· 植物保护 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.20230121

主持人: 缪卫国

甘蔗环斑病致病菌的鉴定及生物学特性分析

谢蒙潇¹, 丘舒琪¹, 张怡¹, 谭丽花¹, 刘月廉¹, 胡汉桥^{1,2}, 王冠³,
任磊^{1,2}, 王燕燕¹

(1. 广东海洋大学滨海农业学院, 广东 湛江 524088; 2. 国家耐盐碱水稻技术创新中心华南分中心,
广东 湛江 524088; 3. 海南农乐南繁科技有限公司, 海南 三亚 572000)

摘要: 甘蔗环斑病是甘蔗常见的一种病害, 在我国广东、广西等地较为常见。本研究从广西玉林地区的甘蔗病叶中分离到1株真菌菌株, 命名为 YLES 1, 并按照科赫氏法则对分离菌进行致病性测定, 证实了分离菌是甘蔗环斑病的病原菌。通过病原菌的形态观察, 发现该真菌与附球菌属 (*Epicoccum*) 的形态特征类似。基于分离菌株的核糖体 DNA 转录间隔区 (ITS)、大亚基 rDNA (*LSU*) 及 β -微管蛋白 (*Tu*) 基因序列构建多基因联合系统发育树, 其中确定 YLES 1 属于 *E. sorghinum*, 是甘蔗环斑病的病原物。该菌株的生物特性分析结果显示, YLES 1 菌株生长的最适温度为 28 °C, 菌丝生长和产孢的最适 pH 为 7~9, 最适生长和产孢碳源为蔗糖, 最适氮源为酵母浸粉, 且全黑暗的条件有利于菌 YLES 1 的生长。

关键词: 甘蔗; 环斑病; 附球菌属; 生物学特性

中图分类号: S432.4⁺

文献标志码: A

文章编号: 1674-7054(2024)05-0608-07

谢蒙潇, 丘舒琪, 张怡, 等. 甘蔗环斑病致病菌的鉴定及生物学特性分析 [J]. 热带生物学报, 2024, 15(5): 622-628. doi: 10.15886/j.cnki.rdsxb.20230121

甘蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 是我国最重要的经济作物之一, 是制造蔗糖的重要原料。中国是世界第三大甘蔗生产国, 中国的甘蔗广泛分布于广东、海南、广西、四川、云南和福建等省^[1]。甘蔗环斑病是危害甘蔗产业的一种常见病害, 病斑为卵圆形, 边缘呈淡黄色, 中心呈草黄色^[2]。该病害主要危害甘蔗的老叶, 也会侵染甘蔗的茎秆、嫩叶以及叶鞘。当甘蔗受到该病害侵染时, 会导致产量下降, 也会影响甘蔗的含糖量。目前针对此病害的研究主要是病害调查和大田防控试验^[3-4], 关于中国甘蔗环斑病病原菌鉴定的研究较少, 为了研究该病害的致病菌, 笔者从广西壮族自治区玉林市的甘蔗种植区中采集典型病样进行了分离与鉴定, 并进一步对病原菌的生物学特性进行分析, 为掌握甘蔗环斑病致病菌的流行规律及其防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品和培养基 甘蔗病叶样品为笔者于2020年11月采自广西壮族自治区玉林市 (22°6'N; 110°2'E) 甘蔗种植区的甘蔗病叶样品。马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA): 去皮马铃薯 200 g, 无水葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水定容至 1 000 mL。查氏培养基 (Czapek-Dox Medium): 硝酸钠 2 g, 磷酸氢二钾 1 g, 七水合硫酸镁 0.5 g, 氯化钾 0.5 g, 硫酸亚铁 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水定容 1 000 mL。配制完成后, 以上培养基均在 121 °C 条件下高压灭菌 20 min。

1.2 病原菌的分离 利用组织分离法^[5]对甘蔗病叶的病原菌进行分离纯化。具体方法: (1) 取出一小块发病叶片, 用 1.0% 次氯酸钠 (NaClO) 对样品

