

天山野果林塞威士苹果和短距凤仙花 叶斑病原真菌的鉴定

刘 瑜¹ 魏彩霞¹ 周世兴¹ 汤界世² 韩彩霞¹ 邵 华^{1*}

(1. 中国科学院新疆生态与地理研究所干旱区生物地理与生物资源重点实验室, 乌鲁木齐 830011;

2. 石河子大学生命科学学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 为了解新疆天山野果林中塞威士苹果 *Malus sieversii* 与其林下伴生植物短距凤仙花 *Impatiens brachycentra* 两种植物叶斑病病原菌的多样性及同源性, 采用组织分离法获得病原菌, 基于 rDNA-ITS 序列构建系统发育树, 并进行 ITS 序列 BLAST 同源性比对, 对病原菌进行鉴定分类, 并依据科赫氏法则测定致病性。结果显示, 从新疆新源县天山野果林中的塞威士苹果及短距凤仙花病叶上共分离得到 18 株菌落形态各异的病原菌, 分属于 2 属 4 种, 绝大多数属于半知菌亚门。其中, 链格孢属 *Alternaria* sp. 为塞威士苹果和短距凤仙花叶斑病病原真菌中的优势菌群。致病性测定结果显示, 其中 11 株病原真菌对塞威士苹果具有致病性, 7 株病原真菌对短距凤仙花具有致病性; 塞威士苹果所有的病原真菌对短距凤仙花均有致病性, 而且短距凤仙花所有的病原真菌对塞威士苹果也有致病性。推测 2 种植物叶斑病可能由相同来源的病原真菌引发, 短距凤仙花染病加剧了塞威士苹果叶斑病暴发, 可能是野果林退化的重要原因。

关键词: 天山野果林; 塞威士苹果; 短距凤仙花; 病原菌

Identification of pathogenic fungi causing leaf spot of *Malus sieversii* and *Impatiens brachycentra* growing in the wild fruit forest of Tianshan Mountain

Liu Yu¹ Wei Caixia¹ Zhou Shixing¹ Tang Jieshi² Han Caixia¹ Shao Hua^{1*}

(1. Key Laboratory of Biogeography and Bioresources in Arid Lands, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 2. College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

Abstract: To evaluate the diversity and homology of pathogens causing leaf spot of *Malus sieversii* and *Impatiens brachycentra* growing in the wild fruit forest in Tianshan Mountain in Xinjiang, the pathogenic fungi responsible for the leaf spot disease of both plants were isolated and purified using tissue isolation method, and were identified based on the construction of phylogenetic tree and homology alignment of ITS sequences using BLAST, followed by inoculation on healthy leaves to testify their pathogenicity according to Koch's postulates. The results showed that a total of 18 strains of pathogenic fungi with different colony morphology characteristics were identified from *M. sieversii* and *I. brachycentra* growing in the wild fruit forest in Tianshan Mountain, which were categorized into two genera and four species, with the majority belonging to Deuteromycotina. Among them, *Alternaria* sp. was more abundant than *Mucor* sp. The 11 strains of the identified fungi were pathogenic to *M. sieversii*, whereas seven were pathogenic to *I. brachycentra*; all pathogens of *M. sieversii* were pathogenic to *I. brachycentra*.

and vice versa. The results indicated that *I. brachycentra* could harbor a large amount of pathogenic fungi that could attack *M. sieversii*, which subsequently could trigger more severe consequences on *M. sieversii*.

Key words: wild fruit forest in Tianshan Mountain; *Malus sieversii*; *Impatiens brachycentra*; pathogenic fungi

天山野果林主要分布在新疆维吾尔自治区(简称新疆)伊犁谷地、塔城盆地及其低丘陵地带,面积达2万 hm^2 以上,是中国经济果树资源中天然基因库的重要分布区(刘兴诗等,1993;丁雪梅,2007)。其中新疆野苹果为天山野果林的主要建群种,占天山野果林总面积的90%左右,是研究苹果树遗传多样性和基因进化的重要种质资源(刘爱华等,2014;梅闯等,2015)。然而,近年来天山野果林出现严重的退化,塞威士苹果树大面积死亡,导致实际分布面积只有50年前的30%(丁雪梅,2007)。目前,野果林的退化现象一般被认为与苹果小吉丁虫 *Agilus mali* 的入侵、苹果腐烂病、苹果褐斑病以及气候变化、过度放牧等多种因素有关,是自然环境和人为因素综合作用的结果(成克武等,2008;刘爱华等,2013;2016)。但也有研究指出,苹果叶斑病也是苹果产区的一种重要病害。苹果叶斑病是苹果早期的一种落叶病,在美国、印度、日本、中国台湾和伊朗均有发生,我国以渤海湾和黄河故道两大苹果产区发生尤为严重(邵旭平等,2014)。鹿世晋等(1984)报道了由苹果链格孢 *Alternaria mali* 引起的苹果叶斑病在我国山东地区首次发生,该病害的病原菌致病力较强,1片病叶上通常有病斑10~20个,容易造成叶穿孔或破碎,生长停滞,甚至枯焦脱落,尤其在病害流行时,病叶率高达70%左右,最终导致苹果产量降低,严重时甚至会引起苹果树的死亡(郭志英和董金皋,1995;邵旭平等,2014)。尽管目前野果林退化的具体原因十分复杂,探讨其退化原因具有重要的研究意义,能为制定保护野果林的有效措施提供科学依据。

