

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2022.05.003

3种行道树叶片煤烟病真菌群落结构组成及多样性

胡冲^{1, 2}, 吴道军^{1, 2}, 董国菊³,
吕志远^{1, 2}, 田立超^{1, 2}

1. 重庆市风景园林科学研究院, 重庆 401329;
2. 川渝共建乡土植物种质创新与利用重庆市重点实验室, 重庆 401329;
3. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 本文利用高通量测序技术对重庆地区3种行道树香樟、天竺桂和黄葛树患煤烟病的叶片进行真菌扩增子测定, 并对其真菌多样性进行生物信息学分析。结果发现, 多样性指数显示在不同采样区的同一树种, 其煤烟病真菌多样性和丰富度存在差异, 如重庆市渝中区黄葛树和重庆市北碚区天竺桂煤烟病样本的Shannon指数和Simpson指数明显高于重庆市渝中区香樟和重庆市北碚区黄葛树煤烟病样本; 检测样本中优势菌门是平均相对丰度为70.41%的子囊菌门; 优势菌属分别是煤炱属、枝孢属、附球菌、短梗霉属, 其占比分别是16.98%, 7.17%, 6.70%和6.23%; 聚类分析和组间差异比较分析表明, 同树种样本聚类距离更近, 其差异菌群主要集中在相对丰度较低的非核心菌群中。FUNGuild解析显示, 除天竺桂外, 其他树种样本的煤烟病真菌群落均是腐生营养型真菌比例最高。3种行道树煤烟病核心菌群种类并无明显差异, 但不同栽植环境和树种类可能也是导致真菌结构、丰度和功能呈现显著差异的重要因素。

关键词: 行道树; 煤烟病; 真菌多样性;

高通量测序

中图分类号:S432.4⁺4

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:2097-1354(2022)05-0023-11



Composition and Diversity of Fungal Community Structure of Sooty Mold in the Leaves of Three Street Trees

HU Chong^{1, 2}, WU Daojun^{1, 2}, DONG Guoju³,
LV Zhiyuan^{1, 2}, TIAN Lichao^{1, 2}

收稿日期: 2022-09-15

基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shms-xdny80001); 重庆市科研机构绩效激励引导专项(cstc2017shms-xdny80001); 重庆市科技局绩效引导专项院管项目(2020-KJ02-13319).

作者简介: 胡冲, 工程师, 硕士研究生, 主要从事病原菌鉴定及防控相关研究.

通信作者: 田立超, 高级工程师, 博士.

1. Chongqing Landscape and Gardening Research Institute, Chongqing 401329, China;
 2. Chongqing Key Laboratory of Innovation and Utilization of Native Plant Germplasm in Sichuan and Chongqing, Chongqing 401329, China;
 3. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: In this study, high-throughput sequencing technology was used to sequence the region of fungal amplicons from *Cinnamomum camphora*, *Cinnamomum japonicum* Sieb. and *Ficus virens* Aiton in Chongqing, and bioinformatic analysis was carried out for study of the fungal diversity. The results of diversity index showed that the diversity and richness of the sooty mold fungi in the same tree species in different sampling areas were different. For example, the shannon and simpson indexes of *Ficus virens* Aition in Daping Central Street of Yuzhong District in Chongqing and *Cinnamomum japonicum sieb.* in Luzuofu Street of Beibei District in Chongqing were significantly higher than those of *Cinnamomum camphora* in Heyuan Street of Yuzhong District in Chongqing and *Ficus virens* Aiton in Shuangyuan Street of Beibei District in Chongqing. The dominant phyla in the experimental samples is Ascomycota with an average relative abundance of 70.41%. The dominant genera were *Capnodium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* and *Aureobasidium*, accounting for 16.98%, 7.17%, 6.70% and 6.23%, respectively. Cluster analysis and comparison between groups showed that the cluster distance of the same species was closer, and the difference was mainly concentrated in the non-core fungal community with low relative abundance. FUNGuild analysis showed that the proportion of saprophytic fungi was the highest in the fungal community of sooty mold disease in other tree species samples, except *Cinnamomum japonicum* Sieb. in Chongqing Academy of Agricultural Sciences of Jiulongpo District and *Cinnamomum japonicum sieb.* in Luzuofu Street of Beibei District in Chongqing. There was no significant difference in the species of core fungal communities among three street trees, but different planting environments and tree species may be important factors leading to significant differences in the structure, abundance and function of fungal communities.

Key words: street trees; sooty mold; fungal diversity; high-throughput sequencing

煤烟病(Sooty Mold)作为植物表面病害，主要通过在寄主表面(如叶或茎)形成黑色或褐色污斑，影响寄主观赏价值，进而造成一定经济损失^[1]。研究表明，煤烟病真菌在显微镜下常为暗色菌丝和分生孢子，主要以蚜虫、粉虱和蚧壳虫等昆虫的蜜露或植物叶片分泌物为营养物质^[2]。现已报道的煤烟病病原菌，在柑桔^[3]、蓝莓^[4]和芍药^[5]等上均有发现，且具有明显的宿主类型差异。

国内早期对煤烟病的研究主要来自于苹果表皮，根据不同煤烟病菌在表面形成的病征类型不同及分子鉴定，已前后鉴定出接瓶霉属(*Zygomphiala*)、锥梗孢属(*Dissoconium*)、叠孢属(*Microcyclospora*)、月盾霉属(*Peltaster*)等^[6-7]。近年来，随着研究的不断深入，对寄主范围的研究也持续扩大，通过对香蕉、芍药和桑树煤烟病的病原菌分离鉴定，明确其病菌均来自于枝孢菌属(*Cladosporium*)^[2, 5, 8]，梔子花煤烟病病原菌主要为隔孢从壳菌(*Glomerellaseptospora*)^[9]，竹类煤烟病上主要病原菌为海绵胶煤炱菌(*Scorias spongiosa*)^[10]。

