

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2026.03.003

曹尚, 谭颖, 涂雨荷, 等. 一种烟草新叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2026, 48(3): 23-31.

一种烟草新叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性

曹尚¹, 谭颖¹, 涂雨荷¹, 王平平²,
艾绥龙², 王宾刚³, 申剑⁴, 王阳¹

1. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省烟草科学研究所, 陕西 西安 710061;
3. 宝鸡市烟草公司陇县分公司, 陕西 陇县 721200; 4. 汉中市烟草公司宁强分公司, 陕西 宁强 724400

摘要: 为明确一种烟草新叶斑病的病原菌及其生物学特性, 从陕西省宝鸡市陇县秦烟 99 烟田采集病样, 经分离纯化、致病性测定获得病原菌, 结合形态学和分子生物学鉴定, 测定代表性菌株 BAN1 的生物学特性。结果表明: 该病主要危害烟草叶缘和叶尖, 病斑褐色、锯齿状或不规则, 后期易穿孔脱落。在 PDA 培养基上病原菌菌落正面呈白色, 背面呈黄褐色, 平均生长速率为 (7.15 ± 0.25) mm/d; 分生孢子器暗褐色、球形, $(141.8 \sim 236.2)$ $\mu\text{m} \times (190.9 \sim 246.6)$ μm ; 分生孢子无色、单胞、梭形, $(2.4 \sim 3.0)$ $\mu\text{m} \times (3.6 \sim 6.8)$ μm , 结合 ITS、LSU、TUB2 多基因序列分析结果, 将该叶斑病的病原菌鉴定为 *Phoma bulgarica*。PDA 培养基、pH 值为 5、25 °C、全黑暗条件培养最适宜该病原菌的生长; 最适碳源和氮源分别为淀粉和苯丙氨酸; 病原菌的致死温度为 46 °C、水浴 10 min。这是在国内首次报道的由 *P. bulgarica* 引起的烟草叶斑病。

关键词: 烟草; 叶斑病; 病原菌鉴定; 生物学特性

中图分类号: S432.1

文献标识码: A

文章编号: 1673-9868(2026)03-0023-09

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification and Biological Characteristics of a Pathogen of Tobacco New Leaf Spot

CAO Shang¹, TAN Ying¹, TU Yuhe¹, WANG Pingping²,
AI Suilong², WANG Bingang³, SHEN Jian⁴, WANG Yang¹

1. College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China;

2. Shaanxi Institute of Tobacco Science, Xi'an Shaanxi 710061, China;

3. Long County Branch of Baoji Tobacco Company, Long County Shaanxi 721200, China;

4. Ningqiang Branch of Hanzhong Tobacco Company, Ningqiang Shaanxi 724400, China

收稿日期: 2025-03-18

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(3233004); 中国烟草总公司陕西省公司科技项目(KJ-2023-03, KJ-2024-01)。

作者简介: 曹尚, 博士研究生, 主要从事植物病害综合治理研究。

通信作者: 王阳, 博士, 研究员。

Abstract: To clarify the pathogenic bacteria of a new leaf spot disease of tobacco and its biological characteristics, disease samples were collected from the tobacco field of Qin Yan 99 in Long County, Baoji. The pathogenic fungi were obtained through isolation, purification and pathogenicity determination. The pathogen was identified by combining morphology and molecular biology, and the biological properties of the representative strain BAN1 were determined. The results showed that the disease mainly affected tobacco leaf margins and tips, presenting as brown, serrated or irregularly shaped spots that easily perforated and detached in the later stages. The pathogen colonies on PDA medium were white on the obverse and yellow-brown on the reverse, with an average growth rate of (7.15 ± 0.25) mm/d. Pycnidia were dark brown, spherical, measuring $(141.8 - 236.2) \mu\text{m} \times (190.9 - 246.6) \mu\text{m}$. Conidia were colorless, unicellular, and pike-shaped, with dimensions of $(2.4 - 3.0) \mu\text{m} \times (3.6 - 6.8) \mu\text{m}$. Multigene sequence analysis based on *ITS*, *LSU*, and *TUB2* gene sequences confirmed the pathogen as *Phoma bulgarica*. Optimal growth conditions included cultivation on PDA medium, pH 5, 25 °C, and total darkness. The optimal carbon and carbon sources were starch and phenylalanine, respectively. The lethal temperature of the pathogen was 46 °C, after a water bath for 10 min. This is the first report of *P. bulgarica* causing leaf spot disease on tobacco in China.

