

贵州省余庆县茶褐枯病病原菌的鉴定

王 雪¹, 王 勇^{1,2}, 尹桥秀¹, 李冬雪¹, 任亚峰¹,
江仕龙^{1,2}, 王德炉³, 宋宝安¹, 陈 卓^{1*}

(1. 贵州大学绿色农药与农业生物工程教育部重点实验室, 贵阳 550025;

2. 贵州大学农学院, 贵阳 550025; 3. 贵州大学林学院, 贵阳 550025)

摘要 为鉴定引起茶褐枯病的病原菌,本研究对病原菌进行分离、纯化和培养,通过柯赫氏法则验证菌株的致病性,并观察病原菌的形态特征,依据病原菌 rDNA-ITS、ACT、CAL 和 TUB2 基因进行多基因系统发育分析。结果显示:病原菌分生孢子呈淡蓝色,表面光滑,无隔膜,圆柱状,两端钝或向底部变窄,水滴状斑点,大小为 $(11.7\sim 29.5)\mu\text{m}\times(3.9\sim 7.7)\mu\text{m}$,平均为 $(19.4\pm 4.4)\mu\text{m}\times(5.4\pm 0.8)\mu\text{m}$,分生孢子梗形成于气生菌丝上,透明,具有隔膜;附着胞为棒状等不规则形状,颜色呈棕色到深棕色,单生。基于病原菌形态学鉴定和多基因系统发育分析结果,将病原菌确定为山茶刺盘孢 *Colletotrichum camelliae*。

关键词 茶褐枯病; 山茶刺盘孢; 形态特征; 致病性分析; 系统发育分析

中图分类号: S 435.711 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019225

Identification of the pathogen of tea brown blight in Yuqing county, Guizhou province

WANG Xue¹, WANG Yong^{1,2}, YIN Qiaoxiu¹, LI Dongxue¹, REN Yafeng¹,
JIANG Shilong^{1,2}, WANG Delu³, SONG Baoan¹, CHEN Zhuo^{1*}

(1. Key Laboratory of Green Pesticides and Agricultural Bioengineering, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

3. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract To identify the pathogen causing tea brown blight disease, we isolated, purified and cultivated the pathogenic fungus from the diseased tea leaves. Its pathogenicity was determined according to Koch's rule, and the morphological characteristics of the pathogen were observed. Phylogenetic analysis of multi-locus sequences, including rDNA-ITS, *actin*, *calmodulin* and *tubulin 2*, was conducted. The results showed that the conidium of the pathogen was hyaline, smooth-walled, aseptate, cylindrical, with obtuse ends or narrowed towards the base, guttulate, $(11.7\sim 29.5)\mu\text{m}\times(3.9\sim 7.7)\mu\text{m}$, and the average was $(19.4\pm 4.4)\mu\text{m}\times(5.4\pm 0.8)\mu\text{m}$. Conidiophores were directly formed from aerial mycelia, hyaline, septate. Appressoria were clavate, irregularly shaped, brown to dark brown, and solitary. Based on phylogenetic analyses and morphology, the pathogen was identified as *Colletotrichum camelliae*.

Key words tea brown blight disease; *Colletotrichum camelliae*; morphological characteristics; pathogenicity analysis; phylogenetic analysis

茶树是多年生灌木或乔木,广泛种植于热带、亚热带和温带地区。茶树病害种类较多,对茶叶的产量和品质构成一定的影响^[1-3]。据报道,世界上已有

记载的茶树病原种类多达 500 余种,我国已记载的茶树病害种类有 138 种^[2]。根据病害在茶树上的发生部位,将其分为叶部病害、茎部病害、根部病害和

收稿日期: 2019-04-30 修订日期: 2019-07-11

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAD23B03);国家重点研发计划后补助(黔科合平台人才[2018]5262);贵州省科技重大专项[黔科合重大专项(2012)6012 号];贵州省科技厅-黔南州人民政府农业科技合作专项计划(2013-01)

