

满天星茎腐病中一种新病原菌的分离与鉴定

周云莹^{1,2,3}, Sauban Musa Jibril^{1,2,3}, 王 玲^{1,2,3}, 朱玺燊^{1,2}, 王 一^{1,2,3},
张力敏^{1,2}, 李成云^{1,2,3*}

1. 云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201; 2. 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 云南昆明 650201;
3. 云南农业大学云南-国际应用生物科学中心跨境有害生物综合防控联合实验室, 云南昆明 650201

摘 要: 满天星是当今世界最流行的鲜切花配花之一, 茎腐病是满天星的一种常见病害, 严重时导致植株枯萎死亡, 影响鲜花的观赏性和利用价值, 造成一定的经济损失。2021 年 3 月, 笔者在云南省昆明市海口镇发现满天星茎腐病, 该病主要为害茎基部, 表现为茎基部腐烂和萎蔫。为明确其病原, 本研究对满天星茎腐病病原菌进行分离与鉴定。柯赫氏法则证明该分离物可造成满天星组培苗和盆栽苗表现出与田间病株相似的症状, 经接种后获得的分离物与田间自然发病的分离物一致。通过形态学鉴定, 分离物能产生大量致密的气生菌丝, 颜色从白色到淡橙色或黄色不等, 菌落背面有暗红色色素沉积。显微镜观察发现其分离物的分生孢子呈镰刀形, 腹面较平直, 背侧呈拱形, 具有 3~6 个隔膜, 分生孢子大小为 $(21.1\sim57.9)\mu\text{m}\times(2.7\sim5.1)\mu\text{m}$ ($n=100$), 未见小型分生孢子, 形态学上与镰刀菌属病原真菌相似。通过对其 ITS 基因序列与形态学鉴定, 将分离物初步确定为禾谷镰孢复合种(*Fusarium graminearum* species complex, FGSC), 为进一步确定亚种, 使用翻译延伸因子 (TEF-1 α) 序列进行测序, 发现该分离物与南方镰孢菌 (*F. meridionale*) 的同源性达 100%。因此结合形态学和分子生物学特征, 满天星茎腐病的病原确定为南方镰孢菌。目前国内尚未发现由南方镰孢菌侵染为害满天星茎部的相关研究报道, 本研究结果将为防治满天星病害提供重要理论依据。

关键词: 满天星; 茎基腐; 南方镰孢菌

中图分类号: S436.8 文献标志码: A

Isolation and Identification of New Pathogen from the Stem Rot of *Gypsophila paniculata* L.

ZHOU Yunying^{1,2,3}, SAUBAN Musa Jibril^{1,2,3}, WANG Ling^{1,2,3}, ZHU Xishen^{1,2}, WANG Yi^{1,2,3},
ZHANG Limin^{1,2}, LI Chengyun^{1,2,3*}

1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China; 2. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Kunming, Yunnan 650201, China; 3. Yunnan-CABI Joint Laboratory for Integrated Prevention and Control of Trans-boundary Pests, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China

Abstract: *Gypsophila paniculata* L. is one of the most popular and bestselling cut flowers in the world. Stem rot is among the common disease of *G. paniculata* L. causing plant withering and death in serious cases, affecting the ornamental and utilization value of the flowers and causing certain economic losses. In March 2021, a severe wilt due to stem rot was observed on *G. paniculata* L. in Haikou town, Kunming, Yunnan, China. The disease mainly affected the stem base which was manifested by rot on stem base and wilting. In order to identify the pathogenic microorganism, we isolated and identified the pathogen associated with the stem of *G. paniculata* L.. Koch's postulates proved that the isolate caused similar symptom on tissue culture and potted seedlings of *G. paniculata* L., and the isolate had similar morphology with initially isolated from with the naturally infected seedlings in the field. Through morphological identification, the isolate produced a large number of dense aerial hy-

收稿日期 2023-03-13; 修回日期 2023-04-20

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2023YFD1400800); 云南省农业跨境有害生物绿色防控重点实验室开放基金项目 (No. 2021ZDK003)。

作者简介 周云莹 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 分子植物病理学。*通信作者 (Corresponding author): 李成云 (LI Chengyun), E-mail: lichengyun@163.com。

phae with color ranging from white to light orange or yellow with dark red pigment deposition on the back of the colony. The conidia of the isolate was sickle-shaped with flat ventral side, the dorsal side was arched, with three to six septation. The macroconidia was in the range (21.1–57.9) $\mu\text{m} \times (2.7\text{--}5.1)\mu\text{m}$ ($n=100$), no microconidia were observed. The morphology was similar to that of *Fusarium* pathogenic fungi. Through the identification of ITS gene sequence and morphology, the isolate was initially identified as *F. graminearum* species complex (FGSC). In order to further identify the subspecies, the TEF-1 α sequence was used for sequencing. It was found that the isolate was 100% homologous with *F. meridionale*. Therefore, combined with morphological and molecular biological characteristics, the pathogen of the stem rot of *G. paniculata* L. was identified as *F. meridionale*. This is the first report on the stem rot of *G. paniculata* L. in China, which would provide an important basis for the prevention and control of the disease.

