

四环素浸渍处理甘薯丛枝病 病苗试验和电镜观察

李开本 陈景耀 柯 冲

(福建省农业科学院)

A TEST OF SWEET POTATO SEEDLINGS WITH WITCHES' BROOM IMMERSED IN TETRACYCLINE-HCL AND THEIR ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATIONS

Li Kaiben, Chen Jingyao and Ke Chung
(Fujian Academy of Agricultural Sciences)

甘薯丛枝病是由类菌原体(MLOs)引起的一类甘薯病害。近年来已成为福建沿海部分薯区生产上一个重要的问题⁽²⁾。罹病植株矮缩,叶子变小,侧枝丛生⁽³⁾。有关报道表明, MLOs 对四环素等药物反应敏感,对病害有抑制作用⁽⁷⁾。国内外用抗菌素进行的防治研究已取得一定进展。谢联辉等1984年采用不同浓度的土霉素处理甘薯丛枝病病苗,病状均有不同程度的减轻乃至消失⁽⁴⁾。但是抗菌素对甘薯丛枝病的疗效期以及在寄主细胞内对MLOs的作用过程尚未见报道。本文介绍用四环素处理甘薯丛枝病病苗后,病状消长和病原在寄主细胞内的消解过程。

一、材料和方法

(一) 四环素浸渍试验

供试四环素是上海新亚制药厂生产的人体注射用的盐酸四环素,用自来水配制成300 ppm和500 ppm两种浓度的抗菌素溶液。供试病苗采自莆田县东峤乡下房村,系带有丛枝病轻度病状的甘薯栽培种新种花的病株。经电镜检查有MLOs存在。1982年7月1日将病苗分别浸渍在两种浓度(300 ppm和500 ppm)盐酸四环素溶液内,处理时间分别为2小时和3小时,共4个处理,每个处理30株病苗。浸毕取出,用清水淋洗多次,后插在盆钵中,置于防虫网室内,经常观察病状消长情况。并采样作电镜观察。另设置一个清水浸渍病苗作对照。

丘琬同志参加本研究切片工作。

本文于1987年7月14日收到。

(二) 电镜样品制备及观察

分别取四环素的二种浓度二种时间处理过的病苗叶脉、清水浸渍的对照样叶脉和四环素处理后插在盆中经过一段时间病状消失、恢复正常叶脉，按我院电镜室常规方法⁽¹⁾，用戊二醛和锇酸溶液双固定，系列酒精和环氧丙烷脱水，包埋于pon812中，用LKB—V型切片机切片，经醋酸铀和柠檬酸铅双染色，在JEM—100CXⅡ电镜下观察。

二、试验结果

(一) 病状消长结果

经四环素处理的病苗在盆内生长30天后开始长新叶，50天后检查发现四环素处理的4个组合中，300ppm和500ppm的2小时处理效果较好。处理后50天，有20~33.3%病株病状消失，处理后5个月仍有16.7~23.3%植株保持正常生长，不表现病状。疗效期2~4个月。清水浸渍的对照病株始终无病状消失表现，并且病状不断发展，在生长30~50天以后，相继因病死亡。病状消失的样品在电镜下找不到MLOs。

(二) 电镜观察结果

通过电镜观察四环素各处理样叶脉切片的筛管细胞内的MLOs看出，有些MLOs和对照样一样沿着寄主细胞膜分布或充满整个寄主细胞，细胞大小100~500×350~1400nm，菌体内部含纤维状DNA和颗粒状的核糖蛋白体。但是在四环素处理的筛管细胞内时常观察到以下三种现象：(1) MLOs向寄主筛管细胞中央集聚，聚成一团(图1)，有的菌体细胞膜破裂。(2) MLOs细胞逐渐缩小，电子密度增大(图2)。(3) MLOs细胞内含物消失，剩下膜状碎片，最后完全消解，留下纤丝状痕迹(图3)。对照样筛管细胞内MLOs正常(图4)，始终没有观察到以上三种现象。不同浓度和时间组合观察结果无明显差异。

三、讨论

本试验结果表明，四环素对MLOs引起的甘薯丛枝病病状有抑制作用。在处理后的一段时间内病状会消失，即新长出的枝叶不表现病状，但是已变形的枝条不能恢复健康状态。经过一段生长期后，新生叶还会产生丛枝和小叶病状。这与国内外报道的基本一致^(8, 9)，许多研究人员利用这一特点作为这类病害的诊断手段和制定治疗措施的根据。治疗方法有喷洒、注射和水浸等。在这方面国内外已有许多成功的例子。但是一般多用于木本植物的防治上，原因是木本植物经抗菌素处理后疗效期长，可达1~2年，而且采用一定间隔时间药物反复处理的方法，使植株保持病状消减状态。草本植物疗效期短，短的只有几个星期⁽⁸⁾。所以限制了抗菌素作为治疗草本植物的实际意义。但是本试验表明，四环素处理甘薯丛枝病疗效期2~4月。在重病区，采用四环素等抗菌素处理甘薯苗对于防治本病似有一定的作用。

