植物营养与肥料学报 1999,5(4):352～358
Plant Nutrition and Fertilizer Science

文章编号: 1008－505X(1999)04－0352－07

水稻新嫩组织的硅质化及其与稻瘟病抗性的关系

水茂兴[1], 陈德富[2], 秦遂初[1], 蒋式洪[1]
(1. 浙江大学环境与资源学院,浙江杭州 310029;2. 浙江省农业科学院土壤肥料研究所,浙江杭州 310021)

摘要: 采用供硅处理与否的溶液培养水稻作供试材料,研究了硅在新嫩组织中的含量、分布、形态分组和动态变化及其与稻瘟病抗性的关系。结果表明,水稻组织硅质化在展叶(或出穗)前即已开始,在稻瘟病菌入侵的关键时期——展叶(或出穗)后最初几天,供硅与否其组织硅质化状况已存在悬殊差异。前者新嫩叶片 SiO_2 含量达 5.45%,难溶性硅占全硅量 94.5%;后者新嫩叶片 SiO_2 含量仅为 1.20%,难溶性硅占全硅量只 78.33%。供硅的新嫩叶片表面已有明显亚铃状硅化细胞出现,乳突粗大,X-射线硅的能谱分析线在硅化细胞和乳突处出现较高的峰,表明该处硅的分布密度较高。而未经供硅处理的对照此时新嫩叶片表面未见明显硅化细胞,乳突小,X-射线硅的能谱分析线为无曲折变化的平滑直线。供硅与否水稻新嫩组织间上述差异是导致日后稻瘟病发病率明显不同的基础。试验还表明,无论供硅与否,水稻体内可溶性硅含量始终维持在 0.3%左右,表明这可能是稻体组织内由可溶性硅转化为难溶性硅的一个阈值。

关键词: 新嫩组织;硅质化;稻瘟病;抗性
中图分类号: S435.11.4^{+}2;TQ127.2　　**文献标识码**:A

硅是水稻健壮生长必需的矿质元素。国内外研究证实,硅能提高水稻抗稻瘟病的能力[1~4],其机理一般认为是硅在水稻表皮组织沉积,形成硅化细胞和角质双硅层,使组织硅质化,起了机械屏障作用,阻碍了病原菌的侵入和扩展[5,6]。然而,这一切都是基于对已发病水稻进行观察分析所得的结果。植物病理学研究指出,稻瘟病菌主要侵入幼嫩组织,以新叶刚展开的当天和稻穗破口后的 1～2 天最易感病[7]。此后随着组织的成熟、老化,不论供硅水平高低,组织抗稻瘟病能力都迅速增大并达到相当高的水平[8],这说明了稻瘟病的发生与幼嫩组织的抗性密切相关。但水稻组织中的硅是逐渐积累的,老组织含硅量高于新组织,组织越老含硅量越高[6,9]。水稻新出组织有否硅的大量积累,即硅质化,至今未见报道。据此有学者对硅抗稻瘟病的机械屏障作用持怀疑[8,9]。所以,新幼嫩组织是否硅质化或者硅质化状况,是阐明硅抗稻瘟病机械屏障作用的重要依据。

1　材料与方法

1.1　水培试验

培养液采用国际水稻所推荐配方,用蒸馏水配制。在 0(记作 N_1),40(N_2)、160(N_3)mg·L^{-1} 3 个供 N

收稿日期:1998-04-06
作者简介:水茂兴工作单位为浙江农业科学土壤肥料研究所,现为浙江大学环境与资源学院博士研究生。

水平下,设供硅(SiO_2 150mg·L^{-1})和不供硅,共 6 个处理,9 次重复。水稻品种为早籼二九丰,种子用 0.1% HgCl 杀菌后,用蛭石支持育秧,二片真叶时移栽。栽培容器为 7.5L 硬质塑料桶,每桶用带 4 个孔的硬质塑料板固定稻秧 4 丛共 40 株。每天补充水分和调节 pH,每隔 7 天更换一次培养液。于分蘖期,采集各重复部分稻苗的叶片和植株样品,其中 6 个重复每桶 2 丛稻苗作接种叶瘟材料,3 个重复留 1 丛稻苗培养至抽穗后,作接种穗瘟材料。

