

# 沙棘枯萎病病原菌鉴定、生物学特性和药剂筛选

徐文杰<sup>1</sup>, 戈素芬<sup>2</sup>, 高岩<sup>3</sup>, 韩严锋<sup>1</sup>, 卢顺光<sup>3</sup>, 梁月<sup>3</sup>, 张东为<sup>2</sup>, 夏博<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>辽宁省植物病理学重点实验室·沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866; <sup>2</sup>辽宁省旱地农林研究所, 辽宁朝阳 122000; <sup>3</sup>水利部沙棘开发管理中心, 北京 100038)

**摘要:**【目的】明确沙棘枯萎病病原菌种类及生物学特性, 筛选出高效安全的防控药剂。【方法】采用组织分离法对病原菌进行分离, 并通过柯赫氏法则验证; 依据形态学特征和多基因(ITS、EF-1 $\alpha$ 及RPB2)联合法建立分子发育树鉴定病原菌; 采用单因素试验法研究病原菌的生物学特性; 选取10种化学药剂进行室内毒力测定, 并结合盆栽试验评价药剂防控效果。【结果】明确层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)是当地沙棘枯萎病病原菌。最适宜病原菌菌丝生长的培养条件是以蔗糖为碳源、蛋白胨为氮源的PDA培养基, 28℃、pH=9.0、光暗交替(12 h光照/12 h黑暗); 最适宜孢子产生的培养条件是以果糖为碳源、酵母浸膏和蛋白胨为氮源的PSA培养基, 28℃、pH=5.0、光暗交替(12 h光照/12 h黑暗)。室内药剂毒力测定结果表明, 98%醚菌酯的抑菌效果最好, EC<sub>50</sub>值为0.070 9 mg·mL<sup>-1</sup>; 盆栽防效试验结果表明, 50%醚菌酯水分散粒剂的防控效果最好, 达到76.0%。【结论】层出镰刀菌是辽宁省朝阳市种植园内沙棘枯萎病病原菌; 醚菌酯和戊唑醇可以作为沙棘枯萎病防控的潜在高效药剂。

**关键词:**沙棘; 层出镰刀菌; 鉴定; 生物学特性; 毒力测定

中图分类号: S793.6

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2026)05-1262-13

## Identification, biological characteristics and fungicide screening of the pathogen causing sea buckthorn stem wilt

XU Wenjie<sup>1</sup>, GE Sufen<sup>2</sup>, GAO Yan<sup>3</sup>, HAN Yanfeng<sup>1</sup>, LU Shunguang<sup>3</sup>, LIANG Yue<sup>3</sup>, ZHANG Dongwei<sup>2</sup>, XIA Bo<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Liaoning Key Laboratory of Plant Pathology/College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China; <sup>2</sup>Liaoning Institute of Dryland Agriculture and Forestry, Chaoyang 122000, Liaoning, China; <sup>3</sup>Sea Buckthorn Development and Management Center, Ministry of Water Resource, Beijing 100038, China)

**Abstract:** 【Objective】 From 2020 to 2024, a highly destructive disease was investigated in sea buckthorn plantations in Chaoyang City, Liaoning Province, China. The affected plants exhibited severe symptoms, including massive leaf fall, branch dieback, and eventual death. Given the significant impact of this disease on sea buckthorn production, this study was designed to identify the pathogen species causing stem wilt, determine its biological characteristics, and screen for effective and safe fungicides. The findings of this study are expected to contribute to the development of sustainable and effective management strategies for this disease. 【Methods】 Typical symptomatic sea buckthorn branches and roots were collected from affected plantations. The pathogen was isolated using the tissue isolation method, and the pathogenicity of the purified strains was verified by the back-joining method according to Koch's rules. After single-spore purification, the pathogenic strains were cultured on SNA medium for 10 days. The colony morphology and color were meticulously observed and recorded. The size and morphological characteristics of conidia were measured using a light microscope to characterize the pathogen's morphology. Molecular identification was carried out using PCR amplification with fungal

收稿日期: 2025-08-07 接受日期: 2025-11-12

基金项目: 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关项目(2025AB016); 水利部沙棘开发管理中心沙棘病虫害研究专项[沙棘绕实蝇和果实病害防控技术研究(2024-zg-kj-011), 沙棘枝干枯萎病原学和防控技术研究(2019-zg-kj-08)]

作者简介: 徐文杰, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为植物病理学。E-mail: 2023240693@stu.syau.edu.cn

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: xiabo0522@syau.edu.cn

universal primers ITS1/ITS4 and *Fusarium*-specific primers RPB2 and EF-1 $\alpha$ . The sequencing results were analyzed using BLAST on NCBI, and phylogenetic trees were constructed using MEGA 7.0 software to confirm the identity of the pathogen. The biological characteristics of the pathogen were studied by evaluating its growth on different media, carbon sources, nitrogen sources, temperatures, light conditions, and pH levels. This comprehensive assessment aimed to understand the optimal conditions for the pathogen's growth and sporulation. In vitro efficacy of 10 fungicides was determined using the mycelial growth rate method. Based on the results, five effective fungicides were selected for pot experiments to evaluate their control efficacy under controlled conditions. This step aimed to identify effective fungicides that could potentially be used in field applications to manage the disease effectively. **【Results】** The pathogen isolation and preliminary morphological identification revealed that the strain X28 was highly pathogenic. Inoculation experiments showed that symptoms closely resembled those observed in the field. Morphological observations of the strain X28 on SNA medium revealed white colonies with abundant aerial mycelium and yellow pigment on the reverse. Macroconidia were slightly curved with three distinct septa, while microconidia were colorless, oval or ellipsoidal, and with 0 - 2 septa. Molecular identification confirmed the pathogen as *Fusarium proliferatum*. The results of biological characteristic showed that the optimal conditions for mycelial growth were PDA medium with sucrose as the carbon source and peptone as the nitrogen source, at 28 °C, pH 9.0, and under alternating light and dark conditions (12 h light/12 h darkness). The optimal carbon source for sporulation of the pathogen was fructose, and the optimal nitrogen sources were yeast extract and peptone. Light treatment and pH had minimal effects on spore production of the pathogen. The toxicity of the ten fungicides testing on *F. proliferatum* showed that these fungicides exhibited inhibitory effects on the pathogen, and 98% kresoxim-methyl showed the strongest inhibitory effect ( $EC_{50} = 0.0709 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), followed by 97% tebuconazole ( $EC_{50} = 0.2619 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Pot experiments demonstrated that the incidence rate of inoculated plants treated with five fungicides was significantly lower than the control. The lowest incidence rates were observed with 80% tebuconazole WG and 50% kresoxim-methyl WG, at 25% and 20%, respectively. These treatments also showed the lowest disease indices (21.7% and 18.3%) and the highest control efficacies (71.6% and 76%). The findings suggest that both kresoxim-methyl and tebuconazole are highly effective in controlling *F. proliferatum*. **【Conclusion】** This study identified *F. proliferatum* as the pathogen causing sea buckthorn wilt in Chaoyang City, Liaoning Province. The 50% kresoxim-methyl WG demonstrated the best control efficacy among the tested fungicides. The detailed investigation of the pathogen's biological characteristics and the screening of effective fungicides provide practical support for the field control of sea buckthorn wilt. Future research should focus on large-scale field trials to validate the long-term efficacy and safety of these fungicides. Additionally, exploring integrated management strategies, including cultural practices and biological control agents, could further enhance the control of sea buckthorn wilt. This comprehensive approach will be important for the sustainable management of sea buckthorn plantations and the mitigation of economic losses caused by this destructive disease.

