

3 种菊科千里光族植物病原链格孢菌的分离与鉴定*

罗 欢, 贾国庚, 宋正兴, 张宝玉, 周 焱, 邓建新**
(长江大学 农学院, 湖北 荆州 434025)

摘要:【目的】调查链格孢菌在菊科植物上的危害。【方法】2016—2017 年, 从湖北、北京、安徽及云南各地采集得到菊科千里光族植物瓜叶菊 (*Pericallis hybrida*)、银叶菊 (*Senecio cineraria*) 及白子菜 (*Gynura divaricate*) 叶斑病病样 4 份。采用单孢分离的方法从各寄主上分别获得形态相似的链格孢菌大孢子菌株。随后从各寄主分离物中筛选出 1 个代表菌株进行致病性、形态学及多基因位点 (*rDNA-ITS*、*GAPDH*、*Alt a 1*、*EF1- α* 、*RPB2* 和 *ATPase*) 序列分析研究。【结果】4 个菌株均可引起其寄主发生病害, 且均为瓜叶菊链格孢菌 (*Alternaria cinerariae*)。【结论】这是该菌种在国内的首次报道, 也是该菌引起银叶菊与白子菜叶斑病病害的首次报道。

关键词: 千里光族; 瓜叶菊链格孢; 叶斑病; 形态学; 多基因序列

中图分类号: S 436.81 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2018) 06-1046-08

Isolation and Identification of Pathogenic *Alternaria* from Three Senecioneae Plants

LUO Huan, JIA Guogeng, SONG Zhengxing, ZHANG Baoyu, ZHOU Yi, DENG Jianxin
(College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: [Purpose] In order to investigate the damage caused by *Alternaria* species on Compositae plants. [Method] During 2016—2017, 4 samples from 3 plants of *Pericallis hybrida*, *Senecio cineraria*, *Gynura divaricate* showing leaf spot or blight symptoms were collected from Hubei, Beijing, Anhui and Yunnan Province, China. Morphological similar large-spored *Alternaria* strains were obtained by single spore isolation from each sample. Then one representative strain from each host was selected to determine the pathogenicity, morphology and sequence analysis using six regions (*rDNA-ITS*, *GAPDH*, *Alt a 1*, *EF1- α* , *RPB2* and *ATPase*). [Result] The 4 strains were all causal pathogens on their hosts and identified as *Alternaria cinerariae*. [Conclusion] This is a new record of *Alternaria* species in China and it is also the first report causing leaf spot disease on *S. cineraria* and *G. divaricate*.

Keywords: Senecioneae; *Alternaria cinerariae*; leaf spot; morphology; sequence analysis

收稿日期: 2018-07-10 修回日期: 2018-11-12 网络出版时间: 2018-12-10

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31400014); 长江大学青年人才基金项目 (2016cqr08)。

作者简介: 罗欢 (1992—), 女, 四川德阳人, 在读硕士研究生, 主要从事链格孢菌分类研究。

E-mail: luohuan_0813@163.com

**通信作者 Corresponding author: 邓建新 (1982—), 男, 陕西华阴人, 博士, 副教授, 主要从事真菌病害研究。

E-mail: djxin555@hotmail.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201807015](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201807015)

千里光族 (*Senecioneae* Cass.) 植物能在多种生态环境生长,是菊科 11 族中最大的 1 个族群^[1-2]。在中国共有 23 属^[3-4],种类丰富,并不断有新种发现^[5-6]。千里光族植物主要有药用及观赏两种经济价值。其中,款冬属、菊三七属、橐吾属、蟹甲草属等具有化痰止咳、活血化瘀、治疗类风湿性关节炎等功效,多作为中草药^[7]。现代医药学研究发现:药用千里光植物富含黄酮类、萜烯类、绿原酸、生物碱等物质,可抗衰老、降血糖、抗凝血、抗细菌等^[8-10]。袁六六等^[11]从白子菜 (*Gynura divaricate*) 茎叶提取到可改善糖尿病小鼠血脂及肝脏保护作用的物质,具有防治糖尿病病人肝损伤的潜能。隶属于千里光族的千里光属银叶菊 (*Senecio cineraria*) 因其全株密被白色绒毛的显著特征,多用于城市园林造景;瓜叶菊属瓜叶菊 (*Pericallis hybrida*) 花期恰逢少花的冬春,且其花色丰富、花姿秀丽、花形典雅,具有很高的市场占有率^[12]。然而,此类植物在生长发育过程中常受到各种病害的侵染危害,影响其药用价值及观赏价值。

国外已报道 *Alcidium hualtatinum* 等 12 种真菌可侵染银叶菊 (<https://nt.ars-grin.gov/fungaldata-bases/>), LU^[13]报道 *Corcospora* sp. 侵染危害白子菜。瓜叶菊病害报道较多,如白粉病、灰霉病、褐斑病、煤污病、病毒病等^[4]。RASOULPOUR 等^[15]在瓜叶菊植株上分离出的西红柿黄环病毒 (*Tomato yellow ring virus*) 对菊科、藜科、豆科及茄科植物均可致病。本课题组在 2016—2017 年开展菊科植物病原链格孢菌调查研究时,采集得到菊科千里光族植物银叶菊、瓜叶菊和白子菜叶斑病病样 4 份,本研究利用致病性、形态学和多基因位点 (*rDNA-ITS*、*GAPDH*、*Alt a 1*、*EFL-α*、*RPB2* 和 *ATPase*) 序列分析的方法对其进行研究,以期能对千里光族植物病害的防治提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 病样采集

