维普资讯 http://www.cqvip.com

67-72

第20卷 第2期 西北农业大学学报 Vol 20 No.2
1992年5月 Acta Univ. Agric. Boreali－occidentalis May 1992

玉米矮花叶病毒源鉴定和受侵叶片的超微结构*

安德荣 魏宁生[1] 慕小倩[2] 项 喻[1] 马远莉[3]

(1 西北农业大学植保系，2 西北农业大学基础部，陕西杨陵·712100)

(3 陕西省农科院电镜室，陕西杨陵·712100)

摘 要 利用生物接种、血清学反应和电子显微镜观察等方法，对大田发生的玉米矮花叶病毒源进行了鉴定。利用超薄切片系统研究了玉米受MDMV侵染后超微结构的变化。在细胞质中观察到风轮状、卷叶状、束状、圆柱状内含体和简单的囊泡到高度卷曲的膜系统。受侵细胞产生两种不同类型的胞间连丝，a型为正常胞间连丝，b型的胞间连丝伸出指状突起，这可能是细胞限制病毒在寄主体内运转的一种结构，壁旁体的出现与寄主细胞壁加厚及封闭胞间连丝有关。

关键词 玉米，花叶病，病毒血清学反应，胞间连丝，超微结构，植物病毒

中图分类号 S432.41，S432.23，S435.131.4

1962年Williams等[1]在田间发现了玉米矮花叶病，于1965年首次报道了玉米上的这种新病毒，并定名为玉米矮花叶病毒(MDMV)。至70年代该病已蔓延成为世界范围内的主要病害。1980年，甘肃农科院朱福成等[2]在国内对玉米矮花叶病的鉴定，危害及其防治作了首次报道。本文在对杨陵区玉米矮花叶病毒源进行鉴定的基础上，系统研究了玉米受侵叶片超微结构的变化，为搞清寄主—病毒之间的相互关系及研究寄主的抗病性机制提供参考依据。

1 材料与方法

生物接种 将鉴别寄主玉米(陕单七号)和高粱(熊岳191)分别播入口径8～10 cm的花盆内，每盆3株，置防虫温室中培育，出苗后15 d左右开始接种。介体蚜虫为保持在普通烟上的无毒桃蚜。采集杨陵区田间发病的新鲜病叶，剪碎后，在研钵中加少量磷酸盐缓冲液(0.05 mol／L PBS，pH7.0)和金钢砂充分研磨，用手蘸取病叶液摩擦接种在鉴别寄主上，与此同时，用无毒桃蚜(*Myzus persicae*)在新鲜病叶上饲毒10 min后，转移到玉米和高粱上，每株接蚜虫10头，传毒饲育10 min后，先用毛笔挑出蚜虫，随后喷杀灭菊酯进一步灭蚜。将用两种方法接种后的植株都放在20～25℃的防虫温室中培养。

血清学测定 为了进一步鉴定该病原，用田间和温室中的病汁液分别和4种抗血清进行琼脂双扩散试验(1%的琼脂糖溶解于PBS缓冲液中)。这4种抗血清为玉米矮花叶

文稿收到日期，1991-04-27

* 国家自然科学基金资助项目

维普资讯 http://www.cqvip.com

病毒(MDMV)、甘蔗花叶病毒(SCMV)、高粱红条纹病毒(SRSV)和大麦黄矮病毒(BRDV)抗血清，均由德国农林生物研究中心病毒所W. Huth博士提供。

电镜观察 用直接制片法将病汁液滴在铺有Formar膜的铜网上，吸附5 min后，以双重蒸馏水冲洗10滴，用滤纸吸干，再加2%的磷钨酸钾(PTA)负染4 min，吸去多余液体，干燥后立即在JEM-100 C×Ⅱ型电镜下透射观察。

超微结构观察 因为MDMV只出现在薄壁组织细胞中，所以将不同时期的病叶去掉粗叶脉后，采用常规方法固定、脱水、浸透、包埋、切片，用醋酸双氧铀和柠檬酸铅将切片双重染色后，置JEM-100 C×Ⅱ型电镜下观察并照相。

