雷霁卿,石银娜,黄梦琳,等.青脆李褐腐病原菌鉴定及其防治药剂的筛选[J].山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(5):88-94.
Lei J Q, Shi Y N, Huang M L, et al. Identification of pathogen causing brown rot of green crispy plum and screen of pesticide for protection[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2024,44(5):88-94.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202403012

青脆李褐腐病原菌鉴定及其防治药剂的筛选

雷霁卿,石银娜,黄梦琳,王瑞*

(贵阳学院 食品科学与工程学院,贵州 贵阳 550005)

摘　要:[目的]明确青脆李褐腐病病原菌、分析病原菌致病力并筛选防治药剂,为青脆李褐腐病防控提供理论依据。[方法]按照柯赫氏法则分离纯化病原菌,通过形态学观察,多基因位点联合分析鉴定病原菌,通过致病性测定及聚类分析研究病原菌致病力差异。[结果]分离获得青脆李褐腐病原菌8株,形态学鉴定显示8株菌为*Monilinia* spp.,构建系统发育树鉴定8株菌均为*Monilinia fructicola*;致病力测定显示,病原菌株病斑直径统计学差异显著,接种LZ-7果实病斑直径最小(16.950 0±1.102 8 mm),接种LZ-13果实病斑直径最大(31.405 0±1.767 5 mm);聚类分析将8株病原菌致病力分为3组:LZ-7为弱致病力菌株、LZ-2/8/3/16/14为中致病力菌株、LZ10/13为强致病力菌株。选取致病力最强菌株LZ-13进行化学防治药剂筛选,按照EC_{50}由低到高排依次为代森锰锌<戊唑醇<甲基硫菌灵<苯甲·中生<腐霉利。[结论]青脆李褐腐病病原菌为*Monilinia fructicola*,同种*Monilinia fructicola*病原菌不同菌株间存在致病力差异,代森锰锌及戊唑醇室内毒力EC_{50}均小于1 μg·mL^{-1}。

关键词:青脆李; 褐腐病; 病原菌; 致病力
中图分类号:S432.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2024)05-0088-07

青脆李为蔷薇科李属植物(*Prunus salicina* Lindl),大规模种植于四川、贵州和云南等西南高山地区[1],口感甜脆爽口,香味独特,富含多酚、多糖、氨基酸及维生素等多种营养物质[2-3],是广受西南区消费者欢迎的李果实品种。李果实采摘后呼吸作用强,生理代谢快,采后贮藏期褐腐病病害的发生广泛[4],果实感染褐腐病原菌后在果面上形成褐色圆形病斑,病斑处果肉软化,可扩及全果并在果面生出同心圆排列的白色霉层[5]。

随着青脆李种植规模的扩大,果实褐腐病发病率日渐升高,严重影响青脆李的产量和品质,该病害已经成为制约青脆李产业发展的一大障碍。国内外研究显示不同地区不同品种李果实褐腐病原不尽相同。*Monilinia fructicola*,*M. mumecola*、*M. polystroma*、*M. yunnanensis*分别引起欧李、巫山脆李、桃形李、矮甜李等李果实褐腐病害[6-10],而青脆李褐腐病病原研究尚未见报道,仅2023年重庆报道青脆李果实膨大期产生不规则浅褐色凹陷病斑,鉴定病原菌为交链格孢菌*Alternaria alternata*[1],其病理形态与李褐腐病存在差异。

为明确青脆李褐腐病病原菌,研究以西南地区褐腐青脆李为材料,进行病原菌分离、致病性鉴定、形态学特征观鉴定、多基因序列系统发育分析,病原菌致病力差异及防治药剂筛选;旨在为青脆李产区新发褐腐病防控提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

供试材料:2021和2022年的8月~10月从贵州修文、贵州沿河,四川成都、四川彭州青脆李种植基地采集大小均一果实,选取褐腐病典型病症果实用于实验。

供试仪器:高速冷冻离心机(Microfuge 20R),美国贝克曼库尔特有限公司;光学显微镜(Olym-

收稿日期:2024-03-04　　**修回日期**:2024-06-25
基金项目:贵州省科技计划项目(黔科中引地[2020]4018号);贵阳学院研究生科研基金(GYU-YJS[2021]-44)
作者简介:雷霁卿(ORCID:0009-0003-4210-0595),硕士,副教授,采后贮藏期病害;E-mail:gyuleijq@gyu.cn;
*通信作者:王瑞(ORCID:0000-0002-1788-4733),博士,教授,农产品贮运研究;E-mail:wangrui060729@126.com

pus CX21),日本奥林巴斯有限公司;桌上式洁净工作台(VD-850),上海苏净实业有限公司;高压蒸汽灭菌锅(LDZM-60L),上海申安医疗器械厂;电热恒温培养箱(DH5000BII),天津市泰斯特仪器有限公司;综合稳定性实验箱(YP-150GSP),北京恒泰丰科实验设备有限公司;PCR仪(T100 TMThermal Cycler),美国伯乐有限公司;

