

内生真菌对感染锈病黑麦草生长和生理的影响

马敏芝, 南志标*

(兰州大学草地农业科技学院 农业部草地农业生态系统学重点开放实验室 甘肃草原生态研究所, 甘肃 兰州 730020)

摘要:在田间条件下对带内生真菌和不带内生真菌球道黑麦草品种被锈菌不同程度感染后的生长、光合特性和生理指标进行测定。结果表明,带内生真菌的植株无论感病轻重,其病叶损失率和植株矮化程度均显著低于不带内生真菌的植株($P < 0.05$)。并且在轻度和重度病株中,内生真菌可提高黑麦草叶片相对含水量、可溶性糖含量、叶绿素含量,净光合速率、蒸腾速率、气孔导度,叶内游离脯氨酸含量、超氧化物歧化酶与过氧化物酶的活性;同时有效地降低了丙二醛的含量,说明内生真菌的存在可提高寄主黑麦草在田间条件下的抗锈病能力。

关键词:多年生黑麦草;锈菌;内生真菌;抗病性

中图分类号:S812.6;S543+.608 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-5759(2011)06-0150-07

* 多年生黑麦草(*Lolium perenne*)作为广泛建植的冷季型草坪草,具有分蘖能力强、成坪速度快、耐践踏和绿期长等特点,是欧美国家和我国常用的一种草坪建植草种^[1]。禾草内生真菌是指生长在植株体内并完成全部或大部分生活周期,而不显示外部症状的一大类真菌^[2]。*Neotyphodium lolii* 内生真菌与多年生黑麦草形成的共生体可提高寄主和微生物抵御生物因素和非生物因素胁迫的生态适应性^[3]。

黑麦草属植物易感染多种病害,其中锈病是危害草坪黑麦草的一类常见真菌病害^[4]。有研究报道黑麦草易发生冠锈病(*Puccinia coronata*)、条锈病(*Puccinia striifomis*)和叶锈病(*Puccinia recondita*)等^[5-7],主要症状为叶片或茎秆表面形成不规则的褪色斑,后变为黄色粉状孢子堆,受害草坪生长缓慢,严重时大面积变黄直至成片死亡^[8,9]。目前,化学杀菌剂可有效地防治植物真菌引起的病害,与农田和其他农作物相比,草地面积大,使用杀菌剂不甚经济,易造成生态环境的污染^[10],并使植物产生抗药性^[11]。因此,积极采用微生物防治手段是控制病害经济有效的措施^[12]。研究^[13,14]表明,带有内生真菌的禾草不仅对一些植物病害有抗性而且对禾草生产力的提高起到重要作用。如在自然环境中,带内生真菌的多年生黑麦草比不带菌植株对冠锈病表现出较强的抗性^[15],也有田间试验证实内生真菌感染并未提高寄主的抗病性^[16]。这可能是由于植物抗病性本身就是一个非常复杂的过程,受寄主、病害以及环境等多方面因素的影响而表现出不一致^[17]。本研究对田间黑麦草被锈病侵染后的植株生长、体内保护酶活性以及渗透调节物质等一些相关生理生化指标进行测定,探讨了保护酶和渗透调节物质在黑麦草抵御锈病侵害中的作用,比较带内生真菌和不带内生真菌黑麦草在锈病胁迫下的抗病性差异,为黑麦草—内生真菌共生体抗病的进一步研究及合理利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

坪用多年生黑麦草(球道品种 Fairway)的种子购于兰州邵明草坪公司,4℃保存于农业部牧草与草坪草种子质量监督检验测试中心(兰州)储藏室。

1.2 方法

1.2.1 带菌(E+)与不带菌(E-)种群的建立 将黑麦草种子播种于育苗盘中(30 cm×25 cm×8 cm),置于室外培养,人工遮雨,隔天浇水。自然条件下生长一个月后待幼苗长有3至4个分蘖时,参照南志标^[18]的方法进行叶鞘带菌率检测并作标记,然后将检测好的幼苗移栽至兰州大学草地农业科技学院模拟试验田中(2.4 m×

