

怒江干热河谷流域小粒咖啡叶部病害病原分离与鉴定

王娜, 严炜, 马东晓, 杨旻, 胡发广, 付兴飞, 李贵平, 喻好好,
娄予强*, 李亚男*

云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所, 云南保山 678000

摘要: 云南怒江干热河谷流域是小粒咖啡 (*Coffea arabica* L.) 种植的理想区域, 但是咖啡叶部病害的持续发生, 对咖啡树的健康、产量和品质造成了严重影响, 给当地农业生产带来一定损失。为了有效防控这些病害, 本研究采集怒江干热河谷流域不同咖啡种植地的典型病叶样本, 对咖啡叶部病害进行病原菌分离与鉴定。通过病原分离、纯化、柯赫氏法则验证、形态学观察、ITS 基因序列比对分析, 鉴定到 7 个致病菌株, 分别为 Lu 11-2、Lu 9-1、Xin 5-2、Xin 7-5、Xin 8-2、Xin 15-2 和 Lu 23-1, 其中 Lu 11-2、Lu 9-1、Xin 5-2 和 Xin 7-5 鉴定为链格孢菌 (*Alternaria* sp.), Xin 15-2 和 Lu 23-1 菌株鉴定为炭疽菌 (*Colletotrichum* sp.), Xin 8-2 菌株鉴定为拟盘多毛孢菌 (*Pestalotiopsis* sp.)。该地区的咖啡叶部病害主要致病菌有 3 类: 链格孢菌、拟盘多毛孢菌和炭疽菌, 其中链格孢菌、拟盘多毛孢菌为咖啡褐斑病的主要致病菌, 炭疽菌为咖啡炭疽病的致病菌。研究结果不仅为深入了解云南怒江干热河谷流域的咖啡叶部病害类型提供科学依据, 还为该地区咖啡病害的有效防控提供理论支持, 对当地的咖啡种植业具有重要的指导意义, 也为其他地区的咖啡病害防控提供参考。

关键词: 小粒咖啡; 叶部病害; 链格孢菌; 拟盘多毛孢菌; 炭疽菌

中图分类号: S31 文献标志码: A

Isolation and Identification of Pathogens Causing Foliar Diseases in *Coffea arabica* in the Nujiang Dry-hot Valley, Yunnan, China

WANG Na, YAN Wei, MA Dongxiao, YANG Yang, HU Faguang, FU Xingfei, LI Guiping, YU Haohao,
LOU Yuqiang*, LI Yanan*

Institute of Tropical and Subtropical Cash Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Baoshan, Yunnan 678000, China

Abstract: The Nujiang Dry-hot Valley region in Yunnan is an ideal area for the cultivation of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.). However, the continuous occurrence of coffee leaf diseases has a significant impact on the health, yield and quality of coffee trees, causing considerable losses to local agricultural production. To effectively manage the diseases, this study focused on the isolation and identification of the pathogens associated with coffee leaf diseases in the Nujiang Dry-hot Valley region. Typical diseased leaf samples were collected from various coffee plantations, and through pathogen isolation, purification, verification using Koch's postulates, morphological observation and ITS gene sequence analysis. Seven pathogenic strains, Lu 11-2, Lu 9-1, Xin 5-2, Xin 7-5, Xin 8-2, Xin 15-2 and Lu 23-1, were identified. Lu 11-2, Lu 9-1, Xin 5-2 and Xin 7-5 were identified as *Alternaria* sp., Xin 15-2 and Lu 23-1 were identified as *Colletotrichum* sp., and Xin 8-2 was identified as *Pestalotiopsis* sp. The primary pathogens causing coffee leaf diseases in this region could be categorized into three types, *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum* sp.. Specifically, *Alternaria* sp. and *Pestalotiopsis* sp. were the primary pathogens responsible for coffee leaf spot disease, while *Colletotrichum* sp. was the causative agent of coffee anthracnose disease. The findings of this study would not only provide a scientific basis for a deeper understanding of the types of coffee leaf diseases in the Nujiang Dry-hot Valley region of

收稿日期 2024-08-19; 修回日期 2024-10-16

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2022YFF1302404); 云南省科技计划项目 (No. 202304BI090032-37)。

作者简介 王娜 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 咖啡植物病理学。*通信作者 (Corresponding author): 娄予强 (LOU Yuqiang), E-mail: louyuqiang@126.com; 李亚男 (LI Yanan), E-mail: liyanan55wangyi@163.com。

Yunnan but also offer theoretical support for effective disease management in the area. This research plays a significant guiding role for local coffee cultivation and serves as a reference for disease control in coffee-growing regions elsewhere.

Keywords: *Coffea arabica* L.; leaf diseases; *Alternaria* sp.; *Pestalotiopsis* sp.; *Colletotrichum* sp.

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.02.011

咖啡作为全球经济作物的重要支柱,影响着许多国家的农业经济和农民生计^[1-2]。小粒咖啡(*Coffea arabica* L.)隶属于茜草科咖啡属,因其优良的品质和经济价值而受到广泛关注^[2]。其生长对气候条件有较高的要求,尤其是温暖湿润的环境最为适宜^[3],国际咖啡种植标准指出,咖啡适宜种植在海拔 500~2000 m、温度 15~25 ℃、年降雨量 1500~2000 mm 的具有火山灰质土壤的地区^[4]。云南怒江干热河谷流域以其适宜的海拔、充足的阳光、适量的降水量和适宜的温度,为小粒咖啡的生长提供了优越的天然条件^[5-6]。然而,干热河谷独特的气候条件也带来了病害发生及其扩散的复杂性和严重性。

云南怒江干热河谷流域多以山地、坡地为主,生物多样性丰富,咖啡叶部病害多发,叶部病害的发生不仅对咖啡树的健康造成严重威胁,还直接影响咖啡的产量和品质,导致咖啡产业的经济损失。常见的咖啡叶部病害主要有咖啡叶锈病、褐斑病、炭疽病、煤烟病等^[7]。据报道,咖啡叶锈病由专性生物营养真菌 *Hemileia vastatrix* 引起,是一种世界性的毁灭性病害,导致咖啡种植园的产量严重下降和经济受损^[8-9]。褐斑病可由多种病原菌引起,通常表现为叶片上出现褐色斑点,这些斑点扩大并发展成具有深棕色边缘的同心环,最后坏死斑点蔓延到整片咖啡叶,导致咖啡叶卷曲和脱落,使幼树大量死亡^[10-11]。炭疽病主要感染咖啡的嫩叶、叶柄、枝条和果实,引发叶片脱落、枝条干枯及果实腐烂,严重损害咖啡的产量和品质^[12-14]。煤烟病则是由昆虫分泌蜜露诱发的病害,导致咖啡叶面出现灰黑色的斑块或霉层^[7],这些叶部病害的发生均不同程度地影响了咖啡植株的正常生长发育。

