



研究报告

黑龙江省高粱炭疽病致病真菌分离与鉴定

杨霞¹ 曹尚¹ 于广宇¹ 王璐璐¹ 台莲梅¹ 左豫虎^{1,3} 柯希望^{1,3} 郭永霞^{*1,2}

1 黑龙江八一农垦大学 黑龙江 大庆 163319

2 国家杂粮工程技术研究中心 黑龙江 大庆 163319

3 黑龙江省作物-有害生物互作生物学及生态防控重点实验室 黑龙江 大庆 163319

摘要:【背景】黑龙江省高粱炭疽病是目前主要的高粱病害之一,严重影响高粱的产量与品质。【目的】明确黑龙江省高粱炭疽病的病原种类。【方法】采用组织分离法与单孢纯化法获得高粱炭疽病病原纯培养物。通过柯赫氏法则证病后,利用培养物菌落形态、产孢结构、分生孢子形态及大小等形态学特征,同时结合 rDNA ITS 序列特征对病原物进行鉴定。【结果】柯赫氏法则验证结果表明,分离自不同地区的 3 个分离株 D13、H4 和 Z24 是高粱炭疽病的致病真菌。形态学观察表明,3 株菌在 PDA 培养基上在 28 °C 形成的菌落生长速度为 7.3–12.3 mm/d,菌丝白色、灰白色至灰色,菌落浅黄色至橘黄色;刚毛直立,基部膨大,褐色或深褐色,有 3–5 隔;分生孢子梗直接从菌丝体上产生,无色无隔,短,直立或稍弯,不分枝;分生孢子单胞,镰状,向两端渐尖,表面光滑,无色,有的具油球;附着胞从菌丝顶端或菌丝体产生,顶端膨大,褐色或深褐色,近球形、卵球形、椭圆形或纺锤形,边缘光滑、裂片、多裂片或深裂片。分离株 D13、H4 和 Z24 获得的 rDNA ITS 序列登录号分别为 MW040055、MW040057 和 MW040056。基于 rDNA ITS 序列构建的系统发育树发现,分离株 D13、H4 和 Z24 均与高粱炭疽菌(*Colletotrichum sublineola*)相聚一群。【结论】黑龙江省引起高粱炭疽病的病原真菌为高粱炭疽菌。

关键词: 高粱, 炭疽病, 病原真菌鉴定, 高粱炭疽菌

Foundation items: Key Scientific and Technological Projects of 13th Five-Year of General Administration of Agriculture and Reclamation of Heilongjiang Province (HNK135-02-16); Graduate Innovation Research Program of Heilongjiang Bayi Agricultural University (YJSCX2018-Y02); Research and Development Plan of Applied Technology of Heilongjiang Province (GA19B104)

***Corresponding author:** Tel: 86-459-6819170; E-mail: gyxia@163.com

Received: 05-07-2020; **Accepted:** 26-10-2020; **Published online:** 25-03-2021

基金项目: 黑龙江省农垦总局“十三五”重点科技计划(HNK135-02-16); 黑龙江八一农垦大学研究生创新项目(YJSCX2018-Y02); 黑龙江省应用技术研究与开发计划(GA19B104)

***通信作者:** Tel: 0459-6819170; E-mail: gyxia@163.com

收稿日期: 2020-07-05; **接受日期:** 2020-10-26; **网络首发日期:** 2021-03-25

Isolation and identification of pathogenic fungi causing sorghum anthracnose in Heilongjiang province

YANG Xia¹ CAO Shang¹ YU Guangyu¹ WANG Lulu¹ TAI Lianmei¹ ZUO Yuhu^{1,3}
KE Xiwang^{1,3} GUO Yongxia^{*1,2}

1 Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China

2 National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing, Heilongjiang 163319, China

3 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Crop-Pest Interaction Biology and Ecological Control, Daqing, Heilongjiang 163319, China

