

AMF 诱导玉米纹枯病抗性的生理机制研究

任 祺^{1,2}, 张永福^{1,2}, 夏体渊^{1,2}, 余 磊^{1,2}, 韩 丽^{1,2}, 陈泽斌^{1,2}

(1. 昆明学院 农学院, 云南, 昆明 650214; 2. 云南省高校都市型现代农业工程研究中心, 云南, 昆明 650214)

摘要:为了探究 AMF 诱导玉米纹枯病抗性的生理机理, 以玉米云瑞 47 为对象, 通过盆栽试验研究了预先接种摩西球囊霉对玉米纹枯病抗性的影响, 并揭示了其提高玉米抗病性的生理机制。结果表明: 接种 AMF 能降低玉米纹枯病的病情指数; 与对照相比, AMF 能不同程度地提高玉米根系防御酶(POD、SOD、CAT、几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶)的活性, 在个别时期个别指标差异显著; 菌根化的玉米植株根系在受到病原菌侵染时, 亦能通过提高 5 种防御酶活性来增强抗性; 同时, 当纹枯病病原菌侵染后, 玉米 AMF 侵染率及菌丝酶活性明显下降, 说明两者之间存在一定的竞争关系。因此, AMF 诱导玉米纹枯病的抗性与其根系的防御酶活性密切相关。

关键词:摩西球囊霉; 生理机制; 防御酶; 纹枯病抗性

中图分类号:S435.131.4⁺9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)11-0052-06

玉米纹枯病是我国多个玉米产区普遍发生的土传病害, 研究发现, 引起玉米纹枯病的病原菌有立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、禾谷丝核菌(*R. cerealis*)和玉蜀黍丝核菌(*R. zeae*)3 种, 其中立枯丝核菌是最主要的病害来源^[1]。20 世纪 60 年代该病害在吉林省首次发现, 70 年代以来, 随着玉米种植面积的迅速扩大和高产栽培技术的推广, 纹枯病病情加重, 危害也日趋严重, 已成为限制玉米高产和品质的重要病害。丛枝菌根真菌(*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF)是陆地植物根内广泛存在的一类内生菌根真菌, 能与 80% 以上的植物形成共生关系, 发挥重要生态学功能^[2]。大量研究证实, AMF 与作物形成共生关系后不仅可以增加植物对矿质元素的吸收, 促进植物生长, 还能提高植物对干旱、病害、高温、低温、高盐和重金属等不良环境胁迫的抗性^[3]。因此, 利用菌根真菌诱导玉米抗性可成为解决玉米纹枯病病害潜在的方法和思路。

1968 年, Safir 首次证实接种摩西球囊霉能降低洋葱红腐病危害, 经大量实验证实, AMF 在

增强植物对土传病害的抗病、耐病能力方面有良好表现^[4-5]。许多研究表明, 接种 AMF 能有效减少大麦、花生、大豆、棉花、菜豆、洋葱、烟草、柑橘、桃、杨树、草莓、红三叶草和人参等作物由土传病原菌引起的根腐病、维管束病等的发病率或减轻病害程度^[6]。利用丛枝菌根真菌进行生物防治, 既能促进作物生长和营养吸收, 又能防病, 并且对植物的抗病性也有持续性。因此, AMF 在植物抗病性方面的应用成为农业可持续发展的理想选择。

AMF 对玉米根系形成有益的共生联合体后, 对玉米的促生作用已被证实^[7-9]。研究表明, 接种 AMF 能促进玉米生长发育, 提高玉米产量及玉米对土壤磷元素的吸收; 增强玉米对石油和盐分胁迫下的抵抗能力; 提高玉米对重金属的抗性等。在 AMF 对玉米病害影响方面, 已有研究表明预先接种摩西球囊霉能明显减轻玉米纹枯病的发病率和病情指数, 减轻病害^[10]。但目前, 尚未见 AMF 提高玉米抗病性的生理和分子机制的报道。为了深入了解 AMF 诱导玉米抗病性的机理, 以玉米品种云瑞 47 为对象, 结合前人的研究结果, 通过盆栽接种试验, 研究接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)的玉米根系在受立枯丝核菌侵染后, 根系防御相关酶活性的变化, 来揭示 AMF 诱导玉米抗性加强的生理机制, 旨在为通过生物防治的方法缓解玉米连作障碍提供新的参考。

