

DOI:10.14188/j.ajsh.20250616001

一株高效产 IAA 枳壳内生真菌菌株的筛选鉴定及其促生作用

黄忠祥¹, 余雅思^{2,3}, 孙惠^{2,3}, 闵捷^{2,3}, 欧阳建萍^{2,3}, 陈晔^{2,3,4}, 何刚^{2,3,4*}

- 江西省药品检查员中心, 江西 南昌 330001;
- 九江学院 药学与生命科学学院, 江西 九江 332005;
- 九江市真菌资源保育及应用重点实验室, 江西 九江 332005;
- 江西省长江流域产业生态模拟与环境健康重点实验室, 江西 九江 332005)

摘要: 植物内生真菌功能活性菌株对植物有促生作用, 以 35 株前期从枳壳中分离得到的内生真菌为研究对象, 通过 Salkowski 显色法筛选具备产吲哚-3-乙酸 (IAA) 能力的功能活性菌株。结合形态学特征观察和 rDNA ITS 序列分析对筛选出的目标菌株进行分类学鉴定, 并通过回接实验和盆栽试验验证其促生效果。结果显示: 从 35 株枳壳内生真菌中成功筛选出 1 株高效产吲哚乙酸 (IAA) 的功能活性菌株 (编号: ZYY007)。经形态学观察并结合分子生物学鉴定, 该菌株为层出镰刀菌 (*Fusarium proliferatum*); 通过正交试验设计对 ZYY007 菌株的发酵条件进行优化, 确定其产 IAA 的最佳培养参数为: 接种量 6 块菌块 (直径 7 mm)、发酵温度为 24 °C、摇床转速为 180 r/min。此条件下, 发酵液中 IAA 产量可达 48.079 µg/mL; 促生效应研究显示, ZYY007 菌株发酵液在中低浓度条件下能显著提高小麦种子发芽率, 促进胚根和胚芽的生长发育。盆栽试验进一步证实, 该菌剂处理可显著提高小麦幼苗的株高、干重和叶绿素含量。本研究为开发新型微生物菌剂在农业生产中的应用提供了理论依据和优质菌种资源。

关键词: 枳壳; 内生真菌; 吲哚-3-乙酸; 促生作用

中图分类号: Q949

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)05-0482-12

Screening and identification of an efficient endophytic fungal strain producing IAA in *Citrus aurantium* and its growth-promoting effect

Huang Zhongxiang¹, Yu Yasi^{2,3}, Sun Hui^{2,3}, Min Jie^{2,3}, Ouyang Jianping^{2,3}, Chen Ye^{2,3,4}, He Gang^{2,3,4*}

- Jiangxi Drug Inspection Center, Nanchang 330001, Jiangxi, China;
- College of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332005, Jiangxi, China;
- Jiujiang Key Laboratory of Fungal Resources Conservation and Utilization, Jiujiang 332005, Jiangxi, China;
- Jiangxi Key Laboratory of Industrial Ecological Simulation and Environmental Health in Yangtze River Basin, Jiujiang 332005, Jiangxi, China)

Abstract: To explore the growth-promoting effects of functional endophytic fungal strains on plants, 35 endophytic fungi strains previously isolated from *Citrus aurantium* L. were tested by Salkowski colorimetric method to screen for strains capable of producing indole-3-acetic acid (IAA). Morphological characteristics and rDNA ITS sequence analysis were combined to taxonomically identify the target strains. Inoculation and pot experiments were conducted to verify their growth-promoting effects. The results showed that one functional strain (ZYY007) with high-efficiency IAA production was successfully screened from the 35 endophytic fungi. Morphological and molecular identification confirmed that this strain belonged to *Fusarium proliferatum*. Orthogonal experimental design was used to optimize the fermentation condi-

收稿日期: 2025-06-16 修回日期: 2025-09-09 接受日期: 2025-10-03

作者简介: 黄忠祥 (1986-), 男, 主管药师, 研究方向为药品监督检查, E-mail: hzxj2025@126.com

* 通信作者: 何刚 (1986-), 男, 博士, 研究方向为真菌多样性与分类学, E-mail: ganghe_myc@126.com

基金项目: 江西省药品监督管理局科研项目 (2022JS06; 2023JS32); 江西省大学生创新创业训练计划项目 (S202411843058)

引用格式: 黄忠祥, 余雅思, 孙惠, 等. 一株高效产 IAA 枳壳内生真菌菌株的筛选鉴定及其促生作用 [J]. 生物资源, 2025, 47(5): 482-493.

Huang Zhongxiang, Yu Yasi, Sun Hui, et al. Screening and identification of an efficient endophytic fungal strain producing IAA in *Citrus aurantium* and its growth-promoting effect [J]. Biotic Resources, 2025, 47(5): 482-493.

tions for strain ZYY007. The optimal parameters for IAA production were determined as follows: inoculum size of 7 fungal blocks (diameter 7 mm), fermentation temperature of 24 °C, and shaking speed of 180 r/min. Under these conditions, the IAA yield in the fermentation broth reached 48.079 µg/mL; Growth-promoting assays showed that the fermentation broth of strain ZYY007 at medium and low concentrations significantly enhanced wheat seed germination rate and promoted the growth of radicles and plumules. Pot experiments further confirmed that treatment with this microbial agent significantly increased plant height, dry weight, and chlorophyll content of wheat seedlings. This study provides a theoretical basis and high-quality microbial resources for the development of novel microbial agents in agricultural production.

Key words: *Citrus aurantium* L.; endophytic fungi; indole-3-acetic acid; growth-promoting effect

0 引言

植物内生真菌(endophytic fungi)作为植物微生态系统的重要组成部分,其与宿主植物建立了复杂的互惠共生关系^[1]。研究表明,内生真菌不仅能够参与植物的生长调控,还能显著提升宿主植物的抗病能力,在植物的整个生命周期中发挥着至关重要的作用^[1]。近年来,植物内生真菌对植物代谢产物的形成与积累已成为当前植物学与微生物学交叉领域的研究热点。

吲哚-3-乙酸(IAA)作为植物体内广泛存在的一种内源生长素,在植物生长发育进程中扮演着核心角色。通过激活多元信号传导通路,IAA能够精准调控植物细胞的生长、分化与分裂,从细胞层面到组织器官层面,全方位驱动植物的生长发育进程。近年来,围绕植物内生真菌产活性物质对植物生长促进作用的研究不断深入,众多学者聚焦于内生真菌产 IAA 能力的挖掘^[2-5]。研究发现,从杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)叶、侧柏[*Platyclusus orientalis* (L.) Franco]、金线莲[*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.]茎中分离筛选得到具有产 IAA 活性的内生真菌菌株^[6-7];从野生山药组织分离并筛选出的内生真菌具有产生生长激素吲哚乙酸的功效,其对瑞昌山药无菌苗的鲜重、新生根数、根冠比和叶绿素含量均具有显著影响^[8];此外,以小麦为研究对象的相关实验表明,其内生真菌的发酵菌丝及孢子混悬液对小麦幼苗表现出强大的促生长作用^[9-12]。这些研究成果充分揭示了植物内生真菌产 IAA 的潜力与价值,基于此开发微生物菌肥,在生态农业和绿色种植领域的应用前景十分广阔。

枳壳(*Citrus aurantium* L.)作为芸香科植物酸橙及其栽培种黄皮酸橙、代代花、朱栾、塘橙等的干燥未成熟果实,不仅是江西省声名远扬的道地中药材,更是中医药宝库中的重要成员^[13]。其富含黄酮类、生物碱类、挥发油类及香豆素类等多元有效成分,在中医临床应用中,凭借理气宽中、行滞消胀的显著功效,成为诸多经典方剂的关键中药饮片^[14]。

