

链霉菌 JD211 对接种稻瘟病后水稻 过敏性反应的生理机制分析

邵正英, 陈业欣, 熊超, 李张, 傅雁辉, 魏赛金*

(江西农业大学 生物科学与工程学院/江西省农业微生物资源开发与利用工程实验室, 南昌 330045)

摘要:以水稻品种“陆两优 996”为材料, 采用盆栽试验, 通过施加链霉菌 JD211 固体菌剂培育水稻, 以叶片喷施稻瘟病菌孢子悬液接种稻瘟病菌为处理, 以喷施清水为对照, 测定分析水稻叶片过氧化氢 (H_2O_2) 含量、过氧化氢酶 (CAT) 活性、脂氧合酶 (LOX) 活性、丙二醛 (MDA) 含量及细胞质膜透性等生理生化指标变化, 探究链霉菌 JD211 对接种稻瘟病后水稻过敏性反应的生理机制。结果表明: (1) 水稻秧龄 30 d 时, 只添加链霉菌 JD211 处理组水稻的叶片 CAT 活性、LOX 活性、 H_2O_2 含量较对照组分别显著提高 50.30%、40.85% 和 45.31%, 其 MDA 含量显著降低 25.75%。(2) 接种稻瘟病菌后添加 JD211 处理组水稻的叶片 CAT 活性、LOX 活性、 H_2O_2 含量较未添加 JD211 处理组 (只接种稻瘟病菌处理组) 分别提高了 33.50%、4.07% 和 47.76%, 其 MDA 含量降低了 38.68%。(3) 接种稻瘟病菌后添加 JD211 处理组的细胞膜透性较未添加 JD211 处理组在秧龄 32、34 和 36 d 时分别提高了 38.94%、39.03% 和 8.08%。研究认为, 施加链霉菌 JD211 提高了水稻叶片过氧化氢含量、过氧化氢酶以及脂氧合酶活性, 抑制了丙二醛积累, 在后期增加了接种稻瘟病菌处理组的细胞膜透性, 从而能够有效调控细胞过敏反应, 诱发细胞过敏性坏死, 阻止病原菌的进一步侵染, 有效提高水稻稻瘟病抗性。

关键词: 链霉菌 JD211; 水稻; 过敏性反应; 抗性

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A

Analysis of *Streptomyces* JD211 on Physiological Mechanism of Hypersensitive Response in Rice after Inoculation with *Magnaporthe grisea*

SHAO Zhengying, CHEN Yexin, XIONG Chao, LI Zhang, FU Yanhui, WEI Saijin*

(College of Biological Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University/ Jiangxi Province Engineering Laboratory for Development and Utilization of Agricultural Microbial Resources, Nanchang 330045, China)

Abstract: In order to investigate the effect of *Streptomyces* JD211 on physiological mechanism of hypersensitive response in rice after inoculation with *Magnaporthe grisea*, with the rice variety “Luliangyou 996” as materials, we conducted pot experiments by applying powdered *Streptomyces* JD211 cultivation of rice and inoculated with rice blast fungus spore suspension, and then sprayed with water as control, hydrogen peroxide (H_2O_2), catalase (CAT), lipoygenase (LOX), malondialdehyde (MDA) and cell membrane permeability in rice leaves were determined. The results showed that: (1) when the rice seedling age was 30 days, the treatment group with adding *Streptomyces* JD211, (CAT), (LOX) and (H_2O_2) increased by

收稿日期: 2017-03-02; 修改稿收到日期: 2017-06-02

基金项目: 国家自然科学基金 (31460469, 31360450)

作者简介: 邵正英 (1993-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事微生物研究。E-mail: shaozhengying123@126.com

* 通信作者: 魏赛金, 教授, 硕士生导师, 主要从事微生物与植物相互作用研究。E-mail: weisaijin@126.com

50.30%, 40.85% and 45.31%, respectively compared with the control group and (MDA) decreased by 25.75%. (2) After inoculate with *Magnaporthe grisea*, plus JD211 treatment group, (CAT), (LOX) and (H_2O_2) were increased by 33.50%, 4.07% and 47.76% than that of the group without JD211, MDA decreased by 38.68%. (3) After inoculation of *Magnaporthe grisea*, the JD211 treatment group compared to the group without JD211, cell membrane permeability increased by 38.94%, 39.03% and 8.08% at the age of 32 days, 34 days, 36 days, respectively. It is considered that *Streptomyces* JD211 enhanced the content of H_2O_2 , and the activities of CAT and LOX, while inhibited the accumulation of MDA. The cell membrane permeability also increased with the inoculation of *Magnaporthe grisea* in the later stages, which can effectively regulate the hypersensitive response in the cell, induced cell necrosis, further prevented pathogens infection, and effectively improved rice resistance to rice blast.

