

盐胁迫下内生真菌感染对中华羊茅幼苗生长的影响

周连玉, 张 帅, 更周才让, 罗巧玉

(青海师范大学 青藏高原资源与环境教育部重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘 要:以带菌(E⁺)和不带菌(E⁻)的中华羊茅为试材,采用培养皿纸上发芽法,研究了不同NaCl浓度对中华羊茅幼苗苗长、根长、苗鲜重和根鲜重的影响,以期为内生真菌对宿主耐盐性的作用提供参考依据。结果表明:E⁺幼苗中,盐浓度为1.0~8.0 mmol/L时显著促进苗长、根长和苗鲜重的增加($P<0.05$),而1.0~2.0 mmol/L盐浓度对根鲜重有明显增效作用($P<0.05$);E⁻幼苗中,1.0~2.0 mmol/L盐浓度显著增加根长($P<0.05$),2.0~8.0 mmol/L盐浓度明显增加苗鲜重($P<0.05$),盐浓度8.0 mmol/L显著抑制根的伸长和鲜重($P<0.05$)。与E⁻幼苗相比,对照条件下除内生真菌显著增加苗鲜重外($P<0.05$),其它所测生长指标均无明显差异性;在1.0~8.0 mmol/L盐浓度下内生真菌显著增加根长和苗鲜重($P<0.05$),在1.0~4.0 mmol/L盐浓度下内生真菌明显促进苗长($P<0.05$),在2.0 mmol/L或8.0 mmol/L盐浓度下内生真菌明显增加根鲜重($P<0.05$);苗长与根长或苗鲜重相关系数较高,且内生真菌能提高其相关系数。

关键词:中华羊茅;内生真菌;盐胁迫;幼苗生长

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)09-0065-04

中华羊茅(*Festuca sinensis*)属禾本科羊茅属多年生草本植物,主要分布在青海、甘肃、四川、西藏等(省)区,具有耐寒、耐旱、产量高、品质优良、生态适应性强等优点^[1-3]。其与多种多年生禾草合理配置成群落结构,有

利于“黑土滩”退化草地植被的恢复^[4-5]。在青海省经过混合选择、栽培驯化,中华羊茅被选育为适应高寒牧区种植的高产、优质、稳定,易于机械化操作的人工栽培牧草之一^[2]。

在第四届国际禾草/内生真菌互作大会上,NAN等^[6]发表了中国禾本科十几个属的植物含有内生真菌,其中就包括中华羊茅。内生真菌与宿主植物形成一种互利共生的关系,为宿主带来诸多有益性能^[7]。近年来对中华羊茅-内生真菌共生体已进行了多方面的研究,

第一作者简介:周连玉(1976-),女,湖南安仁人,博士,副教授,现主要从事微生物学教学与科研等工作。E-mail:zly7604@163.com.

收稿日期:2015-12-23

4.2 播种时间

在1年生芦笋田4月中下旬播种,2~3年生芦笋田3月下旬至4月上旬播种。

4.3 种瓣选择及处理

选择色泽纯正、无损伤肥大的蒜瓣作种子,播前用10~20℃水浸泡2 d。

4.4 播种前土壤处理

每667 m²用2%阿维菌素乳剂500 mL兑沙土100 kg拌匀,均匀撒于芦笋行间地表后深翻。

4.5 播种方法

行距25~30 cm,株距15~20 cm,播种深度2~3 cm,每667 m²播种量83~133 kg。

4.6 田间管理

4.6.1 除草松土 苗高10~13 cm,有2~3片叶时进行第1次中耕,苗高26~33 cm,有5~6片叶时进行第2次

中耕。

4.6.2 灌水 大蒜播种后土壤持水量在15%~18%时不需灌水即可出苗,土壤干燥时每667 m²灌水30 m³。在抽苔和鳞茎肥大期每667 m²灌水30 m³,蒜头采收前5~7 d停止灌水。

4.6.3 施肥 退母期每667 m²施尿素30 kg或碳酸氢氨35 kg,圆脚期每667 m²施尿素20 kg或碳铵30 kg。施肥应符合《NY/T496-2002 肥料合理使用准则通则》。

4.6.4 病虫害防治 5月中旬葱蝇、种蝇产卵和幼虫危害期,用40%甲基异柳磷1 000倍液+2%天达阿维菌素2 000倍喷雾灌根,10~15 d灌1次,灌根2~3次。使用化学农药防治虫害时应执行《GB/T 8321.9-2009 农药合理使用标准》和《GB 4285 农药安全使用标准》。

