

# 紫薇煤污病病原分离鉴定及分子生物学检测

李艳青<sup>1\*</sup>, 袁旭超<sup>2</sup>, 孙睿<sup>1</sup>, 林桂玉<sup>1</sup>, 潘好芹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>潍坊科技学院, 山东 寿光

<sup>2</sup>山东禾宜生物科技有限公司, 山东 寿光

收稿日期: 2022年4月13日; 录用日期: 2022年5月13日; 发布日期: 2022年5月24日

## 摘要

煤污病又称煤烟病, 在各种园林植物上普遍发生。紫薇是我国重要的观赏性园林树木, 煤污病发生较为严重。目前紫薇煤污病研究较少, 病原还未被完全确定。紫薇煤污病可能由小煤炱属真菌引起, 或者枝孢霉、散播烟霉、多孢孢属、煤炱菌等多种病原菌混生。该研究主要是根据当地环境条件确定并分离鉴定该地的紫薇煤污病病原, 通过形态学观察初步判定紫薇煤污病病原菌主要包括链格孢菌(*Alternaria* sp.)、枝状枝孢菌(*Cladosporium cladosporioides*)、黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)、聚生小穴壳菌(*Dothiorella gregaria*)等。为后续病原菌的分子生物学鉴定, 综合防治及抗病品种筛选工作提供理论基础。

## 关键词

紫薇煤污病, 分离培养, 形态学观察, 分子生物学检测

# Isolation, Identification and Molecular Biological Detection of the Coal Pollution of *Lagerstroemia indica*

Yanqing Li<sup>1\*</sup>, Xuchao Yuan<sup>2</sup>, Rui Sun<sup>1</sup>, Guiyu Lin<sup>1</sup>, Haoqin Pan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Weifang University of Science & Technology, Shouguang Shandong

<sup>2</sup>Shandong Heyi Biotechnology Co., Ltd., Shouguang Shandong

Received: Apr. 13<sup>th</sup>, 2022; accepted: May 13<sup>th</sup>, 2022; published: May 24<sup>th</sup>, 2022

\*第一作者。

文章引用: 李艳青, 袁旭超, 孙睿, 林桂玉, 潘好芹. 紫薇煤污病病原分离鉴定及分子生物学检测[J]. 农业科学, 2022, 12(5): 358-366. DOI: 10.12677/hjas.2022.125053

## Abstract

Coal pollution disease (also known as soot disease) is common in all kinds of garden plants. *Lagerstroemia indica* is an important ornamental garden tree in China, and the occurrence of coal pollution is relatively serious. At present, there are few studies on the coal smut of *Lagerstroemia indica*, and the pathogen has not been completely identified. The coal pollution of *Lagerstroemia indica* may be caused by the fungi of small coal dust, or by the mixed growth of many pathogens, such as *Cladosporium*, *Fumagovagans*, *Tripospermum*. The main purpose of this study is to determine and identify the pathogen of coal pollution disease according to the local environmental conditions. Through morphological observation, the main pathogenic bacteria of *Lagerstroemia indica* coal pollution disease mainly include *Alternaria* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Dothiorella gregaria*, etc. It provides a theoretical basis for molecular biological identification, integrated control and disease resistant variety screening of the following pathogenic bacteria.

## Keywords

Coal Pollution Disease, Isolation and Culture, Morphological Observation, Molecular Biological Detection

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

紫薇煤污病典型的发病症状是感病的叶片和枝条(主要是当年枝条)上形成较厚的黑色层[1] [2] [3]。煤污病在世界上分布较广,在北美、欧洲、澳大利亚、东南亚地区、毛里求斯、夏威夷、南非、留尼汪岛、巴基斯坦、印度及我国南方和台湾都有报道[4] [5]。

紫薇煤污病病原多数认为是由子囊菌亚门核菌纲小煤炱属真菌引起[1] [2]。而刘加铸等研究发现引起紫薇煤污病的病原菌种类主要有枝孢霉(*Cladosporium* sp.)、散播烟霉(*Fumagovagans* Pers)、多孢孢属(*Tripospermum* sp.)、煤炱菌(*Capnodium* sp.)等多种真菌混生[6] [7]。李萌等通过分离纯化、形态学鉴定及 ITS 分子生物学鉴定确定引起芍药煤污病的病原为枝细枝孢[8]。2019 年张俊逸等通过对病原菌进行分离、纯化、致病性测定以及形态学、分子生物学鉴定,确定栀子煤污病病原菌种类为隔孢从壳菌(*Glomerella septospora*) [9]。岳清华等通过单孢分离法分离病原菌,并通过症状观察、形态学、分子生物学、回接方法对病原菌进行鉴定,结果表明,引起蓝莓煤污病的优势病原菌有 3 种,即尖孢枝孢(*Cladosporium oxysporum*)、枝细枝孢(*Cladosporium ramotenellum*)、交链格孢(*Alternaria alternate*) [10]。

