

文章编号: 1674-7054(2022)06-0589-06



# 大叶紫薇炭疽病病原的鉴定及生物学特性

刘芝好, 李增平, 张宇

(海南大学植物保护学院/热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海口 570228)

**摘要:** 为了明确大叶紫薇炭疽病的病原菌种类, 为后续研究其发病规律及诊断防治提供理论依据, 对海南出现的大叶紫薇炭疽病进行致病性测定、形态学鉴定和 ITS、ACT、GAPDH、CHS 序列分析, 结果表明: 引起海南大叶紫薇炭疽病的病原菌为隐秘刺盘孢 (*Colletotrichum aenigma*)。生物学特性测定结果表明: 大叶紫薇炭疽病原菌丝最适生长温度为 30 °C, 最适 pH 为 8。黑暗条件有利于其菌丝生长, 在 PDA、PSA 培养基上的生长速率较快。

**关键词:** 大叶紫薇; 炭疽病; 隐秘刺盘孢; 生物学特性

**中图分类号:** S 432.1 **文献标志码:** A

**引用格式:** 刘芝好, 李增平, 张宇. 大叶紫薇炭疽病病原的鉴定及生物学特性 [J]. 热带生物学报, 2022, 13(6): 589-594. DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2022.06.008

大叶紫薇 [*Lagerstroemia speciosa*(L.) Pers.], 又称大花紫薇, 原产于亚洲的热带地区, 在我国的海南、广东、广西、四川、云南等省均有种植。大叶紫薇具有较高的药用价值和观赏价值, 其提取物具有敛疮、解毒、凉血止血等功效, 同时, 园林绿化种植大叶紫薇移栽成活率极高, 全年可观花的时间长达 7 个月<sup>[1-2]</sup>。2001 年, 朱爱萍等<sup>[3]</sup>对紫薇的白粉病 (*Uncinula australiana*) 进行了生物学特性和致病性研究。2007 年, 翁殊斐等<sup>[4]</sup>对大花紫薇进行病虫害检索表的编制与综合防治, 主要报道了大叶紫薇的斑点病 (*Phyllosticta lagerstroemiae*) 以及炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*)。2009 年, 吴建民<sup>[5]</sup>对大叶紫薇褐斑病 (*Brown spot*) 和煤污病 (*Sooty mold*) 的症状、发生规律以及防治方法进行了报道。炭疽菌引起的植物炭疽病可导致寄主植物出现叶斑、枝枯等症状, 甚至出现植株枯死。严重的植物炭疽病还可导致在种植产业上发生重大的经济损失。胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 是一种常见的引发多种植物炭疽病的病原真菌, 其侵染的寄主种类丰富, 分

布范围广, 但近年来发现其包含有多个复合种, 炭疽病在我国虽有大量报道, 但对热带林木炭疽病的调查以及鉴定偏少<sup>[6]</sup>。目前, 只有少量的文献中提及到大叶紫薇炭疽病的病原菌为胶孢炭疽菌, 但是尚未见到大叶紫薇炭疽病的致病性测定、分子鉴定及生物学特性等方面的详细报道。因此, 笔者在海南发现的大叶紫薇炭疽病病树上采集病叶, 并进行病原菌的分离培养和致病性测定, 同时采用形态学结合分子生物学手段进行病原菌的种类鉴定及其生物学特性研究, 旨在进一步明确大叶紫薇炭疽病的病原菌种类, 为后续研究其发病规律及诊断防治等提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 研究材料** 大叶紫薇炭疽病病叶, 于 2020-12-13 从海南省海口市世纪公园发病的大叶紫薇上采集病叶, 带回实验室进行室内镜检, 初步鉴定后分离菌株, 并制作病叶标本保存, 保存于实验室。

**1.2 培养基** PDA [Potato Dextrose Agar (Medium)],

收稿日期: 2021-11-12

修回日期: 2022-04-11

基金项目: 国家天然橡胶产业技术体系 (CARS-33-BC1); 海南大学名师工作室 (hdms202014)

第一作者: 刘芝好 (1998-), 女, 海南大学植物保护学院 2019 级研究生. E-mail: 1361883741@qq.com

通信作者: 李增平 (1967-), 男, 教授. 研究方向: 热带植物真菌病害. E-mail: lzping301155@126.com

PSA(Potato Saccharose Agar)、OMA(Oatmeal Agar)、CA(Cellulose Acetate)、CMA(Corn Meal Agar)、Czapek(Czapek Dox Agar)<sup>[7-8]</sup>。

