

甘薯瘟浸注接种蕃茄的显症因素与对 侵染源的带菌检查

方树民

(福建农学院植保系)

摘 要

用甘薯瘟菌液在不同条件下对番茄苗叶片浸注接种。显示出其叶上产生枯斑和溢菌的迟早和程度主要取决于接种体浓度;温度大于或小于30℃时亦受影响;光照有抑制作用;顶芽下嫩叶层反应较敏感;强毒菌系表现的潜育期稍短。从病区采集土、苗、粪和水样品检查结果表明;重病薯田及其后作秋大豆皆高度带菌;后作甘薯的中度带菌;后作水稻的难于检出带菌。症状明显的薯苗检出高度带菌,症状不明显的低度带菌。病田畦沟水和病株喂猪后在粪便皆高度带菌。此法能较快并有效地检出不同侵染源样品中的甘薯瘟青枯菌。

甘薯瘟是甘薯生产上的毁灭性病害,被列为国内检疫对象。土壤和种苗等带菌是导致田间发病和病害传播的主要途径。采用一种简便可靠的检测方法,观察不同侵染源样品的带菌情况,对于种苗检疫,耕作轮作和品种布局等都有重要意义。

国外曾用番茄作为指示植物以检查土壤中马铃薯青枯菌(小种3)的存活(Graham等, 1978)。国内已明确番茄是甘薯瘟最敏感的寄主之一(郑冠标等, 1962; 方树民, 1982a)。其后作者按Klemenl等的方法(Kiraly, 1970)对番茄叶片浸注接种以检查分离菌致病性及薯苗是否带菌(方树民, 1982b)。赖文昌(1987)用番茄苗对我省某些病区薯苗带菌作过鉴定。其它传播途径的带菌检查未见报道。

作者于1981~1984年用甘薯瘟分离菌探讨影响番茄叶片浸注接种的因素,研究此法的关键技术,以期为生产应用提供参考。

材 料 与 方 法

一、薯瘟菌液制备 经肉汁胨斜面培养36小时的015号菌株(福清)新鲜菌,依次递减稀释成 $10^0/\text{ml}$ ~ $10^9/\text{ml}$ 悬浮液。将已知强菌系019号(福鼎)、中强菌系015号(经60℃处

本文承陈昭炫、张学博教授审阅,本系实习生陈勇参加部分试验,特此致谢。

本研究1983年以前的试验工作是在农科院植保所完成。

本文于1989年2月22日收到。

理30分钟)和腐生菌分别配成同浓度的 10^8 /ml悬浮液。

二、番茄接种观察 番茄(品种:强力米寿)苗栽在无病土的塑料钵里,在12~15叶期分别进行如下试验:用所配的菌液测定番茄对不同浓度及不同菌株毒性的反应;用015菌株同浓度 10^8 /ml悬浮液测定10株番茄苗不同层次叶片的反应,以及在不同温度和光照下测定接种后番茄的显症反应。每项重复3次。其方法系用4号针头从番茄苗每个叶片背面脉间注射渗透到叶肉组织,后置于 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 温箱中进行观察。每隔3~5小时检查番茄叶片上出现暗褐色枯斑的时间;接着,侦查枯斑中产生溢菌的时间,即从坏死斑部位剪取小块组织,在显微镜下检查切口有无溢菌。连续观察3~5天,直至每叶枯斑检出溢菌或查无溢菌。最后,以株叶数的镜检枯斑溢菌数占枯斑总数的比率计算溢菌枯斑率。

表1 番茄对不同菌株毒性的反应

菌 株	枯斑潜育期(小时)	溢菌潜育期(小时)	枯斑类型	枯斑扩展
019(极强)	15~17	50	暗褐斑	4~5天植株枯死
015(中强)	18~20	60	暗褐斑	5~6天植株枯死
015(热致死处理)	46~48	—	淡褐斑	植株正常
腐生性细菌	0~72	—	无或淡褐斑	植株正常

表2 光照对番茄显症反应的影响

处 理	枯斑潜育期(小时)	溢菌出现期(小时)	2天内枯斑率(%)	枯斑扩展
1500Lx	42~36	60	13.7	7天内少数叶片调萎
暗 室	17~18	43	100	4~5天内植株枯死

三、病源取样处理

1.土壤 1981年10月从惠安、仙游等病区采集土样。旱地从作物根群附近取湿润土,水田在表层3~5厘米处取样。土样按不同轮作类型分6个处理。每处理称样50克,加蒸馏水50毫升,振荡3小时后澄清过滤。

2.薯苗 1981年5月从惠安、仙游等病区采集不同品种薯苗。按苗茎维管束变色程度归类镜检后分8个处理。每处理称样5克,加蒸馏水15~25毫升,浸泡30分钟后研磨过滤。