研究咖啡叶部病害病原菌种类及其生物学特性,以及它们与环境因素的关系是深入了解和应对咖啡病害的关键。本研究旨在对怒江干热河谷流域的小粒咖啡叶部病害进行系统地病原分离与鉴定,探究病原菌种类,明确致病菌种。以期为该地区咖啡病害的有效管理和防治提供科学依

据,并提出切实可行的防控建议 and 对策,从而改善咖啡质量和提升咖啡生产效益。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 于 2023 年 7 月采自云南省保山市潞江镇辛家山咖啡种植基地(海拔 962.71 m, 24°57'30"N, 98°53'56"E)、泸水市咖啡种植区域(海拔 1079.6 m, 25°48'25"N, 98°51'3"E)的小粒咖啡品种铁皮卡(Typica)病叶,分离纯化获得病原菌。

1.1.2 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基干粉购自广东环凯微生物科技有限公司,按使用方法配制 PDA 培养基。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离与纯化 采用组织分离法分离病原菌^[15],将采摘收集到的病叶置于超净工作台,用灭菌剪刀将病健交界处的组织剪成 5 mm×5 mm 的小块,用灭菌镊子将组织块置于 75%医用酒精中浸泡 1 min,后用灭菌离子水漂洗 1 min,重复漂洗 3 次,取出置于灭菌吸水纸上吸干水分,然后将其接种到 PDA 平板上,每皿接种 4 块,于 28 ℃培养箱中倒置培养。每天观察病原菌的生长情况,待组织周围长出菌丝后,挑取菌丝尖端进行纯化,重复纯化 3 次左右,待病原菌生长一致即可保存菌株,备用。

1.2.2 致病性测定 采用离体接菌的方法,采集健康无病的铁皮卡咖啡叶片,先用灭菌棉蘸取 75%医用酒精擦拭咖啡叶面消毒,再用灭菌水擦拭一遍叶片,将叶片置于保鲜盒内。用无菌接种针刺伤叶脉一侧的叶片,另一侧不刺伤。将经纯化的病原菌菌饼接种到叶面,以菌丝面接触叶面,以 PDA 培养基作对照,每个菌株接种 3 片叶,3 次重复。叶柄处用湿棉花包住,28 ℃保湿条件下培养 7 d,并于接种后 3、5、7 d 对叶片进行拍照,使用 Image J 软件测量叶片病斑面积。待叶片发病后进行柯赫氏法则验证,并将发病组织进行分离纯化。

1.2.3 病原菌形态学观察 将纯化好的病原菌接种到 PDA 平板上，每个菌株接 3 皿，3 次重复，置于 28 ℃ 培养箱中倒置培养 7 d，于接种后 3、5、7 d 观察病原菌的菌落生长情况，测量菌落直径并计算生长速率。采用德国 Leica DM5000B 显微镜观察菌丝和分生孢子形态，对病原菌进行形态鉴定，并随机选取 50 个分生孢子测量大小。

1.2.4 病原菌分子鉴定 将上述病原菌送样，委托昆明擎科生物有限公司进行 DNA 测序，测序引物：ITS1（5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'），ITS4（5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'）。将测序结果上传至 NCBI 进行 BLAST 同源分析，下载与分离病原菌亲缘关系相近的菌株序列，利用 MEGA 11.0 软件构建系统发育树。

1.3 数据处理

利用 IBM SPSS Statistics 25 软件进行数据统计与分析，采用 GraphPad Prism v8.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 咖啡叶部病害的田间症状

咖啡叶部病害一年四季均可发生，叶部病害的发生既会导致咖啡生长受阻，又会导致产量降低，从而影响咖啡品质。发现的咖啡叶部病害田间症状表现如图 1，发病初期叶片出现小黄点，然后慢慢扩大为圆形或近圆形的褐色病斑，病斑边界明显，中心为灰白色，周围有黄色晕圈（图 1A，图 1B）；发病后期病斑连片形成大病斑，呈灰白色，病斑边缘有黑色点状物（图 1C，图 1D）。

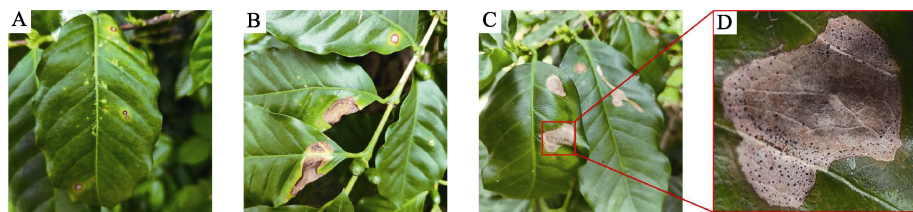


图 1 咖啡叶部病害田间症状
Fig. 1 Symptoms of coffee leaf diseases in fields

2.2 咖啡叶部病害病原菌的致病性

采用组织分离法对采集到的病叶病原进行分离纯化，得到 45 个菌株，根据菌落形态特征和生长情况从中选取 9 株进行离体叶片回接试验，每个菌株接种 3 片叶，3 次重复，接种时分别做刺

伤和不刺伤处理。结果如图 2 所示，接种 4 d 后，有 7 个菌株出现明显的发病症状，Xin 1-3 和 Xin 12-1 菌株未发病。测量发病菌株的病斑面积及统计发病率（表 1），发现 Xin 5-2 菌株的病斑面积最大，为 $(1.47\pm0.08)\text{cm}^2$ ，且发病率最高，为 100%；

