

13.75-117. /

世界农业
丛刊

植物病理学译丛

(三)

农业出版社

库存书

植物病理学译丛

(三)

裘维蕃主编

农业出版社

《世界农业》丛刊
植物病理学译丛 (三)

裘维蕃主编

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092毫米 16开本 8.25印张 181千字

1980年12月第1版 1980年12月北京第1次印刷

印数 1—3,200册

统一书号 16144·2278 定价 0.89元

目 录

叶蝉传带的类立克次体细菌病	D. L. Hopkins (1)
植物病原细菌的分类鉴定	
——《伯捷氏细菌学鉴定手册》(续)	R. E. Buchanan等 (14)
病毒的国际命名规则与植物病毒最新分类法	井上忠男 (43)
根结线虫属的分类(当前情况及问题)	A. M. Golden (49)
半知菌的系统分类(问题及前景)	J. Nicot (55)
导管萎蔫病综合症状的生物物理和生物化学	A. E. Dimond (66)
植物病毒的蚜虫传播	三沢正生 (77)
植物病原菌对杀真菌剂和杀细菌剂抗药性的述评	J. M. Ogawa等 (85)
试用电子计算机预测水稻病虫害的发生	村松義司 小柳徳二 (95)
水稻白叶枯病抗病性机制的研究 I	渡边实等 (99)
水稻白叶枯病抗病性机制的研究 II	渡边实等 (104)
蔬菜抗病育种技术、成就和展望	R. E. Webo (108)
苹果和梨的病毒病(续)	A. F. Posnette (115)
热带水果上的炭疽病	H. S. Sohi (121)

叶蝉传带的类立克次体细菌病

D.L. Hopkins

序 言

直至1967年,人们认为传染性植物病害的主要病原只是真菌、细菌、线虫、种子植物和病毒等。用嫁接法可以传染的,并且不易分离到或者用一般光学显微镜不易见到真菌和细菌的那些病害,都被认为是由病毒引起的。可是,土居等和石家等在1967年报道在感染了紫苑黄化病、丛枝病和矮缩病的植株的筛管中存在有类菌原体(Mycoplasma-like bodies),而且他们用四环素类抗菌素能够抑制桑树矮化病的症状。这就引起了国际间对黄化类型病害中的类菌原体进行大量研究并提出了报告。

这种搜寻类菌原体(MLO)的热情导致了另一个植物病害的新病原——类立克次体细菌(Rickettsia-like bacteria,简称RLB)的发现。本评论应用“类立克次体细菌”这个名词来指称这些革兰氏阴性的,具有超微结构细胞的和不能在人工培养基上培养的小细菌。它们通常对四环素类抗菌素敏感。

许多在植物上已被观察过的RLB只局限在木质部或韧皮部(表1)。叶蝉科(Cicadellidae)看来是RLB最常见的传病介体;但是柑桔青果病是由一种木虱传递的,有几种病害的昆虫介体还未有较广泛的研究。看来叶蝉很可能会被发现能传递大多数(不是全部)这些局限于木质部或韧皮部的RLB。一种只局限于木质部的甘蔗缩根矮缩病的病原,初时被认为与RLB有关,但新近的工作已表明这种病原物为一种细小的棒形细菌。这些细菌与RLB很不相同,因此不包括在本评论中。

表1 与类立克次体细菌有关的病害

局限于木质部:

葡萄皮柯斯病、杏树叶焦灼病、伪桃病、洋李叶灼病、苜蓿矮化病

局限于韧皮部:

三叶草皱缩卷叶病、柑桔青果病、三叶草棒叶病、马铃薯小叶矮缩病、心叶黄花稔小叶病、菟丝子矮缩病
其它:

葡萄传染性坏死、苹果增生、小麦黄化不育、胡萝卜增生、葡萄黄化

表1中有些病害的RLB不受组织的限制。例如,在感染葡萄传染性坏死病的葡萄植株的幼嫩侧根中柱的分生组织细胞中;以及在感染增生病的苹果树木质部导管、薄壁细胞和形成层中,都可以找到RLB。在这些病害中至少有两种病害:苹果增生病和胡萝卜增生病

都各有一种MLO与它们发生关系。这些非组织局限性病害很不相同，RLB和这些病害关系很不明确，而且还未知有什么叶蝉能传递它们；所以，本评论中将不对它们作过多的评述。

大概是由于经济上的影响，在与RLB有关的病害中皮柯斯病是最广泛地被研究和被了解得最多的一种病害，所以本评论集中讨论葡萄皮柯斯病和伪桃病的当代研究工作，作为RLB引起的局限于木质部的病害例子。三叶草棒叶病和皱缩卷叶病在这里则作为局限于韧皮部的病害例子而予以评论。

局限在木质部的病害

皮柯斯病、紫苜蓿矮化病和杏树叶焦灼病的发生是由相同的RLB所引起的。曾从葡萄上把皮柯斯病的病原传递到紫花苜蓿和杏树上去，引致紫花苜蓿矮化病和杏树叶焦灼病；相反的传递则引致葡萄发生皮柯斯病。皮柯斯病和伪桃病两者间的交互传递试验没有成功（W.J. French和D.L. Hopkins，未发表的著作）。伪桃病和洋李叶灼病的病原都会侵染杏树，但不呈现症状。关于伪桃病和洋李叶灼病两者间的交互传递试探实验还未有报告发表过。

这类病害的特征

这些局限在木质部的RLB病害只在气候温和的地区才有发现。皮柯斯病的原发生地是在美国的加尔夫沿岸平原（Gulf Coastal Plain of the United States），并且已知在加利福尼亚及墨西哥北部中心也有发生。皮柯斯病已有报告在智利及阿根廷有所发生，但在这些国家里，Hewitt发现一些其它病害显然曾与皮柯斯病相混淆。伪桃病仅发生在美国的东南部而洋李叶灼病已知仅发生在阿根廷的巴拉那河的三角洲。

