



不同 pH 对醉马草内生真菌共生体 幼苗生长和产碱的影响

万志文, 冯疆蓉, 陈振江, 曹 莹, 李春杰*

(兰州大学 草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州 730020)

摘 要: 该研究考察了不同 pH(3、5、7、9 和 11) 处理对醉马草内生真菌共生体幼苗的形态指标、叶绿素、可溶性糖以及麦角酰胺和麦角新碱含量的影响, 以明确共生体幼苗生长和产碱的最适 pH 条件。结果表明: (1) 醉马草内生真菌共生体幼苗株高、根长、分蘖和生物量等均在 pH 7 时(达到最大)显著高于其他 4 个酸碱处理, 而且 4 个生长指标在强碱性处理下均显著高于强酸处理。(2) 幼苗叶绿素含量也在 pH 7 的中性条件下(达到最高)显著高于 pH 3、pH 5 和 pH 11 处理, 且强碱性处理下叶绿素含量也显著高于强酸处理, 但幼苗可溶性糖含量在不同 pH 处理之间没有显著变化。(3) 在相同时间内, 醉马草内生真菌共生体幼苗麦角酰胺和麦角新碱含量均随环境 pH 值升高而增加; 在处理时间为 15 d 时, 麦角酰胺在 pH 9~11 处理下积累量最多, 麦角新碱含量在 pH 11 处理下达到最大值, 酸性条件抑制醉马草内生真菌共生体幼苗产碱。研究发现, 醉马草内生真菌共生体幼苗在中性环境条件下生长最佳, 且在碱性条件下生长较酸性条件下生长良好, 而体内麦角酰胺和麦角新碱的积累在强碱性条件下达到峰值, 可将醉马草内生真菌共生体应用于盐碱地的栽培绿化。

关键词: 醉马草; 内生真菌; 麦角酰胺; 麦角新碱; pH

中图分类号: Q946.88; S452

文献标志码: A

Effects of Different pH on Growth and Ergot Alkaloids Concentrations of Symbiont of *Epichloë gansuensis*-*Achnatherum inebrians* Seedling

WAN Zhiwen, FENG Jiangrong, CHEN Zhenjiang, CAO Ying, LI Chunjie*

(Key Laboratory of Grassland Farming Systems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China)

Abstract: A study was conducted to investigate the effects of different pH(3, 5, 7, 9, 11) on variations of growth and ergot alkaloids concentrations in symbiont of *Epichloë gansuensis*-*Achnatherum inebrians* seedling. The results showed that: 1) the plant height, root length and biomass of *A. inebrians* had peak value under pH 7, and had significant differences ($P < 0.05$) than the other four pH treatments, and the four kinds of growth index under strong alkaline treatment were significantly ($P < 0.05$) higher than that under acid treatment. 2) Chlorophyll content had maximum under pH 7, which had significant ($P < 0.05$) differences higher than that of pH=3, 5 and pH 11, and under strong alkaline treatment were significantly ($P < 0.05$) more than acid treatment. Soluble sugar under five pH treatments difference was not significant ($P > 0.05$). 3) The contents of ergine under pH 9–11 had a peak value at 15 d, which had significant ($P < 0.05$) difference with other treatments. The contents of ergonovine under pH 11 had maximum at 15 d, which were significantly ($P < 0.05$) enhanced by increasing pH. To sum up, Symbiotic seedlings grow best under neutral conditions and under alkaline conditions grow well more than that under acidic conditions. However, the accumulation of ergine and ergonovine had peak values under strong alkaline conditions. Comprehensive growth and ergot alkliold production, the symbionts can be used in the cultivation of saline-alkali land greening.

收稿日期: 2015-11-25; 修改稿收到日期: 2016-03-09

基金项目: 国家“973”项目(2014CB138702); 国家自然科学基金(31372366); 教育部创新团队发展计划(IRT13019)

作者简介: 万志文(1992—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为禾草-内生真菌共生体。E-mail: wanzhw14@lzu.edu.cn

