

徐春莹, 张亚玲, 王 丹, 等. 盐碱胁迫对不同水稻品种抗逆和抗瘟性相关酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(4): 44–46.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.04.013

盐碱胁迫对不同水稻品种抗逆和抗瘟性相关酶的影响

徐春莹, 张亚玲, 王 丹, 于连鹏, 刘殿宇, 靳学慧

(黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆 163319)

摘要:为研究盐碱胁迫对不同品种水稻抗逆和抗瘟性的影响,在生理水平上,以抗性品种龙粳 31 和感病品种空育 131 为材料,检测它们在盐碱胁迫下苗期叶片内抗性相关酶活性的变化。结果表明,在盐碱胁迫下,水稻光合能力降低;在盐碱和病害共同作用下的水稻叶片中抗逆酶[过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)]活性高于正常土壤下生长的水稻,抗病酶苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性则相反。可以看出,盐碱胁迫能显著削弱这 2 个水稻品种的抗稻瘟病能力。

关键词:稻瘟病;盐碱胁迫;光合能力;抗病反应;抗逆酶;抗瘟性;抗病酶

中图分类号:S435.111.4⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)04-0044-03

水稻(*Oryza sativa* Linn)是 1 年生禾本科植物,也是我国主要的农作物^[1]。水稻种植在东北往往同时面临低温、盐碱及病害等多重危害^[2-3]。在水稻病害中,稻瘟病危害极严重,且在自然环境下,植物很少只面临单一环境胁迫,往往同时面临几种胁迫因子^[4]。

盐碱地是东北的一个严重问题,尤其在黑龙江省大庆地区^[5]。近年来,在水稻耐盐碱方面的研究取得了较大成果^[6],但尚未见盐碱胁迫对水稻抗稻瘟病能力影响的相关报道。本试验对盐碱胁迫下的 2 个水稻品种接种稻瘟病菌处理,比较叶片发病情况及在感病期间抗性相关酶包括过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性,探讨盐碱胁迫对水稻稻瘟病菌敏感性的影响,为盐碱胁迫下种植水稻的抗病性研究及防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

试验于 2015 年在黑龙江八一农垦大学农学院实验室进行。

收稿日期:2015-12-26

基金项目:黑龙江省教育厅科研课题(编号:12521367);黑龙江省国营农场总局科技攻关课题(编号:HNK125B-03-02)。

作者简介:徐春莹(1991—),女,黑龙江齐齐哈尔人,硕士,主要从事水稻稻瘟病研究。E-mail:15846184812@163.com。

通信作者:靳学慧,博士,教授,主要从事植物病理学研究。E-mail:jxh2686@163.com。

[24]江永红,宇振荣,马永良. 秸秆还田对农田生态系统及作物生长的影响[J]. 土壤通报,2001,32(5):209–213.

[25]刘杏兰,高 宗,刘存寿,等. 有机·无机配施的增产效应及对土壤肥力的影响的定位研究[J]. 土壤学报,1996,33(2):138–147.

[26]王国忠,杨佩珍,陆峥嵘,等. 秸秆还田对稻麦田间杂草发生的影响及化除效果[J]. 上海农业学报,2004,20(1):87–90.

1.2 试验材料

1.2.1 水稻品种 感病品种为空育 131;抗病品种为龙粳 31。

1.2.2 供试菌株 采自黑龙江省大庆市周边地区的稻瘟病菌,由黑龙江八一农垦大学农学院实验室提供。

1.2.3 水培用品 水培盆:外尺寸 245 mm × 175 mm × 60 mm,内尺寸 225 mm × 155 mm × 55 mm;定植篮:内径 34 mm(上)、28 mm(下)、外径 50 mm、高 45 mm。

1.3 试验设计

试验采用水培法,培养液采用经典的霍格兰(Hoagland)配方^[7]。先对水稻进行催芽,发芽后进行水培种植,水培前 4 d 为无营养条件,即蒸馏水替代营养液,之后为全营养液条件,4 d 更换 1 次营养液,每盆含 800 mL 营养液。

盐碱胁迫采用 NaCl 和 NaHCO₃ 混和溶液,按照不同盐碱浓度(0 mmol/L, pH 值为 6.5;40 mmol/L, pH 值为 8.0;80 mmol/L, pH 值为 8.5)水平设 3 个处理,每处理 3 次重复,每重复 10 盆,共 90 盆。每盆可放 12 个定植篮,且每个定植篮播种 15 株。水培 9 d 开始对稻苗进行持续的盐碱胁迫处理。

水稻水培 17 d 进行接种稻瘟病菌处理,遮光保湿 24 h。整个试验过程采用自然光照,温度控制在 20~28 ℃。

1.4 稻瘟病菌菌制作及接菌方法

在无菌条件下,将采集的穗颈瘟标样感病部位置入培养皿内保湿培养,待产生孢子后,在显微镜下用挑针挑取单孢,并置于 PDA 培养基中培养,15 d 后转置米糠培养基上产孢培养。待菌丝长满培养皿后,刮除气生菌丝,打开培养皿盖,平

[27]张振江. 长期麦秆直接还田对作物产量与土壤肥力的影响[J]. 土壤通报,1998,29(4):11–12,4.

