

一株西藏白菜型黄籽油菜黑斑病菌的鉴定及生物学特性

岳海梅^{1,2}, 庄 华^{3*}, 巩文峰¹, 旺 姆¹, 旦 巴¹, 赵玉红¹

(1. 西藏大学农牧学院, 西藏 林芝, 860000; 2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京, 100193;
3. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西 杨凌, 712100)

摘要:为明确西藏林芝地区油菜黑斑病的病原物,从发病田采集病株,采用组织分离法得到一株链格孢菌 XZ – S1,用柯赫氏法则对该菌进行致病性测定,结合形态学特征和核糖体基因内转录间隔区(rDNA – ITS)序列构建系统发育树对该菌进行鉴定,菌株 XZ – S1 与芸薹链格孢 *Alternaria brassicae* 在自举值 99% 相聚一群。生物学特性试验结果表明:该菌最适生长温度为 25℃,最适生长 pH 值为 6.5 ~ 7.5,淀粉为最佳碳源,蛋白胨为最佳氮源,马铃薯蔗糖琼脂培养基为最适生长培养基,马铃薯胡萝卜琼脂培养基为最适产孢培养基。

关键词:油菜黑斑病;鉴定;生物学特性;产孢量

中图分类号:S435.654 **文献标识码:**A **文章编号:**1007 – 9084(2015)03 – 0377 – 06

Identification and biological characterization of a rape black spot isolate on Tibetan cabbage yellow – seeded rape

YUE Hai – mei^{1,2}, ZHUANG Hua^{3*}, GONG Wen – feng¹, WANG Mu¹, DAN Ba¹, ZHAO Yu – hong¹

(1. *Agricultural and Animal Husbandry College of Tibet University, Linzhi 860000, China;*
2. *Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;*
3. *College of Plant Protection of Northwest A & F University, Yangling 712100, China*)

Abstract: To clarify the causal agent of rape black spot disease in Linzhi area, rape plant with black spot symptom was collected in field. An *Alternaria* isolate (XZ – S1) was obtained, and its pathogenicity on leaf was investigated by Koch’s postulates. Strain XZ – S1 was identified using rDNA – ITS (ribosomal DNA internal transcribed spacer) sequences. Result showed that XZ – S1 clustered with *Alternaria brassicae* at 98% bootstrap levels in phylogenetic tree. The optimum growth condition for the pathogen was PSA (potato sugar agar medium) with starch (carbon source), peptone (nitrogen source), at 25℃ under pH6.5 – 7.5. The highest spore yield was obtained on PCA (potato carrot agar) medium.

Key words: Rape black spot; Identification; Biological characteristics; Spore yield

油菜是我国四大油料作物之一,我国油菜的种植面积约占世界的 1/3,总产量居世界首位^[1]。油菜在西藏俗称“白卡”、“波孜”、“牛娜”等,是西藏的主要油料作物,也是本地农民长期种植的传统经济作物,虽然其种植总面积不大,但分布却很广泛,几乎每个农业县和半农牧县都有种植,在西藏种植面积仅次于青稞。西藏独特的高原气候,使得该地区的油菜具有抗寒、抗旱、耐瘠薄、含油量高等特点^[2],从而孕育了丰富的白菜型黄籽油菜地方

品种。

油菜黑斑病是油菜上常发生的病害之一^[3],在我国各油菜产区均有发生,现已报道芸薹链格孢 (*Alternaria brassicae*)、芸薹生链格孢 (*Alternaria brassicicola*) 和萝卜链格孢 (*Alternaria raphani*) 3 个种均可以引起油菜黑斑病。该病主要为害叶片、叶柄、茎和角果,湿度大时在病部产生黑色霉状物,致侧枝或整株枯死,最终造成油菜结实差,籽粒弱小,发芽率低下,对产量造成一定的影响。近年来,随着

收稿日期:2014-12-16
基金项目:国家自然科学基金(31360006,31160292,31270068)
作者简介:岳海梅(1979 –),女,新疆和静人,副教授,在职博士研究生,从事植物病理学和微生物学的研究
* 通讯作者:庄 华, E – mail: ztyth2009@163.com

