

国内外柑桔黑斑病研究进展

张汉荣¹, 罗金水¹, 李美桂²

(¹福建省热带作物科学研究所, 福建漳州 363001; ²福建省农业厅种植业管理局, 福州 350003)

摘要:为了更好地了解和掌握柑桔黑斑病, 笔者就国内外柑桔黑斑病研究进展进行较全面的综述。该病害自发现以来, 其研究不断深入, 至今已报道了4种症状类型, 病原菌分类地位经历了数次变更, 基于ITS的分子检测技术极大提高了病原菌检测的准确性, 化学防治仍是主要防治手段, 但还有一些问题如病原菌的潜伏侵染机制不明确。目前柑桔黑斑病已扩散分布于南非、亚洲、澳洲、南美等地, 危害表现日益严重, 被欧美地区列为重要的检疫性病害, 引起了相关部门的重视。

关键词:柑桔黑斑病; 研究进展; 叶点霉; 球座菌; 茎点霉

中图分类号: S432

文献标志码: A

论文编号: 2010-3157

The Research Progress of Citrus Black Spot

Zhang Hanrong¹, Luo Jinshui¹, Li Meigui²

(¹Fujian Institute of Tropical Crops, Zhangzhou Fujian 363001;

²Administration of Crop Farming, Fujian Agriculture Department, Fuzhou 350003)

Abstract: In order to provide better understanding and handling of the disease of citrus black spot, the author reviewed the research progress of citrus black spot comprehensively. Since be found, the disease was researched constantly deeply. There were four kinds of symptoms reported in the world until today, the position classification standard of pathogens experienced several changes, molecular detection technology based on ITS greatly improved the accuracy and chemical control was still the main prevention means, but there were some problems such as the infecting mechanism of pathogen still unclear. Now the disease had spread to the major region of citrus in the world, as South Africa, Asia, Australia and South America, showed the increasingly serious dangers and was considered as an important quarantine disease by occident, which had made some relevant departments pay attention.

Key words: citrus black spot; research progress; *Phyllostictina citricarpa*; *Guignardia citricarpa*; *Phoma citricarpa*

0 引言

柑桔黑斑病(Citrus black spot)又称柑桔黑星病, 病原菌为桔果球座菌(*Guignardia citricarpa*(McAlp.) Van der Aa)^[18-19], 侵染果实表皮产生病斑, 影响外观和品质, 严重时可导致大量落果。该病在欧盟、美国等地是重要的对外检疫性有害生物, 在中国属于柑桔上重要的病害。该病害最早是在1895年由Benson^[14]报道

发现于澳大利亚, 1899年由McAlpine^[23]首次描述病原菌。20世纪南非爆发流行此病, 导致该地区的柑桔出口受到严重限制, 自此人类对该病害有了深刻的认识, 并不断地深入研究。至今已明确柑桔黑斑病有4种症状类型, 病原菌无性阶段为半知菌亚门叶点霉属, 有性阶段为子囊菌亚门球座菌属。化学防治是目前防治该病害的主要措施, 然而其病原菌侵染具有潜伏特性, 长

基金项目:福建省公益类基本科研专项项目“平和琯溪蜜柚黑斑病发生规律及规范化防治”(2009R10010-1); 福建省自然科学基金资助项目“琯溪蜜柚黑斑病病原菌(*Guignardia citricarpa*)RFLP检测鉴定技术”(2010J01113)。

第一作者简介:张汉荣, 男, 1955年出生, 福建省平和县人, 高级农艺师, 本科, 研究方向: 园艺。通信地址: 363001 福建省漳州市芗城区天宝镇五峰热作所, Tel: 0596-2615618, E-mail: fjrz@21cn.com。

通讯作者:罗金水, 男, 1978年出生, 福建省沙县人, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 植物病理学。通信地址: 363001 福建省漳州市芗城区天宝镇五峰热作所, E-mail: luojs978@126.com。

