

中国农业科学院
出国进修、合作研究人员论文
摘要汇编
第一集

科研管理部科技交流处编

1984.北京

前

言

三中全会以来，我国实行对外开放政策，国际间的学术交流活动日益频繁。为了提高我院科学研究水平，加速培养科技人才，学习国外先进科学技术，填补我院学科空白，自一九七八年以来，院科研管理部科技交流处在上级有关部门的领导与协助下，先后向世界上十六个国家派遣了访问学者，进修人员一百余名。这些同志在国外的学习和科学研究过程中，取得不少成果，有些论文、报告，曾在国外的有关杂志或会议刊物上发表过。

为了交流这些科研成果，真正起到一人进修，多人受益的作用，我们准备将他们在国外进修和合作研究期间写的科研论文，学术报告摘要分批汇编成册，供大家参考。

本集汇编共收集了十六位同志的三十三篇论文摘要。今后，将继续收集其他回国同志的文章分期分批刊出。

本汇编系根据各位作者报来的摘要材料整理而成，部分文章未经作者最后核对，对不足和疏漏之处，请读者提出宝贵意见。

一九八四年九月

目 录

中国水稻品种的抗性分类.....	(1)
水淹、冷冻和冰封对冬小麦的综合作用.....	(5)
低温对玉米幼苗线粒体功能与结构的影响.....	(7)
冬小麦对亚致死低温的反应.....	(9)
龙葵的阿特拉津抗体中存在着叶绿体基因组增变基因的证据.....	(10)
中国青枯菌的特性研究.....	(18)
湖北花生轻斑驳病毒病的研究.....	(27)
一种侵染花生的黄瓜花叶病毒株系的鉴定.....	(30)
花生矮化病毒株系的寄主反应、血清学关系以及核糖核酸模式的研究.....	(34)
梨黑星病菌分生孢子和苹果黑腐病菌菌丝扫描电子显微镜观察.....	(37)
核果类果树蕃茄环斑病毒酶联吸收分析鉴定.....	(38)
千日红叶片感染核果类环斑病毒解剖学上的变化.....	(40)
核果类环斑病毒浓度测定.....	(43)
桃园土壤线虫诊断.....	(44)
国外农药环境毒理学研究进展.....	(46)
美国的农药登记和注册.....	(49)
三十五种化学农药光解速率的比较研究.....	(52)
玉米抗螟性鉴定研究.....	(63)
十字花科蔬菜对小菜蛾的抗性研究.....	(68)
十字花科蔬菜对小菜蛾的抗性田间测定.....	(75)
苯并咪唑类杀菌剂在土壤中的残留新探.....	(80)
不同土壤灭菌法对内生菌根的影响.....	(84)
根瘤菌和菌根混合接种对三叶草产量增加的效应.....	(87)
根瘤菌代表性菌株脱氧核糖核酸碱基比的研究.....	(90)
国际菌种保藏组织、活动及其意义.....	(93)
玉米对氮肥用量和方法的效应和土壤——玉米系统中氮素平衡的研究.....	(96)
麦秸、氮肥与土壤混合培养时麦秸氮和化肥氮的转化固定与释放.....	(106)
应用近红外反射光谱法测定大米中的含氮量.....	(109)
^{14}C ——阿特拉津 ^{14}C ——十二烷基苯磺酸和 ^{15}N ——尿素在实验室土壤植物系统中的相互作用及其命运.....	(116)
^{14}C ——阿特拉津和 ^{14}C ——五氯酚钠在土壤植物系统中的归宿——短期室内土壤植物系统实验和长期户外实验比较.....	(119)
中国太湖地区1973年至1981年土地利用及其变化——据美国地球资源卫星探测资料.....	(123)
阿丁 (Arding) 地区羔羊甲状腺肿病因的探讨.....	(127)
南斯拉夫农业和农业中的个体经济.....	(134)

中国水稻品种的抗性分类

凌忠专

清泽茂久

(中国农科院作物所)

(日本国立农业技术研究所)

稻瘟病是中国最重要的水稻病害之一。60年代以来,若干抗病品种在推广种植三、四年之后,变成感病品种。为了认识这种现象产生的原因,70年代中期开展了全国性的稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*)致病性分化和品种抗病性研究工作。用21个省、市、自治区的1739个单孢分离菌测定212个籼型和粳型品种。筛选出特特普、珍龙13号、四丰3号、东农363号、关东51号、合江18号、和丽江新团黑谷等7个品种作为中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种。再利用这套鉴别品种测定来自23个省、市、自治区的827个单孢分离菌,划分这些分离菌为7群42个小种。同时也组织全国性的品种抗性联合鉴定,筛选一批高抗水稻品种。

世界许多产稻国家也在50年代或60年代选出各自的鉴别品种以及开展水稻品种抗性鉴定工作。日本从1960年起,进一步着手研究品种的抗性遗传,山崎和清泽从抗性基因分析入手,对日本全国主要品种进行分类。他们从后藤划分的14个生理小种中选出7个致病性稳定的代表菌系,测定日本的主要品种(包括地方品种和育成品种)的抗性。根据品种对7个菌系的反应型及代表品种的抗性基因分析,把全国主要品种划分为新2号型、爱知旭型、石狩白毛型、关东51号型、社糯型、Pi4号型、福锦型、砦1号型、新雪型、杜稻型、下北型、灵峰型、辛尼斯型、加贺光型等14个品种群。

中国目前还没有确立一套致病性稳定的、适宜划分品种抗性的代表菌系,不可能利用本国的菌系进行品种抗性分类和抗性基因分析。本研究利用日本鉴别菌系P-2b、研53-33、稻72、北1、研54-20、研54-04和稻168和由它们衍生的突变菌系以及一些菲律宾菌系测定中国品种的抗性,推断品种的基因组成,对品种进行抗性分类。

