

应用木麻黄的电导特性诊断青枯病的研究

岑炳沾 黄丽芳 梁子超 郑慧勤

(林学系)

提 要

木麻黄 (*Casuarina equisetifolia* Lin) 青枯病是由青枯假单胞菌 (*Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith) 侵染引起的维管束病害。感病植株可以表现明显的外表症状或全无外表症状。无症状病株田间诊断有时十分困难。使用DDS—11A型电导率仪和自行设计的不锈钢针电极测量木麻黄导电性中发现, 病株的电导率高于健株, 不同月份, 苗木地径、高度、深度测量的结果有差异。应用木麻黄的导电特性, 用数理分析法, 随机抽取50个实测数据, 建立木麻黄健株和病株电导率的数学模式即:

$$\hat{Y}_1 = 16.992 + 0.869X_1 + 9.877X_4$$

$$\hat{Y}_2 = 75.492 - 1.797X_2 - 0.765X_3 + 17.436X_4$$

将实测时有关因子代入公式计算得电导率与实测电导率比较, 便可对木麻黄青枯病株作出诊断。数理分析还表明, K^+ 离子浓度是影响木麻黄株电导率变化的主导因素, 而水分、 Ca^{++} 、 Mg^{++} 离子浓度和多酚氧化酶活性的增加也有一定的相关。

前 言

木麻黄青枯病是华南沿海地区苗圃和防护林带严重的维管束病害。病原菌是一种假单胞杆菌属的青枯假单胞菌 (*Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith)。病害的症状可以表现青枯、黄化、矮小、枝干出现黑色条斑等明显的外表症状, 但也可在木质部组织变色而完全无外表症状。无症状病株的田间诊断, 有时十分困难。

植物健康和感病前后导电性的变化是有差异的, 这方面的资料国外很多报道^{[5][6][7][8][9][12]}。Osterhout最早发表了活组织伤害导电性的变化。Leveugool测定活立木的生物电流后断定生物电流的流量与树木的活力有关^[12]。活立木的健康、变色和腐朽部分的电阻、阻抗和电容是不同的, 是可以测定的^[10]。这些电测量技术要求一定功率的信号发生器和采用不锈钢针或类似的金属物质制成的电极进行测量^[10]。Tattar等使用7950型脉冲测定仪, 测量活立木材变色和腐朽^[10]。Friedman和Jaffe研究菹菌细菌性软腐病时指出, 比较导电性的变化, 可以区别由*Erwinia* sp. 或*Pseudomonas* sp. 引起的病害。但是, 应用健康和感病株导电性差异, 综合考虑有关影响因子, 通过建立数模式进行病害诊断, 则未见有报道。

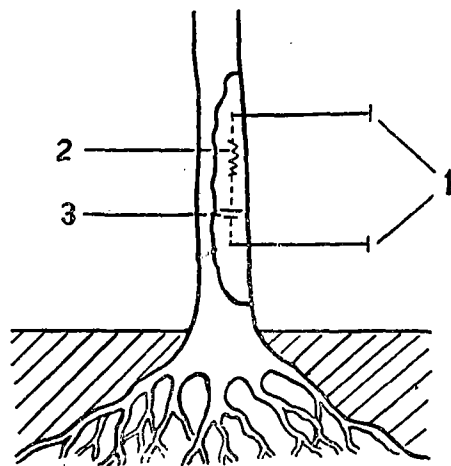
本文数理计算承黄龙老师热情帮助指导和范怀忠教授、王庄教授、卢一萍讲师、罗式源讲师审阅并提出宝贵意见, 徐声杰讲师参加酶测定工作。谨致谢意。

本文从不同月份, 苗木地径, 高度, 深度等几种影响因素测量了木麻黄株的电导率, 以探讨病株和健株的电导变化规律。并将实测电导率的结果, 应用数理统计方法, 进行建立数学模式的初步尝试, 用以诊断木麻黄苗木青枯病, 为苗木检疫和防治提供依据。

材 料 和 方 法

(一) 电测量仪器的选用和电极的设制

活立木的树干内含有各种离子和水分, 插在其上的金属探针便会产生原电池效应, 即在二支金属探针间产生了一定的电压值, 如图 1。因此, 如用一般的直流电源作测量电源, 探针之间因原电池效应产生的电压, 势必给测量结果造成较大的误差。为了消除因原电池效应带来的误差, 国外使用 7950 型交流脉冲测定仪^{[9][10]}, 这种仪器的脉冲频率 110 周/秒。用此法测得的树干本质电阻仅决定于交流脉冲中的电压与电流的比值, 而与原电池效应所产生的直流电压无关。据此原理, 我们选用了国产 DDS-11A 电导率仪, 该仪器的低周频率为 140 周/秒, 高周频率 1100 周/秒。电导率仪使用的测量电源近似 7950 型脉冲器电源。低周频率也接近该仪器的脉冲频率。而实测中的木麻黄植株电导率读数, 大部分是使用低周档测定的。



