



研究报告

华重楼内生真菌聚多曲霉的促生与拮抗作用

杨涛^{1,2} 赵疆^{1,3} 魏亚琴¹ 方彦昊^{1,3} 王治业^{1,2} 李鑫^{1,3} 杨晖^{*1,3}

1 甘肃省科学院生物研究所 甘肃 兰州 730000

2 甘肃省微生物资源开发利用重点实验室 甘肃 兰州 730000

3 特色微生物与植物资源创新甘肃省国际科技合作基地 甘肃 兰州 730000

摘要:【背景】华重楼(*Paris polyphylla* var. *chinensis*)是我国一种名贵稀缺中药材,有多种药效,由于过度采挖等原因,其野生资源现已极度匮乏。华重楼的人工栽培技术尚未成熟,生长缓慢、病害频繁发生是主要的制约因素。【目的】植物益生菌的开发是一种环保且有效的解决途径,符合生态种植的要求。【方法】通过常规方法分离鉴定内生菌,选取已报道具有促生抗病作用的菌株进行玉米种子发芽试验,无氮培养基定性检测固氮活性,平板拮抗试验检测抗菌性;高效液相色谱-质谱联用技术(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS)检测其菌液的代谢成分;分光光度法检测华重楼幼苗丙二醛和叶绿素含量,LC-MS检测叶片水杨酸、茉莉酸、脱落酸、赤霉素、细胞分裂素、生长素的含量,测量华重楼地下部分生物量指标。【结果】分离得到一株菌jdqmzz-1,经rDNA ITS序列扩增比对、形态学观察、生理生化鉴定,确定为聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*);其可以促进玉米种子发芽和华重楼生长,具有固氮、拮抗病原真菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* GSICC 60612)、病原细菌胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pcc* ATCC 15713)的作用,真菌拮抗指数为42.50%,其菌液含有种类较多的促生和抑菌杀虫物质,菌液处理过的华重楼幼苗,叶片内源赤霉素和生长素含量较对照分别提高了54.1倍和2.3倍,叶绿素含量达到209.88 mg/g鲜重,较对照增加了48.80%,丙二醛含量较对照降低了15.20%;平均根数、平均根长、平均百株重较对照也有显著性($P<0.01$)提高。【结论】分离出的内生真菌聚多曲霉jdqmzz-1能够有效地促进华重楼的生长。

关键词: 华重楼, 聚多曲霉, 液相色谱质谱联用, 内源激素, 促生作用

Foundation items: Lanzhou Science and Technology Project (2019-1-77); Innovation Team Plan of Gansu Academy of Sciences (2019CX004-01); “Academy of Science Talent” Talent Program of Gansu Academy of Sciences (2019YC-02)

***Corresponding author:** E-mail: yanghui43@163.com

Received: 26-11-2020; **Accepted:** 07-02-2021; **Published online:** 19-03-2021

基金项目: 兰州市科技计划(2019-1-77); 甘肃省科学院创新团队计划(2019CX004-01); 甘肃省科学院“科院英才”人才项目(2019YC-02)

***通信作者:** E-mail: yanghui43@163.com

收稿日期: 2020-11-26; **接受日期:** 2021-02-07; **网络首发日期:** 2021-03-19

Growth promoting and antagonistic effects of endophytic fungus *Aspergillus sydowii* from *Paris polyphylla* var. *chinensis*

YANG Tao^{1,2} ZHAO Jiang^{1,3} WEI Yaqin¹ FANG Yanhao^{1,3} WANG Zhiye^{1,2}
LI Xin^{1,3} YANG Hui^{*1,3}

1 Institute of Biology, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou, Gansu 730000, China

2 Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application, Lanzhou, Gansu 730000, China

3 International Scientific and Technological Cooperation Base for Characteristic Microorganism and Plant Resource of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China

Abstract: [Background] *Paris polyphylla* var. *chinensis* is a kind of precious Chinese medicine materials. Over-exploitation leads to the lack of wild resources. The artificial cultivation is restricted by the poor growth and frequent occurrence of diseases. **[Objective]** Exploring of plant probiotics is an effective and environment friendly solution, according to the requirements of ecological planting. **[Methods]** Endophytic fungus was isolated by conventional methods and identified by comprehensive methods. The germination test of maize seeds was carried out for screening the isolated fungus which had been reported to promote growth and resist disease. The nitrogen fixation activity of microorganism was tested qualitatively by nitrogen-free agar. Antimicrobial activity was detected by plate antagonism test. High performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) were used to detected the metabolic components of microorganism and the contents of salicylic acid, jasmonic acid, abscisic acid, gibberellins, cytokinins, auxins in leaves. The underground biomass indexes were also measured. **[Results]** One of fungi was identified as *Aspergillus sydowii* by rDNA ITS sequencing, morphological observation, physiological and biochemistry identification, named jdqmzz-1. The strain jdqmzz-1 which contains kinds of stimulative, antibacterial, and insecticidal substances can promote the growth of *Paris polyphylla* var. *chinensis*, fix nitrogen, and antagonize pathogenic microorganism. The antagonistic index was 42.50%. The *Paris polyphylla* var. *chinensis* seedlings endogenous gibberellins and auxins in leaves were increased by 54.1 and 2.3 times, chlorophyll contents were increased by 48.80%, malondialdehyde contents were decreased by 15.20%, respectively, while treating with the strain. Average root numbers, root lengths and hundred plant weights of seedlings were also significantly increased. **[Conclusion]** The isolated endophytic fungus *Aspergillus sydowii* strain jdqmzz-1 can effectively promote the growth of *Paris polyphylla* var. *chinensis*.

Keywords: *Paris polyphylla* var. *chinensis*, *Aspergillus sydowii*, liquid chromatography-mass spectrometry, endogenous hormones, growth promoting effect

重楼是百合科(Liliaceae)重楼属(*Paris* L.)植物,已被收录入《国家重点保护野生植物名录》。2015版《中华人民共和国药典》仅收载滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)和七叶一枝花(*Paris polyphylla*)为药材重楼的基源植物^[1]。华重楼是其变种,主要分布在湖北、湖南、江西、贵州、浙江等长江中下游地区^[2],而另外一种变种狭叶重楼(*Paris polyphylla* var. *stenophylla*)主要分布在甘肃、陕西一带^[3]。重楼以干燥根茎入药,具有清热解

毒、消肿止痛、抗癌^[4-5]等功效。近年来华重楼需求量逐年增加,加之主产区乱采滥挖,野生种质资源遭到严重破坏。生态种植是保护华重楼资源、满足相关产业可持续发展的首选途径之一^[6],相较于中药材“Good Agricultural Practices (GAP)”种植,其更加强调过程管理和投入品的使用,禁止化学合成的肥料、农药的使用,鼓励植物源、微生物源等环境友好的生物产品的使用是其基本要求。

重楼生长缓慢, 对环境要求苛刻, 喜温暖湿润, 怕强光直射^[7], 过度光照会抑制光合作用而导致氧化损伤^[8]。此外, 根腐病也普遍发生, 是危及重楼生长的主要病害之一^[9]。关于重楼内生菌已有研究报道, 耿红等^[10]探究了滇重楼根的内生细菌多样性, 分离到的内生细菌归属 4 个门 5 个纲 7 个目 11 个科, 通过与小麦幼苗的共培养, 筛选获得 10 株具有促进生长作用的菌株。王艳等^[11]应用 Illumina MiSeq PE250 高通量测序技术对重楼根际土壤、根及根茎内生真菌进行多样性测定, 结果表明根茎内生菌主要分布于 51 个属, 其中相对百分含量前 5 的有 *Roseodiscus* (占比 83.30%)、*Cadophora* (占比 2.89%)、枝孢属(占比 2.15%)、*Oliveonia* (占比 1.40%)、曲霉属(占比 0.82%)。王茜等^[12]从滇重楼根、块茎、叶中分离内生真菌, 基于 rDNA ITS 序列分析和形态学方法进行鉴定, 结果表明镰刀菌属(*Fusarium*)分离率最高(0.87), 优势度为 11.62%; 曲霉属(*Aspergillus*)分离率较高(0.16), 优势度为 2.14%。综上所述, 重楼内生真菌的分离鉴定及多样性研究较多, 功能研究报道较少。曲霉属是重楼内生真菌优势属之一, 易于分离培养, 本研究拟从甘肃分布的华重楼中分离内生真菌, 研究曲霉属益生真菌功能, 及其对华重楼幼苗生理生化、内源激素水平的影响, 以期为促进、抗病益生菌及专用肥的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验所用药材及菌种

