

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0498

张茜, 陈振江, 李春杰. 野大麦内生真菌共生体研究进展. 草业科学, 2020, 37(8): 1475-1487.

ZHANG Q, CHEN Z J, LI C J. Advances in research on *Hordeum brevisubulatum*—*Epichloë bromicola* symbionts. Pratacultural Science, 2020, 37(8): 1475-1487.

野大麦内生真菌共生体研究进展

张 茜, 陈振江, 李春杰

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室 / 兰州大学草地农业教育部工程研究中心 / 兰州大学甘肃省西部草业技术创新中心 / 兰州大学草地微生物研究中心 / 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要: 禾草内生真菌共生体是植物微生物和农业微生物研究体系中非常重要的一个方向, 近 30 年的研究中, 野大麦 (*Hordeum brevisubulatum*) 内生真菌共生体取得了显著进展。本文从野大麦内生真菌和野大麦内生真菌共生体两个方面进行概述。1) 野大麦内生真菌: 包括内生真菌的分布、带菌率、检测及去除方法、生物生理学特性、形态及产碱多样性; 2) 野大麦内生真菌共生体: 主要包括耐盐、耐旱、耐涝、耐寒、耐老化等非生物胁迫抗性和抗病、抗虫等生物胁迫抗性, 以及外源物质对共生体的影响。本文展望了野大麦内生真菌资源的挖掘、提高共生体抗逆的机制 (包括基因水平和蛋白水平), 以及利用内生真菌进行禾草与粮饲作物新品种选育; 以发挥新共生体、新品种的多种抗逆性优势, 以期为盐碱地改良、环境与生态修复等领域做出更大的贡献。

关键词: 野大麦; 内生真菌; 特性; 抗性

文献标志码: A 文章编号: 1001-0629(2020)08-1475-13

Advances in research on *Hordeum brevisubulatum*—*Epichloë bromicola* symbionts

ZHANG Qian, CHEN Zhenjiang, LI Chunjie

(State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems / Engineering Research Center of Grassland Industry, Ministry of Education / Gansu Tech Innovation Centre for Western China Grassland Industry / College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu, China)

Abstract: Grass and *Epichloë* endophyte symbionts are an important direction in the study of plant–microbe and agro–microbe systems. Over the past thirty years, research on wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) endophytic symbionts has revealed outstanding findings. This article summarizes advances in research from two aspects: wild barley *H. brevisubulatum* and its endophytic symbiont *E. bromicola*. The distribution of *E. bromicola* in host tissue and its infection rate, detection and removal methods, biophysiological properties, morphology, and alkaloid production are described. The resistance of the symbiont *E. bromicola* to abiotic (salinity, drought, water logging, cold, and seed aging) and biotic (pathogens and pests) stresses as well as the effects of exogenous substances on the symbiont are discussed. The article prospects the extraction of literature on wild barley endophytes and the mechanisms for improving resistance (at the gene and protein level) using a novel endophyte to breed new varieties of grasses and cereals. Given the advantage of resistance to various stresses, these new symbionts and host varieties can be used to improve saline soils and restore ecological balance, among others.

Keywords: *Hordeum brevisubulatum*; endophyte; characteristics; resistance

收稿日期: 2019-10-08 接受日期: 2020-03-27

基金项目: 国家“973”计划项目课题 (2014CB138702); 国家自然科学基金项目 (31372366); 中央高校基本科研业务费项目 (lzujbky-2020-kb10)

第一作者: 张茜 (1994-), 女, 甘肃临夏人, 在读硕士生, 研究方向为禾草内生真菌共生体。E-mail: zhangq2017@lzu.edu.cn

通信作者: 李春杰 (1968-), 男, 甘肃镇原人, 教授, 博士, 研究方向为禾草内生真菌共生体。E-mail: chunjie@lzu.edu.cn

Corresponding author: LI Chunjie E-mail: chunjie@lzu.edu.cn

野大麦 (*Hordeum brevisubulatum*) 又名短芒大麦草、莱麦草、野黑麦等, 属禾本科大麦属多年生草本植物, 广泛野生于我国北方草原地区的盐碱草甸上, 其叶多、分蘖株丛密, 草质柔软, 适口性好, 产量高, 适应性广泛, 耐寒、耐旱、耐盐碱, 再生性强, 是一种优质的牧草^[1-4]。野大麦虽喜轻盐渍化草甸、河滩、林缘等湿润的环境, 但是对土壤的要求不是很高, 是盐化和碱化草甸草原的建群种, 也是小麦族植物中耐盐性最强的物种之一^[1, 5]。随着土壤盐碱化程度的加重, 科技工作者对植物的耐盐碱机制也有了大量深入的研究, 近年来, 多地对野大麦的驯化工作不断开展, 并初见成效^[5-7]。

禾草内生真菌是指在禾草中度过全部或大部分生命周期, 而禾草不显示外部症状的一类真菌^[8]。禾草内生真菌通常情况下指的是子囊菌门麦角菌科下的有性态 *Epichloë* 属和其所对应的无性态 *Neotyphodium* 属内生真菌^[8-9], 按照最新的国际命名法规, 遵循一个真菌一个名称的原则, 以有性态命名, 统称为 *Epichloë* 属^[10]。禾草内生真菌在生态系统的作用有利有弊, 错综复杂。一方面, 对于与内生真菌形成共生体的禾草来说是有利的, 内生真菌可以提高禾草对非生物胁迫和生物胁迫的抗性, 如耐盐碱性^[11-13]、耐寒性^[14-16]、耐旱性^[17-18]、耐涝性^[19-20]、耐重金属性^[21-22] 以及抗病性^[23-25]、抗虫性^[26-29]、驱鸟性^[30], 同时也会提高该禾草的种间竞争力, 形成一个互惠共生的关系; 另一方面, 由于禾草内生真菌共生体会产生一些有毒的次生代谢产物, 如麦角碱类^[31]、lolitrem B^[32] 等生物碱, 致使食草动物尤其是家畜表现出麻醉、昏睡等中毒症状, 给草地畜牧业带来巨大损失^[33]。目前, 禾草内生真菌共生体的研究在国际上形成了3个大的分支, 即新西兰的多年生黑麦草 (*Lolium perenne*)-内生真菌 (*E. festucae* var. *lolii*) 共生体、美国的苇状羊茅 (*Festuca arundinacea*)-内生真菌 (*E. coenophiala*) 共生体和中国的醉马草 (*Achnatherum inebrians*)-内生真菌 (*E. gansuensis* and *E. inebrians*) 共生体^[34]。参照这3个分支共生体体系的研究, 野大麦内生真菌及其共生体的研究取得了较为突出的进展。

近30年中, 对野大麦内生真菌共生体开展了多

方面的研究, 明确了野大麦内生真菌的带菌率^[35-38]、检测方法^[35, 39-40]、除菌方法^[37] 以及在宿主体内的分布特征^[41], 确定了野大麦内生真菌的分类地位^[42], 明确了内生真菌的生物学与生理学特性^[40, 43]、生物碱种类及产碱基因^[39-40], 基本明确了野大麦在多种生物及非生物胁迫下的抗逆性, 如耐酸碱性^[44-45]、耐水涝^[19]、耐老化^[46]、耐高低温^[47]、耐干旱^[47]、耐盐^[44, 48-53] 的非生物抗性和抑菌^[38, 54-56]、抗虫^[27-28] 的生物抗性。野大麦作为一种优质的牧草, 在畜牧业中有着很大的发展推广潜力, 尤其是盐碱化草甸草原上, 而内生真菌在野大麦中表现出的特性和作用使得野大麦禾草内生真菌共生体更具竞争力。因此, 有必要对野大麦内生真菌的研究进行系统的总结, 挖掘更多的内生真菌资源, 为野大麦内生真菌共生体的深入研究、新品种驯化育种及其在草地畜牧业中的发展与推广应用提供理论基础和科学依据。

