

湖南省油菜品种的种传链格孢菌检测

金程凡¹,朱宏建^{1,2,3},高必达^{1,2,3*},胡冬炎⁴

(1. 湖南农业大学植物保护学院,湖南 长沙,410128;2. 植物疾病控制与利用湖南省高校重点实验室,湖南 长沙,410128;
3. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室,湖南 长沙,410128;4. 醴陵市植保植检站,湖南 醴陵,412205)

摘要:2012 年在湖南醴陵市油菜黑霉病果上经镜检和病种分离检出链格孢 (*Alternaria* spp.),其后检测了 36 个品种的种子带菌情况,华湘油 12 号带菌率最高(51%)。镜检结果发现链格孢菌有 2 种,rDNA – ITS 序列分析表明,它们分别是芸薹生链格孢(*A. brassicicola*)和芸薹链格孢(*A. brassicae*);未检测到萝卜链格孢(*A. raphani*)。36 个品种中芸薹生链格孢分离频率最高的是华湘油 12 号(66%),且全为芸薹生链格孢,而芸薹链格孢以常油杂 61 为最高(15%),且全为芸薹链格孢。禾盛油 868 种子上未检测到链格孢菌。

关键词:油菜黑斑病;链格孢菌;种子带菌;rDNA – ITS PCR

中图分类号:S435.654 **文献标识码:**A **文章编号:**1007 – 9084(2014)04 – 0502 – 06

Seedborne *Alternaria* detection of rapeseed cultivars in Hunan Province

JIN Cheng – fan¹, ZHU Hong – jian^{1,2,3}, GAO Bi – da^{1,2,3*}, HU Dong – yan⁴

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;
2. Hunan University Key Lab for Control and Utilization of Plant Diseases, Changsha 410128, China;
3. Hunan Provincial Key Lab for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Changsha 410128, China;
4. Plant Protection and Quarantine Station of Liling City, Liling 412205, China)

Abstract: *Alternaria* spp. was detected on rapeseed siliques with black mold collected from Liling city of Hunan Province under microscope in 2012. Among 36 tested commercial rapeseed cultivars, Huaxiangyou 12 had the highest *Alternaria* contamination frequency (up to 51%) by microscope on seed detection. Isolates were proved to be *A. brassicicola* and *A. brassicae* respectively by rDNA – ITS sequence analysis. Huaxiangyou 12 had the highest isolation rate (66%) and only carried *A. brassicicola*. Changyouza 61 had the highest *A. brassicae* isolation frequency (15%). No *A. raphani* was isolated. Heshengyou 868 had neither of the *Alternaria* spp.

Key words: Rapeseed black spot; *Alternaria*; Seed – borne fungi; rDNA – ITS PCR

2012 年 5 月湖南省醴陵市,品种为丰油 730F1 的油菜上发生严重病害,油菜角果上大量着生黑色霉状物,发病面积在 90% 以上,重病田失收。地势低洼、排水不畅田块发病更重。通过试验鉴定该病害为油菜黑斑病。

油菜黑斑病是油菜上发生严重的一种病害,在我国和世界各油菜产区均有发生。已报道的引起油菜黑斑病的病原菌有芸薹链格孢 (*Alternaria brassicae*)、芸薹生链格孢 (*Abrassicicola*) 和萝卜链格孢 (*Araphani*)3 个种。油菜黑斑病可通过种子传播形

成异地扩散和蔓延,危害叶片和整株植物^[1]。通过种子的带菌检测,可以了解种子的带菌种类,为种子消毒方式的选择、种子包衣的设计、病害初侵染源的预防,提供科学依据。因此,种子带菌检测是病害防治的重要措施之一^[2~5]。本研究针对油菜黑斑病,以 36 个油菜品种的种子为材料,运用吸水纸检测法和分子生物学鉴定方法对种子上携带的链格孢菌进行检测和分类,旨在明确不同油菜品种种子上携带的链格孢菌的种类和带菌情况,为预防和控制油菜黑斑病的发生、危害提供理论依据。

收稿日期:2014-02-10
基金项目:国家支撑计划课题(2012BAD15B04 – 1);公益性行业(农业)科研专项(201103016)
作者简介:金程凡(1989 –),女,浙江人,硕士研究生,主要从事植物病原物分子鉴定研究,E – mail:532603490@qq.com
* 通讯作者:高必达,教授,博士生导师,主要从事分子植物病理学研究;E – mail:bdgao@aliyun.com

