

由臭镰孢 *Fusarium foetens* 侵染引起的油桐根腐病

王嘉^{1,2}, 杨安仁³, 刘北平¹, 高暝¹, 赵耘霄¹, 陈益存^{1*}, 汪阳东^{1*}

1 中国林业科学研究院亚热带林业研究所 全省林木育种重点实验室, 浙江 杭州 311400

2 南京林业大学, 江苏 南京 210037

3 贵州鸿发生态农业科技有限责任公司, 贵州 黔南 558200

摘要: 在贵州独山发现一种油桐根腐病, 以生长旺盛期5月至7月发生最严重, 发病部位在油桐根部, 罹病植株叶片萎蔫、失水褪绿, 最后干枯死亡。采用微生物群落真菌 ITS 高通量测序对健康油桐和发病油桐根际土壤的真菌群落组成进行了分析, 它们的主要优势菌门和菌属组成相近, 但相对丰度却大不相同, 并且能广泛引起植物病害的镰孢属 *Fusarium* 只在发病油桐根际土壤菌群中出现, 相对丰度占比为 2.44%; 采用组织分离法对引起油桐根腐病的病原菌进行分离纯化, 从发病油桐根茎的病健交界处获得 10 株分离菌株, 其中菌株 AX-2 回接到油桐幼苗后, 呈典型的根腐病发病症状, 进一步从发病植株的根茎部重新分离获得病原菌, 与田间采集分离的病原菌形态特征一致, 通过分子鉴定确定了该菌株与 AX-2 是同一种菌株。经形态学观察和多基因联合建树分析 (ITS+*tefl-a+rpb2+CaM+tub2*), 菌株 AX-2 被鉴定为臭镰孢 *Fusarium foetens*。这是该菌所致油桐根腐病的首次发现, 为油桐根腐病的侵染特性及防控技术研究提供了理论依据。

关键词: 油桐; 根腐病; 臭镰孢; 形态特征; 分子鉴定

[引用本文]

王嘉, 杨安仁, 刘北平, 高暝, 赵耘霄, 陈益存, 汪阳东, 2026. 由臭镰孢 *Fusarium foetens* 侵染引起的油桐根腐病. 菌物学报, 45(2): 250162

Wang J, Yang AR, Liu BP, Gao M, Zhao YX, Chen YC, Wang YD, 2026. *Fusarium foetens*, the pathogen of *Fusarium* root rot of *Vernicia fordii*. Mycosystema, 45(2): 250162

资助项目: 国家自然科学基金(32572095); 浙江省万人计划科技创新领军人才项目(2022R52028)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32572095) and the Ten Thousand People Plan of Science and Technology Innovation Leading Talent of Zhejiang, China (2022R52028).

*Corresponding authors. E-mails: WANG Yangdong, wangyangdong@caf.ac.cn; CHEN Yicun, chenyc@caf.ac.cn

ORCID: WANG Yangdong (0000-0003-0160-5813), CHEN Yicun (0000-0001-6625-8002)

Received: 2025-06-03; Accepted: 2025-10-07

Fusarium foetens, the pathogen of *Fusarium* root rot of *Vernicia fordii*

WANG Jia^{1,2}, YANG Anren³, LIU Beiping¹, GAO Ming¹, ZHAO Yunxiao¹,
CHEN Yicun^{1*}, WANG Yangdong^{1*}

1 Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Zhejiang Key Laboratory of Forest Genetics and Breeding, Hangzhou 311400, Zhejiang, China

2 Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China

3 Hongfa Ecological Agriculture Co. Ltd., Qiannan 558200, Guizhou, China

Abstract: A new disease was found on *Vernicia fordii* with symptom of root rot in Dushan, Guizhou Province. The disease occurred most seriously at growth stage (May to July), primarily affecting the roots. The diseased plants initially showed wilting and leaves fade green to withered until plant death. The fungal community composition of the rhizosphere soil was analyzed from healthy and diseased plants. The result showed that mainly dominant phyla and genera in the rhizosphere soil of diseased and healthy plants were similar, but the relative abundance was absolutely different. Moreover, the genus *Fusarium* causing a wide range of plant diseases only appeared in the fungal community of rhizosphere soil of diseased *V. fordii*, with relative abundance accounting for 2.44%. The pathogens were isolated and purified through tissue isolation. Ten strains were isolated from the healthy junction of *V. fordii* rhizome suffering from typical root rot. Among them, strain AX-2 induced typical symptoms of root rot after being back-inoculated to the seedlings of *V. fordii*. The pathogen was subsequently isolated from the roots and stems of diseased plants. Its morphological characteristics were found to be consistent with those of the pathogen isolated from the field. Molecular identification further verified that this strain was identical to AX-2. Morphological characteristics and multi-loci (ITS+*tefl*- α +*rpb2*+*CaM*+*tub2*) phylogeny classified AX-2 as *Fusarium foetens*. The species is firstly reported as the pathogen of root rot in *V. fordii*. This study provides a theoretical foundation for investigating the infection characteristics and control strategies of root rot disease in *V. fordii*.

Keywords: *Vernicia fordii*; *Fusarium* root rot; *Fusarium foetens*; morphological characteristics; molecular identification

油桐 *Vernicia fordii* 是大戟科 Euphorbiaceae 落叶乔木, 是世界著名的木本非食用油料植物, 在工业、生物、能源、医药和生态环境等方面具有重要的作用(方嘉兴等 2017)。从油桐果实中提取的桐油含有大量的不饱和脂肪酸, 是一种非常好的生物质燃料油和优良的干燥植物油, 广泛用于油漆、塑料、人造橡胶、油墨、润滑油和生物柴油等, 具有可再生、清洁、安全的特点(Chen *et al.* 2016), 在能源转型背景下, 油桐作为生物质燃料油的潜力日益凸显, 全球需求持续增长。不仅如此, 油桐树皮可制胶(Shockey *et al.*

2006), 其根、叶、果均可以药用, 特别是油桐叶(Dyer *et al.* 2002)。此外, 油桐因其花期长、颜色绚丽, 也被视为重要的园艺作物, 又有“五月雪”之称, 以油桐为支撑的旅游相关产业已经在中国南方多地兴盛(王承南等 2014)。中国作为油桐主要生产国, 现有种植面积近百万公顷, 主要集中在湖南、贵州、广西等南方省份和地区, 形成了完整的产业链, 对山区经济发展和乡村振兴具有支撑作用。然而, 油桐的产业化发展面临严峻挑战。该树种虽生长迅速, 但遗传抗性较弱, 在生长过程中极易遭受多种病原菌的侵害, 严重

