

许兆葳, 李莎, 赵俊生, 欧阳乐军, 赵永国, 沈超, 张玲, 陆光远, 刘杰凤, 王俊霞. 不同荔枝品种对炭疽病抗性鉴定与评价 [J]. 广东农业科学, 2025, 52 (1): 70–80.

XU Zhaowei, LI Sha, ZHAO Junsheng, OUYANG Lejun, ZHAO Yongguo, SHEN Chao, ZHANG Ling, LU Guangyuan, LIU Jiefeng, WANG Junxia. Identification and evaluation of resistance of different litchi cultivars to anthracnose [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2025, 52 (1): 70–80.

不同荔枝品种对炭疽病抗性鉴定与评价

许兆葳¹, 李莎², 赵俊生³, 欧阳乐军², 赵永国², 沈超²,

张玲², 陆光远², 刘杰凤², 王俊霞¹

(1. 华南农业大学植物保护学院, 广东 广州 510642; 2. 广东石油化工学院生物与食品工程学院 /

广东省农产品绿色生产与农业智能装备重点实验室, 广东 茂名, 525000;

3. 茂名市农业科技推广中心, 广东 茂名 525000)

摘要:【目的】本研究旨在鉴定广东茂名地区荔枝炭疽病的病原菌种类及优势生理小种, 并评估当地 28 个主栽荔枝品种对炭疽病的抗性, 为开展荔枝抗病育种及病害防控提供科学依据。【方法】采用组织分离法, 从国家荔枝种质资源圃(茂名)采集的疑似病叶及病果中分离炭疽病菌, 并结合形态特征观察和多基因系统学分析对病原菌进行鉴定。采用离体接种法, 对 28 个主栽荔枝品种的叶片和果实进行炭疽病离体接种, 通过测定病斑面积、病情指数等指标, 并采用欧式平方距离法和组内联结法进行聚类分析, 评估各品种的抗病性。【结果】成功分离出 2 种荔枝炭疽病原菌, 共计 8 个菌株; 系统发育树分析表明, 6 株为暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*), 2 株为果生炭疽菌(*C. fructicola*), 其中菌株 LZTJ1 致病力最强。在 27 份荔枝品种的叶片和 18 份荔枝品种的果实中进行离体接种鉴定, 分别发现 11 个(40.74%)和 9 个(50.00%)荔枝品种具有较好的炭疽病抗性。通过叶片接种鉴定获得 5 份高抗品种, 果实接种鉴定获得 3 份高抗品种, 叶片和果实同时抗病的品种为‘御金球’‘白蜡’和‘冰荔’。此外, 同一品种的不同部位感病性有所不同, 果实相较于叶片具有更高的敏感性。通过聚类分析, 将 17 个荔枝品种的抗病性划分为 4 类, 其中抗性品种占比为 35.29%, 大部分品种属于感病品种。【结论】本研究明确了茂名地区荔枝炭疽病原菌的种类及致病力差异, 并探明当地主栽荔枝品种对炭疽病的抗性。鉴定出的‘御金球’‘白蜡’和‘冰荔’3 个抗炭疽病品种可作为未来抗病育种的重要亲本材料。

关键词: 荔枝品种; 炭疽菌; 离体接种; 抗性鉴定; 聚类分析; 炭疽病分级

中图分类号: S436.67

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2025) 01-0070-11

Identification and Evaluation of Resistance of Different Litchi Cultivars to Anthracnose

XU Zhaowei¹, LI Sha², ZHAO Junsheng³, OUYANG Lejun², ZHAO Yongguo²,

SHEN Chao², ZHANG Ling², LU Guangyuan², LIU Jiefeng², WANG Junxia¹

(1. College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. College of Biology and Food Engineering, Guangdong University of Petrochemical Technology /

Guangdong Key Laboratory of Green Production of Agricultural Products and Agricultural Intelligent Equipment,

Maoming 525000, China; 3. Maoming Agricultural Science and Technology Promotion Center, Maoming 525000, China)

收稿日期: 2024-10-02

基金项目: 广东省重点领域研发计划(2018B020202011、2021B0707010003); 广东省普通高校重点领域专项项目(2020ZDZX1056); 国家荔枝龙眼产业技术体系茂名综合试验站专项(CARS-32-17); 广东省科技创新战略专项(2021S0065、2021S0064)

作者简介: 许兆葳(1998—), 男, 在读硕士生, 研究方向为热带果树病害防治, E-mail: 2454548664@qq.com

通信作者: 刘杰凤(1962—), 女, 教授, 研究方向为农业微生物, E-mail: liujiefeng@gdupt.edu.cn;

王俊霞(1972—), 男, 副教授, 研究方向为果树致病机理, E-mail: junxiawang@scau.edu.cn

Abstract: 【Objective】 The study aims to identify the species and dominant physiological races of *Colletotrichum* causing anthracnose in litchi in Maoming, and to evaluate the resistance of 28 main litchi cultivars grown locally to anthracnose, providing scientific basis for disease-resistant breeding and disease control. 【Method】 The tissue separation method was used to isolate *Colletotrichum* from suspected diseased leaves and fruits collected from the National Litchi Germplasm Nursery (Maoming). Pathogen identification was conducted through morphological observation and multi-gene phylogeny analysis. Subsequently, an *in vitro* inoculation method was employed to inoculate the leaves and fruits of 28 main litchi cultivars with anthracnose. The resistance of various cultivars was evaluated by measuring the lesion area and disease index, and cluster analysis was conducted by Euclidean square distance intra-group association method. 【Result】 Two species of *Colletotrichum*, totaling 8 strains, were successfully isolated and identified. Phylogenetic tree analysis showed that, among these strains, 6 were *Colletotrichum siamense* and 2 were *C. fructicola*, with strain LZTJ1 exhibiting the strongest pathogenicity. The *in vitro* inoculation conducted on leaves of 27 cultivars and fruits of 18 cultivars revealed that, 40.74% (11) and 50.00% (9) of the cultivars exhibited good resistance to anthracnose, respectively. Specifically, five highly resistant cultivars were identified from leaves inoculations, and three from fruits inoculations, with ‘Yujinqiu’, ‘Baila’ and ‘Bingli’ being resistant to both leaf and fruit infections. Additionally, it was found that different parts of the same cultivar showed different susceptibility, with fruits generally more sensitive than leaves. Through cluster analysis, the resistance of 17 litchi cultivars was divided into four categories, with 35.29% being resistant and most cultivars being susceptible. 【Conclusion】 The study revealed the differences in the categories and pathogenicity of litchi anthracnose pathogens in Maoming area, and identified the resistance of local main litchi cultivars to anthracnose. The identified anthracnose-resistant cultivars such as ‘Yujinqiu’, ‘Baila’ and ‘Bingli’ can be used as important parent materials for future disease-resistant breeding.