* 通信作者: 李春杰, 博士, 教授, 研究方向为禾草内生真菌共生体及草类植物病理学。E-mail: chunjie@lzu.edu.cn

Key words: *Achnatherum inebrians*; endophyte; ergine; ergonovine; pH

醉马草(*Achnatherum inebrians*)是禾本科芨芨草属(*Achnatherum*)多年生草本植物,在内蒙古、新疆、西藏、青海、甘肃等省(区)均有分布,是中国北方天然草原主要的烈性毒草之一^[1]。禾草内生真菌是指生长在植株体内并完成全部或大部生活周期,而不使寄主植物显示外部症状的一类真菌^[2],它具有增强宿主抗逆性、提高群落竞争性等优点。醉马草与 *Epichloë* 属内生真菌互作可产生麦角新碱和麦角酰胺,这 2 种生物碱已被广泛应用于临床,都已经证实可以使伤口周边血流量降低^[3],麦角新碱直接作用于子宫肌,对妇女产后大出血具有重要疗效^[4],因此具有重要的药用开发价值。另一方面,醉马草内生真菌共生体所产生的麦角酰胺和麦角新碱对家畜^[5]和食草昆虫具有一定的毒性^[6],可将其作为生物农药开发利用。这 2 种生物碱的含量与生物因子和非生物因子^[7]有密切的关系。

随着工业的快速发展,土壤酸化在中国南方地区尤为明显,主要分布在长江以南的热带、亚热带地区及西南红、黄壤上^[8],其中工业废水、化肥和农药的大量使用是加快土壤酸化的主要原因。土壤酸化导致土壤有毒金属离子活度增加、肥力降低和土壤结构变差,并影响土壤微生物的活动、营养元素的转化与释放、有机质的合成与分解、微量元素的有效性以及土壤保持养分的能力等^[9]。在中国华北平原、东北平原、西北内陆地区及滨海地区,土壤盐碱化成为威胁生态环境和农业可持续发展的重要因素^[10]。pH 对植物生长发育尤为重要,它既可以直接影响植物生长,也可间接通过影响土壤物理、化学和生物学特性进一步影响植物生长发育^[11],主要影响植物形态外观、物质代谢和产量。据报道,最适合带菌醉马草种子萌发的酸碱范围是 pH 6~9,内生真菌在酸胁迫(pH 4~5)下可以显著提高种子发芽率,在酸性至中性(pH 4~7)条件下可以提高幼苗干重,在中性至强碱(pH 7~11)胁迫下可以提高种子的胚芽长及胚根长;在逆境环境下,如干旱胁迫和盐胁迫均能增加醉马草内生真菌共生体麦角新碱和麦角酰胺的含量^[12],但是关于酸碱胁迫下醉马草内生真菌共生体麦角生物碱的积累的研究目前尚无报道,本试验拟在不同 pH 处理下考察醉马草内生真菌共生体幼苗的生长和产碱情况,通过高效液相色谱检测其麦角新碱和麦角酰胺的含量变化,以明确醉马草内生真菌共生体幼苗生长和生物碱积累的最适 pH 条件。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所用的醉马草种子于 2014 年 9 月份采自甘肃肃南(100°33.139' E,37°13.823' N),2015 年 4 月通过镜检,随机选取 1 株被内生真菌 *Epichloë gansuensis* 侵染的醉马草上的种子用于本试验。

1.2 材料培养与处理

挑选表面健康,籽粒饱满的醉马草种子播种于装有 300 g 蛭石的聚乙烯花盆(口径 15 cm,底径 10 cm,深 12 cm)中,在兰州大学榆中校区智能温室[光周期 12 h 光照,温度(20±1)℃,光照强度 120 μmol·m⁻²·s⁻¹]内培养幼苗。每周定量浇灌 200 mL Hoagland 营养液。待醉马草幼苗生长到 5 周龄后,以 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液和 1 mol·L⁻¹ H₂SO₄ 溶液配制 pH 分别为 3、5、7、9 和 11 的酸碱液处理,取 100 mL 处理幼苗,用雷磁 PHS-3C 精密 pH 计(pH 测量范围 2~14,上海精密科学仪器有限公司)检验溶液 pH 值。每个处理 5 次重复,每隔 3 d 进行一次处理,在处理后 3、6、9、12 和 15 d 分别取醉马草内生真菌共生体幼苗检测其麦角酰胺和麦角新碱含量。处理 15 d 后,分别测定醉马草内生真菌共生体幼苗在不同 pH 处理下的株高、根长、分蘖数、生物量、叶绿素和可溶性糖。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 形态指标测定 单株醉马草内生真菌共生体幼苗的株高和根长采用测量法,单株幼苗分蘖数采用计数法,单株幼苗生物量的测定采用称量法。