收稿日期:2010-11-04, **修回日期:**2011-02-12。

期潜伏于果皮组织内部,使用药剂难以完全杀死病菌,且长期使用单一类别农药产生了抗药性,因此该病害面临着新的问题。在中国,朱伟生^[6]和曾宪铭等^[8]对此病作过报道,但后续研究较少,且近年来,此病在中国局部地区一些柑桔品种上发生较严重,病害研究面临着新特点、新问题。因此,立项研究柑桔黑斑病,探明其发生规律和有效防治措施等显得重要而紧迫。为此,笔者综述了柑桔黑斑病的研究进展,以期有关部门和科研人员较全面地掌握该病的特点和研究动态及存在问题提供参考。

1 症状

该病主要为害果实,亦为害枝梢和叶片。病原菌潜伏侵染幼果表皮后长期不显症,直至果实成熟期才表现出症状。在中国一般将柑桔黑斑病的症状分为黑斑型和黑星型。黑星型:接近成熟的果实发病初期在果面上呈现红褐色小点,后扩大成黑褐色圆形病斑,直径一般2~3 mm,四周稍隆起,有明显的界限,中央凹陷,灰褐色至灰白色,散生黑色小粒点,病斑散生,只为害果皮,不侵入果肉。黑斑型:果实受害初期出现淡黄色或橙色的斑点,后逐渐扩大,颜色渐变为暗褐色,稍凹陷,最后变为圆形或不规则的黑色斑块,直径可达1~3 cm,中部稍凹陷,散生许多黑色小点,发病严重时,多个病斑相互连成大黑斑。其中,柚类果实与一般柑桔种类不同,受害或致表皮破裂或渗出赤褐色脂胶。国外报道果上病斑有4个类型^[10,18],即硬质型(hard spot)、斑点型(freckle or melanose spot)、腐败型(virulent spot),以及近年在巴西出现的开裂型(cracked spot)。硬质型最常见,病斑圆形、凹陷,中心灰白,边缘有绿色晕圈,病斑不会扩展恶变。斑点型较前两者小,往往出现在病果的朝阳面,由砖红色渐变为褐色,边缘没有绿色晕圈。当条件适合,斑点型病斑迅速扩展转化为腐败型,导致烂果。枝梢和叶片受害症状同果实上相似,表现为硬质型和斑点型病斑,受害严重时容易落叶。病叶是柑桔黑斑病病原菌的主要越冬场所。叶片也可以长期携带病原菌而不显症。

2 病原

柑桔黑斑病病原菌是专化寄生柑桔的病原真菌,存在无性和有性2个形态阶段。无性阶段产生分生孢子器和分生孢子,分生孢子单孢,梨形,大小(9.7~13.4) μm × (6.5~7.5) μm ,外层包裹胶质鞘^[1];有性阶段产生子囊和子囊孢子,子囊孢子单孢,透明无隔,中央宽两端窄,短柱形,大小(8~17.5) μm × (3.3~8) μm ,末端有附属丝^[29]。

病原菌的分类地位经历了相当次数的变更。最初

在1899年McAlpine在澳大利亚新南威尔士州和昆士兰省发生的病果上观察到病原菌的无性分孢阶段桔果茎点霉(*Phoma citricarpa* McAlp.)。1948年,Kiely^[18]报道病原菌的有性阶段桔果球座菌(*Guignardia citricarpa* Kiely)。1973年, Van der Aa^[40]更正病原菌的无性阶段分类地位,并将它归类为桔果叶点霉(*Phyllostictina citricarpa*(McAlp.) Van der Aa),这一结论得到当今国际学者的普遍承认。