Key words: litchi cultivar; *Colletotrichum* spp.; *in vitro* inoculation; resistance identification; cluster analysis; anthracnose grading

【研究意义】荔枝 (*Litchi chinensis*) 为无患子科荔枝属亚热带常绿果树, 是著名的热带水果。2024 年, 广东茂名地区的荔枝种植面积近 9.3 万 hm^2 , 产量占全国的四分之一, 素有“中国荔都”美誉, 也是全球最大的连片荔枝生产基地。目前, 茂名建设有世界最大的国家荔枝种质资源圃, 收集保存有 700 余份来自全球的荔枝种质资源^[1]。近年来, 随着农业集约化栽培技术推广与种植密度提升, 加之管理经验不足与复杂气候的挑战, 茂名荔枝产业面临炭疽病等病害的严重威胁。荔枝炭疽病作为主要的真菌性病害之一, 可为害叶片、花穗、枝梢及果实, 导致落花落果及果实采后褐变和腐烂, 严重影响荔枝的产量与品质^[2]。荔枝炭疽病的防控主要依赖于化学药剂, 如麦角甾醇生物合成抑制剂、二硫代氨基甲酸盐类等, 但化学药剂防控存在效果减弱、病原菌抗药性增强及环境污染等风险^[3-4]。因此, 选育抗性品种是田间预防和控制植物病害的有效策略。【前人研究进展】荔枝炭疽病主要由炭疽菌属 (*Colletotrichum* spp.) 真菌引发。传统的炭疽菌属鉴别工作主要围绕其寄主范围及形态

特征展开, 但这些特征易受环境因素影响, 在物种鉴别上可靠性欠佳^[5]。近年来, 多基因序列系统发育分析与形态学数据相结合的方法已成为炭疽菌种鉴别的新方法, 揭示了众多新的炭疽菌种^[6-8]。已报道的荔枝炭疽病原菌主要有胶孢刺盘孢 (*C. gloeosporioides*)、果生刺盘孢 (*C. fructicola*)、暹罗刺盘孢 (*C. siamense*) 等^[9-13]。荔枝炭疽病原菌在不同地区存在差异, 具有遗传多样性, 且致病力和生物学特性也各不相同^[14]。尽管许多学者已从病原菌鉴定、影响因素、发病规律、流行规律、药剂防治等方面进行荔枝炭疽病研究, 但关于抗荔枝炭疽病的种质鉴定评价相关研究仍相对较少。李芳等^[15]对 55 份海南荔枝品种的叶片进行荔枝炭疽病的抗病性检测, 鉴定出 11 份高抗品种, 表明利用荔枝种质资源的抗病性进行抗病品种选育具有可行性。

【本研究切入点】由于荔枝种植业中缺乏炭疽病高抗性品种, 需要对茂名地区荔枝品种的炭疽病抗性进行评估, 以明确各品种的抗病性, 筛选适宜当地种植的抗性品种, 推动荔枝产业发展和种质资源优化。【拟解决的关键问题】本研究对

茂名地区荔枝炭疽病病原菌进行分离鉴定, 并通过离体接种和聚类分析法, 对茂名地区的 28 个荔枝主栽品种的果实和叶片的炭疽病抗性进行系统性评价, 旨在揭示不同品种间的抗病性差异, 筛选优良抗性品种, 为荔枝品种改良、抗病育种及科学栽培提供坚实的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于 2023 年 7 月从国家荔枝种质资源圃(茂名)(21° 46' 55.862"N, 111° 0' 33.052"E)筛选荔枝炭疽病疑似病叶及病果进行病原菌分离。于 2024 年 6 月, 以资源圃中的 27 个荔枝品种叶片和 18 个荔枝品种果实(涵盖 28 个主栽荔枝品种)为试验材料, 进行荔枝炭疽病抗性鉴定。供试 28 个荔枝品种分别为‘9912’‘凤凰荔’‘白糖罂’‘观音绿’‘塘夏红’‘妃子笑’‘黑叶’‘红 1’‘井岗红糯’‘仙进奉’‘糯米糍’‘钦州红荔’‘桂糯’‘紫娘喜’‘新球蜜荔’‘贵妃红 3’‘水晶球’‘鉴江红糯’‘岭丰糯’‘庙种荔’‘桂味’‘越州红’‘鸡嘴荔’‘英山红’‘白腊’‘冰荔’‘御金球’和‘三月红’。

1.2 病原菌分离

根据张新春等^[16]的方法, 进行病原菌分离鉴定。剪下病部组织, 用蒸馏水漂洗 2 次, 75% 乙醇消毒 10 s, 无菌水清洗 2 次, 再接种至马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基上, 28℃培养 6 d。挑取边缘菌丝, 接种至新的培养基中进行纯化培养, 纯化培养 3 次以上。纯化完成后置于 4℃冰箱保存、备用。

1.3 病原菌形态学观察鉴定

从 4℃冰箱取出备用菌板, 无菌操作下以针头挑取菌丝, 接种至新 PDA 培养基, 置于 28℃培养箱活化 5~6 d。选取边缘菌落菌丝, 接种于新 PDA 培养基中央, 28℃培养 24 h 后, 观察菌落的生长状态, 直至分生孢子形成。镜检并拍照记录 20 个孢子, 用 ImageJ 软件测定其大小并观察形态特征。

附着胞诱导: 配制适量的孢子悬浮液, 取 20 μL 孢子悬浮液至无菌凹槽载玻片, 置于培养皿内, 在 28℃恒温、黑暗环境下, 保湿培养

12 h。利用光学显微镜(40 倍), 仔细观察并记录附着胞的形态学特征。

1.4 分子生物学鉴定

菌株培养 6 d 后, 用无菌针头挑取菌丝, 采用直接 PCR, 用快速裂解液裂解菌体, 裂解后的上清液作为 PCR 反应模板, 利用真菌核糖体内转录间隔区(ITS)^[17]、β-微管蛋白(TUB)^[18]、肌动蛋白(ACT)^[19]和 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)^[20]基因的特异引物进行 PCR 扩增。产物经电泳验证后, 送北京擎科生物科技股份有限公司(广州)进行纯化、双向测序, 并与 NCBI GenBank 序列比对。

根据菌株比对的结果初步判断其在炭疽属复合群的分类地位, 下载该复合群相似度较高的菌株序列及其模式菌序列^[21]。使用 MEGA7 软件构建最大似然法(Maximum Likelihood)系统发育树。

1.5 病原菌致病力鉴定

采用离体试验对荔枝叶片进行接种测定病原菌致病力^[22]。选取健康荔枝‘妃子笑’的叶片, 先用蒸馏水冲洗干净, 晾干, 于叶片背面中部对称的两边用无菌针头各刺 1 个伤口, 在培养基上取直径 5 mm 菌块, 菌丝朝向接种于叶片伤口处, 28℃恒温培养^[14-16]。每个菌株选择 8~15 片叶片, 重复 3 次, 记录叶片发病情况。

接种 72 h 后, 观察荔枝叶片的发病情况。采用十字交叉法测量病斑直径, 拍照并使用 ImageJ 软件测量病斑面积, 结果以平均值(±标准差)表示。根据李芳等^[12]病斑面积的分级标准对接种后病斑的测量结果进行分级, 分级标准见表 1。

1.6 不同荔枝品种抗病性鉴定

将荔枝炭疽菌菌株(LZTJ1)接种于 PDA 固

表 1 病斑面积分级标准
Table 1 Grading standard of lesion area

病斑面积 Lesion area (S, mm ²)	病级 Disease grade
0< S ≤ 8	1
8< S ≤ 16	2
16< S ≤ 23	3
23< S ≤ 30	4
30< S ≤ 40	5
S>40	6

体培养基上, 28℃培养 6 d, 沿菌落边缘用打孔器制备 5 mm 菌饼备用。通过针刺菌饼接种法, 对不同荔枝品种的炭疽病抗性进行鉴定。

叶片接种: 选取健康无损、生长均匀的叶片, 经蒸馏水清洗并擦干后置于保湿保鲜盒中, 叶柄处垫湿纸巾以保持湿度。使用无菌针头在叶片主脉两侧宽处各刺 1 孔, 随后于背面针孔处覆盖菌饼, 密封保鲜盒以维持湿度。

