

水稻接种根瘤菌后根部形态变化观察研究^{*}

黄世贞¹ Ladha J.K.²

(¹福建省农科院土壤肥料研究所, 福州 350013;

²菲律宾国际水稻研究所土壤和水管理系, 马尼拉)

摘 要 水稻 (*Oryza sativa*) 接种根瘤菌后 2~3 d, 在显微镜下观察, 水稻根表面和根毛上开始有根瘤菌吸附, 根毛产生变形, 末端膨大、微弯; 接后 4~7 d, 粘附在根表和根毛上的根瘤菌密度加大, 且不同水稻品种对根瘤菌的吸附情况有所不同。接后 7~14 d, 根毛形成弯曲, 大多数弯曲 90°~180°; 少数根毛弯曲 180°~360°; 个别根毛产生分枝。不同水稻品种对接种根瘤菌产生的根毛变形和弯曲的效应也有所差异。水稻接种根瘤菌后 35~45 d, 根部形成短化、膨大的次生根瘤状结构。13 种稻/菌组合次生根瘤状结构的形成, 表明这种瘤状结构的产生频率与稻/菌组合有密切关系。

关键词 水稻; 根瘤菌; 根毛变形弯曲; 次生根瘤状结构

中图分类号 S511.01

Studies on the Change of Root Morphology of Rice Inoculated With Rhizobium

Huang Shizhen¹ and Ladha J.K.²

(¹ Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013;

² Soil and Water Sciences Division, International Rice Research Institute,

P. O. Box 933, 1099 Manila, Philippines)

Abstract Different genotype of rice varieties (*Oryza sativa*) have been studied on rice-rhizobia interactions inoculated with Rhizobium strains resulting in the change of root morphology. Microscopic analysis showed that root hair deformation and curling of rice seedlings started from inoculation after 7 days. Most of root hairs curling were about 90° to 180°, a few root hairs formed 180° to 360° curling, shorter and thicker lateral root nodular structures formed from inoculation after 35 to 45 days. The frequency of the nodular structure formation was closely related to the combination of rice varieties and Rhizobium strains.

Key Words Rice; Rhizobium; Root hair deformation and curling; Lateral root nodular structure

根瘤菌与豆科植物共生体系的形成是受双方遗传因子精细调节和控制的十分复杂的过程, 例如根瘤菌吸附、根毛弯曲变形、侵染、皮层细胞分裂、瘤的形成和类菌体分化, 最后形成共生固氮体系^[1~2]。根毛弯曲变形为早期根瘤菌和寄主植物相互作用提供了依据。有关豆科植物根瘤菌吸附和根毛弯曲变形已有大量的研究报道^[3~6]。Cocking 等^[7]报道了非豆科作物玉米、小麦和水稻等与根瘤菌相互作用, 形成次生根瘤状结构。本文观察研究不同基因型水稻品种接种根瘤菌后根系形态的变化: 根瘤菌吸附, 根毛弯曲变形以及短化、膨大的次生根瘤状结构的形成, 探讨根瘤菌与水稻的相互作用, 为建立根瘤菌与非豆科作物的共生体系提