* 通信作者 E-mail:gychenzhuo@aliyun.com

花部病害。其中,茶树叶部病害的种类相对其他部位的种类多^[2]。同时,研究发现,同一种病原菌可侵染茶树不同的组织部位,引起不同的组织产生病害^[4-7]。此外,多种病原菌可复合侵染引起茶树病害^[8]。2016 年至今,陆续有茶树新病害和新病原的报道,例如,拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis camelliae* 所引起的茶轮斑病^[9],茶拟盘多毛孢 *P. theae* 引起的黑褐色叶斑病^[10],茎点霉属病原菌 *Phoma segeticola* var. *camelliae* 和 *P. herbarum* 所引起的茶叶斑病^[11-12],果生刺盘孢 *Colletotrichum fructicola* 所引起的茶炭疽病^[13]。茶褐枯病(tea brown blight disease)是由病原真菌所引起的茶树叶部病害,该病害在中国、日本、斯里兰卡、印度等产茶国家均有报道^[14-18]。病害发生初期,病斑呈深褐色,圆形;后期病斑逐渐扩大形成不规则病斑,中央出现凸起的黑色块状物质,四周褪色,边界清晰^[14]。发生茶褐枯病的茶树树势衰退,茶树抽发的新梢、新芽较少,茶叶产量显著降低^[14]。引起茶褐枯病的病原菌有多种,例如,山茶刺盘孢 *C. camelliae*^[19-20]、围小丛壳菌山茶专化型 *Glomerella cingulata* f. sp. *camelliae* 和葡萄座腔菌 *Botryosphaeria dothidea* 可通过复合侵染引起茶褐枯病^[8]等。此外,文献报道 *C. acutatum* 的复合体和 *C. gloeosporioides* 的复合体也可导致茶褐枯病^[14-15, 19]。山茶刺盘孢是最早被鉴定为茶褐枯病的病原菌^[20]。同时,山茶刺盘孢也是茶炭疽病的病原菌之一^[21]。因培养条件的不同,山茶刺盘孢在菌落形态、孢子大小、长宽比等方面存在一定的差异^[7, 19, 21-22]。采用多基因系统发育树的方法是鉴定山茶刺盘孢的主要依据,例如,rDNA-ITS、*TUB2*、*ACT* 和 *CAL* 基因^[20]。

贵州省是我国最大的茶叶产区,截至 2017 年底,全省投产茶园面积稳定在 35 万 hm^2 以上^[23]。由于贵州茶区存在多云雾、寡日照、早春低温阴雨等气候特征,茶树病害的发生率、危害度较其他茶区严重,成为限制贵州省茶产叶产量和质量的重要因素^[11, 23-25]。2016 年 5—8 月,本课题组在贵州省余庆县二龙茶区进行田间调查,发现一种茶树叶部病害,个别茶园病害发生率达 35%至 48%,病害严重度在 32%至 43%,其病害特征与茶褐枯病症状相似(图 1)。为了明确该病的病原菌,本文对该病害的

病原菌进行分离、纯化、形态学观察、多基因系统发育树分析,以及致病性试验,确定引起该地区茶树叶部病害的病原为山茶刺盘孢。本研究为该病害的防控提供了重要的数据参考。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离、培养和纯化

2016 年 5 月—8 月,在贵州省余庆县二龙茶区采集具有典型茶褐枯病症状的茶树叶片,参照本课题组前期研究方法,将分离好的组织叶片置于 25℃ 培养箱中的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)上^[11, 24]。培养 3~4 d 后挑取边缘菌丝进行纯化,得到 3 个形态相似的代表性菌株,将其保存于本实验室的农作物病害标本室。

1.2 形态学观察

将菌株接种到 PDA 培养基上,置于 25℃ 培养箱中 7 d,挑取 PDA 培养基上少许菌丝制片,采用光学显微镜(Olympus, BX43 和 FVMPE-RS)和扫描电镜(Hitachi, S-3400N)观察病原菌的菌落、菌丝、分生孢子梗、分生孢子及附着胞的形态特征,并记录大小。

1.3 致病性测试

挑取在 PDA 培养基中培养 5 d 后的菌碟($d=4$ mm)接种至经针刺和剪切处理后的茶叶片、茎及花上,采用湿润的无菌脱脂棉进行 48 h 保湿^[11, 24, 26]。套上保鲜袋,置于 25℃ 人工气候箱中进行恒温培养。同时接种无菌 PDA 的叶片、茎及茶花作为空白对照。48 h 后取下脱脂棉及菌碟,并定期观察及记录症状变化。每个处理方式均 15 个重复。对发病部位进行再分离,确定其与接种菌株是否一致。上述试验独立重复 3 次。

