



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4079—2014

## 仙人掌孢囊属线虫检疫鉴定方法

Detection and identification of *Cactodera* Krall & Krall, 1978

2014-11-19 发布

2015-05-01 实施



中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：王金成、郭京泽、龙海、黄国明、罗加凤、廖芳、刘跃庭、刘鹏。

# 仙人掌孢囊属线虫检疫鉴定方法

## 1 范围

本标准规定了出入境植物检疫中仙人掌孢囊属线虫的检疫鉴定方法。

本标准适用于出入境植物检疫中植物、土壤及介质中仙人掌孢囊属线虫的检疫鉴定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 24829 毛刺线虫属(传毒种类)检疫鉴定方法

SN/T 1157 进境植物苗木检疫规程

SN/T 1158 进境植物盆景检疫规程

SN/T 1723.1 马铃薯白线虫检疫鉴定方法

SN/T 1723.2 马铃薯金线虫检疫鉴定方法

## 3 方法原理

中文名:仙人掌孢囊属

学名:*Cactodera* Krall & Krall, 1978

分类地位:线虫门(Nematoda)、侧尾腺纲(Secernentea)、垫刃目(Tylenchida)、纽带亚目(Hoplolaimina)、纽带总科(Hoplolaimoidea)、异皮科(Heteroderidae)、异皮亚科(Heteroderinae)。

仙人掌孢囊属目前有 13 个种。孢囊的形状,膜孔的直径,阴门突的有无,卵壳的表面特征,2 龄幼虫体长以及尾和透明尾的长度等形态特征是该属分类鉴定的主要依据;其生物学特性、寄主范围、地理分布、危害症状、传播途径及分子生物学特征可作为辅助判定依据。仙人掌孢囊属线虫寄主范围、地理分布、危害症状和传播途径参见附录 A,膜孔形状见附录 B。

## 4 仪器、用具和试剂

### 4.1 仪器和用具

光学显微镜、体视显微镜、恒温箱、漂浮桶、冰箱、加热板、标准套筛(20 目~500 目)、烧杯(2 000 mL)、干燥器、毛笔、毛刷、PCR 仪、电泳仪、电泳槽、凝胶成像系统等。

### 4.2 试剂

酒精、甘油、40%甲醛、乳酚油、丁香油、过氧化氢、中性树胶、硫酸镁、石蜡、*rTaq* DNA 聚合酶、dNTP、引物等。

## 5 现场检疫

注意观察苗木地上部分和根组织是否有发育不良的症状,以及是否带有土壤、介质。重点选取地上

部分矮化、褪绿、地下根组织短小、稀疏、分叉的苗木及根际土壤、介质,如无可疑症状则按要求随机取样。取样后立即置取样袋内密封,标记后及时送实验室检验。

具体抽样比例按照 SN/T 1157 和 SN/T 1158 执行。

## 6 实验室检验

### 6.1 线虫分离

对于采集的根组织和土壤、介质,可通过贝尔曼漏斗法或浅盘法分离 2 龄幼虫,通过 Fenwick-Oostenbrink 漂浮法、简易漂浮法或直接过筛分离法分离孢囊。

具体按照 GB/T 24829 进行 2 龄幼虫分离。

具体按照 SN/T 1723.1 进行孢囊分离。

### 6.2 体式显微镜镜检

仙人掌孢囊属线虫 2 龄幼虫蠕虫形,较活跃,体长大于 400  $\mu\text{m}$ ,口针强壮,体环明显;孢囊柠檬形、近球形到球形,静止,体长大于 400  $\mu\text{m}$ ,具有伸出的颈和末端突起。

### 6.3 标本制作

若发现 2 龄幼虫需制作临时玻片或永久玻片;若发现孢囊,需制作肛阴板标本。

具体按照 GB/T 24829 制作 2 龄幼虫临时玻片或永久玻片。

具体按照 SN/T 1723.2 制作孢囊肛阴板。

### 6.4 光学显微镜观察、摄影和测量

应针对孢囊、2 龄幼虫和卵的主要形态特征进行仔细观察并作显微摄影,重点包括孢囊的形状,膜孔的直径,阴门突的有无,卵壳的结构,2 龄幼虫体长以及尾和透明尾的长度。

需观察、测量获得分种检索表中的形态特征和形态测量值(分种检索表见附录 C)。当虫量足够时,拍摄测量的孢囊或 2 龄幼虫的数目应在 15 个或条以上。

## 7 仙人掌孢囊属线虫的形态学鉴定

### 7.1 仙人掌孢囊属形态鉴定特征

成熟的雌虫和孢囊柠檬形到球形,具有末端突起,阴门位于末端,阴门裂小于 30  $\mu\text{m}$ ,环膜孔,肛门无膜孔,无囊泡和阴门下桥,通常有阴门突,角质层有 D 层,2 龄幼虫有 4 条刻线,侧尾腺口刻点状,唇区有唇盘和 6 个唇瓣。

### 7.2 仙人掌孢囊属线虫分种形态特征

仙人掌孢囊属分种形态图谱见附录 D,形态描述见附录 E。

## 8 分子生物学检测

分子生物学检测流程参见附录 F。



## 9 结果判定

以孢囊、2 龄幼虫和卵的形态作为仙人掌孢囊属线虫分种鉴定的主要依据。将观察、测量获得的待定线虫的形态特征和测计值调入该属检索表(见附录 C),如果检索到某个种则可初步鉴定为该种。若初步鉴定的种符合该种线虫对应的形态特征(见附录 D 和附录 E),可判定检出该线虫。若只有 2 龄幼虫,则形态特征和分子生物学特征均符合某个种时方可判定检出该线虫。

## 10 样本保存

### 10.1 样品保存

若鉴定为仙人掌孢囊属线虫,应将带虫样品摄影,置于 4℃ 保存 6 个月以上,以备复验、谈判和仲裁。保存期满后,带虫样品需做销毁处理。

### 10.2 线虫保存

若鉴定为仙人掌孢囊属线虫,应将剩余的线虫杀死、固定、制成永久玻片保存,也可用 4% 甲醛溶液固定后长期保存。标签中应写明样品编号、制作人、制作时间、寄主、产地、种名等信息。

## 附录 A (资料性附录)

### 仙人掌孢囊属线虫寄主范围、地理分布、危害症状和传播途径

#### A.1 仙人掌孢囊属线虫的寄主范围

##### A.1.1 仙人掌孢囊线虫 *Cactodera cacti* (Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941) Krall & Krall, 1978

模式寄主: 圆盘玉属一种 (*Discocactus akkermannii*) 和仙人山属一种 (*Cereus speciosus*); 其他寄主: 仙人掌科 (Cactaceae); 仙人山属 (*Cereus*)、管花柱属 (*Cleistocactus*)、顶花球属 (*Coryphantha*)、圆盘玉属 (*Discocactus*)、金琥属 (*Echinocactus*)、仙人球属 (*Echinopsis*)、鹿角柱属 (*Echinocereus*)、昙花属 (*Epiphyllum*)、裸萼球属 (*Gymnocalycium*)、假昙花属 (*Hatiora*)、牡丹柱属 (*Heliocereus*)、量天尺属 (*Hylocereus*)、光山属 (*Leuchtenbergia*)、银毛球属 (*Mammillaria*)、花座球属 (*Melocactus*)、南国玉属 (*Notocactus*)、*Nopalea*、*Opuntia*、刺翁柱属 (*Oreocereus*)、子孙球属 (*Rebutia*)、丝苇属 (*Rhipsalis*)、蟹爪兰属 (*Schlumbergera*)、蛇鞭柱属 (*Selenicereus*)、瘤玉属 (*Thelocactus*); 伞形科 (Umbelliferae): 芹属 (*Apium*); 大戟科 (Euphorbiaceae): 大戟属 (*Euphorbia*); 景天科 (Crassulaceae)、桑科 (Moraceae)、夹竹桃科 (Apocynaceae)、萝藦科 (Asclepiadaceae)、菊科 (Asteraceae)、木犀科 (Oleaceae)。

##### A.1.2 异株苋孢囊线虫 *C.acnidae* (Schuster & Brezina, 1979) Wouts, 1985

模式寄主: 异株苋属一种 (*Acnida altissima*); 其他寄主: 大豆、藜属 (*Amaranthus* sp.)、粗糙藜 (*A. retroflexus*)、直立蓼 (*Polygonum erectum*)。

##### A.1.3 苋菜孢囊线虫 *C.amaranthi* (Stoyanov, 1972) Krall & Krall, 1978

模式寄主: 野苋菜 (*Amaranthus viridis*); 其他寄主: 刺苋 (*Amaranthus spinosus*)、反枝苋 (*A. Retroflexus*)、苋属 (*Amaranthus* spp.)、异株苋属一种 (*Acnida cuspidata*)、苋科 (Amaranthaceae)。燥砂孢囊线虫。

##### A.1.4 燥砂孢囊线虫 *C.eremica* Baldwin & Bell, 1985

模式寄主: 密叶滨藜 (*Atriplex confertifolia*)。

##### A.1.5 爱沙尼亚孢囊线虫 *C.estonica* (Kirjanova & Krall, 1963) Krall & Krall, 1978

模式寄主: 蒺藜 (*Polygonum aviculare*)。

##### A.1.6 埃文斯孢囊线虫 *C.evansi* Cid del Prado & Rowe, 2000

模式寄主: 康乃馨 (*Dianthus caryophyllus*)。

##### A.1.7 牛膝菊孢囊线虫 *C.galinsogae* Tovar Soto, Cid del Prado, Nicol, Evans, Sandoval Isl as & Martinez Garza, 2003

模式寄主: 牛膝菊 (*Galinsoga parviflora*); 其他寄主: 小麦、玉米、鬼针草属植物 (*Bidens odorata*、*B. ballsii*、*B. Serrulata*)、大麦 (*Hordeum vulgare*)、野燕麦 (*Avena fatua*)。

#### A.1.8 米勒孢囊线虫 *C.milleri* Graney & Bird, 1990

模式寄主:藜(*Chenopodium album*);其他寄主:苋色藜(*C.amaranticolor*)、*C.quinoa*。

#### A.1.9 根茎孢囊线虫 *C.radicale* Chizhov, Udalova & Nasonova, 2008

寄主未知,但与下列植物相关:偃麦草(*Elytrigia repens*)、欧蓍草(*Achillea millefolium*)、斑点金丝桃(*Hypericum maculatum*)、法兰西菊(*Leucanthemum vulgare*)、扁蓄(*Polygonum aviculare*)、草甸羊茅(*Festuca pratensis*)、紫羊茅(*F.rubra*)、夏枯草(*Prunella vulgaris*)、细弱剪股颖(*Agrostis tenuis*)、狭叶鼻花(*Rhinanthus angustifolius*)、长毛箬姑草(*Stellaria media*)、广布野豌豆(*Vicia cracca*)、匍匐状车轴草(*Trifolium repens*)、草间荆(*T.pratense*)、苔属植物(*Carex* sp.)

#### A.1.10 罗莎孢囊线虫 *C.rosae* Cid del Prado & Miranda, 2008

模式寄主:大麦(*Hordeum vulgare*)。

#### A.1.11 盐生孢囊线虫 *C.salina* Baldwin, Mundo-Ocampo & McClure, 1997

模式寄主:海蓬子(*Salicornia bigelovii*)。

#### A.1.12 桑尼孢囊线虫 *C.thornei* (Golden & Raski, 1977) Mulvey & Golden, 1983

模式寄主:生菜(*Montia perfoliata*)。

#### A.1.13 魏瑟孢囊线虫 *C.weissi* (Steiner, 1949) Krall & Krall, 1978

模式寄主:宾夕法尼亚蓼(*Polygonum pennsylvanicum*);其他寄主:蓼属的多数种(包括刻点蓼 *P.punctatum*)、荞麦(*Fagopyrum esculentum*)、*Rumex conglomeratus*、钝叶酸模(*R.abtusifolius*)。

### A.2 仙人掌孢囊属线虫的地理分布

#### A.2.1 仙人掌孢囊线虫 *C.cacti*

亚洲:亚美尼亚、中国、格鲁吉亚、印度、伊朗、以色列、日本、哈萨克斯坦、韩国、土库曼斯坦、乌兹别克斯坦、越南;欧洲:奥地利、比利时、捷克、丹麦、爱沙尼亚、德国、法国、匈牙利、意大利、立陶宛、马耳他、荷兰、波兰、葡萄牙、罗马尼亚、俄罗斯、斯洛文尼亚、西班牙、瑞典、瑞士、英国、乌克兰、南斯拉夫;非洲:阿尔及利亚;南美和加勒比地区:阿根廷、巴西、古巴、哥伦比亚;北美:加拿大、美国、墨西哥;大洋洲:澳大利亚、新西兰。

