

温度对烟草赤星病菌生物学特性及代谢表型的影响

刘亭亭^{1,2}, 汪汉成^{2*}, 蔡刘体², 孙美丽^{1,2},
陆宁², 向立刚^{1,2}, 张长青¹

(1. 长江大学农学院, 荆州 434000; 2. 贵州省烟草科学研究院, 贵阳 550081)

摘要 为了解温度对烟草赤星病菌致病力及代谢表型的影响,本研究采用菌丝生长速率法和离体叶片法,分别测定不同温度下烟草赤星病菌的生长速率和致病力,同时采用 Biolog 代谢表型技术测定了其在 22、25、30℃ 和 35℃ 下不同碳源、渗透压和 pH 下的代谢表型。结果表明,烟草赤星病菌在 15~35℃ 下均可生长,30℃ 时菌丝生长最快、致病力和产孢能力最强,35℃ 时孢子萌发率最高。在 22、25、30℃ 和 35℃ 时,赤星病菌均可代谢 Biolog FF 代谢板上的 95 种碳源,且随着温度升高对碳源的代谢能力逐渐增强。22℃ 和 25℃ 时烟草赤星病菌对渗透压的适应范围最广,其次为 30℃,35℃ 时适应范围最窄。在 22、25、30℃ 和 35℃ 时,赤星病菌在 pH 3.5~10 范围内均可正常代谢,在 22、25℃ 和 30℃ 下,赤星病菌表现出强脱羧酶活性和弱脱氨酶活性,在 35℃ 下,其脱羧酶和脱氨酶活性均相对较弱。研究结果揭示了烟草赤星病菌在不同温度下的适应能力,为赤星病菌与环境互作研究提供了参考。

关键词 烟草赤星病菌; 温度; 生长速率; 致病力; 代谢表型

中图分类号: S435.72 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021486

Effects of temperature on the biological characteristics and metabolic phenotype of *Alternaria alternata*

LIU Tingting^{1,2}, WANG Hancheng^{2*}, CAI Liuti², SUN Meili^{1,2},
LU Ning², XIANG Ligang^{1,2}, ZHANG Changqing¹

(1. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434000, China;
2. Guizhou Academy of Tobacco Science, Guiyang 550081, China)

Abstract In order to investigate the effect of temperature on the pathogenicity of *Alternaria alternata* and its metabolic phenotypes under different carbon sources, and osmotic and pH conditions, the mycelial growth and detached leaf method were utilized to detect its mycelial growth rate and pathogenicity, respectively. The metabolic phenotypes under different carbon sources, osmotic pressures and pH values were analyzed by using Biolog Phenotype MicroArray at 22, 25, 30℃ and 35℃. The results showed that *A. alternata* grew well at all temperatures ranging from 15℃ to 35℃ and showed the highest growth rate, pathogenicity and optimum sporulation at 30℃, and a highest spore germination rate at 35℃. At 22, 25, 30℃ and 35℃, *A. alternata* can metabolize 95 kinds of carbon sources in Biolog FF metabolic plates, and its metabolic ability to carbon sources gradually increases with the increase of temperature. *A. alternata* presented the widest osmotic adaptation ability at 22℃ and 25℃, followed by 30℃, while narrowest at 35℃. At 22, 25, 30℃ and 35℃, *A. alternata* exhibited metabolism at pH values ranging from 3.5 to 10. A strong decarboxylase activity and a weak deaminase activity were detected at 22, 25℃ and 30℃. At 35℃, the decarboxylase and deaminase activities were much weaker. These results revealed the adaptability of *A. alternata* under different temperatures. This study can provide a reference for the study on the interaction between *A. alternata* and environmental factors.

Key words *Alternaria alternata*; temperature; growth rate; pathogenicity; metabolic phenotype

收稿日期: 2021-09-03 修订日期: 2021-11-21

基金项目: 中国烟草总公司科技项目[110202001035 (LS-04), 110202101048 (LS-08)]; 国家自然科学基金(32160522); 中国烟草总公司贵州省公司科技项目(2020XM03, 2020XM022); 贵州省科技计划(黔科合基础-ZK[2021]重点 036); 贵州省“百层次”创新型人才(黔科合平台人才-GCC[2022]028-1)