**1.3 试剂及仪器** DNA提取试剂盒 OMEGA Fungal DNA Kit 购自美国 OMEGA 公司, 2×Taq plus PCR Master Mix 购自 Biosharp 公司。摄影生物显微镜为日本 Olympus BX-51。

**1.4 菌株的分离纯化** 采用常规的组织分离法, 将病叶从病健交界处切取 5 mm 左右的小块, 放入酒精中浸泡 10 s 后再放入 0.1% 升汞溶液中浸泡 1 min, 最后用灭菌水冲洗 3 次, 置于空白培养皿风干并放置到 PDA 培养基平板上培养。28 °C 恒温黑暗条件下于斜面上保存分离得到的菌株备用。待菌丝生长到适宜大小, 产孢后, 再进行单孢分离纯化, 从多个生长相同的菌株中选择生长良好的菌株, 编号备用(菌株编号为 DYZWTJ001)<sup>[9]</sup>。

**1.5 致病性的测定** 将经 28 °C 黑暗培养 5 d 的 DYZWTJ001 菌株的 PDA 平板用打孔器打成直径(d)为 5 mm 的菌饼。采用刺伤和无伤接种法, 将菌丝面紧贴于经表面消毒处理的健康大叶紫薇叶片伤口上。对照接无菌的 PDA。DYZWTJ001 菌株经 28 °C 黑暗培养 7 d 后, 收集分生孢子, 用无菌水洗脱菌落表面的分生孢子, 制成分生孢子浓度为  $2 \times 10^6$  个·mL<sup>-1</sup> 的悬浮液; 将一部分孢子悬浮液滴到经表面消毒处理的健康大叶紫薇叶片伤口上, 将另一部分孢子悬浮液喷施在无刺伤的嫩叶上, 对照接无菌水<sup>[10]</sup>。将接种好的叶片保湿后放置到(28±0.5)°C 的黑暗培养箱中, 28 °C 恒温培养 7 d, 并定期观察其发病情况, 每处理设置 3 个重复。

**1.6 病原菌的形态学鉴定** DYZWTJ001 菌株培养 7 d 后, 观察菌落的正、反面颜色及边缘形状。挑取培养物用摄影生物显微镜对病原菌的显微结构进行拍照、观察和测量。观察分生孢子盘以及分生孢子, 记录其形态特征并测量分生孢子盘以及分生孢子的大小。

**1.7 病原菌的分子鉴定** 将 DYZWTJ001 菌株置于 PDA 培养基培养 7 d 后, 使用 OMEGA Fungal DNA Kit 提取其总 DNA。采用通用引物 ITS<sup>[11]</sup>(ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3';ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')、ACT<sup>[12]</sup>(ACT-512F:5'-ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC-3';ACT-783R:5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3')、

GADPH<sup>[13]</sup>(GDF:5'-GCCGTCAACGACCCCTTCAT TGA-3';GDR:5'-GGGTGGAGTCGTACTIONTGGAGC ATGT-3') 和 CHS<sup>[12]</sup>(CHS-97F:5'-TGGGGCAAGG ATGCTTGGTTGAAG-3';CHS-354R:5'-TGGAAG AACCATCTGTGAGAGTTG-3') 进行 PCR 扩增<sup>[14-15]</sup>。将扩增产物纯化、回收后送生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列测定。将所获的序列在 NCBI 进行 Blast 比对, 并提交序列。用 Sequence Matrix 软件进行序列拼接, 使用 MEGA7.0 软件以最大似然法(Maximum Likelihood)构建系统发育树<sup>[16]</sup>。