供依据。

1 材料与方法

- 1.1 植物材料 供试水稻品种为福田糯, IR 42, Oking seroni, Ketan Bandang, Kaprit, IRI 346, BG - 11 - 11 和 IR 58125 - B - B - 42。福田糯引自中农院作物品种资源所, 其余品种由菲律宾国际水稻研究所 J. K. Ladha 实验室提供。
- 1.2 根瘤菌菌株及其培养 供试根瘤菌菌株为 IRBG 2, IRBG 46, IRBG 233, IRBG 288, ORS 322, ORS 571, IRBG 74, TAL 380, IC 3038, CP 283 和 NGR 234, 均由菲律宾国际水稻研究所 J. K. Ladha 实验室提供。根瘤菌菌株分别在胰蛋白胨、葡萄糖、酵母膏培养基 (TGYE)^[6]和酵母膏、甘露醇培养基 (YMM)^[7]中 28 ℃ 活化后移入相应的培养液, 28 ℃ 振荡培养 48 ~ 72 h, 达到对数后期的菌悬液 (1×10^9 cells/ml) 用于稻苗接种。
- 1.3 种子消毒和稻苗接种 水稻种子表面消毒和发芽参照黄世贞等^[8]方法, 用 75% 酒精消毒 15 min, 无菌水清洗 3 次, 在 32 ℃ 浸种 48 h, 然后用 0.1% 升汞消毒 12 min, 无菌水清洗 7 次, 在 32 ℃ 无菌条件下发芽 48 h, 挑选健康的谷芽移入已高压灭菌、每管含 20 ml Fahraeus (F) 无氮培养液^[9]或 F 软琼脂培养基试管中 (20 mm × 200 mm), 每管 1 株苗, 分别观察根部形态变化和次生根瘤状结构的形成。移苗后在玻璃温室中培养, 日平均温度 26 ℃, 夜间 19 ℃, 相对湿度 70% ~ 80%, 自然光照。移苗后 5 d, 用新鲜培养的达到对数后期的根瘤菌菌悬液接种, 每苗接种菌液 1 ml。
- 1.4 显微镜技术 稻苗接种后定期取样观察, 每处理 2 株苗, 每苗 3 条根 (1 条种根和 2 条须根), 在 Olympus 照相显微镜下观察根瘤菌吸附、根毛弯曲变形和拍照。在 F 软琼脂培养基上培养的稻苗接种后 7 ~ 45 d 每周定株观察根系生长特征和短化、膨大的次生根瘤状结构的形成。次生根根瘤经 2, 3, 5 - triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 染色后在 Olympus 照相显微镜观察和拍照。

2 实验结果

2.1 根瘤菌吸附 接种后 2 ~ 3 d, 在显微镜下观察, 水稻根表面和根毛上开始有根瘤菌吸附, 接种后 4 ~ 8 d, 吸附量从少到多, 粘附在根表和根毛上的根瘤菌密度加大。观察结果还表明, 不同水稻品种根瘤菌吸附情况有所不同 (表 1), 不同菌株在同一种水稻品种上的吸附情况也有所差异 (表 2, 表 3)。

2.2 根毛变形弯曲 植物根毛是根系表皮细胞向外延伸形成的。水稻根毛细小, 长约 0.10 ~ 0.15 mm, 粗约 0.010 ~ 0.013 mm^[9], 但它对外界的反应十分敏感。稻苗接种后与不接种的对照苗比较, 根毛形态有以下几种变化: 根毛膨大、变形、弯曲或分枝等。接种后 2 ~ 3 d 就可以观察到根毛变形, 年幼的短根

毛膨大成棒状或纺锤形, 较长的根毛末端膨大, 微弯 (图 1. ①, ②), 接种后 7 ~ 14 d 根毛形成弯曲, 大多数为 90 ° ~ 180 ° 的弯曲 (图 1. ③, ④, 箭号), 少数根毛弯曲 180 ° ~ 360 °

表 1 不同水稻品种根瘤菌吸附情况

水稻品种	根瘤菌吸附
IR 42	+
Oking seroni	+++
Kaprit	++
Kelan Bandang	+

注: 接种菌株为 NGR 234, 接后 10 d 取样观察, “+” 示根瘤菌少量吸附; “++” 表示根瘤菌覆盖根和根毛表面约 1/3; “+++” 表示根瘤菌覆盖根和根毛表面约 2/3 (下同)。