近年来,围绕江西中医药产业高质量发展目标,众多学者从多个维度对枳壳展开深入研究,涵盖良种繁育体系优化、标准化种植工艺创新、产地特性解析以及有效组分与药效机制探索等领域^[15-18]。然而,在枳壳研究中,关于其内生真菌次生代谢产物对农作物促生作用的相关研究鲜见报道。因此,系统开展枳壳内生真菌资源的挖掘与研究非常必要。

本文以前期分离纯化的枳壳内生真菌菌株为研究对象,首先采用 Salkowski 显色法筛选产 IAA 活性物质的功能菌株,其次通过形态学观察结合 ITS 基因序列分析进行菌种鉴定,进而优化其产 IAA 的培养条件,并探究该菌株对小麦种子萌发及幼苗生长的促生效应。本研究旨在筛选枳壳产 IAA 内生真菌菌株并探究其促生活性,为丰富产 IAA 微生物资源库及开发新型微生物菌肥提供理论依据与菌株资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试培养基

固体马铃薯葡萄糖培养基(PDA),King 液体培养基(1000 mL 水,20 g 蛋白胨,10 mL 甘油,1.5 g K₂HPO₄,1.5 g 硫酸镁)^[6]。

1.1.2 试验菌株和种子

35 株枳壳内生真菌:九江市真菌资源保育及应用重点实验室提供。小麦(*Triticum aestivum*)种子(镇麦 12 号)购于九江市种子分公司。

1.2 试验方法

1.2.1 产 IAA 内生真菌菌株的筛选

(1)枳壳内生真菌产吲哚乙酸(IAA)功能活性菌株的初筛。用分析纯的 3-吲哚乙酸(3-IAA)配制梯度系列标准溶液,称取 10 mg IAA 标准样品,加少量无水乙醇溶解,加入 100 mL 蒸馏水稀释,得到 100 µg/mL 标准 IAA 溶液。采用逐级稀释法得到 0、1.0、5.0、10.0、20.0、25.0 µg/mL 浓度的标准溶液。采用 Salkowski 显色法,在 530 nm 波长下的光

吸收值,构建标准曲线获得回归方程为 $y=0.0382x-0.0066$ ($R^2=0.9967$)。

采用 Salkowski 显色法,将活化处理后的菌株接种至 King 液态培养基进行发酵培养后,分别吸取各菌株发酵液,离心,上清 10 mL 置于白色陶瓷比色板上,取上清液与 FeCl_3 显色剂等体积混合。以无菌水、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 IAA 标准品为对照组,通过与标准品显色程度比对(显色强度与 IAA 浓度正相关),初步鉴定具备产 IAA 的菌株。

(2) 枳壳内生真菌产 IAA 功能活性菌株的复筛。初步筛选出具有产 IAA 能力的菌株后,选取经活化的菌饼 4 块(直径为 7 mm)接入容量 150 mL 锥形瓶中(50 mL King 培养液),于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 下振荡培养 4 d,依照标准曲线检测流程定量分析发酵液中 IAA 的含量,筛选出高效产 IAA 枳壳内生真菌的菌株。

1.2.2 产 IAA 菌株鉴定

依据菌落形态特征、菌丝、产孢结构及孢子形态特征,对筛选出高效产 IAA 枳壳内生真菌菌株进行形态学初步鉴定。

分子生物学鉴定:①菌株 DNA 提取:分子生物学鉴定将筛选出的菌株培养 5 d 后,用真菌基因组 DNA 提取试剂盒提取真菌 DNA;②ITS 区域扩增:使用特异性引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGT-GAACCTGCGG-3') 与 ITS4 (5'-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩增,经 1% 琼脂糖凝胶电泳验证后,采用核酸纯化试剂盒精制产物,最终委托上海生物工程有限公司完成双向测序;③系统发育分析:将获得的 ITS 序列提交至 NCBI GenBank 数据库,通过 BLASTn 工具进行同源序列检索,获取高相似度的模式菌株参考序列。运用 ClustalW 进行多序列比对后,基于 MEGA11.0 软件的邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树。

1.2.3 菌株产 IAA 发酵条件的优化

分别考察发酵时间(2、3、4、5、6、7 d)、培养温度(23、24、25、26、27、28 $^{\circ}\text{C}$)、摇床转速(130、140、150、160、170、180 r/min)、接种量[3、4、5、6、7、8 块菌块(直径为 7 mm)]、装液量(40、50、60、70、80、90 mL)等因素对菌株产 IAA 含量的影响。上述每个因素水平在 150 mL 三角瓶中加入 50 mL King 液体培养基,接 4 块菌块,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 条件下培养 4 d,每个因素水平均设 3 次重复。发酵后按照(1)节的方法加相应的试剂测定发酵液中 IAA 含量,确定最优发酵时间、培养温度、摇床转速、接种量、装液量。

在单因素实验基础上,按正交试验 $L_9(3^3)$ 的 3 因

素 3 水平对菌株产 IAA 的培养条件进行优化实验,选出产 IAA 含量较高的最优条件,每组设 3 个重复(见表 1)。正交实验依据 Galois 理论从全面试验中挑选出部分具有代表性的水平组合进行实验,通过挑选部分有代表性的水平组合进行实验并对结果进行分析找出最优的水平组合。

表 1 正交实验因素水平表 ($L_9(3^3)$)
Table 1 Level and factor of orthogonal test

水平	A(转速)/($\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)	B(温度)/ $^{\circ}\text{C}$	C(接种量)/块
1	160	24	5
2	170	25	6
3	180	26	7

1.2.4 菌株不同浓度发酵液对小麦种子萌发率影响

将已活化的内生真菌菌株按照正交实验的优化条件进行发酵培养,得发酵液并将其滤过,滤液视为 100% 浓度,并用无菌水稀释为 20%、40%、60% 和 80% 四个浓度备用。

将在自来水中浸泡 7 h 的小麦种子用 1% 的次氯酸钠溶液消毒 10 min,随后用无菌水冲洗 5 次,再用无菌滤纸轻轻将种子表面的水分吸干,最后将种子均匀地摆放于铺有灭菌滤纸的培养皿(直径=9 cm)中,每皿含有 100 粒种子,每皿加入 5 mL 无菌水再加入 5 mL 不同浓度枳壳内生真菌发酵液,共设置 4 种发酵液浓度(20%、40%、60%、80%)以无菌水(CK1)和最适合小麦种子萌发的 IAA 浓度 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (CK2)为对照,共计 6 个处理,每个处理 5 个重复。将种子置于人工气候箱(温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度为 75%)中培养,每天添加适量且相同的无菌水以保持滤纸的湿润状态,观察比较胚根胚芽的长势,测定种子的发芽率,发芽率=(发芽种子数/供试种子数) $\times 100\%$ 。

1.2.5 盆栽实验

吸取 15 mL 不同浓度的发酵液(20%、40%、60%、80%、100%)分别拌入 200 g 无菌土中,对照组为无菌水(CK1)、最适合小麦种子萌发的 IAA 浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (CK2)和灭活菌液(CK3),将处理过后的土壤放置在相同的圆形花盆中。每盆种 10 粒消毒后的小麦种子。本试验共设置 5 种发酵液浓度(20%、40%、60%、80%、100%)及 3 个对照组,共计 8 个处理,每个处理 8 个重复。将盆栽置于适宜环境下培养,每隔 3 d 添加相同量的无菌水以保持土壤的湿润状态。观察记录植株的形态特征,栽培 40 d 后,测定植株的株高、干重、根冠比以及叶绿素含量。