1 野大麦的分布和内生真菌带菌率

在我国, 野大麦主要分布在东北、华北、西北及内蒙古、四川、青海、新疆、西藏等省(区)^[5]。

1991年, Wilson等^[57]首次在含野大麦在内的大麦种质资源中发现内生真菌, Moon等^[58]认为该种内生真菌属于 *Neotyphodium* 属, 之后 *Neotyphodium* 属又被作为无性态归类为 *Epichloë* 属^[10], 到2014年被我国学者鉴定为 *E. bromicola*^[42]。王正凤^[35]对新疆、甘肃和内蒙古等主要牧区的130份野大麦样品分别采用显微镜镜检和PDA平板分离进行内生真菌带菌率检测, 发现带菌率为67%~100%, 平均为91%。其中, 新疆、甘肃、内蒙古显微镜检测平均带菌率分别为92%、97%和77.5%; PDA平板分离法检测分别为95%、99%和83%(表1)。可以看出, 整体上甘肃、新疆的野大麦带菌率高于内蒙古(表1), 这可能与当地的环境、气候等自然条件有关。除此, 据Nan和Li^[36]、曹莹等^[37]和张永雯^[38]的研究报道生长于甘肃河西走廊盐碱地的野大麦内生真菌带菌率达63%~100%, 收获后的二代植株带菌率达94%。

表 1 新疆、甘肃和内蒙古三省(区)野大麦内生真菌带菌率与分布

Table 1 Infection rate and distribution of endophytic fungi in wild barley in Xinjiang, Gansu, and Inner Mongolia

省(区) Province	海拔 Altitude/m	经度 Longitude	纬度 Latitude	显微镜检验 Microscopic examination/%	PDA分离 PDA isolation/%
新疆 Xinjiang	502~1 689	81°17'– 94°20' E	41°47'– 44°55' N	92(86~100)	95(92~100)
甘肃 Gansu	2 100~3 100	100°03'– 102°54' E	37°29'– 39°15' N	97(92~100)	99(96~100)
内蒙古 Inner Mongolia	1 770~1 980	105°52'– 105°54' E	38°54'– 38°58' N	77.5(67~88)	83(75~90)

括号内为带菌率范围。表格数据由文献[35]整理计算得出。

The range of the infection rate is shown in parentheses. Data in the table are from Wang^[35].

2 野大麦内生真菌的检测方法

禾草内生真菌的检测方法有很多种,涵盖了传统的镜检、分离培养、化学及分子生物学等方法。镜检通常是采用特定染色剂对禾草的茎髓、叶鞘、种子等染色后使用显微镜进行观察。被用于染色的染色剂有乳酚-棉蓝^[59]、龙胆紫溶液^[60]、革兰氏^[61]、荧光素双醋酸盐^[62]、玫瑰红^[63-64]以及苯胺蓝^[65]。前三者主要用于种子内生真菌的检测,荧光素双醋酸盐主要检测叶鞘内有活性的内生真菌,但不易保存;玫瑰红和苯胺蓝可检测禾草茎髓、叶鞘及种子中的内生真菌,但含有致癌物质^[66]。目前最为常用的染色剂是苯胺蓝^[67]。分离鉴定是通过在特定培养基(如 PDA 等)分离培养内生真菌采用形态学的方式进行鉴定^[68]。除此之外还有酶联免疫法^[69]、高效液相色谱法^[70]和 PCR^[71]等方法。在野大麦内生真菌的研究中,内生真菌检测方面的研究相对较少,大多都处在分离镜检层面,通常采用李春杰^[72]的方法,也有使用 PCR 技术分离鉴定的相关报道^[39]。王正凤利用 0.8% 乳酸苯胺蓝染液对靠近野大麦穗基

部秆处刮取的少许髓质进行染色后镜检并统计带菌率;除此还用 PDA 培养基进行内生真菌分离纯化,分析菌落形态特征并进行鉴定^[35]。Yi 等^[39]利用 PCR 技术分离鉴定了野大麦种子中的内生真菌,并通过系统发育进行鉴定,株系 PI: 639695 鉴定为 *E. bromicola*,株系 PI: 639696 鉴定为杂交种 *E. bromicola* × *E. typhina*。Chen 等^[40]也对来自甘肃张掖的野大麦种子内生真菌进行 PCR 鉴定,分离出的 WBE1、WBE3 和 WBE4 菌株均为 *E. bromicola*。

3 内生真菌分布及去除

禾草内生真菌主要存在于禾草养分丰富的地方,几乎全部存在于地上部的茎髓、叶鞘及种子中的组织细胞间隙,并且紧邻植物细胞^[72-75]。赵晓静等^[41]利用光学显微镜和透射电子显微镜(树脂超薄切片)对野大麦种子、茎髓、叶鞘、叶片中的内生真菌分布情况做了相关研究,发现在不同组织部位,内生真菌在紧密度、排列、形状、分枝等多个维度的分布特征略有差异(表 2、表 3)。

表 2 光学显微镜下内生真菌在野大麦体内的分布特征

Table 2 Characteristics of endophytic fungi in wild barley under an optical microscope

指标 Index	种子 Seed	茎髓 Stem	叶片 Blade	叶鞘 Sheath
密集度 Density	比较密集 Relatively dense	密集 Dense	比较稀疏 Relatively sparse	密度最大 Maximally dense
排列 Arrangement	平行或网状排列(种皮) Parallel or mesh arrangement (seed coat)	沿植物轴平行生长,不规则排列 Parallel growth along the plant axis, irregularly arranged	沿植物轴平行生长 Parallel growth along the plant axis	沿叶脉平行排列 Parallel along the veins
形状 Shape	线型(种皮)、粗短、高度弯曲(糊粉层) Linear (seed coat), short and thick, highly curved (seed aleurone layer)	微弯曲、粗细均匀 Micro-curved, uniform thickness	比较弯曲 Relatively curved	比较弯曲 Relatively curved
分枝 Branch	较少(种皮) Few (seed coat) 几乎没有(糊粉层) Hardly any (seed aleurone layer)	少 Few	少 Few	多数不分叉 Most are not forked

表格内容由文献[41]整理得出;表3同。

The data in the table are from Zhao *et al*^[41]; This is applicable for Table 3 as well.

表3 透射电子显微镜下内生真菌在野大麦体内的分布特征
Table 3 Characteristics of endophytic fungi in wild barley under a transmission electron microscope

指标 Index	种子 Seed	茎髓 Stem	叶片 Blade	叶鞘 Sheath
分布 Distribution	种皮细胞间隙 Gap of seed coat cells	茎组织细胞的间隙 Gap of stem tissue cells	叶肉细胞间隙 Gap of mesophyll cells	厚壁细胞附近 Near thick-walled cells
形状 Shape	呈圆形或椭圆形(种皮) Round or oval (seed coat)	圆形或椭圆形 Round or oval	圆形或椭圆形 Round or oval	圆形 Round

在禾草内生真菌共生体的研究中,为了研究得到内生真菌对禾草的影响,往往需要内生真菌未侵染过的禾草(E-)作为对照组。在自然条件下,野大麦内生真菌带菌率很高,所以建立内生真菌未侵染的植株群体十分重要,因此须在明确内生真菌分布的基础上采用一定方法对其进行去除。禾草内生真菌的去除方法有多种,涉及到物理、化学两个方面,即湿热法^[76]和真菌杀菌剂法^[77]。目前仅有曹莹等^[37]研究发现,甲基托布津稀释500倍浸泡野大麦种子8h是去除野大麦种传内生真菌的有效办法,带菌率从100%降至12%,除菌效果明显。

4 野大麦内生真菌特性

4.1 形态及生物生理特性

在经典的菌类分类学中,形态学特征是典型的分类指标之一。通常情况下,内生真菌的形态学分类鉴定主要从菌落质地、形态、生长速度及孢子大小、形状等进行。Chen等^[40]于2019年通过显微镜检测了分离自野大麦种子的3株内生真菌WBE1、WBE3以及WBE4的形态学特征和生长速率。3株

菌株均呈白色,菌落紧密,但在形状和质感上略有差异,分生孢子特征相同(表4)。

每种生物在进化过程中都形成了稳定的生物生理特性。自1991年Wilson等^[57]首次在大麦种质资源发现内生真菌到2014年鉴定野大麦内生真菌为*E. bromicola*^[42],对该内生真菌生物生理学的报道甚少。2016年,陈泰祥等^[43]首次研究了野大麦内生真菌的生物学和生理学特性,明确了分离自甘肃张掖野大麦的内生真菌WBE1菌株的适宜生长温度、pH,对碳源氮源的利用能力以及适宜生长的培养基和生长速率。研究发现,WBE1菌株的最适生长温度为21~25℃,而pH为5.09~6.10。该菌株对不同的碳源和氮源吸收能力有差异,其中吸收能力最强的碳源和氮源分别为麦芽糖和胰蛋白胨,而D-木糖和钼氨酸会抑制菌丝生长。玉米粉琼脂培养基(CMA)、燕麦粉琼脂培养基(OMA)、马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)和马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)都可以作为WBE1菌株的适宜培养基,其中PDA上菌丝增长速率在第6周达到最大值,此后递减。明确这些生物生理学特点,对后来的野大麦内生真菌的分离培养研究提供了最适生长依据。

