



核桃细菌性黑斑病病原分子鉴定及室内药剂筛选

李亚 张珍荫 肖波 杨斌 赵宁

Identification of the Pathogen of Walnut Blight and Bactericide Screening in Laboratory

Li Ya, Zhang Zhenyin, Xiao Bo, Yang Bin, Zhao Ning

引用本文:

李亚, 张珍荫, 肖波, 杨斌, 赵宁. 核桃细菌性黑斑病病原分子鉴定及室内药剂筛选[J]. 西南林业大学学报, 2022, 42(5):104–110. doi: 10.11929/j.swfu.202104066

Li Ya, Zhang Zhenyin, Xiao Bo, Yang Bin, Zhao Ning. Identification of the Pathogen of Walnut Blight and Bactericide Screening in Laboratory[J]. *Journal of Southwest Forestry University(Natural Science)*, 2022, 42(5):104–110. doi: 10.11929/j.swfu.202104066

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202104066>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

核桃黑斑病致病性泛菌的分离鉴定及壳聚糖抑菌的研究

Identification and Antibacterial Tests of Chitosan for a Pathogenic *Pantoea* Isolate Causing Black Spot of Walnut
西南林业大学学报. 2021, 41(3): 100–106 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202002015>

蓝莓根际土壤真菌多样性及根腐病拮抗菌的筛选

Screening of Fungal Diversity and Root Rot Antagonistic Bacteria in Rhizosphere Soil of *Vaccinium* sp.
西南林业大学学报. 2019, 39(6): 77–85 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201901028>

连翘根际高效解有机磷细菌的筛选鉴定及促生长特性研究

Screening, Identification and Growth Promoting Characteristics of High Efficient Organic Phosphate–mineralizing Bacterium from Rhizosphere Soils of *Forsythia suspensa*
西南林业大学学报. 2018, 38(3): 93–100 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2018.03.014>

小粒咖啡褐斑病病原菌鉴定及田间抗病性研究

Identification of Pathogen Causing Coffee Tree Brown Leaf Spot and Disease Resistance of *Coffea arabica* Varieties in Field
西南林业大学学报. 2017, 37(2): 152–157 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2017.02.025>

杉木根际溶磷菌的筛选鉴定及溶磷能力分析

Screening and Capacity Analysis of Phosphorus Dissolving Bacteria in the Rhizosphere of *Cunninghamia lanceolata*
西南林业大学学报. 2021, 41(2): 85–92 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201912053>

杨树湿心材致病细菌及其拮抗细菌的鉴定

Identification of Pathogen Bacteria and Antagonistic Bacteria of Wet–heart Wood Disease in *Populus*
西南林业大学学报. 2018, 38(6): 134–144 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095–1914.2018.06.018>

DOI: 10.11929/j.swfu.202104066

引文格式: 李亚, 张珍荫, 肖波, 等. 核桃细菌性黑斑病病原分子鉴定及室内药剂筛选 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2022, 42(5): 104–110.

核桃细菌性黑斑病病原分子鉴定及室内药剂筛选

李亚¹ 张珍荫² 肖波³ 杨斌⁴ 赵宁^{1,4}

(1. 西南林业大学生命科学学院, 云南昆明 650233; 2. 玉龙县林业和草原局, 云南丽江 674100; 3. 重庆三峡农业科学院, 重庆万州 404100; 4. 西南林业大学云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南昆明 650233)

摘要: 为确定云南地区核桃细菌性黑斑病的病原菌并筛选防治核桃细菌性黑斑病的有效药剂, 采用分子生物学方法鉴定病原菌, 牛津杯法测试 8 种药剂对黑斑病病原菌的抗菌活性, 测定 8 种药剂对黄单胞杆菌和成团泛菌, 2 种病原菌的室内毒力。结果表明: 对 2 种病原菌均有抑菌活性的是 3% 噻霉酮、72% 农用链霉素和 16% 苯甲·中生, 其中 3% 噻霉酮和 72% 农用链霉素对成团泛菌和黄单胞杆菌的 EC_{50} 分别为 3.89、9.97 mg/mL 和 4.93、14.94 mg/mL, 有着较强的抑制作用。

关键词: 核桃细菌性黑斑病; 黄单胞杆菌; 成团泛菌; 室内药剂筛选

中图分类号: S664.1

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2022)05-0104-07

Identification of the Pathogen of Walnut Blight and Bactericide Screening in Laboratory

