

研究报告

两株抑制烟草疫霉的海洋源木霉的分离、鉴定及发酵条件优化

陈希¹, 胡丰晓^{*1,2}

1 福建农林大学 海洋学院 海水养殖生物育种全国重点实验室 福建省海洋生物技术重点实验室, 福建 福州 350002

2 自然资源部东南生态脆弱区监测修复工程技术创新中心, 福建 福州 350001

陈希, 胡丰晓. 两株抑制烟草疫霉的海洋源木霉的分离、鉴定及发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1180-1192.

CHEN Xi, HU Fengxiao. Isolation, identification, and fermentation condition optimization of two marine *Trichoderma* strains antagonizing *Phytophthora parasitica*[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1180-1192.

摘要:【背景】红树林作为一种生长在热带与亚热带潮间带的特殊植物群落, 其沉积物中微生物种类繁多, 是筛选植病生防菌株的潜在来源。【目的】从红树林沉积物中筛选抑制烟草黑胫病原真菌烟草疫霉(*Phytophthora parasitica*)的活性菌株。【方法】对厦门五缘湾红树林沉积物中的真菌进行分离培养, 通过 ITS 序列测序鉴定, 采用平板对峙法筛选能显著抑制烟草疫霉的真菌, 并确定发酵条件对候选生防真菌产孢量的影响。【结果】从厦门五缘湾红树林沉积物分离得到 2 门 15 属真菌, 其中对烟草疫霉抑制效果显著的菌株为哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*) M312 和绿木霉(*Trichoderma virens*) M552, 发酵温度分别为 25 °C 和 31 °C, pH 7.0 且低盐度时产孢量最高。【结论】从厦门五缘湾红树林沉积物中筛选出的哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 可作为防治烟草黑胫病的候选功能菌, 但其发酵条件仍需进一步优化以满足商业化应用。

关键词: 烟草疫霉; 红树林沉积物; 真菌多样性; 木霉; 发酵条件

资助项目: 福建省烟草技术中心项目(2022ZD028); 福建省自然资源科技创新项目(KY-090000-04-2022-017, KY-090000-04-2022-039)

This work was supported by the Tobacco Technology Center Project of Fujian Province (2022ZD028), and the Natural Resource Science and Technology Innovation Project of Fujian Province (KY-090000-04-2022-017, KY-090000-04-2022-039).

*Corresponding author. E-mail: hufengxiao@fafu.edu.cn

Received: 2024-05-22; Accepted: 2024-11-18; Published online: 2024-12-24

Isolation, identification, and fermentation condition optimization of two marine *Trichoderma* strains antagonizing *Phytophthora parasitica*

CHEN Xi¹, HU Fengxiao^{*1,2}

1 State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, Institute of Oceanology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

2 Technology Innovation Center for Monitoring and Restoration Engineering of Ecological Fragile Zone in Southeast China, Ministry of Natural Resources, Fuzhou 350001, Fujian, China

Abstract: [Background] A mangrove forest is a special plant community distributed in the intertidal zone of tropical and sub-tropical regions, where a large number of microorganisms exist in the sediments, serving as potential sources for screening agents for the control of plant diseases. [Objective] To screen fungal strains antagonizing *Phytophthora parasitica* from the microorganisms isolated from mangrove sediments. [Methods] Fungal strains were isolated from the sediments of Xiamen Wuyuan Bay mangrove wetland and then identified based on the similarity of ITS sequences. The dual culture method was employed to select the *Trichoderma* strains with high activities of inhibiting *P. parasitica*. The effects of different fermentation conditions on the sporulation of selected strains were examined. [Results] The fungi isolated from the sediments of Xiamen Wuyuan Bay mangrove wetland belonged to 15 genera of 2 phyla. The inhibitory activities of *Trichoderma harzianum* M312 and *Trichoderma virens* M552 against *P. parasitica* were higher than those of other *Trichoderma* strains. The two strains (M312 and M552) should be cultured at 25 °C and 31 °C, respectively, pH 7.0, and low salinity for high sporulation. [Conclusion] *T. harzianum* M312 and *T. virens* M552 screened from the sediments of Xiamen Wuyuan Bay mangrove wetland could be used as candidate fungi for the biocontrol against tobacco black shank, while the fermentation conditions need to be optimized before commercial application.