为了解决水稻生产中严重的稻瘟病危害问题、需要对这种病害进行多方面的研究。品种的抗性分类和抗性基因分析是其中一项很重要的基础研究工作。因此首先要做如下几项工作:

1. 用许多分离菌测定许多品种
2. 确立鉴别品种和鉴别菌系
3. 根据对鉴别菌系的抗性反应型进行品种分类
4. 对各品种群的代表品种进行抗性基因分析。

材料和方法

水稻品种：中国南方和北方搜集的 240 多个籼粳稻品种。粳型品种包括生产上应用的品种，近年育成的具有高度抗性的新品种以及高度感病的品种，全国联合鉴定表现高度抗性的籼型品种。在国内抗病育种中普遍用作抗源的品种。

稻瘟病菌：日本的 7 个鉴别菌系：P—2b、研53—33、稻 72、北 1、研54—20、研54—04、稻168，由 7 个菌系衍生的突变菌系和若干菲律宾菌系。

首先用喷雾接种法，在 240 多个中国品种上接种 7 个鉴别菌系。种子播种在 $45 \times 15 \times 10$ cm 的木制育苗箱内，箱内装田土，施用 20 克颗粒肥料。每个育苗箱播 10 个品种，每个品种播 17 粒种子。每次测定 20 个品种，共播 14 个育苗箱，分别用 7 个菌系接种。

在温度为 22°C — 33°C 的温室内育苗。幼苗生长三个星期后，喷雾接种孢子悬液，每箱接种量为 60 ml，一般不调节孢子浓度，分生孢子在每视野 100 个以上（100 倍视野下）时适当稀释，每个视野 10 个以下，则加入一滴展着剂（Tween）。接种后的植株在 28°C 的保湿箱内保湿 24 小时，然后移入发病温室内。一个星期后，按照清泽描述的方法（1974）调查记载 b、bg、bG、pG 四种病斑型的病斑数。

然后，把对 7 个菌系表现相同反应的品种集中成一组，例如 Pi—a 组、Pi—i 组等。把这些品种与清泽的 12 个单基因鉴别品种播种在一起，每个育苗箱播 20 个品种（12 个单基因鉴别品种和 8 个被测中国品种），每个品种播 8 粒种子。用 7 个菌系衍生的突变菌系和一些菲律宾菌系接种，比较被测品种和 12 个鉴别品种的反应型，确定品种的基因型，划分品种群。

结 果

1. 用喷雾接种 7 个鉴别菌系的结果，根据品种的反应型推测，被测品种可以分为如下几个类群：

A. 中系 7728、中系 7727、中系 7827、中系 7826、京育 1 号、京丰 7 号、中丰 8 号、京系 3 号、C 60、京国 9—2、老虎稻、农桂、晚糯 7424、复虹 30 号、泸晚 3 号、泸选 19 号、77—207、矮梗 23 号、台北 8 号、C 1030、77—25、77—207、790073、香蕉稻、小站红米稻、这些品种可能具有 Pi—a 基因

B. 红旗 20 号、6059、中系 7606、C 1059、C 638、404、7804、6097、6095、藤坂 5 号。估计这 10 个品种有 Pi—i 基因。

C. 中系 7733、五七大白谷、宁系 3 号、东农 363、4001、3065、R T 7819、矮脚黑头红、4009、3011、抗二、普选 10 号、纪念稻、都匀糯。这些品种可能具 Pi—k、Pi—a 基因。

D. 中系 7607、合江 18 号、409、C 794、C 60、S 116、红旗 5 号可能具 Pi—a、Pi—i 基因。

E. 早白哥、虎蕾选、中系 7735、中系 7732、7809、161、中花 16 号、中系 7802、中作 14 号、723、303、1709、75—106、1254、7815、联鉴 33 号、红旗 7 号。这些品种具 Pi—k 基因。

另外，19 个籼稻品种和三旁七十箩以及导入外国稻抗性基因育成的 15 个粳稻品种，对 7 个鉴别菌系表现高抗反应，这种反应型不可能为基因型推断提供情报。被测品种中 32 个

品种对 7 个菌系都表现感病反应,说明这些品种对 7 个菌系不具抗性基因。

2 用致病性不同的突变菌系和若干菲律宾菌系接种。

初步推断基因型的各群品种和表现高抗的品种,用突变菌系和菲律宾菌系确定其基因型(各群品种)或推断高抗品种可能的基因组成。按照日本的水稻品种抗性类型分类法,本测定结果将中国品种分为不具已知抗性基因的新 2 号型、具 $Pi-a$ 基因的爱知旭型、具 $Pi-i$ 基因的狩狩白毛型、具 $Pi-k$ 基因的关东 51 号型、具 $Pi-k^D$ 基因的 K60 型、具 $Pi-ta$ 基因的社糯型、具 $Pi-ta^2$ 基因的 $Pi-4$ 号型、具 $Pi-a$ 、 $Pi-i$ 基因的新雪型、具 $Pi-aPi-i$ 基因的杜稻型(见表 2)。表中新 2 号型品种已确定对 7 个菌系不具有抗性基因。K60 型的细谷黄、中花 14 号 7815 社糯型的中花 12 号的基因型需要进一步测定。 $Pi-4$ 号型的中丹 1 号、中丹 2 号、中丹 3 号、中作 13 号、楚秧 1 号五个品种的基因型已确定。其他类型的品种,一部分品种的基因型已确定,另一部分品种的基因型,需要进一步验证。

