

西藏墨脱枇杷新拟盘多毛孢叶斑病原菌的鉴定及拮抗细菌的防病效果

甘 林¹, 兰成忠¹, 张雅玲², 游 泳¹, 何玉仙^{1*}, 杨秀娟^{1*}

(¹福建省农业科学院植物保护研究所·福建省作物有害生物监测与治理重点实验室, 福州 350013;

²福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013)

摘 要:【目的】在西藏墨脱地区, 枇杷叶斑病是枇杷生产上的主要病害, 因此有必要明确该地区枇杷叶斑病原菌的种类及其拮抗细菌对病害的防治效果。【方法】2023—2024年从该地区的7个枇杷种植区采集病叶, 利用病组织分离法分离菌株, 通过致病力测定(柯赫氏法则)、形态学特征观察和多位点序列分析(*rDNA-ITS*、*mtSSU*、*TUB*和*TEF-1α*基因)对病原菌进行鉴定, 采用平板对峙法检测拮抗细菌的抑菌活性, 利用喷雾法和浸液法分别测定拮抗细菌对枇杷叶斑病及贮存期果实病害的防治效果。【结果】从枇杷病样中分离获得的22株菌株, 经鉴定为新拟盘多毛孢菌 *Neopestalotiopsis clavispora*、*N. eucalypticola*、*N. formicarum*和 *N. cubana*, 菌株出现频率分别为81.82%、4.55%、4.55%和9.10%。平板对峙结果表明5株供试拮抗细菌对病菌 *N. clavispora* 均具有较好的拮抗活性, 抑菌带宽度介于7.33~14.33 mm。其中, 拮抗细菌S8、T122F和NJ-1等的20倍稀释发酵液处理对枇杷新拟盘多毛孢叶斑病的防效分别为81.25%、66.52%和63.84%, 对枇杷果斑病防效分别为48.24%、39.68%和49.31%。【结论】新拟盘多毛孢菌 *N. clavispora*、*N. eucalypticola*、*N. formicarum*和 *N. cubana* 引起的枇杷叶斑病在西藏地区为首次报道, 其中 *N. clavispora* 为优势病原菌。拮抗细菌S8、T122F和NJ-1对枇杷新拟盘多毛孢叶斑病表现出较大的生防潜力, 对贮存期枇杷果实具有一定的保鲜效果, 可为当地枇杷叶斑病的绿色防控提供重要参考。

关键词: 枇杷; 叶斑病; 病原鉴定; 拮抗细菌; 防病效果

中图分类号: S667.3; S436.67

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2026)01-0136-11

Identification of the pathogens of loquat leaf spot caused by *Neopestalotiopsis* sp. in Medog and the effect of antagonistic bacteria on disease

GAN Lin¹, LAN Chengzhong¹, ZHANG Yaling², YOU Yong¹, HE Yuxian^{1*}, YANG Xiujuan^{1*}

(¹Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests, Fuzhou 350013, Fujian, China; ²Institute of Fruit, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, Fujian, China)

Abstract: 【Objective】The Medog areas of Xizang is located in the southwest of China, surrounded by mountains. The unique ecological and climatic characteristics are suitable for the development of the loquat industry. However, with the expansion of the loquat cultivation area, loquat leaf spot disease frequently occurs in this region, and has become a major disease in local loquat production. Loquat leaf spot disease often causes leaves to deform, scorch and wither, directly threatening plant health and affecting the yield and quality. However, the pathogen causing loquat leaf spot disease in Medog areas of Xizang is unclear, and there is a lack of research on the occurrence regularity of the disease and effective biological control techniques. Therefore, this study aimed to isolate and identify the pathogen species that cause loquat leaf spot disease in the Medog areas of Xizang, and clarify the control effect of an-

收稿日期: 2025-06-12 接受日期: 2025-09-26

基金项目: 福建省农业科学院横向项目(FAACHX2025-1); 福建省农业科学院“5511”协同创新工程(XTCXGC2021011)

作者简介: 甘林, 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事植物病害生物防治研究。E-mail: millergan@yeah.net

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: yxjzb@126.com; E-mail: 295742868@qq.com

tagonistic bacteria on the disease. The study was expected to provide a better acknowledge of the disease and scientific basis for its prevention and control. **【Methods】** The fresh leaves with the symptoms were collected from 7 plantations (including Dexing village, Madi village, Xirang village, Disha village, Beibeng village, Hezha village and Miri village) in 2023 and 2024. Leaf spot tissues (approximately 5 mm² in size) were excised from the margins of lesions with typical symptoms, washed with sterile water, the surface was sterilized in 75% ethanol for 45 seconds, and then washed three times with sterile water again, dried on sterilized filter papers, and finally placed on PDA medium containing rifampin. The isolates were incubated at 25 °C in dark for 12 days, and then purified with single spore isolation method. The pathogens were identified through morphological observation, multi-site sequence analysis and pathogenicity determination (Koch's postulates). The morphology of pathogen was preliminarily identified through microscopic observation of the colony, hyphae and spores. To further identify the pathogens, the sequences of genes [rDNA internal transcribed spacer (*rDNA-ITS*), *mtSSU*, β -tubulin (*TUB*) and translation elongation factor 1- α (*TEF-1 α*)] were amplified with primers TIS1/TIS4, NMS1/NMS2, T1/T22 and EF1/EF2, respectively. PCR products were sequenced for phylogenetic analysis by the blast comparison in NCBI and constructed a molecular phylogenetic tree with the neighboring method by MEGA 7.0. The pathogenicity detection was carried out using the method of needle puncture inoculation. The surface of loquat leaves was washed with sterilized water, wounded by sterilized needles, and then inoculated with pathogen spore suspension at the concentration of 1×10^5 spores $\cdot$ mL⁻¹. After inoculation, the treated leaves were incubated at 25 °C with 85% relative humidity for 7 days. The pathogen was reisolated from the inoculated sites. In addition, the inhibition width was measured by the plate confrontation to determine the activity of antagonistic bacteria to pathogens, and the control effect of antagonistic bacteria on loquat leaf spot and fruit disease was measured with the spray and immersion method, respectively. **【Results】** A total of 22 strains were isolated from the leaf spot tissue. The result of pathogenicity test showed that all the isolated strains could induce spot on the leaves, and the symptoms were similar to those of the disease in the field. The pathogens isolated from the infected lesions after inoculation were identical with the inoculated strain. According to the morphological observation (colony, mycelium and conidium), multiple gene analyses and molecular phylogenetic tree constructed by multi-gene association analysis, the strains were identified as 4 species, which were *Neopestalotiopsis clavispora* (18 strains), *N. eucalypticola* (1 strain), *N. formicarum* (1 strain) and *N. cubana* (2 strains). The occurrence frequencies of the strains were 81.82%, 4.55%, 4.55% and 9.10%, respectively. It was found that the 5 tested strains of antagonistic bacteria had good antagonistic activity against *N. clavispora* with plate confrontation. The inhibition widths of the tested strains were 7.33–14.33 mm, among which the strain NJ-4 displayed the strongest effect. *In vitro* study showed that the control efficiency of 20-fold dilution of 3 antagonistic bacteria fermentation broths (S8, T122F and NJ-1) on the disease was 81.25%, 66.52% and 63.84%, respectively, and the control efficiency on fruit spot were 48.24%, 39.68% and 49.31%, respectively. **【Conclusion】** Loquat leaf spot disease occurs seriously in the Medog areas of Xizang. In this study, there were 4 species of pathogens (including *N. clavispora*, *N. eucalypticola*, *N. formicarum* and *N. cubana*) isolated from the leaf spot tissue. This is the first report on the identification of pathogens associated with loquat leaf spot disease in Xizang. Among them, *N. clavispora* was the dominant species, accounting for 81.82% of *Neopestalotiopsis* strains. All the isolated strains showed pathogenicity. Our study also indicated that the antagonistic bacteria (S8, T122F and NJ-1) had good biocontrol potential against loquat leaf spot disease, which showed a certain preser-

vative effect on fruit during storage. The results could provide important references for the green prevention and control on loquat leaf spot disease in Medog areas of Xizang.