Keywords: *Phytophthora parasitica*; mangrove sediment; fungal diversity; *Trichoderma*; fermentation conditions

由烟草疫霉(*Phytophthora parasitica*)引起的烟草黑胫病(tobacco black shank)又称烟草疫病、黑秆疯,最早发现于印度尼西亚的爪哇岛,随后在全世界范围内传播开来^[1]。中国已报道的60余种烟草侵染性病害中,烟草黑胫病是危害最为严重的病害之一,每年造成的经济损失高达数亿元以上^[2]。目前,烟草病害的防治主要采用农业防治^[3-4]、化学防治^[5]及生物防治^[6-7]。其中,利用真菌、细菌和放线菌等有益微生物进行的生物防治是目前绿色防控的重

要途径^[8-9]。

近年来,筛选对植物病原菌具有良好抑菌效果的功能微生物已成为研究植物病害防治的热点^[10-14]。目前研究较多的生防菌主要包括木霉属(*Trichoderma*)^[15]、芽孢杆菌属(*Bacillus*)^[16]、链霉菌属(*Streptomyces*)^[17]、假单胞菌属(*Pseudomonas*)^[18]等。例如,在马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基上对峙培养4 d后发现,哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*) TH-1对烟草疫霉的抑制率约为45%^[19];从发病植株根围土壤中

分离出的绿色木霉(*Trichoderma viride*) M3、绿色木霉 Tv04-2 和哈茨木霉 ThB 对烟草疫霉的生长具有拮抗作用, 抑菌率均达 65%以上^[20]。产紫青霉(*Penicillium purpurogenum*) Q2 菌株与烟草疫霉和根串株霉(*Thielaviopsis basicola*)对峙培养的抑制率分别为 63%和 59%^[21]。其中, 木霉生长速度快、环境适应性强, 在烟草黑胫病的防治方面表现出优异的效果^[22-23]。然而, 当前烟草黑胫病拮抗真菌的筛选多源于烟草根围土壤, 抑菌活性及孢子产量尚未达到商业应用价值, 开辟生防真菌筛选的新来源或是行之有效之径。红树林是一种独特的生态系统, 生长在陆地与海洋交会的滩涂浅滩地带^[24]。由于所处的环境特殊, 红树林湿地沉积物中的真菌展现出丰富的多样性^[25-26]。因此, 通过分析红树林沉积物中的真菌多样性, 探寻对烟草疫霉具有显著抑制效果的活性菌株, 可为烟草黑胫病的生物防治提供新的种质资源。

本研究通过对厦门五缘湾红树林沉积物中分离的菌株进行生物学鉴定和多样性分析, 筛选对烟草疫霉抑菌活性较高的真菌菌株, 并优化其发酵培养条件, 以期为烟草黑胫病海洋源生防菌的挖掘与应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品

从位于福建省厦门市湖里区五缘湾红树林国家级自然保护区的五缘湾湿地公园(E118°10'25", N24°31'20")内, 每隔 100 m 采集土壤表层以下 5–10 cm 的根区土壤约 45 g, 样品装于无菌 50 mL 离心管中, 共采集 6 个不同位点, 4 °C 保存备用。

烟草疫霉为本实验室前期从福建中烟工业有限责任公司技术中心烟草种植基地获取的土壤样品中分离鉴定^[27]。

1.2 培养基

PDA 培养基和马铃薯葡萄糖肉汤(potato dextrose broth, PDB)培养基参考赵晓彤等^[28]方法配制, 均用于拮抗真菌的活化和平板对峙培养。燕麦培养基: 燕麦 30.0 g 加水 1 000 mL 煮沸 20 min, 双层纱布过滤燕麦汁液, 定容至 1 000 mL, 分别量取 250 mL 燕麦汁于盛有 4 g 琼脂粉的 500 mL 三角瓶中, 121 °C 灭菌 20 min, 待温度适宜后混匀培养基并制备燕麦固体培养基, 用于烟草疫霉(*Phytophthora parasitica*)的活化培养。

1.3 主要试剂和仪器

异丙醇, 上海易恩化学技术有限公司; 无水乙醇, 西陇科学股份有限公司; DNA 抽提试剂, 北京金克隆生物技术有限公司。

超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; 生化培养箱, 上海智城分析仪器制造有限公司; 恒温水浴锅, 上海精宏实验设备有限公司; 振荡培养箱, 上海旻泉仪器有限公司; 灭菌锅, 株式会社平山制作所; 移液枪, 艾本德股份公司; PCR 仪, 应用生物系统公司。

