

草莓丝核菌根腐病病原菌鉴定及 7 种杀菌剂的抑菌作用测定

尹沙亮, 钟 珊, 刘奇志, 张国珍*

(中国农业大学植物保护学院, 北京 100193)

摘要 为了解草莓丝核菌根腐病的病原种类及筛选防治丝核菌根腐病的有效杀菌剂,本研究基于形态学特征、细胞核荧光染色、菌丝融合群测定以及 rDNA-ITS 的序列分析,对北京和河北承德地区的草莓丝核菌根腐病的病原菌进行了鉴定,并利用菌丝生长速率法测定了 7 种杀菌剂对丝核菌的抑菌作用。结果发现,北京地区的丝核菌为双核丝核菌(binucleate *Rhizoctonia*, BNR),属于融合群 AG-A;河北的丝核菌为立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*,属于融合群 AG-4。氟啶胺、吡唑醚菌酯、噻呋酰胺、戊唑醇、咯菌腈、氟硅唑对 2 种丝核菌均有很强的抑制作用,EC₅₀ 值为 0.063 9~2.485 7 μg/mL,抑霉唑的抑制作用较差,EC₅₀ 值为 9.966 8~11.236 8 μg/mL。同一种杀菌剂对不同丝核菌的抑制作用存在差异,噻呋酰胺、戊唑醇、氟硅唑、咯菌腈和抑霉唑对立枯丝核菌的抑制作用强于对双核丝核菌。试验结果为生产上合理选用杀菌剂防治草莓丝核菌根腐病提供了科学依据。

关键词 草莓根腐病; 双核丝核菌; 立枯丝核菌; 杀菌剂筛选

中图分类号: S 436.639 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018351

Identification of *Rhizoctonia* species causing root rot of strawberry and inhibition effects of seven fungicides

YIN Shaliang, ZHONG Shan, LIU Qizhi, ZHANG Guozhen

(College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to identify the pathogens causing *Rhizoctonia* root rot of strawberry and select efficient fungicides for controlling the disease, the pathogen of the diseased samples from Beijing and Chengde, Hebei province was identified based on morphology, nucleus fluorescence staining, hyphal anastomosis test, and rDNA-ITS sequence analysis. The inhibition effect of seven fungicides on the *Rhizoctonia* isolates was also determined by mycelial growth rate method in this study. Binucleate *Rhizoctonia* AG-A and *R. solani* AG-4 were identified as the pathogens from Beijing and Hebei, respectively. Fluazinam, pyraclostrobin, thifluzamide, tebuconazole, fludioxonil and flusilazole showed very strong inhibition against the two *Rhizoctonia* species with the EC₅₀ values ranging from 0.063 9 to 2.485 7 μg/mL. Imazalil had higher EC₅₀ value from 9.966 8 to 11.236 8 μg/mL. The inhibition of different *Rhizoctonia* species by the same fungicide varied. Thifluzamide, tebuconazole, flusilazole, fludioxonil and imazalil showed stronger inhibition against *R. solani* than binucleate *Rhizoctonia*. The results provide a scientific basis for using fungicides to control *Rhizoctonia* root rot in strawberry production.

Key words strawberry root rot; binucleate *Rhizoctonia*; *Rhizoctonia solani*; fungicidal selection

草莓 *Fragaria* × *ananassa* Duch. 属蔷薇科草莓属多年生常绿草本果树,因果实色泽鲜艳、芳香多汁、酸甜适口,含有丰富的维生素 C,被誉为“水果皇后”^[1]。2015 年我国草莓总种植面积已达到 12.93 万 hm²,总产量 347.9 万 t^[2]。随着国内草莓种植面

积的扩大和栽培模式的转变,土传根部病害加重。已报道的草莓根腐病的病原菌达 20 多种,主要有镰孢属 *Fusarium*^[3]、炭疽菌属 *Colletotrichum*^[4-5]、丝核菌属 *Rhizoctonia*^[6-7]、柱孢菌属 *Cylindrocarpon*^[8]、拟盘多毛孢属 *Pestalotiopsis*^[9-10] 等真菌。

