

# 中国小黑豆抗源对大豆孢囊线虫 4 号 生理小种抗性机制研究<sup>\*</sup>

## III. 抑制线虫发育的组织病理学证据

颜清上 王连铮

(中国农业科学院作物育种栽培研究所, 北京 100081)

陈品三

(中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

### 摘 要

对接种后水培 15 天的大豆幼苗的根段染色, 光镜下可以观察到抗病品种根内大豆孢囊线虫头部有明显的坏死, 感病品种较少观察到这一现象。接种后 4 天对大豆根部的半薄切片研究发现感病品种中柱内有较大的合胞体形成, 抗病品种在鞘细胞处形成较小的合胞体, 且染色较深, 呈坏死反应特征。

**关键词** 大豆抗源; 大豆孢囊线虫; 组织坏死; 组织病理学

大豆孢囊线虫最早在中国发现, 是东北和黄淮海大豆产区的一个毁灭性病害, 保守估计我国每年的受害面积在 2000 万亩以上。自 80 年代初期以来, 对该病的研究受到重视, 特别是在“七五”期间, 组织了全国大豆种质抗孢囊线虫鉴定研究协作组, 筛选了中国的 10000 余份大豆种质对大豆孢囊线虫 1 3 4 5 号小种的抗性, 鉴定出一大批免疫和高抗的资源<sup>[1]</sup>。目前, 有关我国抗源品种抗性的基础研究的文献较少对 4 号小种研究的报道则更少。笔者前文<sup>[2]</sup>研究表明, 灰皮支黑豆和元钵黑豆对大豆孢囊线虫 4 号生理小种的抗性主要表现为抑制线虫发育, 使其较多地停留在二、三龄阶段。本文对这两个抗源品种抑制线虫发育的细胞病理学原因进行探讨。

### 材料和方法

#### (一) 接种大豆材料的制备

供试大豆品种为(感病对照)和抗病的元钵黑豆、灰皮支黑豆和鲁豆 1 号。种子萌发

<sup>\*</sup> 本文于 1995 年 12 月 15 日收到。 This paper was received on Dec. 15, 1995.

接种物制备及接种同颜清上等<sup>[2]</sup>。

### (二)接种大豆幼苗的切顶水培

接种 24小时后将大豆幼苗取出,仔细冲净根部的砂粒,切去子叶上部的 3/4 5- 6个一组用纱布束成一束,放入盛有 Hoagland全营养液的试管内,置于生长箱内,27℃,16小时光照,水培,隔天用充氧器向试管底部充气,每次 5分钟 待幼叶长出后再从子叶节处切顶。15天后观察根内的线虫及周围根组织。

### (三)接种大豆幼苗的砂培

接种 24小时的植物材料移栽到装有消毒细砂的塑料钵柱内,每品种 16个钵柱排放于塑料盆中,置生长箱内,27℃,16小时光照,砂培。

### (四)根内幼虫的观察

将接种 15天的幼苗从营养液中取出,用水冲洗两遍,切去上面部分,幼根按 Byrd<sup>[4]</sup>改良的冰醋酸-酸性品红-甘油法进行透明染色,此后将染好的根段压在载玻片上,显微镜下观察根内的大豆孢囊线虫和周围的根组织情况。

### (五)大豆根组织的半薄切片及观察

砂培后 4-9天每材料取 4株大豆幼苗,洗净根上的砂子,光镜下检查侵染的部位,从侵染点附近切取 1cm长的根段,放入 4%戊二醛溶液,前固定两小时以上,1%锇酸后固定(冰箱两小时),0.5%醋酸铅预染色(0-4℃过夜),酒精梯度系列脱水,无水丙酮置换,然后用环氧树脂:丙酮(2:1)渗透,最后环氧树脂包埋 用 LKB8800II型超薄切片机半薄切片,1%甲苯胺兰染色,光镜观察,拍照。

## 试验结果

(一)水培大豆根段染色、压片,光学显微镜下观察到抗病品种元钵黑豆、灰皮支黑豆根内较多的侵入线虫,头部有坏死,大多数线虫发育停留在三龄幼虫阶段(照片 1 2) 而感病品种根内线虫头部的坏死较少(照片 3)。

(二)半薄切片表明,接种后 4天,感病品种根部木质部导管附近细胞形成较大的合胞体(照片 4),抗病品种鞘细胞处(照片 5 6)细胞结构发生变化,形成了合胞体,但细胞较小,而且染色较深,呈细胞坏死反应特征。

