

# 绿巨人褐腐病菌生物学特性和病组织结构变化的研究

伍慧雄<sup>1</sup>, 王 健<sup>1</sup>, 王 军<sup>1</sup>, 岑炳沾<sup>1</sup>, 余倩珠<sup>1</sup>, 姚京都<sup>2</sup>

(1 华南农业大学 林学院, 广东 广州 510642; 2 广州市花卉研究中心, 广东 广州 510360)

**摘要:** 苞叶芋属观叶植物表现褐腐病症状的绿巨人 *Spathiphyllum pallas*、神灯白掌 *S. lynise*、香水白掌 *S. sensation*、金叶白掌 *S. golden* 和白掌 *S. clevelandii* 分离提纯菌株, 作交互接种试验显示, 都可交互致病, 表现褐腐病自然感病症状。根据对 5 个菌株培养特性、形态特征和致病性观测, 认为是同一个病原种即苞叶芋帚梗柱孢 *Cylindrocladium spathiphylli* Schouties Et-Gholl & Alfieri。病原菌生物学特性的研究表明, 20~26 °C 适宜病原菌生长, 高于 34 °C 或低于 15 °C 则不利于生长, 湿度在 90% 以上有利于病原菌孢子萌发; 在适量微量元素 Fe、Mg、K 营养条件下, 病原菌生长缓慢, pH 5~9 病原菌生长良好。从接种病原菌后的绿巨人叶柄横切可见其病理结构变化为: 接种 12 h, 病菌以菌丝通过表皮上伤口或细胞间隙进入皮层; 接种 24 h, 部分表皮细胞和皮层薄壁细胞质壁分离, 变褐; 接种 48 h, 受害皮层薄壁细胞向深处发展扩大, 细胞壁呈黑褐色; 接种 72 h, 病菌侵进维管束, 韧皮部和木质部破坏变黑, 接种 72 h 的病根横切显示, 病菌菌丝通过表皮伤口进入外皮层、中皮层薄壁细胞, 胞壁崩裂、变黑。本研究目的是为绿巨人生产中的病害防治提供理论依据。

**关键词:** 绿巨人; 褐腐病; 苞叶芋帚梗柱孢; 生物学特性; 病理组织

中图分类号: S436.8

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2004)04-0030-05

## Study on biological and pathogenic characteristics of the brown rot of *Spathiphyllum pallas*

WU Hui-xiong<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, CEN Bing-zhan<sup>1</sup>, YU Qian-zhu<sup>1</sup>, YAO Jing-du<sup>2</sup>

(1 College of Forestry, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Guangzhou Flower Research Center, Guangzhou 510360, China)

**Abstract:** Pure cultures of five pathogen isolates from *Spathiphyllum* varieties, namely, *Spathiphyllum pallas*, *S. lynise*, *S. sensation*, *S. golden* and *S. clevelandii* were obtained and used for cross inoculation. The results showed that cross infections by the five isolates occurred on all plant varieties and natural symptom of brown rot appeared. Based on the morphological and pathogenic characteristics of the cultures, all five isolates were identified as being one species: *Cylindrocladium spathiphylli* Schouties Et-Gholl & Alfieri. The study on biological characteristics demonstrated that the temperatures between 20–26 °C were suitable for the growth of pathogen, temperatures of above 34 °C or below 15 °C were not favorable for the growth; the relative humidity of 90% or above was favorable for the spore germination; the pathogen grew slowly on the medium contain micro-elements of Fe, Mg and K, but grew well under pH 5–9. The histopathological changes of root system and petiole tissue at different time after inoculation exhibited that at 12 h after inoculation, the pathogen entered the hypoderm via wounds or inter-cell space through hyphae; at 24 h, the protoplasm in some epidermal cells became browning and separated from cell wall; at 48 h after inoculation, the diseased area of hypodermis parenchyma cell expanded deeply inward and the cell walls were browning; at 72 h after inoculation, the pathogen invaded vascular tissues and the discoloration and destruction of phloem and xylem occurred. From cross section of root tissues at 72 h after inoculation, the pathogen entered the outer and middle hypodermis parenchyma cells through hyphae and the

clumping and blackening of disintegrated cell walls happened. The purpose of this study is to understand and command the biological characteristics and histopathological changes of the pathogen and to provide theoretical basis for the disease control.

