南美蟛蜞菊霜霉病病原鉴定及系统发育分析

李华洪,何成成,习平根,姜子德,李敏慧*

华南农业大学植物保护学院/广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室,广东广州 510642

摘要:【目的】为从天敌病原生物方面探索外来入侵植物南美蟛蜞菊的生物防治,对新发现的南美蟛蜞菊 霜霉病进行病原鉴定和系统发育分析。【方法】在广东省广州市对南美蟛蜞菊霜霉病的发生及危害情况 进行调查,并通过病害症状识别、病原显微形态记录与比较、病原菌及其近似种 ITS 序列结构比较、LSU 序列和 ITS 序列系统发育分析,对南美蟛蜞菊霜霉病病原进行鉴定和系统发育分析。【结果】南美蟛蜞菊 霜霉病在广州零星发生,但该病害在华南农业大学校园内发生较严重,发病率达 50%~70%,病情指数为 30~35。经鉴定,其病原菌为南美蟛蜞菊单轴霉,是国内一新记录种。基于病原菌 LSU 序列和 ITS 序列



开放科学标识码 (OSID 码)

的系统发育分析显示,侵染菊科植物的单轴霉属菌种聚在一个分枝,亲缘关系密切,与侵染其他不同科寄主植物的单轴霉 亲缘关系较远。ITS 序列结构比较显示,寄生于菊科向日葵族植物的单轴霉属菌种的 ITS2 区包含多个重复序列,不同菌种 间的 ITS2 区重复序列相似度不同,说明侵染菊科向日葵簇植物的单轴霉属菌物可细分成多个种,而不是只有向日葵单轴 霉。【结论】广州发生的南美蟛蜞菊霜霉病是该寄主上首次正式报道的病害,鉴定的病原菌也是国内一新记录种;寄生在菊 科植物上的单轴霉属种类不尽相同,但亲缘关系紧密。

关键词:南美蟛蜞菊;霜霉病;LSU序列;ITS序列;蟛蜞菊单轴霉;向日葵单轴霉

Pathogen identification of downy mildrew on *Sphagneticola trilobata* and its phylogenetic analysis

LI Huahong, HE Chengcheng, XI Pinggen, JIANG Zide, LI Minhui*

College of Plant Protection/Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: [Aim] To explore a biological control method for the invasive plant Sphagneticola trilobata, we identified a new downy mildew-causing pathogen on S. trilobata. We also performed phylogenetic analysis of the pathogen. [Method] The occurrence of downy mildew on S. trilobata and its damage were investigated in Guangzhou, Guangdong. Based on the host and symptoms of the disease, as well as the comparison of morphological characteristics, the pathogen was identified. Phylogenetic trees were constructed, and the structure of the ITS sequence was analyzed through cloning and sequencing of the LSU and ITS regions of the pathogen. [Result] Downy mildew of S. trilobata occurred sporadically in Guangzhou. The disease on the campus of South China Agricultural University was serious, and the incidence rate of the disease was 50%-70%, while the disease index was 30-35. The pathogen was identified as a newly recorded species, Plasmopara sphagneticolae McTaggart & R.G. Shivas in China. Based on the LSU and ITS sequences, phylogenetic analysis indicated that the isolates of Plasmopara spp. that were parasitic on the plants of Asteraceae were closely clustered in one group suggesting these isolates with close phylogenetic relationship. The ITS sequence structure analysis showed that the ITS2 region of Plasmopara spp. that were parasitic of Asteraceae species contained multiple repetitive units, and this sequence was different among the different species. And the results indicate the Plasmopara parasitized on the different Asteraceae plants could be divided into several distinct species rather than a restricted species of *P. halstedii*. [Conclusion] This is the first report of downy mildew on S. trilobata in China, and the identified pathogen is a newly recorded species in China. The results of the phylogenetic analysis showed that the parasitic species of *Plasmopara* on Asteraceae species are different, but their phylogenetic relationships are remarkably close.

