

北京地区大白菜黄萎病的病原鉴定

韩瑞娟^{1,2}, 耿丽华², 汪维红², 于拴仓², 朱月林¹, 张凤兰^{2,*}, 余阳俊², 赵岫云², 张德双²

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100097)

摘 要: 对北京地区大白菜发生的叶片黄化、维管束变色的新病害进行了鉴定, 通过形态学观察、致病力检测和 rDNA-ITS 序列分析, 确定该病是由大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae*) 引起的大白菜黄萎病。从 4 个发病大白菜材料中分离获得的 4 个真菌分离物, 均在寄主大白菜三叶一心期接种后表现出叶片黄化、维管束变色等症状; PDA 培养菌落为白色, 1 周后中心变黑, 显微镜下可观察到明显的轮枝状分生孢子梗, 长椭圆形孢子大小 $3.5 \sim 5.6 \mu\text{m} \times 1.5 \sim 2.5 \mu\text{m}$, 在 22 °C 菌丝生长最快。4 个菌株的 rDNA-ITS 序列一致性达 100%, 序列已在 GenBank 上登录, 登录号为 JN564038。

关键词: 大白菜; 大白菜黄萎病; *Verticillium dahliae*; 致病性

中图分类号: S 634.1; S 436.341

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 03-0477-08

Pathogen Identification Causing Verticillium Wilt on Chinese Cabbage in Beijing Area

HAN Rui-juan^{1,2}, GENG Li-hua², WANG Wei-hong², YU Shuan-cang², ZHU Yue-lin¹, ZHANG Feng-lan^{2,*}, YU Yang-jun², ZHAO Xiu-yun², and ZHANG De-shuang²

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The pathogen causing verticillium wilt on Chinese cabbage in Beijing area was identified by morphological characteristics, pathogenicity test, and the sequence of ribosomal DNA-ITS in this study. Four isolates from diseased plants of four different varieties were obtained. Seedlings showed symptoms of yellowing, wilting of leaves, discoloration in vascular tissue of the stem and death after inoculating with isolates, which were consistent with the symptoms in the field. The fungus showed dark colonies that produced verticillate conidiophores with two to three layers with colorless, ovoid, conidia and small, black microsclerotia on PDA medium. When cultured under the temperature ranged from 14 °C to 32 °C, hyphae showed fastest growth at 22 °C; The rDNA-ITS sequence of the fungi which was 100% identity of the four isolates has been submitted to GenBank (GenBank accession number: JN564038).

Key words: Chinese cabbage; verticillium wilt; *Verticillium dahliae*; phylogenetic tree

目前对大白菜病害的研究多集中在病毒病、软腐病、霜霉病三大病害上, 而近年来在北京市农

收稿日期: 2011-12-30; 修回日期: 2012-02-20

基金项目: 北京市科技项目 (D08070500690803); 国家科技支撑计划项目 (2009BADB8B00-03); 国家大宗蔬菜产业技术体系项目 (CARS-25-A-11)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangfenglan@nrcv.org; Tel: 010-51503038)

林科学院蔬菜研究中心大白菜育种基地及云南省通海等大白菜规模化种植基地发生了十分严重的土传维管束病害,并呈逐年上升趋势。该病多在包心期开始发病,其症状表现为叶片枯黄,植株矮化,维管束变褐变黑,与日本发现的大白菜黄萎病的症状(Watanabe et al., 1973)相似,因而被称之为“黄萎病”。