1.4 分子鉴定

根据 Weir 等^[20]报道的引物,对核糖体内转录区(rDNA-ITS)、肌动蛋白(*ACT*)、钙调蛋白(*CAL*)、微管蛋白(*TUB2*)基因进行扩增及测序,其中,*CAL* 采用 CL1 和 CL2A 引物进行扩增,*TUB2* 采用 T1 和 Bt-2b 引物进行扩增。基因序列采用 NCBI-BLAST 在线比对,其结果用以确定属级分类地位。测序结果上传 GenBank 获取登录号,并下载相关的参比序列。采用 PAUP v 4.0b10(Swofford

2003)及最大简约法(maximum parsimony, MP)进行聚类分析及进化树构建,rDNA-ITS、TUB2、ACT和CAL 基因的系统发育树分析方法选择 Bootstrap,重复次数(replication)为1 000,最大的树数目(maxtree)设置为5 000。小于50的自展值在发育树上不体现。

1.5 数据分析

数据采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。采用 ANOVA (LSD)对各组间的数据进行方差分析。统计学差异采用顺序字母标注法进行标注。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离与纯化

从有典型茶褐枯病症状的茶树叶片分离纯化出15个菌株,其中山茶刺盘孢 *C. camelliae* 菌株最多,共10个,比例约为66.7%,同时也分离到枝状枝孢 *Cladosporium cladosporioides*、荸荠茎点霉秆枯病菌 *Didymella bellidis*、双乳突炭层菌 *Nemania bipapillata* 和棕榈拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis trachicarpicola* 等菌株。选择 GZYQ-2016-01 等3个代表性菌株进行深入研究。

2.2 病原菌形态学鉴定

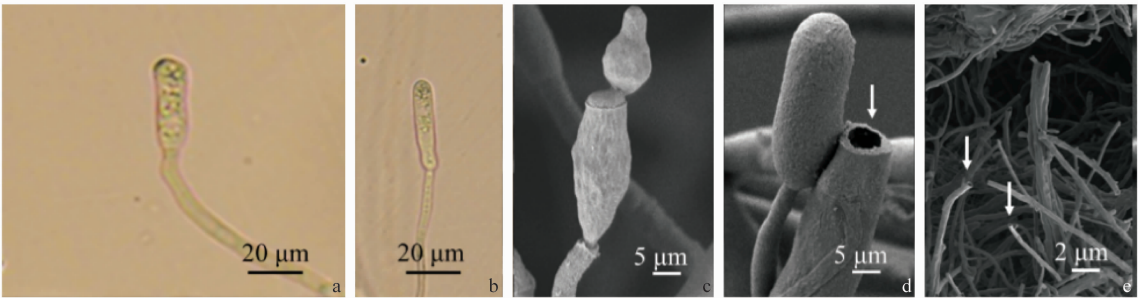
GZYQ-2016-01 菌株在 PDA 培养基上为白色菌丝,边缘气生状,中间绒毛状,边缘平整。培养8 d

后,菌落中央颜色加深,变为灰褐色。观察发现,分生孢子梗形成于气生菌丝上,透明,具有隔膜(图2a~c);分生孢子梗顶端产生分生孢子,随着分生孢子的成熟和变大,分生孢子与分生孢子梗分离(图2c),并在分生孢子梗末端形成断面和缺口(图中箭头所示)(图2d~e)。镜下未观察到厚垣孢子、产孢细胞及有性型。孢子呈淡蓝色,表面光滑,无隔膜,圆柱状,两端钝或向底部变窄,水滴状斑点,大小为(11.7~29.5)μm×(3.9~7.7)μm,平均为(19.4±4.4)μm×(5.4±0.8)μm,长宽比=3.6,n=50,镜下未观察到刚毛(图3a~b)。附着胞为棒状等不规则形状,颜色呈棕色到深棕色,单生,大小为(11.9~25.1)μm×(5.6~16.4)μm,平均为(15.6±2.4)μm×(10.0±2.7)μm,长宽比=1.56,n=50(图中箭头所示)(图3c~d)。



