

香蕉束顶病和花叶心腐病的快速测定技术研究

周广泉 邹琦丽 蒋冬荣 周志权 廖咏梅

(广西植物研究所, 桂林 541006)

摘要 种植无病蕉苗是防治香蕉束顶病和花叶心腐病的根本措施。筛选无病蕉苗的快速测定技术, 除可引用 2, 3, 5-氯化三苯基四(氮)唑浸渍徒手切片; 在36℃条件下, 24小时后: 束顶病株叶脉切片的维管束呈现红色, 其它组织为红褐色; 花叶心腐病株叶脉切片(含维管束)全部呈现黑褐色; 而健株叶脉切片由原绿色变成红色, 最后褪成无色。此外, 也可取叶片主脉的徒手切片, 用1%曙红B水溶液染色, 健株切片呈桔红色, 病株切片呈砖红色, 通过镜检: 束顶病株叶片切片的表皮下, 可观察到围绕在维管束周围成堆的分布有畸形叶绿体细胞团; 花叶心腐病的畸形叶绿体细胞团, 多分布在薄壁细胞中, 且多散生; 而健株的切片没有发现这种畸形的叶绿体细胞团, 两种方法同样可靠。

关键词 香蕉束顶病; 香蕉花叶心腐病; 2, 3, 5-氯化三苯基四(氮)唑; 曙红B

广西的香蕉产区, 生产上存在的两大问题之一, 就是遭受着两大病害(束顶病和花叶心腐病)的严重威胁(另一大问题是桂中一带某些地区的偶发性霜害)。

束顶病(Bunchy top disease)在我区的香蕉生产史上危害已久, 而花叶心腐病(Mosaic virus, Infectious chlorosis)是近年来才传入的危险性病害之一。

束顶病的病原, 普遍认为是病毒^[1], 但也有人认为是类菌原质体(MLO)^[2], 不论持何种见解, 至今仍然无人见到病原体或看到有关病原的确切报道, 花叶心腐病虽危害的年代较近, 但关于病原的报道却一致认为是属黄瓜花叶病毒(CMV)的一个株系^[3, 4], 至于各国所报道的株系不同, 很可能是因为各地株系的差异所导致^[5], 就目前所知道有些地区的病原其血缘与CMV-黄色株系有关, 另一些地区与CMV-豇豆株系有密切关系^[6], 关于传病媒介除带病蕉芽外, 束顶病的媒介昆虫是甘蔗黑蚜或称香蕉交脉蚜(*Pentalonia nigro-nervosa*, Cog)^[1], 而花叶心腐病的媒介昆虫是以棉蚜(*Aphis gossypii* Glov)为主, 其次是玉米蚜(*A. maidis*)、黍蚜(*Rhopalosiphum prunifoliae*)和荷缢管蚜(*R. nymphaeae*)等, 对花叶心腐病来说一般认为甘蔗黑蚜传病的可能性不大或不重要^[1], 也有报道明确的指出甘蔗黑蚜不传播花叶心腐病^[4]。因此杜绝这两种危害最根本的有效途径就是种植无病蕉苗。

筛选无病蕉苗, Summanwar (1982)就指出, 印度和澳大利亚是采用1%的2, 3, 5-氯化三苯基四(氮)唑(2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride)水溶液对蕉苗的根、小吸芽、叶的主脉, 中肋等组织的徒手切片, 在32—35℃条件下, 浸渍1.5~2.0小时后观察: 束顶病病株切片呈现砖红色; 花叶心腐病病株切片呈现黑色; 而健株切片则无色, 并认为这项技术不仅对潜伏期的病株有甄别作用, 而且还可用于检疫^[6]。根据印度的 Mahatma Phule 农业大学的香蕉研究站: 1980年分别在该站及 Jalgaon District 的 Yawal 等地对束顶病和花叶心腐病的检测筛选结果证明是有效和成功的。经过筛选后田间种植的都是健株, 未发现病苗。