Key words: Loquat; Leaf spot disease; Pathogen identification; Antagonistic bacteria; Prevention effect

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)起源于中国,是我国南方部分地区的重要特色果树,规模种植经济效益高。随着我国枇杷栽培面积和范围的不断扩大,枇杷病害发生日益严重,尤其是叶斑病的发生常导致树势早衰、果实产量和品质下降。2023—2024年西藏墨脱枇杷种植区的调查显示,枇杷叶斑病普遍发生,局部地区危害较重,严重时叶片畸形、呈焦枯状、早衰易脱落,对当地枇杷产业发展造成一定的影响。据报道,引起枇杷叶斑病的病害种类较多,包括圆斑病、灰斑病、轮纹病、炭疽病、叶尖焦枯病、斑点病等^[1-2],明确西藏墨脱地区枇杷叶斑病病害种类及致病菌,对该病害的合理有效防控具有重要的指导意义。1999年,Perelló等^[3]在阿根廷鉴定枇杷叶斑病致病菌为*Pestalotiopsis guepinii*;Chen等^[4]2013年和Xiao等^[5]2016年分别在安徽省泾县、黄山市鉴定枇杷叶斑病致病菌为*P. theae*和*P. microspora*;2014年,张斌等^[2]认为引起贵阳地区枇杷叶斑病的致病菌有*P. funerea*、*Phyllosticta eriobotryae*、*Glomerella cingulata*和*Ascochyta eriobotryae*;而张丹华等^[6]对重庆地区枇杷叶斑病病样进行病原菌分离,鉴定病原菌为*Alternaria alternata*,这表明不同地区的枇杷叶斑病病原菌存在差异。

化学防治是当前防治枇杷叶斑病的主要措施,具有见效快、成本低等优点。已有研究表明,在田间枇杷新梢萌发期和展叶期喷施50%多菌灵·施保功可湿性粉剂 $1.00\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、68%多菌灵·代森锰锌可湿性粉剂 $2.50\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 对枇杷叶斑病防效分别为93.27%和80.34%^[7],喷施25%咪鲜胺乳油833倍液对枇杷叶斑病防效可达83.80%^[8]。室内毒力测定发现枇杷叶斑病菌对戊唑醇、丙森锌和腈菌唑敏感^[9]。然而,长期大量施用化学农药易导致农药残留及环境污染,拮抗细菌因对病原菌特异性强且具环境安全性,受到了广泛关注,以菌治病的生物防治技术在植物病害防治中发挥重要作用^[10-12]。目前,国内利用芽孢杆菌防治植物病害的应用研究取得显著成效,已成功开发并投入生产的商品制剂有亚宝、百抗、麦丰宁、纹曲宁等^[13]。生物防治是保障植物病害可持续防治、产业健康发展、农产品生产质量安全的

重要手段,利用生防菌防治枇杷病害,将成为枇杷绿色产业发展中的新兴领域。然而,有关枇杷病害的生物防治研究相关报道较少。

西藏墨脱地区位于我国西南部,与印度比邻,四面环山,独特的生态气候环境条件非常适宜枇杷绿色产业发展。由于当地政府在枇杷生产过程中不提倡使用化学农药,急需一套有效的枇杷叶斑病非化学药剂防控措施。目前,西藏墨脱地区枇杷叶斑病的病原尚不明确,病害发生规律及其生物防治技术相关研究缺乏。笔者通过对西藏墨脱地区的枇杷叶斑病病样进行病原菌分离和鉴定,并采用平板对峙法测定拮抗细菌对病原菌的抑菌活性,研究其发酵液对病害的防控效果,旨在为该地区枇杷叶斑病安全有效的绿色防控提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 分别于2023年7月、2023年9月及2024年6月从西藏墨脱县德兴村、玛迪村、西让村、地杀村、背崩村、荷扎村、米日村7个枇杷种植区共采集100份枇杷叶斑病病样。

枇杷叶片采自福建省农业科学院果树研究所国家果树种质福州枇杷圃,选取健康、成熟的新叶;枇杷果实采自福清一都生态枇杷园,选取健康的套袋果。试验所用叶片和果实均未施用任何杀菌剂。

1.1.2 引物 TIS1/TIS4、NMS1/NMS2、T1/T22和EF1/EF2引物分别用于扩增真菌DNA核糖体内转录间隔区(internal transcribed spaces, *ITS*)、线粒体中核糖体小亚基(*mtSSU*)、微管蛋白(β -tubulin, *TUB*)和翻译伸长因子(translation elongation factor 1 α , *TEF-1 α*)。引物信息见表1,引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.1.3 拮抗细菌 NJ-1和S8(解淀粉芽孢杆菌*Bacillus amyloliquefaciens*)、NJ-4和S1(贝莱斯芽孢杆菌*Bacillus velezensis*)、T122F(枯草芽孢杆菌*Bacillus subtilis*)由福建省农业科学院植物保护研究所提供。

1.1.4 杀菌剂 $450\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 咪鲜胺(prochloraz)水乳剂,山东邹平农药有限公司;10%的苯醚甲环唑(di-

表 1 分子鉴定引物信息

Table 1 Information of primers for molecular identification

基因名称 Gene name	引物名称 Primers name	序列(5'-3') Sequences (5'-3')	退火温度 Tm/℃	片段长度 Fragment length/bp	参考文献 Reference
<i>rDNA-ITS</i>	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	55	500	[14-16]
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC			
<i>mtSSU</i>	NMS1	CAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATG	50	550	[17]
	NMS2	GCAGATCATCGAATTAAATAACAT			
<i>TUB</i>	T1	ATGCGTGAGATTGTAAGT	52	750	[18]
	T22	GACCGAAAACGAAGTTGTC			
<i>TEF-1α</i>	EF1	ATGGGTAAGGARGACAAGAC	53	400	[19-20]
	EF2	GGARGTACCAGTSATCATGTT			

Note: R=A/G; S=G/C。

feniconazole)可湿性粉剂,先正达南通作物保护有限公司。

1.1.5 培养基 PDA 培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、水 1000 mL,pH 自然;LB 液体培养基:胰蛋白胨 10 g、酵母提取物 5 g、氯化钠 10 g、水 1000 mL、pH=7.0。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离纯化 采用常规组织分离法从具有典型症状的病叶上分离病原菌,在叶片病健交界处剪取大小约为 5 mm 的组织块,用无菌水清洗 3 次,75%乙醇表面消毒 45 s,再用无菌水洗涤 3 次后转移到含利福平的 PDA 培养基,25℃黑暗培养 12 d,对分离的病原菌进行单孢分离纯化^[21],于 4℃冰箱保存备用。

