

DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).201905052

烟草靶斑病有性孢子形成环境条件及致病性的田间观测*

刘欣茹^{1#}, 张杰^{1#}, 王学坚², 孙场¹, 杨静¹, 杨敏¹, 董文汉^{3**}

(1. 云南农业大学, 省部共建云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 云南昆明 650201;

2. 云南省烟草公司普洱市公司, 云南普洱 665000; 3. 云南农业大学科技处, 云南昆明 650201)

摘要:【目的】观察云南省墨江县烟田中烟草靶斑病的发病情况, 探究烟草靶斑病菌形成担孢子的环境条件及担孢子在活体烟草上的侵染能力。【方法】温湿度自动记录仪监测田间形成担孢子的环境条件, 收集田间担孢子回接, 通过融合群鉴定和分析 ITS 序列的方法明确烟草靶斑病菌病原菌的归属关系, 田间接种分析担孢子的致病性。【结果】明确引起烟草靶斑病的病原菌为立枯丝核菌 AG-3, 田间担孢子主要在 5: 00—9: 00 及 20: 00—23: 00 形成, 环境条件为相对湿度 100%, 温度约 20 ℃。田间接种试验发现担孢子可快速侵染叶片形成病斑。【结论】担孢子重量轻、数量大, 可通过气流快速传播引起再侵染, 是烟草靶斑病菌侵染的主要手段。

关键词: 烟草靶斑病菌; 担孢子; 致病性; 菌丝融合; ITS 序列

中图分类号: S 435.72 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2020) 02-0221-06

Study on the Environmental Factors and Virulence of Basidiospore of Tobacco Target Spot in Tobacco Field

LIU Xinru¹, ZHANG Jie¹, WANG Xuejian², SUN Yang¹, YANG Jing¹,
YANG Min¹, DONG Wenhan³

(1. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Yunnan Tobacco Company Pu'er City Company, Pu'er 655000, China;
3. Division Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] To observe the environmental factors and virulence of basidiospore in tobacco field in Mojiang County, Yunnan Province. [Method] Through field observation and data statistics of temperature and humidity recorder, the conditions of spore formation were explored, and the pathogen of tobacco target spot was identified by ITS sequence and anastomosis reaction, and the pathogenicity was determined by field. [Result] The pathogen belongs to AG-3 according to the ITS sequence and anastomosis reaction. Through data statistics, basidiospores formed when 5: 00—9: 00 and 20: 00—23: 00, with 100% relative humidity, and temperature of 20 ℃ or so. [Conclu-

收稿日期: 2019-05-21 修回日期: 2020-03-16 网络首发时间: 2020-05-26 11:15:01

*基金项目: 国家科技攻关计划 (2017YFD0200400); 国家自然科学基金项目 (31960525, 31160352, 31360423); 云南省高校科技创新团队支持计划。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。刘欣茹 (1995—), 女, 辽宁岫岩人, 在读硕士研究生, 主要从事植物真菌病害研究。E-mail: 635352250@qq.com; 张杰 (1994—), 男, 云南宣威人, 在读硕士研究生, 主要从事植物真菌病害研究。E-mail: 191946349@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 董文汉 (1969—), 男, 云南大理人, 硕士, 副教授, 主要从事植物病理学研究。E-mail: 1959744569@qq.com

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.s.20200525.1112.001.html>



sion] Due to the light weight and numerous numbers of basidiospores, they can be rapidly spread through air to cause re-infection. Therefore, it is the main means of tobacco target pathogen infection.

