

适合 *Pilidium lythri* 菌丝生长和产孢的培养基

张桂军, 郭巍, 毕扬*, 杨宝东, 张伟, 宗召莉

(农业应用新技术北京市重点实验室, 植物生产国家级实验教学示范中心, 北京农学院, 北京 102206)

摘要 由 *Pilidium lythri* 引起的草莓褐色叶斑病是在草莓 *Fragaria × ananassa* 上发现的一种新病害。病原菌在 PDA(马铃薯葡萄糖琼脂)培养基上生长速度慢, 产孢量低。为了探讨不同培养基对 *P. lythri* 菌丝生长和产孢的影响, 筛选适合该病原菌菌丝生长和大量产孢的培养基, 本文比较了 10 种培养基对 *P. lythri* 生长和产孢的影响, 结果表明, SPDA(添加 1.2% 草莓果汁的马铃薯葡萄糖琼脂)培养基可以促进 *P. lythri* 菌丝生长; CA(胡萝卜琼脂)培养基、V8 培养基和 TPDA(胰蛋白胨马铃薯葡萄糖琼脂)培养基则可以促进 *P. lythri* 大量产生分生孢子。

关键词 草莓褐色叶斑病; *Pilidium lythri*; 培养基; 菌丝生长; 产孢

中图分类号: S 436.5 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018090

The culture medium suit for mycelial growth and spore production of *Pilidium lythri*

ZHANG Guijun, GUO Wei, BI Yang, YANG Baodong, ZHANG Wei, ZONG Zhaoli

(Beijing Key Laboratory of New Technology in Agricultural Application, National Demonstration Center for Experimental Plant Production Education, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract *Pilidium lythri* tan-brown leaf spot of strawberry was a new disease in China. In previous studies, the widely used PDA medium had low mycelial growth rate and low yield of spores. In order to select the optimal medium for *P. lythri*, the effects of ten culture media that based on PDA medium on the mycelial growth and sporulation of *P. lythri* were compared. The results showed that SPDA (strawberry potato dextrose agar) medium can promote *P. lythri* mycelial growth, CA (carrot agar) medium, V8 medium and TPDA (tryptone) medium can promote *P. lythri* to produce conidia in large quantities.

Key words tan-brown leaf spot of strawberry; *Pilidium lythri*; medium; mycelial growth; spore production

Pilidium lythri 是国内外报道危害草莓的又一种病原真菌^[1]。该病原菌首次在日本发现危害草莓, 之后在波兰、巴西、比利时、美国和伊朗等地也有报道^[2-6], 国内目前仅在北京地区发现该病菌危害草莓^[7]。该病害发病初期在叶片中央或边缘形成圆形、水浸状、褐色病斑, 后期病斑逐渐扩大, 褐色至黑褐色, 中间灰白色, 边缘淡褐色, 潮湿条件下病部产生橘红色团状黏质小点。果实症状初期为浅褐色腐烂, 后期可导致全果腐烂, 腐烂部位产生红色团状黏质颗粒状物^[8]。

除草莓外, *P. lythri* 还可侵染油橄榄 *Olea europaea*^[9]、虎杖 *Fallopia japonica*^[10]、草甸水兰 *Hieracium caespitosum*^[11]、厚叶岩白菜 *Bergenia*

crassifolia^[12]、牡丹 *Paeonia suffruticosa*^[13]、桉树 *Eucalyptus* sp.^[14]、玫瑰 *Rosa rugosa*^[15]、欧洲李 *Prunus domestica*^[16]、芍药 *Paeonia lactiflora*^[17] 等, 造成黄褐色、深褐色相间的同心轮纹, 天气潮湿时, 病部可见橙红色或红褐色的小颗粒^[17]。目前, 关于 *P. lythri* 的生物学特性研究较多, 主要采用 PDA 培养基对其进行培养, 但一般需要培养 7 d 菌落直径才能达到 5 cm 左右, 而且产孢量较少, 存在 *P. lythri* 生长速度慢、孢子产量不够用于开展相关研究等问题。针对上述问题, 本研究采用了 10 种真菌培养基进行研究, 旨在探索更适于 *P. lythri* 病菌菌丝生长和大量产孢的培养基, 为后续该病菌的生物学特性、致病机制等研究奠定基础。

