番茄棒孢叶斑病病原鉴定及生物学特性研究

田守波, 朱为民, 朱龙英, 杨学东, 张迎迎, 张 辉*, 刘 娜*

(上海市农业科学院设施园艺研究所,上海市设施园艺技术重点实验室,上海 201403)

摘要 本研究采用 PSA 培养基对上海地区的番茄棒孢叶斑病的病原菌进行分离、培养及致病性测定,通过形态学和分子生物学方法鉴定病原菌,并对该病菌的生物学特性进行研究。结果表明:番茄棒孢叶斑病病原菌菌落呈灰褐色,菌丝质地致密、绒毛状;分生孢子单生或串生,圆柱形或倒棍棒形、顶端钝圆,基部平截,呈半透明至浅褐色,假隔膜 $4\sim10$ 个,直或稍弯曲,基脐加厚,深褐色。结合病原菌 rDNA ITS 序列测定、比对后,确定该病原为多主棒孢 Corynespora cassiicola。该病菌的菌丝生长最适温度为 $25\sim30$ °、最适 pH 范围为 $4\sim8$,产孢的最适温度约为 25°、最适 pH 范围为 $5\sim9$,麦芽糖和乳糖为碳源的培养基适宜菌丝生长,可溶性淀粉和乳糖溶液中孢子萌发率最高,光暗交替条件适宜菌丝生长,孢子在水滴中极易萌发。这是该病在上海地区的首次报道。

关键词 番茄棒孢叶斑病; 多主棒孢; 病原鉴定; 生物学特性

中图分类号: S 436. 412 文献标识码: A **DOI**: 10. 16688/j. zwbh. 2019091

Identification of the pathogen from *Corynespora* leaf spot of tomato and research on its biological characteristics

TIAN Shoubo, ZHU Weimin, ZHU Longying, YANG Xuedong, ZHANG Yingying, ZHANG Hui*, LIU Na*

(The Protected Horticulture Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China)

Abstract In this study, PSA was used to isolate, culture and test the pathogen of Corynespora leaf spot of tomato in Shanghai. Morphological and molecular biological methods were used to identify the pathogen, and its biological characteristics were studied. The results showed that the colony of the pathogen was grayish brown with dense and villous hyphae; conidia were solitary or connate, cylindrical or inverted rod-shaped, obtuse-rounded at the top, flat at the base, translucent to light brown; pseudomembranes were 4-10, straight or slightly curved, and basal umbilicus was thicker and dark brown. Combined with rDNA ITS sequence analysis and comparison, the pathogen was identified as $Corynespora\ cassiicola$. The optimum temperature for mycelial growth and sporulation of the pathogen was $25-30^{\circ}\text{C}$ and 25°C , respectively. The optimum pH value was 4-8 and 5-9 respectively. The medium with maltose and lactose as carbon source was suitable for mycelial growth. The spore germination rate in soluble starch and lactose solution was the highest. The alternating light and dark conditions were suitable for mycelial growth and spores germinate easily in water droplets. This was the first report of the disease in Shanghai.

Key words *Corynespora* leaf spot of tomato; *Corynespora cassiicola*; pathogen identification; biological characteristics

番茄棒孢叶斑病(Corynespora leaf spot of tomato) 又称斑点病,主要危害番茄的叶片和茎秆。该病由 棒孢属 Corynespora Gussow 真菌引起,最早于 1906 年在黄瓜上发现,随后东南亚的印度、马来西 亚、印度尼西亚、斯里兰卡等国家橡胶树上普遍暴发 棒孢霉叶斑病,该病现已成为威胁世界橡胶产业发 展的重要病害^[1-2]。随着病原菌的广泛传播,寄主范围也变得广泛,例如番茄^[3]、黄瓜^[4]、辣椒^[5]、苦瓜^[6]、紫苏^[7]、一品红^[8]、大豆^[9]等。我国最早在豇豆上发现由多主棒孢引起的豇豆棒孢叶斑病,而后发现该病菌可侵染黄瓜,但并未引起重视^[10]。在很长一段时间内,棒孢叶斑病被列为次要病害。然而,