Abstract: [Background] Sorghum anthracnose in Heilongjiang province is one of the main sorghum diseases, which seriously affects the yield and quality of sorghum. [Objective] To definitize the pathogen species of sorghum anthracnose in Heilongjiang province. [Methods] The pure culture of pathogenic fungi causing sorghum anthracnose was obtained by tissue separation and single spore purification. The isolated pathogenic fungi were confirmed by Koch's rule. The morphological characteristics of colony, sporulation structure, morphology and size of conidia, were used to identify the pathogen combined with rDNA ITS sequence characteristics. [Results] Three isolates D13, H4 and Z24 isolated from different regions were pathogenic fungi of sorghum anthracnose by Koch's rule. Morphological observation showed that the colony growth rate of 3 strains on PDA medium (28 °C) was 7.3–12.3 mm/d, the hyphae was white, grayish white to grayish brown, and the colony was light yellow to orange. Setae erected and its base distended, were brown or dark brown, with 3–5 grids. Conidiophore generates directly from hypha, colorless and septate, short, erected or slightly curved, unbranched. Conidia are unicellular, sickle, acuminate to both ends, smooth, colorless, sometimes with an oil ball. The appressorium produced from the apex of the hyphae or mycelium, the apex is dilated, with color of brown or dark brown, subglobose, ovoid, elliptic or spindle-shaped and its margin was smooth, lobes, more lobes or deep lobes. The rDNA ITS sequence accession numbers obtained from isolated D13, H4 and Z24 were MW040055, MW040057 and MW040056, respectively. The phylogenetic tree based on rDNA ITS sequence found that the D13, H4 and Z24 of the isolates were together with *Colletotrichum sublineola*. [Conclusion] The pathogen causing sorghum anthracnose in Heilongjiang province is *C. sublineola*.

Keywords: sorghum, anthracnose, pathogenic fungi identification, *Colletotrichum sublineola*

高粱(*Sorghum bicolor*)为禾本科一年生草本植物,我国各省区均有栽培,高粱米在中国、朝鲜、印度及非洲等地皆为粮食^[1]。黑龙江省是我国商品高粱的主产区,近10年来高粱种植面积在7万hm²左右^[2-3]。由食用主粮、辅粮到酿造加工原料,高粱的价值在不断提升。然而近几年来高粱生产中面临的病害问题日趋严重,其中高粱炭疽病、黑穗病和丝黑穗病等已成为制约高粱高产优质的重要病害^[4]。

高粱炭疽病可发生在高粱各个生育阶段,苗期能引起立枯病或者导致高粱苗死亡,也可侵染茎秆、穗枝梗和籽粒^[5]。部分感病品种在病害发生严重的年份会造成产量的显著损失,其中籽粒和茎秆

产量可减产55%–67%,而籽粒产量减产可达18%–36%^[6]。在对黑龙江省高粱病害进行调查时发现,龙帚2号炭疽病发生最为严重,发病率可达100%,而龙帚2号为黑龙江省农业科学院作物育种研究所育成的我国第一个帚用高粱杂交种,也是黑龙江省帚用高粱的主栽品种,目前没有可替代的品种^[7]。

传统观念认为高粱炭疽病的致病真菌为禾生炭疽菌[*C. graminicola* (Ces.) G. W. Wilson],即将生于禾本科(*Gramineae*)植物上的炭疽菌归为一个种^[8]。然而Sutton认为禾生炭疽菌(*C. graminicola*)和高粱炭疽菌(*C. sublineolum*)为2个不同的种,且

C. graminicola 主要侵染玉米, 而 *C. sublineolum* 寄生在高粱 [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]、约翰逊草 [*Sorghum halepense* (L.) Pers] 等高梁属植物上^[9-10]; 吴文平等通过对二者纯培养特征与分生孢子形态大小的观察, 也认为两者为不同种^[11]。2009 年以前学者多采用 *C. sublineolum* Henn. ex Sacc. & Trotter, 而 *sublineolum* 为 *sublineola* 的错误变体, 而且 *C. sublineola* 使用广泛, 所以承认该种名, 本文也采用 *C. sublineola*^[12]。近年来, 部分学者认为 *C. sublineola* 是高粱炭疽病的致病真菌^[13-17]。但黑龙江省高粱炭疽病病原真菌是禾生炭疽菌 (*C. graminicola*) 还是高粱炭疽菌 (*C. sublineola*) 尚不明确, 为此, 本文对黑龙江省引起高粱炭疽病的病原真菌进行分离鉴定, 以明确黑龙江省高粱炭疽病的致病真菌种类和分类地位, 为该病害的研究与防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试病样

高粱炭疽病病样, 分别采集于大庆市黑龙江八一农垦大学、哈尔滨市民主镇和大庆市肇源县的高粱田。

1.2 供试高粱品种

龙帚 2 号, 由黑龙江省农业科学院作物育种研究所提供。

1.3 主要试剂和仪器

PDA 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 16.0, 琼脂粉 14.0。十六烷基三甲基溴化铵(CTAB), 宝泰克生物科技有限公司; 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na), 兰杰柯科技有限公司; 2×PCR Master Mix、DL2000 DNA Marker 和核酸染料, 生工生物工程(上海)股份有限公司。PCR 仪, Bio-Rad 公司; 电泳仪和电泳槽, 北京六一生物科技有限公司; 光学显微镜, Olympus 公司。

