

陈嘉敏, 郭茂超, 朱志强, 罗美林, 魏蜜. 省沽油叶枯病原菌的分离鉴定及药剂筛选试验 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(3): 101-106.

省沽油叶枯病原菌的分离鉴定及药剂筛选试验

陈嘉敏^{1,2}, 郭茂超¹, 朱志强¹, 罗美林¹, 魏蜜¹

(1. 湖北工程学院生命科学技术学院 / 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室, 湖北 孝感 432000;
2. 湖北大学生命科学学院, 湖北 武汉 430062)

摘要:【目的】在孝感市农科院试验园发现一种引起省沽油叶枯病的新病害, 明确了该病害的病原物和防治药剂。【方法】通过对病原菌分离培养、致病性测定、形态学观察、分子生物学鉴定、脂肪酸成分辅助分析及室内防治药剂筛选进行初步研究。【结果】该病害是由互隔交链孢霉 (*Alternaria alternata*) 真菌引起的, 该病原菌菌落为青灰色, 分生孢子串联成长链状, 大小为 $3.5\sim 15.8\ \mu\text{m} \times 7.6\sim 46.5\ \mu\text{m}$, 有 2~10 个横隔膜和 0~3 个纵斜隔膜。且接种病原菌 14 d 后叶片的症状与田间发病植物相似, 再次从接种后发病叶片重新分离出病原真菌, 分子鉴定结果显示分离出的病原菌与接种真菌一致。在供试药剂中, 戊唑·咪鲜胺抑菌效果最好, EC_{50} 最低, 为 $0.4004\ \mu\text{g}/\text{mL}$, 在药剂包装推荐使用浓度基础上再稀释 5 000 倍, 仍有抑菌作用, 抑菌率达 42.8%。其次是烯酰·咪鲜胺、福·福锌和三环·氟环唑, EC_{50} 分别为 1.4619、1.756、6.0559 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。【结论】首次发现引起省沽油叶枯病的病原物为互隔交链孢霉 (*Alternaria alternata*) 真菌, 在供试药剂中戊唑·咪鲜胺抑菌效果最好。

关键词: 省沽油 (*Staphylea bumalda*); 互隔交链孢霉; 叶枯病; 药剂筛选; 致病性测定

中图分类号: S435.659

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2019) 03-0101-06

Isolation and Identification of Pathogen of *Staphylea bumalda* Leaf Blight and Test of Fungicide Screening

CHEN Jiamin^{1,2}, GUO Maochao¹, ZHU Zhiqiang¹, LUO Meilin¹, WEI Mi¹

(1. College of Life Science and Technology, Hubei Engineering University/ Hubei Key Laboratory of Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetables, Xiaogan 432000, China;
2. School of Life Science, Hubei University, Wuhan 430062, China)

Abstract: 【Objective】A new disease causing *Staphylea bumalda* leaf blight was observed in the experimental garden in Xiaogan Academy of Agricultural Sciences and its pathogen and fungicides were identified. 【Method】Preliminary research was conducted through the isolation and culture of pathogen, pathogenicity determination, morphological observation, molecular biological identification, fatty acid composition analysis and screening of indoor fungicides. 【Result】The disease was caused by *Alternaria alternata* fungus. The bacterial colony of the pathogen was steel-gray, and the conidia were connected in series to form a chain with a size of $3.5\sim 15.8\ \mu\text{m} \times 7.6\sim 46.5\ \mu\text{m}$ with 2~10 transverse septa and 0~3 longitudinal and oblique septa. In addition, it was observed that the symptoms of leaves were similar to those of diseased plants in the field 14 days after inoculation of pathogen. The pathogenic fungi were re-isolated from the diseased leaves after inoculation. Molecular identification results showed that the isolated pathogens were consistent with inoculated fungus. Among the tested fungicides, Amidazole amidazine had the best bacteriostatic effect,

收稿日期: 2018-11-24

基金项目: 国家自然科学基金 (31600055); 中国博士后基金面上项目 (2018M642815)

作者简介: 陈嘉敏 (1995—), 女, 在读硕士生, E-mail: 1002359952@qq.com

通信作者: 魏蜜 (1987—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为微生物学和植物病害生物防治, E-mail: weimi555@163.com

with EC_{50} being the lowest at 0.4004 (g/mL). After being diluted 5 000 times on the basis of recommended concentration indicated on fungicide packaging, it still had bacteriostatic effect with a bacteriostatic rate is 42.8%. The effects of Enoyl imidamine, Fu Fu zine and Tricyclic fluoryclazole were inferior to that of Amidazole amidazine, with an EC_{50} of 1.461 9 μ g/mL, 1.756 2 μ g/mL, 6.055 9 μ g/mL, respectively. 【Conclusion】 For the first time, the pathogen causing *S. bumalda* leaf blight was found to be *A. Alternate* fungi. Among the four tested fungicides, Amidazole amidazine had the best bacteriostatic effect.