* 通信作者 E-mail: xiaobaiyang126@hotmail.com

烟草赤星病(tobacco brown spot)是烟叶成熟期的主要真菌性病害,其病原菌为半知菌亚门 Deuteromycotina 链格孢属 *Alternaria* 真菌,该属病原菌寄主范围广,烟草、棉花、柑橘等均可被其侵染^[1-3]。目前已知可引起烟草赤星病的链格孢种类有链格孢 *A. alternata*、长柄链格孢 *A. longipes*、极细链格孢 *A. tenuissima*、鸭梨链格孢 *A. yaliinfiiciens* 和 *A. tabacicola*^[4],其中又以 *A. alternata* 最为严重和普遍,所以本研究以该种作为研究对象。烟草赤星病的发生与流行受多种因素影响,其中温度是病原菌生长、侵染和致病过程中的重要环境影响因子^[5-7]。有研究发现烟草赤星病发生的最适温度范围为 23.7~28.5℃^[8],*A. alternata* 菌丝生长和产孢最适温度在 21~28℃,但不同温度下生长速率和产孢量有较大差异^[9]。除生物学特性外,温度也可影响病原菌致病力,如刘畅等^[10]研究发现,黑胫病菌 *Phytophthora nicotianae* 可致病温度范围为 21~35℃,其中 30、35℃时致病力最强。汪汉成等^[11]研究发现,烟草青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* 可致病的温度范围为 25~35℃,30~35℃时致病力最强。

除了温度外,影响病原菌侵染与危害的其他生态环境因子还包括碳源营养等。汪汉成等^[12]的研究发现,烟草赤星病菌能高效代谢包括 *L*-果胶糖、*D*-半乳糖、*D*-甘露糖等在内的 34 种碳源。病原菌在不同渗透压和 pH 环境下的代谢表型特征能够反映其对环境的耐受力,如刘畅等^[10]进行不同温度、不同渗透压/pH 下烟草黑胫病菌的代谢表型研究时发现,27℃和 30℃时烟草黑胫病菌的渗透压适应范围最广,20、27℃和 30℃时,烟草黑胫病菌在 pH 5.0~10.0 范围内可正常代谢。Wang 等^[13]发现,在 30℃和 35℃时,烟草青枯病菌对渗透压和 pH 的适应性较强。然而,作为危害烟叶生产最严重病原菌之一的赤星病菌,其不同温度下对不同碳源、渗透压和 pH 的适应能力却缺乏了解。

为此,本研究采用菌丝生长速率法和离体叶片法分别测定了不同温度下烟草赤星病菌的生长速率和致病力,并采用 Biolog 代谢表型技术测定了在 22、25、30℃和 35℃下不同碳源、渗透压和 pH 对其代谢表型特征的影响,旨在通过代谢表型了解温度对烟草赤星病菌致病力的影响机制。

1 材料与方法

1.1 材料

烟草赤星病菌 *Alternaria alternata*,贵州省烟草研究院真菌实验室保存。供试烟株为 8 叶期的‘云烟 87’。马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1 000 mL,用于培养烟草赤星病菌。AEA 培养基:酵母提取粉 5 g、琼脂 20 g、丙三醇 20 mL、NaNO₃ 6 g、KH₂PO₄ 1.5 g、KCl 0.5 g、MgSO₄ 0.25 g,用于孢子诱导。

Biolog PM9 和 PM10 代谢板(货号:12161、12162),Biolog FF 代谢板(货号:94545),FF-IF 接种液(filamentous fungi-inoculating fluid)(货号:72106):由 0.03%吐温 40 和 0.25%吉冷胶制成,Omnilog PM 高通量微生物细胞表型芯片测定系统(货号:91171),均购自美国 Biolog 公司。3 种代谢板分别用于测定病原菌在不同渗透压、pH 和碳源下的代谢表型。*D*-葡萄糖(货号:G5400),购自美国 Sigma 公司;酵母氮源(货号:239210),购自美国 Difco 公司。

1.2 方法

1.2.1 不同温度对烟草赤星病菌生物学特性的影响

1.2.1.1 烟草赤星病菌生长速率测定

采用菌丝生长速率法^[14]测定不同温度下菌丝生长速率。用直径 6 mm 打孔器打取 30℃黑暗培养 5 d 的赤星病菌菌碟,分别置于 PDA 培养基上,15、20、25、30、35、40℃黑暗条件下培养,每个处理 3 组重复,分别于接种后 3、5、7 d 采用“十字交叉法”测量菌落直径,并计算生长速率。

1.2.1.2 烟草赤星病菌产孢量测定

将病原菌接种到 PDA 培养基上,分别置于 15、20、25、30、35、40℃的生化培养箱中黑暗培养,每个处理 3 组重复,培养 7 d 后用 10 mL 无菌水洗涤平板,制成孢子悬浮液,在显微镜下利用血球计数板测定单位面积(cm²)的产孢量^[15]。

1.2.1.3 烟草赤星病菌孢子萌发率测定

将病原菌在 AEA 培养基上 30℃黑暗培养 7 d 后,用无菌水将分生孢子洗下,双层纱布过滤得到孢子悬浮液,调节孢子浓度至 1×10⁵ 个/mL。采用凹玻片法^[16]测定病原菌孢子萌发率,将制备好的玻片分别置于 15、20、25、30、35、40℃条件下恒温保湿黑

