

研究报告



乌头根腐病病原菌的分离与鉴定

陈茂婷 胡琪琪 书剑琴 李文敏 王光志*

成都中医药大学 中药材标准化教育部重点实验室 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点
实验室培育基地 四川 成都 611137

摘要:【背景】四川江油地区栽培乌头极易发生根腐病,植株染病后枯萎死亡,最终影响药材产量。因发病因素和致病菌多样,乌头根腐病的防治向来困难。【目的】鉴定四川江油地区栽培乌头根腐病病原菌,为病害诊断和防治提供理论基础。【方法】采用组织分离法进行病原菌分离;按照 Koch's 法则对分离的病菌进行致病性验证;通过形态学观察和真菌 rDNA-ITS 序列分析,鉴定病原菌种类。【结果】从具有根腐病症状的乌头根部分离得到 47 株真菌,其中菌株 GF3-3、GF3-6 和 GF6-1 是乌头根腐病的致病菌;通过形态特征结合 rDNA-ITS 序列分析将菌株 GF3-3、GF3-6 和 GF6-1 分别鉴定为 *Fusarium solani*、*F. oxysporum* 和 *F. proliferatum*。【结论】茄腐镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和层出镰刀菌(*F. proliferatum*)是乌头根腐病的主要病原菌,其中层出镰刀菌引起乌头患根腐病为首次报道。

关键词: 乌头, 根腐病, 病原菌, 分离, 鉴定

Isolation and identification of pathogens causing root rot on *Aconitum carmichaelii* Debx.

CHEN Mao-Ting HU Qi-Qi SHU Jian-Qin LI Wen-Min WANG Guang-Zhi*

Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education; State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 611137, China

Abstract: [Background] Root rot is highly susceptible to the cultivated *Aconitum carmichaelii* Debx. in Jiangyou area of Sichuan, China. The plants wither and die after being infected by root rot, which ultimately affects the yield of medicinal materials. The prevention and treatment of the root rot are difficult due to complex pathogenic factors and the diversity of pathogenic fungi. [Objective] To identify the pathogens of root rot on *A. carmichaelii* Debx. cultivated in Jiangyou area, and to provide theoretical basis for diagnosis and prevention of the disease. [Methods] Pathogen isolation was carried out by means of diseased tissue isolation method. Koch's rule was used to prove the pathogenicity of fungal strain isolated from *A. carmichaelii*. The pathogens were identified based on their morphological characteristics and rDNA-ITS sequence. [Results] Forty-seven fungi isolates were isolated from the root rot of *A.*

Foundation item: The Fourth National Census of Traditional Chinese Medicine Resources (Sichuan Province) Project (2017PC009)

*Corresponding author: E-mail: wangguangzhi@cdutcm.edu.cn

Received: 05-11-2019; Accepted: 30-12-2019; Published online: 06-01-2020

基金项目: 全国第四次中药资源普查(四川省)项目(2017PC009)

*通信作者: E-mail: wangguangzhi@cdutcm.edu.cn

收稿日期: 2019-11-05; 接受日期: 2019-12-30; 网络首发日期: 2020-01-06

carmichaelii. Strains GF3-3, GF3-6 and GF6-1 were the causal pathogen fungi of the root rot of *A. carmichaelii*. The pathogen strains GF3-3, GF3-6 and GF6-1 were identified as *Fusarium solani*, *F. oxysporum* and *F. proliferatum* via morphological characteristics and rDNA-ITS sequence. [Conclusion] *Fusarium solani*, *F. oxysporum* and *F. proliferatum* were the principal pathogenic fungi causing root rot disease of *A. carmichaelii*. This is the first report of root rot of *A. carmichaelii* caused by *F. proliferatum*.

Keywords: *Aconitum carmichaelii* Debx., Root Rot Disease, Pathogens, Isolation, Identification

乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 为毛茛科 (*Ranunculaceae*) 乌头属多年生草本植物, 其干燥子根和母根分别为著名川产道地药材附子和川乌, 已有数千年的药用历史。乌头在我国四川、陕西、云南、湖北、贵州等地均有分布, 在四川和陕西栽培面积较广。四川江油市为附子的道地产区, 已有上千年的栽培历史。随着中药材的需求量日渐增大, 乌头的种植面积也不断扩大, 随之而来的是各种植物病害严重影响了药材的产量与质量。相关调查表明, 对乌头药材影响较大的病害有根腐病、霜霉病和白绢病, 而且这几种病害往往相互交叉影响, 严重时可引起 50% 以上的减产^[1]。

