

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2025.06.003

重庆市核桃炭疽病的病原鉴定及化学药剂筛选

唐慧伶¹, 赵丹诗¹, 李秀珍², 唐佳佳²,
窦彦霞¹, 青玲¹, 吴根土¹

1. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400715;

2. 重庆市林业科学研究院, 重庆 400036

摘要: 核桃炭疽病是威胁重庆核桃产业的主要真菌性病害, 近年来频繁发生, 导致叶片坏死、果实腐烂及枝条溃疡等症状, 造成严重经济损失。为明确病原菌种类并筛选有效防控药剂, 本研究从重庆市14个地区采集93份病样, 分离获得95株菌株。通过形态学观察、分子生物学鉴定及多基因(*ITS-ACT-GAPDH-Tub2-CAL*)系统发育分析, 确定优势病原菌为睡莲炭疽菌(*Colletotrichum nymphaeae*)与胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)。进一步针对上述病原菌开展10类杀菌剂的室内毒力测定, 发现多菌灵(苯并咪唑类)对胶孢炭疽菌菌丝抑制效果最佳($EC_{50}=0.056 \mu\text{g/mL}$), 而啉酰菌胺(烟酰胺类)对睡莲炭疽菌活性最高($EC_{50}=0.015 \mu\text{g/mL}$)。研究结果明确重庆地区核桃炭疽病以睡莲炭疽菌和胶孢炭疽菌复合侵染为主, 并提出针对性药剂筛选策略, 为区域病害精准防控及抗药性管理提供了科学依据。

关键词: 核桃; 炭疽病; 病原鉴定;

睡莲炭疽菌; 胶孢炭疽菌; 药剂筛选

中图分类号: S433

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2025)06-0022-10

Pathogen Identification and Fungicide Screening of Walnut Anthracnose in Chongqing City

TANG Huiling¹, ZHAO Danshi¹, LI Xiuzhen², TANG Jiajia²,
DOU Yanxia¹, QING Ling¹, WU Gentu¹

收稿日期: 2025-04-02

基金项目: 重庆市林业局科技兴林项目重大专项(ZD2023-1)。

作者简介: 唐慧伶, 硕士, 主要从事植物病理学研究。

通信作者: 吴根土, 博士, 副教授。

1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Academy of Forestry, Chongqing 400036, China

Abstract: Walnut anthracnose, caused by *Colletotrichum* species, poses a severe threat to walnut production in Chongqing, China. It has occurred frequently in recent years, causing symptoms of leaf necrosis, fruit rot and branch cankers, and resulted serious economic losses. To identify dominant pathogens and screen effective fungicides, 95 strains were isolated from 93 diseased samples collected from 14 regions of Chongqing. Morphological characterization, molecular identification, and multigene (*ITS-ACT-GAPDH-Tub2-CAL*) phylogenetic analysis confirmed that the predominant pathogens are *Colletotrichum nymphaeae* and *Colletotrichum gloeosporioides*. In vitro toxicity assays with 10 fungicides revealed that carbendazim (benzimidazole) exhibited the highest inhibition effect against *C. gloeosporioides* ($EC_{50}=0.056\text{ }\mu\text{g/mL}$), while boscalid (nicotinamide) showed the highest activity against *C. nymphaeae* ($EC_{50}=0.015\text{ }\mu\text{g/mL}$) and the targeted drug screening strategy was proposed, which provided a scientific basis for the precise prevention and control of regional diseases and drug resistance management. The results of study revealed that walnut anthracnose in Chongqing is primarily caused by the combined infection of *C. nymphaeae* and *C. gloeosporioides*. A targeted fungicide selection strategy was proposed, providing a scientific basis for precise regional disease management and resistance governance.

Key words: *Juglans regia*; anthracnose; pathogen identification; *Colletotrichum nymphaeae*; *Colletotrichum gloeosporioides*; fungicide screening

核桃(*Juglans regia* L.)是胡桃科(Juglandaceae DC. ex Perleb)胡桃属(*Juglans* L.)多年生落叶乔木,是我国重要的“木本粮油”树种,兼具生态保护和经济价值,其栽培历史可追溯至 7 000 年前^[1]。截至 2020 年,我国核桃种植面积已达 679.1 万 hm^2 ,覆盖 23 个省(区、市)^[2]。核桃在重庆市栽培历史悠久,是当地山区重要的经济支柱产业^[3]。然而,近年来核桃病害问题日益突出,尤其是炭疽病在重庆地区发生频率显著升高。2022 年初田间调查显示,核桃树叶片出现褐色病斑,中央呈灰白色,具明显同心轮纹,潮湿条件下形成粉红色黏质分生孢子堆;果实表面产生多个凹陷、形状不规则的黑褐色病斑,具同心轮纹,后期密布黑色分生孢子盘,严重时侵染核仁导致褐腐;枝条上可见黑褐色梭形病斑,对核桃产量与品质构成直接威胁^[4]。