供试试剂:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA),上海博微生物科技有限公司;高效植物基因组DNA提取试剂盒(离心柱型),天根生化科技(北京)有限公司;DNA Marker-DL2000,生工生物工程(上海)股份有限公司;核酸染料,生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2　试验方法

1.2.1　病原菌的分离、纯化、鉴定

青脆李果实依次放入1%次氯酸钠、75%乙醇中浸泡1分钟,无菌水洗净表面;置于超净工作台吹干,无菌手术刀切下果实病健交界处组织,放置于PDA培养基中,将培养基置于恒温培养箱28 ℃培养3 d,挑取菌落单菌丝传代,经单孢纯化后在PDA上进行培养和形态观察培养[11]。

病原菌的致病性鉴定根据柯赫氏法则进行。依次用1%次氯酸钠、75%乙醇对健康青脆李果实表面消毒,无菌水清洗后置于超净工作台吹干,有伤/无伤接种5 mm×5 mm菌饼于果皮中央,5 mm×5 mm无菌PDA作为空白对照;实验果实恒温(28 ℃)恒湿(70%)培养,5 d后记录发病情况;果实出现典型病原后再次分离发病部位病原菌,并与接种病原菌进行形态学比较;每处理3个平行样本[11]。

1.2.2　病原菌鉴定

形态学鉴定:取5 mm×5 mm菌块,接种于PDA平板培养基中央,置于28 ℃培养箱中恒温培养3~5 d,观察菌落特征;28 ℃恒温培养7~14 d,光学显微镜下观察病原菌菌丝与分生孢子形态,根据形态学特征进行初步鉴定[12]。

分子生物学鉴定:提取病原菌基因组DNA为模板,扩增*ITS*(ITS1F 5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′/ITS4 5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)、*β*-*tubulin*(BT2a 5'-GGTAACCAAACGGTGCTGCTTTC-3/BT2b 5′- 5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3')、*EF-1α*基因(EF1-728F 5′-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3′/EF1-986R 5′ -TACTTGAAGGAACCCTTACC-3′),扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。通过NCBI(National Center for Biotechnology Information)多序列比对工具BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)获得与测序结果同源性90%以上的基因序列,使用MEGA 11进行序列比对[13],在PhyloSuite中串联不同基因序列文件,采用MrBayes多基因联合构建贝叶斯树[14]。

1.2.3　病害菌致病性鉴定

依次用1%次氯酸钠、75%乙醇对健康青脆李果实表面消毒,无菌水清洗后置于超净工作台吹干,有伤接种5 mm×5 mm菌饼于果皮中央,5 mm×5 mm无菌PDA作为空白对照;实验果实恒温(28 ℃)恒湿(70%)培养5 d,十字交叉法测量病斑直径;每试验组3个平行样本[11]。

1.2.4　杀菌剂室内毒力测定

参照曾晴等[8]的方法,在对不同杀菌剂浓度筛选结果基础上,确定药剂室内毒力实验初始浓度,甲基硫菌灵和腐霉利初始PDA平板终浓度为7.2 μg·ml^{-1},依次2倍稀释至终浓度为3.6 μg·ml^{-1}、1.8 μg·ml^{-1}、0.9 μg·ml^{-1}及0.45 μg·ml^{-1};戊唑醇初始PDA平板终浓度为9.0 μg·ml^{-1}、依次2倍稀释至终浓度为4.5 μg·ml^{-1}、2.25 μg·ml^{-1}、1.125 μg·ml^{-1}及0.562 5 μg·ml^{-1};苯甲·中生初始PDA平板终浓度为7. μg·ml^{-1}、依次2倍稀释至终浓度为3.5 μg·ml^{-1}、1.75 μg·ml^{-1}、0.875 μg·ml^{-1}及0.437 5 μg·ml^{-1};代森锰锌初始PDA平板终浓度为2.15 μg·ml^{-1}、依次5倍稀释至PDA终浓度为0.43 μg·ml^{-1}、0.086 μg·ml^{-1}、0.017 2 μg·ml^{-1}及0.003 44 μg·ml^{-1};分别在PDA培养基中央加入病原菌菌饼(5 mm×5 mm),培养3 d后用十字交叉法测量空白培养基及含药培养基菌落直径,每实验重复3次,计算抑菌率。