果实接种: 选取健康且发育一致的果实, 洗净并自然晾干后置于保鲜盒。利用无菌针头在果皮中部制造微小刺孔(避免穿透), 覆盖菌饼后密封保湿。

接种样本置于 28℃环境培养, 每日监测病原菌侵染情况。每处理组选择 8~15 个叶片或果实, 重复 3 次。接种后第 3 天记录病斑变化并测量面积。

1.7 数据处理及分析

使用 SPSS 27.0 和 Microsoft Excel 2016 软件进行数据分析, 并通过组内联结法、平方欧氏距离法等方法进行聚类分析^[23]。试验数据进行单因素差异分析(One-way analysis of variance, ANOVA)。病情指数计算公式如下:

病情指数 (DI) = Σ (病斑数 × 病级数值) / (总病斑数 × 最高级数值) × 100

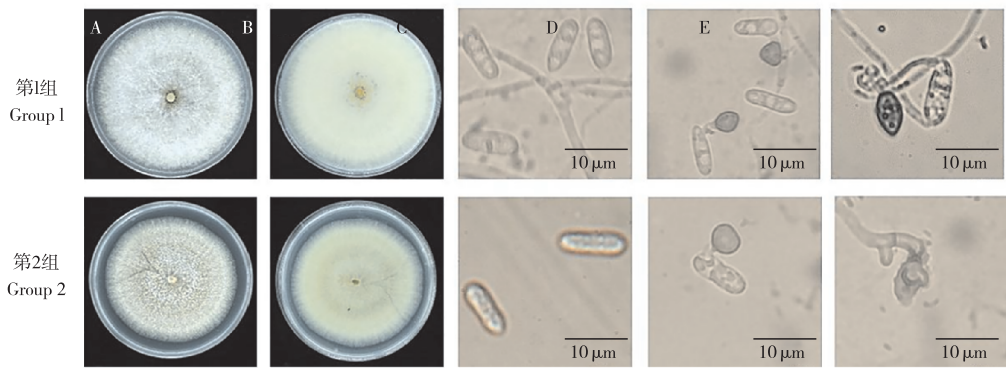
隶属函数值计算公式:

$\mu(X) = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$

2 结果与分析

2.1 病原菌的形态学鉴定

对国家荔枝种质资源圃(茂名)进行病害调查, 采集炭疽病典型病果病叶样本进行病原菌分离。经形态学初筛, 获得 8 株疑似炭疽菌(分别编号为 LZTJ1~LZTJ8)。根据形态特征, 将 8 株菌株分为 2 组(图 1)。其中第 1 组共 6 株分离菌(LZTJ1、LZTJ3、LZTJ4、LZTJ6、LZTJ7 和 LZTJ8), 菌落平均生长速率约 11.4(±1.2)mm/d; 菌落圆形, 表面平滑、边缘平整, 白色/灰色的致密气生菌丝体; 分生孢子为卵形或圆柱状, 无色且光滑、单孢, 平均大小为 14.3(±2.5)μm × 5.0(±0.8)μm; 附着浅胞棕色, 卵圆形或不规则形, 有时向顶端逐渐变细, 边缘完整。第 2 组共 2 株分离菌(LZTJ2 和 LZTJ5), 菌落平均生长速率为 10.8(±0.6)mm/d; 菌落扁平、整个菌落稀疏, 边缘完整, 气生菌丝白色至灰橄榄绿色、絮状; 分生孢子无色透明, 两端钝圆, 光滑, 无隔膜, 椭圆形或柱状, 平均大小为 14.5(±1.3)μm × 5.1(±0.5)μm; 附着胞棕色, 形状多样, 边缘完整, 有时有隔膜。



A: 菌落正面; B: 菌落背面; C: 分生孢子; D、E: 附着胞; 第 1 组代表菌株: LZTJ1; 第 2 组代表菌株: LZTJ5
A: Colony front; B: Back of colony; C: Conidia; D, E: Appressorium; Representative strains of group 1: LZTJ1; Representative strains of group 2: LZTJ5

图 1 分离菌株形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of isolated strains

2.2 系统发育分析

为进一步确认 LZTJ1~LZTJ8 这 8 株高度疑似炭疽菌的分离菌株所属分类, 对上述 8 个分离

菌株进行 PCR 扩增并测序, 以进行序列比对和构建系统发育树。系统发育树分析发现, 8 株分离菌均与炭疽菌属参考菌株聚类在一起, 其中

分离菌株 LZTJ2 和 LZTJ5 与标准菌株果生炭疽菌(*C. fructicola*)聚为一支,6株分离菌株(LZTJ1、LZTJ3、LZTJ4、LZTJ6、LZTJ7 和 LZTJ8)与标准菌株暹罗炭疽菌(*C. siamense*)聚为一支(图 2)。基于 Cannon 等^[24]的分类框架,标准参考菌株 *C. fructicola* 和 *C. siamense* 均属于胶孢炭疽复合群(*C. gloeosporioides* species complex)的单种。

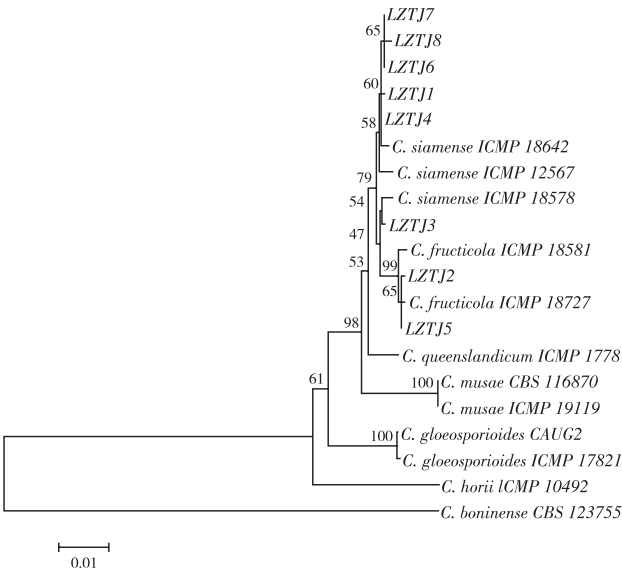


图 2 基于多基因核酸序列构建的炭疽菌系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree of *Colletotrichum* spp. based on polygenic nucleic acid sequences

2.3 不同菌株对荔枝叶片的致病力测定

病斑面积和病斑直径是评估植物病害严重程度的重要指标。相较于病斑直径,病斑面积在精确度和真实性上展现出更明显的优势,能够更全面、敏感地反映病害在植物体上的扩展情况。‘妃子笑’叶片分别接种 8 株菌株 72 h 后,菌株 LZTJ1 的病斑直径和病斑面积最大,LZTJ7 次之;各叶片病斑面积与病斑直径的变化趋势相似(表 2)。根据病情指数,8 株菌株均有致病性,但其致病力有差异,其中菌株 LZTJ1 致病力最强,菌株 LZTJ2 的致病力相对较弱。因此,选择致病力较强的菌株 LZTJ1 作为不同荔枝品种抗病性鉴定的试验菌株。

2.4 不同荔枝品种叶片的炭疽病抗性鉴定评价

叶片接种炭疽病菌株 LZTJ1 后第 3 天发现,不同荔枝品种的发病情况存在差异(图 3、图 4)。

表 2 荔枝炭疽病原菌对‘妃子笑’叶片的致病力情况
Table 2 Pathogenicity of litchi anthracnose strains to ‘Feizixiao’ leaves

菌株编号 Strain No.	种名 Species	病斑直径 Lesion diameter (mm)	病斑面积 Lesion area (mm ²)	病情指数 Disease index
LZTJ1	<i>C. siamense</i>	8.06 ± 2.85ab	49.23 ± 13.51a	86.56a
LZTJ2	<i>C. fructicola</i>	4.41 ± 1.17f	17.62 ± 4.17f	46.62f
LZTJ3	<i>C. siamense</i>	7.06 ± 2.50bc	36.42 ± 12.52c	79.66b
LZTJ4	<i>C. siamense</i>	6.15 ± 2.07e	28.35 ± 9.12de	70.32c
LZTJ5	<i>C. fructicola</i>	6.37 ± 1.97de	27.69 ± 8.48de	64.43d
LZTJ6	<i>C. siamense</i>	5.83 ± 1.48e	25.35 ± 6.55e	59.11e
LZTJ7	<i>C. siamense</i>	7.51 ± 2.34b	42.64 ± 11.36b	81.30b
LZTJ8	<i>C. siamense</i>	6.82 ± 1.56cd	31.50 ± 7.12d	73.10c

注:同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters after data in the same column represent significant differences ($P<0.05$).

