

研究报告

黄骅盐碱地玉米根系内生真菌分离及耐盐促生功能

张静¹, 张腾¹, 肖耀鹏¹, 葛申奥¹, 徐璐¹, 刘雪颖¹, 侯力峰^{*1,2}, 曾凡力^{*1,2}

1 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071001

2 河北农业大学 华北作物改良与调控国家重点实验室, 河北 保定 071001

张静, 张腾, 肖耀鹏, 葛申奥, 徐璐, 刘雪颖, 侯力峰, 曾凡力. 黄骅盐碱地玉米根系内生真菌分离及耐盐促生功能[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4089-4103.

ZHANG Jing, ZHANG Teng, XIAO Yaopeng, GE Shen'ao, XU Lu, LIU Xueying, HOU Lifeng, ZENG Fanli. Isolation of endophytic fungi from the roots of maize in the saline-alkaline land in Huanghua and screening of strains improving salt tolerance and growth of maize[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 4089-4103.

摘要: 【背景】土壤盐渍化是影响玉米产量的主要因素之一, 植物内生真菌可显著提高植物抗逆性, 促进生长发育, 玉米内生真菌的研究对玉米增产具有重要意义。【目的】探究从黄骅盐碱地玉米根系分离的内生真菌的促生特性及对玉米植株的促生效果, 为盐碱地玉米增产提供理论依据与材料支持。【方法】采用组织块法从玉米根系中分离内生真菌并通过浸种实验筛选在 NaCl 胁迫下对玉米种子萌发具有促进效果的内生真菌; 利用形态学和分子生物学相结合的方法对筛选到的内生真菌进行鉴定并测定其解磷解钾、分泌吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)及产铁载体能力等促生特性; 采用盆栽试验探究筛选的内生真菌在 NaCl 胁迫下对玉米生物量、株高、根长、SPAD 值及抗氧化酶和丙二醛(malondialdehyde, MDA)等的影响, 评价内生真菌对提高玉米促生耐盐效果的影响。【结果】从玉米根系中共分离得到 25 株内生真菌, 其中内生真菌 DYM7 和 DYM11 在 0.15 mol/L NaCl 胁迫下对玉米种子萌发具有显著促进效果, 萌发率达 90%; 通过形态学与分子生物学鉴定, 菌株 DYM7 为土栖棘壳孢(*Setophoma terrestris*), 菌株 DYM11 为嘴突凸脐蠕孢(*Exserohilum rostratum*), 其均具有解钾、产铁载体、分泌 IAA 的能力; 在 NaCl 胁迫下, 经菌株 DYM7 和 DYM11 处理提高了玉米的株高和根长, 同时提高了超氧化物歧化酶(superoxide oxidase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性, 降低了 MDA 含量。经菌株 DYM11 处理的玉米的地上干重和地下干重较对照显著提高了 16.43%和 22.17%。【结论】筛选的内生真菌通过提高玉米抗氧化酶活性、增加根长及株高、降低 MDA 含量, 从而提高玉米对盐胁迫的耐受能力并促进玉米生长, 为滨海盐碱区有益微生物增强农作物盐耐受性并提高其产量提供理论依据和材料支持。

关键词: 盐碱地; 内生真菌; 耐盐; 促生; 玉米

资助项目: 国家自然科学基金(32201293); 河北省教育厅科学研究项目(BJK2023046); 河北省省属高等学校基本科研业务费项目(KY2022104)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32201293), the Science Research Project of Hebei Education Department (BJK2023046), and the Research Project on Basic Scientific Research Business Expenses of Provincial Colleges and Universities in Hebei Province (KY2022104).

*Corresponding authors. E-mail: HOU Lifeng, houlifeng@hebau.edu.cn; ZENG Fanli, shmzfl@hebau.edu.cn

Received: 2024-01-19; Accepted: 2024-02-22; Published online: 2024-04-09

Isolation of endophytic fungi from the roots of maize in the saline-alkaline land in Huanghua and screening of strains improving salt tolerance and growth of maize

ZHANG Jing¹, ZHANG Teng¹, XIAO Yaopeng¹, GE Shen'ao¹, XU Lu¹, LIU Xueying¹, HOU Lifeng^{*1,2}, ZENG Fanli^{*1,2}

1 College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei, China

2 State Key Laboratory of North China Crop Improvement and Regulation, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei, China

Abstract: [Background] Soil salinity is one of the main factors affecting maize yield, and endophytic fungi can significantly improve the resistance and growth of plants. Studying the endophytic fungi of maize is of great significance to increase maize yield. [Objective] To study the growth-promoting effects of endophytic fungi isolated from the roots of maize growing in the saline-alkaline land in Huanghua and the growth-promoting effects of the fungi on maize plants, so as to provide a theoretical basis and material support for increasing the maize yield in saline-alkaline land. [Methods] The tissue culture method was used to isolate endophytic fungi from the roots of maize. The seed soaking experiments were carried out to screen out the strains capable of promoting the germination of maize seeds under NaCl stress. The strains screened out were identified by morphological observation and molecular biological methods and characterized for the growth-promoting properties such as phosphorus- and potassium-solubilizing, indole-3-acetic acid (IAA)-secreting, and siderophore-producing abilities. Pot experiments were conducted to evaluate the effects of the strains on the biomass, plant height, root length, SPAD value, superoxide oxidase (SOD) activity, peroxidase (POD) activity, and malondialdehyde (MDA) content of maize plants under NaCl stress. [Results] A total of 25 strains of endophytic fungi were isolated from the roots of maize, among which the strains DYM7 and DYM11 significantly promoted the germination of maize seeds exposed to 0.15 mol/L NaCl, with the germination rate reaching 90%. DYM7 was identified as *Setophoma terrestris* and DYM11 as *Exserohilum rostratum*, both of which had the abilities of solubilizing potassium, producing siderophores, and secreting IAA. Under NaCl stress, strains DYM7 and DYM11 increased the plant height, root length, and SOD and POD activities and reduced the MDA content of maize. Moreover, strain DYM11 increased the aboveground dry weight and underground dry weight of maize plants by 16.43% and 22.17%, respectively, compared with the control. [Conclusion] The endophytic fungal strains capable of improving the salt tolerance and growth of maize by increasing the antioxidant enzyme activities, root length, and plant height, and decreasing the MDA content were screened out in this study. This study provides a theoretical basis and material support for the application of beneficial microbial in coastal saline-alkaline areas in improving the salt tolerance and yields of crops.

Keywords: saline-alkaline land; endophytic fungi; salt tolerance; growth-promoting; maize

玉米不仅是我国第一大粮食作物也是重要的饲料和工业原料。我国玉米种植面积长居世界首位，产量仅次于美国。在当前供需两旺的大背景下，我国玉米缺口呈增长趋势，对国际市场依赖度高。提高玉米产量已成为农业生产中亟待解决的问题之一。盐碱地作为我国重要的后备耕地资源，开展盐碱地玉米种植，对于玉米产量的提高有着特殊意义。然而，土壤中高的可溶性盐含量会影响植物根系对水分和营养物质的吸收，进而干扰植物正常的生理进程，严重的会引起植物死亡，威胁着农业生产和粮食安全的健康发展^[1-3]。目前，微生物的施用被认为是绿色高效地缓解盐胁迫影响的有效方式之一。已有研究表明植物内生真菌的定殖与植物盐胁迫等逆境耐受性密切相关^[4]。因此，挖掘更多的具有促生耐盐效应内生真菌资源，对于增强玉米等植株的盐耐受性和提高玉米产量至关重要。

目前报道在自然界中约有 100 万种内生真菌^[5]，这些内生真菌广泛存在于植物组织或器官内部，并且不会引起植物产生明显病症^[6]。已有研究表明植物根系中存在的多种内生真菌定殖，是植物适应相应生长环境的重要策略之一^[7]，并且这些内生真菌在与植物共同进化过程中也逐渐适应环境压力^[8]。内生真菌在与植物相互作用的过程中，可以通过溶解磷、钾等常量元素合成植物激素、铁载体等方式，促进宿主对营养的吸收^[9]、改变营养相互作用^[10]并增强植物对病原体^[11]的防御能力，提高对植物非生物胁迫的耐受性^[12]。生境适应性也是内生真菌提高植物体内同化物的积累和转移、渗透调节、细胞壁弹性维持的重要方式。同时，内生真菌可被用于开发生物菌肥，以减少化肥农药的使用，降低其对环境的伤害，也可作为对抗多种植物病原体的生防菌剂使用^[13]。此外，侯姣姣