影响油桐的生长和产量,给我国的油桐种植及产业发展带来了毁灭性损失。

油桐病害种类繁多,主要以真菌性病害为主,其中被报道最典型、发病较严重的包括由尖镰孢 *Fusarium oxysporum* Schltdl.引起的油桐枯萎病(又称“桐瘟”)(Zhang *et al.* 2021);由小新壳梭孢 *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous *et al.* 引起的叶枯病(袁志林等 2011);由茄病新孢子菌 *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard & Crous 引起的油桐根腐病(陈守常和肖育贵 1990);由油桐尾孢 *Cercospora aleuritis* I. Miyake 和小新壳梭孢 *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous 侵染所致的油桐黑斑病等(陈鹏等 2006;徐红梅等 2020),由菲律宾灵芝 *Ganoderma philippii* (Bres. & Henn. ex Sacc.) Bres.引起的根腐病(Yuan *et al.* 2023),其中,油桐根腐病依赖于土壤传播,会造成根部腐烂,使根部吸收养分和水分的功能逐渐丧失,最后导致整株死亡,严重发生时会导致大面积油桐林枯萎,对油桐产业的可持续发展造成巨大影响。

笔者在2023年至2024年对贵州省独山县百泉镇油桐主产区实地调研中发现油桐受到某种土传病原菌的侵害,在根部组织可明显看到红色物质沉积,发病后期表现为叶片枯黄、根部腐烂,进而影响坐果率和产量。这些发病症状与已报道的油桐真菌病害存在一定区别,并且多年的栽培可能导致在局部区域传播一些新的病原物。为此,本研究对健康油桐和发病油桐的根际土壤样品进行真菌群落组成分析,通过病原菌分离纯化,采用病原菌形态学特征和分子生物学方法鉴定病原菌的种类,旨在为油桐病害的防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

于2024年7月在贵州省独山县百泉镇油桐主产区采集具有典型根腐病症状的油桐根茎部样品,同时采集健康油桐和发病油桐的根际土壤。根茎部样品存放在封口袋中,置于低温保鲜

盒,带回实验室通过组织分离法进行病原菌的分离纯化工作;根际土壤从油桐根部获得,首先去除根表面的松散土壤,将含有一层薄的剩余土壤聚集体的根转移到 100 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.2)中,置于 50 mL 无菌离心管中以最大速度涡旋 20 s,使其释放大部分根际土壤,将得到的混浊溶液在 4 °C、6 000×g 离心 15 min,形成的沉淀即为根际土壤样品。

1.2 发病油桐根际土微生物多样性分析

利用 E.Z.N.A.®土壤 DNA 提取试剂盒提取健康油桐和发病油桐的根际土 DNA 样品,分别设置 3 个重复。按照如下反应体系进行 PCR 扩增:98 °C 预变性 30 s;98 °C 变性 10 s,54 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 45 s,共 32 个循环;最后在 72 °C 下延伸 10 min,再由 AMPure XT beads 和 Qubit 进行 PCR 产物的纯化和定量。对纯化后的 PCR 产物使用 Agilent 2100 生物分析仪和 Illumina 的文库定量试剂盒进行评估,合格的文库浓度应在 2 nmol/L 以上,使用 NovaSeq 6000 测序仪进行 2×250 bp 的双端测序,相应试剂为 NovaSeq 6000 SP Reagent Kit (500 cycles)。对测序获得的双端数据,根据 barcode 信息对样品进行数据拆分,并去除接头和 barcode 序列,进行数据拼接、过滤和 DADA2 去噪等处理,质控后产生的每个去重序列称为 ASVs (amplicon sequence variants)。根据 ASV 序列文件采用 SILVA 和 NT-16S 数据库进行物种注释,并根据 ASV 丰度表对各层级物种在各样本中的相对丰度进行统计,基于得到的物种相对丰度统计信息,进行各比较组之间的差异分析。

1.3 病原菌分离和纯化

采集的发病油桐根茎部的病健交界处带回实验室后,用流动的自来水将表面的颗粒污染物清洗干净,分离其主根和茎部的韧皮部、木质部及侧根,切成 0.5 cm × 0.5 cm 的组织块,在 75% 乙醇中浸泡约 30 s,随后在 1% 次氯酸钠溶液中表面消毒 2 min,最后用无菌蒸馏水清洗多次(3 次以上),并用无菌滤纸吸干水分,移植于麦芽粉琼脂培养基(malt extract agar, MEA)平板上,28 °C 黑暗培养。培养基中预先加入硫酸链

霉素(50 mg/L)和盐酸四环素(20 mg/L)以防止细菌的污染。培养 4 d 后, 将从组织块边缘长出的菌丝转接至新鲜马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)中进行纯化, 培养 7 d 后, 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 致病性测定

参考油桐枯萎病的致病模型(杨素素等 2014; Zhang *et al.* 2018)进行致病性检测。取在 PDA 培养基上生长良好的用于致病性测定的菌块, 将其接种于合成低营养琼脂培养基(synthetic low nutrient medium, SNA), 28 °C 培养 7–10 d, 在平板上加少量无菌水, 用灭菌的软毛刷将孢子刷下, 并用 3 层纱布过滤掉多余的培养基, 配制浓度为 2×10^6 个/mL 的孢子悬浮液。挑取生长良好的含有 4–5 片叶子的油桐一年生幼苗, 将根周围的土小心拂去, 用大头针将主根和侧根轻轻划几个伤口后, 浸泡于孢子悬浮液中, 以等量无菌水为对照, 每个处理 5 株苗。浸泡 30 min 后将植株重新种植于无菌土中, 置于 28 °C 的人工气候箱中培养, 光照周期设置为 16 h 光照, 8 h 黑暗, 光照强度为 5 000 lx。定期观察油桐幼苗的发病情况, 分别从接种后发病的根茎部重新分离病原菌并进行柯赫法则验证。

1.5 病原菌的形态学观察

将分离纯化获得的菌株接种到 PDA 培养基上, 在 28 °C 恒温培养箱内黑暗培养 5–7 d, 观察和记录菌落的形态特征; 接种在 SNA 产孢培养基培养 8 d 后, 使用 0.85% 生理盐水清洗菌落平板并在光学显微镜下(ZEISS LSM 900 with Airyscan 2, Carl Zeiss)观察菌丝和分生孢子形态。

1.6 病原菌的分子生物学鉴定

采用 CTAB 法提取病原菌的总 DNA, 参考 White *et al.* (1990)的方法扩增核糖体转录间隔区(ITS), 引物为 ITS1-F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'); 采用 RPB2-5f (5'-GAYGAYMGWGA TCAYTTYGG-3')、RPB2-7cr (5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3')引物对扩增 RNA 聚合酶次大亚基(*rpb2*) (Liu *et al.* 1999); 采用引物 EF1-983F (5'-GCYCCYGGHCA YCGTGAYTTYAT-3')和 EF1-

