

周银丽,白建波,胡先奇,等. 芒果叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):108-109.

# 芒果叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性

周银丽<sup>1,2</sup>, 白建波<sup>1</sup>, 胡先奇<sup>2</sup>, 卯昇涛<sup>1</sup>

(1. 红河学院云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南蒙自 661100;

2. 云南农业大学农业生物多样性应用技术国家工程研究中心, 云南昆明 650201)

**摘要:** 芒果叶斑病是一种较为严重的病害,对云南红河地区的芒果叶斑病原菌进行了鉴定,探讨不同温度、pH 值、光照、碳氮比等条件对叶斑病原菌菌丝生长的影响,以期系统掌握该病原菌的生物学特性,为芒果叶斑病的防治提供理论依据。结果表明,云南红河地区芒果叶斑病原菌是链格孢菌,其菌丝在 10~35℃ 范围内均能生长,最适温度为 25℃;在 pH 值 5~9 之间菌丝均能生长,pH 值为 7 时生长最好;在 3 种光照条件下菌丝均能扩展,最适光照为全黑暗环境;在碳氮比为 3~7 的范围内,菌丝均能生长,最适碳氮比为 6。

**关键词:** 芒果树;叶斑病;病原鉴定;生物学特性

**中图分类号:** S436.67 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0108-02

芒果(*Mangifera indica* Linn.) 为漆树科芒果属热带常绿大乔木,原产印度及马来西亚。我国芒果的经济栽培地区有广东、广西、海南、福建、云南、台湾等省区。芒果色、香、味俱佳,营养丰富,食用芒果具有益胃、解渴、利尿等功用<sup>[1]</sup>。

肖倩苑等<sup>[2]</sup>于 1985—1995 年对华南地区的芒果病害及其病原物做了调查、鉴定;龙亚芹等<sup>[3]</sup>于 2008—2010 年对云南省的芒果病害进行了调查,共鉴定出病虫害 94 种,其中病害 23 种,虫害 71 种。芒果的主要病害有芒果炭疽病、白粉病、叶斑病、芒果流胶病、芒果蒂腐病等,其中芒果叶斑病是发生较普遍、危害性较大、寄主范围较广的一种真菌病害,在印度、印度尼西亚、菲律宾、法国、南非、巴西及美国等国家亦有相关报道<sup>[4]</sup>。本试验主要分离鉴定红河州的芒果叶斑病原菌,并对其生物学特性进行研究,以期对芒果叶斑病的防治提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

从发病严重的芒果林采集感病芒果叶作为样品,将其带回实验室进行病菌的分离。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 病菌的分离及培养** 用清水将感病、健康交界处的植株组织冲洗干净,用灭菌手术刀取 3 mm×4 mm 的病变维管束组织,用 70% 乙醇消毒 30s 后用 0.1% 氯化汞消毒 3~5 min,再用蒸馏水漂洗 3~5 次,最后用灭菌滤纸吸干水分后移到 PDA 培养基中,置于 25℃ 的恒温箱中培养并观

察<sup>[5]</sup>,培养 4~7 d,待病菌产孢后进行纯化。

**1.2.2 病菌的纯化** 采用琼脂平板稀释法进行病菌的纯化<sup>[6]</sup>。先用灭菌水配制成孢子悬浮液,再用接种环取 1 环孢子悬浮液与 10 mL 已融化的琼脂培养基(约 45℃)充分混合,倒入灭菌的培养皿中,放置于 28℃ 恒温培养箱中进行培养。从培养皿中挑取单个分散的菌落移植到 PDA 培养基上进行纯化培养,再转入试管斜面进行保存。

