



中国土壤与肥料
Soil and Fertilizer Sciences in China
ISSN 1673-6257, CN 11-5498/S

《中国土壤与肥料》网络首发论文

题目： 我国大蒜主产区大蒜根腐病原真菌的分离及致病性初步研究
作者： 汪甜，尹彦舒，华智超，贾晟楠，任东军，辛丽，王纪忠，高淼
收稿日期： 2020-06-09
网络首发日期： 2020-12-08
引用格式： 汪甜，尹彦舒，华智超，贾晟楠，任东军，辛丽，王纪忠，高淼. 我国大蒜主产区大蒜根腐病原真菌的分离及致病性初步研究. 中国土壤与肥料.
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5498.S.20201207.0945.002.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.20336

我国大蒜主产区大蒜根腐病原真菌的分离及致病性初步研究

汪甜¹, 尹彦舒², 华智超¹, 贾晟楠², 任东军², 辛丽³, 王纪忠^{1*}, 高淼^{2*}

(1. 淮阴工学院生命科学与食品工程学院, 江苏 淮安 223003; 2. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所/农业部农业微生物资源收集与保藏重点实验室, 北京 100081; 3. 山东省玛丽亚农业机械有限公司, 山东 金乡 272203)

摘要: 大蒜根腐病是我国大蒜主产区山东省金乡县及其周边地区大蒜的主要病害之一。本研究采用常规组织分离法, 从连续3年采集的51份大蒜根腐病根样品中分离纯化潜在大蒜根腐病原菌真菌62株, 通过形态学和分子生物学对菌株进行鉴定, 结果显示主要类群为镰刀菌属(*Fusarium*)和茎点霉(*Setophoma*); 采用柯赫氏法则, 明确镰刀菌属H9为大蒜根腐病原菌; 采用温室水培试验, 研究不同浓度大蒜根腐病原菌H9对大蒜幼苗的致病能力, 结果显示致病能力与接种量呈正相关, 接种孢子浓度 2×10^9 cfu/mL、接菌量为100和150 mL, 40天后就可以导致大蒜幼苗产生严重的根腐病。综上, 我国山东及周边地区大蒜主产区根腐病的主要病原真菌为镰刀菌属(*Fusarium*)和茎点霉(*Setophoma*), 为该地区大蒜根腐病的科学防治提供理论依据。

关键词: 大蒜; 根腐病; 病原菌鉴定; 致病能力

大蒜(*Allium sativum* L.)系百合科葱属植物, 不仅具有丰富营养的调味品, 而且具备区别于其它蔬菜的药用价值, 如大蒜有杀菌防腐、抗癌、降低血脂、抗衰老等作用^[1]。据《本草纲目》中记载: “大蒜有归五脏、散痈肿、除风邪、杀毒气、下气消古、化肉”等功效^[2], 使大蒜成为少有的天然保健食品, 因此常被人们被誉为“天然抗生素”。在我国, 大蒜年种植面积超过53万 hm^2 , 占全球大蒜种植面积50%以上, 山东金乡及周边地区大蒜种植面积达20万 hm^2 , 为我国大蒜种植主产区^[3-5]。有研究报道大蒜连续多年种植会发生严重的连作障碍, 表现为土壤病害的爆发性, 主要为土壤真菌病害^[6,7], 金乡县及其周边地区多年连作大蒜, 引起病害累积, 土传病害越发严重, 对大蒜的产量、质量造成重大危害。马龙传等对金乡大蒜的病害进行调查, 发现大蒜根腐病是当地发生面积最大、危害最重的主要病害之一, 严重时可导致减产30%以上^[8]。

大蒜根腐病在育苗期和大田生长期均可发病, 发病轻的植株矮小、叶枯黄, 发病重的植株全根腐烂, 整株枯萎, 最后全株死亡^[9]。加强大蒜根腐病的田间症状识别、调查、病原鉴定, 从而提出一套有效的防治策略, 成为生产上亟待解决的问题。2008年, 张博等对山东金乡县进行了大蒜根腐病的调查研究, 发现腐霉(*Pythium*)是山东省金乡县大蒜根腐病的病原菌^[10]; 然而, 2017年张丽娟等发现新疆吉木萨尔地区大蒜根腐病主要由镰刀菌属的真菌引起^[11]。近10年鲜有关于我国大蒜主产区山东省及周边地区大蒜主要病害根腐病原菌的研究, 是否随着时间的变化土壤里导致根腐病的主要病原菌类群发生了改变呢?

