

桃色欧文氏菌 Cp2 脂多糖对秀丽隐杆线虫生长发育的影响

张宏,黄荣,姚博,赵亮,张振粉*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探究桃色欧文氏菌 Cp2 脂多糖(*Erwinia persicina*Cp2 Lipopolysaccharides, Cp2-LPSe)对秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)生长发育的影响。【方法】以野生型秀丽隐杆线虫 N₂ 为材料,用试剂盒法提取纯化 Cp2-LPSe,用不同浓度 Cp2-LPSe(0、0.157、0.314、0.471、0.628 与 0.785 EU/mL)处理秀丽隐杆线虫,测定其咽泵次数、繁殖能力、体脂含量、寿命长短、运动速度、运动振幅、身体弯曲频率等指标。【结果】各 Cp2-LPSe 浓度的处理下,秀丽隐杆线虫的生长发育总体呈现先上升后下降的趋势,当浓度低于 0.314 EU/mL Cp2-LPSe 时,除体脂含量外各指标均显著高于对照($P < 0.05$),并在 0.314 EU/mL 达到最大值;浓度超过 0.314 EU/mL 时,各指标均显著低于对照($P < 0.05$)。【结论】低于 0.314 EU/mL Cp2-LPSe 处理秀丽隐杆线虫会提高其咽泵次数、运动速度、身体弯曲频率、运动振幅,在体脂含量不增高的前提下提高其繁殖能力、延长其寿命,促进其生长发育。本研究为 Cp2-LPSe 作为一种延缓机体衰老制剂的开发提供理论依据。

关键词:桃色欧文氏菌脂多糖;秀丽隐杆线虫;生长发育

中图分类号:Q936 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)05-0082-06

DOI:10.13817/j.cnki.cycp.2024.05.009



桃色欧文氏菌(*Erwinia persicina*)是一种革兰氏阴性细菌(Gram-negative bacteria),菌株 Cp2 分离于紫花苜蓿种子,是引起紫花苜蓿萎蔫病的主要病原菌^[1-2]。脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)作为一种细菌代谢产物,是构成革兰氏阴性细菌外膜的主要成分,是具有免疫功能的活性物质和非分泌性物质,由类脂 A、核心多糖和 O-抗原 3 部分组成^[3-4]。笔者发现 0.157 EU/mL 桃色欧文氏菌 Cp2 脂多糖(Cp2 Lipopolysaccharides, Cp2-LPSe)对紫花苜蓿幼苗生长

有促进作用,而大于此浓度紫花苜蓿生长就会受到抑制^[5]。LPS 也叫内毒素(Endotoxin),可以诱导动植物产生免疫反应^[6]。LPS 低浓度时可刺激机体免疫系统,增强固有免疫功能,高浓度时会引起广泛而强烈的炎症反应^[7];如在低浓度 LPS 作用下猪精子有一定抗性,高浓度的 LPS 影响精子的保存期^[8];LPS 干预妊娠母鼠后,使母鼠繁殖性能指标下降,仔鼠体内 LPS 含量增高,抑制仔鼠免疫抗体的水平^[9];低浓度成团泛菌 CQ10-LPS 促进紫花苜蓿生长,高浓度则抑制紫花苜蓿生长^[10]。

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)是一种以细菌为食,生活在土壤中的小型线虫,因易饲养、生命周期短、成本低、繁殖能力强、结构简单、易于构建模型等特点,作为一种模式生物,被广泛应用于毒理学、疾病模型、遗传发育、运动与行为等领域^[11-12]。目前,研究者用线虫研究生防真菌^[13-16]、用秀丽隐杆线虫研究辣椒素、四溴双酚 A、林丹等物质毒理的报道较

收稿日期:2023-02-14;修回日期:2023-03-31

基金资助:国家自然科学基金(32060369);甘肃省杰出青年基金(20JR10RA562);草业生态系统教育部重点实验室-人才培育项目(KLGE202203)