收稿日期: 2014-06-13

基金项目: 云南省应用基础研究自筹经费资助项目(2013 FZ099); 昆明学院人才引进资助项目(YJL12002); 云南省高校都市型现代农业工程研究中心科研资助项目(DS-C201402)

第一作者简介: 任祺(1983-), 女, 陕西省澄城县人, 博士, 讲师, 从事农业生态学研究。E-mail: 10067994@qq.com。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的玉米品种为云南广泛种植的云瑞 47。接种所用的 AMF 为摩西球囊霉 (*Glomus mosseae* Nicolson & Gerdemann), 由北京市农林科学院植物营养与资源研究所王幼珊研究员提供, 经玉米扩繁后并选择高侵染率的根系应用于试验, 接种剂为含有宿主植株根段、AMF 孢子和根外菌丝体的混合物。病原菌立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) AGI-1A, 由华南农业大学资源学院周而勋老师提供, 病原菌在马铃薯培养基中 25℃ 暗培养数天, 待菌丝布满培养皿立即用于病原菌接种试验。供试土壤理化性质为: 有机质 20.73 g·kg⁻¹、碱解氮 310.67 g·kg⁻¹、速效磷 42.86 g·kg⁻¹、有效钾 267.95 g·kg⁻¹、pH 7.96。土壤过 2 mm 筛后于烘箱中 160℃ 高温灭菌 2 h, 自然冷却后继续 160℃ 烘 2 h, 备用。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于 2012 年 6 月在昆明学院农学院种植基地进行。试验设不接菌剂(CK)、在播种时接种摩西球囊霉(Gm)、玉米种植 40 d 后根系感染立枯丝核菌(Rs)、播种时接种摩西球囊霉生长 40 d 后根系感染立枯丝核菌(Gm+Rs) 4 个处理, 每个处理 4 个重复。每盆先装入 2 kg 灭菌土, 然后接菌处理覆盖 100 g 包含玉米根段的菌根菌剂, 不接菌剂处理则覆盖以不接菌剂扩繁的沙土及玉米根段混合物, 以保证微生物区系一致。每个品系选取饱满、大小一致的种子(经 10% H₂O₂ 预处理 5 min)播种, 每盆一株, 发芽后每隔 5 d 每盆浇灌 1×Hoagland 营养液 50 mL, 并按生长需要补充水分。需接种病原菌的处理在玉米出苗生长 40 d 后接种立枯丝核菌, 用灭菌后的打孔器(孔径 1.0 cm)取生长在 PDA 上的立枯丝核菌菌丝块接种到玉米苗茎基部。接种前先用消毒过的针轻轻划伤接种部位表皮, 将菌丝块贴在划伤处, 并用高压灭菌后的棉球浸透无菌水覆盖保湿, 对照接种无菌 PDA 块。接病后转移至自制搭建塑料棚内, 保持高温高湿(温度 28~35℃, 相对湿度 95% 以上), 在接种病原菌开始连续观察记录玉米发病情况, 直至第 11 天结束。

1.2.2 测定项目与方法 分别于发病前期(接病后第 1 天)、发病初期(接病后第 4 天)、发病中

期(接病后第 7 天)、病情严重期(接病后第 11 天)和发病后期(接病后第 14 天)对玉米根系取样, 进行各生理酶指标测定, 并检测接病后第 14 天的菌根侵染率及相关酶活性。