1.4 真菌菌株的分离与保存

采用平板涂布法将采集的 1 g 红树林沉积物样品与 10 mL 生理盐水混合, 振荡得到匀浆, 梯度稀释, 分别制备 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 和 10^{-4} 的稀释液。使用无菌移液枪各取 0.1 mL 不同稀释倍数的稀释液至 PDA 培养基上, 并用无菌涂布棒将菌液均匀涂布在整个平板上, 28 °C 培养 3–7 d, 直至菌落长出, 纯化 3 次, 得到单个菌落。用直径 0.5 cm 的打孔器切取菌落边缘的菌饼, 放入盛有 0.9 mL 保种液(30%甘油)的无菌 EP 管中, -80 °C 保存。

1.5 真菌 DNA 的提取

参考于丽波等^[29]采用 CTAB 法提取真菌 DNA。

挑取单菌落至 EP 管中, 65 °C 水浴 45–60 min。加入 DNA 提取液 12 000 r/min 离心 30 min, 取上层水相加入异戊醇, 4 °C 静置 30 min 后 12 000 r/min 离心 15 min, 去上清, 70% 乙醇洗涤沉淀静置, 无菌水溶解。

1.6 ITS 序列扩增至测序

采用通用引物 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGT CGTAACAAGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTA TTGATATGC-3') 扩增真菌的 ITS 和 5.8S rDNA 区域。PCR 反应体系 (50 μL): ddH₂O 20 μL, *Taq* Plus Master Mix II 25 μL, ITS5 (1 μmol/L) 2 μL, ITS4 (1 μmol/L) 2 μL, DNA 模板 (500 ng/μL) 1 μL。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 15 s, 55 °C 20 s, 72 °C 1 min, 36 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。PCR 产物使用吸附柱式试剂盒进行纯化, 送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.7 真菌菌株的分子生物学鉴定

将测得的真菌的 ITS 序列在 GenBank 数据库中进行 BLAST 分析, 并与已报道的真菌菌株的 ITS 序列进行同源性比较, 对序列进行排重, 确定分离菌株的种属。

1.8 生防真菌的抑菌活性测定

参考彭海莹^[21]的方法进行生防真菌对烟草疫霉的抑制作用研究。采用平板对峙法, 在 PDA 平板中央接种烟草疫霉菌饼, 作为指示菌。将红树林沉积物分离得到的 7 株木霉菌株的菌饼接种于指示菌两侧, 同时设置未接种木霉菌株的平板作为阴性对照, 28 °C 培养。待烟草疫霉长满平板后, 根据抑菌率判断抑菌效果。

$$\text{抑菌率}(\%) = [(d-b) - (t-b)] / (d-b) \times 100$$

式中: d 为对照菌落直径(cm), t 为处理菌落直径(cm), b 为菌饼直径(cm)。

1.9 真菌初始培养条件

将供试菌株接种到 PDA 培养基平板上,

28 °C 培养至其长满皿后, 使用 5 mm 直径的打孔器切取 2 块菌饼放入装有 100 mL PDB 培养基三角瓶中, 28 °C、180 r/min 振荡培养。

1.10 发酵培养条件的优化

选取抗病效果最好的 2 株木霉菌株作为候选的烟草黑胫病生防菌株, 评估 pH、温度和盐度 3 个因素对其发酵培养产孢量的效应。

设置 pH 值为 5.0、6.0、7.0、8.0, 设置温度为 22、25、28 和 31 °C, 通过添加 NaCl 设置盐度梯度为 1%、2%、3%, 将 250 mL 锥形瓶装液 100 mL, 接种直径 5 mm 的菌饼各 2 块, 摇瓶转速 180 r/min, 置于恒温摇床中培养 3 d, 每间隔 1 d 镜检计数木霉菌株的产孢量, 重复 3 次计算其平均值。

1.11 数据统计与分析

采用 Excel 2021 进行数据处理和图表制作, 使用 GraphPad Prism 软件在 0.05 水平上进行差异显著性检验, 采用 MEGA X 软件中的邻近法, 设置 bootstrap 值为 1 000, 构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 红树林沉积物的真菌物种多样性

从厦门五缘湾红树林沉积物中分离出 75 株真菌。通过 BLAST 检索相似性序列对分离所得的菌株进行排重, 鉴定出 32 株真菌, 隶属于 15 属(表 1 和表 2)。红树林沉积物真菌主要归属于子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)。前者占据了红树林沉积物真菌群落大部分, 占比达到 94%; 后者为 6%。对其中的 7 个木霉菌株, 依据其 ITS 序列及其相似性最高的模式菌株序列建立系统发育树(图 1), 系统发育树分析显示鉴定结果可信度高, 进化树分支可信度都大于 95%。其中, 菌株 M310、M312 为哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*), M552 为绿木霉(*Trichoderma virens*), M025、M151 和 M617 均