2 结 果

2.1 MDMV的鉴定

将病叶通过汁液摩擦接种和蚜虫非持久性接种后，在玉米上表现为斑驳和褪绿条纹，在高粱上表现为红色条斑，蚜虫可进行非持久性传毒，这些特性都初步表明所测毒源为MDMV。用田间和温室的病汁液分别与MDMV、SCMV、SRSV、BYDV的抗血清进行琼脂双扩散试验表明，该毒源仅和MDMV抗血清有明显的融合沉淀线，进一步确定所测毒源为MDMV。病汁液在电镜下可观察到弯曲线状的病毒颗粒，大小约700 nm×14 nm(图Ⅰ-1)。综上所述，田间所采毒源为MDMV，属马铃薯Y病毒组成员。

2.2 受侵细胞的超微结构变化

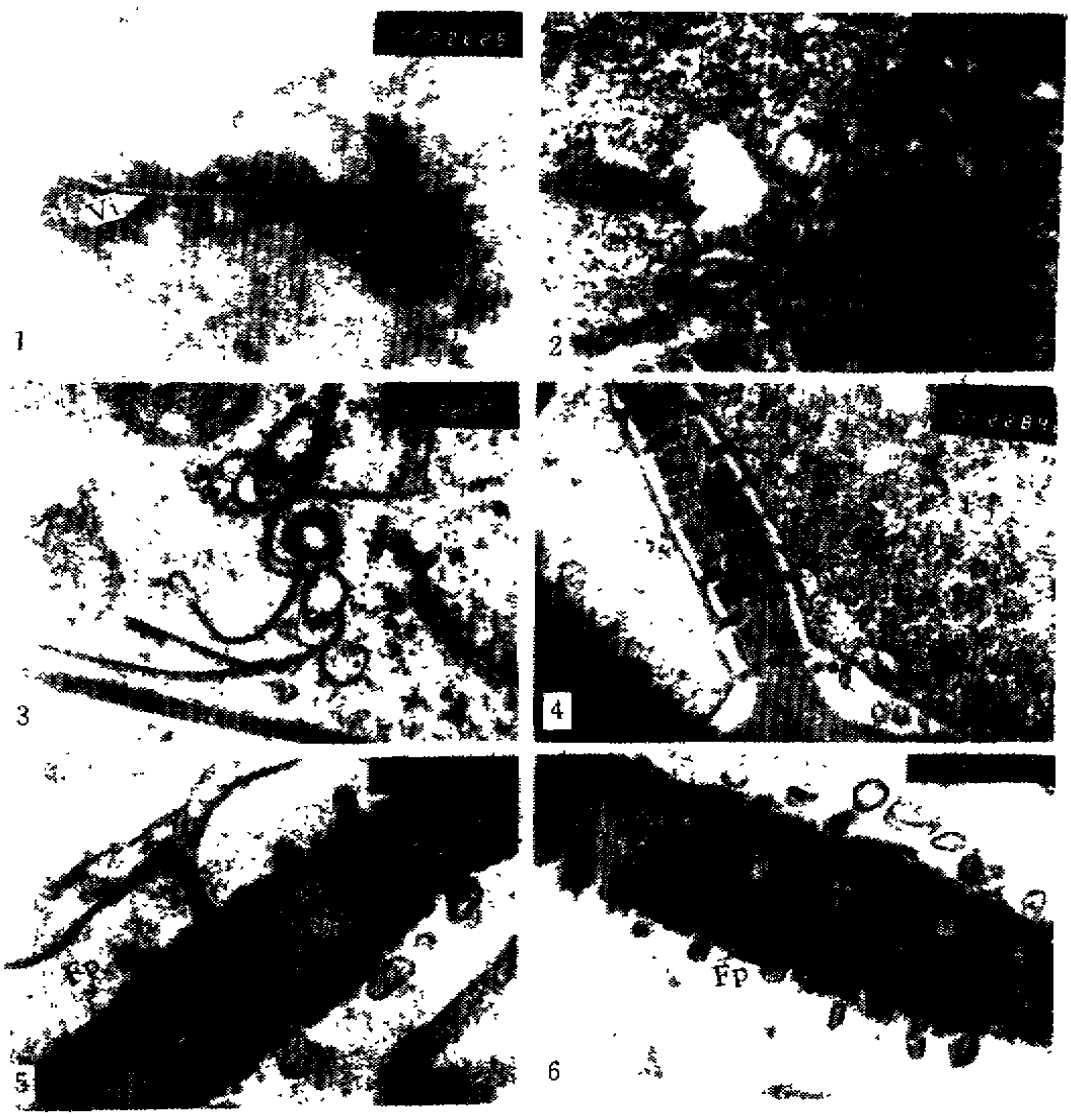
MDMV在受侵细胞中的内含体 电镜观察受侵叶片的超薄切片，在细胞质中看到了大量分散分布和排列成束状的病毒粒子(图Ⅰ-2)，同时还有各种内含体(图Ⅰ-3)，有风轮状(Pinwheels)、卷叶状(Scroll)、束状(bundle)和圆柱状(Cylindrical)。这些内含体的不同形状主要是由于内含体在细胞质中存在的位置不同或被切片的方向不同而形成的。一般来讲，在纵切片上，常可看到束状和圆柱状，而在横切片上则为风轮状和卷叶状。