玉米纹枯病的病害分级和病情指数统计参照黄京华等分级方法^[10]; 玉米根系菌根侵染率测定参见 Phillips 等的方法^[11]; 碱性磷酸酶 ALP 活性测定采用 Tisserant 等方法进行酶活性染色^[12]; 琥珀酸脱氢酶 SDH 活性测定采用 Smith 等的方法^[13]; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)比色法测^[14]; 过氧化物酶 POD 活性测定参见愈创木酚法^[14]; 过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法测定^[14]; 几丁质酶测定参照肖拴锁等方法^[15]; β -1,3 葡聚糖酶活性测定参照余永延等方法^[16]。

1.2.3 数据统计分析 所有数据通过 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 多处理间差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较, 2 个平均数的差异显著性检验采用成组数据的 *t* 检验, 差异显著性水平均为 0.05。

2 结果与分析

2.1 病原菌侵袭对玉米菌根侵染率以及菌丝酶活性的影响

菌根侵染率是反映真菌和植物亲和力的指标, 接种 Gm 的玉米根系均被成功侵染, 而未接种 Gm 的玉米根系未被侵染。由表 1 可以看出, 与 Gm 处理对比, Gm+Rs 处理重要的菌根侵染参数有不同程度的下降, 其中 F、M 和 A 参数差异显著, 可见丛枝菌根真菌与病原菌之间存在着一定的相互竞争作用, 导致菌根侵染率降低。ALP 酶活性是判断菌根菌丝是否具备活化磷功能的重要指标, 病菌侵袭 14 d 后玉米根系 AMF 的 ALP 酶活性也表现出不同程度的降低, 其中 F 差异达到极显著, A 亦出现显著变化, 随着病原菌进入玉米根系 AMF 生长发育受阻, 菌根效应降低, 菌丝对磷的活化功能受到影响。琥珀酸脱氢酶活性是对 AMF 的活力菌丝进行检测, 病原菌对 SDH 活性的影响与 ALP 反应一致, Gm+Rs 处理的 SDH 酶活性各参数比 Gm 处理均有一定程度的降低, 其中 A 差异达到显著水平。综上, 病原菌的进入能够降低玉米根系 AMF 侵染率及菌丝酶活性, 影响具有一致性。

表 1 接种病原菌对玉米菌根侵染率水平及菌丝酶活性的影响

Table 1 Effect of pathogen inoculation on the levels of mycorrhizal colonization and hyphae enzyme activity

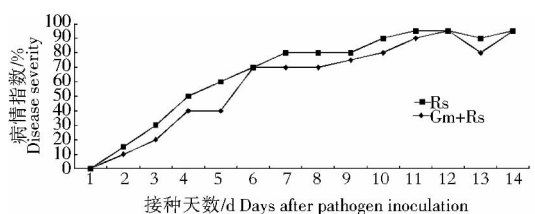
指标 Index	处理 Treatments	F/%	M/%	m/%	a/%	A/%
菌根侵染率	Gm	58.61±1.22*	13.52±1.19*	23.09±2.08	64.29±2.81	8.59±0.45*
Mycorrhizal colonization	Gm+Rs	43.04±2.45	8.10±0.25	18.91±0.68	69.25±0.81	5.60±0.14
ALP 酶活性 ALP activity	Gm	40.01±0.75**	3.88±0.50	9.71±0.65	77.22±1.99	2.79±0.12*
	Gm+Rs	33.23±1.36	2.91±0.05	8.68±0.45	75.00±1.80	2.17±0.24
SDH 酶活性 SDH activity	Gm	21.83±0.88	1.98±0.27	8.43±0.85	84.19±5.01	1.63±0.13*
	Gm+Rs	17.50±0.83	0.92±0.28	5.19±1.52	83.68±5.08	0.60±0.07

注:表中数据为平均值±标准误, ** 为 $P<0.01$, * 为 $P<0.05$ 。其中 F、M、m、a 和 A 分别代表菌根侵染频度、整个根系的菌根侵染强度、侵染根断的菌根侵染强度、侵染根断的丛枝丰度和整个根系的丛枝丰度参数。

Note: The data are means±standard error. ** mean significant difference at 0.01 level ($P<0.01$), * mean significant difference at 0.05 level ($P<0.05$). F, M, m, a and A respectively represent the parameters of frequency of infected roots, relative infection intensity within the whole root system, relative infection intensity within the infected parts, relative arbuscule formation in mycorrhizal portions and relative arbuscule formation in the whole root system.

