

贵州烟区靶斑病病原菌的融合群研究与戊唑醇室内毒力测定

聂忠扬, 林松, 祖庆学*, 饶陈, 张翼飞, 康耀文 (贵阳市烟草公司开阳县分公司, 贵州贵阳 550300)

摘要 为了准确鉴定贵州烟区靶斑病的病原,明确其融合群划分,初步测定低毒杀菌剂戊唑醇的室内毒力;从贵州开阳暴发靶斑病严重的烟田分离纯化病原菌菌株,开展显微镜形态观察和 ITS 分子标记测序,进行回接致病力分析,然后根据贵州菌株与参考立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 菌株 ITS 序列的系统发育分析,确定融合群划分,最后开展 7 个浓度的戊唑醇培养基抑制菌丝生长的试验,并根据抑制率计算半致死率 (EC₅₀); 共在贵州开阳烟区获得靶斑病病原菌纯培养菌株 15 株,在显微镜下可以清楚看到菌丝的“T”型分枝结构,菌株长度约 700 bp 的 ITS 基因片段与 GenBank 数据库上的立枯丝核菌参考序列存在高相似性,回接健康烟苗也可以产生症状相似的坏死病斑,贵州菌株全部与融合群 AG-3 的参考序列聚集在一起,戊唑醇对 15 株立枯丝核菌菌株的 EC₅₀ 均小于 0.003 mg/mL。由此可知,开阳等贵州烟区近年暴发的叶斑类病害确定为靶斑病,病原菌为立枯丝核菌,属于国内大多数烟区报道的融合群 AG-3,戊唑醇对其具有良好的防效,可以开展后续大田试验。

关键词 烟草;靶斑病;立枯丝核菌;融合群;戊唑醇

中图分类号 S435.72 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)07-0137-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.07.033



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Anamorphosis Group and Tebuconazole Effect of Target Spot on Tobacco in Guizhou

NIE Zhong-yang, LIN Song, ZU Qing-xue et al (Kaiyang Branch Company, Guiyang Tobacco Company, Guiyang, Guizhou 550300)

Abstract In order to identify the pathogen of target spot on tobacco in Guizhou, classify the anamorphosis group of *Rhizoctonia solani*, and detect the efficacy of tebuconazole on plate, isolates of target spot pathogen was purified from Kaiyang, Guizhou. The morphology was observed by microscope and ITS fragment was sequenced, and inoculation test was conducted. Phylogenetic study was done between ITS sequences of Guizhou isolates and references. Mycelia inhibition test was also accomplished on media with seven concentrations of tebuconazole. There were 15 isolates purified from Kaiyang, Guizhou, with T-shape hyphal branching and high similarity of ITS sequence compared to references of *R. solani* from GenBank. All Guizhou isolates were clustered with AG-3. The EC₅₀ of tebuconazole of all 15 isolates was less than 0.003 mg/mL. Leaf spot diseases occurred in Kaiyang and other regions in Guizhou were identified as target spot, with *Rhizoctonia solani* as pathogen. Guizhou isolates were in AG-3, the same as most provinces in China. Tebuconazole had high effect on target spot, which was useful for further field study.

Key words Tobacco; Target spot; *Rhizoctonia solani*; Anamorphosis group; Tebuconazole

靶斑病是一种由真菌立枯丝核外形菌 (*Rhizoctonia solani*) 引起的烤烟叶部病害。病原菌在适宜的条件下侵染烤烟叶片,形成具有不规则的坏死病斑,病斑直径约 5 cm,深褐色,具有轮纹状结构,部分病斑中心部分还会穿孔、脱落,如同被射穿的箭靶,因此该病得名“靶斑病”^[1-2]。靶斑病于 20 世纪初在美国烟区被报道后^[3],给许多国家的烤烟生产均造成经济损失^[1-2]。2005 年,辽宁烟区首次报道了我国靶斑病的发生,并完成了病原菌的系统鉴定^[4]。我国的吉林、黑龙江^[5]、云南^[6]、湖南^[7]和广西^[8]等烟区也接连报道了该种病害的发生。