这些局限在木质部的病害其主要症状和维管束萎蔫病很相象。这表明导水系统的瓦解是病害发生的主要方式。这些症状包括：生命力衰退、叶缘坏死或叶片焦枯、果小、产量低并且通常病株死亡。伪桃病稍有不同，它不会杀死植株，但确使植株在生产上失去经济价值。

这些RLB的介体是大叶蝉亚科（Tettigellinae）的叶蝉（Sharpshooter）或沫蝉科（Cercopidae）的沫蝉（froghoppers）。Houston, Esau和Hewitt已清楚地证明皮柯斯病的病原局限在木质部组织内。介体叶蝉的取食穿刺被发现有80—90%的时间终止于木质部，其余10—20%则只到达薄壁组织或有时到达韧皮部。不同昆虫介体在葡萄茎组织不同部位吸食这个事实表明：只是当介体取食穿刺能到达木质部组织时，皮柯斯病才会发生。Hutchins早些时候报道说：伪桃病如用整个根段嫁接就可以传病，但如只用皮层嫁接则不能传病。由于这些研究，其后电子显微镜专家们就得以知道要在什么组织里去寻找皮柯斯病和伪桃病的病原物。

皮柯斯病的病菌已经被证明有很广的寄主范围，包括28科单子叶和双子叶植物。这些寄主的大多数不表现症状。22科禾本科植物已被证明是皮柯斯病的寄主。豆科也很易

感病，其中一些也表现症状。

病原的性质

类立克次体细菌和病害的关系：这是一件令人感兴趣的事情，皮柯斯在1892年以前的研究工作中已经发现有细菌在发病的葡萄里；但他不能分离和培养到这种细菌并且用回接法不能重复产生这种病害。在三十年代后期以后，皮柯斯病被认为是一种病毒引起的，因为其病原可以通过嫁接传染，而从发病的植株里不能分离到细菌和真菌。当Hopkins和Mortensen观察到在已发病的葡萄根区施用四环素类抗菌素后，病株症状受到抑制时，他们便首先取得了这些病原不是病毒的第一个证据。在无数关于类菌原体病原的新报道的浪潮面前，他们认为葡萄皮柯斯病可能是由MLO所引起的。

Hopkins和Mollenhauer和Goheen, Nyland和Lowe借助于电子显微镜在感染皮柯斯病的葡萄木质部组织里找到一种类立克次体细菌。这种RLB可在导管组织里和在木质部细胞间隙中找到，但没有在木质部的薄壁组织细胞里或在韧皮部内找到。几乎所有的观察都是在叶柄、叶的中脉和小脉里做的；但这些RLB在葡萄的其它部分也都可以找到。这些RLB并不存在于健康葡萄的木质部内。

RLB是皮柯斯病主要病原的绝对性证明还有待于完成柯克氏定律的要求。可是，已有几个方面的证据暗示这种RLB就是此病的病原：(a)症状和RLB的存在这两者间的相互关系是紧密的；(b)在已被证明有皮柯斯病病原存在的木质部组织里找到RLB；(c)这种RLB在感染了苜蓿矮化病的苜蓿的木质部里也被找到；(d)这些RLB在四环素抗菌素已经防止病害发展的植株上没有找到；(e)在重病葡萄园里用纱笼来隔离叶蝉介体，可同时避免皮柯斯病症状的发生以及植株体内RLB的存在。

其后发现了一种类似的RLB在伪桃病树根的导管组织里和叶中脉的木质部内。在根里RLB似乎在小的厚壁管胞内比在大的导管内更为常见。在杏树叶灼病和洋李叶灼病的叶脉木质部组织里也各找到一种RLB。在杏树叶灼病株的根部寻找RLB的企图至今没有成功。用KOH提取方法，在洋李叶灼病株的根部已找到RLB(W.J. French和Bakarcic, 论文未发表)。在局限于木质部的RLB中，只有伪桃病RLB是在根部比在叶部较易找到。也许在寄主体内的细菌分布的这些差异与伪桃病是不致死的而其它是致死的这个事实有关。还要做许多工作来研究在一年的不同季节里RLB在它们的寄主里的分布情况，特别是要用伪桃病来和皮柯斯病进行对比。

类立克次体细菌的超微结构：皮柯斯病的RLB是杆状的，直径为 $0.25-0.50\mu\text{m}$ ，长度为 $1.0-4.0\mu\text{m}$ 。它的直径最普通的是约 $0.40\mu\text{m}$ 。杏树叶灼病的病原也是这样，但已观察到的杏树叶灼病细菌的最大长度是 $1.9\mu\text{m}$ 。与伪桃病有关的RLB比与葡萄皮柯斯病有关的RLB稍小些。伪桃病的RLB直径是 $0.25-0.40\mu\text{m}$ ，杆长 $1.0-3.0\mu\text{m}$ ，平均直径约为 $0.35\mu\text{m}$ 。这些在细胞大小上的微小差异有可能是受寄主的影响，而不表明是RLB遗传上的差异。