2.2 接种 AMF 对玉米纹枯病病情的影响

试验结果表明,接种立枯丝核菌的处理所有植株都被成功侵染,发病率达到 100%。由图 1 可以看出,接种第 1 天,玉米无病情表现,从第 2 天开始两处理玉米的病情指数逐渐增加,病情越发严重。接病原菌第 2~14 天, Gm+Rs 处理的病情指数比 Rs 处理下降了 5.26~33.3 百分点。可见,预先接种 *Glomus mosseae* 能减轻玉米的纹枯病病害,增强抗性,降低病情指数。

图 1 接种 *Glomus mosseae* 对玉米纹枯病病情指数的影响Fig. 1 Effect of *Glomus mosseae* inoculation on disease index of *Rhizoctonia slani*

2.3 接种 AMF 对玉米根系防御酶活性的影响

2.3.1 AMF 对受到病原菌侵袭的玉米根系抗氧化酶活性的影响

当病原菌入侵植物体内后,引发膜脂过氧化产生大量的超氧自由基,而 SOD、POD 和 CAT 保护酶受病原菌刺激活性提高,清除细胞内的超氧自由基,保护细胞。同时,POD 还可以催化细胞壁富含羟基脯氨酸的糖蛋白发生交联作用而使细胞壁得以加强,阻挡病原菌的侵入。由表 2 可以看出,自然状态下的玉米

植株根系 POD 活性较为稳定,随接种时间推移无明显变化,而 Gm 处理的 POD 活性普遍高于 CK 处理,其中在接病后第 1、7 天差异显著,分别提高了 14.0% 和 14.8%;Rs 处理的 POD 活性随着时间推移呈现先升高再下降的趋势,从第 4 天开始大幅度升高,在第 7 天达到峰值,随后下降;接种 AMF 的处理能够明显提高受到病害的玉米(Gm+Rs)根系 POD 活性,与单受病害侵袭(Rs)的玉米对比,在第 4、7 天其根系 POD 活性分别增加了 9.8% 和 7.3%。

SOD 测定结果表明(见表 2),玉米根系在自然状态下的活性相对恒定,随时间推移无明显变化,而 Gm 处理在多个观测点都能提高根系 SOD 活性,其中在第 1、7 天差异显著,分别提高了 17.0% 和 16.5%;受立枯丝核菌侵染的玉米根系 SOD 活性变化明显,呈现先升高后下降的特点,从第 4 天开始不断升高,第 11 天达到峰值,随后下降;与 Rs 处理对比, Gm+Rs 处理普遍提高 SOD 活性,其中第 7 天差异显著,幅度达到 8.1%。

由表 2 可以看出,自然状态下玉米根系的 CAT 活性变化不大,较为稳定, Gm 处理能提高 CAT 活性,其中在第 1、14 天差异显著,分别提高了 7.9% 和 9.0%;Rs 处理的 CAT 活性变化迅速,与 CK 相比,在接种后第 1 天开始快速增加,第 4 天达到峰值,随后下降,说明病原菌侵染后 CAT 快速升高来提高防御;预先接种 Gm 的玉米

根系一旦受到病原菌侵染,亦能够诱发根系 CAT 活性普遍高于 Rs 处理,第 4、11 天差异显著,分别提高了 5.7%和 5.0%。

表 2 接种 *Glomus mosseae* 或/和 *Rhizoctonia solani* 对玉米根系抗氧化酶活性的影响

Table 2 Effect of *Glomus mosseae* or/and *Rhizoctonia solani* inoculation on antioxidant enzymes activity in roots of corn

