

[文章编号]1000-2782(2000)03-0022-05

# 小麦条锈菌侵染高温抗病品种 组织病理学研究

S435.121.4

王利国<sup>1</sup>, 商鸿生<sup>3</sup>, 陆和平<sup>2</sup>, 井金学<sup>2</sup>

(1 新疆农业科学院 植保所, 乌鲁木齐 830000;

2 西北农林科技大学 植保系, 陕西 杨陵 712100)

**[摘要]** 条锈菌(*Puccinia striiformis* W.)侵染高温抗病品种后,抗性表达后与表达前比较,条锈菌产孢量显著减少,产孢期缩短,但孢子萌发率不受表达前后限制。组织病理学观察发现,高温抗性表达前,寄主内菌落面积大且增长快,吸器母细胞数目多,后期可产生少量寄主坏死细胞,但不足以抑制菌丝的扩展;高温抗性表达后,接种后 48 h 即产生典型的寄主细胞坏死,后期寄主坏死细胞连片,菌落扩展明显受抑,菌落稀且面积小。

**[关键词]** 小麦条锈菌;高温抗病品种;组织病理学

**[中图分类号]** S435.121.4+2 **[文献标识码]** A

小麦条锈病(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* West)是我国重点监测和防治的小麦病害。防治小麦条锈病主要靠使用抗病品种,但是,由于条锈菌生理小种变异频繁,常使抗病品种丧失抗病性,造成条锈病流行<sup>[1]</sup>。多年来,人们设法寻找既具有低反应型又不具有小种专化性的抗病类型,高温抗病性就具有这样的特点。所谓高温抗病性是指在较高温度下表达的抗病性。在美国小麦条锈病主要流行区——西北部诸州,利用高温抗病品种曾成功地控制条锈病 25 年之久<sup>[2]</sup>。Line<sup>[3~5]</sup>曾研究了小麦品种的高温抗病性,认为小麦对条锈病的高温抗病性具有巨大的应用价值。在国内,曾从陕西农家品种和改良品种中筛选出一批高温抗病品种,并对其表达特性进行了研究<sup>[6~8]</sup>。在此基础上,本课题组进一步研究了小麦条锈菌在高温抗性表达后,其产孢量、产孢期、孢子萌发率以及寄主内菌落面积和吸器母细胞数量的变化。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试菌种为条中 29 号,所用菌种在感病品种上隔离繁殖。将收集的新鲜夏孢子置于干燥器和冰箱中存放备用。

供试品种为小偃 6 号、77-69、宛原 18-36 和辉县红。试验设常温(14 ℃)和高温(21 ℃)2 个温度梯度。

**[收稿日期]** 1999-04-12

**[基金项目]** 国家“九五”攻关资助项目(96-05-01-02)

**[作者简介]** 王利国(1966-),男,助理研究员,硕士。

## 1.2 试验方法

1.2.1 产孢量测定 不同处理发病面积相同的第1叶,从第1个夏孢子堆开裂开始,每天收集散裂的孢子粉,直到最后1个夏孢子堆死亡为止。收集完毕后,用感量为十万分之一的天平称取各处理夏孢子的质量。用夏孢子的质量除发病面积,计为单位叶面积的产孢量。每处理测3~5片发病叶,取平均值。

1.2.2 产孢期测定 供试品种接种保湿后,从显花斑开始,逐日观察夏孢子产生和开裂情况。从第1个孢子堆开裂开始到最后1个死亡,记为产孢期。每处理统计10片叶,取平均值。

1.2.3 孢子萌发率测定 将不同处理产生的孢子在水化钵内水化12h,然后配成孢子悬浮液均匀涂抹在感病品种辉县红上。喷水后在温度为9℃的保湿桶中保湿24h,保湿完毕镜检孢子萌发情况。凡芽管长度长于孢子长径者计为萌发,每品种检查100个孢子。

## 1.3 组织病理学研究

供试品种为小偃6号。试验设高温和常温2个温度梯度,共4个处理:①接种植株在常温下培育;②接种植株在高温下培育;③接种植株在常温下培育到显花斑后转入高温下培育;④接种植株在常温下培育到产孢后转入高温下培育。处理①②分别于接种后48,72,96h取样。处理③④分别于转入高温前、转入高温后24,48,72和96h取样。每次各品种取样量为10片叶。然后,将叶片两端各切去1~2cm,剩余部分切成2cm的楔形叶段,进行染色处理。染色处理用改进的Rohringer<sup>[9]</sup>和Kuck<sup>[10]</sup>整叶透明荧光染色法。染色剂为Calcofluor M2R White New,由加拿大温尼泊农业试验站提供。将制成的片子在荧光显微镜下镜检。观察用Y475屏障滤光片,激发滤光片为U激发,隔热滤光片为BG38。健康寄主细胞自体荧光呈淡绿色,侵染引致的寄主细胞坏死为黄色自体荧光,菌落经Calcofluor 荧光染料处理产生蓝色二次荧光。每处理测30个单个夏孢子侵入点。测定指标包括条锈菌孢子的附着胞形成率和侵入率;寄主细胞坏死情况;菌落线形长度;吸器母细胞数目。