根腐病是一类具有容易传染、发病率高、防治困难等特点的根部病害, 在根和根茎类药用植物中的发病率较高, 如三七、白术、黄芪、川芎、麻黄等^[2-6]。植物根茎部感染病原菌后逐渐腐烂, 植株干枯死亡。据相关研究报道, 引起根腐病的主要病原菌为镰刀菌属真菌, 其中尖孢镰刀菌和茄腐镰刀菌是主要致病菌^[7]。病原菌侵染植株的模式有单独侵染和混合侵染, 混合侵染是主要的模式^[8]。本文采用形态学和分子生物学的方法对引起乌头根腐病的病原菌进行了准确鉴定, 以期对乌头根腐病的致病机理和生物防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本采集

患根腐病乌头植株于 2019 年 5 月采自四川省江油市太平镇普照村优质无公害附子 GAP 生产基地; 健康乌头种苗采于凉山州布拖县附子种植基地, 移栽于成都中医药大学药用植物园备用。实验材料经成都中医药大学中药资源教研室王光志教

授鉴定, 为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的新鲜块根。

1.1.2 主要试剂和仪器

E.Z.N.A Fungal DNA Mini Kit, Omega Bio-Tek 公司; 2×*Taq* PCR MasterMix, BBI 公司; PCR 扩增引物, 生工生物工程(上海)股份有限公司。光学显微镜, Leica 公司; Thermal Cycler PCR 仪, Bio-Rad 公司; 全自动样品快速研磨仪, 上海净信实业发展有限公司。

1.1.3 培养基

PDA (g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂粉 20.0, 青霉素-链霉素混合物 0.1。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离

病原菌的分离采用文献[9]报道的组织分离法: 患根腐病乌头块根在 75% 乙醇中浸泡 45 s, 3% 次氧酸钠溶液中浸泡 5 min 消毒, 灭菌 RO 水润洗 5 次后, 灭菌滤纸吸干表面水分, 然后用无菌解剖刀于病健交界处切取大小为 5 mm³ 的染病组织块, 置于 PDA 培养基中, 每皿放 5 块染病组织块, 25 °C 下黑暗培养 5–7 d; 待染病组织块周围长出菌丝时, 用接种环挑取菌落尖端菌丝进行纯化, 纯化后的菌株接种于 PDA 斜面保存。

1.2.2 致病性测定

接种物的制备: 将分离得到的菌株在 PDA 平板上 25 °C 下黑暗培养 3 d, 加入适量的无菌水洗脱孢子, 用一层无菌滤纸过滤, 制备成浓度约为 1.0×10⁶ 个孢子/mL 的孢子悬浮液。

离体植株接种参照罗文富等^[10]的方法: 健康乌头块根经表面消毒(方法同 1.2.1)后, 用无菌解剖刀将乌头切成 5 mm 厚的薄片, 置于铺有两层无菌滤纸的培养皿中, 每皿放 3 片, 培养皿中加入约

10 mL 无菌水, 保持滤纸湿润; 采用无菌棉签涂抹的方式蘸取各接种物孢子悬浮液, 单独和混合接种于乌头切片表面, 以接种无菌水为对照, 每个处理 5 次重复。置于 25 °C 恒温培养箱中, 48 h 后每日观察发病情况, 第 6 天统计其发病率, 并对发病部位进行病原菌的重分离。

1.2.3 病原菌的鉴定

(1) 形态学鉴定

将病原菌在 PDA 培养基上活化后, 用灭菌打孔器在菌落边缘打取菌饼接种至新的 PDA 培养基中央, 25 °C 黑暗培养, 观察菌落的形态特征。单孢菌落纯化后采用插片法培养, 在显微摄影系统(40×10 倍)下观察分生孢子的形状、大小、厚垣孢子的有无及着生方式等, 参照《真菌鉴定手册》^[11]及《镰刀菌属》^[12]确定菌株的属和种。

(2) 分子生物学鉴定

将病原菌接种至 PDA 培养基上, 待菌丝生长旺盛后, 采用 E.Z.N.A Fungal DNA Mini Kit 提取病原真菌基因组 DNA。利用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对病原菌 rDNA-ITS 区进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(25 µL): 2×*Taq* PCR MasterMix 12.5 µL, ITS1 和 ITS4 引物(10 µmol/L)各 1 µL, DNA 模板 1 µL, ddH₂O 9.5 µL。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 54 °C 45 s, 72 °C 60 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。待 PCR 反应完成后, 用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 于凝胶成像仪下观察目的条带。测序工

