

曹凡,王莹,郭聪,等. 美国薄壳山核桃细菌性叶枯病研究进展[J]. 江苏农业科学,2022,50(12):18-22.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.12.003

美国薄壳山核桃细菌性叶枯病研究进展

曹凡,王莹,郭聪,陈燕,李玉娟

(江苏沿江地区农业科学研究所,江苏南通 226541)

摘要:薄壳山核桃是高档干果树种,不仅经济效益高,也是优良的行道树和庭荫树,适于河流沿岸、湖泊周围及平原地区“四旁”绿化,具有极大的应用研究价值。薄壳山核桃细菌性叶枯病是由木质部难养菌引起的,可导致病株严重落叶、坚果质量和果仁质量下降,造成巨大的产量损失。本文从薄壳山核桃细菌性叶枯病的病原概述、病症表现及检测手段等方面进行综述,以期对该病害有更全面的了解,并且针对今后检测技术、防治措施及抗病品种培育等研究方向提出合理化建议,旨在为我国薄壳山核桃成熟果园病害防治研究提供参考。

关键词:美国山核桃;木质部难养菌;酶联免疫法;荧光定量 PCR;细菌性叶枯病

中图分类号:S436.64

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2022)12-0018-04

薄壳山核桃(*Carya illinoensis*)为胡桃科山核桃属,原产于北美洲,别称美国山核桃、长山核桃等,英文名为 pecan,俗称碧根果,是世界上重要的果、油、材、林兼用的多用途、多效益木本植物之一^[1-2]。薄壳山核桃在食品加工、药用功能、木材用料、园艺栽培等多个方面都有着极高的应用价值^[3]。根据美国农业部对外农业服务部门海外农业服务局(FAS)的数据,自2012年以来,美国的薄壳山核桃全球出口量增长了30%以上。除了其原产地以外的国家,中国、南非、澳大利亚、乌拉圭、阿根廷和巴西等国家和地区,目前都在规模化、产业化地引进种植薄壳山核桃,预计未来30年在全世界范围内,薄壳山核桃产量会不断增加^[4-7]。

细菌性叶枯病(bacterial leaf scorch, PBLs),别称细菌性叶焦病或叶灼病,是影响薄壳山核桃的一种重要病害,该病害已经被证实发生在美国东部和南部,包括加利福尼亚州、佐治亚州、路易斯安那州、德克萨斯州、新墨西哥州和亚利桑那州^[8-9]。细菌性叶枯病会导致薄壳山核桃易感病品种在生长季结束前50%的树冠叶片过早脱落,这也导致了其果园产量损失超过450美元/hm²^[10]。此外,该病害也会对来年开花和隔年结果产生影响。因此,细菌

性叶枯病被认为是在世界范围内传播的一个新兴问题^[11]。关于薄壳山核桃细菌性叶枯病,美国农业部、佐治亚大学、德州农工大学、新墨西哥大学等多个研究机构的植物病理专家学者都有相关研究报道^[12]。本文拟对美国薄壳山核桃细菌性叶枯病方面的研究工作进行综述,旨在为今后我国薄壳山核桃成熟果园病害防治研究提供参考。

1 病原概述

薄壳山核桃叶枯病根据病原不同可分为细菌性病害和真菌性病害。其中,薄壳山核桃细菌性叶枯病是由木质部难养菌(*Xylella fastidiosa*)引起的,这是一种习居于木质部维管的细菌。“Fastidious”意为其存在复杂的营养需求,很难用常规细菌学方法进行培养。而木质部维管也表明了其机体活动受植物木质部的限制。木质部难养菌寄居于植物根、茎、叶等木质部,可以通过阻塞植物导管内养分与水分的运输,从而引起植物叶片枯斑、萎黄、果实萎蔫,甚至导致植株死亡。

木质部难养菌作为病原其导致最为严重的病害是葡萄皮尔斯病。在1892年,葡萄皮尔斯病给美国加州南部数万公顷的葡萄园造成了毁灭性的损害^[13]。一直到1973年,木质部难养菌与其关联的葡萄皮尔斯病才一同被研究报道^[14]。自此之后,各类研究发现超过20种以上的植物病害与木质部难养菌有关,涉及至少309个植物种类,如杏、榆、栎、悬铃木、桑等的叶焦病,紫花苜蓿的矮缩病,李的叶灼病及柑橘的杂色褪绿病等。1997年,薄壳山核桃