Key words: *Streptomyces* JD211; rice; hypersensitive response; resistance

随着农业技术不断发展和人们保护环境意识的提高,生物肥料正逐步应用到农业生产当中。生物肥料是一类利用微生物生长活动及其代谢产物作用于植物或其环境,促进植物生长、抵御植物病虫害、诱导植物抗性的生物制品^[1]。虽然化学肥料有见效快、价格低廉的优点,但是长期使用化肥会导致土壤发生改变,营养流失,植株对化肥利用率降低,而生物肥料绿色无毒、无污染,可促进微生物生长和土壤养分转化,改善植物根际生态环境^[2]。利用生防菌制备的生物肥料能激发植物抗性潜能,寻找合适生防菌并探索其作用机制可以更好地为农业发展提供帮助。陈颖潇等^[3]从 34 株潜在生防菌中筛选到 7 株对黄瓜霜霉病防效在 50% 以上的生防菌。张斌等^[4]利用生防菌 B1619 控制番茄枯萎病,有效降低植株发病率,其中对铜山、沐阳番茄种植基地枯萎病防效分别高达 91.2% 和 99.9%。生防菌 BS04 可有效防止辣椒疫病,提高抗性酶活性^[5]。Belyaev 等^[6]使用 3 种生防菌分别处理草莓植株根系,从而不同程度地降低植物发病率,并促进植物生长。

Stakman^[7]在 1915 年指出:在寄主和寄生物不亲和的情况下,寄主毫无疑问对这个真菌是过敏的,随后制订了“过敏性”术语,用来表示锈菌菌丝侵染寄主时,寄主细胞发生的不正常的迅速死亡,后来更多的研究证明过敏性反应(hypersensitive response, HR)发生在寄主与寄生物不亲和的组合中,与植物抗性密切相关。李惠霞等^[8]发现马铃薯抗性品种应对晚疫病时发生过敏性反应,病原菌被限制在侵染点几个细胞内,而感病品种受侵染细胞则呈蔓延趋势。邱志娜等^[9]发现新疆野生櫻桃李较感病和抗性品种发生过敏性反应同时产生大量过氧化氢。过敏性反应伴随着细胞膜透性增加、膜脂过氧化等过程。Doke^[10-11]通过实验得出活性氧与植物的过敏性反应有关的结论,并且推断活性氧可能

是促发过敏细胞死亡的原因。过氧化氢(H_2O_2)是活性氧之一,过氧化氢酶(CAT)对活性氧的消除有极大作用,丙二醛(MDA)、脂氧合酶(LOX)都与脂质过氧化有密切联系^[12]。常小丽等^[13]研究感病与高感玉米品种对生平脐蠕孢菌抗病反应,发现感病品种较高感品种有更严重过敏性反应,感病后 CAT 活性上升。

江西农业大学应用微生物研究室从江西庐山植物园珙桐树枝中分离得到 1 株对多种病原菌具有抑制作用的生防链霉菌(*Streptomyces*) JD211^[14],添加 JD211 固体菌剂可明显促进水稻株高、叶长、叶宽、根系体积、根长、根数等形态指标的生长^[15-16]。而链霉菌 JD211 对水稻抗病机制尚未见报道。因此,本试验通过施加链霉菌 JD211 培育水稻,测定叶片 H_2O_2 、MDA、CAT、LOX 以及质膜透性等生理生化指标变化,研究链霉菌 JD211 对水稻过敏性反应的调控效应,旨在探索链霉菌 JD211 对水稻抗性的影响,为今后该生防菌在农业上的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试菌株链霉菌 JD211 由江西农业大学应用微生物研究室提供;供试水稻品种“陆两优 996”种子购自北京金色农华种业科技股份有限公司;试验土壤取自实训基地菜园,其基本土壤理化性质为有机质 32.58 g/kg、全氮 1.756 g/kg、碱解氮 109.9 mg/kg、速效磷 21.6 mg/kg、速效钾 88.5 mg/kg、pH 6.4。稻瘟病菌来自江西省农业科学院。

1.2 试验方法

1.2.1 制备固体菌剂 将链霉菌 JD211 接种到米饭培养基上,30 °C 培养 8 d 至米饭表面长满孢子,再将菌剂 45 °C 烘干 36 h,4 °C 保存备用。

1.2.2 水稻幼苗培育 将 10 g 链霉菌 JD211 固体菌剂加入到 2 000 g 过 20 目筛的菜园土中,搅拌均匀,同时设置不添加链霉菌 JD211 处理对照。将土平铺到育秧桶中,加水孵化(250 mL/kg)3~5 d。将‘陆两优 996’水稻种子消毒、浸种、催芽后均匀撒在孵化后土壤表面,100 粒/桶,再在表面撒上 1 层薄土,室外培养,不定期浇水保持土壤湿润不见明水状态。待水稻幼苗长至第 26 天时,将稻瘟病菌孢子悬液(70 个/10 倍视野)均匀喷洒叶片表面。不接种稻瘟病菌的水稻喷洒清水,后保持高温高湿、黑暗处理水稻幼苗 2 d,然后将水稻幼苗移至室外培养,定期浇水,不定时向水稻叶片喷水,保持叶片的湿润。试验共设 4 个处理,每个处理重复 5 次。其中,处理 I:不加链霉菌 JD211,不接种稻瘟病菌,标记为 CK;处理 II:添加 5 g/kg 链霉菌 JD211,不接种稻瘟病菌,标记为 JD211;处理 III:不加链霉菌 JD211,接种稻瘟病菌,标记为 CK+*M. g*;处理 IV:添加 5 g/kg 链霉菌 JD211,接种稻瘟病菌,标记为 JD211+*M. g*。

