

接种 DSE 下黄芪光合特征对高温胁迫的响应及因素分析

毕银丽^{1,2*}, 冯馨月¹, 柯增鸣¹

1 西安科技大学 西部矿山生态环境修复研究院, 陕西 西安 710054

2 中国矿业大学(北京) 煤炭资源与安全开采国家重点实验室, 北京 100083

摘要: 深色有隔内生真菌(dark septate endophyte, DSE)作为一类植物内生真菌, 接菌后如何提高植物应对逆境的生长能力一直是研究热点。为探究接种 DSE 下黄芪光合特征对高温胁迫的响应及其影响因素, 本试验设置接菌区(接种 DSE)和对照区, 以黄芪为供试对象, 分别进行高温胁迫处理, 胁迫温度为 42 °C, 胁迫时间设置 1、3、7 和 11 d 共 4 个梯度, 每个梯度 3 个重复, 测定土壤化学性质、根系指标、叶片形态及光合特征。结果表明: 随着高温胁迫时间增加, 接菌区与对照区黄芪叶片的面积、气孔张开密度、叶绿素含量与根尖数均呈下降趋势, 降低范围分别为 55.5%–66.3%、69.6%–81.0%、68.2%–81.2%和 56.7%–59.8%。然而, 接种 DSE 提高了黄芪叶片周长、面积、气孔张开密度、叶绿素含量、蒸腾速率及净光合速率($P<0.05$), 表明接种 DSE 显著降低了高温对黄芪光合特征指标的影响, 提高了黄芪抗高温胁迫的能力。进一步采用主成分与结构方程模型分析发现, 土壤速效磷、速效钾、根长、叶绿素 a、气孔张开密度与净光合速率为显著的正向关系($P<0.05$), 说明接种 DSE 可以通过调节黄芪根系、叶片光合色素、气孔等指标来提高黄芪的光合速率。本研究重点探讨高温胁迫下接种 DSE 对黄芪光合特征的影响, 在利用 DSE 促进植物生长、提高植物耐高温性及光合效率方面具有一定的创新性。研究结果可为 DSE 在高温逆境下资源利用提供科学依据。

关键词: 链格孢属; 深色有隔内生真菌; 高温胁迫; 光合特征; 黄芪

[引用本文]

毕银丽, 冯馨月, 柯增鸣, 2023. 接种 DSE 下黄芪光合特征对高温胁迫的响应及因素分析. 菌物学报, 42(11): 2294-2308

Bi YL, Feng XY, Ke ZM, 2023. Response of photosynthetic characteristics of *Astragalus* to high temperature stress and influencing factor analysis under DSE inoculation. *Mycosystema*, 42(11): 2294-2308

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFF1303303); 国家自然科学基金面上项目(51974326)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFF1303303) and the National Natural Science Foundation of China (51974326).

*Corresponding author. E-mail: ylb88@126.com

Received: 2023-03-07; Accepted: 2023-04-23

Response of photosynthetic characteristics of *Astragalus* to high temperature stress and influencing factor analysis under DSE inoculation

BI Yinli^{1,2*}, FENG Xinyue¹, KE Zengming¹

1 Institute of Ecological Environment Restoration in Mine Areas of West China, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, Shaanxi, China

2 State Key Laboratory of Coal Resources and Safe Mining, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China

Abstract: Dark septate endophyte (DSE) improving the growth ability of plants to cope with adversity has always been a research hotspot. In this study the response of photosynthetic characteristics of *Astragalus* to high temperature stress and its influencing factors under DSE inoculation (*Alternaria* sp.) were observed. *Astragalus membranaceus* was used as the test object and 42 °C high temperature stress treatment was carried out. The stress duration of 1, 3, 7 and 11 days, and 3 replicates for each treatment were set up. The soil chemical properties, root indexes, leaf morphology and photosynthetic characteristics were determined. The results showed that with the increase of high temperature stress time, the leaf area, stomatal opening density, chlorophyll content and root tip number of inoculated and uninoculated *Astragalus* plants reduced by 55.5%–66.3%, 69.6%–81.0%, 68.2%–81.2% and 56.7%–59.8%, respectively. However, inoculation with DSE *Alternaria* sp. increased leaf circumference and area, stomatal opening density, chlorophyll content, transpiration rate and net photosynthetic rate ($P<0.05$) of the plants, indicating that inoculation with DSE significantly reduced the influence of high temperature on the photosynthetic characteristics of *Astragalus membranaceus*, and improved the ability of the *Astragalus* plants to resist high temperature stress. Further analysis of principal component and structural equation models showed that soil available phosphorus, available potassium, root length, chlorophyll a, stomatal opening density and net photosynthetic rate were significantly positive ($P<0.05$), indicating that inoculation with DSE could improve the photosynthetic rate of *Astragalus* by adjusting the root system, leaf photosynthetic pigment, stomata and other indicators. The research results provide a scientific basis for the resource utilization of DSE under high temperature adversity.

Keywords: *Alternaria* sp.; dark septate endophyte (DSE); high temperature stress; photosynthetic characteristics; *Astragalus membranaceus*

全球气候变暖, 气温持续上升, 高温事件频发对生态环境造成严重影响。高温胁迫是抑制植物生长的一种重要非生物胁迫因素, 其通过破坏细胞膜系统、造成细胞脱水、细胞氧化损伤及降低光合速率等方面扰乱植物的生理代谢活动, 甚至导致死亡(Santos *et al.* 2017)。为

适应当前和未来变暖的气候趋势, 研究植物对高温逆境的耐受机制, 以及如何利用不同手段与技术来提升植物的抗高温胁迫能力, 稳定并提高植物存活率已是当务之急。植物光合作用是其自身生命活动所需能量的来源, 开展高温胁迫下植物的光合特征变化及受到热害的影响

研究具有重要意义。

植物根际有益微生物可有效缓解植物受到的热害。研究发现,深色有隔内生真菌(dark septate endophyte, DSE)广泛存活于高温环境中。He *et al.* (2017)在海南霸王岭热带雨林中发现 11 种植物根中有 DSE 真菌; Massensini *et al.* (2014)研究发现在热带的 3 个不同地区的 50 个物种中,有 29 个与 DSE 相关;赵丹丹等(2006)发现在云南省金沙江干热河谷地区所调查植物的 67%感染 DSE。DSE 具有促进宿主植物生长、提高植物抗逆性、增强宿主对矿质元素和有机养分的吸收等生态功能,在胁迫环境下具有修复生态的应用潜力(Zhang *et al.* 2012; Xie *et al.* 2017; He *et al.* 2020; Spagnoletti & Chiocchio 2020)。He *et al.* (2017)研究发现接菌的草籽幼苗在 50 °C 的高温中可以存活 3 d,而不接菌的幼苗很快萎蔫死亡,且接菌的幼苗在 65 °C 高温继续间歇处理 10 d 后还可存活。目前的研究大多集中于野外 DSE 生态多样性调查方面,而对于 DSE 应对逆境环境的机理研究较少,尤其是高温胁迫环境下 DSE 提高植物光合作用的机制值得深入研究(Laursen *et al.* 1997; Bueno *et al.* 2018; Rana *et al.* 2019; 代梦雪等 2020; 彭苏萍和毕银丽 2020; 毕银丽和解琳琳 2021)。

黄芪 *Astragalus membranaceus* 在干旱高温地区分布广泛,对高温胁迫具有一定的敏感性,且有较强的抗逆生存能力。因此,本研究从接种 DSE 下黄芪光合特征对高温胁迫的响应及因素分析进行梳理,揭示 DSE 对黄芪光合特征的影响机理,为利用微生物提高植物耐高温性的相关研究提供理论依据与科学支撑(Liu & Wei 2019; Mateu *et al.* 2020; Song *et al.* 2021)。

1 材料与方法

1.1 DSE 制备

供试菌种为植物根内 DSE 常见属之一的链

格孢属 *Alternaria* sp. (中国普通微生物菌种保藏管理中心登记编号 CGMCC17463)。该菌属分离自内蒙古自治区锡林浩特市胜利露天矿外围草原区克氏针茅 *Stipa krylovii* 根部,纯化后保存于西部矿山生态环境修复研究院。将 DSE 接种至 PDA 固体培养基(北京酷来搏科技有限公司),28 °C 黑暗倒置培养 14 d 后得到菌落。无菌条件下取直径 7 mm 菌饼置于 MMN 液体培养基(Cat#MM8650, Coolaber science & technology, pH 5.5),在 28 °C、160 r/min 条件下振荡培养得到菌液。

1.2 试验设计及处理

本研究于 2021 年在西安科技大学雁塔校区西部矿山生态环境修复研究院植物培养室内进行,采用室内模拟试验,试验供试植物为黄芪,设置接菌(DSE)和未接菌(CK)处理,高温胁迫(HT)与常温处理,高温胁迫温度为 42 °C,胁迫时间设置 1、3、7 和 11 d 共 4 个时间梯度,每个处理 3 个重复。

