

# 穿心莲、胡椒枯萎病病原鉴定

周達先 戚佩仲

(华南农业大学植保系)

**摘要** 对广东省 2 种重要的栽培药用植物:穿心莲 [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees] 及胡椒 (*Piper nigrum* L.) 的枯萎病进行了调查和鉴定。明确了该 2 种药用植物病害的病原,并进一步对尖孢镰刀菌进行了专化型测定。根据形态,培养性状及致病性试验,鉴定出穿心莲枯萎病系由 *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *andrographalis* K. X. Zhou et P. K. Chi, f. sp. nov. 引起,采用浸根接种获得成功。胡椒枯萎病系由 *F. oxysporum* Schl. f. sp. *piperis* K. X. Zhou et P. K. Chi, f. sp. nov 引起,与根结线虫关系密切。两者均为 *F. oxysporum* 的新专化型。

**关键词** 穿心莲;胡椒;枯萎

**中图分类号** Q949.331.3

穿心莲 [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.] 胡椒 (*Piper nigrum* L.) 是广东省的 2 种重要栽培药用植物。前些年,穿心莲的栽培面积很大,仅河源地区就达  $2.67 \times 10^6 \text{ m}^2$  以上,其枯萎病在小区范围内严重发生,是生产上的潜在威胁。国外无此病的报道。国内虽有记载<sup>[1,4]</sup>,但多无病原鉴定报告。胡椒枯萎病,近年来发生于海南省及广东省湛江地区,病害的扩展速度很快,给胡椒生产带来了严重损失。仅湛江地区的国营黎明农场,此病自 1985 年开始发现,至 1990 年底,累计造成植株损失达 2.3 万多株,占总数的 15% 左右。尽管此病的发生已逾半个多世纪,但国外对其研究一直未有突破性进展,近年来,研究结果趋向于真菌与线虫共同受害<sup>[12-14,16]</sup>;国内仅安贤书<sup>[2]</sup>认为系由 *Fusarium oxysporum* f. sp. *piperis* 引起,但无试验报告,也未写明专化型的命名。本文旨在明确该 2 种药用植物枯萎病的病原,以期为今后的防治检疫与研究提供基本资料。

## 1 穿心莲枯萎病

### 1.1 症状及病情

此病从幼苗至成株均可发生,染病植株初期在茎基部表现为水渍状暗褐色斑点,后逐渐向上扩展成黑色长条状病斑,植株下端叶片黄化脱落,顶端叶片失水萎垂,早晚可恢复。病情发展到最后,植株枯萎。剖解茎部,见维管束变褐色至黑色;挖检地下部,见根部及根茎部皮层组织腐烂剥离。

此病多发于 6 月末~8 月高温高湿天气,尤以时晴时雨天气发病较重。少见,但发病重。

### 1.2 病原菌鉴定

1.2.1 病原菌分离 采自广东郁南县的穿心莲枯萎病病株,以常规维管束分离法,在 PSA 上作多次分离,均获得 1 种镰刀菌,且分离结果相当一致,占分离菌的 95% 以上;未加链霉素的 PSA 上,少量菌落出现混杂细菌。取病健交界处茎秆材料,埋入新鲜健康无病的苹果内作疫霉诱导分离,未成功。

1.2.2 致病性测定 自本校真菌组网室内上年收获的穿心莲种子播种于无菌土内,待长出6片真叶后,确认幼苗不带病原菌,方用于试验。

将分离出的镰刀菌扩大培养后,按以下方法进行接种试验。

(1)伤口接种:方法参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

(2)土壤接种:方法参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

(3)灌根接种:方法参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

以上接种处理均不发病,再分离不成功。

(4)浸根接种:参阅水培法及浸根法<sup>[7]</sup>,改进接种措施。即:取健康穿心莲植株,充分清洗根表面泥土后,表面消毒并稍刺伤或不刺伤,置入浓度为 $0.76\sim 1.2\times 10^8$ 个/L的孢子悬浮液中,浸渍24h,取出,以无菌水冲洗浸渍部表面后,重新种植于无菌土中;重复3次,每个处理材料4株,并设无菌水处理作对照。接种期间气温 $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ ,2周后检查结果。刺伤处理发病率达91.7%,不刺伤处理发病率达50%,发病株再分离成功;对照不发病,再分离不成功。