据文献报道,我国已明确由病原微生物侵染引发的核桃病害达 20 余种,主要包括核桃细菌性黑斑病^[5-6]、炭疽病^[5]、褐斑病^[6]、白粉病^[5]、溃疡病^[5]、腐烂病^[5-7]等。其中,炭疽病因病原菌遗传多样性和致病机制复杂,已成为制约核桃产业发展的关键因子。核桃炭疽病由刺盘孢属真菌(*Colletotrichum* spp.)引起,其病原种类多样,遗传变异显著。我国已报道的核桃炭疽病原包括胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)和睡莲炭疽菌(*C. nymphaeae*)等^[8-9],其中胶孢炭疽菌在云南等地为优势种^[10],而重庆地区病原种群组成尚不明确。化学防治是目前核桃炭疽病的主要防控措施,咪鲜胺(Prochloraz)作为推荐药剂,因长期单一使用已导致多地病原菌敏感性下降^[11],抗药性风险日益凸显,亟需开展病原鉴定与药剂筛选研究。

本研究基于重庆市 14 个区(县)采集的炭疽病样本,通过形态学观察、多基因(*ITS-ACT-GAPDH-Tub2-CAL*)系统发育分析明确病原菌种类,并筛选苯并咪唑类、烟酰胺类等 10 种作用机制差异化的杀菌剂,评估其对优势病原的抑制效果,以期为重庆地区核桃炭疽病的精准防控及抗药性管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2022年4月至2023年7月,在重庆市北碚区、城口县、巫溪县、巫山县、云阳县、奉节县、彭水县、黔江县、秀山县、南川区、綦江区、石柱县、涪陵区和丰都县14个核桃种植区开展调查,采集疑似核桃炭疽病的感病组织,包括叶片(近圆形褐色斑点)、枝条(凹陷梭形病斑)和果实(表面凹陷严重、具黑褐色病斑)共93份。记录采集时间、地点及症状特征后,将样本置于4℃冰箱保存备用。

10种供试原药均购自湖北康宝泰精细化工有限公司。除多菌灵用0.2 mg/L盐酸溶解外,其余原药均以丙酮溶解配置成10 mg/L母液,并以灭菌水稀释至不同质量浓度梯度(表1)。

表1 供试药剂信息

供试药剂	主要成分含量/%	分子式	类型	作用机制
啶酰菌胺	98.00	$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$	烟酰胺类	抑制呼吸作用
多菌灵	97.30	$C_9H_9N_3O_2$	苯并咪唑类	干扰有丝分裂,抑制细胞分裂
甲基硫菌灵	97.58	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	苯并咪唑类	干扰有丝分裂,抑制细胞分裂
苯醚甲环唑	95.00	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	三唑类	抑制细胞膜形成
丙硫菌唑	97.00	$C_{16}H_{22}ClN_3O$	三唑类	抑制细胞膜形成
戊唑醇	97.00	$C_{14}H_{15}Cl_2N_3OS$	三唑类	抑制细胞膜形成
肟菌酯	96.00	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	甲氧基丙烯酸酯类	抑制线粒体的呼吸作用
醚菌酯	97.00	$C_{18}H_{19}NO_4$	甲氧基丙烯酸酯类	抑制线粒体的呼吸作用
啞菌酯	96.00	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	甲氧基丙烯酸酯类	抑制线粒体的呼吸作用
吡唑醚菌酯	98.03	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	甲氧基丙烯酸酯类	抑制线粒体的呼吸作用

1.2 病原菌分离纯化与鉴定

1.2.1 病原菌的分离纯化

采用组织分离法^[12]进行病原菌分离。病样经流水冲洗后,切取病健交界处组织块(5 mm×5 mm),依次使用75%乙醇(15 s)和5% NaClO(1 min)表面消毒,然后用无菌水漂洗3次,晾干后接种于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基上,在25℃环境下培养3~7 d。采用菌丝尖端挑取法对菌落进行纯化,获得单一菌落。

1.2.2 致病性测定

参照柯赫氏法则,选取健康核桃叶片,使用70%乙醇表面消毒后,用无菌水冲洗,叶柄包裹湿润的灭菌脱脂棉,平铺在灭菌纱布上。接种部位刺伤后,覆盖5 mm PDA菌饼块,作为接种菌丝块,对照组接种无菌PDA块。所有样品在25℃下进行光暗交替培养(12 h/12 h)。接种7 d后,观察发病情况并拍照记录。

1.2.3 形态学鉴定

纯化菌株在PDA培养基上,置于25℃黑暗条件下培养5 d后,持续观察菌落形态(如颜色、质地、边缘特征和生长速率)及微观特征(如分生孢子形态、附着胞结构、产孢结构等),并拍照记录。

1.2.4 分子生物学鉴定

采用玻璃纸培养法获取分离物的菌丝,利用CTAB法提取DNA。以提取的菌株DNA为

模板,选择内源转录间隔区(Internal Transcribed Spacer, ITS)、钙调蛋白(Calmodulin, CAL)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase, GAPDH)、 β -微管蛋白(β -tubulin, Tub2)、肌动蛋白(Actin, ACT)作为目标基因,进行 PCR 扩增(表 2)。扩增产物经生工生物工程(上海)股份有限公司测序后,使用 NCBI BLAST 比对进行初步鉴定。下载模式菌株序列,并使用 MEGA 11.0 软件构建多基因(*ITS-ACT-GAPDH-Tub2-CAL*)串联系统发育树。单基因分析采用邻接法(NJ),多基因联合分析则采用最大似然法(ML, Bootstrap = 1 000)。