等^[14]在盐胁迫条件下分别用黑附球菌(*Epicoccum* spp.)、哈茨木霉(*Trichoderma* spp.)、丝核菌(*Rhizoctonia* spp.)、曲霉菌(*Aspergillus* spp.)菌液灌根处理国槐幼苗，发现幼苗抗盐能力显著提高。Ali 等^[15]研究发现，在盐胁迫下接种番茄匍柄霉(*Stemphylium lycopersici*)也可缓解盐胁迫带来的危害。实际上，植物内生真菌在盐胁迫生境中具有极其丰富的物种多样性并发挥重要的生物学功能。然而，从我国滨海盐碱区农田植物根系中分离的内生真菌是否同样具有提高玉米等植物生长及耐盐的能力，目前还缺乏相关研究。

我国是受盐胁迫影响最严重的国家之一。渤海湾滨海盐碱区是我国盐碱土壤聚集的典型区域之一^[16]。其中氯化钠是该区域盐分的主要组成成分^[17]。本研究从黄骅市盐碱种植区玉米根系分离筛选对玉米种子萌发具有积极作用的内生真菌，并以玉米与内生真菌共生关系为切入点，进一步明确内生真菌对玉米植株促生耐盐效果的影响。以期筛选到具有促生特性的优良菌株，探究其在盐生环境下提高玉米耐盐特性的生态功能。为充分利用内生真菌资源促进盐碱区作物栽培及盐碱特色农业可持续发展提供菌种支持和理论依据，为滨海盐碱地植物内生真菌资源挖掘提供科学支撑，为生物改良法在滨海盐碱地治理提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 样品

2022 年 7 月从河北省沧州市黄骅市杨二庄镇(38°27'N, 117°47'E)，通过五点取样法采集玉米根系样品，同时利用土壤盐度计 PNT Combi5000 测定采样地盐度约为 0.1%。玉米根系样品放入无菌自封袋，低温运输回实验室进行玉米根系内生真菌的分离鉴定。无包衣玉米种子购自河南金博士种业股份有限公司。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基,北京奥博星生物技术公司;金氏培养基 B (King's B medium, KMB)参考文献[18]配制;溶解无机磷固体(norganic phosphorus agar, NPA)培养基和解钾固体培养基(PDA 培养基一侧撒上少量灭菌钾长石粉末,另一侧接种菌株)参考文献[19]配制;铬天青 S (chrome azurol S, CAS)培养基参考文献[20]配制。

1.3 主要试剂和仪器

Salkowski 比色液参考文献[18]配制;其余试剂均为国产分析纯。智能生化培养箱,宁波赛福实验仪器有限公司;ScanMaker i800 Plus 扫描仪,上海中晶科技有限公司;WinRHIZO 图片分析系统,Regent Instruments 有限公司;冷冻型高通量组织研磨器,宁波新芝生物科技股份有限公司;光学显微镜,星特朗公司;土壤盐度计,北京博普特科技有限公司;SPAD-502 Plus,柯尼卡美能达办公系统(中国)有限公司;电子天平,奥豪斯仪器(常州)有限公司;PCR 仪,伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

1.4 玉米根系内生真菌的分离纯化

取采样玉米根系洗净,剪成 0.5 cm 小段,在超净工作台中用 75%乙醇浸泡 3 min 后无菌水洗净,3%次氯酸钠浸泡 2 min 后无菌水洗净,置于 PDA 培养基中 27 °C 黑暗培养,并每天观察。同时,取 200 μ L 根系最后漂洗的无菌水,涂布于 PDA 培养基作为对照,确保所分离菌种均为根系内生菌。将根段上长出的菌丝转接到新的 PDA 培养基再行培养和纯化。

1.5 内生真菌在 NaCl 胁迫下对玉米种子萌发的影响

将分离的内生真菌菌盘(9 mm)放入加有 1 mL 无菌水的离心管中,置于研磨仪中 50 Hz

研磨 60 s,用无菌水定容至 20 mL。将玉米种子浸种处理 12 h。随后将浸种后的玉米种子清洗干净置于有两层滤纸片的培养皿中,以含有 0.5% NaCl 和 1% NaCl 的无菌水做盐胁迫处理,以无菌水做对照。在 12 h 光照/12 h 黑暗的温室中进行萌发培养。以种子萌发长度超过 0.1 cm 为发芽标准,观察并记录培养皿中的发芽数,重复 5 次。筛选在 NaCl 胁迫下对玉米种子萌发具有促进作用的内生真菌。

1.6 内生真菌的鉴定

将筛选到的内生真菌在 27 °C 黑暗培养 14 d,依据《真菌鉴定手册》^[21]进行内生真菌的菌落形态及微观形态观察。

从每个菌落上刮取少量菌丝体,采用 CTAB 法^[22]提取真菌基因组。采用通用引物 ITS1 (5'-CTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS4 (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(20 μ L): dNTP (10 mmol/L) 0.4 μ L, 0.5% BSA 0.6 μ L, 10 \times Long PCR Buffer 2 μ L, *Pfu+Taq* (5 U/ μ L) 0.2 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L) 各 1 μ L, DNA 模板(50 ng/ μ L) 1 μ L, ddH₂O 13.8 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 共 34 次循环; 72 °C 5 min。将 PCR 扩增产物送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将测序所得序列结果在 GenBank 数据库进行比对。利用 MEGA X 软件构建 maximum likelihood (ML) 系统发育树, 自展值为 1 000。

1.7 内生真菌的促生功能分析

1.7.1 菌株解磷能力的测定

将筛选到的内生真菌接种至 NPA 培养基上, 27 °C 培养 5 d。通过观察是否产生透明溶磷圈, 并采用十字交叉法分别测量溶磷圈直径 (*D*) 和菌落直径 (*d*)^[23], 根据 *D/d* 比值初步筛选出具有溶磷活性的菌株^[24]。

1.7.2 菌株解钾能力的测定

将筛选到的内生真菌接种于解钾固体培养基上, 27 °C培养 8 d, 重复 5 次。以菌丝生长速度、菌丝形态、菌落形态为考察指标, 观察平板菌丝对含钾矿粉的趋化性和生长特征, 初步选出具有解钾活性的菌株^[19]。

1.7.3 菌株产 IAA 能力的测定

采用 Salkowski 比色法^[18]进行内生真菌产 IAA 能力的测定。将具有耐盐促生能力的内生真菌菌株分别接种到含诱导物色氨酸(1.5 g/L)和不含诱导物的 KMB 培养基中, 27 °C、120 r/min 摇床培养 6 d 进行液体发酵, 将发酵液于 12 000×g 离心 10 min, 取 1 mL 上清液加入等量氯化铁比色液, 暗处静置 30 min, 观察其颜色变化情况。以 1 mL 无菌水和 KMB 培养基加入等量氯化铁比色液作为阴性对照, 以 1 mL IAA 标准液(10 µg/mL)加入等量氯化铁比色液作阳性对照, 重复 5 次。根据其显色的深浅进行初步判断, 能分泌吲哚乙酸为阳性(+), 反之为阴性(-)。以标品 IAA 配制 0.5、1.0、5.0、10.0、15.0、20.0 mg/L 的标准液, 按上述显色方法测定 530 nm 处吸光度(以蒸馏水加等量比色液调零), 计算出标准曲线方程, 将显色菌株置于紫外分光光度计波长 530 nm 处测 OD 值, 代入标准曲线计算含量。

