植物生态学报 2025, **49** (1): 189-198 DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188
Chinese Journal of Plant Ecology CSTR: 32100.14.cjpe.2024.0188

青霉菌灭活菌丝体对白车轴草和黑麦草生长及生理特性的影响

夏敏菖 李倩倩 钱清清 任淑君 梁应冲 陈亭颖 李映佳 牟宗敏 陈穗云*

云南大学生态与环境学院, 昆明 650500; 云南省作物病虫害生物防控工程技术研究中心, 昆明 650500

摘 要 施用生长促进剂是人工辅助干预加快退化草地生态恢复的重要手段, 为挖掘适用于退化草地的生长促进剂, 该研究采用盆栽实验和田间实验的方法, 探索了青霉素工业生产过程中产生的残余物青霉菌灭活菌丝体(DMP)对禾豆混播法常用牧草白车轴草(*Trifolium repens*)和黑麦草(*Lolium perenne*)生长生理的影响。研究结果表明: (1) DMP能够显著改善白车轴草和黑麦草的生理指标, 并改良二者的发育形态学性状。盆栽条件下每盆施用4.50 g DMP显著增加了黑麦草的株高和叶片数, 与复合肥处理相比分别增加了27.59%和44.16%, 而每盆施用2.25 g DMP显著增加了黑麦草的分蘖数, 与复合肥处理相比增加了38.79%。同时, 每盆施用2.25 g DMP显著增加了白车轴草的分支数和叶片数, 与复合肥处理相比分别增加了27.59%和44.16%。与复合肥处理相比, 每盆4.50 g DMP处理显著提高了黑麦草的叶绿素总量和粗脂肪含量, 提高率分别为12.77%和11.82%, 而每盆6.00 g DMP显著提高了黑麦草的粗蛋白含量, 提高率为119.94%。每盆4.50 g DMP处理也显著提高了白车轴草的叶绿素总量和粗蛋白含量, 与复合肥处理相比提高率分别为29.47%和42.46%。(2) DMP能够提高黑麦草和白车轴草的生物量。盆栽条件下, 与复合肥处理相比, 每盆3.40 g DMP处理显著提高了黑麦草和白车轴草的地上部分干质量, 提高率分别为22.76%和21.09%。在昭通低温寡日照田间条件下, 与复合肥处理相比, 225 kg·hm^{-2} DMP提高了黑麦草的地上部分和地下部分干质量积累, 提高率分别为64.53%和14.64%, 225 kg·hm^{-2} DMP也提高了白车轴草的地上部分和地下部分干质量积累, 提高率分别为58.00%和129.19%。(3)转录组测序表明, DMP处理诱导了黑麦草植物激素生物合成和信号转导通路相关基因的表达, 证实DMP通过诱导激素生物合成和信号转导通路促进牧草生长。该研究首次证实了DMP能够促进牧草生长, 提出了使用DMP作为牧草生长促进剂的新策略, 为低温寡日照条件下退化草地的修复及可持续发展提供了新思路。

关键词 退化草地恢复; 青霉菌灭活菌丝体; 促生长作用; 白车轴草; 黑麦草

夏敏菖, 李倩倩, 钱清清, 任淑君, 梁应冲, 陈亭颖, 李映佳, 牟宗敏, 陈穗云 (2025). 青霉菌灭活菌丝体对白车轴草和黑麦草生长及生理特性的影响. 植物生态学报, 49, 189-198. DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* on the growth and physiological performance of *Trifolium repens* and *Lolium perenne*

XIA Min-Chang, LI Qian-Qian, QIAN Qing-Qing, REN Shu-Jun, LIANG Ying-Chong, CHEN Ting-Ying, LI Ying-Jia, MOU Zong-Min, and CHEN Sui-Yun*

School of Ecology and Environmental Science, Yunnan University, Kunming 650500, China; and Biocontrol Engineering Research Center of Crop Disease & Pest of Yunnan Province, Kunming 650500, China

Abstract

Aims The application of growth promoter is an important tool for ecological restoration of degraded grassland by human intervention. Therefore, the aim of this study is to investigate the growth promoting effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* (DMP), a residue from the industrial production of penicillin, on the growth and physiological performance of *Trifolium repens* and *Lolium perenne*.

Methods In this study, we mainly applied pot experiment and field experiment to investigate the growth promoting effect of DMP addition on the performance of *T. repens* and *L. perenne*. Then we applied transcriptome sequencing to determine the molecular mechanism of DMP promoting effects on forage growth.

Important findings The results of this study are as follows: (1) DMP addition can significantly improve their physiological indices and enhanced developmental morphological traits of *T. repens* and *L. perenne*. Compared

收稿日期Received: 2024-06-06 接受日期Accepted: 2024-08-14
基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(A类) (XDA26020203)。Supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA26020203).
* 通信作者Corresponding author (chensuiyun@ynu.edu.cn)

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

with the compound fertilizer treatment, the application of 4.50 g DMP per pot significantly increased the plant height, tiller number and leaf number of *L. perenne*, and the application of 2.25 g DMP per pot significantly increased the plant height, branching number and leaf number of *T. repens*, while 4.50 g·pot^{-1} of DMP significantly increased the total chlorophyll content, crude protein content and crude fat content of *L. perenne*, and this concentration of DMP addition also significantly increased the total chlorophyll and crude protein contents of *T. repens*. (2) DMP addition can increase the biomass of *L. perenne* and *T. repens*. Under potting conditions, DMP application significantly increased aboveground fresh and dry mass of *L. perenne* and *T. repens* compared with compound fertilizer treatment. DMP at 225 kg·hm^{-2} also increased aboveground and belowground dry mass accumulation of *L. perenne* and *T. repens* under low temperature and low sunlight field conditions in Zhaotong. (3) Transcriptome sequencing showed that DMP treatment induced the expression of genes related to phytohormone biosynthesis and signal transduction pathways in *L. perenne*, confirming that DMP promotes forage growth by inducing hormone biosynthesis and signal transduction pathways. This study first demonstrates that DMP can promote the growth of forage, and proposes a new strategy of using DMP as a growth promoter, which provides new ideas for the restoration and sustainable development of degraded grasslands under low temperature and low sunlight conditions.

