

丝核菌 (*Rhizoctonia* spp.) 对花生的为害及病原学研究

鄢洪海¹, 张茹琴¹, 迟玉成², 徐曼琳², 夏淑春^{1*}

(1. 青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东 青岛, 266109; 2. 山东省花生研究所, 山东 青岛, 266100)

摘要: 为了明确区分花生叶腐病、纹枯病、立枯病和果壳褐斑病症状特点, 并了解丝核菌 (*Rhizoctonia* spp.) 对花生的为害和发病规律, 采用 PDA、WA 培养基分离及纯化病原菌, 显微观察其形态特征, 采用涂抹和菌饼法接种测定其致病性, 并通过菌丝融合群和 rDNA - ITS 同源性分析研究了不同病原菌之间的亲缘关系。结果表明: 花生叶腐病菌、纹枯病菌和立枯病菌菌丝粗壮, 平均直径 6.8 ~ 9.4 μm, 多核, 无锁状联合, 近直角分枝, 分枝处缢缩, 分枝不远处常伴有分隔, 具典型的立枯丝核菌 *R. solani* 特征。但三种病菌菌株之间未发现菌丝相互完全融合现象, 表明它们并不相同。菌丝融合群和分子生物学测定结果表明: 花生叶腐病菌是 AG - 1 - IA, 花生立枯病菌是 AG - 1 - IC, 花生纹枯病菌是 AG - 4; 而花生果壳褐斑病菌为双核丝核菌, 具体种类有待进一步确定。

关键词: 花生病害; 丝核菌; 菌丝融合群; ITS 同源性; 病原关系

中图分类号: S435.652 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9084(2015)06-0862-06

Harm and etiology of *Rhizoctonia* on peanuts

YAN Hong-hai¹, ZHANG Ru-qin¹, CHI Yu-cheng², XU Man-lin², XIA Shu-chun^{1*}

(1. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;
2. Shandong Research Institute of Peanuts, Qingdao 266100, China)

Abstract: In order to define *Rhizoctonia* pathogens causing peanut leaf rot, sheath blight, damping-off and shell brown spot, and to explore these diseases development, medium WA and PDA were used to isolate and purify the strains, and microscope was used to observe their morphological characteristics. Genetic relationship among *Rhizoctonia* pathogens were conducted by determining their hyphal fusion and rDNA - ITS homology analysis. The results showed that, hyphae of the pathogens causing peanut leaf rot, sheath blight and damping-off had typical features with that of *Rhizoctonia solani*. The average hyphae diameter was 6.8 - 9.4 μm wide, its hyphal cells were multinucleate. No clamp connection was observed. The hyphae were tended to branch at right angles and a septum was near hyphal branch and a slight constriction at the branch. No hyphal fusion was observed between the three *Rhizoctonia* strains, Thus the three pathogens were not the same. The pathogens causing peanut leaf rot, damping-off and sheath blight were AG - 1 - IA, AG - 1 - IC and AG - 4 respectively. The pathogen causing peanut shell brown spot was dual-nucleate *Rhizoctonia* spp., which needed further identification.

Key words: Peanut diseases; *Rhizoctonia* spp.; Anastomosis group; Similarity of ITS sequence; Pathogens relationship

从 20 世纪 90 年代开始, 我国花生产业发展迅速。随着高产品种推广应用和种植密度的增加, 田间郁闭现象越来越严重, 结果导致花生真菌病害发生严重。常见病害主要有花生果壳褐斑病、叶腐病、立枯病和纹枯病。花生果壳褐斑病的主要特点是在

果壳上形成褐色至黑褐色病斑, 呈不规则形 (图 1 - A), 轻者病斑仅限于果壳, 没有危害到果仁; 发病严重时常常多个病斑连在一起形成大斑, 为害深达果仁, 造成花生果仁表面形成褐色椭圆形或不规则病斑, 湿度大时还引起果壳和果仁一起腐烂, 造成花生