收稿日期: 2018-02-26

修订日期: 2018-03-26

基金项目: 北京市教委一般计划项目(KM201610020007); 国家自然科学基金青年基金(31501671); 国家重点研发计划(2017YFD201600)

* 通信作者 E-mail: biyang0620@126.com

1 材料与方法

1.1 供试菌株

分别于 2015 年和 2017 年从北京市昌平区小汤山、湖南省娄底市和山东省诸城市采集草莓病叶,经常规组织分离、单孢纯化^[18],获得的病原菌纯培养物,编号分别为 BJ-4、HNLD-7、HNLD-12、SD17-6 和 SD17-10。菌株 ITS 序列的测序工作由北京六合华大基因科技有限公司完成,将测序结果在 NCBI 上进行序列比对,并结合病原菌形态学观察、柯赫氏法则验证后确定为草莓褐色叶斑病菌 *P. lythri*,保存于北京农学院植物保护实验室。

1.2 供试培养基

PDA 培养基:将 200 g 去皮的马铃薯切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 20 g 葡萄糖和 20 g 琼脂粉定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

YDA 培养基:酵母粉 5 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

SPDA 培养基:将 200 g 去皮的马铃薯切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 20 g 葡萄糖,20 g 琼脂粉,加入 120 mL 鲜榨草莓汁定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

YPDA 培养基:将 200 g 去皮的马铃薯切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 20 g 葡萄糖,20 g 琼脂粉,5 g 酵母粉定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

CPDA 培养基:将 200 g 马铃薯同 100 g 胡萝卜去皮、切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 20 g 葡萄糖,20 g 琼脂粉定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

CA 培养基:200 g 胡萝卜榨汁后过滤,加入 20 g 琼脂定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

TPDA 培养基:将 200 g 马铃薯去皮、切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 20 g 葡萄糖,20 g 琼脂粉,2 g 胰蛋白胍定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

2P2DA 培养基:将 400 g 马铃薯去皮、切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 40 g 葡萄糖,20 g 琼脂粉,2 g 胰蛋白胍定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

P2DA 培养基:将 200 g 马铃薯去皮、切块,煮 30 min 至软烂,4 层纱布过滤后,加入 40 g 葡萄糖,

20 g 琼脂粉定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

V8 培养基:V8 蔬菜汁 200 mL,加碳酸钙 3 g,琼脂粉 20 g 定容于 1 L 水中,于 121℃ 高压湿热灭菌 20 min。

1.3 不同培养基对病原菌菌丝生长影响测定

1.3.1 菌丝生长速率的测定

打取直径 5 mm 的草莓褐色叶斑病菌菌饼,分别接种于 PDA、YDA、SPDA、YPDA、CPDA、CA、TPDA、2P2DA、P2DA 和 V8 培养基上,25℃ 黑暗培养 7 d,采用十字交叉法测量菌落直径,数据采用 SPSS 软件中的最小显著差异法进行统计分析。每菌株每种培养基 3 次重复,试验重复 2 次。

1.3.2 菌丝干重的测定

选择 1.3.1 中菌丝生长量较大的培养基配方进行菌丝干重的测定。在不同培养基平板表面铺放灭菌玻璃纸,接种菌饼后于 25℃ 黑暗培养 7 d,刮取菌丝,烘干,测量菌丝干重,数据采用 SPSS 软件中的最小显著差异法进行统计分析。

1.4 不同培养基对病原菌产孢量影响测定

打取直径 5 mm 的草莓褐色叶斑病菌菌饼,分别接种于 PDA、YDA、SPDA、YPDA、CPDA、CA、TPDA、2P2DA、P2DA 和 V8 培养基的平板上,25℃ 黑暗培养 8 d。采用直径 5 mm 的打孔器分别从上述培养平板中心接菌处向外依次辐射状打取一定数量的菌饼,并记录打取的菌饼数,置于加有 10 mL 无菌水(添加 0.1%吐温-20)的离心管中,加入 5~8 粒灭菌玻璃珠,振荡 2 min 洗脱孢子,用血球计数板计算孢子数,每处理重复 3 次,计算每平方厘米的孢子数量,并采用 SPSS 软件中的最小显著差异法进行统计分析,试验重复 2 次。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对菌丝生长速率的影响

