

茼蒿叶斑病病原菌的鉴定及室内药剂筛选

曾 蓉, 徐丽慧, 高士刚, 宋志伟, 高 萍, 戴富明*

(上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海市设施园艺重点实验室, 上海 201403)

摘要 茼蒿是上海地区设施叶菜主要种类之一。近年来,上海市部分地区的茼蒿上出现了一种叶部病害,叶片出现外缘灰褐色、中央灰白色的圆形病斑,严重影响茼蒿产量与商品质量。本文采用组织分离法进行病原菌的分离纯化,通过柯赫氏法则验证、形态学、生物学特性以及基于核糖体转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)、真核翻译延长因子 1 α (translation elongation factor, TEF)、钙调蛋白(calmodulin, CAL)基因和肌动蛋白(actin, ACT)基因联合系统发育分析等方法进行了病原菌鉴定,结果表明,茼蒿叶斑病的病原菌为芹菜尾孢 *Cercospora apii*,菌丝生长最适温度为 26℃,复合氮源利于菌丝的生长。杀菌剂的离体抑菌活性测定结果表明:己唑醇、苯醚甲环唑、戊唑醇、氟环唑、啮菌酯的 EC₅₀ 分别为 0.042 3、0.060 4、0.317 4、0.452 4、0.863 3 $\mu\text{g/mL}$,对该病原菌菌丝生长表现出较强的抑制作用。这些结果为小宗作物病害的防控或杀菌剂登记提供重要依据。

关键词 茼蒿; 芹菜尾孢; 多基因序列联合分析; 杀菌剂; 毒力测定

中图分类号: S436.36 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2021420

Identification of the pathogen causing leaf spot on *Glebionis coronaria* and fungicide screening *in vitro*

ZENG Rong, XU Lihui, GAO Shigang, SONG Zhiwei, GAO Ping, DAI Fuming*

(Eco-Environment Protection Research Institute, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticulture Technology, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

Abstract *Glebionis coronaria* is an important kind of facilitated leaf vegetables in Shanghai. Recently, the leaf disease with gray-brown peripheral and gray-white round spots has appeared on *G. coronaria* in Shanghai, which has been seriously affecting the yield and quality. In this study, the pathogen was isolated and purified by tissue isolation method, and the pathogenicity was verified by Koch's rule. The pathogen was also identified by morphology, biological characteristics, and multilocus phylogenetic analysis based on internal transcribed spacer (ITS), translation elongation factor 1 α (TEF), calmodulin (CAL) and actin (ACT) sequences. The results showed that the pathogen of *G. coronaria* leaf spot was *Cercospora apii*, and the optimum temperature for mycelial growth was 26℃. The compound nitrogen source was beneficial to the growth of mycelium. The *in vitro* activity of the fungicides showed that hexaconazole, difenoconazole, tebuconazole, epoxiconazole and azoxystrobin had strong inhibitory activity against the pathogen, with the EC₅₀ values of 0.042 3, 0.060 4, 0.317 4, 0.452 4 and 0.863 3 $\mu\text{g/mL}$, respectively. These conclusions provide important theoretical basis for the control of minority crops diseases or the registration of fungicides.

Key words *Glebionis coronaria*; *Cercospora apii*; multilocus phylogenetic analysis; fungicide; toxicity test

茼蒿 *Glebionis coronaria*, 为菊科 Asteraceae 茼蒿属 *Glebionis* 作物,1 年或 2 年生草本,茎和叶可以同食,药蔬兼优,我国大部分地区都有种植。茼蒿属于小宗蔬菜作物,作为十字花科叶菜主要轮作作物

和搭配作物在上海地区广泛种植。茼蒿常发生的病害有霜霉病、叶斑病等,这些叶部病害严重影响产量和品质。

2020 年 11 月,本研究组在上海市奉贤区庄行

收稿日期: 2021-08-03 修订日期: 2021-09-30

基金项目: 上海市科技兴农推广项目[沪农科推字(2021)第 2-2 号];上海市农业科学院卓越计划[2018(B-1)]

* 通信作者 E-mail: fumingdai@163.com

综合试验站调查时,在茼蒿种植大棚中发现一种叶部病害,严重时整片叶子枯死,田间株发病率 95% 以上。为明确引起该病害的病原菌,本研究对田间采集的病害样品进行分离、纯化、培养,并采用形态和生物学特征、致病性、多基因核苷酸序列系统发育树分析等方法对分离物进行鉴定,明确引起茼蒿叶斑病的病原种类,且开展了药剂室内活性的测定,以期为该病害的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