表 2 多基因系统发育分析所用引物及序列信息

基因	引物	序列(5'-3')	退火温度/℃	长度/bp	参考来源
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	55	650	[13]
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC			
CAL	CL1C	GAATTCAAGGAGGCCTTCTC	54	700	[14]
	CL2C	CTTCTGCATCATGAGCTGGAC			
GAPDH	GDF	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	62	250	[15]
	GDR	GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATGT			
Tub2	T1	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	55	750	[16]
	T2	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC			
ACT	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	55	300	[17]
	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT			

1.3 室内药剂筛选

采用菌丝生长速率法测定供试药剂对两种菌株的毒力。将供试杀菌剂溶解于丙酮中(多菌灵用 0.2 mol/L HCl 溶解),配制 10 mg/L 母液,再用灭菌水梯度稀释至 0.1~100 μ g/mL。将含药 PDA 培养基(9 mL PDA + 1 mL 药液)接种直径为 5 mm 的菌饼,在 25 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养 7 d。采用十字交叉法测量菌落直径,计算抑菌率。

抑菌率(%)=(溶剂对照组直径-处理组直径)/(溶剂对照组直径-5 mm) $\times$ 100%。

1.4 数据处理与统计学分析

根据生物统计学概率值表,将抑菌率转换为几率值并与浓度对数进行回归分析。使用 SPSS 27 和 GraphPad Prism 8 软件,以抑菌率的几率值为纵坐标,浓度的对数为横坐标,计算毒力回归方程($y=ax+b$)、相关系数(R)及抑制中浓度 EC₅₀ 值,用于评价杀菌剂的抑菌能力。

2 结果与分析

2.1 重庆市核桃炭疽病症状

田间调查发现,炭疽病可导致核桃新叶上出现病斑,初期病斑呈近圆形或不规则褐色,周围有淡黄色晕圈,病斑可沿叶脉扩展成长条状,严重时病斑连片,导致叶片发黄。保湿后,病斑表面可见灰白色菌丝和分生孢子团。老叶上的病斑多为近圆形,随着叶脉扩展或因叶脉阻碍呈现梭形,病斑边缘呈深褐色,中间部分为浅褐色干枯,易破裂,病斑中央有黑色点状结构,为炭疽菌的分生孢子盘(图 1a)。茎秆上的病斑初期为黑色竖线,逐渐扩大形成梭形凹陷,后期病斑扩展成片,导致枝条发黑萎缩,苞芽被侵染后可能发黑并掉落(图 1b)。果实上的病斑初期呈褐

色,后期转为黑褐色,病斑呈近圆形,中央下陷。一个果实上可出现多个病斑,病斑融合后可导致果实整体变黑腐烂。病害侵染青皮部位甚至可扩展至核仁内部,使果实失去经济价值(图 1c)。