RLB的细胞内含物一般与其它细菌的相似。核糖体、嗜银颗粒(osmiophilic granules)和具有若干类似DNA线状体的胞核区是这些生物体的主要内部特征。Lowe, Ny-

land和Mircetich也报道了在杏树叶灼细菌体里面有一些好象是由原生质膜向内包裹而形成的有包膜的内含体。核糖体通常大量地分布在细胞内的四周。

虽然在固定了的植物组织里来确定细胞分裂的方式是有问题的,而在RLB中其繁殖的方法似乎是二分裂法。可以观察到这些类立克次细菌体,包括它们的细胞壁和原生质膜两者在内有不同程度的收缩。在显微镜下没有看到隔膜,并且细胞质成分在伴随着细胞分裂时没有进行重大的重新分配。多数革兰氏阴性细菌在分裂时所形成的隔膜很薄而且很难保存以供显微镜观察之用。

在薄切片里,RLB的细胞壁是多层的。皮柯斯病细菌的细胞壁是由一层外膜,一个中间电子透亮带层和一层稠密的肽聚糖(peptidoglycan layer)的内层所组成。细胞壁的这个稠密的内层借助于一层电子透亮地带而和原生质膜分离开来。胞壁的外层膜和原生质膜两者都有典型的单位膜(unit membranes)三层结构。胞壁复合物的总厚度大约是25—40 nm。这样的细胞壁的超微结构是革兰氏阴性细菌的细胞壁的典型代表。

这些致密的肽聚糖层,在两次有关伪桃病和杏树叶灼病的RLB的研究实验中没有观察到。在有些事例中,这层外膜只由电子透亮带把它和原生质膜分离开。最近在伪桃病原细菌的细胞壁的几块切片中也已经看到这层稠密的肽聚糖层(H.H.Mollenhauer和D.L.Hopkins,未发表的著作)。在一些研究中,其所以不能观察到这些稠密的肽聚糖层,可能是由于固定时保存其构造和为进行电子显微镜观察制片时的困难的反映。而且象关于杏树叶灼病的报告那样,在一些制片中,这层稠密层可能与外层膜紧密相连,使外层膜内边的一面变厚或更稠密。

Mollenhauer和Hopkins曾观察过皮柯斯病细菌细胞壁的渐进变化。他们解释这些变化是在细菌变老或通过发育阶段时发生的。可以看到那些用裂殖法分裂的细菌常有完整的典型革兰氏阴性细菌的多层的胞壁复合体。但是,当细菌变老后,胞壁复合体中间那一层电子透亮层变得越来越稠密;它们好象是充满了不定形物质似的。最后整个胞壁好象都具有一致的密度,并且层数很难区分。作者们认为这些具有均匀胞壁的细胞或者是在一种休眠状态中或者是退化了的。在这些细胞里其复合的革兰氏阴性细胞壁也许已被瓦解破坏。即使看到这些胞壁在败坏中的中间阶段,人们也不能排除这种可能性即其中一些具有均匀胞壁的细菌细胞实际上是与皮柯斯病有关的另一种细菌。

RLB的细胞壁是波纹状或山脊状的。这些山脊状结构显然是胞壁的外层膜周期性的内向折叠所形成的。这些“山脊”在纵切面上最为显著,表明“山脊”趋向于环绕着细菌体(RLB)的长轴而延伸的。杏树叶灼细菌的“山脊”宽度差异为45—75 nm。许多革兰氏阴性细菌的外层膜有波浪状起伏的外形,所以细胞壁的这些“山脊”并不是RLB所特有的。也许RLB的波纹要比其它大多数细菌的波纹更为突出一些。也有可能“山脊”是在为电子显微镜制片时的固定作用所引起的缺陷,而在自然状态下细胞壁则是平滑的。但是,用浸叶法和负染色法,细胞壁的这些波纹也在盐水抽提的伪桃病的RLB中观察到。

嗜饿的线丝或微纤丝似乎是从RLB细胞壁的周围放射出来的。这些纤丝可能是围绕RLB四周的胶膜物质的一部分。常可看到皮柯斯病细菌的被膜周围有一层电子透亮带。

这个晕环效应也许是一个胶膜的暗示，或者也许是在为电子显微镜的制片过程中所造成的缺陷。

Nyland 等曾观察到从伪桃病细菌的细胞壁上有线丝伸展出来，并且发现在含有细菌的细胞腔里也散布有类似的线丝。他们发现这些线丝是由亚单位 (subunits) 组成的。在细胞腔内游离的粒子的直径大约是 28 nm，这些粒子被认为是破碎了的线丝或线丝亚单位。在杏树叶灼病菌上，也找到类似的线丝附着在细胞壁的外层膜上。这些线丝或微纤维可称为柔毛 (fimbriae)，是非鞭毛的细菌的附属物 (appendages)。柔毛广泛地发生在各种类型的革兰氏阴性细菌中。这些线丝也可能是纤毛 (pili)，它们是与细菌和病毒的核酸的转移有关的非鞭毛附属丝。既然已经知道 RLB 在寄主导管内会形成集结团，人们可以假定，这些线丝或微纤丝是胶粘的细胞器，在 RLB 的致病性上有十分重要的作用。无论如何这些柔毛或纤毛值得进一步研究，并且也许有分类学上的重要意义。

培养类立克次体细菌的尝试：自 1880 年发现皮柯斯病以来，人们曾经多次试图从现在已确信是由 RLB 所引起的病株上分离培养到细菌或真菌。到目前为止还没有人能够从寄主植物上分离到病原并且用回接法重复产生这个病害。皮柯斯相信一种细菌是皮柯斯病病原，当时称为加利福尼亚葡萄病或阿那系病 (Anaheim disease) 的病原。皮柯斯从感染皮柯斯病的葡萄上获得了细菌的纯培养，但他用回接法不能重复产生症状。