Keywords: *Gypsophila paniculata* L.; stem rot; *Fusarium meridionale*

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.05.014

满天星 (*Gypsophila paniculata* L.), 原名为重瓣丝石竹, 别名霞草、白孔雀草、丝石竹等, 原产地中海沿岸, 在我国原产于新疆北部及西部, 生于海拔 1000~1500 m 地区。系石竹科丝竹属的一年生草本花卉, 是当今世界最流行的鲜切花配花之一^[1-3]。重瓣满天星花不育, 生产上采用扦插种植, 但该方法繁殖系数低, 无法满足市场需求, 组培快繁是生产优质种苗的主要途径^[3-4]。满天星的用途广泛, 根、茎可供药用, 集观赏、药用于一体^[5]。云南省昆明地区的满天星种植始于 20 世纪 90 年代初, 经过 20 多年的发展已成为云南省主栽鲜切花之一, 云南昆明是全国种植面积最大的地区之一, 产品销往全国各地, 部分远销我国台湾、香港, 以及新加坡、马来西亚、菲律宾等地^[6-7]。

镰刀菌属 (*Fusarium* spp.) 是世界性的重要病原真菌之一, 寄主植物达 100 余种, 侵染包括粮食作物、经济作物、药用植物及观赏植物等, 主要为害植物的根、茎、花等部位, 引起植物的根腐、茎腐、穗腐等多种病害, 在世界范围内造成许多毁灭性的植物病害, 如黄色镰刀菌 (*F. culmorum*) 造成的甘蔗顶腐病, 串珠镰刀菌 (*F. moniliforme*) 造成的巴拿马香蕉萎蔫病, 以及茄病镰刀菌 (*F. solani*) 导致世界范围的根腐病等^[8]。镰刀菌侵染寄主植物维管束系统, 产生毒素为害作物, 导致作物枯萎死亡, 降低作物的产量和品质, 造成巨大的经济损失。据统计, 全世界每年因镰刀菌引起的农产品损失高达数百亿美元^[9-11]。

禾谷镰刀菌是一个复合种 *Fusarium graminearum* species complex (FGSC), 从 O'DONNELL 等^[12]采用宗系谱法 (GCPSR) 划分种至今, 已经至少确认由 16 个种构成, 包括亚洲镰孢菌 (*F. austroamericanum*)、南方镰孢菌 (*F. meridionale*)、

布氏镰孢菌 (*F. boothii*)、禾谷镰孢菌 (*F. graminearum* sensu stricto)、蒲葶镰孢菌 (*F. cortaderiae*) 等。禾谷镰孢复合种 (FGSC) 是禾谷作物的重要病原菌, 如小麦赤霉病 (FHB) 主要由禾谷镰孢复合种 (FGSC) 引起, 是小麦的一种重大的真菌流行病害, 造成小麦严重减产^[13-14]。其中禾谷镰孢菌是世界范围内小麦赤霉病最常见的致病菌, 但据张昊^[15]报道南方镰孢菌也能引起我国小麦赤霉病, 另外 ZHOU 等^[16]报道南方镰孢菌是引起玉米穗腐病的主要致病菌之一, 周洁等^[17]报道南方镰孢菌还能引起魔芋干腐病。

满天星病害种类较多, 常见病害有真菌性病害, 包括由链格孢菌 (*Alternaria alternata*) 引起的黑斑病, 由灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) 引起的灰霉病, 由 *Erysiphe buhrii* 引起的白粉病, 由疫霉属 (*Phytophthora* spp.)、腐霉属 (*Pythium* spp.)、丝核菌属 (*Rhizoctonia* spp.) 以及镰刀菌属引起的茎腐病、根腐病等腐烂病。除真菌性病害外, 还有由细菌引起的冠瘿病等, 以及由支原体、病毒和线虫引起的病害。由镰刀菌属引起的满天星茎腐病, 早期症状出现茎基部周围变色, 上部叶片轻微萎蔫, 晚期症状出现冠腐、根腐, 严重萎蔫, 最终导致植株死亡, 造成经济损失^[18]。在国外关于该病的报道较多, 国内鲜有报道, 目前已报道的满天星茎腐病主要由尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum*)^[19]、黄色镰刀菌^[20]、茄病镰刀菌^[21]、禾谷镰孢菌^[21]引起, 但未见南方镰孢菌引起满天星茎腐病的相关报道, 这是我国首次报道由南方镰孢菌引起满天星茎腐病。因此, 本文从满天星茎腐病的发病症状、病原物的分离与鉴定等方面对满天星茎腐病进行研究, 为今后花卉生产的病害预防与控制提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病样采集 2021 年 3 月在云南省昆明市西山区海口镇 (24.80°N, 102.60°E) 采集满天星 (云星 4 号) 茎腐病样品, 分装到自封袋后带回实验室, 备用。

1.1.2 培养基 马铃薯葡萄糖培养基 (PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15~20 g, 蒸馏水 1000 mL, 121 °C 灭菌 20 min。