2218R (5'-ATGACACCRACRGCRACRGTYTG-3')扩增翻译延长因子 1-a (*tefl-a*) (Rehner & Buckley 2005)的基因片段; 参考 Quaedvlieg *et al.* (2011)的方法扩增钙调蛋白(*CaM*), 引物为 CAL-228f (5'-GAGTTCAAGGAGGCCTTCTCCC-3')和 CAL-2Rd (5'-TGRTCNGCCTCDCGGATCATCTC-3'); 参考 Woudenberg *et al.* (2009)的方法扩增 β -微管蛋白(*tub2*), 引物为 T1 (5'-AACATGCGTGAGAT TGTAAGT-3')和 TUB4RD (5'-CCRGAYTGRCC RAARACRAAGTTGTC-3')。

扩增上述基因的 PCR 体系反应条件为 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 2.5 min, 共 35 个循环。PCR 产物经过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 切胶送交杭州有康生物科技有限公司进行测序。

首先根据上述 5 个基因进行 BLAST 比对分析, 确定大致的分类地位; 根据 Waalwijk *et al.* (2018)发表的有关镰孢属详细的系统发育关系, 从 NCBI 数据库下载了 28 个与镰孢属菌株 AX-2 亲缘关系相近的基因序列。基于邻接法(neighbor-joining, NJ)构建多基因系统发育树, 以确定病原菌种类。

2 结果与分析

2.1 病害症状

病害发生时间一般在 3 月至 4 月开始, 5 月至 7 月出现发病高峰期, 之后发病趋缓。病原菌沿土壤传播, 菌丝定殖于油桐根部表皮, 进一步深入木质部导致根部腐烂, 并沿着根部维管束组织向上传播至根茎连接处, 病斑沿茎进一步扩展, 严重时树体叶片萎蔫、失水褪绿、叶片枯黄, 最终导致整个植株的坏死(图 1), 与健康油桐相比, 在发病油桐根部组织可明显看到有红色物质沉积(图 1B, 1C)。

2.2 发病油桐根际土壤菌群多样性分析

对健康油桐(Healthy)和发病油桐(Diseased)的根际土壤进行高通量测序, 得到的原始读序、有效读序、门和属水平的聚类数量见表 1, 其中, 有效读序占原始读序的比例均超过了 90%, 进一步地, 利用 SPSS 22.0 对健康油桐和发病油桐根

际土壤的 ASV 相对丰度进行统计分析, 结果表明, 两者在真菌 ASV 相对丰度上具有显著差异 (图 2A)。

在门水平上, 去除未分类的真菌门类后, Healthy 和 Diseased 样本分别聚类到 6 门和 8 门, 门水平上的物种组成见图 2B, 两者的主要优势菌门均为子囊菌门 Ascomycota、担子菌门 Basidiomycota、接合菌门 Zygomycota, 但这 3 个门在 Healthy 和 Diseased 样本中的相对丰度却不同。子囊菌门、担子菌门、接合菌门在 Healthy、Diseased 样本中的相对丰度占比分别为 56.59% 和 73.26%; 38.37% 和 13.31%; 4.81% 和 11.46%。与 Healthy 样本相比, 在 Diseased 样本中子囊菌门和接合菌门相对丰度占比上升了 16.67% 和 6.65%, 担子菌门相对丰度占比下降了 25.06%。

在属水平上, Healthy 和 Diseased 样本共检测到 138 和 209 属, Diseased 样本中属的数量有所增加。根据 Healthy 和 Diseased 样本的 ASV 相对丰度值, 选取相对丰度 TOP30 的真菌属, 比较在 2 个样本之间的相对丰度差异 (图 2C), 其中, Healthy 样本中生赤壳属 *Bionectria* 相对丰度占比 21.66%、隐球酵母属 *Cryptococcus* 相对丰度占比 17.43%、肉座菌属 *Hypocrea* 相对丰度占比 8.42%、被孢霉属 *Mortierella* 相对丰度占比 5.22%, 而在 Diseased 样本中肉座菌属 *Hypocrea* 相对丰度占比 13.11%、丛赤壳属 *Nectria* 相对丰度占比 12.00%、被孢霉属 *Mortierella* 相对丰度占比 7.86%、隐球酵母属 *Cryptococcus* 相对丰度占比 5.35%, 与 Healthy 样本相比, 丛赤壳属 *Nectria*、肉座菌属 *Hypocrea*、被孢霉属 *Mortierella*

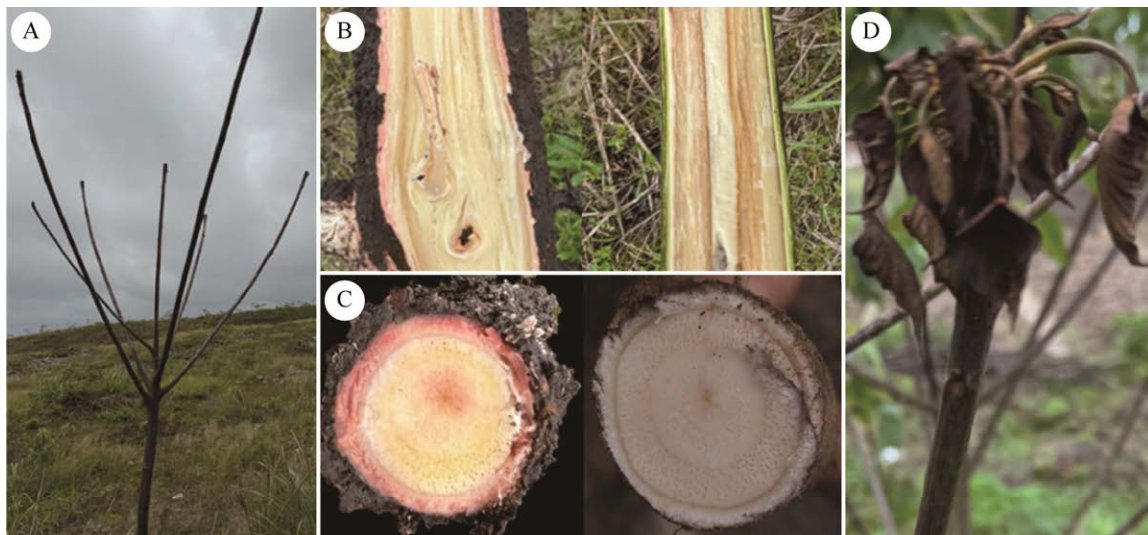


图 1 油桐根腐病的田间症状 A: 发病植株; B: 发病植株与健康植株主根纵截面的对比图; C: 发病植株与健康植株侧根横截面的对比图; D: 发病植株叶片症状

Fig. 1 The field symptom of *Fusarium* root rot in *Vernicia fordii*. A: Infected plants; B: Comparison of longitudinal sections of the main roots of diseased plants and healthy plants; C: Comparison of cross sections of the lateral roots of diseased plants and healthy plants; D: Leaf symptoms of infected plants.

