

青岛莱西地区草莓根腐病菌鉴定及其拮抗木霉的筛选

王铃朝, 毛洪朔, 刘焯贝, 刘天彪, 梁锦燕, 余明君, 张茹琴*

(青岛农业大学植物医学学院/山东省植物病虫害综合防控重点实验室, 山东青岛 266109)

摘要 于2018—2019年从青岛莱西地区10个草莓种植基地的30个采样点共采集90份草莓根腐病病样, 利用组织分离法对病原菌进行了分离, 结合形态学和分子生物学鉴定以及致病性测定, 以确定引起该地区草莓根腐病的病原菌种类, 同时初步测试了4株木霉对病原菌的抑菌效果及抑菌机理。结果表明, 共分离到6种真菌, 分别为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、新棒状拟盘多毛孢(*Neopestalotiopsis clavispora*)、枝状枝孢(*Cladosporium cladosporioides*)、菌核生枝顶孢(*Acremonium sclerotigenum*)和土曲霉(*Aspergillus terreus*)。前三者为草莓根腐病菌, 胶孢炭疽菌和尖孢镰刀菌的分离频率分别为45.8%和32.1%, 是优势病原菌, 新棒状拟盘多毛孢分离频率为8.4%。4株木霉通过竞争作用、产生非挥发性菌代谢产物抑制3种病原菌生长。培养3 d时, 4株木霉代谢产物对3种病原菌的抑菌率为100%; 培养7 d时下降, 其中Ta1和Th2抑菌效果最好, 前者对胶孢炭疽菌、尖孢镰刀菌和新棒状拟盘多毛孢的抑菌率分别为74.1%、62.5%和75.0%, 后者分别为74.1%、73.8%和75.9%。二者对草莓根腐病具有一定生防潜力。

关键词 草莓; 根腐; 分离; 鉴定; 木霉

中图分类号 S436.5 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)09-0143-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.09.036



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Identification of Pathogens Causing Root Rot on Strawberry in Qingdao Laixi and Screening of Their Antibiotic *Trichoderma* spp.

WANG Ling-chao, MAO Hong-shuo, LIU Ye-bei et al (College of Plant Health & Medicine of Qingdao Agricultural University / Key Lab of Integrated Crop Disease and Pest Management of Shandong Province, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract Ninety samples were collected from 30 plots in 10 strawberry planting bases in Qingdao Laixi from 2018 to 2019, and isolated by tissue isolating method, combined with morphology, molecular biological technology and pathogenic test, the species causing root rot of strawberries were identified, meanwhile, antibiotic effects and mechanisms of 4 *Trichoderma* spp. to the pathogens were studied. The results indicated that 6 fungal species were isolated from rotten tissues of strawberries, including *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Neopestalotiopsis clavispora*, *Cladosporium cladosporioides*, *Acremonium sclerotigenum* and *Aspergillus terreus*. Among them, the first three was the pathogens causing root rot of strawberries, the document frequency (DF) of *C. gloeosporioides* and *F. oxysporum* was 45.8% and 32.1%, respectively, while that of *N. clavispora* was 8.4%. Four *Trichoderma* spp. inhibited the above pathogens by competition and production of non-volatile compounds. After three days of inoculation, the inhibition percentage of the 4 *Trichoderma* spp. to the three pathogens were 100%, however, seven days after inoculation, the inhibition percentage decreased, the inhibition percentage of trichoderma Ta1 and Th2 were the highest, those of Ta1 to *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum* and *N. clavispora* were 74.1%, 62.5% and 75.0%, respectively; those of Th1 were 74.1%, 73.8% and 75.9%, respectively. Therefore, Ta1 and Th2 had the best antibiotic effects and biocontrol potentials against root rot of strawberries.

Key words *Fragaria×ananassa*; Root rot; Isolation; Identification; *Trichoderma* spp.

