

山西省植物病原镰孢菌种群分布及遗传变异分析

王琳, 李新凤, 徐玉梅, 畅引东, 王建明

(山西农业大学农学院, 山西太谷 030801)

摘要:【目的】通过对镰孢菌 (*Fusarium*) ITS、*EF-1α* 和 β -*tubulin* 3 个基因序列比较分析, 筛选适合于镰孢菌种类鉴定的基因序列, 并以此序列分析山西省植物病原镰孢菌种群分布及遗传变异情况。【方法】从 2013—2015 年在山西省 11 市 28 县(区)采集分离的 625 株镰孢菌菌株中选取形态学清晰的菌株进行 ITS、*EF-1α* 和 β -*tubulin* 基因序列联合分析, 运用 Sequencher 软件对序列进行拼接和校对, 将测序结果与 NCBI 及 FUSARIUM-ID 数据库中所有已公布的序列进行 BLAST 分析, 结合下载概念清晰或标准种序列, 运用 ClustalX 和 GelDoc 软件进行序列对齐和编辑, 运用 MEGA、Excel、DNAstar 和 TaxonGap 软件分析镰孢菌种内种间遗传变异情况, 从 ITS、*EF-1α* 和 β -*tubulin* 中筛选适合镰孢菌种类鉴定的基因序列, 并以此序列分析山西省镰孢菌的种群分布特点等。【结果】在 3 个候选基因序列中, *EF-1α* 基因序列是最适用于镰孢菌种类鉴定的基因序列, 其种间平均遗传距离分别是种内平均遗传距离的 24 倍, 种内差异小于种间差异的种的数量最多, 达到供试种的 73%, 物种鉴定准确率最强, 达到 87%。基于 *EF-1α* 基因片段的系统发育分析结果表明, 在供试的 27 种镰孢菌中, 有 22 种表现出单系性, 相同种的不同菌株以较高支持率聚成独立支。在 27 种镰孢菌中, *F. oxysporum* 是山西省镰孢菌的优势种, 分离频率最高 (22.1%), 且分布最广, 在 23 个县(区)均有分布; 其次是 *F. solani* (13.8%), 在 14 个县(区)有分布。从不同地区镰孢菌的种群结构及分布来看, 运城、临汾、忻州、长治、吕梁、晋中和太原均以 *F. oxysporum* 为优势种, 朔州以 *F. lateritium* 为优势种, 大同以 *F. solani* 为优势种, 晋城以 *F. verticillioides* 为优势种, 阳泉以 *F. incarnatum* 为优势种; 其中晋中和忻州的镰孢菌种类最丰富, 临汾次之, 朔州最少。从不同寄主镰孢菌的种群结构及分布来看, 番茄上镰孢菌的种类最多 (15 种), 其次是马铃薯 (13 种) 和大豆 (12 种); 番茄、黄瓜、西瓜、马铃薯、茄子、西葫芦和甘蓝, 均以 *F. oxysporum* 为优势种, 大豆和玉米以 *F. verticillioides* 为优势种, 小麦以 *F. avenaceum* 和 *F. graminearum* 为优势种。【结论】镰孢菌种内种间存在丰富的遗传变异, 其中 *EF-1α* 基因序列的遗传变异最适用于镰孢菌种类的鉴定, 但形态学种和系统发育学种不完全吻合。*F. oxysporum* 是山西省镰孢菌的优势种, 不同地区、不同寄主上镰孢菌种群存在明显的遗传分化; 研究结果可为镰孢菌的分类鉴定、DNA 条形码筛选、检验检疫及其综合防治提供理论依据。

关键词: 镰孢菌; 种群分布; 种内种间差异; 遗传变异; 系统发育分析

Analysis of Population Distribution and Genetic Variation of Plant Pathogenic *Fusarium* in Shanxi Province

WANG Lin, LI XinFeng, XU YuMei, CHANG YinDong, WANG JianMing

(College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi)

Abstract:【Objective】The objectives of this study are to obtain the sequences of ITS, *EF-1α* and β -*tubulin* gene regions from plant pathogen, *Fusarium* spp., compare the suitable gene sequences for species identification, and to analyze the population

收稿日期: 2017-01-25; 接受日期: 2017-03-27

基金项目: 山西省科技攻关项目 (20120311019-3)、山西省科技基础条件平台建设项目 (1105-0104)

联系方式: 王琳, E-mail: wwl0621@163.com。通信作者王建明, E-mail: jm.w@163.com

distribution and genetic variation of *Fusarium* spp. in Shanxi Province by using the suitable gene sequences. 【Method】 A total of 625 *Fusarium* strains were collected from 28 counties and 11 cities in Shanxi Province from 2013 to 2015. The ITS, *EF-1 α* and β -tubulin gene fragments of the morphology of clear strains from 625 strains were sequenced and analyzed. The sequences were assembled and edited using Sequencher software, then blasted in GenBank in NCBI and FUSARIUM-ID databases. The sequences from the clearly documented and reference species were downloaded. All the sequences were aligned and edited manually using ClustalX and GelDoc. The inter- and intra-specific variations of *Fusarium* spp. were analyzed with MEGA, Excel, DNASTar and TaxonGap. All the three gene sequences consisting of ITS, *EF-1 α* and β -tubulin were selected for the taxonomy of the *Fusarium* species and then the best optimal fragment genes were used in the analysis of the population distributions of *Fusarium* spp. in Shanxi Province. 【Result】 *EF-1 α* was the best gene fragment for identifying *Fusarium* species among the three candidate gene fragments. Intra-specific pairwise distances was 24 times higher than that of the inter-specific pairwise distances. The intra-specific variation was smaller than those of the inter-specific variation by 73% of the tested species. The accuracy rate for identification was the highest, reached 87%. The phylogenetic relationships derived from the *EF-1 α* sequences showed that different strains in 22 of 27 *Fusarium* species were monophyly, clustering in a same clade with high supporting values. Among the 27 species of *Fusarium*, *F. oxysporum* was the dominant species with 22.1% frequency and covered the largest geographical distribution in the 23 counties or regions in Shanxi Province. Followed by *F. solani* with 13.8% in 14 counties or regions. The results of population distribution of *Fusarium* in different geographical regions in Shanxi Province showed that *F. oxysporum* was the dominant species in Yuncheng, Linfen, Xinzhou, Changzhi, Lüliang, Jinzhong and Taiyuan city; *F. lateritium* was the dominant species in Shuozhou, *F. solani* in Datong, *F. verticillioides* in Jincheng and *F. incarnatum* in Yangquan. Among the different regions in Shanxi Province, the most abundant *Fusarium* species was in Jinzhong and Xinzhou, followed by Linfen, and the least distribution was in Shuozhou. The results of the population distribution of *Fusarium* from different hosts showed that the 15 *Fusarium* species extracted from *Lycopersicon esculentum*, 13 species from *Solanum tuberosum* and 12 from *Glycine max*. In these hosts, *F. oxysporum* was the dominant species in *Lycopersicon esculentum*, *Cucumis sativus*, *Citrullus lanatus*, *Solanum tuberosum*, *Solanum melongena*, *Cucurbita pepo* and *Brassica oleracea*. *F. verticillioides* was the dominant species in *Glycine max* and *Zea mays*. *F. avenaceum* and *F. graminearum* were the dominant species in *Triticum aestivum*. 【Conclusion】 There are abundant genetic variation between inter- and intra-specific of *Fusarium*. Of the three gene regions, *EF-1 α* is the most suitable region for *Fusarium* species identification. *Fusarium* morphological taxonomy results are not fully agreed with the molecular phylogenetic results using *EF-1 α* sequences. *F. oxysporum* is the dominant *Fusarium* species in Shanxi Province. There are obvious genetic variations of *Fusarium* populations in different districts and hosts. The research results will provide a theoretic and scientific basis for *Fusarium* taxonomy, DNA barcode screening, quarantine and integrated control.

Key words: *Fusarium*; population distribution; intra- and inter-specific variation; genetic variation; phylogenetic analysis

0 引言

【研究意义】 镰孢菌是一类重要的植物病原菌, 它可侵染诱发多种植物的萎蔫、根腐以及腐烂病等, 对人类生产生活影响极大。由于镰孢菌的多型性与易变异等特点, 使得其被认为是所有真菌类群中在形态分类上最难鉴定的属之一^[1]。而正确识别并鉴定其种类是镰孢菌各个研究领域的基础^[2], 因此, 在形态学鉴定的基础上, 选择准确的特异性分子鉴定方法, 对镰孢菌的鉴定具有重要的理论和应用价值。【前人研究进展】 近年来, 传统形态学和分子鉴定相结合的方法已在镰孢菌分类鉴定中得到了广泛应用^[3-4], 但微乎其微的形态学差异以及单一序列信息的局限性, 仍使镰孢菌属种的鉴定面临诸多困难。DIEPENINGEN 等^[5]曾证实多基因位点联合分析能更准确对物种进行

鉴定。所以采取多基因位点联合分析, 是解决镰孢菌属种鉴定的有效途径, 筛选适合的基因序列片段并明确其在鉴定中的特异性和适用性, 是首先需要解决的一个重要的科学问题。目前, 有关利用多基因位点联合分析对镰孢菌种进行鉴定的研究有些报道, 曾莉莎等^[6]评价了 ITS、*TEF-1 α* 、IGS、*histone H3*、 β -tubulin 等 5 个基因片段在香蕉枯萎病菌生理小种鉴定上的应用价值, 发现 *TEF-1 α* 、IGS 和 *histone H3* 等 3 个基因片段可用于香蕉枯萎病菌生理小种鉴定; 王容燕等^[7]利用 ITS、*TEF-1 α* 和 β -tubulin 3 个基因片段实现了对甘薯镰孢菌腐烂与溃疡病的病原菌鉴定。这些研究主要是用于少量镰孢菌种和生理小种的鉴定, 利用多基因位点联合分析方法进行较大范围的镰孢菌种类鉴定和种群分布研究尚无系统详细的报道。【本研究切入点】 山西省地形独特, 气候特殊, 作物种类繁杂, 因