其中,由丝核菌引起的草莓根腐病是影响草莓生产的重要病害之一,严重威胁世界草莓的生产,在美国、澳大利亚、意大利等多个国家均有报道^[7, 11-12]。国内对草莓丝核菌根腐病的研究比较有限,前期报道的病原菌一般为立枯丝核菌 *R. solani*^[13-14]。2016 年,钟珊等^[15]首次报道了由双核丝核菌 *binucleate Rhizoctonia* 引起的草莓根腐病在中国的发生。

针对其他作物上的立枯丝核菌,国内已有一些杀菌剂的毒力测定^[16-17]。而专门针对引起草莓根腐病的丝核菌进行杀菌剂的毒力测定鲜有报道^[18]。目前国内引起草莓根腐病的丝核菌种类有哪些,不同丝核菌对杀菌剂的敏感性是否存在差异并不清楚。针对此问题,我们对北京和河北省承德地区的草莓丝核菌根腐病病样进行了分离和鉴定,并测定了氟硅唑、抑霉唑、吡唑醚菌酯、噁唑酰胺、戊唑醇、咯菌腈和氟啶胺 7 种杀菌剂对代表性菌株的抑菌作用,旨在为草莓丝核菌根腐病的有效防治提供科学依据和指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 草莓病样

2014 年—2016 年采自北京市昌平区和河北省承德地区。

1.1.2 杀菌剂原药

95% 氟硅唑 (flusilazole)、96% 抑霉唑 (imazalil)、97% 吡唑醚菌酯 (pyraclostrobin) 和 96% 噁唑酰胺 (thiﬂuzamide) 由北京中植科华农业技术有限公司提供; 95% 戊唑醇 (tebuconazole)、95.2% 咯菌腈 (fludioxonil) 和 98.44% 氟啶胺 (fluazinam) 由中国农业大学种子病理学实验室刘西莉教授提供。

1.1.3 丝核菌菌丝融合群标准菌株

双核丝核菌标准菌株由山东农业大学于金凤教授提供,立枯丝核菌标准菌株由中国农业大学陈旭君副教授提供。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离与纯化

采用常规组织分离法进行分离:用流动的清水清洗草莓病株的根茎和小根。取剖开后有褐色病斑的根茎,在病健交界处切取 5 mm×5 mm 的组织块;取有黑褐色病斑的小根,于病健交界处切取 5 mm 长的小段。用 3.3% NaClO 溶液消毒 1 min,灭菌水

漂洗 3 次,再用灭菌吸水纸吸干表面水分,置于 PDA 平板上,28℃ 黑暗培养。3 d 后挑取从病组织块长出的菌丝转皿培养,从菌落边缘切取单根菌丝尖进行菌株纯化。对纯化菌株进行编号保存备用。

1.2.2 形态学观察

将分离菌株在 28℃ 培养 3 d,于菌落边缘打取直径 5 mm 的菌饼,置于 PDA 平板(直径 9 cm)培养基上,28℃ 黑暗培养,观察并记录菌落颜色,有无菌核产生等培养性状,十字交叉法逐日测量菌落直径。

1.2.3 菌丝细胞核数目观察

采用插片法培养菌株。菌株接种于 PDA 平板中央,灭菌盖玻片斜插在接菌点周围,菌丝长满盖玻片后取出。参照 Xu 和 Hamer 的方法^[20]经过优化,用荧光染色剂 Calcofluor (10 μg/mL) 和 Hoechst 33258 (1 μg/mL) 对菌丝进行染色,荧光显微镜下观察菌丝细胞中的细胞核数目。

1.2.4 菌丝融合群测定

采用载玻片对峙法^[21-22]:待测菌株和标准菌株分别在 28℃,黑暗条件下培养 2 d,在菌落边缘各取菌饼(直径 5 mm),同时置于涂有 2% WA 培养基的载玻片上,两个菌饼间隔约 2 cm。将接菌的载玻片放置在 28℃ 黑暗条件下保湿培养。待两菌落前沿相遇并交叠约 2~5 mm 后,取出载玻片于光学显微镜下观察。