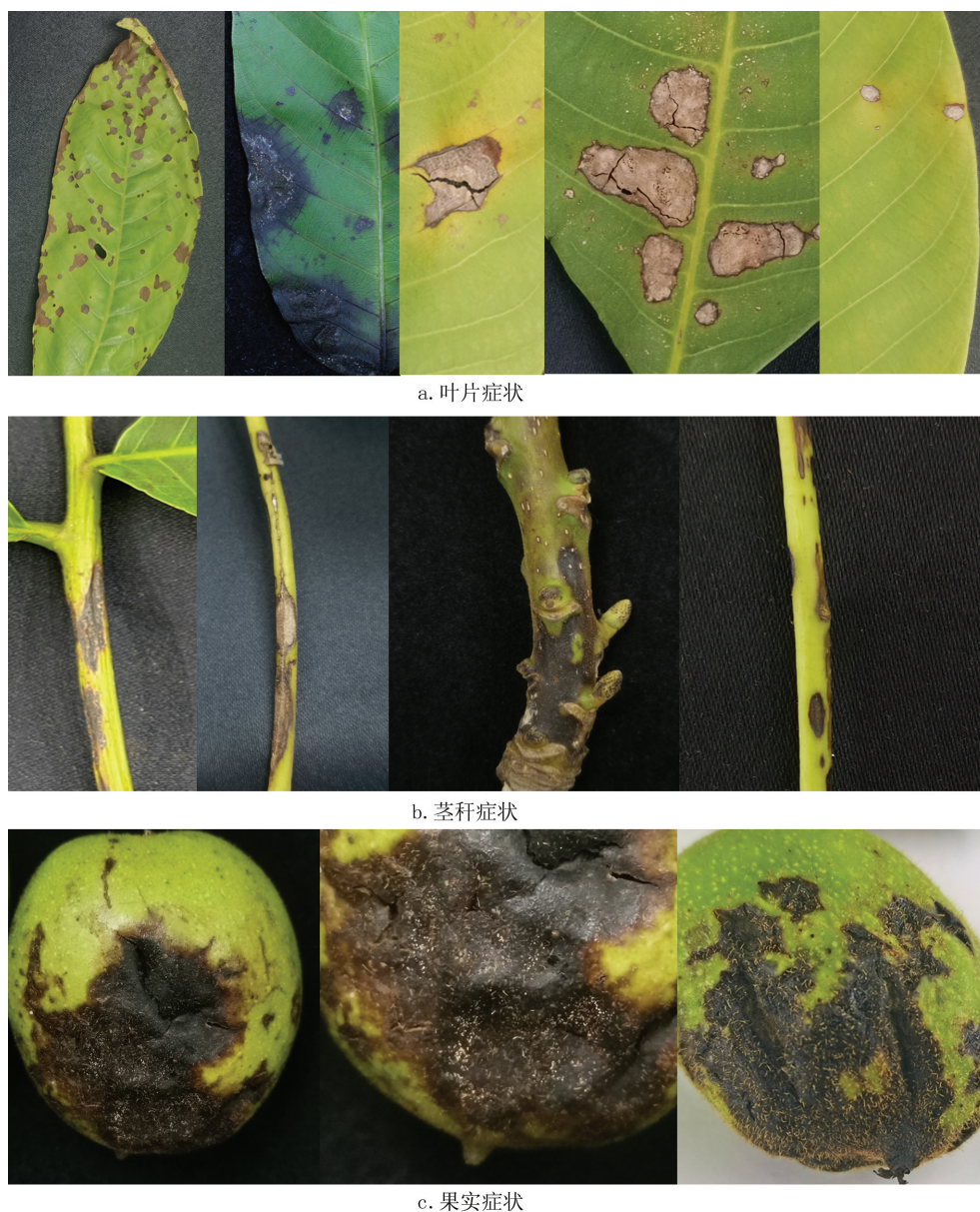


图 1 重庆市核桃炭疽病症状

2.2 病原菌的分离纯化结果

通过表面消毒、病健交界组织分离及 PDA 培养纯化,共获得 95 株病原分离物。根据培养性状的观察,发现有两种表型较为一致。第一种表型以重庆市北碚区天府镇叶片样品的分离物 BTZL1-4 为代表,共分离到 25 株,占比 26.32%;第二种表型以城口县高观镇果实样品的分离物 CGWF-6-10 为代表,共分离到 32 株,占比 33.68%。

2.3 致病性测定结果

菌株 BTZL1-4、CGWF-6-10 接种核桃叶片后,在伤口处形成中间褐色,边缘深褐色病斑,病斑处呈现轮纹状排列的粉色分生孢子,且菌株接种后接种叶颜色发黄(图 2)。经柯赫氏法则

验证,在病斑处分离到相应菌落形态的病原菌。

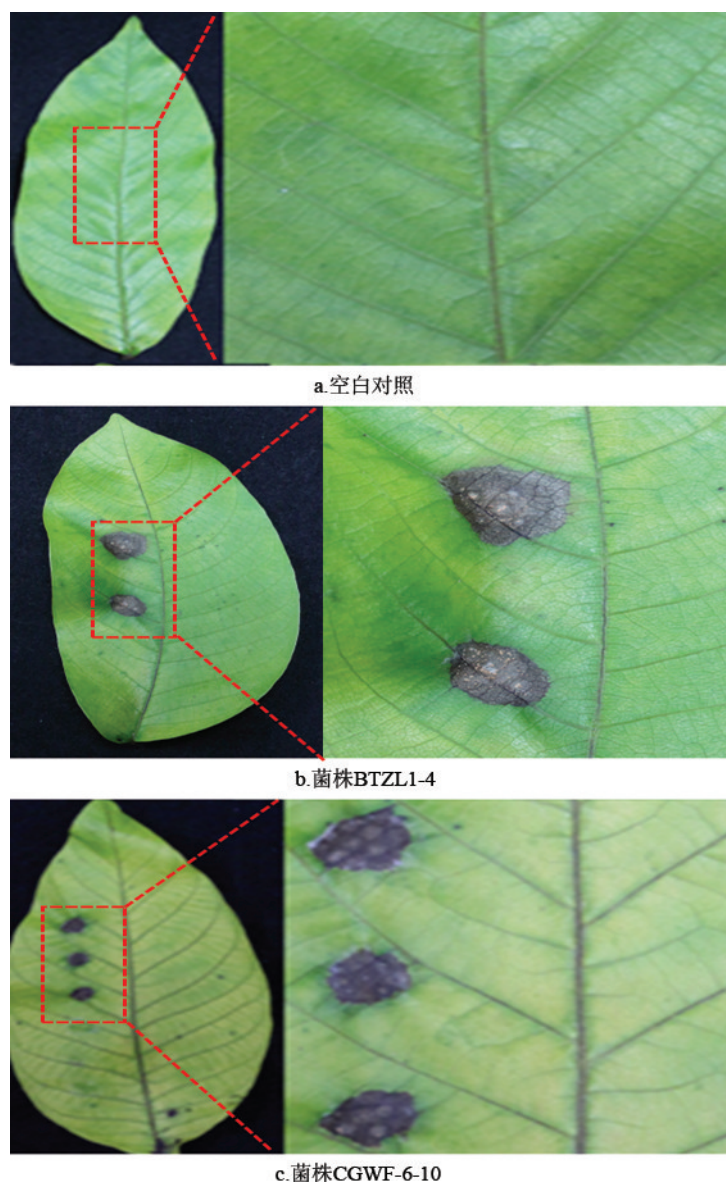
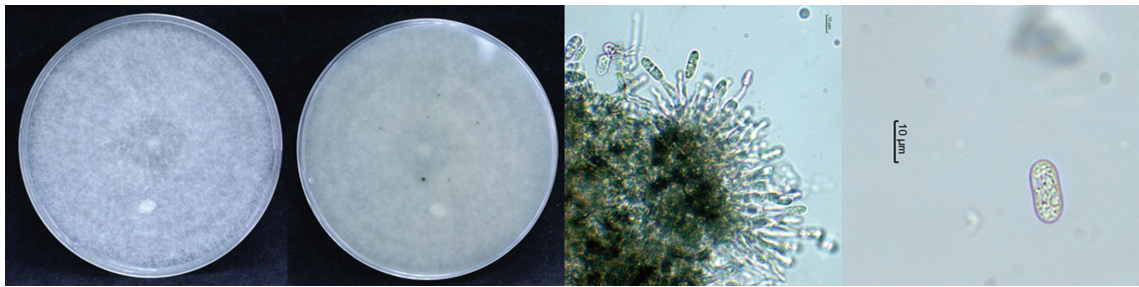