1.2.2 病原菌致病性检测 将分离纯化的病原菌转移至 PDA 培养基,25℃黑暗培养 12 d 后,用无菌水冲洗孢子,配制成浓度为 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 的孢子悬浮液,病原菌致病性检测参考文献[6]的方法。将采集的新鲜枇杷叶片经无菌水清洗晾干后,使用灭菌接种针在叶脉两侧各刺 7~8 个小孔,每个针刺小孔滴加 20 μL 孢子悬浮液覆盖,每个菌株处理 2 枚叶片,以无菌水作为对照。接种后的叶片放置于铺有 2 层灭菌湿滤纸的塑料保鲜盒,于 25℃光照/黑暗 12 h 交替的培养箱中培养并观察。待叶片发病后,从发病部位的病健交界处重新分离病原菌,与原接种菌株进行比较,若相同则符合柯赫氏法则。

1.2.3 病原菌鉴定 (1)形态学鉴定。将分离纯化的菌株接种至 PDA 培养基,于 25℃培养,分别在培养 5 d 和 12 d 时观察并记录菌落形态,在显微镜(型号:B203,重庆奥特光学仪器有限责任公司)下观察菌丝、分生孢子形态,并测量 50 个分生孢子的大

小。依据《真菌鉴定手册》^[22]中的病原菌形态描述和 Maharachchikumbura 等^[23]提出的新分类描述对其进行形态学鉴定。

(2)多基因联合鉴定。采用 CTAB 法提取 22 个供试菌株的基因组 DNA,以此为模板,使用表 1 引物分别对其 *rDNA-ITS*、*mtSSU*、*TUB* 和 *TEF-1α* 基因片段进行扩增。PCR 反应体系为 25 μL:2× LA Premix Taq 12.5 μL,10 μmol·L⁻¹ 的上下游引物各 0.75 μL,DNA 模板 1.5 μL、灭菌超纯水(ddH₂O)9.5 μL。反应程序:95℃预变性 3 min;95℃变性 30 s,适温退火 45 s,72℃延伸 90 s,35 个循环;72℃延伸 10 min。以 ddH₂O 作为阴性对照。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序,将测序结果在 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)上使用 BLAST 进行序列比对,下载相似性高的序列及其模式菌株序列。使用 MEGA7.0 软件,将模式菌株及测序菌株序列按照最大似然法(ML)和 neighbor-joining 法构建系统发育树,bootstrap 设定为 1000。

1.2.4 拮抗细菌与病菌的对峙培养 用直径 5 mm 打孔器在活化的病菌 DT-5、MA-3、X-2 菌落边缘打取菌丝块转接至另一个平板中央,在距平板中央 20 mm 处用接种环点接经 LB 液体培养基活化的拮抗细菌菌株,以仅接种病菌处理作为对照。试验设置 5 个拮抗细菌(NJ-1、NJ-4、S8、S1、T122F)和 3 个病菌,共计 15 个处理,每处理 3 次重复。28℃培养 7 d 后,测量拮抗菌株与病菌之间的抑菌带宽度,根据抑菌带宽度评判其抑菌活性。

1.2.5 拮抗细菌对枇杷叶斑病的防治试验 将 5 个拮抗细菌经 LB 液体培养基活化培养后,按 5% 接种量转接至 LB 液体培养基中,28℃、180 r·min⁻¹ 振荡

培养 24 h, 获得菌体浓度为 $10^6 \sim 10^7$ CFU · mL⁻¹ 发酵液备用。试验设置: 5 个拮抗细菌 LB 培养液 20 倍稀释液处理; 450 g · L⁻¹ 咪鲜胺水剂 1000 倍液 (商品推荐浓度) 和 10% 苯醚甲环唑 1000 倍液 (商品推荐浓度) 2 个药剂对照, 以仅接种病菌作为阳性对照; 以空白 PDA 培养基作为阴性对照。每个处理 2 枚叶片, 在叶片主脉两侧各针刺 4 个小孔, 3 次重复。将各处理菌液和对照药液均匀喷洒在叶片上, 以叶面刚好溢水为准。经 4 h 晾干后, 采用叶片贴菌丝块接种法^[24], 即在培养 12 d 的病菌 DT-5 菌落平板边缘, 用打孔器打取直径 5 mm 菌饼, 各针刺孔接种 1 个菌饼, 菌丝面贴于叶片正面伤口处, 接种后的叶片平放于铺有 2 层灭菌湿滤纸的塑料保鲜盒。25 °C 光照/黑暗 12 h 交替培养 15 d 后, 测量接种点病斑直径, 计算病斑防治效果 (公式 1)。

防治效果/% = [(对照平均病斑直径 - 处理平均病斑直径) / 对照平均病斑直径] × 100。 (1)

1.2.6 拮抗细菌对枇杷果斑病的防治试验 在 1.2.5 基础上, 试验设置: 5 个拮抗细菌 LB 培养液 20 倍稀释液处理; 450 g · L⁻¹ 咪鲜胺水剂 1000 倍液和 1500 倍液 (商品推荐浓度) 2 个药剂对照, 以仅喷施病菌作为阳性对照和仅喷施无菌水作为阴性对照。每个处理 12 个果实, 3 次重复。将果实浸泡于各处理菌液或药液 30 s 后取出, 24 h 晾干后, 在果实表面均匀喷施浓度为 1×10^5 个 · mL⁻¹ 的病菌 DT-5 孢子悬浮液, 喷液量约为 0.2 mL。经 6 h 晾干后, 将各处理的果实平放于塑料保鲜盒。23~25 °C 室温下存放 10 d 后, 调查果实发病情况。依据果实病斑面积进行分级, 计算病情指数 (公式 2) 和防治效果 (公式 3)。病情分级标准参考文献^[25], 并略加修改, 0 级: 果实无

病斑; 1 级: 病斑面积占果实面积的 5% 或以下; 3 级: 病斑面积占果实面积的 >5%~10%; 5 级: 病斑面积占果实面积 >10%~30%; 7 级: 病斑面积占果实面积 >30%~50%; 9 级: 病斑面积占果实面积的 50% 以上。

病情指数 = Σ (病级数 × 该病级果数) / (最大病级数 × 总果数) × 100; (2)

防治效果/% = [(对照病情指数 - 处理病情指数) / 对照病情指数] × 100。 (3)

1.3 数据统计与分析

使用 Microsoft Excel 2007 和 DPS V7.05 软件对试验数据进行统计分析, 采用 Duncan's 新复极差法分析不同处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 枇杷叶斑病病害症状

田间病症观察发现, 该病害初期在叶片上形成淡褐色小斑, 后逐渐扩展为圆形或不规则形褐色斑, 边缘呈淡棕色或暗褐色。病斑可从叶尖、叶缘扩展, 后期病斑相连成大病斑, 中部灰白色, 表面散生小黑点, 为病原菌的分生孢子盘, 病斑干燥易破裂 (图 1), 严重时叶片畸形, 呈大片焦枯状, 叶片易脱落, 影响树势和光合作用。