黄萎病多是由黄萎轮枝菌属的大丽轮枝菌、黑白轮枝菌从根部侵染引起的土传维管束病害。该病病原菌的寄主范围广,目前已对棉花、番茄、辣椒、茄子(Krikun & Bemier, 1987; Bhat & Subbarao, 1999)等多种作物造成严重影响。国外已有文献报道欧洲地区油菜、加利福尼亚地区花椰菜以及日本等地有十字花科作物黄萎病的发生并日趋严重(Horiuchi et al., 1990; Koike et al., 1994; Eynck et al., 2007)。引起十字花科黄萎病的病原物有3种类型,分别为 *Verticillium longisporum*、*V. albo-atrum*、*V. dahliae* (Stark, 1963; Watanabe et al., 1973; Subbarao et al., 1995)。1966年日本首次在长野县发现了大白菜黄萎病,并于1973年研究报道了引起大白菜黄萎病的病原菌为黑白轮枝菌(*V. albo-atrum*) (Watanabe et al., 1973)。尽管大白菜“黄萎病”在中国尚未普遍发生,但已在规模化生产的连作区开始发生,并逐渐形成严重的态势。

为了明确大白菜黄萎病的病因,为病害防治提供理论依据,作者对北京市农林科学院蔬菜研究中心大白菜试验地病害发生症状、危害及品种抗性进行了调查,对致病病原物进行分离,结合形态学观察、致病性测定和分子生物学鉴定等方法进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

2010年秋对北京市农林科学院蔬菜研究中心大白菜育种田495份材料黄萎病发病情况进行了调查。从大白菜育种材料3-85、10-2、3-108和J-15的发病株中分离纯化获得真菌分离物。以上材料均来自北京市农林科学院蔬菜研究中心大白菜育种组。

1.2 病原菌分离纯化

参照方中达(1998)组织分离法进行维管束组织内病原菌的分离纯化。取发病植株根茎部位的病健交界处,常规消毒后将小块变色的维管束组织放在PDA培养基上,放入25℃恒温培养箱中培养,定期观察。

挑取菌丝分离培养,长出菌落后采用稀释纯化法进行单孢分离,将稀释后的孢子悬浮液在水琼脂糖培养基上镜视,只有一个孢子时挑取单孢转移至PDA培养基。挑取孢子形态为长椭圆形的分离物,寄主材料分别为大白菜3-85、10-2、3-108和J-15,对应的分离物命名为BCHW3-85、BCHW10-2、BCHW3-108和BCHWJ-15。

1.3 致病性测定

采用孢子悬浮液浸根接种法进行苗期接种。将大白菜材料3-85、10-2、3-108、和J-15种植于灭菌基质的营养钵内,常规管理。

幼苗3叶1心时进行接种鉴定。将4个分离物分别回接至对应寄主材料的幼苗,孢子悬浮液为 1×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,浸根15 min(方中达,1998)。每个处理10株,设3次重复,无菌水为对照。定植后遮荫3 d,温室(25 ± 5)℃管理,30 d后调查植株的发病率和发病程度。对发病株进行病原菌的再分离,与最初的接种分离物比较,进行柯赫氏证病法则验证。

苗期病情分级标准:0级,全株无病;1级,仅子叶变黄,真叶无症状;2级,子叶枯死,1~2

片真叶变黄; 3 级, 3~4 片真叶变黄、心叶完好; 4 级, 整株萎缩成团, 全株死亡。

1.4 菌落生长形态及生长温度测定

取纯化培养的病原菌, 用内径 5 mm 的打孔器(消毒)取同心圆上菌龄一致的菌落, 移植到 PDA 培养基中心, 分别放置于 14、18、22、26 和 32 °C 的恒温培养箱暗培养, 每个温度设 5 个培养皿, 3 次重复, 分别在 7 d 和 14 d 用十字交叉法测定菌落直径。

1.5 病原菌的 rDNA-ITS 鉴定

病原菌活化培养 72 h 后, 挑取直径 5 mm 的菌丝块接种于 PDB 液体培养基, 22 °C 120 r·min⁻¹ 震荡培养 3~5 d, 纱布过滤收集菌丝, 无菌水清洗干净后用灭菌滤纸吸干。

采用 CTAB 法提取和纯化病原菌基因组 DNA。利用 rDNA-ITS 通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增。

引物序列为 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3', 由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 反应体系包括: 10 × PCR buffer (含 Mg²⁺) 2 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTP mix 1.8 μL, 5 U·μL⁻¹ Taq 酶 0.2 μL (以上试剂均由 TaKaRa 公司提供), 模板 DNA 2 μL, 引物 ITS1 和 ITS4 各 1.2 μL (1 000 μmol·L⁻¹), 用 ddH₂O 使总体积达到 20 μL。

