

病害防治

一种简便快速鉴定植物抗细菌性青枯病方法的研究

康耀卫 何礼远

(中国农科院植保所 北京 100094)

1 引言

防治植物青枯病最经济有效的办法是选育抗病品种。目前在抗性评价研究中,最常使用的接种方法是茎部毛吸管滴注法和伤根接种法。毛吸管滴注法虽然比较简便可行,但由于它是直接把细菌注入到植株茎内,不能反映出细菌在自然条件下的侵染能力。伤根接种法虽然比较接近自然界情况,但由于工作量大,而且发病时间也长,所以在大量评价植物抗青枯病研究工作中和测定分析大量的菌系毒力时,它具有一定局限性。鉴于此种情况,我们提出了穿刺叶片接种新方法,我们采用这种方法在马铃薯、蕃茄和花生等作物上进行了测试,结果表明,穿刺叶片接种法是一种快速有效的接种方法,它非常适合于鉴定大量品种的抗病性和测定植物青枯菌菌株毒力的初筛方法。现将我们的研究结果汇报如下。

2 材料与方法

2.1 供试植物

马铃薯品种米拉为感病品种,马铃薯品

种 1-7 为抗病品种;花生感病品种是白沙 1016;蕃茄感病品种是丽春。

2.2 供试植物青枯菌菌株及其特征

青枯菌及特征见表 1。

表 1 供试植物青枯菌及其特征

菌株	特征
PO ₄₁	马铃薯野生型青枯菌菌株、生理小种 3 号
AP0 ₄₁	PO ₄₁ 菌株的自发突变株
E ₁	转座子 T ₁ S 诱变 PO ₄₁ 菌株所获得胞外多糖缺失突变株
P ₈	花生青枯菌毒性菌株
P ₁₄	花生青枯菌弱毒力菌株
T _m G	蕃茄青枯菌毒性菌株
AT _m G	T _m G 菌株的自发突变株

2.3 培养基

植物青枯菌在牛肉汁液体或固体培养基(0.3% 牛肉膏, 0.5% 蛋白胨, 1% 葡萄糖, 0.05% 酵母膏)培养 48 ~ 72 小时,温度控制在 30 ℃ 左右。

2.4 接种方法

a. 茎部毛吸管滴注法 植株生长到 5 ~ 6 片叶大小的时候,用毛吸管吸取 30μl 3 × 10⁸ 细胞/ml 的菌悬液直接从顶部向下数第三片叶腋之间注入植株茎部内即可。

b. 伤根接种法 植株生长到 4 ~ 5 个叶

片时,用水果刀从植株茎基部刺入土壤中,造成部分植株根系损伤,而后把 20ml 3×10^8 细胞/ml 浓度的菌悬液从切口浇入植株根部。

c. 叶片穿刺接种法 植株长到 4~5 个叶片时,用接种针挑取一定量的培养 48 小时的青枯菌菌落,而后把粘有细菌的接种针直接刺入叶片内。每个叶片接种 1 个点,每个菌株接种 5 张叶片。一般情况下,每一个植株用来测试一个菌株。但在测定大量菌系的毒力时,每一个植株可以同时测定 5 个菌株,因此可以节约大量的工作量。

2.5 病情指数计算法

茎部毛吸管滴注法和伤根接种法的病情计算可以参见《利用植物青枯菌无毒突变株和土壤荧光假单胞菌防治花生青枯病的研究》一文。

叶片穿刺接种法则采用以下分级标准和计算法:

接种叶片没有反应为 0 级;接种叶片变黄为 1 级;接种叶片部分萎蔫为 2 级;接种叶片全部萎蔫为 3 级;接种叶片引起整株萎蔫为 4 级。

病情指数 = $\frac{\text{各级别数乘以达到该级别的叶片数之和}}{4 \times \text{接种总叶片数}} \times 100\%$

3 试验结果

3.1 马铃薯青枯菌在马铃薯抗病品种和感病品种致病性的测定

采用茎部毛吸管滴注法、伤根接种法和叶片穿刺接种法分别将具有不同毒力的青枯菌菌株接种在马铃薯品种米拉和 1-7 上,观察这 3 种接种方法的发病情况。结果(表 2)表明,穿刺叶片接种法同其它两种接

种法一样测定菌株 PO_{41} 毒力最强,菌株 E_1 次之,而 $AP_{O_{41}}$ 最弱。而且穿刺叶片接种法在严重程度方面更接近于伤根接种法。但它在接种后很短时间内就可以看到实验结果,一般在接种后 10 天就可以结束调查。而伤根接种法最少要调查到 21 天以后。因此这种新的接种法效率是很高的。

