

文山三七根腐病病原真菌的鉴定与药剂防治

汪 静, 梁宗锁*, 康 冰, 罗美佳

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:从云南文山三七药材基地感染根腐病的三七组织获得分离物, 并对其进行培养和纯化, 并运用科赫法则(Koch's Postulate)进行病原菌回接感染, 得3株致病明显的菌株, 后对此菌株进行生物学和18S-rDNA全序列分析鉴定及室内药效防治。结果表明, 此3株菌分别是尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*), 茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)和链格孢菌(*Alternaria alternata*)。甲基硫菌灵、根康、多菌灵对茄病镰刀菌、尖镰孢菌的抑菌效果最好, 腐霉利、甲基硫菌灵对链格孢菌的抑菌效果最好。该研究可为尖孢镰刀菌、茄病镰刀菌和链格孢菌引起的三七根腐病的防治提供参考。

关键词:三七; 根腐病; 鉴定; 尖孢镰刀菌; 茄病镰刀菌; 链格孢菌; 防治药剂

中图分类号:S432.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2015)01-0158-06

Identification of Root Rot Pathogen of *Panax notoginseng* from Wenshan

WANG Jing, LIANG Zong-suo*, KANG Bing, LUO Mei-jia

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: To isolate and identify root rot pathogens of *Panax notoginseng* to lay the foundation for the prevention of the root rot disease. *P. notoginseng* root rot tissues and soils around roots were collected in Wenshan, Yunnan. Microorganisms were examined based on Koch's Postulate and 18S-rDNA sequence analysis. The results showed that *in vitro* pathogenicity tests demonstrated that *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Alternaria alternata* could result in the disease at different levels. The results of the PDA plate bacteriostatic experiment indoor showed that thiophanate-methyl, Genkang, and carbendazim had the best control effects on *F. oxysporum*, *F. solani*. While thiophanate-methyl, procymidone had the best control effect on *A. alternata*. *F. oxysporum*, *F. solani* and *A. alternata* were considered as three of the most important fungi causing *P. notoginseng* root-rot diseases.

Key words: *Panax notoginseng*; root rot; identification; *Fusarium oxysporum*; *Fusarium solani*; *Alternaria alternata*; prevention

三七(*Panax notoginseng*), 又称田七, 与人参同属五加科人参属多年生草本植物, 生长于温暖阴湿的环境^[1]。近年来, 三七的规范化种植和生产已逐步成为云南文山发展地方经济的主导产业。由于其生长环境独特和生长期长(一般3 a以上), 病害问题严重, 其中, 尤以土传病害根腐病最为突出, 严重的制约了三七种植产业的发展, 根腐病常年发病

率一般在5%~20%, 严重地区损失在70%以上^[2]。目前, 对该病的预防主要以化学药剂喷灌和合理轮作(年限8 a以上), 一旦发现根腐病植株, 为避免传染, 只能立即拔出。对三七根腐病的研究开始较早, 精力、物力投入较大。浙江省卫生局在1952年曾报道此病由草镰孢(*Fusarium scirpi*)引起^[3], 阮兴业^[4-5]、曹福祥^[6]等先后报道该病由腐皮镰孢(*Fu-*

sarium solani)、腐皮镰孢的专化性 (*Fusarium solanif.* sp. *radicicola*)、黑斑链格孢 (*Alternaria panax*)、茎线虫 (*Ditylenchus* sp.) 引起^[7]。罗文富^[8]等报道引发三七根腐病的有细链格孢 (*Alternaria tenuis*、*Pseudomonas* sp.) 和小杆线虫 (*Rhabditis elegans*)、腐皮镰孢 (*Fusarium solani*)，其中尤以假单胞杆菌致病性最强。缪作清等报道毁灭柱孢 (*Cylindrocarpon destructans*)、黄腐病菌 (*C. didymum*)、茄孢镰孢菌 (*Fusarium solani*)、尖镰孢菌 (*F. oxysporum*)、恶疫霉 (*Phytophthora cactorum*)、草茎点霉 (*Phoma herbarum*)、立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 等均能引起根腐病。由茄孢镰孢菌、镰孢菌 (*Fusarium*) 引起的根腐病，初期根部部分须根和侧根变为褐色并腐烂，并逐渐蔓延至主根，在主根发病后，根部的皮层开始腐烂、变为褐色并脱落，木质部维管束也变为褐色，严重时甚至全根腐烂。