收稿日期: 2019-02-28 **修订日期:** 2019-04-16

由于病原菌具有寄主广泛、侵染破坏力强、传播途径多样的特点,再加上蔬菜设施栽培面积逐年增加,设施内温湿度条件促进了病原菌滋生,棒孢叶斑病发病越来越重,尤其是我国东北、华北和华东等设施蔬菜种植面积大的地区棒孢叶斑病发生尤为严重[11]。番茄棒孢叶斑病最早于1982年在北美等热带地区暴发,随后在南美、韩国、日本相继发生[12]。该病在我国北京、山东、河北、浙江、海南等地均有发生,严重影响我国番茄的产量和品质[11]。但是,至今在上海地区还未有关于番茄棒孢叶斑病的报道。

迄今,我国关于番茄棒孢叶斑病的研究大多集中在病害发现和病原菌鉴定等方面[13-14]。与黄瓜、橡胶、茄子等其他作物相比,番茄棒孢叶斑病方面的研究还不够深入和系统,有关病原菌孢子萌发、菌丝生长等相关生物学特性方面的报道还很少见。2017年9月,课题组在上海市奉贤区庄行镇番茄种植温室里发现番茄棒孢叶斑病病叶,立即取样带回实验室进行分离、鉴定。因此,本试验通过对上海奉贤地区番茄棒孢叶斑病的病原菌进行分离、鉴定和 rD-NA ITS 序列分析,从而明确上海地区番茄棒孢叶斑病病原菌的种类,并进一步研究病原菌孢子萌发和菌丝生长等特性,探讨病原菌的相关生物学特性,为番茄棒孢叶斑病的病原学研究提供依据,也为该病在上海地区的生态学防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 病害观察及病样采集

2017年9月在上海市奉贤区庄行镇大棚栽培的番茄中采集具有典型特征的番茄叶片,记录症状、拍照后,带回实验室做进一步分离。

1.2 分离

病样洗净后置于自来水下冲洗 $1\sim2$ h,晾干后将病健交界处组织切成 $3\sim4$ mm 小块,在 0.5%有效氯的次氯酸钠液中消毒 $3\sim5$ min,取出后用无菌水清洗 $1\sim2$ 次,无菌条件下吹干后置于马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)上,25°C、黑暗条件下培养[15-16]。

1.3 致病性鉴定

将纯化的菌株 SH17-159 接到液体培养基(PS)中,于 25℃,130 r/min 条件下振荡培养 7 d后,用双层纱布过滤、离心,用无菌水配成孢子含量为 1×10⁶个/mL 的菌悬液。采用喷雾法接种番茄叶片,接种后套袋保湿 24 h 后揭膜恢复正常生长条件,设置 3 次重复,每次重复 20 株。待接种植株发病后调查

发病情况,并从发病部位进行病原菌再分离[13,16]。

1.4 病原菌鉴定

1.4.1 形态观察

将分离的病菌接种到 PSA 平板上,25℃黑暗条件下培养,定期观察记录菌落形态和颜色,孢子形成后通过显微镜观察分生孢子形态。

1.4.2 分子鉴定

通过改良 CTAB 法提取病原菌的基因组 DNA^[17]。采用真菌核糖体基因转录间隔区通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'),对 DNA 进行 PCR 扩增。引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 扩增条件为:94℃预变性 3 min;94℃变性 1 min,55℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,30个循环;72℃保温 20 min^[15-16]。1%琼脂糖凝胶电泳检测后,利用回收试剂盒回收得到扩增产物,将纯化的 PCR 产物委托基康生物技术有限公司测序。测得的 DNA 序列通过 BLAST 进行比对,查找同源性最高的病原荫序列。