1 材料与方法

1.1 材料

油菜病株采自湖南省醴陵市。

油菜种子采自湖南省油菜主产区常德市。共36个品种,即常油杂61、兴地油1号、常杂油2号、天油97、中油杂11、油研818、油研10、渝黄2号、希望528F1、华油杂9号、先油339、金湘油9号、中双5号、禾盛油868、华湘油9号、禾盛油555、湘杂油631、湘杂油5号、湘杂油753、湘杂油6号、沔油5103、湘杂油4号、亚科58、沔油792F1、中油杂7819、湘杂油188、华油杂62、丰油730、鼎油杂4号、油研817、华湘油12号、中双8号、绵新油58、油研1707、华油杂15、油研50。

1.2 症状观察及分离镜检

观察醴陵油菜病株的症状特征。检测病株的种子千粒重,与正常植株的种子千粒重相比较。

从醴陵油菜病株上选取发生黑霉病的角果及其种子,用70%的酒精对其表面进行消毒后,均匀摆放于保湿容器中,置于27℃恒温箱中进行保湿培养。培养3d左右挑取霉层进行镜检,观察病菌形态并拍照。根据陆家云^[6]、魏景超^[7]和张天宇^[8]的真菌鉴定和分类系统对霉菌初步鉴定到属。

采用组织分离法切取发病角果的病健交界处组织及其整粒种子,首先用1%升汞表面消毒5s,70%酒精表面消毒30s,用无菌水清洗3次,然后在无菌条件下接种到加有0.1%链霉素的PDA培养基上,于27℃恒温箱中进行培养。培养3d后,挑取长出的霉菌再次做镜检。

1.3 接种和再分离

在离体接种实验中,取一片健康油菜叶片,经常规表面消毒和无菌水清洗后,摆放于保湿容器中。将分离菌纯化培养6d后刮取表面菌丝层,纱布过滤得到分生孢子。用血小球计数板计算孢子浓度并将浓度调至 1×10^6 个/mL。用昆虫针将油菜叶片的左右两侧各刺伤4处。左侧接种孢子悬浮液,右侧接种无菌水作为对照,于27℃恒温箱中进行保湿培养,4d后取出观察^[9]。

在活体接种试验中,采用喷雾接种,将孢子悬浮液喷至油菜角果上,14d后观察发病情况。

接种的组织表明明显症状后,发病组织进行再分离。若分离得到的菌株与接种的菌株性状相同,则证明接种菌株为该病害的致病菌,符合柯赫氏法则。

1.4 吸水纸检测油菜种子的带菌率

参照种子农作物检验规程^[10~13]等的吸水纸法,

略作修改。对36个油菜品种进行吸水纸检测。每个品种随机取1000粒左右的种子均匀摆放于保湿容器中,置于27℃恒温箱中进行保湿培养。培养5d左右,当种子长出菌丝体或霉层时,用镊子挑取菌丝或霉层,置于显微镜下观察并拍照。对霉菌初步鉴定到属并进行分类,记录带有链格孢菌种子的数量,计算不同油菜品种的种子带菌率。

链格孢菌带菌率 = (带链格孢菌种子/检测种子总数) × 100%。

1.5 种子上链格孢菌镜检及 rDNA - ITS 扩增法鉴定

采用组织分离法对收集到的36个油菜品种进行真菌分离和镜检。每一个品种随机选择100粒种子。将种子均匀置于加有0.1%链霉素的PDA平板培养基上,于27℃恒温箱中进行培养。培养5d后当种子长出菌丝体或霉层时,用镊子挑取菌丝或霉层,置于显微镜下观察孢子形态,根据孢子形态进行分类。根据镜检鉴定结果统计36个品种中种子上携带的链格孢菌的种类,并计算其分离频率。分离频率 = (某一分离物的检出数/检测种子总数) × 100%。

筛选出镜检分类为链格孢菌的菌株,从中挑取部分菌丝进行纯化培养用于rDNA - ITS分类。用SDS法提取菌种纯培养物的DNA。PCR扩增引物为真菌核糖体RNA基因ITS通用引物(ITS4: TC-CTCCGCTTATTGATATGC; ITS5: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)。rDNA - ITS的PCR产物核苷酸序列经BLAST从GenBank数据库找到相近序列,用MEGA4.0软件建立系统发育树,对霉菌进行分子鉴定^[14]。