1.3 数据统计与分析

采用 Excel2021、MEGA11.0 和 Orgin2014 软件进行数据统计和分析

2 结果与分析

2.1 枳壳内生真菌产 IAA 菌株的筛选

运用 Salkowski 比色法从 35 株枳壳内生真菌菌株中定性筛选出两株具有分泌 IAA 能力的菌株(菌株编号为 ZYY007 和 ZYZ004),以无菌水(CK)和浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 IAA[CK(IAA)]为对照。ZYY007 颜色比 ZYZ004 较深,表明 ZYY007 菌株 IAA 产生量高于 ZYZ004 菌株(图 1)。定量测定结果显示 ZYY007、ZYZ004 菌株 IAA 分泌量(培养 4 d)分别为 50.390 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、13.811 $\mu\text{g}/\text{mL}$,两者间差异极显著($P < 0.01$),与定性观察结果一致,进一步确定 ZYY007 菌株分泌 IAA 能力较 ZYZ004 强。故选定 ZYY007 菌株作为后续研究对象。

2.2 ZYY007 菌株鉴定

通过形态学观察(图 2)和 5.8S、18S rDNA ITS 序列分析(图 3),鉴定 ZYY007 菌株为层出镰刀菌 [*Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg]。

2.3 单因素对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

2.3.1 培养时间对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

如图 4 所示,培养时间对 ZYY007 菌株产 IAA 能力具有显著影响。不同培养时间的 ZYY007 菌株产 IAA 含量呈现非线性变化趋势:培养 2 d 时 IAA 含量为 32.241 $\mu\text{g}/\text{mL}$,随着培养时间延长至 5 d 时达到峰值 40.661 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (较初始值提升 26.1%),随后呈现下降趋势,7 d 时回落至 33.419 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。峰值出现在第 5 d,该菌株可能在此培养节点达到最大生物量并完成主要代谢转化过程,后续培养可能因营养底物耗竭或抑制性代谢物积累导致合成效率降低。

2.3.2 培养瓶装液量对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

如图 5 所示,培养基装液量对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响呈现显著负相关趋势。在 6 组装液量梯度实验中,ZYY007 菌株产 IAA 的含量随装液量增加呈递减现象:装液量 40 mL 时含量达峰值 28.707 $\mu\text{g}/\text{mL}$,装液量增至 90 mL 时含量下降至 15.530 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (降幅达 45.9%)。可能的原因是低装液量(40 mL)条件下培养瓶中的含氧量较高,这可能是促进 IAA 合成的关键因素,且 40 mL 装液量的条件下发酵体系的气液比表面积较大,有利于溶解氧的维持及挥发性代谢产物的扩散。随装液量增加,单位体积的氧传递速率下降,菌体呼吸代谢受限,可能导致次级代谢途径向能量代谢偏移。

2.3.3 培养温度对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

实验结果表明,培养温度对 ZYY007 菌株产 IAA 能力具有显著影响。在设计 6 组培养温度梯度中,ZYY007 菌株产 IAA 能力呈现单峰分布特征:23 $^{\circ}\text{C}$ 时含量为 24.954 $\mu\text{g}/\text{mL}$,随温度升高至 25 $^{\circ}\text{C}$ 时达到最高峰 30.059 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (较初始值提升 20.46%),随后温度继续升高 ZYY007 菌株产 IAA 含量下降,28 $^{\circ}\text{C}$ 时回落至 26.391 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图 6),该菌株 IAA 合成存在明确的最适温度阈值。25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的产 IAA 含量显著高于其他温度组($P < 0.05$),推测该温度可能同时优化了菌丝体生长速率与 IAA 合成相关酶系的催化效率。当温度超过 25 $^{\circ}\text{C}$ 后,含量持续下降的现象可能与热应激导致的酶构象改变或代谢途径分流相关。

2.3.4 转速对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

由图 7 可见,摇床转速对 ZYY007 菌株产 IAA 能力具有显著调控作用。在 6 组转速梯度(130~180 r/min)实验中,转速为 130 r/min 时含量为 33.419 $\mu\text{g}/\text{mL}$,140 r/min 时略增至 34.335 $\mu\text{g}/\text{mL}$,随后转速提升至 150~160 r/min 时含量下降至 30.059~30.714 $\mu\text{g}/\text{mL}$,170 r/min 时出现峰值

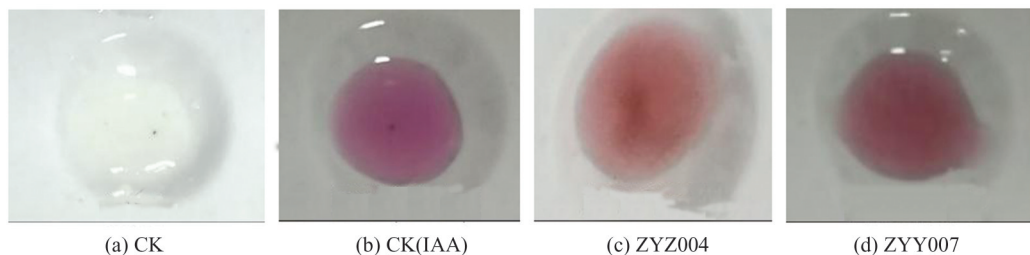


图 1 ZYY007、ZYZ004 菌株分泌 IAA 筛选定性显色反应

Figure 1 Qualitative color reaction for screening IAA secreted by strains ZYY007 and ZYZ004

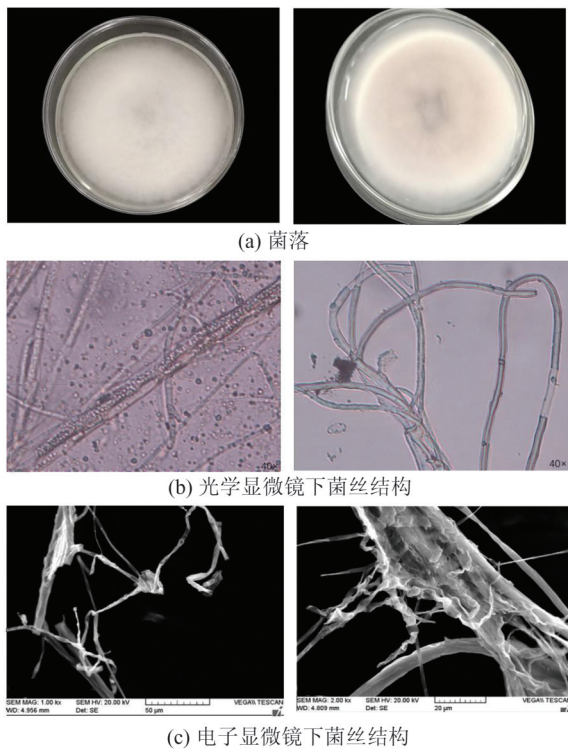


图2 层出镰刀菌 ZYY007 菌株形态特征

Figure 2 Morphological characteristics of *Fusarium proliferatum* ZYY007 strain

A1, A2: 菌落; B1, B2: 光学显微镜下菌丝结构; C1, C2: 扫描电子显微镜下菌丝结构

A1, A2: colony; B1, B2: mycelia under microscope; C1, C2: mycelia under scanning electron microscope

39.309 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (较初始值提升 17.6%), 180 r/min 时为 30.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。170 r/min 的含量极值表明该转速可能通过优化溶氧传递效率与菌丝体分散度的动态平衡, 促进前体物质吸收及次级代谢途径激活。150~160 r/min 区间含量下降或与剪切力增强导致