本课题组在前期对新疆天山野果林的大范围调查中发现,新源县野果林的退化现象最为严重;与相对较为健康的巩留县野果林相比,新源野县果林的塞威士苹果树普遍患有严重的叶斑病,症状表现为叶片出现红褐色的斑块;值得注意的是,患病塞威士苹果树下的优势伴生种短距凤仙花 *Impatiens brachycentra* 也大范围发生相同症状的叶斑病,而健康的塞威士苹果树下短距凤仙花基本无染病现象。近年来研究表明,林木病原菌可通过土壤、感病的植物幼苗、昆虫以及空气等媒介广泛传播,引起其它植

物致病,如长喙壳属 *Ceratocystis* 和一些榆枯萎病菌 *Ophiostoma* 可依靠昆虫传播,在树木伤口处侵入,从而加速病原菌的传播(陈帅飞,2014)。刘云龙和张云霞(2004)调查发现云南蒙自石榴枯萎病的病原菌与当地存在的甘薯黑斑病病原菌相同,均为甘薯长喙壳 *C. fimbriata* Ellis & Halst.,表明病原菌很可能通过寄生性的变异而危害其它植物。相对于远距离的传播,其林下伴生植物则更易受到病原菌的影响。因此,为验证引发塞威士苹果与短距凤仙花发生叶斑病的病原菌是否为相同来源的致病真菌,本研究对塞威士苹果和短距凤仙花叶斑病病原菌开展了分离鉴定工作,对其同源性进行初步的探讨,以期从不同的视角来了解野果林的退化机制。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料:2016年7月于新疆伊犁市新源县天山野果林中采集感染典型叶斑病的塞威士苹果、短距凤仙花植株叶片并进行编号,从中挑选典型病叶进行分离纯化。于2018年5月在相同地点采集健康无病的塞威士苹果、短距凤仙花植株叶片。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基;马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂15 g,蒸馏水定容至1 L。

试剂及仪器:DNA Marker,生工生物工程(上海)股份有限公司;DNA提取试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。Biometra PCR扩增仪,德国耶拿公司;Allegra 64R型冷冻离心机,美国贝克曼库尔特公司;SHP-250型恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;LDZX-50KBS型高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;CX22LED型光学显微镜,日本OLYMPUS公司。

1.2 方法

1.2.1 病原真菌的分离纯化及分子鉴定

采用常规组织分离法获得病原真菌,从采集的塞威士苹果、短距凤仙花病叶标本中挑选具有典型症状的病叶,用自来水冲洗,75%酒精表面消毒1 min,1%次氯酸钠消毒3 min,无菌水冲洗3次,用灭菌滤纸

吸干表面水分后,于病健交界部位取5 mm×5 mm组织接种于PDA平板上,置于25℃恒温培养箱内培养3~5 d获得菌株(色买提等,2016;李彦忠和聂红霞,2016)。

对获得的病原真菌菌丝进行分子鉴定,按照DNA提取试剂盒操作步骤提取真菌DNA,采用真菌的通用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGC-GC-3')、下游引物ITS4(5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3')进行PCR扩增,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。50 μL PCR反应体系:10×PCR Buffer 5.0 μL、10 mmol/L dNTP 4.0 μL、20 μmol/L上下游引物各1.5 μL、5 U/μL *Taq* 酶0.5 μL、模板DNA 2.0 μL,加ddH₂O至总体积为50 μL。PCR扩增条件:95℃预变性5 min;95℃变性1 min,55℃退火30 s,72℃延伸90 s,30个循环;72℃延伸7 min。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳分析检测后,送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测序所得菌株完整的基因间隔(internal transcribed spacer, ITS)序列(包括5.8S rDNA)用Seqman II软件进行拼接校对后,通过Sequin13.05软件在GenBank登录注册(易润华等,2013;韩彩霞等,2016;高鹏等,2017)。

1.2.2 系统发育树的构建及菌株分类

所获得菌株序列在GenBank进行BLAST比对和同源性分析,获得相似率最高的序列,然后将菌株序列与BLAST获取的序列利用Clustal X 1.83软件进行多重序列比对,获取整齐的序列矩阵(司二静等,2017),然后利用MEGA 4.1软件采用邻接法Kimura2-parameter模型构建系统发育进化树(Larkin et al., 2007; Tamura et al., 2007),重复1 000次。