从表中还可以看出,这种接种方法也可以反映出马铃薯品种之间的抗病性差异。

表 2 不同马铃薯菌株采用不同接种方法接种马铃薯不同品种的致病性结果

接种方法	测试菌株	接种后天数											
		3		5		7		10		15		21	
		米拉	1-7	米拉	1-7	米拉	1-7	米拉	1-7	米拉	1-7	米拉	1-7
茎部毛吸管滴注法	PO_{41}	0	0	15	0	35	5	60	10	85	45	100	60
	$AP_{O_{41}}$	0	0	0	0	5	0	10	5	20	10	30	15
	E_1	0	0	5	0	25	10	35	10	45	20	65	35
伤根接种法	PO_{41}	0	0	0	0	0	0	30	10	75	45	95	50
	$AP_{O_{41}}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E_1	0	0	0	0	0	0	10	0	20	5	35	7.5
穿刺叶片接种法	PO_{41}	20	5	70	45	100	60	100	70	100	80	100	85
	$AP_{O_{41}}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E_1	30	0	50	10	70	25	90	40	100	50	100	65

3.2 花生青枯菌和蕃茄青枯菌分别在各自寄主植物上的致病性测定

采用穿刺叶片接种法, 分别把具有不同毒力的青枯菌菌株接种在花生和蕃茄叶片上, 观察这种新接种方法是否也能应用于其它青枯菌菌株的毒力测定, 结果见表3。表3结果充分说明, 穿刺叶片接种法完全可以在花生和蕃茄植株上把具有不同毒力的青枯菌菌株区分开来, 而且在很短的时间内就可以得到结果。

表3 穿刺叶片接种法测定花生青枯菌和蕃茄青枯菌致病性结果

接种植株	测试菌株	接种后天数			
		3	5	7	10
花生	P ₈	20	55	80	100
	P ₁₄	0	10	35	50
蕃茄	T _{mg}	10	45	80	100
	AT _{mg}	0	0	10	15

3.3 不同环境温度对穿刺叶片接种法测定致病性结果的影响

采用穿刺叶片接种法把马铃薯青枯菌菌株 PO₄₁ 和 APO₄₁ 接种于马铃薯品种米拉的叶片内, 接种后的枯株分别放在 20℃, 30℃

表4 穿刺叶片接种马铃薯青枯菌在不同温度条件下发病情况

接种植株	测试菌株	接种后天数			
		3	5	7	10
20℃	PO ₄₁	5	45	70	100
	AP ₄₁	0	0	0	0
30℃	PO ₄₁	25	65	100	100
	AP ₄₁	0	0	0	0
35℃	PO ₄₁	30	90	100	100
	AP ₄₁	0	0	0	0

和 35℃ 条件下观察发病情况, 结果见表4。结果分析表明, 菌株 PO₄₁ 不论在什么温度条件下都可以引起马铃薯植株发病, 但病情指数是随着温度的升高而增加; 菌株 APO₄₁ 则不论在什么温度条件下都不能引起植株发病, 只能引起叶片发生过敏性反应。

4 讨论

从上述结果可以看出, 穿刺叶片接种法是一种快速的抗病性鉴定方法, 它的主要优点是植株用量少和鉴定时间短, 因此采用穿刺叶片接种法在植物抗青枯病抗性鉴定工作中和大量测定青枯菌菌株的毒力时, 可以节约大量的人力和物力。穿刺叶片接种法虽有很多优点, 但也有一些缺点, 其中最主要的是不能定量接种细菌的数量, 在鉴定工作中会有一定的误差。所以我们认为在大量初筛工作中完全可以采用这种方法, 但当在比较关键的实验中最好同时采用伤根接种法和茎部毛吸管滴注法作为参照。

参 考 文 献

- 1 何礼远, 华静月, 张长龄. 我国细菌性青枯病发生及防治. 植物保护, 1983, 9(3): 8 ~ 10
- 2 华静月, 张长龄, 何礼远. 我国马铃薯青枯菌菌条的初步研究. 植物病理学报, 1985, 15: 181 ~ 184
- 3 华静月, 张长龄, 何礼远. 我国植物青枯病的生化型和其它生理差异. 植物保护学报, 1984, 11: 43 ~ 50
- 4 康耀卫, 何礼远. 利用植物青枯菌无毒突变析和土壤荧光假单胞菌防治花生青枯病的研究. 植物保护学报, 1990, 17: 116 ~ 118
- 5 He L Y. Bacterial wilt in the peoples' Republic of China. ACIAR Proceedings, 1986, 13: 40 ~ 48