在 PCR 扩增仪(BIO-RAD)上进行扩增: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 1 min, 51 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 32 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。

采用上海生物工程技术有限公司的 DNA 凝胶回收试剂盒, 从 1.0% 的琼脂糖凝胶中回收 ITS 片段, 回收产物用宝生物工程(大连)有限公司的 PEASY-T₁ Simple cloning Vector 连接, 转化于感受态细胞 *Trans1-T1* 中, 经蓝白斑筛选和 PCR 鉴定后, 交北京金唯智生物有限公司完成测序。

将菌株的 rDNA-ITS 序列在 GenBank 核酸数据库 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 中进行 BLASTN 比对和同源性分析。

结合 3 个近缘菌系的 ITS 序列 (*Verticillium dahliae*、*Verticillium albo-atrum*、*Verticillium dahliae* var. *longisporum*) 共 18 个序列构建系统发育树, 使用 MEGA version 4.0 进行系统发育分析和进化树的构建, 进化距离分析采用邻位相连法 (neighbor-joining, NJ), 用 Bootstrap 1 000 次重复对系统树进行检验。

2 结果与分析

2.1 大白菜黄萎病田间症状

对北京市农林科学院蔬菜研究中心 495 份大白菜进行病情调查, 共有 174 份材料具有明显病症, 病株率 35.69% 左右, 严重的在 90% 以上。

该病多在大白菜包心初期显症, 前期主要表现为外叶维管束变黄, 一般是先半叶变黄后扩散至整叶 (图 1, A)。

随着黄化进程发展, 整个叶片乃至整个植株黄萎, 中期基部叶黄化萎蔫, 球叶呈水浸状 (图 1, B)。

后期叶柄呈大面积海绵状干枯, 并由外向内发展至球叶内部, 最后整株干枯死亡 (图 1, C)。典型特征: 外叶叶脉间叶肉变黄 (图 1, D), 剖开病株根部, 可见其组织变为黑褐色 (图 1, E), 茎部也有轻微褐变 (图 1, F)。