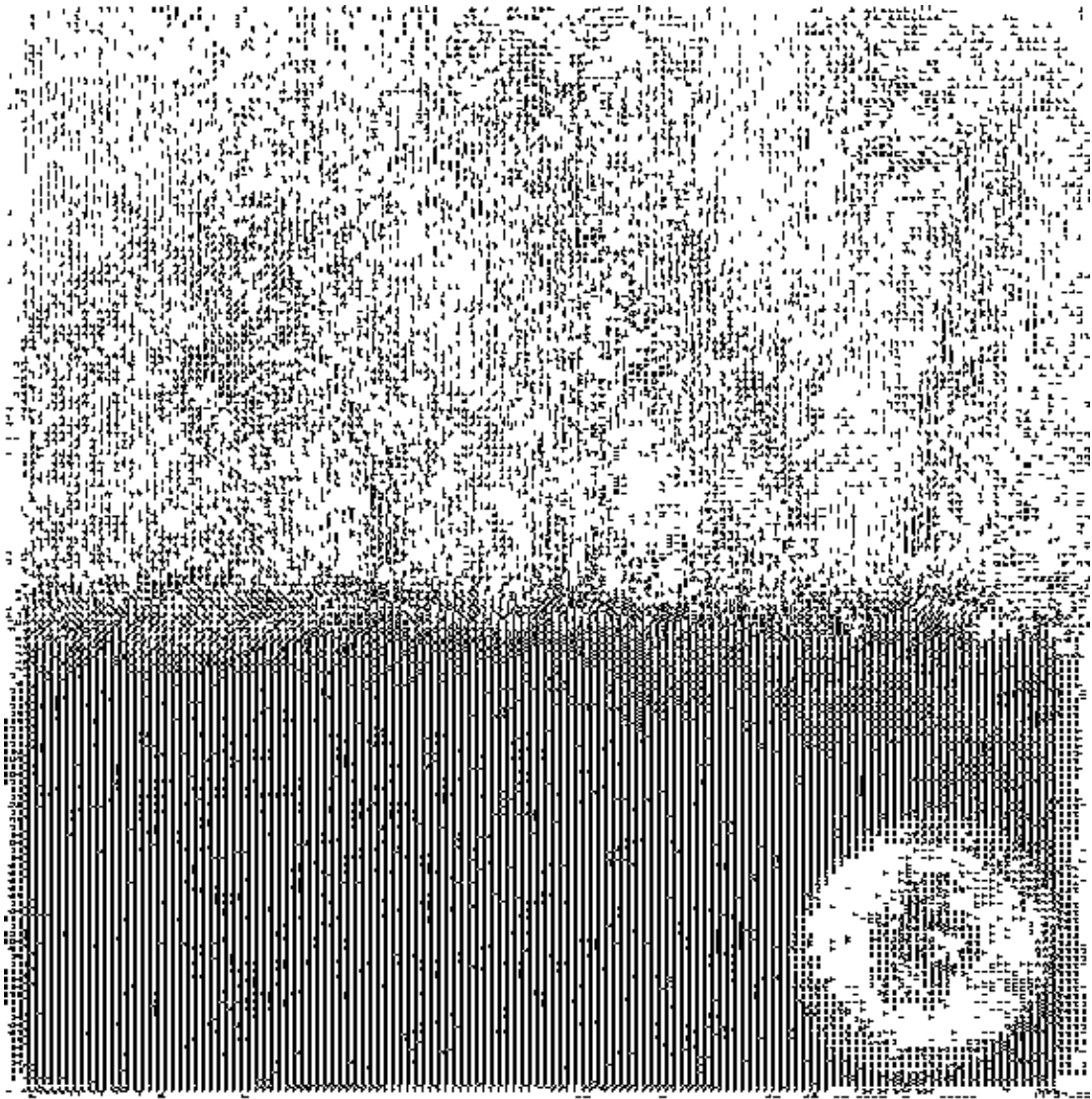


图 1 ①根瘤菌吸附和根毛变形;②~⑤根毛弯曲 90°、180°和 360°;⑥不接种的对照苗的根毛。①~⑥均放大 200 倍

表 2 根瘤菌不同菌株在水稻 IR 42 根系吸附情况

菌 株	根瘤菌吸附		
	接种后 4 d	接种后 8 d	接种后 16 d
IRBG 2	+	++	+
IRBG 74	+	+++	++
ORS 571	+	++	+

表 3 根瘤菌不同菌株在水稻 Katan Bandang 根系吸附情况

菌 株	根瘤菌吸附		
	接种后 4 d	接种后 8 d	接种后 16 d
IRBG 2	++	++	+
IRBG 74	+	++	+
ORS 571	+	+++	++

(图 1. ⑤ 箭号), 有时观察到个别根毛形成分枝(图 1. ③, 箭头)。品种 IR 42 接种根瘤菌株 IRBG 233, 接后 8 d 形成弯曲的根毛数占所观察根毛总数的 2.0% ~ 2.3%(表 4); 接后 14 d, 弯曲根毛占所观察根毛总数的 3.4% ~ 3.9%(表 5)。有的根部位根毛弯曲较多, 较集中, 根毛弯曲发生频率达 8%(表 5), 而不接种的对照苗没有形成根毛弯曲(图 1. ⑥)。