近年来,我国草莓产业迅速发展,但随着栽培面积的扩大及多年连作,导致根腐病严重时发病率可达80%以上,给草莓生产带来了巨大的经济损失^[1]。草莓根腐病症状表现为红中柱根腐^[2-3]、炭疽根腐^[4-7]和黑根腐^[8-9],由土传病原真菌甚至线虫单独或复合侵染根部所致。世界范围内已报道的草莓根腐病菌达20多种^[8],主要有草莓疫霉(*Phytophthora fragariae*)^[2-3]、炭疽菌(*Colletotrichum* spp.)^[4-7]、丝核菌(*Rhizoctonia* spp.)^[10-11]、镰孢菌(*Fusarium* spp.)^[12-13]、新棒状拟盘多毛孢(*Neopestalotiopsis clavispora*)^[5,14-15]、菜豆壳球孢(*Macrophomina phaseolina*)^[16-17]、大双孢土赤壳菌(*Ilyonectria macrodidyma*)^[18]和*Dactylonectria torresensis*等^[19-20]。

在农业生产中,由于化肥农药的大量使用导致的环境污染、生态失衡、农产品品质下降及农残超标等问题日益严重。木霉菌(*Trichoderma* spp.)是一类应用广泛、防病效果显著的生防菌^[21]。较强的环境适应能力使其在与病原菌的竞争中

占据优势,主要通过竞争、重寄生、抗生作用、诱导抗性及协同拮抗作用,使得木霉对大部分病原菌表现出较高的拮抗活性^[22]。木霉菌对草莓炭疽病^[23-25]、灰霉病^[23,26]、白粉病^[27]、根腐病等^[28-29]具有拮抗作用。尽管前人在木霉防治草莓病害方面做了大量的工作,但目前仍缺少可替代化学农药防治草莓根腐病的高效木霉菌剂产品。

山东省青岛地区是我国草莓主栽区之一,目前已报道的草莓根腐病病原物种类有棒形拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis clavispora*)和胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)^[5]。不同地区或同一地区,由于生态条件的差异,导致病原物优势种类差异较大。为了确定青岛莱西地区草莓根腐病菌的种类,笔者于2018—2019年共采集10个草莓种植地的90个病样,在对病原物分离、鉴定及测定致病性的同时,初步测试了4株木霉对草莓根腐病菌的拮抗活性及机理,这对于明确草莓根腐病菌的种类、推广木霉生物防治及减少化学农药的使用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 病样采集 2018—2019年2—4月,选取莱西地区草莓(章姬品种)10个种植地采样,每个种植地采集3个点,每个点取3株病样,带回实验室立即分离。

基金项目 山东省“泰山学者”建设工程专项(BS2009NY040);国家级大学生创新训练项目(S202010435006)。**作者简介** 王铃朝(1999—),男,贵州普安人,从事植物病理学研究。
*通信作者,副教授,博士,从事植物病害及生物防治研究。**收稿日期** 2021-04-26; **修回日期** 2021-09-13

1.2 培养基制作 分离用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)和燕麦(OA)琼脂培养基,纯化及保存培养基用PDA培养基。

1.3 试验方法

1.3.1 分离纯化及保存。先将病株根部冲洗干净,沥干水分。在超净工作台上,用75%乙醇表面消毒后,再用消毒手术刀剖开根部,从病组织中切取0.5 cm²大小的组织块,转接到PDA培养基或OA培养基上,每皿放置3块,置于25℃黑暗培养。待组织块边缘长出菌丝体时,挑取菌丝体转接到PDA培养基上纯化,直至菌落生长一致没有杂菌时,挑取菌丝体转接至PDA斜面上,待长满斜面后于4℃冰箱保存。

1.3.2 形态学鉴定。观察、记录分离物的菌落颜色、生长速度等。制作水装片,在光学显微镜下观察菌丝的颜色、隔膜、分生孢子、载孢体形态等特征,测量大小并拍照,依据《真菌鉴定手册》等资料鉴定^[6-7,12-15,30-31]。

1.3.3 分子生物学技术鉴定。采用CTAB法提取菌物的基因组DNA,利用引物ITS1(TCCGTAGGTGAACCTGCGG)和ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)扩增DNA的内转录间隔区(ITS)序列^[7]。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测确认后,送测序公司纯化并测序。登陆BCBI网站与GenBank数据库中相似模式菌株序列进行比对,获得同源性较高的菌物,结合菌物的形态特征,参考相关文献确定分离物的分类地位。

1.3.4 分离频度测定。为了确定分离物特别是病原菌的优势种类,用以下公式计算分离频度(document frequency, DF):

$$DF = (\text{分离物某属或种的出现次数} / \text{分离总次数}) \times 100\%$$

1.3.5 致病性测定。将分离物在PDA培养基上活化,待菌落上产生大量的分生孢子时,用无菌水冲洗孢子,3层无菌纱布过滤,滤液经5 000 r/min离心30 min后得到孢子沉淀,加无菌水稀释成1.0×10⁵个/mL孢子的悬浮液备用。