华重楼采自甘肃省平凉市华亭县关山, 海拔 2 500 m, 由甘肃省科学院生物研究所杨晖研究员根据中国植物志^[3]第 15 卷第 92 页对华重楼的形态学描述鉴定为华重楼。华重楼 2 年生种苗自繁于兰州市和平镇生物苑基地, 海拔 1 800 m。

根腐病病原真菌尖孢镰刀菌(*Fusarium*

oxysporum)分离自根腐病药用植物华重楼, 保藏于中国工业微生物菌种保藏中心甘肃分中心, 保藏号为 GSICC 60612; 腐烂病病原细菌胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pcc* ATCC 15713)购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

丙二醛测定试剂盒(分光光度法)、叶绿素测定试剂盒(分光光度法), 苏州科铭生物技术有限公司。Biolog 微生物鉴定仪, 珠海美华医疗科技有限公司。

马丁培养基(g/L): 蛋白胨 5.00, 磷酸氢二钾 1.00, 硫酸镁 0.50, 酵母浸出粉 2.00, 葡萄糖 20.00, 用于真菌的生长培养。阿须贝培养基(g/L): 磷酸二氢钾 0.20, 硫酸镁 0.20, 氯化钠 0.20, 碳酸钙 5.00, 甘露醇 10.00, 硫酸钙 0.10, 琼脂 15.00, 加入 0.5% 的刚果红 5 mL/L, 灭菌后制成平板备用, 用于固氮菌活性筛选。NBRIP 无机磷固体培养基(g/L): 葡萄糖 10.00, 磷酸钙 5.00, 氯化镁 5.00, 硫酸镁 0.20, 氯化钾 0.20, 硫酸铵 1.00, 琼脂 15.00, 用于真菌解磷能力的定性测定。虎红固体培养基(g/L): 蛋白胨 5.00, 葡萄糖 10.00, 磷酸二氢钾 1.00, 硫酸镁(无水) 0.50, 琼脂 20.00, 孟加拉红 0.03, 用于真菌的分离培养。

1.2 方法

1.2.1 聚多曲霉的分离鉴定

将采收的华重楼种子用自来水流水冲洗 10 min, 用滤纸吸干表面水分, 75% 的乙醇浸泡 30 s, 无菌水冲洗 2-3 遍, 再用 0.2% 的升汞浸泡 10 min, 无菌水冲洗 3-4 遍^[13], 以最后冲洗的无菌水 100 μ L 涂布于虎红固体培养基作为对照。将表面消毒处理后的华重楼种子用灭菌刀片切为小瓣, 放置于 200 $^{\circ}$ C 高温干热灭菌处理过的研钵中, 加入 10 mL 灭过菌的生理盐水, 充分研磨, 吸取上

述液体 100 μL 涂布于虎红固体培养基, 重复 3 次, 28 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养, 10 d 左右长出不同的真菌。挑少许菌丝到 PDA 平板上反复纯化 4–6 代, 4 $^{\circ}\text{C}$ 低温保存菌种。

采用 Biolog 微生物鉴定仪进行生理生化鉴定, 将分离内生菌的孢子悬液接种到含有多种碳、氮源及微量成分的微生物鉴定板中, 以第一个孔为空白对照, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 750 nm 处测吸光值。

采用 SDS 法提取菌株的 DNA^[14], 用引物 ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') PCR 扩增菌株 rDNA ITS 序列。PCR 反应体系(25 μL): 10 \times PCR 缓冲液 2.5 μL , dNTPs (2.5 mmol/L) 1.5 μL , 引物 ITS 1/4 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1.5 μL , *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ μL) 1 μL , 模板 1 μL , ddH₂O 16 μL 。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 92 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送北京擎科新业生物技术有限公司测序。测序结果提交 NCBI 数据库 BLAST 比对, MEGA 7.0 构建进化树。

1.2.2 内生菌对玉米种子发芽的影响试验

根据文献[15–16]方法, 选择分离出的具有促生、抗病作用的菌聚多曲霉、哈慈木霉 (*Trichoderma harzianum*) 进行玉米种子发芽试验。蘸取少量聚多曲霉、哈慈木霉菌体接种到 20 mL 马丁培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 3 d, 将培养好的菌液分别稀释 50 倍和 500 倍, 分别吸取 10 mL 加入 90 mm \times 15 mm 平皿中, 对照为吸取相同体积的无菌水加入平皿中, 每个平皿放入 100 粒玉米种子, 每处理重复 3 次, 25 $^{\circ}\text{C}$ 避光培养 48 h。计算种子发芽指数(Germination Index, GI)的公式^[17]:
$$\text{GI}(\%) = (A_1 \times A_2) / (B_1 \times B_2) \times 100$$

式中, A_1 : 处理后的种子发芽率(%); A_2 : 处理后的平均根长(mm); B_1 : 对照种子发芽率(%); B_2 : 对照平均根长(mm)。

1.2.3 聚多曲霉的功能分析

固氮活性定性检测: 从分离的聚多曲霉 j dqmzz-1 菌落边缘挑取少量菌丝接种于阿须贝培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 7 d, 观察菌落生长情况。

解磷能力定性检测: 将聚多曲霉 j dqmzz-1 接种于 NBRIP 无机磷固体培养基上, 置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 2–5 d, 观察有无解磷圈及解磷圈大小, 根据解磷圈与菌落比值大小确定其对无机磷的解磷作用。

拮抗性检测: 选取根腐病病原菌尖孢镰刀菌 (GSICC 60612) 与聚多曲霉 j dqmzz-1 进行平板拮抗试验。将尖孢镰刀菌接种在 PDA 培养基的正中央, 十字对称 20 mm 处接种聚多曲霉, 于 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中进行培养。观察菌落生长和抑菌圈状况, 计算拮抗指数的公式^[18]: 拮抗指数=(抑菌圈半径–拮抗菌半径)/拮抗菌半径。式中, 抑菌圈半径为拮抗菌菌落中心至病原菌菌丝边缘的距离。检测聚多曲霉 j dqmzz-1 菌液对腐烂病病原细菌胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(ATCC 15713)的抑菌效果。蘸取少量聚多曲霉菌体接种到 20 mL 马丁培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 3 d, 将胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(ATCC 15713)菌液均匀涂布于马丁培养基平板, 用无菌滤纸片蘸取聚多曲霉 j dqmzz-1 菌液并置于马丁平板上, 置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 2–5 d。

1.2.4 聚多曲霉菌液的 LC-MS 代谢组检测

蘸取少量聚多曲霉 j dqmzz-1 菌体接种到 50 mL 马丁培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡培养 3 d, 将培养的菌液 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液送南京集思慧远生物科技有限公司测定 LC-MS 代谢组学, 检索文献查找相关化合物的功能或潜在功能。

代谢组分析过程如下: (1) 代谢物提取: 取 5 mL 样本于 10 mL 离心管中, 放入冻干机中冻干 12 h; 向冻干后的样本加入 800 μL 的 80% 甲醇, 涡旋 1 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 超声 30 min, 于–20 $^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min; 取 200 μL 上清,