这项技术可以引用。但根据我们的数次取样多次重复验证结果,与报道的稍有不同,根据中肋切片的观察,主要差别是:

1. 在36℃条件下,切片浸渍1.5~2.0小时后,色泽尚在变化中,还不能获取确认的结果,必需经过24小时后,才能显现出可以区分出两种病和健株的不同色泽;如果把温度提高到50℃,可以在三个小时内,基本完成全过程,但是束顶病的维管束也呈现褐色,宏观上看与花叶心腐病较难区分。

2. 健株切片的无色,不是浸渍后没有色泽的变化,而是首先切片被染成红色(含维管束),10小时后,色泽逐渐变淡,24小时后整个切片褪色,成为无色(实质上是显现出原有的切片色泽——浅绿色)。

3. 束顶病的砖红色也是逐步发展而来的:首先切片的维管束被染成红色,而其余组织仍为绿色,8个小时后维管束逐步变成紫红色,而其余组织逐渐显示棕褐色,24小时后,维管束为紫红色,其它组织为红褐色。宏观上看整个切片呈现砖红或红褐色。

4. 花叶心腐病切片,首先被染成红棕色,维管束也被染成红色,八个小时后维管束仍为红色,而其余组织呈现咖啡色,10个小时后,维管束仍为红色,而其它组织呈黑红色;2小时后整个切片(含维管束)变成黑褐色。

5. 根据我们的观察:用1%2,3,5-氯化三苯基四(氮)唑的水溶液浸渍中肋切片,除能检测出束顶病和花叶心腐病外,还能检测出不明病因的叶片脉间褪绿病(简称褪绿病,根据多种途径和生物测定检测与典型花叶心腐病的反应不完全相同)。

这种褪绿病的切片,经浸渍后前期反应与束顶病相似;首先是维管束变红,其余组织开始也是绿色,不过反应的更快,比束顶病更快的由绿变成棕色(处理后3个小时左右),6至7个小时后明显的与束顶病不同,这时束顶病切片的组织仍为绿色,维管束为红色;而褪绿病的组织已呈现褐色,维管束呈现浅褐色,24小时后整个切片均呈现浅褐色。

这项技术相对来说,还是需要较长的时间,尤其为掌握束顶病和花叶心腐病各自的发病率(即不同病害的检测率),更不容提高处理时的温度以缩短时间,同时试剂的来源也不算太容易,除此,还需在阴暗条件下进行为宜,以免试剂溶液见光后变红,影响视觉,因此,我们根据束顶病株叶片的中脉(或叶柄的韧皮组织纤维鞘的发育受到抑制,变为无数叶绿体细胞并充塞在韧皮部附近的基本组织里,而健株的这一部位完全没有叶绿体细胞分布的这一特征^[1],为此,我们采用1%曙红B水溶液进行染色一分钟,95%酒精脱色,显微镜观察,是否存在着这一病变;结果发现:束顶病病株的叶片中肋切片上表皮下,围绕在维管束周围,堆积着成团的叶绿体细胞,而且整个切片转成砖红色;而健株切片的同一部位,却完全没有发现叶绿体细胞,并且整个切片呈现桔红色;在花叶心腐病病叶中脉的切片上,也观察到类似的反应和病变,整个切片的颜色亦呈砖红色,但其畸形叶绿体的分布,却与束顶病不同,花叶心腐病病株切片中的畸型叶绿体,多分散的分布在薄壁细胞中。

由此可知:采用1%曙红B水溶液染色,95%酒精脱色后的砖红色反应,只标志着病株的反应,显微镜观察畸形叶绿体的分布部位,才是确诊和区分束顶病抑或花叶心腐病的可靠依据。