本论文针对山东金乡及周边地区大蒜根腐病原菌连续开展3年的调查研究, 通过病原真菌的分离、鉴定、柯赫氏回接验证、致病能力等方面的研究, 揭示该地区大蒜根腐病的主要种类, 为我国山东及周边地区大蒜主产区大蒜根腐病的科学防治提供理论依据。

收稿日期: 2020-06-09; 录用日期: 2020-07-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31870004); 国家自然科学基金青年项目(31801829); 淮阴工学院自然科学基金(18HGZ007)。

作者简介: 汪甜(1994—), 女, 仡佬族, 贵州遵义人, 在读硕士研究生, 研究方向为大蒜化肥减施技术筛选及集成。E-mail: 1282869272@qq.com。

通讯作者: 王纪忠, E-mail: hgxyz@hyit.edu.cn; 高淼, E-mail: gaomiao@caas.cn。

1 材料与amp;方法

1.1 感染大蒜根腐病的大蒜样品

本实验 2016 年、2017 年、2018 年连续 3 年对我国大蒜主产区山东省金乡县及其周边地区大蒜根腐病进行调查采样，从山东省济宁市金乡县、江苏省徐州市丰县和河北省永年县等地共采集大蒜根腐病样品 51 份。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）：新鲜马铃薯 400 g，洗净后去皮、切块，加水煮沸至马铃薯变软，用纱布过滤，加葡萄糖 40 g、琼脂 40 g，用蒸馏水定容至 2 L 溶解后分装，121 °C 湿热灭菌 30 min。

马铃薯葡萄糖液体培养基（PDB）：方法同 PDA 培养基，仅不加琼脂。

1.3 供试大蒜品种

供试大蒜品种为金乡白皮蒜，由山东玛利亚农业机械有限公司提供。

1.4 大蒜根腐病潜在病原菌的分离纯化

1.4.1 大蒜根腐病样品表面消毒

取感染大蒜根腐病的完整根样品，溶于无菌 PBS 缓冲液，用无菌镊子在灭菌烧杯内搅拌清洗干净后，转入 50 mL 离心管，并加入 PBS 到没过样品。然后超声处理两遍，在超声第一遍后需要换新 50 mL 离心管与 PBS 缓冲液。超声完后的大蒜根用无菌超纯水清洗两遍，用灭菌滤纸吸干表面水分备用。

1.4.2 大蒜根腐病潜在病原真菌的分离

取一条完整感病大蒜根，用无菌剪刀小心剪切，先去掉两头暴露部位，露出病变部位，选取病健交界处用无菌镊子平铺在 PDA 培养基上，每个平板放置三个样品，28 °C 培养箱中培养。长出真菌菌落后，取菌丝在显微镜下进行镜检，依据大型分生孢子的形状、大小和小型分生孢子的有无进行形态学的初步鉴定。将被认定是潜在致病菌的做好标记，以备纯化用。

1.4.3 潜在病原菌的纯化

用灭菌后镊子夹枪头挑取菌落边缘部分的新生菌丝转移到新的 PDA 平板，培养箱 28 °C 恒温培养，5 天后拍照。待平板培养基纯化完成后，同时保存在 PDA 斜面培养基上。

1.5 大蒜根腐病潜在病原菌的初步鉴定

1.5.1 形态学鉴定

将分离获得的潜在病原菌在 PDA 上培养，于 25 °C 恒温培养箱中培养 5 d，在此期间观察记录病原菌菌株的培养特征，包括菌落颜色、形态和菌落生长速度；制作切片，在光学显微镜下观察有无大、小型分生孢子和厚垣孢子及其大小、形状和着生方式；隔膜有无及其数目、产孢结构等。

1.5.2 分子生物学鉴定

将纯菌落菌丝刮入 2 mL 离心管中，并将其置于 -80 °C 超低温冰箱中 30 分钟以上。取出后每管放入一颗 0.6 mm 的钢珠，使用细胞破碎仪以 27 f/s 的频率高速振荡 2 分钟后，通过冻融细胞破碎仪以 26 f/s 的频率振荡 3 min，然后按照真菌基因组提取试剂盒操作步骤依次进行，获得的 DNA 用超微量分光光度计测定浓度。以 DNA 为模板，采用病原菌引物 ITS1/ITS4 对 rDNA-ITS 基因进行 PCR 扩增^[12]。

PCR 扩增：ITS-rDNA 区段对于一部分真菌相对保守，不足以支持一些菌株的鉴定结果确定到种，因此一些种属需要多基因综合鉴定。如镰刀菌属，在鉴定时还需要的基因有：TEF，IGS，mtSSU，RPB2，TUB 和 CAL^[13,14]；我们在本文试验中选择了除 ITS 外的 TEF 及 RPB2 两种基因进行鉴定。