加入 5 μ L 内标(二氯苯丙氨酸 2.8 mg/mL), 转入进样小瓶中待 LC-MS 检测分析。(2) 上机检测。(3) 数据处理。

1.2.5 聚多曲霉对华重楼生长的影响

华重楼幼苗叶片内源激素含量检测: 以温室无土基质栽培的 2 年生华重楼种苗为研究对象, 采用完全随机试验设计, 重复 3 次; 以无菌水喷施处理为对照, 待 4 月中旬出苗后, 叶面喷施聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液, 浓度为 10^7 CFU/mL, 每 2 周喷施一次, 共处理 4 次。第 4 次处理后 1 周, 采摘不同处理的叶片, 送北京密码子生物科技有限公司测定内源激素含量, 通过 LC-MS 法测定水杨酸 (Salicylic Acid, SA)、茉莉酸 (Jasmonic Acid, JA)、脱落酸 (Absciscic Acid, ABA)、赤霉素 (Gibberellic Acid, GA)、细胞分裂素 (Cytokinin)、生长素 (Auxin) 含量。

华重楼幼苗叶片丙二醛、叶绿素含量检测: 以 2 年生大田华重楼种苗为研究对象, 采用完全随机试验设计, 重复 3 次。以无菌水喷施处理为对照, 待 5 月上旬出苗后, 叶面喷施聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液, 浓度为 10^7 CFU/mL, 每 2 周喷施一次, 共处理 4 次。第 4 次处理后 1 周, 采摘不同处理的叶片, 按照叶绿素及丙二醛测定试剂盒所述方法分别进行测定。

华重楼幼苗地下部分生物量测定: 11 月初待幼苗倒苗后, 收集温室苗和大田苗共同测定其地下部分生物量; 分别测量华重楼的根数和根长, 去除其根后, 留下根状茎, 测定根状茎百株重。

1.2.6 统计分析

使用 SPSS 22.0 软件进行方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 聚多曲霉的分离鉴定

从华重楼中分离得到一株真菌 *jdqmzz-1* (图 1): 菌丝绒状至絮状, 致密有同心环, 边缘白色, 初生颜色为灰绿色, 逐渐变为暗蓝褐色, 菌落反面暗褐色, 有大量渗出液, 色素扩散于基质中呈

褐色, 基本无气味或具轻微霉味; 生理生化鉴定结果与 Biolog 系统数据库比对, 初步鉴定为聚多曲霉; 此菌株 rDNA ITS 序列长度为 509 bp, 通过 NCBI BLAST 比对发现与曲霉属菌株 Z5 (MN 636770.1) 序列一致性为 100%, 分别选取 rDNA ITS 序列相似性最高的曲霉属菌株 Z5、已有文献报道的具有抗菌作用的聚多曲霉菌株 SW9^[19]、杀线虫作用的聚多曲霉菌株 *Snef210*^[20] 和有促生作用的聚多曲霉菌株 DJ515-2^[21], 曲霉属其他菌株包括黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) ATCC 16883、烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) ATCC 1022、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) ATCC 10074、寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus* Speare) CBS 260.67、土曲霉 (*Aspergillus terreus*) W0707、杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*) S66, 使用 MEGA 7.0 构建进化树(图 2), 此菌株与曲霉属菌株 Z5 亲缘关系最近, 其次是聚多曲霉菌株 DJ515-2 和 *Snef210*。结合形态学、生理生化鉴定结果(表 1)与测序比对结果, 可知筛选得到的真菌 *jdqmzz-1* 为聚多曲霉, 保藏于中国普通微生物菌种保藏中心, 编号为 CGMCC No.19278。

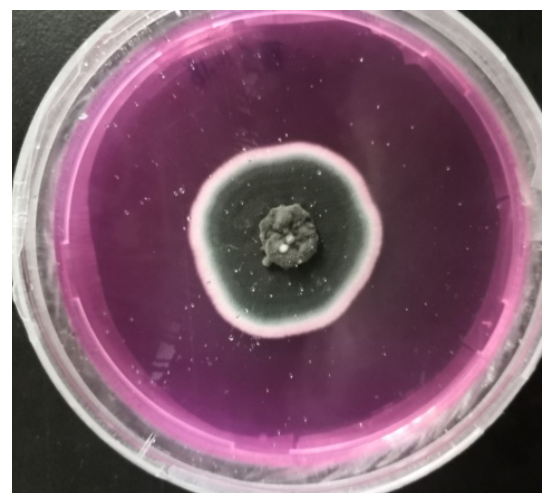


图 1 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 的培养形态

Figure 1 Culture morphology of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1*

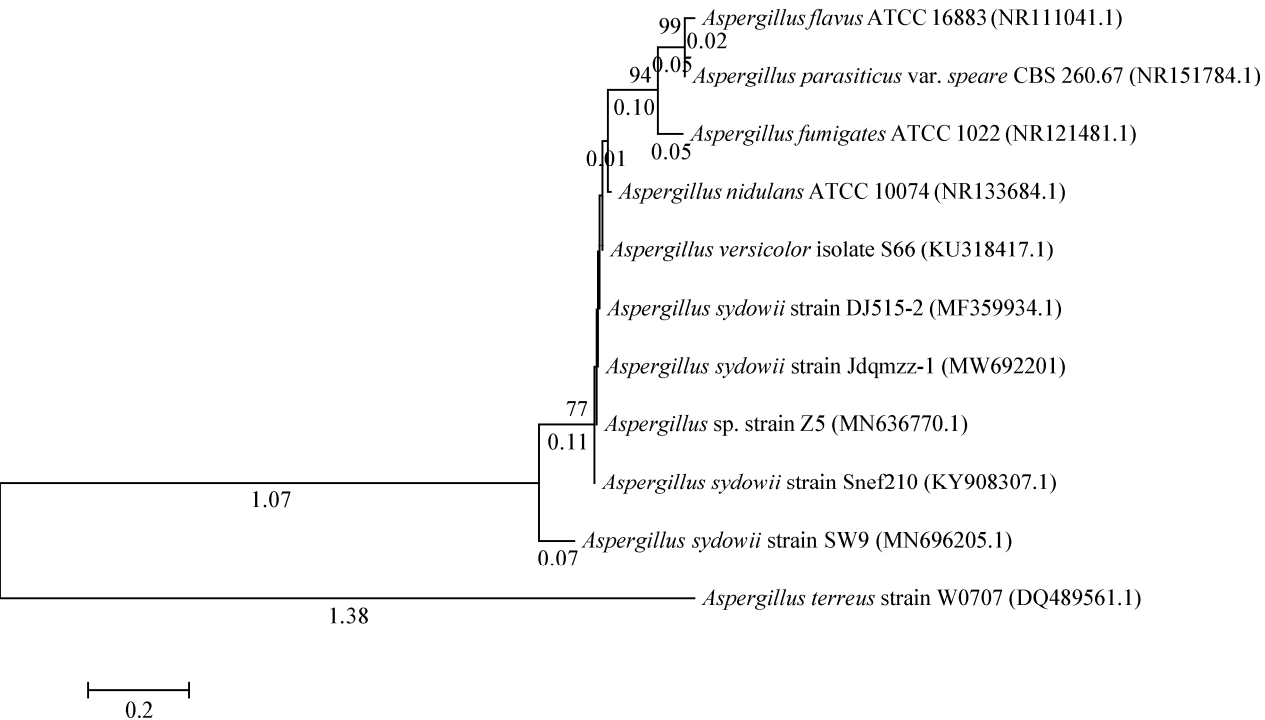


图 2 聚多曲霉 j dqmzz-1 系统进化树
Figure 2 Phylogenetic tree of *Aspergillus sydowii* strain j dqmzz-1

注：分离的内生真菌编号为 j dqmzz-1；括号内序号为 GenBank 序列号；分支点上的数字为自展值，自展值越大，可信度越高；分支上的数字为进化距离，进化距离越短代表差异越小；标尺为 0.2
Note: The number of isolated endophytic fungus is j dqmzz-1; The serial number in brackets is GenBank serial number; The number on the branch point is the self expanding value, the self expanding value larger, the reliability higher; The number on the branch is the evolutionary distance, the evolutionary distance shorter, the difference smaller; The scale is 0.2