收稿日期: 2015-05-15

基金项目: 山东省科技发展项目 (2009GG10009022); 山东省自然科学基金 (ZR2011CL005); 山东省“泰山学者”建设工程专项 (BS2009NY040)

作者简介: 鄢洪海 (1964 -), 男, 吉林省长春人, 教授, 博士, 主要从事植物病理生理与分子生物学研究, E-mail: hhyan@qau.edu.cn

* 通讯作者: 夏淑春 (1964 -), 女, 辽宁省锦州人, 副教授, 主要从事植物有害生物综合治理研究, E-mail: xiashhchun@163.com

品质劣变^[1-3]。该病害在我国发生比较普遍,个别品种,尤其小粒花生,如四粒红等严重感病。常误认为是土壤有害物质造成的。在日本,主栽花生品种千菓半粒高度感病,受害非常严重。花生果壳褐斑病也可和其他烂果病混合发生,导致花生果实失去经济价值。

花生叶腐病主要危害花生叶片,严重时病斑也可蔓延到茎秆上。叶片受害初期水浸状,逐渐发展成淡褐色、枯白色,近圆形病斑,直径0.5~1.5cm,边缘有不清晰黄褐色晕纹,叶片上的病斑往往连成片,呈不规则大斑,甚至整个叶片枯死;在病组织表面常有白色蛛丝状的菌丝,后期病株上的菌丝逐渐缠结成团,由初呈白色小绒球状,逐渐变为如西红柿种子大小的褐色至黑褐菌核;当雨量大,田间湿度高或植株倒伏时,发病叶片常常几个叶片黏在一起腐烂;病斑还可沿叶柄蔓延到茎秆上形成不规则浅褐色病斑;该病害在田间多呈点片发生,地势低洼,种植密度大,植株生长繁茂,植株徒长地块发病尤其严重(图1-B)。近几年,在花生主产区山东省发生严重,尤其是2013年,由于花生叶腐病的发生造成个别地块减产50%以上。另外,广东省和辽宁省也都有该病害危害花生的报道^[2]。

花生纹枯病、花生立枯病也时而发生,造成部分田块受害严重。花生立枯病一般在花生幼苗期发病,初期幼茎靠近地表部出现水浸状,后变成坏死状褐色病斑,病斑处缢缩,植株发病严重时全株发黄枯死,潮湿时病部有白色丝状物(图1-C)。花生立枯病在我国发生较轻,只是个别年份偶尔发生,且危害不重。花生纹枯病先在植株茎的下部或靠近底部侧枝发生,而后向中上部蔓延,主要危害茎秆,其次是叶片。病害初期在茎基部或受害叶片边缘产生灰绿色或暗绿色水浸状病斑,并逐渐扩展形成不规则云纹状褐色病斑,有时几个病斑联合导致茎秆出现云纹状大斑,发病叶片大量枯死(图1-D)。该病害20世纪90年代初,曾在一些花生产区发生较重,近来国内很少有该病害发生的报道。

据报道,上述几种花生病害都是由*Rhizoctonia*属真菌侵染引起的^[1,3-6],但几种花生丝核菌病害病原关系不明,更缺乏对发病规律的认识,这些可能是导致防治不力和该类病害发生逐年加重的主要原因。因此,有必要对我国花生丝核菌类病害病原进行科学鉴定,对花生上几种丝核菌病害病原学作进一步深入研究,明确相互之间的关系,为该类病害控制提供科学依据。



注:A:花生果壳褐斑病;B:花生叶腐病;C:花生立枯病;D:花生纹枯病
 Note:A:Peanut shell brown spot;B:Peanut leaf rot;C:Peanut damping-off;D:Peanut sheath blight

图1 几种花生丝核菌病害症状

Fig. 1 Symptoms of peanut diseases caused by *Rhizoctonia* spp.

