

李文韬, 贾燕, 罗秀梅, 等. 四川水稻主栽品种抗胡麻叶斑病评价及抗病生理生化机制研究[J]. 华中农业大学学报, 2025, 44(2): 190-199.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.02.019

四川水稻主栽品种抗胡麻叶斑病评价 及抗病生理生化机制研究

李文韬¹, 贾燕¹, 罗秀梅^{1,2}, 彭安春¹, 吴春先³, 王学贵¹

1. 四川农业大学农学院, 成都 611130; 2. 四川省荣县种植业服务中心, 自贡 643100;
3. 四川省农业农村厅植物保护站, 成都 610041

摘要 为明确目前四川水稻主栽品种对胡麻叶斑病的抗病性及生理生化抗性机制, 采用盆栽抗病性鉴定方法评价了20种四川水稻主栽水稻品种和5种对照品种对胡麻叶斑病的抗性水平, 测定了不同抗性水平品种叶片的5种防御酶活性, 利用气相色谱/质谱(GC/MS)分析了抗病和感病品种中水稻幼苗叶片的次生代谢物质。结果显示, 渝香糯1号和浙梗优4号为高抗品种, 秀水134、浙禾622、浙禾香2号、浙梗优77和浙梗优1578等5个品种为中抗品种, 其余品种均为感病品种; 抗病水稻品种和感病水稻品种中超氧化物歧化酶(SOD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等5种酶活性均先升高后降低, 抗病品种的酶活性显著高于感病品种; 总共得到18种次生代谢物, 其中核糖醇、D-葡萄糖、苹果酸、2,3,4-三羟基丁酸等4种代谢物在水稻抗病品种和感病品种以及同种品种接菌与不接菌处理的含量均差异显著。因此, 水稻抗病品种可通过提升5种防御酶的活性与4种次生代谢物的含量来抵御胡麻叶斑病的侵袭。

关键词 水稻; 胡麻叶斑病; 抗病性; 次生物质; 气相色谱/质谱(GC/MS)

中图分类号 S511; Q945.8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)02-0190-10

水稻胡麻叶斑病(rice brown spot)是由稻平脐蠕孢菌[*Bipolaris oryzae* (Breda) Shoem]引起的一种水稻真菌性病害, 容易暴发成灾, 使植株衰败, 形成秕谷, 导致水稻减产10%~50%, 发病严重时可致整株枯死, 甚至绝收^[1]。目前对该病的防治多借鉴防控稻瘟病的化学杀菌剂进行防控^[2], 防效不是很理想, 而发掘抗胡麻叶斑病品种则是较为有效的方法。Shamshad等^[3]对45个水稻品种进行了鉴定, 发现高抗和中抗品种分别占13%和35%, 而中感和高感品种占比较大。冯思琪等^[4]发现黑龙江省大部分品种为高感。Dariush等^[5]评价了95个水稻品种对胡麻叶斑病的抗性, 发现仅有23.16%的品种具有相对抗病性。黄泽楷^[6]在广东省对143份水稻品种进行了鉴定, 发现大部分品种对胡麻叶斑病感病, 仅有13.3%的品种抗病。以上研究表明, 在生产上水稻品种大部分抗性不强, 水稻胡麻叶斑抗性品种占比较低。

水稻的抗病性主要依赖于防御酶活性的提升,

如吴梦露等^[8]研究显示, 水稻在应对病害胁迫时, 苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)等6种酶活性明显上升; 赵志祥等^[9]使用稻瘟病菌菌株193(ZB25)接种多种水稻材料, 发现抗病水稻品种的PAL、PPO、POD等防御酶活性显著高于感病品种, 并且抗病品种的酶活性波动较小, 而感病品种的酶活性波动较大, 甚至在240 h后降至接种前水平以下。左示敏等^[10]使用水稻纹枯病菌产生的毒素处理水稻植株, 并测定了POD、PPO、PAL和超氧化物歧化酶(SOD)的酶活性, 结果显示, 毒素处理能够诱导这些防御酶活性升高, 升高的强度与水稻品种的抗性相关, 且抗病品种的酶活性明显高于感病品种。Ashfaq等^[11]测定了不同抗性水平的水稻过氧化氢酶(CAT)、PAL、PPO、POD和 β -1,3-葡聚糖酶的活性, 结果显示, 水稻抗病表型(PARC-7)中, 这些酶有较高积累。以上研究表明, 水稻以一定浓度的病菌或毒素处理后, 可诱导CAT、PAL、PPO、POD、SOD等防御酶活性升高, 且抗病品种中防御酶

收稿日期: 2024-08-14

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0200300)

李文韬, E-mail: liwentao@stu.sicau.edu.cn

通信作者: 王学贵, E-mail: wangxuegui@sicau.edu.cn

活明显高于感病品种。

大量研究表明,水稻抗病性与水稻的次生物质有着重要关系,如杨朗等^[12]通过高效液相色谱(HPLC)分析了对白叶枯病具有不同抗性水平的水稻品种中的次生物质,结果表明,水稻品种的抗性水平与葡萄糖甙羟基脲酸等关键物质色谱峰的面积值之间存在显著的相关性,揭示了水稻中起抗病作用的抗原次生物质是多种化合物的组合,而且这些化合物对水稻抗病性的贡献各不相同。潘争艳等^[13]利用气相色谱-质谱(GC/Moderate suseptible)非靶向代谢组学方法研究了稻瘟病感病品种的代谢产物变化,发现感病品种可能通过调节脱氢抗坏血酸等特定代谢产物的相对含量来调控茎节对稻瘟病的防御反应,进一步证实了次生代谢产物在植物抗病反应中的重要角色。

