

海南岛文心兰病叶组织真菌的分离鉴定与优势真菌致病性初探

郭向阳¹, 高洁¹, 宋希强¹, 凌鹏¹, 周扬¹, 郝代成², 黎维诗²,
丁琼^{1,*}

(¹海南大学热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室, 海口 570228; ²海南博大兰花科技有限公司, 海口 570100)

摘要: 从位于海南省海口市文心兰 (*Oncidium* sp.) 栽培基地的温室采集 ‘博大1号’ 植株发病叶片 258 份, 分离纯化培养真菌, 采用分子技术鉴定其种类, 并回接验证优势真菌的致病性。共分离到 119 株真菌, 划为 39 个 OTU。其中, 子囊菌门 (Ascomycota) 占 90%、毛霉菌门 (Mucoromycota) 占 8%, 担子菌门 (Basidiomycota) 占 2%。分离到的真菌中有 31 种对应 60% 以上的叶片样品真菌高通量序列。最常见的真菌有巨座壳属 *Muyocopron alcornii*、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、间作壳属 *Diaporthe* spp. 和弯孢属 *Curvularia* spp.。所分离到的真菌主要为病原真菌和腐生真菌, 在 24 种病原真菌中, 有 9 种为病原—共生型真菌, 5 种为病原—腐生—共生型; 9 种为腐生型, 1 种为腐生—共生型。回接试验表明, 分离频度最高的前 10 种真菌均能快速侵染文心兰幼苗, 使其叶片出现坏死与腐烂; 致病性较强且快的有 *Muyocopron alcornii*、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、*Diaporthe miriciae* 等, 接种后 1~2 d 即表现出明显的坏死症状。

关键词: 文心兰; 真菌病害; 谱系; 营养型

中图分类号: S 682.31

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) -07-1369-14

A Preliminary Study on Identity and Pathogenicity of Common Fungi Associated with Diseased Leaves of *Oncidium* sp. in Hainan Island

GUO Xiangyang¹, GAO Jie¹, SONG Xiqiang¹, LING Peng¹, ZHOU Yang¹, HAO Daicheng², LI Weishi²,
and DING Qiong^{1,*}

(¹Key Laboratory of Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Forest Trees and Ornamental Plants (Hainan University), Ministry of Education, Hainan University, Haikou 570228, China; ²Hainan Boda Orchid Science and Technology Ltd., Haikou 570100, China)

Abstract: In this study, culturable fungi were isolated from diseased leaves of 258 individual plants of *Oncidium* sp. ‘Boda 1’ in three multi span plastic film greenhouses in Hainan Island in China. Fungal taxa are identified by analyses of the nuclear ribosomal internal transcribed spacer region (ITS). To test the pathogenicity of the common fungi, the ten most frequently occurring fungal species were inoculated into

收稿日期: 2020-03-10; **修回日期:** 2020-04-29

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ201815); 海南省自然科学基金创新团队项目 (2018CXTD331)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: dingqiong@hainu.edu.cn)

the aseptic seedlings. One hundred and nineteen strains belonging to 39 OTUs were isolated. The fungal lineage is highly diverse, involving Ascomycota (90%), Mucoromycota (8%), and Basidiomycota (2%). The isolation was thorough enough to catch 31 common fungal species which contributed 60% sequence reads in next generation sequencing. The fungi isolated from the diseased leaves were mainly pathogenic and saprophytic fungi, while the symbiotic fungi were rare. Of the 25 pathogenic fungi, 9 species were also reported as symbiotroph, and 6 species as saprotroph-symbiotroph; Nine and one species were reported as saprotroph and saprotroph-symbiotroph, respectively; Trophic mode of the remaining 4 fungal species are unknown. The pathogenicity of top 10 dominant fungi was confirmed by inoculation of aseptic seedling. The most aggressive fungi are *Muyocopron alcornii*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Diaporthe miriciae* that produced distinct symptoms on inoculated seedling one or two days after inoculation.

Keywords: *Oncidium*; fungal disease; phylogeny; trophic mode

文心兰 (*Oncidium* sp.) 生长对温度与湿度要求均较高。中国文心兰的栽培区域主要集中于热带、亚热带地区。其中, 海南岛光照与热量充足, 降水充沛, 适宜文心兰特色高效产业的发展。然而, 海南岛夏季高温高湿的特点为病原微生物的繁衍创造了适宜的环境条件, 广泛滋生的病害严重影响文心兰的观赏价值和商品率, 已成为制约海南岛热带兰花产业发展的重要因素 (李春华 等, 2016; 杨学 等, 2017)。兰花病害以真菌性病害为主, 占兰花病害的 2/3 以上 (陈宇勒, 2005)。镰孢菌属 (*Fusarium*) 的真菌是常见的兰花病原真菌, 常引起兰花的叶斑病、花斑病、枯萎病、假茎或根腐病等 (Srivastava et al., 2018)。在热带地区, 传统的形态学研究表明, 病原真菌危害兰花根茎部及叶片, 从而引起叶片黄化, 叶斑, 植株枯萎, 甚至全株软腐死亡 (杨祖江和戚佩坤, 1995; 张继鹏和邢梦玉, 2007; 周传波和林盛, 2007)。然而, 目前尚未有关于海南岛文心兰生产中的病原真菌物种组成及常见真菌的致病性的报道。

本研究中于海南岛文心兰病害高发季节大面积调查主栽品种‘博大1号’文心兰的病害发生情况, 并广泛地采集病叶, 从中分离真菌, 采用分子检测技术分析真菌物种组成, 采用回接法研究其真菌的致病性, 以期确定本地区文心兰主要病原真菌及其侵染特点, 为形成有效的文心兰病害防控体系提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 病叶样品采集与真菌分离培养

调查的感病文心兰品种为海南博大兰花科技有限公司文心兰产业园区的‘博大1号’。共设置3个调查样带, 样带1 (长150 m, 宽1.5 m) 和样带2 (长30 m, 宽1.5 m) 位于海口市东山镇基地, 样带3 (长60 m, 宽1.5 m) 位于海口市城西村基地。在每个样带内以对数型间隔距离设置采样点, 样带1、2、3设置的采样点数分别为17个、12个、14个。在每个采样点用50 cm × 50 cm的金属框作样方标记 (图1), 从框内随机选取6株个体, 各摘取1片病状明显的叶片, 共258份样本带回实验室进行病原菌分离培养。

采用组织分离法 (Han et al., 2015; 张佳星 等, 2019) 进行病原菌分离培养。剪取叶片染病和健康交界处组织1 cm × 1 cm, 用75%乙醇表面消毒30 s, 再用无菌水清洗3~5遍, 最后用无菌吸水纸吸干, 将其平均分成4份, 其中一份置于含链霉素 (100 μg · mL⁻¹) 的PDA培养基上分离培养

真菌; 一份用于细菌分离培养 (本文不涉及); 一份提取总 DNA 用于高通量测序; 一份置于 2 mL 离心管中备份, 于 4 °C 条件下保存 (图 1)。将最后一遍清洗叶组织的无菌水涂抹于 PDA 培养基作对照。28 °C 恒温箱培养 48 h。取少量叶块边缘长出的菌丝转接到 PDA 平板培养基进行纯化培养。得到的纯化菌株转移到 PDA 斜面培养基中做菌种保存备用。