Key words restoration of the degraded grassland; dry mycelium of *Penicillium chrysogenum*; growth promotion; *Trifolium repens*; *Lolium perenne*

Xia MC, Li QQ, Qian QQ, Ren SJ, Liang YC, Chen TY, Li YJ, Mou ZM, Chen SY (2025). Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* on the growth and physiological performance of *Trifolium repens* and *Lolium perenne*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 49, 189-198. DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

草地是低纬度亚高山地区的生态安全屏障(伍祥文, 2019), 由于超载放牧等因素影响, 该地区草地生态系统平衡被打破(朱虹等, 2022)。同时, 当地自然地理条件严酷, 亚高山地区年平均气温低于10 ℃ (Liu et al., 2023), 年日照时间仅有1 000–1 200 h (邓军, 2023), 常规禁牧、轮牧、人工补播和施肥等草地修复技术难以实施。这些低纬度亚高山草地的退化使土壤微生物丰度和多样性显著下降, 微生物菌剂是修复退化草地的常用方法, 但外源微生物在退化草地群落中定植难度大, 微生物菌剂无法发挥预期效果(Liu et al., 2023)。因此微生物次生代谢产物成为低纬度亚高山草地恢复的可行策略。

青霉菌灭活菌丝体(DMP)是青霉素工业生产过程中产生的灭活残余物, 其中含有青霉菌次生代谢产物(Dong & Cohen, 2002a)。DMP无毒, 曾作为有机肥或养殖饲料等使用(端永明等, 2011)。研究发现, DMP能够诱导陆地棉(*Gossypium hirsutum*)、海岛棉(*Gossypium barbadense*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)等植物对真菌病害的系统抗性(Dong & Cohen, 2002b; Dong et al., 2003; 徐长亮等, 2009)。此外, DMP的多肽提取物能够通过激活ABA通路, 诱导本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)胞间连丝周围的胼胝质沉积, 从而限制烟草花叶病毒(TMV)的转移扩散(钟宇等, 2014; Zhong et al., 2015; Li et al., 2021)。DMP中的粗多糖也能够直接灭活TMV病毒颗粒(Fu et al., 2020), 也有证据表明DMP能够抑制线虫虫卵孵化(Gotlieb et al., 2003)。同时, DMP也能够促进多种植物生长, 使用DMP显著提高了普通烟草(端永明等, 2011)、番茄(*Solanum lycopersicum*) (Gotlieb et al., 2003)和马铃薯(*Solanum tuberosum*) (杨春震等, 2017)等茄科作物的产量, 对菜豆(*Phaseolus vulgaris*) (Wang et al., 2016)以及玉米(*Zea mays*)和水稻(*Oryza sativa*)也具有显著的增产作用(陈勇等, 2013; 罗刚等, 2015; 杨春震等, 2018)。DMP中含有7%氮(N)、1%磷(P)和2%钾(K), 用尿素、重过磷酸钙和KCl模拟该含量配置营养液处理陆地棉(*G. hirsutum* cv. ‘SCRC21’)作为对照, 与该处理相比, 相同养分含量DMP处理的实验组陆地棉产量显著提高(Dong et al., 2006)。表明DMP中除了营养元素外, 可能还含有其他能够促进植物生长的活性物质。由于DMP中不含活菌成分, 与传统菌剂相比, DMP具有显著活性的同时无需依赖活菌定植, 具有更广的施用范围。因此, 使用DMP作为牧草生长促进剂, 在云南东北部低纬度亚高山牧区推广有利于实现草牧业可持续健康发展。然而DMP是否能够促进牧草生长仍缺乏直接证据。

本研究以禾豆混播法常用牧草(豆科车轴草属白车轴草(*Trifolium repens*)和禾本科黑麦草属黑麦草(*Lolium perenne*))为研究材料, 探索DMP对牧草生长的影响。首先, 通过盆栽实验的方法发现DMP

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

显著提高了两种牧草的形态和生理指标。之后, 通过盆栽实验和田间实验进一步验证了DMP能够提高两种牧草的生物量。最后, 通过转录组测序, 发现DMP处理诱导了黑麦草植物激素生物合成和信号转导通路相关基因的表达。本研究提出一种能够促进牧草生长、提高牧草产量的新策略, 为在实际生产中使用DMP恢复人工牧草地提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 供试材料

青霉菌灭活菌丝体由昆明保腾生化技术有限公司提供。

白车轴草供试品种为海发白三叶(*T. repens* cv. 'Haifabaisanye'); 黑麦草供试品种为草地妞(*L. perenne* cv. 'Caodiniu')。

1.2 盆栽实验

将白车轴草和黑麦草的种子均匀播种在育苗盘(435 mm × 290 mm × 80 mm)中, 置于温室(温室温度为(25 ± 5) ℃, 湿度保持在70%左右, 自然光照)中进行培养。待白车轴草长出1片真叶、黑麦草长出2片叶片后移栽到营养盆(规格: 13 cm × 12 cm)中, 每盆移栽5株牧草幼苗, 每个营养盆装PINDSTRUP基质90 g, 并按照2 g·m^{-3}的浓度使用复合肥基施底肥(NO_3^--N:NH_4^+-N:P_2O_5:K_2O:S = 6.5:8.5:15:15:5.1)。DMP处理浓度参照本实验室前期研究中观察到具有促生长效果的浓度, 白车轴草设置3个DMP处理水平: 每盆2.25、3.40和4.50 g; 黑麦草设置4个DMP处理水平: 每盆2.25、3.40、4.50和6.00 g, 处理方式为将固体DMP拌入PINDSTRUP基质中, 以不拌入DMP作为对照(CK), 每盆拌入0.4 g商用复合肥(NO_3^--N:NH_4^+-N:P_2O_5:K_2O:S = 6.5:8.5:15:15:5.1, 用量参照每盆2.25 g DMP中的可溶性氮、磷、钾含量换算), 培养时两种牧草依照常规种植方法进行水肥管理。每个处理3次重复, 每个重复10株牧草幼苗。待白车轴草、黑麦草移栽后45天时取样, 测定相关各项指标。

1.2.1 形态指标测定

株高(cm): 用直尺测量单株牧草茎基部到茎尖端的长度。叶片数(片): 用计数法测定单株牧草的叶片数。分枝数或分蘖数(个): 用计数法测定单株牧草的分枝数或分蘖数。地上部分鲜质量(g): 将牧草植株的地上部分剪下, 用天平称量单株牧草地上部分的鲜质量。地上部分干质量(g): 将剪下的地上部分用清水洗净, 放入65 ℃烘箱中烘至恒质量, 用天平称量。进行统计学分析时, 各项指标均取10株牧草的平均值。

1.2.2 生理指标检测

叶绿素含量的测定方法采用丙酮乙醇混合法(张宪政, 1986), 分别取30株新鲜的白车轴草、黑麦草叶片, 混样称取0.1 g, 称取3次作为3个重复, 分别放入50 mL离心管中, 加入无水乙醇:丙酮(V/V = 1:1)混合液10 mL, 黑暗条件下浸提24 h, 使用分光光度计在663和645 nm处测定吸光度, 以无水乙醇:丙酮(V/V = 1:1)混合液作为空白对照。叶绿素含量计算公式如下:

叶绿素总量(mg·L^{-1}) = 20.2OD_{645} + 8.02OD_{663}

式中, OD_{645}和OD_{663}分别为叶绿素溶液在波长645和663 nm的光密度。

粗蛋白含量: 采用凯氏定氮法测定白车轴草和黑麦草的粗蛋白含量。粗脂肪含量: 采用索氏提取法测定白车轴草和黑麦草的粗脂肪含量。

1.3 田间实验

实验地点为云南省昭通市大关县。实验地土壤概况如下: pH 4.54、有机质含量126.9 g·kg^{-1}、全氮含量4.53 g·kg^{-1}、全磷含量0.935 g·kg^{-1}、全钾含量9.2 g·kg^{-1}、碱解氮含量364 mg·kg^{-1}、酸性有效磷含量2.5 mg·kg^{-1}、速效钾含量203 mg·kg^{-1}。实验设置6个处理: (1)空白对照(CK, 不添加DMP); (2)复合肥处理: 225 kg·hm^{-2}复合肥(NO_3^--N:NH_4^+-N:P_2O_5:K_2O:S = 6.5:8.5:15:15:5.1); (3) 225 kg·hm^{-2} DMP; (4) 450 kg·hm^{-2} DMP; (5) 2 250 kg·hm^{-2} DMP; (6) 4 500 kg·hm^{-2} DMP。设3个重复, 每个重复10个小区, 随机区组排列, 共30个小区, 小区面积为1 m^2 (1 m × 1 m), 实验前各小区土壤肥力均匀一致。每个小区中白车轴草和黑麦草种子的播种量均为5 g, 播种方式为撒播; 每个小区之间的距离为25 cm。在播种后撒入DMP, 后用细土覆盖种子。在白车轴草和黑麦草生长期间采用常规牧草生产田的水肥管理措施进行管理。白车轴草和黑麦草于2022年5月27日播种。待白车轴草和黑麦草生长4个月后, 进行采收, 测定白车轴草和黑麦草的生长相关指标, 进行显著性分析。具体测量指标及方法如下: 将牧草植株的地上部和根剪下, 洗净并置于通风处阴干至恒质量, 每10个小区作为一个重复, 每个重复分别用天平称量

DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

黑麦草和白车轴草的地上部分干质量和根干质量。

1.4 转录组测序

将黑麦草种子进行表面消毒，处理组培养基内加入琼脂和无菌水的同时每瓶加入0.05 g DMP，对照组只加入琼脂和无菌水，每个组培瓶中均匀置入5粒消毒过的黑麦草种子，待黑麦草幼苗长至1.5叶期，取黑麦草的茎基部及茎基部以上1 cm的部分作为样品，送至云南柳叶刀生物科技有限公司进行转录组测序。首先提取黑麦草样品的RNA，并进行RNA质量检测，检测合格后，构建cDNA文库，然后基于Illumina测序平台，采用第二代测序技术(NGS)进行测序。测序完成后，对原始数据进行过滤，将得到的高质量序列进行从头拼接获得转录本序列，后将转录本进行聚类，挑选最长的转录本作为Unigene，最后用Unigene进行后续的功能注释和表达量分析。

1.5 数据统计和分析

数据统计方法参照McDonald (2014)，使用SPSS Statistics软件对数据进行分析。使用Levene Test检测数据方差齐性，若$p < 0.1$则认为方差不齐，在$p < 0.05$水平下使用Welch's ANOVA对不同处理下白车轴草和黑麦草的生长情况进行比较分析。若Levene Test $p > 0.1$则认为方差齐，在$p < 0.05$水平下使用Tukey HSD检测对不同处理下白车轴草和黑麦草的生长情况进行比较分析，并使用GraphPad Prism 8软件绘制数据图。

2 结果

2.1 DMP显著提高黑麦草和白车轴草的形态指标和生理指标

2.1.1 DMP显著提高黑麦草和白车轴草的形态指标

DMP显著改善了禾本科牧草黑麦草地上部分形态指标(图1A)，DMP处理能显著提高黑麦草的株高、分蘖数和叶片数。每盆2.25、3.40、4.50、6.00 g DMP处理后，黑麦草的株高、分蘖数和叶片数均显著高于空白对照和复合肥处理。其中每4.50 g的DMP处理后黑麦草的株高和叶片数平均值最高，与复合肥处理相比分别增加了27.59%和44.16%。每盆2.25 g的DMP处理组的分蘖数平均值最高，与复合肥处理相比增加了38.79% (图1B–1D)。

DMP同样显著改善了豆科牧草白车轴草的形态指标(图1E)。DMP能显著提高白车轴草的分支数和叶片数。每盆2.25、3.40、4.50 g DMP处理后，处理组分支数与叶片数均显著高于空白对照和复合肥处理，其中每盆2.25 g DMP处理组的叶片数和分支数平均值最高，与复合肥处理相比分别增加了31.56%和33.33% (图1G、1H)。DMP不能提高白车轴草的株高，每盆2.25、3.40 g DMP处理组的株高与空白对照无显著差异，每盆4.50 g DMP处理组的株高显著低于空白对照(图1F)。

2.1.2 DMP显著改善黑麦草和白车轴草的生理指标

DMP处理能够显著提高黑麦草和白车轴草的叶绿素总量，在使用浓度为每盆4.50 g时，黑麦草和白车轴草的叶绿素总量平均值最高，与复合肥处理相比分别增加了12.77%和29.47% (图2A、2B)。

DMP处理可以显著提高白车轴草和黑麦草中粗蛋白和粗脂肪含量，提高白车轴草和黑麦草的品质(图2C–2F)。DMP处理显著提高了单子叶禾本科牧草黑麦草的粗脂肪含量(图2C)，各浓度DMP处理的黑麦草粗脂肪含量均显著高于空白对照，其中每盆2.25和4.50 g DMP处理的黑麦草粗脂肪含量显著高于复合肥处理。在各处理浓度中，每盆4.50 g DMP处理的黑麦草粗脂肪含量平均值最高，与复合肥处理相比增加了11.82%。DMP处理也显著提高了黑麦草的粗蛋白含量(图2D)，各浓度DMP处理的黑麦草粗脂肪含量均显著高于空白对照和复合肥处理，在各处理浓度中，每盆6.00 g DMP处理的黑麦草粗蛋白含量平均值最高，与复合肥处理相比增加了119.94%。同时，DMP处理也显著提高了豆科牧草白车轴草的粗蛋白含量(图2F)，各浓度DMP处理的白车轴草粗蛋白含量均显著高于空白对照和复合肥处理，其中每盆4.50 g DMP处理的白车轴草粗蛋白含量平均值最高，与复合肥处理相比提高了42.46%。DMP对白车轴草粗脂肪含量影响不显著(图2E)，虽然每盆2.25 g DMP处理的白车轴草粗脂肪含量显著高于空白对照，但与复合肥处理相比无显著差异。

2.2 DMP显著提高黑麦草和白车轴草的生物量

在证实了DMP能够显著提高白车轴草和黑麦草的形态指标并显著改善其生理指标后，本研究进一步探究DMP对牧草生物量的影响。盆栽实验证实，DMP能够提高黑麦草的地上部分鲜质量和地上部分干质量(图3A、3B)，各浓度DMP处理的地上部分鲜质量和地上部分干质量均显著高于空白对照和复