1. 不锈钢电极 2. 树木电阻 3. 树木电压
图 1 不锈钢针电极测量苗木电导原理图解

电极的设制与电极常数测定: 铜、银、铝、锌和不锈钢等都可用作测量植株的金属探针电极^[10]。电极探针的直径、长度、离距与选用仪器和被测对象的大小是有关系的。经多次的试验, 我们选用了不锈钢作探针, 制成电极。钢针的直径 1.5 mm, 极针长度 10 mm, 极间距离 8 mm, 固定在有机玻璃扶手柄上。该电极适于测量地径在 4~20 mm 之间的木麻黄苗木电导率。

不锈钢针电极常数的测定, 用常规方法进行。在 25℃ 温度下, 经三次重复测定和计算, 不锈钢针的电极常数为 1.1。为了检验不锈钢针电极的测量精度, 取标准电极 DJS-1 型光亮电极、DJS-1 型铂黑电极、DJS-10 型铂黑电极与不锈钢针电极作比较性测定。结果发现, 用上述电极测量电导率时, 电极常数 1.1 的不锈钢针电极与电极常数 0.98 的 DJS-1 型铂黑电极的测量值最近似。

(二) 试验材料和测量方法

1980 年 8 月至 1982 年 7 月, 采用广州天河苗圃、东郊苗圃、长虹苗圃、植物园苗圃、华南农学院苗圃的木麻黄播种苗和移植苗, 病苗有自然感病株和人工接种病株。每月取健株和外部症状明显与不明显的病株使用 DDS-11A 型电导率仪和不锈钢针电极纵向测量

其电导率(图2)被测苗木的地径为4~20mm,每株苗木从茎基开始向上取1,20,40cm处高设测量点,每点电极探针的插入深度为1~7mm。测量时每一测点水平测定三个不同位置,当电极探针插入苗茎后,启动仪器开关,在一秒钟内读数,记录测点平均值。每次测试完毕,即在实验室解剖被测株木质部,根据内部症状确定病株或健株,必要时作分离培养鉴定,然后将记录归类整理。共计测量木麻黄健株175株,无外表症状病株84株,外部症状明显的病株127株。

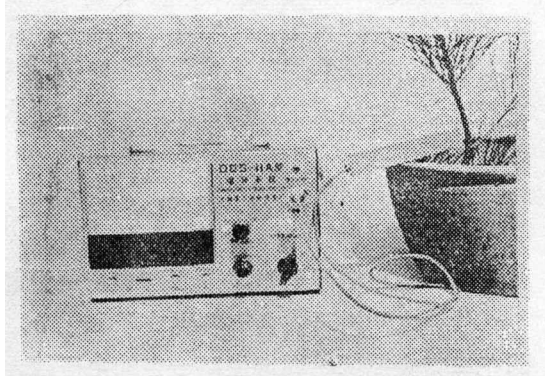


图2 电导率仪和不锈钢针电极测量植株电导率图解

为了研究木麻黄病株和健株电导率变化与植株本身的生理生化因素的关系,在3~5月的雨季和9~12月的旱季,分别取地径为5,10,15mm的健株和病株作试样,每次病健株各取9株。首先测定植株的电导率,然后测量含水率、木材比重、灰分、 Ca^{++} 、 K^{+} 、 Mg^{++} 离子浓度和多酚氧化酶的活性。含水率测定用烘干恒量测定法,灰分测定用湿灰化法。 K^{+} 测定用72型分光光度计法。 Ca^{++} 、 Mg^{++} 测定用CH 8101型原子吸收光谱计法。样品处理均按“土壤理化分析”一书中植物水分、灰分和常量元素测定常规方法进行^[1]。多酚氧化酶测定用氧化还原法进行。

(三) 建立木麻黄健株和病株电导率的数学模式

在不同的测试月份,苗木地径、测量高度,探测深度测量木麻黄健株与病株的电导率。随机抽取50个实测值,采用逐步回归方法,求得木麻黄病株和健株的电导率数学模式。

结 果 与 分 析

(一) 木麻黄健株与病株电导率的差异

使用DDS-11A型电导率仪,不锈钢针电极测量木麻黄苗电导率。苗木地径在4~20mm之间,茎基处皮层和木质部的年平均电导率值如表1。

对病株与健株的差异进行了统计假设t检验。当信度 $\alpha = 0.01$ 时,差异是显著的。即外表无症状或有明显的外表症状的木麻黄青枯病株,当木质部组织变色的情况下,皮层和木质部的电导率明显地高于木质部清晰的健株的电导率。