1.4 病原真菌的分离与纯化

采用组织分离法进行病原真菌分离, 采用单孢纯化法进行病原真菌纯化^[18-19]。将纯化后的菌株编号, 4℃保存。

1.5 致病性测定

高粱种植前先在室内进行催芽, 待种子萌发后种植于直径为 20 cm 的花盆内, 每盆留苗 15 株, 培养至 3 叶期备用。将分离纯化的不同分离株接种到 PDA 培养基, 于 28℃、12 h 光暗交替培养 10 d 产孢后, 配制 1×10^5 个/mL 孢悬液。将孢悬液均匀喷于植株叶片表面, 以喷雾无菌水为对照。接种后置 25℃保湿桶内保湿 24 h, 后取出置温室培养, 早晚各喷水一次保湿。每天观察记录发病情况, 待叶片发病后, 采用组织分离法于病健交界处再次分离纯化病原物。

1.6 高粱炭疽病病原真菌的形态学观察

1.6.1 菌落形态观察

将分离获得的不同分离株经 PDA 培养基活化后, 用直径 6 mm 打孔器于菌落边缘打取长势相同的菌饼, 接种于新的无菌 PDA 平板上, 各分离株均设 4 次重复。28℃黑暗培养 5 d 后测量菌落直径, 观察并记录菌落形态、颜色、质地等^[20]。

1.6.2 分生孢子形态大小、菌丝附着胞与产孢结构观察

采用玻片培养检视法进行观察, 待不同分离株产生分生孢子与附着胞时于显微镜观测其分生孢子形态、菌丝附着胞形态与产孢结构。参照 Sutton 等对不同分离株形态进行鉴定^[10-11, 14, 21-22]。

1.7 高粱炭疽病病原真菌的分子生物学鉴定

分别取 0.15 g 培养于 PDA 平板上 5 d 的 3 株病原真菌鲜菌丝, 采用 CTAB 法提取病原真菌的基因组 DNA, 产物检测合格后-20℃储存备用^[23-24]。

采用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGC GG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 对供试菌株的 rDNA ITS 序列进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(25.0 μL): ddH₂O 9.5 μL, 2×PCR Master Mix 12.5 μL, ITS1 (10 μmol/L) 1.0 μL, ITS4 (10 μmol/L) 1.0 μL, 模板 DNA (50 ng/μL) 1.0 μL。PCR 反应条件: 95℃ 5 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 90 s, 35 个循环; 72℃ 7 min^[25-26]。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳检测, 将合格产物送

至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中进行 BLAST 比对,确定序列为 rDNA ITS 序列后提交 GenBank 获得序列号。

将比对结果高于 99%的序列下载,用 MEGA 7.0 软件进行多序列比对,以 *Monilochaetes infusans* 为种外群,用最大似然(Maximum Likelihood, ML)法构建系统发育树,通过自举(Bootstrap)对系统发育树进行检验,1 000 次重复。

2 结果与分析

2.1 病原真菌分离与致病性测定

从 3 个采集点共分离出 28 株菌株,每个采集点随机选取一株分别编号为 D13、H4 和 Z24,用于致病性测定与分类地位鉴定。

高粱炭疽病主要发生在叶片上,也可侵染茎秆。病斑主要沿叶脉扩展,随着病斑扩大,变为红色、褐色或深褐色梭形或近梭形病斑(图 1A)。将 3 株分离物 D13、H4 和 Z24 在龙帚 2 号苗期进行回

接致病性测定。接种 36 h 后可见褪绿斑点;接种 8 d 后表现出与田间相同的症状(图 1B、1C、1D),以无菌水接种作为对照未见病斑(图 1E)。3 株分离物在龙帚 2 号的发病程度与病斑形态存在差异,这可能与分离株采集自不同分离地点有关。从接种发病的病叶重新分离的病原物与第一次分离物相同,证明分离物 D13、H4 和 Z24 是引起高粱炭疽病的病原真菌(图 1F、1G、1H)。

2.2 高粱炭疽病病原真菌形态鉴定

3 株病原真菌在 PDA 平板上黑暗培养 5 d 后菌落均全缘,绒毛状气生菌丝白色或灰白色,致密。分离株 H4 和 Z24 培养基内黄色分泌物较多,背面颜色较深,有环。与 H4 和 Z24 相比, D13 的培养基内黄色分泌物较少,背面颜色较浅且无环(图 2A、2B、2C)。3 株病原真菌经玻片黑暗保湿培养 3 d 后可产生刚毛、分生孢子梗和分生孢子。刚毛直立,基部膨大,褐色或深褐色,有 3–5 隔。分生孢子梗直接从菌丝体上产生,无色,圆柱形或棍棒状,基