目前，对三七根腐病的研究仍存在较多疑问，对指导实际生产中的预防和治疗带来较多困难，为进一步认识真正的病因及防治，2011 年以来展开了深入的研究。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离材料

三七病根及三七植株周围的土壤采自云南省文山市附近的 3 个三七种植基地，分别为 1、2、3 年生根腐病植株(表现为叶片黄化，下垂，根部腐烂)及三七植株周围的土壤。

1.2 病原物分离和鉴定

分离培养基：孟加拉红培养基^[10]；生长及鉴定培养基：PDA 培养基。取三七病根病健交接处组织，切成 3 mm 见方的小块，先于 5% NaClO₃ 消毒 3 min，后放于 70% 乙醇消毒 30 s，以无菌水冲洗 3 次后接种在孟加拉红培养基平板上，28℃ 暗培养，待菌物长出后纯化。

取根腐病三七植株周围的土壤 10 g 溶于 90 mL 无菌水中，震荡摇匀，用无菌纱布过滤。取 1 mL，依次稀释成 10⁻² ~ 10⁻⁶ g · mL⁻¹ 的浓度。接种于孟加拉红培养基平板上，浓度范围是 10⁻³ ~ 10⁻⁶ g · mL⁻¹，待菌物长出后纯化。

1.3 致病性的测定

将分离得到的供试真菌接入 PDA 培养基，18℃ 暗培养 8 d，在云南文山三七科技园选取生长健壮的 2 年生三七苗。刮取培养基平板上的菌丝，用 10 mL 清水稀释后浇灌在三七根部(约 1 g 培养物)。每处理接种 3 盆，每盆 3 株，以只浇灌清水为

对照。接种 3 d 后，每隔 12 h 观察 1 次，记录发病情况。并对具有典型根腐病的植株进行病原菌的再分离。

1.4 病原菌的形态学鉴定和 18s rDNA 全序列分析

将再分离得到的有致病性的菌株进行培养，并观察病原菌在 PDA 培养基上生长的菌落形态特征及在 PDA 培养基上进行插片和搭片，观察菌丝形态。参照 Booth、Stamps 和 Hawks 等介绍的方法^[11-13]及土壤微生物分析方法手册^[14]进行初步的鉴定。

收取在 PDA 培养基上培养 3 d 的菌丝 20 mg，用改良的 CTAB 法^[15-17]提取病原真菌的 18srDNA，18srDNA 的扩增采用 18srDNA 通用引物 NS1 (5'-GTATCATATGCTTGTCTC-3') 和 NS6 (5'-GC-ATCACAGACCTGTTATTGCCTC-3') 由上海生工生物工程股份有限公司提供，以 SM0337 为 DNA Marker，用 1% 琼脂糖电泳 20 min (150 v)，检测 DNA 的完整性。测序的结果经 BLAS (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 与 NCBI 数据库中的已知序列进行同源比较，进行分子生物学鉴定。

1.5 室内药剂的抑菌效果的测定

药剂的种类及浓度：陕西上格之路生物科学有限公司制造的 70% 甲基硫菌灵 (Thiophanate-Methyl) 可湿性粉剂，80% 代森锰锌 (Mancozeb) 可湿性粉剂，65% 代森锌 (Zineb) 可湿性粉剂，50% 腐霉利 (procymidone) 可湿性粉剂，4% 春雷霉素 (ka-sugamycin) 可湿性粉剂 30% 苯醚甲环唑 (difenoconazole) 可湿性粉剂，10% 多抗霉素 B (Polyoxin B) 可湿性粉剂，64% 甲霜·锰锌 (Metalaxyl mancozeb) 可湿性粉剂；旭日化工(山东)有限公司生产的 60% 哟霉灵 (hymexazol) 可湿性粉剂，25% 多菌灵 (Carbendazim) 可湿性粉剂，四川兰月科技有限公司生产的根康 (Anti-rot & cancer) 水剂，陕西恒田化工有限公司生产的霜霉威 (Propamo) 水剂，成都新朝阳作物科学有限公司的根腐灵 (fenaminosulf) 可湿性粉剂。