重庆市为亚热带季风性湿润气候，属典型的高温、高湿地区，因此城市街道多选取香樟、天竺桂和黄葛树等性喜温暖湿润的树种进行栽植。然而，集中种植也为许多病虫害的发生提供了有利的条件。近年来，随着种植面积的不断扩大，重庆市城市街道主要园林植物如香樟、天竺桂和黄葛树等均受到不同程度煤烟病危害，出现叶片污斑、掉落、枝条枯萎的现象，不仅破坏园林植物景观效果，影响生态效益，而且容易滋生和传播有害病菌，对居民身心健康带来隐患。由于煤烟病是由多种病原菌复合形成的表面病害^[2]，传统的病原菌分离鉴定费时费力，之前的大部分研究也仅聚焦经济作物，目前针对城市街道行道树煤烟病原复合真菌种类及结构，尚未有明确报道。

本研究通过高通量测序技术对真菌 ITS1 区域测序, 明确重庆市城市街道 3 种主要行道树患煤烟病的叶片群落多样性结构、种类及相对丰度, 并对微生物群落结构、进化关系进行分析, 以期对后续研究煤烟病作用机制、药剂筛选及综合防控提供参考.

1 材料与方法

1.1 材料采集与保存

本研究调查时间为 2021 年 4 月, 在晴朗无雨的天气条件下, 选取在重庆市城市街道煤烟病发生较重的 4 个区域集中采样(采样点前 3 个月均未施药), 每种发生煤烟病的行道树随机选取 3 株, 每株随机采集 5 片病叶, 共计 105 片病叶, 保存至采样密封袋中带回. 样本具体采集地点和种类如表 1 所示.

表 1 重庆市城市街道煤烟病样本种类及采集地点

采样地区	样本种类	样本名称
重庆市璧山区黛山大道	香樟(<i>Cinnamomum camphora</i>)	SX
重庆市北碚区云华路	香樟(<i>Cinnamomum camphora</i>)	BX
重庆市渝中区河运路	香樟(<i>Cinnamomum camphora</i>)	YX
重庆市北碚区双元大道	黄葛树(<i>Ficus virens Aiton</i>)	BH
重庆市渝中区大坪正街	黄葛树(<i>Ficus virens Aiton</i>)	YH
重庆市北碚区卢作孚路	天竺桂(<i>Cinnamomum japonicum Sieb.</i>)	BT
重庆市九龙坡区重庆市农业科学院	天竺桂(<i>Cinnamomum japonicum Sieb.</i>)	NT

1.2 样本 DNA 提取及 PCR 扩增

将附有煤烟病的叶片喷洒 75% 乙醇 3 次, 每次 5 s 进行表面消毒, 再用无菌水进行清洗后晾干. 在无菌条件下刮取叶片表面煤烟病污斑于 2 mL 离心管中, 加适量无菌水离心 10 min (12 000 r/min), 弃去上清后得到黑褐色沉淀, 采用 CTAB^[11] 法提取样本基因组 DNA, 并检测 DNA 的浓度和纯度, 确保其符合后续试验要求.

检测后的 DNA 经稀释后, 使用针对 ITS1 的标准特异性引物 ITS5-1737F (GGAAGTA-AAAGTCGTAACAAGG) 和 ITS1-2043R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC) 进行 PCR 扩增. PCR 反应体系 (30 μL): 2×PCR mix 15 μL, 引物 3 μL (2 μM), 模板 10 μL (1 ng/μL), ddH₂O 2 μL. PCR 反应条件: 98 °C 预变性 1 min; 98 °C 变性 10 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min. 使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳检测; 对检测合格的 PCR 产物进行磁珠纯化, 采用酶标定量, 根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 目的条带使用胶回收试剂盒回收. 后续样本上机测序委托天津诺禾致源生物信息科技有限公司协助完成.

1.3 数据处理

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据, 对 Barcode 和引物序列进行切割后, 利用 FLASH 对每个样本的 Reads 进行拼接, 得到的拼接序列视为原始 Tags 数据 (Raw Tags); 将拼接得到的 Raw Tags 进行过滤, 得到高质量的 Tags 数据 (Clean Tags). 参照 Qiime 的 Tags 质量控制流程, 进行如下操作:

1) Tags 截取: 将 Raw Tags 从连续低质量值 (默认质量阈值为 ≤19) 碱基数达到设定长度 (默认长度值为 3) 的第一个低质量碱基位点截断.

2) Tags 长度过滤: Tags 经过截取后得到的 Tags 数据集, 进一步过滤掉其中连续高质量碱基长度小于 Tags 长度 75% 的 Tags.