图 1 高粱炭疽病田间发病症状及致病性测定结果

Figure 1 Symptoms of sorghum anthracnose in field and results of pathogenicity test

注: A: 田间发病症状; B–D: 高粱幼苗接种不同分离株 D13、H4、Z24 的发病症状(23–28 °C, 8 d); E: 无菌水接种对照; F–H: 不同分离株 D13、H4、Z24 接种后再分离 3 d 的菌落(PDA 培养基, 黑暗, 28 °C)

Note: A: Symptoms in field; B–D: Symptoms of sorghum seedlings inoculated with different isolates (D13, H4 and Z24, 23–28 °C, 8 d); E: Control group inoculated with sterile water; F–H: Different isolates (D13, H4 and Z24) were inoculated with sorghum seedlings and then separated for 3 days (PDA medium, darkness, 28 °C)

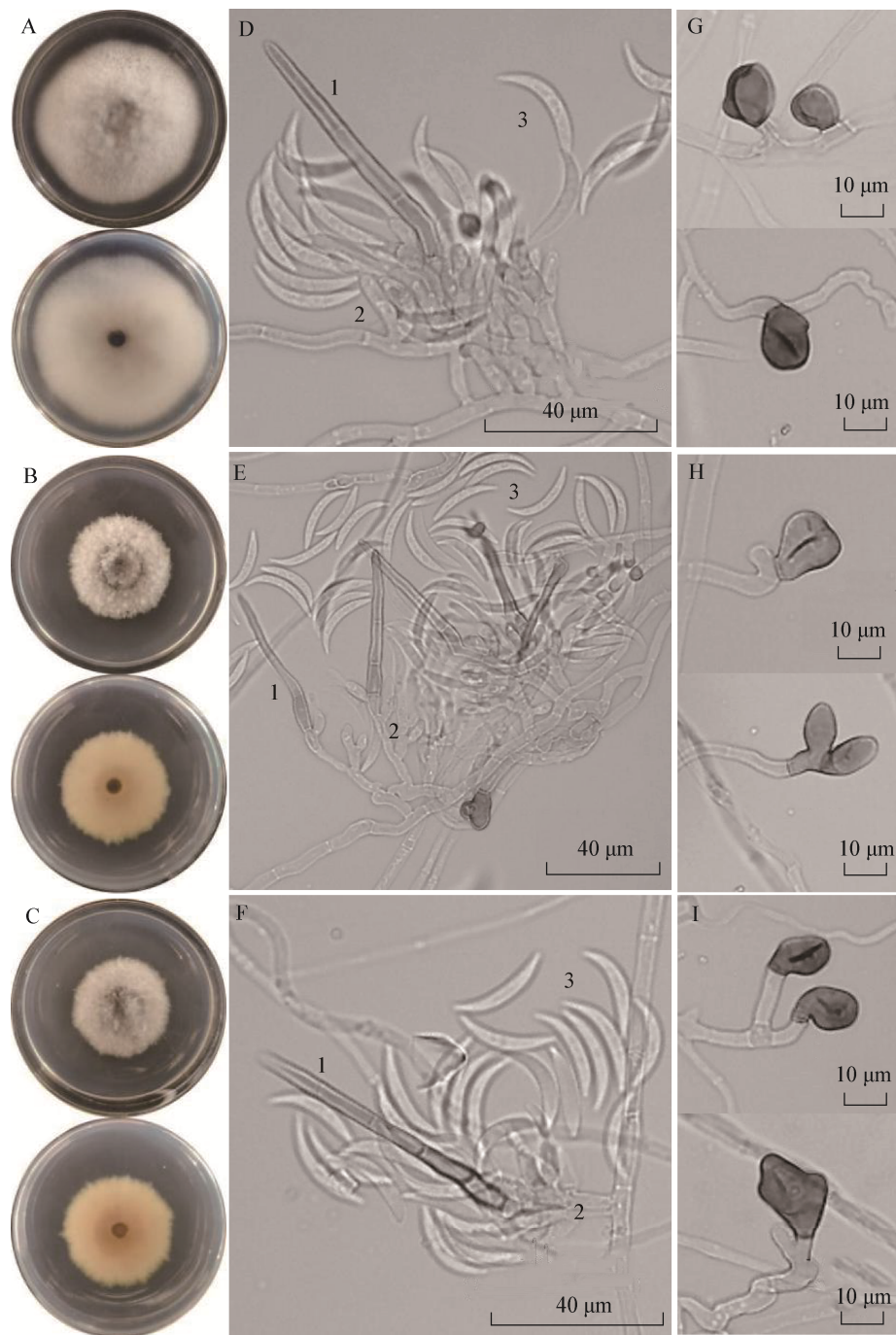


图2 菌株 D13、H4 和 Z24 的形态特征

Figure 2 Morphological characters of D13, H4 and Z24 strains

注: A-C: 不同分离株 D13、H4、Z24 的纯培养 5 d 菌落(PDA 培养基, 黑暗, 28 °C, 左侧为菌落正面, 右侧为菌落背面); D-I: 不同分离株 D13、H4、Z24 的显微形态(PDA 培养基, 黑暗, 28 °C, 玻片培养 3 d); D-F: 不同分离株 D13、H4、Z24 的分生孢子盘(1: 刚毛, 2: 分生孢子梗, 3: 分生孢子); G-I: 不同分离株 D13、H4、Z24 的附着胞

Note: A-C: Pure culture of 5-day colonies of different isolates (D13, H4 and Z24, PDA medium, darkness, 28 °C, the left side is upper, the right side is reverse); D-I: Microscopic features of different isolates (D13, H4 and Z24, PDA medium, darkness, 28 °C, slide cultivation 3 days); D-F: Acervulus of different isolates (D13, H4 and Z24, 1: setae, 2: conidiophore, 3: conidia); G-I: Appressoria of different isolates (D13, H4 and Z24)

