

# 广东果蔗宿根矮化病菌检测

窦志敏<sup>1</sup>, 潘玲玲<sup>1</sup>, 邓权清<sup>1</sup>, 王凯莉<sup>1</sup>, 陈培寿<sup>1</sup>, 沈万宽<sup>1,2\*</sup>

(1. 华南农业大学农学院, 农业部华南地区作物栽培科学观察实验站, 广州 510642;

2. 华南农业大学农学院, 广东省微生物信号与病害防控重点实验室, 广州 510642)

**摘要** 为探明广东果蔗宿根矮化病发生情况, 为果蔗健康种苗生产及推广应用提供科学依据, 本研究采用常规 PCR 与巢式 PCR 技术分别对广东韶关和广州南沙果蔗产区的主栽品种‘黑皮果蔗’(‘Badila’)及华南农业大学甘蔗育种基地新引进的果蔗品种‘内江蜜蔗’、‘甜城 21 号’、‘甜城 22 号’和‘甜城 99 号’等进行宿根矮化病菌的检测。结果表明, 巢式 PCR 检测的阳性检出率达 88.6%, 明显高于常规 PCR 检测(40.4%); 广东韶关果蔗产区‘黑皮果蔗’宿根矮化病阳性率为 86.8%; 广州南沙果蔗产区‘黑皮果蔗’宿根矮化病阳性率为 92.7%; 华南农业大学甘蔗育种基地新引进的果蔗品种除‘甜城 22 号’外, 其他 3 个品种‘内江蜜蔗’、‘甜城 21 号’和‘甜城 99 号’均感染宿根矮化病菌。甘蔗宿根矮化病已在广东主要果蔗产区普遍发生, 健康种苗研究与应用十分必要。

**关键词** 果蔗; 宿根矮化病; 常规 PCR; 巢式 PCR

中图分类号: S 435.661 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.06.028

## Detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causal bacterium of sugarcane ratoon stunting disease, from fruit cane planting areas in Guangdong

Dou Zhimin<sup>1</sup>, Pan Lingling<sup>1</sup>, Deng Quanqing<sup>1</sup>, Wang Kaili<sup>1</sup>, Chen Peishou<sup>1</sup>, Shen Wankuan<sup>1,2</sup>

(1. College of Agronomy, South China Agricultural University, Scientific Observing and Experimental Station of Crop Cultivation in South China, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510642, China;

2. College of Agronomy, South China Agricultural University, Guangdong Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, Guangzhou 510642, China)

**Abstract** This study aimed to understand the occurrence situation of ratoon stunting disease (RSD) in Guangdong fruit cane planting areas and provide scientific basis for the production and application of healthy seedlings. Conventional PCR and nested PCR were used to detect *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of ratoon stunting disease, from fruit cane cultivars, including ‘Badila’, ‘Neijiang mizhe’, ‘Tiancheng No. 21’, ‘Tiancheng No. 22’ and ‘Tiancheng No. 99’. Samples of ‘Badila’ used as the main fruit cane cultivar were collected from Shaoguan City and Nansha District of Guangdong Province. Samples of introduced fruit cane cultivars ‘Neijiang mizhe’, ‘Tiancheng No. 21’, ‘Tiancheng No. 22’ and ‘Tiancheng No. 99’ were collected from the sugarcane breeding base of South China Agricultural University (SCAU). The results showed that the positive detection rate was 88.6% by nested PCR, significantly higher than that by conventional PCR, which was 40.4%. The RSD positive rate of ‘Badila’ was 86.8% in Shaoguan and 92.7% in Nansha of Guangzhou, respectively. The introduced fruit cane cultivars from the sugarcane breeding base of SCAU were all infected by RSD pathogen except the ‘Tiancheng No. 22’. The sugarcane ratoon stunting disease has occurred widely in the major fruit cane planting areas of Guangdong. It is necessary to carry out the research and application of healthy fruit cane seedlings.