黄芪种子表面用 75%乙醇消毒 5 min、6% NaClO 振荡消毒 2 min,无菌蒸馏水冲洗 6 次备用。沙土过 2 mm 筛,于高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 90 min,自然冷却备用。接种时,将菌剂与去离子水按照 1:1 的比例配制,用无菌铁匙在根际旁挖出孔穴,每个处理倒 20 mL 菌剂,覆少许沙土即可。

试验选用直径 10 cm、高 24 cm 的圆柱形塑料花盆,用 0.1% KMnO₄ 溶液浸泡消毒 12 h,装灭菌沙土 1 kg 并加入肥料,包含氮 100.0 mg/kg,磷 30.0 mg/kg,钾 150.0 mg/kg。每盆播 20 粒种子,将所有盆栽移入人工气候箱中,前 3 d 进行黑暗处理(28 °C, 70%湿度),后期正常进行培养(26 °C/28 °C, 12 h/12 h, 70%湿度)。生长期常规管理,采用称重浇水法,保持土壤含水率为土壤最大饱和持水量的 60%。出苗 1 周后,每盆间苗至 10 株幼苗,并将 DSE 菌剂对植株进行接菌处理,分为接菌组与对照组。黄芪

生长 100 d 后, 接菌与未接菌黄芪同时在培养箱内进行高温胁迫处理, 按照不同胁迫时间收获试验黄芪, 收获时先利用拓印法获取黄芪叶片气孔薄片并放置于载玻片用光学显微镜进行气孔开合的观测, 后利用光合仪进行测定光合速率等指标, 接着将地上部与根系分离, 剪下叶片后装进塑封袋内并立即转移至室内 -80°C 冰箱中, 用于测定叶片的相关指标, 盆内砂土经过风干筛选后装进塑封袋内, 与根系分别放入 4°C 冰箱内保存用于土壤化学性质的测定。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 土壤化学性质的测定

土壤全氮: 采用凯氏定氮法(鲍士旦 2005), 称取 0.5 g 铬粉置于消化管中, 准确称取样品 1 g 并用去离子水精确稀释 10 倍, 称取稀释后溶液 0.7 g 置于消化管中, 并加入 10 mL 纯水与 5 mL 盐酸, 静置 10 min 后, 将消化管放置于提前预热至 300°C 的消解仪(K1100, 海能仪器)上, 待底部液体沸腾, 计时煮沸 1–2 min 后, 取下消化管, 静置冷却至室温, 加入 10 mL 浓硫酸, 并将消化管置于消解仪上, 按照消解程序自动上机测试。

土壤速效磷、速效钾: 采用醋酸铵浸提法测定(南京农业大学 1986; 劳家杼 1988), 并用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-6800, 美析仪器)进行测定。称取通过 1 mm 筛孔的风干土样 5 g 于 100 mL 三角瓶中, 加入 1 mol/L 中性 NH_4OAc 溶液 50 mL, 塞紧橡皮塞并振荡 30 min 后, 用定性滤纸过滤到小三角瓶中, 同磷钾标准系列溶液一起在 ICP 上测定, 通过读数从标准曲线上计算其浓度。

土壤电导率和 pH: 称取 10 g 土壤样品置于 50 mL 烧杯中, 并加入 25 mL 水。将容器用封口膜密封后, 用磁力搅拌器剧烈搅拌 2 min 后静置 30 min, 用 pH-电导率仪(S400-K, 梅特勒托利多)测定其 pH。在烧杯中继续加入 25 mL 水, 同样用磁力搅拌器剧烈搅拌 2 min 后静置

30 min, 测定其电导率。

土壤有机质: 采用重铬酸钾氧化-外加热法测定(鲍士旦 2005)。称取过 100 目孔筛的土样 0.5 g, 放入干燥的硬质试管中。用滴定管加入 0.8 mol/L 的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 标准溶液 5 mL, 再沿管壁缓慢加入浓 H_2SO_4 5 mL, 在试管口加一个小漏斗, 以冷凝蒸出的水汽。把试管插入铁丝笼中并放入预先加热至 $180\text{--}190^{\circ}\text{C}$ 的油浴锅中, 再保持 $170\text{--}180^{\circ}\text{C}$ 。当试管内开始沸腾, 计时煮沸 5 min 后取出试管, 稍冷后擦净管外油液。将试管内容物用蒸馏水洗入三角瓶中, 瓶内总体积不超过 60–70 mL, 加入 2–3 滴邻菲罗啉指示剂, 用 0.2 mol/L 的 FeSO_4 滴定, 溶液颜色由橙黄变绿再突变到棕红色即为终点, 并记录 FeSO_4 滴定毫升数。

1.3.2 黄芪根系指标的测定

黄芪根系指标包括根系长度、根尖数和根系直径, 利用植物根系扫描仪(GXY-A, 中晶科技)进行扫描。将根系用水冲洗后, 放入玻璃板中利用镊子将根铺开, 尽量不重叠, 玻璃板中加水没过根系, 将其放置于根系扫描仪中进行观测拍照, 并利用 Image 软件精准测量统计根系指标。

1.3.3 叶片形态特征的测定

叶片长宽、周长与面积: 将黄芪叶片用水冲洗后, 放入玻璃板中利用镊子将叶片铺展, 玻璃板中加水没过叶片, 将其放置于根系扫描仪中进行观测拍照, 得到图片后利用 Image 软件精准测量叶片长宽、周长和面积。

叶绿素: 取新鲜植物叶片, 擦净组织表面污物, 剪碎并混匀, 称取剪碎的新鲜样品 0.2 g, 3 个重复, 分别放入研钵中, 加少量石英砂和碳酸钙粉末及 2–3 mL 95%乙醇, 研成均浆后加入 10 mL 乙醇, 继续研磨至组织变白, 静置 3–5 min。取滤纸置于漏斗中, 用乙醇湿润并将提取液倒入漏斗中, 过滤至 25 mL 棕色容量瓶中, 用少量乙醇冲洗研钵、研棒及残渣数

次, 连同残渣一起倒入漏斗中。用滴管吸取乙醇, 将滤纸上的叶绿体色素全部洗入容量瓶中, 直至滤纸和残渣中无绿色为止, 最后用乙醇定容至 25 mL, 摇匀。把提取液倒入比色皿内, 以 95%乙醇为空白, 在波长 663 nm 和 645 nm 下测定吸光度, 根据公式(高俊山和蔡永萍 2010)计算叶片叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量, 再根据取样数量和稀释倍数计算组织中叶绿素含量。

气孔的张开密度: 用拓印法获取气孔指甲油薄片, 首先用脱脂棉把黄芪叶片擦拭干净, 不能用水清洗叶片, 接着用指甲油薄薄地涂一层, 等指甲油自然风干之后, 用镊子从叶片边缘或者中心轴慢慢地撕下来并放置至载玻片上, 利用光学显微镜观测气孔张开密度情况(张秀芳 2002)。

1.3.4 叶片光合特征的测定

在中午 11:00 点的时候选取同一位置的叶片, 用光合仪(LI-6800, 力高泰科技)夹住所测叶片, 按照说明书设置参数, 测定蒸腾速率、净光合速率、气孔导度及胞间 CO_2 浓度。

1.3.5 DSE 定殖率

DSE 定殖率用来描述 DSE 在植物根系内的定殖情况。测定接菌组与对照组黄芪根系 DSE 的定殖情况, 用 10%的 KOH 溶液浸泡黄芪根系 24 h, 冲洗干净后, 用酸性品红乳酸甘油染色液染色, 将所有处理按照上述方法在显微镜下观察并记录出现 DSE 菌丝的数量, 每个处理重复 3 次, 用真菌侵染特征的根段数目 $\times$ 100%/总根段数目, 得到接菌处理的黄芪根系的 DSE 定殖率范围为 47%–58%, 而未接菌处理根系中未发现 DSE 菌丝, 定殖率为 0。图 1A 为未接菌处理黄芪根系定殖情况, 图 1B 为接菌处理黄芪根系的 DSE 定殖情况, 用红色圆圈标注接菌处理根系中观测到的 DSE 菌丝, DSE 具有明显的深色有隔特征, 右下角为图例, 代表 200 μm 。

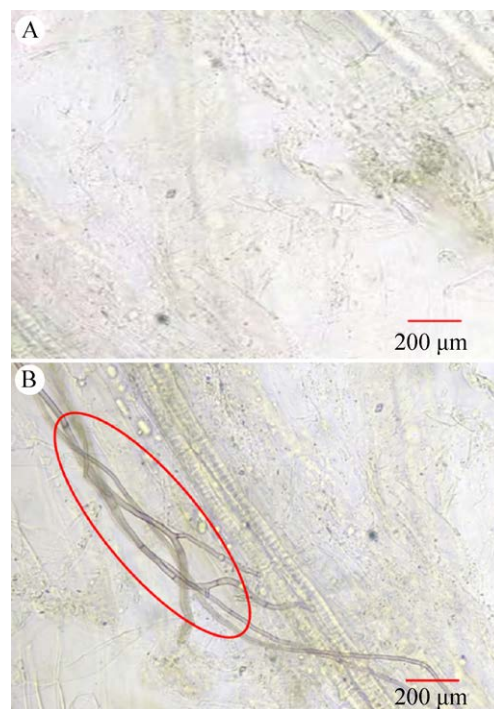


图 1 未接菌根系(A)和接菌根系(B)的 DSE 真菌红色线圈: DSE 菌丝

Fig. 1 Uninfected root (A) and DSE *Alternaria*-inoculated root (B). Red coil: DSE *Alternaria* sp. mycelium.