1.3.2 叶绿素含量 醉马草内生真菌共生体幼苗叶绿素的测定采用常温浸提比色法。将新鲜醉马草幼苗叶片剪成 2 mm 左右的碎片,称取 0.1 g 样品加入 10 mL 提取液(乙醇:丙酮=1:3)在室温黑暗条件下浸泡 24 h,期间摇晃数次。取上清液在 652 nm 波长处测定吸光值 A₆₅₂,并按如下公式测定叶绿素的含量(mg·g⁻¹):C=A₆₅₂×10/(34.5×m),m 为称样量^[13]。

1.3.3 可溶性糖含量 可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法。称取蒽酮 200 mg 于 100 mL 浓硫酸中充分溶解,现配成蒽酮试剂。称取叶片鲜样 0.1 g 放入试管中,加蒸馏水 5 mL,封口于沸水中提取 1 h,提取液过滤至 25 mL 容量瓶,用蒸馏水反复漂洗残渣并定容至刻度。吸取待测液 0.2 mL,加入试管

中,再加蒸馏水 2.3 mL,摇匀,随后沿试管壁迅速加入蒽酮试剂 6.5 mL,立即摇匀,置试管架上冷却至室温,以添加蒽酮试剂和蒸馏水的空白管作对照,在 620 nm 波长处,按多点校准法测定待测管中提取液可溶性糖含量^[14]。标准曲线: $y=0.111x+0.0138$, $R^2=0.988$ 。

1.3.4 麦角酰胺和麦角新碱含量 将待测醉马草幼苗在-20℃的冰箱冰冻 5 h,并在冷冻干燥机中-60℃干燥 24 h 后,取出速于研钵中研磨成粉末。称取 50 mg 样品装于 1.5 mL 的 Eppendorf 离心管中;加入 1 mL 提取液(CHCl₃:MeOH:NH₄OH=75:25:2),颠倒混匀,室温黑暗条件下过夜。后经 15℃、10 000 r·min⁻¹ 条件下离心 5 min,于通风厨中黑暗条件下自然挥发干燥。每个离心管加入 0.75 mL MeOH:CCl₄(1:2)和 0.25 mL 25 mmol·L⁻¹ 酒石酸,颠倒混匀后,于离心机(Beckman, Germany)中在 21℃、12 000 r·min⁻¹ 条件下离心 5 min,吸取上清液 0.25 mL 经 0.22 μm 孔径的有机相过滤膜过滤至 1.5 mL 棕色色谱瓶,待用^[15]。

用 Agilent 1100 series 高效液相色谱系统(Agilent, USA), Eclipse XDB-C₁₈ 反相(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为 A(0.1 mol·L⁻¹ NH₄OAc)和 B(乙腈),按照 0~5 min A 液的浓度从 95%~85%、5~10 min A 液的浓度从 85%~80%、10~15 min A 液的浓度从 80%~90%、15~20 min A 液的浓度从 90%~95%的梯度洗脱;检测波长(Ex) 312 nm,发射波长(Em) 427 nm^[11],流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL,将麦角酰胺和麦角新碱标样分别稀释至 0.375、0.75、1.5 和 3 mg·kg⁻¹ 浓度,各取相同浓度梯度的两种标样混合,以外标法建立相关标准直线方程。通过色谱数据工作站软件(ChemStation for LC Rev. A. 10. 01, USA)监测进程并测定峰值面积,根据相关方程和样品稀释的倍数,计算样品中两种生物碱的浓度。

1.4 数据处理

采用 SPSS22.0 统计分析软件进行差异显著性分析,用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 pH 对醉马草内生真菌共生体幼苗生长的影响

由表 1 可知,随着 pH 的升高,醉马草内生真菌共生体幼苗株高、根长、分蘖和生物量均呈先增加后下降的趋势,并均在中性条件(pH7)时均达到最大值,且显著高于其他 4 个酸碱处理($P<0.05$)。幼

苗株高和根长在 pH 5 和 pH 9 处理下无显著差异而它们均显著高于 pH 3 和 pH 11 处理;pH 11 处理的株高又显著高于 pH 3 处理,但两处理间根长无显著差异($P>0.05$);幼苗分蘖数和生物量在 pH 5 处理下均显著高于 pH 3、9、11 处理,而 pH 9、11 处理又大多显著高于 pH 3 处理。可见,醉马草内生真菌共生体幼苗在中性环境下生长最佳,弱酸弱碱环境下(pH 5 和 pH 9)次之,在增强的酸碱环境下(pH 3、pH 11)更差。