PCR 产物检测与测序：配制浓度为 1% 的琼脂糖凝胶，在首位或末位胶孔中加入 marker 1 μL ，其他胶孔中依次加入 PCR 产物 2 μL ，在 120 V 电压下，电泳 20 min，并在凝胶成像系统下观察条带情况，进行图像采集。若样品扩增成功后，需将其送至公司（上海生工生物工程有限公司）进行测序，待结果返回后在 NCBI Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 比对，下载模式菌株的相关序列，利用 MEGA7.0 软件进行序列进化分析，使用邻接法（Neighbour-joining methods, N-J）构建系统发育树，分析其亲缘关系。将病原菌的亲缘关系分析结果与其形态特征、培养性状及致病性结合起来对其进行鉴定^[15]，确定菌株的分类地位。

1.5.3 柯赫氏法则验证

以灭菌土壤（121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 45 min）盆栽培养大蒜 10 d，刮开表面土壤露出适宜大小大蒜根部，以灭菌打孔器（孔径 7 mm）在根部打孔（约 5 mm 深），孔内接种预先摇瓶发酵好的致病菌菌液，对照用等量无菌水做相同处理。接种 40 d 后取根部病健交界处组织，利用组织分离法分离病原菌，并进行鉴定。

1.6 大蒜根腐病病原菌 H9 致病性研究

1.6.1 不同浓度大蒜根腐病病原菌 H9 对大蒜幼苗感病能力研究

在装有 600 mL 水的烧杯中，挑取无伤、生长情况良好、大小一致的健康大蒜经酒精表面杀菌后放在浮漂上，使根部没于培养液中。水位下降时，及时加水，使水量保持稳定。大蒜生长至幼苗期时，接入大蒜根腐病病原菌（H9）孢子液进行实验处理，孢子液浓度为： 2×10^9 cfu/mL 每组处理设置三个重复。处理情况如表 1，每个实验 3 次重复。放置于温室进行培养，观察大蒜感病情况。培养 40 天后对实验组大蒜进行回收，带回实验室进行生长指标测定并对根茎部进行扫描观察。

表 1 水培大蒜感病梯度实验设计

实验组名称	实验设置
对照	清水+10 mL PDA
处理 1	5 mL H9+10 mL PDA
处理 2	10 mL H9+10 mL PDA
处理 3	20 mL H9+10 mL PDA
处理 4	50 mL H9+10 mL PDA
处理 5	100 mL H9+10 mL PDA
处理 6	150 mL H9+10 mL PDA

1.6.2 柯赫氏法则验证

根据柯赫氏法则，对发病植株进行病原菌的再次分离。采根部发病部位 1~2 cm，经超声表面处理后，磨样进行稀释涂布，稀释浓度为 1×10^{-4} /mL，并在 28 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h 后，挑取菌株进行 ITS 基因、RPB2 基因和 TEF 基因序列扩增及测序，将测序获得的菌株序列在 NCBI 基因数据库对比，再与大蒜根腐病潜在病原菌 H9 的 ITS 序列比对。

2 结果与分析

2.1 大蒜根腐病潜在病原菌的分离归类

本课题组于 2016、2017、2018 年连续 3 年对我国大蒜主产区山东省金乡县及其周边地区大蒜根腐病进行调查采样，共采集大蒜根腐病样品 51 份。感染根腐病后的大蒜主要表现为根短、数量少，从根尖向根基部干瘪、中空、腐烂，有的根为红色，植株长势弱（图 1）。通过对 51 份感病大蒜样品进行潜在病原菌的分离，共分离纯化出优势潜在病原真菌 62 株。对上述菌株进行显微镜检测，通过观察其产孢结构和菌丝形态进行初步归类，获得潜在病原菌为两大类，代表菌株分别为 H5 和 H9。

其中，菌株 H5 属于茎点霉属(*Setophoma*)，是大蒜红根腐病病原菌，相关研究结果已在 plant disease 上发表^[16]，本论文重点研究 H9 这一类群。