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

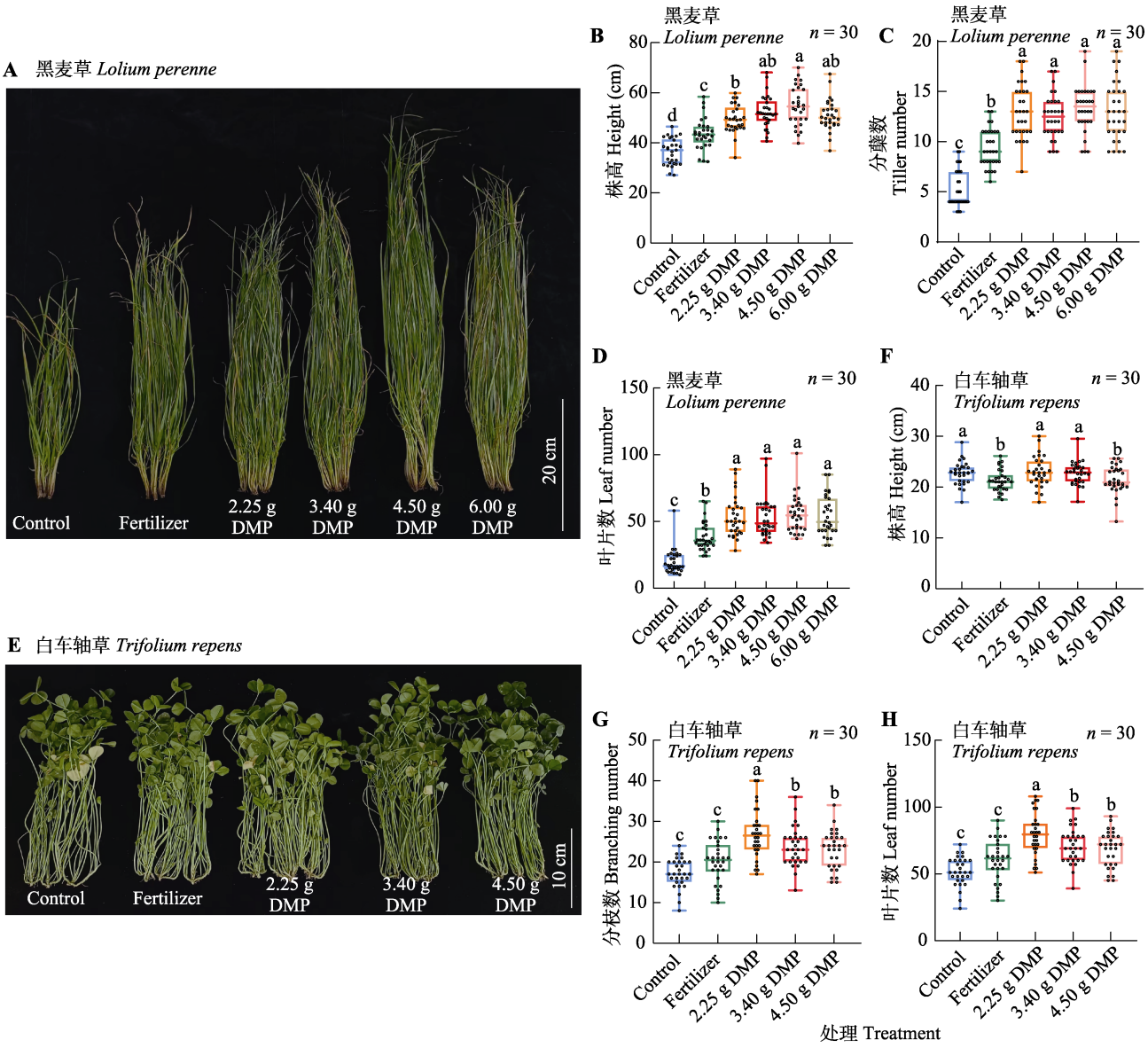


图1 青霉菌灭活菌丝体(DMP)对白车轴草和黑麦草形态指标的影响。Control, 空白对照; Fertilizer, 复合肥处理; *n*, 样本量。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 1 Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* (DMP) on morphological indicators of *T. repens* and *L. perenne*. *n*, sample size. Different lowercase letters mean significant differences among different treatments ($p < 0.05$).

合肥处理, 其中每盆6.00 g DMP处理的黑麦草地上部分鲜质量平均值最高, 与复合肥处理相比提高了67.28%, 每盆3.40 g DMP处理的黑麦草地上部分干质量平均值最高, 与复合肥处理相比提高了22.76%。同时, DMP也能够提高白车轴草的地上部分鲜质量和地上部分干质量(图3C、3D), 每盆2.25和3.40 g DMP处理的白车轴草地上部分鲜质量显著高于复合肥处理, 其中每盆2.25 g的DMP处理的白车轴草地上部分鲜质量平均值最高, 与复合肥处理比增加了19.74%。每盆3.40 g DMP处理的白车轴草地上部分干质量显著高于复合肥处理, 与其相比增加了21.09%。

田间条件下进一步验证DMP对黑麦草和白车轴草生物量的影响, 田间实验结果证实, 与复合肥处理相比, DMP能够显著提高白车轴草和黑麦草的地上部分及地下部分干质量, 且使用浓度为2250 kg·hm^{-2}时促进作用最显著(图3E–3H)。225 kg·hm^{-2} DMP提高了黑麦草的地上部分和地下部分干质量积累, 提高率分别为64.53%和14.64%, 225 kg·hm^{-2} DMP也提高了白车轴草的地上部分和地下部分干质量积累, 提高率分别为58.00%和129.19%。以上结果表明了DMP能够提高黑麦草和白车轴草的形态

DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

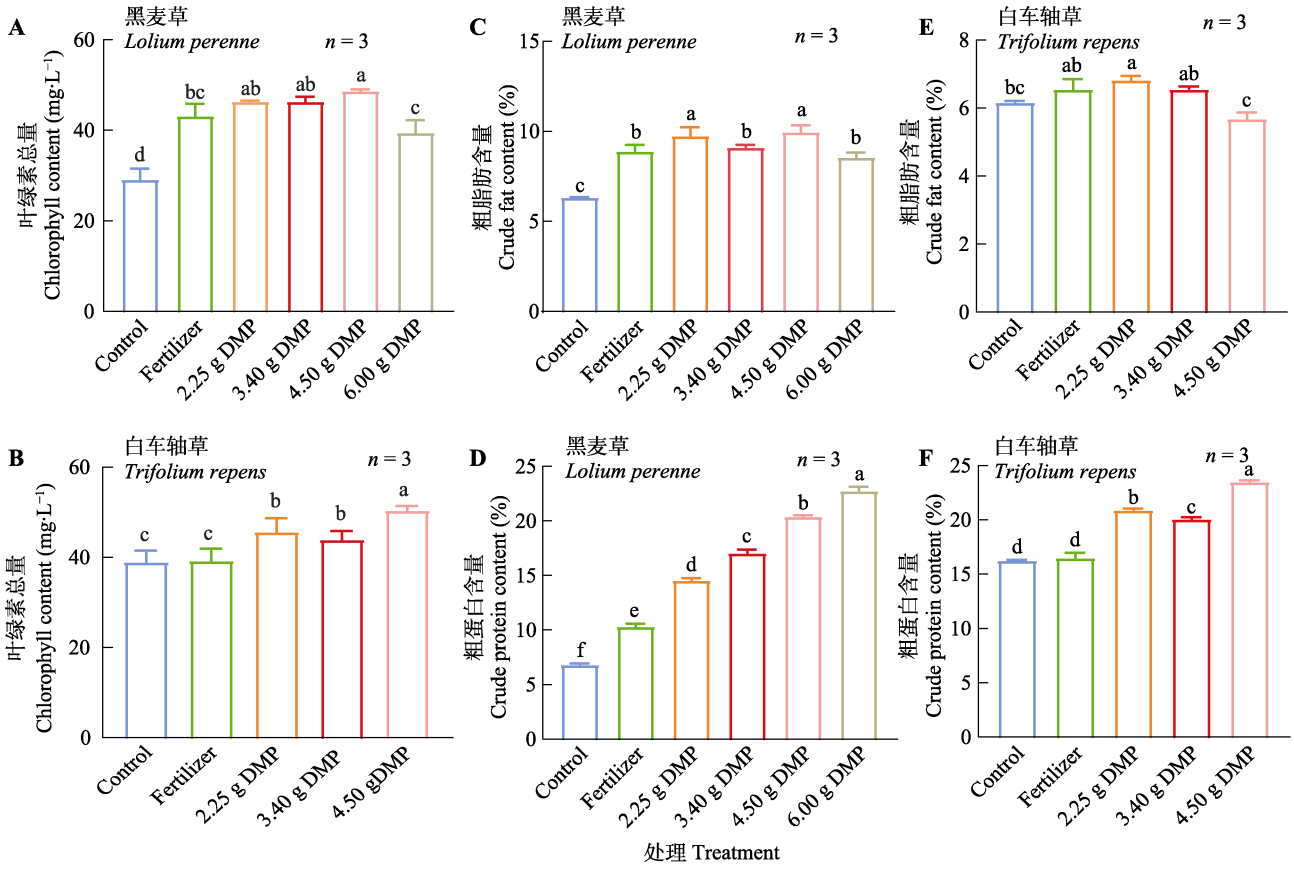


图2 青霉菌灭活菌丝体(DMP)对白车轴草和黑麦草生理指标的影响(平均值±标准差)。Control, 空白对照; Fertilizer, 复合肥处理; *n*, 样本量。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 2 Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* (DMP) on the physiological indicators of *T. repens* and *L. perenne* (mean ± *SD*). *n*, sample size. Different lowercase letters mean significant differences among different treatments ($p < 0.05$).

指标并改善其生理指标，最终提高其生物量，实现促进黑麦草和白车轴草的生长。

2.3 DMP调控内源植物激素生物合成和信号转导相关基因的表达诱导黑麦草分蘖

分蘖对禾本科牧草的产量起重要作用，在通过盆栽实验和田间实验验证了DMP能够诱导黑麦草分蘖后，本研究采用转录组测序的手段，进一步探究了DMP诱导黑麦草分蘖的分子机制。为尽可能减小取样时对黑麦草产生的机械损伤，本研究以黑麦草无菌苗为实验材料。根据预实验结果，每个组培瓶中加入0.05 g DMP处理的促生长效果最佳，因此，选用0.05 g DMP处理的黑麦草为处理组，以生长在水琼脂培养基中的黑麦草为空白对照，检测DMP对黑麦草基因表达的影响。在比较组CK vs DMP (空白对照 vs DMP处理组)中，以FPKM差异倍数|$\log_2$ Fold change| > 1，显著性$p < 0.05$为筛选阈值，共筛选到9 908条差异基因，其中上调差异基因有8 133条，下调差异基因有1 775条(图4A)。

内源植物激素是调控单子叶植物分蘖和生长的重要因素，通过挖掘差异基因注释文件，分析DMP处理对与分蘖有关的激素生物合成与信号转导基因的影响。在比较组CK vs DMP中玉米素生物合成相关基因*TRINITY_DN56821_c0_g1*、*TRINITY_DN216470_c0_g4*和*TRINITY_DN33845_c0_g2*表达上调，降解相关基因*TRINITY_DN17890_c0_g1*同样表达上调，同时细胞分裂素受体激酶基因*TRINITY_DN90968_c1_g1*和*TRINITY_DN48243_c0_g1*表达上调而*TRINITY_DN33298_c0_g1*表达下调。2个与油菜素内酯生物合成相关的细胞色素P450酶家族的基因*TRINITY_DN11796_c0_g1*和*TRINITY_DN216470_c0_g2*均表达上调；油菜素内酯信号激酶基因*TRINITY_DN119419_c0_g1*表达上调；生长素响应蛋白基因*TRINITY_DN36420_c0_g1*和*TRINITY_DN23374_c0_g1*表达上调，*TRINITY_DN30194_c1_g1*、*TRINITY_DN58456_c1_g2*、*TRINITY_DN1943_c0_g2*和*TRINITY_*

