

# 内生真菌 *Neotyphodium.typhinum* 感染 对高羊茅光合特性的影响

杜永吉<sup>1</sup>, 王祺<sup>2</sup>, 韩烈保<sup>1, 3\*</sup>

1. 北京林业大学草坪研究所暨北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083;

2. 北京师范大学附属实验中学, 北京 100053; 3. 长江大学园艺园林学院, 湖北 荆州 434025

**摘要:** 采用便携式 LI-6400 光合测定仪, 在晴朗的天气, 对感染和未感染内生真菌 *Neotyphodium.typhinum* 高羊茅商品种植株成熟叶片净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)、水分利用效率(WUE)、细胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci)、气孔导度(Gs)进行田间测定。结果表明: 感染内生真菌的高羊茅植株净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)、水分利用效率(WUE)、细胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci)、气孔导度(Gs)都高于非感染高羊茅植株, 高温下光合性能和抵抗高温的能力都优于非感染高羊茅植株。这一结论为水资源短缺城市的绿化, 干旱、半干旱地区及特殊立地条件地区的绿化提供了解决问题的新思路。

**关键词:** 内生真菌; 感染; 高羊茅; 光合特性

**中图分类号:** Q948

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1674-5906 (2009) 02-0590-05

内生真菌(endophyte)是存在于健康植物的植株和种子中, 形成不明显侵染的一类真菌。内生真菌长期生活在植物体内的特殊环境中, 并与宿主协同进化, 在演化过程中二者形成了互惠共生关系<sup>[1]</sup>。植物为内生真菌提供光合产物和矿物质并通过种子帮助其传播, 而内生真菌产生的代谢物能刺激植物的生长发育<sup>[2]</sup>, 提高宿主植物对生物胁迫(动物、昆虫等对植物的采食以及病原微生物对植物的侵染)和非生物胁迫(干旱、高温等恶劣环境条件对植株的伤害)的抵抗能力<sup>[3]</sup>。

关于感染内生真菌的禾本科植物逆境胁迫下光合反应的报道较少。就报道较多的分蘖数和产量变化而言, 研究结果也很不一致, 有的报道为正效应<sup>[4]</sup>; 有的报道为无显著效应<sup>[5]</sup>; 还有的报道为负效应<sup>[6]</sup>。造成这些差异的原因在于禾本科植物—内生真菌共生体的相互作用既与宿主植物的基因型、内生真菌的基因型及双方的生活史对策有关, 也与它们所处的环境条件密切相关<sup>[7]</sup>。因而 Belesky 等<sup>[8]</sup>认为内生真菌对宿主植物的增益效应是以特定的共生体和特定的环境条件为基础的, 不能简单地外推到其它的共生体。

羊茅属植物是冷地型草坪草的重要组成部分, 其中高羊茅是最耐旱、耐高温的冷地型草坪草之一, 但也只能耐受暂时的高温<sup>[9]</sup>。本试验将已经采集到的野生羊茅属植物进行过内生真菌分离、鉴定、转接至高羊茅商品种, 再将感染内生真菌的高

羊茅商品种移栽至试验田进行比较试验, 通过测定光合特性揭示感染内生真菌和非感染内生真菌高羊茅在生理、生长上的差异, 以了解内生真菌在高羊茅抵抗高温方面所产生的有益影响, 为其在更大的范围内用于园林绿化提供理论依据和技术支持, 同时为进一步研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验室及试验地概况

室内工作在北京林业大学草坪研究所国家“863”实验室完成。试验地位于北京市昌平区白浮村北京林业大学草坪研究所试验基地内, 北纬 40°10′, 东经 116°18′, 海拔 50 m。为典型的暖温带半湿润大陆性季风气候, 年平均气温 10~12 °C, 全年霜期 190~200 d, >10 °C 积温 4 200 °C, 年降雨量在 600 mm 以上, 75%集中在夏季。

