

## 内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛生理生化特性的影响

龚记熠, 刘杰, 李菲, 孙威, 张习敏, 乙引\*

(贵州师范大学贵州省植物生理与发育调控重点实验室, 贵阳 550001)

**摘要:** 以从野生金钗石斛内分离到的内生真菌 37 号、117 号和 120 号菌株为材料, 探讨在干旱胁迫下 3 种菌株对金钗石斛的生长、生理特性和抗氧化酶活性的影响。结果表明, 随着 15%PEG6000 溶液胁迫时间的延长, 各处理组较对照组相比生长减缓, 渗透调节增加, 抗氧化酶活性增强。3 株内生真菌处理下能减少植株鲜重的下降, 其中 120 号菌株能有效降低根长、提高抗氧化酶 (SOD、CAT、POD) 的活性; 117 号能增加渗透调节物质脯氨酸和可溶性糖含量; 37 号能增强抗氧化酶 (SOD、CAT) 活性。3 株菌株均能增强金钗石斛抗旱能力, 但作用效果各不相同, 生产中混合使用效果更佳。

**关键词:** 金钗石斛; 内生真菌; 干旱胁迫; 生理生化特性

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2018)01-0156-05

### Effects of endophytic fungi on physiological and biochemical characteristics of *Dendrobium nobile* under drought stress

GONG Jiyi, LIU Jie, LI Fei, SUN Wei, ZHANG Ximing, YI Yin

(Key Laboratory of Plant Physiology and Developmental Regulation, Guizhou Normal University, Guiyang 550001)

**Abstract:** In this study, No.37, No.117 and No.120 strains isolated from *Dendrobium nobile* were used to detect the influence of these endophytic fungi on physiological and biochemical characteristics of *Dendrobium nobile* under drought stress. The results showed that the growth of *Dendrobium nobile* was slower than that of the control, and the osmotic regulation as well as the activities of antioxidant enzymes was increased with the increasing time of the stress induced by 15% PEG6000 solution. Under the treatment of the above-mentioned endophytic fungi, the fresh weight of *Dendrobium nobile* was reduced. Among them, No.120 strain effectively reduced the root length and improved the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and POD); No.117 strain increased the content of osmotic substances (proline) and soluble sugar; No.37 strain also enhanced the activities of antioxidant enzymes (SOD and CAT). In conclusion, all these endophytic fungi can significantly improve the drought resistance of *Dendrobium nobile* with different effects. Therefore, combining the three endophytic fungi will result a much better effect in production.

**Key words:** *Dendrobium nobile*; endophytic fungi; drought stress; physiological and biochemical characteristics

金钗石斛 (*Dendrobium nobile* Lindl.) 系兰科石斛属草本植物, 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳的功效, 是中药石斛的主要来源之一。金钗石斛对生长条件要求较为苛刻, 常生于树皮和岩石缝隙中, 为多年生草本植物, 花多果少, 每个果实中约含 100 万粒种子, 种子细如粉尘, 种胚处于球形胚阶段, 存在后熟现象, 缺乏胚乳, 自然条件下萌发困难, 其生物学特性具有繁殖率低和生长缓慢等特

点, 加之野生品种遭受过渡采伐, 目前石斛已被列为中国濒危中药品种<sup>[1]</sup>。贵州是中国金钗石斛主要产地, 但随着野生资源的逐年匮乏, 市场供应能力下降, 而通过人工仿野生栽培扩大种植面积是有效的解决方式, 然而贵州属于典型喀斯特地质地貌结构, 地表水分无法长效保存, 经常出现干旱环境, 给植物生长带来不利影响, 因此要想在喀斯特地区推广金钗石斛人工仿野生栽培, 就需要克服干旱环

收稿日期: 2017-06-15

基金项目: 贵州省教育厅“125”重大专项 (黔教合重大专项字[2012]005 号), 贵州省重点实验室建设项目 (黔科合计 Z 字[2011]4005), 教育部创新团队发展计划项目 (IRT1227) 共同资助。