作委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。将测序结果与 NCBI 数据库中的已知序列进行 BLAST 比对, 并提交 GenBank 获得登录号。运用 MEGA 7.0 中邻接(neighbor-joining)法构建系统发育树, 进行 1 000 次 Bootstrap 检验计算系统树中节点的置信度。

2 结果与分析

2.1 病害症状

病原菌主要侵染乌头植株的根部。通过田间症状观察发现, 病原菌主要从根茎处侵入植物体内, 侵染初期植物输水导管组织受损, 地上部分萎蔫, 叶片下垂, 似被开水烫过。随着病情的加重, 叶片由下自上逐渐变褐, 最终全株枯萎死亡。病原菌侵入地下块根部分后, 由木质部开始逐渐向韧皮部腐烂, 并且散发臭味。在潮湿的环境中, 患病植株的茎基部表面时有白色霉状物长出, 为病原菌的孢子(图 1)。

2.2 病原菌的分离与致病性测定

通过对乌头患根腐病的植株进行组织分离及单孢纯化, 共得到 47 株真菌。经致病性测定, 菌株 GF3-3、GF3-6 和 GF6-1 表现出根腐病症状, 并再分离得到初接菌株, 其分离率分别为 44.7%、14.9% 和 4.3%。3 种菌单独接种于乌头切片 7 d 时发病率分别为 100%、73.3% 和 80%, 混合接种时发病率均为 100%。混合接种的组合分别为: GF3-3+GF3-6(H1)、GF3-3+GF6-1(H2)、GF3-6+GF6-1(H3)和 GF3-3+GF3-6+GF6-1(H4)。其他真菌及对照组未表现出任何病症(图 2)。从发病乌头切片上均能再分离到与初接菌株相同的分离物, 确定为乌头根腐病病原菌。

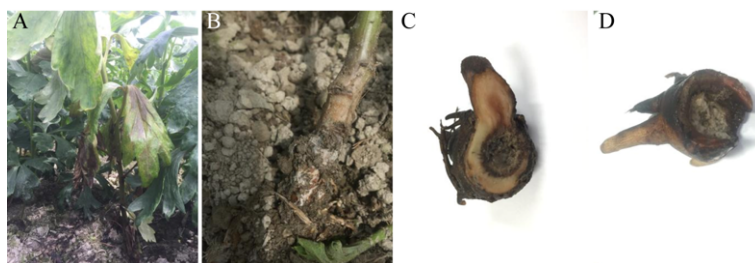


图 1 乌头根腐病的症状

Figure 1 Symptoms of root rot of *A. carmichaelii* Debx.

注: A: 病株地上部分; B: 病株地下部分; C、D: 患病乌头横切面。

Note: A: Above ground part of diseased plant; B: Underground part of diseased plant; C, D: Transverse section of diseased aconite.

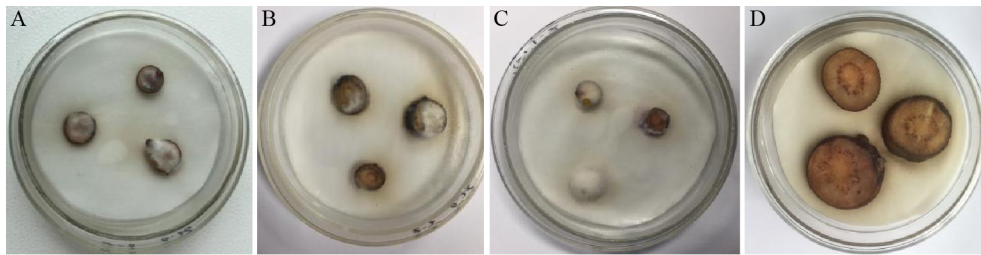


图2 乌头切片接种单一病原菌 3 d 后的症状

Figure 2 Symptoms of the slices inoculated with a single pathogen for 3 days

注: A-C: 分别为接种 GF3-3、GF3-6 和 GF6-1 后的发病症状; D: 对照。

Note: A-C: Symptoms of the slices inoculated with GF3-3, GF3-6 and GF6-1, respectively; D: Control.