### 1.2 材料

试验仪器为美国产 Li-6400 便携式光合分析仪。

试验内生真菌菌种是由 2006 年在四川、云南、贵州采集的野生羊茅(*Festuca ovina*)中分离出来的 *Neotyphodium.typhinum*。试验内生真菌共生体为 2008 年 5 月份移栽到试验地的 2 个品种高羊茅, 分别为 Sun Boy (阳光宝贝 S) 和 Eldorado (黄金岛 E), 株距 40 cm×40 cm。

### 1.3 方法

野生羊茅植株及种子采集后, 在实验室内进行

**基金项目:** 国家 863 计划(2006AA10Z132); 国家“十一五”科技支撑项目(2006BAD01A19-4); 北京市重点学科建设项目; 北京市教委共建项目

**作者简介:** 杜永吉 (1981 年生), 男 (新疆喀什), 博士生, 主要研究方向为植物生理生化, 植被恢复。E-mail: duyongji1202@yahoo.com.cn

\*通讯作者: 韩烈保, E-mail: hanlb@tom.com

**收稿日期:** 2009-02-06

内生真菌的分离、鉴定、保存。将分离得到的内生真菌 *Neotyphodium.typhinum* 通过注射菌液法和菌丝塞入法将两种内生真菌分别回接至 2 个高羊茅商品种中, 并将各品种移栽至试验地, 进行统一养护管理, 2008 年 8—9 月进行感染内生真菌植株 (EI) 和未感染内生真菌植株 (EF) 光合日变化测定。测定时间为每天 6:00—18:00, 每隔 1 h 测定 1 次, 每个品种 3 次重复。

#### 1.4 测定指标

光合指标包括: 净光合速率 ( $P_n$ , 单位  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、蒸腾速率 ( $T_r$ , 单位  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、水分利用效率 ( $WUE$ , 单位  $\mu\text{mol}\cdot\text{mmol}^{-1}$ )、气孔导度 ( $G_s$ , 单位  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 和细胞间隙  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ , 单位  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ )。

#### 1.5 仪器使用

使用 Li-6400 前, 应预热 10 min 左右, 待系统稳定后进行叶室密闭性和零点检查等基本操作。

#### 1.6 叶片选择

测定时选择生长状况良好叶片, 包括无病虫害、无损伤。叶片之间无相互遮荫。

## 2 结果与分析

### 2.1 气温日变化

由图 1 可以看出, 大气温度和植株叶片温度呈现抛物线状变化趋势。气温和叶温在上午 7:00 时最低, 分别为 24.5 °C 和 23.0 °C, 然后逐渐升高, 在

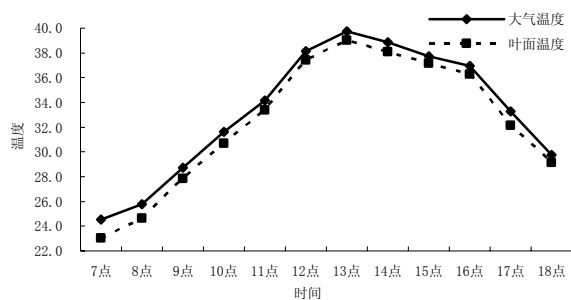


图 1 光合测定期间气温、叶温日变化

Fig. 1 Diurnal variations of the temperature and leaf temperature during Photosynthesis determination period

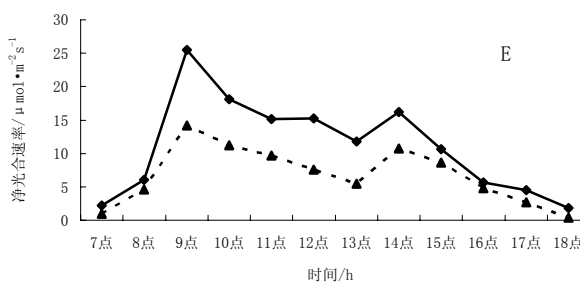
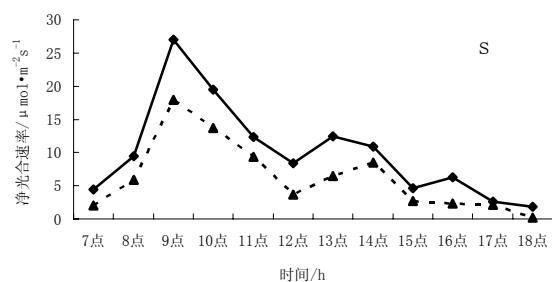