Li Ya¹, Zhang Zhenyin², Xiao Bo³, Yang Bin⁴, Zhao Ning^{1,4}

(1. College of Life Sciences, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 2. Forestry and Grassland Bureau of Yulong County, Lijiang Yunnan 674100, China; 3. Chongqing Three Gorges Academy of Agricultural Science, Wanzhou Chongqing 404100, China; 4. Yunnan Provincial Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China)

Abstract: In order to determine the pathogen of walnut blight in Yunnan area and to screen the effective agent for the control of walnut blight. Using molecular biology method to identify pathogenic bacteria and Oxford Cup method to test the antibacterial activity of 8 agents against pathogenic bacteria of walnut blight, and to determine the indoor virulence of 8 agents against *Xanthomonas arboricola* and *Pantoea agglomerans*. The results showed that 3% thiamethoxone, 72% agricultural streptomycin and 16% benzoate were the most effective antimicrobial agents against both pathogens. Among them, 3% thiamethoxone and 72% agricultural streptomycin had strong bacteriostatic effect on both *X. arboricola* and *P. agglomerans*. The EC_{50} values of this 2 antiseptic to *P. agglomerans* were 3.89–9.97 mg/mL, respectively, and those to *X. arboricola* were 4.93–14.94 mg/mL.

Key words: walnut blight; *Xanthomonas arboricola*; *Pantoea agglomerans*; bactericide screening

核桃 (*Juglans regia*), 又称胡桃, 为胡桃科胡桃属植物。其经济价值和食药价值在木本植物中有着不可忽视的作用, 具有很大的发展潜力

和发展优势^[1]。核桃是云南省的支柱产业、特色产业和传统产业, 全省 16 个地、州市, 129 个县、市、区均有分布及栽培^[2-3]。全省核桃种植面积

收稿日期: 2021-04-26; 修回日期: 2021-09-02

基金项目: 云南省林业科技创新项目 (2014CX05) 资助。

第 1 作者: 李亚 (1995—), 女, 硕士研究生。研究方向: 资源微生物开发与利用。Email: liya@swfu.edu.cn。

通信作者: 赵宁 (1979—), 男, 高级实验师。研究方向: 林业有害生物绿色防控研究。Email: lijianzhn@163.com。

达 350.92 万 hm^2 , 产量约 116 万 t, 产值 318 亿元, 种植面积、产量和产值均居全国首位^[4], 其种植面积在全球也名列前茅。但是由于云南的自然条件和地势较为复杂, 以及种植管理方式的落后, 导致全省各地核桃病害种类繁多^[5-7]。据统计, 截至 2020 年, 全省核桃的病虫害共有 160 余种, 病害占 67 种。其中核桃细菌性黑斑病是危害云南核桃的主要病害之一, 严重威胁着云南核桃产业的发展, 影响了核桃的产值产量, 制约着农民增收致富。

核桃细菌性黑斑病是由细菌感染引起的病害^[8-9], 全省多地均有发生^[10-11]。黑斑病主要危害核桃的果实, 感病后导致核桃果实变黑、早落或腐烂^[12-14]。陈善义等^[15]研究发现黄单胞杆菌属细菌 (*Xanthomonas campestris*) 是导致北京地区核桃患黑斑病的主要病原菌; 王瀚等^[16-17]研究表明致使陇南地区核桃患细菌性黑斑病病原菌是 *X. campestris* 和成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*); 张琴等^[18]研究表明美国山核桃黑斑病为真菌病害, 其病原菌为小孢拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis microspora*)。肖波等^[19]通过形态特征观察和生理生化测定说明了云南地区核桃黑斑病的病原菌是黄单胞杆菌 (*X. arboricola*) 和成团泛菌。不同地区核桃黑斑病病原菌存在差异, 弄清细菌性黑斑病的病原菌对于核桃黑斑病的防治具有重要意义, 为开展防治工作提供一定的理论依据。瞿佳等^[20]对陕西地区的核桃黑斑病防治进行了研究, 发现中生菌素、噻霉酮等药剂对核桃黑斑病具有较好的防治效果; 武海斌等^[21]对泰安市核桃园中核桃黑斑病的发生情况进行调查, 针对不同时间的核桃病害发生情况设计了化学防治的用药流程。

本研究采用分子生物学的方法进一步确定云南地区核桃细菌性黑斑病的病原, 并利用牛津杯法筛选 2 种病原菌的防治药剂, 为云南核桃黑斑病的研究和防治工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试培养基

