

云南西双版纳地区橡胶炭疽病病原鉴定

张春霞, 何明霞, 李加智*, 蔡志英, 王进强

(云南省热带作物科学研究所, 景洪 666100)

摘要 对来自西双版纳 11 个橡胶炭疽病菌菌株进行了鉴定。结果表明,引起西双版纳橡胶炭疽病的病原有 2 种,分别为:胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和尖孢炭疽菌(*C. acutatum*)。2 个种的区别主要在于分生孢子的形态,菌落正反面的颜色,菌落的生长速度及对农药的敏感性等。

关键词 橡胶; 炭疽病; 鉴定

中图分类号 S 763.13; S 431.191

Identification of the pathogen causing *Colletotrichum* leaf disease on rubber in Xishuangbanna, Yunnan

Zhang Chunxia, He Mingxia, Li Jiazhi, Cai Zhiying, Wang Jinqiang

(Yunnan Tropical Crops Research Institute, Jinghong 666100, China)

Abstract Eleven isolates of *Colletotrichum* leaf disease was identified in Xishuangbanna. The results showed that nine isolates belonged to *C. gloeosporioides*, and the other two belonged to *C. acutatum*. The differences between *C. gloeosporioides* and *C. acutatum* could be observed in the shape of conidia, the colony color, the diameter of colonies and their susceptibility to chemical fungicides.

Key words rubber; *Colletotrichum* disease; identification

橡胶树炭疽病是橡胶树上的一种重要病害,可以 危害苗圃小苗、大田幼树直至成龄开割胶树,侵染嫩

收稿日期: 2007-06-11 修订日期: 2007-09-10

基金项目: 云南农垦集团项目(2005XJ02)

* 通讯作者 E-mail: lijiazhyn@yahoo.com.cn

叶、叶柄、嫩梢和果实等部位,引起嫩叶脱落、嫩梢回枯和果实腐烂,甚至形成僵果悬挂在树上^[1]。严重时会引起胶树的重复落叶和嫩梢回枯,推迟开割时间^[2-3]。本病于1906年在斯里兰卡首次发现,目前在亚非橡胶种植国家广泛发生,其中马来西亚、斯里兰卡、印度、泰国、中国和西非等国家发病较严重^[4-5]。

西双版纳是一个典型的山地种植橡胶地区,种植面积在全省最大,与我国海南在气候类型上有着明显的不同,且炭疽病近年来在西双版纳胶园呈越来越严重的危害趋势。在勐满农场、花卉园及部分民营胶园嫩叶或老叶上发生了一种与传统炭疽病明显不同的现象,受害叶片上凸成圆锥状,严重时可看到整个叶片布满上凸的小点,后期形成穿孔,造成大量胶树落叶和部分病株减产或停割。在已开割胶树老叶上如此严重发生炭疽病,实为罕见。因而,目前有必要对云南省植胶垦区危害橡胶树的炭疽病菌的种类进行研究,掌握西双版纳胶园橡胶炭疽菌种群分布,确定致病优势种,以便为研究大田橡胶炭疽病病害流行规律、大田病害防治提供理论支撑和科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

橡胶炭疽病叶、病枝采自西双版纳勐养橡胶分公司,黎明橡胶分公司(勐满),勐腊橡胶分公司,云南省热作所江南试验队,花卉园等地。

1.2 病原菌的分离和纯化

采集到的病害标本按组织分离法进行分离培养。并用柯赫氏法则进行确定。单孢分离采用琼脂平板表面单孢子挑取法,获得的纯菌种保存待用。

1.3 病原菌的鉴定

1.3.1 培养性状及附着胞的观察

将各菌株分别接种于PDA平板中央,置于(25±1)℃光照培养箱中培养。逐天观察、记录菌落形状、颜色、孢子产生情况。分生孢子附着胞采用PDA平

板上产生的新鲜分生孢子悬浮于自来水中,25℃培养24~48 h获得。同时观察孢子和附着胞的形状,每个菌株测量50个分生孢子并计算其平均大小。

1.3.2 菌落生长速度的测定

在各菌株长满PDA菌落的平板上,选生长旺盛的边缘部位用直径为5 mm的打孔器打取新鲜菌丝块,挑入PDA平板中央,使菌株菌丝面贴于基质表面,分别置于(25±1)℃光照培养箱中培养,每个菌株设3个重复。第3天开始测量菌落直径,以后每天测量。