Keywords: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk; basidiospore; pathogenicity; hyphal fusion; ITS sequence

烟草是云南省重要的经济作物和模式植物。云南省的烟草产量以及种植面积居中国首位,烟草的品质和产量至关重要。烟草病害是影响烟草品质的主要因素。2009 年,烟草靶斑病首次在云南省腾冲烟区发现;2016 年该病在普洱烟区爆发,导致超过 5 300 hm² 烟田绝收;2017—2018 年,该病在普洱、丽江等地相继流行,各地区发病严重程度不同,但均影响烟草的品质和产量,成为目前云南省烟草生产上急需解决的问题。

1948 年鉴定出烟草靶斑病为真菌病害^[1],于 1973 年明确烟草靶斑病病原菌的担孢子属于亡革菌属^[2],1990 年 SHEW 正式命名该病原菌为烟草靶斑病菌 (tobacco target spot)^[3]。1989 和 1995 年,美国北卡罗来纳州大面积发生烟草靶斑病^[4],病害危及美国大部分烟草产区;随后,在南非、津巴布韦、意大利、加拿大、法国和阿根廷等国也报道了该病害的发生^[4-7];2005 年中国辽宁丹东首次发现该病害^[8],并逐渐在中国其他省份出现,如广西罗成、南丹和钟山^[9]、辽宁、吉林、黑龙江^[10]和云南等地区。

烟草靶斑病病原菌的无性世代为立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani* Kühn),属丝孢纲 (Hyphomycetes) 无孢目 (Agonomycetales) 丝核菌属 (*Rhizoctonia*);有性世代为瓜亡革菌 [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk],属担子菌门 (Basidiomycota) 层菌纲 (Hymenomycetes) 胶膜菌目 (Tulasnellales) 亡革菌属 (*Thanatephorus*)。丝核菌为土壤习居菌,以菌核形式越冬,适宜条件下以菌丝体繁殖和侵染,高温下偶尔产生担孢子,通过农具、土壤和水流等传播。常见的病原菌是丝核菌的无性世代,培养初期可见白色的菌丝,后转淡褐色,有隔,较粗。丝核菌有性世代较为罕见,丝核菌担子顶生 2~4 个小柄,柄上着生担孢子^[11]。

烟草靶斑病主要危害烟叶,病斑初期为小圆斑,后期逐渐扩大并常伴有同心轮纹,病斑内组织成浅褐色,后期穿孔,发病严重时各病斑相联合,造成大面积或整个叶片枯死。背面的病叶病

健处常有白色霉状物,为病原菌的菌丝及其有性世代的子实层。烟草靶斑病不产生无性孢子,产生有性孢子,但有性孢子在烟草靶斑病流行中的作用、动态和机制尚不清楚。为此,本课题组观察云南省普洱市墨江县新抚镇某烟草种植户中感病的烟株,通过试验探究烟草靶斑病病原菌的归属关系、担孢子形成的环境条件及担孢子致病性,为研究烟草靶斑病流行病学奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

云南省普洱市墨江县新抚镇某烟草种植户的活体烟草靶斑病烟株、本实验室保存的 AG-3-TB (沈阳烟草靶斑病) 和 AG-3-PT 菌株。

1.2 有性孢子田间观察试验

2018 年 8 月 2—9 日对云南省普洱市墨江县新抚镇的发病烟株全天 (24 h) 跟踪观察 (1 h 观察 1 次),番红染色病斑周围的白色霉状物,并在显微镜下观察。将温湿度自动记录仪 (Hobo, 型号 U23) 置于与发病烟叶等高的部位,以分钟为单位检测感病烟株周边的温湿度,记录担孢子出现的时间,选取记录时间段中的温湿度数据,分析田间担孢子形成的环境特点。

1.3 有性孢子田间接种试验

采用田间制备悬浮液的方法对田间健康的烟叶接种,将水琼脂平板 ($w = 2\%$) 置于病叶子实层下方 10 cm 处,24 h 后收回,同时添加 15 mL ddH₂O 捣碎摇匀,静置 30 min 后制成悬浮液。灭菌棉花蘸取少量上清液,均匀涂抹于健康烟株的上二棚处,观察并记录发病情况。