暗培养,12 h 后在显微镜下观察孢子萌发情况,以芽管长度大于孢子短半径视为萌发,记录各处理孢子萌发情况。

1.2.1.4 烟草赤星病菌致病力测定

病原菌在 PDA 培养基上 30℃ 黑暗培养 5 d 后用直径 6 mm 的打孔器在菌落边缘打取菌碟。采集‘云烟 87’烟株中下部健康叶片,无菌水冲洗,再用 75% 乙醇对烟叶表面消毒,无菌水冲洗后晾干。每片烟叶以叶脉为分界,用接种针在对称烟叶叶肉部位刺伤接种 4 个菌碟^[17],然后分别置于 15、20、25、30、35、40℃ 光照培养箱(L//D=12 h//12 h, RH 70%,光照强度:6 000 lx)培养,每处理接种 3 片烟叶。分别于培养 24、48、72、120 h 时采用十字交叉法测量病斑直径。

1.2.2 不同温度下不同碳源对烟草赤星病菌代谢表型的影响

采用 Biolog 公司的 FF 代谢板进行烟草赤星病菌碳源代谢表型分析^[18]。将烟草赤星病菌接种到 AEA 培养基上于 25℃、黑暗下培养 5 d,至产生大量分生孢子,用无菌棉签蘸取孢子,用 FF-IF 接种液制备孢子悬浮液,调整孢子悬浮液的浓度为 1×10^5 个/mL,然后依次加入 FF 代谢板微孔中(100 μ L/孔)。接种完毕后的代谢板置于恒温培养箱中,分别于 22、25、30℃ 和 35℃ 下培养 7 d。在 OmniLog 工作软件中设置培养孢子悬浮液所需温度和时间,然后采用 Biolog D5E_OKA_data.exe 软件收集赤星

病菌在生长过程中代谢板孔内的颜色变化值,根据微生物代谢的孔颜色变化值,使用 Excel 2019 制作热图,分析其碳源代谢表型。

1.2.3 不同温度下不同渗透压和 pH 对烟草赤星病菌代谢表型的影响

取 20.05 mL 1.2.2 中的孢子悬浮液与 0.75 mL D-葡萄糖溶液、2 mL 酵母氮源溶液和 1.2 mL 无菌水混合均匀,将混合液加入 PM9 和 PM10 代谢板,分别测定病原菌在不同渗透压和 pH 下的代谢表型。将接菌后的 PM9、PM10 代谢板分别于 22、25、30℃ 和 35℃ 恒温培养箱中培养 7 d。代谢表型的分析方法同 1.2.2。

1.3 数据分析

使用 SPSS 24.0 软件对试验数据进行单因素方差分析,应用 LSD(least significant difference)法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同温度对烟草赤星病菌生物学特性的影响

温度对烟草赤星病菌菌丝生长、产孢量、孢子萌发和致病力均有影响,且不同温度下各参数间存在显著差异(表 1)。15~35℃ 时病原菌菌丝均可生长产孢,孢子均可萌发;40℃ 时菌丝停止生长、产孢,孢子不萌发;菌丝最适生长与产孢温度为 30℃,孢子最适萌发温度为 35℃。当温度为 15℃ 和 40℃ 时,接种叶片不发病;温度 30℃ 时病斑直径最大,为最适致病温度。

表 1 不同温度对烟草赤星病菌生物学特性的影响¹⁾

Table 1 Effects of different temperatures on the biological characteristics of *Alternaria alternata*

温度/℃ Temperature	生长速率/mm·d ⁻¹ Growth rate	产孢量/ $\times 10^6 \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$ Sporulation quantity	孢子萌发率/% Spore germination rate	病斑直径/mm Lesion diameter
15	(5.19±0.31)d	(1.20±0.51)cd	(15.62±2.35)c	(0.00±0.00)e
20	(8.25±0.57)c	(1.65±0.14)bc	(65.49±4.08)b	(14.75±0.21)c
25	(9.75±0.53)b	(2.06±0.19)ab	(71.93±2.63)b	(17.18±0.67)b
30	(10.94±0.41)a	(2.73±0.23)a	(73.61±6.71)b	(21.00±0.53)a
35	(4.56±0.27)d	(0.75±0.08)de	(87.67±1.92)a	(8.63±0.23)d
40	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)e	(0.00±0.00)d	(0.00±0.00)e

1) 表中同列数据后相同字母表示经 LSD 法检验数值间差异不显著($P > 0.05$)。

Data followed by the same letter in the same column are insignificantly different based on the least significant difference test (LSD) ($P > 0.05$).