西藏油菜种植面积的扩大,油菜病害加重,尤其是霜霉病和黑斑病普遍严重发生,但国内关于西藏油菜的研究主要集中在农艺学、遗传育种、抗旱性及虫害方面^[4~6],关于西藏油菜病害方面的报道很少。国外科技人员对芸薹链格孢进行了多态性分析、种的鉴定、株系鉴定及病害传播的监测^[7]。Jasalavich 等对十字花科蔬菜有致病性的链格孢核糖体基因内转录间隔区(rDNA - ITS)部分序列进行了分析,表明可以根据 ITS 区对链格孢进行种的鉴定,为从核酸水平进行鉴定提供了科学依据^[8,9]。本文从西藏林芝地区常见的农家油菜品种——白菜型黄籽油菜上分离到一株黑斑病菌进行分离和致病性测定,结合传统形态学和分子生物学方法对该病原菌进行鉴定,并对该病原菌进行生物学特性研究,为该病害的防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

2013 年 8 月在西藏林芝地区油菜黑斑病发病田块(N29°39.198',E94°20.663')采集病株,油菜品种为乃东黄籽(来自西藏山南乃东,白菜型黄籽油菜品种),按照组织分离法分离病原菌^[10]:在病、健交界处剪取 2~3mm 长的病组织,用 70% 乙醇消毒 30s,用 0.1% 升汞消毒 3min,用无菌水洗 3 次,最后将病组织直接移至马铃薯葡萄糖琼脂培养基平板上(PDA 配方:去皮马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 17g,蒸馏水 1 000mL),为防止细菌污染,每 300mL 的培养基中加入 1mL 的硫酸链霉素溶液(40μg/mL),将接菌的 PDA 平板倒置于 20~25℃ 恒温培养箱中,待菌落长出后挑取边缘菌丝转接到新的 PDA 平板上,在 25℃ 恒温培养箱中纯化培养,用孙广宇等的方法进行单孢分离^[11],得到单孢分离物 XZ - S1,于 4℃ 保存备用。

1.2 致病性鉴定

采用柯赫氏法则进行致病性鉴定^[10]。

黑斑病菌 XZ - S1 接种体的制备:将在 PDA 培养基上生长良好的病原菌菌丝及孢子刮下(生长 7d 左右),加入一定量无菌水,用组织捣碎机将混合液打碎配成菌丝及孢子悬浮液备用。油菜黑斑病菌 XZ - S1 接种体孢子浓度为 8×10^6 /mL。

离体接种^[12]:取旺盛生长的乃东黄籽油菜顶部健康嫩叶和角果,立即置于铺有灭菌滤纸的托盘上,叶片正面朝上,用灭菌的昆虫针将油菜叶片和角果各刺伤 2 处,用喷雾法接种病原菌分生孢子后套上塑料袋密封保湿,置于人工气候箱中培养,14d 后观

察发病情况,描述症状并记录结果。将发病组织采用 1.1 中的方法再分离菌株,观察再次分离得到的菌株形态,并与原发病植株上分离到的病原菌在相同培养条件下进行形态学比较。

1.3 病原菌的形态学鉴定

将黑斑病菌 XZ - S1 接种到马铃薯胡萝卜琼脂(PCA)培养基(马铃薯 200g,胡萝卜 20g,琼脂粉 12g,水 1 000mL,配制方法同 PDA 培养基)平板上,于 25℃ 条件下盖玻片插片法培养 7d,参考文献[13~15],根据产孢表型进行初步鉴定,采用莱卡显微镜(Leica)DM2000 在光学显微镜下观察分生孢子的形状、分隔情况和颜色等特征,用 LAS 4.0 照相系统测量孢子大小和喙的大小,根据孢子形态和显微测量数据鉴定病原菌。