表 1 红树林沉积物真菌分离鉴定结果

Table 1 Identification of fungi isolated from mangrove sediments

菌株 Strain	最近缘物种(序列号) Closest relatives (serial number)	相似度 Similarity (%)	属 Genera	目 Order	门 Phyla
M066	<i>Acremonium</i> sp. (OM899878)	99	<i>Acremonium</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M412	<i>Aspergillus</i> sp. (MK453215)	99	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M112	<i>Aspergillus</i> sp. (OQ652080)	98	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M017	<i>Aspergillus</i> sp. (OQ652079)	95	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M214	<i>Aspergillus terreus</i> (MT141149)	97	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M065	<i>Aspergillus niger</i> (MT430878)	98	<i>Aspergillus</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M325	<i>Cladosporium</i> sp. (JN207317)	99	<i>Cladosporium</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M613	<i>Cystobasidium</i> sp. (LC272869)	92	<i>Cystobasidium</i>	<i>Cystobasidiales</i>	<i>Basidiomycota</i>
M320	<i>Candida thaimueangensis</i> (KY102439)	92	<i>Candida</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Ascomycota</i>
M322	<i>Cladosporium</i> sp. (FJ196618)	97	<i>Cladosporium</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M324	<i>Fusarium solani</i> (MT447548)	98	<i>Fusarium</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M321	<i>Gibellulopsis nigrescens</i> (KM268699)	97	<i>Verticillium</i>	<i>Glomerellales</i>	<i>Ascomycota</i>
M041	<i>Gliomastix roseogrisea</i> (MK336455)	98	<i>Gliomastix</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M313	<i>Myrothecium inundatum</i> (MK336519)	97	<i>Myrothecium</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M615	<i>Microascus trigonosporus</i> (LM652444)	94	<i>Microascus</i>	<i>Microascales</i>	<i>Ascomycota</i>
M049	<i>Phoma</i> sp. (KY484799)	98	<i>Phoma</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Ascomycota</i>
M331	<i>Phoma</i> sp. (MT251173)	98	<i>Phoma</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Ascomycota</i>
M120	<i>Phomopsis</i> sp. (MZ423032)	96	<i>Phoma</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Ascomycota</i>
M110	<i>Penicillium citrinum</i> (KY921947)	97	<i>Penicillium</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M021	<i>Penicillium</i> sp. (MZ568256)	97	<i>Penicillium</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M055	<i>Penicillium sclerotigenum</i> (MZ227345)	100	<i>Penicillium</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M326	<i>Porostereum spadiceum</i> (MN294792)	98	<i>Porostereum</i>	<i>Polyporales</i>	<i>Basidiomycotina</i>
M044	<i>Talaromyces trachyspermus</i> (OW982804)	98	<i>Talaromyces</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M047	<i>Talaromyces helicus</i> (MH856373)	98	<i>Talaromyces</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M015	<i>Talaromyces oumae-annae</i> (MT530020)	97	<i>Talaromyces</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Ascomycota</i>
M310	<i>Trichoderma harzianum</i> (KR868283)	97	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M312	<i>Trichoderma harzianum</i> (MF109019)	96	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M025	<i>Trichoderma atroviride</i> (MH862501)	99	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M617	<i>Trichoderma atroviride</i> (OR939722)	97	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M151	<i>Trichoderma atroviride</i> (MK120297)	98	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M552	<i>Trichoderma virens</i> (KP056781)	97	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>
M057	<i>Trichoderma</i> sp. (MK870957)	98	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocreales</i>	<i>Ascomycota</i>

表 2 红树林沉积物真菌分离菌株的种属组成

Table 2 Species composition of fungi isolated from mangrove sediments

属名 Genera	菌株数 Number of fungal strains	所占比例 Proportion (%)	属名 Genera	菌株数 Number of fungal strains	所占比例 Proportion (%)
枝顶孢属 <i>Acremonium</i>	1	3.12	漆斑菌属 <i>Myrothecium</i>	1	3.12
曲霉属 <i>Aspergillus</i>	5	15.62	青霉属 <i>Penicillium</i>	3	9.37
假丝酵母属 <i>Candida</i>	1	3.12	茎点霉属 <i>Phoma</i>	3	6.25
枝孢属 <i>Cladosporium</i>	2	6.25	韧革菌属 <i>Porostereum</i>	1	3.12
囊担菌属 <i>Cystobasidium</i>	1	3.12	篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	3	9.37
粘鞭霉属 <i>Gliomastix</i>	1	3.12	木霉属 <i>Trichoderma</i>	7	21.87
镰孢属 <i>Fusarium</i>	1	3.12	轮枝孢属 <i>Verticillium</i>	1	3.12
小囊菌属 <i>Microascus</i>	1	3.12			