$$抑菌率=\frac{空白培养基菌落直径-含药培养基菌落直径}{空白培养基菌落直径}\times 100\%$$

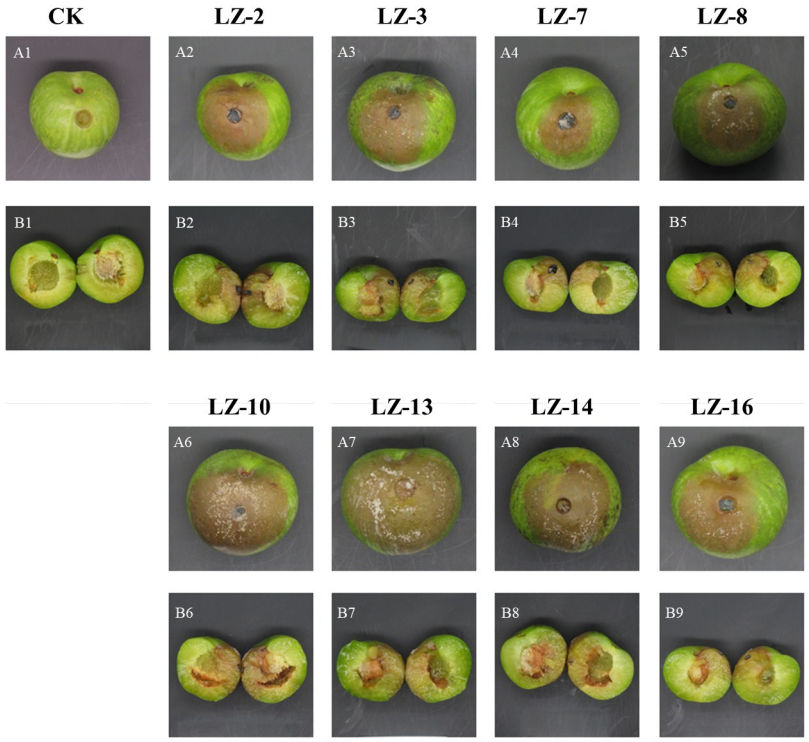
1.3　数据分析

试验数据使用IBM SPSS statistics 25软件(International Business Machiness Corporation)进行统计学分析,采用Ducan氏新复极差法进行多重比较[15],采用组间连接法进行系统聚类分析[16]。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离鉴定

采用组织分离法从青脆李褐腐病果上共分离获得36株菌株,按照柯赫氏法则通过反接验证致病性,其中8株菌有伤接种5 d后实验果实出现典型李褐腐病症状(图1):果实表面褐色伴有白色菌丝,可见水渍(图1A2-图1A9),果肉呈黄褐色(图1B2-图1B9),有腐败气味,继续培养褐斑可扩散至全果引起软烂;对接种后发病果实病健交界处组织进行病原菌再分离,获得与接种菌株菌落形态一致的真菌;菌株LZ-2,LZ-3,LZ-7,LZ-8,LZ-10,LZ-13,LZ-14,LZ-16鉴定为青脆李褐腐病病原菌。



