

橡胶炭疽病病原菌生物学特性初步研究

郑肖兰¹ 崔昌华^{1,2} 郑服从^{1,2*} 罗大全¹ 吴伟怀¹

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 儋州 571737)¹

(华南热带农业大学环境与植物保护学院 儋州 571737)²

摘要: 测试了 7 个来自云南省版纳地区的橡胶树炭疽病菌的菌株在不同培养基、温度及 pH 条件下的生长速率, 观察了这些菌株在 PDA 上的菌落和分生孢子形态, 测定了这些菌株的致病力。发现这些菌株的最适生长的培养基、温度、pH 和对橡胶树的致病力存在明显的差异, 对橡胶树的致病力有明显不同, 菌落和分生孢子形态也存在可观察到的差异。

关键词: 橡胶炭疽病, 炭疽菌, 生物学

中图分类号: Q93-3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 02-0095-05

Study on Biological Characters of the Pathogens Caused Anthracnose of Rubber Trees

ZHENG Xiao-Lan¹ CUI Chang-Hua^{1,2} ZHENG Fu-Cong^{1,2*}

LUO Da-Quan¹ WU Wei-Huai¹

(Environment and Plant Protection Research Institute, CATAS, Danzhou 571737)¹

(Environment and Plant Protection College, SCUTA, Danzhou 571737)²

Abstract: The mycelial growth rates of 7 isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*, collected from Xishuang Banna, Yunan Province were tested on different media, pH and temperature. The colony pattern and conidium size were surveyed. The pathogenesis of rubber trees was also carried out. The results showed that the mycelial growth rates, colony pattern, conidium size and the pathogenesis of these isolates were significantly different.

Key words: Anthracnose of hevea brasiliensis, *Colletotrichum gloeosporioides*, Biology

由胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sacc) 引起的炭疽病是我国橡胶树的重要病害, 其导致橡胶树叶片组织坏死或大量脱落, 树体衰弱, 缩短割胶期限, 最终表现为总产量显著下降^[1]。我国每年受害面积在 20,000hm² 以上, 造成干胶损失近万吨^[2]。炭疽病一般只能对橡胶树的幼嫩组织造成严重危害, 但 2004 年在我国云南橡胶种植区发现了一种与传统的橡胶炭疽病表现明显不同的异常现象, 其主要症状特征是可以严重为害老化的橡胶树叶片, 叶片上的病斑分布、颜色以及形状与胶孢炭疽菌侵染橡胶树嫩叶后遗留在老化叶片上的极其相似。经分离、纯化、鉴定和致病性测定, 确认可严重为害橡胶树老叶的病原菌仍然属于胶孢炭疽菌。为了开展后续研究, 我们对该菌进行了一些生物学特性研究。以下报道该研究结果。

* 通讯作者 E-mail: zwbhyjs@scuta.edu.cn

收稿日期: 2005-06-21, 修回日期: 2005-11-02

1 材料与方法

1.1 参试因子

1.1.1 供试菌株: 共 7 个菌株, 来自云南省版纳地区勐养等农场。分离自表现严重症状的橡胶树老叶。经常规的植物病理学方法证明是胶胞炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Sacc)。这些菌株保存在中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。

1.1.2 参试培养基: PDA (马铃薯) 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 15 g, 琼脂 20 g, 定容到 1 L; CMV (玉米粉) 培养基: 玉米粉 40g, 葡萄糖 15 g, 琼脂 20 g, 定容到 1 L; OA (燕麦) 培养基: 称取燕麦片 50 g, 琼脂 20 g, 定容到 1 L; CA (胡萝卜) 培养基: 胡萝卜 200 g, 葡萄糖 15 g, 琼脂 20 g, 定容到 1 L; 以上培养基均于 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