1.5 不同条件对孢子萌发的影响

1.5.1 温度对孢子萌发的影响

将平板培养基上产生的分生孢子用无菌水洗下,配成低倍镜下每视野 20~30 个孢子的孢子悬浮液,滴于凹面载玻片上,分别置于 5、10、15、20、25、30、35、40、45℃条件下保湿培养 12 h,然后镜检,并计算孢子萌发率^[18]。每处理设置 3 次重复。

1.5.2 pH 对孢子萌发的影响

用 0. 1 mol/L HCl 和 0. 1 mol/L NaOH 调配 pH 2 \sim 12 的缓冲液,分别配制孢子悬浮液,25 $^{\circ}$ C保 湿培养,12 h 后镜检并统计孢子萌发率。每处理设置 3 次重复。

1.5.3 湿度对孢子萌发的影响

用浓硫酸在干燥器中调节湿度范围为 15%、30%、45%、60%、75%、90%。将孢子悬浮液涂在载玻片上放入容器中,25℃培养 12 h 后调查孢子萌发率。以水滴中的孢子萌发率为对照。

1.5.4 碳源对孢子萌发的影响

用无菌水配制 2%可溶性淀粉溶液、2%麦芽糖溶液、2%乳糖溶液、2%甘露醇溶液、2%葡萄糖溶液和 2%果糖溶液,分别配制孢子悬浮液,滴于载玻片上,25℃培养 12 h 后统计各处理的孢子萌发率。

1.6 不同条件对菌丝生长的影响

1.6.1 温度对菌丝生长的影响

用打孔器取直径 0.6 cm 的菌块置于 PSA 培养

基上,分别置于 5、10、15、20、25、30、35、40、45℃条 件下恒温培养,7 d后用十字交叉法测定菌落直径。 每处理重复3次。

1.6.2 pH 对菌丝生长的影响

用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 调配 pH 2~12 的培养基,取直径 0.6 cm 的菌块于 PSA 培养基上,25℃恒温培养,7 d后用十字交叉法测定 菌落直径。每处理重复3次。

1.6.3 光照对菌丝生长的影响

用打孔器取直径 0.6 cm 的菌块置于 PSA 培养 基上,分别置于连续光照、12 h 明暗交替、完全黑暗 3种光照条件,25℃恒温培养,7 d后测量菌落直径, 每处理3次重复。

1.6.4 碳源对菌丝生长的影响

以 PSA 为基础培养基,将其中的蔗糖以可溶性 淀粉、麦芽糖、乳糖、甘露醇、葡萄糖和果糖等量替 换,即成含糖量相同而碳源不同的培养基,灭菌后接 种,25℃恒温培养,7 d后测量菌落直径,每处理 3 次 重复。

1.7 数据统计与分析

采用 Excel 2010 及 DPS 软件进行数据处理,并

利用 Duncan 氏新复极差法讲行多重比较。

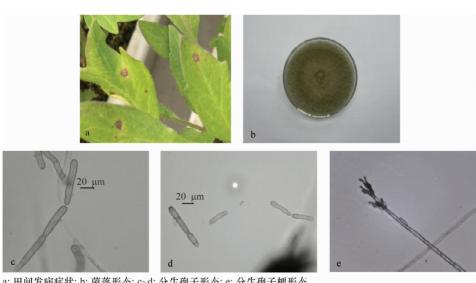
2 结果与分析

2.1 田间症状及致病性鉴定

田间以危害番茄叶片为主,叶正、背面均可受 害。发病初期叶片出现深褐色小点,病斑 2~3 mm 时近似圆形,病斑质薄呈半透明状,中央或者近中央 仍有直径 2~3 mm 黄褐色斑点,似靶心,周围有黄 色晕圈,病健界限明显;中期病斑逐渐扩大,呈圆形、 多角形或不规则形,深褐色;发病后期病株变黄,叶 片脱落(图 1a)。纯化菌株 SH17-159 接种番茄叶片 6 d 后开始发病,症状与田间观察相似,重新分离可 得到相同的病原菌。