**Key words:** Sea buckthorn; *Fusarium proliferatum*; Identification; Biological characteristics; Toxicity test

沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L.) 属胡颓子科 (Elaeagnaceae) 沙棘属 (*Hippophae*), 是一种多年生落叶灌木, 广泛分布于亚洲、欧洲和北美洲。沙棘具有很强的环境适应能力, 在高盐、干旱等恶劣条件下

依旧能够生存<sup>[1]</sup>。此外, 沙棘具有较强的固土、保水能力, 能够通过根瘤共生系统增强对大气氮的生物固定能力<sup>[2]</sup>。同时, 沙棘具有重要的经济价值, 在欧洲、加拿大和美国果园中被大量种植<sup>[3-4]</sup>。沙棘果实

蕴含约200余种营养成分与生物活性物质,营养价值位居众多水果和蔬菜前列<sup>[5]</sup>。

近年来,随着沙棘种植面积的不断增加,各种沙棘病害发生逐渐加剧。据报道,在全球多个沙棘种植区的果园中,传播最为广泛的病害是枯萎病<sup>[6]</sup>。受枯萎病侵染的沙棘植株,叶片萎蔫、黄化及提早凋落;由于真菌产生的毒素危害,枝条维管束组织出现变色的症状。受害植株的维管束组织堵塞,导致枝条干枯死亡,而受害较轻的植株则生长发育不良<sup>[7]</sup>。沙棘枯萎症状的发生与轮枝菌属(*Verticillium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)病原菌侵染有关<sup>[8-10]</sup>。前人研究表明,大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)和黑白轮枝菌(*Verticillium albo-atrum*)侵染导致沙棘出现明显的枯萎症状<sup>[11-13]</sup>。据白俄罗斯的研究报道,在表现枯萎症状的沙棘样品中,镰刀菌属的致病真菌占主导地位<sup>[10,14]</sup>。目前,大多数针对沙棘枯萎病相关镰刀菌的鉴定多精确于属水平。已经报道的沙棘枯萎病相关镰刀菌包括禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、粉红镰刀菌(*Fusarium roseum*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和接骨木镰刀菌(*Fusarium sambucinum*)等,然而这些真菌对沙棘的致病性尚未得到进一步研究<sup>[6]</sup>。在中国,拟枝孢镰刀菌(*Fusarium sporotrichioides*)是引起黑龙江省和甘肃省沙棘枯萎病的病原菌<sup>[15-16]</sup>。2023年,印度学者研究发现,拟枝孢镰刀菌的侵染导致了当地沙棘枯萎病的发生<sup>[17]</sup>。

近年来调查发现,在辽宁省朝阳市的沙棘种植基地出现了大量沙棘枯萎、死亡的现象,表现出典型的沙棘枯萎病症状。本研究通过对田间沙棘枯萎病症状的观察与样品采集,进行了病原菌的分离和鉴定、致病性验证和生物学特性测定。同时,应用10种杀菌剂进行了室内毒力测定,并选取室内抑菌效果较好的药剂开展盆栽防效试验,以期为辽宁朝阳地区沙棘枯萎病的防控提供参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 病样采集及病原菌分离

在2020—2024年的调查中发现,辽宁省朝阳市沙棘种植基地5~8年生的俄罗斯大果沙棘品种丘伊斯克(水利部沙棘开发管理中心引进)出现了枝条干枯、韧皮部皱缩的典型症状,部分沙棘枝干阳面的树皮呈黑色条带状坏死,感病沙棘叶片枯萎、凋落,维

管束呈褐色或黑褐色,大量植株枯死。本试验采集症状典型的沙棘枝条和韧皮部样品,放置于便携式冰箱中,并对采集地发病沙棘植株的症状进行记录和观察。

### 1.2 病原菌的鉴定

1.2.1 病原菌的分离和纯化 将采集的沙棘病株样品用蒸馏水冲洗表面,自然晾干后置于超净工作台中,用果木枝剪、解剖刀截取枝条木质部变色部位的维管束组织,挑取约4 mm×4 mm的样品组织,将其浸泡于75%乙醇中消毒30 s,无菌水冲洗干净后,再将其转入5% NaClO<sub>3</sub>溶液中浸泡3 min,无菌水漂洗3次,使用灭菌滤纸吸干样品表面水分后,放入PDA培养基中,25 °C避光培养3~5 d。待样品长出菌落后,采用单孢分离法进行纯化培养<sup>[18]</sup>。

1.2.2 病原菌致病性检测 采用温室盆栽接种试验进行致病性测定。选取1年生、健康的大果沙棘品种丘伊斯克(辽宁省旱地农林研究所提供)硬枝扦插苗,单株栽植于装有2.5 kg灭菌土壤的花盆内,重复5次。每3~4 d浇灌1次水,其间定期浇灌霍格兰营养液。1个月后待沙棘植株正常生长时,使用75%乙醇对沙棘茎基部进行消毒,用解剖刀在树干上轻划出十字形伤口,使用0.5 cm打孔器将单孢纯化培养的菌落制成直径为0.5 cm的菌饼,贴接在伤口上,用蘸取过无菌水的脱脂棉覆盖伤口保湿。以空白PDA培养基作为对照,定期观察沙棘的发病情况<sup>[16]</sup>。病原菌的再分离与鉴定:选取接种后发病植株维管束病健交界位置切取样品组织,进行病原物的再分离和鉴定,以完成科赫氏法则验证,方法同1.2.1。

1.2.3 病原菌的形态学鉴定 使用SNA培养基(生工,沈阳),25 °C恒温培养单孢纯化后的致病菌,约10 d后观察、并记录菌落形态和颜色。挑取少量菌丝于载玻片上,滴加1滴蒸馏水,于Eclipse Ci-L光学显微镜(日本东京,尼康)下放大100~400倍,观察孢子和分生孢子梗的形态特征,测定分生孢子大小,并结合真菌鉴定手册和病原菌鉴定相关资料进行初步鉴定<sup>[19]</sup>。

1.2.4 病原菌分子生物学鉴定 在经单孢纯化后的菌落边缘截取直径为5 mm的菌饼,将菌饼放置于马铃薯液体培养基(PD)中,封好封口膜。摇床参数设置为25 °C、110 r·min<sup>-1</sup>,振荡培养5 d后,用灭菌滤纸过滤培养液,收集菌丝并用无菌水冲洗3次,转移至

50 mL离心管中,于冻干机中冻干3 h。病原菌基因组DNA的提取方法参照真菌基因组快速抽提试剂盒(生工,上海)说明书,-20 °C保存备用。

利用真菌通用引物ITS1/ITS4、镰刀菌特异性引物RPB2和EF-1 $\alpha$ (表1)进行PCR扩增,PCR扩增体系同参考文献[20-21]。取10  $\mu$ L PCR产物于1.4%琼脂糖凝胶电泳上检测,并将剩余产物送至上海生工生物公司(长春)测序。在NCBI上将测序结果进行BLAST比对,下载同源性较高的序列,用MEGE 7.0软件构建病原菌的系统发育树并进行分析。

表1 基因及引物序列

Table 1 Genes and primer sequences

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
EF-1H	ATGGGTAAGGAAGACAAGAC
EF-2T	GGAAGTACCAGTGATCATGTT-
RPB2-7cF	ATGGGYAARCAAGCYATGGG-
RPB2-11aR	5GCRTGGATCTTRTCRTCSACC-

### 1.3 病原菌生物学特性分析

1.3.1 不同培养基处理对病原菌生长及产孢的影响 用打孔器在培养5 d的菌落边缘打取直径为5 mm的菌饼接种于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato sucrose agar, PDA)、马铃薯蔗糖琼脂培养基(potato saccharose agar, PSA)、马铃薯麦芽糖琼脂培养基(potato maltose agar, PMA)、燕麦琼脂培养基(oat meal agar, OMA)、玉米粉琼脂培养基(corn meal agar, CMA)、察氏培养基(czapek)、水琼脂培养基(water agar, WA)7种培养基上,25 °C恒温培养箱内培养,逐日采用十字交叉法测量菌落直径,每个处理3次重复。分别在培养15 d(根据病原菌生长情况而定)的培养皿中加入10 mL无菌水,用玻璃棒刮取孢子,再加入无菌水将孢子悬浮液浓度稀释至 $1 \times 10^6$  CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ ,采用血球计数板测定产孢量,3次重复<sup>[22]</sup>。

1.3.2 不同温度处理对病原菌生长及产孢的影响 将供试菌株接于PDA培养基中央,分别放于5、10、15、20、25、28、30、35 °C的恒温培养箱中培养,采用十字交叉法测量菌落直径,每个处理3次重复。产孢量测定方法同1.3.1。

1.3.3 不同光照处理对病原菌生长及产孢的影响

设置全光照、全黑暗和光暗交替(12 h光照/12 h黑暗)3个处理,将供试菌饼接种于培养基中央,置于25 °C(最适温度)恒温培养箱内培养,逐日测量菌落直径,每个处理3次重复。产孢量测定方法同1.3.1。

1.3.4 不同pH、碳源、氮源处理对病原菌生长及产孢的影响 利用1 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 盐酸溶液和1 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 氢氧化钠溶液分别将PDA培养基pH值调至3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0共9个梯度,将供试菌饼放置于不同pH培养基中培养。以察氏培养基(Czapek)为基础培养基,分别以蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖和淀粉作为替换碳源,同时以NH $_4$ Cl、(NH $_4$ ) $_2$ SO $_4$ 、NaNO $_3$ 、牛肉膏、蛋白胨、酵母浸膏、尿素和甘氨酸作为替换氮源,分别以无碳及无氮的基础培养基作为对照(CK)。将配制好的培养基pH值调至7.0,将供试菌饼置接种于各培养基上,于25 °C条件下培养3 d,采用十字交叉法测量菌落直径,每种培养基设置3次重复。产孢量测定方法同1.3.1。

