

刘芳洁. 菌根真菌提高紫苏根腐病抗性的机制研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(11): 78–81.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.11.019

菌根真菌提高紫苏根腐病抗性的机制研究

刘芳洁

(晋中职业技术学院, 山西晋中 030600)

摘要:以紫苏品种奇苏 1 号为试验材料, 分析了接种丛枝菌根真菌(AMF)和外生菌根真菌(ECMA)对紫苏幼苗根腐病抗性的影响并对其抗病机制进行了初步研究。结果表明, 接种 AMF 和 ECMA 的紫苏幼苗根腐病防治效果分别达到 76.82% 和 57.25%; 接种菌根真菌可显著提升根腐病病菌侵染的紫苏根系的 SOD(超氧化物歧化酶)、POD(过氧化物酶)、CAT(过氧化氢酶)及 PAL(苯丙氨酸解氨酶)活性, 且接种 AMF 的提升效果显著高于接种 ECMF; 接种菌根真菌可显著降低根腐病病菌侵染的紫苏根系的 MDA(丙二醛)含量, 接种 AMF 较同期 CK 降低 28.53%, 降低效果显著优于接种 ECMF; 接种菌根真菌可显著提升根腐病病菌侵染的紫苏根系的脯氨酸含量, 接种 AMF 较同期 CK 提升 27.33%, 提升效果显著优于接种 ECMF; 接种菌根真菌可显著提升根腐病病菌侵染的紫苏根系的几丁质酶活性, 接种 AMF 较同期 CK 提升 345.97%, 提升效果显著优于 ECMF; 接种菌根真菌可显著提升根腐病病菌侵染的紫苏根系的 β -1,3-葡聚糖酶活性, 接种 AMF 较同期 CK 提升 431.29%, 提升效果显著优于 ECMF。综上所述, 菌根真菌可通过提升紫苏根系的保护酶活性、降低 MDA 含量、提升脯氨酸含量、提升几丁质酶及 β -1,3-葡聚糖酶活性来提高紫苏对根腐病的抗性, 且接种 AMF 效果显著优于接种 ECMF。

关键词:菌根真菌; 紫苏; 根腐病; 抗性; 保护酶; 丙二醛

中图分类号: S436.36 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)11-0078-04

紫苏(*Perilla frutescens* L.), 别称红苏、赤苏, 属一年生唇形科紫苏属草本植物, 在我国常作为蔬菜、药用植物及油料作物进行栽培, 已有 2 000 多年的栽培历史^[1]。紫苏根腐病是国内外紫苏栽培中常见的病害之一, 致病菌为半知菌链孢霉真菌, 以土壤为媒介进行传播, 危害较为严重, 严重影响紫苏的产量和品质, 如何提高紫苏根腐病抗性已成为紫苏栽培中急需解决的关键问题^[2]。菌根真菌是土壤中存在的一类可与植物根系形成有益共生体的微生物, 主要有内生菌根、外生菌根及内外生菌根三大类型。众多研究证实, 菌根真菌可以改善植物根系的生态环境, 促进植物生长, 提高植物抵御不良环境的能力, 尤其在提高植物抗病性方面作用显著^[3-5]。韩亚楠等研究表明, 接种 AM 真菌可显著提高连作西瓜的植株生物量, 并对西瓜枯萎病的发生具有一定的防治效果^[6]; 张淑彬等研究表明, 接种丛枝菌根真菌可有效防止辣椒苗期疫病的发生, 且不同菌种防治效果存在很大差异^[7]; 秦海滨等研究表明, 接种丛枝菌根真菌可显著提升黄瓜幼苗的生物量及保护酶活性, 显著提高立枯病抗性, 降低发病率^[8]; 张茹琴等研究表明, 4 种外生菌根真菌均可与油松幼苗形成菌根, 灰鹅膏菌对油松猝倒病防治效果最好^[9]; 赵菊莲等研究认为, 接种菌根真菌可显著提升草莓的保护酶活性, 提高对枯萎病的抗性^[10]; 刘东岳等研究表明, 丛枝菌根真菌和植物根围促生细菌同时接种可显著提升黄瓜枯萎病抗性, 且不同菌剂组合防治效果差异显著^[11]; 湛蔚等研究表明, 接种丛枝菌根真菌可明显提升杨树根系的超氧化物歧化酶(SOD)、苯丙氨