图1 茶褐枯病田间症状

Fig. 1 The disease symptoms of tea brown blight in the field



a~e: 分生孢子梗及分生孢子
a~e: Conidiophores and conidia

图2 茶褐枯病菌分生孢子梗在光学显微镜和扫描电镜下的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of conidiophores of tea brown blight pathogen under optical microscope and scanning electron microscope

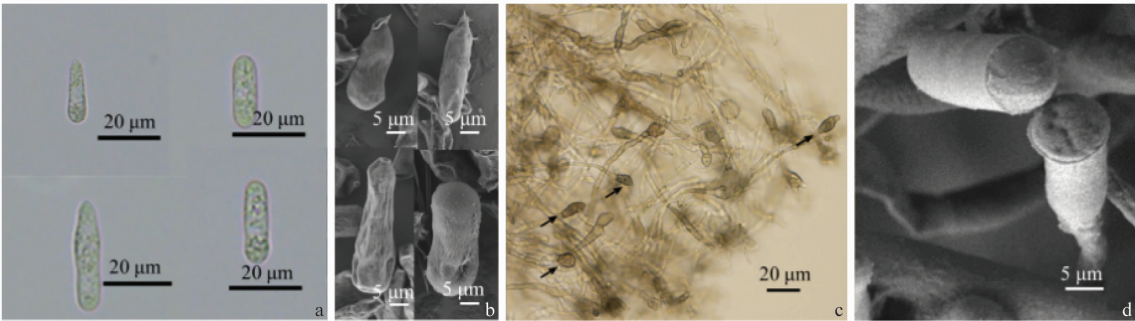
2.3 病原菌的致病性测定

茶树叶片采用剪切法和针刺法,嫩茎采用剪切法,茶花花瓣采用针刺法接种无菌 PDA 或菌株 GZYQ-2016-01,并定时观察和记录症状。接种无菌 PDA 未导致叶、茎和花产生病斑(图4a~d)。接种

病原菌至叶、茎和花2 d后,均可见较为明显的病斑,其中,叶片伤口处呈褐色,边缘为黑色。当时间延长至10 d,2种处理的叶部病斑都不断扩大(图4e~f)。接种病原菌10 d后,茎部病斑不断扩大,呈黑褐色(图4g),上位叶萎蔫(图片未显示)。

接种病原菌 4 d,花瓣接种处变为灰褐色,花瓣萎蔫(图 4h)。其中,叶部症状与田间症状相似。进一步对病斑中的病原菌进行分离培养及分子鉴定,结果表明与接种菌一致。进一步对茶叶针刺和剪切

处理 10 d 的发病率和病斑大小进行统计,表明剪切处理的侵染率与针刺处理相同($P<0.05$),并且 2 种处理在接种后期的病斑大小差异不明显($P<0.05$)(表 1)。



a~b: 分生孢子; c~d: 附着胞
a~b: Conidia; c~d: appressoria

图 3 茶褐枯病菌分生孢子和附着胞在光学显微镜和扫描电镜下的形态特征

Fig. 3 Morphological characteristics of conidia and appressoria of tea brown blight pathogen under optical microscope and scanning electron microscope



a~d: 叶、茎和花的对照处理,其中,a和c为剪切法接种无菌PDA 10 d,b和d为针刺法接种无菌PDA 10 d和4 d;e~h: 叶、茎和花的试验处理,其中,e和g为剪切法接种病原菌10 d,f和h为针刺法接种病原菌10 d和4 d
a-d: Controls of leaf, stem and petal; a and c: Inoculation with PDA plugs without mycelia by using cutting method for 10 d; b and d: Inoculation with PDA plugs without mycelia by using needling method for 10 d and 4 d. e-h: Treatment of leaf, stem and petal; e and g: Inoculation with the pathogen by using cutting method for 10 d; f and h: Inoculation with the pathogen by using needling method for 10 d and 4 d

图 4 茶树叶片、茎、花接种菌株 GZYQ-2016-01 不同时间后的病斑

Fig. 4 Disease lesions on tea leaf, stem and flower at different time points after inoculation with strain GZYQ-2016-01