作者简介: 龚记熠, 高级实验师。E-mail: gongjiyi\_1985@163.com

\* 通信作者: 乙引, 博士, 教授。E-mail: yiyin1964@outlook.com

境的影响<sup>[2]</sup>。

自 1898 年 Guerin 等从一种黑麦草 (*Lolium temulentum*) 中首先分离得到内生真菌以来, 截至目前所研究的植物类群数量并不算多, 约有数百种<sup>[3]</sup>。实际上内生菌在植物体内是普遍存在的, 可以说几乎每种植物都有内生菌或共生菌。植物与内生真菌呈互利共生的关系, 内生真菌需要植物为其提供光合产物和矿物质营养; 而植物生长过程中又需要内生真菌的次生代谢产物, 来促进生长发育和提高抵抗胁迫的能力<sup>[4]</sup>。在已有研究中发现石斛属植物在生长过程中也离不开内生真菌的作用, 从金钗石斛、铁皮石斛、流苏石斛和华石斛等品种中均发现有益内生真菌的存在<sup>[5-9]</sup>, 并在后续的研究中证明, 石斛属内生真菌对石斛种子萌发、组培苗成活、幼苗生长和次生代谢产物积累等具有明显的促进作用<sup>[10-14]</sup>。但是对内生真菌在石斛遭受逆境胁迫下的作用研究还处于空白, 因此以本研究团队前期获得的金钗石斛内生真菌为材料, 测定在干旱胁迫下不同内生真菌处理中金钗石斛生长速度、渗透调节物质和抗氧化酶活性等生理生化指标的变化, 为阐明内生真菌在金钗石斛抗旱中的作用提供基础数据, 为解决喀斯特地貌上开展金钗石斛人工仿野生栽培提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试金钗石斛幼苗和内生真菌均由贵州省植物生理发育与调控重点实验室提供, 金钗石斛为野生植株的组培 1 代苗, 3 株内生真菌分别是 37 号菌株、117 号菌株和 120 号菌株。

### 1.2 材料培养方法

将发酵过的锯末和蛭石按照 1:1 混合均匀, 经过高温高压灭菌后装入消毒花盆中, 控制每盆重量一致, 挑选待移栽组培幼苗移栽进花盆中, 并放置于温室中培养, 控制日温 25℃, 夜间 16℃。挑选 37 号菌株、117 号菌株和 120 号菌株菌种放置在 PAD 培养基中进行增殖培养, 待菌丝体长成后制成 0.5 mg·mL<sup>-1</sup> 的菌丝体悬浮液备用。

### 1.3 材料处理

幼苗移栽成活后, 挑选长势一致幼苗 150 盆, 设置对照组 (正常培养)、无菌组 (清水代替菌液)、37 号菌株、117 号菌株和 120 号菌株共 5 个处理组, 每组 30 盆。37 号菌株、117 号菌株和 120 号菌株 3 个处理组每次分别浇灌对应菌丝体悬浮液 100 mL, 每隔一周浇灌 1 次, 共 3 次, 对照组和无菌组仅浇

灌等量水。待第 3 次菌丝体悬浮液浇灌后一周开始胁迫培养, 参照文献<sup>[15]</sup>的方法, 采用 15%PEG6000 溶液模拟胁迫, 胁迫时间分别是 0、3、6、9、12 和 15 d。对照组以等量水代替 15%PEG6000 溶液。

### 1.4 测定方法

可溶性糖、游离脯氨酸、细胞质膜透性采用中国科学院上海植物生理研究所编写《现代植物生理实验指导指南》<sup>[16]</sup>中的方法, 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用 Kruse 等<sup>[17]</sup>的方法测定, 过氧化物酶活性采用 Hammerschmidt 等<sup>[18]</sup>的方法测定, 超氧化物歧化酶活性采用 Beyer 等<sup>[19]</sup>的方法测定。

### 1.5 数据分析

采用 SPSS10.0 软件中单因素方差分析 ANOVA 对获得数据进行分析处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛植株生长影响

经 15% PEG6000 模拟干旱胁迫, 同对照组相比, 无菌组随着胁迫时间延长, 鲜重呈现减少趋势, 在 15 d 时植株鲜重下降最大, 减少 4.3 g。120 号菌株处理组减少最小, 仅有 0.5 g。各个菌株处理组间降幅差异显著, 表明不同内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛鲜重变化起到的作用并不一致 (表 1)。

