

蓝莓间座壳茎溃疡病病原鉴定及生物学特性研究

李媛, 石凌波, 费诺亚, 傅俊范, 严雪瑞*

(沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

摘要 在蓝莓园进行病样采集时,发现一种蓝莓茎部病害,病斑呈红褐色,溃疡状,长椭圆形。为明确该病害的病原菌种类,对病枝进行组织分离,经单孢纯化后得到菌落形态一致的7株致病菌,对供试菌株的ITS与EF1- α 基因联合构建系统发育树,供试菌株与 *Diaporthe phaseolorum* 处于同一分支,结合形态学特征,鉴定该病原菌为 *Diaporthe phaseolorum*。对病原菌的生物学特性研究结果表明,该菌最适培养基为PDA,最适生长温度为25℃,光照对菌丝生长无明显影响。本文首次报道 *Diaporthe phaseolorum* 引起蓝莓茎溃疡病。

关键词 蓝莓; 间座壳属; 茎溃疡病; 鉴定

中图分类号: S436.639 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.01.014

Identification and biological characteristics of a blueberry *Diaporthe* stem canker pathogen

Li Yuan, Shi Lingbo, Fei Nuoya, Fu Junfan, Yan Xuerui

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract A kind of blueberry stem canker was found in blueberry plantation and the symptoms consist of red-brown and elliptical stem canker. In order to identify the pathogen, seven isolates were obtained by isolation and purification. Phylogenetic analysis of combined ITS and EF1- α gene sequences showed that the isolates were located in the same clade with *Diaporthe phaseolorum*. Compared with the morphological characteristics, the isolates were identified as *D. phaseolorum*. The biological characteristics test showed that 25℃, PDA were the best culture conditions, and it was not sensitive to light. This is the first report of *D. phaseolorum* causing diseases on blueberry.

Key words blueberry; *Diaporthe*; stem canker; identification

蓝莓 *Vaccinium* spp., 又名越橘、蓝浆果, 属于杜鹃花科 Ericaceae, 越橘属 *Vaccinium* 丛生灌木, 果实营养丰富, 20 世纪 80 年代中期引进国内并开始大面积商业化种植栽培, 随着种植面积不断扩大, 蓝莓病害问题也日益严重^[1-2]。

间座壳属病原菌可引起蓝莓茎溃疡病、蓝莓果腐病等多种病害, 国外已报道该属危害蓝莓种有 *Diaporthe vaccinii*^[3]、*D. ambigua*^[4]、*D. australaficana*^[4]、*D. neotheicola*^[4]、*D. passiflorae*^[4]、*D. viticola*^[5]、*D. asheicola*^[5]、*D. baccae*^[5] 和 *D. sterilis*^[5]。我国目前已报道可侵染蓝莓的种有 *D. vaccinii*^[6] 和 *D. eres*^[7]。

2013—2014 年在辽宁庄河市、丹东市, 黑龙江伊春市, 福建长汀县蓝莓园进行病样采集时发现了

一种蓝莓茎部病害。病斑溃疡状, 长椭圆形, 红褐色, 后期呈灰白色。本研究对该病害进行病原菌分离纯化以及柯赫氏法则证病, 将引起该病害的病原菌与已经报道的间座壳属病原菌在形态学、分子生物学以及发病症状上进行比较, 确定在我国可侵染蓝莓的间座壳属病原菌种类。

1 材料方法

1.1 病原菌分离

采用组织分离法和单孢分离法对病样进行病原菌分离和纯化^[8]。用无菌水冲洗病部枝条, 在病健交界处切取 5 mm×5 mm 组织块, 用 75% 乙醇进行表面消毒 30 s 后放入 0.1% 升汞溶液中浸泡 30 s, 无菌水

收稿日期: 2016-08-19 修订日期: 2016-09-19

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201103037); 沈阳市科技计划项目(F15-167-4-00, F15-079-3-00)

* 通信作者 E-mail: berrypest@126.com

冲洗 3 次后置于 PDA(马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,水 1 000 mL)培养基上,在 25℃,12 h 光暗交替条件下培养 3~7 d,挑取尖端菌丝纯化,培养菌株至产生分生孢子,进行单孢纯化,并将纯化后的菌株保存在 PDA 斜面上,于 4℃下保存备用。