的菌丝断裂或细胞膜通透性改变有关, 而 180 r/min 时含量骤降则提示高转速可能引发代谢应激反应。

2.3.5 接种量对 ZYY007 菌株产 IAA 能力的影响

如图 8 所示, 接种量对 ZYY007 菌株产 IAA 含量呈现先升后降的趋势: 接种 3 块菌块时含量为 21.115 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 随接种量增至 6 块菌块时达到峰值 31.368 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (较初始值提升 48.56%), 随后接种量继续增加至 8 块菌块时含量回落至 29.492 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。6 块菌块接种量的含量极值表明该条件下菌丝体间的群体感应与营养利用达到最优平衡, 可能通过触发次级代谢调控网络促进 IAA 生物合成。

2.3.6 正交实验

根据单因素实验的所测结果, 从中选取对菌株液体发酵产 IAA 量影响较大的 3 个因素 (培养温度、培养时间、接种量) 为试验因素, 选取 3 因素 3 水平进行正交试验 $L_9(3^3)$ (表 1)。正交试验优化 ZYY007 发酵条件结果如表 2。通过比较各组实验结果极差 R 可得到, 转速对 ZYY007 菌株产 IAA 的影响最大, 其次为培养温度, 影响最小的是接种量。从 K_1, K_2, K_3 值可知: ZYY007 菌株产 IAA 最优培养条件组合为 A3B1C2, 即培养温度为 24 $^{\circ}\text{C}$ 、培养转速为 180 r/min、接种量为 6 块, 该组合条件下 IAA 产量达到 48.079 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在优化发酵条件后, 虽然筛选出的最佳条件下 IAA 产量 (48.079 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 略低于初始筛选值 (50.390 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 但这种微小差异可能是实验误差 (如比色法测定时的干扰)、取样时间点的细微偏差或发酵过程中代谢波动导致的。此外, 初始筛选与优化实验的培养批次间存在天然变异, 也可能影响结果。总体来看, 该差异在合理范围内, 表明

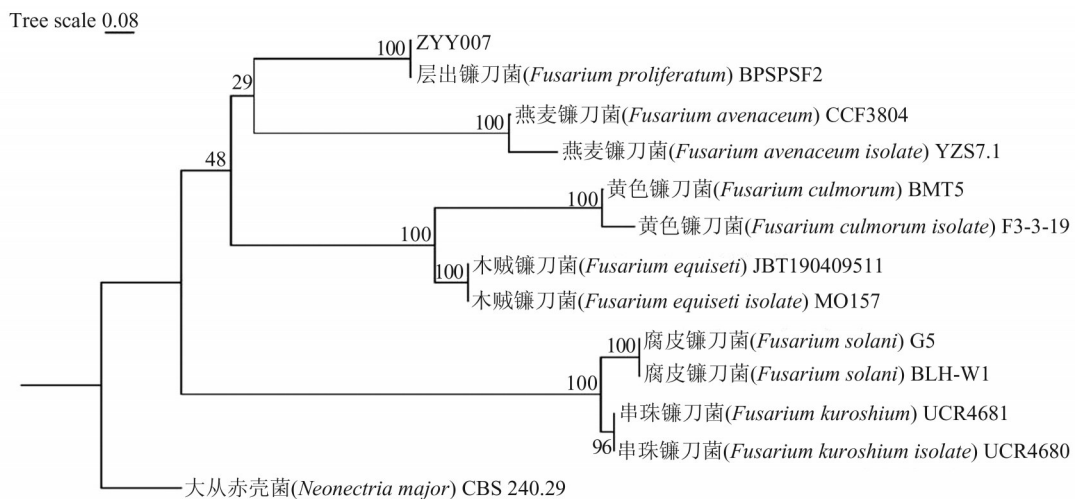


图3 ZYY007 菌株 (层出镰刀菌) rDNA ITS 序列系统发育树

Figure 3 The phylogenetic tree of strain ZYY007 based on 18S rDNA ITS sequence analysis

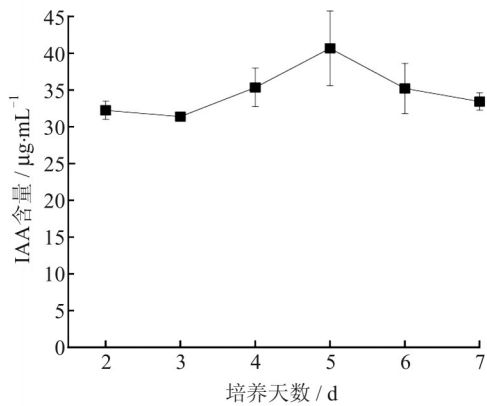


图4 培养时间对ZYY007菌株产IAA的影响
Figure 4 The influence of culture time on IAA production by ZYY007 strain

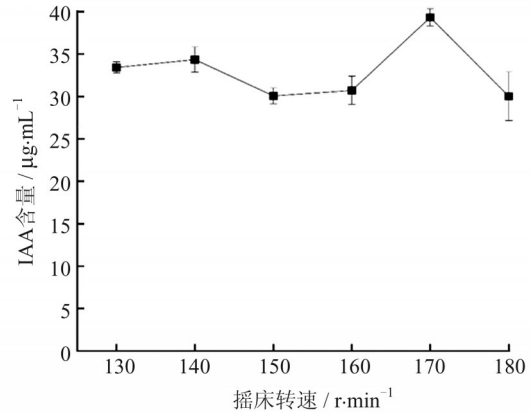


图7 培养转速对ZYY007菌株产IAA能力的影响
Figure 7 The effect of culture speed on IAA production by ZYY007 strain

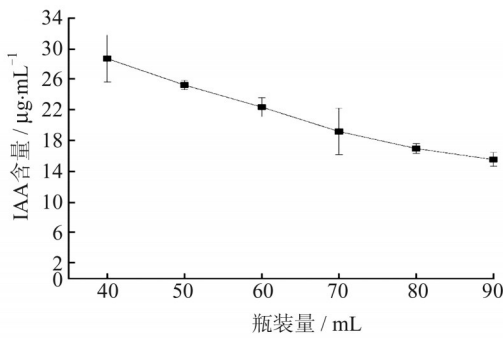


图5 培养瓶装液量对ZYY007产IAA能力的影响
Figure 5 The effect of bottled liquid volume on IAA production by ZYY007 strain

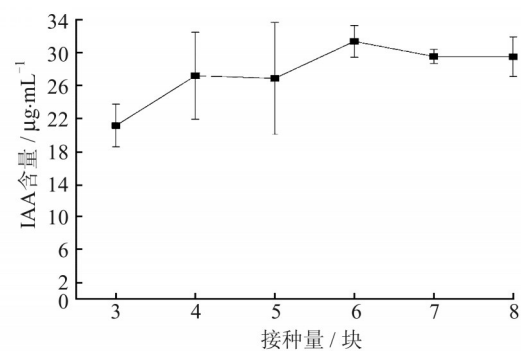


图8 培养瓶中接种菌块数量对ZYY007菌株产IAA能力的影响
Figure 8 The effect of number of fungal blocks in flask on IAA production by ZYY007 strain