菌落生长抑制法：待在锥形瓶中定量灭菌后的 PDA 培养基温度降至 45℃，加入以上称好的各浓度的药剂，搅拌均匀后倒入培养皿内，每种药剂 5 个重复，对照 5 个不加药。将在 PDA 上活化好的已鉴定的三株致病菌用打孔器打取直径为 6 mm 的菌苔，倒置在混合好药剂的 PDA 平板中央，置于 28℃ 培养箱内培养，培养 4 d 后测量病菌菌落直径，并计算抑菌率(%)^[18]。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{病菌菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\% \quad (1)$$

2 结果与分析

2.1 分离和形态学初步鉴定结果

从三七病根及其周围土壤分离得真菌 18 株, 其中病根及根际土共有菌株 6 株, 病根特有菌株 4 株, 根际土特有菌株 8 株^[19-21]。

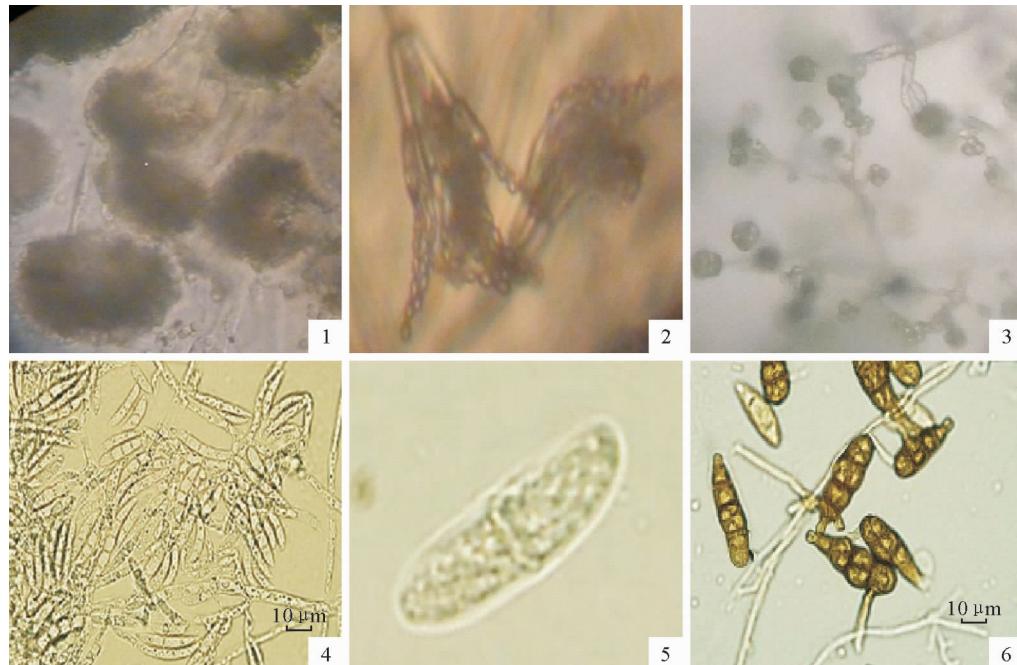
2.1.1 曲霉属(*Aspergillus*) 在 PDA 培养基上菌落生长速度极快, 可达 $2.1 \text{ cm} \cdot \text{d}^{-1}$, 簇状, 初期白色, 逐渐转为绿色, 约 5 d 左右转为深绿色。分生孢子头呈下粗上细的瓶状, 小梗单层, 包满顶囊, 顶端有串状的分生孢子(图 1-1)。

2.1.2 青霉属(*Penicillium*) 菌落为灰绿色, 分生孢子梗多次分枝, 形成不对称的小梗, 如扫帚状(图 1-2)。

2.1.3 木霉菌属(*Trichoderma* spp.) 菌落开始白色, 致密, 圆形, 从菌落的中央产生绿色的孢子, 菌落的边缘白色, 向四周扩展。分生孢子梗垂直对称分支, 分生孢子簇生, 圆形(图 1-3)。

2.1.4 镰刀菌属(*Fusarium*) 镰刀菌一菌落初期为白色, 后逐渐变为粉红色, 小型分生孢子为披针形, 串生, 大型分生孢子为镰刀形。镰刀菌二菌落一直为白色, 小型分生孢子卵圆形, 单生, 大型分生孢子桔瓣形, 有明显分隔(图 1-4,5)。