2.2 不同温度下碳源对烟草赤星病菌代谢表型的影响

在 22、25、30℃ 和 35℃ 下,烟草赤星病菌代谢的碳源种类和代谢强度存在着共性与差异(图 1)。4 个测试温度下,烟草赤星病菌对所有供试

碳源均可正常代谢,其所代谢的碳源种类随温度升高而增多。在 22、25、30℃ 和 35℃ 时,烟草赤星病菌可高效代谢的碳源分别有 44、46、48 种和 54 种,烟草赤星病菌代谢弱的碳源分别有 1、2、5 种和 4 种。

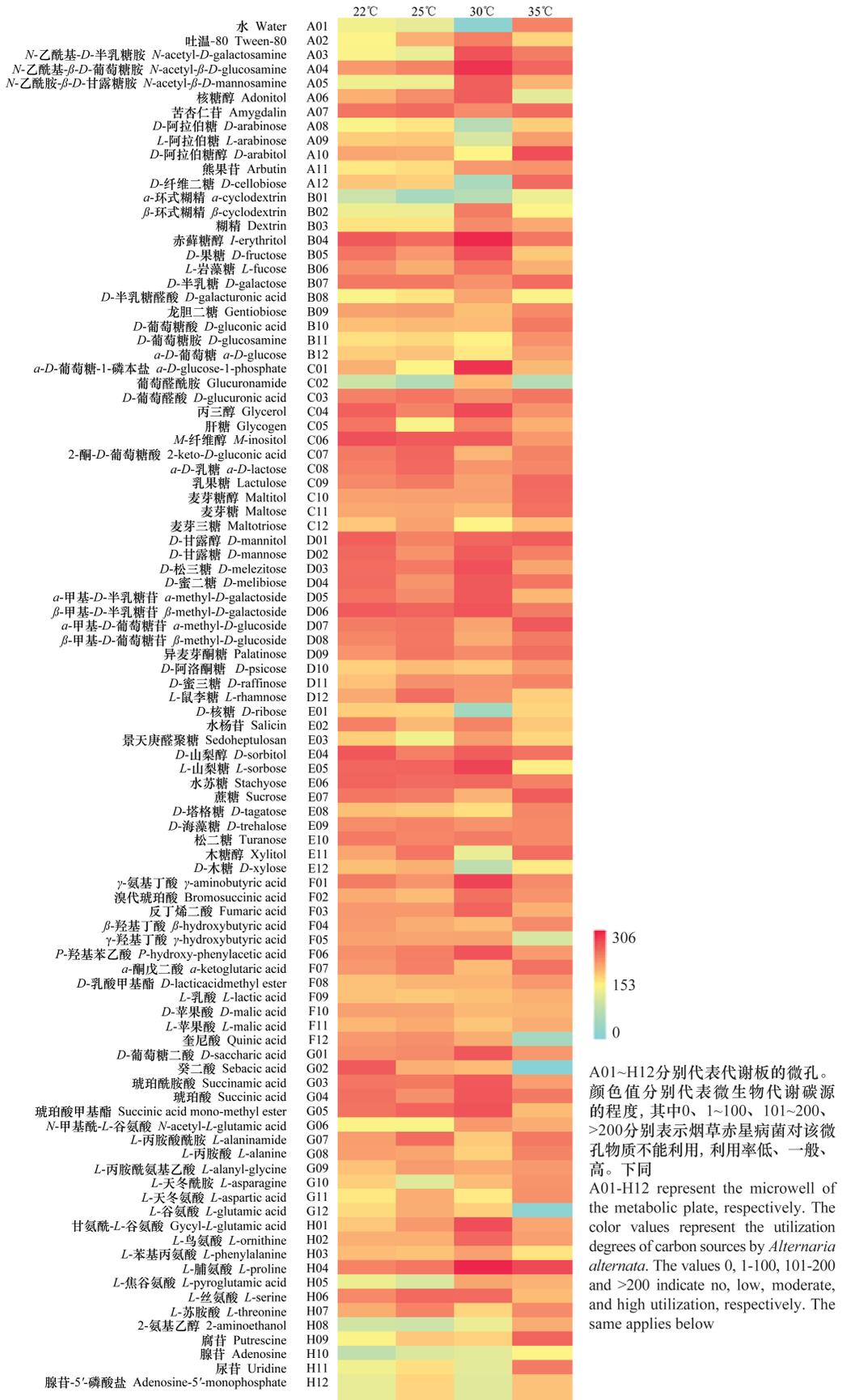


图 1 烟草赤星病菌在 FF 代谢板上的代谢特征

Fig. 1 Metabolic features of the pathogen *Alternaria alternata* in Biolog Phenotype MicroArray FF plates