Key words: tobacco; leaf spot; identification of pathogenic fungi; biological characterization

近年来,由于耕作制度、气候条件、烟草品种和栽培方式的改变,以及烟田连作年限延长,导致烟草叶斑类病害逐年加重^[1]。烟草叶斑病因流行范围广,持续时间长,混生病多不易区分,给当地的烤烟质量和产量造成重大损失^[2]。

目前,对于烟草叶斑病的防治仍然以化学药剂为主。烤烟打顶后至采收完成,叶部病害大面积发生,主要病害包括马铃薯 Y 病毒病、赤星病、野火病等^[3]。防治化学药剂的选择和施用多参考主要病害的用药,生产上常选用 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂^[4]、80% 代森锰锌可湿性粉剂、430 g/L 戊唑醇悬浮剂^[5]、450 g/L 咪鲜胺水乳剂^[6]、80% 波尔多液可湿性粉剂^[7]、8% 井冈霉素可溶液剂^[8]等,在一定程度上能够控制烟草叶斑病的发生和发展,但是施用同种药剂不能有效防治多种病原菌引起的叶部病害。长期不规范使用化学农药一方面会导致病原菌产生抗药性,另一方面也导致一些对常规化学药剂不敏感的以子囊菌门(Ascomycota)真菌为主要病原的新病害逐渐上升为主要病害。2020 年以来,在我国各烤烟产区,一些由 *Epicoccum* sp.^[9], *Didymella segeticola*^[10], *Cumuliphoma indica*^[11], *Stagonosporopsis vannaccii*^[12] 等在内的多种病原菌引起的烟草叶斑类新病害和新病原不断被发现,并呈现出危害加重的趋势,且不同地区之间病原种类不一。

本研究前期从陕西省宝鸡市陇县秦烟 99 烟田发现了一种新型烟草叶斑病,病斑不规则形,褐色,杂有不规则的白色斑,常造成叶尖和叶缘破碎。不同于其他烟草叶斑病,该病原主要危害烟叶的叶尖或叶缘部位,部分病斑边缘呈“锯齿”状。在生产上常不被重视,多被误认为是虫害。在发病环境适宜时,若不依据该病害的病原为靶标选择药剂加以防治,易造成流行,给烟叶生产带来巨大的损失,因此,为更好地防治该病害,需明确引起该叶斑病的病原种类和适宜的生存环境。病原菌经组织分离、纯化后,进行致病性测定,结合形态学和分子生物学手段进行鉴定,并研究该菌的生物学特性,旨在为该病害的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

烟草品种:秦烟 99,由陕西省宝鸡市陇县曹家湾镇盛大烤烟专业合作社提供。

供试病样:采集自宝鸡市陇县曹家湾镇三里营村。

供试培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基,燕麦琼胶(OA)培养基(燕麦片 30 g 加水 1 000 mL,煮沸 1 h,用纱布过滤后补足水至 1 000 mL,加入琼脂粉 20 g),20%V8培养基(V8汁离心后取澄清液 200 mL,碳酸钙(CaCO_3)0.2 g,琼脂粉 20 g,蒸馏水 1 L),察氏酵母膏琼脂(CYA)培养基,玉米粉琼胶(CMA)培养基,麦芽浸膏琼脂(MEA)培养基,察氏(CZA)培养基^[13]。以上培养基用 250 mL 锥形瓶分装,100 mL/瓶,121 °C下灭菌 25 min。

1.2 试验方法

1.2.1 病组织分离与分离物纯化

选取田间具有典型症状的烟草叶片进行拍照,并详细描述烟草叶斑病的发病症状。参照《植物病理学实验技术》中组织分离法^[14]对采集的新鲜病样进行分离,剪去若干病组织(发病症状较轻的病斑病健交界处)5 mm×5 mm,放入 70%酒精中表面消毒 10 s,然后再置于 3%次氯酸钠溶液中消毒 3 min,后用无菌水漂洗 3 次,用无菌滤纸吸干水分,置于加有硫酸链霉素的 PDA 平板上,每个平板摆放 5 块,10 次重复。倒置于 25 °C 恒温培养箱中全黑暗培养,5 d 后,将分离株单菌落编号,4 °C 冰箱保存。

1.2.2 分离物致病性测定

离体叶片针刺接种法^[15]:选取 5~6 叶期烟草叶片,消毒后用湿润的无菌棉包裹基部,放入培养皿中,将烟草叶片用一次性注射器针头刺穿,而后将菌饼贴在伤口上,将培养皿封口,置 25 °C 温室内保湿培养,以接种 PDA 培养基菌饼为对照。活体叶片注射接种法:在 8~10 叶期烟草中部叶片选取 3 点注射 2 μL 的分离株孢子悬浮液(1×10^8 个/mL),置 25 °C,14 h 光照/10 h 黑暗温室保湿培养 24 h,而后将保湿盖摘掉在温室内继续培养,以接种等量无菌水为对照,按相同方法进行接种,观察记录发病情况,待叶片发病后,采用组织分离法于病健交界处再次分离,确定分离株是否为致病菌。

1.2.3 病原菌的形态学鉴定

将代表性菌株 BAN1 在 PDA 培养基上 25 °C 恒温培养 7 d,观察记录烟草叶斑病病原菌的菌落形态。在加有灭菌烟草茎秆的 PDA 培养基上培养病原菌,待其分生孢子器等结构产生后,描述并测量分生孢子器和分生孢子的形态与大小。