不同荔枝品种叶片对炭疽菌感染的敏感程度各异,导致其形成的病斑面积大小不一,病斑面积在 4.74~60.96 mm²,平均病斑面积为 32.67 mm²。

采用聚类分析方法对 27 份荔枝叶片的病斑面积(S , mm²)进行分类,以 3.0 为聚类分割点,可将病斑面积划分成 5 类(图 5), $0 < S \leq 12$ 为病级 1; $12 < S \leq 24$ 为病级 2; $24 < S \leq 36$ 为病级 3; $36 < S \leq 48$ 为病级 4; $S > 48$ 为病级 5。以此为分类标准,重新评估荔枝叶片的病害情况。基于病情指数(DI)进行聚类分析,设定平方欧式距离 5.0 为聚类分割点,最终将 27 份荔枝叶片抗病性划分为 4 类:高抗(HR)、中抗(MR)、中感(MS)和高感(HS)(图 5),DI=0 为 I; $0 < DI \leq 35$ 为 HR; $35 < DI \leq 57$ 为 MR; $57 < DI \leq 79$ 为 MS; $DI > 79$ 为 HS。其中,高抗品种 5 个,中抗品种 6 个,中感品种 7 个,高感品种 9 个;未检测到对炭疽菌免疫(I)的荔枝品种。

2.5 不同荔枝品种果实的炭疽病抗性鉴定评价

果实接种炭疽病菌株 LZTJ1 后第 3 天发现,不同荔枝品种果实的发病情况存在差异(图 6、图 7)。果实病部面积相对较大,病斑面积在 42.00~110.42 mm²,平均病斑面积为 81.28 mm²。

采用聚类分析方法对 18 份荔枝果实的病斑面积(S , mm²)进行分类,以 4.0 为聚类分割点,可将病斑面积划分成 5 类(图 8), $0 < S \leq 46$ 为病级 1; $46 < S \leq 64$ 为病级 2; $64 < S \leq 82$

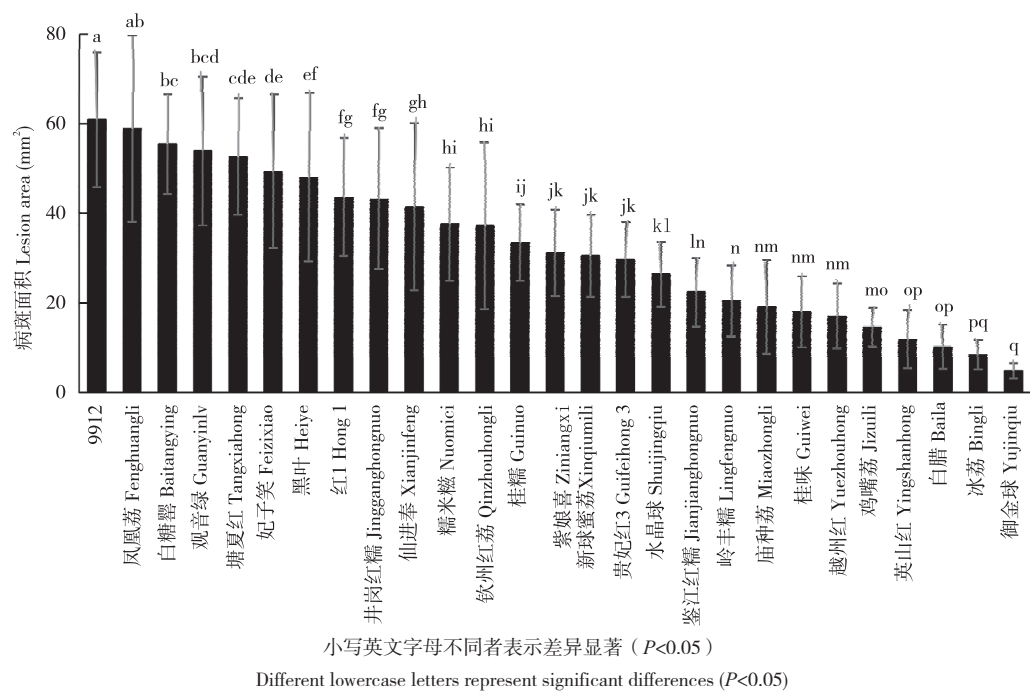


图 3 27 个荔枝品种的叶片接种菌株 LZTJ1 后发病情况
Fig. 3 Incidence of leaves of 27 litchi cultivars after inoculation with strain LZTJ1

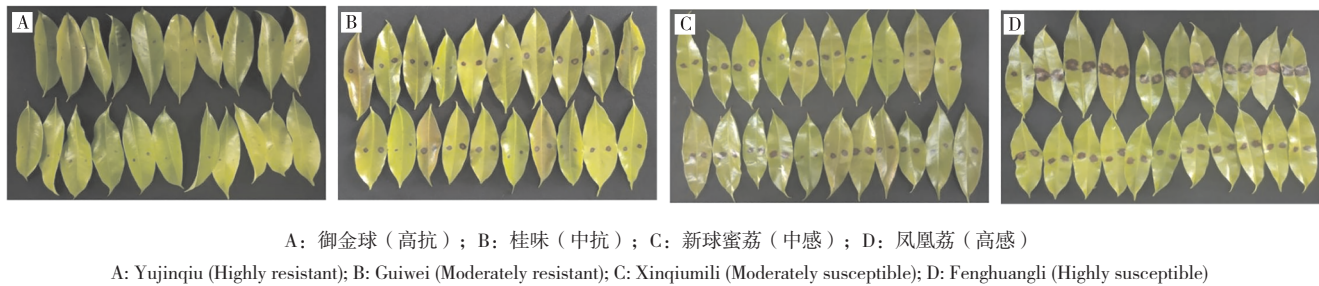


图 4 不同抗性级别的荔枝叶片发病情况
Fig. 4 Incidence of litchi leaves with different resistance levels