目前紫薇煤污病菌分离鉴定工作较少,且各个地区气候条件差异性较大,煤污病的病原也具有不同的特点。该研究主要是根据当地环境条件确定并分离鉴定该地的紫薇煤污病病原,为后续病原菌的分子生物学鉴定、综合防治及抗病品种筛选工作提供理论基础。

## 2. 研究方法

### 2.1. 紫薇煤污病样品采集

采集具有典型症状的病叶作为试验材料,发病叶片变形,叶片、茎秆表面布满灰黑色煤粉层,特别

是有紫薇绒蚧为害的紫薇树。

## 2.2. 紫薇煤污病病原分离纯化

采集具有典型紫薇煤污病特点的病组织，利用无菌水冲洗 3~5 次晾干后用 75% 酒精棉消毒。无菌刀片切取病健交界处组织块，0.1% 升汞溶液表面消毒 30 s 后用无菌水冲洗 2~3 次，晾干。利用消毒镊子接入 PDA 培养基，28℃ 恒温培养观察。选取单一菌落纯化培养。

## 2.3. 紫薇煤污病病原形态学鉴定

挑取纯化的菌落，利用光学显微镜(40 × 10 倍)观察。观察菌丝、产孢结构及分生孢子等显微特征，形态学鉴定。

## 2.4. 紫薇煤污病总 DNA 提取及 ITS 序列扩增

分离纯化的紫薇煤污病菌株及利用植物总 DNA 提取试剂盒(全式金)提取总 DNA。

利用 rDNA-ITS 通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTG ATATGC)进行真菌 DNA 的扩增。PCR 反应体系为 25 μl, 各组分如下: 模板 DNA 2 μl, 2 × Taq PCR Master Mix 12.5 μl, 引物 ITS1 (10 μmol/L)与 ITS4 (10 μmol/L)各 1 μl, 无菌 ddH<sub>2</sub>O 8.5 μl。PCR 产物测序。

## 2.5. 紫薇煤污病病原菌遗传进化分析

测序，获得紫薇煤污病菌的 ITS 序列。NCBIblast 序列比对分析，确定病原，构建系统发育关系，确定各待测菌株进化关系。

# 3. 结果与分析

## 3.1. 紫薇煤污病样品采集

通过采集潍坊科技学院校园及周边、寿光市公园共获得具有典型紫薇煤污病症状(如图 1)的样品 30 份。

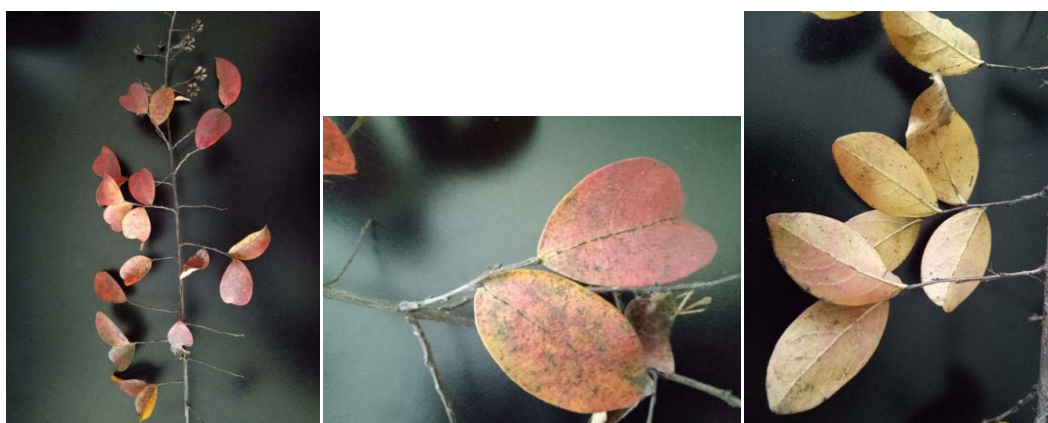


Figure 1. Symptoms of coal pollution of *Lagerstroemia indica*

图 1. 紫薇煤污病症状

## 3.2. 紫薇煤污病病原分离纯化

通过对样品进行了紫薇煤污病菌的分离培养，25℃ 恒温培养 7~14 d 后，发现每个 PDA 平板上分化出多个菌落，菌落形态、颜色差异性较大。后期通过纯化培养获得单一菌落的纯培养。通过紫薇煤污病