1 材料和方法

1.1 菌株采集与分离

从2008年-2013年连续几年,在山东省各地,河南、吉林、辽宁和福建省部分县市的田间典型花生叶腐病、果壳褐斑病、纹枯病和立枯病病株上采集标样,剪取大小0.3cm×0.3cm左右的病组织,采用病组织分离方法,经70%酒精30s、0.1%升汞2min消毒,无菌水冲洗3遍后,将其置于PDA或WA(水琼脂培养基)培养基上,26℃培养。3d后挑取菌体将其置于WA上培养,然后采用切取单根菌丝的方法进行纯化,并将其编号备用。花生叶腐病菌编号为

HYF-03;花生果壳褐斑病菌为HGH-01;花生纹枯病菌为HWK-03;花生立枯病菌为HLK-05。

1.2 致病性测定

用PDA培养基增扩供试菌株,其中一组用刀片刮取菌丝体,并用无菌水冲刷,按50mL量滴加1滴Tween-20制作病菌悬浮液,另一组用打孔器制作菌饼;然后采用菌饼和涂抹菌丝悬浮液两种方法接种盆栽生长至结果期的花生植株,花生品种为鲁花11和花育25,用无菌水处理作对照,3次重复。接种植株置于25℃培养箱内培养,保湿24h之后观察并记录发病情况;依柯氏法则确定其致病性^[7]。

1.3 病原菌鉴定

1.3.1 形态及性状观察 依据 Parmeter & Whitney (1970)、Ogoshi (1972) 等有关 *Rhizoctonia* 属和 *R. solani* 的形态特征描述, 使用 Nikon Microscope E-CLIPSE80i 显微镜逐项观察、测量病菌的菌丝分枝与分隔、直径、颜色和锁状联合等性状, 以及菌核形成时间和数量等, 拍照记录相关数据。根据病原菌的形态特征及其在 PDA 和 WA 培养基上的生长性状特点, 进行几种病害病原菌鉴定和差异比对^[8]。

1.3.2 病菌细胞核数目观察 将待测菌株在 PDA 平板上培养 7d 后, 用直径 5mm 的打孔器打取菌饼, 将菌饼移至 PDA 平板中央, 在离菌饼 1.5cm 处, 斜插一灭菌的盖玻片后, 将其置于 25℃ 下恒温培养。待菌丝生长至盖玻片 3/5 处, 将附有菌丝体的盖玻片取出, 用镊子将盖玻片生长有菌丝体的一面向下盖在滴有 15μL 5μg/mL 的 Hoechst 33258 染液的载玻片上, 黑暗条件下染色 1h, 利用 OLYMPUS - BX43 荧光显微镜于 352nm 波长激发光下, 观察各供试菌株细胞核数目^[9]。

1.3.3 菌丝融合现象观察及融合群测定 采用改进的载玻片定位配对法, 并参照 Ogoshi、陈延熙等的方法^[8,10]。即在培养皿内放置吸水纸、两根牙签, 及一个载玻片, 并在培养皿内倒入少量无菌水, 无菌条件下在载玻片上倒上一薄层灭菌的 2% WA。分别挑取待测菌株 - 菌饼 (或标准菌株 - 菌饼) 置于载玻片两端, 菌饼之间相距约 20mm, 然后于 25℃ 下培养, 当两菌饼菌丝在中央相遇, 交叉 2~5mm 时立即取出 (大约需 1~2d) 观察菌丝融合情况。

1.4 病原菌分子鉴定

1.4.1 基因组 DNA 的提取 采用 CTAB 法提取 DNA^[11]: 供试菌株在 PDA 平板上 25℃ 培养 3d, 用牙签将菌丝挑至 1.5mL 离心管中, 加入 1mL PBS, 漩涡 1min。离心收集菌体, 加入 450μL Lysis Buffer A, 使用研磨棒将菌体碾碎, 使之分散。加入 20μL 蛋

白酶 K, 65℃ 水浴 1h, 颠倒混匀。加入 400μL Lysis Buffer B, 颠倒数次混匀, 离心 5min, 将上清液转入另一离心管, 静置 2min, 离心 1min, 去废液。使用 Wash Buffer A 洗涤 1 次, Wash Buffer B 洗 2 次, 晾干去除乙醇, 加入 60μL ddH₂O。

