

而 M<sub>8</sub> 与对照差异极显著,变异幅度 23.97% ~ 38.28%,而 N<sub>6</sub> 培养基出愈率变异幅 10.77% ~ 19.60%,对比 M<sub>8</sub> 和 N<sub>6</sub> 培养基, M<sub>8</sub> 更适合诱导籼稻花药产生愈伤组织。同时, 02428 作为亲本配置的杂交组合在 MS、M<sub>8</sub> 和 N<sub>6</sub> 等 3 种培养基中相比其他 2 个杂交 F<sub>1</sub> 有较高的出愈率,这说明水稻花药组织培养 的出愈率与品种基因型相关。

表 1 不同诱导培养基对籼稻 F<sub>1</sub> 花药出愈率的影响

培养基	出愈率(%)			
	(镇 42/中 728) //02428	(中 4188/明 77) //02428	(559/075) //矮秆	(084/129) //矮秆
MS	10.75	10.13	7.58	6.28
N <sub>6</sub>	19.61 *	13.70 *	11.82 *	10.77 *
M <sub>8</sub>	38.28 **	32.63 **	24.80 **	23.97 **

注: \*、\*\* 分别表示与对照相比差异达显著水平 ( $P < 0.05$ )、极显著水平 ( $P < 0.01$ )。

表 2 不同激素配比对籼稻复交 F<sub>1</sub> 花药出愈率的影响

不同激素配比	出愈率(%)			
	(镇 42/中 728) //02428	(中 4188/明 77) //02428	(559/075) //矮秆	(084/129) //矮秆
CK	22.17A	21.57A	16.73A	13.93A
1 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT	38.77AB	33.03AB	32.83AB	31.83AB
2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT	42.17BC	44.63BC	33.23AB	32.07AB
2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT + 2 mg/LABA	53.77CD	55.57CD	44.57BC	41.27BC

注:同列数据后不同大写字母分别表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下表同。

2.3 不同激素配比的 M<sub>8</sub> 培养基对籼稻复交 F<sub>1</sub> 花药分化率的影响

以 M<sub>8</sub> 为分化培养基(蔗糖 30 g/L、琼脂 10 g/L)设为对照,将产生的愈伤组织进行分化培养,由表 3 可知,添加 2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA + 1 mg/L IAA 的 M<sub>8</sub> 分化培养基上愈伤组织分化率极显著高于对照组、激素配比为 2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L NAA 组和 2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA 的分化培养基,分化率变异幅度为 22.66% ~ 44.97%,方差分析表明差异极显著。对比添加 2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L

2.2 不同激素配比的 M<sub>8</sub> 培养基对籼稻复交 F<sub>1</sub> 花药出愈率的影响

由表 2 可见,以 M<sub>8</sub> 为诱导培养基(添加 2,4 - D 2 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 10 g/L)设为对照,设置不同的激素配比,整体出愈率最高的培养基是添加了 2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT + 2 mg/L ABA 的培养基,出愈率在 41.27% ~ 55.57%,要远远高于对照组、只添加 2 mg/L 6 - BA、0.5 mg/L KT + 2 mg/L 6 - BA 以及添加 1 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT 的诱导培养基,方差分析差异极显著。这可能由于在诱导培养基中添加了 2 mg/L ABA 所致,对比 2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT 和 1 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT 等 2 种激素配比,花粉出愈率也极显著高于对照,但是两者之间只有在 02428 配置的组合中差异极显著,而其余 2 个组合差异并不显著,这表明浓度稍高的 6 - BA 对愈伤的产生具有一定促进作用。

NAA 和 2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA 的 2 种激素配比,只有(镇 42/中 728) //02428 组合的分化率差异极显著,其余组合两者之间差异并不明显。同时, 02428 配置的杂交组合在各个激素配比下相比其他组合,都获得了较高的分化率,这与前文中 02428 配置的杂交组合在 M<sub>8</sub> 诱导培养基上获得高出愈率的结果相一致,表明籼稻杂交 F<sub>1</sub> 中若含有广亲和血统,较易获得高的分化率,同时表明水稻花药培养效率受制于水稻品种的基因型。