2 结果与分析

2.1 症状特征

醴陵油菜病株的症状为叶柄、叶柄与主茎交接处染病形成椭圆形至梭形轮纹状病斑,角果上生黑色霉状物,籽粒瘦小。发病油菜种子千粒重为1.604g,较正常种子千粒重3.8g减重57.89%。

2.2 保湿镜检、分离镜检结果

对醴陵市发病角果及其种子进行了保湿镜检,镜检观察到病菌的分生孢子梗单生或成簇,淡褐色至褐色,其孢子为倒棍棒形,浅褐色至褐色,具横、纵隔膜(图1),初步鉴定该病原物为链格孢菌(*Alternaria* spp.)。对发病角果和种子分离培养得到的病菌进行镜检,镜检观察到的病菌同样均为链格孢菌。

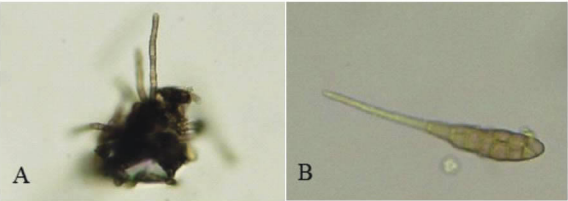


图1 显微镜观察到的分生孢子梗
(A)和孢子(B)(400×)
Fig.1 Conidiophore(A) and conidia(B)
under microscope observation (400×)

2.3 接种和分离

从分离到的菌株中取一个菌株,将该菌株命名为FY730F-01,纯化培养后做接种实验。

在离体接种实验中,接种2d后叶片左侧接种FY730F-01处开始出现病斑,病斑面积逐渐扩大且颜色加深。接种4d后,病斑直径平均为16mm,病斑中心腐烂穿透叶片,边缘有黑色晕圈,且叶片左侧大部分区域黄化,而叶片右侧无病斑且无明显黄化(图2A)。

在活体接种试验中,喷雾接种FY730F-01孢子悬浮液14d后,角果上出现黑褐色病斑,发病严重

的角果上着生黑色霉状物(图2B~D)。

对接种后产生的病斑处再次进行分离,得到与原分离菌株一致的病原菌。根据柯赫氏法则,证明FY730F-01为油菜角果黑霉病的致病菌。

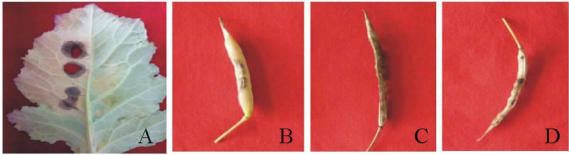


图2 叶片离体接种第4d和角果活体接种第14d症状
Fig.2 Symptoms on leaf after in vitro inoculation (4d)
and on siliques after in vivo inoculation(14d)

2.4 油菜品种种子上的链格孢带菌率

采用吸水纸检测法检测了36个品种的油菜种子,结果表明不同品种之间在种子携带链格孢菌的数量上存在较大差异。华湘油12号的链格孢带菌率最高,为51%,而兴地油1号、金香油9号、鼎油杂4号、禾盛油868、中双8号、华湘杂62上均未检测到链格孢菌(表1)。

表1 36个油菜品种种子上的链格孢带菌率
Table 1 Seedborne Alternaria carrying rate of 36 rapeseed cultivars