1.2　稻瘟病菌接种方法

接种菌株 PS-23(由本院植保所提供),孢子浓度 2～3×10^5No./mL。叶瘟采用原位接菌,在水稻第六叶位叶片刚展开和展开后 4 天(即第七叶位叶片刚好展开),分二批喷雾接菌,接菌后 24h 内人工保温保湿(温度 25～28℃,湿度 100%)。穗瘟采用离体接菌,切取刚抽出的带颈稻穗,于穗颈处涂抹稻瘟病菌后,在控制温度 25℃和湿度 100%的生物培养箱内培养 20d。

1.3　硅在新嫩叶片组织结构中分布的定位

采用电子探针分析法,用双面刀片快速切取刚展开完全的第六叶位叶片的距叶尖 1/3 处中央部位组织,大小 0.5cm×1cm,样块在载样台上直接进行真空干燥后,喷镀铂金,用 S-570 扫描电镜观察表面结构,同时用 EDAX9900 型 X-射线微区分析仪进行组织硅分析、记录、拍片。

1.4　水稻组织硅的形态及其含量测定

采集水稻第六叶位叶片和穗颈及枝梗样品。叶片分别在半出(记作 0 天),刚展开完全(2 天)以及 6 天和 14 天取样;穗颈及枝梗分别在稻穗刚抽出,抽穗后 7 天和 21 天取样。

可溶性和难溶性的硅分离采用 Yoshida 改进法[6]。新鲜样品经玛瑙研钵研磨成匀浆后,用蒸馏水定容、离心、过滤,得可溶性硅提取液,然后在提取液中加入 HCl-HF 混合液,用 ICP 测定硅含量。同时另取一份样品烘干后,用 HCl-HF 混合液浸提,用 ICP 测得硅全量,难溶性硅含量由样品硅的全量减去可溶性硅含量。

2　结果与讨论

2.1　硅、氮对水稻新嫩组织硅质化的影响

2.1.1　水稻新嫩叶片表皮结构和硅的分布　由电子探针分析结果(图 1)看出,水稻新嫩叶片(刚展开)表皮结构和硅的分布,供硅与不供硅处理间存在较大的差异。供硅处理叶片表面有非常明显的亚铃状硅化细胞出现,且乳突个体大;不供硅处理叶片表面末见明显的硅化细胞,且乳突个体小。X-射线硅的能谱分析线,供硅处理的起伏不平,在硅化细胞和乳突处出现较高的峰,即在硅化细胞和乳突处硅的分布密度较高,使新嫩叶片组织硅呈不均匀分布;不供硅处理的硅分析线平滑,表明不供硅处理新嫩叶片组织硅呈均匀分布。可见,当供硅充足时,叶片组织早期可以进入硅质化。

2.1.2　水稻新嫩组织硅的形态分组和动态变化　水稻体内硅的形态较为复杂,有离子态硅酸盐,胶态硅酸和无定形的二氧化硅,近几年研究发现作物体内的硅还存在有机态[9]。为便于阐明水稻组织硅质化的问题,以及非水溶性硅具有阻碍病虫入侵的作用[1,4,6],将水稻体内的硅分为水溶性(可溶性)和非水溶性(难溶性)两部分。试验结果表明(图 2,表 1),供硅处理(供 N_2 水平)叶片早在半出时全硅(SiO_2)含量已达 5.45%,难溶性硅(SiO_2)含量为 5.15%,即难溶性硅占 94.50%;穗刚抽出时全硅含量为 3.04%,难溶性硅含量为 2.84%,即难溶性硅占 93.42%。而不供硅处理叶片半出时全硅(SiO_2)含量仅 1.20%,难溶性硅(SiO_2)含量为 0.94%,即难溶性硅仅占 78.33%;刚抽出穗全硅含量仅为 0.85%,难溶性硅含量为 0.66%,即难溶性硅占 77.65%。供硅比不供硅处理半出叶片和刚抽出穗全硅含量

