

荔枝叶面、花穗和果实上真菌消长动态

张 荣¹, 邓振权², 刘爱媛¹, 陈厚彬¹

(¹ 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642; ² 茂名市水果局, 广东 茂名 525000)

摘要:用组织分离方法对荔枝不同发育时期和不同部位的致病和非致病真菌进行系统分析,结果分离到14个属的真菌,其中致病菌11种,非致病菌3种.炭疽属 *Colletotrichum* sp. 和拟茎点霉属 *Phomopsis* sp. 真菌在叶片、花穗和果实上属于常驻菌群;非致病菌壳囊孢属 *Cytospora* sp. 真菌全年出现在成熟叶片上,分离频率为43.7%;而芽枝孢属 *Cladosporium* sp. 和链格孢属 *Alternaria* sp. 真菌在荔枝开花和挂果期广泛分布.茂名地区2009年降雨量为1 396.9 mm,当日均降雨量在0.2~12.4 mm区间时,花穗和果柄上链格孢属真菌与日均降雨量呈正相关,一元线性回归方程为 $y = 11.99 + 2.5x$ ($r^2 = 0.99, P < 0.01$),而炭疽菌属、拟茎点霉属、芽枝孢属、白地霉属真菌与日均降雨量相关性不显著.果实上致病菌变化趋势为第2次生理落果期和果实成熟期含有致病真菌最多,采前落果期致病菌分离频率最低.在果实发育过程中,降雨量与其他因素共同作用影响致病菌分离频率.

关键词:荔枝; 致病真菌; 非致病真菌; 动态变化; 降雨量
中图分类号:Q938.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2012)02-0159-04

Dynamic Changes of Fungi on the Leaves, Flower Clusters and Fruits in Litchi

ZHANG Rong¹, DENG Zhen-quan², LIU Ai-yuan¹, CHEN Hou-bin¹

(¹ College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
² Maoming Fruit Administration Bureau, Maoming 525000, China)

Abstract:Dynamic changes of fungi population were analyzed by tissue isolation on leaves, flower clusters and fruits in litchi. Fourteen genera of fungi were isolated, including 11 pathogenic fungi and 3 non-pathogenic fungi. *Colletotrichum* sp. and *Phomopsis* sp. belonged to resident population on litchi old leaves, flower clusters and fruits. In old leaves, isolation *Cytospora* sp. was resident all the year, and its isolation frequency was 43.7%. *Alternaria* sp. and *Cladosporium* sp. widely distributed at the stage of blossom and fruit bearing. The precipitation of Maoming in 2009 was 1 396.9 mm. There was a positive correlation between isolation frequency of *Alternaria* sp. and the daily mean rainfall in flower clusters and fruit stalks with 0.2 – 12.4 mm precipitation range, their one-dimensional linear regression equation was $y = 11.99 + 2.5x$ ($r^2 = 0.99, P < 0.01$), while there was no correlation between daily mean rainfall and isolation frequency of *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Cladosporium* sp. and *Geotrichum* sp.. There were maximum pathogenic fungi at the second physiological drop and during fruit maturation, while the isolation frequency was the lowest at the last fruit-drop before harvest. The rainfall and other factors together affected distribution of pathogenic fungi.

Key words:litchi; pathogenic fungi; nonpathogenic fungi; dynamic change; precipitation

20 世纪 70 年代,在认识到植物普遍带菌、潜伏侵染及复合侵染等理论的情况下,植物体微生物生态学迅速发展,为病害的预防治疗提供了新的思路^[1]. 叶围、花穗和果实上微生物分布及其微生态环境问题的研究也取得了一定的进展. 1993 年英国学者发现随季节的变化,甜菜不同叶龄叶围的微生物种群种

收稿日期:2011-03-03
作者简介:张 荣(1979—),女,实验师,在职博士研究生;通信作者:陈厚彬(1963—),男,研究员,博士,E-mail: hbchen@scau.edu.cn
基金项目:国家现代农业(荔枝龙眼)产业技术体系(CARS-33);广东省“211 工程”第三期建设经费

类和种群密度是不相同的,夏季老叶片菌群密度最大,而且丝状真菌以芽枝孢属 *Cladosporium* sp. 和链格孢属 *Alternaria* sp. 为主^[2]. 郭继平等^[3] 分析不同抗病性葡萄品种果穗微生物从幼果膨大期到成熟期丝状真菌和酵母菌动态变化,认为不同品种在同一生育期酵母菌的出现频率和其他丝状真菌的种类及出现频率无明显差异,同一品种在不同生育期真菌的数量和种类差异显著,幼果膨大期的优势丝状真菌为盾壳霉属 *Coniothyrium* sp.,成熟期的优势丝状真菌为链格孢属、芽枝霉属和茎点霉属 *Phoma* sp.. 这些研究多局限于不同品种间植物叶面和果实微生物区系比较,而对果园内树栖致病真菌和非致病真菌及其在不同发育时期的变化及相关影响因素鲜见报道.