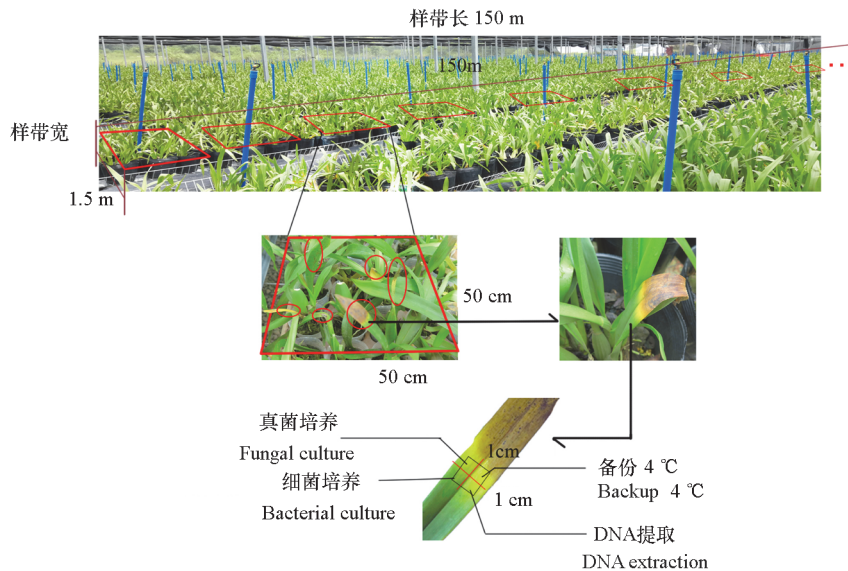


图 1 文心兰病叶样品采集样带内样方设置与取样示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the layout of study plots within one transect and diseased leaf sampling

1.2 染病叶片可培养真菌分子鉴定及真菌群落的高通量测序

将分离纯化的菌株和病叶组织块分别使用 CTAB 法 (黄彩微 等, 2017) 提取总 DNA。置 -20 °C 保存备用。使用真菌通用引物 ITS1f (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGC TTATTGATATGC-3') 对可培养真菌进行 PCR 扩增。反应体系为 25 μL: 0.5 μL *Taq* 聚合酶 (北京艾德莱生物科技有限公司), 2.5 μL 10× PCR 缓冲液, 2 μL (2.5 mmol · L⁻¹) dNTPs, 0.5 μL ITS1f 与 0.5 μL ITS4 引物, 1 μL 5% BSA, 1 μL DNA 模板, 17 μL 无菌水。引物委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 反应程序为: 95 °C 变性 5 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 2 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。将 PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳, 用凝胶成像仪观察、拍照。将阳性 PCR 产物送上海生工有限公司测序。

为了确定分离的真菌在病叶组织真菌群落中是否具有代表性, 将 258 份病叶组织的总 DNA 各取 2 μL, 按样带 1、2、3 进行混合后, 委托北京奥维森生物技术公司在 Miseq 平台下采用引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5'-TGCGTTCTTCATCGATGC-3') 对真菌的 ITS1 区进行测序, 序列分析参见杨思琪等 (2019) 的方法。

1.3 真菌 ITS 序列分析

将测序所得的所有碱基序列使用 ClustalX 进行序列对比, 使用 Mothur 划分真菌 OTU (Operational Taxonomic Units), 将 ITS 序列一致性 (Identity) ≥ 97% 的序列划分为同一个 OTU (Börstler et al., 2006; Stockinger et al., 2010; 杨思琪 等, 2019)。将各 OTU 的代表性序列在 NCBI 数据库进行检

索, 以推断真菌的分类地位。本研究的真菌代表序列已上传至 NCBI, 序列号为 MN905461 ~ MN905499。

采用基于 web 的 FUNGuild 软件 (Nguyen et al., 2016), 解析本研究中具有较完整分类信息的真菌的生态学特性, 并划分营养型 (trophic mode) 和功能群 (guild)。该软件广泛应用于真菌营养型和功能群注解。

1.4 优势真菌回接文心兰验证

将确定分类地位的真菌, 按其分离得到的频度由高到低排序, 将出现频度最高的前 10 种真菌用回接法验证其致病性。试验用苗为博大兰花公司文心兰组培室中生长表观健康的‘博大 1 号’丛生苗, 经真菌 ITS 扩增产物呈阴性确定其无真菌污染后, 在无菌条件下分株到含活性炭的 1/2MS 培养基组培瓶中, 28 °C 条件下生长 1 周, 长势良好。接种真菌前先用无菌接种针在叶片上造成创口, 再用贴菌片法接种纯化的真菌菌丝体 (将菌片回贴到组培苗叶片创口处), 同时以同样有创口但不接菌的健康幼苗作为对照。每个处理重复 3 次, 将组培瓶封口后继续放入组培室进行培养, 接种后 1 个月内每天观察记录植株生长情况。

2 结果与分析

2.1 文心兰病叶真菌群落的谱系多样性

在海口文心兰基地 3 个样带 43 个 50 cm × 50 cm 的样方内, 共采集 258 片病叶组织, 通过分离培养并利用真菌通用引物扩增 ITS 区, 共获得 119 株真菌的有效序列, 根据序列的一致性划分为 39 个 OTU, 即 39 种真菌 (表 1)。这 119 株可培养的真菌中主要是子囊菌门 Ascomycota 真菌, 占 90%; 其次是毛霉菌门 Mucoromycota (Spatafora et al., 2016), 占 8%; 担子菌门 Basidiomycota 占 2%。在纲级分类水平, 物种丰富度最高的真菌依次是: 粪壳菌纲 Sordariomycetes (18 种)、座囊菌纲 Dothideomycetes (12 种) 和散囊菌纲 Eurotiomycetes (4 种)。目级分类水平, 物种最丰富的是格孢腔菌目 Pleosporales (11 种), 其次是间座壳菌目 Diaporthales (6 种)、肉座菌目 Hypocreales (5 种)、小丛壳目 Glomerellales (4 种), 以及少量毛霉菌目 Mucorales、散囊菌目 Eurotiales、炭角菌目 Xylariales、丝孢酵母目 Trichosporonales、黑粉菌目 Ustilaginales 等真菌。在科级分类水平, 分离得到菌株最多的依次是巨座壳科 Magnaporthaceae、间座壳科 Diaporthaceae、隔孢菌科 Pleosporaceae 和小丛壳科 Glomerellaceae, 其次还分离得到笄霉菌科 Choanephoraceae、赤壳菌科 Nectriaceae、隔孢假壳科 Didymosphaeriaceae、毛发菌科 Trichocomaceae、座囊菌纲的 Valsariaceae、曲霉菌科 Aspergillaceae、暗球腔菌科 Phaeosphaeriaceae、肉座菌科 Hypocreaceae 以及黑粉菌科 Ustilaginaceae、毛孢子菌科 Trichosporonaceae、炭角菌科 Xylariaceae 等。在属级分类水平, *Muyocopron*、间座壳属 *Diaporthe*、刺盘孢属 *Colletotrichum*、镰孢属 *Fusarium* 和弯孢属 *Curvularia* 的真菌占优势。在种级分类水平, 出现频次最高的真菌依次是巨座壳科的 *Muyocopron alcornii* (26 株)、胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* (12 株)、*Diaporthe miricidae* 等。

表 1 文心兰病叶可培养真菌 OTU 代表序列的谱系与生态学特性

Table 1 Phylogenetic and ecological characteristic of culturable fungi associated with diseased leaves of *Oncidium* sp.