病样:采自上海市奉贤区庄行综合试验站种植的茼蒿。

琼脂、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、二甲基亚砷等生化试剂,中国医药集团有限公司;2×EasyTaq PCR SuperMix、2K plus DNA Marker 等,北京全式金生物技术有限公司。

供试杀菌剂:95.4%己唑醇原药、95.2%苯醚甲环唑原药、97%戊唑醇原药、98%氟环唑原药、98%啉菌酯原药、96.9%异菌脲原药、98%多菌灵原药、97%咪鲜胺原药由本研究室保存。

1.2 试验方法

1.2.1 症状观察

2020 年 11 月—12 月,在上海市奉贤区庄行综合试验站基地观察茼蒿叶斑病危害症状及危害程度等。

1.2.2 病原菌的分离与纯化

将有典型症状的发病初期叶片洗净,按组织分离法分离病原菌^[1]。首先在病健交界处剪取直径 6~8 mm 的圆形叶片组织,用 2% 次氯酸钠消毒 2 min,无菌水清洗 3 次,在无菌滤纸上晾干后置于含有 50 μg/mL 氯霉素和 50 μg/mL 链霉素的 PDA 培养基上,26℃ 黑暗培养,得到多个形态特征相同的分离物,挑取边缘菌丝进行分离物的纯化,挑选分离物 TH11290202 保存于实验室备用。

1.2.3 分离物的形态学及生物学特性

参考徐丽慧等^[2]的方法对分离物 TH11290202 进行形态学鉴定,在 26℃ 黑暗培养,观察其在 PDA、PSA 培养基的培养特征。在显微镜下观察菌丝等形态特征如颜色、形状、质地等。

参考曾蓉等^[3]的方法测试菌落生长适宜温度:用打孔器在活化的菌落边缘取直径 6 mm 的菌饼,

接种在 PDA 培养基中央,设置 18~36℃ 每 2℃ 为 1 个间隔的 10 个梯度温度,黑暗培养 7 d 后,用交叉法测量菌落直径,同一批次测定分离物在不同温度下的生长速率,试验重复 3 次。

1.2.4 致病性测定

采用菌丝悬浮液喷雾法进行接种,在室内培养茼蒿至 5~8 叶期,将分离物的 PDA 培养物用无菌水匀浆后进行叶面喷雾,每日观察植株的发病情况,接种 7 d 后从发病植株的叶片发病部位重新分离病原菌,进行柯赫氏法则验证。喷施等量无菌水为对照,每个处理 3 盆,每盆 3~5 株,3 次重复,在 26℃、相对湿度 90%,12 h 光/暗交替的条件下培养。

1.2.5 病原菌多基因联合鉴定

将分离物 TH11290202 在 PDA 培养基上 26℃ 培养 3 d 后,挑取少量菌丝,参考 Harju 等^[4]的方法提取真菌基因组 DNA。对分离物分别选择核糖体 DNA 转录间隔区 (internal transcribed spacers, ITS) 引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')^[5]、真核生物翻译延伸因子 1α (translation elongation factor, TEF) 引物 EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3')/EF1-986R (5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3')^[6]、钙调蛋白 (calmodulin, CAL) 基因引物 CAL-F (5'-CTTCTGCATCATGAGCTGGAC-3')/CAL-R (5'-GAATTCAAGGAGGCCTTCTC-3')^[7]、肌动蛋白 (actin, ACT) 基因引物 ACT-512F (5'-ATGTG-CAAGGCCGGTTTCGC-3')/ACT-783R (5'-TACGA-GTCCTTCTGGCCCAT-3')^[8]进行核苷酸片段扩增和测序,引物合成和测序工作由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。PCR 扩增使用 20 μL 反应体系,包括:2×EasyTaq PCR SuperMix(北京全式金生物技术有限公司)10 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL,模板 DNA 1 μL,ddH₂O 8.0 μL。PCR 反应程序参考各引物出处文献。

以 *Alternaria alternata* 为外群参考序列,将分离物的序列与已经发表的 ITS、TEF、CAL、ACT 等序列经 Clustalx 1.83 做完全比对,并手动截齐两端,相关序列信息见表 1。使用 Sequence Matrix 1.80 软件^[9]按 ITS-TEF-CAL-ACT 顺序连接成多基因联合序列。基于邻接法 (neighbor-joining, NJ),设置自展值 (bootstrap) 为 1 000,用 MEGA 7 构建系统发育树^[10]。