4.7 收获

待叶片枯黄,假茎松软时收获。

NAN 等^[6]曾报道中华羊茅普遍感染内生真菌,甘肃山丹的中华羊茅带菌率高达 100%,来源于甘肃甘加草原和夏河桑科草原地区的中华羊茅带菌率为 90%以上^[8]。从中华羊茅种子中分离出一些内生真菌菌株,对其生物学与生理学特性进行了研究^[9],也发现了中华羊茅内生真菌在形态上存在多样性^[8,10]。内生真菌能提高中华羊茅种子响应干旱和酸碱胁迫的萌发特性,以及促进幼苗生长^[11-12];还发现内生真菌能促进植株的生长,调节一些生理生化反应,从而加强了中华羊茅的抗寒性^[8,13-14]。在干旱和半干旱地区土壤盐碱化严重地影响农牧业的生产,生长于盐渍环境下的植物种子萌发是植物生存和生长的关键阶段,而涉及中华羊茅响应盐胁迫的研究尚鲜见报道。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试中华羊茅 E⁺(带菌,香烛菌)和 E⁻(不带菌)种子由兰州大学草地保护所提供。

1.2 试验方法

挑选籽粒饱满的中华羊茅种子,首先用 75%乙醇表面消毒 1 min,然后用无菌水冲洗 3 次。将种子放入双层无菌滤纸铺成的芽床培养皿中,设置 5 个 NaCl 浓度梯度,依次为 0 (CK)、1.0、2.0、4.0、8.0 mmol/L。置于 25℃ 条件下恒温培养,每日按时加入对应浓度的溶液,于 14 d 后测定各处理样品根长、苗长,并称量其鲜重。每个培养皿放置 50 粒种子,每个处理重复 3 次。

1.3 数据分析

各项生长指标数据结果均采用平均值±标准误差表示,并采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行单因素方差分析(LSD, $P < 0.05$)。采用 Spearman's rho 方法进行生长指标之间的相关性分析。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对中华羊茅苗长的影响

由图 1 可知,在对照和盐浓度 8.0 mmol/L 胁迫下, E⁺ 和 E⁻ 幼苗的苗长无显著性差异。而在盐浓度 1.0、2.0、4.0 mmol/L 胁迫下, E⁺ 幼苗的苗长显著高于 E⁻ 幼苗($P < 0.05$),分别高出 56.49%、55.00%和 56.39%。

在 E⁺ 幼苗中,不同盐浓度处理的苗长显著高于对照浓度($P < 0.05$);在 E⁻ 幼苗中,盐浓度和对照的苗长无显著性差异。

2.2 盐胁迫对中华羊茅根长的影响

从图 2 可以看出,在对照条件下, E⁺ 和 E⁻ 幼苗根长无显著性差异。而在盐浓度 1.0、2.0、4.0、8.0 mmol/L 胁迫下, E⁺ 幼苗的根长依次显著高于 E⁻ 幼苗 32.86%、44.86%、85.42%和 106.80% ($P < 0.05$)。

在 E⁺ 幼苗中,不同盐浓度处理的根长显著高于对照浓度($P < 0.05$);在 E⁻ 幼苗中,盐浓度 4.0 mmol/L 和对照的根长无显著性差异,二者的根长显著高于盐浓度为 8.0 mmol/L 的幼苗,但显著低于盐浓度 1.0、2.0 mmol/L 的幼苗根长($P < 0.05$)。

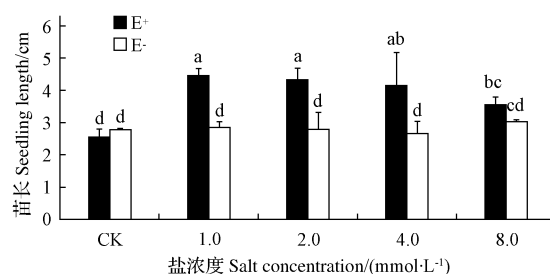


图 1 不同盐处理下 E⁺ 和 E⁻ 中华羊茅苗长的变化

Fig. 1 The seedling length of endophyte-infected and endophyte-free *Festuca sinensis* under different salt concentrations

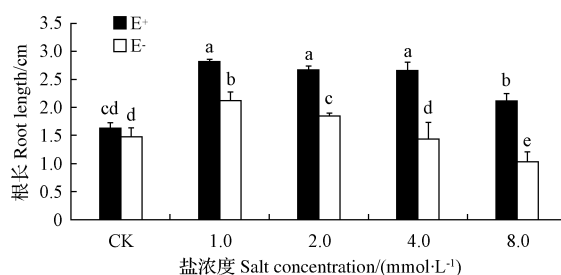


图 2 不同盐处理下 E⁺ 和 E⁻ 中华羊茅根长的变化

Fig. 2 The root length of endophyte-infected and endophyte-free *Festuca sinensis* under different salt concentrations

