



网络出版日期:2021-03-18

doi: 10.7606/j.issn.1004-1389.2021.03.015

网络出版地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.s.20210317.1353.014.html>

## 陕西核桃黑斑病病原菌鉴定及药剂防治研究

瞿佳<sup>1</sup>, 门欣<sup>1</sup>, 孙晓宇<sup>1</sup>, 赵玲侠<sup>1</sup>, 宁硕瀛<sup>2</sup>, 陈锐<sup>1</sup>

(1. 陕西省微生物研究所, 西安 710043; 2. 陕西省动物研究所, 西安 710032)

**摘要** 核桃黑斑病是危害核桃生产的重要细菌性病害, 近年来在陕西严重发生。为探究陕西省核桃黑斑病的病原菌种类, 制定核桃黑斑病的田间防治策略。采用组织分离法对陕西省内核桃黑斑病的病原菌进行分离纯化, 获得纯培养物, 通过形态特征、生理生化特性及 16S rDNA 序列分析, 获得 2 种病原株系 HTX 和 HTP, 分别鉴定为野油菜黄单胞杆菌(*Xanthomonas campestris*)和成团泛菌(*Pantoea agglomerans*)。通过对 21 种药剂进行室内抑菌试验, 筛选出 7 种药剂对 2 种病原菌株系均有明显抑制作用。通过室内毒力测定和田间防治试验, 结果表明中生菌素、春雷霉素、噻霉酮、琥胶肥酸铜和噻唑锌对核桃黑斑病危害的叶片、果实的防治效果均在 67.67%、61.53% 以上, 防治效果好, 可用于核桃黑斑病的田间防治。

**关键词** 核桃黑斑病; 病原鉴定; 杀菌剂; 田间防治

中图分类号 S432.1; S664.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2021)03-0452-10

核桃是胡桃科(*Juglandaceae*), 核桃属(*Juglans*)植物, 经济价值显著, 是中国重要的经济树种<sup>[1]</sup>。陕西是中国核桃的主要产地之一, 目前全省核桃面积、产量和产值均列全国第二位<sup>[2]</sup>。近年来, 受栽培面积过大、管理粗放、品种混杂等因素影响, 核桃病害频发, 严重威胁核桃产业的发展<sup>[3]</sup>。

核桃黑斑病, 是一种严重的细菌性病害, 传播能力强, 危害程度高, 发生危害时可造成核桃叶片、嫩梢、枝条、果实等出现黑斑, 随后腐烂、坏死、早落, 严重影响核桃的产量和品质<sup>[4-5]</sup>。长期以来, 普遍认为核桃黑斑病是由树生黄单胞菌核桃致病变种 *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* 引起<sup>[6-7]</sup>。自 Frutos<sup>[8]</sup>首次发现野油菜黄单胞菌 *Xanthomonas campestris* 可引起核桃黑斑病以来, 有学者相继在北京、陇南地区的核桃黑斑病病叶、病果上分离获得野油菜黄单胞菌 *X. campestris*<sup>[9-10]</sup>。此外, 还有研究认为成团泛菌 *Pantoea agglomerans* 也是引起核桃黑斑病的病原菌<sup>[11-13]</sup>。长期以来, 由于陕西省核桃黑斑病危害区域广、病情重、发生频繁, 且缺乏对致病菌类型的系统研究, 导致防治工作中存在病情诊断延误、

滥用药剂、防效不佳等问题, 使其成为限制陕西核桃产业化发展和提质增效的主要因素之一<sup>[2,14]</sup>。

鉴于陕西核桃黑斑病危害严重, 致病菌种类多样, 造成田间防治困难。因此, 本研究对陕西核桃黑斑病的病原菌进行分离鉴定, 通过室内毒力测定和田间防效试验, 以期阐明陕西核桃黑斑病的致病菌种类, 筛选获得核桃黑斑病的高效防治药剂, 为科学有效控制陕西核桃黑斑病的危害提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 供试材料 供试样品: 于 2018 年 4 月至 2019 年 10 月, 自陕西渭南、安康等区县核桃种植区采集表现典型黑斑病病斑的当年生核桃病叶和病果样品各 15 份。采后单独装入无菌样品袋内, 4 °C 保存, 备用。

1.1.2 试剂与主要仪器 供试培养基及试剂, 筛选用培养基为 LB 培养基: 蛋白胨 10 g, NaCl 10 g, 酵母提取物 5 g, ddH<sub>2</sub>O 1 000 mL, pH 7.0~7.2, 若制备固体培养基需加入 18 g/L 琼脂。试验所用试剂包括 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、2 ×

收稿日期:2020-08-07 修回日期:2020-08-21

基金项目: 陕西省自然科学基础研究计划项目(2020JQ-973); 陕西省重点研发计划项目(2020NY-038); 陕西省科学院科技计划项目(2018nK-09, 2018nK-01)。

第一作者: 瞿佳, 女, 助理研究员, 研究方向为微生物资源。E-mail: q\_jia@163.com

通信作者: 陈锐, 女, 副研究员, 研究方向为微生物资源。E-mail: email4rui@163.com

Ex *Taq* Premix、DNA Marker, 细菌基因组 DNA 小量纯化试剂盒、DNA 凝胶回收试剂盒, 均购于 Takara(日本)大连宝生物工程有限公司; 细菌 16S rDNA 通用引物购于上海生工生物工程股份有限公司。

室内测定供试药剂: 99% 中生菌素原药、71.5% 春雷霉素原药购于义务盛隆生物科技有限公司; 80% 代森锰锌原药、98% 溴菌腈原药、90% 乙蒜素原药购于湖北猫尔沃生物医药有限公司; 99% 脱菌唑原药、99% 四霉素原药购于武汉荣灿生物科技有限公司; 97% 甲基托布津原药购于湖北帝柏化工有限公司; 96% 氟吡菌酰胺原药、98% 氟啶胺原药、98% 喻菌酯原药、98% 琥胶肥酸铜原药、99% 吡唑醚菌酯原药、98% 多菌灵原药、98% 百菌清原药、98% 啶酰菌胺原药购于深圳诺普信农化股份有限公司; 98% 嘧霉酮原药、98% 乙酸铜原药、98% 二氯蒽醌原药、98% 嘧唑锌原药、99% 戊唑醇原药由陕西省农药管理鉴定所提供。