指标 Index	处理 Treatments	第 1 天 The first day	第 4 天 The fourth day	第 7 天 The seventh day	第 11 天 The eleventh day	第 14 天 The fourteenth day
POD 活性/ $\text{U}\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$	CK	158.3±6.8 b	157.8±4.1 c	149.6±3.5 d	142.0±4.5 b	144.0±5.03 a
POD activity	Gm	180.5±5.7 a	155.3±2.0 c	171.8±4.9 c	148.6±3.9 b	140.1±3.9 a
	Rs	167.0±3.5 ab	193.3±3.8 b	243.7±4.4 b	185.7±4.2 a	142.3±3.5 a
	Gm+Rs	178.8±2.4 a	212.3±3.2 a	261.6±2.6 a	183.9±3.0 a	142.8±4.2 a
SOD 活性/ $\text{U}\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$	CK	24.7±0.7 b	24.3±1.3 c	22.4±1.0 d	23.2±0.7 b	23.4±0.9 a
SOD activity	Gm	28.9±0.7 a	25.5±1.0 bc	26.1±0.9 c	23.4±0.9 b	22.5±0.6 a
	Rs	24.2±1.0 b	28.3±0.8 ab	31.0±0.5 b	31.9±0.6 a	22.2±1.1 a
	Gm+Rs	26.1±0.6 ab	29.4±0.5 a	33.5±0.6 a	31.9±0.5 a	22.5±0.8 a
CAT 活性 / $\text{U}\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$	CK	202.8±2.8 c	204.1±2.8 c	209.4±5.0 b	204.3±4.5 c	202.1±3.8 b
CAT activity	Gm	218.9±2.1 b	211.9±3.2 c	230.2±4.7 b	206.1±2.8 c	220.3±3.3 a
	Rs	231.5±5.0 a	260.5±4.2 b	253.3±4.1 a	232.2±3.6 b	200.8±3.5 b
	Gm+Rs	233.2±5.0 a	275.4±4.1 a	253.9±4.2 a	243.7±3.7 a	211.1±2.8 ab

注:表中数据是 4 次重复的平均值,同列数据后有不同小写字母表示 $P=0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: The data mean the average of four replications. The different lowercases indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

玉米根系与 AMF 形成共生关系后,其 POD、SOD 和 CAT 活性相应提高,防御功能加强;同时,这种共生关系的建立使得玉米再受到病害侵染后可相应促进 3 种抗氧化酶活性来提高防御。

2.3.2 AMF 对受到病原菌侵袭的玉米根系的几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶的影响 在植物与真菌相互作用过程中,几丁质酶起重要作用,其与抵抗病原物的侵入扩展有关,能够水解真菌细胞壁中的几丁质,使菌丝停止生长,粗缩畸形,甚至完全消化。由表 3 可知,CK 和 Gm 处理玉米根系的几丁质酶活性随时间推移虽有一定的动态变化,但幅度不大,两处理对比,预先接种 AMF 使得酶活性普遍增加,其中在 1、7 和 11 天差异显著,分别提高了 11.2%、16.3%和 12.1%;Rs 处理根系几丁质酶活性变化迅速,从第 1 天起开始大幅度增加,第 4 天达到峰值,随后不断下降;Gm+Rs 处理与 Rs 处理变化趋势一致,两者对

比,Gm+Rs 在第 1、4 和 11 天的几丁质酶活性显著增加,幅度分别为 8.2%、10.3%和 13.5%。

β -1,3 葡聚糖酶通过催化水解 β -1,3 葡聚糖酶多聚体部分地降解真菌细胞壁,抑制真菌的生长繁殖,保护植物抵抗病原菌侵害。自然状态下玉米根系的酶活性维持在较为稳定的水平,动态变化不明显;对比 CK 处理,接种 AMF 在第 1、7 天显著增加根系 β -1,3 葡聚糖酶活性;单受到病害侵染的玉米根系,其酶活性呈现先升高再降低的趋势,从第 1 天开始迅速增加,第 7 天达到峰值,随后下降;预先接种 AMF 玉米根系在受到病害侵染时可增加 β -1,3 葡聚糖酶活性,对比 Rs 处理,Gm+Rs 处理第 1、4 和 7 天的酶活性显著提高,分别提高 5.0%、5.2%和 4.6%。