表 1 本研究所用菌株及其序列信息

Table 1 Sequence information used in this study

种 Species	菌株编号 Isolate	来源地 Region	GenBank 登录号 GenBank accession no.			
			ITS	TEF	CAL	ACT
<i>Cercospora capsici</i>	CPC 12307	韩国	GU214654	JX143324	JX142832	JX143078
<i>C. oryzae</i>	CBS 145. 37	美国	MH855860	KF263261	KF253974	KF253622
<i>C. fagopyri</i>	CBS 132623	韩国	JX143594	JX143352	JX142860	JX143106
<i>C. beticola</i>	CPC 14616	保加利亚	FJ473422	FJ473427	FJ473437	FJ473432
<i>C. armoraciae</i>	CBS 538. 71	罗马尼亚	JX143547	JX143301	JX142809	JX143055
<i>C. sojae</i>	CPC 17977	阿根廷	JX143674	JX143434	JX142942	JX143188
<i>C. apii</i>	CBS 116455	德国	NR_119525	AY840486	AY840417	AY840450
<i>Alternaria alternata</i>	—	—	MK690432	KY565241	MK791193	MK695681

1.2.6 室内药剂筛选

采用菌丝生长速率法测定供试杀菌剂对分离物的毒力,具体步骤参考刘欣等^[11]的方法。己唑醇、苯醚甲环唑、戊唑醇等 8 种杀菌剂原药用二甲基亚砜(DMSO)溶解成所需浓度的母液,多菌灵原药用 2 mol/L 的盐酸溶解,取 1 mL 母液加入到 99 mL 的 50℃左右的 PDA 培养基中,充分混匀后制成含药培养基平板(直径 9 cm);以只添加 DMSO 或盐酸的 PDA 培养基为对照。用打孔器在活化的培养基边缘取直径 6 mm 的菌饼,接种在 PDA 含药培养基平板中央。每种杀菌剂设置 5 个浓度梯度,重复 3 次,26℃黑暗培养 7 d 后,用十字交叉法测量菌落直径,用如下公式计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-6)×100%。

试验数据使用 Excel 2016 进行处理,采用 DPS 7.05 进行分析^[12],求出斜率、标准误、卡方值、自由度、有效中浓度(EC₅₀)、95%置信限。

2 结果与分析

2.1 田间症状

在秋冬季节,病原物主要侵染茼蒿叶片,叶片出现“蛙眼”状圆斑,外围灰褐色、中央灰白色,是典型的尾孢菌引起的症状;后期整叶变褐、变黑,严重时整株枯死,圆叶和尖叶型茼蒿品种均可被侵染(图 1),株发病率高于 95%。



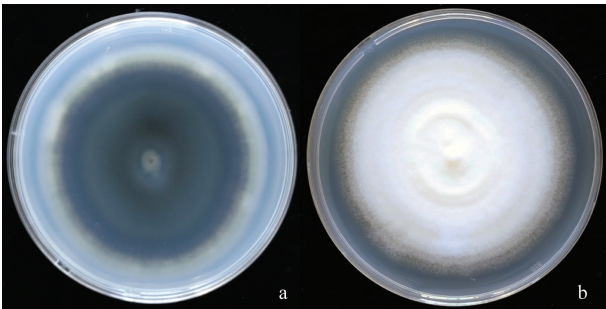
图 1 茼蒿叶斑病田间症状

Fig. 1 Symptoms of leaf spot on *Glebionis coronaria* plants in field

2.2 病原菌形态及生物学特性

组织分离后 2 d 组织块周围长出白色菌丝,经菌落边缘纯化后获得 15 个分离物,命名为 TH11290201—TH11290215,这些分离物的菌落生长速度、颜色特征一致,本研究选取了分离物 TH11290202 为代表。

分离物 TH11290202 在 PDA、PSA 培养,菌丝生长较慢,紧贴培养基生长,在 PDA 和 PSA 培养基上形态较一致,正面白色或灰色,背面呈深灰色(图 2),茼蒿叶斑病菌丝生长最适宜温度是 26℃(图 3)。



a: 反面; b: 正面 a: Obverse; b: Reverse

图 2 TH11290202 菌株在 PDA 上培养 15 d 后的菌落形态

Fig. 2 Colonies of strain TH11290202 on PDA (15 d)