1.3.3 对农药的敏感性测定

供试菌株为胶孢炭疽和尖孢炭疽;供试药剂为SDS Biotech K. K. 制造厂生产的75%百菌清可湿性粉剂,日本曹达株式会社产的70%甲基托布津。将供试农药加入PDA培养基中,配置成含农药浓度为0.1、1、10、100 mg/L和1 000 mg/L的PDA培养基,用直径为5 mm的打孔器取HH4(尖孢炭疽菌)和HH3(胶孢炭疽菌)的PDA平板培养物菌块接种于含上述两种药剂的PDA平板中央,每处理重复3次,对照接种不含药剂的PDA平板上。置于(25±1)℃培养箱中培养7 d后,测量菌落直径,用统计软件DPS分析各菌株对农药的敏感性。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离

从感病的橡胶叶片或枝条上共获得11个菌株,分别编号为HH1、HH2、HH3、HH4、MY1、MY2、MY3、MY4、MM1、JN1、ML1。

2.2 病原菌的鉴定结果

2.2.1 培养性状的观察

各菌株在PDA上的培养性状见表1。可以看出,采自花卉园和勐满的HH4、MM1菌落正反面颜色均为橘黄色,和其他菌落明显不同。其孢子形状也和其他差别很大,为纺锤形或梭形。其余9个菌株的孢子均为圆柱形。

表1 橡胶炭疽菌11个菌株的培养性状比较和孢子及附着胞大小

菌株编号	采集地	菌落正面颜色	菌落背面颜色	孢子形状	附着胞形状	孢子平均大小/ μm×μm	附着胞平均 大小/μm×μm
HH1	花卉园	黑灰	黑灰	圆柱形	椭圆形	15.7×4.8	7.1×5.3
HH2	花卉园	灰白	灰白	圆柱形	椭圆形	15.8×4.9	7.4×5.4
HH3	花卉园	橘黑	橘黑	圆柱形	椭圆形	16.5×5.3	7.0×5.0
HH4	花卉园	橘色	橘色	纺锤形	无	16.1×3.6	无
MY1	勐养19队	灰白	黑灰	圆柱形	椭圆形或不规则	16.5×4.9	7.4×5.2
MY2	勐养老5队	黑灰	黑灰	圆柱形	椭圆形或不规则	14.8×5.0	7.3×5.0
MY3	勐养	黑灰	黑灰	圆柱形	椭圆形或不规则	14.9×5.0	7.1×5.3
MY4	勐养老9队	黑灰	黑灰	圆柱形	椭圆形或不规则	17.4×4.9	7.2×5.1
MM1	勐满	橘色	橘色	纺锤形	无	17.4×4.2	无
JN1	江南队	灰白	黑灰	圆柱形	椭圆形	17.3×4.8	7.0×5.3
ML1	勐腊6分场	灰白	黑灰	圆柱形	椭圆形或不规则	15.6×5.1	7.3×5.4

2.2.2 孢子及附着胞大小

在显微镜下测量其大小,拍摄显微形态图,结果



图1 尖孢炭疽菌分生孢子

见表1及图1、2。可以看出,各个菌株的孢子大小差别不大。除了HH4、MM1外,孢子都产生附着胞。

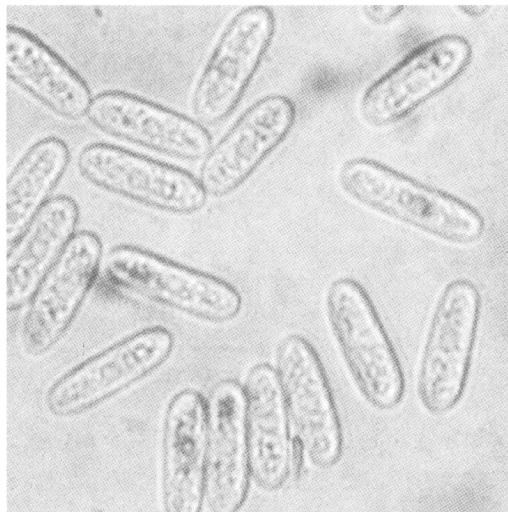


图2 胶孢炭疽菌分生孢子

2.2.3 生长速度

菌株的生长速率直接与实践紧密相关,本次共测定了11个菌株在PDA平板上的生长速率,HH4、MM1的菌落直径显著低于其他菌株,生长缓慢,培养4d仅38.1、37.5 mm。