2.4 病原菌分子生物学鉴定

在获得菌株 GZYQ-2016-01 的 rDNA-ITS (MK058490)、CAL (MK078541)、TUB2 (MK192296)、ACT(MK078543)等基因登录号后,序列比对发现菌株 GZYQ-2016-01 与 *C. camellia* 的模式菌株 (LF152)的 4 个基因序列相似性非常高。我们采用 4 个基因(rDNA-ITS+TUB2+CAL+ACT)加合的方法进行系统学分析。4 个基因加合总长度为 2 305 个位点(ACT:1—282, rDNA-ITS: 283—876,

TUB2: 877—1 571, CAL: 1 572—2 305)。其中,简约信息位点 20 个,可变非简约信息位点 72 个,并采用 PAUP v 4. 0b10(Swofford 2003)软件构建进化树。运行结果显示获得 1 个进化树($TL=105$, $CI=0.93$, $RI=0.85$, $RC=0.80$, $HI=0.07$)(图 5)。系统学的分析将 GZYQ-2016-01 与模式菌株 *C. camelliae* LF152 归为一个分支(自举支持率为 96%)。

表 1 针刺和剪切接种处理茶树叶片和茎 10 d 后的发病情况¹⁾

Table 1 Disease analysis of tea leaf and stem treated by needling and cutting after 10 d post-inoculation				
处理 Treatment	接种数 Number of inoculations	发病数 Number of lesions	发病率/% Incidence	病斑平均直径/cm Mean diameter of lesions
无菌水(CK) Sterile water	15	0	0 b	0
针刺 Needling				
叶片 Leaf lamina	15	15	100 a	0.50
茎 Stem	15	15	100 a	0.41
剪切 Cutting				
叶片 Leaf lamina	15	15	100 a	0.54
茎 Stem	15	15	100 a	0.45

1) 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

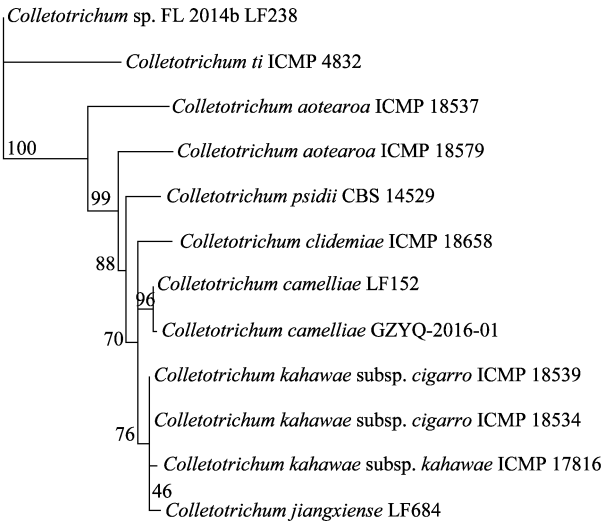


图 5 基于 rDNA-ITS、TUB2、CAL、ACT 多基因系统发育树
Fig. 5 The MP consensus tree based on multi-locus sequences of rDNA-ITS, TUB2, CAL and ACT

3 讨论

本研究从贵州省余庆县茶褐枯病的病害样品中分离获得与菌株 GZYZ-2016-01 高度相似的 3 个菌株,根据柯赫氏法则,确认其为茶褐枯病的致病菌。基于形态学特征和 4 个基因序列所构建的系统发育树初步确定菌株 GZYZ-2016-01 等为山茶刺盘孢。