供试培养基为 LB 培养基。

1.1.2 供试菌株

分离自患细菌性黑斑病的核桃, 由西南林业大学生物化学教研室保存, 病原菌株编号 NO39、NO119。

1.1.3 供试药剂

10% 苯醚甲环唑 (上海禾本药业), 72% 农用链霉素 (重庆丰化科技), 3% 噻霉酮 (陕西西大华特科技), 30% 戊唑·多菌灵 (深圳诺普信农化股份有限公司), 16% 苯甲·中生 (深圳诺普信农化股份有限公司), 72% 百菌清 (江苏龙灯化学), 33.5% 咪鲜胺 (江苏明德主达作物科技), 6% 丙灵·多菌灵 (贵州道无生物)。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分子鉴定

将实验室保藏的菌株 NO39 和 NO119 活化到 LB 培养基上, 参照北京百泰克生物技术有限公司试剂盒的提取方法提取基因组 DNA, 采用细菌 16S rDNA 通用引物 27F (5-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3) 和 1492R (5-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3) 进行 PCR 扩增^[22], PCR 反应体系 (50 μL): 模板 2 μL , $2 \times \text{Taq Master Mix}$ 25 μL , 正反引物各 1 μL , ddH₂O 补满体系。PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 退火 90 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 40 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。将扩增产物进行电泳检测后送往北京百泰克生物技术有限公司测序。将测序结果在 GenBank 进行 BLAST 比对, 选取同源性高的序列在 MEGA 7.0 中以 Neighbor-Joining 法进行系统发育树的构建。

1.2.2 杀菌剂对病原菌的抑菌试验

采用牛津杯法进行室内药剂筛选测定。将所选的药剂使用牛津杯法进行初筛, 筛选出对核桃细菌性黑斑病病原菌有抑制作用的药剂, 初筛后, 将有效药剂按高浓度到低浓度进行梯度稀释, 测定出有效药剂对病原菌的半数有效浓度 (EC_{50})。具体方法为: 在制作好的 LB 培养基中加入 300 μL 菌悬液 (10^8 cfu/mL), 用涂布棒涂抹均匀。在已涂菌液的培养基上呈等边三角形放置牛津杯, 在其中 2 组中加入经过滤膜处理的 100 μL 同一浓度的农药, 另一组加入 100 μL 的无菌水做空白对照, 每组做 3 个重复。放入 28 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中, 采用十字交叉法测量抑菌圈的生长直径并计算抑菌率^[23]。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{处理组菌落平均直径 (cm)} - \text{对照组菌落平均直径 (cm)}}{\text{处理组菌落平均直径 (cm)}} \quad (1)$$

1.2.3 分析方法

采用 Excel 2010 软件对数据进行统计分析,

以药剂浓度的对数值为横坐标, 抑制率的几率值为纵坐标建立毒力回归方程, 得出相关系数 R^2 以及 EC_{50} , 并根据 EC_{50} 进行抑菌效果评价分析。

2 结果与分析

2.1 核桃细菌性黑斑病病原菌的分子鉴定

将得到的 2 种病原菌提取其 DNA 进行 PCR 扩增后送往北京百泰克生物技术有限公司进行测序。将测序得到的片段在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 选取同源性高的序列在 MEGA7.0 中采用 Neighbor-Joining 法构建分子系统发育树。根据 Kimura 2-parameter 法计算遗传距离, 以 NJ 法

Bootstrap 1000 次后构建系统发育树。菌株 NO39 在 NCBI 中比对后, 发现其 16S rDNA 序列与 GenBank 中的成团泛菌同源性高达 99.93%, 构建的系统发育树, 见图 1。由图 1 可知, 菌株 NO39 与 4 株成团泛菌聚在同一个节点, 并且其可信度达到 100%。而菌株 NO119 是黄单胞菌属下的一种, 由图 2 可看出, 菌株 NO119 与 2 株单胞杆菌在同一节点, 虽然 BLAST 后其与 *X. campestris*、*X. oryzae* 的相似性也很高, 但图 2 可看出, 其在发育过程中出现了分支, 并且都与假单胞菌属下的 *Pseudomonas aeruginosa* 保持着较远距离。