表4 分离自野大麦的3株*Epichloë bromicola*菌株的菌落和分生孢子特征
Table 4 Characteristics of colonies and conidia of three *Epichloë bromicola* strains isolated from wild barley

菌株 Strain	直径 ¹⁾ Diameter ^{1)/cm}	菌落正面 Colony upper face	菌落反面 Colony reverse	分生孢子 Conidia
WBE1	2.75~2.90	白色、凸起、稍弯曲、棉絮状至蓬松状;边缘为棕褐色 White, raised, slightly convoluted, cottony to fluffy; colony margins tan	棕褐色,边缘亮棕色 Tan centrally to light tan marginally	呈肾状至椭圆形,光滑,透明,无隔膜,(3~5.5) μm × (2.5~3.75) μm,每个分生孢子细胞仅产生一个分生孢子
WBE3	2.30~3.75	白色、扁平、略呈毛毡状 White, flattened, lightly felted	中央浅棕色,边缘奶油状 Light brown centrally to cream at marginally	Reniform to ellipsoidal, smooth, hyaline, aseptate, (3~5.5) μm × (2.5~3.75) μm, a single conidium produced by a single conidiogenous cell
WBE4	2.80~2.90	白色、棉絮状至蓬松状;中间略微卷曲,四周平整 White, cottony to fluffy, slightly convoluted in the center and flattened toward the perimeter	黄色 Yellow	

¹⁾25℃下在PDA培养基上培养至32d时测量。表格内容由文献^[40]整理得出。

¹⁾Measured on PDA medium at 25℃ until 32 days. Data in the table are from Chen *et al.*^[40]

4.2 产碱特性

生物碱是一种含氮的碱性的有机化合物,多存在于植物中。禾草内生真菌共生体产生生物碱,一方面可以阻止昆虫取食禾草,提高禾草的抗虫性^[78-79],另一方面会使家畜在取食禾草后引起中毒^[80-81]。与 *Epichloë* 属有关的生物碱有 4 类,分别为吲哚双萜类 (indolditerpene)、吡咯并吡嗪类 (pyrrolopyrazine)、麦角碱类 (ergot alkaloids) 和饱和吡咯化合物 (pyrrolizidine)^[31, 82-84]。

Chen 等^[40]对来自中国甘肃的野大麦内生真菌共生体中分离出的 3 个菌株 WBE1、WBE3 和 WBE4 进行 4 类生物碱的产碱基因研究发现:3 个菌株均存在 *perA* 基因的 7 个基因片段,即 *perA-A1*、*perA-T1*、*perA-C*、*perA-A2*、*perA-M*、*perA-T2* 和 *perA-R*,同时 *perA-ΔR* 等位基因缺失;*EAS* 基因座上的 *dmaW*、*easF*、*easE* 和 *easC* 基因存在,而基因 *easD*、*lpsC*、*easO* 和 *easP* 不存在,这表明不能产生 chanoclavine I 以外的麦角生物碱。在 *LOL* 基因簇中,仅检测到 *lolC*,表明不能产生 loline 生物碱;*IDT/LTM* 基因簇中,检测到 *idtB*、*idtC*、*idtK*、*idtS* 和 *idtM*,但缺乏 lolitrem B 途径中早期中间体生物合成所必需的功能性 *idtG* 基因^[85],表明不能产生 lolitrem B 甚至早期的中间体。对来自哈萨克斯坦的野大麦内生真菌共生体的生物碱的基因谱研究得到的结果^[39]与 Chen 等^[40]的结果大体类似,略有差异。研究得到两种非杂交基因型内生真菌(基因型 1、5),分离株均存在 *perA* 基因片段,但基因型 5 缺失 *perA-R* 基因;均不含 *LOL* 合成基因片段;在 *EAS* 基因座上检测到 *dmaW*、*easA*、*esaC*、*lpsB*、*cloA* 和 *easH*;基因型 1 的 *IDT* 基因簇中检测到 *idtG* 基因,而基因型 5 中未检测到^[39]。

相较于产碱基因的差异性,生物碱的产生出现了更大的差异。Chen 等^[40]在甘肃野大麦中只有在 E+植株中检测到 peramine,而哈萨克斯坦野大麦中检测到多种生物碱,但同时也因基因型而存在差异:基因型 1 中检测到麦角生物碱、peramine、indole-diterpenes、paspaline 和 terpendole E,而基因型 5 在可检测水平上没有产生与 4 种主要生物碱相关的任何产品^[39]。造成这些差异的原因很可能是地域因素,地域相差甚远致使气候、地形、动植物群落都有很大的差异,野大麦-内生真菌共生体在自然选

择下形成了遗传多样性。有趣的是,曹莹^[86]在盐胁迫下茉莉酸与内生真菌互作对野大麦的影响研究中,检测到野大麦含有 peramine、lolitrem B 以及麦角生物碱,这需要更多方面的研究加以证实。

5 野大麦-内生真菌共生体抗逆性

在野大麦-内生真菌共生体的研究中,共生体抗性部分是所得研究成果最多的一部分,包含非生物抗性和生物抗性。目前已表明内生真菌可提高共生体耐盐、耐酸碱、耐涝、耐干旱、抗老化以及抗虫、抑菌等能力,并促进宿主生长,提高生物量。

5.1 非生物抗性

5.1.1 耐盐性

盐渍化不仅是农业生产的主要威胁,也是世界水资源的主要威胁,预测到 2050 年,所有可耕地的 50% 将受到盐度的影响^[87-89],而耐盐性是野大麦-内生真菌共生体最突出的特性。大量的禾草内生真菌共生体的研究表明,内生真菌可以有效改善禾草的生长状况,具体表现为促进禾草的萌发、生长及分蘖^[12, 90-91],减少盐分对细胞膜的伤害^[13, 92],促进禾草的光合作用^[92],改变禾草体内的离子含量^[12],促进营养代谢^[93],促进抗氧化剂的生成^[13, 48],促进有机渗透调节剂的分泌^[94]等。

内生真菌可以促进野大麦在盐胁迫条件下的萌发、生长及分蘖^[48-50, 53],影响盐胁迫下宿主体内营养元素及离子的含量和比例^[44, 50],影响盐胁迫下宿主的多胺代谢^[50]及理化指标^[44, 48-49, 51](表 5)。Song 等^[50]在不同浓度 NaCl 胁迫下研究发现 E+植株 N、P、K⁺含量均高于 E-植株,Na⁺含量则相反,但 C 含量在两种植株间的含量并无明显差别;Chen 等^[44]的研究证实了大部分结论,唯一不同的是在该研究中 E+植株 C 含量高于 E-,这可能与其在试验中采用 NaCl、Na₂SO₄ 的混合盐有关,表明内生真菌可以通过改变宿主营养转运系统和渗透能力提高宿主的耐盐性。内生真菌还会影响野大麦在盐胁迫下的多胺代谢,其显著增加了亚精胺和精胺含量以及不溶性多胺结合态的比例,降低了腐胺含量、腐胺/(亚精胺+精胺)比值、游离型多胺和可溶性结合型多胺的比例^[49],这表明内生真菌诱导的野大麦耐盐性与腐胺向亚精胺和精胺的转化,以及从游离态和可溶性结合态多胺向不溶性结合态多胺转化能

表5 E+植株对不同非生物胁迫的响应
Table 5 Specific response of E+ plants to different abiotic stresses