A1~9:果实表面褐腐病症状; B1~9:果肉褐腐病症状

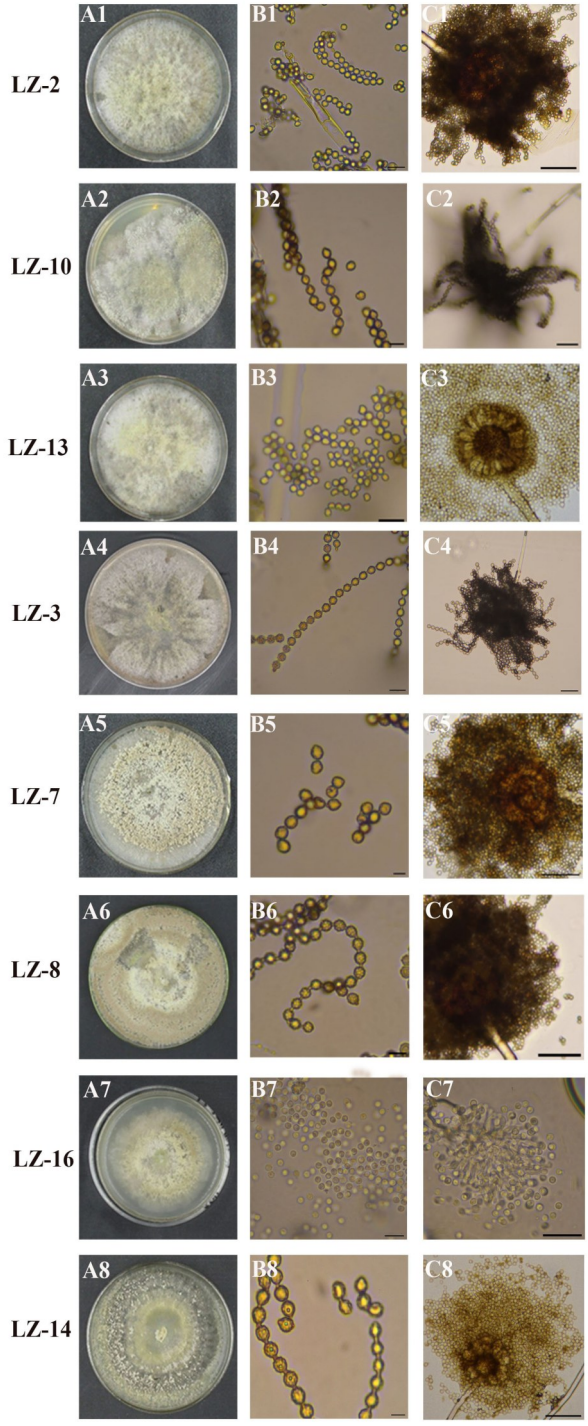
A1~9: Brown rot symptoms of fruit surface; B1~9: Brown rot symptoms of flesh

图1 青脆李褐腐病果实发病症状

Fig.1 Symptoms of green crispy plum brown rot disease

形态学观察显示:LZ-2/10/13菌株菌落表面干燥,早期絮状灰白色菌丝,后期菌落中央表面菌丝呈浅黄绿色,并向周围扩展(图2A1);LZ-3菌株菌落呈致密灰白色(图2A2),后期菌落表面可见黑灰色堆积孢子;LZ-7/8/16菌株早期菌落呈灰白色絮状,表面干燥,后期菌落表面可见灰黄色孢子堆积,堆积斑块湿润(图2A3);LZ-14菌株菌落灰黄色,后期菌落表面可见孢子堆积同心轮纹圆环(图2A4);镜下均可见黄褐色孢子梗,顶端串生分生孢子(图2C1-图2C4),单孢圆形或柠檬形(图2B1-图2B4),直径4~6 μm×4~10 μm。青脆李褐腐病8株病原菌初步鉴定为*Monilinia* spp.。

Monilinia spp.是引起褐腐病的重要病害,为准确鉴定青脆李褐腐病病原菌,提取菌株基因组DNA作为模板,扩增*ITS*,*β-tubulin*及*EF-1α*基因序列,以*M. laxa* CBS 29931、*M. fructigena* CBS101499作为外群,构建多基因联合系统发育树(图3)。8株病原菌株在发育树中100%与*M. fructicola*聚为一支,可认为8株病原菌均为*M. fructicola*。菌株LZ-16与其他菌株亲缘性较远,LZ-13与*M. fructicola* M141/IMK101/IMK277亲缘性近,LZ-2/3/7/8/10/14与*M. fructicola* 2014FC51亲缘性性近,但LZ-2/3/7/8/10/14为不同菌株。



A1～8:菌落; B1～8:孢子,标尺=20μm;C1～8:孢子梗,标尺=50μm

A1～8:Colony; B1～8: spore,Bars=10μm;C1～8:conidiospore,Bars=50μm

图2　病原菌形态学特征

Fig.2　Morphological characteristics of pathogens

2.2　病原菌致病性分析

为了解青脆李8株病原菌致病力是否存在差异,采用8株病原菌有伤接种健康青脆李果实,接种5 d后测量病斑直径,由试验结果可知,8株菌果实病斑直径在$P<0.05$水平存在统计学差异(表1)。