水稻根毛变形和弯曲, 大多数发生在靠近根尖的幼嫩的、正在伸长的短根毛或较长但仍然幼嫩和健壮的根毛。这些根毛有活力, 在显微镜下观察, 根毛饱满。内有液泡并可见液泡的细胞液和靠近根毛细胞边缘的原生质薄膜层。

不同水稻品种对根瘤菌不同菌株所产生根毛变形和弯曲的效应有所差异, 如品种 IR 42 接种菌株 IRBG 233、IRBG 74 和 ORS 571 均产生根毛变形和弯曲效应, 品种 BG - 11 - 11 接种菌株 IRBG 233 和 IRBG 46 产生根毛变形和弯曲效应以及品种 Ketan Bandang 接种菌株 IRBG 74 和 ORS 571 也产生根毛变形和弯曲效应; 而品种 IR 42 接种菌株 TAL 380、品种 BG - 11 - 11 接种 IC 3038 和品种 Ketan Bandang 接种菌株 ORS 322 未观察到根毛变形和弯曲。

表 4 IR 42 接种菌株 IRBG 233 后根毛弯曲发生频率

样株	弯曲根毛占观察根毛总数的百分率*					平均
	视野 1	视野 2	视野 3	视野 4	视野 5	
1	种根	0	0	2	1	2
	须根	3	4	3	2	
	须根	2	2	3	3	
2	种根	0	1	1	2	2.3
	须根	0	4	5	4	
	须根	0	3	5	5	

注: ①接种后 8 d 的观察结果, 取 2 株苗, 每苗 3 条根, 在显微镜 10 倍物镜下每条根观察 5 个视野, 记载根毛弯曲情况; ②单位: %

表 5 IR 42 接种菌株 IRBG 233 后根毛弯曲发生频率

样株	弯曲根毛占观察根毛总数的百分率*					平均
	视野 1	视野 2	视野 3	视野 4	视野 5	
1	种根	2	1	0	0	3.4
	须根	3	2	2	5	
	须根	8	7	5	5	
2	种根	0	3	2	0	3.9
	须根	3	8	7	6	
	须根	4	3	4	3	

注: ①接后 14 d 的观察结果。取 2 株苗, 每苗 3 条根, 在显微镜 10 倍物镜下每条根观察 5 个视野, 记载根毛弯曲情况; ②单位: %



图 2 短化、膨大的次生根瘤状结构
① × 10 ② × 200

2.3 形成短化、膨大的次生根瘤状结构 稻苗接种后,有部分次生根停止伸长,并且膨大形成瘤状结构(简称 STLR)(图 2. ①, ②),这种次生根瘤状结构与不接种的对照苗的次生根显然不同。我们观察了 BG-11-11, IR 42, IRI 346 和福田糯 4 个水稻品种接种根瘤菌后根系形成短化、膨大次生根瘤状结构的情况。结果表明,在 13 种稻/菌组合中,稻苗根系均有不同程度 STLR 形成(表 6),STLR 产生频率与水稻品种以及稻/菌组合有关,不同组合间 STLR 产生频率有较大差异。如,组合 BG-11-11/IRBG 233 和 BG-11-11/ORS 571 STLR 产生频率较低,仅为 10%,组合福田糯/IRBG 74 STLR 产生频率较高,达 50%。又如 BG-11-11, IRI 346, IR 42 和福田糯 4 个品种接种菌株 ORS 571, STLR 产生频率分别为 10%、19.2%、22% 和 46.7% (表 6)。

3 讨 论

根毛弯曲变形 是研究根瘤菌的结瘤因子在诱导豆科植物结瘤作用中的一种十分灵敏和常用的方法。研究不同基因型水稻品种接种根瘤菌后根部形态变化结果,接种根瘤菌后,水稻根毛与不接种的对照苗比较有明显的变化,如早期根毛末端膨大、微弯,接着根毛形成 90°~180°或 180°~360°的弯曲,个别根毛形成分枝,这些现象显示水稻根系与根瘤菌之间的相互作用,在一定的程度上产生遗传信息交换,根瘤菌的结瘤因子在水稻上有某种程度的表达,从而诱导水稻根毛产生变形和弯曲效应,但这种根毛弯曲变形效应因水稻品种而异,说明根瘤菌的结瘤因子在不同基因型水稻品种上表达的程度也不同。

