

胶孢炭疽病菌的研究进展

韩长志

(西南林业大学 林学院, 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘要: 胶孢炭疽病菌可以侵染众多重要的经济林树种, 引起炭疽病害, 给生产造成巨大的危害。本研究从形态特征、生活史以及遗传关系、致病基因等方面对其进行综述, 以期为进一步深入开展该病原菌的研究以及制定合理有效的防治措施打下坚实的基础。

关键词: 胶孢炭疽病菌; 生活史; 遗传关系; 防治措施

中图分类号: S432.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)增刊-0386-04

Study on Progress in *Colletotrichum gloeosporioides*

HAN Chang-zhi

(Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: Anthracnose is one of the major leaf diseases of many plants in the world, which pathogen is destructive to a vast variety of plants important to forestry. In the biological characteristics, life cycle and phylogeny, gene for pathogen were reviewed in order to further research the pathogen and make effective control strategy of the diseases in this study.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*; Life cycle; Genetic; Control

胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz. et Sacc.) Penz. et Sacc.) 可以侵染诸如桃、核桃、板栗、芒果、柿树、枇杷、苹果、橡胶、阿月混子、南方红豆杉、砀山梨等众多重要的经济林树种, 也可侵染蒜薹、番木瓜、麦冬等植物, 引起生产上较为严重的炭疽病, 严重威胁着各国林业生产^[1-7]。目前国内对炭疽病菌的研究主要集中在生物学特性、化学药剂筛选等方面, 而关于其遗传多样性、致病相关基因等报道较少, 这在一定程度上限制了对其侵染过程和致病机制的深入认识, 从而限制了防治该病技术的发展^[8]。本文综合近期胶孢炭疽菌的研究成果, 为深入开展该菌的基因功能研究以及进一步防治炭疽病提供参考。

1 分类地位、形态特征、生活史及危害症状

1.1 分类地位及形态特征

胶孢炭疽菌属于半知菌亚门, 腔胞纲, 黑盘孢

目, 炭疽菌属(*Colletotrichum*)。其分生孢子梗无色, 单个分生孢子无色、单胞, 形态为长圆柱形或椭圆形, 内含数个油球, 大小不同。例如苹果炭疽病的病原为 $9 \sim 16 \mu\text{m} \times 3 \sim 6 \mu\text{m}$; 柑橘炭疽病的病原为 $8.4 \sim 16.8 \mu\text{m} \times 3.5 \sim 4.2 \mu\text{m}$; 橡胶炭疽病的病原为 $13.6 \sim 18.4 \mu\text{m} \times 3.6 \sim 6.9 \mu\text{m}$ ^[9-10]。

1.2 生活史

胶孢炭疽菌通常以菌丝体和分生孢子在植物发病的部位进行越冬, 条件合适时, 分生孢子可以通过风雨、昆虫进行传播, 落在寄主组织表面; 孢子萌发形成芽管和附着胞, 可以直接或者通过气孔、伤口侵入, 从而导致植物发病。炭疽菌一般可直接在寄主上产生无性阶段, 有性阶段很少见到。

1.3 为害症状

胶孢炭疽菌主要的侵染部位为果实、叶片和枝干等。果实初期发病会出现圆形、淡褐色病斑, 后期病斑中部生出突起的小粒点。小粒点初期为褐色, 很快变为黑色, 一般散生或排列成轮纹状, 雨后或湿

收稿日期: 2012-08-24

基金项目: 云南省森林灾害预警与控制重点实验室开放基金项目(ZK11A101); 云南省重点学科森林保护学(XKZ200905) 资助

作者简介: 韩长志(1981-), 男, 河北石家庄人, 讲师, 博士, 主要从事森林病害生物防治与真菌分子生物学研究。

度大时,黑点上溢出粉红色黏质状物。叶片染病时产生黄褐色近圆形病斑,上生小黑粒。枝干上表皮初期形成不规则的褐色病斑,逐渐扩大形成溃疡斑,后期病皮龟裂脱落,致使木质部裸露,严重时溃疡斑以上枝条干枯,病部表皮上可产生小黑点。

2 生物学特性

研究发现,蒜薹、阿月混子、番木瓜、南方红豆杉以及麦冬、橡胶等炭疽病均由胶孢炭疽菌引起,生物学特性方面,菌丝、分生孢子的最适温度、pH 值以及光照条件均不相同,这说明不同植株上胶孢炭疽菌菌株生活适合度不同(表 1)。同时,由于所开展的工作侧重点不同,导致对病菌的生物学特性研究并不全面,如姜勇^[5]只对病菌在 25~30℃ 条件下进行研究,并未对菌丝在其他条件下进行研究;崔昌华^[2]对病菌也只就菌丝在温度和 pH 值条件下进行研究。