#### A.2.2 异株苋孢囊线虫 *C.acnidae*

美国内布拉斯加州东部。

#### A.2.3 苋菜孢囊线虫 *C.amaranthi*

北美和加勒比地区:美国、古巴、墨西哥。

#### A.2.4 燥砂孢囊线虫 *C.eremica*

美国犹他州沙漠。



SN/T 4079—2014

#### A.2.5 爱沙尼亚孢囊线虫 *C.estonica*

亚洲:中国、土耳其;欧洲:爱沙尼亚、波兰、瑞典、荷兰、乌克兰、南斯拉夫;北美:美国。

#### A.2.6 埃文斯孢囊线虫 *C.evansi*

墨西哥。

#### A.2.7 牛膝菊孢囊线虫 *C.galinsogae*

墨西哥。

#### A.2.8 米勒孢囊线虫 *C.milleri*

美国。

#### A.2.9 根茎孢囊线虫 *C.radicale*

俄罗斯。

#### A.2.10 罗莎孢囊线虫 *C.rosae*

墨西哥。

#### A.2.11 盐生孢囊线虫 *C.salina*

墨西哥。

#### A.2.12 桑尼孢囊线虫 *C.thornei*

亚洲:中国;北美:美国。

#### A.2.13 魏瑟孢囊线虫 *C.weissi*

北美:加拿大、美国。

### A.3 仙人掌孢囊属线虫的危害症状

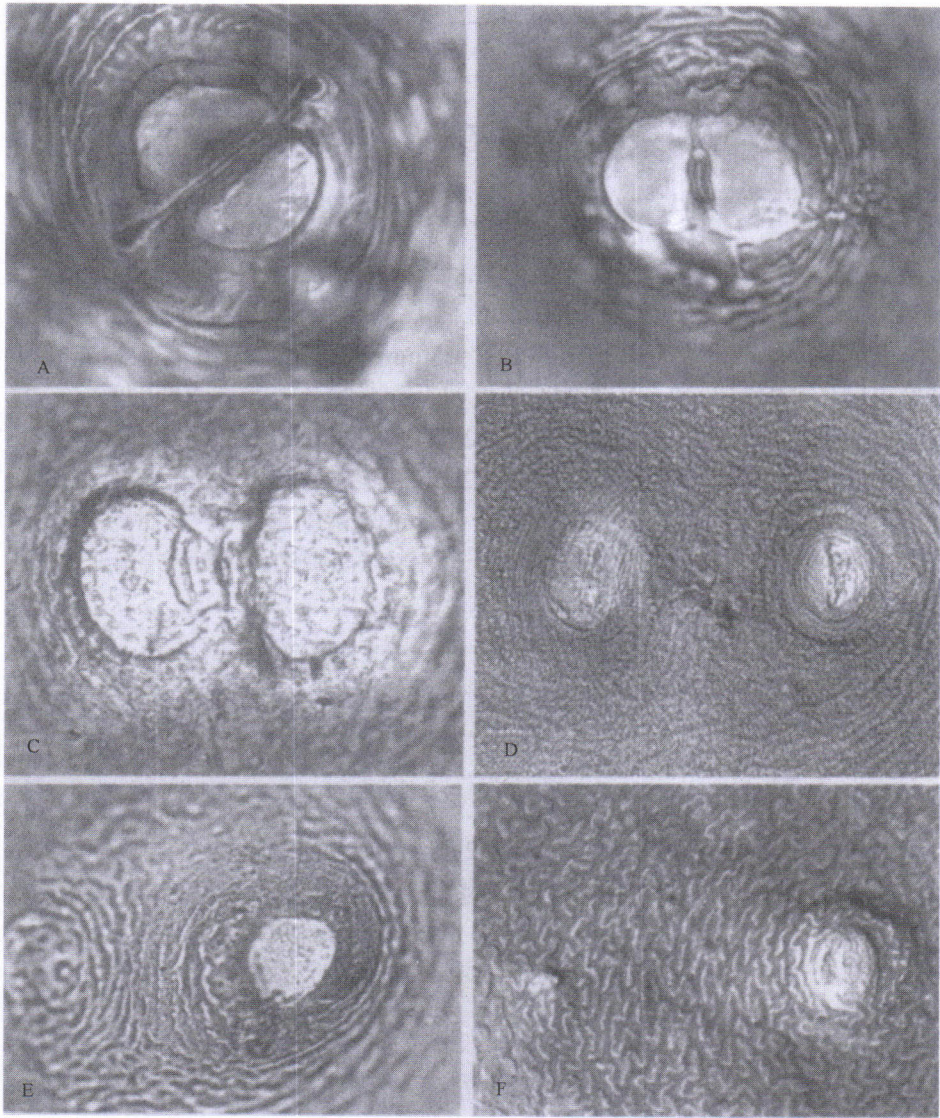
仙人掌孢囊属线虫是一类根部固着性内寄生线虫。该类线虫侵染可造成寄主植物地上部分生长缓慢、矮化、萎蔫、叶片褪绿等症状,地下根组织表现为短小、稀疏、分叉等症状,但寄主植物根部不会形成根瘤症状。

### A.4 仙人掌孢囊属线虫的传播途径

仙人掌孢囊属线虫主要通过苗木根组织、土壤和介质进行远距离传播。



附 录 B  
(规范性附录)  
孢囊线虫膜孔类型图解



说明：

A —— 三叶草孢囊线虫 [*Heterodera trifolii* (半膜孔)]；

B —— 草地孢囊线虫 [*H. pratensis* (双膜孔)]；

C —— 孢囊线虫一种 [*H. sp.* (双膜孔)]；

D —— 刻点孢囊线虫 [*Punctodera punctata* (圆膜孔)]；

E —— 根茎孢囊线虫 [*Cactodera radiale* (圆膜孔)]；

F —— 马铃薯金线虫 [*Globodera rostochiensis* (圆膜孔)]。

注 1：半膜孔：孢囊末端的膜状角质结构，由阴门分成明显的两个部分，每一部分呈半圆形，阴门裂较长。

注 2：双膜孔：孢囊末端的膜状角质结构，由阴门分成明显的两个部分，每一部分呈卵圆形、近圆形或圆形，阴门裂较短。

注 3：圆膜孔：孢囊末端的膜状角质结构，圆形或近圆形，包围阴门。

图 B.1 孢囊线虫膜孔

附 录 C  
(规范性附录)

仙人掌孢囊属线虫分种检索表

1. 孢囊长度通常是宽的 2 倍或者 2 倍以上,  $L/W$  平均值=2.3 ..... *C. estonica*  
孢囊长度通常不到宽的 2 倍,  $L/W$  平均值=1.1~1.8 ..... 2
2. 卵壳有刻点 ..... 3  
卵壳光滑 ..... 9
3. 2 龄幼虫的平均口针长度 $\geq 26 \mu\text{m}$  ..... 4  
2 龄幼虫的平均口针长度 $< 26 \mu\text{m}$  ..... 5
4. 2 龄幼虫尾长=48  $\mu\text{m}$ ~64  $\mu\text{m}$ , 透明区长度=23  $\mu\text{m}$ ~28  $\mu\text{m}$ , 膜孔直径=23  $\mu\text{m}$ ~41  $\mu\text{m}$  ..... *C. thornei*  
2 龄幼虫尾长=37  $\mu\text{m}$ ~48  $\mu\text{m}$ , 透明区长度=17  $\mu\text{m}$ ~24  $\mu\text{m}$ , 膜孔直径=14  $\mu\text{m}$ ~25  $\mu\text{m}$  ..... *C. eremica*
5. 2 龄幼虫平均体长 $\geq 411 \mu\text{m}$ , 平均尾长 $\geq 42 \mu\text{m}$  ..... 6  
2 龄幼虫平均体长 $< 411 \mu\text{m}$ , 平均尾长 $< 42 \mu\text{m}$  ..... 7
6. 膜孔直径=23  $\mu\text{m}$ ~35  $\mu\text{m}$ , 阴门裂=10  $\mu\text{m}$ ~15  $\mu\text{m}$ , 2 龄幼虫口针=21  $\mu\text{m}$ ~27  $\mu\text{m}$  ..... *C. cacti*  
膜孔直径=7  $\mu\text{m}$ ~22  $\mu\text{m}$ , 阴门裂=14.3  $\mu\text{m}$ ~17.8  $\mu\text{m}$ , 2 龄幼虫口针=21  $\mu\text{m}$ ~23  $\mu\text{m}$  ... *C. milleri*
7. 膜孔直径 $< 25 \mu\text{m}$  ..... 8  
膜孔直径 $\geq 25 \mu\text{m}$  ..... *C. galinsogae*
8. 2 龄幼虫尾透明区长度=4  $\mu\text{m}$ ~8  $\mu\text{m}$  ..... *C. rosae*  
2 龄幼虫尾透明区长度=16  $\mu\text{m}$ ~23  $\mu\text{m}$  ..... *C. evansi*
9. 2 龄幼虫平均尾长 $< 40 \mu\text{m}$  ..... 10  
2 龄幼虫平均尾长 $\geq 40 \mu\text{m}$  ..... 11
10. 2 龄幼虫体长=340  $\mu\text{m}$ ~406  $\mu\text{m}$ , 口针=20.2  $\mu\text{m}$ ~21.3  $\mu\text{m}$ , 膜孔直径=25  $\mu\text{m}$ ~38  $\mu\text{m}$  .....  
..... *C. amaranthi*  
2 龄幼虫体长=410  $\mu\text{m}$ ~514  $\mu\text{m}$ , 口针=23.4  $\mu\text{m}$ ~25  $\mu\text{m}$ , 膜孔直径=20.4  $\mu\text{m}$ ~27.6  $\mu\text{m}$  .....  
..... *C. salina*
11. 2 龄幼虫口针基部球前缘凹陷,  $DGO=4.5 \mu\text{m}$ ~5.6  $\mu\text{m}$  ..... 12  
2 龄幼虫口针基部球前缘凸起,  $DGO=2.5 \mu\text{m}$ ~3.0  $\mu\text{m}$  ..... *C. acnidae*
12. 有阴门突, 2 龄幼虫尾长=43  $\mu\text{m}$ ~50  $\mu\text{m}$  ..... *C. weissii*  
无阴门突, 2 龄幼虫尾长=46  $\mu\text{m}$ ~60  $\mu\text{m}$  ..... *C. radicale*



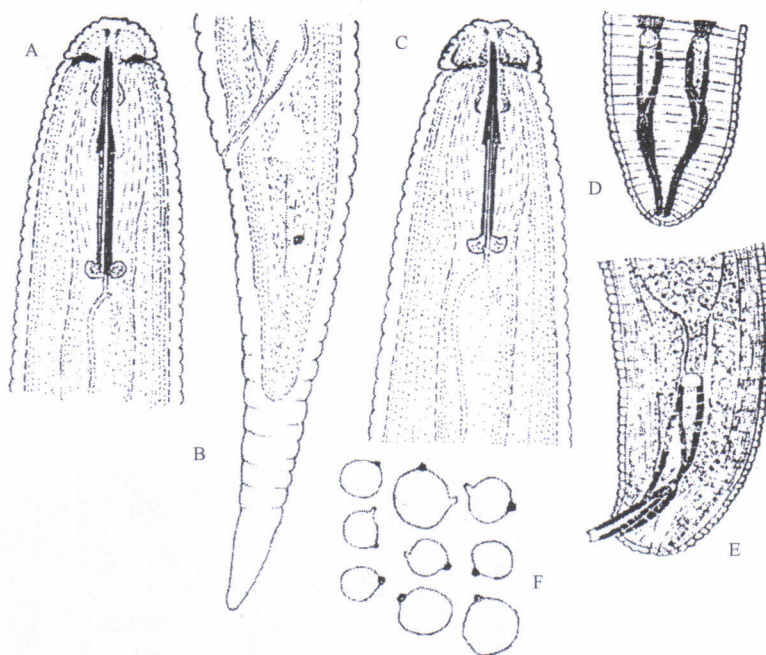
## 附录 D

(规范性附录)

## 仙人掌孢囊属线虫分种形态图谱

D.1 仙人掌孢囊线虫 *C.cacti*

见图 D.1 和图 D.2。



说明:

A —— 2 龄幼虫的前体部;

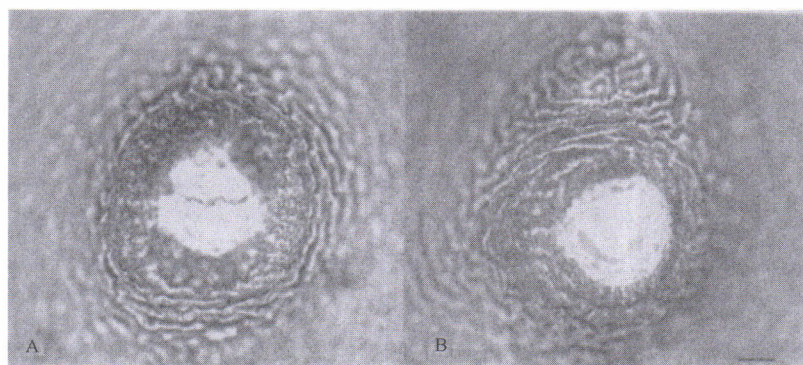
B —— 2 龄幼虫的尾;

C —— 雄虫的头;

D、E —— 雄虫的尾;

F —— 孢囊。

注: 引自 Mulk *et al.*, 1977。图 D.1 仙人掌孢囊线虫(*C.cacti*)