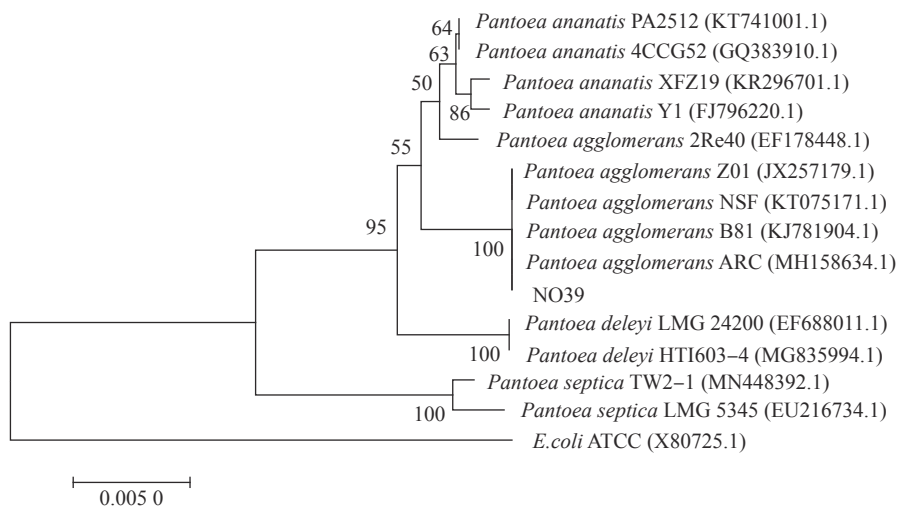


图 1 菌株 NO39 基于 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig. 1 NO39 phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences

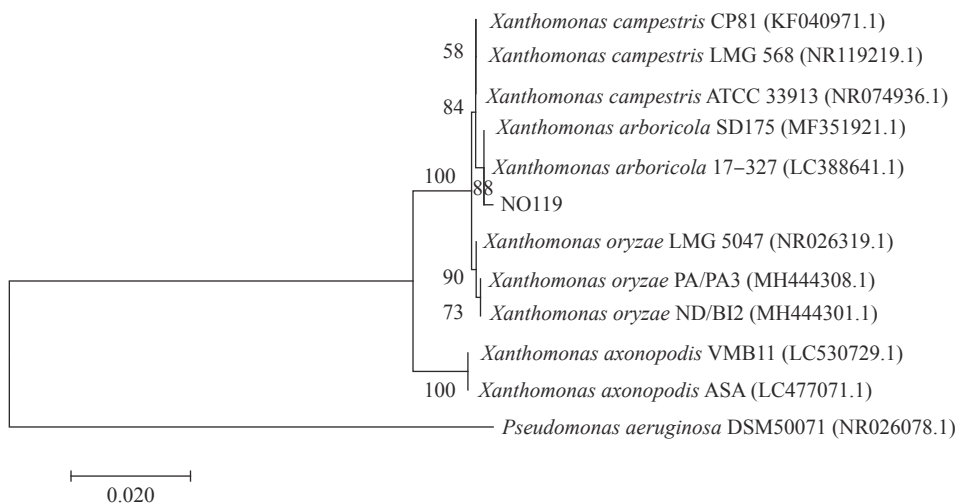


图 2 菌株 NO119 基于 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig. 2 NO119 phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences

综上所述, 可将菌株 NO39 确定为成团泛菌, 菌株 NO119 确定为黄单胞杆菌, 同时将 2 株细菌提交到 NCBI 中, 得到菌株 NO39 的序列号为

MH036307, 菌株 NO119 的序列号为 MG872816。

2.2 供试杀菌剂对 2 种病原菌的抑制效果

将 8 种供试药剂使用牛津杯法进行初筛,

通过判断是否有抑菌圈产生分别筛选出对黄单胞杆菌和成团泛菌有抑制作用的药物(表1)。结果在8种供试药剂中,仅有72%农用链霉素、16%苯甲·中生和3%噻霉酮3种药剂有明显抑菌

圈产生,对成团泛菌有抑制作用。当72%农用链霉素浓度为33.33 mg/mL时,抑菌率达到65.23%,而16%苯甲·中生和3%噻霉酮浓度为60 mg/mL时,抑菌率分别为46.09%和58.37%。