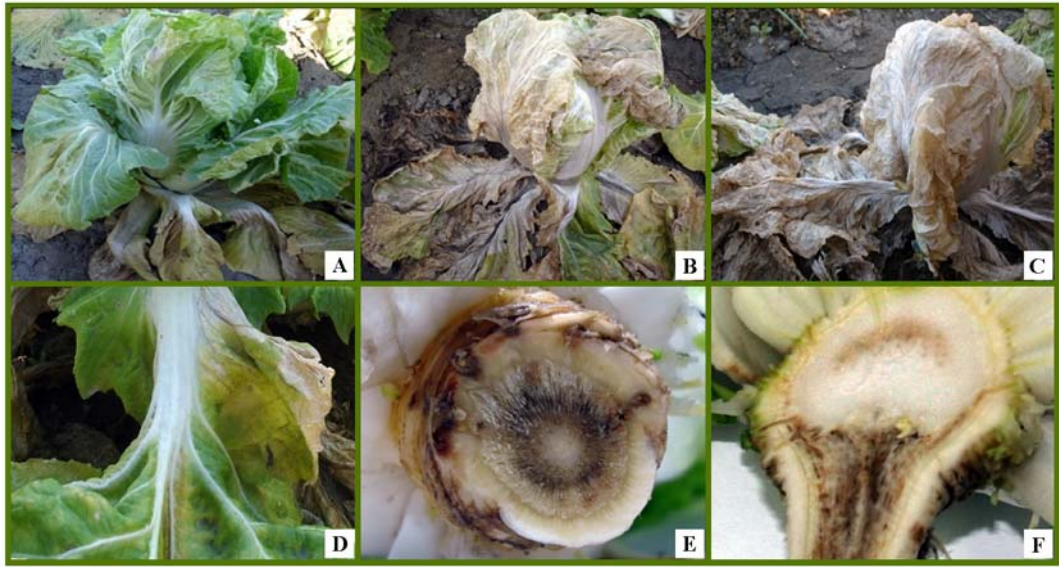


图 1 大白菜黄萎病的病症发展

A: 初期病株; B: 中期病株; C: 后期病株; D: 病株叶片叶脉间黄化; E: 病株根部组织发黑变褐; F: 病株根茎部纵切面。

Fig. 1 Symptom development of Chinese cabbage verticillium wilt

A: Initial smptoms of the disease plant; B: Middle stages of the disease plant; C: Later stages of the disease plant; D: Yellow, black veins on foliar smptoms; E: The transverse section shows black vein in root; F: Longitudinal section shows black vein in stem and root.

2.2 病原菌的致病性

将从大白菜材料 3-85、10-2、J-15 和 3-108 中得到的 4 个真菌分离物分别命名为 BCHW3-85、BCHW10-2、BCHWJ-15 和 BCHW3-108, 采用孢子悬浮液浸根接种法分别对原寄主材料 3-85、10-2、J-15 和 3-108 的幼苗进行接种。接种植株表现出典型的黄化干枯症状 (图 2, Ai ~ Di), 外叶维管



图 2 黄萎病原菌致病性检测

A ~ D: 无菌水对照的植株; Ai ~ Di: 接种病原菌后的发病植株。

A、Ai: 大白菜材料 3-85; B、Bi: 大白菜材料 10-2; C、Ci: 大白菜材料 J-15; D、Di: 大白菜材料 3-108。

Fig. 2 Symptoms of Chinese cabbage seedlings after inoculating with four isolates

A - D: Seedlings used as control group by dipping in sterile water; Ai - Di: Seedlings inoculated by dipping pathogenic spores.

A, Ai: 3-85; B, Bi: 10-2; C, Ci: J-15; D, Di: 3-108 .

束最先发病，变黄变褐，之后叶脉叶肉变黄，扩散至整叶干枯，最后整株死亡，与大田病症基本一致。植株发病率分别达 93.33%、88.24%、76.92%和 81.82%，病情指数为 48.33、53.13、26.92 和 54.55，4 个菌均具有致病力。

2.3 病原菌的形态和对温度的适应性

将病原菌 BCHW3-85、BCHW10-2、BCHW3-108 和 BCHWJ-15 分别在 PDA 平板培养基上培养，其形态无明显差异，菌株生长缓慢，菌丝初为白色，3~7 d 后转为灰黑色，并可产生大量的分生孢子。菌落近圆形，边缘光滑，中心微突而且有明显的黑色或灰黑色交替的同心轮纹（图 3，A）。显微镜下观察可见分生孢子长椭圆形，无色透明，大小为 $3.5 \sim 5.6 \mu\text{m} \times 1.5 \sim 2.5 \mu\text{m}$ ；分生孢子梗纤细，基部略膨大，常由 2~3 层轮状的枝梗及上部的顶枝或 1 层轮枝和 1 个顶枝组成（图 3，B），微菌核近球形或长条形（图 3，C），形状大小各异。

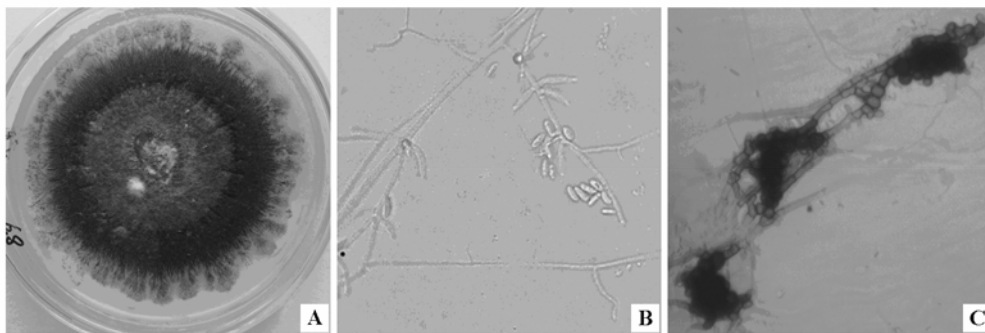


图 3 病原菌形态学观察

A: PDA 培养基菌落; B: 分生孢子梗及分生孢子; C: 微菌核。

Fig. 3 Morphological characteristics of isolates on PDA medium

A: Fungal colonies; B: Verticillate conidiophores; C: Black microsclerotia.