待草莓苗生长至4~5叶期时,用手术刀在根部造成轻微伤口,采用灌根法接种^[13-14],每株灌入25 mL孢子悬浮液。每种分离物重复3次,每重复1株苗。对照灌无菌水。接种后置于25℃光照培养箱培养(光照14 h/黑暗10 h)。期间浇水保持土壤湿润。观察草莓苗的变化,待出现明显症状时取样,用与上述相同的方法再次分离鉴定以完成柯赫氏法则验证。

1.3.6 木霉对病原菌的拮抗效果及拮抗机理测试。供试的4种木霉编号为Th1、Ta1、Th2和Th3,其中Th1、Th2和Th3为哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*),Ta1为深绿木霉(*Trichoderma aureoviride*),保存于青岛农业大学植物病理生理实验室。

1.3.6.1 竞争作用。制备PDA培养基平板,采用对峙培养法,在直径9 cm的培养皿边缘分别接种病原菌和木霉菌饼(直径0.5 cm),2个菌饼相距5 cm,对照仅接种病原菌,每处理3个重复。接种后置于25℃恒温箱中黑暗培养。分别于培养3、7 d时观察木霉拮抗效果,根据下述分级标准说明其与病原菌的竞争作用^[21]:I,木霉菌丝占据平皿100%;II,木霉菌丝占据平皿>2/3;III,1/3<木霉菌丝占据平皿≤2/3;IV,木

霉菌丝占据平皿≤1/3;V,病原菌占据平皿100%。

1.3.6.2 拮抗互作。在灭菌载玻片上滴一薄层2%水琼脂,在间隔4 cm处分别接种木霉和病原菌菌丝体,接种后置于灭菌培养皿中,封口后置于25℃黑暗培养。分别于接种后不同时间取载玻片在光学显微镜下观察木霉和病原菌菌丝间的溶菌、重寄生等作用。

1.3.6.3 抗生素作用。在灭菌PDA平板上平铺无菌玻璃纸(直径略大于培养皿底盖),然后将木霉菌饼(Φ 0.5 cm)接种在玻璃纸中央,25℃黑暗培养,培养2.5 d时,用镊子揭去玻璃纸及木霉菌饼,在培养基中央接种病原菌菌饼(Φ 0.5 cm),对照仅接种病原菌,所有处理重复3次,25℃黑暗培养。于接种3、7 d后测量菌落直径,根据下式计算木霉对病原菌的抑菌率:

$$\text{抑菌率} = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}) \times 100\%$$

1.4 数据处理 试验数据差异显著性分析使用SAS 8.1数据分析软件。

2 结果与分析

2.1 分离频度 利用PDA培养基和OA培养基,从10个草莓种植地的30个采样点共分离到6种分离物,编号分别为LX-1、LX-2、LX-3、LX-4、LX-5和LX-6,分离频度由高到低依次为LX-1 45.8%、LX-2 32.1%、LX-3 8.4%、LX-4 6.9%、LX-5 4.6%、LX-6 2.3%。

2.2 形态学鉴定 根据分离物在PDA培养基上的菌落特征、菌丝、孢子及其载孢体的形态特征等,初步鉴定结果如下。

2.2.1 LX-1 鉴定特征。在PDA培养基上,菌落初为白色,后期变为灰色(图1A),划伤时在其上产生橘黄色分生孢子团。

分生孢子初单胞(图1B),无色,多为长椭圆形,两端钝圆或一端呈锥形,具有2个油球,大小(5.9~11.2) μm×(3.9~4.8) μm,萌发时呈双胞(图1D)。

在菌丝上产生直立的分生孢子梗,在梗顶端形成芽生型分生孢子(图1C)。分生孢子在2%葡萄糖水中萌发时产生1~4根芽管,在芽管顶端产生褐色的附着孢(图1E)。

根据上述特征,将LX-1初步鉴定为炭疽菌(*Colletotrichum* spp.)。

2.2.2 LX-2 鉴定特征。在PDA培养基上,LX-2的菌落初期白色至浅粉色,气生菌丝量大,菌落背面粉色,后期产生紫色色素(图2A)。

产生大、小型分生孢子和厚垣孢子3种孢子(图2B、C)。

气生菌丝上的分生孢子梗多为单瓶梗(图2D),较短,少见分枝(图2E),通常产生大量假头生小型分生孢子。小型分生孢子多为纺锤形或卵圆形,0~1隔,(3.7~12.8) μm×(2.5~5.2) μm。偶尔有2隔孢子。1~2隔分生孢子基部略缢缩,与大型分生孢子相似(图2B)。

