

大叶相思白粉病叶状柄病理解剖 和抗病性研究

余倩珠
(生物系)

岑炳沾
(林学院)

摘要 根据对大叶相思(*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth)感病叶状柄的病理解剖,白粉菌可直接穿透表皮细胞或从细胞间隙和气孔等途径进入组织以吸胞吸取养份。接种后高感叶状柄表皮细胞出现死亡,变形,叶肉栅栏组织叶绿体减少和部份解体,而高抗叶状柄表皮细胞只见过敏性坏死现象。叶状柄的表皮细胞壁和角质膜厚度与植物抗性相关。

关键词 大叶相思白粉菌 (*Oidium* sp.); 叶状柄; 病理解剖

大叶相思白粉病 (*Oidium* sp.) 是大叶相思苗期和幼林地普遍且严重的病害,病害的严重度与抗病能力和叶状柄的生理年龄关系密切^[3,4],本试验通过人工接种观察病原菌对不同叶龄的叶状柄侵染特点及组织病理变化,并试图从组织结构上探讨抗病机理。

1 材料和方法

选用寄主材料为温室栽培的大叶相思1年生苗,按叶龄的抗病差异,10 d 内为高感叶龄,30 d 以上为高抗叶龄^[6]。

接种用的病菌为实验室纯化培养的大叶相思白粉菌,以新鲜的分生孢子用震荡法接种,定期观测植株症状变化,观察全过程为50 d 左右,每隔3~5 d 取样固定1次,检查病菌侵入、发育和叶片组织结构的变化。镜检叶状柄表面病菌侵入材料是以冰醋酸和95%酒精(1:1V/V)透明固定,1%棉蓝乳酚油染色,叶状柄组织以F. A. A. 固定,用一般石蜡切片法,旋转式切片机进行连续切片,厚度为8~14 μm ,以番红-固绿对染。叶表面角质膜则通过扫描电镜进行观察。

2 试验结果

2.1 白粉病菌的侵染和叶状柄内部组织变化

2.1.1 白粉菌的侵入和发育 大叶相思白粉菌侵染植株过程是:分生孢子萌发;附着胞的形成;侵入产生初生吸器;寄主体外长出菌丝;菌丝丛;菌丝中心形成链状着生的分生孢子(图版1)。这与 Masri 和 Ellingboe 等^[7]叙述白粉菌浸染麦类所划分的几个阶

1989年11月1日收稿

段基本上是相似的。

大叶相思白粉菌分生孢子接种在高感和高抗叶状柄上一般10~12 h萌发, 24~30 h产生附着胞, 在这两类叶状柄上孢子萌发和附着胞形成的时间是没有很大差异的, 但其余的菌态是随着叶状柄抗性而有所不同, 抗性强的形成时间就较长, 抗性弱的形成的时间就较短, 如高感叶状柄和高抗叶状柄侵染过程中初生吸器形成前者为52 h, 后者76 h. 形成孢子链前者128 h, 后者160 h, 形成分生孢子前者为150 h, 后者为190 h。

接种25 h高感叶状柄白粉菌附着胞尖端与寄主细胞接触, 并通过3种途径进入寄主体。一是直接穿透表皮细胞(图版2), 二是从细胞间隙(图版3); 三是通过气孔(图版4)等伸进寄主表皮细胞内形成吸胞以取得养料。随机观察检查, 大约70%为直接侵入。接种35 h高抗叶状柄的病菌孢子尚在形成附着胞阶段, 而大多附着胞出现畸变或分枝, 失去侵入寄主的能力。

接种120 h后高感叶状柄表面菌丝形成浓密的菌丛, 并开始形成分生孢子链, 偶有从气孔伸出的分生孢子链(图版5)。150 h后形成分生孢子。在高抗叶状柄菌丝生长稀疏, 很少分生孢子链, 分生孢子也不多。