选取致病力较强的 BCHW10-2 置于 PDA 培养基上培养，设置 14、18、22、26 和 32 °C 等 5 个培养温度。结果表明：BCHW10-2 在 14~26 °C 均能生长，以 22 °C 生长最快，18~26 °C 生长较好（图 4），而在 32 °C 菌丝不能生长，呈腊状。

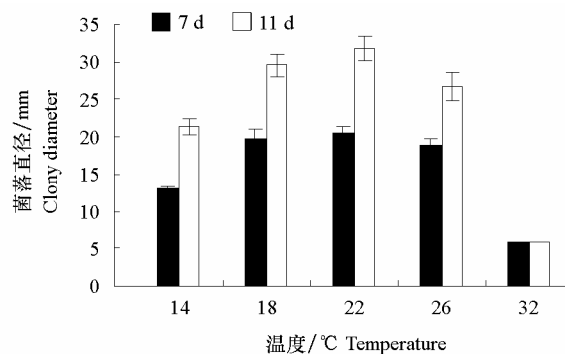


图 4 不同温度对 BCHW10-2 菌丝生长的影响

Fig. 4 Influence of different temperature on the hyphae growth of BCHW10-2

2.4 rDNA-ITS 序列分析

利用真菌通用引物 ITS1/ITS4 对 4 个不同白菜品种分离的病原菌分离物 BCHW10-2、

BCHW3-85、BCHWJ-15 和 BCHW3-108 的基因组 DNA 进行扩增, 均获得 1 段约 530 bp 的 DNA 片段。

对片段进行回收、克隆和测序, 结果表明 4 个分离物的 rDNA-ITS 区一致性达 100%, 大小为 540 bp, 序列登录 GenBank, 登录号为 JN564038。将该序列在 GenBank 进行 BLASTN 分析, 挑选 5 个相近的已知序列在 DNAMAN 中进行多重比对分析, 发现 JN564038 与番茄黄萎病 (GU461623、GU461611)、棉花黄萎病 (GU461609)、*Verticillium dahliae* strain Ve005 (GQ495791) 的 ITS 区的序列一致性均达 100%, 而与 GQ495792 (*Verticillium dahliae* var. *longisporum* strain Ve007) 因存在 6 个位点的单碱基差异, 一致性为 99.8% (图 5)。由此推断, 从大白菜病株中分离的病原菌均为大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae*)。

根据 JN564038 序列的 BLASTN 分析, 结合 3 个近缘菌系的 ITS 序列 (*Verticillium dahliae*、*Verticillium albo-atrum*、*Verticillium dahliae* var. *longisporum*) 共 18 个序列构建系统发育树 (图 6), 病原菌多来自不同的寄主作物或株系, 被聚为两大类。

JN564038 与 GU461623、GU461609 和 GU461637 等以 99% 的支持率聚在一起, 位于系统发育树大丽轮枝菌 (*V. dahliae*) 的分支, 遗传距离最近。

而 FJ900221、AB353348 及 GQ495792 位于同一支, 聚于黑白轮枝菌 (*Verticillium albo-atrum*) 分支下, 发育树的构建进一步支持了大白菜黄萎病的致病菌为大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae*)。