南美蟛蜞菊 Sphagneticola trilobata (L.) Pruski 「异名 Wedelia trilobata (L.) Hitchc.] 又名三裂叶蟛 蜞菊,是菊科向日葵族蟛蜞菊属的多年生草本植 物,原产于南美洲及中美洲地区,于20世纪70年 代作为地被绿化植物引进我国(吴彦琼等,2005)。 南美蟛蜞菊对环境的适应性超强,不仅可通过化感 作用强烈抑制其周围植物的生长(柯展鸿等, 2014),还可以利用其内生丛枝菌根真菌促进自身 生长,增强自身对本地植物的竞争优势(祁珊珊等, 2020),并能改善土壤营养环境,提高土壤肥力,形 成对自身生长有利的微环境(全国明等,2016),从 而快速在栖息地形成优势种群,因此也被认为是最 具威胁的 100 个外来入侵物种之一(辜睿等, 2020)。近年来,南美蟛蜞菊在我国东南沿海省 (区)(福建、广东、广西和海南等)迅速定殖并不断 扩散,对其周边生物多样性及生态环境造成巨大影 响和潜在威胁(Qi et al., 2014)。

目前,南美蟛蜞菊的治理主要采取人工清除、 化学防治和生物防治等方法。人工清除效果显著, 但需耗费大量人力物力。在我国广泛使用的化学 除草剂莠去津虽然对南美蟛蜞菊防控效果较好,但 因其高残留和高污染已经被欧盟国家禁用(田学军 等,2016)。已有研究表明,施用不同浓度的百草 枯、草甘膦和稳杀得化学除草剂短期内对蟛蜞菊化 感作用的影响有限,反而在一定程度上促进了蟛蜞 菊的入侵(李光义等,2010),因而应用化学农药控 制南美蟛蜞菊还有待进一步研究。生物防治目前 主要是利用本土植物的化感作用(柯展鸿等,2014; 袁伟影等,2017)和利用本土植物对其生态位的竞 争(周雨露等,2016)抑制其生长。虽然利用天敌限 制入侵植物的生长和蔓延是较为理想的防控方法, 但南美蟛蜞菊病虫害种类较少,在我国未见其病害 报道。因此,调查南美蟛蜞菊上自然发生的病害并 鉴定其病原,对于挖掘其生防微生物资源、探索生 物防治途径具有重要意义。

核糖体 DNA(ribosomal DNA, rDNA)序列包括 18S 小亚基编码区(small subunit, SSU)、内转录间 隔区(internal transcribed spacer, ITS)和28S 大亚基 编码区(large subunit, LSU)序列,这3种序列是常 用的真菌鉴定分子标记(Raja *et al.*, 2017)。其中, ITS 序列更是被称作真菌的条形码标记,广泛应用 于种及种下分类水平的真菌鉴定和系统发育分析 (Schoch et al.,2012)。含有 D1 和 D2 高变异区的 LSU 序列,单独或与 ITS 序列结合时,也可用于真 菌和卵菌的物种鉴定(Raja et al.,2017; Riethmüller et al.,2002)。本研究对广州南美蟛蜞菊病害发生 情况进行调查,并通过对病原菌 ITS 和 LSU 序列进 行克隆、测序和系统发育分析,对南美蟛蜞菊霜霉 病病原进行分子鉴定,明确侵染菊科植物的单轴霉 属不同种之间的系统发育关系。

1 材料与方法

1.1 病害调查及标本采集

2020年8月-2021年8月,在广东省广州市 天河区、白云区各森林公园以及华南农业大学校 园,对南美蟛蜞菊病害的发生及危害情况进行调 查,对发现的霜霉病采用5点取样法,每个点随机 取20株进行发病率和病情指数统计。以病害发生 的严重程度划分病情级数:0级为整株叶片无病斑; 1级为植株下部小于等于10%的叶片上有少量病 斑;2级为大于10%,小于等于30%的植株叶片上 有病斑;3级为大于30%,小于等于60%的叶片有 病斑;4级为大于60%的叶片有病斑。以5个取样 点的平均发病率和病情指数(方仲达,1998)评估调 查地点南美蟛蜞菊霜霉病发生情况。采集症状典 型的病叶及带病植株,带回实验室进行病原鉴定。

