

茶嫩梢丛枝病原的荧光镜检测与电镜观察

THE PATHAGENIC EXAMINATION OF ELECTRONIC MICROSCOPE
AND DETECTION FLORESCENIC MICROSCOPE FOR
TEA SHOOT WITCHES' BROOM DISEASE

谢 振 伦

(Xie Zhenlun)

农 学 系

(Department of Agronomy)

关键词: 类菌原体; 丛枝; 茶

Key words: Mycoplasma-like organisms; Witches' broom; Tea

茶树上由病毒引起的病害, 印度Sharma, D.C. (1972), 斯里兰卡Arulpragasam, P.A (1981) 等已作报道, 国内未有记录。而由类菌原体引起的茶的病害, 目前国内外均未见正式报道。

1980年7月我们在海南岛定安县发现三株丛枝病株, 1982年6月在华南农业大学茶园三年生茶树上见到四株同样症状的植株, 当时未能找到病原。1985年起在本校茶园对8株茶芽簇生、萎缩的病株分别标记, 观察其症状与病情, 在各轮茶期取样进行荧光镜检测与电镜观察。此外, 还赴省内各地茶场进行了病情调查。

发病情况 本病目前属零散发生, 但各地皆可见到, 如海南、湛江、阳江、开平、恩平、广州、从化、花县、英德等地皆发现有此病存在。1985年10月在本校茶园调查, 病株率为0.37%, 1986年8月在开平石榴塘茶场见一块茶地, 面积约0.3亩, 有病株29株, 病健比为29:268。以云南大叶种受害最多, 但中、小叶种亦有发病, 且在小叶种上簇生症状更为显著, 从二年生苗至成林采摘茶园均见罹病。茶树受害后, 因芽叶束生萎缩, 无法伸展, 造成无茶可采。

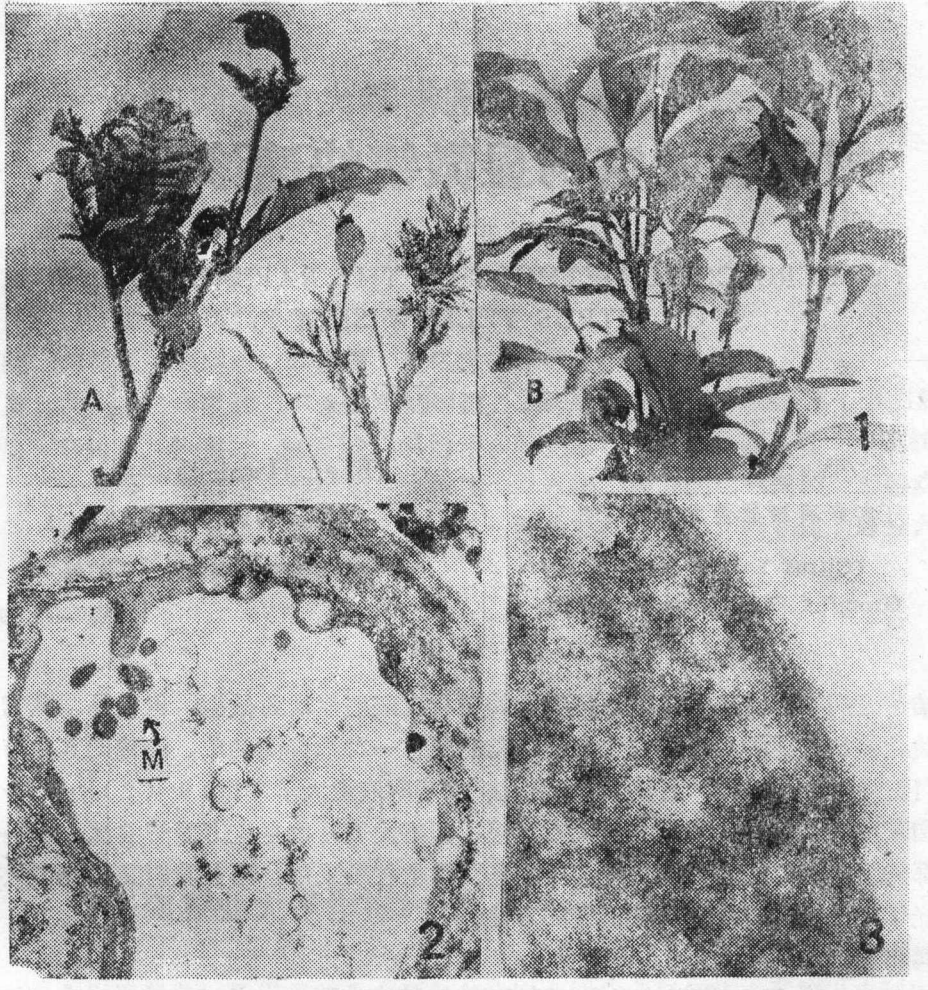
症 状 本病主要发生于嫩梢上, 罹病株茶芽萌发时, 所发芽叶皆呈萎缩、簇生、节间短小、后期叶片微卷曲, 呈披针形, 整个新梢生长缓慢, 如在采摘时未被摘去则以后各轮茶因顶芽萎缩、所发侧芽亦为束生, 各轮递次增加后, 形成一大团, 有些病株, 第1~2轮茶期症状不明显, 第3轮后不定芽大量增生, 发出芽梢成团簇生, 叶片变形、萎缩, 呈典型的丛枝状(图1)后期丛枝近中下部的叶子常干枯、脱落。从整株外观看, 叶色稍浓, 且明显矮于近邻的健株。全年以7~8月发病症状最为明显。