根据病原真菌的ITS序列分析及致病性对所获得菌株进行分类。

1.2.3 病原菌的致病性测定

将健康的塞威士苹果与短距凤仙花叶片先用75%酒精表面消毒,采用离体穿刺法进行接种。将获得的病原菌菌株于PDA平板上培养7 d后,于菌落边缘打取直径约5 mm的菌饼接种到健康的叶片上,重复4次,以接种PDA培养基作对照。接种后放入25℃恒温培养箱中培养,观测并记录发病情况。依据柯赫氏法则,待发病后从病斑中再次分离病菌培养,并与原接种菌株进行比较(王小洁等,2017;张书亚等,2017)。

2 结果与分析

2.1 病原真菌分类及同源性分析

本试验共分离获得18株菌株,将测序菌株的基因序列提交NCBI进行注册,登录号为MG190007~MG190024。其中,11株塞威士苹果病原菌菌株的rDNA-ITS序列长度为542~627 bp,7株短距凤仙花病原菌菌株的rDNA-ITS序列长度为505~592 bp。塞威士苹果病原菌菌株P2(MG190015)、P7(MG190016)(表1)及短距凤仙花病原菌菌株S4(MG190010)(表2)与GenBank中已经报道的基因序列相似性均为99%以下,推测可能为潜在新种;其余菌株则分别与链格孢属*Alternaria* sp.和毛霉属*Mucor* sp.两个已知属15株菌的序列同源性均在99%以上(表1~2)。18株病原菌在真菌分类学上隶属于半知菌亚门、接合菌亚门2个亚门链格孢属、毛霉属2个属。

表1 塞威士苹果病原菌菌株与亲缘关系最近菌株的系统发育分析

Table 1 Phylogenetic analysis of the nearest neighbors of the pathogenic fungi isolated from *Malus sieversii*

菌株编号 Strain	登录号 Accession no.	参考物种(登录号) Reference (accession no.)	序列相似性(%) Similarity
P1	MG190014	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (KR912298)	100
P2	MG190015	卷枝毛霉 <i>Mucor circinelloides</i> (KT921184)	81
P3	MG190016	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (JN986764)	99
P4	MG190017	冻土毛霉 <i>Mucor hiemalis</i> (KT583192)	99
P5	MG190018	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KX179478)	100
P6	MG190019	冻土毛霉 <i>Mucor hiemalis</i> (FJ025198)	99
P7	MG190020	卷枝毛霉 <i>Mucor circinelloides</i> (KJ584555)	81
P8	MG190021	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KU324793)	99
P9	MG190022	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (JN986764)	99
P10	MG190023	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KX118420)	100
P11	MG190024	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KU324793)	99

表 2 短距凤仙花病原菌菌株与亲缘关系最近菌株的系统发育分析

Table 2 Phylogenetic analysis of the nearest neighbors of the pathogenic fungi isolated from <i>Impatiens brachycentra</i>			
菌株编号 Strain	登录号 Accession no.	参考物种(登录号) Reference (accession no.)	序列相似性 (%) Similarity
S1	MG190007	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KU997022)	100
S2	MG190008	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KF644350)	100
S3	MG190009	链格孢 <i>Alternaria alternata</i> (KF293886)	99
S4	MG190010	卷枝毛霉 <i>Mucor circinelloides</i> (KF381073)	83
S5	MG190011	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (FJ949082)	99
S6	MG190012	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (JX523613)	99
S7	MG190013	细极链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (JX860514)	100

将 18 株病原菌菌株的 ITS 序列在 GenBank 数据库中进行 BLAST 同源性比对分析,与相似性较高且可培养菌株构建系统发育树,且菌株序列聚类的自展支持率为 55%~100%,可确定 2 个物种的病原菌菌株同属链格孢属和毛霉属。结合系统发育树分析,苹果叶斑病原菌有 4 种,分别为链格孢 *Alternaria alternata*、细极链格孢 *Alternaria tenuissima*、冻土毛霉 *Mucor hiemalis* 和卷枝毛霉 *Mucor circinelloides*(图 1);而短距凤仙花病原菌有 3 种,分别为链格孢、细极链格孢、卷枝毛霉(图 2),推测塞威士苹果和短距凤仙花叶斑病的致病真菌可能具有同源性。