研究结果表明, 随着胁迫时间的延长, 各处理组间根长呈现增长的趋势, 其中无菌组根长增加幅度最大, 15 d 增长 1.9 cm, 在 3 个内生真菌处理组中, 120 号菌株增长幅度最小, 15 d 仅有 0.9 cm, 对照组在各组中增加最少仅有 0.8 cm (见表 2)。

### 2.2 内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛渗透调节物质的影响

研究发现干旱胁迫能显著提高金钗石斛可溶性糖含量, 随着干旱胁迫强度的增大, 表现越明显。胁迫 15 d 后, 120 号菌株处理下增加为原来的 1.5 倍, 在 4 个处理中最低, 117 号菌株处理下增加为原来的 2.6 倍, 在 4 个处理中最高 (见表 3)。

研究表明, 干旱胁迫时间越长, 植株叶片内游离脯氨酸积累越多 (见表 4)。不同内生真菌在相同处理时间下的游离脯氨酸含量差异显著, 但是均比无菌组低。经过 15 d 胁迫后 37 号菌株处理组增长为原来的 2 倍, 在各组中最低, 117 号菌株处理组增长为原来的 6 倍, 在各组中最高。

### 2.3 内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛细胞质膜透性的影响

同对照组相比, 随着胁迫时间的增加, 各处理组金钗石斛幼苗叶片细胞质膜透性逐渐增大 (表 5)。

胁迫 15 d 后, 无菌组细胞质膜透性增长为原来的 4 倍, 120 号菌株细胞质膜透性增长了 1.9 倍, 在各处

理组中最低, 与对照组差异不大, 117 号菌株细胞质膜透性增长了 3.3 倍, 在内生真菌处理组中最高。

表 1 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛鲜重的影响

Table 1 Effects of different strains treatment on fresh weight of *Dendrobium nobile* under drought stress g

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	0.00 <sup>Ea</sup>	0.08 <sup>Db</sup>	0.15 <sup>Ca</sup>	0.24 <sup>BCa</sup>	0.37 <sup>Ba</sup>	0.69 <sup>Aa</sup>
无菌组 Sterile treatment	0.00 <sup>Aa</sup>	-0.08 <sup>Bd</sup>	-1.60 <sup>Cd</sup>	-2.40 <sup>De</sup>	-3.60 <sup>Ed</sup>	-4.30 <sup>Fd</sup>
37 号菌株 No.37 strain	0.00 <sup>Aa</sup>	0.10 <sup>Ab</sup>	0.00 <sup>Ab</sup>	-0.10 <sup>Bc</sup>	-0.50 <sup>Cb</sup>	-0.80 <sup>Cb</sup>
117 号菌株 No.117 strain	0.00 <sup>Aa</sup>	-0.02 <sup>Ac</sup>	-0.20 <sup>Bc</sup>	-0.75 <sup>Cd</sup>	-1.00 <sup>Cc</sup>	-1.40 <sup>Dc</sup>
120 号菌株 No.120 strain	0.00 <sup>Ba</sup>	0.80 <sup>Aa</sup>	0.02 <sup>Bb</sup>	0.00 <sup>Bb</sup>	-0.11 <sup>Cc</sup>	-0.50 <sup>Db</sup>

注: 表中大写字母表示相同处理下不同胁迫天数间在 0.05 水平的差异显著性, 小写字母表示相同天数下不同处理间在 0.05 水平的差异显著性。下同。

Note: The uppercase letters indicate the significance of difference between the different stress days at the 0.05 level of the same treatment. The lowercase letters indicate the significance of difference between the different treatments between at the 0.05 level of the same stress days. The same below.

表 2 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛根长的影响

Table 2 Effects of different strains treatment on root length of *Dendrobium nobile* under drought stress cm

