

β-氨基丁酸诱导水稻稻瘟病抗性对活性氧代谢的影响

李莉¹,郭晓丽¹,刘晓梅¹,温嘉伟¹,张秀容²,孙辉¹,赵宇¹,任金平¹*

(1.吉林省农业科学院植保所,吉林公主岭 136100;2.吉林省前郭县白依拉嘎乡农业技术推广站,吉林前郭 131113)

摘要 [目的]研究 β-氨基丁酸(简称 BABA)诱导水稻稻瘟病抗性对活性氧代谢的影响。[方法]以超产 2 号高感病品种为材料,测定喷施 BABA 后各处理过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)变化情况。[结果]喷施 BABA 后,水稻植株的 CAT、SOD 活性增强,水稻植株的 MDA 含量相对增加,对水稻稻瘟病的抗性增强。[结论]BABA 是通过影响水稻植株的活性氧代谢水平从而达到抗病的目的。该药剂对环境安全,具有高效诱抗作用,可在生产上加以推广。

关键词 β-氨基丁酸;水稻稻瘟病;诱导抗性

中图分类号 S435.11.4⁺¹ 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)18-08551-02

Effects of β-Amino Butyric Acid Induced Rice Blast Resistance on Reactive Oxygen Metabolism

LI Li et al (Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling, Jilin 136100)

Abstract [Objective] This study was to understand the effects of β-amino butyric acid(abbreviated as BABA) induced rice blast resistance on reactive oxygen metabolism. [Method] Using the cultivar Chaochan No. 2 highly susceptible to disease as experimental material, the changes of catalase(CAT) and superoxide dismutase(SOD) activities in rice treated by BABA were investigated. [Result] In rice plant treated by BABA, the activities of CAT and SOD increased, meanwhile the MDA content also rose to some extent, resulting in the disease resistance to rice blast. [Conclusion] By influencing reactive oxygen metabolism, BABA endows rice plant with resistance to rice blast. BABA is safe to environment and has highly resistance-inducing capacity, it could be generalized in production.

Key words β-Amino Butyric Acid; Rice blast; Induced resistance

水稻稻瘟病(*Magnaporthe grisea*, *Analmorph pyricularia grisea*)是我国南北稻区危害最严重的水稻病害之一。目前生产上推广的稻瘟病防治方法是以利用抗病品种为核心,配以农业措施和适当化学农药的综合防治措施。而近几年,植物化学诱导剂的研究已成为植物保护研究中的热点之一^[1],其中部分研究成果已在生产上推广应用,为作物病害的防治开辟了一条新途径。

β-氨基丁酸(β-amino-butyric acid,BABA)是由番茄根系分泌的非蛋白氨基酸,是对环境安全,具有高效诱抗作用,被认为是应用前景极广的植物化学诱导剂^[2]。但有关 BABA 诱导水稻产生抗性的生理生化机制目前尚未见报道。为此,笔者针对 BABA 诱导水稻产生抗性对活性氧代谢的影响加以阐述,为该药剂的推广使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 供试水稻品种超产 2 号为高感病品种。供试菌株为 071402-2 强致病菌系的生理小种,由吉林省农业科学院植物保护研究所提供。供试药剂 β-氨基丁酸(BABA)由上海维思化学有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 设 4 个处理:CK(不喷药、不接菌)、不喷药接菌处理、喷药不接菌处理、喷药并接菌处理。喷药为一次性喷施浓度为 1 000 μg/ml 的 BABA。分别于喷药前(0 d)、喷药后 1、2、3 d(第 1、2、3 天)及接种(第 4 天)后数天进行采样,采无病斑的新鲜叶片进行酶活性测定。

1.2.2 苗的培育及接种 该试验在吉林省农科院植物保护研究所免疫研究室的大棚内进行,用苗盘培育。种子浸泡 48 h,再用清水洗净,继续浸种催芽,选取萌发势一致的种子播

于苗盘内,其他管理正常。设 3 次重复。待幼苗 3~4 叶期,用空压机连接喷头喷雾器用 1 个强致病菌株的分生孢子悬浮液接种,孢子液浓度为显微镜 100 倍视野 20~30 个孢子,接种后在 25~28 ℃下黑暗保湿 20 h 左右,然后在 20~30 ℃的高湿(喷雾器不断喷水)环境下培育。