说明：

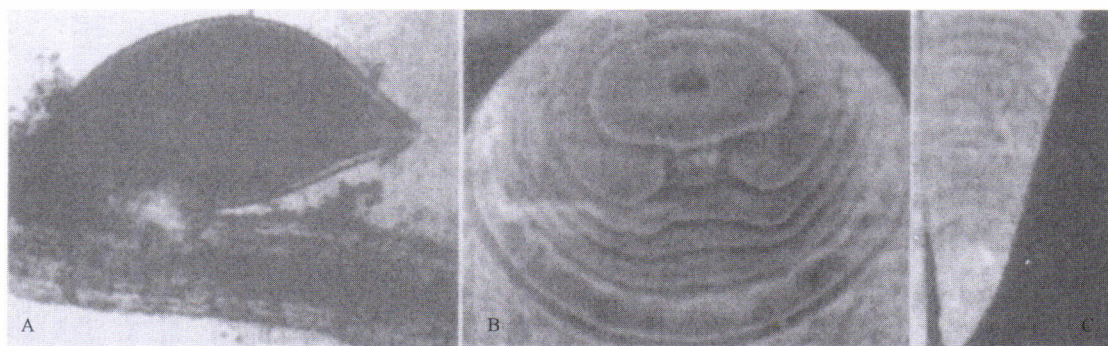
A、B——阴门锥(标尺=10  $\mu\text{m}$ )。

注：引自 V.N.Chizhov, 俄罗斯。

图 D.2 仙人掌孢囊线虫(*C.cacti*)

## D.2 异株菟孢囊线虫 *C.acnidae*

见图 D.3。



说明：

A —— 根上的白色雌虫；

B —— 2 龄幼虫的唇区；

C —— 2 龄幼虫的尾。

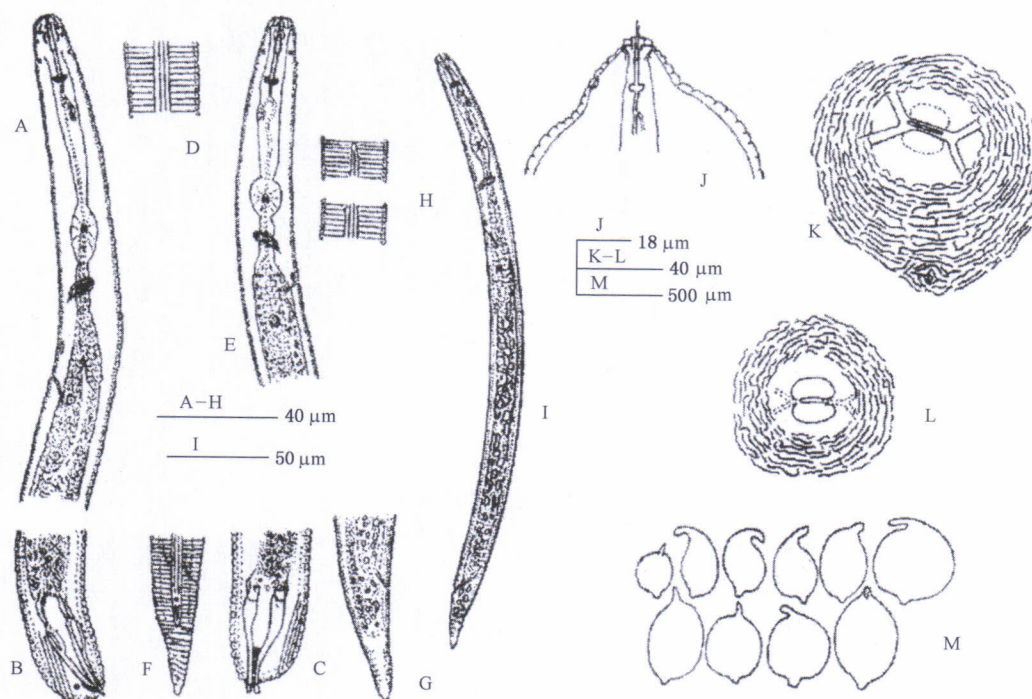
注：引自 Schuster & Brezina, 1979。

图 D.3 异株菟孢囊线虫(*C.acnidae*)



D.3 苋菜孢囊线虫 *C.amaranthi*

见图 D.4 和图 D.5。



说明:

A~D——雄虫:

A——前体部;

B、C——尾;

D——侧区;

E~I——2龄幼虫:

E——前体部;

F、G——尾;

H——侧区;

I——整个虫体;

J~M——雌虫:

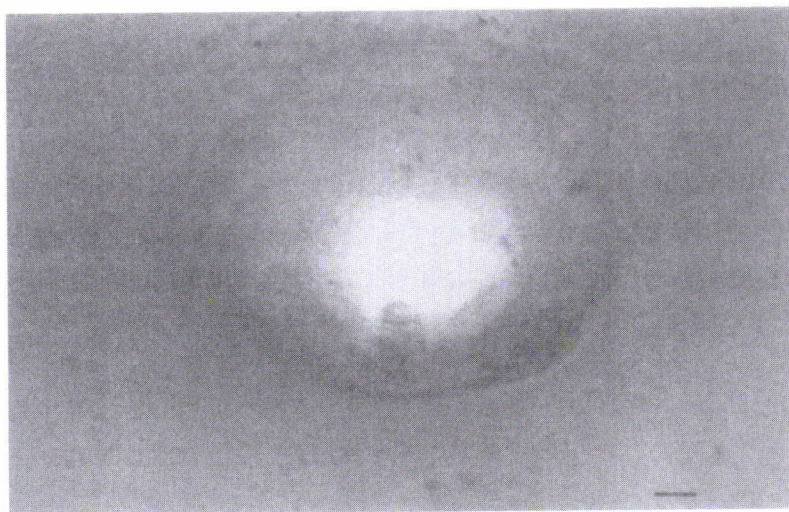
J——雌虫的前体部;

K、L——阴门;

M——孢囊。

注: 引自 Stoyanov, 1972。

图 D.4 苋菜孢囊线虫(*C.amaranthi*)

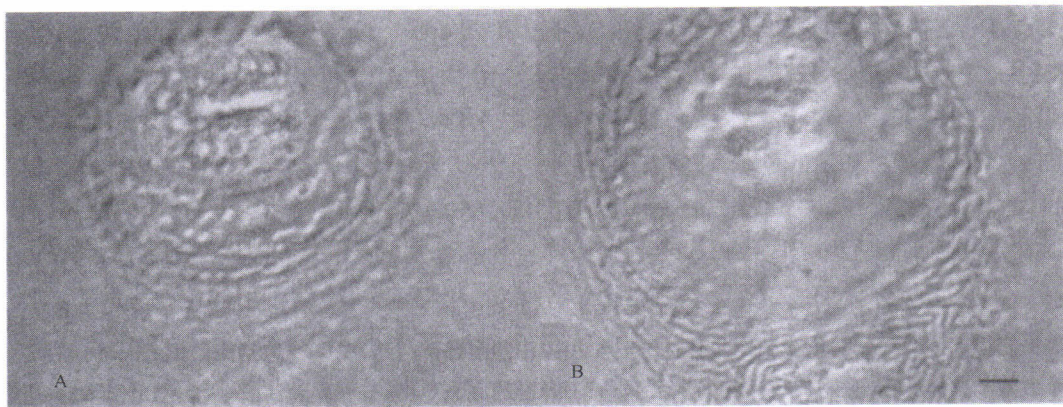


说明：  
阴门锥(标尺=10  $\mu\text{m}$ )。

图 D.5 苋菜孢囊线虫(*C.amaranthi*)

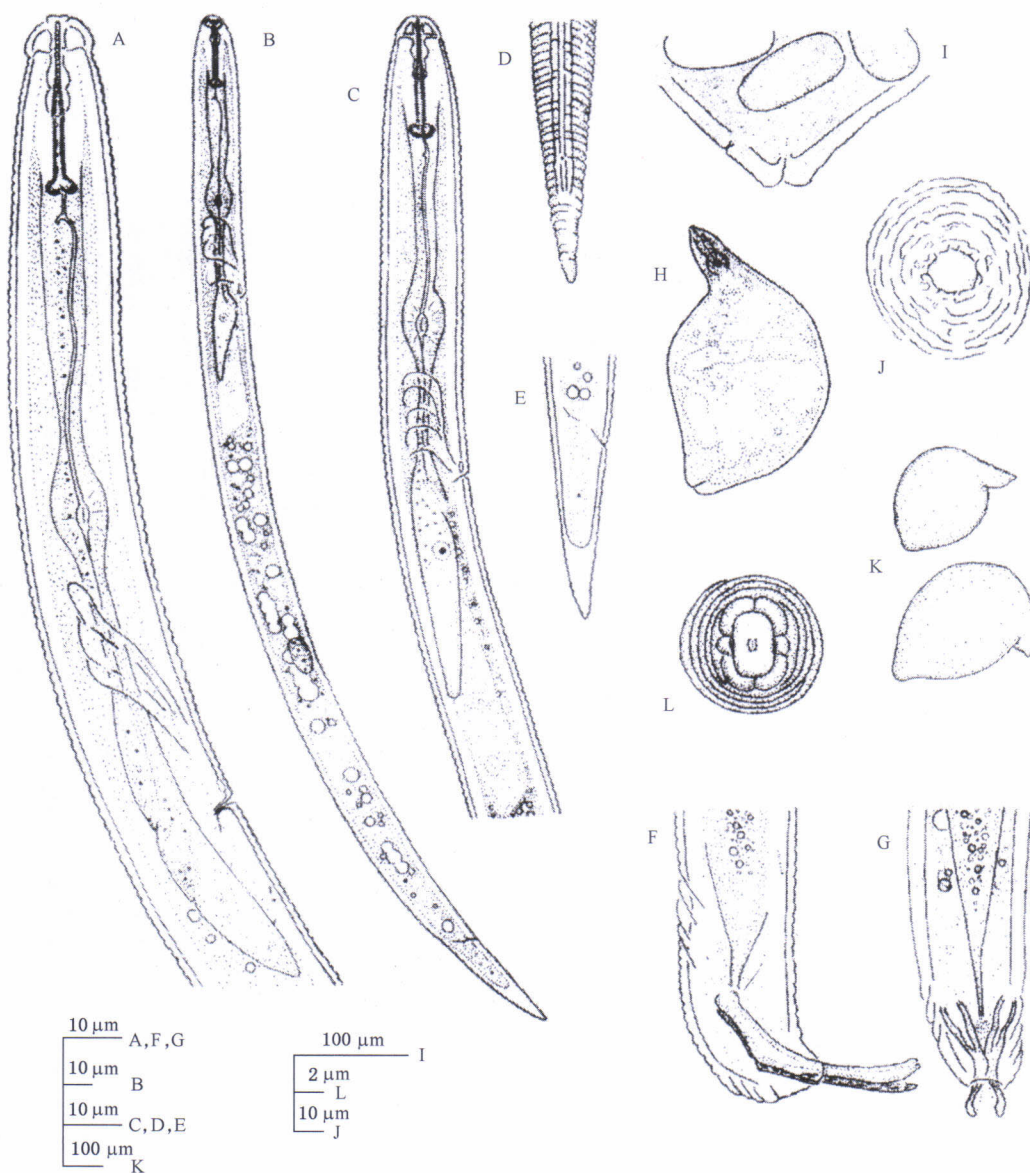
#### D.4 燥砂孢囊线虫 *C.eremica*

见图 D.6 和图 D.7。



说明：  
A、B——阴门锥(标尺=10  $\mu\text{m}$ )。

图 D.6 燥砂孢囊线虫(*C.eremica*)



说明:

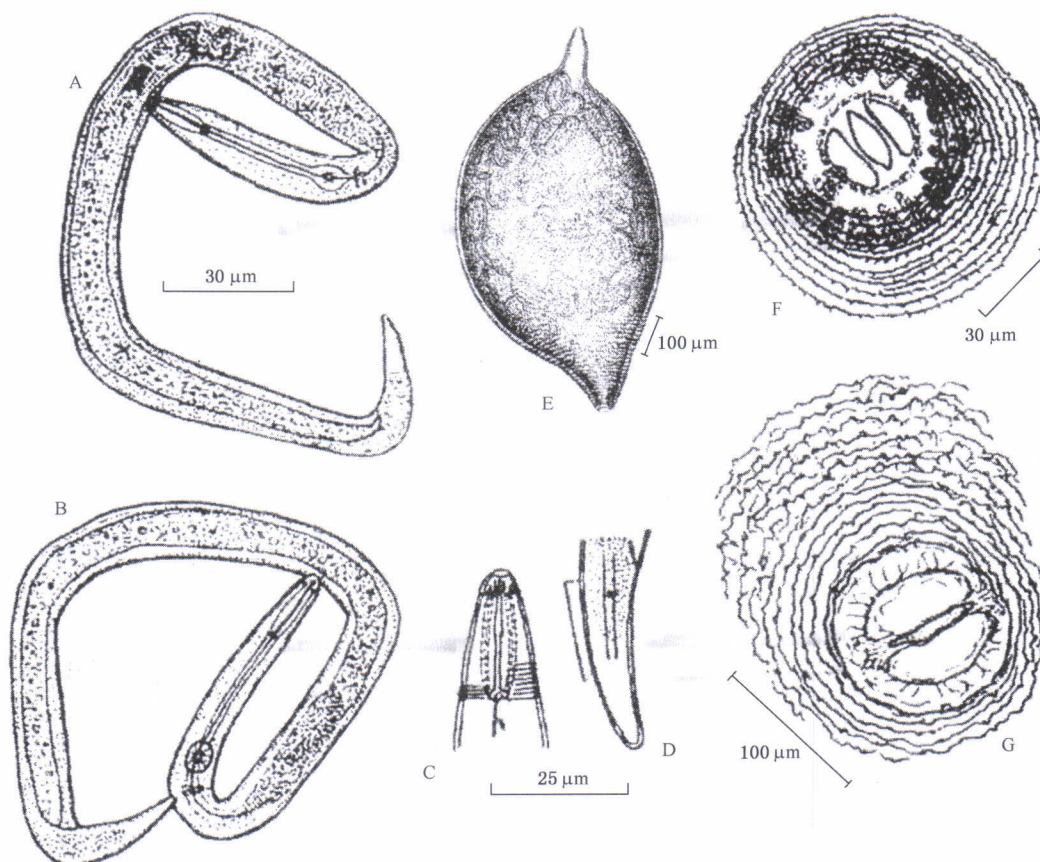
- A —— 雄虫前体部;
- B —— 2 龄幼虫整个虫体;
- C —— 2 龄幼虫的前体部;
- D、E —— 2 龄幼虫的尾;
- F、G —— 雄虫的尾;
- H —— 雌虫整个虫体;
- I —— 阴门突, 侧面观;
- J —— 阴门锥的底面观;
- K —— 孢囊;
- L —— 扫描电镜下 2 龄幼虫正面观。