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	7.1 <sup>Ac</sup>	7.1 <sup>Ac</sup>	7.4 <sup>Ad</sup>	7.6 <sup>Ad</sup>	7.7 <sup>Ad</sup>	7.9 <sup>Ad</sup>
无菌组 Sterile treatment	7.2 <sup>Dc</sup>	7.4 <sup>Dc</sup>	7.9 <sup>Cc</sup>	8.3 <sup>BCb</sup>	8.5 <sup>Bb</sup>	9.1 <sup>Ab</sup>
37 号菌株 No.37 strain	8.5 <sup>Da</sup>	8.6 <sup>CDa</sup>	8.8 <sup>Ca</sup>	9.1 <sup>Ba</sup>	9.4 <sup>Aa</sup>	9.7 <sup>Aa</sup>
117 号菌株 No.117 strain	7.9 <sup>Cab</sup>	7.9 <sup>Cb</sup>	8.2 <sup>Bb</sup>	8.3 <sup>Bb</sup>	8.6 <sup>Bb</sup>	8.9 <sup>Abc</sup>
120 号菌株 No.120 strain	7.8 <sup>Bb</sup>	7.9 <sup>Bb</sup>	7.9 <sup>Bc</sup>	8.2 <sup>ABb</sup>	8.5 <sup>Ab</sup>	8.7 <sup>Ac</sup>

表 3 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛可溶性糖含量的影响

Table 3 Effects of different strains treatment on soluble sugar content of *Dendrobium nobile* under drought stress  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	5 000 <sup>Bb</sup>	5 150 <sup>Bb</sup>	5 300 <sup>ABd</sup>	5 400 <sup>Ad</sup>	5 400 <sup>Ad</sup>	5 500 <sup>Ad</sup>
无菌组 Sterile treatment	5 300 <sup>Cb</sup>	5 700 <sup>Ca</sup>	6 800 <sup>Ca</sup>	8 000 <sup>Bb</sup>	10 000 <sup>Ab</sup>	10 700 <sup>Ab</sup>
37 号菌株 No.37 strain	5 600 <sup>Ca</sup>	5 900 <sup>Ca</sup>	6 100 <sup>Cc</sup>	8 000 <sup>Bb</sup>	9 000 <sup>Ab</sup>	9 500 <sup>Ab</sup>
117 号菌株 No.117 strain	5 100 <sup>Fb</sup>	5 900 <sup>Ea</sup>	7 000 <sup>Da</sup>	9 000 <sup>Ca</sup>	12 000 <sup>Ba</sup>	13 000 <sup>Aa</sup>
120 号菌株 No.120 strain	5 200 <sup>Cb</sup>	5 600 <sup>Cab</sup>	6 500 <sup>Cb</sup>	7 100 <sup>Bc</sup>	7 700 <sup>Bc</sup>	8 200 <sup>Ac</sup>

表 4 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛游离脯氨酸累积的影响

Table 4 Effects of different strains treatment on free proline content of *Dendrobium nobile* under drought stress  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	48 <sup>Ba</sup>	50 <sup>Bb</sup>	51 <sup>Bd</sup>	53 <sup>ABd</sup>	55 <sup>Ad</sup>	58 <sup>Ad</sup>
无菌组 Sterile treatment	48 <sup>Da</sup>	60 <sup>Cb</sup>	75 <sup>Cb</sup>	90 <sup>Bb</sup>	109 <sup>Bb</sup>	123 <sup>Ab</sup>
37 号菌株 No.37 strain	46 <sup>Cb</sup>	55 <sup>Cb</sup>	67 <sup>Bb</sup>	71 <sup>Bc</sup>	83 <sup>Ac</sup>	94 <sup>Ac</sup>
117 号菌株 No.117 strain	50 <sup>Ca</sup>	90 <sup>Ba</sup>	145 <sup>Ba</sup>	195 <sup>Ba</sup>	240 <sup>Ba</sup>	300 <sup>Aa</sup>
120 号菌株 No.120 strain	46 <sup>Ec</sup>	49 <sup>Eb</sup>	63 <sup>Db</sup>	74 <sup>Cc</sup>	82 <sup>Bc</sup>	99 <sup>Ac</sup>

#### 2.4 内生真菌对干旱胁迫下金钗石斛细胞中抗氧化酶活性的影响

研究表明, 同对照组相比, 随着胁迫时间增加,

各处理组叶片中 SOD 活性逐渐增大 (表 6)。在 15 d 胁迫期间, 无菌组在 4 个处理组中增加幅度最小, 仅增加了 34%。在不同内生真菌处理下, SOD 活性

增加量较对照组和无菌组均显著提高, 但各个内生真菌的作用力度各不相同。120 号菌株处理下增幅最大, 达到 177%, 并且在各个时期同 37 号菌株处理间差异不显著, 117 号菌株处理下增幅最小, 仅有 85%。