来自于不同寄主上胶孢炭疽菌菌丝最适温度范围为 24~28℃;最适 pH 值 5~11;而分生孢子的最

适温度范围为 25~30℃;分生孢子萌发所需最适 pH 值条件为 5~7,以具有水滴或者湿度为 100% 萌发效果最好。同时,黑暗条件下有利于其孢子萌发,在 100% 相对湿度下孢子萌发率最高,在葡萄糖、橡胶叶汁和琼脂胶等营养液中,分生孢子萌发率要明显高于清水对照^[2,11-12]。徐红梅等^[13]发现 43 个菌株的培养特征和生长适应性等性状存在着较大的差异;Senaratna 等^[14]发现 2 个胶孢炭疽代表菌株在生长速率、孢子颜色与大小上也存在差异。

综上,由于胶孢炭疽菌危害植物种类较多,来自于不同寄主植物上的病菌由于处于不同的生活条件下,使其具有不同的生物学特性,同时,由于目前尚未有统一的生物学特性测定标准,使得一些学者在试验过程中,仅满足于简单的几个指标的测定,严重影响了后期对这些菌株的进一步分析研究,因此,对胶孢炭疽菌的研究,需尽快制定相关的生物学特性研究指标,使得未来可以更好的比较来自于不同寄主植物上的病菌之间适生性的变化情况。

表 1 胶孢炭疽病菌造成不同病害及其生物学特性

Tab. 1 The biological characteristic of *Colletotrichum gloeosporioides* caused different disease

病害名称 Disease name	寄主 Host	生物学特性 Biological characteristics						
		菌丝 Mycelium			分生孢子 Conidia			
		生长温度/ 最适温度/℃ Growth temperature/ Optimum temperature	生长 pH 条件/ 最适 pH 条件 Growth pH/ Optimum pH	最适光照条件 Optimum light conditions	萌发温度/ 最适温度/℃ Germination temperature/ Optimum temperature	萌发 pH 条件/ 最适 pH 条件 Germination pH/ Optimum pH	萌发最 适合湿度 The optimum humidity of germination	最适 光照条件 Optimum light conditions
蒜薹炭疽病 ^[7]	蒜薹	10~35/25	3~7/6	光暗交替	10~40/30	4~7/6	高湿度	黑暗
核桃炭疽病 ^[15]	核桃	10~35/25	3~11/6.5~7.0	-	-	3~11/6.5~7.0	100% 湿度	-
苹果炭疽病 ^[9]	苹果	-	-	-	12~40/28~32	-	95% 以上 20% 苹果汁	-
柑橘炭疽病 ^[9]	柑橘	9~37/21~28	-	-	>6/22~27	-	4% 橘叶煎汁或葡萄糖液	-
阿月浑子炭疽病 ^[5]	阿月浑子	-/25	-	-	-	-	1% 葡萄糖溶液	-
麦冬炭疽病 ^[3]	麦冬	10~35/28	3~11/6	无	10~40/28	3~11/7	-	-
番木瓜炭疽病 ^[1]	番木瓜	10~35/25~28	3~11/6	完全黑暗	10~40/28~30	-/5	水滴	-
南方红豆杉炭疽病 ^[4]	南方红豆杉	10~35/25	2~12/6~8	光暗交替	10~40/25	3~10/6	水滴	12 h 光暗交替
云南省橡胶炭疽病 ^[2]	橡胶	5~37/26~28	5~11/5.6~8.9,11	-	-	-	-	-
海南省橡胶炭疽病 ^[2]	橡胶	10~28/24~26	5~11/5~7	-	-	-	-	-

3 遗传进化关系

胶孢炭疽菌作为胶孢炭疽菌属内一个主要种和重要种,从形态特征来看,具有集合种群和复合种的特征,种内菌株间变异大,有多个专化型或生理小种^[16]。目前,用于炭疽病菌遗传多样性研究的分子生物学方法主要有核糖体 DNA 转录间隔区(rDNA ITS)^[17]和随机扩增 DNA 多态性(RAPD)^[18]等。就前者而言,国外学者应用特异性引物对炭疽病菌形态上相似种进行 PCR 检测与鉴定^[19-21]。就后者而