立枯丝核菌目前被归属到担子菌门 (Basidiomycota), 鸡油菌目 (Cantharellales), 角担菌科 (Ceratobasidiaceae), 比较典型的形态学特点包括菌丝含褐色色素,具有“T”型分枝结构,尖端含有多个细胞核以及桶孔隔膜等^[3]。立枯丝核菌的寄主范围十分广泛,涵盖了多种茄科植物在内的多种农作物和杂草^[4,9],在烤烟生长的各个时期都能够进行侵染,还能在烤烟苗期引起立枯病^[10]。在气候环境合适时,该菌可以有性生殖产生担子和担孢子,进行病害的初侵染^[2]。立枯丝核菌菌丝融合群 (anamorphosis group, AG) 的划分是将标准菌株与待测菌株在载玻片上对峙培养,通过显微镜观察细胞壁的溶

解与细胞质的融合。后来,广泛用于真菌种类鉴定的 ITS 分子标记也被应用于立枯丝核菌融合群的鉴定中^[11],得到的结果能够与传统鉴定方法匹配^[3]。在我国,东北地区的吉林和黑龙江烟区^[5]与西南地区的云南烟区^[6]分离得到的立枯丝核菌的菌株属于融合群 AG-3,与美国烟区的主流类型相同^[12]。而华南地区的广西烟区^[13],立枯丝核菌属于融合群 AG-2-2 和 AG-4,具有独特性^[14]。

由于烟草靶斑病的烤烟抗病品种有限^[15],在恰当的农业防治措施的基础上^[15],化学防治是最为有效的方式^[3,16],我国的东北烟区也在近期开展了一些药效试验^[17-19]。戊唑醇作为一种抑制真菌细胞膜甾醇类物质合成的三唑类杀菌剂,具有良好地防控真菌性病害的效果,相关试验也证明该杀菌剂对赤星病等烤烟叶斑类病害有良好的防治效果^[20]。烟草靶斑病在贵州省烟区近年来开始出现,且在部分烟田大规模暴发,目前,贵州烟区靶斑病病原菌方面的工作开展还不够深入,贵州烟区立枯丝核菌的融合群种类也尚不清楚。笔者针对贵州烟区的烟草靶斑病进行研究,旨在系统性鉴定病原菌的种类,梳理立枯丝核菌的融合群类型;初步筛选针对该病害的低毒杀菌剂种类,从而为贵阳烟区靶斑病的防控奠定基础,也可以为全面掌握贵州省靶斑病的传播和流行规律提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株分离纯化与致病力测定 2020 年 8 月中旬贵州烟区烤烟旺盛生长中后期,于贵阳市开阳县楠木渡镇红星村一

基金项目 贵州省烟草公司贵阳市公司科技项目 (K19-0102-008)。
作者简介 聂忠扬 (1979—),男,贵州清镇人,助理农艺师,从事烤烟栽培与病虫害绿色防控研究。*通信作者,农艺师,硕士,从事烟草科技管理工作。

收稿日期 2021-07-22

块靶斑病严重发生烟田进行感病烟叶的收集采样工作,收集到具有典型病斑的烟叶约 20 片。

将病斑边缘带有健康组织的部位剪取 3~5 mm 的小片,在 75% 的乙醇溶液中浸泡 30 s,完成表面消毒之后用无菌纱布擦干叶片组织,然后放置到含 40 g/L 马铃薯葡萄糖培养基(PDA,上海博微生物科技有限公司)的培养皿表面。在 25 ℃、光照与黑暗交替 12 h 的条件下培养 3 d。挑取带有从叶片组织中生长出来的菌丝尖端部分的培养基,转移接种到另一个 PDA 培养皿上,在相同条件下培养 3 d 后再挑取接种一次尖端菌丝,完成菌株纯培养。观察纯培养菌落的形态特征,并挑取菌丝进行显微镜观察,初步确定菌株的种类。