1974 年，Auger, Shalla 和 Kado 报道说从 *Draeculacephala minerva* Ball 分离到一种革兰氏阳性细菌，并且用这种培养到的细菌接种到葡萄上产生出皮柯斯症状。这些细菌是从皮柯斯病葡萄上取食的原来没有感染的叶蝉体内分离出来的，但不能从那些在健康葡萄上取食的原来没有感染的叶蝉体内分离出来。这种细菌的纯培养保持在人工培养基上。将此细菌的纯培养的悬浮液注射进未带病菌的叶蝉体内。用那些注射过细菌的昆虫介体来取食葡萄株，在六个星期后就表现出典型的皮柯斯病症状；然而那些用无菌培养基注射过的昆虫介体所取食过的葡萄株则仍然无症状。用电子显微镜检查用细菌注射过的昆虫介体所取食过的葡萄株的导管里，可以看到那些和自然感染的葡萄株导管里相类似的细菌。通过利用叶蝉介体，从接种试验的植株上重新分离出同样的细菌来。结论认为这种培养的革兰氏阳性细菌就是葡萄植株上的皮柯斯病的病原。

所有试验，想重复从取食在感染皮柯斯病葡萄株的昆虫介体上分离到革兰氏阳性细菌并用细菌来重复产生这种病害，都没有成功。Latorre-Guzman 能够不断分离到一种革兰氏阳性细菌，这种细菌与 Auger, Shalla 和 Kado 在那巴流域 (Napa Valley) 采集到的 *Hordnia circellata* (Baker) 上分离到的相同。这种细菌似乎是乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 的一个种。从 *D. minerva* 上分离这种细菌的企图没有成功，甚至把这种昆虫放在发病葡萄叶上取食后再进行分离也没有成功。但是，当 *D. minerva* 叶蝉用注射法或通过石蜡薄膜取食法进行直接接种，这种细菌就可以从这些昆虫上分离到。在佛罗里达州，在 56 只主要是 *Homalodisca coagulata* (Say) 和 *Oncometopia nigricans* (Walker) 的叶蝉介体中仅有 2 只被分离到乳酸杆菌 (*Lactobacillus* sp.)，而这两个分离株似乎与加利福尼亚州的菌株是不同的 (D.L. Hopkins, 未发表的著作)。

这些革兰氏阳性细菌的致病性未能被重复证明 (D.L.Hopkins, 未发表的著作)。用从加利福尼亚州的 *H.circellata* 上分离到的若干乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 的菌株和从佛罗里达州的昆虫介体上分离到的两个菌株以及用 Auger, Shalla 和 Kado 等培养的菌株的冷冻干燥的细菌 (lyophilized cells) 进行接种到葡萄上去, 都全部失败了。除了注射病原接种体到叶蝉体内和通过石蜡膜使叶蝉取食病原接种体外, 其它直接接种到葡萄上的许多技术方法也都没有成功。

这种革兰氏阳性细菌的薄切片, 用电子显微镜观察, 揭示了一些与感染皮柯斯病的葡萄植株上所观察到的 RLB 显然不同的超微结构。在自然状态下, RLB 有一个典型的革兰氏阴性胞壁所具有的复合的多层的细胞壁, 但是, 这一种培养出来的细菌则有一层典型的革兰氏阳性细菌所具有的简单得多的细胞壁。在细胞分裂时, 它也有一层很厚的很明显的隔膜, 并且一般在分裂点附近有许多的大的中间体 (mesosomes)。在自然状态下, 这些东西在 RLB 内没有被观察到, 虽然具有被膜的内含体或小囊泡有时也可以看到。这个证明是有说服力的, 它表明上述培养的革兰氏阳性细菌不是葡萄皮柯斯病的病原。

如果革兰氏阳性细菌不是病原菌, 那么人们必然也会得到一个结论认为 Auger 和 Shalla 所建议的荧光抗体技术, 对于侦查和鉴定感病植株和感染了介体里的皮柯斯病细菌并不是特异性的。用以对抗纯培养的革兰氏阳性细菌的特异性免疫球蛋白被产生出来, 并用荧光异硫氰酸盐 (fluorescein isothiocyanate) 和它结合。这种荧光抗体是用来给那些从感染皮柯斯病的葡萄植株里、用 KOH 提取法抽提出来的细菌染色的。这种荧光抗体对番茄溃疡病棒状杆菌 [*Corynebacterium michiganense* (E.F.Sm) Jensen] 的纯培养没有反应, 而这个革兰氏阳性细菌对马铃薯 X 病毒的专化性荧光抗体也不起反应。从感染的葡萄组织里被抽提出来的这些细菌, 也许早就应该用荧光抗体来检查一下它对其它细菌有否产生非特异性的反应作用。

任何一种 RLB 的分离和培养还有待于进一步研究。初步研究表明, 从感病组织里通过真空抽提法分离到的伪桃病 RLB 是在新陈代谢作用方面不活动的或是已经死了的。也许这些 RLB 的成功培养既决定于抽提出活的细菌也决定于找到一种适当的培养基。从介体里培养皮柯斯病病原尝试中碰到的许多问题强调指出, 证明 RLB 细菌致病性的试验必须谨慎小心和完备周到。

分类学: 这种局限于木质部内, 非常专化并与植物病害有关的细菌的适当分类地位是不清楚的。由于它们与立克次体科的成员有许多相同的特征, 所以从事这种细菌研究工作者赞成称呼它们为类立克次体细菌 (Rickettsia-like bacteria) 或类立克次体生物 (Rickettsia-like bacteria)。可以清楚地看到, 随着时间的推移, 将来说不定会证明它们是属于另一分类系统的。