表 1 菌株 j dqmzz-1 生理生化特征
Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain j dqmzz-1

碳氮源底物	结果	碳氮源底物	结果
Carbon and nitrogen source substrates	Results	Carbon and nitrogen source substrates	Results
N-乙酰基-D-半乳糖胺	—	D-葡萄糖醛酸	+
N-acetyl-D-galactosamine		D-glucuronic acid	
N-乙酰基-D-葡萄糖胺	+	丙三醇	—
N-acetyl-D-glucosamine		Glycerol	
N-乙酰胺-D-甘露糖胺	—	肝糖	—
N-acetamide-D-mannosamine		Liver sugar	
核糖醇	—	M 纤维醇	—
Ribose alcohol		M-cellulose alcohol	
杏仁苷	—	2-酮-D-葡萄糖酸	+
Amygdalin		2-keto-D-gluconic acid	
D-阿拉伯糖	—	α-D-乳糖	—
D-arabinose		α-D-lactose	
L-阿拉伯糖	—	乳果糖	—
L-arabinose		Lactulose	

(待续)

		(续表 1)	
D-阿拉伯醇	-	麦芽糖醇	-
D-arabinol		Maltitol	
熊果苷	+	麦芽糖	-
Arbutin		Maltose	
D-纤维二糖	-	麦芽三糖	-
D-cellobiose		Maltotriose	
α -环式糊精	-	D-甘露醇	-
α -cyclodextrin		D-mannitol	
β -环式糊精	-	D-甘露糖	-
β -cyclodextrin		D-glucomannose	
糊精	-	D-松三糖	-
Dextrin		D-melezitose	
赤藻糖醇	-	D-蜜二糖	-
Erythritol		D-cellobiose	
D-果糖	-	α -甲基-D-半乳糖苷	-
D-fructose		α -methyl-D-galactoside	
L-海藻糖	-	O-甲基-D-半乳糖苷	-
L-trehalose		O-methyl-D-galactoside	
D-半乳糖	-	α -甲基-D-葡萄糖苷	-
D-galactose		α -methyl-D-glucoside	
D-半乳糖醛酸	-	O-甲基-D-葡萄糖苷	-
D-galacturonic acid		O-methyl-D-glucoside	
龙胆二糖	-	6-O-D-吡喃葡萄糖酰-D-呋喃果糖	-
Gentian disaccharide		6-O-D-glucopyranosyl	
D-葡萄糖酸	+	D-阿洛酮糖	-
D-Gluconic acid		D-alulose	
D-葡萄糖胺	-	D-蜜三糖	-
D-glucosamine		D-melitriose	
α -D-葡萄糖	-	L-鼠李糖	-
α -D-glucose		L-rhamnose	
α -D-葡萄糖-1-磷酸盐	+	D-核糖	-
α -D-glucose-1-phosphate		D-核糖	
葡萄糖醛酰胺	-	D-核糖	-
Glucuronamide		D-核糖	
景天庚醛聚糖	-	琥珀酸	+
Sedum heptanaldecan		Succinic acid	
D-山梨醇	-	琥珀酸甲基酯	+
D-sorbitol		Methyl succinate	
L-山梨糖	-	L-丙氨酸酰胺	-
L-sorbose		L-alanine amide	
		(待续)	

(续表 1)

水苏糖	—	L-丙氨酸	+
Stachyose		L-alanine	
蔗糖	—	L-丙胺酰胺基乙酸	
Sucrose		L-propylamidoacetic acid	+
D-塔格糖	—	L-D-天冬酰胺	
D-tagatose		L-D-asparagine	+
K-海藻糖	—	L-D-天冬氨酸	
K-trehalose		L-D-aspartic acid	+
松二糖	—	L-谷氨酸	
Pinobiose		L-glutamic acid	+
木糖醇	—	甘氨酸-L-谷氨酸	
Xylitol		Glycyl-L-glutamic acid	+
D-木糖	+	鸟氨酸	
D-xylose		Ornithine	+
γ -氨基丁酸	+	L-苯基丙氨酸	
γ -aminobutyric acid		L-phenylalanine	+
溴代琥珀酸	—	脯氨酸	
Bromosuccinic acid		Proline	+
反丁烯二酸	+	焦谷氨酸	
Fumaric acid		Pyroglutamic acid	+
O-羟基丁酸	+	L-丝氨酸	
O-hydroxybutyric acid		L-serine	+
γ -羟基丁酸	—	L-苏氨酸	
γ -hydroxybutyric acid		L-threonine	—
P-羟苯乙脂	+	2-氨基乙醇	
P-hydroxyacetophenone		2-aminoethanol	—
α -酮戊二酸	+	腐苷	
α -ketoglutarate		Putrescin	—
D-乳酸甲基酯	—	腺苷	
D-lactate methyl ester		Adenosine	—
L-乳酸	+	尿苷	
L-lactic acid		Uridine	—
L-苹果酸	+	腺苷-5'-磷酸盐	
L-malic acid		Adenosine-5'-phosphate	—
苹果酸	+	癸二酸	
Malic acid		Sebacic acid	—
奎尼酸	+	D-葡萄糖二酸	+
Quinic acid		D-Gluconic acid	

注：+：阳性，表明菌株可以利用底物；—：阴性，表明菌株不能利用底物

Note: +: Positive, indicated that the strain could utilize the substrate; —: Negative, indicated that the strain could not utilize the substrate

2.2 内生菌对玉米种子发芽的影响

分别将分离得到的华重楼内生真菌聚多曲霉 *jdqmzz-1*、哈茨木霉 CL1 的菌液稀释 50 倍和 500 倍进行种子发芽试验, 对照为无菌水处理。玉米种子的发芽指数 GI 统计结果如表 2 所示, 根据统计结果可知, 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 相较于哈茨木霉 CL1, 可极显著($P<0.01$)促进玉米种子的萌发生长。

2.3 聚多曲霉的功能分析

将分离得到的内生真菌聚多曲霉 *jdqmzz-1* 接种到无氮阿须贝培养基上, 如图 3A 所示, 聚多曲霉可以固氮, 无氮培养基上菌落清晰可见; 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 在 NBRIP 无机磷固体培养基上生长无明显溶磷圈, 表明其不解磷。聚多曲霉 *jdqmzz-1* 与尖孢镰刀菌平板拮抗如图 3B 所示, 其菌落浓密, 呈圆形或椭圆形, 与病原菌的接触面呈凸出月牙形, 抑菌平板呈黄褐色, 病原菌生长抑制明

显, 拮抗指数是 42.50%。如图 3C 所示, 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液对病原细菌的抑菌作用明显。

2.4 聚多曲霉菌液 LC-MS 代谢组检测

聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液正负离子色谱图见图 4。芬克洛宁为内参物质, 菌液代谢物质组成及相对内参物的峰面积比值见表 3, 比值越大, 表示含量相对越高。由表 3 可知, 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液含有多种促生、杀虫、抑菌物质。促生作用的物质主要有玉米赤霉烯酮、甜菜碱、对硝基苯酚; 抑菌物质主要有邻苯二甲酸酐、对硝基苯甲酸、*N,N*-二乙基乙醇胺、2-乙基己酸、水苏碱、儿茶酸、杜鹃花酸、异辛酸、马来酸、壬二酸、氯霉素、乳酸; 杀虫物质主要有邻苯二甲酸酐、邻苯二甲酸二丁酯、4-乙基苯胺、白僵菌素、邻苯二甲酸苄丁酯、硬脂胺、尼古丁、己二酸、月桂酸; 抗氧化功能物质主要有壬基酚、儿茶酸、羟基脯氨酸。