用致病菌单孢系,重复上述试验,确定致病菌的致病单孢菌。

1.2.3 致病菌形态 将致病镰刀菌单孢系置于PSA、CMA、石竹培养基、米饭等培养基质上, $25^{\circ}\text{C}$ 下恒温培养,结果如下:

在石竹培养基上,气生菌丝发达,絮状,初无色,后变为紫红色,菌丛背面无色。小型分生孢子产自单出瓶梗、分生孢子梗或较短的分生孢子梗,数量很多,椭圆形或肾形。 $0\sim 1$ 个隔膜,大小为 $4\sim 13.2(7.1)\mu\text{m}\times 1.5\sim 3.3(2.2)\mu\text{m}$ ;大型分生孢子纺锤形至镰刀形,孢子壁薄,顶端尖,通常顶端细胞稍钩曲,基部有足细胞或近似足细胞,多数3隔,少数2隔。3隔孢子大小为 $24.5\sim 32.5(28.0)\mu\text{m}\times 3.0\sim 4.0(3.6)\mu\text{m}$ ,2隔孢子大小为 $17.5\sim 22.5(20.3)\mu\text{m}\times 3.0\sim 3.5(3.2)\mu\text{m}$ 。厚壁孢子较多,球形或椭圆形,壁粗糙,顶生为主,少数间生,单生为主,少数两个串生。

在PSA上,气生菌丝发达,絮状,初无色,后为紫红色,菌丛背面为紫红色至紫色。小型及大型分生孢子形态,分隔数及着生方式和在石竹培养基上一致,但大小稍有差异。小型分生孢子大小为 $4.2\sim 15.5(8.6)\mu\text{m}\times 1.8\sim 4.0(3.0)\mu\text{m}$ ;3隔大孢子大小为 $26.0\sim 34.5(30.1)\mu\text{m}\times 3.0\sim 4.5(4.0)\mu\text{m}$ ;2隔大孢子大小为 $17.5\sim 25.5(23.2)\mu\text{m}\times 3.0\sim 4.0(3.6)\mu\text{m}$ 。厚壁孢子形成较迟。

在CMA上,气生菌丝不发达,菌落粉质,易且较早产生厚壁孢子。

在米饭上,气生菌丝茂盛,絮状;初无色,后呈紫红色。

据以上致病菌的培养形态特征,按Booth的镰刀菌分类系统<sup>[4]</sup>,确认此菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schl. emend. Snyder and Hansen)。

### 1.3 尖孢镰刀菌专化型测定

以致病尖孢镰刀菌单孢系培养菌,按浸根、灌根方法,分别接种豇豆[*Vigna sinensis* (L.) Savi]、豌豆(*Pisum sativum* L.),大豆[*Glycine max* (L.) Merr.],菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.),蚕豆(*Vicia fabae* L.),马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.),茄子(*Solanum melongena* L.),西瓜[*Citrullus lanatus* (Thumb.) Mansfled],黄瓜(*Cucumis sativus* L.),甜瓜(*Cucumis melo* L.),棉花(*Gossypium barbadense* L.),甘薯[*Ipomoea batatas* (L.) Lam.],菠菜(*Spinacia oleracea* L.),芹菜(*Apium graveolens* L.),菊花(*Chrysanthemum morifolium* Ram.),芥兰(*Brassica albolabra* Bailey),石竹(*Dianthus chinensis* L.),可爱花(*Eranthemum nervosum* R. Br)等11科19种植物,以测

定其寄主范围。接种植物采用无病种子、块根盆栽于无菌土中或者移植无病苗于无菌土中,待植株成苗或成活后方用于接种试验,接种期间气温 23~28℃。试验结果,所有供试植物包括接种及空白对照处理均不发病,再分离不成功。