康乃馨叶片培养基 (CLA): 康乃馨叶片剪成 3~5 mm 小段, 湿热灭菌, 将灭菌的康乃馨叶片在无菌操作台中放入水琼脂固体培养基中, 每皿 5~6 片。

绿豆液体培养基: 称取绿豆 30 g, 绿豆洗净后放入沸水中煮至开花, 用纱布过滤, 自然 pH, 将滤液用蒸馏水定容至 1000 mL 后分装到 100 mL 三角瓶中, 121 °C 灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离与纯化 采用稍作改良的常规组织分离法^[22], 从满天星茎部切下约 10 mm×3 mm 的病害组织, 清水洗净表面杂质, 用 70% 酒精浸泡 30 s, 再用 0.5% 次氯酸钠漂洗 2 min, 最后用灭菌水漂洗 3 次, 滤纸片吸干, 将病组织接入 PDA 培养基, 置于 25 °C 下恒温培养 3~5 d。待菌落长出后, 挑取菌落至新的 PDA 培养基上培养, 纯化后菌种置于 -80 °C 保存, 备用, 将该菌株命名为 KMHK4-2。

1.2.2 病原菌的致病性检测 根据柯赫氏法则, 分别用满天星组培苗和盆栽苗进行致病性试验。

(1) 满天星组培苗致病性试验。对 10 株满天星组培苗进行分离物的致病性试验。参照方中达^[22]的接种方法, 对满天星的茎部进行接种, 用无菌注射器将浓度为 1×10^5 个/mL 的孢子悬浮液缓慢注入茎部。将 10 μ L 孢子悬浮液或无菌水对照的接种量施加到茎部。植物在组织培养室中以 12 h 的暗光循环在 (24±2) °C 下培养 7 d 后, 观察并记录发病情况。

(2) 满天星盆栽苗致病性试验。对 10 株满天星盆栽苗进行分离物的致病性试验。参照 LEE 等^[23]的满天星病原菌接种方法, 将健康满天星植株的根和茎基部浸入浓度为 1×10^5 个/mL 的孢子悬浮液, 15 min 后将其转移至无菌土壤中, 在潮湿的室内保持 72 h, 然后移至温室。用灭菌水处

理的植株作为对照。接种 7 d 后, 观察并记录发病情况。致病性测定重复 3 次。

1.2.3 病原菌的鉴定 (1) 形态学鉴定。主要依据 LESLIE 等^[24]的形态学分类鉴定方法, 将分离物接种到 PDA 培养基上, 置于 25 °C 培养箱恒温培养, 培养 5 d 后观察记录菌落形态特征; 使用 CLA 培养基和绿豆液体培养基诱导产孢, 待产孢后, 利用显微镜观察并测量孢子大小。

(2) 分子生物学鉴定。以形态学鉴定结果为基础, 选取分离到的菌株接种到 PDA 培养基上, 28 °C 恒温培养 5 d, 取 0.1 g 菌丝, 采用 CTAB 法^[25]提取病原菌基因组的 DNA。采用 rDNA-ITS 扩增进行病原菌属水平的鉴定, 采用翻译延伸因子 1- α (translation elongation factor 1- α , TEF-1 α) 扩增进行病原菌种的鉴定。rDNA-ITS 基因扩增采用真菌核糖体基因转录间隔区通用引物 ITS1 (5'-TCC-GTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTC-CGCTTATTGATATGC-3')^[26]; TEF-1 α 基因扩增采用引物 EF1T (5'-ATGGGTAAGGAGGACAAG-AC-3') 和 EF2T (5'-GGAAGTACCAGTGATCAT-GTT-3')^[27] (由北京擎科生物有限公司合成) 进行 PCR 扩增后, 委托北京擎科生物科技股份有限公司进行纯化和测序。将测序所得的 DNA 序列与 NCBI GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 和 *Fusarium*-ID 镰刀菌数据库 (<https://www.fusarium.org>) 中进行同源性比对, 同时将 DNA 序列上传到 NCBI 数据库获得序列登录号。利用 Mega 7.0 软件构建系统发育树, 采用邻接法 (neighbour-joining, NJ), bootstrap value 设置为 1000, 确定该菌株的分类地位。

2 结果与分析

2.1 满天星茎腐病的发病症状

满天星茎腐病发生在幼苗期间, 在所调查的满天星大棚基地内, 该病害发病率约为 10%。受感染的植株中, 典型的症状是萎蔫和茎腐烂, 在早期发病症状的植株中发现其根部尚未见坏死 (图 1)。

2.2 满天星致病性测定

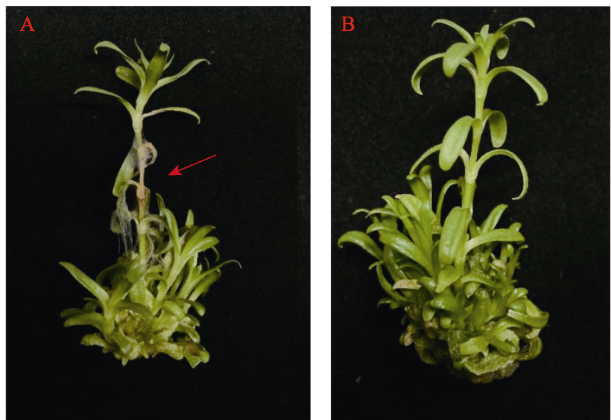
如图 2 和图 3 所示, 通过满天星组培苗和盆栽苗接种分离物 7 d 后, 观察到植株茎部腐烂和萎蔫症状, 而在 CK 植株上未观察到发病症状。柯赫氏法则证明该真菌分离物可造成满天星组培苗、盆栽苗表现出与田间病株相似的症状, 并分



A: 茎基部症状; B: 植株整体发病状态。
A: Symptoms on the base of the stem; B: Symptoms of the whole plant.