3 用爱 76—176、TG80—150、pH80—49 三个致病性不同的菌系测定高抗品种

具有 $Pi-z$ 基因的品种对日本的 7 个菌系表现抗病,具 $Pi-t$ 基因的品种也表现相似的反应。为了明确高抗品种是否会有这些特定的基因,通常用侵染 $Pi-Z$ 基因的爱 76—176,侵染 $Pi-b$ 基因的 TG80—150 和侵染 $Pi-b$ 、 $Pi-t$ 基因的 Ph80—49 三个菌系接种,结果见表。

福锦、MM10、中花 4 号、中花 14 号、中花 15 号对爱 76—176— zt^+Z^+ 表现 S 或 MS 反应,对其他两个菌系表现 R 或 R^h 反应。这种反应型表示被测的中国品种中花 14 号、中花 4 号和中花 15 号含有抗性基因 $Pi-z$ 。7801 与 BL 1 表现相同的反应型,这表示 7801 含有抗性基因 $Pi-b$ 。四丰 43 号和金围矮与 K59 的反应相同,对 Ph80—49— t^+-b^+ 菌系表现感病反应,这种反应型表示这两个籼稻品种含有 $Pi-t$ 基因。7833 也可能含有 $Pi-t$ 基因,待重新测定对 Ph80—49— t^+-b^+ 的反应型后确定。表 3 中被测的其他中国品种,对三个菌系都表现高抗,除东农 363 号已确定具 $Pi-a$ 、 $Pi-k$ 基因外(见中国鉴别品种的抗性基因分析),其他品种不能由这个测定结果推断基因型。

讨 论

由本研究结果可见,利用日本的 7 个菌系及由它们衍生的突变菌系和一些菲律宾菌系,可以推断中国大部分粳稻品种的基因型,个别籼稻品种也可以应用这种方法推断基因型,但大部分籼稻品种的基因组成复杂,对 7 个菌系都表现高抗,而且对所利用的菲律宾菌系也表现抗病,因此用这种方法很难确定籼稻品种的基因组成。

日本的 7 个鉴别菌系是致病性比较稳定的代表菌系,日本的研究者依照品种对 7 个菌系的反应型,把全国的主要品种划分为 14 个类群。通过各类群代表品种的基因分析,确定各群品种的基因组成。清泽茂久在日本的条件下确立一套由 12 个单基因品种组成的鉴别品种,利用 7 个菌系及突变菌系和若干菲律宾菌系以及这套单基因品种能够推断其他国家粳稻品种是否含有已发现的抗性基因。在被测品种比较多的情况下,先用 7 个菌系单独测定全部被测品种,初步确定品种基因型,再选用适宜的突变菌或侵染特定基因的菌系接种、最后确定品种的基因型。运用这种抗性基因推断法可以在较短时间内推断许多品种的基因组成,并对被测品种进行抗性分类。但在单基因鉴别品种选出之前不可能应用这种推断方法。

要确定某个品种是否含有目前已发现的抗性基因，通常是把该品种与具有已知抗性基因的品种杂交，用对双亲为非致病性的菌系接种，观察杂种后代的抗性分离。如果 F_2 杂种不出现感病植株，证明被测品种与具已知基因的另一杂交亲本具有相同的抗性基因。反之，当 F_2 杂种出现感病植株时，表示被测品种具有不同的抗性基因。应用杂交基因分析法需要很长时间和大量劳力。采用这种方法在两年期间内鉴定本研究中的品种抗性基因是不可能的。

如前所述，对7个菌系表现抗病的品种，有可能包含已知基因Pi-z, Pi-b或Pi-t。为确定这些品种的基因型、用爱76—176, TG80—150, Ph—80—49三个菌系接种这些品种。当一个抗病种对爱76—176菌系表现S反应，对TG80—150菌系和Ph80—49菌系表现R反应时，可以断定该品种具有Pi-z基因。因为TG80—150为003.2小种，Ph80—49菌系为002.4小种，两个菌系都不能侵染Pi-z基因，所以具有Pi-z⁺基因的品种都对这两个菌系表现R反应。表3中的福锦、MM10、中花4号对三个菌系的反应型表示这些品种含有Pi-z基因。

(二) 论文摘要

一、用日本菌系鉴定中国鉴别品种的稻瘟病抗性基因

本研究用日本和菲律宾的分离菌株和日本的7个致病性稳定的菌系以及突变菌系测定中国7个稻瘟病菌生理小种鉴别品种。研究结果确定中国鉴别品种东农363号具有Pi-a和Pi-k抗病基因，合江18号具有Pi-a和Pi-i基因，关东51号具有Pi-Z⁺基因，四丰43号具有Pi-a基因，可能还含有Pi-t或Pi-b基因，特特普和珍龙13号抗性基因组成复杂，待进一步研究后确定其基因型，丽江新团黑谷不包含抗病基因。

作者根据研究结果指出，我国7个鉴别品种除关东51号具单基因，丽江新团黑谷无抗病基因外，其余品种都具两个或两个以上抗病基因，因此这套品种鉴别能力不育，需要通过全国协作筛选适用于我国的单基因鉴别品种。

二、用两套日本鉴别品种测定菲律宾稻瘟病分离菌的致病性

本文用日本学者清泽的稻瘟病菌生理小种鉴别品种和池桥在菲律宾筛选的，代表籼稻品种主要类型的鉴别品种，测定了菲律宾的分离菌株，评价两套鉴别品种的鉴别能力。研究表明，两套鉴别品种都不适用于鉴别菲律宾的小种，因为许多菌株在两套品种上表现中间反应型。但是清泽的鉴别品种适用于区分日本的分离菌，且具单一抗病基因。因此在尚未筛选出本国或本地区适宜的鉴别品种之前，尤其是粳稻区，可暂时借用清泽鉴别品种。本研究暗示我国南方籼稻区不能盲目搬用外国鉴别品种。