图 D.7 燥砂孢囊线虫 (*C. eremica*)



D.5 爱沙尼亚孢囊线虫 *C.estonica*

见图 D.8。



说明：

- A、B——2 龄幼虫；
- C——2 龄幼虫前体部；
- D——2 龄幼虫的尾；
- E——孢囊；
- F、G——阴门。

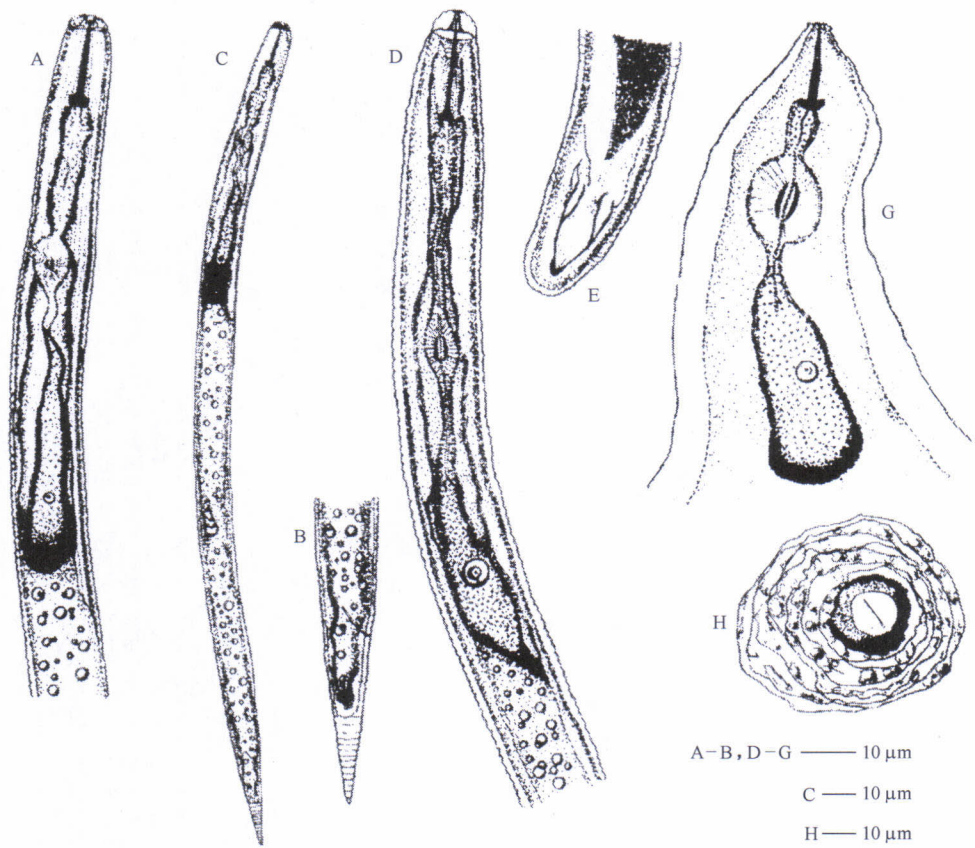
注：引自 Kirjanova & Krall, 1963, 1971。

图 D.8 爱沙尼亚孢囊线虫(*C.estonica*)



D.6 埃文斯孢囊线虫 *C.evansi*

见图 D.9。

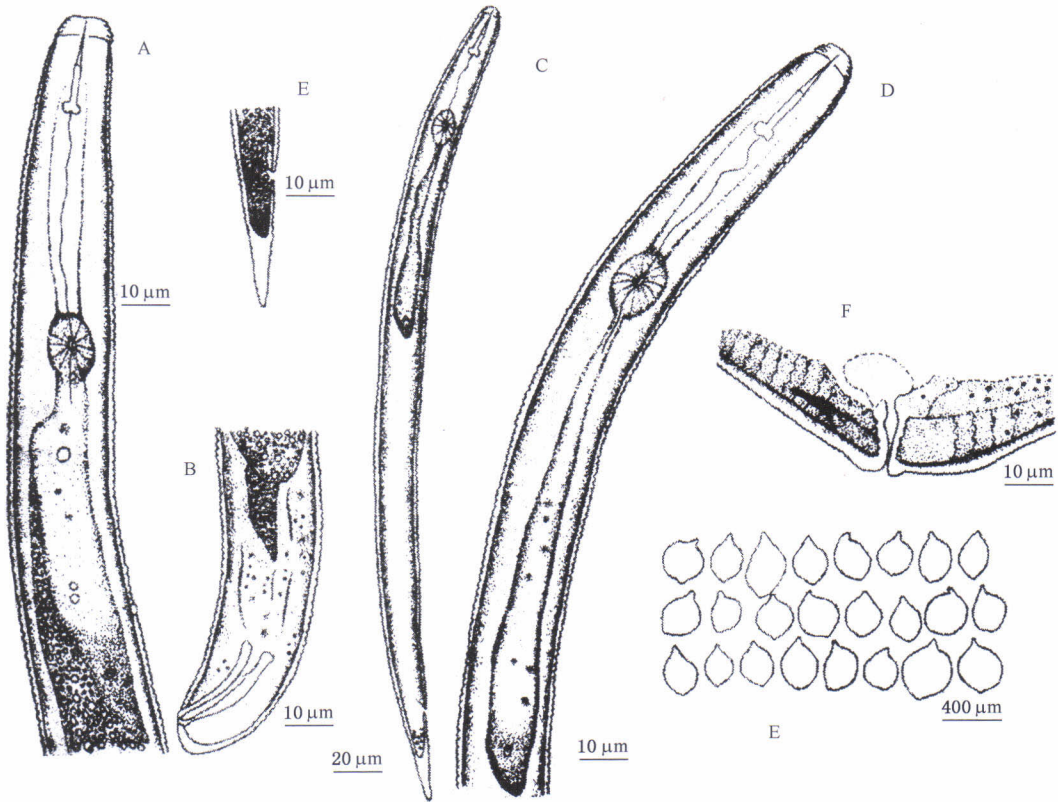


说明：  
A —— 2 龄幼虫的前体部；  
B —— 2 龄幼虫的尾；  
C —— 2 龄幼虫整个虫体；  
D —— 雄虫的前体部；  
E —— 雄虫的尾；  
H —— 阴门锥；  
G —— 雌虫的前体部。  
注：引自 Cid del Prado & Rowe, 2000。

图 D.9 埃文斯孢囊线虫 (*C.evansi*)

D.7 牛膝菊抱囊线虫 *C.galiesogae*

见图 D.10 和图 D.11。

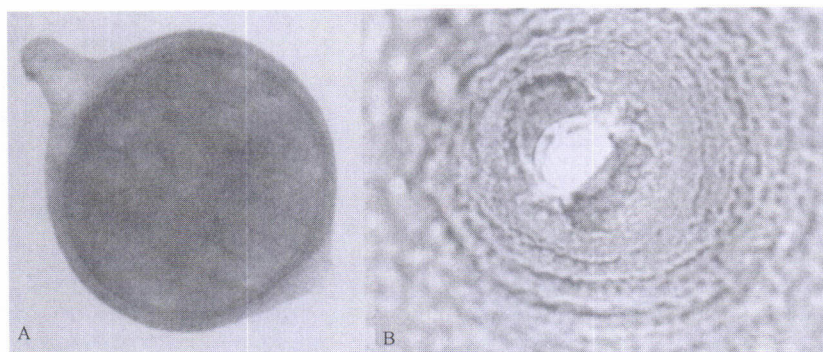


说明：

- A —— 雄虫的前体部；
- B —— 雄虫的尾；
- C —— 2 龄幼虫整个虫体；
- D —— 2 龄幼虫的前体部；
- E —— 抱囊；
- F —— 阴门锥(侧面观)。

注：引自 Tovar Soto *et al.*, 2003。

图 D.10 牛膝菊抱囊线虫(*C.galiesogae*)



说明：

A——孢囊；

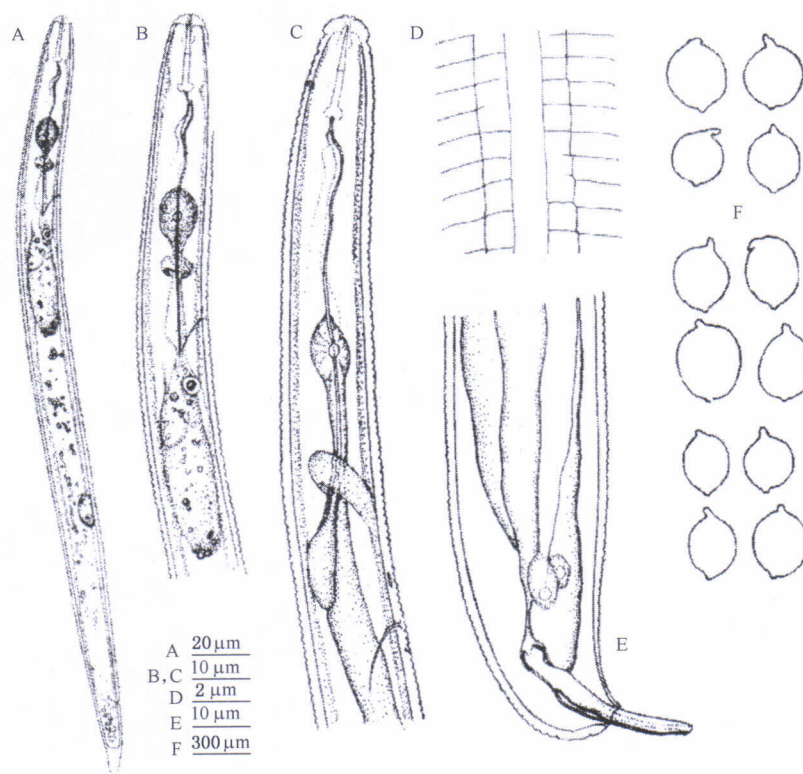
B——阴门锥(A=50  $\mu\text{m}$ , B=10  $\mu\text{m}$ )。

注：引自 I.Cid del Prado Vera, 未发表。

图 D.11 牛膝菊孢囊线虫(*C.galiesogae*)

#### D.8 米勒孢囊线虫 *C.milleri*

见图 D.12 和图 D.13。



说明：

A——2龄幼虫整个虫体；

B——2龄幼虫的前体部；

C——雄虫的前体部；

D——雄虫的侧区；

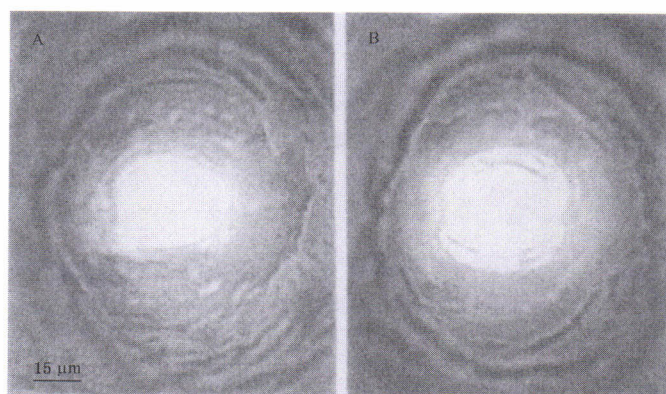
E——雄虫的尾；

F——孢囊。

注：引自 Graney & Bird, 1990。

图 D.12 米勒孢囊线虫(*C.milleri*)





说明：

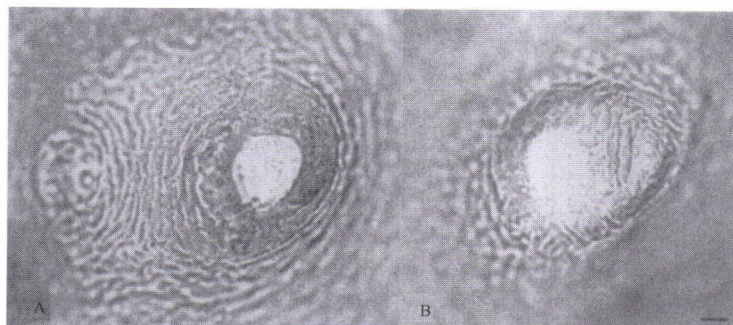
A、B——阴门锥。

注：引自 Graney & Bird, 1990。

图 D.13 米勒孢囊线虫(*C.milleri*)