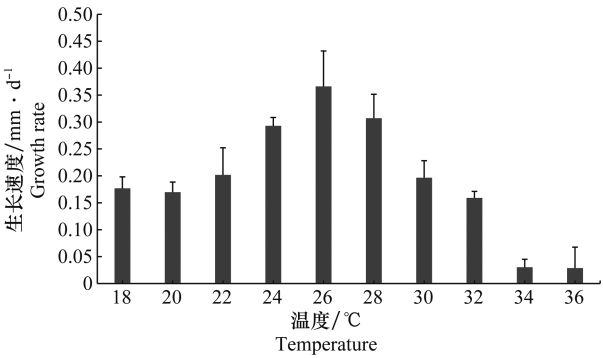


图 3 TH11290202 菌株在不同温度下的菌丝生长速率
Fig. 3 Mycelial growth rate of strain TH11290202 under different temperature

2.3 分离菌株对茼蒿的致病性

茼蒿苗期接种 TH11290202 后 7 d, 植株叶片出现灰褐色斑点, 后期变大、整叶枯萎, 与田间症状相似, 而对照无症状(图 4), 从接种叶的发病部位重新分离获得的分离物与 TH11290202 形态特征一致, 进一步说明了 TH11290202 是引起茼蒿叶斑病的病原菌。



a: 对照植株; b: 接种病原菌 7 d 后症状
a: Control; b: Symptoms after inoculation for seven days

图 4 茼蒿叶斑病原菌致病性试验

Fig. 4 Pathogenicity test of leaf spot strain TH11290202

2.4 分子生物学鉴定

利用 ITS、TEF、CAL 和 ACT 4 个基因序列引物对分离物 TH11290202 进行 PCR 扩增, 分别获得长度为 537、306、595、227 bp 的片段, 序列的 GenBank 登录号分别为: MW819910、MW981277、MW981278、MW981279。测序结果经 BLASTn 显示, 菌株 TH11290202 的 ITS 序列与芹菜尾孢 *Cercospora apii*、辣椒尾孢 *C. capsici*、大豆尾孢 *C. soji-na* 等多种尾孢菌 ITS 序列相似性高达 99.26%~

99.81%; TEF 序列与芹菜尾孢、甜菜尾孢 *C. betico-la*、芦笋尾孢 *C. asparagi* 等多种尾孢菌 TEF 序列的相似性高达 98.37~100%; CAL 序列与辣椒尾孢、甜菜尾孢、芦笋尾孢、芹菜尾孢等多种尾孢菌 CAL 序列的相似性为 93.25%~99.76%; ACT 序列与甜菜尾孢、芹菜尾孢的 ACT 序列的相似性为 99.55%~100%。结果表明: 分离物 TH11290202 的 ITS、TEF、CAL 和 ACT 4 个基因序列均与尾孢菌属相似性最高, 但尾孢属的近缘种较多、序列相似性高, 仅凭单个基因序列 BLASTn 方法难以准确鉴定到种。

基于 ITS、TEF、CAL 和 ACT 等 4 个基因联合序列, 经 NJ 法构建了分离物 TH11290202 的多基因系统进化树(图 5)。在该进化树中, 分离物 TH11290202 与芹菜尾孢聚集在一个分支, 自展值为 97。

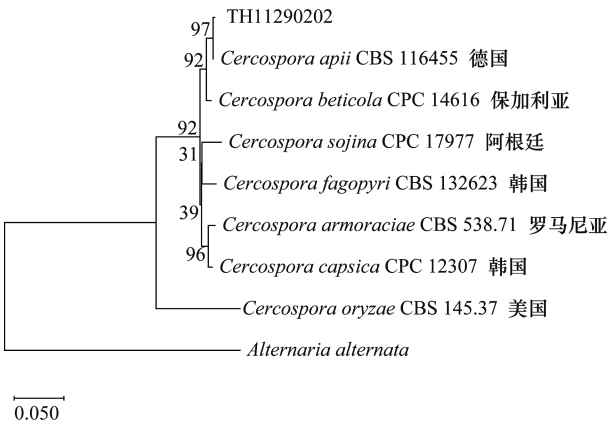


图 5 基于 ITS、TEF、CAL 和 ACT 多基因序列联合构建的 NJ 系统发育树

Fig. 5 NJ phylogenetic tree based on ITS, TEF, CAL and ACT sequences

2.5 室内药剂筛选

己唑醇、苯醚甲环唑、戊唑醇、氟环唑、啉菌酯等 5 种药剂对分离物 TH11290202 的菌丝生长抑制的 EC₅₀ 值分别为 0.042 3、0.060 4、0.317 4、0.452 4、0.863 3 μg/mL, 异菌脲、多菌灵和咪鲜胺的 EC₅₀ 分别为 4.732 0、14.750 3 μg/mL 和 29.548 7 μg/mL (表 2); 己唑醇、苯醚甲环唑、戊唑醇、氟环唑、啉菌酯等药剂对分离物 TH11290202 具有良好的抑制作用。