表 3 不同激素配比对籼稻复交 F<sub>1</sub> 花药分化率的影响

不同激素配比	分化率(%)			
	(镇 42/中 728) //02428	(中 4188/明 77) //02428	(559/075) //矮秆	(084/129) //矮秆
CK	14.53A	13.23A	7.63A	6.23A
2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L NAA	30.67AB	28.77AB	22.57AB	18.57AB
2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA	33.53BC	28.65AB	22.07AB	20.33AB
2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA + 1 mg/L IAA	44.97CD	31.47BC	29.53BC	22.66BC

3 讨论与结论

成功的花药培养在一定程度上依赖于培养基的选择,不同的培养基对不同基因型的水稻材料有不同的培养效果,目前主要集中在 M<sub>8</sub>、合 5 和 N<sub>6</sub> 等几种培养基上<sup>[8]</sup>。本研究采用 M<sub>8</sub> 和 N<sub>6</sub> 培养基对 4 个籼稻复交 F<sub>1</sub> 进行花药培养力研究,结果表明在 2 mg/L 6 - BA + 0.5 mg/L KT + 2 mg/L ABA 和 2 mg/L 6 - BA + 1 mg/L NAA + 1 mg/L IAA 的 M<sub>8</sub> 培养基上获得了较高的出愈率和分化率,因此更加适应于籼稻 F<sub>1</sub> 的花药培养,其中 02428 配置的杂交后代在出愈率和分化率上也显著高于其他杂交后代,这表明籼稻 F<sub>1</sub> 花药培养依赖于水稻品种基因型特征,而含有广亲和血统的籼稻杂交后代花药培

养力较高,与前人的研究结果<sup>[2]</sup>也相一致。

在植物离体培养过程中,外源生长素被认为是植物胚胎发育所必需的<sup>[9]</sup>,外源激素的作用可以促进愈伤组织的发生和分化,在水稻花药培养中扮演着重要角色,但研究发现单一成分的激素培养的效果并不十分理想,而几种激素的搭配使用却可以在花粉脱分化阶段为组织的分化和成苗提供便利,由此可见水稻花药培养是一个复杂的生理生化过程,使用合理的激素组分及不同的激素配比是影响花培效率的重要因素<sup>[10-11]</sup>。本研究在设计了不同的激素配比后,在出愈率和分化率上面都获得了较好的效果,如在诱导培养基中添加 6 - BA 可以促进愈伤组织的生成,在细胞脱分化过程中可以提高花粉胚状体的产生和增强形成根的趋势,对分化成苗起

王 丹, 张亚玲, 徐春莹, 等. 干旱胁迫对不同水稻品种抗逆性和抗瘟性相关酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(4): 49–51.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.04.015

# 干旱胁迫对不同水稻品种抗逆性和抗瘟性相关酶的影响

王 丹, 张亚玲, 徐春莹, 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:**采用聚乙二醇 6000 模拟干旱胁迫的方法, 对水稻品种空育 131 和龙粳 31 幼苗进行不同程度的水分胁迫处理, 接种稻瘟病菌后, 通过分析比较叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性变化, 探讨干旱胁迫对不同水稻品种抗逆和抗瘟能力的影响。结果表明, 低强度干旱胁迫可增强水稻抗稻瘟病能力, 而高强度干旱会降低其抗病能力; 空育 131 抗旱能力较强, 但抗病能力较弱, 而龙粳 31 则相反; 在干旱胁迫条件下, PPO 和 PAL 在抗病上发挥作用更明显, 而 SOD 和 CAT 则在抗旱上发挥作用更明显。

**关键词:**水稻; 稻瘟病; 干旱胁迫; 抗病能力; 抗逆

**中图分类号:** S435.111.4<sup>+</sup>1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)04-0049-03

水稻是我国主要的粮食作物之一。在北方, 水稻种植往往同时面临低温、干旱以及病害等多重危害<sup>[1]</sup>。稻瘟病是一种危害极严重的病害<sup>[2]</sup>, 该病害的发病严重程度除与其生理小种致病力和水稻品种抗病力有关外, 还与环境因素密切相关。前人的研究显示, 低温能导致水稻抗稻瘟病能力显著下降<sup>[3]</sup>, 而氮肥的过多施加也会导致其发病更严重<sup>[4]</sup>。

