 MA Deying, Xinjiang Agricultural University, China

宁约瑟 NING Yuese, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

牛长缨 NIU Changying, Huazhong Agricultural University, China

彭 露 PENG Lu, Fujian Agriculture and Forestry University, China

彭正强 PENG Zhengqiang, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, China

钱万强 QIAN Wanqiang, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

孙江华 SUN Jianghua, Chinese Academy of Sciences, China

王晓伟 WANG Xiaowei, Zhejiang University, China

魏 辉 WEI Hui, Fujian Academy of Agricultural Sciences, China

杨国庆 YANG Guoqing, Yangzhou University, China

杨 朗 YANG Lang, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, China

杨念婉 YANG Nianwan, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

叶恭银 YE Gongyin, Zhejiang University, China

尤士骏 YOU Shijun, Fujian Agriculture and Forestry University, China

战爱斌 ZHAN Aibin, Chinese Academy of Sciences, China

张爱兵 ZHANG Aibing, Capital Normal University, China

张飞萍 ZHANG Feiping, Fujian Agriculture and Forestry University, China

张 江 ZHANG Jiang, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China

张润志 ZHANG Runzhi, Chinese Academy of Sciences, China

张友军 ZHANG Youjun, Chinese Academy of Sciences, China

周文武 ZHOU Wenwu, Zhejiang University, China

《生物安全学报(中英文)》征稿简则

《生物安全学报(中英文)》(原《华东昆虫学报》《生物安全学报》)是由中国植物保护学会与福建省昆虫学会共同主办的面向生物安全科学国际前沿的中英文学术杂志,在国内外出版发行,征稿要求(简介)如下:

1. 主要刊载有关生物入侵、农业转基因生物、农用化学品、新技术等带来的生物安全科学问题的原始性研究论文、文献综述及研究简报等。

2. 论文内容力求充实,文字精炼流畅,论点明确,数据可靠。论文的基本要素齐全,包括标题、作者姓名、作者单位、摘要、关键词、正文、参考文献等。

3. 论文题目明确、简短易懂;摘要要求中文不低于 400 个字,英文不低于 250 个词,中英文摘要对应;关键词 3~8 个。

4. 来稿需在篇首页地脚处注明论文资助的基金项目和通信作者联系方式;基金项目包括课题来源、名称及基金代号。

5. 来稿请用 word 排版,全文五号字,1.5 倍行距(图表及文献除外);正确使用简化汉字和标点符号,采用国家规定的统一计量单位与符号;缩略词首次出现时必须给出相应的中文和英文全称。文稿标题与摘要中不宜采用缩略词,请写全称;外国人名一律用原名,不译成中文;希腊字母应注明希文,且生物科级以下名称首次出现时应注明拉丁学名和定名人。

6. 论文表格要求“三线表”,插图要求线条清晰、均匀。照片需提供分辨率为 300dpi 以上的 TIF 文件,层次清晰,大小适当;表题、图题、题及表图中注字均需采用中英文对照形式。

7. 参考文献以引用为限,只能引用公开发表的文章,勿用内部资料。本刊参考文献采用“著者-出版年”制,所有著者均不能省略,期刊名需用全称,所有文献按字母顺序进行排列,且中文在前、英文在后。

8. 所投稿件请保证文章版权的独立性、无抄袭、署名排列无争议、文责自负,请勿一稿多投!本刊编委会对来稿做必要的修改和压缩;来稿请自留底稿,无论刊登与否恕不退稿。

9. 本刊欢迎网上投稿 <http://www.jbscn.net>。

本刊被下列数据库固定收录:

- ★超星网“域出版”平台全文收录
- ★中文科技期刊数据库(维普网)全文收录
- ★中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)全文收录
- ★万方数字化期刊数据库全文收录

生物安全学报(中英文) Shengwu Anquan Xuebao (Zhongyingwen)

(季刊, 1992 年创刊)

第 33 卷 第 1 期 2024 年 2 月 15 日

JOURNAL OF BIOSAFETY

(Quarterly, Started in 1992)

Vol.33 No.1 Feb.15, 2024

主管 福建省科学技术协会
主办 中国植物保护学会 福建省昆虫学会
编辑出版 《生物安全学报(中英文)》编辑部
主编 尤民生 万方浩 Geoff M. Gurr
地址 福建省福州市金山 福建农林大学
邮编 350002
电话 0591-88191360
信箱 jbscn@fafu.edu.cn
网址 <http://www.jbscn.net>
印刷 福建东南彩色印刷有限公司
发行 《生物安全学报(中英文)》编辑部

Supervised by Fujian Association for Science and Technology
Sponsored by China Society of Plant Protection
Entomological Society of Fujian
Published by Editorial Department of Journal of Biosafety
Editors-in-Chief YOU Minsheng, WAN Fanghao, Geoff M. Gurr
Address Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou
Postcode 350002
Telephone +86-591-88191360
E-Mail jbscn@fafu.edu.cn
Website <http://www.jbscn.net>
Printed by Fujian Southeast Colour Printing Co. Ltd.
Distributed by Editorial Department of Journal of Biosafety

国内外公开发行

ISSN 2095-1787
CN 35-1307/Q

国内定价: 28.00 元