为验证其可靠性,我们除了进行大量的重复外(取健康组培苗90株次,束顶病株先后30株次,花叶心腐病先后两次7株次——受田间发病率制约),还与生物测定结果验证,所得

结果均符合上述规律,除此,还特意选取尚未表现症状的叶片进行测试,所得结果,仍表现出病株的特征;另外,我们还对玉林市威廉氏品种(Williams hybrid)组培苗试验地的香蕉成株叶片表现脉间褪绿而又不呈现典型花叶心腐病症状的植株,通过上法检测,并与生物测定结果印证,证明不是典型花叶心腐病。上述结果完全与采用 2, 3, 5-氯化三苯基四(氮)唑的测试结果一致。因此,这一测试手段,在整个试验中证明是可靠的,并且是简易可行的,可以在生产中推广试用。

在探讨曙红 B 染色鉴定蕉苗是否带病的同时,还探讨了使用 0.1% 番红和 0.5% 甲基绿等染色剂筛选健株的可行性。

试验结果:采用 0.1% 番红染色, 95% 酒精脱色的切片,所得结果与 1% 曙红 B 染色结果相似,木纤维、韧皮纤维和木质细胞等均被染成红色,镜检时健株切片的各个组织都清晰可见,没有看到黑褐色团块,而病株(束顶病和花叶心腐病)则在不同部位分布有黑褐色物质所堆积的团块,与曙红 B 染色不同的是病、健株之间,没发现色泽上的明显区别,这对快速淘汰病株,不是有利的条件。至于用 0.5% 甲基绿染色 5 分钟左右,系列浓度的酒精脱色后(30%, 50%, 70%, 85%, 90%, 95% 和 100%; 95% 酒精一次性脱色也可,但效果稍差),经染色后的切片,目测可看出健株切片呈蓝绿色;束顶病呈现绿色;而花叶心腐病常呈现墨绿色,这是一个十分理想的色泽反应,既可快速区分病株和健株,又可鉴别不同的病害,但经多次验证其可靠性时,健株的蓝绿色和束顶病的绿色反应稳定可靠,而花叶心腐病的墨绿色反应常不稳定,尤其可虑的是常倾向健株的蓝绿色,因此,在未掌握不稳定的原因之前,只能摒弃不用,因为健株与花叶心腐病的混淆是十分危险的。

讨 论

在病区种植无病蕉苗时,再感染对生产上的威胁,是需要解决的一个重要问题。香蕉花叶心腐病的国内外资料,都说明症状不尽相同,危害程度也有差异;因此,高乔婉等就指出 Yot-Dhauthy 等认为各地的病原(CMV)不可能都相同(美国南部蕉株上的病原就与印度的不同或不完全相同,与广东的也不同),甚至可能还不一定都是黄瓜花叶病毒(CMV)^[8],所以当前我区个别地区零星发现的叶片脉间褪绿病株,是值得深入研究的另一个问题,尤其是它的感染性、危害性及传播途径更需重视。根据我们的初步测定:不仅对 2, 3, 5-氯化三苯基四(氮)唑浸渍切片后所呈现的色泽不同(典型花叶心腐病为黑褐色,而脉间褪绿病为浅褐或褐色),用 1% 曙红 B 染色后,镜下检查:薄壁细胞中所堆积的畸形叶绿体明显的少于典型花叶心腐病,且更为分散。

根据生物测定:在供试的几个指示植物上的症状表现,不尽相同,特别是在烟草上的症状,差异较为明显:典型花叶心腐病在心叶烟和黄苗榆上的症状是明脉→花叶,而脉间褪绿病在心叶烟和黄苗榆上的症状:叶缘有时下卷,重要的是显现深浅绿相嵌的斑驳。因此,不论是症状,还是病原,褪绿病和花叶心腐病不是完全相同的,另外,把脉间褪绿病的病原接种到其它指示植物上获得成功的事实(尽管成功率不是很高——常规的汁液摩擦并加几滴 pH 7.2 的磷酸缓冲液和病叶卷成筒状直接摩擦指示植物叶片等两种方法)可看出:褪绿病具有传染性是必需肯定的事实,而且在调查中发现,褪绿病的发病率以及它的危害性,都可能远远超过典型的花叶心腐病(根据玉林、梧州的调查:典型花叶心腐病在蕉田中较难找