收稿日期:2020-11-05

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(19)3121]。

作者简介:曹凡(1990—),男,江苏南通人,博士,主要从事经济林育种与栽培研究。E-mail: caofan90@126.com。

通信作者:李玉娟,副研究员,主要从事观赏苗木育种与栽培技术研究。E-mail: lyglyj90@sohu.edu.cn。

细菌性叶枯病由木质部难养菌作为病原被正式报道^[15]。2015 年,在美国全国山核桃作物咨询委员会的会议上,薄壳山核桃细菌性叶枯病被正式确定为国际上薄壳山核桃行业的一个新兴问题。

2 症状表现

2.1 病害症状

细菌性叶枯病主要是因为木质部难养菌阻碍了薄壳山核桃树体内水分与养分的输送,导致树体叶片焦黄、萎蔫和过早凋落。焦斑首先会出现在小叶边缘,然后向叶片中脉感染。叶片感染的区域可以通过肉眼清楚界定,叶片上的坏死组织与健康组织之间有深色的边缘。叶片症状表现以及落叶的情况通常出现在老枝小叶上,或是仅受限于单一枝条,或是整个植株都有该病症表现,受感染的病株每年都会有不同程度的症状表现。细菌性叶枯病通常在生长季中后期表现,主要在 6—8 月份出现。当薄壳山核桃种植园内的果树处于较大负载,或是干旱胁迫,或是其他胁迫条件下,木质部难养菌所导致的细菌性叶枯病则更加严重。

2.2 传播方式

导致薄壳山核桃细菌性叶枯病传播的方式有很多种,其中最主要的一种传播方式是昆虫传播。以美国本土沫蝉、叶蝉等以薄壳山核桃木质部为食的昆虫,可以将其自身携带的木质部难养菌通过取食处伤口直接传播至植株体内。除此之外,嫁接也是一种接穗与砧木之间相互传播木质部难养菌的方式,研究发现感染接穗有 21% 概率传染未感染砧木,而感染砧木有 85% 概率传染未感染接穗。另外,通过对感染母株果实内木质部难养菌的检测,发现母株携带的木质部难养菌可以传播给子代。

2.3 感病品种

薄壳山核桃早熟品种凯普·费尔(Cape Fear)因其种子极高的饱满度和果仁极佳的金黄色泽而一度受到种植者的推崇,但是它被证实是细菌性叶枯病的易感品种^[10]。目前,Cape Fear 因细菌性叶枯病造成的损失被分析研究,其也成为了研究薄壳山核桃细菌性叶枯病的代表品种。细菌性叶枯病是影响薄壳山核桃正常生长的一种较新发现的病害,其具体的发生情况与潜在危害尚有很多待进一步研究的方面。薄壳山核桃不同品种之间,对于细菌性叶枯病感染的严重程度也有所不同。研究发现,约有 20 多种薄壳山核桃品种易受木质部难养菌

感染而导致叶枯病,其中 Cape Fear 被认为与细菌性叶枯病的关联性最大。在受到细菌性叶枯病感染最严重的地区,受到感染的 Cape Fear 果树较未感染的植株在生长季末期的落叶量增加了 58%,总质量下降 24%,果实质量下降 10%~13%,果仁质量下降 14%~19%,总产量下降约 12%,果园产量总损失超过 466 美元/hm²。而细菌性叶枯病对于其他薄壳山核桃品种造成的经济损失尚不确定。根据美国农业部薄壳山核桃育种中心的观测清理,目前尚未发现对细菌性叶枯病抗性较强的薄壳山核桃优良品种,包括美国本土野生的薄壳山核桃也属于易感染类型。除了 Cape Fear 之外,巴顿(Barton)、夏延(Cheyenne)、奥克尼(Oconee)、波尼(Pawnee)、罗马(Rome)和萨姆纳(Sumner)等都是易感细菌性叶枯病的薄壳山核桃品种。

3 检测手段

薄壳山核桃除了真菌引进的真菌性叶枯病之外,其他方面的问题也能导致病株表现出类似于细菌性叶枯病的相关症状,如棉根腐病引起的已死亡枯萎叶片仍长时间滞留枝头;树体边缘叶片因盐毒害导致的细胞组织坏死;黑蚜虫或螨虫等虫害引起的薄壳山核桃叶片叶焦;N 或 K 等元素不平衡引起的叶片枯斑。因此,针对病株选择合适的检测方法尤为重要。目前,薄壳山核桃叶枯病的检测方法主要有 2 种,一种是基于血清学研究的酶联免疫法(ELISA)检测,另一种是基于分子生物学的聚合酶链式反应(PCR)或实时荧光定量 PCR(qPCR)方法。