**1.8 DYZWTJ001 菌株生物学特性的测定** 选用 PDA、PSA、OMA、CA、CMA、Czapek 培养基制作平板, 用于测试 DYZWTJ001 菌株在不同培养基上的生长影响。PDA 培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 10 g、蒸馏水 1 000 mL; PSA 培养基: 马铃薯 200 g、蔗糖 20 g、琼脂 20 g、蒸馏水 1 000 mL; OMA 培养基: 燕麦片 30 g、蒸馏水 1 000 mL、琼脂 20 g, 在 60 °C 下水浴 1 h, 双层纱布过滤去渣, 补足水至 1 000 mL, 加入琼脂; CA 培养基: 新鲜胡萝卜 200 g 切成小片, 加蒸馏水 500 mL, 用组织捣碎机捣碎约 40 s, 用 4 层纱布过滤去渣, 补足水至 1 000 mL, 加入琼脂 13 g; CMA 培养基: 玉米粉 300 g、蒸馏水 1 000 mL、琼脂 20 g, 在 60 °C 下水浴 1 h, 双层纱布过滤去渣, 上清液补足水至 1 000 mL, 加入琼脂; Czapek 培养基: 七水硫酸镁 0.5 g、磷酸氢钾 1 g、氯化钾 0.5 g、硝酸钠 2 g、蔗糖 30 g、七水硫酸亚铁 0.01 g、水 1 000 mL。将菌株 DYZWTJ001 菌丝块置于平板中央, 在相同温度(28 °C)下培养 5 d 后, 使用十字交叉法量取菌落的直径, 每个处理重复 3 次。

测试不同温度条件下 DYZWTJ001 菌株生长的影响。在超净工作台里用直径 0.5 mm 打孔器从菌株 DYZWTJ001 菌落边缘取菌丝块, 将菌丝块接种在 PDA 平板上, 分别置于 10、15、20、25、28、33、35 °C 共 7 个不同温度条件下进行恒温暗培养, 5 d 后使用十字交叉法量取其菌落的直径, 每个处理重复 3 次。

测试不同 pH 值条件下 DYZWTJ001 菌株生长的影响。将已灭菌的 PDA 培养基冷却至 50 °C 左右, 使用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 溶液和 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 溶液将 PDA 培养基的 pH 值调至 2、3、4、

5、6、7、8、9、10、11、12、13共12个梯度后倒平板上,挑取菌株 DYZWTJ001 菌丝块置于平板中央,在 28℃ 下培养,5 d 后使用十字交叉法量取其菌落的直径,每个处理重复 3 次。

测试不同光照条件下 DYZWTJ001 菌株生长的影响。将菌株 DYZWTJ001 菌丝块接种于 PDA 平板中央,在 28℃ 下分别置于光照 24 h、黑暗 24 h 和光照:黑暗=12 h:12 h 条件下培养,5 d 后使用十字交叉法量取其菌落的直径,每个处理重复 3 次。

**1.9 数据处理** 利用 SAS 8.1 软件和 Excel 2019 软件对数据进行统计分析,采用 Duncan's multiple range test 进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

**2.1 大叶紫薇炭疽病的发病症状** 在海南发现的大叶紫薇炭疽病主要危害下层老叶。病斑多出

现在叶尖和叶缘,叶面上也有少量发生。发病初期,在病叶上呈现红褐色小斑点,边缘具明显的亮黄色晕圈,继而病斑扩展为半圆形或不规则,褐色至灰白色,边缘具 2~5 mm 宽的紫红色或深褐色坏死带,病斑的外围出现明显的亮黄色的晕圈。潮湿条件下,病斑中央轮生小黑点。后期部分老病斑中央组织破裂出现穿孔,重病叶易脱落。

**2.2 致病性的测定** 大叶紫薇炭疽病的致病性测定结果显示,接种 3 d 后,滴加分生孢子悬浮液在刺伤部分的老叶和喷施分生孢子悬浮液在无刺伤的嫩叶的处理均发病;接种 4 d 后,使用菌饼刺伤接种的老叶发病,老叶上未刺伤部分接种菌饼部分全部未发病,对照区域也未出现病变。接种 7 d 后,观察到叶片接种部位出现橘红色分生孢子团(图 1)。从接种发病部位再分离获得的菌株与最初分离的 DYZWTJ001 菌株形态相同,证明 DYZWTJ001 菌株为大叶紫薇炭疽病的病原菌。

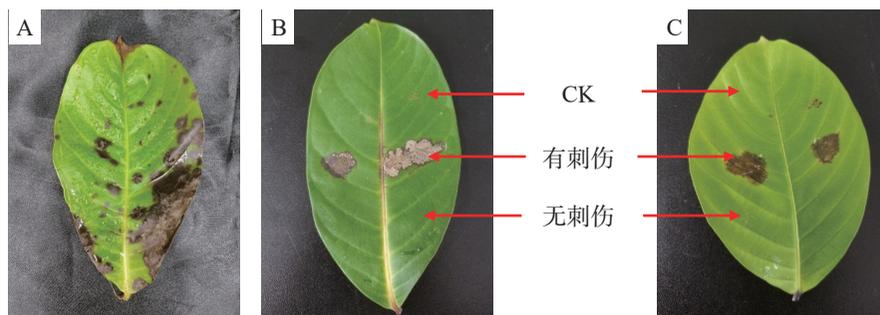


图 1 大叶紫薇炭疽病的致病性测定结果

A: 分生孢子悬浮液(无刺伤); B: 分生孢子悬浮液(刺伤); C: 菌饼(刺伤)