**1.2.3 柯赫式法则验证及病菌的鉴定** 将纯化、产孢的病原菌孢子用无菌水配制成一定浓度的孢子悬浮液,喷洒在同一品种健康芒果植株的叶片上,以无菌水作为对照;保湿、观察并记录发病情况。将病原菌接种在 PDA 培养基上,30℃ 恒温培养箱中培养 6d 后,观察菌落颜色、形状、大小,是否产孢以及分生孢子颜色、形态及分生孢子梗的形态并测量其大小,从而进行病原菌的鉴定<sup>[7]</sup>。

**1.2.4 芒果叶斑病原菌基本生物学特性的室内测定** 选择温度、pH 值、光照和碳氮比作为指标,不同的温度梯度分别设置为 15、20、25、30、35℃,不同的 pH 值梯度分别设置为 5、6、7、8、9,不同的碳氮比梯度分别设置为 3、4、5、6、7,不同的光照分别设置为全光照、半光照、全黑暗,每处理 5 个重复。

在无菌环境下将芒果叶斑病原菌接种到各培养基中,然后置于恒温培养箱中培养。每隔 2 d 记录菌落的扩展情况,直至对照(CK)长满整个培养皿为止。与此同时用十字交叉法测定菌落直径,以其平均值代表菌落的大小并计算纯生长量:

纯生长量 = 菌落平均直径 - 菌饼直径。

## 2 结果与分析

### 2.1 芒果叶斑病原菌的鉴定

经鉴定芒果叶斑病原菌为链格孢菌(*A. alternata*),属真菌半知菌亚门,其分生孢子梗分隔,直立,不分枝或基本不分枝,分生孢子呈倒棍棒形,淡黄褐色至淡褐色,内有 3~6 个横隔膜,0~3 个纵、斜隔膜,分隔处稍益缩或益缩不明显,常多个一起形成链状。在 PDA 培养基上,该病菌平铺生长,呈灰黑色、绒毡状。

收稿日期:2012-10-09

基金项目:红河学院特色专业建设项目(编号:TS200801);红河学院植物保护硕士点建设项目。

作者简介:周银丽(1976—),女,云南祥云人,博士研究生,副教授,主要从事植物线虫病害及植物病害复合侵染的研究。E-mail: zyl\_biology2@126.com。

通信作者:胡先奇,云南盐津人,教授,博士生导师,研究方向为植物病理学及植物线虫学。E-mail: xqhoo@126.com。

2.2 各指标对芒果叶斑病原菌菌丝生长的影响

从表 1 可以看出,低碳氮比对芒果叶斑病原菌菌丝有一定的影响,当碳氮比为 3 时,其菌丝纯生长量约为 6 cm;而随着碳氮比的升高,其对菌丝的室内影响逐渐减弱,当碳氮比在 5~7 之间变化时,菌丝的纯生长量都高于 7 cm。因此芒果叶斑病原菌菌丝在碳氮比为 3~7 的环境下都能生长,最适碳氮比为 6。

表 1 碳氮比对芒果叶斑病原菌丝生长的影响

碳氮比	菌丝平均直径 (cm)	菌丝纯生长量 (cm)
3	6.76	6.26a
4	7.30	6.80a
5	7.77	7.27ab
6	7.83	7.33b
7	7.77	7.27ab

注:同列数据后不同小写字母者表示差异显著( $P<0.05$ )。

从表 2 可以看出,全光照在一定程度上抑制了芒果叶斑病原菌菌丝的生长,半光照和全黑暗条件下菌丝都能较好生长,最适合的生长环境为全黑暗。

表 2 光照对芒果叶斑病原菌丝生长的影响

光照条件	菌丝平均直径 (cm)	菌丝纯生长量 (cm)
全光照	6.87	6.37c
半光照	8.04	7.54b
全黑暗	8.60	8.10a

注同表 1。

由表 3 可以看出,在 15~35℃ 范围内,芒果叶斑病原菌菌丝都能生长,25℃ 最适于菌丝生长,其纯生长量最高,为 7.97 cm;温度低于或高于 25℃ 时,菌丝纯生长量均低于 25℃ 的;当温度升高到 35℃ 时,菌丝纯生长量最低,为 2.94 cm,此时菌丝已经生长得非常缓慢。