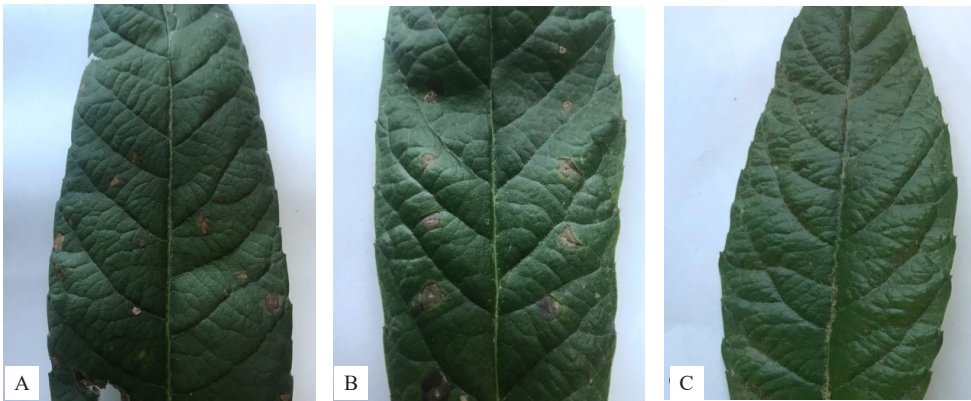
2.2 病原菌致病性测定

从不同种植区果园的发病植株叶片上共分离纯化出 22 株病原菌, 将其孢子悬浮液接种于健康叶片。试验表明接种 12 d 后, 接种菌株均表现出致病性, 接种点出现圆形或不规则形近褐色病斑, 发病症状与田间早期自然发病症状相似, 以菌株 DT-5 接种 10 d 后的发病症状为例 (图 2-A~B), 而对照叶片未见任何症状 (图 2-C)。从回接的发病叶片病斑上可



图 1 枇杷叶斑病田间症状

Fig. 1 Symptoms of loquat leaf spot disease in the field



A. 自然感病叶片症状;B. 人工接种叶片症状;C. 无菌水对照。
A. Symptoms on natural infected leaf; B. Symptoms on artificial inoculated leaf; C. Sterile water control.

图2 菌株DT-5接种枇杷叶片10 d后的症状

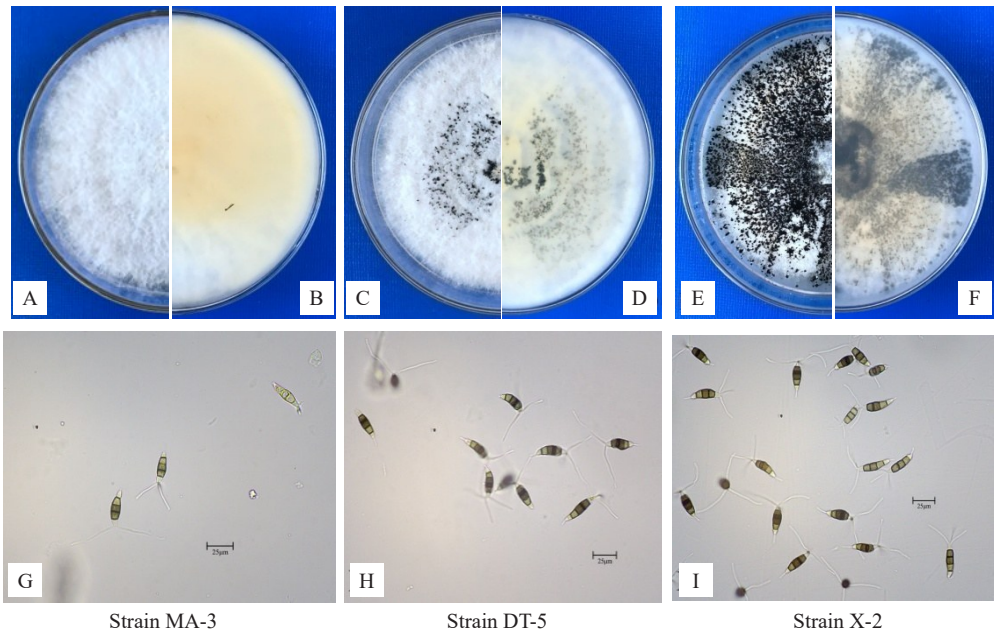
Fig. 2 Symptoms observed in the loquat leaves after inoculation with strain DT-5 for 10 days

再次分离到接种病菌,表明分离的菌株均为枇杷叶斑病的致病菌。

2.3 病原菌菌落及分生孢子形态特征

菌株在PDA平板上于25℃黑暗培养5 d,菌落形态近圆形,直径可达70 mm,正面为棉白色,气生菌丝发达,丛生呈絮状或绒毛状,菌丝表面层状起伏,边缘整齐,菌落背面为淡草黄色;培养12 d后,有的菌株表面出现黑色小粒点,即为分生孢子盘(图3-A~F)。菌丝无色、无隔,约2 μm宽;分生孢子呈梭形、纺锤形,直或稍弯曲,大小为(17.36~29.76) μm × (4.96~8.68) μm(n=50);有4个分隔,隔膜处黑色素沉积明显,有5个细胞,中间3个细胞黄褐色或暗褐色,两端细胞(顶孢和尾孢)小,略呈三角形;顶孢透明,尾孢浅白色,孢子顶端着生附属丝2~3根,丝状或渐细,弯曲,长14.88~37.20 μm,尾孢基部着生一根附属丝,管状,位于细胞中轴,长2.48~8.68 μm(图3-G~I)。根据菌落形态和分生孢子形态特征,初步将分离获得的菌株鉴定为新拟盘多毛孢属

形、纺锤形,直或稍弯曲,大小为(17.36~29.76) μm × (4.96~8.68) μm(n=50);有4个分隔,隔膜处黑色素沉积明显,有5个细胞,中间3个细胞黄褐色或暗褐色,两端细胞(顶孢和尾孢)小,略呈三角形;顶孢透明,尾孢浅白色,孢子顶端着生附属丝2~3根,丝状或渐细,弯曲,长14.88~37.20 μm,尾孢基部着生一根附属丝,管状,位于细胞中轴,长2.48~8.68 μm(图3-G~I)。根据菌落形态和分生孢子形态特征,初步将分离获得的菌株鉴定为新拟盘多毛孢属



Strain MA-3 Strain DT-5 Strain X-2

A~F. 菌落形态;G~I. 分生孢子。

A-F. Colony morphology; G-I. Conidia.