### 1.4 病原菌的室内毒力测定及田间药剂筛选

1.4.1 供试药剂室内毒力测定 通过室内毒力试验,测定10种杀菌剂对沙棘枯萎病原菌的抑制作用。采用菌丝生长速率法确定杀菌剂的抑制率<sup>[23]</sup>。药剂名称、生产厂家及试验浓度梯度见表2。

将灭菌后约55 °C PDA培养基中,分别加入10种供试杀菌剂原药稀释的不同浓度梯度药液(总量10 mL),制成含药剂的培养基。将供试菌饼(直径5 mm)转入上述含不同浓度杀菌剂的PDA培养基平板中央,以PDA培养基作为空白对照,每个浓度3次重复。25 °C恒温培养10 d,采用十字交叉法测量菌落直径,按照下方公式计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率/%=(对照菌落生长直径-处理菌落生长直径)/(对照菌落生长直径-菌饼直径) $\times$ 100。通过计算明确各种杀菌剂的毒力回归方程和抑制中浓度(EC $_{50}$ ),比较不同杀菌剂对病原菌的抑制活性。

1.4.2 沙棘枯萎病盆栽防效测定 通过室内药剂毒力测定,筛选出5种效果较好的药剂进行盆栽防效试验(表3)。每个花盆装入2 kg灭菌沙土,每盆种植2株1年生沙棘硬枝扦插苗,每4 d浇水1次,并浇灌2次霍格兰营养液。待沙棘稳定生长后,用无菌竹签沿着花盆四周刺伤沙棘根部10次,采用 $1 \times 10^6$ 个 $\cdot$ mL $^{-1}$ 层出镰刀菌孢子悬浮液进行灌根接种,每盆接种50 mL,设置清水作为对照组。接种7 d后进行

表2 药剂名称及试验质量浓度梯度

Table 2 The fungicides and test concentration

药剂 Reagent	生产公司 Manufacturer	质量浓度梯度 Concentration/(mg·L <sup>-1</sup> )
95%腐环唑 95% Epoxiconazole	浙江禾本科技股份有限公司 Zhejiang Heben Pesticide & Chemicals Co., Ltd	0.031 3、0.062 5、0.125 0、0.250 0、0.500 0
97%戊唑醇 97% Tebuconazole	江苏剑牌农化股份有限公司 Jiangsu Sword Agrochemicals Co., Ltd	0.003 9、0.015 6、0.062 5、0.250 0、1
98%吡唑醚菌酯 98% Pyraclostrobin	安道麦安邦(江苏)有限公司 Adama Anpon (Jiangsu) Co., Ltd	0.156 0、0.625 0、2.500、10、40
98.5% 腐霉利 98.5% Procyimidone	浙江禾本科技股份有限公司 Zhejiang Heben Pesticide & Chemicals Co., Ltd	3.125、12.500、50、100、200
98%啶酰菌胺 98% Boscalid	上海禾本药业股份有限公司 Shanghai Heben-Eastsun Medicaments Co., Ltd	10、20、30、40、50
98%醚菌酯 98% kresoxim-methyl	江苏禾裕泰化学有限公司 Jiangsu Corechem Chemicals Co., Ltd	0.031 25、0.125 0、0.5、2、8
96%丁香菌酯 96% Coumoxystrobin	吉林省八达农药有限公司 Jilin Bada Pesticide Co., Ltd	0.018 1、0.312 5、1.250 0、5、20
98%萎锈灵 98% Carboxin	安道麦辉丰(江苏)有限公司 Adama Huifeng (Jiangsu) Co., Ltd	3.75、7.50、15、30、60
95%己唑醇 95% Hexaconazole	江苏莱科化学有限公司 Jiangsu Laike Chemicals Co., Ltd.	0.031 3、0.125 0、0.250 0、0.500 0、1
98%多菌灵 98% Carbendazim	江苏龙灯化学有限公司 Jiangsu Rotam Chemicals Co., Ltd	0.1、0.2、0.4、0.8、1.6

表3 盆栽试验施用药剂

Table 3 The chemical agents were used for pot experiment

药剂 Reagent	剂型 Formulation	有效成分含量 Content of active ingredient	生产厂家 Manufacturer
多菌灵 Carbendazim	水分散粒剂 Water Dispersible Granule(WG)	90%	上海禾本药业有限公司 Shanghai Heben-Eastsun Medicaments Co., Ltd
腐霉利 Procyimidone	水分散粒剂 Water Dispersible Granule(WG)	80%	陕西美邦药业集团有限公司 Shaanxi Meibang Pharmaceutical Group Co., Ltd
醚菌酯 Kresoxim-methyl	水分散粒剂 Water Dispersible Granule(WG)	50%	山东富润实生物科技有限公司 Shandong Furunshi Biotechnology Co., Ltd
戊唑醇 Tebuconazole	水分散粒剂 Water Dispersible Granule(WG)	80%	上海禾本药业有限公司 Shanghai Heben-Eastsun Medicaments Co., Ltd
氟环唑 Epoxiconazole	乳油 Emulsifiable Concentrate(EC)	75 g·L <sup>-1</sup>	巴斯夫植物保护(江苏)有限公司 BASF Plant Protection (Jiangsu) Co., Ltd

第1次灌根施药,每盆灌根500 mL(1500倍液),20 d后进行第2次灌根施药。每种药剂处理10盆,3次重复,施药时间选择在傍晚。于第2次施药后20 d调查植株的病情指数。

病害分级标准参照陈悦<sup>[10]</sup>的方法:0级,沙棘健康无病;1级,沙棘1/3枝条出现叶片黄化、萎蔫;2级,沙棘1/3~1/2枝条出现叶片黄化、萎蔫,或枝条上出现凹陷病斑;3级,沙棘1/2~3/4枝条出现叶片黄化、萎蔫及脱落,或病斑连结成片;4级,沙棘3/4以上的枝条落叶,枝条干枯、皱缩;5级,整株沙棘即将枯死。

按照下列公式计算病情指数、发病率和防治效

果:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病枝数} \times \text{发病等级})}{(\text{调查总枝数} \times \text{最高发病等级})} \times 100;$$

$$\text{发病率}/\% = \frac{\text{发病植株数}}{\text{调查总植株数}} \times 100;$$

$$\text{防治效果}/\% = \frac{(\text{对照区病情指数} - \text{处理区病情指数})}{\text{对照区病情指数}} \times 100.$$

### 1.5 数据分析

采用SPSS 26.0软件对试验数据进行Probit分析,计算各杀菌剂的有效抑制中浓度(EC<sub>50</sub>)、毒力回归方程等相关参数;同时,利用该软件对试验数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),差异显著性检验(P<0.05)。

## 2 结果与分析

### 2.1 沙棘枯萎病症状

在辽宁省朝阳市沙棘栽培基地调查时发现,发病严重的沙棘植株,其枝条通常出现树皮皱缩的症状,枝条的维管束组织呈典型褐色或黑褐色(图1-

A),通常在第2年枝条长势衰弱或干枯死亡,短期内对主干和其他侧枝的影响较小。沙棘在感病后期,主干基部朝向阳面的韧皮部出现黑色条带状或环状坏死(图1-B),坏死条带逐渐向上延伸,植株可能在1~2年后枯萎死亡(图1-C)。严重感病的沙棘植株,其茎基部横截面的木质部出现黑褐色病变(图1-



A. 感病沙棘枝条维管束组织;B. 感病沙棘韧皮部;C. 感病沙棘后期整株枯死;D. 感病沙棘茎基部横截面。

A. Vascular tissue of diseased seabuckthorn branches; B. Phloem of diseased seabuckthorn; C. Whole plant dieback at the late stage of infection; D. Cross-section of the stem base of diseased seabuckthorn.

