

人参坏死病的研究

李北辰 史素琴 朱平

(吉林省生物研究所, 长春)

国际翔 田希文

(中国科学院林业土壤研究所, 沈阳)

本文首次报告人参坏死病及其病原体。通过罹病人参各部位的超薄切片, 在筛管细胞中, 观察到大量具单位膜而无细胞壁、多形态的类菌原体(MLO)。这种类菌原体大小为 80—1400 nm, 外膜厚度 8—12nm。以四环素喷叶试验证明, 四环素对病状有抑制作用。初步认为人参坏死病是由类菌原体引起的。

人参 (*Panax ginseng* Mey) 坏死病使人参生产造成严重经济损失, 是人参栽培中的严重病害。

罹病人参最初出现斑驳花叶, 继则褪绿变色, 后期叶片常呈褐红色。叶脉韧皮部部分坏死, 叶柄基部与茎早期分离, 造成叶枯萎或脱落, 病株根部在受侵染的早期,

仅具小而散在的坏死斑, 随病程的发展, 坏死斑逐渐扩大融合成片, 并向内部深入。坏死部分常形成一个表面粗糙的“疤”。发生在根茎上(芦头)的坏死可导致芽孢破坏或地上植株死亡(图1)。

我们从1980年10月起, 采用超薄切片的电镜检查和四环素处理试验相结合的方法进行病原研究, 结果报告如下。

材料和方法

(一) 样品

1. 1980年10月采自吉林省抚松县国营第一参场的六年生人参根及根茎; 1981年6—7月在同一地点采集的六年生人参茎及叶。采集病株的同时采集同样苗龄的健株作对照。

2. 1982年4—10月在吉林省集安人参研究所山地实验区, 对2560株人参进行四环素处理试验, 平行对照株数为1280株。

(二) 超薄切片的制备

基本上按洪涛等^[1]的方法进行, 将病株人参根、根茎、茎、叶柄和叶脉分别切成1mm³左右的

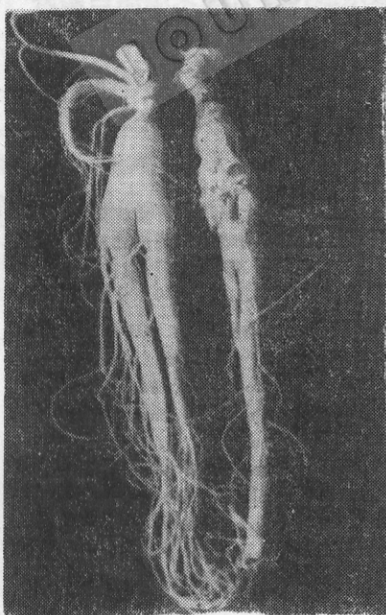


图1 健株根(左)与病株根(右)

Fig. 1 Roots of healthy (left) and diseased (right) plant

本文于1981年12月17日收到。

本文承王折楷同志指正; 吉林省生物研究所逯弘捷同志参加了部分田间实验工作; 吉林省集安人参所和抚松县国营第一参场为实验提供了方便条件, 在此一并致谢。

小块, 在含 5% 戊二醛, pH 7.0, 0.1M 的磷酸缓冲液中浸泡 1—2 周, 再用 pH 7.0, 0.1M 磷酸缓冲液充分洗净残余的戊二醛后, 转入含 2% 四氧化锇的蔗糖等渗溶液中固定 2 小时。固定后的样品用 50%、70%、95%、100% 梯度的乙醇逐级脱水。脱水后的组织块以 Epon 812 环氧树脂渗透和包埋。硬化剂为十二碳烯琥珀酸酐 (DDSA) 和甲基内次甲基四氢苯二甲酸酐 (MNA), 加速剂是二甲氨基甲基苯酚 (DMP-30)。浸透后的包埋材料, 先在 45℃ 聚合 24 小时, 再在 60℃ 固化 48 小时, 获得淡黄色透明的包埋块。包埋块经适当修整后, 用 LKB III 型超薄切片机以玻璃刀进行超薄切片, 平行健株对照样品也同样处理。

(三) 电镜观察

用覆有 Formvar 膜并经喷碳加固的铜网捞取超薄切片, 以 2% 醋酸双氧铀和柠檬酸铅染液双重染色^[2], 用滤纸吸去多余染液, 干燥后, 用 JEM-100B 电子显微镜观察。

(四) 四环素处理试验

在吉林省集安人参研究所山地实验区选取面积均为 20m² 的三块平行的地块, 1982 年 4 月 17 日在每 m² 的面积上栽种三年生人参苗 64 株。以其中一块地作为对照, 其余两块地分别于 6 月 12 日、7 月 14 日、8 月 13 日以 50 单位/ml 的盐酸四环素水溶液喷叶处理三次, 共用去盐酸四环素 450 万单位, 平均每株人参施药量为 1758 单位。