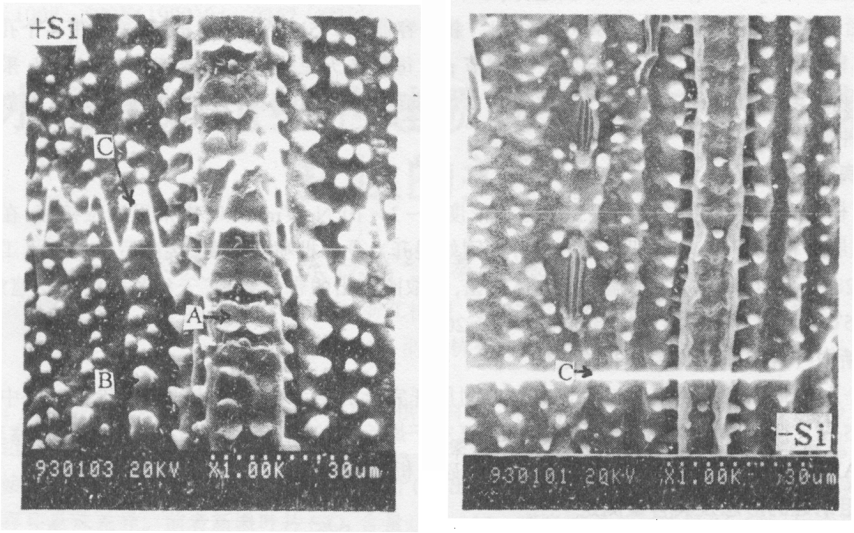

图 1 供硅与否水稻刚展开叶片表面结构和硅的 X-射线能谱扫描

Fig.1 The surface structure of newly emerging rice leaves and its silicon analytical line of X-ray

A:硅化细胞 siliceous cell B:乳突 papilla C:硅能谱分析线 silicon analytical line

分别高3.5和3.6倍;难溶性硅含量分别高4.5倍和4.3倍。随着叶片展出后时间的延长,供硅处理叶片组织含硅量不断增加,而不供硅处理叶片反而下降。当叶片展开后12天,供硅处理叶片全硅(SiO_2)含量高达13.22%,难溶性硅(SiO_2)含量12.91%;不供硅处理叶片全硅(SiO_2)含量为0.54%,难溶性硅(SiO_2)含量0.24%,两者全硅和难溶性硅含量相差分别高达24.5倍和54.0倍。从图2还知,不论供硅与否,叶片和穗组织可溶性硅含量始终维持在0.3%以下。可见,水稻体内可溶性硅含量似乎存在一个阈值,当浓度超过这一值后,可溶性硅会自行凝聚,并进而脱水形成难溶性硅。供硅处理使水稻新出组织就积累了大量的硅,并不断地转化为难溶性硅,使难溶性硅含量占全硅比例在95%以上。

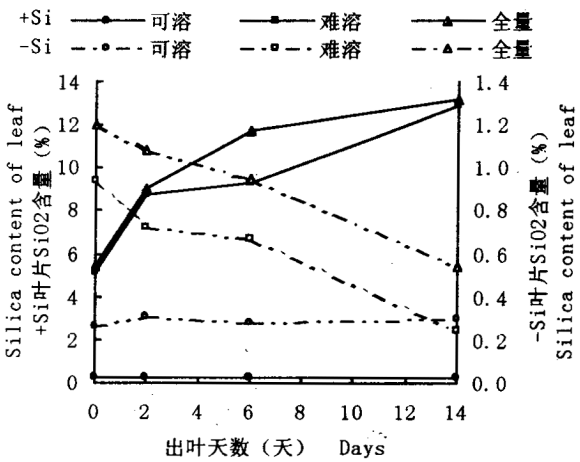

图 2 供硅与否水稻叶片组织可溶性硅和难溶性硅含量动态变化

Fig.2 The dynamic change of soluble and non-soluble silica contents of rice leaves with and without silicon

总之,水稻组织的硅质化作用早在新组织展出前已经开始,供硅处理新嫩组织硅质化程

表 1　供硅与否水稻穗颈及枝梗可溶性硅和难溶性硅含量的动态变化

Table 1　The dynamic change of soluble and non-soluble silica content of rice panicle with and without silicon

处　理 Treatment		可溶性 SiO_2 Soluble silica(%)	难溶性 SiO_2 Non-soluble silica(%)	全 SiO_2 Tot. silica(%)
N_2 - Si	0 天	0.19	0.66	0.85
	7 天	0.22	1.41	1.63
N_2 + Si	0 天	0.24	2.84	3.04
	7 天	0.27	2.93	3.18