## 2 结果与分析

### 2.1 对条锈菌孢子产生和萌发的影响

2.1.1 产孢量的影响 高温抗病性对产孢量有重要影响。小偃6号、77-69和宛原18-36接种条中29号小种后在不同处理下培育,发病第1叶单位叶面积产孢量有显著差异。处理①④3个品种平均的产孢量是处理②③的4.3倍。其中,小偃6号差异最显著,常温下为高温下的5.81倍(表1)。

表1 小麦品种接种条中29号小种后的产孢量

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$

品 种	常温	产孢期转高温	花斑期转高温	高温
小偃6号	509.55	414.01	95.54	63.69
77-69	477.71	350.32	63.69	159.24
宛原18-36	350.32	286.62	127.39	63.69
辉县红(CK)	764.33	605.10	605.10	541.40

2.1.2 产孢期的影响 常温下3个品种的产孢期约为高温下的1.42倍,其中小偃6号

为 1.42 倍;77-69 为 1.44 倍;宛原 18-36 为 1.40 倍(表 2)。

表 2 小麦品种接种条中 29 号小种后的产孢期

d

品 种	常温	产孢期转高温	花斑期转高温	高温
小偃 6 号	23.5	21.0	15.9	15.4
77-69	25.0	23.5	16.7	17.0
宛原 18-36	19.4	19.8	15.0	13.2
辉县红(CK)	27.5	25.5	28.0	29.6

2.1.3 孢子萌发率的影响 高温抗病性对夏孢子的萌发没有影响。小偃 6 号、77-69 和宛原 18-36 在不同条件下产生的夏孢子,其萌发率在统计上没有显著差异。与感病对照辉县红比较,萌发率基本相同(表 3)。

表 3 小麦品种接种条中 29 号小种后孢子的萌发率

%

品 种	常温	产孢期转高温	花斑期转高温	高温
小偃 6 号	37.0	32.5	36.0	37.5
77-69	37.5	39.0	42.5	36.5
宛原 18-36	35.0	38.5	37.5	37.0
辉县红(CK)	35.0	34.0	36.5	44.5

## 2.2 组织病理学特性

高温抗病性不影响条锈菌附着胞的形成和侵入。接种后 48 h,小偃 6 号在常温和高温下已萌发孢子的附着胞形成率和侵入率虽略有差异,但在统计上差异不显著。附着胞形成率平均为 11.8%,侵入率为 8.9%,形成附着胞的大部分孢子都可以侵入气孔,形成气孔下囊。

高温抗病性表达前与表达后比较,寄主细胞坏死情况完全不同。小偃 6 号在高温下,接种后 48 h 即产生细胞坏死,且随时间推移坏死细胞数目不断增多;到接种后 96 h,产生坏死细胞的侵染点达 100%,每侵染点坏死细胞数目平均为 2.35 个。坏死细胞抑制了菌落的扩展,菌落小且稀疏,但仍有少量菌丝越过坏死细胞生长。在高温下,接种 96 h 后每侵染点吸器母细胞平均数目 6.2 个。在常温下,小偃 6 号在接种 96 h 后才产生极少量的细胞坏死,不足以抑制菌丝的扩展。菌落面积大,吸器母细胞数目多(表 4)。

表 4 小偃 6 号苗期接种条中 29 号小种后的组织病理学表现

处理	反应型	接种后时间/h	寄主坏死细胞平均数/个	含寄主坏死细胞侵染点频率/%	菌落线形平均长/ $\mu\text{m}$	吸器母细胞平均数目/个
常温	3~4	48	0	0	14.62	2.67
		72	0	0	32.71	6.14
		96	0.07	7	92.45	17.19
高温	1~2	48	0.23	23	14.35	2.43
		72	1.74	92	25.44	4.13
		96	2.35	100	42.66	6.20

注:反应型中 3~4 代表感病反应;1~2 代表抗病反应,下表同。

显花斑后转入高温与转入前比较,转入后 24 h 小偃 6 号坏死细胞数目显著增多,到 96 h 每侵染点坏死细胞平均数目达 6.23 个,部分坏死细胞连片。到后期,菌落扩展受抑,