酸解氨酶(PAL)、几丁质酶(CTH)及 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)活性, 杨树溃疡病抗性效果显著优于接种外生菌根真菌^[12]。菌根真菌的生物学效应常因寄主植物而异^[13], 而目前尚未见关于菌根真菌对紫苏根腐病抗性的影响研究报道。因此, 本研究以奇苏 1 号紫苏为试验材料, 分析不同菌根真菌对紫苏根腐病抗性的影响, 并对其机制进行研究, 以期对紫苏根腐病的生物防治提供参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试紫苏品种为奇苏 1 号, 由贵州省农业科学院油菜研究所提供。供试丛枝菌根真菌为摩西球囊霉(*Glomus mosseae*), 外生菌根真菌为褐黄牛肝菌(*Boletus luridus*), 均由北京市农林科学院菌根真菌种质库提供; 紫苏根腐病病原菌半知菌链孢霉真菌由笔者所在实验室自主分离保存; 供试基质为草炭蛭石(1:1)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验于 2016 年 8 月 15 日开始实施, 选取长势一致的奇苏 1 号幼苗 180 株, 分别定植于 30 cm × 40 cm 的花盆中, 每盆 1 株, 栽培基质为灭菌的草炭蛭石。试验共设置 3 个处理, 即分别于定植前接种 15 g 丛枝菌根真菌(AMF)、接种 15 g 外生菌根真菌(ECMF)及接种灭菌的 15 g 菌根真菌(CK), 每处理 20 盆, 重复 3 次, 共计 180 株, 试验期间给予各处理正常的水肥管理。定植 90 d 后, 测定各处理的菌根侵染率。侵染成功后, 接种半知菌链孢霉真菌, 随水浇于根际 4 周, 接种量为 2.0×10^6 CFU/g 土。

1.2.2 测定指标及方法 菌根侵染率采用 Phillips 等的方法^[14]进行测定, 菌根侵染率 = 侵染菌根段数/检测菌根段

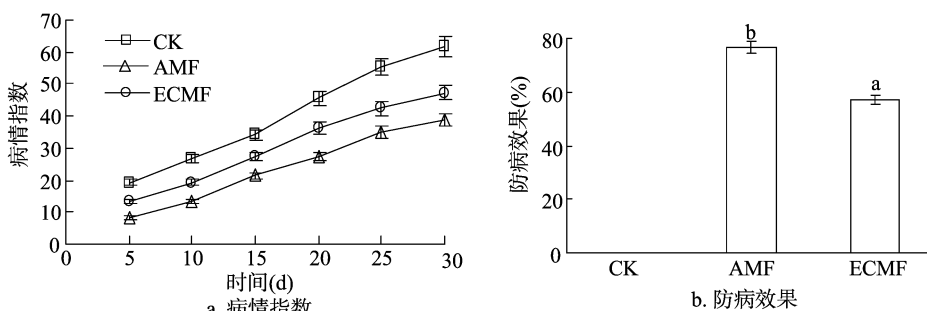
收稿日期: 2017-10-18

作者简介: 刘芳洁(1981—), 女, 辽宁沈阳人, 硕士, 讲师, 主要从事植物病虫害防治研究。E-mail: 15035671437@163.com。

数 $\times 100\%$;病情指数调查方法:自接种半知菌链孢霉真菌起,各处理每隔 5 d 调查 1 次,病情指数及防病效果按赵仕光等的方法^[15]进行计算;自接种半知菌链孢霉真菌起,各处理每隔 5 d 进行一次生理生化指标测定,测定样品为紫苏根系。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用抑制 NBT 光还原比色法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法进行测定;苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性采用苯丙氨酸比色法进行测定;丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸比色法;脯氨酸(Pro)含量测定采用磺基水杨酸提取法;几丁质酶(CTH)及 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)活性参照 Fink 等的方法^[16]进行测定。

1.2.3 数据分析 采用 Excel 2010 进行数据整理及作图,用 SPSS 18.0 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析



图中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)
图1 菌根真菌对紫苏根腐病病情指数及防病效果的影响