从全国范围内采集具有链格孢菌危害典型症状(黑斑、褐斑、轮斑)的菊科植物的叶斑病病样,拍照记录症状,将所采集的病样分别放入无菌透明塑封袋内,标注采集时间、地点和植物种类等信息。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的分离与保存

对所采集的病样组织,用无菌小刀切取病健交接处,置于装有湿润滤纸的培养皿(90 mm)内,25℃下保湿培养 2 d,在体视显微镜下观察其产孢后,进行单孢分离;并对在 PDA 培养基(马铃薯葡萄糖汤粉 24 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL)上生长的纯培养物进行编号及菌种保藏。

1.2.2 致病性检测

经初步形态学观察后,从各病样分离物中筛选出 1 个代表菌株作为供试菌株。供试菌株在 PDA 培养基上培养 2~3 d 后,挑取边缘菌丝转接于 V8 培养基(V8 蔬菜汁 175 mL,碳酸钙 3 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL)上,在 22℃ 恒温条件下,每天光照 8 h,培养 7 d^[16]。因其产孢困难,故用无菌接种环刮伤菌落表面菌丝,紫外线(UV)照射 2 h 诱导其产孢,于培养箱中继续培养 2 d 后,用无菌水洗脱分生孢子,过滤后离心,再用无菌水将滤液配制成孢子悬浮液(10^5 mL⁻¹)。寄主植物均从病样采集地购买,于实验室温室种植两个月确保健康生长后进行致病性试验。将配制好的孢子悬浮液均匀喷洒在经过 75% 酒精表面消毒的各健康寄主植物上,至叶片及花朵湿润有水滴流下,室温分别培养于不同的无菌保湿装置中。每天观察并拍照记录发病情况。待发病后,从发病部位再次分离病原物,与接种物进行形态学比对,确定是否一致,完成 Koch's Rule 的致病性验证。以喷洒无菌水作为对照,试验使用 3 株长势相同的植株进行重复。

1.2.3 形态学观察

菌落形态:将供试菌株接种于 PDA 培养基上,3~5 d 后用直径为 6 mm 的无菌打孔器切取菌落边缘菌丝团块,转接于直径为 90 mm 的 PDA 培养皿中。25℃ 恒温黑暗培养 7 d 后,测量菌落大小,拍照并记录菌落颜色及形态^[17]。

孢子形态:挑取在 PDA 培养基上生长 3~5 d 的供试菌株菌丝接种在 V8 培养基上,产孢培养条件同 1.2.2 节所述,9 d 后以乳酚油为浮载剂制成玻片,在显微镜(NiKON DS-Ri2)下观察。拍照并记录其分生孢子形态、色泽等,随机测量 80 个成熟分生孢子大小^[16]。

产孢表型:将供试菌株回接于寄主植物,发病后,切取病健交接处,置于装有 2 层浸湿滤纸

的塑料培养皿 (90 mm) 内, 在 22℃ 恒温条件下, 每天 8h 光照, 培养 1d 后, 在徕卡显微镜 (M205A) 下观察其产孢表型并拍照, 共观察 3 d。

1.2.4 分子系统学研究

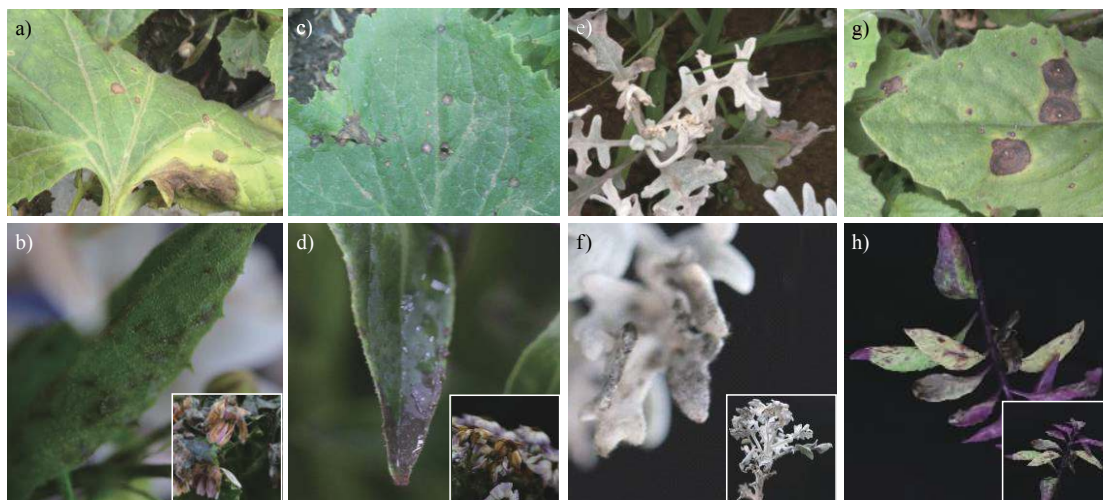
将供试菌株转接于 PDA 培养基上培养 5~7 d 后, 收集适量菌丝于 1.5 mL 离心管中, 采用改良 CTAB 法提取总 DNA^[18]。对核糖体转录间隔区 (*rDNA-ITS*)、甘油醛-3-磷酸 (*GAPDH*)、链格孢过敏源基因 (*Alt a 1*)、翻译延伸因子 1- α (*EF1- α*)、RNA 聚合酶第二大亚基 (*RPB2*)、质膜腺苷三磷酸酶 (*ATPase*) 基因片段进行 PCR 扩增。引物分别为 *ITS5/ITS4*^[19]、*gpd1/gpd2*^[20]、*Alt a 1-for/Alt a 1-rev*^[21]、*EF446F/EF1473r*^[22]、*RPB2-5F/RPB2-7Cr*^[23]、*ATPF/ATPR*^[24]。PCR 扩增使用 25 μ L 反应体系: DNA 模板 2 μ L, 正反引物各 1.25 μ L, *TaqMix* 12.5 μ L, ddH₂O 8 μ L。PCR 产物经含有核酸染料 (Golden View, 北京博迈德基因技术有限公司) 的 1% 琼脂糖凝胶检测后, 送至北京六合华大基因科技股份有限公司进行纯化测序, 采用双向测序以保证结果的完整性与准确性。