1.2.4 病原菌的分子生物学鉴定

利用真菌基因组 DNA 提取试剂盒提取病原菌 DNA,通用引物 ITS1/ITS4^[16]、LORO/LR5^[17-18]、TUB-2Fd/TUB-4Rd^[19] 分别对病原菌的核糖体内转录间隔区(ITS)、核糖体大亚基(LSU)和 β -微管蛋白基因(TUB2)的片段进行 PCR 扩增,引物均由陕西擎科生物科技有限公司合成。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,将合格扩增产物送至陕西擎科生物科技有限公司进行测序。测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对,从 GenBank 下载 *Phoma* 属近缘种的 ITS、LSU、TUB2 基因序列作为参考序列。利用 MEGA 9.0 软件对上述基因序列进行比对分析,序列两端切齐后,按照 ITS-LSU-TUB2 顺序首尾相连,以最大似然法构建系统发育树,重复检验 1 000 次。

1.2.5 病原菌的生物学特性测定

将烟草叶斑病病原菌 8 mm 的菌饼分别接种于直径 90 mm 的 PDA、OA、20%V8、CYA、CMA、MEA 培养基中央,25 °C 全黑暗培养,测定不同培养基对病原菌生长的影响。采用 PDA 培养基,设置 7 个温度梯度:5、10、15、20、25、30、35 °C,以确定不同温度对病原菌生长的影响;同时测定病原菌的致死温度,分别于 45、46、47、48、49、50 °C 水浴处理 10 min,接种于 PDA 平板上培养,以病原菌菌丝不生长的温度为致死温度。用 1 mol/L 的 NaOH 溶液和 HCl 溶液将灭菌后的 PDA 培养基调至 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 共 10 个 pH 梯度,以确定不同 pH 值对病原菌生长的影响。设置全光照、全黑暗、12 h/12 h 光暗交替 3 个光照处理,以确定不同光照条件对病原菌生长的影响。采用察氏培养基为

基础培养基,测定不同碳源(以硝酸钾为氮源,以葡萄糖、果糖、麦芽糖、淀粉、乳糖、山梨醇为碳源替换其中的蔗糖并设置无碳处理作为对照,25℃全黑暗培养)、不同氮源(以蔗糖为碳源,以蛋白胨、草酸铵、苯丙氨酸、甲硫氨酸、酵母粉、硫酸铵等替换其中的硝酸钾并设置无氮处理作为对照,25℃全黑暗培养)对病原菌菌丝生长的影响。

在 PDA 平板上培养 5 d 的烟草叶斑病原菌的菌落边缘打取直径为 8 mm 的菌饼,在无菌条件下将其接种于直径 90 mm 的各处理平板中央,置于恒温培养箱中培养 7 d 后采用十字交叉法测量菌落直径,计算菌丝平均生长速率,每个处理 4 次重复。

1.3 数据分析

采用 Excel 2013 和 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析, Duncan 氏新复极差法进行各处理间的差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 烟草叶斑病田间发病症状

于 2023 年 8 月 5 日在秦烟 99 烟草田(5 月 1 日移栽)发现新病害,田间发病率为 20%。该病主要危害烟草叶缘和叶尖,病斑形状不规则,灰褐色,边缘具有明显的黄绿色晕圈,伴生不规则的白色斑,后期叶尖和叶缘呈“锯齿状”,病斑易“穿孔”破碎,开裂脱落(图 1)。



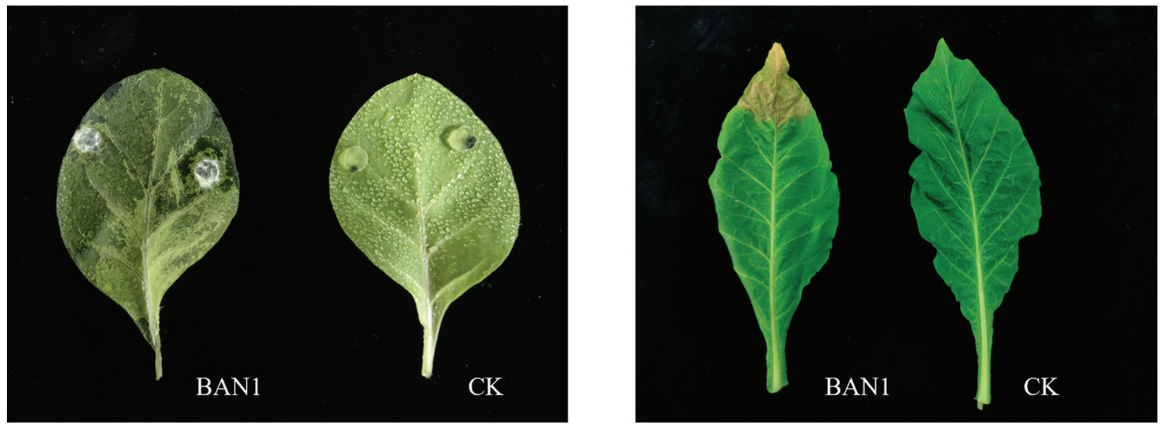
图 1 烟草叶斑病田间发病症状

2.2 分离株 BAN1 的致病性测定

采用离体叶片针刺接种法接种代表性分离株 BAN1 菌饼 4 d 后,接种处坏死,产生水渍状病斑,对照叶片不发病(图 2a)。采用活体叶片注射接种法接种分离株孢子悬浮液 7 d 后,叶尖接种处坏死,而用无菌水处理的叶片保持健康(图 2b)。根据柯赫氏法则,对发病叶片再分离,所得菌株菌落形态与接种菌株一致,确定分离株 BAN1 为该烟草叶斑病的病原菌。