图3 病原菌菌落和分生孢子形态特征

Fig. 3 Morphological characteristics of pathogenic fungus colonies and their conidia

Neopestalotiopsis sp.。

2.4 病原菌多位点序列分析及其分子鉴定结果

对从枇杷叶斑病样本中分离的22株菌株,分别对其 *rDNA-ITS*、*mtSSU*、*TUB* 和 *TEF-1α* 基因进行PCR扩增、测序,获得长度分别为514、432、755和570 bp的目的基因序列,与GenBank中相应基因序列(No.PQ345466、No.EU119118、No.OQ168328和No.CP068086)的相似性分别为97.66%~100.00%、97.87%~100.00%、97.89%~99.98%和98.23%~99.97%。以番茄早疫病菌 *Alternariasolani* 作为外群,按照 *rDNA-ITS*、*TUB*、*mtSSU*、*TEF-1α* 排序构建多基因系统发育树。结果表明,菌株Y4-4与参考菌株 *N. cubana* 的进化关系较近,聚为一个独立的进化支;P-2与参考菌株 *N. formicarum*、P-1与 *N. eucalypticola*、X-2与 *N. clavispورا* 也分别聚为一个独立的进化支,各个种之间的区分度明显。此外,采用相同的方法分析其余18个菌株的鉴定结果(图4)。由此确定了西藏墨脱地区枇杷叶斑病病原为新拟盘多毛

孢菌属中的4个种,分别为 *N. clavispورا*(棒状新拟盘多毛孢)、*N. eucalypticola*、*N. formicarum* 和 *N. cubana*(古巴新拟盘多毛孢),其出现频率分别为81.82%、4.55%、4.55%和9.10%。其中来自西让村(X-2、X-6、X-7)、德兴村(YL2-2、YL-4、Y1-1、Y4-2、Y7-1-2、YL3、DT-2、DT-4、DT-5)、地东村(D2-2)、玛迪村(MA-3、MA-6)、背崩村(B-4)、荷扎村(H5)和米日村(M1)共18个菌株被鉴定为 *N. clavispورا*,为优势病原菌;来自墨脱村的菌株(P-1)被鉴定为 *N. eucalypticola*,菌株(P-2)被鉴定为 *N. formicarum*,德兴村的菌株(Y4-4)和西让村的菌株(X-5)被鉴定为 *N. cubana*。

2.5 拮抗细菌对病菌的抑制活性检测

通过平板对峙法检测发现,5株供试拮抗细菌对病菌均具有较好的拮抗活性(表2,图5),对3株不同来源的棒状新拟盘多毛孢菌(DT-5、MA-3和X-2)抑菌带宽度介于7.33~14.33 mm。在与各病菌对峙中,总体上拮抗细菌NJ-4的抑菌活性最好,平均抑

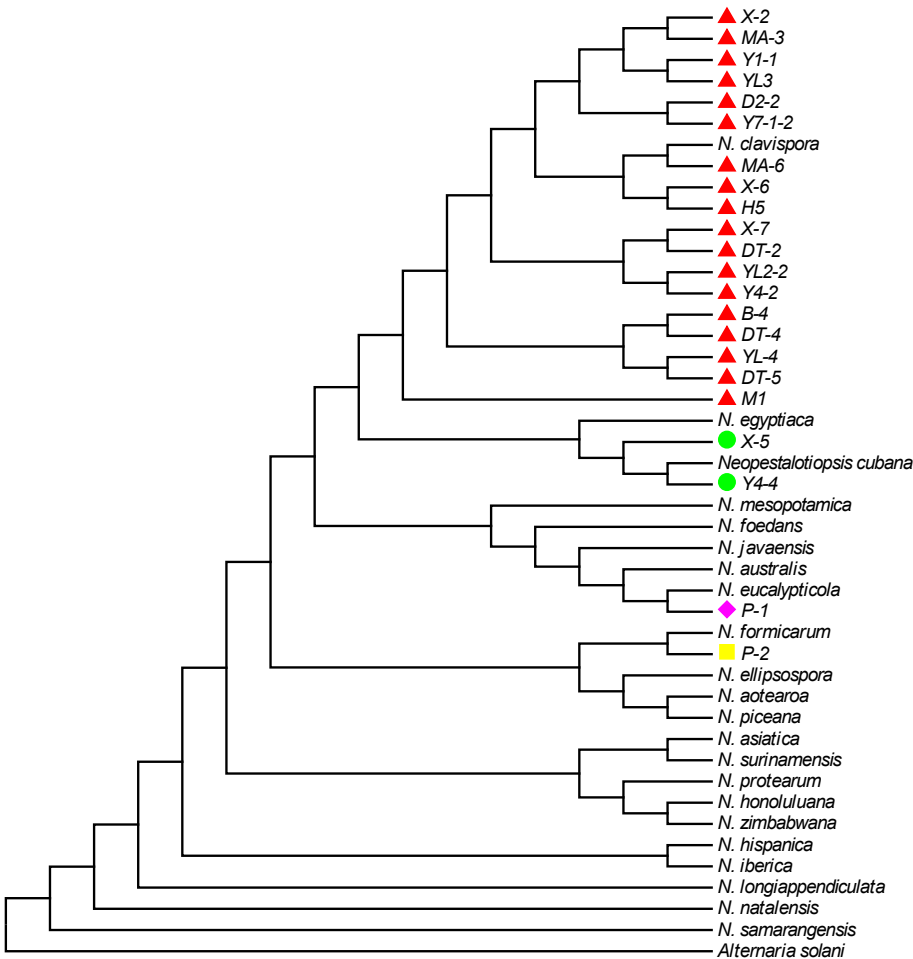


图4 基于 *rDNA-ITS*、*TUB*、*mtSSU* 和 *TEF-1α* 位点的新拟盘多毛孢系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree of *Neopestalotiopsis* sp. based on *rDNA-ITS*, *TUB*, *mtSSU* and *TEF-1α*

表 2 拮抗细菌对新拟盘多毛孢菌的抑制效果
Table 2 Inhibitory effect of antagonistic bacteria against *N. clavispora*

菌株编号 Strain number	抑菌带宽度 Inhibition width/mm			平均 Average
	DT-5	MA-3	X-2	
NJ-1	9.67±0.58 b	8.33±1.15 b	7.33±2.08 b	8.44
NJ-4	13.00±1.00 a	12.33±1.15 a	14.33±0.58 a	13.22
S8	7.33±1.15 c	8.33±1.53 b	8.67±2.31 b	8.11
S1	13.33±0.58 a	7.67±2.08 b	10.00±1.00 b	10.33
T122F	9.67±0.58 b	7.67±1.15 b	7.33±1.15 b	8.22

注: 同列数据后的不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: Different small letters in the same column mean significant difference at 0.05 level. The same below.

菌带宽度为 13.22 mm; 拮抗细菌 S8 的抑菌效果较差, 平均抑菌带宽度为 8.11 mm。

2.6 拮抗细菌对枇杷叶斑病的防治效果

由表 3 可知, 接种处理 15 d 后, 接种病菌的阳性对照病斑直径达 7.00 mm, 而空白 PDA 培养基处理的阴性对照未见发病。5 种供试拮抗细菌 20 倍稀释发酵液处理的病斑平均直径介于 1.31~3.63 mm, 均显著低于阳性对照。S8、NJ-4、T122F 和 NJ-1 处理对叶斑病的防治效果较好, 防效分别为 81.25%、69.64%、66.52% 和 63.84%, 但明显低于 450 g·L⁻¹ 咪鲜胺水乳剂 1000 倍液 (94.64%) 和 10% 苯醚甲环唑可湿性粉剂 1000 倍液 (92.26%) 处理的防效。

2.7 拮抗细菌对枇杷果斑病的防治效果

由表 4 可知, 不同拮抗细菌处理对枇杷果斑病存在不同程度的抑制作用。接种处理 10 d 后, 接种病菌的阳性对照病情指数为 52.47, 仅用无菌水处理的阴性对照病情指数为 13.00 (可能存在自然感染病菌的