分生孢子座较易产生,淡黄色至橘黄色(图2F)。大型分生孢子镰刀形,有足胞,3~5隔,多为3隔,大小(13.1~51.7) μm×(2.5~5.2) μm(图2B)。

厚垣孢子易产生,单生或对生,间生或顶生,多为单生

(图 2C)。

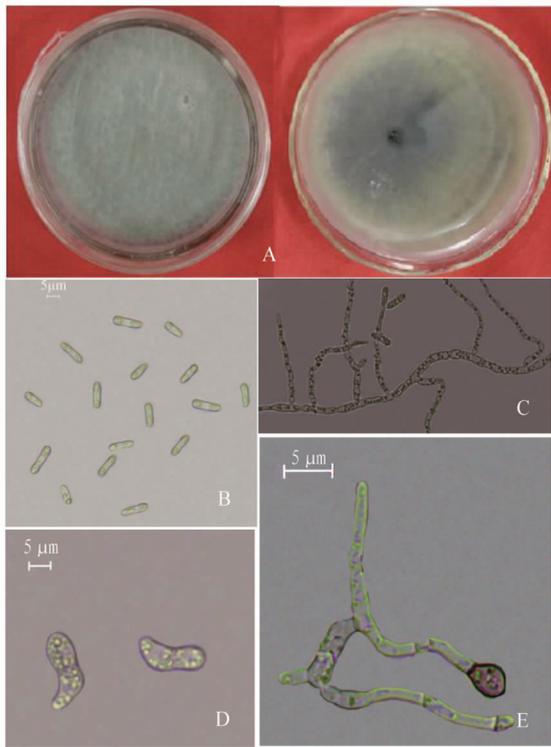


图 1 LX-1 鉴定特征

Fig. 1 Identification characteristics of isolate LX-1

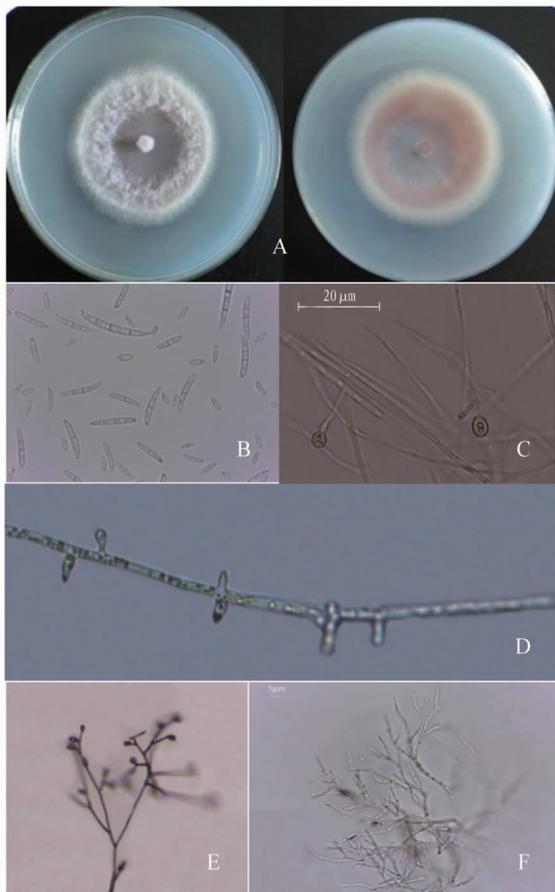


图 2 LX-2 鉴定特征

Fig. 2 Identification characteristics of isolate LX-2

根据上述特征,将 LX-2 初步鉴定为镰孢菌 (*Fusarium* spp.)。

2.2.3 LX-3 鉴定特征。在 PDA 培养基上,气生菌丝发达,菌落正面白色棉花状,背面淡黄色,菌落边缘不规则,波纹状(图 3A)。后期在菌落正反面均产生黑色粒状物,散生,为菌物的分生孢子盘及分生孢子(图 3B)。

分生孢子纺锤状,直或稍弯,大小(19.8~26.5) $\mu\text{m} \times$ (2.9~4.9) μm ,具 4 个横隔 5 个细胞,顶部和基部细胞无色透明,基部细胞具有 1 根附属丝(3.0~6.5) μm ,顶部细胞具有 2~4 根附属丝,通常 3 根(14.5~22.5 μm)。中间 3 个细胞呈褐色(图 3C)。