表 2 玉米种子发芽指数统计结果

Table 2 Statistical results of germination index of maize seeds

稀释倍数	聚多曲霉处理	哈茨木霉处理
Dilution ratio	Treatment of <i>Aspergillus sydowii</i>	Treatment of <i>Trichoderma harzianum</i>
50 倍稀释 50 times dilution	4.353±0.011A	1.485±0.011C
500 倍稀释 500 times dilution	1.881±0.008B	1.224±0.027D

注: 数据以平均值±标准差表示($n=3$), 大写字母代表发芽指数 LSD 法多重比较($P<0.01$)

Note: Datas are expressed as mean±standard deviation ($n=3$), capital letters represent germination index LSD method multiple comparison ($P<0.01$)

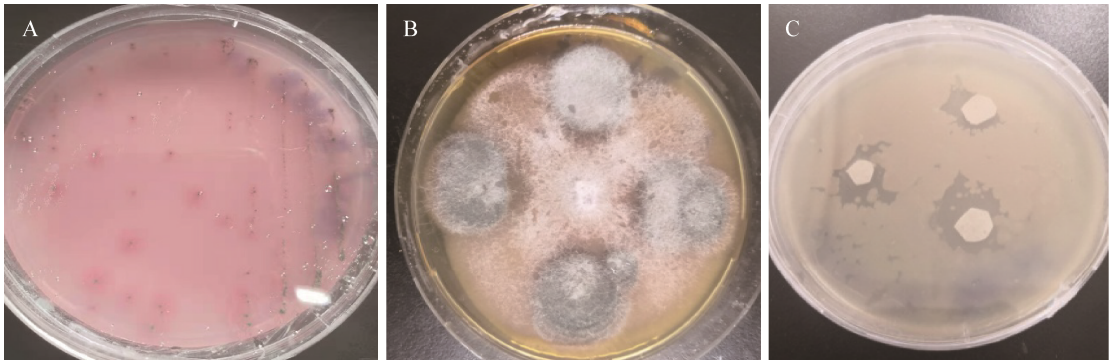


图 3 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 的功能分析

Figure 3 Functional analysis of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1*

注: A: 固氮活性检测; B: 与病原真菌拮抗; C: 与病原细菌拮抗

Note: A: Determination of nitrogen fixation activity; B: Antagonistic activity against pathogenic fungus; C: Antagonistic activity against pathogenic bacteria

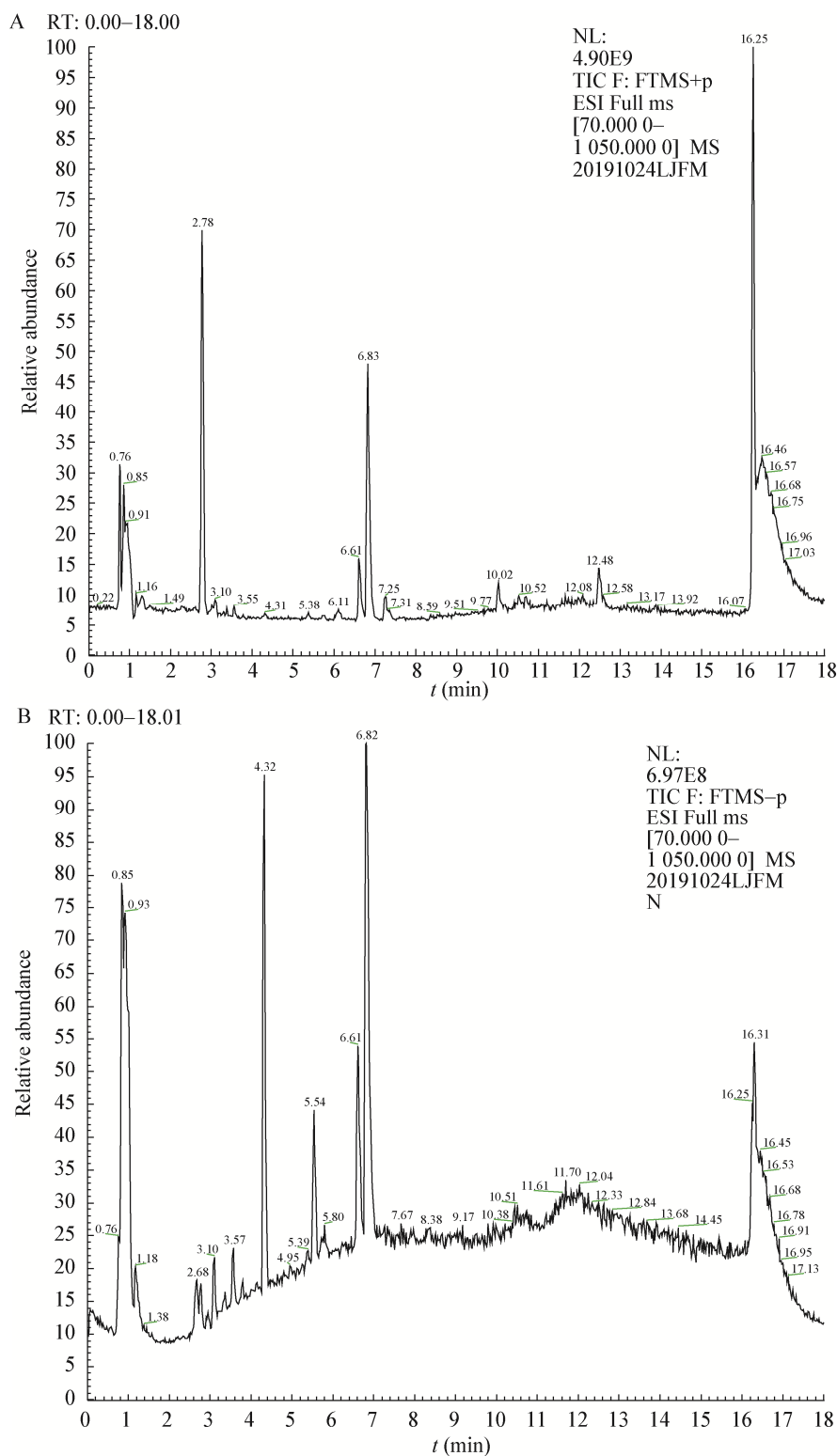


图 4 聚多曲霉菌液总离子流色谱图

Figure 4 Total ion flow chromatogram of *Aspergillus sydowii* strain jdqmzz-1

注: A: 正离子流色谱图(ESI+); B: 负离子流色谱图(ESI-)

Note: A: Positive ion flow chromatogram (ESI+); B: Negative ion flow chromatogram (ESI-)

表 3 聚多曲霉菌液的代谢物成分与相对含量
Table 3 Metabolites and relative contents of *Aspergillus sydowii* strain jdqmzz-1

代谢物 Metabolite	相对内参物峰面积比值 Ratio of peak area to internal reference	代谢物 Metabolite	相对内参物峰面积比值 Ratio of peak area to internal reference
邻苯二甲酸酐 Phthalic anhydride	5.253	邻苯二甲酸苄丁酯 Benzyl butyl phthalate	0.315
壬基酚 Nonylphenol	5.006	对硝基苯甲酸 P-nitrobenzoic acid	0.210
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	4.112	邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	0.205
儿茶酸 Catechuic acid	3.038	胆碱 Choline	0.173
玉米赤霉烯酮 Zearalenone	2.025	对硝基苯酚 P-nitrophenol	0.166
氯霉素 Chloramphenicol	1.588	特乐酚 Dinoterb	0.110
芬克洛宁 Finclonine	1.000	丙烯酸 Acrylic acid	0.074
水苏碱 Stachydrine	0.646	乳酸 Lactic acid	0.071
异辛酸 Isooctanoic acid	0.508	壬酸 Nonanoic acid	0.061
2-乙基己酸 2-ethylhexanoic acid	0.509	邻苯二甲酸正丁酯 Dibutyl phthalate	0.060
甜菜碱 Betaine	0.442	丙烯腈 Acrylonitrile	0.058
壬二酸 Azelaic acid	0.394	苯丙氨酸 Phenylalanine	0.053
杜鹃花酸 Rhododendronic acid	0.394	尼古丁 Nicotine	0.044
芥酸酰胺 Erucic acid amide	0.043	白僵菌素 Beauverine	0.022
己二酸 Adipic acid	0.039	苯丙氨酸 Phenylalanine	0.019
乙腈 Acetonitrile	0.038	羟基脯氨酸 Hydroxyproline	0.018
N,N-二乙基乙醇胺 N,N-diethylethanolamine	0.035	可可碱 Theobromine	0.011
甲基丁二酸 Methyl succinic acid	0.034	硬脂胺 Stearylamine	0.006
月桂酸 Lauric acid	0.034	马来酸 Maleic acid	0.003
4-乙基苯胺 4-ethylaniline	0.028		