1.4 分离物菌丝融合群的鉴定

采集田间人工接种 (孢子悬浮液) 的感病烟叶,参照周而勋等^[12]的快速分离方法从新鲜病叶的病健处分离病菌,分离纯化获得待测菌株,活化标准菌株 AG-3-PT,将待测菌株与标准菌株配对进行菌丝融合群鉴定,恒温 25 ℃ 培养,根据待测菌株与标准菌株间的菌丝融合现象 (完全融

合、不完全融合、不融合)判定待测菌株是否属于 AG-3。

1.5 温室活体接种

采用针刺法对健康烟叶进行针刺处理,在伤口处放置 6 mm 的待测菌株菌饼,保湿培养,观察并记录发病时间及程度。

1.6 菌株 DNA 提取

菌株 DNA 提取参照张正禹等^[13]快速提取 DNA 的方法:PCR 管中加入 50 μL 5% Chelex-100 溶液,用无菌牙签从 PDA 培养基上挑取少量 DB-5 的菌丝置于其中,旋涡 5 s 后,PCR 仪上 94 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min,自然冷却至室温,离心 1 min (12 000 r/min),取上清液保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.7 rDNA 序列扩增及分析

PCR 反应采用总体积 25 μL 的反应体系:1 μL DNA 模板(供试菌株 DB-5);12.5 μL 2 $\times$ Taq PCR Master Mix (2 $\times$, with Blue Dye) 溶液;正向引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和反向引物 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 各 0.5 μL ;10.5 μL ddH₂O。反应程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min;55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,35 次循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶 120 V 电压下电泳 40 min,在凝胶成像系统下观察条带质量拍照后,按照康宁生命科学(吴江)有限公司 AxyPrep PCR 清洁试剂盒说明书纯化反应液,将回收的片段克隆,进行单克隆检测后,将含有目的片段的菌液送至上海生工公司测序拼接生成完整的 5'→3' 序列。序列结果在 NCBI 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行 BLAST 分析,进一步确定供试菌株 DB-5 的归属关系,并下载与菌株 DB-5 一致性高且融合群确定的已知序列,将菌株 DB-5 的序列与本实验室保存的菌株 BSZL4、BSZL5、MJ1、M₂J-81、M₂J-25、AG-3-TB 及下载序列用 DANMAN 6.0 软件进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 烟草靶斑病病害症状的显微观察

观察田间感病烟株,发现 2 种病斑形态,1 种为孢子初侵染时的圆形坏死斑(图 1),病斑直径为 1~2 mm;另 1 种为菌丝再侵染后的不规

则形状病斑(图 1),病斑直径远大于前者,为 1~2 cm,并可扩展至整个叶片。相对湿度高的条件下,病斑周围的绿色组织上易出现白色或灰白色霉层(图 2),显微镜下观察霉层可见担子(图 3),担子小柄上着生担孢子(图 3);担孢子为球形或椭圆形,透明光滑。田间对存在担孢子的病叶离体保湿培养观察,发现该病菌的有性孢子不能离体后连续大量产孢,并且离体的烟叶病斑组织附近不产孢。

2.2 田间小气候对孢子产生和病斑形成的影响

田间观察发现形成担孢子的时间段主要集中在



注: A. 孢子初侵染形成的圆形坏死斑; B. 菌丝再侵染形成的不规则形状的病斑。

Note: A. round necrotic plaques formed by initial spore infection; B. an irregularly shaped plaque formed by the reinfection of hyphae.