收稿日期: 2023-11-07

修回日期: 2024-05-13

基金项目: 广东海洋大学科研启动经费 (060302052312); 南海青年学者项目 (002029002004); 大学生创新创业训练项目 (010403052332)

第一作者: 谢蒙潇 (2002-) 女, 广东海洋大学滨海农业学院 2021 级本科生。E-mail: 985307805@qq.com

通信作者: 王燕燕 (1988-) 女, 博士, 讲师。研究方向: 植物保护。E-mail: yanyanwang@gdou.edu.cn

表面进行消毒 3 min。(2)将经(1)处理的样品在无菌水中漂洗 3 次,每次漂洗大约 5 s,放置,待病叶表面水分蒸发。(3)用灼烧冷却后的小刀剪取 4~5 mm 的病叶组织,放置在 28 °C 的 PDA 上倒置培养,全程操作要在超净工作台中进行。(4)培养 2 d 后,挑选菌株长得最为一致的培养基,将生长菌落边缘的菌丝尖端转移到新鲜的 PDA 平板上进一步纯化,纯化后接种到多个 PDA 培养基上,得到多个菌落,即可用于之后的形态学和生物学特性鉴定。

1.3 病原菌致病性的测定 按照科赫氏法则^[6]对分离到的病原菌进行致病性测定。具体的方法:(1)将健康的甘蔗(cv. Yuetang 00-236)幼苗移植至含基质土的花盆中进行培养,待其长至 5~7 叶期,用分离的病原菌对甘蔗叶片进行接种。(2)用酒精对叶片表面进行消毒 1~2 次,用无菌注射器针头轻微创伤叶片表面并保证不刺破叶片进行接种。然后将分离出的菌株接种到健康的甘蔗叶片的伤口处,在叶片表面缠上透明胶进行保湿。以接种相同量的 PDA 培养基作为阴性对照。将所有接种后的甘蔗盆栽放入光培养箱(温度为 25 °C,湿度为 80%,12 h 光照,12 h 黑暗)培养 10 d。每株病原菌进行 3 次重复实验。7 d 后,观察是否发病,发病症状是否与田间症状相同。

1.4 病原菌形态学鉴定 选择纯化后,在 28 °C 恒温培养箱中在 PDA 平板上生长 7 d 的病原菌,对其病原菌的菌落形态、大小及产孢能力等指标的鉴定,并拍照记录,用挑针挑取平板上的菌丝放置于已滴上清水的载玻片上,压片制成临时玻片,在光学显微镜下观察菌丝、分生孢子的形态、大小和颜色,观察孢子有无隔膜、有无分枝等,并测量其分生孢子的大小,取平均值。

1.5 病原菌的分子鉴定 使用 MightyAmp DNA 聚合酶的直接菌落 PCR 方法(Takara-Bio, 大连, 中国)^[7]扩增菌株的 ITS、LSU 和 Tu 的 3 个位点。扩增引物:ITS 引物为 ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)和 ITS5(GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)^[8]; LSU 引物为 LR0R(GTACCCGCTGAACCTAAGC)和 LR7(TACTACCACCAAGATCT); Tu 引物为 T1(AACA TGGCTGAGATTGTAAGT)和 T2(TAGTGACCCTTGG CCCAGTTG)^[9]。PCR 反应体系:2×MightyAmp 缓冲液 15 μL、10 μmol·L⁻¹ 扩增引物各 0.75 μL、1.25 U·μL⁻¹ MightyAmp DNA 聚合酶 0.6 μL 和纯水 12.9 μL,最

终体积为 30 μL。用无菌牙签挑取少量菌丝到 PCR 混合液中,作为扩增的模板。PCR 条件:98 °C 2 min,98 °C 10 s,55~60 °C 15 s,68 °C 60 s,扩增 35 个循环。用 1.5% (w/v) 琼脂糖进行电泳分析检测,对剩余的 PCR 产物进行测序。将来自不同地区的 3 株菌株的 ITS、LSU 和 Tu 序列提交到 GenBank 数据库。这些序列与 *Epicoccum* 属菌株的基因序列进行序列比对^[10],使用邻接法构建多基因联合系统发育树。