表1 供试药剂对两种病原菌的抑制效果

Table 1 The inhibitory effect of the test agent on 2 pathogens

供试药剂	成团泛菌		黄单胞杆菌	
	建议浓度/(mg·mL ⁻¹)	抑制率/%	建议浓度/(mg·mL ⁻¹)	抑制率/%
10%苯醚甲环唑	66.67	—	66.67	—
72%农用链霉素	33.33	65.23	33.33	58.86
3%噻霉酮	60.00	58.37	60.00	79.84
33.5%咪鲜胺	66.67	—	66.67	60.55
30%戊唑·多菌灵	60.00	—	60.00	39.73
16%苯甲·中生	60.00	46.09	60.00	32.39
72%百菌清	66.67	—	66.67	—
6%丙灵·多菌灵	13.33	—	13.33	13.41

注:—表示无抑菌圈产生。

而选用的8种杀菌剂中72%农用链霉素、3%噻霉酮、33.5%咪鲜胺、30%戊唑·多菌灵、16%苯甲·中生和6%丙灵·多菌灵对黄单胞杆菌都有一定的抑制效果,60 mg/mL的3%噻霉酮对黄单胞杆菌的抑制率达到79.84%,72%的农用链霉素对黄单胞杆菌的抑制率达到58.86%。不同的杀菌剂对黄单胞杆菌的抑菌效果存在一定差别,本研究选用对成团泛菌和黄单胞杆菌均有抑制作用的3种药剂3%噻霉酮、72%农用链霉素和16%苯甲·中生进行毒力测试。

2.3 有效杀菌剂对2种病原菌的毒力测定

以药剂浓度的对数值为横坐标,抑菌率的几率值为纵坐标,计算出3种杀菌剂对成团泛菌的毒力回归方程、相关系数和EC₅₀值。从表2可以看出,筛选出的3种药剂对核桃细菌性黑斑病原菌成团泛菌都有一定的抑制作用,其中3%噻霉酮抑菌效果最好,浓度为0.94 mg/mL时,抑菌率可达到46.67%,其EC₅₀为3.89 mg/mL;其次是72%农用链霉素,其EC₅₀值为9.97 mg/mL;16%苯甲·中生抑制效果最差,EC₅₀值为103.30 mg/mL。

表2 3种药剂对病原细菌成团泛菌的毒力比较

Table 2 Comparison of virulence of 3 effective bactericide to *P. agglomerans*

杀菌剂	浓度/(mg·mL ⁻¹)	平均直径/cm	抑制率/%	毒力回归方程	相关系数R ²	EC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)
72%农用链霉素	240	3.18 ± 0.56	74.84	$y = 0.5571x + 4.4437$	0.9101	9.97
	120	2.85 ± 0.71	71.93			
	60	2.50 ± 0.22	68.00			
	30	2.28 ± 0.31	64.91			
	15	1.83 ± 0.45	56.28			
	7.5	1.65 ± 0.76	51.52			
	3.75	1.20 ± 0.22	33.33			
16%苯甲·中生	240	1.95 ± 0.57	58.97	$y = 0.7506x + 3.4882$	0.9616	103.30
	120	1.67 ± 0.89	52.10			
	60	1.53 ± 0.11	47.71			

续表 2

杀菌剂	浓度/(mg·mL ⁻¹)	平均直径/cm	抑制率/%	毒力回归方程	相关系数R ²	EC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)
16%苯甲·中生	30	1.18 ± 0.34	32.20	$y = 0.7506x + 3.4882$	0.9616	103.30
	15	1.08 ± 0.55	25.93			
	7.5	0	0			
	3.75	0	0			
3%噻霉酮	60	1.93 ± 0.13	58.55	$y = 0.1683x + 4.9007$	0.9778	3.89
	30	1.80 ± 0.55	55.56			
	15	1.75 ± 0.72	54.29			
	7.5	1.63 ± 0.88	50.92			
	3.75	1.60 ± 0.54	50.00			
	1.88	1.52 ± 0.63	47.37			
	0.94	1.50 ± 0.05	46.67			

以药剂浓度的对数值为横坐标, 抑菌率的几率值为纵坐标, 计算出 3 种杀菌剂对黄单胞杆菌的毒力回归方程、相关系数和 EC₅₀ 值, 结果见表 3。由表 3 可知, 72% 农用链霉素、3% 噻霉酮和 16% 苯甲·中生 3 种药剂对黄单胞杆菌都有一定的抑制作用, 但不同的药剂间抑制效果差异