**2.3 病原菌的形态学鉴定** 病原菌在自然生长 5 d 后的 PDA 培养基表面菌落的平均直径为 6.9 cm。观察到其菌落上的菌丝非常的致密,表面蓬松,中心呈灰色,边缘呈白色,背面中心呈橘红色,边缘呈白色。分生孢子为单胞,整体呈现圆柱状,两端无色且钝圆,大小为  $(13.59 \sim 15.83) \mu\text{m} \times (4.60 \sim$

$6.51) \mu\text{m}$ 。分生孢子盘褐色,椭圆形,大小为  $(72.27 \sim 77.05) \mu\text{m} \times (35.25 \sim 37.46) \mu\text{m}$ (图 2)。

**2.4 病原菌的分子鉴定** 将测序后的各基因序列提交至 GenBank 数据库获得序列号,获得 DYZWTJ001 菌株的 rDNA-ITS、ACT、GADPH 和 CHS 序列长度分别为 550 bp(NCBI 登录号为

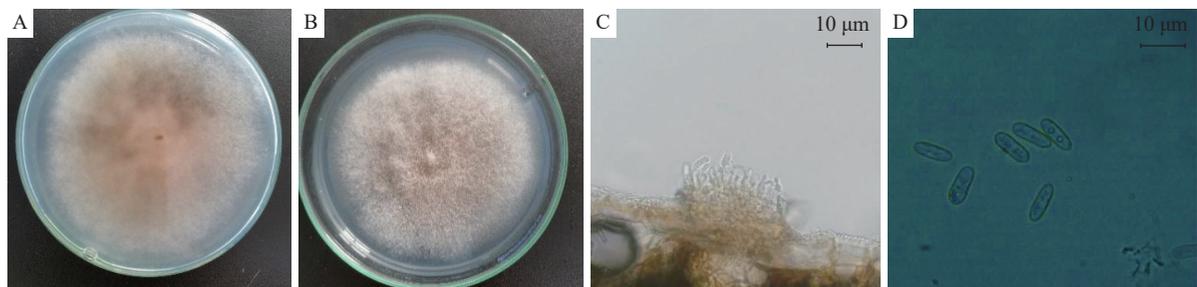


图 2 大叶紫薇炭疽病病菌形态

A、B: 菌落; C: 分生孢子盘; D: 分生孢子

MZ955449)、257 bp(NCBI 登录号为 MZ955450)、251 bp(登录号为 MZ955451)和 283 bp(登录号为 OM867674)。在 NCBI 数据库中选取 rDNA-ITS、ACT 和 GAPDH 相关基因序列(表 1),将 3 种序列拼接,利用 MEGA 7.0 软件联合构建系统发育树,

结果(图 3)表明,菌株 DYZWTJ001 与隐秘刺盘孢的遗传距离最小,在 93% 水平上聚为一支。结合形态学鉴定,确定 DYZWTJ001 菌株为隐秘刺盘孢(*Colletotrichum aenigma*)。

表 1 参考菌株及其 GeneBank 登录号

种名	菌株号	GeneBank 登录号			
		ITS	ACT	GAPDH	CHS
本实验菌株	DYZWTJ001	MZ955449	MZ955450	MZ955451	OM867674
<i>C. tofieldiae</i>	CBS 495.85	GU227801	GU227899	GU228193	GU228291
<i>C. xanthorrhoeae</i>	BRIP 45094	JX010261	JX009478	JX009927	JX009823
<i>C. asianum</i>	ICMP 18580	FJ972612	JX009584	JX010053	JX009867
<i>C. alatae</i>	ICMP 17919	JX010190	JX009471	JX009990	JX009837
<i>C. aenigma</i>	ICMP 18608	JX010244	JX009443	JX010044	JX009774
<i>C. lilii</i>	CBS 186.30	GU227811	GU227909	GU228203	GU228301
<i>C. liriopes</i>	CBS 119444	GU227804	GU227902	GU228196	GU228294
<i>C. truncatum</i>	CBS 151.35	GU227862	GU227960	GU228254	GU228352
<i>C. kahawae subsp. ciggaro</i>	ICMP18539	JX010230	JX009523	JX009966	JX009800
<i>C. musae</i>	CBS116870	JX010146	JX009433	JX010050	JX009433
<i>C. mupharicola</i>	CBS470.96	JX010187	JX009437	JX009972	JX009835
<i>C. psidii</i>	CBS145.29	JX010219	JX009515	JX009967	JX009901
<i>C. kahawae subsp. Kahawea</i>	IMI319418	JX010231	JX009452	JX010012	JX009813
<i>Monilochaetes infuscans</i>	CBS 869.96	JQ005780	JQ005843	JX546612	JQ005801