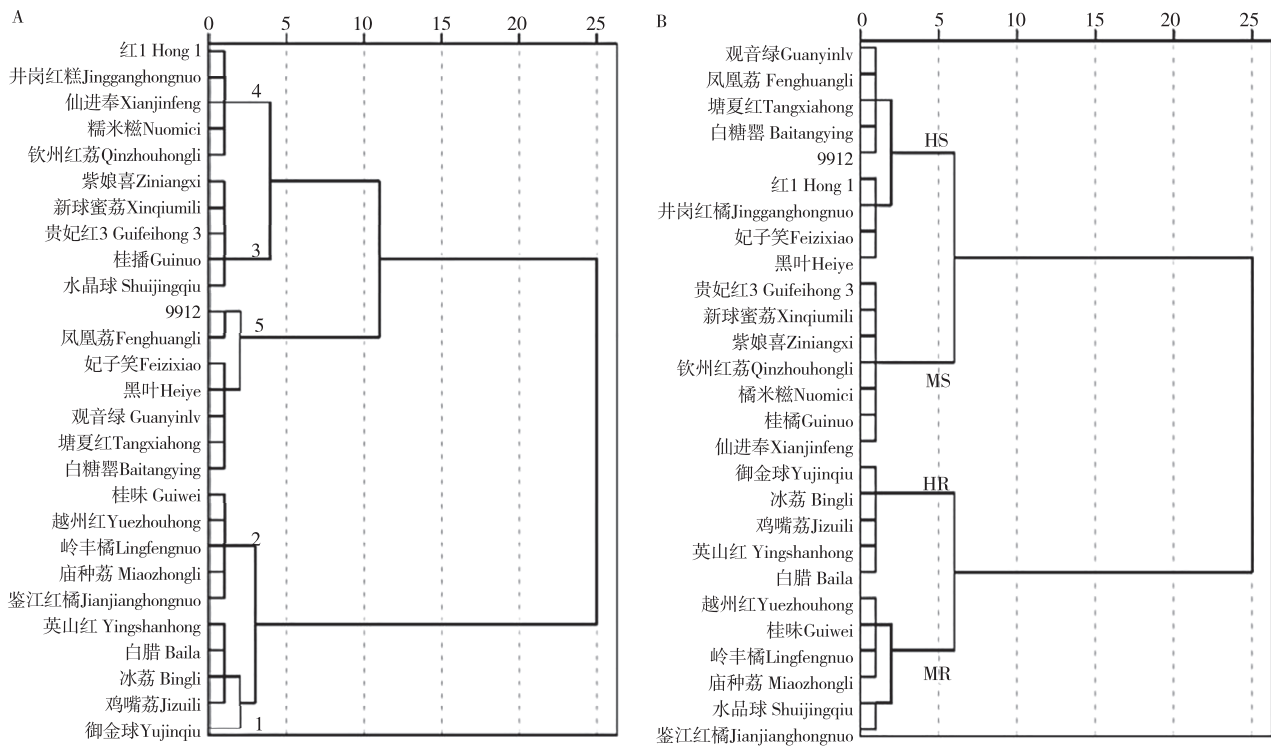
为病级 3; $82 < S \leq 98$ 为病级 4; $S > 98$ 为病级 5。以此作为分类标准, 重新评估荔枝果实的病害情况。基于病情指数 (DI) 进行聚类分析, 设定平方欧式距离 5.0 为聚类分割点, 最终将 18 个荔枝品种划分为 4 类: 高抗、中抗、中感和高感 (图 8B), $DI=0$ 为 I; $0 < DI \leq 46$ 为 HR; $46 < DI \leq 64$ 为 MR; $64 < DI \leq 82$ 为 MS; $DI > 82$ 为 HS。其中, 高抗品种 3 个, 中抗品种 6 个, 中感品种 3 个, 高感品种 6 个; 未检测到对炭疽菌免疫的荔枝品种。

2.6 不同荔枝品种抗病性的综合评价

在 27 个荔枝品种叶片和 18 个荔枝品种果实的抗性鉴定中, 分别发现 11 个 (40.74%) 和 9

个 (50.00%) 品种表现出对炭疽病的抗病性 (去掉重合的品种后共 17 个品种)。进一步比较分析发现, 17 个荔枝品种叶片和果实的病情指数及其抗性级别均不同 (图 5、图 8)。其中, 有 9 个品种的果实与叶片在抗病性上表现出高度一致性; 有 3 个品种的果实与叶片在抗病性上的抗性反应虽不相同, 但呈现出相似的趋势; 5 个品种的果实和叶片在抗病性上的抗性反应差异显著。对于这些抗病性反应差异显著的品种, 尚需深入进行田间调查与科学研究。

结合病情指数和隶属函数法, 并以平方欧式距离 5.0 作为聚类分割点进行聚类分析, 将 17 个荔枝品种的抗病性分为 4 类 (表 3、图 9)。



HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感
HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible.

图 5 基于病斑面积 (A) 和病情指数 (B) 的不同荔枝品种叶片对炭疽病菌抗性聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of leaf resistance of different litchi cultivars to *Colletotrichum* spp. based on lesion area (A) and disease index (B)

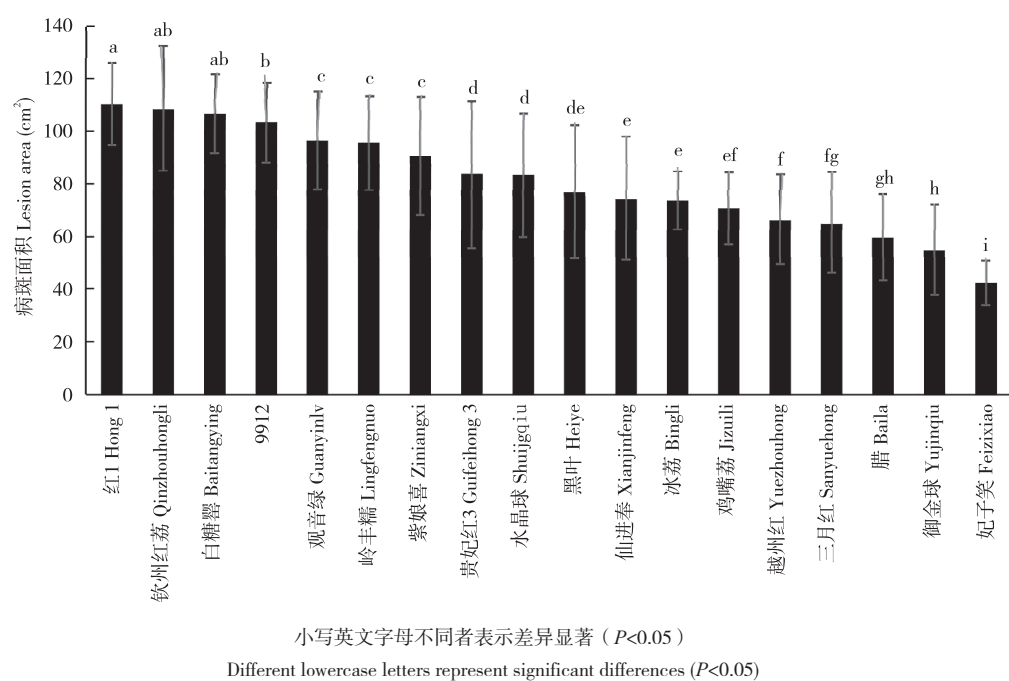
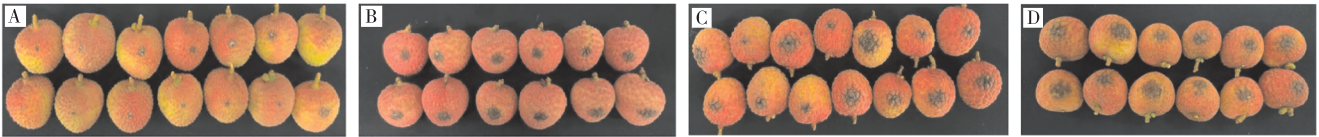