胁迫类型 Type of stresses	胁迫部位 Stress site	响应 Response		参考文献 Reference
		生长发育 Growth and development	生理变化 Physiological change	
酸 Acid	种子、植株 Seed, plant	提高发芽势和幼苗干重, 异状发芽率降低 Increased germination potential and seedling dry weight but reduced germination rate of the abnormally shaped seeds		[45]
碱 Alkali	种子、植株 Seed, plant	促进胚芽生长, 提高胚根长、发芽势和幼苗干重 Enhanced shoot growth and increased root length, germination potential, and seedling dry weight	提高蒸腾速率、光合速率、气孔导度、甘氨酸甜菜碱含量以及总抗氧化能力 Increased transpiration rate, photosynthetic rate, stomatal conductance, glycine betaine content, and total antioxidant capacity	[44-45]
干旱 Drought	种子、幼苗 Seed, seedling	提高发芽率和发芽指数以及胚芽长和胚根长 Enhanced shoot growth and increased root length, germination potential, and seedling dry weight	提高幼苗含水量 Increased seedling water content	[47]
水涝 Waterlogging	植株 Plant	提高分蘖、株高和地下生物量 Increased tillering, plant height, and underground biomass	提高叶绿素、脯氨酸含量, 降低丙二醛含量和电解质渗漏 Increased chlorophyll and proline content but reduced malondialdehyde content and electrolyte leakage	[19]
人工老化 Artificial aging	种子 Seed	促进发芽, 提高芽长和根长 Enhanced germination and shoot and root growth	降低膜的损伤, 减少浸出液电导率和可溶性糖的含量 Reduced membrane damage, leachate conductivity, and soluble sugar content	[46]
温度 Temperature	种子、幼苗 Seed, seedling	提高发芽率和发芽指数以及胚芽长和胚根长 Increased germination rate and germination index as well as shoot and root length	提高幼苗含水量 Increased seedling water content	[47]
盐 Salt	种子、植株 Seed, plant	提高发芽率、胚芽胚根长以及植株的株高、分蘖能力和生物量积累。促进 N、P 吸收, C 含量没有显著变化 Increased germination rate, germination index, shoot and root length, plant height, tillering, and biomass accumulation. Promoted N and P absorption; no significant change in C content	Na ⁺ 降低, K ⁺ 升高, Ca ²⁺ 在芽中升高, 在根中降低; 提高可溶性糖、脯氨酸、亚精胺和精胺、叶绿素、甘氨酸甜菜碱的含量, 同时降低丙二醛、腐胺含量和腐胺:(亚精胺精胺); 提高植株 SOD、POD 酶活性、光合作用和总抗氧化能力 Decreased Na ⁺ , increased K ⁺ , increased Ca ²⁺ in the bud, and decreases Ca ²⁺ in the root. Increased soluble sugar, valine, spermidine and spermine, chlorophyll, glycine, and betaine content but reduced malondialdehyde, putrescine content, and putrescine (spermidine) content. Improved plant SOD enzyme activity, photosynthesis, and total antioxidant capacity	[44, 48-51, 53]

力的提高有关。此外, E+植株的光合速率、气孔导度、胞间二氧化碳浓度、叶绿素含量以及 SOD 酶、POD 酶活性、总抗氧化能力均高于 E-植株^[44, 48, 51], 表明内生真菌可通过增强植物的抗氧化能力以及光合作用以提高宿主的耐盐性。

内生真菌还会影响盐胁迫下宿主的基因表达。在对野大麦 4 样本茎叶高通量转录组测序和 miRNA 组测序后发现, 与内生真菌相关的差异表达基因有 598 个, 与盐相关的差异表达基因有 401 个, 并且通过离体 *E. bromicola* 和共生内生真菌的比较发现, 共生后基因表达差异大, 且多种基因显著

影响到多种代谢通路。miRNA 测序发现了多种与耐盐相关的 miRNA, 如显著相关的 miR156 和 miR6209, 也发现了与内生真菌相关的 miRNA (如 hvu-miR5050、hvu-miR5049d 等)^[52], 这为研究野大麦-内生真菌共生体耐盐性 miRNA: mRNA 调控网络奠定了基础。

5.1.2 耐旱与耐涝性

水分是植物生长发育不可缺少的条件, 它参与植物的代谢过程和形态构成, 但干旱和水涝均会降低植物根系活力^[95-96], 影响光合作用^[97-98]、活性氧代谢^[99-100]和渗透性^[101-102], 还会改变叶片形态^[103-104],

使得植物的正常生长发育受到不利影响。研究表明,内生真菌可以提高宿主的耐旱性和耐涝性^[19,47](表 5)。在水淹条件下,一方面,E+植株较 E-植株显示出的损害症状显著减少;另一方面,E+植株的生长能力、生物量积累均显著优于 E-植株。此外,内生真菌还可以促进植株的渗透势和氧化平衡,从而提高植株的抗逆能力^[19]。同样,在不同渗透势下,E+植株均有更好的生长优势以及保水能力,尤其在低渗条件(-0.3 MPa)下,内生真菌就可以促进植株的良好生长,有效抵抗不利的环境条件^[47]。

5.1.3 耐人工老化

种子作为一种最重要的繁殖材料,其品质直接影响植物的生长、产量以及群落的建植,而在种子的贮藏过程中,由于贮藏时间的延长、贮藏条件的不当或者再贮藏过程中受到其他因素的影响,都会导致种子不可逆的老化劣变。研究发现,内生真菌可以提高寄主种子对人工老化的抗性^[46](表 5)。对野大麦人工老化处理后发现,E+种子老化生理反应变化明显有所减缓,通过降低膜的损伤、平衡渗透性而降低种子的劣变程度,同时促进发芽生长,使得种子在同等条件下,可以更长时间地保持活力,进而延长种子贮藏时限^[46]。

5.1.4 其他非生物抗性

植物的正常生长过程往往需要多个维度的最适条件,其中包含最适温度、最适 pH 等,而在植物的实际生长过程中,由于外界因素的可变性,往往不能处于最适条件。经研究发现内生真菌可以提高宿主的耐高低温特性和耐酸碱性(表 5)。高低温胁迫对野大麦-内生真菌共生体的研究主要集中在种子的发芽与生长上。在 10、15 °C 低温和 30 °C 高温的恒温条件,E+有效促进了宿主种子的发芽及生长,有利于植株在逆境中更好地建植从而赢得生长的空间和竞争优势^[47]。在不同 pH 的酸碱胁迫下,内生真菌的存在可以显著提高植株的生长能力,并且在碱胁迫下对寄主营养吸收、理化指标变化以及光合作用产生积极的影响^[44-45]。

5.2 生物抗性

5.2.1 抗虫性

内生真菌可以提高寄主对蚜虫的抗性。Clement 等^[27-28]在野大麦亚种 *H. brevisubulatum violaceum* 中发现,E+植株上的麦双尾蚜(*Diuraphis noxia*)、麦无网长管蚜(*Metopolophium dirhodum*)密度显著低于

E-植株。但是在布顿大麦草(*H. bogdani*)蚜虫试验结果略有出入,这表明内生菌-昆虫相互作用的结果受宿主草种或基因型、内生真菌种类或基因型以及所涉昆虫物种的影响^[28]。Chen 等^[40]发现野大麦共生体中可以产生 peramine^[33],这可能是野大麦内生真菌抗虫性的原因所在。

5.2.2 抗病性

内生真菌可以提高寄主对其他真菌的抗性。杨松等^[56]发现,野大麦中的内生真菌显著增强了野大麦草粉浸提液对绿色木霉菌落生长、孢子萌发和芽管长度的抑制作用。孙一丹^[55]在野大麦离体条件下,对细交链孢(*Alternaria alternata*)、根腐离蠕孢(*Bipolaris sorokiniana*)、麦角菌(*Claviceps purpurea*)、新月弯孢(*Curvularia lunata*)、德氏霉(*Drechslera erythrospila*)、燕麦镰孢(*Fusarium avenaceum*)、半裸镰孢(*F. semitectum*)和腐皮镰孢(*F. solani*)进行了人工接种,发现这 8 种病原菌均较快地侵染 E-叶片并出现病斑,且 E+比 E-叶片的病斑数减少了 44%~68%,病斑长度减少了 82%~92%,由此可知,E+叶片对病原真菌的抵抗力明显高于 E-。同样在盆栽试验中,接种不同病原菌,有些 E+植株的株高显著大于 E-,有些 E+植株的生物量显著大于 E-,这表明内生真菌对不同病原菌的抑制作用和强度不一样。在内生真菌对野大麦不同种带真菌影响研究中发现,野大麦 E+种子的萌发率、发芽势、发芽指数均高于 E-种子,且胚芽胚根长以及苗鲜干重均大于 E-,部分达显著性^[38]。除此之外,还发现 *Epichloë* 属内生真菌可以抑制球囊霉属菌根真菌对野大麦的侵染^[54]。