OTU	鉴定名 Name	Blast 最接近比对 Closest Blast Match	一致性 (%) Identity (%)	营养型 Trophic mode	功能群 Functional guild	可能性 Likelihood
1	<i>Apiotrichum mycotoxinivorans</i>	<i>Apiotrichum mycotoxinivorans</i> (NR_073335.1)	491/491 (100)	腐生 Saprotroph	土壤腐生菌 Soil Saprotroph	可能 Possible
2	<i>Ascomycota</i> sp.1	<i>Colletotrichum</i> sp. (NR_160810.1)	268/337 (80)	—	—	—
3	<i>Ascomycota</i> sp.2	<i>Colletotrichum liaoningense</i> (NR_152282.1)	384/508 (76)	—	—	—
4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i> (NR_121481.1)	590/593 (99)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	可能 Possible
5	<i>Bipolaris cactivora</i>	<i>Bipolaris cactivora</i> (KU232897.1)	489/489 (100)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
6	<i>Choanephora</i> sp.1	<i>Poitrasia circinans</i> (NR_145288.1)	535/591 (91)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	可能 Possible
7	<i>Colletotrichum coelogyne</i>	<i>Colletotrichum coelogyne</i> (NR_160827.1)	444/452 (98)	病原—共生 Pathotroph-Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte-Plant Pathogen	很可能 Probable
8	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (LC194222.1)	545/549 (99)	病原—共生 Pathotroph-Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte-Plant Pathogen	很可能 Probable
9	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Colletotrichum cliviicola</i> (KY513779.1)	487/509 (96)	病原—共生 Pathotroph-Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte - Plant Pathogen	很可能 Probable
10	<i>Curvularia eragrostidis</i>	<i>Curvularia eragrostidis</i> (MK108421.1)	574/575 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
11	<i>Curvularia intermedia</i>	<i>Curvularia intermedia</i> (AF071327.1)	484/484 (100)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
12	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Curvularia lunata</i> (NR_138223.1)	562/564 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
13	<i>Curvularia</i> sp.1	<i>Curvularia soli</i> (NR_152503.1)	521/522 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
14	<i>Curvularia</i> sp.2	<i>Curvularia pisi</i> (NR_152502.1)	587/593 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
15	<i>Diaporthe</i> sp.	<i>Diaporthe psoraleae-pinnatae</i> (NR_137827.1)	475/507 (94)	—	—	—
16	<i>Diaporthe eucalyptorum</i>	<i>Diaporthe eucalyptorum</i> (NR_120157.1)	493/502 (98)	病原—共生 Pathotroph-Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte - Plant Pathogen	可能 Possible
17	<i>Diaporthe miricidae</i>	<i>Diaporthe miricidae</i> (NR_147535.1)	539/548 (98)	病原—共生 Pathotroph-Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte - Plant Pathogen	可能 Possible
18	<i>Diaporthe sackstonii</i>	<i>Diaporthe sackstonii</i> (NR_147521.1)	536/542 (99)	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte - Plant Pathogen	可能 Possible
19	<i>Diaporthe</i> sp.1	<i>Diaporthe pascoei</i> (NR_137107.1)	547/571 (96)	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte-Plant Pathogen	可能 Possible
20	<i>Diaporthe</i> sp.2	<i>Diaporthe litichicola</i> (NR_147521.1)	536/542 (99)	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte - Plant Pathogen	可能 Possible
21	<i>Dirkmeia churashimaensis</i>	<i>Dirkmeia churashimaensis</i> (AB704895.1)	626/635 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
22	<i>Exserohilum mcginnisii</i>	<i>Exserohilum mcginnisii</i> (NR_157456.1)	595/599 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
23	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i> (MF281281.2)	555/556 (99)	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph	动物病原菌 - 内生菌 - 地 衣寄生菌 - 植物病原菌 - 土壤腐生菌 - 木材腐生菌 Animal Pathogen - Endophyte - Lichen Parasite - Plant Pathogen - Soil Saprotroph - Wood Saprotroph	可能 Possible

续表 1

OTU	鉴定名 Name	Blast 最接近比对 Closest Blast Match	一致性 (%) Identity (%)	营养型 Trophic mode	功能群 Functional guild	可能性 Likelihood
24	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> (KU847855.1)	543/544 (99)	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph	动物病原菌 - 内生菌 - 地 衣寄生菌 - 植物病原菌 - 土壤腐生菌 - 木材腐生菌 Animal Pathogen - Endophyte - Lichen Parasite - Plant Pathogen - Soil Saprotroph - Wood Saprotroph	可能 Possible
25	<i>Fusarium penzigii</i>	<i>Fusarium penzigii</i> (NR_137707.1)	528/534 (99)	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph	动物病原菌 - 内生菌 - 地 衣寄生菌 - 植物病原菌 - 土壤腐生菌 - 木材腐生菌 Animal Pathogen - Endophyte - Lichen Parasite - Plant Pathogen - Soil Saprotroph - Wood Saprotroph	可能 Possible
26	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium solani</i> (MH569611.1)	564/570 (99)	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph	动物病原菌 - 内生菌 - 地 衣寄生菌 - 植物病原菌 - 土壤腐生菌 - 木材腐生菌 Animal Pathogen - Endophyte - Lichen Parasite - Plant Pathogen - Soil Saprotroph - Wood Saprotroph	可能 Possible
27	<i>Muyocopron alcornii</i>	<i>Muyocopron alcornii</i> (NR_164052.1)	651/653 (99)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	很可能 Probable
28	<i>Myrmaecium rubricosum</i>	<i>Myrmaecium rubricosum</i> (KP687884.1)	504/506 (99)	—	—	—
29	<i>Ophioceraeae</i> sp.	<i>Ophioceras leptosporum</i> (NR_111768.1)	473/523 (90)	—	—	—
30	<i>Paraconiothyrium thysanolaenae</i>	<i>Paraconiothyrium thysanolaenae</i> (NR_155646.1)	492/496 (99)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	很可能 Probable
31	<i>Penicillium oxalicu</i>	<i>Penicillium oxalicu</i> (MF476070.1)	588/588 (100)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	可能 Possible
32	<i>Phaeosphaeria thysanolaenicola</i>	<i>Phaeosphaeria thysanolaenicola</i> (NR_155642.1)	505/510 (99)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	很可能 Probable
33	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	<i>Plectosphaerella cucumerina</i> (KF472138.1)	552/554 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
34	<i>Pyrenochaetopsis indica</i>	<i>Pyrenochaetopsis indica</i> (NR_160058.1)	514/521 (99)	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph	内生菌 - 地衣寄生菌 - 未 界定腐生菌 Endophyte - Lichen Parasite - Undefined Saprotroph	可能 Possible
35	<i>Talaromyces</i> sp.	<i>Talaromyces thailandensis</i> (NR_147428.1)	557/578 (96)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	很可能 Probable
36	<i>Talaromyces thailandensis</i>	<i>Talaromyces thailandensis</i> (NR_147428.1)	509/518 (98)	腐生 Saprotroph	未界定腐生型 Undefined Saprotroph	很可能 Probable
37	<i>Tremateia guiyangensis</i>	<i>Tremateia guiyangensis</i> (KX274240.1)	414/418 (99)	病原 Pathotroph	植物病原菌 Plant Pathogen	很可能 Probable
38	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (NR_120298.1)	619/622 (99)	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph	内生菌 - 植物病原菌 Endophyte-Plant Pathogen	很可能 Probable
39	<i>Xylaria feejeensis</i>	<i>Xylaria feejeensis</i> (KY951907.1)	578/584 (99)	腐生—共生 Saprotroph - Symbiotroph	内生菌 - 未界定腐生菌 - 木材腐生菌 Endophyte - Undefined Saprotroph - Wood Saprotroph	很可能 Probable