* 收稿日期:2010-10-11;改回日期:2010-12-10

基金项目:国家973计划课题(2007CB108902,2007-2012年)资助。

作者简介:马敏芝(1980-),女,回族,甘肃兰州人,在读博士。E-mail:mmzh668@yahoo.com.cn

* 通讯作者。E-mail:zhibiao@lzu.edu.cn

2.7 m), 建立带菌(E+)与不带菌(E-)种群。

1.2.2 锈病病害调查及严重度分级 于 2009 年 10 月中旬对自然发生锈病的黑麦草进行田间病害调查, 对所有种群进行 Z 字型 5 点取样法, 每点随机调查 5 株, 统计发病率。

在参考燕麦冠锈病(*P. coronata*)以及长芒草锈病(*Uredo* sp.)严重度分级标准的基础上^[19,20], 结合实际情况确定黑麦草锈病的严重度。参照南志标等^[21]的方法, 规定 0 级的为健株, 1~3 级为轻度病株, 4~5 级为重度病株。

1.2.3 生物量、株高测定 分别在健株、轻度病株和重度病株中, 取 5 株为 1 个处理, 共 4 个重复, 用毫米刻度尺测量黑麦草各处理的株高。同样取 30 片叶为 1 个处理, 共 4 个重复, 用去离子水快速冲洗掉表面的泥土和杂质, 置于烘箱内 105℃杀青 20 min, 80℃烘 48 h 至恒重, 然后称重。按下列公式计算病叶损失率和病株矮化率。

$$\text{病叶损失率}(\%) = \frac{\text{健株生物量干重} - \text{病株生物量干重}}{\text{健株生物量干重}} \times 100$$

$$\text{病株矮化率}(\%) = \frac{\text{健株高度} - \text{病株高度}}{\text{健株高度}} \times 100$$

1.2.4 光合指标测定 在室外选择天气晴朗上午 9:00—11:00, 从每组处理植株中随机选取发病叶片, 于普通空气条件下采用 Li-6400 便携式光合仪测定连体叶片, 每个处理重复测定 15 次。测定参数包括叶片的净光合速率(Pn, $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)、蒸腾速率(Tr, $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)和气孔导度(Gs, $\text{mmol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)等指标。当日测定温度为(18±2)℃, 光合有效辐射为(500±20) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.2.5 生理生化指标测定 植株的叶片相对含水量采用饱和称重法^[22]; 叶绿素含量与可溶性糖含量测定分别采用李合生^[23]的丙酮浸提法和萘酚比色法。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)活性、游离脯氨酸(free proline, Pro)以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定分别采用李合生^[23]的氮蓝四唑法、愈创木酚法、磺基水杨酸法和硫代巴比妥酸法。

1.3 统计分析

采用 SPSS 15.0 软件进行方差分析和显著性测定。

2 结果与分析

2.1 锈病病原鉴定

田间黑麦草 E+、E- 植株于 2009 年 9 月开始自然发生锈病, 主要发生在叶片部位, 起初为小丘斑状, 孢子堆小形, 鲜黄色, 不穿透叶片; 孢子成熟后使寄主表皮破裂, 露出粉末状黄褐色夏孢子堆, 夏孢子单胞, 圆形或长圆形, 淡黄褐色, 表面有小刺, 大小 19.00~22.25 $\mu\text{m} \times 14.25 \sim 18.50 \mu\text{m}$, 病原菌归为担子菌亚门柄锈属(*Puccinia* spp.)的真菌^[8]。

2.2 对生物量及株高的影响

黑麦草感染锈病后, 其 E+ 和 E- 植株的发病率分别为 21.92% 和 65.02%。株高和生物量随着发病程度的加重而减少, 其中轻度和重度病株中 E+ 植株的株高和地上生物量显著高于 E- 植株($P < 0.05$)。轻度和重度病株中 E+ 植株的病叶损失率显著低于 E- 植株($P < 0.05$)。在重度病株中 E+ 植株的病株矮化率显著低于 E- 植株($P < 0.05$), 而轻度病株中 E+ 和 E- 植株的病株矮化率差异不显著($P > 0.05$) (表 1)。