#### D.9 根茎孢囊线虫 *C.radicale*

见图 D.14。



说明：

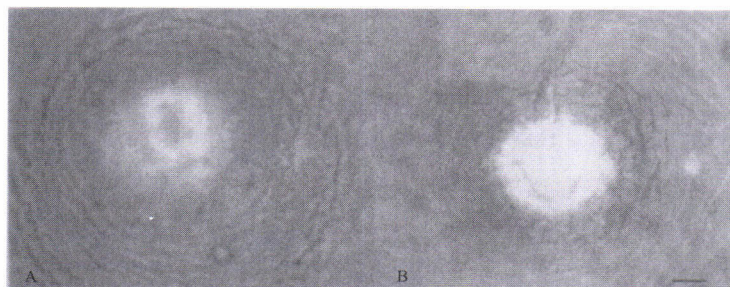
A、B——阴门锥(标尺=10 μm)。

注：引自 Chizhov *et al.*, 2008。

图 D.14 根茎孢囊线虫(*C.radicale*)

#### D.10 罗莎孢囊线虫 *C.rosae*

见图 D.15 和图 D.16。



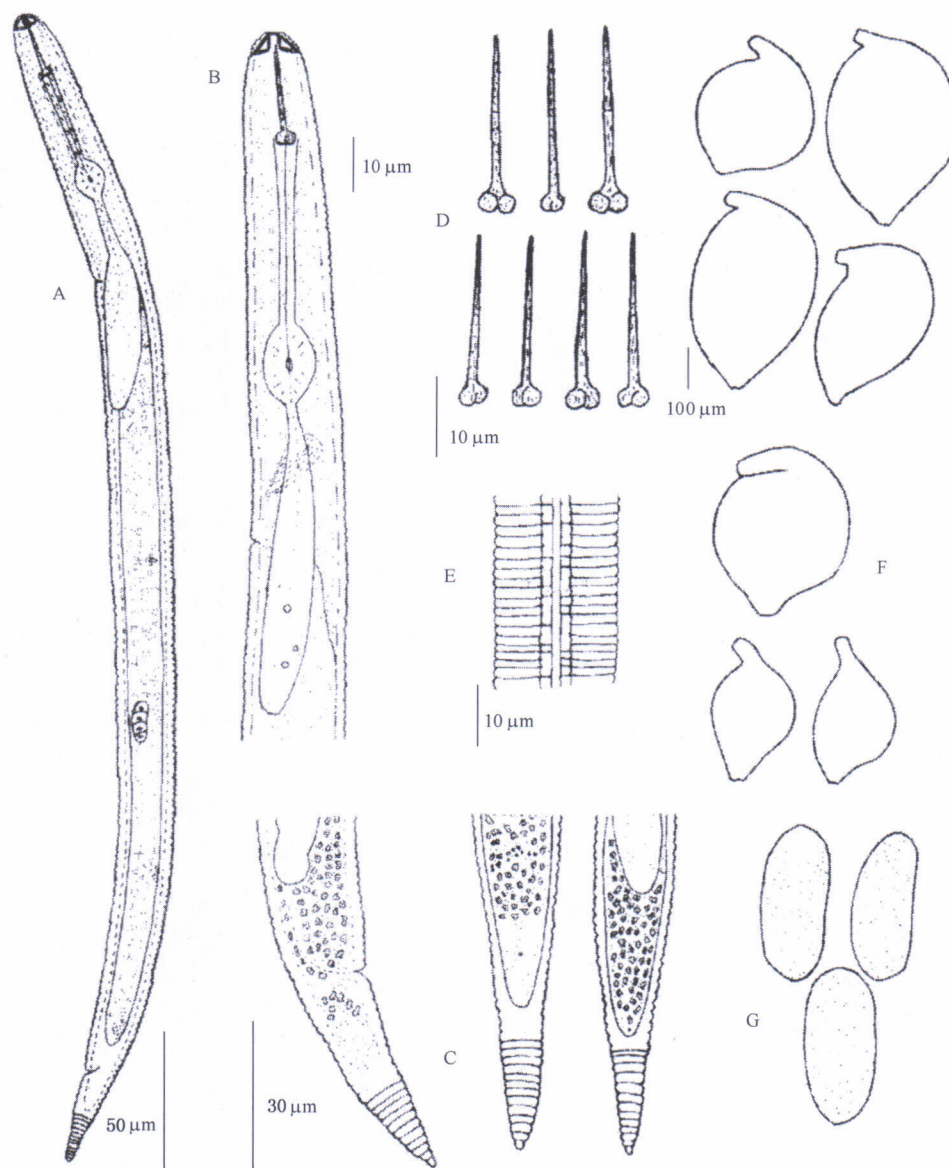
说明：

A、B——阴门(标尺=10 μm)。

注：引自 I.Cid del Prado Vera, 墨西哥。

图 D.15 罗莎孢囊线虫(*C.rosae*)





说明：

A —— 2 龄幼虫整个虫体；

B —— 2 龄幼虫的前体部；

C —— 2 龄幼虫的尾；

D —— 2 龄幼虫的口针；

E —— 侧区；

F —— 孢囊；

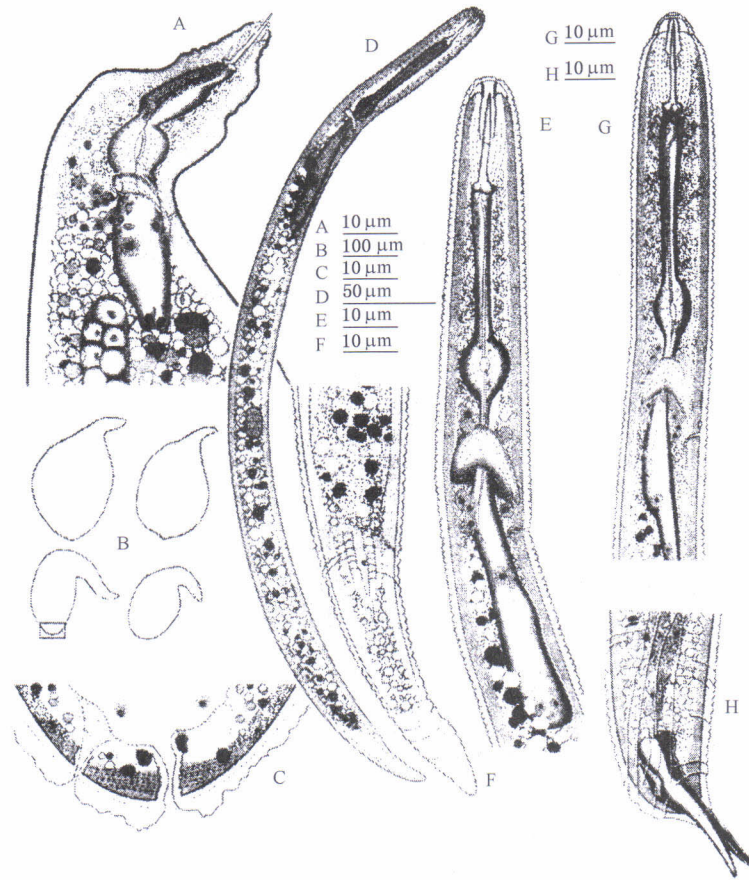
G —— 卵。

注：引自 Cid del Prado & Miranda, 2008。

图 D.16 罗莎孢囊线虫(*C. rosae*)

D.11 盐生孢囊线虫 *C.salina*

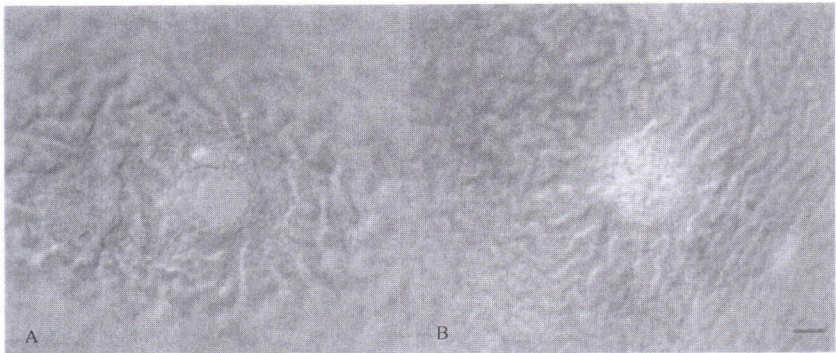
见图 D.17 和图 D.18。



说明：  
A —— 雌虫的前体部；  
B —— 雌虫的轮廓；  
C —— 肛门和阴门的末端突起；  
D —— 2 龄幼虫虫体；  
E —— 2 龄幼虫的前体部；  
F —— 2 龄幼虫的尾；  
G —— 雄虫的前体部；  
H —— 雄虫的尾。

注：引自 Baldwin *et al.*, 1997。

图 D.17 盐生孢囊线虫(*C.salina*)

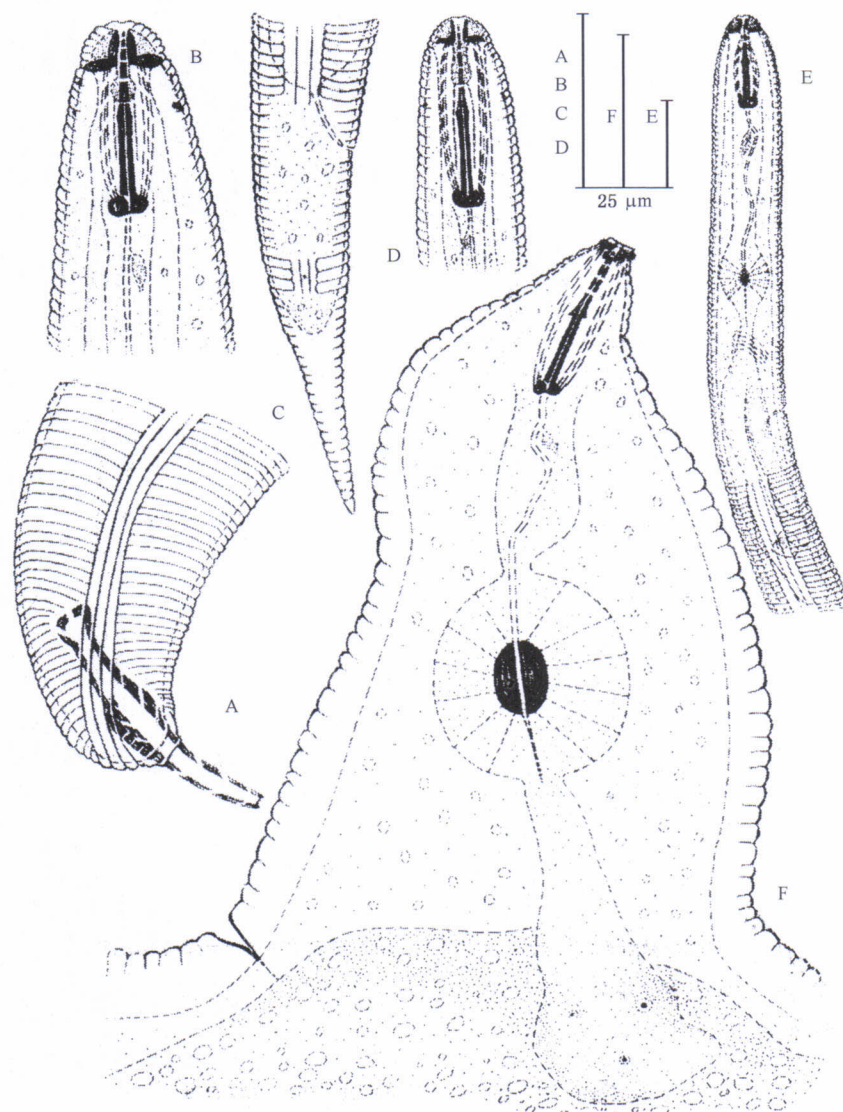


说明：  
A、B —— 阴门锥(标尺 = 10 μm)。

图 D.18 盐生孢囊线虫(*C.salina*)

D.12 桑尼孢囊线虫 *C.thornei*

见图 D.19 和图 D.20。



说明：

A ——雄虫的尾；

B ——雄虫的头；

C ——2 龄幼虫的尾；

D ——2 龄幼虫的前体部；

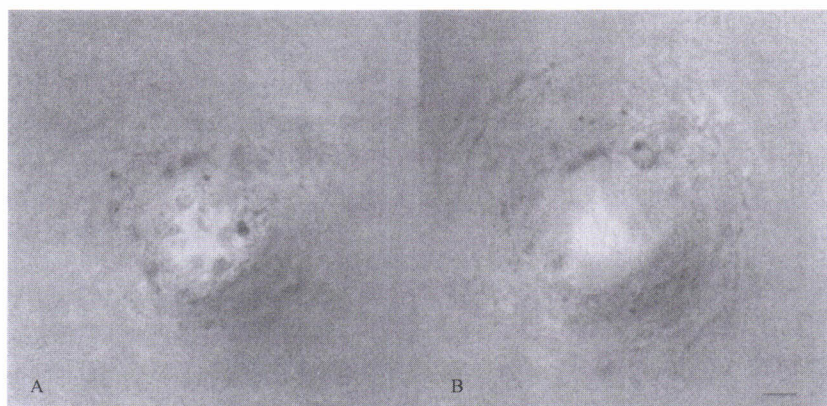
E ——2 龄幼虫的前体部；

F ——雌虫的前体部。

注：引自 Golden & Raski, 1977。

图 D.19 桑尼孢囊线虫 (*C.thornei*)