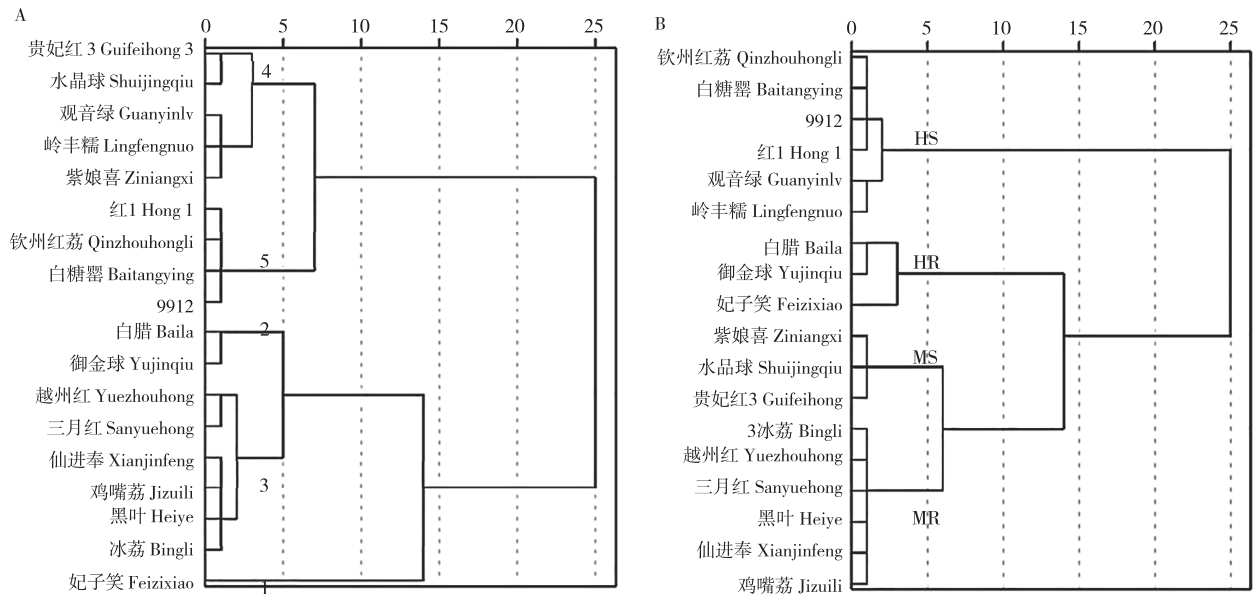
图 6 18 个荔枝品种果实接种菌株 LZTJ1 后发病情况

Fig. 6 Incidence of different cultivars of litchi fruits after inoculation with LZTJ1



A: 妃子笑 (高抗) ; B: 冰荔 (中抗) ; C: 贵妃红 3 (中感) ; D: 白糖罂 (高感)
A: Feizixiao (Highly resistant); B: Bingli (Moderately resistant); C: Guifeihong 3 (Moderately susceptible); D: Baitangying (Highly susceptible)

图 7 不同抗性级别的荔枝果实发病情况
Fig. 7 Incidence of litchi fruits with different resistance levels



HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感
HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible
图 8 基于病斑面积 (A) 和病情指数 (B) 的不同荔枝品种果实对炭疽病菌抗性聚类分析
Fig. 8 Cluster analysis of fruit resistance of different litchi cultivars to *Colletotrichum* spp. based on lesion area (A) and disease index (B)

第 1 类包含 3 个高抗品种: ‘御金球’ ‘白腊’ 和 ‘冰荔’; 第 2 类包含 3 个中抗品种: ‘越州红’ ‘鸡嘴荔’ 和 ‘妃子笑’; 第 3 类包含 6 个中感品种: ‘水晶球’ ‘贵妃红 3’ ‘岭丰糯’ ‘紫娘喜’ ‘仙进奉’ 和 ‘黑叶’; 第 4 类包含 5 个高感品种: ‘钦州红荔’ ‘红 1’ ‘观音绿’ ‘白糖罂’ 和 ‘9912’。在果实或叶片上表现出对炭疽病抗性品种共 6 个, 占 35.29%; 感病品种共 11 个, 占 64.71%。上述结果表明, 茂名地区荔枝产业中, 选育和推广抗性品种的工作仍具有紧迫性和重要性。

3 讨论

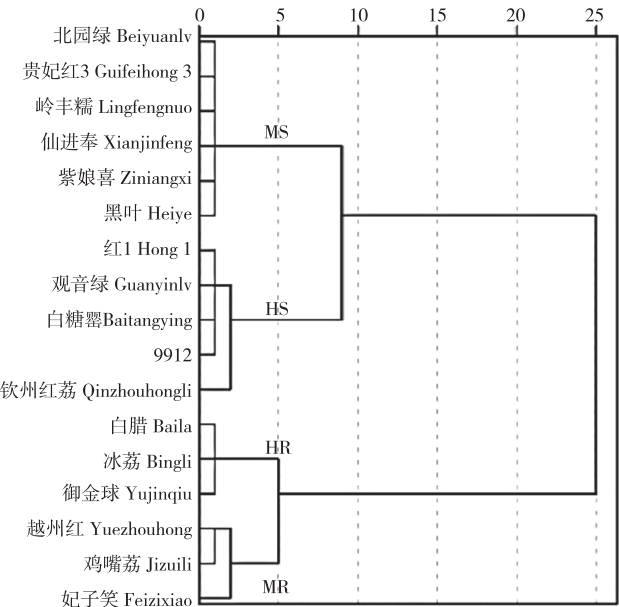
由荔枝炭疽病原菌 (*Colletotrichum* spp.) 引

起的荔枝炭疽病, 是为害果实、叶片的重要病害之一, 严重影响荔枝的产量, 也是当前荔枝产业面临并亟待解决的关键问题。茂名是我国最古老的荔枝种植核心区之一, 本研究从茂名地区采集的荔枝病害样本中, 成功分离并鉴定出 2 种荔枝炭疽病原菌: 暹罗炭疽菌 (*C. siamense*) 和果生炭疽菌 (*C. fructicola*)。该研究对炭疽病原菌的鉴定与凌金锋^[25]对广东茂名地区荔枝炭疽病原菌研究的结果基本一致, 表明 *C. fructicola* 和 *C. siamense* 是茂名荔枝炭疽病原菌中的优势病菌。此外, 本研究未能分离出胶孢刺盘孢 (*C. gloeosporioides*), 这一结果与 Phoulivong 等^[26]认为 *C. gloeosporioides* 并非热带水果的常见致病菌的观点相吻合。在致病力鉴定上, 不同菌株对

表 3 17 个荔枝品种病情指数的隶属函数值

Table 3 Membership function values of disease index of 17 litchi cultivars

品种 Cultivar	隶属函数值 Membership function value		平均值 Mean
	叶片病情指数 Disease index	果实病情指数 Disease index	
	of leaves	of fruits	
御金球 Yujinqiu	0.000	0.168	0.084
白腊 Baila	0.089	0.214	0.151
冰荔 Bingli	0.037	0.358	0.198
越州红 Yuezhouhong	0.245	0.360	0.303
鸡嘴荔 Jizuili	0.160	0.454	0.307
妃子笑 Feizixiao	0.854	0.000	0.427
水晶球 Shuijingqiu	0.472	0.672	0.572
贵妃红 3 Guifeihong 3	0.535	0.610	0.572
岭丰糯 Lingfengnuo	0.334	0.818	0.576
仙进奉 Xianjinfeng	0.713	0.482	0.598
紫娘喜 Ziniangxi	0.591	0.704	0.647
黑叶 Heiye	0.838	0.478	0.658
钦州红荔 Qinzhouhongli	0.656	0.958	0.807
红 1 Hong 1	0.795	1.000	0.897
观音绿 Guanyinlv	0.947	0.860	0.903
白糖罂 Baitangying	0.971	0.958	0.965
9912	1.000	0.961	0.980



HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感
HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible

图 9 基于隶属函数均值的不同荔枝品种对炭疽病菌抗性聚类分析

Fig. 9 Cluster analysis of the resistance of different litchi cultivars to *Colletotrichum* spp. based on the means of membership function values