将叶片样品总 DNA 按样带混合后进行高通量测序, 共获得 59 829 条序列, 涉及 273 种真菌, 前 50 种真菌的序列占总序列数的 96.8%, 余下的 223 种真菌序列仅占 3.2%。叶片高通量测序检测到的真菌中, 序列优势度最高的是 *Apiotrichum mycotoxinivorans* 和胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*, 在分离培养中均被分离到, 然而优势度较高的 3 种真菌黄曲霉菌 *Aspergillus flavus*、茶籽酵母 *Meyerozyma caribbica* 和皮肤皮状新丝孢酵母 *Cutaneotrichosporon dermatis* 没有被分离到 (图 2)。分离培养得到的真菌中有 31 种在叶片高通量测序中被检测到, 这些真菌序列占高通量序列总数的 60%以上, 其中 21 种出现在高通量检测的前 50 种中, 在 50 种高通量序列中占 58.3%。

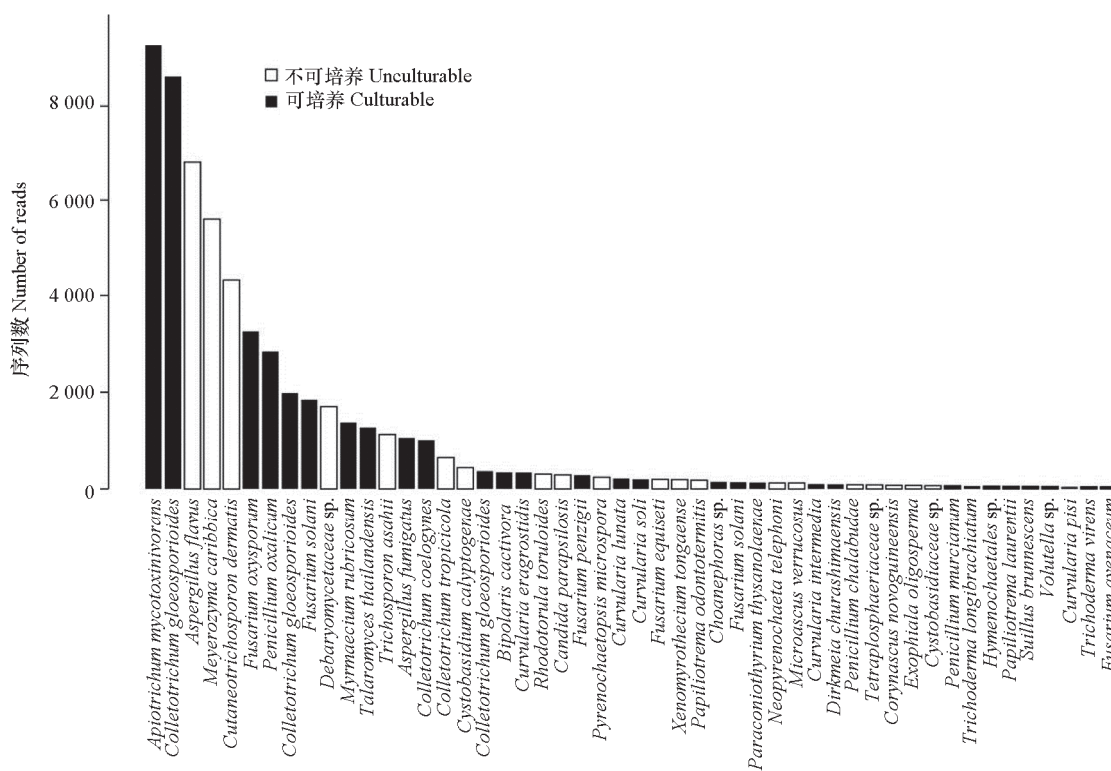


图 2 高通量测序所得序列数最多的前 50 种真菌的可培养性

Fig. 2 Culturability of the top 50 most abundant fungi obtained from next generation sequencing

2.2 文心兰病叶真菌功能多样性

FUNGuild 软件分析结果表明, 从文心兰病叶组织中分离所得的 39 种代表型真菌 (表 1) 中, 就营养型而言, 被认为有可能或很可能为腐生型真菌 (Saprotroph) 的有 9 种, 其序列数占总序列数的 42.9%, 最常见的有巨座壳科真菌 *Muyocopron alcornii*、隔孢假壳科真菌 *Paraconiothyrium thysanolaenae*、笄霉科 *Choanephora* sp.1 和球腔菌属真菌 *Phaeosphaeria thysanolaenicola*; 从功能群看, 除了 1 种为土壤腐生菌 (soil saprotroph) 外, 其他 8 种为未界定功能群的腐生型真菌 (undefined saprotroph)。被划为可能或很可能为致病型真菌 (Pathotroph) 有 10 种, 且功能群均为植物病原菌 (plant pathogen), 病原型真菌的序列数占 16%, 如 *Curvularia* sp.1、*Curvularia* sp.2 及 *Curvularia eragrostidis*。此外, 还有 15 种真菌被划为有可能或很可能介于两种及以上兼性营养型, 如病原—共生 (Pathotroph - Symbiotroph) 兼性营养型, 占序列数的 26.9%, 病原—腐生—共生 (Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph) 兼性营养型占 9.2%、腐生—共生 (Saprotroph - Symbiotroph) 兼性营养

型占 0.8%，有 5 种（4.2%）尚不能推断其营养型。就不同功能群而言，具有植物致病性的真菌占 51.3%。

2.3 文心兰病叶优势真菌的形态与致病性

选取分离试验中出现频度较高的前 10 种真菌（表 2），采用回接法研究其致病性。这 10 种常见的真菌回接至无菌健康的文心兰组培苗，均能侵染幼苗，并表现出不同程度的危害（图 3）。

表 2 分离到的 10 种常见真菌出现频次和回接于无菌苗的致病性评估
Table 2 Pathogenicity assessment of the top ten common fungi by inoculating onto aseptic seedlings

OTU	真菌名称 Name	频次 Frequency			致病速度/d Speed	营养型 Trophic mode
		样带 1 Transect 1	样带 2 Transect 2	样带 3 Transect 3		
27	巨座壳科真菌 <i>Muyocopron alcornii</i>	12	5	9	< 3	腐生 Saprotroph
8	胶孢炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	5	4	6	< 3	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph
30	隔孢假壳科真菌 <i>Paraconiothyrium thysanolaenae</i>	2	0	7	3~6	腐生 Saprotroph
17	间作壳属真菌 <i>Diaporthe miriciae</i>	1	1	4	< 3	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph
10	画眉草弯孢菌 <i>Curvularia eragrostidis</i>	4	1	0	3~6	病原 Pathotroph
13	弯孢属真菌 <i>Curvularia</i> sp.1	2	0	3	3~6	病原 Pathotroph
19	间作壳属真菌 <i>Diaporthe</i> sp.1	2	0	2	> 6	病原—共生 Pathotroph - Symbiotroph
26	赭皮镰孢菌 <i>Fusarium solani</i>	0	0	4	3~6	病原—腐生—共生 Pathotroph - Saprotroph - Symbiotroph
14	弯孢属真菌 <i>Curvularia</i> sp.2	2	0	1	3~6	病原 Pathotroph
36	篮状菌属真菌 <i>Talaromyces thailandensis</i>	2	0	1	3~6	腐生 Saprotroph