1.2 病原菌致病性测定

采取活体植株接种菌饼的方法对分离得到的 7 株菌进行致病性测定,取两年生健康蓝莓植株,对蓝莓枝条进行表面消毒,用无菌解剖刀制造环状伤口,将直径 5 mm 菌饼接种到伤口上,用无菌脱脂棉进行保湿处理,以无菌 PDA 块作为对照,重复 3 次^[4]。置于培养箱中培养(28℃,90%RH)。培养 3 d 后去掉菌饼,每隔 3 d 统计发病情况。

1.3 病原菌鉴定

(1) 形态学鉴定:取直径 5 mm 的菌饼置于 PDA 上,在 25℃、12 h 光暗交替条件下培养 5~7 d,观察菌落形态。将菌饼放置于无菌苜蓿秆+WA 培养基上^[9]于 25℃,黑暗培养,诱导菌株产生分生孢子器,观察菌株产孢情况并测量两种类型分生孢子及产孢结构大小,每种类型的孢子及分生孢子梗测量 100 个并取其平均值。

(2) 分子生物学鉴定:用 CTAB 法提取菌株总 DNA,以 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 以及 EF1-728F(5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3')/EF1-986R(5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3') 为引物分别扩增菌株 ITS 及 EF1-α 基因序列。反应体系以及反应程序参照 Udayanga 等^[10]的方法。扩增产物经凝胶电泳检测后送至生工生物工程(上海)有限公司进行纯化,测序。

(3) 序列分析:测序结果在 NCBI/GenBank 中进行比对,下载模式菌株及相关菌株序列以及蓝莓上已经报道的间座壳属菌株序列^[3-4,7,10-12](表 1)。用 Mafft-win 软件进行序列比对后,对联合基因分别采用最大简约法(MP)及贝叶斯法(BI)进行分析,以 *Diaporthella corylina* CBS121124 作为外群。MP 分析采用 PAUP4.0b10 进行,bootstrap 重复值采用 1 000,将供试序列导入 MrMTgui 软件,预测出最佳进化模型,用 Mrbayes 软件对供试序列进行 BI 分析。结合系统发育分析结果,挑选与供试菌株亲缘关系较近的代表菌株序列,分别进行二次系统发育分析。

表 1 用于 ITS 和 EF1-α 基因联合构建蓝莓间座壳溃疡病菌系统发育分析的相关模式菌株基因登录号

Table 1 ITS and EF1-α accession numbers in GenBank of *Diaporthe* isolates used for phylogenetic analyses in this study

种 Species	菌株号 Strain	寄主 Host	采集地 Location	基因登录号 GenBank accession no.	
				ITS	EF1-α
<i>D. alleghaniensis</i>	CBS 495. 72	加拿大黄桦 <i>Betula alleghaniensis</i>	加拿大 Canada	KC343007	KC343733
<i>D. vaccinii</i>	CBS 160. 32	大果蔓越莓 <i>Oxycoccus macrocarpus</i>	美国 USA	KC343228	KC343954
<i>D. eres</i>	LNSY003	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	中国 China	KJ867089	KJ867090
	AR5196	榆属 <i>Ulmus</i> sp.	德国 Germany	KJ210533	KJ210554
<i>D. infecunda</i>	CBS 133812	巴西胡椒木 <i>Schinus terebinthi folius</i>	巴西 Brazil	KC343126	KC343852
<i>D. ambigua</i>	CBS 114015	西洋梨 <i>Pyrus communis</i>	南非 South Africa	KC343010	KC343736
<i>D. terebinthi folii</i>	CBS 133180	巴西胡椒木 <i>Schinus terebinthi folius</i>	巴西 Brazil	KC343216	KC343942
<i>D. cuppatea</i>	CBS 117499	南非茶 <i>Aspalathus linearis</i>	南非 South Africa	KC343057	KC343783
<i>D. melonis</i>	CBS 507. 78	甜瓜 <i>Cucumis melo</i>	美国 USA	KC343142	KC343868
<i>D. angelicae</i>	CBS 111592	独活 <i>Heracleum sphondylium</i>	奥地利 Austria	KC343027	KC343753
<i>D. dauci</i>	CBS 315. 49	胡萝卜 <i>Daucus carota</i>	荷兰 Netherlands	FJ889451	GQ250348
<i>D. stewartii</i>	CBS 193. 36	波斯菊 <i>Cosmos bipimatus</i>	—	FJ889448	GQ250324
<i>D. sclerotioides</i>	CBS 296. 67	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	荷兰 Netherlands	KC343193	KC343919
<i>D. siamensis</i>	MFLUCC 100573	—	—	JQ619879	JX275393
<i>D. australafricana</i>	CBS 111886	葡萄 <i>Vitis vini fera</i>	澳大利亚 Australia	KC343038	KC343764
<i>D. foeniculacea</i>	CBS 123208	小茴香 <i>Foeniculum vulgare</i>	葡萄牙 Portugal	KC343104	KC343830