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

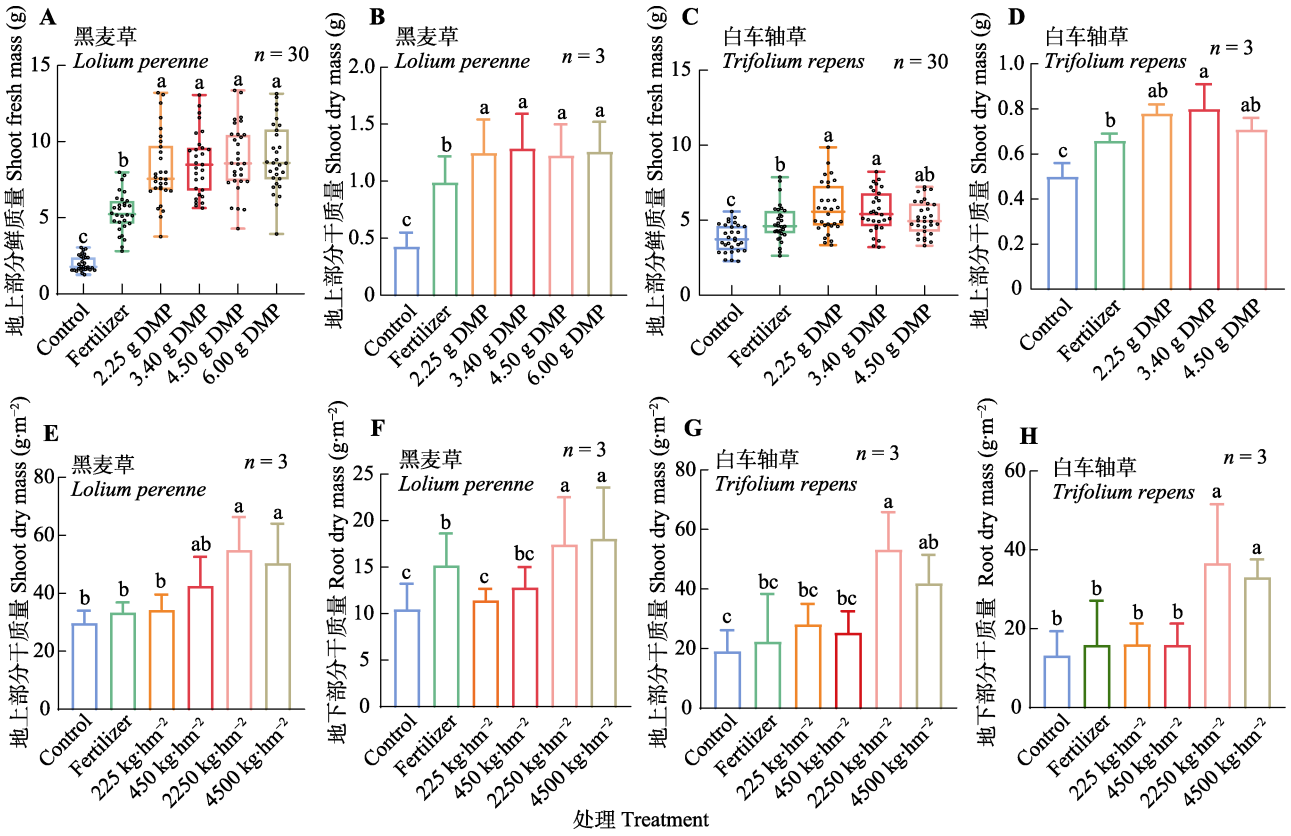


图3 青霉菌灭活菌丝体(DMP)对白车轴草和黑麦草生物量的影响(平均值±标准差)。**A–D**为盆栽条件，**E–H**为田间条件。Control，空白对照; Fertilizer，复合肥处理; *n*，样本量。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异($p < 0.05$)。

Fig. 3 Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* (DMP) on the biomass of *T. repens* and *L. perenne* (mean ± *SD*). **A–D** were under pot condition, **E–H** were under field condition. *n*, sample size. Different lowercase letters mean significant differences among different treatments ($p < 0.05$).

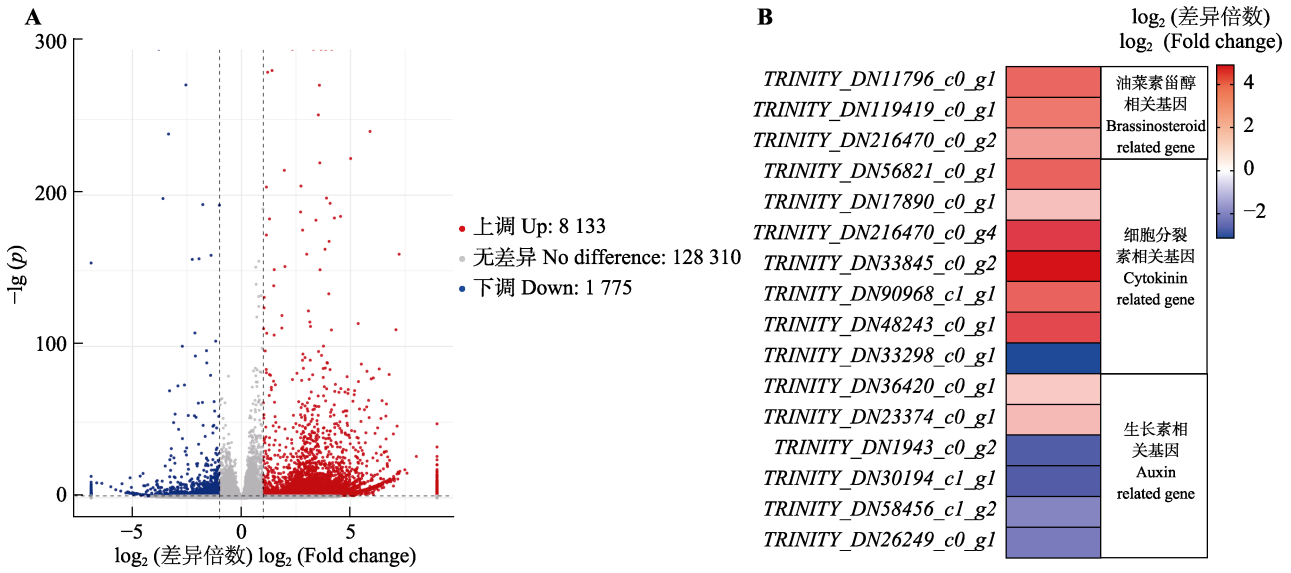


图4 青霉菌灭活菌丝体(DMP)调控内源植物激素生物合成和信号转导相关基因。**A,** 空白对照 vs DMP处理组差异基因火山图。**B,** 空白对照 vs DMP处理组内源植物激素生物合成和信号转导相关基因表达热图。

Fig. 4 Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* (DMP) regulates the expression of endogenous plant hormone biosynthesis and signal transduction related genes. **A,** Volcanic plot of differentially expressed genes in control (CK) vs DMP. **B,** Heat map of gene expressions related to endogenous plant hormone biosynthesis and signal transduction in CK vs DMP treatment.

DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

*DN26249_c0_g1*表达下调(图4B)。DMP处理调控了与分蘖有关的内源激素生物合成及信号转导相关基因的表达，本文盆栽实验证实每盆2.25 g的DMP处理组与复合肥处理相比分蘖数显著提高，增加了38.79%，因此推测DMP促进黑麦草生长的可能机制是调控其内源激素合成及信号转导。

3 讨论

本研究主要采用了盆栽实验和田间实验的方法，验证了青霉素工业生产过程中产生的残余物，青霉菌灭活菌丝体(DMP)对禾豆混播法常用的两种牧草白车轴草和黑麦草生长的促进作用。研究结果表明盆栽条件下不同处理浓度的DMP显著提高了白车轴草和黑麦草的株高、分枝数或分蘖数、叶片数，表明DMP能够改良牧草的形态指标。在此基础上，DMP处理提高了黑麦草和白车轴草的叶绿素含量，表明DMP促进期生长可能是通过提高其光合效率来实现的。此外，DMP提高了两种牧草的粗蛋白和粗脂肪含量，表明DMP能够改善牧草的品质指标。最后，盆栽实验和田间实验进一步验证了DMP能促进两种牧草地上和地下的干物质积累，进一步证实了DMP能够促进牧草生长。在证实了DMP能够促进牧草生长后，通过RNA-seq的方法对DMP促进牧草生长的分子机制进行了初步探究，结果表明，DMP通过诱导黑麦草植物激素生物合成和信号转导通路促进黑麦草分蘖。