表 1 健康油桐和发病油桐的根际土壤高通量测序数据信息

Table 1 The information of high-throughput sequencing data of rhizosphere soil in the healthy and diseased *Vernicia fordii*

样本	原始读序	有效读序	有效读序占原始读序的比例	门	属
Sample	Raw data	Valid data	Valid ratio/%	Phylum	Genus
Healthy1	84 882	81 399	95.90	6	138
Healthy2	83 925	81 703	97.35		
Healthy3	84 270	77 241	91.66		
Diseased1	81 662	77 150	94.47	8	209
Diseased2	82 696	77 430	93.63		
Diseased3	83 935	78 049	92.99		

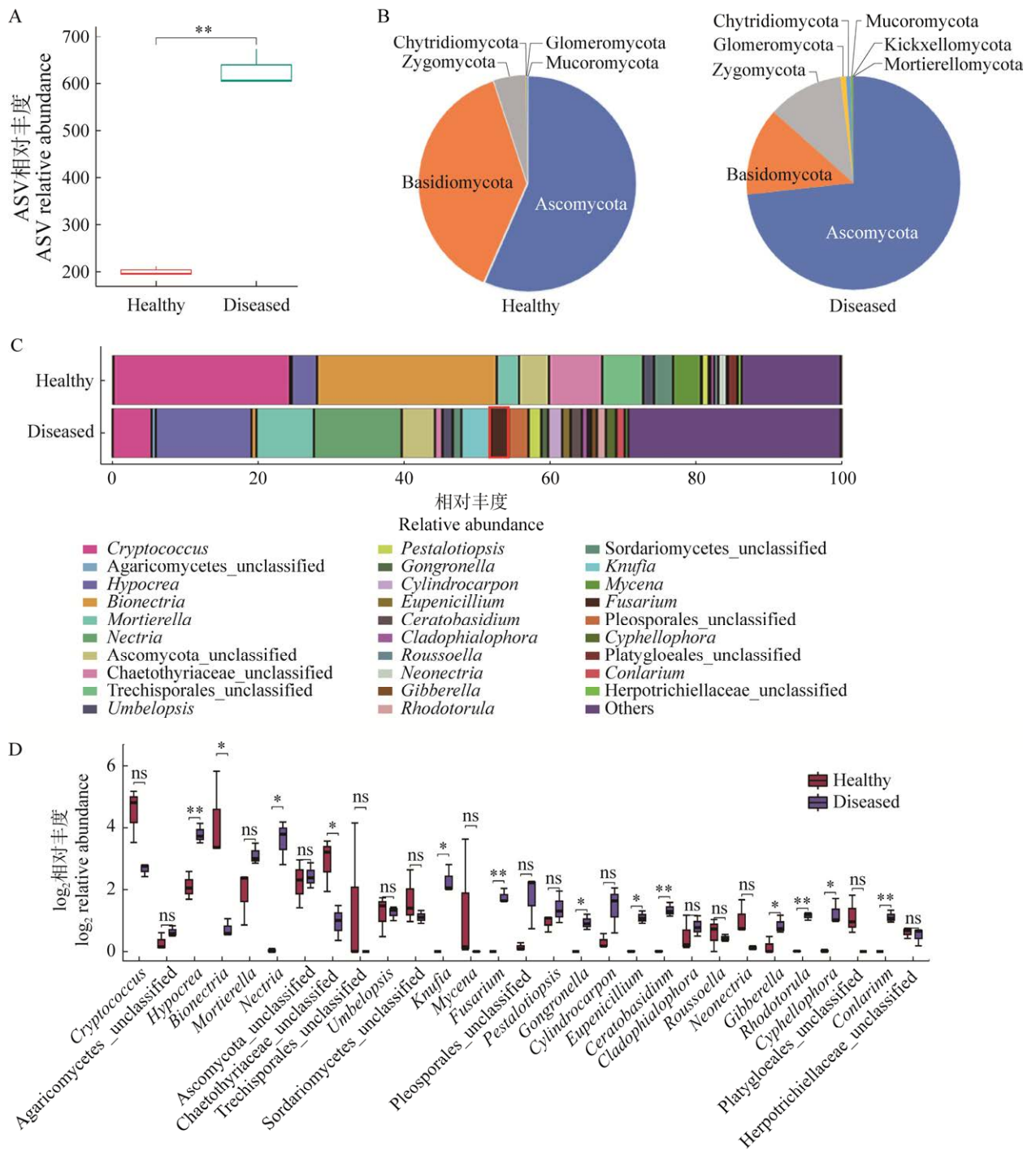


图2 健康油桐和发病油桐的根际土壤菌群多样性分析 A: 健康油桐和发病油桐的根际土壤 ASV 多样性比较; B: 健康油桐和发病油桐的根际土壤样本在门水平上的相对丰度; C: 健康油桐和发病油桐的根际土壤样本在 TOP30 属水平上的相对丰度; D: 健康油桐和发病油桐的根际土壤样本在 TOP30 属水平上相对丰度的差异分析; *代表差异显著($P<0.05$), **代表差异极显著($P<0.01$), ns 代表无显著差异

Fig. 2 Fungal diversity in rhizosphere soil of the healthy and diseased *Vernicia fordii*. A: The ASV diversity in rhizosphere soil of the healthy and diseased *V. fordii*. B: The relative abundance in rhizosphere soil of the healthy and diseased *V. fordii* at the phylum level. C: The TOP30 relative abundance in rhizosphere soil of the healthy and diseased *V. fordii* at the genus level. D: The differential abundance in rhizosphere soil of the healthy and diseased *V. fordii* at the TOP30 genus level. Single asterisk and double asterisk respectively indicated significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) level difference. The “ns” represents no significant difference.

在 Diseased 样本中的相对丰度占比分别上升了 11.98%、9.65%、4.77%，而生赤壳属 *Bionectria* 和隐球酵母属 *Cryptococcus* 相对丰度占比下降了 24.01%、18.92%。需要特别关注的是，能广泛引起植物病害的镰孢属 *Fusarium* 只在发病油桐根际土壤菌群中出现，相对丰度占比为 2.44%。

进一步分析 Healthy 和 Diseased 样本在 TOP30 属水平上相对丰度的差异，结果表明，Diseased 样本中肉座菌属 *Hypocrea*、镰孢属 *Fusarium*、角担菌属 *Ceratobasidium*、红酵母属 *Rhodotorula*、*Conlarium* 属的相对丰度极显著高于 Healthy 样本，而生赤壳属 *Bionectria* 的相对丰度显著低于 Healthy 样本(图 2D)。

2.3 候选病原菌的分离和纯化

将病害发生地采集到的病株，分离其病健交界处的主根和茎部的木质部、韧皮部及侧根，在 MEA 培养基上培养 3–5 d 后即可见菌丝在边缘切口处长出，经 PDA 培养基纯化后共获得 10 个纯培养物(图 3)，通过形态学和 ITS 初步鉴定，有 6 个纯培养物属于木霉属 *Trichoderma* 真菌，它们分别是 *Trichoderma pubescens* (AX-1、AP-2)、螺旋木霉 *T. spirale* (AP-1)、云南木霉 *T. yunnanense* (FR-3)、拟康宁木霉 *T. koningiopsis* (AP-3)、深绿木霉 *T. atroviride* (AX-3)，有 4 个纯培养物属于镰孢属 *Fusarium* 真菌，分别是 *F. pseudoanthophilum* (FR-1、FR-2、AR-1)和 *F. foetens* (AX-2)。根据笔者所在课题组的相关研究，油桐根际土壤中的