表 2 8 种杀菌剂对茼蒿叶斑病病原菌菌丝生长的毒力

Table 2 Toxicity of eight fungicides to the mycelial growth of *Cercospora* isolate TH11290202

杀菌剂 Fungicide		斜率±标准误 Slope±SE	$\chi^2(df)$	有效中浓度(95%置信限)/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ EC_{50} (95% confidence interval)
95.4%己唑醇 TC	hexaconazole 95.4% TC	0.744 5±0.06 67	0.268 2 (4)	0.042 3(0.036 7~0.047 4)
95.2%苯醚甲环唑 TC	difenoconazole 95.2% TC	0.445 9±0.032 5	0.263 3 (4)	0.060 4(0.055 6~0.064 1)
97.0%戊唑醇 TC	tebuconazole 97.0% TC	0.734 9±0.056 8	0.205 4 (4)	0.317 4(0.229 5~0.385 0)
98.0%氟环唑 TC	epoxiconazole 98.0% TC	0.938 2±0.084 1	0.448 5 (4)	0.452 4(0.388 1~0.491 1)
98.0%啞菌酯 TC	azoxystrobin 98.0%TC	0.313 5±0.025 8	0.215 9 (4)	0.863 3(0.801 2~0.905 4)
96.9%异菌脲 TC	iprodione 96.9%TC	1.669 1±0.146 5	0.569 5 (4)	4.732 0(3.784 3~4.954 8)
98.0%多菌灵 TC	carbendazim 98.0%TC	2.675 5±0.211 3	0.522 9 (4)	14.750 3(12.445 5~15.66 2)
97.0%咪鲜胺 TC	prochloraz 97.0%TC	0.314 8±0.017 6	0.669 5 (4)	29.548 7(23.554 7~34.491 7)

3 讨论

本研究对采自上海市奉贤区的茼蒿叶部病害进行了分离纯化、形态和生物学鉴定、致病性测定和柯赫氏法则验证,并对分离物的 ITS、TEF、CAL 和 ACT 的多基因序列联合的 NJ 系统发育树分析,结果显示病原菌分离物 TH11290202 与芹菜尾孢标准菌株 CBS 116455 聚在同一分支,自展值为 97,表明引起上海市奉贤区茼蒿叶斑病的病原为芹菜尾孢 *Cercospora apii*。

本文中茼蒿叶斑病菌的生长最适温度为 26℃,与叶斑病发病时期(11 月—12 月)大棚内的温度基本吻合。在我国报道引起茼蒿叶斑病的病原菌有茼蒿尾孢 *C. artemisiae*^[13-14]、链格孢 *Alternaria* sp.^[15]、木茼蒿链格孢 *A. argyranthemii*^[16] 等。茼蒿尾孢在 PDA 培养基上菌落黄褐色,上有白色菌丝,边缘不整齐,背面颜色较深,常开裂^[14];而本研究中的分离物在 PDA 上正面菌丝纯白色,边缘整齐,培养至 20 d 培养基不开裂。郭英兰等认为尾孢类真菌的分类依据主要是产孢孔和孢脐的结构,色泽和孢痕的厚度,分生孢子梗和分生孢子色泽^[17-18]。本研究探索了该分离物的产孢方法,在 PDA、PSA、查氏培养基、辣椒叶、玉米叶、茼蒿叶等培养基上均很难产孢,参考赵立萍^[19]、赵正龙等^[20]的方法应用 V8 汁培养基、玉米叶粉碳酸钙琼脂培养基 (maize leaf carbonate agar, MLPCA)、辣椒叶粉碳酸钙琼脂培养基 (pepper leaf carbonate agar, PLPCA) 等诱导孢子都未成功(结果未列出),给该分离物的鉴定带来一定困难。