测序结果运用软件 BioEdit 7.0 对比分析。将完成校正的完整序列在 NCBI 网站上进行 BLAST 同源分析, 下载与其相近的序列。利

用 MEGA 7 中邻位加入法 (neighbor-joining) 构建系统发育树, 以 *A. helianthiinficiens* (CBS 208.86, YZU 161169) 作为外群 (outgroup), 自展系数检测 (bootstrap) 为 1 000 次循环。

2 结果与分析

本研究于 2016 年在湖北荆州西城街道发现瓜叶菊植株叶片上有圆形或不规则形棕褐色病斑 (图 1a); 2017 年在北京市植物园采集得到的瓜叶菊病样, 其病斑散乱分布于叶片上, 呈褐色, 中央灰白色, 具同心轮纹 (图 1c); 2017 年于安徽合肥市植物园采集得到银叶菊病样, 病症常出现在下部叶片与叶缘, 叶片淡褐色呈现出不规则坏死, 后期整个叶片干枯 (图 1e); 2017 年于云南昆明市植物园发现白子菜叶片上散乱分布近圆形或椭圆形褐色病斑, 具同心轮纹, 病斑中央有白色小点, 周围有褪绿现象 (图 1g), 后期整个叶片枯萎凋落。从以上地区采集得到的 4 份病样中共分离得到菌株 20 株, 根据菌落形态, 从各寄主分离物中筛选 1 株代表菌株进行后续研究, 分别编号为 YZU 161064 (瓜叶菊—湖北荆州)、YZU 171105 (瓜叶菊—北京)、YZU 171228 (银叶菊)、YZU 171971 (白子菜)。



注: a)、c)、e) 和 g) 分别为瓜叶菊 (荆州)、瓜叶菊 (北京)、银叶菊 (合肥)、白子菜 (昆明) 的自然发病症状; b) 为瓜叶菊植株接种菌株 YZU 161064 孢子液 3 d 后发病症状; d) 为瓜叶菊植株接种菌株 YZU 171105 孢子液 3 d 后发病症状; f) 为银叶菊植株接种菌株 YZU 171228 孢子液 15 d 后发病症状; h) 为白子菜植株接种菌株 YZU 171971 孢子液 6 d 后发病症状。

Note: a), c), e) and g) are natural symptoms in the field of *Gynura divaricate* from Jingzhou, *G. divaricate* from Beijing, *Senecio cineraria* from Hefei and *Pericallis hybrida* from Kunming; b) is symptoms on *G. divaricate* after 3 d inoculated with spore suspension of isolate YZU 161064; d) is symptoms on *G. divaricate* after 3 d inoculated with spore suspension of isolate YZU 171105; f) is symptoms on *S. cineraria* after 15 d inoculated with conidiophores of isolate YZU 171228; h) is symptoms on *P. hybrida* after 6 d inoculated with spore suspension of isolate YZU 171971.

图 1 瓜叶菊链格孢菌侵染不同千里光族寄主植物所致症状

Fig. 1 Symptoms on Senecioneae plants caused by *Alternaria cinerariae*

2.1 致病性测定

菌株 YZU 161064: 室内接种 24 h 后叶片出现水渍状斑点, 花瓣出现黄褐色小斑点; 3 d 后病情加重, 花瓣病斑周围着生灰色菌丝, 叶片出现大量不规则黑褐色坏死斑点, 花瓣坏死斑点扩大至整个花瓣, 有凋落现象 (图 1b)。对照未发病。

菌株 YZU 171105: 室内接种 24 h 后开始发病, 叶片上出现水渍状小点, 花瓣有侵染现象, 茎上出现褐色斑点; 3 d 后病斑加重, 叶片上小点逐渐扩展成圆形或不规则形黑褐色病斑, 花瓣枯黄、萎蔫 (图 1d)。对照未发病。

菌株 YZU 171228: 室内接种发病较慢, 接种 15 d 后, 下部叶片叶缘黑褐色坏死 (图 1f); 20 d 后, 整株植株感病, 叶片枯萎。对照未发病。

菌株 YZU 171971: 室内接种 1 d 后叶片出现褐色小点, 随后病斑逐渐扩大; 3 d 后叶片感病处有褪绿变黄现象, 茎秆也可感病 (图 1h); 7 d 后部分叶片枯萎凋落。对照未发病。