木霉菌可增强植物的抗病能力，包括 *T. koningiopsis*、*T. spirale*、*T. atroviride*、*T. harzianum*，对油桐尖镰孢均具有拮抗作用，其中，*T. koningiopsis* 对尖镰孢的抑菌效果最好(梁晓洁等 2020)。结合田间观察，发病植株根部可明显看到红色物质沉积，因此，我们重点研究在培养基上表现为红色色素沉积的 4 个镰孢属菌株(图 3)，包括菌株 FR-1、FR-2、AX-2、AR-1。

2.4 致病性测定

利用这 4 种菌株进行致病性测定(回接试验)，结果显示，只有菌株 AX-2 能引起根部腐烂、叶片变黄枯萎(图 4)。与未接种真菌的对照油桐相比，接种第 1 天，植株的表型没有明显变化；接种第 4 天，叶片开始有萎蔫的症状，茎干没有变化；接种第 8 天，叶片萎蔫更加严重，茎干开始变软，侧根根系已经腐烂；接种第 11 天，根部腐烂，茎干变软，根茎连接处的颜色已变为深褐色，叶片变为暗褐色并且叶片开始脱落，而对照植株始终保持健康状态。对发病植株的根茎部以及叶片重新分离获得病原菌，与田间采集分离的病原菌形态特征一致，进一步通过分子鉴定确定了该菌株与 AX-2 是同一种菌株。

2.5 病原菌 AX-2 的形态特征

菌株 AX-2 在 PDA 培养基上生长较快，培养 7 d 后菌落直径为 8.6 cm，呈毡状，颜色为粉色(图 5A)，气生菌丝致密；光学显微镜下可观察到大、小型分生孢子(图 5B)及分生孢子

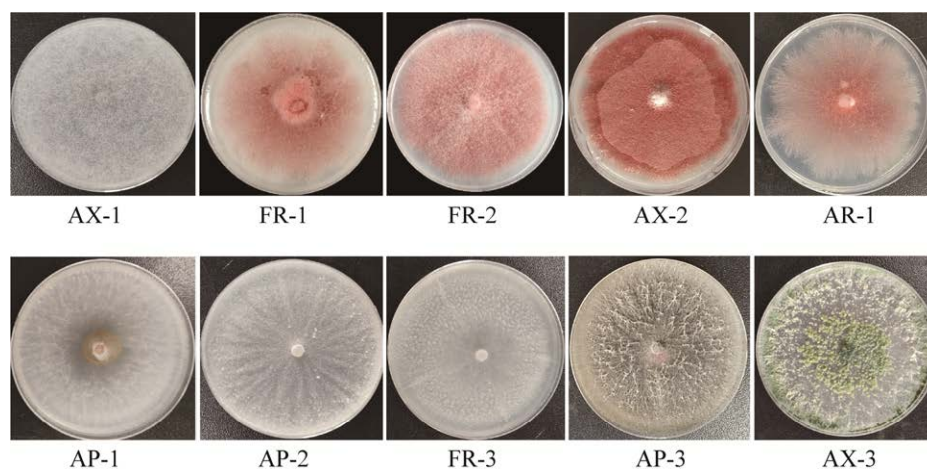


图 3 发病油桐病健交界处分离到的 10 个纯培养物

Fig. 3 Ten pure cultures isolated from the interface area of the diseased and healthy parts in diseased *Vernicia fordii*.



图4 油桐幼苗接种病原菌 AX-2 后的表型变化

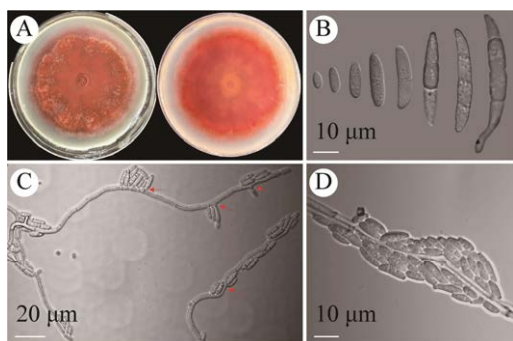
Fig. 4 The changing phenotype of *Vernicia fordii* after pathogen AX-2 infection.

图5 病原菌 AX-2 的形态学特征 A: 菌落形态; B: 大、小型分生孢子; C: 分生孢子梗; D: 分生孢子

Fig. 5 Morphological characteristics of pathogen AX-2. A: Colony morphology; B: Morphology of macroconidia and microconidia; C: Conidiophore morphology; D: Spore morphology.

梗(图 5C), 其中, 大型分生孢子呈镰刀状, 具隔膜, 有产孢梗, 大小为 $1.6-4.2 \times 21.0-42.0 \mu\text{m}$; 小型分生孢子呈卵形或肾形, 单胞, 大小为

$1.3-3.4 \times 5.8-10.9 \mu\text{m}$, 这些形态特征与镰孢属 *Fusarium* 的描述相符。

2.6 病原菌的分子鉴定及系统发育分析

利用 ITS、*tefl-a*、*rpb2*、*CaM* 和 *tub2* 的引物对菌株 AX-2 的 ITS、*tefl-a*、*rpb2*、*CaM* 和 *tub2* 基因进行扩增, 经测序分析, 确定片段长度分别为 530、993、1 175、594、532 bp。将 ITS、*tefl-a*、*rpb2*、*CaM* 和 *tub2* 基因序列提交到 NMDC (<http://nmcd.cn>), 核酸序列编号分别为 NMDCN-0008I06、NMDCN0008I07、NMDCN0008I08、NMDCN0008QF3、NMDCN0008QF4。基于 ITS、*tefl-a*、*rpb2*、*CaM* 和 *tub2* 联合基因序列, 采用邻接法构建菌株 AX-2 以及 GenBank 中同源性较高的 28 种 *Fusarium* 属近缘菌株的系统发育树, 结果显示, 菌株 AX-2 与臭镰孢 *F. foetens* 聚为一支, 支持率达到 100% (图 6)。