部偶有膨大，直立或弯曲。分生孢子梗上着生分生孢子，分生孢子单胞、镰状，向两端渐尖，表面光滑，无色，有的具油球(图 2D、2E、2F)。附着胞直接从菌丝末端或从菌丝体上产生，末端膨大，褐色至深褐色；近球形、卵球形、椭圆形、倒三角形或纺锤形，边缘光滑、裂片、多裂片或深裂片(图 2G、2H、2I)。

D13 的菌丝在 PDA 培养基上的生长速度明显快于 H4 和 Z24。D13 的分生孢子细长，H4 的分生孢子粗短(表 1)。3 株菌与 Crouch 描述的 *C. sublineola* 一致，将 D13、H4 和 Z24 菌株初步鉴定为高粱炭疽菌。

2.3 高粱炭疽病病原真菌分子生物学鉴定

菌株 D13、H4 和 Z24 经 PCR 扩增及序列测定分别得到有效序列 513、520 和 523 bp,将 rDNA ITS 序列提交 GenBank,获得登录号分别为 MW040055、MW040057 和 MW040056。在 NCBI 中进行 rDNA ITS 序列比对，下载序列相似性为 99%及以上。通过构建系统发育树(图 3)，进行系统进化分析，3 株菌与 *C. sublineola* 聚在同一分支上。

3 讨论与结论

对从 3 个采集点的高粱炭疽病叶进行病原真菌分离与纯化，分离保存 28 株病原真菌，从 3 个采集点随机选取的 3 株病原真菌经致病性测定和形态、分子生物学鉴定，确定高粱炭疽菌(*C. sublineola*)

是黑龙江省高粱炭疽病的致病真菌。

近年来，高粱炭疽病在我国高粱产区均有不同程度的发生，尤其是南部省份发生严重，感病品种几乎绝收，该病害现已成为我国高粱生产上的主要病害。张宇等^[15]从美国进口的高粱种子上分离出 *C. sublineola*；徐婧等^[16]对我国 8 省 13 市的 210 株高粱叶炭疽病菌中的 39 株进行鉴定，确定其为 *C. sublineola*；王轶夫等从四川省 225 株高粱炭疽病菌中鉴定出 215 株 *C. sublineola*，分离率高达 95.5%^[17]。本研究确定黑龙江省高粱炭疽病的致病真菌也是 *C. sublineola*。

本研究分离到的 3 株病原真菌在 PDA 培养基上生长速度较快，培养 5 d 的菌落圆形，白色、灰白色、浅黄色至橘黄色。3 株病原真菌在 PDA 培养基上产孢量较少，玻片保湿培养时可产生刚毛与大量分生孢子和附着胞。分生孢子梗直接从菌丝体上产生，无色无隔，短，直立或稍弯，不分枝。分生孢子单胞无色，镰状，具有油球，(19.1–31.8) μm×(3.8–7.6) μm。附着胞末端膨大，颜色较深，褐色至黑褐色，形状多样，近球形、卵球形、椭圆形、倒三角形或纺锤形；边缘光滑、裂片、多裂片或深裂片，(10.2–33.0) μm×(7.6–20.3) μm。3 株菌的菌落形态与 Crouch 等报道的 *C. sublineola* 形态相同，为浅黄色至橘黄色，但 D13 的菌落背面颜色浅，这可能与培养基内的黄色分泌物少有关^[14-15]。3 株菌与徐婧等