作者简介:张宏(1997-),男,土族,甘肃天祝人,硕士研究生。E-mail:1510517949@qq.com

*通信作者。E-mail:zhangzf@gsau.edu.cn

多^[17-19]。但桃色欧文氏菌 Cp2-LPSe 对秀丽隐杆线虫的生长发育研究国内较少报道。

因此,本试验以秀丽隐杆线虫为试验动物,桃色欧文氏菌 Cp2-LPSe 为研究对象,测定了不同浓度桃色欧文氏菌 Cp2-LPSe 对秀丽隐杆线虫生长发育(咽泵次数、繁殖能力、体脂含量、寿命长短、运动速度、运动振幅、身体弯曲频率)的影响,阐明秀丽隐杆线虫对桃色欧文氏菌 Cp2-LPSe 浓度的响应机理,以期为开发基于 Cp2-LPSe 的延缓机体衰老制剂奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试菌株:桃色欧文氏菌 Cp2,来自甘肃农业大学草业学院牧草病理学实验室。

供试线虫:野生型秀丽隐杆线虫 N_2 ,来自吉林大学生物与农业工程学院实验室。

供试营养琼脂/液体培养基(Nutrient Agar, NA/NB)^[16]用于 Cp2 菌株的培养和短期保存。

供试 LB(Luria-Bertani)固体/液体培养基^[13]用于与大肠杆菌(*Escherichia coli*)OP50 的培养与保存。

供试线虫生长培养基(Nematode Growth Medium, NGM)(100 mL 体系)^[17]用于野生型秀丽隐杆线虫 N_2 的培养。

M9 缓冲液(M9 buffer)、裂解液、油红 O 工作液^[13]等用于秀丽隐杆线虫的分离染色。

LPS 提取试剂盒(贝博生物)用于桃色欧文氏菌 Cp2-LPSe 的提取。

1.2 试验方法

1.2.1 Cp2-LPSe 的提取 桃色欧文氏菌 Cp2 菌株在 NA 培养基上生长 48 h 后,使用贝博生物科技有限公司 BBproExtra 脂多糖提取试剂盒,提取 Cp2-LPSe 具体方法参照说明书。

1.2.2 Cp2-LPSe 活性测定 根据黄荣等^[22]定量法鲎试剂测定 LPS 活性得出的标准曲线,将 3 次测定的样品的平均值带入到标准曲线中求得 Cp2-LPSe 活性为 0.157 EU/mL。

1.2.3 秀丽隐杆线虫培养 用无菌 M9 缓冲液冲洗培养皿的成虫于离心管中,混合后,转移至涂有 *E. coli* OP50 的 NGM 培养基上,20 °C 生化箱培养。长期储存时,酒精擦拭小刀且火焰灼烧后,切取一小块含有

大量秀丽隐杆线虫的培养基放置在有 *E. coli* OP50 的 NGM 培养基上培养储存。

1.2.4 秀丽隐杆线虫同步化 参照华欣^[19]的研究并作适当修改用无菌 M9 液冲洗有明显产卵成虫的 NGM 培养基冲洗至离心管内,加入裂解液,摇匀后在 3 060 r/min 下离心 2~4 min。无菌 M9 液冲洗沉淀后,混合均匀并转移到有 *E. coli* OP50 的 NGM 培养基上,于 20 °C 无菌生化培养箱内培养 12 h(L1 期秀丽隐杆线虫)与 48 h(L4 期秀丽隐杆线虫)。

1.2.5 Cp2-LPSe 浓度 根据预试验结果确定的浓度,设 0(CK)、0.157、0.314、0.471、0.628 与 0.785 EU/mL Cp2-LPSe 6 种浓度。

1.3 指标测定方法

1.3.1 咽泵次数 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,将其倒置在显微镜下,5 min 后待其行为稳定,以 10X 物镜观察,同时录制视频,计数其口腔研磨器的运动次数 20 s,换算为秀丽隐杆线虫 1 min 的咽泵率。每个处理 10 条线虫,重复 4 次。

1.3.2 繁殖能力 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,秀丽隐杆线虫在 NGM 固体培养基培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上(每个浓度每个培养皿 1 条线虫,重复 10 次),在 20 °C 恒温培养。观察其产卵情况,隔天统计后代数目,至秀丽隐杆线虫不再产卵。