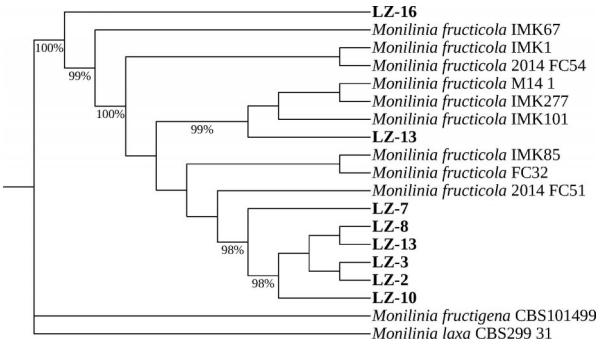


图3　多基因系统发育树

Fig.3　Multi-locus Phylogenetic tree

表1　致病性测定

Table 1　Virulence identification

病原体 Pathogens	来源 Source	菌株 Bacterial strain	病斑直径 Lesion diameter/mm
Monilinia fructicola	修文	LZ－2	24.123 0±1.516 1^{BCD}
	成都	LZ－3	21.015 0±0.635 2^{D}
	修文	LZ－7	16.950 0±1.102 8^{E}
	沿河	LZ－8	22.153 3±1.164 4^{CD}
	沿河	LZ－10	27.281 7±1.997 5^{B}
	彭州	LZ－13	31.405 0±1.767 5^{A}
	彭州	LZ－14	24.111 7±2.166 1^{BCD}
	成都	LZ－16	24.293 3±2.576 4^{BCD}

注:数据为平均值±标准差,同一列数据后不同字母表示$P<0.05$水平差异显著

Note:Data represent mean ± SD;Different capital letters show significant difference at the 0.05 level in the same column

根据分析结果可知,LZ-2/14/16/与LZ-10,LZ-8/LZ-3差异均不显著,但LZ-10与LZ-8/LZ-3差异显著(表1),为进一步分析不同菌株致病力差异分化,通过组间连接法对样本进行系统聚类分析,将8株病原菌根据致病力强弱分为3组(图4):弱致病力菌群1株(LZ-7)、中致病力菌群5株(LZ-2/8/3/16/14)、强致病力菌群2株(LZ-10/13)。

2.3　贵州青脆李褐腐病病原菌防治药剂筛选

选取致病力最强菌株LZ-13进行药剂筛选,5种杀菌剂处理LZ-13抑菌效果列于表2,按照EC_{50}由低到高排序依次为代森锰锌<戊唑醇<甲基硫菌灵<苯甲·中生<腐霉利,其中代森锰锌(EC_{50}=0.027 μg·ml^{-1})及戊唑醇(EC_{50}=0.95 μg·ml^{-1})

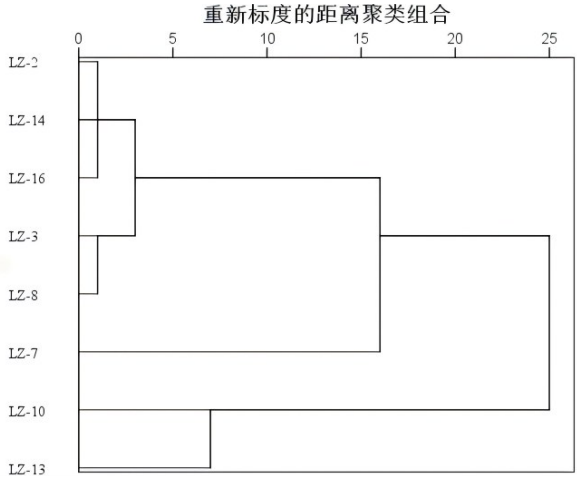


图4 致病力聚类分析

Fig.4 Cluster analysis of differences in virulence

EC_{50}均小于1 μg·ml^{-1}。

3 讨论

褐腐病是一种世界性的果实采后真菌病害，主要发生于核果类和仁果类果树。褐腐病可侵染花、叶及幼果，随果实的成熟度增加病害加重，具有潜伏性[17-18]。采后在流通、储存条件有利于病害发生时，从果实损伤裂缝处侵入，在贮藏期间引起果实大量腐烂[19]。