1.6 病原菌的生物学特性分析 利用交叉交叉法对菌落直径进行测量。使用血球计数板对菌落产孢量进行测定。在培养 7 d 后的培养基中加入 1 mL 蒸馏水,并轻微摇晃使液体和菌落充分接触,形成母液,若孢子浓度过大需要适当稀释,得到稀释倍数(*d*)。每个样品重复计数 2~3 次,求出每个小格中孢子平均数(*N*),根据公式(1)计算出每 mL 菌悬液所含孢子的数量[孢子数量/(个·mL⁻¹)]。

$$\text{孢子数量}/(\text{个}\cdot\text{mL}^{-1})=N\times K\times d \quad (1)$$

式中,*N*:每个小格中平均孢子数;*K*:4×10⁶; *d*:菌液稀释倍数。

1.6.1 不同培养温度对病原菌生长及产孢量的影响 将 5 mm 的菌饼接种到 PDA 培养基上,放置在 5、10、15、20、25、28、30、37、40 °C 的培养箱中倒置培养 7 d,计算菌落直径和产孢量。

1.6.2 不同 pH 对病原菌生长及产孢量的影响 用 1 mol·L⁻¹ HCl 和 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液将 PDA 培养基的 pH 调整为 4、5、6、7、8、9、10、11。将 5 mm 的菌饼接种到不同 pH 值的 PDA 培养基上,培养 7 d。计算菌落直径和产孢量。

1.6.3 不同光照对病原菌生长及产孢量的影响 将 5 mm 的菌饼接种到 PDA 培养基上,放置在 24 h 黑暗、24 h 光照、12 h 黑暗/12 h 光照条件下的培养箱中培养 7 d,计算菌落直径和产孢量。

1.6.4 不同碳源对病原菌生长及产孢量的影响 以察氏培养基为对照,选择不同碳源(葡萄糖、乳糖、麦芽糖、D-半乳糖、D-木糖、果糖、可溶性淀粉)等量置换察氏培养基中的蔗糖。接种 5 mm 的菌饼到不同碳源的察氏培养基上,培养 7 d,计算菌落直径和产孢量。

1.6.5 不同氮源对病原菌生长及产孢量的影响 以察氏培养基为对照,选择不同氮源(硝酸钠、牛肉膏、蛋白胨、酵母浸粉、尿素、氯化铵、硝酸

铵、甘氨酸)等量置换察氏培养基中的硝酸钠。将 5 mm 的菌饼接种到不同氮源的察氏培养基上,培养 7 d,计算菌落直径和产孢量。

2 结果与分析

2.1 田间甘蔗环斑病形态特征 2020 年 11 月笔者在对广东省遂溪市田间甘蔗环斑病的观察中发现,病原菌主要为害老叶,也为害叶鞘和蔗茎。病斑呈墨绿色偏褐色,边缘呈淡黄色边缘,长椭圆形;不同甘蔗品种的病斑大小不一,一般为 10.0~12.0 mm × 2.4~4.0 mm 左右。病斑扩大后形状不规则,合并成更大的红褐色斑块。老病斑中央呈黄色,一般具有明显的红褐色边缘,有时整个病斑保持红褐色(图 1)。

图 1 田间甘蔗环斑病症状

a: 环斑病危害的叶片; b: 病叶放大图。

Fig. 1 Symptoms of sugarcane ring spot in the field

a: Leaves infected with ring spot disease; b: Close-up shot of infected leaves.

