

# 茉莉酸甲酯对水稻幼苗抗细菌性 条斑病的诱导效应

向妙莲<sup>1</sup>, 陈明<sup>1</sup>, 曾晓春<sup>1,2\*</sup>, 何永明<sup>1</sup>, 黄俊宝<sup>1</sup>

(1. 江西农业大学 作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室, 江西 南昌 330045; 2. 宜春学院, 江西 宜春 336000)

**摘要:**以4叶1心期水稻幼苗为试验材料,用茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)处理后剪叶接种浓度为 $5 \times 10^8$  cfu/mL的水稻细菌性条斑病菌液,以探索MeJA对水稻细菌性条斑病抗性的诱导效应。结果表明:MeJA诱导抗病性强弱与其浓度和处理时间有关。0.01~5.0 mmol/L MeJA处理水稻幼苗5 d后均能显著抑制细条病的发生,其中0.1、0.5、1.0 mmol/L MeJA诱导效果达43.0%以上,高于0.01和5.0 mmol/L,后者分别为19.6%和21.5%;0.5 mmol/L MeJA处理水稻幼苗1、3、5、7和10 d后接种,病情指数均明显低于对照,诱导效果依次为25.6%、31.3%、51.3%、54.6%和47.8%。

**关键词:**茉莉酸甲酯;水稻;细菌性条斑病;诱导抗性

中图分类号:S435.111.1 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2011)03-0679-05

## Effects of Methyl Jasmonate on Induced Resistance of Rice Seedlings against Bacterial Leaf Stripe

XIANG Miao-lian<sup>1</sup>, CHEN Ming<sup>1</sup>, ZENG Xiao-chun<sup>1,2\*</sup>,  
HE Yong-ming<sup>1</sup>, HUANG Jun-bao<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding (Jiangxi Agricultural University), Ministry of Education, Nanchang 330045, China; 2. Yichun University, Yichun 336000, China)

**Abstract:** Experiments were carried out to study the inducing effects of MeJA on resistance against rice bacterial leaf stripe by spraying the 4-leaf rice seedlings with MeJA and then inoculating with a population density of  $5 \times 10^8$  cfu/ml of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. The results showed that the induced resistance was associated with the concentration of MeJA and the interval between MeJA spraying and inoculation with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. The efficient concentration of MeJA to induce resistance against rice bacterial leaf stripe was in a range of 0.01~5.0 mmol/L, when inoculation was conducted 5 days after MeJA treatment. The induced effects of 0.1, 0.5 and 1.0 mmol/L MeJA were more than 43.0%, better than those of 0.01 and 5 mmol/L MeJA, which were 19.6% and 21.5% respectively. The disease indexes of MeJA treated seedlings were obviously lower than that of CK when the inoculation was conducted 1, 3, 5, 7 and 10 d after 0.5 mmol/L MeJA treatment, with the induced effects of 25.6%, 31.3%, 51.3%, 54.6%, and 47.8% respectively.

**Key words:** methyl jasmonate; rice; rice bacterial leaf stripe; induced resistance

收稿日期:2010-12-16 修回日期:2011-03-19

基金项目:国家自然科学基金(30960180)、教育部重点项目(207059)和江西省教育厅重点项目(赣教技字[2006]127号)

作者简介:向妙莲(1977—),女,讲师,博士生,主要从事植物诱导抗病及抗病生理研究, E-mail: mlxiang2010@126.com;

\* 通讯作者:曾晓春,教授,博士, E-mail: xchzeng2002@yahoo.com.cn.

水稻细菌性条斑病简称水稻细条病,系水稻条斑黄单胞杆菌(*Xanthomonas oryzae* pv *oryzicola*)引起的重要病害<sup>[1-2]</sup>,很多国家和地区已将其列为检疫对象<sup>[3]</sup>。水稻细条病在我国广东、广西、福建、湖南、江西等南方稻区普遍发生,尤其在江西水稻栽培区,发生日趋严重。长期以来,该病主要通过化学药剂和抗病品种等方法进行防治<sup>[4]</sup>,但化学防治带来农药残留、环境污染和病原菌抗药性等问题,抗病品种也因细条病菌变异快而易丧失抗性。