1.4 病原菌的分子鉴定

病原菌 DNA 的提取方法主要参考甘丽萍等^[16]的方法,并略有改进。用真菌核糖体基因内转录间隔区(rDNA - ITS)通用引物 ITS - 1F(5' - CTTGGT-CATTTAGAGGAAGTAA - 3'), ITS4(5' - TCCTC-CGCTTATTGATATGC - 3'),(上海生物技术服务有限公司合成)对菌株 XZ - S1 的基因组进行 PCR 扩增,PCR 反应体系为 25μL:其中 10 × PCR 缓冲液 2.5μL,DNA 模板为 10ng,2.5mmol/L dNTP 2.0μL,10μmol/L 引物各 1μL,5U/μL *Taq* 酶 0.2μL,最后加双蒸水补足。反应程序:95℃ 预变性 5min;95℃ 变性 45s,53℃ 退火 45s,72℃ 延伸 45s,35 个循环;最后 72℃ 延伸 7min。

PCR 产物的纯化和序列测定由上海英骏生物技术有限公司完成,将测序结果利用 Blast 在 GenBank 中进行同源序列查找,选择 21 个相关种的 rDNA - ITS 序列,使用 CLUSTAL X 对排,用 MEGA4.0 在重复 1 000 次下构建系统进化树^[17](选择茄链格孢 *A. solani* 为外群)。

1.5 病原菌生物学特性测定

1.5.1 温度对病原菌生长及产孢的影响 在无菌条件下将在 PDA 平板上生长良好的油菜黑斑病菌 XZ - S1,用 4mm 的打孔器在菌落边缘均匀一致地打取菌饼接种到新的 PDA 平板中央,并分别置于 5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃ 和 35℃ 恒温培养箱中培养,7d 后测量菌落直径。在待测定培养皿中加入 10mL 无菌水洗脱孢子,经双层纱布过滤后配制成容积相等的孢子悬浮液,并用血球计数板在显微镜下检测计数分生孢子数量。每个处理重复 3 次,取平均值^[10]。

1.5.2 pH 值对病原菌生长及产孢的影响 用 0.1

mol/L 的 HCl 和 NaOH 溶液,将 PDA 培养基调至 pH2、3、4、5、6、7、8、10 后,经高压蒸汽灭菌后制成平板,接种油菜黑斑病菌 XZ - S1,后于 25℃ 恒温培养箱中培养,方法同 1.5.1。7d 后测量其菌落生长直径及产孢量,每个处理重复 3 次,取平均值。

1.5.3 C、N 源对病原菌生长及产孢的影响 以察氏培养基(Czapek)为基础培养基,其中 C 源物质分别选用乳糖、葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉;N 源物质分别选用氯化铵、硝酸钾、蛋白胨和乙酸铵。另设对照为不含碳源和不含氮源的察氏培养基,方法同 1.5.1。接种后置 25℃ 恒温培养箱中培养,7d 后测量其菌落生长直径及产孢量,每个处理重复 3 次,取平均值。

1.5.4 不同培养基对病原菌生长及产孢的影响 分别配置 6 种培养基:水琼脂培养基(WA)、察氏(查彼克)培养基(Czapek)、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)、马铃薯胡萝卜琼脂培养基(PCA)、马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)和玉米粉琼脂培养基(CMA),按1.5.1方法,接种后置 25℃ 恒温培养箱中