经上述处理后得到的 Tags 需要再进行处理以去除嵌合序列，将 Tags 序列与物种注释数据库进行比对，检测嵌合体序列，最后删除嵌合体序列，得到最终有效数据(Effective Tags)。通过 Uparse 算法对所有样本的全部有效数据进行聚类，本研究中默认以 97% 的一致性(Identity)将序列聚类成为 OTUs(Operational Taxonomic Units)，筛选 OTUs 中出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列。

1.4 生物信息学分析

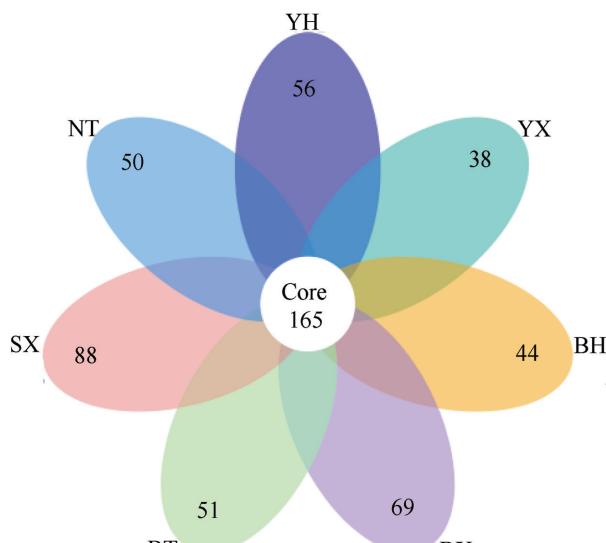
根据 OTUs 聚类结果，通过对每个 OTU 的代表序列做物种注释，得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。同时，基于 OTUs 对真菌群落结构和丰度等进行相关分析，以得到物种丰富度和均匀度信息、不同样本或分组间的共有和特有 OTUs 信息等。另一方面，通过对 OTUs 进行多序列比对并构建系统发生树，通过 NMDS^[12] 等降维分析和 UPGMA^[13] 聚类树、组间热图和 LEfSe 等分析，可以直观的观察样本组间和内部的不同，探究不同样本或组别间群落结构的差异。

2 结果与分析

2.1 测序结果分析

通过对 Reads 拼接，平均每样品测得 104 281 条 Tags，经过质控平均得到 103 114 条有效数据，质控有效率是 98.88%。默认以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs，共得到 1 303 个 OTUs，然后对 OTUs 序列与 UNITE 数据库进行物种注释。注释结果中，共有 930(71.37%) 个 OTUs 可注释到属水平。

通过基于 OTU 的花瓣图可知，7 组样本产生的共有 OTUs 数为 165，其中重庆市璧山区香樟煤烟病样本(SX)、重庆市北碚区香樟煤烟病样本(BX)和重庆市渝中区黄葛树煤烟病样本(YH)的特有 OTUs 数相对较高，分别为 88, 69 和 56，重庆市渝中区香樟煤烟病样本(YX)的特有 OTUs 数最少(图 1)。



BH 为重庆市北碚区黄葛树煤烟病样本；YH 为重庆市渝中区黄葛树煤烟病样本；

BX 为重庆市北碚区香樟树煤烟病样本；YX 为重庆市渝中区香樟树煤烟病样本；

SX 为重庆市璧山区香樟煤烟病样本；BT 为重庆市北碚区天竺桂煤烟病样本；

NT 为重庆市九龙坡区天竺桂煤烟病样本。

图 1 总样本基于 OTU 的比较分析

2.2 样品复杂度分析

稀释曲线直接反映测序数据量的合理性, 并间接反映样本中物种的丰富程度。等级聚类曲线可直观的反映样本中物种的丰富度和均匀度。本研究中, 所有样品的序列量到60 000后趋于平缓, 说明测序数据量较为合理, 测序深度已经覆盖样本中的菌落数, 测序数据可以反映群落实际情况(图2)。

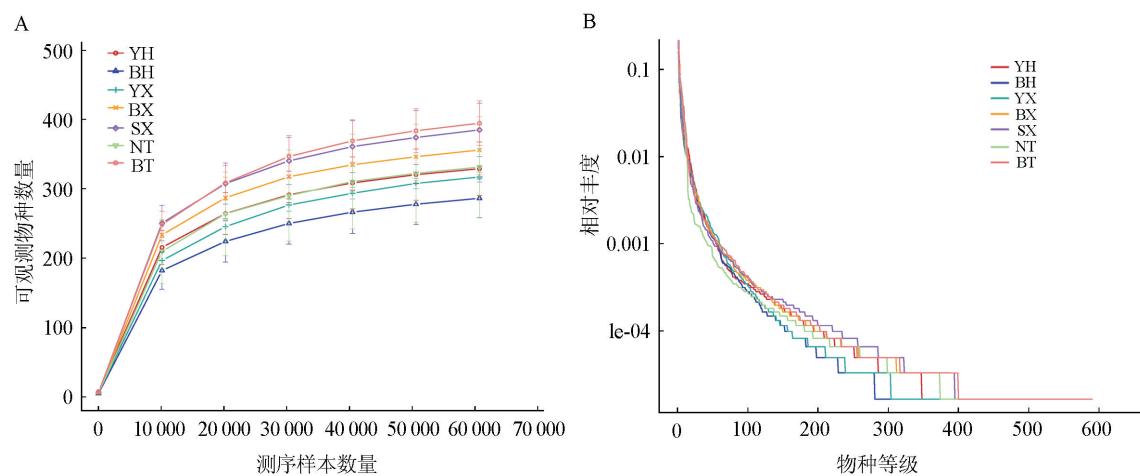


图2 稀释曲线(A)和等级聚类曲线(B)

通过Shannon指数和Simpson指数评估样本中真菌多样性, ACE指数和Chao1指数衡量样本中菌落丰富度。由试验结果可见, Shannon指数从大到小依次是YH, BT, SX, BX, YX, NT, BH; Simpson指数从大到小排序依次是YH, BT, BX, SX, NT, YX, BH; Chao1指数从大到小依次是SX, BT, BX, NT, YH, YX, BH; ACE指数从大到小排序依次是BT, SX, BX, NT, YH, YX, BH(表2)。上述结果表明, 即使在同一采样区下的不同树种, 其煤烟病真菌多样性和丰富度也存在差异。