菌的纯化培养获得 12 个菌株并对其进行编号, ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26、ZWMW-3、ZWMW-4、ZWMW-5、ZWMW-6。

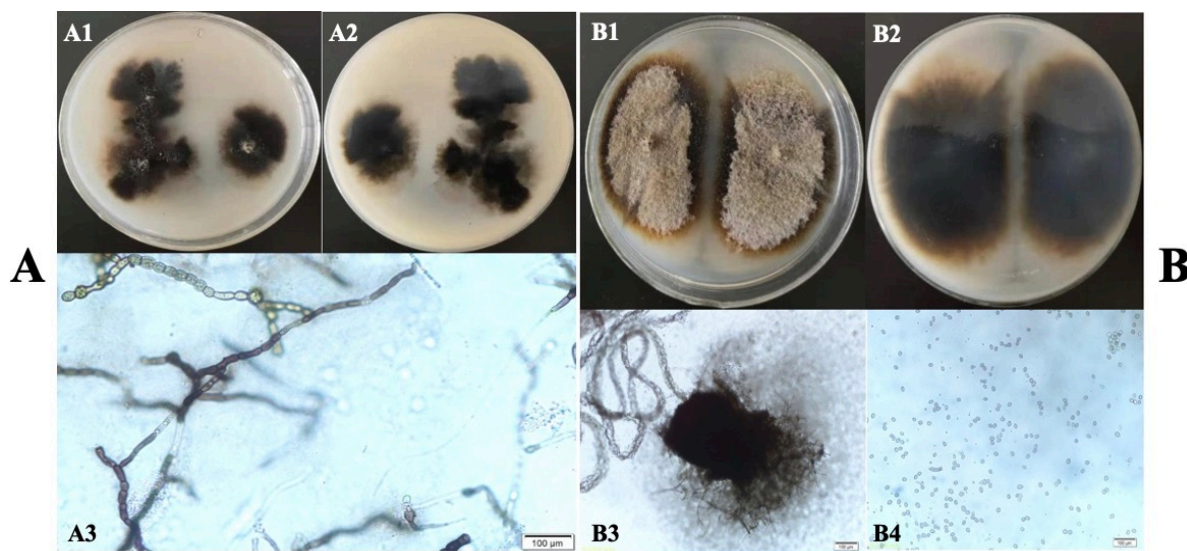
选取已分离纯化的紫薇煤污病菌菌落, 用烧制好的挑针挑取菌落, 制作临时玻片, 利用显微镜对其进行观察; 通过形态学观察初步判定紫薇煤污病主要由链格孢菌、枝孢菌等多种病原菌侵染发生。利用斜面保存法和冻存管保存法将分离纯化的 12 个紫薇煤污病菌菌株 4℃ 低温保存于冻存管中并建立了菌株资源库。

### 3.3. 紫薇煤污病病原形态学鉴定

利用显微镜进行形态学观察初步判定紫薇煤污病病原菌主要包括链格孢菌、枝孢菌等。通过形态学观察及描述初步判断 ZWMW-5、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26 属链格孢菌, ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13 属枝状枝孢菌, ZWMW-4 属黑附球菌, ZWMW-3、ZWMW-6 属聚生小穴壳菌。

ZWMW-3、ZWMW-6 在 PDA 培养基上菌落初为淡灰色, 后渐变为褐色至深褐色, 有气生菌丝, 在 PDA 上可产生黑色子座, 近圆形, 具孔口, 平均大小为  $390\ \mu\text{m} \times 680\ \mu\text{m}$ ; 分生孢子梭形, 无色,  $10\sim 20\ \mu\text{m} \times 15\sim 30\ \mu\text{m}$  (如图 2)。根据形态学特征与记载聚生小穴壳形态相符[11] [12] [13]。