此镰孢菌引起的病害数量和分布种类亦多。多年来,研究者对山西省多种植物病原镰孢菌做了大量的分类鉴定基础工作^[8-12],但往往都只是采用形态学鉴定的方法,针对局部范围或局限在某一类寄主上,有关采用形态学结合分子鉴定方法分析山西省各地区的镰孢菌种群分布情况的研究尚未见报道。【拟解决的关键问题】选取ITS、EF-1 α 和 β -tubulin 3个候选基因,从种内种间差异、遗传距离频率分布和构建系统发育树等方面,对镰孢菌的种内种间遗传变异及系统发育关系进行分析,评价3个候选基因在镰孢菌种类鉴定上的适用性,从中筛选适合镰孢菌种类鉴定的基因序列,对山西镰孢菌进行分子鉴定,并分析山西省镰孢菌种群分布特点和遗传分化情况,为今后开展镰孢菌的分类鉴定、筛选DNA条形码、检验检疫以及病害诊断提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株及序列信息

供试菌株共27种43株,由山西农业大学农学院植物病理重点实验室提供(所提供的菌株采集于2013—2015年间,从山西省11个市共28个县(区)的罹

病植物分离获得,分离部位包括果实、种子、茎部、根部、穗部、叶部等,并经过形态学鉴定),以*Neonectria ramulariae*为外群;供试序列共124条,其中自测序列39条,下载序列85条。供试菌株及序列详细信息见附表1。

1.2 模板DNA的制备

菌体获得:将活化后的镰孢菌单孢菌株接种于查彼培养液中^[13],于25℃,150—200 r/min,恒温振荡培养5 d后,用真空抽滤泵抽滤菌丝,用无菌超纯水冲洗2遍,置于真空冷冻干燥机内冻干,回收备用。

镰孢菌基因组DNA制备:DNA提取采用CTAB法^[14],于凝胶成像仪(WD-9413A, ABI)内检测DNA质量,用紫外可见分光光度计(UV-2802S, ABI)检测DNA浓度,贮存于-20℃冰箱中备用。

1.3 PCR扩增及测序

PCR反应在BIO-RAD C1000 PCR仪上进行,所用引物信息见表1,反应体系及条件参考赵鹏等^[20],并稍加改动。PCR产物经BigDye Terminator Ready Reaction Mix v3.1(Applied Biosystems, USA)纯化,使用ABI 3730型基因分析仪进行双向测序,由上海生工生物股份有限公司完成。

表1 PCR扩增和测序引物

Table 1 Primers used for PCR amplification and sequencing

序列名称 Sequence name	引物 Primer	序列 Sequence (5'-3')	来源 Source
ITS	ITS1 (forward)	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	文献[15] 参考文献[15]
	ITS4 (backward)	TCCTCCGCTTATTGATATGC	文献[15] 参考文献[15]
EF-1 α	728F (forward)	CATCGAGAACGTTGAGAAGG	文献[16] 参考文献[16]
	1567R (backward)	ACHGTRCCRATACCACCRATCTT	文献[17] 参考文献[17]
β -tubulin	1567Ra (backward)	ACHGTRCCRATACCACC	http://www.aftol.org/pdfs/EF1primer.pdf
	T1 (forward)	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	文献[18] 参考文献[18]
	T222 (backward)	GACCGGGGAAACGGAGACAGG	文献[18] 参考文献[18]
	Bt2b (backward)	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	文献[19] 参考文献[19]

1.4 序列编辑及比对

用Sequencher 5.2.2(Gene Codes Corp.)对测序结果进行校对拼接,用ClustalX 1.81^[21]进行序列比对,GelDoc^[22]将比对结果进行编辑。登陆NCBI数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>)及FUSARIUM-ID数据库(<http://fusarium.cbio.psu.edu/>),将ITS、EF-1 α 和 β -tubulin测序结果与数据库中所有已公布的序列进行BLAST分析。

1.5 序列数据分析

下载概念清晰或标准种的相关序列,结合本研究形态学清晰的5种13株菌株,基于ITS、EF-1 α 和 β -tubulin 3个候选基因,共15种34株102条序列,以*Neonectria ramulariae*为外群,使用MEGA4.0.2^[23]软件,分析序列特征,以P-distances模型计算种内种间遗传距离^[24],结合Excel 2010分析种内种间遗传距离的频率分布情况^[25],应用DNAstar 7.1.0^[26](Lasergene,

WI, USA) 计算遗传相似性矩阵, 将结果输入 TaxonGap^[27] 分析种内种间序列差异情况, 分析镰孢菌种内种间遗传变异情况; 构建邻接树 (NJ 树, neighbor-joining tree), 采用自展法进行 1 000 次检测分支支持率, 选用 K2P (Kimura's two-parameter) 模型, 系统树支持率仅显示高于 50% 的数值, 以检验种的单系性^[28]。

1.6 种的鉴定方法

从形态学鉴定的种中选取一些代表性菌株, 进行基于 *EF-1 α* 基因序列的 PCR 扩增及测序, 将测序结果分别在 NCBI 数据库和 FUSARIUM-ID 数据库中进行 BLAST 比对, 并下载同源性较高并来源可靠的序列, 构建邻接树。

1.7 山西省镰孢菌种群分布分析

根据菌株分离频率情况对山西省镰孢菌优势种进行分析; 根据菌株类型和数量情况对不同地区和不同寄主镰孢菌种群结构及种群分布进行分析。

2 结果

2.1 ITS、*EF-1 α* 和 β -tubulin 3 个候选基因序列特征

序列经过拼接、编辑、对齐和整理后, ITS 序列长度为 405—541 bp, *EF-1 α* 序列长度为 443—509 bp, β -tubulin 序列长度为 330—550 bp; 碱基组成具有一定的 G+C 含量偏向性; 转换/颠换依次为 β -tubulin>*EF-1 α* >ITS; 变异位点依次为 β -tubulin>*EF-1 α* >ITS; 保守位点依次为 ITS> β -tubulin>*EF-1 α* ; 简约信息位点依次为 *EF-1 α* > β -tubulin>ITS (表 2)。

2.2 基于遗传相似性的种内种间差异分析

基于 *EF-1 α* 和 β -tubulin 基因序列分析的最小种间差异分别为 3% 和 1% 左右, 均发生在 *F. graminearum* 和 *F. culmorum* 之间, 最大种间差异均发生在与外群之间; 基于 ITS 序列分析的最小种间差异接近于 0,

发生在 *F. avenaceum* 和 *F. tricinctum* 之间, 最大种间差异发生在 *F. lateritium* 和 *F. solani* 之间。ITS、*EF-1 α* 和 β -tubulin 3 个候选基因, 种内差异小于种间差异的种分别达到供试种的 40% (6/15)、73% (11/15) 和 53% (8/15), 而种内差异小于种间差异, 有利于区分鉴定物种 (图 1)。故 *EF-1 α* 基因序列是 3 个候选基因中最适合用作区分鉴定镰孢菌的基因序列。

2.3 基于遗传距离频率分布的种内种间差异

基于 ITS、*EF-1 α* 和 β -tubulin 基因序列分析, 遗传距离范围分别为 0—0.17、0—0.76 和 0—0.52, 种内平均遗传距离分别为 0、0.01 和 0.01, 种间平均遗传距离分别为 0.09、0.24 和 0.18, 种间平均遗传距离分别是种内平均遗传距离的 9、24 和 18 倍 (图 2)。故 *EF-1 α* 基因序列是其中种间差异较种内差异最大的基因序列。

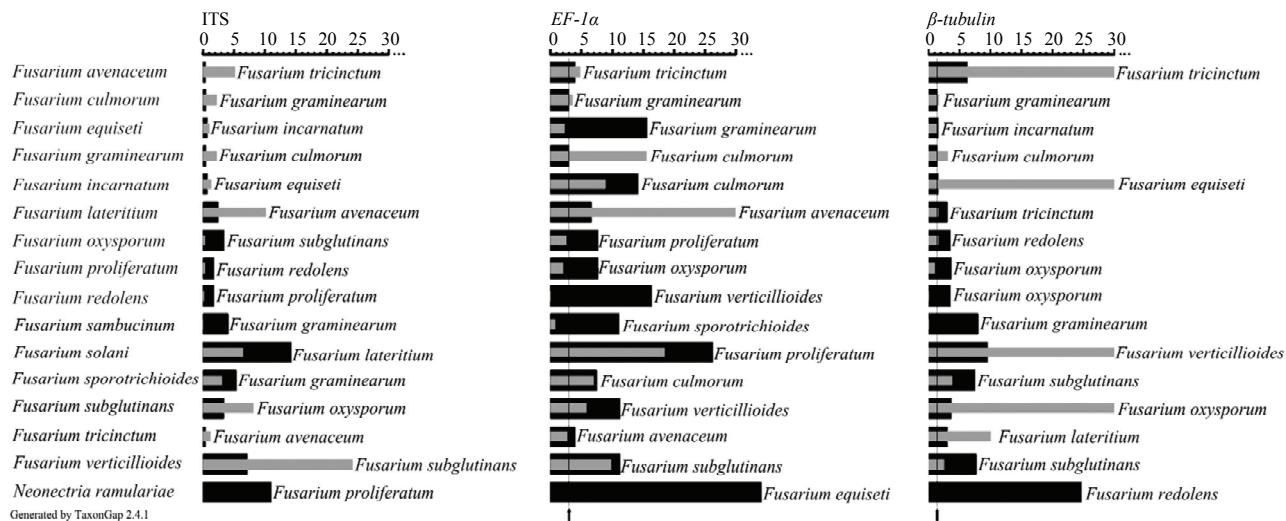
2.4 系统发育树的构建

由图 3—图 5 可看出, 分别基于 *EF-1 α* 、 β -tubulin 和 ITS 基因序列构建的 NJ 树均以较高支持率被划分为 4 个 Clade (Clade I-IV)。基于 *EF-1 α* 和 β -tubulin 序列分别构建的 NJ 树的拓扑结构基本一致, 与基于 ITS 序列构建的 NJ 树存在差异, 且在个别种的区分上三者均存在一定差异。在图 3 中, 有 13 个种表现出单系性, *F. verticillioides* 和 *F. tricinctum* 虽未表现出单系性, 但也与其他种明显区分开, 物种鉴定率达到 87% (13/15); 在图 4 中, 有 11 个种表现出单系性, *F. tricinctum*、*F. subglutinans*、*F. incarnatum* 和 *F. lateritium* 未表现出单系性, 物种鉴定率为 73% (11/15); 在图 5 中, 有 10 个种表现出单系性, *F. verticillioides*、*F. tricinctum*、*F. incarnatum*、*F. graminearum* 和 *F. avenaceum* 未表现出单系性, 物种鉴定率为 67% (10/15)。综上所述, *EF-1 α* 基因序列是 3 个候选基因中区分鉴定镰孢菌准确率最高的基因序列。