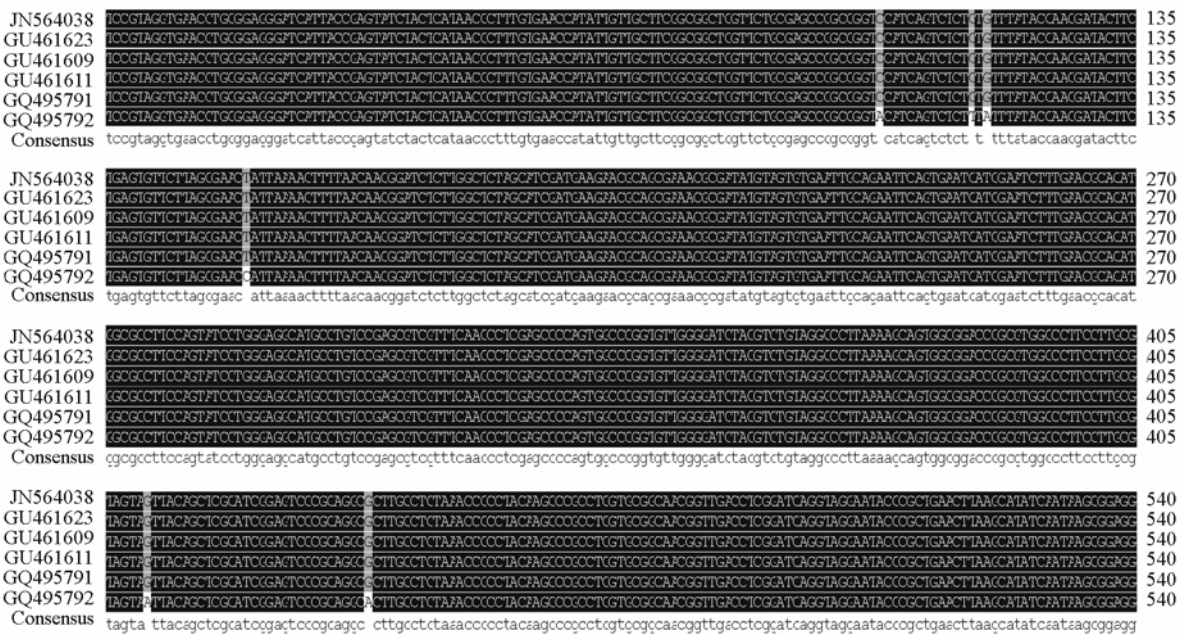


图 5 ITS 区序列同源性比对

JN564038: 大白菜黄萎病 *V. dahliae*; GU461623、GU461611: 番茄黄萎病 *V. dahliae*; GU461609: 棉花黄萎病 *V. dahliae*;
GQ495791: *V. dahliae* strain Ve005; GQ495792: *V. longisporum* strain Ve007。

Fig. 5 Homology alignment by rDNA-ITS region sequences

JN564038: Chinese cabbage verticillium wilt caused by *V. dahliae*; GU461623 and GU461611: Tomato verticillium wilt caused by *V. dahliae*; GU461609: Cotton verticillium wilt caused by *V. dahliae*;
GQ495791: *V. dahliae* strain Ve005; GQ495792: *V. longisporum* strain Ve007.

