

水稻抗白叶枯病育种材料 的超微结构观察

王以秀 薛庆中 严菊强

(浙江农业大学农学系, 杭州)

自1884年发现水稻白叶枯病至今, 已有近百年历史, 并由亚洲传播到大洋洲、非洲和中南美洲等地区。在我国也几乎传播到所有水稻产区。由于发生地区广泛、为害严重, 所以世界各国对此病予以高度重视, 并进行了大量科学研究。实践证明选育抗病品种是防治水稻白叶枯病一个经济、省工、收效大的重要措施。

在抗病育种中, 必须对育种材料进行抗性鉴定。目前大多采用田间诱发和喷洒剪叶、针刺等各种人工接种方法, 然后根据病斑反应型对病情分级鉴定, 以评价品种或育种材料的抗病性。我们在水稻抗白叶枯病品系的筛选工作中, 也应用了这类常规鉴定技术, 并对抗病品系及其杂交亲本进行了电子显微镜的超微结构观察。

材料和方法

根据水稻对白叶枯病的抗性, 一般是由于病菌入侵后才引起的抗扩展的被动性免疫^[1]的原理, 我们采用了下述方法: 选用由浙江省农科院植保所提供的, 具有当地代表性的白叶枯病优势群菌系135, 浓度为6亿细菌/ml, 以剪叶法人工接种。接种材料是2个杂交亲本品种IR₂₆和农虎6号以及该杂交组合的后代经花培选育出的品系单209, 材料均种植于浙江农业大学实验农场。

接种后于第3天和第8天分别取样。将接过种的叶片切成1×2cm小长条, 用3%戊二醛(0.2mol/l二甲基砜酸钠缓冲液pH7.2配制)于4℃下固定, 再经锇酸后固定、脱水、包埋于EPON812环氧树脂。用Reichert-Jun厂生产的E型超薄切片机切片, 经醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色^[2], 日立H600型透射电镜观察照相。

结 果

亲本IR₂₆是国际公认的抗白叶枯病品种, 接种3天后, 叶片薄壁细胞内出现很多膜系结构的小囊泡(图1:1)。接种8天后, 细胞质中的膜系结构包围了白叶枯病菌体(图1:2)。与此同时, 还可以看见液泡内有同心圆双层膜囊包围了病原菌体(图1:3)。

杂交后代又经花培育种选育的单209水稻品系经白叶枯病菌接种3天, 可以见到细胞壁异常, 有成团的纤维状物质产生, 具有类似边缘体结构(图1:4)。接种8天后, 可以见到

寄主细胞内有大量电子致密的颗粒状物质包围了白叶枯病菌体（图1:5）。

高产但易感染白叶枯病的品种农虎6号，接种白叶枯病菌后，没有出现像抗病品种那样的超微结构变化。病原菌在寄主细胞内和相邻细胞间活跃地增殖（图1:6），并随着病程进展可以观察到寄主细胞本身结构逐渐降解。

讨 论

寄主与寄生物关系的建立似乎是一种很专化的过程。植物的抗病、感病反应是寄主植物受到病原菌侵染后相互作用的结果。不亲和时，寄主就能抵抗寄生物的侵袭。亲和时，病原菌立即呈对数增殖，超过一定数量就发病。

大多数植物病原微生物能够产生胞外酶，其中多糖降解酶，能够改变或降解高等植物细胞壁中许多聚合碳水化合物，使寄主细胞壁常常膨胀、变形或产生其他变化，图4就是单09被病菌侵染后的第三天，显示出细胞壁纤维状的类边缘体（lomosomelike）的结构。但