1.3.3 体脂含量 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将 10 条秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,培养 2 d 后,收集秀丽隐杆线虫时用 M9 溶液冲洗 NGM 培养皿,离心弃上清液后加入 M9 溶液重悬离心后弃上清液,重复 3 次,加入 0% 异丙醇溶液于室温手动振摇 3 min,离心后弃上清液,加入油红 O 工作液摇匀,置于室温下用轨道摇床以 30 r/min 振摇 2 h,以对秀丽隐杆线虫进行染色。除去过量的油红 O 工作液时,离心后弃上清液,加入 M9 溶液重悬,于室温下用轨道摇床以 30 r/min 振摇 30 min。将沉淀的线虫混悬,制成标本,4 °C 下保存

24 h。显微镜 10X 物镜下,观察秀丽隐杆线虫染色情况,拍照并用 ImageJ 软件数据分析,计算秀丽隐杆线虫体脂含量。

1.3.4 寿命长短 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,每个处理 25 条线虫,3 个重复,置于 20 °C 生化培养箱中培养。当线虫处于产卵高峰期时,需每天将其转移至新涂菌的 NGM 固体培养皿上,其余时间每隔 1 d 转移 1 次,直至该处理的线虫全部死亡。计数每天死亡的线虫,计算存活率(存活率=(总数-死亡数/总数)^[21])。计数时,第 0 d 为线虫接种日并且从第 8d 开始每隔 1 d 计数 1 次;前 7 d 死亡的均被认为非正常死亡,不作计数。用 Kaplan-Meier 法制作生存曲线图表示秀丽隐杆线虫在各 Cp2-LPSe 浓度下的寿命^[22]。(判定线虫死亡标准:无运动能力、咽泵部位无跳动、对机械刺激无反应)。

1.3.5 运动速度 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,将其倒置于显微镜下,1 min 左右待其行为稳定,显微镜 0.4X 物镜观察,同时用相机录制视频,Movement Tracker 软件进行分析,获取 20 s 内每一条线虫的运动距离,计算其运动速度。每个处理 10 条线虫,重复 4 次。

1.3.6 运动振幅 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,将其倒置于显微镜下,1 min 左右待其行为稳定,显微镜 1.5X 物镜观察,同时用相机录制视频,Tierpsy Tracker 软件进行分析,计算 20 s 内每一条秀丽隐杆线虫的运动振幅。每个处理 10 条线虫,重复 4 次。

1.3.7 身体弯曲频率 参照郭凯欣^[17]的研究并作适当修改,将秀丽隐杆线虫培养至 L4 期后,挑取至涂布了一定浓度的 Cp2-LPSe 溶液与 *E. coli* OP50 浓缩菌液的 NGM 固体培养基上,将其倒置于显微镜下,1 min 左右待其行为稳定,显微镜 1.5X 物镜观察,同时用相机录制视频,计数 20 s 内其身体弯曲次数。每个

处理 10 条线虫,重复 4 次。

1.4 数据分析

数据整理采用 Excel 软件,数据统计分析应用 IBM SPSS 26 软件,图片处理用 Origin 2022 Pro 与 Adobe Illustrator 2023,秀丽隐杆线虫的寿命实验采用 Kaplan-Meier 法进行数据分析,其余采用 Duncan 法对不同处理进行单因素方差分析和显著性比较。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 Cp2-LPSe 对秀丽隐杆线虫咽泵次数的影响

各 Cp2-LPSe 浓度下秀丽隐杆线虫的咽泵次数总体呈先增加后减少的趋势,其中 0.157 与 0.314 EU/mL 处理较对照分别显著增加了 3.86%,8.99% ($P < 0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL 处理比对照显著减少 2.54%,5.33% 和 9.58% ($P < 0.05$)(图 1)。