表 2 序列碱基组成及变异率

Table 2 Base composition and variation rate of sequences

序列 Sequence	序列平均长度 Average length of the sequence (bp)	G+C 含量 Content of G+C (%)	转换/颠换 Convert/ transversion	变异位点 Variable sites	保守位点 Conserved sites	简约信息位点 Parsimony-informative sites
ITS	405-541	50.4	0.78	132 (23.6%)	419 (74.96%)	115 (20.6%)
<i>EF-1α</i>	443-509	51.8	1.37	295 (55.6%)	230 (43.3%)	242 (45.6%)
β -tubulin	330-550	54.2	1.41	302 (52.6%)	260 (45.3%)	209 (36.4%)



左侧为供试菌株目录，灰色和黑色柱条分别代表种内和种间差异，黑色细线代表最小的种间差异，黑色柱条右侧名称代表对应于左侧菌株目录种间差异最小的菌株，以 *Neonectria ramulariae* 为外群。The grey and black bars represented the intra- and inter-specific variations, respectively. The thin, black line indicated the smallest inter-specific variation. Taxon names next to the dark bars indicated the closest species of the species listed on the left. *Neonectria ramulariae* was used as outgroup。

图 1 各基因片段的种内种间差异比较（使用 TaxonGap 和 DNAsstar 软件）

Fig. 1 Comparisons of intra- and inter-specific variations of the gene sequence generated by the softwares TaxonGap and DNAsstar

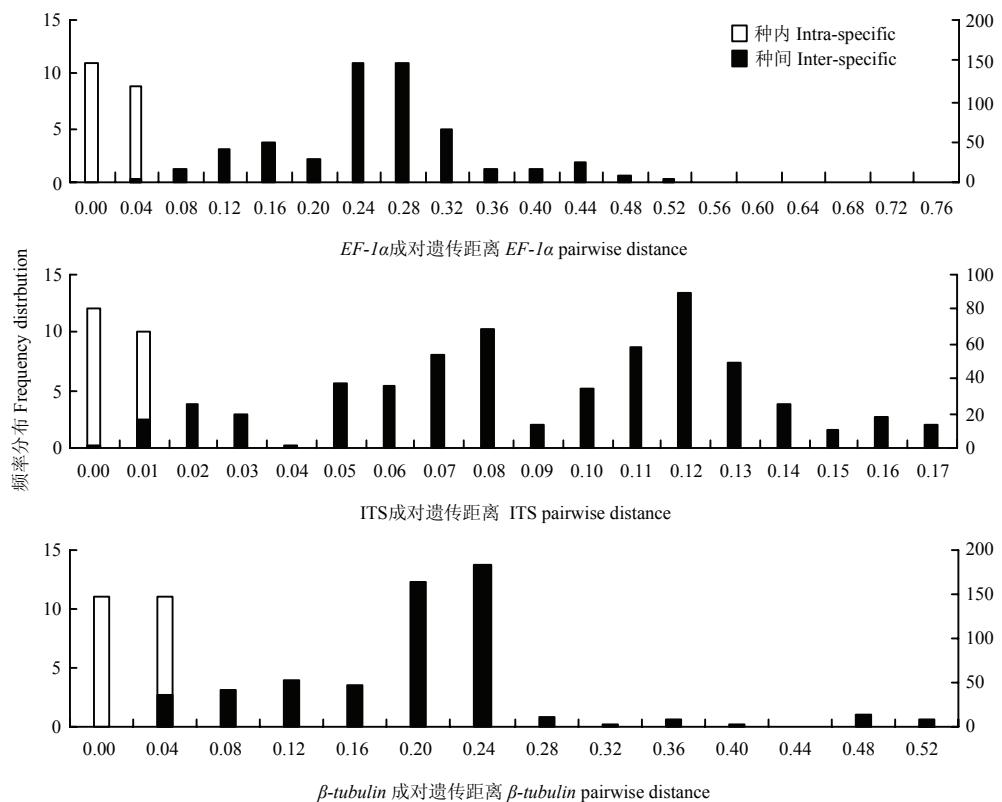
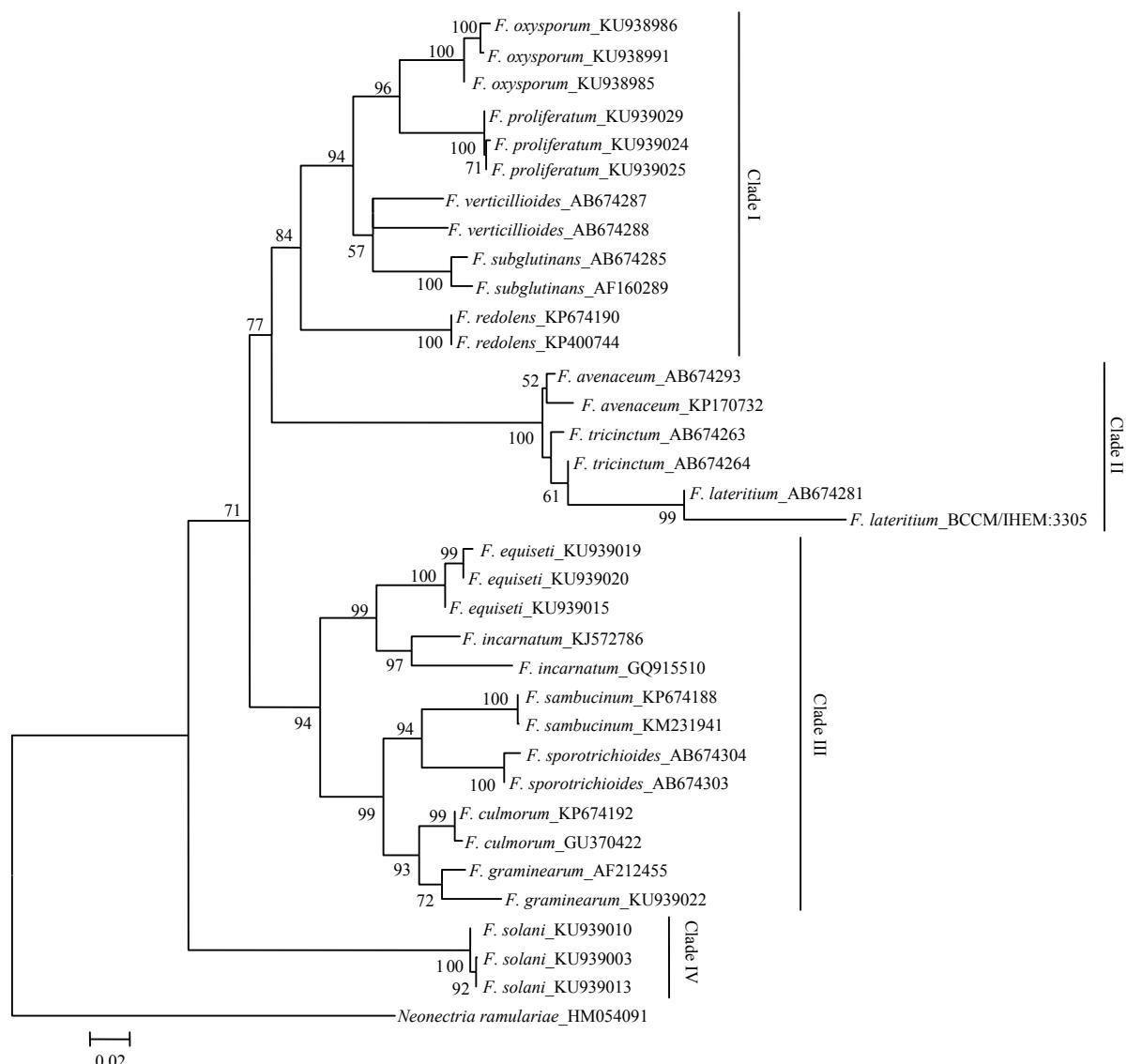


图 2 各基因序列种内种间遗传距离的频率分布

Fig.2 Frequency distribution of intra- and inter-specific pairwise distances of the gene sequence generated with MEGA and Excel

图3 构建基于 *EF-1 α* 序列的邻接系统发育树Fig. 3 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree inferred from *EF-1 α* sequences

2.5 山西省镰孢菌种的鉴定

在 GenBank 和 FUSARIUM-ID 数据库中的比对结果如表 3 所示, 40 株菌株的测序结果与数据库中相关种的 *EF-1 α* 基因序列同源性均达 92%—98%, *F. aquaeductuum*、*F. sambucinum* var. *coeruleum* 和 *F. trichothecioides* 测序失败, 未能进行比对。将获得的 40 条序列结合下载的 24 条同源性序列, 以 *Neonectria ramulariae* 为外群, 共 65 条序列进行比对分析, 结果表明, *EF-1 α* 序列长度为 423—666 bp, 碱基组成具有一定的 G+C 含量偏向性 (52.1%) ; 转换/颠换值为 1.03; 变异位点为 551 (72.5%) ; 保守位点为 193

