

苯并噻二唑诱发水稻对纹枯病的抗性

张卫东 葛秀春 宋凤鸣* 郑重

(浙江大学农业与生物技术学院植保系,杭州 310029)

摘要: 研究了苯并噻二唑(BTH)诱发水稻产生对纹枯病的抗性。离体条件下, 1.0 mmol/L BTH对纹枯病菌菌丝生长无明显抑制作用。BTH叶面或灌根处理四叶一心期水稻幼苗,并将植株第2、3和4叶离体接种纹枯病菌,水稻叶片纹枯病病斑长度明显下降,BTH诱发苗期水稻产生抗性的最佳诱导期在处理后的3~5天,最佳浓度为0.1 mmol/L,BTH灌根处理诱发性抗性的效果较好。用BTH溶液叶面喷雾处理成株期水稻倒二叶后离体接种纹枯病菌,倒二叶、倒一叶和剑叶上病斑长度显著低于对照,最佳诱导期在处理后3~5天。用BTH处理苗期水稻第2叶或成株期倒二叶,可使未经处理的苗期水稻第3和4叶以及成株期水稻倒一叶和剑叶上纹枯病病斑长度显著下降。

关键词: 系统获得抗性, 水稻纹枯病, 苯并噻二唑

纹枯病(*Rhizoctonia solani*)是水稻三大病害之一。由于其病原菌具有较宽的寄主范围及其半腐生特性,在栽培稻和野生稻中缺乏高水平抗纹枯病种质资源^[1]。近年的研究发现,水稻中存在抗纹枯病的主效基因,并且对相关的主效QTL进行了分子标记定位^[2~4]但农业生产中推广使用的水稻品种大多不抗纹枯病。目前,纹枯病的防治主要依赖于农业措施以及药剂防治。

植物系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)是指植物多病原物侵染或其它因子刺激而诱发的对多种病原物的系统抗性^[5]。SAR是一种在植物界普遍存在的可诱导性抗病防卫反应,因其持效期长、抗病谱广等特点,倍受重视。最近的研究显示,一些化合物如水杨酸(salicylic acid, SA)、2,6-二氯异烟酸(2,6-dichloroisonicotinic acid, INA)和苯并噻二唑(benzothiadiazole, BTH)能诱发多种植物产生SAR。SA和INA在高浓度时对植物有毒害作用,难以用于实际生产中;而BTH对植物无毒性,因而被认为是一种能在实际生产中使用的、控制植物病害的新型化合物^[6, 7]。

作者曾对BTH等化合物诱发水稻产生SAR进行了研究,发现BTH能有效地诱发水稻对稻瘟病和白叶枯病的诱导抗病性^[8, 9]。作者进一步研究了BTH诱发水稻对纹枯病的抗性,结果表明BTH诱导处理苗期和成株期水稻后都能诱发对纹枯病的系统抗性。

基金项目:瑞典国际科学基金资助项目(C/2808-1)

作者简介:张卫东(1979-),男,硕士研究生,从事植物抗病性分子机制研究(E-mail: zhangwd1979@sina.com.cn)

* 通讯作者(E-mail: fmsong@zju.edu.cn); 收稿日期:2001-11-19

1 材料与方 法

1.1 供试水稻 供试水稻品种为原丰早。种子经浸种(48h, 28℃)、催芽(24h, 28℃)后播种在有沃土的塑料钵内。钵直径 10 cm, 每钵播 15 粒左右发芽势一致的种子。稻苗长至四叶一心期时进行苗期试验。幼苗移栽后长至剑叶完全展开时作成株期试验。试验前 3 天酌施尿素 1 次。

1.2 供试病原菌和药剂 水稻纹枯病菌在 PDA 培养基上 28℃ 培养 3 天后使用。苯并噁二唑由 Novartis 公司提供, 50% 颗粒剂。用双重蒸馏水配成所需浓度。