2.2 病原菌形态学特征

菌落在 PSA 平板上呈灰褐色, 菌丝质地致密、 绒毛状(图 1b)。分生孢子单生或串生,圆柱形或倒 棍棒形、顶端钝圆,基部平截,呈半透明至浅褐色,假 隔膜 4~10 个,直或稍弯曲,大小(32~189.5) μm× $(6\sim16)\mu m$,基脐加厚,深褐色,宽 $4\sim7 \mu m$ (图 1c、 1d),分生孢子梗较粗,圆柱状,有横隔,具有多层出 梗(图 1e)。



a: 田间发病症状; b: 菌落形态; c~d: 分生孢子形态; e: 分生孢子梗形态

a: Field symptom; b: Colony morphology; c-d: Conidia morphology; e: Conidiophore morphology

图 1 番茄棒孢叶斑病田间发病症状及病原菌形态特征

Fig. 1 Pathogenic symptoms in the field and morphological characteristics of Corynespora leaf spot of tomato

2.3 病原菌分子鉴定

菌株 SH17-159 的 rDNA ITS 序列经 PCR 扩 增,得到 520 bp 左右的片段。测序后,获得 512 bp 的序列(图 2)。通过 NCBI GenBank 进行 BLAST

相似性比对,与多主棒孢 Corynespora cassiicola (FJ852699、EF198117)的相似性达 98%以上(图 3)。结 合形态学鉴定结果,引起上海地区设施栽培番茄叶片 上棒孢叶斑病的病原为多主棒孢 C. cassiicola。

图 2 菌株 SH17-159 的 rDNA ITS 序列

Fig. 2 rDNA ITS sequence of strain SH17-159

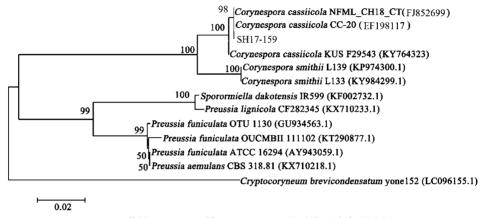


图 3 菌株 SH17-159 基于 rDNA-ITS 序列的系统发育分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of strain SH17-159 and related strains based on rDNA-ITS sequences

2.4 不同条件对孢子萌发的影响

2.4.1 温度对孢子萌发的影响

由图 4 可知,多主棒孢分生孢子在温度为 5℃时不萌发, $10\sim45$ ℃范围内均可萌发。 $20\sim35$ ℃为适宜萌发温度范围,孢子萌发率超过 75%;最适宜温度为 25℃,萌发率达 85%;低于 20℃和高于 35℃ 孢子萌发受到明显抑制,当温度为 45℃时,萌发率仅为 3%。

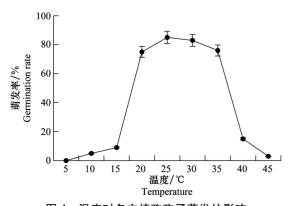


图 4 温度对多主棒孢孢子萌发的影响

Fig. 4 Effects of temperature on the germination of *Corynespora cassiicola* spores

2.4.2 pH 对孢子萌发的影响

从图 5 可以看出,在试验选取的 pH 范围内,分生 孢子均可萌发。当 pH 为 2~7 时,随着 pH 升高,孢子 萌发率增加,当 pH 增加到 7 时,萌发率最高,为 90%; 而后随着 pH 增大,萌发率略有降低。可见,孢子对碱 性条件的适应性较强,较强酸性条件不利于孢子萌发。