1.2.5 分子生物学鉴定及系统发育树构建

采用 CTAB 法提取纯化菌株的基因组 DNA。用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 对分离菌株 DNA 进行 PCR 扩增。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送至北京擎科新业生物技术责任有限公司测序,测序结果在 GenBank 中进行 BLAST 比对分析。在 NCBI 网站下载标准菌株的 rDNA-ITS 序列(表 1),用 BioEdit 对供试菌株和标准菌株的序列进行比对分析,适当人工校正剪切后,用 MEGA 6.0 以最大简约法 (Maximum Parsimony, MP) 构建系统发育树,Bootstrap=1 000。

1.2.6 杀菌剂的抑菌作用测定

先用二甲基亚砜 (DMSO) 将供试杀菌剂原药配成母液 (10⁴ μg/mL),之后用 DMSO 稀释,制成系列浓度梯度药液。将杀菌剂加入 PDA 培养基中,充分摇匀,制成含药平板 (9 cm),以加入等量 DMSO 的 PDA 培养基为对照。用灭菌的打孔器在菌落边缘

打取菌饼(5 mm),每一含药平板中央接种一个菌饼,28℃黑暗培养。每个药剂浓度重复3次。当对照菌落长至直径约7 cm时,用十字交叉法测量含药平板上的菌落直径,按下列公式计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率 =

$$\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

将菌丝生长抑制率换算成几率值(y),药剂浓度换算成浓度对数(x),得出各杀菌剂的毒力回归方程 $y=kx+b$,并计算 EC_{50} 值及相关系数。

表 1 用于构建系统发育树的相关菌株的信息

Table 1 Information of related isolates used to construct phylogenetic tree in this study

GenBank 登录号 Accession no.	菌株号 Code of isolate	寄主 Host	采集地 Origin	融合群 Anastomosis group
DQ102406	Str4	草莓	以色列	AG-A
DQ102408	Str7	草莓	以色列	AG-A
DQ102422	Str8	草莓	以色列	AG-A
AB122144	C-350	水稻	日本	AG-Bb
AJ000192	C1	水稻	马来西亚	AG-Bb
DQ102430	RU18-1	土壤	美国	AG-B(o)
AB219143	C-302	土壤	日本	AG-B(o)
DQ102434	Str10	草莓	以色列	AG-F
DQ102435	Str36	草莓	以色列	AG-F
DQ102398	Str13	草莓	以色列	AG-G
DQ102402	Str14	草莓	以色列	AG-G
DQ102443	Im1	草莓	美国	AG-I
DQ102442	Ibs1	土壤	以色列	AG-I
DQ102429	Str24	草莓	以色列	AG-K
AB219146	Bn37	黄瓜	美国	AG-R
AY684917	FSR-052	百合	—	<i>Athelia rolfsii</i> (外群)
AB122140	AG-1-IB	—	—	AG1-IB
AB000010	A-10	—	—	AG1A
AB000035	RH-28	—	—	AG1C
KF870886	10-C-F_5C	油菜	加拿大	AG-2-1
KF870901	D4_5R	油菜	加拿大	AG-2-1
KF870897	11-A10_9C	小麦	加拿大	AG-5
KF870898	11-A10_10C	小麦	加拿大	AG-5
KF870910	M1_1C	小麦	加拿大	AG-4
KF870913	M1_8S	小麦	加拿大	AG-4
KF870914	M1_9C	小麦	加拿大	AG-4
DQ102421	Str3	草莓	美国	AG-A(外群)

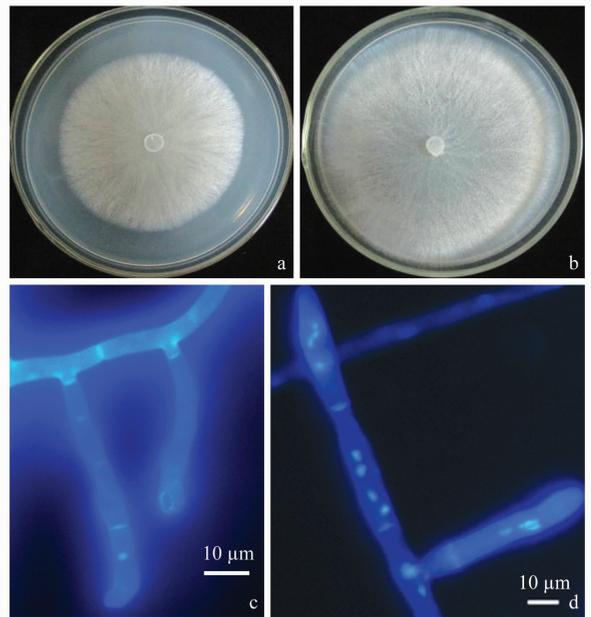
2 结果与分析

2.1 菌株分离情况

从采集的草莓根腐病病样中共分离到25株丝核菌菌株,其中从北京市昌平区的病样分离到14株,从河北省承德地区的病样中分离到11株。分离菌株经柯赫氏法则验证,对草莓均有致病性(结果未列出)。