选取 3 个菌株的纯培养接种到 PDA 培养皿上,在 25 ℃、光照与黑暗交替 12 h 的条件下培养 3 d 后,用直径 8 mm 的打孔器在菌落周边幼嫩菌丝部位打取圆形培养基块,接种到经过表面消毒的烤烟幼苗叶片上。接种点覆盖保鲜膜,并用浸湿无菌水的脱脂棉球保湿。每个菌株接种 5 次,并接种空白 PDA 培养基块作为对照。接种后的烟苗在 25 ℃、光照与黑暗交替 12 h、相对湿度 80% 的条件下培养 5 d,去掉保鲜膜和培养基块。然后继续在相同条件下培养,观察产生病斑的形态,并利用前述表面消毒的方法分离病原菌。

1.2 DNA 提取与 ITS 分子标记测序 将剪成培养皿形状和大小生物半透膜(泰州中茂教育设备)经过灭菌之后铺展在 PDA 培养皿表面之后,挑取一块带菌株纯培养的菌落到半透膜上,在 25 ℃、光照与黑暗交替 12 h 的条件下培养 5 d,进行菌丝总 DNA 的提取。

用灭菌并冷却的手术刀片刮去半透膜表面菌落周边的幼嫩菌丝约 100 mg 到装有 1 mL 裂解缓冲液的离心管中,根据 Li 等^[21]的方法提取 DNA。步骤:将含有幼嫩菌丝的裂解液涡旋振荡 20 s,然后在 65 ℃ 下水浴 20 min。水浴结束后离心,将上清液转移到第 2 个离心管中,加入 200 μL 醋酸铵后在 4 ℃ 冰箱中冷藏 10 min。冷藏结束后再次离心,转移上清液到第 3 个离心管中,加入等体积的异丙醇,充分摇晃混合,产生 DNA 沉淀。充分离心之后倒掉上清液,用无水乙醇冲洗 DNA 沉淀中脂溶性杂质 2 次,倒掉所有上清液。用 50 μL 无菌去离子水溶解 DNA 沉淀,用于后续反应。

用提取的总 DNA 为模板,利用真菌 ITS 分子标记的通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增,反应体系为 25 μL,包含 1 μL 的 DNA 模板,1 μL 的上、下游引物(浓度均为 10 μmol/L)与 13 μL 的 2×SanTaq PCR Master Mix(with Blue Dye,生工生物)。PCR 反应程序:94 ℃ 变性 2 min;然后是 30 个循环,包括 94 ℃ 反应 30 s,52 ℃ 反应 30 s,72 ℃ 反应 30 s;最后 72 ℃ 延伸 5 min。PCR 产物由生工生物进行双向 Sanger 测序。

测序得到的序列由 DnaSP6(Universitat de Barcelona)进行质量检测,然后利用 NCBI 的 BLAST 把 2 个方向的高质量序列整合成该菌株的 ITS 序列。将各个菌株的 ITS 在 NCBI 的 GenBank 数据库中进行比对,确定菌株的种类。

1.3 菌株融合群的分子比较 根据国内外研究进展,从 NCBI 的 GenBank 数据库中下载立枯丝核菌不同融合群的菌

株 ITS 序列 4 条作为参考,详细信息见表 1。

表 1 立枯丝核菌参考融合群 ITS 序列的菌株信息

Table 1 Information of *Rhizoctonia solani* isolates with ITS sequences as references

菌株 Isolates	融合群 Anastomosis group	序列登录号 Accession number
MIAE01336a	AG-2-2	MF193914
ZS11-7	AG-2-2	JN983498
MZ-2	AG-3	MG600241
LC11-10	AG-4	JN983495

利用 MEGA7^[22] 软件将整合得到的贵阳烟区的立枯丝核菌菌株的 ITS 序列与 4 条参考序列进行比对分析。然后用 Tamura-Nei 模型^[23],将 bootstrap 设定为 1 000,构建极大似然(ML)发育树,比较贵阳烟区菌株的融合群归属。

1.4 戊唑醇的室内毒力测定 选用低毒杀菌剂富力库(拜耳作物科学中国有限公司),其中有效成分戊唑醇含量 430 g/L,对贵阳烟区分离得到的立枯丝核菌菌株进行室内毒力测定试验。在配制 PDA 时,加入不同浓度的富力库稀释液,得到 6 种浓度梯度(0.100 0、0.030 0、0.010 0、0.003 0、0.001 0、0.000 3 mg/mL)的含戊唑醇的 PDA 培养皿。