**Key words:** *Spathiphyllum pallas*; brown rot; *Cylindrocladium spathiphylli*; biological characteristics; diseased tissue

广州市花卉研究中心引进天南星科苞叶芋属多种观叶植物, 其中 1 种——绿巨人 *Spathiphyllum pallas* 近年出现了根茎腐烂和叶柄干枯的褐腐病病害, 造成严重经济损失. 此病最早发现于 1978 年美国的佛罗里达<sup>[1]</sup>, 病原菌经 Schouties<sup>[1]</sup> 鉴定为帚梗柱孢属的苞叶芋帚梗柱孢 *Cylindrocladium spathiphylli* Schouties, El-Gholl & Alfieri. 华南农业大学姜子德等<sup>[2]</sup> 在 1997 年也证实褐腐病由该病菌引起. 1986 年 Henry 等<sup>[3]</sup> 研究得出苞叶芋属中 3 种寄主, *Spathiphyllum floribundum*、*S. floribundum* ‘Mini’ 和 *S. cannifolium* 对此病菌具有抵抗力. 关于绿巨人褐腐病菌生物学特性和病组织结构变化的研究, 在国内鲜见报道. 笔者对该病菌研究的目的, 是调查褐腐病病菌危害苞叶芋属主要引进品种的危害程度, 并对该病菌形态生物学特性和致病性以及不同接种时间的绿巨人根系、叶柄组织病理变化进行研究, 以期能更好地掌握该病菌的发病规律, 为花卉生产中的病害防治提供理论依据.

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种

试验菌种是在调查广东省广州市、顺德市、中山市、南海市、深圳市和海南省三亚市等地的绿巨人 *Spathiphyllum pallas*、白掌 *S. clevelandii*、香水白掌 *S. sensation*、金叶白掌 *S. golden*、神灯白掌 *S. lyrise* 等 5 种褐腐病病株的基础上, 经单孢分离提纯而得, 按顺序分别为菌株 1、2、3、4、5. 按菌落生长形态特征分为 2 种类型: 平铺菌落和絮状菌落.

### 1.2 试验苗

试验苗由广州市花卉研究中心、华南农业大学园林花卉中心提供. 试验苗龄: 11~12 个月生.

### 1.3 病原菌生物学特性测定

测定方法见文献<sup>[4]</sup>. 采用与菌株 1 同一类型特征的菌落.

1.3.1 不同温度对病原菌生长的影响 将 20 mL PDA 培养基倒入经高温消毒的培养皿, 挑入 2 mm×2 mm 菌丝块, 分别放在 15、17、20、23、26、30、32、34 °C 光照恒温箱培养 3 d 后, 测定病菌在不同温度下生长速度、生长形态及产孢情况, 每处理 3 个重复.

1.3.2 不同湿度对病原菌生长的影响 以不同浓度

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 在密封容器内控制空间相对湿度, 用凹玻片滴上清水, 刮进 200~300 个孢子, 放进调好湿度的培养皿中, 用凡士林密封, 放在 26 °C 温箱中, 隔 5 h 观察孢子萌发数, 每个处理重复 3 次.

1.3.3 不同营养条件对病菌生长的影响 设 9 种培养基: (1) 高蔗糖培养基: 蔗糖 20 g, 琼脂 1.5 g, 水 100 mL; (2) 绿巨人汁液培养基: 绿巨人叶柄 20 g, 琼脂 1.5 g, 水 100 mL; (3) 燕麦培养基: 燕麦 3 g, 琼脂 1.5 g, 水 100 mL; (4) 玉米粉培养基: 玉米粉 2 g, 琼脂 1.5 g, 水 100 mL; (5) Czapek 培养基: KNO<sub>3</sub> 0.2 g, KCl 0.05 g, 葡萄糖 3 g, FeSO<sub>4</sub> 0.001 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.01 g, MgSO<sub>4</sub> 0.05 g, 琼脂 1.5 g, 水 100 mL; (6) 培养料浸渍液培养基: 将培养料 100 g 加水 200 mL 浸煮 1 h, 过滤, 取滤液 100 mL, 琼脂 3 g, 水 100 mL; (7) 1/2PDA 培养基: 马铃薯 100 g, 葡萄糖 10 g, 琼脂 1 g, 水 100 mL; (8) PDA 培养基: 马铃薯 20 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 2 g, 水 100 mL; (9) V-8 培养基: V-8 蔬菜汁 200 mL, CaCO<sub>3</sub> 3 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL.