表 3 温度对芒果叶斑病原菌丝生长的影响

温度 (℃)	菌丝平均直径 (cm)	菌丝纯生长量 (cm)
15	5.44	4.94d
20	6.70	6.20b
25	8.47	7.97a
30	6.61	6.11c
35	3.44	2.94e

注同表 1。

由表 4 可以看出,在 pH 值 5~9 范围内,芒果叶斑病原菌菌丝均能生长,且适 pH 值为 7,此时纯生长量最大,为 6.17 cm;当 pH 值小于或大于 7 时,菌丝生长活力都在降低。从表 4 可以看出,pH 值对菌丝的影响存在二次函数型的比例关系,且菌丝适于在中性或略偏碱性的环境中生存。

3 讨论

根据相关研究,很多病原菌都可引起芒果叶斑病,2007

表 4 pH 值对芒果叶斑病原菌丝生长的影响

pH 值	菌丝平均直径 (cm)	菌丝纯生长量 (cm)
5	5.90	5.40b
6	4.65	4.15d
7	6.67	6.17a
8	5.96	5.46c
9	4.48	3.98d

注同表 1。

年台湾的 Ko 等首次报道了拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis mangiferae*)可引起芒果叶部灰斑病<sup>[8]</sup>;2011 年 He 等报道粉红单端孢霉(*Trichothecium roseum*)可引起芒果叶斑病<sup>[9]</sup>;2012 年 Qi 等报道黄单胞菌属(*X. arboricola pathovar*)可引起芒果细菌性叶斑病<sup>[10]</sup>;任一兵等对芒果叶斑病原菌分离纯化之后采用传统形态鉴定法及 ITS 序列分析法对其病菌进行鉴定,共分离得到 5 种病原真菌,分别为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、粉孢霉(*Oidium mangiferae* Berther)、链格孢菌(*A lternaria tenuissima*)、黑附球菌(*Epicoccum nigrum*)和黑曲霉(*Aspergillu niger*)<sup>[11]</sup>,由这些研究报道可以看出,很多种病原菌都能引起芒果叶斑病。本研究鉴定的芒果叶斑病原菌为链格孢菌(*A. alternata*),并未发现其他菌种,同时对其生物学特性进行了初步研究,以期对芒果叶斑病的防治提供参考。

参考文献:

[1]蒲金基,刘晓妹,梁活华. 芒果叶片对炭疽病的阶段抗性[J]. 植物保护学报,2004,31(3):247-251.

[2]肖倩纯,余卓桐,郑建华,等. 芒果病害种类及其病原物鉴定[J]. 热带作物学报,1995,16(1):77-83.

[3]龙亚芹,王万东,王美存,等. 云南芒果病虫害调查研究[J]. 热带作物学报,2011,32(3):508-513.

[4]黄显明,杨清楷. 攀枝花地区的芒果病虫害及其防治策略[J]. 热带农业科学,2002,22(1):9-13.

[5]赵 斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2002.

[6]方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1998:153-179.

[7]戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京:科学出版社,1987.

[8]Ko Y, Yao K S, Chen C Y, et al. First report of gray leaf spot of mango (*Mangifera indica*) caused by *Pestalotiopsis mangiferae* in Taiwan [J]. Plant Disease, 2007, 91(12):1684.

[9]He S L, Liu Z L, Liu X M, et al. A new disease in mango caused by *Trichothecium roseum*[J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(3):474-478.

[10]Qi Y X, Pu J J, Zhang X, et al. First report of bacterial leaf spot of mango caused by a *Xanthomonas arboricola pathovar* in China[J]. Journal of Plant Pathology, 2012, 94(4Sup):216.

[11]任一兵,王 宇,程 君,等. 芒果叶斑病原真菌的分离与鉴定[J]. 贵州农业科学,2010,38(10):107-108.