(25.4%) ; 简约信息位点为 460 (60.5%) ; 自裔位点为 90 (11.8%)。构建的系统发育树如图 6 所示, 相同种的不同菌株均能聚在一起, 除了 *F. tricinctum* 和 *F. acuminatum* 未成独立分支外, 其余 22 种的不同菌株均以较高支持率分别聚成独立分支, 表现出单系性。结果说明, 系统发育学种的鉴定结果与形态学鉴定结果存在差异。

2.6 山西省镰孢菌种群分布分析

2.6.1 山西省镰孢菌分离频率及地理分布 分离频率 >8% 的有 4 种, 其中最高的为 *F. oxysporum* (22.1%); 其他的依次为 *F. solani* (13.8%)、*F. verticillioides*

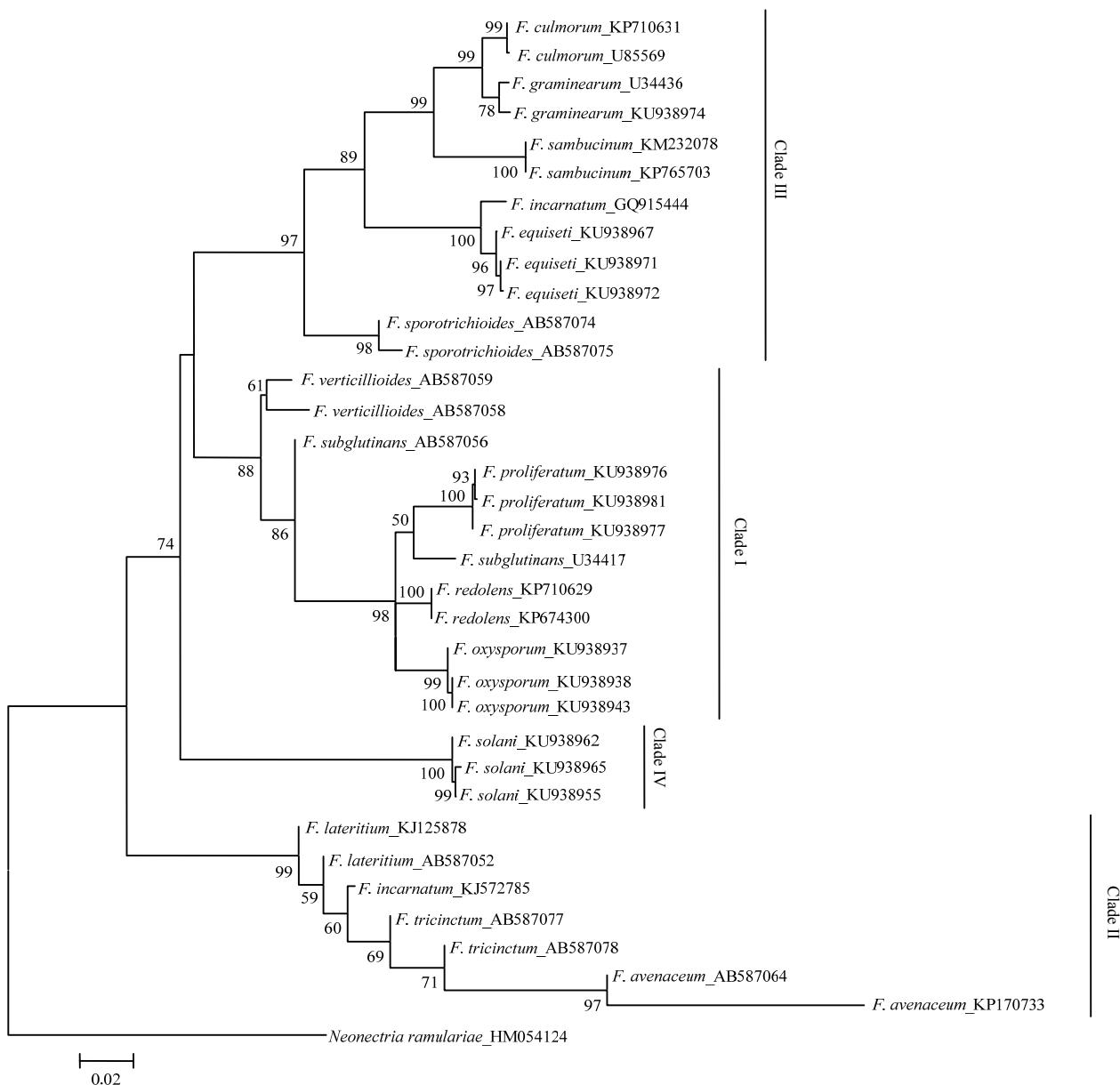


图 4 构建基于 β -tubulin 序列的邻接系统发育树

Fig. 4 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree inferred from β -tubulin sequences

(10.1%)、*F. incarnatum* (8.6%)；分离频率 $>2\%$ 的有8种，依次为*F. equiseti* (6.7%)、*F. coeruleum* (6.1%)、*F. redolens* (4.6%)、*F. acuminatum* (3.4%)、*F. lateritium* (3.1%)、*F. proliferatum* (2.2%)、*F. subglutinans* (2.2%)和*F. avenaceum* (2.1%)；分离频率 $<2\%$ 的有15种，其中*F. heterosporum*和*F. trichothecioides*均为1.8%，*F. sporotrichioides*、*F. camptoceras*、*F. ventricosum*和*F. chlamydosporum*均为1.3%，*F. udum*、*F. tricinctum*、*F. culmorum*和*F.*

*graminearum*均为1%，*F. illudens*、*F. sambucinum*和*F. aqueductuum*均为0.6%，*F. sambucinum* var. *coeruleum*和*F. merismoides*均为0.3%。故*F. oxysporum*为山西省镰孢菌的优势种(图7)。

以*F. oxysporum*分布范围最广泛，在23个县(区)均有分布；其次是*F. solani*和*F. incarnatum*，分别在14和13个县(区)均有分布；*F. sambucinum* var. *coeruleum*和*F. graminearum*分布范围最小，仅在五寨分离到(图8)。

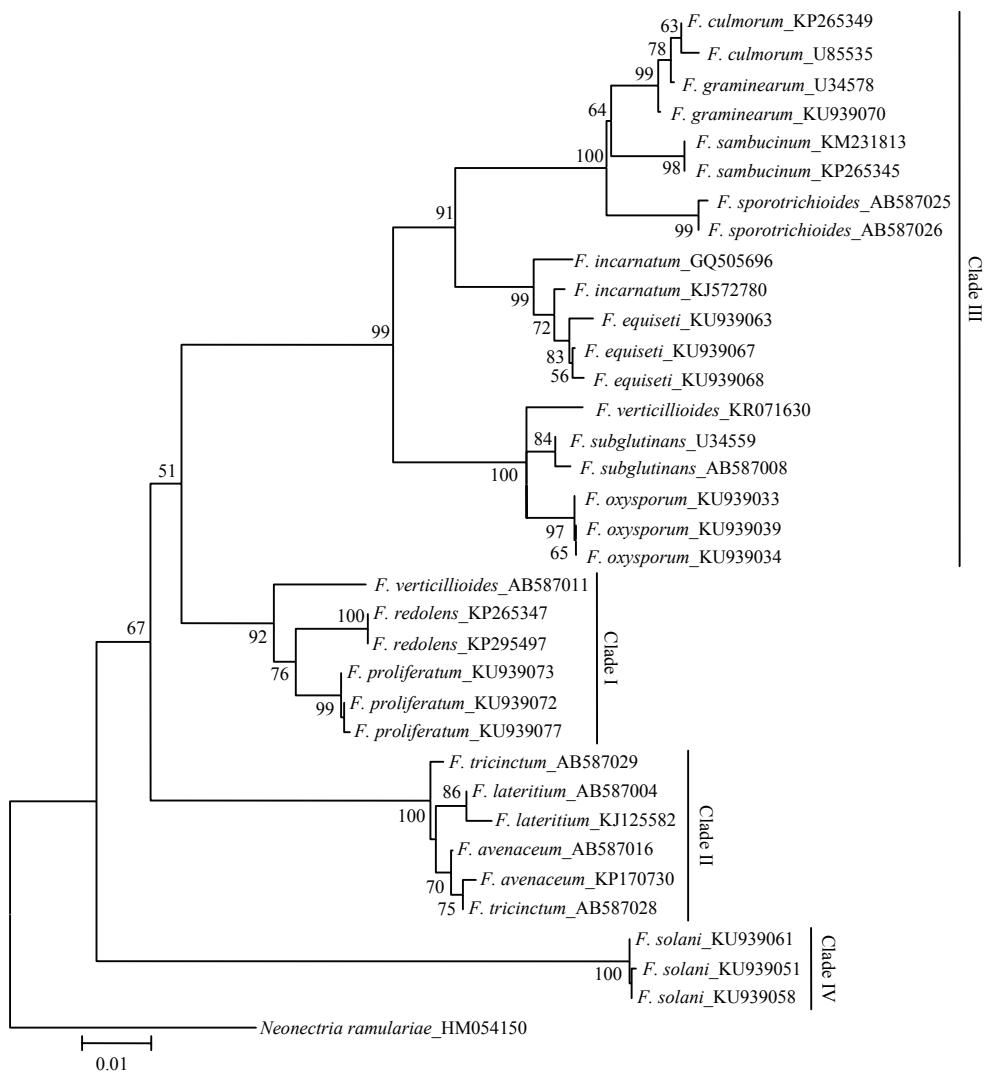


图 5 构建基于 ITS 序列的邻接系统发育树

Fig. 5 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree inferred from ITS sequences

2.6.2 不同地区镰孢菌种群结构及分布 运城 (33.3%)、临汾 (16.1%)、忻州 (18.4%)、长治 (27.3%)、吕梁 (15.8%)、晋中 (23.1%) 和太原 (46.2%) 均以 *F. oxysporum* 为主；朔州以 *F. lateritium* 为主 (60%)；大同以 *F. solani* 为主 (33.3%)；晋城以 *F. verticillioides* 为主 (27.3%)；阳泉以 *F. incarnatum* 为主 (50%) (图 9)。晋中市和忻州市分离到镰孢菌种类最多 (22 种)，其他依次为临汾 (19 种)、吕梁 (12 种)、长治 (11 种)、运城和晋城 (8 种)、大同 (7 种)、阳泉和太原 (3 种) 和朔州 (2 种) (图 10)。因此，晋中市和忻州市的镰孢菌种类最丰富，临汾市次之，朔州市最少。