1.3 BTH 对纹枯病菌菌丝作用的离体试验 将过滤灭菌的 BTH 溶液加入 PDA 培养基中使 BTH 的终浓度为 1.0 mmol/L。平板中央接种直径为 3 mm 的纹枯病菌菌丝块, 28℃ 培养 3 天后测定菌落直径。

1.4 诱导处理及接种 四叶一心期水稻幼苗作苗期试验。在第 2 张叶片上均匀滴 4 滴 BTH 溶液(含 0.05% Tween 20)或者用所需浓度的 BTH 溶液作灌根处理(10 ml/盆水稻)。在最佳浓度试验中, 不同浓度 BTH 诱导处理后 5 天取第 2 叶处理叶、第 3 叶、第 4 叶作离体叶片接种; 在最佳诱导时期试验中, 经 0.50 mmol/L BTH 诱导处理后不同时间间隔取第 2 叶处理叶、第 3 叶、第 4 叶进行离体叶片接种。叶片剪成 8~10 cm 片段, 两端分别压上经 50 mg/L 苯并咪唑(保鲜剂)浸润过的无菌棉条并置于瓷盘中, 然后在叶片中央接种纹枯病菌菌丝块(直径 3 mm)。接种后用薄膜覆盖, 置于 30℃、连续光照的培养箱中培养, 7 天后测量病斑长度^[16]。每处理设 3 次重复, 试验重复 2 次。当水稻剑叶完全展开时作成株期试验。用供试浓度的 BTH 溶液(含 0.05% Tween 20)在倒二叶上作喷雾处理, 使叶片上均匀布满小雾点, 5 天后(最佳浓度试验)或间隔不同时间(最佳诱导时期试验)后取剑叶、倒一叶、倒二叶进行离体叶片接种。接种 9 天后测量病斑长度。每处理设 3 次重复, 试验重复 2 次。

2 结果与分析

2.1 离体条件下 BTH 对纹枯病菌菌丝生长的影响

在含 1 mmol/L BTH 的培养基上纹枯病菌菌丝生长与不含 BTH 的无显著差异。这表明在供试浓度(≤ 1 mmol/L)下 BTH 对纹枯病菌无直接抑制作用。

2.2 BTH 诱发水稻幼苗对纹枯病的抗性

四叶一心期水稻幼苗用不同浓度的 BTH 溶液作叶面喷雾诱导处理后, 分别取处理叶(第 3 叶)和未处理的第 4 叶进行离体接种纹枯病菌, 并考察发病情况。结果表明, 经 0.01、0.05、0.10、0.50 和 1.0 mmol/L BTH 溶液诱导处理后, 处理叶和未处理第 4 叶上纹枯病病斑长度均显著低于对照(图 1), 病斑长度下降幅度分别为 62.0%~85.8% 和 37.6%~53.5%。其中 0.10 mmol/L BTH 溶液诱导处理后处理叶和第 4 叶上病斑长度降幅最大, 分别为 85.8% 和 53.5%。高浓度的 BTH 溶液(1.0 mmol/L)诱导处理后, 处理叶和第 4 叶上病斑长度降幅反而较小; 经 0.01 mmol/L BTH 溶液诱导处理后, 处理叶和第 4 叶上病斑长度分别下降 62.3% 和 37.6%, 说明 BTH 能有效地诱导对纹枯病的抗性。从病

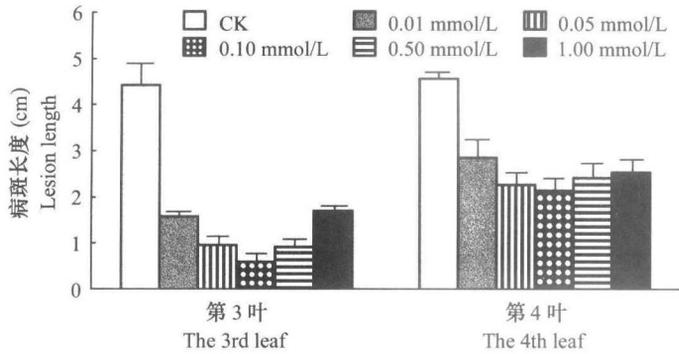


图 1 不同浓度 BTH 喷雾处理水稻幼苗后对纹枯病病斑长度的影响

Fig.1 Effect of treatment of rice seedlings with BTH by foliar spraying on lesion length of the sheath blight disease