3.粪便 1984年10月从莆田采集新鲜的病藤病薯,称取500克剪碎后混入饲料中喂猪。经12、24和36小时各取粪便200克、加蒸馏水50毫升,振荡3小时后澄清过滤。

4.水源 1984年9月从莆田县笏石病田及邻近水源中取畦沟水、渠道水及池水各50毫升。

以上预处理液经4000转/分钟离心10分钟,进行1~2次,每处理取浓缩液6~8毫升对番茄接种观察。待症状充分表现时,检验粪便和土壤带菌的类别,将番茄病部剪碎,加蒸馏水10毫升浸泡30分钟后,捣成浆汁。用剪刀沾汁液剪叶接种(方树民等,1985)到感病品种新种花薯苗上。

表3

甘薯瘟地种植不同作物后土壤带菌的检查结果

采集地	病地种植作物类型	番 茄 反 应				回接甘薯		带菌等级
		枯斑潜育期(小时)	枯斑溢菌期(小时)	5天内溢菌率(%)	7天内症状表现	发病率(%)	病情指数	
惠安驿坂	发瘟地连作3年抗病品种豆沙薯	48	72	98.9	植株枯死	100	93.8	H
	发瘟地毒水流经的相邻水稻田	82	110	25.0	叶片凋萎	0	0	L
	发瘟地连作感病品种新种花	48	72	100	植株枯死	100	82.5	H
	水稻后作抗病品种豆沙薯(对照)	—	—	0	植株正常	1	0	O
仙游枫亭	薯苗发瘟地后作秋大豆	48	72	88.9	植株枯死	40.0	12.1	H
	薯苗发瘟地后作水稻	94	—	0	个别叶凋萎 查无溢菌	0	0	C
	连续2年发瘟地后作甘蔗	48	74	40.0	叶片凋萎	0	0	M

表4

不同症状类型薯苗带菌的检查结果

品 种	薯 苗 症 状 类 型	枯斑潜育期(小时)	枯斑溢菌期(小时)	3天内溢菌率(%)	带菌等级
新 种 花 (感病)	病苗维管束变褐镜检, 大量溢菌	24	38	70.0	H
	病苗维管束变色, 查无溢菌	35	48	55.6	M
	室内存放3个月半的干枯病藤	48	72	11.1	L
	薯苗正常, 查无溢菌(对照)	—	—	0	O
豆沙薯 (抗菌群I)	病苗维管束变褐, 镜检大量溢菌	17	36	66.7	H
	病苗维管束变色, 查无溢菌	24	48	10.0	M
	室内存放2个月半的干枯病藤	17	36	50.0	L
	薯苗正常, 查无溢菌(对照)	—	—	0	O

表5

病薯喂猪后粪便带菌的检查结果

饲养后不同排粪时间 (小时)	番 茄 反 应				回接甘薯发病 率(%)
	枯斑潜育期(小时)	枯斑溢菌期(小时)	5天内溢菌率(%)	7天内症状表现	
12	48	72	100	植株枯死	43.3
24	48	72	78.3	植株枯死	37.3
36	62	80	68.9	植株枯死	24.5
无病薯饲养(对照)	—	—	0	植株正常	0

四、带菌分级评价

高度带菌(H): 番茄叶片溢菌枯斑率在61%以上。

中度带菌(M): 番茄叶片溢菌枯斑率在31~60%。

低度带菌(L): 番茄叶片溢菌枯斑率在30%以下。

可能轻微带菌(C): 番茄叶片仅有枯斑, 查无溢菌。

无带菌(O): 番茄叶片不表现枯斑。

结 果

一、接种后番茄苗叶片产生枯斑和溢菌的影响因素

1. 菌液浓度 菌液浓度从 10^9 /ml减至 10^5 /ml, 枯斑潜育期由11小时延至28小时, 两者似乎成负相关。枯斑出现后16~24小时为溢菌出现期。当浓度降至 10^4 /ml~ 10^2 /ml时, 其潜育期为60~90小时; 而在 10^1 毫升以下则不产生枯斑(图1)。

2. 菌株毒性 极强比中强菌系枯斑出现期早3~5小时, 并早一天引起番茄枯死。经热致死处理菌液在48小时出现淡褐斑; 腐生菌则不表现枯斑或产生淡黄斑, 后两者斑点处镜检均无溢菌(表1)。