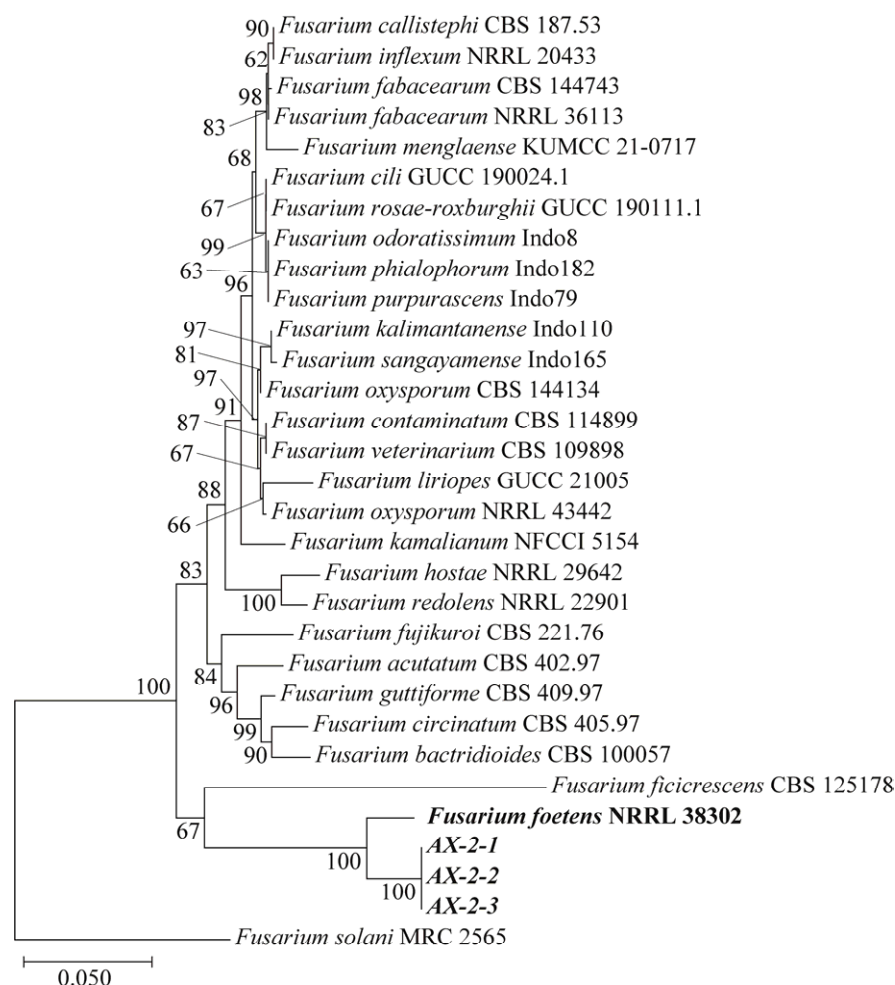


图 6 基于邻接法构建的病原菌 AX-2 的多基因序列系统发育树 本研究菌株用粗体表示

Fig. 6 The phylogenetic tree of the multi-gene sequences of pathogen AX-2 based on the maximum likelihood. Strain of this study is in bold.

3 讨论

在分类学上, 镰孢属隶属于真菌界、子囊菌门、粪壳菌纲、肉座菌目、丛赤壳科, 是农作物及经济作物最重要的寄生病原真菌之一, 其寄主范围广泛, 可引起瓜类、茄科、香蕉、棉、豆科及花卉等 100 多种植物枯萎病(林文凤等 2024)。油桐是我国重要的木本生物质能源树种, 它的栽培生产也易受到镰孢属病原菌的影响。目前, 报道最多的是由尖镰孢油桐专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fordii* (*Fof*-1)引起的油桐枯萎病害(又称“桐瘟”)(Zhang *et al.* 2018)和茄病新孢子菌 *Neocosmospora solani* 引起的油桐根腐病(陈守常和肖育贵 1990), 其中, 关于引起油桐

根腐病的病原菌的报道只限于腐皮新赤壳菌, 而且相关的研究多集中于油桐根腐病的发生与防治(宋强和赵伟 2017), 国内外未见腐皮新赤壳菌引起的油桐根腐病致病机理的研究报道。

我们的研究首次在油桐根腐病的组织中分离到臭镰孢 *F. foetens*, 油桐幼苗接种病原菌 *F. foetens* 后, 可导致根部褐变腐烂、叶片变黄枯萎直至整个植株死亡, 该菌最初是在秋海棠属 *Begonia* 植物中发现的, 可导致植物茎基部腐烂, 维管束变色、叶脉褪绿、叶片发黄萎蔫(Elmer *et al.* 2004; Schroers *et al.* 2004), 这与病原菌 *F. foetens* 导致的油桐根腐病的发病症状具有一定的相似性。近年来, 已有文献报道该菌也可侵染其他植物, 梁忠厚和李静纳(2021)发现, *F. foetens*

是引起湖南多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* 根腐病的主要致病菌之一；杨阳等(2024)的研究明确了 *F. foetens* 是党参 *Codonopsis pilosula* 根腐病的主要病原菌之一；在薰衣草 *Lavandula angustifolia* 中也首次报道了由 *F. foetens* 引起的根腐病(Wei *et al.* 2023)。

本研究对健康油桐(Healthy)和发病油桐(Diseased)的根际土壤进行测序,分析了在门水平和属水平上的土壤菌群组成,我们发现,健康油桐和发病油桐的主要优势菌门和菌属组成相近,但相对丰度却大不相同,这可能是导致油桐根腐病发生的原因之一。子囊菌门 Ascomycota 在 Diseased 样本相对丰度占比为 73.26%,且比 Healthy 样本中的占比增加了 16.67%,这可能与该类群包含大量腐生真菌有关(邓娇娇等 2019),油桐患病后,根系内和根际土壤中的腐生真菌增加,导致子囊菌门的相对丰度增加,研究表明,子囊菌门在烟草 *Nicotiana tabacum* 镰孢根腐病根际土壤的菌群占比较高,均值 68.29%–73.44%(何晓冰等 2025);子囊菌门也是油茶 *Camellia oleifera* 根腐病中的优势菌门(杨娅琳等 2024)。同时,担子菌门 Basidiomycota 在 Healthy 样本中的相对丰度增加了 25.06%,猜测可能是该类群可与植物共生形成菌根,有利于植物生长发育(Miguel *et al.* 2020)。与 Healthy 相比,丛赤壳属 *Nectria*、被孢霉属 *Mortierella* 在 Diseased 样本中的相对丰度占比上升了 11.98%、4.77%,被孢霉属由于其超强的纤维素分解能力,可能在抵抗根腐病中发挥作用(Papanikolaou & Aggelis 2019),已报道被孢霉属是三七 *Panax notoginseng* 植物黄腐植株中的优势菌群(丁子元等 2024),在猕猴桃 *Actinidia chinensis* 根腐病植株根际土壤中,被孢霉属的相对丰度明显低于未感病植株(陈海生等 2024),而谢珺等(2022)的研究表明,灯盏花 *Erigeron breviscapus* 根腐病病原主要集中在丛赤壳属。在我们的研究中,作为能导致多种植物根腐病发生的镰孢属(Chang *et al.* 2018)只在发病油桐根际土壤菌群中出现,相对丰度占比为 2.44%。