表 1 菌株 D13、H4 和 Z24 的形态特征
Table 1 Morphological characters of D13, H4 and Z24 strains

Isolate	Observed items					
	Mycelial growth rate (mm/d)	Upper colony characteristic	Reverse colony characteristic	Sporogenous structure	Conidia size (μm)	Appressoria size (μm)
D13	12.3	White to light gray, central eminence, no ringed	Grayish white to light yellow	Clavate	(19.1–30.5)×(3.8–6.4) (av=25.3×5.2, n=100)	(10.2–20.3)×(7.6–17.8) (av=14.4×12.1, n=50)
H4	7.7	White to taupe, bulge in the center, ringed	Light yellow to orange	Clavate	(20.3–29.2)×(3.8–7.6) (av=23.8×5.3, n=100)	(12.7–20.3)×(8.9–15.2) (av=15.9×11.4, n=50)
Z24	7.3	White to taupe, bulge in the center, ringed	Light yellow to orange	Clavate ampuliform	(19.1–31.8)×(3.8–6.4) (av=25.2×5.0, n=100)	(10.2–33.0)×(8.9–20.3) (av=16.5×12.6, n=50)

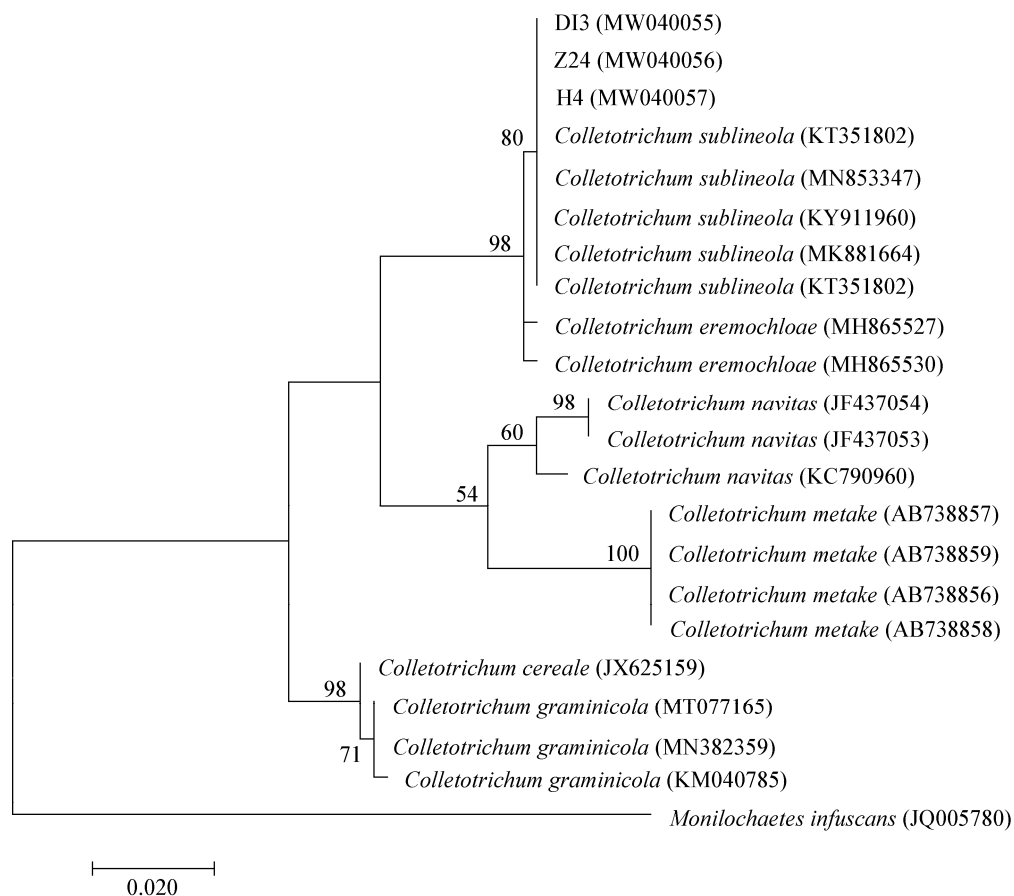


图3 基于 rDNA ITS 序列构建 D13、H4 和 Z24 菌株系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of D13, H4 and Z24 strains based on rDNA ITS sequence

注: 分支上的数据表示 Bootstrap 检验的支持百分率, 自展支持值(Bootstrap)≥50%的显示在各个进化分支节点上; 括号内为 GenBank 登录号; 图中标尺代表位点的碱基替代率