品种 Cultivar	带菌率/% Carring rate	品种 Cultivar	带菌率/% Carring rate	品种 Cultivar	带菌率/% Carring rate	品种 Cultivar	带菌率/% Carring rate
常油杂 61 Changyouza 61	19	湘杂油 753 Xiangzayou 753	17	华油杂 9 号 Huayouza 9	19	丰油 730 Fengyou 730	21
兴地油 1 号 Xingdiyou 1	0	湘杂油 6 号 Xiangzayou 6	2	先油 339 Xianyou 339	2	鼎油杂 4 号 Dingyouza 4	0
常杂油 2 号 Changzayou 2	15	沔油 5103 Fengyou 5103	3	金湘油 9 号 Jinxiangyou 9	0	油研 817 Youyan 817	33
天油 97 Tianyou 97	10	湘杂油 4 号 Xiangzayou 4	39	中双 5 号 Zhongshuang 5	3	华湘油 12 号 Huaxiangyou 12	51
中油杂 11 Zhongyouza 11	4	亚科 58 Yake 58	8	禾盛油 868 Heshengyou 868	0	中双 8 号 Zhongshuang 8	0
油研 818 Youyan 818	12	沔油 792F1 Fengyou 792F1	5	华湘油 9 号 Huaxiangyou 9	15	绵新油 58 Mianxinyou 58	11
油研 10 Youyan 10	13	中油杂 7819 Zhongyouza 7819	4	禾盛油 555 Heshengyou 555	5	油研 1707 Youyan 1707	3
希望 528F1 Xiwang 528F1	4	湘杂油 188 Xiangzayou 188	18	湘杂油 631 Xiangzayou 631	37	华油杂 15 Huayouza 15	7
渝黄 2 号 Yuhuang 2	8	华油杂 62 Huayouza 62	0	湘杂油 5 号 Xiangzayou 5	4	油研 50 Youyan 50	24

2.5 根据孢子形态分类链格孢菌

在36个油菜品种的种子链格孢菌分离鉴定试验中,根据孢子形态可将分离得到的链格孢菌株分类为A、B两个不同的种(图3的A和B)。镜检观察到菌种A的分生孢子呈褐色至黑褐色,圆筒形至椭圆形,无喙,具横、纵隔膜(图3A);菌种B的分生孢子为倒棍棒形,呈浅褐色至褐色,具横、纵隔膜,喙柱状,呈浅褐色,具分隔(图3B)。

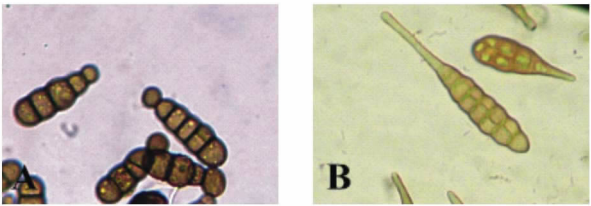
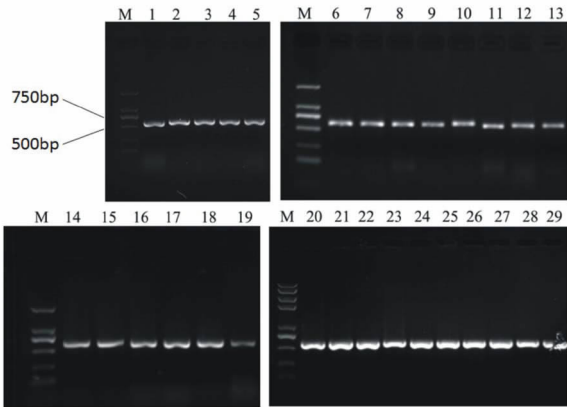


图3 种子上携带的两种链格孢菌(400×)
Fig.3 Two species of Alternaria
carried by rapeseeds (400×)

2.6 rDNA ITS 序列分析

随机选取 29 个镜检分类为链格孢菌的菌株做 rDNA - ITS 的 PCR 扩增和凝胶电泳检测。得到 ITS 扩增区(ITS4 ~ ITS5)约为 600bp,无明显长度差异(图 4)。经测序后得到的序列利用 MEGA4.0 构建系统发育树(图 5)。图 5 显示,29 个供试菌株与 *A. japonica*、*A. tenuissirna* 聚集在不同的簇,说明 29 个供试菌株的 ITS 序列与 *A. japonica*、*A. tenuissirna* 的 ITS 序列相同的置信度较低。由于镜检结果初步鉴定 29 个菌株为链格孢菌,其中菌株 YY817 - 15、YY817 - 16、YY10 - 01、YY50 - 09、HXY12 - 06、YY817 - 06、MXY - 05、HXY12 - 15、MXY - 01、YY1707 - 01、MXY - 07、YY50 - 08、FY730 - 07、YY50 - 06、YY1707 - 02、HXY12 - 08、YY1707 - 03、YY10 - 07、HXY12 - 14、MXY - 03,根据孢子形态分类为菌种 A,它们与 *A. brassicicola* 聚为一簇,且置信度大于 95%,因此可确认该 20 个菌株为 *A. brassicicola*;而菌株 FY730F - 01、FY730 - 04、S31 - 02、FY730 - 14、D - 01、FY730 - 13、YY50 - 04、FY730 - 02、Y - 01,根据孢子形态分类为菌种 B,它们与 *A. brassicae* 聚为一簇,且置信度大于 95%,因此可确认该 9 个菌株为 *A. brassicae*。