**Key words** fruit cane; ratoon stunting disease; conventional PCR; nested PCR

甘蔗宿根矮化病(ratoon stunting disease, RSD)是由一种寄生甘蔗木质部的细菌——木质部赖氏菌木质部亚种 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx)引起的病害<sup>[1-2]</sup>。该病造成甘蔗产量损失达

收稿日期: 2017-02-23 修订日期: 2017-04-19

基金项目: 广州市科技计划项目(201604020087); 华南农业大学人才引进启动项目(13009)

\* 通信作者 E-mail: wkshen@scau.edu.cn

29%,在干旱等不良环境条件下引起的损失则更为严重<sup>[3]</sup>。甘蔗 RSD 是一种种苗传播的病害,主要通过带菌蔗种和收获工具如蔗刀传播,其病原菌可在蔗种及宿根蔗头中存活较长时间<sup>[4]</sup>。由于感病的蔗株一般不表现典型的外部症状<sup>[5]</sup>,单从外观上难以诊断,使得病害发生较为隐蔽,极易造成病原菌任意传播扩散,严重危害甘蔗生产<sup>[6]</sup>。

RSD 的诊断方法经历了剖茎检视<sup>[7]</sup>,相差显微镜镜检<sup>[8]</sup>,免疫学检测<sup>[9]</sup>和 PCR 检测<sup>[10]</sup>等阶段。PCR 检测技术具有快速、灵敏等优点,现已广泛应用于甘蔗宿根矮化病菌的检测。Lopes 等<sup>[10]</sup>、Fegan 等<sup>[11]</sup>及 Pan 等<sup>[12]</sup>分别建立了检测 RSD 致病菌的 PCR 体系,并对引物的特异性及灵敏度进行了研究;周丹等<sup>[13]</sup>对检测甘蔗宿根矮化病菌的 PCR 方法进一步优化,使其检测灵敏度、效率及稳定性比优化前更高,更加适合于快速检测田间大批量样品;沈万宽等<sup>[14]</sup>利用细菌 16S-23S rDNA 内转录间隔区(ITS)通用引物 ITS1/ITS2 及甘蔗 RSD 特异引物 Lxx1/Lxx2,建立了检测 RSD 致病菌的巢式 PCR 技术,其灵敏度更高,检测更加准确。2013 年, Pelosi 等<sup>[15]</sup>建立了 RSD 病原菌 Lxx 的实时荧光定量 PCR 检测技术。

果蔗即鲜食水果型甘蔗,皮薄、茎脆、汁多,富含人体所需的多种维生素和氨基酸,具有生津解渴,消除疲劳的功效。广东韶关、广州南沙区是广东传统果蔗产区,年种植面积 8 000~10 000 hm<sup>2</sup>,占广东果蔗种植面积的 70%。近年来,随着市场需求和种植效益的提高,果蔗生产发展迅速,种植面积不断扩大。然而,我国果蔗品种单一(以热带原种‘Badila’,即‘黑皮果蔗’为主),且种植年代久,品种抗性较差,比较容易感染宿根矮化病、花叶病等种苗传播病害,导致果蔗产量和品质下降,种植效益降低<sup>[16]</sup>。生产、推广和应用脱毒健康种苗是防治甘蔗 RSD 的主要措施,种植脱毒健康种苗不仅可以有效地脱除 RSD 致病菌,还有利于提高甘蔗单产和蔗糖分<sup>[17]</sup>。探明蔗区 RSD 发生危害情况,是科学防控甘蔗 RSD 的关键。目前,有关我国糖蔗 RSD 检测及调查分析的报道不少<sup>[18-20]</sup>,但有关果蔗 RSD 的检测及调查分析鲜有报道<sup>[21]</sup>。基于此,本研究应用常规 PCR 和巢式 PCR 检测技术分别对广东两大果蔗产区主栽果蔗品种及新引进的果蔗品种进行宿根矮化病菌的检测,对比分析两种 PCR 技术检测结果,明确病害发