1.2.3 水稻叶片过敏性反应调查 分别在水稻秧龄为 26、28、30、32、34 和 36 d,即接种稻瘟病菌后 0、2、4、6、8 和 10 d 时取新鲜叶片测定相关指标。其中,叶片 H_2O_2 、MDA 含量以及 LOX 活性参照文献[17]测定,过氧化氢酶(CAT)酶活参照文献[18]测定,质膜透性参照文献[19]测定。

1.3 数据分析

所有数据采用 Excel 2003 进行处理,在 DPS 7.05 中作显著性分析,采用 Origin 9.0 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 链霉菌 JD211 对水稻叶片 CAT 和 LOX 活性的影响

2.1.1 CAT 活性 表 1 显示,在未接种稻瘟病菌原菌情况下,处理组(JD211)水稻叶片的 CAT 活性在整个观察期内始终显著高于同期空白对照组(CK),并且在秧龄为 34 d 时达到最大值(555.42 U·g⁻¹),在秧龄为 26~34 d 时保持相对平稳,而在秧龄 36 d 时开始下降。JD211 处理组叶片 CAT 活性在秧龄 26~36 d 期间显著高于同期相应对照组 16.64%~56.18%。在接种稻瘟病菌条件下(CK+*M. g*),水稻叶片 CAT 活性变化趋势与未接种稻瘟病菌(CK)情况一致,在接种后 0~8 d(秧龄 26~34 d)保持在一个较高的水平,在秧龄 36 d 时开始大幅下降到一个更低的水平。在接种病原菌并添加

JD211 处理组(JD211+*M. g*),水稻叶片 CAT 活性在染病之后呈上升趋势,并在秧龄 34 d 达到最大值,而 CK+*M. g* 处理组在秧龄 32 d 达到最大值,相比较而言,链霉菌 JD211 能够持续诱导增强 CAT 活性;同时,JD211+*M. g* 处理组 CAT 活性始终高于同期 CK+*M. g* 组,在接种稻瘟病菌后(秧龄 26~34 d)增幅为 3.40%~41.37%,并且在秧龄 26~30 d 达到显著水平;另外,与 JD211 处理相比,JD211+*M. g* 处理组 CAT 活性均不同程度降低,并在秧龄 30 和 34 d 时达到显著水平(表 1)。可见,链霉菌 JD211 在接种和未接种稻瘟病菌条件下均能不同程度增强水稻叶片 CAT 活性,并在接种前中期大多达到显著水平,但其促进作用在接种稻瘟病菌后有所减弱。

2.1.2 LOX 活性 在未接种稻瘟病菌情况下,JD211 处理组水稻叶片 LOX 活性在整个观察期间始终显著高于 CK 对照组。在水稻秧龄为 26~30 d 期间,CK 对照组 LOX 活性呈下降趋势,而 JD211 处理组则保持平稳;在秧龄 32 d 时,JD211 处理组和 CK 对照组酶活性均达到最大值,JD211 处理组(4.44 $\Delta A_{234} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)显著高出 CK 对照组 26.21%;随后酶活性开始下降,JD211 和 CK 组酶活性在秧龄 34 d 时分别较秧龄 32 d 下降了 19.82% 和 12.78%。说明链霉菌 JD211 能够诱导水稻 LOX 活性提高,且主要作用于前期。CK+*M. g* 处理组 LOX 活性变化趋势前期与 CK 组相似,且 CK+*M. g* 处理组在秧龄 26~32 d 时始终高于 CK 组,说明稻瘟病菌在一定程度上诱导了 LOX 活性提高。在接种稻瘟病菌情况下,链霉菌 JD211 仍能促进 LOX 活性提高,JD211+*M. g* 处理组酶活性始终高于 CK+*M. g* 处理组,且 JD211+*M. g* 处理组酶活性在秧龄 32~36 d 期间平稳保持在 3.37~3.57 $\Delta A_{234} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,而 CK+*M. g* 处理组开始急剧下降,并显著低于 JD211+*M. g* 处理组,即链霉菌 JD211 能持续诱导水稻 LOX 活性的提高,增强水稻对稻瘟的抗性。另外,与 CAT 活性变化相似,JD211+*M. g* 处理组 LOX 活始终低于 JD211 处理组,即 JD211 对感染病原菌后水稻酶活性的诱导促进作用有所减弱(表 1)。

2.2 链霉菌 JD211 对水稻叶片 H_2O_2 含量的影响

由图 1 可知,在未接种稻瘟病菌情况下,JD211 处理组与 CK 对照组水稻叶片 H_2O_2 含量变化趋势一致。其中,JD211 和 CK 组 H_2O_2 含量在秧龄 26~28 d 时较低,随后急剧上升,并在秧龄 30 和 34 d

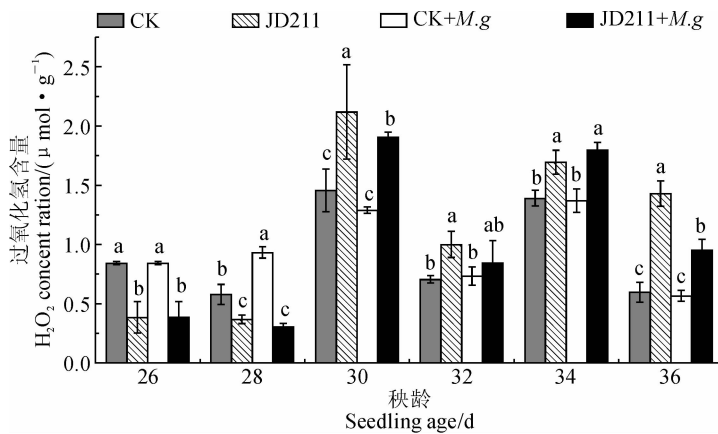
表 1 链霉菌 JD211 对接种稻瘟病和未接种稻瘟病菌水稻叶片 CAT 和 LOX 活性的影响

