

昆诺阿藜链格孢叶斑病病原及其生物学特性

陈亚蕾, 田森, 孙江伟, 周建波, 任璐, 秦楠, 殷辉*, 赵晓军*

山西农业大学植物保护学院, 山西 太原 030031

摘要: 为明确昆诺阿藜链格孢叶斑病病原, 在山西省昆诺阿藜种植区采集典型症状的标本分离病原菌, 选择代表性菌株 LGB-b 和 LGB-h 对其形态学、分子生物学、致病性及生物学特性进行了研究。综合形态学和多基因系统发育(*Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2*)分析, 确定昆诺阿藜链格孢叶斑病病原为 *Alternaria alternata*。致病性测定发现接种 6 d 后病斑呈灰绿至黄绿色, 表面具有灰棕至灰褐色霉层, 周围具黄绿色晕圈, 与田间症状基本一致。菌株 LGB-b 和 LGB-h 均可侵染昆诺阿藜、藜和台湾藜。菌株 LGB-b 菌丝生长的最适培养基为 V8 蔬菜汁琼脂培养基(V8)、温度为 25–30 °C、水活度 ≥ 0.98 、pH 为 6–7; 分生孢子萌发的最适水活度 ≥ 0.98 、pH 为 6–7。菌株 LGB-h 菌丝生长的最适培养基为马铃薯胡萝卜琼脂培养基(PCA)、温度为 20–25 °C、水活度 ≥ 0.98 、pH 为 6–7; 分生孢子萌发的最适水活度 ≥ 0.98 、pH 为 7–8。

关键词: 藜; 台湾藜; 叶部病害; 形态学; 致病性

[引用本文] 陈亚蕾, 田森, 孙江伟, 周建波, 任璐, 秦楠, 殷辉, 赵晓军, 2022. 昆诺阿藜链格孢叶斑病病原及其生物学特性. 菌物学报, 41(5): 713-729

Chen YL, Tian M, Sun JW, Zhou JB, Ren L, Qin N, Yin H, Zhao XJ, 2022. Biological characteristics of the pathogen causing *Alternaria* leaf spot on quinoa. Mycosystema, 41(5): 713-729

基金项目: 山西省重点研发项目(201903D221014); 山西省基础研究计划资助项目(20210302123419); 省部共建有机旱作农业国家重点实验室课题(202105D121008-3-3)

Supported by the Key Research and Development Program of Shanxi Province (201903D221014), Fundamental Research Program of Shanxi Province (20210302123419), and State Key Laboratory of Sustainable Dryland Agriculture (202105D121008-3-3).

*Corresponding authors. E-mail: zhaoxiaojun0218@163.com, yinhui0806@163.com

ORCID: ZHAO Xiaojun (0000-0001-9925-2520), YIN Hui (0000-0003-4428-7798)

Received: 2021-11-18, accepted: 2022-02-22

Biological characteristics of the pathogen causing *Alternaria* leaf spot on quinoa

CHEN Yalei, TIAN Miao, SUN Jiangwei, ZHOU Jianbo, REN Lu, QIN Nan, YIN Hui*, ZHAO Xiaojun*

College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, Shanxi, China

Abstract: Specimens with typical *Alternaria* leaf spot symptoms on *Chenopodium quinoa* were collected in the cultivation area of quinoa in Shanxi Province. The representative isolates LGB-b and LGB-h were tested for verifying pathogenicity and the classification status by using molecular characteristics (*Alt a 1*, *endoPG*, and *OPA10-2*) combined with morphological identification. The results indicated that the quinoa *Alternaria* leaf spot is caused by *Alternaria alternata*. Pathogenicity test results showed that the leaves showed typical symptoms in 6 days after inoculation, which matched the symptoms in field, manifesting gray-green spot, grey-brown mould, and yellow-green halo. Isolates LGB-b and LGB-h could infect *C. quinoa*, *C. album*, and *C. formosanum*. The influence of culture medium, temperature, water activity (a_w), and pH on the growth of representative isolates was studied. It was found that the most favorable medium for growth of mycelia of isolate LGB-b was V8, and the most suitable temperatures were 25–30 °C. The a_w higher than 0.98 and pH 6–7 were optimal for both mycelia growth and conidial germination of isolate LGB-b. For growth of mycelia of isolate LGB-h, the most favorable medium was PCA, the most suitable temperatures were 20–25 °C, the optimum a_w was higher than 0.98, and the optimum pH was 6–7. The a_w higher than 0.98 and pH 7–8 were optimal for conidial germination of isolate LGB-h.

Keywords: *Chenopodium album*; *Chenopodium formosanum*; leaf disease; morphology; pathogenicity

昆诺阿藜 *Chenopodium quinoa* Willd. 是苋科藜属一年生双子叶植物，原产于南美洲 (Zurita-Silva *et al.* 2014)，有“粮食之母”的美称。近年来，由于其营养价值突出而备受人们关注 (Bhargava *et al.* 2006; Vega-Gálvez *et al.* 2010)，被认为是功能性食品的典范 (Singh *et al.* 2016)。此外，昆诺阿藜具有耐寒、耐旱、耐盐碱等特性，对农业生态系统的发展具有重要意义 (Graf *et al.* 2015)。昆诺阿藜在我国主要分布在内蒙古、西藏、青海、甘肃、山西、河北等地区 (任贵兴等 2015)；国内已报道的昆诺阿藜病害主要有霜霉病 (殷辉等 2018)、叶斑病 (殷辉等 2019; Brahmanage *et al.* 2020; 王建鹏等 2020)、黑茎

病 (Yin *et al.* 2020)、病毒病 (Sun *et al.* 2021) 和穗腐病 (Yin *et al.* 2022) 等，病害种类越来越多，严重制约着昆诺阿藜产业的发展。

已报道的昆诺阿藜叶部病害有 5 种，分别为拟壳格孢叶斑病病原 *Ascochyta hyalospora* (Boerema *et al.* 1977)、霜霉病病原 *Peronospora variabilis* (殷辉等 2018)、尾孢叶斑病病原 *Cercospora cf. chenopodii* (殷辉等 2019)、穿孔叶斑病病原 *Heterosporicola beijingense* (Brahmanage *et al.* 2020) 和链格孢叶斑病病原 *Alternaria alternata* (王建鹏等 2020)。山西省已报道的昆诺阿藜叶斑病主要是霜霉病和尾孢叶斑病 (殷辉等 2018, 2019)。2019–2020 年，在山西省昆诺

阿藜种植区发现了链格孢叶斑病,发病初期在叶片上形成圆形、近圆形或椭圆形病斑;后期多个病斑易连接成一个大的不规则状病斑,叶片卷曲、开裂、易脱落;发病率约为 30%,严重地块约 65%。

链格孢属 *Alternaria* Nees 真菌在世界上广泛分布,可寄生 4 000 多种植物(Lawrence *et al.* 2016)。近百年来,链格孢属的分类标准及属的界限发生了较大变化,传统上鉴定链格孢菌主要依靠形态特征,然而许多研究学者发现其形态特征易受到营养条件、pH、温度、光照等环境条件影响,特别是一些小孢子链格孢种(Simmons 1992;张荣等 2009;冯中红和孙广宇 2020)。目前,联合形态特征与多基因序列(如 *Alt a 1*、*endoPG*、*gapdh*、*OPA10-2*、*rpb2* 和 *tefl* 等)对链格孢属真菌进行鉴定的方法非常普遍(岳海梅等 2007;Woudenberg *et al.* 2015;冯中红和孙广宇 2020;王文青等 2020)。王建鹏等(2020)在西藏林芝发现了昆诺阿藜链格孢叶斑病,病原鉴定为 *A. alternata*,遗憾的是没有对其进行系统性研究。本研究系统描述了昆诺阿藜链格孢叶斑病的症状特征,采用形态特征与系统发育分析(*Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2*)相结合的方法对病原菌进行鉴定,并对其致病性及生物学特性进行了研究,以期为该病害的诊断和防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 病害调查和病样标本采集

2019–2020 年在山西省昆诺阿藜种植区(静乐、神池、五台、原平和榆次)调查记录不同发病时期的症状特征,采集典型症状的叶片带回实验室。

1.1.2 培养基、仪器和设备

燕麦琼脂培养基(OA) (上海懋康生物科技有限公司);马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA) (北京索莱宝科技有限公司);马铃薯胡萝卜琼脂培

养基(PCA)参考石延霞等(2019)的方法配制;V8 蔬菜汁培养基(V8)参考罗欢(2019)的方法配制;Eupe 柱式 DNA 抽提试剂盒、*Taq* PCR Master Mix、DNA Ladder Mix Marker 等[生工生物工程(上海)股份有限公司];PCR 扩增仪(Applied Biosystems);Pawkit 水活度仪(美国 Decagon 公司);PHS-4C+酸度计(成都世纪方舟科技有限公司)。

1.2 病原菌分离和纯化

采用组织分离法(方中达 1998),选取典型症状的叶片,取病健交界处组织,大小约 3 mm×3 mm,经 75%乙醇表面消毒 25 s,无菌水冲洗 4 次,置于 PDA 平板上 25 °C 黑暗培养,单孢纯化后的菌株接种于 PDA 斜面,4 °C 冰箱保存。

1.3 病原菌形态学鉴定

采用链格孢菌形态学鉴定的常用培养基(OA、PCA、PDA 和 V8)进行形态学研究(罗欢 2019;石延霞等 2019;孟祥龙等 2021),将代表性菌株接种在上述 4 种鉴别培养基上 25 °C 培养 6 d,观察菌落形态(包括颜色、形状和表面性状等),计算生长速率等情况。PCA 上培养 6 d 后,在 Olympus BX 53 型显微镜下观察、测量代表性菌株上的分生孢子、分生孢子梗等显微特征(张天宇 2003),每个菌株统计 50 个分生孢子的大小、横隔和纵隔数(Simmons & Roberts 1993);用无菌手术刀切除 1 cm×1 cm 的菌块,继续培养 3 d 后在 Nikon SMZ18 体式显微镜下观察切口处代表性菌株的分生孢子链及其分枝特征。

