

# 葱兰黄化病病原类菌原体的研究

陈集双 李德葆

(浙江农业大学生物技术研究所 杭州 310029)

葱兰为石蒜科(Amaryllidaceae)草本植物,是一种在我国各地普遍栽培的多年生观赏花卉。葱兰黄化病是1992年在杭州发现的一种新病害,该病对葱兰的生长和观赏价值有严重影响。

罹病株(丛)最初表现为深红色斑点,逐渐扩大为鲜红色条斑或斑块并转为亮黄色,最后整株叶片大部分转为鲜艳的黄色,呈现典型的系统侵染。发病1—2月后整株(丛)地上部分枯死。发病一般始于早春(3月上旬),春末夏初有一个发病高峰期;秋末有另一个发病期,但病状较轻;感染株有恢复现象,即在下一个生长季能从地下部分重新生长出叶片,但病株叶片明显细小,有丛簇现象,病株开花少且花期短。

作者从1992年春起,对该病害进行了病原分离、生物学测定和病组织超薄切片电镜检查,发现该病害可能与类菌原体有关,现将研究结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品

感病植株分别于1992年4月采自浙江农业大学校园和1992年6月采自杭州花园,用盆栽保存于防虫温室中,同时采取健株作为对照。

### 1.2 用病株分离病原和接种

病原物分离采用常规的组织分离方法,病组织经表面消毒后同时置于PDA和Wankimato's培养基上培养,所获分离物经单孢或单菌落纯化后,真菌置PDA培养基上培养,细菌置Wankimato's培养基上继续培养,以获得纯培养物,并观察菌落形态和产生孢子的情况;各分离物均采用针刺法接种葱兰健株,接种后用塑料袋保湿,观察发病情况<sup>[1]</sup>。接种实验重复2—3次。

### 1.3 生物学测定

系统发病的葱兰叶片置于研钵中加0.02mol/L pH7.4磷酸缓冲液和金刚砂研磨制备接种物,然后按常规汁液磨擦接种法接种供试植物,观察发病情况<sup>[2]</sup>。

### 1.4 病株汁液中病毒粒子检查

病株汁液经0.02mol/L磷酸缓冲液抽提,经2%戊二醛固定10—30分钟,吸附于铺有Formvar膜的铜网上,然后按常规磷钨酸负染方法负染,置电镜下检查病毒粒子或类似结构的有无。

### 1.5 超薄切片制作及电镜观察

将系统发病的病叶组织切成0.2×0.4cm<sup>2</sup>的小块,经2.5%(pH6.8)戊二醛和1%锇酸双固定,丙酮系列脱水后用Epon 812(A:B=1:6)包埋,用Ultracut E型超薄切片机切片,超薄切片用醋酸铀和柠檬酸铅双染色,然后置电镜下检查组织中的病原和细胞病变情况<sup>[3]</sup>。

## 2 结果和分析

### 2.1 病原物分离和接种

从病叶的病健交界组织中共得到四个分离物,其中B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>产生细菌菌落,培养物针刺接种对葱

兰不致病, F<sub>4</sub> 为丝状真菌, 在 PDA 培养基上产生分生孢子, 光学显微镜下检查孢子符合 *Alternaria* 的特征。F<sub>4</sub> 以菌丝接种也不表现对葱兰致病。据此, 以上各分离物似均不是葱兰黄化病的致病菌。

## 2.2 汁液接种结果

用病汁液摩擦接种方法接种的植物种类见表 1。

表 1 进行汁液摩擦接种的植物种类

科名	种名	学名
石蒜科	葱兰	<i>Zephyranthes candida</i>
藜科	昆诺藜	<i>Chenopodium quinoa</i>
藜科	苋色藜	<i>C. amaranticolor</i>
茄科	普通烟	<i>Nicotiana tobaccum</i>
	心叶烟	<i>N. glutinosa</i>
	克里美兰烟	<i>N. clevelandii</i>
	假酸浆	<i>Nicandra physalodes</i>
豆科	豇豆	<i>Vigna sinensis</i>
苋科	千日红	<i>Gopherena globosa</i>
	鸡冠花	<i>Celosia cristata</i>
十字花科	白菜	<i>Brassica pekinensis</i>