立克次体的细胞被膜和皮柯斯病 RLB 的细胞被膜, 包括外层膜、内层膜和肽聚糖等与革兰氏阴性细菌的相同。可是, 在上述两种病例中肽聚糖也许是很难看到的。葡萄 RLB 的大小和立克次体是相似的, 并且一般地比革兰氏阴性细菌较小, 虽然它们的大小是有所重叠的。它们两者的超微结构都和革兰氏阴性细菌的相同。许多立克次体的表层被膜与从

皮柯斯病细菌胞壁散发出来的纤丝相似。立克次体和植物的 RLB 两者通常都不能在非细胞形态的培养基上生长,但是,立克次体中则有例外的。除了几个例外,立克次体通常是寄生在细胞内的生物。立克次体和植物的 RLB 两者都有很广泛的自然寄主范围。立克次体有节肢动物作为介体或主要寄主。它们可存在于同翅目昆虫体内,特别是在叶蝉的唾液腺里,表明它们有了一个进入植物组织内通道。借此通道立克次体科的成员们也许就是这样进入植物体内并演变成为植物病原物的。

这种局限于木质部的很专化的植物细菌比以前所知道的任何植物病原细菌更近似于立克次体。根据伯捷氏鉴定细菌学手册和我们对植物 RLB 的最新知识,它们最适宜于列入立克次体科 (Rickettsiaceae) 内,并且和沃尔巴克氏体 (Wolbachiae)* 族最为一致。直至它们的真正分类地位确定之前,继续把这些很专化的生物称为类立克次体细菌 (Rickettsia-like bacteria) 看来是恰当的和最明确的。

病理学解剖和生理学

Esau 报道:胶状物沉积在葡萄导管内是皮柯斯病早期的内部症状,而这些胶状物是沉积在外表症状出现之前的。在葡萄的叶和幼嫩茎蔓内,主要病变是胶状物堵塞着导管,而在老年的茎蔓内则侵填体的形成最为显著。侵填体是正常地存在于无病的老年葡萄木质部内的。但是在正常的葡萄茎里,这些侵填体的数量是从幼龄到老年逐渐增加的,而在有皮柯斯病症状的葡萄茎里则是从幼龄到老龄茎蔓逐年减少的。这些发现有助于解释皮柯斯病的外部症状是属于那些水分供应系统失调的症状。正如后来用电子显微镜所观察到的,Esau 所看到在导管里的许多胶状物和侵填体,也许是在基质中的细菌集集体。

在发病葡萄叶木质部的横切片中,可以看到 RLB 在组织内的分布有两种型式。在第一种型式里,RLB 是不规则地分布在整个导管细胞腔里,没有明显的聚集现象。在第二种型式里,RLB 沿着和紧贴在导管胞壁的内表面,在那里它们好象埋藏在—层电子透亮的基质里面。在这两种型式里,RLB 的数量是从少量以至稠密地堆积成团。在较耐病的圆叶葡萄品种中,这种包围 RLB 的基质,通常比在较感病的簇生葡萄品种中的基质更为稠密和更为粒状。

在耐病的圆叶葡萄和感病的簇生葡萄的横切片中,可以看到前者含有 RLB 的导管数目只是后者的一半。在横切片中,RLB 在病株木质部导管里的平均数,圆叶葡萄为簇生葡萄的 $\frac{2}{3}$ 。在发生皮柯斯病的圆叶葡萄叶柄的导管内,电子密度大的胶状物和侵填体是很多的;但是,在感病的簇生葡萄叶柄内则不那么常见。Esau 在早些时候曾描述过感病葡萄内的胶状物和侵填体,但在她的研究工作中发现这些侵填体并不常发生于叶的组织里,而且她所观察到的一些胶状物有可能是细菌集集体。这些胶状物和侵填体可能有两种作用:它们可以降低导管内水分的移动从而促进症状的发展,或者它们限制 RLB 在细胞

* 根据中国科学院微生物所77年“拉汉细菌名称草案”——译者。

内的扩展从而有利于增强植物的抗性。Beckman 认为维管束堵塞物造成的局部性侵染是对维管束性侵染病害的一般性的抗性机制。耐病葡萄和感病葡萄两者间在胶状物和侵填体形成的差异方面与这个抗病假说是协调的。对比侵填体形成的范围和速度、以及对比抗病和感病葡萄单个接种点上的细菌的移动,对于更清楚地解释胶状物和侵填体在病害的并发症状中所起的作用是很必要的。

虽然细菌集聚体、胶状物和侵填体明显地堵塞着导管和限制植物体内水分的运输。但这种物理堵塞是否足以导致所观察到的由 RLB 所引起的病害症状则还存在一些疑问。Miracetich 等注意到在杏树出现严重叶焦灼的症状时也只有 15% 的木质部导管含有 RLB。他们认为,这些症状并不象是由细菌聚集体简单地堵塞着导管而产生的,它们很可能是导管的堵塞和细菌毒素的作用两者共同引起的。从葡萄皮柯斯病引起的叶缘焦灼的叶片的横切片来看,含有 RLB 的导管很少超过 40%,而其中全部堵塞的通常不超过一半。在茎组织内,导管受堵塞的百分率甚至更小。我们知道植物在具有百分率高得多的失去功能的导管时,它还不会表现出是缺水的现象。但是,将发病的葡萄叶柄每隔 1 厘米距离长度做一横切片,这样一系列的连接切片表明,不同导管是在不同切片里呈现被堵塞现象的。因此,全长叶柄的被堵塞导管的百分率,会比在一个横切片上所观察到的多得多。胶状体在导管内还可以阻碍水分的侧向运输,从而使水分绕过这些障碍物的可能性也受到限制。感染皮柯斯病的葡萄蔓的茎段对水分流动的阻力比健康葡萄大得多。虽然在这些病害里毒素是否也牵涉在内现时还未能排除,作者认为单是物理的堵塞可能已足以解释这些症状的产生。