1.4.2 rDNA - ITS 序列测定及分析 选用 ITS1 和 ITS4 真菌核糖体基因转录间隔区 (ITS) 通用引物 ITS1: 5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3' / ITS4: 5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3' (TaKaRa 合成) 扩增花生叶腐、立枯病和纹枯病病原菌 rDNA - ITS 区域。

每样品反应体系为 50μL, 配比如下: 10 × reaction buffer 5μL, 4 × dNTPs 4μL, 引物 ITS1 2.5μL, 引物 ITS4 2.5μL, 模板 2.5μL, Taq 酶 0.5μL, Mg²⁺ 3μL, 加 ddH₂O 补足 50μL。将上述试剂置于 0.5mL Eppendorf 管中, 在 PTC - 200 型 PCR 仪上扩增循环 (10 × PCR Buffer、dNTPmix、Taq 酶购于 TaKaRa 公司)。

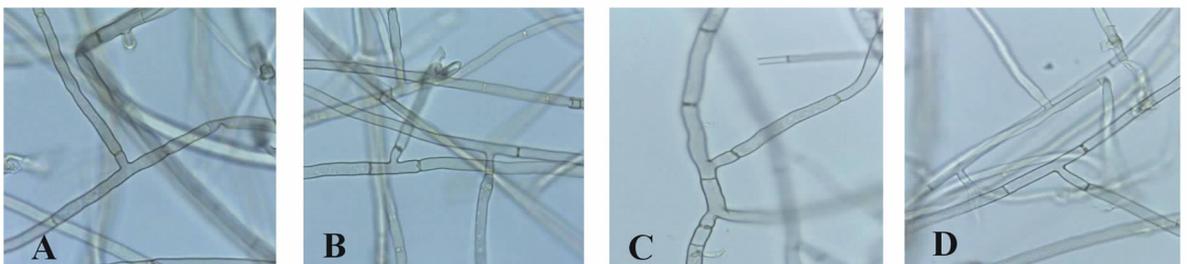
PCR 扩增循环: 94℃ 预变性 3min; 95℃ 变性 3min, 57℃ 退火 55s, 72℃ 延伸 90s, 35 个循环; 72℃ 最终延伸 10min, 4℃ 保存。

PCR 扩增产物检测、回收、配置测序反应体系及纯化后, 交由大连宝生物技术有限公司进行测序, 并将测序得到的结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 进行同源性分析。

2 结果与分析

2.1 四种病害病原菌形态特性

从四种病害病原菌的基本形态和性状看, 均符合 *Rhizoctonia* 属的特点 (图 2 和表 1), 且无性世代不产生任何孢子, 尚未发现有性世代。而花生叶腐病菌、花生纹枯病菌和花生立枯病菌更符合立枯丝核菌 (*R. solani*) 的形态特点, 但各菌株在菌丝直径、产生菌核时间和数量、气生菌丝发育等方面存在一



注: A: 花生叶腐病菌; B: 花生立枯病菌; C: 花生纹枯病菌; D: 花生果壳褐斑病菌
Note: A: *R. solani* AG - 1 - 1A; B: *R. solani* AG - 1 - 1C; C: *R. solani* AG - 4; D: *Rhizoctonia*

图 2 几种病原菌菌丝形态

Fig. 2 Mycelium morphology of *Rhizoctonia* pathogens

表 1 4 种花生丝核菌病害病原菌性状比较
Table 1 A few flowers silk nuclear bacteria through comparing disease germs