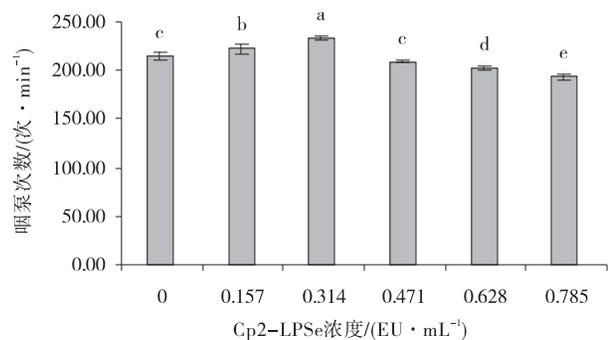


图 1 秀丽隐杆线虫在 6 个不同浓度 Cp2-LPSe 处理下的咽泵次数

Fig. 1 Number of pharyngeal pumps in 6 different concentrations of Cp2-LPSe for *Caenorhabditis elegans*

注:图中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 不同浓度的 Cp2-LPSe 对秀丽隐杆线虫繁殖能力的影响

各 Cp2-LPSe 浓度下秀丽隐杆线虫的繁殖能力总体呈先升高后降低的趋势,其中 0.157 与 0.314 EU/mL 处理较对照分别显著增加了 7.79%,24.67% ($P < 0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL 处理比对照显著减少 2.6%,16.45% 和 29.44% ($P < 0.05$)(图 2)。

2.3 不同浓度的 Cp2-LPSe 对秀丽隐杆线虫体脂含量的影响

各 Cp2-LPSe 浓度下秀丽隐杆线虫的体脂含量

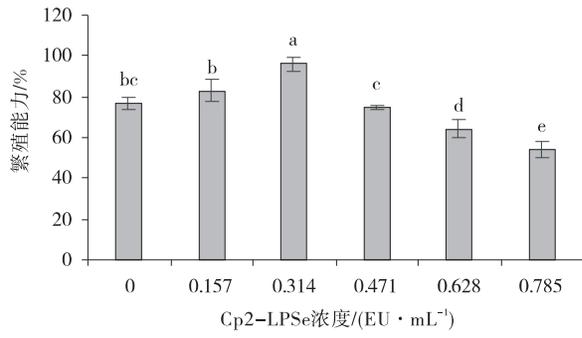


图2 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的繁殖能力

Fig. 2 Reproductive capacity of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

总体呈减少的趋势,其中0.157与0.314 EU/mL处理较对照分别减少了0.55%,2.6% ($P>0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL处理比对照显著减少5.67%,8.74%和11.38% ($P<0.05$) (图3)。

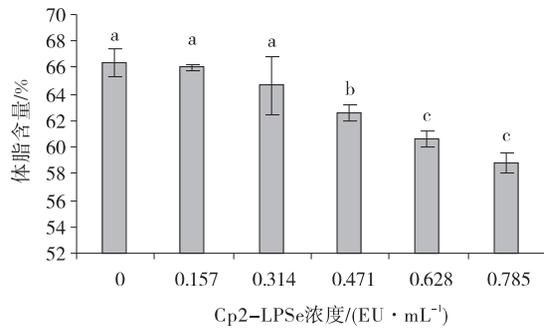


图3 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的体脂含量

Fig. 3 Body fat content of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

2.4 不同浓度的Cp2-LPSe对秀丽隐杆线虫存活率的影响

从第8~22天,各Cp2-LPSe浓度下秀丽隐杆线虫的存活率总体随着时间的增加不断下降,其中0.157与0.314 EU/mL处理下的存活率始终高于对照,其余处理存活率均小于对照,并随着Cp2-LPSe浓度的增大,存活率依次降低(图4)。

2.5 不同浓度的Cp2-LPSe对秀丽隐杆线虫运动速度的影响

各Cp2-LPSe浓度下秀丽隐杆线虫的运动速度总体呈先升高后降低的趋势,其中0.157与0.314 EU/mL处理较对照分别显著增加了9.92%,16.03% ($P<0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL处理比对照显著减少0.89%,15.39%和43.63% ($P<$