图1 沙棘枯萎病田间症状

Fig. 1 Field symptoms of sea buckthorn stem wilt

D),且树龄5~6年生的沙棘植株发病严重。

### 2.2 沙棘枯萎病病原菌的鉴定

2.2.1 分离物的致病性测定 对病原菌进行分离,获得大量菌落特征一致的菌株,其中以X28为典型代表菌株。经病原菌分离与形态学初步鉴定后,选取单孢子纯化培养5 d的代表菌株X28,利用盆栽沙棘植株进行活体接种。接种后7~9 d植株中下部叶片开始出现不均匀斑驳褪绿、边缘变黄、坏死的症状

(图2-B),第14天部分发病叶片开始自下而上枯落(图2-C),接种20 d部分枝条出现枯萎、干缩的典型枯萎病症状(图2-D),与田间自然发病沙棘的症状高度相似。从发病植株枝条木质部进行病原菌再分离,经培养后发现与接种病原菌落、孢子的形态一致。

2.2.2 分离物的形态学鉴定 菌株X28在PDA培养基上形成具有大量气生菌丝体的白色菌落,背面产生黄色色素沉淀。在显微镜下观察发现,菌株



A. 未接种的健康沙棘(CK);B. X28 接种 7 d 后叶片斑驳褪绿;C. X28 接种 14 d 后叶缘坏死;D. X28 接种 20 d 后整个枝条枯死。

A. Healthy sea buckthorn was not inoculated(CK); B. Leaf mottled Chlorosis on the 7th day after inoculation with X28; C. Leaf edge necrosis on the 14th day after inoculation with X28; D. Branches wilt and died on the 20th day after inoculation with X28.

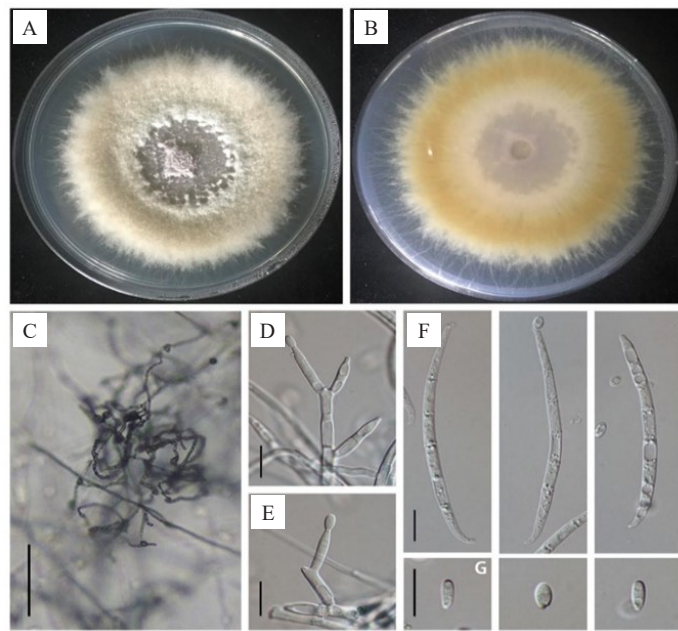
图2 病原菌致病性鉴定

Fig. 2 Pathogenicity identification of the pathogens

X28产生大量分生孢子。其中,大型分生孢子略微弯曲,多数具有3个明显的隔膜,中央两个细胞较宽,两端细胞略尖,具有足部形状的基底细胞,大小为 $(39.2\pm 7.8)\mu\text{m}\times(4.3\pm 0.8)\mu\text{m}$ ,数量较少;小型分生孢子无色,长卵圆形或椭圆形,无隔膜,大小为 $(7.3\pm 3.4)\mu\text{m}\times(3.1\pm 0.9)\mu\text{m}$ (图3)。经初步鉴定,该病原菌为*Fusarium proliferatum*。

2.2.3 分子生物学鉴定 代表菌株X28的测序结果

表明,引物ITS、RPB2、EF-1 $\alpha$ 扩增获得的片段长度分别为527 bp、1005 bp和648 bp。将获得的基因序列提交至 GenBank 数据库,序列号分别为PV938939、MZ614611和MZ164979。同时,在NCBI数据库进行BLAST比对,以*A. gaisen*为外群,基于邻接法(NJ),使用MEGA 7.0构建多基因系统发育树(图4)。结果表明,菌株X28与*Fusarium proliferatum*聚在同一分支。因此,结合菌株形态学和



A. 平板正面菌落特征;B. 平板底部菌落特征;C. 菌丝,比例尺=100 μm;D-E. 分生孢子梗,比例尺=10 μm;F. 大型分生孢子,比例尺=10 μm;G. 小型分生孢子,比例尺=10 μm。

A.Characteristics of *F. proliferatum* colonies on PDA plates; B. Characteristics of *F. proliferatum* colony observed from the bottom of a PDA plate; C. Characteristics of mycelia of *F. proliferatum*, bar=100 μm; D-E. Conidiophore, bar=10 μm; F. Macroconidia, bar=10 μm; G. Microconidia, bar=10 μm.

图3 层出镰刀菌的显微形态特征

Fig. 3 Morphological characteristics of *Fusarium proliferatum*

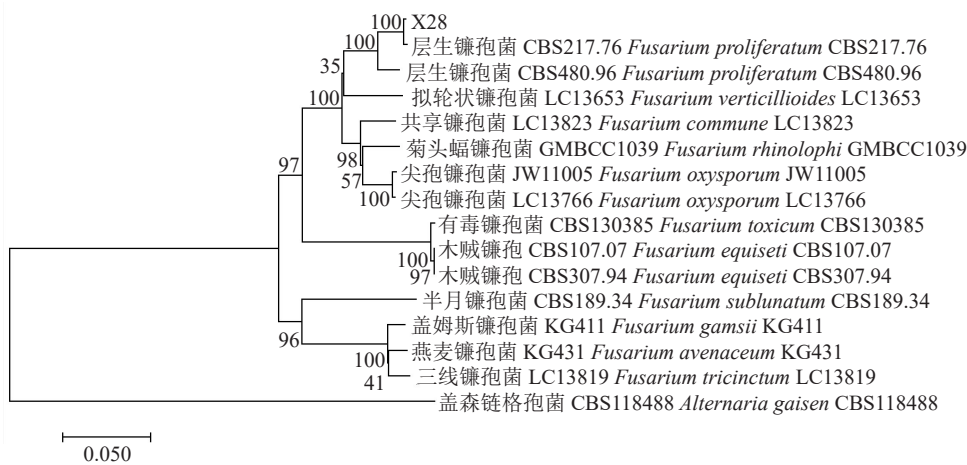


图4 基于ITS、RPB2和EF-1 $\alpha$ 基因序列联合构建的系统发育树

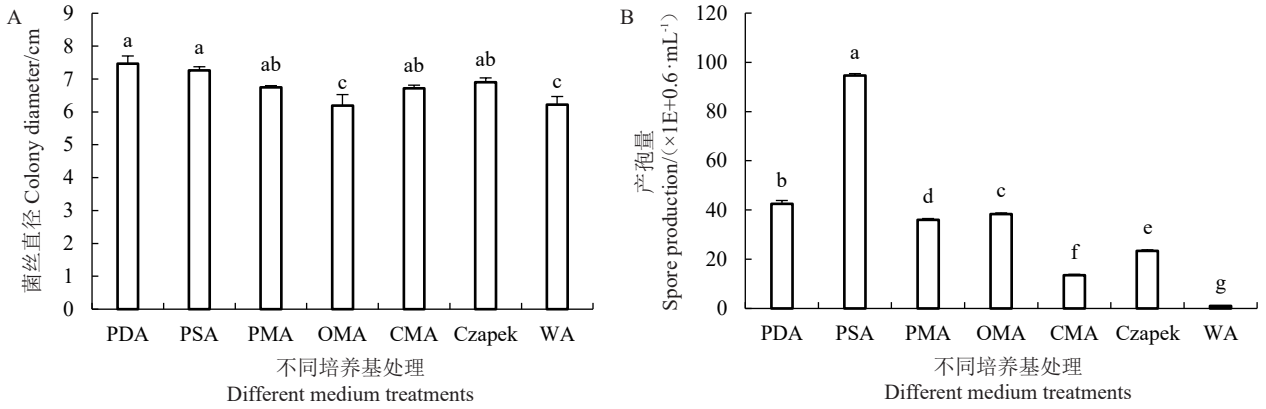
Fig. 4 Phylogenetic tree constructed based on ITS, RPB2 and EF-1 $\alpha$  gene sequences

分子生物学分析,明确引起辽宁省朝阳市沙棘枯萎病病原菌为层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)。

### 2.3 病原菌 *F. proliferatum* 的生物学特性

2.3.1 不同培养基处理对 *F. proliferatum* 菌丝生长和产孢量的影响 层出镰刀菌在7种培养基上均能生

长,但不同培养基处理对其菌丝生长及产孢量的影响差异显著。菌落在PDA培养基上的生长速度最快,在WA和OMA培养基上生长速度较缓慢(图5-A);在PSA培养基上的产孢量最大,显著高于其他6种培养基,而在WA培养基上几乎不产生孢子(图5-B)。



不同小写字母表示在  $P < 0.05$  水平差异显著。下同。

Different small letters indicate significant difference at  $P < 0.05$ . The same below.