说明：

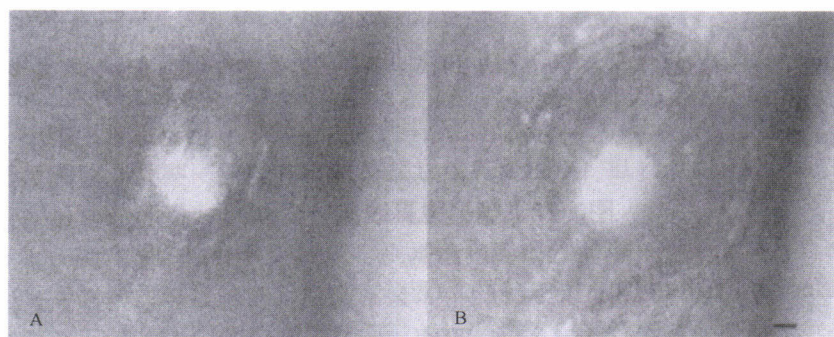
A —— 阴门；

B —— 膜孔(标尺=10  $\mu\text{m}$ )。

图 D.20 桑尼孢囊线虫(*C.thornei*)

#### D.13 魏瑟孢囊线虫 *C.weissi*

见图 D.21 和图 D.22。

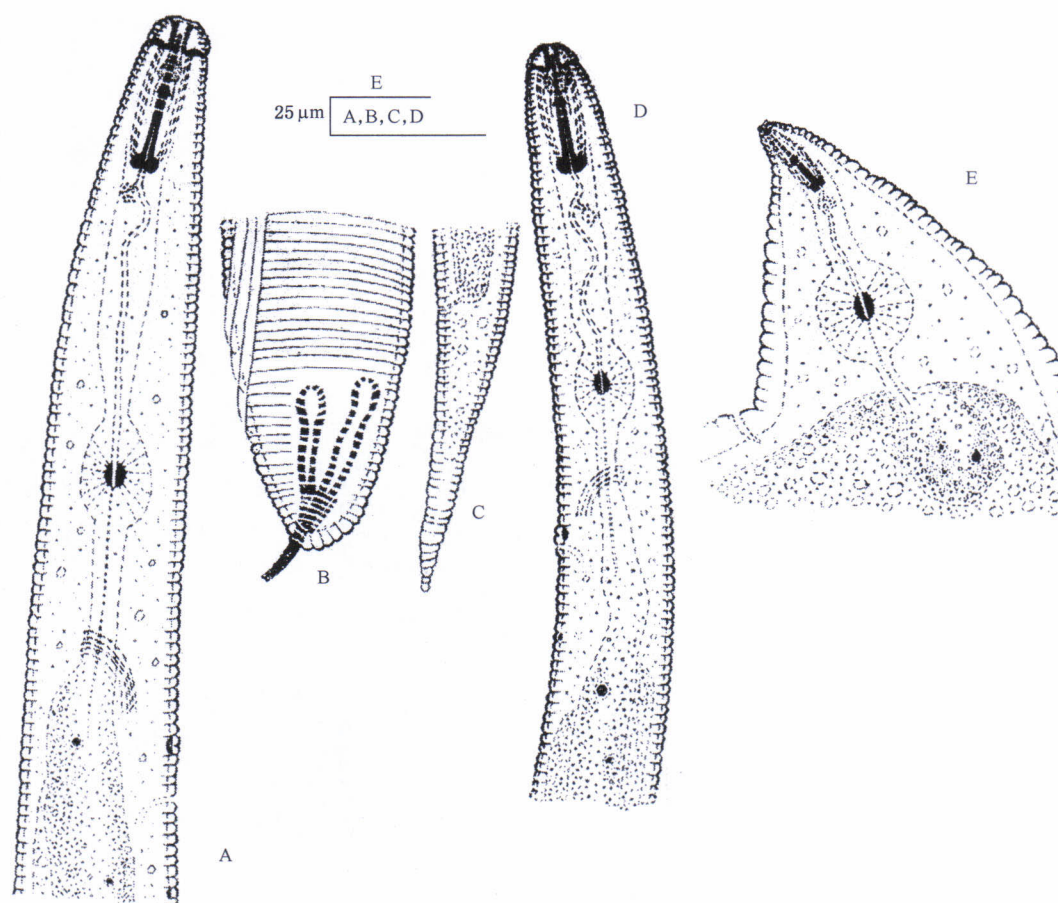


说明：

A —— 阴门；

B —— 膜孔(标尺=10  $\mu\text{m}$ )。

图 D.21 魏瑟孢囊线虫(*C.weissi*)



说明：

A —— 雄虫的前体部；

B —— 雄虫的尾；

C —— 2 龄幼虫的尾；

D —— 2 龄幼虫的喉部；

E —— 雌虫的前体部。

注：引自 Golden & Raski, 1977。

图 D.22 魏瑟孢囊线虫(*C. weissi*)



## 附录 E

(规范性附录)

## 仙人掌孢囊属线虫分种形态描述

E.1 仙人掌孢囊线虫 *Cactodera cacti*

雌虫: 体形柠檬形到近球形, 珍珠白色、黄色或金色, 成熟后浅褐色; 颈部缢缩、阴门锥突出; 有时存在次晶层, 未发现胶质卵囊; 唇盘隆起, 口针和基部球发育较好, 排泄孔位于中食道球附近。

孢囊: 孢囊通常柠檬形, 有时圆形, 颈和阴门突出; 浅褐色或中等褐色, 有时红褐色; 阴门突通常存在, 可见于膜孔下面紧接膜孔的位置, 有时不明显, 单独随机出现或呈小簇状出现; 阴门锥顶部无囊泡, 环膜孔; 体中部表皮有直到波纹状线纹, 通常被短的斜线或纵线隔断; 孢囊外表皮通常颗粒状, 有大的随机分布的刻点。

雄虫: 唇区通常不缢缩, 一般有 6 个唇环, 背部食道球前缘凹陷; 半月体位于排泄孔前 1~3 个体环的位置; 交合刺顶部二裂状, 单精巢, 精子可见。

2 龄幼虫: 虫体蠕虫状, 唇区轻微缢缩, 有 5 个唇环, 唇盘轻微向背面和腹面延伸, 具有 2 个小的侧唇和 4 个大的亚中唇, 相邻的亚中唇、侧唇和唇盘以及侧唇和亚中唇之间通常融合, 侧区有 4 条刻线, 外部侧区有时网格状; 背部口针基部球前缘向后倾斜, 有时轻微凹陷; 头架不可见; 半月体位于排泄孔水平或稍靠前的位置; 虫体向透明尾过渡的区域通常 V 形和 U 形, 很少向腹面倾斜; 尾渐变细, 透明尾一般比口针短。

卵: 在光学显微镜油镜下观察卵壳刻点明显。

与近似种的比较: 仙人掌孢囊线虫形态与魏瑟孢囊线虫、异株苋孢囊线虫、米勒孢囊线虫、牛膝菊孢囊线虫相近。区别在于: 卵壳刻点(仙人掌孢囊线虫较明显, 魏瑟孢囊线虫和异株苋孢囊线虫无), 2 龄幼虫口针(仙人掌孢囊线虫  $22\ \mu\text{m}\sim 26\ \mu\text{m}$ , 魏瑟孢囊线虫  $20\ \mu\text{m}$ , 异株苋孢囊线虫  $21\ \mu\text{m}$ ); 2 龄幼虫尾长(仙人掌孢囊线虫  $41\ \mu\text{m}\sim 55\ \mu\text{m}$ , 牛膝菊孢囊线虫  $37\ \mu\text{m}$ ); 膜孔直径(仙人掌孢囊线虫  $26\ \mu\text{m}\sim 38\ \mu\text{m}$ , 米勒孢囊线虫  $13\ \mu\text{m}\sim 18\ \mu\text{m}$ )。

E.2 异株苋孢囊线虫 *C.acnidae*

雌虫: 体形柠檬形到近球形, 珍珠白色; 具有突出的颈和阴门; 体中部表皮具有波纹状、直到“Z”形线纹; 在光学显微镜下观察阴门的背部和腹部边缘有颗粒物; 肛门开口处凹陷, 位于距离阴门 5% 体长的位置; 具有次晶层, 卵囊未见。

孢囊: 柠檬形, 颈和阴门突出, 环膜孔, 浅褐色到黑褐色; 体中部表皮具有直到波纹状的线纹, 横向环绕孢囊, 经常被斜线或纵线隔断; 次晶层通常存在于年轻的孢囊, 肛门开口处凹陷, 无囊泡; 刻点经常存在于孢囊末端区域; 阴门锥末端具有突出的脊, 将阴门区分成两半, 其中一半唇状、光滑, 另一半颊状, 具有刻点, 在此区域周围有环绕阴门锥的平行脊。

雄虫: 虫体蠕虫形; 表皮具有明显的环纹, 体中部环纹间的距离大约  $1.1\ \mu\text{m}$ ; 唇区缢缩, 具有 6 个唇环; 尾短而钝, 具有小的突起, 背部宽圆; 交合刺弯曲, 非常发达。

2 龄幼虫: 虫体蠕虫形, 两端渐细; 头架骨化明显, 唇区轻微缢缩, 有 4 个唇环, 唇盘椭圆形, 有 6 个唇瓣, 其中 4 个中唇, 2 个小的侧唇, 侧器孔大; 口针发达, 基部球半球形, 前后突起; 侧区 4 条刻线, 向后延伸到距离尾端大约 8 个体环的位置; 尾圆锥形, 末端细圆。

卵: 圆柱形到肾形, 卵壳透明, 没有纹饰或刻点。



与近似种的比较:异株菟孢囊线虫形态与魏瑟孢囊线虫、盐生孢囊线虫、苋菜孢囊线虫相近。区别在于:2龄幼虫体长(异株菟孢囊线虫 411  $\mu\text{m}$ , 魏瑟孢囊线虫 407  $\mu\text{m}$ , 苋菜孢囊线虫 368  $\mu\text{m}$ ~374  $\mu\text{m}$ , 盐生孢囊线虫 458  $\mu\text{m}$ );2龄幼虫尾长(异株菟孢囊线虫 43  $\mu\text{m}$ ~48  $\mu\text{m}$ , 苋菜孢囊线虫 32  $\mu\text{m}$ ~40  $\mu\text{m}$ );异株菟孢囊线虫与魏瑟孢囊线虫区别在于:2龄幼虫口针基部球前缘(前者凸起,后者凹陷),DGO(前者 2.5  $\mu\text{m}$ ~3.0  $\mu\text{m}$ ,后者 4.5  $\mu\text{m}$ ~5.6  $\mu\text{m}$ ),尾(前者圆锥形、尾端圆,后者尾渐变细,尾端细圆且体环延续到尾端形成念珠状)。

### E.3 苋菜孢囊线虫 *C.amaranthi*

雌虫:虫体柠檬形,具有突出的颈和阴门锥,颈相对较长,侧器孔未见;口针细弱,基部球 2  $\mu\text{m}$ ~3  $\mu\text{m}$  宽,前缘凹陷;中食道球巨大,具发达的瓣膜;阴门锥具环膜孔,肛门小,不具膜孔,距离阴门膜孔边缘 10  $\mu\text{m}$ ~13  $\mu\text{m}$ ;在不同的发育阶段,成熟雌虫包含的卵在 100 粒以上。

孢囊:虫体柠檬形、长卵圆形,具有突出的颈和阴门锥,浅褐色到黑褐色,偶尔黑色, $L/W$  值为 1.1~1.7;环膜孔,未有囊泡报道;体中部具有直到波纹状的横向线纹,有时被短或垂直的线纹隔断;阴门突位于膜孔表皮下大约 20  $\mu\text{m}$  的位置,单个存在、簇状或形成一个不完整或完整的环;阴门突基部大约 5  $\mu\text{m}$ ~10  $\mu\text{m}$  长,3  $\mu\text{m}$ ~5  $\mu\text{m}$  宽;肛门明显,无环绕纹饰,位于距离虫体后端大约 10% 的体长处。

2龄幼虫:侧区有 4 条刻线,唇盘不明显,一般分为 6 瓣;食道腺充满体腔,尾圆锥形,透明区大约占尾长的一半,侧尾腺口孔状,无透镜状结构。

卵:通常略微黄色,在光学显微镜和扫描电镜下无可见的纹饰,2龄幼虫在卵内通常折叠 4 次。

与近似种的比较:苋菜孢囊线虫形态与魏瑟孢囊线虫、异株菟孢囊线虫相近。区别在于:2龄幼虫体长(苋菜孢囊线虫 368  $\mu\text{m}$ ~374  $\mu\text{m}$ , 魏瑟孢囊线虫 407  $\mu\text{m}$ 、异株菟孢囊线虫 411  $\mu\text{m}$ );2龄幼虫透明区长度(苋菜孢囊线虫 14  $\mu\text{m}$ ~17  $\mu\text{m}$ , 魏瑟孢囊线虫 20  $\mu\text{m}$ 、异株菟孢囊线虫 22  $\mu\text{m}$ );苋菜孢囊线虫孢囊颜色通常比魏瑟孢囊线虫深,前者为黑褐色,有时近乎黑色。

