

三种麦类作物对叶(冠)锈菌非寄主抗病性与品种抗病性的组织病理学研究

商鸿生

金元谦

D. J. Samborski

(西北农业大学植保系)

(加拿大农业部温尼伯研究所)

摘 要 比较研究了小麦、黑麦和燕麦对小麦叶锈菌、黑麦叶锈菌和燕麦冠锈菌的非寄主抗病性与品种抗病性的组织病理学特点。接种幼苗的荧光显微检查表明,非寄主抗病性除不同程度地中断侵入外,主要抑制侵染菌丝生长和吸器母细胞的形成,引起菌落早期败育和叶肉细胞坏死。这些特点与品种抗病性的过敏性坏死反应相同。这种类型的抗病性具有小种专化性,因而即使用遗传操作技术将这种非寄主抗病性转移到寄主品种中,也可能因病菌小种的变异而不会持久。

关键词 植物非寄主抗病性,小麦叶锈菌,黑麦叶锈菌,燕麦冠锈菌,组织病理学

植物病原物寄主范围以外的植物属、种对该种病原物的抗病性,被称为非寄主抗病性,以与寄主的品种抗病性相区别。许多研究者认为非寄主抗病性高效而稳定,具有很大的潜在应用价值。随着染色体操作技术和基因操作技术的发展,已经使非寄主抗病性的开发利用成为可能。在麦类作物抗锈育种中,业已由近缘野生种转移抗病基因。为合理利用非寄主抗病性,必须对其性质和特点进行深入的研究。为此,作者在1983~1984年以小麦、黑麦和燕麦以及3种叶(冠)锈菌为试材,比较了非寄主抗病性与品种抗病性的组织病理学特征。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为预备试验选用的3种作物抗锈反应稳定而明确的品种(系):小麦为Lrl单基因系(Lrl-Thatcher),Lrll单基因系(Lrll-Thatcher)和Thatcher;燕麦为PC 38, PC 68, Fidler和Victoria;黑麦为UM 8336和Rosen。

参试菌有小麦叶锈菌(*Puccinia recondita* f.sp.*tritici*) CR1小种,黑麦叶锈菌(*P. recondita* f.sp.*secalis*) 78-213菌株和燕麦冠锈菌(*P. coronata*) CRB小种。各参试菌皆用单孢菌系。

1.2 接种和培育

盆栽幼苗第1叶片展平后取参试菌新鲜夏孢子,用Skipp和Samborski(1974)的方法进行饱和接种^[1]。接种苗保湿24 h,然后移至18~22℃的温室中培育,每天人工补充光照4 h。

文稿收到日期:1989-10-21。

1.3 取样和荧光显微检查

在接种后12, 24, 48, 72, 96和120h分别取样, 每次每品种-小种组合各取3个接种叶片。将样本叶片两端各切去2 cm, 剩余部分切成1 cm长的叶段, 按 Rohringer 等 (1977) 提出的荧光染色方法^[2] (染色剂为 Calcoflour) 处理后制片, 用 Olympus 荧光显微镜检查。每个样本观察500个夏孢子, 检查其萌发和侵入状况。病菌侵入后, 每样本观察100个侵染点, 观察组织病理学变化并计测侵染菌丝、吸器母细胞、坏死叶肉细胞和坏死气孔保卫细胞等项目的尺度或数量。侵染菌丝测定线性长度, 即由气孔下囊至最长侵染菌丝尖端之间的直线距离, 菌落长径亦即其两端伸长最远的菌丝尖端之间的直线距离。另外, 为方便起见, 尚用气孔长径为标准衡量侵染菌丝的长度。

