

小麦黄化条纹病类立克次氏体病原的初步研究

范孝用 石菲菲

(河北省科学院微生物研究所病毒室,保定)

李向印 李淑荣

(河北医学院电镜室,石家庄)

发现了小麦的一种“黄化类型”病害。病株维管束的韧皮部内有大量病原体。病原体有多种形态,大小一般约为 $0.5-0.8\mu\text{m}$, 并看到膜有厚薄不均的现象。四环素族抗菌素和青霉素能暂时抑制这种病害的发展。观察结果表明,小麦黄化条纹病的病原体为类立克次氏体(Rickettsialike organism)。

类立克次氏体 (Rickettsia-like organism 简称 RLO) 是 1973 年首次发现的一类新的植物病原。它能在植物中引起类似病毒病的症状,过去一直被认为是病毒病。目前已在十多种植物病株组织里发现了此类

病原^[1-4]。

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 黄化条纹病是 1978 年首先在河北省保定市郊区发现的,一般零星点片出现在五月上旬前后,病株率较高。轻病株株高略矮于正常株,叶片上有黄绿相间的条纹,旗叶很长、很宽且下披。一般长 30cm 左右,最长达 35 cm,宽 2.5 cm 左右。后期叶上产生大量枯斑。茎秆比正常植株粗,一般直径约达 5 mm。穗常表现畸型,由于花器发育不良,多数不能结粒。重病株植株矮小,一般不能拔节,心叶抽出后黄色且扭曲成绳状。后期叶片有的能够展开,但狭长黄弱(图 1)。一般不能抽穗,分蘖较多,须根较少,多数提前枯萎。

两年来,我们对该病进行了田间系统调查,做了普通石蜡病理切片光学显微镜观察和超薄切片电镜观察。发现在寄主植

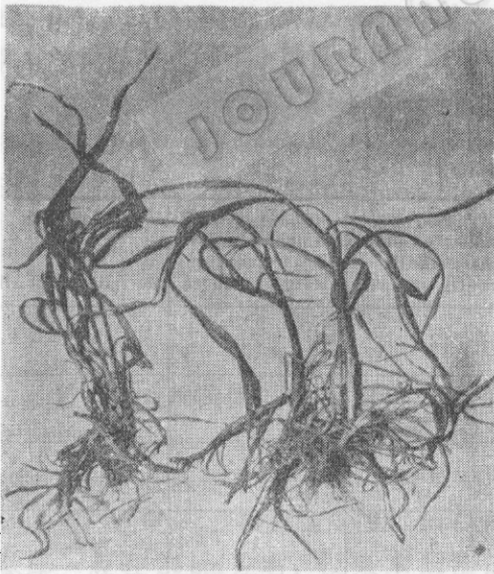


图 1 严重病株,株高为正常株的二分之一,心叶扭曲成绳状

Fig. 1 Seriously infected plant, its height is one half of that of the normal plant, and its inner leaves are twisted in ropelike shape

本文于 1980 年 6 月 30 日收到。

此项工作承蒙中国科学院上海生物化学研究所曹天钦先生多方面指导,中国科学院微生物研究所周家焯先生、王折楷同志和河北农业大学石振亚先生评阅全文,特此一并致谢。

秦跃才、王汎、刘保全等同志做了部份工作。

物的细胞内有大量的类立克次氏体存在。同时也进行了该病对四环素族抗菌素和青霉素药物反应试验,从而进一步明确了小麦黄化条纹病与类立克次氏体的关系。

材料和方法

(一) 电镜观察

从病区取回典型的健株和病株,选取茎、叶的典型部位,分别切成 $1-3\text{mm}^2$ 的小块进行戊二醛四氧化锇双固定,环氧树脂 618 包埋;LKB8800 型超薄切片机切片,用柠檬酸铅和醋酸铀染色,HS-500 电子显微镜观察。