青脆李是西南地区广受欢迎的李果实品种，近年来在西南地区种植规模日益扩大，青脆李果实褐腐病已成为青脆李生产上的突出问题，研究通过致病菌分离获得8株病原菌，通过形态学鉴定及多基因联合分析，将病原菌鉴定至种，8株病原菌均为*M. fructicola*，过往文献报道*M. fructicola*，*M. mumecola*、*M. polystroma*、*M. yunnanensis*引起李果实褐腐病害[6-10]，研究结果与前人相似。

链核盘菌*Monilinia* spp.的几种真菌是引起褐腐病的重要病害，松散链核盘菌*M. laxa*、果生链核盘菌*M. fructigena*和实生链核盘菌*M. fructicola*是全球范围内流行的三种最主要引起褐腐病的致病真菌[20-22]，*Monilinia* spp.具有多种感染寄主植物的毒力机制：包括毒素、细胞死亡因子、及细胞壁降解酶等，其不同种间存在宿主选择及致病力差异[23]；致病性测定显示，8株贵州地区青脆李褐腐病原菌株病斑直径差异显著，聚类分析将8株菌致病力强弱分为强中弱3组，研究中8株菌致病力差异与菌株亲缘性不存在相关性，其由何种机制介导，尚待进一步研究。

选取致病力最强菌株LZ-13进行化学防治药剂筛选，5种化学药剂按照EC_{50}由低到高排依次为代森锰锌＜戊唑醇＜甲基硫菌灵＜苯甲·中生＜腐霉利，其中代森锰锌(EC_{50}=0.027 μg·mL^{-1})及戊唑醇(EC_{50}=0.95 μg·mL^{-1})EC_{50}均小于1 μg·mL。周芳等[24]2014年以10种杀菌剂为试材，以欧李褐腐病菌为研究对象，筛选出430g/L戊唑醇、70%甲基硫菌、50%腐霉利对欧李褐腐病菌菌丝生长的半致死浓度EC_{50}均低于0.700 μg·ml^{-1}，与研究结果基本一致。*M. fructicola*除引起李褐腐病，还是桃褐腐病的主要病原菌，我国目前有效登记防治桃褐腐病的农药有效成分有腈苯唑、腈菌唑、戊菌唑、异菌脲、氟吡菌酰胺·肟菌酯、吡唑醚菌酯·啶酰菌胺、氯氟醚菌唑·吡唑醚菌酯、吡唑醚菌酯·甲基硫菌灵、吡唑醚菌酯·氟唑菌酰胺等，未来也可参考桃褐腐病防治登记药剂进行田间防控药剂筛选。

表2 贵州青脆李褐腐病病原菌防治药剂筛选

Table 2 Screening of pesticides for controlling brown rot of guizhou green crisp plum

杀菌剂 Bactericide	抑菌率/% Inhibition ratio					EC_{50}/(μg·mL^{-1})
	A	B	C	D	E	
甲基硫菌灵	97.31±0.89	95.73±0.78	73.30±7.13	30.92±5.37	10.33±4.66	1.18
戊唑醇	97.62±1.15	89.74±4.38	77.64±4.99	52.71±4.91	34.65±6.86	0.95
代森锰锌	98.67±0.83	95.19±2.64	84.95±6.19	33.36±2.71	10.82±5.57	0.027
苯甲·中生	99.49±0.48	79.06±3.73	47.24±7.14	35.07±2.23	15.62±4.98	1.28
腐霉利	98.48±1.49	69.08±7.17	51.51±9.33	35.57±10.31	15.05±4.55	1.40

注：甲基硫菌灵和腐霉利：A=7.2 μg•ml^{-1}，B=3.6 μg•ml^{-1}、C=1.8 μg•ml^{-1}、D=0.9 mg/ml^{-1}、E=0.45 μg•ml^{-1}；戊唑醇：A=9.0 μg•ml^{-1}、B=4.5 μg•ml^{-1}、C=2.25 μg•ml^{-1}、D=1.125 μg•ml^{-1}、E=0.562 5 μg•ml^{-1}；苯甲·中生：A=7.00μg•ml^{-1}、B=3.5 μg•ml^{-1}、C=1.75 μg•ml^{-1}、D=0.875 μg•ml^{-1}、E=0.437 5 μg•ml^{-1}；代森锰锌：A=2.15 μg•ml^{-1}、B=0.43 μg•ml^{-1}、C=0.086 μg•ml^{-1}、D=0.017 2 μg•ml^{-1}、E=0.003 44 μg•ml^{-1}