6 外源物质对野大麦内生真菌共生体的影响

目前,外源物质的施用研究主要集中于氮、磷、营养元素与生长调节剂。氮、磷是植物生长发育的必需营养元素,适当的外源氮、磷的施加可以增加植物生物量^[105],影响种子品质^[106],改善光合作用^[107]等。包含赤霉素、吲哚乙酸等在内的植物生长调节剂同样会影响植物的生长发育,其中适宜浓度茉莉酸类可以促进植物种子萌发^[108],提高光合速率^[109],增强抗逆性^[110-111]等。在野大麦-内生真菌共生体的研究中也得到了类似的结果。低浓度氮、磷的存在可以改善野大麦种子的萌发特性,同时氮、磷的供

应对 E-野大麦种子的改善效果要优于 E+, 在高浓度氮、磷条件下刚好相反^[112], 这一方面表明氮、磷浓度太高不利于野大麦内生真菌的生长, 另一方面间接证明了 E+ 的侵染对寄主的正面作用。与氮、磷供应研究类似, 外源茉莉酸的施加对野大麦内生真菌共生体有一定的影响, 一定浓度的茉莉酸可以促进野大麦种子的萌发, 提高胚根胚芽长, 缓解盐胁迫对植物的伤害并促进植株生长, 但高浓度的茉莉酸会减弱这种促进作用, 因此, 对于野大麦内生真菌共生体外源生长调节剂的添加不宜过多^[86]。

7 展望

野大麦作为一种潜在的优良牧草、生态草和盐碱地改良草种, 在我国北方草原尤其是草甸草原上有着广泛的分布, 与内生真菌形成的共生体具有多种抗逆性, 这在生境胁迫中有着很大的应用潜力。相较于醉马草内生真菌共生体、多年生黑麦草内生真菌和高羊茅内生真菌共生体, 野大麦内生真菌共生体未来还有很大的研究与拓展空间。

首先, 目前分离鉴定出的野大麦内生真菌只有两种, 其中纯合种只有一种, 共生体单一, 缺乏多样性, 而基于野大麦从西北的新疆到东北的黑龙江的广泛分布, 可以挖掘内生真菌资源, 筛选更多的优良菌株, 丰富有益的内生真菌资源多样性。

再次, 内生真菌提高野大麦抗逆机理的研究大

多集中在钠钾离子吸收、多胺代谢等生理生化层面, 分子方面仅涉及到一点转录组的高通量测序筛选。在今后的研究中, 可以基于筛选出的 miRNA 寻找存在的靶基因并进行功能验证, 在蛋白水平具体解释出 miRNA 的调控作用, 也可以通过高通量测序扩大 RNA 的挖掘, 如 lncRNA、ceRNA、circRNA 等, 探寻不同 RNA 之间的相互作用和调控网络。在内生真菌及其共生体的基因组、蛋白组、代谢组等组学方面, 挖掘、克隆、验证耐盐等抗逆的重要性状功能的基因和蛋白, 以便深层次地解析耐盐的分子机理。

最后, 目前包含野大麦内生真菌在内的整个大麦属内生真菌的研究利用才刚刚起步, 仅有兰州大学草地农业科技学院正在利用野大麦内生真菌 (*E. bromicola*) 进行大麦属牧草和作物种质创新和新品种选育的研究。一方面, 野大麦内生真菌的研究不要仅仅局限于这一个共生体, 可以通过人工接种的方式在小麦族植物尤其是大麦 (*H. vulgare*)、小麦 (*Triticum sativum*) 等农作物方面进行研究, 通过生物互作的方式为新品种的选育提供方向, 发挥其生物学和经济学价值; 另一方面, 期望能够充分发挥野大麦内生真菌共生体的抗逆特性, 选育出适合不同逆境胁迫生长的新品种, 使其在盐碱草地改良与生态环境修复等方面发挥更大的优势。

参考文献 References:

- [1] 孙启忠. 优良耐盐牧草: 野大麦. 草与畜杂志, 1996(4): 25-26.
SUN Q Z. Excellent salt-tolerant pasture: Wild barley. Grass and Cattle Magazine, 1996(4): 25-26.
- [2] 刘树强. 优质耐盐牧草: 野大麦. 中国草业科学, 1987, 4(6): 53.
LIU S Q. Excellent salt-tolerant pasture: Wild barley. Pratacultural Science of China, 1987, 4(6): 53.
- [3] 景鼎五, 王占山. 吉林省的野生优良禾草: 野大麦. 吉林农业科学, 1981(2): 73-76.
JING D W, WANG Z S. Wild excellent grass in Jilin Province: Wild barley. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 1981(2): 73-76.
- [4] 程肖蕊, 杨松涛. 草原之星野大麦. 植物杂志, 1996(6): 12.
CHENG X R, YANG S T. Prairie star wild barley. Plant Journal, 1996(6): 12.
- [5] 王洪君, 高兰阳, 陈宝玉, 任志国. “三北”盐碱地优良牧草: 野大麦. 草业与畜牧, 2009(1): 19-20.
WANG H J, GAO L Y, CHEN B Y, REN Z G. "Three North" saline-alkali fine pasture: Wild barley. Grass and Animal Husbandry, 2009(1): 19-20.
- [6] 董卫民, 李卓憬. 野大麦人工栽培驯化试验. 草业科学, 1992, 9(5): 38-39.
DONG W M, LI F J. Domestication and cultivation of wild barley grass. Pratacultural Science, 1992, 9(5): 38-39.
- [7] 柴凤久, 郭宝华. 野大麦的特性及其栽培利用. 当代畜禽养殖业, 1992(4): 14-15.
CHAI F J, GUO B H. Characteristics and cultivation utilization of wild barley. Contemporary Livestock and Poultry Farming, 1992(4): 14-15.
- [8] SIEGEL M R, LATCH G C M, JOHNSON M C. Fungal endophytes of grasses. Annual Review of Phytopathology, 1987, 25: 293-315.

- [9] SCHARDL C L, BALESTRINI R, FLOREA S, ZHANG D X, SCOTT B. *Epichloë* endophytes: *Clavicipitaceous* symbionts of grasses. // DEISING H B. (eds) *Plant Relationships*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2009.
- [10] LEUCHTMANN A, BACON C W, SCHARDL C L, WHITE J F, TADYCH M. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycologia*, 2014, 106(2): 202-215.
- [11] 姬承东, 周芸芸. 内生真菌-鸭茅互作对宿主植物抗盐性的影响. *安徽农业科学*, 2015, 43(5): 109-112.
JI C D, ZHOU Y Y. Effects of interaction between endophytic fungi and *Dactylis glomerata* on the salt resistance of host plants. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2015, 43(5): 109-112.
- [12] SABZALIAN M R, MIRLOHI A. *Neotyphodium* endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2010, 173(6): 952-957.
- [13] 缙小媛. 内生真菌对醉马草耐盐性的影响研究. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2007.
GOU X Y. Effects of *Neotyphodium* endophyte on salt tolerance to drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*). Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2007.
- [14] CHEN N, HE R L, CHAI Q, LI C J, NAN Z B. Transcriptomic analyses giving insights into molecular regulation mechanisms involved in cold tolerance by *Epichloë* endophyte in seed germination of *Achnatherum inebrians*. *Plant Growth Regulation*, 2016, 80(3): 367-375.
- [15] 杨洋. 中华羊茅内生真菌及其对宿主抗寒性的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2010.
YANG Y. *Neotyphodium* endophyte in *Festuca sinensis* and effect on cold tolerance to host. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2010.
- [16] 陈娜. 醉马草遗传多样性及内生真菌对其抗寒性影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2008.
CHEN N. Genetic diversity of drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) and effects of its endophyte infection on cold tolerance. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2008.
- [17] SWARTHOUT D, HARPER E, JUDD S, GONTHIER D, SHYNE R, STOWE T, BULTMAN T. Measures of leaf-level water-use efficiency in drought stressed endophyte infected and non-infected tall fescue grasses. *Environmental & Experimental Botany*, 2009, 66(1): 88-93.
- [18] RUDGERS J A, SWAFFORD A L. Benefits of a fungal endophyte in *Elymus virginicus* decline under drought stress. *Basic & Applied Ecology*, 2009, 10(1): 43-51.
- [19] SONG M L, LI X Z, SAIKKONEN K, LI C J, NAN Z B. An asexual *Epichloë* endophyte enhances waterlogging tolerance of *Hordeum brevisubulatum*. *Fungal Ecology*, 2015(13): 44-52.
- [20] WANG J J, ZHOU Y P, LIN W H, LI M M, WANG M N, WANG Z G, YU K, TIAN P. Effect of an *Epichloë* endophyte on adaptability to water stress in *Festuca sinensis*. *Fungal Ecology*, 2017, 30: 39-47.
- [21] BONNET M, CAMARES O, VEISSEIRE P. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. Apollo). *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 945.
- [22] SOLEIMANI M, HAJABBASI M A, AFYUNI M, MIRLOHI A, BORGGAARD O K, HOLM P E. Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca arundinacea* and *Festuca pratensis*. *International Journal of Phytoremediation*, 2010, 12: 535-549.
- [23] LI C J, GAO J H, NAN Z B. Interactions of *Neotyphodium gansuense*, *Achnatherum inebrians*, and plant-pathogenic fungi. *Mycological Research*, 2007, 111(10): 1220-1227.
- [24] CLARKE B B, WHITE J F, HURLEY R H, TORRES M S, SUN S, HUFF D R. Endophyte-mediated suppression of dollar spot disease in fine fescues. *Plant Disease*, 2006, 90(8): 994-998.
- [25] CHRISTENSEN M J. Antifungal activity in grasses infected with *Acremonium* and *Epichloë* endophytes. *Australasian Plant Pathology*, 1996, 25(3): 186-191.
- [26] KIRFMAN G W, BRANDENBURG R L, GARNER G B. Relationship between insect abundance and endophyte infestation level in tall fescue in Missouri. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 1986, 59(3): 552-554.
- [27] CLEMENT S L, WILSON A D, LESTER D G, DAVITT C M. Fungal endophytes of wild barley and their effects on *Diuraphis noxia* population development. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 1997, 82(3): 275-281.
- [28] CLEMENT S L, ELBERSON L R, BOSQUE-PÉREZ N A, SCHOTZKO D J. Detrimental and neutral effects of wild barley-*Neotyphodium* fungal endophyte associations on insect survival. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 2005, 114(2): 119-125.
- [29] ZHANG X X, LI C J, NAN Z B, MATTHEWÀ C. *Neotyphodium* endophyte increases *Achnatherum inebrians* (drunken horse grass) resistance to herbivores and seed predators. *Weed Research*, 2012, 52(1): 70-78.
- [30] PENNELL C G L, ROSTON P, KOTEN V C, HUME D E, CARD S D. Reducing bird numbers at New Zealand airports a unique endophyte product. *New Zealand Plant Protection*, 2017, 70: 224-234.