草莓褐色叶斑病菌 BJ-4、HNLD-7、HNLD-12、SD17-6 和 SD17-10 在 PDA、YDA、SPDA 等培养基上,于 25℃ 恒温条件下培养,7 d 后测定菌落直径,结果表明,5 株供试菌株在 SPDA 培养基上生长最快,其菌丝生长速率最大,为 0.87 cm/d,其次在 P2DA、CPDA、TPDA、2P2DA 和 CA 培养基上生长也较快,V8 和 YDA 培养基上生长较慢,其中以在 V8 培养基上生长最慢,菌丝生长速率最小,为 0.63 cm/d (表 1)。

表 1 不同培养基对 *Pilidium lythri* 菌丝生长速率的影响¹⁾

Table 1 Effects of different medium on the growth of *Pilidium lythri* mycelium

培养基 Medium	生长速率/cm · d ⁻¹ Growth rate				
	BJ-4	HNLD-7	HNLD-12	SD17-6	SD17-10
PDA	(0.80±0.012)c	(0.79±0.001)c	(0.77±0.014)c	(0.76±0.014)d	(0.77±0.005)c
YDA	(0.69±0.014)d	(0.83±0.002)abc	(0.70±0.007)d	(0.67±0.008)e	(0.70±0.002)d
SPDA	(0.87±0.022)a	(0.85±0.004)ab	(0.87±0.007)a	(0.84±0.007)a	(0.86±0.004)a
YPDA	(0.82±0.020)b	(0.64±0.004)e	(0.77±0.006)c	(0.76±0.010)d	(0.77±0.002)c
CPDA	(0.86±0.017)a	(0.80±0.001)bc	(0.82±0.022)b	(0.77±0.008)cd	(0.82±0.007)b
CA	(0.81±0.025)c	(0.80±0.001)bc	(0.83±0.016)ab	(0.81±0.017)b	(0.83±0.007)ab
TPDA	(0.86±0.013)a	(0.80±0.004)bc	(0.82±0.007)b	(0.75±0.024)d	(0.82±0.005)b
2P2DA	(0.81±0.011)c	(0.85±0.003)ab	(0.83±0.007)ab	(0.81±0.010)b	(0.83±0.010)ab
P2DA	(0.86±0.013)a	(0.86±0.005)a	(0.84±0.016)ab	(0.83±0.007)ab	(0.84±0.005)ab
V8	(0.63±0.016)e	(0.71±0.002)d	(0.70±0.009)d	(0.65±0.008)ce	(0.70±0.003)d

1) 小写字母表示在 0.05 水平的差异显著性。下同。
Data followed by lowercase letters are significantly different at *P*=0.05. The same applies below.

2.2 不同培养基对菌落生长形态的影响

如图 1~图 5 所示,5 株供试菌株在 PDA、YDA、SPDA、TPDA 和 V8 培养基上生长的菌落厚实,菌丝浓密,边缘整齐,尤其是在 SPDA 培养基上生长快,2~3 d 即可形成肉眼看见的菌落,中央菌丝

茂密、隆起;供试菌株虽然在 YPDA、CPDA、CA、2P2DA 和 P2DA 培养基上生长也较快,但是在 YPDA、CPDA、CA 和 2P2DA 培养基上菌丝生长稀疏;在 P2DA 培养基上虽然菌落呈圆形,边缘整齐,但几乎没有菌丝。