接种植株观察 2 周至半年, 均不表现发病。因此, 葱兰黄化病不表现汁液传染的特点。

## 2.3 病毒粒子检查

病叶汁液经磷酸负染后在电镜下未检查到类似线状、杆状或球状病毒粒子的结构。

## 2.4 病组织超薄切片观察

在病叶维管束的筛管细胞中观察到典型的类菌原体(MLO)结构, MLO 具有多种形态。其中近球形结构的大小约 45—1200nm, 有三层单位膜结构, 其内部有纤维状结构。每一维管束中往往只有个别筛管细胞中存在 MLO, 多数 MLO 排列在细胞近周缘部位而中央部位则极少见到(图版 I)。以上符合龚祖祺等(1990)所描述 MLO 在植物体内分布的特点。在健株中未观察到 MLO 的存在。

## 3 讨论

在葱兰和葱兰属植物上发生的病害只有简单描述<sup>[5]</sup>。Brocks(1966)报道在夹竹桃属(*Nerine*)几种植物上引起严重坏死和叶斑的新病害, 并认为其病原为一种壳多孢菌(*Stagonospora curtisii*)。该病原也侵染葱兰属花卉(*Zephyranthes grandiflora*)表现类似症状<sup>[6]</sup>。Mukerji(1970)曾报道一种小核菌属真菌(*Sclerotium cepivorum*)侵染葱兰属花卉 *Z. lancasterii*, 该病害也能扩散到葱兰等其它几种葱兰属花卉上<sup>[7]</sup>。国内 1988 年的资料中列举了 7 种葱兰病害, 其病原都是半知菌类真菌。本文报道的葱兰黄化病具有比较独特的症状特点, 是一种葱兰新病害。

根据本研究结果, 在自然发病的葱兰植株上存在 MLO, 其可能即是葱兰黄化病的病原。关于 MLO 和该病害的关系尚在进一步研究中。

致谢 本校电镜室高其康、方月群协助制作电镜切片, 特此致谢。

## 参 考 文 献

- [1] 方中达. 植病研究方法, 北京: 农业出版社, 1979.
- [2] 田 波, 裴美云. 植物病毒研究方法(上册), 北京: 科学出版社, 1987.
- [3] 陈集双, 李德燕. 浙江农业大学学报, 1990, 16(增刊 2): 78-82.
- [4] 龚祖祺, 陈作义, 沈菊英. 中国类菌原体图谱, 北京: 科学出版社, 1990.
- [5] Klinkowski M B *et al.* Pflanzliche Virologie, Band 4, Berlin: Akademie Verlag. 1977.
- [6] Brooks A. *J Report Horticultural Society*, 1966, 91(12): 498.
- [7] Mukerji K G. *Sci Cult*, 1970, 36(3): 163-165.

## A STUDY ON MYCOPLASMA-LIKE ORGANISMS CAUSING YELLOW DISEASE ON AUTUMN ZEPHYRLILY

Chen Jishuang Li Debao

(Institute of Biotechnology, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

**Abstract** A yellow disease of *Zephyranthes candida* is described, which has so far been reported only in Hangzhou, China.

Isolating of pathogenic fungi and bacteria and efforts of finding saptransmitted agents causing this new disease were failed. No virus particles was detected under electron microscope after negative staining of diseased leaf sap. Mycoplasma-Like Organisms (MLOs) were observed in phloem cells of infected leaves by examining ultrastructure under electron microscope. Those oval bodies with trine membranes measuring about 45-1200nm in diameter were mostly located alongside cell membrane. No such structures were found in cells of healthy plants.

MLOs was considered as the causing pathogens of this yellow disease of *Z. candida*. This is the first report of MLOs happened in this genus.

**Key words** *Zephyranthes candida*, Yellow disease, MLO

### 图版说明

1. 自然发病的蕹兰病株; 2. 病株叶脉横切面中筛管细胞, 箭头示 MLO( $\times 8000$ ); 3. 同上( $\times 9500$ ).