将上述各培养基按配方配好, 高温消毒, 倒进已消毒培养皿, 冷却凝固后挑入 2 mm×2 mm 菌块, 放入 26 °C 培养. 每种培养基 2 个重复, 第 3~5 d 观察并记录病菌生长速度、产孢情况、菌核及有性世代形成情况.

1.3.4 不同 pH 值对病菌生长影响 以 NaOH、HCl 调节培养基 pH 值, 用 pH 测定仪调试, 使其在高温消毒后 pH 值分别为 3.0、4.0、4.5、5.0、6.0、6.5、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0, 每处理 3 个重复, 第 7 d 记录生长情况.

### 1.4 病理解剖

取绿巨人叶柄和病根接种后 12、24、48、72 h 的病变部位, 用 F. A. A 固定, 滑动切片横切, 厚度 40~60 μm, 各级酒精处理, 二甲苯脱水透明, 番红、固绿染色, 观察其组织结构病理变化.

## 2 结果与分析

### 2.1 感染症状

5 种寄主感染症状基本相似, 其发病部位有 2 种症状: (1) 根腐烂通常在地上症状出现之前已发生, 病菌侵染一般由根部开始, 初期, 个别小根出现小

点,后呈现黑色腐烂斑块,随着发病根数增多,地上叶子由绿色变为黄色,最后植株变黄枯死;(2)叶柄腐烂多在叶片的叶柄基部形成黄色近圆形病斑,后分别向上、下扩大为条状,最后整个叶柄基部呈褐色腐烂,叶片变黄、萎蔫倒伏于地上。

2.2 病原菌形态

5 种寄主分离的菌株在 PDA 培养基上形态基本

一致. 菌株培养 1~2 d 后开始长出白色菌丝,3 d 后逐渐变为褐色,埋生菌丝淡褐色到暗褐色,7~10 d 后长出孢子. 分生孢子梗无色、分隔、帚状分枝,一级分枝多无隔、少有 1 隔,二级、三级分枝无隔;孢子顶端单生,无色、圆柱形、两端圆、有隔;顶端孢囊球形或椭圆形,孢囊梗细长、分隔. 显微镜检测菌株形态大小见表 1.

表 1 病原菌在不同寄主上的形态大小

Tab. 1 Morpha of the pathogen on different host

$V/\mu\text{m} \times b/\mu\text{m}$

寄主 host	分生孢子 conidia	孢子梗 spore peduncle			孢囊 sporangium	孢囊梗 sporangium peduncle
		一级分枝	二级分枝	三级分枝		
		I divarication	II divarication	III divarication		
绿巨人 <i>Spathiphyllum pallas</i>	40~75×4.0~6.5	20.0~30.0×4.0~6.0	17.5~20.0×5.0~6.5	7.5~20.0×5.0~6.5	10~20×7.5~15.0	120~215×5.0~7.5
白掌 <i>Spathiphyllum clevelandii</i>	30~73×4.0~6.5	17.5~30.0×4.0~5.5	17.5~20.0×4.5~5.5	10.0~17.5×4.5~5.0	10~20×7.5~15.0	105~140×4.0~5.5
金叶白掌 <i>Spathiphyllum golden</i>	40~75×5.0~7.5	17.5~30.0×4.0~5.5	16.5~20.0×4.0~5.0	10.0~15.0×4.5~5.5	10~15×9.0~12.5	110~140×4.0~5.0
神灯白掌 <i>Spathiphyllum lynise</i>	40~76×4.0~6.5	20.0~35.0×5.0~6.0	17.5~20.0×4.5~5.5	15.0~17.5×4.5~5.5	10~20×7.5~15.0	105~130×3.0~5.0
香水白掌 <i>Spathiphyllum sensation</i>	40~77×4.0~6.5	20.0~35.0×5.0~6.0	16.5~22.5×4.5~5.5	10.0~25.0×4.0~6.5	12~15×10.0~12.5	105~215×3.5~5.0

