

# 一株耐盐促生内生真菌 *Ophioceras leptosporum* LW2 的分离鉴定和耐盐特征分析

王操屹<sup>1</sup>, 朱学明<sup>2</sup>, 张正一<sup>2</sup>, 鲍坚东<sup>2</sup>, 沈自芳<sup>2</sup>, 林福呈<sup>2,3\*</sup>, 李琳<sup>2,3\*</sup>

1 浙江农林大学 现代农学院, 浙江 杭州

2 浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所, 农产品质量安全全国重点实验室, 浙江 杭州

3 湘湖实验室, 浙江 杭州

王操屹, 朱学明, 张正一, 鲍坚东, 沈自芳, 林福呈, 李琳. 一株耐盐促生内生真菌 *Ophioceras leptosporum* LW2 的分离鉴定和耐盐特征分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(6): 2625-2641.

WANG Caoyi, ZHU Xueming, ZHANG Zhengyi, BAO Jiandong, SHEN Zifang, LIN Fucheng, LI Lin. Isolation, identification, and salt tolerance characterization of a salt-tolerant and plant growth-promoting fungal strain *Ophioceras leptosporum* LW2[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(6): 2625-2641.

**摘要:** 【目的】盐碱地严重危害土地健康, 利用微生物改良盐碱地是一种绿色、有效的方式。内生真菌能够增强宿主植物应对生物和非生物胁迫的能力。因此, 深入研究内生真菌的生物学特征, 不仅可扩充内生真菌资源库, 还能为绿色改良盐碱地和土壤修复提供优势菌种及有效策略。【方法】采用平板胁迫培养法、扫描电镜观察以及多基因联合序列系统发育树分析研究菌种的特性; 通过 GFP 荧光蛋白定位、台盼蓝染色法、扫描电镜观察及定殖曲线绘制, 确定菌株在水稻根部的定殖情况; 利用胁迫和非胁迫条件下的盆栽试验、过氧化物酶活性测定、转录组分析及基因表达量变化, 探究菌株提升水稻耐盐性的机理。【结果】获得了一株可提升寄主水稻耐盐性的内生真菌 LW2。系统发育树分析显示其与 *Ophioceras leptosporum* CBS 894.70 处于同一最小分支, 鉴定为 *Ophioceras leptosporum* LW2。LW2 菌株定殖于水稻根部, 促进盆栽水稻的生长, 与 LW2 共培养的水稻在鲜重、株高、茎宽上显著提升。盐胁迫下的水稻盆栽试验表明, LW2 可以提升水稻的耐盐性能, 显著提高盐胁迫下水稻的株高和茎宽, 减轻盐胁迫引起的枯黄和萎蔫。耐盐性机理初探结果表明, LW2 可通过影响水稻过氧化物酶含量促进活性氧清除, 从而减轻盐胁迫对水稻的危害; 同时, LW2 还能调控乙烯信号通路中 *EIL1* 和 *HKTs* 基因的表达, 通过乙烯信号途径影响离子转运, 增强水稻的耐盐性。【结论】本研究发现了一株可提升寄主水稻耐盐性的内生真菌菌株 *O. leptosporum* LW2, 并初步探究了其提升水稻耐盐性的机理, 为微生物改良盐碱地与农业绿色发展提供了科学依据与优质菌株资源。

资助项目: 国家重点研发计划(2023YFD1902904); 浙江省科技计划(2022C02029)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1902904) and the Key Research and Development Project of Zhejiang Province (2022C02029).

\*Corresponding authors. E-mail: LIN Fucheng, fuchenglin@zju.edu.cn; LI Lin, 21616143@zju.edu.cn

Received: 2025-02-17; Accepted: 2025-03-21; Published online: 2025-05-13

关键词：内生真菌；盐胁迫；水稻；促生

## Isolation, identification, and salt tolerance characterization of a salt-tolerant and plant growth-promoting fungal strain *Ophioceras leptosporum* LW2

WANG Caoyi<sup>1</sup>, ZHU Xueming<sup>2</sup>, ZHANG Zhengyi<sup>2</sup>, BAO Jiandong<sup>2</sup>, SHEN Zifang<sup>2</sup>, LIN Fucheng<sup>2,3\*</sup>, LI Lin<sup>2,3\*</sup>

1 College of Advanced Agricultural Sciences, Zhejiang A&F University, Hangzhou, Zhejiang, China

2 State Key Laboratory for Quality and Safety of Agro-products, Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang, China

3 Xianghu Laboratory, Hangzhou, Zhejiang, China

**Abstract:** [Objective] Soil salinization is a serious threat to land health, and microbial remediation of saline-alkali soil is an eco-friendly and practical approach. Endophytic fungi can enhance host resistance to both biotic and abiotic stresses. Consequently, there is a need for further research on the biological characteristics of endophytic fungi. Such research can expand the existing endophytic fungal database and provide elite strains and effective strategies for the green remediation of saline-alkali soil and soil restoration. [Methods] The characteristics of the fungal strain were analyzed by plate culture under stress, scanning electron microscopy (SEM), and multi-gene phylogenetic analysis. The colonization of the strain in rice roots was examined by GFP fluorescence labeling, trypan blue staining, SEM, and colonization curve plotting. Pot experiments under stress and non-stress conditions, the peroxidase activity assay, transcriptome analysis, and gene expression analysis were carried out to decipher the mechanism by which the strain enhanced the salt tolerance of rice plants. [Results] An endophytic fungal strain, LW2, capable of enhancing the salt tolerance of host rice plants, was obtained. The phylogenetic tree showed that LW2 clustered with *Ophioceras leptosporum* CBS 894.70 in the same minimal clade, and thus the strain was identified as *O. leptosporum* LW2. LW2 successfully colonized rice roots and promoted the growth of potted rice. The rice plants co-cultured with LW2 showed significant increases in the fresh weight, plant height, and stem width. The pot experiments under salt stress showed that LW2 improved the salt tolerance of rice by increasing the plant height and stem width under stress conditions while alleviating stress-induced wilting and yellowing. LW2 mitigated salt-induced damage of rice by increasing the peroxidase activity and promoting reactive oxygen species (ROS) scavenging. In addition, LW2 regulated the expression of *EIL1* and *HKTs* in the ethylene signaling pathway which affected ion transport, thereby enhancing rice salt tolerance. [Conclusion] This study identified an endophytic fungal strain, *O. leptosporum* LW2, capable of enhancing the salt tolerance of host rice. We preliminarily investigate the salt tolerance mechanism of this strain, providing scientific evidence and an elite strain for microbial remediation of saline-alkaline soil and the development of green agriculture.

**Keywords:** endophytic fungi; salt stress; rice; plant-growth promoting effect

土壤盐渍化是全球农业生产的一个重要限制因素<sup>[1]</sup>。据联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)统计,全球有超过 40 亿  $\text{hm}^2$  的土壤受到盐渍化的影响。土壤盐渍化会改变土壤的理化性质,降低土壤质量,例如导致土壤孔隙变小,水气交换性下降,降低土壤持水能力,引起土壤板结,改变土壤离子组成,使土壤缺乏有效氮和有效磷等<sup>[2-3]</sup>。盐渍化还会直接影响植物,引起植物生理干旱、钠离子和氯离子过度积累<sup>[4]</sup>以及土壤 pH 值升高<sup>[5]</sup>,最终抑制植物生长并降低产量<sup>[6]</sup>。生物改良技术是一种重要的盐渍土改良手段<sup>[7]</sup>。传统的生物改良方法主要通过种植耐盐植物(如芦苇、苜蓿等)来改善土壤的理化性质<sup>[8]</sup>。近年来,随着对微生物研究的不断深入,利用微生物改良盐渍土的技术受到了广泛关注<sup>[9]</sup>。研究表明,耐盐碱的沙雷氏菌 DXB3-4 可以改良盐碱地成分,提升土壤中的有机质和有效磷含量,同时降低土壤 pH 值<sup>[10]</sup>。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)可以减轻玉米幼苗受盐胁迫的影响,并促进其生长<sup>[11]</sup>。

内生真菌是一类在宿主的部分或全部生活史中定殖于宿主体内,但对宿主无害的真菌<sup>[12]</sup>。在漫长的协同进化过程中,内生真菌与寄主植物建立了互利共生的关系<sup>[13]</sup>。寄主植物为内生真菌提供养分和栖息地,而内生真菌则协助寄主植物生长、抗病和抗逆<sup>[14]</sup>。近年来,越来越多的内生真菌被开发和利用。内生真菌可通过产生植物激素<sup>[15-16]</sup>、提高寄主植物对养分的吸收<sup>[17-18]</sup>以及诱导寄主植物的免疫抗性<sup>[19-20]</sup>来促进寄主植物的生长和抗逆性。因此利用内生真菌改善植物在逆境条件下的生长是一个重要的研究方向。研究表明,接种耐盐的链格孢混合菌剂可以促进小麦在盐胁迫下的生长<sup>[21]</sup>。在盐胁迫下,接种耐盐的镰孢菌、曲霉菌和枝孢菌的高羊茅幼苗的株高、叶宽、根长和生物量均有显著增加,且光合速率上升<sup>[22]</sup>。

乙烯(ethylene, ET)是一种气态植物激素,最

初被发现在植物细胞生长和果实成熟过程中起作用。随着研究的深入,乙烯在植物响应盐胁迫中的调控功能逐渐受到广泛关注<sup>[23]</sup>。在小麦中过表达 *ACO1* 基因会导致乙烯含量显著增加,但同时也会降低小麦的耐盐性<sup>[24]</sup>。拟南芥 *ACS7* 基因的功能缺失突变体在幼苗萌发阶段表现出乙烯含量减少和耐盐性增强<sup>[25]</sup>。外源乙烯处理可诱导拟南芥乙烯信号通路中的关键转录因子 *EIN3* 表达上调, *EIN3* 能激活乙烯和盐诱导转录因子 *ESE1* 的表达,从而提高植物的抗盐性<sup>[26]</sup>。*OsEIL1* 是水稻乙烯信号通路的调控因子,其功能缺失会表现出显著的耐盐性增强,而过表达株系则对盐胁迫敏感<sup>[27]</sup>。这种调控作用与 *OsEIL1* 介导的离子转运功能密切相关,其通过调节钠离子( $\text{Na}^+$ )和钾离子( $\text{K}^+$ )的稳态平衡影响水稻的耐盐性<sup>[28]</sup>。