田间试验供试药剂: 2% 春雷霉素水剂购于日本北兴化学工业株式会社; 12% 中生菌素可湿性粉剂购于福建凯立生物制品有限公司; 1.5% 嘧霉酮水剂购于陕西西大华特科技实业有限公司; 20% 乙酸铜可湿性粉剂购于齐齐哈尔四有化工有限公司; 22.7% 二氯蒽醌悬浮剂购于江西禾益化工股份有限公司; 30% 琥胶肥酸铜可湿性粉剂购于齐齐哈尔四有化工有限公司; 20% 嘧唑锌悬浮剂购于浙江新农化工股份有限公司。

主要仪器包括: 隔水式培养箱(GH500, 北京科伟永兴仪器有限公司), 摆瓶培养箱(TS-2102, 上海天呈实验仪器制造有限公司), 立式压力蒸汽灭菌锅(LDZX-50KBS, 上海申安医疗器械厂), 高速冷冻离心机(GL-20G-H, 上海安亭科学仪器厂), Biolog 自动微生物鉴定系统(Gen III Microstation, BIOTEK, 美国)、基因扩增仪(TProfessional Standard Gradient 96, BIOMETRA, 德国), 紫外可见分光光度计(722 型, 上海菁华科技仪器有限公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 病原菌分离、保存及致病性测定 参照《植病研究方法》中组织分离法分离病原菌<sup>[15]</sup>。选取典型症状的病叶, 用体积分数 75% 酒精进行表面消毒后置于灭菌研钵内捣碎, 加入无菌生理盐水混匀、稀释, 在 LB 平板上涂布, 于 28 ℃ 下倒置培养 48 h。待长出单菌落后, 挑取不同形态单

菌落, 划线纯化, 并将株系接种于斜面培养基上, 4 ℃ 保存, 备用。病原菌致病性测定采用针刺法接种: 于 28 ℃ 下活化培养病原菌, 挑取单菌落在液体 LB 培养基中培养, 配制 10<sup>8</sup> cfu/mL 菌悬液。利用医用无菌注射器吸取少量菌液直接穿刺健康核桃叶片, 迅速置于无菌培养皿内, 以无菌生理盐水为对照, 每处理重复 5 次, 每日记录发病情况。

1.2.2 病原菌的鉴定 将株系在固体培养基平板上划线纯化, 30 ℃ 培养 4 d, 观察菌落形态, 测量菌落大小(重复 30 次), 并参照《伯杰氏细菌鉴定手册》<sup>[16]</sup>与《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[17]</sup>进行革兰氏染色、氧化酶及接触酶试验, 确定株系种类。通过 Biolog 自动微生物鉴定系统检测株系对醇、糖、酸等 71 种碳源(无菌水用作空白对照)的利用情况和对 23 种化学敏感物质的反应, 分析鉴定结果。

16S rDNA 序列分析: 采用细菌基因组 DNA 小量纯化试剂盒提取菌株基因组 DNA。16S rDNA 扩增引物(正向: 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCA-3'; 反向: 5'-GGTTACCTTGTAC-GACTT-3')。25 μL 反应体系为: DNA 模板 3.0 μL(10 ng/μL), 2×Ex *Taq* Premix 12.5 μL, 引物各 1 μL(10 μmol/L), ddH<sub>2</sub>O 7.5 μL。扩增程序: 94 ℃ 5 min; 94 ℃ 1 min, 55 ℃ 45 s, 72 ℃ 2 min, 30 个循环; 最后 72 ℃ 10 min。扩增产物由上海生工生物有限公司测序。利用 Blast(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 与 GenBank 中序列进行相似性比对, 使用 MEGA 5.1 软件(Arizona State University, 美国)Neighborhood-joining 法构建系统发育树<sup>[18]</sup>。

1.2.3 药剂初筛及室内毒力测定 供试药剂初筛: 将分离获得的两种病原菌接种于 LB 液体培养基中, 28 ℃、150 r/min 件下培养 24 h。通过抑菌圈法进行药剂初筛: 将供试药剂用丙酮溶解, 并用含体积分数 0.1% 吐温 80 溶液的无菌水稀释成 100 mg/L 的药液。将灭菌后的 LB 培养基冷却至 50 ℃, 加入体积分数 2% 的菌液混匀后倒入平板。待培养基凝固后均匀打 3 个孔(直径 6.0 mm), 每孔均加入 60 μL 药液, 重复 3 次。28 ℃ 下培养 72 h 后观察是否有明显的抑菌圈<sup>[19]</sup>。

药剂抑菌率测定: 选取初筛结果中对两种病原菌均有抑制效果的药剂用丙酮溶解, 加入体积分数 1% 吐温 80 制成 1% 乳油, 并用无菌水分别

稀释成质量浓度梯度药剂。将培养24 h的菌液1 mL接种于含不同药剂不同质量浓度的100 mL LB液体培养基中,于28 °C、150 r/min条件下培养3 d,无菌水为对照,每个处理重复3次。从各个三角瓶中吸取2 mL菌悬液置于无菌离心管,并加入2 mL无菌水振荡混匀,液体LB培养基加无菌水调零作为参比,测定波长600 nm下各药剂不同质量浓度梯度处理组的OD值,计算不同药剂质量浓度的细菌生长抑制率<sup>[20]</sup>。抑制率: $Y=(OD_1-OD_2)/OD_1$ ;其中 $OD_1$ 代表无菌水对照的OD值, $OD_2$ 代表药剂处理的OD值,并依据抑制率计算药剂毒力回归方程、 $EC_{50}$ 值。

**1.2.4 田间防效试验** 试验于安康市石泉县饶丰镇(N34°7',E108°10')核桃黑斑病连续多年发病的核桃园进行,该园核桃病叶、病果中均检出2种病原菌,栽培品种为‘香玲’和‘陕核5号’。2019年5月—8月,从核桃黑斑病发病初期开始,采用2%春雷霉素水剂1 000倍液,12%中生菌素可湿性粉剂2 400倍液,1.5%噻霉酮水剂3 000倍液,20%乙酸铜可湿性粉剂2 500倍液,

22.7%二氰蒽醌悬浮剂1 000倍液,30%琥胶肥酸铜可湿性粉剂850倍液,20%噻唑锌悬浮剂1 000倍液,通过喷雾防治,设置空白对照。田间小区随机分布排列,每个处理组10株,各处理组设置3次重复。喷施药剂时,均匀喷施在病叶及病果表面,施药量标准为叶片正反面及果实均匀着药,稍有药液下滴。喷药结束后,悬挂标识牌并记录。每次喷药间隔15 d,期间不进行其他农事处理。