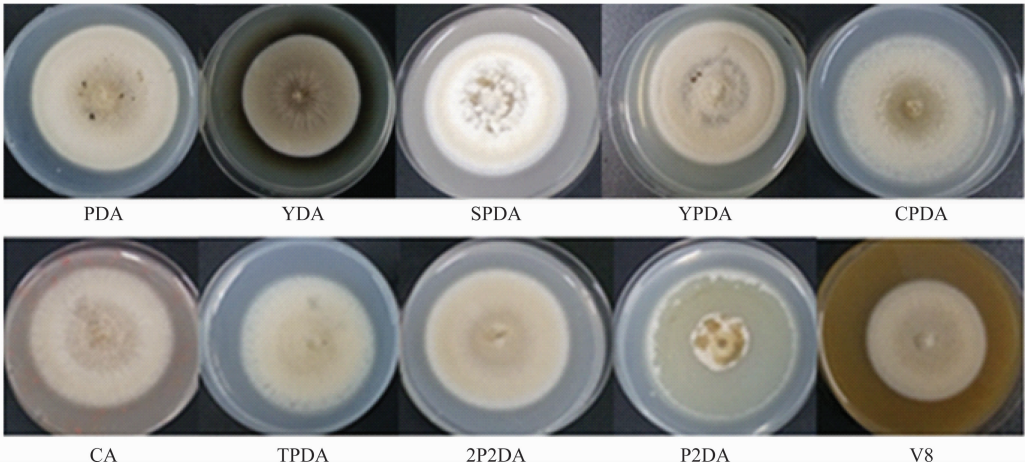


图 1 菌株 BJ-4 在不同培养基上的培养性状

Fig. 1 Culture characteristics of *Pilidium lythri* BJ-4 on different medium

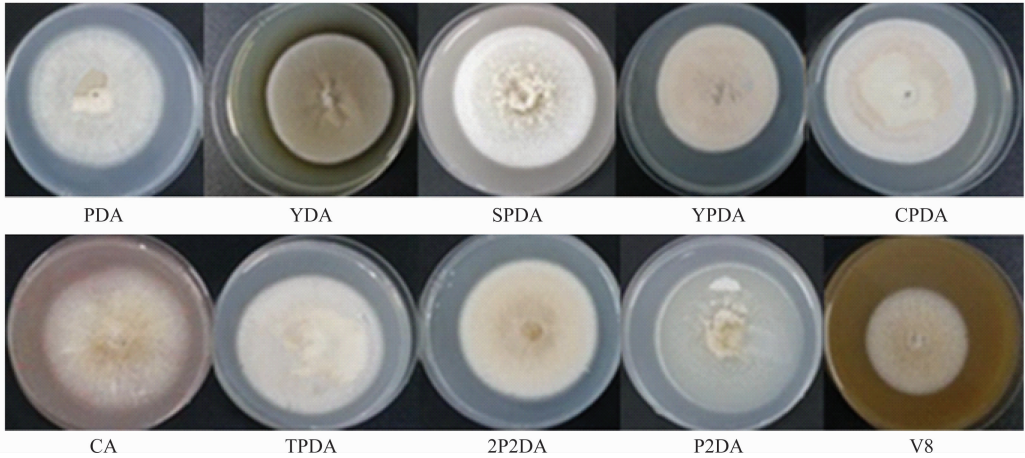


图 2 菌株 HNLD-7 在不同培养基上的培养性状

Fig. 2 Culture characteristics of *Pilidium lythri* HNLD-7 on different medium

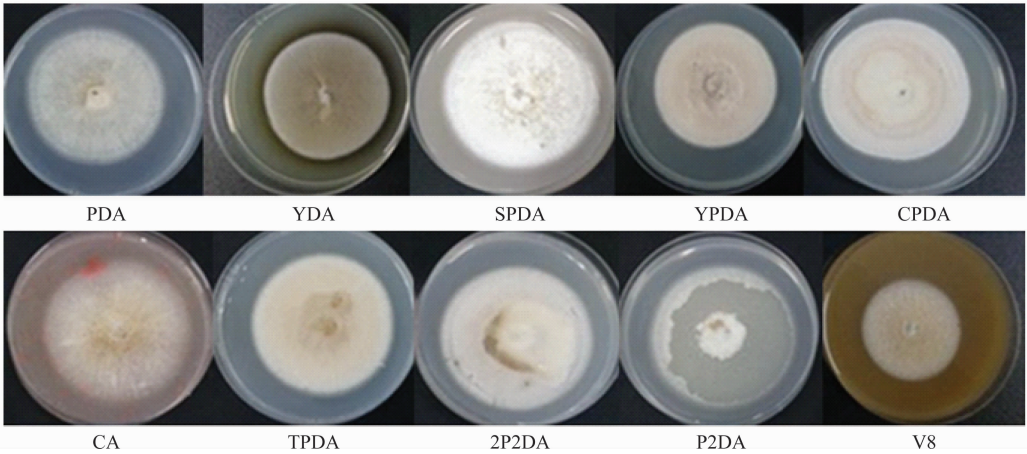


图 3 菌株 HNLD-12 在不同培养基上的培养性状

Fig. 3 Culture characteristics of *Pilidium lythri* HNLD-12 on different medium

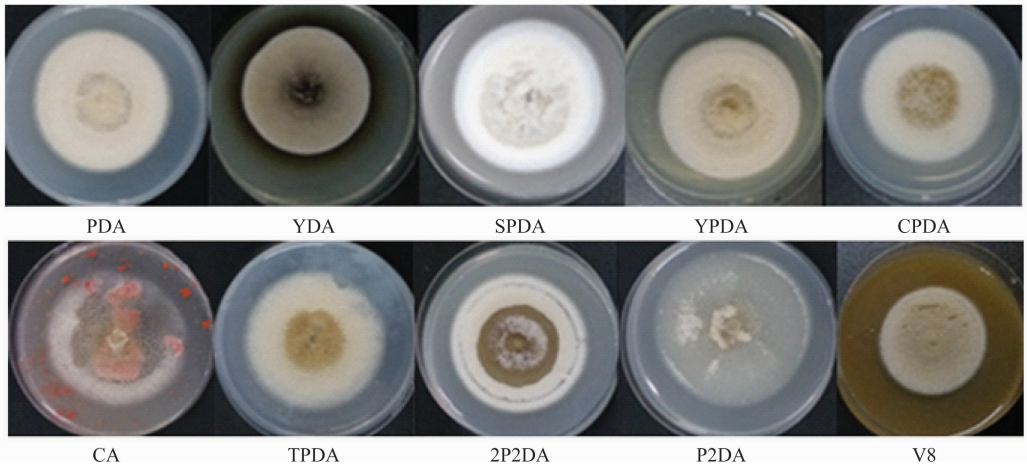


图 4 菌株 SD17-6 在不同培养基上的培养性状

Fig. 4 Culture characteristics of *Pilidium lythri* SD17-6 on different medium

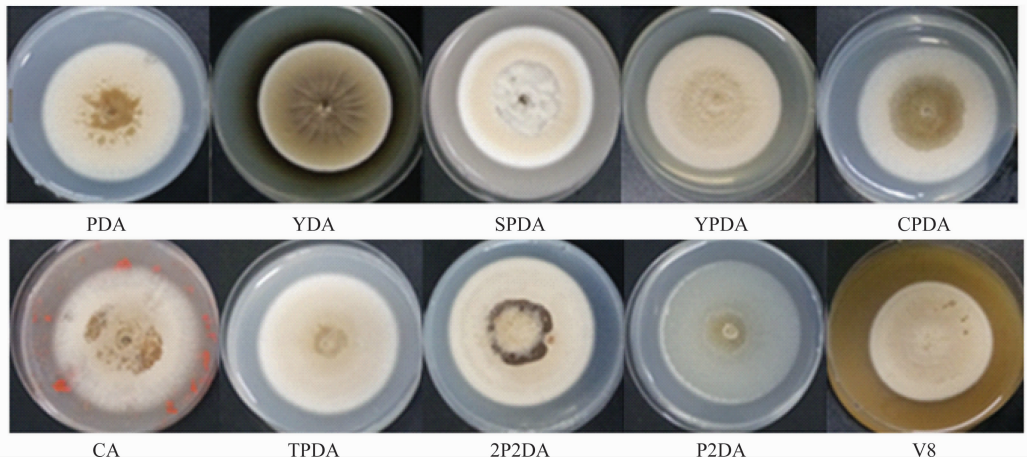


图 5 菌株 SD17-10 在不同培养基上的培养性状

Fig. 5 Culture characteristics of *Pilidium lythri* SD17-10 on different medium

2.3 不同培养基对菌丝干重的影响

选择上述菌株培养性状较好的 PDA、YDA、SP-DA、TPDA 和 V8 培养基进行菌丝干重的测定,结

果如表 2 所示,供试菌株经 SPDA 培养基培养后收集到的菌丝量最多,菌丝干重最大,为 145.5 mg,其次为 TPDA 培养基,5 株供试菌株在 V8 培养基上