2.2 病原菌的致病性检测

依据柯赫氏法则,对纯化菌株的致病性进行回接试验,发现塞威士苹果病原菌中链格孢属真

菌 P1、P3、P5、P8、P9、P10、P11 以及毛霉属真菌 P2、P4、P6、P7 共 11 个菌株对塞威士苹果和短距凤仙花叶片均有不同程度的侵染作用(图 3);短距凤仙花病原菌中链格孢属真菌 S1、S2、S3、S5、S6、S7 以及毛霉属真菌 S4 共 7 株菌株对短距凤仙花和塞威士苹果叶片均有不同程度的侵染作用(图 4),且 18 株病原菌菌株侵染叶片引发的病变症状与原叶斑病症状相同,表明塞威士苹果所有的病原真菌对短距凤仙花均有致病性,而且短距凤仙花所有的病原真菌对塞威士苹果也有致病性。此外,采用组织分离法对回接试验中病变叶片处进行致病真菌分离,可获得与纯化菌株性状一致的病原菌,表明分离到的 P1~P11 菌株确为塞威士苹果叶斑病的致病菌,菌株 S1~S7 确为短距凤仙花叶斑病的致病菌。

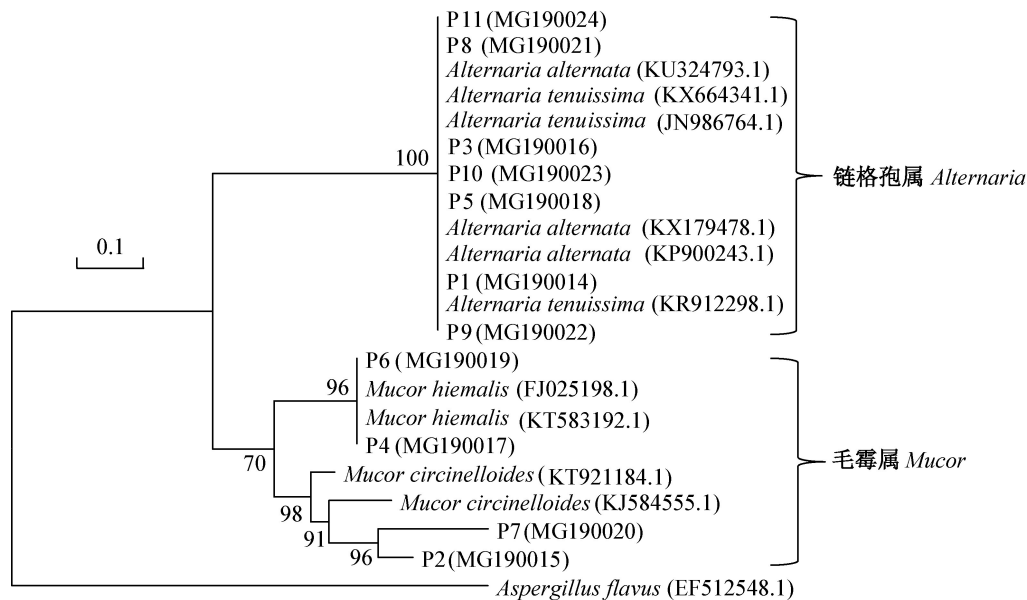


图 1 基于 rDNA-ITS 序列建立塞威士苹果病原真菌菌株与其它近似菌株的系统发育树

Fig. 1 Neighbor-joining tree pathogenic fungi isolated from the leaves of *Malus sieversii* and related strains based on partial and aligned rDNA-ITS sequences

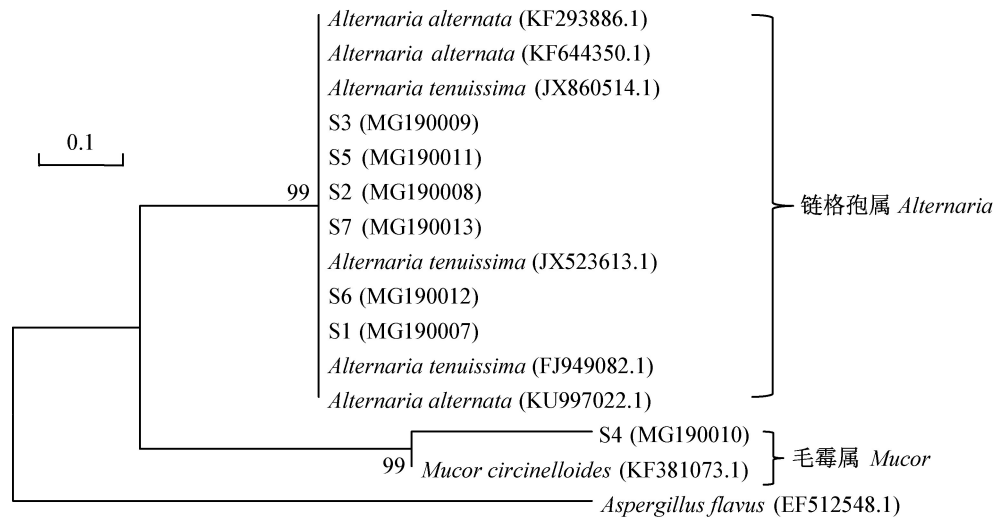


图2 基于rDNA-ITS序列建立短距凤仙花病原真菌菌株与其它近似菌株的系统发育树

Fig. 2 Neighbor-joining tree of the pathogenic fungi isolated from leaves of *Impatiens brevipes* and related strains based on partial and aligned rDNA-ITS sequences

