

复合微生物药肥对水稻秧苗几种抗逆酶活性的影响

张立峰¹, 程 茁², 丁 伟^{1*}

(1. 东北农业大学农学院植保系, 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030)

摘 要:针对水稻旱育秧田化学壮秧剂长期大量施用造成的环境污染问题, 本文采用田间试验的方法, 把几种功能微生物菌与矿质营养复配成复合微生物药肥并用于水稻育秧, 研究水稻幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性及脯氨酸(Pro)和丙二醛(MDA)含量的变化。结果表明: 复合微生物药肥施用后水稻幼苗叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶活性和脯氨酸含量均显著增高, 丙二醛含量显著降低, 秧苗抗逆酶活性增加是复合微生物药肥提高水稻幼苗抗逆性的一个重要原因。

关键词:水稻; 复合微生物药肥; 抗逆酶

中图分类号: S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)04-0049-04

Effect of Compound Microbial Bacterial Manure on Several Kinds of Active Enzyme Activity of Rice Seedlings

ZHANG Lifeng¹, CHENG Zhuo², DING Wei^{1*}

(1. Department of Plant Protection, College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030;

2. Collage of Resource and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: A large amount of the chemical agent for seedling strengthening applied for a long time had caused a serious environmental pollution in arid rice nursery fields. In this paper, using the method of field experiment, several functional microbial bacteria were mixed with mineral nutrition to make a compound microorganism bacterium agent, and it was applied to the rice seedlings. The activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), phenylalanine ammonialyase (PAL), the content variation of proline (Pro) and malondialdehyde (MDA) during the rice seedling stage were determined. The results showed that the activity of SOD, POD, PAL and the content of proline increased significantly, and MDA content decreased obviously. The enhance of seedling stress resistant enzyme is one important reason of the compound microbial fertilizer to raise stress resistance of rice seedlings.

Key words: Rice; Compound microbial fertilizer; Stress resistant enzyme

水稻育秧大量应用的化学壮秧剂是由矿质元素、工业浓硫酸和化学农药复配而成, 工业浓硫酸和化学农药不仅在生产壮秧剂过程存在危险性, 还会在应用过程中造成对水资源和土壤的严重污染^[1]。随着人们环保意识及食品安全要求的提高, 高效、无污染的生物防治手段研发成为我国农业科研与应用的热点^[2-3]。水稻复合微生物药肥是采用现代发酵技术, 并根据植物营养生理学和土壤生态学原理, 将微生物与矿质营养进行

复配而成的一种高效生物肥料, 具有肥效高、提高矿质营养利用率、抗病害、改良土壤、不污染环境、投入成本低且易施用等优点^[4-6]。目前国内外对水稻苗期施用复合微生物药肥研究相对较少, 本研究探讨了复合微生物药肥对水稻幼苗几种抗逆相关酶超氧化物歧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶活性及脯氨酸和丙二醛含量的影响, 为水稻复合微生物药肥培育壮苗及其在生产中的应用提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与试验设计

供试水稻品种为东农 425, 复合微生物药肥由 NEB 复合微生物菌、有机质载体与化学肥料复

收稿日期: 2016-03-10

基金项目: 黑龙江省科技攻关项目(GC12B103)

作者简介: 张立峰(1989-), 女, 在读硕士, 主要从事农药生态安全研究。

通讯作者: 丁 伟, 男, 博士, 教授, E-mail: dingwei@neau.edu.cn

合而成。NEB复合生物菌是由蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、放线菌(*Actinomycete*)、产酸菌组成,其配比为1:1:1:1,NEB复合菌菌体数为 10^6 cfu/mL,各菌种均由东北农业大学农药教研室提供,化学壮秧剂为黑龙江省五常扬阳苗施壮秧剂,折合N+P+K 93.75 g/m²,2.5 g/m²敌克松。

试验于2013~2015年在东北农业大学校内试验田大棚内进行,4月10日~4月18日播种。田间试验设5个处理(见表1),水稻苗床小区面积为5 m²,3次重复。田间试验采用机插盘育秧,秧盘规格为30 cm×60 cm,播种前分别把供试的NEB复合生物菌、有机质及化学肥料复配成复合微生物药肥,按设计用量与过筛旱田土混合均匀,每盘装3.00 kg并浇透底水,每盘播种催芽种子125.00 g后,再用上述混合土壤1.00 kg均匀覆盖。