2.5 聚多曲霉对华重楼生长的影响

聚多曲霉 jdqmzz-1 菌液处理的华重楼幼苗，叶片内源激素含量如图 5A 所示，菌液处理较对照水杨酸、茉莉酸、脱落酸、细胞分裂素的含量极

显著下降($P<0.01$)，分别下降了 16.11%、40.00%、24.44%、20.90%；赤霉素和生长素的含量极显著升高($P<0.01$)，分别达到了 1 598.72 ng/g 和 35.80 ng/g，是对照的 54.1 倍和 2.3 倍，促进生长的激素含量上

升,胁迫相关激素含量下降,尤其是赤霉素的绝对含量远高于其他激素。菌液处理的华重楼幼苗丙二醛和叶绿素含量如图 5B 所示,较对照差异均达到极显著水平($P<0.01$),丙二醛含量降低了 15.20%,叶绿素含量增加了 48.80%,达到了 209.88 mg/g 鲜重。丙二醛含量下降,叶绿素含量

升高,表明 *jdqmzz-1* 菌液处理起到了胁迫保护和增强光合作用的效果。聚多曲霉 *jdqmzz-1* 处理的华重楼幼苗平均根数、平均根长及平均百株重如表 4 所示,较对照有显著差异($P<0.05$),平均根长增加了 47.70%,平均根数增加了 54.00%,平均百株重增加了 67.60%。

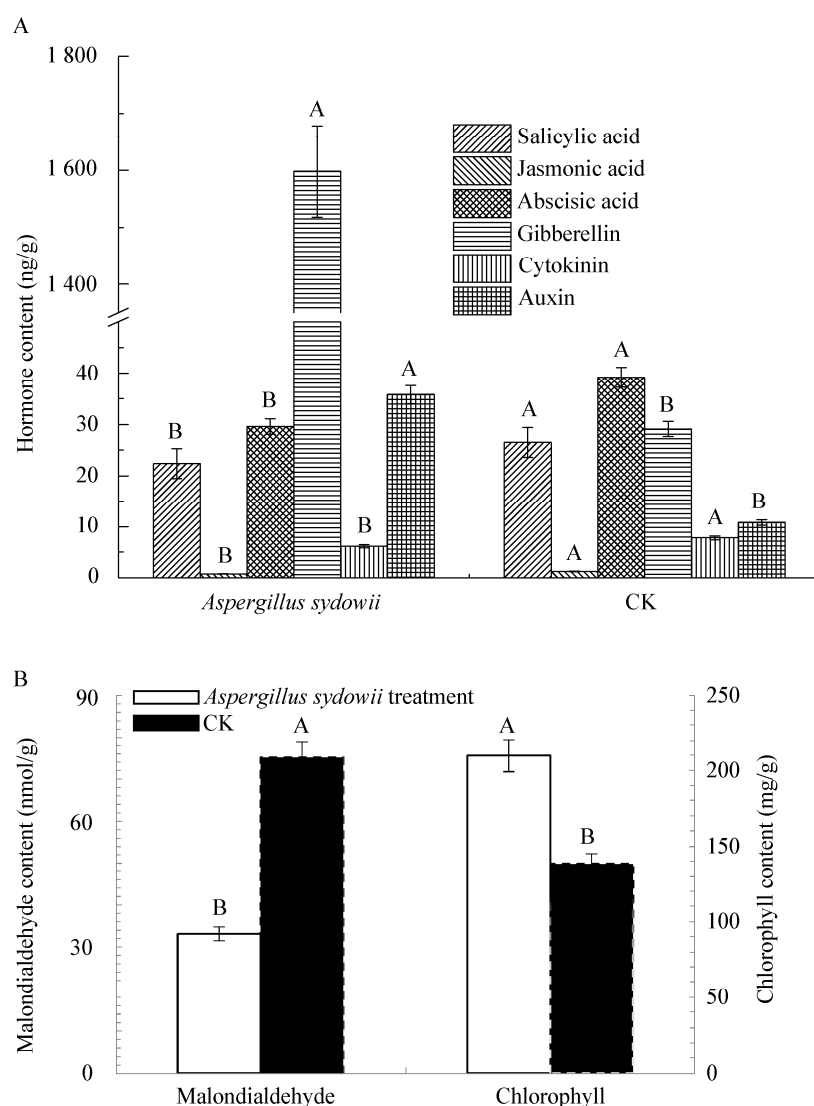


图 5 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 对华重楼生理生化指标的影响

Figure 5 Effects of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1* on physiological and biochemical indexes of seedlings

注: A: 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 对幼苗内源激素含量的影响; B: 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 对幼苗丙二醛和叶绿素含量的影响。大写字母代表 LSD 法多重比较($P<0.01$)

Note: A: Effect of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1* on endogenous hormone content of seedlings; B: Effect of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1* on malondialdehyde and chlorophyll content of seedlings. Capital letters represent LSD method multiple comparison ($P<0.01$)

表 4 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 对华重楼地下部分生物量的影响
Table 4 Effect of *Aspergillus sydowii* strain *jdqmzz-1* on underground biomass of seedlings

地下部分生物量 Underground biomass	聚多曲霉 <i>Aspergillus sydowii</i>	CK
平均根长 Average root length (cm)	6.400±0.557a	4.333±0.351b
平均根数 Average of roots number	4.467±0.208a	2.900±0.264b
平均百株重 Average hundred plant weight (g)	6.033±0.473a	3.600±0.458b

注: 数据以平均值±标准差表示($n=3$), 小写字母代表 LSD 法多重比较($P<0.05$)
Note: Datas are expressed as mean ± standard deviation ($n=3$), lowercase letters represented multiple comparisons at the level of significant difference ($P<0.05$)

2.6 不同指标的相关性分析

聚多曲霉 *jdqmzz-1* 处理差异显著的指标进行相关性分析如表 5 所示。水杨酸与脱落酸、丙二醛呈正相关, 而与赤霉素、生长素、平均根数、平均根长、平均百株重、叶绿素呈负相关; 茉莉酸与脱落酸、丙二醛呈正相关, 而与赤霉素、生长素、平均根数、叶绿素呈负相关; 脱落酸与丙二醛呈正相关, 而与赤霉素、生长素、平均根数、平均根长、平均百株重、叶绿素呈负相关; 赤霉素与丙二醛呈负相关, 而与生长素、平均根数、平均根长、平均百株重、叶绿素呈正相关; 细胞分裂素与丙二醛正相关, 与叶绿素负相关; 生长素与丙二醛负相关, 与平均根数、平均根长、平均百株重、叶绿素呈正相关; 丙二醛与叶绿素负相关; 平均根数、平均根长、平均百株重彼此之间正相关, 分别与丙二醛负相关, 而与叶绿素正相关。相关系数绝对值较大, 表明相关性较强。

3 讨论与结论

氮素是植物生长发育过程中的必需元素, 微生物可以通过固氮作用直接促进植物生长^[22]。重楼是一种喜氮作物, 氮素能促进华重楼光合速率提高和生物量累积^[23]。本研究分离到的内生真菌分别属于镰刀菌属、曲霉属、木霉属 (*Trichoderma*)、新赤壳属(*Neocosmospora*), 其中一株曲霉属菌株聚多曲霉 *jdqmzz-1* 具有固氮作用, 分泌促生和抑菌杀虫物质, 对根腐病原菌尖孢镰刀菌(GSICC 60612)、细菌性软腐病原菌胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(ATCC 15713)具