图 1 大蒜根腐病样品图

2.2 大蒜根腐病潜在病原菌 H9 的形态学研究

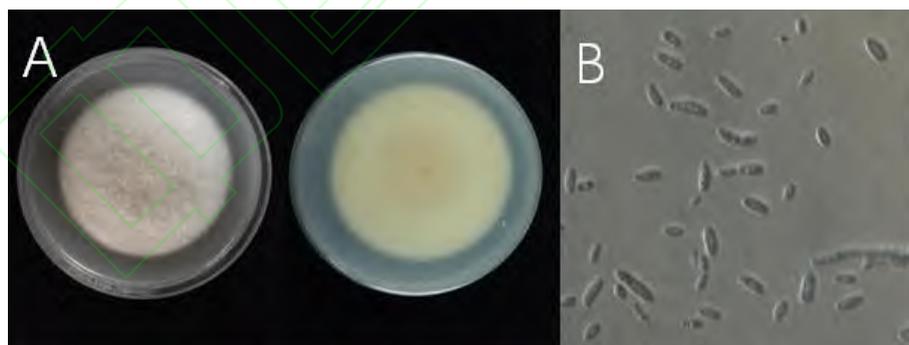


图 2 大蒜根腐病潜在病原菌 H9 平板菌落和孢子形态图。菌株 H9 在 PDA 平板上，28 °C 培养 5 天，

图 A 为菌落正面和背面；图 B 为菌株 H9 的孢子形态图。

菌株 H9 在 PDA 平板上，于 28 °C 培养箱中培养 5 d，其菌落平均生长速率为 0.88 cm/d，气生菌丝，菌丝较短，较密集，地毯状，前期灰白色，后期表面灰白色，底层灰粉色，菌落背面偏黄（图 2-A）。镜检发现菌株 H9 的菌丝透明、有隔，分生孢子数量密集，小型梭形，大型镰刀状，多隔，淡黄色（图 2-B）。

2.3 大蒜根腐病潜在病原菌 H9 的分子生物学初步鉴定

采用真菌 ITS1、ITS4 通用引物对菌株 H9 的 ITS 基因进行 PCR 扩增，获得一条约 500 bp 明亮清晰的片段。将 PCR 产物送至生工公司测序，返回结果在 NCBI 网站上逐一进行 Blast 比对，利用 MEGA7.0 软件采用 N-J 法构建系统发育树（图 3），结果显示，潜在病原菌 H9 属于镰刀菌属（*Fusarium*），ITS 最高相似性菌株为 *Fusarium solani*。

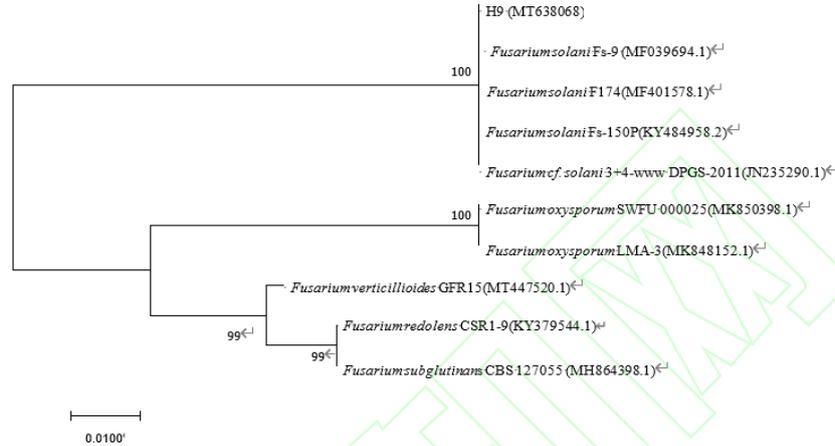


图 3 菌株 H9 及其亲缘关系相近菌株的 ITS 基因序列系统进化发育树

因内源转录间隔区（ITS）在镰刀菌属的鉴定中具有局限性，因此对镰刀菌属菌株进行 RPB2、TEF 的多基因鉴定^[17,18]。以 EF1 和 EF2 为引物 PCR 扩增菌株 H9 的 TEF1 基因序列，获得长度为 700 bp 的基因片段；以 7cR 和 11aR 为引物 PCR 扩增菌株 H9 的 RPB2 基因序列，获得长度为 970 bp 的基因片段，并对相应基因片段进行测序。将生工返回的测序结果与 *Fusarium* MLST Database (<http://www.westerdijk.nl/fusarium/>) 中的菌株进行比对并生成系统发育树（图 4、图 5），结果均显示：菌株 H9 为 *Fusarium solani* species complex。

综合 ITS 基因、RPB2 基因和 TEF 基因的系统发育分析，大蒜根腐病潜在病原菌菌株 H9 鉴定为 *Fusarium solani* species complex。