各处理组间 CAT 活性随着胁迫时间的增加, 呈现逐渐增大的变化趋势 (表 7)。经过 15 d 胁迫后,

无菌组增加幅度最小, 仅增加了 44%。在不同内生真菌处理中, CAT 活性较对照组和无菌组显著提高, 但各个内生真菌的作用力度各不相同。在 120 号菌株和 37 号菌株处理下取得最大值, 其中 37 号菌株处理酶活性增加达到 188%, 117 号菌株处理最低, 仅有 75%。

表 5 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛质膜透性的影响

Table 5 Effects of different strains treatment on membrane permeability of *Dendrobium nobile* under drought stress %

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d (Treatment time with 15%PEG6000)					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	5 <sup>Aa</sup>	6 <sup>Ab</sup>	6 <sup>Ac</sup>	7 <sup>Ad</sup>	8 <sup>Ac</sup>	7 <sup>Ad</sup>
无菌组 Sterile treatment	6 <sup>Ea</sup>	10 <sup>Da</sup>	15 <sup>Ca</sup>	20 <sup>Ba</sup>	21 <sup>Ba</sup>	25 <sup>Aa</sup>
37 号菌株 No.37 strain	5 <sup>Ca</sup>	7 <sup>Cb</sup>	9 <sup>Bc</sup>	10 <sup>Bc</sup>	11 <sup>Bb</sup>	14 <sup>Ac</sup>
117 号菌株 No.117 strain	6 <sup>Ea</sup>	9 <sup>Da</sup>	12 <sup>Cb</sup>	15 <sup>Bb</sup>	18 <sup>Aa</sup>	20 <sup>Ab</sup>
120 号菌株 No.120 strain	5 <sup>Ca</sup>	6 <sup>Bb</sup>	8 <sup>Bc</sup>	9 <sup>Ac</sup>	10 <sup>Ab</sup>	10 <sup>Ad</sup>

表 6 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛叶片中 SOD 活性的影响

Table 6 Effects of different strains treatment on SOD activity of *Dendrobium nobile* under drought stress  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	21 <sup>Aa</sup>	22 <sup>Ab</sup>	22 <sup>Ad</sup>	21 <sup>Ad</sup>	23 <sup>Ad</sup>	22 <sup>Ad</sup>
无菌组 Sterile treatment	23 <sup>Ba</sup>	24 <sup>Bab</sup>	26 <sup>ABc</sup>	29 <sup>Ac</sup>	30 <sup>Ac</sup>	31 <sup>Ac</sup>
37 号菌株 No.37 strain	22 <sup>Ea</sup>	28 <sup>Da</sup>	37 <sup>Ca</sup>	48 <sup>Ba</sup>	55 <sup>Aa</sup>	59 <sup>Aa</sup>
117 号菌株 No.117 strain	21 <sup>Da</sup>	26 <sup>Ca</sup>	30 <sup>Bb</sup>	35 <sup>Bb</sup>	38 <sup>Ab</sup>	39 <sup>Ab</sup>
120 号菌株 No.120 strain	22 <sup>Fa</sup>	29 <sup>Ea</sup>	38 <sup>Da</sup>	47 <sup>Ca</sup>	52 <sup>Ba</sup>	61 <sup>Aa</sup>

表 7 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛叶片中 CAT 活性的影响

Table 7 Effects of different strains treatment on CAT activity of *Dendrobium nobile* under drought stress  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d (Treatment time with 15%PEG6000)					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	0.8 <sup>Aa</sup>	0.9 <sup>Ab</sup>	0.9 <sup>Ac</sup>	0.8 <sup>Ac</sup>	0.9 <sup>Ac</sup>	0.8 <sup>Ac</sup>
无菌组 Sterile treatment	0.9 <sup>Ba</sup>	0.9 <sup>Bb</sup>	1.1 <sup>ABb</sup>	1.2 <sup>Ab</sup>	1.2 <sup>Ab</sup>	1.3 <sup>Ab</sup>
37 号菌株 No.37 strain	0.8 <sup>Da</sup>	1.1 <sup>Ca</sup>	1.3 <sup>Cab</sup>	1.6 <sup>Ca</sup>	1.9 <sup>Ba</sup>	2.3 <sup>Aa</sup>
117 号菌株 No.117 strain	0.8 <sup>Ba</sup>	0.9 <sup>Bb</sup>	1.1 <sup>ABb</sup>	1.3 <sup>Ab</sup>	1.3 <sup>Ab</sup>	1.4 <sup>Ab</sup>
120 号菌株 No.120 strain	0.9 <sup>Da</sup>	1.2 <sup>CDa</sup>	1.4 <sup>Ca</sup>	1.7 <sup>Ba</sup>	1.8 <sup>Ba</sup>	2.2 <sup>Aa</sup>