2.2 菌株的形态特征及细胞核数目

分离菌株在PDA平板上均呈辐射状生长,菌落较疏松。显微镜下观察,发现菌丝呈直角或近直角分枝,分枝处缢缩,近分枝处有隔膜,符合丝核菌属的特征。但不同地区分离菌株在菌落生长速度、菌落颜色及细胞核数目上不同。北京分离菌株生长相对较慢,平均生长速率为28.7 mm/d(图1a);菌丝体初期白色,后呈淡褐色,连续培养20 d仍不产生菌核;经荧光染色发现菌丝细胞内有两个细胞核(图1c)。河北分离菌株生长相对较快,以38.0 mm/d的平均速率生长(图1b);培养2 d后菌丝在PDA平板上开始纠集,随后颜色加深,形成黑褐色菌核;菌丝细胞内有3个以上的细胞核,多为4个(图1d)。根据菌丝的形态特征和细胞核数目,确定北京菌株为双核丝核菌 *Rhizoctonia*,河北菌株为立枯丝核菌 *R. solani*。



a和c: 双核丝核菌; b和d: 立枯丝核菌
a and c: Binucleate *Rhizoctonia*; b and d: *R. solani*

图 1 丝核菌在 PDA 上培养 48 h 的菌落特征和荧光染色的细胞核

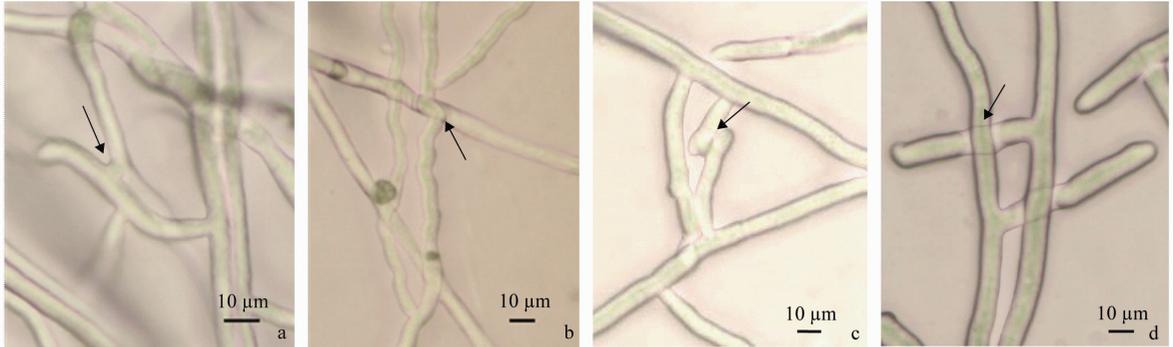
Fig. 1 Colonies on PDA incubated for 48 h and nuclei by fluorescence staining of the *Rhizoctonia* isolates

2.3 分离菌株的菌丝融合群

根据待测菌株与标准菌株的对峙培养观察和鉴定标准,分离得到的双核丝核菌菌株均能与菌丝融合群 AG-A 的标准菌株发生菌丝融合(图 2a),而与其他融合群的菌株不发生菌丝融合(图 2b);分离得到的立枯丝核菌菌株均能与菌丝融合群 AG-4 的标

准菌株发生菌丝融合(图 2c),而与其他融合群的菌株不发生菌丝融合(图 2d)。测定结果表明,本研究

从草莓根部分离到的双核丝核菌为 AG-A 融合群,立枯丝核菌为 AG-4 融合群。



a和c: 发生菌丝融合的双核丝核菌和立枯丝核菌; b和d: 不能发生菌丝融合的双核丝核菌和立枯丝核菌
a and c: Anastomosis of binucleate *Rhizoctonia* and *R. solani*; b and d: Unanastomosis of binucleate *Rhizoctonia* and *R. solani*