1.2 病害症状观察

对采集的蟛蜞菊霜霉病病害标本进行症状观察,记录病斑颜色、大小、发病部位。

1.3 病原菌形态鉴定

选择具有典型症状的新鲜叶片样本,在发病叶 片背面刮取霉层制成临时玻片置于光学显微镜(Olympus BX53)下,观察病原菌的形态,并记录病原 菌的孢囊梗、孢子囊大小和形状等形态特征。根据 霜霉菌形态特征及寄主范围进行病原菌属的鉴定 (余永年,1998; Choi *et al.*,2009; Voglmayr *et al.*, 2008)。

1.4 病原菌 rDNA-ITS 及 LSU 序列扩增及分析

刮取并收集蟛蜞菊霜霉病叶背面的霉层,利用 真菌 DNA 抽提试剂盒(货号:D3390-04,Omega Bio-Tek)提取病原菌的 DNA。使用引物 ITS1(5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TC-CTCCGCTTATTGATAT-GC-3')进行 ITS 序列扩增 (Raja *et al.*,2017);引物 LROR(ACCCGCTGAACT-TAAGC)和 LR7(TACTACCACCAAGATCT)进行 LSU序列的扩增(Mctaggart *et al.*,2015)。PCR 反 应体系为 20 μ L,其中 Taq PCR Master Mix10 μ L,模 板 DNA1 μ L,上下游引物各 1 μ L,ddH₂O 7 μ L。 PCR 反应程序为:95 ℃预变性 3 min;94 ℃变性 30 s,55 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,35 个循环,16 ℃ 保存。

将 PCR 产物进行电泳检测,如产物单一则对 PCR 产物直接进行回收、纯化备用。将纯化得到的 PCR 产物用试剂盒(货号:D101,TAKARA)进行 T 克隆,操作方法:在微量离心管中分别加入 pMD18-T 载体 1 μL,目标 DNA 4 μL 和 5 μL 的溶液 I,混匀 后置于 16 ℃过夜;将连接好的反应体系全部加入 到 100 μL 的 JM109 大肠杆菌的感受态细胞中混匀 后,置于冰上放置 30 min,再将其置于 42 ℃下热激 45 s,然后在冰中放置 1 min,加入 890 μL LB(luriabertani)培养液,37 ℃振荡培养 60 min,将培养液涂 布在含有氨苄青霉素的 LB 平板培养基上 37 ℃培 养 12 h,挑取白色菌落,使用菌落 PCR 法确定载体 中插入片段的长度大小,选取 6 个正确的克隆送生 工生物工程(上海)股份有限公司测序得到 ITS 和 LSU 序列。

将获得的 ITS 和 LSU 序列分别在 NCBI 网上进 行序列比对,下载与之相似性高的相关序列,以马 铃薯晚疫病菌致病疫霉 Phytophthora infestans (Mont.) de Bary 和荔枝霜疫霉 Peronophythora litchii Chen ex Ko et al. 作为外围群,应用 MEGA 7 系统发育软件的最大似然法(Kumar et al.,2016)分 别构建基于 LSU 和 ITS 序列的系统发育树,其中自 展支持重复 1000 次。根据向日葵霜霉病菌 P. halstedii (Farl.) Berl. & De Toni 的 ITS 结构分析方法 (Spring et al.,2006; Thines et al.,2005),结合序列 的同源比对结果,对分离自南美蟛蜞菊上的霜霉病 菌 ITS 序列进行结构注释。