(二) 抗菌素反应

小麦充分显病以后,在重病区按随机排列划分小区用药,每小区面积 2.5m^2 ,在小区内选择典型病株定株观察。所用药品为医用盐酸金霉素和医用青霉素 G 钾盐,使用方法为整株喷撒,连续三天,每天喷药一次。另外将田间典型病株移栽至所内试验田。成活后,将所有试验用苗距地 5cm 以上的茎叶部份剪去,而后每天用药,连续 20 天。药品种类和使用方法同上。

结 果

(一) 超薄切片观察

病株维管束往往受到严重破坏以致萎缩(图版 I-1)。被侵染的细胞有的比正常细胞小,有的大于正常细胞。病原体主要分布在韧皮部中,大多数维管束感染严重,似与叶面条纹相关。叶绿体的片层结构聚集到中部,较严重者叶绿体膜消失,片层结构排列紊乱(图版 I-2),逐渐趋于解体。病原物一般充满整个被侵染的细胞,基本上看不到任何细胞器(图版 I-3)。有的细胞尚能看到一些正常结构(图版 I-4,图版 II-1)。

一般在每个受侵染的细胞里都有不少病原体。病原体的形状多样,主要为圆形、椭圆形和短杆状(图版 I-3—5)。大小一般在 $0.5-0.8\ \mu\text{m}$ 。病原体的胞被物一般由三层组成,中间一层电子密度较低,内外电子层密度较高(图版 I-6)。有的由多层胞被物组成(图版 II-2—4)。胞被物的厚度一般为 $17-28\ \text{nm}$,一般情况下,能看到胞被物有凹凸和厚薄不均的现象(图版 II-3—4)。

病原体内有微小的颗粒状结构,分布

表 1 病株用药 15 天后田间效果记载表

Table 1 Effect of spraying with chemicals in reducing rickettsial disease after 15 days of field application

药品种类 Name of chemicals	用药浓度 Concentration of chemicals	定株数 Number of plants applied	显著减轻株数 Number of plants disease signifi- cantly reduced	稍减轻株数 Number of plants disease less signi- ficantly reduced	无减轻株数 Number of plants not reduced at all
盐酸金霉素 Hydrochloric- acidic aureomycin	30u/ml	6	2	2	2
	500u/ml	3*	3		
青霉素 G 钾 Penicillin, G potassium	500u/ml	6	4		2
	5,000u/ml	6	4	1	1
对照 Check		12	3	4	5

* 因盐酸金霉素 500 单位/毫升有药害,故定了 6 株,其中 3 株死亡。

Due to the chemical injury of the hydrochloric-acidic aureomycin, 3 out of the 6 sprayed plants died during the experiment.

均匀, 颗粒大小不等, 大的颗粒似由细小颗粒所组成, 这些颗粒可能是核蛋白体。靠近膜处颗粒较多, 中央颗粒分布较少, 或形成空隙, 或完全空虚。在病原体内部有微细颗粒聚集成电子致密的核心, 核心大小约 $0.25 \mu\text{m}$, 呈较规则的圆形(图版 I-5—6), 同时看到不带核心的病原物。根据病原物发育的情况, 可以考虑, 这种不带核心的病原体, 可能由带核心的病原体发育而来。

(二) 病株对四环素族抗菌素和青霉素药物的反应

1. 田间试验: 病株使用适当浓度的青霉素 G 钾盐和盐酸金霉素 10 天后, 病情有减轻的趋势。扭曲的叶片多数展开, 且颜色变深, 生长旺盛, 而对照组多数仍扭曲。20 天以后病情减轻的病株又复严重。

从田间试验结果看, 四环素族抗菌素和青霉素都有一些减轻病害的作用。

2. 移植试验: 试验分四个处理组:(1) 盐酸金霉素 30 单位/ml (2) 青霉素 G 钾 100 单位/ml (3) 青霉素 G 钾 300 单位/ml (4) 对照。