2.3 盐胁迫对中华羊茅苗鲜重的影响

从图 3 可以看出,在对照和盐浓度胁迫下, E⁺ 幼苗的苗鲜重显著高于 E⁻ 幼苗($P < 0.05$)。随着盐浓度增加,与 E⁻ 幼苗相比, E⁺ 幼苗的苗鲜重分别高于 38.66%、88.81%、34.66%、36.69%和 13.11%。

在 E⁺ 幼苗中,不同盐浓度处理的苗鲜重显著高于对照浓度($P < 0.05$),且随着盐浓度增加苗鲜重逐渐降低;在 E⁻ 幼苗中,除盐浓度 1.0 mmol/L 外,其它盐处理的苗鲜重显著高于对照浓度的幼苗($P < 0.05$)。

2.4 盐胁迫对中华羊茅根鲜重的影响

由图 4 可知,在盐浓度 2.0 mmol/L 和 8.0 mmol/L 胁迫下, E⁺ 幼苗的根鲜重显著高于 E⁻ 幼苗($P < 0.05$),分别高于 81.82%和 100.00%。

在 E⁺ 幼苗中,盐浓度 1.0 mmol/L 和 2.0 mmol/L 处理的根鲜重显著高于对照浓度和其它盐处理的幼苗($P < 0.05$);在 E⁻ 幼苗中,盐浓度 8.0 mmol/L 的根鲜重显著低于对照和其它盐浓度的幼苗($P < 0.05$)。

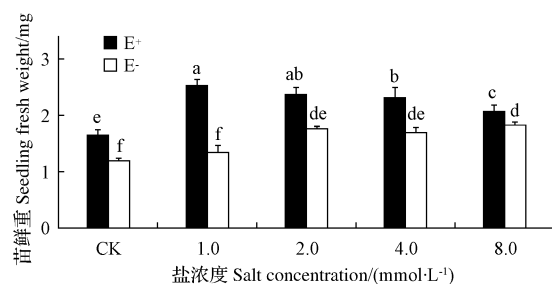


图3 不同盐处理下 E+ 和 E- 中华羊茅苗鲜重的变化
Fig. 3 The seedling fresh weight of endophyte-infected and endophyte-free *Festuca sinensis* under different salt concentrations

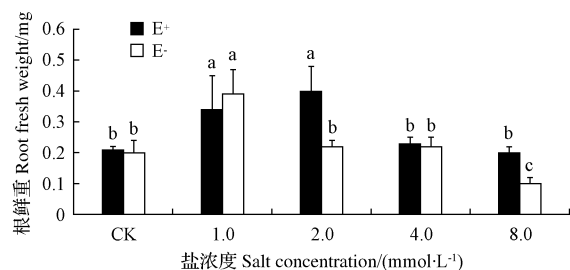


图4 不同盐处理下 E+ 和 E- 中华羊茅根鲜重的变化
Fig. 4 The root fresh weight of endophyte-infected and endophyte-free *Festuca sinensis* under different salt concentrations

2.5 盐胁迫下各项生长指标的相关性分析

由表 1 可知,整个试验中苗长与根长或苗鲜重存在 0.851 或 0.895 的相关系数,达到极显著水平;根长与苗鲜重、根长与根鲜重之间相关系数分别为 0.717 和 0.736,均达到显著水平。盐处理组,苗长与根长、苗长与苗鲜重之间相关系数分别为 0.835 和 0.935,均达到极显著水平;根长与根鲜重之间相关系数为 0.715,达到显

著水平。不带菌植株中,一些生长指标之间呈负相关性,仅根长和根鲜重之间相关系数为 0.919,达到显著水平。带菌植株中,苗长与根长或苗鲜重、根长与苗鲜重之间的相关系数较高,分别为 0.990、0.993 和 0.988,均达到极显著水平。总体上,苗长与根长或苗鲜重相关系数较高,且内生真菌能提高其相关系数。

表 3 盐胁迫下中华羊茅各项生长指标的相关分析

Table 3 Correlation of seedling growth criteria of *Festuca sinensis* affected by salt