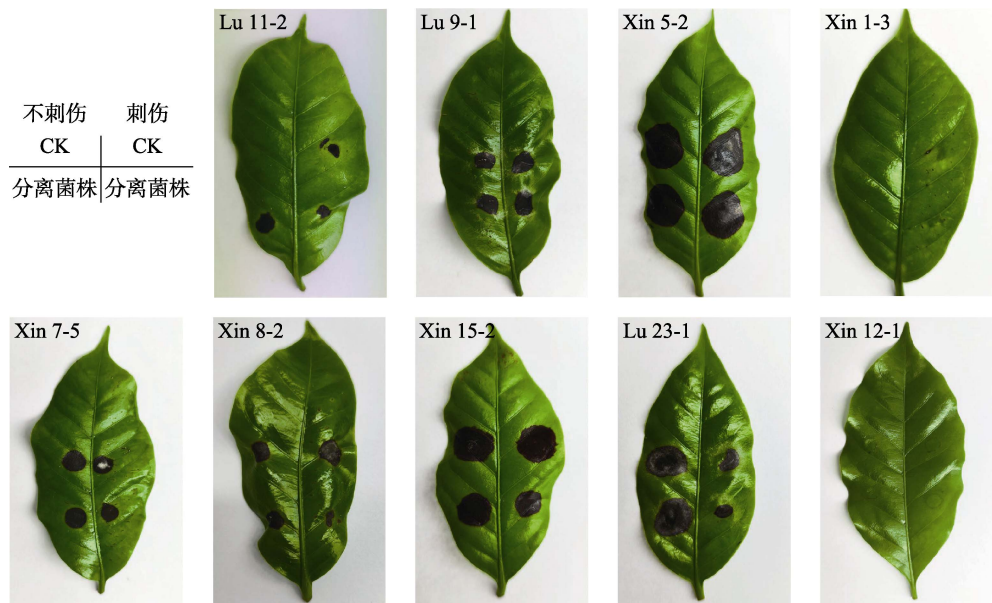


图 2 接种 5 d 后叶片病斑
Fig. 2 Leaf spots at 5 days post-inoculation

表 1 7 个菌株发病率及病斑面积
Tab. 1 Incidence rates and lesion area of seven strains

菌株 Strain	发病率 Incidence rate/%	病斑面积 Lesion area/cm ²
Lu 11-2	52.78	0.12±0.05 ^c
Lu 9-1	77.78	0.25±0.01 ^c
Xin 5-2	100.00	1.47±0.08 ^a
Xin 7-5	72.22	0.30±0.07 ^c
Xin 8-2	58.33	0.13±0.05 ^c
Xin 15-2	80.56	0.79±0.23 ^b
Lu 23-1	69.44	0.53±0.34 ^{bc}

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ($P<0.05$).

Xin 15-2 菌株次之，病斑面积为 $(0.79\pm0.23)\text{cm}^2$ ；而菌株 Lu 11-2 的病斑面积最小，仅为 $(0.13\pm0.05)\text{cm}^2$ ，且发病率最低，为 52.78 %。对发病的 7 个叶片进行病原分离纯化，得到与原接种菌株形态特征和培养性状一致的病原菌，符合柯赫氏法则，说明接种菌株是致病菌。

2.3 咖啡叶部病害病原菌的形态学特征

2.3.1 病原菌菌落形态特征及生长速率 将符合柯赫氏法则的病原菌菌株接种到 PDA 培养基上，培养 7 d 后观察菌落形态特征及生长情况。结果发现这些菌株在某些特征上存在共性，同时也表现出一定的差异性。所有菌株的菌落均为同心圆形态，边缘菌丝为白色且菌丝形态相似；在菌落颜色和生长速率方面有差异，如 Lu 11-2、Lu 9-1、

Xin 5-2 和 Xin 7-5 菌株的菌落颜色由内到外逐渐变淡，由深褐色到浅褐色再到白色，而 Xin 8-2、Xin 15-2 和 Lu 23-1 菌株的菌丝则呈现灰白色或白色。此外，7 个菌株的菌落生长速率略有差异，其中 Xin 15-2 菌株的菌落生长速率显著高于其他菌株，其 5 d 的菌落直径达 $(7.82\pm0.31)\text{cm}$ ，平均生长速率为 $(1.65\pm0.09)\text{cm/d}$ ，而 Lu 9-1 菌株生长速率较慢，5 d 的菌落直径为 $(4.10\pm0.15)\text{cm}$ ，平均生长速率为 $(0.74\pm0.04)\text{cm/d}$ （图 3，表 2）。

2.3.2 病原菌的分生孢子及菌丝形态特征 7 个菌株的分生孢子及菌丝形态如图 4，Lu 11-2 菌株的分生孢子呈卵形，有隔，横隔 1~3 个，纵隔 0~1 个，分生孢子平均大小为 $(24.60\pm4.08)\mu\text{m}\times(11.39\pm2.27)\mu\text{m}$ ，长宽比为 2.18 ± 0.17 ，菌丝直径为 $(3.78\pm0.80)\mu\text{m}$ ；Lu 9-1 菌株的分生孢子呈梨形，有隔，横隔 1~2 个，纵隔 0~1 个，分生孢子平均大小为 $(24.87\pm6.07)\mu\text{m}\times(11.17\pm1.21)\mu\text{m}$ ，长宽比为 2.23 ± 0.46 ，菌丝直径为 $(4.10\pm0.77)\mu\text{m}$ ；Xin 5-2 的分生孢子呈卵形或梨形，有隔，横隔 1~3 个，纵隔 0~2 个，分生孢子平均大小为 $(26.44\pm2.71)\mu\text{m}\times(12.51\pm3.27)\mu\text{m}$ ，长宽比为 2.24 ± 0.53 ，菌丝直径为 $(5.31\pm0.83)\mu\text{m}$ ；Xin 7-5 的分生孢子呈倒梨形，有隔，横隔 1~2 个，纵隔 0~2 个，分生孢子平均大小为 $(31.51\pm6.20)\mu\text{m}\times(14.04\pm2.97)\mu\text{m}$ ，长宽比为 2.29 ± 0.41 ，菌丝直径为 $(3.61\pm0.87)\mu\text{m}$ ；Xin 8-2 的分生孢子共 5 个细胞，4 分隔，基部细胞颜色较淡，倒三角形或倒圆锥形，中间 3 个细胞颜色偏