本研究从水稻根系中分离出一种具有耐盐性的 *Ophioceras leptosporum* LW2 内生真菌,与水稻共培养发现 LW2 菌株能够增强寄主水稻的耐盐性。此外,还检测了过氧化物酶的活性和水稻耐盐响应相关基因的表达水平,初步阐明了 *O. leptosporum* LW2 增强水稻耐盐性的机制。本研究为通过微生物法改良盐碱地提供菌种资源和研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

本研究所用菌株为本实验室从浙江省台州市水稻田的水稻根系中分离出的内生真菌菌株 *Ophioceras leptosporum* LW2。

### 1.2 培养基

PDA 培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂 15.0。121 °C 灭菌 15 min。

1/2 MS 培养基(g/L): 蔗糖 5.0, MS salt 2.2, MES 0.5, pH 调至 5.7。固体培养基需再加入 8 g/L 琼脂粉。

盐胁迫 PDA 培养基: 以 PDA 培养基为基

底, 根据所需 NaCl 浓度加入相应量的 NaCl。

MEA (malt extract agar)培养基(g/L): 麦芽糖提取物 20.0, 琼脂 15.0。121 °C灭菌 15 min。

### 1.3 内生真菌的分离培养

将采集到的水稻根系样品用清水冲洗, 去除表面土壤和杂质。在超净台中用 75% 乙醇浸泡消毒 3 min, 用无菌水冲洗 3 次, 再用 2% 次氯酸钠浸泡消毒 2 min, 用无菌水冲洗 3 次。用灭菌吸水纸吸去根系表面水分, 随后将根切成 0.5 cm 的小段, 将切面接种在 MEA 培养基上 25 °C 黑暗培养, 每 12 h 观察是否长出菌丝, 待长出内生真菌菌丝后, 用无菌牙签将其挑出并转接至 PDA 培养基上 25 °C 黑暗培养。PDA 培养基上生长的菌落即为分离培养得到的内生真菌。

### 1.4 LW2 菌株在 PDA 平板上的盐胁迫实验

LW2 菌株在 PDA 培养基上生长 10 d 后, 用打孔器从菌落边缘取直径为 0.5 cm 的菌丝块, 接种到直径为 7 cm 的盐胁迫 PDA 培养基上。将菌落置于 25 °C 的黑暗环境中培养 10 d, 拍照并测量菌落直径。在显微镜下用牙签刮取部分菌丝, 观察菌丝形态。每个实验包括 3 个生物重复和 3 个技术重复。

### 1.5 DAPI 染色

染色步骤: 用牙签从培养基中刮取菌丝, 用 PBS 冲洗 5 min。然后加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 工作液, 室温染色 5–10 min, 染色后用 PBS 再次冲洗。最后, 用含 DAPI 的 PBS 封闭载玻片, 在荧光显微镜下用波长为 360 nm 的激发光进行观察。

DAPI 工作溶液: 用 PBS 稀释 DAPI 储存液(将 0.5 mg DAPI 溶解于 5.0 mL PBS 中, 分装到 1.5 mL 离心管中, 4 °C 保存), 稀释至最终浓度为 0.1 µg/mL。

### 1.6 内生真菌 DNA 提取

用无菌牙签从 PDA 培养基平板上挑取 1 cm×

1 cm 大小的无污染菌饼(生长 5–7 d 的新鲜菌饼), 放入已加入无菌钢珠的灭菌离心管中。向离心管中加入 500 µL DNA Buffer, 混合后, 在 MP FastPrep®-24 均质破碎仪中以 65 Hz 的频率振荡 90 s, 充分混匀。随后在室温下以 12 000 r/min 离心 10 min。离心后取 250 µL 上清液转移至新的离心管中, 加入等体积的异丙醇, 振荡混匀 5–6 次。在室温下以 12 000 r/min 离心 10 min, 完全倒掉上清液。加入 500 µL 70% 乙醇, 振荡混匀 5–6 次。在室温下以 12 000 r/min 离心 2 min。倒掉乙醇, 将离心管倒置放在吸水纸上除去乙醇, 然后放置在通风处干燥使乙醇完全挥发。加入 50 µL ddH<sub>2</sub>O 溶解, 室温溶解 30 min, 所得溶液即为 DNA 提取液。置于 -20 °C 保存。

### 1.7 系统发育树的构建

将通用引物测定的真菌菌株序列(ITS、RPB 和 LSU)提交到美国国家生物技术信息中心门户网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 比对, 以寻找近缘真菌。根据序列比对结果, 选择合适的真菌构建系统发育树。利用 MEGA 7 基于最大似然法(maximum likelihood method, ML)构建了 ITS-RPB-LSU 序列联配系统发育树。

### 1.8 荧光定位观察 LW2 菌株在水稻根部的定殖

为验证 LW2 菌株在寄主水稻根中的定殖情况, 采用农杆菌转化法将绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP) 标记转入 LW2 菌株中<sup>[29]</sup>。将水稻与带有 GFP 标记的 LW2 菌株在盆栽中共培养 14 d 后, 用清水洗去水稻根表面土壤, 截取 1.0–1.5 cm 的水稻根段。用吸水纸吸干根表面水分后将水稻根切成薄片, 用于制作根横截面切片, 在共聚焦显微镜[仪景通光学科技(上海)有限公司]下观察, 检测 GFP 荧光信号。使用焦距为 20×和 40×的共聚焦显微镜观察 LW2 菌株在水稻根部的定殖情况。

## 1.9 LW2 菌株在水稻根系中的相对丰度测定

将水稻与内生真菌 LW2 共培养, 在第 3、6、9、15、20、25 天时采集接种水稻根系样品, 用无菌水冲洗表面土壤。将样品用液氮冷冻并研磨成粉末, 然后将 0.1 g 样品粉末放入离心管中提取总 DNA。在 LightCycler<sup>®</sup> 480 实时 PCR 系统(上海罗氏制药有限公司)上, 根据 SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR 试剂盒进行 qPCR。目标基因的相对表达量采用 Livak 法计算, 以真菌肌动蛋白(actin)为对照。

## 1.10 水稻盆栽和盐处理

将水稻种子 ‘CO39’ (YB, *Oryza sativa* L. ssp. *indica*) 在含有浸没在蒸馏水中的吸墨纸的培养皿中于 37 °C 萌发约 48 h。发芽后, 将种子转移到装有土壤(土壤配方, 培养土:蛭石:珍珠岩=4:1:1)的花盆中, 然后在温度为 30 °C、光照/黑暗时间为 16 h/8 h、相对湿度 50% 的条件下生长。为了评估水稻的耐盐性, 在水稻移栽到花盆后的第 7 天开始进行盐处理, 用 100 mmol/L 和 200 mmol/L 的盐溶液灌溉, 每盆每次 100 mL。

盐处理 14 d 后, 计算水稻的生长指标, 包括鲜重、株高、根长、叶绿素相对含量(soil and plant analyzer development value, SPAD)值、茎宽和叶宽。测量上述指标前, 先将水稻从花盆中取出, 洗去表面泥土, 用吸水纸轻轻擦干表面水分, 然后进行测量。每组实验设 3 个重复, 每组取 9 株进行测定。

## 1.11 抗氧化酶活性测定和转录组分析

收集与菌株 LW2 共培养 14 d 后的水稻根部样品, 用无菌水清洗, 用吸水纸吸去表面水分后在液氮中速冻。样本经干冰运输后送至武汉迈维代谢生物科技股份有限公司, 在 Illumina 平台上进行转录组学测序和抗氧化活性检测。

## 1.12 RNA 提取和 RT-qPCR 分析

RNA 提取按照 Easy RNA 提取试剂盒(浙江易思得生物科技有限公司)的步骤进行。使用

TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (北京全式金生物技术有限公司)逆转录 RNA。使用 LightCycler<sup>®</sup> 480 实时 PCR 系统和 SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR 试剂盒进行 RT-qPCR。RT-qPCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 1 min, 共 40 个循环。用水稻基因中的肌动蛋白(actin)作为内参基因。RT-qPCR 引物如表 1 所示。

## 2 结果与分析

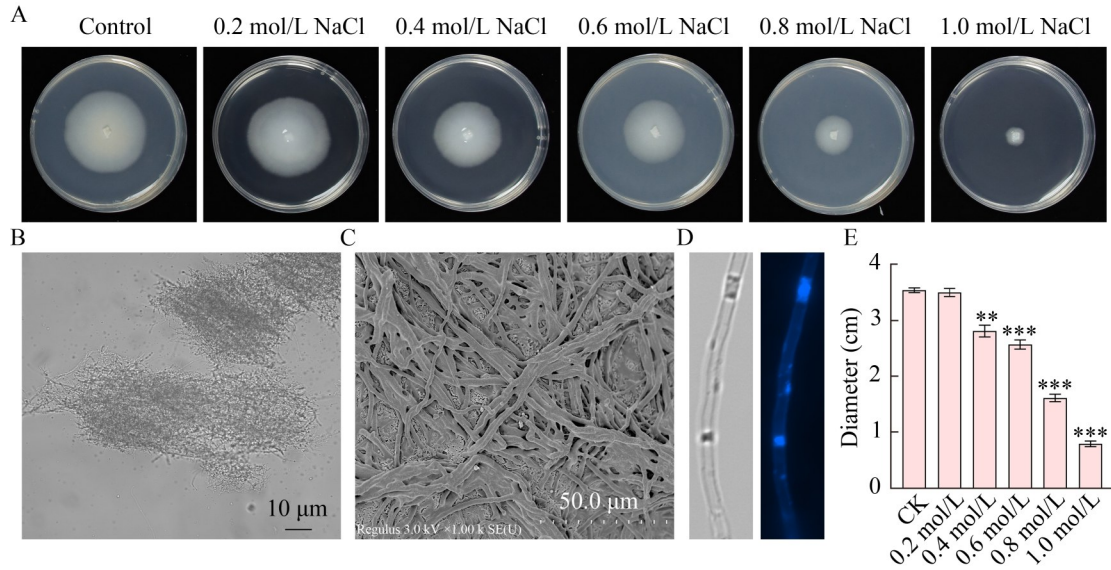
### 2.1 LW2 菌株形态和生理生化特征

将 *O. leptosporum* LW2 菌株接种于不同盐浓度梯度的 PDA 培养基平板上, 以评估其耐盐特性。如图 1 所示, 在 PDA 平板上, LW2 的菌落呈白色圆形, 边缘整齐(图 1A)。光学显微镜下可见大量丝状菌丝, 无孢子(图 1B)。扫描电镜下, 菌丝呈光滑丝状(图 1C)。DAPI 染色结果显示 LW2 菌株菌丝为单核无隔膜型(图 1D)。在 0.2 mol/L NaCl 浓度的 PDA 培养基中, 菌株可以正常生长。然而, 当盐浓度达到 0.8 mol/L 时, 菌株生长受到明显抑制。当盐浓度达到 1.0 mol/L 时, 菌株几乎完全无法生长(图 1A、1E)。