1.7.4 菌株产铁载体能力的测定

将筛选到的内生真菌菌盘(9 mm)接种于 CAS 固体培养基上, 重复 3 次, 于 28 °C 恒温培养 5 d, 观察菌株周围是否出现橙色铁载体晕圈, 并采用十字交叉法分别测量铁载体晕圈直径(D)和菌落直径(d), 根据 D/d 比值初步筛选出产铁载体菌株^[20]。

1.8 NaCl 胁迫下内生真菌对玉米植株生长的影响

盆栽试验共设置 2 个因素, 分别为真菌接种处理(接种菌株 DYM7、DYM11 和未接种处理)

和 NaCl 胁迫处理(0% NaCl 和 0.1% NaCl)。NaCl 胁迫处理主要依据采样地土壤的实际平均盐度。

首先将外形饱满均一的玉米种子依次放入 70%乙醇 3 min, 2.5%次氯酸钠中 10 min 进行表面灭菌, 随后用无菌水冲洗灭菌种子 3 次。将灭菌种子接种含有两层滤纸的培养基中(皿中含适量无菌水), 于 27 °C 下恒温培养。待种子萌发后随机挑选无污染且长势相同的幼苗用于回接实验。保定农田土与沙子按照体积比 1:1 混匀作为土壤基质。

首先将 400 g 混合基质加入已灭菌的塑料杯中, 随后将 2 个直径 9 mm 的内生真菌菌饼置于基质最上层, 最后覆盖 200 g 混合基质。未接种对照处理添加 2 个直径 9 mm 未生长任何真菌的 PDA 培养基。每盆随机接种长势相同的 3 株玉米幼苗。所有玉米植株置于温度 27 °C/22 °C (光照/黑暗)、光照 14 h/d、湿度 60%、光照强度 0–12 000 lx 的温室中。

待玉米长至 4 叶期, 加入 0.15 mol/L 的 NaCl 进行盐胁迫处理(分 2 次灌溉, 间隔 1 d), 使土壤中含有 0.1% NaCl, 以蒸馏水做对照。NaCl 胁迫处理后待玉米生长至 V12-12 叶期进行收苗处理。

1.8.1 玉米形态指标测定

记录不同处理下每盆内生真菌与玉米联合体株高, 使用 SPAD-502 Plus 测定叶片 SPAD 值。随后将玉米地上和地下部分分开收获, 并用流动的水清洗植物根系以移除残留在植物根系表面的土壤, 用吸水纸吸干并称得鲜重。清洗干净的植物根系放置于树脂玻璃托盘中, 用 ScanMaker i800 Plus 扫描仪扫描植物根系并获得分辨率为 300 dpi 的玉米根系结构图像。WinRHIZO 图片分析系统用于分析获得的根系图像, 并确定不同处理下玉米根系总长度等玉米形态参数。收集部分玉米共生体根系样品采用酸性品红染色法^[25]用于内生真菌定殖观测。

1.8.2 NaCl 胁迫下玉米抗氧化指标测定

收集盆栽试验所有处理下新鲜的玉米根系用于抗氧化指标测定,采用氮兰四唑法测定超氧化物歧化酶(superoxide oxidase, SOD)活性,采用愈创木酚法测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性,采用 TBA 比色法测定丙二醛含量^[18]。将剩余的新鲜根系在 70 °C 下干燥至恒定重量,测定玉米根系干重。

1.9 统计分析

利用 Microsoft Excel 2022 软件对实验数据进行整理与绘图。使用 IBM SPSS Statistics 27 软件对所得数据进行统计分析。运用单因素方差分析和最小显著差异(least significant difference, LSD)法进行组间差异分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 内生真菌在 NaCl 胁迫下对玉米种子萌发的效应

在玉米根系中共分离得到 25 株内生真菌。随着 NaCl 浓度增加,玉米种子萌发率呈现降低趋势。相较于对照组,在 0 mol/L NaCl 处理下,菌株 DYM7、DYM10 和 DYM25 显著提高玉米种子萌发率。当 NaCl 浓度达到 0.15 mol/L,菌株 DYM7、DYM11 显著提高玉米种子发芽率,均为 90%。结果表明菌株 DYM7 和 DYM11 在 NaCl 胁迫下对提高玉米种子萌发具有积极影响(表 1)。因此,菌株 DYM7 和 DYM11 被用于后续盆栽试验,测定其对玉米的促生耐盐效果。

2.2 内生真菌菌株的形态学鉴定结果

菌株 DYM7 在 PDA 培养基培养 5 d,菌落直径约为 2.8 cm,棕红色,菌丝致密,绒毡状,无褶皱(图 1A)。菌丝棕色有格,厚垣孢子表面光滑,球形(图 1B)。菌株 DYM11 在 PDA 培养基上培养 5 d,菌落直径约为 7.5 cm,灰黑至黑色,结构致密,绒毡状,表面无褶皱(图 1C)。

表 1 NaCl 胁迫下不同菌株处理玉米种子萌发情况

Table 1 Maize seed germination under different strains

处理 Treatment	0 mol/L NaCl 发芽率 germination rate (%)	0.1 mol/L NaCl 发芽率 germination rate (%)	0.15 mol/L NaCl 发芽率 germination rate (%)
CK	80±2b	75±3ab	20±2b
DYM5	80±3b	70±2b	20±3b
DYM6	75±2bc	75±2ab	30±3c
DYM7	95±1a	70±3b	90±2a
DYM10	90±3a	80±1a	60±2d
DYM11	85±1ab	75±3ab	90±3a
DYM13	75±4bc	70±1b	20±5b
DYM16	85±1ab	80±2a	25±3bc
DYM17	80±3b	70±3b	20±3b
DYM19	75±1b	72±1b	15±1e
DYM20	78±1b	75±1ab	20±2b
DYM21	78±2b	75±1ab	18±1b
DYM22	80±3b	78±1a	30±2c
DYM23	72±1c	79±1a	30±3c
DYM24	70±1c	75±2ab	25±4bc
DYM25	87±2a	83±2a	19±1b
DYM28	83±1b	85±1a	35±1c
DYM30	83±1b	80±2a	25±1b
DYM32	77±2b	72±2b	28±2c
DYM34	75±2bc	74±1ab	30±2c
DYM35	74±3bc	75±1ab	19±3b
DYM36	72±3c	65±3c	25±3bc
DYM38	80±3c	77±1a	13±3e
DYM40	77±2c	73±2b	20±2b
DYM41	80±3c	81±1a	19±3b
DYM42	72±2c	68±1b	20±1b

同列不同小写字母表示不同菌株处理在 $P < 0.05$ 水平差异显著

Different lowercase letters in the same column indicated significant difference in $P < 0.05$ level between different strains.

菌丝深棕色,横隔清晰可见。分生孢子深褐色,椭圆形(图 1D)。

2.3 菌株 ITS 序列分析及系统发育树的构建

根据菌株 DYM7 和菌株 DYM11 菌落形态、颜色及产孢结构等显微特征进行初步判断(图 1),再通过 NCBI 数据库进行比对,利用 MEGA 构建系统发育树(图 2),发育树节点上的百分值(bootstrap

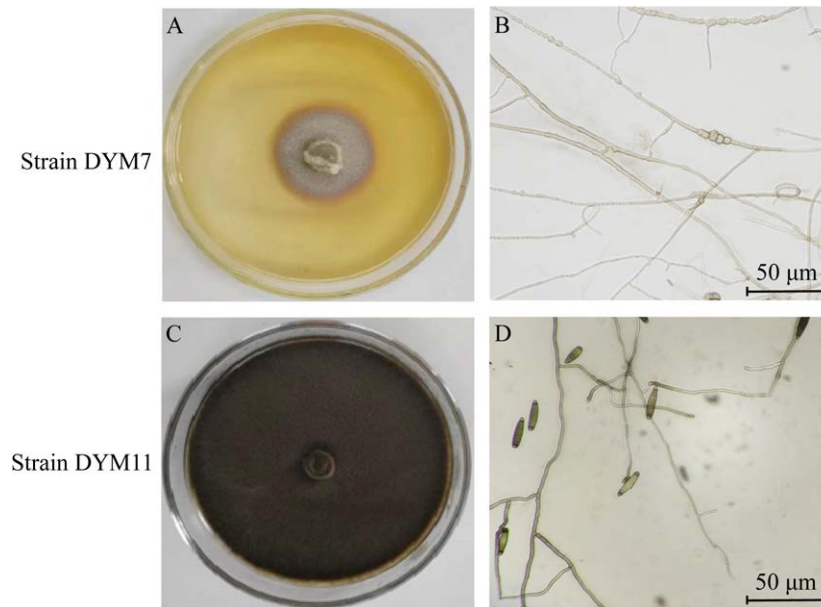


图 1 菌株 DYM7 和 DYM11 的菌落和菌丝形态

Figure 1 Colony and mycelial morphology of strains DYM7 and DYM11.