表 8 不同菌株处理对干旱胁迫下金钗石斛叶片中 POD 活性的影响

Table 8 Effects of different strains treatment on POD activity of *Dendrobium nobile* under drought stress  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$

项目 Item	15%PEG6000 处理时间/d Treatment time with 15%PEG6000					
	0	3	6	9	12	15
对照组 Control group	13 <sup>Aa</sup>	13 <sup>Ab</sup>	14 <sup>Ac</sup>	13 <sup>Ad</sup>	14 <sup>Ad</sup>	14 <sup>Ae</sup>
无菌组 Sterile treatment	14 <sup>Ba</sup>	15 <sup>ABb</sup>	16 <sup>Ac</sup>	16 <sup>Ad</sup>	17 <sup>Ad</sup>	18 <sup>Ad</sup>
37 号菌株 No.37 strain	15 <sup>Da</sup>	18 <sup>Ca</sup>	21 <sup>Cb</sup>	27 <sup>Bb</sup>	31 <sup>Ab</sup>	34 <sup>Ab</sup>
117 号菌株 No.117 strain	14 <sup>Ca</sup>	16 <sup>Cab</sup>	19 <sup>Bb</sup>	22 <sup>Bc</sup>	26 <sup>Ac</sup>	27 <sup>Ac</sup>
120 号菌株 No.120 strain	15 <sup>Fa</sup>	18 <sup>Ea</sup>	25 <sup>Da</sup>	31 <sup>Ca</sup>	38 <sup>Ba</sup>	46 <sup>Aa</sup>

各组间 POD 活性随着胁迫时间的增加, 呈现逐渐增大的变化趋势 (见表 8)。经过 15 d 胁迫后, 无

菌组增加幅度最小, 仅增加了 28%。在不同内生真菌处理中, POD 活性较对照组和无菌组显著提高,

但各个内生真菌的作用力度各不相同。在 120 号菌株处理下取得最大值,酶活性增加 206%,117 号菌株增加仅有 92%。

### 3 讨论与结论

干旱是植物生长中经常面临的逆境之一,在喀斯特地区由于地质结构中溶洞、缝隙较多,加之土层稀薄,难以保存住水分,因此如何抵抗干旱是生长在该地区植物要解决的主要问题。研究中以 15% 的 PEG6000 模拟干旱胁迫,通过测定不同胁迫时间下的生长、生理生化指标,判断不同内生真菌的作用效果。研究中发现 3 个内生真菌处理组同无菌处理组相比,能抑制植株鲜重的减少,根的增长,在形态特征上表现出具有增强植株抗旱作用,同时也证明增加抗旱性并不完全通过增长根系吸收水分来实现。在内生真菌处理下植株可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质含量显著增加,通过增强细胞渗透调节来抵御水分亏缺。干旱胁迫产生的各种自由基,带来氧化胁迫伤害,内生真菌处理组一方面通过增加质膜透性,及时排除各类有毒物质,另一方面通过提高 POD、SOD 和 CAT 等抗氧化酶活性来避免氧化胁迫伤害。实验结果同已有内生真菌对齿瓣石斛、环草石斛石斛幼苗生长影响结果相一致,均表现出内生真菌对金钗石斛植株生长、根系活力、抗逆特性具有显著增强效果<sup>[7,11]</sup>。