0:表示稻穗刚抽出, initial heading　7:表示稻穗抽出后 7 天, 7d after heading

度较高,并随组织展出时间延长而不断增强;不供硅处理新嫩组织硅质化程度较低,这与病理学上指出的最容易感病时期(展叶和抽穗后 1～2 天)相吻合。这点似乎有力地说明了水稻新嫩组织硅质化状况与稻瘟病之间的关系。

2.1.3　氮对水稻新嫩组织硅质化的影响　水稻组织硅质化作用可以用全硅含量表示。试验测定了 3 个供氮水平下,供硅处理水稻叶片展开前后和稻穗抽出后组织硅含量。由图 3 可知,供氮对未展开叶片硅的积累影响不大,但对展开完全的叶片有较大的抑制。当供氮水平由 N_1 增加到 N_2 和 N_3 时,展开 4 天的叶片硅含量分别由 14.79% 减少到 11.70% 和 9.58%;到第 14 天一直维持这一差异。与叶片不同,供氮对穗颈及枝梗硅积累的影响是早在穗抽出前就已开始(图 4)。当供氮水平由 N_1 增加到 N_2 和 N_3 时,刚抽出的穗颈及枝梗硅含量由 5.78% 减少到 3.04% 和 1.87%,此后也始终保持这一差异。由此可见,水稻新嫩组织硅质化与供氮有着密切的关系。供氮能使新嫩组织硅质化程度下降,但穗颈和枝梗比叶片下降时间更早,下降幅度更大。表明在缺硅时穗颈和枝梗感染稻瘟病比叶片可能更容易。

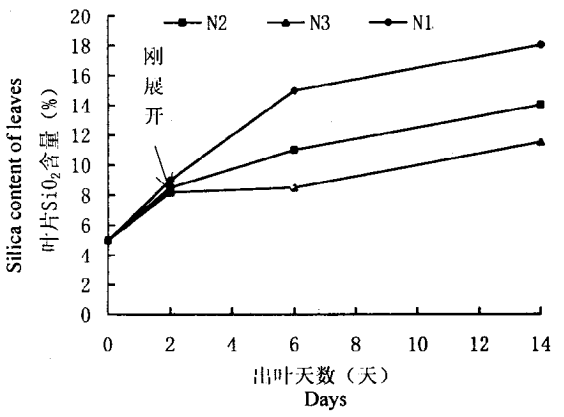

图 3　氮对供硅处理水稻叶片硅含量动态的影响

Fig.3　The influence of nitrogen on silica content of rice leaves under silicon treatment

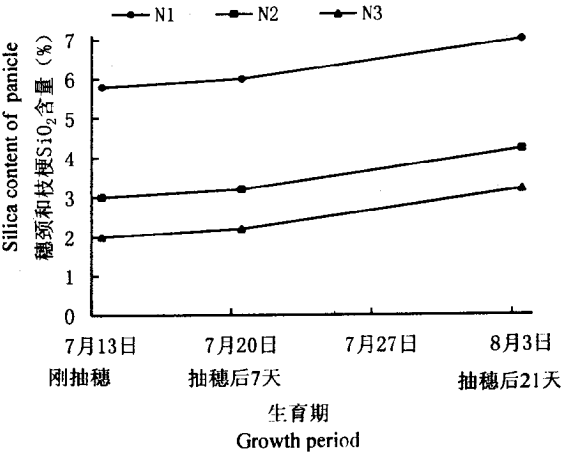

图 4　氮对供硅处理水稻穗颈及枝梗硅含量动态的影响

Fig.4　The influence of nitrogen on silica content of rice panicle under silicon treatment

2.2 水稻新嫩组织硅质化与稻瘟病抗性的关系

2.2.1 叶瘟 在稻瘟病菌二次喷雾接种中,叶瘟只发生在刚展开的叶片上,其他叶片不论供硅处理与否都不出现病斑。感病叶片中,供硅3个N水平病斑数每100cm^{2}仅为0~6.3个,而不供硅处理叶片为12.3~16.3个,即供硅比不供硅处理叶片病斑数减少了61.5%~100%(表2)。相关分析表明,水稻叶片病斑数与植株SiO_2含量的相关系数r=-0.9495**,与植株N含量相关系数r=-0.2973。证明了稻瘟病最易感染时期是新叶展开的最初几天,过了这一时期(本试验为展开4天后)即不再感染。供硅使新嫩叶片组织硅质化,有效地阻碍病菌侵入,使叶瘟发生显著降低。植株N含量与叶瘟发生的相关性较低,这与前述供氮对刚展开叶片硅质化作用影响不大的结果一致。证实了新嫩组织硅质化与稻瘟病抗性的直接关系。