续表 1 Table 1(Continued)

种 Species	菌株号 Strain	寄主 Host	采集地 Location	基因登录号 GenBank accession no.	
				ITS	EF1- α
<i>D. phaseolorum</i>	CBS 187. 27	茶树 <i>Camellia sinensis</i>	意大利 Italy	KC343107	KC343833
	CBS 116019	<i>Caperonia palustris</i>	美国 USA	KC343175	KC343901
	CBS 116020	<i>Symphyotrichum subulatum</i>	美国 USA	KC343176	KC343902
<i>D. sojae</i>	PS03	大豆 <i>Glycine max</i>	克罗地亚 Croatia	HM347702	HM347670
	Ar2	牛蒡 <i>Arctium lappa</i>	克罗地亚 Croatia	HM347705	HM347679
	CBS116023	大豆 <i>G. max</i>	美国 USA	KC343198	KC343440
	CBS 127267	大豆 <i>G. max</i>	克罗地亚 Croatia	KC343199	KC343925
<i>D. hongkongensis</i>	CBS 115448	常山 <i>Dichroa febrifuga</i>	中国香港 Hong Kong	KC343119	KC343845
<i>D. novem</i>	CBS354. 71	玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i>	罗马尼亚 Romania	KC343158	KC343884
<i>D. longicolla</i>	FAU644	大豆 <i>G. max</i>	美国 USA	KJ590730	KJ590769
	PL7	大豆 <i>G. max</i>	克罗地亚 Croatia	HM347699	HM347683
<i>Diaporthe arengae</i>	CBS114979	山棕 <i>Arenga engleri</i>	中国香港 Hong Kong China	KC343034	KC343760
<i>Diaporthe</i> sp.	CBS 115595	台湾山桂花 <i>Maesa perlaria</i>	中国香港 Hong Kong China	KC343209	KC343935
	CBS 115584	台湾山桂花 <i>M. perlaria</i>	中国香港 Hong Kong China	KC343208	KC343934
<i>D. passiflorae</i>	15. 3. 1r1	大果蔓越莓 <i>Vaccinium macrocarpon</i>	智利 Chile	KC143196	KC533444
<i>D. viticola</i>	CBS113201	葡萄 <i>Vitis vini fera</i>	葡萄牙 Portugal	KC343234	KC343960
<i>D. asheicola</i>	CBS 136967	兔眼蓝莓 <i>Vaccinium ashei</i>	智利 Chile	KJ160562	KJ160594
<i>D. baccae</i>	CBS 136971	高丛蓝莓 <i>Vaccinium corymbosum</i>	意大利 Italy	KJ160564	KJ160596
<i>D. sterilis</i>	CBS 136969	高丛蓝莓 <i>V. corymbosum</i>	意大利 Italy	KJ160579	KJ160611
<i>Diaporthella corylina</i>	CBS 121124	榛属 <i>Corylus</i> sp.	中国 China	KC343004	KC343730

1. 4 病原菌生物学特性研究

将直径 5 mm 的菌饼分别置于不同培养基(PDA、Czapek 培养基、WA,胡萝卜培养基、蓝莓茎煎汁培养基),不同光照条件(分别在全光照、全黑暗、12 h 光暗交替、24 h 光暗交替),在 25℃下培养,分别于 5、7、9 d 后测量菌落直径,每个处理重复 3 次。

研究不同温度对供试菌株生长状况的影响,选用 5 mm 的菌饼作为出发菌落直径,分别置于 15、

20、25、27 和 30℃的 PDA 平板上培养,培养 5、7 和 9 d 后分别测量菌落直径,每个处理重复 3 次。采用软件 Excel 和 SPSS 17. 0 对数据进行整理和分析。