培养,7d 后测量菌落生长直径及产孢量,每个处理重复 3 次,取平均值。

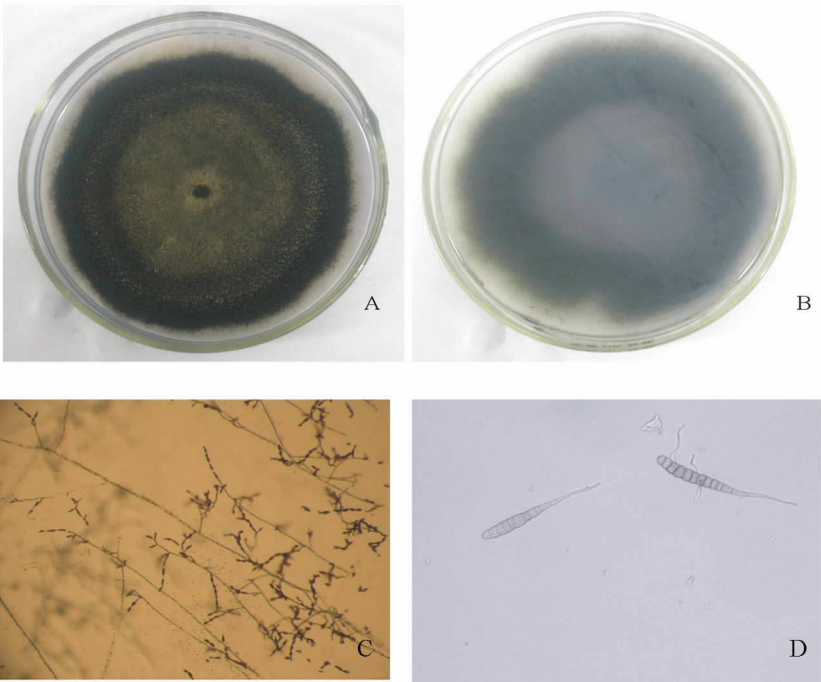
2 结果与分析

2.1 病原菌的致病性鉴定

离体叶片染病初期,褐色圆形病斑,略具同心轮纹,四周有黄色晕圈,接种 4d 后穿透叶片,病部生黑色霉状物,角果上出现黑色病斑,上着生暗褐色至黑色霉状物。

2.2 病原菌的形态学鉴定

菌落灰黑色,气生菌丝少,灰黑色轮纹(图 1A、1B),产生大量的分生孢子。分生孢子梗多数单生,分生孢子形成短至中等长度的孢子链,菌落边缘以单链为主(图 1C),分生孢子(图 1D)倒棒形至长卵圆形,浅褐色,喙较长、柱形、顶端近无色,横隔 10 ~ 11 个,纵隔 0 ~ 6 个,分生孢子(42 ~ 125) μm × (11 ~ 26) μm,喙长(2.3 ~ 3.0) μm × (45 ~ 65) μm,根据分生孢子的大小,分隔情况和喙的长短,初步鉴定该菌株为芸薹链格孢(*Alternaria brassicae*)。



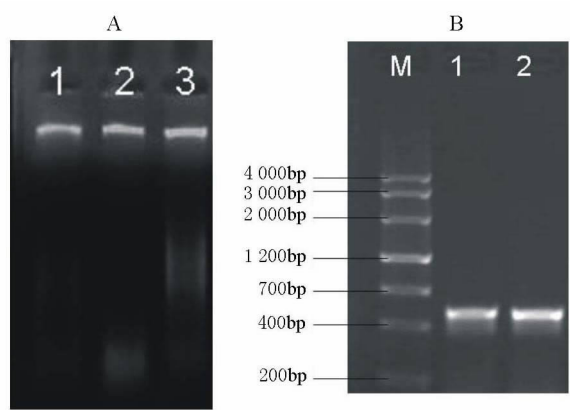
注:A、B 菌株 XZ - S1 的菌落形态; C:菌株 XZ - S1 的产孢表型(×50);D:菌株 XZ - S1 的分生孢子形态(×200)
Notes:A and B:Colony morphology of isolate XZ - S1; C:Sporulation patterns(×50)of isolate XZ - S1; D:Conidial morphology of isolate XZ - S1(×200)

图1 菌株 XZ - S1 的形态特征
Fig.1 Morphology of isolate XZ - S1

2.3 病原菌的分子鉴定

对菌株 XZ - S1 进行 DNA 提取(图 2A),用引物 ITS - 1F 和 ITS4 进行扩增后得到长度约为 600bp 目的片段(图 2B),测序获得了 502bp 核苷酸序列,将测定的序列提交 GenBank(登录号:KP135422),