[28]刘巽浩,高旺盛,朱文珊. 秸秆还田的机理与技术模式[M]. 北京:中国农业出版社,2001:3–5.

[29]徐培智,解开治,陈建生,等. 秸秆还田配伍不同促腐剂对稻田土壤肥力及其水稻产量的影响[C]//2009 土壤资源持续利用与生态环境安全学术研讨会论文集. 广州,2009.

置于灭菌后的产孢培养箱内,蓝紫光照射 2~3 d 后即可产生孢子。每培养皿用 15 mL 无菌水洗下孢子,纱布过滤,显微镜下检测,接种孢子浓度为 10×10 倍显微镜下每视野 20~40 个孢子,每盒水稻苗的接种量为 100 mL,放入小喷壶中,喷施于水稻叶面接菌。

1.5 样品采集方法

在接种 0~7 d 时剪取水稻叶片,每处理取 10 g 左右,重复 3 次取样,迅速用液氮冷冻保鲜后保藏于 -80°C 冰箱中备用^[8]。

1.6 相关酶活性的检测方法

叶绿素含量测定采用分光光度法;CAT 活性测定直接采用紫外吸收法;SOD 活性测定采用氮蓝四唑光化还原法^[9];POD 活性按照陈建勋等的方法^[10]测定;PAL 活性按照欧阳光查的方法^[11]测定。

1.7 叶片发病程度调查方法

在接种稻瘟病菌后 9 d 调查各处理水稻叶瘟病发生情况。苗期叶瘟病病情分级指标:0 级,无病斑;1 级,病斑 5 个以下;2 级,病斑 5~10 个;3 级,全株发病或部分叶片枯死。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫对稻瘟病发生程度的影响

在接菌处理 7 d 后开始出现较多病斑。调查结果(图 1)显示,盐碱胁迫能明显降低水稻对稻瘟病的抗病能力,盐碱程度越高,抗病能力越弱,表现为病情指数明显增加。尤其水稻品种空育 131 表现更明显,在 40 mmol/L、pH 值为 8.0 和 80 mmol/L、pH 值为 8.5 的盐碱胁迫下,其病情指数分别比对照高 11.34 和 21.34。

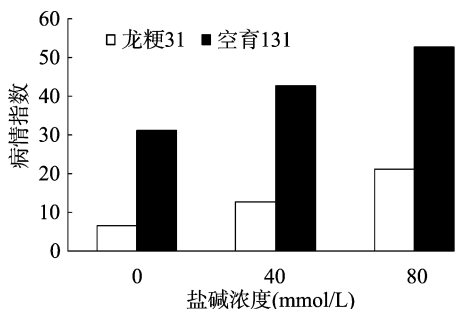


图1 水稻在不同盐碱浓度下接菌处理后的发病情况调查

2.2 盐碱胁迫对水稻叶绿素含量的影响

由图 2 可知,对照组内叶绿素含量变化平稳,试验组叶片中叶绿素含量随胁迫时间加长而显著下降,盐碱程度越高、胁迫时间越长,叶绿素含量下降幅度越大,抗病品种龙梗 31 比感病品种空育 131 更加明显。

2.3 盐碱胁迫对水稻抗氧化防御系统活性的影响

2.3.1 CAT 活性 由图 3 可知,随着接种后时间的加长,CAT 活性呈先上升后下降的变化趋势。对照组在接菌后 4 d 达到最大值,试验组在接菌后 3 d 达到最大值,而后开始下降;试验组叶片内 CAT 活性明显高于对照组,且盐碱程度增强,CAT 活性升高。感病品种空育 131 的 CAT 活性在接菌后同一时间内始终高于抗病品种龙梗 31,说明 CAT 活性的表达受盐碱胁迫的影响大于稻瘟病菌。