图2 菌株接种后核桃叶片症状

2.4 形态学鉴定结果

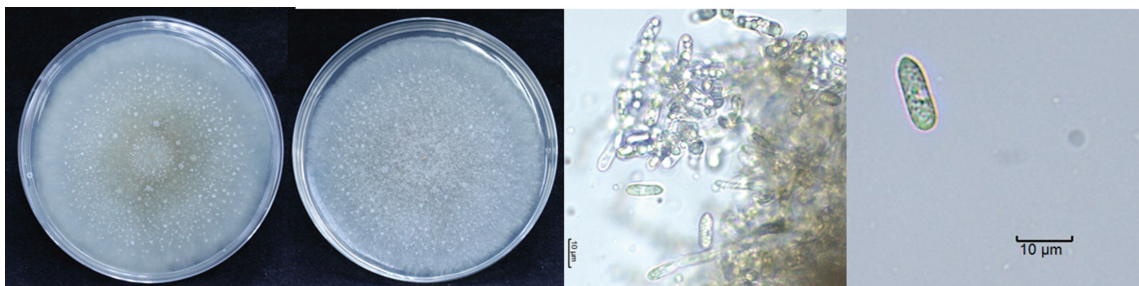
菌株 BTZL1-4 在 PDA 平板上培养时,菌落正面呈灰白色至淡褐色,从背面观察可见同心轮纹状结构,背面颜色较暗黄,后期色素沉着转为淡褐色至橄榄色。气生菌丝丰富,呈灰白色,致密且隆起,棉絮状,边缘不规则,生长速率较快,平均生长速率为 (12.79 ± 1.00) mm/d。培养 2 周后,菌落中央逐渐形成橙色孢子团,随后孢子团从基部开始硬化,最终转变为黑色菌核,并被气生菌丝覆盖,半埋于培养基中。营养菌丝透明,光滑且有分隔;分生孢子单胞,椭圆形,直,一端钝圆,另一端较扁平,无隔膜,具一个油球,大小为 $(12.5 \sim 15.0) \mu\text{m} \times (5.0 \sim 7.5) \mu\text{m}$,长宽比 $(L/W) = 2.4$ 。分生孢子梗呈弯曲的圆梯形,透明无色,长短不一。附着胞呈近圆形或不规则椭圆形,灰色至深灰色,边缘规则,芽管可从分生孢子的一端或两端伸出,透明无色,无隔(图 3)。



从左至右依次为菌落正面、菌落背面、分生孢子梗和分生孢子。

图3 菌株 BTZL1-4 的形态特征

菌株 CGWF-6-10 在 PDA 平板上培养时, 菌落正面呈灰白色, 正面和背面布满雪花状的小白点。气生菌丝丰富, 呈灰白色, 隆起且致密, 呈棉絮状, 边缘规则, 生长速率较慢, 平均生长速率为 (6.76 ± 2.14) mm/d。培养 7 d 后, 菌落中央出现橙色孢子团, 随后孢子团从基部开始硬化, 最终转变为黑色菌核, 且被气生菌丝覆盖, 半埋于培养基中。营养菌丝透明, 光滑且有分隔; 分生孢子单胞, 椭圆形, 直, 一端钝圆, 另一端锐尖, 无隔膜, 具一个油球, 大小为 $(13.7 \sim 17.5) \mu\text{m} \times (5.0 \sim 6.3) \mu\text{m}$, 长宽比 $(L/W) = 2.9$ 。分生孢子梗呈圆梯形, 上窄下宽, 透明无色。附着胞呈近圆形或不规则椭圆形, 灰色至深灰色, 边缘规则, 芽管可从分生孢子的一端或两端伸出, 透明无色, 无隔, 长短不一(图 4)。