表1 本研究所用RT-qPCR引物

Table 1 Primers of RT-qPCR used in this study

Primers name	Primer sequences (5'→3')
OsEIL1-F	AGGCCTAATGCAGTCAACCC
OsEIL1-R	ACCGAATGGAGTATCGTCGC
HKT1;1-F	GCTCAGCATCTCTGTGGGTT
HKT1;1-R	CGAGCTGAACTACCAAAGGGT
HKT1;3-F	TGCATCACAGAACGGGACTC
HKT1;3-R	GATCGCTTTCCCATGTGTCGC
HKT2;1-F	GGCCTTATGGCTTCCTTGGT
HKT2;1-R	GTACTAGAACAGCAGGGGCG
HKT2;3-F	CTTGCAAGTTGTGGAGGTTGC
HKT2;3-R	TCTATCGTCGCTTTCTGGGC
OsActin-F	GAGTATGATGAGTCGGGTCCAG
OsActin-R	ACACCAACAATCCCAAACAGAG



**图1** LW2的菌落形态和耐盐能力。A: LW2在含0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mol/L NaCl的PDA培养基上生长10 d; B: 显微镜下LW2的菌丝形态; C: 扫描电镜下LW2的菌丝形态; D: LW2菌丝的DAPI染色; E: 不同盐浓度平板中LW2菌落的直径。

Figure 1 Colony morphology and salt resistance of LW2. A: LW2 was grown on PDA medium containing 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, and 1.0 mol/L NaCl for ten days; B: Mycelial morphology of LW2 under the microscope; C: Mycelial morphology of LW2 under scanning electron microscope; D: DAPI staining of LW2 mycelia; E: Diameter of LW2 colonies in plates with different salt concentrations (\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ).

## 2.2 LW2 菌株系统发育分析

提取 LW2 菌株的 DNA，通过 NCBI 数据库进行序列比对分析。基于比对结果，从顶囊壳属(*Gaeumannomyces*)、巨座壳属(*Magnaporthe*)、*Ophioceras* 和梨孢霉属(*Pyricularia*)中挑选总计 25 个物种，利用它们的 LSU、ITS 和 RPB 基因序列构建了系统发育树。结果如图 2 所示，与其他属相比，菌株 LW2 与 *Ophioceras* 表现出更近的亲缘关系，与 *O. leptosporum* 聚在同一最小分支。基于以上系统发育关系，将其命名为 *O. leptosporum* LW2。

## 2.3 LW2 菌株在水稻根系的定殖水平

为了探究 LW2 菌株在水稻根部的定殖特性，将转入了绿色荧光蛋白(GFP)标记的 LW2 菌株与水稻进行共培养实验。共培养 14 d 后，通过荧光显微镜观察发现，水稻根部的表皮和内皮层均呈现绿色荧光信号，证明 LW2 菌株能

够成功定殖于水稻根部组织(图 3A)。值得注意的是，在维管束部位检测到的荧光信号表明该菌株有向寄主地上部分扩展的潜力。为进一步验证其侵染特性，用台盼蓝染色法观察到 LW2 菌丝能够侵入水稻根细胞内部(图 3B)，扫描电镜结果显示，LW2 的菌丝能够有效攀附和缠绕水稻根毛，并在根表面形成密集的网状菌丝结构(图 3C)。结果表明，LW2 菌株可以通过侵染根毛定殖于寄主水稻根部，并在寄主根系细胞表面形成菌丝层，具备在水稻根部定殖的能力。此外，为定量分析 LW2 菌株在水稻根部的定殖动态，本研究选用单拷贝基因 *TEF* 作为分子标记，以水稻 *actin* 作为内参基因，采用实时定量 PCR 技术检测菌株在水稻根部的定殖情况。结果显示，接种后 3–9 d，LW2 的相对基因含量从 0.218 缓慢增加到 0.372；随后，LW2 基因相对含量迅速增加，在 9–20 d 增加到 3.640；20 d 后

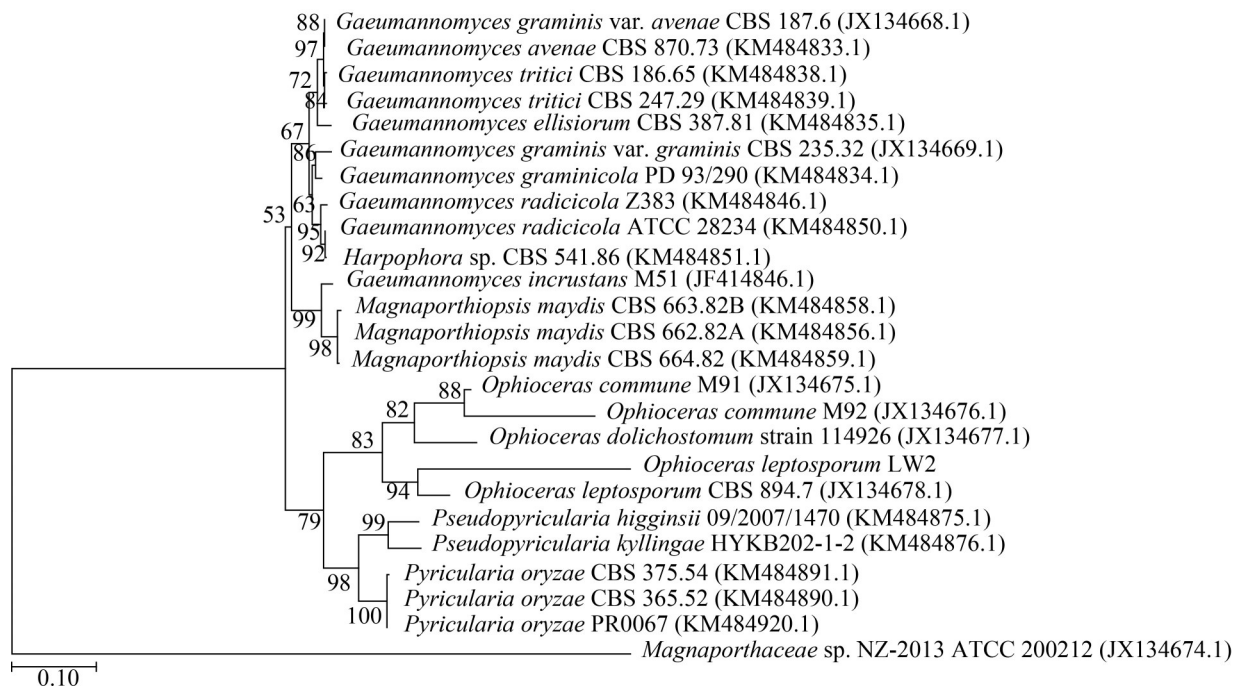


图2 内生真菌LW2的系统发育树。括号中的序号表示对应物种的ITS基因序列号；分支点上的数字表示该分支的可信度；标尺表示发育树可显示的序列差异度比例尺为0.1。

Figure 2 Phylogenetic tree of the endophytic fungus LW2. The serial number in parentheses indicates the ITS gene sequence number of the corresponding species; The number on the branch point indicates the confidence level of the branch; The scale bar indicates that the evolutionary tree can be displayed with a sequence divergence scale of 0.1.