2.1.5 链格孢菌属(*Alternaria*) 菌落呈黑色的棉绒状, 菌丝由灰色至黑色, 生长迅速, 分生孢子串生, 倒棒状, 褐色, 具有横隔膜 1~7 个, 横隔膜处缢缩(图 1-6)。



1. 曲霉; 2. 青霉; 3. 木霉; 4. 镰刀菌一; 5. 镰刀菌二; 6. 链格孢菌

图 1 病原菌的显微形态

Fig. 1 The micromorphology of disease

2.2 致病性测定

接种结果表明, 链格孢菌属、镰刀菌属的 2 株镰刀菌致病力较强, 患病植株表现出严重的地下根腐烂、地上部分萎蔫症状, 对患病根部再分离, 也可分离得到如以上形态的链格孢菌属、镰刀菌属菌株。曲霉、木霉致病力微弱, 青霉几乎不致病。由此可知, 链格孢菌属、镰刀菌属菌株均有可能为三七根腐病的病原菌。

2.3 18s rDNA 全序列分析^[22]

2.3.1 18s rDNA 片段的提取及扩增 以 2 株镰刀菌、1 株链格孢菌菌丝为材料, 提取其 18s rDNA 片段, 后以此 18s rDNA 为模板进行 PCR 扩增, 电

泳检测结果如图 2。琼脂糖凝胶电泳显示 2 株镰刀菌及链格孢菌的片段大小都为 1 000 bp 左右。

表 1 三七根腐病病原菌的致病性测定

Table 1 The result of pathogenicity testing on *Panax notoginseng*

菌株	发病率/%	菌株	发病率/%
木霉菌 <i>Trichoderma</i> spp.	11.11	青霉 <i>Penicillium</i>	2.10
曲霉 <i>Aspergillus</i>	8.06	镰刀菌(一) <i>Fusarium</i>	62.05
镰刀菌(二) <i>Fusarium</i>	48.40	链格孢菌 <i>Alternaria</i>	32.74

2.3.2 序列分析 将所得 PCR 产物送上海生工测序, 对比结果如表 2, 表 3, 表 4。

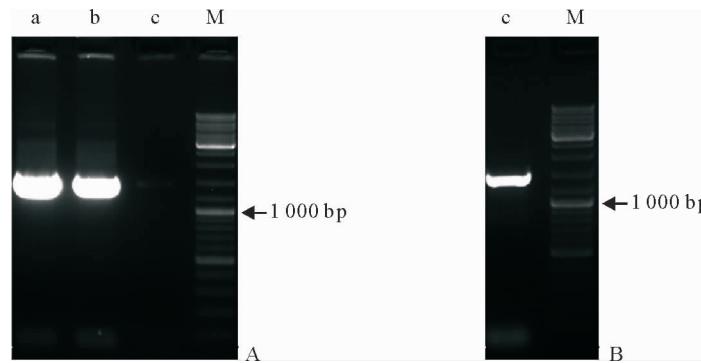


图 2 1号、2号、4号菌的 PCR 扩增产物

Fig. 2 Agarose gelectrophoresis of *F. oxysporum*、*F. solani* and *A. alternata* genomic 18s rDNA region amplified by primers NS1 and NS6(a; *F. oxysporum* b; *F. solani* c; *Alternaria*)

表 2 ISO32 号菌株 BLAST 对比结果

Table 2 ISO32 sequence alignment results in BLAST

核酸系列描述 (Description)	最大同源性/% (Max ident)	中文录号 (Accession No)
<i>Fusarium oxysporum</i> strain OUCMDZ-639 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JN604548.1
<i>Fusarium oxysporum</i> gene for 18S rRNA	99	AB110910.1
<i>Fusarium oxysporum</i> strain 8-11P 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	KC143070.1
<i>Fusarium oxysporum</i> strain OUCMDZ-630 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JN604549.1
<i>Fusarium oxysporum</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	DQ916150.1
<i>Fusarium oxysporum</i> gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	99	AB521041.1
<i>Fusarium oxysporum</i> isolate K9 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JF807401.1
<i>Fusarium oxysporum</i> clone P10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	HQ174215.1