图 1 田间孢子回接病斑

Fig. 1 Spot of spores grafting in field



图 2 病斑周围的白色子实层

Fig. 2 Hymenium around the lesion

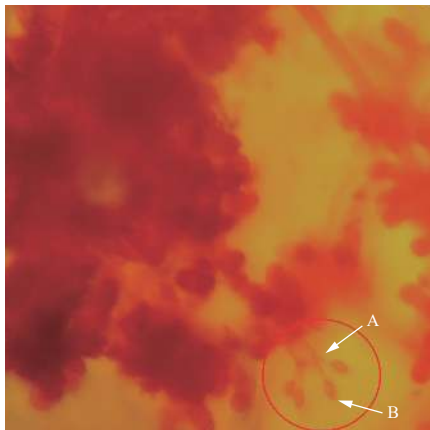
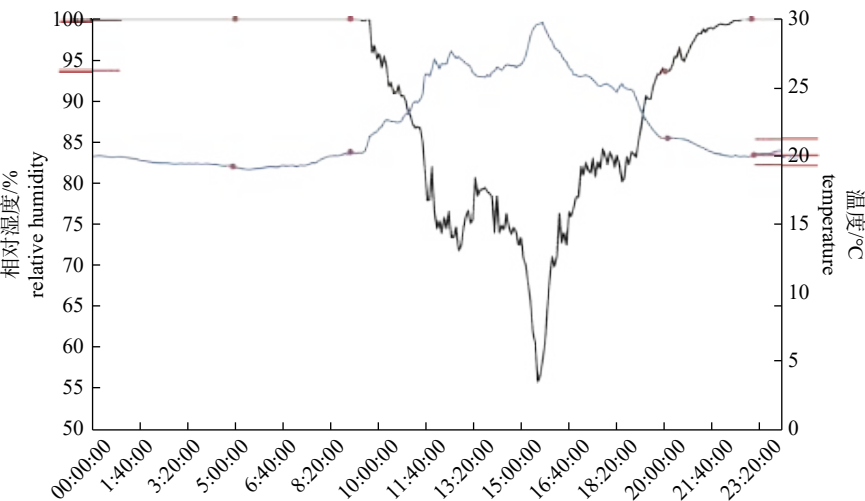


图 3 担子 (A) 及担孢子 (B)
Fig. 3 Basidium (A) and basidiospores (B)

在 5: 00—9: 00 和 20: 00—23: 00。将担孢子产生的主要时间段与温湿度自动记录仪的数据进行整理, 结果 (图 4) 显示: 担孢子形成时的田间环境相对湿度近 100%, 温度约为 20 ℃。观察期间当地为阴雨天, 说明湿度高和适宜温度利于有性孢子的产生, 适宜的环境特点使烟草靶斑病有性孢子快速繁殖, 易导致病害快速爆发。

2.3 有性孢子致病性观察

田间人工接种有性孢子 12 h 后即可发病, 出现约 1 mm 的白色小圆斑, 为初侵染病斑 (图 1); 在湿度大的情况下, 接种 24 h 后, 病斑开始扩展 (图 1); 接种 7~8 d, 病斑继续扩展、穿孔, 并在病斑周围的活体烟叶背面形成白色子实层 (图 2)。



注: 图中“红点”分别为 5: 00、9: 00、20: 00 和 23: 00 时的温、湿度; “红线”表示观察担孢子形成的时间段的温、湿度范围。
Note: The “red dot” in the figure is the temperature and humidity at 5: 00, 9: 00, 20: 00 and 23: 00; the “red line” indicates the temperature and humidity range during the observation period of basidiospore formation.

图 4 感病烟株周边环境的温湿度变化
Fig. 4 Changes of temperature and humidity in the surrounding environment of the affected tobacco plant

2.4 营养体菌丝温室接种

温室菌丝接种 48 h 后发病, 出现褐色不规则病斑, 为再侵染病斑 (图 5)。2 种接种方法相比, 接种菌丝的发病速率明显慢于接种孢子悬浮液, 并且担孢子与菌丝的致病症状不同, 说明在适宜担孢子环境条件下, 会导致病害大规模爆发, 并且发病时间较快。

2.5 菌丝融合群测定与 ITS 序列分析

从田间采集的感病病叶, 分离纯化得到 1 个菌株 (DB-5), 经显微镜观察该菌株的菌丝结构具有丝核菌共同的特征。待测菌株 (DB-5) 与标准菌株 (AG-3) 配对菌丝接触后, 菌丝细胞间发生接