图5 不同培养基处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响

Fig. 5 Effect of different medium treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

2.3.2 不同温度处理对 *F. proliferatum* 菌丝生长和产孢量的影响 层出镰刀菌在15~35 °C范围内均能生长,在28 °C时菌丝生长速度最快,在25、30 °C时次之,在15、35 °C时生长缓慢,而在5 °C和10 °C时

几乎不生长,且各温度处理间差异显著(图6-A);在15~35 °C范围内均能产孢,在28 °C时产孢量最大,显著高于其他温度处理(图6-B)。

2.3.3 不同光照处理对 *F. proliferatum* 菌丝生长和

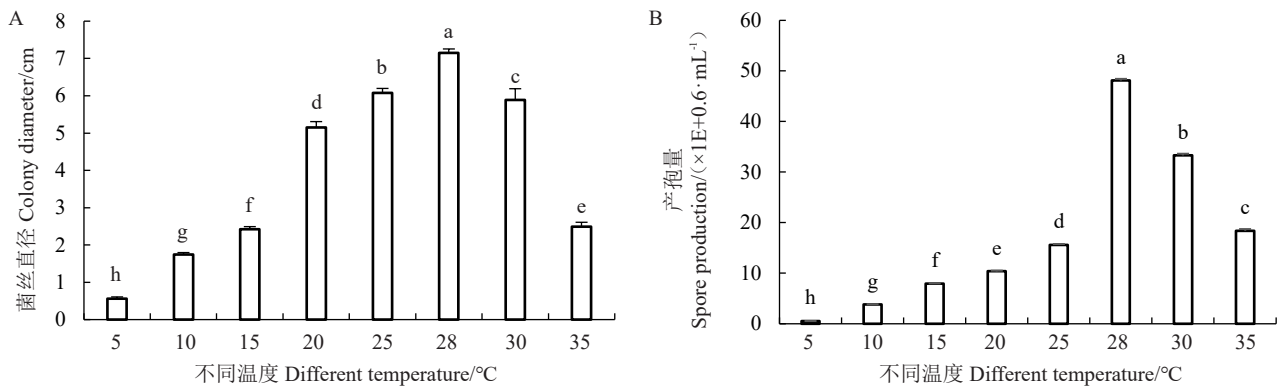


图6 不同温度处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响

Fig. 6 Effect of different temperature treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

产孢量的影响 不同光照条件对层出镰刀菌的菌丝生长和产孢量的影响存在显著差异。在光暗交替(12 h光照/12 h黑暗)条件下,该病原菌的菌丝生长速度最快,且产孢量达到最大值(图7)。

度最快;当pH=4~7时菌丝生长速度较快,且各处理间无显著差异;当pH=3时菌丝生长缓慢,与其他处理差异显著(图8-A)。当pH=4~7时产孢量较高,其中pH=5时产孢量最大,显著高于其他处理;而当pH=3和pH>8时,产孢量显著降低(图8-B)。

2.3.4 不同培养基pH处理对 *F. proliferatum* 菌丝生长和产孢量的影响 菌株在pH=3~11范围内均能正常生长并产生孢子。当pH=9时,菌丝生长速

2.3.5 不同碳源和氮源处理对 *Fusarium proliferatum* 菌丝生长和产孢量的影响 应用Czapek培养基

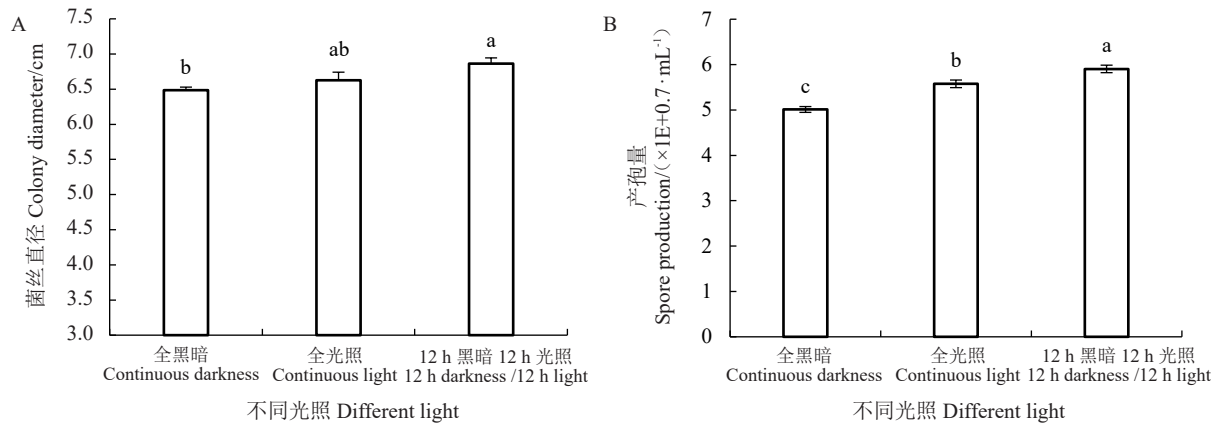


图 7 不同光照处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响

Fig. 7 Effect of different light treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

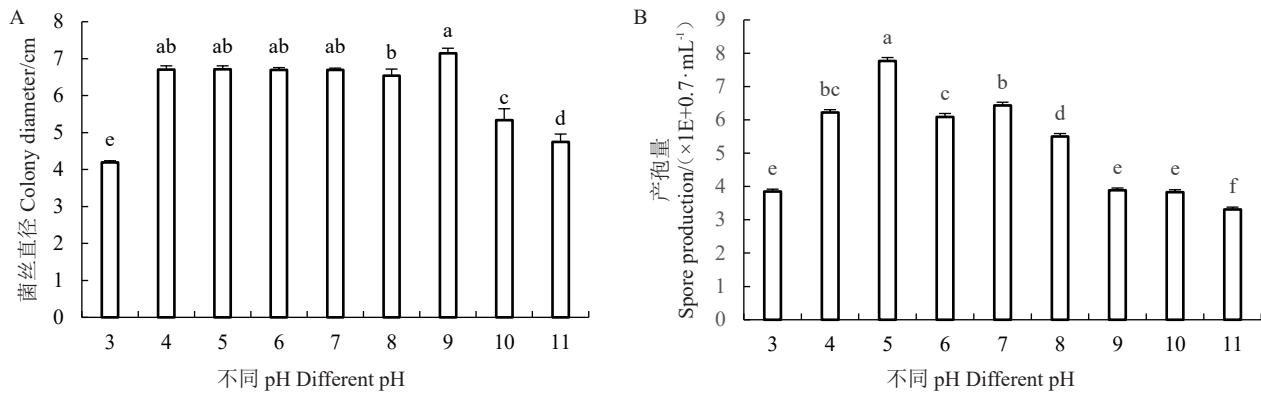


图 8 不同 pH 处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响

Fig. 8 Effect of different pH treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

检测不同碳、氮源对病原菌菌丝生长及产孢量的影响。菌株在6种供试碳源及8种供试氮源下均能生长。以蔗糖和可溶性淀粉为碳源时菌丝生长速度最快,以麦芽糖为碳源时菌丝生长速度最慢;在以果糖为主要碳源的培养基上产孢效果最好且差异显著

(图9)。在牛肉膏、蛋白胨及酵母浸膏的资源培养基上菌丝生长速度最快,在以甘氨酸为主要氮源的培养基上菌丝生长速度最慢且差异显著;以酵母浸膏和蛋白胨为主要氮源时产孢量较大,以NaNO<sub>3</sub>为氮源时产孢量最少,显著低于其他氮源处理(图10)。