表1 试验处理及药肥用量

处理	菌肥种类	用量
1	复合微生物药肥+复合微生物菌	187.50 g/m ² +20 mL/m ²
2	复合微生物药肥	187.5 g/m ²
3	有机质	156.25 g/m ²
4	化学壮秧剂	187.5 g/m ²
5	N+P+K	93.75 g/m ²

注:NEB复合微生物药肥、化学壮秧剂和有机质用量中均含有N+P+K 93.75 g/m²

水稻于4月26日出苗,在出苗7 d时对处理1进行NEB叶面喷施,采用喷壶喷施,浓度为 10^6 cfu/mL。在水稻破土出苗后的14 d、21 d、28 d,取水稻幼苗完全伸展叶片测定抗逆指标,包括SOD、POD、PAL、Pro、MDA。

1.2 测定指标及方法

SOD活性测定采用邹琦^[7]的方法,POD活性测定采用愈创木酚法^[8],PAL活性测定采用Koukol的方法^[9],Pro测定采用磺基水杨酸法^[10],MDA测定采用硫代巴比妥酸比色法^[10]。

1.3 数据处理方法

采用Excel软件进行原始数据处理,应用DPS v 10.15软件对数据平均值进行 $P < 0.05$ 水平差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 复合微生物药肥对水稻幼苗超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

在出苗14 d,复合微生物药肥与化学壮秧剂

处理的叶片SOD活性无显著差异,较有机质、化肥处理分别高了26.24%、33.92%。在出苗21 d,复合微生物药肥处理的叶片SOD活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高55.51%、13.14%、50.84%。在出苗28 d,复合微生物药肥处理的叶片SOD活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高89.82%、14.36%、91.82%。在从14 d至28 d,复合微生物药肥+NEB和复合微生物药肥处理的叶片SOD活性无显著差异,各个处理叶片SOD活性呈下降趋势(图1)。以上说明复合微生物药肥能显著提高水稻幼苗叶片SOD活性,效果优于其他处理。

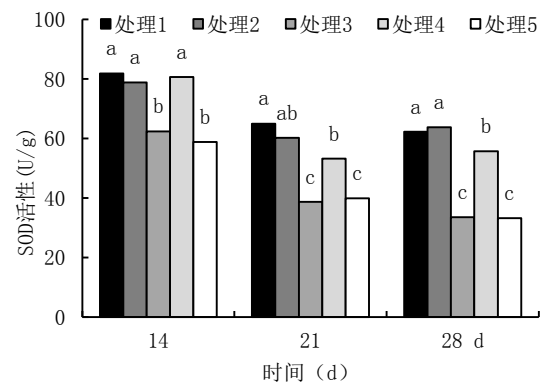


图1 对水稻苗期SOD活性的影响

2.2 复合微生物药肥对水稻幼苗过氧化物酶(POD)活性的影响

在出苗14 d,复合微生物药肥处理的叶片POD活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高117.0%、15.58%、102.2%。在出苗21 d,复合微生物药肥处理的叶片POD活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高了128.5%、11.61%、113.3%。在出苗28 d,复合微生物药肥处理的叶片POD活性显著高于有机质、化

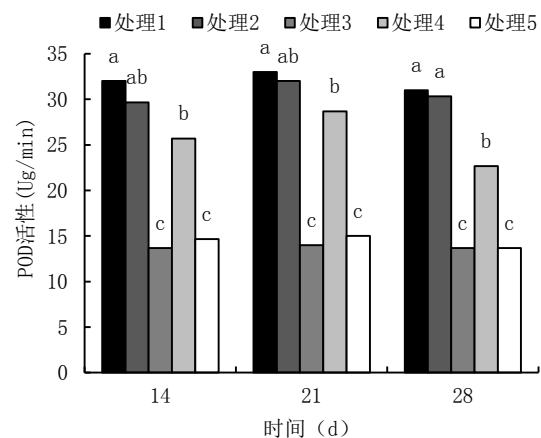


图2 对水稻苗期POD活性的影响

学壮秧剂、化肥处理,分别高 121.9%、33.79%、121.9%。在从 14 d 至 28 d,复合微生物药肥+NEB 和复合微生物药肥处理的叶片 POD 活性无显著差异(图 2)。从整体趋势看,经复合微生物药肥处理后,水稻幼苗 POD 活性明显提高,效果优于化学壮秧剂。