斑长度的降幅来看,处理叶大于未处理的第 4 叶。

采用叶面处理和灌根两种方法研究了 BTH 诱导水稻产生对纹枯病抗性所需时间(图 2)。结果表明:(1)无论是叶面处理,还是灌根处理,BTH 诱导处理 1 天后水稻植株第 2、3 和 4 叶上纹枯病病斑长度均显著低于对照,说明在处理 1 天内 BTH 就能诱导水稻幼苗产生对纹枯病的抗性。(2)经 BTH 叶面处理后间隔 1~9 天接种纹枯病菌,在第 2、3 和 4 叶上病斑长度明显下降,降幅分别为 57.1%~73.7%、52.0%~74.5%和 32.6%~68.3%。其中 BTH 处理 5 天后接种纹枯病菌,在第 2 和 3 叶上病斑长度下降幅度最大,分别为 73.7%和 74.5%;对第 4 叶而言,在处理 1 天后接种病菌时病斑长度下降最大,降幅为 68.3%。(3)经 BTH 灌根处理后间隔 1~9 天接种纹枯病菌,在第 2、3 和 4 叶上病斑长度明显下降,降幅分别为 63.3%~96.8%、49.0%~91.8%和 63.9%~87.4%。其中 BTH 处理 3 天后接种纹枯病菌,在第 2、3 和 4 叶上病斑长度下降幅度最大,分别为 96.8%、91.8%和 87.4%。(4)比较两种方法处理后纹枯病病斑长度的下降水平发现,BTH 灌根处理诱导的抗性要强于叶面处理所诱导的抗性,这在第 4 叶尤其明显;两种方法处理后诱导最佳抗性所需的时间也存在差异,BTH 叶面处理后诱导最佳抗性水平需要 5 天,而灌根处理则只需 3 天。用 BTH 溶液诱导处理水稻幼苗第 2 叶或者灌根处理水稻幼苗后,第 2、3 和 4 叶上纹枯病病斑长度均显著低于未处理对照植株的相应叶片上的病斑长度,说明 BTH 处理诱发水稻幼苗对纹枯病的诱导抗病性具有系统性。

2.3 BTH 诱发成株期水稻对纹枯病的抗性

用 0.01~1.00 mmol/L BTH 喷雾处理成株期水稻植株的倒二叶后,离体叶片接种纹枯病菌,纹枯病的发病情况见图 3。结果表明,纹枯病病斑的长度随 BTH 的处理浓度增加而减小,其中以 0.10~1.00 mmol/L BTH 处理后病斑长度的下降幅度最大,处理叶(倒二叶)降幅达 78.3%~81.9%,未处理的倒一叶和剑叶上病斑长度降幅分别为 66.2%~73.8%和 46.2%~60.6%。用 0.5 mmol/L BTH 溶液喷雾处理成株期水稻倒二叶后不同时间间隔接种纹枯病菌,结果发现,在试验的各个时间点处理叶(倒二叶)以及未处理的倒一叶和剑叶上纹枯病的病斑长度均有显著下降(图 4),其中处理后间隔 3~5 天接种纹枯

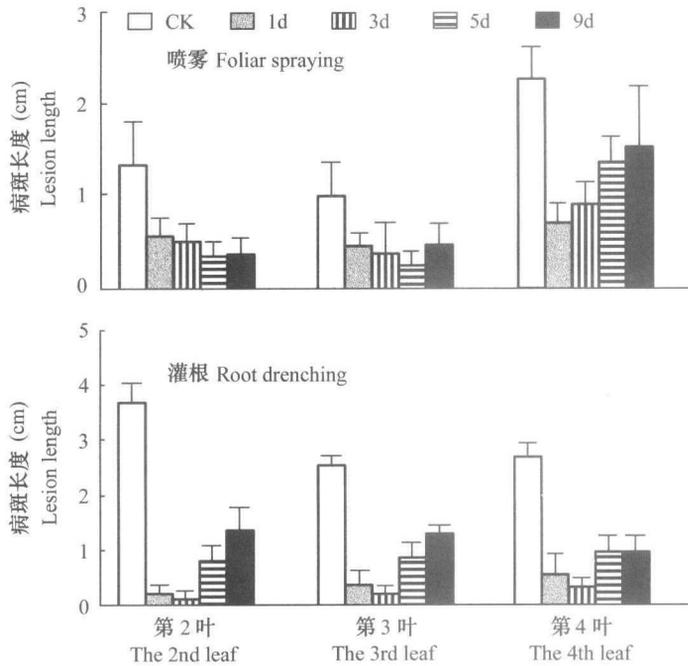


图2 BTH喷雾和灌根处理水稻幼苗后不同时间间隔接种对纹枯病病斑长度的影响

Fig.2 Effect of different intervals between induction treatment with BTH by foliar spraying and root drenching and inoculation with *Rhizoctonia solani* on lesion length of the sheath blight disease at seedling stage