1.4 病原菌分子生物学鉴定

收集代表性菌株培养 6 d 的菌丝,液氮研磨,采用 DNA 抽提试剂盒提取 DNA。应用引物对各菌株的 *Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2* 进行扩增(表 1),扩增程序为:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 90 s,57 °C 退火 90 s,72 °C 延伸 60 s,35 个循环;最后 72 °C 再延伸 10 min。PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序,将测序结果提交至 GenBank,获得序列号(表 2)。以 *A. tomato*

表 1 本研究中涉及的引物

Table 1 Primers used in this study

基因	引物	序列	参考文献
Gene	Primer	Sequence (5'→3')	Reference
<i>Alt a 1</i>	<i>Alt a 1</i> -F	GCTGCACCTCTCGAGTCTC	Woudenberg <i>et al.</i> (2014)
	<i>Alt a 1</i> -R	AAGTCCTTAGGGCCGTTACC	
<i>endoPG</i>	<i>endoPG</i> -F	GGCACAACCTTTGGACCTCTC	Andrew <i>et al.</i> (2009)
	<i>endoPG</i> -R	TGATGACGTTGTTGCTGGAG	
OPA10-2	OPA10-2-F	TTAGTGCAGCTCTCTCAAACG	Andrew <i>et al.</i> (2009)
	OPA10-2-R	TTGAACTTCGTAACCAGGGC	

表 2 用于多基因序列分析的菌株及序列登录号

Table 2 Isolates and corresponding GenBank accession numbers used in this study

现用名	异名	菌株号	GenBank 登录号		
Current name	Synonym	Strain No.	GenBank accession number		
			<i>Alt a 1</i>	<i>endoPG</i>	OPA10-2
<i>Alternaria alstroemeriae</i>		CBS 118808	KP123845	KP123993	KP124601
<i>A. alternata</i>		LGB-b	OL505082	OL505080	OL455873
<i>A. alternata</i>		LGB-h	OL505083	OL505081	OL455874
<i>A. alternata</i>	<i>A. pulvinifungicola</i>	CBS 194.86	KP123869	KP124016	KP124623
<i>A. alternata</i>	<i>A. rhadina</i>	CBS 595.93	JQ646399	KP124020	KP124627
<i>A. alternata</i>	<i>A. tenuissima</i>	CBS 918.96	AY563302	KP124026	KP124633
<i>A. alternata</i>	<i>A. limoniasperae</i>	CBS 102595	AY563306	KP124029	KP124636
<i>A. alternata</i>	<i>A. citrimacularis</i>	CBS 102596	KP123877	KP124030	KP124637
<i>A. alternata</i>	<i>A. citriarbusti</i>	CBS 102598	KP123878	KP124031	KP124638
<i>A. alternata</i>	<i>A. turkisafria</i>	CBS 102599	KP123879	KP124032	KP124639
<i>A. alternata</i>	<i>A. perangusta</i>	CBS 102602	KP123881	AY295023	KP124641
<i>A. alternata</i>	<i>A. interrupta</i>	CBS 102603	KP123882	KP124034	KP124642
<i>A. alternata</i>	<i>A. dumosa</i>	CBS 102604	AY563305	KP124035	KP124643
<i>A. alternata</i>	<i>A. tomaticola</i>	CBS 118814	KP123906	KP124059	KP124669
<i>A. alternata</i>	<i>A. vaccinii</i>	CBS 118818	KP123908	KP124061	KP124671
<i>A. alternata</i>	<i>A. citricancri</i>	CBS 119543	KP123911	KP124065	KP124674
<i>A. alternata</i>	<i>A. platycodonis</i>	CBS 121348	KP123915	KP124070	KP124679
<i>A. gaisen</i>		CBS 118488	KP123975	KP124132	KP124743
<i>A. gossypina</i>		CBS 104.32	JQ646395	KP124135	KP124746
<i>A. gossypina</i>	<i>A. tangelonis</i>	CBS 102597	KP123978	KP124137	KP124748
<i>A. gossypina</i>	<i>A. colombiana</i>	CBS 102601	KP123979	KP124138	KP124749
<i>A. longipes</i>		CBS 539.94	KP123987	KP124146	KP124757
<i>A. longipes</i>		CBS 540.94	AY563304	KP124147	KP124758
<i>A. tomato</i>		CBS 103.30	KP123991	KP124151	KP124762

注：加粗部分为本研究菌株

Note: The bold parts are strains of this study.

(CBS 103.30)为外群，基于代表性菌株和相关菌株的 *Alt a 1*、*endoPG* 和 OPA10-2 基因序列，采用邻接法(neighbor-joining, 软件 PAUP* v. 4.0b10)进行系统发育分析，重复 1 000 次、计算进化树内每个分支的 bootstrap 值(Swofford 2003)。

1.5 致病性测定

选取盆栽 60 d 的昆诺阿藜苗，将叶片经无菌水冲洗后自然风干，分别进行创伤和无创伤接种。用 3 号昆虫针在叶片表面轻轻刺伤(3-4 个微伤口)，从培养 6 d 的代表性菌株的菌落上取

菌饼(直径 5 mm), 接种于叶片的伤口处, 每个处理 5 株苗、每株 7 片叶, 接种 PDA 为对照。

收集在 PDA 上培养 6 d 的代表性菌株的分生孢子, 配成孢悬液(1×10^5 个/mL)。将孢悬液喷雾于叶片进行无创伤接种, 每个处理 5 株苗、每株约 10 片叶, 接种无菌水为对照。接种后保湿置于人工气候箱中(温度 22–26 °C、RH 75%±5%), 观察记录发病情况和病斑直径。发病后采集典型症状叶片, 从病斑处重新分离病原菌, 观察对比再分离菌株与接种菌株的形态特征。

1.6 不同温度下病原菌对昆诺阿藜、藜和台湾藜离体叶片的致病力测定

供试植株为红昆诺阿藜 *Chenopodium quinoa* (品种未知)、白昆诺阿藜 *C. quinoa* (品种: 稼祺 505)、白昆诺阿藜 *C. quinoa* (品种: 静藜 1 号, 静乐县农技推广中心)、藜 *C. album*、台湾藜 *C. formosanum*, 取各植株盆栽 60 d 的叶片, 将叶片用 75%乙醇进行表面消毒, 再用无菌水浸湿的棉花覆盖叶柄保湿, 置于直径为 90 mm 的无菌培养皿中(每皿 1 片叶子)准备接种。将代表性菌株接种于 PDA 上 25 °C 培养 6 d, 从菌落边缘取直径 5 mm 的菌饼接种于离体叶片上(每叶片接 1 枚菌饼), 以接种 PDA 培养基为对照, 置于温度梯度为 10、15、20、25 和 30 °C, RH 75%±5.0% 的环境中进行培养, 重复 5 次; 培养 6 d 后观察记录发病情况和病斑直径。

1.7 病原菌的生物学特性研究

1.7.1 温度对菌丝生长的影响

设置 10、15、20、25 和 30 °C 5 个温度梯度, 将代表性菌株在 PDA 上 25 °C 黑暗培养 6 d 后, 从菌落边缘取直径 5 mm 菌饼接种于 PDA 平板中央, 置于不同温度下恒温黑暗培养, 重复 3 次; 培养 6 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长速率。

1.7.2 水活度对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

水活度(water activity, a_w)表示基质中可被

病原菌利用的水分含量(严蒸蒸等 2018), 能够影响病原菌的菌丝生长、孢子萌发、产孢等(Pose *et al.* 2009, 2010; Stevenson *et al.* 2017; 江涛等 2020)。参考 Es-Soufi *et al.* (2018)、严蒸蒸等 (2018)和江涛等(2020)的研究方法, 通过在 PDA 中添加甘油来调节 PDA 的水活度值(Gervais *et al.* 1988; Stevenson *et al.* 2017)。

水活度对菌丝生长的影响: 分别将体积为 0、143、193、218、293、343 和 393 mL 的甘油添加至灭菌后冷却至 80 °C 的 1 L PDA 中; 调节其水活度值依次为 1.00、0.98、0.96、0.94、0.92、0.90 和 0.88, 最后用 Pawkit 水活度仪(Decagon, USA)测量上述 PDA 的水活度值。将代表性菌株接种于上述不同水活度的 PDA, 重复 3 次; 置于 25 °C 培养 6 d, 计算菌丝生长速率。

水活度对分生孢子萌发的影响: 采用涂片法(臧睿和黄丽丽 2007), 取 1 mL 不同水活度值的 PDA 均匀涂布于无菌载玻片(大小约 2.5 cm×4.0 cm; 厚度约 1 mm), 为防止 PDA 涂片变干, 凝固后将其置于 RH 75%的干燥器中(NaCl 饱和盐溶液)。静置约 2 h, 将 20 μ L 孢悬液(1×10^5 个/mL)接种至上述涂片。最后将干燥器置于 25 °C 培养箱, 重复 3 次; 6 h 后镜检 500 个分生孢子的萌发情况, 计算孢子萌发率。