2.1.2 叶状柄细胞组织结构的病变 经人工接种的叶状柄感染病菌后, 细胞组织也相应发生变化, 不同叶龄的叶状柄对病菌的反应其变化也有显著的差异。

大叶相思白粉病感病叶状柄典型的外部症状是: 退绿黄化—卷曲皱缩—畸形变脆。

高感叶状柄接种4 d后表皮细胞出现死亡, 从棉蓝着色深浅可以鉴别细胞受伤害的程度, 着色深的显示细胞死亡, 病菌附着胞侵入点的表皮细胞往往着色深, 其邻近表皮细胞全部或部份也会染色较深, 这是病害的扩散或是细胞的一种过敏性反应。接种第8 d, 叶面形成菌丝从中心部份表面细胞变形破坏、收缩, 叶肉栅栏组织细胞叶绿体明显减少, 部份细胞变形解体(图版6)。接种第15 d全叶状柄表面铺满菌丝并黄化卷曲, 分生孢子链和孢子明显消退。内部细胞组织严重破坏变形(图版7)。撕离叶状柄表皮层, 可看到表皮细胞呈放射状变形收缩(图版8)。高抗叶状柄接种后第15 d虽长出菌丝、孢子链、孢子, 但表皮细胞着色不深, 未见严重破坏、畸变现象(图版9)。

2.2 大叶相思叶状柄结构与抗性关系

大叶相思幼龄叶状柄对白粉病菌是高度感病的, 老龄叶状柄则高度抗病^[5]。Weinhold. 和 English. 在研究桃白粉病(*Sphaerotheca pannosa*) 时也有类似的报导, 并指出寄主对白粉菌的抗病性是随叶片表皮角质层而变化的^[6]。但也有人认为苹果白粉病菌(*Podosphaera leucotricha*) 侵染苹果(Burchill 1958, Robert 等1961), 二孢白粉菌(*Erysiphe cichora cearum*) 侵染莴苣(*Schnathorst* 1959) 均与外胞壁层的厚度无关。大叶相思叶状柄表皮层结构与抗性是否存在相关, 本文从表皮角质膜厚度, 蜡质层样式以及叶毛状态3方面进行了探讨。

大叶相思不同叶位叶状柄表皮细胞壁和角质膜厚度对接种的白粉菌的感病性见表1。

表1 大叶相思不同的叶位叶状柄上表皮细胞壁角质膜总平均厚度(μm)和对白粉菌感病性

叶位	表皮细胞外壁角质膜厚度	对白粉菌感病度
2**	1.0*	+++***
4	1.4	+++
7	2.9	+++
10	3.2	++
13	3.3	++
16	4.0	++
19	5.3	++
22	6.3	+
25	6.6	+
29	6.7	+

* 测定 20 个平均数置信区间为士 0.2~0.4(在 5% 概率水准)。

** 1~7 片叶状柄位置, 1~10 d 叶龄; 10~19 片叶状柄位置, 15~29 d 叶龄; 22~29 片叶状柄位置, 30~40 d 叶龄;

*** +++ 重; ++ 中; + 轻。

从表 1 看出大叶相思白粉病的发生严重度是和叶状柄表皮细胞外壁和角质膜(图版 10)的总厚度有很大的相关性,其厚度在一定期间内是随叶龄的增大而加厚,而病害严重度却减轻。

从病叶病理解剖看出,白粉菌主要是以直接穿透侵入表皮细胞建立寄生关系的。为进一步研究白粉菌穿透能力与角质膜的关系,我们测定了大叶相思白粉菌对不同厚度石蜡膜的穿透试验,试验每厚度为 20 个观察值,按常规法进行^[1],结果见表 2

表2 大叶相思白粉菌对不同厚度(μm)石蜡膜的穿透百分率

石蜡膜厚度	4	5	6	7	8	10	15
穿透率	50.0	45.0	32.6	24.0	15.1	7.7	0.2

表 2 说明了白粉菌孢子是可以穿透一定厚度的石蜡膜,但穿透能力是随石蜡膜厚度增加而降低的。据此推测,角质膜厚薄同样可以影响白粉菌机械穿透的过程,即角质膜越厚,白粉菌进入越困难,这与不同叶龄白粉菌感病性试验结果是一致的,也许这是幼嫩寄主叶状柄比老熟叶状柄更易感染白粉病的主要原因。

蜡质复盖层和叶状柄上的表皮毛从扫描电镜观察中发现,大叶相思高感叶状柄蜡质层呈网络式样并着生表皮毛(图版 11),而高抗老龄叶状柄蜡质呈散,角质膜较平坦,表皮毛已脱落(图版 12)。表皮毛的存在和凹凸不平蜡质的沉积,增加了叶状柄表面受湿的程度,有利于白粉孢子的停滞和萌发,增加了侵染发病的机会,老龄叶状柄较平坦光滑的表面和无毛的结构使孢子和水份易在风雨中滚动脱离,最终降低了侵染率,两者