三、中国部分水稻品种的抗性分类

本研究用日本的7个致病性稳定菌系，突变菌系和菲律宾菌系鉴定中国的240个水稻品种。其中26个品种具Pi-a，10个品种具Pi-i，18个品种具Pi-k，7个品种具Pi-aPi-i，14个品种具Pi-aPi-k，5个品种具Pi-ta²，3个品种具Pi-K^P，1个品种具Pi-ta。19个品种对7个日本鉴别菌系表现高度抗性，抗性基因型未定，32个品种对7个菌系都感病，表明不含抗性基因。

根据基因型把被测中国品种分为新2号型，爱知旭型，石狩白毛型，关东51号型，K60型，社糯型，Pi4号型，新雪型，杜稻型，辛尼斯型，砦1号型。

四、菲律宾水稻品种IR1905—18—3—1的抗性基因分析

以IR1905—18—3—1为共同亲本的菲律宾品种的三个组合的 F_3 ，用菲律宾菌系和日本菌系分析它们的抗性。IR1905—81—3—1 $\times$ IR32的 F_3 分离用IR1905—81—3—1的两个微效基因和IR32的一个微效基因可以说明。第二个组合IR1905—81—3—1 $\times$ IR2071—586—5—6—3和第三个组合IR1905—81—3—1 $\times$ IR36的分离与第一个组合不同，它们由隐性互补基因控制IR1905—81—3—1的抗性。结论：IR1905—81—3—1受三个或者三个以上的基因控制。

五、用日本菌系鉴定巴西水稻品种的抗性

本研究用日本菌系和一个菲律宾菌系测定了大约100个巴西水稻品种的抗性。大部分品种对全部日本鉴别菌系表现中等抗性。被测品种中，Rizzoto, Azuccena, EE—403, Paulistinha和Acorni不具有对日本菌系有效的主效基因。Sel. D53—81和IB667具Pi—a基因，Sel. H54—6和Sel. H54—75具有Pi—a和另一个基因。Sel. H54—26具Pi—z，IAC—435和Ital Patna具有Pi—b，其他品种的抗性基因还没有确定，但已肯定它们不具有Pi—k，Pi—K^m，Pi—K^h，Pi—K^p或Pi—z^t。

水淹、冷冻和冰封对冬小麦的 综合作用

高吉寅

(中国农业科学院作物品种资源研究所)

K. pomeroy

(加拿大农业部生物与化学研究所)

越冬作物经常处于各种不良环境下，包括零下低温、低温水淹及冰封，这些不良环境因素，或者单独、或者相结合，对植物造成致死性威胁。在冬季温度低、雪层薄的地区，冬小麦可直接受冻致死，在有冬雨或有融雪发生的地区，由于融冻，冬小麦可能受到严重伤害。冰封和低温水淹对冬小麦成活率的有害作用已经研究得比较清楚，最近的研究进一步说明，冬小麦耐冰封能力可因低温水淹而得到显著增强。

冬小麦处于各种低温环境下，可造成一系列生理生化过程变化。在冰封和低温水淹过程中，无氧呼吸的代谢产物如乙醇、CO₂和乳酸等积累于冬小麦组织中。冰封处理幼苗的组织碎片和线粒体的氧消耗下降比幼苗生活力下降缓慢，在低温水淹早期，组织呼

吸强度迅速下降,但继续水淹2周,组织呼吸有所恢复。在冰封或 -1°C 下置于 CO_2 和乙醇中,原生质膜对氨基酸和盐的透性明显增加。这些研究大大有助于关于各个不良环境因素对冬小麦生理生化过程影响的认识,但是这些因素之间的相互关系还不了解,为此,将冬小麦幼苗置于日温 2°C 、夜温为 0°C 的生长箱内,冷锻炼4周和7周后,给以冷冻、水淹及冰冻加水淹三种处理,即:第一种处理,把长着幼苗的盆子放入盛满水的大塑料容器内,在冷锻炼条件下低温水淹处理一周,第二种处理是,把冷锻炼过的幼苗放入 0°C 冰箱,按每小时降温 -1°C 速度降至 -6°C , -8°C 及 -10°C 三种低温水平,处理一周或两周,第三种处理是水淹后再给 -6°C 、 -8°C 及 -10°C 冷冻处理。在不同冷锻炼时间进行以上三种处理后,测定抗寒性(用50%植株死亡的温度表示)、耐冰封能力(用 -1°C 冰封下50%植株死亡的天数表示)、成活率(用成活植株百分数表示)、碳水化合物含量、氨基酸外渗、 ^{86}Rb 吸收及呼吸强度。从测定结果看到,冬小麦Fredrick在四周冷锻炼后,具有较高的抗寒性和耐冰封能力。冷锻炼后置于 -6°C 下一周,明显地降低了成活率、抗寒性和耐冰封能力,低温水淹1周,也降低了抗寒性,但对成活率没有影响,耐冰封能力稍有提高。低温水淹后又受到 -6°C 低温处理,成活率降低50%,抗寒性比单独一种不利条件下降低得更多,耐冰封能力与单独 -6°C 相似。

冷锻炼七周后, -6°C 低温处理一周,成活率、抗寒性及耐冰封能力无明显变化,然而,当温度降到 -8°C 和 -10°C 时,成活率、抗寒性及耐冰封能力都下降。低温水淹一周没有降低成活率,但使抗寒性降低了,耐冰封能力显著增加。冷锻炼七周的植物,水淹一周后,受到 -6°C 低温处理一周,其伤害程度小于冷锻炼四周后受到同样处理的幼苗,受伤害的程度随水淹后低温处理温度降低而增加,在 -10°C 下,成活率降低到15%,抗寒性和耐冰封能力也很低。当 -6°C 和低温水淹处理时间从一周延长到两周时,无论冷锻炼四周还是七周的植物抗寒性继续下降,而耐冰封能力由于水淹而进一步提高了。冷锻炼九周的幼苗保持较高的成活率和耐冰封能力,抗寒性明显下降。