在干旱胁迫下不同内生真菌的作用效果并不一致,其中 117 号菌株在增加可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质含量和质膜透性效果上明显优于 37 号和 120 号菌株,但是在提高 POD、SOD 和 CAT 等抗氧化酶活性效果上又显著弱于 37 号和 120 号菌株,这说明不同内生真菌在增强金钗石斛抗旱性上采用策略并不一致,在已有内生对金钗石斛幼苗生长的影响研究中,也出现不同内生真菌作用效果差异明显的现象<sup>[20]</sup>,不同内生真菌在植株体内作用出现差异,各自发挥不同效应,这也与金钗石斛体内内生真菌具有多样性是相一致的<sup>[21]</sup>。因此在实际生产中将不同内生真菌混合使用比单独使用增强金钗石斛抗逆性的效果更佳。

### 参考文献:

- [1] 乙引,陈玲,张习敏.金钗石斛研究[M].北京:电子工业出版社,2009.
- [2] ZHANG X M, HAO L L, HONG K, et al. Growth, dendrobine content and photosynthetic characteristics of *Dendrobium nobile* under different solar irradiances [J]. Plant Omics, 2014, 7(6): 461-467.
- [3] 孙剑秋,郭良栋,臧威,等.药用植物内生真菌及活性物质多样性研究进展[J].西北植物学报,2006,26(7): 1505-1519.
- [4] XIAO Q H, SHUN X G. Interaction between a dark septate endophytic isolate from *Dendrobium* sp. and roots of *D. nobile* seedlings[J]. J Integr Plant Biol 2009, 51(4): 374-381.
- [5] 于能江,郭顺星.植物一内生真菌次生代谢产物的研究(I)[J].中草药,2000,31(12): 897-898.
- [6] 谢玲,张雯龙,蓝桃菊,等.株内生真菌的分离鉴定及其对铁皮石斛的促生作用[J].华中农业大学学报,2016,35(3): 83-88.
- [7] 黄晖,邵士成,高江云.不同内生真菌对齿瓣石斛幼苗生长的效应[J].中国中药杂志,2016,41(11): 2016-2024.
- [8] 吴智彪,宋希强,李绍鹏.华石斛内生真菌诱导子对其组培苗生长的影响[J].热带作物学报,2006,27(1): 77-79.
- [9] 王亚妮,王丽琨,苗宗保,等.流苏石斛根部内生真菌多样性研究[J].生态科学,2014,33(4): 672-679.
- [10] 陈晓梅,郭顺星.4种内生真菌对金钗石斛无菌苗生长及其多糖和总生物碱含量的影响[J].中国中药杂志,2005,30(4): 253-257.
- [11] 陈玲,杨立昌,乙引,等.促生内生真菌对环草石斛幼苗生理代谢的影响[J].西南大学学报(自然科学版),2010,32(12): 86-90.
- [12] 侯晓强,郭顺星.铁皮石斛促生长内生真菌的筛选与鉴定[J].中国中药杂志,2014,39(17): 3232-3237.
- [13] 朱波,刘京晶,斯金平,等.铁皮石斛内生真菌对宿主组培苗生长与代谢成分的影响[J].中国中药杂志,2016,41(9): 1062-1067.
- [14] 徐焰平.铁皮石斛内生真菌研究进展[J].微生物学杂志,2015,35(5): 108-112.
- [15] 吴显芝,乙引.干旱胁迫对金钗石斛幼苗生理生化的影响[J].贵州农业科学,2006,34(1): 18-20.
- [16] 中国科学院上海植物生理研究所.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999.
- [17] KRUSE E, MOCK H P, GRIMM B. Reduction of copro-porphyrinogen oxidase level by antisense RNA synthesis leads to deregulated gene expression of plastid proteins and affects the oxidative defense system[J]. Embo J, 1995, 14(15): 3712-3720.
- [18] HAMMERSCHMIDT R, NUCKLES E M, KUC J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*[J]. Physiol Mol Plant P, 1982, 20(1): 73-82.
- [19] BEYER W F, FRIDOVICH I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions[J]. Anal Biochem, 1987, 161(2): 559-566.
- [20] 罗在柒,乙引,姚柳焱.金钗石斛与环草石斛内生真菌对其宿主植物生长效应的影响[J].贵州林业科技,2008,36(1): 28-32.
- [21] 陈娟,谭小明,邢咏梅,等.石斛属植物内生真菌及菌根真菌物种多样性研究进展[J].中国药学杂志,2013,48(19): 1649-1653.