四川是水稻种植大省,常年种植面积约190万 hm^2 ,近年来随着气候的变化,水稻胡麻叶斑病发生越来越严重。本研究拟针对四川地区的水稻主栽品种开展盆栽接种抗病性评价,并进一步对代表性品种开展生理生化和抗性相关次生代谢物质鉴定,以期对四川水稻抗胡麻叶斑病品种的选育与合理栽培布局防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1)供试水稻。试验共采用25个水稻品种,1~11号为籼型三系杂交水稻品种香优2115、泰优068、川康优丝苗、兆优6377、泰优808、川种优3877、野香优959、泰优1750、清香优168、川优7021和川优6203;12~18号为籼型两系杂交水稻品种C两优华占、荃两优1606、荃两优2118、香两优16、隆两优7810、晶两优534和晶两优1377;19~21号为粳型常规水稻品种秀水134、浙禾622和浙禾香2号;22为粳型三系杂交水稻品种浙粳优77;23~24号为籼粳交三系杂交水稻品种浙粳优1578和浙粳优4号;25为籼型常规糯稻渝香糯1号。其中1~19和25为四川水稻主栽水稻品种,20~24为浙江主栽对照品种。

2)供试菌株。供试菌株稻平脐蠕孢菌分离自荣县试验田水稻胡麻叶斑病病株,经回接试验验证、形态学鉴定和分子鉴定得到,置于4℃冰箱备用。

1.2 试验方法

1)水稻幼苗培养与接种处理。每个品种称取

水稻种子15g,在实验室进行盆栽育苗。将种子淘洗干净之后,先用75%乙醇浸泡表面消毒,待催芽露白后进行盆栽,每个品种种植4盆,并做好标记,置于26℃温室培养。待水稻幼苗培养到3叶期时,人工接种水稻胡麻叶斑病菌。接种前,先将菌种接种到PDA培养基上活化3d再接种到PDB培养基中,在28℃、120r/min黑暗培养2d。再用搅拌机将菌株形成的球状物和培养液打成菌悬液,用喷雾器将菌悬液均匀接种到水稻3叶期叶片上。每个品种设置3盆处理,每盆喷菌液5mL,使菌悬液布满水稻叶片;同时设置无菌水为空白对照。接种后,将水稻苗放入大箱子中,用薄膜覆盖保湿24h,28℃再培养3d^[14]。

2)水稻秧苗的发病情况观察。接种3d后出现典型症状时,每盆随机选取1叶至3叶阶段、部位基本相同的水稻叶片20片进行调查,记录叶片发病级别,计算病情指数和均值。病情分级采用0、1、3、5、7、9级表示,严重度分级标准见表1,再通过计算病情指数来评估水稻的抗病性,抗性评价分级标准参考文献^[15]并稍作修改,病情指数0~29为高抗,30~39为中抗,40~69为中感,70~100为高感。

表1 水稻胡麻叶斑病严重度分级标准^[15]

Table 1 Severity classification standard of rice brown spot

级别 Disease grade	病情 Disease state
0级	叶片没有病斑
1级	病斑占叶片面积的1%~3%(1~2个病斑)
3级	病斑较多,病斑面积占整个叶面积的11%~25%
5级	病斑面积占整个叶面积的46%~60%
7级	病斑面积占整个叶面积的71%~80%
9级	病斑面积占整个叶面积的>90%

3)水稻抗性相关的酶活性测定。使用总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒、苯丙氨酸解氨酶(PAL)试剂盒、多酚氧化酶(PPO)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒和过氧化物酶(POD)试剂盒(南京建成生物科技有限公司,南京),按照抗病性评价接种病菌的试验方法,在水稻3叶期,均匀喷施水稻胡麻叶斑病菌菌悬液到抗病品种浙粳优4号和感病品种泰优1750水稻苗上,每盆喷菌悬液5mL,使菌悬液布满水稻叶片。在接菌24、48、72、96、120h后,对2个品种的胡麻叶斑病叶和正常叶片各取20片,每处理3次重复。采用分光光度计,参照伏荣桃等^[16]的方法测定SOD和PAL酶活性;参照Gao等^[17]的方法

并稍加修改,测定PPO和POD酶活性;参照张檀^[18]的方法测定CAT酶活性。

4)水稻抗性相关的次生代谢物质GC/MS分析。基于水稻胡麻叶斑病抗病性评价结果,从高抗、高感品种中各选择1种最具代表性水稻品种进行试验。在3叶期接菌4 d后,对这2个品种的胡麻叶斑病叶和正常叶片进行取样,参照潘争艳等^[13]茎节代谢产物定量、定性分析方法,采用安捷伦气相色谱-质谱联用仪(7890B-5977B)进行次生代谢物质分析。取60 mg的水稻样品粉末,加入40 μ L内标(*L*-2-氯-苯丙氨酸,0.3 mg/mL,甲醇配置)和360 μ L冷甲醇(预冷至 -20°C),在超声波清洗机中冰水浴超声提取30 min,加入200 μ L的三氯甲烷(氯仿),漩涡机中涡旋2 min,再加入400 μ L的水,漩涡机中涡旋2 min,在超声波清洗机中冰水浴超声提取30 min; -20°C 静置30 min后用高速冷冻离心机12 000 r/min、 7°C 低温离心10 min,取300 μ L的上清液装入玻璃衍生瓶中,用冷冻干燥机挥干样本,向玻璃衍生小瓶中加入15 mg/mL的甲氧胺盐酸盐吡啶溶液80 μ L,涡旋振荡2 min后,于 37°C 振荡培养箱中放置90 min进行脎化反应。将样本取出后再加入80 μ L BSTFA(含1%TMCS)衍生试剂、20 μ L正己烷和10 μ L 23种正构烷烃(C8~C40)混标500 $\mu\text{g}/\text{mL}$,涡旋振荡2 min后,于 70°C 反应60 min。取出样本后,在室温放置30 min,最后用15 mg/mL的甲氧胺盐酸盐吡啶溶液稀释到1 mL,用安捷伦气相色谱质谱联用仪(7890B+5977B)测定水稻叶片中的次生代谢物质。根据各正构烷烃的保留时间与线性升温公式计算样品中各组分的保留指数^[19]。

1.3 数据处理及分析

将GC/MS谱图用安捷伦MSD chemstation软

件分析,与NIST.L数据库匹配相似度得出定性报告,所得数据用SPSS Statistics17.0软件进行整理统计和方差分析,采用Sigmaplot软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同水稻品种抗性等级评价