有拮抗作用。Niu 等^[24]从深海中分离到一株聚多曲霉 MCCC 3A00324, 可以产生单萜类和聚酮类化合物, 具有抗菌作用。本研究聚多曲霉 *jdqmzz-1* 产生的抗菌杀虫物质不同, 主要为苯环型化合物、有机酸类化合物、聚酮类化合物、吡啶类化合物等。

聚多曲霉 *jdqmzz-1* 促进华重楼幼苗生长的作用显著, 其分泌的促生成分有玉米赤霉烯酮、甜菜碱、对硝基苯酚, 抗氧化剂有壬基酚、儿茶酸、羟基脯氨酸。玉米赤霉烯酮有促进萝卜黄化子叶变绿和增重的作用^[25], 甜菜碱具有植物促生作用^[26], 对硝基苯酚对生根具有促进作用; 壬基酚和儿茶酸激活植物抗氧化酶系统, 从而减轻过度光照对作物产生的氧化损伤^[27-28], 羟基脯氨酸是最主要的抗胁迫物质之一。综上所述, 聚多曲霉 *jdqmzz-1* 菌液具有直接的促生和胁迫保护作用。聚多曲霉 *jdqmzz-1* 处理华重楼幼苗, 叶绿素、赤霉素、生长素含量显著提高, 丙二醛、水杨酸、茉莉酸、脱落酸含量显著降低。叶绿素、赤霉素、生长素与植物生物量存在正相关关系是本领域的公知常识, 也有报道认为赤霉素可以提高叶绿素含量, 从而提高植物叶片的光合性能^[29], 本研究结果也表明赤霉素与叶绿素存在正相关关系。水杨酸、茉莉酸、脱落酸这 3 种胁迫相关激素及丙二醛含量显著降低, 从植物生理生化的角度印证了其分泌物具有直接的胁迫保护作用, 不激活抗性基因的过表达, 避免了生物量受到影响。当植物生长过程中遭受生物和非生物胁迫时, 水杨酸、茉莉酸、脱落酸大量合成, 诱导抗病相关和非生物胁迫抗性相关基因表达, 提高抗性生理功能,

表 5 相关指标相关性分析

Table 5 Correlation analysis of related indexes

水杨酸 Salicylic acid	茉莉酸 Jasmonic acid	脱落酸 Absciscic acid	赤霉素 Gibberellin	细胞分裂素 Cytokinin	生长素 Auxin	平均根数 Average of roots number	平均根长 Average root length	平均百株重 Average hundred plant weight	丙二醛 Malondialdehyde	叶绿素 Chlorophyll
1										
Salicylic acid	0.805	1								
Jasmonic acid	0.921**	0.855*	1							
Absciscic acid	-0.949**	-0.882*		1						
Gibberellin	0.614	0.551	0.788	-0.758	1					
Cytokinin	-0.931**	-0.873*	-0.989**	0.998**	-0.771	1				
Auxin	-0.961**	-0.866*	-0.955**	0.971**	-0.768	0.957**	1			
平均根数	-0.955**	-0.761	-0.945**	0.939**	-0.783	0.927**	0.978**	1		
Average of roots number	-0.920**	-0.707	-0.947**	0.955**	-0.763	0.960**	0.903*	0.915*	1	
平均根长	0.931**	0.970**	0.985**	-0.999**	0.909*	-0.998**	-0.965**	-0.985**	-0.964**	1
Average hundred plant weight	-0.944**	-0.977**	-0.992**	0.988**	-0.928**	0.996**	0.953**	0.971**	-0.998**	1
丙二醛										
Malondialdehyde										
叶绿素										
Chlorophyll										

注：*：显著相关($P<0.05$, $n=3$)；**：极显著相关($P<0.01$, $n=3$)
Note：*：Significant correlation ($P<0.05$, $n=3$)；**：Extremely significant correlation ($P<0.01$, $n=3$)

降低生长速率^[30-31], 而聚多曲霉 *jdqmzz-1* 没有激活水杨酸、茉莉酸、脱落酸的上调表达, 但显著促进生长、提高胁迫抗性, 除了与其分泌物有关外, 深层机理有待通过组学联用技术深入研究。

REFERENCES

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015 Edition (Part I)[S]. Beijing, China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2015: 36 (in Chinese)
国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版(一部)[S]. 北京, 中国医药科技出版社, 2015: 36
- [2] Wang L, Zhang YB, Li JX, Zhang XM. Effect of different shading on photosynthesis and physiological characteristics of *Paris Polyphylla*[J]. Northern Horticulture, 2015(8): 73-77 (in Chinese)
王岚, 张宇斌, 李建新, 张习敏. 遮阴对七叶一枝花光合和生理特性的影响[J]. 北方园艺, 2015(8): 73-77
- [3] Editorial Committee of flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1999: 84 (in Chinese)
中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 84
- [4] Zhou BX, Ma CQ, Zheng CQ, Xia T, Ma BS, Liu XH. 3-methylxanthine production through biodegradation of theobromine by *Aspergillus sydowii* PT-2[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 269
- [5] Matkar K, Chapla D, Divecha J, Nigohjkar A, Madamwar D. Production of cellulase by a newly isolated strain of *Aspergillus sydowii* and its optimization under submerged fermentation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 78: 24-33
- [6] Guo LP, Wang TL, Yang WZ, Zhou LY, Chen NF, Han BX, Huang LQ. Ecological agriculture: future of agriculture for Chinese material medica[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(2): 231-238 (in Chinese)
郭兰萍, 王铁霖, 杨婉珍, 周良云, 陈乃富, 韩邦兴, 黄璐琦. 生态农业: 中药农业的必由之路[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 231-238
- [7] Da Silva Lima G, Da Rocha AM, Dos Santos GF, D'Silva AF, Marriel IE, Takahashi JA. Metabolic response of *Aspergillus sydowii* to OSMAC modulation produces acetylcholinesterase inhibitors[J]. Phytochemistry Letters, 2018, 24: 39-45
- [8] Chai SF, Zhuang XY, Wei X, Wang ML, Tang JM, Chen ZY. Effects of light intensity on photosynthesis and physiological characteristics in seedlings of *Camellia pubipetala*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(3): 547-554 (in Chinese)
- 柴胜丰, 庄雪影, 韦霄, 王满莲, 唐建明, 陈宗游. 光照强度对濒危植物毛瓣金花茶光合生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2013, 33(3): 547-554
- [9] Zhao CC, Hong YD, Liu L, Zhang ZY, Xiong ZY, Wu JR. Identification of pathogen of root rot of *Paris Polyphylla* var. *yunnanensis* and *Bletilla striata*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2019, 47(5): 28-30, 35 (in Chinese)
赵彩呈, 洪英娣, 刘丽, 张珍荫, 熊正勇, 伍建榕. 丽江滇重楼和白芨根腐病原菌鉴定[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(5): 28-30, 35
- [10] Geng H, Pei T, Miao LY, Gan Z, Liu T, Zhang P. Endophytic bacterial diversity analysis of the roots of *Paris Polyphylla* var. *yunnanensis* and screening of growth-promoting bacteria[J]. Journal of South-Central University for Nationalities: Natural Science Edition, 2020, 39(1): 41-45 (in Chinese)
耿红, 裴婷, 苗莉云, 甘喆, 刘婷, 张鹏. 滇重楼根可培养内生细菌多样性分析及促生菌筛选[J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2020, 39(1): 41-45
- [11] Wang Y, Chang F, Cheng HY, Jia FA, Cheng JX, Wang HP. Fungal diversity and differential analysis of fungi community composition in *Paris Polyphylla* var. *chinensis* rhizosphere and endophytic[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(5): 1232-1237 (in Chinese)
王艳, 常帆, 程虎印, 贾凤安, 程江雪, 王汉屏. 重楼根际及药用部位内生真菌多样性与群落结构差异分析[J]. 中草药, 2019, 50(5): 1232-1237
- [12] Wang Q, Shen SK, Zhang AL, Wu CY, Wu FQ, Zhang XJ, Wang YH. Isolation and diversity analyses of endophytic fungi from *Paris Polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(22): 3838-3844 (in Chinese)
王茜, 申仕康, 张爱丽, 吴春妍, 吴富勤, 张新军, 王跃华. 滇重楼内生真菌分离与多样性研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3838-3844
- [13] Li J, Song XP, Liu HL, Yang LX. Optimization of sterilized scheme of explants of *Taxus chinensis* var. *mairer*[J]. Journal of Fujian Forestry Science and Technology, 2006, 33(2): 132-135, 143 (in Chinese)
李健, 宋晓平, 刘海隆, 杨柳絮. 正交试验优选南方红豆杉外植体的消毒方案[J]. 福建林业科技, 2006, 33(2): 132-135, 143
- [14] Li HY, Fu TT, Zhang Y, Lv TY, Li Y, Xu BL. Effect comparison of five methods to extract fungal genomic DNA as PCR templates[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(16): 28-35 (in Chinese)
李焕宇, 付婷婷, 张云, 吕天佑, 李远, 徐秉良. 5 种方法提取真菌基因组 DNA 作为 PCR 模板效果的比较[J]. 中国