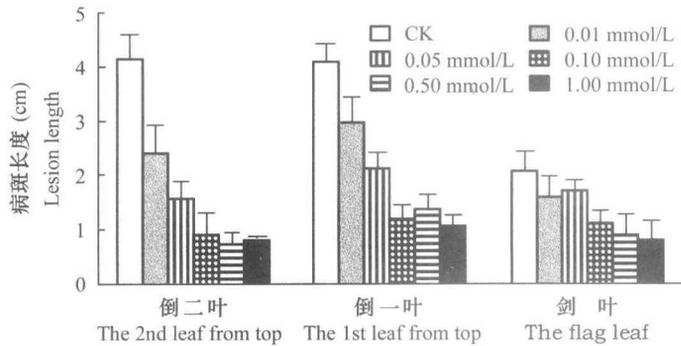


图3 不同浓度BTH喷雾处理成株期水稻后对纹枯病病斑长度的影响

Fig.3 Effect of foliar spray of adult rice plants with different concentrations of BTH on lesion length of the sheath blight disease

病菌的组合中病斑长度的下降幅度最大,处理叶的降幅达 78.1% ~ 88.4%,未处理的倒一叶和剑叶的降幅分别为 63.2% ~ 75.5% 和 84.5% ~ 91.9%。

BTH诱导处理成株期水稻植株的倒二叶后,上部未处理的倒一叶和剑叶上的纹枯病病斑长度均显著低于未处理对照植株的相应叶片上的病斑长度,而且在倒二叶上作 BTH 诱导处理后,未处理的倒一叶和剑叶上病斑长度的下降趋势与处理叶基本一致(图3、4)。

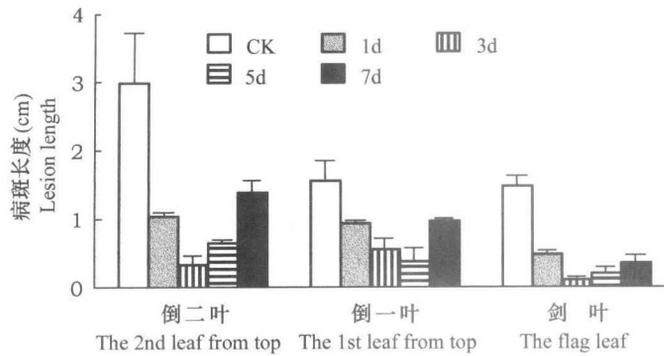


图4 BTH 喷雾处理成株期水稻后不同时间间隔接种对纹枯病病斑长度的影响

Fig.4 Effect of different intervals between foliar spray of adult rice plants with BTH and inoculation with *Rhizoctonia solani* on lesion length of the sheath blight disease

这进一步说明 BTH 处理诱发水稻对纹枯病的诱导抗病性具有系统性。

3 讨论

本研究结果表明,无论采用叶面喷雾,还是灌根处理,BTH 诱发水稻产生对纹枯病的抗性一般需要 3~5 天,浓度 0.1~0.5 mmol/L BTH 诱发抗性的效果较好。苗期和成株期水稻植株下部叶片经 BTH 处理后不仅诱发了处理叶的抗性,而且上部未处理叶片也表现出抗性提高,这说明 BTH 诱发水稻对纹枯病的抗性具有系统性。作者先前的研究表明,BTH 也能诱导对稻瘟病和白叶枯病的抗性^[8,9],说明 BTH 诱导的抗病性具广谱性。

比较苗期水稻经 BTH 叶面和灌根处理后所诱发的抗性水平发现,灌根处理诱导的抗性要强于叶面处理所诱导的抗性,诱发产生最佳抗性所需的诱导期较短。这与刘凤权等在水杨酸诱导水稻幼苗对白叶枯病的抗性研究中观察到的结果相似^[10]。这种差异可能与叶面处理和灌根处理后水稻 BTH 的吸收不同有关,水稻根部较叶片更能有效吸收 BTH,提高了 BTH 在水稻体内的有效性。