2.3 烟草叶斑病病原菌的形态学鉴定

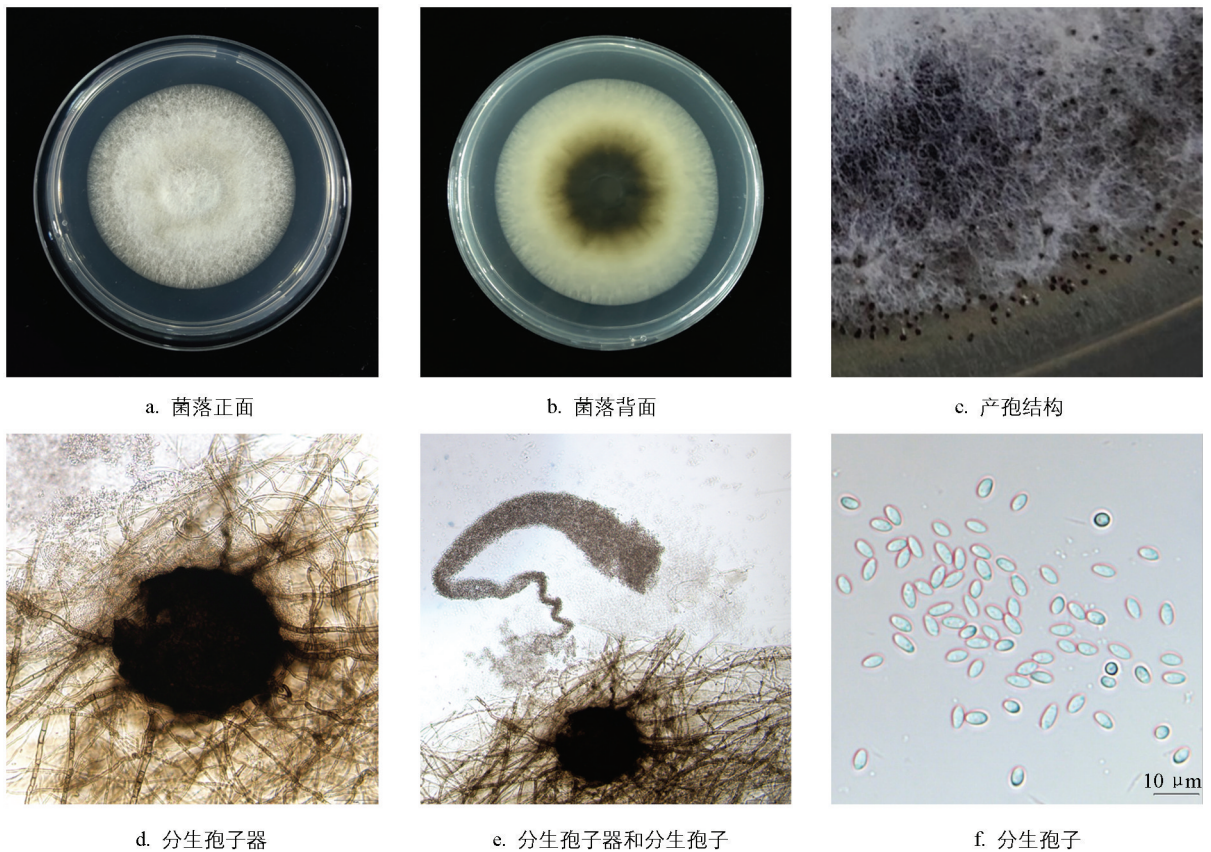
菌株 BAN1 活化后,25℃黑暗培养 7 d,在 PDA 平板上的平均生长速率为 (7.15 ± 0.25) mm/d,菌落近圆形,菌丝茂密、白色至灰白色,菌落背面中间黑色,黄褐色,边缘白色(图 3a、3b)。随着培养时间的延长,菌落颜色逐渐变成黄棕色。在加入灭菌烟草茎秆的 PDA 平板上诱导病菌产孢,产孢结构生于菌落边缘或烟草茎秆表面(图 3c),分生孢子器暗褐色、球形, $(141.8 \sim 236.2) \mu\text{m} \times (190.9 \sim 246.6) \mu\text{m}$ (图 3d、3e);后期在分生孢子器表面分泌大量白色“脓状物”,其为大量的分生孢子。分生孢子无色、单胞、梭形、瓜子形、芝麻形, $(2.4 \sim 3.0) \mu\text{m} \times (3.6 \sim 6.8) \mu\text{m}$ (图 3f)。



a. 针刺接种法处理4 d的叶片症状

b. 注射接种法处理7 d的叶片症状

图 2 分离株 BAN1 的致病性测定



a. 菌落正面

b. 菌落背面

c. 产孢结构

d. 分生孢子器

e. 分生孢子器和分生孢子

f. 分生孢子

图 3 菌株 BAN1 的形态特征

2.4 烟草叶斑病病原菌的分子生物学鉴定

为了准确鉴定该物种,提取代表性菌株 BAN1 的基因组 DNA,联合 *ITS*、*LSU* 和 *TUB2* 多基因构建系统发育树。由图 4 可知,该菌株与 *Phoma bulgarica* 聚在一支。结合形态学鉴定,最终将菌株 BAN1 鉴定为 *Phoma bulgarica*。