田间调查时间为施药后10 d,调查叶片和果实黑斑病发生及药剂防治效果。具体调查方法如下:每个处理组随机抽样调查3株。调查时每株选取8个样点,分别为植株东、南、西、北方向的中层枝和下层枝,各样点随机调查5片树叶或果实<sup>[19,21]</sup>。依据黑斑面积设定病级(表1),统计数据、计算病情指数及药剂防治效果,公式如下:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum [\text{各级病叶(果)数量} \times \text{代表值}]}{[\text{调查总叶(果)数} \times 5]} \times 100$$

$$\text{防治效果} = \frac{(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数})}{\text{对照病情指数}} \times 100\%$$

表1 核桃黑斑病害分级标准

Table 1 Scale for disease severity of walnut blight

代表值 Value	分级标准 Grading standard
0	无病斑 No lesions on surface of leaves and fruits
1	病斑面积占叶片或果实面积的5%以下 Lesions less than 5% of surface area
2	病斑面积占叶片或果实面积的6%~15% Lesions less than 15%, more than 6% of surface area
3	病斑面积占叶片或果实面积的16%~25% Lesions less than 25%, more than 16% of surface area
4	病斑面积占叶片或果实面积的26%~50% Lesions less than 50%, more than 26% of surface area
5	病斑面积占叶片或果实面积的50%以上 Lesions more than 50% of surface area

**1.2.5 数据处理与分析** 采用Clustal X 1.83(University College Dublin,爱尔兰)和MEGA 5.1(Arizona State University,美国)软件进行系统发育学分析,构建进化树;采用SPSS 22(IBM,美国)计算毒力回归式、 $EC_{50}$ 值及田间防效。田间防治试验数据通过单因素ANOVA分析,其后检验通过Duncan's新复极差法分析差异显著性( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

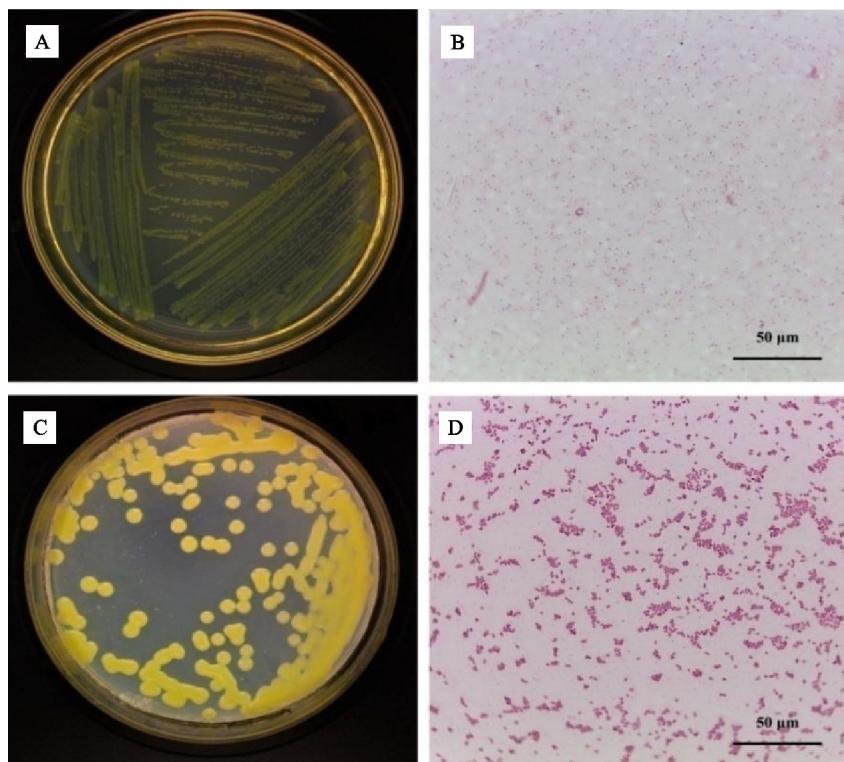
### 2.1 病原菌分离、纯化及其致病性检测

经组织分离法分离,培养48 h,挑取单菌落划线纯化后,在LB培养基上出现两种黄色菌落,分别标记为HTX和HTP。株系HTX菌落圆形,呈淡黄色,表面光滑,凸起,培养4 d后呈奶油

状,黄色加深(图1-A);株系HTP菌落圆形,呈蜡黄色,表面光滑,凸起(图1-C)。通过光学显微镜观察发现,HTX单个菌体呈短杆状,菌体大小为(0.5~1.2)  $\mu\text{m} \times (1.0~2.4) \mu\text{m}$ (图1-B);HTP单个菌体呈直杆状,菌体大小为(0.5~2.0)  $\mu\text{m} \times (0.6~3.0) \mu\text{m}$ (图1-D)。

将纯化菌落活化培养后制成 $10^8 \text{ cfu/mL}$ 菌悬液,并于核桃幼嫩叶片上进行回接试验。7 d后接种的核桃叶片上出现黑色、多角形病斑,而对照组叶片仅有针刺孔(图2),结果表明分离获得的病原菌株系具有致病性,能够引起叶片产生与自然状态下类似的核桃黑斑病典型症状。依据柯赫氏法则,采集接种后病叶重新对病原菌进行分离、鉴定。结果表明,后分离获得病原菌的菌落形态特征与接种株系一致。以上2种病原菌株系

HTX 和 HTP 均可通过伤口侵染叶片,引起核桃黑斑病发生。



A. 株系 HTX 培养 4 d 的菌落形态;B. 株系 HTX 培养 4 d 的菌落;C. 株系 HTP 培养 4 d 的菌落形态;D. 株系 HTP 培养 4 d 的菌落  
A. The colony morphology of strain HTX after 4 days cultivation; B. Strain HTX after 4 days cultivation; C. The colony morphology of strain HTP after 4 days cultivation; D. Strain HTP after 4 days cultivation

图 1 病原菌株系 HTX 和 HTP 在 LB 培养上的菌落形态和光学显微观察

Fig. 1 Colony morphology and culture of strains HTX and HTP isolated from diseased tissues of walnut on LB media

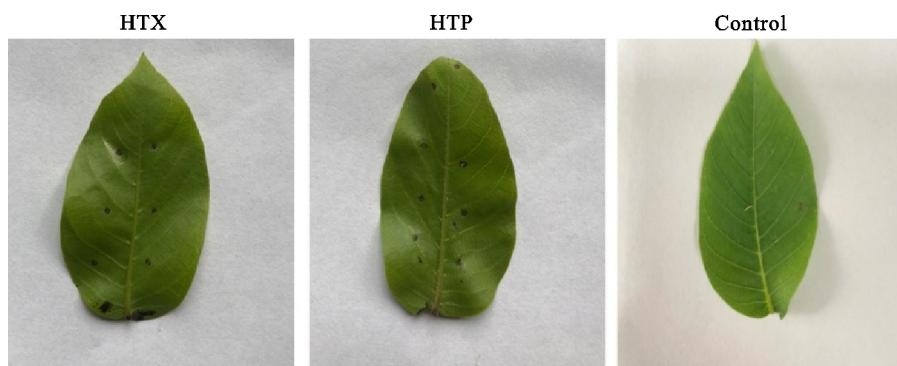


图 2 分离获得的病原株系 HTX 和 HTP 致病性测定

Fig. 2 Pathogenicity tests of strains HTX and HTP isolated from infected walnut tissues on leaves after inoculation