根据上述特征,将 LX-3 初步鉴定为拟盘多毛孢 (*Neopestalotiopsis* spp.)。

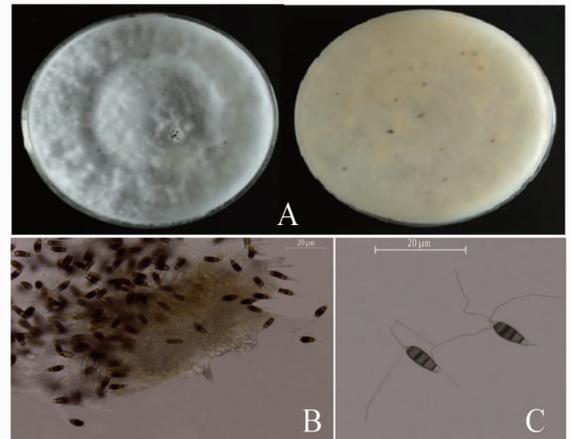


图 3 LX-3 鉴定特征

Fig. 3 Identification characteristics of isolate LX-3

2.3 分子生物学技术鉴定 琼脂糖凝胶电泳检测结果表明,6 种分离物 ITS 序列大小为 300~1 000 bp。将测序结果在 GenBank 数据库进行比对分析,待鉴定分离物 ITS 序列与模式菌同源性均高于 99%。

结合形态学和分子生物学鉴定技术,6 种分离物分别被鉴定为 LX-1 胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (KM463758. 1), LX-2 尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* Schltdl. :Fr. (KT876659. 1), LX-3 新棒状拟盘多毛孢 *Neopestalotiopsis clavispora* (G. F. Atk.) Maharachch., K. D. Hyde & Crous (FJ517545. 1), LX-4 枝状枝孢 *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries (HQ148094. 1), LX-5 菌核生枝顶孢 *Acremonium sclerotigenum* (Moreau & R. Moreau ex Valenta) W. Gams (MH171928. 1), LX-6 土曲霉 *Aspergillus terreus* Thom (KM103317. 1)。

2.4 致病性测定 胶孢炭疽菌接种 25 d 后,其中 1 株草莓苗萎蔫,至第 32 天时,接种株全部萎蔫。尖孢镰刀菌接种 15 d 后,供试 3 株草莓苗全部萎蔫。新棒状拟盘多毛孢接种 27 d 后,其中 1 株苗萎蔫,至第 37 天时,接种株全部萎蔫。但枝状枝孢、菌核生枝顶孢、土曲霉接种以及对照草莓苗均未发病。

再次从人工接种的草莓病根中分离到胶孢炭疽菌、尖孢

镰刀菌和新棒状拟盘多毛孢,证明这三者为青岛莱西地区草莓根腐病的病原菌,且前二者为优势菌。

2.5 木霉对病原菌的拮抗效果及拮抗机理

2.5.1 竞争作用。对峙培养3 d时,4株木霉的菌落与病原菌菌落接触,拮抗效果达Ⅲ或Ⅳ级;培养7 d时,4株木霉菌丝全覆盖平皿,包括病原菌菌落,且在病原菌菌落上产孢,拮抗效果均达Ⅰ级。说明4株木霉具有很强的竞争作用。

2.5.2 拮抗互作。载玻片上拮抗互作试验未发现4株木霉与3种根腐病菌间有菌丝重寄生、溶菌等现象。

2.5.3 抗生素作用。病原菌在木霉非挥发性代谢产物培养基上培养3 d时,3种病原菌菌丝均未生长,抑菌率达100%;培养7 d时,抑菌率降低,但不同处理间抑菌率有显著或极显著差异(表1),4株木霉非挥发性代谢产物对3种病原菌均有一定的抑菌活性,但Ta1和Th2对3种病原菌抑菌活性高于其他2个木霉菌株,前者对胶孢炭疽菌、尖孢镰刀菌和新棒状拟盘多毛孢的抑菌率分别为74.1%、62.5%和75.0%,而后者分别为74.1%、73.8%和75.9%。说明Ta1和Th2具有一定的生防潜力。