2023年在四川农业大学实验室,对3叶期水稻苗人工接种水稻胡麻叶斑病菌开展水稻盆栽抗病性鉴定,调查25个水稻品种的发病情况。由表2可见,对水稻胡麻叶斑病表现为高抗的品种有2个,分别为浙粳优4号和渝香糯1号,病情指数均值分别为20.74和21.11,占试验水稻品种的8%;对水稻胡麻叶斑病表现为中抗的品种有5个,分别为秀水134、浙禾622、浙禾香2号、浙粳优77和浙粳优1578,病情指数均值分别为37.04、34.44、37.41、32.41和38.89,占试验水稻品种的20%;对水稻胡麻叶斑病表现为中感的品种有11个,分别为宜香优2115、泰优068、川康优丝苗、兆优6377、泰优808、川优6203、C两优华占、荃两优1606、荃两优2118、香两优16和隆两优7810,病情指数均值分别为59.26、67.04、53.33、65.55、66.67、65.56、62.22、62.23、60.74、60.74和57.41,占试验水稻品种的44%;对水稻胡麻叶斑病表现为高感的品种有7个,分别为川种优3877、野香优959、泰优1750、清香优168、川优7021、晶两优534和晶两优1377,病情指数均值分别为75.55、83.71、89.63、84.81、75.19、80.37和72.59,占试验水稻品种的28%。由此可见,四川水稻主栽水稻品种整体处于中等抗性水平,但个体差异明显。其中,籼型三系杂交水稻和籼型两系杂交水稻都表现出感病;粳型常规水稻、粳型三系杂交水稻、籼粳交三系杂交水稻和籼型常规糯稻都表现出不同水平的抗性。

表2 25个水稻品种对胡麻叶斑病的盆栽抗性评价

Table 2 Evaluation of potting resistance of 25 rice varieties to rice brown spot

编号 Number	品种名称 Variety name	品种类型 Species type	病情指数均值 Mean disease index	抗性级别 Resistance
1	宜香优2115 Yixiangyou 2115	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	59.26 \pm 3.76 de	中感 Moderate susceptible
2	泰优068 Taiyou 068	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	67.04 \pm 3.53 cde	中感 Moderate susceptible
3	川康优丝苗 Chuankangyousimiao	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	53.33 \pm 1.11 e	中感 Moderate susceptible
4	兆优6377 Zhaoyou 6377	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	65.55 \pm 1.70cde	中感 Moderate susceptible

续表2 Continued Table 2

编号 Number	品种名称 Variety name	品种类型 Species type	病情指数均值 Mean disease index	抗性级别 Resistance
5	泰优808 Taiyou 808	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	66.67±2.31cde	中感 Moderate susceptible
6	川种优3877 Chuanzhongyou 3877	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	75.55±2.22bc	高感 Highly susceptible
7	野香优959 Yexiangyou 959	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	83.71±1.85ab	高感 Highly susceptible
8	泰优1750 Taiyou 17504	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	89.63±0.74a	高感 Highly susceptible
9	清香优168 Qingxiangyou 168	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	84.81±0.98ab	高感 Highly susceptible
10	川优7021 Chuanyou 7021	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	75.19±2.67bc	高感 Highly susceptible
11	川优6203 Chuanyou 6203	籼型三系杂交水稻 Indica three-line hybrid rice	65.56±3.90cde	中感 Moderate susceptible
12	C两优华占 Cliangyouhuazhan	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	62.22±5.77ede	中感 Moderate susceptible
13	荃两优1606 Quanliangyou 1606	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	62.23±3.33cde	中感 Moderate susceptible
14	荃两优2118 Quanliangyou 2118	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	60.74±5.22de	中感 Moderate susceptible
15	香两优16 Xiangliangyou 16	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	60.74±0.74de	中感 Moderate susceptible
16	隆两优7810 Longliangyou 7810	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	57.41±3.23e	中感 Moderate susceptible
17	晶两优534 Jingliangyou 534	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	80.37±3.54ab	高感 Highly susceptible
18	晶两优1377 Jingliangyou 1377	籼型两系杂交水稻 Indica two-line hybrid rice	2.59±3.03bcd	高感 Highly susceptible
19	秀水134 Xiushui 134	粳型常规水稻 Japonica conventional rice	37.04±0.37f	中抗 Moderate resistant
20	浙禾622 Zhehe 622	粳型常规水稻 Japonica conventional rice	34.44±1.93f	中抗 Moderate resistant
21	浙禾香2号 Zhexiang No.2	粳型常规水稻 Japonica conventional rice	37.41±0.37f	中抗 Moderate resistant
22	浙梗优77 Zheyinggeng 77	粳型三系杂交水稻 Japonica three-line hybrid rice	32.41±0.49fg	中抗 Moderate resistant
23	浙梗优1578 Zhejinggeng 1578	籼粳交三系杂交水稻 Indica-Japonica three-line hybrid rice	38.89±1.92f	中抗 Moderate resistant
24	浙梗优4号 Zhejingyou No.4	籼粳交三系杂交水稻 Indica-Japonica three-line hybrid rice	20.74±2.67g	高抗 Highly resistant
25	渝香糯1号 Yuxuangnuo No.1	籼型常规糯稻 Indica conventional glutinous rice	21.11±3.16g	高抗 Highly resistant

注:表中不同小写字母表示不同水稻品种的病情指数差异显著($P<0.05$)。Note: Different lower letters in the table indicate that the disease index of different rice varieties is significantly different ($P<0.05$).

