

稻瘟菌诱导的广谱抗性*

范静华, 周惠萍, 王洪珍, 陈建斌, 陈海如, 朱有勇**

(云南农业大学, 云南省植物病理重点实验室, 云南昆明 650201)

摘要: 以稻瘟弱致病菌对关东 51、爱知旭、新 2 号作诱导接种, 又用稻瘟强致病菌、稻胡麻叶斑菌、稻白叶枯病菌进行挑战接种, 水稻均获得对这 3 种病害的诱导抗性。又以稻胡麻叶斑菌为诱导因子, 也同样使水稻表现了不同程度的抗性。

关键词: 稻瘟病; 稻胡麻叶斑病; 稻白叶枯病; 诱导抗性; 诱导接种; 挑战接种

中图分类号: S 435.111.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2004)02-0156-05

Induced Broad-spectrum Resistance by Rice Blast

FAN Jing-hua, ZHOU Hui-ping, WANG Hong-zhen,

CHEN Jian-bin, CHEN Hai-ru, ZHU You-yong

(Key Laboratory of Plant Pathology of Yunnan Province, Y A U, Kunming 650201, China)

Abstract: To screen weak or strong pathogenic isolates to different varieties, total 68 single-spore isolates of *Magnaporthe grisea*, from rice mixture or monotype in Shiping, Gejiu and Jianshui County of Yunnan Province, were inoculated on 7 Chinese and 8 Japanese identification varieties respectively. At first, Guangdong 51, Aizhixu, and Xin No.2 were inoculated with corresponding weak pathogenic isolates individually as “inducing inoculation”, then with corresponding compatible *Magnaporthe grisea*, *Bipolaris oryzae* or *Xanthomonas oryzae* isolates, respectively, as “challenge inoculation”. At the same time, the three varieties were inoculated with *Bipolaris oryzae* isolate individually as “inducing inoculation”, then with corresponding compatible *Magnaporthe grisea* isolates, respectively, as “challenge inoculation”. The result showed that the three varieties had induced resistance with the three diseases at some levels.

Key words: rice blast; rice brown spot; rice leaf blight; inducing inoculation; challenge inoculation; induced resistance

植物诱导抗病性是指植物在诱导因子作用下, 产生能抵抗原来不能抵抗的病原物的侵染的一种抗病性能, 或称获得免疫性。植物诱导抗病性作为一种现象在上个世纪初, 就已被观察到, 20 世纪 70 年代以后, 植物诱导抗性研究日渐增多, 包括植物诱导抗病性的特性、诱导因子、机制等。目前, 植物诱导抗病性已成为植物病理学研究领域的一个重要内容之一, 随着诱导抗性研究的深入, 将为植物

病害综合治理开辟新的途径^[1~3]。

近年, 有关黄瓜、西瓜、烟草、西红柿等作物诱导抗性的研究报道很多^[4], 其中仅有少数对诱导抗性广谱方面的报道, 即同一诱导因子可诱导出对数种病害的抗性^[5]。本研究以稻瘟弱致病菌作诱导因子, 再用稻瘟强致病菌、稻胡麻叶斑菌、稻白叶枯病菌作挑战接种, 以便探讨稻瘟菌诱导水稻的广谱抗性。

* 收稿日期: 2003-10-27

** 通讯作者

基金项目: 国家“863”计划(Z16-03-M); 云南省科技攻关项目(2001NG10)

作者简介: 范静华(1942-), 女, 云南昆明人, 教授, 主要从事水稻稻瘟病致病机理及防治方法的研究。

1 材料与方法

1.1 供试品种

稻瘟病菌生理小种鉴别品种,即特特勃,珍龙13,四丰43,东农363,关东51,合江18,丽江新团黑谷^[6],8个日本单基因鉴别品种:新2号(Pi-K^s)、爱知旭(Pi-a)、石狩白毛(Pi-i)、关东51(Pi-k)、福锦(Pi-z)、社糯(Pi-ta)、PiN04(Pi-ta²)。