(二) 木麻黄植株电导率数学模式的建立

木麻黄病株的电导率高于健株的这一特性可用作诊断青枯病的依据。然而,木麻黄

表1 木麻黄病株和健株年平均电导率比较 $\mu\text{U}/\text{cm}$

探测部位	健 株	木质部变色的病株	
		无外表症状	明显外表症状
皮 层	28	37	41
木质部	74	105	124

植株电导率的变化是与测试月份、苗木地径、测量高度、探测深度相关。以单因子或图表的实测值鉴定病害，显然有其局限性。使用回归分析，找出相关因子，建立和应用木麻黄电导率数学模式，则可提高诊断病害的准确性和可靠性。

1. 木麻黄健株电导率回归方程的计算：根据二年来在各个月份对木麻黄健康和感病株的不同高度，地表直径，探测深度等测量得到的数据资料，用数理方法进行统计分析。

设：测试月份为 X_1 ；植株地径 X_2 ；测量高度 X_3 ；探测深度 X_4 ；电导率 Y 。

用逐步回归方法，通过计算得标准化变量的最优回归方程

$$Y' = 0.115880X'_1 + 0.829817X'_4$$

再由标准化变量回归方程可求得木麻黄健株电导率原变量回归方程：

$$\hat{Y}_1 = 16.992 + 0.869X_1 + 9.877X_4$$

对方程的显著性进行回归分析F检验：

表2 回 归 分 析 F 检 验

变量来源	平 方 和	自 由 度	均 方	F
回 归	$Q'_{\text{回}} \times Q_{\text{总}} = 17637.62$	2	8818.81	59.99
剩 余	$Q'_{\text{余}} \times Q_{\text{总}} = 0.281472 \times 24546.88$ $= 6909.2594$	47	147.006	—
总 和	$Q_{\text{总}} = 24546.88$	49	—	—

剩余标准差 $S'y = 12.1246$

复相关系数 $P = 0.847660$

$F = 59.99 > F_{0.01}(2, 47) 5.09$ 因此，回归方程显著有效。

2. 木麻黄病株电导率回归方程计算：与健康株同法，求得木麻黄病株电导率原变量回归方程：

$$\hat{Y}_2 = 75.492 - 1.797X_2 - 0.765X_3 + 17.436X_4$$

对方程的显著性进行回归分析F检验：

表3 回 归 分 析 F 检 验

变量来源	平 方 和	自 由 度	均 方	F
回 归	$Q'_{\text{回}} \times Q'_{\text{总}} = (1 - 0.297408)$ $\times 61691.28$ $= 43343.8$	3	14447.933	36.22
剩 余	$Q'_{\text{余}} \times Q'_{\text{总}} = 0.297408 \times 61691.28$ $= 18347.48$	46	398.858	—
总 和	$Q_{\text{总}} = 61691.28$	49	—	—

剩余标准差 $S'y = 19.97$

复相关系数 $P = 0.838208$

$F = 36.22 > F_{0.01}(3, 46) 4.24$, 因此, 回归方程显著有效。

3. 数学模式的验证: 通过上述计算得出木麻黄健株电导率 $\hat{Y}_1$ 和病株电导率 $\hat{Y}_2$ 的数学模式。两式综合地分析了电导率与测试月份, 苗木地径、测量高度, 测试深度的关系。使用这两公式时, 在实测中, 将上述有关因子分别代入健式 $\hat{Y}_1$ 和病式 $\hat{Y}_2$ 。求得计算结果与实测值比较, 若实测电导率值接近从健株式计算所得的结果, 则被测株为健康株。若实测电导率值接近从病株式计算所得的结果, 则被测株为感病株。如两式的计算值界乎实测值之间属计算误差则可通过解剖病株诊断。使用这种计算方法诊断木麻黄青枯病, 测量简单、计算方便, 准确可靠, 为苗木检疫和病害防治提供依据。

为了进一步验证回归方程, 将1981和1982年在广州地区上述苗圃测定的木麻黄病株和健株, 随机抽取100株实测值数, 根据实测时的因子, 代入两回归方程。计算的结果: 在100株中能正确作出是健株还是病株诊断的占92株, 其中8株界乎病健株间或错断的。