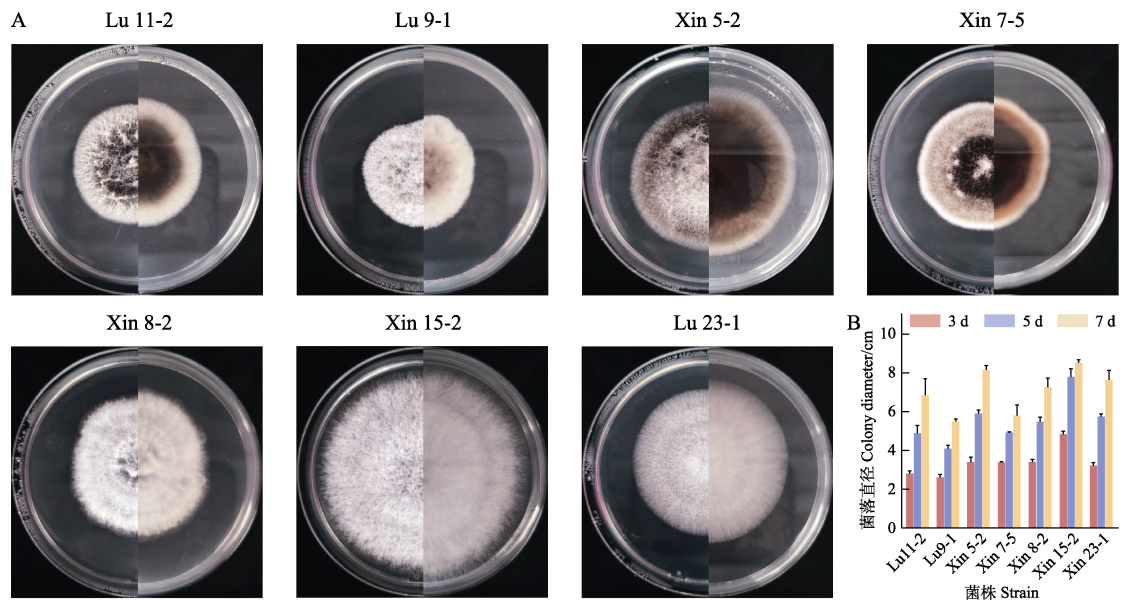


图 3 各菌株在 PDA 培养基上的菌落形态 (A) 及菌落直径 (B)
Fig. 3 Colony morphology (A) and colony diameter (B) of each strain on PDA medium

表 2 各菌株菌落形态、菌落直径及生长速率
Tab. 2 Colony morphology, colony diameter and growth rate of each strain

菌株 Strain	菌落形态 Colony morphology	菌落直径 Colony diameter/cm	生长速率 Growth rate/(cm·d ⁻¹)
Lu 11-2	菌落呈同心圆，正面内层菌落深褐色，微隆起，菌丝絮状，外层白色，菌丝较紧密，平板背面菌落中间黑褐色，边缘白色	4.90±0.32 ^c	1.03±0.12 ^c
Lu 9-1	菌落近圆形，中部微隆起，正面内层菌落底部浅褐色，菌丝絮状，边缘白色，菌丝紧密，平板背面菌落中间为不规则的浅褐色，边缘白色	4.10±0.15 ^d	0.74±0.04 ^d
Xin 5-2	菌落呈同心圆，正面内层菌落浅灰色，微隆起，菌丝絮状，外层深褐色，最外层白色，菌丝较紧密，气生菌丝稀疏，平板背面菌落呈同心圆，内层深褐色，外层褐色，最外层白色	5.90±0.15 ^b	1.24±0.02 ^b
Xin 7-5	菌落呈同心圆，正面内层菌落深褐色，菌丝絮状，外层浅褐色，最外层白色，菌丝较紧密，平板背面菌落呈同心圆，内层深褐色，外层褐色，最外层白色	4.93±0.02 ^c	0.78±0.04 ^d
Xin 8-2	菌落呈同心圆，正面内层菌落白色，菌丝絮状、稍微稀疏，外层白色，菌丝紧密，平板背面菌落呈同心圆，菌落白色，内层菌丝稍稀疏，外层菌丝紧密	5.50±0.19 ^b	1.05±0.15 ^c
Xin 15-2	菌落灰白色，菌丝辐射状，气生菌丝稀疏，平板背面菌落灰白色	7.82±0.31 ^a	1.65±0.09 ^a
Lu 23-1	菌落灰白色，气生菌丝稀疏，平板背面菌落灰白色	5.75±0.11 ^b	1.25±0.00 ^b

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ($P<0.05$).

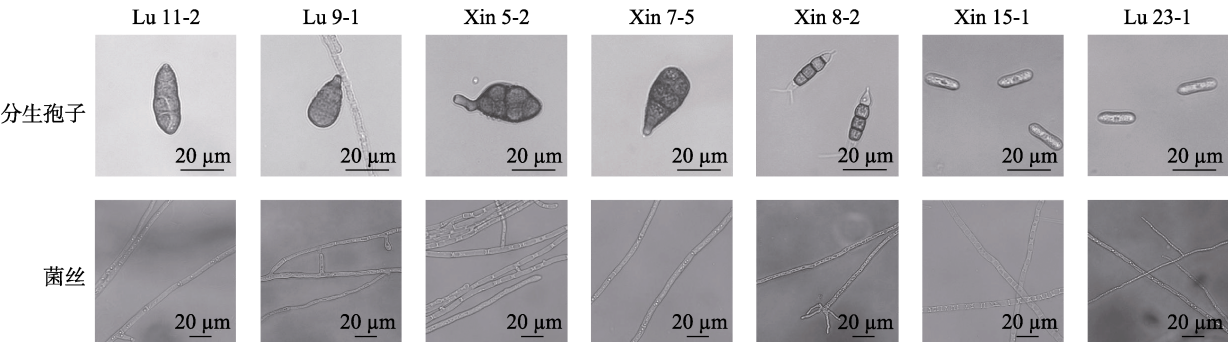


图 4 各菌株的分生孢子及菌丝形态
Fig. 4 Conidia and mycelium morphology of each strain

深，翁形，顶端细胞颜色偏淡，圆锥形或三角形，顶端具 1 根附属丝，基部具 1~3 根附属丝，分生孢子平均大小为 $(27.43\pm 2.87)\mu\text{m}\times(6.52\pm 0.77)\mu\text{m}$ ，长宽比为 4.26 ± 0.60 ，菌丝直径为 $(3.52\pm 0.77)\mu\text{m}$ ；Xin 15-2 的分生孢子呈长圆柱形，单胞，分生孢子平均大小为 $(15.95\pm 4.70)\mu\text{m}\times(4.94\pm 1.03)\mu\text{m}$ ，长宽比为 3.41 ± 1.31 ，菌丝直径为 $(5.31\pm 0.83)\mu\text{m}$ ；Lu 23-1 的分生孢子呈长圆柱形，单胞，分生孢子平均大小为 $(18.38\pm 2.88)\mu\text{m}\times(5.04\pm 0.81)\mu\text{m}$ ，长宽比为 3.69 ± 0.56 ，菌丝直径为 $(3.70\pm 0.67)\mu\text{m}$ 。

2.4 咖啡叶部病害病原菌的分子鉴定

将 7 个菌株的 ITS 序列测序结果进行整理，分别得到不同大小的目标片段，Lu 11-2 菌株的 ITS 片段大小为 539 bp，Lu 9-1 的为 539 bp，Xin 5-2 的为 580 bp，Xin 7-5 为 575 bp，Xin 8-2 为 575 bp，Xin 15-2 为 583 bp，Lu 23-1 为 587 bp。将 7 个菌