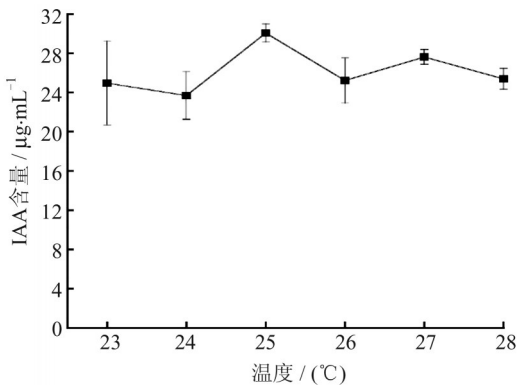


图6 培养温度对ZYY007菌株产IAA能力的影响
Figure 6 The influence of culture temperature on IAA production by ZYY007 strain

优化后的条件已接近菌株的最大产IAA潜力。通过3次验证实验,得到的IAA产量为45.853、45.330、47.686 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在该组合的培养条件下,ZYY007菌株产IAA含量较稳定。

2.4 ZYY007菌株发酵液对种子萌发的影响

实验结果(图9)显示,IAA菌液对小麦种子

萌发及胚器官发育呈现浓度依赖性调控。无菌水对照组发芽率为93.0%, IAA对照组达98.4%。实验组发芽率随浓度升高呈梯度下降:20%、40%浓度组分别为97.4%、96.8%,与IAA对照组无显著差异($P>0.05$);60%、80%浓度组分别降至76.0%、50.2%,形成典型抑制曲线。含IAA菌液对小麦胚器官发育呈现特异性调控作用。低浓度处理(20%)下,胚根与胚芽长度较无菌水对照均有一定程度增长,但仍低于IAA处理水平。随着浓度升高至40%,胚芽发育出现显著促进作用,其伸长程度超越所有对照组及低浓度处理组,但胚根生长却呈现反常抑制现象,长度较其他处理组缩短(仍高于80%浓度组);中浓度处理(60%)时,胚根与胚芽同步达到最大伸长量,形成典型协同发育特征;高浓度处理(80%)条件下,胚根生长受显著抑制,形态发育特征与无菌水对照趋近,而胚芽仍维持微弱伸长态势。

表 2 ZYY007 菌株产 IAA 正交实验结果
Table 2 Orthogonal experiment results of ZYY007 strain producing IAA

试验号	A(转速)/(r·min ⁻¹)	B(温度)/°C	C(接种量)/块	IAA 含量/(μg·mL ⁻¹)
1	A1	B1	C1	41.469
2	A1	B2	C3	41.894
3	A1	B3	C2	37.477
4	A2	B1	C3	35.121
5	A2	B2	C2	39.180
6	A2	B3	C1	34.564
7	A3	B1	C2	48.079
8	A3	B2	C1	37.018
9	A3	B3	C3	40.454
K1	120.840	124.669	113.051	
K2	108.865	118.092	124.736	
K3	125.551	112.495	117.469	
k1	40.280	41.556	37.684	
k2	36.288	39.364	41.579	
k3	41.850	37.498	39.156	
R	5.562	4.058	3.895	
因素影响	A>B>C			
最佳组合	A3B1C2			

2.5 ZYY007 菌株发酵液对小麦植株生长的影响

2.5.1 ZYY007 菌株发酵液对小麦植株株高的影响

如图 10 所示,ZYY007 菌株发酵液对小麦植株株高的影响具有明显的差异,植株平均高度随菌液浓度变化呈现先上升后下降的趋势:20%、40%、60% 浓度组分别达到 14.96 cm、15.77 cm 和 16.25 cm,较无菌水对照组(12.89 cm)提高 16.1%~26.1%,与常规最佳 IAA 对照组(13.04 cm)相比,仅分别提高 5.8% 和 4.1%;当浓度升至 80% 和 100% 时,株高分别降至 13.80 cm 和 13.58 cm。显然,ZYY007 菌株发酵液浓度 60% 对小麦株高促进效果最为显著,较常规最佳 IAA 处理提高 24.6%。

而高浓度(≥80%)发酵液对植物的生长具有抑制作用,原因可能是渗透胁迫或毒性代谢物积累等作用对植物细胞造成伤害,从而影响植物生长。所有实验组处理均优于无菌水和灭活菌液对照,证实菌液中有效成分对小麦生长具有促进作用。

2.5.2 ZYY007 菌株发酵液对小麦植株干重的影响

实验结果(图 11)表明:ZYY007 菌株发酵液对小麦植株干重具有明显影响($P<0.05$),即:ZYY007 菌株发酵液浓度与小麦植株干重呈现非线性剂量效应关系。植物的干重随浓度梯度变化呈现先增加后降低趋势(图 11):20% 浓度组达到峰值 0.104 g,较无菌水对照组(0.082 g)提高 26.8%,较 IAA 最佳浓度对照组(0.085 g)提高 22.4%。当浓度升至 40% 和 60% 时,干重分别下降至 0.091 g 和 0.094 g,仍显著高于两个对照组($P<0.05$);高浓度组(80%、100%)干重分别为 0.083 g 和 0.080 g,与无菌水对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。可见,ZYY007 菌株发酵液浓度为 20% 对干物质积累促进效果最显著($P<0.05$),其作用强度超过 IAA 处理。值得注意的是,高浓度处理(≥80%)未表现出生长促进效应,其中 100% 浓度组干重甚至略低于无菌水和灭活菌液对照组(下降 2.4% 和 2.31%),可能存在浓度依赖的抑制效应。

2.5.3 ZYY007 菌株发酵液对小麦根冠比的影响

从图 12 中可知,ZYY007 菌株发酵液对小麦根冠比的影响为随菌液浓度升高呈现非线性变化:20% 浓度组降低至 0.81,较无菌水对照组降低 24.3%;40%、60% 浓度组分别回升至 0.83 和 0.93;80% 浓度组再次下降至 0.87;100% 浓度组恢复至 1.06,而无菌水处理根冠比为 1.07,灭活菌液根冠比为 1.05,与无菌水和灭活菌液对照组无显著差异($P>0.05$),IAA 对照组为 1.02。由此可见,ZYY007 菌株发酵液浓度为 20% 对根冠比抑制作用最显著,其效果强于 IAA 处理(降低 20.6%);中高浓度处理(40%~80%)形成“U”型恢复曲线,40% 浓度时,菌液可能轻微抑制根系生长(促进地

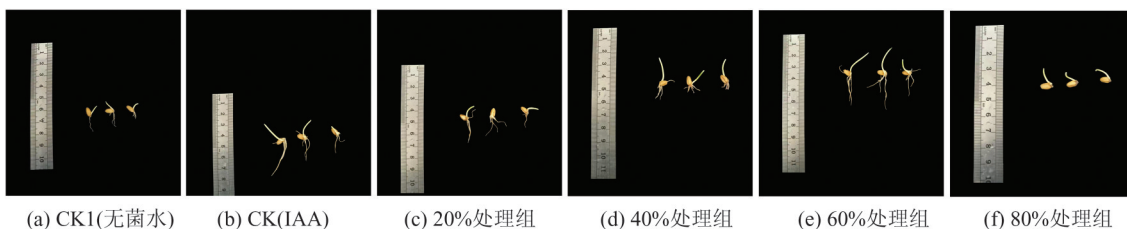


图 9 ZYY007 菌株不同浓度发酵液对小麦种子发芽的影响

Figure 9 Effects of different concentrations of fermentation broth from strain ZYY007 on wheat seed germination