冬小麦茎组织非结构碳水化合物含量在冷锻炼期间明显增加。经四周或七周冷锻炼的幼苗,受到冷冻或低温水淹处理后,其碳水化合物含量降低,且水淹比冷冻作用更显著。经四周冷锻炼的植物,再受到两种(冷冻、水淹)不良环境胁迫,与受到一种不良环境胁迫相比,碳水化合物下降更为显著。对于七周冷锻炼的幼苗,未观察到水淹和冷冻对碳水化合物含量的累加作用。低温水淹2周,进一步降低了经过4周冷锻炼幼苗的碳水化合物含量,而7周冷锻炼的幼苗未见碳水化合物进一步降低,而 -6°C 冷冻2周,无论4周还是7周冷锻炼的幼苗,碳水化合物含量都未减少。

经4周、7周和9周冷锻炼未受不良环境处理的幼苗茎组织碎片具有高水平耗氧量。4周冷锻炼的幼苗,在受到 -6°C 低温处理、低温水淹及这两种胁迫联合作用后,氧吸收逐渐降低。7周冷锻炼的幼苗受到 -6°C 低温处理后,呼吸作用降低的情况相似,受 -8°C 和 -10°C 低温处理1周后,呼吸作用进一步下降。水淹大大降低呼吸速度,但水淹后再给以冷冻处理,未见呼吸作用进一步下降。值得注意的是,7周冷锻炼的幼苗在受到水淹和 -10°C 联合作用后,幼苗成活率下降到15%,仍保持显著氧吸收能力。

各种处理对原生质膜结构完整性的影响通过茎组织碎片氨基酸渗漏试验做了测定。

把茎组织置于干冰上,以完全杀死组织,测出的总氨基酸渗出量对于所有处理都大致相同。经4周冷锻炼的幼苗,置于 -6°C 下1周,其茎组织氨基酸渗出量大大增加,但低温水淹1周却没有影响。水淹、冷冻联合作用后,氨基酸渗漏未见进一步增加。7周冷锻炼的幼苗, -6°C 低温处理后可观察到氨基酸外渗明显增加, -10°C 低温处理既降低成活率又增加氨基酸外渗量。单独水淹,未见氨基酸外渗。冷冻和水淹联合作用后,尽管幼苗伤害更为显著,但氨基酸外渗量并没增加。

以完整幼苗吸收 ^{86}Rb 测定各种处理后幼苗的离子吸收能力。根(加茎)和叶在冷锻炼后期所含标记物量下降,当冷锻炼4周的幼苗受到冷冻或水淹处理时,根吸收 ^{86}Rb 下降,受两种胁迫联合作用后,根吸收 ^{86}Rb 能力进一步下降。当冷锻炼7周的幼苗受到冷冻处理后,无论根和叶中标记物含量都下降,两种不良条件联合作用时, ^{86}Rb 吸收受到更大抑制。

本试验结果说明膜运输系统是伤害的最初部位。冷冻处理后,氨基酸被动渗出进一步支持这一观点:膜透性的改变是冷冻伤害的早期表现。

* 本文发表在“Plant Physiology”1983年72卷第2期 本文于1982年6月在美国召开的植物生理年会上报告过。

低温对玉米幼苗线粒体功能与结构的影响

高吉寅

(中国农业科学院作物品种资源研究所)

K. pomeroy

(加拿大农业部生物与化学研究所)

玉米属低温敏感作物,从种子萌发到种子成熟的各个发育阶段, $0-15^{\circ}\text{C}$ 的低温可能造成玉米不同程度的冷害。不同栽培品种抗冷性虽有不同,但是低温冷害仍是限制玉米生产和种植范围的主要原因。近年来有关玉米冷害机制的研究主要集中于根部离子运输、酶活性,以及叶绿体功能与结构的研究。本文对 6°C 下生长的玉米幼苗的线粒体功能与结构进行了考查,以求进一步了解玉米的冷害机制,以此为基础,寻求准确的抗冷鉴定生理指标。

玉米幼苗暗培养4天后,转到 6°C 生长箱低温处理。于不同处理时间取样,用改进

的Sarkissan方法提取线粒体,按Miller方法、以氧吸收为指标进行呼吸作用测定。取0.1毫升线粒体溶液,在24℃平衡2分钟,加入足够量的一定浓度的 α -酮戊二酸及ADP,测状态Ⅲ呼吸及状态Ⅳ呼吸、二磷酸腺苷与氧之比值,由状态Ⅲ呼吸和状态Ⅳ呼吸计算呼吸控制。呼吸速度以每分钟每毫克氮消耗的微克分子氧表示。样品蛋白氮用Lowry方法测定。在测生理功能的同时,做线粒体超微结构观察。提取的线粒体投入用0.05M磷酸钠缓冲液(PH6.8)配制的6%戊二醛中,固定2—3小时,于1小时内用0.05M磷酸钠缓冲液冲洗4次,再放入用0.05M磷酸钠缓冲液配制的1%锇酸中,3—4℃固定3小时后于1小时内用0.05M磷酸缓冲液冲洗4次,此后按常规,用各级丙酮脱水,环氧丙烷过渡,环氧树脂Epon812包埋,用Reichert Omu₂型超薄切片机切片,经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,在Philips300型电子显微镜下观察与照相。为观察质膜透性,做了氨基酸渗漏量分析。