乌头切片在接种单一菌株孢子悬浮液 3 d 后大部分长出菌丝, 并且逐渐开始腐烂。接种混合菌株孢子悬浮液 2 d 后均长出菌丝, 并且分泌出棕色液体, 开始腐烂(图 3)。7 d 后患病乌头切片完全腐烂, 皮易分离, 并伴有与田间患病植株相同难闻的气味。这一现象初步说明乌头根腐病不是由单一致病菌引起的, 而是由多种病原菌复合侵染引起。

2.3 乌头根腐病病原菌的形态鉴定

2.3.1 GF3-3 菌落和菌体形态

GF3-3 菌落呈圆形, 边缘整齐呈放射状, 菌丝

丛卷毛状, 白色, 菌落可见清晰的条带, 中间底部分泌棕色色素, 培养 4 d 菌落直径为 5.8 cm。小型分生孢子众多, 肾型至卵圆形, 大小为 $(9.6-17.3) \mu\text{m} \times (3.3-4.7) \mu\text{m}$, 着生于单出的分生孢子梗上; 分生孢子梗细长、瓶状。大型分生孢子多为 3 分隔, 大小为 $(21.8-41.3) \mu\text{m} \times (3.1-4.7) \mu\text{m}$; 厚垣孢子球形, 单生或双生(图 4)。

2.3.2 GF3-6 菌落和菌体形态

GF3-6 菌落圆形, 边缘整齐呈放射状, 菌丝毡状, 白色, 培养 4 d 菌落直径为 5.8 cm; 小型分生孢子多,

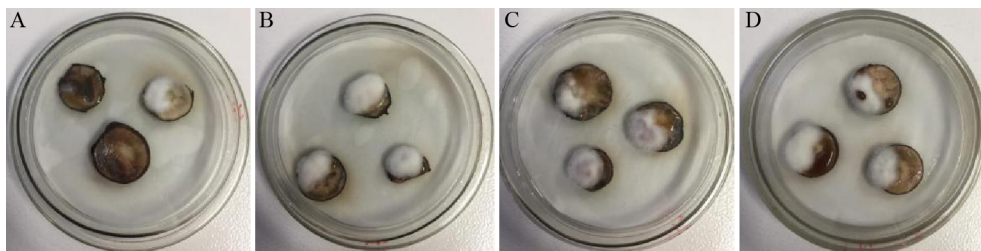


图3 乌头切片接种混合病原菌 2 d 后的症状

Figure 3 Symptoms of the slices after inoculation with mixed pathogenic fungi for 2 days

注: A-D: 接种 H1、H2、H3 和 H4 后的发病症状。

Note: A-D: Symptoms of the slices inoculated with H1, H2, H3 and H4.

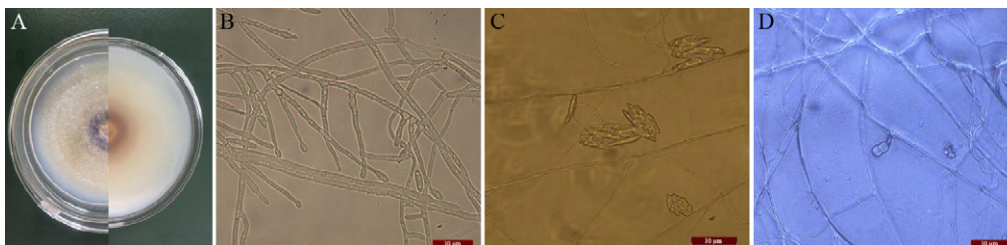


图4 菌株 GF3-3 的菌落和菌体形态征

Figure 4 Colony and morphology of *Fusarium solani* strain GF3-3

注: A: 菌落形态; B: 分生孢子梗及分生孢子; C: 大型分生孢子; D: 厚垣孢子。标尺: B-D: 30 μm 。

Note: A: Colony morphology; B: The conidiophore and conidium; C: Macroconidium; D: Chlamydospore. Scale bar: B-D: 30 μm .

卵形至椭圆形,大小为 $(8.3-17.7) \mu\text{m} \times (2.7-3.8) \mu\text{m}$,着生于侧生瓶状小梗上。大型分生孢子纺锤形至镰形,大小为 $(35.3-54.6) \mu\text{m} \times (2.9-5.8) \mu\text{m}$,3-5个分隔,多为3个分隔;厚垣孢子多,球形,顶生或间生,壁表光滑或粗糙(图5)。

2.3.3 GF6-1 菌落和菌体形态

GF6-1 菌落圆形,菌丝棉絮状,随着培养时间延长,菌丝体产生淡紫色至灰紫色色素,培养4 d 菌落直径为5.1 cm;小型分生孢子长卵形或肾型,大小为 $(8.4-14.7) \mu\text{m} \times (2.2-3.4) \mu\text{m}$;大型分生孢子 $(32.2-47.4) \mu\text{m} \times (2.1-3.3) \mu\text{m}$,1-3个分隔;无厚垣孢子(图6)。