1.2 供试菌株

分离自云南省红河州个旧、石屏、建水净栽糯稻、净栽杂交稻及多样性品种混合间栽田块的68个稻瘟病单孢菌株(*Magnaporthe grisea*);稻胡麻叶斑菌(*Bipolaris oryzae*)由笔者单孢分离得到,编号为Bi03-1;稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae*)A1, A6, 17, 35, Q15-1由云南省植物病理重点实验室细菌病害研究课题组提供。

1.3 诱导抗性试验

1.3.1 筛选稻瘟病强及弱致病菌

育苗、稻瘟病菌分生孢子悬浮液的准备以及接种菌按照全国稻瘟病科研协作组^[6]统一规定的方法进行。以68个稻瘟病单孢菌株接种于供试品种,据发病率和病情指数筛选出强致病及弱致病菌株供诱抗实验。

1.3.2 诱导抗性供试品种的筛选

在确定出强致病菌及弱致病菌的基础上筛选出关东51、爱知旭、新2号为供诱导抗性试验的品种。

1.3.3 稻瘟病菌孢子悬浮液的准备

将保存的单孢菌株接种于燕麦培养基,于25~28℃恒温箱培养10d左右,待菌丝长满后刷断菌丝,置于25~28℃光照产孢48~72h后,用0.02%吐温水洗下分生孢子配制孢子悬浮液,调节孢子悬浮液浓度至10×10倍显微镜下,每个视野20~30个分生孢子,备用。

1.3.4 水稻白叶枯病菌悬液的准备

将保存的稻白叶枯菌株移到牛肉蛋白胨斜面培养基上,于26℃的恒温培养箱中培养活化3次后,用培养18~24h的细菌配制成菌悬液。对照BaSO₄x悬浮液,调节菌悬液浓度至3.0×10⁸ CFU/mL备用。

1.3.5 水稻胡麻叶斑病菌孢子悬浮液的准备

方法同稻瘟病菌。调节孢子悬浮液浓度至10×10倍显微镜下,每个视野20~30个分生孢子,备用。

1.3.6 诱导抗性试验的几种处理

设不经诱导接种的处理,直接用稻瘟病强致病菌、白叶枯病菌及胡麻叶枯病菌接种作为对照。每个处理设3次重复。

(1) 将稻瘟病弱致病菌孢子悬浮液喷雾接种稻苗作诱导接种,保湿24h后,用稻瘟病强致病菌孢子悬浮液喷雾作挑战接种,7d后调查记载发病情况;

(2) 将稻瘟病弱致病菌孢子悬浮液喷雾接种稻苗作诱导接种,保湿24h后,用稻胡麻叶斑菌孢子悬浮液喷雾作挑战接种,10d后调查记载发病情况;

(3) 将稻瘟病弱致病菌作诱导接种,保湿24h后,用水稻白叶枯病菌作挑战接种,接种方法为剪叶接种,每个品种接8片叶片,15d后调查记载发病情况;

(4) 水稻胡麻叶斑病孢子悬浮液喷雾作诱导接种,保湿24h后,用稻瘟病强致病菌孢子悬浮液喷雾作挑战接种,10d后调查记载发病情况。

1.3.7 调查记载

稻瘟病的病情调查参考方中达植病研究方法提出的分级方法^[7],水稻胡麻叶斑病分级方法参照农药田间药效试验准则(一)^[8],计算病情指数及诱抗效果。病情指数 = $\sum(\text{病级叶片数} \times \text{代表数值}) \times \text{发病重级的代表数值} \times 100 / (\text{总叶片数} \times \text{发病最重级的代表数值})$,诱抗效果以病指下降百分率表示^[9]:诱抗效果 = $(\text{对照病指} - \text{处理病指}) / \text{对照病指} \times 100\%$;

水稻白叶枯病调查8片叶的病斑长度,取平均值计算诱导效果^[10]。绝对诱导效果 = 对照病斑长度 - 诱导处理病斑长度,相对诱导效果 = $(\text{对照病斑长度} - \text{诱导处理病斑长度}) / \text{对照病斑长度} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 稻瘟病强致病菌与弱致病菌的筛选