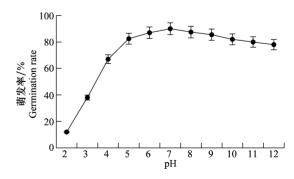


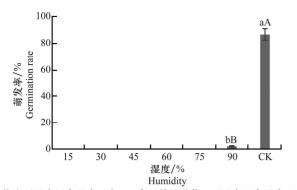
图 5 pH 对多主棒孢孢子萌发的影响

Fig. 5 Effects of pH value on the germination of Corynespora cassiicola spores

2.4.3 湿度对孢子萌发的影响

当湿度低于 75%时,孢子不萌发(图 6)。当湿度为 90%时,孢子萌发率仅为 2%;而水滴对照中孢

子萌发率为87%。说明水是孢子萌发的必需条件。



柱上不同小写字母表示在0.05水平差异显著,不同大写字母表示在 0.01水平差异显著。下同

Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among different treatments at 0.05 level, different uppercase letters indicate extremely significant difference at 0.01 level. The same below

图 6 湿度对多主棒孢孢子萌发的影响

Fig. 6 Effects of humidity on the germination of Corynespora cassiicola spores

2.4.4 碳源对孢子萌发的影响

如图 7 所示, 孢子在可溶性淀粉溶液和乳糖溶液中萌发率最高, 分别为 88. 2%和 85. 6%, 以下依次为麦芽糖溶液、甘露醇溶液、葡萄糖溶液, 在果糖溶液中的萌发率最低, 仅为 28. 5%。

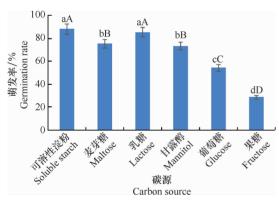


图 7 碳源对多主棒孢孢子萌发的影响

Fig. 7 Effects of carbon sources on the germination of Corynespora cassiicola spores

2.5 环境条件对菌丝生长的影响

2.5.1 温度对菌丝生长的影响

温度对菌丝生长影响见图 8。菌落在 $5\sim45^{\circ}$ 0 范围内均可生长,其中, $25\sim30^{\circ}$ 0 时生长最快,为适宜生长温度范围。当温度低于 5° 0 或高于 45° 0 时,菌落生长缓慢。

2.5.2 pH 对菌丝生长的影响

由图 9 可知,病菌对酸碱条件的适宜范围较广, 当 pH 为 $2\sim12$ 时,菌丝均可生长。适宜 pH 范围为

4~8。当 pH 小于 4 或者大于 8 时,菌丝生长速度减慢。

2.5.3 光照对菌丝生长的影响

从图 10 可以看出,在明暗交替条件下菌落直径 大于连续光照和全黑暗条件,为 4.88 cm,而连续光 照条件下菌落直径极显著低于其他两个处理,菌落 直径最小,为 4.32 cm。可见,适当光照有利于菌丝 生长。

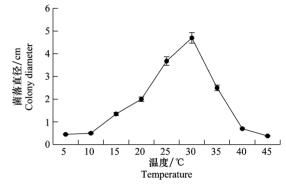


图 8 温度对多主棒孢菌落生长的影响

Fig. 8 Effects of temperature on the colony growth of *Corynespora cassiicola*

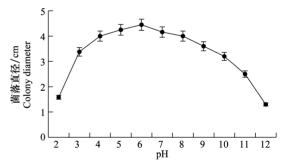


图 9 pH 对多主棒孢菌落生长的影响

Fig. 9 Effects of pH value on the colony

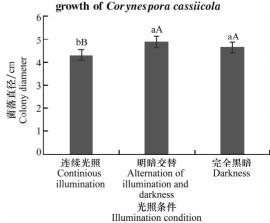


图 10 光照条件对多主棒孢菌落生长的影响

Fig. 10 Effects of illumination conditions on the colony growth of *Corynespora cassiicola*

2.5.4 碳源对菌丝生长的影响

多主棒孢菌丝可以在多种碳源上生长(图 11)。 在以麦芽糖为碳源的培养基上菌丝生长最快,菌落直 径为 6.00 cm,其次为乳糖,菌落直径为 5.72 cm;菌 丝在以甘露醇、葡萄糖和可溶性淀粉为碳源的培养 基上生长差异不显著,菌落直径在 5.22~5.40 cm 之间。病菌对果糖的利用能力最低,菌落直径仅为 3.90 cm,该结果与碳源对孢子萌发影响相似。