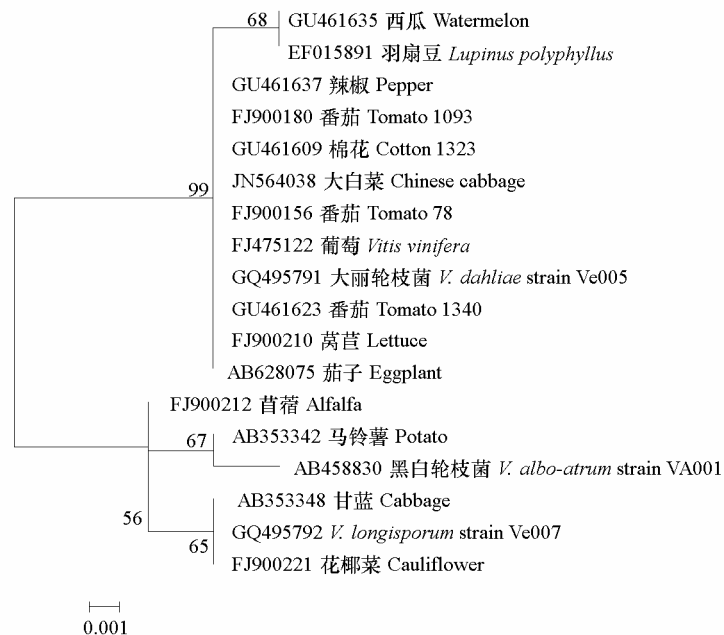


图 6 基于 *Verticillium* 属及其近缘属种的 ITS 区序列构建的 NJ 树

Fig. 6 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree based on rDNA-ITS region sequences of *Verticillium* and close relative species

3 讨论

黄萎病是由半知菌亚门丛梗孢目轮枝菌属真菌所引起的土传维管束病害。轮枝菌属种类繁多，其中黑白轮枝菌和大丽轮枝菌是引起世界范围内广泛寄主植物产生黄萎病的两种病原菌，本试验中对北京市农林科学院蔬菜研究中心大白菜试验地发生的新病害进行分离，鉴定了该病害是由大丽轮枝菌 (*V. dahliae*) 引起的大白菜黄萎病。大白菜黄萎病病原菌 ITS (JN564038) 与发育树中不同地区不同寄主作物如番茄、棉花、辣椒、葡萄等 *V. dahliae* 菌 ITS 序列聚为一支 (GU461623、GU461609、GU461637、FJ475122)，而与加利福尼亚—花椰菜、日本—甘蓝分离出的黄萎病病原菌 *V. longisporum* rDNA-ITS 区序列 (FJ900221、AB353348) 遗传距离较远。通过序列比对发现，与 GQ495792 一样，在保守区域 FJ900221、AB353348 也存在图 5 中的 6 个单碱基位点差异。所以推测保守区域的碱基位点差异是引起遗传距离不同的关键因素，这种差异可能是由不同地理位置的菌系发生碱基突变或分化差异所致。

普遍认为大部分寄主植物分离的 *V. dahliae* 和 *V. albo-atrum* 群都是短孢子类型，核 DNA 含量低，而从十字花科分离出的多是 *V. dahliae*，长孢类型，均产生微菌核，该研究分离的大白菜黄萎病致病菌经鉴定也是 *V. dahliae*，长孢，并产生大量微菌核，这与人 (Collins et al., 2003) 对十字花科寄主作物黄萎病分离群的报道一致。另外，对大白菜大丽轮枝菌菌落生长最适温度进行比较，认为 22℃ 生长速度高于 26℃，与前人 (朱有勇, 2000; 朱建兰和常永义, 2004; 李海莲, 2005) 报道的棉花、茄子大丽轮枝菌最适温度 25℃ 有些差异，可能是由于菌系分化差异或者不同寄主作物对环境的适应性不同引起的。

目前，国内对棉花、番茄、茄子、辣椒等作物黄萎病已有报道，抗黄萎病相关基因的连锁分子标记也有研究 (王芙蓉 等, 2007; 雷娜 等, 2011)，对大白菜黄萎病致病菌的研究尚未见报道。本

试验中通过形态学和分子生物学技术明确了北京地区大白菜黄萎病是由大丽轮枝菌引起的,至于国内其他大白菜生产基地黄萎病致病菌是否一样,需要进行更大范围的病样采集和病原学研究。此外需进一步开展黄萎病菌的寄主范围测定,致病力强弱、不同地理位置分离物是否存在分化,以及抗黄萎病基因的挖掘,抗性育种材料的筛选鉴定等研究工作。大白菜黄萎病是土传病害,一旦流行会造成生产者很严重的损失,应引起高度重视,抗黄萎病品种的选育也将成为今后大白菜育种工作的重点内容之一。