农学通报, 2017, 33(16): 28-35

- [15] Liu C, Zhang XY, Cai WY, Xu HW, Zhou XF. Study on growth-promoting mechanism of *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* to cucumber seedlings[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(16): 156-160 (in Chinese)
刘畅, 张欣玥, 蔡汶妤, 徐洪伟, 周晓馥. 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗促生作用机理的研究[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(16): 156-160
- [16] Chen K, Li JS, Wang YL, Wei YL, Hu JD, Yang HT. Storage stability and biocontrol efficiency of *Trichoderma harzianum* recombinant strain L-15 and wild strain LTR-2[J]. Plant Protection, 2020, 46(4): 91-97 (in Chinese)
陈凯, 李纪顺, 王贻莲, 魏艳丽, 扈进冬, 杨合同. 哈茨木霉重组株 L-15 与野生株 LTR-2 贮存稳定性及生防活性研究[J]. 植物保护, 2020, 46(4): 91-97
- [17] Tang JW, Zhu LZ. Effects of different composting conditions on seed germination index[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2008, 49(5): 583-586 (in Chinese)
汤江武, 朱利中. 不同堆肥条件对种子发芽指数影响的研究[J]. 浙江农业科学, 2008, 49(5): 583-586
- [18] Zou LF, Hou XW, Li GY, Zou YK, Li QF. Screening of a strain of antagonistic bacteria against muskmelon *Fusarium* wilt and a preliminary report of the control effect[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(1): 72-75, 78 (in Chinese)
邹立飞, 侯宪文, 李光义, 邹雨坤, 李勤奋. 一株甜瓜枯萎病病原拮抗菌的筛选与防治效果初报[J]. 广东农业科学, 2013, 40(1): 72-75, 78
- [19] Liu YJ, Zhang JL, Li C, Mu XG, Liu XL, Wang L, Zhao YC, Zhang P, Li XD, Zhang XX. Antimicrobial secondary metabolites from the seawater-derived fungus *Aspergillus sydowii* SW₉[J]. Molecules, 2019, 24(24): 4596
- [20] Wang S, Guo LY, Zhu XF, Wang YY, Fan HY, Duan YX, Chen LJ. Toxicity of fungus Snf210 against *Meloidogyne incognita* in tomato[J]. Plant Protection, 2018, 44(6): 55-60 (in Chinese)
王帅, 郭龙玉, 朱晓峰, 王媛媛, 范海燕, 段玉玺, 陈立杰. 聚多曲霉 Snf210 对南方根结线虫毒性的研究[J]. 植物保护, 2018, 44(6): 55-60
- [21] Wang T, Zhang HL, Zou LY, Yu HY, Huang ZX, Teng Y. Effect of *Aspergillus sydowii* on seed germination, growth, and Cd uptake of *Brassica juncea* under Cd stress[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2018, 27(3): 25-32 (in Chinese)
王涛, 张海利, 邹路易, 郁红艳, 黄振兴, 滕跃. 聚多曲霉菌对 Cd 胁迫下芥菜种子萌发、生长和 Cd 吸收的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(3): 25-32
- [22] Li WT, Luo D, Huang JN, Wang LL, Zhang FG, Xi T, Liao JM, Lu YY. Antibacterial constituents from Antarctic fungus, *Aspergillus sydowii* SP-1[J]. Natural Product Research, 2018, 32(6): 662-667
- [23] Mou Y. Effects of several constant elements (N, P, K) and trace elements (B, Mo, La) on growth and saponin of *Paris Polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch) Hara[D]. Ya'an: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2016 (in Chinese)
牟杨. 几种常量元素(N、P、K)和微量元素(B、Mo、La)对华重楼生长及皂苷含量的影响[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2016
- [24] Niu SW, Yang LH, Chen TT, Hong BH, Pei SX, Shao ZZ, Zhang GY. New monoterpenoids and polyketides from the deep-sea sediment-derived fungus *Aspergillus sydowii* MCCC 3A00324[J]. Marine Drugs, 2020, 18(11): 561
- [25] Wu FY, Cui J, Yang XY, Liu SD, Han SJ, Chen BJ. Effects of zearalenone on genital organ development, serum immunoglobulin, antioxidant capacity, sex hormones and liver function of prepubertal gilts[J]. Toxicon, 2021, 189: 39-44
- [26] Hayes MA, Shor AC, Jesse A, Miller C, Kennedy JP, Feller I. The role of glycine betaine in range expansions; protecting mangroves against extreme freeze events[J]. Journal of Ecology, 2020, 108(1): 61-69
- [27] Jia LX. Study on the adsorption-desorption and migration of nonylphenol in soil and its biological toxicity to cherry tomato[D]. Haikou: Master's Thesis of Hainan University, 2017 (in Chinese)
贾林贤. 壬基酚在土壤中吸附—解吸、迁移行为及其对小番茄的生物毒性研究[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2017
- [28] Bhujbal NN, Bande OP, Dhavale DD. Catechuic acid and ethyl 2,4,5-trihydroxybenzoate from *D-glucose*[J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(6): 734-738
- [29] Zhang XQ, Zhong ZH, Lai RY, Lin JZ, Xie ZN. Effects of gibberellin on growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Annona squamosa* L.[J]. South China Fruits, 2020, 49(5): 64-67, 72 (in Chinese)
张雪芹, 钟赞华, 赖瑞云, 林建忠, 谢志南. 赤霉素对凤梨释迦生长和叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国南方果树, 2020, 49(5): 64-67, 72
- [30] Gu XY, Liu Y, Liu LJ. Progress on the biosynthesis and signal transduction of phytohormone salicylic acid[J]. Hereditas: Beijing, 2020, 42(9): 858-869 (in Chinese)
谷晓勇, 刘扬, 刘利静. 植物激素水杨酸生物合成和信号转导研究进展[J]. 遗传, 2020, 42(9): 858-869
- [31] Yang TY, Han XN, Xu YX, Tang JX, Zhan K, Wu JS, Wang L. Effects of foliar sprayed methyl jasmonate on potato minituber growth and yield[J]. Subtropical Plant Science, 2020, 49(4): 247-252 (in Chinese)
杨天宇, 韩小女, 徐尤先, 汤金香, 展康, 吴劲松, 王蕾. 叶面喷施茉莉酸甲酯对马铃薯微型薯生长及产量的影响[J]. 亚热带植物科学, 2020, 49(4): 247-252