1.4 数据统计

通过 origin 软件进行整理、分析绘图, 用 SPSS 20 软件进行单因素方差分析($P < 0.05$), 通过主成分分析获得各主成分中的主要驱动因子, 再利用结构方程模型进行分析, 获得各因子之间的相关性及各因子中贡献度较大的指标等。

2 结果与分析

2.1 土壤化学性质

接菌黄芪的土壤有机质含量在高温与常温情况下均有不同程度提高(表 1)。接菌黄芪的土壤有机质含量在 DSE 处理下最高, 较 CK 处理显著提高 19.1%, HT-DSE 处理较 HT-CK 显著提高 13.4%。接菌黄芪土壤速效磷含量在高温与常温情况下均有不同程度提高。黄芪土壤速效磷含量在 DSE 处理下最高, 较 CK 处理显著提高 13.3%, HT-DSE 处理较 HT-CK 处理显

表 1 不同高温胁迫时间处理下的土壤化学性质

Table 1 Soil chemical properties under different treatment time of high temperature stress (42 °C)						
处理 Treatment	高温胁迫时间 High temperature stress time	速效磷 Available phosphorus (μg/g)	有机质 Organic matter (mg/kg)	速效钾 Available potassium (μg/g)	电导率 Conductivity (μs/cm)	酸碱度 pH
高温接 菌处理 HT-DSE	第 1 天 Day 1	530.1±14.2	11 070.2±154.2	17 531.2±25.3	322.0±30.4	8.2±0.1
	第 3 天 Day 3	552.5±11.2	11 111.2±143.2	16 555.7±11.4	296.4±70.7	8.3±0.1
	第 7 天 Day 7	504.2±17.1	10 782.3±116.4	15 305.5±37.3	322.7±46.9	8.3±0.1
	第 11 天 Day 11	572.1±12.4	10 944.2±163.7	17 535.7±52.4	315.4±50.3	8.5±0.1
高温不接 菌处理 HT-CK	第 1 天 Day 1	445.4±14.3	9 904.2±139.3	16 844.6±54.6	267.0±49.9	8.2±0.1
	第 3 天 Day 3	496.4±11.7	9 575.3±154.4	14 415.3±29.2	329.0±79.9	8.3±0.2
	第 7 天 Day 7	484.7±15.4	9 595.1±138.7	15 432.7±35.7	262.9±63.2	8.2±0.1
	第 11 天 Day 11	465.4±13.7	8 987.1±123.2	17 461.6±42.3	317.9±59.3	8.3±0.2
常温接 菌处理 DSE	第 1 天 Day 1	558.3±16.7	11 427.7±151.7	15 551.4±36.7	448.7±56.5	8.3±0.1
	第 3 天 Day 3	584.2±12.4	11 284.3±146.7	16 524.8±48.3	330.0±20.8	8.3±0.1
	第 7 天 Day 7	544.1±13.8	12 004.4±182.6	17 447.6±29.3	403.4±31.7	8.4±0.3
	第 11 天 Day 11	511.5±19.2	10 762.2±128.4	14 518.3±23.5	404.8±56.7	8.2±0.4
常温不接 菌处理 CK	第 1 天 Day 1	492.1±12.5	8 351.1±160.3	14 406.7±37.5	316.1±17.1	8.3±0.2
	第 3 天 Day 3	483.3±11.2	9 842.2±148.5	17 388.3±11.6	349.8±29.3	8.4±0.4
	第 7 天 Day 7	484.1±12.2	9 171.1±187.7	18 486.3±59.5	327.6±14.2	8.2±0.3
	第 11 天 Day 11	447.8±13.1	9 447.2±124.6	16 473.8±43.3	324.9±50.4	8.2±0.4

HT-DSE, 高温接菌处理; HT-CK, 高温不接菌处理; DSE, 常温接菌处理; CK, 常温不接菌处理. 下同. 比较在同种处理的不同天数间进行, 没有显著差异. 不同处理间用平均值分析对比

HT-DSE, inoculation with DSE *Alternaria* sp. under high temperature; HT-CK, uninoculation under high temperature; DSE, inoculation with *Alternaria* sp. at room temperature; CK, uninoculation at room temperature. The same below. The comparison was conducted between different days of the same treatment, no significant difference. The average value was compared between different treatments.

著提高 13.0%。高温胁迫时间与接菌处理均对土壤电导率与 pH 无显著影响。pH 值在不同处理之间的范围在 8.25–8.46, 电导率范围在 262.9–448.7 μs/cm (表 1)。

2.2 黄芪根系指标

高温胁迫下, 接菌显著提高了相同胁迫时间下黄芪根系长度、根尖数和平均直径, 对照处理的根系长度在 1、3、7 和 11 d 分别为 750.0、658.6、564.0 和 547.0 mm, 接菌处理比对照提高 5.6%、4.8%、5.7%和 3.7% (表 2)。对照处理的根尖数在 1、3、7 和 11d 分别为 232.6、175.6、137.6 和 100.6 个, 接菌处理比对照分别提高 5.3%、8.4%、12.2%和 9.1%。对照处理的平均直径在 1、3、7 和 11 d 分别为 1.2、0.8、0.7 和 0.5 mm, 接菌处理比对照提高 16.5%、13.5%、

8.4%和 11.4%。高温胁迫下所有处理的根系长度、根尖数和平均直径均呈下降趋势, 分别平均降低 20.7%、29.7%和 34.8% (表 2)。

2.3 黄芪叶片形态特征

2.3.1 叶片长宽、周长及面积

高温胁迫降低了叶片的长度、宽度、面积与周长, 且随高温胁迫时间的增加下降幅度增大, 分别降低 15.6%、22.0%、15.0%和 70.6% (图 2)。高温胁迫下, 对照处理的叶片长度、面积与周长分别为 0.59 cm、0.27 cm²和 6.4 cm, 接菌处理较对照相比分别提高 15.6%、17.6%和 13.1%; 常温条件下, 对照处理黄芪叶片的长度、宽度、面积与周长分别为 0.80 cm、0.44 cm²和 7.4 cm, 接菌处理分别提高 13.1%、46.1%、64.9%、24.5%。

表 2 不同高温胁迫时间处理下黄芪的根系指标

Table 2 Root index of *Astragalus membranaceus* inoculation with *Alternaria* sp. under different treatment time of high temperature stress (42 °C)

处理 Treatment	高温胁迫天数 High temperature stress time	根长 Root length (mm)	根尖数 Number of root tips	平均根直径 Average diameter (mm)
高温接菌处理 HT-DSE	第 1 天 Day 1	794.6±7.1a	245.6±6.4a	1.4±0.3a
	第 3 天 Day 3	692.0±6.9b	191.6±9.4b	0.9±0.3b
	第 7 天 Day 7	598.3±10.2c	156.6±5.1c	0.7±0.0c
	第 11 天 Day 11	568.0±9.4c	110.3±7.1c	0.6±0.4c
高温不接菌处理 HT-CK	第 1 天 Day 1	750.0±12.1a	232.6±8.1a	1.2±0.3a
	第 3 天 Day 3	658.6±8.0b	175.6±6.3b	0.8±0.6b
	第 7 天 Day 7	564.0±9.0c	137.6±9.3c	0.7±0.8c
	第 11 天 Day 11	547.0±11.3c	100.6±7.0c	0.5±0.8c
常温接菌处理 DSE	第 1 天 Day 1	790.0±5.0a	232.6±7.4a	1.5±0.7a
	第 3 天 Day 3	778.6±11.2a	245.6±5.1a	1.4±0.6a
	第 7 天 Day 7	764.0±9.4a	237.6±3.1a	1.4±0.5a
	第 11 天 Day 11	777.0±7.6a	240.6±8.6a	1.6±0.9a
常温不接菌处理 CK	第 1 天 Day 1	740.0±9.6a	232.6±7.6a	1.2±0.5a
	第 3 天 Day 3	748.6±14.1a	225.6±7.8a	1.1±0.7a
	第 7 天 Day 7	754.0±12.6a	237.6±5.5a	1.3±0.7a
	第 11 天 Day 11	747.0±10.1a	220.6±9.0a	1.3±0.9a

比较在同种处理的不同天数间进行,不同处理间用平均值分析对比.不同字母表示差异显著($P<0.05$).下同

The comparison was conducted between different days of the same treatment. The average value was compared between different treatments. Different letter represented significant difference ($P<0.05$). The same below.