表2 煤烟真菌 α 多样性指数

样本名称	可观测物种量	Shannon	Simpson	Chao1	ACE
YH	329	4.545	0.913	352.459	355.203
BH	286	3.235	0.696	310.103	314.124
YX	317	3.928	0.828	339.716	343.800
BX	356	4.065	0.845	386.030	384.106
SX	385	4.113	0.843	413.348	418.244
NT	331	3.739	0.837	353.008	357.595
BT	394	4.357	0.894	411.621	420.821

2.3 真菌群落结构组成

通过与数据库UNITE比对和物种注释, 并对不同分类层级统计发现所有1 303个OTUs中有1 161个OTUs(89.10%)可注释到数据库, 其中注释到界水平的比例为89.10%, 门水平的比例为71.68%, 纲水平到种水平的比例均为71.37%。

从门水平相对丰度柱形图可知(图3A), 叶片煤烟病样本真菌占优势的是子囊菌门(*Ascomycota*), 其平均相对丰度为70.41%; 其次是担子菌门(*Basidiomycota*), 平均相对丰度均是

14.20%。属水平上,平均相对丰度超过6%的属是煤炱属(*Capnodium*)、枝孢属(*Cladosporium*)、附球菌(*Epicoccum*)、短梗霉属(*Aureobasidium*),对应的相对丰度是16.98%,7.17%,6.70%和6.23%(图3B).

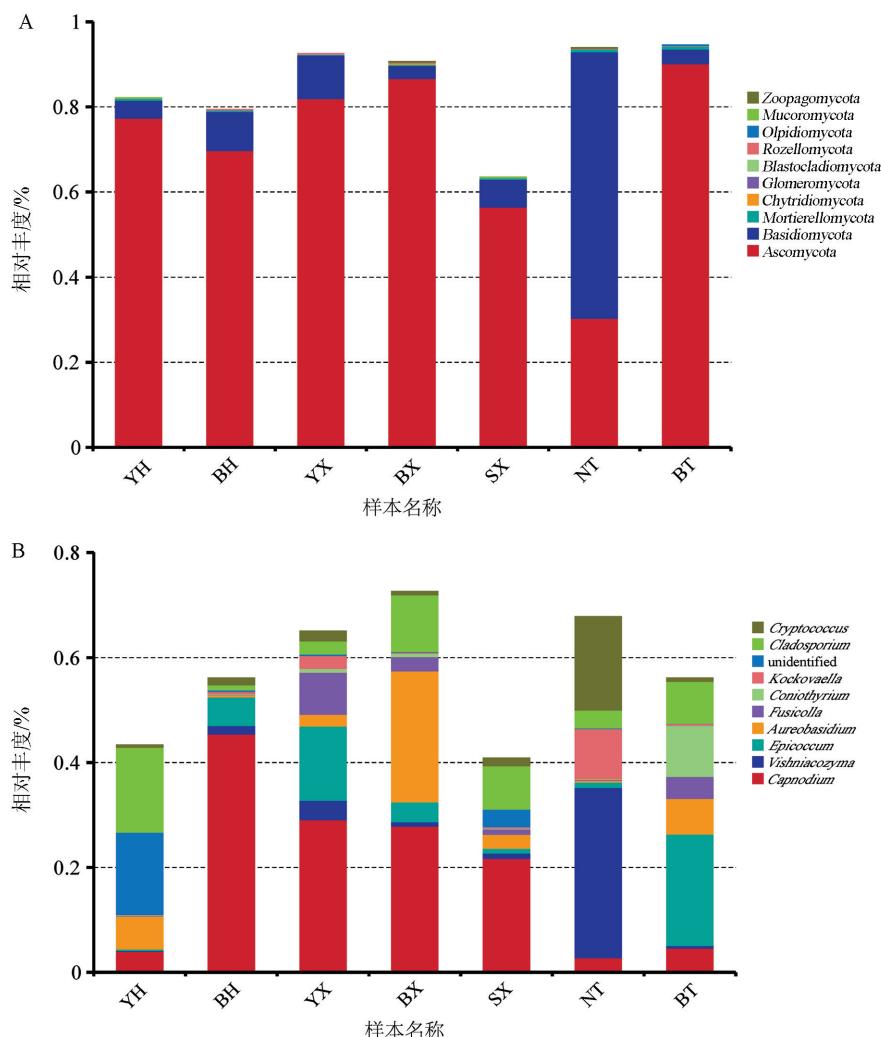


图3 门水平(A)和属水平(B)上煤烟病层真菌群落结构

2.4 多样品比较分析

为了研究不同区域、不同寄主间煤烟病菌群的异同,基于OTU水平对样本间的真菌群落结构进行UPGMA聚类树(图4A)及降维分析(图4B).由菌群聚类树可知,3个区域(SX,BX和YX)的香樟聚在一类,其中BX和YX两组样本距离更近.2个区域的天竺桂样本(BT,NT)距其他样本最远;NMDS分析反映出相较于黄葛树组样本(YH和BH)和天竺桂组样本(NT和BT),香樟组样本(YX,BX和SX)距离更近.两者的结果均表明,不同地区的同一树种在聚类分析中更为接近.