3. 番茄叶位 顶芽下第2、3、4嫩叶层出现的枯斑大, 溢菌多, 溢菌枯斑率达100%; 而第

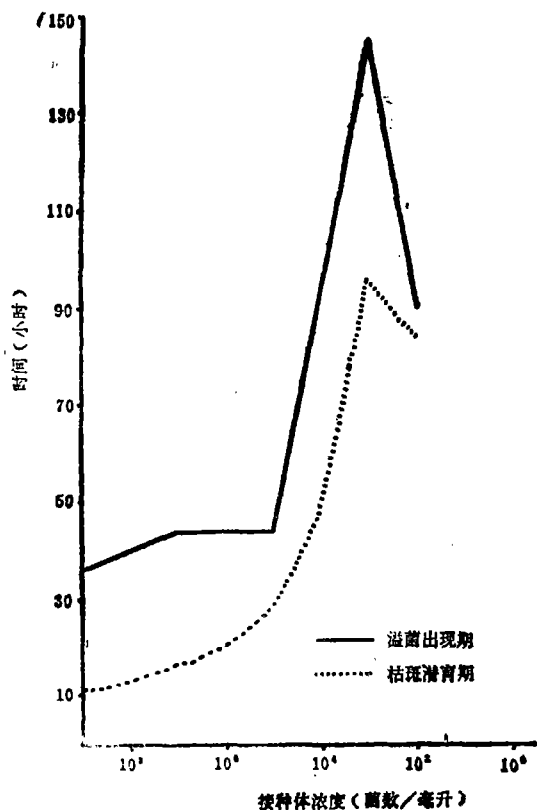


图1 接种体浓度对番茄叶片产生枯斑和溢菌的影响

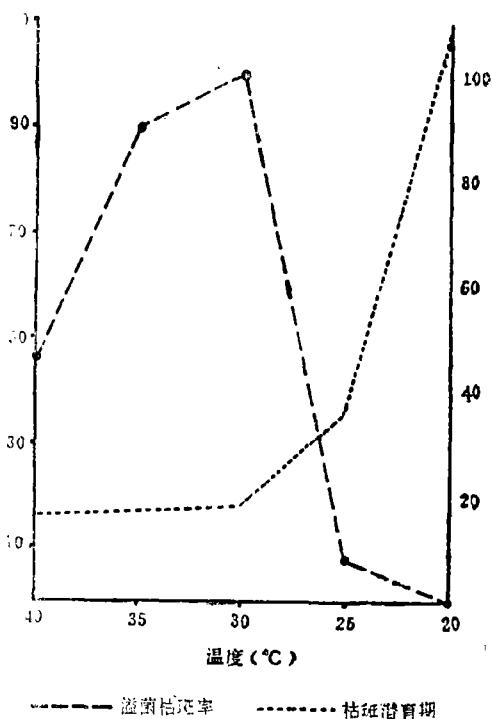


图2 温度对接种后番茄叶片产生枯斑和溢菌的影响

5~8老叶层仅为26.6%。

4. 温度 以30℃为最适温度, 枯斑潜育期16~18小时, 溢菌枯斑率达100%。30℃以上溢菌枯斑率随温度上升而下降, 在40℃时仅为46.1%。30℃以下其潜育期相应延长, 20℃时长达108小时(图2)。

5. 光照 在1500Lx光照下番茄叶片枯斑和溢菌出现期明显推迟, 后期症状相应较轻(表2)。

二、病区不同侵染源样品中的带菌情况

1. 土壤带菌 表3示出, 凡病地连作的, 不论感病或抗病品种甘薯, 土壤均高度带菌, 溢菌枯斑率皆达90%以上。病地后作其它作物, 因轮茬种类而异。凡检出高度带菌者, 再用其病汁回接到薯苗上均表现甘薯瘟症状。

2. 薯苗带菌 从表4可见, 无论抗、感品种薯苗, 凡症状明显者皆检出高度带菌, 溢菌枯斑率达60%以上。症状不明者, 检出中度和低度带菌。室内存放的干枯病藤, 也检出中度和低度带菌。

3. 粪便带菌 病株饲食后12~36小时排粪皆检出高度带菌, 溢菌枯斑率达60%以上, 回接到薯苗上均表现甘薯瘟症状(表5)。

4. 水源带菌 凡病田毒水流经的水源均检出带菌, 溢菌枯斑率分别为66.7%、30.8%和2.2%; 清水对照查无带菌。

讨 论

从病区不同侵染源取样的浸提液, 接种番茄后表现为过敏性枯斑、叶片萎垂或植株枯死等不同反应, 可看成供测样品不同带菌量及其相应增殖量在指示植物上的最终表现。

不同寄主植物上的青枯菌可以出现交叉感染(任欣正等, 1981)。因此, 作者先后从我省番茄、茄子、马铃薯、辣椒、烟草和花生等6种寄主植物上分离出的青枯菌, 采用剪叶法分别接种到感病品种惠红早和新种花薯苗上。除辣椒和烟草青枯菌有轻微感染外, 其它4种均无症状表现。可见来自甘薯样品中能引起番茄显症反应者, 只能是甘薯瘟青枯菌。如果番茄苗仅表现某些叶片枯斑或萎垂, 也并未排除其它寄主植物(烟草和辣椒)青枯菌的可能性。