1987年1月3日收稿

荧光镜检测 取同轮期的病株与健株嫩梢芽下第2叶, 分别用徒手切片与冰冻切片将叶脉横切, 冰冻切片的厚度为17~20微米。将切片移于玻片上用0.1%苯胺蓝染色液处理或直接滴加蒸馏水不作处理, 盖上盖玻片置荧光镜下 (Olympus Bg12, 530滤光片) 检查, 1986年8月检测11个样品 (大叶种茶8个、小叶种3个) 有6个样品在维管束韧皮部中可见到由于受侵染后发生坏死而发出黄色荧光, 同年10月31日检测另外5个样品, 阳性的有3个。健株切片未发现类似荧光物质, 镜下维管束及其他部分全为橙红色。徒手切片与冰冻切片所得结果一致, 不染色直接观察与用苯胺蓝染色观察结果相同。凡是观察为阳性的植株, 不同部位的嫩梢叶片切片都有荧光存在。

电镜观察 切取病株芽下第2叶叶脉, 另取同轮期的健株上同等嫩度的叶片叶脉作为对照, 按电镜观察常规制样, 用Philips EM₁₀₀透射电子显微镜观察, 发现茶嫩梢丛枝病的叶脉筛管组织中存在着大小不等的类菌原体, 呈圆形或椭圆形, 大小为50~400毫微米之间, 单位膜5~10毫微米 (图2. 3) 在荧光镜下见有黄色荧光的病梢, 在电镜下很易找到类菌原体。对样品, 未发现有类菌原体存在。各轮茶以7月份以后的病梢容易见到类菌原体。

讨论 日本人难波成任认为对感染病毒和类菌原体病感植物的直接荧光诊断法 (DFD法) 来检测与鉴定是一种简单容易的方法, Deeley, J. 等及Schaper, U. 将检测的样品用DAPI和苯胺蓝染色后在荧光镜下检测, 凡阳性的样品在电镜下皆可观察到类菌原体, 成功率极高, 我们的检测, 基本上相符。根据荧光镜的检测与电镜观察结果, 初步认为本病是由类菌原体引起的病害, 这是在茶树上首先报道的类菌原体的病害。Uehara, K. 等于1977年曾报道在日本茶上有丛枝病 (Witches' broom) 发生, 但该病病原为细菌 (*Pseudomonas tashiroensis* Uehara & Nonaka) 且症状也有差别, 我们根据本病症状主要发生在嫩梢, 簇生, 萎缩明显, 故拟定为茶嫩梢丛枝病。



图版 1. 茶嫩梢丛枝症状，A. 病株 B. 健株
2. 电镜下筛管中的类菌原体（9257倍 M示类菌原体）
3. 类菌原体单位膜（180000倍）