2 结果分析

2. 1 病原菌分离

病样经过组织分离后得到菌落形态一致的 7 株白色菌株,菌株编号及序列登录号见表 2。

表 2 从蓝莓上分离得到的茎溃疡病病原菌株

Table 2 Isolates of the pathogen of the blueberry stem canker

菌株号 Strain no.	寄主 Host	采集地 Location	基因登录号 GenBank accession no.	
			ITS	EF1- α
LNZH041	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	辽宁庄河 Zhuanghe, Liaoning	KU375746	KU685380
LNZH087B	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	辽宁庄河 Zhuanghe, Liaoning	KU375749	KU685383
LNZH076A	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	辽宁庄河 Zhuanghe, Liaoning	KU375748	KU685382
LNDD007	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	辽宁丹东 Dandong, Liaoning	KU375738	KU685371
LNDD011	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	辽宁丹东 Dandong, Liaoning	KU375740	KU685373
FZXM061A	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	福建长汀 Changting, Fujian	KU375716	KU685349
HLJYC010	蓝莓 <i>Vaccinium</i> sp.	黑龙江伊春 Yichun, Heilongjiang	KU375717	KU685350

2. 2 病原菌致病性测定

在 28℃条件下,接种 3 d 后接种部位出现深褐

色凹陷病斑,病斑长 3~5 mm,病斑环茎,接种 9 d 后,病斑继续扩展,病斑长 10~20 mm,病部中间深

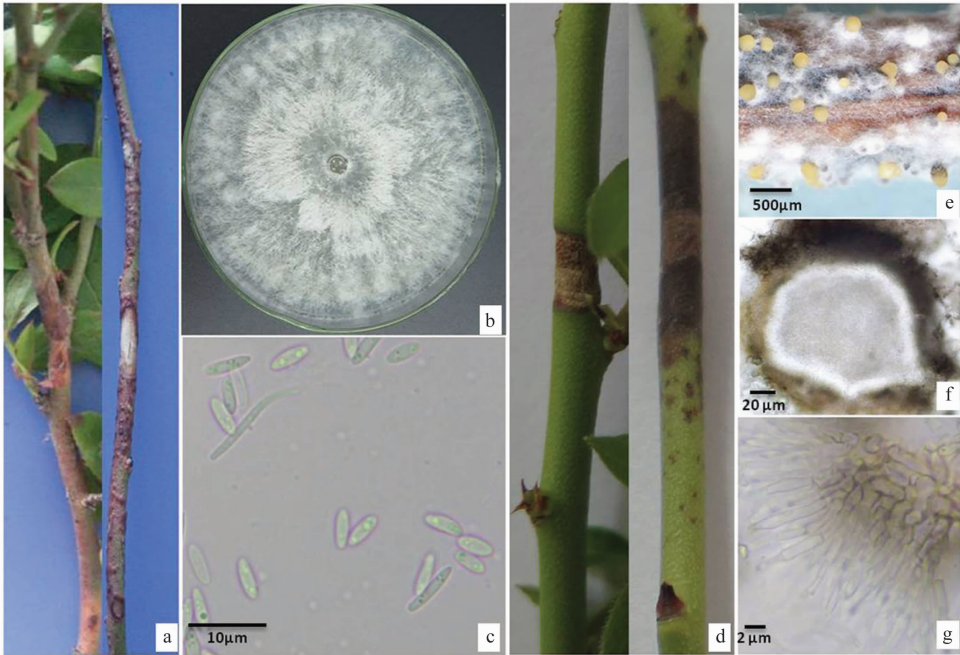
褐色,病斑周围淡褐色,对照不发病。将回接发病的蓝莓茎部进行再次组织分离,得到与原接种菌株相同的菌株(图 1a,d)。

2.3 病原菌形态学鉴定及生物学特性

菌株在 PDA 培养基上,25℃、12 h 光暗条件下培养 7 d。菌落直径达到 90 mm,菌落白色毛毡状,菌丝较为致密,形成不规则的同心轮纹(图 1b)。在 PDA 上 20 d 左右可无规则散生或聚生球形或近球形黑色分生孢子器,分生孢子器顶部分泌不规则黄色分生孢子角。在苜蓿秆上培养 15 d 左右可以诱导出分生孢子器,通过诱导产生的分生孢子器形态与 PDA 上产生的分生孢子器相同(图 1e,f)。镜检分生孢子器及孢子,分生孢子梗(16.04~24.57) μm $\times$ (1.92~2.42) μm (图 1g),产生两种类型分生孢

