

疫病的发生和繁殖(下)

卵孢子——卵孢子的产生和萌发的生理要求已经知道了哪些？各种天然的培养基上能够产生卵孢子，例如：碗豆汁、V—8 汁洋菜和燕麦片洋菜，但是至到1963年以前，在人工合成培养基上还不能产生卵孢子。Leonian和Lilly的关于 *P.cacorum* 在豌豆汁抽出液里产生卵孢子的初期研究工作是重要的。还不到1963年和1964年，科学家们从三个试验报导了确定甾醇类是 *pythium* 和 *phytophthora* 形成卵孢子所必须的，例如：胆固醇，西格马固醇和 β -谷甾醇。Klemmer和Lenney对于 *pythium* 和 *phytophthora* 有性世代的产生的刺激作用进行了研究，并且 *pythiogen* 也是被类酯物刺激的。

Lilly曾经评论过甾醇对产生卵孢子的作用，不必重述。各种甾醇在发育中的实际作用还不知道，可能是影响细胞膜。Schlosser和Gottlieb报导 *pythium* spp的菌丝当生长在缺乏甾醇的条件下时，虽然没有甾醇，但是它能结合外源甾醇。当菌丝含有甾醇时，将对多烯类抗菌素伏里平 (filipin) 变得敏感，并且只从他们发现了通过伏里平处理菌丝磷酸的流出，他们认为甾醇已被结合在细胞膜里。Elliott最近报导胆甾烷醇与胆固醇争夺对 *P.Cactorum* 作用位置，说明两种物质都能促进营养生长和卵原细胞的发育，但是，它们促进卵孢子的发育的能力不同。只有胆固醇刺激卵孢子发育。

卵孢子终于萌发，但是，不管怎样，萌发率一般不高并且波动。在卵孢子萌发中甾醇的作用是极少了解的。Romevo和Erwin发现在无菌的V—8 汁洋菜里加入 β -谷甾醇，不仅增加 *P.infestant* 卵孢子的数量，而且萌发率也从20%提高到34%。*P.Cactorum*、*P.erythroseptica* 和 *P.megasperme* Var. *Sojae* 之中无论那一种通常都比那些异宗配合的卵孢子萌发的较快而多。

卵孢子休眠的原因还不了解，但是，早在1934年，Blackwell认为休眠与卵孢子的胞壁的性质有关系，其说法是：(i)胞壁具有一层厚的也许是半纤维构成的内壁和一层较薄的由海绵状纤维束构成的外壁，实际上是没有渗透性的；(ii)在两层胞壁之间是胶状物质；(iii)直到孢子成熟并且能使胞壁渗透氧和水之前不能出现萌发；(iv)外因在诱发萌发中是有效的：随便那一个胞壁的小小的裂伤或者引起胞壁的胶状物质变性；和(v)有关于细胞壁的改变来自内部的萌发。

Sussman运用Blackwell的 *P.Cactorum* 的卵孢子萌发的原理做为说明休眠孢子的各个阶段的一个例子。他区分所构成的休眠为，“一种状态，发育停滞是由于内在性质的休眠阶段，例如：限制营养的渗透，阻止同化作用或者因为休眠产生的自身抑制”，“另一种状态，发育停滞因为不利的化学的或者物理的环境条件”。疫霉菌很可能是以卵孢子进行休眠。但是，直到对于物理和化学因子有更好的了解之前，不能确信外界因子还不是主要的。

我们看见的是 *phytophthora drechsler* 的 A^1 和 A^2 异种交配的卵孢子萌发过程中发育的次序。1967年，Glindo和Zentrnyer首次报导了异种交配的卵孢子的萌发。这个菌株的异种交配是在V—8 汁洋菜培养基上，在黑暗中培养10—15天，并且在试验室里光照7天，每天2小时。然后，卵孢子放置在蒸馏水里2—6天，几次试验平均萌发率为20—60%。

卵孢子在受精后的藏卵器里分化并收缩或膨大。细胞质含有许多球体。

卵孢子壁的厚度增加。在细胞质的中心,形成一个边缘界线分明的大的球体。最后,在完全休眠的卵孢子里细胞质组织变细碎而中心的球体变大。这个阶段的孢子是静止的。这个阶段的培养时期从几日到几个月不等。

为了萌发,在这个阶段需要进行荧光照射。Blackwell还提出在1℃左右的低温下打破*P. Cactorum*卵孢子的休眠。在我们对于*P. drechsleri*和*P. megasperme var. Sojae*的研究期间发现在1℃的低温是不能增加萌发的。

卵孢子在萌发之前3—5天左右是芽前活动阶段。中心的球体开始分裂。细胞质有一个不长的同质阶段并且破坏了完好的结构。卵孢子内壁逐渐凹陷和侵蚀是临要萌发的一个最后暗示。