2.2 pH 对醉马草内生真菌共生体幼苗叶绿素和可溶性糖含量的影响

由表 2 可知,随着处理 pH 的升高,醉马草内生真菌共生体幼苗叶绿素含量呈先增加后下降的趋势,并在 pH 7 时达到最大值,且显著高于 pH 3、5 和 11 处理;幼苗叶绿素含量在 pH 5、9 处理下又显著高于 pH 3、11 处理,而 pH 11 处理又显著高于 pH 3 处理。醉马草内生真菌共生体幼苗可溶性糖含量在不同 pH 处理之间没有显著变化。可见,醉马草内生真菌共生体幼苗叶绿素含量对环境 pH 反

表 1 不同 pH 处理下醉马草幼苗株高、根长、分蘖和生物量的变化

Table 1 The plant height, root length, tiller amount and biomass of *Achnatherum inebrians* seedlings under different pH treatment

pH	株高 Plant height /cm	根长 Root length /cm	单株分蘖数 Tiller amount per plant	单株生物量 Biomass per plant /g
3	32.87±0.39d	19.19±0.11c	3.05±0.05d	0.16±0.01d
5	36.59±0.18b	21.90±0.22b	3.70±0.12b	0.27±0.01b
7	38.65±0.81a	23.12±0.33a	4.20±0.12a	0.30±0.01a
9	37.15±0.10b	21.46±0.16b	3.30±0.12cd	0.21±0.01c
11	35.14±0.57c	20.02±0.71c	3.40±0.10bc	0.20±0.01c

注:表中数据为平均值±标准误(n=5);同列不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异($P<0.05$);下同。

Note: Data are present as mean ±SE(n=5); The different normal letters within the same column mean significant difference at the 0.05 level; The same as below.

表 2 不同 pH 处理下醉马草幼苗叶绿素和可溶性糖含量的变化

Table 2 The contents of chlorophyll and soluble sugar in *A. inebrians* seedlings under different pH treatment

pH	叶绿素 Chlorophyll /(mg·g ⁻¹)	可溶性糖 Soluble sugar /(mg·g ⁻¹)
3	2.12±0.22d	0.02±0.001a
5	3.25±0.09b	0.02±0.001a
7	3.82±0.06a	0.02±0.001a
9	3.39±0.05ab	0.03±0.001a
11	2.71±0.28c	0.02±0.001a

表 3 不同 pH 处理下醉马草幼苗麦角酰胺和麦角新碱含量的变化

Table 3 The ergine and ergnovine contents in *Achnatherum inebrians* seedlings under different pH treatment

麦角生物碱 Ergot alkaloids	pH	处理时间 Treatment time/d				
		3	6	9	12	15
麦角酰胺含量 Ergine content (/mg · kg ⁻¹)	3	14.83±0.27cD	19.84±0.44cB	28.84±0.84cA	16.85±1.01dC	7.76±0.19dE
	5	15.50±0.27cD	23.83±1.050bBC	36.21±0.38bA	26.09±0.91cB	23.16±1.62cC
	7	16.09±0.51bcE	24.14±0.36bD	38.30±0.58abC	54.22±1.75bB	62.84±2.40bA
	9	17.14±0.57bD	26.05±0.77bC	38.60±0.75abB	61.53±2.78aA	68.54±5.81abA
	11	19.89±0.53aE	29.69±1.33aD	40.64±1.17aC	64.57±2.93aB	73.46±2.03aA
麦角新碱含量 Ergnovine content (/mg · kg ⁻¹)	3	16.69±0.41cC	21.58±0.51dC	67.32±3.00cB	79.31±3.93dA	70.97±2.40dB
	5	18.45±0.47cC	26.39±1.51cdC	89.72±4.04bA	93.63±3.36cA	71.49±2.60dB
	7	20.86±0.65bE	32.50±0.54cD	96.11±3.72bC	113.11±4.63bB	172.96±3.67cA
	9	22.59±0.68bD	44.85±3.13bC	122.14±2.19aB	129.37±3.46aB	205.40±3.26bA
	11	29.67±0.84aD	57.66±3.68aC	129.92±4.07aB	140.09±3.35aB	233.29±8.66aA

注:表中数据为平均值±标准误(n=5),同列中的不同小写字母表示同期处理间差异显著(P<0.05),而同行不同大写字母表示处理时间之间差异显著(P<0.05)。

Note:Data are present as mean ± SE(n=5);The different normal letters within the same column mean significant difference among treatments at the 0.05 level,while different capital letters within the same row mean significant difference among stages at the 0.05 level.