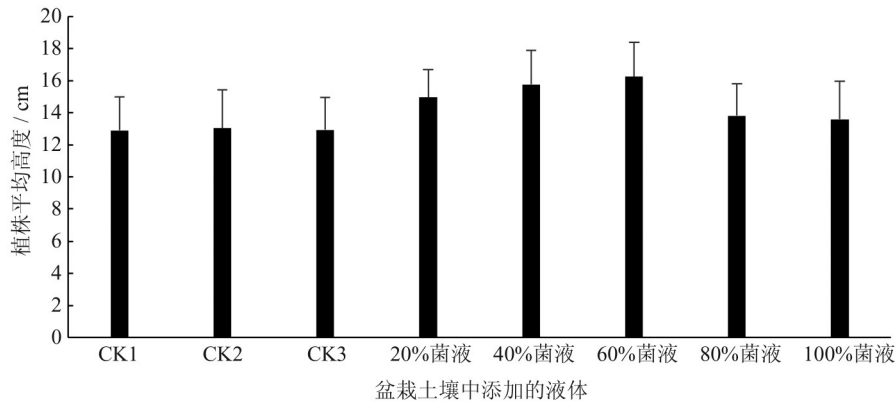


图 10 ZYY007 菌株发酵液浓度对小麦植株高度的影响

Figure 10 Effect of fermentation broth concentrations of strain ZYY007 on wheat plant height

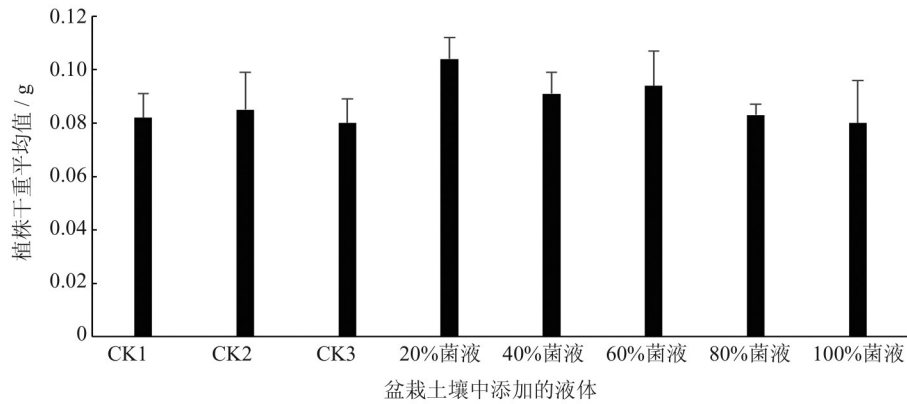


图 11 ZYY007 菌株不同发酵液浓度对小麦植株干重的影响

Figure 11 Influence of different concentrations of fermentation broth of ZYY007 strain on dry weight of wheat plant

上部生物量积累),但仍维持较低根冠比,60%~80%浓度时,渗透胁迫或次生代谢物积累可能诱导植物增强根系补偿性生长(提高水分/养分吸收能力),导致根冠比回升;其中60%浓度组的根冠比较20%浓度组提升14.8%;100%浓度处理中根冠比恢复至对照水平,提示高浓度菌液可能通过渗透补偿效应抵消生长调节作用。该现象可能反映

ZYY007 菌株发酵液中活性成分对植物内源激素的调控作用,低浓度处理($\leq 20\%$)通过抑制根系发育优先促进地上部生长,而高浓度处理($\geq 80\%$)因基质理化性质改变产生次生效应对冲生长调节作用。

2.5.4 ZYY007 菌株发酵液对小麦植株叶绿素含量的影响

ZYY007 菌株发酵液浓度对小麦植株的叶绿素

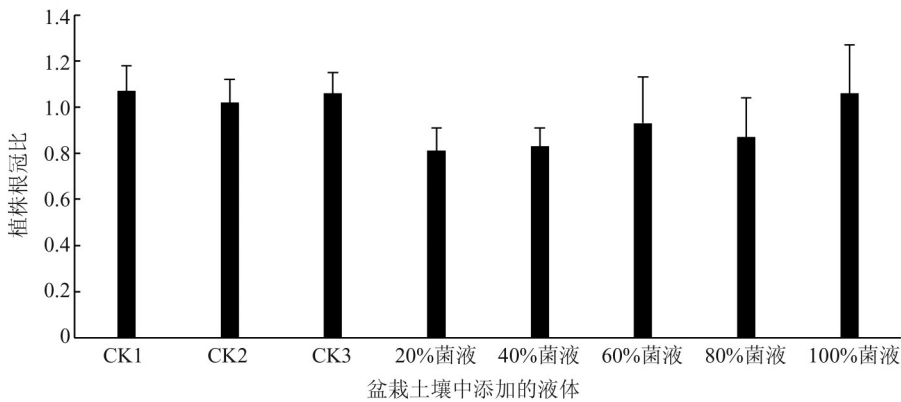


图 12 ZYY007 菌株不同发酵液浓度对小麦植株根冠比的影响

Figure 12 Influence of different concentrations of fermentation broth of ZYY007 strain on root-crown of wheat plant

含量也存在影响(图 13)。无菌水对照组叶绿素含量为 28.506 mg/L,灭活菌液对照组叶绿素含量为 29.302 mg/L,IAA 对照组为 33.038 mg/L。实验组叶绿素含量随菌液浓度变化呈现双峰波动:20% 浓度组提升至 37.745 mg/L,较无菌水对照组增加 32.4%;40% 浓度组达到峰值 44.537 mg/L,增幅达 56.2%;60% 浓度组回落至 36.044 mg/L,仍高于 IAA 处理 9.1%;80% 浓度组二次升高至 41.240 mg/L;100% 浓度组恢复至 28.947 mg/L,与无菌水对照组无显著差异($P>0.05$)(图 13)。由此可知:ZYY007 菌株发酵液浓度为 40% 对叶绿素合成促进效果最显著($P<0.05$),其含量较 IAA 处理提高 34.8%,100% 浓度处理的叶绿素水平回归基线,可能是由于高浓度条件下渗透胁迫或光抑制效应抵消了生长素的促进作用。

3 结论与讨论

植物内生真菌群落结构的多样性组成受其自身物种遗传特性及宿主类群丰富度的共同影响,并依赖于宿主体内不同组织微环境的特征。目前,关于枳壳内生真菌分离的报道较少。植物内生真菌(endophytic fungi)是指在其生命周期某个阶段或全程栖居于健康植物组织或器官内部,却不引发宿主出现明显病变的真菌类群^[19],通过生物调控和生物施肥,内生真菌从根系进入植物体内并行使相关功能,因此内生真菌能更有效地促进植物生长^[20-21]。

内生真菌通过合成 IAA 介导植物-微生物互作的现象在多种植物系统中得到验证。现有研究表明,黑色附球菌(*Epicoccum nigrum*)、季也蒙假丝酵母(*Mucoromycotina guilliermondii*)和光黑壳属(*Preussia* sp.)等菌株在体外培养条件下表现出显著的 IAA 合成能力^[22-24],这种特性在植物促生机制中

具有关键作用。此外,从披碱草(*Elymus dahuricus* Turcz.)种子中分离的哈慈木霉(*Trichoderma harzianum*)、黄绿木霉(*T. aureoviride*)、洛克菲特青霉(*Penicillium roqueforti*)及互隔交链孢霉(*Alternaria alternata*)等菌株不仅具备 IAA 生产能力,更与宿主植物的生长加速呈现显著相关性^[25-27]。其作用机制可能涉及通过 IAA 信号通路增强植物光合系统效率,具体表现为叶片叶绿素含量提升和光合产物积累增加,这一现象与地黄[*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. & C. A. Mey.]内生真菌通过 IAA 途径促进宿主光合作用的报道高度一致^[21,28]。本研究通过采集枳壳样品,分离得到枳壳内生真菌菌株 35 种,采用 Salkowski 显色法初筛试验,获得 2 株具有产 IAA 能力的菌株。通过复筛,选出一株能高效产 IAA 的枳壳内生真菌,经 ITS 序列及进化树鉴定,菌株(菌株编号:ZYY007)为层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)。