面积比常温下的小,吸器母细胞数目也明显减少。显花斑后一直放在常温下的,虽然也存在少量坏死细胞,但菌落面积大,吸器母细胞数目也多(表5)。

表5 小偃6号苗期接种条中29号小种显花斑后的组织病理学表现

温度	反应型	显花斑后 时间/h	寄主坏死细 胞平均数/个	含寄主坏死细胞 侵染点频率/%	菌落线性 平均长/ $\mu\text{m}$	吸器母细胞 平均数目/个
常温	3~4	0	0.13	7	291.32	42.14
		24	0.20	10	320.09	46.30
		48	0.27	10	398.45	57.64
		72	0.33	13	692.62	100.19
		96	0.40	17		15.96
显花斑后 转入高温	3~4	24	0.33	30	322.15	46.60
		48	2.47	98	354.64	51.30
		72	4.96	100	421.77	61.01
		96	6.23	100	430.00	62.49

### 3 结论与讨论

高温抗病性对条锈菌孢子的侵入有重要影响。高温抗性表达后,产孢量显著减少,产孢期缩短,但对条锈菌孢子的萌发率没有影响。高温抗性表达前与表达后比较,组织病理学特征明显不同。高温抗病性表达后,侵染点迅速产生典型的寄主细胞坏死。在常温培育到显花斑后转入高温24h后,寄主坏死细胞数目增多,吸器母细胞数目减少。以后,寄主坏死细胞连片,菌落扩展明显受抑,菌落面积亦小,表明这种抗病性仍属于过敏性坏死反应。

Sharp<sup>[11,12]</sup>认为条锈菌孢子在7~15℃时,能很好地形成附着胞,且附着胞形成最适温度与侵入最适温度要求不同。本试验结果表明,在相同温度下形成附着胞的夏孢子大部分可以侵入气孔形成气孔下泡囊。条锈菌侵入气孔后,接种48h后即产生典型的寄主细胞坏死,随后坏死细胞数目不断增多。试验结果表明,小麦高温抗条锈品种的组织病理学特征相当于Rohringer<sup>[13]</sup>描述的“寄主细胞过敏性坏死”类型。

#### [参考文献]

- [1] 李振岐. 我国小麦品种抗条锈性丧失原因及其解决途径[J]. 中国农业科学, 1980, (3): 72-77.
- [2] Line R F. The effect of environment on durable resistance to stripe rust in F<sub>7</sub> population of winter wheat[J]. Phytopath, 1988, 78: 1546.
- [3] Line R F. High-temperature, adult-plant resistance to stripe rust of wheat[J]. Phytopath, 1985, 75: 1121-1125.
- [4] Line R F. Gene action for inheritance of durable, high-temperature, adult-plant resistance to stripe rust in wheat[J]. Phytopath, 1986, 76: 435-441.
- [5] Line R F. Number of genes controlling high-temperature, adult-plant resistance to stripe rust in wheat[J]. Phytopath, 1986, 76: 93-96.
- [6] 王利国, 商鸿生, 井金学. 高温抗条锈性小麦品种的筛选和鉴定[J]. 西北农业学报, 1995, 4(1): 35-38.
- [7] 商鸿生, 王利国, 井金学. 小麦高温抗条锈性的表达特性研究[J]. 植物保护学报, 1997, 24(2): 1-5.
- [8] 商鸿生, 马青. 陕甘小麦品种及抗源的高温抗条锈性研究[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(1): 101-104.
- [9] Rohringer R. Calcofluor: An optical brightener for fluorescence microscope of fungal plant parasites in leaves[J].

- Phytopath. 1977, 67: 808—810.
- [10] Kuck K H. Visualization of rust haustoria in wheat leaves by using fluoro-bromes[J]. Physiol Plant Path. 1981, 19: 439—441.
- [11] Sharp E L. Prepenetration and postpenetration environment and development of *Puccinia striiformis* on wheat [J]. Phytopath. 1965, 55: 198—203.
- [12] Sharp E L. Influence of temperature and light on the infection process of *Puccinia graminis* var. *tritici* [J]. Phytopath. 1957, 47: 31.
- [13] Rohringer R. Histology and molecular biology of host-parasite specificity[J]. Cereal Rust Chapter. 1984, 7: 193—229.

## Studies on the histopathological features of high-temperature resistance cultivars of wheat infected with *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* West

WANG Li-guo<sup>1</sup>, SHANG Hong-sheng<sup>2</sup>, LU He-ping<sup>2</sup>, JING Jin-xue<sup>2</sup>

(1 Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830000, China;

2 Department of Plant Protection, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** After showing high-temperature resistance in moderate temperature in wheat, the quantities of spores of *Puccinia striiformis* W. declined markedly in inoculated leaves, and the duration of sporulation shortened. But the high-temperature didn't depress the germinations of the spores of *Puccinia striiformis* W. The research results of the histopathology found that necroses of host cells occurred soon after forming the first haustoria mother cells, the linear lengths of colonies were very small and the haustoria mother cells decreased strongly. These features are similar to the "hypersensitive necrosis type".

**Key words:** *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* West; high-temperature resistance variety; histopathology