2.3.2 气孔的张开密度

高温胁迫降低了叶片气孔张开密度,且随着高温胁迫时间增加下降幅度增大,第 3、7 和 11 天时叶片气孔张开密度分别平均下降 29.4%、57.1%和 80.9%。高温胁迫下,对照处理的叶片气孔张开密度在第 3、7 和 11 天时分别为 4.0、3.0 和 1.3 个/ mm^2 ,接菌处理较对照分别提高 6.9%、12.8%和 43.4%;常温处理下,对照处理的叶片气孔张开密度在第 3、7、11 天时分别为 5.0、7.1 和 7.1 个/ mm^2 ,接菌处理较对照提高 27.8%、11.1%和 8.7% (图 3, 图 4)。

2.3.3 光合色素

高温胁迫降低了光合色素含量,且叶绿素 a、b 与叶绿素总量随高温胁迫时间的增加下降幅度增大,分别平均下降 180.0%、83.4%与 120.0% (图 5)。高温胁迫下,对照处理的叶绿素 a 含量在第 1、3、7 和 11 天分别为 8.4、6.9、3.5 和 2.1 mg/L,接菌处理分别比对照提高

13.6%、2.3%、6.1%和 27.6%。对照处理的叶绿素 b 含量在第 1、3、7 和 11 天分别为 3.5、4.2、3.9 和 3.7 mg/L,接菌处理分别比对照提高 21.6%、6.3%、26.4%和 16.3%。对照处理的叶绿素总量在第 1、3、7 和 11 天分别为 11.9、11.0、7.5 和 5.8 mg/L,接菌处理比对照分别提高 16.1%、3.9%、17.9%和 21.6%;常温处理下,对照处理的叶绿素 a 含量在第 1、3、7 和 11 天分别为 10.9、9.8、11.2 和 11.1 mg/L,接菌处理的叶绿素 a 含量比对照提高 16.3%、11.8%、14.6%和 11.4%。对照处理的叶绿素 b 含量在第 1、3、7 和 11 天分别为 6.2、7.3、5.6 和 8.9 mg/L,叶绿素 b 含量比对照提高 19.1%、28.2%、37.2%和 16.7%。叶绿素总量在第 1、3、7 和 11 天分别为 17.1、17.1、16.8 和 20.1 mg/L,比对照提高 18.1%、19.7%、23.8%和 14.2%。叶绿素含量在第 1、3、7 和 11 天分别为 21.3、21.4、21.0 和 25.1 mg/L,接菌处理

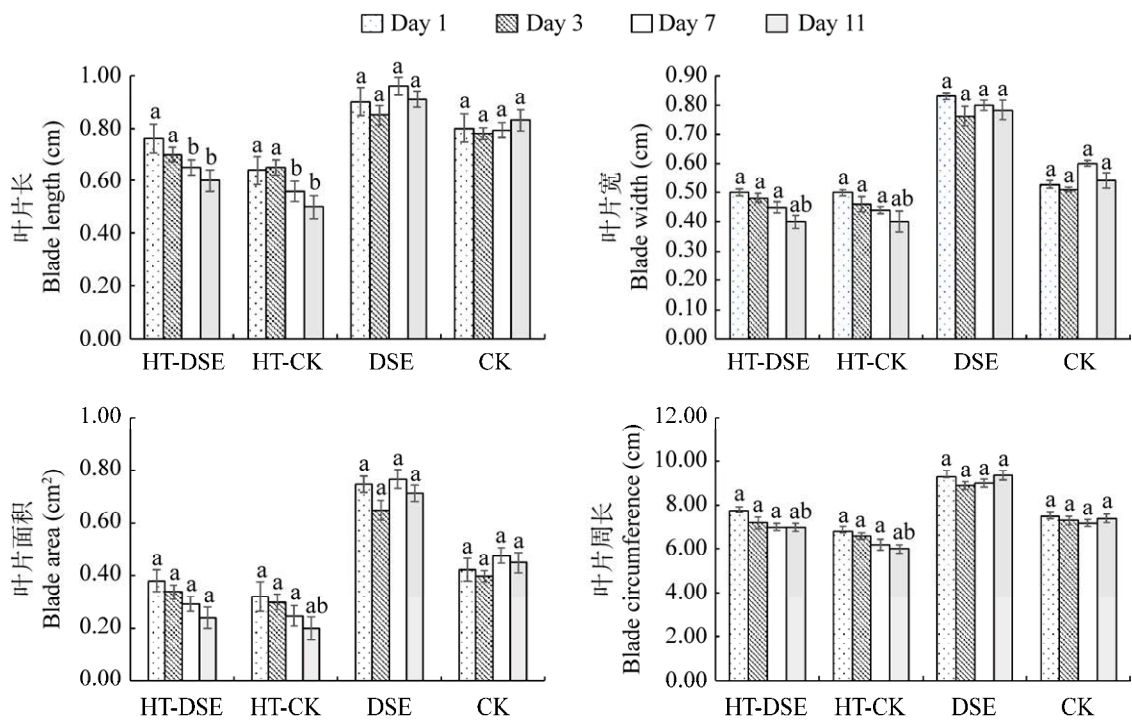


图 2 不同高温胁迫时间处理对植物叶片特征的影响 HT-DSE, 高温接菌处理; HT-CK, 高温不接菌处理; DSE, 常温接菌处理; CK, 常温不接菌处理. 比较在同种处理的不同天数间进行, 不同处理间用平均值分析对比. 不同字母表示差异显著($P<0.05$). 下同

Fig. 2 Effects of different treatment time of high temperature stress (42 °C) on *Astragalus membranaceus* plant leaf characteristics. HT-DSE, inoculation with DSE *Alternaria* sp. under high temperature; HT-CK, uninoculation under high temperature; DSE, inoculation with *Alternaria* sp. at room temperature; CK, uninoculation at room temperature. The comparison was conducted between different days of the same treatment. The average value was compared between different treatments. Different letter represented significant difference ($P<0.05$). The same below.

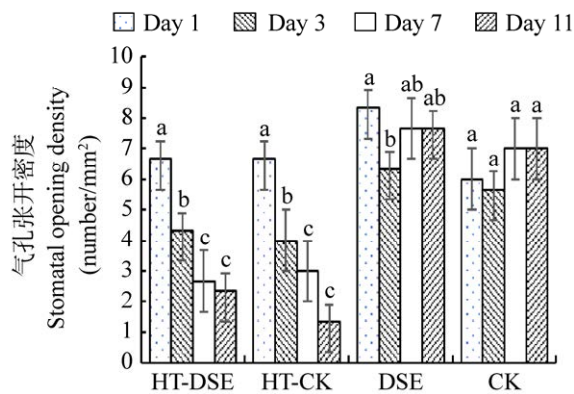


图 3 不同高温胁迫时间处理对植物叶片气孔张开密度的影响

Fig. 3 Effects of different treatment time of high temperature stress on stomatal opening density of plant leaves.