都可以成为抗性差异的因素。

3 讨 论

大叶相思白粉菌分生孢子侵入前期的萌发和附着胞形成在高感和高抗大叶相思叶状柄上差异不大,但在后期是不一致的。大多数文献报导白粉菌以直接方式侵入寄主,而大叶相思可以直接穿透也可以由细胞间隙或通过气孔等3种方式进入表皮细胞,这种多途径侵入也许是大叶相思白粉病发展迅速而普遍的重要原因。

感病叶状柄接种白粉菌孢子能正常顺利的生长发育和侵入,而在抗病叶状柄病菌发育受阻,畸变使侵入迟缓或停止。感病的叶状柄接种10~15 d表皮细胞出现坏死和畸变,叶肉细胞叶绿体减少、解体,而抗病叶状柄仅出现表皮细胞过敏性坏死叶绿体只稍微减少现象。由于大叶相思白粉菌以直接侵入为主,而叶状柄的表皮细胞外壁总厚度在1~40 d内是随叶龄增大而加厚的。越幼嫩的叶状柄,表皮细胞壁越薄,病菌迅速进入,并破坏寄主结构。随着叶龄的增大,表皮细胞壁加厚,病菌穿透侵入受阻,寄主组织产生过敏性坏死,这是一种寄主本身抗性反应,可以阻止病菌进一步扩展。因此在防治上保护1~20 d叶龄的叶状柄不受感染至关重要。具有抗性老龄叶状柄,即使感染白粉病,白粉菌也不至于破坏内部细胞组织结构造成严重损害。

白粉菌主要通过直接穿透表皮角质膜和细胞壁建立寄生关系的,而这种穿透可能是化学作用或者纯粹是机械力量。大叶相思白粉菌的穿透机械作用可能性较大,因为如果是化学作用一定和酶有关,但是现在还没发现能够分解角质层的酶^[1]。从大叶相思白粉菌对不同厚度石蜡膜穿透力的差异结果与接种不同厚度角质膜的叶状柄感病程度分析,白粉菌对两者的穿透能力基本上是一致的。看来侵入是一种机械力量的穿透。因此大叶相思叶状柄表皮细胞外壁加上角质膜的厚度可作为选育抗白粉病品种的一个主要依据。当然寄主与寄生物体内生理化学相互作用也不可忽视,尚须另作进一步研究。

参 考 文 献

- 1 方中达. 植病研究法. 北京:农业出版社,1979. 152~156
- 2 李正理. 植物学报,1980,22(1):11~15
- 3 弓明钦. 热带林业科技,1985(1):8~13
- 4 吴畏等. 植物病理学报,1985,15(1):31~35
- 5 岑炳沾等. 华南农业大学学报,1986,7(2):66~72
- 6 赵新平. 植物病理学报,1987,17(3):185~190
- 7 Masri. S. S. and Ellingboe. A. H. Phytopathology 1966, 56:389~395,304~308
- 8 Weinhold. A. R. and English. H. Phytopathology 1964,54:1409~1414

A STUDY ON THE PATHOLOGICAL ANATOMY OF THE PHYLLODE OF
Acacia auriculiformis AND ITS RESISTANCE TO THE POWDERY
MILDEW PATHOGEN, *Oidium* sp.