表1 木霉菌非挥发性代谢产物对草莓根腐病菌的抑菌率

Table 1 Inhibition percentage of non-volatile compounds of *Trichoderma* spp. to the pathogens causing root rot of strawberries %

菌株 Strain	胶孢炭疽菌 <i>C. gloeosporioides</i>		尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>		新棒状拟盘多毛孢 <i>N. clavispورا</i>	
	3 d	7 d	3 d	7 d	3 d	7 d
Th1	100 A	55.6 b	100 A	25.0 B	100 A	55.3 B
Ta1	100 A	74.1 a	100 A	62.5 A	100 A	75.0 A
Th2	100 A	74.1 a	100 A	73.8 A	100 A	75.9 A
Th3	100 A	66.7 ab	100 A	36.2 B	100 A	68.8 A

注:同列不同大写字母表示差异极显著($P \leq 0.01$),不同小写字母表示差异显著($P \leq 0.05$)

Note: Different capital letters in the same column indicated significant difference at 0.01 level; different lowercases indicated significant difference at 0.05 level

3 结论与讨论

Arx 列出了约600个胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)的异名,但大多被分子生物学技术证明属于不同种^[32]。该病原菌世界性分布,可侵染多个科的多种植物。在草莓上,中国、埃及、日本、韩国、美国及西班牙等国均有报道该病原菌可侵染草莓的根、茎、叶片、叶柄、匍匐茎、花和果实^[32]。除胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)外,尖孢炭疽菌(*C. acutatum*)和草莓炭疽菌(*C. fragariae*)侵染也可引起相似症状^[4,6-7]。该研究从青岛莱西地区草莓根腐病病组织中分离的胶孢炭疽菌,分离频率达45.8%,为该地区草莓根腐病第一优势病原菌。

尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)是一种世界范围内分布的病原真菌,可侵染多个科的多种植物,引起萎蔫、腐烂或猝倒等病害。在草莓上,中国、澳大利亚、保加利亚、美国、厄瓜多尔、伊朗、朝鲜、波兰、塞尔维亚、西班牙及土耳其等国均报道该病原菌可引起草莓枯萎病或冠根腐^[32],且该病原菌存在草莓专化型(*F. oxysporum* f. sp. *fragariae*)^[13]。在我国,草莓 *Fusarium* 根腐病分布十分广泛,在各草莓栽培区均有分布^[1,8]。在青岛莱西地区,首次证实该病原菌可引起草莓根腐病,分离频率达32.1%,是该地区的优势根腐病菌之一。

新棒状拟盘多毛孢(*N. clavispورا*)是一种世界范围内分布的病原真菌或内生真菌。作为病原菌,可侵染几个科的几种植物,引起叶斑、根腐或冠腐病^[32]。在草莓上,阿根廷、意大利、韩国、西班牙、乌拉圭^[32]及中国^[5]报道该病原菌引起草莓根腐病。该研究分离的新棒状拟盘多毛孢人工接种也证实了这点。

除上述3种病原菌外,还分离到3种真菌,分别为枝状枝孢(*C. cladosporioides*)、菌核生枝顶孢(*A. sclerotigenum*)和土曲霉(*A. terreus*),分离频率分别为6.9%、4.6%和2.3%。其中枝状枝孢是一种腐生菌,广泛分布于坏死的植物叶片、

种子及花瓣等组织上,可引起植物叶斑、花腐、疮痂等病害^[32]。在草莓上,曾报道引起草莓花腐^[33-34]。菌核生枝顶孢广泛分布于土壤及各种腐殖质上,可引起套袋苹果果实褐斑病^[35-36]。土曲霉广泛分布于多种植物基质上,可引起多种植物地上部分坏死和腐烂^[37-38]。但致病性测定结果表明,上述3种真菌均不能引起草莓根腐病,为草莓根组织中的内生菌或腐生菌。