从左至右依次为菌落正面、菌落背面、分生孢子梗和分生孢子。

图4 菌株 CGWF-6-10 的形态特征

2.5 分子生物学鉴定结果

对菌株 BTZL1-4 和 CGWF-6-10 分别进行 *ITS*、*ACT*、*CAL*、*GAPDH*、*Tub2* 基因的扩增和测序, BLAST 比对结果显示, 菌株 BTZL1-4 与胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*) 的序列一致率超过 99%, 而菌株 CGWF-6-10 与睡莲炭疽菌(*Colletotrichum nymphaeae*) 的序列一致率超过 99%。根据“*ITS-ACT-GAPDH-Tub2-CAL*”基因顺序进行拼接, 并使用 MEGA 11.0 软件构建系统发育树。结果表明, 菌株 BTZL1-4 与 *C. gloeosporioides* 聚类在同一支, 菌株 CGWF-6-10 与 *C. nymphaeae* 聚类在同一支(图 5)。

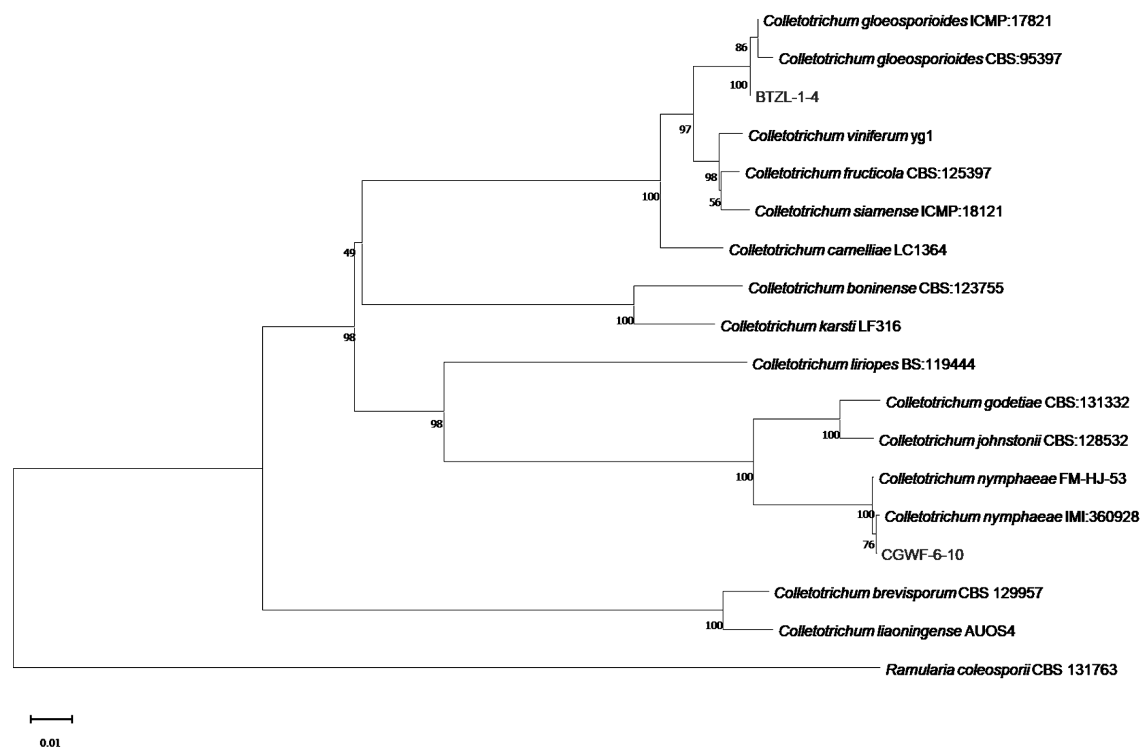


图 5 基于 ITS、ACT、GAPDH、Tub2 和 CAL 基因联合序列的多基因系统发育树

2.6 室内药剂筛选结果

筛选结果显示,胶孢炭疽菌和睡莲炭疽菌对啶酰菌胺、多菌灵、甲基硫菌灵、苯醚甲环唑、丙硫菌唑、戊唑醇、肟菌酯、醚菌酯、嘧菌酯和吡唑醚菌酯这 10 种杀菌剂的敏感程度有所不同。胶孢炭疽菌对苯并咪唑类杀菌剂多菌灵和甲基硫菌灵的敏感度较高,EC₅₀ 值分别为 0.056 μg/mL 和 1.564 μg/mL,而对甲氧基丙烯酸酯类的肟菌酯、醚菌酯和嘧菌酯则表现出抗性。睡莲炭疽菌对烟酰胺类杀菌剂啶酰菌胺和苯并咪唑类的多菌灵表现出较高的敏感性,EC₅₀ 值分别为 0.015 μg/mL 和 0.250 μg/mL,三唑类杀菌剂丙硫菌唑的抑菌效果也较好;然而,对甲氧基丙烯酸酯类的肟菌酯和醚菌酯表现出抗性(表 3)。