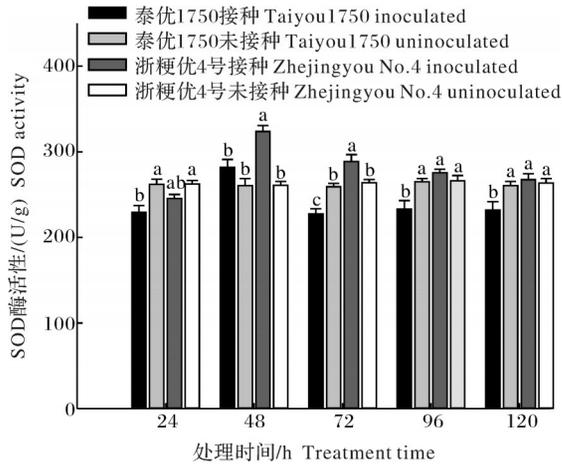
2.2 水稻防御酶活性

酶活性。

在不同水稻品种接种胡麻叶斑病菌后24、48、72、96、120 h, 测定了SOD、PAL、PPO、CAT、POD

1)SOD酶活性。由图1可见,接种水稻胡麻叶斑病菌后,2个品种接菌处理的水稻叶片中SOD酶

活性均出现先升高后降低的趋势,在整个过程中,抗病品种(浙梗优4号)的SOD酶活性均显著高于感病品种(泰优1750)。接菌48 h后,2个品种接菌处理的水稻叶片中SOD酶活性均达到了最高峰,且抗病品种的峰值比感病品种的峰值高14.78%,抗病品种接菌后的酶活性比同一品种未接菌的处理高24.03%,感病品种的酶活性比同一品种未接菌的对照高8.21%;接菌72 h后,抗病品种的SOD酶活性缓慢降低,感病品种的SOD酶活性迅速降至最低点;接菌120 h后,抗病品种的SOD酶活性也降到了最低点。



图中不同小写字母表示在相同取样时间,酶活性差异显著($P < 0.05$)。下同。Different lower letters in the figure indicate that the activity of the enzyme of different rice varieties is significantly different ($P < 0.05$).

图1 不同水稻品种超氧化物歧化酶活性变化

Fig. 1 The SOD activity changes of different rice varieties

2) PAL 酶活性。由图2可见,接种水稻胡麻叶斑病菌后,抗病品种(浙梗优4号)做接菌处理的水稻叶片PAL酶活性出现先升高后降低再升高再降低的趋势,感病品种(泰优1750)出现先升高后降低的趋势,在整个过程中抗病品种的PAL酶活性均显著高于感病品种。接菌24 h后,抗病品种PAL酶活性迅速升高到了最大峰值,其酶活性比感病品种高37.75%,其酶活性比同一品种未接菌的对照高40.12%;接菌48 h后,抗病品种的PAL酶活性稍有降低,感病品种的PAL酶活性上升到了最高峰,抗病品种酶活性仍然比感病品种高15.47%,其酶活性比同一品种未接菌的对照高26.58%;接菌72 h后,抗病品种的PAL酶活性上升到第2峰值,抗病品种PAL酶活性比感病品种高24.10%,比同一品种未接菌的PAL酶活性对照高29.94%;接菌120 h后,2个品种的PAL酶活性均降到最低点。

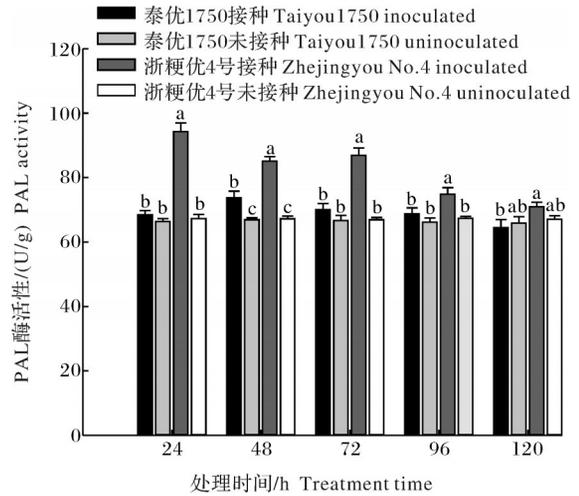


图2 不同水稻品种苯丙氨酸解氨酶活性变化

Fig. 2 The PAL activity changes of different rice varieties

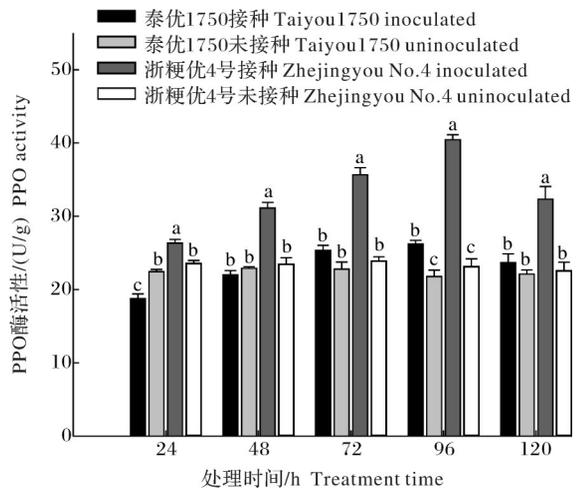


图3 不同水稻品种多酚氧化酶活性变化

Fig. 3 The PPO activity changes of different rice varieties

3) PPO 酶活性。由图3可见,接种水稻胡麻叶斑病菌后,2个品种做接菌处理的水稻叶片中PPO酶活性出现先升高后降低的趋势,在整个过程中抗病品种(浙梗优4号)的PPO酶活性均显著高于感病品种(泰优1750)。接种水稻胡麻叶斑病菌24 h起,抗病品种PPO酶活性迅速升高,感病品种PPO酶活性缓慢升高;接菌96 h后,2个品种的PPO酶活性均上升到了最高峰,抗病品种酶活性比感病品种高54.23%,抗病品种酶活性比同一品种未接菌的对照高74.99%;感病品种PPO酶活性比同一品种未接菌的对照高20.39%;接菌120 h后,2个品种的PPO酶活性均降低到最低点。

4) CAT 酶活性。由图4可见,接种水稻胡麻叶斑病菌后,2个品种做接菌处理的水稻叶片中CAT酶活性出现先升高后降低的趋势,在整个过程中抗

病品种(浙梗优4号)的CAT酶活性均显著高于感病品种(泰优1750)。接菌48 h起,2个品种CAT酶活性均迅速升高,感病品种CAT酶活性达到最大值,抗病品种酶活性比感病品种高21.09%,感病品种酶活性比同一品种未接菌的对照高20.13%;接菌72 h后,抗病品种CAT酶活性达到最大值,抗病品种酶活性比感病品种高49.01%,抗病品种酶活性比同一品种未接菌的对照高56.00%;接菌120 h后,2个品种的CAT酶活性均降低到最低点。