随着草莓设施栽培面积的不断扩大,由胶孢炭疽菌引起的炭疽根腐病、尖孢镰刀菌引起的草莓枯萎病在我国主要草莓种植区普遍发生,危害程度逐年加重。草莓炭疽根腐病苗期主要危害地上部叶片、叶柄、匍匐茎和根茎,严重时致成片死苗。设施栽培的草莓,主要在定植后的缓苗期,以危害根茎为主,引起根茎腐,导致植株萎蔫和大量死苗,一般发病率为10%~20%,严重时达80%以上^[4-7]。草莓枯萎病发病率严重时高达89.2%^[8-9,12-13,31]。草莓新棒状拟盘多毛孢根腐于2016年首次在青岛城阳区和即墨区发生^[5],该研究调查时,虽然该病原菌分离率较低,仅为8.4%,但说明该病原菌在青岛各草莓种区广泛存在,应引起足够的重视,以防在草莓苗远距离调运过程中传播到其他地区。

拮抗活性及拮抗机制测试结果表明,4株木霉与3种根腐病菌间无重寄生或溶菌现象,初步判断4株木霉主要通过竞争作用和产生非挥发性代谢产物抑制病原菌的生长。其中Ta1和Th2对3种病原菌的抑菌活性高于Th1和Th3。减少化学残留、提高食品安全,是整个草莓产业的当务之急。在后续的试验中将进行木霉对活体草莓根腐病的生防效果试验。

参考文献

- [1] 陈哲,黄静,赵佳,等.草莓根腐病的病原菌分离鉴定及拮抗菌CM3的抑制作用研究[J].生物技术通报,2018,34(2):135-141.
- [2] HICKMAN C.J. The red core root disease of the strawberry caused by *Phytophthora fragariae* n. sp. [J]. J Pomol Hortic Sci, 1941, 18(2): 89-118.