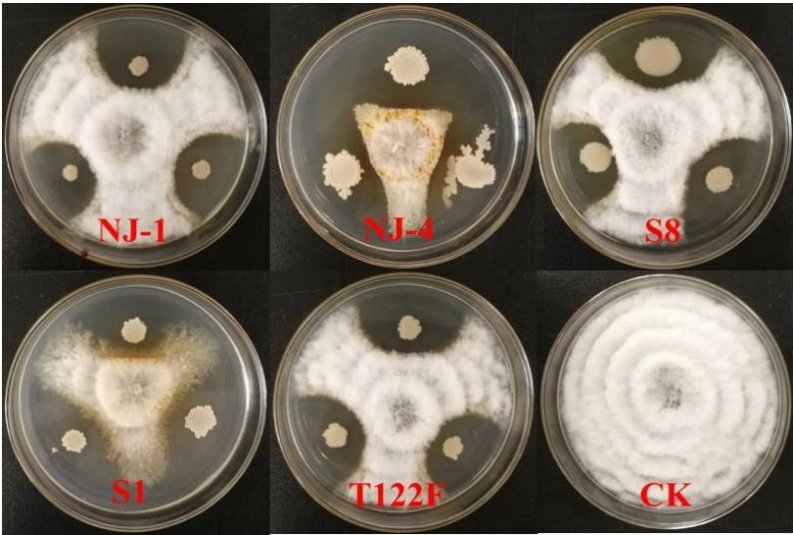


图 5 拮抗细菌对菌株 DT-5 的对峙效果
Fig. 5 Antagonistic effect of antagonistic bacteria to strain DT-5

表 3 拮抗细菌对枇杷叶斑病的防治效果
Table 3 Control effect of antagonistic bacteria against loquat leaf spot

处理 Treatment	稀释倍数 Dilute time	病斑直径 Spot diameter/mm	防治效果 Control effect/%
S8 发酵液 S8 fermentation broth	20	1.31±1.52 cde	81.25±21.65 ab
NJ-4 发酵液 NJ-4 fermentation broth	20	2.13±1.61 bcd	69.64±23.01 abc
T122F 发酵液 T122F fermentation broth	20	2.34±0.81 bc	66.52±11.61 abc
NJ-1 发酵液 NJ-1 fermentation broth	20	2.53±1.29 bc	63.84±18.41 bc
S1 发酵液 S1 fermentation broth	20	3.63±0.68 b	48.21±9.78 c
450 g·L ⁻¹ 咪鲜胺水乳剂 450 g·L ⁻¹ prochloraz EW	1000	0.38±0.65 de	94.64±9.28 a
10%苯醚甲环唑可湿性粉剂 10% difenoconazole WP	1000	0.54±0.94 de	92.26±13.40 a
阴性对照 Negative control	—	0 e	—
阳性对照 Positive control	—	7.00±1.04 a	—

表 4 拮抗细菌对枇杷果斑病的防治效果
Table 4 Control effect of antagonistic bacteria against loquat fruit spot

处理 Treatment	稀释倍数 Dilute time	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect/%
S8 发酵液 S8 fermentation broth	20	27.16±5.10 c	48.24±9.72 b
NJ-4 发酵液 NJ-4 fermentation broth	20	40.88±3.17 b	22.09±6.04 c
T122F 发酵液 T122F fermentation broth	20	31.65±3.55 c	39.68±6.76 b
NJ-1 发酵液 NJ-1 fermentation broth	20	26.60±0.58 c	49.31±1.11 b
S1 发酵液 S1 fermentation broth	20	37.54±3.09 b	28.45±5.90 c
450 g·L ⁻¹ 咪鲜胺水乳剂	1000	10.21±2.48 d	80.54 ±4.73 a
450 g·L ⁻¹ prochloraz EW	1500	12.26±1.87 d	76.64±3.56 a
阴性对照 Negative control	—	13.00±2.74 d	—
阳性对照 Positive control	—	52.47±2.33 a	—

现象),5 种供试拮抗细菌 20 倍稀释发酵液处理的病情指数介于 26.60~40.88,均显著低于阳性对照。NJ-1 和 S8 处理对枇杷果斑病防治效果较好,防效分别为 49.31%和 48.24%,但显著低于 450 g·L⁻¹咪鲜胺水乳剂 1000 倍液(80.54%)和 1500 倍液(76.64%)处理的防效。

3 讨 论

1988 年,陈国贵等^[26]从国内枇杷传统产区浙江余杭、福建莆田、江苏吴县及安徽歙县等地的枇杷叶斑病病样中分离得到病原菌,经鉴定为拟盘多毛孢属真菌 *Pestalotia eriobotrifolia* 和 *P. adusta* 两个种。2014 年,姜琬等^[27]对重庆及周边地区的叶斑病病原进行鉴定,鉴定致病菌为拟盘多毛孢属真菌 *Pestalotia* spp.,基于 *rDNA-ITS*、*β-tubulin* 序列构建的系统发育树分析显示,该菌出现了 2 个分枝。而 Maharachchikumbura 等^[23]根据形态及 *ITS*、*TUB* 和 *TEF* 基因相结合分析对黑盘孢科(*Amphisphaeriaceae*)拟盘多毛孢属真菌进行鉴定和种属地位划分,将拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*)细分为 3 个属:拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*)、新拟盘多毛孢属(*Neopestalotiopsis*)和假拟盘多毛孢属(*Pseudopestalotiopsis*)。笔者从西藏墨脱地区的 100 份枇杷叶斑病病样中分离获得 22 株病原菌,经致病性测定、形态学特征观察及多位点序列分析共鉴定出 4 个种,分别为新拟盘多毛孢菌属的 *N. clavispora*、*N. eucalypticola*、*N. formicarum* 和 *N. cubana*,由其引起的枇杷叶斑病在西藏地区为首次报道。其中,棒状新拟盘多毛孢菌 *N. clavispora* 是枇杷叶斑病的优势种,在该地区 7 个枇杷种植区均有出现。新拟盘多毛孢属真菌在世界范围内广泛分布,在热带和亚热带生态系统中生物多样性尤其丰富,其宿主专一性不强,能够引起植物

的多种病害,是重要的植物病原菌^[28]。另据相关报道,棒状新拟盘多毛孢 *N. clavispora* 还可引起香蕉叶斑病、苹果叶斑病、草莓枯萎病及黑老虎(五味子科的一种传统药用植物 *Kadsura coccinea*)轮斑病^[29-32]。因此,不仅要有效预防由新拟盘多毛孢菌引起的枇杷叶斑病,还应密切关注该类病菌在当地的发生动态及对其他作物的侵染致病情况。此外,在病样采集过程中还发现了一种胡麻叶斑病,该病害症状及孢子形态特殊,极易鉴别,由于仅在一个采样点出现,未对其进行具体描述和鉴定。