子, α 型孢子(5.95~7.92) μm $\times$ (1.64~2.59) μm ,无色透明,单孢,椭圆形,含 2 个油球, β 型孢子(6.69~19.79) μm $\times$ (0.62~1.18) μm 无色透明,单胞,线形,一端较直,另一端稍弯,没有观察到 γ 型分生孢子(图 1c)。

在不同培养基、不同光照及不同温度条件的试验结果表明:供试菌株适宜在 PDA 上生长,在 PDA 上生长最快,7 d 菌落直径 90 mm。在不同温度条件下菌株生长速度快慢顺序为 25℃>30℃>27℃>20℃>15℃,菌株在 25℃ 条件下生长快,7 d 菌落直径为 90 mm,在 15℃ 和 20℃ 条件下菌丝生长速度最慢,培养 9 d 菌丝仍未长满整个培养皿(90 mm)。光照对菌丝生长无明显影响,在 4 种条件下菌丝均能正常生长。



a: 自然条件下的蓝莓茎部溃疡症状; b: 在PDA上培养7 d的菌落; c: 分生孢子; d: 接种3 d及9 d发病的蓝莓枝条; e: 在苜蓿秆上产生分生孢子角; f: 分生孢子器; g: 分生孢子梗
a: Natural symptoms on blueberry stem canker; b: Colony cultured on PDA for 7 days; c: Conidia; d: Symptoms on blueberry 3 days and 9 days after inoculation, respectively; e: Conidiomata sporulating on alfalfa; f: Pycnidia; g: Conidiophores

图 1 蓝莓茎溃疡病症状及病原菌形态特征

Fig. 1 Symptoms of the blueberry stem canker and morphological characteristics of the pathogen

2.4 分子生物学鉴定

供试菌株的 ITS 序列长度为 555~584 bp, EF1- α 序列长度为 323 bp, 将其与 GenBank 下载的模式菌株的序列进行单独及联合系统发育树分析。基于联合基因的系统发育树结果显示, 供试菌株与 Ar2、PS03、CBS116019 及 CBS116020 归为一个类群

(PP 值 1/BS 值 99), 位于 *Diaporthe phaseolorum* 种群内, 与已报道的 *D. vaccinii*、*D. ambigua*、*D. australaf-ricana*、*D. neotheicola* (现已归入 *D. foeniculacea*)、*D. viticola*、*D. asheicola*、*D. baccae*、*D. sterilis* 和 *D. pas-siflorae* 及 *D. eres* 处于不同的分支(图 2)。结合形态学特征, 鉴定该病原菌为 *Diaporthe phaseolorum*。