Key words: shenguyou (*Staphylea bumalda*); *Alternaria alternate*; brown leaf blight; chemicals selection; pathogenicity determination

【研究意义】省沽油 (*Staphylea bumalda*) 是我国珍稀的木本油料, 主要分布于浙江、江西、云南等省, 现在北京及其以南地区也已广泛栽培, 花白如雪, 给人以清新淡雅之感, 在园林绿化中应用广泛, 是鄂北地区的特色经济作物, 具有种植投入少、管理技术简单、适种范围广泛、经济收益丰厚、劳动强度适中等优点。因此, 人工种植省沽油日渐成为农民增收的重要渠道, 并成为精准扶贫、产业扶贫的优质项目被多地基层政府在贫困山区广泛推广。同时, 省沽油也是一种天然野生食品, 其嫩叶和花朵具有很高的食用和药用价值, 被用作止咳药、止泻药和产后血液清凉剂等^[1], 且能够降低血脂和胆固醇浓度, 调节血压, 减少老年痴呆症、癌症及许多心血管类疾病的发生, 提升人体免疫力等, 在开发为保健食品上有较高的经济价值。此外, 种子油含量和质量都很好。有研究发现, 种子出油率可达 30% 左右^[2], 其嫩叶、嫩梢和花蕾中含有丰富的不饱和脂肪酸、维生素、粗蛋白、总氨基酸和必需氨基酸等营养成分^[3], 具有广泛的应用前景。而 2017 年 6 月, 省沽油叶枯病在湖北省孝感市农科院试验园被发现, 其发病率约为 30%。受害叶片从叶尖开始发病, 随后延伸至中部甚至整个叶片, 在大规模种植条件下该病害可能会普遍发生, 对于省沽油工业的发展是一个潜在的巨大风险。【前人研究进展】目前, 国内还未见有关于省沽油病害发生的相关报道。【本研究切入点】为防止该病害大面积发生, 造成严重经济损失, 对该病害病原菌进行分离鉴定及防治药剂筛选研究。【拟解决的关键问题】通过对样品的采集、组织分离培养、致病性测定、形态学观察和分子生物学鉴定, 明确了该病害的病原菌种类; 并通过室内药剂筛选试验, 为省沽油叶枯病综合防治措施提供一定的理论基础依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试省沽油叶枯病叶片和健康省沽油植株于 2017 年 6 月采自湖北省孝感市农科院试验园。供试药剂: 30% 三环·氟环唑悬浮剂, 江苏丰登作物保护股份有限公司生产; 30% 烯酰·咪鲜胺悬浮剂, 江苏辉丰农化股份有限公司生产; 37% 戊唑·咪鲜胺水乳剂, 江苏省农垦生物化学有限公司生产; 80% 福·福锌可湿性粉剂, 山东慧邦生物科技有限公司生产。马铃薯购于孝感当地超市, 葡萄糖和琼脂购于生工生物工程(上海)股份有限公司。

马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)^[4]: 马铃薯 200 g 去皮切碎, 沸水加热 30 min, 用纱布滤去马铃薯残渣, 加水补足至 1000 mL, 加入 20 g 葡萄糖和 18 g 琼脂。马铃薯葡萄糖培养基 (PD) 则不加琼脂。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌分离及纯化 采用组织分离法^[4]对采集的病害叶片进行分离, 剪取 3 mm × 3 mm 病健交界处的叶组织, 用无菌水冲洗 3 次后, 用 0.1% 升汞冲洗 3 min, 用 70% 酒精再次冲洗 3 min 进行消毒, 再用无菌水冲洗 3 次后, 移置 PDA 培养基平板上 25℃ 恒温培养。将长出的菌落挑取边缘菌丝进行纯化, 然后保存备用。