图 2 丝核菌的菌丝融合群测定

Fig. 2 Anastomosis groups of *Rhizoctonia* isolates

2.4 分离菌株的分子生物学鉴定

用 rDNA-ITS 通用引物对 ITS1/ITS4 对双核丝核菌 6 株代表菌株(MLJ1-2-2、MLJ5-1-2、MLJ6-1-6、MLJ7-1-3、MLJ8-2-2 和 C1-1-2)和立枯丝核菌 4 株代表菌株(CD1-1、CD3-1、CD-L4-2 和 CD-P2-1-1)的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,得到约 600 bp 的条带。以 *Athelia rolfsii* (登录号:AY684917)为外群菌株,构建的双核丝核菌系统发育树显示,代表菌株与

双核丝核菌 AG-A 融合群聚在一支,支持率为 99% (图 3a);以双核丝核菌 AG-A(登录号:DQ102421)为外群菌株,构建的多核丝核菌的系统发育树显示,代表菌株与立枯丝核菌 AG-4 融合群聚在一支,支持率为 91%(图 3b)。分子生物学鉴定结果进一步印证了菌丝融合群的鉴定结果:测序的 6 株双核丝核菌和 4 株立枯丝核菌分别属于 AG-A 融合群和 AG-4 融合群。

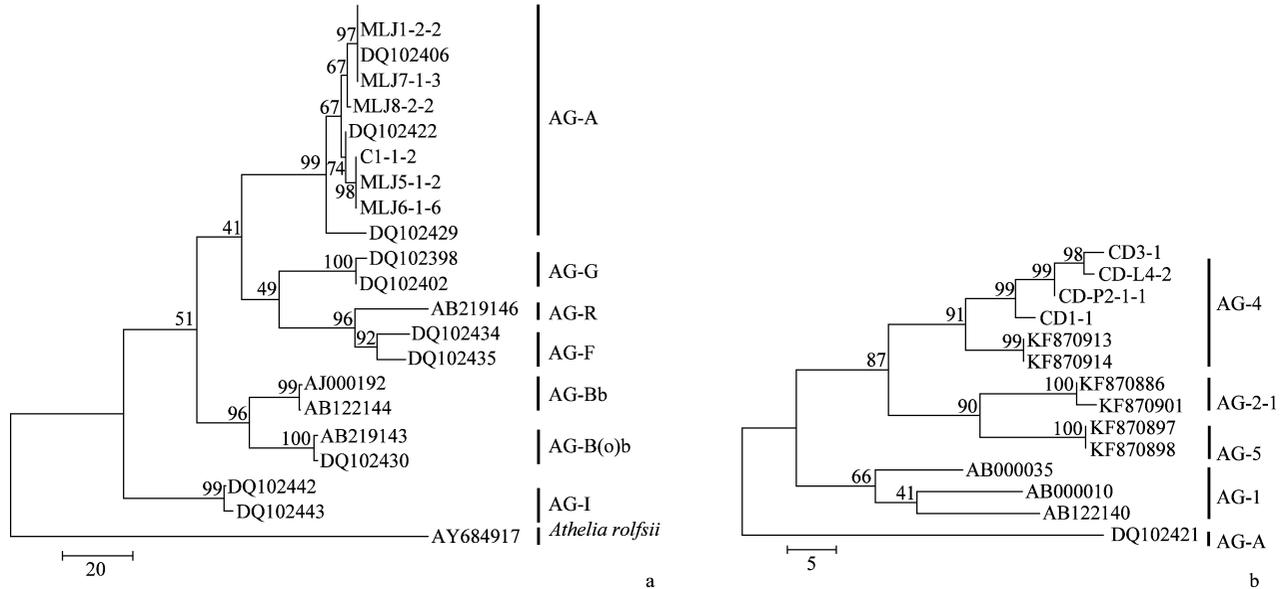


图 3 基于 rDNA-ITS 序列构建的双核丝核菌(a)和立枯丝核菌(b)MP 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree constructed based on rDNA-ITS sequences of binucleate *Rhizoctonia* and *R. solani*