ZWMW-3 在 PDA 培养基上只产生菌丝和膨大细胞, ZWMW-6 在培养基上产生分生孢子器和分生孢子。

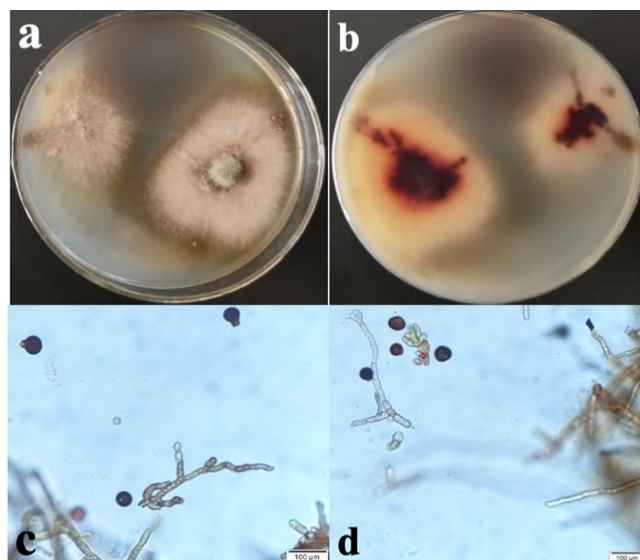


**Figure 2.** Colony and morphological characteristics of ZWMW-3 and ZWMW-6. (A) ZWMW-3; A1, A2: Colony; A3: Expanded cell; (B) ZWMW-6; B1, B2: Colony; B3: pycnidium; B4: Conidia

**图 2.** ZWMW-3 和 ZWMW-6 菌落及形态学特点。(A) ZWMW-3; A1、A2: ZWMW-3 菌落; A3: 膨大细胞; (B) ZWMW-6; B1、B2: ZWMW-6 菌落; B3: 分生孢子器; B4: 分生孢子

在 PDA 培养基上中心呈橘黄色, 边缘白色, 菌丝形成垫状菌落, 在 OA 培养基上菌丝呈白色, 中心致密, 边缘稀疏, 菌落背面淡黄色。体视镜下清晰可见紧密着生在球形分生孢子座上的黑色分生孢子。菌丝体表生或埋生。菌丝无色或淡褐色, 具隔膜, 分枝或少数不分枝, 光滑, 宽  $1.5\sim 2.5\ \mu\text{m}$ 。分生孢子座垫状, 有时培养中并不明显。分生孢子梗常短粗, 直立或弯曲, 末端或中间着生呈链格孢状的膨大细胞,  $0\sim 2$  隔膜, 光滑, 无色或极淡褐色,  $3\sim 5 \times 1\sim 2\ \mu\text{m}$ 。分生孢子从分生孢子梗顶端膨大处生出, 分生孢子呈球状、黑褐色, 直径约  $15\sim 30\ \mu\text{m}$  (如图 3)。根据形态学特征与记载黑附球菌形态相符[14] [15] [16]。





**Figure 3.** Colony and morphological characteristics of ZWMW-4. (a) (b) Colony; (c) (d) Conidiophores and conidia

**图 3.** ZWMW-4 菌落及形态学特点。(a) (b) 菌落; (c) (d) 分生孢子梗和分生孢子

菌落灰黑色，铺散状，容易产生孢子；分生孢子梗淡褐色，直立或稍弯曲，单生或簇生，分隔，内壁芽生式产孢，孢痕明显；分生孢子链生，直或微弯，倒棒状，淡褐色至褐色(如图 4)。

ZWMW-22 分生孢子光滑，具横隔膜 0~3 个，纵、斜隔膜较少，仅 0~2 个，喙不发达，1~2 个细胞，孢子大小 20~120 μm × 20~40 μm。

ZWMW-23 分生孢子光滑，具横隔膜 0~3 个，纵、斜隔膜较少，仅 0~2 个，喙不发达，1~2 个细胞，孢子大小 30~170 μm × 20~40 μm。

ZWMW-24 分生孢子光滑，具横隔膜 0~7 个，纵、斜隔膜较少，仅 0~3 个，喙发达，为多细胞喙，1~6 个细胞，孢子大小 30~2000 μm × 10~40 μm。

ZWMW-25 分生孢子光滑，具横隔膜 0~3 个，纵、斜隔膜较少，仅 0~1 个，喙不发达，1~2 个细胞，孢子大小 15~40 μm × 30~160 μm。

ZWMW-26 分生孢子光滑，具横隔膜 0~3 个，隔膜加厚，纵、斜隔膜较少，仅 0~1 个，喙不发达，1~2 个细胞，孢子大小 20~50 μm × 40~190 μm。

ZWMW-5 分生孢子具刺突，具横隔膜 0~4 个，纵、斜隔膜较少，仅 0~1 个，喙不发达，1~2 个细胞，孢子大小 20~55 μm × 40~190 μm。