表 3 ISO33 号菌株 BLAST 对比结果

Table 3 ISO33 sequence alignment results in BLAST

Description	Max ident/%	Accession
<i>Fusarium</i> sp. MAS2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	FJ613598.1
<i>Fusarium</i> sp. 16010 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710825.1
<i>Fusarium</i> sp. 14005 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710819.1
<i>Fusarium solani</i> strain 421502 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EF397944.1
<i>Fusarium</i> sp. MBS1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	FJ613599.1
<i>Fusarium</i> sp. 16004 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710824.1
<i>Fusarium</i> sp. 19001 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710827.1
<i>Fusarium</i> sp. 08023 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710816.1
<i>Fusarium oxysporum</i> isolate K14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JF807402.1
<i>Fusarium</i> sp. 14012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU710820.1

表 4 ISO34 号菌株 BLAST 对比结果

Table 4 ISO34 sequence alignment results in BLAST

Description	Max ident/%	Accession
<i>Alternaria alternata</i> strain S-f6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	HM165489.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480675 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	FJ515318.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 1400024 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	FJ375308.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480375 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU826479.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480209 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU826477.1
<i>Aspergillus</i> sp. CPCC 480334 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU826476.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU827605.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480546 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU827604.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480201 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU381146.1
<i>Alternaria</i> sp. CPCC 480193 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	EU381145.1

表 5 ISO32 的室内药剂的抑菌效果

Table 5 ISO32 The bacteriostatic effect of germicides indoor

农药品种	稀释倍数	96 h 菌落 扩展直径/mm	抑菌率 /%
70%甲基硫菌灵	250	0.00	100.00
80%代森锰锌	700	1.93	50.25
65%代森锌	600	2.45	36.86
50%腐霉利	500	1.45	62.63
4%春雷霉素	600	3.00	22.68
30%苯醚甲环唑	3 000	1.10	71.65
10%多抗霉素 B	1 000	0.92	76.29
64%甲霜·锰锌	700	1.97	49.23
60%噁霉灵	1 000	3.63	6.44
25%多菌灵	250	0.00	100.00
根康	600	0.00	100.00
霜霉威	700	1.93	50.25
根腐灵	1 500	3.27	15.72
对照组	—	4.48	0.00

表 6 ISO33 的室内药剂的抑菌效果

Table 6 ISO33 The bacteriostatic effect of germicides indoor

农药品种	稀释倍数	96 h 菌落 扩展直径/mm	抑菌率 /%
70%甲基硫菌灵	250	0.00	100.00
80%代森锰锌	700	0.43	91.70
65%代森锌	600	2.45	52.70
50%腐霉利	500	1.98	61.78
4%春雷霉素	600	1.67	67.76
30%苯醚甲环唑	3 000	0.47	90.93
10%多抗霉素 B	1 000	0.48	90.73
64%甲霜·锰锌	700	1.63	68.53
60%噁霉灵	1 000	3.97	23.36
25%多菌灵	250	0.00	100.00
根康	600	0.00	100.00
霜霉威	700	1.80	65.25
根腐灵	1 500	3.03	41.51
对照组	—	5.18	0.00

表 7 ISO34 的室内药剂的抑菌效果

Table 7 ISO34 The bacteriostatic effect of germicides indoor

农药品种	稀释倍数	96 h 菌落 扩展直径/mm	抑菌率 /%
70%甲基硫菌灵	250	0.00	100.00
80%代森锰锌	700	0.42	90.77
65%代森锌	600	1.20	76.63
50%腐霉利	500	0.00	100.00
4%春雷霉素	600	0.78	82.86
30%苯醚甲环唑	3 000	0.53	88.35
10%多抗霉素 B	1 000	0.62	86.37
64%甲霜·锰锌	700	0.54	88.13
60%噁霉灵	1 000	3.95	13.19
25%多菌灵	250	1.82	60.00
根康	600	3.16	43.99
霜霉威	700	1.80	60.44
根腐灵	1 500	0.93	79.56
对照组	—	4.55	0.00

2.3.3 室内药剂的抑菌效果的测定 13 种杀菌药剂在室内试验中,250 倍的 70% 甲基硫菌灵对 3 种

菌株的抑菌率都达到 100%,250 倍的 25% 多菌灵、600 倍的根康对 ISO32 菌株、ISO33 菌株的抑菌效果最好,96 h 菌落无扩展。250 倍的 70% 甲基硫菌灵、500 倍的 50% 腐霉利对 ISO34 菌株的抑菌效果最好,抑菌率接近 100%。