2.5 两种丝核菌对杀菌剂的敏感性

通过测定 7 种杀菌剂对双核丝核菌和立枯丝核菌代表菌株菌丝生长的抑制作用,发现其中的 6 种杀

菌剂对两种丝核菌均具有很强的抑制作用,EC₅₀ 值在 0.063 9~2.485 7 μg/mL 之间。其中噻呋酰胺对立枯丝核菌的 EC₅₀ 值最低。抑霉唑对两种丝核菌的抑

菌作用较差,EC₅₀在 9.966 8~11.236 8 μg/mL 之间。同一种杀菌剂对不同丝核菌的抑制作用存在差异,噻呋酰胺、戊唑醇、氟硅唑、咯菌腈和抑霉唑对立枯丝核菌的抑制作用强于对双核丝核菌,即立枯丝核

菌比双核丝核菌对这 5 种杀菌剂更为敏感(表 2)。氟啶胺和吡唑醚菌酯对两种丝核菌的抑制作用比较一致,即两种丝核菌对这两种杀菌剂的敏感性比较一致。

表 2 7 种杀菌剂对双核丝核菌和立枯丝核菌的抑菌活性测定

Table 2 Determination of the inhibition of binucleate *Rhizoctonia* and *R. solani* by seven fungicides

杀菌剂 Fungicide	种类 Species	回归方程 Regression equation	EC ₅₀ 值/mg·L ⁻¹ EC ₅₀ value	相关系数(r) Correlation coefficient
氟啶胺 fluazinam	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=1.006 9x+5.658 2	0.222 0	0.981 5
吡唑醚菌酯 pyraclostrobin	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=1.054 9x+5.635 0	0.250 1	0.980 2
噻呋酰胺 thifluzamide	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=0.553 0x+5.341 5	0.241 3	0.986 5
戊唑醇 tebuconazole	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=0.474 0x+5.233 4	0.322 4	0.990 6
氟硅唑 flusilazole	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=0.746 4x+5.276 0	0.426 8	0.986 0
咯菌腈 fludioxonil	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=1.276 3x+6.124 8	0.063 9	0.976 7
抑霉唑 imazalil	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=0.662 7x+4.978 0	1.079 4	0.975 0
	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=1.239 2x+5.039 0	0.930 1	0.986 0
	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=1.208 6x+4.660 2	1.910 5	0.998 3
	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=1.200 2x+4.929 8	1.144 2	0.958 0
	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=0.691 1x+4.726 7	2.485 7	0.989 8
	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=1.722 9x+6.696 2	0.103 6	0.988 7
	双核丝核菌 <i>binucleate Rhizoctonia</i>	y=0.963 6x+3.987 6	11.236 8	0.988 9
	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	y=0.623 6x+4.377 3	9.966 8	0.963 2

3 讨论

由丝核菌引起的草莓根腐病是重要的草莓根部病害之一。在国外,已有不少国家和地区对引起草莓根腐病的丝核菌种类及其融合群进行了研究。在美国加州中部沿海地区从草莓上分离的 123 株菌中,除了 1 株为多核丝核菌外,其余均为双核丝核菌,包括 3 个融合群,即 AG-A、AG-G 和 AG-I^[23]。在南非的西开普省,59.3%的菌株为双核丝核菌 AG-A、AG-G 和 AG-I,40.7%的菌株为立枯丝核菌的 AG-6^[24]。西澳大利亚州草莓上分离到的 96 株丝核菌均为双核丝核菌,具有致病性的菌株属于融合群 AG-A、AG-K 和 AG-I^[25]。而我国对引起草莓根腐病的丝核菌研究极为有限。本研究发现北京和河北承德地区引起草莓根腐病的丝核菌分别为双核丝核菌融合群 AG-A 和立枯丝核菌融合群 AG-4。本研究仅对国内两个地区的草莓根腐病的丝核菌进行了鉴定,其他草莓产区是否存在丝核菌的其他种类以及融合群,还有待于进一步检测和研究。

通过测定 7 种杀菌剂对 2 种丝核菌抑菌作用,发现除抑霉唑外,其他 6 种杀菌剂对测试的丝核菌均具有很强的抑制作用,其中氟啶胺、吡唑醚菌酯和噻呋酰胺的抑制作用最强,EC₅₀值在 0.063 9 至 0.426 8 μg/mL。这些杀菌剂可作为生产上防治草莓丝核菌根腐病的