1.2.3 酶活性的测定 过氧化氢酶(CAT)活性的测定。按文献[3]的方法进行,改进之处是用 0.05 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液(含 1% PVP)进行冰浴研磨。反应液为 0.05 mol/L (pH 7.8) 的磷酸缓冲液 1.5 ml、蒸馏水 1 ml、粗酶液 0.2 ml。逐管加入 0.3 ml 0.1 mol/L 的 H₂O₂,每管加完后立刻计时,并迅速倒入石英比色杯中,于 240 nm 下测定吸光度,每隔 1 min 读数 1 次,共测 4 min,待所有管全部测定完后,计算酶活性。计算方法:以 1 min 内 A_{240} 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位(U)。

$$\text{过氧化氢酶活性} = \Delta A_{240} \times V_r / 0.1 V_s \times t \times W$$

式中, ΔA_{240} 为 $(A_{S1} + A_{S2} + A_{S3}) / 3 - A_{S0}$; A_{S0} 为加入煮沸处理失活酶液对照样品的吸光度; A_{S1} 、 A_{S2} 、 A_{S3} 为样品管的吸光度; V_r 为粗酶提取液的总体积(ml); W 为样品鲜重(g);0.1 表示 A_{240} 每下降 0.1 为 1 个酶活单位(U); t 为加过氧化氢到最后一次读数时间(min)。

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定参考郝建军等的 NBT 光还原法;丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸比色法^[3]。为消除糖及酚类物质的影响,减少试验误差,在酶提取液中加入 1% 的聚乙烯吡咯烷酮,在丙二醛含量测定时,分别测定了 510、532、560 nm 处的 OD 值,用 $OD_{532} - (OD_{510} + OD_{560}) / 2$ 值来计算其含量。

2 结果与分析

2.1 BABA 诱导水稻稻瘟病抗性的 CAT 活性变化规律 为了更清晰明确的分析喷药处理与不喷药处理的差别,在图 1 中仅列出了部分处理的趋势图。由图 1 可知,与对照相比,在整个喷药和接菌阶段,水稻植株的 CAT 活性均呈升高趋

基金项目 “十一五”国家重大科技支撑计划课题(2006BAD08A04);创新工程(20076020)。

作者简介 李莉(1975-),女,吉林农安人,硕士,从事植物病理生理和植物诱导抗性的研究工作。*通讯作者。

收稿日期 2009-03-20

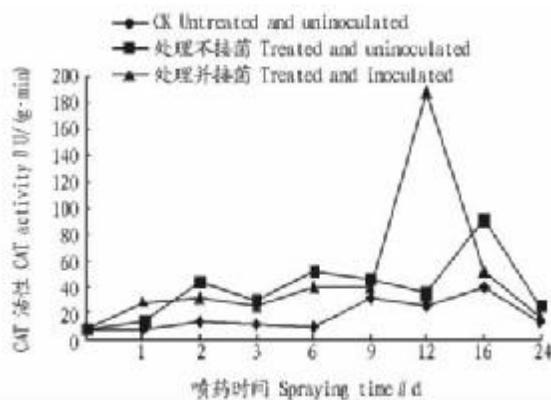


图 1 BABA 诱导水稻稻瘟病抗性 CAT 活性的变化

Fig. 1 Activity changes of CAT of rice blast resistance induced by BABA

势。在喷药并接菌处理接菌后 CAT 活性的峰值出现在喷药后第 12 天,即接菌后第 8 天(病斑表现为典型症状时);与喷药不接菌处理相比,接菌后 CAT 活性的峰值提前 4 d 出现,

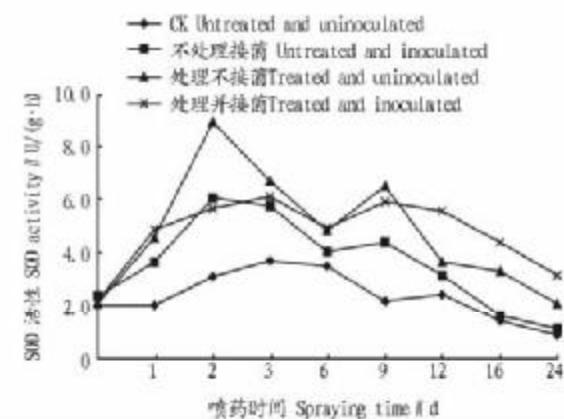


图 2 BABA 诱导水稻稻瘟病抗性的 SOD 和 MDA 活性的变化

Fig. 2 Activity changes of SOD and MDA of rice blast resistance induced by BABA

2.3 BABA 诱导水稻稻瘟病抗性的 MDA 活性变化规律 由图 2 可知,从整体趋势看,在喷施 BABA 后,水稻植株体内 MDA 含量增加,其含量明显高于对照;在喷药并接菌处理中,其值先升高(喷药阶段)后降低(接菌后),接菌后的第 2 天其值迅猛降低,但其值高于单纯接菌的数值。说明喷施 BABA 后能相对提高 MDA 的含量,进而避免植株遭受病害的侵袭。