## 讨 论

前人<sup>[3,5,6,7,8,9]</sup>对一些线虫群体和 1-3号小种抗性品种的组织病理学研究表明,大豆孢囊线虫对抗感品种的侵入有相近的频率,而且线虫头部附近的根组织都有合胞体形成,不同的是感病品种的合胞体进一步发育、扩大,而抗病品种的合胞体却发生组织坏死,不能为线虫发育提供充足的养分。组织坏死是典型的抗病特征之一,本文的结果不但观察到抗病品种根部线虫头部的组织坏死,还观察到抗病品种的合胞体较小,染色较深,多发生在鞘细胞处,这不利于细胞间营养物质的运输和交换,影响线虫的取食;而感病品种合胞

体细胞较大,多发生在细胞中柱内邻近木质部导管处,可以使线虫从其中源源不断地汲取养分,正常发育。

### 参 考 文 献

- [1] 大豆种质抗孢囊线虫鉴定研究协作组,1993,大豆种质资源对大豆孢囊线虫 1 3和 4号生理小种的抗性鉴定,大豆科学,12(2): 91- 99
- [2] 颜清上,陈品三,王连铮,1996,中国小黑豆抗源对大豆孢囊线虫 4号生理小种抗性机制的研究I.抗源品种对大豆孢囊线虫侵染和发育的影响,植物病理学报,26(4): 317- 323
- [3] Acedo, J. A., V. H. Dripkin, and V. D. Luedders. 1984. Nematode population attrition and histopathology of *Heterodera glycines*-soybean association. J. of Nematol. 16(1): 48- 57
- [4] Byrd, D. W., T. Kirpatrick, and K. B. Barker. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. J. of Nematol. 15 142- 143
- [5] Endo, B. Y. 1965. Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties and backcross progeny to entry and development of *Heterodera glycines*. Phytopathology 55 375- 381
- [6] Endo B. Y. 1986. Histology and ultrastructural modification induced by cyst nematodes. In Cyst Nematodes (eds Lamberti F. and C. E. Taylor), 133- 146. NATO ASI Series. Plenum Press
- [7] Kim, Y. H., R. D. Riggs, and K. S. Kim. 1987. Structural changes associated with resistance of soybean to *Heterodera glycines*. J. of Nematol. 19(2): 177- 178
- [8] Riggs R. D., K. S. Kim, and I. Gipson. 1973. Ultrastructural changes in Peking soybeans infected with *Heterodera glycines*. Phytopathology 63 76- 84
- [9] Ross, J. P. 1958. Host- parasite relationship of the soybean cyst nematode in resistant soybean roots. Phytopathology 48 578- 579

## NATURE OF RESISTANCE TO RACE 4 OF *HETERODERA GLYCINES* IN CHINESE BLACK SOYBEANS[III]. HISTOLOGICAL RESPONSES IN ROOTS OF RESISTANT AND SUSCEPTIBLE VARIETIES INFECTED WITH *HETERODERS GLYCIN ES*

Yan Qingshang Wang Lianzheng

(Institute of Crop Breeding and Cultivation, CAAS, Beijing 100081)

Chen Pinsan

(Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing 100094)

### Abstract

The inoculated soybean seedlings had been hydroponic cultured for 15 days, and the roots were removed and stained. Necrosis adjacent to the head of second stage and third stage juveniles of *Heteccdera glycines* in the roots of resistant cultivars Huipizhiheidou

and Yuanboheidou was found under light microscope, whereas, necrosis was not found in the roots of susceptible control, Ludou 1. Semi- thin sections of infected roots cultured in sterilized sand were inspected, and the bigger synvtyia in central cylinder were found in susceptible roots, whereas the smaller syncytia, which were stained deeply, were observed on pericycle cells in resistant roots at 4 days after inoculation.

**Key words** Resistant soybean varieties; *Heterodera glycines*; Histopathology; Nervosis

### 图版说明

图 1 2. 分别为抗病品种灰皮支黑豆和元钵黑豆根内的三龄幼虫 (Ne)和组织坏死 (Nc)

图 3.为感病对照鲁豆 1号根内的三龄幼虫。图 4.感病对照鲁豆 1号根部中柱内较大的合胞体 (Sy), Xy为木质部 图 5 6. 分别为抗病品种灰皮支黑豆和元钵黑豆根部鞘细胞处的合胞体 (Sy), Ne为大豆孢囊线虫。

Fig. 1 and 2. The third stage juveniles of *Heterodera glycines* (Ne) and necrosis(Nc) in the roots of resistant soybean varieties, Huipizhiheidou and Yuanboheidou respectively.

Fig. 3 The third stage juvenile of *Heterodera glycines* in the root of susceptible soybean variety, Ludou No. 1.

Fig. 4 The bigger syncytium(Sy) adjacent to the xylem(Xy) in central cylinder of the root of Ludou No. 1.

Fig. 5 and 6. The syncytia(Sy) on the pericycles in roots of Huipizhiheidou and Yuanboheidou respectively.