在中国北方, 干旱已是一个很严重的问题<sup>[5-6]</sup>, 前人的研

究显示, 干旱会导致某些植物抗病能力增强。但目前尚未见干旱对水稻抗瘟性影响方面的相关报道。因此, 本试验对 2 个水稻品种在模拟干旱条件下进行接种稻瘟病菌的处理, 比较叶片发病情况及在感病期间抗逆酶[超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)]及抗病酶[苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)]的活性。此试验结果为干旱条件下种植水稻的抗病性研究及防控提供了理论指导。

收稿日期: 2015-12-16

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: 王 丹(1990—), 女, 黑龙江密山人, 硕士研究生, 研究方向为植物病理学。E-mail: 309589773@qq.com。

通信作者: 靳学慧, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为植物病理学。E-mail: jxh2686@163.com。

主导作用, 使得分化率和再生率得到显著提高。此外, 在诱导培养基中添加 2 mg/L ABA 极大地提升了籼稻花药的出愈率, 这可能由于诱导培养基中外源 ABA 可以诱导胚性愈伤产生, 以及在继代培养中保持愈伤组织的胚性作用所致<sup>[12]</sup>。在分化培养基中添加 IAA 后, 分化率也得到了提高, 表明 IAA 对愈伤组织的分化有促进作用。

因试验设计所限, 并没有进一步增加激素使用种类和使用浓度的范围, 因此该结论仅在本研究范围内进行讨论, 今后的试验可以扩大研究范围, 以探讨能够显著提高籼稻杂交 F<sub>1</sub> 的花药培养力的技术方案。

## 参考文献:

- [1] 陈 红, 秦瑞珍. 水稻花药培养过程中各种影响因子的研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(3): 52–56.
- [2] 王建平, 陈 亮. 水稻广亲和品种在籼梗交 F<sub>1</sub> 花药培养中的效应[J]. 北京农业科学, 1999, 17(5): 17–19.
- [3] 江树业, 陈启锋. 水稻花培一次成苗的研究 I. 一次成苗与多级

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

试验于 2015 年在黑龙江八一农垦大学农学院水培实验室进行。

### 1.2 试验材料

#### 1.2.1 供试水稻品种 空育 131(感病品种)和龙粳 31(抗

成苗的比较[J]. 福建农业大学学报, 1994, 23(1): 11–16.

- [4] 陈成斌, 黄 勇, 李道远. 稻野杂交后代花药一次培养成苗技术[J]. 广西农业科学, 1993(5): 193–195.
- [5] 阎丽娜, 李 霞, 吴 丹. 不同类型水稻材料成熟胚组织培养力的比较[J]. 中国农业科学, 2010, 43(6): 1127–1135.
- [6] Chu C C, et al. Plant Science, 1990, 66: 255–262.
- [7] 苗立新, 李 鑫, 李 珣, 等. 1 个籼梗杂交 F<sub>1</sub> 花药培养及其影响因素研究[J]. 北方水稻, 2013, 43(2): 14–18.
- [8] 季彪俊, 陈启锋, 黄群策, 等. 水稻花药培养技术的总结与探讨[J]. 福建农业大学学报(自然科学版), 2001, 30(1): 22–28.
- [9] 叶兴国, 余茂云, 王 轲, 等. 植物组织培养再生相关基因鉴定、克隆和应用研究进展[J]. 作物学报, 2012, 38(2): 191–201.
- [10] 李 欣, 于恒秀, 杨成根, 等. 生根粉及植物激素在梗籼稻杂交花药培养中的应用研究[J]. 江苏农业研究, 2001, 22(2): 1–6.
- [11] Jiménez V M. Involvement of plant hormones and plant growth regulators on *in vitro* somatic embryogenesis[J]. Plant Growth Regulate, 2005, 47: 91–110.
- [12] 姜 华, 陈 静, 高晓玲, 等. ABA 对水稻愈伤组织、不定胚发育及其植株再生的影响[J]. 作物学报, 2006, 32(9): 1379–1383.