荔枝园作为一个生态系统,其生长不可能在无菌条件下进行. 据报道引起荔枝叶片、花穗和果实病变的病原物有 34 种^[4]. 而荔枝果实病害(霜疫霉病、炭疽病、白粉病、酸腐病)和叶部病害(各类叶斑病)仍是荔枝园的主要问题. 鉴于荔枝叶片和果实主要和次要病害的演替,腐烂果病菌的潜伏侵染特性和我国荔枝成熟期的气候特点,本文对荔枝叶片和果实真菌在荔枝生育期中的消长动态进行分析,旨在了解果园内叶面、花穗和果实致病真菌和非致病真菌消长动态及与降雨量的关系,为选择最佳喷施杀菌剂时机,减少使用杀菌剂次数,同时最大限度发挥有益生物自控作用奠定理论基础.

1 材料与方法

1.1 供试品种

早熟品种白糖罂,采自广东省高州市根子镇. 该果场白糖罂种植面积约 4 hm²,株行距为 4.2 m × 4.3 m,17 年树龄的圈枝苗. 气象数据由国家现代农业(荔枝龙眼)产业技术体系茂名综合试验站提供.

1.2 方法

1.2.1 采样方法 选取距地面 1~2 m 树冠内外的枝条,从东南西北 4 个方向随机采集老熟的叶片以及花穗和果穗. 每 6 棵树设为 1 个小区,设 5 个小区,单株重复^[5].

采样时间为 2009 年. 开花到果实采收期每隔 17~18 d 采样,果实采收后到花穗原基分化期每隔 30 d 采样,样品置塑料袋中带回实验室,放 4℃ 冰箱保存,次日分离.

1.2.2 分离方法 选取叶片中部叶脉,花穗的小花花柄,果穗的果柄,果实的果肩处进行组织分离. 每部位分离组织块 42 个. 将分离物纯化保存^[6]. 计算各种真菌分离频率:

分离频率 = 某种菌菌落数/分离总菌落数 × 100%.

1.2.3 真菌的鉴定 观察菌落形态,包括菌落大

小、颜色、分泌物和质地等,并通过显微镜观察孢子颜色、大小等形态特征,根据真菌分类的相关文献资料结合分子生物学手段进行初步鉴定,将分离到的真菌确定到属的分类地位^[7-11].

1.2.4 致病性测定 将分离到的菌株纯化培养,用直径 5 mm 菌饼分别在嫩叶、老叶、成熟荔枝果实上进行刺伤和不刺伤接种,26℃ 下保湿 24 h 后取下菌饼,2 d 后统计发病率. 以接种空白培养基为对照.

1.2.5 数据分析 利用 SAS 软件进行回归分析^[12],利用 Excel 软件作图.

2 结果与分析

2.1 荔枝树真菌种群及数量演替分析

2009 年 2 月 13 日—11 月 20 日,共采样 13 次,优势真菌种群分属于 14 个属,其中 1 个属于鞭毛菌亚门,13 个属于半知菌亚门,它们分别是荔枝霜疫霉 *Peronophythora litchii* Chen ex Ko et al、炭疽菌属 *Colletotrichum* sp.、拟茎点霉属 *Phomopsis* sp.、壳囊孢属 *Cytospora* sp.、黑孢霉属 *Nigrospora* sp.、芒果球座菌 *Guignardia mangiferae*、芽枝孢属 *Cladosporium* sp.、拟盘多毛孢属 *Pestalotiopsis* sp.、镰刀菌属 *Fusarium* sp.、链格孢属 *Alternaria* sp.、白地霉属 *Geotrichum* sp.、弯孢霉属 *Curvularia* sp. 和粉孢菌属 *Oidium* sp.,酵母类 1 种(表 1、表 2). 从种群演替上看,成熟叶片上全年均有分布的是炭疽菌属、拟茎点霉属和壳囊孢属真菌,分离频率最高的是壳囊孢属,平均为 43.7%,黑孢霉属和芒果球座菌出现次数超过 10 次;在小花花梗和果柄上出现次数最多的是炭疽菌属、芽枝孢属和芒果球座菌,其中芽枝孢属真菌分离频率最高为 28.2%;在果实发育过程中,炭疽菌属、拟茎点霉属、链格孢属、芽枝孢属和白地霉属是常驻菌群;花后 37 d,果实上始见霜疫霉为害,并可分离到镰刀菌属、拟盘多毛孢属和酵母菌;花后 66 d,果实上发生由粉孢属真菌引起的荔枝白粉病,花后 84 d 白粉病发病率达 51.3%. 总体上看,炭疽菌属、拟茎点霉属真菌持续出现在叶片、花穗和果实上,而芽枝孢属真菌在荔枝开花和挂果期广泛分布.