(三) 影响木麻黄电导率的生理生化因素分析

影响植物电导率变化的内在因素是多方面的。我们从木麻黄健株和病株的木材比重, 灰分, 含水率, 离子浓度, 多酚氧化酶活性等, 分别在雨季和旱季测定其变化与电导率的关系, 结果见表4。

表4 木麻黄病株和健株在不同季节一些生理生化因子与电导率的关系

植株类别	测量季节	电导率 $\mu U/cm$	木材比重	多酚氧化酶活性 $mg/分钟 \cdot 克$	含水率 $\%$	灰分 mg/g	离子浓度 $\mu g/g$		
							K^+	Ca^{++}	Mg^{++}
健株	雨季	60	—	—	52.55	13.0	82.76	1346.56	419.00
	旱季	74	0.562	0.2856	50.12	17.6	292.70	1510.02	626.16
	平均	67	0.562	0.2856	51.33	15.3	187.73	1428.29	522.58
病株	雨季	133	—	—	49.52	20.1	1594.30	1752.07	527.89
	旱季	124	0.474	0.4247	46.70	27.6	1656.03	1713.70	898.62
	平均	129	0.474	0.4247	48.16	23.9	1625.17	1732.89	713.26

表中看出, 木麻黄的电导率随灰分, K^+ 、 Ca^{++} 、 Mg^{++} 含量, 多酚氧化酶活性的提高而增大。这个结果与Tattar等认为树木电阻与其本身活性季节性变化和植物的离子浓度, 水分, 木材比重^{[7][9][12]}, 果胶酶类^[11]等有关是吻合的。然而从健株的三种离子浓度旱季高于雨季, 尤其 K^+ 比例约为1:3, 而病株均较接近, 说明季节变化对健株电导率的影响显著, 对病株则不显著。这与 $\hat{y}_1$ 、 $\hat{y}_2$ 关系式的数理分析是一致的。

木材处于纤维饱和点以上时,影响电特性的因素是可移动的离子浓度^[2]。被测的木麻黄株都处在纤维饱和点以上,为了明确影响电导率的主导因子,我们在含水率、 K^+ 、 Ca^{++} 、 Mg^{++} 的实测数据里,于病株和健株中,随机抽取27个样品,用数理统计方法,计算其相关关系。含水率、 K^+ 、 Ca^{++} 、 Mg^{++} 电导率分别用1, 2, 3, 4, 5为代表,相关系数为:

	$r_{1\ 5}$	$r_{2\ 5}$	$r_{3\ 5}$	$r_{4\ 5}$
健株	0.027908	0.801801	-0.135380	-0.357336
病株	-0.609990	0.832570	0.172508	0.357404

从这个简相关中看出,电导率与 K^+ 关系最密切。健株的相关系数 r 为0.801801,病株的相关系数 r 为0.83257,在逐步回归计算中, Ca^{++} 、 Mg^{++} 因子未被选上。因此,我们认为,影响木麻黄电导率的几个生理因素中, K^+ 浓度变化是主导因素,即电导率主要随植株 K^+ 浓度增大而提高,降低而减少。电导率与其生理因素的相关关系式为:

$$\hat{Y}_{\text{健株}} = 62.316 + 0.056\hat{X}_2 \quad \hat{Y}_{\text{病株}} = 355.631 - 5.188X_1 + 0.046X_2$$

X_1 ——含水率; X_2 —— K^+

讨 论

(一)使用DDS—11A型电导率仪测量木麻黄的电导特性,应用电导率关系式的计算结果,可以诊断由青枯假单胞菌引起的木麻黄细菌病害。据报道被真菌、病毒、类菌质体、线虫侵染的某些植物病害,健康部位与感病部位电阻抗都是有明显差异的^{〔6〕〔7〕〔8〕〔11〕}。因此,用本文介绍的测量方法能否诊断由真菌、病毒、类菌质体、线虫引起的苗木、接穗病害,值得进一步研究。

(二)影响植物电特性的因素包括可移动的离子浓度、水份、木材比重、温度、酶^{〔4〕〔7〕〔12〕}等。我们的测量结果是木麻黄病株 K^+ 含量为健株的9倍,数理分析表明 K^+ 浓度是影响电导率变化的主导因子。 Ca^{++} 、 Mg^{++} 含量、多酚氧化酶活性也有一定的相关。不同植物品种,影响电导的主导因子,也许是不同的。

