

# 桑皱褶花叶病及皱褶螺原体的研究

张月季 洪 健 徐 正 高其康 游汝恒

(浙江农业大学, 杭州 310029)

(杭州市人民中学)

**摘 要** 桑皱褶花叶病是一种由螺原体寄生引起的桑树病害, 通过嫁接、昆虫及汁液传病, 近年在浙江省局部地区蔓延危害。病原螺原体在革兰氏染色反应中呈阳性反应, 能在植物性液体培养基和固体培养基中培养成功。螺原体形态有圆形、椭圆形、螺旋形和线状等。圆形粒体直径为83~700 nm, 基本螺旋体大小为364~833 nm × 82~119 nm, 线状体长为3.0~4.5 μm, 宽为100 nm。本病原寄主范围较广。土霉素(250~500 mg/kg)对本病具有明显的抑制作用。本病原螺原体的生活力及致病性均强, 经液体培养1a后, 能对无病实生苗传毒成功。

**关键词** 桑树; 螺原体病害; 花叶病; 土霉素; 离体培养

**中图分类号** S888.71

自80年代开始, 桑皱褶花叶病引起浙江省的重视。此病能感染不同品种、不同树龄的桑树, 病害不断扩大蔓延<sup>[1]</sup>, 使桑叶品质降低, 利用价值减少。1982~1991年, 作者对此病进行了试验研究, 现总结报告如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

主要来自浙江农业大学桑园中的病树及从浙江嘉兴、嘉善、桐乡、安吉及富阳等地区送来的桑病叶。

### 1.2 方 法

在试验研究过程中, 曾采用下列几种方法。

**1.2.1 症状观察** 在不同生长季节, 对不同品种不同采伐形式的桑树观察病叶的症状变化。

**1.2.2 嫁接传病** 采用套接法在健康桐乡青苗上套接皱褶花叶病枝的皮层圈, 使愈合传病。

**1.2.3 昆虫传病** 分别采用桑叶蝉(*Erythroneura mori*)及棉叶蝉(*Chlorita biguttula*)进行传病试验。毒源来自天然病树或套接成功的病苗。采用铜纱笼等进行饲毒、传毒。

**1.2.4 病原检测** 利用光学显微镜和电子显微镜观察病叶粗提液的病原物。前者结合革兰氏染色反应, 后者采用2%磷钨酸负染。

**1.2.5 药物治疗** 采用四环素及土霉素分别混合病汁液, 在鉴别寄主上摩擦接种, 测定枯

收稿日期: 1993-08-27; 修改稿收到日期: 1993-12-20

斑反应。用此药液直接喷雾病树。

**1.2.6 液体培养及固体培养方法的探索** 采用植物性材料作为液培及固培的主要成分,进行试验。

**1.2.7 螺原体的形态观察** 分别观察来自不同成分培养基或不同寄主植物中的螺原体形态。

**1.2.8 螺原体的生活势及致病性测定** 采用液体培养,并用液体培养物转向固体培养的方法,测定螺原体的生活势,并用较长时期液培中的螺原体摩擦接种于健康的实生苗,测定其致病性。

**1.2.9 寄主范围的调查及探讨** 在杭州市调查除桑树外的具有皱褶症状的不同草本及木本植物,观察其病原及用液体培养法初步探讨其寄主范围。

## 2 结果与分析

### 2.1 症状观察

叶片的症状有皱缩、脉束、皱褶、叶片尖端向背面反卷、疱疹状凸起、叶缘破碎、叶片尖端短缩或变窄等(图1)。有的桑树品种有花叶症状。枝条的特征是病枝变细,上部显著变软,弯曲下垂<sup>[2]</sup>。此病症状在气温较低时常在枝条基部出现,气温较高时枝条顶端也出现病叶。感病品种发病较早,于3月底初展叶时即显示症状,抗病品种到4月底才轻度发病,说明发病与气温和品种有关。