生情况,为果蔗 RSD 的诊断及健康种苗的推广应用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

2016 年 10 月—11 月,分别在广东韶关和广州南沙果蔗主产区随机采集株龄 8 个月以上的‘黑皮果蔗’主茎,同时在华南农业大学甘蔗育种基地采集新引进自四川省内江农科院的果蔗或糖果兼用品种‘内江蜜蔗’、‘甜城 21 号’、‘甜城 22 号’和‘甜城 99 号’等株龄 8 个月以上的主茎,共 114 份样品(表 1)。阳性对照为 Lxx 的基因组 DNA,由本实验室保存。

### 1.2 主要试剂及仪器

Taq DNA 聚合酶、dNTPs、10×Buffer(含 Mg<sup>2+</sup>)、DL2000 DNA Marker 及 EB 替代物均购自 TaKaRa 宝生物工程(大连)有限公司;琼脂糖购自广州健阳生物科技有限公司。PCR 仪为 BIO-RAD 热循环仪;凝胶成像系统为 Tanon-1600。

### 1.3 样品处理与总 DNA 的提取

参照沈万宽等<sup>[22]</sup>的方法,取样品蔗茎基部 1 个或 2 个节,用利刀削去蔗皮,用手持蔗汁压榨器榨汁,每个样品取 300 μL 以上蔗汁于 1.5 mL 离心管中,每取完 1 个样后,要用清水反复冲洗刀和压榨器,防止样品交叉污染,取汁后的离心管及时放入 -20℃ 冰箱保存,蔗汁用于提取总 DNA。

采用 CTAB 法提取蔗汁总 DNA,每个样品取 300 μL 蔗汁于 1.5 mL 灭菌离心管中,加入 600 μL 2% CTAB 提取缓冲液(含 0.2% β-巯基乙醇),65℃ 温浴 45 min,其间不时摇动;加入 600 μL 的氯仿/异戊醇(24:1),剧烈振荡 30 s,12 000 r/min、4℃ 离心 10 min;转移上清到一个新的 1.5 mL 灭菌离心管中,加入等体积的氯仿/异戊醇(24:1),轻缓多次颠倒混匀,12 000 r/min、4℃ 离心 10 min;将上层水相转入一个新的 1.5 mL 灭菌离心管中,加入 1/10 体积 3 mol/L 的 NaAc(pH 5.2)和等体积冷的异丙醇,混匀,-20℃ 下静置 30 min;12 000 r/min、4℃ 离心 10 min;弃上清,沉淀分别用 70% 乙醇和无水乙醇各洗 1 次;风干后用 50 μL 的 TE 缓冲液溶解,-20℃ 保存。

### 1.4 常规 PCR 检测

采用 Pan 等<sup>[12]</sup>报道的甘蔗宿根矮化病菌特异

引物 Lxx1: 5'-CCGAAGTGAGCAGATTGACC-3' 和 Lxx2: 5'-ACCCTGTGTTGTTTTCAACG-3' 进行检测。引物委托生工生物工程(上海)有限公司合成。以总 DNA 为模板进行 PCR 扩增,反应体系 20.0  $\mu\text{L}$ :模板 1.0  $\mu\text{L}$ ,10 $\times$ Buffer(含  $\text{Mg}^{2+}$ )2.0  $\mu\text{L}$ ,dNTPs (2.5 mmol/L)1.6  $\mu\text{L}$ ,引物 Lxx1/Lxx2 (5  $\mu\text{mol/L}$ )各 1.0  $\mu\text{L}$ ,*Taq* DNA 聚合酶(5 U/ $\mu\text{L}$ )0.2  $\mu\text{L}$ ,用 ddH<sub>2</sub>O 补足至 20.0  $\mu\text{L}$ 。扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min;94 $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,54 $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s,进行 35 个循环;最后 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像系统中观察结果并拍照保存。