1.1.3 参试温度: 5℃、10℃、20℃、24℃、26℃、28℃、37℃。

1.1.4 参试 pH 值: 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0。

1.2 试验方法

1.2.1 分生孢子大小的测定和形态观察: 根据初步观察, 参试菌株的分生孢子及菌落形态在不同培养基上的变化不大, 故仅用 PDA 培养基进行试验。具体做法: 在 PDA 平板上生长一周左右的各测试炭疽菌菌落边缘, 用直径为 5 mm 打孔器打出菌饼, 再把菌饼分别接种到 PDA 平板中央, 每平板接一个菌饼, 且菌丝面朝下, 置于恒温箱中培养, 第 6 天观察、描述在 PDA 培养基上的菌落形态, 同时镜检、描述分生孢子形态和测量分生孢子大小。每个菌株测定 100 个分生孢子, 用其平均数。

1.2.2 不同培养基上菌落生长速率测定: 将各个炭疽菌菌饼分别移接于 PDA、OA、CMV、CA 平板上, 然后置于 $26^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 生化培养箱下培养。设 3 次重复。接菌饼后的第六天, 用十字交叉法观察、测量菌落直径。根据测量结果计算生长速率, 计算结果用 SAS 6.12 统计分析。生长速率的计算公式为: 生长速率 (mm/d) = (菌落直径 - 5) / 2T; 式中, 菌落直径为 3 次重复的平均数, T 为接种后天数, 单位为毫米。

1.2.3 不同温度下菌落生长速率测定: 将各个炭疽菌菌饼移于 PDA 平板中央, 分别置于 5、10、20、24、26、28、37℃ 人工气候箱 (控温精确度 $\pm 2^\circ\text{C}$) 内培养。设 3 次重复。菌落生长速度的测定及统计方法与 1.2.2 相同。

1.2.4 不同酸碱度下菌落的生长速度测定: 用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 将 PDA 的酸碱度调节为 pH 分别等于 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0。然后将各个参试菌株的菌饼点接在不同 pH 的 PDA 平板中央, 置于室温下培养。设 3 次重复。菌落生长速度的测定及统计方法与 1.2.2 相同。

1.2.5 致病力测定: 在室内进行人工接种试验。方法: 离体橡胶丛枝的叶片 (淡绿期) 刺伤后用浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液喷洒叶片表面, 室温下保湿培养, 每天调查发病情况。病害调查和统计方法参考植病研究方法^[3]。

2 结果与分析

2.1 分生孢子大小的测定和形态观察结果

各个参试菌株在 PDA 上的菌落形态特征、分生孢子形状及大小等列于表 1。从测定结果看, 菌落形态、分生孢子形态及大小在参试菌株之间总体变化幅度不大; 只是

RC178 显得比较细长, 而 RC182 则粗短。

表 1 参试菌株在 PDA 上的菌落形态特征

菌株编号	孢子形态	孢子大小 (μm)	菌落培养特征
RC176	圆柱形, 两端椭圆。	17.50 \times 5.00	菌落灰白色, 气生菌丝较多, 菌丝绒毛状, 粉红色孢子堆较多。
RC177	圆柱形, 两端椭圆, 相对较短粗。	18.13 \times 5.50	菌落浅灰色, 气生菌丝较多, 粉红色孢子堆较少。
RC178	圆柱形, 两端椭圆, 相对较细长。	18.98 \times 5.00	菌落中央墨绿, 边缘灰白色, 孢子堆粉红色, 少数黑色。
RC179	圆柱形, 两端椭圆。	16.88 \times 5.25	菌落中央墨绿色, 边缘灰白色, 气生菌丝浓密, 孢子堆少。
RC180	圆柱形, 两端椭圆, 油球明显, 两到多个不定。	17.50 \times 5.00	菌落灰白色, 气生菌丝少, 粉红色孢子堆很多。
RC181	圆柱形, 两端椭圆, 未见油球, 但胖瘦差异较大。	17.50 \times 5.00	气生菌丝灰白色, 气生菌丝较少, 孢子堆粉红色, 极少数黑色。
RC182	圆柱形, 两端椭圆, 明显短粗。	16.00 \times 4.75	菌落灰白色, 气生菌丝多, 孢子堆粉红色。