1.7.3 pH 对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

pH 对菌丝生长的影响: 将 PDA 冷却至约 80 °C (pH 5.8–6.1), 在无菌环境中取适量的 HCl 溶液(1 mol/L)加入 PDA 并充分摇匀, 进而调节 PDA 的酸度。调节时, 使用 PHS-4C+酸度计监测 PDA 的 pH 值, 直至 pH 值依次为 2、3、4、5 和 6 (波动范围±0.1)。调节 PDA 的碱度时使用 NaOH 溶液(1 mol/L), 将其 pH 值调节至 7、8、9、10、11 和 12 (方法同上)。将代表性菌株接种于不同 pH 的 PDA, 重复 3 次; 25 °C 培养 6 d, 计算菌丝生长速率。

pH 对分生孢子萌发的影响: 采用涂片法(臧

睿和黄丽丽 2007), 取 1 mL 不同 pH 值的 PDA 均匀涂布于无菌载玻片(大小约 2.5 cm×4.0 cm; 厚度约 1 mm), 为防止 PDA 涂片变干, 凝固后将其置于 RH 75% 的干燥器中(NaCl 饱和盐溶液)。静置约 2 h, 将 20 μ L 孢悬液(1×10^5 个/mL)接种至上述涂片。最后将干燥器置于 25 $^{\circ}$ C 培养箱, 重复 3 次; 6 h 后镜检 500 个分生孢子的萌发情况, 计算萌发率。

2 结果与分析

2.1 病害症状

调查发现昆诺阿藜链格孢叶斑病在山西省

昆诺阿藜种植区(静乐、神池、五台、原平和榆次)均有发生。链格孢叶斑病从昆诺阿藜显序期开始零星发病(6 月下旬到 7 月上旬), 灌浆期达到发病高峰(8 月上旬)。通常河滩地块易发病, 高山或丘陵通风较好地块发病较轻。该病害的病斑主要呈圆形、近圆形或椭圆形(图 1); 发病初期叶片正面出现淡黄或浅绿色病斑(图 1A)。发病中期病斑呈黄绿或浅黄棕色(图 1B, 1C), 病斑正反面具有黄绿色霉层(图 1B–1D), 坏死的病斑易枯裂(图 1D)。发病后期多个病斑易连接成一个大的不规则状斑, 叶片枯黄易脱落(图 1E, 1F)。

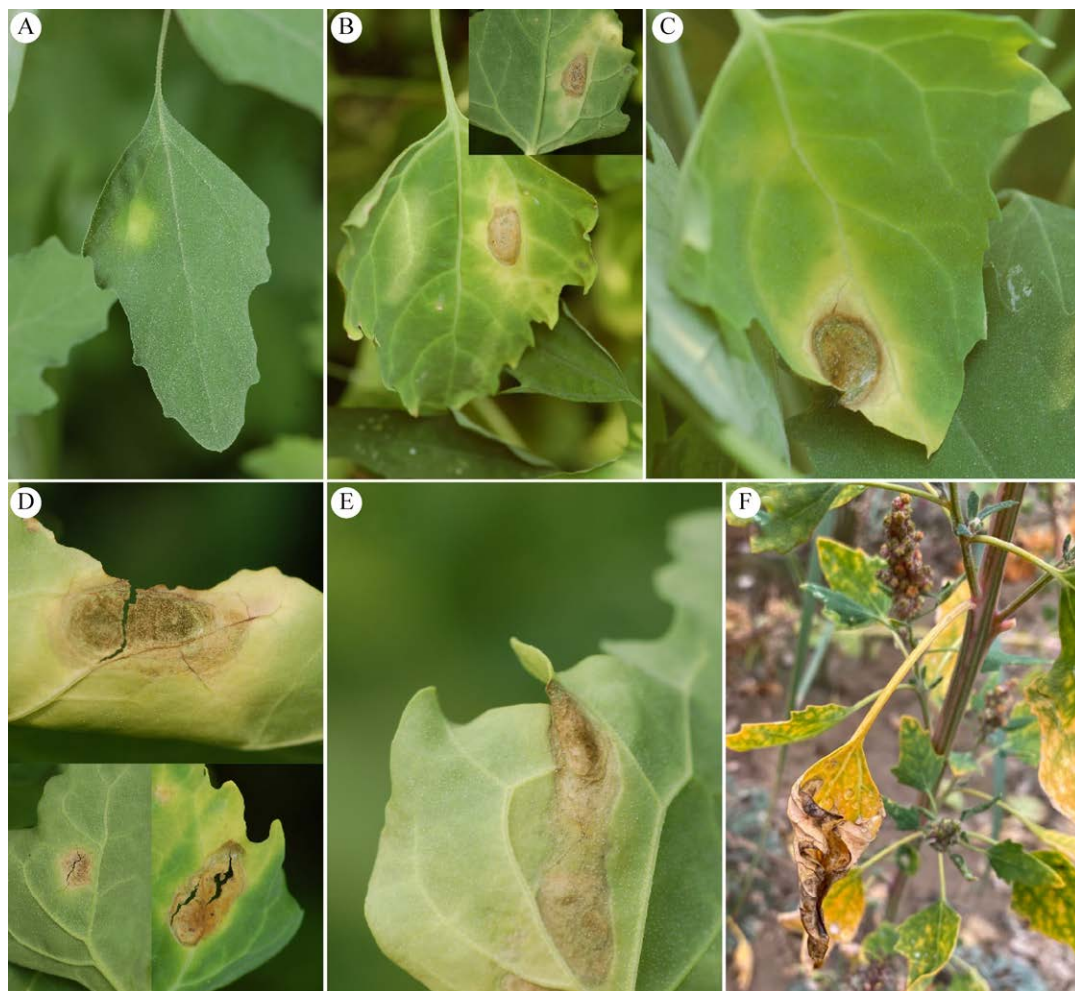


图 1 昆诺阿藜链格孢叶斑病田间症状 A: 发病初期; B–D: 发病中期; E, F: 发病后期

Fig. 1 Symptoms of quinoa *Alternaria* leaf spot disease under natural infection. A: Symptoms at early stage; B–D: Symptoms at middle stage; E, F: Symptoms at late stage.

2.2 病原菌的形态学特征

本研究共分离得到 21 株病原菌，依据在各培养基上的菌落形态特征(颜色、质地等)分为 2 类，选取 LGB-b 和 LGB-h 作为代表性菌株进行系统性研究。代表性菌株在 4 种鉴别培养基上气生菌丝发达呈绒毛状或棉絮状，菌落正面黄棕、灰棕或深绿色，背面棕、灰褐或黑褐色。

菌株 LGB-b 和 LGB-h 在 OA、PCA 和 V8 上菌丝绒毛状；在 OA 上菌落黄棕色至灰棕色(图 2A，2E)，LGB-b 相比 LGB-h 菌丝较稀疏；在 PCA 和 V8 上气生菌丝发达，菌落深棕色至深绿色(图 2B，2D，2F，2H)。菌株 LGB-b 和 LGB-h 在 PDA 上菌丝棉絮状；菌株 LGB-b 菌落正面中央呈墨绿色，外缘为灰白色至浅棕色，背面深褐色(图 2C)；菌株 LGB-h 菌落表面有轻微同心圆，黄棕色至棕色(图 2G)。

代表性菌株的分生孢子梗直立或弯曲，棕色至深褐色，分枝或不分枝，有分隔，顶部 1 至多个脐点，大小 9.8–109.4×2.6–5.5 μm、平均 46.5×4.0 μm (图 3A，3D)。分生孢子卵形、倒棍棒形或窄椭圆形，灰棕色至褐色，具 1–5 个横隔膜、

0–2 个纵隔膜，隔膜处有缢缩且颜色加深，大小 10.4–40.4×5.3–12.8 μm、平均 21.4×9.1 μm (图 3B，3E)；具有 1–4 个分枝，2–8 个孢子长的链，通常有二次分枝(图 3C，3F)。

代表性菌株 LGB-b 和 LGB-h 在显微形态上略有差异，菌株 LGB-b 的分生孢子梗(大小 16.8–109.4×2.9–5.5 μm，平均 54.1×4.1 μm)相比 LGB-h 略大(大小 9.8–100.5×2.6–4.7 μm，平均 40.1×3.9 μm)。菌株 LGB-b (1–3 个横隔膜、0–2 个纵隔膜)相比 LGB-h (3–5 个横隔膜、0–1 个纵隔膜)横隔膜较少、纵隔膜较多。菌株 LGB-b 的分生孢子(大小 10.6–33.8×5.3–12.5 μm，平均 21.4×8.9 μm)相比 LGB-h (大小 10.4–40.4×5.7–12.8 μm、平均 21.6×9.3 μm)略小。

2.3 基于 *Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2* 序列的系统发育分析

扩增菌株 LGB-b 和 LGB-h 的 *Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2* 的基因序列，并将获得的序列提交至 GenBank (表 2)。以 *A. tomato* (CBS 103.30) 为外类群构建系统发育树，结果表明，菌株 LGB-b 和 LGB-h 与 14 株 *A. alternata* 聚为一支，支持

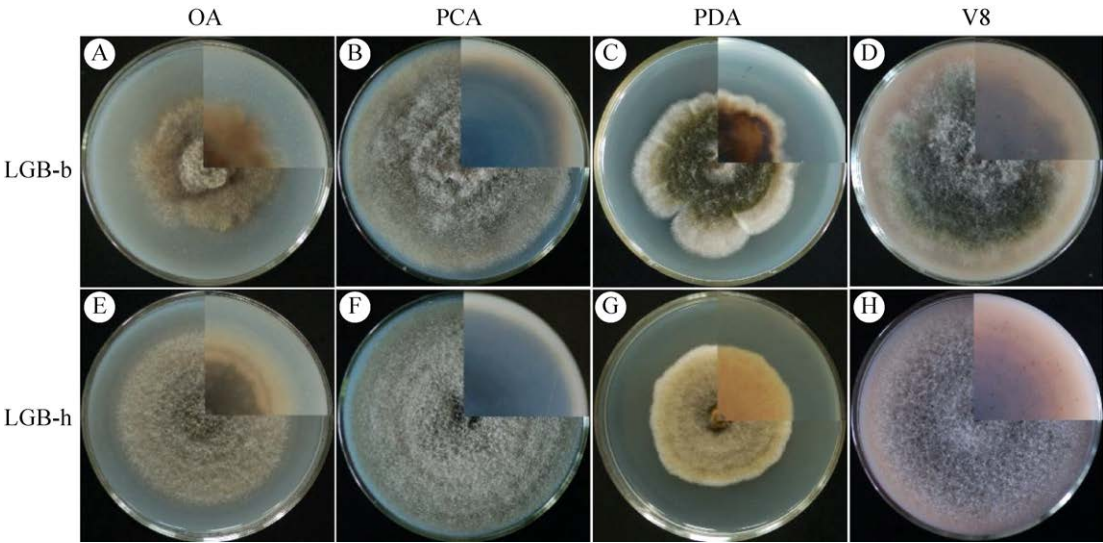


图 2 代表性菌株在 OA、PCA、PDA 和 V8 培养基上的菌落正面和背面 右上角为背面菌落特征
Fig. 2 Colonies on observe and reverse of OA, PCA, PDA, and V8 plates of the representative isolates of *Alternaria alternata* at 25 °C in 6 d. Top right quadrants of images are the view of reverse colony.