同一品种叶片展现出显著的致病力差异与分化现象^[14]。上述发现可为当地荔枝病害防控提供理论支撑。

抗病品种作为防控病害的经济高效策略，在广泛的农作物种植中得以实施，该策略基于不同品种的抗性评价明确不同品种对病害的抗病性，从而筛选出具备优良抗病性的品种。本研究利用病原菌株 LZTJ1 对 27 份荔枝叶片和 18 份荔枝果实（因 2024 年部分荔枝未结果）进行炭疽病抗性评价，并将其划分为 4 类抗性级别。在室内接种炭疽病菌试验中，不同荔枝品种的果实与叶片呈现出不同的发病趋势，且果实相较于叶片具有更高的敏感性，更易成为病菌侵入的靶点。本研究对‘新球蜜荔’叶片的鉴定与李芳等^[15]的鉴定结果相似，但与李焕苓等^[27]根据果园的观测数据不同，其认为‘新球蜜荔’属于抗病品种。此外，‘紫娘喜’荔枝叶片的抗性级别与李芳等^[15]的研究成果一致，但相比之下，‘妃子笑’的叶片表现出更高的感病倾向。

进一步对 17 个品种果实与叶片间的抗性反应级别进行比较分析，发现同一品种的不同部位对炭疽病的敏感性也有差异，部分品种的果实与叶片间的抗性反应级别并不一致，如‘妃子笑’品种在果实上表现为高度抗病性，但在叶片上表现为高度感病性；‘岭丰糯’品种在果实上表现为高度感病性，但在叶片上表现为中度抗病性。荔枝品种果实和叶片的抗病性能各异，可能涉及果实与叶片的生理功能和结构特点、病原菌株的侵染途径和方式以及病原菌株与寄主的相互作用等多个因素的影响。叶片的形态结构和内含物，如气孔形态结构和密度、角质层以及黄酮类物质等，与植物的抗病性相关^[28]。而果实则可通过其表皮的蜡质层或角质层、紧密的内部组织结构和多种抗菌物质来抵御病原菌的入侵^[29]。这些因素的复杂性和多样性可能导致不同部位在抗病性能上表现出显著的差异。

当前，关于荔枝炭疽病的抗性评估研究尚显匮乏，特别是在不同品种间抗病能力的差异上，且更多偏向于荔枝霜疫霉病^[30]、辣椒炭疽病^[31]、葡萄炭疽病^[32]等病害的抗性鉴定。此外，茂名荔枝种质资源尚未充分开发与利用，仍停留于种

质资源保存阶段,并缺乏对优质遗传物质的深入研究与创新利用。因此,可基于当前抗性评估结果筛选出的高抗和中抗性品种,以比作为未来抗病育种工作的核心亲本材料。

4 结论

本研究采用组织分离、离体接种和分子鉴定等方法,从茂名地区分离鉴定出2种荔枝炭疽病病原菌,其中暹罗炭疽菌(*C. siamense*)6株、果生炭疽菌(*C. fructicola*)2株,其致病力均存在明显差异。通过接种27个荔枝品种叶片,鉴定出5个高抗品种,6个中抗品种;通过接种18个荔枝品种果实,鉴定出3个高抗品种,6个中抗品种。基于隶属函数分析和聚类分析,对17个品种的抗病性进行综合评价,可将其划分为4类,其中有3个高抗品种、3个中抗品种,抗性品种占35.29%,感病品种占64.71%。鉴定出的‘御金球’‘白蜡’和‘冰荔’3个抗炭疽病品种可作为未来荔枝抗病育种的重要亲本材料。

参考文献 (References):

- [1] 张蕾,徐立,李焕苓,洪继旺,杨子琴,李松刚,王家保.荔枝资源收集、保存和利用现状[J].科技导报,2023,41(4): 50-57. DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2023.04.006.
ZHANG L, XU L, LI H L, HONG J W, YANG Z Q, LI S G, WANG J B. Collection, conservation and utilization of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) resources [J]. *Science & Technology Review*, 2023, 41(4): 50-57. DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2023.04.006.
- [2] 胡珊,黄皓,罗诗,梁卫驱,罗华建,陈仕丽,李艳芳,徐匆.4种植物精油对荔枝主要病害抑制作用研究[J].中国南方果树,2015,44(5):63-65. DOI:10.13938/j.issn.1007-1431.20150053.
HU S, HUANG H, LUO S, LIANG W Q, LUO H J, CHEN S L, LI Y F, XU C. Study on the inhibitory effect of four plant essential oils on the main diseases of litchi [J]. *South China Fruits*, 2015, 44(5): 63-65. DOI:10.13938/j.issn.1007-1431.20150053.
- [3] 韩长志.胶孢炭疽病菌的研究进展[J].华北农学报,2012,27(12): 75-79. DOI:10.3969/j.issn.1000-7091.2012.z1.075.
HAN C Z. Study on progress in *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(12): 75-79. DOI:10.3969/j.issn.1000-7091.2012.z1.075.
- [4] 李少卡,何凡,陈哲,王祥和,胡福初,郭利军,赵亚,罗志文,邓会栋,范鸿雁,何舒.防治荔枝炭疽病的药剂筛选及田间应用[J].农药,2019,58(10): 773-776. DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2019.10.021.
LI S K, HE F, CHEN Z, WANG X H, HU F C, GUO L J, ZHAO Y, LUO Z W, DENG H D, FAN H Y, HE S. Effective fungicides screening and field application for litchi anthracnose [J]. *Agrochemicals*, 2019, 58(10): 773-776. DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2019.10.021.
- [5] CAI L, HYDE K, TAYLOR P W J, WEIR B, WALLER J, ABANG M M, ZHANG J Z, YANG Y L, PHOULIVONG S, LIU Z Y. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum* [J]. *Fungal Diversity*, 2009, 39(1): 183-204.
- [6] NI H F, HUANG C W, WU C J, YANG H R, LIN C Y, CHANG J Y, CHANG J W. First report of pepper spot disease of litchi caused by *Colletotrichum siamense* in Taiwan [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2017, 99(3): 808.
- [7] LING J F, PENG A T, JIANG Z D, XI P G, SONG X B, CHENG B P, CUI Y P, CHEN X. First report of anthracnose fruit rot caused by *Colletotrichum fioriniae* on litchi in China [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(4): 1225-1225. DOI:10.1094/pdis-07-20-1539-pdn.
- [8] ZHAO J, YU Z, WANG Y, LI Q, TANG L, GUO T, HUANG S, MO J, HSIANG T. Litchi anthracnose caused by *Colletotrichum karstii* in Guangxi, China [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(10): 3295. DOI:10.1094/pdis-01-21-0196-pdn.
- [9] 李少卡,赵亚,王祥和,胡福初,陈哲,范鸿雁.海南荔枝炭疽病病原菌鉴定及遗传多样性分析[J].农业生物技术学报,2021,29(4): 673-687. DOI:10.3969/j.issn.1674-7968.2021.04.006.
LI S K, ZHAO Y, WANG X H, HU F C, CHEN Z, FAN H Y. Identification and genetic diversity analysis of litchi chinensis *Colletotrichum* spp. in Hainan [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(4): 673-687. DOI:10.3969/j.issn.1674-7968.2021.04.006.
- [10] CAO X, LI F, XU H, LI H, WANG S, WANG G, WEST J S, WANG J. Characterization of *Colletotrichum* species infecting litchi in Hainan, China [J]. *Fungi*, 2023, 9(11): 1042. DOI:10.3390/f9111042.
- [11] ANDERSON J M, COATES L M, AITKEN E A B, MITCHELL ROGER W, MCTAGGART A R, DANN E K. The pathogenic diversity and host range of *Colletotrichum* spp. causing pepper spot and anthracnose of litchi (*Litchi chinensis*) in Australia [J]. *Plant Pathology*, 2024, 73(6): 1334-1348. DOI:10.1111/ppa.13901.
- [12] HUANG R, SUN W, GUO T, HUANG S, TANG L, CHEN X, LI Q. Morphological and pathological characterization of *Colletotrichum* species causing anthracnose of litchi leaves in Guangxi, China [J]. 2023, 171(11/12): 609-619. DOI:10.1111/jph.13218.
- [13] LING J F, SONG X B, XI P G, CHENG B P, CUI Y P, CHEN X, PENG A T, JIANG Z D, ZHANG L H. Identification of *Colletotrichum siamense* causing litchi pepper spot disease in China's mainland [J]. *Plant Pathology*, 2019, 68(8): 1533-1542. DOI:10.1111/ppa.13075.
- [14] 张新春,彭元科,王家保.不同来源荔枝胶孢炭疽菌生物学特性研究[J].中国果树,2015(3): 27-31. DOI:10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2015.03.001.
ZHANG X C, PENG Y K, WANG J B. Study on the biological characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides* of litchi from different sources [J]. *China Fruits*, 2015 (3): 27-31. DOI:10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2015.03.001.
- [15] 李芳,张蕾,林祺英,蔡汝鹏,李焕苓,王家保.荔枝炭疽病室内抗病评价体系的建立[J].植物病理学报,2023,53(3): 455-462. DOI:10.13926/j.cnki.apps.000835.
LI F, ZHANG L, LIN Q Y, CAI R P, LI H L, WANG J B. Establishment