### 1.5 巢式 PCR 检测

参照沈万宽等<sup>[14]</sup>的巢式 PCR 检测方法,利用细菌 ITS 通用引物 ITS<sub>1</sub>/ITS<sub>2</sub> (ITS<sub>1</sub>: 5'-AGTCG-TAACAAGGTAGCCGT-3'; ITS<sub>2</sub>: 5'-GTGCCAAGGCATCCACC-3')和特异引物 Lxx<sub>1</sub>/Lxx<sub>2</sub> 进行检测。引物委托生工生物工程(上海)有限公司合成。以总 DNA 为模板,以 ITS<sub>1</sub>/ITS<sub>2</sub> 为引物进行第一轮 PCR 扩增,反应体系及扩增程序参见 1.4,其中退火温度为 56 $^{\circ}\text{C}$ ,循环 30 次。以第一轮扩增产物为模板,利用引物 Lxx<sub>1</sub>/Lxx<sub>2</sub> 进行第二轮 PCR 扩增,反应体系及扩增程序均同 1.4。扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像系统中观察结果并拍照保存。

### 1.6 序列测定与分析

PCR 产物核苷酸序列委托生工生物工程(上海)有限公司测定,同源性比较在 NCBI 数据库中通过 BLAST 程序进行,序列分析应用 DNASTar 软件进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 常规 PCR 检测

利用引物 Lxx1/Lxx2 对 114 份样品的蔗汁总 DNA 进行常规 PCR 检测,阳性样品的 PCR 产物电泳后可见单一的扩增条带,大小与预期一致,为 438 bp,且空白对照(无菌水)无扩增条带(图 1)。PCR 产物经测序,BLAST 比对及 DNASTar 软件分析,其序列与来自澳大利亚、美国和中国福建等地的 Lxx 株系或分离物(GenBank 登录号为 AF034641, AF056003, EU723209)相应核苷酸序列的同源性为 99%~100%,确认该扩增序列为 Lxx 基因组片段

序列。表明具有该目的条带的样品为感染甘蔗宿根矮化病菌的样品。

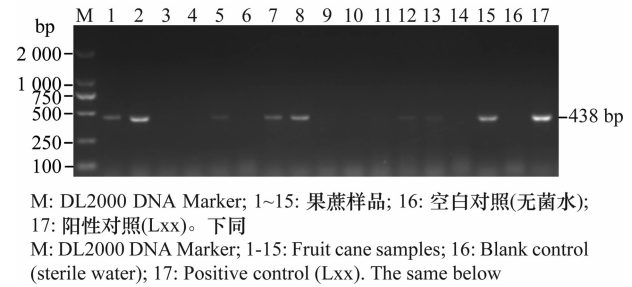


图 1 部分甘蔗样品常规 PCR 检测结果  
Fig. 1 Detection of partial fruit cane samples by conventional PCR

### 2.2 巢式 PCR 检测

利用引物 ITS1/ITS2 和 Lxx1/Lxx2 对 114 份样品的蔗汁总 DNA 进行巢式 PCR 检测,经过两轮扩增,产物电泳后,可见单一明亮条带,大小与预期一致,为 438 bp,且空白对照(无菌水)无扩增条带(图 2)。对第二轮 PCR 产物进行测序,通过 BLAST 比对及 DNASTar 软件分析,其序列与来自巴西、澳大利亚和美国等地的 Lxx 株系或分离物(GenBank 登录号为 AE016822, AF034641, AF056003)相应核苷酸序列同源性为 99%~100%的一致性,确认该扩增序列为 Lxx 基因组片段序列。表明具有该目的条带的样品为感染甘蔗宿根矮化病菌的样品。

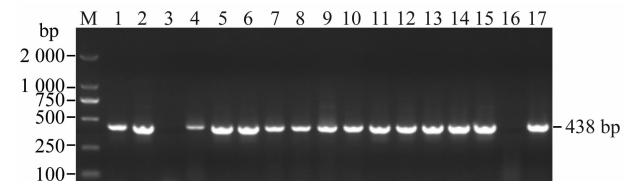


图 2 部分甘蔗样品巢式 PCR 检测结果  
Fig. 2 Detection of partial fruit cane samples by nested PCR