两种不同类型的细胞连丝 超薄切片在电镜下观察到许多胞间连丝平行而密集地排列在一起，这种现象基本上可分为两种类型：a型胞间连丝，直接连通细胞壁和细胞质膜(图Ⅰ-4)，表现出正常胞间连丝的特征；b型胞间连丝伸出指状突起，不与细胞质膜相连通(图Ⅰ-5、6)。

壁旁体和卷曲的膜系统 在细胞壁与细胞质膜之间分散或聚集着一些膜颗粒、膜袋或膜包等(图Ⅱ-7、8)，它们是寄主细胞壁的延续，这些膜颗粒、膜袋或膜包中充满了稠密的、无定形的电子明亮物质。有些颗粒分布在胞间连丝周围，并与胞间连丝的指状突起相连通(图Ⅰ-6)。我们将这些细胞壁旁的膜状物称为壁旁体(Paramural body)。在细胞质中存在着卷曲的膜系统(图Ⅱ-9)，从简单的囊泡到高度卷曲的膜系统的形成过程均可看到，这些膜系统周围有分散或呈束状的病毒粒子。

叶绿体的变化 叶绿体的变化非常明显，主要表现为叶绿体内淀粉粒的增多、融合膨大、甚至取代了类囊体片层，迫使叶绿体膨大变形，最后导致叶绿体膜破裂(图Ⅱ-10～12)，致使叶片褪绿。

维普资讯 http://www.cqvip.com



图版 I　病毒粒子、内含体及受侵叶片的超微结构

1. 病汁液直接用 2% PTA 负染所观察到的病毒粒子, × 80 000; 2. 散布在细胞质中的病毒粒子(Vi), 2 320; 3. 风轮状内含体, × 3 840; 4. a 型胞间连丝和细胞质中分散的病毒粒子, × 2 880; 5～6. b 型胞间连丝和指状突起(Fp), × 8 000

维普资讯 http://www.cqvip.com

图版Ⅱ 病毒粒子、内含体及受侵叶片的超微结构

7～8. 细胞壁与质膜之间的壁旁体，×8 000；9 细胞质中各种卷曲的膜系统(Ms)，×5 760. 10. 叶绿体(ch)变形及增多的淀粉粒(Sg)，×5 760；11 膨大的淀粉粒占据了基粒片层，叶绿体膜在某些部位破裂，×1 120，12. 叶绿体崩解 ×1 120

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

一般认为胞间连丝是细胞之间的物质交换通道，也是病毒在细胞间运转的重要通道。在本观察中，胞间连丝基本上可分为两种类型：a型胞间连丝和细胞质膜相连，可见物质在其中进行正常的胞间交换现象，在图Ⅰ-4中可见到通过胞间连丝连接的细胞中存在大量的病毒粒子；b型胞间连丝，即有指状突起的胞间连丝，这种指状突起并不与细胞质膜相连通，在有b型胞间连丝周围的细胞中，并没有发现病毒粒子，这可能是由于密封的指状突起限制了病毒的运转，这一结果与Allsion[3]研究马铃薯×病毒侵染千日红时有复杂型胞间连丝相类似，他认为这种复杂型胞间连丝是寄主抵抗病毒侵染的一种反应。有些胞间连丝的指状突起与分布于细胞壁和膜之间的双层膜颗粒相连(图Ⅰ-6)，大部分的双层膜颗粒是分散或聚集在细胞壁与膜之间的(图Ⅱ-7)，存在这些双层膜颗粒的细胞中，也没有发现病毒粒子。作者认为，这些都可能是植物限制病毒在细胞间运转的一种结构反应。