病原菌分离鉴定对于一般研究人员有一定难度。这是因为从病果或病叶上往往分离到一种干扰分离鉴定的腐生菌 *Guignardia mangiferae*, 其无性阶段为 *P. capitalensis*。该菌不能侵染柑桔果实产生黑斑病的典型症状,但是寄主范围及分布十分广泛,常寄生在柑桔的叶片、果实上,它的形态与致病菌十分相似,两者极其容易混淆。区分这2种菌可以使用PDA、OA、CHA、MEA 4种培养基在22℃培养温度下暗培养7天测定菌落特征、颜色及生长速度,之后在18℃培养温度下近紫外线照射培养和暗培养交替进一步测定和分析孢子、附属丝及胶质鞘的特征。两者之间的简单区分依据是柑桔黑斑病菌属于慢速生长型,在OA培养基上生长的菌落边缘有黄晕,在人工培养基上能够产生分生孢子和子囊孢子;腐生菌 *G. mangiferae* 属于快速生长型,在OA培养基上生长的菌落边缘无黄晕,在人工培养基上能够产生假囊壳,但不产生子囊和子囊孢子,以及分生孢子。分子检测技术的发展不仅使得这2种菌的区分更加快速简便,而且纠正了以往研究的一些错误结论。基于rDNA的ITS序列测定与分析,可以将病原菌鉴定到种的水平^[11]。Everett和Rees-George^[17]对之前形态学上确定的 *G. citricarpa* 菌株ICMP8336进行ITS序列测定,结果表明该菌株属于腐生菌 *G. mangiferae*, 从而证实新西兰不存在柑桔黑斑病菌。Wulandari等^[43]使用基于rDNA的ITS序列建立的特异引物检测技术,无法从亚洲出口的具有典型黑斑病症状的柚子(*Citrus maxima*)病果上检测到病原菌 *G. citricarpa*, 鉴于此对病果进行病原菌分离,得到ITS序列、病菌形态特征、培养特点、生物学特性各方面均不同于 *G. citricarpa* 的新种 *P. citriasiana*。这预示着柑桔黑斑病可能在不同地理、不同寄主上存在不同的种。

3 地理分布

早在19世纪末,Benson^[14]和Cobb^[16]先后报道了澳大利亚新南威尔士州(New South Wales)的柑桔园中发现柑桔黑斑病,并在该地区爆发危害。20世纪30年代,在南非严重爆发流行,此病最初出现在纳达尔湿海岸地区,随后向非洲内陆地区扩散,包括德兰士省

(Transvaal)沿岸的柑桔种植区,造成了巨大的经济损失^[21]。现今,柑桔黑斑病分布在亚热带夏季雨林地区,如非洲的斯威士兰、津巴布韦、莫桑比克、尼日利亚、肯尼亚、赞比亚,亚洲的中国、菲律宾、新加坡、不丹、印度、印度尼西亚,南美洲的巴西、阿根廷、乌拉圭、委内瑞拉等;在冬季雨林地带的柑桔产区极少发生或不发生,如智利、美国、希腊、以色列、意大利、土耳其;日本和新西兰是否有发生则存在争议。但是在发生疫情的国家内并不是所有的柑桔产地都受到黑斑病危害,如澳大利亚昆士兰省埃默洛尔德等地,地中海及南非的北岬(Northern Cape),这与该地区的独特气候特点密切相关。欧盟、美国将该病害列为重要的进境检疫对象。在中国,此病主要分布在广东、福建、浙江、江西、四川、湖南、湖北及台湾等地区。Paul等^[28]利用CLIMEX模型对病原菌的气候适应性分布进行评估,并描绘出病原菌全球分布预测图。

4 寄主

柑桔黑斑病菌专性寄生柑桔,自然条件下不侵染其他植物。在柑桔类植物中,除了粗皮柠檬表现抗病,酸橙及其杂交系表现抗病,以及雪柑、红桔相对比较抗病之外,柠檬、巴伦西亚桔、脐橙、葡萄柚高度感病,其余大部分柑桔种类均表现感病^[21-37]。近年,国内局部地区有报道一些品种如金柚、沙田柚、琯溪蜜柚等发生较为严重^[3-5]。