## 2.2 株系 HTX 及 HTP 的生理生化特征

常规生理生化特征分析表明,株系 HTX 为革兰氏阴性( $G^-$ )细菌,单端极生鞭毛,氧化酶反应阴性,接触酶反应阳性;株系 HTP 为革兰氏阴性( $G^-$ )细菌,周生鞭毛,氧化酶反应阴性,接触酶反应阳性。Biolog 分析表明:菌株 HTX 可有效利用 19 种碳源,对林肯霉素、四唑紫、四唑蓝不敏感,可在 1% NaCl 溶液、pH = 6 的条件下生长;

HTP 可有效利用 27 种碳源,对醋竹桃霉素、利福霉素 SV、万古霉素等不敏感,可在 1% 乳酸钠溶液、1% NaCl 溶液、pH = 6 条件下生长;株系 HTX 与野油菜黄单胞菌油菜致病变种 *X. campestris* pv. *campestris* 的相似性为 0.655;株系 HTP 与成团泛菌 *P. agglomerans* 的相似性为 0.702(表 2)。

### 2.3 病原菌的分子系统发育学分析

株系 HTX 和 HTP 的 16S rDNA 序列扩增长度分别为 1 444 bp 和 1 440 bp, 通过 NCBI 的 GenBank 数据库进行在线序列分析和同源性比对, 结果表明, 株系 HTX 序列与野油菜黄单胞菌

野油菜致病变种 *X. campestris* pv. *campestris* 的序列同源性为 99.93%; 株系 HTP 序列与成团泛菌 *P. agglomerans* 的序列同源性为 98.88% (图 3)。序列已提交 NCBI 的 GenBank 数据库, 登录号分别为 MT626033 和 MT635441。

表 2 株系 HTX 与 HTP 对 Biolog 板上各底物的利用能力

Table 2 Utilization of substrates on Biolog plate by strains HTX and HTP

底物 Substrate	HTX	HTP	底物 Substrate	HTX	HTP	底物 Substrate	HTX	HTP
D-海藻糖 D-trehalose	—	—	丙酸 Propionic acid	—	—	N-乙酰-D-葡萄糖 N-acetyl-D-glucosamine	+	—
蔗糖 Sucrose	+	+	pH 6	+	+	D-纤维二糖 D-cellulose	+	—
蜜三糖 D-raffinose	—	—	4%氯化钠 4% NaCl	—	—	D-松二糖 D-turanose	—	—
肌苷 Inosine	—	—	梭链孢酸 Fusidic acid	—	—	α-D-乳糖 α-D-lactose	—	—
D-水杨苷 D-salicin	—	—	利福霉素 SV rifamycin SV	—	+	N-乙酰神经氨酸 N-acetyl neuraminic acid	—	—
α-D-葡萄糖 α-D-glucose	+	—	盐酸胍 Guanidine HCl	—	—	N-乙酰-β-D-甘露糖胺 N-acetyl-β-D-mannosamine	—	—
L-果糖 L-fructose	+	—	四唑紫 Tetrazolium violet	+	+	N-乙酰-D-半乳糖胺 N-acetyl-D-galactosamine	—	—
L-鼠李糖 L-rhamnose	—	+	氯化锂 Lithium chloride	—	—	3-甲基葡萄糖 3-methyl glucose	—	—
D-山梨醇 D-sorbitol	—	—	丁酸钠 Sodium butyrate	—	—	β-甲酰-D-葡萄糖 β-methyl-D-glucoside	—	—
肌醇 myo-Inositol	—	+	溴酸钠 Sodium bromate	—	—	D-甘露醇 D-mannitol	—	—
甘油 Glycerol	—	+	D-麦芽糖 D-maltose	+	—	D-果糖-6-磷酸 D-fructose-6-PO4	—	+
明胶 Gelatin	+	—	龙胆二糖 Gentibiose	—	—	D-天冬氨酸 D-aspartic acid	—	—
L-精氨酸 L-Arginine	—	—	水苏糖 Stachyose	—	—	氨基乙酰-L-脯氨酸 Glycyl-L-proline	—	+
L-组胺 L-histamine	—	—	蜜二糖 D-melibiose	—	—	L-天冬氨酸 L-aspartic acid	—	+
果胶 Pectin	+	+	糊精 Dextrin	+	—	L-焦谷氨酸 L-pyroglutamic acid	—	—
D-葡萄糖酸 D-gluconic acid	—	+	D-甘露糖 D-mannose	+	—	D-半乳糖醛酸 D-galacturonic acid	—	+
粘液酸; 桉液酸 Mucic acid	+	+	D-果糖 D-fructose	+	—	D-葡萄糖醛酸 D-glucuronic acid	—	+
奎宁酸 Quinic acid	—	+	D-海藻糖 D-trehalose	—	—	溴-丁二酸 Bromo-succinic acid	+	+
L-乳酸 L-Lactic acid	—	+	D-半乳糖 D-galactose	+	+	丙酮酸甲酯 methyl pyruvate	—	—
D-苹果酸 D-malic acid	—	+	D-阿拉伯糖 D-arabinose	—	+	D-葡萄糖-6-磷酸 D-glucose-6-PO4	—	+
吐温 40 Tween 40	—	—	葡糖醛酸 Glucuronamide	—	+	L-苹果酸 L-malic acid	+	+
柠檬酸 Citric acid	+	—	D-丝氨酸 D-serine	—	—	γ-氨基-丁酸 γ-Amino-butryric acid	—	—
D-丝氨酸 D-serine	—	—	L-丙氨酸 L-alanine	—	+	α-酮-丁酸 α-Keto-butryric acid	—	—
糖质酸 D-saccharic acid	+	+	L-谷氨酸 L-glutamic acid	+	+	二甲胺四环素 Minocycline	—	—
乙酸 Acetic acid	+	—	L-丝氨酸 L-serine	—	—	α-酮-戊二酸 α-keto-glutaric acid	+	—
硫酸四癸钠 Niaproof 4	—	+	醋竹桃霉素 Troleandomycin	—	+	四唑蓝 Tetrazolium blue	+	+
8%氯化钠 8% NaCl	—	—	林肯霉素,洁霉素 Lincomycin	+	—	α-羟基-丁酸 α-hydroxy-butyric acid	—	+
氨曲南 Aztreonam	—	—	万古霉素 Vancomycin	—	+	L-半乳糖醛酸内酯 L-Galactonic acid lactone	—	+
乙酰乙酸 Acetoacetic acid	—	—	萘啶酮酸 Nalidixic acid	—	—	β-羟基-D,L-丁酸 β-hydroxy-D,L butyric acid	—	—
甲酸 Formic acid	—	+	亚碲酸钾 Potassium tellurite	—	—	D-乳酸甲酯 D-lactic acid methyl ester	—	—
1%氯化钠 1% NaCl	+	+	pH 5	—	—	对羟基-苯乙酸 p-hydroxy-phenylacetic acid	—	—
1%乳酸钠	—	—						
1% sodium lactate	—	+						