### 2.2 嫁接传病

套接成功的潜育期为50 d,传染发病率为80%,其症状和母本树相似。

### 2.3 昆虫传病

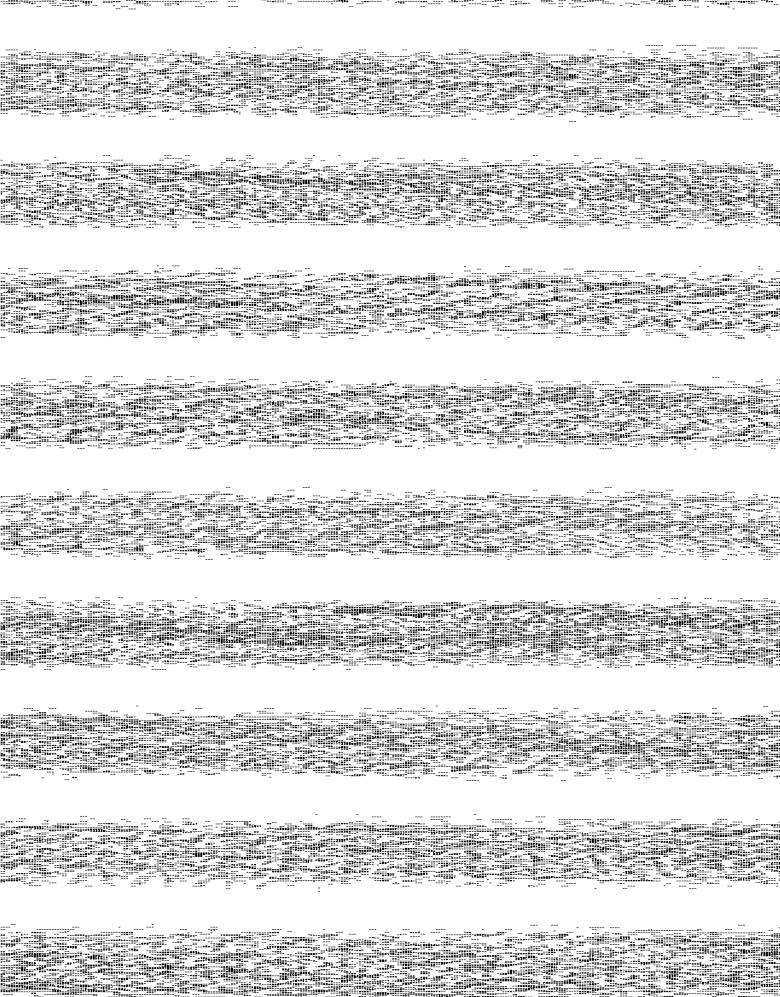
经过试验证实,桑叶蝉和棉叶蝉是本病的天然传播介体。饲毒时间7 d左右,传毒时间25 d左右。从饲毒到传毒结束共约30 d,即能获得传毒成功。传毒成功的实生小苗均出现典型的桑皱褶花叶症状。经电镜检查结果,由昆虫传毒成功的桑苗中的螺原体,大都是圆形和椭圆形,基本螺旋体一般只有3个弯曲。