将发病植株叶片 (花瓣) 再次保湿培养, 挑取单孢进行培养后, 获得与接种病原菌形态学相同的菌株, 满足柯赫氏法则。

2.2 形态学特征

菌株 YZU 161064: 在 PDA 培养基上生长 7 d 的菌落近圆形, 边缘光滑, 中央灰橄榄色, 边缘灰白色, 菌丝浓密、绒毛状, 直径约 63~64 mm (图 2a)。在寄主植物上分生孢子单生或 2 个串生, 分生孢子梗直或弯曲, 少有分支 (图 2b)。在 V8 培养基上分生孢子呈卵形或倒棒状, 表面光滑, 有 4~9 个横隔膜, 孢身大小为 $(50\sim95)\mu\text{m}\times(15\sim35)\mu\text{m}$, 短喙或无喙, 具柱状假喙, 喙长 $(10\sim50)\mu\text{m}\times(4\sim10)\mu\text{m}$, 基部钝圆 (图 2c)。

菌株 YZU 171105: 在 PDA 培养基上生长 7 d 的菌落近圆形, 灰白色至淡黄褐色, 边缘不光滑, 直径约 39 mm (图 2d)。寄主植物上分生孢子单生或 2~3 个串生, 分生孢子梗直立 (图 2e)。在 V8 培养基上分生孢子倒棒状或阔倒棒状, 表面光滑, 孢身 $(50\sim90)\mu\text{m}\times(15\sim35)\mu\text{m}$, 具 4~9 横隔膜, 分隔处隘缩, 短喙或无喙, 喙长 $(10\sim50)\mu\text{m}\times(4\sim10)\mu\text{m}$ (图 2f)。

菌株 YZU 171228: 在 PDA 培养基上生长 7 d 的菌落呈圆形, 白色, 中央绿橄榄色, 菌丝浓密, 边缘光滑, 直径约 59~60 mm (图 2g)。在寄主植物上, 分生孢子梗直或弯曲, 分生孢子单生或

2~3 个串生 (图 2h)。在 V8 培养基上, 分生孢子倒棒状、阔倒棒状或狭倒棒状, 孢身大小为 $(50\sim90)\mu\text{m}\times(20\sim35)\mu\text{m}$, 具 4~8 个横隔膜, 分隔处隘缩, 喙短或无, 喙长 $(10\sim30)\mu\text{m}\times(4\sim10)\mu\text{m}$ (图 2i)。

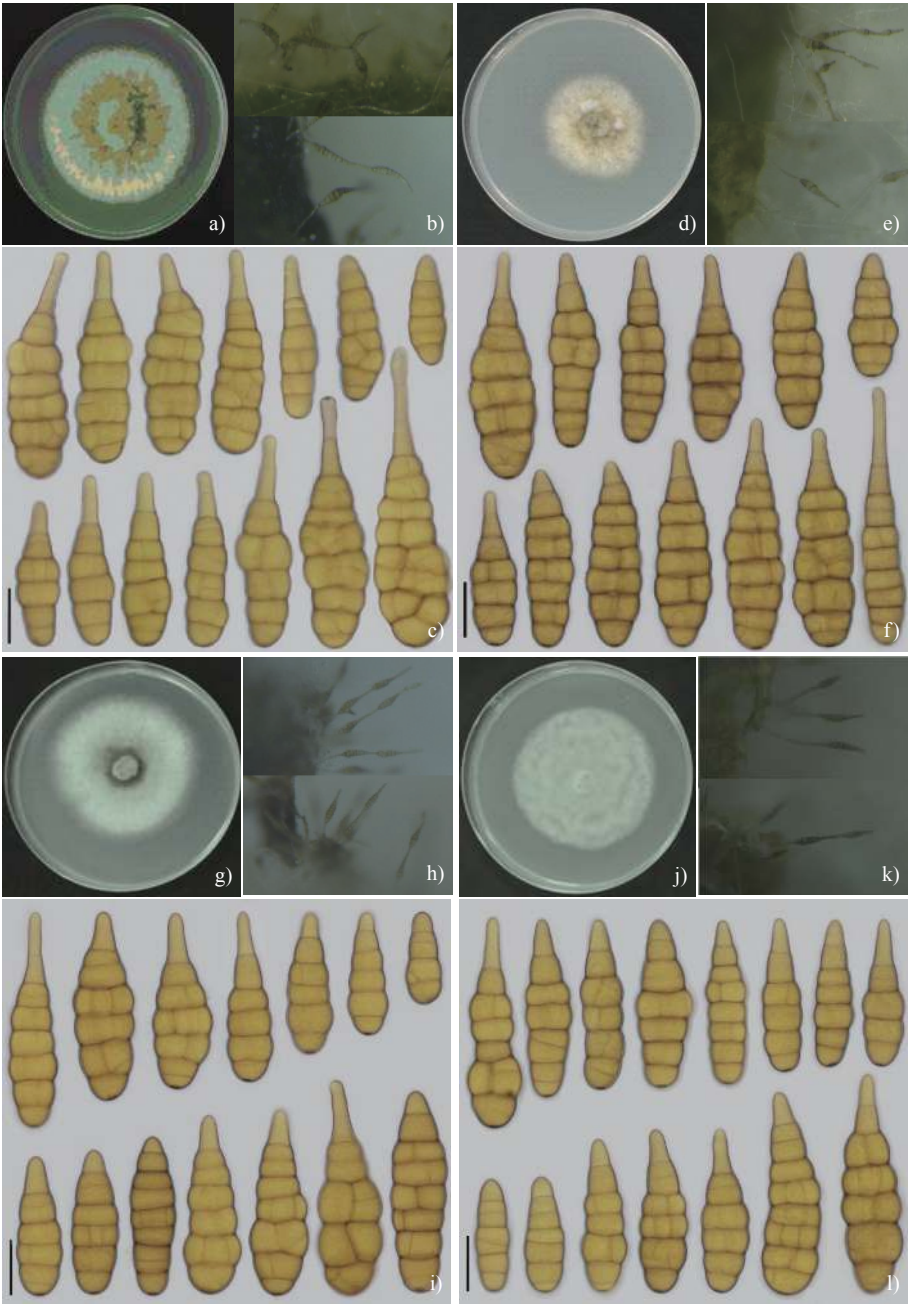
菌株 YZU 171971: 在 PDA 培养基上生长 7 d 的菌落呈圆形, 菌落呈乳白色, 菌丝疏松, 边缘完整, 直径 56~57 mm (图 2j)。寄主植物上分生孢子梗直或弯曲, 分生孢子单生或 2 个串生 (图 2k)。在 V8 培养基上, 分生孢子呈广卵形、倒棒状或阔棒状, 孢身大小为 $(50\sim85)\mu\text{m}\times(15\sim30)\mu\text{m}$, 4~9 个横隔膜, 喙短或无, 喙长 $(10\sim30)\mu\text{m}\times(4\sim10)\mu\text{m}$ (图 2l)。