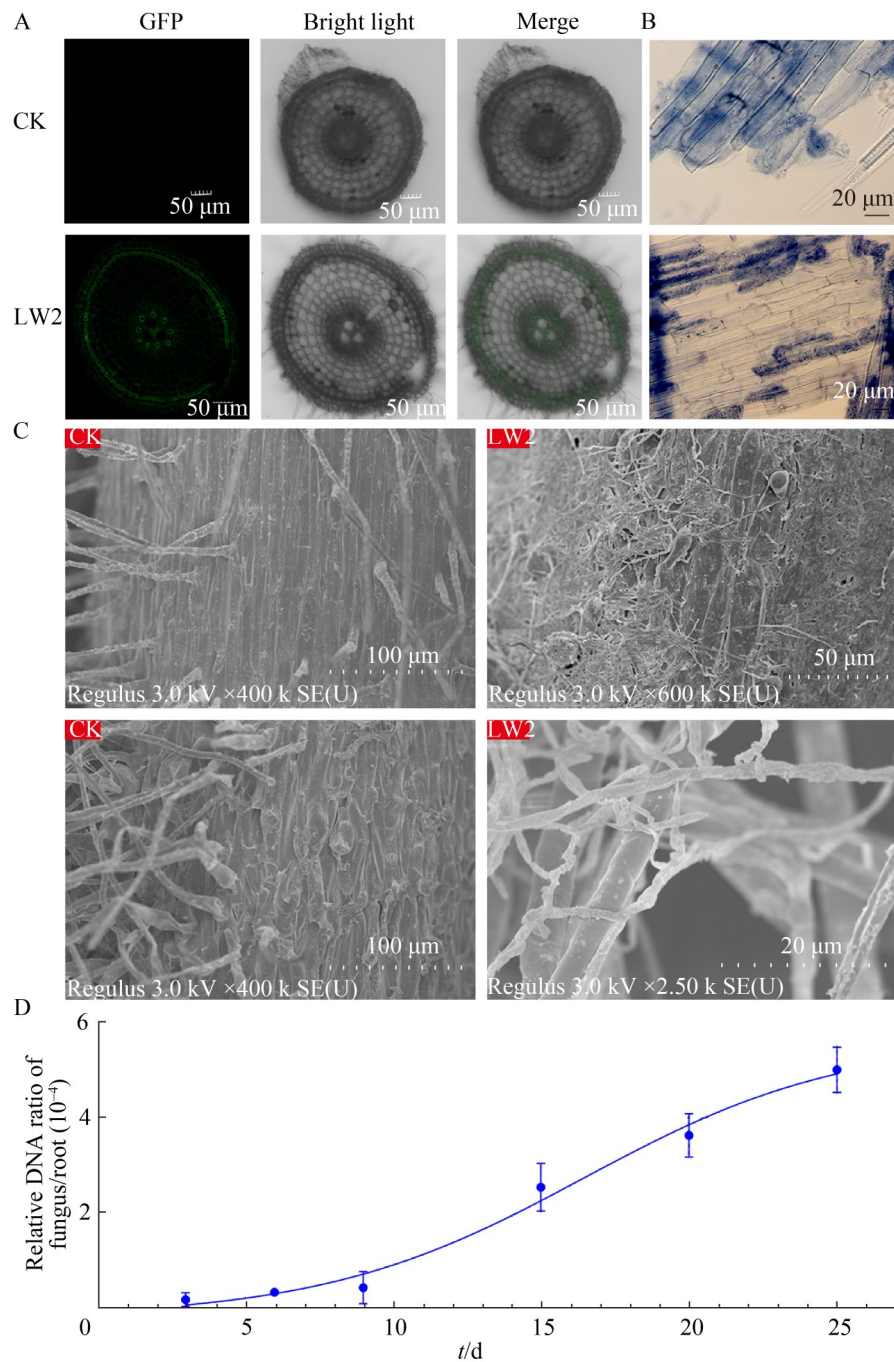
生长速率趋于平稳(图 3D)。结果表明, LW2 菌株在定殖初期缓慢增殖, 随后快速增殖并在寄主根系中大量稳定定殖。

#### 2.4 LW2 菌株增强水稻的耐盐胁迫能力

为了进一步探究 LW2 菌株对寄主耐盐性的影响, 将共培养和非共培养 LW2 的水稻培养 14 d。在非胁迫条件下, 与对照组相比, 共培养组的鲜重显著增加 72.2%, 株高显著增加 10.3%, SPAD 值显著提高 26.7%, 茎宽显著增加 44.5%, 叶宽显著增加 30.8%; 在盐胁迫下, 共培养组同样展现出生长优势, SPAD 值显著增加 25.9%, 茎宽显著增加 24.7%, 叶宽显著增加 32.8% (图 4A-4F)。这些数据表明, LW2 菌株可以促进水稻生长, 且在盐胁迫下仍能促进水稻的生长。在无胁迫条件下共培养 14 d 时, 共培养组的水稻苗已进入四叶期, 而对照组仍处于三叶期; 这一发育优势在盐胁迫条件下同样存在(图 4H)。

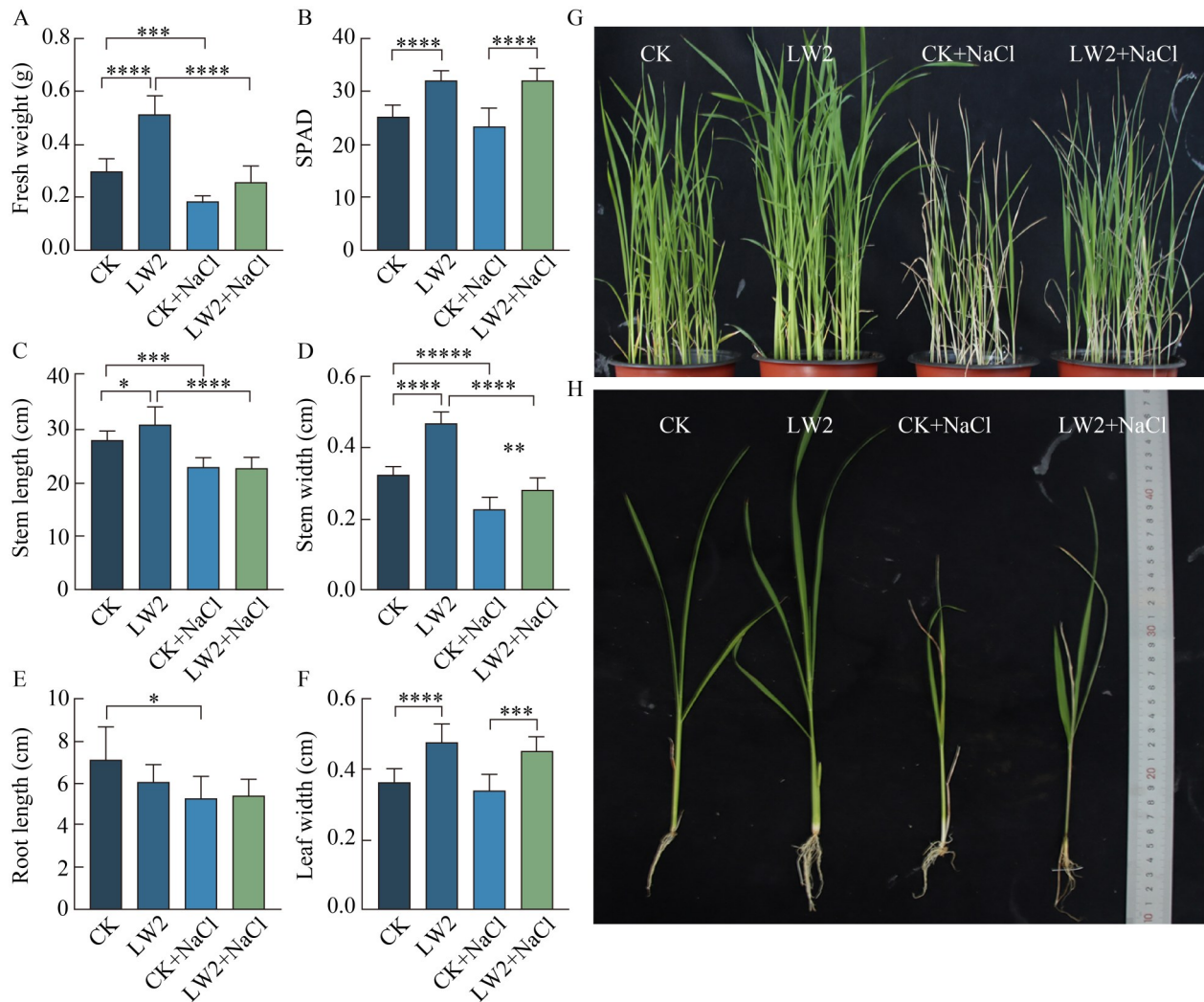
这些发现进一步证明了 LW2 菌株的定殖能显著促进水稻苗期的生长。值得注意的是, 在盐胁迫条件下, 共培养组的水稻植株表现出更好的抗逆性, 与对照组相比, 植株枯萎现象明显减少, 且叶片呈现健康的嫩绿色(图 4G)。这些结果初步表明 LW2 菌株在增强水稻耐盐性方面发挥着重要作用。

为了进一步探究 LW2 菌株增强水稻耐盐性的机理, 将 NaCl 处理浓度提高至 0.2 mol/L 进行胁迫实验。如图 5A 所示, 盐胁迫处理 7 d 后, 对照组水稻植株出现明显的叶尖黄化及植株萎蔫现象, 而接种组水稻生长状况正常, 叶片呈现嫩绿色。持续胁迫处理至 14 d 时, 对照组植株出现了严重的黄化症状, 叶片完全卷曲, 生长停滞; 接种组仅少数植株出现轻微萎蔫和叶尖黄化, 大部分植株仍维持绿色。为探究其潜在的调控机理, 在盐处理 7 d 后采集水稻根系



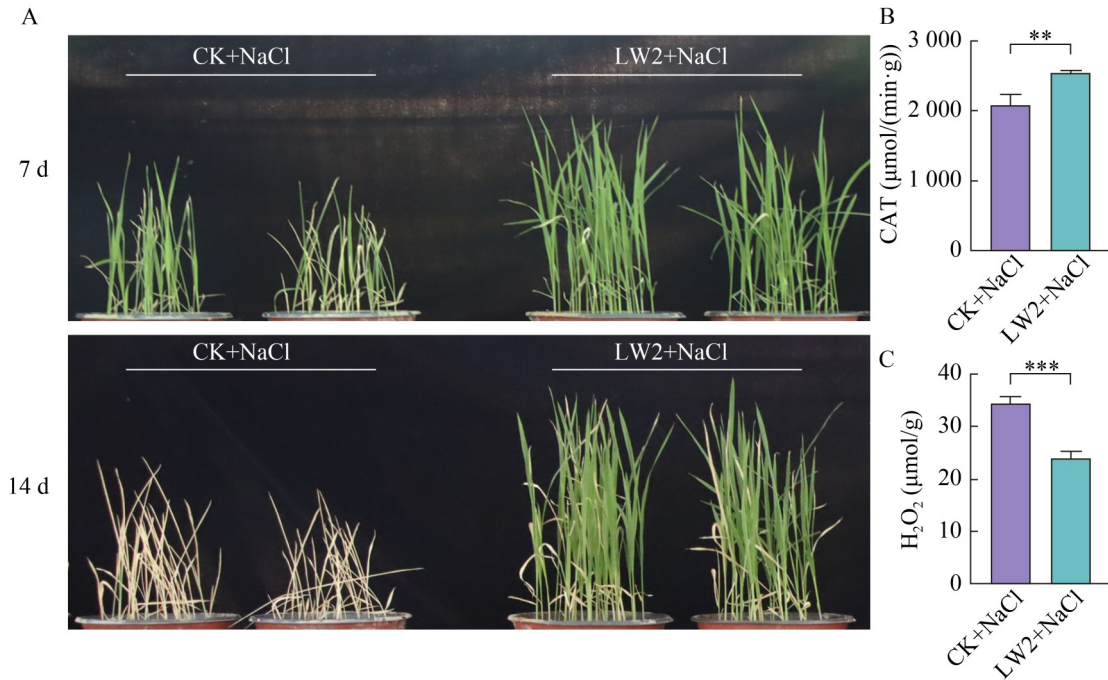
**图3** LW2菌株在水稻根部的定殖。A: LW2在 GFP 荧光下的定殖模式; B: 台盼蓝染色法观察LW2在水稻根部的定殖; C: 扫描电镜观察LW2在水稻根部的定殖; D: 不同时间点水稻根部真菌/水稻根部的相对DNA含量。

Figure 3 LW2 colonization in rice roots. A: The colonization pattern of LW2 under GFP fluorescence; B: Observation of LW2 colonization in rice roots by Trypan blue staining; C: Scanning electron microscopy observation of LW2 colonization in rice roots; D: Relative DNA content of fungi/rice roots at different time points in rice roots.