注:“+”为阳性;“-”为阴性。下同。

Note: “+” positive; “-” negative. The same below.

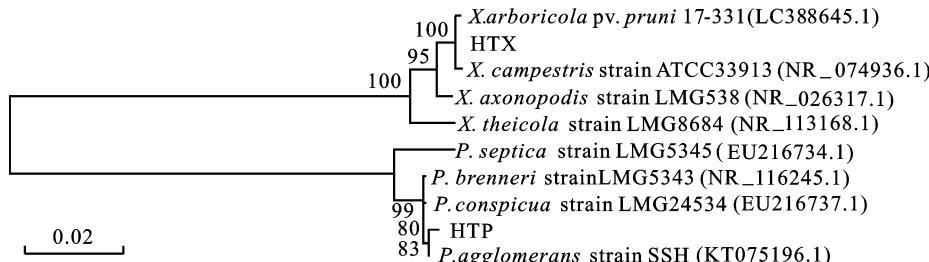


图 3 陕西核桃黑斑病致病株系 HTX 和 HTP 的 16S rDNA 序列系统发育树

Fig. 3 Molecular phylogenetic tree of strains HTX and HTP isolated from walnut

blight in Shaanxi based on 16S rDNA sequences

## 2.4 供试药剂对病原菌的室内毒力

抑菌圈法试验表明,供试药剂中生菌素、春雷霉素、噻霉酮、乙酸铜、琥胶肥酸铜、二氰蒽醌、噻唑锌在质量浓度为 100 mg/L 条件下对株系 HTX 和 HTP 均有明显抑制作用,可作为田间防治候选药剂;嘧菌酯、戊唑醇、溴菌腈、腈菌唑、氟吡菌酰胺等 7 种药剂对 2 种病原菌均无明显抑制作用;其余药剂中除氟啶胺对成团泛菌 HTP 有明显抑制作用外,其余 5 种药剂则对 HTX 有明显抑制作用(表 3)。

在抑菌圈法初筛的基础上,通过紫外分光光度法测定抑制药剂对株系 HTX 和 HTP 的室内毒力。结果表明,7 种药剂对黄单胞杆菌 HTX 的抑制作用依次为乙酸铜>春雷霉素>琥胶肥酸铜>噻霉酮>中生菌素>二氰蒽醌>噻唑锌(表 4、表 5);对成团泛菌 HTP 的抑制作用依次为春雷霉素>中生菌素>噻霉酮>乙酸铜>噻唑锌>二氰蒽醌>琥胶肥酸铜(表 4、表 5)。

表 3 不同药剂对 2 种病原菌的抑制作用

Table 3 Antimicrobial activity of different chemicals to strains HTX and HTP

供试药剂 Tested chemical	HTX	HTP	供试药剂 Tested chemical	HTX	HTP
中生菌素 Zhongshengmycin	+	+	戊唑醇 Tebuconazole	—	—
春雷霉素 Kasugamycin	+	+	百菌清 Chlorothalonil	+	—
噻霉酮 Benziotiazolinone	+	+	多菌灵 Carbendazim	+	—
乙酸铜 Cupric acetate	+	+	代森锰锌 Mancozeb	+	—
琥胶肥酸铜 Copper succinate	+	+	甲基托布津 Thiophanate methyl	+	—
二氰蒽醌 Dithianon	+	+	溴菌腈 Bromoxynil	—	—
噻唑锌 Zn thiazole	+	+	腈菌唑 Myclobutanil	—	—
氟啶胺 Fluazinam	—	+	乙蒜素 Ethylicin	—	—
嘧菌酯 Azoxystrobin	—	—	四霉素 Tetramycin	+	—
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	—	—	啶酰菌胺 Boscalid	—	—
氟吡菌酰胺 Fluopyram	—	—			

表 4 不同药剂对株系 HTX 的室内毒力测定

Table 4 Toxicity test of different chemicals against strain HTX

供试药剂 Chemical	毒力回归方程 Toxic regression equation	EC <sub>50</sub> / (mg/L)	相关系数 R <sup>2</sup> Correlation coefficient
中生菌素 Zhongshengmycin	y = -2.019 + 1.275x	38.340	0.954
二氰蒽醌 Dithianon	y = -3.626 + 2.106x	52.660	0.949
噻霉酮 Benziotiazolinone	y = -4.514 + 3.065x	29.693	0.983
乙酸铜 Cupric acetate	y = -1.187 + 1.097x	12.080	0.983
春雷霉素 Kasugamycin	y = -3.028 + 2.326x	20.032	0.958
琥胶肥酸铜 Copper succinate	y = -2.2 + 1.629x	22.435	0.933
噻唑锌 Zn thiazole	y = -3.547 + 1.757x	104.470	0.955

表 5 不同药剂对株系 HTP 的室内毒力测定

Table 5 Toxicity test of different chemicals against strain HTP

供试药剂 Chemical	毒力回归方程 Toxic regression equation	EC <sub>50</sub> / (mg/L)	相关系数 R <sup>2</sup> Correlation coefficient
中生菌素 Zhongshengmycin	y = -3.346 + 1.950x	51.950	0.985
二氰蒽醌 Dithianon	y = -4.503 + 1.912x	226.580	0.961
噻霉酮 Benziotiazolinone	y = -4.204 + 2.448x	52.107	0.980
乙酸铜 Cupric acetate	y = -3.725 + 1.970x	77.780	0.949
春雷霉素 Kasugamycin	y = -2.973 + 2.180x	23.084	0.959
琥胶肥酸铜 Copper succinate	y = -5.790 + 2.279x	346.841	0.992
噻唑锌 Zn thiazole	y = -3.863 + 1.725x	173.378	0.979