图 1 满天星茎腐病症状

Fig. 1 Symptom of *G. paniculata* L. stem rot



A: 接种后整株发病症状; B: CK。
A: The symptoms of whole grafted seedling after inoculation; B: CK.

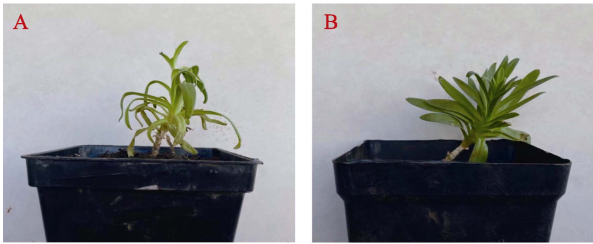
图 2 茎部接种满天星组培苗的致病性测定

Fig. 2 Pathogenicity determination of stem inoculated *G. paniculata* L. tissue culture seedlings

离获得与满天星病株初分离物菌落形态相同的真菌菌株。

2.3 满天星茎腐病标样中致病菌的分离鉴定

2.3.1 病原菌形态特征 将在满天星茎基部分离



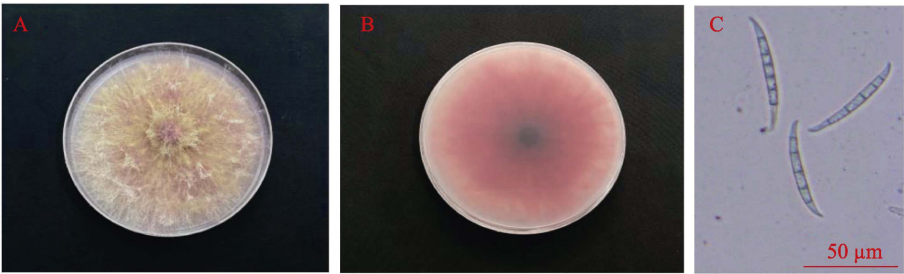
A: 接种后整株发病症状; B: CK。
A: The symptoms of whole grafted seedling after inoculation; B: CK.

图 3 浸润接种满天星盆栽苗的致病性测定

Fig. 3 Pathogenicity test of potted seedlings inoculated by infiltration

到的病原菌 (KMHK4-2) 接入 PDA 培养基, 置于 25 ℃ 恒温箱中培养, 菌丝生长迅速并产生大量的致密气生菌丝, 在 PDA 培养基上菌丝颜色从白色到淡橙色、黄色不等, PDA 培养基背面有暗红色色素沉积, 培养 5 d 后, 菌落可长满直径为 9 cm 的培养基 (图 4A, 图 4B)。

挑取菌落至 CLA 培养基中诱导其产孢, 于 25 ℃ 恒温培养 15 d, 在显微镜下可见少量大型分生孢子, 大型分生孢子相对细长, 呈镰刀形, 腹面较平直, 背侧呈拱形, 3~6 个隔膜, 未见小型分生孢子。从 PDA 培养基中打下菌饼, 置于绿豆液体培养基中, 于 25 ℃ 摇床培养 5~7 d 产生大量分生孢子, 分生孢子形态与 CLA 培养基中基本一致, 具有 3~6 个隔膜, 未见小型分生孢子, 分生孢子大小为 $(21.1\sim57.9)\mu\text{m}\times(2.7\sim5.1)\mu\text{m}$ ($n=100$) (图 4C)。根据病原菌的形态特征, 参考 LESLIE 等^[24]的形态学分类鉴定方法, 将满天星茎腐病的病原初步鉴定为广义上的禾谷镰刀菌, 即禾谷镰孢复合种 (*F. graminearum* species complex, FGSC)。



A: 菌落正面形态; B: 菌落背面形态; C: 大型分生孢子。
A: Positive colony morphology; B: Colony morphology on the backside; C: Macroconidia.