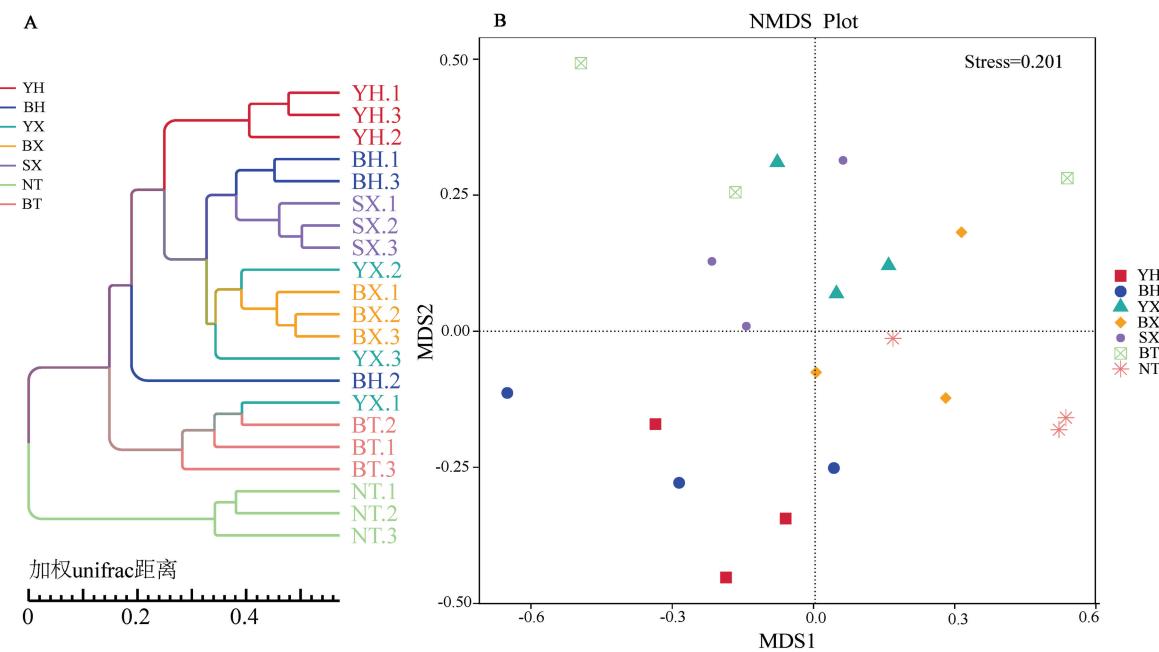


图4 煤烟病真菌群落结构的UPGMA聚类分析(A)和NMDS分析(B)

2.5 组间显著性差异分析

从组间差异热图分析可知,主要是BX和YX、BH和BX、BH和YH 3组存在明显组间差异(图5)。属水平上,北碚区香樟煤烟病病原菌样本(BX)与渝中区香樟煤烟病病原菌样本(YX)两组样本间存在差异的菌群为 *Aureobasidium* 和 *Buckleyzyma* ($p < 0.01$), 以及 *Chaetothyriales* sp., *Botrytis*, *Capnodiales* sp.和 *Cladosporium* ($p < 0.05$); 北碚区黄葛树煤烟病病原菌样本(BH)和北碚香樟煤烟病病原菌样本(BX)的差异菌群集中在 *Aureobasidium* 和 *Capnodiales* sp. ($p < 0.01$)以及 *Fusicolla*, *Penicillium*, *Fusarium* 和 *Cladosporium* ($p < 0.05$); 而 BH 和 YH 的差异菌群为 *Cladosporium* ($p < 0.05$), *Capnodiales* sp., *Phoma*, *Tripospermum*, *Pleosporales* sp.和 *Capnodium* ($p < 0.01$); 黄葛树北碚区样本(BH)和渝中区(YH)样本间存在差异的菌群为 *Cladosporium* ($p < 0.01$), *Phoma*, *Capnodiales* sp., *Tripospermum*, *Pleosporales* sp.和 *Capnodium* ($p < 0.05$)。