接种后第14 d记载各品种的反应型。

2 结果和分析

2.1 侵入

接种后12~24 h内, 供试3种锈菌的夏孢子在寄主和非寄主植物叶面上均可正常萌发, 芽管多沿与叶脉垂直方向伸长, 趋向气孔, 在气孔上方形成附着胞。附着胞产生侵入丝穿过气孔保卫细胞间隙, 侵入气孔腔并形成膨大的气孔下囊。由气孔下囊产生1~2根初生侵染菌丝, 向叶肉细胞扩展。同一种锈菌接种非寄主和寄主诸品种后, 夏孢子萌发率和附着胞形成率无显著差异。附着胞不能产生侵入丝和气孔下囊, 或者气孔下囊停止分化均可使侵入中断。各锈菌-品种组合都发生侵入中断现象, 但非寄主比寄主品种侵入中断率略高。接种小麦叶锈菌后, 非寄主上侵入中断率比寄主品种高1%~19%, 接种黑麦叶锈菌后高4%~14%, 接种燕麦冠锈菌后高3%~6%, 其中以 Victoria 燕麦接种小麦叶锈菌后侵入中断率最高, 达28%。

2.2 菌落早期败育

接种后24~48 h内, 在小麦免疫品种 Lr 1 单基因系的侵染点内, 小麦叶锈菌的初生侵染菌丝伸长受阻, 多数仅生0~1个分枝, 长度短于气孔长径, 91.1%的侵染点只生1~2个吸器母细胞, 最多也不超过5个。这种侵染菌丝生长受抑, 只产生少数分枝和吸器母细胞, 从而停止发展的现象, 是菌落早期败育的特点。小麦中抗品系 Lr 11 单基因系侵染菌丝仍明显受到抑制, 有24.2%短于气孔长径, 其余的侵染菌丝虽稍长, 但在产生多个吸器母细胞后停止发展。感病小麦品种 Thatcher 侵染菌丝持续生长, 繁复分枝, 产生大量吸器母细胞, 形成正常菌落。在非寄主 Victoria 燕麦和 UM 8336 黑麦中, 侵染菌丝发育和吸器母细胞形成均严重受抑, 菌落早期败育与 Lr 1 单基因小麦相同。Rosen 黑麦菌落发展特点与 Lr 11 单基因小麦相似 (表1)。

黑麦叶锈菌侵入非寄主 Thatcher 小麦和 Victoria 燕麦后, 侵染菌丝发育受阻, 吸器母细胞数目锐减, 菌落早期败育, 与小麦叶锈菌的情况相似 (表2)。

燕麦冠锈菌接种后48~72 h内, 在免疫燕麦品种 PC 38 和 PC 68 中, 侵染菌丝停止发育, 吸器母细胞不再增加, 菌落早期败育; 而在感病品种 Fidler 中, 侵染菌丝持续生长, 繁复分枝, 形成正常菌落。在非寄主 Thatcher 小麦和 Roten 黑麦中, 侵染菌丝的活动特点与在免疫燕麦品种中相同, 菌落早期败育 (表3)。

表1 接种小麦叶锈菌72h后侵染点特征

植物名称	反应型	侵染点总数	产生侵染菌丝	侵染菌丝短于气孔	产生吸器母细胞	吸器母细胞多于10个	产生叶肉细胞坏死	坏死叶肉细胞平均数
小麦								
Lr 1单基因系	0~0 ₁	100	90	90	90	0	86	1.5
Lr 11单基因系	2	100	91	22	91	78	55	9.0
Thatcher	4	100	91	0	91	91	0	0
黑麦								
UM 8336	0~0 ₁	100	88	86	82	3	76	1.7
Rosen	1	100	89	30	89	69	41	8.4
燕麦								
Victoria	0~0 ₁	100	72	72	72	0	72	1.5

表2 接种黑麦叶锈菌72h后侵染点特征

植物名称	反应型	侵染点总数	产生侵染菌丝	侵染菌丝短于气孔	产生吸器母细胞	吸器母细胞多于10个	产生叶肉细胞坏死
黑麦 Rosen	4	100	100	14	100	0	0
小麦 Thatcher	0~0 ₁	100	86	82	84	0	76
燕麦 Victoria	0~0 ₁	100	96	76	96	12	51

表3 接种燕麦冠锈菌72h后侵染点特征

植物名称	反应型	侵染点总数	产生侵染菌丝	侵染菌丝短于气孔	产生吸器母细胞	吸器母细胞多于10个	产生叶肉细胞坏死	坏死叶肉细胞平均数
燕麦								
PC38	0	100	95	14	95	37	82	2.9
PC68	0~0 ₁	100	94	64	94	1	87	2.7
Fidler	3	100	96	0	96	96	0	0
小麦								
Thatcher	0~0 ₁	100	90	42	90	14	68	2.2
黑麦								
Rosen	0~0 ₁	100	91	29	90	45	82	3.3