Cocking 等(1993 年)报道了玉米、小麦、水稻等非豆科作物与根瘤菌相互作用形成短化、膨大的次生根瘤状结构^[7]。我们的研究表明,不同水稻品种接种根瘤菌后,短化、膨大的次生根瘤状结构(STLR)的产生频率与水稻品种和根瘤菌菌株的组合有关,不同稻/菌组合 STLR 产生频率有较大差异(表 6),这可能是由于不同水稻品种根系分泌物情况不同所致。水稻接种根瘤菌后部分次生根停止伸长,由于根瘤菌的侵入,可能发育成次生根根瘤,这种短化、膨大的次生根瘤状结构用 TTC 染色处理,部分表皮细胞和皮层细胞显示红色的含菌区,表明次生根根瘤内有根瘤菌存在。关于瘤状结构的超微研究和固氮酶活性有待继续研究。

参考文献

[1] Dart P J. Development of root nodule symbiosis. The infection process. In: The Biology of Nitrogen Fixation (A. Quispel ed.) North Holland, Amsterdam. 1974, 381
[2] Turgeon B G, Bauer W D. Early events in the infection of soybean by *Rhizobium japonicum*. Time course and cytology

表 6 水稻接种根瘤菌后形成短化、膨大的次生根瘤状结构 (STLR) 的情况

品种	接种菌株	测定苗数*	STLR 产生频率 (%)	平均每苗形成的 STLR 数	平均每条根形成的 STLR 数
BG-11-11	IRBG 233	20	10	3.0	3.0
	IRBG 288	20	15	3.7	3.7
	IRBG 46	20	25	5.2	3.7
	IRBG 74	20	25	4.2	2.6
	ORS 571	20	10	4.0	4.0
IR 42	IRBG 74	50	22	4.5	3.5
	ORS 571	50	22	4.4	3.2
IRI 346	C P283	30	13.3	6.3	3.1
	IRBG 74	30	16.7	6.8	3.4
	ORS 571	26	19.2	4.6	3.3
福田糯	C P283	30	40	4.3	2.9
	IRBG 74	30	50	6.2	3.3
	ORS 571	30	46.7	4.1	2.5

注: 水稻各品种苗龄均为 45 d

- of the initial infection process. Can. J. Bot. 1981. 60: 152- 161
- 6] Bhuvaneswarl T V, Solneim B. Root hair deformation in the white clover/*Rhizobium trifolii* symbiosis. Plant Physiol, 1985, 63: 25- 34
- 7] Callahan D A, Torrey J C. The structural basis for infection of root hairs of *Trifolium repens* by *Rhizobium*. Can J Bot. 1981, 59: 1647- 1664
- 8] Huang S Z, Djordjevic M A, Rolfe B G. Microscopic analysis of the effect of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* host specific nodulation genes in the infection of white clovers. Plasmids. 1993, 172: 180- 190
- 9] 黄世贞, Djordjevic M A, Rolfe B C. 豌豆根瘤菌转移接合子侵染的白三叶草根部分形态特征研究. 植物学报, 1992, 34 (2): 107 ~ 113
- 10] Cocking E C, Srivastava J S, Cook J M et al., Studies on nodulation of maize, wheat, rice and oilseed rape: Interactions of rhizobia with emerging lateral roots. In: Nie Y F, Kennedy I R, Chen T W (eds) . Biological Nitrogen Fixation - Novel Associations with Non-legume Crops. Qingdao Ocean University Press, Qingdao China. 1993, 53- 58
- 11] Ladha J K, Rolando B S. Numerical taxonomy of photosynthetic rhizobia nodulating *Aeschynomene* species. J systemat-ic Bacteriol. 1994, 44 (1): 62- 73
- 12] Vincent J M. A Manual for the Practical Study of root Nodule Bacteria. IBP Handbook No.15 Blackwell, Oxford. 1970
- 13] 黄世贞, 林妙灵, 丁武. 诱导根瘤菌与稻类结瘤共生的探索研究. 福建省农科院学报, 1992, 7 (1): 23 ~ 29
- 14] 李扬汉. 禾本科作物的形态与解剖. 上海科技出版社, 1979