2.3 复合微生物药肥对水稻幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

在出苗 14 d,复合微生物药肥处理的叶片 PAL 活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高 31.07%、7.68%、34.92%。在出苗 21 d,复合微生物药肥处理的叶片 PAL 活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高 35.02%、9.15%、34.47%。在出苗 28 d,复合微生物药肥处理的叶片 PAL 活性显著高于有机质、化学壮秧剂、化肥处理,分别高 27.12%、7.84%、25.31%。从 14 d 至 28 d,复合微生物药肥处理的叶片 PAL 活性呈现先增后降趋势;复合微生物药肥+NEB 和复合微生物药肥处理的叶片 PAL 活性无显著差异(图 3)。以上证实,复合微生物药肥对水稻幼苗 PAL 活性的诱导效果优于化学壮秧剂。

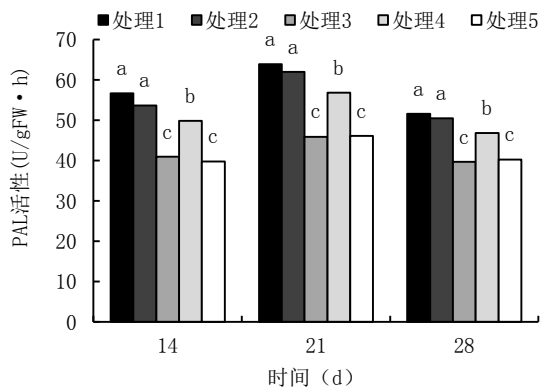


图3 对水稻苗期 PAL 活性的影响

2.4 复合微生物药肥对水稻幼苗脯氨酸(Pro)含量的影响

在出苗 14 d,复合微生物药肥和化学壮秧剂处理的叶片 Pro 含量无显著差异,且高于有机质处理、化肥处理,分别高 8.72%、10.31%(图 4)。从 14 d 至 28 d,复合微生物药肥处理的叶片 Pro 含量变化幅度不大;复合微生物药肥+NEB 和复合微生物药肥处理的叶片 Pro 含量无显著差异。说明经复合微生物药肥处理后,水稻幼苗 Pro 含量明显增加,效果与化学壮秧剂相似。

2.5 复合微生物药肥对水稻幼苗丙二醛(MDA)含量的影响

在 14 d 至 28 d 复合微生物药肥和化学壮秧剂

处理的叶片 MDA 含量无显著差异,复合微生物药肥处理显著低于有机质处理、化肥处理,分别低 15.89%、18.93%。从 14 d 至 28 d,NEB 复合微生物药肥处理的叶片 MDA 含量变化幅度不大;复合微生物药肥+NEB 和复合微生物药肥处理的叶片 MDA 含量无显著差异(图 5)。整体看,复合微生物药肥能显著降低水稻幼苗 MDA 含量,效果与化学壮秧剂相似。