Yu Qianzhu

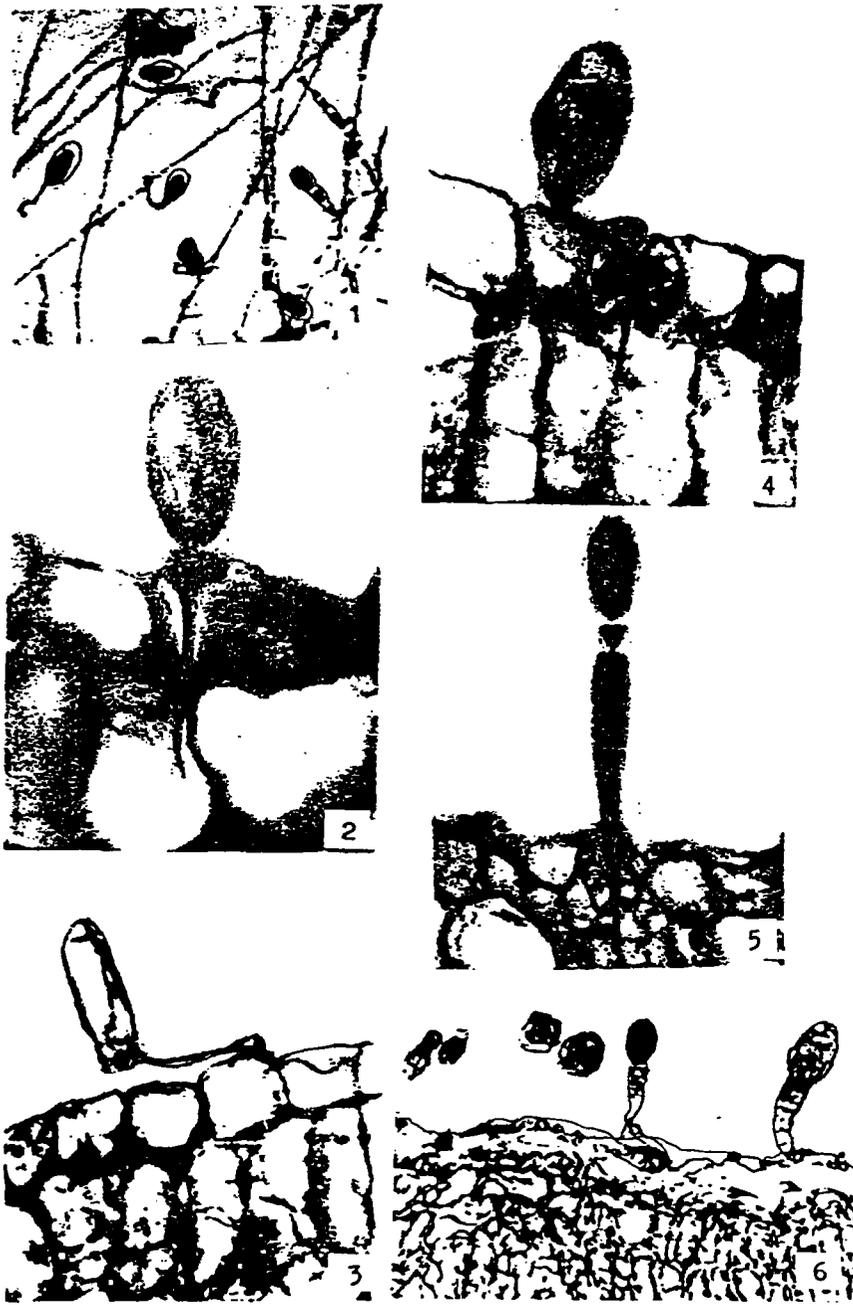
(Department of Agricultural Biology)