3.1 ELISA 检测

酶联免疫吸附测定是将可溶性的抗原或抗体结合到聚苯乙烯等固相载体上,利用抗原抗体特异性结合进行免疫反应的定性和定量检测方法。薄壳山核桃细菌性叶枯病的 ELISA 检测方法主要是双抗体夹心法,即先加入已知抗体包被于载体表面,之后加入检测样品提取液与抗体结合,再加入加酶标抗体与抗原结合,最终加酶作用的底物会产生显色反应。通过底物的颜色反应来判定有无相应的免疫反应,颜色反应的深浅与标本中相应抗体或抗原的量成正比。根据美国德州农工大学植物病理与微生物学院 Hilton 博士针对木质部难养菌的改进检测方法试验,树液、叶片组织、叶柄基部等不同植物材料粗提液的 ELISA 检测结果基本一致,其中以薄壳山核桃树液作为检测材料的效果最佳^[16]。

3.2 PCR/qPCR 检测

木质部难养菌一般很难从寄主植株中分离,尤其是对于没有任何症状表现的寄主植株的检测鉴定就更加困难^[17-18],而当寄主植物或昆虫介体木质部难养菌携带量很低时,传统分离法或是酶联免疫吸附法都不能有效检测病原菌。因此,采用 PCR/qPCR 等分子检测手段十分重要^[19]。PCR 是检测、诊断和鉴定植物病原细菌最有效的手段之一^[20],而 qPCR (real-time PCR) 是灵敏度及可靠性高的 PCR 技术,较传统 PCR 更为快速,能定量检测样品中的病原菌。随着木质部难养菌重要菌株测序的完成,基于其基因组信息设计的 PCR 检测方法也相继被报道^[21-25]。此外,还有一些基于种水平上的 PCR 或实时荧光定量 PCR 检测方法也已有相关报道^[26-30]。根据 Hilton 博士针对木质部难养菌的改进检测方法试验,薄壳山核桃树液粗提液和全 DNA 提取液的 PCR/qPCR 检测效果较好,并且其改良的 qPCR 技术检测效率可达到 94%^[16]。

3.3 检测研究进展

目前,美国薄壳山核桃叶枯病检测方面的研究主要集中于各个州薄壳山核桃果园的地方性检测^[12]。笔者在美国德州农工大学访学期间,针对已感染的薄壳山核桃果子与新生幼苗内的木质部难养菌进行数个检测基础试验。针对薄壳山核桃品种艾略特 (Elliott),分别对其的根、茎和小叶进行木质部难养菌 gDNA 的 ELISA 检测,结果表明根和小叶样品中含有大约相等浓度的木质部难养菌 gDNA,而茎部样品中 gDNA 浓度最高。关于薄壳山核桃 Cape Fear 果仁各个部位解剖结构(胚部、韧皮部、维管膜和外膜)的木质部难养菌浓度 qPCR 检测试验,结果发现果仁外膜的木质部难养菌浓度最高。此外,关于薄壳山核桃果实密度与木质部难养菌浓度的关系研究中,细菌浓度随着坚果密度的增加而增加,而实际薄壳山核桃卡多 (Caddo) 果园中有叶枯病症状果树坚果的密度明显低于无症状果树,该试验结果的矛盾之处有待进一步深入试验论证。

4 防治方法

目前,薄壳山核桃细菌性叶枯病还没有特别有效的控制方法^[31]。针对薄壳山核桃细菌性叶枯病,可以从增强树势和控制病原 2 个方面考虑防治方法。

4.1 增强树势

通过采用严格管控的方式,如间伐、疏果和水

肥管理等方面的调控,为果园内的果树增强树势,缓解逆境胁迫压力,可以减少细菌性叶枯病所造成的损害。通常来说,越健康的薄壳山核桃树就越能够有效应对各类真菌或细菌的侵害。