生长后获得的菌丝量最少,仅为 12.1 mg。结合不同培养基对草莓褐色叶斑病菌菌丝生长情况以及菌丝干重的影响,结果表明,SPDA 培养基在菌丝生长

速度、菌丝厚度及菌丝干重方面均为供试培养基中最适合供试菌株 BJ-4、HNLD-7、HNLD-12、SD17-6 和 SD17-10 生长的培养基。

表 2 不同培养基对 *Pilidium lythri* 菌丝干重的影响

培养基 Medium	菌丝干重/mg Dry weight of mycelia				
	BJ-4	HNLD-7	HNLD-12	SD17-6	SD17-10
PDA	(27.9±6.00)c	(36.9±5.70)c	(45.8±1.26)c	(41.3±6.96)c	(26.3±1.47)c
YDA	(33.7±0.84)bc	(24.9±2.56)cd	(38.5±6.47)c	(32.9±1.83)cd	(34.2±0.23)bc
SPDA	(110.6±14.90)a	(145.5±2.25)a	(107.3±1.84)a	(112.2±30.56)a	(105.2±0.70)a
TPDA	(42.5±2.06)b	(51.8±2.05)b	(66.8±3.16)b	(52.6±17.74)b	(41.3±1.36)b
V8	(13.9±1.35)d	(16.5±2.31)c	(17.1±1.90)d	(12.1±1.23)d	(14.3±2.20)d

2.4 不同培养基对产孢量的影响

将 5 株供试菌株接种于不同培养基平板上,培养 8 d 后测定产孢量,结果如表 3 所示,不同菌株其最适于产孢的培养基存在差异。CA 培养基适于供试菌株 BJ-4 产孢,产孢量为 39.89×10^4 个/cm²; TPDA 为供试培养基中菌株 SD17-6 和 SD17-10 单

位面积产孢量最高的培养基,产孢量最大为 9.32×10^4 个/cm²;菌株 HNLD-7 和 HNLD-12 在 V8 培养基上的产孢最多,产孢量最大为 21.12×10^4 个/cm²。所有供试菌株在 PDA 和 YDA 培养基上产孢最少,产孢量最少仅为 0.28×10^4 个/cm²。