巨座壳科真菌 *Muyocopron alcornii* 在分离培养中得到的频度最高，为未界定功能群的腐生型真菌，其菌落光洁，菌丝量少，分泌黄色色素，菌落在培养过程中呈浅黄、金黄色至赭色，菌落中间色深扩散至四周渐浅；回接到文心兰幼苗 1 d 后，创口处即可见褐黄色斑块，发病速度极快。胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 为病原—共生兼性营养型真菌，菌落呈白色、灰色或橙色，而菌落背面呈白色和深灰色，回接的文心兰幼苗，2 d 即可见褐色病斑出现，发病速度极快。隔孢假壳科真菌 *Paraconiothyrium thysanolaenae* 为未界定功能群的腐生型真菌，菌落呈白灰色，生长缓慢，回接文心兰幼苗 4 d 后创口处可见黄化斑块，17 d 后接种的叶片腐烂并伴随菌丝覆盖。间座壳属真菌 *Diaporthe miriciae* 和 *Diaporthe* sp.1 为病原—共生兼性营养型真菌，菌落呈白色，菌丝绵毛状，回接 *Diaporthe miriciae* 的文心兰幼苗 2 d 后从创口处开始黄化萎蔫并逐步扩散整株，发病速度极快，回接间座壳属 *Diaporthe* sp.1 的文心兰幼苗创口处出现细小菌丝，随后培养基密布绒白菌丝，16 d 后近根处叶片才可见黄化，并开始向上黄化扩散至整株，发病速度极慢。画眉草弯孢菌 *Curvularia eragrostidis* 为病原型真菌，菌落中心颜色较深，回接第 4 天开始出现叶片发黄，7 d 明显黄化，非伤口叶片大面积黄化并伴有明显黑斑，与原病株病状相似。弯孢属真菌 *Curvularia* sp.1、*Curvularia* sp.2 菌落表面漏斗状，边缘有毛缘，呈橄榄黑色，接种这两种真菌的文心兰幼苗，在回接 3 d 后伤口处出现明显病斑，并不断扩大，发病速度一般。腐皮镰孢菌 *Fusarium solani* 为病原—腐生—共生兼性营养型真菌，菌丝蓬松，呈现白色，回接文心兰幼苗 3 d 后叶片黄化，接种处开始出现灰色病

斑, 随后病斑缓慢扩散并伴随培养基上开始生长菌落, 与原病株病状相似。篮状菌属真菌 *Talaromyces thailandensis* 为未界定功能群的腐生型真菌, 菌株形态特征为白色微黄菌丝, 菌落中心呈现轻微橙色, 在回接种后 5 d 伤口处开始黄化, 随后黄化面积扩大并覆盖有菌丝。

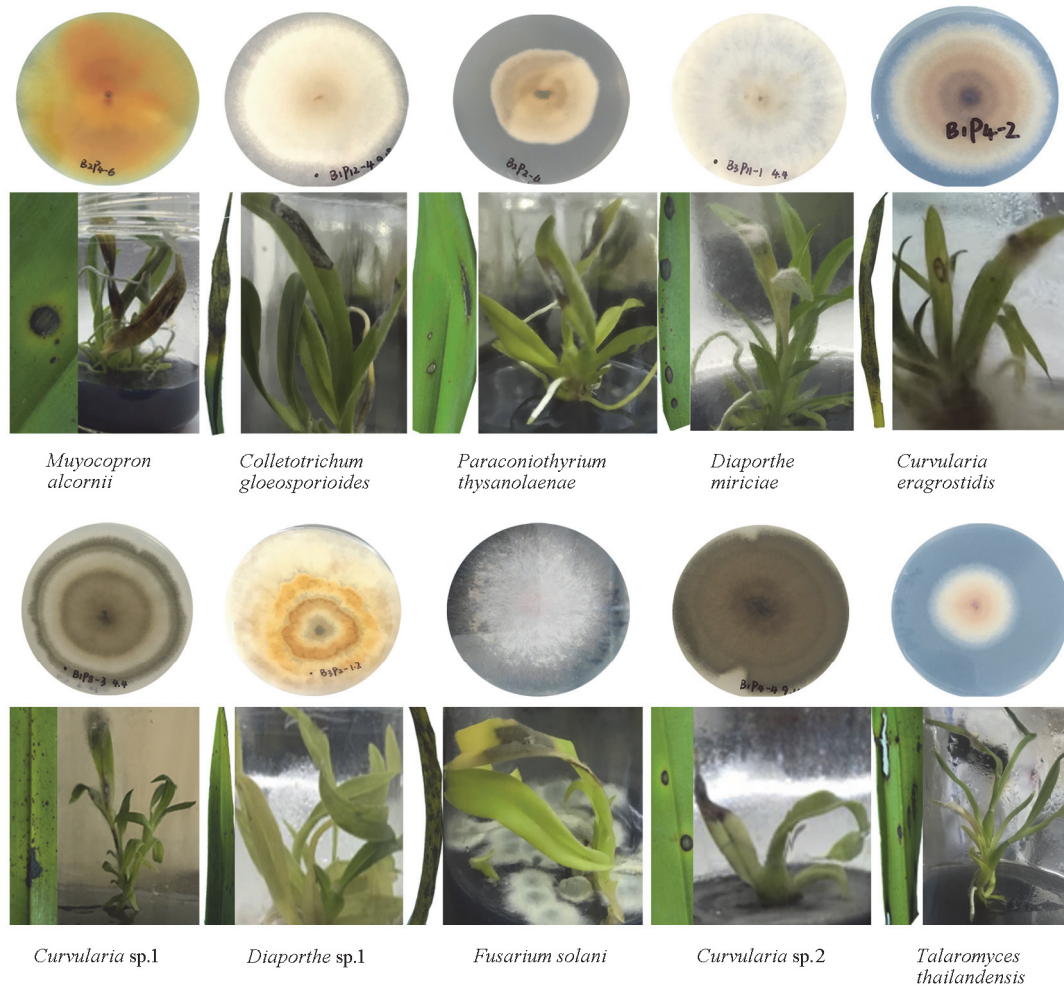


图3 分离到的 10 种常见真菌感染苗生长的文心兰叶片的症状

Fig. 3 A comparison of diseased leaves of nursery grown seedling infected by the top ten common fungal OTUs

3 讨论

依赖于纯培养的真菌检测与鉴定在当前仍有较广泛的应用, 然而, 采用不依赖于纯培养的分子检测技术的研究发现, 可培养的真菌只占极少部分 (Morgan et al., 2017; Dissanayake et al., 2018)。也有研究表明, 当采样的样品数量足够多时, 可以分离培养到大多数真菌 (Almario et al., 2017)。本研究可培养真菌与病叶组织高通量测序真菌的比较结果表明, 本次试验采样充分 (258 株的病叶), 能较好地反映病叶的真菌群落物种组成 (可培养真菌占高通量测序的真菌序列的 60% 以上)。