株的 ITS 序列分别在 NCBI 上进行 BLAST 比对，并下载同源性较高的代表菌株序列，以 AB496639.1 *Methanobacterium alcaliphilum* 作外群联合构建系统发育进化树（图 5）。Lu 11-2、Lu 9-1、Xin 5-2、Xin 7-5 菌株与链格孢菌（*Alternaria* sp.）以 100% 的支持率聚为一支，其中 Lu 11-2 和 Lu 9-1 鉴定为交链格孢（*A. alternata*），Xin 5-2 鉴定为极细链格孢（*A. tenuissima*），Xin 7-5 鉴定为链格孢属（*Alternaria* sp.）；Xin 15-2 和 Lu 23-1 菌株与炭疽菌（*Colletotrichum* sp.）聚为一支，其中 Xin 15-2 鉴定为果生炭疽菌（*C. fructicola*），Lu 23-1 则鉴定为博宁炭疽菌（*C. boninense*）；菌株 Xin 8-2 与拟盘多毛孢菌（*Pestalotiopsis* sp.）聚为一支，能明显与其他种区分。结合各菌株的形态学特征，将菌株 Lu 11-2、Lu 9-1、Xin 5-2、Xin 7-5 鉴定为链格孢菌，Xin 15-2 和 Lu 23-1 则

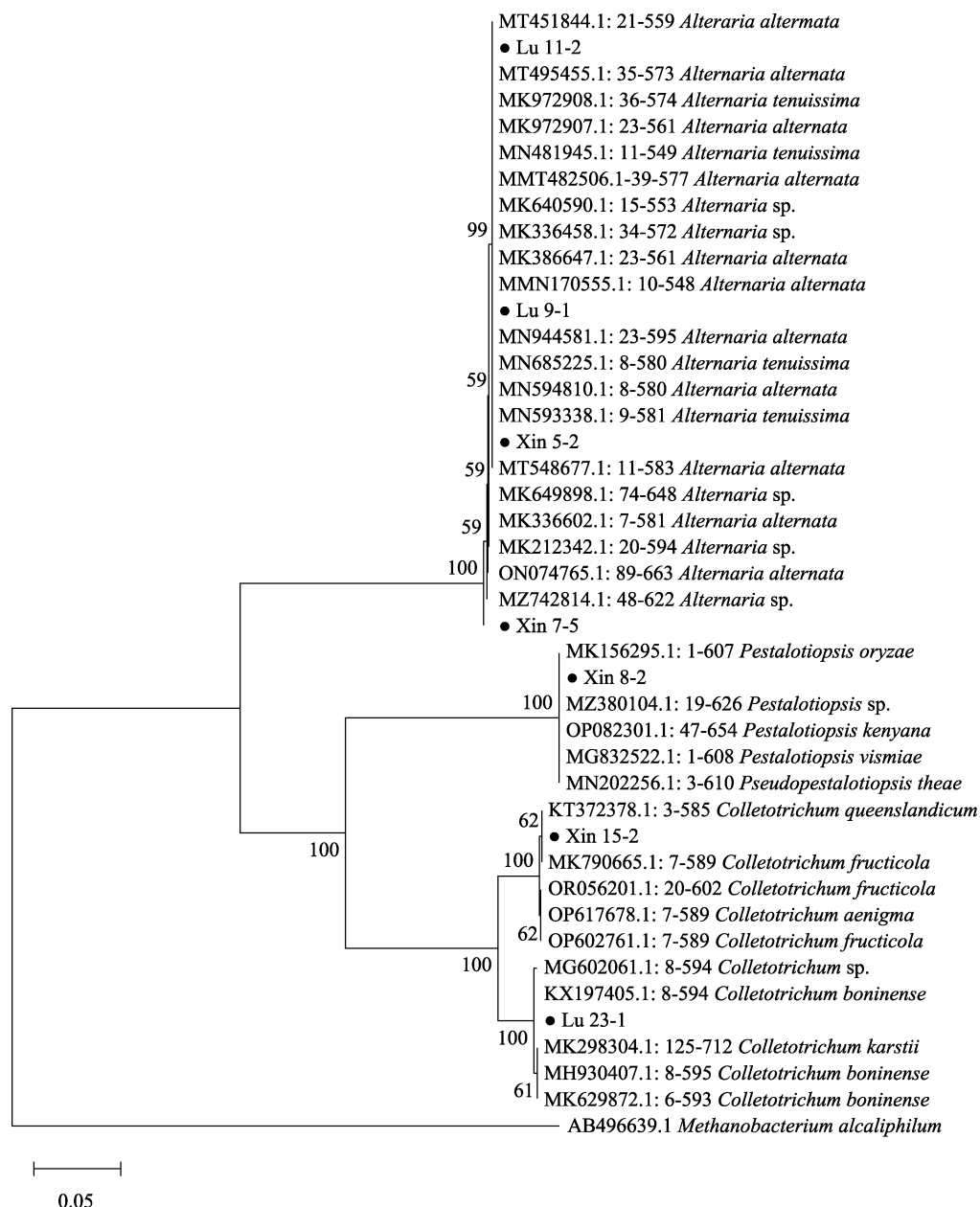


图 5 基于 ITS 构建的系统发育进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on ITS gene sequences

鉴定为炭疽菌, Xin 8-2 鉴定为拟盘多毛孢菌。

3 讨论

在怒江干热河谷流域的咖啡种植区, 咖啡叶部病害发生频繁且多样, 为明确该区域咖啡叶部病害的种类及其病原, 采集不同咖啡种植地的典型病叶样本, 利用形态学和分子生物学方法, 确定了咖啡叶部的病原菌分别是链格孢菌 (*Alternaria* sp.)、拟盘多毛孢菌 (*Pestalotiopsis* sp.) 和炭疽菌 (*Colletotrichum* sp.)。

链格孢菌 (*Alternaria* sp.) 是一种分布广泛的

植物病原真菌, 具有广泛的寄主范围, 能够侵染多种植物, 造成严重的经济损失。已有研究发现, 交链格孢 (*A. alternata*) 可以引起苹果叶斑病, 导致苹果叶片上形成棕色或褐色病斑, 严重时导致叶片干枯脱落^[16-17]; 交链格孢也是绣球花叶斑病的致病菌之一, 在绣球花叶片上的症状表现为深褐色病斑, 对植物的观赏价值造成严重影响^[18]; 覃茜等^[19]从苏铁叶片上分离出引起褐斑病的病原真菌巴斯链格孢 (*A. burnsii*), 并证实该病原菌能引起多种苏铁褐斑病; 此外, 链格孢菌也是龙牙百合褐斑病的主要致病菌^[20-21]。2024 年, ZHANG

等^[10]报道了由交链格孢引起的咖啡叶斑病。本研究对采集到的咖啡病叶进行病原菌分离鉴定,鉴定到4个菌株属于链格孢菌,与ZHANG等^[10]的研究结果相似,表明链格孢菌是咖啡褐斑病的致病菌之一,且咖啡褐斑病是怒江干热河谷流域咖啡种植区域的主要叶部病害之一。

拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis* sp.)是一类广泛分布于自然界中的微生物,它们与多种植物病害有关,既可以作为病原菌导致植物病害,也可以作为内生菌或腐生菌存在于植物体内。拟盘多毛孢作为内生菌大多被研究者用来探究真菌的次级代谢产物等,如红树林内生拟盘多毛孢(*P. microspora*)可以通过生物合成途径产生抗肿瘤的化合物^[22];耐铝树种千年桐的内生链格孢可吸收环境中的 Al^{3+} ,提高宿主植物对铝胁迫的耐受性^[23]。2020年,安小丽等^[24]从贵州省茶树叶片上分离出茶拟盘多毛孢(*P. theae*),该病原菌可引起茶叶斑病;李晶等^[25]报道了*Neopestalotiopsis sonneratae*会引起槟榔叶斑病,初期槟榔叶片出现黑褐色小病斑,随着病斑的扩展,最终导致叶片干枯倒垂;袁榕等^[26]在华中五味子上鉴定出5种不同的拟盘多毛孢属真菌,并且这些菌株具有较强的致病性;还有其他研究表明,拟盘多毛孢还可引起草莓根腐病^[27]、番石榴环斑病^[28]、松树赤枯病^[29]等。本研究对咖啡褐斑病进行病原菌分离鉴定,鉴定到1个菌株属于拟盘多毛孢菌,并且符合柯赫氏法则,说明拟盘多毛孢菌是咖啡褐斑病的致病菌之一。

炭疽菌(*Colletotrichum* sp.)作为一种重要的植物病原菌,引起了全球的广泛关注,它能够侵染多种农作物和经济作物,导致炭疽病的发生,对农业生产造成严重损失^[30]。近年来,随着对炭疽菌的深入研究,研究者在炭疽菌的病原鉴定、生物学特性以及病害防治方面取得了一系列进展。炭疽菌的研究涵盖了多个作物,包括砀山酥梨、咖啡、油茶等。研究发现,不同地区的炭疽菌种类存在差异,同一作物可能受到多种炭疽菌的侵染,如,砀山酥梨炭疽病的主要病原菌为果生炭疽菌(*C. fructicola*)^[31];而油茶炭疽病的病原菌则包括果生炭疽菌和胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)^[32];宁夏地区葡萄炭疽病的主要病原菌为毁灭炭疽菌(*C. destructivum*)、果生炭疽菌和暹罗炭疽菌(*C. siamense*)^[33];然而,导致重庆多花黄精炭疽病的病原菌有5种,分别为松针

炭疽菌(*C. fiorinae*)、博宁炭疽菌(*C. boninense*)、胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)、果生炭疽菌和冬麦炭疽菌(*C. liriopes*)^[34]。国内外已经鉴定出多种可侵染咖啡的炭疽菌,CRISTÓBAL-MARTÍNEZ等^[35]在发病的咖啡植株上鉴定到5种炭疽菌,2019年,CAO等^[36]在海南咖啡种植区鉴定到8种炭疽菌,这8种炭疽菌中也包含了本研究中鉴定到的果生炭疽菌和博宁炭疽菌。这些研究表明咖啡炭疽病在全球分布广泛且危害严重。

本研究对怒江干热河谷流域的小粒咖啡叶部病害进行病原菌分离鉴定,鉴定到小粒咖啡叶部病害的主要致病菌为链格孢菌(*Alternaria* sp.)、拟盘多毛孢菌(*Pestalotiopsis* sp.)和炭疽菌(*Colletotrichum* sp.)。研究结果可为该地区咖啡病害的防控提供理论支持,对农业生产具有重要意义。随着研究的不断深入,期待未来能够开发出更多高效、环保的病害防控技术,为咖啡产业的可持续发展做出贡献。

参考文献

- [1] MUSOLI P, CUBRY P, ALUKA P, BILLOT C, DUFOUR M, DE BELLIS F, POT D, BIEYSSE D, CHARRIER A, LEROY T. Genetic differentiation of wild and cultivated populations: diversity of *Coffea canephora* Pierre in Uganda[J]. *Genome*, 2009, 52(7): 634-646.
- [2] MEKBIB Y, TESFAYE K, DONG X, SAINA J K, HU G W, WANG Q F. Whole-genome resequencing of *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) genotypes identify SNP and unravels distinct groups showing a strong geographical pattern[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 69.
- [3] 万梦丹, 刘小刚, 徐航, 吴昊, 齐韵涛, 王露, 杨启良. 不同灌水和光强条件下小粒咖啡叶片光响应及光合生理特征[J]. *排灌机械工程学报*, 2016, 34(9): 795-803.
WAN M D, LIU X G, XU H, WU H, QI Y T, WANG L, YANG Q L. Light response and photosynthetic physiology characteristics of *Coffea arabica* L. leaf at different irrigation and light intensity levels[J]. *Journal of Drainage and Irrigation Machinery*, 2016, 34(9): 795-803. (in Chinese)
- [4] 宗慧, 宋启道, 杨何玲, 施颖. 云南怒江傈僳族自治州咖啡产业发展对策分析[J]. *热带农业科学*, 2023, 43(7): 113-118.
ZONG H, SONG Q D, YANG H L, SHI Y. Analysis on the development countermeasures of coffee industry in Nujiang Lisu Autonomous Prefecture in Yunnan[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2023, 43(7): 113-118. (in Chinese)
- [5] 张明达, 王睿芳, 李艺, 胡雪琼, 李蒙, 张茂松, 段长春.