局限在木质部的 RLB 所引致的症状可以代表人们能看到的其它细菌性萎蔫病的典型症状。但是 RLB 和其它维管束病原细菌的差别在于:(a)RLB 很少在木质部管胞和导管外面找到;(b)它们在正常情况下不形成产溶菌素腔 (lysigenous cavities);(c)它们由它们的叶蝉介体直接引进木质部导管内。皮柯斯病细菌显然不会溶解细胞壁、不能进出导管细胞或不能形成产溶菌素腔,这在病害发展和传递上也许是很重要的。RLB 的扩展可能局限于上下向的移动以及极少的侧向的从导管到导管间的移动。这可用以解释为什么在长达一年的时间里还常常只能在葡萄的一个主分枝上看到症状。这个现象也可能意味着,要使一株葡萄全株发生症状必须把 RLB 直接引进到许多不同的导管里去。

流 行 学

皮柯斯病是美国东南部的地方流行病,在那里它是限制葡萄栽培的主要因素。紧接着这个地区的北部有一个边缘地区,在这个边缘地区里,虽然不同年间,病害的数量和严重程度变化很大,但一般来讲人们越向北行则病害的严重程度越来越轻。在北方限制这个病害发生的主要因素还不清楚,但我猜疑冬季的低温可能是一个重要的影响因素。在这些边缘地区里,皮柯斯病的爆发似与上一冬病害的严重程度有关。温度可以影响 RLB 或影响昆虫介体的虫口密度。

在加利福尼亚州,在不时爆发的病害流行中皮柯斯病毁灭了多达 75,000 英亩的葡萄

树。在加利福尼亚的南部，第一次主要的大流行发生于1880年。它迫使葡萄业迁移到该省的其它地区。从那时起，美国的不同地区的葡萄业曾受到几次病害流行的威胁。皮柯斯病的流行与连续多年超过正常的降雨量有关。自1880年代那次大流行以后，此病已成为洛杉矶盆地的地方流行病。

Purcell 研究过加利福尼亚州那帕 (Napa) 流域的皮柯斯病的流行问题。发病葡萄的最高集中点是靠近于荫蔽的河岸边的植被处。葡萄发病率从最靠近河岸边的那部分葡萄园的30—90%急降到距离河岸130—200米那部分葡萄园的1—5%。这个病害的传播型是典型的初侵染传播型，即病害是从园外的初侵染源传播到园内的。在那帕流域，河岸边是主要的叶蝉介体 *Hordnia circellata* 的自然来源地区。*H. circellata* 只是在早期(4—5月份)其分布才与皮柯斯病的空间传播型相吻合。中期以后，当这些昆虫介体更均匀地分布在葡萄园内时，它们的分布类型与葡萄园内发生皮柯斯病的地点分布就完全不同。挖除病株和喷雾杀虫对减轻病害传播的失败这个事实也证明了，从植株到植株间的第二次传播是不重要的。

在生长季节期间 *H. circellata* 的自然传染性逐渐增加。在生长季节的任何时候，皮柯斯病的缺少第二次传播以及空间分布，显然不是由于昆虫介体在生长季节的任何一个时期不能获得和传递 RLB。在生长季节中期后，当具有传染性的昆虫介体已发现分布于整个葡萄园内时，要解释为什么表现症状的病株集中在沿河岸的地方和缺乏第二次传播就很难了。Purcell 提出了两种可能的解释：(a) 寄主植物的感病性可能有季节性的变化；(b) 后期的侵染不能持续通过休眠期。

另一个可能的解释牵涉到这些细菌病原局限于木质部导管内的问题。在皮柯斯病能够发展前，RLB 被昆虫介体引进到绝大多数的导管里去也许是必要的。这就要有几个昆虫介体在一株大葡萄上进行取食，这种情况只是当4—5月 *H. circellata* 集中在葡萄园边缘时才有可能普遍发生。但是，在温室内用以做传病研究的小插条上，一个叶蝉仍然有可能把 RLB 引进到足够数量的导管内去从而使小插条产生症状。

在佛罗尼达州，大概是由于4—5月的传染结果，皮柯斯病在感病栽培品种上的主要增长期据观察是在6—8月。当感病的栽培品种在二月份移植时，它们在六月或七月出现症状；但当它们在六月一日才被移植时，则到次年六月以前不表现症状。这就表明田间的自然传播要么发生在六月一日以前，如果发生在中旬至下旬则直至下一个生长季节前不会引致症状出现。

在佛罗尼达州皮柯斯病的两种叶蝉介体 (*Homalodisca coagulata* 及 *Oncometopia nigricans*) 可以整年繁殖和生活在葡萄上，它们的自然传染性能已由 W. C. Adlerz 检定(未发表的情报)。一些 *H. coagulata* 在5—10月份可以从葡萄上采集到，但没有传染性。*O. nigricans* 是在3—9月份采集的，但只有在4月中旬至5月第一周采集的三批虫子是有传染性的。这些资料与田间病害发生资料一起表明了佛罗尼达州皮柯斯病的传播主要是发生在早春季节。

虽然只是在早春季节的一小段时期内 *O. nigricans* 的自然传染性能是高的，但是在美

国东南部,大数量的昆虫介体似乎可以作为此病较为严重的一个解释。对于葡萄这样一种为某些活动性极强的叶蝉所喜爱的寄主植物,再次传染看来在美国的东南部也很可能是重要的,而这在其它地区则可能是不重要的。