图 4 病原菌的形态特征

Fig. 4 Morphological characteristics of pathogens

2.3.2 分子生物学鉴定 选取 ITS 和 TEF-1 α 基因序列对菌株 KMHK4-2 的基因组 DNA 进行 PCR

扩增, 分别获得大小为 519、650 bp 的片段。将分离物 ITS 和 TEF 的序列提交至 GenBank, 获得登录

号 ITS (Accession No. OP257274)、TEF (Accession No. OP302808), 在 GenBank 数据库和 *Fusarium-ID* 数据库中进行同源性检索。菌株 KMHK4-2 的 ITS 序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对, 结合形态学观察和构建系统进化树 (图 5), 该菌株初步鉴定为禾谷镰孢复合种。为进一步明确该菌株的具体种类, 扩增 TEF-1 α 基因片段, 将测序结果与 NCBI 的 GenBank 数据库和 *Fusarium-ID* 数据库进行同源性比对, 结果显示菌株 KMHK4-2 的序列与南方镰

孢菌 (*F. meridionale*) DS27 (MN629330.1)、CBS 110247 (AF212435.1) 等菌株的相似度达 100%。从 GenBank 数据库中下载禾谷镰孢复合种的模式菌株序列, 采用 Mega 7.0 软件中的 neighbour-joining 法构建系统进化树 (图 6)。从进化树可以看出, 菌株 KMHK4-2 的 TEF-1 α 序列与南方镰孢菌的不同菌株聚在同一分支。综上所述, 结合形态学鉴定和分子生物学鉴定, 将 KMHK4-2 确定为南方镰孢菌 (*F. meridionale*)。

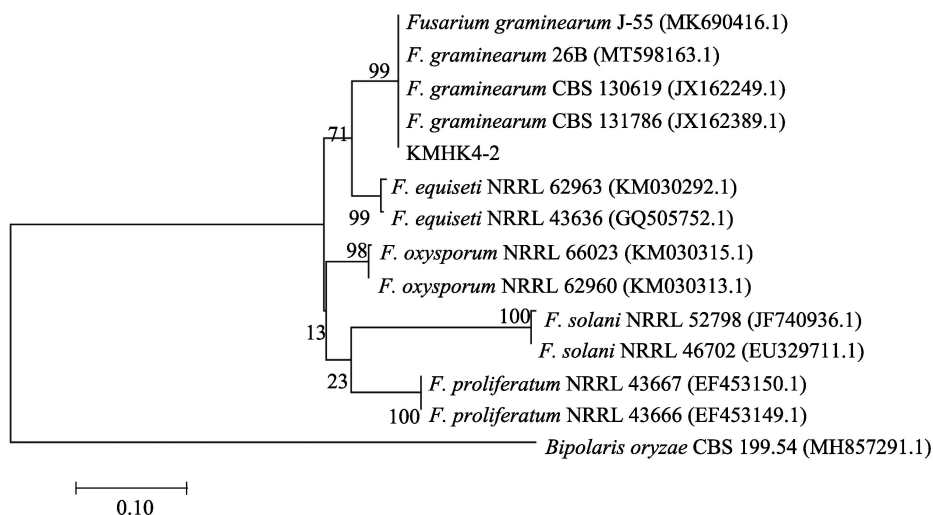


图 5 基于 ITS 基因序列的系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on ITS gene sequence