2 结果与分析

2.1 病害调查结果

病害调查结果发现,南美蟛蜞菊霜霉病在广州 火炉山、白云山和天鹿湖等森林公园零星发生,但 在华南农业大学校内发生较严重,发病较重的地块 发病率可达 50%~70%,病情指数达 30~35,病害严 重限制了发病植株下部叶片的生长。病害一般发 生在植株下部荫避区,发病初期叶子正面出现不规 则的淡黄色病斑,病健交界处清晰可见,病斑直径 1.0~5.5 mm(图 1A),叶背面出现清晰可见的白色 霉层(图 1B、C)。发病后期叶面病斑变灰褐色,叶 片病组织变薄并坏死(图 1D),直至整个叶片逐渐 死亡,叶背面霉层消失。



图 1 南美蟛蜞菊霜霉病症状 Fig.1 Symptoms of downy mildew on *S. trilobata* A:病害叶部症状(正面); B 和 C:病害叶部症状(背面); D:病害在田间的症状。 A: Disease symptoms on leaf (upside); B and C: Disease symptoms

on leaf (downside); D: Disease symptoms in the field.

2.2 病原菌形态学特征

由图 2 可见,南美蟛蜞菊霜霉病病原孢囊梗从 气孔伸出,无色,有隔膜,常为直角或近直角的单轴 分枝,长 260.0~500.0 μm,宽 12.0~13.5 μm,孢囊 梗单轴分枝 3 次,分枝宽 6.5~8.5 μm,分枝末端较 尖细。孢子囊着生在孢囊梗上,呈椭圆形或卵圆 形,乳突不明显,表面光滑,无色,大小(长×宽)为 (17.5~25.0) μm×(12.0~18.0) μm。根据寄生在 菊科植物上的霜霉病菌记录,共有 3 种单轴霉属菌 物,分别是寄生在苍耳 Xanthium sibiricum Patrin ex Widder 上的苍耳单轴霉 P. angustiterminalis Novot.、 寄生在向日葵 Helianthus annuus L.和金光菊 Rudbeckia laciniata L.上的向日葵单轴霉 P. halstedii 和澳 大利亚报道的寄生在南美蟛蜞菊上的蟛蜞菊单轴霉 P. sphagneticolae Metaggart & R. G. Shivas (余永年, 1998; Komjúti et al., 2007; Lee et al., 2020; Mctaggart et al.,2015)。本菌孢囊梗比向日葵单轴霉的稍短, 游动孢子囊更趋近于圆形且较小,与寄生在菊科植物上的另外2种单轴霉形态非常相近,根据其寄主 拟鉴定为蟛蜞菊单轴霉。



图 2 南美蟛蜞菊霜霉病病原形态特征 Fig.2 Morphological characteristics of *P. sphagneticolae* parasitic on *S. trilobata*

A:具分枝的孢囊梗;B:游动孢子囊。

A: Sporangiophore with branches; B: Sporangia.

2.3 系统发育分析

克隆测序得到南美蟛蜞菊霜霉病病原物的 LSU序列(GenBank 登录号:MW298155),在 NCBI 网上进行序列比对,结果显示:本菌(2-LSU)与来自 澳大利亚的南美蟛蜞菊上霜霉病菌 P. sphagneticolae 相似性最大,达到 99.86%。而基于 LSU 序列的 系统发育分析(图 3)显示,本菌与寄生在菊科植物 向日葵和金光菊上的向日葵单轴霉同样紧密地聚 在一个分枝上,与寄生菊科植物苍耳上的苍耳单轴 霉和牛蒡 Arctotis sp.上的马氏单轴霉 P. majewskii Constant. & Thines 以及寄生于伞形科植物上的细 叶芹单轴霉 P. chaerophylli (Casp.) Trotter 和雪白 单轴霉 P. nivea (Unger) Schröt.较远地聚在一枝, 且自展支持率较低。致病疫霉和荔枝霜疫霉在 LSU 系统发育分析中与单轴霉属的其他种在最外 围聚在一起。