表 6 供试药剂对叶片黑斑病的田间防效

Table 6 Control effect of tested chemicals to walnut blight on leaves

供试药剂 Tested chemical	第1次施药 10 d后 Ten days after 1st treatment		第2次施药 10 d后 Ten days after 2nd treatment		第3次施药 10 d后 Ten days after 3rd treatment	
	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect
中生菌素 Zhongshengmycin	7.17±0.17 a	65.32±0.52 a	11.16±0.33 a	68.51±1.22 a	14.67±0.72 a	73.71±2.09 a
二氯蒽醌 Dithianon	18.16±1.17 c	12.07±3.69 b	28.83±0.83 b	18.67±3.54 b	42.50±2.89 b	24.14±3.64 b
噻霉酮 Benzoithiazolinone	10.50±0.58 b	49.22±2.44 c	15.17±1.15 a	57.25±4.15 a	18.00±0.87 a	67.67±3.02 a
乙酸铜 Cupric acetate	16.50±1.15 c	20.23±5.03 b	25.33±0.88 b	28.54±3.50 b	32.00±1.26 c	42.62±4.64 c
春雷霉素 Kasugamycin	8.33±0.44 ab	59.64±2.43 ac	13.17±0.83 a	62.96±1.85 a	16.16±2.13 a	70.81±4.76 a
琥胶肥酸铜 Cupric succinate	8.33±0.60 ab	59.64±3.14 ac	12.33±0.73 a	65.19±2.48 a	15.16±1.16 a	73.05±1.00 a
噻唑锌 Zn thiazole	8.67±0.50 ab	58.01±3.21 ac	12.67±1.20 a	64.37±3.05 a	18.00±0.76 a	67.69±2.79 a
对照 Control	20.67±0.17 d		35.50±0.50 c		56.17±2.62 d	

注: 数值为“平均值±标准误差”; 不同字母表明不同药剂处理间具有显著差异( $P<0.05$ )。下表同。

Note: Values are “means±standard errors”; the different letters indicate significantly different at ( $P<0.05$ ) under different chemical treatments. The same below.

表 7 供试药剂对果实黑斑病的田间防效

Table 7 Control effect of tested chemicals to walnut blight on fruits

供试药剂 Tested chemical	第1次施药 10 d后 Ten days after 1st treatment		第2次施药 10 d后 Ten days after 2nd treatment		第3次施药 10 d后 Ten days after 3rd treatment	
	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect
中生菌素 Zhongshengmycin	6.50±0.57 a	51.50±7.11 a	8.67±1.16 a	63.37±6.64 a	10.83±0.44 a	70.88±2.38 a
二氯蒽醌 Dithianon	11.33±0.44 b	16.19±6.5 b	17.50±0.29 c	27.09±4.41 bc	21.60±0.93 b	41.70±5.29 b
噻霉酮 Benzoithiazolinone	8.00±0.29 a	40.74±5.45 a	13.00±0.29 b	45.74±3.99 ac	14.16±0.44 a	61.96±2.80 a
乙酸铜 Cupric acetate	11.67±0.44 b	14.04±4.39 b	20.67±0.93 c	13.81±6.86 b	28.00±1.26 c	25.24±1.92 c
春雷霉素 Kasugamycin	6.67±0.47 ab	51.22±0.62 a	10.83±0.60 ab	54.71±4.42 a	14.33±1.20 a	61.53±4.13 a
琥胶肥酸铜 Cupric succinate	7.17±0.16 ab	47.04±3.92 a	11.50±0.50 ab	51.95±4.28 ac	13.83±0.44 a	62.84±2.76 a
噻唑锌 Zn thiazole	7.17±0.44 ab	47.46±1.79 a	11.67±0.93 ab	51.29±5.28 ac	13.17±0.60 a	64.68±2.64 a
对照 Control	13.67±0.93 c		24.16±1.43 d		37.50±1.89 d	

### 3 讨论与结论

通过对陕西核桃主产区的核桃黑斑病病原菌进行分离、鉴定及致病性检测,结果表明:引起陕西核桃黑斑病的病原菌为野油菜黄单胞菌野油菜致病变种 *X. campestris* pv. *campestris* 和成团泛菌 *P. agglomerans*,与甘肃陇南地区该病害的病原菌一致<sup>[10,13]</sup>。而部分学者在北京、四川、山东等地发现的核桃黑斑病致病菌为单一菌源<sup>[9-12]</sup>。此外,有学者将云南核桃黑斑病病原菌鉴定为树生黄单胞菌核桃致病变种 (*X. arboricola* pv. *juglandis*)和成团泛菌 (*P. agglomerans*)<sup>[22]</sup>,与本文结果存在差异。

前人研究结果表明,野油菜黄单胞菌野油菜致病变种 *X. campestris* pv. *campestris* 可通过分泌胞外多糖溶液引起核桃典型黑斑症状<sup>[23]</sup>,还可引起芥苔属植物的黑腐病<sup>[24]</sup>。成团泛菌 *P. agglomerans* 可引起香蕉鞘腐病<sup>[25]</sup>、玉米细菌

干茎腐病<sup>[26]</sup>、桃李细菌性穿孔病<sup>[27]</sup>、火龙果腐烂病<sup>[28]</sup>等多种细菌病害。尽管成团泛菌可通过水平基因转移获取其他病原菌的一种包含致病岛的质粒,从而演变为寄主专化致病菌<sup>[29]</sup>,但其引起核桃黑斑病的具体机制还有待进一步研究。本研究结果表明,陕西核桃黑斑病是由这 2 种病原菌复合侵染引起,推测这可能是造成陕西不同地区核桃黑斑病发病规律存在差异的根本原因。

陕西省核桃栽培面积大、品种多样化程度高,存在药剂滥用、施药不规范等问题,给核桃黑斑病的防治带来一定难度<sup>[2,14]</sup>。本研究选取 21 种供试药剂,通过室内与田间试验,获得对野油菜黄单胞菌野油菜致病变种株系 HTX 和成团泛菌株系 HTP 均有良好防效的药剂 5 种,分别为中生菌素、春雷霉素、噻唑锌、琥胶肥酸铜和噻霉酮。室内毒力测定结果表明,这 5 种药剂对野油菜黄单胞菌野油菜致病变种株系 HTX 的 EC<sub>50</sub> 值为 12.08~104.47;对成团泛菌株系 HTP 的 EC<sub>50</sub>