病原菌的菌落形态、孢子大小及形态、产孢表型与前人^[16-17]描述相似, 表明这 4 株菌株为 *Alternaria cinerariae*。

2.3 分子系统学检测

通过对单个菌株 *rDNA-ITS*、*GAPDH*、*Alt a 1*、*EF1- α* 、*RPB2* 和 *ATPase* 基因进行 PCR 扩增, 分别获得大小为 517、563、472、239、722、1 194 kb 的 DNA 片段, 将处理后的测序结果提交 GenBank 获得登录号 (表 1)。

将所有菌株的单个基因序列在 NCBI 上进行 BLAST 分析, 均与 *Alternaria cinerariae* 代表菌株 CBS 116495 呈现 100% 的同源率。基于 *rDNA-ITS*、*EF1- α* 和 *RPB2* 基因序列的单个系统发育树显示: 供试菌株 YZU 161064、YZU 171105、YZU 171228 和 YZU 171971 并无种内差异, 与 *A. cinerariae* CBS 116495 形成 1 个小分支, 进一步与同属于 Sect. *Sonchi* 的 *A. sonchi* (CBS 119675) 形成 1 个大分支, 支持率都高达 97% 以上 (图 3)。基于 *GAPDH*、*Alt a 1* 和 *ATPase* 基因构建的单基因系统发育树也揭示了供试菌株 YZU 161064、YZU 171105、YZU 171228 和 YZU 171971 在分子生物学分类上隶属于 *A. cinerariae*, 但是这 3 个基因也表明了不同寄主植物上分离得到的供试菌株的碱基序列存在差异。基于 6 个基因构建的联合系统发育树中 (图 4), 供试菌株 YZU 161064、YZU 171105、YZU 171228、YZU 171971 与菌株 CBS 116495 (*A. cinerariae*) 以 100% 的支持率聚集成 1 个分支, 且与 *A. sonchi* 一起聚集于 Sect. *Sonchi*。因此, 多基因序列分析也表明 4 个供试菌株均为瓜叶菊链格孢 (*A. cinerariae*)。



注：a)、d)、g) 和 j) 为 PDA 上的正面菌落形态；b)、e)、h) 和 k) 为寄主植物上的产孢表型；c)、f)、i) 和 l) 为 V8 培养基上 11 d 的孢子形态。
a)~c) 菌株 YZU 161064；d)~f) 菌株 YZU 171105；g)~i) 菌株 YZU 171228；j)~l) 菌株 YZU 171971。比例尺为 25 μ m。
Note: a), d), g) and j) are obverse of colony on PDA; b), e), h) and k) are sporulation patterns on the host plant; c), f), i) and l) are conidial morphology on V8 agar. a)~c) strain YZU 161064; d)~f) strain YZU 171105; g)~i) strain YZU 171228; j)~l) strain YZU 171971. Bars=25 μ m.

图 2 瓜叶菊链格孢菌的形态特征
Fig. 2 Morphological characteristics of *A. cinerariae*

表 1 构建系统发育树所用菌株的种类及其 GenBank 登录号

Tab. 1 Strains used for the phylogenetic analyses in this study and their GenBank assession No.

种名 species	编号 strain	GenBank 登录号 GenBank accession No.					
		<i>Alt a 1</i>	<i>ITS</i>	<i>RPB2</i>	<i>GAPDH</i>	<i>ATP</i>	<i>EF1-α</i>
链格孢 <i>A. alternata</i>	CBS 916.96	KT315515	AF347031	KC584375	AY278808	JQ811979	KC584634
细极链格孢 <i>A. tenuissima</i>	CBS 918.96	AY563302	AF347032	KC584435	AY278809	JQ811983	KC584693
假格链格孢 <i>A. alternantherae</i>	CBS 124392	KP123846	KC584179	KC584374	KC584096	JQ671892	KC584633

表 1 (续)