2.2 菌根真菌对紫苏根系保护酶活性的影响

由表 1 可知,接种半知菌链孢霉真菌后,3 种处理条件下的紫苏根系超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)及苯丙氨酸解氨酶(PAL)4 种保护酶活性均随着时间的推移呈现先升高后降低的趋势,且接种 AMF 的保护酶活性始终保持最高,依次为接种 ECMF 和对照(CK)。接种半知菌链孢霉真菌 10 d 时,对照(CK)的 SOD、POD、CAT 及 PAL 活性均达到最高,分别为 32.28、261.58、272.53、2.02 U/(g \cdot min);接种 AMF 和 ECMF 的紫苏根系 SOD、POD 及 CAT 酶活性均在接种半知菌链孢霉真菌 20 d 时达到最大,其中接种 AMF 的紫苏根系 SOD、POD 及 CAT 酶活性分别为 43.05、372.83、342.36 U/(g \cdot min),较同期 CK 分别提升 49.95%、68% 和 222.67%,均达到极显著差异水平($P < 0.01$);接种 ECMF 的紫苏根系 SOD、POD 及 CAT 酶活性分别为 40.14、352.26、325.81 U/(g \cdot min),较同期 CK 分别提升 39.81%、58.73% 和 111.91%,均达到显著差异水平($P < 0.05$);接种 AMF 和 ECMF 的紫苏根系 PAL 酶活性均在接种半知菌链孢霉真菌 15 d 时达到最大,分别为 2.42、2.32 U/(g \cdot min),较同期 CK 分别提升 81.95% 和 74.44%,分别达到极显著($P < 0.01$)和显著差异水平($P < 0.05$)。这说明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的保护酶活性,且接种 AMF 的提升效果显著高于接种 ECMF($P < 0.05$)。

2.3 菌根真菌对紫苏根系丙二醛及游离脯氨酸含量的影响

菌根真菌对紫苏根系丙二醛(MDA)含量的影响如图 2-a

2.1 菌根真菌对紫苏根腐病病情指数及防病效果的影响

菌根真菌接种 90 d 后,接种 AMF 和 ECMF 的菌根侵染率分别达到 82.36% 和 73.25%,对照无菌根产生。这说明,AMF 和 ECMF 均可与紫苏形成良好的互利共生关系,且紫苏幼苗期 AMF 侵染率较高。菌根真菌对紫苏根腐病病情指数及防病效果的影响如图 1 所示,在整个试验期间,3 种处理的根腐病病情指数均随着紫苏的生长逐渐升高,其中,接种 AMF 真菌的病情指数始终保持最低,其余依次为接种 ECMF 的和 CK(图 1-a);接种半知菌链孢霉真菌 30 d 时,CK、AMF 和 ECMF 的病情指数分别达到 61.82、39.02 和 47.28,假定 CK 防效为 0,接种 AMF 和 ECMF 的防效分别达到 76.82% 和 57.25%(图 1-b)。这说明,接种菌根真菌可显著提升紫苏的根腐病防治效果,且接种 AMF 效果显著优于 ECMF。

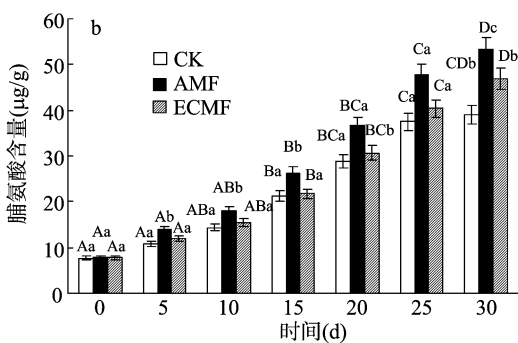
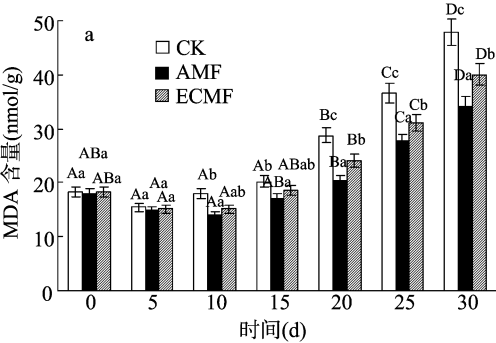
所示,接种半知菌链孢霉真菌后,3 种处理条件下的紫苏根系 MDA 含量均随着时间的推移呈现先降低后升高的趋势,且接种 AMF 的紫苏根系 MDA 含量始终保持最低,其余依次为接种 ECMF 的和对照(CK)。接种半知菌链孢霉真菌 5 d 时,CK 的根系 MDA 含量达到最低,为 15.47 nmol/g,而接种 AMF 和 ECMF 的紫苏根系 MDA 含量均在接种半知菌链孢霉真菌 10 d 时达到最低,分别为 14.02、15.18 nmol/g。接种半知菌链孢霉真菌 30 d 时,CK、接种 AMF 和 ECMF 等 3 种处理的紫苏根系 MDA 含量均达到最大,分别为 47.88、34.22、40.02 nmol/g,接种 AMF 和 ECMF 的分别较 CK 降低 28.53% 和 16.42%,分别达到极显著($P < 0.01$)和显著差异水平($P < 0.05$)。这说明,根腐病病原菌侵染初期的紫苏根系 MDA 含量略有下降,随后逐渐升高,而接种菌根真菌的紫苏根系 MDA 含量则显著低于同期 CK,且接种 AMF 效果显著优于接种 ECMF($P < 0.05$)。