图 2 不同品种高羊茅 EI 和 EF 植株净光合速率的日变化

Fig. 2 Net photosynthetic rate diurnal variations of different varieties of tall fescue EI and EF plants

—●— EI      - - - ▲ - - - EF

13:00 达到最高, 分别为 39.7 °C 和 39.0 °C, 此后逐渐降低, 在 18:00 测定时, 分别为 29.8 °C 和 29.1 °C。整个测定期间, 平均的气温和叶温分别为 33.3 °C 和 32.4 °C。12:00—15:00 是温度最高的温度段, 平均的气温和叶温达到 38.6 °C 和 37.9 °C。

叶温始终低于气温, 且早晚气温与叶温的差值大于中午温差, 这是由于叶片的蒸腾作用降低叶温所致。在高温情况下, 可以避免叶片被灼伤, 而中午温差较小是由于午间气孔部分关闭, 蒸腾减弱所致。

### 2.2 净光合速率( $P_n$ )的日变化

净光合速率又称表观光合作用, 是指真正光合作用所同化的  $\text{CO}_2$  量减去因呼吸作用而释放的  $\text{CO}_2$  量。通常所说的光合速率就是净光合速率。

如图 2 所示, 高羊茅各品种 EI 与 EF 植株  $P_n$  的日变化趋势均表现为不对称双峰曲线, 最高峰都出现在早上 9:00, 次高峰出现在下午 13:00—14:00, 且次高峰值小于最高峰值。从最高峰开始,  $P_n$  逐渐降低, 植株进入“午休”阶段, “午休”时间大约是 11:00—13:00。各品种 EI 感染植株的平均  $P_n$  值均高于 EF 植株, 显示出 EI 植株高温时光合作用的优势。

Sun boy 的 EI 和 EF 植株  $P_n$  最高峰值分别为  $27.04 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $17.90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 次高峰 EI 出现在 13:00, EF 植株出现在下午 14:00, 次高峰值分别为  $12.43 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $8.47 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。温度最高的时间段 12:00—15:00, EI 和 EF 植株平均  $P_n$  值分别为  $9.10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $5.33 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , EI 植株比 EF 植株高 47.4%。

Eldorado 的 EI 和 EF 植株  $P_n$  最高峰值分别为  $25.52 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $14.20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 次高峰都出现在下午 14:00, 次高峰值分别为  $16.21 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $10.76 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。温度最高的时间段 12:00—15:00, EI 和 EF 植株平均  $P_n$  值分别为  $13.45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $8.12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , EI 植株比 EF 植株高 65.7%。

### 2.3 蒸腾速率( $T_r$ )的日变化

蒸腾速率亦称蒸腾强度,是指植物在一定时间内单位面积蒸腾的水量。高蒸腾速率使叶片局部温度不至于太高而导致叶片受到灼伤,这种蒸腾作用机制有利于在高温下进行光合作用,使叶片的光合作用在高温下得以进行,能有效缓解高温胁迫<sup>[10]</sup>。

如图3所示,高羊茅各品种 EI 与 EF 植株  $P_n$  的日变化趋势均表现为单峰曲线,峰值出现在下午 13:00—14:00。各品种 EI(A)和 EI(B)感染植株的平均  $T_r$  值均高于 EF 植株。

Sun boy 的 EI 和 EF 植株  $T_r$  峰值都出现在下午 14:00, 分别为  $17.80 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  和  $13.24 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

Eldorado 的 EI 植株  $T_r$  峰值出现在下午 13:00, 峰值为  $18.85 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ; EF 植株  $T_r$  峰值出现在下午 14:00, 峰值为  $14.60 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