当前,山茶刺盘孢的分类主要依据于形态学结合多基因系统发育树的方法^[27]。*C. camelliae* 或

G. cingulata f. sp. *camelliae* 的病原形态学研究表明,该菌的菌落形态等受培养条件、寄主等因素影响而存在一定差异。例如,*G. cingulata* f. sp. *camelliae* 的菌株 ICMP18542、ICMP10643、ICMP10646,以及 *C. camelliae* CGMCC 3.14925 在 PDA 培养基上的菌落形态和生长速率有着一定的差异^[19, 22]。本研究发现菌株 GZYZ-2016-01 在 PDA 上的菌落形态与 *G. cingulata* f. sp. *camelliae* ICMP18542 的菌落形态相似。通过比较 *C. camelliae* 或 *G. cingulata* f. sp. *camelliae* 菌株在 PDA、TWA 或 SNA 培养基上产孢细胞、分生孢子梗、分生孢子或附着胞等形态,发现它们的分生孢子和产孢细胞在大小或形状上存在一定差异。例如,*G. cingulata* f. sp. *camelliae* 的分生孢子 在 PDA 上的长度大于 TWA 上的长度,但宽度要小^[7]。本研究发现菌株 GZYZ-2016-01 的分生孢子大小为 $(11.7\sim29.5)\mu\text{m}\times3.9\sim7.7\mu\text{m}$,平均为 $(19.4\pm4.4)\mu\text{m}\times(5.5\pm0.8)\mu\text{m}$,长宽比=3.6,比 *C. camelliae* Massee 长宽比大。同时,中国江苏分离物 *C. camelliae* JS1A35 的长宽比=2.5,中国云南分离物 YN2A1 的长宽比=3.1。表明本研究所分离的 *C. camelliae* GZYZ-2016-01 在分生孢子形态上与文献具有一定差异^[21]。菌株 GZYZ-2016-01 产生分生孢子梗,与 *C. camelliae* JS1A35 的分生孢子梗形状相似。此外,附着胞的形态也存在一定的差异^[19]。

由于山茶刺盘孢在微观形态上存在多样性,给病原的诊断带来困难。Liu 等采用 ACT、CAL、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、谷氨酰胺合成酶(GS)、rDNA-ITS 和 TUB2 进行多基因系统发育树分析^[19]。Wang 等为了区别炭疽种类和胶孢炭疽的复合体,则采用 rDNA-ITS、ACT、GAPDH、CAL、几丁质合成酶(*CHS-1*)、TUB2 和 GS 基因进行多基因系统发育树分析^[21]。而本研究对文献所涉及的基因进行扩增和测序,综合现有模式菌株的基因序列等信息,选择了 rDNA-ITS、TUB2、CAL 和 ACT 4 个基因进行系统发育树的构建,结果表明菌株 GZYZ-2016-01 与 *C. camelliae* LF152 自举支持率为 96%,表明菌株 GZYZ-2016-01 为 *C. camelliae*。本研究发现菌株 GZYZ-2016-01 在致病性上与 Dickens 等报道有相似之处^[7],菌株 GZYZ-2016-01 和 *G. cingulata* f. sp. *camelliae* isolate 82437 均可导致叶和茎部产生病斑,同时,病原只能通过损伤方

式入侵,无损方式不能产生病症。Wang 等^[21]认为 *C. camelliae* 为中国茶树炭疽菌的优势种,同时 Liu 等^[19]认为 *C. camelliae* 也是茶褐枯病的病原菌,因此,我们认为同种病原菌会引起茶树产生不同的病害症状,其主要原因可能是与茶树的抗性品种、病害发生的地理、气候、茶园微生物种群结构等因素相关。因此,结合分子生物学鉴定结果及形态学特征,我们确定贵州省余庆县茶区茶褐枯病的病原菌 GZYZ-2016-01 等为 *C. camelliae*。