1.2.2 致病性测定 根据科赫氏法则对分离得到的纯化病原菌进行致病性测定。将病原菌置于 PDA 平板培养基上培养, 待产生大量孢子后, 加入无菌水冲洗, 收集孢子悬浮液; 选择健康的省沽油叶片, 叶片用 70% 酒精表面消毒后, 将孢子悬浮液 (1.0×10^6 个孢子/mL) 进行喷雾接种, 以喷洒无菌水为对照。接种后 14 d 观察叶片发病情况, 并拍照记录。从接种的有症状的叶子中再

次重新分离出真菌鉴定。

1.2.3 病原菌鉴定

(1) 病原菌形态学鉴定: 将纯化的病原菌接种于 PDA 培养基上, 于 25℃ 恒温培养箱中培养 7 d 后观察菌落形态。培养至产孢后在荧光倒置显微镜下观察分生孢子的形态, 选取 50~100 个分生孢子测量其大小取平均值。根据上述特征进行形态学鉴定。

(2) 病原菌分子生物学鉴定: 参照申光辉等^[5]的实验方法略作改动, 获得该病原菌的基因 DNA, 选用 ITS4 (5' -TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 和 ITS5 (5' -GGAAGTAAAAGTCGTAACAA-3') 为引物进行 PCR 扩增, 反应条件: 94℃ 变性 4 min; 94℃ 变性 30 s; 55℃ 退火 30 s; 72℃ 延伸 1 min, 33 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min。得到产物经过琼脂糖凝胶电泳检测后, 送往天一辉远生物科技有限公司进行测序, 测序结果在 NCBI 网站通过 BLAST 进行同源性比较, 用 MEGA 6.0 构建系统发育树。

(3) 病原菌脂肪酸鉴定: 参照 Fernandes 等^[6]的方法略作改动, 将病原菌菌落用沙氏葡萄糖琼脂培养基 (于青岛海博生物技术有限公司购买) 培养, 使用脂肪酸提取剂 (皂化试剂、甲基化试剂、萃取试剂和洗涤试剂, 美国 Fisher 公司提供) 对待测微生物进行脂肪酸提取, 提取的脂肪酸通过全自动微生物鉴定仪进行分析鉴定, 结果通过微生物细胞脂肪酸成分鉴定软件 MIS4.5 (microbial identification system) 和 LGS4.5 (library generation software) 保存记录, 并与数据库中标准菌种的脂肪酸信息进行比对。

1.2.4 室内药剂筛选试验 将已灭菌的 PDA 培养基溶解, 待降到适宜温度后, 按照试验设计 (表 1) 加入药剂混合均匀倒入灭菌培养皿 (直径 9 cm) 中, 配成对应浓度的含杀菌剂平板, 取新鲜病原菌用 6 mm 打孔器打取菌饼接种于平板中央, 以不加杀菌剂的 PDA 为对照, 每个浓度处理 3 次重复, 每个重复 1 皿, 25℃ 恒温培养 7 d 后, 用十字交叉法测量菌落直径, 计算试验药剂对病原菌生长的抑制率^[7], 将抑制率转换为几率值^[8] (y), 求出供试药剂浓度的对数值 (x), 用 EXCEL 建立毒力回归方程式^[9], 求出 EC_{50} 。

表 1 供试药剂试验浓度

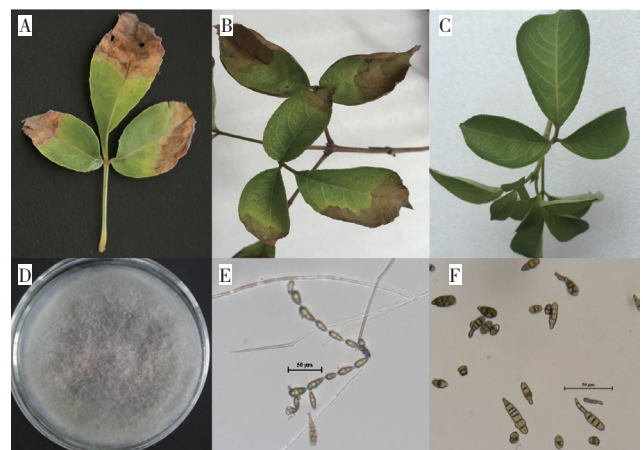
Table 1 The concentration of selected fungicides