### 2.4 水分利用效率(WUE)日变化

WUE 是衡量草坪草生长生理状况的重要指标,对于草坪节水灌溉有着重要意义

如图4所示,高羊茅各品种的日变化趋势与  $P_n$  相似,表现为不对称双峰曲线,最高峰都出现在早上 9:00,次高峰出现在下午 13:00—15:00。EI 植株的整体 WUE 均高于 EF 植株。

Sun boy 的 EI 和 EF 植株 WUE 最高峰值分别

为  $2.94 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$  和  $2.41 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ 。整个测定过程中, EI 和 EF 植株平均 WUE 分别为  $1.03 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$  和  $0.77 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ , EI 植株比 EF 植株高 34.0%。

Eldorado 的 EI 和 EF 植株 WUE 最高峰值分别为  $2.75 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$  和  $2.03 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ 。整个测定过程中, EI 和 EF 植株平均 WUE 分别为  $0.94 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$  和  $0.72 \mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ , EI 植株比 EF 植株高 30.3%。

### 2.5 胞间 $\text{CO}_2$ 浓度( $C_i$ )日变化

经过夜间的富集,早晨大气中  $\text{CO}_2$  浓度较高,  $C_i$  的日变化呈微弱双谷曲线,峰谷与峰顶与净光合速率互补,与周婵报道的二者存在负相关的结论相一致<sup>[11]</sup>。如图5所示,高羊茅各品种 EI 与 EF 植株  $C_i$  的日变化趋势均表现为倒抛物线曲线,谷值出现在下午 13:00—14:00。各品种 EI 植株的平均  $C_i$  值均高于 EF 植株。

Sun boy 的 EI 和 EF 植株  $C_i$  谷值出现在下午 14:00, 谷值分别为  $295.0 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  和  $270.9 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

Eldorado 的 EI 和 EF 植株  $C_i$  谷值都出现在下午 14:00, 谷值分别为  $308.4 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$  和  $288.3 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

### 2.6 气孔导度( $G_s$ )的日变化

气孔导度是直接影响到光合作用最重要的生

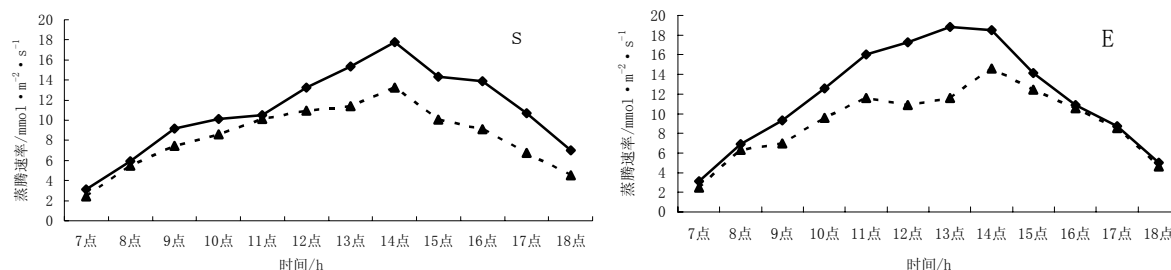


图3 不同品种高羊茅 EI 和 EF 植株蒸腾速率的日变化

Fig. 3 Transpiration rate diurnal variations of different varieties of tall fescue EI and EF plants