本研究中分离培养出现频次最高的巨座壳科真菌 *Myyocopron alcornii*, 使文心兰成年植株与幼苗均产生明显叶斑, 这种真菌也使澳大利亚兰科树兰属 (*Epidendrum* sp.) 植物产生叶斑病

(Hernández-Restrepo et al., 2019)。本研究中第 2 种高频出现的真菌胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 是常见的植物病原菌, 被报道为世界第八大植物病原菌 (Dean et al., 2012; Li et al., 2017), 在热带地区多年生植物如柑橘、番木瓜、油梨、薯蓣、咖啡等作物上均有报道, 引起产品器官炭疽病, 造成采前与采后严重损失 (Waller et al., 1992)。胶孢炭疽菌还危害兰科植物叶片, 发病初期表现为黑褐色疱状斑点, 后病斑逐渐扩散, 使叶片成段枯死 (李景蕪和张丽华, 2013)。本研究通过回接试验证明胶孢炭疽菌是引起文心兰炭疽病的病原真菌, 应当作为文心兰病原真菌防治的重要对象。

隔孢假壳科真菌 *Paraconiothyrium thysanolaenae* 在本研究培养过程中, 相对于其他可培养真菌生长较慢, 在本次接种试验中表现出对文心兰幼苗具有一定致病性, 严重阻碍了文心兰幼苗正常生长。这种真菌曾被报道为腐生型真菌 (Tedersoo et al., 2014)。*Paraconiothyrium* 是一个新属 (Verkley et al., 2004), 广布于温暖地区, 在南非、意大利、巴西、巴布亚新几内亚、夏威夷和土耳其等地 (Crous et al., 2006; Göre & Bucak, 2007; Riccioni et al., 2007)。该属的真菌常被报道为内生真菌, 与石杉 (Damm et al., 2008)、巴西槲寄生科 (Viscaceae) (Budziszewska et al., 2011) 共生。由此可见该属真菌的生态学特性具有多样性。

间作壳属 (*Diaporthe*) 真菌是拟茎点霉属 (*Phomopsis*) 真菌的有性态 (陆家云, 2001), 此类病原菌主要集中分布在热带和亚热带地区 (胡佳续 等, 2015; 高雅慧, 2017), 为多种重要经济作物、观赏植物和林木的病原菌、内生菌或腐生菌。在世界范围内引起一些重要的病害, 如茎溃疡、叶片和豆类枯萎、种子腐烂等 (Rehner & Uecker, 1994; Santos et al., 2009, 2011; Udayanga et al., 2011, 2012, 2014, 2015; Gomes et al., 2013; Hyde et al., 2014; Fan et al., 2015; Dissanayake et al., 2015, 2017a, 2017b)。本研究中回接验证试验间作壳属真菌 *Diaporthe miriciae* 和 *Diaporthe* sp.1 危害文心兰幼苗, 造成一定程度的黄化萎蔫。弯孢属 *Curvularia* 真菌约有 80 种, 大多数分布在热带地区, 被报道为兼性病原菌或植物有益真菌, 在土壤中很常见 (Priyadharsini & Muthukumar, 2017), 本属真菌常被报道引起水稻叶斑病 (Kusai et al., 2016)。画眉草弯孢菌 *Curvularia eragrostidis* 作为一种世界性的病原真菌被广泛报道, 可引起椰子的叶枯病和叶斑病, 以及玉米、凤梨、大蒜、山药、水稻、高粱和豇豆等植物的叶斑病 (侯恩庆 等, 2013; 代玉立 等, 2017; 武居宝, 2018; 王新华 等, 2019), 与巴西地区菠萝采后腐烂有关。本试验中回接 *Curvularia eragrostidis*、*Curvularia* sp.1 和 *Curvularia* sp.2 的文心兰幼苗均出现明显病症表现, 对文心兰幼苗均存在较强致病性。

镰孢属的真菌通常被报道为植物病原菌, 不同种类寄主有所不同, 如禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum* 对谷类和少数非谷类作物的危害最为严重, 而尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 寄主范围较广, 如番茄、棉花、香蕉等 (Dean et al., 2012)。腐皮镰孢菌 *Fusarium solani* 通常为植物病原菌, 致植物块茎、根和茎腐烂 (Proctor, 2006; Zhang et al., 2006), 可引起葫芦科、豌豆、马铃薯等作物的根、茎或果实腐烂, 或大豆的猝倒病。能感染植物与人类, 为广泛分布的植物病原菌或腐生真菌 (Schroers et al., 2016), 本试验中该菌对文心兰幼苗产生了明显致病性。

篮状菌属 *Talaromyces thailandensis* 为 2013 年在泰国森林土壤中分离到的新种, 在分子系统发育水平上显示与大孢子菌 *T. macrosporus* 具有密切关系 (Manoch, 2013), FUNGuild 数据库查询显示其营养型为腐生菌 (Tedersoo et al., 2014)。《植物病原真菌学》一书中指出有性态篮状菌属 *Talaromyces* 真菌的无性态为青霉属 *Penicillium* (陆家云, 2001)。本试验中回接 *Talaromyces thailandensis* 的文心兰植株出现黄化症状, 对文心兰幼苗有致病性, 不利于幼苗生长。

本研究中从文心兰病叶组织中分离到的真菌谱系多样性高, 包括子囊菌门、毛霉菌门、担子菌

门真菌, 主要为病原型真菌及腐生型真菌, 少量共生-病原兼性营养型真菌。苗圃中所分离的常见真菌回接文心兰试验中, 植株表现出轻重不一的感病症状, 回接病原真菌的致病速度与接种的剂量、菌株生长阶段、寄主的生长阶段、温度、光周期和搭载剂体量等因素有关。