Table 1 The effects of *Streptomyces* JD211 on CAT and LOX activities in rice leaves inoculated with and without rice blast fungus

秧龄 Seedling age/d	过氧化氢酶活性 Catalase activity/(U · g ⁻¹)				脂氧合酶活性 Lipoxygenase activity/(ΔA ₂₃₄ · min ⁻¹ · g ⁻¹)			
	CK	JD211	CK+M. <i>g</i>	JD211+M. <i>g</i>	CK	JD211	CK+M. <i>g</i>	JD211+M. <i>g</i>
26	323.34+10.50b	457.09+34.18a	323.34+10.50b	457.09+34.18a	2.91+0.01b	3.01+0.03a	2.91+0.01b	3.01+0.03a
28	281.46+13.17b	439.58+18.09a	317.92+6.74b	398.34+9.28a	2.39+0.08d	3.16+0.07a	2.89+0.02c	3.07+0.04b
30	347.92+38.78c	522.92+65.55a	335.83+22.92c	448.33+31.78b	2.13+0.01d	3.00+0.02a	2.70+0.02c	2.81+0.02b
32	317.26+20.44b	478.21+124.77a	440.83+4.73a	455.83+33.29a	3.52+0.03d	4.44+0.01a	3.81+0.01b	3.57+0.01c
34	404.58+74.90b	555.42+31.06a	435.83+28.79b	462.92+47.31b	3.07+0.02c	3.56+0.02a	3.05+0.03c	3.37+0.02b
36	227.92+13.77a	265.83+58.97a	236.25+41.78a	232.50+83.19a	3.28+0.02c	4.05+0.03a	2.88+0.02d	3.45+0.02b

注:同行数据后不同小写字母分别表示经 Duncan 新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。下同

Note: Data with different normal letters in each row were significantly different by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$). The same as follows

图 1 链霉菌 JD211 对接种稻瘟病菌和未接种稻瘟病菌水稻叶片 H₂O₂ 含量的影响Fig. 1 Effect of *Streptomyces* JD211 on the content of H₂O₂ in rice leaves inoculated with and without rice blast fungus

时出现 2 个峰值,秧龄 30 d 时 JD211、CK 处理组相较秧龄 28 d 分别提高了 473.96% 和 152.57%, JD211 处理组增幅更大;同样,秧龄 34 d 时 JD211、CK 处理组相较于 32 d 时分别提高了 69.14% 和 97.05%。秧龄在 30~36 d 期间,JD211 组 H₂O₂ 含量始终高于 CK 组,增幅为 21.89%~139.42%,并以秧龄 36 d 时最大,秧龄 34 时最小。在接种稻瘟病菌后,水稻叶片 H₂O₂ 含量没有发生明显变化,CK 组与 CK+M.*g* 没有显著差异。JD211+M.*g* 处理组在秧龄 30~36 d 期间始终高于 CK+M.*g* 组,其增幅在秧龄为 30、32、34 和 36 d 时分别 47.80%、15.29%、31.26% 和 68.70%。同样,JD211+M.*g* 处理组和 CK+M.*g* 组叶片 H₂O₂ 含量在秧龄 30 和 34 d 时分别达到峰值,JD211+M.*g* 和 CK+M.*g* 组在秧龄 30 d 比 28 d 时分别提高了 525.10% 和 38.15%,而其在 34 d 时相较于 32 d 时分别提高了 112.69% 和 86.91%,JD211+M.*g* 处理组增幅更大,且同期相比 JD211+M.*g* 处理组

比 JD211 组的增幅更为明显。说明链霉菌 JD211 在一定程度上可以诱导过氧化氢的积累,并且在接种病原菌后诱导效果更明显。

2.3 链霉菌 JD211 对水稻叶片 MDA 含量的影响

由图 2 可知,在未接种稻瘟病菌条件下,水稻叶片 MDA 含量保持着较为稳定的水平,且 JD211 处理组 MDA 含量低于 CK 对照组。其中,JD211 处理组 MDA 含量在秧龄 26、28 和 30 d 时分别显著低于 CK 对照组 28.48%、22.52% 和 25.75%,而在秧龄在 34 和 36 d 时与 CK 对照组差异不显著,即添加杀菌剂 JD211 有效抑制了 MDA 的积累。在接种稻瘟病菌后,CK+M.*g* 处理组 MDA 含量仅在秧龄 30 d 显著低于 CK,而在其余时期与 CK 对照组没有显著差异;JD211+M.*g* 处理组 MDA 含量在秧龄 30 d、32 d 时显著低于 JD211 处理组,而在其余时期无显著差异;JD211+M.*g* 处理组 MDA 含量除秧龄 34 d 外均不同程度地低于 CK+M.*g* 处理组,并在秧龄 26 和 30 d 时达到显著水平。另外,JD211+

