

## 香蕉束顶病株的细胞超微结构的电镜观察(简报)

张海保 朱西儒 刘鸿先

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

### ULTRASTRUCTURE OF BANANA LEAF CELLS INFECTED BY BANANA BUNCHY TOP VIRUS

Zhang Haibao Zhu Xiru Liu Hongxian

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

中图分类号 Q942.4

植物病毒侵染对寄生植物的影响, 不仅表现在寄主植物的生理生化代谢方面, 而且使寄主的组织细胞结构也发生改变, 并最终导致病毒感染所特有的症状产生<sup>[1-3]</sup>。研究病毒感染后寄主的细胞及亚细胞结构的变化, 有助于了解病毒病在细胞形态结构水平上的病变机制<sup>[4]</sup>。

香蕉束顶病是由香蕉束顶病毒(Banana Bunchy Top Virus, BBTV) 侵染引起的一种重要病毒病, 在世界各主要香蕉产区均有发生<sup>[5]</sup>, 对我国的香蕉种植危害也很大。近年来, 对 BBTV 的分子生物学<sup>[6]</sup> 及其侵染后引发的寄主次生代谢酶类和内源激素的变化<sup>[7,8]</sup> 作了较深入的研究, 但有关香蕉束顶病的病理结构变化, 国内外未见报道。为进一步探讨 BBTV 侵染引起的生理生化反应在寄主细胞形态结构上的表现及其与症状发生的关系, 我们对香蕉束顶病株组织的超薄切片进行电镜观察。

### 1 材料和方法

香蕉 (*Musa paradisiaca*) 品种“Williams” 经人工蚜虫传毒接种 BBTV, 发病后保存于温室。取表现典型束顶病症状的较为幼嫩的叶片中脉作超薄切片。同时取同一品种相同苗龄的健康香蕉植株叶片的中脉为对照。

将采集的样品迅速剪成 0.5-1.0 cm<sup>2</sup> 大小, 放置在预先配制好的 4% 戊二醛固定液中固定保存。然后, 参考田波等<sup>[9]</sup> 的方法按以下步骤进行超薄切片制备: ① 用 0.1 mol/L 二甲胍酸钠缓冲液将上述前固定 24 h 的材料进行洗脱; ② 用 2% 锇酸进行后固定 24 h, 再洗脱; ③ 用 30%、50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇进行逐级脱水; ④ 用环氧树脂 Epon 812 包埋渗透; ⑤ 将渗透后的样品和标记放入装有包埋剂的胶囊中包埋; ⑥ 将胶囊放入烘箱令包埋块聚合; ⑦ 用锋利刀片将包埋块修整成顶部锥状显出样品; ⑧ 将修好的样品装在 LKB-III 型切片机上切片; ⑨ 用醋酸双氧铀和柠檬酸铅对超薄切片进行电子染色。最后, 将制备好的超薄切片在 JEM-1010 型透射电镜上进行观察拍照。

中国科学院华南植物研究所电镜室的卢乃弟和徐信兰同志协助超薄切片的制备和电镜观察, 谨此致谢。

1997-10-17 收稿; 1998-04-14 修回

## 2 结果与讨论

香蕉束顶病病株和健株的叶片组织的超薄切片的电镜观察结果如图版 I:1-4。

比较香蕉束顶病病株和健株的组织细胞可看出, 受 BBTV 感染后的病株细胞(图版 I:1)要比对照(图版 I:2)的内容物少, 细胞形态较狭小, 而且在少数细胞的细胞壁外圍有着色较深的椭圆形的类似于病毒侵染形成的内含体结构。病株细胞中叶绿体数量明显减少, 多数细胞中未观察到叶绿体; 即使有叶绿体的细胞, 其叶绿体也小, 极少或无淀粉粒。叶绿体的基粒结构也受到破坏, 基粒发育不完整或基粒层断裂(图版 I:3)。相反, 健株细胞中可观察到数量较多且完整的叶绿体, 叶绿体中含多个饱满的淀粉粒, 且基粒层结构清晰完好(图版 I:4)。