Cen Bingzhan

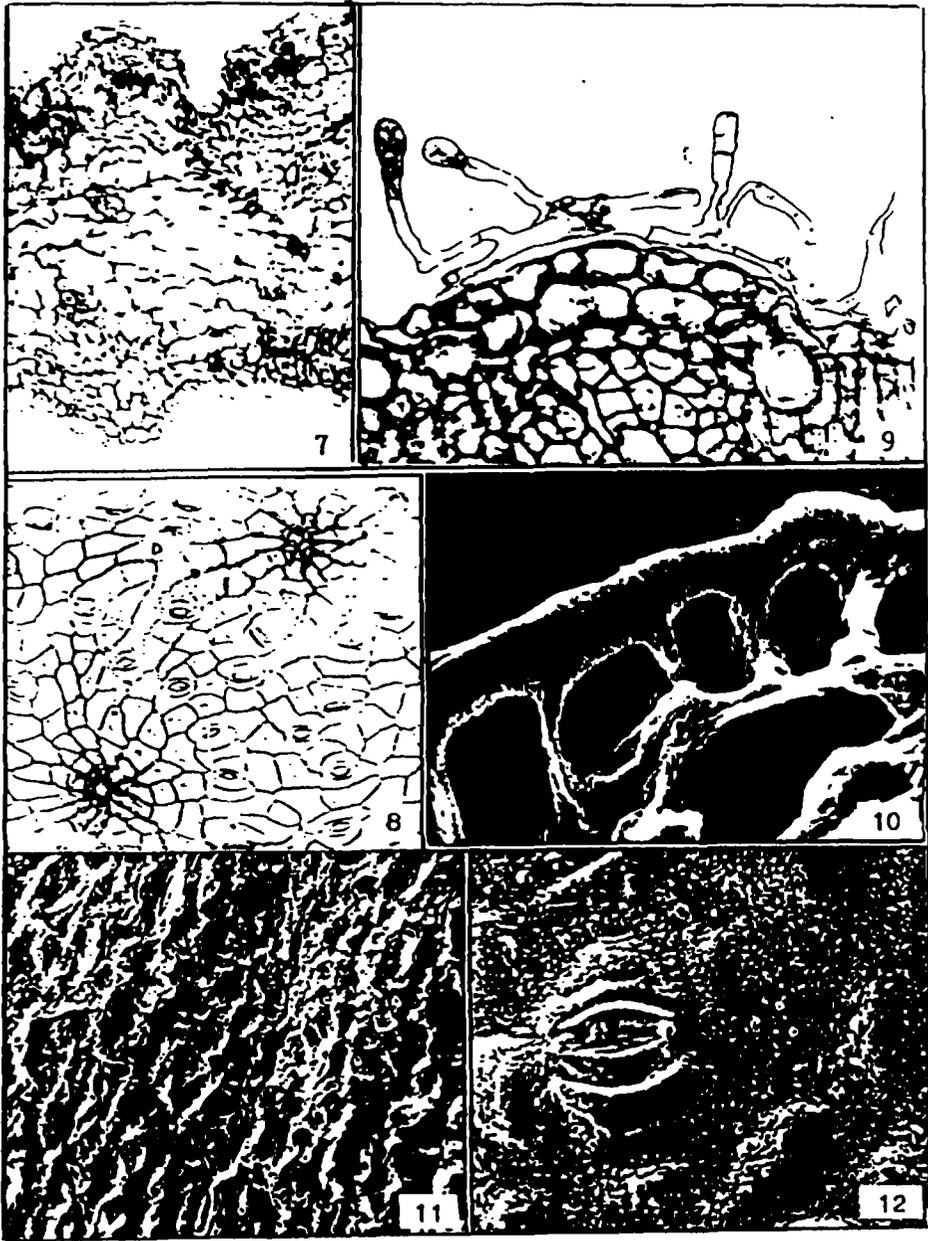
(Department of Forestry)

Abstract Based on the pathological anatomy of infected phyllodes of *Acacia auriculiformis*, it was demonstrated that the pathogens, *Oidium* sp., could directly invade the tissues via the epidermal cells, intercellular space or stomata, and assimilate nutrient by their haustoria. After inoculation tests the highly susceptible phyllodes showed death and deformity of epidermal cells and decrease and partial degradation of chloroplasts in the parenchyma of the leaves whereas highly resistant phyllodes showed only allergic necrosis in their epidermal cells. There was a correlation between the thickness of the epidermal cell wall and its cuticle in the phyllode and disease resistance.

Key words *Acacia auriculiformis*; *Oidium* sp.; Phyllode; Pathological anatomy



图版 1. 表生白粉菌长出的菌丝, 菌丝中心形成链状着生的分生孢子和分生孢子萌发. $\times 200$
 2. 孢子直接穿透表皮细胞. $\times 600$
 3. 分生孢子从细胞间隙侵入. $\times 500$
 4. 分生孢子通过气孔. $\times 600$
 5. 分生孢子梗从气孔长出. $\times 500$
 6. 表皮细胞坏死, 部分叶肉细胞解体. $\times 400$



图版 7. 分生孢子链和分生孢子消退, 内部组织严重破坏、变形。×200
 8. 表皮细胞呈放射状变形, 收缩。×400
 9. 接种高抗叶状柄表皮细胞未见严重破坏。×400
 10. 大叶相思老龄叶状柄表皮细胞壁和角质膜横切面电镜扫描。×3 000
 11. 大叶相思幼嫩叶状柄上表皮表面蜡质沉积呈网状电镜扫描。×1 000
 12. 大叶相思老龄叶状柄上表皮角质膜和蜡质电镜扫描。×1 500