比对照分别提高 18.1%、19.7%、23.8% 和 14.2%。

2.4 黄芪叶片光合特征

高温处理下, 对照处理的蒸腾速率在第 1、3、7 和 11 天分别为 3.3、3.1、2.5 和 2.4 mmol/m²·s, 接菌处理分别比对照提高 24.7%、9.8%、26.8%和 25.5% (图 6)。对照处理的净光合速率在第 1、3、7 和 11 天分别为 17.1、15.8、13.3 和 11.5 μmol/m²·s, 接菌处理分别比对照提高 18.4%、14.5%、31.8%和 31.4%。对照处理的胞间 CO₂ 浓度在第 1、3、7 和 11 天分别为 407.7、351.5、303.2 和 268.7 μmol/m²·s, 接菌处理比对照分别降低

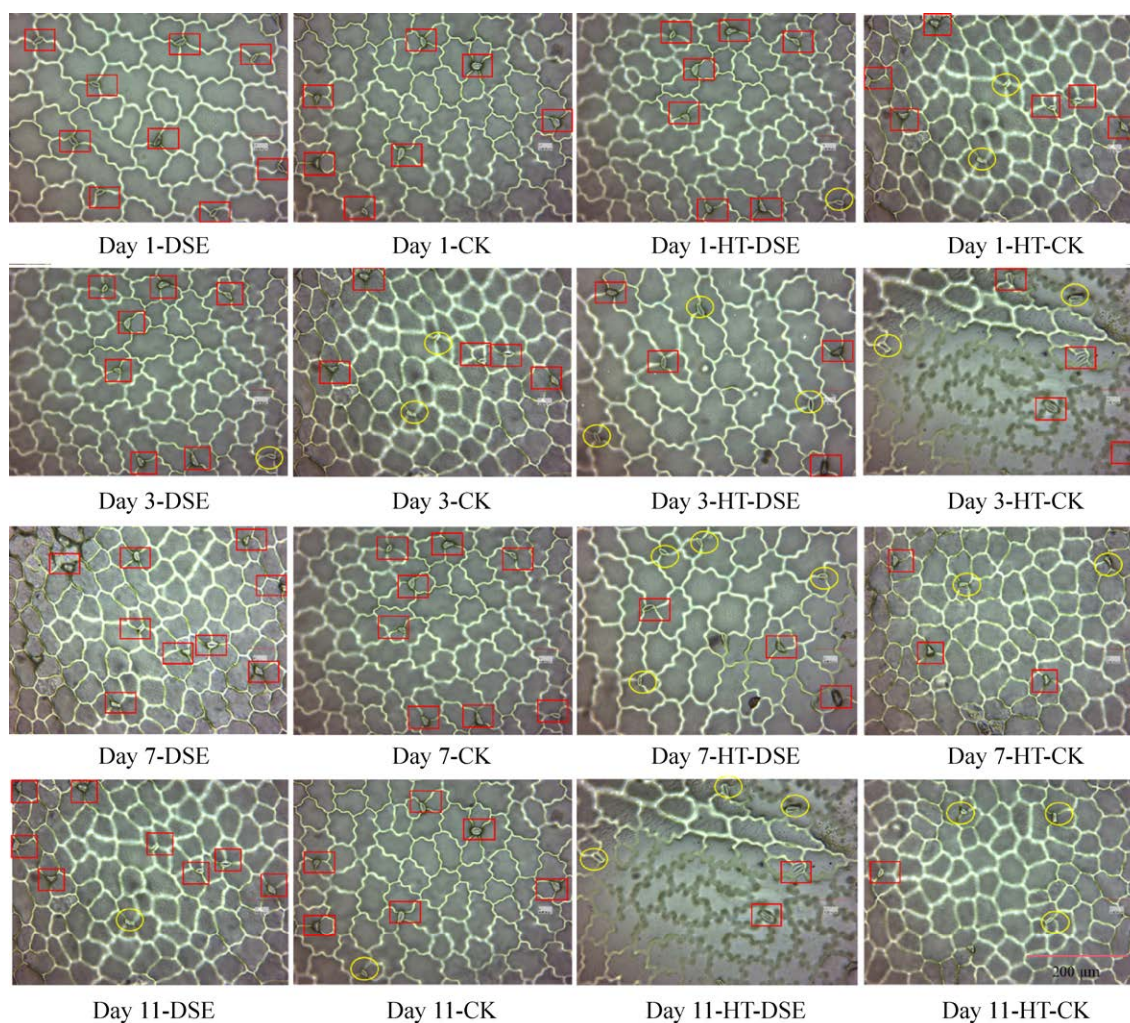


图 4 不同高温胁迫时间处理对植物叶片气孔张开密度的影响 红色方圈：张开气孔；黄色圆圈：闭合气孔

Fig. 4 Effects of different treatment time of high temperature stress on stomatal opening density of plant leaves. Red square circle: Open stomata; Yellow circle: Closed stomata.

16.5%、17.8%、15.1%和 8.0%；对照处理的气孔导度在第 1、3、7 和 11 天分别为 0.17、0.15、0.13 和 0.12 mmol/m²·s，接菌处理比对照分别提高 8.3%、7.2%、3.3%和 4.5%。常温处理下，对照处理的蒸腾速率在第 1、3、7 和 11 天分别为 2.5、2.6、2.5 和 2.4 mmol/m²·s，接菌处理分别比对照提高 31.6%、26.9%、36.7%和 37.2%。对照处理的净光合速率在第 1、3、7 和 11 天分别为 15.2、15.8、15.3 和 15.2 μmol/m²·s，接菌处理分别比对照提高 16.1%、7.3%、13.6%和 19.1%。对照处理的胞

间 CO₂ 浓度在第 1、3、7 和 11 天分别为 259.9、251.5、260.8 和 251.8 μmol/m²·s，接菌处理比对照分别降低 14.3%、8.6%、11.0%和 7.4%；对照处理的气孔导度在第 1、3、7 和 11 天分别为 0.131、0.126、0.134、0.133 mmol/m²·s，接菌处理比对照分别提高 9.1%、13.9%、8.9%和 10.5% (图 6)。

2.5 黄芪叶片光合指标影响因素分析

表 3 为各个指标的相关性分析，结果表明速效磷、速效钾、有机质、根长、叶绿素 a、叶片长、气孔张开密度、平均根直径与蒸腾速

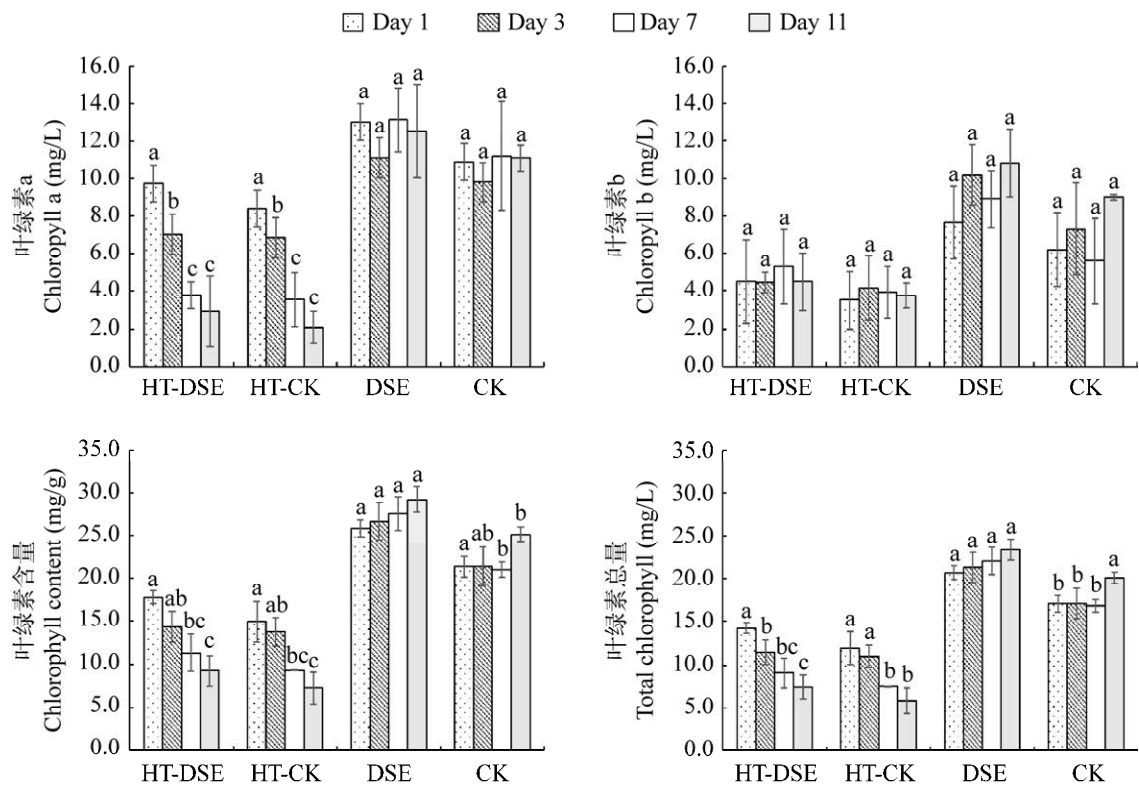


图 5 不同高温胁迫时间处理对植物叶绿素含量的影响
Fig. 5 Effects of different treatment time of high temperature stress on plant chlorophyll content.