但是, 即使在早期败育菌落中, 燕麦冠锈菌侵染菌丝的扩展范围明显大于小麦和黑麦叶锈菌。初生侵染菌丝短于气孔长径, 即停止生长的侵染点最低占观测侵染点总数的14.7%, 最高也不过68.1%, 亦即有31.9%~85.2%的侵染点初生菌丝及其贫弱的分枝可伸长到气孔长径的1.9~3.4倍。在Rosen黑麦中, 侵染菌丝最大长度可达241.3 μm , 菌落长径达432.8 μm (表4)。燕麦冠锈菌的这种扩展特点不因寄主或非寄主的影响而改变。

表4 接种燕麦冠锈菌72h后侵染菌丝与菌落的线性长度

植物名称	反应型	侵染菌丝最大长度(μm)	菌落长径(μm)
燕麦			
PC38	0 ₁	134.0	261.3
PC68	0~0 ₁	193.8	403.8
Fidler	3	350.7	587.5
小麦			
Thatcher	0~0 ₁	185.7	368.2
黑麦			
Rosen	0~0 ₁	241.3	432.8

注: 表中数字系30个侵染点的平均值。

2.3 叶肉细胞坏死

用 Calcofluor 染色处理后,麦类坏死叶片细胞发出特异性的黄色自体荧光,可以精确地计数。

免疫品种 Lr 1单基因系接种小麦叶锈菌后24h内,产生第1个吸器母细胞,与其接触的叶肉细胞坏死,菌丝生长受抑。该品种出现叶肉细胞坏死的侵染点高达95.6%,平均每个侵染点有1.5个坏死细胞。中抗品种 Lr 11单基因系产生坏死细胞的侵染点数降低到60.4%,但因菌落停止扩展较晚,菌落较大,单个侵染点平均有9个坏死叶肉细胞。高感小麦品种 Thatcher 无叶肉细胞坏死现象。小麦叶锈菌侵入非寄主 Victoria 燕麦后,出现叶肉细胞坏死的侵染点达100%,平均每个侵染点有1.5个坏死细胞。黑麦 UM 8336 被小麦叶锈菌侵染后,86.4%的侵染点有叶肉细胞坏死,平均每个侵染点坏死细胞数为1.7个。Rosen 黑麦的细胞坏死特点与中等抗病的小麦 Lr 11单基因系相似(表1)。

黑麦叶锈菌侵入非寄主 Thatcher 小麦和 Victoria 燕麦后,均普遍发生叶肉细胞坏死现象(表2)。

燕麦冠锈菌侵入燕麦免疫品种 PC 38和PC 68及非寄主 Thatcher 小麦、Rosen 黑麦后,有75.5%~90.1%的有效侵染点出现叶肉细胞坏死,但与小麦叶锈菌的情况不同,其单个侵染点平均坏死细胞数目多达2.19~3.38个。Rosen 黑麦具5个以上坏死细胞的侵染点数更高达28.0%(表3)。进一步的观察表明:冠锈菌的初生侵染菌丝受到坏死细胞阻隔后,多在吸器母细胞后侧产生分枝,形成次生侵染菌丝继续生长,产生次生吸器母细胞和新的坏死叶肉细胞,侵染菌丝以此种方式继续生长,产生多个坏死叶肉细胞后方完全受到抑制。

2.4 气孔保卫细胞坏死

供试各种非寄主受到锈菌侵染后尚发生强烈的气孔保卫细胞坏死现象。例如,被小麦叶锈菌侵染后,Victoria 燕麦保卫细胞坏死率达84.7%,黑麦 UM 8336达29.5%。被燕麦冠锈菌侵染后,Thatcher 小麦保卫细胞坏死率为100%,Rosen 黑麦为79.1%。被黑麦叶锈菌侵染后,Victoria 燕麦保卫细胞有72.9%坏死,Thatcher 小麦有47.7%坏死。此种现象尚未见诸报道,亦不明了其病理学意义。