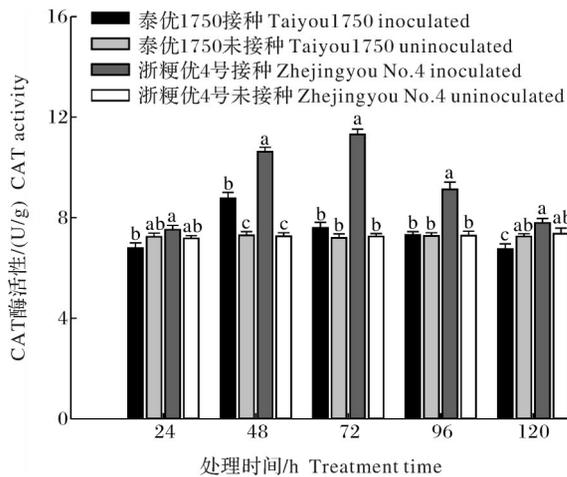


图4 不同水稻品种过氧化氢酶活性变化

Fig.4 The CAT activity changes of different rice varieties

5)POD酶活性。由图5可见,接种水稻胡麻叶斑病菌后,抗病品种(浙梗优4号)做接菌处理的水稻叶片POD酶活性出现先升高后降低的趋势,感病品种(泰优1750)做接菌处理的水稻叶片中POD酶活性出现先升高后降低再升高再降低的趋势,在整个过程中抗病品种的POD酶活性均显著高于感病品种。接菌48 h后,2个品种POD酶活性均达到最大值,抗病品种的峰值比感病品种的峰值高13.49%,抗病品种的酶活性比同一品种未接菌的对照高21.35%,感病品种的酶活性比同一品种未接菌的对照高7.95%;接菌72 h起,抗病品种POD酶活性缓慢降低,感病品种迅速降低到最低点;接菌96 h后,感病品种POD酶活性均达到第2个小高峰,抗病品种的酶活性比感病品种的酶活性高6.68%,感病品种的酶活性比同一品种未接菌的对照高1.72%;接菌120 h后,2个品种的POD酶活性都降到最低点。

2.3 不同水稻品种次生代谢物质的种类与含量

通过安捷伦气相色谱-质谱联用仪(7890B-5977B)检测,泰优1750样本共检测出81个峰,浙梗优4号样本共检测出82个峰,将相似度70%以上的峰进行定性分析得到54种化合物,其中13种为内标

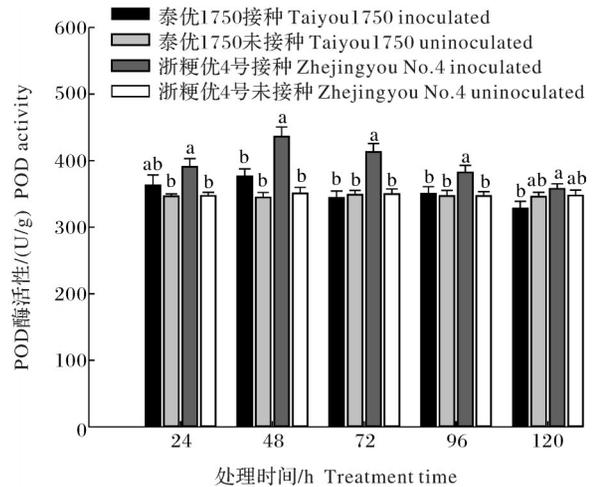


图5 不同水稻品种过氧化物酶活性变化

Fig.5 The POD activity changes of different rice varieties

[即试验中加入的正己烷和23种正构烷烃(C8~C40)混标中的13种],其余41种为含硅的化合物;根据硅烷基化反应原理,将含硅的化合物中的三甲基硅基(TMS)去除得到水稻样品中的18种差异代谢物(表3)。对各成分含量进行方差分析,结果显示,18种差异代谢物为2个品种水稻共有代谢物,含量存在一定差异,但不显著;在接种胡麻叶斑病菌后,抗病品种(浙梗优4号)叶片中的丁二酸、甘油酸、核糖醇、肌醇和D-葡萄糖等5种差异代谢物的含量高于感病品种(泰优1750);同时,抗病品种(浙梗优4号)和感病品种(泰优1750)经接菌胁迫后,核糖醇、D-葡萄糖、2,3,4-三羟基丁酸、苹果酸、O-五氟苄基肼-D-(+)-木糖等5种代谢物,相对未接菌处理,其含量均显著增加。

3 讨论

3.1 品种与抗性的关系

水稻不同品种往往抗病性差异很大,如王俊伟^[14]在江苏省农科院试验田对119个水稻品种(绝大部分是粳稻)进行水稻胡麻叶斑病田间抗性鉴定,发现抗病品种有20个,占试验品种的17%,感病品种占试验品种的83%;冯思琪^[15]通过分蘖期接种,对29个水稻品种(粳稻)进行水稻胡麻叶斑病抗病性鉴定,没有发现抗病品种,而中感的水稻品种占试验水稻品种的20.7%,高感的水稻品种占79.3%;黄泽楷^[6]通过对广东省30个水稻在3~4叶期接种胡麻叶斑病进行抗病性鉴定,发现大部分籼型常规水稻品种对水稻胡麻叶斑病感病,感病品种占比为86.7%。Riangwong等^[20]发现,qDP1、qDP9、qDP10基因与水

表3 不同抗性水稻品种三叶期叶片主要次生代谢物质成分及相对含量
Table 3 The main secondary metabolite components and relative contents of three leaves in different resistant rice varieties