植物诱导抗病性因其不污染环境、抗病周期长等特点,逐渐成为植物抗病方法中研究的热点。茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)在诱导植物抗病性方面的作用已备受人们关注。研究者利用 MeJA 成功诱导了马铃薯、番茄<sup>[5]</sup>、烟草<sup>[6-7]</sup>、香蕉<sup>[8]</sup>等植物的抗病性。在水稻上,吴国昭等发现 MeJA 能有效提高广东高州普通野生稻幼苗对稻瘟病的抗性<sup>[9]</sup>。另有试验利用外源 MeJA 处理抗稻瘟病近等基因系水稻,稻瘟病显著减轻,但 MeJA 对稻瘟病菌菌丝生长和孢子萌发并无明显抑制作用,证实 MeJA 处理后稻瘟病病情指数的下降是由于 MeJA 提高了水稻幼苗本身的抗病能力,其重要防御酶活性与诱导活性密切相关<sup>[10]</sup>。

为了明确 MeJA 是否能有效诱导水稻对细菌性条斑病的抗病能力,本试验以水稻品种“中早 25”为材料,探索 MeJA 诱导水稻幼苗抗细菌性条斑病的效应,以期为该病害的防治开辟新途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 水稻幼苗的培养 采用常规浸种催芽方法,选取发芽一致的水稻品种“中早 25”种子播至塑料盆中(长×宽:24 cm×34 cm),每行 4 兜,每兜 5 颗,共 4 列(行间距:5 cm×7 cm),于 25~30℃、光周期 LD12:12(12 h 光:12 h 暗)的生长室中培养,至 4 叶 1 心期待用。

1.1.2 细条病菌的培养 细条病菌分离自发病田块的新鲜病叶,冷冻保存(-85℃),试验前于 NA 培养基(配方:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 5.0 g,葡萄糖 20.0 g,琼脂 17.0 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0)上活化,28℃培养 48 h,待用。

1.1.3 茉莉酸甲酯的配制 茉莉酸甲酯(Methyl Jasmonate, MeJA)购自美国 sigma 公司,先以少量二甲基亚砜(DMSO)溶解,再用含体积分数为 0.2% Tween 的蒸馏水配成 10 mmol/L 的溶液备用。

### 1.2 方法

1.2.1 MeJA 对细条病菌的活性测定 采用抑菌圈法:取 100 μL 浓度为  $5 \times 10^8$  cfu/mL 的菌液涂板,将沾有 10 mmol/L 无菌 MeJA 灭菌滤纸片置培养皿中央,28℃下培养,7 d 后观察抑菌圈大小。每处理 3 次重复,对照沾无菌蒸馏水。

1.2.2 MeJA 处理水稻幼苗 选取长势一致的 4 叶 1 心期水稻幼苗,分别采用喷雾和淋根的方法经 MeJA 处理后接种,比较发病情况。喷雾法:喷 0.5 mmol/L 的 MeJA 至叶面湿润;淋根法:每盆浇灌 0.5 mmol/L 的 MeJA 至浸没根部;对照 CK1 喷雾体积分数为 0.2% Tween 的蒸馏水,对照 CK2 用体积分数为 0.2% Tween 的蒸馏水淋根,比较不同施用方法对诱导抗病性的影响。

用 0.01、0.1、0.5、1.0、5.0 mmol/L 的 MeJA 分别喷至 4 叶 1 心期的水稻幼苗上,使植株全部叶片湿润,同时设喷含体积分数为 0.2% Tween 的蒸馏水为对照(CK),处理 5 d 后接种,探索 MeJA 诱导水稻幼苗抗细条病的适宜浓度。

用 0.5 mmol/L MeJA 溶液喷雾处理稻苗,对照喷雾含体积分数为 0.2% Tween 的蒸馏水。处理后隔 1、3、5、7、10、15 d 接种,测定 MeJA 诱导水稻幼苗抗细条病的抗性持久期。

1.2.3 水稻幼苗叶尖接种细条病菌 用无菌蒸馏水洗下培养好的细条病菌菌体,于 12 000 × g 离心 10 min,去除上清液,配制浓度为  $5 \times 10^8$  cfu/mL (Colony forming unit, CFU/mL) 的菌液。诱导处理后用灭菌剪刀蘸取菌液剪去幼苗叶尖 1.0 cm,每株接种 2~3 片叶。以上试验每组 3 个重复,每重复 1 盆,每盆 80 株,置于 25~30℃,相对湿度 90% 以上的发病室观察,15 d 后记录发病情况。

1.2.4 病情分级标准 接种后第 15 d 调查病害情况,每处理测量被剪水稻叶片的病斑长度和叶片全长,按表 1 要求分级标准记载病情计算病情指数<sup>[11]</sup>,统计 MeJA 处理对水稻抗细菌性条斑病的效果,具体计算方法如下公式:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{该病级值})}{\text{调查总叶数} \times \text{最高级值}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{诱导效果}(\%) = \frac{\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100 \quad (2)$$