通过选择 21 个相关种的 rDNA - ITS 序列进行同源序列比对,用 MEGA4.0 软件构建系统发育树,XZ - S1 与 *Alternaria brassicae* (KF543036、KF543050) 在 99% 水平上,相聚一群(图 3),从分子水平证明了菌株 XZ - S1 与 *A. brassicae* 的亲缘关系最近。

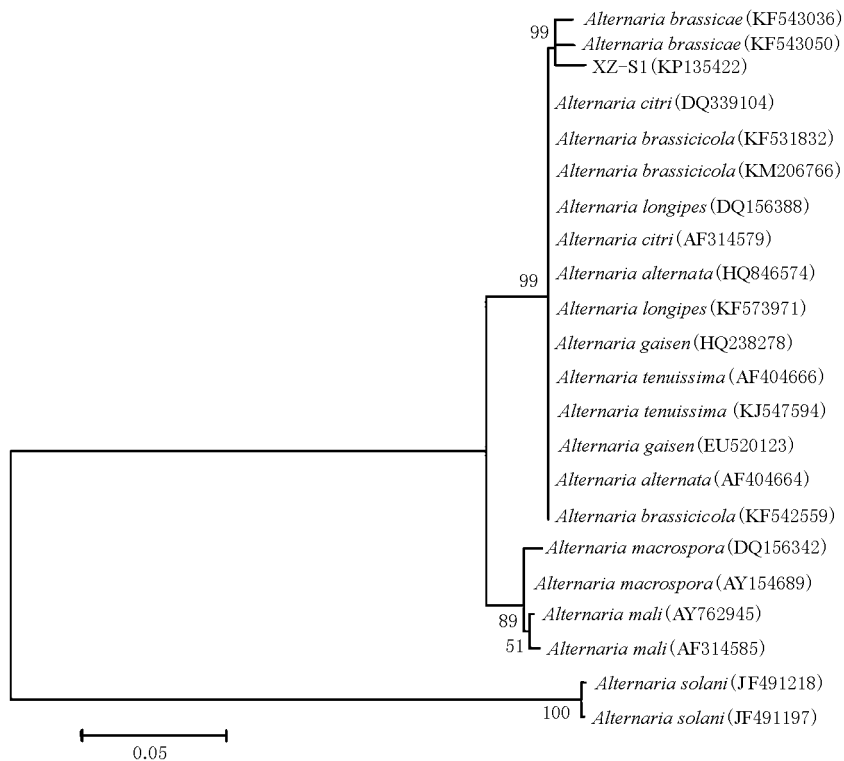


注:A:菌株 XZ-S1 的 DNA 检测结果(1~3 为 3 次重复);
B:菌株 XZ-S1 的 rDNA-ITS 序列的扩增产物
(1 和 2 为 2 次重复,M: DNA Ladder)
Note:A:Electrophoretogram for DNA detection of
isolate XZ-S1 (1-3;3 repeats);B:Electrophoretogram
for rDNA-ITS of isolate XZ-S1 (1-2;2 repeats)
图 2 菌株 XZ-S1 的 DNA 检测与 rDNA-ITS
序列的 PCR 产物电泳图
Fig. 2 Electrophoretograms for DNA detection and PCR
products of rDNA-ITS of isolate XZ-S1

2.4 病原菌的生物学特性

2.4.1 温度对病原菌生长及产孢的影响 菌株 XZ-S1 的温度生长范围为 5℃~35℃,当温度为 25℃ 时,菌落生长直径最大,而且产孢量也最多,此温度为该菌的最适生长温度。当温度为 5℃~25℃ 时,菌落直径及产孢量随温度的升高而增加,而当温度超过 25℃ 时,菌落直径及产孢量随温度的升高而减小。当温度低于 5℃ 或高于 35℃ 时,菌丝生长停止且不产孢(图 4)。