2.2 不同培养基上菌落生长速率的测定结果

各个参试菌株在 4 种不同培养基上的生长速率及其方差分析结果见表 2。从分析结果看, RC181 菌株的菌落生长最适是 PDA, 其余参试菌株的最适培养基均为 CA。

表 2 参试菌株在不同培养基上的生长速率 (单位: mm/d)

培养基	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
OA	5.74	6.02	9.38	8.27	6.62	8.66	8.22
	dD	dD	cC	dD	dD	cC	cC
CMV	6.02	6.32	8.16	9.24	6.80	8.09	7.91
	cC	cC	dD	cC	bB	dD	dD
PDA	6.54	6.86	12.14	10.30	6.67	10.83	9.24
	bB	bB	bB	bB	cC	aA	bB
CA	6.66	6.89	12.22	10.97	6.82	10.72	10.17
	aA	aA	aA	aA	aA	bB	aA

注: 表中数字的后跟英文字母是差异显著性的标记。大写字母代表 $\alpha=1\%$ 的显著性水平, 小写字母代表 $\alpha=5\%$ 的显著性水平。同一列的两数字之间有一个字母相同表示差异不显著, 完全不同表示差异显著, 下同

各个参试菌株在 4 种不同培养基上的生长速率及其方差分析结果见表 3。分析结果可知, 在不同培养基上, 各参试菌株的生长速率之间差异比较大。在 CMV 上, 生长速率最大的菌株是 RC179, 其次是 RC178, 而在其余 3 种培养基上生长速率最大的均为 RC178。

表 3 参试菌株在相同培养基上的生长速率比较 (单位: mm/d)

培养基	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
OA	5.74	6.02	9.38	8.27	6.62	8.66	8.22
	gG	fF	aA	cC	eE	bB	dD
CMV	6.02	6.32	8.16	9.24	6.80	8.09	7.91
	gG	fF	bB	aA	eE	cC	dD

续表 3

PDA	6.54	6.86	12.14	10.30	6.67	10.83	9.24
	gG	eE	aA	cC	fF	bB	dD
CA	6.66	6.89	12.22	10.97	6.82	10.72	10.17
	gG	eE	aA	bB	fF	cC	dD

2.3 不同温度下参试菌株菌落生长速率的测定结果

见表 4。

表 4 同一测试菌株在不同温度之间的生长速率比较结果 (单位: mm/d)

温度 (℃)	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
5	0.00	0.01	0.07	0.02	0.01	0.00	0.01
	gG	gG	gG	gG	gG	gG	gG
10	1.18	0.92	1.54	0.54	1.07	1.58	0.87
	eE	eE	eE	eE	eE	eE	eE
20	3.93	2.96	4.74	4.84	3.29	4.88	3.95
	dD	dD	dD	dD	dD	dD	dD
24	5.99	4.59	7.33	6.78	4.77	6.90	6.21
	cC	cC	cC	cC	aA	cC	cC
26	7.83	5.44	7.62	6.91	4.07	7.59	6.77
	aA	aA	bB	bB	cC	bB	bB
28	7.56	5.25	7.96	7.49	4.30	7.85	7.02
	bB	bB	aA	aA	bB	aA	aA
37	0.23	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
	fF	fF	fF	fF	fF	fF	fF

各参试菌株在其菌落生长最适温度下的生长速率比较结果见表 5。比较结果表明,参试菌株之间的菌落生长速率差异比较大,生长最快的是 RC178 菌株,最慢的是 RC180 菌株,其极差达到 3.19 mm/d。

表 5 参试菌株在其最适生长温度下生长速率的比较 (单位: mm/d)

菌株编号	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
培养温度 (℃)	26	26	28	28	24	28	28
生长速率	7.83	5.44	7.96	7.49	4.77	7.85	7.02
	cC	fF	aA	dD	gG	bB	eE