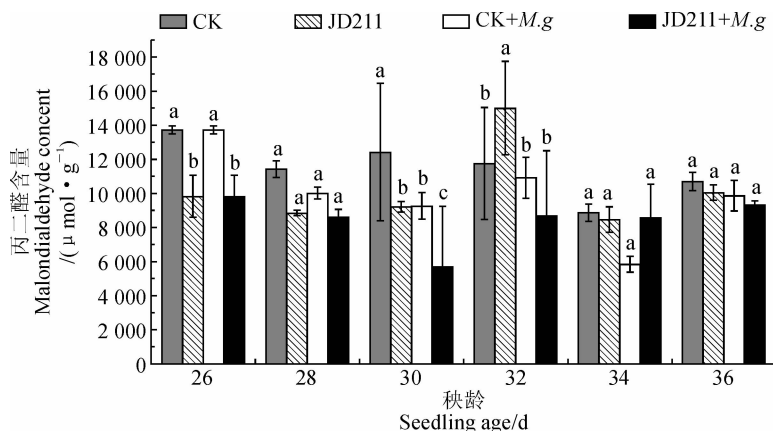


图2 链霉菌 JD211 对接种稻瘟病菌和未接种稻瘟病菌水稻叶片 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effect of *Streptomyces* JD211 on the content of MDA in rice leaves inoculated with and without rice blast fungus

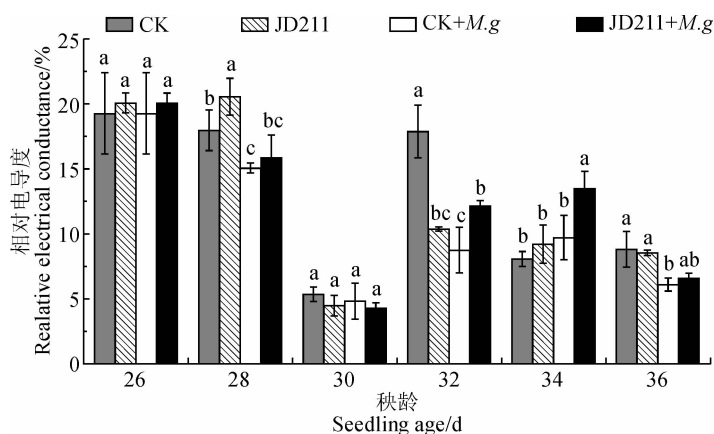


图3 链霉菌 JD211 对接种稻瘟病菌和未接种稻瘟病菌水稻叶片相对电导率的影响

Fig. 3 Effect of *Streptomyces* JD211 on relative electrical conductivity of rice leaves inoculated with and without rice blast fungus

M. g 处理组随秧龄先下降后上升,并在秧龄 30 d 时达到最低值,此时比 CK+*M. g* 处理组 (9 266.53 $\mu\text{mol/g}$) 显著降低 38.68%,随后与 CK+*M. g* 处理组始终相差不大;CK+*M. g* 处理组 MDA 含量随秧龄的变化趋势与 JD211+*M. g* 处理组类似,先下降后上升,并在秧龄 34 d 时最低,但此时与 JD211+*M. g* 处理组差异不显著。以上结果表明链霉菌 JD211 能够在前期有效并且快速减少 MDA 的积累,在遭遇稻瘟病菌入侵时,仍能对水稻起到积极保护作用。

2.4 链霉菌 JD211 对水稻叶片质膜透性的影响

组织外渗液的电导率可以反映细胞膜的受伤害程度,当植物受到伤害时,植物细胞膜通透性增大,其电解质便会更多地渗出,外渗液的电导率相应增加。图 3 显示,在未接种稻瘟病菌病原菌时,JD211 处理组水稻叶片细胞膜透性除秧龄 28 和 32 d 外均与 CK 对照组之间无显著差异;两者膜透性随秧龄的

变化趋势基本一致,即前期(26~32 d)先下降后上升,并在秧龄 30 d 时大幅降至最低值,在秧龄 32 d 时急剧上升,此时 CK 组和 JD211 处理组分别较 30 d 时上升了 234.50%和 131.79%,随后质膜透性均维持较低的水平。在接种稻瘟病菌之后,CK+*M. g* 处理组质膜透性大多低于 CK 组,并在秧龄 28、32 和 36 d 时差异达到显著水平;JD211+*M. g* 处理组质膜透性在秧龄 32 和 34 d 时高于 JD211 处理组,而在其余时期不同程度地低于 JD211 处理组,但仅在秧龄 28 和 34 d 时差异达到显著水平;JD211+*M. g* 处理组质膜透性除秧龄 30 d 外均不同程度地高于 CK+*M. g* 处理组,但仅在 32~34 d 期间达到显著水平。CK+*M. g* 和 JD211+*M. g* 处理组的质膜透性在秧龄 26~32 d 期间先下降后上升,同样在秧龄 30 d 降至最低值,两处理组在秧龄 32 d 时分别较 30 d 时上升了 81.55%和 183.82%;随后在 32~34 d 期间,JD211+*M. g* 处理组维持较高水平,分别