3.1 植物激素和黄酮类物质可能是DMP促进牧草生长的物质基础

DMP成分复杂，其中含有真菌次生代谢产物和发酵残余物，但是否存在能够促进植物生长的物质仍然鲜有报道。真菌能够合成多种化合物来调控植物生长，合成植物激素是真菌与植物互作的重要方式，真菌也能够提高植物对土壤中氮、磷等矿质元素的利用效率来促进植物生长(Ryu et al., 2003)。系统发育证据表明，吲哚乙酸(IAA)的合成通路在细菌、微藻、真菌和植物类群中独立演化，且存在趋同进化的现象，表明真菌中存在IAA的从头合成通路(Fu et al., 2015)，已有报道发现固氮螺菌属真菌(*Azospirillum*)能够合成赤霉素(GAs)、脱落酸(ABA)和IAA等植物激素并诱导玉米抗旱性从而促进其生长(Cohen et al., 2009)，因此植物激素可能是DMP促进牧草生长的重要物质基础。此外，DMP中可能含有发酵残余的豆粕，其中可能含有豆科植物合成的黄酮类物质。黄酮类物质在植物缺磷响应过程中起重要作用，植物在缺磷条件能够下从根际分泌有机酸或黄酮类物质与土壤中的金属元素络合，从而释放与金属元素结合的植物难以直接利用的磷元素。已有报道证实，豆科植物白羽扇豆(*Lupinus albus*)根际分泌的黄酮能够螯合铁元素并降低土壤微生物的柠檬酸矿化作用，从而提高土壤的磷有效性(Weisskopf et al., 2006; Tomasi et al., 2008)。此外，从DMP的来源菌株产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)中也分离到了一种黄酮类化合物，表明产黄青霉能够合成黄酮类物质(Hou et al., 2016)。因此DMP可能能够通过其中的黄酮类物质提高土壤中磷的有效性，从而促进植物生长。综上所述，植物激素和黄酮类物质可能共同构成了DMP促进植物生长的物质基础，但目前仍然缺乏实验证据。此外，DMP促进牧草生长的作用是否由真菌次生代谢产物主导？DMP中的养分是否在其促进牧草生长的过程中起关键作用，目前仍然有待验证。

3.2 诱导植物激素生物合成从而促进分蘖可能是DMP促进黑麦草生长的分子机制

分蘖是禾本科牧草重要的功能性状，改变内源激素含量是单子叶植物调控分蘖的主要方式。能够调控单子叶植物分蘖的植物激素主要包括细胞分裂素(CTK)、IAA和油菜素甾醇(BR)；其中CTK和BR促进分蘖，IAA抑制分蘖(McSteen, 2009; Fang et al., 2020)。细胞分裂素氧化酶/脱氢酶(CKX)是控制植物内源细胞分裂素的关键因子，能够不可逆地降解植物中的细胞分裂素(Galuszka et al., 2001)。在水稻中*CKX*参与调控分蘖已经有了较为深入的报道，*OsCKX2*表达量增加导致水稻分蘖数量减少；osckx9突变体的分蘖数量高于野生型水稻植株；osckx11突变体株系分蘖数高于WT；osckx1 osckx2双突变体分蘖数显著减少，*OsCKX4*和*OsCKX9*的双敲除显著促进分蘖(Duan et al., 2019; Zhang et al., 2021; Rong et al., 2022)，表明提高内源CTK含量能够促进分蘖，本研究发现DMP能够促进黑麦草分蘖并上调黑麦草细胞分裂素合成及信号转导相关基因的结果与之相符。IAA能够抑制单子叶植物分蘖，其机制是诱导独脚金内酯(SL)的合成和抑制CTK的合成，SL能够抑制负调控植物分蘖的关键基因*TB1* (Teosinte Branched 1)的表达，而CTK则诱导该基因的表达

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

(Wang et al., 2018), 本研究结果发现DMP处理黑麦草能够使多个生长素响应蛋白出现差异表达, 表明IAA可能参与了DMP对黑麦草分蘖的调控过程。BR能够通过促进水稻腋芽的形成从而促进水稻分蘖, 其作用机制为负调控抑制分蘖的早期响应基因*FC1* (Fang et al., 2020)。本研究发现DMP处理黑麦草后, 4个被注释为调控BR生物合成的细胞色素P450酶基因和1个被注释为BR信号激酶(BSK3)的基因均表达上调, 表明DMP促进黑麦草分蘖的可能机制是诱导内源BR的合成, 后续实验可以进一步检验DMP处理后牧草内源激素的含量。

本研究提出了使用DMP作为牧草生长促进剂的新策略, 为昭通低温寡日照地区退化草地的修复及可持续发展提供了新思路。DMP也有望推广应用到其他低海拔亚高山地区或高寒草甸地区, 为提高草地生产力、充分发挥草地生态系统服务功能提供新方案。

参考文献

Chen Y, Zheng X, Zhang W, Li YC, Yan CL, Yang F, Yin ZR, Li WR, Wang JG, Chen SY (2013). Insect disease prevention efficiency and production increasing function of rice by using devitalized dry mycelium of *Penicillium chrysogenum*. *Journal of Kunming University*, 35(6), 66-68. [陈勇, 郑仙, 张旺, 李永川, 闫春丽, 杨发, 尹忠仁, 李文荣, 王建光, 陈穗云 (2013). 青霉菌灭活菌丝体对水稻病害的防效及其增产作用. 昆明学院学报, 35(6), 66-68.]

Cohen AC, Travaglia CN, Bottini R, Piccoli PN (2009). Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. *Botany*, 87, 455-462.

Deng J (2023). Restoration technology of degraded grassland in Zhaotong. *Forest Inventory and Planning*, 48, 207-212. [邓军 (2023). 昭通市退化草地修复技术研究. 林业调查规划, 48, 207-212.]

Dong H, Cohen Y (2002a). Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* induces resistance against verticillium wilt and enhances growth of cotton plants. *Phytoparasitica*, 30, 147-157.

Dong H, Cohen Y (2002b). Induced resistance in cotton seedlings against fusarium wilt by dried biomass of *Penicillium chrysogenum* and its water extract. *Phytoparasitica*, 30, 77-87.

Dong HZ, Li WJ, Zhang DM, Tang W (2003). Differential expression of induced resistance by an aqueous extract of killed *Penicillium chrysogenum* against verticillium wilt of cotton. *Crop Protection*, 22, 129-134.

Dong HZ, Zhang XK, Choen Y, Zhou Y, Li WJ, Li ZH (2006). Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* protects cotton plants against wilt diseases and increases yield under field conditions. *Crop Protection*, 25, 324-330.

Duan JB, Yu H, Yuan K, Liao ZG, Meng XB, Jing YH, Liu GF, Chu JF, Li JY (2019). Strigolactone promotes cytokinin degradation through transcriptional activation of *CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE 9* in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116, 14319-14324.

Duan YM, Wang XX, Xu XY, Chen L, Wang JG, Lin XH, Yang XC, Chen SY (2011). Effect of dry mycelium (dm) *Penicillium chrysogenum* (pen) on flue-CURED tobacco seeding-STAGE traits. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 24, 48-51. [端永明, 王晓霞, 徐兴阳, 陈林, 王建光, 林兴红, 杨新成, 陈穗云 (2011). 青霉菌灭活菌丝体对烤烟苗期性状的影响. 西南农业学报, 24, 48-51.]

Fang ZM, Ji YY, Hu J, Guo RK, Sun SY, Wang XL (2020). Strigolactones and brassinosteroids antagonistically regulate the stability of the D53-OsBZR1 complex to determine *FC1* expression in rice tillering. *Molecular Plant*, 13, 586-597.

Fu J, Zhang SY, Wu JH, Chen Y, Zhong Y, Zhou YF, Wang JG, Chen SY (2020). Structural characterization of a polysaccharide from dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* that induces resistance to Tobacco mosaic virus in tobacco plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 67-79.

Fu SF, Wei JY, Chen HW, Liu YY, Lu HY, Chou JY (2015). Indole-3-acetic acid: a widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling & Behavior*, 10, e1048052. DOI: 10.1080/15592324.2015.1048052.