(三)树木在纤维饱和点以下时,含水率与电导成正相关,若树木在纤维饱和点以上时,水份含量对电导则影响不显著^{〔2〕}。Sylvia测定板栗溃疡病病部的含水率比健康部位高^{〔9〕}。我们测定木麻黄青枯病株的含水率则比健株低。而两种病害的电导率病株均比健株高。木麻黄病株和健株的电导都是在树木纤维饱和点以上时测定的,影响电导率因素相关关系式表明,水份对健株影响不显著,而在病株中水份对电导率的影响呈负相关,这可能是由于感病株的木材导管被堵塞,细胞腔的游离水减少,组织中离子被浓缩,浓度增大,因此,水份越少,电导越大。

(四)本文的数学模式的应用,由于我们只是在广州地区附近苗圃采样和测试,一般来说,应用于广州地区圃地的木麻黄青枯病的诊断是可靠的,但在其他地区应用时,这一模式还有待补充和修正。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院南京土壤研究所, 1978, 《土壤理化分析》, 357—376, 上海科技出版社。
- [2] Brown H.P., et. al, 1952. Textbook of wood technology. vol. II. 157—159. New York.
- [3] Damann, K. E., J.M.Gardner, and R. P. scheffer. 1974. An assay for Helminthosporium Victorlae toxin based on induced leakage of electrolytes from oat tissue. Phytopathology 64 : 652—654.
- [4] Friedman, B.A., and M. H. Jaffe, 1960. Effect of soft rot bacteria and pectolytic enzymes on electrical conductance of witloof chibory tissue. Phytopathology. 50 : 272—274.
- [5] Miller—Jones, D. N., D. R. Houston, and T. F. Preece. 1977. The use of electrical resistance measurements to detect watermark disease of cricket bat willow. Plant Dis. Rep. 61 : 268—272.
- [6] Newbanks, D., and T.A. Tattar. 1977. The relationship between electrical resistance and severity of decline symptoms in Acer saccharum. Can. J. For. Res. 7 : 469—475.
- [7] Skutt, H. R., A. L. Shigo, and R. A. Lessard. 1972. Detection of discolored and decayed wood in living trees using a pulsed electric current. Can. J. For. Res. 2 : 54—56.
- [8] Shigo, A. L., and P. Berry. 1975. A new tool for detecting decay associated with Fomes aunosus in Pinus resinosa. Plant Dis. Repr. 59, 739—742.
- [9] Sylvia, D. A., T. A. Tattar. 1978. Electrical resistance properties of tree tissues in cankers incited by Endothia parasitica and Nectria galligena. Can. J. For. Res. 8, 162—167.
- [10] Tattar, T. A. 1974. Measurement of electric currents in clear, diseolored, and decayed wood from living trees. Phytopathologr. 64, 1375—1376.
- [11] Tattar, T. A. 1976. Use of electrical resistance to detect Verticillium wilt in norway and sugar maple. Can. J. For. Res. 6, 499—503.
- [12] Tattar, T. A., and R. O. Blanchard. 1976. Electrophysiological research in plant pathology. Annu. Rev Phytopathology. 14, 309—325.
- [13] Wargo, P. M., and H. R. Skutt. 1975. Resistance to pulsed electric current, an indicator of stress in forest trees. Can. J. For. Res. 5 : 557—561.

A STUDY ON APPLICATION OF ELECTRIC CHARACTER TO DIAGNOSE
BACTERIAL WILT OF CASUARINA EQUISETIFOLIA
CAUSED BY PSEUDOMONAS SOLANACEARUM

Cen Bingzhun Hwang Lifang Liang Zichao Zheng Huiqin

(Department of Forestry)

ABSTRACT

Bacterial wilt of *Casuarina equisetifolia* is a vascular disease. Sometimes the external symptoms are hardly seen on some diseased plants and in this case it is of great difficulty to distinguish the diseased plants from the healthy ones in the field.

The electroconductibility of *C. equisetifolia* was measured with a conventional electroconductibility instrument DDS-11A and a hand-made stainless steel electrode. It was found that the electroconductibility of diseased plants is higher than that of the healthy ones and as a result of mathematical analysis a mathematical model of electroconductibility for the healthy plants ($\hat{Y}_1$) and the diseased plants ($\hat{Y}_2$) was established, viz,

$$\hat{Y}_1 = 16.992 + 0.869X_1 + 9.877X_4$$

$$\hat{Y}_2 = 75.492 - 1.797X_2 - 0.765X_3 + 17.436X_4$$

Comparing the electroconductibility obtained from the formula with the electroconductibility actually measured, we could diagnose the diseased plants with no external symptoms. It was also found that the concentration of K^+ was major factor influencing the variation of electroconductibility in *C. equisetifolia*, while the water, the concentration of Ca^{++} , Mg^{++} and the increasing activity of polyphenol oxidase were minor factors.