### E.4 燥砂孢囊线虫 *C.eremica*

雌虫:虫体在较大的个体中变化较大,柠檬形到近球形,较小的个体不对称,背部强烈弯曲,年轻的雌虫珍珠白色,具有小的末端阴门锥;头部到颈部有非结晶物质环绕;表皮具有皮下刻点和横向的波纹状环纹;头区相对光滑,无环纹,唇盘隆起,具有 4 个亚中唇;口针向背部轻微的弯曲;双卵巢;肛门小而明显,会阴区表面具有褶皱状的粗而不连续的线纹,阴门裂窄。

孢囊:虫体柠檬形,典型的褐色,具有突出的颈和阴门锥,体表的横向线纹在虫体后部会有断裂,呈轻微的波纹状;无囊泡,阴门突不可见,肛门不明显。

雄虫:虫体圆柱形,向前渐变细,热杀死后,虫体后半部分大约扭曲 90°;唇区轻微缢缩,唇盘圆形,被第一个近方形的唇环和 7~9 个不连续的头环围绕,第一个唇环很少与 4 个亚中唇和 2 个小的侧唇融合;侧器孔小,裂缝状,位于唇盘外缘;侧区具有 4 条刻线,中间的脊未网格化,两边的脊在虫体前部和后部网格化;头架不可见,亚腹口针基部球向后倾斜,背部口针基部球大,前缘平;精巢长度变异很大,充满大而不规则的精子;尾非常短或无,交合刺二裂状,交合刺鞘短而明显,没有环纹,侧尾腺口不可见。

2龄幼虫:虫体圆柱形,向两端特别是后端渐变细;唇区几乎不缢缩,大约有 5 个唇环,唇盘向背面和腹面延长,具有 6 个唇瓣,侧唇极度退化;刻线 4 条,外面的 2 个脊部分网格化,尤其是在虫体的前部和后部;半月体大约位于排泄孔前 1 个体环的位置;口针基部球强壮,球形;背部食道腺叶明显,亚腹食道腺叶不明显,食道腺与肠在腹面交界,交界面一般位于与排泄孔齐平的位置;侧尾腺口孔状。

卵:在光学显微镜下,卵的表面可见细小的刻点,在扫描电镜下刻点呈小瘤状,大约 0.2  $\mu\text{m}$ ×0.5  $\mu\text{m}$ 。

与近似种的比较:燥砂孢囊线虫形态与桑尼孢囊线虫相近,二者的卵表面都有小瘤点。区别在于:2龄幼虫尾长(前者40  $\mu\text{m}$ ,后者46  $\mu\text{m}$ ),尾部透明区长度(前者18  $\mu\text{m}$ ,后者25  $\mu\text{m}$ )。

#### E.5 爱沙尼亚孢囊线虫 *C.estonica*

雌虫:大部分虫体柠檬形,有些拉伸较长呈不对称的纺锤形;角质层5  $\mu\text{m}$ ~7  $\mu\text{m}$ 厚,角质层表面细线纹饰呈“Z”字形;阴门锥高52  $\mu\text{m}$ ~63  $\mu\text{m}$ ,肛门位于一个特殊区域的中心,次晶层未见报道。

孢囊:虫体柠檬形,部分虫体拉伸变长;有突出的颈和阴门,环膜孔,浅褐色到黑褐色;孢囊壁有直到波纹状的横向环纹,通常被短的斜线或纵线隔断;角质层大约6  $\mu\text{m}$ ~10  $\mu\text{m}$ 厚,膜孔直径大约20  $\mu\text{m}$ ~24  $\mu\text{m}$ ;阴门突通常存在,位于膜孔内,基部大约6  $\mu\text{m}$ ~12  $\mu\text{m}$ 长,3  $\mu\text{m}$ ~6  $\mu\text{m}$ 宽;阴门突单个随机出现,簇状或者形成不完整或完整的环,肛门明显。

雄虫:未发现。

2龄幼虫:所有形态特征类似于仙人掌孢囊线虫的其他种;包括透明区在内的尾非常短且钝;原作者报道该种线虫有3~4个唇环,但Sturhan报道该线虫的配膜有6个唇环,极个别有5个唇环;侧区有4条刻线,尾钝圆。

卵:在光学显微镜油镜下,卵表面未观察到纹饰。

与近似种的比较:在孢囊的形状上,爱沙尼亚孢囊线虫与该属的其他种明显不同( $L/W$ 值:爱沙尼亚孢囊线虫平均=2.3,其他种最大值<1.8)。

#### E.6 埃文斯孢囊线虫 *C.evansi*

雌虫和孢囊:大部分虫体球形到柠檬形,有些卵圆形,具有短颈,阴门锥小而明显;角质层表面有不规则的环纹,排泄孔位于与食道腺叶后端齐平的位置,唇区第一个唇环比其他唇环宽,无次晶层;口针基部球发达,向前突出;侧面观,阴道短,子宫卵圆形到圆形。

雄虫:虫体蠕虫形,向腹面轻微弯曲;侧区有4条刻线,外部刻线部分网格化;交合刺轻微弯曲,顶部二裂状,引带和侧尾腺口未见,泄殖腔显著。

2龄幼虫:虫体丝状,向两端渐变细;唇区缢缩,有4个唇环,头架高度骨化;体环明显,体中部体环大约1.4  $\mu\text{m}$ ;侧区有3条刻线,除前部外其他位置没有网格化,体中部侧区平均3.5  $\mu\text{m}$ 宽;口针强壮,基部球强大,前缘凹陷;半月体明显,位于排泄孔前靠近排泄孔的位置,半月小体通常位于排泄孔后大约8~10个体环的位置;尾渐变细,末端细圆,体环一直延续到尾的末端,侧尾腺口小,不明显,位于尾部中间位置的侧区内。

卵:卵的表面有明显的刻点,在光学显微镜和扫描电镜下呈微小的瘤状。

与近似种的比较:埃文斯孢囊线虫形态与牛膝菊孢囊线虫、罗莎孢囊线虫相近。与牛膝菊孢囊线虫的区别:孢囊长度(前者459  $\mu\text{m}$ ×334  $\mu\text{m}$ ,后者523  $\mu\text{m}$ ×384  $\mu\text{m}$ )和膜孔直径(前者18  $\mu\text{m}$ ~23  $\mu\text{m}$ ,后者41  $\mu\text{m}$ );与罗莎孢囊线虫的区别:2龄幼虫尾部透明区(前者21  $\mu\text{m}$ ,后者6  $\mu\text{m}$ )。

#### E.7 牛膝菊孢囊线虫 *C.galiesogae*

雌虫:虫体球形到近球形,有突出的颈和小的阴门锥,成虫体色呈珍珠白色到浅褐色;体中部的表皮有横向的分支线纹形成的交叉纹饰;口针强壮,基部球圆且发达,阴门位于一个小的末端突出物或阴门锥上;卵存留于雌虫体内,卵囊存在时,其内部无卵。

孢囊:虫体球形到近球形,有突出的直的颈部和小的阴门锥,浅褐色到黑褐色,环膜孔,无囊泡和阴门突。



雄虫:虫体比仙人掌孢囊线虫属的其他种小,体形圆柱形,热杀死后呈“C”形,尾端弯曲并且扭曲;侧区有4条刻线,外部刻线部分网格化;头架高度骨化,唇区具有仙人掌孢囊属线虫的典型特征,有4~5个唇环,口针强壮,基部球圆且发达;侧尾腺口不可见,交合刺轻微弯曲,顶部二裂状,引带未见。

2龄幼虫:虫体圆柱形,热杀死后向腹面轻微弯曲;头架强烈骨化,唇区有3~4个不明显的唇环,口针强壮,基部球发达,略圆;透明区长度小于尾长的一半。

卵:卵的表面具有刻点。

与近似种的比较:牛膝菊孢囊线虫形态与埃文斯孢囊线虫相近。区别在于:孢囊长度(前者 $523\mu\text{m}\times 384\mu\text{m}$ ,后者 $459\mu\text{m}\times 334\mu\text{m}$ ),膜孔直径(前者 $41\mu\text{m}$ ,后者 $18\mu\text{m}\sim 23\mu\text{m}$ ),阴门锥(前者明显,后者较小),阴门裂(前者 $17.1\mu\text{m}\sim 19.0\mu\text{m}$ ,后者 $20\mu\text{m}\sim 40\mu\text{m}$ ),阴门突(前者无,后者明显)。另外,牛膝菊孢囊线虫有直的颈,体中部表面有由分支横纹形成的交错纹饰;埃文斯孢囊线虫体色为浅褐色到黑褐色,体环不规则。

#### E.8 米勒孢囊线虫 *C.milleri*

雌虫:体形变化较大,柠檬形到近圆形,颈部通常明显缢缩,有些个体具有明显的阴门锥,但在较大的球形个体中,阴门锥较小;年轻的雌虫珍珠白色,成熟后变成黄色或金黄色,直至浅褐色;次晶层和胶质的卵囊未见;唇盘略微隆起,口针和口针基部球发达,排泄孔位于中食道球之后。

孢囊:通常柠檬形,有的圆形,体色变化较大,黑褐色到近乎黑色;阴门锥顶部无囊泡,环膜孔,有些膜孔被薄的、半透明的胶质状物质包围;阴门突通常存在,肛门一般显著,体中部表皮由直到波纹状的横向线纹环绕。

雄虫:虫体蠕虫形,两端渐变细,前端变细尤其明显;侧区有4条刻线,外部刻线网格化;唇区稍微缢缩,6~7个唇环,口针和基部球发达,口针杆部轻微向背面弯曲,背部食道球向后倾斜,侧器口未见;半月体明显,位于排泄孔前5个体环的位置;交合刺弯曲,顶部二裂状,尾短,侧尾腺口未见。

2龄幼虫:虫体蠕虫形,两端渐变细,向后变细尤为明显;侧区有4条刻线,外部刻线网格化;唇区缢缩,有5~6个唇环,唇盘略微拉伸,具有4个亚中唇和2个侧唇,侧唇明显退化;口针和基部球发达,背部口针基部球前缘略微凹陷或深度凹陷,极少数不凹陷;侧器口未见,半月体位于排泄孔前大约1个体环的位置。

卵:在光学显微镜和扫描电镜下,卵的表面有小的刻点,形成明显的纹饰。

与近似种的比较:米勒孢囊线虫形态与仙人掌孢囊线虫最相近。区别在于:雌虫口针(前者 $22.9\mu\text{m}\sim 25.6\mu\text{m}$ ,后者 $29.3\mu\text{m}\sim 35.6\mu\text{m}$ ),阴门裂(前者 $14.3\mu\text{m}\sim 17.8\mu\text{m}$ ,后者 $9.5\mu\text{m}\sim 15.1\mu\text{m}$ ),雄虫口针(前者 $23.4\mu\text{m}\sim 26.1\mu\text{m}$ ,后者 $26.1\mu\text{m}\sim 29\mu\text{m}$ ),雄虫体长(前者 $1\,190\mu\text{m}\sim 1\,499\mu\text{m}$ ,后者 $869\mu\text{m}\sim 1\,166\mu\text{m}$ ),孢囊膜孔直径(前者 $13\mu\text{m}\sim 18\mu\text{m}$ ,后者 $26\mu\text{m}\sim 38\mu\text{m}$ )。

#### E.9 根茎孢囊线虫 *C.radicale*

孢囊:孢囊柠檬形,浅黄色,具有小的阴门锥,有些孢囊没有阴门锥,肛门位于阴门锥的基部,无阴门突。

雄虫:未发现。

2龄幼虫:虫体圆柱形,较长,向后端渐变细,唇区有4个唇环,透明区的长度比口针短,口针基部球圆到轻微向前部突出,尾端钝。

卵:表面光滑。

与近似种的比较:根茎孢囊线虫在形态和形态测量值上均区别于其他仙人掌孢囊属线虫。与爱沙尼亚孢囊线虫区别在于:孢囊L/W值(前者1.6,后者2.3),阴门突(前者无,后者有)。与桑尼孢囊线虫



的区别在于:膜孔直径(前者 24  $\mu\text{m}$ ,后者 34  $\mu\text{m}$ ),2 龄幼虫体长(前者 488  $\mu\text{m}$ ,后者 554  $\mu\text{m}$ )。与魏瑟孢囊线虫的区别在于:阴门突(前者无,后者有),2 龄幼虫口针(前者 20  $\mu\text{m}$ ~27  $\mu\text{m}$ ,后者 19.6  $\mu\text{m}$ ~21.8  $\mu\text{m}$ ),2 龄幼虫尾长(前者 46  $\mu\text{m}$ ~60  $\mu\text{m}$ ,后者 43  $\mu\text{m}$ ~50  $\mu\text{m}$ )。

#### E.10 罗莎孢囊线虫 *C.rosae*

雌虫:未发现。

孢囊:大多数孢囊巨大,柠檬形,体色从黑褐色到近乎黑色;颈部向后弯曲,阴门锥非常明显,末端圆;表皮颜色随孢囊的年龄而变化,阴门锥有平行的垂直线,阴门突存在,在有些个体中环绕膜孔,肛门明显,位于清晰的圆形或卵圆形的凹陷内。

雄虫:未发现。

2 龄幼虫:虫体轻微弯曲,前端圆,后端尾尖尖锐;唇区有 4~5 个唇环,缢缩,唇盘长方形,有 6 个唇瓣,腹部和背部的唇瓣圆形,侧唇退化,口针基部球近圆形,前缘凹陷;侧区有 4 条刻线,部分网格化,尾端圆锥形。