化合物名称 Compound name	分子式 Molecular formula	$t_{\text{保留}}/\text{min}$ Retention time	保留指数 Retentio index	百分含量/% Percentage content			
				泰优1750 Taiyou 1750		浙粳优4号 Zhejiangyou No.4	
				接菌 Inoculated	未接菌 Uninoculated	接菌 Inoculated	未接菌 Uninoculated
丁二酸 Butanedioic acid	C ₄ H ₆ O ₄	10.113	1320.7	0.14±0.00b	0.24±0.02a	0.27±0.01a	0.22±0.00a
甘油酸 Glyceric acid	C ₃ H ₆ O ₄	10.560	1344.2	0.44±0.02c	1.45±0.03a	1.04±0.01b	1.11±0.02b
2-丁烯二酸,(E) 2-Butenedioic acid,(E)	C ₄ H ₄ O ₄	10.721	1352.6	0.16±0.03a	0.18±0.11a	0.15±0.01a	0.20±0.02a
苹果酸 Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	13.786	1507.0	2.18±0.03a	0.88±0.09b	1.99±0.03a	0.95±0.02b
水杨酸 Salicylic acid	C ₇ H ₆ O ₃	14.092	1521.5	0.33±0.01c	0.65±0.08a	0.41±0.02bc	0.59±0.02ab
L-5-氧代脯氨酸 L-5-Oxoproline	C ₅ H ₇ NO ₃	14.360	1534.4	1.35±0.66a	1.97±0.61a	1.70±0.05a	1.78±0.24a
4-氨基丁酸 4-Aminobutanoic acid	C ₄ H ₉ NO ₂	14.504	1541.4	0.09±0.03a	0.20±0.09a	0.28±0.04a	0.30±0.02a
2,3,4-三羟基丁酸 2,3,4-Trihydroxybutyric acid	C ₄ H ₈ O ₅	15.484	1588.5	0.28±0.01ab	0.18±0.04b	0.37±0.01a	0.04±0.04c
O-五氟苄基肼-D-(+)-木糖 O-Pentafluorobenzyloxime-D-(+)-xylose	C ₁₆ H ₁₄ F ₅ NO ₆	18.050	1712.8	0.34±0.02ab	0.28±0.02b	0.40±0.01a	0.28±0.03b
木糖醇 Xylitol	C ₅ H ₁₂ O ₅	18.911	1755.1	1.15±0.09a	0.10±0.01c	0.48±0.02b	0.16±0.07c
核糖醇 Ribitol	C ₅ H ₁₂ O ₅	19.002	1759.6	0.60±0.04b	0.50±0.03b	1.14±0.05a	0.31±0.00c
O-甲基肼-D-果糖 O-Methylxime-D-fructose	C ₇ H ₁₅ NO ₆	22.059	1913.8	16.87±0.87a	5.24±0.12c	7.14±0.24b	5.68±0.06c
苄氧肼-D-(+)-半乳糖 O-Benzyloxime-D-(+)-galactose	C ₁₃ H ₁₉ NO ₆	22.421	1932.8	0.20±0.00a	0.46±0.06a	0.13±0.01a	0.17±0.17a
O-甲基肼-D-阿洛糖 O-Methylxime-D-allose	C ₇ H ₁₅ NO ₆	22.556	1939.9	17.4±0.76a	8.77±0.22b	9.44±0.23b	9.53±0.06b
O-乙基肼-D-(+)-塔罗糖 O-Ethylxime-D-(+)-talose	C ₈ H ₁₇ NO ₆	22.871	1956.4	4.55±0.32a	1.95±0.19b	2.03±0.08b	1.85±0.04b
肌醇 Myo-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	25.964	2067.8	1.01±0.07b	2.84±0.38a	2.28±0.13a	3.26±0.07a
D-葡萄糖 D-Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	27.480	2218.8	0.35±0.03b	0.30±0.17b	2.19±0.21a	0.60±0.06b
蔗糖 Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	32.014		2.25±0.24a	2.98±1.19a	2.57±0.23a	2.21±0.08a

注:表中不同小写字母表示同一物质不同处理下的百分含量在0.05水平上差异显著。Note: Different lower letters in the table indicate that the percentage content of the same substance under different treatments is significant difference at the level of 0.05.

稻抗胡麻叶斑病的抗性显著相关;黄泽楷^[6]发现1种水稻胡麻叶斑病抗病基因 *rb5-1(t)*。本研究发现粳型三系杂交水稻和粳型两系杂交水稻表现为感病,而粳型常规水稻、粳型三系杂交水稻、粳粳交三系杂交水稻和粳型常规糯稻则表现出抗病性,可为后续水稻抗病品种选育提供参考。因此,对四川省水稻品种种植布局时,在充分考虑本地气候、土壤等条件基础上,可适当增加粳型常规水稻、粳型三系杂交水稻、粳粳交三系杂交水稻和粳型常规糯稻等抗胡麻

叶斑病品种的种植比例,减少感病的粳型三系杂交水稻和粳型两系杂交水稻的种植比例。

3.2 防御酶活性与抗性的关系

当植物遭受病菌的侵袭时, PAL、PPO、CAT、POD和SOD等防御酶的活性会呈现出与抗病性呈正相关的规律性变化,如赵志祥等^[9]用稻瘟病菌菌株193(ZB25)对湘资3150(XZ3150)等6份水稻材料进行苗期抗性鉴定和POD、PPO、PAL等防御酶活性测定,发现抗病水稻的POD、PPO、PAL活性相较于

感病品种在24~144 h内逐渐增高;许月等^[21]用水稻纹枯病菌及毒素分别接种抗病品种港源8号和感病品种秋田小町,测定接种后POD、PAL、APX、PPO、CAT、T-SOD、GSH-PX 7种防御酶活性及ASA FR和H₂O₂含量的动态变化,结果显示,港源8号和秋田小町接种多核与双核菌株及其毒素后,体内7种防御酶活性及ASA FR和H₂O₂含量都表现为先升高后降低的趋势。本研究对抗病和感病水稻品种在三叶期接种水稻胡麻叶斑病菌后,SOD、PAL、PPO、CAT、POD酶活性均呈现先升高后降低的趋势,并且接种胡麻叶斑病菌对抗病品种5种防御酶活性均有显著的诱导效应,这说明品种的抗性与酶活性呈正相关。