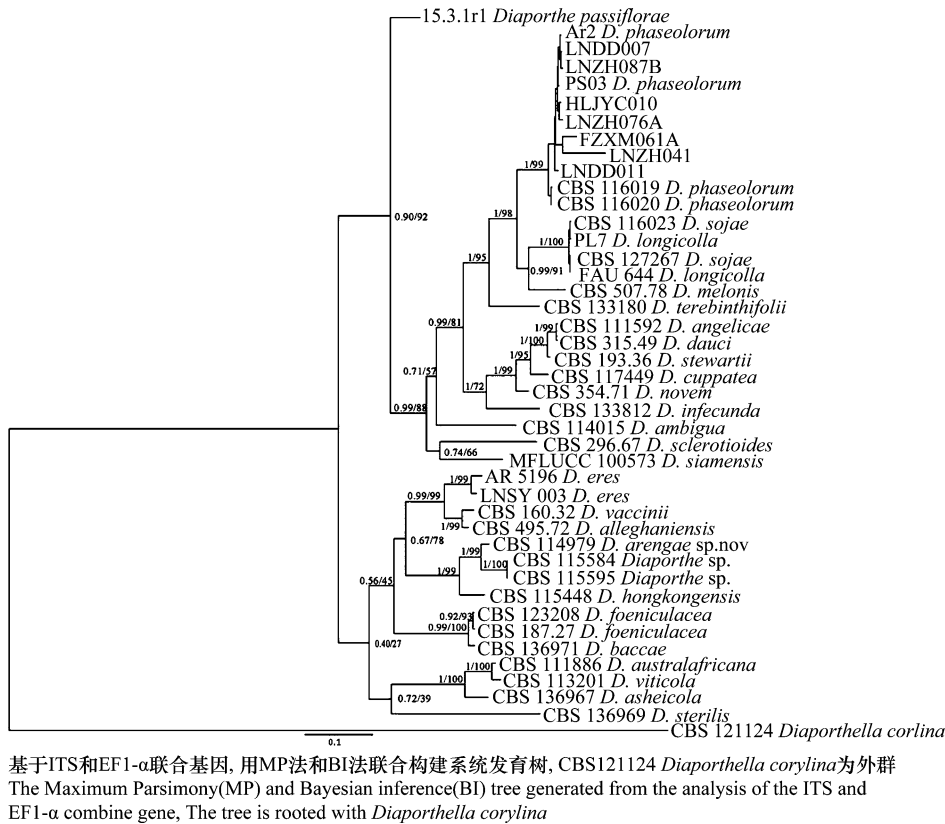


图 2 基于 ITS 和 EF1- α 基因联合构建的蓝莓间座壳溃疡病菌的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic analysis based on combined ITS and EF1- α gene sequences of the blueberry stem canker

3 结论与讨论

间座壳属真菌无性型为拟茎点霉属 *Phomopsis*, 可作为植物的致病菌及内生菌^[10], 也可感染人类皮肤^[13], 具有广泛的寄主范围, 间座壳属真菌作为致病菌通常引起植物的溃疡、枯死、根腐、果腐、叶斑病、枯萎病, 可造成植物大面积枯萎^[14]。

Diaporthe phaseolorum 可引起大豆茎溃疡病^[15], 也是葡萄、菜豆等重要经济作物的病原菌^[11], 本研究首次在蓝莓上分离到该种。现在对于间座壳属真菌的鉴定通常采用分子生物学的方法, 已经有许多运用 ITS 序列结合形态学特征来鉴定间座壳属真菌的研究: Murali 等^[16] 研究来自柚木 *Tectona grandis* 叶片内的 11 个内生菌株的 ITS 序列, 支持来自柚木的间座壳属菌株没有寄主专化性这一结论。但 ITS 序列分析也在属间显示大量的交叉, 多基因联合分析比单个基因分析能够更好地对菌株进行区分。例如 Santos 等和 van Rensburg 等^[14,17] 运用 ITS 和 EF1- α 序列结合形态学和菌落特征将引起南非博士茶 *Aspalathus linearis* 顶梢枯死的间座壳属菌株分

为 5 个种。本文选择供试菌株以及相关菌株的 ITS 与 EF1- α 基因联合构建系统发育树, 能够很好地将供试菌株与其近缘种 (*D. sojae*、*D. longicolla*) 及蓝莓上已报道的间座壳属其他种真菌进行区分。

本研究系统发育树结果显示 *D. vaccinii* 与 *D. eres* 亲缘关系较近, *D. neotheicola* (现已归入 *D. foeniculacea*) 与 *D. baccae* 具有较近的亲缘关系, 而 *D. viticola* 和 *D. asheicola* 为 *D. australafricana* 的近缘种, 此结果与 Lorenzo 等的研究结果一致^[5]。本文报道的 *D. phaseolorum* 不仅在系统发育上与蓝莓上已报道的间座壳属菌株处于不同分支, 在菌落形态、侵染症状上也存在差异, *Diaporthe vaccinii* 在 PDA 上生长的菌落形态具有非常明显的环状轮纹, 分层明显^[3], 本试验菌株菌落边缘平坦, 无明显分层现象。由 *D. ambigua*, *D. australafricana*, *D. neotheicola* 和 *D. passiflorae* 引起的茎部病害呈不规则病斑, 病斑周围红色, 病菌从嫩枝侵入造成嫩枝枯死^[7]。我国报道的 *Diaporthe eres* 从蓝莓枝条芽眼侵入, 造成蓝莓芽枯病^[7]。在国外 *Diaporthe vaccinii* 主要危害蓝莓^[3], 我国已经报道 *D. vacci-*

nii^[6]和 *D. eres*^[7]两个种侵染蓝莓,造成蓝莓枝枯病和芽枯病,对蓝莓造成严重危害。本研究结果表明 *D. phaseolorum* 也可侵染蓝莓,造成蓝莓茎部溃疡病,这是在我国新发现的可以引起蓝莓病害的间座壳属真菌。