**图4** LW2菌株在盐胁迫下对水稻生长的促进作用。A: 盐胁迫和LW2菌株对水稻鲜重的影响; B: 盐胁迫和LW2菌株对水稻SPAD值影响; C: 盐胁迫和LW2菌株对水稻株高的影响; D: 盐胁迫和LW2菌株对水稻茎宽的影响; E: 盐胁迫和LW2菌株对水稻根长的影响; F: 盐胁迫和LW2菌株对水稻叶宽的影响; G: LW2定殖后盆栽水稻的生长状态; H: LW2定殖后盆栽水稻的单株形态。误差线表示平均值±标准差,  $n=9$ 。\*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; \*\*\*:  $P<0.001$ ; \*\*\*\*:  $P<0.0001$ 。CK: 未处理; LW2: 接种LW2; CK+NaCl: 0.15 mol/L NaCl处理; LW2+NaCl: 0.15 mol/L NaCl处理时接种LW2。

**Figure 4** Growth promoting effect of LW2 on rice under salt stress. A: Effect of salt stress and LW2 strain on fresh weight of rice; B: Effect of salt stress and LW2 strain on SPAD value of rice; C: Effect of salt stress and LW2 strain on stem length of rice; D: Effect of salt stress and LW2 strain on stem width of rice; E: Effect of salt stress and LW2 strain on root length of rice; F: Effect of salt stress and LW2 strain on leaf width of rice; G: Growth status of potted rice after LW2 colonization; H: Morphology of potted rice monocultures after LW2 colonization. Error lines indicate mean±SD,  $n=9$ . \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; \*\*\*:  $P<0.001$ ; \*\*\*\*:  $P<0.0001$ . CK: Untreated; LW2: Inoculated with LW2; CK+NaCl: 0.15 mol/L NaCl treatment; LW2+NaCl: Inoculated with LW2 at 0.15 mol/L NaCl treatment. The same as below.



**图5** LW2菌株提高水稻抗盐能力。A: 接种和非接种LW2组的水稻在0.2 mol/L盐胁迫处理后共培养第7天和第14天的生长情况; B: 接种LW2后水稻中过氧化物酶活性; C: 接种LW2后水稻中过氧化氢含量。  
**Figure 5** LW2 enhances salt tolerance in rice. A: Growth of rice in inoculated and non-inoculated LW2 groups after 0.2 mol/L salt stress treatment between 7 and 14 days of incubation; B: Peroxidase activity in rice inoculated with LW2; C: Hydrogen peroxide content in rice after inoculation with LW2. \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ .

样品测定其过氧化物酶的活性。结果显示, 与对照组相比, 共培养组水稻根系中的过氧化氢酶活性显著高于对照组, 而且根系中的过氧化氢( $H_2O_2$ )含量显著降低(图 5B、5C)。LW2 菌株的定殖可能通过激活水稻根系的抗氧化酶系统, 增强过氧化氢酶活性, 从而促进水稻活性氧的清除。

## 2.5 LW2 菌株调控水稻乙烯通路

乙烯是一种重要的植物激素, 其信号通路在水稻响应盐胁迫过程中起着关键调控作用<sup>[30]</sup>。为了进一步探究 LW2 菌株增强寄主水稻耐盐性的机制, 转录组分析发现, 与对照组相比, 共培养组有 781 个基因表达显著上调, 1 000 个基因表达显著下调(图 6A)。GO 富集分析发现在富集的 20 个通路中, 3 个与乙烯相关的通路富集程度非常高, 包括乙烯激活的信号通路、细胞对乙烯刺激的反应和对乙烯的响应(图 6B)。

乙烯激活的信号通路共富集了 30 个差异基因, 其中 25 个基因下调, 5 个基因上调。对乙烯途径响应的通路富集基因总数为 38 个, 其中 28 个基因上调, 10 个基因下调。细胞对乙烯刺激的反应通路富集了 30 个基因, 其中 25 个基因下调, 5 个基因上调(图 7)。这些结果表明, LW2 菌株在水稻根系定殖后影响了寄主乙烯相关通路的基因表达模式, 其提升水稻耐盐性的机制与乙烯通路密切相关。

## 2.6 LW2 调控水稻 *EIL1* 和 *HKTs* 的表达

已有研究表明, *EIL1* 通过调控 *HKTs* 基因的表达负向调控水稻的抗盐性<sup>[27,31-33]</sup>。本研究检测了水稻在与 LW2 共培养后 *EIL1* 和 *HKTs* 的基因表达水平(图 8)。结果如显示, 盐胁迫会诱导 *EIL1* 基因的表达, 而在盐胁迫下接种 LW2 菌株会使其表达量显著降低。*HKT1;1* 的表达量也表现出

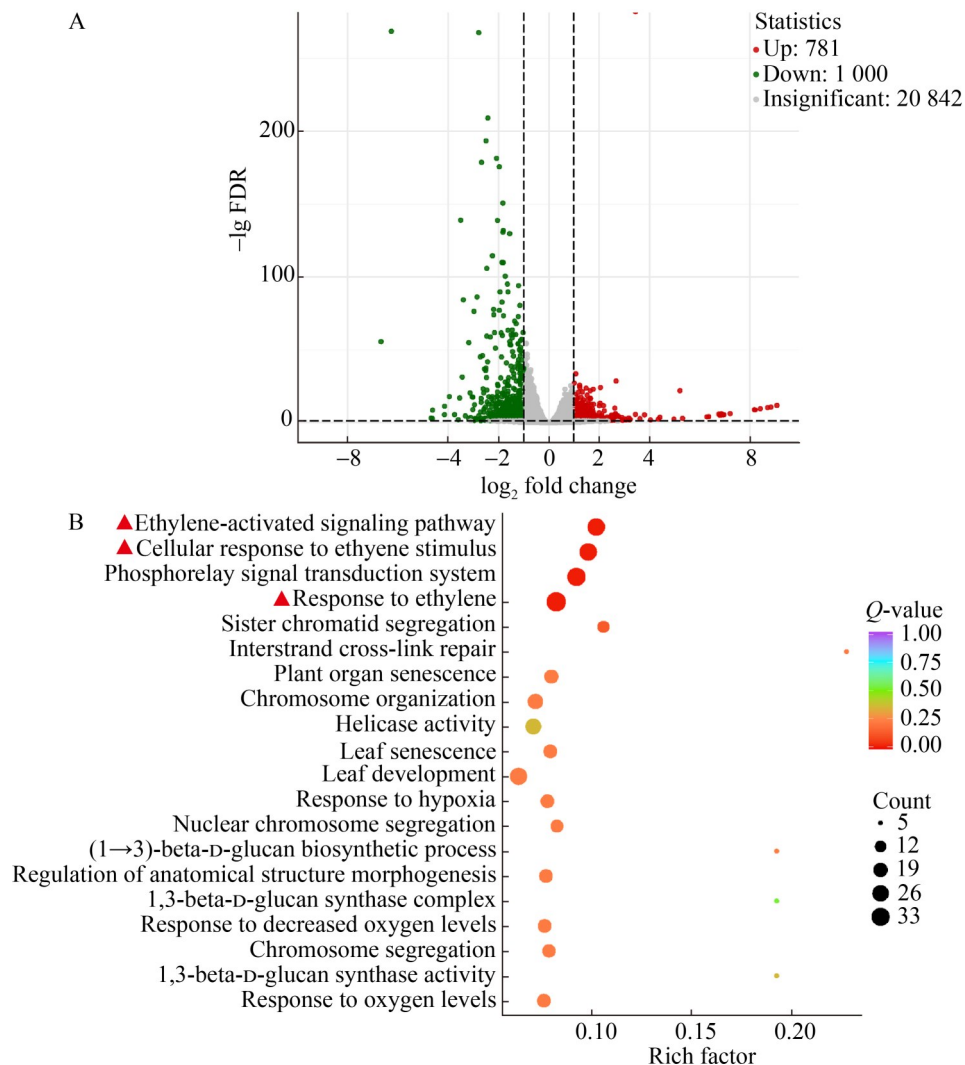


图6 共培养LW2与对照组的水稻转录组学分析。A: 接种和未接种菌株LW2的水稻差异基因数量的火山图, 红色表示显著上调的基因, 绿色表示显著下调的基因, 黑色表示两组之间表达水平差异不显著的基因; B: 接种和未接种菌株LW2的水稻差异基因的GO富集分析。横坐标表示相应通路中的差异基因数与检测到的基因数之比, 纵坐标表示相关功能的基因通路, 测试可靠性和统计显著性随着 $Q$ 值的降低而增加。图中圆形的大小代表相应通路中差异基因的数量。

Figure 6 Transcriptomic differences between rice inoculated with LW2 and uninoculated with LW2. A: Volcano plot of the number of differential genes in inoculated and uninoculated strains of LW2 rice, red indicating significantly up-regulated genes, green indicating significantly down-regulated genes, and black indicating genes with insignificant differences in expression levels between the two groups; B: GO enrichment analysis of differential genes in inoculated and uninoculated strain LW2 rice. Horizontal coordinates indicate the ratio of the number of differential genes in the corresponding pathway to the number of genes detected, vertical coordinates indicate the gene pathways of the relevant functions, and test reliability and statistical significance increase with decreasing  $Q$  values. The size of the circles in the figure represents the number of differential genes in the corresponding pathway.