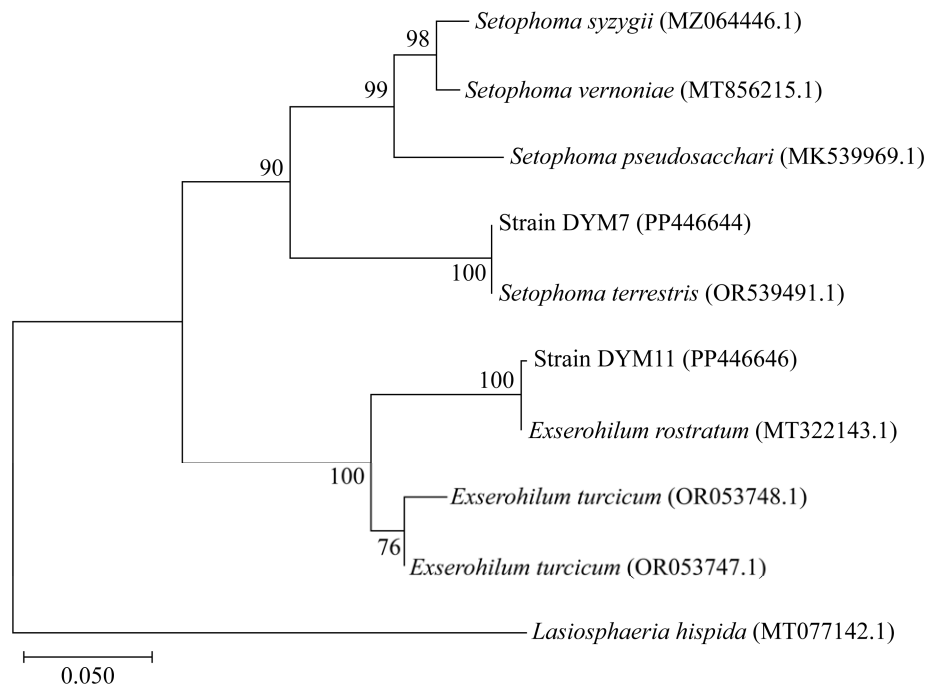


图 2 基于 rDNA ITS 序列构建的菌株 DYM7 和 DYM11 系统发育树 括号内为 GenBank 登录号;分支点上数字代表可信度;标尺 0.050 代表进化距离

Figure 2 Phylogenetic tree of strains DYM7 and DYM11 constructed based on rDNA ITS sequences. The serial numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The numbers on the nodes indicates the credibility; The scale data 0.050 represents the evolutionary distance.

值)越大,表示菌株在进化距离上相似度越近。从系统发育树可以看出菌株 DYM7 与 *Setophoma terrestris* 聚为一类,基因序列相似性最高达到 100%。结合形态学和分子生物学鉴定,初步确定菌株 DYM7 为土栖棘壳孢(*S. terrestris*)。菌株 DYM11 与 *Exserohilum rostratum* 聚为一类基因序列相似性最高达 100%。结合形态学和分子生物学鉴定,初步确定菌株 DYM11 为嘴突凸脐蠕孢菌(*E. rostratum*)。

2.4 内生真菌菌株促生特性结果

2.4.1 菌株解磷能力的测定结果

采用溶磷圈法对菌株 DYM7 和 DYM11 分解无机磷的能力进行检测。菌株 DYM7 和 DYM11 在 NPA 培养基上均不形成透明圈,结果表明菌株 DYM7 和 DYM11 均不具备分解无机磷的能力(图 3)。

2.4.2 菌株解钾能力的测定结果

根据菌株对钾长石粉末趋向性生长对菌株 DYM7 和 DYM11 的解钾能力进行检测。菌株 DYM7 和 DYM11 在解钾固体培养基上均可覆盖钾长石粉,结果表明 2 株菌均具有解钾能力,其中菌株 DYM11 的解钾能力高于菌株 DYM7,4 d 即全覆盖钾长石粉末(图 4)。

2.4.3 菌株分泌 IAA 能力的测定结果

采用 Salkowski 比色法对菌株 DYM7 和 DYM11 分泌 IAA 的能力进行检测。其中菌株 DYM7 和 DYM11 与 Salkowski 比色液反应后分

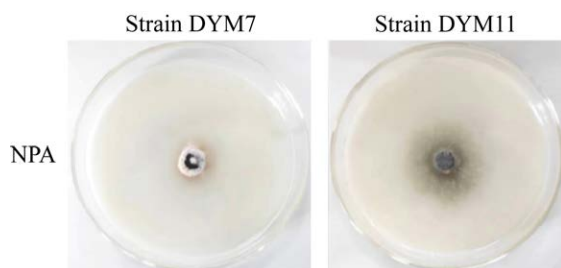


图 3 菌株 DYM7 和 DYM11 的解磷能力
Figure 3 DYM7 and DYM11 dissolving inorganic phosphorus capacity.

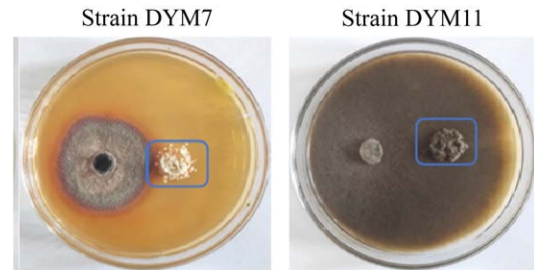


图 4 菌株 DYM7 和 DYM11 解钾能力 蓝框内为钾长石粉撒放区域

Figure 4 DYM7 and DYM11 dissolving potassium solubilizing capacity. The blue frame is the potassic feldspar powder distribution area.

别呈现较深的粉色(++)和浅粉色(+) (图 5A),表明 2 株菌均具备分泌 IAA 的能力。根据分光光度法对菌株 DYM7 和 DYM11 产 IAA 的量进行测定,其中菌株 DYM7 的 IAA 产量为 69.6 $\mu\text{g/mL}$ 显著高于菌株 DYM11 的 23.4 $\mu\text{g/mL}$,结果表明菌株 DYM7 产生长素的能力更高(图 5)。

2.4.4 菌株产铁载体能力的测定结果

采用 CAS 法对菌株 DYM7 和 DYM11 的产铁载体能力进行检测。菌株 DYM7 和 DYM11 在 CAS 固体培养基上均可形成明显的橘黄色分泌圈,表明 2 株内生真菌均具备产铁载体的能力。根据透明圈法对菌株 D/d 值进行计算,菌株 DYM7 的 D/d 值为 2,菌株 DYM11 的 D/d 值为 2.5,其中菌株 DYM11 的 D/d 值大于 DYM7,说明菌株 DYM11 产铁载体能力更高(图 6)。

2.5 内生真菌定殖分析

采用酸性品红染色法对接种植株 DYM7 和 DYM11 的玉米根系进行内生真菌定殖分析。在 0%和 0.1% NaCl 条件下,接种菌株 DYM7 和 DYM11 均可以定殖于玉米根系,可观察到明显的内生真菌定殖结构(图 7)。在未接种菌株的玉米根系中未观察到侵染结构。结果表明,从玉米根系中分离出的内生真菌 DYM7 和 DYM11 均可以定殖于玉米根系内,形成明显的定殖结构。