由试验结果看到,低温处理1周幼苗线粒体的磷酸化能力开始下降,磷氧比(ADP/O)比对照下降12%,状态Ⅲ呼吸下降12.5%,呼吸控制降低25%。低温处理2周幼苗线粒体磷酸化能力比对照下降13%,状态Ⅲ呼吸下降21%,呼吸控制降低42%,低温处理3周的幼苗线粒体磷酸化能力比对照降低27%,状态Ⅲ呼吸降低31%,呼吸控制降低47%。由此可见线粒体的呼吸功能随低温处理时间加长逐渐下降,但直到3周,仍保持一定呼吸功能。

6℃低温处理不同时期玉米幼芽生长点细胞的结构变化,与对照相比,6℃处理1周的细胞,线粒体未见明显变化,处理2周时,线粒体开始膨胀,6℃处理3周,可以观察到线粒体内嵴膜解体。也观察了分离线粒体的结构变化,细胞线粒体与分离的线粒体结构变化是一致的,随6℃处理时间加长,线粒体受到的伤害逐渐加重。

线粒体结构观察与功能测定结果是一致的。低温处理1周,线粒体受到轻微伤害,外观上稍有膨胀,呼吸功能有所下降,2周时,结构受到进一步破坏,线粒体显著膨胀,呼吸功能进一步下降。3周时,线粒体受到较严重伤害,可观察到内嵴膜解体,呼吸功能下降更加严重。

随低温处理时间加长,氨基酸渗漏量迅速增加,低温处理1天,氨基酸渗出量比对照增加1.2倍,处理3天,增加1.5倍,处理1周,增加1.9倍,处理2周,增加3.0倍,处理3周,增加倍数有所减少(2.3倍),可能是由于受害严重,组织液外渗,丢失部份氨基酸,组织内氨基酸含量有所降低所致。

某些低温敏感植物低温处理1小时离子外渗量显著增加,我们观察到6℃处理1天的玉米幼芽氨基酸外渗量比对照增加1.2倍。氨基酸渗漏是原生质膜透性变化的结果,因此,所观察到的结果有力地支持这一论点:原生质膜是低温伤害最敏感的部位。

除用分离线粒体进行呼吸功能测定外,也可用组织碎片为材料测定呼吸强度,用组织碎片为材料,对于大批量样品测定简便易行,利于推广,所以呼吸强度和氨基酸外渗量的测定,就其生理意义而言,能反应植物的重要生理现象,就其方法而言,简便易行,因此在作物冷害(或寒害)抗性生理研究或抗冷(或抗寒)性筛选中,结合田间试验,或许是比较可取的生理指标。

本文发表在“中国农业科学”1984年第一期上。

冬小麦对亚致死低温的反应

高吉寅

(中国农业科学院作物品种资源研究所)

K. pomeroy

(加拿大农业部生物与化学研究所)

越冬作物在所生长地区,常常受到各种不良环境威胁,零下低温伤害最为常见,其程度随低温强度和持续时间的延长而加重,在温度低、雪层薄的年份,越冬作物可能直接死于低温冻害,而气温变化异常,可造成冬季融雪,麦苗受到融冻,或较长时间埋在冰封之中,在这种情况下,即便土壤温度稍低于冰点以下,也可能发生严重的冰封伤害。

最近研究表明,某些不良低温环境因素相互作用对越冬作物的生理生化参数、抗寒性、生存率等会产生全面不利影响,例如,冬小麦在受到短期低温水淹处理后增强了耐冰封能力,但却降低了抗寒性,损伤了代谢功能。

为进一步认识低温伤害的实质,把五天苗龄的冬小麦幼苗放入低温生长箱(日温 2°C ,夜温 0°C)冷锻炼六周,六周后,把幼苗放入程序控制的冰箱内,按每小时降温 1°C 的速度,降至 -6°C ,维持五周,在五周内,于不同处理时期取样,样品在 $2-4^{\circ}\text{C}$ 下过夜解冻,用于生理生化指标测定,测定项目有:

抗寒性:用冷冻致死50%幼苗的温度(LT50 $^{\circ}\text{C}$)表示,随 -6°C 处理时间加长而下降。

生存率:用生存植株的百分数表示,随 -6°C 处理时间加长而降低。

线粒体的呼吸作用及微粒体膜ESR光谱(电子自旋共振光谱):除去根,留5厘米长、约3克鲜重茎叶组织,用研钵研成匀浆,用以提取线粒体和微粒体膜部份,提取介质组成为:0.4M蔗糖,1mMEDTA,67mMKH₂PO₄,0.75mg/mlBSA,10mMDTT,PH7.5。分离的线粒体在 24°C 下用常规Clark氧电极测氧呼吸,按Lowry方法测定蛋白质。在20,000g下离心得到的悬浮液(由此悬浮液得线粒体沉淀)在80,000g下再离心30分钟,得到的微粒体膜沉淀悬浮在大约200 μl 含有50%乙二醇、0.1MTris-醋酸盐、5mMEDTA、PH7.2的介质中,将其中100 μl 微粒体膜悬浮液用3 μl 16NS加2 μl 50mM的铁氰化钾喂饲15分钟,另100 μl 用6 μl 5NS加2 μl 50mM的铁氰化钾喂饲15分钟,然后在 0°C 下用BrurerER200型光谱仪记录ESR光谱。从对照和 -6°C 处理5周样品的光谱分析看,微粒体膜特性未发生明显变化。

^{86}Rb 吸收: 将小麦幼苗放入含有 ^{86}Rb -氯化铷的水溶液中, 饲喂24小时后, 用Beckman LS8000型闪烁计数器计数。 -6°C 下短时期内, ^{86}Rb 吸收直线下降, -6°C 处理三天, ^{86}Rb 吸收下降80%, 以后保持相对恒定。