References

- Almario J, Jeena G, Wunder J, Langen G, Zuccaro A, Coupland G, Bucher M. 2017. Root-associated fungal microbiota of nonmycorrhizal *Arabidopsis thaliana* and its contribution to plant phosphorus nutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114: E9403 - E9412.
- Börstler B, Renker C, Kahmen A, Buscot F. 2006. Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biology and Fertility of Soils*, 42 (4): 286 - 298.
- Budziszewska J, Szytuła W, Wilk M, Wrzosek M. 2011. *Paraconiothyrium babiogorensis* sp. nov., a new endophyte from fir club moss *Huperzia selago* (Huperziaceae). *Mycotaxon*, 115: 457 - 468.
- Chen Yu-le. 2005. New prevention map of Orchid diseases and insect pests. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press. (in Chinese)
陈宇勒. 2005. 新编兰花病虫害防治图谱. 沈阳: 辽宁科学技术出版社.
- Crous P W, Groenewald J Z, Groenewald M, Caldwell P, Braun U, Harrington T C. 2006. Species of *Cercospora* associated with grey leaf spot of maize. *Stud Mycol*, 55: 189 - 197.
- Dai Yu-li, Gan Lin, Ruan Hong-chun, Shi Niu-niu, Du Yi-xin, Chen Fu-ru, Yang Xiu-juan. 2017. Pathogen identification of small leaf spots on sweet corn plants in Fujian. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 32 (12): 1341 - 1349. (in Chinese)
代玉立, 甘林, 阮宏椿, 石妞妞, 杜宜新, 陈福如, 杨秀娟. 2017. 福建省鲜食玉米小型叶斑病的病原菌鉴定. *福建农业学报*, 32 (12): 1341 - 1349.
- Damm U, Verkley G J, Crous P W, Fourie P H, Haegi A, Riccioni L. 2008. Novel *Paraconiothyrium* species on stone fruit trees and other woody hosts. *Persoonia*, 20: 9 - 17.
- Dean R, Kan J A L V, Pretorius Z A, Hammond-Kosack K E, Pietro A D, Spanu P D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13 (7): 414 - 430.
- Dissanayake A J, Erio C, Hyde K D, Zhang W, Yan J Y, Li X H. 2017a. Molecular phylogenetic analysis reveals seven new *Diaporthe* species from Italy. *Mycosphere*, 8: 853 - 877.
- Dissanayake A J, Liu M, Zhang W, Chen Z, Udayanga D, Chukeatirote E, Li X H, Yan J Y, Hyde K D. 2015. Morphological and molecular characterisation of *Diaporthe* species associated with grapevine trunk disease in China. *Fungal Biology*, 119: 283 - 294.
- Dissanayake A J, Purahong W, Wubet T, Hyde K D, Zhang W, Xu H, Zhang G J, Fu C Y, Liu M, Xing Q K, Li X K, Yan J Y. 2018. Direct comparison of culture-dependent and culture-independent molecular approaches reveal the diversity of fungal endophytic communities in stems of grapevine (*Vitis vinifera*). *Fungal Diversity*, 90: 85 - 107.
- Dissanayake A J, Zhang W, Liu M, Hyde K D, Zhao W S, Li X H, Yan J Y. 2017b. *Diaporthe* species associated with peach tree dieback in Hubei, China. *Mycosphere*, 8: 533 - 549.
- Fan X L, Hyde K D, Udayanga D, Wu X Y, Tian C M. 2015. *Diaporthe rostrata*, a novel ascomycete from *Juglans mandshurica* associated with walnut dieback. *Mycological Progress*, 14: 82.
- Gao Ya-hui. 2017. Taxonomy and phylogenetic evolution of *Mesona*. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences. (in Chinese)
高雅慧. 2017. 间座壳属真菌的分类及系统演化. 北京: 中国科学院大学.
- Gomes R R, Glienke C, Videira S I R, Lombard L, Groenewald J Z, Crous P W. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, 31: 1 - 41.

- Göre M. E., Bucak C. 2007. Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Laurus nobilis*. *Forest Pathology*, 37 (4): 281 - 288.
- Han K S, Park J H, Back C G, Park M J. 2015. First report of *Fusarium subglutinans* causing leaf spot disease on *Cymbidium* orchids in Korea. *Mycobiology*, 43 (3): 343 - 346.
- Hernández-Restrepo M, Bezerra J, Tan Y P, Wiederhold N, Crous P, Guarro J, Gené J. 2019. Re-evaluation of *Mycoleptodiscus* species and morphologically similar fungi. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. *Persoonia*, 42: 8.
- Hou En-qing, Zhang Pei-sheng, Wang Ling, Liu En-yong, Liu Lian-meng, Huang Shi-wen. 2013. Occurrence, epidemical regularity and controlling of rice spikelet rot disease (RSRD) and pathogenicity of its pathogens. *Plant Protection*, 39 (1): 121 - 127. (in Chinese)
侯恩庆, 张佩胜, 王玲, 刘恩勇, 刘连盟, 黄世文. 2013. 水稻穗腐病菌致病性、发生规律及防控技术研究. *植物保护*, 39 (1): 121 - 127.
- Hu Jia-xu, Zhao Jing-yuan, Niu Chun-jing, Zhang Ying, Luo Jia-feng, Ren Xue-yi, Huang Guo-ming, Liao Fang. 2015. Advances in detection of *Phomopsis* spp. *Plant Quarantine*, 29 (6): 16 - 22. (in Chinese)
胡佳续, 赵璟源, 牛春敬, 张莹, 罗加凤, 任学毅, 黄国明, 廖芳. 2015. 拟茎点霉属真菌检测技术研究进展. *植物检疫*, 29 (6): 16 - 22.
- Huang Cai-wei, Liao Ying-hui, Zhang Qi, Ding Qiong. 2017. Molecular diagnosis of root-associated fungi of *Rhododendron bureavu* and *R. leptothrium* in Longzhou mountain of *Liangshan autonomous prefecture*. *Microbiology China*, 44 (5): 1108 - 1120. (in Chinese)
黄彩微, 廖映辉, 张琪, 丁琼. 2017. 凉山州龙肘山锈红杜鹃与薄叶马银花根部真菌分子检测. *微生物学通报*, 44 (5): 1108 - 1120.
- Hyde K D, Nilsson R H, Alias S A, Ariyawansa H A, Blair J E, Cai L, Cock A W A M, Dissanayake A J, Glockling S L, Goonasekara I D, Gorczak M, Hahn M, Ruvishika S Jayawardena, Kan J A L, Laurence M H, André Lévesque C, Li X H, Liu J K, Dimuthu S. Manamgoda, Martin F N, McKenzie E H C, McTaggart A R, Mortimer P E, Nair P V R, Pawłowska J, Rintoul T L, Shivas R G, Spies C F J, Summerell B A, Taylor P W J, Terhem R B, Udayanga D, Vaghefi N, Walther G, Wilk M, Wrzosek M, Xu J C, Yan J Y, Zhou N. 2014. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I. *Fungal Diversity*, 67: 1 - 125.
- Kusai N A, Azmi M M Z, Zulkifly S, Yusof M T, Zainudin N A I M. 2016. Morphological and molecular characterization of *Curvularia* and related species associated with leaf spot disease of rice in Peninsular Malaysia. *Rend Lincei-Sci Fis*, 27: 205 - 214.
- Li Chun-hua, Li Tian-chun, Li Ke-cheng. 2016. *Oncidium* potted greenhouse production. *China Flowers & Horticulture*, (6): 28 - 32. (in Chinese)
李春华, 李天纯, 李柯澄. 2016. 文心兰盆花温室生产. *中国花卉园艺*, (6): 28 - 32.
- Li Jing-hong, Zhang Li-hua. 2013. Occurrence characteristics and comprehensive control of orchid anthracnose. *Northern Horticulture*, (18): 108 - 110. (in Chinese)
李景麒, 张丽华. 2013. 兰花炭疽病的发生特点及综合防治. *北方园艺*, (18): 108 - 110.
- Li J, Sun K, Ma Q, Chen J, Wang L, Yang D, Chen X, Li X. 2017. *Colletotrichum gloeosporioides*-contaminated tea infusion blocks lipids reduction and induces kidney damage in mice. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2089.
- Lu Jia-yun. 2001. *Phytopathogenic mycology*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
陆家云. 2001. 植物病原真菌学. 北京: 中国农业出版社.
- Manoch L, Dethoup T, Yilmaz N, Houbraken J, Samson R A. 2013. Two new *Talaromyces* species from soil in Thailand. *Mycoscience*, 54 (5): 335 - 342.
- Morgan H H, du Toit M, Setati M E. 2017. The grapevine and wine microbiome: insights from high-throughput amplicon sequencing. *Front Microbiol*, 8: 820.
- Nguyen N H, Song Z, Bates S T, Branco S, Tedersoo L, Menke J. 2016. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20: 241 - 248.