2.3 不同温度下渗透压和 pH 对烟草赤星病菌代谢表型的影响

2.3.1 不同温度下渗透压对烟草赤星病菌代谢表型的影响

在 22、25、30℃ 和 35℃ 时,烟草赤星病菌能进行高效代谢的渗透压环境分别有 76、71、56 种和 2 种,烟草赤星病菌代谢弱的渗透压环境分别有 9、11、14 种和 18 种。4 个温度下,烟草赤星病菌在 20~200 mmol/L 苯甲酸钠 (pH 5.2) 和 40~100 mmol/L 亚硝酸钠渗透压环境下均代谢弱或不能代谢。在 35℃ 时,烟草赤星病菌在 100 mmol/L 硫酸铵 (pH 8.0)、100 mmol/L 亚硝酸钠条件下完全不能代谢 (图 2)。

2.3.2 不同温度下 pH 对烟草赤星病菌代谢表型的影响

4 个测试温度下烟草赤星病菌可进行代谢的 pH 范围均为 3.5~10,但在不同温度和 pH 环境下代谢表型存在差异。在 pH 4.5,烟草赤星病菌在 22、25℃ 及 30℃ 下均可高效代谢大多数测试氨基酸;而在 35℃ 下,烟草赤星病菌仅可高效代谢精氨酸 (arginine)、天冬氨酸 (aspartic acid)、谷氨酸 (glutamic acid) 等 10 种氨基酸。在 pH 9.5,烟草赤星病菌在 22℃ 和 35℃ 下对测试氨基酸的代谢相对较弱;而在 25℃ 和 30℃ 下,其可高效代谢的氨基酸种类分别为 6 种和 2 种。此外,在 22、25℃ 及 30℃ 下,烟草赤星病菌表现出较强的脱羧酶活性和较弱的脱氨酶活性;在 35℃ 下,其脱羧酶和脱氨酶活性相对较弱。在 H01~H12 微孔中,烟草赤星病菌在 25℃ 和 30℃ 时对所有测试化合物均可高效代谢,22℃ 时可高效代谢的化合物数量相对较少,而 35℃ 时可高效代谢的仅有辛酸盐 (caprylate)、 $X\text{-}\beta\text{-D}$ -葡萄糖苷酸 ($X\text{-}\beta\text{-D}$ -glucuronide)、 $X\text{-}\beta\text{-D}$ -氨基葡萄糖苷 ($X\text{-}\beta\text{-D}$ -glucosaminide) 及 $X\text{-}\beta\text{-D}$ -氨基半乳糖苷 ($X\text{-}\beta\text{-D}$ -galactosaminide) (图 3)。

3 结论与讨论

烟草赤星病是烟叶生产上的重大病害之一,每年都会对烟草行业造成重大经济损失^[19]。温度对病原菌的生物学特性具有显著影响,本研究结果显示,烟草赤星病菌 15~35℃ 条件下均可生长,25~30℃ 适合产孢,这与 Dickinson 等^[20]的研究结果基

本一致。本文发现烟草赤星病菌 30℃ 下菌丝生长最快、致病力最强,结果与唐明等^[9]报道的 28℃ 为最适菌丝生长温度较为接近;同时,致病力结果与孔凡玉^[8]报道的烟草赤星病发病的适宜温度范围为 23.7~28.5℃ 类似,其差异原因可能为试验方法不同,本文采用室内离体叶片法,而后者为田间监测结果。

碳源是植物病原菌生存的基本营养物质,已有研究表明,温度会影响病原菌代谢碳源的种类和强度,如黑胫病菌 *P. nicotianae*^[10]、烟草青枯病菌 *R. solanacearum*^[13]。李六英等^[21]的研究发现,烟草赤星病菌 28℃ 时仅能代谢 Biolog PM1-2 板中 24.21% 的碳源;王友升等^[22]的研究发现,链格孢 26℃ 时可代谢 Biolog FF 板中 77 种碳源物质;汪汉成等^[12]的研究发现,烟草赤星病菌 25℃ 时可高效代谢 Biolog PM1-2 代谢板中的 34 种碳源。相比而言,本文采用 Biolog FF 碳源代谢板进行测试,其碳源种类较 Biolog PM1-2 代谢板少,但大部分碳源为常见真菌可代谢碳源,能反映烟草赤星病菌对大部分碳源的需求。本文发现烟草赤星病菌在 22、25、30℃ 及 35℃ 下均可代谢所有碳源物质,在 4 个温度下,均能高效代谢 *N*-乙酰基- $\beta\text{-D}$ -葡萄糖胺、苦杏仁苷等 23 种碳源,推测这些碳源均为烟草赤星病菌的适宜碳源。烟草赤星病菌代谢碳源的数量随温度升高而增多,推测温度会影响病原菌生理生化途径的变化,进而影响碳源代谢种类的变化,4 种温度下烟草赤星病菌利用率均高的碳源是否与烟草赤星病的发生与危害程度有关有待下一步深入研究。