药剂 Fungicide	稀释倍数 / 质量浓度 Dilution/Concentration (μ g/mL)			
	I	II	III	IV
30% 三环·氟环唑	900 000/1.11	306 000/3.27	900 00/11.11	1 800/555.56
30% Tricyclic fluoconazole				
30% 烯酰·咪鲜胺	2 800 000/0.36	700 000/1.43	210 000/4.76	7 000/142.86
30% Enoyl imidamine				
37% 戊唑·咪鲜胺	1 800 000/0.56	300 000/3.33	75 000/13.33	7 500 000/0.13
37% Amidazole amidazine				
80% 福·福锌	1 600 000/0.625	800 000/1.25	120 000/8.33	8 000/125
80% Fu Fu zine				

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离纯化及致病性测定

用分离纯化的病原菌喷雾接种的省沽油叶片 (图 1B, 彩版见封三) 从叶尖开始出现枯黄, 随后延伸至中部甚至整个叶片, 发病症状与田间自然发病的省沽油叶片 (图 1A) 基本相同。而用无菌水喷雾的对照叶片 (图 1C) 表现为健康状态; 采取人工接种发病叶片的病健交界处进行病原菌分离培养, 与最初分离的病原菌形态一致。根据柯赫氏法则, 说明分离的病菌即为省沽油叶枯病致病菌。



A: 自然发病症状; B: 人工接种发病症状; C: 正常叶片;
D: PDA 培养基菌落形态; E、F: 分生孢子
A: Natural disease symptom; B: Symptom of artificial inoculation;
C: Healthy leaves; D: Colony morphology on PDA medium;
E, F: Conidiophore

图 1 省沽油叶枯病症状、致病性试验结果及病原菌形态特征

Fig.1 Symptoms of *Staphylea bumalda* leaf blight, results of pathogenicity and colony morphology on PDA medium

2.2 病原菌形态学鉴定

观察在 PDA 平板上生长的分离纯化的病原菌, 菌落颜色呈青灰色 (图 1D), 在生长 7 d 后长满培养皿 (直径 9 cm)。在显微镜下观察, 分生孢子呈倒棒状, 串联成长链状, 大小为 $3.5\sim 15.8\ \mu\text{m}\times 7.6\sim 46.5\ \mu\text{m}$, 有 2~10 个横隔膜和 0~3 个纵斜隔膜 (图 1E、F)。根据病原菌的形态特征初步鉴定该病害是由互隔交链孢霉 (*A. alternata*) 真菌引起的。

2.3 病原菌分子生物学鉴定

病原菌的 rDNA-ITS 区域经 PCR 扩增产物, 获得了 590 bp 左右的碱基序列, 将该序列提交至 GenBank (登录号: MF614038)。利用 BLAST 搜索, 用 MEGA 6.0 构建系统发育树。进行同源性比较, 发现与 *A. Alternata* MG569550 菌株的 ITS 序列相似度达 99% (图 2)。结合病原菌的形态特征及 ITS 序列分析, 确定该病害病原菌为互隔交链孢霉 (*A. alternata*)。

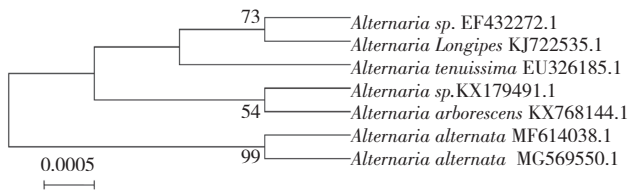


图 2 病原菌 ITS 聚类分析结果

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis on pathogen constructed based on rDNA-ITS sequences

2.4 病原菌脂肪酸鉴定

根据全自动微生物鉴定仪匹配结果, 依据 Buyer 等^[10]的原则: 相似度 (similarity index, SI) 是指待测菌株与系统谱库中的标准菌株数值

表 2 供试病原菌株脂肪酸鉴定结果
Table 2 Results of fatty acid identification of tested pathogen strains