2.3.2 SOD 活性 由图 4 可知,SOD 活性呈先下降后上升

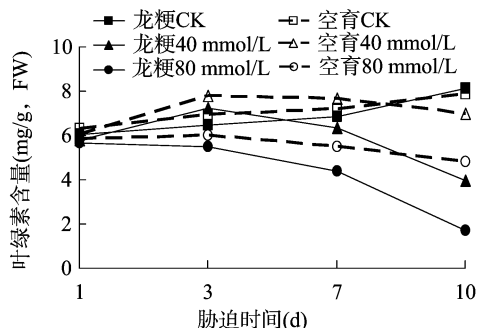


图2 不同浓度盐碱胁迫对叶绿素含量的影响

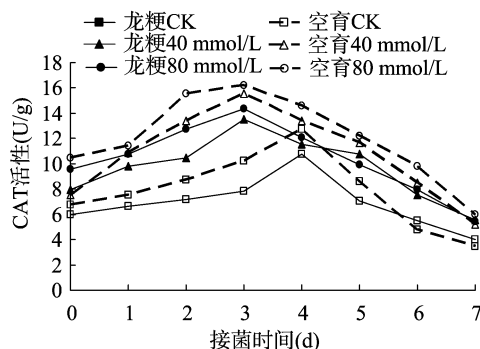


图3 不同浓度盐碱胁迫对CAT活性的影响

再下降的趋势,试验组 SOD 活性基本高于对照组,盐碱程度加大,SOD 活性升高;感病品种空育 131 的 SOD 活性在接菌后同一时间内始终高于抗病品种龙梗 31,且空育 131 试验组与对照组的 SOD 活性差值大于龙梗 31。

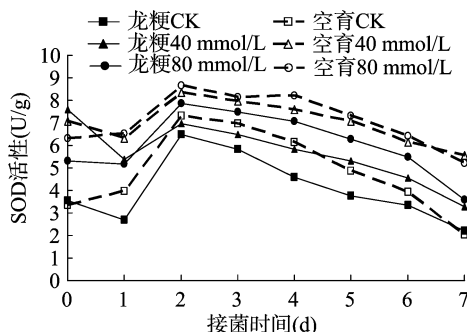


图4 不同浓度盐碱胁迫接菌后不同时间 SOD 活性变化

2.3.3 POD 活性 接种病菌 0~7 d 内,水稻叶片内 POD 活性呈先上升后下降的趋势(图 5)。盐碱胁迫处理组在接种后 2 d 达到最大值,4 d 开始下降;对照前 4 d 平稳上升,在 5 d 达到最大值,6 d 开始急剧下降;对照组 POD 活性明显低于试验组。无论是在盐碱条件下还是在无盐碱条件下,抗病品种龙梗 31 的 POD 活性均高于感病品种空育 131。

2.4 盐碱胁迫对水稻 PAL 活性的影响

由图 6 可以看出,各处理 PAL 活性呈先上升后下降的趋势,抗病品种龙梗 31 在接菌后 3 d 达到最大值,随后呈下降趋势,而感病品种空育 131 在接菌后 2 d 就达到最大值。盐碱胁迫处理下 PAL 活性始终低于对照组,但随着盐碱程度升高,PAL 活性明显增强。抗病品种龙梗 31 的 PAL 活性始终大于感病品种空育 131,说明 PAL 活性的表达受稻瘟病菌的影响较大。