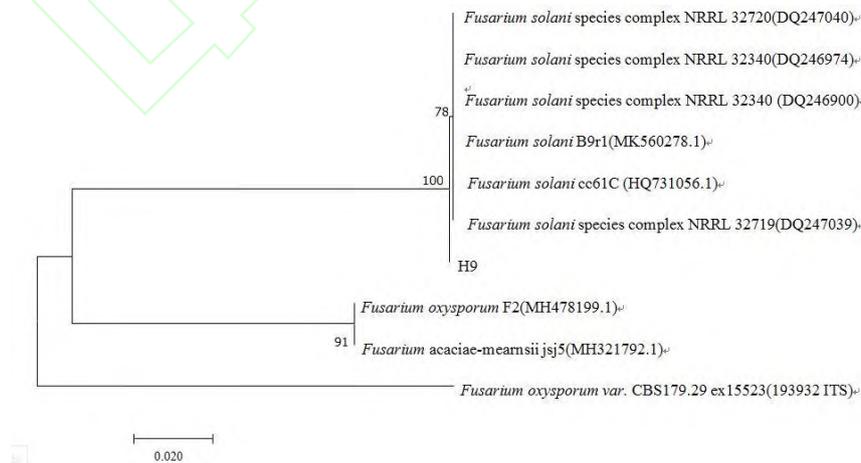


图 4 基于菌株 H9 TEF 基因序列系统进化发育树

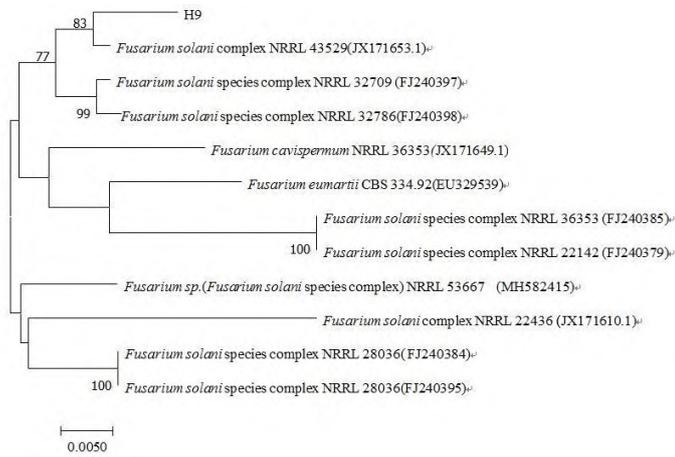


图 5 基于菌株 H9 RPB2 基因序列系统进化发育树

注：支持率<50 的数值不显示

2.4 柯赫氏验证试验

对温室试验中接种菌株 H9 后，可以引起大蒜产生根腐病。对产生大蒜根腐病症状的大蒜根样品进行分离纯化以及 ITS 基因、RPB2 基因和 TEF 基因序列扩增及测序，结果显示：新分离的优势菌株与接种菌株 H9 序列一致，该结果表明接种的菌株 H9 为大蒜根腐病病原菌。

2.5 大蒜根腐病病原菌 *Fusarium solani* H9 对大蒜幼苗致病能力研究

在温室条件下，开展不同浓度大蒜根腐病病原菌 *Fusarium solani* H9（对大蒜幼苗的致病能力研究。实验设置 7 个处理，分别为清水对照（CK）、接菌 5 mL、接菌 10 mL、接菌 20 mL、接菌 50 mL、接菌 100 mL、接菌 150 mL。接菌后 40 天收蒜，首先直接观察（图 6-A）显示：大蒜幼苗随着接菌大蒜根腐病原菌 H9 浓度的增加，幼苗地上部分生长受到抑制，浓度越高受抑制程度约严重；根部不仅表现为生长受抑制，还表现为根部干瘪、萎蔫。根部的这种情况，直接影响植物对营养物质的吸收，从而导致植物地上部分生长势弱。

根茎部扫描仪观察每个处理的根部腐烂状态，当根腐病病原菌 *Fusarium solani* H9 的接菌量达到 100 和 150 mL 时，在扫描仪下根部呈现半透明状态，表明大蒜根部腐烂严重（图 6-B）。该结果表明，接种孢子浓度 2×10^9 cfu/mL、接菌量为 100 和 150 mL 的病原菌 H9 时，可以导致大蒜幼苗严重的根腐病。