由图 2-b 可知,接种半知菌链孢霉真菌后,3 种处理条件下的紫苏根系游离脯氨酸(Pro)含量均随着时间的推移呈现逐渐升高的趋势,且接种 AMF 的紫苏根系 Pro 含量始终保持最高,其余依次为接种 ECMF 的和对照(CK)。接种半知菌链孢霉真菌 30 d 时,CK、接种 AMF 和 ECMF 这 3 种处理的紫苏根系 Pro 含量均达到最大,分别为 39.03、53.28、46.81 μ g/g,接种 AMF 和 ECMF 的分别较 CK 高 36.51% 和 19.93%,与对照相比分别达到极显著($P < 0.01$)和显著差异水平($P < 0.05$)。这说明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的游离脯氨酸(Pro)含量,且接种 AMF 效

表 1 菌根真菌对紫苏根系保护酶活性的影响

观测指标	处理	接种半知菌链孢霉真菌不同天数下紫苏根系保护酶活性[U/(g·min)]						
		0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
SOD 活性	CK	28.42Ab	30.02Abc	32.28Ac	30.85Abc	28.71Ab	25.52Aab	21.08Aa
	AMF	28.01Aa	32.17Bab	36.85Bbc	39.57Cc	43.05Cc	40.28Cc	34.52Cb
	ECMF	28.75Aa	31.14ABab	33.08Abc	36.55Bed	40.14Bd	35.87Bc	29.15Ba
POD 活性	CK	216.38Abc	233.57Acd	261.58Ad	246.35Ad	221.92Abc	195.37Ab	164.59Aa
	AMF	215.52Aa	256.82Bb	286.82Cbc	318.56Cc	372.83Cd	345.29Ccd	311.28Cbc
	ECMF	216.89Aa	248.65Bb	276.52Bbc	305.87Bed	352.26Bd	324.39B	298.72Bc
CAT 活性	CK	194.32Ac	227.48Ac	272.53Ad	203.42Ac	153.75Ab	116.37Aab	83.52Aa
	AMF	195.36Aa	246.91Cb	291.76Bc	321.64Ccd	342.36Cd	273.68Cbc	206.82Ba
	ECMF	193.28Aa	235.26Bb	282.58Bbc	305.34Bed	325.81Bd	248.93Bb	196.27Ba
PAL 活性	CK	1.21Ab	1.65Ac	2.02Ad	1.33Abc	1.09Ab	0.82Aab	0.65Aa
	AMF	1.25Aa	1.82Cb	2.26Ccd	2.42Cd	1.94Cbc	1.71Cb	1.46Cab
	ECMF	1.28Aa	1.73Bb	2.15Bed	2.32Bd	1.81Bbc	1.59Bab	1.31Ba

注:不同小写字母表示同项指标不同处理差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示同项指标同一处理不同时间之间差异显著($P<0.05$)。



不同字母表示差异显著($P<0.05$),小写字母代表同一时间不同处理比较,大写字母代表同一处理不同时间比较。下同
图2 菌根真菌对紫苏根系丙二醛及游离脯氨酸含量的影响

果显著优于接种 ECMF($P<0.05$)。

2.4 菌根真菌对紫苏根系几丁质酶(CHT)和 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)活性的影响

菌根真菌对紫苏根系几丁质酶(CHT)活性的影响如图3-a所示,接种半知菌链孢霉真菌后,对照(CK)和接种ECMF的紫苏根系CHT活性随着时间的推移呈现先升高后降低的趋势,而接种AMF的紫苏根系CHT活性则呈现逐渐升高的趋势,且接种AMF的CHT活性始终保持最高,其余依次为接种ECMF的和CK。在接种半知菌链孢霉真菌15d时,CK处理的CHT活性达到最大,为23.26U/mg,而接种AMF和ECMF处理的CHT活性则分别在接种半知菌链孢霉真菌20d和30d时达到最大,分别为38.22、28.26U/mg,较同期CK分别提升345.97%和55.62%,分别达到极显著($P<0.01$)和显著差异水平($P<0.05$)。这说明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的几丁质酶活性,且接种AMF的提升效果显著高于接种ECMF的($P<0.05$)。