2.2 病原菌的致病性检测 通过常规分离方法对来自广西壮族自治区玉林市甘蔗种植区的病叶上的病原菌进行分离纯化,获得 1 株菌株,命名为 YLES 1。利用科赫氏法则对分离的菌株进行致病性鉴定,结果显示,接种 YLES 1 菌株的叶片上均出现环型褐色病斑,类似于田间甘蔗环斑病的症状,阴性对照未出现病斑(图 2)。结果表明,菌株 YLES 1 为甘蔗环斑病的致病菌。

2.3 病原菌的形态学鉴定 从接种的病叶中重新分离出病菌,观察到病原菌形态及分生孢子特征。YLES1 的病原菌及分生孢子的特征如图 3 所示。图 3 显示了病原菌在 PDA 培养基上的菌落最初呈白色绒毛,后变成灰棕色,背面呈淡黄色(图 3-a);菌丝呈白色,致密,有隔片,有分枝(图 3-b);单细胞厚垣孢子为 9.23~21.5 μm × 11.1~19.8 μm ($n=30$) (图 3-c),多细胞厚垣孢子为 15.3~25.1 μm × 13.7~

图 2 病原菌的致病性检测结果

a: 阴性对照,接种无菌蒸馏水的甘蔗叶;b、c 和 d 为接种 YLES 1 菌株 5 天后的甘蔗叶片。

Fig. 2 Pathogenicity detection of pathogens

a: Negative control, sugarcane leaves inoculated with sterile distilled water; b, c and d are sugarcane leaves after 5 days of inoculation with YLES 1 strains.

22.5 μm ($n=30$) (图 3-d)。10 d 后,菌落上出现分生孢子器,近亚球形至瓶状,深棕色,大小为 51.9~65.3 μm × 56.7~90.1 μm ($n=30$),分生孢子大小为 9.1~9.8 μm × 4.3~4.9 μm ($n=30$),单细胞、无色、杆状或椭圆形(图 3)。病原菌形态特征与附球菌属(*Epicoccum*)一致^[10]。10 d 后,分生孢子器出现在菌落上,近球形至烧瓶状,深棕色,直径为 51.9~65.3 μm × 56.7~90.1 μm ($n=30$),分生孢子大小为 9.1~9.8 μm ×

图 3 病原菌菌落的形态特征

a: PDA 培养基上菌落的形态(左:前面;右:背面); b: 菌丝; c 单细胞厚垣孢子; d: 多细胞厚垣孢子; e 分生孢子器; f: 分生孢子。比例尺为 10 μm 。

Fig. 3 Morphological characteristics of pathogen colonies

a: Colony morphology on PDA medium (left: front; right: back); b: Mycelium; c Single-celled chlamydo-spore; d: Multicellular chlamydo-spore; e Pycnidia; f: Conidia. The scale is 10 μm .

4.3~4.9 μm ($n=30$),单细胞,无色,杆状或椭圆形(图 3-e、f)。

2.4 致病菌的分子鉴定 PCR 产物经测序后,获得 YLES 1 菌株的 3 个位点的序列。提交到 GenBank

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>)数据库, 获得相应的获得接受号。YLES 1 的 ITS、LSU 和 Tu 序列接受号分别为 OM141553、OM141556 和 OM141559。

通过 MEGA11.0 软件与 *Epicoccum* 属菌株的基因序列构建多基因系统发育树^[10], 如图 4 所示, 确定 YLES 1 属于 *E. sorghinum*。

图 4 基于 ITS、LSU 和 Tu 序列用邻接法构建的多基因系统发育树
自展值高于 50 显示在节点上, T: 模式菌株; R: 代表菌株。

Fig. 4 Multigene phylogenetic tree constructed by using the neighbor-joining method based on ITS, LSU and Tu sequences
The self-spread value above 50 is displayed on the node. T: model strain; R: stands for strain.