Note: The confidence values over 50% from 1 000 replicate bootstrap samplings are shown at each node. GenBank accession numbers are shown in the parentheses. The scale bar indicates the base substitution rate

和王轶夫等从高粱叶片分离的 *C. sublineola* 菌落形态虽存在差异, 二者观察到菌落颜色白色、灰白至棕色, 这可能是因为分离的高粱品种不同^[16-17]。3 株菌的分生孢子梗都呈圆柱形或棍棒状, 无色无隔, 直立或稍弯, 不分枝, 与兰建强观察的 *C. sublineola* 结果^[13]相同。*C. graminicola* 和 *C. sublineola* 常被混用, 传统观念甚至认为 *C. sublineola* 只是 *C. graminicola* 的一个异名^[8]。虽然两者分生孢子形态相同, 平均大小上差别很小, 但 *C. sublineola* 分生孢子长度与宽度的范围较大, 而且 *C. graminicola* 附着胞更大^[10,14]。中外已有研究表明, *C. graminicola* 的寄主植物主要为

玉米, 而 *C. sublineola* 更多是从高粱上分离得到^[11-12]。使用 rDNA ITS 序列进行分析时分离菌株 D13、H4、Z24 和 *C. sublineola* 相聚在同一支上, 与其他相近种属在不同分支上, 这与徐婧等和王轶夫等分析结果相同^[16-17]。

本试验中随机选取的 3 株病菌在 PDA 培养基上的形态虽不完全相同、生长速度存在差异, 但经过 rDNA ITS 序列比对分析与鉴定均为 *C. sublineola*。综合病原真菌形态与分子生物学鉴定结果, 参考病原真菌寄主范围与发生特点, 认为黑龙江省高粱炭疽病的致病真菌为高粱炭疽菌(*C. sublineola*)。

REFERENCES

- [1] Deng C. Screening of germplasm tolerant to drought and saline-alkali stress and evaluation of regeneration potential *in vitro* of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.)[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Jilin University, 2013 (in Chinese)
邓川. 甜高粱抗旱耐盐碱种质资源筛选及其离体培养再生能力评价[D]. 长春: 吉林大学博士学位论文, 2013
- [2] Lu QS, Zou JQ, Zhu K, Zhang ZP. A discussion on development of sorghum industries in China[J]. *Rain Fed Crops*, 2009, 29(2): 78-80 (in Chinese)
卢庆善, 邹剑秋, 朱凯, 张志鹏. 试论我国高粱产业发展: 一论全国高粱生产优势区[J]. *杂粮作物*, 2009, 29(2): 78-80
- [3] Jiao SJ, Wang LM, Jiang YX, Yan HD, Su DF, Sun GQ. Stage division of sorghum production evolution in Heilongjiang province[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2015(4): 158-160 (in Chinese)
焦少杰, 王黎明, 姜艳喜, 严洪冬, 苏德峰, 孙广全. 黑龙江省高粱生产演变阶段划分的研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2015(4): 158-160
- [4] Jiang Y, Hu L, Liu KJ, Xu J, Xu XD. Identification and evaluation of sorghum germplasm resistance to three main diseases[A]//Proceedings of the 2016 annual meeting of China society of plant protection[C]. Chengdu: China Society of Plant Protection, 2016: 350 (in Chinese)
姜钰, 胡兰, 刘可杰, 徐婧, 徐秀德. 高粱种质资源对 3 种主要病害的抗性鉴定与评价[A]//中国植物保护学会 2016 年学术年会论文集[C]. 成都: 中国植物保护学会, 2016: 350
- [5] Ding GX. Occurrence and control of sorghum anthracnose[J]. *Sichuan Agricultural Science and Technology*, 2014(2): 44-45 (in Chinese)
丁国祥. 高粱炭疽病的发生与防治[J]. *四川农业科技*, 2014(2): 44-45
- [6] Yang L, Jiang Y, Xu XD. Research advance on occurrence and control for anthracnose of sorghum[J]. *Liaoning Agricultural Science*, 2005(5): 40-41 (in Chinese)
杨蕾, 姜钰, 徐秀德. 高粱炭疽病发生与有效控制研究进展[J]. *辽宁农业科学*, 2005(5): 40-41
- [7] Yan HD, Jiao SJ, Wang LM, Jiang YX, Su DF, Sun GQ. Breeding and cultivation techniques of a new broom sorghum hybrid Longzhou No.2[J]. *Seed*, 2018, 37(3): 131, 134 (in Chinese)
严洪冬, 焦少杰, 王黎明, 姜艳喜, 苏德峰, 孙广全. 帚用高粱新品种龙帚 2 号的选育及栽培技术[J]. *种子*, 2018, 37(3): 131, 134
- [8] Wilson GW. The identity of the anthracnose of grasses in the United States[J]. *Phytopathol*, 1914, 4: 106-112
- [9] Sutton BC. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata[M]. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980: 696
- [10] Sutton BC. Development of fructifications in *Colletotrichum graminicola* (ces.) wils. and related species[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1966, 44(7): 887-897
- [11] Wu WP, Zhang ZM. Study on taxonomy of genus *Colletotrichum* Cda. II. division of species[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1994, 17(2): 31-37 (in Chinese)
吴文平, 张志铭. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究 II. 种的划分[J]. *河北农业大学学报*, 1994, 17(2): 31-37
- [12] Crouch JA, Clarke BB, White JF, Hillman BI. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species from warm-season grasses[J]. *Mycologia*, 2009, 101(5): 717-732
- [13] Lan JQ. Study on the taxonomy of *Colletotrichum corda* et al. in China and biological peculiarity of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) sacc. in mango[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2012 (in Chinese)
兰建强. 我国炭疽菌属 *Colletotrichum* 部分种分类及芒果胶孢炭疽菌生物学特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2012
- [14] Crouch JA, Tomaso-Peterson M. Anthracnose disease of centipedegrass turf caused by *Colletotrichum eremochloae*, a new fungal species closely related to *Colletotrichum sublineola*[J]. *Mycologia*, 2012, 104(5): 1085-1096
- [15] Zhang Y, Wu J, Su H, Yang J, Li B, Wu CP. Quarantine identification of *Colletotrichum sublineola* on imported *Sorghum bicolor* seeds[J]. *Mycosystema*, 2017, 36(8): 1083-1088 (in Chinese)
张宇, 吴晶, 粟寒, 杨静, 李彬, 吴翠萍. 对进境高粱种子中高粱炭疽病菌疏纹刺盘孢的检疫[J]. *菌物学报*, 2017, 36(8): 1083-1088
- [16] Xu J, Hu L, Liu KJ, Zhang MH, Jiang Y, Xu XD. Symptoms and identification of the causal agent of sorghum anthracnose in China[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2019, 50(5): 529-535 (in Chinese)
徐婧, 胡兰, 刘可杰, 张明会, 姜钰, 徐秀德. 我国高粱炭疽病症状类型及其病原菌鉴定[J]. *沈阳农业大学学报*, 2019, 50(5): 529-535
- [17] Wang YF, Li Q, Li WL, Ni XL, Long WJ, Liu GQ, Zeng RY, Fan J, Huang YY, Gong GS, et al. *Colletotrichum sublineola*, the main pathogen of sorghum anthracnose in Sichuan province[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(3): 276-285 (in Chinese)