2.3 对光合指标的影响

感染锈病的 E+ 和 E- 植株的叶片净光合速率、蒸腾速率以及气孔导度均呈下降趋势。轻度病株和重度病株中的 E+ 叶片净光合速率显著高于 E- 叶片($P < 0.05$), 分别高出 71.74% 和 77.95%。健株中的 E+ 和 E- 叶片的净光合速率差异不显著($P > 0.05$)。同样在轻度病株和重度病株中, E+ 叶片的蒸腾速率显著高于 E- 叶片($P < 0.05$), 分别高出 64.54% 和 55.46%。E+ 和 E- 植株的叶片蒸腾速率在健株无显著性变化($P > 0.05$)。在轻度和重度病株处理中, E+ 植株叶片的气孔导度显著高于 E- 植株($P < 0.05$), 分别高出 26.13% 和 45.54%。E+ 植株中轻度病株的气孔导度与健株差异不显著($P > 0.05$), 而重度病株的气孔导度与健株差异显著($P < 0.05$); E- 植株中轻度病株和重度病株的气孔导度与健株差异显著($P < 0.05$) (表 2)。

表 1 不同发病程度对 E+、E- 黑麦草株高和生物量的影响

Table 1 Effect of different disease severity on height and biomass of E+ and E- perennial ryegrass

发病程度 Disease severity	种群 Population	株高 Height (cm)	病株矮化率 Dwarf of diseased leaf (%)	生物量 Biomass (g)	病叶损失率 Loss of diseased leaf (%)
健株 Free diseases	E+	30.36±1.12 a	0.00±0.00 d	1.16±0.05 a	0.00±0.00 e
	E-	30.18±1.00 a	0.00±0.00 d	1.14±0.01 a	0.00±0.00 e
轻度病株 Slight disease	E+	28.49±0.83 ab	9.15±0.84 c	0.99±0.01 b	14.66±0.91 d
	E-	27.13±0.49 b	10.11±0.17 c	0.81±0.02 c	28.95±1.01 c
重度病株 Severe disease	E+	23.79±1.55 c	24.14±0.54 b	0.47±0.03 d	59.48±1.15 b
	E-	21.62±0.71 d	28.36±0.96 a	0.31±0.01 e	72.81±1.32 a

E+：带内生真菌植株 Infected-endophyte plant；E-：未带内生真菌植株 No-endophyte plant；同列数字后的不同字母表示在 0.05 水平上差异显著，下同。Means with different letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$), the same below.

表 2 不同发病程度对 E+、E- 黑麦草净光合速率、蒸腾速率及气孔导度的影响

Table 2 Effect of different disease severity on stomatal conduction, net photosynthetic and transpiration rate of E+ and E- perennial ryegrass

发病程度 Disease severity	种群 Population	净光合速率 Net photosynthetic rate ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)	蒸腾速率 Transpiration rate ($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)	气孔导度 Stomatal conduction ($\text{mmol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)
健株 Free diseases	E+	9.283±1.062 a	1.093±0.194 a	0.059±0.010 a
	E-	8.779±0.779 a	1.026±0.053 a	0.055±0.004 a
轻度病株 Slight disease	E+	8.410±0.424 a	0.798±0.068 b	0.054±0.001 ab
	E-	4.897±0.713 bc	0.485±0.070 cd	0.039±0.006 b
重度病株 Severe disease	E+	5.689±1.046 b	0.569±0.077 bc	0.029±0.002 c
	E-	3.197±0.146 c	0.366±0.025 d	0.020±0.005 d

2.4 对生理生化指标的影响

黑麦草感染锈病后，所有植株的叶片相对含水量与叶绿素含量均呈下降趋势，可溶性糖含量则升高。在轻度和重度病株中，E+ 植株的叶片相对含水量显著高于 E- 植株 ($P<0.05$)，分别高出 8.24% 和 29.35%。与健株相比，轻度和重度病株中 E+、E- 植株的叶片相对含水量显著低于健株 ($P<0.05$) (表 3)。

表 3 不同发病程度对 E+、E- 黑麦草叶片相对含水量、叶绿素含量及可溶性糖含量的影响

Table 3 Effect of different disease severity on relative water content, chlorophyll and soluble sugar content of E+ and E- perennial ryegrass