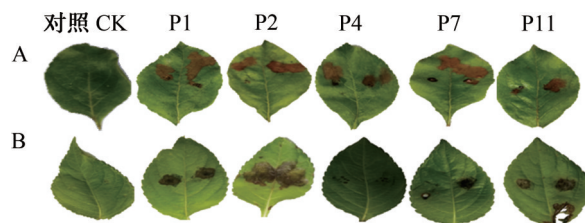


图3 塞威士苹果病原菌菌株P1、P2、P4、P7和P11 侵染塞威士苹果(A)和短距凤仙花(B)叶片

Fig. 3 The symptoms of artificial inoculation of the pathogens isolated strain P1, P2, P4, P7 and P11 from *Malus sieversii* on leaves of *Malus sieversii* (A) and *Impatiens brachycentra* (B)

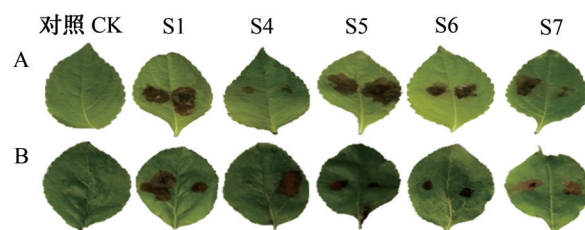


图4 短距凤仙花病原菌菌株S1、S4-S7侵染短距凤仙花(A)和塞威士苹果(B)叶片

Fig. 4 The symptoms of artificial inoculation of pathogens isolated strain S1, S4-S7 from *Impatiens brachycentra* on leaves of *Impatiens brachycentra* (A) and *Malus sieversii* (B)

3 讨论

目前国内外关于链格孢属及毛霉属真菌引发果树叶斑病致病菌的研究报道相对较少。邵旭平等(2014)发现苹果链格孢能引起苹果斑点落叶病,韩敏和蒋萍(2015)发现细极链格孢和链格孢为可引发

核桃叶斑病。另外,Rodriguez & Hernandez(2004)报道毛霉属真菌冻土毛霉可引起桃树叶斑病,张国辉等(201)研究也表明毛霉属真菌大毛霉 *M. mucedo* 可引发蓝莓叶部病害。本研究通过分子生物学方法,利用rDNA-ITS对新疆天山野果林中有相同叶斑病病症的塞威士苹果及其林下优势草本植物短距凤仙花的病原菌进行了鉴别,共获得18株病原菌菌株,通过构建系统发育树对其病原菌多样性进行比较,发现2种植物的病原菌亲缘关系较近,可能具有同源性,这18种病原菌在真菌分类学上隶属于半知菌亚门、接合菌亚门2个亚门链格孢属、毛霉属2个属,并且以链格孢属为优势菌,这与Rodriguez & Hernandez(2004)、邵旭平等(2014)和张国辉等(2017)的研究结果基本一致。

链格孢属真菌为植物常见病原菌,可通过产生链格孢毒素危害植物,其中链格孢产生的AM毒素可损伤苹果叶片(Shimomura et al., 1993)。链格孢毒素可干扰和破坏寄主植物的代谢而引发病害,主要作用位点是细胞膜、线粒体、叶绿体等,同时还对寄主蛋白质、核酸、酶等合成有不同程度的破坏和抑制作用,从而导致植物生理失调、细胞死亡以至整个植株枯死(曾永三等,2005;姜楠等,2016;何国鑫等,2018)。毛霉是一种土壤传播真菌,可从土壤中分离出来,是导致波多黎各农产品腐烂的主要病原菌之一(Rodriguez & Hernandez, 2004),但其主要致病机制仍需进一步探究。

栾丰刚等(2008)研究结果发现硬枝碱蓬的伴生植物中80%以上会受到泡囊-丛枝(vesicular-arbuscular, VA)菌根真菌不同程度的侵染,表明建群种与