注/Note:M:DL2000 marker;1:D - 01; 2:FY730 - 04; 3:FY730 - 07; 4:FY730 - 13; 5:FY730 - 14;6:FY730F - 01; 7:FY730F - 02; 8:HXY12 - 06; 9:HXY12 - 8; 10:HXY12 - 14; 11:HXY12 - 15; 12:MXY - 01; 13:MXY - 03; 14:MXY - 05; 15:MXY - 07; 16:S31 - 02; 17:Y - 01; 18:YY10 - 01; 19:YY10 - 07; 20:YY50 - 04; 21:YY50 - 06; 22:YY50 - 08; 23:YY50 - 09; 24:YY817 - 06; 25:YY817 - 15; 26:YY817 - 16; 27:YY1707 - 01; 28:YY1707 - 02; 29:YY1707 - 03

图 4 链格孢菌 29 个菌株的 rDNA - ITS PCR 扩增
Fig.4 rDNA - ITS PCR of 29 isolates

2.7 36 个品种种子携带的链格孢菌种类及其分离频率

上述镜检和分子鉴定结果表明 36 个品种种子上携带的链格孢菌为芸薹链格孢(*A. brassicae*)和芸薹生链格孢(*A. brassicicola*),并未检测到萝卜链格孢(*A. raphani*)。不同品种种子上链格孢菌(总)分

离频率有较大差异,华湘油 12 号上链格孢菌的(总)分离频率最高,为 66%,而禾盛油 868 上链格孢菌的(总)分离频率为 0%(表 2)。在所有分离物中,芸薹生链格孢的分离频率比芸薹链格孢的分离频率略高。

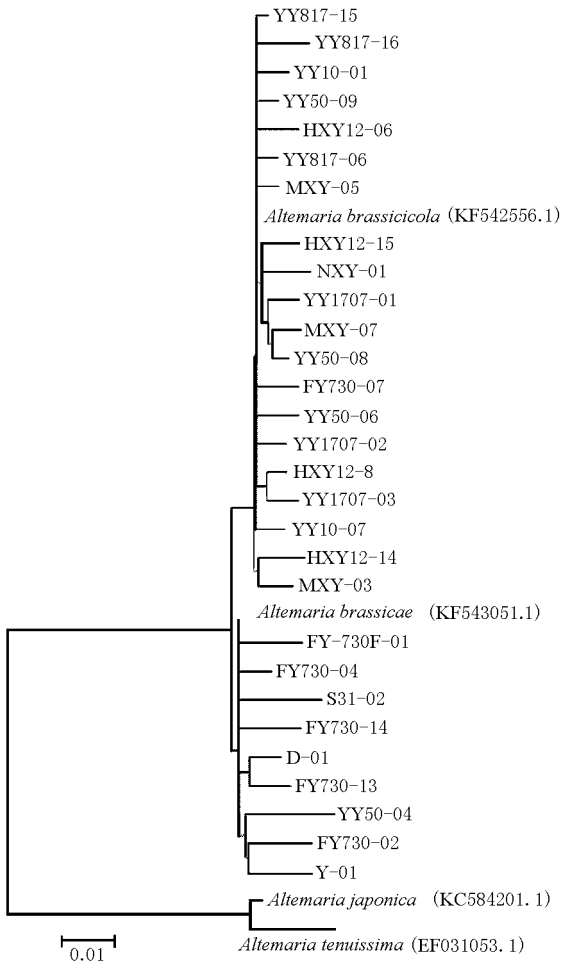


图 5 油菜黑斑病菌分离菌株 rDNA - ITS 的系统发育树
Fig.5 Phylogenetic tree for rDNA - ITS of *Alternaria* isolates