类立克次体细菌病的防治

目前皮柯斯病的唯一防治方法是遗传性控制的抗病性。在美国东南部需要种植抗病品种来维持葡萄的生产寿命。欧洲型(*Vitis vinifera* L.)和美国型(*V. labrusca* L.)两种丛生葡萄都已被此病毁灭。对皮柯斯病的唯一已知抗原是美国沿海湾平原的野生葡萄品种。美国东南部的葡萄业就是立足于这些抗病葡萄品种的。

在美国东南部,圆叶葡萄(*V. rotundifolia* Michx)享有声誉的主要因素是它们对皮柯斯病的高度抗病性或耐病性,这可由它们的生活力和寿命而得到证实。可是,甚至这些圆叶葡萄也不是免疫的。在佛罗尼达州,至少有四个圆叶栽培品种还未能达到被接受成为商业品种的足够的耐病性。除圆叶葡萄外,有四个佛罗尼达簇生葡萄栽培品种具有优良的抗病性,这种抗病性是从野生的佛罗尼达葡萄种得来的。葡萄品种对于皮柯斯病的抗病性,从最抗病的圆叶品种到最感病的欧洲类型,看来已经有一个完整的品种耐病性谱。在此病流行的美国东南部里,全部欧洲型的葡萄都被皮柯斯病毁灭掉,但各种圆叶栽培品种则表现出不同类型的耐病性。可是在加利福尼亚州的北部,可以看到欧洲型栽培品种中也有不同的耐病性。

植株感染了皮柯斯病以及其它一些RLB病可以用热水处理法来汰除其病原。苗木的热水处理对防止病害传入新区是有价值的。

对于伪桃病迄今唯一有效的防治措施是尽快地毁灭已证实发病的病株。虽然野生桃树在伪桃病流行上的确切作用仍有疑问,但从最接近桃园四周的地区铲除野生桃树看来还是必要的。如认真贯彻这个计划就可以大大减少病害的传播;但是由于未明的原因,此病的发生还会间歇地增长。这些增长部分地也许由于潜育期长,在这期间RLB存在于桃树的地上部分,要在两年后这地上部才表现症状。以RLB存在于茎的标本为依据,已经发展了一种早期诊断伪桃病的技术。病害的早期诊断无疑地将会提高防治计划的有效性。

这些局限在木质部的病害,其病原不是病毒而是RLB的这个发现,揭开了用抗菌素防治病害的新的可能性。广谱性的四环素抗菌素对防治皮柯斯病已有一定的效果。要减轻严重感染的葡萄植株的皮柯斯病不是通常可以达到的,因此在佛罗尼达州,四环素类主要被评价为保护剂类。用四环素抗菌素淋湿土壤,按一周一次或两周一次,能预防一年生植株感染皮柯斯病,但对两年或三年生植株无效。增加淋浇量有可能获得继续防治的效果,但是在所需次数内能用高淋浇量看来是不切合实际的。

四环素类的叶面喷雾比淋浇似乎有更好的效果,但要取得最好的防治则每周要喷500—1,000 ppm 土霉素;每周喷1,000 ppm 土霉素似可完全抑制此病的发展。充分商业化的用抗菌素来防治皮柯斯病,在最近将是不可能的。在四环素喷布的时间、浓度、成本和收益

的分析方面仍有许多工作要做。

如果皮柯斯病的主要扩展时期是发生在每年的早期的这个假想被证实的话,则发展一个防治计划的机会将是比较大的。这意味着各项防治程序可以集中在二至三个月内而不必遍及整个生长季节,在春季两个月内经常喷布抗菌素也许已足以防治此病,而这是较为实际可行的。在美国的东南部,在生长季节的早期喷布杀虫药剂对压低在葡萄上繁殖的和可能与再次扩展有关的叶蝉介体的虫口是有好处的。

局限在韧皮部的病害

这些病害的特征

局限在韧皮部的RLB病害所产生的症状其特点与黄化类型病害相同。这些症状通常包括矮缩、嫩叶变黄、叶卷或歪曲、叶片开展不平整、花瓣变绿色和经常全株过早死亡。三叶草棒叶病,在英格兰的一种白色三叶草病和三叶草皱缩卷叶病都是由相同的或很相似的RLB所引起的。它们呈现十分相似的症状并且对相同的抗菌素类表现敏感。

这些病害可以通过叶蝉介体和嫁接传染。Black 在把 *Agalliopsis novella* (Say) 叶蝉放在虫笼内的红色三叶草上后,他首先发现了三叶草棒叶病。皱缩卷叶病最早的描述记载是用病田苜蓿叶蝉 (*Austroagallia torrida* Evans) 接种的试验植株作出来的。据报道三叶草棒叶病RLB是在昆虫介体内繁殖的。昆虫介体终生保持传染能力,虽然它不表现感染的症状,但RLB可通过卵传给下一代叶蝉。这些也许是引起黄化类型症状的病原中唯一已被证明可通过卵传的病原。立克次体科的许多成员,也都是在它们的昆虫寄主体内、通过卵从一代传染到下一代去的这种看法,也许是中肯的。

病原的性质

对抗菌素的敏感性:多年来三叶草棒叶病被认为是病毒引起的。后来由于与黄化类型病害有许多相似的地方,于是人们才怀疑到这些三叶草棒叶病有可能是由类菌原体(MLO)所引起。但是感病的红三叶草植株的抗菌素处理表明,四环素盐(盐酸四环素)或青霉素都能减轻症状,而青霉素更为有效。已知青霉素的作用是影响细菌细胞壁的形成,这就表明三叶草棒叶病的病原不是一种类菌原体。用青霉素处理皱缩卷叶病和白三叶草病也表现了症状的暂时消退。但是对青霉素的敏感性这一点并不能提供多少有关RLB的分类学上的资料。立克次体科的已知成员通常对四环素类抗菌素比对青霉素更为敏感。它们对青霉素的敏感程度也有很大的差异。