种名 species	编号 strain	GenBank 登录号 GenBank accession numbers					
		<i>Alt a 1</i>	<i>ITS</i>	<i>RPB2</i>	<i>GAPDH</i>	<i>ATP</i>	<i>EF1-α</i>
胡萝卜链格孢 <i>A. dauci</i>	CBS 117097	MF595071	KC584192	KC584392	KC584111	JQ671907	KC584651
<i>A. perpunctulata</i>	CBS 115267	JQ905111	KC584210	KC584418	KC584129	JQ671893	KC584676
假喙链格孢 <i>A. pseudorostrata</i>	CBS 119411	AY563295	JN383483	KC584422	AY562406	JQ671912	KC584680
<i>A. gypsophillae</i>	CBS 107.41	JQ646387	KC584199	KC584401	KC584118	JQ671859	KC584660
<i>A. vaccariae</i>	CBS 116533	JQ646386	KC584223	KC584438	KC584146	JQ671858	KC584696
根链格孢 <i>A. radicina</i>	CBS 245.67	EU139348	KC584213	KC584423	KC584133	JQ671851	KC584681
野胡萝卜链格孢 <i>A. carotiincultae</i>	CBS 109381	EU139329	KC584188	KC584386	KC584106	JQ671850	KC584645
瓜叶菊链格孢 <i>A. cinerariae</i>	CBS 116495	AY563308	KC584190	KC584389	KC584109	JQ671848	KC584648
	YZU 161064	MH285943	MH350392	MH285938	—	MH285932	MH350387
	YZU 171105	MH285944	MH350393	MH285939	—	MH285933	MH350388
	YZU 171228	MH285945	MH350394	MH285940	MH285947	MH285934	MH350389
	YZU 171971	MH285946	MH350395	MH285941	MH285948	MH285935	MH350390
苦苣菜链格孢 <i>A. sonchi</i>	CBS 119675	AY563307	KC584220	KC584433	KC584142	JQ671849	KC584691
<i>A. conoidea</i>	CBS 132.89	FJ348228	FJ348226	KC584452	FJ348227	JQ671841	KC584711
拟态链格孢 <i>A. mimicula</i>	CBS 118696	GQ18009	FJ266477	KC584411	GQ180078	JQ671842	KC584669
芸薹链格孢 <i>A. brassicae</i>	CBS 116528	AY563309	KC584185	KC584382	KC584102	JQ671847	KC584641
侵染向日葵链格孢 <i>A. helianthiinficiens</i>	CBS 208.86	—	JX101649	KC584403	KC584120	—	EU130548
	YZU 161169	—	MF414165	—	MF414167	—	MF414169

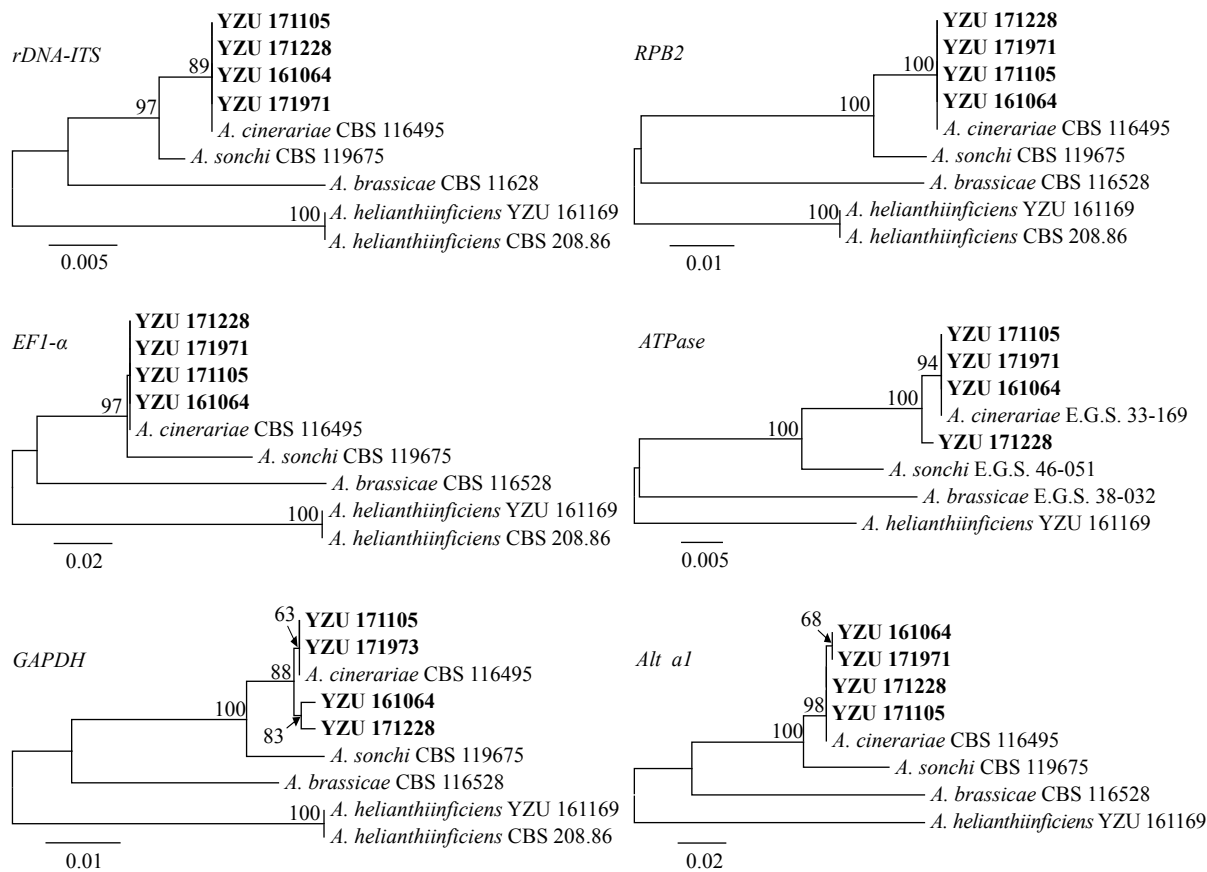


图 3 基于单个基因 (*rDNA-ITS*、*RPB2*、*EF1-α*、*ATPase*、*GAPDH* 和 *Alt a 1*) 构建的以 *A. helianthiinficiens* 为 outgroup 的 N-J 系统发育树