发病程度 Disease severity	种群 Population	叶片相对含水量 Relative water content (%)	叶绿素含量 Chlorophyll content (mg/g)	可溶性糖含量 Soluble sugar content ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
健株 Free diseases	E+	78.48±1.63 a	59.59±0.93 a	22.13±0.71 c
	E-	77.52±0.62 a	55.67±2.56 a	20.82±0.39 c
轻度病株 Slight disease	E+	62.03±1.26 b	40.94±0.70 b	39.47±0.31 a
	E-	56.92±0.91 c	33.53±3.85 b	33.71±0.27 b
重度病株 Severe disease	E+	38.70±0.44 d	23.25±1.38 c	39.45±0.46 a
	E-	27.34±0.59 e	14.12±0.50 d	30.77±2.30 b

健株和轻度病株中, E+与 E-植株之间的叶绿素含量差异不显著($P>0.05$), 在重度病株中, E+植株的叶绿素含量比 E-植株高 64.52%, 差异显著($P<0.05$)。说明锈菌侵染后, 叶绿体被破坏, 叶绿素含量下降, 从而抑制叶片的正常光合作用(表 3)。

轻度病株和重度病株中 E+植株的可溶性糖含量显著高于 E-植株($P<0.05$), 分别高出 17.09%和 28.2%。E+和 E-植株的可溶性糖含量在健株上差异不显著($P>0.05$)(表 3)。

黑麦草感染锈病后, 所有 E+与 E-植株的脯氨酸含量与未发生锈病的植株相比均显著升高($P<0.05$)。轻度和重度病株中, E+植株的脯氨酸含量显著高于 E-植株($P<0.05$), 分别高出 25.70%和 22.64%。E+和 E-植株的脯氨酸含量在健株上无显著差异($P>0.05$)(表 4)。并且各发病程度植株的 SOD 与 POD 活性表现出先升高后降低的趋势。其中轻度和重度病株上 E+植株的 SOD 活性显著高于 E-植株($P<0.05$), 二者分别高出 16.87%和 24.54%, 而 E+和 E-植株的 SOD 活性在健株上差异不显著($P>0.05$)。轻度病株中 E+植株的 POD 活性显著高于 E-植株($P<0.05$), 高出 39.52%, E+和 E-植株的 POD 活性在健株上无显著差异($P>0.05$)(表 4)。

与健株相比, 各发病程度植株的 MDA 含量增加。其中在轻度和重度病株中, E+植株的 MDA 含量显著低于 E-($P<0.05$), 分别降低 49.56%和 62.30%。E+和 E-植株的 MDA 含量变化在健株上差异不显著($P>0.05$)(表 4)。

表 4 不同发病程度对 E+、E-黑麦草酶活性、脯氨酸及丙二醛含量的影响

Table 4 Effect of different disease severity on enzyme activities, proline and MDA content of E+ and E- perennial ryegrass

发病程度 Disease severity	种群 Population	脯氨酸含量 Proline content($\mu\text{g}/\text{mL}$)	超氧化物歧化酶 SOD activity($\mu\text{g}/\text{min}$)	过氧化物酶 POD activity($\mu\text{g}/\text{min}$)	丙二醛含量 MDA content($\mu\text{mol}/\text{g}$)
健株 Free diseases	E+	12.03 \pm 1.52 d	19.65 \pm 1.26 e	155.1 \pm 13.23 c	14.05 \pm 1.83 c
	E-	9.18 \pm 1.17 d	18.67 \pm 1.23 e	131.7 \pm 8.82 c	15.23 \pm 1.72 c
轻度病株 Slight disease	E+	37.87 \pm 2.60 b	30.83 \pm 2.16 a	293.3 \pm 15.67 a	16.01 \pm 0.77 c
	E-	30.12 \pm 1.15 c	26.38 \pm 1.12 c	210.0 \pm 15.06 b	21.83 \pm 2.29 a
重度病株 Severe disease	E+	43.98 \pm 0.49 a	28.52 \pm 1.85 b	252.7 \pm 16.55 ab	19.57 \pm 0.48 b
	E-	35.86 \pm 0.19 b	22.90 \pm 2.56 d	208.0 \pm 6.08 b	24.06 \pm 0.94 a