1.2.5 数据统计与分析 采用 Excel 和 SPSS 统计软件进行数据分析处理。用单因素方差分析统计各处理平均值的差异,并用 Fisher 最小显著差异法(Fisher's test for least significant difference, LSD) 比较各处理间的差异显著性( $\alpha=0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 MeJA 对细条病菌的活性测定

采用抑菌圈法:细条病菌涂板后,7 d 后观察比较培养皿中央沾有 10 mmol/L MeJA 和无菌蒸馏水滤纸片抑菌圈大小。图 1 表明,处理和对照均无明显抑菌圈,说明在此浓度下的 MeJA 对细条病菌并没有直接抑制作用。

### 2.2 MeJA 施用方法对水稻幼苗抗细条病的影响

水稻幼苗叶片、根部经 0.5 mmol/L

表 1 水稻细菌性条斑病剪叶接种发病等级标准

Tab.1 Description of the scale for rating disease degree of rice bacterial leafstripe inoculated by scissoring leaves

级别 Scale	代表值 Value	发病程度 Disease degree
1	0	健康,剪口处无病斑
2	1	剪口处有很小病斑,小于叶面积的 1/4 左右
3	2	病斑占剩余叶面积的 1/4 左右
4	3	病斑占剩余叶面积的 1/2 左右
5	4	病斑占剩余叶面积的 3/4 左右
6	5	全叶发病,有时叶鞘也枯黄

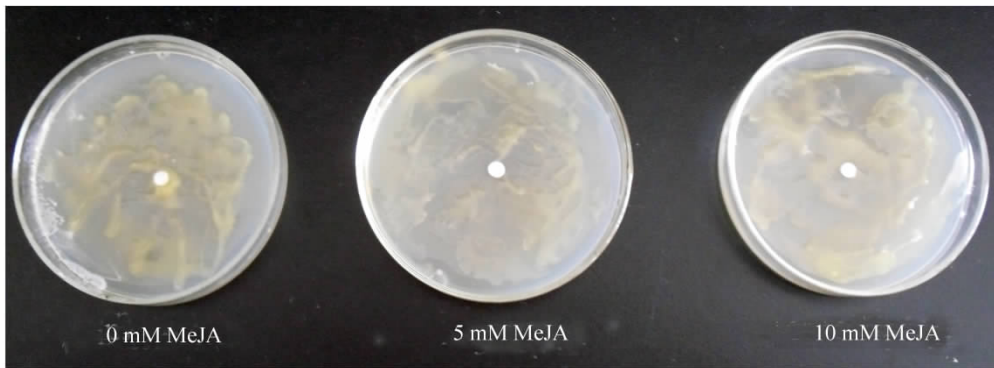


图 1 MeJA 对水稻细菌性条斑病菌抑菌效果

Fig.1 Effects of MeJA against *Xanthomonas oryzae* pv *oryzicola*

的 MeJA 喷雾和淋根处理后接种细条病菌,15 d 后发病情况见图 2。从图 2 可知,水稻幼苗经 MeJA 喷雾和淋根后,病情指数分别为 23.6 和 25.2,两对照依次为 40.1 和 38.9,处理和对照之间差异显著( $\alpha=0.05$ ),说明 MeJA 两种处理方法均能有效诱导水稻幼苗抗细条病。

### 2.3 MeJA 浓度对水稻幼苗抗细条病的影响

水稻幼苗经 0.1~5 mmol/L MeJA 处理后,病情指数和诱导效果见表 2 和图 3。与对照相比,5 种浓度 MeJA 均

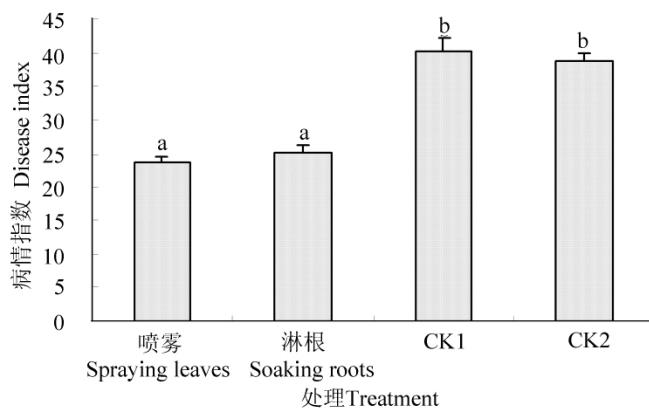


图 2 MeJA 喷雾和淋根后对水稻幼苗抗细条病的诱导效果

Fig.2 Induced resistance in rice seedlings to bacterial leaf stripe by spraying leaves and soaking roots with MeJA