可见,预先接种 AMF 在自然状态下就能促进玉米根系几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶活性的增加,当受到病原菌侵染时亦能诱导两个防御酶的

活性提高来应对病原菌的侵染。

表 3 接种 *Glomus mosseae* 或/和 *Rhizoctonia solani* 对玉米根几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶活性的影响

Table 3 Effect of *Glomus mosseae* or/and *Rhizoctonia solani* inoculation on Chitinase and β -1,3 glucanase activity in roots of corn

指标 Index	处理 Treatments	第 1 天 The first day	第 4 天 The fourth day	第 7 天 The seventh day	第 11 天 The eleventh day	第 14 天 The fourteenth day
几丁质酶活性/ $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ Chitinase activity	CK	58.0 \pm 1.3 d	54.8 \pm 1.7 c	54.6 \pm 1.6 c	52.1 \pm 1.6 c	59.2 \pm 1.2 a
	Gm	64.5 \pm 1.7 c	56.8 \pm 2.9 c	63.5 \pm 2.6 b	58.4 \pm 1.0 b	58.5 \pm 1.3 a
	Rs	75.9 \pm 1.4 b	80.7 \pm 3.1 b	70.9 \pm 1.2 a	61.7 \pm 1.6 b	45.2 \pm 2.3 b
	Gm+Rs	82.1 \pm 1.3 a	89.0 \pm 1.6 a	74.3 \pm 1.4 a	70.0 \pm 1.0 a	44.7 \pm 2.0 b
β -1,3 葡聚糖酶活性/ $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ β -1,3 glucanase activity	CK	289.5 \pm 3.6 d	280.1 \pm 3.2 c	283.5 \pm 2.7 d	279.9 \pm 3.4 b	279.5 \pm 3.2 a
	Gm	305.0 \pm 4.6 c	289.6 \pm 3.2 c	297.9 \pm 1.8 c	289.3 \pm 4.1 b	276.0 \pm 3.7 a
	Rs	324.8 \pm 4.1 b	351.9 \pm 6.6 b	358.8 \pm 2.7 b	322.2 \pm 3.8 a	236.2 \pm 4.5 b
	Gm+Rs	340.8 \pm 2.3 a	370.1 \pm 2.6 a	375.2 \pm 5.7 a	332.3 \pm 4.6 a	242.6 \pm 2.9 b

3 结论与讨论

丛枝菌根真菌与宿主植物根系建立的互惠共生体,参与植物多种生理生化的代谢过程,在拮抗由真菌、线虫和细菌等病原体引起的土传性植物病害方面发挥重要作用,此观点在多种作物上已证实^[17]。AMF 对玉米纹枯病抗性的影响已有报道,证实了接种摩西球囊霉能明显缓解玉米纹枯病病害,但并未深入探究其作用机理。近年来,利用 AMF 开展植物病虫害生物防治已成为植物病理学家和生态学家的研究热点。对于 AMF 提高植物抗病性的认识已提出多种机理^[18],但这些机制并不具备通用性,若要准确解释 AMF 提高某种植物抗病性的机制,仍需从个例出发,深入探究现象背后涉及的机理。