3 讨论

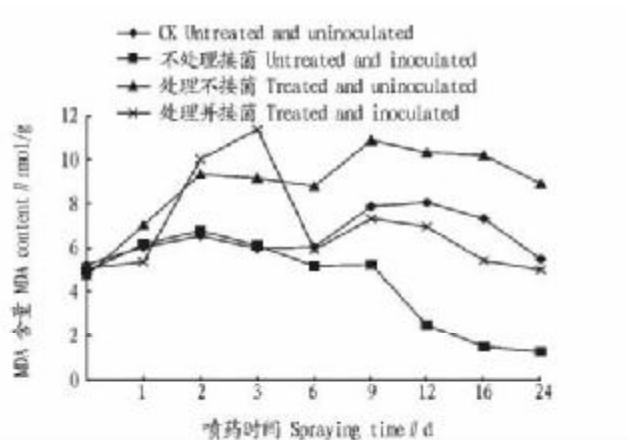
由于 SOD 和 CAT 的主要生理功能是清除生物体内的活性氧 O_2^- 和 H_2O_2 ,因此,SOD 和 CAT 活性下降必然导致染病组织活性氧的累积和膜脂过氧化的加强,进而加速组织细胞的死亡和病症表现。SOD、CAT 及有关活性氧的代谢在水稻对稻瘟菌的抗性中可能具有重要作用^[4]。

由于 MDA 是一种强氧化剂,它能降低细胞膜系统的电阻和膜流动性,最终破坏膜的结构及生理完整性,因此,它与细胞膜的损害程度直接相关,MDA 作为膜脂过氧化的最终

且明显高于未接菌处理。说明 BABA 能够提高 CAT 活性,在病害扩展时也能起到抵御病害侵染的作用。

另外,由图 1 还可以看出,接菌后第 2 天 CAT 活性有一个迅速升高的过程。而喷药处理将这种迅速升高的过程延续了 6 d,说明 BABA 可以延缓受病菌侵袭的时间;喷药后的高峰值高于未喷药处理,说明喷施 BABA 后增强病菌侵染的抵御能力。

2.2 BABA 诱导水稻稻瘟病抗性的 SOD 活性变化规律 由图 2 可知,施用 BABA 后,SOD 活性呈先上升后下降的趋势,在喷药处理第 2 天达到峰值,但总体变化不大。无论是喷药处理还是不喷药处理,接菌后 SOD 活性均先下降后上升,在接菌后第 5 天 SOD 活性有所上升,但幅度变化不大。从整体看,喷药处理的 SOD 值均高于未喷药处理的,说明喷施 BABA 可使 SOD 值维持在较高水平,进而减轻植物体内自由基的伤害,起到防病的作用。



产物,其含量是膜脂过氧化程度的重要标志^[5]。高含量的 MDA 可使感染病原菌的细胞组织膜系统遭到破坏,从而导致细胞坏死,最终产生过敏性反应,这也是不亲和反应的抗病材料能够抗病的原因之一。

该试验结果表明:喷施 BABA 后可增强水稻植株体内 CAT、SOD 的活性,同时可相对增加 MDA 含量,从而达到抗病的目的。

参考文献

- 李惠霞,谢丙炎,冯春香.植物化学诱抗剂的研究进展与展望[J].园艺学报,2000,27(S1):539~545.
- GALMIEL A, KATAN J. Influence of seed and root exudates of fluorescent pseudomonas and fungi in solarized soil[J]. Phytopathology, 1992, 82:320~327.
- 郝建军,康宗利.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2007.
- 宋海超,史学群.稻瘟菌侵染后水稻抗氧化酶类的变化与抗病性的关系[J].海南大学学报:自然科学版,2006,24(4):378~382.
- 葛秀春,宋风鸣,郑重.膜脂过氧化与水稻对稻瘟病抗性的关系[J].浙江大学学报,2000,26(3):254~258.