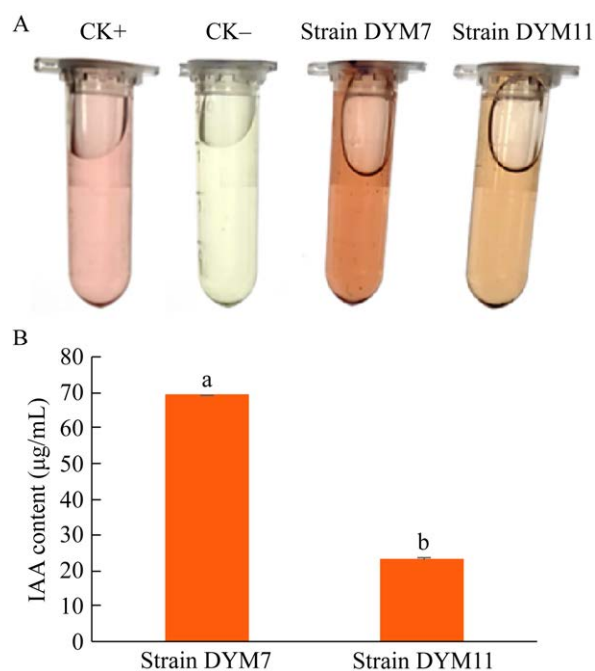


图5 菌株 DYM7 和 DYM11 产 IAA 能力的测定
A: Salkowski 比色结果(CK+: 阳性对照; CK-: 阴性对照). B: IAA 含量. 不同小写字母表示差异显著, 下同

Figure 5 Determination of IAA production ability of strains DYM7 and DYM11. A: Salkowski colorimetric results (CK+: positive control; CK-: negative control). B: IAA content. Different lowercase letters indicate significant differences, the same below.

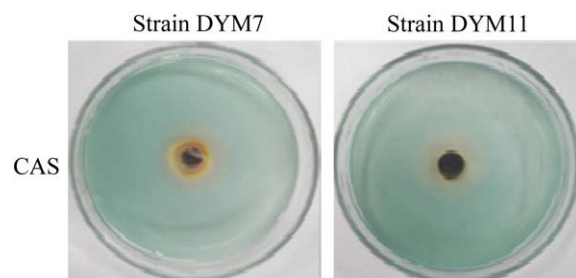


图6 菌株 DYM7 和 DYM11 分泌铁载体的能力
Figure 6 Ability of strains DYM7 and DYM11 to secrete ferriferous carriers.

2.6 NaCl 胁迫下内生真菌对玉米的促生效应

2.6.1 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米株高和根长的影响

相较于对照组, 在 0% NaCl 条件下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 的共生体植株均显著提高玉米株高, 分别提高了 6% 和 4.9% (图 8A, $P < 0.05$)。在 0.1% NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 均显著提高玉米株高与根长(图 8A、8B, $P < 0.05$), 分别提高了 9.4%、10.8%, 18.1%、62.2%。结果表明, 在 NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 均对玉米生长具有显著的促进作用。

2.6.2 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米生物量的影响

相较于对照组, 在 0% NaCl 条件下, 接种菌

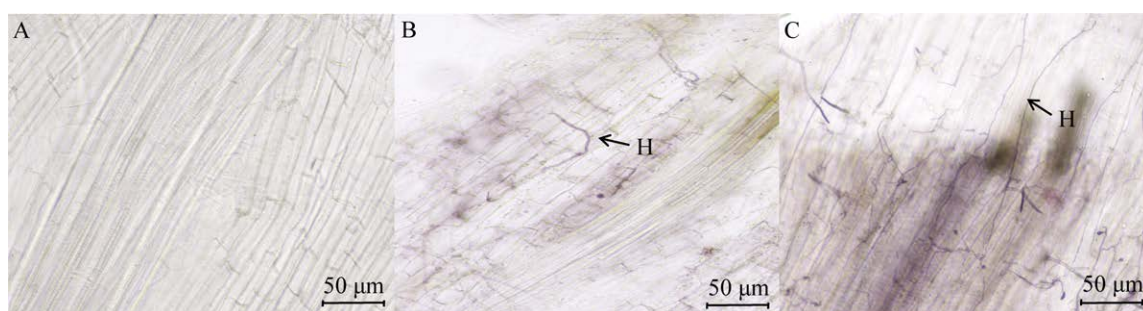


图7 菌株 DYM7 和 DYM11 根系定殖观察 A: 对照组. B: 菌株 DYM7. C: 菌株 DYM11. H: 菌丝. 标尺为 50 µm

Figure 7 Observation of root colonization of strains DYM7 and DYM11. A: Control. B: Strain DYM7. C: Strain DYM11. H: Hyphae. Bar: 50 µm.

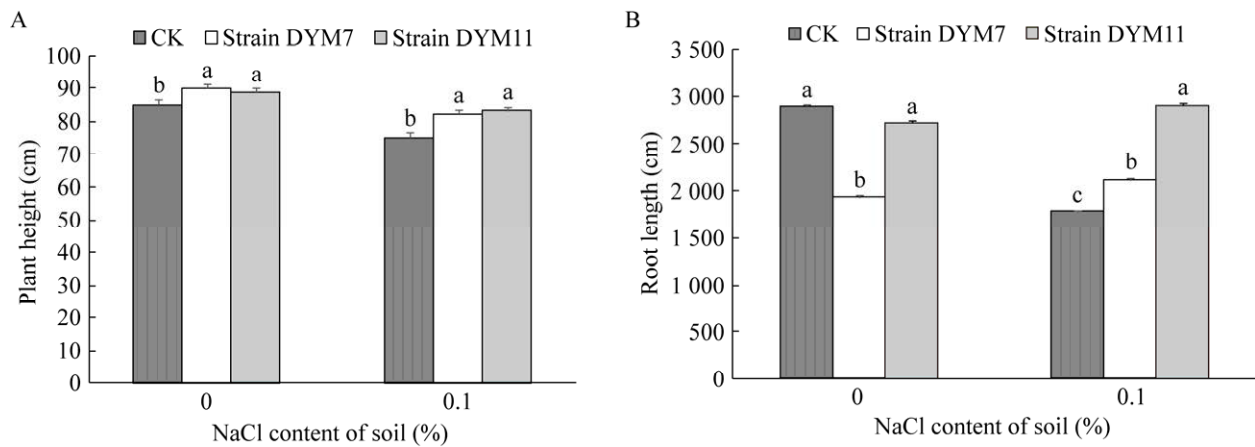


图 8 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米植株株高及根长的影响

Figure 8 Effect of strains DYM7 and DYM11 on plant height and root length of maize.