应敏感,并与其生长反应特征相吻合。

2.3 pH 对醉马草内生真菌共生体幼苗麦角生物碱含量的影响

2.3.1 麦角酰胺含量 由表 3 可知,随着处理时间的延长,醉马草内生真菌共生体幼苗麦角酰胺含量在 pH 3、5 酸性处理条件下呈先增加后降低的趋势,并均在处理 9 d 时达到最大值,且显著高于其余处理时间,此时分别比处理 3 d 时显著升高 94.5% 和 133.6%;而在 pH 7、9 和 11 处理条件下,幼苗麦角酰胺含量呈逐渐上升的趋势,均在 15 d 达到最大值,也大多显著高于其余处理时间,此时分别比处理 3 d 时显著升高 290.6%、299.9% 和 269.3%。同时,在相同处理时间内,幼苗麦角酰胺含量随着处理液 pH 的升高而增加;于处理 15 d 时,酸性处理(pH 3、5)显著低于其他中性、碱性处理(pH 7、9 和 11),而 pH 11 处理又显著高于 pH 7 处理(P<0.05)。

2.3.2 麦角新碱含量 由表 3 还可知,随着处理时间的增加,醉马草内生真菌共生体幼苗麦角新碱含量在 pH 3、5 酸性处理下也呈先增加后降低的趋势,均在处理 12 d 达到最大值,此时分别是处理 3 d 时的 4.75 倍和 5.07 倍;而在 pH 7、9 和 11 处理下,麦角新碱含量随着处理时间的增加呈逐渐上升的趋势,并均在处理 15 d 达到最大值,此时分别是处理 3 d 时的 8.29、9.09 和 7.86 倍。同时,在相同处理时间内,幼苗麦角新碱含量随着处理液 pH 的升高而明显增加,且处理间的差异随处理时间延长迅速加大;在处理 15 d 时,酸性处理(pH 3、5)也显著低于其余中性、碱性处理(pH 7、9 和 11),且中性、碱性处理间也存在显著性差异(P<0.05)。

以上结果说明,长时间的酸处理会抑制麦角酰胺

和麦角新碱的积累,而较长时间的碱性条件处理会促进共生体幼苗体内麦角酰胺和麦角新碱的合成。

3 讨 论

3.1 pH 与醉马草内生真菌共生体幼苗生长的关系

pH 是影响植物生长和积累次生代谢物质的重要环境因子^[16]。不同植物生长所需最适 pH 范围有所差别,如小麦生长的最适 pH 为 6~7,棉花在 pH 6~8 范围内生长最佳,pH 5~6 对烟草的生长最有利。有些植物对酸碱度要求比较严格,如茶和杜鹃花只能生长于酸性土壤^[17],而甜菜和紫花苜蓿因喜钙而必须生长在中性至微碱性土壤^[18],而有些植物的适应范围较广,比如马铃薯在 pH 4~8 范围内均可正常生长,在 pH 为 5.6~6.0 范围内生长最好^[19]。一方面,pH 既可以直接作用于植物,如过高的 pH 会在一定程度上抑制植物根毛的生长,进而影响其对水分和养分的吸收,也会影响细胞内的 ATP 的合成速度,进而导致植物体内的物质能量供应不足^[20]。如在强酸性(pH<5.5)且 Al 饱和度高的土壤中易降低植物对 Ca 的吸收并破坏细胞内 Ca 的正常调节机制,进而影响与 Ca 有关的生理进程^[21]。另一方面,pH 也可通过影响各类营养元素的有效性来间接影响植物的生长发育,例如在 pH 6~7 范围内磷的有效性最大^[22],铁、锰和锌等微量元素在强酸条件下溶解性强,易对植物产生毒害。

株高、根长、分蘖和生物量是衡量植物生长发育的重要形态指标,本研究表明,过低或过高的 pH 均不利于醉马草内生真菌共生体幼苗的生长,在 pH 为 7 的中性条件下共生体幼苗的株高、根长、分蘖和生物量均达到最大。总体来看,醉马草内生真菌共