伴生植物之间有较强的依赖性。本研究结果同样表明,2种植物的病原菌可以互相交叉感染。因此,塞威士苹果感染叶斑病后,其病原菌的孢子可能通过空气扩散、雨水淋溶、病叶凋落等方式传播到林下的短距凤仙花植株上(徐涛等,2012)。短距凤仙花为林下优势草本植物,常成片生长,密度较高,对病原菌的繁衍扩散非常有利(Lively et al., 1995),如果环境条件适宜,病原菌会大量繁殖,就会发生所谓的“病原菌溢出”现象,促使暴发的病原菌向周围环境中扩散,在这种情况下,短距凤仙花就成为繁育病原菌繁衍的“库”,对塞威士苹果的健康造成极大的潜在威胁(Power & Mitchell, 2004; Beckstead et al., 2010)。可见,野果林作为一个复杂的生态系统,各物种之间并不是独立存在的,而是通过多种途径和方式相互作用、相互影响,具有紧密的联结性与相关性,在特定情况下,一个物种可以显著影响其它物种的生存(邓贤兰等,2003)。本研究从病原菌传播途径的角度解析了新源县天山野果林中塞威士苹果叶斑病大面积暴发的原因,有利于更加全面、深入地了解野果林的退化机制,为制定合理有效的保护措施提供了科学依据。

参 考 文 献 (References)

- Beckstead J, Meyer SE, Connolly BM, Huck MB, Street LE. 2010. Cheatgrass facilitates spillover of a seed bank pathogen onto native grass species. *Journal of Ecology*, 98(1): 168–177
- Chen SF. 2014. Summary of forestry tree pathogen pathways. *Eucalypt Science & Technology*, 31(2): 50–56 (in Chinese) [陈帅飞. 2014. 林木病原菌的传播途径概述. *桉树科技*, 31(2): 50–56]
- Cheng KW, Zhou XF, Zang RG, Zhang WY. 2008. Study on the measures of conserving *Malus sieversii* resources in Xinjiang, China. *Arid Zone Research*, 25(6): 760–765 (in Chinese) [成克武, 周晓芳, 臧润国, 张炜银. 2008. 新疆野苹果资源保护对策探讨. *干旱区研究*, 25(6): 760–765]
- Deng XL, Liu YC, Wu Y. 2003. Interconnection among dominant plant populations of *Castanopsis* community in Jinggang Mountain Nature Reserve. *Acta Phytocologica Sinica*, 27(4): 531–536 (in Chinese) [邓贤兰, 刘玉成, 吴杨. 2003. 井冈山自然保护区栲属群落优势种群的种间联结关系研究. *植物生态学报*, 27(4): 531–536]
- Ding XM. 2007. Protecting Tianshan wild fruit forest without delay. *Forestry of Xinjiang*, (6): 42, 44 (in Chinese) [丁雪梅. 2007. 保护天山野果林刻不容缓. *新疆林业*, (6): 42, 44]
- Gao P, Nan ZB, Wu YN, Liu QT, Meng FJ, Duan TY. 2017. Identification of the pathogen causing rust disease of traditional Chinese herb *Apocynum venetum*. *Journal of Plant Protection*, 44(1): 129–136 (in Chinese) [高鹏, 南志标, 吴永娜, 刘起棠, 孟繁杰, 段廷玉. 2017. 罗布麻锈病病原菌鉴定. *植物保护学报*, 44(1): 129–136]
- Guo ZY, Dong JG. 1995. The occurrence characteristics and control techniques of apple leaf spot disease. *Agricultural Science and Technology Development*, (2): 23 (in Chinese) [郭志英, 董金皋. 1995. 苹果叶斑病的发生特点及防治新技术. *农村科技开发*, (2): 23]
- Han CX, Zhang BC, Zhang YM, Tai FJ, Zhang C, Shao H. 2016. Diversity of culturable fungi from the moss crusts growing in the southern Gurbantunggut Desert. *Journal of Desert Research*, 36(4): 1050–1055 (in Chinese) [韩彩霞, 张丙昌, 张元明, 邵凤蛟, 张弛, 邵华. 2016. 古尔班通古特沙漠南缘苔藓结皮中可培养真菌的多样性. *中国沙漠*, 36(4): 1050–1055]
- Han M, Jiang P. 2015. Identification of the pathogens of walnut leaf spot disease. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 52(1): 91–96 (in Chinese) [韩敏, 蒋萍. 2015. 核桃叶斑病病原菌的分子鉴定. *新疆农业科学*, 52(1): 91–96]
- He GX, Deng QF, Zhou X. 2018. Research progress of analytical methods and toxicological mechanisms for *Alternaria mycotoxins*. *Science and Technology of Food Industry*, 39(4): 342–346, 352 (in Chinese) [何国鑫, 邓青芳, 周欣. 2018. 链格孢霉毒素的分析方法及其毒理机制研究进展. *食品工业科技*, 39(4): 342–346, 352]
- Jiang N, Wang M, Wei DZ, Wang Y, Feng XY. 2016. Progress on mycotoxins contamination and ozone degradation in fruits and vegetables. *Journal of Food Safety and Quality*, 7(11): 4415–4420 (in Chinese) [姜楠, 王蒙, 韦迪哲, 王瑶, 冯晓元. 2016. 果蔬中真菌毒素污染及臭氧防治研究进展. *食品安全质量检测学报*, 7(11): 4415–4420]
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, et al. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947–2948
- Li YZ, Nie HX. 2016. The causal agents of sainfoin fungal diseases and disease dynamics in Gansu Province. *Journal of Plant Protection*, 43(2): 222–232 (in Chinese) [李彦忠, 聂红霞. 2016. 甘肃省红豆草病原真菌鉴定及病害发生动态调查. *植物保护学报*, 43(2): 222–232]
- Liu AH, Zhang XP, Wen JB, Yue CY, Alimu, Jiao SP, Zhang JW, Ke RM. 2014. Preliminary research on the composite damage of *Agrius mali* Matsumura and *Valsa mali* Miyabe et Yamada in wild apple trees in Tianshan Mountain. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 51(12): 2240–2244 (in Chinese) [刘爱华, 张新平, 温俊宝, 岳朝阳, 阿里木, 焦淑萍, 张静文, 克热曼. 2014. 天山野苹果林苹果小吉丁与苹果腐烂病复合危害研究. *新疆农业科学*, 51(12): 2240–2244]
- Liu AH, Zhang XP, Wen JB, Yue CY, Wang DY, Alimu, Wang YL, Zhang JW, Ke RM. 2017. Risk analysis and management countermeasures of *Agrius mali* invasion in Xinjiang. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 41(3): 105–107 (in Chinese) [刘爱华, 张新平, 温俊宝, 岳朝阳, 王登元, 阿里木, 王玉兰, 张静文, 克热曼. 2013. 苹果小吉丁虫入侵新疆的风险分析及管理对策. *江苏农业科学*, 41(3): 105–107]
- Liu AH, Zhang XP, Yue CY, Wen JB, Zhang JW, Kong TT, Jiao SP, Liang Y, Su T, Li P, Tu L. 2016. Preliminary exploration of the control effect of aerially spraying to control *Agrius mali* Matsumura