卵:椭圆形,整个卵壳表面具有细小的刻点。

与近似种的比较:罗莎孢囊线虫形态与埃文斯孢囊线虫相近。区别在于:2 龄幼虫尾部透明区长度(前者 4  $\mu\text{m}$ ~8  $\mu\text{m}$ ,后者 16  $\mu\text{m}$ ~23  $\mu\text{m}$ )。

#### E.11 盐生孢囊线虫 *C.salina*

雌虫:虫体不对称,背部弯曲,年轻的个体阴门锥不明显,较大的个体椭圆形或近球形,具有小的阴门锥突起;颈部缢缩,通常向腹部弯曲;年轻雌虫珍珠白色,老化和固定后渐变为不透明;表皮具有较深的“Z”字形线纹,从排泄孔向前逐渐过渡成波纹状线纹,最后头区相对光滑;头和颈部覆盖一层黏稠物质,排泄孔位于中食道球稍靠后的位置,食道腺拉伸较长;口针轻微向背面弯曲,双卵巢,次晶层未见。

孢囊:虫体卵圆形到近球形,一般具有小的阴门锥,米黄色到浅褐色;颈部覆盖一层黏稠物质,孢囊表面具有显著的“Z”字形纹饰;环膜孔,囊泡和阴门突未见,肛门小孔状,位于一个光滑的区域内,膜孔周围光滑。

雄虫:虫体蠕虫形,向两端稍微变细,热杀死后尾端扭曲近 90°;唇区轻微缢缩,有大约 4~7 个不连续的唇环,在扫描电镜下,唇盘隆起,唇瓣和唇盘组合成方形,唇瓣极不规则,通常侧唇与邻近的亚中唇融合,侧唇非常小;侧区有 4 条刻线,外部刻线在虫体前部通常网格化,在虫体后部扭曲;半月体位于排泄孔前大约 1 个体环的位置,头架未见,口针基部球强壮,前缘略平;交合刺明显二裂状,引带不明显,侧尾腺口未见。

2 龄幼虫:虫体圆柱形,向后端渐变细,唇区不缢缩,大约有 5 个唇环,在扫描电镜下,唇盘卵圆形,周围有 6 个独立的唇瓣环绕,与亚中唇相比,侧唇明显退化;刻线 4 条,外部的 2 个脊在虫体前端和后端部分网格化,半月体大约 1.5 个体环长,位于排泄孔前 1 个体环的位置;口针基部球强壮,轻微向后倾斜,在光学显微镜下,侧尾腺口很难观察,在扫描电镜下,侧尾腺口为细微的小孔,位于肛门稍靠后一条侧线的位置。

卵:卵表面无刻点或瘤突。

与近似种的比较:盐生孢囊线虫形态与苋菜孢囊线虫、魏瑟孢囊线虫、异株苋孢囊线虫相近,三者卵表面均光滑无小瘤。区别在于:2 龄幼虫口针(盐生孢囊线虫 24  $\mu\text{m}$ ,苋菜孢囊线虫 21  $\mu\text{m}$ ,魏瑟孢囊线虫 20  $\mu\text{m}$ ),2 龄幼虫 DGO(盐生孢囊线虫 2.5  $\mu\text{m}$ ~4.0  $\mu\text{m}$ ,苋菜孢囊线虫 3.9  $\mu\text{m}$ ~5.1  $\mu\text{m}$ ,魏瑟孢囊线虫 4.5  $\mu\text{m}$ ~5.6  $\mu\text{m}$ )。盐生孢囊线虫与异株苋孢囊线虫区别在于:孢囊长度(前者 603  $\mu\text{m}$ ,后者 698  $\mu\text{m}$ ),口针基部球(前者向后倾斜,后者突起),阴门锥(前者不明显,后者明显)。成熟孢囊颜色:盐



生孢囊线虫和魏瑟孢囊线虫浅,苋菜孢囊线虫和异株苋孢囊线虫深。

#### E.12 桑尼孢囊线虫 *C.thornei*

雌虫:虫体近乎柠檬形,具有突出的颈和阴门,白色到略微浅褐色;角质层  $12\ \mu\text{m}\sim 15\ \mu\text{m}$  厚,表面有明显的刻点或颗粒,通常会遮盖表皮纹饰;唇区轻微缢缩,具有 2 个唇环,第 2 个唇环较大;口针强壮,向背面轻微弯曲,基部球发达;肛门小而明显,位于阴门后大约 10% 体长的位置。

孢囊:近乎柠檬形,具有突出的颈和阴门锥,浅褐色到中等褐色,无囊泡,环膜孔;排泄孔位于颈基部,阴门突位于膜孔的上表皮下  $20\ \mu\text{m}$  的位置,单个存在、成簇或形成不完整的环,阴门突大约  $5\ \mu\text{m}\sim 10\ \mu\text{m}$  长,  $3\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m}$  宽;体中部孢囊表皮有直到波纹状的横向线纹,通常被短的斜线或垂直的线纹隔断;刻点通常存在,随机排列,有时非常明显;肛门明显,无环绕纹饰,位于距离孢囊后端大约 10% 的孢囊长度的位置。

雄虫:虫体圆柱形,拉伸较长,向两端渐变细;唇区缢缩,有 5~6 个唇环;侧区有 4 条刻线,除最前端外刻线无网格;头架强烈骨化,口针强壮,基部球非常圆且大;半月体小而明显,通常位于排泄孔 5~6 个体环的位置,半月小体很小,位于排泄孔后 10 个体环的位置;交合刺弓形,顶端有缺刻;尾极短,形状稍有变异,侧尾腺口小,靠近尾尖。

2 龄幼虫:虫体圆柱形,拉伸较长,向后变细明显;唇区缢缩,有 5 个不明显的唇环;体环明显,在体中部大约  $1.4\ \mu\text{m}$  宽,皮下体环不清晰;侧区有 4 条刻线,在体中部刻线间平均  $3.5\ \mu\text{m}$  宽,除前部外刻线无网格;头架强烈骨化,口针强壮,基部球大,前缘凹陷;半月体显著,位于排泄孔前靠近排泄孔的位置,半月小体一般位于排泄孔后大约 8~10 个体环的位置;尾渐变细,尾端细圆,体环延续到尾端,有时造成尾端念珠状;侧尾腺口小,不明显,位于尾中部侧区的中心位置。

卵:在光学显微镜油镜下观察,卵的表面有小而离散的刻点;在扫描电镜下,这些刻点呈微小的瘤突状。

与近似种的比较:桑尼孢囊线虫较易于在 2 龄幼虫的特征上与仙人掌孢囊线虫的其他种区分开,口针较长( $24\ \mu\text{m}\sim 28\ \mu\text{m}$ ),虫体较长( $424\ \mu\text{m}\sim 620\ \mu\text{m}$ ),尾较长( $48\ \mu\text{m}\sim 64\ \mu\text{m}$ );桑尼孢囊线虫雌虫和雄虫的口针长度远大于其他种。

#### E.13 魏瑟孢囊线虫 *C.weissi*

雌虫:虫体近乎柠檬形,具有突出的颈和阴门;表皮大约  $12\ \mu\text{m}$  厚,具有随机排列的刻点,通常颗粒状,有时会遮挡表皮的纹饰,对孢囊来说尤其如此;唇区缢缩,有 2 个唇环,第 2 个唇环较大;口针非常细,基部球小而明显,向后倾斜;食道腺和排泄孔一般位于颈基部,肛门小,不明显,位于距离虫体后端大约 10% 的体长位置。

孢囊:虫体柠檬形,具有突出的颈和阴门锥,浅褐色到黑褐色,无囊泡,环膜孔;排泄孔位于颈基部,阴门突位于膜孔表皮下大约  $16\ \mu\text{m}\sim 20\ \mu\text{m}$  的位置,基部大约  $6\ \mu\text{m}\sim 11\ \mu\text{m}$  长,  $3\ \mu\text{m}\sim 5\ \mu\text{m}$  宽,阴门突单个随机出现、成簇或形成不完整到完整的环;体中部孢囊壁有基本横向的直到波纹状的线纹,通常被短的斜线或垂直的线纹隔断;刻点非常细小,随机排列,经常存在于孢囊壁上;肛门小而明显,无环绕纹饰,位于距孢囊后端 10% 孢囊长度的位置。

雄虫:虫体圆柱形,拉伸较长,向两端渐变细;唇区缢缩,有 5~6 个唇环,体环明显,大约  $1.8\ \mu\text{m}$  宽;侧区  $5.6\ \mu\text{m}\sim 6.2\ \mu\text{m}$  宽,刻线 4 条,大多数个体刻线间隔相同,除最前端外侧区无网格;头架强烈骨化,口针强壮,基部球大且圆,中食道球中心距离前端  $45\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m}$ ,半月体小而明显,通常位于排泄孔前 5~6 个体环的位置,半月小体很小,位于排泄孔后大约 10 个体环的位置;单精巢,交合刺弓状,顶部有缺刻;尾非常短,形状稍有变异,侧尾腺口小,靠近尾端。

2 龄幼虫:虫体圆柱形,拉伸较长,尤其向后端变细明显;唇区缢缩,有 5 个不明显的唇环,体环明显,在体中部大约  $1.4\ \mu\text{m}$  宽,皮下体环不明显;侧区除前端外无网格,3 条刻线,在体中部刻线平均间隔  $3.5\ \mu\text{m}$ ;头架强烈骨化,口针强壮,基部球发达,前缘凹陷;半月体显著,位于排泄孔前靠近排泄孔的位置,半月小体通常位于排泄孔后大约 8~10 个体环的位置;尾渐变细,尾端细圆,体环延续到尾端,造成尾端念珠状;侧尾腺口小,不明显,位于尾中部侧区的中心。

卵:在光学显微镜和扫描电镜下,卵壳透明,表面无可见的纹饰。

与近似种的区别:魏瑟孢囊线虫与菟菜孢囊线虫、异株菟孢囊线虫最相近。与菟菜孢囊线虫的区别在于:2 龄幼虫尾长(前者  $43\ \mu\text{m}\sim 50\ \mu\text{m}$ ,后者  $32\ \mu\text{m}\sim 40\ \mu\text{m}$ ),2 龄幼虫尾部透明区(前者  $17\ \mu\text{m}\sim 24\ \mu\text{m}$ ,后者  $11\ \mu\text{m}\sim 18\ \mu\text{m}$ )。与异株菟孢囊线虫的区别在于:口针基部球(前者前缘凹陷,后者前缘凸起),DGO(前者  $4.5\ \mu\text{m}\sim 6.0\ \mu\text{m}$ ,后者  $2.5\ \mu\text{m}\sim 3.0\ \mu\text{m}$ )。



附 录 F  
(资料性附录)  
分子生物学检测流程

### F.1 DNA 提取

仙人掌孢囊属线虫 DNA 的提取方法如下:

线虫放入 ddH<sub>2</sub>O 中清洗,挑取单条线虫放入 200  $\mu$ L PCR 管中(含 8  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O),将含虫的 PCR 管放置液氮中 1 min.,65  $^{\circ}$ C 加热 2 min.,重复冻融 1 次后向 PCR 管中加入 2  $\mu$ L 提取缓冲液(5 $\times$ PCR buffer+500  $\mu$ g/mL 蛋白酶 K),56  $^{\circ}$ C 加热 30 min,95  $^{\circ}$ C 加热 10 min,瞬时离心后得到的 DNA 提取上清液可直接用于 PCR 扩增。

也可使用实验室成熟稳定的 DNA 提取方法或市售 DNA 提取试剂盒对仙人掌孢囊属线虫的 DNA 进行提取。

### F.2 线虫核糖体 rDNA-ITS 区 PCR 扩增

#### F.2.1 引物

上游引物:5'-CGTAACAAGGTAGCTGTAG-3'

下游引物:5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3'

#### F.2.2 PCR 扩增

扩增体系(50  $\mu$ L):ddH<sub>2</sub>O 32.6  $\mu$ L,10 $\times$ PCR Buffer(Mg<sup>2+</sup>)5  $\mu$ L,dNTP(2.5 mmol/L)2  $\mu$ L,上游引物(10  $\mu$ mol/L)1  $\mu$ L,下游引物(10  $\mu$ mol/L)1  $\mu$ L,rTaq DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L)0.4  $\mu$ L,模板 DNA 8  $\mu$ L;PCR 扩增程序:95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min,然后是 40 个循环反应(95  $^{\circ}$ C 变性 40 s,55  $^{\circ}$ C 退火 40 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 90 s,最后 72  $^{\circ}$ C 保温 5 min。以灭菌的去离子水作阴性对照。

### F.3 电泳

制作 1.5%的琼脂糖胶,取 PCR 反应产物 5  $\mu$ L,加入 1  $\mu$ L 6 $\times$ 溴酚蓝载样缓冲液,充分混匀后移入胶孔,100 V 电压下电泳(10 V/cm)。

### F.4 凝胶成像

将电泳后的凝胶小心地转移到 0.1%EB 溶液中染色 30 min.,再将胶块小心地转移到凝胶成像系统中,观察是否有 1 000 bp 左右的目标片段,拍照保存。

### F.5 测序

当扩增获得的 PCR 产物浓度达到 100 ng/ $\mu$ L 时,可进行下一步的克隆测序。

#### F.6 序列比对与结果判定

将测序获得的线虫 ITS 序列提交 NCBI 网站做 BLAST 相似性比对,若与某一种线虫相似性大于 97%,则可判定为该种线虫。

---