用直径 8 mm 的打孔器在贵阳烟区立枯丝核菌菌株纯培养上打取含菌落的圆形培养基块,分别接种到含 6 种浓度梯度戊唑醇的 PDA 培养皿上,同时接种不含戊唑醇的 PDA 培养皿作为对照。在 25 ℃、光照与黑暗交替 12 h 的条件下培养 5 d。通过直尺测量菌落的直径,并扣除接种体圆形培养基块的尺寸,得到该种浓度下菌丝生长速率。每种浓度重复 2 次。再通过与对照培养基的生长速率比较计算该种浓度的戊唑醇对菌丝生长的抑制率。将抑制率与该戊唑醇浓度的自然对数在 Excel 中进行 Probit 回归分析,计算出戊唑醇对该菌株的半致死率(EC₅₀)。

2 结果与分析

2.1 立枯丝核菌的鉴定 贵阳烟区收集到烟叶的症状见图 1,每个叶片表面具有若干坏死病斑。病斑接近圆形,直径 1.5~3.0 cm,坏死区域有明显的“箭靶”状轮纹,坏死区域有深褐色边界,周围有褪绿晕圈,一些病斑出现破洞穿孔。少部分病斑还能看见泛白的病原菌初侵染点。

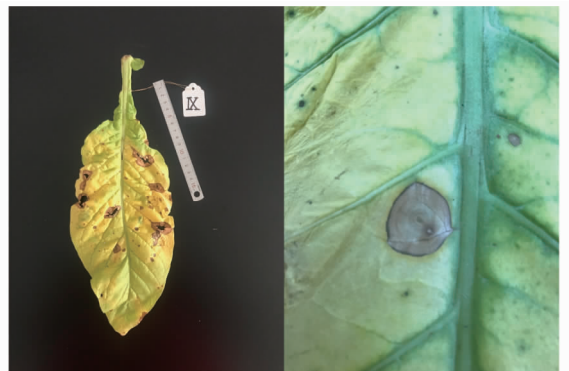


图 1 贵州烟区感染靶斑病烟叶的症状

Fig. 1 Symptoms of target spot of tobacco leaf from Guizhou

经过表面消毒,挑取菌株纯培养的菌丝在显微镜下观察,结果见图 2。菌株没有明显的孢子和产孢子结构,菌丝有明显隔膜。在部分菌丝的分支部位,能够观察到立枯丝核菌典型的“T”型分支结构,即分支处菌丝出现缢缩,直接分支的部位没有,但旁边有隔膜。

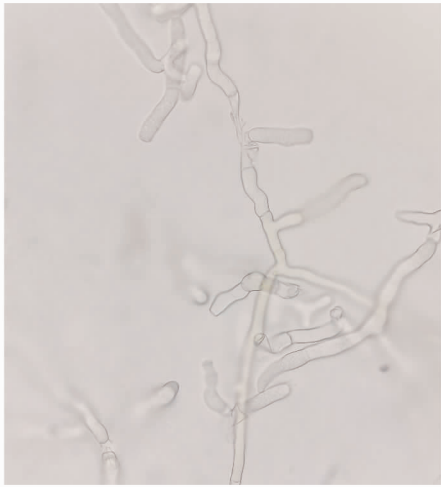


图 2 贵州烟区立枯丝核菌菌丝“T”型分支结构(400倍)

Fig. 2 T-shape branch structure on hyphae of *Rhizoctonia solani* strain from Guizhou (400×)

接种过立枯丝核菌的烟苗在 5 d 去掉保鲜膜和培养基块之后开始出现枯萎坏死症状。接种 10 d 后,坏死症状进一步扩大,且在初始接种培养基的部位出现轮纹状病斑(图 3)。