生体幼苗以上 4 个形态指标在 pH 11 强碱处理下均明显高于 pH 3 强酸处理,说明相对于强酸胁迫而言其对强碱胁迫具有更强的耐受性。光合作用是绿色植物最基本的生理生态特征,也是植物生长所需物质和能量的重要来源。叶绿素含量的多少直接影响植物光合作用的强弱,植物受到逆境胁迫时,各种生理过程都会受到影响,从而直接或间接影响到植物叶绿素的含量^[23]。可溶性糖为渗透调节物质,是植物抗逆作用中一个重要的渗透调节因子,也是植物体中重要的能源和碳源。有学者研究发现,低 pH 能降低油菜叶绿素含量,高 pH 对叶绿素含量无显著影响,pH 6 处理下组织可溶性糖含量最高,pH 过高或过低对叶片可溶性糖含量都有显著降低作用^[24];金银花叶绿素含量在碱性条件下较酸性条件下高,且生长更佳^[23]。本研究表明,在 pH 7 的中性条件下,醉马草内生真菌共生体幼苗叶绿素含量达到最大,而在强碱性条件下叶绿素的含量明显高于强酸性处理,这是因为植物细胞中存在着不同的 pH 分区,其中叶绿体基质的 pH 则在 8.0 左右,多数酶只有在最适的 pH 下才有最高的生物活性,以保证植物正常的生长发育。本研究中醉马草内生真菌共生体幼苗可溶性糖含量在 pH 9 弱碱性条件下略高于其他处理,但在各个处理间差异不明显。

3.2 pH 与醉马草内生真菌共生体幼苗麦角生物碱含量的关系

麦角碱为单萜吲哚类生物碱^[7],是麦角酸的衍生物,是一类可以增加寄主植物对地上、地下食草动物抗性的真菌毒素^[25]。麦角酰胺和麦角新碱是醉马草内生真菌共生体产生的 2 种重要的麦角碱^[26],这两种生物碱的存在可以使共生体植株免受昆虫的采食^[27],对其形成保护作用。影响麦角新碱和麦角酰胺含量的因素有生物因子和非生物因子,生物因子如醉马草的基因型、内生真菌的基因型和控制两者合成的酶等,非生物因子有温度、光照、水分、土壤

条件和各类营养物质的供给等^[28-29]。李春杰^[15]研究发现,随着醉马草生育期的延长,麦角酰胺和麦角新碱含量呈先增加后下降的趋势,且不同的植株器官在不同的生育期所含 2 种麦角碱量有所差异,在早期幼苗叶鞘中生物碱含量高于叶片,而老龄幼苗和成株叶片中生物碱的含量高于叶鞘。张兴旭^[30]研究表明,刈割高度的增加有利于麦角新碱和麦角酰胺的积累,而较高的刈割频率则会使其含量出现负增长。施加一定量的外源色氨酸、氮肥和磷肥均可提高这两种麦角碱的积累^[31],且干旱胁迫和盐胁迫有利于增加醉马草内生真菌共生体麦角酰胺和麦角新碱的含量^[12,32]。周连玉等^[33]研究表明,低温胁迫可使中华羊茅内生真菌共生体麦角碱的积累显著增加,说明逆境条件对共生体麦角碱的产生具有一定的促进作用。本试验首次考察了醉马草内生真菌共生体在不同 pH 处理下的产碱情况,研究结果表明,碱性条件有利于麦角酰胺和麦角新碱的积累,而酸性条件抑制醉马草内生真菌共生体幼苗产碱。这一方面可能是因为这两种麦角碱为典型的氨基麦角碱,更适宜在碱性条件下合成,另一方面可能跟合成过程中的酶有很大的关系。在麦角生物碱的合成过程中会参与很多酶,其中二甲稀丙基色氨酸合酶(dimethylallyltryptophan synthase,DMATS)已被证明是整个麦角生物碱的合成过程中的限速酶^[34],碱性条件可能使其活性更高而有利于麦角新碱和麦角酰胺的积累,但 pH 对醉马草内生真菌共生体幼苗产碱的具体作用机理还有待进一步研究

本试验对醉马草内生真菌共生体幼苗的生长和麦角生物碱积累的最适 pH 条件进行了研究,发现在 pH 7 的中性条件下幼苗生长最佳,且幼苗抗碱性强于抗酸性,而幼苗麦角酰胺和麦角新碱积累的最适条件为 pH 9~11 的强碱性环境。综合考虑幼苗生长和产碱量情况,可将醉马草内生真菌共生体在盐碱地区大面积种植以保持水土和绿化环境。

参考文献:

- [1] 史志诚. 中国草地重要有毒植物[M]. 北京:中国农业出版社, 1997:166-176.
- [2] SIEGEL M R, LATCHG C M, JOHNSO M C. Fungal endophytes of grasses[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1987, 25:293-315.
- [3] YOUNG C A, SCHARDL C L, PANACCIONE D G, et al. Genetics, genomics and evolution of ergot alkaloid diversity[J]. *Toxins*, 2015, 7(4):1 273-1 302.
- [4] MCCOLLOUGH S F, PIPER E, LOHNSON Z B, et al. Effect of the fescue alkaloids on peripheral blood flow, serum prolactin, and rectal temperatures in steers[J]. *Journal of Animal Science*, 1994, 72(Suppl. 2):31(Abstract).
- [5] SCHARDL C L, PANACCIONE D G, TUDZYNSKI P. Ergot alkaloids-biology and molecular biology[J]. *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, 2006, 63:45-86.
- [6] ZHANG X X, LI CH J, NAN ZH B, et al. *Neotyphodium* endophyte increases *Achnatherum inebrians* (drunken horse grass) resistance to herbivores and seed predators[J]. *Weed Research*, 2012, 52(1):70-78.
- [7] TITTELMIER S A, DRUL D, ROSCOE M, et al. Occurrence of ergot and ergot alkaloids in western Canadian wheat and other cereals[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(29):6 644-6 650.
- [8] 于天一, 孙秀山, 石程仁, 等. 土壤酸化危害及防治技术研究进展[J]. 生态学杂志, 2014, 33(11):3 137-3 143.
- YU T Y, SUN X S, SHI C R, et al. Advances in soil acidifica-

tion hazards and control techniques[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, **33**(11): 3 137-3 143.

[9] 袁珍贵, 陈平平, 唐 琨, 等. 土壤酸化对晚稻产量的影响及品种耐酸性比较[J]. 作物研究, 2014, **28**(6): 585-588.

YUAN Z G, CHEN P P, TANG K, *et al.* Effects of soil acidification on yield of late rice and differences in acid resistance among varieties[J]. *Crop Research*, 2014, **28**(6): 585-588.

[10] 张晓磊, 刘晓静, 齐敏兴, 等. 混合盐碱对紫花苜蓿苗期根系特征的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, **21**(3): 340-346.

ZHANG X L, LIU X J, QI M X, *et al.* Impact of salt and alkali stress on growth of alfalfa in seedling stage[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, **21**(3): 340-346.

[11] 赵军霞. 土壤酸碱性对植物的生长[J]. 内蒙古农业科技, 2003, **6**(33): 41-42.

ZHAO J X. Studies on the soil pH and plant growth[J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2003, **6**(33): 41-42.

[12] ZHANG X X, LI C J, NAN Z B. Effects of salt and drought stress on alkaloid production in endophyte-infected drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, **39**(4): 471-476.

[13] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiology*, 1949, **24**(1): 1-15.

[14] 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: 134-278.

[15] 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[D]. 兰州: 兰州大学, 2005.

[16] 唐 琨, 朱伟文, 周文新, 等. 土壤 pH 对植物生长发育影响的研究进展[J]. 作物研究, 2013, **27**(2): 207-212.

TANG K, ZHU W W, ZHOU W X, *et al.* Research progress on effects of soil pH on plant growth and development[J]. *Crop Research*, 2013, **27**(2): 207-212.

[17] 陈荣府, 董晓英, 赵学强, 等. 木本植物适应酸性土壤机理的研究进展[J]. 土壤, 2015, **47**(2): 252-258.

CHEN R F, DONG X Y, ZHAO X Q, *et al.* Advances in adaptive mechanisms to acid soils in woody plants-with an emphasis on lespedeza (*Lespedeza bicolor*) and oil tea (*Camellia oleifera*) [J]. *Soil*, 2015, **47**(2): 252-258.

[18] 王 鑫, 马永祥, 李 娟. 紫花苜蓿营养成分及主要生物学特性[J]. 草业科学, 2003, **20**(10): 39-40.

WANG X, MA Y X, LI J. Alfalfa nutrient composition and main biological characteristics [J]. *Pratacultural Science*, 2003, **20**(10): 39-40.

[19] 陈科元, 陈彦云. 基因型和 pH 对马铃薯脱毒苗生长的影响[J]. 种子, 2015, **34**(7): 20-25.

CHEN K Y, CHEN Y Y. Effects of genotype and pH on the growth of virus-free potato plantlets[J]. *Seed*, 2015, **34**(7): 20-25.

[20] 赵彦坤, 张文胜, 等. 高 pH 对植物生长发育的影响及其分子生物学研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2008, **16**(3): 783-787.

ZHAO Y K, ZHANG W S, *et al.* Research progress in physiology and molecular biology of plant responses to high pH[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, **16**(3): 783-787.