2.3 病原菌菌落类型

绿巨人、白掌、香水白掌、金叶白掌、神灯白掌病原菌在 PDA、V-8 和 Czapek 3 种培养基上生长都表现 2 种不同类型菌落:(1)平铺菌落:菌丝平铺展生,初为白色,后变褐色,从培养基上可看到褐色色素分泌;(2)絮状菌落:菌丝飘生,白色,后变为灰白色,同样分泌褐色色素. 2 种菌落在 3 种培养基上 72 h 菌丝生长直径和 10 d 产孢情况见表 2.

表 2 2 种菌落在不同培养基上生长情况<sup>1)</sup>

Tab. 2 Growth of two colony types on different media

菌落类型 colony type	$d$ (菌丝 hypha)/mm			产孢量 spore number		
	PDA	V-8	Czapek	PDA	V-8	Czapek
平铺菌落 tiled colony	15.6	15.6	9.6	少	中等	多
絮状菌落 floccule colony	67.2	73.5	9.0	无	少	多

1)表中数据是培养基上接种 72 h 的菌丝直径和 10 d 的产孢量

测定结果显示,在 PDA、V-8 培养基上,絮状菌落比平铺菌落生长快,一般 7~10 d 后才产孢,但产孢

少或不产孢; Czapek 培养基大量产孢且第 3 d 可产孢,但菌丝生长稀疏,菌落小;在 PDA 培养基上培养 10 d,2 种菌落分生孢子、分生孢子梗、孢囊形态大小基本一致.

2.4 病原菌致病性

2.4.1 5 个菌株对不同寄主的致病性 将 5 个菌株按常规操作对 5 种寄主进行交互接种,试验重复 2 次,每处理 4 株,72 h 后观测记录. 结果表明,5 个菌株在 5 种寄主之间都可交互致病,表现自然感病症状.

2.4.2 平铺菌落和絮状菌落致病性差异 将绿巨人分离纯化平铺菌落和絮状菌落接种在绿巨人、白掌、神灯白掌 3 种寄主上,分别于接种后 12、24、36、48 h 观测其致病症状(表 3). 结果显示,2 种菌落对 3 种寄主都可致病. 对于绿巨人、白掌而言,平铺菌落比絮状菌落在相同时间内病斑扩展快,显示其致病力较强,但神灯白掌相反. 试验表明,这 2 种菌落致病性存在不甚明显差异.

表 3 接种 2 种菌落的植株感染病斑面积

Tab. 3 Disease-spot areas on inoculated plants by two colony types

$\text{cm}^2$

菌落类型 colony type	绿巨人 <i>Spathiphyllum pallas</i>				白掌 <i>Spathiphyllum clevelandii</i>				神灯白掌 <i>Spathiphyllum lynise</i>			
	12 h	24 h	36 h	48 h	12 h	24 h	36 h	48 h	12 h	24 h	36 h	48 h
平铺菌落 tiled colony	2.08	3.50	11.50	27.74	2.0	3.60	7.72	20.77	2.63	4.63	6.38	19.96
絮状菌落 floccule colony	2.00	2.42	7.31	20.87	2.0	3.03	6.16	15.52	3.00	5.63	7.46	26.90

2.5 病原菌生物学特性

以平铺菌落测定其生物学特性.

2.5.1 不同温度对病原菌生长的影响 在 15、17、20、23、26、30、32 和 34 °C 光照恒温箱中培养 3 d 后,

病原菌菌落直径分别为 0、30.8、38.3、47.6、42.8、32.8、23.9 和 0 mm. 可见,该菌在 20~26 °C 范围内生长良好,23 °C 为最适宜生长温度,最高生长温度 32 °C,最低生长温度为 17 °C. 该菌经低于 15 °C 或高

至 34 °C 处理 3 d 后测定, 菌落上分生孢子不萌发, 将低于 15 °C 及高至 34 °C 处理过菌落再放于 26 °C 温度培养 7 d 也不扩展生长.