数据库	相似度	菌株鉴定结果
Data	SI	Identification results of strains
FUNGI	0.702	茎瘤属 <i>Phoma</i> spp.
3.80	0.634	青霉菌属 <i>Penicillium-notatum</i>
	0.619	寄生曲霉属 <i>Aspergillus-parasiticus</i>
	0.612	乌劳属 <i>Ulocladium</i> spp.
	0.607	毛壳菌属 <i>Chaetomium</i> spp.
	0.571	构巢曲霉属 <i>Aspergillus-nidulans</i>
	0.517	互隔交链孢霉 <i>Alternaria-alternata</i>
	0.501	石膏样小孢子菌 <i>Microsporium-gypseum</i>
	0.487	绿僵菌属 <i>Metarhizium</i> spp.
	0.481	灰绿曲霉 <i>Aspergillus-glaucus</i>

的匹配程度。相似度 <0.2 , 结果不可用。通过表 2 脂肪酸鉴定结果与 2.3 鉴定结果相互验证, 发现与 *A. alternata* 最相似, 相似度为 0.517。

2.5 室内药剂筛选

由表 3 可知, 供试的 4 种杀菌剂对省沽油叶枯病的生长都有抑制作用。其中杀菌剂 37% 戊唑·咪鲜胺水乳剂 EC_{50} 最低, 为 $0.4004\ \mu\text{g/mL}$, 其抑菌效果最好, 在药剂包装推荐使用浓度基础上稀释 50 倍, 其相对抑菌率达 78.5%, 在推荐使用浓度基础上再稀释 5 000 倍, 仍有抑菌作用, 抑菌率达 42.8%。其次是 30% 烯酰·咪鲜胺悬浮剂和 80% 福·福锌可湿性粉剂, EC_{50} 分别为 1.4619 、 $1.7562\ \mu\text{g/mL}$, 抑菌效果较好, 30% 烯酰·咪鲜胺在药剂包装推荐使用浓度基础上稀释 10 倍, 其相对抑菌率达 83.7%; 80% 福·福锌在药剂包装推荐使用浓度基础上稀释 20 倍, 其相对抑菌率达 82.2%, 两者同时在推荐使用浓度基础上再稀释 4 000 倍, 也仍有抑菌作用, 抑菌率达 39%。最后是 30% 三环·氟环唑悬浮剂, EC_{50} 为 $6.0559\ \mu\text{g/mL}$, 该药剂在推荐使用浓度基础上稀释 20 倍, 抑菌率达 75.8%, 在推荐使用浓度基础上再稀释 1 000 倍, 抑菌率达 38.4%, 相较于 37% 戊唑·咪鲜胺、30% 烯酰·咪鲜胺和 80% 福·福锌抑菌效果较差。

表 3 不同杀菌剂对病原菌的毒力

Table 3 Toxicity of different fungicides on the pathogen

供试药剂	毒力回归方程	有效中浓度	决定系数
Tested fungicides	Toxicity regression equation	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Coefficient of determination
30% 三环·氟环唑 30% Tricyclic fluoryclazole	$y=0.3749x+4.7067$	6.0559	0.9779
30% 烯酰·咪鲜胺 30% Enoyl imidamine	$y=0.4878x+4.9196$	1.4619	0.9981
37% 戊唑·咪鲜胺 37% Amidazole amidazine	$y=0.4763x+5.1893$	0.4004	0.9872
80% 福·福锌 80% Fu Fu zine	$y=0.5044x+4.8766$	1.7562	0.9980

3 讨论

链格孢属 (*Alternaria alternata*) 是一种全球常见的半知菌暗色丝孢菌, 遍布自然界和人类居住的室内环境中, 95% 以上的种类兼性寄生于植物上。可引起冬枣黑腐病^[11]、鸭梨黑斑病^[12]、

葡萄穗轴褐枯病^[13]等水果病害；同时，链格孢属真菌还广泛寄生于农作物，引起甜瓜^[14]、马铃薯^[15]、大豆^[16]、西葫芦和南瓜^[17]等数十种作物的病害，以及柚木^[18]、冬青卫矛^[19]和单叶蔓荆^[20]等园林植物病害，给国内外农业和水果产业造成重大经济损失。美国曾报道由瓜链格孢 (*A. cucumerina*) 和茄链格孢 (*A. dauci* (*Kuhn*) *Groves et Skolko f. sp. solani*) 引起的叶斑病和大豆猝倒病极度限制了美国甜瓜和西葫芦等的种植，使伊利洛州的大豆产量损失 15%。在我国，葱链格孢 (*A. porri*) 引起的大葱紫斑病限制我国葱的出口，造成经济损失达 5 000 万元^[21]。因此，为避免省沽油在产业化种植中出现该病害浸染，对该病害的鉴定及初步防治研究十分必要。