表 3 不同培养基对 *Pilidium lythri* 产孢量的影响

培养基 Medium	产孢量/×10 ⁴ 个·cm ⁻² Sporulation quantity				
	BJ-4	HNLD-7	HNLD-12	SD17-6	SD17-10
PDA	(0.53±0.101)de	(1.35±0.193)c	(1.42±0.073)cd	(0.32±0.092)c	(0.32±0.067)c
YDA	(0.28±0.070)e	(0.59±0.057)c	(0.59±0.156)d	(2.39±0.323)bc	(2.39±0.323)bc
SPDA	(0.39±0.108)de	(1.37±0.240)c	(0.91±0.063)d	(0.32±0.067)c	(0.27±0.107)c
YPDA	(5.81±1.112)b	(0.78±0.188)c	(0.85±0.245)d	(2.71±0.475)b	(2.58±0.488)b
CPDA	(0.48±0.117)de	(3.19±0.931)c	(3.42±0.297)c	(0.34±0.098)c	(0.34±0.098)c
CA	(39.89±4.430)a	(2.47±0.255)c	(2.33±0.324)cd	(6.30±1.607)a	(6.12±1.753)a
TPDA	(5.41±0.486)bc	(11.78±1.742)b	(9.15±0.489)b	(8.15±0.929)a	(9.32±1.048)a
2P2DA	(1.24±0.330)bede	(1.37±0.374)c	(1.96±0.177)cd	(0.65±0.130)bc	(0.71±0.067)bc
P2DA	(0.79±0.215)cde	(4.41±1.012)c	(3.39±0.6120)c	(1.81±0.291)bc	(1.62±0.382)bc
V8	(5.03±0.543)bcd	(18.62±5.027)a	(21.12±3.608)a	(6.03±0.830)a	(6.43±0.098)a