2.5 不同培养基对烟草叶斑病病原菌菌丝生长的影响

由图 5 可知,最适于烟草叶斑病病原菌菌丝生长的培养基为 PDA 培养基和 OA 培养基,菌丝的平均生长速率分别为 7.33 mm/d、7.30 mm/d,二者差异无统计学意义。菌株 BAN1 的菌落在不同培养基上呈规则圆形,菌落颜色和菌丝茂密程度不同。在 OA 培养基和 CMA 培养基上,菌丝生长较为稀疏(图 6)。

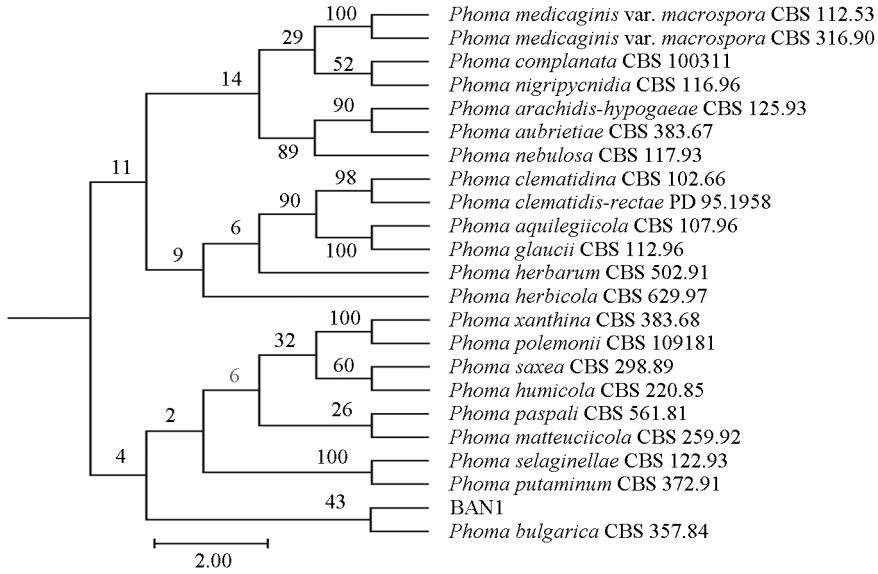
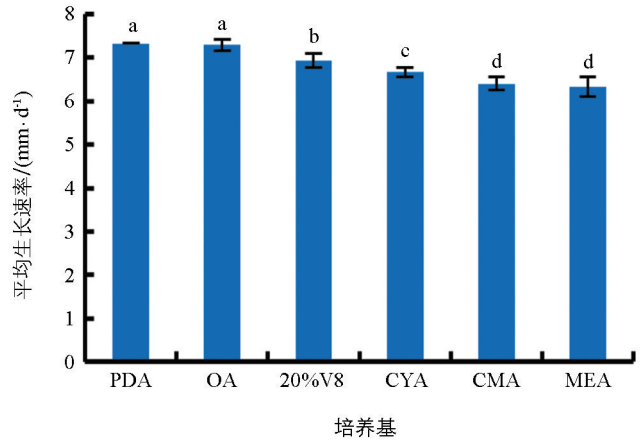


图 4 基于 ITS、LSU 和 TUB2 基因序列构建的菌株 BAN1 的系统发育树

2.6 不同温度对烟草叶斑病原菌菌丝生长的影响

由图 7 可知, 该菌在 5~35 °C 内均能生长, 最适宜菌丝生长的温度为 25 °C, 在该温度条件下菌丝的平均生长速率为 7.07 mm/d; 当温度为 20 °C 时有利于病原菌的生长, 菌丝平均生长速率为 5.21 mm/d, 与其他处理差异显著; 当温度低于 10 °C 或高于 30 °C 时菌丝生长速度缓慢或不生长。病原菌菌饼经过 46 °C 及以上温度恒温水浴处理 10 min 后再培养, 菌丝完全没有生长, 确定该病原菌菌丝的致死温度为 46 °C、水浴 10 min。