结 果

(一) 类菌原体的观察

1. 在病株各部位超薄切片的筛管细胞中, 观察到大量多形态的类菌原体, 大小约 80—1400nm, 大多可见明显的单位膜结构, 膜厚约为 8—12nm, 在类菌原体内部常能看到核糖体样颗粒和核质样纤维。这些类菌原体呈圆形、椭圆形、哑铃形。出芽酵母形、念珠形和变形虫形, 仅有原生质外膜而无内含物的空泡样结构也能看到。这些类菌原体的形态符合蔡碧^[3]描述的发育型、增殖型和崩坏型, 与 Sinha^[4]、土居^[5]以及国内报告中的类菌原体基本一致^[6-12]。

在病株韧皮部筛管细胞的间隙中未曾观察到类菌原体的存在, 符合类菌原体在细胞内寄生的论点^[16](图版 I)。

2. 平行对照健株人参的超薄切片中, 未曾观察到类菌原体的存在, 证明类菌原体仅存在于病株组织中。

(二) 对四环素的敏感性

试验表明: 对照组共栽人参苗 1280 株, 截至 1982 年 8 月 31 日仅存活 19 株, 存苗率为 1.5%; 而盐酸四环素喷叶处理组的两块地, 也各均栽人参 1280 株, 截至 1982 年 8 月 31 日, 分别存活 895 株和 961 株, 存苗率分别为 69.9% 和 75.1%, 与对照差异显著, 说明四环素确有抑制病状的效果。

按土居^[16]的意见, 初步认为: 人参坏死病是由类菌原体引起的一种病害。

这是关于人参坏死病及其病原体类菌原体的首次报道。

讨 论

1. 自 1967 年土居^[5]提出类菌原体病原以来, 已报道了近 100 种植物的类菌原体病害^[17], 但多描述植物地上植株的病状, 像人参这样的植物, 对其地下部位上类菌原体的危害, 过去报道甚少, 今后应引起重视。

2. 由于经四环素治疗后, 类菌原体病害的复发率甚高, 至今未得到广泛应用。同时过去的报道多以木本植物为试验对象。因此, 如何有效地防治草本植物上的类菌原体病害, 需进一步试验和探索。

3. 从电子显微镜的图像看, 有个别的病原体直径可达 2400nm, 超过一般类菌原体的大小范围。也有个别的病原体图像显示出膜厚达 25—30nm, 且具有凸凹不平或波纹状表征, 接近于类立克次氏体^[18]。但我们于 1982 年 7 月 15 日至 10 月在 2m

的面积上采用 40 万单位青霉素 G 钾盐水溶液进行的抑制病状试验, 未观察到抑制效果。所以, 对是否存在类立克次氏体的问题, 也需重复验证。

参 考 文 献

- [1] 洪涛等: «生物医学超微结构与电子显微技术», 科学出版社, 北京, 1980 年, 111—150 页。
 [2] Reynolds, E. S.: *J. Cell Biol.*, **17**:208, 1963.
 [3] 蔡碧 5: 日植病报, **33**: 81, 1972。
 [4] Sinha, R. C.: *J. Ultrastru. Res.*, **54**: 183, 1976.
 [5] 土居美二 5: 日植病报, **33**: 259, 1967。
 [6] 王祈楷等: 中国科学, **6**: 587, 1980。
 [7] 王祈楷等: 植物病理学报, **11**: 15, 1981。
 [8] 中国科学院上海生物化学研究所病毒组等: 中

- 国科学, **3**: 283, 1978。
 [9] 中国科学院上海生物化学研究所病毒组等: 自然杂志, **6**: 344, 1978。
 [10] 陈作义等: 科学通报, **12**: 751, 1978。
 [11] 陈作义等: 生物化学与生物物理学报, **12**: 143, 1980。
 [12] 沈菊英等: 生物化学与生物物理学报, **12**: 207, 1980。
 [13] 广西柑桔黄龙病研究小组: 中国农业科学, **3**: 84, 1978。
 [14] 丁正民等: 上海农业科技, **1**: 31, 1980。
 [15] 金开董: 植物保护学报, **7**: 177, 1980。
 [16] 土居美二: 植物防疫, **26**(5): 3, 1972。
 [17] Daniels, M. J. and P. G. Markham: *Plant and Insect Mycoplasma Techniques*, 82—96, Croom Helm, London and Canberra, 1982。
 [18] 朱本明: «植物类菌原体病害», 上海科技出版社, 1982 年, 19—21 页。

STUDIES ON THE *PANAX GINSENG* NECROTIC DISEASE

Li Beichen Shi Suqin Zhu Ping

(*Jilin Institute of Biology, Changchun*)

Guo Jixiang Tian Xiwen

(*Institute of Forestry and Pedology, Academia Sinica, Shenyang*)

Treatment of diseased plants with tetracycline hydrochloride resulted in a suppression of necrotic disease symptoms. MLO were found in the sieve tubes of *P. ginseng* naturally infected with necrosis, but were

absent in the control healthy plants. These bodies ranged in size from 80—1400 nm and are presumably the cause of the disease. This is the first report of MLO in *P. ginseng*.