3 讨论

2012 年在北京市昌平区兴寿镇日光温室中首次发现的由 *Pilidium lythri* 引起的草莓褐色叶斑病是在草莓上发现的一种新病害^[7]。草莓褐色叶斑病菌 *P. lythri* 为丝分孢子真菌,主要危害草莓的下部叶片,也可引起果实腐烂。目前,关于 *P. lythri* 的生物学特性研究较多,Zhang 等^[19]首先报道了 *P. lythri* 在河南洛阳可以侵染牡丹,引起牡丹红点病,并对该病的症状、病原菌特征及其生物学特性等做了比较详细的描述。已有的研究是采用 PDA 培养基对 *P. lythri* 进行培养^[20],但其一般需要培养 7 d 才能长至 5 cm 左右,而且产孢量较少,存在 *P. lythri* 生

长速度慢、孢子产量不够开展相关研究所用的问题。本试验以采自北京市昌平区小汤山、湖南省娄底市和山东省诸城市的 *P. lythri* 菌株 BJ-4、HNLD-7、HNLD-12、SD17-6 和 SD17-10 为供试菌株,分别测定了 PDA、YDA、SPDA、YPDA、CPDA、CA、TPDA、2P2DA、P2DA 和 V8 培养基对 5 株供试菌株菌丝生长和产孢量的影响。通过对多种培养基的筛选发现,在菌丝生长速度、菌丝厚度及菌丝干重方面 SPDA 均为供试培养基中最适合所有供试菌株生长的培养基,7 d 后菌落直径可达 6.09 cm,大于文献报道的 PDA 培养基上的菌落直径(4.80 cm)^[20],菌丝干重是常用 PDA 培养基的 4 倍。该培养基在配制过程中方便、简单,可以较好地促进草莓褐色叶斑

病菌 *P. lythri* 菌丝生长,提高菌丝量,极大地改善了传统培养中使用 PDA 培养基进行培养的生长慢,菌丝偏少的缺点,可实现 *P. lythri* 的快速培养,且产生的大量菌丝提高了该病菌分子生物学相关研究的工作效率。

段亚冰等报道,最有利于 *P. lythri* 菌丝生长及产孢的碳源为葡萄糖,氮源为酵母膏,最适温度是 25~30℃,在 pH6~11 范围内该菌均能生长和产孢,光照对菌丝生长和产孢无显著影响^[20]。本试验采用 25℃ 黑暗培养,通过对供试菌株在不同培养基上的产孢量测定发现,经 pH 处于中性的 CA、V8 和添加有胰蛋白胨的 TPDA 培养基培养的 5 株供试菌株的平均产孢量分别为 11.43×10^4 个/cm²、 57.23×10^4 个/cm² 和 8.76×10^4 个/cm²,要远远大于添加酵母的 YDA(产孢量为 1.25×10^4 个/cm²)和 YP-DA 培养基(产孢量为 2.55×10^4 个/cm²),因此我们推测 *P. lythri* 的菌丝生长及产孢更需要碳源。此外,本试验研究发现,不同菌株其最适产孢的培养基也存在差异,采自北京的 *P. lythri* 菌株 BJ-4 在 CA 培养基上产孢量最大;TPDA 培养基最适于采自山东的菌株 SD17-6 和 SD17-10 产孢;V8 培养基则适于采自湖南的菌株 HNLD-7 和 HNLD-12 产孢。而所有的供试菌株在 PDA 和 YDA 培养基上产孢量是最少的。因此,CA、V8 和 TPDA 培养基可用于促进 *P. lythri* 的大量产孢,为该病菌的后续研究提供材料。