除了营养物质外,温度、渗透压和 pH 等环境因子也影响病原菌的生物学特性与致病力^[23-24]。病原菌在不同环境条件下代谢能力的变化可以反映其对环境的耐受能力^[10]。对不同温度、渗透压和 pH 下青枯菌和黑胫病菌代谢表型研究发现,30~35℃ 时青枯病菌对渗透压和 pH 适应能力较强,27~30℃ 时烟草黑胫病菌对渗透压和 pH 适应能力较强,该结果与生产上高温时黑胫病和青枯病危害较重相吻合^[10-11]。对不同温度、渗透压和 pH 环境条件下烟草赤星病菌的代谢表型研究发现,温度影响烟草赤星病菌对渗透压和 pH 环境适应力,25℃ 和 30℃ 时其适应范围广。其与烟草青枯菌和

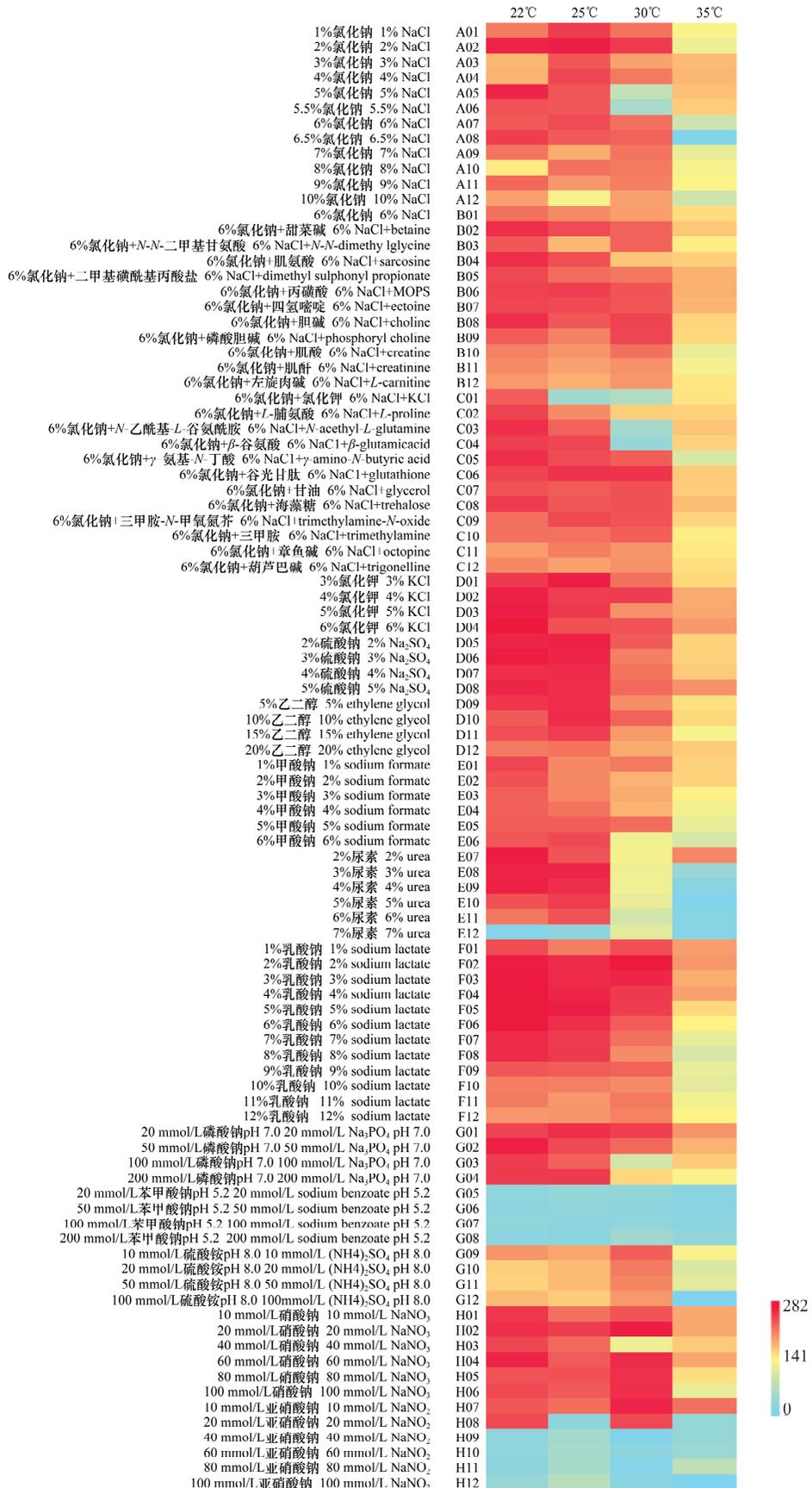


图2 烟草赤星病菌在不同温度和渗透压下的代谢表型

Fig. 2 Metabolic features of *Alternaria alternata* at different temperatures and osmotic pressure