显著高于 CK + *M. g* 处理组 38.94% 和 39.03%。可见,在稻瘟病菌侵染情况下,链霉菌 JD211 有效促进植物细胞膜透性增大(图 3)。

3 讨论

水稻过敏性反应是植物抗病机制之一,非亲和性病原菌感染后,植物会在侵染部位迅速发生局部细胞坏死,抑制病原菌进一步伤害。过敏性反应的发生常伴有活性氧的爆发^[20],且活性氧被认为是诱导过敏性反应的信号,活性氧是含氧的、反应性极强的一类小分子化合物,包括超氧阴离子自由基(O_2^-)、过氧化氢、单线态氧^[17]。活性氧在诱导抗性中的作用主要有:直接的抗菌作用和引起过敏性坏死;诱导植物防卫基因表达和植保素的合成;诱导细胞壁加固和木质素合成^[12]。 H_2O_2 作为诱导防卫基因产生的信号物质^[20],其前期含量相对较低,可诱导相关防卫基因的表达,随后含量急剧上升,诱导植物细胞过敏性坏死。而过氧化氢酶具有分解 H_2O_2 的功能^[17],可维持着植物体内活性氧的平衡,以免过量 H_2O_2 对植物造成伤害。柳利龙等^[21] 分别利用 H_2O_2 和 CAT 处理南瓜幼苗,同时接种病菌孢子,发现 H_2O_2 增加了过敏性细胞数;相反,CAT 能有效减少过敏性细胞数,并且活性与植物抗性呈一定的正相关性^[22]。本研究中,在水稻秧龄 28 d 后,添加链霉菌 JD211 处理组 H_2O_2 含量一直高于对照组,同期,接种稻瘟病菌处理组 H_2O_2 积累量的增幅高于未接种稻瘟病菌组,并在秧龄 30 d 时达到峰值,同时链霉菌 JD211 也促进了 CAT 的提高,并在秧龄 34 d 时达到最大值,链霉菌 JD211 前期诱导少量 H_2O_2 积累,诱导防卫基因的表达,后期大量 H_2O_2 发生积累引起细胞死亡,同时 CAT 活性上升,降低了过量活性氧对水稻的伤害,从而提高水稻稻瘟病抗性。

LOX 与植物抗性密切相关,研究发现,受到害虫胁迫时,植物 CAT、LOX 活性均得到提高^[23]。LOX 能催化分解多种不饱和脂肪酸,最终经过一系列反应生成茉莉酸和愈创酸^[24],茉莉酸对植物抗性有一定促进作用^[25],且 LOX 代谢产物对细胞膜有破坏作用,参与了植物细胞过敏性坏死反应^[26]。在发生过敏性反应时,细胞膜透性增大,胞内电解质大量渗透,因此电解质渗透被认为是过敏性反应信号之一^[27]。本试验中添加链霉菌 JD211 对水稻 LOX 活性有一定的促进作用,无论有无接种稻瘟病菌,加

入链霉菌 JD211 的处理组 CAT、LOX 活性都高于对照组,并在未接种稻瘟病菌时处理组与对照组变化趋势相似,且出现 2 个峰值,这与前人结果相似^[12,28]。在接种稻瘟病菌后,处理组和对对照组 LOX 活性在秧龄为 32 d 时达到最大,此后对照组急剧下降,而处理组下降缓慢,并保持较高的水平。研究结果发现 LOX 活性变化趋势与相应细胞膜透性变化相似。并且在接种稻瘟菌后,添加 JD211 处理组 JD211 + *M. g* 的质膜透性在秧龄为 32 和 34 d 时明显高于 CK + *M. g* 处理组,说明链霉菌 JD211 能诱导 LOX 活性的提高,在一定时间内促进了膜质过氧化的进程,导致细胞膜透性增大,这是调控发生过敏性反应的结果。伴随着膜质过氧化,植物产生一系列产物,MDA 作为膜质过氧化产物之一,常作为细胞的膜质过氧化指标,用来表示细胞膜脂过氧化程度和植物的抗逆性。研究发现植物抗性与 MDA 的积累量呈负相关^[29]。刘先良等^[30] 采用盆栽试验接种丛枝菌根真菌抵御烟草青枯病,发现丛枝菌根真菌降低了烟草发病率,并抑制 MDA 的积累。本试验结果表明在接种或不接种稻瘟病菌的情况下,加入链霉菌 JD211 处理组的 MDA 含量低于空白对照组。因此表明,加入链霉菌 JD211 可有效调控过敏性反应,提高了水稻抗性,抑制了水稻体内 MDA 积累。