2.2 致病性测定

由表 3 可知,炭疽菌属、拟茎点霉属、链格孢属、芽枝孢属、镰刀菌属、弯孢霉属、拟盘多毛孢属和黑孢霉属真菌对老叶不具有致病性,在有伤口的情况下可引起嫩叶发病;链格孢属、芽枝孢属、镰刀菌属、弯孢霉属和拟盘多毛孢属真菌在有无伤口时,均可引起果实发病;黑孢霉属和拟茎点霉属真菌对果实不具有致病性;荔枝霜疫霉和炭疽菌对嫩叶和果实有无伤口均可致病;白地霉属仅可侵染果实;芒果球座菌、壳囊孢属、酵母菌对老叶、嫩叶和果实均不致病,属于非致病真菌.

表 1 叶面真菌种类及不同时期分离频率
Tab.1 Fungi species and the isolation frequency on leaves in different periods

真菌种类	不同时期分离频率/%												
	02-13	03-01	03-19	04-06	04-19	05-04	05-22	06-08	07-15	08-14	09-12	10-17	11-20
炭疽菌属	3.2	0.8	0.8	3.8	3.3	4.0	4.3	23.8	24.8	40.0	26.8	12.8	17.3
拟茎点属	10.3	15.1	5.6	10.7	1.4	3.3	3.7	2.4	5.7	11.4	14.3	8.3	8.2
壳囊孢属	63.5	46.8	39.7	47.0	43.8	33.3	34.1	36.2	46.7	43.8	33.3	44.3	56.1
黑孢霉属	0	3.1	1.6	0.6	2.4	1.0	0	1.4	0	8.1	3.0	5.1	3.4
芒果球座菌	0	4.0	0.8	3.0	3.8	7.6	5.2	3.3	4.8	3.8	2.7	1.5	2.7
芽枝孢属	0	0	13.5	8.3	11.4	0	0.6	1.0	0	0	0	0.6	0
拟盘多毛孢属	0.8	0.8	0.8	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0
镰刀菌属	0	0	0	7.7	0.5	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0
链格孢属	0	0	0	0	0	0	0	1.9	1.9	0	0.3	0.3	0
白地霉属	0	0	4.0	18.5	1.4	0	0	1.0	0	0	0	0	0
弯孢属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0.3
酵母	0	0	0	2.4	9.5	1.0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 花梗、果柄和果实真菌种类及不同时期分离频率
Tab.2 Fungi species and the isolation frequency on flower clusters, fruit stalks and fruit in different periods

真菌种类	花梗和果柄不同时期分离频率/%							果实不同时期分离频率/%					
	03-01	03-19	04-06	04-19	05-04	05-22	06-08	03-19	04-06	04-19	05-04	05-22	06-08
炭疽菌属	1.6	1.6	4.8	7.6	10.5	11.6	2.3	1.6	7.1	10.5	5.8	6.7	52.4
芽枝孢属	9.5	31.7	39.3	35.2	32.4	30.1	19.0	39.7	41.5	3.8	1.0	2.3	2.3
芒果球座菌	1.6	3.2	1.2	1.0	2.0	1.0	2.4	1.6	0	0	0	0	0
拟茎点属	0	9.5	21.4	12.4	17.1	13.2	7.0	7.9	17.9	5.7	5.7	5.9	28.6
链格孢属	0	15.9	14.3	14.3	21.9	20.9	42.9	14.2	10.7	3.6	1.0	1.0	9.5
白地霉属	0	1.6	6.0	2.9	2.9	11.4	14.3	6.3	3.0	1.0	1.0	2.0	4.8
镰刀菌属	1.6	0	10.7	2.1	1.0	3.0	4.8	0	3.6	1.0	1.0	1.0	2.3
黑孢霉属	7.2	4.8	0	6.0	7.6	4.3	0	3.2	0	3.8	3.8	3.1	0
拟盘多毛孢属	1.6	0	2.4	0	1.0	2.4	0	0	2.4	0	1.0	0	0
弯孢属	1.6	3.2	2.4	0	0	0	0	3.2	0	0	0	0	0
粉孢属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25.7	51.3	0
霜疫霉属	0	0	0	0	0	0	0	0	13.0	40.5	0	0	0
酵母	0	0	0	4.5	2.0	3.2	4.5	0	3.6	5.7	1.0	1.0	2.3