Fig. 3 Neighbor-joining phylogenetic trees constructed based on single gene sequence (*rDNA-ITS*, *RPB2*, *EF1-α*, *ATPase*, *GAPDH* and *Alt a 1*) used *A. helianthiinficiens* as outgroup

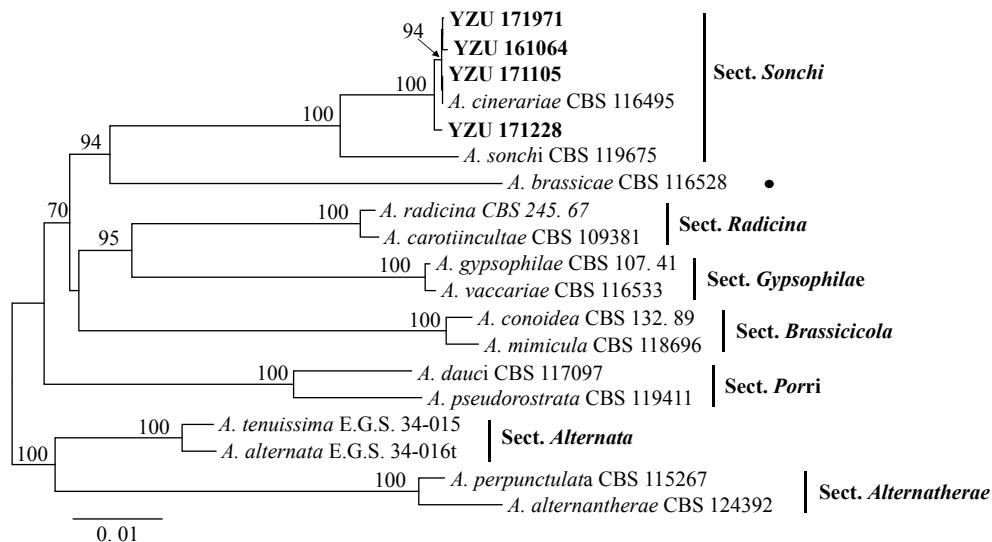


图 4 基于 *rDNA-ITS*、*GAPDH*、*Alt a 1*、*EF1-α*、*RPB2* 和 *ATPase* 序列采用邻接法构建菌株 YZU 161064、YZU 171105、YZU 171228 和 YZU 171971 及其相关菌株的联合系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on combined gene (*rDNA-ITS*, *GAPDH*, *Alt a 1*, *EF1-α*, *RPB2* and *ATPase*) sequences of strains YZU 161064, YZU 171105, YZU 171228 and YZU 171971 and the related strains by neighbor-joining method

3 讨论

瓜叶菊链格孢菌 (*A. cinerariae*) 隶属于丝孢纲丝孢目链格孢属, 系统发育研究发现该菌属于 Sect. *Sonchi*^[25], 于 1931 年在日本瓜叶菊上首次发现^[26]。瓜叶菊链格孢菌常侵染千里光族中瓜叶菊属及菊三七属植物使其发病^[27]。NISHIKAWA 等^[17]从瓜叶菊、红凤菜及大吴风草上分离得到瓜叶菊链格孢菌, 其研究结果发现不同寄主植物上的菌株致病力差异较大。本研究将 4 个菌株分离体接种在 3 个寄主植物叶片上, 也表现出不同的致病性强弱 (结果未显示)。同时, 各菌株菌落形态差异较大, 这可能与采集地域或寄主不同有关。此外, 本研究多基因位点序列分析表明瓜叶菊链格孢菌存在种内差异性, 然而 4 个菌株的分生孢子大小、色泽、隔膜数均无明显差异, 与 NISHIKAWA 等^[17]的研究结果存在一定差异, 这可能与孢子的成熟度有一定关系, 建议刮伤菌丝后继续培养时间增加 1~2 d。

国外已报道 46 种链格孢菌危害菊科植物, 国内报道 20 种^[28]。本研究通过致病性检测、形态学及分子系统学对从 4 个地区 3 种千里光族植物上分离的链格孢菌分析后发现: 引起瓜叶菊、银叶菊、白子菜叶斑病的病原菌均为瓜叶菊链格孢菌 (*A. cinerariae*)。这是该菌种在国内的首次报道, 也是该菌引起银叶菊与白子菜叶斑病病害的

首次报道, 为中国菊科千里光属植物的该类病害的防治提供了重要的理论依据。

[参考文献]