由3-b可知,接种半知菌链孢霉真菌后,对照(CK)的紫苏根系 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)活性随着时间的推移呈现先升高后降低的趋势,而接种AMF和ECMF的紫苏根系GLU活性则呈现逐渐升高的趋势,且接种AMF的GLU活性始终保持最高,其余依次为接种ECMF的和CK。接种半知菌链孢霉真菌15d时,CK的紫苏根系GLU活性达到最大,为45.24U/mg。接种AMF和ECMF的紫苏根系GLU活性在接种半知菌链孢霉真菌30d时达到最大,分别为183.72、

143.86U/mg,分别较同期CK提升431.29%和316.02%,分别达到极显著($P<0.01$)和显著差异水平($P<0.05$)。这说明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的 β -1,3-葡聚糖酶活性,且接种AMF的提升效果显著高于接种ECMF($P<0.05$)。

3 结论与讨论

菌根真菌可与植物根系形成互利共生体,参与植物的多种代谢过程,生物学效应广泛^[17-17],尤其在诱导植物提高抗病性方面作用显著,减轻病害发生程度^[3-5]。本研究结果表明,AMF和ECMF均可与紫苏形成菌根,侵染率分别达到82.36%和73.25%,对紫苏根腐病的防效分别达到76.82%和57.25%。

植物在遭遇生物和非生物胁迫时,其体内的抗性防御系统会被启动,以最大程度减少逆境对自身的伤害。大量研究表明,形成菌根的植株可以对病原菌的入侵产生快速的防御反应,可以明显提高植物的保护酶活性,进而有效清除因病原菌入侵而形成的氧化逆境,防止对细胞产生更严重的氧化损失,提升植物对病原菌的抗性^[19-21]。本研究结果表明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的SOD、POD、CAT及PAL活性,且接种AMF的提升效果显著高于接种ECMF,其原因可能是由于AMF与紫苏的亲合度高于ECMF所致;MDA是反映细胞膜膜脂过氧化程度的重要指标。本研究结果表明,接种菌根真菌可显著降低半知菌链孢

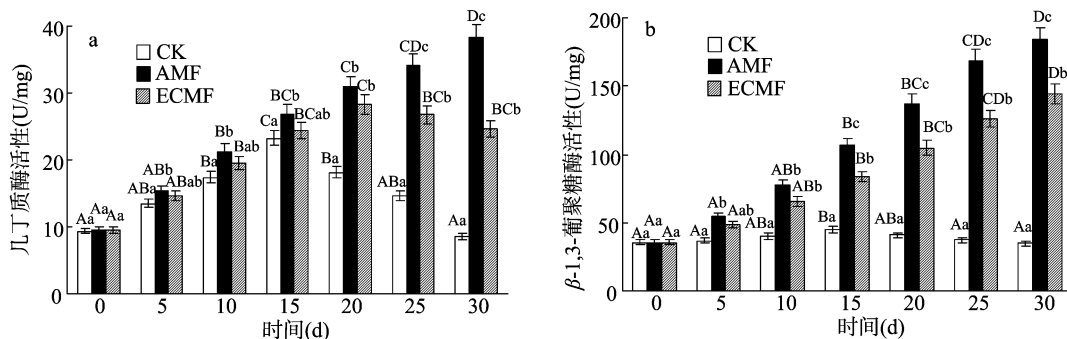


图3 菌根真菌对紫苏根系几丁质酶(CHT)和 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)活性的影响

霉菌菌侵染的紫苏根系的MDA,且接种AMF的降低效果显著优于接种ECMF,这说明接种AMF的紫苏细胞膜受损害程度最轻,其原因可能是接种AMF的紫苏根系保护酶活性显著高于接种ECMF和对照所致;游离脯氨酸含量是反映植物响应逆境强弱的重要指标。本研究结果表明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的游离脯氨酸含量,且接种AMF效果显著优于接种ECMF,这说明接种AMF的紫苏响应半知菌链孢霉真菌侵染的能力较强。