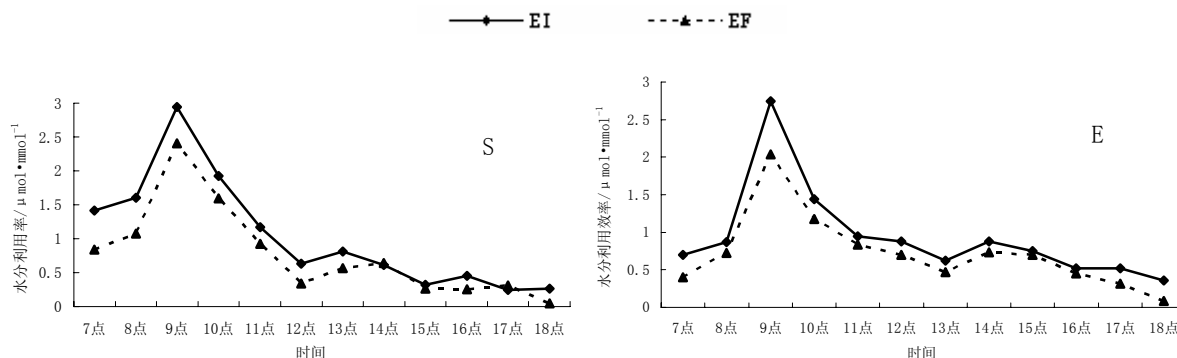


图4 不同品种高羊茅 EI 和 EF 植株水分利用效率的日变化

Fig. 4 Water use efficiency diurnal variations of different varieties of tall fescue EI and EF plants

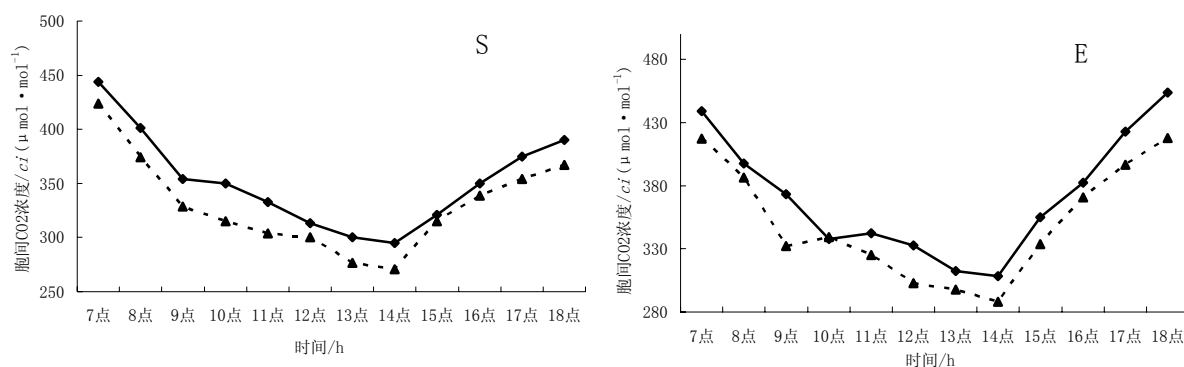
图5 不同品种高羊茅 EI 和 EF 植株胞间  $\text{CO}_2$  浓度的日变化

Fig. 5 Intercellular carbon dioxide concentration diurnal variations of different varieties of tall fescue EI and EF plants

—●— EI      - - - ▲ - - - EF  $C_i$ 

理指标之一。

如图6所示,高羊茅各品种 EI 与 EF 植株  $G_s$  的日变化趋势均表现为先迅速升高,9:00 时达到最高峰,然后逐渐降低,12:00—13:00 降到谷值,出现“休眠”,而后整体呈现缓慢升高的趋势。 $G_s$  的下降一方面增加了  $\text{CO}_2$  的传导阻力,减少了光合作用原料的供应,从而降低了  $\text{CO}_2$  同化率,导致叶片吸收的光能过剩;另一方面,在炎热夏季,植株这种  $G_s$ “午睡”会使叶片气孔开度减至最小,以减少和防止水分的散失,是一种积极的生态适应以及对炎热气候进行负反馈调节机制的体现。

Sun boy 的 EI 和 EF 植株  $G_s$  最高峰值都出现在上午 9:00,分别为  $0.75 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.58 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ;  $G_s$  谷值都出现在下午 13:00,分别为  $0.37 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.21 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。EI 和 EF 植株在“午休”时段 11:00—13:00 平均  $G_s$  分别为  $0.49 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.31 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,EI 比 EF 植株高 55.1%。

Eldorado 的 EI 和 EF 植株  $G_s$  最高峰值都出现在上午 9:00,分别为  $0.80 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.66 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; EI 和 EF 植株  $G_s$  谷值都出现在下午