以上寄主范围测定结果,显示出穿心莲枯萎病菌具有严格的寄主专一性特点,表明其为—仅有害穿心莲的镰刀菌新专化型——尖孢镰刀菌穿心莲专化型(*Fusarium oxysporum* Schl f. sp. *andrographis* K. X. Zhou et P. k. Chi, f. sp. nov. )。

## 2 胡椒枯萎病

### 2.1 症状及病情

病害的发生不受植株的龄期影响。苗期、成株期均可发病,从田间调查看来,此病多发生于成株期。

病害的地上部症状表现较为复杂,总体上可归纳为慢性型及急性型2大类。慢性型的症状表现期持续时间较长,一般可达1~2年,甚至更长时间,病株最初表现为生长点停止生长,顶端叶片开始褪绿、变黄;随后自上而下扩展成植株的大部分叶片泛黄,脱落;同时,嫩梢出现回枯、脱落,并逐渐往下扩展。严重时,叶片、枝梢大量脱落,最后植株枯死。在此类型中还包括植株主蔓某一侧(或主蔓上某几条分枝)出现以上现象。急性型的症状表现期一般持续4~6个月或稍长时间,初始症状同慢性型一致,但发病后半年左右,整个植株突然失水萎蔫,植株很快枯死,而大量叶片萎垂不落。剖开近地部主蔓见两类型的维管束均变黑坏死。

地下部症状表现,两种类型基本一致。一般先从植株的侧根或主根开始受害,随后变色腐烂。主根首先受害,一般表现为急性型;而侧根先受害则表现为慢性型。剖开地下根及近基部地下主蔓,可见维管束坏死,皮层腐烂。

此病常年可发生,以10月~翌年3月较为集中发病。

### 2.2 病原菌鉴定

2.2.1 病原菌分离 取自广东湛江国营黎明农场的胡椒枯萎病病株,按常规分离及诱饵分离法进行病原菌的分离。

在PSA上作多次分离,均获得两种镰刀菌( $F_1$ 及 $F_2$ ),一种炭疽菌(C),且分离结果一致,未加链霉素时,菌落易出现混杂细菌。

取病健交界处材料埋入新鲜健康无病苹果内,除分离到镰刀菌 $F_1$ 、 $F_2$ 外,还分离到一种柱盘孢霉(*Cylindrosporium*),但未能诱出任何疫霉。

2.2.2 致病性测定 来自湛江的胡椒插条育成的幼苗,种植于本校温室的无菌土壤中,经5个月后,检查确认不带任何病原后,方可用于接种试验。

分离苗中的炭疽病菌排除,不作接种试验。

将所分离到的两种镰刀菌( $F_1$ 、 $F_2$ )及柱盘孢霉( $C_1$ )分别按以下方法接种胡椒。

(1)伤根接种:方法同前参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

(2)灌根接种:方法参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

(3)浸根接种:方法参见巴戟枯萎病<sup>[3]</sup>

以上接种及对照处理均不发病,再分离不成功。

(4)线虫及真菌混合接种:取自湛江国营黎明农场的未感染枯萎病植株根围(已为线虫感染)土壤及植株根系,经线虫分离,培养于番茄苗上,4个月后用于接种试验,按以下处理

进行:

F<sub>1</sub>:单独接种镰刀菌 F<sub>1</sub>;

F<sub>2</sub>:单独接种镰刀菌 F<sub>2</sub>;

C<sub>1</sub>:单独接种柱隔孢霉;

N:单独接种线虫;

N-smF<sub>1</sub>:接种线虫半月后接种镰刀菌 F<sub>1</sub>; N-smF<sub>2</sub>:接种线虫半月后接种镰刀菌 F<sub>2</sub>;

N-smC<sub>1</sub>:接种线虫半月后接种柱隔孢霉(C<sub>1</sub>);