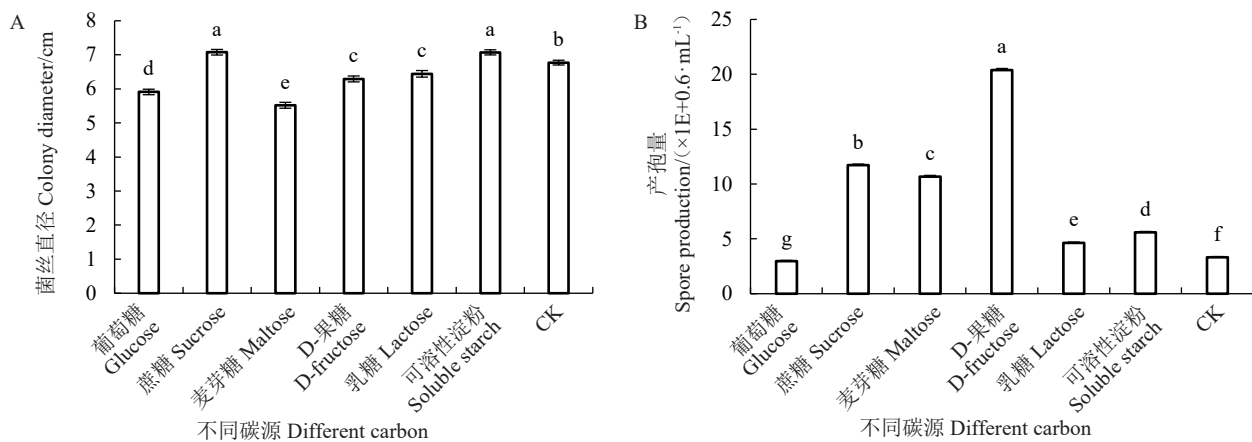


图 9 不同碳源处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响

Fig. 9 Effect of different carbon source treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

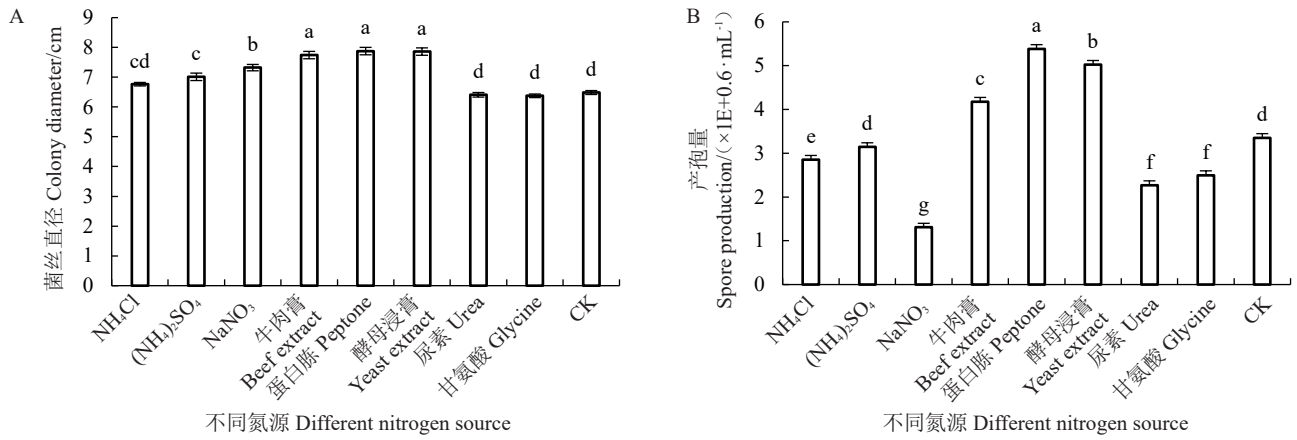


图 10 不同氮源处理对层出镰刀菌菌丝生长(A)及产孢量(B)的影响  
 Fig. 10 Effect of different nitrogen source treatments on mycelial growth (A) and spore production (B) of *Fusarium proliferatum*

2.4 沙棘枯萎病菌室内药剂筛选及盆栽防效

2.4.1 室内药剂筛选 室内毒力测定结果显示(表4),10种供试杀菌剂对菌株X28的菌丝生长均具有不同程度的抑制作用。98%醚菌酯抑菌活性最强,EC<sub>50</sub>值为0.070 9 mg·L<sup>-1</sup>;97%戊唑醇次之,EC<sub>50</sub>值为0.261 9 mg·L<sup>-1</sup>;98%多菌灵与98%氟环唑的EC<sub>50</sub>值分别为0.373 mg·L<sup>-1</sup>和0.466 7 mg·L<sup>-1</sup>,均表现一定的抑菌能力。上述药剂的EC<sub>50</sub>值相对较低,对病原

菌的抑制效果较为突出;其余药剂的EC<sub>50</sub>值则相对更高,抑菌活性依次减弱,其中98%啉酰菌胺的抑菌活性最弱,EC<sub>50</sub>值高达27.557 3 mg·L<sup>-1</sup>。

2.4.2 药剂对沙棘枯萎病的防治效果 选择在室内毒力测定中表现较好的5种杀菌剂,进一步测定其对沙棘枯萎病的室外防治效果。经5种杀菌剂处理后,接种病原菌的沙棘植株的发病率均较对照显著降低(表5)。其中,80%戊唑醇水分散粒剂、50%醚菌酯水

表 4 10种原药对层出镰刀菌室内毒力测定的结果

Table 4 Toxicity measurement results of 10 original fungicides to *F. proliferatum*

药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	EC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
98%醚菌酯 98% kresoxim-methyl	Y=5.310 3+0.270 0x	0.070 9	0.974 9
97%戊唑醇 97% tebuconazole	Y=5.528 5+0.908 3x	0.261 9	0.991 4
98%多菌灵 98% carbendazim	Y=5.792 6+1.850 5x	0.373 0	0.982 3
98%氟环唑 98% epoxiconazole	Y=5.408 0+1.232 7x	0.466 7	0.997 7
98.5%腐霉利 98.5% procymidone	Y=3.799 6+0.712 2x	1.685 5	0.951 3
95%己唑醇 95% hexaconazole	Y=4.769 2+0.534 0x	2.705 7	0.973 1
98%吡唑醚菌酯 98% pyraclostrobin	Y=4.556 6+0.991 5x	2.800 3	0.973 3
96%丁香菌酯 96% coumoxystrobin	Y=4.679 2+0.287 4x	13.064 8	0.990 1
98%萎锈灵 98% carboxin	Y=2.563 6+2.167 6x	13.304 3	0.992 6
98%啉酰菌胺 98% boscalid	Y=0.780 4+2.929 8x	27.557 3	0.996 0

表 5 5种杀菌剂灌根处理对沙棘枯萎病的防治效果

Table 5 The effect of 5 fungicides on sea buckthorn stem wilt

药剂名称 Reagent	发病率 Incidence rate/%	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect/%
90%多菌灵 90% Carbendazim	35.0±5.0 ab	31.3±6.7 b	59.1
80%戊唑醇 80% Tebuconazole	25.0±2.9 a	21.7±3.3 a	71.6
50%醚菌酯 50% Kresoxim-methyl	20.0±2.9 a	18.3±2.3 a	76.0
75 g·L <sup>-1</sup> 氟环唑 75% Epoxiconazole	35.0±5.8 ab	26.7±4.7 ab	65.0
80%腐霉利 80% Procymidone	45.0±5.8 b	28.3±3.0 ab	62.9
CK(水 water)	85.0±7.6 c	76.3±4.8 c	—

注:不同小写字母表示 P<0.05 差异显著。

Note: Different small letters indicate significant difference at P<0.05.

分散粒剂的发病率最低,分别为25.0%和20.0%,病情指数分别为21.7和18.3,防治效果分别为71.6%和76.0%,其余3种药剂的防治效果均低于70%。

### 3 讨 论

镰刀菌引起的植物枯萎病(*Fusarium wilt*)是全球性土传真菌病害。层出镰刀菌是世界性分布的土壤习居真菌,可以侵染多种植物,引起叶腐、茎腐、根腐、穗腐、果实腐烂等症状<sup>[24]</sup>。目前,多基因序列分析在物种鉴定中的应用日益广泛,通过整合不同基因信息,能够更全面地反映物种的系统发育关系。曾莉莎等<sup>[25]</sup>利用TEF1- $\alpha$ 、ITS、IGS、 $\beta$ -tubulin和histone H3等5个基因对香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)进行了系统鉴定,揭示了复杂的系统发育关系。本研究通过形态学鉴定、分子生物学鉴定和致病性测定,明确辽宁省朝阳市沙棘枯萎病是由层出镰刀菌导致的系统性侵染病害。据报道,我国黑龙江省和甘肃省的沙棘枯萎病病原菌为拟枝孢镰刀菌<sup>[15,26]</sup>。两种病原菌人工接种后的发病进程较为相似,接种约两周后,植株开始出现落叶等症状;接种3周后,部分接种植株出现枝条枯死的严重症状<sup>[16]</sup>。苏联学者研究认为拟枝孢镰刀菌是对沙棘致病力最强的镰刀菌之一<sup>[27]</sup>,本研究表明层出镰刀菌与拟枝孢镰刀菌对沙棘可能具有相似的致病力。尖孢镰刀菌、拟枝孢镰刀菌等多种致病镰刀菌均能够引起沙棘枯萎病的发生,黑龙江省树龄约10年的沙棘植株发病较为严重<sup>[15]</sup>,而甘肃省树龄约5年的引种大果沙棘品种同样出现了严重发病的现象<sup>[26]</sup>,这可能与沙棘品种,病原菌致病力以及栽培环境有关,需要在后续研究中重点关注抗病沙棘品种选育等工作。