- 王轶夫, 李强, 李旺龙, 倪先林, 龙文靖, 刘国庆, 曾荣耀, 樊晶, 黄衍焱, 龚国淑, 等. 高粱刺盘孢 *Colletotrichum sublineola* 是四川地区高粱炭疽病的主要致病菌[J]. 植物病理学报, 2020, 50(3): 276-285
- [18] Choi YW, Hyde KD, Ho WWH. Single spore isolation of fungi[J]. Fungal Diversity, 1999, 3: 29-38
- [19] Fang ZD. Plant Disease Research Method[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 1998 (in Chinese)
方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998
- [20] Zhang CD. Molecular identification and rapid detection of some *Colletotrichum* species[D]. Zhengzhou: Master's Thesis of Henan Agricultural University, 2014 (in Chinese)
张春迪. 部分炭疽菌的分子鉴定及快速检测[D]. 郑州: 河南农业大学硕士学位论文, 2014
- [21] Sutton BC. The appressoria of *Colletotrichum graminicola* and *C. falcatum*[J]. Canadian Journal of Botany, 1968, 46(7): 873-876
- [22] Wu WP, Zhang ZM. Studies on taxonomy of genus *Colletotrichum* Cda. IV. appraisal of characters for species separating[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 1995, 18(2): 93-99 (in Chinese)
- 吴文平, 张志铭. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究IV. 种的划分特征及评价[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(2): 93-99
- [23] Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences[J]. New Phytologist, 2000, 147(3): 617-630
- [24] Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1984, 81(24): 8014-8018
- [25] White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[A]//Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications[M]. Amsterdam: Academic Press, 1990, 38: 315-322
- [26] Tao G, Liu ZY, Liu F, Gao YH, Cai L. Endophytic *Colletotrichum* species from *Bletilla ochracea* (*Orchidaceae*), with descriptions of seven new speices[J]. Fungal Diversity, 2013, 61(1): 139-164