不同品种之间种子所携带的链格孢菌在种类分布上也有差异,例如常油杂 61、中油杂 11 等品种的种子上只携带了芸薹链格孢,而兴地油 1 号、湘杂油 753 等品种的种子上只携带了芸薹生链格孢。不同品种之间种子所携带的同种链格孢菌在分离频率上也有较大差异,芸薹链格孢的分离频率以常油杂 61 为最高,为 15%;芸薹生链格孢的分离频率以华湘油 12 为最高,为 66%(表 2)。

3 讨论

张志元^[15]等通过对油菜种子内生菌的检测发现油菜种子的内生菌群主要为芸薹链格孢(*A. brassicae*)、芸薹生链格孢(*A. brassicicola*)和核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)等真菌和多种内生细菌。宋

培玲^[16]等通过对不同油菜品种种子带菌的检测发现油菜种子上携带有 7 属 9 种真菌,其中优势菌群为镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、链格孢属(*Alternaria* sp.)和青霉属(*Penicillium* sp.)。由此可见,链格孢属真菌是油菜种子上携带的优势菌群之一。本研究首次对栽培油菜品种种传链格孢菌做了检测,明确了供试油菜的种传链格孢的带菌情况,为油菜黑斑病的防治提供了理论依据。

本研究运用吸水纸检测法和分离鉴定法对种子上携带的链格孢菌进行了检测和鉴定。两种检测方法都指出华湘油 12 号的链格孢带菌率最高,而禾盛油 868 上均未检测到链格孢菌,其中兴地油 1 号、金香油 9 号、鼎油杂 4 号、中双 8 号、华湘杂 62 通过吸水纸检测法未检测到链格孢菌,而通过分离鉴定法则检测到该 5 个品种带有链格孢菌,推测原因是由于 PDA 培养基营养丰富,更利于真菌的生长,所以该 5 个品种种子于 PDA 培养基上生长链格孢菌,但

分离频率较低。

携带致病菌的种子不仅是田间病害的主要初侵染源之一,也是病害逐年发生、危害和远距离传播的主要原因之一^[17~20]。因此油菜种子上链格孢菌的带菌率和带菌种类是影响油菜黑斑病的发生及其危害程度的重要因素之一。种子消毒是防治黑斑病的其中一个重要措施,因此可以在种子杀菌消毒处理效果测定上做进一步研究^[21]。

本研究在供试的 36 个油菜品种种子上检测到芸薹链格孢(*A. brassicae*)和芸薹生链格孢(*A. brassicicola*),但并未检测到萝卜链格孢(*A. raphani*)。而供试的种子均采集和种植于湖南省,所以推测该地理范围内爆发的油菜黑斑病主要是由芸薹链格孢和芸薹生链格孢这两种真菌引起的。在部分品种的种子,如常杂油 2 号、天油 97 等,同时携带了芸薹链格孢和芸薹生链格孢,推测这两种菌可对寄主进行混合侵染。

表 2 36 个油菜品种种子携带链格孢菌的种类及分离频率

Table 2 Seedborne <i>Alternaria</i> species and isolation frequency of 36 rapeseed cultivars							
品种 Cultivar	分离频率/% Isolation frequenc			品种 Cultivar	分离频率/% Isolation frequency		
	<i>A. brassicae</i>	<i>A. brassicicola</i>	总计 Total		<i>A. brassicae</i>	<i>A. brassicicola</i>	总计 Total
常油杂 61 Changyouza 61	15	0	15	湘杂油 753 Xiangzayou 753	0	15	15
兴地油 1 号 Xingdiyou 1	0	3	3	湘杂油 6 号 Xiangzayou 6	7	0	7
常杂油 2 号 Changyouza 2	12	5	17	沔油 5103 Fengyou 5103	0	1	1
天油 97 Tianyou 97	12	4	16	湘杂油 4 号 Xiangzayou 4	0	47	47
中油杂 11 Zhongyouza 11	6	0	6	亚科 58 Yake 58	7	0	7
油研 818 Youyan 818	9	2	11	沔油 792F1 Fengyou 792F1	5	3	8
油研 10 Youyan 10	6	10	16	中油杂 7819 Zhongyouza 7819	0	7	7
希望 528F1 Xiwang 528F1	3	1	4	湘杂油 188 Xiangzayou 188	0	20	20
渝黄 2 号 Yuhuang 2	7	0	7	华油杂 62 Huayouza 62	3	0	3
华油杂 9 号 Huayouza 9	14	2	16	丰油 730 Fengyou 730	2	28	30
先油 339 Xianyou 339	4	0	4	鼎油杂 4 号 Dingyouza 4	0	6	6
金湘油 9 号 Jinxiangyou 9	2	0	2	油研 817 Youyan 817	0	38	38
中双 5 号 Zhongshuang 5	3	1	4	华湘油 12 号 Huaxiangyou 12	0	66	66
禾盛油 868 Heshengyou 868	0	0	0	中双 8 号 Zhongshuang 8	4	0	4
华湘油 9 号 Huaxiangyou 9	2	7	9	绵新油 58 Mianxinyou 58	0	14	14
禾盛油 555 Heshengyou	0	5	5	油研 1707 Youyan 1707	0	6	6
湘杂油 631 Xiangzayou 631	4	37	41	华油杂 15 Huayouza 15	2	7	9
湘杂油 5 号 Xiangzayou 5	2	2	4	油研 50 Youyan 50	2	28	30