- 云南省小粒咖啡种植生态适宜性区划[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(2): 168-178.
- ZHANG M D, WANG R F, LI Y, HU X Q, LI M, ZHANG M S, DUAN C C. Ecological suitability zoning of *Coffea arabica* L. in Yunnan province[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(2): 168-178. (in Chinese)
- [6] 段如婷, 刘应涛, 符翠丽, 胡康, 杨宇涵, 字雪明, 贾晗思, 刘超, 李晓波, 王正兴. 保山咖啡新寨村干热河谷生态环境保护与可持续发展案例研究[J]. 全球变化数据学报(中英文), 2021, 5(3): 261-274, 400-413.
- DUAN R T, LIU Y T, FU C L, HU K, YANG Y H, ZI X M, JIA H S, LIU C, LI X B, WANG Z X. GIES case dataset on Baoshan Arabica coffee Dry-hot Valley in Xinzhai village, Yunnan province of China[J]. Journal of Global Change Data & Discovery, 2021, 5(3): 261-274, 400-413. (in Chinese)
- [7] 付兴飞, 胡发广, 程金焕, 娄予强, 吕玉兰, 黄家雄, 李亚男, 李贵平. 七种种植模式下小粒咖啡病虫害调查[J]. 热带农业科学, 2021, 41(9): 74-81.
- FU X F, HU F G, CHENG J H, LOU Y Q, LYU Y L, HUANG J X, LI Y N, LI G P. A survey of diseases and insect pests of *Coffea arabica* under 7 agroforestry cultivation patterns[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2021, 41(9): 74-81. (in Chinese)
- [8] 杨显刚, 杨海云, 罗恒兰, 何忠兰. 咖啡锈病对云南小粒咖啡产量和品质的影响[J]. 云南农业科技, 2019(4): 29-31.
- YANG X G, YANG H Y, LUO H L, HE Z L. Effect of rust disease on yield and quality of *Coffea arabica* in Yunnan province[J]. Yunnan Agricultural Science and Technology, 2019(4): 29-31. (in Chinese)
- [9] LI L, VÁRZEA V M P, XIA Q F, XIANG W, TANG T L, ZHU M F, HE C P, PEREIRA A P, SILVA M M L, WU W H, YI K X. First report of *Hemileia vastatrix* (coffee leaf rust) physiological races emergent in coffee germplasm collections in the coffee-cropping regions of China[J]. Plant Disease, 2021, 105(12): 4162.
- [10] ZHANG T P, ZHAO H, XUE Z F, SUO Y K, QIN S W, HE F F. First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on *Coffea arabica* in China[J]. Plant Disease, 2024, 108(4): 1114.
- [11] 龙亚芹, 段春芳, 刘杰, 彭海明, 申科, 王雪松, 石华忠, 罗梓文, 陈雷, 李荣福. 小粒咖啡褐斑病原菌鉴定及田间抗病性研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2017, 37(2): 152-157.
- LONG Y Q, DUAN C F, LIU J, PENG H M, SHEN K, WANG X S, SHI H Z, LUO Z W, CHEN L, LI R F. Identification of pathogen causing coffee tree brown leaf spot and disease resistance of *Coffea arabica* varieties in field[J]. Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences), 2017, 37(2): 152-157. (in Chinese)
- [12] ZHANG H L, XIE Y L, CHEN H M, SU Q Q, HE J, SU X Y, WU D Y, ZHOU H M, YU L F, TAN W Z. First report of large-berry coffee (*Coffea liberica*) anthracnose caused by *Colletotrichum kahawae* in China[J]. Plant Disease, 2024, 108(7): 2236.
- [13] EL-KOMY M H, ALSUBAIE M, IBRAHIM Y E, SHARAFADDIN A H, AL-SALEH M A. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum siamense* causing anthracnose disease on coffee trees in Saudi Arabia[J]. Plant Disease, 2023, 107(10): 3297.
- [14] 施春兰, 秦得强, 秦小萍, 刘全俊, 何明川, 高熹, 唐萍, 吴国星. 咖啡炭疽病菌致病性测定及其拮抗菌筛选[J]. 热带作物学报, 2024, 45(5): 983-991.
- SHI C L, QIN D Q, QIN X P, LIU Q J, HE M C, GAO X, TANG P, WU G X. Pathogenicity and screening of antagonistic bacteria of coffee anthracnose[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2024, 45(5): 983-991. (in Chinese)
- [15] 王学文, 于存. 元宝枫翅果褐斑病原菌鉴定、生物学特性及室内药剂毒力测定[J]. 植物病理学报, 2024, 54(1): 26-35.
- WANG X W, YU C. Identification and biological characterization of the pathogen causing brown spot on samara of *Acer truncatum* Bunge and screening of effective fungicides[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2024, 54(1): 26-35. (in Chinese)
- [16] 柴兆霞. 苹果叶斑病原菌鉴定及杀菌剂筛选[J]. 甘肃林业科技, 2024, 49(2): 36-40.
- CHAI Z X. Identification of apple leaf spot pathogen and screening of fungicides[J]. Journal of Gansu Forestry Science and Technology, 2024, 49(2): 36-40. (in Chinese)
- [17] 全建龙, 丰加文, 林知许, 熊春兰. 苹果叶斑病原菌鉴定及室内抑菌实验[J]. 云南农业, 2024(7): 60-64.
- TONG J L, FENG J W, LIN Z X, XIONG C L. Identification of pathogen and indoor antibacterial experiment of apple leaf spot disease[J]. Yunnan Agriculture, 2024(7): 60-64. (in Chinese)
- [18] 杨婷, 曹春玲, 周逸文, 王卉, 李齐升, 单宏英. 绣球叶斑病原菌的分离与鉴定[J/OL]. 植物病理学报, 1-5. (2024-06-20)[2024-08-20]. <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000940>.
- YANG T, CAO C L, ZHOU Y W, WANG H, LI Q S, SHAN H Y. Isolation and identification of the pathogen causing leaf spot on *Hydrangea macrophylla* [J/OL]. Acta Phytopathologica Sinica, 1-5. (2024-06-20)[2024-08-25]. <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000940>. (in Chinese)
- [19] 覃茜, 丁丽琼, 池昭锦, 陆祖正, 单彬, 谢振兴, 黄歆怡,