5 传播

自然条件下,病原菌的无性阶段结果叶点霉产生于病果、病枝叶及落叶上,有性阶段结果球座菌通常产生于老叶和落叶上,其子囊孢子在果园中全年可见。无性阶段的分生孢子致病力极弱,不是主要的传播侵染源。有性阶段的子囊孢子具有弹射机制,且能够借助风雨传播,是主要的传播侵染源。Sposito等^[37]应用空间数学模型研究黑斑病的发生与传播方式证实了这一点。病菌子囊孢子萌发产生侵染针插入花器或幼果表皮,之后潜伏于寄主中,潜伏期长达数月,果实近成熟期显症时在病斑上产生分生孢子器和分生孢子。病菌潜伏特点究竟是因为受到外界气候的影响,还是病原菌生长受到寄主物质的抵抗抑制?其机制尚未研究清楚。Baldassari等^[12]针对病菌长期潜伏不显症的问题,设置不同浓度的乙烯利催熟果实,发现一定浓度的乙烯利能促进病斑提前表现。Reis等^[31]选择在病原菌子囊孢子释放高峰期和寄主感病期监测果园的温度、降雨量、叶面湿度,分析这3个环境因子与病原菌子囊孢子释放量及黑斑病严重度之间的关系,结果表明病原菌子囊孢子释放量与温度、降雨量非正相关,而与叶

面湿度有显著相关性,但病害严重度与降雨量高度相关。

6 生物学

病原菌在人工培养基上难以产生有性阶段,主要是无性阶段。病原菌在琼脂培养基上生长良好,最适生长温度24~27℃^[42]。0.1%~0.5%桔汁可促进无性孢子萌发,0.3%桔汁最适萌发^[19]。病原菌接种柠檬叶碟后放在2%琼脂培养基上可培养产生子囊及子囊孢子,但是同时存在有分生孢子^[39]。

病原菌致病性弱,且人工接种潜伏期相当长,数月不等。这对接种试验研究造成了相当大的困难,同时给病原菌诊断增加了相当大的不确定性。McOnie^[24]收集病叶放在幼果上面,利用落叶释放子囊孢子,达到接种侵染的目的,缺点是不能够排除其它杂菌的干扰。Lemir等^[22]成功使用病原菌的子囊孢子悬浮液接种果实,却难以稳定获得有性态。Baldassari等^[13]在接种方法上作了创新性改进,使用叶碟法培养病原菌获得子囊孢子,然后使用含有孢子的叶碟成功接种幼果。

与室内人工培养不同的是,病原菌的子囊孢子在田间全年可见,产生于枝梢、老叶或病落叶上。气候干湿交替会促进子囊及子囊孢子形成,成熟的子囊遇到充足的水份即释放出子囊孢子。春季柑桔开花后,恰好是子囊孢子的释放高峰期,子囊孢子借助风雨传播,然后萌发产生侵染针侵染花器或幼果,并长期潜伏在果皮内不显症。柑桔从花期到幼果期感病,果实膨大后病原菌无法侵入果皮而表现抗病。到了7、8月份果实膨大期,果实上出现少量病斑,柚类果实可见病斑上流出胶脂。柑桔果实成熟期,受害果实出现大量的病斑,病斑散生黑色的分生孢子器,并能够产生分生孢子。一些采收时未表现出症状的果实,在贮运过程中会逐渐出现病斑,尤其是到了果实快变味之时更为明显,病斑扩展恶化引起烂果,在温湿度适宜时病斑上能够产生分生孢子。Korf等^[20]通过试验证明,贮藏期间病原菌分生孢子不能够侵染病果边上其他果实。病原菌的越冬是以有性态结果球座菌存在于枝梢、老叶或病落叶上,并于翌年春释放子囊孢子重新侵染花器或幼果。

7 病害诊断与病原菌检测

早期柑桔黑斑病的诊断鉴定是依据症状和病原菌培养特征作出判断。在欧盟,检疫时是以果实组织在培养基上培养14天,依据其培养特征来检测病原菌的有无。在中国和其他国家通常也是采用类似手段。这种传统的诊断方法会造成误诊,因为病斑上腐生菌*G. mangiferae*极易与病原菌混淆,尚没有研制出针对柑

桔黑斑病病原菌的选择性培养基。分子检测技术的发展大大提高了柑桔黑斑病诊断鉴定的准确性和效率。Bonants 等^[15]和 Stringari 等^[38]基于 rDNA 的 ITS 区设计特异引物 PCR 检测病原菌,可有效鉴别 *G.citricarpa* 和 *G.mangiferae*。Meyer 等^[25]同时使用特异引物和 ITS 引物建立的“one-day”PCR 检测技术,不仅大大提高了柑桔黑斑病菌诊断效率,而且有效排除病斑上炭疽菌 (*Collectotrichum gloeosporioides*) 的干扰,并成功开发出商业化试剂盒。Van Gent-pelzer 等^[41]比较了传统 PCR 和 real-time PCR 对果斑检测的效果,后者较前者灵敏度更高,检测病斑组织总 DNA 极限达 10 fg/反应。Peres 等^[30]比较了不同引物的扩增效果,并针对病果上单斑检测设计了高度灵敏的特异引物。