图 3 基于 LSU 序列单轴霉属真菌种的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree obtained from a maximum likelihood analysis of the LSU region

对寄生在不同科属植物上的单轴霉 ITS 序列 系统发育分析结果(图4)显示,有3个自展支持率 较高的分枝:分枝 I 将本菌(ITS 序列的登录号: MW306664)与寄生在菊科植物上的向日葵单轴霉 和苍耳单轴霉聚在一起,说明这3个菌株亲缘关系 密切,然而,同源比对结果显示,本菌与向日葵单轴 霉 ITS 序列相似度只有 89%,与苍耳单轴霉相似度 为 78%;分枝 II 将侵染伞形科植物的细叶芹单轴霉 和雪白单轴霉聚在一枝;分枝 III 是侵染牻牛儿苗科 老鹳草属植物的4个不同种的单轴霉(老鹳草单轴 霉 P. geranii (Peck) Berl. & De Toni,林生老鹳草 单轴霉 P. geranii - sylvatici Sǎvul. & O. Sǎvul., 微小 单轴霉 P. pusilla (de Bary) J. Schröt.和威氏单轴霉 P. wilsonii Voglmayr, Fatehi & Constant.)。由此可见,除了侵染凤仙花的凤仙花单轴霉 P. obducens (J. Schröt.) J. Schröt.和侵染葡萄的葡萄生单轴霉 P. viticola (Berk. & M. A. Curtis) Berl. & De Toni 在较远的地方与侵染菊科植物的单轴霉聚在一枝 外,ITS 序列系统发育分析可以较好地区分寄生在 不同科属植物上的单轴霉,并且不与外围群聚在一个分枝上。

2.4 序列结构及相似性比较分析

通过对来自南美蟛蜞菊和向日葵上的霜霉病菌 rDNA-ITS 序列进行同源比对,构建该序列结构 示意图,结果(图 5)显示,本研究克隆测序得到蟛 蜞菊霜霉病菌 ITS 序列长为 2228 bp,ITS2 含有 3 个重复的序列(PsR1-PsR3),该结构与来自向日葵 霜霉病菌的 ITS 序列相似,不同的是后者含有4个 重复序列(PhR1-PhR4)。正因为含有多个重复序 列才使得这2种病原菌的 ITS 序列显著长于其他 病原菌的 ITS 序列。二者重复序列相似度比较结 果如表1所示,蟛蜞菊霜霉病菌 ITS 序列自身的重 复序列相似度达90%以上,而与向日葵霜霉病菌 ITS 的重复序列相似度为 83.4%~89.0%,平均为 85.9%,可见二者重复序列之间还有一定的差异。 在 ITS 序列注释的基础上,结合 ITS 序列和 LSU 序 列的系统发育分析,本研究认为,获得的南美蟛蜞 菊霜霉病菌与向日葵霜霉病菌分属不同的种,根据 寄主的属及形态特征将其鉴定为蟛蜞菊单轴霉 P. sphagneticolae。



Fig.5 ITS sequence structures of P. sphagneticolae and P. halstedii

ITS 序列包括 ITS1 区、5.8S 核糖体 DNA 区和 ITS2 区。向日葵单轴霉 ITS 序列结构引自 Thines et al. 2005.

PsR1-PsR3 代表蟛蜞菊单轴霉 ITS2 区中的重复序列, PhR1-PhR4 代表向日葵单轴霉 ITS2 区中的重复序列。

ITS sequence includes ITS1 region, 5.8S ribosomal DNA and ITS2 region. Structure of the ITS sequence in *P. halstedii* according to Thines et al. 2005. PsR1-PsR3, repetitive units of ITS2 from *P. sphagneticolae*; PhR1-PhR4, repetitive units of ITS2 from *P. halstedii*.