2.4 乌头根腐病病原菌的分子生物学鉴定

采用真菌通用引物 ITS1 和 ITS4 对病原菌 rDNA-ITS 区域进行 PCR 扩增,1.0%凝胶电泳后,在750-500 bp 之间得到一条清晰的条带。经测序,

GF3-3、GF3-6 和 GF6-1 的片段长度分别为 568、562 和 562 bp,GenBank 中的登录号分别为 MN504655、MN504656 和 MN504654。将病原菌与 GenBank 中已知菌株对比,GF3-3 与 *Fusarium solani* (NR_163531.1) 相似度为99.3%,GF3-6 与 *F. oxysporum* (MH911375.1) 相似度为99.5%,GF6-1 与 *F. proliferatum* (MK332493.1) 相似度为99.8%。用 MEGA 7.0 构建系统发育树(图7),GF3-3 与 *F. solani* (NR_163531.1) 在自举值100%水平聚为一支;GF3-6 与 *F. oxysporum* (MH911375.1) 在自举值98%水平聚为一支,GF6-1 与 *F. proliferatum* (MK332493.1) 在自举值93%水平聚为一支,又与 GF3-6 等共聚为一簇,示亲缘关系非常接近。结合菌株的形态学特征及相关资料^[11-14],将 GF3-3 鉴定为茄腐镰刀菌 *F. solani*,将 GF3-6 鉴定为尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*,将 GF6-1 鉴定为层出镰刀菌 *F. proliferatum*。

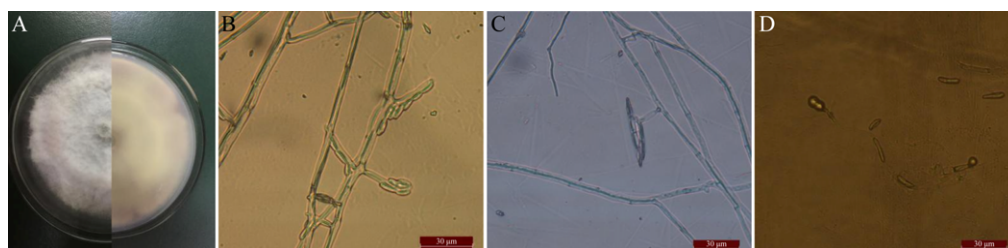


图5 菌株 GF3-6 的菌落和菌体形态

Figure 5 Colony and morphology of *F. oxysporum* strain GF3-6

注: A: 菌落形态; B: 分生孢子梗及分生孢子; C: 大型分生孢子; D: 厚垣孢子. 标尺: B-D: 30 μm .

Note: A: Colony morphology; B: The conidiophore and conidium; C: Macroconidium; D: Chlamydospore. Scale bar: B-D: 30 μm .

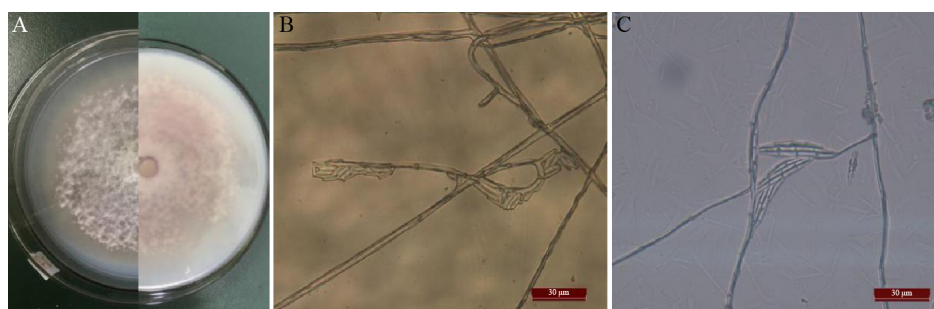


图6 菌株 GF6-1 的菌落和菌体形态

Figure 6 Colony and morphology of *F. proliferatum* strain GF6-1

注: A: 菌落形态; B: 分生孢子梗及分生孢子; C: 大型分生孢子. 标尺: B、C: 30 μm .

Note: A: Colony morphology; B: The conidiophore and conidium; C: Macroconidium. Scale bar: B, C: 30 μm .