参考文献

- [1] 李亚东,孙海悦,齐孟. 我国小浆果选种、育种概况及展望[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(10): 1-9.
- [2] 李亚东,唐雪东,袁菲,等. 我国小浆果生产现状、问题和发展趋势[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(1): 1-9.
- [3] Farr D F, Castlebury L A, Rossman A Y. Morphological and molecular characterization of *Phomopsis vaccinii* and additional isolates of *Phomopsis* from blueberry and cranberry in the eastern United States [J]. Mycologia, 2002, 94(3): 494-504.
- [4] Elfar K, Torres R, Diaz G A, et al. Characterization of *Diaporthe australafricana* and *Diaporthe* spp. associated with stem canker of blueberry in Chile [J]. Plant Disease, 2013, 97(8): 1042-1050.
- [5] Lombard L, van Leeuwen G C M, Guarnaccia V, et al. *Diaporthe* species associated with *Vaccinium* with specific reference to Europe [J]. Phytopathologia Mediterranea, 2014, 53(2): 287-299.
- [6] 岳清华,赵洪海,梁晨,等. 蓝莓拟茎点枝枯病的病原[J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 959-966.
- [7] 严雪瑞,王旭,胡梦琼,等. 蓝莓间座壳芽枯病病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 植物病理学报, 2015, 45(5): 556-560.
- [8] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [9] Udayanga D, Castlebury L A, Rossman A Y, et al. Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytosporella*,

D. foeniculina and *D. rudis* [J]. Persoonia, 2014, 32(1): 83-101.

- [10] Udayanga D, Liu Xingzhong, Crous P W, et al. A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*) [J]. Fungal Diversity, 2012, 56(1): 157-171.
- [11] Asha J D, Liu Mei, Zhang Wei, et al. Morphological and molecular characterisation of *Diaporthe* species associated with grapevine trunk disease in China [J]. Fungal Biology, 2015, 119(5): 283-294.
- [12] Gomes R R, Glienke C, Videira S I R. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi [J]. Persoonia, 2013, 31: 1-41.
- [13] Mattei A S, Severo C B, Guazzelli L S, et al. Cutaneous infection by *Diaporthe phaseolorum* in Brazil [J]. Medical Mycology Case Reports, 2013, 2: 85-87.
- [14] Santos J M, Phillips A J L. Resolving the complex of *Diaporthe* (*Phomopsis*) species occurring on *Foeniculum vulgare* in Portugal [J]. Fungal Diversity, 2009, 34: 111-125.
- [15] Pioli R N, Morandi E N, Martinez M C, et al. Morphologic, molecular, and pathogenic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the core soybean-producing area of Argentina [J]. Phytopathology, 2003, 93(2): 136-146.
- [16] Murali T S, Suryanarayanan T S, Geeta R. Endophytic *Phomopsis* species: host range and implications for diversity estimates [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2006, 52(7): 673-680.
- [17] van Rensburg J C J, Lamprecht S C, Groenewald J Z, et al. Characterization of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa [J]. Studies in Mycology, 2006, 55: 65-74.
- [18] Santos J M, Vrande Ć K, Ćosi Ć J, et al. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia [J]. Persoonia, 2011, 27: 9-19.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 53 页)

- [24] Wang K L, Li Hai, Ecker J R. Ethylene biosynthesis and signaling networks [J]. The Plant Cell, 2002, 14(S): 131-151.
- [25] Gagne J M, Smalle J, Gingerich D J, et al. *Arabidopsis* EIN3-binding F-box 1 and 2 form ubiquitin-protein ligases that repress ethylene action and promote growth by directing EIN3 degradation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(17): 6803-6808.
- [26] Potuschak T, Lechner E, Parmentier Y, et al. EIN3-Dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two *Arabidopsis* F box proteins; EBF1 and EBF2 [J]. Cell, 2003, 115(6): 679-689.
- [27] Penninckx I A M A, Thomma B P H J, Buchala A, et al. Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 1998, 10(12): 2103-2113.

- [28] Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens [J]. Annual Review of Phytopathology, 2005, 43(1): 205-227.
- [29] Thomma B P H J, Eggermont K, Penninckx I A M A, et al. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(25): 15107-15111.
- [30] Zhao Changjiang, Wang Airong, Shi Yujun, et al. Identification of defense-related genes in rice responding to challenge by *Rhizoctonia solani* [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2008, 116(4): 501-516.

(责任编辑: 田 喆)