表 1 蟛蜞菊单轴霉和向日葵单轴霉 ITS2 区序列相似性 Table 1 Sequence similarity of repetitive units of ITS2 region in P. sphagneticolae and P. halstedii

in 1. spragneneoue and 1. nuisieuu							
序列 Sequence	PsR1	PsR2	PsR3	PhR1	PhR2	PhR3	PhR4
PsR1	-	90.8%	90.0%	86.9%	83.4%	85.0%	85.3%
PsR2		-	92.7%	89.0%	86.5%	88.1%	87.8%
PsR3			-	85.9%	83.8%	84.1%	85.0%
PhR1				-	90.7%	92.5%	93.5%
PhR2					-	89.4%	92.2%
PhR3						-	94.1%
PhR4							-

PsR1-PsR3代表蟛蜞菊单轴霉 ITS2 区中的重复序列,PhR1-PhR4代表向日葵单轴霉 ITS2 区中的重复序列。

PsR1-PsR3, repetitive units of ITS2 from *P. sphagneticolae*. PhR1-PhR4, repetitive units of ITS2 from *P. halstedii*.

3 讨论

LSU序列分析结果显示,来自广东的南美蟛蜞 菊霜霉病菌与澳大利亚的南美蟛蜞菊霜霉病菌紧 密地聚在一起,并且与向日葵单轴霉以较高的自展 支持率聚在一个分枝上,同时与寄生菊科植物上的 苍耳单轴霉和马氏单轴霉以及非菊科植物上的单 轴霉聚在同一个分枝上,但自展支持率较低。这一 结果与来自澳大利亚的南美蟛蜞菊霜霉病菌 LSU 序列系统发育分析一致(Mctaggart *et al.*,2015),说 明 LSU 系统发育分析不能将南美蟛蜞菊霜霉病菌 与其他寄生在菊科植物上和非菊科植物上的霜霉

菌区分开。故在此基础上进行 ITS 序列分析,结果 表明,分自菊科向日葵族(南美蟛蜞菊、向日葵和苍 耳)的单轴霉以较高的自展支持率聚在一个大的分 枝中,并且在较小的分枝水平上不同的种也能被很 好地区分开来,说明来自菊科向日葵族植物上的单 轴霉亲缘关系紧密。其ITS2 序列的结构分析表明, 南美蟛蜞菊霜霉病菌与向日葵霜霉病菌重复序列之 间的平均相似性只有 85.9%,而同一菌内的重复序列 相似性达到 90%以上。而苍耳单轴霉的 ITS2 区也含 有多个重复序列,且与向日葵单轴霉 ITS2 区的重复 序列同源,致使其 ITS2 长达 2815 bp(Komjáti et al., 2007)。鉴于来自向日葵族的单轴霉 ITS2 区均含有 多个同源的重复序列,但不同种的重复序列数不同, 且重复序列不同会导致病原菌的致病型发生改变 (Spring et al., 2006), 再结合病原菌的形态特征比较 结果,本研究将采自广东广州的南美蟛蜞菊霜霉病 病原鉴定为蟛蜞菊单轴霉。

据统计,除了本研究鉴定的蟛蜞菊单轴霉,已 报道寄生在菊科植物上的单轴霉属菌物还包括侵 染向日葵和金光菊的向日葵单轴霉、侵染苍耳的苍 耳单轴霉、侵染牛蒡属植物的马氏单轴霉等(Choi et al., 2009; Lee et al., 2020; Mctaggart et al., 2015; Rivera et al., 2014)。在本研究中, 虽然 LSU 系统 发育分析将寄生在菊科植物上的单轴霉属菌物聚 在一个分枝上,但不能区分寄生在其他科植物上 的单轴霉, 自自展支持率较低, 表明单独 LSU 序列 分析不足以进行单轴霉属种的分子鉴定。而 ITS 序列的系统发育分析能够清晰地区分来自不同科 植物的单轴霉,虽然 GenBank 数据库中很多单轴 霉属的种缺乏 ITS 序列,但本研究认为,相比 LSU 序列,ITS 序列更适用于单轴霉属的种类鉴定。本 研究中,系统发育分析也支持单轴霉属菌物属于 多谱系的霜霉菌这一论点,认为其可以侵染多种 科属的寄主植物(Thines et al., 2009)。基于 ITS 序列结构分析,本研究支持将侵染菊科向日葵族植 物的单轴霉属细分成多个小种,而不是只有一个大 种:向日葵单轴霉(Choi et al., 2009)。更多侵染菊 科植物的霜霉病菌 ITS 序列的克隆和种的鉴定有 待进一步研究。