2.5 致病菌的生物学特性分析 为了解 3 株病原菌的生长特性, 本研究检测了温度、pH、光照、碳源和氮源对致病菌营养生长和产孢量的影响, 结果(表 1)表明: ①温度为 5 °C 时分生孢子停止萌发及菌丝停止生长, 10~40 °C 病原菌均可生长, 其中, 培养温度为 28 °C 时最适宜病原菌的生长, 菌落直径为 75.3 mm, 产孢量为每皿 3.24×10⁷ 个, 当温度低于

或高于 28 °C 时, 菌落直径和产孢量均下降。②当 pH 在 4~11 时, 病原菌均能正常生长和产孢, pH 在 7~9 时更有利于该病原菌的繁殖。③碳源和氮源的不同也会影响 3 株菌的生长, 其中碳源为麦芽糖时菌落直径最大, 为 73.3 mm, 但产孢量较低(每皿 1.54×10⁷ 个); 当碳源为 D-半乳糖时产孢量最多(每皿 3.15×10⁷ 个), 但菌落的直径较小; 碳源为蔗

糖时,较适宜该病原菌生长,菌落直径平均为68.47 mm,产孢量为每皿 2.09×10^7 个;当氮源为酵母浸粉时较适宜3株病原菌的生长。④相比较其他指标,光照时间的长短对3株病原菌的菌落直径

影响不大,24 h的黑暗环境更有利于该病原菌产孢。上述结果说明,致病菌以蔗糖为碳源、酵母浸粉为氮源,在pH为7~9的培养基上,温度为28 °C的全黑暗的条件下有利于菌的生长和孢子的产生。

表1 不同条件对病原菌营养生长和产孢量的影响

Tab. 1 Effects of different conditions on trophic growth and sporulation of pathogens

	培养条件 Cultural condition	菌落直径/mm Colony diameter/mm	产孢量/($\times 10^7$ 个·皿) Sporulation/($\times 10^7$ ·dish)
温度 Temperature	5 °C	—	—
	10 °C	16.9 ± 1.51g	0.61 ± 0.18g
	15 °C	22.63 ± 1.15f	0.95 ± 0.11f
	20 °C	35.43 ± 2.63e	1.88 ± 0.17e
	25 °C	67.67 ± 2.17bc	2.95 ± 0.1b
	28 °C	75.3 ± 2.59a	3.24 ± 0.09a
	30 °C	71 ± 2.13b	2.67 ± 0.16c
	37 °C	64.53 ± 3.89c	2.39 ± 0.17d
	40 °C	39.83 ± 3.33d	1.97 ± 0.14e
pH	4	12.93 ± 2.48f	0.77 ± 0.14g
	5	25.93 ± 2.22e	1.23 ± 0.07f
	6	48.13 ± 1.78d	1.69 ± 0.13e
	7	71.83 ± 1.17a	3.17 ± 0.09c
	8	74.53 ± 1.25a	3.45 ± 0.15b
	9	73 ± 0.46a	3.71 ± 0.13a
	10	66.73 ± 1.31b	2.33 ± 0.18d
	11	53.1 ± 4.2c	1.82 ± 0.03e
光照 Light	24 h 光照 24 h light	72.2 ± 0.87a	3.05 ± 0.08b
	12 h 光照/12 h 黑暗 12 h light/12 h darkness	72.33 ± 1.93a	3.29 ± 0.06a
	24 h 黑暗 24 h darkness	72.77 ± 0.55a	3.36 ± 0.05a
碳源 Carbon source	蔗糖 Sucrose	68.47 ± 1.86b	2.09 ± 0.21cd
	葡萄糖 Glucose	66.17 ± 1.84bc	1.87 ± 0.21de
	乳糖 Lactose	55.13 ± 2.9e	2.42 ± 0.25bc
	麦芽糖 Maltose	73.3 ± 2.02a	1.54 ± 0.28ef
	D-半乳糖 D-galactose	44.33 ± 1.89f	3.15 ± 0.39a
	D-木糖 D-xylose	54.57 ± 2.41e	2.69 ± 0.15b
	果糖 Fructose	59.73 ± 2.87d	1.33 ± 0.23f
	可溶性淀粉 Soluble starch	64.4 ± 1.25c	2.76 ± 0.18ab