- [31] SHELBY R A. Analysis of ergot alkaloids in endophyte-infected tall fescue by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(12): 4674-4679.
- [32] GALLAGHER R T, CAMPBELL A G, HAWKES A D, HOLLAND P T, MCGAVESTON D A, PANSIER E A, HARVEY I C. Ryegrass staggers: the presence of lolitrem neurotoxins in perennial ryegrass seed. *New Zealand Veterinary Journal*, 1982, 30(11): 183-184.
- [33] 南志标, 李春杰. 禾草-内生真菌共生体在草地农业系统中的作用. *生态学报*, 2004, 24(3): 605-616.
NAN Z B, LI C J. Roles of the grass-*Neotyphodium* association in pastoral agriculture systems. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 605-616.
- [34] 李春杰, 姚祥, 南志标. 醉马草内生真菌共生体研究进展. *植物生态学报*, 2018, 42(8): 793-805.
LI C J, YAO X, NAN Z B. Advances in research of *Achnatherum inebrians-Epichloë* endophyte symbionts. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2018, 42(8): 793-805.
- [35] 王正凤. 内生真菌对野大麦耐盐性影响的研究. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2009.
WANG Z F. Effects of endophyte infection on salt tolerance of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*). Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2009.
- [36] NAN Z B, LI C J. *Neotyphodium* in native grasses in China and observations on endophyte/host interaction. // PAU I V H, DAPPRICH P D. (eds) Proceedings of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. Soest, Germany, 2000: 41-50.
- [37] 曹莹, 姚祥, 陈水红, 李春杰. 甲基托布津对野大麦内生真菌共生体的生长及生理生化的影响. *草业科学*, 2018, 35(2): 323-330.
CAO Y, YAO X, CHEN S H, LI C J. Effect of thiophanate methyl on the growth and physiological and biochemical characteristics of *Hordeum brevisubulatum-Epichloë bromicola* symbionts. *Pratacultural Science*, 2018, 35(2): 323-330.
- [38] 张永雯. 内生真菌对野大麦种带真菌及其盐胁迫条件下抗病性的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2019.
ZHANG Y W. Effects of *Epichloë* endophyte on seed associated fungi and disease resistance of wild barley under salt stress conditions. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.
- [39] YI M, HENDRICKS W Q, KASTE J, CHARLTON N D, NAGABHYRU P, PANACCIONE D G, YOUNG C A. Molecular identification and characterization of endophytes from uncultivated barley. *Mycologia*, 2018(3): 453-472.
- [40] CHEN T X, WAYNE R S, SONG Q Y, CHEN S H, LI C J, ZAHEER A. Identification of *Epichloë* endophytes associated with wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) and characterisation of their alkaloid biosynthesis. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 2019, 62(2): 131-149.
- [41] 赵晓静, 王萍, 李秀璋, 古丽君, 李春杰. 内生真菌在禾草体内的分布特征. *草业科学*, 2015, 32(8): 1206-1215.
ZHAO X J, WANG P, LI X Z, GU L J, LI C J. Distribution characteristics of *Epichloë* endophyte in gramineous grasses. *Pratacultural Science*, 2015, 32(8): 1206-1215.
- [42] SONG H, NAN Z B. Origin, divergence, and phylogeny of asexual *Epichloë* endophyte in *Elymus* species from western China. *PLoS One*, 2014, 10(5): e0127096.
- [43] 陈泰祥, 李春杰, 李秀璋. 一株野大麦内生真菌的生物学与生理学特性. *草业科学*, 2016, 33(9): 1658-1664.
CHEN T X, LI C J, LI X Z. Biological and physiological characteristics of *Epichloë bromicola* endophyte symbiotic with *Hordeum brevisubulatum*. *Pratacultural Science*, 2016, 33(9): 1658-1664.
- [44] CHEN T X, JOHNSON R, CHEN S H, LYU H, ZHOU J L, LI C J. Infection by the fungal endophyte *Epichloë bromicola* enhances the tolerance of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) to salt and alkali stresses. *Plant & Soil*, 2018, 428(2): 1-18.
- [45] 彭清青, 李春杰, 宋梅玲, 梁莹, 南志标. 不同酸碱条件下内生真菌对三种禾草种子萌发的影响. *草业学报*, 2011, 20(5): 72-78.
PENG Q Q, LI C J, SONG M L, LIANG Y, NAN Z B. Effects of *Neotyphodium* endophytes on seed germination of three grass species under different pH conditions. *Acta Prataculturæ Sinica*, 2011, 20(5): 72-78.
- [46] 赵晓静, 李秀璋, 王萍, 李春杰. 内生真菌对野大麦种子人工老化处理下的生理影响. *草地学报*, 2015, 23(6): 1272-1277.
ZHAO X J, LI X Z, WANG P, LI C J. Effects of endophytic fungi on the seed physiology of *Hordeum brevisubulatum* under artificial ageing treatment. *Acta Agrestic Sinica*, 2015, 23(6): 1272-1277.
- [47] 宋梅玲, 李春杰, 彭清青, 梁莹, 南志标. 温度和水分胁迫下内生真菌对野大麦种子发芽的影响. *草地学报*, 2010, 18(6): 833-837.
SONG M L, LI C J, PENG Q Q, LIANG Y, NAN Z B. Effects of *Neotyphodium* endophyte on germination of *Hordeum brevisubulatum* under temperature and water stress conditions. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18(6): 833-837.
- [48] 王正凤, 李春杰, 金文进, 南志标. 内生真菌对野大麦耐盐性的影响. *草地学报*, 2009, 17(1): 88-92.
WANG Z F, LI C J, JIN W J, NAN Z B. Effect of *Neotyphodium* endophyte infection on salt tolerance of *Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link. *Acta Agrestia Sinica*, 2009, 17(1): 88-92.
- [49] CHEN T X, LI C J, WHITE J F, NAN Z B. Effect of the fungal endophyte *Epichloë bromicola* on polyamines in wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) under salt stress. *Plant and Soil*, 2019, 436(1/2): 29-48.
- [50] SONG M L, CHAI Q, LI X Z, YAO X, LI C, CHRISTENSEN M J, NAN Z B. An asexual *Epichloë* endophyte modifies the