- [1] JEFFREY C, CHEN Y L. Taxonomic studies on the tribe Senecioneae (Compositae) of Eastern Asia[J]. Kew Bulletin, 1984, 39(2): 205. DOI: [10.2307/4110124](https://doi.org/10.2307/4110124).
- [2] 林有润. 菊科植物的系统分类与区系地理的初步探讨[J]. 植物研究, 1993, 13(2): 151.
- [3] 陈艺林. 中国植物志: 第 77 卷: 第 1 分册[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [4] 刘尚武. 中国植物志: 第 77 卷: 第 2 分册[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
- [5] CHEN Y S. Three new species of *Ligularia* (Asteraceae, Senecioneae) from southwestern China[J]. Phytotaxa, 2016, 288(1): 32. DOI: [10.11646/phytotaxa.288.1.3](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.288.1.3).
- [6] XU L S, CHEN Y S. *Parasenecio anhuiensis* (Asteraceae, Senecioneae), a new species from eastern China [J]. Phytotaxa, 2016, 283(2): 188. DOI: [10.11646/phytotaxa.283.2.8](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.283.2.8).
- [7] 江苏新医学院. 中药大辞典: 上册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [8] THESE A, BODI D, RONCZKA S, et al. Structural screening by multiple reaction monitoring as a new approach for tandem mass spectrometry: presented for the determination of pyrrolizidine alkaloids in plants[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(29): 9375. DOI: [10.1007/s00216-013-7365-4](https://doi.org/10.1007/s00216-013-7365-4).
- [9] ISKANDER M N, SONG Y, COUPAR I M, et al. Anti-inflammatory screening of the medicinal plant *Gynura procumbens*[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2002, 57(3/4): 233. DOI: [10.1023/A:1021851230890](https://doi.org/10.1023/A:1021851230890).

- [10] LANGE D, OBER D, PELSER P B. The evolution of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis and diversity in the Senecioneae[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2011, 10(1): 3. DOI: [10.1007/s11101-010-9184-y](https://doi.org/10.1007/s11101-010-9184-y).
- [11] 袁六六, 杨娟, 张国彬, 等. 白子菜提取物对糖尿病小鼠血脂代谢和肝脏保护作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(18): 1572. DOI: [10.13286/j.cnki.chinhospmarmacy.2014.18.10](https://doi.org/10.13286/j.cnki.chinhospmarmacy.2014.18.10).
- [12] 北京林业大学园林系花卉教研组. 花卉学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990.
- [13] LU B. Checklist of Hong Kong fungi[M]. Hong Kong: Fungal Diversity Press, 2000.
- [14] 雷增普. 中国花卉病虫害诊治图谱[J]. 北京: 中国城市出版社, 2005.
- [15] RASOULPOUR R, IZADPANAH K. Characterization of cineraria strain of *Tomato yellow ring virus* from Iran[J]. *Australasian Plant Pathology*, 2007, 36(3): 286. DOI: [10.1071/AP07023](https://doi.org/10.1071/AP07023).
- [16] SIMMONS E G. *Alternaria: an identification manual*[M]. Washington DC: CBS Fungal Biodiversity Centre Utrecht Press (Netherlands), 2007.
- [17] NISHIKAWA J, NAKASHIMA C. Morphological variation and experimental host range of *Alternaria cinerariae*[J]. *Mycoscience*, 2015, 56(2): 141. DOI: [10.1016/j.myc.2014.05.001](https://doi.org/10.1016/j.myc.2014.05.001).
- [18] PARK M S, SEO G S, BAE K S, et al. Characterization of *Trichoderma* spp. associated with green mold of oyster mushroom by PCR-RFLP and sequence analysis of ITS regions of rDNA[J]. *Plant Pathology Journal*, 2005, 21(3): 229. DOI: [10.5423/PPJ.2005.21.3.229](https://doi.org/10.5423/PPJ.2005.21.3.229).
- [19] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//MICHAEL A I, DAVID H G, JOHN J S, et al. PCR protocols: a guide to methods and applications. Elsevier: Academic Press, 1990.
- [20] BERBEE M L, PIRSEYEDI M, HUBBARD S. Cochliobolus phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences[J]. *Mycologia*, 1999, 91(6): 964. DOI: [10.2307/3761627](https://doi.org/10.2307/3761627).
- [21] HONG S G, CRAMER R A, LAWRENCE C B, et al. *Alt a 1* allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2005, 42(2): 119. DOI: [10.1016/j.fgb.2004.10.009](https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.10.009).
- [22] 李媛, 石凌波, 费诺亚, 等. 蓝莓茎溃疡病原菌鉴定及品种抗病性研究[J]. *植物病理学报*, 2017, 47(6): 721. DOI: [10.13926/j.cnki.apps.000075](https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000075).
- [23] LIU Y J, WHELEN S, HALL B D. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16(12): 1799. DOI: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a026092](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026092).
- [24] 杨涛, 黎妍妍, 郑露, 等. 湖北烟区烤烟赤星病病原鉴定[J]. *中国烟草科学*, 2017, 38(5): 32. DOI: [10.13496/j.issn.1007-5119.2017.05.006](https://doi.org/10.13496/j.issn.1007-5119.2017.05.006).
- [25] WOUTENBERG J H, GROENEWALD J Z, BINDER M, et al. *Alternaria* redefined[J]. *Studies in Mycology*, 2013, 75(1): 171. DOI: [10.3114/sim0015](https://doi.org/10.3114/sim0015).
- [26] ENJOJI S. Two new diseases of Cineraria I[J]. *Journal of Plant Protection*, 1931, 18(8): 428.
- [27] TAKANO K. Leaf spot of dusty-miller caused by *Alternaria cinerariae* Hori et Enjoji (in Japanese)[J]. *Japanese Journal of Phytopathology*, 2001, 67(2): 167.
- [28] 罗欢, 余知和, 鲁红学, 等. 菊科植物链格孢菌分类研究进展[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(8): 63.

责任编辑: 何馨成