2.4 不同酸碱度下菌落的生长速度测定结果

表 6 是各参试菌株在不同 pH 培养基上的菌落生长速率的测定结果。总体上看,各菌株在 pH 为 5.0~11.0 范围内都能正常生长。但最适生长的 pH 不同,如 RC182 菌株的最适生长 pH 为 8.0~9.0、RC178 为 8.0~11.0、RC177 为 5.0~8.0、RC179 为 6.0~8.0,而其它菌株为 5.0~7.0。

表 6 参试菌株在不同 pH 的培养基上的生长速率 (单位: mm/d)

对应 pH	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
5.0	3.78	3.02	4.04	3.38	2.91	4.05	4.10
	bB	bB	fF	dD	aA	aA	eE
6.0	3.81	2.94	4.47	3.70	2.53	4.05	4.19
	aA	cC	cC	aA	bB	aA	cC

续表 6

7.0	3.05	2.79	4.31	3.38	2.08	3.97	4.16
	dD	dD	dD	dD	cC	bB	dD
8.0	3.05	3.16	4.50	3.62	1.66	3.81	4.25
	dD	aA	bB	bB	fF	cC	bB
9.0	2.96	2.65	4.19	3.51	1.74	3.64	4.37
	eE	eE	eE	cC	eE	dD	aA
10.0	3.30	2.55	3.96	3.13	1.78	3.56	3.65
	cC	fF	gG	fF	dD	eE	gG
11.0	2.85	2.41	5.84	3.15	1.26	3.42	3.67
	fF	gG	aA	eE	gG	fF	fF

各菌株在最适生长的 pH 下的生长速度比较结果见表 7。比较结果表明，参试菌株之间的菌落生长速率差异比较大，生长最快的是 RC178 菌株，最慢的是 RC180 菌株，其极差达到 2.93 mm/d。

表 7 参试菌株在其最适生长的 pH 下的生长速率比较 (单位: mm/d)

菌株编号	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
pH	6	8	11	6	5	6	9
生长速率	3.81	3.16	5.84	3.70	2.91	4.05	4.37
	dD	fF	aA	eE	gG	cC	bB

2.5 致病力的测定结果

见表 8。致病力测定结果显示：各参试菌株接种橡胶树嫩叶后 1~5d 均能引起炭疽病的典型症状。各菌株的潜伏期为 1~3d。严重度在各菌株之间差异较大，最重的达到 88.3% (RC178)，最轻的只有 28.3%，极差达到 60%。

表 8 病原菌致病力测定结果

对应菌株	RC176	RC177	RC178	RC179	RC180	RC181	RC182
严重度 (%)	78.30	45.50	88.30	28.30	70.00	68.00	53.80
	bB	fF	aA	gG	cC	dD	eE

3 讨论

本研究测试了 7 个来自云南省版纳地区的橡胶树炭疽病菌的菌株在不同培养基、不同温度及不同 pH 条件下的生长速率，测定了这些菌株的致病力，观察了这些菌株在 PDA 上的菌落和分生孢子形态。该初步结果为进一步探究云南省版纳地区的橡胶树炭疽病近年来大流行和症状表现异常等原因提供一些基础数据。

本研究结果表明，7 个来自云南省版纳地区的橡胶树炭疽病菌的菌株之间，其最适生长的培养基、温度和 pH 存在明显的差异，对橡胶树的致病力有明显不同，菌落和分生孢子形态也存在可观察到的差异。

参 考 文 献

[1] 刘秀娟, 杨业铜, 冷怀琼. 热带作物学报, 1987, 8 (1): 90~100.
[2] 冯淑芬, 刘秀娟, 郑服丛, 等. 热带作物学报, 1998, 19 (2): 7~4.
[3] 方中达. 植病研究方法 (第三版). 北京: 中国农业出版社, 1998. 46~49.