能有效诱导水稻幼苗抗细条病。其中 0.1、0.5、1.0 mmol/L 3 种浓度的 MeJA 诱导效果较好,均达 43.0% 以上,0.01 和 5.0 mmol/L 次之,诱导效果分别为 19.6 和 21.5%。

#### 2.4 MeJA 处理后不同时间接种与抗病性的关系

0.5 mmol/L MeJA 诱导水稻幼苗 1~15 d 后接种细条病菌,以探索 MeJA 诱导抗病的持续性。从表 3 和图 4 可知,与对照相比,MeJA 处理 1~15 d 的病情指数明显降低,其中处理 5 d、7 d 和 10 d 较好,诱导效果分别为 51.3%、54.6% 和 47.8%,1、3、15 d 后诱导效果依次为 25.6% 和 31.7%。

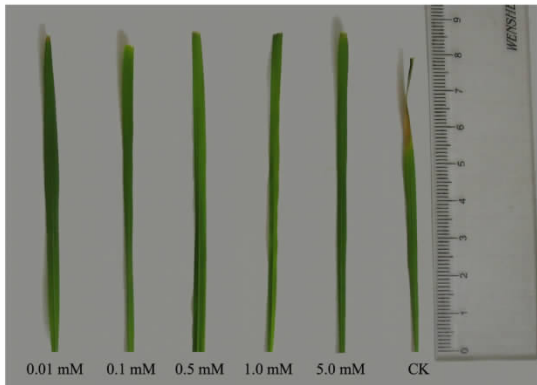


图3 MeJA 处理浓度对水稻幼苗抗细条病的影响

Fig. 3 Effects of MeJA treatment concentration on rice seedling against bacterial leaf stripe

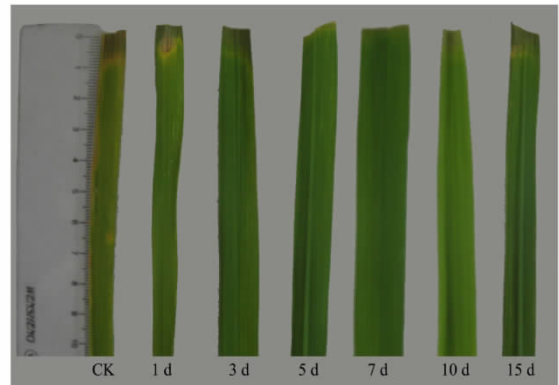


图4 MeJA 处理时间对水稻幼苗抗细条病的影响

Fig. 4 Effects of MeJA treatment time on rice seedling against bacterial leaf stripe

### 3 小结与讨论

抑菌活性试验表明 0.01~10.0 mmol/L MeJA 对水稻细条病菌并无强烈抑制作用,但 0.5 mmol/L 的 MeJA 淋根和喷雾水稻幼苗后却能明显降低细条病的发生,说明水稻幼苗抗病性的产生,是因为 MeJA 诱导了水稻幼苗本身潜在的防御系统使之产生抗性而非其毒性作用,这与用外源茉莉酸类诱导葡萄柚抗采后青霉病以及水稻抗稻瘟病等研究结果相符<sup>[12-13]</sup>。

水稻幼苗用 0.01~5.0 mmol/L MeJA 喷雾或淋根后均能显著提高对细条病的抗病性,其中以 0.1 mmol/L MeJA 最好,诱导效果达 48.7%;0.5 mmol/L MeJA 喷雾 1~15 d 后接种细条病

表2 MeJA 处理浓度对水稻幼苗抗细条病的影响

Tab. 2 Effects of MeJA treatment concentration on rice seedling against bacterial leaf stripe

MeJA 浓度 Concentration( mmol/L)	病情指数 Disease index	诱导效果/% Induced effect
0.01	25.6 ± 1.7b	19.6 ± 0.9a
0.1	16.4 ± 1.2a	48.7 ± 1.9c
0.5	17.6 ± 0.3a	45.6 ± 0.9bc
1.0	18.5 ± 0.2a	43.1 ± 0.5b
5.0	25.1 ± 0.3b	21.5 ± 1.0a
CK	31.9 ± 1.1c	—

同列英文字母表示在 0.05 水平上的差异显著性,标有相同字母的平均值间无显著差异。

Different letters within each row indicate significant differences at 0.05 level, the data followed by the same letter have not significant difference.