3.3 次生代谢物质与抗病性关系

次生代谢物质在植物抗病反应中发挥着至关重要的作用。杨朗等^[12]应用高效液相色谱分析了对白叶枯病具有不同抗性水平的12个水稻品种中的19个次生代谢物质色谱峰的差异及其与白叶枯病抗性水平的关系,结果表明水稻品种抗性水平与谱峰面积值之间相关极显著($R=0.992, P<0.01$)。潘争艳等^[13]采用GC/MS非靶向代谢组学方法检测稻瘟病感病品种辽星1号和粳型恢复系C418茎节和正常茎节的次生代谢物,结果表明,感病品种可能通过香草酸、 α -生育酚、脱氢抗坏血酸相对含量的变化调控茎节对稻瘟病的防御反应。本研究采用GC/MS鉴定得到41种水稻次生代谢物质,其中5种次生代谢物(包括核糖醇、D-葡萄糖、2,3,4-三羟基丁酸、苹果酸、O-五氟苄基脒-D-(+)-木糖等)含量在抗病品种(浙粳优4号)和感病品种(泰优1750)中于接菌后均显著上升,且核糖醇、D-葡萄糖、2,3,4-三羟基丁酸、苹果酸等4种物质在浙粳优4号中的上升幅度高于泰优1750。研究表明,核糖醇是D-核糖的还原产物,作为核黄素的成分广泛分布于生物细胞中,而核黄素可诱导防卫相关基因表达,激活植物产生抗病反应^[22];D-葡萄糖可氧化生成葡萄糖酸或葡萄糖醛酸或还原生成山梨醇,也可与果糖和甘露糖通过烯醇式相互转化,而糖信号分子在植物免疫响应中发挥重要作用^[23];张庆春^[24]研究发现苹果酸处理马铃薯块茎可以诱导POD、PPO、GLU、PAL酶活性提高,抑制损伤接种马铃薯块茎病斑的扩展;Mahatma等^[25]用花生黑斑病菌侵染不同抗性的花生后,发现抗病品种叶片中2,3,4-三羟基丁酸的含量较高。因此,核糖醇、D-葡萄糖、苹果酸、2,3,4-三羟基丁酸等

4种代谢物可能是水稻抗胡麻叶斑病相关的代谢物质。

参考文献 References

- [1] 冯爱卿,朱小源,汪聪颖,等.13种杀菌剂对水稻胡麻叶斑病防效研究[J].植物保护,2022,48(5):352-360. FENG A Q, ZHU X Y, WANG C Y, et al.Efficacy of thirteen fungicides for controlling rice brown spot disease [J]. Plant protection, 2022, 48(5): 352-360 (in Chinese with English abstract).
- [2] MAHMAD-TOHER A S, GOVENDER N, DORAIRAJ D, et al. Effects of silica soil amendment against *Exserohilum rostratum*, the fungal pathogen of rice brown spot disease in Peninsular Malaysia [J/OL]. Scientific reports, 2022, 12 (1) : 15690 [2024-08-14]. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19308-z>.
- [3] SHAMSHAD A, RASHID M, HAMEED A, et al. Identification of biochemical indices for brown spot (*Bipolaris oryzae*) disease resistance in rice mutants and hybrids [J/OL]. PLoS One, 2024, 19 (4) : e0300760 [2024-08-14]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300760>.
- [4] 冯思琪,张亚玲.水稻胡麻叶斑病的研究现状综述[J].安徽农学通报,2018,24(20):66-67. FENG S Q, ZHANG Y L. A review of the current research status of rice sesame leaf spot disease [J]. Anhui agricultural science bulletin, 2018, 24(20) : 66-67 (in Chinese with English abstract).
- [5] DARIUSH S, DARVISHNIA M, EBADI A A, et al. Screening rice genotypes for brown spot resistance along with yield attributing characters and its association with morphological traits [J]. Crop protection, 2020, 9(3) : 381-393.
- [6] 黄泽楷.水稻品种资源抗胡麻叶斑病评价及抗性基因鉴定[D].武汉:华中农业大学,2022. HUANG Z K. Evaluation of resistance of rice variety resources to flax leaf spot and identification of resistance genes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022 (in Chinese with English abstract).
- [7] 周星洋,张功营,董丽红,等.青枯菌侵染不同抗病烟草品种的防御性酶活性及代谢组分差异分析[J].华南农业大学学报,2016,37(3):73-81. ZHOU X Y, ZHANG G Y, DONG L H, et al. Differences of defensive enzyme activities and metabolites between resistant and susceptible tobacco cultivars infected by *Ralstonia solanacearum* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2016, 37(3) : 73-81 (in Chinese with English abstract).
- [8] 吴梦露,李鹏,于文清,等.水稻防御酶与其抗病性关系研究进展[J].分子植物育种,2024,22(7):2413-2420. WU M L, LI P, YU W Q, et al. Advances in the research of relationship between defensive enzymes and disease resistance in rice [J]. Molecular plant breeding, 2024, 22 (7) : 2413-2420 (in Chinese with English abstract).