小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义, 下同。

图 5 在不同培养基上的平均生长速率

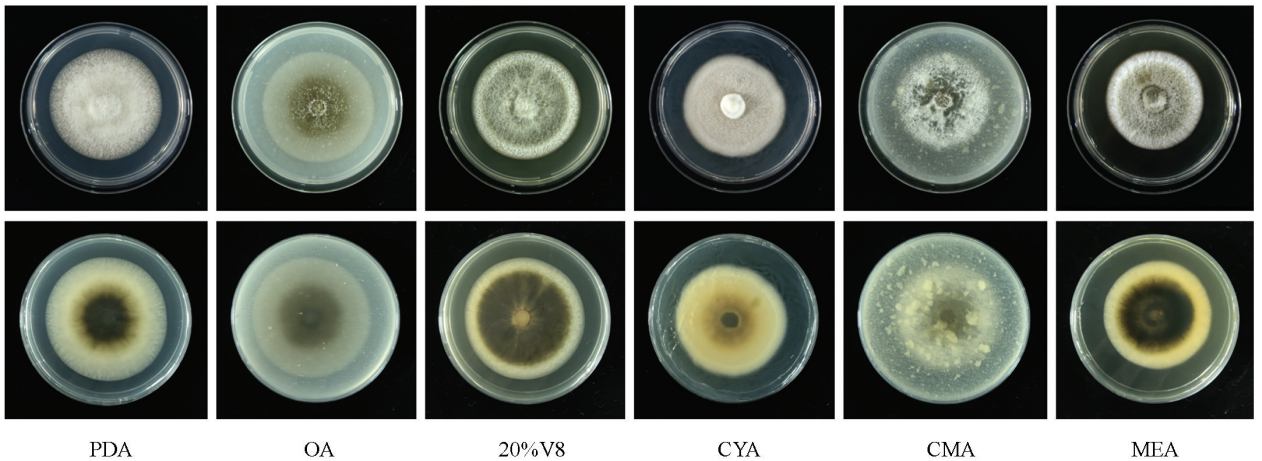


图 6 在不同培养基上 28 °C 培养 7 d 的菌落形态

2.7 不同 pH 值对烟草叶斑病原菌菌丝生长的影响

烟草叶斑病原菌在 pH 值为 3~12 内均能生长, 表明该病原菌对酸碱耐受性强。从图 8 可以看出, 该病原菌对碱性环境敏感, 更适宜在酸性环境下生长。最适宜菌丝生长的 pH 值为 5, 该条件下菌丝的平均

生长速率为 7.25 mm/d。pH 值在 3~8 时, 对病原菌生长水平的影响没有统计学意义。在碱性环境下, 随着 pH 值的升高, 病原菌菌丝的生长速率呈现减缓趋势。

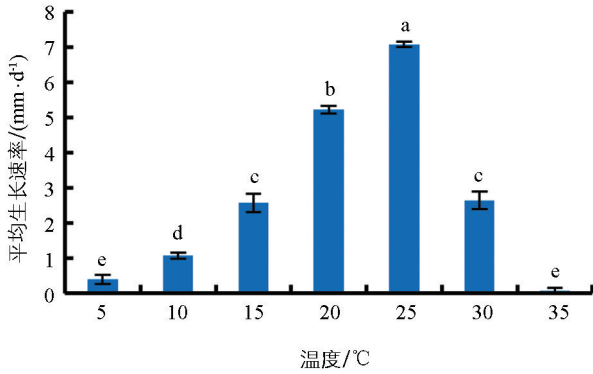


图 7 在不同温度下培养的平均生长速率

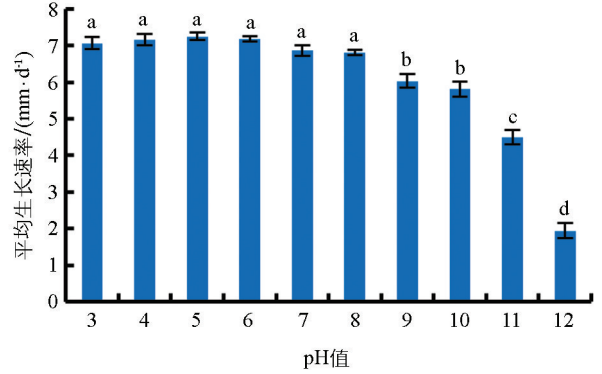


图 8 在不同 pH 值的 PDA 培养基上的平均生长速率

2.8 不同光照条件对烟草叶斑病病原菌菌丝生长的影响

由图 9 可知, 该病原菌在 3 种不同光照环境下均可生长。全黑暗条件下病原菌菌丝平均生长速率为 7.37 mm/d, 与其他处理差异有统计学意义, 为最适光照条件。

2.9 不同碳源对烟草叶斑病病原菌菌丝生长的影响

由图 10 可知, 烟草叶斑病病原菌在供试的 6 种碳源察氏培养基上均可以正常生长, 而在无碳源的对照培养基上菌丝稀疏, 生长异常。不同碳源对该病原菌生长的影响较大, 最适宜病原菌菌丝生长的碳源为淀粉, 在该条件下菌丝的平均生长速率为 5.75 mm/d; 其次是果糖, 菌丝的平均生长速率为 5.06 mm/d, 与其他处理差异有统计学意义。