CK:空白对照处理。

接种线虫按土壤接种法,接种真菌按浸根接种法,6周后检查,结果:除 N-smF<sub>1</sub> 处理株发生枯萎病外,其它处理均不发病,真菌的再分离也不成功。N-smF<sub>1</sub> 处理的发病率达 85% 以上。

(5)土壤接种:将健康植株种植于 N-smF<sub>1</sub> 处理发病后的土壤中,2个月后检查结果,45%的植株染病,真菌的再分离成功。

由此可见,F<sub>1</sub>系胡椒枯萎病的病原,F<sub>2</sub>及柱盘孢霉均不能侵染胡椒。

以同样接种方法,确认 F<sub>1</sub> 的致病单孢系。

2.2.3 病原菌形态 以 F<sub>1</sub> 致病单孢系于 PSA, CMA, 石竹培养基及米饭培养基上分别培养,以观察其形态及培养特性。培养温度恒温 25℃。

在石竹培养基上,气生菌丝茂盛,絮状。菌丝初无色,后呈紫色;菌落背面无色。小型分生孢子产自单出瓶梗或较短的分生孢子梗,数量多,0~1个隔膜,椭圆形成肾形,大小 4.0~10.0(6.0) μm × 2.0~3.0(2.7) μm;大型分生孢子镰刀形,孢壁薄,两端尖,顶端细胞稍呈钩曲,基部有足细胞,3~5个隔膜,以3隔为主,4隔次之,少数5隔,孢子大小为:3隔 22.5~40(30.4) μm × 3.0~4.5(3.7) μm;4隔 37.5~45(40.6) μm × 3.5~5.0(4.1) μm;5隔 37.5~50(45.2) × 4.0~5.0(4.5) μm;厚壁孢子球形或椭圆形,壁光滑,单或2~3个串生,间生,极少顶生。

在 PSA 上,气生菌丝繁茂,絮状,菌丝初无色,后为紫色;菌丛背面初无色,后成无色或紫色。大小型分生孢子形态及分隔与石竹培养基上结果一致,大小稍有差异。小型分生孢子大小为:4.7~12.4(7.1) μm × 2.3~3.2(2.8) μm;大型分生孢子,3隔 22.5~42.5(34.2) μm × 3.0~4.7(3.7) μm;4隔 38~46.8(41.4) μm × 3.6~5.3(4.2) μm,5隔 38.5~52(47.3 μm) × 4.3~5.5(4.8) μm。厚壁孢子产生较迟。

CMA 上,菌落粉质,厚壁孢子易大量产生。

米饭上,菌丝繁茂;初淡黄色,后紫红色。

据以上形态特征,参照 Booth 镰刀菌分类系统<sup>[6]</sup>,鉴定此病原菌为尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* Schl. emend. Snyder and Hansen)。

### 2.3 尖孢镰刀菌专化型测定

以致病尖孢镰刀菌单孢系培养菌,按灌根和 N-SmF<sub>1</sub> 处理方法,接种细叶桉 (*Eucalyptus tereticornis* Smith)、番石榴 (*Psidium guajava* Linn.)、柑桔 (*Citrus reticulata* Blanco)、鸡蛋果 (*Passiflora edulis* Sims)、咖啡 (*Coffea arabica* L.)、巴戟 (*Morinda officinalis* How.)、海南罗芙木 [*Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. var. *Hainanensis* Tsiang]、盐肤木 (*Rhus chinensis* Mill.)、香蕉 (*Musa sapientis* Linn.) 等 7 科 9 种植物,以测定其寄主范围。接种植物均为移植的健康苗木,待成活后再接种,接种期气湿 20~28℃。结果表明,以上所有植株均不染病,再分离也不成功。

以上寄主测定结果表明,胡椒枯萎病菌具严格的寄主专一性特点,表明胡椒枯萎病菌为一仅有害胡椒的新折尖孢镰刀力专化型——尖孢镰刀菌胡椒专化型(*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *piperis* K. X. Zhou et P. K. Chi. f. sp. nov. )。