2.2.4 对农药的敏感性

从农药试验测出:百菌清和甲基托布津对尖孢炭疽菌HH4的 EC_{50} 均比胶孢炭疽菌HH3的高(表3)。尖孢炭疽菌HH4和胶孢炭疽菌HH3对甲基托布津的敏感性差异显著,HH4有较强的耐药性。此结论与C. K. Jaysinghe报道的结果相一致^[10]。DPS分析结果显示供试农药间的抑菌差异也显著,甲基托布津的抑菌效果高于百菌清(表4)。

表2 橡胶炭疽菌11个菌株在PDA上的生长速率比较¹⁾

菌株编号	4 d 菌落直径/mm	显著水平	
		0.05	0.01
HH1	53.9	ab	A
HH2	52.4	ab	A
HH3	44.9	c	B
HH4	38.1	d	C
MY1	50.2	b	A
MY2	51.1	ab	A
MY3	53.0	ab	A
MY4	53.9	ab	A
MM1	37.5	d	C
JN1	55.0	a	A
ML1	54.6	a	A

1) 表中数据为3次重复的平均值,不同小写字母表示5%水平时差异显著,不同大写字母表示1%水平时差异显著。

表3 百菌清和甲基托布津对HH3、HH4的毒力测定分析¹⁾

供试菌种	百菌清				甲基托布津			
	毒力回归方程($y=$)	$EC_{50}/mg \cdot L^{-1}$	95%置信限/ $mg \cdot L^{-1}$	相关系数(r)	毒力回归方程($y=$)	$EC_{50}/mg \cdot L^{-1}$	95%置信限/ $mg \cdot L^{-1}$	相关系数(r)
HH4	$3.3895 + 0.6147x$	416.98 a	80.78~6523.10	0.975 1	$4.8888 + 0.4239x$	1.83 b	0.43~51.54	0.837 5
HH3	$3.9323 + 0.6623x$	40.94 a	15.52~155.05	0.991 3	$6.1982 + 0.7521x$	0.03 c	0.016~0.039	0.989 4

1) 同一列不同字母表示数据差异达显著水平($p < 0.05$)。

3 结论与讨论

根据相关参考文献[4,6~10],对从感病橡胶叶片或枝条分离到的11个菌株进行了鉴定。结果表

明:引起西双版纳橡胶炭疽的病原优势种为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、其次为尖孢炭疽菌(*C. acutatum*)。两个种的主要区别在于分生孢子形态、菌丝生长速率、菌落颜色以及对农药的

敏感性。与 C. K. Jayasinghe 的描述相同。

表4 百菌清和甲基托布津对 HH3、HH4 的毒力测定结果

供试药剂	浓度/mg · L ⁻¹	菌落直径/cm	
		HH4	HH3
75%百菌清 wp	1 000	1.892	0.925
	100	3.783	2.998
	10	4.247	4.825
	1	4.742	5.877
	0.1	4.983	6.367
70%甲基托布津 wp	1 000	1.165	0.178
	100	1.288	0.208
	10	1.532	0.225
	1	1.987	0.750
	0.1	4.620	2.322
对照	—	5.213	7.025

从本次研究可以看出,两个种有明显的不同。外观症状橡胶叶片有上凸小点的为尖孢炭疽菌,有典型炭疽症状的为传统的胶孢炭疽菌。培养性状显示:尖孢炭疽菌的菌落颜色鲜艳,为橘黄色,到培养后期,产生典型的纺锤形分生孢子;而胶孢炭疽菌产生圆柱形,两端圆的分生孢子,菌落颜色偏灰色。从菌丝生长速率来看,生长缓慢的为尖孢炭疽菌,生长较快的为胶孢炭疽菌。对农药的敏感性结果表明,胶孢炭疽菌较尖孢炭疽菌敏感。但经 DPS 统计软件分析,HH4 和 HH3 对百菌清的敏感差异不明显。鉴于此现象,两小种对农药的敏感性有必要做更深的研究,增加供试农药的种类。胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌对农药的敏感性是否会因林间用药而发生变化,都值得进一步的探索。