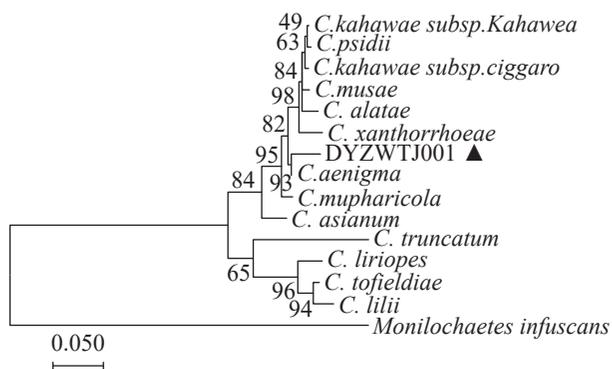


图 3 基于 rDNA-ITS、ACT、GAPDH 及 CHS 序列基础的菌株 DYZWTJ001 与其他炭疽菌相关种的系统发育树

表 2 不同培养基对 DYZWTJ001 菌丝生长的影响

培养基	菌落特征	菌落直径/cm
PDA	菌丝致密, 菌落白色, 近圆形	6.98±0.19aA
PSA	菌丝致密, 菌落白色, 近圆形	6.90±0.07aA
CA	菌丝近无色透明, 近圆形	5.41±0.25bB
OMA	菌丝近无色透明, 近圆形	5.40±0.12bB
Czapek	菌丝致密, 菌落白色, 近圆形	5.29±0.07bB
CMA	菌丝近无色透明, 近圆形	4.92±0.17bB

培养基 PDA 和 PSA 下菌丝生长情况差异不显著 ( $P<0.05$ )。

## 2.5 生物学特性

**2.5.1 不同培养基对菌丝生长的影响** DYZWTJ001 菌株均能在 6 种培养基上生长,其菌丝生长速度依次为 PDA>PSA>CA>OMA>Czapek>CMA(表 2)。

**2.5.2 不同温度对菌丝生长的影响** 菌株 DYZWTJ001 在不同梯度温度环境下培养 5 d 后,在 20~32 °C 条件下均能生长,而在 10、15、35 °C 条件下不能生长。20~30 °C 内,随温度的升高,

菌落生长速度显著加快, 30 °C 时病原菌菌落生长速度最快, 菌落直径为 6.92 cm, 其次是 28 °C 时病原菌菌落生长速度较快, 菌落直径为 6.70 cm, 这两个温度下的菌落直径与其他温度下的菌落直径存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 因此认定 30 °C 为此炭疽菌最适生长温度; 从 30 ~ 32 °C, 菌丝生长速度随温度的升高而下降, 到 35 °C 时, 病原菌完全停止生长(图 4)。

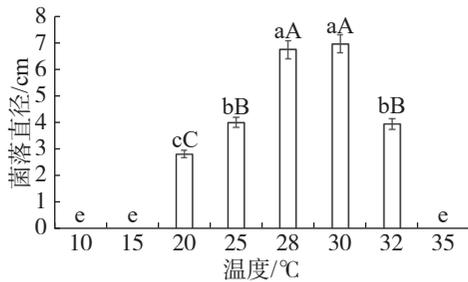


图 4 不同温度培养 DYZWTJ001 菌株的菌落直径

小写字母代表在  $P < 0.05$  水平差异显著, 大写字母代表在  $P < 0.01$  水平差异极显著, 下同

**2.5.3 不同 pH 对菌丝生长的影响** 菌株 DYZWTJ001 在 pH 值为 2 时菌丝不能生长, 在 pH 值 3 ~ 13 环境下均能生长。其中, pH 值为 8 时, 菌丝生长速度最快, 菌落直径为 5.86 cm, 与其他 pH 值下的菌落直径存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 之后随着 pH 值的升高, 菌丝生长速率逐渐下降(图 5), 表明碱性条件比弱酸性条件更有利于菌丝的生长。