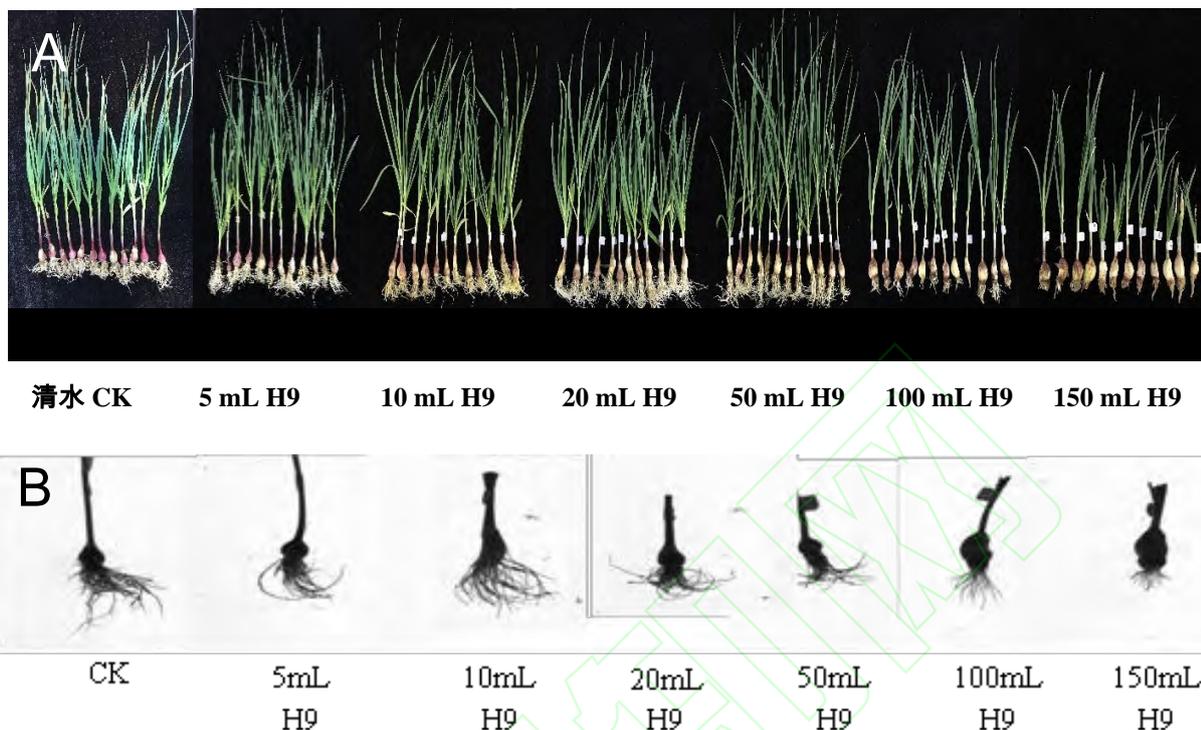


图 6 大蒜根腐病病原菌 *Fusarium solani* H9 对大蒜幼苗致病能力

注：温室条件下，用 1L 烧杯装 600 mL 纯净水，培养大蒜，大蒜幼苗高 5cm 左右时接入孢子浓度为 2×10^9 cfu/mL 的 H9 菌株。每个处理 3 个重复，每个重复烧杯中 4 株大蒜幼苗。接菌 40 天后，观察菌株对大蒜幼苗生长的影响。图 A：采用相机观察不同浓度菌株 H9 对大蒜幼苗的致病能力。图 B：采用根茎部扫描，观察接种不同浓度菌株 H9 对大蒜幼苗的致病能力。

为了进一步明确大蒜根腐病病原菌 H9 对大蒜幼苗生长的影响，对接菌 40 天后采收大蒜样品的茎粗、株高、根长、株鲜重与根鲜重进行称重测量。结果显示：病原菌 H9 的接种浓度与大蒜的茎粗、株高、根长、株鲜重与根鲜重呈负相关。利用 SPSS 软件对数据进行统计分析，与不接菌的对照处理相比，当病原菌 H9 的接菌量达到 100 mL 时，大蒜的株高、根长、株鲜重和根鲜重具有显著性差异；当病原菌 H9 的接菌量达到 150 mL 时，检测大蒜的株高、根长、株鲜重和根鲜重具有显著性差异（表 2）。

表 2 接种不同浓度大蒜根腐病病原菌 H9 后的大蒜生长情况

实验处理	茎粗 (cm)	株高 (cm)	根长 (cm)	株鲜重 (g)	根鲜重 (g)
CK	0.7±0.1a	47.6±6.2a	7.7±1.2a	17.1±2.7a	2.1±0.5a
5 mL H9	0.7±0.1a	42.8±8.1a	6.6±1.2ab	16.8±6.2a	1.9±0.8a
10 mL H9	0.6±0.1a	41.9±9.1a	6.3±1.7ab	16±5.1ab	1.6±0.7a
20 mL H9	0.7±0.1a	42.2±10.2b	7.4±0.9c	16.1±4.6bc	1.9±0.7a
50 mL H9	0.6±0.1a	33.9±8.5a	7.3±1.0bc	12.7±2.4ab	1.8±0.6a
100 mL H9	0.5±0.1a	33.4±6.1b	3.3±0.7d	9.9±2.8c	0.6±0.4b
150 mL H9	0.6±0.1b	22.8±6.9c	2.9±0.8d	9.5±2.2c	0.4±0.2b