不同品种之间种子所携带的链格孢菌在数量上有较大差异。部分油菜品种种子的链格孢带菌率很高(如华湘油 12 号),而部分品种的带菌率很低或者不带菌,说明不同油菜品种对油菜黑斑病的抗性存在差异。其中禾盛油 868 的种子上未检测到任何链格孢菌,推测该品种可能对链格孢菌具有一定的抗性,为抗病品种的选育^[22~24]提供参考依据。

参考文献:

- [1] 肖长坤,李 勇,李健强. 十字花科蔬菜种传黑斑病研究进展[J]. 中国农业大学学报,2003,8(5):61-68.
- [2] 赵 辉,倪云霞,鲁晓阳,等. 芝麻种子带菌检测及药剂消毒处理效果[J]. 中国油料作物,2012,34(2):206-209.
- [3] 刘 梅,卢志军,王品品,等. 甘蓝种传真菌初步研究[J]. 种子,2010(3):56-59.
- [4] 韩鲁明,李 旭,吴学宏,等. 西瓜砧木种传真菌的初步检测[J]. 种子,2012,30(11):49-52.
- [5] 单志慧,刘 艳,杨中路,等. 大豆种传真菌的侵染特征分析[C]. 第 23 届全国大豆科研生产研讨会论文摘要集,2012.
- [6] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.
- [8] 张天宇. 中国真菌志(第十六卷)链格孢属[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [9] 彭铁成,陈云云,罗静瑶,等. 香蕉枯萎病的离体叶片接种技术研究[J]. 广州农业科学,2012(10):7-9.
- [10] 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准:农作物种子检验规程(GB/T3543.1-3543.7)[S]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [11] International seed testing association (ISTA). International rules for seed testing[S]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [12] 王建华, Tylkowska K. 22 份菜豆 (*Phanseolus vulgaris* L.) 种质健康研究[J]. 中国农业大学学报,2003,8(5):55-60.
- [13] Mew T W, Misra J K. A manual of rice seed health testing[M]. IRRI,1994:13-28.
- [14] 夏 花,朱宏建,周 倩,等. 湖南芷江辣椒上一种新炭疽病的病原鉴定[J]. 植物病理学报,2012,42(2):120-125.
- [15] 张志元,罗永兰,官春云. 油菜种子内生菌的检测及杀菌消毒处理方法[J]. 湖北农业科学,2005(1):52-54.
- [16] 宋培玲,李子钦. 不同油菜品种种子带菌检测[J]. 中国油料作物,2011,33(2):193-196.
- [17] Neergaard P. Seed pathology (Vol. 1)[M]. London: Macmillan Press Ltd,1979.
- [18] Singh T, Trivedi P C. Seed pathology[M]. Jaipur: Printwell,2000.
- [19] 陈鹤生. 种子病害简明教程[M]. 北京:农业出版社,1983.
- [20] 江厚春,李宝聚,石延霞,等. 辣椒疫病土壤和种子带菌的初步研究[J]. 华北农学报,2011,26(S1):233-237.
- [21] 鲁黎明,安 影. 不同消毒剂对烟草种子消毒效果及萌发的影响[J]. 种子,2012(4):93-95.
- [22] 巩振辉. 植物育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2008:88-90.
- [23] 官春云. 植物育种理论与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004.
- [24] 胡延吉. 植物育种学[M]. 北京:高等教育出版社,2003.

(责任编辑:郭学兰)