在西双版纳,橡胶炭疽病是目前橡胶生产上仅次于橡胶白粉病的又一重要病害,以前胶孢炭疽菌为此病害的唯一病原,这次在西双版纳植胶区发现的尖孢炭疽菌是首次报道。尖孢炭疽菌原来被描述作为果实采后的一种病害^[11-12],最近发现在橡胶生产上也引起了严重损失^[13-15]。可能是由于生物多样性的破坏,一些弱寄生的菌上升为强寄生菌,造成了橡胶生产上的危害。从大田病害发展及室内农药毒力测定结果来看,随着橡胶产业的不断发展及环境条件的逐渐变化,尖孢炭疽菌引起的病害有逐渐加重的趋势,这为生产上防治病害带来了更大的困难,本文仅对橡胶炭疽病进行了初步的鉴定,今后有必要开展其生物学特性及大田病害防治技术研究方面的工作,为生产上有效防治病害提供技术

支撑。

参考文献

- [1] 刘秀娟,杨业铜,冷怀琼. 我国植胶垦区橡胶树炭疽病菌的种型鉴定[J]. 热带作物学报, 1987, 8(1): 93-101.
- [2] 吴宝,陈权辉. 3%多菌灵烟剂(2号)防治橡胶炭疽病试验小结[J]. 热带作物科技, 1994(6): 42-43.
- [3] Jean Guyot, Edith Ntawanga Omanda. Effect of controlling *Colletotrichum* leaf fall of rubber tree on epidemic development and rubber production[J]. Crop Protection, 2001, 20: 581-590.
- [4] Jayasinghe C K, Fernando T H P S, Priyanka U M S. *Colletotrichum acutatum* is the main cause of *Colletotrichum* leaf disease of rubber in Sri Lanka[J]. Mycopathologia, 1997, 137: 53-56.
- [5] 王绍春,冯淑芬,刘秀娟. 橡胶炭疽病药剂防治试验[J]. 植物保护, 2002, 28(1): 28-30.
- [6] 吴文平,张志铭. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究 II. 种的划分[J]. 河北农业大学学报, 1994, 17(2): 31-37.
- [7] 吴文平,张志铭. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究 I. 属级分类和名称[J]. 河北农业大学学报, 1994, 17(2): 24-30.
- [8] 吴文平,张志铭. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究 IV. 种的划分特征及评价[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(2): 93-99.
- [9] 吴文平,张志铭,李玉琴. 炭疽菌属(*Colletotrichum* Cda.)分类学研究 V. 产直形孢子的种[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(3): 63-67.
- [10] Jayasinghe C K, Fernando T H P S. Growth at different temperatures and on fungicide amended media; Two characteristics to distinguish *Colletotrichum* species pathogenic to rubber[J]. Mycopathologia, 1998, 143: 93-95.
- [11] Simmonds J H. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland[J]. Queensland Journal of Agriculture and Animal Science, 1965, 22: 437-459.
- [12] 胡美姣,李敏,杨凤珍,等. 两种芒果炭疽病菌生物学特性的比较[J]. 西南农业学报, 2005, 18(3): 306-310.
- [13] Jayasinghe C K, Fernando T H P S. Toxic activity from liquid culture of *Colletotrichum acutatum* [J]. Mycopathologia, 2000, 152: 97-101.
- [14] Jayasinghe C K, Fernando T H P S, Wijesundera R L C. Cell wall degrading enzyme secretion by *Colletotrichum acutatum*, the causative fungus of secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis* [J]. Mycol Res, 2001, 105(2): 195-201.
- [15] Thakurda Saha, Arun Kumar, Minimol Ravindran, et al. Identification of *Colletotrichum acutatum* from rubber using random amplified polymorphic DNA polymorphisms[J]. Mycol Res, 2002, 106(2): 215-221.