4 结论

本研究通过田间调查和采集样品，使用柯赫氏法则进行致病性测定，并利用形态学观察、分子生物学和脂肪酸鉴定，明确了省沽油叶枯病的病原菌为互隔交链孢霉 (*A. alternate*)。经过查阅国内文献发现，由 *A. alternate* 引起的省沽油叶枯病为国内首次报道。同时为了避免该病害发生时盲目使用杀菌剂，对该病害进行室内防治药剂筛选，结果发现在供试药剂中，戊唑·咪鲜胺抑菌效果最好，EC₅₀ 为 0.4004 g/mL，其次是烯酰·咪鲜胺、福·福锌和三环·氟环唑。但室内药剂筛选结果由于采用平板打孔法测定，结果会受到药剂扩散能力与药剂产品批号等的影响，具一定局限性。因此，本试验测定结果只可为省沽油叶枯病的田间药剂防治试验提供借鉴基础。

参考文献 (References) :

[1] 朱倩. 4 种省沽油属植物总酚类物质抗氧化活性的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2010 (5) : 1100-1102.
ZHU Q. Study of the total phenolic the total phenolic content and antioxidant activity in different fractions of four *Staphylea* L. species [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2010(5): 1100-1102.

[2] 刘正祥, 张华新, 刘涛. 省沽油种子油脂分析与功能特性评价 [J]. 林业科学, 2008, 44 (2) : 48-54.
LIU Z X, ZHANG H X, LIU T. Analysis and functional evaluation of *staphylea bumalda* seed oil [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2008, 44 (2) : 48-54.

[3] 姚国新, 徐雪, 鲁旭东, 田春元. 特用木本植物省沽油的研究综述 [J]. 湖北工程学院学报, 2016, 36 (3) : 60-62.
YAO G X, XU X, LU X D, TIAN C Y. Summary of research

on special woody plants of *staphylea bumalda* [J]. *Journal of Hubei Engineering University*, 2016, 36(3): 60-62.

[4] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 10-62.
FANG Z D. Research methods of plant diseases [M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 1998: 10-62.

[5] 申光辉, 薛泉宏, 赵娟. 草莓土赤壳菌根腐病原鉴定及生物学特性 [J]. 西北农业学报, 2018, 27 (7) : 1032-1040.
SHEN G H, XUE Q H, ZHAO J. Isolation and identification of strawberry *Fusarium* Wilt pathogen and fungicides screening [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2018, 27(7): 1032-1040.

[6] FERNANDES M , SAXENA J , DICK R . Comparison of whole-cell fatty acid (MIDI) or phospholipid fatty acid (PLFA) extractants as biomarkers to profile soil microbial communities [J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(1):145-157.

[7] GORGOLOUS S G. Detection and measurement of fungicide resistance general principles [J]. *FAO Plant Prot Bull*, 1982, 30(2): 39-71.

[8] 朱洁倩, 魏蜜, 张伟, 刘月, 傅本重, 王立华, 李国元. 白睡莲黑斑病菌的生物学特性及室内防治药剂筛选 [J]. 江苏农业科学, 2018, 46 (8) : 117-119.
ZHU J Q, WEI M, ZHANG W, LIU Y, FU B Z, WANG L H, LI G Y. Biological characteristics of leaf spot disease pathogen on *Nymphaea* L. and its fungicides screening [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(8): 117-119.

[9] 明道绪. 田间试验与统计分析 [M]. 北京: 科学出版社, 2008: 158-165.
MIN D X. Field experiment and statistical analysis [M]. Beijing: Science Press, 2008: 158-165.

[10] BUYER J S, ROBERTS D P, RUSSEK-COHEN E. Soil and plant effects on microbial community structure [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2002, 48(11):955.

[11] 蒋卉, 朱丽霞, 郭东起. 冬枣采后黑腐病病原菌分离鉴定及控制研究 [J]. 北方园艺, 2014 (9) : 133-136.
JIANG H, ZHU L X, GUO D Q. Study on the isolation, identification and control of blank mould pathogen of winter jujube after postharvest [J]. *Northern Horticulture*, 2014(9): 133-136.