本试验中四环素处理的病苗有不同程度的药害，轻的，心叶退黄，嫩芽褐色，但经过一段时间的生长，尚能恢复。重者，定形叶退黄严重，心叶及嫩芽枯萎，随后叶枯，全株死亡。药害可能与不适当的浓度和处理时间有关，如何选择一个合适的浓度和浸渍时间，既可使病状消失又不产生药害，有待进一步研究。

电镜观察结果表明,四环素处理甘薯丛枝病病苗后,在筛管某些细胞中所看到的MLOs在寄主细胞内的分布和菌体形态,与蔡碧等报道的正常的MLOs不相同^[10]。正常情况,MLOs沿着寄主细胞膜分布或充满整个细胞。菌体形态分发育、增殖、崩坏三大型,不因寄主植物的不同而有差异。本试验所看到的三种现象可能是MLOs在四环素作用下的消解过程,推测当药物从寄主细胞周围进入细胞内时,开始可能由于MLOs对四环素敏感,向寄主细胞中央移动,在寄主细胞中央集聚成团。四环素是抑制菌体蛋白质合成的抗菌素^[6],在四环素存在条件下MLOs蛋白质合成受干扰,蛋白质得不到补充,失去内含物,从而造成菌体收缩、变小。最后,完全失去内含物,剩下细胞膜碎片并完全消解,留下纤丝状痕迹。至于电子密度为何增大,尚不清楚。对照样看不到上述三种现象。当病状消失时在电镜下找不到MLOs,可进一步说明四环素有消解MLOs的作用。

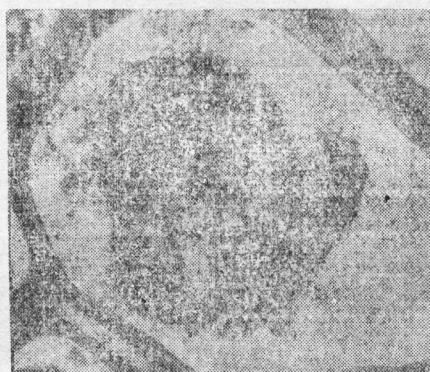


图1 MLOs向筛管细胞中央集聚 (10,000×)

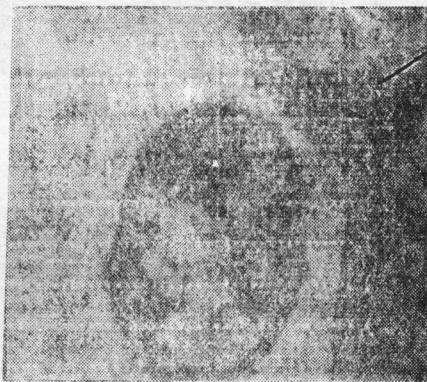


图2 MLOs缩小, 电子密度变大 (15,000×)



图3 MLOs菌体消解 (10,000×)



图4 正常的MLOs (5,000×)

参 考 文 献

- [1] 柯冲等, 1978, 柑桔黄龙病类立克次体及线状病害的研究初报。科学通报 10: 463~466。
 [2] 柯冲等, 1985, 福建省甘薯丛枝病的调查和电镜观察。福建农业科技 1: 1~4。

- [3] 杨一朗, 1970, 台湾甘薯簇叶病的研究(Ⅲ)。植物保护学会会刊 12: 124~129。
- [4] 谢联辉等, 1984, 福建省甘薯丛枝病病原的研究。福建农学院学报 13(1): 85~88。
- [5] 张景宁, 1985, 抗菌素对苦楝顶簇病的抑制作用及对叶蝉传病的影响。植物病理学报 15(1): 47~52。
- [6] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物学教研室, 1979, 微生物学。第139页, 人民教育出版社, 北京。
- [7] Kahn, R.P. et al. 1972. Sweet Potato little leaf (witches' broom) associated with a mycoplasma-like organism. Phytopathology 62(8): 903~909.
- [8] McCoy, R.E. 1982. Use of tetracycline antibiotics to control yellows disease. Plant Disease, 66(7): 539~542.
- [9] Igwegbe, E.C.K, et al. 1973. Effect of tetracycline antibiotics on symptom development of stubborn disease and infectious variegation of citrus seedling, Phytopathology, 63: 1044-1048.
- [10] 陈增等, 1972, サツマイモ丸く“根病菌病植物におけるマイコプラシ”様微生物の分布および寄主細胞の変化。日植病報 38: 81~85。