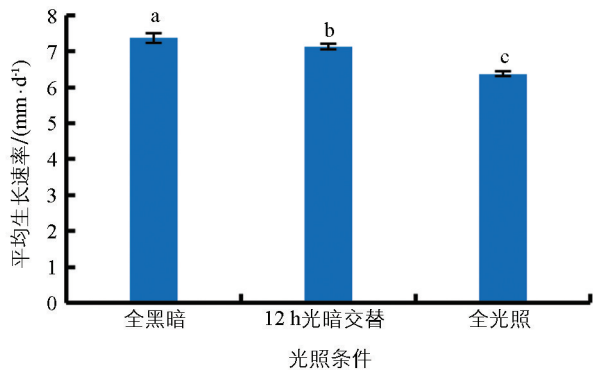


图 9 在不同光照环境下培养的平均生长速率

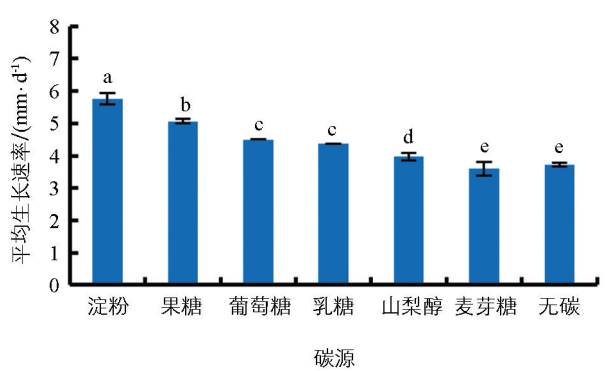


图 10 在不同碳源察氏培养基上的平均生长速率

2.10 不同氮源对烟草叶斑病病原菌菌丝生长的影响

由图 11 可知, 6 种供试氮源均可以被病原菌利用, 菌丝生长速率显著高于无氮对照。苯丙氨酸最适宜病原菌菌丝的生长, 其平均生长速率为 6.94 mm/d; 蛋白胨、草酸铵、硫酸铵次之, 其平均生长速率分别为 6.50、6.44、6.38 mm/d, 与其他处理差异有统计学意义。

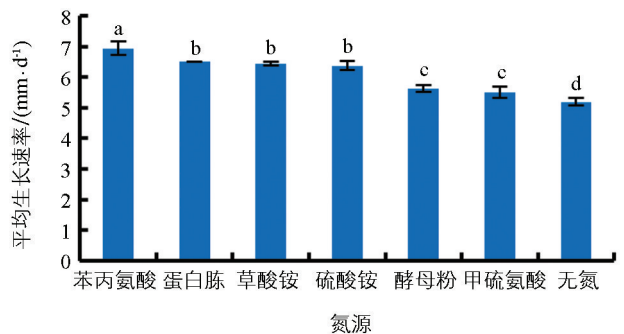


图 11 在不同氮源察氏培养基上的平均生长速率

3 讨论与结论

本研究证实了 *P. bulgarica* 可引起烟草叶斑病, 该病害在烤烟圆顶期至打脚叶前后发生, 典型症状为叶缘和叶尖呈“锯齿状”, 具明显的黄绿色晕圈。在生产上常被误认为是昆虫危害造成的缺刻或孔洞, 加之防治策略不合理, 影响烟草的生产。2024 年 8 月, 在陕西省其他烤烟产区不同品系(种)烟株叶片上也发现了此病害, 该新型叶斑病的发生, 严重影响了烟叶的产量和烤烟的外观品质, 需高度重视。研究人员可通过设计特异性引物等^[20]方法精准诊断, 确定预防该叶斑病的最佳时期, 精准用药, 同时采取其他有效措施加以防治。

Phoma 属真菌, 种类多, 可引起多种植物病害, 病原菌的鉴定较为困难^[21-22]。通过 ITS、LSU 和 TUB2 多基因系统发育树分析, 我们初步确定烟草叶斑病的病原菌 BAN1 为 *P. bulgarica*。*P. bulgarica* 属于囊菌门, Aveskamp 等^[23]报道其从紫草科植物 *Trachystemon orientale* 分离得到, 分生孢子器在添加灭菌异株荨麻(*Urtica dioica* L.) 的 MEA 培养基上产生, *P. bulgarica* CBS 258.92 分生孢子器大小为 (140~170) $\mu\text{m} \times$ (250~295) μm , 在 OA 培养基上培养 7 d 的菌落直径为 45~65 mm; 在 MEA 培养基上培养 7 d 的菌落直径为 40~45 mm, 且不同菌株间菌落形态存在差异。本研究结果与 Aveskamp 等^[23]的研究不完全一致, 分生孢子器形态相似, 大小略有差异; 在 OA 和 MEA 培养基上菌丝生长速率相似, 菌落颜色略有不同, 可能是由于寄主、地理位置、环境条件、试验技术等不同造成的。