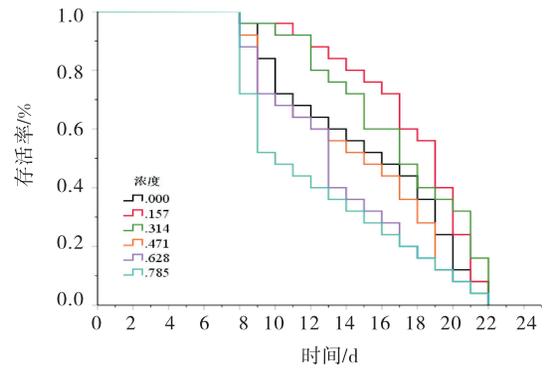


图4 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的存活率(生存曲线)

Fig. 4 Survival curve of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

0.05)(图5)。

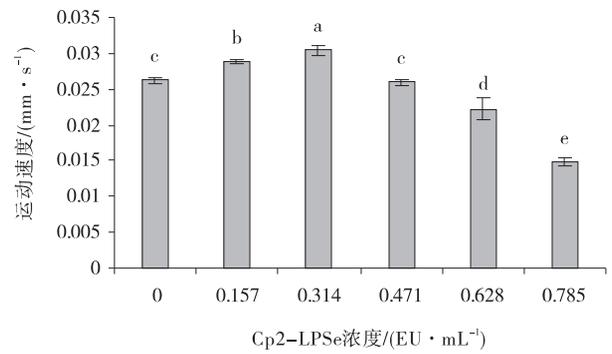


图5 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的运动速度

Fig. 5 Movement velocity of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

2.6 不同浓度的Cp2-LPSe对秀丽隐杆线虫运动振幅的影响

各Cp2-LPSe浓度下秀丽隐杆线虫的运动振幅总体呈先增加后减小的趋势,其中0.157与0.314 EU/mL处理较对照分别显著增加了2.85%,8.55% ($P<0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL处理比对照显著减少1.53%,7.08%和15.14% ($P<0.05$) (图6)。

2.7 不同浓度的Cp2-LPSe对秀丽隐杆线虫身体弯曲频率的影响

各Cp2-LPSe浓度下秀丽隐杆线虫的身体弯曲频率总体呈先增加后减小的趋势,其中0.157与0.314 EU/mL处理较对照分别显著增加了7.72%,17.32% ($P<0.05$);0.471、0.628、0.785 EU/mL处理比对照显著减少1.93%,7.06%和22.5% ($P<$

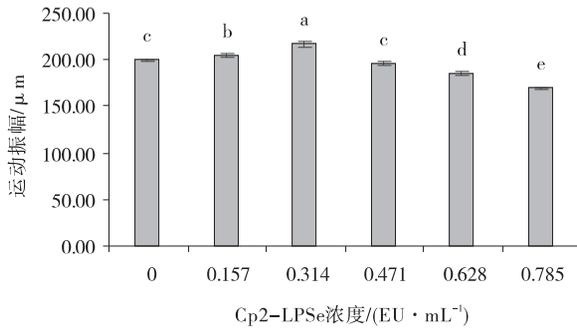


图6 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的运动振幅

Fig. 6 Motion amplitude of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

0.05)(图7)。

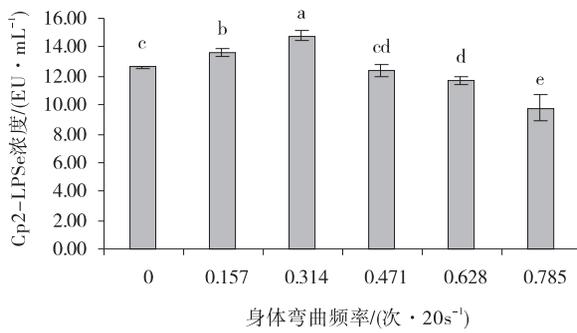


图7 秀丽隐杆线虫在6个不同浓度Cp2-LPSe处理下的身体弯曲频率

Fig. 7 Body bending frequency of *Caenorhabditis elegans* at 6 different concentrations of Cp2-LPSe