2.5.2 不同湿度对孢子萌发率的影响 试验结果表明, 分生孢子在 90% 以上湿度条件下易萌发, 低于这个湿度条件下不易萌发.

2.5.3 不同 pH 值对病原菌生长的影响 在 pH 分别为 3.0、4.0、4.5、5.0、6.0、6.5、7.0、8.0、9.0、10.0 和 11.0 的培养基上接种 7 d 后, 病原菌菌落直径分别为 2.3、2.5、2.8、4.0、4.5、4.5、4.7、4.5、4.0、2.1 和 1.5 cm, 可见, pH5~9 是该病菌适宜生长范围, pH>9 或 pH<5, 病菌生长缓慢.

2.5.4 不同营养条件对病原菌生长的影响 从表 4 看出, 该菌在含微量元素 Fe、Mg、K 的营养条件下, 菌丝生长较少, 但产孢量最多, 在高糖分条件下, 菌落生长最快, 产孢量中等.

表 4 不同营养条件下菌落生长情况

Tab. 4 Growth of colonies on different nutrient media 7 d

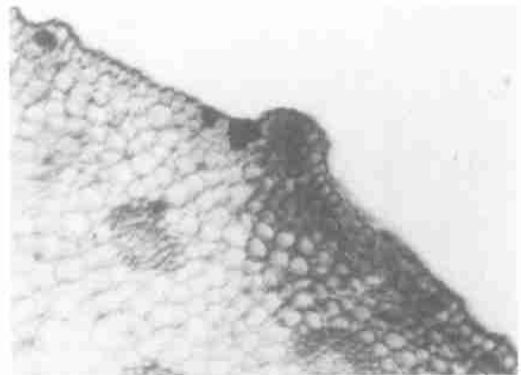
培养基 nutrient media type	d/cm	产孢量 spore number
高蔗糖培养基 sucrose	4.88	中等
绿巨人汁液培养基 <i>Spathiphyllum pallas</i> juice	3.43	少
燕麦培养基 oat	4.18	无
玉米粉培养基 com flour	3.98	无
Czapek 培养基 Czapek	0.36	多
培养料浸渍培养基 nutrition soakage	0.65	无
1/2PDA 培养基 1/2PDA	3.27	少
PDA 培养基 PDA	3.14	少
V-8 培养基 V-8	4.01	少

2.6 病根和叶柄病部病理组织解剖分析

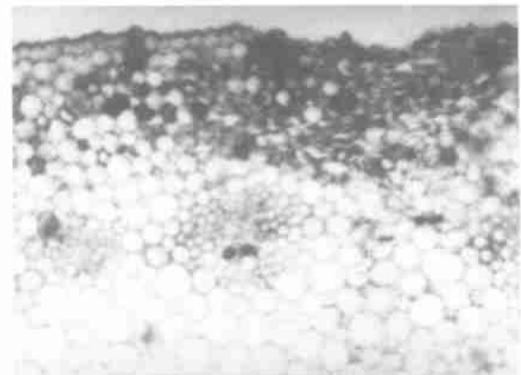
接种后的叶柄病部、病根经处理后切片, 观察其病组织变化情况. 据图 1 可知: 叶柄病部在接种 12 h 时, 病菌以菌丝通过表皮上的伤口、气孔或细胞间隙进入皮层, 表皮和靠近表皮的皮层薄壁细胞开始损坏变色(图 1-a); 接种 24 h 时, 部分表皮细胞和靠近表皮的薄壁细胞质壁分离和变褐(图 1-b); 接种 48 h 时, 除受害皮层薄壁细胞向深处发展扩大, 细胞质壁分离, 细胞壁呈黑褐色, 死亡(图 1-c); 接种 72 h 时, 除受害皮层薄壁细胞大片受到破坏外, 病菌侵进维管束, 靠近表皮小的维管束先受害, 继而向内发展, 韧皮部和木质部被破坏变黑, 水分和养分供应受阻, 导致植株叶片失水枯萎(图 1-d). 图 2 显示病根在接种 72 h 时, 病菌菌丝通过伤口进入表皮、外皮层、中皮层薄壁细胞, 病细胞质壁分离, 胞壁崩裂、变黑.