图 5 室内菌饼间接病斑
Fig. 5 The fungus cake in the room receives the spot

触的细胞壁溶解,一方细胞内细胞质流入另一细胞内,且造成两方融合及其邻近几个细胞发生畸形,原生质减少或消失,有杀死反应,一方引诱另一方,属于同一菌丝融合群内不同菌株间融合(图6)。通过融合群测定,确定菌株DB-5属于AG-3融合群。

以DB-5的基因组DNA为模板,PCR扩增出1条特异性条带,测序结果表明:ITS序列长度为684 bp,将序列在GenBank中注册,登录号为:MN417231。将测序结果在NCBI中进行BLAST分析,菌株DB-5与AG-3群的已知序列一致性可达到99.85%;多重比较分析结果表明:DB-5与BSZL5、M₂J-25和MG600246的同源性达100%与BSZL4、M₂J-81、MJ1和MH780052同源性达到98%,与MH714869的同源性达到96%,与AG-3-TB、JQ219152和JQ219156同源性达到94%。从分子水平上再次明确菌株DB-5属于AG-3融合群。

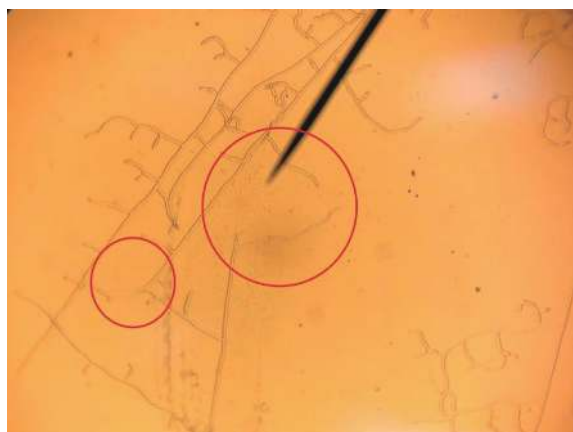


图6 菌丝间的不完全融合

Fig. 6 The killing fusion between the tested isolate and standard strain

3 讨论

有研究报道:迄今为害烟草的病原菌为立枯丝核菌的AG-2、AG-4和AG-3融合群,如:加拿大^[14]、美国马萨诸塞州和康乃迪克州^[15-16]、南非^[5]、中国吉林省、黑龙江省^[17]、辽宁省^[18]、云南省临沧市和普洱市^[19]烟区的烟草靶斑病原菌为AG-3融合群;阿根廷西北部地区^[7]为AG-2-1融合群;美国北卡罗来纳州^[20]为AG-2-2融合群,广西病原菌为AG-2和AG-4融合群^[21]。GONZALEZ

等^[22]发现立枯丝核菌AG-2-2可引起烟草茎部病害,而AG-3危害烟草叶部。鉴定丝核菌菌株的融合群必须结合分子鉴定(5.8S rDNA-ITS的片段序列分析)和融合反应才能到亚群水平^[23]。本研究结合融合群试验和分子证据,确认了云南墨江发生的烟草靶斑病原菌是立枯丝核菌AG-3融合群的TB亚群。在5.8S rDNA-ITS的片段序列分析中发现菌株DB-5与云南(BSZL4、BSZL5、MJ1、M₂J-81、M₂J-25和MG600246)、贵州(MH780052)和四川(MH714869)烟草靶斑病原菌序列的同源性在96%以上,而与辽宁省(AG-3-TB、JQ219152和JQ219156)烟草靶斑病原菌序列的同源性则为94%。苏燕妮等^[17]分离了吉林(JL-1)和黑龙江(HLJ-7、HLJ-2)地区的烟草靶斑病菌菌株,基因组DNA与辽宁丹东、铁岭地区的同源性高达100%。烟草靶斑病原菌经过有性繁殖,基因组DNA可能发生变异,可能存在与地理环境相关的遗传多样性。