References

- Bhat R G, Subbarao K V. 1999. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 89: 1218 – 1225.
- Collins A, Okoli C A N, Morton A, Parry D, Simon G Edwards, Barbara D J. 2003. Isolates of *Verticillium dahliae* pathogenic to Crucifers are of at least three distinct molecular types. *Phytopathology*, 93: 364 – 376.
- Eynck C, Koopmann B, Grunewaldt-Stoecker G. 2007. Differential interactions of *Verticillium longisporum* and *V. dahliae* with *Brassica napus* detected with molecular and histological techniques. *European Journal of Plant Pathology*, 118 (3): 259 – 274.
- Fang Zhong-da. 1998. Research method for plant pathology. The third editon. BeiJing: China Agriculture Press: 64, 125, 137. (in Chinese)
- 方中达. 1998. 植病研究方法. 第3版. 北京: 中国农业出版社: 64, 125, 137.
- Horiuchi S, Hagiwara H, Takeuchi S. 1990. Host specificity of isolates of *Verticillium dahliae* towards cruciferous and solanaceous plants. *Biological Control of Soil-borne Pathogens*, 285 – 298.
- Koike S T, Subbarao K V, Davis R M, Gordon T R. 1994. *Verticillium* wilt of cauliflower in California. *Plant Disease*, 78 (11): 1116 – 1121.
- Krikun J, Bernier C. 1987. Infection of several crop species by two isolates of *Verticillium dahliae*. *Can J Plant Pathol*, 9: 241 – 245.
- Lei Na, Li Jing-fu, Kang Li-gong, Wang Ao-xue, Xu Xiang-yang. 2011. AFLP and SSR molecular markers linked to *Verticillium* wilt resistance gene *Ve* in tomato. *Acta Phytopathologica Sinica*, 41(1): 80 – 84. (in Chinese)
- 雷娜, 李景富, 康力功, 王傲雪, 许向阳. 2011. 番茄黄萎病抗病基因 *Ve* 的 AFLP 和 SSR 分子标记. *植物病理学报*, 41 (1): 80 – 84.
- Li Hai-lian. 2005. The characterization and genomic DNA ISSR fingerprinting of *Verticillium dahliae* of eggplant isolates[M.D.Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 李海莲. 2005. 茄子黄萎病病原菌鉴定及其 ISSR 分子指纹分析 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Subbarao K V, Chassot A, Gordan T R, Koike S T. 1995. Genetic relationships and cross pathogenicities of *Verticillium dahliae* isolates from cauliflower and other crops. *Phytopathology*, 85: 1105 – 1112.
- Stark C. 1963. The occurrence of *Verticillium tracheomycoses* in Hamburg horticultural crops: A contribution to a knowledge of their agents. *Rev Appl Biol*, 42: 181 – 182.
- Wang Fu-rong, Liu Ren-zhong, Wang Liu-ming, Zhang Chuan-yun, Zhang Jun. 2007. Molecular markers of *Verticillium* wilt resistance in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivar and their effects on assisted phenotypic selection. *Cotton Science*, 19 (6): 424 – 430. (in Chinese)
- 王芙蓉, 刘任重, 王留明, 张传云, 张军. 2007. 陆地棉品种抗黄萎病性状的分子标记及其辅助选择效果. *棉花学报*, 19 (6): 424 – 430.
- Watanabe T, Ozawa M, Sakai R. 1973. A new disease of chinese cabbage caused by *Verticillium albo-atrum* and some factors related to the incidence of the disease. *Ann Phytopath Soc Japan*, 39: 344 – 350.
- Zhu Jian-lan, Chang Yong-yi. 2004. The pathogens identified on eggplant of *Verticillium* wilt. *Journal of Gansu Agricultural University*, 5: 554 – 558. (in Chinese)
- 朱建兰, 常永义. 2004. 兰州地区茄子黄萎病病原鉴定. *甘肃农业大学学报*, 5: 554 – 558.
- Zhu You-yong. 2000. Pathogenicity differentiation and DNA polymorphism of the isolates of *Verticillium dahliae* in cotton[Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 朱有勇. 2000. 棉花黄萎病菌致病性分化与 DNA 多态性研究 [博士论文]. 北京: 中国农业大学.