续表1 Tab. 1 continued

	培养条件 Cultural condition	菌落直径/mm Colony diameter/mm	产孢量/($\times 10^7$ 个·皿) Spore/ ($\times 10^7$ ·dish)
氮源 Nitrogen source	硝酸钠 Sodium nitrate	61 $\pm$ 2.66c	2.51 $\pm$ 0.18b
	牛肉膏 Beef extract	69.53 $\pm$ 1.85ab	2.07 $\pm$ 0.25c
	蛋白胨 Peptone	70.73 $\pm$ 2.11a	1.25 $\pm$ 0.24d
	酵母浸粉 Yeast	70.59 $\pm$ 2.55a	2.76 $\pm$ 0.17ab
	尿素 Urea	59.03 $\pm$ 2.08c	3.08 $\pm$ 0.2a
	氯化铵 Ammonium chloride	62.17 $\pm$ 2.41c	1.98 $\pm$ 0.2c
	硝酸铵 Ammonia nitrate	69.73 $\pm$ 1.31ab	0.98 $\pm$ 0.16d
	甘氨酸 Glycine	66.03 $\pm$ 2.26b	1.02 $\pm$ 0.25d

注:同一生长条件下,同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Under the same growth condition, different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$).

3 讨论

在世界上已报道的甘蔗病害超过120种,在中国已有详细描述甘蔗病害有20种^[11],但国内甘蔗的许多病害的病原物并没有鉴定出来,直至今日依然有许多关于甘蔗病害病原物鉴定的报道^[12-13]。在中国,甘蔗环斑病是影响甘蔗种植的一种主要病害^[14]。在国内有关甘蔗环斑病病原物的鉴定有2篇报道,一是依据rDNA-ITS的鉴定将甘蔗环斑病病原物鉴定为*Leptosphaeria sacchari*^[2];二是将甘蔗环斑病病原物鉴定为*Leptosphaeria* spp.^[15]。本研究对在广西壮族自治区玉林市甘蔗种植区中采集的甘蔗病叶中的病原菌进行分离,得到1株真菌菌株,命名为YLES1。对分离的病原菌进行致病性检测、形态学观察,确定该真菌可引起甘蔗环斑病。本研究构建了YLES1菌株基于ITS、*LSU*和*Tu*基因序列的多基因系统发育树,结果表明YLES1属于*E. sorghinum*。本文是首次报道*E. sorghinum*引起甘蔗环斑病。本研究通过生物学特性分析明确了该甘蔗环斑病致病菌YLES1的最适生长条件,其中碳源为蔗糖、氮源为酵母浸粉、pH为7~9,温度为28℃的全黑暗的条件为最适生长条件。闫浩浩等^[16]在黑龙江省哈尔滨市香坊区在蓝靛叶片上分离的高粱附球菌(*E. sorghinum*)LD-1的最适生长温度为25℃,最适的氮源和碳源分别为牛肉膏、乳糖及葡萄糖。黄钰琳等^[17]在贵州茶叶叶片上分离的高粱附球菌最适生长的环境条件为pH值6.0、温度为22℃。这些研究结果表明,高粱附球菌

的寄主非常广,且不同植物叶片分离的高粱附球菌属的致病菌所需最适生长条件存在差异,这可能是寄主和生存的环境不同导致的。

4 结论

本研究分离并鉴定了广西壮族自治区玉林市的甘蔗种植区甘蔗环斑病的致病菌为YLES1属于*E. sorghinum*。YLES1在碳源为蔗糖、氮源为酵母浸粉、pH为7~9,温度为28℃的全黑暗的条件下生长状态最佳。

参考文献:

- [1] CHEN J Y, BAO H, LIU S, et al. First report of ring spot disease on sugarcane caused by *Curvularia ischaemi* in China[J]. Plant Disease, 2022, 107 (5): 1627.
- [2] 汪全伟, 吴伟怀, 兀旭辉, 等. 甘蔗环斑病菌鉴定及其生物学特性分析[J]. 热带作物学报, 2016, 37(11): 2210-2215.
- [3] 暴怡雪, 张木清. 中国甘蔗主要真菌性病害研究进展[J]. 中国糖料, 2016, 38(5): 63-65.
- [4] 霍秀娟, 李朝生, 陆荣生. 广西甘蔗病害种类调查与鉴定[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(10): 4368-4369.
- [5] 方中达. 植物研究方法 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998:122-145.
- [6] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 206.
- [7] LU Q, HU H, MO J, et al. Enhanced amplification of bacterial and fungal DNA using a new type of DNA polymerase[J]. Australasian Plant Pathology, 2012, 41(6): 661-663.
- [8] O' DONNELL K, CIGELNIK E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of