2.4.2 pH 值对病原菌生长及产孢的影响 菌株 XZ-S1 生长的 pH 值范围为 2~10,当 pH 值为 6.5~7.5 时,菌落生长最好,当 pH 值为 2~4 时,菌落生长直径随 pH 值的增加而急剧增加,当 pH 值为 4~7 时,菌落生长直径随 pH 值的增加而平缓增加;当 pH 值为 8 时,产孢量最大,当 pH 值为 6~8 时,产孢量随 pH 值的增加而急剧增加,当 pH 值 >8 时,产孢量急剧下降,产孢量受 pH 值的影响变化幅度较大(图 5)。



注:括号中为相关菌株在 GenBank 登记号,分支处数值表示自举值。尺标表示每个核苷酸位点上的 0.05 替换值
Note: Numbers in parentheses represent the accession numbers of the related isolates in GenBank. Numbers in each
branch points denote the percentages supported by bootstrap. Scale bar represents 0.05 substitutions per nucleotide position

图 3 基于 rDNA-ITS 序列构建的菌株 XZ-S1 的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic tree of isolate XZ-S1 constructed based on rDNA-ITS sequences

2.4.3 碳、氮源对病原菌生长及产孢的影响 菌株 XZ-S1 在 5 种不同处理的碳源培养基上均能生长和产孢,碳源为淀粉时,菌落生长直径最大,可达 14.20cm;蔗糖和乳糖次之,不含碳源的培养基上生

长最差,为 4.30cm。病菌产孢的最佳碳源也为淀粉,产孢量可达 $2.6 \times 10^5/\text{mL}$,蔗糖和乳糖次之,不含碳源的培养基上产孢量最小,碳源对菌落生长和产孢量的影响是一致的(表 1)。

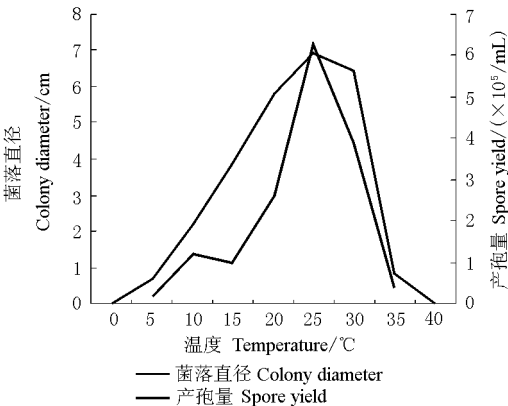


图 4 温度对菌株 XZ-S1 生长及产孢的影响
Fig. 4 Effects of temperature on vegetative growth and sporulation of isolate XZ-S1

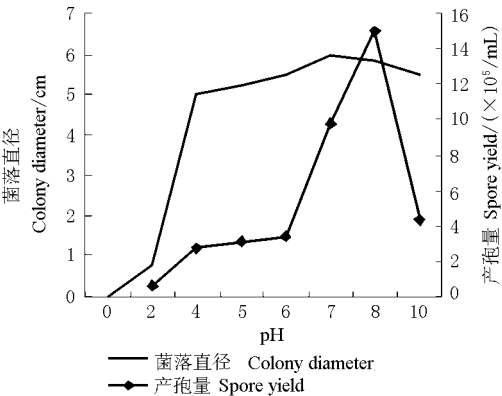


图 5 pH 值对菌株 XZ-S1 生长及产孢的影响
Fig. 5 Effects of pH on vegetative growth and spore yield of isolate XZ-S1

表 1 碳源对菌株 XZ-S1 生长及产孢的影响
Table 1 Effects of carbon sources on vegetative growth and sporulation

碳源 Carbon source	菌落直径 Colony diameter /cm	产孢量 Spore yield /($\times 10^5$ /mL)
葡萄糖 Glucose	5.75 a	2.1a
蔗糖 Sucrose	6.45 b	0.8 ab
淀粉 Starch	14.20 bc	2.6 bc
乳糖 Lactose	6.05 c	1.3 cd
对照 CK	4.30 d	0.4 d

注：表中同列数据不同字母表示显著水平为 0.05，下同
Note: Letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. Same as below