卵孢子渐渐膨胀,被认为是加强了吸水。开始萌发时,卵孢子几乎充满藏卵器和从卵孢子里露出芽管并且向藏卵器壁压挤。芽管长出了并且其后最终出现孢子囊或者变成菌丝体。

West Virginia小组曾经广泛地研究了在萌发过程中光的作用。意外的是在发育阶段里连续光抑制卵孢子产生。然而,为了萌发,卵孢子形成之后,需要荧光照射(更正确地是用蓝光)。Romero和Gallegly报导*P. infestans*的藏卵器萌发(现已接受这两位作者的论点,认为就是真正卵孢子萌发的经过)是受光的刺激。Romero和Erwin观察*P. infestans*用荧光灯照射7天,每天2小时,卵孢子萌发15%,用做对照的在黑暗中成熟的卵孢子则不萌发。

Brasiter最近报导*P. palmivora*异宗配合形成卵孢子适宜温度是20℃,生长最适宜温度是25℃。在分离*piper nigrum*的叶时,光抑制藏卵器的形成。他认为这两个限制因素可能说明为什么这种菌的卵孢子在自然条件下不易发现。

杂交而来的卵孢子的遗传倾向性对于萌发也是一个重要的因素。比较*P. infestans*的两个不同杂交组合473(A¹)×445(A²)和473(A¹)×477(A²)的卵孢子的萌发率是48%,63B(A¹)×60A(A²)的杂交种的萌发率只有6%。

如果卵孢子的休眠对于病菌在没有感病寄主的情况具有生存的意义,那么,似乎休眠是个进化的趋势说明为什么有些杂交后代萌发好而另一些不好。所以,为了疫霉菌遗传的研究,对于产生最大量的易于萌发的孢子的菌株进行编目将是重要的。通过生态学的研究,认为休眠是有利于疫霉菌属存在的一个重要因素。

既然Gallegly在这里全面地阐述了遗传学,所以,我们仅就有性阶段的病理学的意义做以论述。根据Romero和Erwin报导*P. infestans*471(A¹)(小种1, 2, 3, 4)×445(A²)(小种0)的杂交,在A¹里找到如下小种的交配型: 0; 1; 2; 3; 1, 3; 1, 4; 2, 3; 4; 和1, 2, 3, 4; 并且在A²里有0; 1; 和1, 4的交配型,这个资料指出重新结合已出现。因此,传递变异的性结构对于致病的基因的重新排列起重要作用。在这种杂交后代里培养变异也是常见的。在同一菌株的后代里重新结合已被Laviola所证实。

Gastro等报导经过荧光光照过的疫霉菌的游动孢子因为蛋氨酸和色氨酸而产生的营养缺陷突变型。这些菌株杂交的卵孢子的萌发指出,重新结合的因子,控制对于这些氨基酸的需要。在这种异宗配合的种类里得到营养缺陷突变型的事实,使得游动孢子可

能是二倍体受到怀疑。

是Castro和Zenlmyl报告的论据不注重*P. infestans*的杂交后代培养和病理的变异，他们的报告指出萌发的卵孢子不一定是活着的。从Romero的473×445交配的F₁单株的无系A¹和A²杂交的卵孢子的研究里，620个萌发的卵孢子仅有4个没死，并且，它们所产生的孢子囊是变态的。严重破裂的菌丝与原来膜就薄的菌丝接合。根据这项工作提出了确定菌株A¹和A²“相容性”的必要的标准扩大到萌发的卵孢子后代的一个菌落的建立。

异宗配合种类的种间杂交已能产生卵孢子。Savage等报导*P. infestans*当A¹或者A²型与几乎所有的异宗配合种类杂交时都有产生卵孢子可能。Barrett可能是第一个报告*P. drechsleri*和*P. infestans*杂交出来的卵孢子并且还报导了一些卵孢子的萌发，遗憾的是在他的简短的摘要之后没有再报导。

我们最近报导了*P. cinnamom*、*P. parasitica*、*P. palmivora*和*P. drechsleri*培养的A¹和A²交配后产生了卵孢子。然而，仅仅在*P. drechsleri*A¹和A²杂交中出现萌发。

种间杂交萌发的失败是否定的证据，但是，不能下种间杂交是不可能的结论。有性阶段是来源于具有新的和不同的寄主范围的重新组合体且或许具有象对温度耐性的生理特性，这是个引人入胜的领域，而且有非常实际的可能。

为什么要继续研究卵孢子的萌发？

除发展要求了解控制萌发的生理过程之外，对于有能力有可能研究的充满变异的种类的研究是实际的。象研究分类学一样，对于致病与为害变异的研究也是重要的。Snyder和HanSen对于充分了解在一个种里做出分类学的最后结论之前对形态变化做了明确的叙述。还有，为了控制疫霉菌引起的病害，了解永远保存致病的卵孢子意义和能力是重要的。