- the fungus *Fusarium* are nonorthologous[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1997, 7(1): 103–116.
- [9] AVESKAMP M M, DE GRUYTER J, WOUDEBERG J H C, et al. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean Genera[J]. *Studies in Mycology*, 2010, 65: 1–60.
- [10] HOU L W, GROENEWALD J Z, PFENNING L H, et al. The phoma-like dilemma[J]. *Studies in Mycology*, 2020, 96: 309–396.
- [11] HUANG Y K, LI W F, ZANG Y Z, et al. Color illustration of diagnosis and control for modern sugarcane diseases, pests, and weeds[M]. China Agriculture Press, 2018: 17–18.
- [12] BAO Y, XU Y, WANG S, et al. First report of *Fusarium sacchari* that causes sugarcane wilt disease in China[J]. *Plant Disease*, 2020, 104(8): 2289.
- [13] LI J, ZHANG R Y, WANG X Y, et al. First report of *Alternaria tenuissima* causing leaf blight on sugarcane in China[J]. *Plant Disease*, 2021, 105 (4): 1222.
- [14] 霍秀娟. 广西甘蔗病害种类调查与鉴定[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(10):2.
- [15] RAZA M, ZHANG Z F, HYDE K D, et al. Culturable plant pathogenic fungi associated with sugarcane in Southern China[J]. *Fungal Diversity*, 2019, 99(1): 1–104.
- [16] 闫浩浩, 米耀族, 桑明玉, 等. 蓝靛果叶斑病原高粱附球菌(*Epicoccum sorghinum*)分离鉴定及生物学特性[J]. *北方园艺*, 2023(5): 39–46.
- [17] 黄鋋琳, 尹桥秀, 江仕龙, 等. 茶叶斑病病原菌高粱附球菌(*Epicoccum sorghinum*)的鉴定及生物学特性[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(11): 3269–3277.

Pathogen identification and biological characterization of sugarcane ring spot disease

XIE Mengxiao¹, QIU Shuqi¹, ZHANG Yi¹, TAN Lihua¹, LIU Yuelian¹, HU Hanqiao^{1,2},
WANG Guan³, REN Lei^{1,2}, WANG Yanyan¹

(1. College of Coastal Agricultural Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 2. South China Branch of National Saline-Alkali Tolerant Rice Technology Innovation Center, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Hainan Nongle Nanfan Technology Co., Ltd., Sanya Hainan 572000, China)

Abstract: Sugarcane ring spot is a common disease in sugarcane, which is more common in Guangdong and Guangxi, China. One fungal strain, YLES 1, was isolated from sugarcane diseased leaves in the regions of Guangxi province. The pathogenicity of this strain was determined according to Koch's postulates, confirming that it is a pathogen causing sugarcane ring spot disease. This fungus has similar morphological characteristics to *Epicoccum*. Sequence analyses based on concatenated data sets of the internal transcribed spacer (ITS) region of the ribosomal DNA (rDNA), large subunit rDNA (*LSU*) and β -tubulin (*Tu*) of the isolate showed that the strain YLES 1 was *E. sorghinum*. The results indicated that *E. sorghinum* was a pathogen of sugarcane ring spot disease. The biological characteristic analysis showed that the optimal temperature for the growth of the strain YLES 1 was 28 °C, that the optimal pH for mycelial growth and spore production was 7–9, that the optimal carbon source for growth and spore production was sucrose, and that the optimal nitrogen source was yeast extract. Moreover, dark conditions were conducive to the growth of YLES 1.

Keywords: sugarcane; ring spot disease; *Epicoccum*; biological characteristics

(责任编辑:叶 静)