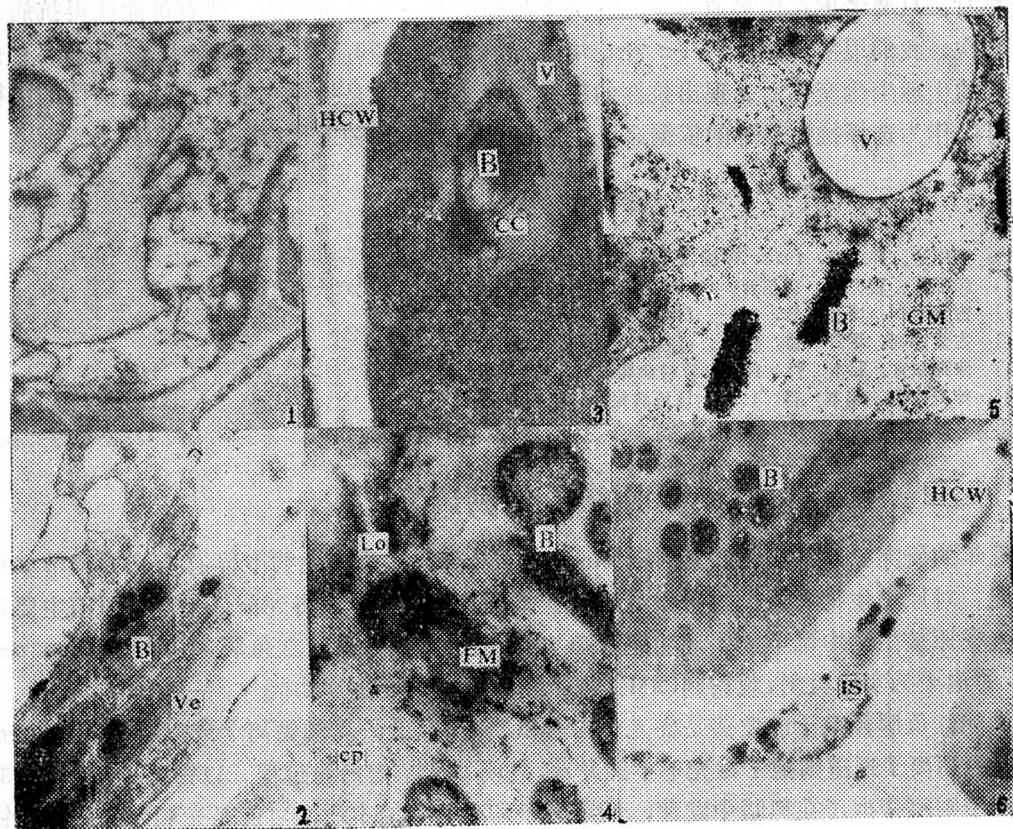


图1 水稻品种IR₂₆、农虎6号和育种材料单209的叶片感染*Xanthomonas campestris* Pv. *Oryza* 不同天数的透射电镜照片

B：细菌，CC：同心圆的膜，CP：细胞质，FM：纤维状物质，HCM：寄主细胞壁，GM：颗粒状物质，IS：细胞间隙，Lo：类边缘体结构，V：液泡，Ve：小泡。

1. IR₂₆侵染第三天示叶片薄壁细胞内出现很多小囊泡；2. IR₂₆叶片侵染第八天示薄壁细胞内小囊泡包围了白叶枯病菌；3. 侵染第八天的IR₂₆表皮细胞内液泡吞噬了同心圆双层膜囊包围的病原菌体；4. 单209品系侵染第三天寄主表皮细胞壁出现类边缘体结构和纤维状物质；5. 侵染第八天的单209薄壁细胞质内有大量电子致密的颗粒状物质包围了白叶枯病菌；6. 农虎6号感染第八天的叶片薄壁细胞内和细胞间隙中有大量增殖的病原菌。

是，在感染第8天，寄主细胞质中出现许多电子致密的颗粒，包围了病原菌（图5），抑制细菌的增殖和移动。这种寄主细胞对白叶枯病菌的抗性反应与日本学者的观察结果类似^[3,5]。此外，抗性品种IR₂₈在感染初期的细胞质中出现许多小囊泡（图1），随着病程进展，这些囊泡包围了病原菌，具有抑菌作用^[4,6]。

质膜在病程的起始阶段就可以发生超微结构变化，导致细胞膜生理功能失常。而液泡膜是与质膜性质不相同的，所以当质膜初始异常时，液泡膜仍然是完好的半透性膜，具有活跃的生理功能，如图3所示IR₂₈感染8天后的液泡，吞噬了同心圆膜囊包围的白叶枯病菌，准备进行液泡内消化降解。

感病品种农虎6号接种白叶枯病菌后，在亚显微结构上，没有出现像抗病品种那样的颗粒状和纤维状抑菌物质，所以病原菌的增殖和移动不受影响，从而使病斑迅速扩展而发病严重。

以上实验结果，首先说明抗病亲本是抗病育种基础，其抗病性是可以遗传的。当利用杂交优势时，只要考虑在优势前提下，在两个品种中有一个是抗病的，就有可能获得抗病的后代。其次，我们用常规杂交后代，经花培选育的水稻单209品系，在细胞水平上确实有抗白叶枯病的生理生化变化而表现出抗性的超微结构变化，这是抗性水稻对白叶枯病菌的防御反应，可以作为选择抗病品种的依据之一。这对水稻抗病育种工作有一定的实践意义。

参 考 文 献

- [1] 方中达、许志纲，1978，中国农业科学，(2)，73—77。
- [2] 朱丽霞、程乃乾、高信曾，1983，生物学中的电子显微镜技术。北京大学出版，18—64。
- [3] 古贺博则、堀野 修，1983，日植病報，49：322—330。
- [4] 古贺博则、堀野 修，1984，日植病報，50：353—360。
- [5] 津野和宣、脇本 哲，1983，日植病報，49：410（講要）。
- [6] 津野和宣、脇本 哲，1983，日植病報，49：659—669。