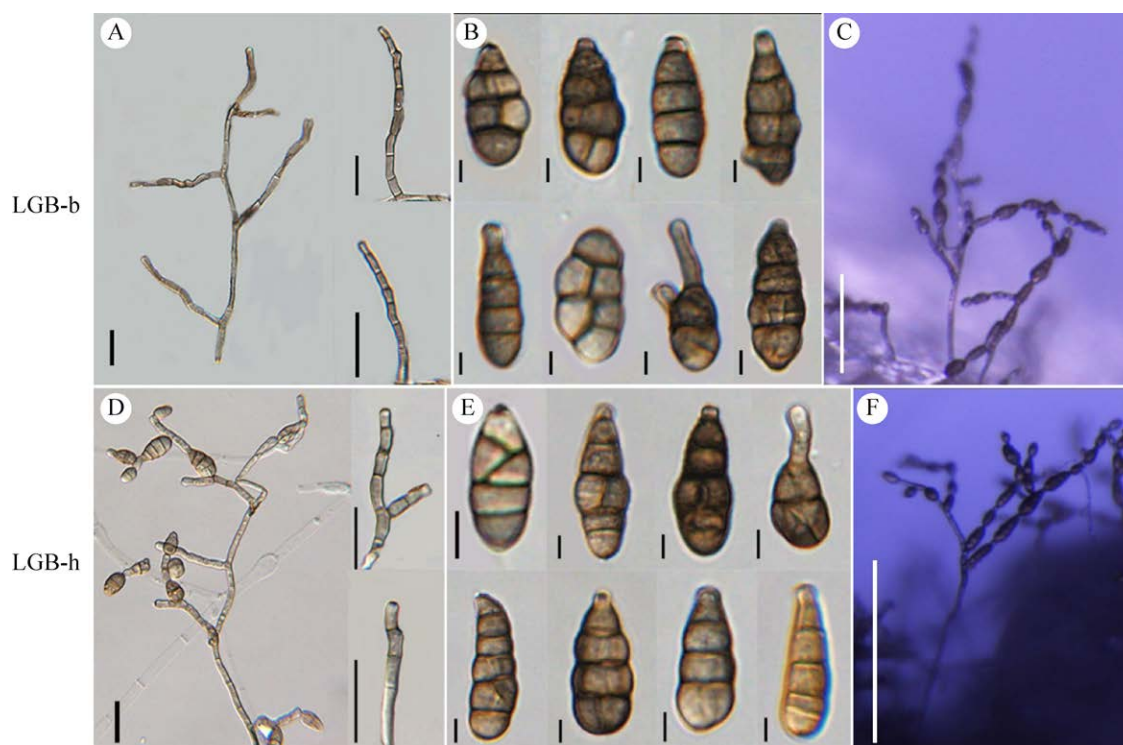


图3 PCA上代表性菌株的显微形态特征 A, D: 分生孢子梗; B, E: 分生孢子; C, F: 分生孢子链及其分枝特征. 标尺: A, D=20 μm ; B, E=5 μm ; C, F=100 μm

Fig. 3 Microscopic characteristics of representative isolates of *Alternaria alternata* on PCA plate. A, D: Conidiophores; B, E: Conidia; C, F: Conidial chains and branches. Bars: A, D=20 μm ; B, E=5 μm ; C, F=100 μm .

率 77%。在 *A. alternata* 株系间, 系统发育树显示了种内多样性。菌株 LGB-b 与 CBS 102599、CBS 102603、CBS 102602、CBS 102595、CBS 102604、CBS 119543、CBS 918.96 和 CBS 102596 聚类在一起, 形成一个亚分支, 支持率 87%; 而菌株 LGB-h 与 CBS 194.86、CBS 121348、CBS 595.93、CBS 102598、CBS 118814 和 CBS 118818 聚为另一个亚分支, 支持率 97% (图 4)。

2.4 病原菌的致病性

创伤接种菌株 LGB-b, 6 d 后病斑表面灰绿色, 具有灰棕色霉层, 周围出现黄绿色晕圈, 直径为 0.7–0.8 cm (图 5B); 15 d 后叶片皱缩、卷曲, 表面具有大量灰绿色霉层, 直径为 3.0–3.5 cm (图 5C), 对照未发病 (图 5A)。创伤接种菌株 LGB-h, 6 d 后叶斑呈黄绿色, 具有灰褐色霉层,

周围出现黄绿色晕圈, 直径为 0.7–1.0 cm (图 5E); 15 d 后叶片皱缩, 表面具有大量黑褐色霉层, 直径为 3.2–3.6 cm (图 5F), 对照未发病 (图 5D)。喷雾接种菌株 LGB-b, 6 d 后叶片正面出现零星黄绿色小点, 病斑表面黄棕色, 直径为 0.4–0.6 cm (图 5H); 8 d 后病斑表面黄褐色, 具有灰褐色霉层, 周围具黄绿色晕圈, 直径为 0.6–0.9 cm (图 5I); 对照未发病 (图 5G)。喷雾接种菌株 LGB-h, 6 d 后叶片正面病斑表面灰棕色, 直径为 0.5–0.7 cm (图 5K); 8 d 后病斑表面浅黄棕色, 具有灰棕色霉层, 周围具轻微黄绿色晕圈, 直径为 0.7–1.1 cm (图 5L), 对照未发病 (图 5J)。致病性接种叶片发病症状与田间症状基本一致 (图 1B, 1C), 从叶片发病部位再分离的菌株与接种菌株的形态一致, 符合柯赫氏法则, 表明 LGB-b 和 LGB-h 为致病菌。

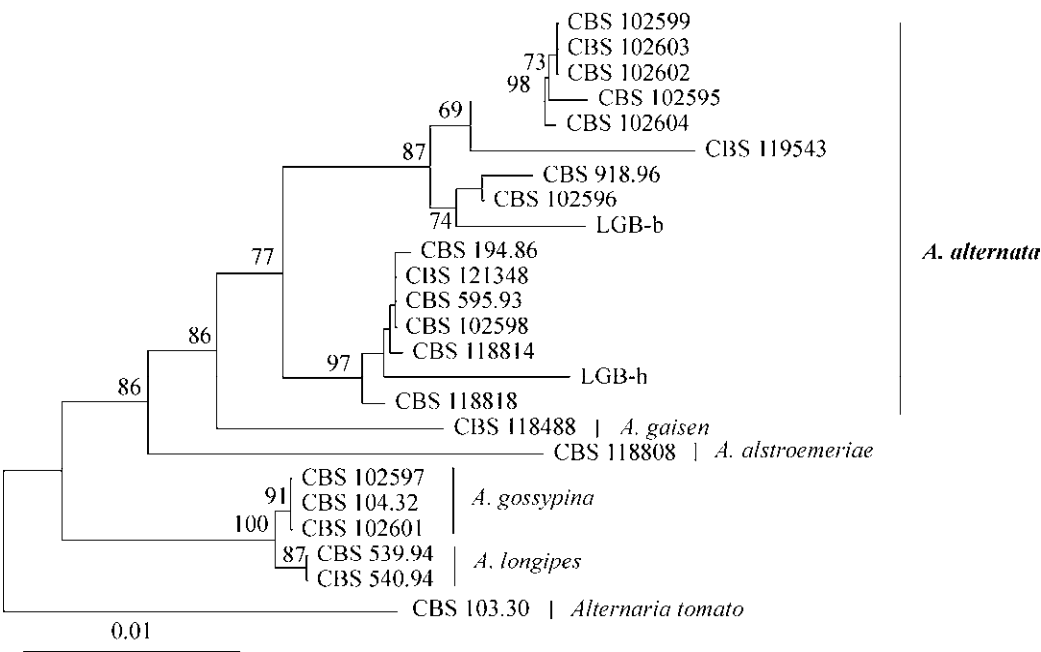


图 4 基于 *Alt a 1*、*endoPG* 和 *OPA10-2* 构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on *Alt a 1*, *endoPG*, and *OPA10-2* genes of isolates LGB-b and LGB-h, and their related strains.