- 许恬. 苏铁羽叶褐斑病病原鉴定及其化学防治药剂的筛选[J]. 热带作物学报, 2024, 45(8): 1677-1684.
- QIN Q, DING L Q, CHI Z J, LU Z Z, SHAN B, XIE Z X, HUANG X Y, XU T. Identification of a pathogen causing brown spot in leaves and screening for its chemical control agent in *Cycas*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2024, 45(8): 1677-1684. (in Chinese)
- [20] 李嘉妮, 周义蒙, 刘杰, 曾慧兰, 李润根. 龙牙百合褐斑病菌梨黑斑链格孢生物学特性及室内药剂筛选[J]. 中药材, 2024(3): 559-562.
- LI J N, ZHOU Y M, LIU J, ZENG H L, LI R G. Biological characteristics and indoor pesticides screening of the leaf brown spot pathogen *Alternaria gaisen* in *Lilium brownii* var. *viridulum*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2024(3): 559-562. (in Chinese)
- [21] 李润根, 于鑫, 孙琴琴, 黄翠翠, 曾慧兰. 龙牙百合褐斑病病原的鉴定、生物学特性及室内药剂筛选[J]. 核农学报, 2024, 38(8): 1487-1495.
- LI R G, YU X, SUN Q Q, HUANG C C, ZENG H L. Identification, characterization the leaf brown spot pathogen in *Lilium brownii* var. *viridulum* and screening fungicides against *Alternaria arborescens*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2024, 38(8): 1487-1495. (in Chinese)
- [22] 周婧, 徐静. 红树林内生拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis microspora* 次级代谢产物及其抗肿瘤活性[J]. 广东海洋大学学报, 2023, 43(4): 34-40.
- ZHOU J, XU J. Secondary metabolites and their *in vitro* biological activity of mangrove endophytic *Pestalotiopsis microspora*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2023, 43(4): 34-40. (in Chinese)
- [23] 简灵静, 张瑶锐, 林晗, 谢安强, 陈灿, 范海兰. 铝胁迫下5种内生真菌的生长与吸收动力学特征[J]. 森林与环境学报, 2024, 44(2): 157-163.
- JIAN L J, ZHANG Y R, LIN H, XIE A Q, CHEN C, FAN H L. Growth characteristics and absorption kinetics of five endophytic fungal strains under aluminum stress[J]. Journal of Forest and Environment, 2024, 44(2): 157-163. (in Chinese)
- [24] 安小丽, 武娴, 任亚峰, 尹桥秀, 王雪, 李冬雪, 江仕龙, 王德炉, 陈卓. 茶叶斑病病原菌茶拟盘多毛孢 (*Pseudopestalotiopsis theae*) 鉴定及生物学特性[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(1): 12-19, 47.
- AN X L, WU X, REN Y F, YIN Q X, WANG X, LI D X, JIANG S L, WANG D L, CHEN Z. Identification and biological characteristics of *Pseudopestalotiopsis theae*, an important pathogenic fungus causing tea leaf spot[J]. China Plant Protection, 2020, 40(1): 12-19, 47. (in Chinese)
- [25] 李晶, 谢开泽, 张超, 谢昌平. 槟榔新拟盘多毛孢叶斑病菌的鉴定及生物学特性[J]. 热带作物学报, 2023, 44(8): 1671-1678.
- LI J, XIE K Z, ZHANG C, XIE C P. Identification and biological characteristics of the pathogen causing *Neopestalotiopsis* leaf spot disease on *Areca catechu*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(8): 1671-1678. (in Chinese)
- [26] 袁榕, 彭骋, 李曙吉, 田呈明. 生于华中五味子上的5种拟盘多毛孢属真菌[J]. 菌物学报, 2024, 43(5): 27-43.
- YUAN R, PENG C, LI S J, TIAN C M. Five *Pestalotiopsis* species associated with *Schisandra phenanthera* in China[J]. Mycosystema, 2024, 43(5): 27-43. (in Chinese)
- [27] 王梦园, 杜延全, 闫加力, 汪丹, 张阳阳, 朱建强. 一株草莓根腐病原菌的鉴定及生物学特性分析[J]. 中国农学通报, 2024, 40(13): 113-120.
- WANG M Y, DU Y Q, YAN J L, WANG D, ZHANG Y Y, ZHU J Q. Identification and biological characteristics analysis of a pathogen of strawberry root rot[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(13): 113-120. (in Chinese)
- [28] 陈洪彬, 安莹莹, 陈蕾伊, 陈艺晖, 蒋璇靓, 林育钊. 福建番石榴环斑病菌的分离鉴定、生物学特性及抑制剂筛选[J]. 果树学报, 2024, 41(4): 738-749.
- CHEN H B, AN Y Y, CHEN L Y, CHEN Y H, JIANG X L, LIN Y Z. Isolation, identification, biological characteristics and inhibitors screening of pathogen causing ring rot disease of guava fruit in Fujian province[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41(4): 738-749. (in Chinese)
- [29] 韩凤英, 亓玉昆, 杨慧, 秦永梅, 周丽颜, 李星仪, 李海燕, 刘敏, 王清海. 松树赤枯病玫瑰拟盘多毛孢菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 山东农业科学, 2024, 56(6): 113-119.
- HAN F Y, QI Y K, YANG H, QIN Y M, ZHOU L Y, LI X Y, LI H Y, LIU M, WANG Q H. Identification and biological characteristics of *Pestalotiopsis rosea* causing pine needle blight[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2024, 56(6): 113-119. (in Chinese)
- [30] 陆英, 贺春萍, 吴伟怀, 梁艳琼, 郑金龙, 黄兴, 习金根, 谭施北, 易克贤. 我国咖啡炭疽病菌致病力分化[J]. 西南农业学报, 2021, 34(5): 1008-1014.
- LU Y, HE C P, WU W H, LIANG Y Q, ZHENG J L, HUANG X, XI J G, TAN S B, YI K X. Pathogenicity differentiation of coffee anthracnose in China[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(5): 1008-1014. (in Chinese)
- [31] 周贝贝, 高正辉, 杨雪, 石旺鹏, 齐永杰, 马娜, 阚丽平, 汪文举, 徐义流. 砀山酥梨炭疽病防治药剂的筛选与田间药效试验[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(18): 143-148.
- ZHOU B B, GAO Z H, YANG X, SHI W P, QI Y J, MA N, KAN L P, WANG W J, XU Y L. Fungicide screening and field efficacy test of controlling 'Dangshan Su' pear an-

- thracnose[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2023, 51(18): 143-148. (in Chinese)
- [32] 陈洁宇, 姜毅, 龚涵, 龚文芳. 油茶炭疽病病原鉴定及生物学特性[J]. 生物灾害科学, 2024, 47(2): 224-237.
- CHEN J Y, JIANG Y, GONG H, GONG W F. Identification and biological characteristics of anthracnose in *Camellia oleifera*[J]. Biological Disaster Science, 2024, 47(2): 224-237. (in Chinese)
- [33] 蒋朝阳, 于泽洋, 杨花, 顾沛雯. 宁夏地区葡萄炭疽病病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 西北农业学报, 2024, 33(6): 1112-1121.
- JIANG C Y, YU Z Y, YANG H, GU P W. Identification and biological characteristics of *Colletotrichum* species causing anthracnose on grapevine in Ningxia[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2024, 33(6): 1112-1121. (in Chinese)
- [34] 但雨柔. 多花黄精炭疽病病原菌鉴定及防治研究[D]. 重庆: 重庆三峡学院, 2023.
- DAN Y R. Identification and control studies on the pathogen of anthracnose in *Polygonatum cyrtinema* Hua[D]. Chongqing: Chongqing Three Gorges University, 2023. (in Chinese)
- [35] CRISTÓBAL-MARTÍNEZ A L, YÁÑEZ-MORALES M D J, SOLANO-VIDAL R, SEGURA-LEÓN O, HERNÁNDEZ-ANGUIANO A M. Diversity of *Colletotrichum* species in coffee (*Coffea arabica*) plantations in Mexico[J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 147: 605-614.
- [36] CAO X R, XU X M, CHE H Y, WEST J S, LUO D Q. Characteristics and distribution of *Colletotrichum* species in coffee plantations in Hainan, China[J]. Plant Pathology, 2019, 68(6): 1146-1156.