言,Mesquita 等^[22]对菜豆炭疽菌(*C. lindemuthiana*)的 27 个菌株进行分析,发现聚类结果与传统的致病性检测结果相一致;曾大兴等^[23]对广东不同果树上的 28 个胶孢炭疽菌的种内遗传多样性进行研究,发现供试菌株的亲缘关系与寄主来源有一定的相关性。

基于 NCBI 数据库中炭疽菌属真菌的 ITS 序列进行聚类分析,结果显示:胶孢炭疽菌与 *C. ampelinum*、*C. caricae*、*C. orchidearum* 等亲缘关系较近,而与 *C. capsici*、*C. liriopes*、*C. tofieldiae* 等亲缘关系较

远;同时对已经报道的胶孢炭疽菌 ITS 序列进行分析,结果表明,胶孢炭疽菌不同菌株之间存在较大的差异性,453 个不同菌株之中有 21 个菌株表现出较大的差异(登录号分别为:EF025936.1、EF025954.1、EF025959.1、EF025957.1、EF025960.1、EF025943.1;JF710572.1、JF710570.1、JF710575.1、JF710580.1、JF710581.1、JF710579.1、JF710561.1;EU697200.1、EU520114.1、EU732733.1;GU222371.1、GU222387.1、GU222381.1;FJ459934.1、FJ459932.1)(图 1)。

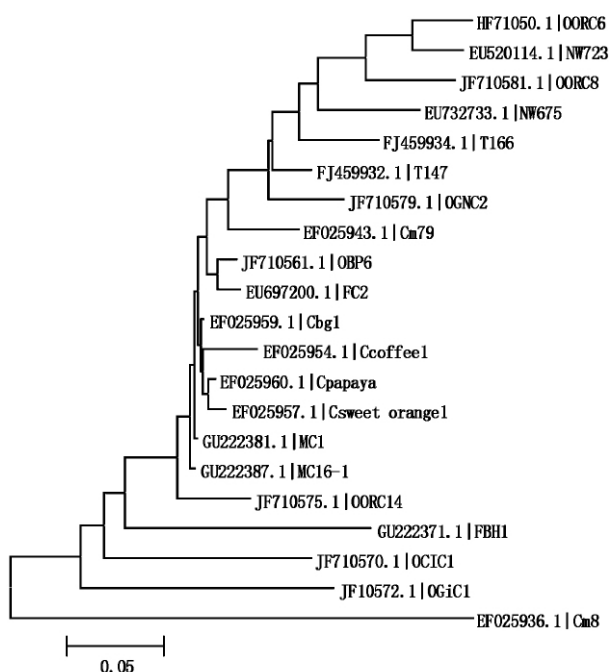


图 1 胶孢炭疽菌不同菌株之间的遗传关系

Fig.1 Phylogenetic tree of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* based on sequences of ITS region

4 致病基因研究

目前,国外学者开展了大量有关胶孢炭疽菌的致病基因的研究,胶孢炭疽菌侵染过程中众多阶段相关的致病基因已经得到克隆,例如,孢子附着基质基因 *chip1*^[24]、附着孢形成时期的 *cap3*、*cap5*、*cap20*、*cap22*、*CUT1* 以及 *chip6* 基因^[25-28];持家基因有 *TUB1* 和 *TUB2*^[29];营养阶段有关的基因 *gln* 和 *CgDN24*^[30];早期活体营养阶段 *CgDN3* 基因^[31];死体营养阶段的 *pel*、*pelB*^[32] 以及转录激活基因 *CG-TA1*^[33]。同时,有报道显示编码 β -微管蛋白的基因 *tub1*、*tub2* 与多菌灵抗药性产生有关^[34],*Cg Opt1* 编码寡肽转运器^[35] 以及 *Cg CTR2* 编码液泡铜转运器^[36] 均与病原菌的致病性相关,然而,上述众多基因是如何行使各自功能,共同侵染植物以及产生对药剂抗药性机制尚不清楚,因此,从信号网络视角开