13:00,分别为  $0.34 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.23 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

EI 和 EF 植株在“午休”时段 11:00—13:00 平均  $G_s$  分别为  $0.49 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  和  $0.38 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,EI 植株比 EF 植株高 26.4%。

### 3 结论与讨论

植物光合作用日变化是植物生产过程中物质积累与生理代谢的基本单元,也是分析环境因素影响植物生长和代谢的重要手段<sup>[12]</sup>。一般条件下植物的光合作用日变化均有规律可循,其变化曲线呈双峰型或单峰型。EI 与 EF 不同品种高羊茅植株净光合速率的日变化均呈双峰曲线,最高值都出现在 9:00 时,次高峰值出现在 13:00—14:00,且最高峰值远大于次高峰值。

EI 植株平均的净光合速率、蒸腾速率、水分利用效率、胞间  $\text{CO}_2$  浓度、气孔导度都高于 EF 植株。气孔导度增大引起蒸腾作用加强,但因净光合速率远高于 EF 植株,因此水分利用效率远高于 EF 植株,因此 EI 植株比 EF 植株更适应 8 月份高温天气。

中午测定中发现,EF 植株出现叶片卷曲现象,是由于高温干旱,叶片气孔关闭所致,必然会影响植株光合作用;而 EI 植株叶片伸展。与此现象对

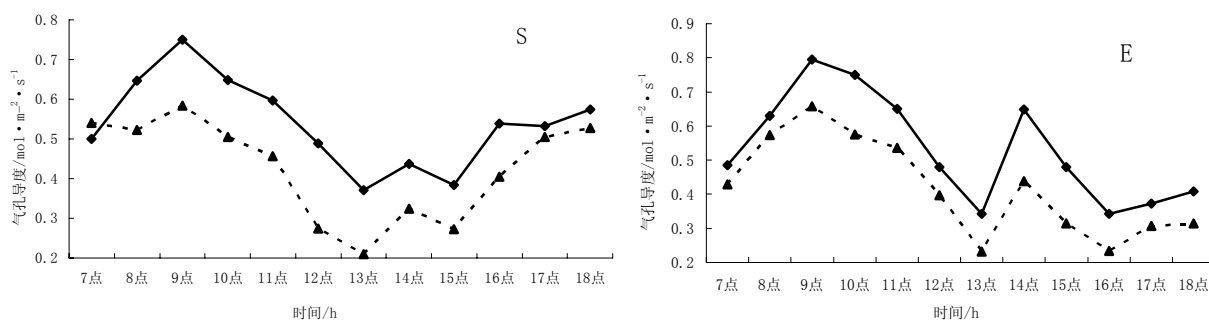


图6 不同品种高羊茅 EI 和 EF 植株胞间气孔导度的日变化

Fig. 6 Stomatal conductance diurnal variations of different varieties of tall fescue EI and EF plants

—●— EI      - - - ▲ - - - EF

应, EI 植株叶片相对含水量高于 EF 植株, 且差异显著, 表明 EI 植株保水能力更强。

不同品种高羊茅感染内生真菌植株抵抗高温的能力和水分利用效率都明显高于非感染植株, 表明感染内生真菌植株能更好地抵御逆境胁迫, 高效利用水分, 降低水分消耗, 这些优点在水资源短缺城市以及西北干旱、半干旱地区城市绿化中有重要意义, 使得其在这些地区具有较高的推广应用价值。

但有关回接内生真菌与高羊茅共存的稳定性、内生真菌与高羊茅互惠作用的持久性还有待进一步验证, 有关外界环境对内生真菌与宿主植物共生体的影响还有待进一步研究, 为其推广应用得出更具指导意义的结论。