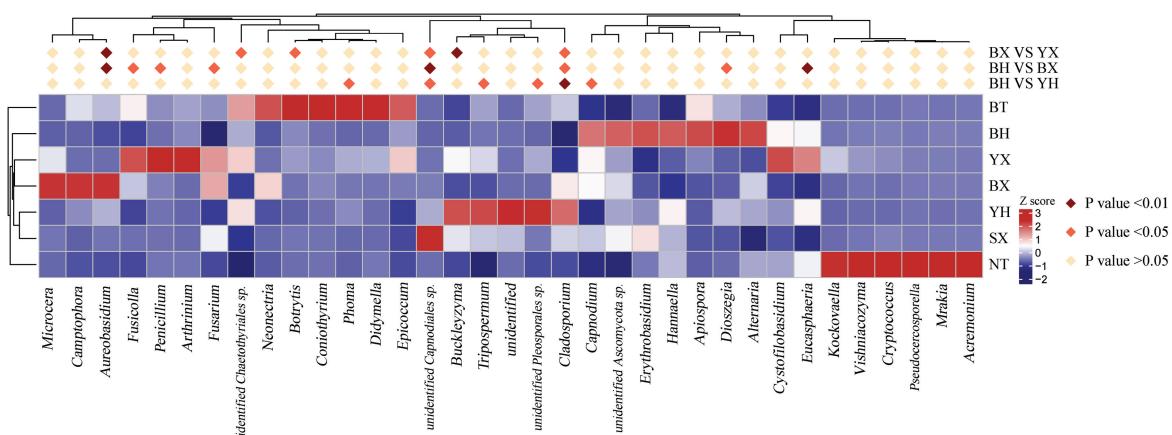
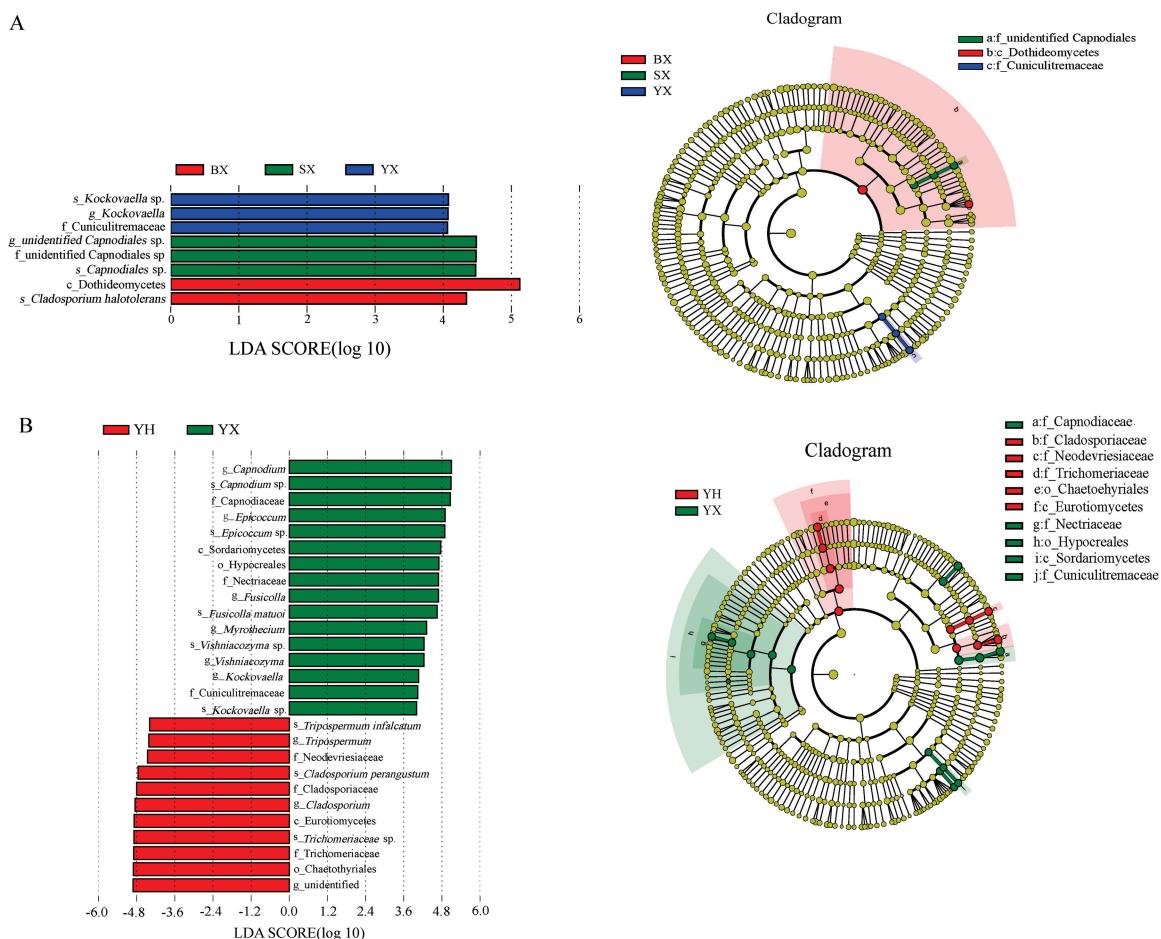


图5 组间差异热图

进一步将3个区域的香樟煤烟病叶片样本(BX, YX和SX)进行LEfSe组间差异比较。由结果可见,科水平上,3组样本差异菌群是*Cladosporiaceae*,*Cuniculitremaceae*和*Capnodiales*sp.;种水平上,差异菌群主要集中在*Cladosporium halotolerans*,*Kockovaella* sp.和*Capnodiales*sp.(图6A)。同一地区栽种的不同树种(香樟和黄葛树),其煤烟真菌也有显著变化,主要差异菌群集中在*Capnodiaceae*,*Cladosporiaceae*,*Neodevriesiaceae*,*Didymellaceae*,*Trichomericaceae*,*Nectriaceae*,*Stachybotryaceae*,*Bulleribasidiaceae*和*Cuniculitremaceae*9个科。上述差异菌种的进化分支图如图6B所示。



LDA值分布柱状图展示了LDA Score大于4的物种;进化分支图展示了由门至种的丰度和在某一组的重要度。

图6 LDA值分布柱状图(A)和进化分支图(B)

2.6 功能预测

根据FunGuild数据库的比对结果,对7组样本真菌的营养型进行分类统计,煤烟病真菌营养方式可划分为病理营养型(Pathotroph)、共生营养型(Symbiotroph)和腐生营养型(Saprotoph),以及病理-共生营养型(Pathotroph-Symbiotroph)、病理-腐生营养型(Pathotroph-Saprotoph)、腐生-共生营养型(Saprotoph-Symbiotroph)、病理-腐生-共生营养型(Pathotroph-Saprotoph-Symbiotroph)以及病原-腐生-共生过渡型(Pathogen-Saprotoph-Symbiotroph)8种。除2组天竺桂煤烟病样本(BT-NT)外,腐生营养型在其余5组样本中所占比例均最高,尤其是在BX和YX中占比分别高达49.08%和45.54%;病理-腐生-共生过渡型(Pathotroph-Saprotop-

ph-Symbiotroph)在 NT 中占比是 61.88%; 病理-腐生(Pathotroph-Saprotoph)过渡型仅在 BT 中占比较高, 比例为 25.66%; BX 和 YH 有相对更多的真菌营养型尚未鉴别, 其比例分别是 52.89% 和 55.97% (图 7).