利用天敌昆虫和病原限制其寄主植物的生长 和蔓延是一种较为理想的入侵植物生物防控方法。 比如利用拟锈病菌 Synchytrium solstitiale Widmer 防 治美国西部的一种入侵杂草黄矢车菊 Centaurea solstitialis L.(Eskandari et al., 2011),利用薇甘菊颈 盲蝽 Pachypeltis micranthus Mu & Liu 和薇甘菊柄锈 菌 Puccinia spegazzini de Toni 防治我国的外来入侵 植物薇甘菊 Mikania micrantha Kunth(李志刚等, 2006;李云琴等,2019)。这些天敌昆虫和病原菌都 具有一定的专化性,固定取食或寄生于限定的寄主 植物上,病原菌也不能人工培养,但其是一种对非 寄主的本土植物友好且安全的生防资源。本研究 鉴定的蟛蜞菊单轴霉也是一种典型的专性寄生菌, 虽不能人工培养,但作为国内南美蟛蜞菊上发现的 第一个天然发生的病害病原,该菌极具生防潜力。 然而,其扩大培养方案和致病寄主范围等还需进一 步研究。

参考文献

方中达,1998. 植病研究方法.3 版. 北京:中国农业出版社. 6-18.

- 搴睿,蒲磊,李军亚,赵平,雷泞菲,2021.番茄对不同养 分水平下南美蟛蜞菊和蟛蜞菊化感作用的响应.广西植 物,41(8):1354-1362.
- 柯展鸿,陈鸿,陈雁飞,惠苗,宋莉英,2014. 南美蟛蜞菊 和蟛蜞菊化感作用的比较研究. 华南师范大学学报(自然 科学成),46(1):83-88.
- 李光义,侯宪文,邓晓,王中,张桂花,李勤奋,2010.除草 剂对蟛蜞菊化感作用的影响研究.中国农学通报,26 (1):173-181.
- 李云琴,季梅,刘凌,户连荣,张知晓,泽桑梓,2019.云南 省林地薇甘菊防控研究进展.生物安全学报,28(1):1-6.
- 李志刚,韩诗畴,李丽英,李军,卢建文,2007. 薇甘菊柄 锈菌在中国南方自然环境下的致病力. 中国生物防治, 23(S):57-59.
- 祁珊珊, 贺芙蓉, 汪晶晶, 李琴, 戴志聪, 杜道林, 2020. 丛 枝菌根真菌对入侵植物南美蟛蜞菊生长及竞争力的影 响. 微生物学通报, 47(11): 3801-3810.
- 全国明,毛丹鹃,章家恩,谢俊芳,秦钟,2016.五爪金龙、 南美蟛蜞菊入侵对土壤化学和微生物学性质的影响. 植 物营养与肥料学报,22(2):437-449.
- 田学军,陶宏征,沈云玫,袁寒,沈登荣,何超,2016. 莠去 津对南美蟛蜞菊抗氧化酶活性的影响与细胞毒性. 农药, 55(9):672-674
- 吴彦琼, 胡玉佳, 廖富林, 2005. 从引进到潜在入侵的植物——南美蟛蜞菊. 广西植物, 25(5): 413-418.
- 余永年, 1998. 中国真菌志: 第6卷 霜霉目. 北京: 科学出

版社.