表 3 不同菌株致病性测定 ¹⁾						
Tab.3 Pathogenicity test of different isolations						
菌株	老叶		嫩叶		果实	
	刺伤	不刺伤	刺伤	不刺伤	刺伤	不刺伤
炭疽菌属	-	-	+	+	+	+
拟茎点属	-	-	+	-	-	-
链格孢属	-	-	+	-	+	+
芽枝孢属	-	-	+	-	+	+
镰刀菌属	-	-	+	-	+	+
弯孢属	-	-	+	-	+	+
拟盘多毛孢属	-	-	+	-	+	+
黑孢霉属	-	-	+	-	-	-
荔枝霜疫霉	-	-	+	+	+	+
白地霉属	-	-	-	-	+	+
芒果球座菌	-	-	-	-	-	-
壳囊孢属	-	-	-	-	-	-
酵母	-	-	-	-	-	-

1)“-”表示不致病,“+”表示致病.

2.3 花梗和果柄真菌动态变化与日均降雨量的关系
当全年降雨量为 1 396.9 mm,日均降雨量在

0.2 ~ 12.4 mm 时,各种致病真菌在花柄和果柄上消长动态不一.一元线性回归分析表明,链格孢属真菌变化与日均降雨量呈正相关,回归方程为 $y = 11.99 + 2.5x$ ($r^2 = 0.99, P < 0.01$).从回归方程可以看出,日均降雨量每增加 1 mm,链格孢属真菌分离频率平均提高 2.5%,当日均降雨量为 0 时,链格孢属真菌分离频率为 11.99% (图 1).

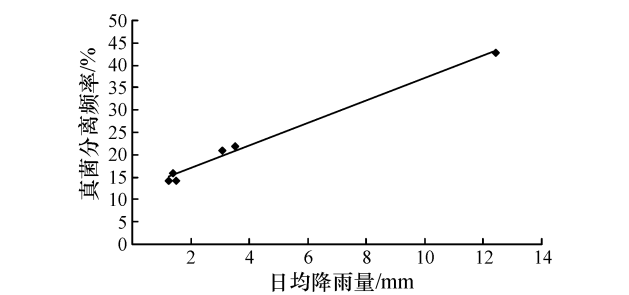


图 1 花梗和果柄上链格孢属真菌分离频率与日均降雨量的关系
Fig.1 Correlation between isolation frequency of *Alternaria* sp. on flower clusters and fruit stalks and daily mean rainfall

炭疽菌属、拟茎点霉属、芽枝孢属和白地霉属真菌分离频率变化与降雨量无显著相关性。其中芽枝孢属真菌在花穗和果柄上分离频率最高,平均分离频率为 28.17%,花后 37 d 分离频率达 39.3%,此后分离频率逐渐下降(表 2)。

2.4 荔枝果实发育过程中真菌消长动态分析

果实上致病真菌分离频率最高值出现在花后 37 d,对应第 2 次生理落果期;到花后 66 d,即采前落果期,致病真菌分离频率最低;此后果实上致病真菌的分离频率随着果实的成熟不断升高,到花后 100 d,致病真菌分离频率达到峰值。果实上致病真菌的变化趋势与降雨量无相关性而与果实发育时期关系密切。花后 37 和 100 d,即第 2 次生理落果期和果实成熟末期致病菌分离频率最高(图 2)。