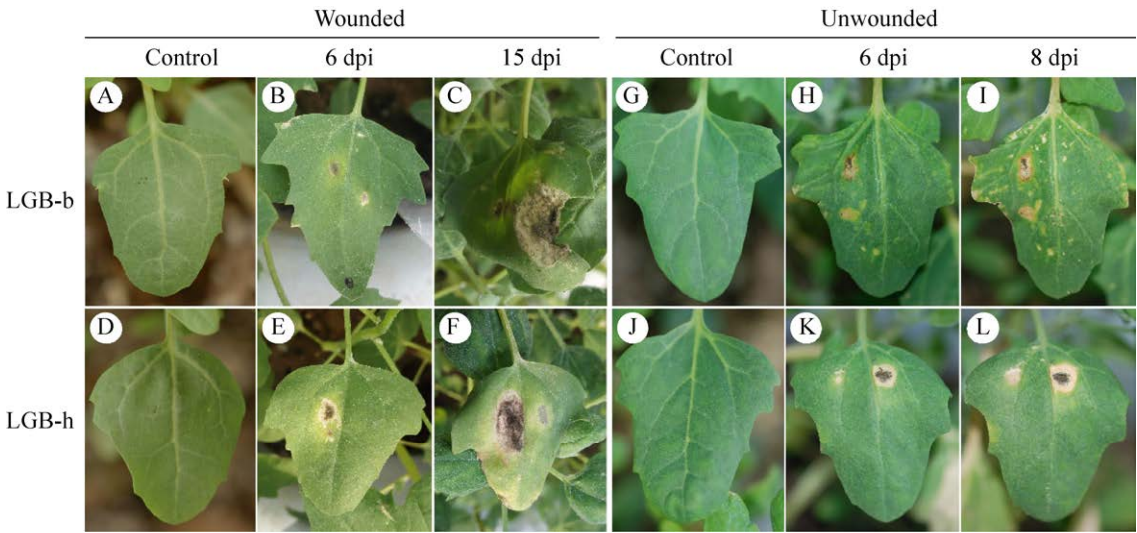


图 5 创伤和无伤接种代表性菌株的症状

Fig. 5 Symptoms induced by isolates LGB-b and LGB-h of *Alternaria alternata* on wounded and unwounded leaves in different days of postinoculation (dpi).

2.5 不同温度下病原菌对昆诺阿藜、藜和台湾藜离体叶片的致病力

接种菌株 LGB-b 后，温度为 15–30 ℃ 时在红昆诺阿藜品种的叶片正面病斑呈灰绿至黄棕色，具黄绿色晕圈，直径为 0.8–1.6 cm (图 6)。

温度为 10–30 ℃ 时，在白昆诺阿藜品种的叶片正面病斑中间黄绿至灰绿色，边缘黄绿至黄棕色，表面具有深棕或灰绿色霉层，直径为 1.5–2.1 cm (图 6)。侵染静藜 1 号和稼祺 505 叶片的最适温度分别为 15–30 ℃ 和 20–30 ℃，且静藜 1 号的

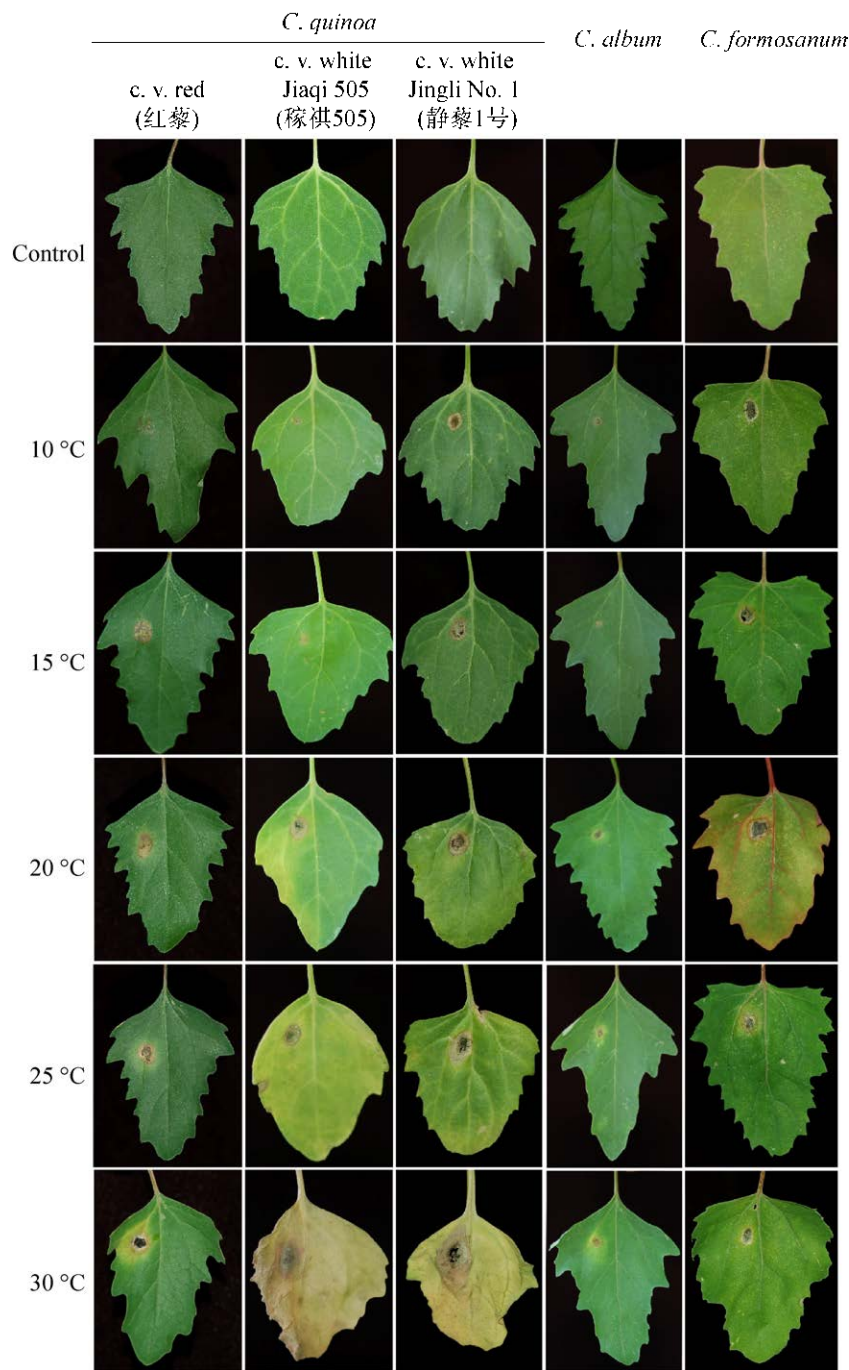


图 6 菌株 LGB-b 接种昆诺阿藜、藜和台湾藜后不同温度下的症状
Fig. 6 Symptoms induced by inoculations of *Alternaria alternata* LGB-b on detached leaves of *Chenopodium quinoa*, *C. album*, and *C. formosanum* at 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, and 30 °C.

病斑比稼祺 505 大，直径分别为 1.8–2.1 cm 和 1.5–1.9 cm (图 6)。温度为 10–30 °C 时，接种菌株 LGB-b 在藜和台湾藜叶片正面病斑分别呈黄棕色和灰绿色，具黄绿色晕圈，直径分别为 0.4–0.8 cm 和 0.8–1.3 cm (图 6)。

接种菌株 LGB-h 后，温度为 10–25 °C 时红昆诺阿藜品种的叶片未发病；30 °C 叶片正面出现褪绿斑(图 7)。温度为 10–30 °C 时，在白昆诺阿藜品种的叶片正面病斑黄棕至深棕色，具有灰绿至灰棕色霉层，有轻微黄绿色晕圈，

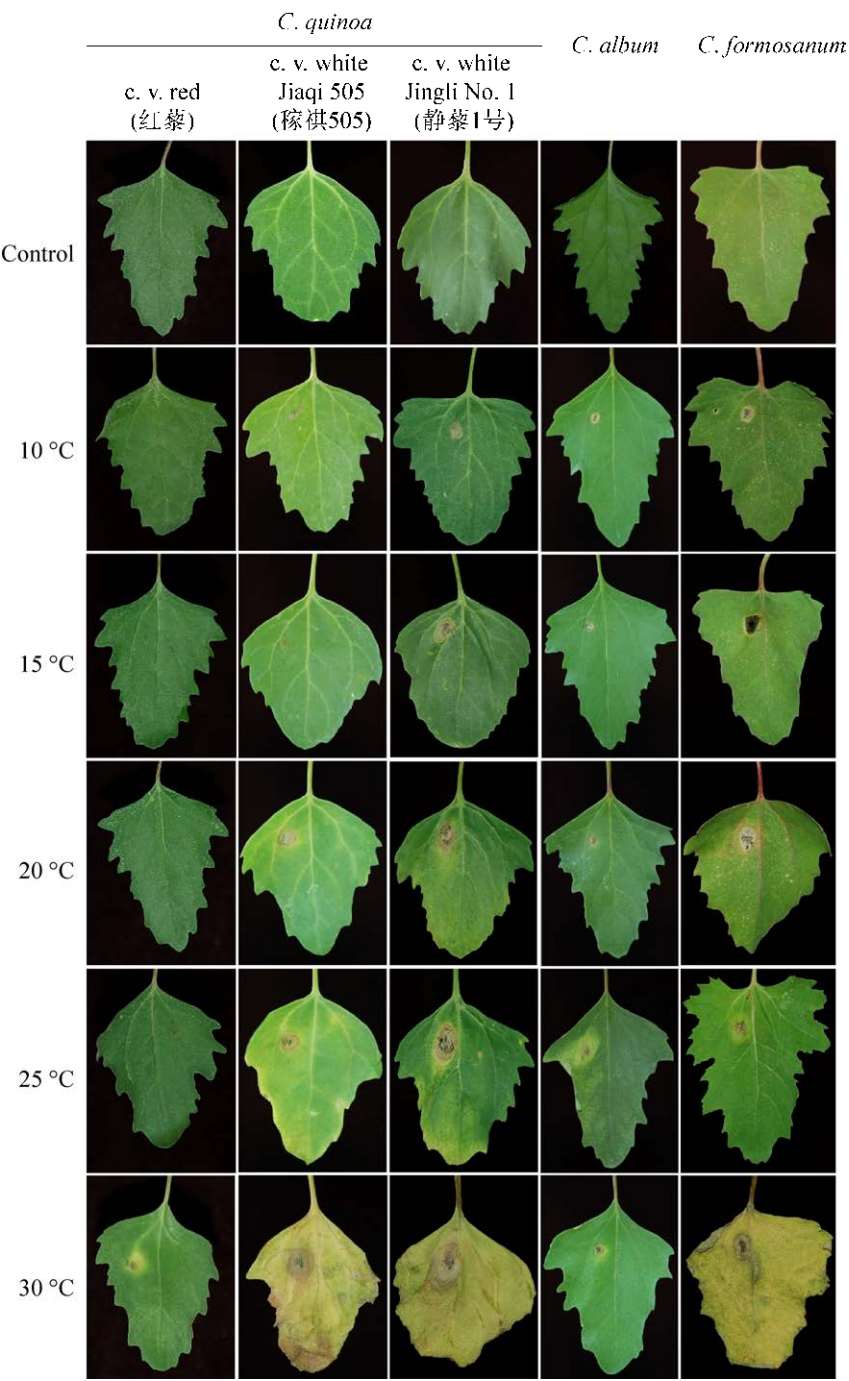


图 7 菌株 LGB-h 接种昆诺阿藜、藜和台湾藜后不同温度下的症状

Fig. 7 Symptoms induced by inoculations of *Alternaria alternata* LGB-h on detached leaves of *Chenopodium quinoa*, *C. album*, and *C. formosanum* at 10 °C, 15 °C, 20 °C, 25 °C, and 30 °C.