明确植物病原菌生物学特性对制定有效的病害防治策略至关重要<sup>[28]</sup>。研究沙棘枯萎病病原菌生物学特性,可为阐明病害的发展流行提供理论依据。本研究分析了环境因素(如光周期、酸碱度和温度)以及营养因素(如碳源、氮源)对层出镰刀菌的影响。研究表明,层出镰刀菌在15~35℃范围内均可生长和产孢,适宜温度范围为25~30℃,最适温度为28℃;PDA培养基最利于菌丝生长,PSA培养基最利于菌株产孢;菌株生长的适宜pH范围为4~9,pH为5时菌株产孢量最大,强酸或强碱会抑制其生长;光暗交替条件最适宜菌丝生长与产孢;最佳碳源为蔗糖和果糖,最佳氮源为蛋白胨和酵母浸膏。已有研究

报道,引起新疆棉花茎腐病的病原菌同为层出镰刀菌,最适宜菌丝生长及产孢的培养基分别为PDA与PSA,最适温度范围为20~30℃,且在pH=7~8时产孢能力较强<sup>[29]</sup>,与本研究结论基本一致。而韩冰等<sup>[30]</sup>在对茄子花腐病病原菌层出镰刀菌菌株Fp01研究时发现,其最适碳源为麦芽糖,最适氮源为硫酸铵,与本试验结果存在差异。该差异可能源于不同寄主植物中层出镰刀菌对碳源、氮源利用能力的不同。研究指出,同一病原菌在不同寄主及生态环境中可能表现出较强的适应性与耐受性,从而导致其生物学特性出现分化<sup>[31]</sup>。此外,生物学特性的差异甚至可见于侵染同一寄主植物的同种病原菌<sup>[32]</sup>。对甘肃省沙棘枯萎病病原菌(*Fusarium sporotrichioides*)生物学特性研究表明,菌株最适生长条件为全黑暗、温度25℃、pH=6,最佳碳、氮源分别为蔗糖和甘氨酸<sup>[20]</sup>,表明不同镰刀菌种或菌株在生物学特性上具有多样性。

化学药剂是防治枯萎病的主要措施之一<sup>[33]</sup>。本研究测定了10种不同类型杀菌剂对层出镰刀菌菌丝生长的抑制效果。基于EC<sub>50</sub>值的分析表明,醚菌酯和戊唑醇的抑菌效果最好,EC<sub>50</sub>值分别是0.070 9 mg·L<sup>-1</sup>和0.261 9 mg·L<sup>-1</sup>。盆栽药剂筛选试验发现,80%戊唑醇水分散粒剂和50%醚菌酯水分散粒剂进行灌根处理的沙棘枯萎病病情指数最低,分别为21.7和18.3,防治效果分别为71.6%和76.0%,与室内药剂筛选结果基本一致。研究表明,50%醚菌酯水分散粒剂2000倍液具有广谱的杀菌活性,且具备较好的保护及治疗功效,选择性较高,具有较高的应用价值<sup>[34]</sup>。戊唑醇属于三唑类杀菌剂,具有高效低毒的特点,通过抑制真菌细胞膜麦角甾醇的合成从而达到杀菌效果<sup>[35]</sup>。刘传德等<sup>[36]</sup>发现戊唑醇和丙环唑等三唑类高效内吸性杀菌剂能够有效抑制镰刀菌等病害的发生。据报道,98%戊唑醇对紫花苜蓿根腐病具有较好的防治效果<sup>[37]</sup>。30%戊唑醇悬乳剂可有效防治小麦赤霉病,防控效果始终保持在90%以上<sup>[38]</sup>。田间调查发现,在沙棘的扦插期和移栽期根系更容易形成伤口,被致病镰刀菌侵染的风险更高。因此,在这些关键阶段利用杀菌剂或生防制剂防控沙棘枯萎病是十分必要的。综上所述,醚菌酯和戊唑醇交替使用或合理混配,可达到有效预防及缓解病害发生的目的。限于研究条件,本研究尚未进行杀菌剂复配和田间应用试验,后续将针对杀菌剂复配设计相关试验,以期对沙棘枯萎病

的有效防控提供理论依据。

## 4 结 论

通过柯赫氏法则验证、病原菌形态学特征鉴定和多基因系统发育树构建,明确了辽宁省朝阳市沙棘枯萎病病原菌为层出镰刀菌(*F. proliferatum*)。病原菌菌丝生长以蔗糖为碳源、蛋白胨为氮源的PDA培养基,在28℃、pH=9.0、光暗交替条件下最为适宜;而孢子产生则以果糖为碳源、酵母浸膏和蛋白胨为氮源的PSA培养基,在28℃、pH=5.0、光暗交替条件下最为适宜。醚菌酯和戊唑醇对层出镰刀菌具有明显的抑制作用,且在盆栽试验中防控效果均在70%以上,具有较好的田间防控应用潜力。

### 参考文献 References:

- [1] AKHTAR N, KHAN B A, MAHMOOD T, PARVEEN R, QAYUM M, ANWAR M, SHAHIQ-UZ-ZAMAN, FAROOQ M. Formulation and evaluation of antisebum secretion effects of sea buckthorn w/o emulsion[J]. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences, 2010, 2(1): 13-17.
- [2] CHEN Y M, LIU G B, HOU X L. Ecological benefits of artificial seabuckthorn stands in semi-arid hilly region of Loess plateau soil- and water conservation and soil moisture[J]. The Journal of Applied Ecology, 2002, 13(11): 1389-1393.
- [3] YANG B R, KALLIO H. Effects of harvesting time on triacylglycerols and glycerophospholipids of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2002, 15(2): 143-157.
- [4] OLAS B. Sea buckthorn as a source of important bioactive compounds in cardiovascular diseases[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 97: 199-204.
- [5] WANG K W, XU Z Z, LIAO X J. Bioactive compounds, health benefits and functional food products of sea buckthorn: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(24): 6761-6782.
- [6] DREVINSKA K, MOROČKO-BIČEVSKA I. Sea buckthorn diseases caused by pathogenic fungi[J]. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural, Exact, and Applied Sciences, 2022, 76(4): 393-401.
- [7] HIEMSTRA J A, HARRIS D C. A compendium of *Verticillium* wilts in tree species[M]. Wageningen: Ponsen & Looijen, 1998.
- [8] SHAMANSKAYA L D. Sea-buckthorn pests and diseases at Altai[C]. Proceedings of The Fourth International Seabuckthorn Association Conference. Belokuriha, Russia, Europrint, 2009: 87-88.
- [9] PIŪAT B, BIENIEK A, ZADERNOWSKI R. Common sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as an alternative orchard plant[J]. Polish Journal of Natural Science, 2015, 30(4): 417-430.
- [10] SHALKEVICH M S, KOLTUN N Y, PLESKATSEVICH R I. Sea buckthorn pests and diseases in Belarus[C]. Proceedings of the 3rd European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorks-2014. Helsinki, Finland: Natural Resources Institute Finland, 2015: 83-86.
- [11] HARRIS D C. An introduction to *Verticillium* wilts[M]//HIEMSTRA J A, HARRIS D C. A Compendium of *Verticillium* Wilts in tree species. Wageningen: Ponsen & Looijen, 1998: 1-4.
- [12] FRADIN E F, THOMMA B P H J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*[J]. Molecular Plant Pathology, 2006, 7(2): 71-86.
- [13] COTUNA O, ȘUMĂLAN R, SĂRĂȚEANU V, PARASCHIVU M, DURĂU C. Diagnosis of *Verticillium* sp. fungus from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.)[J]. Research Journal of Agricultural Science, 2014, 46(1): 145-151.
- [14] GARANOVIĆ I M, ŠPITALNAYA T V, LINNIK L I. Fungi genus *Fusarium*-injurious pathogens of sea-buckthorn[C]. Sea-buckthorn on the Way Between Science and Industry Interaction: Proceedings of the Fourth International Seabuckthorn Association Conference, Belokuriha, Russia: Europrint, 2009: 79-80.
- [15] 宋瑞清, 孙海珍, 董希文, 邓勋. 黑龙江沙棘干缩病病原菌的研究[J]. 林业科学, 2010, 46(9): 88-95.
- [15] SONG Ruiqing, SUN Haizhen, DONG Xiwen, DENG Xun. Research on the pathogen of dry shrink on seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) in Heilongjiang province[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2010, 46(9): 88-95.
- [16] 陈悦. 沙棘枝枯病原菌鉴定及检测[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2021.
- [16] CHEN Yue. Identification and detection of the pathogen causing sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) stem wilt[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2021.
- [17] KATOCH S, BANYAL D, SINHA D, SHARMA S, SINGH A, RANA R. Report of sea buckthorn wilt caused by *Fusarium sporotrichioides* from dry temperate zone of Himachal Pradesh, India[J]. Indian Phytopathology, 2024, 77(1): 207-209.
- [18] 张宗侠. 樱花、核桃枝干溃疡类病害病原的鉴定及木霉对其的抑菌作用[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [18] ZHANG Zongxia. The pathogens of stem canker diseases of *Prunus serrulata* and *Juglans regia* and the inhibition effect of *Trichoderma atroviride*[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012.
- [19] 刘敬. 苹果褐斑病菌单孢孢子的分离、鉴定与致病性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [19] LIU Jing. Identification and pathogenicity test of one-celled spore isolated from diseased leaves of *Marssonina coronaria*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2010.
- [20] 陈悦, 王欣悦, 胡建忠, 闫晓玲, 吴元华, 韩严锋, 夏博. 甘肃省沙棘枝枯病原菌的分离鉴定及其生物学特性[J]. 经济林研究, 2022, 40(2): 191-200.
- [20] CHEN Yue, WANG Xinyue, HU Jianzhong, YAN Xiaoling, WU Yuanhua, HAN Yanfeng, XIA Bo. Identification and biological characteristics of the pathogen of sea buckthorn stem wilt in Gansu province[J]. Non-wood Forest Research, 2022, 40(2): 191-200.