表 3 单药剂筛选结果

供试药剂	胶孢炭疽菌			睡莲炭疽菌		
	毒力回归方程	R ²	EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	毒力回归方程	R ²	EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)
啶酰菌胺	y=0.261 8x-1.119 7	0.783 6	125.292	y=0.0570 6x+0.068 8	0.987 8	0.015
多菌灵	y=0.632 2x+1.020 0	0.881 7	0.056	y=0.165 2x+0.100 3	0.929 6	0.250
甲基硫菌灵	y=1.503 9x-0.350 4	0.914 6	1.564	y=0.634 2x-0.636 7	0.812 4	8.101
苯醚甲环唑	y=0.849 1x-1.139 9	0.810 3	25.990	y=0.595 9x-0.445 4	0.736 4	8.485
丙硫菌唑	y=1.149 7x-1.390 2	0.841 9	11.290	y=0.559 9x-0.126 7	0.962 9	1.661
戊唑醇	y=1.089 7x-0.757 0	0.991 9	4.565	y=1.142 7x-0.785 9	0.823 9	7.297
肟菌酯	y=0.380 1x-1.221 5	0.900 4	3 707.000	y=0.310 6x-1.590 4	0.885 5	45 650.000
醚菌酯	y=0.595 7x-0.717 2	0.799 2	1 245.000	y=0.079 9x-0.510 8	0.92 2 6	1 215.000
嘧菌酯	y=0.209 9x-0.857 5	0.875 0	9 488.000	y=0.206 1x-0.179 8	0.779 2	7 157.000
吡唑醚菌酯	y=0.919 5x-0.683 2	0.978 5	6.315	y=0.725 9x-1.194 2	0.984 9	44.370

3 讨论与结论

本研究观察到的核桃炭疽病症状与国内外关于 *Colletotrichum* 属病原菌侵染特征的报道一致^[18-19]。其中,病斑上的粉红色分生孢子堆是炭疽病的典型标志,这一发现为田间快速诊断提供了直观依据。通过形态学观察与多基因系统发育分析,首次明确重庆市核桃炭疽病的主要病原为睡莲炭疽菌(*Colletotrichum nymphaeae*)和胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*),其中睡莲炭疽菌的分离率较高。该结果与既往报道中以 *C. gloeosporioides* 为主的病原构成存在细微差异^[9]。此外, *C. nymphaeae* 作为核桃炭疽病病原体,于2021年在意大利首次被报道^[20],并于2022年在我国首次被确认作为核桃炭疽病的病原^[21],这表明 *Colletotrichum nymphaeae* 已在我国西南地区建立了稳定的种群,可能与重庆湿润多雾的气候条件以及核桃品种的种植布局相关。

在病原鉴定方法上,本研究突破了单一 ITS 基因鉴定的局限性。由于炭疽菌属的 ITS 序列同源性较高且种间差异较小,本研究结合 ACT、CAL、GAPDH 和 Tub2 基因,构建了多基因系统发育树,从而显著提升了菌株区分的精度,使得鉴定结果更加准确。这一策略为复杂环境下炭疽菌的精准分类提供了可推广的技术框架,尤其适用于具有高度表型可塑性的植物病原菌鉴定。

化学防治试验结果显示,多菌灵(苯并咪唑类)对胶孢炭疽菌,啶酰菌胺(烟酰胺类)对睡莲炭疽菌表现出高效的抑制活性,EC₅₀值分别为 0.056 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.015 $\mu\text{g/mL}$,这与两类病原菌的遗传背景及药剂作用靶标的差异密切相关^[22]。值得注意的是,甲基硫菌灵(同为苯并咪唑类)在室内的抑菌效果弱于多菌灵,推测这一差异与甲基硫菌灵需在植物体内转化为多菌灵的特性有关。在实验室无菌条件下,缺乏植物代谢酶的作用,导致活性成分的转化受到限制。然而,甲基硫菌灵的环境稳定性较好(仅在强碱条件下分解)及其较强的内吸性使其在田间可能具有更持久的防控效果,这一推测需通过田间药效试验进一步验证^[23-24]。抗药性检测结果表明,胶孢炭疽菌和睡莲炭疽菌对甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂(如肟菌酯和醚菌酯)表现出显著抗性,且胶孢炭疽菌对甲基硫菌灵的抗性存在地域与年份差异^[25-28],这与重庆地区长期单一依赖此类药剂的用药历史密切相关。