直径为 1.9–2.8 cm (图 7)。侵染静藜 1 号和稼祺 505 叶片的最适温度分别为 15–30 °C 和 20–30 °C，且静藜 1 号的病斑比稼祺 505 大，直径分别为 2.3–2.8 cm 和 1.9–2.5 cm (图 7)。

温度为 10–30 °C 时，接种菌株 LGB-h 在藜和台湾藜的叶片正面病斑黄棕至棕色，具黄绿色晕圈，直径分别为 0.4–0.7 cm 和 0.9–1.5 cm (图 7)。

2.6 培养基、温度、水活度、pH 对病原菌生物学特性的影响

2.6.1 培养基对菌丝生长的影响

代表性菌株 LGB-b 和 LGB-h 均可在 OA、PCA、PDA 和 V8 培养基上生长；菌株 LGB-b 和 LGB-h 生长的最适培养基分别为 V8 和 PCA，

生长速率分别为 9.2 mm/d 和 11.3 mm/d (图 8A)。此外, LGB-h 在各培养基上的生长速率高于 LGB-b (图 8A)。

2.6.2 温度对菌丝生长的影响

菌株 LGB-b 和 LGB-h 生长的最适温度分别为 25–30 °C 和 20–25 °C，菌丝生长速率分别

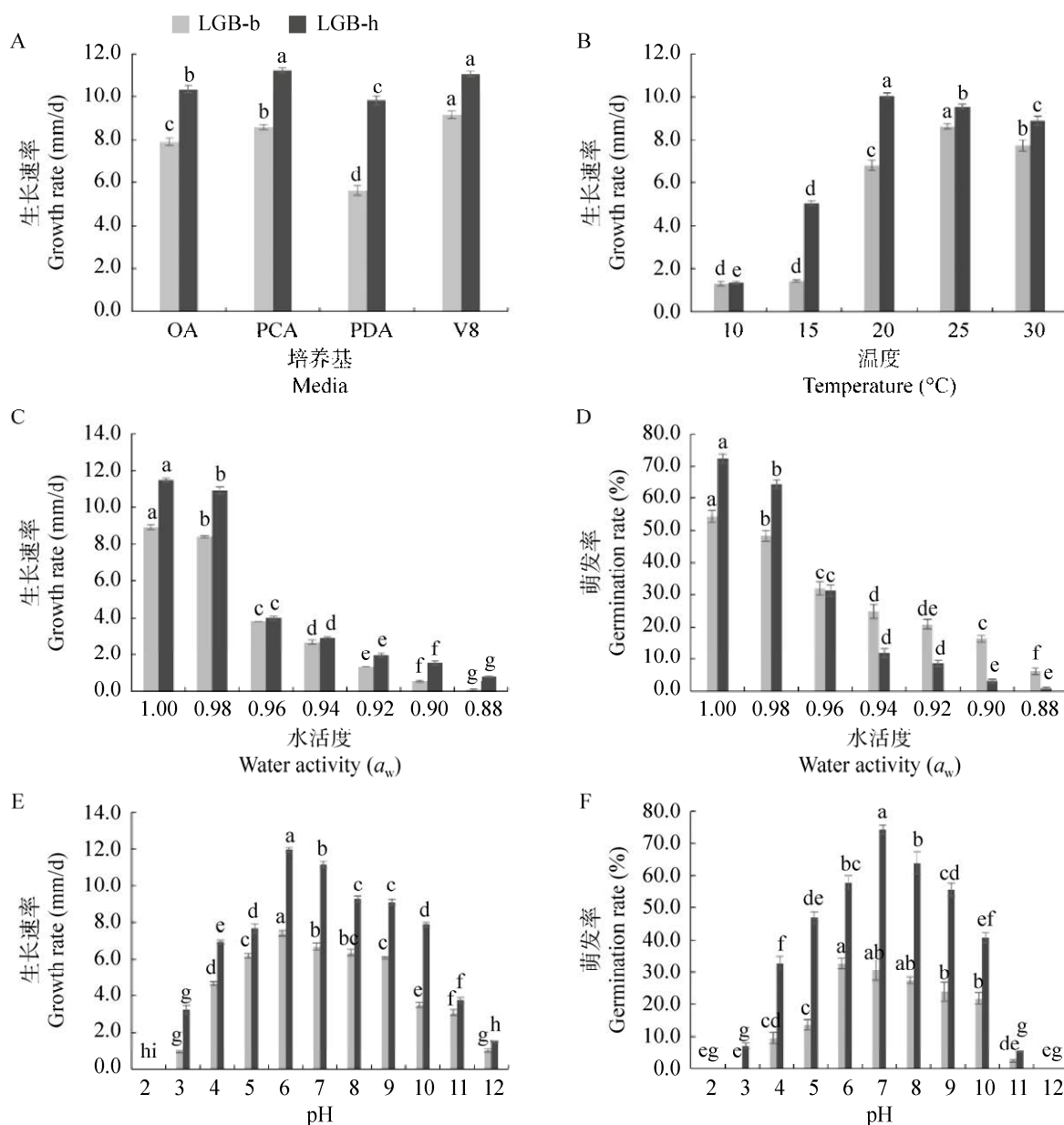


图 8 培养基(A)、温度(B)、水活度(C, D)和 pH (E, F)对代表性菌株的菌丝生长和分生孢子萌发的影响 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Fig. 8 Effects of media (A), temperature (B), water activity (a_w) (C, D), and pH (E, F) on mycelial growth and conidial germination of representative isolates of *Alternaria alternata*. Significant differences are shown by different lowercase letters ($P<0.05$).

为 7.8–8.6 mm/d 和 9.5–10.1 mm/d (图 8B)。当温度低于 20 °C 时, 两者的生长速率显著下降, 分别小于 1.4 mm/d 和 5.1 mm/d (图 8B)。LGB-h 在各温度下的生长速率高于 LGB-b (图 8B)。

2.6.3 水活度对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

随着水活度的下降, 菌株 LGB-b 和 LGB-h 的菌丝生长速率不断下降(图 8C), 且 LGB-h 在各水活度下的菌丝生长速率高于 LGB-b (图 8C)。水活度为 1 时生长速率分别为 8.9 mm/d 和 11.5 mm/d (图 8C)。当水活度下降到 0.88 时生长速率分别为 0.1 mm/d 和 0.8 mm/d, 与其他相比差异显著(图 8C)。

菌株 LGB-b 和 LGB-h 的分生孢子萌发率随着水活度的下降而不断降低(图 8D)。水活度为 1 时孢子萌发率最高, 分别为 72.5% 和 54.3% (图 8D)。当水活度降为 0.88 时萌发率分别为 6.2% 和 0.8% (图 8D)。

2.6.4 pH 对菌丝生长和分生孢子萌发的影响

菌株 LGB-b 和 LGB-h 在 pH 3–12 下菌丝均能生长, LGB-h 在各 pH 下的菌丝生长速率高于 LGB-b (图 8E)。最适合二者菌丝生长的 pH 为 6–7, 菌丝生长速率分别为 6.7–7.4 mm/d 和 11.2–11.9 mm/d (图 8E)。当 pH 小于 2 时菌丝不生长(图 8E)。

菌株 LGB-b 和 LGB-h 的分生孢子萌发的 pH 分别为 3–11 和 4–11 (图 8F), 在 pH 为 4–11 时 LGB-h 的孢子萌发率高于 LGB-b。最适合分生孢子萌发的 pH 分别为 6–7 和 7–8, 萌发率分别为 30.7%–32.8% 和 64.1%–74.3% (图 8F)。pH 小于 3 或大于 11 分生孢子不萌发(图 8F)。

3 讨论

链格孢可引起多种植物的叶斑病; 国内外研究学者发现油菜链格孢叶斑病、樱桃链格孢叶斑病、芹菜链格孢叶斑病等在温度偏高、湿度偏大的条件下发生较重(Blagojević *et al.* 2020; 刘俏

等 2021; 张建强等 2021)。昆诺阿藜链格孢叶斑病通常在显序期到灌浆期发生, 为害叶片造成圆形或近圆形病斑, 严重时多个病斑易连接成一个大的不规则状病斑, 叶片枯黄易脱落。田间调研时发现河滩地块在气温较高时发病较重, 高山、丘陵通风较好且冷凉地块发病较轻; 田间温度为 (25 ± 3) °C, RH 60%±10% 范围内发病较快。此外, 调查发现昆诺阿藜叶斑通常出现在叶片基部凹陷处, 可能与叶基部凹陷、易积水、湿度偏大有关。