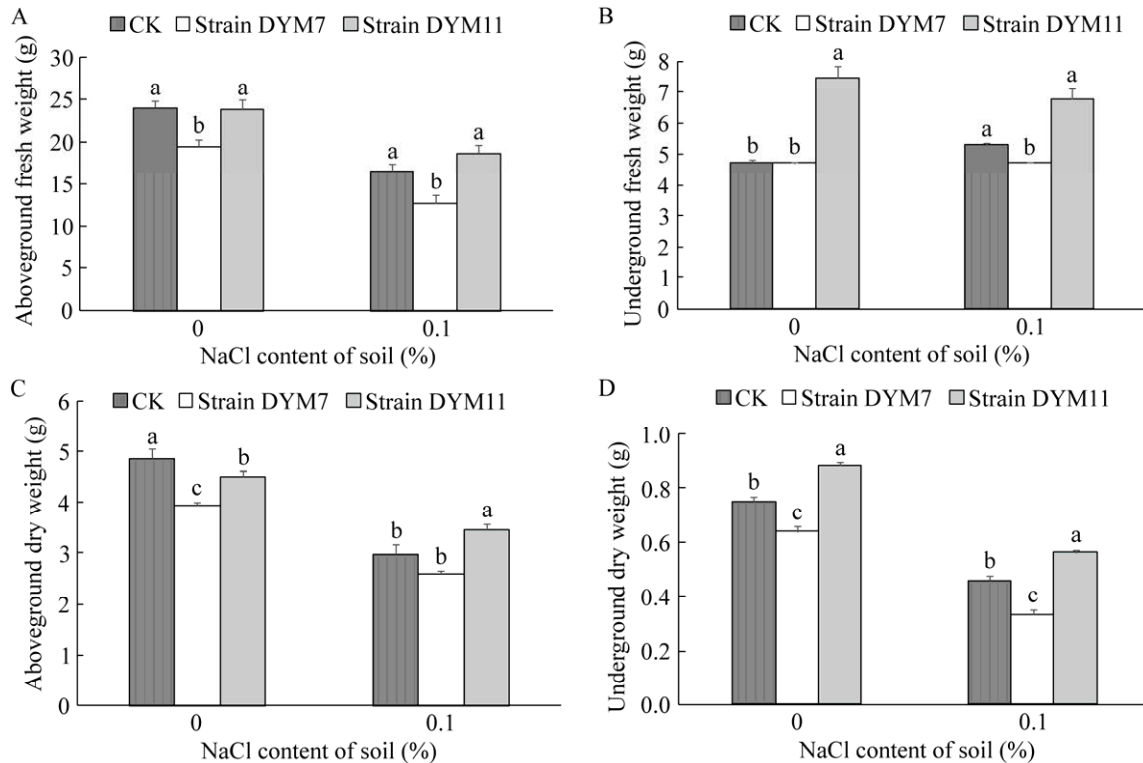


图 9 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米植株生物量的影响

Figure 9 Effect of strains DYM7 and DYM11 on biomass of maize plants.

株 DYM11 对玉米地上鲜重无显著影响(图 9A, $P < 0.05$), 玉米地下鲜重、干重显著提高, 分别提高了 57.49%和 17.7% (图 9B、9D, $P < 0.05$)。在 0.1% NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM11 对玉米地

上鲜重无显著影响(图 9A, $P < 0.05$), 玉米地上干重和地下干重影响显著, 分别提高了 16.43%和 22.17% (图 9C–9D, $P < 0.05$)。此外, 在 0% NaCl 条件下, 接种菌株 DYM7 较对照的玉米地上鲜

重、干重显著降低(图 9A、9C, $P<0.05$), 说明在无盐胁迫条件下接种菌株 DYM7 对玉米地上物质积累有抑制效应。

2.6.3 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米植株抗氧化酶指标及丙二醛含量及 SPAD 的影响

在 0% NaCl 条件下, 相较于对照组, 接种菌株 DYM7 与 DYM11 后玉米根系 SOD 和 POD 活性均显著增加, 分别提高了 237.8%、67.2%, 258.0%和 32.3% (图 10A、10B, $P<0.05$); 接种菌株 DYM7 与 DYM11 后玉米根系 MDA 含量显著降低了 35.16%和 33.21% (图 10C, $P<0.05$); 接种菌株 DYM7 的玉米叶片 SPAD 值显著提高了 15.79% (图 10D, $P<0.05$)。在 0.1% NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 与 DYM11 后玉米根系 SOD 和 POD 活性均显著提高, 分别提高了 182.01%、

59.01%, 209.35%和 88.08% (图 10A、10B, $P<0.05$), 同时, MDA 含量显著降低了 17.22%和 14.4% (图 10C, $P<0.05$)。结果表明, 在 NaCl 胁迫下, 菌株 DYM7 和 DYM11 均可通过提高抗氧化酶活性并降低 MDA 含量, 从而提高玉米抵御盐胁迫的能力。

3 讨论与结论

内生真菌是植物根系的广泛定殖者, 特别是在逆境环境中。已有研究表明在盐胁迫环境中内生真菌能够在多种植物根系定殖, 并且发挥重要作用^[26]。先前的研究结果发现玉米不同内生真菌种类中, 出现频率最高的为链格孢属 (*Alternaria*)、木霉属 (*Trichoderma*)、头孢霉属 (*Cephalosporium*)、曲霉属 (*Aspergillus*) 和青霉属

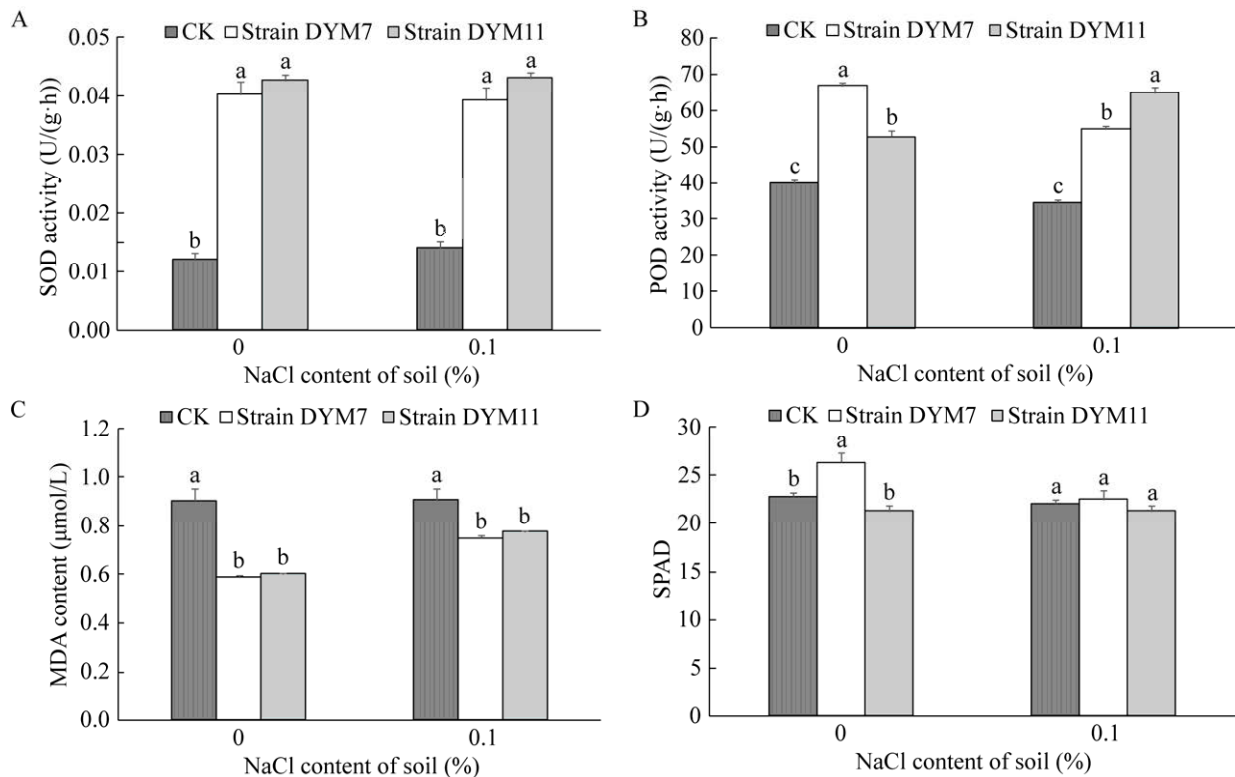


图 10 菌株 DYM7 和 DYM11 对玉米植株抗氧化酶及丙二醛含量的影响

Figure 10 Effects of strains DYM7 and DYM11 on antioxidant enzymes and malondialdehyde content in maize plants.