根据形态学特征与记载链格孢菌形态相符[17] [18]。

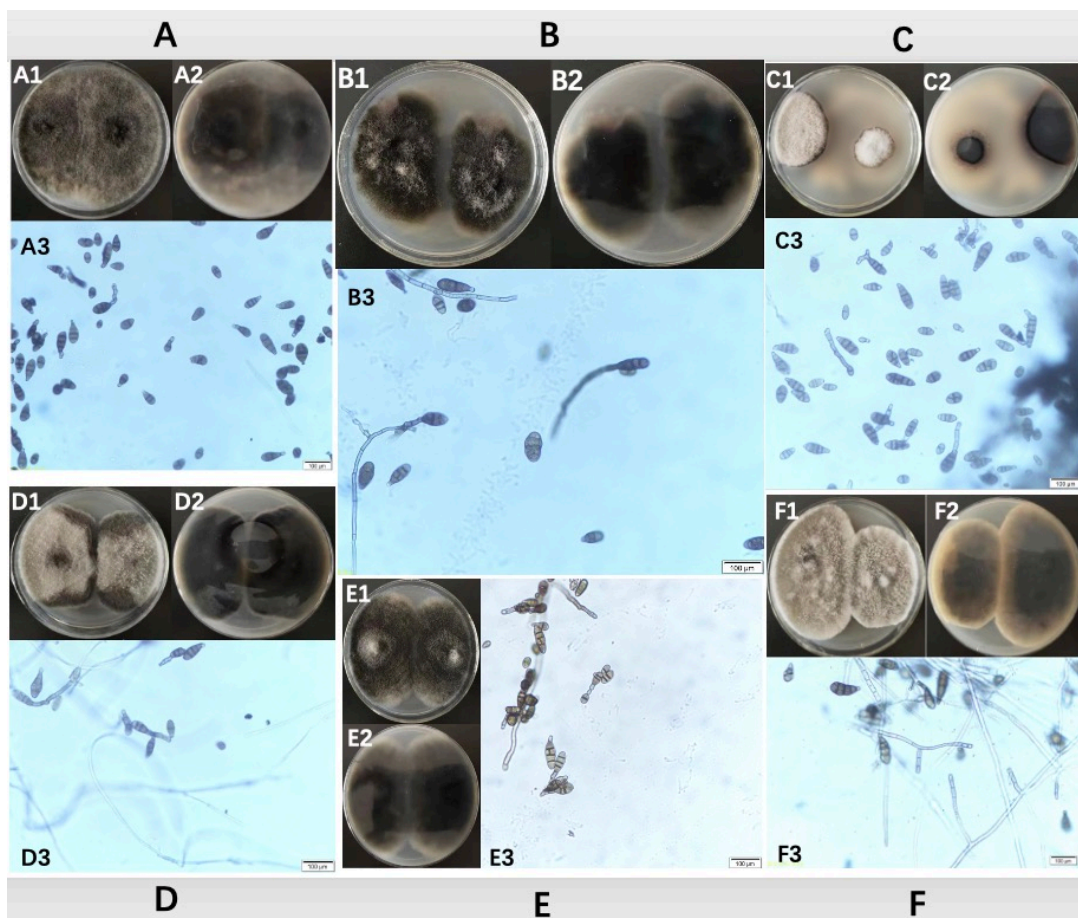
菌落突点状，褐绿色，菌丝绒毛状，较致密，菌落背面墨绿色。菌丝有分隔，壁光滑或粗糙(如图 5)。

ZWMW-11 分生孢子梗淡褐色，直立，不分枝，孢痕 1 个，顶生，分生孢子链生，广椭圆形或宽圆柱形，平滑，无色至淡褐色，大小不一，0-1(-2)个隔膜，隔膜处略有缢缩，5~10 μm × 5~50 μm。

ZWMW-12 分生孢子梗无色，直立，不分枝，孢痕 1~2 个，顶生或侧生，分生孢子链生，广椭圆形，平滑，无色至淡褐色，大小不一，0-1(-2)个隔膜，隔膜处略有缢缩，3~12 μm × 3~30 μm。