3 讨论

本研究首次探讨了田间黑麦草发生锈病后, 内生真菌对寄主生长、光合特性及生理指标的影响。结果表明, 黑麦草感病后 E+植株的株高和生物量均显著高于 E-植株($P<0.05$), 并且 E+植株的病株矮化率和病叶损失率显著低于 E-植株($P<0.05$), 说明在逆境的胁迫下, 内生真菌对黑麦草具有促进生长的作用。这与 Bacon 和 Siegel^[24]证实内生真菌的感染可提高多年生黑麦草生长能力的结论相类似。

光合作用是衡量植物生长状况的重要指标, 而叶绿素是植株进行光合作用时必不可少的物质, 其含量的下降则影响植物的正常光合作用, 病原微生物的侵染会破坏叶片绿色组织, 减少植物的正常光合面积, 从而减弱光合作用^[25]。本研究发现, 锈菌侵染黑麦草后所有感病植株的净光合速率、蒸腾速率和气孔导度都呈下降趋势, 但 E+植株的净光合速率、蒸腾速率和气孔导度均显著高于 E-植株($P<0.05$)。内生真菌可减缓黑麦草中叶绿素含量的下降, 在一定程度上增强了植株的光合性能, 从而提高植株的抗病性。这与 Amalaric 等^[26]研究多年生黑麦草 E+植株的气孔导度、蒸腾速率以及净光合速率高于 E-植株以及 Belesky 等^[27]研究内生真菌可以提高禾本科草坪草的光合作用以降低生物胁迫对寄主的压力等结论相一致。产生这种结果的原因可能是内生真菌的存在拓展了寄主的叶片面积、提高叶片的延展性^[28]从而降低锈病对黑麦草的胁迫强度。

本研究发现, 感染锈病的黑麦草其叶绿素的含量显著低于健株($P<0.05$), 降低的原因可能是病原菌侵入会

破坏叶绿体并抑制叶绿素的合成,使植物代谢异常从而受到危害^[29]。这与南志标等^[30]对苜蓿褐斑病(*Pseudopeziza medicaginis*)的研究结果相类似。植物在逆境条件下生长受到抑制,糖利用减少,叶片内可溶性糖含量增加并能从多条代谢途径得到,因此在植物受到病原菌侵染时可以快速、大量地合成用来调节植物的渗透势,减少逆境对植物的损害^[31]。本研究中,无论感病轻重,E+植株的叶片相对含水量、叶绿素含量和可溶性糖含量均显著高于E-植株($P<0.05$),产生此结果的原因可能是内生真菌的存在可抵御病原菌的侵入和扩展,从而降低病原菌对叶绿体的破坏程度。除此之外,内生真菌可诱导植株产生更多的渗透调节物质,增强植株的抗病能力以减小锈病对黑麦草的危害。这些结果与张兴旭等^[32]研究醉马草(*Achnatherum inebrians*)在禾谷缢管蚜(*Rhopalosiphum padi*)的危害下得出内生真菌可缓解植株叶片相对含水量和叶绿素含量下降的结论相类似。研究发现,盐胁迫后,野大麦(*Hordeum brevisubulatum*) E+种群比E-种群的叶片中能积累更多的可溶性糖以提高寄主的抗逆性^[33]。

有研究证实,正常状态下植物体内由于活性氧清除酶系统(SOD, POD, CAT等)的存在而使得活性氧代谢处于动态平衡状态^[34]。当植物受到生物或非生物因子胁迫时,体内的活性氧含量会升高,可导致植物蛋白和膜质的非特异性氧化^[17],从而产生大量的自由基,其中MDA含量高低是膜质过氧化作用强弱的一个重要指标,抗病性较强的植株体内膜质过氧化产物MDA含量较低,抗病性较差的则相反^[35]。本研究中,E+植株在锈病不同发病程度下其叶片的MDA含量显著低于E-植株($P<0.05$),分别降低49.56%和62.30%。此结果表明,内生真菌能够降低植物体内MDA的含量,有效地保护黑麦草膜系统进而提高其抗病性。脯氨酸是植物细胞质中的一种氨基酸,具有渗透调节作用。植物受胁迫时,脯氨酸的积累可保护细胞膜系统,维持胞内酶的结构,减少胞内蛋白质的降解^[36, 37]。本研究发现,轻度和重度病株中,E+植株的脯氨酸含量、SOD活性以及POD活性显著高于E-植株($P<0.05$),这与Tian等^[17]在研究黑麦草接种病原菌后,内生真菌可提高叶内SOD活性以及POD活性的结论相类似。Zhang和Nan^[38]的研究证实,在水分胁迫下内生真菌可提高披碱草(*Elymus dahuricus*)体内脯氨酸含量以及保护酶系统的活力,从而抵御不良环境的干扰。这说明在生物或非生物胁迫下,内生真菌可诱导植物产生更多的清除氧自由基的保护酶,减缓细胞受伤害程度,增强寄主抗逆性。