本研究供试的 5 株拮抗细菌对棒状新拟盘多毛孢菌具有较好的拮抗作用,以拮抗细菌 S8、NJ-4、T122F 和 NJ-1 20 倍稀释发酵液处理对由该病菌菌丝侵染引起的枇杷叶斑病防效较好,其中又以 S8、T122F 和 NJ-1 处理对由该病菌孢子及其他病菌(存在自然感染)引起的枇杷果斑病防效较好,两种不同生境条件下防效不一致可能与拮抗细菌的作用对象不同或其定殖能力有关。经前期鉴定拮抗细菌 S8 和 NJ-1 为解淀粉芽孢杆菌,T122F 为枯草芽孢杆菌,NJ-4 为贝莱斯芽孢杆菌,不同种类的生防菌对病菌的作用机制可能不一致。此外,枇杷营养丰富、含水量高,在采摘贮运过程中,一旦受到机械损伤,病原菌就很容易侵染伤口并大量繁殖,最终导致新鲜果品腐烂变质。蔡学清等^[33]发现枯草芽孢杆菌 BS-2、内生解淀粉芽孢杆菌 TB2 对荔枝采后病原菌具有较好的抑制作用,能够延长果实的储藏时间。棒状新拟盘多毛孢菌能引起枇杷采后果实病害的发生,加剧贮藏期果实腐烂,采用拮抗细菌 S8、T122F 和 NJ-1 的 20 倍稀释发酵液喷洒果实,能有效预防贮存期枇杷果实病害发生,也可用于枇杷果实保鲜处理,但菌剂的发酵条件优化及田间实际应用防治效果需进一步验证。2 种供试药剂对棒状新拟盘多毛孢菌引起的枇杷病害

均表现出较高的防效,表明病菌对药剂表现敏感,这可能与该地区枇杷生产上未使用药剂处理有关。

枇杷叶斑病一年四季均可发生,在温暖高湿条件下病害暴发性强,对枇杷产量造成严重影响,已成为危害枇杷安全生产的一类重要真菌性病害^[34]。前期研究发现,在西藏墨脱地区的枇杷叶斑病病菌群体中出现了致病力和产孢能力强的菌株^[35]。然而,当地枇杷种植者对该病害的严重性认识不足。随着枇杷种植年限的延长和种植规模的扩大,病原物得以长期积累,导致病害大范围发生。因此,在生产上应密切关注田间病害的发生动态,及时清理田间病叶,合理施肥以增强树势,必要时采用生防菌剂保护植株新梢,以降低叶斑病的发生率,减少果实携菌概率,对保护枇杷健康免受病菌侵染,延长果实保鲜期有着重要作用。

4 结 论

明确了西藏墨脱地区枇杷叶斑病的病原菌为新拟盘多毛孢菌 *N. clavispota*、*N. eucalypticola*、*N. formicarum* 和 *N. cubana*, 其中 *N. clavispota* 为优势病原菌。拮抗细菌 S8、T122F 和 NJ-1 对枇杷叶斑病表现出较好的生防潜力,病害防效分别为 81.25%、66.52% 和 63.84%, 并对贮存期枇杷果实具有一定的保鲜效果。研究结果可为当地枇杷新拟盘多毛孢叶斑病的绿色防控提供重要参考。

参考文献 References:

- [1] 陈福如,陈元洪,翁启勇. 枇杷病虫害诊治图谱[M]. 福州:福建科学技术出版社,2003.
CHEN Furu, CHEN Yuanhong, WENG Qiyong. Graph of diagnosis of loquat pests and diseases[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 2003.
- [2] 张斌,耿坤,夏忠敏,邵昌余,吴琮,任轲亮. 贵阳地区枇杷常见病害调查初报[J]. 中国南方果树, 2014, 43(2): 86-88.
ZHANG Bin, GENG Kun, XIA Zhongmin, SHAO Changyu, WU Qiong, REN Keliang. Preliminary investigation of common diseases in *Eriobotrya japonica* and their damage degree in Guiyang region[J]. South China Fruits, 2014, 43(2): 86-88.
- [3] PERELLÓ A E, LARRAN S. First report of *Pestalotiopsis guepini* on loquat in Argentina[J]. Plant Disease, 1999, 83(7): 695.
- [4] CHEN Y, WANG W X, ZHANG A F, YANG X, XU Y L. First report of *Pestalotiopsis theae* on loquat (*Eriobotrya japonica*) in Anhui Province of China[J]. Plant Disease, 2013, 97(4): 558.
- [5] XIAO S, TANG Q, HUANG K H. First report of leaf blight of *Eriobotrya japonica* caused by *Pestalotiopsis microspora* in Anhui Province, China[J]. Plant Disease, 2016, 100(5): 1014.
- [6] 张丹华,张红楠,吴岷,梁国鲁. 重庆地区枇杷叶斑病原初步鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 中国南方果树, 2017, 46(4): 102-106.
ZHANG Danhua, ZHANG Hongnan, WU Di, LIANG Guolu. Preliminary identification of pathogen of loquat leaf spot disease in Chongqing area and screening of control agents[J]. South China Fruits, 2017, 46(4): 102-106.
- [7] 杨秀娟,陈福如,何玉仙. 枇杷拟盘多毛孢菌的生物学特性及杀菌剂的药效研究[J]. 福建农业学报, 2003, 18(2): 89-92.
YANG Xiujuan, CHEN Furu, HE Yuxian. Biological characteristics of *Pestalotiopsis eriobotryfolia* and control efficiencies of fungicides against the pathogen[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2003, 18(2): 89-92.
- [8] 姜琬,徐波,胡军华,王莹,孙海艳,李晓林,汪卫星,郭启高,何桥,向素琼,梁国鲁. 枇杷拟盘多毛孢菌的室内及田间药剂筛选[J]. 中国南方果树, 2014, 43(1): 49-51.
JIANG Wan, XU Bo, HU Junhua, WANG Ying, SUN Haiyan, LI Xiaolin, WANG Weixing, GUO Qigao, HE Qiao, XIANG Suqiong, LIANG Guolu. Field and lab screening control of *Pestalotiopsis eriobotryfolia*[J]. South China Fruits, 2014, 43(1): 49-51.
- [9] 唐靖文,陈春旭,龙友华,王维东,夏忠敏,邵昌余. 6 种杀菌剂对枇杷灰斑病的室内毒力测定[J]. 中国园艺文摘, 2016, 32(4): 51-53.
TANG Jingwen, CHEN Chunxu, LONG Youhua, WANG Weidong, XIA Zhongmin, SHAO Changyu. Indoor toxicity determination of six fungicides on gray spot of loquat[J]. Chinese Horticulture Abstracts, 2016, 32(4): 51-53.
- [10] YANG M M, WEN S S, MAVRODI D V, MAVRODI O V, WETTSTEIN D V, THOMASHOW L S, GUO J H, WELLER D M. Biological control of wheat root diseases by the CLP-producing strain *Pseudomonas fluorescens* HC1-07[J]. Phytopathology, 2014, 104(3): 248-256.
- [11] GAO Z F, ZHANG B J, LIU H P, HAN J C, ZHANG Y J. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*[J]. Biological Control, 2017, 105: 27-39.
- [12] AHMAD T, XING F G, NIE C R, CAO C Y, XIAO Y, YU X, MOOSA A, LIU Y. Biocontrol potential of lipopeptides produced by the novel *Bacillus subtilis* strain Y17B against postharvest *Alternaria* fruit rot of cherry[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1150217.
- [13] 叶晶晶,曹宁宁,吴建梅,胡祚忠,张剑飞. 生防芽孢杆菌的应用研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(8): 185-190.
YE Jingjing, CAO Ningning, WU Jianmei, HU Zuo Zhong, ZHANG Jianfei. Research progress on application of biocontrol *Bacillus*[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2014, 42(8): 185-190.
- [14] 林胜红,潘晓梅,石晓玲,ALI I,刘震飞,于爽,张锦锋,牛振峰,田永强. 土壤霉菌菌丝球的筛选、鉴定及固定化菌丝球的应用[J]. 生物技术通报, 2019, 35(1): 76-81.
LIN Shenghong, PAN Xiaomei, SHI Xiaoling, ALI I, LIU Zhenfei, YU Shuang, ZHANG Jinfeng, NIU Zhenfeng, TIAN Yongqiang. Screening and identification of soil mycelial pellets and