2.6.3 不同寄主中镰孢菌种群结构及分布 不同寄

主中镰孢菌种群结构及分布分析如表 4 所示。由表 4 可看出，在番茄 (果实)、黄瓜 (茎基、根部) 和玉米 (茎部、穗部、种子) 等 10 个寄主上均能分离到不同种类的镰孢菌，分离种和菌株数量分别占到全部种和菌株数量的 92.6% 和 71.5%。番茄上分离到的镰孢菌种类最多 (15 种)；其次是马铃薯 (13 种)、大豆 (12 种)、黄瓜 (6 种) 和玉米 (8 种)，其余寄主也分离到 3—4 种。番茄、黄瓜、西瓜、马铃薯、茄子、西葫芦以及甘蓝，均以 *F. oxysporum* 为优势种；大豆和玉米以 *F. verticillioides* 为优势种，小麦以 *F. avenaceum* 和 *F. graminearum* 为优势种；*F. aquaeductuum* 和 *F. sambucinum* var. *coeruleum* 在上述几种寄主中未分离到。

表3 基于 *EF-1α* 基因序列的 PCR 和分子鉴定结果Table 3 PCR result and molecular identification based on *EF-1α* sequences

菌株 Isolate	形态学鉴定 Morphological identification	序列鉴定 Sequence based identification	同源性序列 Sequence with best match	相似性 Identity (%)	PCR 结果 PCR result	菌株 Isolate	形态学鉴定 Morphological identification	序列鉴定 Sequence based identification	同源性序列 Sequence with best match	相似性 Identity (%)	PCR 结果 PCR result
XFFQ-1	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. acuminatum</i>	FD_01726	99	+	CH30	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	KT323864	99	+
TGFQ-1						XGDBF-1				99	+
NWYH-1	<i>F. aquaeductuum</i>				*	HGDHF-2				99	+
DTCD-2	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. avenaceum</i>	EU744841	98	+	CD-1	<i>F. proliferum</i>	<i>F. proliferum</i>	KF022239	98	+
XZSZ-1						CD-3				98	+
LFXM-2	<i>F. campioceras</i>	<i>F. campioceras</i>	GQ915504	98	+	CZHG-2	<i>F. redolens</i>	<i>F. redolens</i>	FD_01077	99	+
TGCD-1	<i>F. chlamydosporum</i>	<i>F. chlamydosporum</i>	KM655867	95	+	FYDD-3				99	+
DTHM-3	<i>F. coeruleum</i>	<i>F. coeruleum</i>	KC106742	99	+	WZWD-1	<i>F. sambucinum</i> var. <i>coeruleum</i>	<i>F. sambucinum</i> var. <i>coeruleum</i>		*	
JKHM-1						CH20	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	KP008979	99	+
TGFQ-2	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>	GU370422	99	+	QLD-1				99	+
CH13	<i>F. equiseti</i>	<i>F. equiseti</i>	KP008978	97	+	H9				99	+
CH15						TGFQ-5	<i>F. sporotrichoides</i>	<i>F. sporotrichoides</i>	AB674304	99	+
TGHG	<i>F. graminearum</i>	<i>F. graminearum</i>	KF022238	99	+	XFCD-2	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. subglutinans</i>	FD_01160	98	+
TGDD-11	<i>F. heterosporum</i>	<i>F. heterosporum</i>	EU327338	99	+	TGFQ-16				98	+
TGXHL-1	<i>F. illudens</i>	<i>F. illudens</i>	KM231935	97	+	TGMLS-1	<i>F. trichothecoides</i>			*	
TGFQ-4	<i>F. incarnatum</i>	<i>F. incarnatum</i>	GQ915510	92	+	LFQZ-1	<i>F. tricinctum</i>	<i>F. tricinctum</i>	AB674264	97	+
TGFQ-3						JKMLS-1	<i>F. uddum</i>	<i>F. uddum</i>	AF160275	96	+
QXQZ-2						YCFQ-2	<i>F. ventricosum</i>	<i>F. ventricosum</i>	KM231942	95	+
QXFQ-2	<i>F. lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	JF740854	98	+	QXQZ-3	<i>F. verticilliodes</i>	<i>F. verticilliodes</i>	FD_01388	98	+
FYMH-1						TGCD-1				98	+
WZMLS-3	<i>F. merismoides</i>	<i>F. merismoides</i>	AB674276	99	+	JKMLS-2				98	+
HMFQ-1	<i>F. sambucinum</i>	<i>F. sambucinum</i>	KM231941	99	+						

“+”：测序成功 Sequencing success; “*”：测序失败 Sequencing failure

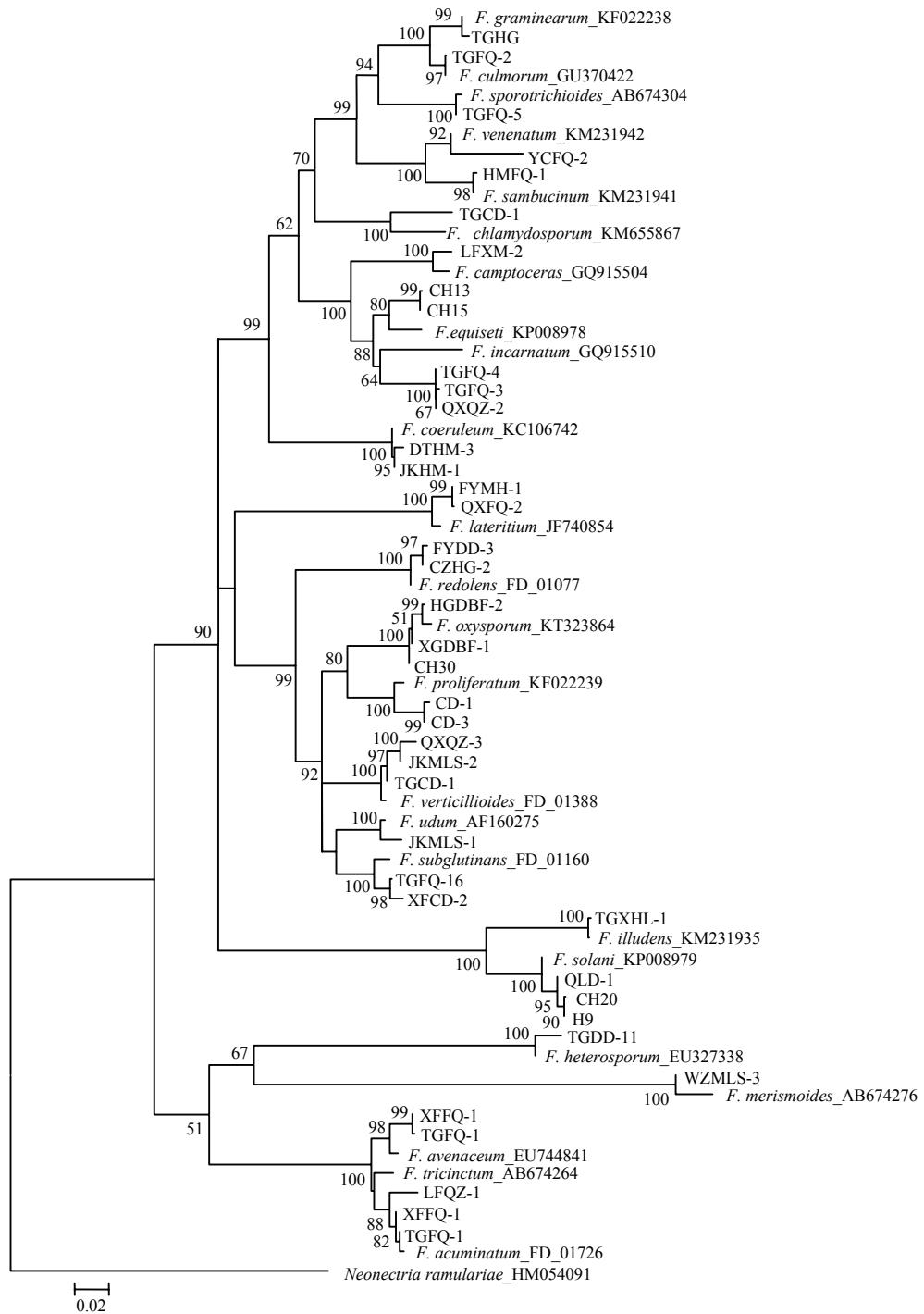


图 6 基于 *EF-1 α* 序列构建的山西省镰孢菌邻接系统发育树

Fig. 6 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree of *Fusarium* in Shanxi Province inferred from *EF-1 α* sequences

3 讨论

镰孢菌种内种间遗传变异情况研究显示, ITS 基因序列的鉴定能力最差, 且反映出的亲缘关系与形态学分类存

在差异, 这可能与 ITS 基因序列进化相对保守有关。有学者证实 *EF-1 α* 序列较 ITS 序列更能正确区分镰孢菌^[29-30], WATANABE^[31]也曾评价 β -tubulin 基因序列是识别镰孢菌的有效标记, 这些结果与本研究的结果一致。