病品种),均由黑龙江八一农垦大学水稻中心提供。

1.2.2 供试菌株 稻瘟病菌种是从黑龙江省大庆市周边地区采集的穗颈瘟标样中分离、纯化得到。

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

### 1.3 试验设计

水稻幼苗培养采用实验室水培方法,培养液采用经典的霍格兰(Hoagland)配方<sup>[7]</sup>。利用试剂聚乙二醇 6000(PEG6000)模拟水分胁迫。试验设计分为 2 组:第 1 组为干旱胁迫组,将 2 个品种的水稻幼苗置于含有 PEG6000(0、5%、12.5%)的 Hoagland 营养液中培养,检测胁迫后幼苗植株中 CAT、SOD 活性以及叶绿素含量随时间的延长而变化。其中 0 为对照组,采用正常水培条件。第 2 组为病害对照组,将幼苗进行不同程度的干旱胁迫(0、5%、12.5% PEG6000)处理 3 d 后,对其进行喷雾接种稻瘟病菌,并每隔 24 h 取样保存,用于后续指标测定,7~10 d 后调查发病情况。以上每组每个处理设计 5 次重复。

### 1.4 检测项目及方法

SOD 活性的测定采用氮蓝四唑光化还原法<sup>[8]</sup>;CAT 活性的测定直接采用紫外吸收法<sup>[9]</sup>;PPO 活性的测定参照赵会杰的方法<sup>[10]</sup>;PAL 活性按照欧阳光查的方法<sup>[11]</sup>测定;叶绿素含量的测定参照张其德的方法<sup>[12]</sup>。试验数据用 Excel 2003 处理并绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对水稻幼苗叶片中叶绿素含量及抗氧化酶活性的影响

2.1.1 叶绿素含量的变化 由图 1 可以看出,在干旱胁迫条件下,空育 131 和龙粳 31 叶绿素含量均随胁迫时间的延长而下降,尤其龙粳 31 下降明显,且 PEG6000 浓度越高,叶绿素含量下降幅度越大。

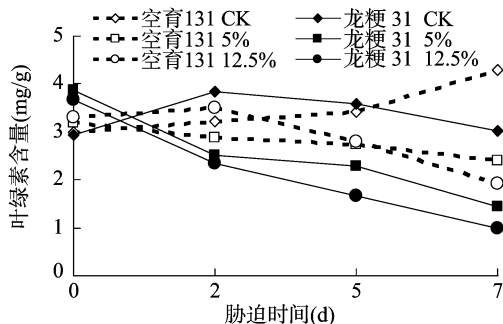


图1 不同强度干旱胁迫下叶绿素含量的变化

2.1.2 SOD 活性的变化 在不同干旱强度梯度下,2 个水稻品种的 SOD 活性都受到不同程度的影响(图 2)。在轻度干旱胁迫(5% PEG6000)条件下,胁迫处理后 3 d 内,2 个品种的酶活力均高于对照,且变化趋势相似。在较严重的干旱胁迫(12.5% PEG6000)条件下,龙粳 31 的酶活力下降明显,在第 4 d 时低于对照 40%;而空育 131 的 SOD 活性变化不大,且高于龙粳 31。

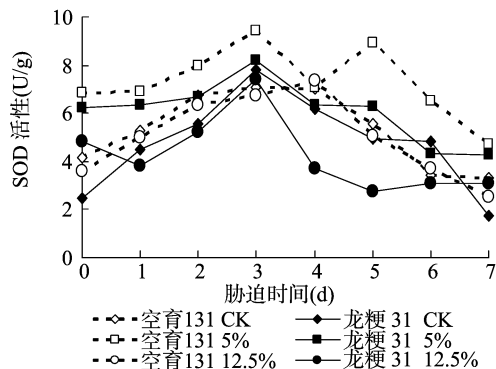


图2 不同强度干旱胁迫下 SOD 活性的变化

2.1.3 CAT 活性的变化 由图 3 可以看出,在轻度干旱胁迫后,2 个品种 CAT 活性均被诱导上升,随着胁迫时间延长,CAT 活性呈现先升后降的趋势,且胁迫后 5 d,空育 131 的 CAT 活性高于龙粳 31。而在高强度干旱胁迫下,2 个品种的 CAT 活性相对于低强度干旱胁迫均有所下降,且龙粳 31 的 CAT 活性低于对照。