图 3 烟苗叶片接种立枯丝核菌 8E 菌株 7 d 后出现的靶斑病症状

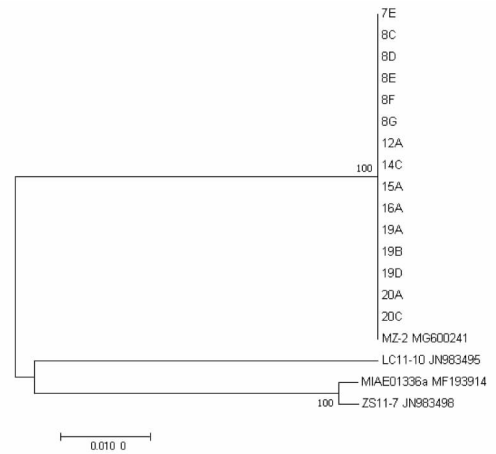
Fig. 3 Symptom of target spot on tobacco leaves after inoculation of *R. solani* strain 8E for 7 d

通过测序质量检测与 2 个方向序列的整合,得到菌株约 700 bp 的 ITS 序列,通过与 GenBank 数据库中参考序列比对,与立枯丝核菌的参考序列具有很高的相似性。

根据菌丝形态观察和 ITS 分子标记测序,共从贵阳烟区纯化得到立枯丝核菌菌株 15 株,编号为 7E、8C、8D、8E、8F、8G、12A、14C、15A、16A、19A、19B、19D、20A 和 20C。

2.2 立枯丝核菌的融合群划分 将 15 株贵阳烟区菌株的 ITS 序列与 4 条立枯丝核菌的参考序列构建的极大似然系统

发育树见图 4。15 个菌株的 ITS 序列都与来自融合群 AG-3 的菌株 MZ-2 的序列聚集在一起。他们同融合群 AG-2-2 的 MIAE01336a 与 ZS11-7,以及 AG-4 的 LC11-10 这 3 个参考菌株的 ITS 序列均存在较大的分歧。



注:分支长度的单位是每个位点的碱基替换数;每个分支的分值是这种分支的发生概率

Note: The branch length was measured in the number of substitutions per site; the value associated with the branch was the percentage of taxa clustered together

图 4 贵州烟区立枯丝核菌 15 个菌株与 4 个参考菌株的 ITS 序列的极大似然系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree on ITS sequences of *Rhizoctonia solani* from 15 isolates of Guizhou and 4 references by maximum likelihood method

2.3 戊唑醇的室内毒力测定 6 个浓度梯度的戊唑醇对贵阳烟区立枯丝核菌菌株室内毒力测定结果表明,15 个菌株的半致死率(EC_{50})的分布范围见图 5。10 个菌株的 EC_{50} 小于测试的最低浓度 0.000 3 mg/mL。另外有 3 个菌株的 EC_{50} 为 0.000 3~0.001 0 mg/mL,2 个菌株为 <0.001 0~0.003 0 mg/mL。

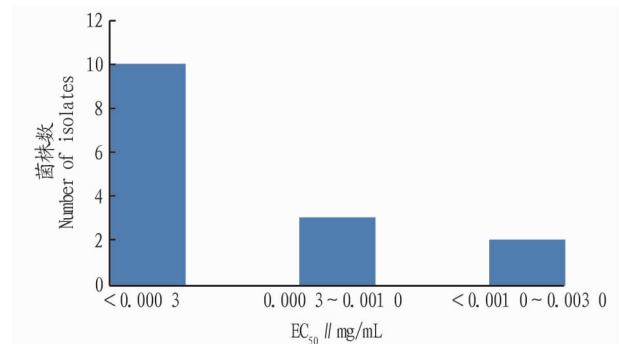


图 5 戊唑醇对贵阳烟区立枯丝核菌 15 个菌株的半致死率(EC_{50})分布

Fig. 5 EC_{50} value distribution of tebuconazole on 15 *Rhizoctonia solani* isolates from Guiyang

3 讨论

该研究通过田间叶部坏死症状的形态观察、菌株的分离纯化与“T”型分枝结构观察,以及 ITS 分子标记序列测定与比对,将贵阳烟区叶部分离得到的菌株确定为靶斑病的病原菌立枯丝核菌,并经过回接试验验证了科赫法则。靶斑病引