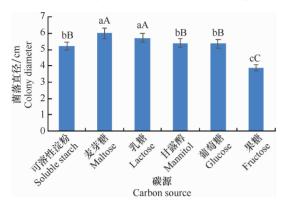


图 11 碳源对多主棒孢菌落生长的影响 Fig. 11 Effects of carbon sources on the colony growth of *Corynespora cassiicola*

3 结论与讨论

多主棒孢 C. cassiicola (Berk. & Curt.) Wei 隶属于半知菌亚门 Deuteromycotina 丝孢纲 Hyphomycetes 丝孢目 Hyphomycetales 暗色菌科 Dematiaceae 棒孢属 Corynes pora Gussow, 是棒孢属内发现最早、寄主范围最广的种。据统计,380 个属 530余种植物均可被其侵染,包括橡胶、黄瓜、茄子、豇豆、木瓜、木薯等作物,每年造成巨大经济损失[4.11]。由多主棒孢引起的叶斑病已成为我国一种重要的流行病害。番茄棒孢叶斑病易与灰叶斑病、炭疽病等病害混淆,并且传播和发病速度快,早期容易因误诊而错过最佳防治时期,造成经济损失。

对于植物病原真菌,传统上采用观察菌落形态、分生孢子形态等进行形态学鉴定。目前,人们在形态学观察的基础上,借助 PCR 分子鉴定技术,对病原真菌进行准确、高效的鉴定,有效避免了传统鉴定中由于人为因素导致的误判。陈璐^[19]建立了黄瓜寄主上多主棒孢菌 PCR 检测体系,并根据 33 种不同寄主上多主棒孢与其他主要真菌病原菌 ga4 基因序列差异,设计特异性引物 ga4F1/ga4R1,建立了多

主棒孢的荧光定量 PCR 检测技术。曾蓉等[15] 在形态学观察的基础上,通过对病原菌 rDNA ITS 序列测定、比对,确定上海地区黄瓜叶片出现的靶斑病病原为多主棒孢。高苇等[20] 采用形态学观察和分子生物学方法对危害辽宁、山东茄子棒孢叶斑病的病原菌进行了鉴定,确定该病的病原菌为多主棒孢。

本研究通过观察菌落和孢子形态,发现引起上海地区番茄叶片棒孢叶斑病的病原菌与杜公福等^[14]对海南地区樱桃番茄叶斑病的病原形态学鉴定结果相似。本研究结果中菌落呈灰褐色,分生孢子大小(32~189.5) μm×(6~16) μm,而海南地区樱桃番茄叶斑病病原菌的菌落呈灰褐色至黑色,分生孢子稍大些,为(38~216) μm×(8~21) μm。进一步对病原菌 rDNA ITS 序列测定、比对后,确定该病原为多主棒孢,与我国报道的海南木薯、黄瓜上的多主棒孢相似性在 98%以上。这是该病在上海地区的首次报道。

本研究中,番茄多主棒孢菌丝生长最适温度为 25~30℃,最适 pH 值范围为 4~8,产孢的最适温度 约为 25℃,最适 pH 值范围为 5~9,麦芽糖和乳糖 为碳源的培养基更有利于菌丝吸收,可溶性淀粉和 乳糖溶液中孢子萌发率最高,而以果糖为碳源不利于孢子萌发和菌丝生长,光暗交替条件适宜菌丝生长,孢子在水滴中极易萌发,该结果与刘鸣韬等^[21] 在黄瓜靶斑病菌和张春霞等^[22] 在橡胶树棒孢霉落叶病上的报道一致。从病原菌生物学特性可以看出,该病菌具有喜温好湿的特点,高温、高湿有利于该病的流行和蔓延^[23]。上海气候温暖湿润,尤其夏季梅雨气候,有利于番茄棒孢叶斑病的发生。另外,番茄棒孢叶斑病病残体上的分生孢子及菌丝均可在保护地内安全越夏,成为下茬番茄的初侵染源,这些因素可能是导致该病发生的重要原因之一。