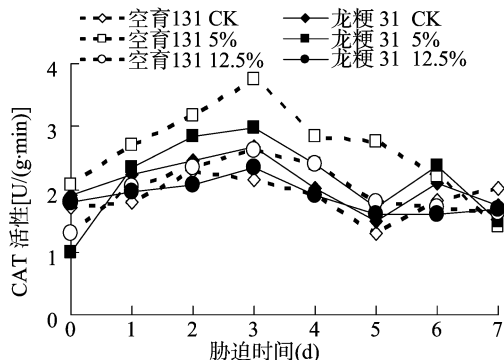


图3 不同强度干旱胁迫下 CAT 活性的变化

### 2.2 干旱条件下接种稻瘟病菌对水稻幼苗叶片发病情况及抗氧化酶活性的影响

2.2.1 2 个水稻品种接种处理后的发病情况 由图 4 可以看出,接种稻瘟病菌后,轻度干旱胁迫(5% PEG6000)时,2 个水稻品种的病情指数低于对照;而较严重的干旱胁迫(12.5% PEG6000)时,2 个水稻品种的病情指数高于对照,且龙粳 31 比空育 131 明显。

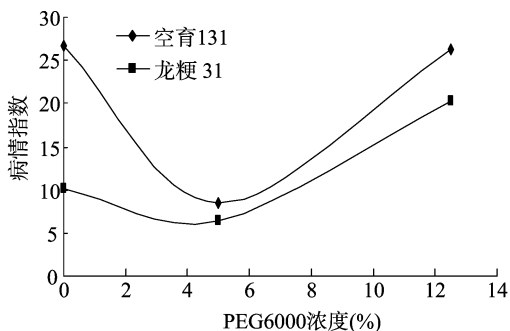


图4 接种处理后2个品种的发病情况

2.2.2 接种后 SOD 活性的变化 5% PEG6000 模拟干旱胁迫条件下,接种前后 4 d,2 个品种的 SOD 活性均高于对照,且空育 131 的 SOD 活性高于龙粳 31,但在 12.5% PEG6000 条件下,2 个品种 SOD 活性波动不大,且活性低于对照(图 5)。

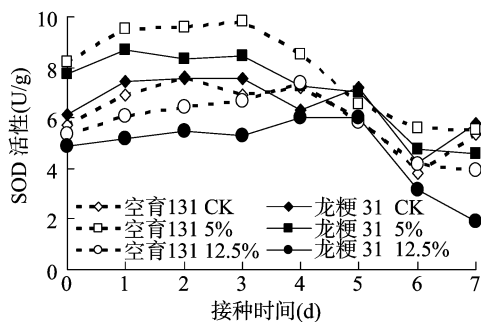


图5 接种处理后不同时间 SOD 活性的变化

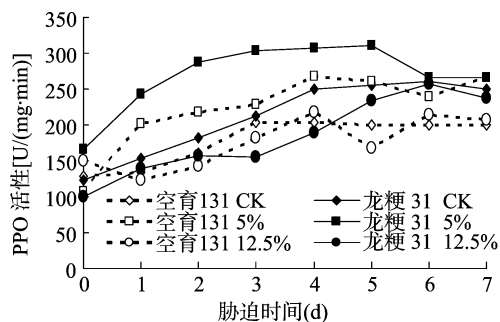


图8 接种处理后不同时间 PPO 活性的变化

2.2.3 接种后 CAT 活性的变化 由图 6 可以看出,接种后 7 d 内,低强度干旱胁迫组接种后龙梗 31 的 CAT 活性变化不大,空育 131 的 CAT 活性有所上升,且高于龙梗 31。而高强度干旱胁迫组接种后 2 个品种的 CAT 活性均缓慢下降,且活性均略低于对照。