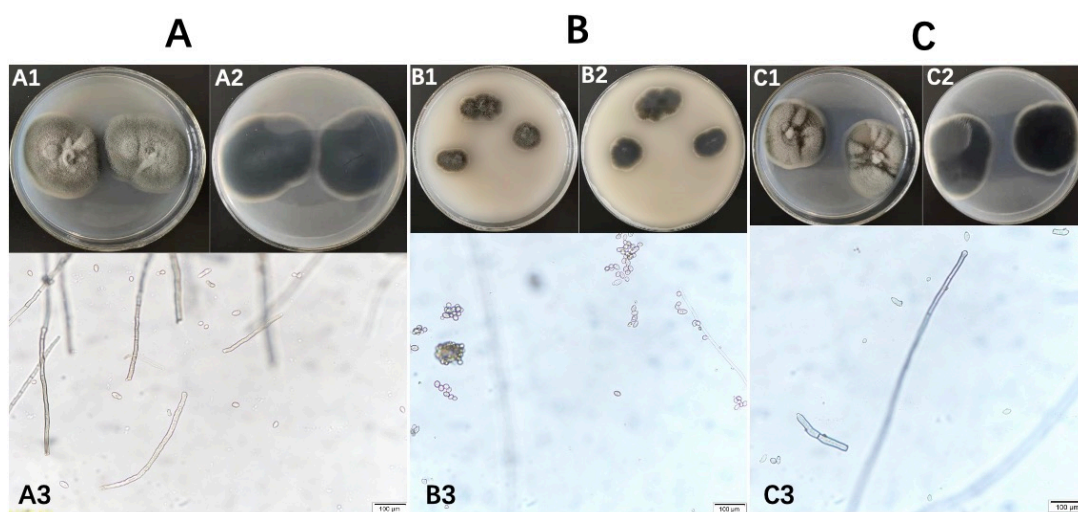
ZWMW-13 分生孢子梗无色，直立，不分枝，孢痕 1 个，顶生，分生孢子链生，宽圆柱形，平滑，无色至淡褐色，大小不一，0-1(-2)个隔膜，隔膜处略有缢缩，10~22 μm × 15~200 μm。

根据形态学特征与记载枝孢菌形态相符[19] [20] [21]。



**Figure 4.** Colony and morphological characteristics of ZWMW-22, 23, 24, 25, 26, 5. (A) ZWMW-22; (B) ZWMW-23; (C) ZWMW-24; (D) ZWMW-25; (E) ZWMW-26; (F) ZWMW-5

**图 4.** ZWMW-22、23、24、25、26、5 菌落及形态学特点。(A) ZWMW-22; (B) ZWMW-23; (C) ZWMW-24; (D) ZWMW-25; (E) ZWMW-26; (F) ZWMW-5



**Figure 5.** Colony and morphological characteristics of ZWMW-11, 12, 13. (A) ZWMW-11; (B) ZWMW-12; (C) ZWMW-13

**图 5.** ZWMW-11、12、13 菌落及形态学特点。(A) ZWMW-11; (B) ZWMW-12; (C) ZWMW-13

### 3.4. 紫薇煤污病病菌 ITS 序列的扩增

利用真菌 ITS (5.8S rDNA 和 28S rDNA 基因间隔序列) 序列引物 ITS1 和 ITS4, 紫薇煤污病病菌总 DNA 作模板进行 PCR 反应。产物进行凝胶电泳。ITS PCR 反应及凝胶电泳后发现, 检测结果在 500~750 bp 之间(如图 6), 通过测序获得序列结果。

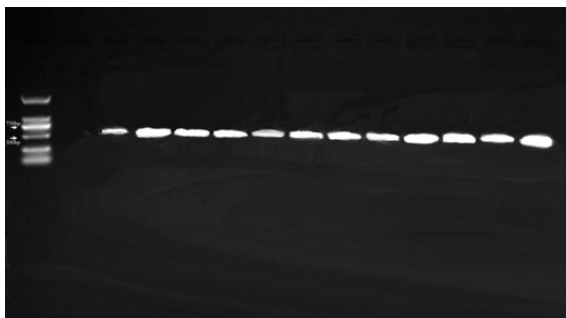


Figure 6. ITS PCR gel electrophoresis of coal pollution of *Lagerstroemia indica*

图 6. 紫薇煤污病菌 ITSPCR 凝胶电泳

### 3.5. 紫薇煤污病病原菌遗传进化分析

通过序列测定及 NCBI 比对, 发现 ZMW-5、ZMW-22、ZMW-23、ZMW-24、ZMW-25、ZMW-26 属链格孢, ZMW-11、ZMW-12、ZMW-13 属枝状枝孢菌, ZMW-3、ZMW-6 属于聚生小穴壳菌, ZMW-4 属黑附球菌(如图 7)。