尽管本研究为重庆核桃炭疽病的防控提供了重要依据,但由于样本量和菌株数量有限,可能未全面代表重庆市核桃炭疽病病原菌的多样性。此外,药剂筛选仅停留在室内抑菌水平,本研究未进行大规模的田间试验,因此实际防效可能受到气候、施药时机等因素的影响。药剂的田间效果和抗药性风险仍需进一步评估。未来研究可通过扩大样本量,更全面地了解核桃炭疽病病原菌的分布情况,并通过田间试验验证室内筛选药剂的防治效果。与此同时,深入研究病原菌的抗药性机制,将为新型杀菌剂的开发提供理论支持。此外,开发综合防治策略,减少对化学药剂的依赖,将有助于实现更加可持续的病害管理。

参考文献:

- [1] 怀婷婷,卫伟,刘春晓,等. 核桃产业和贸易现状及发展建议[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(18): 203-208.
- [2] 国家林业和草原局. 中国林业和草原统计年鉴—2021[M]. 北京: 中国林业出版社, 2022.
- [3] 李秀珍,彭秀,谭名照,等. 重庆市核桃产业发展现状及对策[J]. 湖北林业科技, 2014, 43(2): 56-58.
- [4] 罗帮州,涂勇,蒋朝瑛,等. 基于田间调查的凉山州核桃主要病害分析及综合防治[J]. 安徽农业科学, 2019,

- 47(20): 162-164.
- [5] 李爱霞,刘嘉君. 邢台核桃病虫害种类及发生规律调查[J]. 河北果树, 2023(3): 45-47.
- [6] 王博. 新疆野核桃自然保护区野核桃病害的分布特征[D]. 伊宁: 伊犁师范大学, 2023.
- [7] 张琴,康明丽,赵茹,等. 青皮核桃采后腐烂病原菌分离与鉴定[J]. 北方园艺, 2024(4): 74-80.
- [8] 张知晓,季梅,户连荣,等. 云南省核桃果实病害调查及真菌病原形态鉴定[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(20): 91-96.
- [9] WANG Q H, FAN K, LI D W, et al. Identification, Virulence and Fungicide Sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* S.S. Responsible for Walnut Anthracnose Disease in China[J]. Plant Disease, 2020, 104(5): 1358-1368.
- [10] 赵玉美. 云南核桃枝干病害病原真菌的鉴定及多样性研究[D]. 昆明: 西南林业大学, 2018.
- [11] 丁文轩,李学强,潘呈祥,等. 核桃炭疽病防治的药剂筛选[J]. 北方园艺, 2021(2): 30-36.
- [12] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [13] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and Direct Sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322.
- [14] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* Species Complex[J]. Studies in Mycology, 2012, 73: 115-180.
- [15] TEMPLETON A R. Human Origins and Analysis of Mitochondrial DNA Sequences[J]. Science, 1992, 255(5045): 737.
- [16] O'DONNELL K, KISTLER H C, CIGELNIK E, et al. Multiple Evolutionary Origins of the Fungus Causing Panama Disease of Banana: Concordant Evidence from Nuclear and Mitochondrial Gene Genealogies[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(5): 2044-2049.
- [17] CARBONE I, KOHN L M. A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes[J]. Mycologia, 1999, 91(3): 553-556.
- [18] CANNON P F, DAMM U, JOHNSTON P R, et al. *Colletotrichum* - Current Status and Future Directions [J]. Studies in Mycology, 2012, 73: 181-213.
- [19] 黄雄,王琳莹,肖千文,等. 核桃炭疽病病原鉴定及抑菌药剂筛选[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(12): 41-48.
- [20] LAURA L, GALLI M, GARAGUSO I, et al. First report of *Colletotrichum fioriniae* and *C. nymphaeae* as Causal Agents of Anthracnose on Walnut in Italy[J]. Plant Disease, 2021, 105(7): e1002974.
- [21] WANG Y X, XU X W, CAI F, et al. First Report of *Colletotrichum nymphaeae* Causing Walnut Anthracnose in China[J]. Plant Disease, 2022, 106(11): 2991.
- [22] 黄焱焱. 肥料及药剂对核桃炭疽病的防治研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- [23] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 76-81.
- [24] 颜范勇,刘冬青,司马利锋,等. 新型烟酰胺类杀菌剂—啮酰菌胺[J]. 农药, 2008, 47(2): 132-135.
- [25] 陈聃,时浩杰,吴慧明,等. 浙江省葡萄炭疽菌对甲基硫菌灵和戊唑醇的抗药性研究[J]. 果树学报, 2013, 30(4): 665-668.
- [26] 蒲金基,张贺,杨石有,等. 芒果炭疽病菌对甲基硫菌灵的敏感性测定[J]. 热带作物学报, 2014, 35(12): 2450-2454.
- [27] 王美玉,冀志蕊,王娜,等. 苹果炭疽叶枯病菌对3种杀菌剂的敏感性分析[J]. 果树学报, 2018, 35(4): 458-468.
- [28] 许媛,肖婷,褚妹频,等. 江苏省句容市葡萄炭疽病菌多样性及对苯并咪唑类杀菌剂的抗药性分析[J]. 南京农业大学学报, 2022, 45(1): 78-85.