- Priyadharsini P, Muthukumar T. 2017. The root endophytic fungus *Curvularia geniculata* from *Parthenium hysterophorus* roots improves plant growth through phosphate solubilization and phytohormone production. *Fungal Ecology*, 27: 69 - 77.
- Proctor R H, Plattner R D, Desjardins A E, Busman M, Butchko R A E. 2006. Fumonisin production in the maize pathogen *Fusarium verticillioides*: genetic basis of naturally occurring chemical variation. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 54 (6): 2424.
- Rehner S A, Uecker F A. 1994. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phylogeny and host diversity in the coelomycete *Phomopsis*. *Canadian Journal of Botany*, 72: 1666 - 1674.
- Riccioni L, Manning M, Valvassori M, Haegi A, Casanato S, Spinelli R. 2007. A new disease: leader die-back in *Actinidia chinensis* Hort16A in Italy. *Acta Horticulturae*, 753: 669 - 676.
- Santos J M, Phillips A J L. 2009. Resolving the complex of *Diaporthe* (*Phomopsis*) species occurring on *Foeniculum vulgare* in Portugal. *Fungal Diversity*, 34: 111 - 125.
- Santos J M, Vrandečić K, Čosić J, Duvnjak T, Phillips A J L. 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. *Persoonia*, 27: 9 - 19.
- Schroers H J, Samuels G J, Zhang N, Short D P G, Geiser D M. 2016. Epitypification of *Fusisporium* (*Fusarium*) *solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia*, 108 (4), 806 - 819.
- Spatafora J W, Chang Y, Benny G L, Lazarus K, Smith M E, Berbee M L. 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108 (5): 1028-1046
- Srivastava S, Kadooka C, Uchida J Y. 2018. *Fusarium* species as pathogen on orchids. *Microbiological Research*, 207: 188 - 195.
- Stockinger H, Krüger M, Schüßler A. 2010. DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 187 (2): 461 - 474.
- Tedersoo L, Smith M E. 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biol Rev*, 27: 83e99.
- Tedersoo L, Bahram M, Pöhlme S, Kõljalg U, Yorou N S, Wijesundera R, Ruiz L V, Vasco-Palacios A M, Thu P Q, Suija A, Smith M E, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou A L, Nilsson R H, Morgado L N, Mayor J, May T W, Majuakim L, Lodge D J, Su See Lee S S, Karl-Henrik Larsson, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel T W, Harend H, Guo Liang-dong, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Dearnaley J, Kesel A D, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley F Q, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346 (6213): 1256688.
- Udayanga D, Castlebury L A, Rossman A Y, Chukeatirote E, Hyde K D. 2015. The *Diaporthe sojae* species complex: phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. *Fungal Biology*, 119: 383 - 407.
- Udayanga D, Castlebury L A, Rossman A Y, Hyde K D. 2014. Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytospora*, *D. foeniculina* and *D. rudis*. *Persoonia*, 32: 83 - 101.
- Udayanga D, Liu X, Crous P W, McKenzie E H, Chukeatirote E, Hyde K D. 2012. A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*). *Fungal Diversity*, 56: 157 - 171.
- Udayanga D, Liu X, McKenzie E H C, Chukeatirote E, Bahkali A H A, Hyde K D. 2011. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity*, 50: 189 - 225.
- Verkley G J M, da Silva M, Wicklow D T, Crous P W. 2004. *Paraconiothyrium*, a new genus to accommodate the mycoparasite *Coniothyrium minitans*, anamorphs of *Paraphaeosphaeria*, and four new species. *Studies in Mycology*, 50: 323 - 335.
- Waller J M, Bailey J A, Jeger M J. 1992. *Colletotrichum* diseases of perennial and other cash crops. *Colletotrichum Biology Pathology & Control*, 167 - 185.
- Wang Xin-hua, Gao Jin-xin, Gao Shi-gang, Liu Tong, Lu Zhi-xiang, Li Ya-qian, Chen Jie. 2019. Research progress on maize *Curvularia* leaf spot

- caused by *Curvularia lunata*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 49 (4): 433 - 444. (in Chinese)
- 王新华, 高金欣, 高士刚, 刘 铜, 陆志翔, 李雅乾, 陈 捷. 2019. 玉米新月弯孢叶斑病研究进展. *植物病理学报*, 49 (4): 433 - 444.
- Wu Ju-bao. 2018. Screening and identification of biocontrol bacteria inducing resistance to maize *curvularia* leaf spot disease[M. S. Dissertation]. Shenyang: Shenyang Agricultural University. (in Chinese)
- 武居宝. 2018. 诱导玉米抗弯孢菌叶斑病生防细菌的筛选鉴定及机理初探[硕士论文]. 沈阳: 沈阳农业大学.
- Yang Si-qi, Zhang Qi, Song Xi-qiang, Wang Jian, Li Yi-de, Xu Han, Guo Shou-yu, Ding Qiong. 2019. Structural features of root-associated fungus - plant interaction networks in the tropical montane rain forest of Jianfengling, China. *Biodiversity Science*, 27 (3): 314 - 326. (in Chinese)
- 杨思琪, 张 琪, 宋希强, 王 健, 李意德, 许 涵, 郭守玉, 丁 琼. 2019. 尖峰岭热带山地雨林根部真菌-植物互作网络结构特征. *生物多样性*, 27 (3): 314 - 326.
- Yang Xue, Ye Wei, Li Yong-qing, Jiang Jin-lan, Cao Li-yuan, Lei Fu-gui. 2017. Isolation, identification and pathogenicity analysis of soft rot pathogen from *Oncidium* 'Gower Ramsey'. *Subtropical Plant Science*, 46 (3): 201 - 208. (in Chinese)
- 杨 学, 叶 炜, 李永清, 江金兰, 曹奕鸯, 雷伏贵. 2017. 南茜文心兰软腐病原分离鉴定及致病性分析. *亚热带植物科学*, 46 (3): 201 - 208.
- Yang Zu-jiang, Qi Pei-kun. 1995. Five diseases detected in tropical orchids imported from Taiwan. *Plant Quarantine*, (2): 80. (in Chinese)
- 杨祖江, 戚佩坤. 1995. 从台湾引进热带兰中检出五种病害. *植物检疫*, (2): 80.
- Zhang Jia-xing, Dai De-jiang, Liu Ya-hui, Chen Yi, Shen Yao, Zhang Chuan-qing. 2019. Identification of the pathogen causing the leaf blight of *Dendranthema morifolium* and its resistance mechanism to carbendazim. *Journal of Plant Protection*, (4): 787 - 794. (in Chinese)
- 张佳星, 戴德江, 刘亚慧, 陈 轶, 沈 瑶, 张传清. 2019. 杭白菊叶枯病原菌鉴定及其对多菌灵的抗性机制. *植物保护学报*, (4): 787 - 794.
- Zhang Ji-peng, Xing Meng-yu. 2007. Investigation of diseases and pest on *Oncidium* spp. and *Dendrobium nobile* in Hainan Island. *J South Chin Univ Trop Agric*, (4): 24 - 27. (in Chinese)
- 张继鹏, 邢梦玉. 2007. 海南岛文心兰、石斛兰病虫害调查. *热带生物学报*, (4): 24 - 27.
- Zhang N, Donnell K O, Sutton D A, Naim F A, Summerbell R C, Padhye A A, Geiser D M. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (6): 2186 - 2190.
- Zhou Chuan-bo, Lin Sheng. 2007. Hainan tropical diseases and prevention of orchids. *China Tropical Agriculture*, (1): 52 - 53. (in Chinese)
- 周传波, 林 盛. 2007. 海南热带兰花病害种类与防治. *中国热带农业*, (1): 52 - 53.