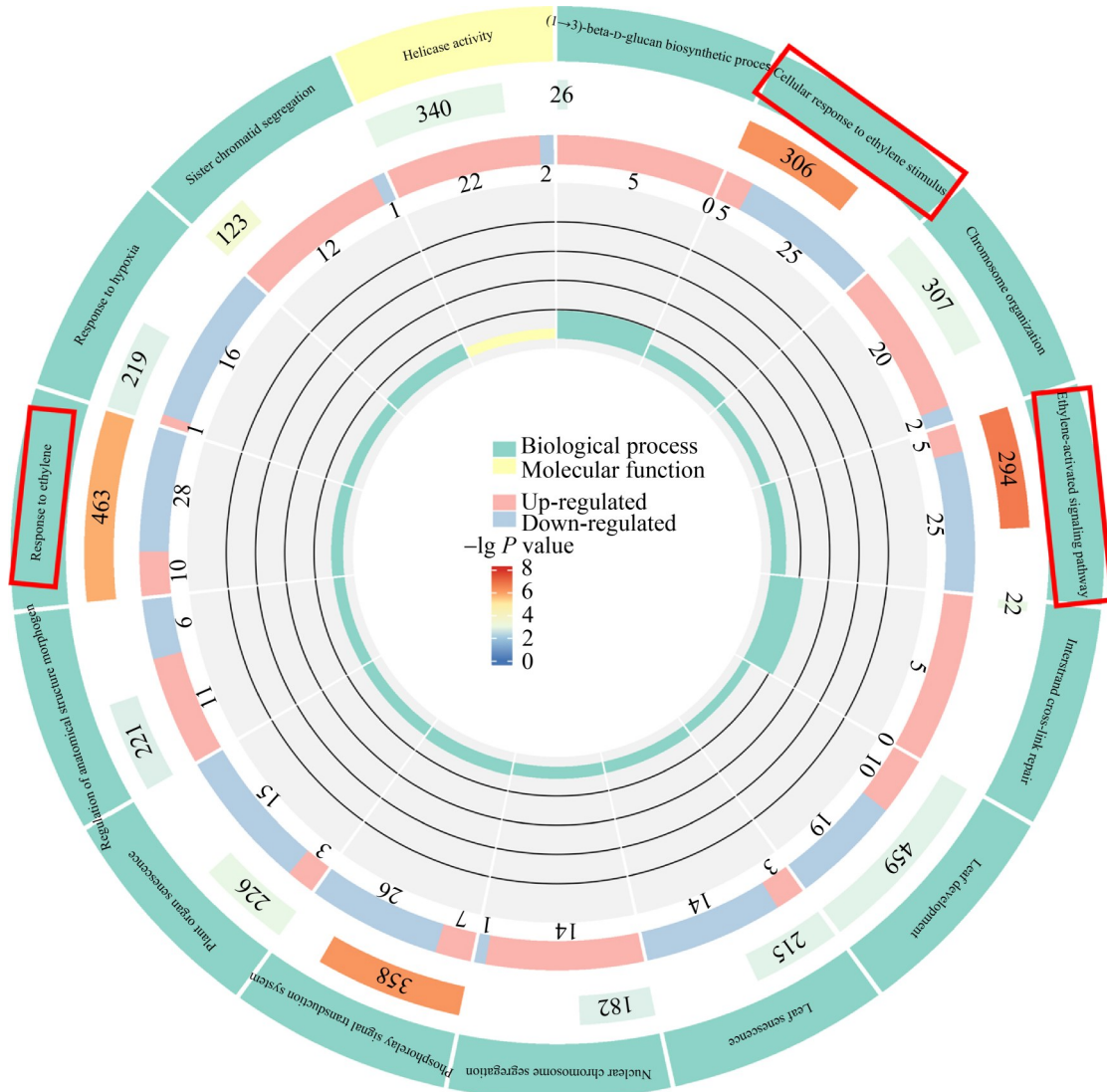
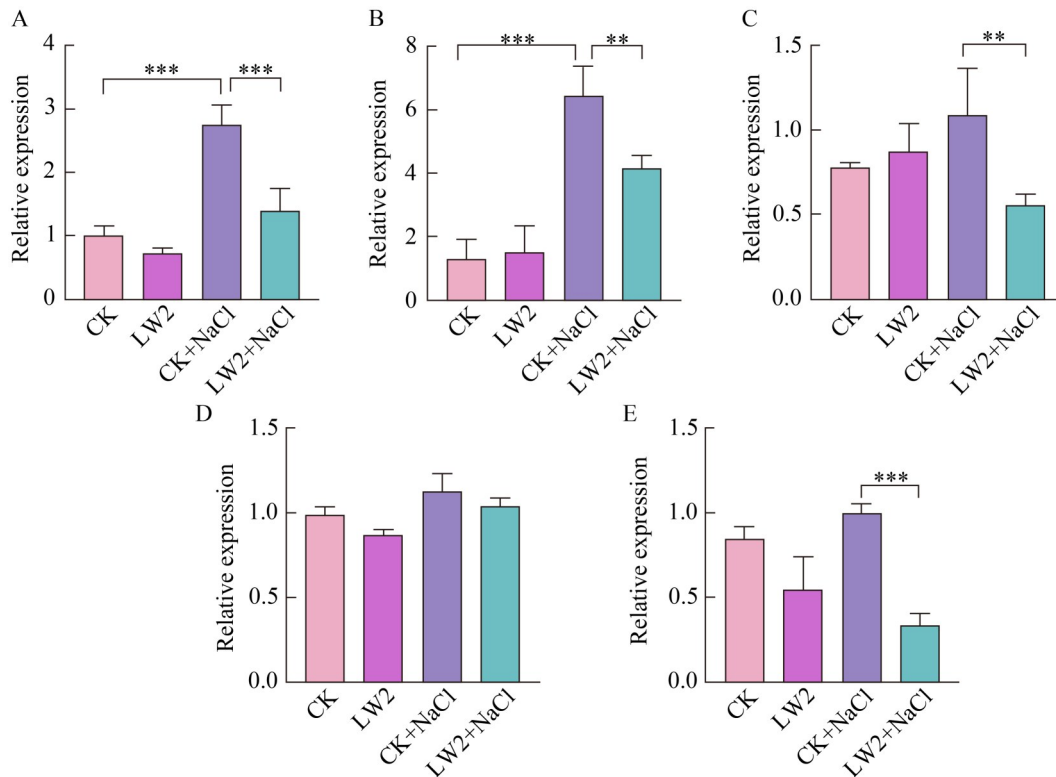


图7 共培养组和对照组水稻中差异基因的GO富集圈图。从外到内，第1个圆圈表示显著富集的GO二级通路的名称；第2个圆圈表示该通路中背景基因的数量和 $P$ 值；基因越多，条形越长，富集越明显，富集程度越红；第3个圆圈表示上调和下调基因的数量，浅红色代表上调基因的数量，浅蓝色代表下调基因的数量；第4个圆圈表示每个GO分类的Rich factor值(前景基因数除以该分类的背景基因数)，背景辅助线的每个单元格表示0.2。

Figure 7 GO enrichment circles of differential genes in co-cultured and control groups of rice. From the outside to the inside, the first circle indicates the name of the significantly enriched GO secondary pathway; The second circle indicates the number of background genes and  $P$  value in that pathway; The more genes there are, the longer the bar, the more pronounced the enrichment, and the redder the degree of enrichment; The third circle indicates the number of up-regulated and down-regulated genes, with the lighter red color representing the number of up-regulated genes, and the lighter blue color representing the number of down-regulated genes; The fourth circle indicates the per-GO categorical Rich factor value (the number of foreground genes divided by the number of background genes for that classification), and each cell of the background auxiliary line represents 0.2.



**图8** LW2菌株对水稻*EIL1*和*HKTs*基因表达量的影响。A: LW2菌株对水稻*EIL1*基因表达量的影响; B: LW2菌株对水稻*HKT1;1*基因表达量的影响; C: LW2菌株对水稻*HKT1;3*基因表达量的影响; D: LW2菌株对水稻*HKT2;1*基因表达量的影响; E: LW2菌株对水稻*HKT2;3*基因表达量的影响。

Figure 8 Effect of LW2 on the expression of *EIL1* and *HKTs* genes in rice. A: Effect of LW2 strain on rice *EIL1* gene expression; B: Effect of LW2 strain on rice *HKT1;1* gene expression; C: Effect of LW2 strain on rice *HKT1;3* gene expression; D: Effect of LW2 strain on rice *HKT2;1* gene expression; E: Effect of LW2 strain on rice *HKT2;3* gene expression. \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ .

与*EIL1*相同的变化趋势。*HKT1;3*和*HKT2;3*的表达量虽然未因盐胁迫显著升高,但在盐胁迫下接种LW2菌株仍会引起表达量显著下降。*HKT2;1*则在有无盐胁迫情况下表达量均降低。上述结果表明,LW2菌株通过调控上水稻中*EIL1*和*HKTs*基因的表达来提高水稻的抗盐能力。

### 3 讨论与结论

土壤盐渍化是农业生产的重要制约因素之一。在盐胁迫下,几乎所有植物都会面临根系失水、光合作用效率降低和植物生长减缓的困境<sup>[34-35]</sup>。据报道,我国约有20%的灌溉地和2%

的旱地受到土壤盐碱化的影响<sup>[36]</sup>。近年来,利用内生真菌提高植物耐盐性的研究日益受到重视<sup>[37]</sup>。大量研究表明,内生真菌可通过多种生理机制显著提高寄主植物对盐胁迫的耐受性<sup>[38]</sup>。长枝木霉(*Trichoderma longibrachiatum*) T6可通过调节宿主体内活性氧清除酶的活性和提高非酶抗氧化剂的含量,从而增强小麦的耐盐性<sup>[39]</sup>。Badawy等<sup>[40]</sup>从大麦中分离出一株赭曲霉(*Aspergillus ochraceus*),该菌株表现出明显的耐盐性,能在200 g/L的盐浓度下生长;用其菌悬液处理大麦种子可减轻海水对大麦的影响。

本研究发现了一种具有耐盐性特征的内生

真菌，命名为 *O. leptosporum* LW2。目前，关于 *Ophioceras* 真菌的研究相对有限，相关报道主要集中于该属真菌的形态学特征和系统发育学分析<sup>[41-43]</sup>。有报道称从 *Ophioceras venezuela* 的培养物中分离出了新的烷倍半萜类化合物 *Ophiocerin* A-D<sup>[44]</sup>。然而，这些化合物是否在其与宿主的相互作用中发挥重要作用尚不清楚。尽管目前对 *Ophioceras* 功能和应用的研究尚属空白，但其巨大的开发潜力已初现端倪。

乙烯作为一种重要的植物激素，在植物响应盐胁迫过程中起着关键的调控作用<sup>[45]</sup>。乙烯关键组分 EIN2 是乙烯信号通路的核心蛋白。在盐胁迫下，*EIN2* 突变体的苗期生长和种子发育过程均受到影响<sup>[46]</sup>。乙烯信号转录因子 *EIN3/EIL1* 可以激活乙烯和盐诱导转录因子 *ESE1* 进而调控下游耐盐基因的表达，最终增强植物的抗盐性<sup>[47]</sup>。接种枫香拟茎点霉(*Phomopsis liquidambaris*)可显著降低水稻体内 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-

aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC, 乙烯合成的前体)含量和 ACC 氧化酶活性，从而增强水稻的耐盐性<sup>[48]</sup>。哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)通过增强过氧化物酶活性、维持  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  离子稳态以及降低乙烯水平等增强了大豆对盐胁迫的耐受性<sup>[49]</sup>。*OsEIL1* 作为乙烯信号通路的关键组分，已被证实对水稻耐盐性有负调控作用<sup>[27,50]</sup>。本研究发现，共培养菌株 LW2 后，水稻植株中 *OsEIL1* 基因的表达明显下调，同时伴随着离子转运相关的 *HKTs* 基因的表达下调。初步阐明了 LW2 菌株可能通过调控 *EIL1* 信号通路提高水稻的耐盐性。

LW2 菌株能够显著促进盐胁迫条件下水稻的生长，并有效增强其耐盐能力。本研究初步揭示了 LW2 菌株增强水稻耐盐性的作用机理：一方面通过提高水稻过氧化氢酶活性，增强其抗氧化能力；另一方面通过调控乙烯信号通路增强水稻耐盐性(图 9)。这些结果表明 LW2 菌株在提高作物耐盐性方面发挥重要作用，也揭示

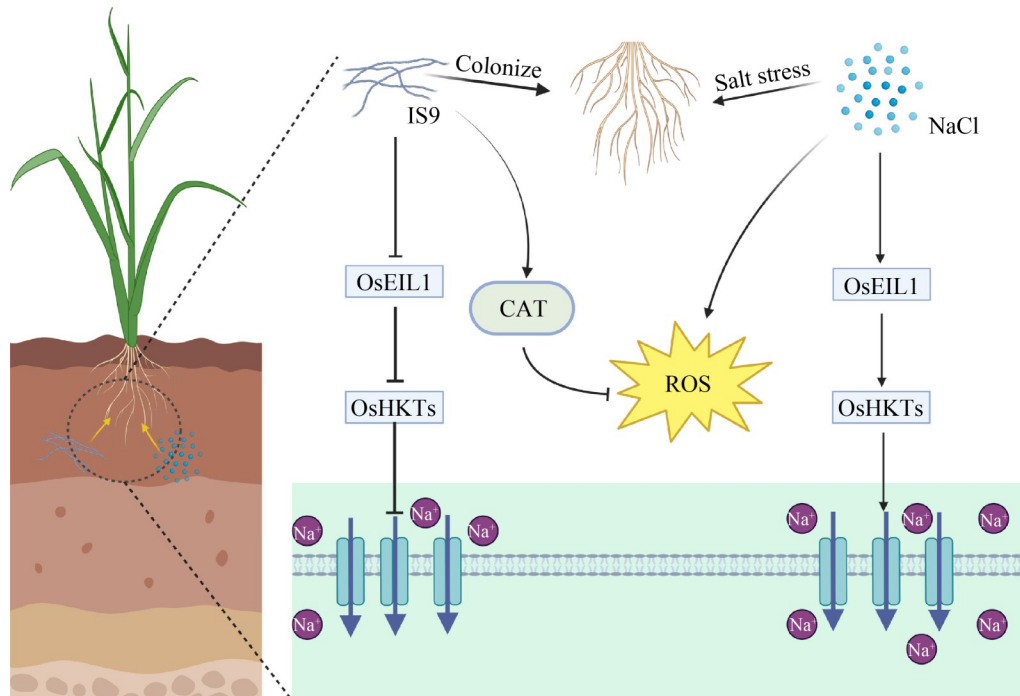


图9 LW2增强水稻抗盐能力的模式图

Figure 9 Pattern diagram of the enhanced salt tolerance of rice by LW2. LW2 mainly enhances rice's salt tolerance through two pathways: stimulating catalase activity and regulating the expression of rice genes.

了其潜在的生物防治价值。本研究为开发新型微生物菌剂、改良盐渍化土壤提供了重要的菌种资源和理论依据。

## 作者贡献声明

王操屹：论文撰写和修改，数据收集和处理；朱学明：提供资源，项目管理；张正一：方法论，监督管理；鲍坚东：数据收集与监管，文章审阅；沈自芳：提供技术支持；林福呈：研究构思和设计；李琳：论文撰写和修改，研究构思和设计。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- MUCHATE NS, NIKALJE GC, RAJURKAR NS, SUPRASANNA P, NIKAM TD. Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance[J]. *The Botanical Review*, 2016, 82(4): 371-406.
- 栗现文, 周金龙, 靳孟贵, 刘延锋. 高矿化度土壤水分特征曲线及拟合模型适宜性[J]. *农业工程学报*, 2012, 28(13): 135-141.  
LI XW, ZHOU JL, JIN MG, LIU YF. Soil-water characteristic curves of high-TDS and suitability of fitting models[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2012, 28(13): 135-141 (in Chinese).
- 廖海, 栗现文, 陈俊英, 杨亚龙, 劳聪聪, 徐洋洋. 原状盐渍土不同盐分含量对土壤水分特征曲线的影响[J]. *节水灌溉*, 2021(1): 7-13.  
LIAO H, LI XW, CHEN JY, YANG YL, LAO CC, XU YY. Effects of different salt contents of undisturbed saline soil on soil moisture characteristic curves[J]. *Water Saving Irrigation*, 2021(1): 7-13 (in Chinese).
- CHOURASIA KN, MORE SJ, KUMAR A, KUMAR D, SINGH B, BHARDWAJ V, KUMAR A, DAS SK, SINGH RK, ZINTA G, TIWARI RK, LAL MK. Salinity responses and tolerance mechanisms in underground vegetable crops: an integrative review[J]. *Planta*, 2022, 255(3): 68.
- ZHAO CZ, ZHANG H, SONG CP, ZHU JK, SHABALA S. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity[J]. *The Innovation*, 2020, 1(1): 100017.
- ZHU J, FAN Y, SHABALA S, LI CD, LV C, GUO BJ, XU RG, ZHOU MX. Understanding mechanisms of salinity tolerance in barley by proteomic and biochemical analysis of near-isogenic lines[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4): 1516.
- 杨劲松, 姚荣江, 王相平, 谢文萍, 张新, 朱伟, 张璐, 孙瑞娟. 防止土壤盐渍化, 提高土壤生产力[J]. *科学*, 2021, 73(6): 30-34, 2, 4.  
YANG JS, YAO RJ, WANG XP, XIE WP, ZHANG X, ZHU W, ZHANG L, SUN RJ. Halt soil salinization, boost soil productivity[J]. *Science*, 2021, 73(6): 30-34, 2, 4 (in Chinese).
- 张艳超, 史文娟, 马媛. 膜下滴灌棉田生物改良盐碱地效果研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2018, 36(6): 26-32.  
ZHANG YC, SHI WJ, MA Y. Effect of halophytes on improving saline-sodic soil of cotton field with drip irrigation under plastic film[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2018, 36(6): 26-32 (in Chinese).
- 杨劲松, 姚荣江, 王相平, 谢文萍, 张新, 朱伟, 张璐, 孙瑞娟. 中国盐渍土研究: 历程、现状与展望[J]. *土壤学报*, 2022, 59(1): 10-27.  
YANG JS, YAO RJ, WANG XP, XIE WP, ZHANG X, ZHU W, ZHANG L, SUN RJ. Research on salt-affected soils in China: history, status quo and prospect[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(1): 10-27 (in Chinese).
- 谢金宏. 野生稻根际细菌改良盐碱地及水稻促生的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.  
XIE JH. Studies on the improvement of saline-alkali soil and rice growth promotion by wild rice rhizosphere bacteria[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- 杨凯心, 闫军芬, 王志康, 王永琪, 卞文清, 付晓瑀, 杨继松, 王雪宏, 管博, 于君宝, 陈欣. 盐渍土中丛枝菌根真菌群落组成及不同菌种对玉米幼苗生长的影响[J/OL]. *生态学杂志*, 2024: 1-14. (2024-05-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=STXZ2024050702&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.  
CHEN X. Community compositions of arbuscular mycorrhizal fungi and their promoting effects of different strains on maize seeding in saline soils[J/OL]. *Chinese Journal of Ecology*, 2024: 1-14. (2024-05-10). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CJFD&dbname=CJFD&filename=STXZ20240507002> (in Chinese).
- BACON CW, WHITE JF. Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants[J]. *Symbiosis*, 2016, 68(1): 87-98.
- CHEN XL, SUN MC, CHONG SL, SI JP, WU LS. Transcriptomic and metabolomic approaches deepen our knowledge of plant-endophyte interactions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 12: 700200.
- KOSKIMÄKI JJ, POHJANEN J, KVIST J, FESTER T, HÄRTIG C, PODOLICH O, FLUCH S, EDESI J, HÄGGMAN H, PIRTILÄ AM. The meristem-associated endosymbiont *Methylobacterium extorquens* DSM13060 reprograms development and stress responses of pine seedlings[J]. *Tree Physiology*, 2022, 42(2): 391-410.
- HUONG NTM, HOAI PTT, THAO PTH, HUONG TT,