表3 MeJA 处理时间对水稻幼苗抗细条病的影响

Tab. 3 Effects of MeJA treatment time on rice seedling against bacterial leaf stripe

MeJA 处理时间/d Time of treatment	病情指数 Disease index	诱导效果/% Induced effects
1	20.4 ± 1.5b	25.6 ± 0.4a
3	18.8 ± 0.9b	31.7 ± 0.5b
5	13.3 ± 1.2a	51.2 ± 0.7d
7	12.4 ± 0.4a	54.6 ± 0.4e
10	14.3 ± 0.7a	47.8 ± 0.6c
15	18.9 ± 1.1b	31.2 ± 0.8b
CK	27.4 ± 0.5c	—

同列英文字母表示在 0.05 水平上的差异显著性,标有相同字母的平均值间无显著差异。

Different letters within each row indicate significant differences at 0.05 level, the data followed by the same letter have not significant difference.

菌病情指数逐渐下降,7 d后达最低点,随之上升,说明 MeJA 诱导抗病效果有一定的浓度要求和时间持续性。Gundlach 等<sup>[14-15]</sup>在试验中发现,当植物体内 JA 积累达正常水平的 50 倍以上时,即可启动表达体内抗病防卫反应基因特定的防卫蛋白并活化,产生强烈的非特异性防御反应,从而使植物表现出强烈的抗病性<sup>[16]</sup>。本试验认为水稻幼苗抗病性从低到高再下降的趋势,原因可能是一定浓度的 MeJA 诱导一定时间后激发相关防卫基因表达水平达到峰值,抗病效果最佳,随后植株体内 MeJA 逐渐被消耗,诱导的防卫基因表达下降,抗病性降低<sup>[13,17]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 范怀忠, 伍尚忠. 广东省珠江三角洲水稻细菌性条斑病(白叶枯)研究简报[J]. 植病知识, 1957, 1(1): 6-8.
- [2] 林兴祖, 冯健敏, 梁正, 等. 南繁水稻细菌性条斑病发生特点及综合防控对策[J]. 杂交水稻, 2007, 22(3): 41-42.
- [3] 张华, 姜英华, 胡白石, 等. 利用 PCR 技术专化性检测水稻细菌性条斑病菌[J]. 植物病理学报, 2008, 38(1): 1-5.
- [4] 韩庆典, 陈志伟, 邓云, 等. 水稻细菌性条斑病抗性 QTL qBlst5a 的精细定位[J]. 作物学报, 2008, 34(4): 587-590.
- [5] Kolomiets M V, Chen H, Gladon R J, et al. Aleafli - poxygenase of potato induced specifically by pathogen infection [J]. Plant Physiology, 2000, 124: 1121-1130.
- [6] 贺立红, 韩锡君, 龙肖媚, 等. 茉莉酸甲酯对烟草幼苗可溶性物质含量的影响及与诱导抗病的关系[J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2001(4): 88-94.
- [7] 何红卫, 廖令洁, 肖文娟, 等. 茉莉酸甲酯对烟草幼苗抗病毒的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(3): 241-246.
- [8] 麻宝成, 朱世江. 苯并噻重氮和茉莉酸甲酯对采后香蕉果实抗病性及相关酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(6): 1220-1227.
- [9] 吴国昭, 谢丽君, 宋圆圆, 等. 外源信号物质诱导广东高州普通野生稻抗稻瘟病的生理生化机理[J]. 西北农业学报, 2009, 18(3): 254-258.
- [10] 张智慧, 聂燕芳, 何磊, 等. 外源茉莉酸甲酯诱导水稻抗瘟性相关防御酶和内源水杨酸的变化[J]. 植物病理学报, 2010, 40(4): 395-403.
- [11] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 8-13.
- [12] Droby S, Porat R, Cohen L, et al. Suppressing green mold decay in grapefruit with postharvest jasmonate application [J]. J Am Soc Hort Sci, 1999, 124(2): 184-188.
- [13] 邹志燕, 王振中. 茉莉酸诱导水稻幼苗对稻瘟病抗性作用研究[J]. 植物病理学报, 2006, 36(5): 432-438.
- [14] Gundlach H, Muller M J, Chutchen T M. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor - induced plant cell cultures [J]. Plant Biology, 1992, 89: 2389-2393.
- [15] McConn M, Creelman R A, Bell E, et al. Jasmonate is essential for insect defense in Arabidopsis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 5473-5477.
- [16] 陈英, 黄敏仁, 诸葛强, 等. 植物抗病信号传导途径及其相互作用[J]. 南京林业大学学报, 2002, 26(3): 85-90.
- [17] 牛吉山, 倪永静, 刘靖, 等. 茉莉酸甲酯对小麦白粉病抗性的诱导作用[J]. 西北农业学报, 2009, 18(3): 254-258.