分析上述观察结果, 认为健株叶片细胞的光合作用正常, 而受 BBTV 感染的病株细胞由于叶绿体受到破坏, 导致光合作用受阻, 光合产物(淀粉粒)形成减少, 使细胞发育异常。

作者的前期研究结果<sup>[7,8]</sup>表明, BBTV 的侵染不仅使寄主的次生物质代谢酶类的活性被诱导提高, 而且其内源激素的代谢平衡也被打破。结合上述观察我们进一步分析这些生理变化与细胞结构病变的相互关系, 初步认为: BBTV 侵染后首先导致过氧化物酶、多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶等酚类物质代谢酶类的活性迅速增加, 接着内源激素代谢平衡被破坏。由于细胞分裂素和赤霉素含量降低, 使寄主细胞分裂减少, 细胞生长缓慢, 从而使细胞中叶绿体发育受到影响, 最终导致寄主的光合作用受阻。本研究的观察结果为其病变机制提供了细胞形态学的依据。

有不少植物病毒侵染寄主植物后还会导致内含体的形成<sup>[10,11]</sup>, 各种形态的内含体也是描述植物病毒的一个重要特征。香蕉束顶病毒侵染后是否有内含体产生, 未见文献报道。本研究观察到的这种椭圆形结构, 有些类似于内含体, 但要肯定这种内含体结构, 还需深入观察研究。

## 参考文献

- 1 Goodman R N, Kiraly Z, Wood K R. The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. Columbia, MO: University of Missouri Press, 1986, 320-368
- 2 Zaitlin M, Hull R. Plant virus-host interactions. Annual Review of Plant Physiology, 1987, 38:291-315
- 3 李毅, 陈章良. 植物病毒胞间运动的分子生物学和细胞学研究进展. 植物生理学通讯, 1995, 31(6):463-469
- 4 Tu J C. Effects of soybean mosaic virus infection on ultrastructure of bacteroidal cells in soybean root nodules. Phytopathology, 1977, 67:199-205
- 5 Dale J L. Banana bunchy top: an economically important tropical plant virus disease. Advance in Virus Research, 1987, 33:301-325
- 6 Burns T M, Harding R M, Dale T L. The genome organization of banana bunchy top virus: analysis of six ssDNA components. J of General Virology, 1995, 76:1471-1482
- 7 张海保, 朱西儒, 刘鸿先. 感染束顶病后香蕉过氧化物酶和多酚氧化酶活性变化. 植物生理学通讯, 1997, 33(2):117-119
- 8 张海保, 朱西儒, 刘鸿先. 香蕉束顶病毒(BBTV)侵染对寄主内源激素的影响. 植物病理学报, 1997, 27(1):79-83
- 9 田波, 裴美云. 植物病毒研究方法. 北京: 科学出版社, 1987, 208-221
- 10 Martelli G P. Light and electron microscopy of the intracellular inclusion of cauliflower mosaic virus. J of General Virology, 1971, 13:133-140
- 11 Ammar E D, Rodriguez-cerezo E, Shaw J G et al. Association of virions and coat protein of tobacco vein mottling potyvirus with cylindrical inclusions in tobacco cells. Phytopathology, 1994, 84:520-523

## 图版说明

香蕉束顶病病株及健株(对照)叶片细胞结构的电镜观察。

A: 叶绿体; B: 可能的内含体; C: 淀粉粒; D: 基粒层结构。

1. 病株细胞;  $\times 1\ 500$
2. 健株细胞;  $\times 2\ 500$
3. 病株细胞, 可见断裂的基粒层;  $\times 40\ 000$
4. 健株细胞.  $\times 30\ 000$

## Explanation of plate

Electron microscope observation on leaf cells of banana in bunchy top diseased plant and healthy plant (control).

A: Chloroplasts; B: Possible inclusions; C: Starch grains; D: Grana structure

1. Leaf cells of diseased plant;  $\times 1\ 500$
2. Leaf cells of healthy plant;  $\times 2\ 500$
3. Leaf cells of diseased plant. Broken grana visible;  $\times 40\ 000$
4. Leaf cells of healthy plant.  $\times 30\ 000$