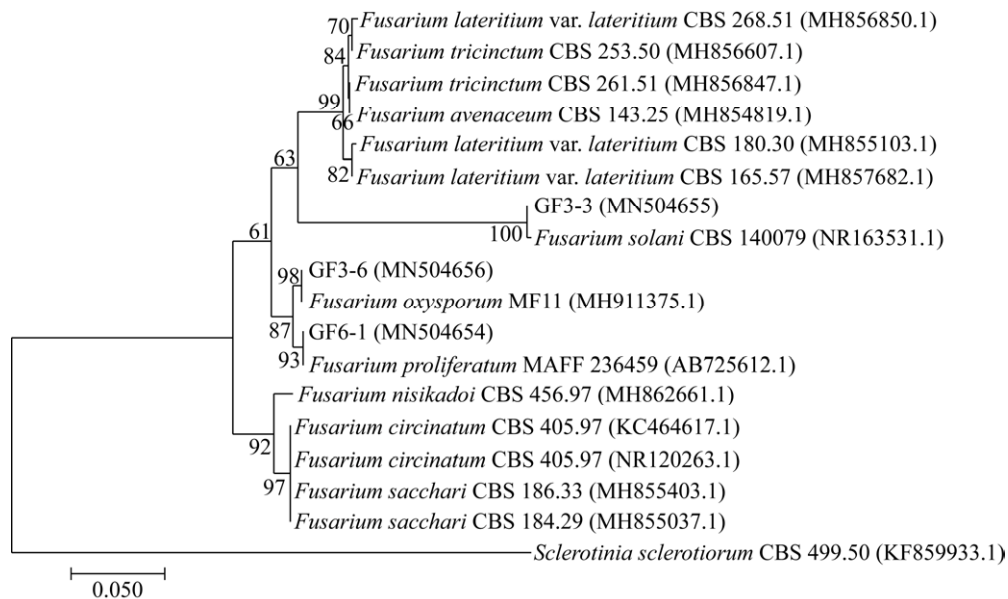


图 7 基于 rDNA-ITS 序列分析构建的系统发育树

Figure 7 Phylogenetic tree based on rDNA-ITS sequence analysis

注:分支上的数据表示 Bootstrap 检验的支持百分率,自展支持值(Bootstrap)>50%的数值显示在各个进化分支节点上;以 *Sclerotinia sclerotiorum* 为外群;括号内为菌株编号和 GenBank 序列号;图中标尺代表位点的碱基替代率。

Note: The confidence values over 50% from 1 000 replicate bootstrap samplings are shown at each node; *Sclerotinia sclerotiorum* is an outgroup; Strain numbers and GenBank accession numbers are shown in the parentheses; Scale bar indicates the base substitution rate.

3 讨论与结论

乌头根腐病是乌头常见病害之一,因其侵害植株根部,一旦染病,极易造成单株绝收,严重影响附子的产量和品质。经持续观察,我们发现乌头通常在 3 月气温开始回暖时发生根腐病,患病植株叶片下垂,并逐渐萎蔫。随着气温升高和降雨量的增加,从 5 月开始发病率及病情指数迅速上升,患病植株叶片由下至上逐渐枯萎,从茎基部向上逐渐腐烂,严重时整个植株死亡。6 月气温和相对湿度均适宜病原菌的孢子萌发、生长,患病情况达到高峰,持续至附子采收完成。

本研究经病原菌分离、柯赫氏法则证病及病原菌形态学和分子生物学鉴定,将四川省江油地区乌头根腐病的病原菌鉴定为茄腐镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和层出镰刀菌(*F. proliferatum*),这与 Wang 等^[15]报道的乌头根腐病病原菌为罗尔阿太菌(*Athelia rolfsii*)不同。可能有

以下几个原因:(1)引起植物患根腐病的病原菌种类繁多,主要为真菌、细菌和线虫等,其中镰刀菌属(*Fusarium* sp.)真菌为主要致病菌,危害性最大^[16],其次为丝核菌属(*Rhizoctonia* sp.)、疫霉属(*Phytophthora* sp.)等^[17]。因致病菌多样,所以不同研究条件会得到不同结论。(2)文献[16]报道的患病乌头样品采集于 2016 年 6 月中旬,而本研究样品采集于 2019 年 5 月。由于采样时间不同,同一地区作物轮作方式发生变化,土壤环境出现较大差别,导致同种植物患根腐病的主要致病菌出现差异。(3)不同采样时间的气候条件有一定差异,适宜生长的病原菌种类也会发生变化。四川江油地区 2016 年 6 月中旬的温度为 30–33 °C,为阿太菌(*Athelia* sp.)的适宜生长温度^[18];据调查,2019 年 5 月江油地区的温度为 25–30 °C,更适宜镰刀菌属(*Fusarium* sp.)真菌生长。(4)本研究前期调查发现,相邻田块因种苗来源不同,其发病率及病情指