较大。3% 噻霉酮对黄单胞杆菌的抑制效果最好, 浓度为 60 mg/mL 时抑菌率达到 81.18%, 其 EC₅₀ 值为 4.93 mg/mL, 其次是 72% 农用链霉素, 其 EC₅₀ 值为 14.94 mg/mL, 16% 苯甲·中生对黄单胞杆菌的抑菌效果最差, 其 EC₅₀ 值为 67.03 mg/mL。

表 3 三种药剂对病原细菌黄单胞杆菌的毒力比较

Table 3 Comparison of virulence of 3 effective bactericide to *X. arboricola*

杀菌剂	浓度/(mg·mL ⁻¹)	平均直径/cm	抑制率/%	毒力回归方程	相关系数/R ²	EC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)
72%农用链霉素	240	3.02 ± 0.23	73.51	$y = 0.615x + 4.2778$	0.9136	14.94
	120	3.15 ± 0.21	74.60			
	60	2.43 ± 0.11	67.08			
	30	1.87 ± 0.24	57.22			
	15	1.53 ± 0.05	47.71			
	7.5	0	0			
	3.75	0	0			
16%苯甲·中生	240	2.15 ± 0.20	62.79	$y = 0.6926x + 3.7351$	0.9333	67.03
	120	1.82 ± 0.11	55.97			
	60	1.73 ± 0.15	53.84			
	30	1.38 ± 0.33	42.15			
	15	1.13 ± 0.07	29.39			
	7.5	0	0			
	3.75	0	0			
3%噻霉酮	60	4.25 ± 0.33	81.18	$y = 0.9614x + 4.334$	0.9382	4.93
	30	3.75 ± 0.27	78.67			
	15	2.80 ± 0.04	71.43			
	7.5	2.27 ± 0.16	64.76			
	3.75	1.39 ± 0.18	42.45			
	1.88	1.15 ± 0.03	30.43			
	0.94	0	0			

3 结论与讨论

细菌性黑斑病是一种对核桃的果实、枝干和叶片都能产生严重影响的病害,本研究通过采用分子生物学的方法鉴定出云南地区核桃黑斑病的主要病原菌是黄单胞杆菌和成团泛菌,并且采用牛津杯法分别测定8种杀菌剂对成团泛菌和黄单胞杆菌的抑制作用,筛选出了3%噻霉酮、72%农用链霉素、16%苯甲·中生3种药物对成团泛菌和黄单胞杆菌均具有良好抑制作用。

筛选出对核桃细菌性黑斑病有防治作用的药剂对核桃产业的发展具有深远的意义。已有多篇报道表明抗生素类药剂对细菌性病害有较好的防治效果^[24-25],本研究筛选出的72%农用链霉素对成团泛菌和黄单胞杆菌都有一定的抑制作用。孙俊^[26]采用分光光度计法也说明农用链霉素对核桃黑斑病的病原细菌有着较好的抑制作用,可用于生产实践。王瀚等^[27-28]通过使用抑菌圈法和平板菌落计数法得出农用链霉素和百菌清对成团泛菌的防治有时间和剂量效应,但在本研究中,百菌清对成团泛菌的抑制效果并不明显。王琳莹^[29]研究发现咪鲜胺和甲基硫菌灵混合试剂对核桃黑斑病有较好的防治效果,而本研究中咪鲜胺对成团泛菌无抑制作用,可能是由于不同地区分离出的病原菌抗病性存在差异,王琳莹研究的石棉县核桃(NO.EF178448.1)与本研究中的成团泛菌虽然都属于*Pantoea agglomerans*,但二者进化关系属于不同分支。因此对于不同地区的核桃黑斑病防治应因地制宜,结合当地实际进行防治试验。

不同地区核桃黑斑病的病原菌抗性有所不同,本研究筛选出的72%农用链霉素和3%噻霉酮对云南核桃细菌性黑斑病病原菌有良好的抑制作用,可为云南地区核桃细菌性黑斑病的防治提供参考依据。

[参 考 文 献]