氮源对菌株 XZ-S1 影响如下：当氮源为蛋白胨时，菌落生长直径最大，可达 7.86cm；对照次之，氯化铵最差，仅为 3.40cm；菌株 XZ-S1 产孢的最佳氮源也为蛋白胨，产孢量可达 3.8×10^5 /mL，硝酸钾次之，氯化铵最差，不产孢（表 2）。

表 2 氮源对菌株 XZ-S1 生长及产孢的影响
Table 2 Effects of nitrogen sources on vegetative growth and sporulation

氮源 Nitrogen source	菌落直径 Colony diameter /cm	产孢量 Spore yield /($\times 10^5$ /mL)
蛋白胨 Peptone	7.86 a	3.8 a
氯化铵 Ammonium chloride	3.40 a	0.0 b
硝酸钾 KNO ₃	7.02 b	1.3 bc
乙酸铵 Ammonium acetate	5.66 c	0.7 c
对照 CK	7.58 d	0.1 c

2.4.4 不同培养基对病原菌生长及产孢的影响
从表 3 可知，当培养基为 PSA 时，菌株 XZ-S1 菌落生长直径最大，可达 7.86cm；PCA 和 Czapek 次之，而 PDA 最差，为 4.04cm。病菌产孢的最佳培养基为 PCA，产孢量可达 9.2×10^5 /mL，PDA 次之，WA 最差，仅为 7.0×10^4 /mL。

表 3 培养基对菌株 XZ-S1 生长及产孢的影响
Table 3 Effects of mediums on vegetative growth and sporulation

培养基 Medium	菌落直径 Colony diameter /cm	产孢量 Spore yield /($\times 10^5$ /mL)
马铃薯葡萄糖琼脂 PDA	4.04 a	6.1 a
马铃薯蔗糖琼脂 PSA	7.86 b	3.5 b
马铃薯胡萝卜琼脂 PCA	7.35 b	9.2 b
水琼脂 WA	5.89 c	0.7 c
查彼克 Czapek	7.03 c	1.1 d
玉米粉琼脂 CMA	5.68 d	5.3 d

3 讨论

国内部分学者对十字花科作物黑斑病的病原鉴定结果表明，芸薹链格孢 (*Alternaria brassicae*)、芸薹生链格孢 (*Alternaria brassicicola*) 和萝卜链格孢 (*Alternaria raphani*) 均可引起十字花科作物感病，南方十字花科作物黑斑病主要由芸薹生链格孢引起，北方十字花科作物主要由芸薹链格孢引起^[18]，西藏林芝地区气候条件与我国北方地区相似，本研究对西藏林芝地区油菜上分离到的一株黑斑病病原菌进行了致病性测定和病原鉴定，结果证明：芸薹链格孢是引起本地油菜黑斑病的重要病原之一，该研究结果与前人的研究结果一致^[6,18]。

由于链格孢分生孢子形态是链格孢菌的主要形态鉴定标准,但分生孢子易受环境条件的影响,要准确鉴定链格孢,必须综合考虑其它标准^[19,20],分类学家经过多年研究,总结出一套采用营养相对贫乏,尽量接近自然的人工培养条件——如 PCA 培养基,对链格孢从菌落特征到单支分生孢子梗上的产孢表型及分生孢子形态特征进行综合比较研究,大大提高了对链格孢形态鉴定的准确度^[13,14]。与此同时,Jasalavich 等根据 ITS 区对链格孢进行种的鉴定,为从核酸水平进行鉴定提供了科学依据^[8,9]。本研究借鉴 Simmons 等人设计的一套特定的培养条件,对分离到的链格孢进行形态学鉴定,同时结合分子生物学方法进行聚类分析,证明了菌株 XZ-S1 为 *Alternaria brassicae*。