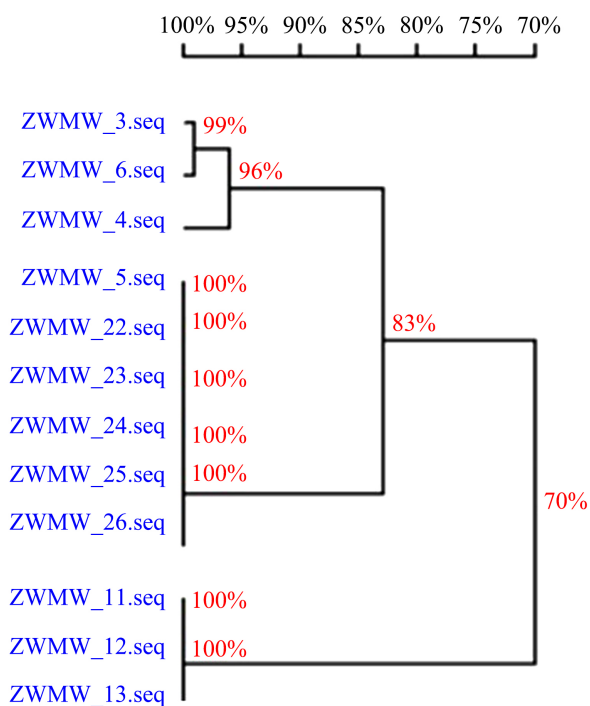


Figure 7. Genetic evolution of coal pollution of *Lagerstroemia indica*

图 7. 紫薇煤污病病原菌遗传进化分析

通过遗传进化分析 ZWMW-3、ZWMW-6 同源率达到 99%，属于同一种，但 PDA 培养发现 ZWMW-3 只产生菌丝和膨大细胞，而 ZWMW-6 产生分生孢子器和分生孢子，可能是由于培养时间、培养条件略有差异造成的。

ZWMW-5、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26 同源性达到 100%，属链格孢，但在人工培养状态下分生孢子形态大小略有差异。

ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13 同源性达到 100%，属枝状枝孢菌，分生孢子梗颜色，产孢痕位置及分生孢子形态、大小略有差异。

由此得出结论，寿光紫薇煤污病病原菌主要包括链格孢菌、枝孢菌、黑附球菌、聚生小穴壳菌等。ZWMW-5、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26 属链格孢菌，ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13 属枝状枝孢菌，ZWMW-4 属黑附球菌，ZWMW-3、ZWMW-6 属聚生小穴壳菌。

## 4. 结果与讨论

### 4.1. 结果

通过样品采集、分离纯化等获得紫薇煤污病病原菌；利用形态学观察、遗传进化分析鉴定紫薇煤污病病原菌主要包括链格孢菌(*Alternaria* sp.)、枝状枝孢菌(*C. cladosporioides*)、黑附球菌(*E. nigrum*)、聚生小穴壳菌(*D. gregaria*)等。

1) 采集潍坊科技学院校园及周边、寿光市公园获得具有典型紫薇煤污病症状样品 30 份。

2) 通过对具有典型紫薇煤污病症状样品的分离培养，获得 12 个菌株并对其进行编号，ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26、ZWMW-3、ZWMW-4、ZWMW-5、ZWMW-6。

3) 利用显微镜进行形态学观察及描述初步判断 ZWMW-5、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26 属链格孢菌，ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13 属枝状枝孢菌，ZWMW-4 属黑附球菌，ZWMW-3、ZWMW-6 属聚生小穴壳菌。

4) 利用真菌 ITS (5.8S rDNA 和 28S rDNA 基因间隔序列)序列引物 ITS1 和 ITS4，紫薇煤污病菌总 DNA 作模板进行 PCR 反应，检测结果在 500~750 bp 之间。

5) 通过序列测定及 NCBI 比对，发现 ZWMW-5、ZWMW-22、ZWMW-23、ZWMW-24、ZWMW-25、ZWMW-26 属链格孢，ZWMW-11、ZWMW-12、ZWMW-13 属枝状枝孢菌，ZWMW-3、ZWMW-6 属于聚生小穴壳菌，ZWMW-4 属黑附球菌。

### 4.2. 讨论

紫薇煤污病病原多数认为是由子囊菌亚门核菌纲小煤炱属真菌引起。但通过该研究发现寿光紫薇煤污病主要由链格孢菌、枝状枝孢菌、黑附球菌、聚生小穴壳菌等单一侵染或混合侵染。说明不同的地区引起紫薇煤污病的病原差异性比较大，病原种类较为复杂。为后期该病害化学防治及抗病品种筛选工作产生一定的困难。