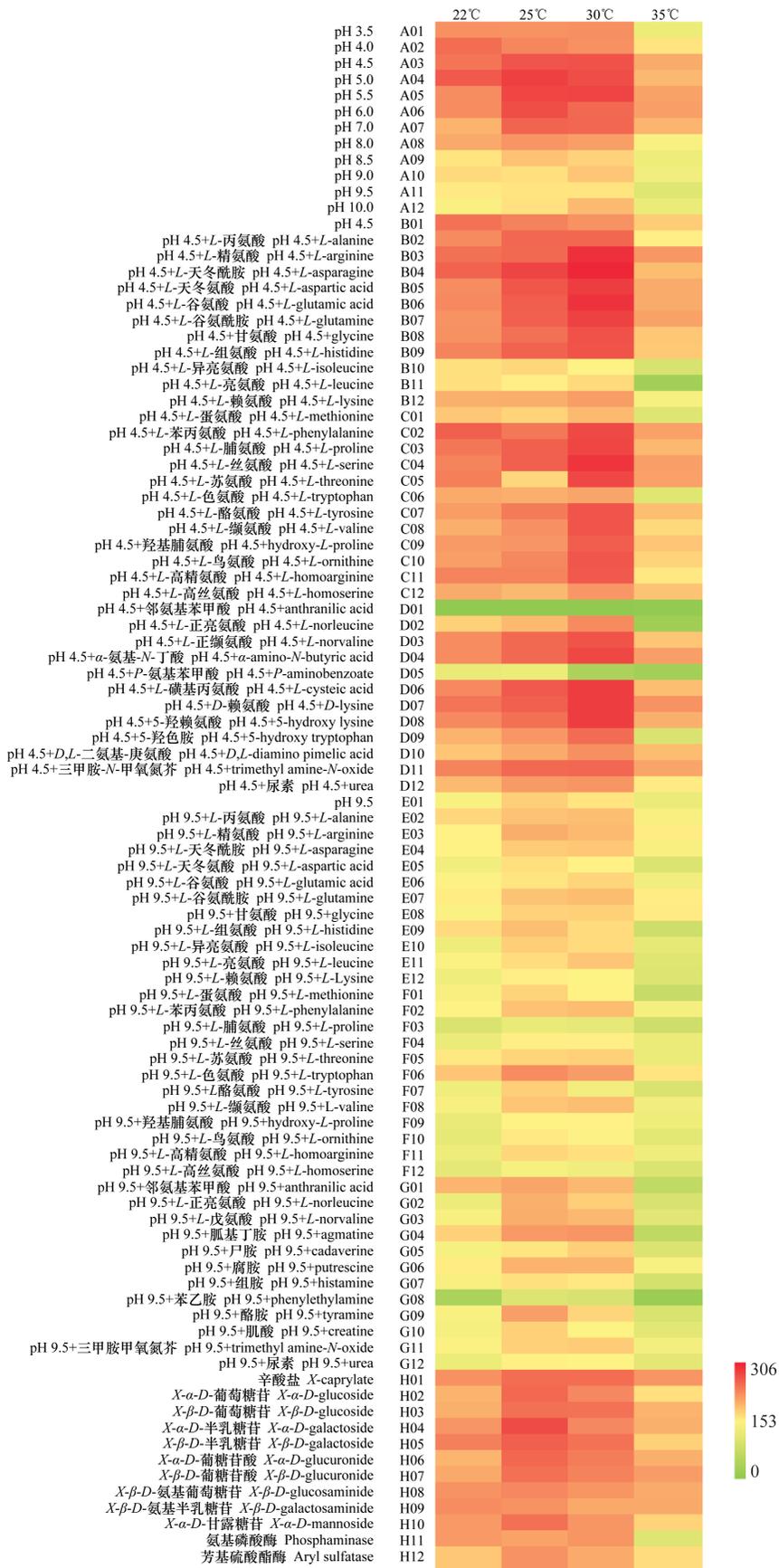


图 3 烟草赤星病菌在不同温度和 pH 环境下的代谢表型

Fig. 3 Metabolic features of *Alternaria alternata* under different temperatures and different pH values

黑胫病菌对高温的响应规律基本一致,原因可能为青枯病菌、黑胫病菌及赤星病菌的最适发病温度相似。此外,汪汉成等^[12]也报道了 25℃ 时不同烟草赤星病菌菌株的渗透压和 pH 适应范围,本文研究结果与其基本一致,均发现烟草赤星病菌存在强脱羧酶活性和弱脱氨酶活性。本文发现 25℃ 和 30℃ 时,烟草赤星病菌在 H01~H12 微孔中的 pH 环境下烟草赤星病菌可高效代谢微孔内的全部物质,而 35℃ 时仅可高效代谢 4 种,推测温度对烟草赤星病菌的脱羧酶和脱氨酶活性产生了较大影响,其影响机理有待下一步深入研究。