几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶通过破坏真菌细胞壁而抑制病原菌的生长,是植物对病原菌入侵的一种重要的防卫反应^[22]。湛蔚等研究表明,接种AMF可明显提高溃疡病菌侵染杨树幼苗的几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性,而接种ECMF则提升效果不明显^[12]。本研究结果表明,接种菌根真菌可显著提升半知菌链孢霉真菌侵染的紫苏根系的几丁质酶及 β -1,3-葡聚糖酶活性,且接种AMF的提升效果显著高于接种ECMF,这说明接种AMF的紫苏防卫反应显著优于接种ECMF,本研究结果与湛蔚等的研究结果^[12]存在一定出入,其原因尚待进一步研究。

综上所述,接种AMF可显著提升紫苏根腐病的防治效果,其原因是接种AMF可显著提升紫苏根系的保护酶活性,缓解病原菌入侵对植物细胞膜造成的伤害,提升了植物对病原菌入侵的响应能力,几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性显著提升,显著抑制了病原菌的生长。

参考文献:

- [1] 马尧,孙玉开. 不同品种紫苏形态、生理指标初步研究[J]. 种子,2009,28(6):51-53.
- [2] 何永梅. 紫苏主要病虫害防治要点[J]. 北京农业,2012,12(6):16-17.
- [3] 袁丽环,闫桂琴. 丛枝菌根化翅果油树幼苗根际土壤微环境[J]. 植物生态学报,2010,34(6):678-686.
- [4] 王林闯,贺超兴,张志斌. AM真菌对不同栽培基质甜椒生长及产量品质的影响[J]. 中国蔬菜,2010(16):32-37.
- [5] 刘润进,唐明,陈应龙. 菌根真菌与植物抗逆性研究进展[J]. 菌物研究,2017,15(1):70-88.
- [6] 韩亚楠,毕美光,刘润进,等. AM真菌对连作西瓜生长及其枯萎病的影响[J]. 北方园艺,2013(13):150-153.
- [7] 张淑彬,刘建斌,王幼珊. 丛枝菌根真菌对辣椒疫霉病害防治的

- 初步研究[J]. 北方园艺,2015(5):125-128.
- [8] 秦海滨,张志斌,贺超兴. 丛枝菌根真菌提高黄瓜幼苗抗枯萎病作用研究[J]. 华北农学报,2014,29(增刊1):98-102.
- [9] 张茹琴,唐明,张海涵. 四种外生菌根真菌对油松幼苗的抗猝倒病和促生作用[J]. 菌物学报,2011,30(5):812-816.
- [10] 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.
- [11] 刘东岳,李敏,孙文文献,等. 抗黄瓜枯萎病丛枝菌根真菌与根围促生细菌组合菌剂的筛选[J]. 植物病理学报,2016,46(6):821-832.
- [12] 湛蔚,刘洪光,唐明. 菌根真菌提高杨树抗溃疡病生理生化机制的研究[J]. 西北植物学报,2010,30(12):2437-2443.
- [13] 杜俊卿. 接种丛枝菌根真菌对不同绿化植物根际微环境的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):149-152.
- [14] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1970,55:158-160.
- [15] 赵仕光,景耀,杨俊秀. 杨树树皮内过氧化物酶和多酚氧化酶活性与抗溃疡病的关系[J]. 西北林学院学报, 1993,8(3):13-17.
- [16] Fink W, Liefeland M, Mendgen K. Chitinases and beta-1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.) [J]. Plant Physiology, 1988,88(2):273-275.
- [17] 李少朋,毕银丽,彭星. 接种丛枝菌根真菌对矿井水回灌玉米生长的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(5):112-115.
- [18] 王丽丽,杨谦. 接种枯草芽孢杆菌和丛枝菌根真菌促进红三叶修复石油污染土壤[J]. 江苏农业科学,2016,44(5):526-529.
- [19] 李敏,王维华,刘润进. AM真菌和镰刀菌对西瓜根系膜脂过氧化作用和膜透性的影响[J]. 植物病理学报,2003,33(3):229-232.
- [20] Kapoor R. Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid[J]. Journal of Biological Sciences, 2008,8(3):49-56.
- [21] 高雁琳,李钧敏,闫明. 接种AMF对煤矿废弃物上高丹草根系生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):452-456.
- [22] 左豫虎,康振生,杨传平,等. β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性与大豆对疫霉根腐病抗性的关系[J]. 植物病理学报,2009,39(6):600-607.