参考文献

- [1] MANJU M, IDICULA S P, JACOB K C, et al. Incidence and severity of Corynespora leaf fall (CLF) disease of rubber in Coastal Karnataka and North Malabar region of Kerala [J]. Indian Journal of Natural Rubber Research, 2001, 20(3): 23 24.
- [2] SILVA W P K, DEVERALL B J, LYON B R. Molecular, physiological and pathological characterization of Corynespora leaf spot fungi from rubber plantations in Sri Lanka [J]. Plant Pathology, 1998, 47: 267 - 277.

参考文献

- [1] 中国农作物病虫害编写组. 中国农作物病虫害(中)[M]. 第 1 版. 北京:农业出版社,1981;1779-1781.
- [2] 虞国跃,王合,冯术快.王家园昆虫:一个北京乡村的 1062 种昆虫图集[M].北京:科学出版社,2016:544.
- [3] 黎彦. 果树病虫害防治[M]. 北京: 中央广播电视大学出版 社,2006: 178.
- [4] 崔巍,高宝嘉. 华北经济树种主要蚧虫及其防治[M]. 北京:中国林业出版社,1995;210.
- [5] 张凤舞,孙淑梅,李桂良,等. 枣葵粉蚧防治试验[J]. 昆虫知识,1980,17(4):164-166.
- [6] 王子清. 昆虫纲第二十二卷 同翅目 蚧总科 粉蚧科 绒蚧科 蜡 蚧科 链蚧科 盘蚧科 壶蚧科 仁蚧科[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 611.
- [7] DANZIG E M. Mealybugs of the genus *Heliococcus* Šulc (Homoptera, Pseudococcidae) of the fauna of Russia and adjacent countries [J]. Entomological Review, 2007, 87(8): 988 1025.
- [8] ZHANG Jingtao, WU San'an. A new species in the genus Crisicoccus Ferris (Hemiptera: Coccomorpha: Pseudococcidae), with a key to Chinese species [J]. Zootaxa, 2016, 4117

- (3): 440 450.
- [9] 汤祊德. 中国园林主要蚧虫第一卷[M]. 太谷: 山西农学院, 1977: 267.
- [10] 山西省果树害虫及天敌编写组. 山西省果树主要害虫及天敌 图说[M]. 太原: 山西省农业区划委员会, 1983: 787.
- [11] 王子清. 中国经济昆虫志第二十四册同翅目粉蚧科 [M]. 北京: 科学出版社, 1982; 119.
- [12] 王子清. 中国农区的介壳虫[M]. 北京:农业出版社,1982:276.
- [13] 汤祊德. 中国粉蚧科[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1992: 768.
- [14] 李连昌,李利贞,樊永亮,等. 中国枣树害虫[M]. 北京:农业出版社,1992;253.
- [15] 范迪. 山东林木昆虫志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993: 682.
- [16] 谢映平. 山西林果蚧虫[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998: 147.
- [17] 杨旺. 果树病虫害[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 118.
- [18] 王爱静,席勇,甘露.新疆林果花草蚧虫及其防治[M].乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2006:160.
- [19] 师光禄,常宝山. 枣园害虫群落结构特征的研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2006,26(3);213-216.
- [20] 李梦钗,郝建伟,温秀军,等. 无公害粘虫胶防治枣树害虫试验研究[J]. 河北林业科技,2007(6): 4-7.