众多研究发现,可通过优化促生菌的发酵条件提高菌株产 IAA 含量。SZF7 菌株分泌 IAA 的最佳培养条件为 pH 5.0、温度 37 °C 和培养时间 24 h,且 pH 和温度对其 IAA 分泌量具有显著影响^[29];筛选出一株 IAA 含量达到 58.9 mg/L 的栗褐芽胞杆菌(*Bacillus badius*) 363,发现其最适生长条件为 pH 6.0、NaCl 浓度为 1%^[30]。本研究将 ZYY007 产 IAA 量作为重要考量指标,根据单因素试验和正交设计试验对其发酵条件进行优化,确定了菌株最优发酵条件为:接种量为 6 块菌块、液体发酵转速为 180 r/min、液体发酵温度为 24 °C。从喀西茄(*Solanum khasianum*)筛选出 G6 菌株在添加色氨酸条件下产量最高(16.31 mg/L),G4 在未添加色氨酸时产量最高(11.22 mg/L),G4 的 IAA 合成受外源色氨酸影响最小,而 J1 受影响最大^[31]。本研究则从枳壳中筛选

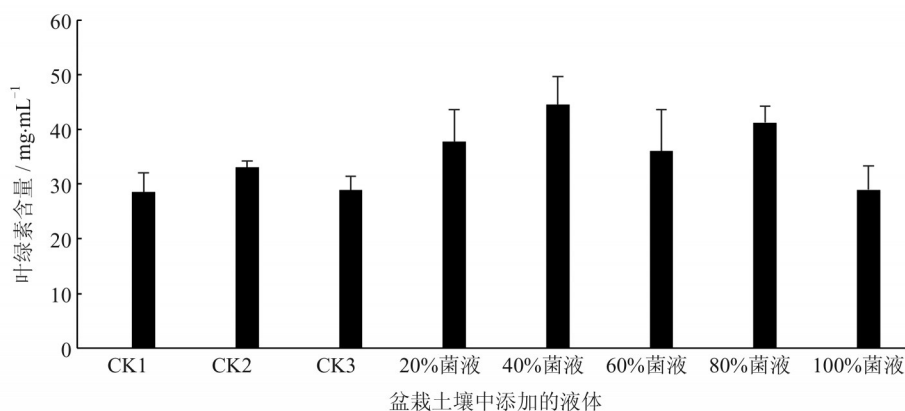


图 13 ZYY007 菌株不同发酵液浓度对小麦植株叶绿素含量的影响

Figure 13 Influence of different concentrations of fermentation broth of ZYY007 strain on chlorophyll content in wheat plant

到一株 IAA 高产菌株,其产量达 50.390 mg/L,较喀西茄内生真菌最高产量提高约 2 倍,显示出明显优势。另外,层出镰孢菌是一种植物病原菌,侵染水稻、小麦、玉米、芦笋、洋葱等植物和药用植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza*)、地黄 (*Rehmannia glutinosa*) 等,引起枯萎病和腐烂病;还能产伏马毒素,是谷物尤其是玉米或玉米产品的主要污染源,不仅影响宿主植物的生理代谢,还严重威胁人畜健康^[32-37]。

本实验通过小麦种子萌发实验以及盆栽实验探究内生真菌菌株 ZYY007 的促生作用。研究发现,含 IAA 菌液对小麦萌发呈浓度梯度抑制,高浓度显著降低发芽率,并差异化调控胚器官发育:低浓度(20%)促根/芽效果不及常规 IAA;40% 浓度显著促芽但抑根;60% 浓度根芽协同生长达峰值;高浓度(80%)强烈抑制胚根(接近空白组水平),胚芽仍微弱伸长。通过盆栽实验发现该菌液在特定浓度下对小麦的生长促生效果显著,甚至超出常规生长素;但高浓度($\geq 80\%$)则呈现普遍抑制。可见深入研究积壳产 IAA 内生真菌并探究其促生活性,可为丰富产 IAA 微生物资源库及开发新型微生物菌肥提供理论依据。

参考文献

- [1] 袁桐,杜欣健,张国琛,等. 内生真菌与宿主植物相互作用及代谢产物研究[J]. 青海农林科技, 2024(4): 57-61, 68.
Yuan T, Du X J, Zhang G C, et al. Study on the interaction between endophytic fungi and host plants and their metabolites[J]. Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry, 2024(4): 57-61, 68.
- [2] Waqas M, Khan A L, Kamran M, et al. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host-plant growth during stress [J]. Molecules, 2012, 17(9): 10754-10773.
- [3] 吴翔,甘炳成,黄忠乾,等. 一株产 IAA 菌株的筛选、鉴定及培养条件优化[J]. 四川农业大学学报, 2014, 32(4): 432-435, 461.
Wu X, Gan B C, Huang Z Q, et al. Screening and identification of a IAA biosynthesis strain and optimization of its culture conditions [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2014, 32(4): 432-435, 461.
- [4] Reineke G, Heinze B, Schirawski J, et al. Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilago maydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation [J]. Molecular Plant Pathology, 2008, 9(3): 339-355.
- [5] Michele T, Malkanthi K, Kithsiri W, et al. Endophthal bacterium enhances production of indole-3-acetic acid by a foliar fungal endophyte [J]. PloS One, 2013, 8(9): e73132.
- [6] 齐英华,赵煜峰,宋可云,等. 杜仲叶际可培养真菌群落组成及产 IAA 菌株筛选[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2024, 41(4): 107-115.
Qi Y H, Zhao Y F, Song K Y, et al. Community composition of culturable fungi in *Eucommia ulmoides* phyllosphere and screening of IAA-producing strains [J]. Journal of Guizhou University (Natural Sciences), 2024, 41(4): 107-115.
- [7] 陈科霖,王明元,尤长胜,等. 金线莲分泌 IAA 内生真菌的筛选与鉴定及其发酵条件优化[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2022, 43(3): 348-354.
Chen K L, Wang M Y, You C S, et al. Screening and identification of endophytic fungi secreting IAA in *Anoectochilus roxburghii* and optimization of fermentation conditions [J]. Journal of Huaqiao University (Natural Science), 2022, 43(3): 348-354.
- [8] 詹寿发,杨丽,彭琴,等. 野生山药内生真菌对瑞昌山药促生作用研究[J]. 广东农业科学, 2014, 41(10): 23-26, 2.
Zhan S F, Yang L, Peng Q, et al. Effect of endophytic fungi from *Dioscorea opposita* Thunb. on growth promotion of Ruichang yam [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(10): 23-26, 2.
- [9] Clement Nzabanita. 玉米和小麦内生附球菌的防病促生作用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2024.
Nzabanita C. Study on disease prevention and growth-promoting effect of endophytes *Epicoccum* spp. isolated from maize and wheat. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2024.
- [10] 何书珩,黄亚妮,宋天玮,等. 内生真菌提取物(智能聪)复合肥在小麦上的应用效果[J]. 现代农业科技, 2024(23): 27-29.
He S H, Huang Y N, Song T W, et al. Application effect of compound fertilizer extracted from endophytic fungi (intelligent Cong) on wheat [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2024(23): 27-29.
- [11] 叶倩楠. 干旱条件下深色有隔内生真菌对小麦生长及产量的影响[D]. 保定: 河北大学, 2024.
Ye Q N. Effects of dark septate endophytes on growth and yield of wheat under drought [D]. Baoding: Hebei University, 2024.
- [12] 刘燕霞,龙俊萌,王静茹,等. 五种漠境深色有隔内生真菌对小麦促生抗旱效应研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(9): 1339-1349.
Liu Y X, Long J M, Wang J R, et al. Effects of five dark septate endophytes isolated from deserts on growing wheat under drought stress [J]. Scientia Sinica