数差异较大。说明种苗来源不同,自身或其根际土中所携带的病原菌有差异,这也是导致本研究结论和文献结论有区别的原因之一。

引起植株患根腐病的原因较多,除病原菌、根际土壤环境和种源的影响外,植物内生菌群落结构发生改变也会引起根腐病,如付丽娜等^[19]通过对三七根组织进行微生物群落结构分析,发现健康植株的优势菌为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和假单胞菌(*Pseudomonas* sp.),患根腐病植株根部以镰刀菌(*Fusarium* sp.)、拉恩氏菌(*Rahnella* sp.)、欧文氏菌(*Erwinia* sp.)等为优势菌群。我们认为植物根内微生物之间存在相互抑制、促进、竞争、生态占位等关系,内部微生物生态平衡的打破,可能导致植物的系统抗性减弱,对致病菌的抑制作用减弱,从而发生病害。因此,维持或调控植物根内微生物的生态平衡是防治根腐病发生的重要手段之一,这也为乌头根腐病的生物防治提供了思路。

镰刀菌属(*Fusarium* sp.)的许多菌种均能引起严重的植物病害,在这些植物病害中,一般把由茄腐镰刀菌(*F. solani*)引起的病害称为根腐病。在本研究回接实验中,尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和层出镰刀菌(*F. proliferatum*)均能使健康乌头切片出现与田间患病植株相同的根腐病症状,因此,我们认为尖孢镰刀菌和层出镰刀菌均可引起根腐病的发生。据报道,层出镰刀菌(*F. proliferatum*)能引起玉米穗腐病^[20-21]、马铃薯干腐病^[22]、黄瓜枯萎病^[23]及多种其他经济作物的根腐病^[24-25],该病原菌在药用植物病害中报道较少,这也是首次在患病乌头中被发现。

本研究利用形态学特征和分子生物学技术,对引起乌头根腐病的病原菌进行了准确鉴定,通过单一菌株侵染,表明茄腐镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)和层出镰刀菌(*F. proliferatum*)是其主要病原菌。不同组合的多种菌株混合侵染时出现根腐病症状的时间较单一菌株侵染时短,且发病率均为100%,高于尖孢镰刀菌(73.3%)和层出镰刀菌(80%)单独侵染时的发病率,揭示乌头根腐病

的发生可能是多种病原真菌共同侵染引起,其致病机理还需要进一步研究。

REFERENCES

- [1] Tang L, Liang LJ, Ye HZ, et al. Study on pests plaguing *Aconitum carmichaeli* Debx[J]. Research and Practice of Chinese Medicines, 2004, 18(6): 29-32 (in Chinese)
唐莉, 梁丽娟, 叶华智, 等. 附子常见病害的调查研究[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(6): 29-32
- [2] Miao ZQ, Li SD, Liu XZ, et al. The causal microorganisms of *Panax notoginseng* root rot disease[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(7): 1371-1378 (in Chinese)
缪作清, 李世东, 刘杏忠, 等. 三七根腐病病原研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1371-1378
- [3] Zhang LW. Identification of pathogen and control of root rot of *Atractylodes macrocephala* Koidz. in Guizhou[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2015 (in Chinese)
张礼维. 贵州白术根腐病病原鉴定及防治研究[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2015
- [4] Deng CG. Preliminary report on identification of pathogen of root rot of *Astragalus membranaceus*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2005, 28(2): 85 (in Chinese)
邓成贵. 黄芪根腐病病原鉴定研究初报[J]. 中药材, 2005, 28(2): 85
- [5] Li JS, Yan ZY, Lan Y, et al. Identification of pathogens causing root rot disease on *Ligusticum chuanxiong* in Sichuan[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(3): 443-446 (in Chinese)
李佳穗, 严铸云, 兰英, 等. 四川主产区川芎根腐病病原菌鉴定[J]. 中药材, 2015, 38(3): 443-446
- [6] Zhu CY, Liu XL, Dong J, et al. Isolation and identification of the pathogens causing root rot disease of Chinese ephedra[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(3): 193-197 (in Chinese)
朱春雨, 刘西莉, 董瑾, 等. 麻黄根腐病病原物的分离及鉴定[J]. 植物病理学报, 2003, 33(3): 193-197
- [7] Mu XR, Ma YY, Yang ZZ, et al. Research advance on the control of root rot disease of medical plants[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2014, 5(2): 5-8, 52 (in Chinese)
穆向荣, 马逾英, 杨枝中, 等. 药用植物根腐病防治的研究进展[J]. 中药与临床, 2014, 5(2): 5-8, 52
- [8] Shen QQ, Liu F, Hu Y. Research progress of pathogens of root rot disease on medicinal plants[J]. Northern Horticulture, 2014(11): 187-190 (in Chinese)
沈清清, 刘芳, 胡彦. 药用植物根腐病病原菌研究进展[J]. 北方园艺, 2014(11): 187-190