(责任编辑:杨明丽)

(上接 162 页)

- [3] VOLIN R B, POHRONEZNY K, SIMONE G W. Severe spotting of fresh market tomato fruit incited by *Corynes pora cassiicola* after storm-related injury [J]. Plant Disease, 1989, 73: 1018 1019.
- [4] 李宝聚, 赵彦杰, 于淑晶, 等. 2008 年秋季河北青县黄瓜棒孢叶斑病大发生[J]. 中国蔬菜, 2008(11): 51-52.
- [5] KWON J H, KANG S W, KIM J S, et al. First report of Corynespora leaf spot in pepper caused by *Corynespora cassiicola* in Korea [J]. Journal of Plant Pathology, 2001, 17:180 – 183.
- [6] LI B J, ZHAO Y J, GAO W, et al. First report of target leaf spot caused by *Corynespora cassiicola* on balsam pear in China [J]. Plant Disease, 2010, 94(1): 127.
- [7] HASAMA W, MORITA S, KATO T. Corynespora leaf spot of perilla caused by *Corynespora cassiicola* [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1991, 57: 732 736.
- [8] CHASE A R. Corynespora bract spot of *Euphorbia pulcherrima* in Florida [J]. Plant Disease, 1986, 70:1074.
- [9] SMITH L J, DATNOFF L E, PERNEZNY K L, et al. Phylogenetic and pathogenic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates [J]. ISHS Acta Horticulturae, 2009, 808: 51 56.
- [10] 李龙生,李宝聚,刘永春,等. 黄瓜褐斑病的诊断与防治[J]. 中国蔬菜,2005(8):49-50.
- [11] 李宝聚, 高苇, 石延霞, 等. 多主棒孢和棒孢叶斑病的研究进展[J]. 植物保护学报, 2012, 39(4): 171-176.
- [12] VOLIN R B, POHRONEZNY K, SIMONE G W. Severe spotting of fresh market tomato fruit incited by *Corynespora cassiicola* after storm-related injury [J]. Plant Disease, 1989, 73; 1018 1019.

- [13] 李明远. 李明远断病手迹(六十一)北京发现番茄棒孢叶斑病 [J]. 温室园艺, 2015(10): 84-85.
- [14] 杜公福,刘子记,李汉丰,等. 樱桃番茄叶斑病病原菌鉴定及 杀菌剂筛选[J]. 中国植保导刊,2017(1):13-16.
- [15] 曾蓉, 陆金萍, 戴富明. 上海地区黄瓜靶斑病病原鉴定及 ITS 的分析[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2011, 29(4): 13-16.
- [16] 徐丽慧,曾蓉,陆金萍,等. 豇豆茎基部病害的病原鉴定及主要生物学特性研究[J]. 上海农业学报,2014,30(4):1-5.
- [17] RISTAINA J B, MADRITCH M, TROUT C L, et al. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora* [J]. Applied and Environment Microbiology, 1998, 64: 948 995.
- [18] 高苇. 我国黄瓜棒孢叶斑病的病原学及诊断技术的研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2011.
- [19] 陈璐. 黄瓜细菌性角斑病菌和多主棒孢菌 PCR 检测技术的建立[D]. 北京:中国农业科学院, 2014.
- 近10]. 北京:中国农业科学院, 2014. [20] 高苇, 李宝聚, 石延霞, 等. 茄子棒孢叶斑病病原菌鉴定及致病性研究[J]. 植物病理学报, 2012, 42(2): 113-119.
- [21] 刘鸣韬, 张定法, 孙化田, 等. 黄瓜靶斑病菌的生物学特性 [J]. 中国蔬菜, 2003(4): 17-18.
- [22] 张春霞,何明霞,李加智,等. 橡胶树棒孢霉落叶病病原菌的 生物学特性[J]. 植物保护,2010,36(2):98-101.
- [23] 韩小爽,高苇,傅俊范,等. 李宝聚博士诊病手记(三十五)黄 瓜棒孢叶斑病的诊断与防治[J]. 中国蔬菜,2011(9):20-21.

(责任编辑:田 喆)