展胶孢炭疽菌各基因功能的研究对于进一步明确其侵染方法和危害方式有着重要的理论和实践意义。

5 防治措施及研究展望

生产上对炭疽病的防治以化学防治为主,多使用多菌灵、甲基托布津、苯菌灵、特克多等苯并咪唑类杀菌剂。多菌灵是一种苯并咪唑类广谱性杀菌剂,生产上可有效防治苹果、梨等果树的轮纹病和核桃炭疽病等病害。一般认为该药剂的作用机理是干扰病原菌有丝分裂过程中纺锤体的形成,影响细胞分裂,从而具有杀菌功能。国内学者对核桃炭疽病菌、阿月浑子炭疽菌以及橡胶炭疽病菌的室内药剂抑制试验表明,多菌灵等苯并咪唑类药剂在一段时间内某些炭疽病害防治方面尚具有较好的防治效果^[2,5,15]。然而,由于苯并咪唑类杀菌剂都有共同的衍生物多菌灵或它的乙基同系物乙基多菌灵,具有相同的作用机理和抑菌谱,使得抗性突变菌株对这些化合物常表现出交互抗性^[37],从而造成众多植物病原菌对苯并咪唑类杀菌剂产生抗药性,成为生产上最为突出的问题之一。自 20 世纪 80 年代初首次报道病原菌对苯并咪唑类杀菌剂产生抗药性以来,至少已发现 55 个属的植物病原真菌具有抗药性^[38]。

核桃、板栗作为重要的经济林树种,日益发挥着重要作用,目前,国内学者对其炭疽病的研究较少,对于极易受到胶孢炭疽菌危害的我国云南地区核桃、板栗主产区病害发生情况尚不清楚,同时该病原菌对多菌灵的敏感程度以及不同敏感程度菌株之间的遗传特性、生物学特性也不清楚,成为学术界急需解决的问题之一。此外,对林木上进行病原菌侵染的研究较为困难,同一真菌的不同菌株或不同类群的侵染能力也不同,在不同寄主上产生的症状也不尽相同,因此,研究炭疽病菌作用于核桃、板栗的机制可以通过建立和完善模式植物与病原菌之间互作平台而进行研究,将有利于进一步研究该病原菌基因的表达、细胞信号传导以及蛋白表达的功能。

参考文献:

- [1] 杜宜新,冯岩,张启林,等.番木瓜胶孢炭疽菌的生物学特性研究[J].仲恺农业技术学院学报,2006,(2):4-7.
- [2] 崔昌华.橡胶老叶炭疽病病原菌的生物学、对药物的敏感性及 ITS 序列分析[D].儋州:华南热带农业大学,2006.
- [3] 张海珊.麦冬炭疽菌的生物学特性及有效药剂筛选[D].合肥:安徽农业大学,2008.
- [4] 范晓龙.南方红豆杉炭疽病的研究[D].福州:福建农林大学,2006.