4.2 控制病原

此外,果园内的薄壳山核桃应该尽量避免接触其他受污染的植物材料,这也是防治木质部难养菌感染的一种方式。新建果园除了要考虑立地条件外,也要对种植薄壳山核桃嫁接苗的砧木与接穗进行筛选处理。研究表明,薄壳山核桃接穗通过热水处理的方式,97% 可以防止木质部难养菌的传播^[32-33]。

5 研究展望

针对薄壳山核桃叶枯病的研究方向,今后主要可以从检测技术、防治措施及抗病品种培育等方面进行深入研究。

5.1 检测方式改良

因为薄壳山核桃无症状的果树也可能是木质部难养菌的宿主,往往单一形式的检测方式并不能得到有效的检测结果,所以采用多个检测方法共同验证是未来发展的趋势。此外,检测过程中也出现了检测结果假阴性或假阳性的问题,这也将依赖于今后技术革新,以期改良出精准、有效的检测技术。影响薄壳山核桃病害的原因很多,包括各种虫害、真菌、细菌及其他非生物胁迫。只有通过真正有效地进行检测,才能更好地采取最佳方式处理应对。

5.2 携菌昆虫防治

针对薄壳山核桃细菌性叶枯病,昆虫携带的防治研究将是一个重要的研究领域^[12]。研究发现,以美国东南部常见的沫蝉为例,通过其取食薄壳山核桃而导致的木质部难养菌传播率达到 11.4%^[34]。目前,我国国内薄壳山核桃果园因为生物胁迫导致的病害已经达到需要引起重视的地步。国内引起薄壳山核桃虫害的昆虫除了天牛之外,还有叶甲、木蠹蛾、金龟子、刺蛾、叶蜂、潜叶蝇、警根瘤蚜、桃蛀螟、椿象、缘蝽等。因此,针对木质部难养菌携带昆虫观测,并且采取有效的物理、化学及生物防治手段是防控薄壳山核桃细菌性病害的重点方向。

5.3 抗病品种筛选

木质部难养菌薄壳山核桃抗病品种的筛选应该分别从砧木和接穗 2 个角度展开。关于薄壳山核桃接穗优良品种的传统筛选,需要考虑的包括:果实持续高品质、早收、高产、大小年异化程度低、晚

萌芽、抗疮痂病和蚜虫抗性等多个特点。针对于薄壳山核桃叶枯病,新建果园嫁接苗种植应避免选用 Cape Fear 等较易感染的品种,育苗嫁接或老园嫁接改造时可对接穗进行特殊处理。此外,薄壳山核桃的嫁接树生长受自身复杂的遗传系统的影响,而其遗传系统由砧木和接穗共同决定^[35]。研究发现,北美的葡萄品种相较欧洲的葡萄品种的根部具有极强的葡萄根瘤蚜抗性而以北美葡萄作为砧木嫁接的欧洲葡萄品种不再易感葡萄根瘤蚜^[36]。因此,关于抗病砧木的筛选也是未来重要的研究方向。

参考文献:

- [1] 彭方仁,李永荣,郝明灼,等. 我国薄壳山核桃生产现状与产业化发展策略[J]. 林业科技开发,2012,26(4):1-4.
- [2] 彭方仁. 美国薄壳山核桃产业发展现状及对我国的启示[J]. 林业科技开发,2014,28(6):1-5.
- [3] Wood B W. Production unit trends and price characteristics within the United States pecan industry[J]. HortTechnology,2001,11(1):110-118.
- [4] Fabrizio G C, van der Watt E, Gesine M C. Propagation of pecan (*Carya illinoensis*): a review[J]. African Journal of Biotechnology, 2018,17(18):586-605.
- [5] Wakeling L T, Mason R L, D'Arcy B R, et al. Composition of pecan cultivars Wichita and western schley [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] grown in Australia[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2001,49(3):1277-1281.
- [6] Lazarotto M, Milanesi P M, Muniz M F B, et al. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp pathogenic to pecan tree in Brazil [J]. Genetics and Molecular Research: GMR, 2014, 13 (4):9390-9402.
- [7] Zhang R, Peng F R, Li Y R. Pecan production in China[J]. Scientia Horticulturae,2015,197:719-727.
- [8] Hilton A E, Jo Y K, Cervantes K, et al. First report of pecan bacterial leaf scorch caused by *Xylella fastidiosa* in pecan (*Carya illinoensis*) in Arizona, New Mexico, California, and Texas [J]. Plant Disease,2017,101(11):1949.
- [9] Sanderlin R S, Heyderich - Alger K I. Evidence that *Xylella fastidiosa* can cause leaf scorch disease of pecan[J]. Plant Disease, 2000,84(12):1282-1286.
- [10] Sanderlin R S, Heyderich - Alger K I. Effects of pecan bacterial leaf scorch on growth and yield components of cultivar cape fear[J]. Plant Disease,2003,87(3):259-262.
- [11] Grauke L J, Wood B W, Harris M K. Crop vulnerability; *Carya*[J]. HortScience,2016,51(6):653-663.
- [12] Bock C H, Oliver J E, Chen C X, et al. Pecan bacterial leaf scorch, caused by *Xylella fastidiosa*, is endemic in Georgia pecan orchards [J]. Plant Health Progress,2018,19(4):284-287.
- [13] 赵宇. 澳大利亚修订木质部难养细菌寄主苗木进口条件[J]. 植物检疫,2010,24(1):63-64.
- [14] 赵友福,葛起新,张志雍. 木质部难养菌及其病害[J]. 植物检疫,1989,3(2):83-87.
- [15] Sanderlin R S. Evidence that *Xylella fastidiosa* is associated with pecan fungal leaf scorch[J]. Plant Disease,1998,82(2):264.
- [16] Hilton A, Wang X W, Zhang M L, et al. Improved methods for detecting *Xylella fastidiosa* in pecan and related *Carya* species[J]. European Journal of Plant Pathology,2020,157(4):899-918.
- [17] Costa H S, Raetz E, Pinckard T R, et al. Plant hosts of *Xylella fastidiosa* in and near southern California vineyards [J]. Plant Disease,2004,88(11):1255-1261.
- [18] Huang Q. Natural occurrence of *Xylella fastidiosa* in a commercial nursery in Maryland [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2007,29(3):299-303.
- [19] 关巍. 木质部难养菌(*Xylella fastidiosa*)基因组分析及特异性分子检测[D]. 北京:中国农业科学院,2015.
- [20] Alvarez A M. Integrated approaches for detection of plant pathogenic bacteria and diagnosis of bacterial diseases[J]. Annual Review of Phytopathology,2004,42(1):339-366.
- [21] Chen J C, Civerolo E L, Jarret R L, et al. Genetic discovery in *Xylella fastidiosa* through sequence analysis of selected randomly amplified polymorphic DNAs [J]. Current Microbiology, 2005, 50 (2):78-83.
- [22] Chen J, Groves R, Civerolo E L, et al. Two *Xylella fastidiosa* genotypes associated with almond leaf scorch disease on the same location in California[J]. Phytopathology,2005,95(6):708-714.
- [23] Hernandez - Martinez R, Pinckard T R, Costa H S, et al. Discovery and characterization of *Xylella fastidiosa* strains in southern California causing mulberry leaf scorch[J]. Plant Disease,2006,90(9):1143-1149.
- [24] Olson B R, Dominiak J, von Broembsen S, et al. First report of *Xylella fastidiosa* in Oklahoma [J]. Plant Disease, 2006, 90 (1):108.
- [25] Rodrigues J L M, Silva - Stenico M E, Gomes J E, et al. Detection and diversity assessment of *Xylella fastidiosa* in field - collected plant and insect samples by using 16S rRNA and gyrB sequences [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69 (7): 4249-4255.
- [26] Francis M, Lin H, Rosa J C L, et al. Genome - based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa* [J]. European Journal of Plant Pathology,2006,115(2):203-213.
- [27] Harper S J, Ward L I, Clover G R G. Development of LAMP and real - time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications [J]. Phytopathology, 2010, 100 (12):1282-1288.
- [28] Minsavage G V. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue[J]. Phytopathology,1994,84(5):456.
- [29] Pooler M R, Hartung J S. Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis[J]. Current Microbiology,1995,31(6):377-381.