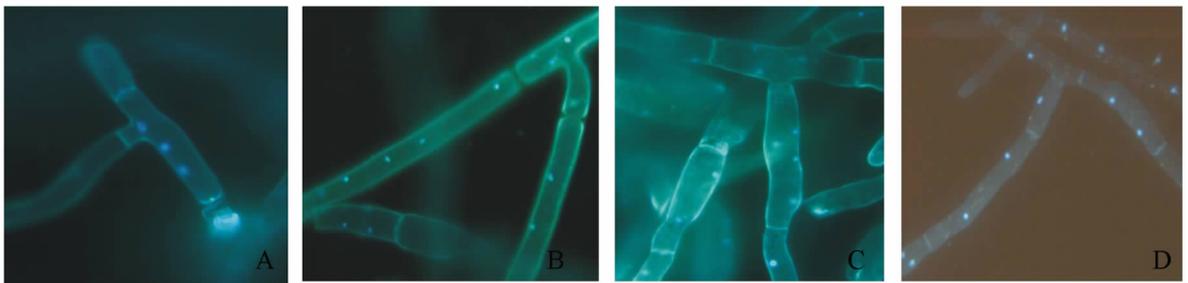
	花生叶腐病菌 <i>R. solani</i> AG-1-IA	花生立枯病菌 <i>R. solani</i> AG-1-IC	花生纹枯病菌 <i>R. solani</i> AG-4	花生果壳褐斑病菌 <i>Rhizoctonia</i> spp.
菌丝直径 Hypha diameter/ μm	9.4 \pm 0.3	8.9 \pm 0.2	6.8 \pm 0.2	4.1 \pm 0.1
菌核数量 Sclerotium number	5.4 \pm 2	4.4 \pm 2	2.4 \pm 1	1.4 \pm 1
初生菌核时间 Time of primary sclerotium formation/d	3	4	6	9
菌核重量 Sclerotium weight /mg	1.7 \pm 0.3	2.1 \pm 0.5	2.2 \pm 0.4	1.3 \pm 0.3
气生菌丝 Aerial mycelia	发达 Flourishing	较发达 Less flourishing	较发达 Less flourishing	较少 Sparse
菌落颜色 Colony colour	灰白-褐色 Gray-Brown	灰白-褐色 Gray-Brown	灰白-褐色 Gray-Brown	浅褐色-黄褐色 Light brown-yellowish brown

定差异。其中以花生叶腐病菌菌丝最粗壮、产生菌核最快最多和菌丝最发达;而花生果壳褐斑病菌菌丝隔膜无明显缢缩,且菌丝直径小于 5 μm ,不符合 *R. solani* 主要特征。

2.2 病菌细胞核数目检测

图 3 (A-D) 为几种病原菌细胞核经 Hoechst 33258 荧光染色后所显示的细胞核数目。其中花生

叶腐病菌、立枯病菌、纹枯病菌细胞核数目绝大多数超过 4 个,最多可达 13 个,平均细胞核数量为花生叶腐病菌为 6.1、立枯病菌为 4.2、纹枯病菌为 6.2,而花生果壳褐斑病菌的细胞核数目多为 2 个,因此,花生叶腐病菌、花生立枯病菌和花生纹枯病菌为多核丝核菌,而花生果壳褐斑病病原菌细胞核数目是 2 个,属于双核丝核菌。



注:A:花生叶腐病菌;B:花生立枯病菌;C:花生纹枯病菌;D:花生果壳褐斑病菌
Note:A:*R. solani* AG-1-IA B:*R. solani* AG-1-IC;C:*R. solani* AG-4;D:*Rhizoctonia* spp.

图 3 病菌细胞核荧光染色结果

Fig. 3 Fluorescence staining of *Rhizoctonia* pathogen nucleus

2.3 病菌菌丝融合现象观察及菌丝融合群测定

2.3.1 菌丝间融合性检测 花生叶腐病、花生立枯病、花生纹枯病病原菌之间均没有发生菌丝完全融合现象,但能见花生叶腐病和花生立枯病有部分菌丝融合情况。因此尽管花生叶腐病、花生立枯病和花生纹枯病都为立枯丝核菌,但是它们并不相同。