本研究综合形态特征和多基因系统发育分析, 确定引起昆诺阿藜链格孢叶斑病病原为 *Alternaria alternata*。*A. alternata* 是链格孢属常见的植物病原菌, 可以侵染甜菜、藜、菠菜、昆诺阿藜等苋科植物引起叶斑病和穗腐病等病害 (Franc 2009; Patel *et al.* 2014; Gilardi *et al.* 2019; 王建鹏等 2020; Yin *et al.* 2022)。与王建鹏等 (2020) 报道的由 *A. alternata* 引起的叶斑病相比, 本研究所发现的链格孢叶斑病后期更容易使叶片开裂、卷曲, 且在山西省昆诺阿藜叶片上寄生的 *A. alternata* 的分生孢子与西藏地区相比在形态(孢子横、纵隔更少)和大小(孢子略小)上略有不同。Yin *et al.* (2022) 在山西省发现了由 *A. alternata* 引起的昆诺阿藜穗腐病, 本研究发现在昆诺阿藜叶片上寄生的 *A. alternata* 在形态、大小等方面与昆诺阿藜穗上的相似。通过对比山西和西藏地区昆诺阿藜上的 *A. alternata*, 发现其形态特征在不同环境条件下呈现多样性。

国内外学者研究表明 *A. alternata* 的种群复杂多样 (Woudenberg *et al.* 2015; Lakshmi Prasad *et al.* 2020; 王文青 2021)。Woudenberg *et al.* (2015) 对链格孢属的 15 个种进行了全基因组比对分析, 发现 *A. alternata* 遗传多样性比较丰富, 大致分为 6 个群体。Lakshmi Prasad *et al.* (2020) 将 30 株向日葵叶枯病菌 *A. alternata* 分为 3 个群体, 3 个群体在形态特征、显微特征、致病性

等方面呈现多样性;致病性分析发现群体 2 的致病力较强、群体 2 的平均分生孢子比群体 3 略大。张斌等(2020)研究发现 49 株柑橘黑腐病和黑斑病菌 *A. alternata* 在致病力上存在差异。王文青(2021)将 74 株梨黑斑病菌 *A. alternata* 分为 3 个群体,在分生孢子形态、致病力等方面存在多样性,其中优势群体为中等致病力群体,占比 75%。本研究中 21 株 *A. alternata* 依据形态特征分为 2 个群体,分别以菌株 LGB-b 和 LGB-h 为代表,利用 *Alt a 1*、*endoPG* 和 OPA10-2 分析发现菌株 LGB-b 和 LGB-h 都归属于 *A. alternata*;研究发现菌株 LGB-b 的分生孢子梗相比 LGB-h 更长更宽,分生孢子略小、横隔膜更少,菌株 LGB-h 致病力强于 LGB-b,这说明 *A. alternata* 不同分离株之间在形态特征、致病力、分子生物学等方面存在多样性。由于目前尚未明确界定 *A. alternata* 种的界限,多数菌株被归为或从 *A. alternata* 中分离出来,且包含 *A. alternata* 在内的组群(section *Alternaria*)内种的关系仍存在许多争议(冯中红和孙广宇 2020)。本研究样本来自山西省,关于我国昆诺阿藜链格孢叶斑病原种群的多样性有待深入研究。

本研究发现菌株 LGB-b 和 LGB-h 可以侵染昆诺阿藜、藜、台湾藜。因此,要密切关注昆诺阿藜、台湾藜及田间藜属杂草链格孢叶斑病的发生动态。本研究发现菌株 LGB-h 相比 LGB-b 具有较强致病力,通常菌株 LGB-h 在昆诺阿藜、藜、台湾藜的叶片上造成的病斑大。此外,研究发现红昆诺阿藜品种对菌株 LGB-h 的抗病性较强。因此,科学利用抗病品种有利于控制链格孢叶斑病的发生。在温度为 20–30 °C 接种菌株 LGB-b 和 LGB-h,侵染昆诺阿藜叶片后产生的病斑较大。因此,在湿度大的种植区要密切关注 20–30 °C 时昆诺阿藜叶斑的发病情况。

国内外研究学者发现 *A. alternata* 尽管在种上一致,但在种内存在明显的生物学上的差异,

如分离自高粱的 *A. alternata* 在中性条件下生长最好(赵艳琴等 2021),分离自玉米的 *A. alternata* 喜欢中性偏碱的环境(王媛媛等 2015)。本研究发现菌株 LGB-b 和 LGB-h 在弱酸条件下(pH 为 6–7)生长最好;菌株 LGB-b 的分生孢子更偏好弱酸环境(pH 为 6–7),而 LGB-h 的分生孢子在弱碱环境萌发率更高(pH 为 7–8)。温度对菌株 LGB-b 和 LGB-h 有显著影响,LGB-b 在温度偏高时(25–30 °C)生长较快,而菌株 LGB-h 适宜生长的温度相对冷凉(20–25 °C)。水活度对病原菌的生长、繁殖及孢子的存活有重要意义。本研究发现水活度对菌株 LGB-b 和 LGB-h 的分生孢子萌发有显著影响,菌株 LGB-b 的分生孢子在较低的自由水环境中萌发率较高(水活度 ≤ 0.94),表明其适应性更广。不同的 *A. alternata* 菌株间在温度、pH、致病力等方面存在差异的原因可能与病原菌的寄主和采集地不同有关。

[REFERENCES]

- Andrew M, Peever TL, Pryor BM, 2009. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia*, 101(1): 95-109
- Bhargava A, Shukla S, Ohri D, 2006. *Chenopodium quinoa*—an Indian perspective. *Industrial Crops and Products*, 23(1): 73-87
- Blagojević JD, Vukojević JB, Ivanović ŽS, 2020. Occurrence and characterization of *Alternaria* species associated with leaf spot disease in rapeseed in Serbia. *Plant Pathology*, 69(5): 883-900
- Boerema GH, Mathur SB, Neergaard P, 1977. *Ascochyta hyalospora* (Cooke & Ell.) comb. nov. in seeds of *Chenopodium quinoa*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 83: 153-159
- Brahmanage RS, Liu M, Wanasinghe DN, Dayarathne MC, Mei L, Jeewon R, Li XH, Hyde KD, 2020. *Heterosporicola beijingense* sp. nov. (Leptosphaeriaceae, Pleosporales) associated with *Chenopodium quinoa* leaf spots. *Phytopathologia Mediterranea*, 59(2): 219-227
- Es-Soufi R, Kbiach MLE, Errabii T, Saidi R, Badoc A, Chaveriat L, Martin P, Lamarti A, 2018. Biology and physiology of *Colletotrichum acutatum* strains causing strawberry's anthracnose. *Agricultural Sciences*, 9(8):

- 974-990
- Fang ZD, 1998. Research method of plant pathology. 3rd ed. China Agriculture Press, Beijing. 1-427 (in Chinese)
- Feng ZH, Sun GY, 2020. Advances in the classification of *Alternaria* and related genera. Journal of Fungal Research, 18(4): 294-303 (in Chinese)
- Franc GD, 2009. *Alternaria* leaf spot. In: Haveson RM, Hanson LE, Hein GL (eds.) Compendium of beet diseases and pests. APS Press, St. Paul, USA. 1-140
- Gervais P, Molin P, Grajek W, Bensoussan M, 1988. Influence of the water activity of a solid substrate on the growth rate and sporogenesis of filamentous fungi. Biotechnology and Bioengineering, 31(5): 457-463
- Gilardi G, Matic S, Gullino ML, Garibaldi A, 2019. First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on spinach (*Spinacia oleracea*) in Italy. Plant Disease, 103(8): 2133
- Graf BL, Rojas-silva P, Rojo LE, Delatorre-Herrera J, Baldeón ME, Raskin I, 2015. Innovations in health value and functional food development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 14(4): 431-445
- Jiang T, Liu XB, Li BX, Feng YL, Zheng XL, Huang GX, 2020. Report and biological characteristics to new strain of *Colletotrichum acutatum* species complex causing anthracnose in rubber trees. Acta Phytopathologica Sinica, 50(5): 531-542 (in Chinese)
- Lakshmi Prasad MS, Naresh N, Sujatha K, Usha D, Sujatha M, Sarada C, Rao SC, Chowdappa P, 2020. Population structure of *Alternaria* species causing leaf blight of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in India. Phytoparasitica, 48: 335-356
- Lawrence DP, Rotondo F, Gannibal PB, 2016. Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. Mycological Progress, 15(3): 1-22
- Liu Q, Ning NN, Ma YQ, Guo QY, 2021. Biological characteristics of pathogen causing leaf spot disease of cherry in Qinghai province and toxicity test of different fungicides in laboratory. Plant Protection, 47(3): 136-143 (in Chinese)
- Luo H, 2019. Diversity of pathogenic large-spored *Alternaria* from Compositae in China. Master Thesis, Yangtze University, Jingzhou. 1-78 (in Chinese)
- Meng XL, Zhang Q, Shi CY, Wang ST, Wang YN, Cao KQ, Hu TL, 2021. Primary study on the symptoms and pathogen of apple fruit black spot diseases in Hebei Province. Acta Phytopathologica Sinica, 51(4): 496-506 (in Chinese)
- Patel R, Patel D, Pandey AK, 2014. First report of *Alternaria alternata* on *Chenopodium album* L. from India. Biological Forum, 6(2): 150-152
- Pose G, Patriarca A, Kyanko V, Pardo A, Fernández Pinto V, 2009. Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. International Journal of Food Microbiology, 135(1): 60-63
- Pose G, Patriarca A, Kyanko V, Pardo A, Fernández Pinto V, 2010. Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. International Journal of Food Microbiology, 142(3): 348-353
- Ren GX, Yang XS, Yao Y, 2015. Current situation of quinoa industry in China. Crops, 5: 1-5 (in Chinese)
- Shi YX, Guo RT, Zhang T, Li BJ, 2019. Identification of the pathogens causing lettuce *Alternaria* root rot in Beijing. Journal of Plant Protection, 46(3): 658-662 (in Chinese)
- Simmons EG, 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. In: Chelkowski J, Visconti A (eds.) *Alternaria: biology, plant disease and metabolites*. Elsevier, Amsterdam. 1-35
- Simmons EG, Roberts RG, 1993. *Alternaria* themes and variations (73). Mycotaxon, 48: 109-140
- Singh S, Singh R, Singh KV, 2016. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), functional superfood for today's world: a review. World Scientific News, 58: 84-96
- Stevenson A, Hamill PG, Medina Á, Kminek G, Rummel JD, Dijksterhuis J, Timson DJ, Magan N, Leong SL, Hallsworth JE, 2017. Glycerol enhances fungal germination at the water-activity limit for life. Environmental Microbiology, 19(3): 947-967
- Sun K, Lu HX, Fan FJ, Zhang PJ, Liu GF, Yu XP, 2021. Occurrence of *Chenopodium quinoa* mitovirus 1 in *Chenopodium quinoa* in China. Plant Disease, 105(3): 715
- Swofford DL, 2003. PAUP* 4.0b10. phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Sinauer Associates, Sunderland MA.
- Vega-Gálvez A, Miranda M, Vergara J, Uribe E, Puente L, Martínez EA, 2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(15): 2541-2547
- Wang JP, Zhuoma QC, Wang YY, Pu C, Wang M, 2020. Isolation and identification of quinoa leaf spot and screening of biocontrol bacterium. Journal of Plateau Agriculture, 4(5): 463-469 (in Chinese)
- Wang WQ, 2021. Differentiation of virulence and identification of mycoviruses in *Alternaria* spp. causing pear black spot. Master Thesis, Huazhong Agricultural University, Wuhan. 1-91 (in Chinese)