参考文献

- [1] PALM M E. Taxonomy and morphology of the synanamorphs *Pilidium concavum* and *Hainesia lythri* (Coelomycetes) [J]. Mycologia, 1991, 83(6): 787-796.
- [2] GOLEBNIAK B, JAROSZ A. First report of tan-brown rot (*Hainesia lythri*) on strawberry fruits in Poland [J]. Plant Pathology, 2004, 31(12): 57-60.
- [3] LOPES U P, ZAMBOLIM L, PEREIRA O L, et al. First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown rot in strawberry fruits in Brazil [J]. Plant Pathology, 2010, 59(6): 1171.
- [4] DEBODE J, VAN HEMELRIJCK W, HEUNGENS K, et al. First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown rot in strawberry fruits in Belgium [J]. Plant Disease, 2011, 95(8): 1029.
- [5] FERNAÁNDEZ-ORTUNÑO D, BRYSON P K, SCHNABEL G. First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown rot on strawberry nursery stock in South Carolina [J]. Plant Disease, 2014, 98(7): 1010.
- [6] KAIIVAN K, MAHDI A, ASADOLLAH B, et al. Biological and molecular characterisation of *Pilidium lythri*, an emerging strawberry pathogen in Iran [J]. Phytopathologia Mediterranea, 2016, 55(3): 366-379.
- [7] GENG W L, HU P, MA Z, et al. First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown leaf spot on strawberry in China [J]. Plant Disease, 2012, 96(9): 1377.
- [9] 中国植物病理学会. 2012 年学术年会论文集[C]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2012.
- [9] ARZANLOU M, TORBATI M, JAFARY H. Fruit rot on olive caused by *Pilidium concavum* in Iran [J]. Australasian Plant Disease Notes, 2013, 8: 117-121.
- [10] BRUCKART W L, ESKANDARI F M, COOMBS E M, et al. First report of *Pilidium concavum* causing leaf necrosis on *Fallopia japonica* in the United States [J]. Plant Disease, 2013, 97(1): 146.
- [11] CAESAR A J, LARTEY R T, CAESAR-TONTHAT T. First report of *Pilidium concavum* causing root lesions of meadow hawkweed in France [J]. Plant Disease, 2012, 96(12): 1830.
- [12] CARDIN L, VINCENOT L, BALESDENT M H. First report of *Pilidium concavum* on *Bergenia crassifolia* in France [J]. Plant Disease, 2009, 93(5): 548.
- [13] DUAN Y B, KANG Y B. First report of *Pilidium concavum* on *Paeonia suffruticosa* in China [J]. Plant Disease, 2010, 94(2): 271.
- [14] MAUUSSE-SITOE S N, CHEN S, WING M J, et al. Diseases of eucalypts in the central and northern provinces of Mozambique [J]. Southern Forests: an Journal of Forest Science, 2016, 78(3): 169-183.
- [15] MENKIS A, IHRMARK K, STENLID J, et al. Root associated fungi of *Rosa rugosa* grown on the frontal dunes of the baltic sea coast in Lithuania [J]. Microbial Ecology, 2014, 67(4): 769-774.
- [16] SAYARI M, BABAEIZAD V, FATHI J. First report of *Pilidium concavum* as the causative agent of tan-brown rot of *Prunus domestica* fruits in Iran [J]. Journal of Plant Pathology, 2013, 95(2): 447-452.
- [17] 赵新兰, 李宁, 刘爱新, 等. 牡丹腔孢叶斑病及其病原物的共无性型[J]. 菌物学报, 2010, 29(4): 475-480.
- [18] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [19] ZHANG M, LI H L. First report of *Hainesia lythri* causing leaf spots of *Paeonia suffruticosa* in China [J]. Plant Disease, 2008, 92(3): 486.
- [20] 段亚冰, 余真真, 陈艳利, 等. 营养因素与培养条件对 *Pilidium concavum* 病菌菌丝生长及产孢量的影响[J]. 北方园艺, 2010(4): 164-167.

(责任编辑: 田 喆)