^{14}C -亮氨酸吸收: 幼苗放入含有DL-[1- ^{14}C]亮氨酸溶液中, 在 2°C 下饲喂48小时, 用上述方法计数。幼苗在 -6°C 下短时期内, ^{14}C -亮氨酸吸收直线下降, 三天后, ^{14}C -亮氨酸吸收下降65%, 以后缓慢下降。同时也研究了 ^{14}C -亮氨酸的分布。 ^{14}C -亮氨酸吸收下降, 说明蛋白质合成能力下降。

本研究所得结果证明, 低温伤害的最初部位是膜运输系统, 也有力说明, 不同类型低温伤害的基本机制是相同的。

本文将在“Plant Physiology”杂志上发表。已在“中国农业科学”1984年第五期发表了。

龙葵 (*Solanum nigrum*) 的阿特拉津 抗体中存在着叶绿体基因 组增变基因的证据

岳绍先 *

J. H. Duesing

(中国农业科学院作物育种栽培研究所)

(美国, 密执安州立大学植物研究室)

对阿特拉津 (atrazine) 除草剂有抗性的龙葵植物种子最初是由J. Gasquez (Dijon, 法国) 提供的。种植了一个世代 (P_1) 来繁殖种子。在所观察的70株 F_1 代幼苗中, 有11株的叶子上鉴别出有杂色成份。从这些植株及随后杂交所得到的后代中进行的观察结果达到了众所公认的标准 (Kirk及Tilney-Bassett, 1980), 证实存在着一种叶绿体基因组增变基因 (mutator), 简记为CPm。

1. 这种杂色出现在细胞系中, 它能区分出突变体叶绿体和野生型叶绿体的模式特征, 而这些叶绿体是在叶子发育细胞分裂时聚合的。

2. 显微镜下观察单个的细胞, 可看到突变体叶绿体和野生型叶绿体共存于一个细胞内。

• 本文系作者1980.10—1982.12, 在美国密执安州立大学植物研究室做访问学者期间与Dr. J. H. Duesing合作研究工作的一部分。1982年10月5日曾由作者在美国中西部地区第八届光合作用年会上宣读并载于会议论文集中。

3. 目测及生物化学分析发现, 在同一植株上可以有不同的表型存在。约15%的植株显示出一种杂色成分, 个别植株出现二个或三个表型不同且互相分开的杂色成分。到目前为止观察到的全部实变体表型如表1所示:

表1. 龙葵的阿特拉津抗体植株后代中观察到的叶绿体突变体的各种表型。用生长于野生型植株上的全部突变叶子做的观察。

突变体名称	突变体表型描述	有无成活幼苗
变 绿	植株成熟前叶子黄绿, 随后变绿。	有
暗 绿	突变体组织比野生型更暗一些, 在某些生长条件下才外显。	有
淡 绿	颜色差别清晰; 叶脉较暗绿。	有
黄 绿	黄绿突变体中在颜色及光漂白的程度上存在某些变异性。	无
卷曲浅绿	叶子起初浅绿, 叶缘轻微卷曲, 叶子的逐步凋萎导致一个枝条上带有几片伸展很差的叶子。	有
黄 色	主要的颜色是黄色并带浅绿色	无
致死黄色	叶子最初黄色、随后坏死	无
白 色	某些白色叶子早期显浅绿色; 其他的白叶全然不绿	无
残缺白色	突变体组织使得叶子的形状和大小严重改变; 具L II突变体的周缘嵌合体的成年叶子只及完全叶子大小的1/10, 这一类可能构成线粒体突变。	

还有一些其他的方法也可以使这些突变体彼此之间区别开来: ①叶绿素含量的差异及叶绿素a/b比例的差异(表2); ②体内荧光诱发的瞬态变化(图1); ③叶绿体形态上的亚显微结构发生的变化, 这种变化在野生型组织中是不常见到的(图2)。

4. 由细胞核等位基因诱发的叶绿体突变是细胞质遗传的, 当离开细胞核背景时, 这种叶绿体突变仍然是稳定的。在我们进行的正反交试验中, 杂交得到的F₁代其表型总是与母本相同(表3), 说明叶绿体突变确是细胞质遗传的。将F₁代植株喷洒以阿特拉津除草剂后, 所表现出来的对阿特拉津除草剂的抗性说明细胞质遗传是与叶绿体突变体相关联的(图3)。

表2. 龙葵阿特拉津抗体类型及其叶绿体突变体的叶绿素含量和叶绿素a/b的比例

阿特拉津抗体类型		叶绿素总量/克鲜重	叶绿素a/b比例
法国阿特拉津抗体类型	野生型	2.60	3.02
	淡绿—1	2.30	2.80
	黄绿—2	0.92	2.62
	黄绿—3	0.77	2.31
	黄色—2	0.40	2.40
	黄色—3	0.55	2.64
	白色—2	0.25	2.81
	白色—3	0.0	0.0
意大利阿特拉津抗体类型	野生型	2.55	3.27
	淡绿—1	1.61	3.15
	黄绿—1	0.55	3.55

表3. 从法国阿特拉津抗体龙葵来源的叶绿体突变体与对阿特拉津敏感的龙葵进行正反交后得到的遗传数据。

母 本	×	父 本	绿 色	杂 色	突 变 体
敏感型龙葵, 绿色	×	淡绿—1	631	0	0
淡绿—1	×	敏感型龙葵, 绿色	0	0	130
敏感型龙葵, 绿色	×	黄绿—1	303	0	0
黄绿—2	×	敏感型龙葵, 绿色	0	0	154
敏感型龙葵, 绿色	×	黄绿—3	268	0	0
黄绿—3	×	敏感型龙葵, 绿色	0	0	143
敏感型龙葵, 绿色	×	白色—2	75	0	0
白色—2	×	敏感型龙葵, 绿色	0	0	27
敏感型龙葵, 绿色 (自花授粉)			211		