候选药剂。同时,也发现同一种杀菌剂对不同丝核菌的抑菌作用存在差异,有 5 种杀菌剂表现为对立枯丝核菌的抑制作用强于对双核丝核菌的抑制作用,换言之,立枯丝核菌比双核丝核菌对杀菌剂更为敏感。对于这种差异的原因尚不清楚,也有待进一步研究。

参考文献

- [1] 雷家军,张运涛,赵密珍. 中国草莓[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2011.
- [2] 中华人民共和国农业部. 中国农业统计资料 2015[M]. 北京:中国农业出版社,2015.
- [3] STANKOVIC I, RISTIC D, VUCUROVIC A, et al. First report of *Fusarium* wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in Serbia [J]. Plant Disease, 2014, 98(10): 1435.
- [4] 张国珍. 我国对草莓炭疽根腐病的重视程度亟待提高[J]. 植物保护, 2015, 41(2): 234-236.
- [5] EMBABY E M, RAGAB M E, DOUG K A A D, et al. First report of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* causing anthracnose diseases on strawberry in Egypt [J]. Plant Pathology, 2010, 59(4): 808.
- [6] 钟珊,张涛,杨俊,等. 草莓丝核根腐病的病原菌鉴定[J]. 植物病理学报, 2016, 46(3): 289-293.
- [7] MARTIN F N. *Rhizoctonia* spp. recovered from strawberry roots in central coastal California [J]. Phytopathology, 2008, 90(4): 345-353.

- DNA-A 全基因组序列分析[J]. 植物保护, 2014, 40(2): 76 - 80.
- [21] 阮涛, 杨会房, 杨水英, 等. 分离自陕西泾阳番茄的番茄黄化曲叶病毒(TYLCD)的分子特征[J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(1): 97 - 105.
- [22] 金凤媚, 薛俊, 郝艳红, 等. 天津地区番茄黄化曲叶病毒 DNA-A 的克隆和序列分析[J]. 华北农学报, 2011, 26(1): 58 - 62.
- [23] 于云奇, 阮涛, 杨水英, 等. 河南省番茄黄化曲叶病原分子鉴定及全基因组序列分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(1): 13 - 17.
- [24] 袁伟, 万红建, 王荣青, 等. 浙江省番茄黄化曲叶病毒的分子鉴定及序列分析[J]. 分子植物育种, 2013, 11(2): 185 - 192.
- [25] 季英华, 熊如意, 程兆榜, 等. 江苏省番茄黄化曲叶病的病原分子诊断[J]. 园艺学报, 2008, 35(12): 1815 - 1818.
- [26] 王喜刚, 黄家凤, 都业娟. 南疆温室番茄黄化曲叶病病毒种类的分子鉴定[J]. 植物保护学报, 2013, 40(3): 237 - 242.
- [27] 褚栋, 侯丽霞, 刘国霞, 等. 山东省局部地区番茄黄化曲叶病毒的分子鉴定[J]. 山东农业科学, 2010(2): 13 - 15.
- [28] 余文贵, 赵统敏, 杨玛丽, 等. 山东、安徽两省栽培番茄烟粉虱传双生病毒的 PCR 检测及序列分析[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(4): 747 - 751.
- [29] 张洁, 林文武, 宛柏杰, 等. 福州番茄黄化曲叶病毒的全基因组结构特征[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2016, 45(5): 501 - 504.
- [30] 班一云, 丁波, 周雪平. 湖南省番茄和牵牛花上双生病毒的分子鉴定[J]. 植物保护, 2017, 43(4): 134 - 138.
- [31] 刘微, 史晓斌, 唐鑫, 等. 云南番茄褪绿病毒和番茄黄化曲叶病毒复合侵染的分子鉴定[J]. 园艺学报, 2018, 45(3): 552 - 560.
- [32] 郝浩永, 滕红梅, 关正君, 等. 山西运城番茄黄化曲叶病毒的初步鉴定[J]. 分子植物育种, 2018, 16(5): 1558 - 1565.
- [33] 杨彩霞, 张帅宗, 孙蓬蓬, 等. 番茄黄化曲叶病毒辽宁葫芦岛分离物的检测和序列分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2016, 45(4): 376 - 380.
- [34] 沙龙, 高艳明, 李建设. 宁夏番茄黄化曲叶病毒病分子鉴定及防控措施[J]. 北方园艺, 2013(12): 119 - 121.
- [35] 胡志峰, 邵景成. 甘肃省设施番茄黄化曲叶病毒病的发生与防治[J]. 甘肃农业科技, 2014(1): 54 - 56.
- [36] WYATT S D, BROWN J K. Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction [J]. Phytopathology, 1996, 86(12): 1288 - 1293.
- [37] 何自福, 虞皓, 罗方芳. 番茄烟粉虱传双生病毒 PCR 检测[J]. 中国病毒学, 2004, 19(1): 67 - 69.
- [38] HANLEY-BOWDOIN L, SETTLAGE S B, OROZCO B M, et al. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999, 18(1): 71 - 106.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 136 页)