- Wang WQ, Li Y, Xiang J, Hong N, Wang GP, 2020. Identification and pathogenicity of *Alternaria* species causing black spot in pear producing regions in China. *Journal of Fruit Science*, 37(12): 1922-1933 (in Chinese)
- Wang YY, Liu B, Zhou YY, Zhu XF, Gao ZG, Chen LJ, 2015. Biological characteristics and screening of fungicides of maize *Alternaria tenuis* Nees. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 46(5): 538-542 (in Chinese)
- Woudenberg JHC, Seidl MF, Groenewald JZ, de Vries M, Stielow JB, Thomma BPHJ, Crous PW, 2015. *Alternaria* section *Alternaria*: species, formae speciales or pathotypes? *Studies in Mycology*, 82: 1-21
- Woudenberg JHC, Truter M, Groenewald JZ, Crous PW, 2014. Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. *Studies in Mycology*, 79: 1-47
- Yan ZZ, Yu T, Huang YR, Wang GH, Yang MH, 2018. Influence of temperature and water activity on mycelial growth and conidia formation of *Eurotium cristatum* isolated from Chinese brick tea. *Journal of Fungal Research*, 16(4): 219-227 (in Chinese)
- Yin H, Zhou JB, Chang FJ, Lü H, Gong LJ, Zhao XJ, 2018. Identification of pathogen causing downy mildew of *Chenopodium quinoa*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 48(3): 413-417 (in Chinese)
- Yin H, Zhou JB, Chen YL, Ren L, Qin N, Xing YL, Zhao XJ, 2022. Morphology, phylogeny, and pathogenicity of *Trichothecium*, *Alternaria*, and *Fusarium* species associated with panicle rot on *Chenopodium quinoa* in Shanxi Province, China. *Plant Pathology*, 71(2): 344-360
- Yin H, Zhou JB, Lü H, Chang FJ, Qin N, Zhai SY, Xing K, Zhao F, Zhao XJ, 2019. Identification of the pathogen causing *Cercospora* leaf spot on quinoa. *Acta Phytopathologica Sinica*, 49(3): 408-414 (in Chinese)
- Yin H, Zhou JB, Lü H, Qin N, Chang FJ, Zhao XJ, 2020. Identification, pathogenicity, and fungicide sensitivity of *Ascochyta caulina* (teleomorph: *Neocamarosporium calvescens*) associated with black stem on quinoa in China. *Plant Disease*, 104(10): 2585-2597
- Yue HM, Zhang R, Sun GY, 2007. Sequence and phylogenetic analysis of endopolygalacturonase genes from *Alternaria* small-spored species. *Mycosystema*, 26(2): 202-210 (in Chinese)
- Zang R, Huang LL, 2007. Study on the pycnidiospore germination of apple tree *Valsa* canker pathogen. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 16(1): 64-67 (in Chinese)
- Zhang B, Mei XF, Huang F, Wang MS, Wang HK, Li HY, 2020. Phylogenetic analysis of *Alternaria* spp. causing black rot and brown spot of citrus in China. *Acta Phytopathologica Sinica*, 50(1): 10-19 (in Chinese)
- Zhang JQ, Wu KL, Zhang XM, Li JJ, Abdramane SZ, Qi YH, Shen T, Tian YQ, 2021. Isolation, identification, biological characteristic and biocontrol bacteria screening of celery leaf spot pathogen. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 30(7): 1089-1099 (in Chinese)
- Zhang R, Yue HM, Sun GY, 2009. Sequence and phylogenetic analysis of OPA2-1 region from *Alternaria* small-spored species. *Mycosystema*, 28(4): 553-557 (in Chinese)
- Zhang TY, 2003. *Flora fungorum sinicorum*. Vol. 16. *Alternaria*. Science Press, Beijing. 1-283 (in Chinese)
- Zhao YQ, Shi K, Zhang LJ, Zhang DM, Yu XY, 2021. Biological characteristics of the pathogen causing *Alternaria* leaf spot in sorghum. *Plant Protection*, 47(6): 196-200 (in Chinese)
- Zurita-Silva A, Fuentes F, Zamora P, Jacobsen SE, Schwember AR, 2014. Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): potential and perspectives. *Molecular Breeding*, 34: 13-30
- [附中文参考文献]
- 方中达, 1998. 植病研究方法. 第三版. 北京: 中国农业出版社. 1-427
- 冯中红, 孙广宇, 2020. 链格孢属及相关属分类研究新进展. *菌物研究*, 18(4): 294-303
- 江涛, 刘先宝, 李博勋, 冯艳丽, 郑肖兰, 黄贵修, 2020. 橡胶树尖孢炭疽复合种新菌株的报道及生物学特性分析. *植物病理学报*, 50(5): 531-542
- 刘俏, 宁楠楠, 马永强, 郭青云, 2021. 青海省櫻桃叶斑病菌生物学特性及室内药剂毒力测定. *植物保护*, 47(3): 136-143
- 罗欢, 2019. 中国菊科植物病原链格孢菌大孢子种多样性研究. 长江大学硕士论文, 荆州. 1-78
- 孟祥龙, 张祺, 石朝阳, 王树桐, 王亚南, 曹克强, 胡同乐, 2021. 河北省苹果果实黑点病的症状与病原研究初报. *植物病理学报*, 51(4): 496-506
- 任贵兴, 杨修仕, 么杨, 2015. 中国藜麦产业现状. *作物杂志*, 5: 1-5
- 石延霞, 郭润婷, 张涛, 李宝聚, 2019. 北京市生菜链格孢根腐病原菌鉴定. *植物保护学报*, 46(3): 658-662
- 王建鹏, 卓玛曲措, 王延宇, 普仓, 旺姆, 2020. 藜麦叶斑病的分离鉴定及其生防菌的筛选. *高原农业*, 4(5): 463-469
- 王文青, 2021. 梨黑斑病病原菌致病力分化分析与链格孢病毒的鉴定. 华中农业大学硕士论文, 武汉. 1-91
- 王文青, 李扬, 向均, 洪霓, 王国平, 2020. 我国梨产区引起黑斑病的链格孢种类鉴定与致病性研究. *果树学报*, 37(12): 1922-1933
- 王媛媛, 刘彬, 周园园, 朱晓峰, 高增贵, 陈立杰, 2015. 玉米链格孢病菌生物学特性及防治药剂离体活性筛选. *沈阳农业大学学报*, 46(5): 538-542

- 严蒸蒸, 余婷, 黄悠然, 王国红, 杨民和, 2018. 温度和水活度对冠突散囊菌菌丝生长和产孢的影响. 菌物研究, 16(4): 219-227
- 殷辉, 周建波, 常芳娟, 吕红, 巩亮军, 赵晓军, 2018. 藜麦霜霉病病原菌鉴定. 植物病理学报, 48(3): 413-417
- 殷辉, 周建波, 吕红, 常芳娟, 秦楠, 翟世玉, 邢鲲, 赵飞, 赵晓军, 2019. 藜麦尾孢叶斑病的病原鉴定. 植物病理学报, 49(3): 408-414
- 岳海梅, 张荣, 孙广宇, 2007. 小孢子链格孢 endoPG 基因核苷酸序列分析及系统发育研究. 菌物学报, 26(2): 202-210
- 臧睿, 黄丽丽, 2007. 苹果树腐烂病菌分生孢子萌发及其影响条件研究. 西北农业学报, 16(1): 64-67
- 张斌, 梅秀凤, 黄峰, 王明爽, 王洪凯, 李红叶, 2020. 中国柑橘黑腐病和褐斑病原菌的系统发育分析. 植物病理学报, 50(1): 10-19
- 张建强, 吴康莉, 张晓梦, 李佳佳, Abdramane Salah Zenel, 漆永红, 沈彤, 田永强, 2021. 芹菜叶斑病原菌的分离鉴定、生物学特性及其生防菌筛选. 西北农业学报, 30(7): 1089-1099
- 张荣, 岳海梅, 孙广宇, 2009. 小孢子链格孢 OPA2-1 核苷酸序列分析及系统发育研究. 菌物学报, 28(4): 553-557
- 张天宇, 2003. 中国真菌志(第十六卷·链格孢属). 北京: 科学出版社. 1-283
- 赵艳琴, 石凯, 张丽娟, 张冬梅, 于秀英, 2021. 高粱链格孢叶斑病菌生物学特性研究. 植物保护, 47(6): 196-200