本研究证明内生真菌的存在可提高寄主在田间条件下的抗锈病能力,为黑麦草-内生真菌共生体的合理利用及抗病方面的研究提供基础,其抗病机制尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 邵麟惠,李庆旭,刘自学,等.北京地区57个冷季型禾草草坪品种的生态适应性评价[J].草业科学,2010,27(8):69-75.
- [2] Siegel M R, Latch G C M, Johnson M C. Fungal endophytes of grasses[J]. Annual Review Phytopathology, 1987, 25: 293-315.
- [3] Latch G C M. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts: Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1993, 44: 143-156.
- [4] Pfender W. Demonstration of pathotype specificity in stem rust of perennial ryegrass[J]. Phytopathology, 2009, 99: 1185-1189.
- [5] Dumsday J L, Smith K F, Forster J W, et al. SSR-based genetic linkage analysis of resistance to crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. lolii) in perennial ryegrass[J]. Plant Pathology, 2003, 52: 628-637.
- [6] 李春杰,南志标.甘肃草坪真菌病害初报[J].草业科学,1998,15(1):48-50.
- [7] 侯璐,曹之敏,张振,等.陕西关中地区草坪草的抗锈性评价[J].西北林学院学报,2009,24(3):136-138.
- [8] 刘若.牧草病理学[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [9] 刘勇,李春杰,Paul V H.德国草坪草主要病害[J].草业科学,2004,21(5):63-66.
- [10] 南志标.建立中国的牧草病害可持续管理体系[J].草业学报,2000,9(2):1-9.
- [11] 胡健,蒋勤军,韩烈保,等.草坪病原菌的抗药性现状及研究进展[J].草业学报,2009,18(2):196-204.
- [12] Prestidge R A. Causes and control of perennial ryegrass staggers in New Zealand[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1993, 44: 283-300.