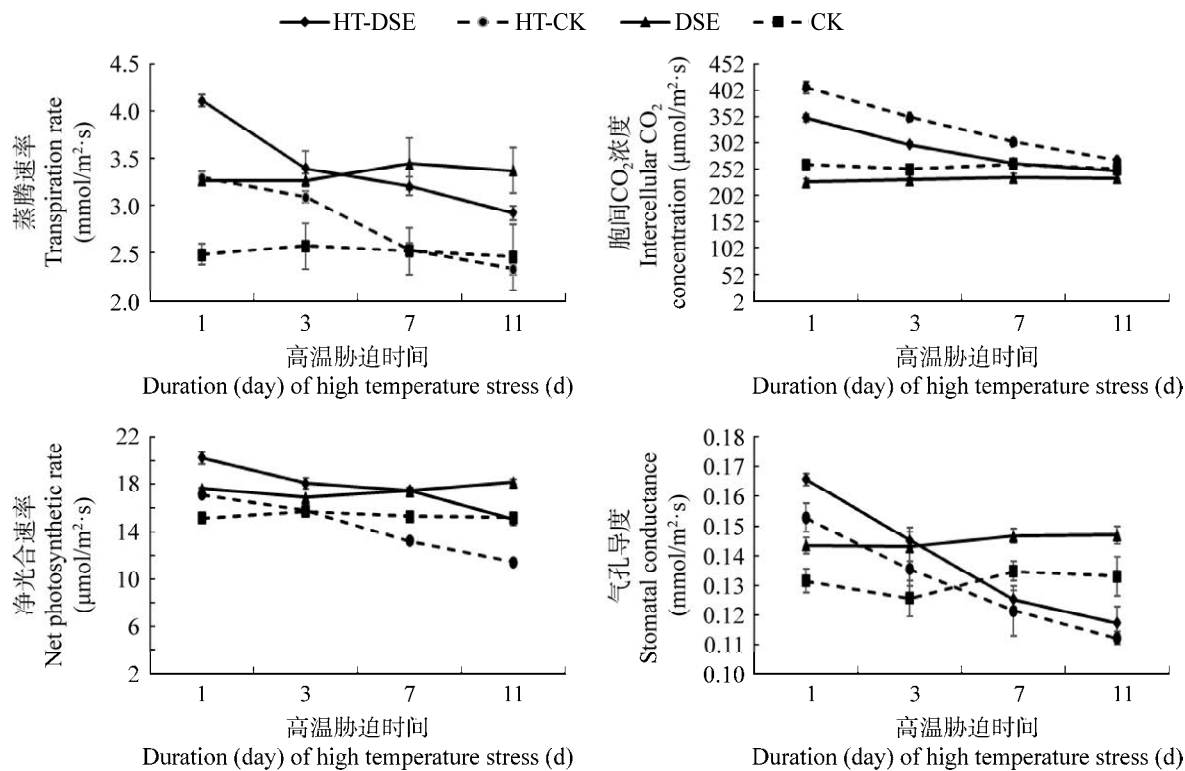


图 6 不同高温胁迫时间处理对植物光合速率的影响
Fig. 6 Effects of different treatment time of high temperature stress on plant photosynthetic rate.

表 3 黄芪叶片光合指标的 Spearman 相关性分析
Table 3 Spearman correlation analysis of photosynthetic indexes in leaves of *Astragalus membranaceus*

影响因素		光合特征指标			
Influencing factors		Photosynthetic characteristic index			
		蒸腾速率	净光合速率	胞间 CO ₂ 浓度	气孔导度
		Transpiration	Net photosynthetic	Intercellular CO ₂	Stomatal
		rate	rate	concentration	conductance
土壤化学性质	速效磷	*	NS	*	NS
	Available phosphorus				
	速效钾	**	**	**	**
	Available potassium				
	有机质	**	**	**	**
	Organic matter				
	电导率	NS	NS	**	NS
根系指标	Conductivity				
	酸碱度	NS	NS	NS	NS
	pH				
	根长	**	**	NS	**
Root system indicator	Root length				
	平均根直径	**	**	**	NS
光合色素	Average root diameter				
	叶绿素 a	*	**	**	**
Photosynthetic pigments	Chlorophyll a				
	叶绿素 b	NS	*	**	NS
叶片形态特征	Chlorophyll b				
	叶片长	*	**	**	**
Leaf morphological	Blade length				
	气孔张开密度	**	**	**	**
characteristics	Stomatal opening density				

*代表 $P<0.05$ ，呈现出 0.05 水平的显著性；**代表 $P<0.01$ ，呈现出 0.01 水平的显著性；NS 代表 $P>0.05$ ，表示无显著差异。
* Represents $P<0.05$, showing a significant level of 0.05; ** Represents $P<0.01$, showing a significant level of 0.01. NS represents $P>0.05$, indicating no significant difference.

率呈现出显著正相关关系，速效钾、有机质、根长、叶绿素 a、叶绿素 b、叶片长、气孔张开密度、平均根直径与净光合速率呈现出显著正相关关系，速效磷、速效钾、有机质、叶绿素 a、叶绿素 b、叶片长、气孔张开密度、平均根直径、电导率与胞间 CO₂ 浓度呈现出显著负相关关系，速效钾、有机质、根长、叶绿素 a、气孔张开密度与气孔导度呈现出显著正相关关系，可以得出：根长、平均根直径、气孔张开密度、叶绿素 a、叶绿素 b、速效钾、速效磷和有机质共同构成了 DSE 在高温胁迫下对叶片光合特征影响的主要驱动因子。

黄芪叶片光合特征的路径分析结果(图 7)表明，根长、速效磷、气孔张开密度对气孔导度产生显著的正向关系($P<0.05$)，速效钾对胞间 CO₂ 浓度产生显著的正向关系($P<0.05$)，根长、速效钾、速效磷、气孔张开密度对净光合速率产

生显著的正向关系($P<0.05$)，根长、速效磷、气孔张开密度对蒸腾速率产生显著的正向关系($P<0.05$)。说明高温胁迫条件下 DSE 通过根长、速效钾、速效磷、叶绿素 a、气孔张开密度正向影响光合指标，从而影响光合作用。

3 讨论

3.1 高温胁迫对黄芪光合特征的影响

高温胁迫会损伤植物的光合系统，造成光合速率下降(Herzog *et al.* 2016; Pérez-Jiménez *et al.* 2017)。植物叶片光合速率直接受其自身光合特征指标的影响。叶绿素是植物进行光合作用所需的催化剂，对植物进行光合作用具有重要作用。叶绿素含量和气孔张开密度是影响光合速率的重要因素。研究结果发现高温抑制了黄芪叶片光合色素的合成，表明高温使黄芪叶片的氧化作用加剧，合成叶绿素的中间产物