3 讨论

LPS是革兰氏阴性细菌代谢产物之一,作为一种毒力因子,在机体内可以诱发炎症细胞浸润、炎症因子释放及肺泡上皮细胞死亡,能够干扰动物肝脏代谢,从而导致慢性肝功能衰竭,也可通过多种机制影响大鼠肌质网钙调节蛋白的作用,抑制心肌细胞功能^[23-25]。不同浓度下的LPS能使机体产生不同的反应,低浓度LPS刺激可减轻细胞凋亡,促进体液免疫及细胞免疫,从而促进机体的生长发育、增强其抗感染能力,使其运动能力在某个时间点达到最佳;高浓度LPS刺激会使细胞凋亡,从而缩短机体寿命,使其抗感染能力及运动能力下降^[26-27]。本研究以秀丽隐杆线虫为模型,在咽泵次数、繁殖能力、体脂含量、寿命长短、运动速度、身体弯曲频率、运动振幅等方面探索了桃色欧文氏菌Cp2-LPSe对其生长发育的影响。

目前研究表明,一些生物制剂对秀丽隐杆线虫的

生长发育有着低浓度促进,高浓度抑制的作用。如郭凯欣^[17]发现低浓度辣椒素处理可增加秀丽隐杆线虫的运动速度、身体弯曲频率及咽泵运动,降低其体脂含量;高浓度辣椒素会缩短秀丽隐杆线虫的寿命,而低浓度辣椒素在延长其寿命的同时不影响其繁殖能力。时悦^[28]研究发现低浓度的乙醇能够延长秀丽隐杆线虫的寿命,而高浓度的乙醇对其具有毒性,导致寿命缩短,乙醇浓度越大,生长发育越慢,还会降低其生殖能力。本试验研究结果表明:相较于对照组,0.157与0.314 EU/mL Cp2-LPSe处理秀丽隐杆线虫,会提高其咽泵次数、运动速度、身体弯曲频率、运动振幅,提高其繁殖能力、延长其寿命,体脂含量却未发生变化,且0.314 EU/mL处理下,较0.157 EU/mL处理显著提高上述指标($P < 0.05$);当浓度超过0.314 EU/mL时,则会使秀丽隐杆线虫的咽泵次数、运动速度、身体弯曲频率、运动振幅降低,繁殖能力减弱,寿命变短;同时体脂含量随着浓度的增大不断降低。综上所述,低浓度Cp2-LPSe处理会促进秀丽隐杆线虫生长发育,高浓度则会抑制其生长发育,且浓度越高抑制效果越明显,宋杰琴^[27]的研究发现不同浓度LPS对线虫生长发育的影响存在差异,线虫运动能力随着LPS浓度升高而减弱,且低浓度LPS能增强其抗感染能力,与本试验结果相一致;黄荣等^[10]、张宏等^[5]低浓度LPS促进紫花苜蓿生长,高浓度则抑制紫花苜蓿生长的结果同样与本研究结果相同。

4 结论

随着Cp2-LPSe浓度的升高,秀丽隐杆线虫生长发育的总体呈现先被促进后被抑制的趋势,在0.157与0.314 EU/mL Cp2-LPSe处理下,秀丽隐杆线虫咽泵次数、运动速度、身体弯曲频率及运动振幅提高,繁殖能力增强,寿命延长,浓度超过0.314 EU/mL时,秀丽隐杆线虫的咽泵次数、运动速度、身体弯曲频率、运动振幅降低,繁殖能力减弱,寿命变短;同时体脂含量随着浓度的增大不断降低。因此,0.314 EU/mL Cp2-LPSe处理秀丽隐杆线虫会促进其生长发育,在不使体脂增加的情况下延长其寿命。

参考文献:

[1] 张振粉. 紫花苜蓿种带细菌及其致病性[D]. 兰州: 兰州

- 大学,2013:99-101
- [2] Zhang Z, Nan Z. First report of *Erwinia persicinus* causing wilting of *medicago sativa* sprouts in China[J]. Plant Disease, 2012, 96(3):454-454
- [3] Zhang Z, Nan Z. Occurrence of lucerne seed-borne *Enterobacter cloacae* sprout decay in Gansu Province of China [J]. European Journal of Plant Pathology, 2013, 135(1):5-9
- [4] 王璇,杜蕊,韩悦,等. 脂多糖的研究进展[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(5):775-776
- [5] 张宏,黄荣,姚博,等. 桃色欧文氏菌 Cp2脂多糖对紫花苜蓿幼苗生长的影响[J]. 草地学报, 2022, 30(11):1-13.
- [6] Thomas B, Georg F. Renaissance of elicitors: Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors[J]. Annual Review of Plant Biology, 2009, 60(1):379-406
- [7] Shang-Guan K, Wang M, Htwe N, et al. Lipopolysaccharides trigger two successive bursts of reactive oxygen species at distinct cellular locations [J]. Plant physiology, 2018, 176(3):2543-2556
- [8] 王硕,魏国生,李井春,等. 内毒素对17°C环境下猪精子质量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(1):92-96.
- [9] 严杜建,安利彦,谢丹阳,等. 内毒素对雌性小鼠繁殖性能指标的影响[J]. 动物医学进展, 2022, 43(8):55-59.
- [10] 黄荣,姚博,张玉娟,等. 成团泛菌 CQ10脂多糖对紫花苜蓿种子萌发及苗期生长的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(5):965-971
- [11] 张训乐,王姗姗,赵佳惠,等. 保元汤对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用及机制研究[J]. 河北中医, 2021, 43(9):1519-1524.
- [12] 陈懿. 生物炭对模式生物秀丽隐杆线虫的毒性效应及其毒性来源[D]. 昆明:昆明理工大学, 2020.
- [13] 李军平,卢智琴,罗宁,等. 燕麦孢囊线虫生防真菌 TL16 发酵条件优化[J]. 草原与草坪, 2022, 42(5):126-131+141.
- [14] 卢智琴,李惠霞,罗宁,等. 禾谷孢囊线虫生防真菌 AT9 的固体发酵条件优化[J]. 草原与草坪, 2020, 40(1):35-40.
- [15] 张树武,徐秉良,古丽君,等. 长枝木霉对禾谷孢囊线虫卵的寄生和毒杀作用及其机制[J]. 植物保护学报, 2013, 40(4):320-326.
- [16] 李瑞,李惠霞,谢丙炎,等. 长枝木霉 TL16 菌株对南方根结线虫的防治效果[J]. 草原与草坪, 2019, 39(5):82-87.
- [17] 郭凯欣. 辣椒素对秀丽隐杆线虫生长和行为的影响[D]. 广州:广东药科大学, 2020.
- [18] 刘馥雯. 四溴双酚 A 对秀丽隐杆线虫的毒性效应及其分子机理研究[D]. 上海:华东理工大学, 2020.
- [19] 华欣. 林丹对秀丽隐杆线虫的毒性效应及作用机制研究[D]. 兰州:兰州交通大学, 2020.
- [20] 黄荣,姚博,王晓芬,等. CQ10-LPSp 对紫花苜蓿幼苗内生细菌多样性及其根瘤菌的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(10):2126-2134
- [21] 方中达. 植物研究方法(第三版)[M]. 北京:中国农业出版社, 1998:46-50
- [22] 李有全,关贵全,彭欲率,等. 秀丽隐杆线虫的培养与保存研究[J]. 中国兽医科学, 2011, 41(10):1001-1004.
- [23] 张亚平,张广平,苏萍,等. 不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7):82-88.
- [24] 陆苗青,余菲,许东,等. 内毒素在肝衰竭发生中的作用研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2015, 25(4):252-256.
- [25] 陈怀生,刘雪燕,郭晓静,等. 内毒素对大鼠心肌肌质网功能的抑制作用[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(7):697-701.
- [26] Kentaro H, Rentaro O, Kazuhito M, et al. Lipopolysaccharide preconditioning facilitates M2 activation of resident microglia after spinal cord injury[J]. Journal of Neuroscience Research, 2014, 92(12):1647-1658.
- [27] 宋杰琴. 肠道细菌相关代谢产物的量效和时效对秀丽隐杆线虫生存和生长发育的影响[D]. 昆明:昆明医科大学, 2019.
- [28] 时悦. 乙醇对秀丽隐杆线虫寿命的影响及其作用机制研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2019.

(下转 98 页)