综上所述,链霉菌 JD211 能积极调控过敏性反应,以提高植物对病菌的抗性。在病菌入侵时,链霉菌 JD211 先维持低浓度的 H_2O_2 ,以此诱导相关防御基因表达,随后链霉菌 JD211 促进 H_2O_2 含量升高,诱导植物自身的过敏性反应,此时过氧化氢酶活性上升,消除一定量的 H_2O_2 ,一定程度上阻止其对植物细胞膜的伤害,同时脂氧合酶活性上升,促进膜质过氧化,细胞膜遭到破坏,膜透性增大并生成茉莉酸、愈创酸^[29] 等物质提高植物抗性。由于过敏性反应的及时发生,CAT 的保护,MDA 保持相对低的水平,链霉菌 JD211 有效调控了过敏性反应,提高了水稻对稻瘟病菌的抗性。此外,本研究中单独添加链霉菌 JD211 或稻瘟病菌都能够诱导 CAT、LOX 活性的提高,且 JD211 效果更加明显,但当 JD211 与稻瘟病菌同时作用时,对水稻 CAT、LOX 的促进效果有所减弱,这一结果与部分研究不符^[31],但是也与部分研究相似^[32-33],具体原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] FAUZIA Y, HAFEEZ. 生物肥料在农业可持续发展中的应用前景[J]. 草原与草坪, 2003, (2): 10-13.
FAUZIA Y, HAFEEZ. Application prospect of bio fertilizer in agricultural sustainable development[J]. *Grassland and Turf*, 2003, (2): 10-13.
- [2] 吴家强, 钟海英. 生物肥料在水稻上的应用效果及前景展望[J]. 中国稻米, 2012, 18(4):42-44.
WU J Q, ZHONG H Y. Application effect and prospect of biological fertilizer on rice[J]. *China Rice*, 2012, 18(4):42-44.
- [3] 陈颖潇, 何 胥, 施洁君, 等. 黄瓜霜霉病生防菌株的筛选及防病促生研究[J]. 安徽农业科学, 2015, (23): 121-124.
CHEN Y X, HE X, SHI J J, *et al.* Screening of biocontrol strain against cucumber downy mildew and the preliminary study of disease prevention and hygiene promotion[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2015, (23): 121-124.
- [4] 张 斌, 杨晓云, 刘邰洲, 等. 江苏省 3 个番茄种植地枯萎病菌种群数量监测及生防菌 B1619 的控病效果[J]. 西南农业学报, 2015, 28(6):2 521-2 526.
ZHANG B, YANG X Y, LIU Y Z, *et al.* Monitoring population dynamics of tomato fusarium wilt and control effect of bio-control bacteria B1619 at 3 tomato planting bases in Jiangsu Province[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 28(6):2 521-2 526.
- [5] 李建文, 高易宏, 吴 辉, 等. 生防菌 BS04 防治辣椒疫病机制[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10):151-153.
LI J W, GAO Y H, WU H, *et al.* The mechanism of biocontrol bacteria BS04 against pepper blight[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2015, 43(10):151-153.
- [6] BELYAEV A A, POSPELOVA N P, LELYAK A A, *et al.* The use of *Bacillus* spp. strains for biocontrol of ramularia leaf spot on strawberry and improving plant health in western siberia[J]. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2016, 7(1):1 594-1 607.
- [7] STAKMAN E C. Relation between *Puccinia graminis* and plants highly resistant to its attack[J]. *J. Res. Agric.*, 1915, 4: 193-200.
- [8] 李惠霞, 刘永刚, 张俊莲, 等. 马铃薯对晚疫病水平抗性的组织细胞学观察[J]. 西北植物学报, 2015, 35(8):1 554-1 559.
LI H X, LIU Y G, ZHANG J L, *et al.* Histo cytology of interaction between *Phytophthora infestans* and potato cultivar with horizontal resistance[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, 35(8):1 554-1 559.
- [9] 邱志娜, 杨红涛, 陈伟阳, 等. 新疆野生樱桃李过敏反应及其对南方根结线虫的抗性[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(3):46-52.
QIU Z N, YANG H T, CHEN W Y, *et al.* Hypersensitive response and evaluation on resistance to *Meloidogyne incognita* in Xinjiang wild myrobalan plum (*Prunus sogdiana*) [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(3): 46-52.
- [10] DOKE N. Generation of superoxide anion by potato tuber protoplasts during the hypersensitive response to hyphal wall components of *Phytophthora infestans* and specific inhibition of the reaction by suppressors of hypersensitivity[J]. *Physiological Plant Pathology*, 1983, 23(3): 359-367.
- [11] DOKE N. Involvement of superoxide generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to hyphal wall components[J]. *Physiological Plant Pathology*, 1983, 23(3): 345-357.
- [12] 孙万春. 硅提高水稻对稻瘟病抗性的生理与分子机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [13] 常小丽, 戴 浩, 张小玲, 等. 两个玉米自交系对生平脐蠕孢菌的抗病相关反应比较[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2016, (12): 1-9.
CHANG X L, DAI H, ZHANG X L, *et al.* Comparison of two maize inbred lines on the resistance to disease in life cycle [J]. *Journal of Southwest University* (Natural Science Edition), 2016, (12): 1-9.
- [14] 王世强. 链霉菌 JD211 对水稻的防病促生效应及机制[D]. 南昌: 江西农业大学, 2014.
- [15] 杨陶陶, 倪国荣, 邵正英, 等. 生防链霉菌 JD211 对水稻秧苗形态和生理特征的影响[J]. 南方农业学报, 2015, 46(10):1 805-1 811.
YANG T T, NI G R, SHAO Z Y, *et al.* Effects of biocontrol *Streptomyces strain* JD211 on morphological and physiological characteristics of rice seedling[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(10):1 805-1 811.
- [16] 邵正英, 裴 丽, 李 张, 等. 链霉菌 JD211 对水稻根系形态特征和抗性酶活的影响[J]. 西南农业学报, 2017, (4): 739-743.
SHAO Z Y, NIE L, LI Z, *et al.* Effect of *Streptomyces* JD211 on root morphology and resistive enzyme activity of rice[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, (4): 739-743.
- [17] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009: 212-228.
- [18] 杜亚楠, 魏赛金, 涂国全, 等. 新农抗 702 对水稻抗纹枯病诱导抗性的初步研究[J]. 江西农业大学学报(自然科学版), 2012, 34(2):270-275.
DU Y N, WEI S J, TU G Q, *et al.* A study on the mechanism of new ag-antibiotic 702 to the induced resistance of rhi-zoctonia solani[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* (Natural Sciences Edition), 2012, 34(2):270-275.
- [19] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 169-172.
- [20] 李佩芳. 黄瓜霜霉病过敏性反应的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.
- [21] 柳利龙, 梁巧兰, 沈慧敏. 4 种化学物质对南瓜抗白粉菌产生过敏性反应影响的研究[J]. 植物保护, 2014, 40(4): 26-31, 44.
LIU L L, LIANG Q L, SHEN H M. Effects of four kinds of chemicals on hypersensitive response of pumpkin resistance