由于油菜黑斑病近两年在西藏林芝地区发生比较严重,但目前关于西藏油菜黑斑病尚未进行系统研究,对该病原菌进行生物学特性的研究对该病的防治具有重要的理论指导意义。通过生物学特性试验表明:菌株 XZ-S1 最适生长和产孢的温度为 25℃,pH 值为 7~8,淀粉和蛋白胨分别为最适碳、氮源,最适菌落生长和产孢的培养基分别为 PSA 和 PCA。本研究表明氮源对该菌的生长尤其是产孢影响比较大,这种现象与镰刀菌引起的玉米穗腐病相似^[21],该菌分生孢子借助气流传播,农业生产中避免偏施过量氮肥,可降低菌源数量,减轻病害的发生。此外,由于本地区长期种植本地品种,携带致病菌的种子是该病的主要初侵染源之一,因此,种子消毒也是防治该病的重要措施之一^[22]。

参考文献:

[1] 王汉中. 我国油菜产需形势分析及产业发展对策[J]. 中国油料作物学报,2007,29(1):101-105.

[2] 王建林,旦巴,成海宏,等. 西藏野生油菜和栽培油菜遗传多样的 AFLP 分析[J]. 中国油料作物学报,2008,30(1):10-16.

[3] 金程凡,朱宏建,高必达,等. 湖南省油菜品种的种传链格孢菌检测[J]. 中国油料作物学报,2014,36(4):502-503.

[4] 李梦寒,李昌明,许进鸿,等. 西藏白菜型黄籽油菜表型多样性分析[J]. 中国油料作物学报,2014,36(4):461-468.

[5] 胡兴祥,王建林,昌决,等. 西藏试种 9 份印度芥菜型油菜的抗旱性评价[J]. 西藏科技,2011(11):7-9.

[6] 胡胜昌. 西藏油菜和十字花科蔬菜主要害虫发生简况[J]. 植物保护,1988,14(6):38-39.

[7] Schmechel D, McCartney H A, Magan N. The production and characterization of monoclonal antibodies against *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc[J]. Food and Agricultural Immunology,1997,9(3):219-232.

[8] Jasalavich G A, Morales V M, Pelcher L E. Comparison of nuclear ribosomal DNA sequence from *Alternaria* species pathogenic to cruciferous [J]. Mycology Research, 1995,99(5):604-614.

[9] Cook D E L, Forster J W, Jenkins P D, et al. Analysis of intraspecific and interspecific variation in the genus *Alternaria* by the use of RAPD-PCR[J]. Annals of Applied Biology,1998,132(2):197-209.

[10] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:农业出版社,1982. 113-148.

[11] 孙广宇,张天宇. 一种简单孢子分离技术[J]. 植物检疫,1996,10(1):40-41.

[12] 王风敏,张鲁刚,刘静,等. 春夏大白菜黑斑病原鉴定和抗性方法比较[J]. 植物保护学报,2007,36(6):615-618.

[13] Simmons E G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge[M]. Amsterdam:Elsevier,1992. 1-29.

[14] Simmons E G. *Alternaria* themes and variations[J]. Mycotaxon,1993,4(73):109-140.

[15] 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. 1-283.

[16] 甘丽萍,王生荣. RAPD 标记在植物病原真菌遗传多样性及生理分化研究中的应用[J]. 甘肃农业大学学报,2004,40(1):35-40.

[17] 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.

[18] 李明远. 十字花科蔬菜黑斑病识别与防治[J]. 当代蔬菜,2004(10):34-35.

[19] 李多川,张天宇. 链格孢属(丝孢纲)数值分类研究初探[J]. 真菌学报,1993,12(3):239-246.

[20] 张敬泽,张天宇,王瑾. 链格孢属种间培养性状的分类研究[J]. 浙江农业大学学报,1997,23(5):511-514.

[21] 卢维宏,黄思良,陶爱丽,等. 玉米穗腐病样品中层出镰刀菌的分离与鉴定[J]. 植物保护学报,2011,38(3):233-239.

[22] 肖长坤,王红梅,李健强,等. 白菜种子寄藏交链孢属真菌检测及药剂消毒处理效果初探[A]. 中国植物病理学会第七届代表大会暨学术研讨会论文摘要集[C]. 北京:中国植物病理学会出版,2002. 173.