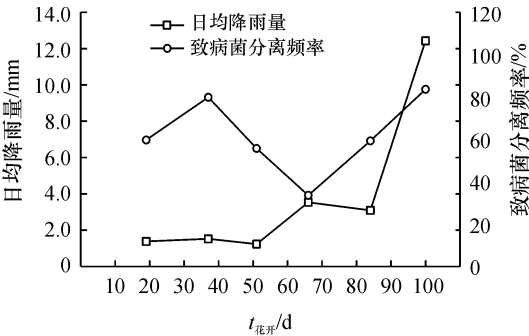


图 2 果实致病真菌消长动态

Fig. 2 Dynamic changes of pathogenic fungi on fruits

3 讨论与结论

荔枝作为多年生木本植物,其生态系统相对稳定。叶片、花穗和果实上的真菌种群也相对稳定。掌握荔枝果园里优势真菌种类是预测和控制荔科技园主要病害的前提^[13]。2009 年高州根子镇白糖罂荔枝树上分离到 14 个属真菌,其中致病菌 11 种,非致病菌 3 种。总体上看,炭疽菌、拟茎点霉属真菌在叶片、花穗和果实上属于常驻菌群;非致病菌壳囊孢菌整年出现在成熟叶片上,而芽枝孢属和链格孢属真菌在荔枝开花结果期广泛分布。

2009 年随着气象因素和荔枝发育过程物候期的变化,致病真菌和非致病真菌在荔枝叶片、花穗和果实上呈动态变化。花穗和果柄上不同致病真菌检出频率与降雨量关系差别很大,链格孢属真菌与降雨量呈正相关;而炭疽菌属、拟茎点霉属、芽枝孢属、白地霉属真菌与降雨量相关性不显著,其中芽枝孢属真菌分离频率最高。推测开花时期花粉是芽枝孢属真菌分离频率升高的主要原因。果实上致病真菌变化趋势为第 2 次生理落果期和果实成熟期含有致病菌最多,采前生理落果期致病菌分离频率最低。果实上致病真菌动态变化表明,果实发育不同阶段对致病真菌变化影响很大,可能由于果实发育过程中,其

体内生理生化代谢存在差异^[14]。笔者认为荔枝果实发育过程中,除了降雨量影响致病真菌分布外,亦存在其他因素影响致病真菌消长动态。

荔枝叶片、花穗和果实上真菌消长动态受外界环境条件和土壤营养状况及栽培措施等一系列因素的影响较大,本文初步得到当全年降雨量为 1 396.9 mm,日均降雨量在 0.2 ~ 12.4 mm 时,致病真菌在荔枝叶片、花穗和果实上的分布动态,为适时防治荔枝病害提供了理论依据。对于荔枝花后 66 d 的果实上致病真菌分离频率最低,原因有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 胡江春. 植物根际促生菌(PGPR)的研究与应用前景[J]. 应用生态学报,2004,15(10):1963-1966.

[2] THOMPSON I P, BAILEY M J, FENLON J S, et al. Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugarbeet (*Beta vulgaris*) [J]. Plant and Soil, 1993,150(2):177-191.

[3] 郭继平,孙军德,滕增泰,等. 葡萄果穗附生微生物区系分析[J]. 沈阳农业大学学报,2004,35(3):208-210.

[4] COATES L, ZHOU E X, SITTIGUL C. Diseases [C] // MENZEL C M, WAITE G K. Litchi and longan: Botany, production and uses. Wallingford: CABI Publishing, 2005:260-269.

[5] WOODY S T, IVES A R, NORDHEIM E V, et al. Dispersal, density dependence, and population dynamics of a fungal microbe on leaf surfaces [J]. Ecology, 2007, 88(6):1513-1524.

[6] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 2001:140-142.

[7] 戚佩坤,张传飞,王璧生,等. 广东果树真菌病害志[M]. 北京:中国农业出版社,2000:38-43.

[8] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京:科技出版社,1979.

[9] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979:468-475.

[10] 郑儒永,余永年. 中国真菌志:第一卷:白粉菌目[M]. 北京:科学出版社,1987:4-45.

[11] LEE S B, TAYLOR J W. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores[M] // INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR protocol guide to methods and applications. San Diego: Academic Press,1990:282-287.

[12] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:157-179.

[13] COOLEY D R, ROSENBERGER D A, GLEASON M L, et al. Variability among forecast models for the apple sooty blotch/flyspeck disease complex [J]. Plant Disease, 2011,95(9):1179-1186.

[14] 刘素芳,张猛,李洪连. 不同抗性小麦品种叶部真菌区系分析[J]. 河南农业大学学报,2008,42(2):216-219.