- application of immobilized *Mycelium*[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(1): 76-81.
- [15] 张扬, 郑建秋, 谢丙炎, 李健强, 吴学宏, 师迎春, 马永军. 甘蓝枯萎病病原菌的鉴定[J]. 植物病理学报, 2008, 38(4): 337-345. ZHANG Yang, ZHENG Jianqiu, XIE Bingyan, LI Jianqiang, WU Xuehong, SHI Yingchun, MA Yongjun. Identification on pathogen of cabbage wilt disease[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2008, 38(4): 337-345.
- [16] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, TAYLOR J W, SNINSKY J, INNIS M A, GELFAND D H. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]// INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, WHITE T J. PCR Protocols: A guide to methods and applications. New York: Academic Press, 1990: 315-322.
- [17] 郑荔, 兰成忠, 姚锦爱, 阮宏椿, 陈福如. 香蕉枯萎病菌线粒体小亚基(mtSSU)rDNA的克隆及序列分析[J]. 福建农业学报, 2012, 27(8): 826-830. ZHENG Li, LAN Chengzhong, YAO Jin'ai, RUAN Hongchun, CHEN Furu. Cloning and sequencing analysis of mitochondrial small subunit (mtSSU) rDNA sequence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27(8): 826-830.
- [18] O' DONNELL K, CIGELNIK E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1997, 7(1): 103-116.
- [19] RAHJOO V, ZAD J, JAVAN-NIKKHAH M, GOHARI A M, OKHOVAT S M, BIHAMTA M R, RAZZAGHIAN J, KLEMSDAL S S. Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran[J]. Journal of Plant Pathology, 2008, 90(3): 463-468.
- [20] O' DONNELL K, CIGELNIK E, NIRENBERG H I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex[J]. Mycologia, 1998, 90(3): 465-493.
- [21] 邱小燕, 汤智鹏, 张敏, 荆海瑜. 一种适用于多数植物病原真菌的单孢分离方法[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(9): 5263-5264. QIU Xiaoyan, TANG Zhipeng, ZHANG Min, JIN Haiyu. Research on the isolation method of single spore of most plant pathogenic fungi[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(9): 5263-5264.
- [22] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979. WEI Jingchao. Fungal identification manual[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979.
- [23] MAHARACHCHIKUMBURA S S N, HYDE K D, GROENEWALD J Z, XU J, CROUS P W. *Pestalotiopsis* revisited[J]. Studies in Mycology, 2014, 79(1): 121-186.
- [24] 谢晨昭, 杨毅玲, 李磊, 李金云, 王建辉, 王慧敏. 拮抗放线菌 B1 菌株鉴定及其防治番茄灰霉病的初步研究[J]. 植物保护学报, 2008, 35(4): 300-306. XIE Chenzhao, YANG Yiling, LI Lei, LI Jinyun, WANG Jianhui, WANG Huimin. Taxonomy of antagonistic strain B1 and control effect of tomato gray mould[J]. Journal of Plant Protection, 2008, 35(4): 300-306.
- [25] QU H X, SUN G C, JIANG Y M, ZHU X R. Pathogenesis-related proteins in litchi after inoculation with *Peronophythora lithii*[J]. Acta Horticulturae, 2001(558): 439-442.
- [26] 陈国贵, 曹若彬. 枇杷灰斑病病原菌的鉴定[J]. 植物病理学报, 1988, 18(4): 208-212. CHEN Guogui, CAO Ruobin. Identification of pathogens of loquat leaf spot[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1988, 18(4): 208-212.
- [27] 姜琬, 胡军华, 向素琼, 李晓林, 孙海艳, 郭启高, 何桥, 汪卫星, 梁国鲁. 枇杷灰斑病菌鉴定与室内致病力评价体系建立[J]. 园艺学报, 2014, 41(增刊): 2650. JIANG Wan, HU Junhua, XIANG Suqiong, LI Xiaolin, SUN Haiyan, GUO Qigao, HE Qiao, WANG Weixing, LIANG Guolu. Establishment of identification and pathogenicity evaluation system on loquat gray spot[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2014, 41(Suppl.): 2650.
- [28] 宋玉. 拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*)真菌系统学研究及条形码基因的评价[D]. 贵阳: 贵州大学, 2015. SONG Yu. Taxonomy of the genus *Pestalotiopsis* and evaluation of its DNA barcoding[D]. Guiyang: Guizhou University, 2015.
- [29] QI Y X, ZHANG H, PENG J, ZENG F Y, XIE Y X, YU Q F, ZHANG X. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf spot disease on banana (*Musa acuminata*) in China[J]. Plant Disease, 2023, 107(1): 220.
- [30] SHI J, LI B Y, WANG S L, ZHANG W, SHANG M Q, WANG Y Z, LIU B Y. Occurrence of *Neopestalotiopsis clavispora* causing apple leaf spot in China[J]. Agronomy, 2024, 14(8): 1658.
- [31] SHI J J, ZHANG X M, LIU Y, ZHANG Z H, WANG Z G, XUE C S, MA Y, WANG F. First report of *Neopestalotiopsis clavispora* causing calyx and receptacle blight on strawberry in China[J]. Plant Disease, 2022, 106(4): 1307.
- [32] 谢津. 黑老虎轮斑病的病原鉴定和毒素成分分析及病害防治研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020. XIE Jin. Pathogen identification, toxin analysis of the pathogen and control test of ring spot of *Kadsura coccinea*[D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [33] 蔡学清, 林娜, 陈炜, 胡方平. 荔枝霜疫霉的生防菌株与化学制剂的筛选[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2008, 37(5): 463-468. CAI Xueqing, LIN Na, CHEN Wei, HU Fangping. Selection of the biological agents and fungicides against *Peronophthora litichii*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2008, 37(5): 463-468.
- [34] 陈依丽, 陈雨琼, 邓颖, 李春雨, 彭泽, 杨向晖. 枇杷属植物叶片结构与叶斑病抗性的相关性研究[J]. 果树学报, 2022, 39(11): 2133-2140. CHEN Yili, CHEN Yuqiong, DENG Ying, LI Chunyu, PENG Ze, YANG Xianghui. Analysis of correlation between leaf structure and resistance to leaf spot in *Eriobotrya*[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(11): 2133-2140.
- [35] 甘林, 姜帆, 兰成忠, 代玉立, 何玉仙, 杨秀娟. 西藏墨脱地区枇杷新拟盘多毛孢菌培养特征及致病力分析[J]. 东南园艺, 2024, 12(5): 396-402. GAN Lin, JIANG Fan, LAN Chengzhong, DAI Yuli, HE Yuxian, YANG Xiujuan. Culture characteristics and pathogenicity of *Neopestalotiopsis* sp. to loquat in Medog areas of Tibet[J]. Southeast Horticulture, 2024, 12(5): 396-402.