	苗长 Seedling length				根长 Root length				苗鲜重 Seedling fresh weight				根鲜重 Root fresh weight			
	盐处理和 CK Salt treatment and CK		盐处理 Salt treatment		盐处理和 CK Salt treatment and CK		盐处理 Salt treatment		盐处理和 CK Salt treatment and CK		盐处理 Salt treatment		盐处理和 CK Salt treatment and CK		盐处理 Salt treatment	
			带菌情况 Endophyte state				带菌情况 Endophyte state				带菌情况 Endophyte state				带菌情况 Endophyte state	
			E+	E-			E+	E-			E+	E-			E+	E-
苗长 Seedling length	1	1	1	1	0.851**	0.835**	0.990**	-0.352	0.895**	0.935**	0.993**	0.242	0.465	0.409	0.689	-0.352
根长 Root length					1	1	1	1	0.717*	0.672	0.988**	-0.417	0.736*	0.715*	0.681	0.919*
苗鲜重 Seedling fresh weight									1	1	1	1	0.261	0.151	0.684	-0.533
根鲜重 Root fresh weight													1	1	1	1

注: * 表示差异显著(P<0.05), ** 表示差异极显著(P<0.01)。
Note: * shows significant difference (P<0.05), ** shows highly significant difference (P<0.01).

3 讨论

诸多研究报道了低浓度盐对植物幼苗生长有促进或无明显作用,而高浓度的盐表现显著抑制作用^[15-17]。该试验发现 E+ 幼苗中,盐浓度为 1.0~8.0 mmol/L 时促进苗长、根长和苗鲜重的增加,而 1.0~2.0 mmol/L 盐浓度对根鲜重有显著增效作用;在 E- 幼苗中,1.0~2.0 mmol/L 盐浓度显著增加根长,2.0~8.0 mmol/L 盐浓度明显增加苗鲜重,8.0 mmol/L 对根长和根鲜重具有抑制作用。可见,不同植物种群对盐胁迫的反应不一致。

微生物影响植物适应干旱、盐分、极端温度胁迫等环境已有相关的研究报道^[18-20]。接种内生真菌(*Fusarium culmorum* 或 *Curvularia protuberata*)能提高水稻耐盐能

力,促进幼苗的生长^[21]。张萍萍等^[22]研究内生真菌侵染对盐胁迫下多年生黑麦草种子的萌发和幼苗生长的影响,发现 0~170 mmol/L NaCl 浓度下,内生真菌侵染对根长和苗长的影响不大,在高浓度下,内生真菌起着明显的促进作用。王正凤等^[23]认为高浓度盐胁迫下,与 E- 幼苗相比,内生真菌显著增加野大麦分蘖数、地上部分和根系生物量。该研究发现,与 E- 幼苗相比,对照条件下除内生真菌增加苗鲜重外,其它各项生长指标均无明显差异性;在 1.0~8.0 mmol/L 盐浓度下内生真菌显著增加根长和苗鲜重,在 1.0~4.0 mmol/L 盐浓度下内生真菌明显促进苗长,在 2.0 mmol/L 或 8.0 mmol/L 盐浓度下内生真菌明显增加根鲜重。

参考文献

[1] 师尚礼,李锦华. 羊茅属两种牧草生态适应性及其栽培技术[J]. 草

地学报,2006,14(1):39-42.

[2] 孙明德. 高寒地区优良牧草:青海中华羊茅[J]. 青海草业,2008,17(4):8-11.

[3] 赵年武,郭连云,侯万红,等. 高寒半干旱地区4种牧草的适应性及使用价值[J]. 安徽农业科学,2011,39(20):12256-12258.

[4] 马玉寿,尚占环,施建军,等. 黄河源区“黑土型”退化草地人工群落组分配置技术研究[J]. 西北农业学报,2007,16(5):1-6.

[5] 施建军,洪绂曾,马玉寿,等. 人工调控对禾草混播草地群落特征的影响[J]. 草地学报,2009,17(6):745-751.

[6] NAN Z B,LI C J. Neotyphodium in native grasses in China and observations on endophyte/host interactions[M]//Paul V H,Dapprich P D(eds). proceedings of the 4th International Neotyphodium/Grass Interactions Symposium. Soest,Germany,2000:41-50.

[7] JOHNSON L J,de BONT A C M,BRIGGS L R,et al. The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit[J]. Fungal Diversity,2013,60(1):171-188.

[8] 杨洋. 中华羊茅内生真菌及其对宿主抗寒性的影响[D]. 兰州:兰州大学,2010.

[9] 金文进,李春杰,南志标. 中华羊茅内生真菌 *Neotyphodium* sp. 生物学与生理学特性的研究[J]. 菌物学报,2009,28(3):363-369.

[10] 杨洋,陈娜,李春杰. 甘肃中华羊茅内生真菌形态多样性[J]. 草业科学,2011,28(2):273-278.