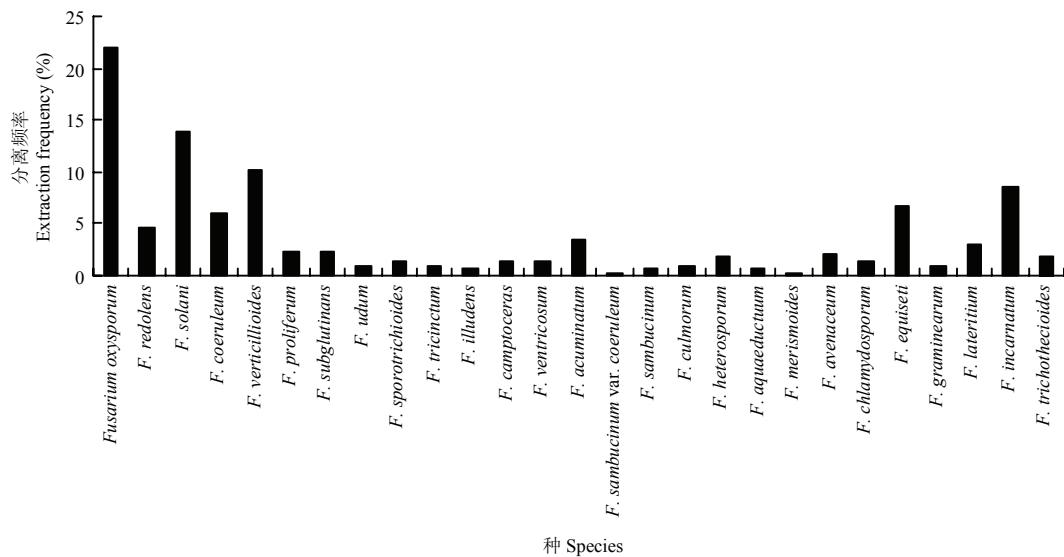


图 7 山西省镰孢菌菌株分离频率

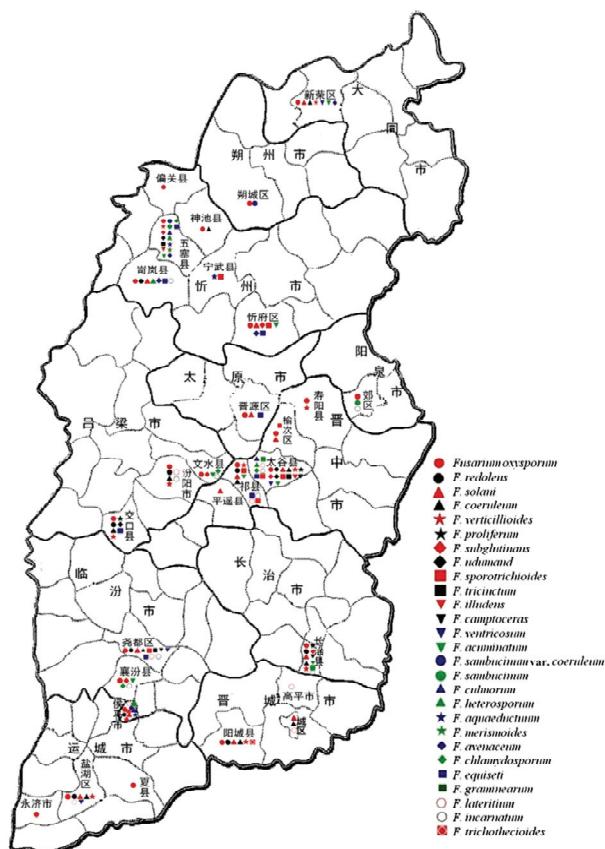
Fig. 7 The *Fusarium* strains extraction frequency in Shanxi Province

图 8 山西省 28 个县(区) 镰孢菌种群的地理分布

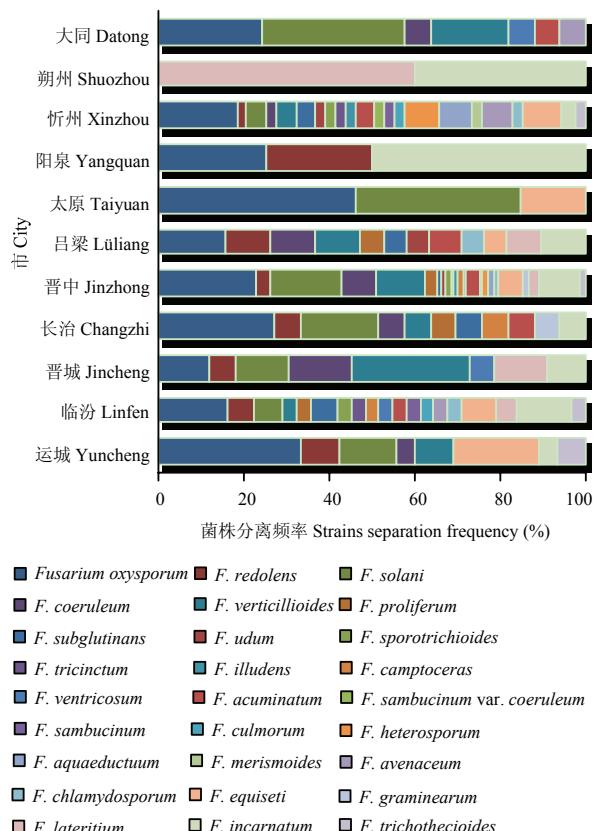
Fig. 8 Geological distributions of *Fusarium* populations in 28 counties (areas) of Shanxi Province

图 9 山西省 11 个市镰孢菌菌株分离频率

Fig. 9 The *Fusarium* strains extraction frequency in 11 cities of Shanxi Province

表4 山西省镰孢菌种在不同寄主中的分布

Table 4 Distribution of *Fusarium* species in different hosts in Shanxi Province

种 Species	寄主及菌株数量(株) Host origin and strains count										合计 Total
	番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	西瓜 <i>Citrullus lanatus</i>	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	茄子 <i>Solanum melongena</i>	西葫芦 <i>Cucurbita pepo</i>	甘蓝 <i>Brassica oleracea</i>	大豆 <i>Glycine max</i>	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	玉米 <i>Zea mays</i>	
<i>F. oxysporum</i>	12	15	10	13	17	12	7	13	0	2	101
<i>F. solani</i>	9	11	0	11	5	5	0	13	0	0	54
<i>F. verticillioides</i>	0	0	0	6	15	0	0	16	0	26	63
<i>F. incarnatum</i>	6	0	7	0	0	0	0	6	0	16	35
<i>F. equiseti</i>	5	0	0	7	7	0	5	6	0	0	30
<i>F. coeruleum</i>	9	0	0	8	0	0	0	10	0	0	27
<i>F. redolens</i>	7	5	0	4	0	0	1	4	0	0	20
<i>F. acuminatum</i>	6	0	0	11	0	0	0	0	0	0	17
<i>F. lateritium</i>	4	0	0	0	0	0	2	8	0	0	14
<i>F. proliferum</i>	0	0	0	1	0	0	0	2	0	9	12
<i>F. subglutinans</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
<i>F. avenaceum</i>	0	0	0	0	0	0	0	9	2	0	11
<i>F. heterosporum</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
<i>F. trichotheciodes</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>F. sporotrichiodes</i>	2	2	0	0	0	0	0	0	0	1	5
<i>F. campyoceras</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	5
<i>F. ventricosum</i>	6	0	0	0	0	0	0	2	0	0	8
<i>F. chlamydosporum</i>	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>F. udum</i>	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4
<i>F. tricinctum</i>	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	4
<i>F. culmorum</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	5
<i>F. graminearum</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	2	1	6
<i>F. illudens</i>	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	4
<i>F. sambucinum</i>	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4
<i>F. aquaeductuum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. sambucinum</i> var. <i>coeruleum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. merismoides</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
合计 Total	15	6	3	13	4	3	4	12	3	8	447

基于 *EF-1α* 基因序列的系统发育分析表明, 形态学上差异较大的 *F. tricinctum* 和 *F. acuminatum* 虽然未表现出单系性, 但在系统树中表现较近的亲缘关系。说明形态学上的种和系统发育学种还是存在一定差异的, 因此, 在镰孢菌鉴定时, 在形态学鉴定基础上, 应结合分子鉴定才能作出更加准确的判断。

山西省不同地区、不同寄主的镰孢菌种群结构

及优势种存在差异, 说明山西省镰孢菌种群存在明显的遗传分化, 可能与不同地区的耕作制度和气候环境有关。试验结果表明, 山西马铃薯以 *F. oxysporum* 为优势种, 这与黑龙江^[32]和新疆^[33]的马铃薯干腐病镰孢菌种群调查结果相似, 但在优势种上存在差异, 这可能与地域和气候差异有关; 大豆上以 *F. verticillioides* 为优势种, 其次为 *F. oxysporum*、*F. solani* 和 *F. coeruleum*, 魏巍等^[34]也曾报道过上述 4 种镰孢菌为

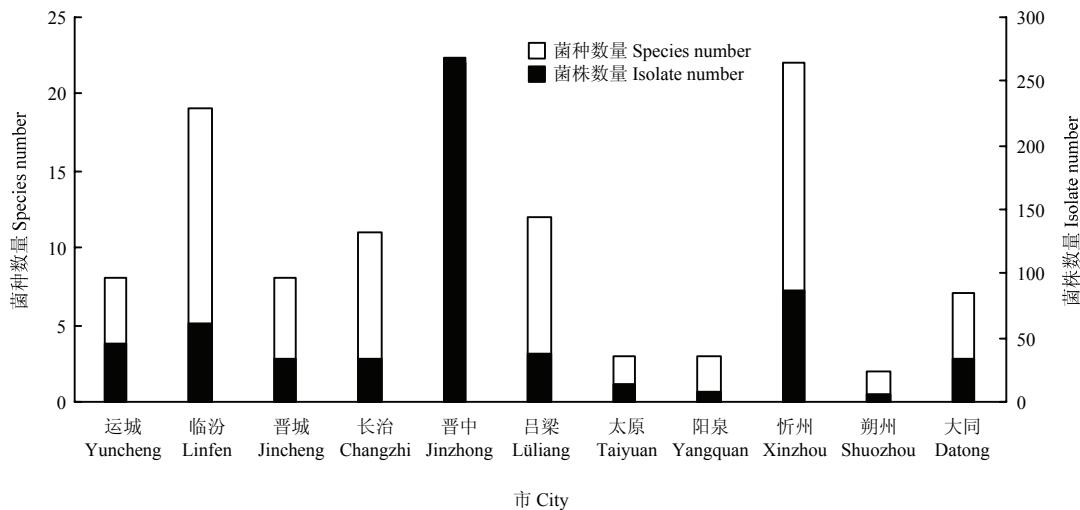


图 10 山西省 11 个市镰孢菌种类及菌株数量

Fig. 10 The species and amounts of *Fusarium* strains in 11 cities of Shanxi Province