起的叶部病斑具有轮纹状结构,类似的结构在赤星病等真菌性叶斑病的晚期症状中也有发生^[3]。通过对几种烤烟真菌性叶斑病症状的比较,Shew等^[1]发现靶斑病的病斑中间具有一个灰白色的圆形区域,判断其应该是对应于病原菌最初侵染的部位,该侵染斑点在病斑发展到面积较大时仍然存在。该研究中,从贵阳烟区收集得到的靶斑病病叶也具有这些特征,可以作为与赤星病等其他叶斑病区分的标志。

靶斑病在高湿度的环境情况下,流行与传播较快^[4]。20世纪80年代中期,美国东部烟区的靶斑病大暴发,与前一年夏天的极端暴雨天气存在密切关系^[9]。我国辽宁烟区在靶斑病的首次报道中,也有烤烟生长季节降水偏多,烟田相对湿度较高的描述^[4]。云南烟区开展的试验表明,空气的相对湿度达100%的情况下,立枯丝核菌的担孢子可以很快地完成侵染烤烟叶片的过程^[24]。在贵阳烟区,也有连续2年6月暴雨,同田间靶斑病的发生也存在对应关系。因此,在烤烟种植区遭遇极端天气,尤其是引起田间相对湿度显著增加的特大暴雨之后,及时开展防控措施对于阻断靶斑病的流行与传播非常重要。

菌丝融合群与靶斑病的病原菌立枯丝核菌的遗传物质交换有重要关系,是这种类型的真菌多样性分化的重要指标。该研究使用ITS分子标记的方法^[3],鉴定从贵阳烟区分离得到的15株立枯丝核菌菌株的融合群。序列系统发育树表明,15个菌株全部属于融合群AG-3,是国内外分布最为广泛的引起靶斑病的融合群^[12]。此外,该融合群也在我国的吉林、黑龙江^[5]和云南烟区^[6]被分离得到,因此可以表明融合群AG-3在我国烟区具备大范围分布的特征,是我国立枯丝核菌的优势融合群。陈媛媛等^[13]从同贵州毗邻的广西烟区分离得到立枯丝核菌属于融合群AG-2-2和AG-4,同该研究中的菌株存在明显的分化,融合群类型具有很大的独特性,所以两省(区)交界处的烤烟种植区是后续开展融合群多样性研究的重点区域。

国外烟区靶斑病的发生历史长,开展的病害防控的研究也多,积累了一些经验^[10]。我国烟区出现靶斑病之后,东北烟区也进行了许多低毒杀菌剂药效试验。伏颖等^[17]选用10种杀菌剂进行立枯丝核菌的室内毒力测定,结果表明三唑类杀菌剂烯唑醇的抑菌效果最好。刘斯泓等^[18]研究表明,50%腐霉灵·恶霉灵800倍液对靶斑病相对防效达60%;王潮钟等^[19]开展了2次施用苯醚甲环唑·丙环唑和20%噻氟酰胺的靶斑病防控试验,2次施药间隔7d能达70%以上的相对防效,以上药剂均属于三唑类杀菌剂。三唑类杀菌剂的主要靶标是真菌细胞膜中甾醇类物质的合成途径,因此具有很好的防治效果。该试验选用的戊唑醇,经过室内毒力测定,对于贵阳烟区分离得到的15个立枯丝核菌菌株均有良好的抑制效果,半致死率(EC₅₀)全部小于0.0030 mg/mL,是后续田间药效测试的一个重要候选杀菌剂。所以,可以对戊唑醇进行后续的大田防治试验,将利用戊唑醇防控靶斑病纳入烤烟叶斑类病害系统防治体系中,进一步支撑贵州烟区烤烟病害绿色防控技术研究。

4 结论

根据症状分析、菌丝形态观察、ITS分子标记测序和回接毒力测定,贵阳烟区近年暴发的叶部病害为靶斑病,病原菌为立枯丝核菌。从贵阳烟区纯化得到立枯丝核菌菌株15株,根据ITS序列分析,全部属于立枯丝核菌融合群AG-3。戊唑醇对于贵阳烟区菌株具有很好的抑制效果,可以用于开展后续大田防治试验。