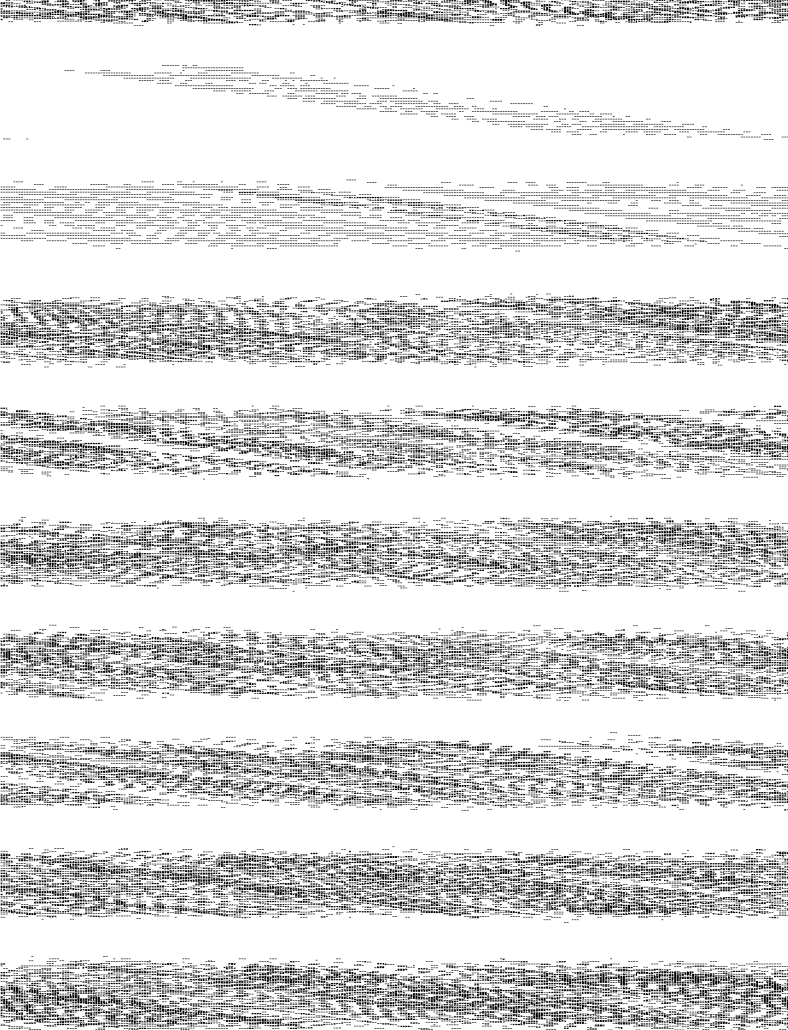
### 2.4 病原检测

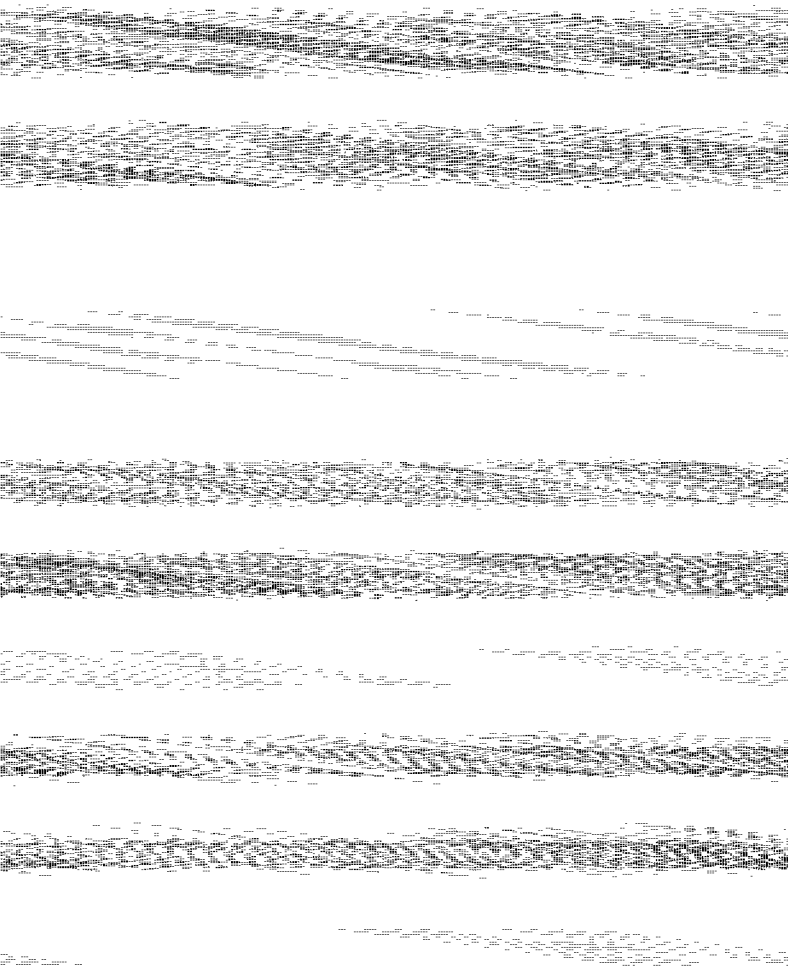
染色试验的材料包括病叶粗提液及提纯液,革兰氏染色结果均呈阳性反应,在光学显微镜(15×62)下能观察到圆形、螺旋形、短串珠形等粒体。在电子显微镜下也观察到和类菌原体相似的圆形、椭圆形或呈二均分裂的粒体,并能观察到螺旋形体和线状体,基本螺旋体更为常见(图2)。圆形体直径大小为83~700 nm,线状体长为3.0~4.5 μm,宽为100 nm。基本螺旋体大小为364~833 nm×82~119 nm。基本螺旋体一般具有2~4个弯曲,其顶端是削尖的,缢缩明显。在鉴别寄主紫茉莉枯斑叶中的螺原体,除一般形态外,并曾观察到其主体上伸出的几条分枝,最长的分枝长3.6 μm,最短的分枝长0.5 μm,分枝的宽为75 nm。在接种成功的柑桔病叶粗提液中,在电镜下也能观察到圆形、椭圆形和呈二均分裂的粒体,基本螺旋体的形态和从桑病叶汁液中观察到的相似。由此证明桑皱褶花叶病的病原物是属于螺原体属(*Spiroplasma*),并和柑桔僵化病病原螺原体(*Spiroplasma citri*)相似<sup>[3,4,6,8]</sup>。

