

柑桔黄龙病的组织化学诊断*

HISTOCHEMICAL DIAGNOSIS OF CITRUS

YELLOW SHOOT

吴世盘

Wu Shihpan

(广东省柑桔黄龙病研究组)

(Citrus Yellow Shoot Study Group
of Guangdong Province)

范怀忠

Faan Hwei-chung

(植物病毒研究室)

(Plant Virus Research
Laboratory)

关键词 组织化学, 诊断, 苯胺兰

Key words, histochemical, diagnosis, aniline blue

植物感染类菌原体后, 韧皮部细胞内的愈伤组织明显增加, 用苯胺兰作为荧光色素染色后, 在荧光显微镜下, 愈伤组织发出明显荧光, 极易检出, Hiruki 等 (1974) 和 Gocio 等 (1982) 曾报告用苯胺兰染色法间接诊断由类菌原体引起的多种病害, 认为此种方法对诊断类菌原体病害是有用的。

材 料 和 方 法

采田间黄龙病接穗嫁接于防虫网室内培育的桄柑实生苗上, 发病后采样测定, 对照用无病实生苗。同时, 还在田间的病树上采样测定。测定的部位为新梢叶片的叶柄、主脉以及新梢上距顶端 1~1.5 厘米的节间部份。样品采回后即刀片进行徒手切片, 切片约厚 20~30 微米, 并即放在沸水中固定 3~4 分钟, 然后用 0.01% 苯胺兰液 (0.7 Mol/L K_2HPO_4 , pH 8.0 配制) 染色 20 分钟后置玻片上, 滴加几滴染色液加盖玻片供检。视察用荧光显微镜为广州光学仪器厂生产, L 1100 型, 落射式, 配有 GCQ50W 超高压汞灯、一个激励片波长 420~485nm, 一个二向分色镜, 一个滤色镜, 可透过大于 520nm 波长的光。

试 验 结 果

上述叶柄、叶脉、节间部份的样品切片, 在荧光镜下可看到韧皮纤维和木质部发黄

• 国家自然科学基金资助项目

1987年9月20日收稿

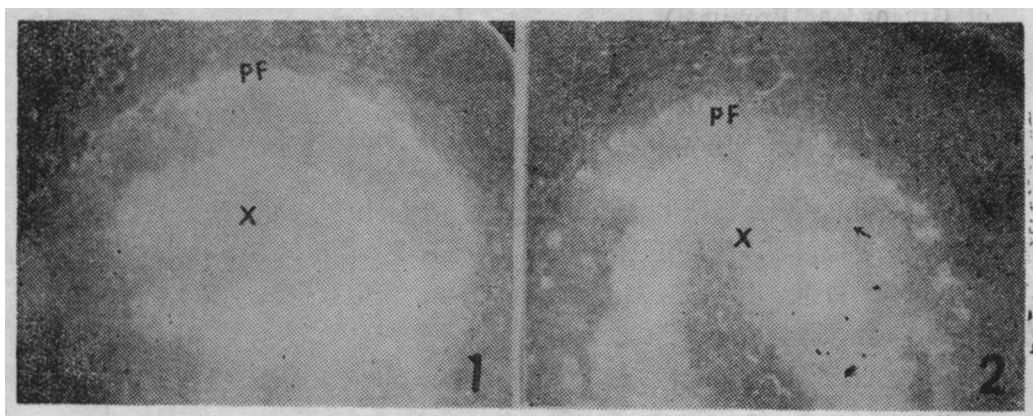
绿色荧光, 但病叶切片在韧皮部中却有明亮的不正常的黄绿色荧光(图1、2), 这种不正常的荧光强弱与症状有关, 荧光最强的为斑驳叶片, 其次为黄化和后期缺素状叶, 健叶切片没有或只有稀疏的几点黄绿色荧光。

不同时期取样的结果有差异: 秋梢的病叶检测结果准确性最高为20/20, (不正常荧光检出数/检查样品数, 下同), 其次为夏梢(16/17), 而春梢则检测准确性较差(6/16)。

不同取样部位检测结果也有差异: 病梢顶端节间为8/8, 但对照也很高为25/28, 病叶柄为16/16, 但对照仍有5/11, 而新梢病叶主脉为37/37, 对照则较理想为0/37。这表明, 取样部位以新梢叶的主脉切片为宜, 病梢顶端节间和病叶柄均不宜作为检测对象。

三个感病品种的检测结果基本相同, 椪柑、甜橙、蕉柑的病叶脉切片分别为20/20、41/41和8/8, 而对照分别为0/23、0/26和0/13。

以上试验结果说明 用苯胺兰染色法鉴定黄龙病树时, 其准确性与取样时间和取样部位有很大关系, 以夏梢和秋梢叶片转移绿而尚未充分老熟时取中脉切片染色观察, 准确性最高。



X—木质部 PF—韧皮纤维
图1 健甜橙叶脉切片

X—木质部 PF—韧皮部纤维
箭号指为韧皮部中的不正常荧光
图2 病甜橙叶脉切片