大豆根际土壤镰孢菌优势种群,与本研究结果一致;黄瓜上分获了 6 种镰孢菌,以 *F. oxysporum* 和 *F. solani* 为优势种群,与东北三省^[35-36]等地的调查结果一致。

本研究仅从不同地区和不同寄主上的镰孢菌种群结构及分布进行了研究,而且采集的地理范围和寄主范围有限,因此在今后的研究中,需要进一步扩大采样范围,以使其结果更加全面准确,同时应对镰孢菌年度间的种群结构变化加以分析,以便更加准确地了解其变化动态。

4 结论

从基于 ITS、EF-1 α 和 β -tubulin 3 个基因的序列分析可看出,镰孢菌种内种间存在丰富的遗传变异,其中 EF-1 α 基因序列的遗传变异最适用于镰孢菌种类的鉴定。基于 EF-1 α 基因序列的系统发育分析显示,分子鉴定的结果与形态学鉴定的结果存在差异,所以在镰孢菌种的鉴定中,采用形态学结合 EF-1 α 基因序列分子鉴定的方法,更能提高鉴定结果的准确性。*F. oxysporum* 是山西省镰孢菌的优势种,不同地区、不同寄主上镰孢菌种群存在明显的遗传分化。

References

- [1] 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状. 菌物研究, 2005, 3(2): 59-62.

ZHANG X M. History and current research on taxonomy of the genus *Fusarium*. *Journal of Fungal Research*, 2005, 3(2): 59-62. (in Chinese)

- [2] 俞大俊. 镰孢菌分类学的意义. 微生物学报, 1977, 17(2): 163-171.
YU D J. The taxonomic significance of *Fusarium*. *Acta Microbiologica Sinica*, 1977, 17(2): 163-171. (in Chinese)
- [3] 吴会杰, 范琳娟, 古勤生. 西瓜枯萎病菌的鉴定及申嗪霉素对其防治评价. 中国农学通报, 2016, 32(28): 131-135.
WU H J, FAN L J, GU Q S. Identification of *Fusarium* wilt of watermelon and efficacy evaluation of shenqinmycin. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(28): 131-135. (in Chinese)
- [4] 葛松, 蒋万, 何生虎, 余永涛, 张蕾蕾, 郭澍强, 王静. 宁夏肉牛皮肤病原真菌的分离与鉴定. 中国农业科学, 2015, 48(14): 2876-2883.
GE S, JIANG W, HE S H, YU Y T, ZHANG L L, GUO S Q, WANG J. Isolation and identification of dermatophytes from beef cattle in Ningxia. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(14): 2876-2883. (in Chinese)
- [5] VAN DIEPENINGEN A D, BRANKOVICS B, ILTES J, VAN DER LEE T A, WAALWIJK C. Diagnosis of *Fusarium* infections: approaches to identification by the clinical mycology laboratory. *Current Fungal Infection Reports*, 2015, 9(3): 135-143.
- [6] 曾莉莎, 吕顺, 刘文清, 赵志慧, 王芳, 周建坤, 李洪波, 陈石, 杜彩娴. 基于多基因序列分析对尖孢镰孢菌古巴专化型(香蕉枯萎病菌)生理小种的鉴定. 菌物学报, 2014, 33(4): 867-882.
ZENG L S, LÜ S, LIU W Q, ZHAO Z H, WANG F, ZHOU J K, LI H

- B, CHEN S, DU C X. The identification on race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* based on multi-gene sequence analysis. *Mycosistema*, 2014, 33(4): 867-882. (in Chinese)
- [7] 王容燕, 高波, 陈书龙, 马娟, 李秀花. 河北省甘薯镰孢菌腐烂与溃疡病的病原鉴定. 植物保护学报, 2016, 43(2): 241-247.
- WANG R Y, GAO B, CHEN S L, MA J, LI X H. Identification of the pathogens causing *Fusarium* root rot and stem canker on sweet potato in Hebei Province. *Journal of Plant Protection*, 2016, 43(2): 241-247. (in Chinese)
- [8] 郭明霞, 贺运春, 洪坚平, 胡亚娟, 张宝俊. 山西省忻州地区土壤镰刀菌 (*Fusarium*) 种类鉴定. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2006, 26(2): 171-173.
- GUO M X, HE Y C, HONG J P, HU Y J, ZHANG B J. Identification of *Fusarium* in the soils collected from Xinzhou, Shanxi province. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science)*, 2006, 26(2): 171-173. (in Chinese)
- [9] 胡亚娟, 贺运春, 郭明霞. 山西晋中地区植物病原镰刀菌 (*Fusarium*) 种类鉴定. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2007, 27(3): 276-280.
- HU Y J, HE Y C, GUO M X. Identification of phytopathogenic *Fusarium* in Jinzhong, Shanxi province. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2007, 27(3): 276-280. (in Chinese)
- [10] 袁微微, 李新凤, 高俊明, 王建明, 郝晓娟, 贺运春. 山西省瓜类作物根茎部镰刀菌的分离与鉴定. 山西农业科学, 2013, 41(3): 246-250.
- YUAN W W, LI X F, GAO J M, WANG J M, HAO X J, HE Y C. Isolation and identification of *Fusarium* from roots of cucurbits crops in Shanxi province. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2013, 41(3): 246-250. (in Chinese)
- [11] 李新凤, 王建明, 高俊明, 贺运春. 山西省甘蓝黄叶病病原菌的分离与鉴定. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2011, 31(6): 517-521.
- LI X F, WANG J M, GAO J M, HE Y C. Isolation and identification of the pathogens causing cabbage *Fusarium* wilt in Shanxi province. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2011, 31(6): 517-521. (in Chinese)
- [12] 李新凤, 王建明, 张作刚, 高俊明, 郝晓娟, 贺运春. 山西省玉米穗腐病病原镰孢菌的分离与鉴定. 山西农业大学学报 (自然科学版), 2012, 32(3): 218-223.
- LI X F, WANG J M, ZHANG Z G, GAO J M, HAO X J, HE Y C. Isolation and identification of the pathogen *Fusarium* causing maize ear rot in Shanxi province. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2012, 32(3): 218-223. (in Chinese)
- [13] 项勇, 崔京霞, 吕安国. 东北红豆杉内生真菌的分离和筛选. 东北林业大学学报, 2002, 30(2): 30-34.
- XIANG Y, CUI J X, LU A G. Isolation and screen of *Taxus cuspidate* Sieb. et Zucc. endophytic fungi. *Journal of Northeast Forestry University*, 2002, 30(2): 30-34. (in Chinese)
- [14] WANG L, ZHUANG W Y. Designing primer sets for amplification of partial calmodulin genes from *Penicillia*. *Mycosistema*, 2004, 23(4): 466-473.
- [15] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics// *PCR Protocols: A Guide To Methods and Applications*. New York: Academic Press, 1990: 315-322.
- [16] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 1999, 91(3): 553-556.
- [17] REHNER S A, BUCKLEY E. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and *EF1-alpha* sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 2005, 97(1): 84-98.
- [18] O'DONNELL K, CIGELNIK E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 1997, 7(1): 103-116.
- [19] GLASS N L, DONALDSON G C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied & Environmental Microbiology*, 1995, 61(4): 1323-1330.
- [20] 赵鹏, 罗晶, 庄文颖, 刘杏忠, 吴冰. 新丛赤壳属真菌 DNA 条形码研究. 中国科学(生命科学), 2011, 41(7): 565-576.
- ZHAO P, LUO J, ZHUANG W Y, LIU X Z, WU B. DNA barcoding of the genus *Neonectria*. *Scientia Sinica Vitae*, 2011, 41(7): 565-576. (in Chinese)
- [21] THOMPSON J D, HIGGINS D G, GIBSON T J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(22): 4673-4680.
- [22] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41: 95-98.
- [23] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, KUMAR S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology & Evolution*, 2007, 24(8): 1596-1599.