类立克次体细菌与韧皮部病害的关系:感病三叶草和长春花植株韧皮部薄切片的电子显微镜图显示了有小RLB的存在。它们并没有在健康植株的切片里看到。RLB主要是在韧皮部筛管内被找到,但也可在韧皮部一些薄壁细胞内看到。它们不规则地分布在维管束组织内。在白三叶草内,在15℃下时RLB局限在匍伏茎的韧皮部细胞内,而在较高的温度下,它们也可在小叶叶柄的韧皮部细胞内找到。

和局限在木质部的RLB一样,局限在韧皮部的RLB也还未能用柯克氏定律来证明它们

的致病性。但是,有几条有力的证据表明它们就是病原:(a)症状和RLB的存在这两者间的相关性很高;(b)当温度从15℃提高到30℃时,症状的严重度和细菌的数量两者一齐增加;(c)青霉素处理后RLB的消失伴随着症状的减轻;(d)这些RLB与感染三叶草棒叶病的植株两者偶然碰在一起的机率不大于1/924。

这些局限在韧皮部内的RLB还未能被培养在人工培养基上。

类立克次体细菌的超微结构:这些RLB的细菌细胞一般直径是0.2—0.3 μm,长度是1.0—2.0 μm。它们为一层双重膜或者一层细胞壁和原生质膜所包围,细胞壁和原生质膜两者都是三层薄膜构造并且被一层电子透亮层所分隔开。这两层膜的每一层厚约8 nm,而那作为分隔层的电子透亮层的厚度则为5—15 nm。细胞壁的内层或外膜,通常比它的外层和原生质膜更加稠密。很可能这些看来不是发生在这些RLB内的、稠密的、着色的肽聚糖层,也许实际上是紧贴在外层膜上,使它看来更为稠密。RLB的内部结构,包括颗粒状的、含有深色类核糖体颗粒和细微纤维状物质(可能是DNA)的原生质。

当RLB高度集中在韧皮部细胞内时,它们往往从细胞基质里被一个清晰带所隔开,呈现一种晕环效应。Windsor和Black报道有丝状体或线状体存在于感病的三叶草里而不是在长春花里。这些丝状体的直径约为25 nm、长500 nm,由一层单层膜包围着。RLB没有可以辨别的内部结构。已经观察到象丝状一样直径的圆形结构体,这种结构体被认为是代表着丝状体的横切面。也观察到直径大到75 nm的相似的圆形结构体,但这个直径的丝状体还没有报道过。所以现在还不清楚这些从25—75 nm直径的结构体是否同一种东西,也不清楚这些丝状体和圆形结构体是游离在基质中的或是RLB的附属物。一种着色的球状物也与RLB有关系。虽然有一些二分裂法繁殖的迹象,但还未有观察到繁殖或发展程序的一清二楚的方式。

畸形类型的细菌常可见于含有深色粒状物质的韧皮部小细胞中。它们的细胞壁和内膜相分离、有染色较深的块状的原生质内容物。还有一些类细菌型细菌仅有外膜而没有细胞内含物。因为在青霉素处理后24—72小时可以观察到有许多相似的多形态类型,所以这些畸型也许就是退化了的RLB。

结 束 语

有许多过去认为是病毒病的和很不了解的植物病害,近年来已经发现是由一种新的和分类很分歧的植物病原微生物所引起。正如目前所已了解到的,这些类群包括螺旋体、类菌原体、一种棍棒形细菌和类立克次体细菌。RLB——本评论的主题,它们本身看来是一个分歧的组合。它们在症状上、在组织局限性上、在叶蝉介体种类上、在多样性的寄主范围上、在细菌细胞大小和许多其它特性上都有差异。这些差异有一些可能是由于寄主方面的原因。直至目前,所有已研究过的RLB都表现有两个共同的特性:(a)革兰氏阴性细菌的超微结构;(b)未能在培养基上生长。

RLB的未来研究范围几乎是无限的。也许最适当的方面将是与各种病害有关的RLB

的特性研究和鉴定,最后进入到它们的分类定位。这方面的进展将由于这些生物体在人工培养基上的培养成功而得到很大的促进。如果培养不能成功,那么RLB的提纯制备剂可以用在血清学研究上去解释不同RLB彼此之间和其它细菌类群的亲缘关系。

局限在木质部的RLB病害在维管束萎蔫病害的生理学研究方面也许是很有用的。这些RLB似乎缺乏溶解寄主植物的原胞壁或胞间层所必须的果胶酶,因而不能从木质部的导管里跑出来。它们似乎局限在管胞系统内,因此,对于研究细菌在植物维管束系统内的运动将是理想的。这个局限在木质部的RLB系统,对于估价维管束堵塞引致的感染的局部作用、在枯萎型病害中所起到的抗病机制也将是很有用的。

对于经济上重要的局限在木质部的RLB病害,将来最重要的研究也许是在流行病学和防治方面。现在已经知道四环素类抗菌素可以对皮柯斯病起到一些防治作用,但不是一个满意的商业防治方法。我们需要更有效的抗菌素或使用方法。也许流行病学研究会由于结合采用耐病栽培品种、抗菌素处理和细心设计好的昆虫介体管理程序而导致有效的防治。对局限于木质部的RLB病建立一个防治计划肯定会是美国东南部的一件福利事业,因为在那里这些病害使葡萄业受到限制并且还导致桃业的巨大损失。

(文献74篇略)

张曙光译自“Annual Review of Phytopathology”

17: pp277—294, 1977.

范怀忠校