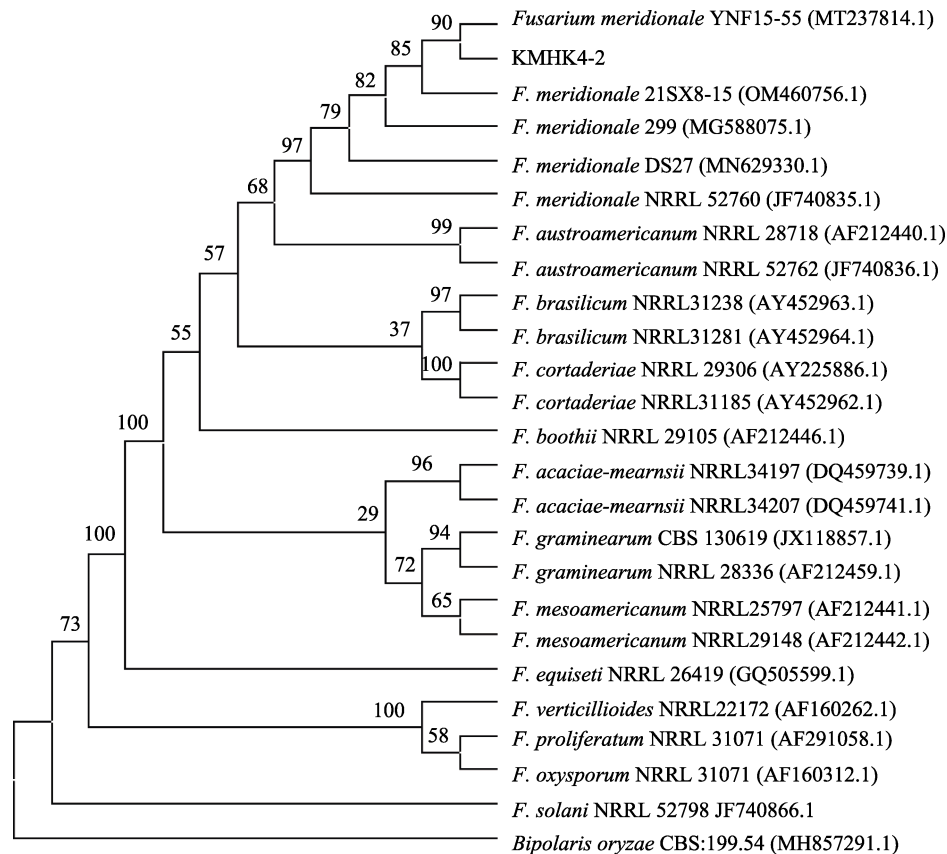
3 讨论

ITS 序列因其间隔序列较短, 利于 PCR 的扩增, 被广泛应用于真菌分类的标记序列, 但 ITS 作为 rDNA 中的中度保守区, 对部分间隔区差异性较小的真菌 (如镰刀菌属), 只适合属水平上的鉴定, 对属内种的鉴定并不适合^[28]。本研究在 NCBI 数据库进行 BLAST 比对过程中也发现, 只能将病原菌鉴定到镰刀菌属, 无法将其准确鉴定到具体种。TEF-1 α 序列是编码蛋白翻译装置的主要部分, 在镰刀菌种水平上含有丰富的信息量, 分辨率高, 与 ITS 序列相比种间差异更大, 且具有稳定性和多样性, 目前在镰刀菌种类鉴定上应用广泛, 可作为对镰刀菌种类划分的一个重要补充^[29-31]。DONG 等^[32]通过形态学和 TEF-1 α 序列鉴定并首次报道了水稻上的一种赤霉病菌为南方镰孢菌。因此, 为进一步准确鉴定到具体的种, 在 ITS 序列的基础上结合 TEF-1 α 序列分析, 将镰刀菌鉴定到具体的种。

通过 DNA 标记进行真菌鉴定最广泛使用的

算法是基于序列比对的搜索工具 (BLAST), 可以在 NCBI 的 GenBank 网站上获得, 这是一种快速而有效的方法, 该数据库可以提供大量信息, 但存在大量鉴定错误的菌株和必须过滤掉的低质量序列, 必须仔细分析其结果^[33-34]。O'DONNELL 等^[35]和 GEISER 等^[36]在系统发育分析中发现, 使用的一些序列似乎与错误的镰刀菌名称有关, 可能是由于使用了所用数据库中的错误序列。*Fusarium-ID* 数据库是一个用于鉴定镰刀菌种、属的专用数据库, 可进行常规分离菌株的序列相似性分析^[37]。因此, 本研究为了更准确地鉴定, 在 NCBI 基础上结合 *Fusarium-ID* 数据库进行序列检索。

满天星是一种主要作为填充切花的世界性作物, 由土壤传播病原体引起的真菌病害中, 疫霉病和立枯病是世界上最具毁灭性的满天星病害。在栽培过程中, 腐霉属和立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 尤其具有危害性。在成熟植株中, 镰刀菌属会造成基部组织腐烂, 导致植株死亡^[18]。由镰刀菌属侵染造成的满天星腐烂, 在阿根廷、以色

图 6 基于 TEF-1 α 基因序列的禾谷镰孢复合种系统进化树Fig. 6 Phylogenetic tree of *F. graminearum* species complex constructed based on TEF-1 α gene sequences

列、韩国、波兰均有相关报道^[18]，这些镰刀菌属病原菌包括拟轮枝镰孢菌（*F. verticillioides*）、层出镰孢菌（*F. proliferatum*）、串珠镰刀菌、黄色镰刀菌、茄病镰刀菌、尖孢镰刀菌、禾谷镰刀菌。其中，20 世纪 90 年代在阿根廷，禾谷镰刀菌被 WOLCAN 等^[21]首次确定为满天星茎腐病的病原菌，但仅鉴定为禾谷镰孢复合种，未确定具体的亚种。该研究还强调禾谷镰刀菌很少感染满天星的根部，在受感染的情况下，茎基部组织出现坏死，颜色呈黑褐色并开始扩散，枯萎的叶片仍然长在茎上。侧芽数量减少，作物的生命周期缩短，造成一定的经济损失。满天星茎腐病在中国鲜有报道，据查询文献，这是我国首次报道由南方镰孢菌引起的满天星茎腐病，本研究为满天星的病害监测和综合治理提供了理论基础。

镰刀菌属除了能引起世界性病害，在农业生产上造成严重的经济损失，还能产生多种毒枝菌素的次级代谢物污染农产品，严重威胁人类及动物健康。因此，测定南方镰孢菌产生的毒素类型是下一步的研究方向，植物病原菌毒素的研究将为新型杀菌剂的开发提供理论依据。

参考文献

- [1] 吴志行, 吴邦良. 实用园艺手册[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1999: 20-25.
WU Z X, WU B L. Practical gardening handbook[M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1999: 20-25. (in Chinese)
- [2] 李云海, 刘琪, 陈丽华. 满天星无菌实生苗丛芽诱导培养研究[J]. 现代农业科技, 2018(18): 135, 137.
LI Y H, LIU Q, CHEN L H. Study on bud induction and culture of *Gypsophila paniculata* sterile seedlings[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2018(18): 135, 137. (in Chinese)
- [3] 童雨嘉. 满天星快速繁殖与农杆菌转化体系的建立[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
TONG Y J. Establishment of rapid propagation and *Agrobacterium mediated* transformation in *Gypsophila paniculata*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [4] 董月霞, 许俊强, 邹俊, 张国平, 张应华. 满天星组培快繁技术探究[J]. 现代园艺, 2021, 44(13): 18-19.
DONG Y X, XU J Q, ZOU J, ZHANG G P, ZHANG Y H. Research on tissue culture and rapid propagation technology