2.3.2 与 *R. solani* 标准菌株配对融合培养 结果发现花生叶腐病菌与 AG-1、花生立枯病菌与 AG-1、花生纹枯病菌与 AG-4 有融合现象发生,且花生立枯病菌与 AG-1 的 AG-1-IC 菌丝融合属于完全融合;花生叶腐病菌与 AG-1 菌丝融合群的 AG-1-IA、AG-1-IB、AG-1-IC 亚融合群都有菌丝融合现象发生,但与 AG-1-IB、AG-1-IC 发生的属于接触融合或不完全融合,而与 AG-1-IA 发生的是完全融合,即细胞壁溶解,细胞质融合(图 4)。因此,依据上述测试结果可以判断花生叶

腐病菌属于 AG-1 菌丝融合群的 AG-1-IA 菌丝融合亚群,花生立枯病菌为 AG-1-IC 菌丝融合亚群,而花生纹枯病菌为 AG-4 菌丝融合群。

2.4 病菌 ITS 序列测定结果

用引物 ITS4/ITS1 对花生叶腐病菌、花生立枯病菌和花生纹枯病菌的基因组进行 PCR 扩增,电泳检测结果得到约 600~670bp 大小的片段。经由 TaKaRa 公司测序,花生叶腐病菌 HYF-03 基因片段大小为 612bp、花生立枯病菌 HLK-05 为 624bp、花生纹枯病菌 HWK-03 为 667 bp。将各菌株序列上传 NCBI 中的 GenBank 数据库,得到 4 种花生丝核菌 ITS 序列的登录号,与其他同源序列做比对。结果表明 HYF-03 样品序列与 *R. solani* AG-1-IA (GenBank 登录号: AY154301) 同源性最高,达 100%,HLK-05 与 AG-1-IC (GenBank 登录号: AY154300) 同源性最高,为 99%,而 HWK-03 与

AG-4 (GenBank 登录号: JN254788.1) 的同源性最高, 达到 99%。



注: A: AG-1-IA (完全融合); B: AG-1-IB (接触融合); C: AG-1-IC (接触融合)

Note: A: AG-1-IA (Total integration); B: AG-1-IB (Contact fusion); C: AG-1-IC (Contact fusion)

图4 花生叶腐病菌与标准菌株菌丝融合现象

Fig. 4 Hyphal fusion between standard strain and pathogen causing peanut leaf rot

3 讨论与结论

R. solani 的分类一直争议不断, 但普遍认为 *R. solani* 的主要特征为: 菌丝直径 $5\mu\text{m}$ 以上, 初生菌丝靠近分枝的地方形成隔膜, 分枝菌丝在分枝点和隔膜处往往缢缩, 成熟菌丝多呈直角分枝, 菌丝细胞无锁状联合, 一般都能形成无内外层分化的菌核, 没有根状菌索, 无性世代不形成任何孢子^[12~14]。通过分离培养、形态观察和测定, 均表明花生叶腐病菌、立枯病菌和纹枯病菌与上述特点一致, 因此, 可初步判定花生叶腐病菌、立枯病菌和纹枯病菌均为 *R. solani*。而花生果壳褐斑病菌虽然也符合 *Rhizoctonia* 属的特点, 但菌丝直径小于 $5\mu\text{m}$, 与 *R. solani* 有明显不同。

R. solani 是一个大的复合种, 存在许多形态相似而又致病性不同的类型, 目前多采用菌丝融合方法划分成若干个菌丝融合群 (groups), 融合群下面又分不同菌丝融合亚群, 这也是该菌分类的一个重要特点^[15, 16]。本研究采用 AG-1 到 AG-8 中的 12 个标准测试菌株对花生叶腐病菌、立枯病菌和纹枯病菌进行了融合群及融合亚群测定。结果表明: 花生叶腐病菌为 AG-1 融合群的 AG-1-IA 亚群, 花生立枯病菌为 AG-1 融合群的 AG-1-IC 亚群, 而花生纹枯病菌为 AG-4 融合群。虽然从形态特征上看花生叶腐病菌、立枯病菌和纹枯病菌都很相似, 具有 *R. solani* 典型特点, 但菌丝融合测定结果表明它们并不相同。