### 2.5 药物治疗

用浓度250 mg/kg的四环素及土霉素分别在研磨时混和于病叶组织中<sup>[4,6]</sup>,经研磨出汁







- 4 Agrios G N. *Plant Pathology*. New York, Academic Press Inc., 1978. 517~534
- 5 Allen R M, Donndeliuger C R. Cultivation in vitro of spiroplasmas from six plant hosts and two leafhopper vectors in Arizona. *Plant Dis*, 1982, 66(8), 669~672
- 6 Cole R M, Tully J G. Morphology, ultrastructure and bacteriophage infection of the helical mycoplasma-like organism (*Spiroplasma citri* gen. nov., sp. nov.) cultured from "stubborn" disease of citrus. *J Bacteriol*, 1973, 115(1), 367~386
- 7 Fletcher J. Brittle root of horse-radish in Illinois and the distribution of *Spiroplasma citri* in the United States. *Phytopathology*, 1983, 73(2), 354~357
- 8 Garnier M, Clerc M, Bove J M. Growth and division of spiroplasmas, morphology of *S. citri* during growth in liquid medium. *J Bacteriol*, 1981, 147(2), 642~652
- 9 Liao C H, Chen T A. In vitro susceptibility and resistance of two spiroplasmas to antibiotics. *Phytopathology*, 1982, 71(4), 442~445

Zhang Yueji (Zhejiang Agricultural Univerlity, Hangzhou 310029, PRC),  
Hong Jian, Xu Zheng, Gao Gikang, and You Ruheng. **Studies on Mulberry Crinkle Mosaic Disease and Crinkle Spiroplasma.** *J Zhejiang For Coll*, 1994, 11(2): 171~176

**Abstract:** Mulberry mosaic disease was found to be caused by a spiroplasma and distributed in several places of Zhejiang. This disease could be transmitted directiy through grafting, insects, and could be inoculated by mechanical method on to some mulberry seedlings. The crinkle spiroplasma which showed positive reaction with gram-staining, and could be cultured in liquid medium and solid medium, was still living after one year. The morphology of crinkle spiroplasma for sizes was 364~833 nm×82~119 nm (elementaly helix), and 83~700 nm in diameter (spherical bodies), or 3.0~4.5 μm in length and 100 nm in width (mycilioid). The host range of crinkle spiroplasma was wide. Theraputic tests using oxytetracycline at 250~500 mg/kg spraying on to diseased mulberry plants resulted in effective control of the disease.

**Key words:** mulberries; spiroplasma disease; mosaic disease; oxytetracycline; culture in vitro