- [9] 赵志祥, 刘二明, 黄红梅, 等. 防御酶在水稻抗瘟性中的作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(6): 744-746. ZHAO Z X, LIU E M, HUANG H M, et al. Role of defensive enzymes in rice blast resistance[J]. Journal of Hunan Agricultural University (natural sciences), 2007, 33(6): 744-746 (in Chinese with English abstract).
- [10] 左示敏, 陈夕军, 陈红旗, 等. 不同抗性水平水稻品种对纹枯病菌毒素的防卫反应与生理差异[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(5): 551-558. ZUO S M, CHEN X J, CHEN H Q, et al. Defense response and physiological difference of rice cultivars with different sheath blight resistance levels to the toxins produced by *Rhizoctonia solani* [J]. Chinese journal of rice science, 2014, 28(5): 551-558 (in Chinese with English abstract).
- [11] ASHFAQ B, ARSHAD H M I, ATIQ M, et al. Biochemical profiling of resistant phenotypes against *Bipolaris oryzae* causing brown spot disease in rice[J/OL]. Frontiers in agronomy, 2021, 3: 675895 [2024-08-14]. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.675895>.
- [12] 杨朗, 梁广文, 曾玲, 等. 水稻品种次生物质与稻白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)抗性的关系[J]. 生态学报, 2008, 28(8): 4015-4022. YANG L, LIANG G W, ZENG L, et al. Relationship between the resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and secondary compounds in rice leaves[J]. Acta ecologica sinica, 2008, 28(8): 4015-4022 (in Chinese with English abstract).
- [13] 潘争艳, 刘博, 蒋洪波, 等. 水稻灌浆期穗颈瘟发生对产量及茎节代谢产物的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(20): 4177-4188. PAN Z Y, LIU B, JIANG H B, et al. Effect of panicle neck blast on grain yield and stem node metabolites at the rice filling stage[J]. Scientia agricultura sinica, 2020, 53(20): 4177-4188 (in Chinese with English abstract).
- [14] 王俊伟. 水稻胡麻叶斑病菌感染条件及胡麻叶斑病抗性研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2013. WANG J W. Research for the infection factors of *Bipolaris oryzae* and the resistance to rice brown spot[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [15] 冯思琪. 水稻胡麻叶斑病菌生物学特性、药剂筛选及品种抗性分析[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019: 1-58. FENG S Q. Biological characteristics of *Bipolaris oryzae*, fungicide screening, and analysis of varietal resistance to rice brown spot[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019: 1-58 (in Chinese with English abstract).
- [16] 伏荣桃, 王剑, 陈诚, 等. 稻曲病菌毒素对不同抗病水稻品种生理生化特性的影响[J]. 生态学杂志, 2021, 40(9): 2793-2801. The effects of toxins from rice blast fungus on the physiological and biochemical characteristics of different resistant rice varieties[J]. 2021, 40(9): 2793-2801 (in Chinese with English abstract).
- [17] GAO M S, FENG L F, JIANG T J. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment [J]. Food chemistry, 2014, 149: 107-113.
- [18] 张檀. 水稻 OsOT 基因的功能研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017. ZHANG T. Functional analysis of rice *OsOT* [D]. Xiamen: Xiamen University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [19] BABUSHOK V I, LINSTROM P J, ZENKEVICH I G. Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils[J/OL]. Journal of physical and chemical reference data, 2011, 40(4): 043101 [2024-08-14]. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>.
- [20] RIANGWONG K, AESOMNUK W, SONSOM Y, et al. QTL-seq identifies genomic regions associated with resistance to dirty panicle disease in rice[J]. Agronomy, 2023, 13(7): 1905.
- [21] 许月, 魏松红, 王海宁, 等. 水稻纹枯病菌及毒素的寄主抗性响应差异[J]. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(4): 385-392. XU Y, WEI S H, WANG H N, et al. The difference of physiological responses to pathogen infection of rice sheath blight and toxin[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2018, 49(4): 385-392 (in Chinese with English abstract).
- [22] 黑银秀, 朱为民, 郭世荣, 等. 核黄素和接种番茄黄化曲叶病毒对番茄几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(4): 135-139. HEI Y X, ZHU W M, GUO S R, et al. Effects of riboflavin and TYLCV inoculation on the activities of chitinase and β -1,3-glucanase in tomato[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2012, 35(4): 135-139 (in Chinese with English abstract).
- [23] BOLOURI MOGHADDAM M R, VAN DEN ENDE W. Sugars and plant innate immunity[J]. Journal of experimental botany, 2012, 63(11): 3989-3998.
- [24] 张庆春. 采后柠檬酸与苹果酸处理对马铃薯块茎干腐病的抑制及其机理[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009. ZHANG Q C. Control of Dry Rot in Potato Tubers with citric acid and malic acid treatment and possible mechanisms involved [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2009 (in Chinese with English abstract).
- [25] MAHATMA M K, THAWAIT L K, JADON K S, et al. Metabolic profiling for dissection of late leaf spot disease resistance mechanism in groundnut[J]. Physiology and molecular biology of plants, 2021, 27(5): 1027-1041.

Evaluation of resistance to sesame leaf spot disease and physiological and biochemical mechanisms of disease resistance in main rice varieties in Sichuan Province

LI Wentao¹, JIA Yan¹, LUO Xiumei^{1,2}, PENG Anchun¹, WU Chunxian³, WANG Xuegui¹

1. College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Rongxian Planting Industry Service Center, Zigong 643100, China;

3. Plant Protection Station of Department of Agriculture and Rural Affairs, Sichuan Province, Chengdu 610041, China

Abstract The resistance to sesame leaf spot disease of 20 main rice varieties and 5 control varieties in Sichuan Province was evaluated with potted plant disease resistance identification method to study the resistance to sesame leaf spot disease and the physiological and biochemical mechanisms of disease resistance in the main rice varieties in Sichuan Province. The activity of 5 defense enzymes was determined in the leaves of different resistant varieties. The secondary metabolites in the leaves of rice seedlings in resistant and susceptible varieties were analyzed with gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The results showed that Yuxiangnuo 1 and Zhejingyou 4 were highly resistant varieties, while 5 varieties including Xiushui 134, Zhehe 622, Zhehexiang No.2, Zhejingyou 77 and Zhejingyou 1578 had moderate resistance, and the rest were susceptible varieties. The activity of 5 enzymes including superoxide dismutase (SOD), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POD), and catalase (CAT) increased first and then decreased in both resistant and susceptible rice varieties, but the activity of enzyme in resistant varieties was significantly higher than that in susceptible varieties. A total of 18 secondary metabolites were obtained, among which 4 metabolites including ribosyl alcohol, D-glucose, malic acid, and 2, 3, 4-trihydroxybutyric acid had significant differences in content between resistant and susceptible rice varieties, and between inoculated and non-inoculated treatment of the same variety. It is indicated that rice resistant varieties can resist the invasion of sesame leaf spot disease by increasing the activity of 5 defense enzymes and the content of four secondary metabolites.

Keywords rice; sesame leaf spot disease; disease resistance; secondary metabolites; gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

(责任编辑:张志钰)