- [9] Fang ZD. Research Methods of Plant Disease[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 1998 (in Chinese)
方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998
- [10] Luo WF, Yu SF, He CF, et al. On the combined infection of root rot pathogens on *Panax notoginseng*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1997, 27(1): 85-91 (in Chinese)
罗文富, 喻盛甫, 贺承福, 等. 三七根腐病原及复合侵染的研究[J]. 植物病理学报, 1997, 27(1): 85-91
- [11] Wei JC. Handbook of Fungal Identification[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979 (in Chinese)
魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979
- [12] Booth C. The Genus *Fusarium*[M]. Chen QY, trans. Beijing: Agricultural Press, 1988 (in Chinese)
布斯 C. 镰刀菌属[M]. 陈其英, 译. 北京: 农业出版社, 1988
- [13] Arias MMD, Munkvold GP, Leandro LF. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot on soybean (*Glycine max*) in the United States[J]. Plant Disease, 2011, 95(10): 1316
- [14] Özer G, Bayraktar H, Oksal E. First report of *Fusarium proliferatum* causing crown and root rot of *Asparagus officinalis* in Turkey[J]. Journal of Plant Pathology, 2011, 93(S4): S88
- [15] Wang W, Zhang DY, Wen H, et al. Soil fungal biodiversity and pathogen identification of rotten disease in *Aconitum carmichaelii* (Fuzi) roots[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205891
- [16] Gao F, Ren XX, Wang ML, et al. Research progress in root rot diseases of Chinese herbal medicine and control strategy by antagonistic microorganisms[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(21): 4122-4126 (in Chinese)
高芬, 任小霞, 王梦亮, 等. 中草药根腐病及其微生物防治研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4122-4126
- [17] Arias MMD, Leandro LF, Munkvold GP. Aggressiveness of *Fusarium* species and impact of root infection on growth and yield of soybeans[J]. Phytopathology, 2013, 103(8): 822-832
- [18] Wang Y, Huang SL, He PP, et al. Identification and characterization of sesame southern blight pathogen[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2013, 35(1): 84-91 (in Chinese)
王雅, 黄思良, 何朋朋, 等. 芝麻白绢病病原菌的分离鉴定及其生物学特性[J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(1): 84-91
- [19] Fu LN, Wang YT, Wang X, et al. The study on microbial diversity of rhizosphere in continuous cropping system of *Panax notoginseng*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2018, 33(2): 198-207 (in Chinese)
付丽娜, 汪娅婷, 王星, 等. 三七连作根际微生物多样性研究[J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2018, 33(2): 198-207
- [20] Lu WH, Huang SL, Tao AL, et al. Isolation and characterization of *Fusarium proliferatum* from maize ear rot samples[J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2011, 38(3): 233-239 (in Chinese)
卢维宏, 黄思良, 陶爱丽, 等. 玉米穗腐病样品中层出镰刀菌的分离与鉴定[J]. 植物保护学报, 2011, 38(3): 233-239
- [21] Visentin I, Tamiatti G, Valentino D, et al. The ITS region as a taxonomic discriminator between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*[J]. Mycological Research, 2009, 113(10): 1137-1145
- [22] Xi A. Classification of *Fusarium* species from potato dry rot[D]. Dalian: Master's Thesis of Liaoning Normal University, 2015 (in Chinese)
奚安. 马铃薯干腐病原镰孢菌的分类研究[D]. 大连: 辽宁师范大学硕士学位论文, 2015
- [23] Chen X. Identification and genetic diversity of *Fusarium* species isolated from the rhizome of cucumber[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2010 (in Chinese)
陈霞. 黄瓜根茎镰孢菌的分离鉴定及遗传多样性分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2010
- [24] Salvalaggio AE, del C. Ridao A. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot on Garlic and Onion in Argentina[J]. Plant Disease, 2013, 97(4): 556
- [25] Pérez BA, Berretta MF, Carrión E, et al. First report of root rot caused by *Fusarium proliferatum* on blueberry in Argentina[J]. Plant Disease, 2011, 95(11): 1478