- [5] 姜 勇. 阿月浑子炭疽病的鉴定及其防治 [D]. 保定: 河北农业大学 2009.
- [6] 吴良庆, 朱立武, 衡 伟, 等. 砀山梨炭疽病病原鉴定及其抑菌药剂筛选 [J]. 中国农业科学, 2010, (18): 3750 – 3758.
- [7] 杨 蕊, 石明旺, 赵荣艳, 等. 蒜薹炭疽病病原鉴定及其生物学特性研究 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(4): 160 – 164.
- [8] 蔡志英, 黄贵修. 巴西橡胶树炭疽病研究进展 [J]. 西南林业大学学报, 2011, 31(1): 89 – 93.
- [9] 李怀方, 刘凤权, 郭小密. 园艺植物病理学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社 2008.
- [10] 蔡志英, 李加智, 王进强, 等. 橡胶胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌对杀菌剂的敏感性测定 [J]. 云南农业大学学报, 2008, 23(6): 787 – 790.
- [11] 陈荃英. 橡胶炭疽菌生物学特性观察 [J]. 云南热作科技, 1982(3): 25 – 27.
- [12] 冯淑芬, 刘秀娟, 郑服丛, 等. 橡胶树炭疽菌生物学和侵染特征研究 [J]. 热带作物学报, 1998, 19(2): 7 – 14.
- [13] 徐红梅, 管兰华, 韩正敏. 不同胶孢炭疽菌菌株比较 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2004, (3): 67 – 69.
- [14] Senaratna L K, Wijesundera R L C, Liyanage A de S. Morphological and physiological characters of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from rubber (*Hevea brasiliensis*) [J]. Mycological Research, 1991, 95(9): 1085 – 1089.
- [15] 肖育贵, 周建华, 肖银波. 秦巴山核桃炭疽病病原菌生物学特性及防治技术的研究 [J]. 四川林业科技, 2010, (1): 54 – 57.
- [16] Sutton B C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In *Colletotrichum—Biology, Pathology and Control* (ed. Bailey J. A. & Jeger M. J.) [M]. CAB International: Wallingford, 1992, 1 – 26.
- [17] Gupta V K, Pandey A, Kumar P *et al.* Genetic characterization of mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. by random amplified polymorphic DNA analysis [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(26): 4009 – 4013.
- [18] 陈希芹. 胶孢炭疽菌的遗传多样性 [D]. 雅安: 四川农业大学 2004.
- [19] Mills P R, Sreenivasaprasad S, Brown AE. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR [J]. FEMS Microbiol Lett. 1992, 98: 137 – 144.
- [20] Afanador-Kafuri L. Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora, and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus [J]. Phytopathology 2003, 93(5): 579 – 587.
- [21] Weeds P L, Chakraborty S, Fernandes C D *et al.* Genetic diversity in *Colletotrichum gloeosporioides* from *Stylosanthes* spp. at centers of origin and utilization [J]. Phytopathology 2003, 93(2): 176 – 185.
- [22] Mesquita A G, Paula J T, Moreira M A *et al.* Identification of races of *Colletotrichum lindemuthianum* with the aid of PCR-based molecular markers [J]. Plant Disease, 1998, 82(10): 1084 – 1087.
- [23] 曾大兴, 戚佩坤, 姜子德. 胶孢炭疽菌的种内遗传多样性研究 [J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 50 – 55.
- [24] Liu Z M, Kolattukudy P E. Identification of a gene product induced by hard-surface contact of *Colletotrichum gloeosporioides* conidia as a ubiquitin-conjugating enzyme by yeast complementation [J]. Journal of Bacteriology, 1998, 3592 – 3597.
- [25] Hwang C S, Flaishman M A, Kolattukudy P E. Cloning of a gene expressed during appressorium formation by *Colletotrichum gloeosporioides* and a marked decrease in virulence by disruption of this gene [J]. The Plant Cell, 1995, 7: 183 – 193.
- [26] Hwang C S, Kolattukudy P E. Isolation and characterization of genes expressed uniquely during appressorium formation by *Colletotrichum gloeosporioides* conidia induced by the host surface wax [J]. Molecular and General Genetics, 1995, 247: 282 – 294.
- [27] Ettinger W F, Thukral S K, Kolattukudy P E. Structure of cutinase gene, cDNA and the derived amino acid sequence from phytopathogenic fungi [J]. Biochemistry, 1987, 26: 7883 – 7892.
- [28] Kim Y K, Wang Y H, Liu Z M *et al.* Identification of a hard surface contact-induced gene in *Colletotrichum gloeosporioides* conidia as a sterol glycosyl transferase, a novel fungal virulence factor [J]. The Plant Journal, 2002, 30: 177 – 187.
- [29] Buhr T L, Dickman M B. Isolation, characterization, and expression of a second α -tubulin-encoding gene from *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60: 4155 – 4159.
- [30] Stephenson S A, Stephen C M, Maclean D J, *et al.* *CgDN24*: A gene involved in hyphal development in the fungal phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. Microbiological Research, 2005, 160: 389 – 397.
- [31] Stephenson S A, Hatfield J, Rusu A G *et al.* *CgDN3*: An essential pathogenicity gene of *Colletotrichum gloeosporioides* necessary to avert a hypersensitive-like response in the host *Stylosanthes guianensis* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000, 13: 929 – 941.
- [32] Medeiros L V, Maciel D B, Medeiros V V *et al.* *pelB* gene in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from several hosts [J]. Genetic Molecular Research, 2010, 9(2): 661 – 673.
- [33] 李明江. 胶孢炭疽菌侵染柿树的细胞学研究及 *CG-TA1* 基因的克隆 [D]. 杭州: 浙江大学 2007.
- [34] 詹儒林. 芒果炭疽病菌抗药性基因 *tub2* 的克隆及其转化金龟子绿僵菌的初步研究 [D]. 漳州: 华南热带农业大学 2007.
- [35] Véronique C, Rudy M, Amir S. *CgOpt1*, a putative oligopeptide transporter from *Colletotrichum gloeosporioides* that is involved in responses to auxin and pathogenicity [J]. BMC Microbiology, 2009, 9: 173.
- [36] Barhoom S, Kupiec M, Zhao H *et al.* Functional Characterization of *CgCTR2*, a Putative Vacuole Copper Transporter That Is Involved in Germination and Pathogenicity in *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. Eukaryotic Cell, 2008, 7(7): 1098 – 1108.
- [37] 赵善欢. 植物化学保护 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [38] 周明国, 叶钟音. 植物病原菌对苯并咪唑类及相关杀菌剂的抗药性 [J]. 植物保护, 1987, (2): 31 – 33.