(*Penicillium*)等^[27], 这些内生真菌在生防、促生长及抗非生物胁迫方面展现出积极作用^[28]。本研究从渤海湾滨海盐碱种植区玉米根系分离筛选得到对玉米种子萌发及生长具有积极作用的内生真菌土栖棘壳孢(*S. terrestris*)和嘴突凸脐蠕孢(*E. rostratum*)。已有研究发现 *S. terrestris* 和 *E. rostratum* 除了会引起植物病害之外, 也可以被用作生防菌, 张功友等^[29]从重楼根茎中分离鉴定出 *S. terrestris*, 具有较高产纤维素酶活性, 可降解细胞壁, 提高重楼药物成分提取率, 为后期中药材开发提供基础。对于 *E. rostratum* 而言, 俞雯雯^[30]研究发现其对千金子具有生防潜力, 并验证该菌株对水稻相对安全, 可作为真菌除草剂应用。此外, Poveda 等^[31]研究发现接种 *S. terrestris* 在正常条件下较不接种对照显著地促进黑芥和埃塞俄比亚芥菜植物鲜重; 而在油菜中接种 *S. terrestris* 较未接种的鲜重显著降低, 这表明 *S. terrestris* 可促进植物生长, 然而这一积极影响与植物种类密切相关。本研究在无盐胁迫下接种 *S. terrestris* 同样对玉米株高增加表现出积极影响。但是目前针对这 2 株菌在盐胁迫下对玉米幼苗生长影响的研究十分有限。

植物在生长发育过程中, 容易受到外界非生物胁迫的影响。种子萌发易受土壤环境变化的影响, 特别是在盐胁迫条件下种子发芽率明显被抑制。本研究中, 随着 NaCl 浓度的提高, 未经过内生真菌浸种处理的玉米种子发芽率降低, 当盐浓度达到 0.15 mol/L 时玉米种子发芽率仅为 20%左右, 然而经过菌株 DYM7 和 DYM11 浸种处理的玉米种子萌发率高达 90%左右。结果表明, 在盐胁迫下接种不同内生真菌对玉米种子萌发效果影响不同, 菌株 DYM7 和 DYM11 可显著提高盐胁迫下种子萌发率, 提高植物抵御逆境胁迫能力。与本研究结果相似, 张鹏等^[32]研究表明内生真菌的存在可有效

减缓盐胁迫对种子萌发的抑制作用。这一现象可能与内生真菌分泌的 IAA 促进植物种子萌发有关。

本研究中, 在 NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 后均可显著提高玉米地上部分干重, 其中接种菌株 DYM11 对玉米地下部分干重也具有显著促进作用。这表明接种内生真菌能够改变宿主植物地上或地下的生物量分配, 从而缓解 NaCl 胁迫对玉米的不利影响, 这与 Bakhshi 等^[33]的研究结果相似。除此之外, 内生真菌接种可以调节玉米的根长, 从而改善植物的生长性能和对 NaCl 的耐受性。本研究中, 在 NaCl 胁迫下接种菌株 DYM7 和 DYM11 后玉米根长均显著增加, 这表明接种内生真菌可以促进玉米根系生长, 降低盐胁迫的不利影响, 这与 Hou 等^[34]的研究结果一致。根系发展可以促进宿主植物对水分和养分吸收, 并通过改善地下和地上形态指标, 最终影响植物生物量及产量。此外, 本研究中在 NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 的玉米株高均显著增加。其原因可能是内生真菌 DYM7 和 DYM11 兼具解钾、产 IAA 和铁载体等促生功能, 从而在盐胁迫下改变宿主植物玉米营养分配, 进而影响地上或地下的形态指标。Houida 等^[35]研究表明菌株产 IAA 的能力可能是影响种子萌发和植物生长的主要原因。本研究筛选到的内生真菌在盐胁迫下对玉米生长展现出积极影响, 表明其具有被开发为微生物菌肥促进盐碱地农作物生长的潜力。

已有研究表明盐胁迫能诱导活性氧在植物体内大量聚集, 并引起植物的氧化损伤, 严重情况下导致植物死亡^[36]。内生真菌已被证实能够调节植物抗氧化酶活性。本研究发现, 在 NaCl 胁迫下, 接种菌株 DYM7 和 DYM11 后显著提高玉米抗氧化性酶活性。这与 Pan 等^[37]研

究结果相似,在盐胁迫下将从碱蓬中分离的深
色有隔内生真菌回接杨树,发现显著增强了杨
树体内抗氧化酶活性,提高了杨树耐盐性。本
研究针对玉米根系抗氧化酶活性进行研究,探
究不同内生真菌侵染根系及其共生体植株根
系的抗氧化酶活性,结果表明,相较于未接种植
株,菌株 DYM7 和 DYM11 处理的玉米根系的
SOD、POD 活性显著提升,原因可能是接种内
生真菌引起宿主植物根系保护酶活改变,从而
抵御不良环境带来的影响。此外,SPAD 值代表
叶片的绿色程度,是叶绿素含量的相对值,对
作物的光合作用强弱有直接影响^[38]。本研究
中仅在无盐胁迫条件下接种菌株 DYM7 可显著
提高玉米植株 SPAD 值,这表明内生真菌对宿
主植物的积极影响与生境的变化密切相关。先
前的研究发现从处于逆境胁迫中生长的植物中
分离出的菌株对当前逆境胁迫的抵抗性更高。
因此,内生真菌 DYM7 和 DYM11 对提高玉米
耐盐促生作用具有积极影响且与微生物种类
有关。然而在本研究中内生真菌 DYM7 和
DYM11 在盐胁迫下对提高玉米抗氧化酶活
性的贡献率还有待进一步研究。

本研究从黄骅盐碱地玉米根系内分离出的
耐盐促生菌株土栖棘壳孢(*S. terrestris*)和嘴
突凸脐蠕孢(*E. rostratum*)兼具解钾、产铁
载体和分泌 IAA 等能力。并且在 0%和 0.1%
NaCl 胁迫下均能成功定殖在玉米根系,并通
过改变宿主植物叶片光合强度,提高根部抗
氧化酶活性,减轻细胞膜的损伤程度,从而调
整宿主植物地上或地下生物量分配,促进根
系生长,从而缓解盐胁迫对于宿主植物的不
良影响,这一积极影响与这 2 株内生真菌种
类密切相关。此外关于内生真菌在更复杂盐
胁迫下对植物促生耐盐效果的影响还需要进
一步研究。本研究筛选的具有耐盐促生能力
的内生真菌为微生物菌肥的开

发,用于提高盐碱区农作物产量提供了理论
依据,有助于盐碱特色农业的可持续发展。

REFERENCES

- [1] TANG ZS, AN H, DENG L, WANG YY, ZHU GY, SHANGGUAN ZP. Effect of desertification on productivity in a desert steppe[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 27839.
- [2] WEI W, GUO ZC, SHI PJ, ZHOU L, WANG XF, LI ZY, PANG SF, XIE BB. Spatiotemporal changes of land desertification sensitivity in Northwest China from 2000 to 2017[J]. Journal of Geographical Sciences, 2021, 31(1): 46-68.
- [3] CUI ZQ, KANG HL, WANG WL, GUO WZ, GUO MM, CHEN ZX. Vegetation restoration restricts rill development on dump slopes in coalfields[J]. The Science of the Total Environment, 2022, 820: 153203.
- [4] MUKHOPADHYAY R, SARKAR B, JAT HS, SHARMA PC, BOLAN NS. Soil salinity under climate change: challenges for sustainable agriculture and food security[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 280: 111736.
- [5] YADAV AN, SINGH J, RASTEGARI AA, YADAV N. Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture[M]. Cham: Springer, 2020.
- [6] GUO LD, HUANG GR, WANG Y. Seasonal and tissue age influences on endophytic fungi of *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in the Dongling Mountains, Beijing[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(8): 997-1003.
- [7] ZUCCARO A, LAHRMANN U, LANGEN G. Broad compatibility in fungal root symbioses[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2014, 20: 135-145.
- [8] LAU JA, LENNON JT. Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(35): 14058-14062.
- [9] YADAV V, KUMAR M, DEEP DK, KUMAR H, SHARMA R, TRIPATHI T, TUTEJA N, SAXENA AK, JOHRI AK. Withdrawal: a phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2021, 296: 100457.
- [10] BULTMAN TL, BELL GD. Interaction between fungal endophytes and environmental stressors influences plant resistance to insects[J]. Oikos, 2003, 103(1):