夏雄飞,潘俊良,韩长志. CRISPR/Cas9 基因编辑技术在植物病原真菌中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2022,50(12):22-27.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.12.004

CRISPR/Cas9 基因编辑技术在植物病原真菌中的应用研究进展

夏雄飞¹, 潘俊良¹, 韩长志^{1,2}

(1. 西南林业大学生物多样性保护学院,云南昆明 650224; 2. 云南省森林灾害预警与控制重点实验室,云南昆明 650224)

摘要:CRISPR/Cas9 是在细菌、古细菌基因组中含有的一种成簇有规律的间隔短回文重复序列,该结构被其用于抵御外来微生物基因入侵。通过对上述结构进行改装而形成一种基因编辑方法,与传统的锌指核酶和转录激活因子样效应物核酶基因编辑方法相比,CRISPR/Cas9 基因编辑技术具有更高效的优势。本文以 CRISPR/Cas9 系统的组成、作用机制和运用原理为切入点,系统总结了该技术在植物病原真菌(稻瘟病菌、橡胶树胶孢炭疽菌、玉米黑粉病菌等)中的致病相关基因组定点编辑应用情况,明确了当前在植物病原真菌中应用 CRISPR/Cas9 系统的编辑效率整体较低,不同 sgRNA 设计工具、目的等对编辑效率、靶向特异性的潜在影响,以及宏观突变检验方式的偏差问题等局限性,并提出了该系统应用范围的扩大、编辑效率的提高以及新型编辑方式的挖掘等建议与展望。

关键词:CRISPR/Cas9;植物病原真菌;基因编辑;研究综述

中图分类号:S432.4⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)12-0022-06

目前,CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated 9) 基因编辑技术在实现对植物、动物以及微生物等特定基因条件性敲除、敲入、替换、修复等方面具有较为广泛的应用,弥补了锌指核酸内切酶

(ZFNs) 和类转录激活因子效应物核酸酶 (TALENs) 等传统编辑技术的劣势^[1]。该技术具有设计过程简单、同时多位点编辑等优点^[2],可广泛应用于医药、农业及工业等领域,目前在构建动物、细胞系模型以及癌症治疗^[3]、良种育种^[4]以及工业微生物改造^[5]等方面已经得到了实践验证。2020 年 10 月,法国科学家埃玛纽埃尔·沙尔庞捷和美国科学家珍妮弗·杜德纳以 CRISPR/Cas9 技术开发者身份获得诺贝尔化学奖^[6-7]。植物病原真菌对农林业造成重要危害,对社会、经济等各方面产生重大影响。前人对于病原真菌的基因研究,多采用单基因敲除的方式以挖掘新的致病基因,由于某些真菌发生同源重组效率较低,缺乏启动子和有效的转化子筛选标记以及相对复杂的遗传性,严重影响致病机制的

收稿日期:2021-09-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:31960314);云南省“兴滇英才支持计划”青年人才专项(编号:YNWR-QNBJ-2020-188);云南省应用基础研究计划(编号:2018FG001-028)。

作者简介:夏雄飞(1996—),男,安徽合肥人,硕士研究生,主要从事资源利用与植物保护研究,E-mail:616385792@qq.com;共同第一作者:潘俊良(1988—),男,上海人,硕士研究生,主要从事资源利用与植物保护研究,E-mail:panjunliang@sh.chinamobile.com。通信作者:韩长志,博士,教授,主要从事经济林木病害生物防治与真菌分子生物学研究。E-mail:hanchangzhi2010@163.com。

[30]Schaad N W, Ogenorth D, Gaush P. Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines[J]. Phytopathology, 2002, 92(7):721-728.

[31]郭忠仁,莫正海. 薄壳山核桃高效栽培技术[M]. 北京:北京出版社,2021.

[32]Sanderlin R S, Melanson R A. Reduction of *Xylella fastidiosa* transmission through pecan scion wood by hot-water treatment[J]. Plant Disease, 2008, 92(7):1124-1126.

[33]Melanson R A, Sanderlin R S. Hot-water treatment of pecan scions as a means of phytosanitation to reduce the potential introduction of

Xylella fastidiosa, the causal agent of pecan bacterial leaf scorch, into orchards and new geographic regions[J]. Acta Horticulturae, 2015(1070):201-209.

[34]Sanderlin R S, Melanson R A. Insect transmission of *Xylella fastidiosa* to pecan[J]. Plant Disease, 2010, 94(4):465-470.

[35]Cao F, Wei Y C, Wang X W, et al. A study of the evaluation of the pecan drought resistance of grafted 'Pawnee' trees from different seedling rootstocks[J]. HortScience, 2019, 54(12):2139-2145.

[36]Ollat N, Bordenave L, Tandonnet J P, et al. Grapevine rootstocks: origins and perspectives[J]. Acta Horticulturae, 2016(1136):11-22.