- with ultra-low volume in wild fruit forests. Xinjiang Agricultural Sciences, 53(11): 2083–2089 (in Chinese) [刘爱华, 张新平, 岳朝阳, 温俊宝, 张静文, 孔婷婷, 焦淑萍, 梁瀛, 苏腾, 李鹏, 等. 2016. 飞机超低量喷雾防治天山野果林苹果小吉丁防效研究. 新疆农业科学, 53(11): 2083–2089]
- Liu XS, Lin PJ, Zhong JP. 1993. An analysis and inquiry into the wild apple trees in Ili. Arid Zone Research, 10(3): 28–33 (in Chinese) [刘兴诗, 林培钧, 钟骏平. 1993. 伊犁野果林生境分析和发生探讨. 干旱区研究, 10(3): 28–33]
- Liu YL, Zhang YX. 2004. A preliminary study on the pathogen origin of pomegranate wilt disease. Journal of Shihezi University (Natural Science), (S1): 144 (in Chinese) [刘云龙, 张云霞. 2004. 国内果树新病害—石榴枯萎病病原来源初探. 石河子大学学报(自然科学版), (S1): 144]
- Lively CM, Johnson SG, Delph LF, Clay K. 1995. Thinning reduces the effect of rust infection on jewelweed (*Impatiens capensis*). Ecology, 76(6): 1859–1862
- Lu SJ, Gong ZY, Luan TM. 1984. A preliminary report on the occurrence and control of apple leaf spotted leaf disease. China Fruits, (1): 38–43 (in Chinese) [鹿世晋, 巩振仪, 栾同珉. 1984. 苹果斑点落叶病发生及防治研究初报. 中国果树, (1): 38–43]
- Luan FG, Zhang HY, Yang ZP, Zhang LL. 2008. Research on the number of AM fungus spore in seepweed growing area and its mycorrhiza infection. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 36(28): 12119–12121, 12144 (in Chinese) [栾丰刚, 张海燕, 杨赵平, 张利莉. 2008. 硬枝碱蓬适生区的AM真菌孢子数量及伴生植物感染状况研究. 安徽农业科学, 36(28): 12119–12121, 12144]
- Mei C, Yan P, Han LQ, Ma K, Xu Z, Lu CS, Fan DY, Ai SJ, Wang JX. 2015. *Agilus mail* Matsumura resistance of different types of Xinjiang wild apple. Xinjiang Agricultural Sciences, (10): 1859–1865 (in Chinese) [梅闯, 闫鹏, 韩立群, 马凯, 许正, 卢春生, 樊丁宇, 艾沙江, 王继勋. 2015. 新疆野苹果不同类型单株对苹果小吉丁虫抗性差异. 新疆农业科学, (10): 1859–1865]
- Power AG, Mitchell CE. 2004. Pathogen spillover in disease epidemics. The American Naturalist, 164(S5): S79–S89
- Rodriguez RDP, Hernandez E. 2004. Mucor foliar spot and mycoflora in stem and root lesions of peach. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, 88(3/4): 155–160
- Semaiti S, Maimaiti Y, Guo QY, Bai JY. 2016. Identification of the pathogen causing jujube fruit mildew (Part I): isolation and identification of *Aspergillus fungus* causing jujube fruit mildew. Xinjiang Agricultural Sciences, 53(3): 502–509 (in Chinese) [沙娜瓦尔·色买提, 玉山江·买买提, 郭庆元, 白剑宇. 2016. 枣果霉烂病病原鉴定(一)——引起新疆枣果霉烂病的几种曲霉菌的分离鉴定. 新疆农业科学, 53(3): 502–509]
- Shao XP, Zhong XG, Xue YY, Liu J, Zhang SW, Wang WX, Xu BL. 2014. Identification and its cross protection on pathogens of apple leaf spot in Gansu Province. Journal of Gansu Agricultural University, 49(3): 78–84 (in Chinese) [邵旭平, 钟小刚, 薛应钰, 刘佳, 张树武, 王卫雄, 徐秉良. 2014. 甘肃省苹果叶斑病原菌鉴定及交叉保护作用研究. 甘肃农业大学学报, 49(3): 78–84]