### 3 结论及讨论

#### 3.1 穿心莲枯萎病

尽管有记载本病系由 *Fusarium oxysporum*、*E. oxysporum* var. *redolens* 及 *F. moniliforme* 等病原共同引起<sup>[4]</sup>,但在作者的调查中,仅分离到 *F. oxysporum*。试验证明:(1)它不是变种,不能侵染黄瓜、番茄、豌豆、菠菜、蚕豆等 var. *redolens* 可以侵染的植物;(2)在 PSA 上菌丛背面无色至紫红色,不象 var. *redolens* 呈木黄色至土黄色;(3)小型分生孢子不呈链状排列,且菌丝体后期易形成厚壁孢子,在培养特性上与 *F. moniliforme* 更有明显区别,小型分生孢子不呈串珠状,同时,不侵染石竹科,十字花科、葫芦科,豆科等用于本试验的 11 科 19 种植物。因此,是我国尖孢镰刀菌的一个独立的新专化型。

Armstrong & Armstrong<sup>[5]</sup>及 Green<sup>[8]</sup>认为枯萎病应为纯粹的维管束受害的萎蔫病害,不包括其它任何类型。但除穿心莲枯萎病外,有更多的研究证明,在某些作物上,*F. oxysporum* 除引起维管束坏死外,还可造成地下部根茎及根皮层的腐烂<sup>[3,9,17]</sup>,Booth 也有过此类描述<sup>[6]</sup>,而将其排除于枯萎病之列是不恰当的。

在研究本病过程中,多种接种方法均失败,采用浸根接种法才得以成功,这与生产上的移栽苗发病严重的现象相吻合;幼苗移栽后,植株有一个短期长势衰弱,根系受损过程,是病菌入侵的好机会。因此,了解田间发病的可能途径,采取适当的接种方法对研究镰刀菌枯萎病类是较重要的。

#### 3.2 胡椒枯萎病

此病国外自 30 年代初开始发生,在随后的半个多世纪,研究此病的报道不少,但多未肯定病原或意见不一。近年来,基本意见都趋向于线虫和真菌的综合结果,但对病原线虫及真菌的种有异议,如认为系由 *Meloidogyne incognita* 及 *Fusarium solani* f. sp. *piperis* 引起<sup>[10]</sup>; *Fusarium* sp. *Rhizoctonia* sp. 和线虫引起<sup>[14]</sup>; *M. incognita*, *Radopholus similis* 及 *Fusarium* sp. *Rhizoctonia solani*, *R. bataticola* 共同引起<sup>[16]</sup>; *R. similis*, *M. incognita* 及 *F. oxysporum* 共同引起<sup>[13]</sup>。作者的试验结果同 Mustika 等人的结果更接近,认为系由线虫及 *Fusarium oxysporum* schl. f. sp. *piperis* K. X. Zhou et P. K. Chi 共同为害引起的。至少可以肯定有根结线虫(*Meloidogyne* sp.)的参与。

有关线虫及镰刀菌复合侵染的问题,国外研究报道较多<sup>[15]</sup>;国内未见正式报道文章。本研究是在先接种线虫的基础上,再接种 *F. oxysporum* 才获得成功。因此,至少可以认为,线虫的侵染降低了胡椒对 *F. oxysporum* f. sp. *piperis* 的抗性作用。

线虫与真菌共同作用引起作物复合病害的现象还存在一个尚待讨论的问题,Montalvo & Melendez 报道<sup>[11]</sup>,在淮山枯萎病的研究过程中,同本试验一样,必须在先接种线虫(*Meloidogyne incognita*)的基础上,才能成功地接种 *F. oxysporum* f. sp. *dioscoreae* Wellman;但有试验表明,在不须先接种线虫的情况下也成功地在淮山上接种了 *F. oxysporum* f. sp. *dioscoreae*<sup>[12]</sup>就此看来,菌株之间致病性有可能存在差异,尤其是对于具有多变特性的镰刀菌。因此,由菌株间致病性差异而导致的试验结果在某些方面的不同应予以考虑。