用68个稻瘟病单孢分离菌株孢子悬浮液接种供试品种,7d后调查记载发病情况,据发病率和病情指数,筛选出强致病菌及弱致病菌。结果见表1。

2.2 以稻瘟病弱致病菌诱导的广谱抗性

先以稻瘟病弱致病菌分别对爱知旭、关东51、新2号作诱导接种,24h后,分别又用稻瘟病强致病菌、稻胡麻叶斑菌及稻白叶枯病菌作挑战接种,测定诱导抗性的广谱性,结果见表2,表3,表4。

表 1 筛选出的稻瘟病强致病菌及弱致病菌

Tab. 1 Screening of weak or strong pathogenic isolates

强致病菌株			弱致病菌株		
Jz03-37	Hn03-25	Jn03-3	Jz03-22	Hn03-11	Jn03-16
Jz03-36	Hn03-16	Jn03-2	Jz03-29	Jn03-15	Jn03-31
Hz03-16	Jn03-4	Hz03-29	Jn03-12	Jn03-18	Jn03-8
Hz03-29	Jn03-5	Hz03-11	Hn03-11	Jn03-24	Jn03-18
Hz03-19	保 01-5		Hz03-14	马 01-11	

由表 2 说明以稻瘟弱致病菌对关东 51 和爱知旭作诱导接种后,再用稻瘟强致病菌作挑战接种,

两个品种均能产生一定程度的诱导抗瘟性。5 个弱致病菌株对关东 51 的诱抗效果在 29.74% ~ 87.23%之间;对爱知旭的诱抗效果在 4.14% ~ 47.73%之间。表明诱抗效果因品种和菌株而异。

由表 3 可以看出,以稻瘟弱致病菌为诱导因子,可诱导关东 51 和新 2 号对水稻胡麻叶斑病产生一定程度的诱导抗性,5 个弱致病菌株对关东 51 的诱抗效果在 5.80% ~ 70.82%之间;对新 2 号的诱抗效果在 4.29% ~ 41.68%之间。表明诱抗效果因品种和菌株而异。

表 2 稻瘟弱致病菌—强致病菌试验结果

Tab. 2 Induced resistance of rice blast isolates to rice brown spot

处 理	关东 51		处 理	爱知旭	
	病情指数	诱抗效果/%		病情指数	诱抗效果/%
CK	9.72	-	CK	15.00	-
Jn03-18—Jn03-2*	4.44	54.32	Jn03-8—Jz03-36	7.84	47.73
CK	11.90	-	CK	4.35	-
Jn03-15—Jn03-3	1.52	87.23	Jn03-31—Jz03-37	4.17	4.14
CK	20.39	-	CK	12.56	-
Jn03-16—Jn03-4	7.94	61.06	Jn03-18—Hz03-16	10.56	15.92
CK	7.69	-	CK	7.22	-
Jn03-24—Jn03-5	4.17	45.77	Jz03-29—Hz03-11	6.67	7.62
CK	26.26	-	CK	8.33	-
马 01-11—保 01-5	18.45	29.74	Jz03-22—Hz03-29	6.35	23.77

* : Jn03-18—Jn03-2 表示诱导接种菌株—挑战接种菌株

表 3 稻瘟弱致病菌—稻胡麻叶斑病菌试验结果

Tab. 3 Induced resistance of rice blast isolates to rice brown spot

处 理	关东 51		处 理	新 2 号	
	病情指数	诱抗效果/%		病情指数	诱抗效果/%
CK	20.77	-	CK	18.45	-
Jn03-15—Bi03-1*	6.06	70.82	Jn03-16—Bi03-1	10.76	41.68
CK	30.00	-	CK	19.68	-
Jn03-16—Bi03-1	26.30	12.33	Jn03-11—Bi03-1	14.03	28.71
CK	28.69	-	CK	11.90	-
Jn03-18—Bi03-1	8.51	70.34	Jn03-12—Bi03-1	11.39	4.29
CK	27.99	-	CK	17.42	-
Jn03-24—Bi03-1	25.59	8.57	Hn03-11—Bi03-1	13.02	25.26
CK	24.82	-	CK	18.37	-
马 01-11—Bi03-1	23.38	5.80	Hz03-14—Bi03-1	11.92	35.11