[11] PENG Q Q,LI C J,SONG M L,et al. Effects of seed hydropriming on growth of *Festuca sinensis* infected with *Neotyphodium endophyte* [J]. Fungal Ecology,2013,6(1):83-91.

[12] 彭青青,李春杰,宋梅玲,等. 不同酸碱条件下内生真菌对三种禾草种子萌发的影响[J]. 草业学报,2011,20(5):72-78.

[13] 彭青青. *Neotyphodium* 内生真菌对中华羊茅耐寒性的影响[D]. 兰州:兰州大学,2012.

[14] ZHOU L Y,LI C J,ZHANG X X,et al. Effects of cold shocked *Epichloë* infected *Festuca sinensis* on ergot alkaloid accumulation[J]. Fungal Ecology,2015,14:99-104.

[15] 卢艳敏. 不同盐胁迫对高羊茅种子萌发的影响[J]. 草业科学,2012,29(7):1088-1093.

[16] 程李香,李辉军,韩国明,等. 盐胁迫对黄瓜种子萌发及其幼苗生理特性的影响[J]. 甘肃科技纵横,2012,41(3):50-51.

[17] 鲁红侠,杨艳,朱小茜. NaCl 胁迫对拟南芥种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学,2013,41(8):3331-3333.

[18] RODRIGUEZ R J,REDMAN R S. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own:plant stress tolerance via fungal symbiosis[J]. Journal of Experimental Botany,2008,59(5):1109-1114.

[19] YIN L,REN A,WEI M,et al. Neotyphodium Coenophialum-infected tall Fescue and its potential application in the phytoremediation of saline soils[J]. International Journal of Phytoremediation,2014,16(3):235-246.

[20] DING S,HUANG C L,SHENG H M,et al. Effect of inoculation with the endophyte *Clavibacter* sp. strain Enf12 on chilling tolerance in *Chorispora bungeana* [J]. Physiologia Plantarum,2011,141(2):141-151.

[21] REDMAN R S,KIM Y O,WOODWARD C J D A,et al. Increased fitness of rice plants to abiotic stress via habitat adapted symbiosis;a strategy for mitigating impacts of climate change[J]. PloS One,2011,6(7):e14823.

[22] 张萍萍,胡龙兴,傅金民. 内生真菌感染对盐胁迫下黑麦草种子萌发的影响[J]. 草业科学,2012,29(7):1094-1099.

[23] 王正凤,李春杰,金文进,等. 内生真菌对野大麦耐盐性的影响[J]. 草地学报,2009,17(1):88-92.

Effect of *Epichloë* on Seedling Growth of *Festuca sinensis* Under Salt Stress

ZHOU Lianyu,ZHANG Shuai,GENGZHOU Cairang,LUO Qiaoyu

(Educational Ministry Lab of Environment and Resource in Qinghai-Tibet Plateau,Qinghai Normal University,Xining,Qinghai 810008)

Abstract: Using seedlings growth of *Festuca sinensis* infected-endophyte (E^+) and uninfected-endophyte (E^-) as material, the effects of NaCl concentrations on seedling length, root length, seedling fresh weight and root fresh weight of *Festuca sinensis* were studied for providing theoretical basis for the effects of *Epichloë* endophyte infection on salt stress by germination method of Petri plates. The results showed that in E^+ seedlings salt concentrations ranged from 1.0 mmol/L to 8.0 mmol/L promoted significantly seedling length, root length and seedling fresh weight ($P < 0.05$), and salt concentrations between 1.0 mmol/L and 2.0 mmol/L increased significantly root fresh weight ($P < 0.05$). In E^- seedlings root length was increased under salt concentration ranging from 1.0 mmol/L to 2.0 mmol/L ($P < 0.05$), seedling fresh weight increased significantly under all salt concentration except 1.0 mmol/L NaCl ($P < 0.05$), and root length and fresh weight were significantly inhibited by 8.0 mmol/L NaCl ($P < 0.05$). Compared with E^- seedlings, E^+ ones had higher seedling fresh weight under control conditions, E^+ ones had higher root length and seedling fresh weight under all salt concentration ($P < 0.05$), E^+ ones had higher seedling length under salt concentration ranging from 1.0 mmol/L to 4.0 mmol/L ($P < 0.05$), and E^+ ones had higher root fresh weight under 2.0 mmol/L or 8.0 mmol/L NaCl ($P < 0.05$). There were high positive correlation between seedling length and root length, and between seedling length and fresh weight, which were higher in E^+ seedlings.

Keywords: *Festuca sinensis*; *Epichloë*; salt stress; seedling growth