- [3] 李红斌. 草莓红中柱根腐病识别与综合防治技术[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(3): 376-377.
- [4] 张国珍. 我国对草莓炭疽根腐病的重视程度亟待提高[J]. 植物保护, 2015, 41(2): 234-236.
- [5] 赵宇, 钱恒伟, 徐鹏程, 等. 青岛市草莓根腐病病原菌分离及鉴定[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(1): 43-46, 82.
- [6] HAN Y C, ZENG X G, XIANG F Y, et al. Distribution and characteristics of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose of strawberry in Hubei, China[J]. Plant Dis, 2016, 100(5): 996-1006.
- [7] CHEN X Y, DAI D J, ZHAO S F, et al. Genetic diversity of *Colletotrichum* spp. causing strawberry anthracnose in Zhejiang, China[J]. Plant Dis, 2020, 104(5): 1351-1357.
- [8] 张梦影. 昌黎县草莓根腐病病原鉴定、生物学特性及室内毒力测定[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2018.
- [9] 申光辉. 草莓连作根腐病发生机制与微生物及化学修复研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012: 38-39.
- [10] SHARON M, FREEMAN S, KUNINAGA S, et al. Genetic diversity, anastomosis groups and virulence of *Rhizoctonia* spp. from strawberry[J]. Eur J Plant Pathol, 2007, 117(3): 247-265.
- [11] 孙倩, 张玮, 王琦, 等. 北京市草莓丝核菌根腐病病原菌的鉴定[J]. 植物保护学报, 2020, 47(5): 1163-1164.
- [12] DINLER H, BENLIOGLU S, BENLIOGLU K. Occurrence of *Fusarium wilt* caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry transplants in Aydin Province in Turkey[J]. Australas Plant Dis Notes, 2016, 11(1): 1-3.
- [13] PASTRANA A M, BASALLOTE-UREBA M J, CAPOTE N. Symptomless reservoirs of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and alternative hosts of *Fusarium solani* pathogenic to strawberry[J]. J Plant Pathol, 2017, 99(1): 141-148.
- [14] CHAMORRO M, AGUADO A, DE LOS SANTOS B. First report of root and crown rot caused by *Pestalotiopsis clavispora* (*Neopestalotiopsis clavispora*) on strawberry in Spain[J]. Plant Dis, 2016, 100(7): 1495.
- [15] GILARDI G, BERGERETTI F, GULLINO M L, et al. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing root and crown rot on strawberry in Italy[J]. Plant Dis, 2019, 103(11): 2959.
- [16] ZVEIBIL A, FREEMAN S. First report of crown and root rot in strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Israel[J]. Plant Dis, 2005, 89: 10-14.
- [17] GERIN D, DONGIOVANNI C, DE MICCOLIS ANGELINI R M, et al. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root rot on strawberry in Italy[J]. Plant Dis, 2018, 102(9): 1857.
- [18] 申光辉, 薛泉宏, 赵娟. 草莓土赤壳菌根腐病病原鉴定及生物学特性[J]. 西北农业学报, 2018, 27(7): 1032-1040.
- [19] WEBER R W S, ENTROP A P. *Dactylonectria torresensis* as the main component of the black root rot complex of strawberries and raspberries in Northern Germany[J]. Erwerbs-Obstbau, 2017, 59(3): 157-169.
- [20] ERPER I, OZER G, ALKAN M, et al. First report of *Dactylonectria torresensis* causing black root rot of strawberries in Kyrgyzstan[J]. J Plant Pathol, 2021, 103(1): 379-380.
- [21] 战鑫, 台莲梅, 刘铜, 等. 2种木霉菌对寒地水稻立枯病原菌的拮抗作用研究[J]. 中国稻米, 2020, 26(4): 96-99.
- [22] 王永阳. 防治苦瓜枯萎病的木霉菌株分离鉴定、定殖检测及其防病促生机理[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.
- [23] FREEMAN S, MINZ D, KOLESNIK I, et al. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry[J]. Eur J Plant Pathol, 2004, 110(4): 361-370.
- [24] 陈娟, 王承芳, 黄杰峰, 等. 木霉菌制剂防治草莓苗期炭疽病效果研究[J]. 现代农业科技, 2015(7): 115-119.
- [25] KARIMI K, AHARI A B, ARZANLOU M, et al. Application of the consolidated species concept to identify the causal agent of strawberry anthracnose in Iran and initial molecular dating of the *Colletotrichum acutatum* species complex[J]. Eur J Plant Pathol, 2017, 147(2): 375-387.
- [26] 赵玳琳, 何海永, 吴石平, 等. 棘孢木霉 GYSW-6m1 对草莓炭疽病的生防机制及其防病促生作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(4): 587-595.
- [27] 马华升, 孔樟良, 阮松林, 等. 木霉菌制剂对草莓白粉病的防治研究[J]. 杭州农业与科技, 2009(6): 23-25.
- [28] 张鹤, 杜国栋, 宋亚楠, 等. 防治草莓根腐病的木霉菌筛选、鉴定及其防病效果[J]. 沈阳农业大学学报, 2015, 46(6): 654-660.
- [29] 干华磊, 王承芳, 郝文娟, 等. 复合木霉菌制剂防治草莓苗枯萎病的研究[J]. 生物灾害科学, 2019, 42(1): 26-31.
- [30] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [31] 赵志慧. 中国禾本科作物上镰孢菌属真菌分类的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.
- [32] FARR D F, ROSSMAN A Y. Fungal Databases, U. S. National Fungus Collections, ARS, USDA [EB/OL]. [2021-01-07]. <https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>.
- [33] GUBLER W D, FELICIANO A J, BORDAS A C, et al. First report of blossom blight of strawberry caused by *Xanthomonas fragariae* and *Cladosporium cladosporioides* in California[J]. Plant Dis, 1999, 83(4): 400.
- [34] NAM M H, PARK, M S, KIM H S, et al. *Cladosporium cladosporioides* and *C. tenuissimum* cause blossom blight in strawberry in Korea[J]. Mycobiology, 2015, 43(3): 354-359.
- [35] LI B H, WANG C C, DONG X L, et al. *Acremonium* brown spot, a new disease caused by *Acremonium sclerotigenum* on bagged apple fruit in China[J]. Plant Dis, 2014, 98(7): 1012.
- [36] HOU Y M, ZHANG X, ZHANG N N, et al. Genera *Acremonium* and *Sarocladium* cause brown spot on bagged apple fruit in China[J]. Plant Dis, 2019, 103(8): 1889-1901.
- [37] LOUIS B, ROY P, SAYANIKA D W, et al. *Aspergillus terreus* Thom a new pathogen that causes foliar blight of potato[J]. Plant Pathol Quar, 2013, 3(1): 29-33.
- [38] BASHAR M A, SHAMSI S, HOSSAIN M. Fungi associated with rotten fruits in Dhaka metropolis[J]. Bangladesh J Bot, 2012, 41(1): 115-117.