- nutrient stoichiometry of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) under salt stress. *Plant & Soil*, 2015, 387(1/2): 153-165.
- [51] CHEN S H, CHEN T X, YAO X, LV H, LI C J. Physicochemical properties of an asexual *Epichloë* endophyte-modified wild barley in the pressure of salt stress. *Pakistan Journal of Botany*, 2018, 50: 2105-2111.
- [52] 陈水红. 基于 mRNA 和 miRNA 组学研究内生真菌提高野大麦耐盐机理. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2019.
CHEN S H. Improvement of salt tolerance mechanism of wild barley by *Epichloë* endophytic fungi based on mRNA and miRNAomics. PhD Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.
- [53] 方爱国. 盐与磷胁迫条件下内生真菌和菌根菌对野大麦生长的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2013.
FANG A G. Effects of *Neotyphodium* endophyte and AM fungi on growth of *Hordeum brevisubulatum* under salt and phosphorus stress conditions. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2013.
- [54] 方爱国. *Neotyphodium* 属禾草内生真菌和球囊霉属菌根真菌对野大麦生长的影响. *草业科学*, 2014, 31(3): 457-461.
FANG A G. Effects of *Neotyphodium* endophyte and AMF on *Hordeum brevisubulatum* growth. *Pratacultural Science*, 2014, 31(3): 457-461.
- [55] 孙一丹. 病原真菌对野大麦内生真菌共生体的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2015.
SUN Y D. Effects of endophyte infection on fungal pathogens of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*). Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2015.
- [56] 杨松, 李春杰, 黄玺, 柴青, 南志标. 被内生真菌侵染的禾草提取液对真菌的抑制作用. *菌物学报*, 2010, 29(2): 234-240.
YANG S, LI C J, HUANG X, CHAI Q, NAN Z B. Antifungal activity of acetone extracts of grasses infected with *Neotyphodium* endophytes. *Mycosystema*, 2010, 29(2): 234-240.
- [57] WILSON A D, CLEMENT S L, KAISER W J. Endophytic fungi in a *Hordeum germplasm* collection. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 1991, 87: 1-4.
- [58] MOON C D, CRAVEN K D, LEUCHTMANN A, CLEMENT S L, SCHARDL C L. Prevalence of interspecific hybrids amongst asexual fungal endophytes of grasses. *Molecular Ecology*, 2010, 13(6): 1455-1467.
- [59] CLAY K, JONES J P. Transmission of *Atkinsonella hypoxylon* (Clavicipitaceae) by cleistogamous seed of *Danthonia spicata* (Gramineae). *Canadian Journal of Botany*, 1984, 62(12): 2893-2895.
- [60] HARVEY I C, FLETCHER L R, EMMS L M. Effects of several fungicides on the *Lolium* endophyte in ryegrass plants, seeds, and in culture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1982, 25(4): 601-606.
- [61] FUNK C R, HALISKY P M, JOHNSON M C, SIEGEL M R, STEWART A V, AHMAD S, HURLEY R H, HARVEY I C. An endophytic fungus and resistance to sod webworms: Association in *Lolium Perenne* L. *Nature Biotechnology*, 1983, 1(2): 189-191.
- [62] SAHA D C. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. *Phytopathology*, 1988, 78(2): 237-239.
- [63] BACON C W, PORTER J K, ROBBINS J D, LUTTRELL E S. *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. *Applied & Environmental Microbiology*, 1977, 34(5): 576-581.
- [64] NEILL J C. The endophyte of rye-grass (*Lolium perenne*). *New Zealand Journal of Science & Technology*, 1940, 21: 280-291.
- [65] KATHLEEN SAMPSON M S. The systemic infection of grasses by *Epichloe typhina* (Pers.) Tul. *Transactions of the British Mycological Society*, 1933, 18(1): 30-47.
- [66] 陈振江, 魏学凯, 曹莹, 田沛, 赵晓静, 李春杰. 禾草内生真菌检测方法研究进展. *草业科学*, 2017, 34(7): 1419-1433.
CHEN Z J, WEI X K, CAO Y, TIAN P, ZHAO X J, LI C J. Research progress of methods on grass fungal endophyte detection. *Pratacultural Science*, 2017, 34(7): 1419-1433.
- [67] 李春杰, 南志标, 刘勇, VOLK H P, DAPPRICH P. 醉马草内生真菌检测方法的研究. *中国食用菌*, 2008, 27: 16-19.
LI C J, NAN Z B, LIU Y, VOLK H P, DAPPRICH P. Methodology of endophyte detection of drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*). *Edible Fungi of China*, 2008, 27: 16-19.
- [68] LI C, NAN Z, PAUL V H, DAPPRICH P D, LIU Y. A new *Neotyphodium* species symbiotic with drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) in China. *Mycotaxon*, 2004, 90(1): 141-147.
- [69] III E E H, HILL N S. *Neotyphodium coenophialum* mycelial protein and herbage mass effects on ergot alkaloid concentration in tall fescue. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, 23(12): 2721-2736.
- [70] FUCHS B, KRISCHKE M, MUELLER M J, KRAUSS J. Peramine and lolitrem B from endophyte-grass associations cascade up the food chain. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(11/12): 1385-1389.
- [71] 梁玮莎, 易建平, 周而勋. 高羊茅和多年生黑麦草内生真菌的分子检测. *菌物研究*, 2006, 4(3): 96-97.
LIANG W S, YI J P, ZHOU E X. Molecular detection of endophytic fungi in tall fescue and perennial ryegrass. *Journal of Fungal Research*, 2006, 4(3): 96-97.
- [72] 李春杰. 醉马草-内生真菌共生体生物学与生态学特性的研究. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2005.
LI C J. Biological and ecological characteristics of *Achnatherum inebrians*-*Neotyphodium* endophyte symbiont. PhD Thesis.