参考文献

- [1] 陈宗懋,陈雪芬. 茶树病害的诊断和防治[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990:1-275.
- [2] 孙晓玲. 中国重要茶树叶部病害的研究现状及展望[J]. 中国茶叶,2016(12):12-13.
- [3] 陈宗懋,孙晓玲. 茶树主要病虫害简明识别手册[M]. 北京:中国农业出版社,2013:2-65,148-152,199-202.
- [4] 任亚峰,包兴涛,李冬雪,等. 茶树叶斑病病原菌可可毛色二孢菌的鉴定[J]. 植物病理学报,2019,49(6):857-861.
- [5] SHISHIKOFF N. Susceptibility of camellia to *Phytophthora ramorum* [J]. Plant Health Progress, 2006, doi: 10. 1094/PHP-2006-0315-01-RS.
- [6] SINNAH G D, MUNASINGGHE C E, MAHADEVAN N, et al. Recent incidence of collar canker and dieback of tea (*Camellia sinensis*) cause by *Fusarium solani* species complex in Sri lanka [J]. Australasian Plant Disease Notes,2017,12(1):41.
- [7] DICKENS J S W, COOK R T A. *Glomerella cingulata* on camellia [J]. Plant Pathology, 1989, 38(1): 75-85.
- [8] 张永乐,刘会香,许永玉,等. 围小丛壳菌山茶专化型与葡萄座腔菌复合侵染引致茶褐枯病[J]. 茶叶科学,2018,38(1):87-93.
- [9] CHEN Yingjuan, ZENG Liang, SHU Na, et al. First report of *Pestalotiopsis camelliae* causing grey blight disease on *Camellia sinensis* in China [J]. Plant Disease, 2017, 101(6): 1034.
- [10] WANG Zhenhua, ZHAO Zixi, HONG Ni, et al. Characterization of causal agents of a novel disease inducing brown-black spots on tender tea leaves in China [J]. Plant Disease, 2017, 101(10): 1802-1811.
- [11] 赵晓珍,王勇,李冬雪,等. 茶树新病害病原菌 *Phoma segeticola* var. *camelliae* 的形态学及系统学研究[J]. 植物病理学报,2018,39(9):556-559.
- [12] KUBERAN T, DENG Cheng, CHENG Linlin, et al. Report of *Phoma herbarum* causing leaf spot disease of *Camellia sinensis* in China [J]. Plant Disease, 2018, 102(11): 2373.
- [13] SHI Niuniu, DU Yixin, RUAN Hongchun, et al. First report of *Colletotrichum fructicola* causing anthracnose on *Camellia sinensis* in Guangdong province, China [J]. Plant Disease, 2017, 102(1): 241.
- [14] CHEN Yingjuan, TONG Huarong, WEI Xu, et al. First report of brown blight disease on *Camellia sinensis* caused by *Colletotrichum acutatum* in China [J]. Plant Disease, 2015, 100(1): 227.
- [15] GUO Min, PAN Yuemin, DAI Yuli, et al. First report of brown blight disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on *Camellia sinensis* in Anhui province, China [J]. Plant Disease, 2014, 98(2): 284.
- [16] CHEN Yingjuan, QIAO Wenjun, ZENG Liang, et al. Characterization, pathogenicity, and phylogenetic analyses of *Colletotrichum* species associated with brown blight disease on *Camellia sinensis* in China [J]. Plant Disease,2017,101(6):1022-1028.
- [17] CHAKRABORTY U, DAS R, BASU P, et al. Serological cross reactivity between *Glomerella cingulata* by *Camellia sinensis* [J]. Indian Phytopathology, 2002, 55(1): 1-7.
- [18] WILLIS J C. Bulletin of miscellaneous information (Royal Botanic Gardens, Kew) [M]. London: Nabu Press, 1899: 89-94.
- [19] LIU F, WEIR B S, DAMM U, et al. Unravelling *Colletotrichum* species associated with Camellia: employing ApMat and GS loci to resolve species in the *C. gloeosporioides* complex [J]. Persoonia, 2016, 35(1): 63-86.
- [20] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex [J/OL]. Studies in Mycology, 2012, 73(1): 115-180.
- [21] WANG Yuchun, HAO Xinyuan, WANG Lu, et al. Diverse *Colletotrichum* species cause anthracnose of tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) in China [J/OL]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 35287.
- [22] SHARMA G, PINNAKA A K, SHENOY B D. Resolving the *Colletotrichum siamense* species complex using ApMat marker [J]. Fungal Diversity, 2015, 71(1): 247-264.
- [23] 陈松,任亚峰,李冬雪,等. 贵州茶树病害可持续控制的研究与应用路径探索[J]. 中国植保导刊,2018,38(10):85-90.
- [24] 李冬雪,赵晓珍,王勇,等. 贵州惠水县茶轮斑病病原菌的鉴定[J]. 热带作物学报,2018,39(9):1827-1833.
- [25] LI Dongxue, BAO Xingtao, REN Yafeng, et al. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing leaf spot on tea plant in Guizhou province of China [J]. Plant Disease, 2018,103(2): 374.
- [26] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998:46-50.
- [27] CAI Liu, HYDE K D, TAYLOR P W J, et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum* [J]. Fungal Diversity, 2009, 39(12): 183-204.

(责任编辑:田喆)