2.5 症状表现

供试各品种的反应型详见表1~3。

非寄主中小麦和燕麦不表现症状或仅出现少数肉眼依稀可辨的微小花斑。黑麦被小麦叶锈菌 CR 1小种侵染后 UM 8336 免疫,但 Rosen 高度抗病。

总之,上述结果表明供试材料的非寄主抗病性主要表现出叶肉细胞坏死和菌落早期败育,从而与品种抗病性的过敏性坏死反应相同。麦类非寄主抗锈性与品种抗锈性可能有相同的机制。

3 讨论

非寄主抗病性是自然界广泛存在、而又尚待发掘应用的一类抗病性,对其性质和机制的研究还很不充分。一般认为,非寄主抗病性主要是由植物多种既存物理和化学因子

所确定,而在病菌侵入前表达的。但是,本试验中供试小麦、黑麦和燕麦对相应叶(冠)锈菌的非寄主抗病性主要表现为一种主动保卫反应——过敏性坏死反应。关于麦类作物非寄主抗病性的这一特点,前人已有所论述。例如,Tani (1978)的研究表明,胜冠一号燕麦对非禾本科锈菌的非寄主抗性虽然是由叶表结构缺乏特异亲和性引起的,但对多种禾本科锈菌的非寄主抗性却主要是侵染所诱发的^[3]。Niks (1982)也发现大麦和小麦对相应叶锈菌的非寄主抗性可以表现为抗侵染的主动保卫反应^[4]。本研究的结果为这些论点增添了新的证据,进一步揭示出麦类作物的非寄主抗锈性与低反应型品种抗锈性可能有共同的机制。

尽管不能排除麦类作物的非寄主抗锈性和品种抗锈性都可以具有多种抗病因素,但过敏性坏死反应无疑是最易于鉴定、筛选和利用的。现有抗锈品种绝大多数是过敏性坏死反应类型的,虽然抗锈效能高,但易因锈菌小种变异而“丧失”抗性。今后即使用远缘杂交和多种遗传工程方法将这一类型的非寄主抗性转移到寄主植物中去,那么所育成的新抗锈品种也不可能是稳定而持久的。这是利用遗传工程操作技术抗病育种时所必须认真对待的一个严重问题。

惊悉著名植物生理病理学家、遗传学家、杰出的锈病工作者 D J Samborski 先生病逝,仅以此文表达第一作者的深切哀悼和怀念。

参 考 文 献

- 1 Skipp R A, D J Samborski. The effect of the Sr6 gene for host resistance on histological events during the development of stem rust resistance in near-isogenic wheat lines. *Can J Bot*, 1974, 52: 1107~1115
- 2 Rohringer R, Kim W K, Samborski D J *et al.* Calcofluor, an optical brightener for fluorescence microscopy of fungal plant parasites in leaves. *phytopathology*, 1977, 67: 808~810
- 3 Tani T, Yamamoto H, Ohasa Y *et al.* Non-host response of oat leaves against rust infection. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1978, 44: 325~333
- 4 Niks R E. Comparative histology of partial resistance and the nonhost reaction to leaf rust pathogens in barley and wheat seedlings. *Phytopathology*, 1983, 73(1): 60~63

A Histopathological Study on Non-host and Cultivar Resistance of Wheat, Rye and Oat to Leaf and Crown Rusts

Shang Hongsheng

(Northwestern Agricultural University)

W.K.Kim

D.J.Samborski

(Agriculture Canada Research Station, Winnipeg)

Abstract Non-host and cultivar resistance of wheat, rye and oat was compared following inoculation of primary leaves with *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *P. recondita* f. sp. *secalis* and *P. coronata*. Histopathological examination by fluorescence microscopy indicated that the key features of non-host resistance were the early cessation of fungal growth, strong inhibition of haustorial mother cell formation, mesophyll cell necrosis and the early abortion of rust colony, although infection did not continue beyond the formation of appressorium or substomatal vesicle in a small number of infection sites of non-host. It was concluded that the histopathological characteristics of the examined non-host resistance were similar to hypersensitive response to resistant cultivar. This type of resistance was race-specific and it may not be durable when virulent structure of rust population changed.

Key words: non-host resistance of plant, *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *P. recondita* f.sp. *secalis*, *P. coronata*, histopathology