已有研究证明,BTH 能诱发烟草、黄瓜、番茄、棉花、玉米和小麦等多种作物产生对真菌、细菌和病毒病害的 SAR^[6,7,11],且对植物本身毒性极低,已经作为一种新型的农药(商品名为 Bion)投放市场。在一些大田试验中,BTH 诱发的 SAR 对作物苗期及生长后期的各种病害均具较好的保护作用^[11~13]。研究证明,BTH 可诱发水稻产生诱导抗病性,至少对稻瘟病、白叶枯病和纹枯病等病害有效^[8,9],且水稻苗期用 BTH 诱发处理产生的诱导抗病性对生长后期穗瘟也表现一定程度的抗性^[8]。BTH 能否在大田自然条件下诱发水稻产生诱导抗病性及其在田间的抗病效果有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Bonman J M, et al. Breeding rice for resistance to pests. Annu. Rev. Phytopathol., 1992, 30:507-526
- 2 陈宗祥,等. 对水稻纹枯病抗源的初步研究. 中国水稻科学, 2000, 14:15-18
- 3 潘学彪,等. 水稻品种 Jasmine85 抗纹枯病主效 QTL 的分子标记定位. 科学通报, 1999, 44:1629-1635
- 4 潘学彪,等. 水稻抗纹枯病育种成效的初步评价. 中国水稻科学, 2001, 15:218-220

- 5 Ryals J, *et al.* Systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 1996, 8:1809 – 1819
- 6 Friedrich L, *et al.* A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant J.*, 1996, 10:61 – 70
- 7 Grolach J, *et al.* Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell*, 1996, 8:629 – 643
- 8 葛秀春,等. BTH 诱发水稻对稻瘟病的系统获得抗性. *浙江农业学报*, 1999, 11: 311 – 314
- 9 宋凤鸣,等. 苯并噻二唑诱导水稻对白叶枯病的系统获得抗性. *中国水稻科学*, 2001, 15:323 – 326
- 10 刘凤权,等. 水杨酸诱导水稻幼苗抗白叶枯病研究. *植物保护学报*, 2000, 27: 47 – 52
- 11 Morris S W, *et al.* Induced resistance responses in maize. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 1998, 11:643 – 658
- 12 Cole D L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. *Crop Protection*, 1999, 18:267 – 273
- 13 Godard J F, *et al.* Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection*, 1999, 18:397 – 405

Systemic acquired resistance of rice against sheath blight disease induced by benzothiadiazole

Zhang Weidong Ge Xiuchun Song Fengming Zheng Zhong

(Department of Plant Protection, College of Agriculture and Biotechnology,
Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Systemic acquired resistance (SAR) of rice against sheath blight disease (*Rhizoctonia solani*) induced by benzothiadiazole (BTH) was investigated. No inhibitory effect of BTH at 1.0 mmol/L on the mycelium growth of *R. solani* *in vitro* was detected. Four-leaf rice seedlings were treated by foliar spraying or root drenching with BTH, and the 2nd, the 3rd and the 4th leaves were detached and inoculated with the pathogen. The lesion lengths of the sheath blight disease in the detached leaves treated with BTH were significantly reduced as compared with those in the controls. Resistance of rice seedlings induced by BTH required an interval of 3 – 5 days between BTH treatment and inoculation, and the optimum concentration of BTH for inducing resistance at seedling stage was at 0.1 mmol/L. Treatment by root drenching gave a relatively higher level of resistance than that by foliar spraying. Lesion lengths of the sheath blight disease on the 2nd leaves from the top, the 1st leaves from the top and the flag leaves were reduced markedly after the 2nd leaves from the top of the rice adult plants were treated by foliar spraying with BTH. Resistance of rice adult plants induced by BTH also required an interval of 3 – 5 days between BTH treatment and inoculation. When the 2nd leaves of 4-leaf seedlings or the 2nd leaves from the top of the adult plants were treated by foliar spraying with BTH, lesion lengths of the sheath blight disease on the detached untreated 3rd and 4th leaves of the seedlings or the detached 1st leaves from the top and the detached flag leaves of the adult plants were significantly reduced, indicating that resistance of rice induced by BTH shows systemic feature.

Key words: systemic acquired resistance, rice sheath blight, benzothiadiazole