- CHINH VD. Growth stimulation, phosphate resolution, and resistance to fungal pathogens of some endogenous fungal strains in the rhizospheres of medicinal plants in Vietnam[J]. *Molecules*, 2022, 27(16): 5051.
- [16] BARON NC, de SOUZA POLLO A, RIGOBELLO EC. *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi[J]. *PeerJ*, 2020, 8: e9005.
- [17] RAJKUMAR M, AE N, FREITAS H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction[J]. *Chemosphere*, 2009, 77(2): 153-160.
- [18] KHAN AL, HAMAYUN M, AHMAD N, HUSSAIN J, KANG SM, KIM YH, ADNAN M, TANG DS, WAQAS M, RADHAKRISHNAN R, HWANG YH, LEE IJ. Salinity stress resistance offered by endophytic fungal interaction between *Penicillium minioluteum* LHL09 and *Glycine max* L. [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 21(9): 893-902.
- [19] LANG B, CHEN J. *Trichoderma harzianum* cellulase gene *thph2* affects *Trichoderma* root colonization and induces resistance to southern leaf blight in maize[J]. *Journal of Fungi*, 2023, 9(12): 1168.
- [20] ROJAS EC, JENSEN B, JØRGENSEN HJL, LATZ MAC, ESTEBAN P, COLLINGE DB. The fungal endophyte *Penicillium olsonii* ML37 reduces *Fusarium* head blight by local induced resistance in wheat spikes [J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8(4): 345.
- [21] 陈亚平. 耐盐碱植物内生真菌的分离鉴定及促进作物耐盐菌株的筛选[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- CHEN YP. Isolation and identification of endophytic fungi in saline plants and screening on its strengthening crop's salt tolerance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 (in Chinese).
- [22] 冉姝琪, 朱天奇, 余易泽, 李晗玉, 刘铁莹, 许岳飞. 高羊茅根际耐盐促生真菌的分离鉴定及其促生效果评价[J/OL]. *草地学报*, 2024: 1-11. (2024-12-11). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=CDXU2024121000A&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [23] KAZAN K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(4): 219-229.
- [24] CHEN DH, MA XY, LI CL, ZHANG W, XIA GM, WANG M. A wheat aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene, *TaACO1*, negatively regulates salinity stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell Reports*, 2014, 33(11): 1815-1827.
- [25] DONG H, ZHEN ZQ, PENG JY, CHANG L, GONG QQ, WANG NN. Loss of ACS7 confers abiotic stress tolerance by modulating ABA sensitivity and accumulation in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(14): 4875-4887.
- [26] ZHANG LX, LI ZF, QUAN RD, LI GJ, WANG RG, HUANG RF. An AP2 domain-containing gene, *ESE1* targeted by the ethylene signaling component EIN3 is important for the salt response in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(2): 854-865.
- [27] YANG C, MA B, HE SJ, XIONG Q, DUAN KX, YIN CC, CHEN H, LU X, CHEN SY, ZHANG JS. MAOHUZI6/ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 and ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE2 regulate ethylene response of roots and coleoptiles and negatively affect salt tolerance in rice[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1): 148-165.
- [28] YANG C, LI W, CAO JD, MENG FW, YU YQ, HUANG JK, JIANG L, LIU MX, ZHANG ZG, CHEN XW, MIYAMOTO K, YAMANE H, ZHANG JS, CHEN SY, LIU J. Activation of ethylene signaling pathways enhances disease resistance by regulating ROS and phytoalexin production in rice[J]. *The Plant Journal*, 2017, 89(2): 338-353.
- [29] ZHANG ZG, ZHANG Q, WU JX, ZHENG X, ZHENG S, SUN XH, QIU QS, LU TG. Gene knockout study reveals that cytosolic ascorbate peroxidase 2 (OsAPX2) plays a critical role in growth and reproduction in rice under drought, salt and cold stresses[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57472.
- [30] PIERIK R, THOLEN D, POORTER H, VISSER EJW, VOESENEK LACJ. The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation[J]. *Trends in Plant Science*, 2006, 11(4): 176-183.
- [31] WANG R, JING W, XIAO LY, JIN YK, SHEN LK, ZHANG WH. The rice high-affinity potassium Transporter1;1 is involved in salt tolerance and regulated by an MYB-type transcription factor[J]. *Plant Physiology*, 2015, 168(3): 1076-1090.
- [32] WEI H, WANG XL, HE YQ, XU H, WANG L. Clock component OsPRR73 positively regulates rice salt tolerance by modulating OsHKT2; 1-mediated sodium homeostasis[J]. *The EMBO Journal*, 2021, 40(3): e105086.
- [33] ROSAS-SANTIAGO P, LAGUNAS-GÓMEZ D, BARKLA BJ, VERA-ESTRELLA R, LALONDE S, JONES A, FROMMER WB, ZIMMERMANNNOVA O, SYCHROVÁ H, PANTOJA O. Identification of rice cornichon as a possible cargo receptor for the Golgi-localized sodium transporter OsHKT1; 3[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(9): 2733-2748.
- [34] POLLE A, CHEN SL. On the salty side of life: molecular, physiological and anatomical adaptation and acclimation of trees to extreme habitats[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2015, 38(9): 1794-1816.
- [35] CHEN S, POLLE A. Salinity tolerance of *Populus*[J]. *Plant Biology*, 2010, 12(2): 317-333.
- [36] LEKKA C, PETROPOULOS GP, TRIANTAKONSTANTIS D, DETSIKAS SE, CHALKIAS C. Exploring the spatial patterns of soil salinity and organic carbon in agricultural areas of Lesbos Island, Greece, using geoinformation technologies[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2023, 195(3): 391.
- [37] COSTA-GUTIERREZ SB, ADLER C, ESPINOSA-URTEL M, de CRISTÓBAL RE. *Pseudomonas putida* and its close relatives: mixing and mastering the perfect

- tune for plants[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(9): 3351-3367.
- [38] CHEBOTAR VK, ZAPLATKIN AN, CHIZHEVSKAYA EP, GANCHEVA MS, VOSHOL GP, MALFANOVA NV, BAGANOVA ME, KHOMYAKOV YV, PISHCHIK VN. Phytohormone production by the endophyte *Bacillus safensis* TS3 increases plant yield and alleviates salt stress[J]. *Plants*, 2024, 13(1): 75.
- [39] ZHANG SW, XU BL, GAN YT. Seed treatment with *Trichoderma longibrachiatum* T6 promotes wheat seedling growth under NaCl stress through activating the enzymatic and nonenzymatic antioxidant defense systems[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15): 3729.
- [40] BADAWY AA, ALOTAIBI MO, ABDELAZIZ AM, OSMAN MS, KHALIL AMA, SALEH AM, MOHAMMED AE, HASHEM AH. Enhancement of seawater stress tolerance in barley by the endophytic fungus *Aspergillus ochraceus*[J]. *Metabolites*, 2021, 11(7): 428.
- [41] CROUS PW, OSIECK ER, JURJEVI, BOERS J, van IPEREN AL, STARINK-WILLEMSE M, DIMA B, BALASHOV S, BULGAKOV TS, JOHNSTON PR, MOROZOVA OV, PINRUAN U, SOMMAI S, ALVARADO P, DECOCK CA, LEBEL T, MCMULLAN-FISHER S, MORENO G, SHIVAS RG, ZHAO L, et al. Fungal planet description sheets: 1284-1382[J]. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 2021, 47(1): 178-374.
- [42] CHEN WD, SHEARER CA, KLOPP J. Phylogenetic ordinal placement based on rDNA sequences of the freshwater Genera *Ophioceras* and *Pseudohalonectria*[J]. *Experimental Mycology*, 1995, 19(3): 191-201.
- [43] JIANG HB, HYDE KD, YANG EF, KAKUMYAN P, BAHKALI AH, ELGORBAN AM, KARUNARATHNA SC, PHOOKAMSAK R, LUMYONG S. Morphological and phylogenetic appraisal of *Ophioceras* (*Ophiocerales*, *Magnaporthales*)[J]. *PLoS One*, 2021, 16(8): e0253853.
- [44] REÁTEGUI RF, GLOER JB, CAMPBELL J, SHEARER CA. Ophiocerins A-D and ophioceric acid: tetrahydropyran derivatives and an africane sesquiterpenoid from the freshwater aquatic fungus *Ophioceras venezuelense*[J]. *Journal of Natural Products*, 2005, 68(5): 701-705.
- [45] DOU LR, HE KK, HIGAKI T, WANG XF, MAO TL. Ethylene signaling modulates cortical microtubule reassembly in response to salt stress[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(3): 2071-2081.
- [46] PENG JY, LI ZH, WEN X, LI WY, SHI H, YANG LS, ZHU HQ, GUO HW. Salt-induced stabilization of EIN3/EIL1 confers salinity tolerance by deterring ROS accumulation in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2014, 10(10): e1004664.
- [47] CAO WH, LIU J, HE XJ, MU RL, ZHOU HL, CHEN SY, ZHANG JS. Modulation of ethylene responses affects plant salt-stress responses[J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(2): 707-719.
- [48] SIDDIKEE MA, ZEREEN MI, WU M, ZHANG W, DAI CC. *Phomopsis liquidambaris* reduces ethylene biosynthesis in rice under salt stress via inhibiting the activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(10): 6215-6229.
- [49] ZHANG FL, WANG YH, LIU C, CHEN FJ, GE HL, TIAN FS, YANG TW, MA KS, ZHANG Y. *Trichoderma harzianum* mitigates salt stress in cucumber via multiple responses[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 170: 436-445.
- [50] MA FL, YANG XF, SHI ZY, MIAO XX. Novel crosstalk between ethylene- and jasmonic acid-pathway responses to a piercing-sucking insect in rice[J]. *New Phytologist*, 2020, 225(1): 474-487.