4　结论

研究鉴定青脆李褐腐病病原菌为*M. fructicola*;8株病原菌接种果实病斑直径统计学差异显著:LZ-7为弱致病力菌群、LZ-2/8/3/16/14为中致病力菌群5株、LZ10/13为强致病力菌群2株;化学防治药剂筛选结果显示,代森锰锌(EC_{50}=0.027 μg·mL^{-1})及戊唑醇(EC_{50}=0.95 μg·mL^{-1})EC_{50}均小于1 μg·mL^{-1},或可用于田间防控。

参　考　文　献

[1]周慧珍,荣思文,吴玉珠,等. 青脆李果斑病病原鉴定及室内药剂筛选[J]. 中国南方果树,2023,52(4):136-140,144.
Zhou H Z, Rong S W, Wu Y Z, et al. Identification of plum fruit spot pathogen and indoor screening of its fungicides[J]. South China Fruits,2023,52(4):136-140,144.

[2]Stacewicz-Sapuntzakis M. Dried plums and their products: composition and health effects—an updated review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2013, 53(12): 1277-1302.

[3]Li J X, Liu H Y, Mazhar M S, et al. Australian native plum: a review of the phytochemical and health effects[J]. Food Reviews International,2024,40(1):504-532.

[4]Gonçalves F P, Martins M C, Junior G J S, et al. Postharvest control of brown rot and *Rhizopus* rot in plums and nectarines using carnauba wax[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010,58(3):211-217.

[5]徐成楠,周宗山,吴玉星,等. 欧李褐腐病病原菌鉴定[J]. 植物病理学报,2011,41(6):626-630.
Xu C N, Zhou Z S, Wu Y X, et al. Identification of the pathogen causing brown rot of Chinese Dwarf Cherry (*Cerasus humilis*)[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2011, 41(6): 626-630.

[6]Zhu X Q, Guo L Y. First report of brown rot on plum caused by *Monilia polystroma* in China[J]. Plant Disease, 2010, 94(4):478.

[7]Yin L F, Chen S N, Chen G K, et al. Identification and characterization of three *Monilinia* species from plum in China[J]. Plant Disease,2015,99(12):1775-1783.

[8]曾晴,叶思思,谢世莹,等. 嵊州桃形李褐腐病病原菌的鉴定和防治药剂的筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2023,49(3):321-328.
Zeng Q, Ye S S, Xie S Y, et al. Identification of the brown rot pathogen from Shengzhou nane fruit and screening of highly effective fungicide[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences),2023,49(3):321-328.

[9]郝晓娟,周芳,李新凤,等. 山西省欧李褐腐病病原菌鉴定[J]. 西北农业学报,2015,24(4):101-104.
Hao X J, Zhou F, Li X F, et al. Pathogen identification of brown rot of *Cerasus humilis* (bge) sok. in Shanxi[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica,2015,24(4):101-104.

[10]张倩倩,何兴兴,熊金梁,等. 巫山脆李褐腐病病原菌鉴定及1-MCP对其的防治效果[J]. 西南农业学报,2023,36(1):84-90.
Zhang Q Q, He X X, Xiong J L, et al. Pathogenic fungus identification of Wushan plum brown rot and bio-control effects of 1-MCP[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2023,36(1):84-90.

[11]雷雱卿,曾傲敏,刘颖,等.'贵长'猕猴桃蒂腐病病原菌多样性及致病力测定[J]. 北方园艺,2022(21):31-37.
Lei J Q, Zeng A M, Liu Y, et al. Determination of stem-end rot pathogen diversity and pathogenicity of 'Guichang' kiwifruit[J]. Northern Horticulture,2022(21):31-37.

[12]Lei W T, Zhang H, Zheng Y L, et al. First report of brown rot caused by *Monilia mumecola* on Chinese plum (*Prunus salicina*) in Fujian, China[J]. Plant Disease, 2023, 107(9): 2845

[13]Brewer M T, Rath M, Li H X. Genetic diversity and population structure of cucurbit gummy stem blight fungi based on microsatellite markers[J]. Phytopathology, 2015, 105(6): 815-824.

[14]Zhang D, Gao F L, Jakovlić I, et al. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies[J]. Molecular Ecology Resources, 2020, 20(1): 348-355.

[15]Tallarida R J, Murray R B. Duncan multiple range test[M]// Manual of Pharmacologic Calculations. New York: Springer, 1987:125-127.