3 结论与讨论

从云南文山三七种植基地采集的新鲜病根及根际土,分离得到几株病原菌:茄孢镰孢菌(腐皮镰孢菌)、尖镰孢菌、链格孢菌(*Alternaria tenuis*)及青霉菌属、曲霉菌属、木霉菌属的一些腐生菌。依照科赫法则对病原菌依次进行分离、回接、再分离获得了病原菌。经过形态学与生物学鉴定^[23-25],最终确定茄孢镰孢菌、尖镰孢菌、链格孢菌为主要致病菌,其中茄孢镰孢菌的致病力最强,尖镰孢菌、链格孢菌次之。14 种杀菌药剂在室内试验中,对茄孢镰孢菌、尖镰孢菌的抑菌效果最好的是 70% 甲基硫菌灵、根康、25% 多菌灵,对链格孢菌的抑菌效果最好的是 70% 甲基硫菌灵、50% 腐霉利,72 h 内抑菌率均可达到 100%,在实际生产中,为了避免病害菌对农药的适应性,可将甲基硫菌灵、多菌灵、根康、腐霉利在三七田间种植过程中轮换使用,以有效防治根腐病的发生^[26]。

参考文献:

- [1] 王淑琴,于洪军,官延荆.中国三七[M].昆明:云南民族出版社,1993:1-8.
- [2] 董弗兆,刘祖武,乐丽涛.云南三七[M].昆明:云南科技出版社,1988:103-114.
- [3] 王勇,刘云芝,陈昱君.三七疫霉病发生相关因子调查[J].中药材,2007,30(2):134-136.
- [4] WANG Y, LIU Y Z, CHEN Y J. Investigation for the factor relate phytophthora of *Notoginseng* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2007,30(2):134-136. (in Chinese)
- [5] 阮兴业,罗文富.云南省镰刀菌属(*Fusarium*)种类鉴定[J].云南农业大学学报,1986,01(2):1-20.
- [6] RUAN X Y, LUO W F. Identification of *Fusarium* from Yunnan[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 1986, 01(2):1-20. (in Chinese)
- [7] 曹福祥,戚佩坤.田七根腐病的病原菌鉴定[J].植物病理学报,1991,21(2):89-93.
- [8] CAO F X, QI P K. Identification of root rot pathogens on *Panax notoginseng* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1991, 21(2):89-93. (in Chinese)
- [9] 王拱辰,陈鸿逵,骆西平.三七根腐病病原分离、接种和药剂试验[J].植物病理学报,1991,21(2):144.
- [10] WANG G C, CHEN H K, LUO P X. Isolation, inoculation and test on the pathogens causing root rot of *Panax pseudeoginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkhill) Hoo & Tseng[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1991, 21(2):144. (in Chinese)