## 基金项目

山东省高校设施园艺实验室建设项目(2018YY036、2018YY012)、山东省重点研发计划(公益类)(2019GNC106119)、潍坊科技学院教学改革研究项目(201924)、潍坊市科技发展计划项目(2020ZJ1032)、横向课题(KJ2021011, 山东寿光蔬菜种业集团有限公司)。



## 参考文献

- [1] 王淑荣. 甘肃陇南市紫薇煤污病发生及防治[J]. 中国园艺文摘, 2017(1): 169-170.
- [2] 陈涛, 张梅林, 陈水联, 欧阳红旗, 高学龙. 紫薇煤污病的发生与防治[J]. 安徽林业科学, 2006(3): 51.
- [3] 李守明, 于昕晗, 陈继红, 李强, 刘笑天, 刘振怀. 紫薇主要病害及其防治[J]. 中国园艺文摘, 2016(3): 103-104.
- [4] Chai, S.H., Wang, H.P., Liang, Y., *et al.* (2007) Sustainable Production of Acrolein: Gas-Phase Dehydration of Glycerol over Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Catalyst. *Journal of Catalysis*, **250**, 342-349. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2007.06.016>
- [5] Watanabe, M., Lida, T., Aizawa, Y., *et al.* (2007) Acrolein Synthesis from Glycerol in Hot-Compressed Water. *Biore-source Technology*, **98**, 1285-1290. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.007>
- [6] 张随榜. 园林植物保护[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [7] 刘加铸. 影响紫薇煤污病的发病因子及防治措施研究[J]. 绿色科技, 2011(6): 161-162.
- [8] 李萌, 张吕醉, 唐慧骥, 韩英. 芍药鲜切花煤污病病原菌鉴定[J]. 植物保护学报, 2019, 46(1): 255-256.
- [9] 张俊逸, 罗光明, 柴华文, 朱梓豪, 刘培培[J]. 栀子煤污病病原菌鉴定及抑菌药剂筛选[J]. 中药材, 2019, 42(5): 1018-1022.
- [10] 岳清华, 董克锋, 高勇, 廖甜甜, 胡博, 姜惠铁. 蓝莓煤污病病原菌鉴定及防治药剂筛选[J]. 山东农业科学, 2016, 48(12): 121-123.
- [11] 高智辉, 王云果, 韩丽, 张刚龙, 张春霞, 韩养贤, 肖琦. 雪松枝枯病病原和生物学特性研究[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(3): 127-130.
- [12] 武海霞, 李红霞, 高洁. 山西省枣缩果病病原菌的研究[J]. 山西林业科学, 2012, 41(4): 34-36.
- [13] 赵桂华, 黄兆义. 由聚生小穴壳菌引起的 NL895 杨水泡型溃疡病[J]. 森林保护, 2011(12): 38-39.
- [14] 王俊丽, 任建国, 刘红美. 一种引起火龙果茎病害的病原菌鉴定[J]. 中国农学通报, 2014, 30(10): 307-311.
- [15] 王郅媛, 姚婷, 范雅为, 张燕, 王友升. 华莱士瓜采后丝状真菌的分离及 rDNA ITS 区序列分析[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 112-118.
- [16] 韩帅, 张河庆, 吴婕, 李洪浩, 席亚东. 四川省山药黑斑病病原菌的鉴定[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 68-74.
- [17] 王丹, 张静, 翟浩, 张倩, 关惠, 辛力. 蓝莓果实黑斑病的病原鉴定及植物精油抑菌研究[J]. 核农学报, 2019, 33(12): 2384-2391.
- [18] 范文忠, 王振, 顾园园, 姜仁婧, 孙达, 黎浩然. 水蜡叶斑病病原菌鉴定及对药剂的敏感性[J]. 农药, 2020, 59(1): 60-64.
- [19] 马锐. 土壤枝孢菌的分离鉴定及极端木聚糖酶的功能验证[D]: [博士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [20] 冯健君, 方丽, 王连平, 王汉荣, 李和孟, 曾余力, 冯传余. 浙江枇杷枝枯病病原鉴定及致病性分析[J]. 果树学报, 2016, 33(10): 1286-1291.
- [21] 吕靖雯, 刘蕊, 李国华, 李红叶, 王洪凯. 柚果面枝孢菌斑点病病原鉴定[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2018, 44(6): 687-694.