Inglis 等、Conway、Montenegro-Calderón 等^[21-23]的研究证实,ITS 区对大多数尾孢缺乏种间的区分能力。通过 ITS、TEF、CAL 和 ACT 4 个基因核苷酸序列的分析,分离物 TH11290202 的 ITS 序列与

芹菜尾孢、辣椒尾孢、大豆尾孢等多种尾孢属 ITS 序列相似性都超过了 99%;芹菜尾孢与甜菜尾孢两个种的 TEF、ACT 序列相似性都高于 99%,TEF 和 ACT 序列亦难以区分这两个种;芹菜尾孢与甜菜尾孢相似性在 97%左右,与 *C. asparagi* 则相似性高于 99%。芹菜尾孢能侵染芹菜,Groenewald 等通过 ITS,TEF,ACT 和 CAL 联合建树的方法将 67 株尾孢分离物分为芹菜尾孢、*C. apiicola* 与甜菜尾孢 3 组^[24]。DNA 序列信息结合菌落形态特征给尾孢菌的分类提供了重要的帮助,多基因序列联合建树鉴定病原菌的方法已经广泛应用于植物病害的研究^[25-28]。

本研究对分离物 TH11290202 的室内药剂筛选试验结果显示,8 种杀菌剂原药对菌丝生长的抑制作用大小为:三唑类(己唑醇、苯醚甲环唑、戊唑醇、氟环唑)>甲氧基丙烯酸类(啞菌酯)>二甲酰亚胺类(异菌脲)>咪唑类(多菌灵、咪鲜胺);另外,酰胺类杀菌剂 EC₅₀ 均超过 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (结果未显示)。三唑类杀菌剂对分离物的抑制活性较强,EC₅₀ 在 0.04~0.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,若结合使用技术和田间药效登记试验,有望应用于田间病害的防控。酰胺类杀菌剂抑制活性较弱,是否与抗性风险相关需进一步的研究验证。这些结果为小宗作物的杀菌剂药剂登记提供重要的参考,为茼蒿叶斑病的防控提供重要依据。

参考文献

[1] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.

[2] 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(4): 1-5.

[3] 曾蓉, 陆金萍, 陈文俊, 等. 芦笋紫斑病病原鉴定及生物学特性和药剂筛选研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2011, 29(1): 33-37.