8 防治

目前,化学防治是柑桔黑斑病防治的最主要措施^[1-2,7]。在用药时间上,由于果期内前 4~6 个月是最感病的时期,病原菌侵染达到高峰,所以是喷施药剂的关键时期。控制黑斑病关键在于喷药预防^[9-26]。在用药种类上,代森锰锌、苯菌灵、铜制剂是防治柑桔黑斑病的常用保护剂。但是,苯菌灵毒性过强,对果园中捕食性昆虫有毒害,不利于保护生态环境。Schutte 等^[34]认为应谨慎使用铜制剂,因为长期使用铜制剂不仅会造成土壤酸化和累积毒害作用,还容易产生药害,在果实表皮上留下药斑。

20 世纪 80 年代,在里斯本地区发生了严重的苯并咪唑抗药性,此问题出现后当地改用苯菌灵来防治。Schutte^[34-35]通过交替喷施苯并咪唑、代森锰锌等药剂,以减小病菌抗药性,达到良好的防治效果。Rodrigues 等^[32]从重度使用杀菌剂的病区分离病原菌,并测定对吡唑醚菌脂和多菌灵的抗药性,测定结果表明病原菌对前者尚未表现抗药性,对后者表现较强的抗药性,建议两者交替使用。病菌抗药性是柑桔黑斑病防治中值得重视的问题。

果实采收及贮运期间药剂处理,是生产上控制病原菌传播较为重视的步骤。Nam 等^[27]研究报道,采果前喷施苯并咪唑,采果后用甲基硫菌灵浸果处理可有效延迟病斑的发生发展。Korf 等^[20]研究认为,热处理以及包装时对果实封腊能够降低柑桔黑斑病菌的存活率,并防止病果产生孢子再感染传播。果实冷藏处理只能延缓病斑出现,不能阻止病斑发生扩展。近年有报道辐射处理效果显著^[10],这一方法可能会得到广泛的推崇。

9 结论与建议

综上所述,人们对柑桔黑斑病认识较早,从症状、

病原到发生规律及防治均涉及研究,但目前仍有许多未解决的问题。如病原菌与寄主的互作关系,病原菌侵染果实后是受到何种因素的作用长期潜伏在果皮组织中的?柑桔黑斑病在我国各地发生分布如何,是否存在不同的种?在不同柑桔品种上田间消长规律如何?弄清这些具体的问题,对于有关部门和科研机构将是十分艰巨而重要的任务,笔者建议使用现代生物技术从微观上对该病进行研究探讨。值得一提的是,2009 年欧洲食品安全局植物检疫小组发布柑桔黑斑病评估报告,报告否定了南非政府宣称的柑桔黑斑病不会在欧洲爆发的观点,并认为现有的控制措施尚不能有效控制黑斑病传播进入欧洲的可能。由此次事件可以看出,柑桔黑斑病关系到许多柑桔生产国的出口贸易。中国是世界柑桔生产大国,有许多优质柑果出口国外。不可否认的是,柑桔黑斑病在中国局部地区有发生,一些品种上受害较为严重,并造成一定的经济损失。在这种情况下,欧美等地区极有可能借故限制中国柑桔的出口贸易。因此,相关部门应谨慎对待柑桔黑斑病的问题,尽早采取有力措施控制病害的发生和传播,并加大项目研究的资助力度。