[12] 杨晶琪, 崔咏, 曹建康, 姜微波. 葡萄籽提取物对鸭梨果实黑斑病和青霉病的抑制作用 [J]. 食品科技, 2010 (7) : 200-203.
YANG J Q, CUI S, CAO J K, JIANG W B. Inhibitory effects on black mould disease and green mould disease in yali pear fruit ba the treatment with GSE [J]. *Food Science and Technology*, 2010(7): 200-203.

[13] 杨超, 张国丽, 任毓忠, 钟杨琼, 高祥雷, 李卓, 张亚平, 李国英. 北疆沿天山北坡一带葡萄穗轴褐枯病病原菌的鉴定 [J]. 植物保护, 2017, 43 (3) : 129-135.
YANG C, ZHANG G L, REN Y Z, ZHONG Y Q, GAO X L, LI Z, ZHANG Y P, LI G Y. Identification of the pathogens of grape spike-stalk brown along the Tianshan mountains [J]. *Plant Protection*, 2017, 43(3): 129-135.

[14] 姚协丰, 李萃芳, 朱凌丽, 徐锦华, 张曼, 任润生, 刘广, 侯茜, 羊杏平. 甜瓜链格孢叶斑病的 2 种抗性接种鉴定方法比较 [J]. 浙江农

- 业科学, 2018, 59(1): 34-36.
- YAO X F, LI P F, ZHU L L, XU J H, ZHANG M, REN R S, LIU G, HOU Q, YANG X P. Comparison of two inoculation methods for identification of resistance to *Alternaria* leaf spot in Melon [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2018, 59(1): 34-36.
- [15] 左豫虎, 史洁, 韩青梅, 康振生, 台莲梅, 刘铜. 茄链格孢菌侵染马铃薯叶片过程的细胞学观察 [J]. *中国蔬菜*, 2011(14): 35-40.
- ZUO Y H, SHI J, HAN Q M, KANG Z S, TAI L M, LIU T. Cytology observation on process of potato leaves infected by *Alternaria solani* [J]. *China Vegetables*, 2011(14): 35-40.
- [16] 冉俊祥, 肖杰文, 杨占臣, 刘月廉. 美国大豆中链格孢的分离鉴定研究 [J]. *植物检疫*, 2011, 25(3): 17-22.
- RAN J X, XIAO J W, YANG Z C, LIU Y L. Identification of *Alternaria* isolates from America soybean [J]. *Plant Quarantine*, 2011, 25(3): 17-22.
- [17] 杨克泽. 南瓜叶枯病病原菌鉴定及品种抗病性研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- YANG K Z. Identification of pumpkin leaf blight pathogens and study on disease resistance of pumpkin varieties [D]. Lan zhou: Gansu Agricultural University, 2009.
- [18] 练启仙, 桑维钧, 李小霞, 杨茂发. 柚木褐斑病原菌的鉴定及室内药剂筛选 [J]. *广东农业科学*, 2010, 37(2): 93-95.
- Lian Q X, Sang W J, Li X X, Yang M F. Pathogenic identification of tectona foxiness and its control fungicides selection [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2010, 37(2): 93-95.
- [19] 邢顺林, 段双全, 许鹏辉. 冬青卫矛茎内寄生链格孢属真菌生物学特性分析 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39(19): 131-133.
- XING S L, DUAN S Q, XU P H. Analysis of the biological characteristics of the parasitic *Alternaria* in *Euonymus japonicus* stem [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(19): 131-133.
- [20] 詹寿发, 张红芳, 彭琴, 甘金莲, 樊有赋, 陈晔. 单叶蔓荆内生真菌多样性研究 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39(20): 18-20.
- ZHAN S F, ZHANG H F, PENG J, GAN J L, FAN Y F, CHEN Y. Diversity of endophytic fungi isolated from *Vitex trifolia* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(20): 18-20.
- [21] 谢红艳. 我国部分区域链格孢属 (*Alternaria* Nees) 真菌的资源调查与形态和分子鉴定研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2006: 7-8.
- XIE Y H. Studies on investigation and morphologic and molecular identification of the genus *Alternaria* nees from some areas of China [D]. Guiyang: Guizhou University, 2006: 7-8.

(责任编辑 杨贤智)