普遍认为,AMF 与病原微生物的相互竞争是解释 AMF 防治病害的重要机理之一^[18]。该研究发现,立枯丝核菌侵染 14 天后,玉米根系的菌根侵染率以及 ALP 和 SDH 活性均有不同程度的降低,说明菌根菌和病原菌之间存在着一定的竞争作用。AMF 作为一种土壤根际活体营养寄生性微生物,与病原菌间存在着空间竞争关系,它们竞争相同的生态位和侵染位点。因此,病原菌的入侵必然会限制 AMF 的侵染过程,降低 AMF 的侵染率;同时,AMF 的存在又能减少土传病原菌在根表皮的初侵染和再侵染。另外,AMF 与病原微生物都是异养生物,对光合产物的竞争抑制了两者的充分生长繁殖。可推测在营养资源不充分的条件下,AMF 活化难溶解磷的功能以及菌丝活力都会受到影响,导致 AMF 的 ALP 和 SDH 活性下降。但该研究仅能初步证实两者之间存在着竞争现象。

前人研究表明,AMF 诱导植物抵御病原菌侵染与抗氧化系统密切相关^[19-21]。该研究表明,

预先接种 AMF 在自然状态下能够提高玉米根系的 POD、SOD 和 CAT 活性,再受到病原菌侵染时亦能通过增加 3 种抗氧化酶活性来抵御病原菌伤害。因此认为 AMF 对保护酶的影响可以从两方面解释:一方面,AMF 与植物形成共生关系后,能够普遍提高保护酶活性,使其含量处在较高水平,提前诱导寄主防御体系加强,做好应对不良环境的准备;另一方面,菌根化的植株在面对病原菌侵染时能产生快速防御反应,使得抗氧化酶含量增加,有效清除病原菌入侵所形成的氧化逆境,二次增强植物对病原菌的抵抗能力。AMF 诱发保护酶活性增加的双重机制,对于增强植物抗病性,缓解病原菌入侵带来的伤害具有重要意义。

几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶是植物防御途径中重要的病程相关蛋白,两种防御蛋白协同作用能充分发挥抑菌活性^[22]。该研究结果表明,菌根化玉米根系的两种水解酶活性有明显的增加,再受到立枯丝核菌侵染时能累积防御反应,增强抗病性,这与在其它植物上的报道相一致^[20],因此,AMF 诱导植物水解酶活性的增强是提高植物抗病性的重要机制。同时,可知菌根化的玉米根系在病原菌侵染的第 1 天,几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶活性大幅度提高,这两种酶含量的增强可能代表了较早的防御反应。可见,AMF 在植物初期抵御病原菌的侵入发挥着重要作用。

丛枝菌根真菌诱导植物抗病性的机理是一个关于植物组织结构和生理生化发生变化的复杂过程,涉及其改善植物营养、与病原物竞争光合产物和侵染位点、激活植物防御机制等方面。该研究主要从 AMF 对抗氧化酶和水解酶的影响来探明其诱导植物抗病性提高的机制,下一步将根据该研究结论,从分子水平上来解释 AMF 对玉米纹枯病抗性影响的机制,为 AMF 成功地应用于生物防治奠定基础。

参考文献:

- [1] 唐海涛,荣延昭,杨俊品. 玉米纹枯病研究进展[J]. 玉米科学,2013,12(1):93-96.
- [2] Chiffot V, Rivest D, Olivier A, et al. Molecular analysis of *Arbuscular mycorrhizal* community structure and spores distribution in tree-based intercropping and forest systems[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2009, 131(1-2):32-39.
- [3] 林双双,孙向伟,王晓娟,等. 我国菌根学研究进展及其应用展望[J]. 草业学报,2013,22(5):310-325.
- [4] Yao M, Tweddell R, Desilets H. Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*[J]. Mycorrhiza, 2002, 12(5):235-242.
- [5] Carlsen S C K, Understrup A, Fomsgaard I S, et al. Flavonoids in roots of white clover: interaction of *Arbuscular mycorrhizal* fungi and a pathogenic fungus[J]. Plant and Soil, 2008, 302(1):33-43.
- [6] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京:科学出版社,2007:15-20.
- [7] 贺学礼,王虹. VA 菌根对玉米幼苗生长的影响[J]. 陕西农业科学,1998(2):9-11.
- [8] 罗广宁,韦爱梅,彭中健. AM 菌对玉米的增效作用研究[J]. 广东农业科学,2004(5):50-51.
- [9] 王春丽,史衍玺,孔凡美. 石油和盐胁迫下接种 AM 真菌对玉米生长和生理的影响[J]. 农业环境科学学报,2005, 24(2):247-251.
- [10] 黄京华,曾任森,骆世明. AM 菌根真菌诱导对提高玉米纹枯病抗性的初步研究[J]. 中国生态农业学报,2006, 14(3):167-169.
- [11] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55(1):158-161.
- [12] Tisserant B, Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S, et al. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections [J]. Mycological Research, 1993, 97(2):245-250.
- [13] Smith S E, Read D J. My Mycorrhizal Symbiosis (2nd ed.) [M]. London: Academic Press, 1997:36-41.
- [14] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,1995:91-99.
- [15] 肖拴锁,王钧. 水稻中超氧诱导与稻瘟菌抗性及其苯丙氨酸解氨酶、几丁酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性诱导的关系[J]. 中国水稻科学,1997,11(2):93-102.
- [16] 余永廷,谢媛媛,黄丽丽,等. 不同碳、氮源组合对小麦全蚀病菌产生胞外 β -1,3 葡聚糖酶的影响[J]. 西北农林科技大学学报,2007,35(2):110-114.
- [17] 李海燕,刘润进,束怀瑞. 丛枝菌根真菌提高植物抗病性的作用机制[J]. 菌物系统,2001,20(3):435-439.
- [18] 罗巧玉,王晓娟,李媛媛,等. AM 真菌在植物病虫害生物防治中的作用机制[J]. 生态学报,2013, 33(19):5997-6005.
- [19] 赵菊莲. 丛枝菌根真菌诱导草莓枯萎病抗性机理研究[J]. 北方园艺,2013(17):115-117.
- [20] 宋圆圆,王瑞龙,魏晓晨. 地表球囊霉诱发番茄早疫病机理[J]. 应用生态学报,2011,22(9):2316-2324.
- [21] 湛蔚,刘洪光,唐明. 菌根真菌提高杨树溃疡病生理生化机制的研究[J]. 西北植物学报,2010,30(12):2437-2443.
- [22] 张国良,丁原,王清清,等. 硅对水稻几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶的影响及其与纹枯病的关系[J]. 植物影响与肥料学报,2010,16(3):598-604.

Study on Physiological Mechanism of Maize *Rhizoctonia solani* Resistance Induced by *Arbuscular mycorrhizal* Fungi

REN Zhen^{1,2}, ZHANG Yong-fu^{1,2}, XIA Ti-yuan^{1,2}, YU Lei^{1,2}, HAN Li^{1,2}, CHEN Ze-bin^{1,2}

(1. School of Agriculture, Kunming College, Kunming, Yunnan 650214; 2. Urban Modern Agricultural Engineering Research Center of Colleges and University in Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650214)

Abstract: In order to reveal the physiological mechanism of *Rhizoctonia solani* resistance induced by AMF, taking maize variety Yunrui 47 as material, the effect of inoculating *Glomus mosseae* on the resistance of maize was studied in pot experiment, and the physiological mechanism was revealed. The results showed that the pre-inoculating AMF could decrease the disease index of maize. Compared with CK, the activity of five defensive enzymes (CAT, POD, SOD, chitinase and β -1,3 glucanase) of maize roots were improved variously by AMF. A single index showed significant difference in certain period. AMF colonized maize roots and also improved resistance to pathogens invasion by improving activity of the five defensive enzymes. Meanwhile, mycorrhizal colonization and AMF hyphae enzymes activity decreased obviously after pathogens invasion, that indicated certain competition relationship existed between them. Therefore, AMF induced resistance was related to defensive enzymes activity.

Key words: *Glomus mosseae*; physiological mechanism; defensive enzyme; resistance to *Rhizoctonia solani*