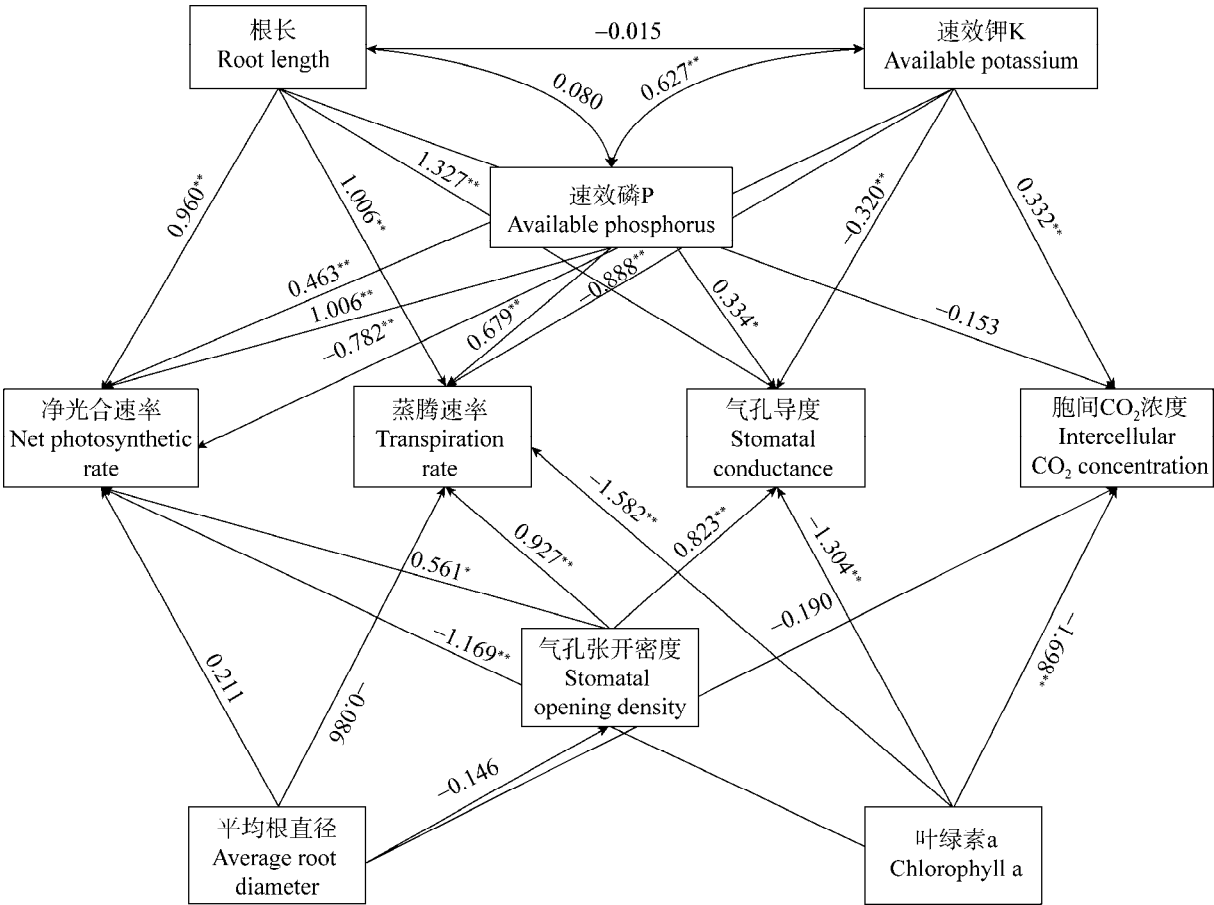


图 7 黄芪叶片光合特征的路径分析 箭头方向说明因素间影响方向；正负号为影响关系；数字为标准化路径系数值；星号呈现路径显著性

Fig. 7 Path analysis of photosynthetic indicators in leaves of *Astragalus membranaceus*. The direction of the arrow indicates the influence direction between the factors; The positive and negative signs are the influence relationship; The numbers are the standardized path coefficient values; The asterisk shows the path significance.

被破坏，导致叶绿素合成减少，造成对光的吸收与转化能力减弱(Liao & Wang 2002; Dutta et al. 2009; Si et al. 2014)。类似研究表明高温胁迫会降低植物叶片的酶活性，从而抑制叶绿素的生物合成(Tewari & Tripathy 1998; Mohanty et al. 2006; Sun et al. 2008)。另外，气孔作为植物和外界进行水和二氧化碳交换的重要通道，在植物受环境胁迫时，会通过调整气孔的开度等方式来抵御损伤。研究发现叶片可通过降低气孔张开度来减弱蒸腾造成的水分散失，随着高温胁迫时间的增加，黄芪的蒸腾速率、净光合速率和气孔导度呈现先上升后下降的趋

势，这与孙胜楠等(2017)的研究结果一致。

植物叶片的形态特征及根系也是影响光合速率的重要因素。研究表明叶片形态特征对温度响应十分显著，为了避免高温对植物光合系统的伤害，植物一方面减小叶片周长与面积，降低蒸腾量，另一方面通过降低叶片表面温度，来提高植物抗高温能力(Smith & Geller 1980)。另外，植物根系作为调控植物与土壤水分关系最主要及最重要的器官，其生理特性可以直接影响地上部分植物的生长与光合作用(周燕等 2018)。研究表明高温影响根系正常生长，通过降低对土壤水分的吸收，间接影响黄

芪叶片的光合速率。

3.2 接种 DSE 对黄芪光合特征的影响

接种 DSE 通过促进黄芪叶片叶绿素的合成与增大气孔张开密度,来提高黄芪的光合速率。研究发现接种 DSE 可以显著促进黄芪叶片的叶绿素合成,这可能是因为接种 DSE 能够促进黄芪有机干物质的积累,使得光合器官的生长占优势,增强黄芪的同化吸收作用,有效提高黄芪的光合作用并缓解高温胁迫对黄芪造成的生长抑制(Qi *et al.* 2021)。Zhang *et al.* (2012)也得出了相似的研究结果,接种 DSE 的枸杞叶片叶绿素浓度增加 22%,叶绿素 a 含量增加 21.3%,提高了光合作用效率。另外,接种 DSE 可以通过增加气孔张开密度来提高叶片蒸腾速率,并使 CO₂更易通过气孔扩散进入到黄芪的叶片组织内部,来影响光合作用的最大反应速率,进而提高植物光合速率(李悦等 2022)。接种 DSE 会降低气孔对 CO₂的传输阻力,其关系密切可影响整个光合过程(Kaushal *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2019)。此外,有研究表明,真菌细胞壁中的黑色素可能在增强宿主植物抗逆性中起一定的作用,DSE 黑色素可增强细胞壁的机械强度,赋予细胞抗热、抗辐射能力,在极端温度下保护 DSE 菌丝,扩大生态位,并保护细胞器以确保光合作用的正常进行并赋予细胞抗热能力(Hadacek & Kraus 2002; He *et al.* 2017)。

接种 DSE 通过降低高温对根系、叶片的损伤来提高黄芪的光合速率。研究表明接种 DSE 有助于改变黄芪叶片形态,增大黄芪叶面积来捕获更多光能从而维持一定的光合产物水平。同时,接种 DSE 有助于黄芪根系正常生长,有利于促进黄芪生长发育和产量(严银花等 2020)。Fang *et al.* (2021)研究发现接种 DSE 可有效延缓植物根系衰老,促进光合产物的积累与转运,提高植物地上产量,有效降低高温对植物的胁迫影响。邓勋等(2015)研究表明,DSE 通过增

强植物的耐热能力来保证其正常光合过程,在 65 °C 高温下间歇处理 10 d,接种 DSE 的宿主植物的根系正常生长,并且对其光合速率影响较小。此外,Barrow (2003)发现 DSE 从植物根部延伸出黏质菌丝与微菌核,提高植物根系分布密度及范围,可帮助植物在高温环境中维持水分和营养的运输。

综上所述,高温限制了黄芪的光合速率,且随着高温胁迫时间增加,对其损伤会更加明显。然而接种 DSE 通过优化叶片与根系形态特征、促进叶绿素合成和调节适度的气孔张开密度,来缓解高温对黄芪光合系统的破坏,维持正常的光合速率,进而促进宿主植物在高温逆境下生长发育。

[REFERENCES]

- Bao SD, 2005. Agrochemical analysis of soil. China Agricultural Publishing House, Beijing. 1-465 (in Chinese)
- Barrow JR, 2003. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza*, 13(5): 239-247
- Bi YL, Xie LL, 2021. Ecological restoration of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septum endophytic fungi. *Acta microbiologica Sinica*, 61(1): 58-67 (in Chinese)
- Bueno de Mesquita CP, Sartwell SA, Ordemann EV, Porazinska DL, Farrer EC, King AJ, Spasojevic MJ, Smith JG, Suding KN, Schmidt SK, 2018. Patterns of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes across a mostly-unvegetated, high-elevation landscape. *Fungal Ecology*, 36: 63-74
- Dai MX, Zhang GQ, Fan XM, Li B, Zhan FD, He YM, 2020. Research progress on the ecological distribution and function of dark endophytic fungi in stress habitats. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 26(3): 722-729 (in Chinese)
- Deng X, Song XS, Yin DC, Cui WF, Song RQ, 2015. Research progress of dark endophytic fungi in improving the stress resistance of host plants. *Anhui Agricultural Science*, 43(31): 10-11 (in Chinese)
- Dutta S, Mohanty S, Tripathy BC, 2009. Role of temperature stress on chloroplast biogenesis and protein import in pea. *Plant Physiology*, 150(2): 1050-1061
- Fang Y, Liang LY, Liu S, Xu BC, Siddique KH, Palta JA, Chen YL, 2021. Wheat cultivars with small root length