参考文献

- [1] SHEW H D, MELTON T A. Target spot of tobacco[J]. Plant disease, 1995, 79(1): 5-11.
- [2] 谈文. 国外近年暴发流行的一种新病——烟草靶斑病[J]. 烟草科技, 1995(2): 41-42.
- [3] GONZÁLEZ GARCÍA V, PORTAL ONCO M A, RUBIO SUSAN V. Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia* [J]. Spanish journal of agricultural research, 2006, 4(1): 55-79.
- [4] 吴元华, 王左斌, 刘志恒, 等. 我国烟草新病害——靶斑病[J]. 中国烟草学报, 2006, 12(6): 22, 51.
- [5] 苏燕妮, 董雪, 赵艳琴, 等. 东北地区烟草靶斑病菌(*Rhizoctonia solani*)融合群、致病力分化及品种抗病性研究[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 170-174.
- [6] 侯慧慧, 孙剑萍, 刘子仪, 等. 云南烟草靶斑病(*Rhizoctonia solani* Kühn)病原鉴定及其融合群研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(2): 203-208.
- [7] 肖艳松, 钟权, 吴文信, 等. 湖南烟草靶斑病的病原鉴定及分子检测[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(6): 711-715.
- [8] 谭海文. 广西烟草真菌性病害调查[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- [9] SHEW H D, MAIN C E. *Rhizoctonia* leaf spot of flue-cured tobacco in North Carolina[J]. Plant disease, 1985, 69(10): 901-903.
- [10] 孙宏宇. 烟草靶斑病发生及防治技术研究进展[J]. 中国植保导刊, 2015, 35(7): 23-26.
- [11] SALAZAR O, JULIÁN M C, HYAKUMACHI M, et al. Phylogenetic grouping of cultural types of *Rhizoctonia solani* AG-2-2 based on ribosomal ITS sequences[J]. Mycologia, 2000, 92(3): 505-509.
- [12] STEVENS JONK J, JONES R K, SHEW H D, et al. Characterization of populations of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tomato[J]. Phytopathology, 1993, 83(8): 854-858.
- [13] 陈媛媛, 谭海文, 卢燕回, 等. 广西烟草立枯病菌和靶斑病菌菌丝融合群初步分析[J]. 广东农业科学, 2016, 43(10): 106-111.
- [14] ELLIOTT P E, LEWIS R S, SHEW H D, et al. Evaluation of tobacco germplasm for seedling resistance to stem rot and target spot caused by *Thanatephorus cucumeris* [J]. Plant disease, 2008, 92(3): 425-430.
- [15] GUTIERREZ W A, SHEW H D, MELTON T A. Sources of inoculum and management for *Rhizoctonia solani* damping-off on tobacco transplants under greenhouse conditions[J]. Plant disease, 1997, 81(6): 604-606.
- [16] 周健全, 张忠光, 董雪, 等. 不同药剂对烟草靶斑病的抑菌作用及田间药效研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(25): 96-97, 99.
- [17] 伏颖, 吴元华, 穆凌霄, 等. 烟草靶斑病室内药剂筛选[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 153-155.
- [18] 刘斯泓, 纪明山. 防治烟草靶斑病的复配药剂配方筛选及田间药效试验[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(6): 140-143.
- [19] 王潮钟, 黄露, 董雪, 等. 防治烟草靶斑病药剂的筛选[J]. 河南农业科学, 2016, 45(1): 92-95.
- [20] 蒲小明, 沈会芳, 陈永明, 等. 广东烟叶主要真菌病害无公害化学防治药剂筛选试验[J]. 广东农业科学, 2016, 43(11): 97-102.
- [21] LI H X, BREWER M T. Spatial genetic structure and population dynamics of gummy stem blight fungi within and among watermelon fields in the Southeastern United States[J]. Phytopathology, 2016, 106(8): 900-908.
- [22] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular biology and evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [23] TAMURA K, NEI M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees [J]. Molecular biology and evolution, 1993, 10(3): 512-526.
- [24] 刘欣茹, 张杰, 王学坚, 等. 烟草靶斑病有性孢子形成环境条件及致病性的田间观测[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2020, 35(2): 221-226.