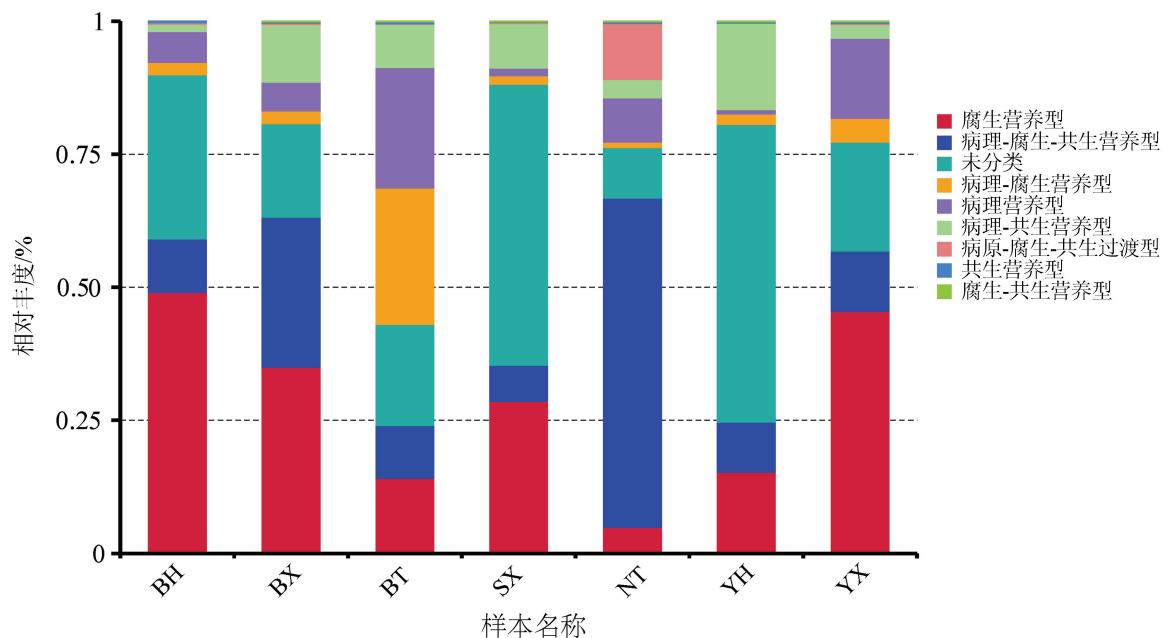


图 7 煤烟病真菌群落营养型组成

3 讨论与结论

行道树在城市园林绿地中发挥着净化空气、美化城市和减少噪音等多种作用, 已成为道路绿化中不可或缺的一部分^[14]. 行道树发生煤烟病会导致树势衰弱, 通过减少叶子的有效光合面积来间接影响植株的生理功能^[15], 影响行道树生态效益的发挥. 由于煤烟病致病菌并非源于单一病原菌, 而是由多种菌丝混杂生长在寄主表面, 常规手段难以将病原菌一一分离和鉴定, 导致其致病机制不明. 随着分子生物学技术的发展, 高通量测序技被广泛的用于细菌^[16]和真菌^[17]的分类鉴定中, 在植物内生细菌、动物肠道菌群和土壤真菌结构等方面均有运用. 因此, 本研究利用 ITS 扩增子测序手段对重庆市城市街道发生煤烟病病原菌的 3 种常见树种进行真菌群落结构多样性分析, 揭示了其病原菌结构组成和丰度差异.

通过高通量分析 3 种常见行道树煤烟病真菌, 发现行道树煤烟病的病原菌种类与其他寄主为花果的病原菌种类存在一定差异. 在门水平上, 子囊菌(Ascomycota)平均相对丰度为 70.41%, 是 3 种行道树煤烟病共有的主要真菌优势菌门, 这与之前报道的一致^[18]; 煤炱科是拥有煤烟菌最丰富的科^[1, 18], 但在本研究中只鉴定到煤炱属(*Capnodium*)一种, 相对含量为 16.98%, 也是本研究中属水平上丰度最高的一类, 该类真菌也是常见的煤污病致病菌^[19]; 其次相对含量较高的是附球菌属(*Epicoccum*)和枝孢属(*Cladosporium*), 其相对比例均在 7% 以上, 前者可引起一些植物的叶斑病^[20-22], 后者是已报道多种寄主的煤烟病或叶斑病致病菌^[2, 23-25]. 同时, 担子菌在九龙坡区天竺桂样本(NT)中相对占比最高, 在对苹果煤污病的相关研究中发现, 担子菌也是煤污病致病菌之一^[6, 26], 但本研究中具体的属种与之前报道有差异; 结合采样

信息,九龙坡区采样区域天竺桂粉虱类(*Aleyrodidae*)害虫发生较为严重,而其余采样地区昆虫以蚜和蚧为主,推测其真菌相对含量差异较大可能与此相关,后期可结合不同发生昆虫种类进一步探究其与真菌种类多样性的相关性。

病害的发生往往与树种周围的立地条件、空气质量等环境因素相关,煤烟病作为一种表面寄生病害更是如此。因此,本研究将采样地区和寄主树种列入变量进行多样性分析,通过多样性指数发现,重庆市渝中区黄葛树煤烟病样本(YH)和重庆市北碚区天竺桂煤烟病病原菌样本(BT)的Shannon指数和Simpson指数都明显高于重庆市渝中区香樟煤烟病样本(YX)和重庆市北碚区黄葛树煤烟病病原菌样本(BH);重庆市北碚区天竺桂煤烟病样本(BT)的Chao1指数和ACE指数均高于重庆市北碚区黄葛树煤烟病样本(BH)。上述结果表明即使是在同一地区,不同树种煤烟病样本也存在一定差异。而结合NMDS和UPGMA聚类分析可知,同为黄葛树煤烟病病原菌重庆市渝中区样本(YH)和重庆市北碚区样本(BH)相距较近,并且同样是香樟煤烟病病原菌样本的重庆市渝中区样本(YX)和重庆市北碚区样本(BX)和重庆市璧山区样本(SX)则相距较近;通过组间差异分析进一步比较3个区域的香樟煤烟病叶片样本(BX,YX和SX)发现,同一树种下真菌差异主要集中在相对丰度较低的菌群中。结合以上分析结果可知,煤烟病病原菌多样性与采样地和寄主种类均呈现一定相关性,FUNGuild功能预测也表明煤烟病中多以腐生营养型为主,后期有必要联合空气环境微生物、采样地条件、真菌生态功能等方面开展联合分析。