- density in the topsoil increased post-anthesis water use and grain yield in the semi-arid region on the Loess Plateau. *European Journal of Agronomy*, 124: 126243
- Gao JS, Cai YP, 2010. Experimental guidance of plant physiology. China Agricultural University Press, Beijing. 1-256 (in Chinese)
- Hadacek F, Kraus GF, 2002. Plant root carbohydrates affect growth behaviour of endophytic microfungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 41(2): 161-170
- He C, Wang W, Hou J, 2020. Plant performance of enhancing licorice with dual inoculating dark septate endophytes and *Trichoderma viride* mediated via effects on root development. *BMC Plant Biology*, 20(1): 325
- He YM, Yang ZX, Li MR, Jiang M, Zhan FD, Zu YQ, Li T, Zhao ZW, 2017. Effects of a dark septate endophyte (DSE) on growth, cadmium content, and physiology in maize under cadmium stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22): 18494-18504
- Herzog M, Striker GG, Colmer TD, Pedersen O, 2016. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat—a review of root and shoot physiology. *Plant Cell Environment*, 39(5): 1068-1086
- Kaushal N, Bhandari K, Siddique KHM, 2016. Food crops face rising temperatures: an overview of responses, adaptive mechanisms, and approaches to improve heat tolerance. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1): e1134380
- Lao JS, 1988. Handbook of soil agrochemical analysis. Agricultural Publishing House, Beijing. 1-158 (in Chinese)
- Laursen GA, Treu R, Seppelt RD, Stephenson SL, 1997. Mycorrhizal assessment of vascular plants from subantarctic Macquarie Island. *Arctic and Alpine Research*, 29(4): 483-491
- Li Y, Zhang QY, Dong JW, Xu HW, Zhou XF, 2022. Exogenous abscisic acid alleviated the effects of UV-B stress on stomatal and photosynthetic characteristics of *Rhododendron bovis*. *Jiangsu Agricultural Science*, 50(7): 145-151 (in Chinese)
- Liao J, Wang G, 2002. Effects of drought, CO₂ concentration and temperature increasing on photosynthesis rate, evapotranspiration, and water use efficiency of spring wheat. *The Journal of Applied Ecology*, 13(5): 547-550
- Liu Y, Wei X, 2019. Dark septate endophyte improves drought tolerance of *Ormosia hosiei* Hemsley & E.H. Wilson by modulating root morphology, ultrastructure, and the ratio of root hormones. *Forests*, 10(10): 1-13
- Massensini AM, Bonduki VHA, Totola MR, 2014. Arbuscular mycorrhizal associations and occurrence of dark septate endophytes in the roots of Brazilian weed plants. *Mycorrhiza*, 24(2): 153-159
- Mateu MG, Baldwin AH, Maul JE, 2020. Dark septate endophyte improves salt tolerance of native and invasive lineages of *Phragmites australis*. *ISME Journal*, 14(8): 1943-1954
- Mohanty S, Baishna BG, Tripathy C, 2006. Light and dark modulation of chlorophyll biosynthetic genes in response to temperature. *Planta*, 224(2006): 692-699
- Nanjing Agricultural University, 1986. Agrochemical analysis of soil. 2nd ed. Beijing Agricultural Publishing House, Beijing. 1-317 (in Chinese)
- Peng SP, Bi YL, 2020. Key technology and strategic thinking of ecological environment restoration in coal mine area of Yellow River Basin. *Journal of China Coal Society*, 45(4): 1211-1221 (in Chinese)
- Pérez-Jiménez M, Hernández-Munuera M, Pinero MC, López-Ortega G, Amor FMD, 2017. Are commercial sweet cherry rootstocks adapted to climate change? Short-term waterlogging and CO₂ effects on sweet cherry cv. *Plant Cell Environment*, 41(5): 908-918
- Phillips JM, Hayman DS, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1): 158-161
- Qi XY, Wang WL, Hu SQ, Liu MY, Zheng CS, Sun XZ, 2021. Effects of exogenous melatonin on photosynthesis and physiological characteristics of chrysanthemum seedlings under high temperature stress. *The Journal of Applied Ecology*, 32(7): 2496-2504
- Rana KL, Kour D, Sheikh I, Dhiman A, Yadav N, Yadav AN, Rastegari AA, Singh K, Saxena AK, 2019. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. Recent advancement in white biotechnology through fungi. Springer Nature Switzerland AG, Cham, Switzerland. 1-62
- Santos S, Silva P, Garcia AC, Zilli JE, Berbara R, 2017. Dark septate endophyte decreases stress on rice plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2): 333-341
- Si FY, Qiao YZ, Jiang JW, Dong BD, Shi CH, Liu MY, 2014. Effects of drought stress, high temperature and elevated CO₂ concentration on the growth of winter wheat. *The Journal of Applied Ecology*, 25(9): 2605-2612
- Smith WK, Geller GN, 1980. Leaf and environmental parameters influencing transpiration: theory and field measurements. *Oecologia*, 46(3): 308-313
- Song XH, Li YK, Hu Y, 2021. Endophytes from blueberry roots and their antifungal activity and plant growth enhancement effects. *Rhizosphere*, 20: 1-8
- Spagnoletti FN, Chiochio VM, 2020. Tolerance of dark septate endophytic fungi (DSE) to agrochemicals *in vitro*. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(1): 43-49

- Sun SN, Wang Q, Sun CC, Liu FJ, Bi HG, Ai XZ, 2017. Response and adaptation of photosynthesis to high temperature stress in cucumber seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 28(5): 1603-1610 (in Chinese)
- Sun XZ, Zheng CS, Wang XF, 2008. Effects of high temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of cut flower chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* "Jinba"). *The Journal of Applied Ecology*, 19(10): 2149-2154
- Tewari AK, Tripathy BC, 1998. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. *Plant Physiology*, 117(3): 851-858
- Vergara C, Araujo KEC, Urquiaga S, Santa-Catarina C, Schultz N, Araujo ED, Balieiro FD, Xavier GR, Zilli JE, 2018. Dark septate endophytic fungi increase green manure-N-15 recovery efficiency, N contents, and micronutrients in rice grains. *Frontiers in Plant Science*, 9: 613
- Xie L, He X, Wang K, Hou L, Sun Q, 2017. Spatial dynamics of dark septate endophytes in the roots and rhizospheres of *Hedysarum scoparium* in northwest China and the influence of edaphic variables. *Fungal Ecology*, 26: 135-143
- Yan YH, Qi JY, Luo XM, Li YX, Jiang GY, 2020. Changes of root physiological characteristics of spring wheat under drip irrigation at different nitrogen supply levels. *Jiangsu Agricultural Science*, 48(1): 89-96 (in Chinese)
- Zhang FH, Lu K, Gu YY, 2019. Effects of low-temperature stress and brassinolide application on the photosynthesis and leaf structure of Tung tree seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1767-1768
- Zhang HH, Tang M, Chen H, Wang YJ, 2012. Effects of a dark-septate endophytic isolate LBF-2 on the medicinal plant *Lycium barbarum* L. *Microbiology*, 50(1): 91-96
- Zhang XF, 2002. A simple method to observe the stomatal structure of plants. *Biology Bulletin*, 37(6): 42-43 (in Chinese)
- Zhao DD, Liang CC, Zhao ZW, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi in Pudu River and Xiaojiang dry and hot valley, tributaries of Jinsha River. *Yunnan Plant Research*, 28(3): 250-256 (in Chinese)
- Zhou Y, Yang XW, Zhou SM, Wang YJ, Yang R, Xu FD, Mei JJ, Shen GY, Li QJ, He DX, 2018. Analysis of the relationship between the activity of key enzymes of NADP-dehydrogenase system in wheat root and root activity and yield. *China Agricultural Science*, 51(11): 2060-2071 (in Chinese)
- [附中文参考文献]**
- 鲍士旦, 2005. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社. 1-465
- 毕银丽, 解琳琳, 2021. 丛枝菌根真菌与深色有隔内生真菌生态修复功能与作用. *微生物学报*, 61(1): 58-67
- 代梦雪, 张光群, 范旭杪, 李博, 湛方栋, 何永美, 2020. 胁迫生境深色有隔内生真菌生态分布与功能研究进展. *应用与环境生物学报*, 26(3): 722-729
- 邓勋, 宋小双, 尹大川, 崔文峰, 宋瑞清, 2015. 深色有隔内生真菌提高宿主植物抗逆性的研究进展. *安徽农业科学*, 43(31): 10-11
- 高俊山, 蔡永萍, 2010. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业大学出版社. 1-256
- 劳家杼, 1988. 土壤农化分析手册. 北京: 农业出版社. 1-158
- 李悦, 张庆怡, 董佳伟, 徐洪伟, 周晓馥, 2022. 外源脱落酸缓解 UV-B 胁迫对牛皮杜鹃气孔及光合特性的影响. *江苏农业科学*, 50(7): 145-151
- 南京农业大学(主编), 1986. 土壤农化分析(第二版). 北京: 北京农业出版社. 1-317
- 彭苏萍, 毕银丽, 2020. 黄河流域煤矿区生态环境修复关键技术及战略思考. *煤炭学报*, 45(4): 1211-1221
- 孙胜楠, 王强, 孙晨晨, 刘丰娇, 毕焕改, 艾希珍, 2017. 黄瓜幼苗光合作用对高温胁迫的响应与适应. *应用生态学报*, 28(5): 1603-1610
- 严银花, 祁静玉, 罗雪梅, 李彦旬, 蒋桂英, 2020. 不同供氮水平下滴灌春小麦根系生理特性的变化. *江苏农业科学*, 48(1): 89-96
- 张秀芳, 2002. 观察植物气孔结构的简易方法. *生物学通报*, 37(6): 42-43
- 赵丹丹, 梁昌聪, 赵之伟, 2006. 金沙江支流普渡河、小江干热河谷的丛枝菌根. *云南植物研究*, 28(3): 250-256
- 周燕, 杨习文, 周苏玫, 王言景, 杨蕊, 徐凤丹, 梅晶晶, 申冠宇, 李秋杰, 贺德先, 2018. 小麦根中 NADP-脱氢酶系统关键酶活性与根系活力和产量的关系分析. *中国农业科学*, 51(11): 2060-2071