Galuszka P, Frébort I, Sebela M, Sauer P, Jacobsen S, Pec P (2001). Cytokinin oxidase or dehydrogenase? Mechanism of cytokinin degradation in cereals. *European Journal of Biochemistry*, 268, 450-461.

Gotlieb D, Oka YJ, Ben-Daniel BH, Cohen Y (2003). Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* protects cucumber and tomato plants against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Phytoparasitica*, 31, 217-225.

Hou XM, Wang CY, Gu YC, Shao CL (2016). Penimethavone A, a flavone from a gorgonian-derived fungus *Penicillium chrysogenum*. *Natural Product Research*, 30, 2274-2277.

Li Y, Jiao MT, Li YJ, Zhong Y, Li XQ, Chen ZZ, Chen SY, Wang JG (2021). *Penicillium chrysogenum* polypeptide extract protects tobacco plants from tobacco mosaic virus infection through modulation of ABA biosynthesis and callose priming. *Journal of Experimental Botany*, 72, 3526-3539.

Liu KF, Li T, Duan XW, Zhang S, Chen MP, Hou HY, Wang

DOI: 10.17521/cjpe.2024.0188

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology

ZL, Yu AL, Chen DH, Zhang XL, Hu JM, Dong YF, Liu D, Che RX (2023). The degradation of subalpine meadows significantly changed the soil microbiome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 349, 108470. DOI: 10.1016/j.agee.2023.108470.

Luo G, Li W, Yan CL (2015). Research on the application of inactivated mycelium of *Penicillium* in rice production in Ning'er County. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 5, 14-16. [罗刚, 李伟, 闫春丽 (2015). 青霉菌灭活菌丝体在宁洱县水稻生产上的应用研究. 云南农业科技, 5, 14-16.]

McDonald JH (2014). *Handbook of Biological Statistics*. 3rd ed. Sparky House Publishing, Maryland, USA.

McSteen P (2009). Hormonal regulation of branching in grasses. *Plant Physiology*, 149, 46-55.

Rong CY, Liu YX, Chang ZY, Liu ZY, Ding YF, Ding CQ (2022). Cytokinin oxidase/dehydrogenase family genes exhibit functional divergence and overlap in rice growth and development, especially in control of tillering. *Journal of Experimental Botany*, 73, 3552-3568.

Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Wei HX, Paul W Paré PW, Kloepper JW (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 4927-4932.

Tomasi N, Weisskopf L, Renella G, Landi L, Pinton R, Varanini Z, Nannipieri P, Torrent J, Martinoia E, Cesco S (2008). Flavonoids of white lupin roots participate in phosphorus mobilization from soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 1971-1974.

Wang B, Liu H, Cai C, Thabit M, Wang P, Li G, Duan Z (2016). Effect of dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* fertilizer on soil microbial community composition, enzyme activities and snap bean growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 20728-20738.

Wang B, Smith SM, Li J (2018). Genetic regulation of shoot architecture. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 437-468.

Weisskopf L, Abou-Mansour E, Fromin N, Tomasi N, Santelia D, Edelkott I, Neumann G, Aragno M, Tabacchi R, Martinoia E (2006). White lupin has developed a complex strategy to limit microbial degradation of secreted citrate required for phosphate acquisition. *Plant, Cell & Environment*, 29, 919-927.

Wu XW (2019). Planting management and utilization techniques of Dabao Mountainous Grassland in the high cold mountain area of Zhaotong, Yunnan. *Practical Rural Technology*, (5), 45-47. [伍祥文 (2019). 云南昭通高寒山区大山包草地建植及管理利用技术. 农村实用技术, (5), 45-47.]

Xu CL, Xia KB, Zeng R, Yin SA, Wang XX, Zhang G, Ji GH, Chen SY (2009). Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* induces resistance against black shank and enhances growth of tobacco. *Journal of Qinghai Normal University* (*Natural Science Edition*), (2), 40-43. [徐长亮, 夏开宝, 曾嵘, 殷寿安, 王晓霞, 张鸽, 姬广海, 陈穗云 (2009). 青霉菌灭活菌丝体对烟草生长及黑胫病防治的影响. 青海师范大学学报(自然科学版), (2), 40-43.]

Yang CZ, Wang ZH, Guan XZ, Yang LX (2018). The effect of organic inducible disease inhibitor "Duotaibao" on the prevention and control of maize leaf spot disease. *Yunnan Agriculture*, (2), 77-78. [杨春震, 王忠华, 关学柱, 杨丽霞 (2018). 有机诱导抗病剂"多肽保"对玉米叶斑病的防控效果. 云南农业, (2), 77-78.]

Yang CZ, Wang ZH, Hu Y, He RF, Guan XZ, Yang LX (2017). The application of organic induced disease resistance agent "Duotaibao" in potato production. *Yunnan Agriculture*, (9), 55-56. [杨春震, 王忠华, 胡彦, 和汝凤, 关学柱, 杨丽霞 (2017). 有机诱导抗病剂"多肽保"在马铃薯生产上的应用. 云南农业, (9), 55-56.]

Zhang W, Peng KX, Cui FB, Wang DL, Zhao JZ, Zhang YJ, Yu NN, Wang YY, Zeng DL, Wang YH, Cheng ZK, Zhang KW (2021). Cytokinin oxidase/dehydrogenase OsCKX11 coordinates source and sink relationship in rice by simultaneous regulation of leaf senescence and grain number. *Plant Biotechnology Journal*, 19, 335-350.

Zhang XZ (1986). Determination of chlorophyll content in plants—Acetone ethanol mixture method. *Liaoning Agricultural Science*, (3), 26-28. [张宪政 (1986). 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法. 辽宁农业科学, (3), 26-28.]

Zhong Y, Chen ZZ, Xie H, Yan F, Shi HM, Zhang PY, Wang JG, Chen SY (2014). Primary researches on dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* induced defense responses of tobacco BY-2 cell suspensions. *Acta Phytopathologica Sinica*, 44, 679-686. [钟宇, 陈壮壮, 谢虹, 燕飞, 时红敏, 张鹏远, 王建光, 陈穗云 (2014). 青霉菌灭活菌丝体诱导烟草BY-2悬浮细胞防卫反应的初步研究. 植物病理学报, 44, 679-686.]

Zhong Y, Peng JJ, Chen ZZ, Xie H, Luo D, Dai JR, Yan F, Wang JG, Dong HZ, Chen SY (2015). Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* activates defense responses and restricts the spread of Tobacco Mosaic Virus in tobacco. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 92, 28-37.

Zhu H, Shen YX, Chen FJ, Fu X, Wang W (2022). Impacts of the degraded grassy hill and artificial reconstruction on soil seed bank in southern Zhaotong. *Acta Agrestia Sinica*, 30, 1359-1369. [朱虹, 沈有信, 陈发军, 付珣, 王文 (2022). 昭通南方草山退化及人工改造对土壤种子库的影响. 草地学报, 30, 1359-1369.]

责任编委: 陈保冬 责任编辑: 赵 航

©植物生态学报 Chinese Journal of Plant Ecology