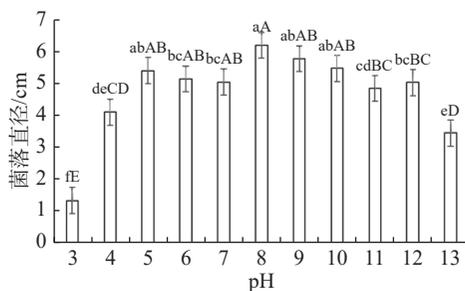


图 5 不同 pH 条件下 DYZWTJ001 菌株的菌落直径

**2.5.4 不同光照对菌丝生长的影响** 菌株 DYZWTJ001 在不同光照条件下均能生长。在黑暗环境下, 其生长速率最快, 菌落直径达 6.89 cm; 全光处理次之, 菌落直径达 3.80 cm; 光: 暗=12 h: 12 h 处理生长最慢, 菌落直径达 3.81 cm(图 6); 光: 暗=12 h: 12 h 处理和全光照处理间差异不显著 ( $P < 0.05$ ), 可见不同光照条件对此炭疽菌菌丝生长影响不大。

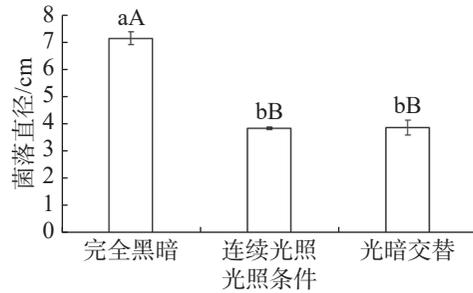


图 6 不同光照下 DYZWTJ001 菌株的菌落直径

### 3 讨论

本研究通过对大叶紫薇炭疽病的病原菌进行室内分离、纯化及致病性测定。利用 ITS、ACT、GAPDH 和 CHS 多基因序列分别对代表性菌株 DYZWTJ001 进行分子鉴定, 确定该病原菌为隐秘刺盘孢 (*Colletotrichum aenigma*)。进一步明确了引起海南大叶紫薇炭疽病的病原菌为隐秘刺盘孢。已有报道隐秘刺盘孢可引发苹果、辣椒、白木香、杨树等多种植物的炭疽病, 这类病害主要分布在高温湿热的热带和亚热带地区, 其寄主范围十分广泛<sup>[17]</sup>。大叶紫薇炭疽病菌的致病性研究表明, 嫩叶的致病力显著高于老叶, 老叶在刺伤的情况下才会发病, 且嫩叶发病早于老叶, 在嫩叶上接种发病扩散速度明显高于老叶。在老叶上, 孢子悬浮液的侵染速度明显快于菌块, 且病叶上极易产生大量分生孢子堆, 可能会成为大叶紫薇炭疽病害传播的重要侵染源。因此, 在大叶紫薇炭疽病防治阶段可以着重观测嫩叶上病害的发病情况, 同时对于发病树叶以及病残体进行及时的清理, 从而较好地防治大叶紫薇炭疽病。

显微镜下形态学观察其分生孢子无色, 中间有油滴, 单胞, 呈长椭圆形状, 这与前人研究结果基本一致<sup>[18]</sup>。通过对 DYZWTJ001 生物学特性研究结果表明, 该菌株在 20 ~ 32 °C 条件下均能生长, 最适宜温度为 30 °C, 这与前人研究炭疽菌结果基本一致<sup>[19]</sup>。DYZWTJ001 在 pH 值 3 ~ 13 环境下均能生长, 说明该菌株对于酸碱度的适应范围很广, 对于强酸强碱环境也具有较宽的适应性, 其中最适宜的 pH 为 8。培养基 PDA 与 PSA 的培养效果较好, 这与前人的研究报道存在一定差异<sup>[20]</sup>, 可能是由于寄主植物不同, 分离所获得的热带炭疽菌存在小种或生物型差异, 而适宜该菌株的光照培养条件为 24 h 全黑暗, 光照对其菌丝生长有抑制作用。因此, 海南全年暖热, 阴雨多湿, 往往