P. bulgarica BAN1 生物学特性结果表明, PDA 培养基、25 $^{\circ}\text{C}$ 、全黑暗条件更利于病原菌的生长。该病原菌生长最适 pH 值为 5, 适宜生长温度为 20~25 $^{\circ}\text{C}$, 致死温度为 46 $^{\circ}\text{C}$ 、水浴 10 min。这与当地土壤偏酸性, 田间发病时降雨、温湿度条件相对应。在生产上可通过控制田间密度、及时清除脚叶增加透光透气性, 加强田间管理, 及时采取化学、生物等防治方法^[24]对烟草叶斑病进行综合防控, 降低病害造成的经济损失。目前尚未见关于该病原菌生物学特性的报道, 后续我们将对其产孢特性、孢子萌发条件、化学药剂及生防菌的筛选展开进一步的研究。

本研究鉴定了一种烟草新叶斑病的病原菌, 这是在国内首次报道由 *P. bulgarica* 引起的烟草叶斑病, 明确了该病原菌对于生长环境条件及其营养的需求, 结果将为该病害的进一步诊断、预测以及流行规律研究与综合防治策略的制定提供基础。

参考文献:

- [1] 江龙, 胡丽涛, 王琴, 等. 4 个烟草品种抗病性评价 [J]. 植物医学, 2022, 1(6): 71-77.
- [2] 付锦贤, 王晓玮, 王宾刚, 等. 不同烤烟品种在陇县烟区的适应性研究 [J]. 安徽农业科学, 2024, 52(20): 28-31.
- [3] 杨菊香, 王光富, 邱如鹏, 等. 基于冷害抗性诱导和精准用药的烟草健康栽培全程植保托管服务技术方案——以云南省德宏州陇川县为例 [J]. 植物医学, 2024, 3(4): 80-90.
- [4] 陈杰, 李六英, 高敏, 等. 烟草赤星病室内防治药剂筛选及田间防治效果 [J]. 中国烟草科学, 2017, 38(1): 73-77.
- [5] 潘忠梅, 曹毅, 桑维钧, 等. 贵州烟草棒孢霉叶斑病生防菌鉴定及防治药剂筛选 [J]. 农药学学报, 2023, 25(2): 388-394.
- [6] 张明娅, 何世芳, 陆宁, 等. 烟草弯孢菌叶斑病防治药剂筛选 [J]. 农药, 2023, 62(8): 599-602.
- [7] 马欣, 寇宝实, 李继博, 等. 纳米级铜 80% 波尔多液可湿性粉剂对烟草叶斑类病害的防治效果 [J]. 湖北农业科学, 2023, 62(11): 60-64.
- [8] 靳瑞瑞, 陈海涛, 廖睿, 等. 植保无人机防治烟草靶斑病的复配药剂筛选 [J]. 烟草科技, 2024, 57(9): 40-47.
- [9] 付景圆, 王晶, 陈海涛, 等. 重庆烟区烟草叶斑病的诊断与鉴定 [J]. 烟草科技, 2023, 56(3): 25-29.

- [10] GUO Z N, XIE H L, WANG H C, et al. Leaf Spot Caused by *Didymella segeticola* on Tobacco in China [J]. Plant Disease, 2020, 104(5): 1559.
- [11] 安宣鲜, 桑维钧, 张得平, 等. 烟草叶斑病菌 *Cumuliphoma indica* 的生物学特性及室内药剂筛选 [J]. 热带作物学报, 2024, 45(4): 847-854.
- [12] 杨江敏, 桑维钧, 孔菲, 等. 烟草叶斑病新病原分离鉴定及其生物学特性测定 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(6): 1634-1644.
- [13] 孔华忠. 中国真菌志·青霉属及其相关有性型属: 第35卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [14] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [15] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [16] SELIGER H. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications [J]. Trends in Biotechnology, 1990(8): 335.
- [17] VILGALYS R, HESTER M. Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species [J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(8): 4238-4246.
- [18] REHNER S A, SAMUELS G J. Taxonomy and Phylogeny of *Gliocladium* Analysed from Nuclear Large Subunit Ribosomal DNA Sequences [J]. Mycological Research, 1994, 98(6): 625-634.
- [19] GROENEWALD J Z, NAKASHIMA C, NISHIKAWA J, et al. Species Concepts in *Cercospora*: Spotting the Weeds among the Roses [J]. Studies in Mycology, 2013, 75: 115-170.
- [20] 李凤巍, 裴悦宏, 张晓枫, 等. 基于 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 技术检测烟草靶斑病发病菌量 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2023, 45(11): 96-105.
- [21] 陈卓立, 罗睿雄, 赵志常, 等. 445 份粒果种质对细菌性黑斑病的抗性评价 [J]. 中国南方果树, 2025, 54(1): 54-59.
- [22] DEB D, KHAN A, DEY N. Phoma Diseases: Epidemiology and Control [J]. Plant Pathology, 2020, 69(7): 1203-1217.
- [23] AVESKAMP M M, DE GRUYTER J, WOUDEBERG J H C, et al. Highlights of the Didymellaceae: A Polyphasic Approach to Characterise Phoma and Related Pleosporalean Genera [J]. Studies in Mycology, 2010, 65: 1-60.
- [24] 钟朗, 胡珊, 张得平, 等. 抗烟草靶斑病菌的生防细菌鉴定及其机理研究 [J]. 南方农业学报, 2023, 54(11): 3292-3301.

责任编辑 周仁惠