Rhizoctonia 属真菌不同种之间区分的另一个主要依据是菌丝细胞内细胞核数目^[17]。本研究采用 Hoechst 33258 荧光染色方法观测菌株, 发现花生叶腐病菌、花生立枯病菌和花生纹枯病菌的细胞核数目多数超过 4 个, 最多有 13 个细胞核, 所以从供试病菌的细胞核数目看这 3 种病菌为典型多核丝核

菌, 即为 *R. solani*; 而花生果壳褐斑病菌则为 2 个细胞核, 应为 *Rhizoctonia* 属的双核菌类群, 下一步也应做融合群测定或分子生物学分析, 以明确为哪一菌群。

对于 *R. solani* 的分类鉴定, 传统的形态学观察在早期曾发挥巨大的作用, 但是由于受人为因素和环境条件的干扰, 加之病菌本身原因, 导致该菌的分类比较混乱。近年来, 分子生物学技术在真菌鉴定中得到了广泛的应用。吴元华等采用 rDNA-ITS 测序方法对烟草靶斑病菌进行了菌群分析, 结果和菌丝融合群方法测定结果一致, 均为立枯丝核菌 (*R. solani*) AG-3 菌丝融合群^[17]; 刘志恒等采用 rDNA-ITS 测序分析方法研究了黄瓜果腐病菌的分类地位, 结果表明与菌丝融合测定结果比较吻合, 两种方法鉴定结果都表明黄瓜果腐病菌为立枯丝核菌 (*R. solani*) AG-4 的 AG-4-HGI 融合亚群^[18]。从目前报道的研究结果看, 多数都反映出真菌核糖体的 ITS 序列表现为种内相对一致、种间差异比较明显这一特点, 这为 *R. solani* 的分子鉴定提供了可能^[19~21]。本文对三种供试菌株的 rDNA-ITS 扩增产物分析表明, 花生叶腐病菌与 *R. solani* 的 AG-1-IA 融合亚群相同, 花生立枯病菌与 *R. solani* 的 AG-1-IC 融合亚群、花生纹枯病菌与 *R. solani* 的 AG-4 融合群高度同源。将 rDNA-ITS 测序分析结果与形态鉴定、菌丝融合群测定结果比较, 发现三者非常吻合, 暗示核糖体 ITS 分析可在花生丝核菌病害病原鉴定中发挥重要作用。

然而, *R. solani* 遗传多样性丰富, 研究其遗传多样性的方法也有多种, 采用不同方法对同一融合群进行遗传多样性研究的结果并不完全一致^[22~25], 表明到目前为止还没有统一的方法用于 *R. solani* 遗传多样性的研究。

致谢: 感谢山东农业大学于金凤教授惠赠立枯

丝核菌标准菌株;另外,研究室李慧艳同学参与了菌丝融合群测定和致病性研究、杜化仿同学参与了病菌 ITS 基因扩增和同源性分析研究、王静同学在病菌形态观察和测定等方面做了大量工作。

参考文献:

- [1] Yan H H, Zhang R Q, Du H F, et al. *Rhizoctonia solani* identified as the disease causing agent of peanut leaf rot in China[J]. *Plant Disease*, 2013, 97(1): 140 - 140.
- [2] 肖翔, 易赛, 张淑娟, 等. 花生丝核菌叶枯病的鉴定[J]. *广东农业科学*, 2013, 22(2): 90 - 93.
- [3] 李慧艳, 鄢洪海, 卢钰, 等. 花生果壳褐斑病的研究[J]. *花生学报*, 2009, 38(1): 1 - 6.
- [4] 徐秀娟, 赵志强, 宋文武, 等. 花生菌核病及其防治研究[J]. *山东农业大学学报: 自然科学版*, 2003, 20(1): 33 - 36.
- [5] 孟宪曾. 花生病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 1985.
- [6] 孙晓阳. 花生纹枯病发生规律与测报技术初探[J]. *云南农业大学学报*, 1993, 8(3): 144 - 145.
- [7] 肖炎农, 李建生, 郑用链, 等. 湖北省玉米纹枯病病原丝核菌的种类和致病性[J]. *菌物系统*, 2002, 21(3): 419 - 424.
- [8] Ogoshi A. Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn hyphal anastomosis[J]. *Ann Phthopath Soc Japan*, 1972, 38(1): 117 - 122.
- [9] 马春红, 李秀丽, 董文琦, 等. HMC 毒素诱导玉米同核 C、N 细胞质细胞凋亡的荧光显微观察[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(9): 1 823 - 1 829.
- [10] 陈延熙, 张敦华, 段霞渝, 等. 关于 *Rhizoctonia solani* 菌丝融合分类和有性世代的研究[J]. *植物病理学报*, 1985, 21(3): 139 - 142.
- [11] Kuninaga S. Current situation of the taxonomy of the genus *Rhizoctonia* and *R. solani* species complex[J]. *Jpn J Phytopath*, 2002, 35(1): 3 - 20.
- [12] Pamerter J R, Whitney H S. *Rhizoctonia solani*, biology and pathology[M]. Berkeley: University California Press, 1970.
- [13] Whitney F A, Pamerter J R. Synthesis of heterokaryons in *Rhizoctonia solani* Kühn[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1963, 41(3): 879 - 886.
- [14] Pamerter J R, Sherwood R T, Platt W D. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*[J]. *Phytopathology*, 1969, 59(4): 1 270 - 1 278.
- [15] Ogoshi A. Ecology pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn[J]. *Ann Rev Phytopathol*, 1987, 25(2): 125 - 143.
- [16] Misawa T, Kuninaga S. The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia solani* AG - 3 and AG - 2 and its host range and molecular characterization[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2010, 76(5): 310 - 319.
- [17] 吴元华, 伏颖, 赵桂香, 等. 烟草靶斑病菌菌丝融合群及 ITS 序列分析[J]. *植物病理学报*, 2013, 43(2): 215 - 218.
- [18] 刘志恒, 侯悦, 胡积祥, 等. 辽宁省甜瓜果腐病病原菌鉴定及生物学特性初探[J]. *园艺学报*, 2013, 40(1): 89 - 97.
- [19] Kuninaga S, Nicoletti R, Lahoz E, et al. Description of Nt - isolates of *Rhizoctonia solani* to anastomosis group 2 - 1 (AG - 2 - 1) on account of rDNA - ITS sequence similarity[J]. *Plant Pathology*, 2000, 82(4): 61 - 64.
- [20] Godoy G, Kuninaga S, Steadman J, et al. Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS - 58S rDNA[J]. *Plant Pathology*, 2008, 36(1): 32 - 40.
- [21] González N, Godoy G, Steadman R, et al. Assessing genetic diversity in the web blight pathogen *Thanatephorus cucumeris* (anamorph = *Rhizoctonia solani*) subgroups AG - 1 - IE and AG - 1 - IF with molecular markers[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2012, 46(2): 85 - 98.
- [22] O'Brien R A. Molecular markers in Australia isolates of *Rhizoctonia solani*[J]. *Mycol Res*, 1994, 8(6): 665 - 671.
- [23] Jabaji H S, Meller Y, Gill S. Investigation of genetic relatedness among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* using cloned DNA probes[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1990, 12(4): 393 - 404.
- [24] Ceresini P C, Shew H D, Cubeta M A. RFLP analysis of the PCR amplified ribosomal DNA regions ITS and IGS indicated that isolates of *Rhizoctonia solani* from potato and tobacco represent distinct groups within the anastomosis group 3[J]. *Phytopathology*, 1999, 89(5): 23 - 30.
- [25] Lilja A, Hietala A M, Kaqalainen R. Identify of a uni-nucleate *Rhizoctonia solani* pathogenicity hyphal anastomosis and RAPD analysis[J]. *Plant Pathology*, 1996, 45(11): 997 - 1 006.

(责任编辑:王丽芳)