注：表格中数据后的字母表示处理之间存在的差异显著 ($P < 0.05$, $n = 10$)。

3 结果与讨论

3.1 不同作物根腐病病原菌略有不同，镰刀菌属是作物根腐病的主要病原菌之一

根腐病作为我国农作物主要土传病害之一，目前国内有多位学者对作物根腐病的病原菌开展研究。张博等研究发现山东省主要大蒜根腐病病原菌为腐霉属 (*Pythium*)^[10]；Chang 等研究发现大豆根腐病主要病原菌为镰刀菌属，包括燕麦镰刀菌、镰刀菌、尖孢镰刀菌和增殖镰刀菌^[19]；张德珍等对小麦根腐病的 185 株分离株鉴定进行了报道，认为小麦根腐病主要是由麦根腐平脐蠕孢和镰孢属真菌感染引起^[20]；陈应娥等发现引起饲用玉米根腐病的病原菌为茄病镰刀菌 (*Fusarium solani*)^[21]。同时，由镰刀菌感染引起的根腐病在番茄、辣椒、草莓已见报道^[22-25]。本论文研究发现，山东及周边地区大蒜主产区根腐病的主要病原菌之一是镰刀菌属的 *Fusarium solani* species complex H9，与已报道结果一致。

3.2 不同地区、不同年份大蒜根腐病的主要病原菌不同

张博等在 2008 年对山东金乡、鱼台、菏泽等地进行调查，结果显示山东省主要大蒜根腐病病原菌为腐霉属 (*Pythium*)。张丽娟等研究发现 2013、2014、2015 年新疆吉木萨尔地区大蒜根腐病主要是镰刀菌属，包括尖孢镰刀菌、层生镰刀菌、芳香镰刀菌等。但是，本研究于 2016、2017、2018 年对山东金乡及周边地区大蒜根腐病调查研究显示，大蒜根腐病主要病原菌是镰刀菌属的 *Fusarium solani* species complex H9 和本实验室已发表的在我国大蒜中首次发现的大蒜红根腐病病原菌 *Setophoma terrestris*^[16]。此外，有部分学者认为大蒜根腐病属于细菌性病害，但是没有给出具体的研究材料、方法等（杨峰；李宪生；李程玉），为综述性或新闻性报道，还有待进一步的研究确认。

综上，大蒜根腐病为复合型侵染，一般由多种病原菌引起；在不同地区、不同年份的病原菌不同。因此，对作物主产区主要病害开展持续性的监测是必要的，如果主要病害发生改变，则需要改进相应的防护措施。

参考文献：

- [1] 李素民, 杨文昌, 田彩锁, 等. 大蒜的现代研究进展 [J]. 中医药学报, 1997, (6): 30-32.
- [2] 张百俊, 杨和连, 刘爱琴. 大蒜功能研究现状 [J]. 河南科技学院学报, 2007, 35 (4): 33-35.
- [3] 王龙. 基于 ENVI 的杞县大蒜种植面积提取方法分析研究 [D]. 开封: 河南大学, 2018.
- [4] 李伟才. 浅谈金乡大蒜产业发展与乡村振兴 [J]. 农业与技术, 2019, 39 (7): 170-171.
- [5] 吴国靖. 大蒜种植规模及其影响因素研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
- [6] Zewde T, Fininsa C, Sakhujja P K, et al. Association of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic with environmental factors and cultural practices in the North Shewa highlands of Ethiopia [J]. Crop Protection, 2007, 26 (10): 1566-1573.
- [7] Kelderer M, Manici L M, Caputo F, et al. Planting in the 'inter-row' to overcome replant disease in apple orchards: a study on the effectiveness of the practice based on microbial indicators [J]. Plant and Soil, 2012, 357 (1-2): 381-393.
- [8] 马龙传, 王涛涛. 金乡县大蒜根腐病发生及防治措施 [J]. 农业科技通讯, 2018 (6): 339-340.
- [9] 李宪生, 刘留, 孙光天. 地膜大蒜根腐病的发生与防治 [J]. 现代农业科技, 2010 (20): 212.
- [10] 张博. 山东省大蒜腐霉根腐病初步研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008.
- [11] 张丽娟, 王玮, 谢玉清, 等. 新疆吉木萨尔地区大蒜根腐病病原菌的分离与鉴定 [J]. 新疆农业科学, 2017, 54 (4): 725-734.
- [12] 李春霞, 苏俊, 龚士琛, 等. 玉米茎腐病接种方法的研究 [J]. 玉米科学, 2001 (2): 71-73.
- [13] 李盼亮. 我国蔬菜根部病原镰孢菌鉴定和新病害发现 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [14] Kulik T, Pszczalkowska A. Multilocus sequence analysis of fusarium poae [J]. Journal of Plant Pathology, 2011, 93 (1): 119-126.
- [15] 刘香萍, 敬雪敏, 闫红秀, 等. 尖孢镰刀菌的分离鉴定及不同苜蓿品种芽期抗病性 [J]. 植物保护, 2019, 45 (4): 229-235.
- [16] Zhang F, Zheng H, Cui M, et al. First Report of *Setophoma terrestris* Causing Pink Root of Garlic in China [J]. Plant Disease, 2018, 103 (3): 584-584.
- [17] 翟妮平, 李光宇, 徐超, 等. 河南山坡土壤中三种葡萄穗霉科真菌鉴定 [J]. 土壤通报, 2019 (4): 879-884.
- [18] 罗卿权, 路广亮, 徐颖, 等. 一株淡剑灰翅夜蛾病原性真菌莱氏绿僵菌的多基因序列鉴定 [J]. 植物保护学报, 2018, 45 (3): 614-621.