根据我们在 2023–2024 年对贵州省独山县

百泉镇油桐主产区发病油桐的连续观察,该病一般 3 月至 4 月开始发病,5 月至 7 月出现发病高峰期,之后发病趋缓,因此,在发病潜伏期和高峰期要特别注意病原菌 *F. foetens* 的预防与防治。在农业防治方面,首先选用品质好、抗病抗逆能力强的油桐品种;其次,在种植过程中要避免积水,深翻土壤,保持土壤透气良好,并做好水肥管理;最后,枯死病株应挖除病根烧毁,病土用石灰消毒(宋强和赵伟 2017)。在化学防治方面,定植前要做好种子消毒、土壤消毒以及药剂防治(刘燕 2024)。

4 结论

本研究通过健康油桐和发病油桐的根际土壤菌群组成分析、形态学观察、分子鉴定以及致病性测定等研究,明确了引起贵州省独山县百泉镇油桐主产区油桐根腐病的病原菌为臭镰孢 *F. foetens*,这是首次在油桐根部发现的由该病菌引起的根腐病,研究结果可为该病害的发生流行和综合防治提供参考。

作者贡献

王嘉:实验实施、数据分析、论文撰写及修改;杨安仁:调查采样、数据管理;刘北平:数据分析、协助实验;高暝:调查采样、仪器使用指导及数据分析;赵耘霄:调查采样、软件应用及多样性分析;陈益存:论文修改、实验指导;汪阳东:选题、试验方案设计、论文修改。

利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Chang XL, Dai H, Wang DP, Zhou HH, He WQ, Fu Y, Ibrahim F, Zhou Y, Gong GS, Shang J, Yang JZ, Wu XL, Yong TW, Song C, Yang WY, 2018. Identification of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Sichuan Province, China. *European Journal of Plant Pathology*, 151(3): 563-577
- Chen HS, Chen TL, Cai LS, Li ZY, Fang F, Jin SY, 2024.

- Research on soil enzyme activity and fungal community structure in rhizosphere soil of *Actinidia chinensis* plant with root rot. *South China Fruits*, 53(2): 144-151 (in Chinese)
- Chen P, Liu HP, Wang DM, Bai RL, 2006. Dangerousness analysis of *Mycosphaerella aleuritidis*. *Forest Inventory and Planning*, 31(2): 116-118 (in Chinese)
- Chen SC, Xiao YG, 1990. The research of root rot in the tung oil tree. *Acta Phytopathologica Sinica*, 3: 9-12 (in Chinese)
- Chen YC, Yin HF, Gao M, Zhu HP, Zhang QY, Wang YD, 2016. Comparative transcriptomics atlas reveals different gene expression pattern related to *Fusarium* wilt disease resistance and susceptibility in two *Vernicia* species. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1974
- Deng JJ, Zhou YB, Yin Y, Bai XJ, Gao HL, Zhu WX, 2019. Characteristics of soil fungal community structure at two coniferous plantations in mountainous region of eastern Liaoning Province, northeastern China. *Journal of Beijing Forestry University*, 41(9): 130-138 (in Chinese)
- Ding ZY, Zhao XQ, Li N, Chen XY, Sun YT, Zheng XW, Li RR, Xia B, Yang J, 2024. Microbial community structure and diversity in rhizosphere and roots of healthy and root rot *Panax notoginseng*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 52(19): 151-157 (in Chinese)
- Dyer JM, Chapital DC, Kuan JC, Mullen RT, Turner C, McKeon TA, Pepperman AB, 2002. Molecular analysis of a bifunctional fatty acid conjugase/desaturase from tung. Implications for the evolution of plant fatty acid diversity. *Plant Physiology*, 130(4): 2027-2038
- Elmer WH, Vossbrinck C, Geiser DM, 2004. First report of a wilt disease of *Hiemalis begonias* caused by *Fusarium foetens* in the United States. *Plant Disease*, 88(11): 1287
- Fang JX, He F, Yao XH, 2017. Chinese tung oil tree. China Forestry Publishing House, Beijing. 1-377 (in Chinese)
- He XB, Huang KP, Li JY, Bu YT, Zhao L, Wang MX, Zhang FS, Yin GY, Yang N, Xu YQ, 2025. Structure and diversity of microbial community in rhizosphere soil of *Fusarium* tobacco-induced root rot. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 66(2): 411-420 (in Chinese)
- Liang XJ, Liu ZH, Zhang P, Gao M, Wu LW, Wang YD, Yu MY, Chen YC, 2020. *Trichoderma* spp. isolated from rhizosphere soil of wilt-resistant *Vernicia fordii* and their inhibition effects against *Fusarium oxysporum*. *Mycosystema*, 39(5): 795-805 (in Chinese)
- Liang ZH, Li JN, 2021. Isolation and identification of the pathogenic fungi of *Polygonatum cyrtoneuma* Hua root rot in Hunan Province. *Journal of Southern Agriculture*, 52(7): 1923-1930 (in Chinese)
- Lin WF, Bao YX, Zhang MQ, 2024. The classification and research of *Fusarium* mycotoxins. *Sugar Crops of China*, 46(2): 72-77 (in Chinese)
- Liu Y, 2024. Occurrence and prevention of root rot in the snap bean. *Shanghai Vegetables*, 1: 49-50 (in Chinese)
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD, 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology & Evolution*, 16(12): 1799-1808
- Miguel RM, Jose GM, Meike P, 2020. Diversity of fungi in soils with different degrees of degradation in Germany and Panama. *Mycobiology*, 48(1): 20-28
- Papanikolaou S, Aggelis U, 2019. Sources of microbial oils with emphasis to *Mortierella (Umbelopsis) isabellina* fungus. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(4): 63
- Quaedvlieg W, Kema GHJ, Groenewald JZ, Verkley GJM, Seifbarghi S, Razavi M, Gohari AM, Mehrabi R, Crous PW, 2011. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 26(13): 57-69
- Rehner SA, Buckley E, 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. *Mycologia*, 97(1): 84-98
- Schroers HJ, Baayen RP, Meffert JP, de Gruyter J, Hooftman M, O'Donnell K, 2004. *Fusarium foetens*, a new species pathogenic to begonia elatior hybrids (*Begonia* \times *hiemalis*) and the sister taxon of the *Fusarium oxysporum* species complex. *Mycologia*, 96(2): 393-406
- Shockey JM, Gidda SK, Chapital DC, Kuan JC, Dhanoa PK, Bland JM, Rothstein SJ, Mullen RT, Dyer JM, 2006. Tung tree DGAT1 and DGAT2 have nonredundant functions in triacylglycerol biosynthesis and are localized to different subdomains of the endoplasmic reticulum. *Plant Cell*, 18(9): 2294-2313
- Song Q, Zhao W, 2017. Occurrence and prevention of root rot and branch canker of tung oil tree. *Modern Rural Science and Technology*, 5: 41 (in Chinese)
- Waalwijk C, Taga M, Zheng SL, Proctor RH, Vaughan MM, O'Donnell K, 2018. Karyotype evolution in *Fusarium*. *IMA Fungus*, 9(1): 13-26
- Wang CN, Zhang HY, Tan XF, Li P, Zhang JL, 2014. Comprehensive evaluation of garden ornamental value in *Vernicia fordii* flower resources. *Nonwood Forest Research*, 32(3): 185-188 (in Chinese)
- Wei XJ, Jia BG, Wang X, Li NY, Wang SN, Li L, Zhang A, Zhang HT, Wang LP, 2023. First report of *Fusarium foetens* causing root rot on lavender (*Lavandula angustifolia*) in China. *Journal of Plant Pathology*, 105: 1173-1174

- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York. 315-322
- Woudenberg JHC, Aveskamp MM, de Gruyter J, Spiers AG, Crous PW, 2009. Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 22(7): 56-62
- Xie J, Yang YH, Zhang WY, Zhang YL, Ma WS, Yang B, Li H, 2022. Research progress on the diseases of *Erigeron breviscapus*. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 44(1): 82-86, 97 (in Chinese)
- Xu HM, Deng XZ, Du YW, 2020. A newly identified pathogen of *Mycosphaerella aleuritidis* and its biological characteristics. *Hubei Forestry Science and Technology*, 49(1): 27-30 (in Chinese)
- Yang SS, Gao M, Zhu HP, Liu YG, Wang YD, Chen YC, 2014. Physiological response of *Vernicia fordii* and *V. montana* upon inoculation with *Fusarium oxysporum*. *Forest Research*, 27(6): 752-757 (in Chinese)
- Yang Y, Kong WB, Niu SQ, 2024. Isolation and characterization of the pathogenic bacteria of root rot of *Codonopsis pilosula*. *Molecular Plant Breeding*, <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231017.1039.004> (in Chinese)
- Yang YL, Wu FJL, Chen JX, Wu ZQ, Liu L, Zhang DH, Ma HC, Wu JR, 2024. Analysis on structure and diversity of fungi community in rhizosphere soil and root system of *Camellia oleifera* root rot. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 26(7): 121-135 (in Chinese)
- Yuan Y, Bian LS, Wu YD, Chen JJ, Wu F, Liu HG, Zeng GY, Dai YC, 2023. Species diversity of pathogenic wood-rotting fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in China. *Mycology*, 14(3): 204-226
- Yuan ZL, Chen YC, Wang YD, 2011. A new leaf blight pathogen of *Vernicia fordii*. *Mycosystema*, 30(4): 658-662 (in Chinese)
- Zhang QY, Gao M, Wu LW, Wu H, Chen YC, Wang YD, 2018. Expression network of transcription factors in resistant and susceptible tung trees responding to *Fusarium* wilt disease. *Industrial Crops and Products*, 122(5): 716-725
- Zhang QY, Wu LW, Yin HF, Xu ZL, Zhao YX, Gao M, Wu H, Chen YC, Wang YD, 2021. D6 protein kinase in root xylem benefiting resistance to *Fusarium* reveals infection and defense mechanisms in tung trees. *Horticulture Research*, 8: 240
2024. 猕猴桃根腐病根际土壤酶活性及真菌群落组成研究. *中国南方果树*, 53(2): 144-151
- 陈鹏, 刘宏屏, 王达明, 白如礼, 2006. 云南油桐黑斑病危险性分析. *林业调查规划*, 31(2): 116-118
- 陈守常, 肖育贵, 1990. 油桐根腐病的研究. *植物病理学报*, 3: 9-12
- 邓娇娇, 周永斌, 殷有, 白雪娇, 高慧淋, 朱文旭, 2019. 辽东山区两种针叶人工林土壤真菌群落结构特征. *北京林业大学学报*, 41(9): 130-138
- 丁子元, 赵学强, 李宁, 陈欣怡, 孙玉婷, 郑晓卫, 李睿尧, 夏冰, 杨娟, 2024. 健康与患根腐病三七根际和根内微生物群落结构与多样性研究. *安徽农业科学*, 52(19): 151-157
- 方嘉兴, 何方, 姚小华, 2017. 中国油桐. 北京: 中国林业出版社. 1-377
- 何晓冰, 黄昆鹏, 李俊营, 卜亚艇, 赵浪, 王明鑫, 张富生, 阴广宇, 杨楠, 许跃奇, 2025. 烟草镰刀菌根腐病根际土壤微生物群落结构及多样性. *浙江农业科学*, 66(2): 411-420
- 梁晓洁, 刘志华, 张平, 高暝, 吴立文, 汪阳东, 余孟杨, 陈益存, 2020. 抗油桐枯萎病木霉菌的分离鉴定及抑菌作用研究. *菌物学报*, 39(5): 795-805
- 梁忠厚, 李静纳, 2021. 湖南多花黄精根腐病病原菌的分离与鉴定. *南方农业学报*, 52(7): 1923-1930
- 林文凤, 暴怡雪, 张木清, 2024. 镰刀菌真菌毒素的分类与研究. *中国糖料*, 46(2): 72-77
- 刘燕, 2024. 菜豆根腐病的发生与防治技术. *上海蔬菜*, 1: 49-50
- 宋强, 赵伟, 2017. 油桐根腐病与枝干溃疡病的发生与防治. *现代农村科技*, 5: 41
- 王承南, 章怀云, 谭晓风, 李平, 张建玲, 2014. 油桐花资源园林观赏价值综合评判. *经济林研究*, 32(3): 185-188
- 谢珺, 杨永红, 张文义, 张亚连, 马维思, 杨斌, 李红, 2022. 灯盏花病害研究进展. *特产研究*, 44(1): 82-86, 97
- 徐红梅, 邓先珍, 杜洋文, 2020. 一种新的油桐黑斑病病原及其生物学特性研究. *湖北林业科技*, 49(1): 27-30
- 杨素素, 高暝, 朱慧萍, 刘英冠, 汪阳东, 陈益存, 2014. 三年桐、千年桐感染枯萎病病原菌后的生理反应. *林业科学研究*, 27(6): 752-757
- 杨娅琳, 吴峰婧琳, 陈健鑫, 武自强, 刘丽, 张东华, 马焕成, 伍建榕, 2024. 油茶根腐病根际土壤、根系内真菌群落结构和多样性分析. *中国农业科技导报*, 26(7): 121-135
- 杨阳, 孔维宝, 牛世全, 2024. 党参根腐病病原菌的分离鉴定及其特性研究. *分子植物育种*, <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231017.1039.004>
- 袁志林, 陈益存, 汪阳东, 2011. 一种新发生的油桐叶枯病病原真菌. *菌物学报*, 30(4): 658-662

[附中文参考文献]

陈海生, 陈韬略, 蔡林生, 李振宇, 方昉, 金思远,