本研究首次探明重庆市城市街道常见3种行道树煤烟病的真菌群落结构及多样性,明确了其优势菌种,并从不同采样地区和不同寄主两方面对行道树煤烟病作比较,分析数据表明寄主立地条件不同可能影响了病原菌的菌群结构,数据也证实栽植环境的不同是导致寄主表面煤烟病病原菌结构和丰度发生变化的因素之一,进一步扩充了对行道树煤烟病的认识,为后续的防控和致病机制研究提供了基础数据。

参考文献:

- [1] 李焕宇,张荣,孙广宇.外寄生菌—煤污病菌研究进展[J].菌物学报,2016,35(12):1441-1455.
- [2] 柴建萍,江秀均,谢道燕,等.桑树烟煤病的病原鉴定[J].蚕业科学,2020,46(6):693-699.
- [3] 陈贵峰,唐明丽.柑橘小煤炱菌煤烟病及防治方法[J].南方园艺,2019,30(3):38-39.
- [4] 岳清华,董克锋,高勇,等.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.
- [5] 李萌,张吕醉,唐慧骥,等.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.
- [6] 高柳.接瓶霉属、链丝孢属、杯梗孢属等煤污病相关属系统学及多样性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [7] 陈晨.月盾霉属、多臂菌属等煤污病相关属真菌分类研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [8] 杨迪,杜婵娟,叶云峰,等.广西香蕉煤污病病原菌的分离鉴定及其生物学特性[J].植物病理学报,2021,51(4):507-514.
- [9] 张俊逸,罗光明,柴华文,等.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] 贺新生,刘超洋,林琦,等.竹类煤烟病大型病原菌——海绵胶煤炱菌的分子鉴定[J].福建林学院学报,2011,31(4):363-367.
- [11] DOYLE J. A Rapid DNA Isolation Procedure from Small Quantities of Fresh Leaf Tissues[J]. Phytochemistry, 1986, 19(1).

- [12] KRUSKAL J B. Nonmetric Multidimensional Scaling: a Numerical Method[J]. *Psychometrika*, 1964, 29(2): 115-129.
- [13] LI Y, XU L. An Improvement for Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean and Its Application [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2007, 33(12): 1333.
- [14] BRATMAN G N, DAILY G C, LEVY B J, et al. The Benefits of Nature Experience: Improved Affect and Cognition[J]. *Landscape and Urban Planning*, 2015, 138: 41-50.
- [15] 郎剑锋, 杜开书, 赵荣艳, 等. 烟煤病研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(7): 3525-3527, 3541.
- [16] 胡冲, 吕言, 张小燕, 等. 基于 16S rRNA 高通量测序分析阿坝地区东方蜜蜂肠道菌群多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(6): 1426-1436.
- [17] 肖健, 吴银秀, 杨尚东, 等. 稼秆覆盖还田对桑园土壤真菌群落结构组成的影响[J]. 西南农业学报, 2021, 34(12): 2707-2713.
- [18] 杨慧. 云南地区烟煤菌形态学与分子系统学的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [19] REYNOLDS D R. Capnodium Citri: The Sooty Mold *Fungi* Comprising the Taxon Concept[J]. *Mycopathologia*, 1999, 148(3): 141-147.
- [20] 黄鉉琳, 尹桥秀, 江仕龙, 等. 茶叶斑病病原菌高粱附球菌(*Epicoccum sorghinum*)的鉴定及生物学特性[J]. 热带作物学报, 2021, 42(11): 3269-3277.
- [21] LI D, ZHANG T N, SONG Q N et al. *Cinnamomum camphora* First Report of Leaf Spot Disease on (Camphor Tree) Caused by in China. [J]. *Plant Disease*, 2022, 106: 1059.
- [22] YIN Q, JIANG S, LI D, et al. First Report of *Epicoccum Nigrum* Causing Brown Leaf Spot in Tea in Guizhou Province, China[J]. *Plant Disease*, 2021: 2021Jul16.
- [23] LI C, CAO P, DU C, et al. First Report of Leaf Spot Caused by *Cladosporium Tenuissimum* on Panicle Hydrangea (*Hydrangea Paniculata*) in China[J]. *Plant Disease*, 2021: 2021Apr6.
- [24] 刘晓妹, 杨永利, 张贺, 等. GFP 标记杧果露水斑病病原菌及其侵染部位的确定[J]. 热带作物学报, 2018, 39 (11): 2235-2240.
- [25] CAROLINA VIRGINIA T, JAVIER NÉSTOR A, ADRIÁN DARIO C, et al. *Cladosporium* Species Causing “Cladosporium Rot” on “Bosc” Pear Fruit in Argentina[J]. *Revista Argentina De Microbiología*, 2021, 53(1): 75-77.
- [26] 杨寒丽. 苹果煤污病和蝇粪病病原菌多样性研究——横断孢属、锥梗孢属、后稷氏孢属[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009.

责任编辑 苏荣艳