[16]Yim O, Ramdeen K T. Hierarchical cluster analysis: comparison of three linkage measures and application to psychological data[J]. The Quantitative Methods for Psychology,2015,11(1):8-21.

[17]Oliveira Lino L, Pacheco I, Mercier V, et al. Brown rot strikes *Prunus* fruit: an ancient fight almost always lost[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2016,64(20):4029-4047.

[18]Casals C, Torres R, Teixidó N, et al. Brown rot on stone fruit: from epidemiology studies to the development of effective control strategies[J]. Scientia Horticulturae, 2022, 301: 111096.

[19]王青,任杰群,图尔罕·麦麦提伊敏,等. 核果类果树褐腐病在重庆的发生与防治初报[J]. 植物保护,2021,47(6):271-276,284.
Wang Q, Ren J Q, Tuerhan·Maimaitiyimin, et al. Preliminary study on the incidence and control of brown rot on stone fruit trees in Chongqing[J]. Plant Protection, 2021, 47(6):271-276,284.

[20]Zhu X Q, Niu C W, Chen X Y, et al. *Monilinia* species associated with brown rot of cultivated apple and pear fruit in China[J]. Plant Disease,2016,100(11):2240-2250.

[21]Martini C, Mari M. *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (*Monilinia* rot, brown rot)[M]//Postharvest Decay. Amsterdam: Elsevier,2014:233-265.

[22]朱小琼,段维军,胡勐郡,等. 核果和仁果褐腐病病原菌研究

进展[J]. 菌物学报,2022,41(3):331-348.
Zhu X Q, Duan W J, Hu M J, et al. Research progress on brown rot pathogens of stone and pome fruit [J]. Mycosystema,2022,41(3):331-348.
[23]De Miccolis Angelini R M, Landi L, Raguseo C, et al. Tracking of diversity and evolution in the brown rot fungi *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena*, and *Monilinia laxa* [J]. Frontiers in Microbiology,2022,13:854852.
[24]周芳,郝晓娟,程超,等. 十种杀菌剂对欧李褐腐病菌的室内毒力测定[J]. 北方园艺,2014(5):103-105.
Zhou F, Hao X J, Cheng C, et al. Toxicity test of ten fungicides to *Monilinia fructicola* causing Chinese dwarf cherry brown rot[J]. Northern Horticulture,2014(5):103-105.

Identification of pathogen causing brown rot of green crispy plum and screen of pesticide for protection

Lei Jiqing, Shi Yinna, Huang Menglin, Wang Rui*
(*Food and Engineering College, Guiyang University, Guiyang 550005, China*)

Abstract: [Objective] Identify and assess the virulence of pathogens causing brown rot of green crisp plum, screen pesticide for protection, so as to provide a theoretical basis for the fungicide control of brown rot of green crisp plum. [Method] The pathogens were isolated and purified according to Koch′s rule. The pathogens were identified through morphological observation, combined multi-locus analysis, and their pathogenicity differences were studied using virulence determination and cluster analysis. [Result] Eight pathogens of green crisp plum brown rot were isolated. Morphological identification showed that eight strains were *Monilinia* spp. Phylogenetic tree showed that all the eight strains were *Monilinia fructicola*. Virulence analyze showed that there were significant differences in lesion size among pathogenic strains. The brown rot lesion diameter was smallest (16.950 0±1.102 8 mm) in fruits inoculated with strain LZ-7 and largest (31.405 0±1.767 5 mm) in fruits inoculated with strain LZ-13. Cluster analysis grouped the eight strains into three virulence categories: LZ-7 was classified as a weak virulence group, LZ-2/8/3/16/14 were classified as moderate virulence groups, and LZ-10/13 were classified as high virulence groups. The most pathogenic strain LZ-13 was selected for screening fungicide control agents. Based on EC_{50} values, the efficacy order from highest to lowest was mancozeb<tebuconazole<thiabendazole<difenoconazole·zhongshengmycin<putrescine. [Conclusion] This study identified the pathogen causing brown rot in green crisp plums as *Monilinia fructicola*, and significant differences in virulence were observed among the strains. Laboratory toxicity tests showed that the EC_{50} values for mancozeb and tebuconazole were less than 1 $\mu g \cdot mL^{-1}$.

Keywords: Green crisp plum, Brown rot, Pathogen, Virulence

(编辑:吕俊俐)