- of an evaluation system for identification of litchi resistance indoor to *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2023, 53(3): 455–462. DOI:10.13926/j.cnki.apps.000835.
- [16] 张新春, 高兆银, 肖茜, 彭元科, 王家保. 中国荔枝病原真菌分离和鉴定[J]. 广东农业科学, 2014, 41(16): 81–84, 95, 237. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2014.16.019.
- ZHANG X C, GAO Z Y, XIAO Q, PENG Y K, WANG J B. Isolation and identification of pathogen fungi species of litchi in China [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(16): 81–84, 95, 237. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2014.16.019.
- [17] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [J]. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 1990, 18(1): 315–322. DOI:10.1016/b978–0–12–372180–8.50042–1.
- [18] GLASS N L, DONALDSON G C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(4): 1323–1330. DOI:10.1128/aem.61.4.1323–1330.1995.
- [19] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes [J]. *Mycologia*, 1999, 91(3): 553–556. DOI:10.1080/00275514.1999.12061051.
- [20] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex [J]. *Studies in Mycology*, 2012, 73: 115–180. DOI:10.3114/sim0011.
- [21] GUERBER J C, LIU B, CORRELL J C, JOHNSTON P R. 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. DOI: 10.1080/15572536.2004.11833047.
- [22] 余凤玉, 宋薇薇, 韩轩. 春羽炭疽病原鉴定及生物学特性研究 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(10): 76–81. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2019.10.012.
- YU F Y, SONG W W, HAN X. Research on identification and biological characteristics of the pathogen of *Philodendron bipinnatifidum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2019, 46(10): 76–81. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2019.10.012.
- [23] 李杰, 康晓慧, 陈万权, 张洪, 杨亨, 蒋欣东. 四川省 22 个小麦品种田间抗条锈病鉴定及聚类分析 [J]. 广东农业科学, 2018, 45(10): 82–86. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2018.10.013.
- LI J, KANG X H, CHEN W Q, ZHANG H, YANG H, JIANG X D. Identification and cluster analysis of stripe rust resistance in 22 wheat varieties in Sichuan Province [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2018, 45(10): 82–86. DOI:10.16768/j.issn.1004–874X.2018.10.013.
- [24] CANNON P F, DAMM U, JOHNSTON P R, WEIR B S. *Colletotrichum*: Current status and future directions [J]. *Studies in Mycology*, 2012, 73(1): 181–213. DOI:10.3114/sim0014.
- [25] 凌金锋. 荔枝病果相关的四属菌物鉴定及分子系统发育分析 [D]. 广州: 华南农业大学, 2019. DOI:10.27152/d.cnki.ghanu.2019.001438.
- LIN J F. Identification and phylogenetic analysis of four fungal general isolates associated with diseased litchi fruits in China [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2019. DOI:10.27152/d.cnki.ghanu.2019.001438.
- [26] PHOULIVONG S, CAI L, CHEN H, MCKENZIE E H C, ABDELSALAM K, CHUKEATIROTE E, HYDE K D. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits [J]. *Fungal Diversity*, 2010, 44(1): 33–43. DOI:10.1007/s13225–010–0046–0.
- [27] 李焕苓, 王家保, 孙进华, 胡福初, 张蕾, 王果. 海南荔枝资源补充调查与优株介绍 [J]. 中国果树, 2015 (5): 31–35, 86. DOI:10.16626/j.cnki.issn1000–8047.2015.05.016.
- LI H L, WANG J B, SUN J H, HU F C, ZHANG L, WANG G. Supplementary investigation of litchi resources in Hainan and introduction of excellent plants [J]. *China Fruits*, 2015(5): 31–35, 86. DOI:10.16626/j.cnki.issn1000–8047.2015.05.016.
- [28] 曹素芳, 王玮, 赵明新, 曹刚, 李红旭. 梨树对白粉病抗性与叶片结构的关系 [J]. 果树学报, 2021, 38(12): 2148–2155. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20210297
- CAO S F, WANG W, ZHAO M X, CAO G, LI H X. Relationship between the leaf structure and its resistance to powdery mildew in pear [J]. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(12): 2148–2155. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20210297
- [29] DANGL J. Innate immunity: Plants just say NO to pathogens [J]. *Nature*, 1998, 394(6693): 525–527. DOI:10.1038/28958.
- [30] 赵冉. 荔枝品种对荔枝霜疫病的抗病性研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020. DOI:10.27152/d.cnki.ghanu.2020.001282.
- ZHAO R. Study on the resistance of litchi cultivars to litchi downy blight caused by *Peronophythora litchii* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University 2020. DOI:10.27152/d.cnki.ghanu.2020.001282.
- [31] 郑婉婉, 赵建荣, 程春园, 洪成, 耿三省, 陈斌, 杜和山, 张晓芬. 辣椒种质资源炭疽病抗性鉴定与遗传分析 [J]. 中国蔬菜, 2024(5): 59–68. DOI:10.19928/j.cnki.1000–6346.2024.2011.
- ZHENG W W, ZHAO J R, CHENG C Y, HONG C, GENG S S, CHEN B, DU H S, ZHANG X F. Anthracnose resistance identification and genetic analysis of pepper germplasm resources [J]. *China Vegetables*, 2024(5): 59–68. DOI:10.19928/j.cnki.1000–6346.2024.2011.
- [32] 罗跃, 刘阿丽, 刘旭东, 韩磊, 姚小龙, 胡安龙, 吴小毛. 葡萄炭疽病病原鉴定及防治药剂筛选 [J]. 中国南方果树, 2021, 50(6): 121–125. DOI:10.13938/j.issn.1007–1431.20210072.
- LUO Y, LIU A L, LIU X D, HAN L, YAO X L, HU A L, WU X M. Pathogen identification of grape anthracnose and screening of control agents [J]. *South China Fruits*, 2021, 50(6): 121–125. DOI:10.13938/j.issn.1007–1431.20210072.

【责任编辑 陈丽娥】