- Lanzhou: Lanzhou University, 2005.
- [73] YOUSSEF N N, DUGAN F M. Location of an endophytic *Neotyphodium* sp. within various leaf tissues of wild barley (*Hordeum brevisubulatum* subsp. *violaceum*). 2000, 124: 17-19.
- [74] RASMUSSEN S, PARSONS A J, NEWMAN J A. Metabolomics analysis of the *Lolium perenne*-*Neotyphodium lolii* symbiosis: More than just alkaloids? *Phytochemistry Reviews*, 2009, 8(3): 535-550.
- [75] 赵晓静. 禾草内生真菌显微结构及其检测方法的研究. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2015.
ZHAO X J. Studies on detection methods and microstructure of *Epichloë* endophytes of grasses. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2015.
- [76] WILLIAMS M J, BACKMAN P A, CLARK E M, WHITE J F. Seed Treatments for control of the tall fescue endophyte *Acremonium coenophialum*. *Plant Disease*, 1984, 68(1): 49-52.
- [77] 朱敏杰, 张丽红, 任安芝, 高玉葆. 用丙环唑杀除羽茅内生真菌. 南开大学学报(自然科学版), 2013, 46(2): 88-93.
ZHU M J, ZHANG L H, REN A Z, GAO Y B. Eliminating the endophytic fungi in *Achnatherum sibiricum* by propiconazole. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2013, 46(2): 88-93.
- [78] WILKINSON H H, SIEGEL M B, MALLORY A C, BUSH L P, SCHARDL C L. Contribution of fungal loline alkaloids to protection from aphids in a grass-endophyte mutualism. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13(10): 1027-1033.
- [79] HILL N S, THOMPSON F N, STUEDEMANN J A, ROTTINGHAUS G W, JU H J, DAWE D L, HIATT E E. Ergot alkaloid transport across ruminant gastric tissues. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(2): 542-549.
- [80] CUNNINGHAM I J, SWAN J B, HOPKIRK C S M. The symptoms of ergot poisoning in sheep. *New Zealand Journal of Science & Technology*, 1944, 26(4): 121-125.
- [81] YATES S G. Toxicity of tall fescue forage: A review. *Economic Botany*, 1962, 16(4): 295-303.
- [82] SPIERING M J, ELIZABETH D, TAPPER B A, JAN S, LANE G A. Simplified extraction of ergovaline and peramine for analysis of tissue distribution in endophyte-infected grass tillers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(21): 5856-5862.
- [83] FLETCHER L R, POPAY A J, TAPPER B A. Evaluation of several lolitrem-free endophyte/perennial ryegrass combinations. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 1991, 53: 215-219.
- [84] BLANKENSHIP J D, SPIERING M J, WILKINSON H H, FANNIN F F, BUSH L P, SCHARDL C L. Production of loline alkaloids by the grass endophyte, *Neotyphodium uncinatum*, in defined media. *Phytochemistry*, 2001, 58(3): 395-401.
- [85] YOUNG C A, TAPPER B A, KIMBERLEY M, MOON C D, SCHARDL C L, BARRY S. Indole-diterpene biosynthetic capability of *Epichloë* endophytes as predicted by *ltm* gene analysis. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(7): 2200-2211.
- [86] 曹莹. 盐胁迫下茉莉酸与内生真菌互作对野大麦的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2018.
CAO Y. Effects of interaction between jasmonic acid and endophytic fungi on wild barley under salt stress. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2018.
- [87] ARAGÜÉS R, URDANOZ V, ÇETIN M, KIRDA C, DAGHARI H, LTIFI W, LAHLOU M, DOUAİK A. Soil salinity related to physical soil characteristics and irrigation management in four Mediterranean irrigation districts. *Agricultural Water Management*, 2011, 98(6): 959-966.
- [88] BUTCHER K, WICK A F, DESUTTER T, CHATTERJEE A, HARMON J. Soil salinity: A threat to global food security. *Agronomy Journal*, 2016, 108(6): 2189.
- [89] WILLIAMS W D. Salinisation: A major threat to water resources in the arid and semi-arid regions of the world. *Lakes & Reservoirs Research & Management*, 2010, 4(3/4): 85-91.
- [90] 尹立佳. 内生真菌感染对宿主禾草盐碱耐受性的生理生态影响. 天津: 南开大学硕士学位论文, 2012.
YIN L J. Physiological and ecological effects of endophytic fungal infection on salinity tolerance of host grass. Master Thesis. Tianjin: Nankai University, 2012.
- [91] 张晶晶, 安沙舟, 施宠, 刘辉, 杨娇. 内生真菌侵染对盐胁迫下德兰臭草种子萌发及幼苗生理特性的影响. 中国草地学报, 2017, 39(2): 59-64.
ZHANG J J, AN S Z, SHI C, LIU H, YANG J. Effects of endophytic fungi on seed germination and seedling physiological characteristics of *Melica transsilvanica* under salt stress. *Chinese Journal of Grassland*, 2017, 39(2): 59-64.
- [92] BU N, LI X M, LI Y Y, MA C Y, MA L J, ZHANG C. Effects of Na₂CO₃ stress on photosynthesis and antioxidative enzymes in endophyte infected and non-infected rice. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2012, 78(78): 35-40.
- [93] MALINOWSKI D P, ALLOUSH G A, BELESKY D P. Leaf endophyte *Neotyphodium coenophialum* modifies mineral uptake in tallfescue. *Plant and Soil*, 2000, 227(1/2): 115-126.
- [94] 施宠, 黄炜, 王纯利. 内生真菌对披碱草耐盐性的影响. 新疆农业大学学报, 2016, 39(4): 277-280.
SHI C, HUANG W, WANG C L. Effects of endophytic fungi on salt tolerance of *Elymus dahuricus*. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2016, 39(4): 277-280.

- [95] 马富举, 李丹丹, 蔡剑, 姜东, 曹卫星, 戴廷波. 干旱胁迫对小麦幼苗根系生长和叶片光合作用的影响. *应用生态学报*, 2012, 23(3): 724-730.
MA F J, LI D D, CAI J, JIANG D, CAO W X, DAI T B. Responses of wheat seedlings root growth and leaf photosynthesis to drought stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(3): 724-730.
- [96] 王芳. 大豆耐淹性鉴定及其形态解剖特征、遗传与 QTL 定位. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2007.
WANG F. Evaluation of submergence tolerance its morpho-anatomical characteristics, inheritance and QTL mapping in soybean. PhD Thesis. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2007.
- [97] LEE D K, JUNG H, JANG G, JEONG J S, KIM Y S, HA S H, CHOI Y D, KIM K J. Overexpression of the *OsERF71* transcription factor alters rice root structure and drought resistance. *Plant Physiology*, 2016, 172(1): 575-588.
- [98] 利容千, 王建波. 植物逆境细胞及生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 2002.
LI R Q, WANG J B. *Plant Stress Cell and Physiology*. Wuhan: Wuhan University Press, 2002.
- [99] OU L J, DAI Z Q, ZHANG X X, ZOU X X. Responses of pepper to waterlogging stress. *Photosynthetica*, 2011, 49(3): 339-345.
- [100] 谷岩, 梁焯赫, 王振民, 何文安, 赵福林, 吴春胜. 不同抗旱性玉米苗期叶片活性氧代谢对水分胁迫的响应. *安徽农业科学*, 2009, 37(29): 14089-14091, 14117.
GU Y, LIANG X H, WANG Z M, HE W A, ZHAO F L, WU C S. Response of activated oxygen metabolism to water stress in the leaves of different drought-resistant corns in seedling stage. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(29): 14089-14091, 14117.
- [101] TIAN Q S, WANG S Y, DU J C, WU Z J, LI X Q, HAN B. Reference genes for quantitative real-time PCR analysis and quantitative expression of *P5CS* in *Agropyron mongolicum* under drought stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(9): 2097-2104.
- [102] PISTELLI L, IACONA C, MIANO D, CIRILLI M, COLAO M C, MENSUALI-SODI A, MULEO R. Novel *Prunus* rootstock somaclonal variants with divergent ability to tolerate waterlogging. *Tree Physiology*, 2012, 32(3): 355-368.
- [103] 牟凤娟, 李军萍, 陈丽萍, 李一果. 裸子植物形态解剖结构特征与抗旱性研究进展. *福建林业科技*, 2016, 43(3): 237-243.
MOU F J, LI J P, CHEN L P, LI Y G. The progress on the relationship between the morphological and anatomical characters and the resistant-drought in gymnosperms. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2016, 43(3): 237-243.
- [104] 辛俊亮, 黄白飞, 杨中艺, 袁剑刚, 徐亚幸. 铺地木蓝对不同程度淹水胁迫的生理响应. *草业学报*, 2012, 21(3): 177-183.
XIN J L, HUANG B F, YANG Z Y, YUAN J G, XU Y X. Physiological responses of *Indigofera spicata* to different flooding stress. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(3): 177-183.
- [105] LI F, HU C, XIE Y H, LIU W Z, CHEN X S, DENG Z M, HOU Z Y. Influence of differ P enrichment frequency on plant growth and plant C : N : P in a P-Limited subtropical lake wetland, China. *Frontiers In Plant Science*, 2018, 9: 1608-1616.
- [106] ZHANG Y Q, WANG M Y, YAN H F, MAO C L, MAO P S. Influence of nitrogen and phosphorus fertilization on quality and germination potential of smooth bromegrass seed. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2018, 20(2): 361-368.
- [107] 张明聪, 何松榆, 金喜军, 王孟雪, 任春元, 战英策, 胡国华, 张玉先. 氮磷调控对大豆-玉米轮作下植株光合生产能力和产量的影响. *大豆科学*, 2018, 37(6): 883-890.
ZHANG M C, HE S Y, JIN X J, WANG M X, REN C Y, ZHAN Y C, HU G H, ZHANG Y X. Effects of nitrogen and phosphorus regulation on photosynthetic capacity and yield under soybean and maize rotation. *Soybean Science*, 2018, 37(6): 883-890.
- [108] 杨艺, 常丹, 王艳, 张富春. 盐胁迫下茉莉酸 (JA) 及茉莉酸甲酯 (MeJA) 对棉花种子萌发及种苗生化特性的影响. *种子*, 2015, 34(1): 8-13.
YANG Y, CHANG D, WANG Y, ZHANG F C. Effects of exogenous JA and MeJA on seed germination and seeding physiological characteristics of *Gossypium hirsutum* under salt stress. *Seed*, 2015, 34(1): 8-13.
- [109] YOON J Y, HAMAYUN M, LEE S K, LEE I J. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 2009, 2(2): 63-68.
- [110] ANJUM S A, WANG L, FAROOQ M, KHAN I, XUE L. Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 2011, 197(4): 296-301.
- [111] WU H L, WU X L, LI Z H, DUAN L S, ZHANG M C. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in culiflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2012, 31(1): 113-123.
- [112] 周景乐. 氮磷供应与内生真菌互作对野大麦生长的影响. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2019.
ZHOU J L. Interactions of nitrogen and phosphorus supply and *Epichloë bromicola* on growth of wild barley. Master Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.

(责任编辑 魏晓燕)