- of *Gypsophila paniculata*[J]. Contemporary Horticulture, 2021, 44(13): 18-19. (in Chinese)
- [5] 钱崇澍, 陈焕铺, 林谔, 俞德浚, 吴征镒. 中国植物志(第 26 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 422.
- QIAN C S, CHEN H P, LIN R, YU D J, WU Z Y. Flora of China (Volume 26)[M]. Beijing: Science Press, 1996: 422. (in Chinese)
- [6] 单芹丽, 杨春梅, 屈云慧, 汪国鲜, 赵培飞, 段青, 许凤, 周宁宁. 满天星种苗工厂化生产及常见问题解决措施[J]. 现代农业科技, 2011(1): 226-227.
- SHAN Q L, YANG C M, QU Y H, WANG G X, ZHAO P F, DUAN Q, XU F, ZHOU N N. The factory production and its solving measures on common problem of *Gypsophila paniculata* L. seedlings[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2011(1): 226-227. (in Chinese)
- [7] 李世峰, 李树发. 满天星地膜覆盖栽培[J]. 云南农业科技, 1999(4): 25-27.
- LI S F, LI S F. *Gypsophila paniculata* L. plastic film mulching cultivation[J]. Yunnan Agricultural Science and Technology, 1999(4): 25-27. (in Chinese)
- [8] 张岳平. 镰刀菌真菌毒素产生与调控机制研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(3): 311-316.
- ZHANG Y P. The research advance of biosynthesis and regulation mechanism on *Fusarium* mycotoxins[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2011, 23(3): 311-316. (in Chinese)
- [9] BAI G H, SHANER G. Management and resistance in wheat and barley to *Fusarium* head blight[J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42(1): 135-161.
- [10] GOSWAMI R S, KISTLER H C. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops[J]. Molecular Plant Pathology, 2004, 5(6): 515-525.
- [11] NYVALL R F. Field crop diseases[M]. Oxford: Blackwell Publishing, 1999: 279-280.
- [12] O'DONNELL K, WARD T J, GEISER D M, KISTLER H C, AOKI T. Genealogical concordance between mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade[J]. Fungal Genetics and Biology, 2004, 41: 600-623.
- [13] 秦子惠, 任旭, 江凯, 武小菲, 杨知还, 王晓鸣. 我国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5): 589-596.
- QIN Z H, REN X, JIANG K, WU X F, YANG Z H, WANG X M. Identification of *Fusarium* species and *F. graminearum* species complex causing maize ear rot in China[J]. Journal of Plant Protection, 2014, 41(5): 589-596. (in Chinese)
- [14] ARRUDA M H M D, ZCHOSNKI F L, SILVA Y K, LIMA D L D, DAURI J T, DA-SILVA P R. Genetic diversity of *Fusarium meridionale*, *F. austroamericanum* and *F. graminearum* isolates associated with *Fusarium* head blight of wheat in Brazil[J/OL]. Tropical Plant Pathology, 2021(1). DOI:10.1007/S40858-020-00403-3.
- [15] 张昊. 中国麦类赤霉病菌群体遗传多样性及生态适应性研究[D]. 北京: 北京中国农业科学院, 2011.
- ZHANG H. Population genetic diversity and ecological adaptation of *Fusarium graminearum* species complex from wheat and barley in China[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation, 2011. (in Chinese)
- [16] ZHOU D, WANG X, CHEN G, SUN S, YANG Y, ZHU Z, DUAN C. The major *Fusarium* species causing maize ear and kernel rot and their toxigenicity in Chongqing, China[J]. Toxins, 2018, 10(2): 90.
- [17] 周洁, 丁自立, 杨朝柱, 温亮, 矫振彪, 吴金平. 魔芋贮藏期干腐病原菌鉴定及室内药效初报[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(2): 11-16.
- ZHOU J, DING Z L, YANG C Z, WEN L, JIAO Z B, WU J P. Pathogen identification of dry rot of *Amorphophallus konjac* storage period and indoor fungicide-screening[J]. China Plant Protection, 2018, 38(2): 11-16. (in Chinese)
- [18] WOLCAN S M, MOURELOS C A, SISTERNA M N, GONZÁLEZ M DEL P, ALIPPI A M, NICO A, LORI G A. Diseases of *Gypsophila*[M]//MCGOVERN R J, ELMER W H. Handbook of florists' crops diseases. Cham: Springer International Publishing, 2018: 561-582.
- [19] FARR D F, BILLS G F, GAMURIS G P, ROSSMAN A Y. Fungi on plants and plant products in the United States[J]. Mycologia, 1990, 42(3): 243-246.
- [20] ORLIKOWSKI L B, WOJDYLA A, SKRZYPC ZAK C. Diseases of *Gypsophila paniculata* in Poland and their control. Stem rot of *Gypsophila paniculata* incited by *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* and *Fusarium culmorum*[J]. Prace Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa Skierniewicach, 1991, 6: 157-162.
- [21] WOLCAN S M, RONCO L, LORI G A. Basal rots of *Gypsophila paniculata* (Caryophyllaceae): causal agents and their potential pathogenicity on *Dianthus caryophyllus* (Caryophyllaceae)[J]. Boletín De La Sociedad Argentina De Botánica, 2007, 42(3/4): 159-167.
- [22] 方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2007: 138.
- FANG Z D. Research methods of plant diseases[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 138. (in Chinese)
- [23] LEE H B, KIM C J, MUN H Y, CHOI H S, YUN H O. First report of crown rot on *Gypsophila* (*Gypsophila paniculata*) caused by *Fusarium proliferatum* in Korea[J]. Plant Disease, 2011, 95(2): 220.