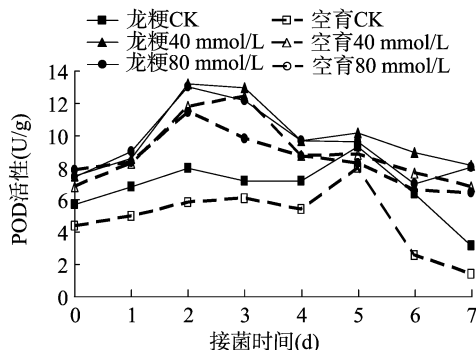


图5 不同浓度盐碱胁迫对 POD 活性的影响

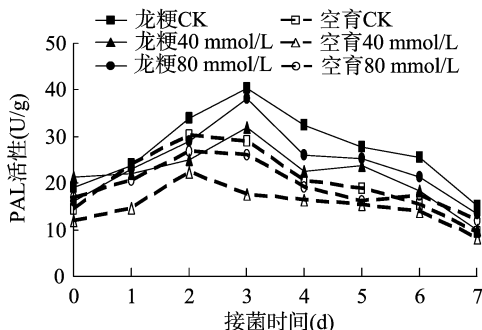


图6 不同浓度盐碱胁迫对 PAL 活性的影响

3 结论和讨论

前人研究表明,植物对病原物侵入的生化反应是以酶的催化活动来实现的,但对稻瘟病这一病害系统,不同学者的观点不尽相同。大多数学者认为,CAT 的活性与植物抗病性关系不密切,宋凤鸣等指出抗病品种的叶片中 CAT 和 SOD 活性都无显著变化^[12];曾富华等通过高抗、高感稻瘟病水稻品种比较发现,高感品种的 CAT 活性明显高于高抗品种^[13];王彦长等研究表明,POD 活性变化与水稻抗瘟性呈正相关^[14-15];而余晓明等提出不同的观点^[16]。多酚氧化酶(PPO)的活性提高可以促进木质素积累和细胞壁增厚,郭建荣证实了 PPO 活性提高是增强抗性的因子之一^[15]。魏松红等发现,抗性品种的 PAL 活性普遍高于感病品种^[17]。各生化因子在不同作物中的抗性研究报道也很多,但各学者观点不统一。

本试验结果显示,龙粳 31 的抗病能力显著高于空育 131,但在盐碱胁迫条件下,2 个品种的抗病能力均有下降趋势,高盐碱环境下空育 131 抗病能力下降更为明显。盐碱胁迫会导致水稻光合能力降低,但空育 131 的耐盐碱能力强于龙粳 31,表现为叶绿素含量下降幅度较小。在盐碱和病害共同作用时,空育 131 的抗逆相关酶(CAT、SOD)活性高于龙粳 31,这与空育 131 在无病害前提下抗盐能力较强的事实相符。CAT 活性的表达受盐碱胁迫的影响大于稻瘟病菌,SOD 活性受两者影响不明显。POD 活性的表达受盐碱胁迫的影响较

大,说明 POD 主要反映非生物胁迫严重程度,而试验结果中龙粳 31 的 POD 活性较高,恰恰显示其受胁迫较严重的事实。PAL 活性的表达受稻瘟病菌的影响较大,说明 PAL 与抗病能力直接相关,空育 131 的 PAL 活性与其较弱的抗病能力一致,均低于龙粳 31。在高盐碱环境下,CAT、SOD、POD、PAL 活性的变化较低浓度盐碱胁迫下的变化明显,由此可以看出盐碱胁迫会加重稻瘟病的发生与危害。

参考文献:

- [1]徐晨,凌风楼,徐克章,等. 盐胁迫对不同水稻品种光合特性和生理生化特性的影响[J]. 中国水稻科学, 2013, 27(3): 280-286.
- [2]王东超,邢守佳. 气候条件对水稻稻瘟病的影响与防治方法[J]. 吉林农业, 2013(10): 20.
- [3]李微. 盐胁迫对水稻种子萌发及幼苗生长的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [4]杨秀娟,朱春雨,杜宜新,等. 氮、钾、硅肥对水稻苗生长和抗瘟性的影响[J]. 福建农业学报, 2008, 23(1): 1-5.
- [5]张杰. 大庆地区土壤理化性质及盐碱化特征评价[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010.
- [6]吕丙盛. 水稻(*Oryza sativa* L.) 应对盐碱胁迫的生理及分子机制研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院(东北地理与农业生态研究所), 2014.
- [7]连兆煌. 无土栽培原理与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 57.
- [8]吴成龙. 水稻不同抗性品种抗稻瘟病生理生化机制的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2008.
- [9]沈文飏,徐朗莱,叶茂炳,等. 氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶活性的适宜条件[J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(2): 101-102.
- [10]陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 华南理工大学出版社, 2000: 198-199.
- [11]欧阳光查. 苯丙氨酸解氨酶活性的测定[M]//汤章城. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999, 117-118.
- [12]宋凤鸣,葛秀春,郑重,等. 水稻黄单胞菌水稻致病变种的超氧化物歧化酶活性及诱导[J]. 微生物学报, 2000, 40(3): 301-305.
- [13]曾富华,易克,徐向丽,等. 不同诱导处理后水稻悬浮细胞的活性氧变化与有关酶系的关系[J]. 作物学报, 2005, 31(1): 18-23.
- [14]王彦才,徐兆桢,穆永顺,等. 水稻抗瘟性与过氧化物酶同工酶的初步研究[J]. 植物保护学报, 1991, 18(4): 289-292.
- [15]郭建荣,罗宽. 水稻品种抗瘟性诱导机制研究[J]. 湖南农业大学学报, 1994, 20(3): 255-262.
- [16]余晓明,季本仁,段金玉. 过氧化物酶与水稻抗瘟性[J]. 云南农业大学学报, 1991, 6(4): 218-222.
- [17]魏松红,刘文合,俞争珍,等. 稻瘟病菌毒素对水稻愈伤组织防御酶系的诱导[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(4): 328-330.