- [13] 黄东益, 黄小龙, Segenet K. 旗草内生真菌与旗草抗病性研究[J]. 草业学报, 2009, 18(2): 39-45.
- [14] Hoveland C S. Importance and economic significance of the *Acremonium* endophytes to performance of animals and grass plant[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1993, 44: 3-12.
- [15] Clay K. Clavicipitaceous endophytes of grasses; their potential as biocontrol agents[J]. Mycological Research, 1989, 92: 1-12.
- [16] Guy P L. Incidence of *Acremonium lolii* and lack of correlation with Barely yellow dwarf viruses in *Tasmanian perennial* ryegrass pastures[J]. Plant Pathology, 1992, 41: 29-34.
- [17] Tian P, Nan Z B, Li C J, et al. Effect of the endophyte *Neotyphodium lolii* on susceptibility and host physiological response of perennial ryegrass to fungal pathogens[J]. European Journal of Plant Pathology, 2008, 122(4): 593-602.
- [18] 南志标. 内生真菌在我国部分国产和引进品种的幼苗及成株中的分布[J]. 草业科学, 1996, 5(3): 13-17.
- [19] 任继周. 草业科学研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [20] 陈秀蓉, 马静芳, 杨成德, 等. 长芒草锈病对牧草生物量和品质的影响[J]. 草业学报, 2008, 17(1): 43-47.
- [21] 南志标, 李琪, 刘照辉. 田间条件下苜蓿种质抗锈性评价[J]. 草业科学, 1991, 8(2): 19-22.
- [22] Zhang X X, Li C J, Nan Z B. Effects of cadmium stress on growth and anti-oxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175: 703-709.
- [23] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [24] Bacon C W, Siegel M R. Endophyte parasitism of tall fescue[J]. Journal of Production Agriculture, 1988, 1: 45-55.
- [25] Scholes J D, Rolfe S A. Photosynthesis in localised regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence[J]. Planta, 1996, 199(4): 573-582.
- [26] Amalaric C, Sallanon H, Monnet F, et al. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in symbiotic and non-symbiotic ryegrass under water stress[J]. Photosynthetica, 1999, 37(1): 107-112.
- [27] Belesky D P, Stringer W C, Hill N S. Influence of endophyte and water regime upon tall fescue accessions[J]. Growth Characteristics Annals of Botany, 1989, 63: 495-503.
- [28] 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[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 605-616.
- [29] 欧志远. 叶绿素含量与植物抗病性的关系[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(6): 134-135.
- [30] 南志标, 李春杰, 王彦荣, 等. 苜蓿褐斑病对牧草质量光合速率的影响及田间抗病性[J]. 草业学报, 2001, 10(1): 26-34.
- [31] 李海燕, 刘惕若, 甄艳. 辣椒品种对疫病的抗性研究-脯氨酸、丙氨酸和可溶性糖在抗病中的作用[J]. 中国农学通报, 2006, 22(11): 315-317.
- [32] 张兴旭, 陈娜, 李春杰, 等. 禾谷缢管蚜与内生真菌互作对醉马草幼苗的生理影响[J]. 草地学报, 2008, 16(3): 239-245.
- [33] 王正凤, 李春杰, 金文进, 等. 内生真菌对野大麦耐盐性的影响[J]. 草地学报, 2009, 17(1): 88-92.
- [34] Jung W J, Jin Y L, Park R D, et al. Treatment of *Paenibacillus illinoisensis* suppresses the activities of antioxidative enzymes in pepper roots caused by *Phytophthora capsici* infection[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2006, 22: 901-907.
- [35] 黄世文, 王玲, 王全永, 等. 纹枯病菌对不同水稻品种叶片中抗病性相关酶的影响[J]. 中国水稻科学, 2008, 22(2): 219-222.
- [36] 万里强, 李向林, 石永红, 等. PEG 胁迫下 4 个黑麦草品种生理生化指标与比较研究[J]. 草业学报, 2010, 19(1): 83-88.
- [37] Sun J Y, Zhao Y T, Chang R Z, et al. Study on the protective function and mechanism of cell wall glycoproteins in salt tolerance of wheat[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1997, 30(4): 9-15.
- [38] Zhang Y P, Nan Z B. Growth and anti-oxidative systems changes in *Elymus dahuricus* is affected by *Neotyphodium* endophyte under contrasting water availability[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2007, 193: 377-386.

**Effect of fungal endophytes against rust disease of perennial ryegrass (*Lolium perenne*)
on growth and physiological indices**

MA Min-zhi, NAN Zhi-biao

(College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Key Laboratory of
Grassland Argo-Ecosystem, Ministry of Agriculture, Gansu Grassland Ecological
Research Institute, Lanzhou 730020, China)

Abstract: The biological, photosynthetic and physiological characteristics of *Neotyphodium* endophyte-infected (E+) and endophyte-free (E-) perennial ryegrass (fairway cultivar) with *Puccinia* spp. infections were studied in a field experiment. The height and biomass of E+ plants were significantly higher than those of E- plants, and the loss of diseased leaves of E+ plants was significantly lower than that of E- plants irrespective of whether they were slightly or severely infected. The same response also occurred in the dwarf diseased leaves. For slight and severely affected plants, the contents of leaf relative water, soluble sugar, chlorophyll, proline, and net photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal conductance as well as the activities of superoxide dismutase and peroxidase of E+ plants were significantly greater than those of E- plants. However, the malondialdehyde content of E+ plants was significantly lower than that of E- plants. In conclusion, endophyte infection improved rust disease resistance of perennial ryegrass under field conditions.

Key words: perennial ryegrass(*Lolium perenne*); *Puccinia* spp. ; *Neotyphodium* endophyte; disease resistance