参考文献

- [1] SLAVOV S, MAYAMA S, ATANASSOV A. Toxin production of *Alternaria alternata* tobacco pathotype [J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2004, 18(3): 90-95.
- [2] BASHAN Y, LEVANONY H, OR R. Wind dispersal of *Alternaria alternata*, a cause of leaf blight of cotton [J]. *Journal of Phytopathology*, 1991, 133(3): 225-238.
- [3] PEEVER T L, CARPENTER-BOGGS L, TIMMER L W, et al. Citrus black rot is caused by phylogenetically distinct lineages of *Alternaria alternata* [J]. *Phytopathology*, 2005, 95(5): 512-518.
- [4] 祖艳青, 蒋士君, 王海涛, 等. 河南省烟草赤星病病原鉴定 [J]. *中国烟草学报*, 2013, 19(4): 73-77.
- [5] POSE G, PATRIARCA A, KYANKO V, et al. Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 135(1): 60-63.
- [6] WEI C I, SWARTZ D, CORNELL J A. Effects of culture media, exposure time and temperature on near-ultraviolet-induced sporulation of *Alternaria alternata* [J]. *Journal of Food Protection*, 1985, 48(4): 316-319.
- [7] 朱贤朝, 王彦亭, 王智发. 中国烟草病害 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [8] 孔凡玉. 烟草赤星病的综合防治技术 [J]. *烟草科技*, 2002(6): 40-42.
- [9] 唐明, 向金友, 谢冰, 等. 宜宾烤烟赤星病致病力分化、生物学特性及抑菌药剂筛选研究 [J]. *天津农业科学*, 2016, 22(10): 96-101.
- [10] 刘畅, 向立刚, 汪汉成, 等. 温度对烟草黑胫病菌致病力及代谢表型的影响 [J]. *植物保护学报*, 2021, 48(3): 669-678.
- [11] 汪汉成, 余婧, 蔡刘体, 等. 温度、湿度、接菌量及 pH 对烟草青枯病菌致病力的影响 [J]. *中国烟草科学*, 2017, 38(5): 8-12.
- [12] 汪汉成, 黄艳飞, 陈兴江, 等. 烟草赤星病菌酯酶敏感与抗性菌株的代谢表型差异分析 [J]. *植物病理学报*, 2018, 48(6): 822-832.
- [13] WANG Hancheng, GUO Hua, CAI Lin, et al. Effect of temperature on phenotype characterization of *Ralstonia solanacearum* from tobacco [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2020, 42(2): 164-181.
- [14] SAMIR D, MICHAEL W, AHMED E G, et al. Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product aspire [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 27(2): 127-135.
- [15] 唐爽爽, 刘志恒, 余朝阁, 等. 辽宁省西瓜炭疽病病原菌鉴定及生物学特性研究 [J]. *植物保护*, 2014, 40(4): 38-44.
- [16] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [17] 何烈干, 宋来强, 汤洁, 等. 油菜菌核病抗性鉴定方法比较及抗病种质资源的筛选 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(18): 90-93.
- [18] WANG Hancheng, WANG Jin, LI Licui, et al. Metabolic activities of five botryticides against *Botrytis cinerea* examined using the Biolog FF MicroPlate [J/OL]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31025. DOI: 10.1038/srep31025.
- [19] 雷飞斌. 烟草赤星病菌的抗药性及替代药剂的研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2016.
- [20] DICKINSON C H, BOTTOMLEY D. Germination and growth of *Alternaria* and *Cladosporium* in relation to their activity in the phylloplane [J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1980, 74(2): 309-319.
- [21] 李六英, 王甲军, 张炜, 等. 烟草赤星病菌的 Biolog 代谢表型分析 [J]. *中国烟草科学*, 2018, 39(5): 79-85.
- [22] 王友升, 陈玉娟, 张燕. 李果实贮藏期间 4 株病原真菌的分离、鉴定及碳源代谢指纹图谱分析 [J]. *食品科学*, 2012(13): 235-239.
- [23] CHEN Xingjiang, LI Licui, WANG Hancheng, et al. Phenotypic fingerprints of *Ralstonia solanacearum* under various osmolytes and pH environments [J]. *Plant Pathology Journal*, 2016, 15(3): 102-107.
- [24] GUO Yushuang, SU Xiankun, CAI Liuti, et al. Phenotypic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, the causal agent of tobacco wildfire [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2017, 99(2): 499-504.

(责任编辑: 杨明丽)