值为 23.08~346.841;田间防治试验结果表明,第3次施药后10 d对叶片、果实核桃黑斑病的防效均达到60%以上。在本研究药剂初筛中发现,由于核桃黑斑病属于细菌病害,春雷霉素、含铜锌制剂等防效较好。而适用于防治真菌病害的药剂如嘧啶酯、吡唑醚菌酯、戊唑醇等,在防治核桃黑斑病时防治效果不佳,与前人研究结果类似<sup>[19, 21, 30]</sup>。

目前,市场中用于防治核桃黑斑病的药剂种类繁多,给种植户的选择带来一定困难。本研究结果表明,中生菌素、春雷霉素等5种药剂对核桃黑斑病防治效果较好,可作为核桃黑斑病的田间防治药剂。受气候影响,核桃黑斑病在陕西危害期较长,除春季普遍发生外,夏秋季条件适宜时仍可造成核桃叶片、幼芽等组织发生危害<sup>[19]</sup>。田间防治中还应避免因单一、重复使用药剂而导致病原菌产生抗药性,通过科学交替使用药剂或复配,减缓抗药性的产生<sup>[31-32]</sup>;应注重园区内栽种时保持合理行株距,确保通风透光;加强园区害虫的防治,减少伤口,降低核桃黑斑病病原菌的侵染;结合如修剪病枝、清除病果等各类农事操作,达到有效控制核桃黑斑病危害的目的<sup>[2-3, 33]</sup>。

本研究明确了陕西省核桃黑斑病由2种致病菌侵染引起,筛选获得了5种高效防治药剂,为陕西核桃黑斑病的防治提供了理论依据。但鉴于核桃黑斑病产生抗药性等因素,今后应进一步开发具有明显抑制作用的靶向生防菌剂,为有效控制核桃黑斑病提供新思路。

#### 参考文献 Reference:

- [1] 李国和.核桃种质资源研究[D].四川雅安:四川农业大学,2007.  
LI G H. Studies on germplasm resources of walnuts[D]. Ya'an Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2007.
- [2] 刘萌.陕西省核桃产业发展问题与对策研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2015.  
LIU M. Research on development problems and countermeasures of walnut industry in Shaanxi province[D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2015.
- [3] 张力元.陕西省核桃几种病虫害调查及田间防效研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2017.  
ZHANG L Y. Investigation of several diseases and pests of walnut in Shaanxi province and field control research[D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2017.
- [4] ROMERO-SUAREZ S, JORDAN B, HEINEMANN J A. Isolation and characterization of bacteriophages infecting *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, the causal agent of walnut blight disease[J]. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 2012, 28(5): 1917-1927.
- [5] KALUZNA M, PULAWSKA J, WALERON M. The genetic characterization of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, the causal agent of walnut blight in Poland[J]. *Plant Pathology*, 2014, 63: 1404-1416.
- [6] 鄒荣庭,张毅萍.中国核桃[M].北京:中国林业出版社,1992:406-430.  
XI R T, ZHANG Y P. Chinese Walnut[M]. Beijing: China Forestry Press, 1992: 406-430.
- [7] SCORTICHINI M, MARCHESI U, PROSPERO P D. Genetic diversity of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (synonyms: *X. campestris* pv. *juglandis*; *X. juglandis* pv. *juglandis*) strains from different geographical areas shown by repetitive polymerase chain repetitive polymerase chain reaction genomic Fingerprinting[J]. *Journal of Phytopathology*, 2001, 149(6): 325-332.
- [8] FRUTOS D. Bacterial diseases of walnut and hazelnut, and genetic resources[J]. *Plant Pathology*, 2010, 92: 79-85.
- [9] 陈善义,陶万强,王合,等.北京地区核桃黑斑病病原菌的分离、致病性测定和16S rDNA序列分析[J].果树学报,2011,28(3):469-473.  
CHEN SH Y, TAO W Q, WANG H, et al. Identification and pathogenicity assay of the pathogen of walnut blight in Beijing[J]. *Journal of Fruit Science*, 2011, 28(3): 469-473.
- [10] 王瀚,卓平清,王让军,等.陇南核桃黑斑病病原菌拮抗菌筛选及鉴定[J].经济林研究,2018,36(1):64-74.  
WANG H, ZHUO P Q, WANG R J, et al. Screening and identification of antagonistic bacteria against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolated from walnut blight in Longnan region [J]. *Nonwood Forest Research*, 2018, 36(1): 64-74.
- [11] 曲文文.山东省核桃(*Juglans regia*)主要病害病原菌鉴定[D].山东泰安:山东农业大学,2011.  
QU W W. Identification of pathogens on walnut (*Juglans regia*) in Shandong province[D]. Tai'an Shandong: Shandong Agricultural University, 2011.
- [12] 王琳莹.石棉县核桃黑斑病与炭疽病病原鉴定及其防治技术研究[D].四川雅安:四川农业大学,2015.  
WANG L Y. Identification and control of pathogens causing walnut anthracnose and walnut blight in Sichuan [D]. Ya'an Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2015.
- [13] 王瀚,王让军,田凤鸣,等.陇南核桃致病性成团泛菌的分离鉴定及其致病性研究[J].福建农业学报,2016,31(10):1086-1090.  
WANG H, WANG R J, TIAN F M, et al. Identification and pathogenicity assay of pathogen of blight disease on walnut trees in Longnan[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 31(10): 1086-1090.
- [14] 原双进.陕西省核桃栽培发展趋势与方向[J].陕西林业科