关于壁旁体的报道[4,5]较多，一般认为，壁旁体是寄主细胞壁的延续或本身的一部分，它们是同原生质体相联系的卷曲膜状或囊状结构，可见于感病细胞的壁与膜之间。有人认为，壁旁体与细胞壁的额外增厚有关，这使壁旁体附近的胞间连丝阻断[5]。植物病毒的侵染不同于病原真菌，植物病毒没有附着胞和侵染栓，它不能产生机械压力，所以寄主细胞壁也不发生明显的乳状突起[6]，但寄主细胞可通过壁旁体来加厚细胞壁或封闭胞间连丝来阻止病毒的扩展。值得指出的是，在细胞质中也存在着高度卷曲的膜系统，图Ⅱ-9显示了这种膜系统的形成过程，即从低度盘绕到高度卷曲依次递变，在这些膜系统周围分散有许多病毒粒子，Luke利用维多利亚长蠕孢毒素(Victorin)处理燕麦根系细胞[7]，魏宁生等在研究小麦受BYDV侵染的小麦叶片中也观察到了类似结构[8]。因此可以说这是一种病理性反应。

叶绿体变形及极度膨大可能同淀粉粒的聚集融合膨大直接有关，淀粉粒的积累、融合膨大，取代了类囊体系统，并最终导致叶绿体膜的破裂，另一方面，由于淀粉粒由叶绿体向外运输是主动运输，需要大量的能量，而病毒侵染后，光合作用减弱，使叶绿体中合成的淀粉无能量向外运输而积累于叶绿体中。

参 考 文 献

1 Williams L E, Alexander L J. Maize dwarf mosaic: a new corn disease. *Phytopathology*, 1965; 55: 802～804

2 甘肃省农科院植保所病毒室. 玉米矮花叶病毒及其防治. 甘肃农业科技, 1980(3): 19～20

3 Allison A V, Shalla T A. The ultrastructure of local lesions induced by potato virus x: a sequence of cytological events in the course of infection. *Phytopathology*, 1974; 64: 784～793

4 Hiruki C, Tu J C. Light and electron microscopy of potato virus M lesions and marginal tissue in red kidney bean. *Phytopathology*, 1972; 62: 77～85

5 Mcmullen C R, Carder W S. Ultrastructure of cell wall thickenings and paramural bodies induced by barley stripe mosaic virus. *Cytology and Histology*, 1977; 167: 462～467

维普资讯 http://www.cqvip.com

6 弗兰德J. 思雷尔福尔D R W. 狄原渤、鲁素芸、张元思等译 植物与寄生物关系的生化问题 北京：科学出版社，1981. 28～39

7 Luke H H. Pathological changes in ultrastructure: effects of victorin on oat roots *Amer J Bot*, 1968. 55: 53～61

8 魏宁生、安德荣 小麦黄化型病毒病的研究. 中国农业科学，1990(3). 57～59

Identification and Ultrastructure of Corn Disease Induced by MDMV

An Derong Wei Ningsheng Mu Xiaoqian Xiang Yu

(Department of Plant Protection, Northwest Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Ma Yuanli

(Shaanxi Academy of Agricultural Sciences, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The maize dwarf mosaic virus (MDMV) was identified using biological inoculation, serological reaction and electronic microscope. etc. The pathological changes in ultrastructure in maize leaf tissue infected with MDMV were systematically studied by electronic microscope observation of ultra-thin section. Numerous inclusions and kinky membranae system were observed in cytoplasm. The mesophyll cell infected with the virus produced two different types of plasmodesmata: one is normal plasmodesmata (a-type); the other is b-type plasmodesmata with finger-like protrusion that prevents the translocation of the viruses. The presence of paramural bodies was closely related to thick-walled cells and the blocking of plasmodesmata.

Key words maize, mosaic disease, virus serological reactions, plasmodesma, ultrastructures, plant viruses