- [8] ADHIKARI T B, HODGES C S, LOUWS F J. First report of *Cylindrocarpon* sp. associated with root rot disease of strawberry in North Carolina [J]. Plant Disease, 2013, 97(9): 1251.
- [9] 朱杰华, 樊慕贞, 蔺成武. 草莓根腐病原初步研究[J]. 河北农业大学学报, 1994, 17(2): 45 - 48.
- [10] CHAMORRO M, AGUADO A, SANTOS B D L. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain [J]. Plant Disease, 2016, 100(7): 1495.
- [11] SHARON M, FREEMAN S, KUNINAGA S, et al. Genetic diversity, anastomosis groups and virulence of *Rhizoctonia* spp. from strawberry [J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 117(3): 247 - 265.
- [12] MANICI L M, BONORA P. Molecular genetic variability of Italian Binucleate *Rhizoctonia* spp. isolates from strawberry [J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 118(1): 31 - 42.
- [13] 胡彦江, 张茹琴. 烟台地区草莓根腐病原鉴定及致病性测定[J]. 北方园艺, 2012, 10: 141 - 144.
- [14] 王中武, 臧慧明. 草莓根腐病原鉴定及生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2011(8): 63 - 64.
- [15] ZHONG S, ZHANG G Z. First Report of root rot on strawberry caused by binucleate *Rhizoctonia* AG-A in China [J]. Plant Disease, 2016, 100(1): 225.
- [16] 邓之亮, 杨新东, 蒋莉莉. 8 种杀菌剂对棉花立枯丝核菌的室内毒力测[J]. 世界农药, 2015, 37(3): 58 - 61.
- [17] 曾向萍, 王三勇, 王会芳, 等. 红麻立枯丝核病菌生物学特性[J]. 中国植保导刊, 2013, 33(5): 12 - 15.
- [18] 王中武, 邹致强, 胡延生. 草莓根腐病的药剂筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(17): 8046.
- [19] 方中达. 植病研究方法[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [20] XU J R, HAMER J E. MAP kinase and cAMP signaling regulate infection structure formation and pathogenic growth in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. Genes and Development, 1996, 10: 2696 - 2706.
- [21] 陈延熙, 张敦华, 段霞瑜, 等. 关于 *Rhizoctonia solani* 菌丝融合分类和有性世代的研究[J]. 植物病理学报, 1985(3): 139 - 143.
- [22] 张敦华, 陈延熙. 双核丝核菌的菌丝融合分类[J]. 植物病理学报, 1986(3): 13 - 18.
- [23] MARTIN F N. *Rhizoctonia* spp. recovered from strawberry roots in central coastal California [J]. Phytopathology, 2000, 90: 345 - 353.
- [24] BOTHA A, DENMAN S, LAMPRECHT S C, et al. Characterisation and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates associated with black root rot of strawberries in the Western Cape Province, South Africa [J]. Australasian Plant Pathology, 2003, 32: 195 - 201.
- [25] FANG X L, FINNEGAN P M, BARBETTI M J. Wide variation in virulence and genetic diversity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with root rot of strawberry in Western Australia [J/OL]. PLoS ONE, 2013, 8, 2: e55877.

(责任编辑: 田 喆)