真菌无性孢子在病害的传播过程中起重要作用,在真菌的生长季节可连续多次并大量的产生无性孢子。然而,真菌的有性阶段主要为了渡过不良的环境条件,翌年成为病害的初侵染来源,在植物生长或病菌侵染后期产生。由于烟草靶斑病不产生无性孢子,在病害循环中有性孢子作为再侵染的手段在自然界中实属罕见。烟草靶斑病在东北地区7—8月易发病,由于该时间段连续下雨,气温低,空气湿度大,叶片从晚上到翌日9:00经常结露,东北地区的发病条件与北卡罗来纳州相似。本试验也发现活体烟株的病叶在低温高湿条件下可迅速产生大量侵染力很强的担孢子,当田间连续降雨或早晚叶片表面有水层,导致病原菌生长环境的相对湿度近100%,气温约20℃,病原菌的担孢子可在约1.5 h产生,直接侵染植物。说明该病原菌的担孢子产孢速度快,可在空气中传播,且传播速度快,快于菌丝或菌核侵染。

目前国内外关于丝核菌的致病机制研究主要集中于菌核的形成、细胞壁降解酶、粗毒素及遗传分化等方面^[24-25]。本课题组通过在田间接种孢子悬浮液的方法,发现烟草活体植株上产生的担孢子在12 h后便可导致烟叶发病,证明其有性孢子在病害循环中的作用,而且担孢子重量轻、数量大,可通过气流快速传播引起再侵染,导致病

害蔓延快、范围广,增加了病害的流行风险和防治难度,因此需要进一步明确烟草靶斑病有性孢子病害循环中作为再侵染的致病机制,根据新的特点设计预警策略和防控方法。

[参考文献]