- [21] O'DONNELL K, SARVER B A J, BRANDT M, CHANG D C, NOBLE-WANG J, PARK B J, SUTTON D A, BENJAMIN L, LINDSLEY M, PADHYE A, GEISER D M, WARD T J. Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic fusaria, including isolates from the multistate contact lens-associated U. S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(7): 2235-2248.
- [22] 陈江洋, 吕丙钰, 刘志光, 杨志敏, 薛华丽, 张媛. 党参采后贮藏期间粉霉病原菌鉴定及其生物学特性[J]. *甘肃农业大学学报*, 2023, 58(6): 117-125.  
CHEN Jiangyang, LÜ Bingyu, LIU Zhiguang, YANG Zhimin, XUE Huali, ZHANG Yuan. Identification of pathogen and biological traits causing pink rot of *Codonopsis pilosula* during storage[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2023, 58(6): 117-125.
- [23] 黄伟玲, 王芹芹, 任学祥, 冯昌辉, 杨代斌, 袁会珠, 崔丽. 20种杀虫剂对不同龄期不同地理种群草地贪夜蛾的室内毒力测定[J]. *植物保护*, 2023, 49(6): 323-331.  
HUANG Weiling, WANG Qinqin, REN Xuexiang, RUI Changhui, YANG Daibin, YUAN Huizhu, CUI Li. Laboratory toxicity of 20 insecticides against the larvae of different instars from different geographical populations of *Spodoptera frugiperda*[J]. *Plant Protection*, 2023, 49(6): 323-331.
- [24] 焦铸锦. 玉米穗腐病致病层出镰刀菌侵染寄主的细胞、生化与分子基础研究[D]. 南宁: 广西大学, 2015.  
JIAO Zhuji. Studies on cytological, biochemical and molecular basis for infection of *Fusarium proliferatum* on maize[D]. Nanning: Guangxi University, 2015.
- [25] 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[J]. *菌物学报*, 2014, 33(4): 867-882.  
ZENG Lisha, LÜ Shun, LIU Wenqing, ZHAO Zhihui, WANG Fang, ZHOU Jiankun, LI Hongbo, CHEN Shi, DU Caixian. The identification on race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* based on multi-gene sequence analysis[J]. *Mycosystema*, 2014, 33(4): 867-882.
- [26] XIA B, LIANG Y, HU J Z, YAN X L, YIN L Q, CHEN Y, HU J Y, ZHANG D W, WU Y H. First report of sea buckthorn stem wilt caused by *Fusarium sporotrichioides* in Gansu, China[J]. *Plant Disease*, 2021, 105(12): 4156.
- [27] 武福亨, 赵玉珍. 前苏联沙棘病虫害的研究与防治[J]. *国际沙棘研究与开发*, 2004, 2(4): 44-48.  
WU Fuheng, ZHAO Yuzhen. A review of diseases and pest control of seabuckthorn in former USSR[J]. *The Global Seabuckthorn Research and Development*, 2004, 2(4): 44-48.
- [28] 石洁. 烟草上一种新炭疽病菌(*Colletotrichum truncatum*)的生物学特性及防治技术研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2024.  
SHI Jie. Biological characteristics and control techniques of a new anthracnose fungus (*Colletotrichum truncatum*) on tobacco[D]. Guiyang: Guizhou University, 2024.
- [29] 孙璘. 新疆棉花茎腐病的初步研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2021.  
SUN Lin. The preliminary study on cotton stem rot in Xinjiang[D]. Shihezi: Shihezi University, 2021.
- [30] 韩冰, 黄宇飞, 张鑫宇, 傅俊范, 刘长远. 茄子层出镰孢菌花腐病原鉴定及其生物学特性研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2017, 48(1): 21-26.  
HAN Bing, HUANG Yufei, ZHANG Xinyu, FU Junfan, LIU Changyuan. Identification and biological characterization of *Fusarium proliferatum* causing blossom blight of eggplant[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2017, 48(1): 21-26.
- [31] 孙祥瑞. 几种树皮腐烂病菌鉴定和生物学特性的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2010.  
SUN Xiangrui. Study on biological characteristics and identification of canker pathogens on a few trees[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2010.
- [32] 范艳妮, 贺春萍, 吴伟怀, 梁艳琼, 易克贤, 陆英. 咖啡叶枯病原鉴定、生物学特性及化学药剂筛选研究[J]. *植物病理学报*, 2025, 55(5): 1026-1036.  
FAN Yanni, HE Chunping, WU Weihuai, LIANG Yanqiong, YI Kexian, LU Ying. Identification and biological characteristics of the pathogen causing coffee leaf blight and screening of effective agents[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2025, 55(5): 1026-1036.
- [33] FERREIRA E M, ALFENAS A C, MAFFIA L A, MAFIA R G, MOUNTEER A H. Effectiveness of systemic fungicides in the control of *Quambalaria eucalypti* and their effects on production of eucalypt mini-cuttings for rooting[J]. *Crop Protection*, 2008, 27(2): 161-170.
- [34] 余明. 大棚苦瓜白粉病田间药效试验研究[J]. *现代农业*, 2018, 43(3): 28-30.  
YU Ming. Field efficacy trial of fungicides for controlling powdery mildew on sponge gourd in plastic greenhouses[J]. *Modern Agriculture*, 2018, 43(3): 28-30.
- [35] 赵占周. 三唑类杀菌剂使用技巧[J]. *西北园艺(果树)*, 2017(6): 46-47.  
ZHAO Zhanzhou. Tips for the use of triazole fungicides[J]. *Northwest Horticulture*, 2017(6): 46-47.
- [36] 刘传德, 王培松, 王继秋, 宫本义, 尹国香. 三唑类杀菌剂及其在小麦病害防治中的应用研究进展[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2005, 36(1): 157-160.  
LIU Chuande, WANG Peisong, WANG Jiqui, GONG Benyi, YIN Guoxiang. Research advances in triazole fungicides and used to control wheat diseases[J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2005, 36(1): 157-160.
- [37] 潘龙其. 紫花苜蓿拟枝孢镰刀菌根腐病的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.  
PAN Longqi. Study on *Fusarium sporotrichioides* from *Medicago sativa* root rot[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015.
- [38] 王兴琴. 不同药剂防治小麦赤霉病田间药效试验[J]. *现代农业科技*, 2024(8): 47-50.  
WANG Xingqin. Field efficacy trial of different fungicides for controlling wheat scab[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2024(8): 47-50.