- Shimomura N, Park P, Otani M, Otani I, Kodama M, Koiimoto K, Ohno T. 1993. Leakage sites of electrolytes from susceptible apple leaf cells treated with am-toxin i of *Alternaria alternata* apple pathotype. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 59: 563–567
- Si EJ, Yang SL, Li BC, Ma XL, Wang SR, Wang HJ. 2017. Pathogenic analysis, rDNA-ITS and genetic diversity of *Pyrenophora garminae* in Gansu Province. Journal of Plant Protection, 44(1): 84–92 (in Chinese) [司二静, 杨淑莲, 李葆春, 马小乐, 王生荣, 王化俊. 2017. 甘肃省大麦条纹病病原菌致病力分化、rDNA-ITS及遗传多样性分析. 植物保护学报, 44(1): 84–92]
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24(8): 1596–1599
- Wang XJ, Li SY, Li YW, He R, Zhu LW, Liu P. 2017. Pathogen identification of kiwifruit soft rot and fungicide screening for control of the disease. Journal of Plant Protection, 44(5): 826–832 (in Chinese) [王小洁, 李士谣, 李亚巍, 何容, 朱立武, 刘普. 2017. 猕猴桃软腐病原菌的分离鉴定及其防治药剂筛选. 植物保护学报, 44(5): 826–832]
- Xu T, Hu TL, Wang YN, Wang ST, Cao KQ. 2012. Isolation of endophytic fungi from apple bark and their potential for biological control of *Valsa ceratosperma*. Journal of Plant Protection, 39(4): 327–333 (in Chinese) [徐涛, 胡同乐, 王亚南, 王树桐, 曹克强. 2012. 苹果树皮内生真菌的分离及其对腐烂病的生物防治潜力. 植物保护学报, 39(4): 327–333]
- Yi RH, Gan LJ, Yan DH, Wu ZJ, Tong YT, Wu FF. 2013. Identification and biological characteristics of *Neoscytalidium dimidiatum* causing pitaya canker. Journal of Plant Protection, 40(2): 102–108 (in Chinese) [易润华, 甘罗军, 晏冬华, 吴泽萍, 童依婷, 吴凤发. 2013. 火龙果溃疡病原菌鉴定及生物学特性. 植物保护学报, 40(2): 102–108]
- Zeng YS, Xiang MM, Xie YP. 2005. The pathogenic mechanism of toxin from *Nimbya alternantherae* to *Alligator alternanthera*. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Technology, (4): 1–5 (in Chinese) [曾永三, 向梅梅, 谢燕平. 2005. 莲子草假隔链格孢毒素的致病机理研究. 仲恺农业技术学院学报, (4): 1–5]
- Zhang GH, Liu DB, Song SY, Yang Q, Si SL. 2017. Species investigation and pathogen identification of blueberry leaf diseases in southeast Guizhou. Forest Pest and Disease, 36(2): 42–46 (in Chinese) [张国辉, 刘德波, 宋盛英, 杨琴, 倡胜利. 2017. 黔东南州蓝莓叶部病害的种类调查和病原鉴定. 中国森林病虫, 36(2): 42–46]
- Zhang SY, Li L, Chen XL, Qi QQ, Lou HZ, Zhang CQ. 2017. Identification of brown spot on fruit of *Torreya grandis* and screening of fungicides. Journal of Plant Protection, 44(5): 817–825 (in Chinese) [张书亚, 李玲, 陈秀龙, 戚钱钱, 楼焕泽, 张传清. 2017. 香榧果实褐斑病原菌鉴定及防治药剂筛选. 植物保护学报, 44(5): 817–825]

(责任编辑:王 璇)