- [1] 张永成,马佳乐,唐玉荣,等.我国核桃初加工现状与分析[J].食品工业,2020,41(7):198-202.
- [2] 王田利.我国核桃产业发展概况[J].中国果业信息,2014,31(7):22-24.
- [3] 余红红,李娅,廖灵芝.云南省核桃产业发展策略研究[J].林业经济问题,2019,39(4):427-434.
- [4] 王佳英,李娅.基于乡村振兴视角的云南省核桃产业发展路径分析[J].北方园艺,2021(9):143-149.
- [5] 黄雄,王琳莹,肖千文,等.核桃炭疽病病原鉴定及抑菌药剂筛选[J].中国农业大学学报,2016,21(12):41-48.
- [6] 黄雄,罗永飞,肖千文,等.16种杀菌剂组合对核桃炭疽病和黑斑病的防控效果[J].湖南农业大学学报,2016,42(6):631-634.
- [7] 尹万瑞,朱天辉.核桃枯枝病病原菌生物学特性及药剂防治[J].东北林业大学学报,2016,44(7):98-101.
- [8] 张力元.陕西省核桃几种病虫害调查及田间防效研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [9] 谯天敏,王丽,朱天辉.核桃细菌性黑斑病杀菌剂筛选及药效研究[J].植物保护,2020,46(4):258-263,269.
- [10] 陈鹏,袁瑞玲,王艺璇,等.云南大姚县核桃病虫害绿色防控技术应用示范[J].中国南方果树,2018,47(6):74-80.
- [11] 陈鹏,袁瑞玲,王艺璇,等.云南陆良县核桃病虫害绿色防控技术应用示范[J].西部林业科学,2018,47(5):9-18.
- [12] 张传清,徐志宏,孙品雷,等.新病害—山核桃果实黑斑病病原菌的鉴定[J].植物保护,2010,36(4):160-162.
- [13] 王全武,魏植德,李明,等.南方核桃“黑核桃”症的成因与预防对策[J].中国南方果树,2014,43(1):94-95.
- [14] 惠军涛,杨峰,杨桦.核桃黑斑病综合防治措施[J].西北园艺,2016(5):36-37.
- [15] 陈善义,陶万强,王合,等.北京地区核桃黑斑病病原菌的分离、致病性测定和16S rDNA序列分析[J].果树学报,2011,28(3):469-473,549.
- [16] 王瀚,卓平清,王让军,等.甘肃陇南核桃黑斑病病原菌的分离鉴定及其致病性研究[J].中国果树,2018(4):69-71.
- [17] 王瀚,王让军,田凤鸣,等.陇南核桃致病性成团泛菌的分离鉴定及其致病性研究[J].福建农业学报,2016,31(10):1086-1090.
- [18] 张琴,徐奎源,杨先裕,等.4种药剂防治美国山核桃黑斑病林间药效试验[J].浙江林业科技,2019,39(3):74-77.
- [19] 肖波,卢世栋,杨斌,等.云南核桃细菌性黑斑病病原菌的分离与鉴定[J].贵州农业科学,2017,45(12):55-58.
- [20] 瞿佳,门欣,孙晓宇,等.陕西核桃黑斑病病原菌鉴定及药剂防治研究[J].西北农业学报,2021,30(3):452-461.
- [21] 武海斌,付丽,姜莉莉,等.泰安市核桃园主要病虫害发生情况及其化学防治用药流程[J].植物保护学报,

- 2020, 47(5): 1122–1130.
- [22] 郭萌. 大白菜软腐病新病原菌 *Pantoea agglomerans* 鉴定及抗性鉴定方法 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- [23] 严婉荣, 肖敏, 赵志祥, 等. 辣椒细菌性叶斑病病原鉴定及室内药剂筛选 [J]. *植物保护*, 2016, 42(5): 205–209.
- [24] 黄武仁, 文衍堂. 西瓜细菌性果斑病菌的室内药剂筛选试验 [J]. *华南热带农业大学学报*, 2001, 7(3): 10–11.
- [25] 李晓娜. 五种栽培植物上细菌病害的病原菌鉴定及室内药剂筛选 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2006.
- [26] 孙俊. 核桃黑斑病菌杀菌剂敏感性测定 [J]. *北方园艺*, 2017(9): 103–106.
- [27] 王瀚, 王让军, 赵淑玲, 等. 农药百菌清对核桃黑斑病伴生病原菌成团泛菌的抑菌活性研究 [J]. *北方园艺*, 2016(14): 119–121.
- [28] 王瀚, 王让军, 赵淑玲, 等. 农用链霉素对核桃黑斑病伴生病原菌成团泛菌的抑菌活性 [J]. *绵阳师范学院学报*, 2016, 35(5): 60–63.
- [29] 王琳莹. 石棉县核桃黑斑病与炭疽病病原鉴定及其防治技术研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2015.

(责任编辑 张 坤)