- to powdery mildew fungal infection[J]. *Plant Protection*, 2014, **40**(4): 26-31, 44.
- [22] 岳子石, 宋晓斌, 王 方, 等. 3 种抗性诱导剂诱导枣树抗缩果病的研究[J]. *西北林学院学报*, 2016, **31**(1): 153-157.
YUE Z S, SONG X B, WANG F, *et al.* Induction of systemic resistance against jujube fruit shrinking disease with three resistant inducer[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2016, **31**(1): 153-157.
- [23] 帕提玛·乌木尔汗, 陈丽慧, 崔燕华, 等. 二斑叶螨危害对棉花应激防御酶活性的影响[J]. *环境昆虫学报*, 2016, **38**(6): 1 185-1 191.
PATIMA W, CHEN L H, CUI Y H, *et al.* Effects of tetranychus urticae damage on stress defense-enzymes activity of cotton[J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2016, **38**(6): 1 185-1 191.
- [24] VICK B A, ZIMMERMAN D C. 3-Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway[J]. *Lipids Structure & Function*, 1987, 9: 53-90.
- [25] 杨艳丽. 外源茉莉酸影响马铃薯对晚疫病抗性的初步研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- [26] CROFT K P C, VOISEY C R, SLUSARENKO A J. Mechanism of hypersensitive cell collapse: correlation of increased lipoxygenase activity with membrane damage in leaves of *Phaseolus vulgaris* (L) inoculated with an avirulent race of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1990, **36**(1): 49-62.
- [27] DEVLIN W S, GUSTINE D L. Involvement of the oxidative burst in phytoalexin accumulation and the hypersensitive reaction[J]. *Plant Physiology*, 1992, **100**(3): 1 189-1 195.
- [28] 葛秀春, 宋凤鸣, 郑 重. 稻瘟菌侵染后水稻幼苗活性氧的产生与抗病性的关系[J]. *植物生理学报*, 2000, (3): 227-231.
GE X C, SONG F M, ZHENG Z. The relationship between reactive oxygen species production and disease resistance of rice seedlings infected by *Magnaporthe grisea* [J]. *Plant Physiology Communications*, 2000, (3): 227-231.
- [29] 赵秀娟, 唐 鑫, 程蛟文, 等. 酶活性、丙二醛含量变化与苦瓜抗枯萎病的关系[J]. *华南农业大学学报*, 2013, **34**(3): 372-377.
ZHAO X J, TANG X, CHENG J W, *et al.* The relationship between malonaldehyde content, enzymatic changes and the resistance of bitter melon to fusarium wilt[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2013, **34**(3): 372-377.
- [30] 刘先良, 刁向银, 申 鸿, 等. 接种丛枝菌根真菌对烟草青枯病抗性的影响[J]. *烟草科技*, 2014, **49**(5): 1-9.
LIU X L, XI X Y, SHEN H, *et al.* Influences of Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi inoculation on resistance of tobacco to bacterial wilt[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2014, **49**(5): 1-9.
- [31] 梁艳琼, 唐 文, 吴伟怀, 等. 生防菌 TB2 对甘蔗叶片抗病相关酶活的诱导作用[J]. *福建农业学报*, 2016, **31**(6): 620-625.
LIANG Y Q, TANG W, WU W H, *et al.* Induction of disease-resisting enzymes in sugarcane by biocontrol bacterium, TB2[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2016, **31**(6): 620-625.
- [32] 刘永锋, 李美荣, 陈志谊, 等. YD4-6 和 NV11-4 菌株抑菌活性及诱导水稻防御性相关酶活性变化[J]. *微生物学通报*, 2010, **37**(12): 1 753-1 759.
LIU Y F, LI M R, CHEN Z Y, *et al.* The Inhibition Activities of Isolates YD4-6, NV11-4 and their induced activities to rice defense enzyme [J]. *Microbiology China*, 2010, **37**(12): 1 753-1 759.
- [33] 王 祎, 张月玲, 苏建伟, 等. 施钾提高蚜害诱导的小麦茉莉酸含量和叶片相关防御酶活性[J]. *生态学报*, 2014, (10): 2 539-2 547.
WANG Y, ZHANG Y L, SU J W, *et al.* Potassium application for increased jasmonic acid content and defense enzyme activities of wheat leaves infested by aphids[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, (10): 2 539-2 547.

(编辑: 裴阿卫)