不同寄主植物青枯病可在土壤、粪肥和田水中存活, 并能侵染茄科植物。来自此类侵染源样品中能引起番茄枯斑等症状者, 须用其病汁液或分离菌作薯苗回接法才能获得可靠结果。如果检出样品带菌低, 难以验证, 则需要结合前作和邻近作物青枯病的发生情况, 加以综合分析判断。

Klement 等认为 *Pseudomonas* 在不亲和的寄主植物中能诱发过敏性反应(Kiraly, 1970)。事实上将甘薯瘟分离菌浓度为 10^8 /ml悬浮液, 分别接种到不亲和的晒烟和亲和的心叶烟, 约12小时后, 两者叶片几乎同时产生枯斑。说明亲和的寄主同样可产生过敏反应。用番茄叶片作为指示物, 接种体浓度为 10^2 /ml时即产生过敏性枯斑反应, 其检测时间随样品带菌量的减少而延长。显然某些样品中盐基或毒物对浸润点叶肉细胞可能产生反渗透坏死斑。不过, 此类枯斑既不扩展, 也无溢菌。同时, 番茄是它亲和的寄主, 浸润点中病菌能够

增殖,从枯斑处镜检可看到溢菌。接种后3~5天,如果番茄苗叶检出溢菌枯斑率达60%以上,显示累积菌量大,扩展能力强,在7天内常表现为枯萎症状。所以,应把枯斑溢菌出现期看作番茄由过敏反应发展到显症反应的转折期。由于样品含菌量的差异,也在番茄叶上显示出溢菌枯斑率的高低,与番茄最终表现的不同症状之间有密切关系,因此可把检出的溢菌枯斑率作为评价样品带菌等级的主要依据。

番茄对多种寄主植物青枯菌有异常敏感的反应,所以此法具有扩大应用的可能。

参 考 文 献

- [1] 方树民, 1982a. 甘薯瘟病菌的分离与致病性测定。福建农业科技, (3): 28~30
- [2] 方树民, 1982b. 甘薯瘟的注射浸润接种技术。福建农业科技, (6): 29
- [3] 方树民, 张联顺, 1985. 甘薯品种抗瘟性鉴定方法研究。福建农业科技, (2): 34~35
- [4] 任欣正, 韦刚, 齐秋锁, 方中达, 1981. 不同寄主植物青枯菌菌株的比较研究。植物病理学报, 11(4): 1~8
- [5] 郑标冠, 范怀忠, 1962. 华南甘薯瘟病原细菌及其寄主范围的鉴定。植物保护学报, 1(1): 81~82
- [6] 赖文昌, 1987. 番茄苗鉴定甘薯瘟病菌的研究。福建农业科技, (3) 13~15
- [7] Graham, J. and Lloyd, A. B., 1978, An improved indicator plant method for the detection of *Pseudomonas solanacearum* race 3 in soil. Plant Dis. Repr., 62(1): 35~37
- [8] Kiraly, Z. 1970, Method in plant pathology. Akademiai Kiado, Budapest. 178~180

FACTORS OF TOMATO SYMPTOM APPEARANCE
BY INJECTING-INFILTRATING SWEET POTATO
Pseudomonas solanacearum AND ITS USAGE TO
DETECT THE BACTERIUM

Fang Shuming

(Department of Plant Protection, Fujian Agricultural College)

ABSTRACT

Solutions of the sweet potato blast bacteria (*Pseudomonas solanacearum* Smith) were inoculated to leaf pulp tissues of tomato, an indicator plant of the bacterium, with injection-infiltration in different conditions. The results showed that the period of occurrence, the amount of the oozes and necrotic spots were chiefly determined by the concentrations of inocula, affected by temperature when it rose above 30°C or decreased below 30°C and retarded by light. Tender leaves beneath the terminal bud were the most susceptible to the bacteria. The incubation period in the plants by strains with stronger pathogenicity was slightly shorter.

Samples of sweet potato seedlings, soils, waters and animal manures were collected from diseased areas for detection. The Results indicated that the rate of bacterium-bearing was high in both of the sweet potato fields with high disease rate and the fields of their after-reap fall-sown soybean, moderate in their after-reap sugarcane and rare in their after-reap rice. High rate of bacterium-bearing was found in the sweet potato plants with clear symptoms, but low in the plants with no evident symptoms. High rate of bacterium-bearing was also found in the pitch waters of diseased fields and the dung excreted by pigs that had been fed with diseased plants. The above method was therefore concluded to be a quick and effective way to detect the sweet potato blast bacteria from various infection sources.