- [19] Chang K F, Hwang S F, Conner R L, et al. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot in soybean (*Glycine max* L.) in Canada [J]. *Crop Protection*, 2015, 67: 52-58.
- [20] 张德珍, 李鹏昌, 陈晓霞, 等. 山东省小麦根腐病原菌的分离鉴定 [J]. *植物保护学报*, 2016, 43 (2): 233-240.
- [21] 陈应娥, 梁巧兰, 刘耀霞, 等. 饲用玉米根腐病原菌鉴定及室内药剂筛选 [J]. *草原与草坪*, 2019, 39 (1): 100-105.
- [22] 李潇, 李雪萍, 漆永红, 等. 番茄颈腐根腐病原菌鉴定及其品种抗性鉴定 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2019, 54 (5): 121-127.
- [23] 蔡高磊, 赵昌松, 彭宣, 等. 十堰辣椒根腐病原菌分离鉴定及高氏 15 号的生物防治作用研究 [J]. *华中师范大学学报 (自然科学版)*, 2019, (2): 248-254.
- [24] 姚玉荣, 霍建飞, 郝永娟, 等. 天津地区草莓根腐病原菌分离鉴定及室内毒力测定 [J]. *山东农业科学*, 2019 (2): 107-110.
- [25] 盛茹媛, 肖长坤, 郑书恒, 等. 镰刀菌引起的北京市草莓根腐病原菌鉴定 [J]. *中国蔬菜*, 2012, 1 (12): 52-56.

Preliminary study on isolation and pathogenicity of pathogenic Fungi of garlic Root Rot in the main production area of garlic in China

WANG Tian¹, YIN Yan-shu², HUA Zhi-chao¹, JIA Sheng-nan², REN Dong-jun², XIN Li³, WANG Ji-zhong^{1*}, GAO Miao^{2*}
(1. School of Life Science and Food Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an Jiangsu 223003; 2. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Microbial Resources Collection and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081; 3. Shandong Maria Agricultural Machinery Co., Ltd., Shandong Jinxiang 272203)

Abstract: Garlic Root Rot is one of the main diseases of garlic in Jinxiang County and its surrounding areas of Shandong Province. In this study, 62 strains of potential pathogenic fungi of garlic Root Rot were isolated and purified from 51 samples of garlic Root Rot collected for 3 consecutive years by conventional tissue isolation method. Morphological and molecular biological identification showed that the main groups of these fungi were *Fusarium* and *Setophoma*. According to Koch's rule, the *Fusarium* H9 was confirmed to be the pathogen of garlic root rot. The pathogenicity of garlic root rot pathogen H9 with different concentrations on garlic seedlings was studied by hydroponics experiment in greenhouse. The results showed that the pathogenicity was positively correlated with the inoculation amount. Serious Root Rot appeared in garlic seedlings after 40 days inoculation with spore concentration of 2×10^9 cfu/mL, inoculation amount of 100mL and 150mL, respectively. In summary, the main pathogenic fungi of Root Rot of garlic in Shandong and its surrounding areas are *Fusarium* and *Setophoma*, which provide a theoretical basis for the scientific control of garlic Root Rot in this area.

key words: garlic; Root Rot; pathogen identification; pathogenicity