腐生现象——没有被普遍地考虑过疫霉菌属在土壤里是有效的腐生竞争者；许多腐生方面研究报告也不支持这个观点，还包括对*P. cinnamomi*的研究亦不例外。Blackwell等1941年的一篇报告指出疫霉菌属能够存在于有水的状态；他们报导得到的一分离物有意义的是来自池塘中浸泡的苹果上带有的*P. megasperma*。据我们所知，这种现象没有进一步的研究。Klotz等报导从流入溉渠的水里出现的疫霉菌来自有病的丛树。这个情况与池塘里现象几乎没有什么不同。

De Bruyn的研究曾经作为几种土壤疫霉菌(*P. syringae*, *P. erythraeptica*和*P. infestans*)的例子被引用。然而，这些研究都处于消毒的土壤里，就引深推断这些菌同样地能存活在自然土壤里是不合理的。

Legge在1953年证明了几种疫霉菌在土壤里卵孢子和孢子囊的产生和存活，卵孢子的生活力一年以上，并且病菌在没有寄主的情况下存活9个月。她报导的卵孢子存活数的平均数大多数是可能的。Hickman报导了*P. fragariae*在未经消毒的土壤里存活超过一年半。

我们对*P. cinnamomi*的研究中发现当自然病土于20℃的潮湿条件下，在没有寄主的情况下，病原菌保存很久(6年以上)。但是，当土壤的湿度如果小到2—3%时，

存活时间仅有几周。在细根残留范围内生活六年以后的菌态大概是厚垣孢子。我们发现病原菌同样有很强的腐生力,不仅在消毒的土壤里,而且能在未消毒的土壤里侵入麦秆和死了的颞梨根,特别是当土壤水份含量保持在接近饱和的时候。在我们的试验里,*P.cinnamomi*在有底肥的未消毒的土壤里生长3 cm以上。

和我们研究*P.cinnamomi*的结果相反,个别著作报导极少或不侵入有机体并且菌丝很少或不能活动通过未消毒的土壤Knhlman报道在未消毒的土壤里*P.cinnamomi*很少侵入Douglas枞树,并且不能通过未消毒土壤进行扩展。

Lacey记载过*P.infestans*菌丝仅仅生长在灭菌的土壤里,并评论由于其他微生物的竞争,这种菌作为一个腐生菌不一定有很强的越冬能力。Vujicic和Park发现*P.erythroseptica*在有底肥的未消毒的土壤里做很有限的生长扩展(6mm),并且,不能移植到土壤里的死植物体上;他们报导在土壤里形成卵孢子和孢子囊。Tsao在对于*P.parasitica*的研究中曾发现这个菌不能够生长在土壤内,因其一般缺乏有效的食源,他认为在自然土壤里放置用玻璃丝块包的菌丝的试验里得不长的结果,并且发现菌丝很快形成抗逆性繁殖器官或细胞溶解。Eckert和Tsao, Tsao和Menyonge. Tsao和Ocane发展的抗菌素培养基(3-P, PV和更新的 P_{10} VP)比过去研究土壤里的Phytophthora种的发和生活所将用的方法提供了更有效的手段。

Turner发现*P.palmivora*在拌入底肥的消毒或未消毒的土壤里的生长都很有限,但是,在我们的研究结果里,*P.cinnamomi*, *P.Palmivora*与移植了成熟和未成熟可可荚碎片的一种土壤微生物产生成功的对抗。属于这类的菌,在土壤内的腐烂的感病组织或者形成抗性组织里都可能存活好几年。有些研究者报导在土壤里产生厚垣孢子和卵孢子,或者只产生其中的一种形态的种如下:*P.cinnamomi*, *P.erythroseptica*, *P.parasitica*, *P.cactorum*, *P.cryptogea*, *P.porri*和*P.megasperma*。Ocane与Tsao和Tsao与Ocane对于分离土壤疫霉菌的研究指出:疫霉菌多半以非菌丝的繁殖体存活着,在从田间土里分离疫霉菌高剂量的匹马霉素(Piramycin)(100 PPM)抑制这些菌从土壤里重新获得,用低剂量(10 PPM或更小)时,厚垣孢子和其他孢子才可以萌发。

竞争体的腐生能力确实小。我们对*P.cinnamomi*的研究指出,可能在特别高的土壤湿度条件下有利于疫霉菌的扩展。侵染根能提供疫霉菌可以发育的基础营养;看来如研究只强调除非有营养,否则不能生长的事实是不现实的。菌丝可以从病根传播到更宽的范围。这种腐生作用能够增加病原菌的致病力,例如*P.cinnamomi*。菌丝无伤侵入根部的位置,在延长区里出现颞梨根部的侵入是被游动孢子以同样方式所侵害。Marx最近发现这种菌的菌丝能够侵染松树根。

这个总结是我们对于疫病菌属发生和繁殖方面最近的和流行的报告的介绍。在这种菌的研究中,科学工作者们的许多研究已有了重要的进展,但是,很多的没有解决的问题将需要研究。

李宝栋 译自Phytopathology 1970.vol.60 pp.1120—1125, "Development and Reproduction of Phytophthora"

籍秀琴 校