- (Vitae), 2021, 51(9): 1339-1349.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2020年版一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 257-258. China Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China (PRC) Pharmacopoeia-No. 1 department [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 257-258.
- [14] 龚斌, 李琴, 胡小红, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展[J]. 南方林业科学, 2019, 47(3): 40-45. Gong B, Li Q, Hu X H, et al. Advances in chemical constituents and pharmacological activities of *Fructus aurantii* [J]. South China Forestry Science, 2019, 47(3): 40-45.
- [15] 王开元. 内生菌根对枳壳生长的作用[J]. 土壤肥料, 1988(2): 49-50, 5. Wang K Y. Effect of endomycorrhizae on the growth of *Fructus aurantii*. [J]. Soils and Fertilizers, 1988(2): 49-50, 5.
- [16] 高萌. 中药枳壳“道地性”研究[D]. 南昌:江西中医药大学, 2021. Gao M. Study on the authenticity of *Fructus aurantii* in traditional Chinese medicine [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [17] 郝耀鹏, 吴昌娟, 郭淑红, 等. 药材道地性分析方法的研究进展[J]. 山西农业科学, 2020, 48(6): 994-996, 1000. Hao Y P, Wu C J, Guo S H, et al. Research progress on analysis methods for geographic authenticity of medicinal materials [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2020, 48(6): 994-996, 1000.
- [18] 陈欢. 江枳壳道地性的研究[D]. 南昌:江西中医药大学, 2020. Chen H. Study on the genuineness of *Aurantii Fructus* [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [19] 宋小双, 张瑶, 李亚洲, 等. 植物内生真菌多样性及功能研究进展[J]. 中国农学通报, 2024, 40(30): 114-118. Song X S, Zhang Y, Li Y Z, et al. Research progress on diversity and function of endophytic fungi in plants [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(30): 114-118.
- [20] 王志伟, 陈永敢, 王庆臻, 等. 中国植物内生微生物研究的发展和展望[J]. 微生物学通报, 2014, 41(3): 482-496. Wang Z W, Chen Y G, Wang Q C, et al. Progresses and perspectives of studies on plant endophytic microbes in China [J]. Microbiology China, 2014, 41(3): 482-496.
- [21] 刘小珍. 内生真菌菌株 GS1 和 WS1 对布顿大麦生长发育及叶绿素代谢的调控机制[D]. 阿拉尔:塔里木大学, 2025. Liu X Z. The regulation mechanism of endophytic fungal strains GS1 and WS1 on the growth and chlorophyll metabolism of *Hordeum Bogdanii* [J]. Alaer: Tarim University, 2025.
- [22] Odokonyero K, Acuña T B, Cardoso J A, et al. Fungal endophyte association with *Brachiaria* grasses and its influence on plant water status, total non-structural carbohydrates and biomass production under drought stress[J]. Plant and Soil, 2016, 409(1): 273-282.
- [23] Aban J L, Barcelo R C, Oda E E, et al. Auxin production, phosphate solubilisation and ACC deaminase activity of root symbiotic fungi (RSF) from *Drynaria quercifolia* L. [J]. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2017, 6(5): 26-31.
- [24] Khan A L, Harrasi A, Rawahi A, et al. Endophytic fungi from frankincense tree improves host growth and produces extracellular enzymes and indole acetic acid [J]. PloS One, 2016, 11(6): e0158207.
- [25] Ripa F A; Cao W D, Tong S, et al. Assessment of plant growth promoting and abiotic stress tolerance properties of wheat endophytic fungi [J]. Biomed Research International, 2019, 2019: 6105865.
- [26] Ikram M, Ali N, Jan G, et al. IAA producing fungal endophyte *Penicillium roqueforti* Thom., enhances stress tolerance and nutrients uptake in wheat plants grown on heavy metal contaminated soils [J]. Plos One, 2018, 13(11): 1-22.
- [27] Qiang X, Ding J, Lin W, et al. Alleviation of the detrimental effect of water deficit on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth by an indole acetic acid-producing endophytic fungus [J]. Plant and Soil, 2019, 439(1-2): 373-391
- [28] 陈贝贝, 王敏, 胡鸞雷, 等. 地黄内生真菌促生作用的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1137-1140. Chen B B, Wang M, Hu Y L, et al. Preliminary study on promoting effects of endophytic fungi to growth of *Rehmannia glutinosa* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(9): 1137-1140.
- [29] 林宏, 黄玉莲, 黄卫红, 等. 高产 IAA 抗旱菌株 SZF7 的培养条件优化及功能基因挖掘[J]. 热带作物学报, 2025, 46(3): 734-742. Lin H, Huang Y L, Huang W H, et al. Optimization of culture conditions and functional gene mining of high-yielding IAA drought-resistant strain SZF7 [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2025, 46(3): 734-742.

- [30] 相凯文, 李丹丹, 郭自春, 等. 一株高产吲哚乙酸促生菌的筛选鉴定、条件优化、应用效果及其代谢途径[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2599-2612.
Xiang K W, Li D D, Guo Z C, et al. A high indole-3-acetic acid-producing bacterial strain with plant growth-promoting effect: screening, identification, culture condition optimization, application, and genome-wide analysis [J]. Microbiology China, 2025, 52 (6) : 2599-2612.
- [31] 周士家, 孙正海, 李丽萍. 喀西茄内生真菌分离鉴定及促生功能验证[J]. 西南农业学报, 2024, 37(11): 2436-2443.
Zhou S J, Sun Z H, Li L P. Isolation, identification and growth promoting function of endophytic fungi in *Solanum aculeatissimum* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2024, 37(11): 2436-2443.
- [32] 杨帅, 王健生, 马振川, 等. 引致大豆根腐病的层出镰孢菌分离鉴定及其特性[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 187-188.
Yang S, Wang J S, Ma Z C, et al. Isolation and identification of *Fusarium proliferatum* causing soybean root rot and its biological characterization [J]. Journal of Plant Protection, 2012, 39(2): 187-188.
- [33] Desjardins A E, Plattner R D, Nelsen T C, et al. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(1): 79-86.
- [34] 张荷, 胡琼波, 刘承兰. 伏马菌素的毒性及其作用机理[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 162-168, 176.
Zhang H, Hu Q B, Liu C L. Toxicity and mechanism of fumonisins [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2016, 44 (1) : 162-168, 176.
- [35] Bryła M, Roszko M, Szymczyk K, et al. Fumonisin in plant-origin food and fodder - a review [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2013, 30(9): 1626-1640.
- [36] 文增叶, 李定华, 代梦瑶, 等. 三七根腐病原菌尖孢镰刀菌的生物学特性分析[J]. 中药材, 2019, 42(9): 1978-1984.
Wen Z Y, Li D H, Dai M Y, et al. Biological characteristics of *Fusarium oxysporum*, a pathogen of *Panax notoginseng* root rot [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2019, 42(9): 1978-1984.
- [37] 蔡玉彪, 窦涛, 高富涛, 等. 一株地黄叶枯病致病菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(7): 1824-1830.
Cai Y B, Dou T, Gao F T, et al. Identification and biological characteristics of a pathogen causing leaf blight of *Rehmannia glutinosa* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(7): 1824-1830