表2 供硅与否水稻叶片感稻瘟病斑数比较(个/100cm^2)

Table 2 The compartison of infection spot of leaves with and without silicon

处理 Treat.	植株养分量(%) Nutr. content		第六叶位片病斑数 Infection spots of the 6th leaf		第七叶位片病斑数 Infection spots of the 7th leaf	
	SiO_2	N	Ⅰ	Ⅱ	Ⅰ	Ⅱ
N_1-Si	1.07	2.61	13.0	0	0	12.5
N_1+Si	14.23	2.23	0	0	0	1.5
N_2-Si	0.39	3.61	15.5	0	0	14.1
N_2+Si	9.10	3.08	4.4	0	0	0
N_3-Si	0.29	4.87	16.3	0	0	12.4
N_3+Si	7.63	4.55	0.3	0	0	4.3

Ⅰ:接菌时第六叶位刚展开,Inoculating at the 6th leaf spreading; Ⅱ:接菌时第七叶位叶刚展开,其时第六叶位叶已展开4天,Inoculating at the 7th leaf spreading, and 4 days after spreading of 6th leaf。

2.2.2 穗瘟 经切取刚破口的稻穗(带穗颈离体)接种稻瘟病菌,结果表明(表3),供硅处理离体稻穗穗颈瘟发病指数有不同程度下降。与不供硅处理比较,3个供N水平分别降低了5.0%(N_1)、31.4%(N_2)和13.6%(N_3)。在同一供N水平下,供硅使抽穗期植株SiO_2含

表3 供硅与否水稻离体接菌稻穗穗瘟发生情况

Table 3 The blast infection of inoculating ritro panicle of rice with and without silicon

处理 Treat ment	抽穗期养分含量(%) Nutrient content at heading		穗瘟病情指数(%) Disease index
	SiO_2	N	
N_1-Si	13.86	1.64	64.8
+Si	0.65	1.15	61.5
N_2-Si	6.64	2.50	82.0
+Si	0.45	2.00	56.3
N_3-Si	6.08	3.18	81.8
+Si	0.42	2.93	70.2

量增加较大的同时,植株 N 含量略有减少。离体稻穗穗颈瘟病情指数与抽穗期植株 SiO_2 含量相关系数 r= −0.6804,与植株 N 含量相关系数 r=0.6816。可见,离体稻穗穗瘟的发生,不仅与供硅有无有关,而且与供氮水平也存在着较密切的关系。

3 讨论

硅与水稻抗病性的关系前人已作了大量的研究,并作了肯定的回答,但其证据大多基于对已经发病水稻进行观察分析[1,3,4]。然而,植物病理学研究指出(本文也验证,见表 2),稻瘟病发生表现出很强的时间性。一般稻瘟病菌主要入侵新叶展开和稻穗刚抽出的初期,过后组织老化,病菌不易侵入。这就需要弄清楚在稻病菌最容易入侵的关键时刻,水稻组织硅质化是否已经发生。本研究表明(图 1,2 和表 1),水稻新展开的叶片和刚抽出的稻穗已发生硅质化,并随着展出时间延长,组织硅质化程度不断增强。如供硅处理组织中硅的含量,叶片早在半出时就有 5.45%,刚完全展开时高达 9.07%,稻穗刚抽出时已达 3.04%,且新出组织中硅已固体化,半出叶片和刚抽出稻穗难溶性硅占全硅量分别为 94.50% 和 93.42%。但不供硅处理叶片硅(SiO_2)含量,半出时仅为 1.20%,到完全展开时反而减少为 1.08%(叶片生长的稀释效应所致),不供硅处理刚抽出稻穗硅(SiO_2)含量更低,仅为 0.85%。从电子探针分析也可知,供硅处理新嫩叶片表皮已有明显哑铃状硅化细胞出现,乳突粗大,X-射线硅的能谱分析线在硅化细胞和乳突处出现较高的峰,表示该处硅分布密度较高,即固体化;而不供硅处理则相反,新嫩叶片表皮未见明显硅化细胞,X-射线硅的能谱分析线为无曲折变化的平滑直线。所以,无论从组织的表皮结构,还是从组织中硅的含量及形态等方面,在硅供应充足条件下,水稻新嫩组织都表现出较高程度的硅质化作用,即新嫩组织已经硅质化。同时研究发现(图 3,4)水稻新嫩组织硅质化作用受供氮水平增加而减弱,叶片表现在展开以后,稻穗则在抽出前就有较大的影响。这为生产上施用硅肥(或者降低供氮)对缓解穗瘟的发生比叶瘟更为有效,提供了证据。