- [7] 崔秀明, 黄璐琦, 郭兰萍, 等. 中国三七产业现状及发展对策[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 553-557.
- CUI X M, HUANG L Q, GUO L P, et al. Chinese Sanqi industry status and development countermeasures [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(4): 553-557. (in Chinese)
- [8] 罗文富, 喻盛甫, 贺承福, 等. 三七根腐病病原及复合侵染的研究[J]. 植物病理学报, 1997, 27(1): 85-91.
- LUO W F, YU S F, HE C F, et al. On the combined infection of root rot pathogens on *Panax notoginseng* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1997, 27(1): 85-91. (in Chinese)
- [9] 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.
- LIAO Z Q, LI S D, LIU X Z, et al. The causal microorganisms of *Panax notoginseng* root rot disease[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(7): 1371-1378. (in Chinese)
- [10] 寻路路, 赵宏光, 梁宗锁, 等. 三七根腐病病株和健株根域土壤微生态研究[J]. 西北农业学报, 2013, 22(11): 146-151.
- XUN L L, ZHAO H G, LIANG Z S, et al. Study of microecology in root rot and healthy *Panax notoginseng* soil[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2013, 22(11): 146-151. (in Chinese)
- [11] STAMPS D J. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*[J]. Mycological Paper, 1990, 162: 1-28.
- [12] BOOTH C. The genus *Cylindrocarpon*[J]. Mycological Paper, 1966, 104: 1-56.
- [13] HAWKSWORTH D L, KIRK P M, SUTTON B C, et al. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi[M]. 8th ed, Cambridge UK: CAB International, University Press, 1995.
- [14] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [15] 张晶晶. 酸浆根腐病病原菌分离鉴定及室内药剂筛选[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.
- [16] 何毅婷, 杨汝德, 张广, 等. 以 18S rDNA 序列鉴定一株产纤维素酶真菌[J]. 现代食品科技, 2008, 7(24): 638-640.
- HE Y T, YANG R D, ZHANG G, et al. Identification of a cellulose-producing Fungi based on 18s rDNA Sequence[J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 7(24): 638-640.
- [17] 李冬霄, 常景玲, 张志宏, 等. 两株产人参皂苷糖苷酶酵母菌株的 18S rDNA 和 ITS 序列分析[J]. 河南师范大学学报, 2010, 6(38): 128-131.
- LI D X, CHANG J L, ZHANG Z H, et al. Structure and sequence analysis of 18s rDNA and ITS gene of two yeast strains producing ginsenoside glycosidases [J]. Journal of Henan Normal University: Natural Science Edition, 2010, 06 (38): 128-131. (in Chinese)
- [18] 谷会, 朱世江, 詹儒林, 等. 辣椒采后灰霉病拮抗细菌的分离及生防效果[J]. 热带作物学报, 2011, 32(11): 2118-2122.
- GU H, ZHU S J, ZHAN R L, et al. Isolation and Bio-control efficacy of antagonistic bacteria against gray mold rot of pepper after harvest [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2011, 32(11): 2118-2122. (in Chinese)
- [19] 唐美琼, 李刚, 闵丹丹, 等. 2014. 三七 RNase-like 基因的克隆及表达分析[J]. 园艺学报, 41(3): 521-528.
- TANG M Q, LI G, MIN D D, et al. Isolation and expression analysis of rnase-like gene from *Panax notoginseng* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(3): 521-528. (in Chinese)
- [20] 陈国刚, 毛晓英, 陈昱, 等. 哈密瓜致病青霉的鉴定[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(3): 102-103.
- CHEN G G, MIAO X Y, CHEN Y, et al. Identification of pathogenic penicillium in cantaloupe[J]. Anhui Agricultural Sciencse Bulietin, 2006, 12(3): 102-103. (in Chinese)
- [21] 陈昌盛, 黄峰, 程兰, 等. 红橘褐斑病病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 4(5): 449-455.
- CHEN C S, HUANG F, CHEN L, et al. Identification of the pathogenic fungus causing brown spot on tangerine[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 4(5): 449-455. (in Chinese)
- [22] 林晓民, 李振岐, 王少先. 真菌 rDNA 的特点及在外生菌跟菌鉴定中的应用[J]. 西北农业学报, 2005, 14 (2): 120-125.
- LIN X M, LI Z Q, WANG S X. The Chanacteristics of rDNA in faungi and its using for identification of ectomycorrhizal fungi[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2005, 14(2): 120-125. (in Chinese)
- [23] 李永强, 杨佳妮, 陈文荣, 等. 佛手采后致病青霉的分离鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(5): 534-537.
- LI Y Q, YANG J N, CHEN W R, et al. Identification of *Penicillium* species causing of finger [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 41(5): 534-537. (in Chinese)
- [24] 贾春生, 甘俊, 刘发光, 等. 广东省斑蝉柱孢野村菌的分离鉴定与培养[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(5): 128-131.
- JIA C S, GAN J, LIU F G, et al. Isolation, identification and cultivation of the *Nomuraea cylindrospora* on *Gaeana maculate* in Guangdong[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(5): 128-131. (in Chinese)
- [25] 谢宁, 曹支敏, 梁超琼, 等. 花椒疫霉病菌种的鉴定[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(2): 125-130.
- XIE N, CAO Z M, LIANG C Q, et al. Identification of *Phytophthora* species parasiting on pricklyash [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2013, 28(2): 125-130. (in Chinese)
- [26] 贾艳梅, 张继平, 刘世岐. 樟子松营养袋苗猝倒病的防治技术研究 [J]. 西北林学院学报, 2012, 27(5): 124-128.
- JIA Y M, ZHANG J P, LIU S Q. Control of damping-off disease of *Pinus sylvestris* var. *mogolica* seedlings in nutritious container[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2012, 27(5): 124-128. (in Chinese)