- 袁伟影,冯进,张晓雅,安菁,高俊琴,2017. 入侵植物南 美蟛蜞菊和本土蟛蜞菊生长对土壤养分的响应. 生态学 杂志,36(4):962-970.
- 周雨露,李凌云,高俊琴,丁艳,2016.种间竞争对入侵植 物和本地植物生长的影响. 生态学杂志, 35(6): 1504-1510.
- CHOI Y J, KISS L, VAJNA L, SHIN Y D, 2009. Characterization of a *Plasmopara* species on *Ambrosia artemisiifolia*, and notes on *P. halstedii*, based on morphology and multiple gene phylogenies. *Mycological Research*, 113(10): 1127–1136.
- ESKANDARI F M, BRUCKART W L Ⅲ, WIDMER T L, 2011. Field damage to yellow starthistle infected by *Synchytrium solstitiale*, and greenhouse maintenance and host range of the fungus. *Plant Disease*, 95: 907–912.
- KOMJÁTI H, WALCZ I, VIRÁNYI F, ZIPPER R, THINES M, SPRING O, 2007. Characteristics of a Plasmopara angustiterminalis isolate from Xanthium strumarium. European Journal of Plant Pathology, 119(4): 421-428.
- KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33 (7): 1870–1874.
- LEE J S, SHIN H D, CHOI Y J, 2020. Rediscovery of seven long-forgotten species of *Peronospora* and *Plasmopara* (Oomycota). *Mycobiology*, 48(5): 331–340.
- MCTAGGART A R, SHUEY L S, MCKENNA S G, DAVIS R I, SHIVAS R G, 2015. Plasmopara sphagneticolae sp. nov. (Peronosporales) on Sphagneticola (Asteraceae) in Australia. Australasian Plant Pathology, 44(1): 81-85.
- QI S S, DAI Z C, ZHAI D L, CHEN S C, SI C C, HUANG P, WANG R P, ZHONG Q X, DU D L, 2014. Curvilinear effects of invasive plants on plant diversity: plant community invaded by *Sphagneticola trilobata*. *PLoS ONE*, 9 (11): e113964.
- RAJA H A, MILLER A N, PEARCE C J, OBERLIES N H, 2017. Fungal identification using molecular tools: a primer

for the natural products research community. *Journal of Natural Products*, 80(3): 756–770.

- RIETHMÜLLER A, VOGLMAYR H, GÖKER M, WEIß M, OBERWINKLER F, 2002. Phylogenetic relationships of the downy mildews (Peronosporales) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 94(5): 834–849.
- RIVERA Y, RANE K, CROUCH J A, 2014. First report of downy mildew caused by *Plasmopara halstedii* on black-eyed susan (*Rudbeckia fulgida* cv.' Goldsturm') in Maryland. *Plant Disease*, 98: 1005.
- SCHOCH C L, SEIFERT K A, HUHNDORF S, ROBERTD V, SPOUGEA J L, ANDRÉLEVESQUEB C, 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16): 6241–6246.
- SPRING O, BACHOFER M, THINES M, RIETHMUELLER A, GOEKER M, OBERWINKLER F, 2006. Intraspecific relationship of *Plasmopara halstedii* isolates differing in pathogenicity and geographic origin based on ITS sequence data. *European Journal of Plant Pathology*, 114(3): 309-315.
- THÍNES M, KOMJÁTI H, SPRING O, 2005. Exceptional length of ITS in *Plasmopara halstedii* is due to multiple repetitions in the ITS-2 region. *European Journal of Plant Pathology*, 112(4): 395–398.
- THINES M, VOGLMAYR H, GÖKER M, 2009. Taxonomy and phylogeny of the downy mildews (Peronosporaceae) // LAMOUR K, KAMOUN S. Oomycete genetics and genomics: diversity, interactions, and research tools. New York: Wiley: 47-75.
- VOGLMAYR H, CONSTANTINESCU O, 2008. Revision and reclassification of three *Plasmopara* species based on morphological and molecular phylogenetic data. *Mycological Re*search, 112(5): 487-501.

(责任编辑:郑姗姗)