研究还发现(图 2,表 1),不论试验培养液中供硅与否或者水稻体内硅含量的高低,水稻体内可溶性硅(SiO_2)含量基本维持在 0.3% 上下,而难溶性硅含量随着体内硅含量增加而不断增加。据此似乎可以判断,当水稻体内的可溶性硅浓度达到这一数值时,就会自行凝聚,进而脱水老化,形成难溶性硅。所以,0.3% 有可能是稻体组织内可溶性硅转变为难溶性硅的一个阈值。

参 考 文 献

[1] 秦遂初.硅肥对水稻抗病增产效果的研究[J].浙江农业科学,1979, 5:12～15.

[2] 水茂兴,杜新法等.高效硅肥对水稻抗稻瘟病效果分析[J].浙江农业学报,1995, 7(4):289～292.

[3] Raid RN, Jones DB and Snyder GH. Effect of nitrogen and silicon on blast and brown spot [J]. Plant Disease, 1987, 32: 42.

[4] Okuda A *et al*. The role of silicon [A]. *In*: The mineral nutrition of the rice plant [C]. IRRI, 1964, 123～146.

[5] Nanda HP, Gangopadhyay S. Role of silicated cells in rice leaf on brown spot disease [J]. Int. J. Trop. Plant Disease, 1984, 2:89～98.

[6] Shoichi Yoshida *et al*. Histochemistry of silicon in rice plant [J]. Soil Sci. Plant Nutr., 1962, 8(1):30～41.

[7] 山崎义人著,凌忠吉译.稻瘟病与抗病育种[M].北京:科技出版社,1990,330～349.

[8] Volk J, Kahn RP and Weintraub RL. Silicaon content of the rice plant as a factor influencing its resistance to infection by the rice blast fungus(*piricularia oryzae*) [J]. Phytophathlolgy, 1958, 48:179～184.

[9] Marshner H. Mineral nutrition of higher Plants [M]. OXFORD-IBH, 1986, 269～342.

THE SILICIFICATION OF YOUNG TISSUES OF RICE AND RELATIONSHIP WITH ITS RESISTANCE TO BLAST OF RICE

SHUI Mao-xing[1], CHEN De-fu[2], QIN Sui-chu[1], JIANG Shi-hong[1]

(1. *Dept. of Soil Sci. And Agrochem.*, *Zhejiang Agric. Univ.*, *Hangzhou* 310029; 2. *Inst. of Soil and Fertilizer*, *Zhejiang AAS*, *Hangzhou* 310021)

Abstract: The differences of silica content, distribution and forms of young tissues of rice with and without silicon application, and the effect of silicification of rice tissues on resistance to blast of rice were conducted by solution culture. The results showed that, 1) Silicification of young tissues of rice were occurred and the difference of silica content and surface structure of young tissues with and without silica were significantly; 2) The silica content of young leaf was 5.45% when the silica supplied to rice and only 1.20% without silica. The siliceous cells and big papillae in young leaf were appeared, and the non-soluble silica content was more than 95% of the total silica content; 3) With the rice growing, the silicification of tissues increased gradually with silicon treatment and gradually reduced without silicon, so the difference of resistance to blast of rice was significantly with and without silicon; 4) Regardless of supplied silicon or not, the soluble silica content of rice was kept in 0.3%, that indicated it may be a value on translocation from soluble silica to non-soluble silica.

Key words: young tissue; silicification; blast of rice; resistance