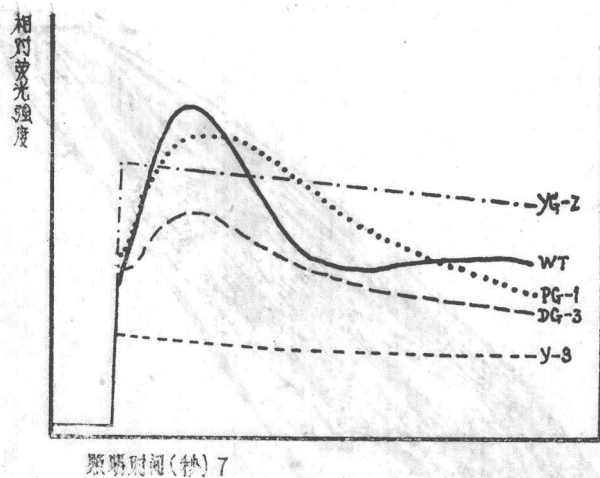


图1A 龙葵野生型 (WT) 及四个突变体, 黄绿 (YG-2), 淡绿-1 (PG-1), 暗绿-3 (DG-3), 黄色-3 (Y-3) 的完整无损并经过黑暗适应后的叶子叶绿素荧光诱发的动态。

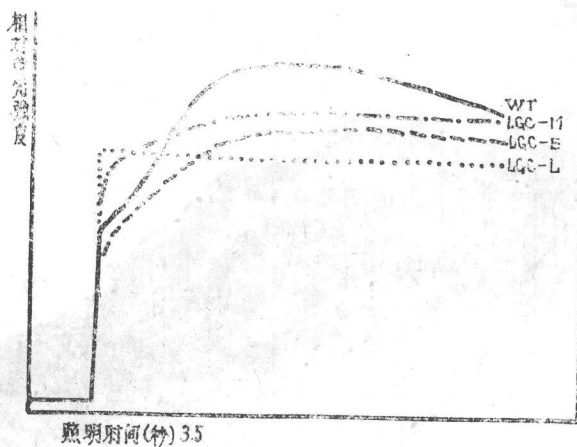


图1B 龙葵野生型 (WT) 及卷曲线绿突变体特征改变的三个阶段: 早期 (LGC-E), 中期 (LGC-M) 及晚期 (LGC-L) 的完整无损并经过黑暗适应后的叶子叶绿体荧光诱发的动态。

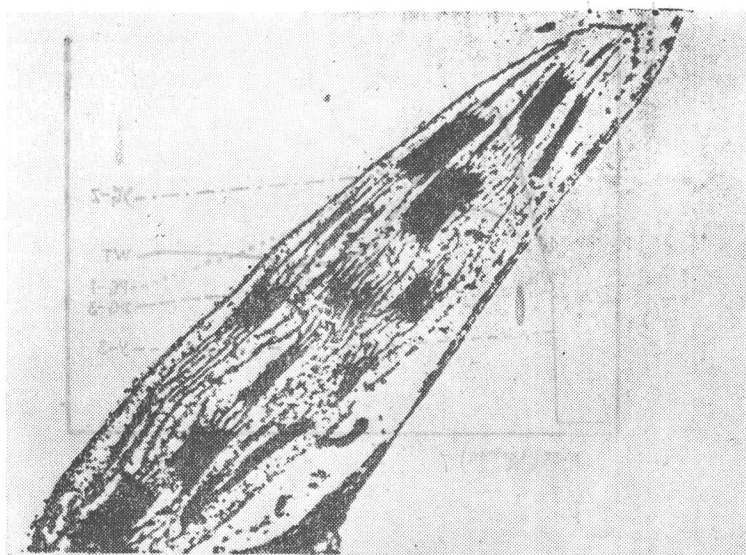


FIGURE 2A. WILD TYPE

图2A 野生型

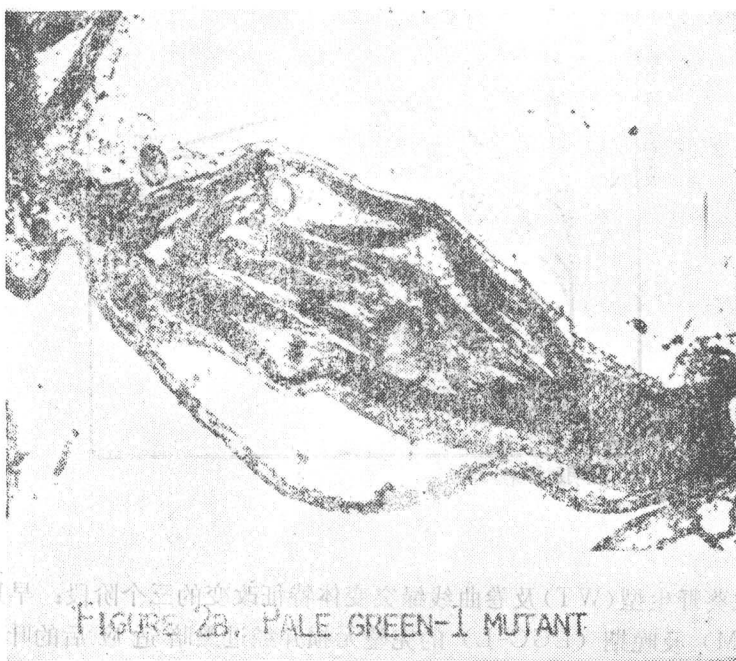


FIGURE 2B. PALE GREEN-1 MUTANT

图2B 淡绿-1突变体