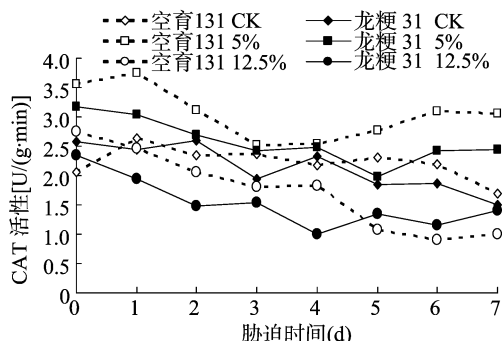


图6 接种处理后不同时间 CAT 活性的变化

2.2.4 接种后 PAL 活性的变化 由图 7 可以看出,低强度干旱胁迫时,2 个品种的 PAL 活性在接种后 1 d 达到峰值,PAL 活性变化趋势与对照相同,均为先升后降趋势,但高于对照;高强度干旱胁迫时,2 个品种的 PAL 活性变化上下波动,但幅度不大,在接种后 3 d 内 2 个品种的 PAL 活性均低于对照。

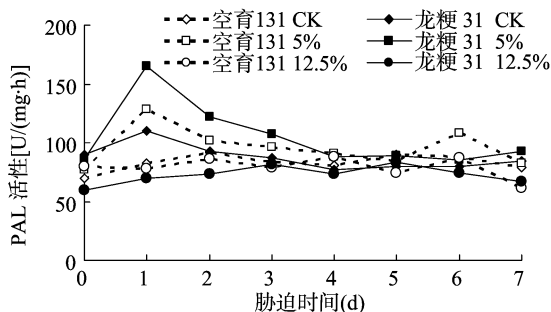


图7 接种处理后不同时间 PAL 活性的变化

2.2.5 接种后 PPO 活性的变化 由图 8 可以看出,接种后 2 个品种的 PPO 活性呈上升趋势,低强度干旱胁迫时,2 个品种 PPO 活性均高于对照,且龙梗 31 的 PPO 活性要高于空育 131;而高强度干旱胁迫时,在接种后的前 5 d,龙梗 31 的 PPO 活性低于对照,而空育 131 在接种后的前 3 d 低于对照。

### 3 讨论与结论

通过比较在模拟干旱胁迫条件下 2 个水稻品种的叶绿素含量及抗旱相关酶 SOD 和 CAT 的活力,发现空育 131 的抗旱

能力强于龙梗 31。调查干旱胁迫条件下 2 个水稻品种的发病情况,发现干旱胁迫对这 2 个水稻品种的抗病能力影响较大,低强度干旱胁迫下增强抗病能力,高强度干旱胁迫降低抗病能力,龙梗 31 的抗病能力比空育 131 强。检测 2 个品种的抗性相关酶结果表明,抗病能力较强的龙梗 31 的 PPO 和 PAL 活性虽然较高,但 SOD 和 CAT 活性较低;而抗旱能力较强的空育 131 的 PPO 和 PAL 活性虽然较低,但 SOD 和 CAT 活性较高。虽然前人报道 SOD 和 CAT 在植物抗病上也发挥着一定作用<sup>[13]</sup>,但本试验显示在干旱胁迫条件下,SOD 和 CAT 在抗旱上发挥的作用更明显,而 PPO 和 PAL 在抗病上发挥的作用更明显。

### 参考文献:

- [1] Wilson R A, Talbot N J. Under pressure; investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae* [J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7: 185–195.
- [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] 毛建辉,卢代华,何明,等. 持续低温对水稻稻瘟病抗性的影响[J]. 植物保护学报, 1999, 26(2): 97–102.
- [4] 杨秀娟,甘林,阮宏椿,等. 氮肥对水稻苗 POD、SOD 活性及稻瘟病发生的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2011, 40(1): 8–12.
- [5] 段骅. 高温与干旱对水稻产量和品质的影响及其生理机制[D]. 扬州:扬州大学, 2013.
- [6] 王成媛,赵磊,王伯伦,等. 干旱胁迫对水稻生育性状与生理指标的影响[J]. 农学学报, 2014, 4(1): 4–14.
- [7] 连兆煌. 无土栽培原理与技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1994: 57.
- [8] 沈文飏,徐朗莱,叶茂炳,等. 氮蓝四唑光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.
- [9] 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, 2006: 198–199.
- [10] 赵会杰. 多酚氧化酶活性的测定[M]//汤章城. 现代植物生理学实验指南. 北京:科学出版社, 1999: 128.
- [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] 张其德. 测定叶绿素的几种方法[J]. 植物学通报, 1985, 3(5): 60–64.
- [13] 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.