到,而褪绿病在种苗不常病的情况下,种植3~4个月后,在不同的蕉田中,可以发现10~20%的病株,个别蕉田可达40~50%以上),因此,它的危害性是不容低估的。至于褪绿病的病原来源问题,我们认为不应当排除由蕉田附近其它植物上(还可能是常见的病毒)的病毒传染而来。故对推广这些易感品种更要慎重。

香蕉是一个宿根多年生植物,因此对于病毒病害来说,它就有继代发生和累积病原的作用,所以在采用常规防治措施的同时(如及时的挖除病株等),可考虑利用香蕉束顶病寄主范围窄(仅限于危害蕉属植物)和花叶心腐病潜育期长(一般是2~3个月,最长可达10~18个月)的特点^[1],尤其是至今还未发现媒介昆虫(蚜虫)可把此病直接的从一株病蕉上传到另一株香蕉上^[8]的无法理解的现象,这些特点都说明淘汰病苗以及在蕉田附近不种植花叶心腐病的其它寄主,诸如:黄瓜、丝瓜、苦瓜、西葫芦、节瓜、南瓜、烟草、辣椒、茄子、番茄、豇豆、菜豆、黄豆、蚕豆、玉米、番木瓜、小白菜等,并及时锄掉蔓陀罗、酸浆、千日红、商陆、苋色藜、矮牵牛等杂草的重要性和必要性。因此,在此基础上,再把香蕉的多年生栽培改为一年生或两年生植物,在筛选无病蕉苗的基础上,提早种植组培育成的大苗,当年采收,既可躲避某些种植区偶发性的霜害威胁,又可减轻或避免上述两种病害再感染所造成的损失。

参 考 文 献

- [1] 北京农业大学编,农业植物病理学,(植保专业用)。农业出版社,p. 397.
- [2] 江苏农学院植保系编,植物病害诊断。农业出版社,p. 259.
- [3] 高乔婉等,1983:引致香蕉花叶病的黄瓜花叶病毒株系。华南农学院学报,Vol. 4 No. 4 p. 43—48.
- [4] 范怀忠,关于2000年科技规划中植物保护科技发展和应用预测论证报告。p. 50—51.
- [5] A. S. Summanwar and T. S. Marathe, 1982: Diagnostic technique for the detection of Bunchy top and Infectious chlorosis in Banana suckers. Current Science, Vol. 51, No. 1, p. 47—49.

STUDY ON THE QUICK DIAGNOSIS FOR THE BUNCHY TOP DISEASE AND INFECTIOUS CHLOROSIS (MOSAIC) IN BANANA SUCKERS

Zhou Guangquan, Zou Qili, Jiang Dongrong
Zhou Zhiquan and Liao Yongmei

(Guangxi Institute of Botany, Guilin 541006)

Abstract Planting selectively disease-free suckers is the only measure for the prevention and control of bunchy top disease and infectious chlorosis in banana suckers. The rapid diagnostic technique for the disease-free suckers is as follow: Using 1% solution of 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride to immerse the sections of leave of the healthy or the diseased plants (from midribs) and keeping the temperature at 36℃, for 24 hr, then the bunchy top sections turn into brown-red colour, the vascular bundle turn into red, the sections of infectious chlorosis (Mosaic) turn into brown-black (including vascular bundle). While those from health suckers remain colourless at the last.

In addition, using 1% solution Eosine B (dibromide nitrofluorescein sodium) to dye the sections of healthy or diseased plants (over 30℃, in 5—10 m.), 95% Alc. decolour, the sections of healthy suckers turn into orange-red colour. The section of the diseased turns into brick-red colour. Under the microscope, it is observed that distortional chloroplast cells pile up around vascular bundle under the epidermis of midribs sections for bunchy top of banana, and the distortional chloroplast cells distribute in thin-wall cells for infectious chlorosis sections, but there are not any distortional chloroplast cells in the sections from healthy plant. Two methods are the same reliable.

Key words Bunchy top disease; Infectious chlorosis; 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride; Eosine B