### 2.3 常规 PCR 与巢式 PCR 检测结果比较分析

对 114 份样品分别进行常规 PCR 和巢式 PCR 检测,常规 PCR 有 46 份呈阳性反应,阳性检出率为 40.4%;巢式 PCR 有 101 份呈阳性反应,阳性检出率为 88.6%。46 份常规 PCR 检测为阳性的样品,巢式 PCR 检测均为阳性;有 55 份常规 PCR 检测为阴性的样品,巢式 PCR 检测为阳性;仅 13 份样品常规 PCR 和巢式 PCR 检测均为阴性(表 1~表 2)。结果表明,相较于巢式 PCR,常规 PCR 漏检率为 54.5%。

### 2.4 广东果蔗宿根矮化病发生情况

114 份样品宿根矮化病检测结果显示,广东韶关果蔗产区‘黑皮果蔗’宿根矮化病阳性率为 86.8%;广州南沙果蔗产区‘黑皮果蔗’宿根矮化病阳性率为 92.7%;华南农业大学甘蔗育种基地的 5 个果蔗品种中有 4 个感染宿根矮化病,阳性率为 80%,其中新引进的果蔗品种除‘甜城 22 号’外,其他 3 个品种‘内江蜜蔗’、‘甜城 21 号’和‘甜城 99 号’均感染宿根矮化病(表 1~表 2)。

表 1 新引进果蔗品种宿根矮化病菌检测结果

Table 1 Detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx) from

introduced fruit cane cultivars

品种 Cultivar	常规 PCR 检测结果 Conventional PCR	巢式 PCR 检测结果 Nested PCR
内江蜜蔗 Neijiang mizhe	+	+
甜城 21 号 Tiancheng No. 21	+	+
甜城 22 号 Tiancheng No. 22	-	-
甜城 99 号 Tiancheng No. 99	+	+

表 2 广东果蔗宿根矮化病菌检测结果

Table 2 Detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx) from fruit cane cultivars in Guangdong

采集地 Collection site	样品数 Total samples	常规 PCR	Conventional PCR	巢式 PCR	Nested PCR
		阳性样品数/份 Positive samples	阳性检出率/% Positive rate	阳性样品数/份 Positive samples	阳性检出率/% Positive rate
华南农业大学甘蔗育种基地 Sugarcane breeding base of SCAU	5	3	60.0	4	80.0
广东韶关 Shaoguan, Guangdong	68	30	44.1	59	86.8
广州市南沙区 Nansha, Guangzhou	41	13	31.7	38	92.7
总计 Total	114	46	40.4	101	88.6

### 3 讨论

与常规 PCR 相比,巢式 PCR 对靶标 DNA 进行两轮扩增,可显著提高检测灵敏度。沈万宽等<sup>[14]</sup>报道的甘蔗 RSD 致病巢式 PCR 检测技术可检测出 10 fg Lxx 基因组 DNA,较常规 PCR 检测灵敏度提高 100 倍。Liu 等<sup>[23]</sup>报道的油茶炭疽病菌巢式 PCR 检测技术,灵敏度可达 10 ag,较常规 PCR 检测灵敏度提高至少 1 万倍。鹿连明等<sup>[24]</sup>设计 8 对引物比较分析柑橘黄龙病菌常规 PCR 检测与巢式 PCR 检测技术的灵敏度,发现巢式 PCR 检测的灵敏度均比常规 PCR 检测至少高 1 000 倍。李本金等<sup>[25]</sup>建立的荔枝霜疫霉巢式 PCR 检测技术,灵敏度可达 100 fg,较常规 PCR 提高 1 000 倍。本研究分别利用常规 PCR 和巢式 PCR 技术对果蔗宿根矮化病菌进行检测,常规 PCR 检测的阳性检出率为 40.4%,而巢式 PCR 检测的阳性检出率达 88.6%,这与巢式 PCR 较常规 PCR 检测灵敏度更高相一致。