* : Jn03-15—Bi03-1 表示诱导接种菌株—挑战接种菌株

表 4 稻瘟弱致病菌—稻白叶枯病菌试验结果

Tab. 4 Induced resistance of rice blast isolates to rice leaf blight

品 种	处 理	平均病斑长度/cm	绝对诱导效果/%	相对诱导效果/%
关东 51	CK	1.60	—	—
	Jn03 - 15—A1 *	0.51	1.09	68.13
	CK	1.88	—	—
	Jn03 - 16—A6	1.05	0.83	44.15
	CK	1.63	—	—
	Jn03 - 18—17	0.68	0.95	56.55
	CK	1.44	—	—
	Jn03 - 24—35	0.56	0.88	61.11
	CK	1.66	—	—
	马 01 - 11—Q15 - 1	0.76	0.90	54.22
爱知旭	CK	1.53	—	—
	Jn03 - 31—A1 *	0.89	0.64	41.83
	CK	1.66	—	—
	Jn03 - 8—A6	1.33	0.33	19.88
	CK	1.11	—	—
	Jn03 - 18—17	1.68	0.43	38.74
	CK	1.61	—	—
	Jz03 - 22—35	0.78	0.83	51.55
	CK	1.76	—	—
	Jz03 - 29—Q15 - 1	1.46	0.30	17.05
新 2 号	CK	1.94	—	—
	Hn03 - 11—17 *	1.21	0.73	37.63
	CK	1.91	—	—
	Jn03 - 16—A6	1.54	0.37	19.37
	CK	1.06	—	—
	Jn03 - 12—A1	0.94	0.12	11.32
	CK	1.95	—	—
	Jz03 - 11—Q15 - 1	1.25	0.70	35.89
	CK	1.79	—	—
	Hx03 - 14—35	1.11	0.68	37.99

* : Jn03 - 15—A1 表示诱导接种菌株—挑战接种菌株

表 5 稻胡麻叶斑病菌—稻瘟强致病菌试验结果

Tab. 5 Induced resistance of to rice brown spot to rice blast isolates

处 理	关东 51		处 理	爱知旭		处 理	新 2 号	
	病情指数	诱抗效果/%		病情指数	诱抗效果/%		病情指数	诱抗效果/%
CK	14.39	—	CK	12.12	—	CK	11.62	—
Bi03 - 1—Jn03 - 2 *	9.80	31.90	Bi03 - 1—Jz03 - 36	8.89	26.65	Bi03 - 1—Hn03 - 25	6.17	46.90
CK	15.56	—	CK	13.89	—	CK	22.35	—
Bi03 - 1—Jn03 - 3	5.56	64.27	Bi03 - 1—Jz03 - 37	2.08	85.03	Bi03 - 1—Hx03 - 16	5.95	73.38
CK	26.64	—	CK	24.44	—	CK	20.51	—
Bi03 - 1—Jn03 - 4	12.90	51.58	Bi03 - 1—Hx03 - 16	21.67	11.33	Bi03 - 1—Hn03 - 16	14.94	27.16
CK	8.33	—	CK	10.42	—	CK	13.73	—
Bi03 - 1—Jn03 - 5	3.09	62.91	Bi03 - 1—Hx03 - 29	7.49	28.12	Bi03 - 1—Hx03 - 19	10.76	21.63
CK	17.58	—	CK	11.11	—	CK	7.69	—
Bi03 - 1—保 01 - 5	4.53	74.23	Bi03 - 1—Hx03 - 11	6.73	39.42	Bi03 - 1—Hx03 - 29	5.56	27.70