参考文献

- [1] 蔡云鹏.柑桔黑星病防治试验[J].植保会刊,1978,20:67-72.
- [2] 高超跃,范新单,廖祥林,等.不同药剂防治柑桔黑星病的药效试验[J].中国南方果树,2004,33(2):21-22.
- [3] 郭碧云,郑峰,吴水欣,等.金柚黑斑病的发生特点及防治技术[J].中国南方果树,2006,35(4):21.
- [4] 黄德平,熊森基,黄利敏.梅县琯溪蜜柚黑斑病的发生与防治对策[J].中国南方果树,2009,38(2):45.
- [5] 罗向群.沙田柚黑斑病的发生情况及防治措施[J].植保技术与推广,2002,22(2):19-22.
- [6] 曾宪铭.柑桔黑斑病研究[J].华南农学院学报,1983,4(2):53-60.
- [7] 张祖健,龚玉源,梁文伟.“世高”树上浸果防治沙田柚黑斑病试验[J].中国南方果树,2006,35(1):20-21.
- [8] 朱伟生,林邦茂,陈荟,等.柑桔黑星病研究[J].中国柑桔,1979,3:36-42.
- [9] Agostini J.P, Peres N.A, Mackenzie S.J. Effect of fungicides and storage conditions on postharvest development of citrus black spot and survival of *Guignardia citricarpa* in fruit tissues[J].Plant Disease,2006,90:1419-1424.
- [10] Araújo M.M, Fanaro G.B, Silveira A.P.M, et al. Preliminary study of E-beam processing as a phytosanitary treatment against *Guignardia citricarpa*[C].International Nuclear Atlantic Conference, 2009.
- [11] Baayen R.P, Bonants P.J.M., Verkley G., et al. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae*(*Phyllosticta capitalensis*) [J].Phytopathology,2002,92:

- 464-477.
- [12] Baldassari R.B., Brandimarte I., Andrade de A.G., et al. Induction of the precece expression of *Guignardia citricarpa* symptoms in fruits of preario sweet orange[J].*Rev. Bras. Frutic, Jaboticabal-SP*,29(2):269-275.
- [13] Baldassari R.B., Reis R.F., de Goes A. A new method for fruit with *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot[J].*Eur J Plant Pathol*,2009,123:1-4.
- [14] Benson, A.H. Black spot of the orange[J].*Agric.Gaz.NSW*,1895,6: 249-251.
- [15] Bonants P.J.M., Carroll G.C., DeWeerd M., et al. Development and validation of a fast PCR-based detection method for pathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*[J].*Eur. J. Plant Pathol*,2003,109:503-513.
- [16] Cobb, N.A. Black spot of the orange[J].*Agric.Gaz.NSW*,1897,8:249.
- [17] Everett, K.R., Rees-George J. Reclassification of an isolate of *Guignardia citricarpa* from New Zealand as *Guignardia mangiferae* by sequence analysis[J].*Plant Pathology*,2006,55:194-199.
- [18] Kiely, T. B. *Guignardia citricarpa* n.sp. and its relationship to the black spot disease of citrus in coastal orchards of New South Wales [J].*Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*,1948, 14:81-83.
- [19] Kiely, T. B. Preliminary studies of *Guignardia citricarpa* n.sp. the ascigerous state of *Phoma citricarpa* McAlp. and its relation to black spot of citrus[J].*Proc. Linn. Soc. NSW*,1949,73:249-292.
- [20] Korf, H. J. G., Schuttler, et al. Effect of packinghouse procedures of the viability of *Phyllosticta citricarpa*, anamorph of the black spot pathogen[J].*Afr. Plant Prot.*,2001,7:103-109.
- [21] Kotze J.M. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa[J].*America Plant Disease*,1981,65(12):945-950.
- [22] Lemir, A. H. M., Stadnik, et al. In vitro production of ascospores and pathogenicity of *Guignardia citricarpa*, causal agent of citrus black spot[J].*Summa Phytopathologica*,2000,26:374-376.
- [23] McAlpine, D. Fungus diseases of citrus in Australia and their treatment[J].*Agric. Dep. Victoria, Melbourne, Australia*,1899.
- [24] McOnie, K.C. The latent occurrence in citrus and other hosts of a *Guignardia*. Easily confused with *G. citricarpa*, the citrus black spot pathogen[J].*Phytopathology*,1964,54:40-43.
- [25] Meyer, L., Sanders, G. M., Jacobs, R., et al. A one-day sensitive method to detect and distinguish between the citrus black spot pathogen *Guignardia citricarpa* and the endophyte *Guignardia mangiferae*[J].*Plant Dis.*,2006,90:97-101.
- [26] Miles A.K., Willingham S.L., Cooke A.W. Field evaluation of strobilurins and a plant activator for the control of citrus black spot [J].*Australasian Plant Pathology*,2004,33:371-378.
- [27] Nam, K. W., Kweon, et al. Storage of Satsuma mandarin. I. Storability of Satsuma mandarin influenced by thiophanate-methyl treatment and mechanical injuries[J].*J. Korean Soc. Hortic. Sci.*, 1993,34:279-284.
- [28] Paul Ida, van Jaarsveld A.S., Korstenc L., et al. The potential global geographical distribution of citrus black spot caused by *Guignardia citricarpa* (Kiely): likelihood of disease establishment in the European Union[J].*Crop Protection*,2005,24:297-308.
- [29] Pazoti M.A., Garcia R.E., Pessoa J.D.C., et al. Comparison of shape analysis methods for *Guignardia citricarpa* ascospore characterization [J].*Electronic Journal of Biotechnology*,2005:265-275.
- [30] Peres N.A., Harakava R., Carroll G.C., et al. Comparison of molecular procedures for detection and identification of *Guignardia citricarpa* and *G. mangiferae*[J].*Plant disease*,2007,91(5):525-531.
- [31] Reis R.F., Timmer L.W., Goes de A. Effect of temperature, leaf wetness, and rainfall on the production of *Guignardia citricarpa* ascospores and on black spot severity on sweet orange[J].*Fitopatologia Brasileira*,2006,31:029-034.
- [32] Rodrigues M.B.C., Andreote F.D., Spósito M.B., et al. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*[J].*Pesq. agropec. bras.*, Brasília,2007,42(3):323-327.
- [33] Schutte G.C. *In vitro & in vivo* evaluation of maneb and mancozeb against *Guignardia citricarpa*, the cause of citrus black spot on Valencia oranges[J].*Citrus research international*,2005:37-41.
- [34] Schutte G.C., Beeton K.V., Kotzé J.M. Rind stippling on Valencia oranges by copper fungicides used for control of citrus blackspot in South Africa[J].*Plant disease*,1997,81:851-854.
- [35] Schutte G. C. The order of benzimidazole and strobilurin applications in a spray programme for the control of citrus black spot[J],2006,6:36-39.
- [36] Seberry J. A., Leggo D., Kiely T. B. Effect of skin coatings on the development of black spot in stored Valencia oranges[J].*Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*,1967,7:593-600.
- [37] Sposito M.B., Bassanezi R.B., Amorim L. Resistência à mancha preta dos citros avaliada por curvas de progresso da doença[J].*Fitopatologia Brasileira*,2004,29:532-537.
- [38] Stringari D., Glienke C., Christo de D. High molecular diversity of the fungus *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae* and new primers for the diagnosis of the citrus black spot [J].*Brazilian archives of biology and technology*,52(5):1063-1073.
- [39] Timossi A.J., Goes, de A., Kupper, K.C., et al. Influência da temperatura e da luminosidade no desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da mancha preta dos frutos cítricos[J].*Fitopatologia Brasileira*,2003,28:489-494.
- [40] Van der Aa, H. A.. Studies in *Phyllosticta*[M].*Study. Mycol.*,1973,5: 1-110.
- [41] Van gent-pelzer M.P.E., Van brouwershaven I.R., Kox L.F.F., et al. A TaqMan PCR for routine diagnosis of the quarantine fungus *Guignardia citricarpa* on citrus fruit[J].*Phytopathology*,2007,155: 357-363.
- [42] Wager, V.A.. The black spot disease of citrus in South Africa[J].*Science Bulletin, Department of Agriculture, Union of South Africa*, 1952,303:1-52.
- [43] Wulandari N.F., To-anun C., Hyde K.D., et al. *Phyllosticta citriasiana* sp. nov., the cause of Citrus tan spot of Citrus maxima in Asia[J].*Fungal Diversity*,2009,34:23-39.