- [1] 王左斌, 吴元华, 赵秀香, 等. “噬肽菌净”对烟草靶斑病的抑菌作用及田间药效试验[J]. 烟草科技, 2007(9): 61. DOI: [10.3969/j.issn.1002-0861.2007.09.015](#).
- [2] SHEW H D, MELTON T A. Target spot of tobacco[J]. Plant Disease, 1995, 79(1): 6.
- [3] SHEW H D, MAIN C E. Infection and development of target spot of flue-cured tobacco caused by *Thanatephorus cucumeris*[J]. Plant Disease, 1991, 74(12): 1009. DOI: [10.1094/PD-74-1009](#).
- [4] PINFIELD N J. Tobacco: production, chemistry and technology. Edited by D. Layten Davis and Mark T. Nielsen. 1999[J]. Plant Growth Regulation, 2001, 33(3): 245. DOI: [10.1023/A:1017553623701](#).
- [5] MEYER J C, WYK R J, PHILLIPS A J L. *Rhizoctonia* leaf spot of tobacco in South Africa[J]. Plant Pathology, 2010, 39(1): 206. DOI: [10.1111/j.1365-3059.1990.tb02492.x](#).
- [6] NICOLETTI R. Target spot of tobacco: a disease of possible introduction in Italy[J]. Tobacco, 1995, 3: 1.
- [7] CÁRDENAS G M, GALVÁN M, BARRERA V, et al. First report of target spot of tobacco caused by *Rhizoctonia solani* AG-2.1[J]. Plant Disease, 2012, 96(3): 456. DOI: [10.1094/PDIS-08-11-0696](#).
- [8] 吴元华, 王左斌, 刘志恒, 等. 我国烟草新病害——靶斑病[J]. 中国烟草学报, 2006, 12(6). DOI: [10.3321/j.issn:1004-5708.2006.06.005](#).
- [9] 谭海文. 广西烟草真菌性病害调查[D]. 南宁: 广西大学, 2012.
- [10] 孙宏宇. 烟草靶斑病发生及防治技术研究进展[J]. 中国植保导刊, 2015, 35(7): 23. DOI: [10.3969/j.issn.1672-6820.2015.07.004](#).
- [11] 李明远. 由丝核菌引起的蔬菜褐腐病值得关注[J]. 中国蔬菜, 2017(12): 88.
- [12] 周而勋, 杨媚. 从植物病组织中分离枯丝核菌的快速、简便技术[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(1): 125.
- [13] 张正禹, 包文静, 岳蕊, 等. 一种快速提取丝核菌 (*Rhizoctonia* spp.) DNA 的方法[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(23): 24. DOI: [10.3969/j.issn.0517-6611.2015.23.009](#).
- [14] REELEDER R D. First report of target spot of tobacco caused by *Rhizoctonia solani* (AG-3) in Canada[J]. Plant Disease, 1996, 80: 712.
- [15] LAMONDIA J A, VOSSBRINCK C R. First report of target spot of tobacco caused by *Rhizoctonia solani* (AG-3) in Massachusetts[J]. Plant Disease, 2011, 95(4): 496. DOI: [10.1094/PDIS-10-10-0751](#).
- [16] LAMONDIA J A, VOSSBRINCK C R. First report of target spot of broadleaf tobacco caused by *Rhizoctonia solani* (AG-3) in Connecticut[J]. Plant Disease, 2012, 96(9): 1378. DOI: [10.1094/PDIS-04-12-0335-PDN](#).
- [17] 苏燕妮, 董雪, 赵艳琴, 等. 东北地区烟草靶斑病菌 (*Rhizoctonia solani*) 融合群、致病力分化及品种抗病性研究[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 170. DOI: [10.3969/j.issn.0529-1542.2016.01.031](#).
- [18] 吴元华, 伏颖, 赵秀香, 等. 烟草靶斑病菌菌丝融合群及 ITS 序列分析[J]. 植物病理学报, 2013, 43(2): 215. DOI: [10.3969/j.issn.0412-0914.2013.02.017](#).
- [19] 侯慧慧, 孙剑萍, 刘子仪, 等. 云南烟草靶斑病 (*Rhizoctonia solani* Kühn) 病原鉴定及其融合群研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(2): 203. DOI: [10.3969/j.issn.1000-1700.2018.02.011](#).
- [20] SHEW H D, MAIN C E. *Rhizoctonia* leaf spot of flue-cured tobacco in North Carolina[J]. Plant Disease, 1985, 69(10): 901. DOI: [10.1094/PD-69-901](#).
- [21] 陈媛媛, 谭海文, 卢燕回, 等. 广西烟草立枯病菌和靶斑病菌菌丝融合群初步分析[J]. 广东农业科学, 2016, 43(10): 106. DOI: [10.16768/j.issn.1004-874X.2016.10.019](#).
- [22] GONZALEZ M, PUJOL M, METRAUX J, et al. Tobacco leaf spot and root rot caused by *Rhizoctonia solani* Kühn[J]. Molecular Plant Pathology, 2015, 12(3): 209. DOI: [10.1111/j.1364-3703.2010.00664.x](#).
- [23] DONG W H, LI Y Q, DUAN C F, et al. Identification of AG-V, a new anastomosis group of binucleate *Rhizoctonia* spp. from taro and ginger in Yunnan Province[J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 138(4): 895. DOI: [10.1007/s10658-016-1144-y](#).
- [24] 赵艳琴, 吴元华, 伏颖, 等. 烟草靶斑病菌 (*Rhizoctonia solani*) 细胞壁降解酶活性分析及其致病作用[J]. 烟草科技, 2014(11): 84. DOI: [10.3969/j.issn.1002-0861.2014.11.017](#).
- [25] 赵艳琴, 伏颖, 赵秀香, 等. 烟草靶斑病菌 (*Rhizoctonia solani*) 粗毒素的生物活性及理化性质[J]. 烟草科技, 2013(4): 81. DOI: [10.3969/j.issn.1002-0861.2013.04.019](#).

责任编辑: 何馨成