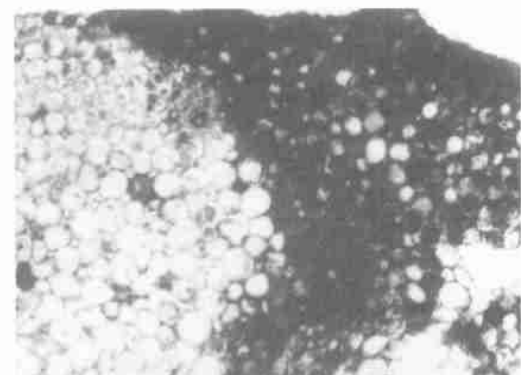
a 接种 12 h 12 h after inoculation (200×)



b 接种 24 h 24 h after inoculation (100×)



c 接种 48 h 48 h after inoculation (100×)



d 接种 72 h 72 h after inoculation (100×)

图 1 接种褐腐病菌后不同时间的绿巨人叶柄横切

Fig. 1 The cross sections of *Spathiphyllum pallas* petiole at different time after inoculation with the brown rot pathogen



图2 接种褐腐病菌 72 h 的绿巨人病根横切(50×)

Fig. 2 The cross section of *Spathiphyllum pallas* diseased root at

72 h after inoculation with the brown rot pathogen(50×)

### 3 讨论与结论

根据 5 个菌株培养性状、形态特征和致病性试验结果可以看出:对绿巨人、神灯白掌、香水白掌、金叶白掌和白掌等造成褐腐病症状的病原菌是同一种,即苞叶芋帚梗柱孢 *Cylindrocladium spathiphylli* Schoulties El-Gholl & Alfieri, 与 Schoulties<sup>[1]</sup> 和姜子德等<sup>[2]</sup> 鉴定结果是一致的。

苞叶芋属绿巨人、神灯白掌、香水白掌、金叶白掌和白掌感染褐腐病的病原菌分离菌株有平铺菌落和絮状菌落 2 个类型,培养性状存在明显差异,但致病性则不甚明显,是否为不同生物型或生理小种有待进一步研究和探讨。

在 Czapek 培养基的营养环境中,添加微量元素 Fe、Mg、K,菌落生长直径与其他 8 种培养基相比减少了 5~10 倍,在植株上调控喷洒一定量微量元素 Fe、

Mg、K 后,能否通过控制病害发展来达到防治效果,有待进一步研究。

病原菌在 pH 5~9 时适宜生长,湿度在 90% 以上有利于孢子萌发。因此,在栽培管理上要控制好基质的酸碱度和苗棚湿度,避免病原菌迅速蔓延。病原菌生长最适温度为 20~26 °C,高至 34 °C 或低于 15 °C,孢子都不萌发。可见,病原菌对温度具有敏感性,在温度适宜的高湿季节是病害防治的重要时机。

绿巨人病理解剖显示,病菌一旦侵入植物体内对根基细胞组织的毒性破坏迅速,72 h 后韧皮部、木质部细胞大面积坏死,很快导致植株枯萎。因此,病害防治的关键是预防侵入,在病菌侵入 12 h 后,便很难控制。伍慧雄等<sup>[3]</sup> 已通过先接种后喷药的试验得到证实。

参考文献:

- [1] SCHOULTIES C L, ELGHOLL N E. Pathogenicity of *Cylindrocladium floridamum* on *Spathiphyllum* sp. cv. *Clevelandii* [J]. Proc Fla State Hort Soc, 1980, 93: 183-186.
- [2] 姜子德,戚佩坤. 匙叶天南星褐腐病检出[J]. 植物病理学报, 1997, 27(1): 71-74.
- [3] HENRRY R T, CHASE A R. Screening *Spathiphyllum* species and cultivars for resistance to *Cylindrocladium spathiphylli* [J]. Hort Science, 1986, 21(3): 515-516.
- [4] 方中达. 植物研究方法[M]. 第3版. 北京:中国农业出版社, 1998. 335-346.
- [5] 伍慧雄,欧晓敏,王健,等. 绿巨人褐腐病化学防治[J]. 中国森林病虫, 2004, 23(3): 19-23.

【责任编辑 李晓卉】