- [24] LESLIE J F, SUMMERELL B A. The *Fusarium* laboratory manual[M]. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2006: 176-179.
- [25] 易润华, 朱西儒, 周而勋. 简化 CTAB 法快速微量提取丝状真菌 DNA[J]. 湛江海洋大学学报, 2003(6): 72-73.
YI R H, ZHU X R, ZHOU E X. Rapid and micro extraction of filamentous fungi DNA by simplified CTAB method[J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 2003(6): 72-73. (in Chinese)
- [26] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J. PCR Protocols: a guide to methods and applications. San Diego, California: Academic Press, 1990: 315-322.
- [27] MIRETE S, VÁZQUEZ C, MULÈ G, JURADO M, GONZÁLEZ-JAÉN M T. Differentiation of *Fusarium verticillioides* from banana fruits by IGS and EF-1 α sequence analyses[J]. European Journal of Plant Pathology, 2004, 110(5): 515-523.
- [28] 张祥丽, 曹瑛艳, 杨怡华, 宋阳, 申屠旭萍, 俞晓平. 铁皮石斛镰刀菌根腐病原菌的鉴定及其对链霉菌发酵液的敏感性分析[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(1): 258-266.
ZHANG X L, CAO Z Y, YANG Y H, SONG Y, SHENTU X P, YU X P. Identification of the pathogen causing root rot of *Dendrobium officinale* and sensitivity to the fermentation broth of *Streptomyces*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(1): 258-266. (in Chinese)
- [29] 雷娅红, 况卫刚, 郑春生, 李秀璋, 高文娜, 李春杰. 基于 DNA 条形码技术对镰刀菌属的检测鉴定[J]. 植物保护学报, 2016, 43(4): 544-551.
LEI Y H, KUANG W G, ZHENG C S, LI X Z, GAO W N, LI C J. Detection and identification of the genus *Fusarium* by DNA barcoding[J]. Journal of Plant Protection, 2016, 43(4): 544-551. (in Chinese)
- [30] DUBEY S C, PRIYANKA K, SINGH V. Phylogenetic relationship between different race representative populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in respect of translation elongation factor-1 α , β -tubulin, and internal transcribed spacer region genes[J]. Archives of Microbiology, 2014, 196(6): 445-452.
- [31] ZARRIN M, GANJ F, FARAMARZI S. Development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for identification of the *Fusarium* genus using the transcription elongation factor-1 α gene[J]. Biomedical Reports, 2016, 5(6): 705-708.
- [32] DONG F, HONG X J, SHI J R, MDUDUZI P M, ADEMOLA O O, CHEN X Y, LEE Y W. First report of *Fusarium* head blight caused by *Fusarium meridionale* in rice in China[J]. Plant Disease, 2020, 104(10): 2726-2727.
- [33] VILGALYS R, SUN B L. Ancient and recent patterns of geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequences[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(10): 4599-4603.
- [34] NILSSON R H, TEDERSOO L, ABARENKOV K, RYBERG M, KRISTIANSSON E, HARTMANN M, SCHOCH C L, NYLANDER J A A, BERGSTEN J, PORTER T M. Five simple guidelines for establishing basic authenticity and reliability of newly generated fungal ITS sequences[J]. MycoKeys, 2012(4): 37-63.
- [35] O'DONNELL K, AL-HATMI A, AOKI T, BRANKOVICS B, ZHANG N Z. No to *Neocosmospora*: phylogenomic and practical reasons for continued inclusion of the *Fusarium solani* species complex in the genus *Fusarium*[J]. Ecological and Evolutionary Science, 2020, 5(5): e00810-20.
- [36] GEISER D M, AL-HATMI A, AOKI T, ARIE T, ZHANG X. Phylogenomic analysis of a 55.1 kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex[J]. Phytopathology, 2020, 111(7): 1064-1079.
- [37] CROUS P W, LOMBARD L, SANDOVAL-DENIS M. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell[J]. Studies in Mycology, 2021, 98: 100116.