据报道,甘蔗宿根矮化病已广泛发生于广东、广西及云南等糖蔗产区,黄孟群等<sup>[18]</sup>对广东甘蔗宿根矮化病进行调查,共抽查 162 片蔗田,发现只有 13.5% 的田块不发病,‘粤糖 57/423’、‘粤糖 71/210’和‘台糖 134’的感病率分别达到 77.3%、92%和 95.5%;邓展云等<sup>[19]</sup>对广西部分蔗区进行抽查,主栽品种‘桂糖 11 号’RSD 阳性率达 86%;王晓燕等<sup>[20]</sup>对云

南省 18 个蔗区的 RSD 发生危害情况进行系统调查,18 个蔗区均检测出甘蔗宿根矮化病菌,阳性检出率为 56.4%~88%;张荣跃等<sup>[26]</sup>对广西和云南几个甘蔗主产区主栽糖蔗品种 RSD 发生情况进行调查,阳性率达到 59.54%,检测的 20 个主栽糖蔗品种中有 19 个品种感病。杨湛端等<sup>[21]</sup>对番禺果蔗宿根矮化病进行初步调查,发现大田种植的‘黄皮果蔗’和‘黑皮果蔗’RSD 阳性率分别为 95%和 93%。本研究对广东韶关、广州南沙果蔗产区的主栽品种‘黑皮果蔗’检测发现,其 RSD 阳性率分别达 86.8%和 92.7%;华南农业大学甘蔗育种基地的 5 个果蔗品种中有 4 个感染宿根矮化病,阳性率为 80%。虽然,果蔗宿根矮化病调查仍处于起步阶段,但从上述已有的调查结果可以看出果蔗宿根矮化病发生率普遍高于糖蔗,可能的原因是果蔗为热带原种(主要为‘Badila’,即‘黑皮果蔗’),未经过杂交改良,品种抗性较差;而糖蔗品种为甘蔗属种间杂交种,导入了甘蔗野生种的优良抗性基因,具有较强的抗逆性。同时,在实际生产中,果蔗品种单一、连续种植年代久、农民长期无性繁殖自留种茎造成病菌逐年累积,也是果蔗宿根矮化病发病率高的原因之一。