* : Bi03 - 1—Jn03 - 2 表示诱导接种菌株—挑战接种菌株

表 4 说明,以稻瘟弱致病菌对供试品种关东 51、爱知旭及新 2 号先作诱导接种,24 h 后,再分别

用 5 个白叶枯病菌进行挑战接种,3 个品种对水稻白叶枯病菌均表现出不同程度的诱导抗性。5 个

弱致病菌株对关东 51 的相对诱导效果在 44.15% ~ 68.13% 之间;对爱知旭的相对诱导效果在 17.05% ~ 51.55% 之间;对新 2 号的相对诱导效果在 11.32% ~ 37.99% 之间。表明诱抗效果因品种和菌株而异。

2.3 稻胡麻叶斑病菌诱导的抗瘟性

以稻胡麻叶斑病菌 Bi03 - 1 对关东 51、爱知旭、新 2 号作诱导接种,24 h 后再以稻瘟强致病菌进行挑战接种,结果见表 5。

由表 5 说明,以稻胡麻叶斑病菌作诱导因子,诱导接种于供试品种关东 51、爱知旭、新 2 号,3 个品种同样表现出对稻瘟病不同程度的诱导抗性。5 个弱致病菌株对关东 51 的诱抗效果在 31.90% ~ 74.23% 之间;对爱知旭的诱抗效果在 11.33% ~ 85.03% 之间;对新 2 号的诱抗效果在 21.63% ~ 73.38% 之间。表明不同菌株对不同品种进行诱导,其诱导抗性有一定差异。

3 讨论

诱导抗病性多表现为多抗性,即抗病的广谱性^[5],Kuč 曾用豆刺盘孢(*Colletotrichum lagenarium*)或烟草坏死病毒(TNV)感染黄瓜叶片,而诱导产生对 10 种病害的抗性。诱导抗菌谱包括真菌、细菌和病毒病害^[11]。有关稻瘟病菌诱导抗菌谱方面的报道不多见,本研究结果说明,以同一诱导因子,即稻瘟病弱致病菌诱导接种稻株,能不同程度的抵抗稻瘟病、稻胡麻叶斑病和稻白叶枯 3 种病害,说明经诱导处理后水稻的防御功能对于多种病原物都有一定作用,其诱导抗菌谱包括真菌、细菌病害。

本研究结果仅说明了经稻瘟弱致病菌诱导后水稻产生一定的广谱抗病性的现象,对其更深层次的内在机理、机制还需进一步进行深入细致的研究。

感谢 云南农业大学植保专业 2000 级学生王洪海、李佳、刘慧英作了部分试验工作。

[参 考 文 献]

- [1] 李洪连,王守正,袁红霞,等. 植物诱导抗病性研究的现状与展望[J]. 河南农业大学学报,1994,28(3):219 - 223.
- [2] 李振歧. 植物免疫学[M]. 北京:中国农业出版社,1995.
- [3] 陈熙. 植物免疫学[M]. 上海:上海科技出版社,1989.
- [4] 王军. 植物诱导抗病性的研究进展[J]. 华南农业大学学报,1994,15(4):121 - 126.
- [5] 邱业先,汪金莲,罗泽民. 植物的诱导抗病性[J]. 世界农业,1998,(9):28 - 30.
- [6] 全国稻瘟病科研协作组. 我国稻瘟病菌生理小种研究[J]. 植物病理学报,1980,10(2):71 - 82.
- [7] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社(第三版),1998.
- [8] 农业部农药检定所生测室. 《农药田间药效试验准则(一)》[M]. 北京:中国标准出版社,1993.
- [9] 董玉红,高祖明,李升东. 不同化学诱导因子对蔬菜炭疽病的诱导抗性效应[J]. 山东农业科学,2002,(4):35 - 37.
- [10] 曾富华,吴岳轩,罗泽民,等. 稻白叶枯病不同毒力株细菌的诱导抗病性与活性氧代谢的关系[J]. 湖南农业大学学报,1998,24(6):450 - 455.
- [11] 章元寿. 植物病理生理学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1994.