## 参 考 文 献

- 1 江西中医学院主编. 药用植物栽培学. 上海:上海人民出版社,1980,198
- 2 安贤书. 最近出现的胡椒枯萎病及其防治. 热带作物科技,1989(4):58
- 3 时雪荣,戚佩坤. 巴戟枯萎病原菌鉴定. 植物病理学报,1988,18(2):137~142
- 4 杭州药材试验场,上海市药材公司,南京药学院药用植物园. 药用植物栽培. 上海:上海科技出版社,1977,289~290
- 5 Armstrong G M, Armstrong J K. Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds. *Fusarium—Disease. Biology and Taxonomy*, Pennsylvania: Pennsylvania Univ. Press, 1981.391~399
- 6 Booth C. The Genus *Fusarium*. Kew, Surrey, CMI 1971, 130~154
- 7 Dhingra OD, Sinclair J B. Basic plant pathological method. New York: CRC Press, 1985. 122~126
- 8 Green R J Jr. An overview In: Marshall EM, Bell AA, Beckman CH. eds. Fungal wilt disease of plant. New York: Academic Press, 1981. 17~20.
- 9 Jarvis WR, Shoemaker RA. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. Phytopathology 1978, 68(12):1679~1680
- 10 Lopes E B., Lodello L G E. *Meloidogyne incognita* and *Fusarium solani* f. *Piperi* associated with wilt of *Piper nigrum* in Paraiba Brazil. 1979, 54(4):262~268 (RPP v. 59 Abstr.)
- 11 Montalvo A E, Melendez P L. Histopathology of interrelation between *Fusarium oxysporum* f. sp. *dioscoreae* and two nematode species on yam. J Agr Univ P R, 1986, 70(4):245~254
- 12 Mustika I, Sudradjut D, Wikanda A. Control of pepper yellow disease with fertilizer and pesticides. Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri. 1988, 9(50):37~43(R P P v. 45 Abstr.)
- 13 Nair MK, Sarma Y R. International pepper community lookshop on joint research for the control of black pepper disease. J P Crops, 1988, 16(2):146~149(R P Pv 67 Abstr)
- 14 Nambiar K N, Sarma Y R. Wilt disease of black papper. J Plantation Crops, 1977, 5(2)92~103(R. P P v. 57 Abstr.)
- 15 Powell N T. Interaction between nematode and fungi in disease complex. Ann Rev Phytopathology, 1971(9):253~274
- 16 Sarma Y R, Ramachandran N, Anandraj M. et al. Disease management in black pepper Indian cocoa. Arecanut & Spices Journal, 1988, 11(4):123~127(R P P v. 68 Abstr.)
- 17 Weimer J L. Some root rots and foot rot of lupines in Southeastern part of the United States. J Agr Res, 1944, 68:441~356

IDENTIFICATION OF THE PATHOGENS CAUSING WILT  
DISEASES OF THE COMMON ANDROGRAPHIS

(*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.) AND BLACK PEPPER (*Piper nigrum* L.)

Zhou Kuixian      Chi Peikun

(Dept. of Plant Protection, South China Agr. Univ.)

**Abstract** Wilt diseases of two cultivated medicinal plants in Guangdong province, the common andrographis (*Andrographis paniculata*) wilt, and black pepper (*Piper nigrum*) wilt, were investigated and identified. Formae specialis of *Fusarium oxysporum* were studied. According to the tests morphology, cultural characters and pathogenicity, the wilt disease of common andrographis was caused by *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *andrographis* K. X. Zhou & P. K. Chi, f. sp. nov. for which impregnated inoculation method was available; the wilt of black pepper was caused by *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *piperis* K. S. Zhou & P. K. Chi f. sp. nov. that has close relation to root knot nematode disease. Both of them were formae specialis of *Fusarium oxysporum*.

**Key words** Common andrographis; Black pepper; Wilt