- [24] MEYER C P, PAULAY G. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, 2005, 3(12): e422.
- [25] LAHAYE R, VAN DER BANK M, BOGARIN D, WARNER J, PUPULIN F, GIGOT G, MAURIN O, DUTHOIT S, BARRACLOUGH T G, SAVOLAIENE V. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(8): 2923-2928.
- [26] BURLAND T G. DNASTAR's laser gene sequence analysis software. *Methods in Molecular Biology*, 2000, 132: 71-91.
- [27] SLABBINCK B, DAWYNT P, MARTENS M, DE VOS P, DE BAETS B. TaxonGap: a visualization tool for intra- and inter-species variation among individual biomarkers. *Bioinformatics*, 2008, 24(6): 866-867.
- [28] 汤彦承, 路安民. 浅评当今植物系统学中争论的三个问题--并系类群、谱系法规和系统发育种概念. *植物分类学报*, 2005, 43(5): 403-419.
- TANG Y C, LU A M. Paraphyletic group, PhyloCode and phylogenetic species-the current debate and a preliminary commentary. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2005, 43(5): 403-419. (in Chinese)
- [29] KRISTENSEN R, TORP M, KOSIAK B, JENSEN A H. Phylogeny and toxigenic potential is correlated in *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences. *Mycological Research*, 2005, 109(2): 173-186.
- [30] KERENYI Z, ZELLER K, HORNOK L, LESLIE J F. Molecular standardization of mating type terminology in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Applied & Environmental Microbiology*, 1999, 65(9): 4071-4076.
- [31] WATANABE M. Molecular phylogeny and identification of *Fusarium* species based on nucleotide sequences. *Mycotoxins*, 2013, 63(2): 133-142.
- [32] 羿安. 马铃薯干腐病病原镰孢菌的分类研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2015.
- XI A. Classification of *Fusarium* species from potato dry rot[D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2015. (in Chinese)
- [33] 王丽丽, 李洪涛, 日孜旺古丽·苏皮色来, 张磊, 王海云, 李克梅. 乌昌地区喀喇马盖特病害调查及病原鉴定. 新疆农业大学学报, 2014, 37(6): 469-473.
- WANG L L, LI H T, RIZIWANGGULI S, ZHANG L, WANG H Y, LI K M. Investigation and identification of fungus disease and pathogens on storage period potato in Urumqi and Changji areas of Xinjiang. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2014, 37(6): 469-473. (in Chinese)
- [34] 魏巍, 许艳丽, 朱琳, 张思佳, 李淑娴. 长期连作对大豆根际土壤镰孢菌种群的影响. *应用生态学报*, 2014, 25(2): 497-504.
- WEI W, XU Y L, ZHU L, ZHANG S J, LI S X. Impact of long-term continuous cropping on the *Fusarium* population in soybean rhizosphere. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(2): 497-504. (in Chinese)
- [35] 杨晓贺, 吕国忠, 赵志慧, 刘丽莉, 姚贤民. 东北地区蔬菜大棚内黄瓜枯萎病病株上镰孢菌的分离和鉴定. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(3): 308-311.
- YANG X H, LÜ G Z, ZHAO Z H, LIU L L, YAO X M. Isolation and identification of *Fusarium* species from cucumber wilt diseased plants in vegetable greenhouse in Northeastern China. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2007, 38(3): 308-311. (in Chinese)
- [36] 陈霞, 刘东, 张艳菊, 秦智伟, 周秀艳. 黄瓜枯萎病病株镰孢菌的分离与鉴定. 东北农业大学学报, 2010, 41(7): 37-44.
- CHEN X, LIU D, ZHANG Y J, QIN Z W, ZHOU X Y. Isolation and identification of *Fusarium* from cucumber wilt plants. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2010, 41(7): 37-44. (in Chinese)

(责任编辑 岳梅)

附表1 供试菌株及序列信息

Table S1 The information of strains and sequences

种 Species	菌株 Isolate	寄主来源 Host origin	地理来源 Geographical origin	GenBank 或 FUSARIUM-ID 数据库序列号 GenBank or FUSARIUM-ID accession number		
				ITS	EF-1 α	β -tubulin
<i>F. acuminatum</i>	XFFQ-1	<i>Solanum lycopersicum</i>	襄汾 Xiangfen			
	TGFQ-1	<i>Solanum tuberosum</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download			FD_01726	
<i>F. aquaeductuum</i>	NWHY-1	<i>Buxus sinica</i>	宁武 Ningwu			
<i>F. avenaceum</i>	DTCD-2	<i>Glycine max</i>	大同 Datong			
	XZSZ-1	<i>Triticum aestivum</i>	忻州 Xinzhou			
		下载 Download		AB587016	AB674293	AB587064
		下载 Download		KP170730	KP170732	KP170733
		下载 Download			EU744841	
<i>F. campoceras</i>	LFXM-2	<i>Triticum aestivum</i>	临汾 Linfen			
		下载 Download			GQ915504	
<i>F. chlamydosporum</i>	TGCD-1	<i>Citrullus lanatus</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download			KM655867	
<i>F. coeruleum</i>	DTHM-3	<i>Linum usitatissimum</i>	大同 Datong			
	JKHM-1	<i>Linum usitatissimum</i>	交口 Jiaokou			
		下载 Download			KC106742	
<i>F. culmorum</i>	TGFQ-2	<i>Solanum lycopersicum</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download		U85535	GU370422	U85569
		下载 Download		KP265349	KP674192	KP710631
<i>F. equiseti</i>	LNHD2	<i>Solanum lycopersicum</i>	襄汾 Xiangfen	KU939063	KU939015	KU938967
	CH13	<i>Solanum melongena</i>	运城 Yuncheng	KU939067	KU939019	KU938971
	CH15	<i>Solanum tuberosum</i>	运城 Yuncheng	KU939068	KU939020	KU938972
		下载 Download			KP008978	
<i>F. graminearum</i>	TGHG	<i>Cucumis sativus</i>	太谷 Taigu	KU939070	KU939022	KU938974
		下载 Download		U34578	AF212455	U34436
		下载 Download			KF022238	
<i>F. heterosporum</i>	TGDD-11	<i>Glycine max</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download			EU327338	
<i>F. illudens</i>	TGXHL-1	<i>Cucurbita pepo</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download			KM231935	
<i>F. incarnatum</i>	TGFQ-4	<i>Solanum lycopersicum</i>	太谷 Taigu			
	TGFQ-3	<i>Solanum lycopersicum</i>	太谷 Taigu			
	QXQZ-2	<i>Citrullus lanatus</i>	祁县 Qixian			
		下载 Download		GQ505696	GQ915510	GQ915444
		下载 Download		KJ572780	KJ572786	KJ572785

续附表 1 Continued table S1

种 Species	菌株 Isolate	寄主来源 Host origin	地理来源 Geographical origin	GenBank 或 FUSARIUM-ID 数据库序列号 GenBank or FUSARIUM-ID accession number		
				ITS	EF-1 α	β -tubulin
<i>F. lateritium</i>	QXFQ-2	<i>Solanum lycopersicum</i>	祁县 Qixian			
	FYMH-1	<i>Glycine max</i>	汾阳 Fenyang			
		下载 Download		AB587004	AB674281	AB587052
		下载 Download		KJ125582	KJ126174	KJ125878
		下载 Download			JF740854	
<i>F. merismoides</i>	WZMLS-3	<i>Solanum tuberosum</i>	五寨 Wuzhai			
				AB674276		
<i>F. oxysporum</i>	CH30	<i>Cucumis sativus</i>	太谷 Taigu	KU939033	KU938985	KU938937
	XGDBF	<i>Citrullus lanatus</i>	太原 Taiyuan	KU939034	KU938986	KU938938
	HGDBF	<i>Cucumis sativus</i>	夏县 Xiaxian	KU939039	KU938991	KU938943
		下载 Download			KT323864	
<i>F. proliferatum</i>	CH98	<i>Zea mays</i>	长治 Changzhi	KU939077	KU939029	KU938981
	CD-1	<i>Glycine max</i>	太谷 Taigu	KU939072	KU939024	KU938976
	CD-3	<i>Zea mays</i>	长治 Changzhi	KU939073	KU939025	KU938977
		下载 Download			KF022239	
<i>F. redolens</i>	CZHG-2	<i>Cucumis sativus</i>	长治 Changzhi			
	FYDD-3	<i>Glycine max</i>	汾阳 Fenyang			
		下载 Download		KP265347	KP674190	KP710629
		下载 Download		KP295497	KP400744	KP674300
		下载 Download			FD_01077	
<i>F. sambucinum</i>	HMFQ-1	<i>Solanum lycopersicum</i>	侯马 Houma			
				KM231813	KM231941	KM232078
				KP265345	KP674188	KP765703
<i>F. sambucinum</i> var. <i>coeruleum</i>	WZWD-1	<i>Pisum sativum</i>	五寨 Wuzhai			
<i>F. solani</i>	CH20	<i>Solanum tuberosum</i>	太谷 Taigu	KU939051	KU939003	KU938955
	QLD-1	<i>Glycine max</i>	祁县 Qixian	KU939058	KU939010	KU938962
	H9	<i>Solanum lycopersicum</i>	沁水 Qinshui	KU939061	KU939013	KU938965
		下载 Download			KP008979	
<i>F. sporotrichioides</i>	TGFQ-5	<i>Solanum lycopersicum</i>	太谷 Taigu			
				AB587025	AB674303	AB587074
				AB587026	AB674304	AB587075
<i>F. subglutinans</i>	XFCD-2	<i>Solanum lycopersicum</i>	襄汾 Xiangfen			
	TGFQ-16	<i>Solanum lycopersicum</i>	太谷 Taigu			
		下载 Download		AB587008	AB674285	AB587056
		下载 Download		U34559	AF160289	U34417
		下载 Download			FD_01160	

续附表1 Continued table S1

种 Species	菌株 Isolate	寄主来源 Host origin	地理来源 Geographical origin	GenBank 或 FUSARIUM-ID 数据库序列号 GenBank or FUSARIUM-ID accession number		
				ITS	<i>EF-1α</i>	β -tubulin
<i>F. trichothecioides</i>	TGMLS-1	<i>Solanum tuberosum</i>	太谷 Taigu			
<i>F. tricinctum</i>	LFQZ-1	<i>Solanum melongena</i>	临汾 Linfen			
		下载 Download		<i>AB587028</i>	<i>AB674264</i>	<i>AB587077</i>
		下载 Download		AB587029	AB674263	AB587078
<i>F. udum</i>	JKMLS-1	<i>Solanum tuberosum</i>	交口 Jiaokou			
		下载 Download			AF160275	
<i>F. ventricosum</i>	YCFQ-2	<i>Solanum lycopersicum</i>	阳城 Yangcheng			
		下载 Download			KM231942	
<i>F. verticillioides</i>	QXQZ-3	<i>Solanum melongena</i>	祁县 Qixian			
	TGCD-1	<i>Glycine max</i>	太谷 Taigu			
	JKMLS-2	<i>Zea mays</i>	交口 Jiaokou			
		下载 Download		<i>KR071630</i>	<i>AB674287</i>	<i>AB587058</i>
		下载 Download		AB587011	AB674288	AB587059
		下载 Download			FD_01388	
<i>Neonectria ramulariae</i>		下载 Download		<i>HM054150</i>	<i>HM054091</i>	<i>HM054124</i>

斜体加粗字显示标准菌株序列 GenBank 号码；粗体字显示本研究新提交至 GenBank 号码；“下载”代表序列来源于 GenBank 或 FUSARIUM-ID 数据库

Italic bold word displayed GenBank number of standard strain sequence; Bold word displayed new submission of this study to GenBank number; “Download” meant sequence derived from GenBank or FUSARIUM-ID database