- 技,2016(4):73-74.
- YUAN SH J. Future development of walnut cultivation in Shaanxi[J]. *Shaanxi Forest Science and Technology*, 2016 (4):73-74.
- [15] 方中达. 植病研究方法. 第三版[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 193-194.
- FANG ZH D. Methods for Plant Pathology. 3th ed[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1988: 193-194.
- [16] GAMITY G M, BELL J A, LILBUM T G. Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second edition [M]. New York: Springer Press, 2004.
- [17] 东秀珠. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG X ZH. Identification System Manual of Common Bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [18] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28: 2731-2739.
- [19] 郭安柱, 张力元, 李岩, 等. 防治核桃黑斑病药剂筛选及田间药效试验[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(1): 177-182.
- GUO A ZH, ZHANG L Y, LI Y, et al. Selection and field application of effective bactericides against walnut blight [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2020, 35(1): 177-182.
- [20] 秦虎强, 赵志博, 高小宁, 等. 猕猴桃细菌性溃疡病菌对17种杀菌剂的敏感性及不同药剂田间防治[J]. 西北农业学报, 2015, 24(19): 145-151.
- QIN H Q, ZHAO ZH B, GAO X N, et al. Bactericidal activities of seventeen bactericides and their field applications against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2015, 24 (19): 145-151.
- [21] 孙俊. 核桃黑斑病菌杀菌剂敏感性测定[J]. 北方园艺, 2017, 9: 103-106.
- SUN J. The anti-bacterial activity of different bactericides against *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* [J]. *Northern Horticulture*, 2017, 9: 103-106.
- [22] 肖波, 卢世栋, 杨斌, 等. 云南核桃细菌性黑斑病病原菌的分离与鉴定[J]. 贵州农业科学, 2017, 45(12): 55-58.
- XIAO B, LU SH D, YANG B, et al. Isolation and identification of walnut bacterial black spot pathogen in Yunnan [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2017, 45(12): 55-58.
- [23] 王丽, 毛鑫, 谭天敏, 等. 黄单胞杆菌胞外多糖对核桃生理代谢的影响[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(5): 107-112.
- WANG L, MAO X, QIAO T M, et al. Effect of extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* on physiological metabolism of *Julans regia* [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2020, 48(5): 107-112.
- [24] VICENTE J G, HOLUB E B. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2013, 14(1): 2-18.
- [25] 严玉宁, 何红, 叶艺俊, 等. 香蕉叶鞘腐败病病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(2): 124-130.
- YAN Y N, HE H, YE Y J, et al. Identification of the pathogen causing banana sheath rot disease[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2011, 41(2): 124-130.
- [26] 曹慧英, 李洪杰, 朱振东, 等. 玉米细菌干茎腐病菌成团泛菌的种子传播[J]. 植物保护学报, 2011, 38(1): 31-36.
- CAO H Y, LI H J, ZHU ZH D, et al. Seed transmission of *Pantoea agglomerans*, causal agent of dry stalk rot, in maize[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2011, 38 (1): 31-36.
- [27] 童亚萍, 杨丙烨, 田茜, 等. 桃李细菌性穿孔病新病原的分离鉴定[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2020, 49(3): 300-306.
- TONG Y P, YANG B Y, TIAN Q, et al. Isolation and identification of new pathogen causing bacterial leaf shot hole disease on peach and plum[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (National Science Edition)*, 2020, 49(3): 300-306.
- [28] 严婉荣, 肖敏, 肖彤斌, 等. 海南火龙果细菌性腐烂病的病原鉴定及田间药剂筛选[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(3): 1185-1190.
- YAN W R, XIAO M, XIAO T B, et al. Pathogen identification and screening of field agents on dragon fruit bacterial rot disease in Hainan[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(3): 1185-1190.
- [29] BARASH I, MANULIS S S. Recent evolution of bacterial pathogens: the gall-forming *Pantoea agglomerans* case [J]. *Annual Review Phytopathology*, 2009, 47: 133-151.
- [30] 董贝, 王建东, 李月岑, 等. 不同类型药剂对核桃黑斑病的防治效果及增产效果[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(2): 196-197.
- DONG B, WANG J D, LI Y L, et al. Field control effect and yield increasing role of different types fungicides on walnut black spot[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016, 44(2): 196-197.
- [31] BUCHNER R P, OLSON W H, ADASAVEG J E. Walnut blight (*Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*) control investigations in Northern California, USA[J]. *Acta Horticulturae*, 2001(544): 369-378.
- [32] 何斐, 崔鸣, 李川, 等. 菌剂与钾肥配施对连作魔芋生长、生理代谢和发病率的影响[J]. 西北农业学报, 2020, 29(7): 1095-1105.
- HE F, CUI M, LI CH, et al. Effects of agent and potassium fertilizer on plant growth, physiological metabolism and disease incidence in continuous cropping of *Amorphophallus konjac* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis*

- dentalis Sinica*, 2020, 29(7): 1095-1105.
- [33] 甘雅文, 李 隆, 李鲁华, 等. 南疆核桃间作冬麦复合系统根系分布特征研究[J]. 西北农业学报, 2015, 24(3): 102-110.
- GAN Y W, LI L, LI L H, et al. Study of root distribution of walnut/wheat intercropping system in Southern Xinjiang[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2015, 24(3): 102-110.

## Study on Identification of Walnut Blight Pathogenic Bacteria and Its Chemical Control in Shaanxi Province

QU Jia<sup>1</sup>, MEN Xin<sup>1</sup>, SUN Xiaoyu<sup>1</sup>, ZHAO Lingxia<sup>1</sup>,  
NING Shuoying<sup>2</sup> and CHEN Rui<sup>1</sup>

(1. Microbiology Institute of Shaanxi, Xi'an 710043, China;

2. Shaanxi Institute of Zoology, Xi'an 710032, China)

**Abstract** Walnut blight is an important bacterial disease which threatened walnut production and occurred severely in Shaanxi province in recent years. To confirm the pathogenic bacteria of walnut blight in this region and fortaking measures for control of this disease in the field, diseased leaves and fruits of walnut collected from Shaanxi province were used to isolate the pathogen and purification of pure isolate in this study. Two pathogenic bacteria, namely HTX and HTP, were isolated and purified from samples with typical symptoms. The results showed that two strains of the pathogenic bacteria, HTX and HTP, were obtained and identified as *Xanthomonas campestris* and *Pantoea agglomerans* by colony morphological, physiological and biochemical characteristics, and 16S rDNA sequence analysis. The results of bacteriostatic experiment showed that seven out of twenty-one tested chemicals had obvious inhibition effects on the two strains of pathogenic bacteria. Based on toxicity test and field trials of the seven bactericides to leaves and fruits infected with walnut blight, the control effects of Kasugamycin, Zhongshengmycin, Benziothiazolinone, Copper succinate, and Cupric succinate against the disease were more than 67.67% and 61.53%, respectively. Therefore, these five bactericides can be potentially used for control of walnut blight.

**Key words** Walnut blight; Pathogen identification; Bactericides; Field control

**Received** 2020-08-07

**Returned** 2020-08-21

**Foundation item** Natural Science Basic Research Plan in Shaanxi Province of China(No. 2020JQ-973); Key Research and Development Program in Shaanxi Province of China(No. 2020NY-038); Science and Technology Research Project of Shaanxi Provincial Academy of Sciences (No. 2018nK-09, No. 2018nK-01).

**First author** QU Jia, female, assistant research fellow. Research area: microbial resources. E-mail: q\_jia@163.com

**Corresponding author** CHEN Rui, female, associate research fellow. Research area: microbial resources. E-mail: email4rui@163.com

(责任编辑:顾玉兰 Responsible editor:GU Yulan)