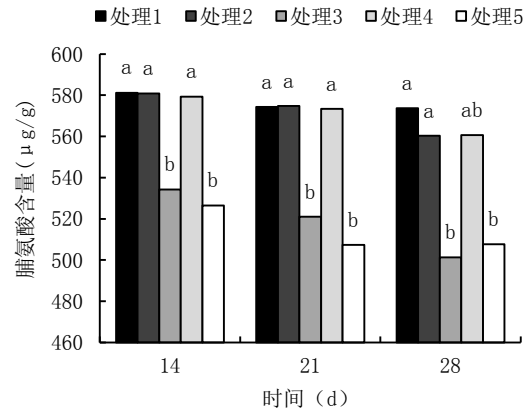


图4 对水稻苗期 Pro 含量的影响

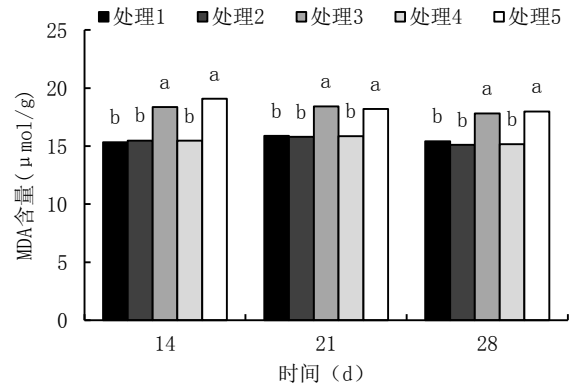


图5 对水稻苗期 MDA 含量的影响

3 讨论与结论

水稻立枯病是北方寒地旱育水稻最严重的病害^[11]。SOD、POD 是生物体内清除超氧自由基的首要物质,并参与木质素的合成,其活性的升高可减少逆境对膜结构的伤害^[12-14]。PAL 可以参与植物抗病次生物质的合成与积累,在植物抗病中起重要作用^[15]。SOD、POD 和 PAL 活性与抗立枯病能力呈现显著正相关性^[16-17]。相关研究表明,新型真菌激活蛋白能够诱导 SOD、POD 活性,使水稻对稻瘟病、白叶枯病产生抗性^[18]。Pro 是一种保持原生质与外界环境渗透平衡的渗透调节蛋白,植物通过积累 Pro 来抵抗胁迫环境^[19-21]。在植物

体内,氧自由基与脂质发生过氧化反应形成脂质过氧化产物MDA,损害细胞膜^[22-23]。水稻抗性增强与MDA积累减少,SOD、POD等活性提高有关^[24-25]。黄世文等将抗纹枯病水稻品种接纹枯病菌后,MDA含量显著低于其他非抗性对照组^[26]。枯草芽孢杆菌、蜡质芽孢杆菌和放线菌能够诱导植物体防御酶系统,提高水稻抗病性^[27-30]。隋丽等发现放线菌769对水稻稻瘟病菌有很好拮抗效果^[31-32]。相关研究表明,NEB复合微生物药肥对水稻旱育秧田秧苗立枯病具有明显防治效果^[33]。

本研究中复合微生物药肥由枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、放线菌(*Actinomycete*)和产酸菌复配而成。施用复合微生物药肥能够增强水稻幼苗SOD、POD、PAL活性和Pro含量,且均高于或相似于化学壮秧剂,明显高于仅施用化肥和有机质,并抑制MDA合成且效果相似于化学壮秧剂,因此NEB复合微生物药肥可以通过诱导防御酶提高水稻幼苗抗逆性。相关报道,水稻幼苗体内具有加速PAL降解的内源物质^[34],本研究中水稻幼苗的PAL活性呈现先增后降,与其一致。本文经连续3年研究认为,复合微生物药肥应用水稻寒地旱育苗生产,能够提高幼苗抗逆能力,其效果整体优于化学壮秧剂。

参考文献:

- [1] 我国化肥面临的突出问题及建议[J]. 科学导报, 1997(9): 35-36.
- [2] 邱德文. 生物农药研究进展与未来展望[J]. 植物保护, 2013, 39(5): 81-89.
- [3] 邱德文. 生物农药与生物防治发展战略浅谈[J]. 中国农业科技导报, 2011, 13(5): 88-92.
- [4] 叶荣华, 涂晓嵘, 阮彩彪, 等. 多功能微生物复合菌肥在晚稻上的应用研究[J]. 江西农业学报, 2010, 22(11): 109-111.
- [5] 曹杰, 沙元刚, 王怀新, 等. 复合微生物菌肥生产技术研究[J]. 化肥工业, 2013, 40(5): 13-15.
- [6] 张洪胜, 杨述. 复合微生物肥的主要功效与作用机理[J]. 烟台果树, 2014(3): 1-2.
- [7] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 108.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 23-24.
- [9] J Koukol, E E Conn. The metabolism of aromatic in high plant. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Herdecum vulgare*[J]. Journal of Biology and Chemistry, 1961, 236(10): 2692-2698.
- [10] 郝再彬. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 104-108.
- [11] 徐金龙. 寒地水稻立枯病发生的原因及防治措施[J]. 农业开发与装备, 2015(3): 103.
- [12] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 66-67.
- [13] 张玉秀, 柴团耀, Burkard G. 植物耐重金属机理研究进展[J]. 植物学报, 1999, 41(5): 453-457.
- [14] Jiang Q, Dong L, Ning Z Y, et al. Establishment of cell clones in *Thesium chinense* Turcz and its in vitro rooting technique[J]. Agriculture Science & Technology, 2008, 9(5): 47-49, 62.
- [15] P Vidhyasekaran. In Physiology of Disease Resistance in Plants in Plants Vo.II[M]. Florida: CRC Press Inc, 1988: 83-104.
- [16] 于虹漫, 黄红苹. 育苗调剂剂防治水稻立枯病机理的研究[J]. 种子, 2004, 23(1): 27-30.
- [17] 李敏, 杨谦. 哈茨木霉与多菌灵复合使用对水稻苗期立枯病的防治[J]. 浙江大学学报, 2009, 35(1): 65-70.
- [18] 袁肖寒, 顾成波. 新型真菌源激活蛋白诱导水稻抗病性及其生理机制[J]. 植物研究, 2013, 33(2): 220-224.
- [19] Iyer S, Caplan A. Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes in rice[J]. Plant Physiology, 1998, 116(1): 203-211.
- [20] 齐健, 宋凤斌, 刘胜群. 苗期玉米根叶对于旱胁迫的生理响应[J]. 生态环境, 2006, 15(6): 1264-1268.
- [21] 朱虹, 祖元刚, 王文杰, 等. 逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(4): 86-89.
- [22] Mohammad P. Handbook of plant and crop stress[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1994: 231-270.
- [23] 蒋靓, 庄杰云, 樊叶杨, 等. 与水稻耐逆性相关的叶片丙二醛含量的QTL分析[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(4): 436-438.
- [24] 刘西莉, 李健强, 刘鹏飞, 等. 浸种专用型水稻种衣剂对水稻秧苗生长及抗病性相关酶活性的影响[J]. 农药学报, 2002, 2(2): 41-46.
- [25] 叶利民. 硅对盐胁迫下水稻幼苗保护酶活性和离子吸收的影响[J]. 吉林农业科学, 2012(3): 22-24.
- [26] 黄世文, 王玲, 王全永, 等. 纹枯病菌对不同水稻品种叶片中抗病性相关酶活性的影响[J]. 中国水稻科学, 2008, 22(2): 219-222.
- [27] 李德全, 陈志谊, 聂亚锋. 生防菌Bs-916及高效突变菌株抗菌物质及其对水稻抗性诱导作用的研究[J]. 植物病理学报, 2008, 38(2): 192-198.
- [28] Baker K F. Evolving concepts of biological control of plant pathogens[J]. Ann. Rev. phytopathol, 1987, 25(4): 67-85.
- [29] 陈刘军, 俞仪阳, 王超, 等. 蜡质芽孢杆菌AR156防治水稻纹枯病机理初探[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1): 107-112.
- [30] 贾雨, 贾丽苑, 黄建新. 放线菌对植物病害的防治作用及应用[J]. 西安文理学院学报, 2012, 15(3): 7-10.
- [31] 隋丽, 徐文静, 杜茜, 等. 放线菌769防治水稻稻瘟病的发酵条件研究[J]. 吉林农业科学, 2010(4): 36-40.
- [32] 隋丽. 放线菌769对水稻抗稻瘟病的诱导抗性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [33] 程苗, 丁伟, 王怀彪. 复合微生物对水稻立枯病抑菌作用及田间应用效果研究[J]. 东北农业大学学报, 2015, 46(7): 22-27.
- [34] Edith L Camm, G H Neil Towers. Phenylalanine ammonia lyase[J]. phytochem, 1973, 12(5): 961-973.

(责任编辑:王昱)