#### 参考文献:

- [1] SIEGEL M R. *Acremonium* endophytes: our current state of knowledge and future direction for search[J]. Agriculture. Ecosystems Environment, 1993, 44: 301-321.
- [2] BACON C W, SIEGEL M R. Endophyte parasitism of tall fescue[J]. Journal of Production Agriculture, 1988, 1: 45-55.
- [3] CLAY K. The Potential Role of Endophytes in Ecosystems[M]. CRC Press, 1994: 73-86.
- [4] WEST C P, IZEKOR E, TURNER K E, et al. Endophyte effects on growth and persistence of tall fescue along a water-supply gradient[J]. Agron Journal, 1993, 85: 264-270.
- [5] BELESKY D P, FEDDERS J M. Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity[J]. Crop Sci, 1995, 35:529-553.
- [6] FAETH S H, SULLIVAN T J. Mutualistic asexual endophyte in a native grass are usually parasitic[J]. American Naturalist, 2003, 161:310-325.
- [7] FAETH S H, FAGAN W F. Fungal endophytes: Common host plant symbionts but uncommon mutualists[J]. Integrative and Comparative Biology, 2002, 42: 360-368.
- [8] BELESKY D P, FEDDERS J M. Does endophyte influence regrowth of tall fescue?[J] Annals of Botany, 1996, 78: 499-505.
- [9] 孙吉雄. 草坪学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [10] SUN Jixiong. Turf Science[M]. 2nd edition. Beijing: China Agricultural Press, 2003.
- [10] 王平, 周道玮. 野大麦、羊草的光合和蒸腾作用特性比较及利用方式的研究[J]. 中国草地, 2004, 26(3): 8-12.
- [10] WANG Ping, ZHOU Daowei. Research on the utilization modes of *hordeum Brevisubulatum* and *Leymus Chinensis* based on the comparison of photosynthesis and transpiration[J]. Grassland of China, 2004, 26(3): 8-12.
- [11] 周婵, 郭晓云, 王仁忠, 等. 松嫩草地虎尾草光合与蒸腾作用的研究[J]. 草业学报, 2001, 10(1): 42-47.
- [11] ZHOU Chan, GUO Xiaoyun, WANG Renzhong, et al. Photosynthesis and evaporation of *Chloris virgata* in alkaliized meadow on Songnen plain of China[J]. Acta Pratacultural Science, 2001, 10(1): 42-47.
- [12] 冯建灿, 张玉洁. 喜树光合速率日变化及其影响因子的研究[J]. 林业科学, 2002, 38(4): 34-39.
- [12] FENG Jiancan, ZHANG Yujie. Studies on the diurnal changes of net photosynthesis rate and the effect of environment factors of *camptotheca acuminata*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2002, 38(4): 34-39.

## The effect of *Neotyphodium typhinum* infected on photosynthetic characteristics of tall fescue

Du Yongji<sup>1</sup>, Wang Qi<sup>2</sup>, Han Liebao<sup>1,3\*</sup>

1. Institute of Turfgrass Science & Key Laboratory of Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Affiliated School, Beijing Normal University, Beijing 100053; 3. College of Gardening and Horticulture, Yangtze University, Hubei Jingzhou 434025, China

**Abstract:** In fine weather, LI-6400 portable photosynthesis device was used in field to determinate commodity mature leaves net photosynthetic rate (Pn), transpiration rate (Tr), water use efficiency (WUE), intercellular carbon dioxide concentration (Ci) and stomatal conductance (Gs) of *Neotyphodium. typhinum* infected and free tall fescue. The results showed that: net photosynthetic rate (Pn), transpiration rate (Tr), water use efficiency (WUE), intercellular carbon dioxide concentration (Ci) and stomatal conductance (Gs) of *Neotyphodium. typhinum* infected tall fescue plants were all higher than *Neotyphodium. typhinum* free tall fescue plants; photosynthetic performance under high temperature and the ability to resist high temperatures of infected tall fescue plants were superior to *Neotyphodium. typhinum* free tall fescue plants. These conclusions provide a new idea to solve the problem for Urban Afforestation with water shortage, and for greenery of drought areas, semi-arid areas and special site conditions.

**Key words:** endophyte; infected; tall fescue; photosynthetic characteristic