每个处理 7—8 株。仅对照组有 3 株的新生叶片产生了典型症状, 其余用药的三个处理组均没有产生典型症状。

试验表明, 金霉素和青霉素对于小麦的这种病害都有一定抑制作用。

讨 论

1. 类立克次氏体 (RLO) 区别于类菌质体 (Mycoplasma-like organism 简称 MLO) 的主要形态特征是有细胞壁, 胞壁厚薄不均或呈凸凹现象。侵染韧皮部的 RLO 的壁厚一般在 20 nm 左右, 侵染木质部的 RLO 比侵染韧皮部的其胞壁更厚, 而 MLO 仅有原生质膜, 比较薄, 一般厚度约为 $7.5—10 \text{ nm}$ ^[5,6]。

小麦黄化条纹病为“黄化型”病害。病

原主要分布在患病小麦的维管束以及周围的薄壁细胞中, 大小约 $0.5—0.8 \mu\text{m}$, 膜为多层, 其厚度为 20 nm 左右, 且有厚薄不均的现象。这种病害对青霉素敏感, 说明病原体有胞壁结构。因此, 我们认为应属于 RLO 而不是 MLO。

2. 要确证这种 RLO 的病原性, 应该按照科赫法则 (Kochs postulate) 进行鉴定^[7], 但 RLO 经人工分离培养成功的极少, 至今还没有一个病例能够满足科赫法则的鉴定标准。因此目前在鉴定上只能根据下列标准: (1) 在寄主植物的筛管细胞或导管细胞的超薄切片内用电子显微镜观察到 RLO, 而在健全植物的相应组织内检查不到 RLO。 (2) 用四环素类、青霉素类药物能抑制或减轻症状的表现^[4,7,8]。我们在患病小麦的韧皮部中观察到 RLO, 并且, 无论发病轻重, 在病株的茎和叶内, 在电镜下都能较容易地观察到这种 RLO, 而在健株的茎和叶中则从未见到。四环素类和青霉素类药物都能暂时地抑制该病的病状表现。所以, 初步认为我们所观察到的 RLO 可能就是这种小麦新病害的病原体。

3. 目前, 小麦黄化条纹病虽属点片发生, 但如不早加控制, 将来有可能蔓延。所以有必要继续研究该病病原物的传染方式和寄主范围, 并探索其防治措施。

参 考 文 献

- [1] 龚祖焜、曹天钦: 《国外科学》, 第二集, 科学技术文献出版社, 北京, 1978, 第 81—92 页。
- [2] Windsor, I. M. and L. M. Black: *Phytopathology*, 63: 1139—1148, 1973.
- [3] Hopkins, D. L. et al.: *Phytopathology*, 63: 1422—1423, 1973.
- [4] George Nyland, et al.: *Phytopathology*, 63: 1275—1278, 1973.
- [5] Maramorosch, K.: *Annual Review of Microbiology*, 28, Mortimer P. Starr, California, 1974, pp. 301—325.

[6] Чумакова А. Е.: Вирусные и микоплазменные болезни, основные методы фитопатологических исследований, Москва «Колос», 1974,

152—182

[7] 广西柑桔黄龙病研究小组: «中国农业科学», 1978年, 第三期, 84—86页。

A PRELIMINARY STUDY OF WHEAT YELLOWING STRIPE DISEASE PATHOGEN—RLO

Fan Xiaoyong Shi Feifei

(Section of Virology Institute of Microbiology, Hebei Academy of Sciences, Baoding)

Li Xiangyin Li Shurong

(Section of Electron Microscope, Hebei Medical College, Shijiazhuang)

We have discovered a yellows-type disease of wheat in Baoding. When the diseased tissue has been examined with the light microscope, a large amount of microorganisms have been found in the best of the vascular bundle.

Electron micrograph shows that the microorganisms are pleomorphic, 0.5—0.8

μm in size, with uneven envelope.

Tetracycline and penicillin may temporarily suppress the symptom of the disease. From the evidences mentioned above we believe that the causal organism of the yellows-type of disease is a rickettsia-like organism.