[21] 蒋廷惠, 占新华, 徐阳春, 等. 钙对植物抗逆能力的影响及其生态学意义[J]. 应用生态学报, 2005, **16**(5): 971-976.

JIANG T H, ZHAN X H, XU Y CH, *et al.* Roles of calcium in stress-tolerance of plants and its ecological significance[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, **16**(5): 971-976.

[22] 张乃明, 洪 波, 张玉娟. 农田土壤磷素非点源污染研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2004, **19**(4): 453-456.

ZHANG N M, HONG B, ZHANG Y J. Study progress of phosphorus non-point source pollution in farmland[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2004, **19**(4): 453-456.

[23] 吴沿友, 邢德科, 朱咏莉, 等. 营养液 pH 对 3 种藤本植物生长和叶绿素荧光的影响[J]. 西北植物学报, 2009, **29**(2): 338-343.

WU Y Y, XING D K, *et al.* Effects of pH on growth characters and chlorophyll fluorescence of three vine plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, **29**(2): 338-343.

[24] 马成仓, 洪法水. pH 对油菜种子萌发和幼苗生长代谢的影响[J]. 作物学报, 1998, **24**(4): 509-512.

MA C C, HONG F S. Effect of pH on seed germination and seedlings growth and metabolism in rape[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1998, **24**(4): 509-512.

[25] BEAULIEU W T, PANACCIONE D G, H AZEKAMP C S, *et al.* Differential allocation of seed-borne ergot alkaloids during early ontogeny of morning glories (*Convolvulaceae*) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, **39**(7): 919-930.

[26] MILES C O, LANE G A, di MENNA M E, *et al.* High levels of ergonovine and lysergic acid amide in toxic *Achnatherum inebrians* accompany infection by an *Acremonium*-like endophytic fungus[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, **44**(5): 1 285-1 290.

[27] ZHANG X X, LI CH J, NAN ZH B, *et al.* *Neotyphodium* endophyte increases *Achnatherum inebrians* (drunken horse grass) resistance to herbivores and seed predators[J]. *Weed Research*, 2012, **52**(1): 70-78.

[28] 高嘉卉, 南志标. 禾草内生真菌生物碱的研究进展[J]. 生态学报, 2007, **27**(6): 2 532-2 546.

GAO J H, NAN Z B. A review of bioprotective alkaloids of grass fungal endophyte symbioses[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, **27**(6): 2 532-2 546.

[29] 代乐英, 黄 玺, 李春杰, 等. 麦角生物碱在醉马草内生真菌共生体中的空间分布[J]. 草业学报, 2010, **19**(6): 215-221.

DAI L Y, HUANG X, LI C J, *et al.* Spatial variation of ergot alkaloids in drunken horse grass infected by *Neotyphodium gansuense* [J]. *Acta Pratacultural Sinica*, 2010, **19**(6): 215-221.

[30] ZHANG X X, LI CH J, NAN ZH B. Effects of cutting frequency and height on alkaloid production in endophyte-infected drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) [J]. *Science China Life Sciences*, 2011, **54**(6): 567-571.

[31] 胡春霞, 李秀璋, 等. 色氨酸对醉马草内生真菌共生体麦角生物碱含量的影响[J]. 草业科学, 2014, **31**(5): 844-849.

HU C X, LI X Z, *et al.* Effects of tryptophan on ergot alkaloids concentrations of *Achnatherum inebrians*-*Neotyphodium gansuense* association[J]. *Pratacultural Science*, 2014, **31**(5): 844-849.

[32] 王 萍, 张兴旭, 赵晓静, 等. 乙烯利及水杨酸对醉马草幼苗生长及生物碱含量的影响[J]. 草业科学, 2014, **31**(11): 2 113-2 118.

WANG P, ZHANG X X, ZHAO X J, *et al.* Effects of ethphon and salicylic acid on growth and ergot alkaloids concentrations of *Achnatherum inebrians* seedlings [J]. *Pratacultural Science*, 2014, **31**(11): 2 113-2 118.

[33] ZHOU L Y, LI CH J, ZHANG X X, *et al.* Effects of cold shocked *Epichloë* infected *Festuca sinensis* on ergot alkaloid accumulation[J]. *Fungal Ecology*, 2015, **14**: 99-104.

[34] GERHARDS N, NEUBAUER L, *et al.* Biosynthetic pathways of ergot alkaloids[J]. *Toxins*, 2014, **6**(12): 3 281-3 295.

(编辑: 裴阿卫)