- 182-190.
- [11] BUSBY PE, RIDOUT M, NEWCOMBE G. Fungal endophytes: modifiers of plant disease[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6): 645-655.
- [12] GILL SS, GILL R, TRIVEDI DK, ANJUM NA, SHARMA KK, ANSARI MW, ANSARI AA, JOHRI AK, PRASAD R, PEREIRA E, VARMA A, TUTEJA N. *Piriformospora indica*: potential and significance in plant stress tolerance[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 332.
- [13] RANA KL, KOUR D, YADAV AN. Endophytic microbiomes: biodiversity, ecological significance and biotechnological applications[J]. *Research Journal of Biotechnology*, 2019, 14(10): 142-162.
- [14] 侯姣姣, 孙涛, 余仲东, 康永祥, 布芳芳, 甘明旭. 盐胁迫下内生真菌对国槐幼苗生长及生理的影响[J]. *浙江农林大学学报*, 2017, 34(2): 294-300.
- HOU JJ, SUN T, YU ZD, KANG YX, BU FF, GAN MX. Effect of endophytic fungi on growth and physiology of saline stressed *Sophora japonica* seedlings[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2017, 34(2): 294-300 (in Chinese).
- [15] ALI R, GUL H, RAUF M, ARIF M, HAMAYUN M, HUSNA, KHILJI SA, UD-DIN A, AHMAD SAJID Z, LEE IJ. Growth-promoting endophytic fungus (*Stemphylium lycopersici*) ameliorates salt stress tolerance in maize by balancing ionic and metabolic status[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 890565.
- [16] CHEN D, SALEEM M, CHENG JH, Mi J, CHU PF, TUVSHINTOGTOKH I, HU SJ, BAI YF. Effects of aridity on soil microbial communities and functions across soil depths on the Mongolian Plateau[J]. *Functional Ecology*, 2019, 33: 1561-1571.
- [17] 刘海涛, 高彦花. 滨海盐碱地土壤水盐动态研究[J]. *山东农业工程学院学报*, 2019, 36(5): 26-29.
- LUI HT, GAO YH. Study on water-salt dynamic in coastal salt and alkaline land[J]. *Journal of Shandong Agriculture and Engineering University*, 2019, 36(5): 26-29 (in Chinese).
- [18] 姚英. 闽楠内生真菌多样性及其促生作用机制研究[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2020.
- YAO Y. Study on the diversity of endophytic fungi and its promoting mechanism in *Phoebe bournei*[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2020 (in Chinese).
- [19] 詹寿发, 卢丹妮, 毛花英, 熊蓉露, 黄丹, 陈晔. 2株溶磷、解钾与产 IAA 的内生真菌菌株的筛选、鉴定及促生作用研究[J]. *中国土壤与肥料*, 2017(3): 142-151.
- YAN SF, LU DN, MAO HY, XIONG RL, HUANG D, CHEN Y. Isolation of two phosphate/potassium-solubilizing and IAA-producing strains of endophytic fungi and their plant growth promoting function[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2017(3): 142-151 (in Chinese).
- [20] 孙红启. 铁载体和铁离子对细菌生长过程的影响[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2008.
- SUN HQ. Effects of siderophore and ferric ion on bacterial growth process[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2008 (in Chinese).
- [21] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- WEI JC. Handbook of Fungal Identification[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979 (in Chinese).
- [22] 孟亚南. 玉米大斑病菌附着胞发育调控新模式及附着胞相关蛋白鉴定[D]. 保定: 河北农业大学博士学位论文, 2022.
- MENG YN. A new model of development regulation of appressorium and identification of appressorium-related proteins in maize leaf blight[D]. Baoding: Doctoral Dissertation of Hebei Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [23] 陈佳兴, 秦琴, 邱树毅, 王雪娜. 磷尾矿土壤中解磷细菌的筛选及解磷能力的测定[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(6): 183-189.
- CHEN JX, QIN Q, QIU SY, WANG XL. Isolation, identification of phosphate-solubilizing bacteria derived from phosphate tailing soil and their capacities[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(6): 183-189 (in Chinese).
- [24] 袁继鑫. 野生蓝莓菌根真菌的分离、鉴定及接种效应[D]. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2013.
- YUAN JX. The separation, identification and inoculation effect of mycorrhizal fungi isolated from wild blueberries[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing Forestry University, 2013 (in Chinese).
- [25] 侯力峰. 三种荒漠植物深色有隔内生真菌物种多样性和耐盐性研究[D]. 保定: 河北大学博士学位论文, 2020.
- HOU LF. Species diversity and salt tolerance of dark septate endophytes in three desert plants[D]. Baoding: Doctoral Dissertation of Hebei University, 2020 (in Chinese).
- [26] TUTEJA N. Mechanisms of high salinity tolerance in plants[J]. *Methods in Enzymology*, 2007, 428: 419-438.

- [27] POTSHANGBAM M, DEVI SI, SAHOO D, STROBEL GA. Functional characterization of endophytic fungal community associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L.[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 325.
- [28] POVEDA J, ABRIL-URIAS P, ESCOBAR C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: *Trichoderma*, mycorrhizal and endophytic fungi[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 992.
- [29] 张功友, 王一涵, 郭敏, 张婷婷, 王兵, 刘红美. 重楼中一株产纤维素酶内生真菌的分离及鉴定[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(2): 95-104.
- ZHANG GY, WANG YH, GUO M, ZHANG TT, WANG B, LIU HM. Isolation and identification of a cellulase-producing endophytic fungus in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2022, 38(2): 95-104 (in Chinese).
- [30] 俞雯雯. 嘴突凸脐蠕孢菌 Y9511 对千金子防除潜力的研究[D]. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2020.
- YU WW. Study on the control potential of *Exserohilum rostratum* strain Y9511 against *Leptochloa chinensis* (L.) nees[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [31] POVEDA J, RODRÍGUEZ VM, DÍAZ-URBANO M, SKLENÁŘ F, SAATI-SANTAMARÍA Z, MENÉNDEZ E, VELASCO P. Endophytic fungi from kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) modify roots-glucosinolate profile and promote plant growth in cultivated *Brassica* species. First description of *Pyrenophora gallaeciana*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 981507.
- [32] 张鹏, 任茜, 孟思宇, 魏小星, 鲍根生. 内生真菌对盐胁迫下紫花针茅种子萌发和幼苗生长的研究[J]. *草业学报*, 2022, 31(10): 110-121.
- ZHANG P, REN X, MENG SY, WEI XX, BAO GS. Effects of *Epichloë* endophyte on seed germination and seedling growth of *Stipa purpurea* under salt stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2022, 31(10): 110-121 (in Chinese).
- [33] BAKHSHI S, ESHGHI S, BANIHASHEMI Z. Application of candidate endophytic fungi isolated from extreme desert adapted trees to mitigate the adverse effects of drought stress on maize (*Zea mays* L.)[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2023, 202: 107961.
- [34] HOU LF, LI X, HE XL, ZUO YL, ZHANG DD, ZHAO LL. Effect of dark septate endophytes on plant performance of *Artemisia ordosica* and associated soil microbial functional group abundance under salt stress[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 165: 103998.
- [35] HOUIDA S, YAKKOU L, KAYA LO, BILEN S, FADIL M, RAOUANE M, EL HARTI A, AMGHAR S. Biopriming of maize seeds with plant growth-promoting bacteria isolated from the earthworm *Aporrectodea molleri*: effect on seed germination and seedling growth[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2022, 75(1): 61-69.
- [36] 王斌, 张腾霄, 刘超群, 祖余洋, 李艳芳, 孟祥才. 非生物胁迫对药用植物活性氧代谢影响的研究进展[J]. *现代中药研究与实践*, 2022, 36(3): 94-98.
- WANG B, ZHANG TX, LIU CQ, ZU YY, LI YF, MENG XC. Research progress in the effects of abiotic stress on reactive oxygen species metabolism in medicinal plants[J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2022, 36(3): 94-98 (in Chinese).
- [37] PAN XY, QIN Y, YUAN ZL. Potential of a halophyte-associated endophytic fungus for sustaining Chinese white poplar growth under salinity[J]. *Symbiosis*, 2018, 76(2): 109-116.
- [38] LING QH, HUANG WH, JARVIS P. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Photosynthesis Research*, 2011, 107(2): 209-214.