[4] HARJU S, FEDOSYUK H, PETERSON K R. Rapid isola-

- tion of yeast genomic DNA; Bust n'Grab [J/OL]. BMC Biotechnology, 2004, 4: 8. DOI: 10.1186/1472-6750-4-8.
- [5] WHITE T, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic [M]// PCR Protocols, a guide to methods and applications. 1990: 315 - 322.
- [6] JAKLITSCH W M, KOMON M, KUBICEK C P, et al. *Hypocrea voglmayrii* sp. nov. from the Austrian Alps represents a new phylogenetic clade in *Hypocrea/Trichoderma* [J]. Mycologia, 2005, 97(6):1365 - 1378.
- [7] O'DONNELL K, NIRENBERG H I, AOKI T, et al. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex; Detection of additional phylogenetically distinct species [J]. Mycoscience, 2000, 41(1):61 - 78.
- [8] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes [J]. Mycologia, 1999, 91(3):553 - 556.
- [9] VAIDYA G, LOHMAN D J, MEIER R. Sequence matrix; concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information [J]. Cladistics—the International Journal of the Willi Hennig Society, 2011, 27(2):171 - 180.
- [10] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 33:1870 - 1874.
- [11] 刘欣, 吴雁, 成玮, 等. 上海地区草莓灰霉病菌对唑类菌胺的敏感性检测及抗性机制分析[J]. 农药学报, 2018, 20(4): 452 - 458.
- [12] TANG Qiyi, ZHANG Chuanxi. Data Processing System (DPS) software with experimental design, statistical analysis and data mining developed for use in entomological research [J]. Insect Science, 2013, 20(2):254 - 260.
- [13] GUO Yinglan, JIANG Yi. Study on *Cercospora* and allied genera in China III [J]. 菌物系统, 2000(4):445 - 448.
- [14] 李宝聚, 周艳芳, 许方程, 等. 李宝聚博士诊病手记(二十四) 浙江温州蔬菜病害调查[J]. 中国蔬菜, 2010(9):26 - 28.
- [15] 周艳芳, 李宝聚, 谢学文, 等. 李宝聚博士诊病手记(十八) 湖北长阳火烧坪高山蔬菜病害调查[J]. 中国蔬菜, 2009(21):18 - 20.
- [16] 罗欢. 中国菊科植物病原链格孢菌大孢子种多样性研究[D]. 荆州: 长江大学, 2019.
- [17] 郭英兰, 刘锡璉. 中国真菌志:尾孢菌属[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [18] 郭英兰. 尾孢类真菌研究进展[J]. 菌物研究, 2020, 18(4):282 - 293.
- [19] 赵立萍. 玉米灰斑病原菌及玉米尾孢遗传变异研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [20] 赵正龙, 吴兴兴, 毛自朝, 等. 玉米灰斑病研究方法: I. 玉米灰斑病菌孢子的培养[J]. 植物保护, 2011, 37(2):156 - 158.
- [21] INGLIS P W, TEIXEIRA E A, RIBEIRO D M, et al. Molecular markers for the characterization of Brazilian *Cercospora caricis* isolates [J]. Current Microbiology, 2001, 42(3):194 - 198.
- [22] CONWAY K E. *Cercospora rodmanii*, a new pathogen of water hyacinth with biological control potential [J]. Canadian Journal of Botany, 1976, 54(10):1079 - 1083.
- [23] MONTENEGRO-CALDERÓN J G, MARTÍNEZ-ÁLVAREZ J A, VIEYRA-HERNÁNDEZ M T, et al. Molecular identification of two strains of *Cercospora rodmanii* isolated from water hyacinth present in Yuriria lagoon, Guanajuato, Mexico and identification of new hosts for several other strains [J]. Fungal Biology, 2011, 115(11):1151 - 1162.
- [24] GROENEWALD M, GROENEWALD J Z, BRAUN U, et al. Host range of *Cercospora apii* and *C. beticola* and description of *C. apiicola*, a novel species from celery [J]. Mycologia, 2006, 98(2):275 - 285.
- [25] 李河, 周国英, 徐建平, 等. 一种油茶新炭疽病原的多基因系统发育分析鉴定[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5):602 - 607.
- [26] 曾莉莎, 吕顺, 刘文清, 等. 基于多基因序列分析对尖孢镰孢菌古巴专化型(香蕉枯萎病菌)生理小种的鉴定[J]. 菌物学报, 2014, 33(4):867 - 882.
- [27] 段丽君, 吕燕, 张慧丽, 等. 基于 DNA 序列分析的葡萄茎枯病菌检疫鉴定[J]. 植物检疫, 2020(4):22 - 30.
- [28] 王艳, 晋玲, 申培增, 等. 基于形态学及多基因位点的枸杞褐斑病原鉴定[J]. 植物保护, 2020, 46(5): 122 - 127.
- (责任编辑: 田 喆)
-
- (上接 260 页)
- [15] SINGH A K, MISHRA K K, CHATTOPADHYAY B, et al. Biological and molecular characterization of a begomovirus associated with yellow mosaic vein mosaic disease of pumpkin from Northern India[J]. Virus Genes, 2009, 39(3): 359 - 370.
- [16] SOPID S. The complete nucleotide sequence of squash leaf curl China virus-[Wax gourd]-and its phylogenetic relationship to other geminiviruses [J]. Scienceasia, 2009, 35(2): 131 - 136.
- [17] SARITHA R K, BAG T K, LOGANATHAN M, et al. First report of squash leaf curl China virus causing mosaic symptoms on summer squash (*Cucurbita pepo*) grown in Varanasi district of India [J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2011, 44(2): 179 - 185.
- [18] TAHIR M, HAIDER M S, BRIDDON R W. First report of squash leaf curl China virus, in Pakistan[J]. Australasian Plant Disease Notes, 2010, 5(1): 21 - 24.
- [19] KRISHNAN N, SUBBARAYALU M, RAMARASU A, et al. The occurrence and distribution of major viruses infecting cucurbits in Tamil Nadu state, India[J]. Crop Protection, 2017, 99: 10 - 16.
- [20] 闫明辉, 张泽龙, 张蓓蓓, 等. 烟粉虱传播双生病毒相关蛋白的研究进展[J]. 华中昆虫研究, 2020, 16: 22 - 29.
- [21] 卢丁伊慧, 刘勇, 戈大庆, 等. 烟粉虱为害特点及其综合防治技术[J]. 长江蔬菜, 2020(18): 69 - 71.
- (责任编辑: 田 喆)