本调查表明宿根矮化病已在广东果蔗产区普遍发生,严重影响果蔗产量和品质,阻碍果蔗产业可持续发展。因此,有必要及时研究和推广应用果蔗健康种苗,促进果蔗产业健康发展。

## 参考文献

- [1] Davis M J, Gillaspie A G, Vidaver A K, et al. *Clavibacter*: a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cymodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and Bermuda grass stunting disease[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1984, 34(2): 107-117.
- [2] Evtushenko L I, Dorofeeva L V, Subbotin S A, et al. *Leifsonia poae* gen. nov., sp. nov., isolated from nematode galls on *Poa annua*, and reclassification of '*Corynebacterium aquaticum*' Leifson 1962 as *Leifsonia aquatica* (ex Leifson 1962) gen. nov., nom. rev., comb. nov. and *Clavibacter xyli* Davis et al. 1984 with two subspecies as *Leifsonia xyli* (Davis et al. 1984) gen. nov., comb. nov. [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50(1): 371-380.
- [3] Johnson S S, Tyagi A P. Effect of ratoon stunting disease (RSD) on sugarcane yield in Fiji [J]. The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences, 2010, 28(1): 69-73.
- [4] Comstock J, Shine Jr J M, Davis M J, et al. Relationship between resistance to *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* colonization in sugarcane and spread of ratoon stunting disease in the field [J]. Plant Disease, 1996, 80(6): 704-708.
- [5] Hughes C G. Ratoon stunting disease of sugar cane [J]. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 1955, 21: 3-9.
- [6] Comstock J C. Ratoon stunting disease [J]. Sugar Tech, 2002, 4(1): 1-6.
- [7] Gillaspie A G, Irvine J E, Steere R L. Ratoon stunting disease virus. Assay technique and partial purification [J]. Phytopathology, 1966, 56: 1426-1427.
- [8] Gillaspie A G, Davis R E, Worley J F. Diagnosis of ratoon stunting disease based on presence of a specific microorganism [J]. Plant Disease Reporter, 1973, 57(12): 987-990.
- [9] Gillaspie A G. Ratoon stunting disease of sugarcane; serology [J]. Phytopathology, 1978, 68(3): 529-532.
- [10] Lopes S A, Damann K E. PCR amplification of DNA from bacterial pathogens of sugarcane [J]. Phytopathology, 1993, 83: 1398-1401.
- [11] Fegan M, Croft B J, Teakle D S, et al. Sensitive and specific detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, causal agent of ratoon stunting disease of sugarcane, with a polymerase chain reaction-based assay [J]. Plant Pathology, 1998, 47(4): 495-504.
- [12] Pan Y B, Grisham M P, Burner D M, et al. A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of sugarcane ratoon stunting disease [J]. Plant Disease, 1998, 82(3): 285-290.
- [13] 周丹, 谢晓娜, 陈明辉, 等. 甘蔗宿根矮化病 PCR 检测技术优化分析 [J]. 南方农业学报, 2012, 43(5): 616-620.
- [14] 沈万宽, 刘睿, 邓海华. 甘蔗宿根矮化病菌巢式 PCR 检测 [J]. 植物保护学报, 2012, 39(6): 508-512.
- [15] Pelosi C S, Lourenco M V, Silva M, et al. Development of a Taqman real-time PCR assay for detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* [J]. Tropical Plant Pathology, 2013, 38: 343-345.
- [16] 王继华, 曹干, 张剑亮, 等. 我国果蔗产业的现状与可持续发展 [J]. 甘蔗糖业, 2013(5): 56-61.
- [17] 游建华, 曾慧, 李松, 等. 甘蔗脱毒健康种苗田间比较试验 [J]. 中国糖料, 2005(2): 12-15.
- [18] 黄孟群, 肖镇杰. 广东甘蔗宿根矮化病调查报告 [J]. 甘蔗糖业, 1987(2): 39-40.
- [19] 邓展云, 王伯辉, 刘海斌, 等. 广西甘蔗宿根矮化病的发生及病原检测 [J]. 中国糖料, 2004(3): 35-38.
- [20] 王晓燕, 李文凤, 黄应昆, 等. 云南甘蔗宿根矮化病发生危害调查与病原检测 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(31): 208-212.
- [21] 杨湛端, 刘睿, 沈万宽, 等. 番禺果蔗宿根矮化病调查与分析 [J]. 广东农业科学, 2012(9): 75-76.
- [22] 沈万宽, 周国辉, 邓海华, 等. 甘蔗宿根矮化病菌 PCR 检测及目的片段核苷酸序列分析 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(12): 413-416.
- [23] Liu Junang, Li He, Zhou Guoying. Specific and rapid detection of *Camellia oleifera* anthracnose pathogen by nested-PCR [J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(6): 1056-1061.
- [24] 鹿连明, 胡秀荣, 张利平, 等. 常规和巢式 PCR 对柑橘黄龙病菌的检测灵敏度比较 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(8): 1280-1287.
- [25] 李本金, 刘裴清, 刘小丽, 等. 荔枝霜疫霉巢式 PCR 和 LAMP 检测方法的建立 [J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(6): 919-927.
- [26] 张荣跃, 黄应昆, 李文凤, 等. 甘蔗主栽品种宿根矮化病调查及病原检测 [J]. 中国糖料, 2014(2): 26-27.

(责任编辑: 杨明丽)



## 2017 曾士迈张树榛奖励基金评选结果公告

为弘扬曾士迈、张树榛先生的奉献、爱国、科学精神,促进植物病理学发展而设立的“曾士迈张树榛奖励基金”已于 2017 年初启动,每年奖励一名做出突出贡献的科技人员以及两名优秀青年工作者。现已圆满完成 2017 年的评奖工作。经基金管理委员会评审,决定将“曾士迈张树榛未来之星奖”授予梁俊敏和曹学仁两位同志,并奖励每人 2 万元人民币,以表彰他们在植物病害流行病学研究中的工作,激励他们在未来的工作中大胆创新,积极进取,做出更大贡献。

曾士迈张树榛奖励基金管理委员会  
二〇一七年十一月十日