会引起大叶紫薇炭疽病发病扩散,对于高温多雨季节,应当加强防控,避免病害进一步加重以及扩散。

### 参考文献:

- [1] 李金勇,李国庆,王德峰.浅析大叶紫薇的养护管理及病虫害防治[J].*中国园艺文摘*,2018,34(1):178-179.
- [2] AMRIAM, MOUSA, NERMIN M, et al. Lagerstroemia Speciosa (L.) Pers leaf extract attenuates lung tumorigenesis via alleviating oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12): 871.
- [3] 朱爱萍,刘振宇,周晓明,孟凡玲.紫薇白粉病的研究[J].*山东林业科技*,2001(5):28-29.
- [4] 翁殊斐,林云,柯峰.大花紫薇病虫害检索表编制与综合防治[J].*广东园林*,2008,30(3):70-71.
- [5] 吴建民.紫薇真菌性病害的防治[J].*安徽林业*,2009(3):57.
- [6] 李娜.炭疽病病原种类及群体遗传多样性研究[D].雅安:四川农业大学,2012.
- [7] 方中达.植病研究方法.3版[M].北京:中国农业出版社,1998:1-427.
- [8] 李增平.普通植物病理学实验、实习指导[M].北京:中国农业出版社,2017:71-78.
- [9] 马瑞,徐刚,郑樊,等.海南省温郁金炭疽病的病原鉴定[J].*植物保护*,2018,44(4):81-86.
- [10] XU S, CHRISTENSEN M J, LI Y. Pathogenicity and characterization of *Colletotrichum lentis*: A causal agent of anthracnose in common vetch (*Vicia sativa*) [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2017, 149: 719-731.
- [11] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]. New York: Academic Press, 1990: 315-322.
- [12] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes [J]. *Mycologia*, 1999, 91(3): 553-556.
- [13] TEMPLETON M D, RIKKERINK E, SOLON S L, et al. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata* [J]. *Gene*, 1992, 122(1): 225.
- [14] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes [J]. *Mycologia*, 1999, 91(30): 553-556.
- [15] GUERBER J C, LIU B, CORRELL J C, et al. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility [J]. *Mycologia*, 2003, 95(5): 872-895.
- [16] SUDHIR K, GLEN S, KOICHIRO T. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology & Evolution*, 2016(7): 1870.
- [17] SHARMA G, MAYMON M, ELAZAR M, et al. First report of *Colletotrichum aenigma* and *C. perseae* causing anthracnose disease on *Capsicum annum* in Israel [J]. *Crop Protection*, 2022, 152: 105853.
- [18] AYVAR-SERNA S, J F DÍAZ-NÁJERA, MENA-BAHENA A, et al. First report of leaf anthracnose caused by *Colletotrichum tropicale* on oregano (*Origanum vulgare*) in Mexico [J]. *Plant Disease*, 2020, 104(6): 1855.
- [19] 邓洁,莫飞旭,石金巧,等.钩藤炭疽病病原鉴定、生物学特性及防治药剂筛选[J].*中药材*,2020,43(6):1303-1307.
- [20] 何舒,罗激光,王会芳,等.一种淮山炭疽病病原的鉴定及生物学特性研究[J].*中国热带农业*,2020,9(6):94-102.

## Identification and biological characteristics of pathogens causing anthracnose of *Lagerstroemia speciosa*

LIU Zhiyu, LI Zengping, ZHANG Yu

(Institute of Plant Protection/Ministry of Education Key Laboratory of Green Prevention and Control of Tropical Plant Diseases and Pests, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract:** In order to clarify the pathogen species of anthracnose disease infecting *Lagerstroemia speciosa* to provide a theoretical basis for further study on its pathogenesis, diagnosis and control, the leaves of *L. speciosa* infected with anthracnose disease were sampled and isolated, and the isolates were determined in terms of pathogenicity and morphological characteristics and analyzed by using ITS, ACT, GAPDH and CHS sequence analysis. The isolates were identified as *Colletotrichum aenigma*, a pathogen causing anthracnose disease of *L. speciosa*. Biological characteristics tests showed that the pathogen had optimum mycelial growth when cultured at 30 °C on the PDA medium with pH 8. Dark culture was conducive to mycelial growth of the pathogen, and the mycelia of the pathogen grew fast on both the PDA and PSA media.

**Keywords:** *Lagerstroemia speciosa*; anthracnose disease; *Colletotrichum aenigma*; biological characteristics

(责任编辑:罗启香 责任编辑:叶静)