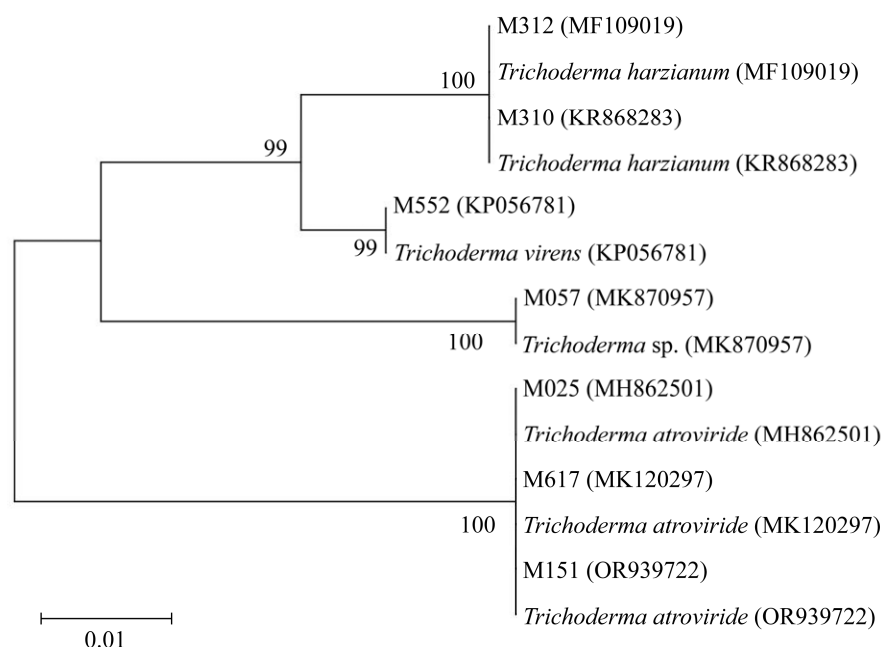


图 1 基于 ITS 序列构建 7 株木霉的系统发育树 GenBank 登录号在参考序列后括号中标明；发育树可信度值在每个节点处标明；标尺 0.01 表示 1% 的序列分歧。

Figure 1 Construction of phylogenetic tree based on ITS sequences of seven *Trichoderma* strains. The GenBank accession number is indicated in parentheses after the reference sequence, and the reliability value of the evolutionary tree is indicated at each node. The ruler 0.01 represents 1% sequence divergence.

为深绿木霉(*Trichoderma atroviride*), 而 M057 与未命名木霉属真菌 *Trichoderma* sp. (MK870957) 为同一种。

2.2 木霉抑菌效应

在待筛的 7 株木霉中, 深绿木霉 M025 和 M617、木霉(*Trichoderma* sp.) M057、哈茨木霉 M310 和 M312、绿木霉(*Trichoderma virens*) M552 对烟草疫霉菌丝的生长存在一定的抑制效果(抑菌率>50%), 抑制率分别为 57%、55%、51%、53%、62%、60% (图 2A)。其中, 哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 对烟草疫霉菌抑制率显著高于其他木霉菌株($P<0.05$) (图 2B)。

2.3 发酵培养条件对木霉产孢量的影响

2.3.1 温度对木霉产孢量的影响

在 25 °C 哈茨木霉 M312 孢子产量最大, 高于或低于 25 °C 均不利于产孢; 而绿木霉 M552

随着温度升高, 产孢量呈增长趋势, 于 31 °C 孢子产量最高(图 3)。

2.3.2 pH 对木霉产孢量的影响

哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 孢子在 pH 5.0–7.0 时可生存, 最佳产孢 pH 值为 7.0, 当 pH 8.0 时, 孢子数量急剧下降(图 4)。

2.3.3 盐度对木霉产孢量的影响

如图 5 所示, 随着盐度的增加, 哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 的产孢能力降低, 孢子产量下降。

3 讨论

红树林沉积物微生物多样性丰富, 是生防菌鉴定和开发利用的天然宝库。自 20 世纪中叶红树林沉积物菌株的研究报道以来, 该区域的微生物多样性被广泛研究^[30-32]。例如, 我国学

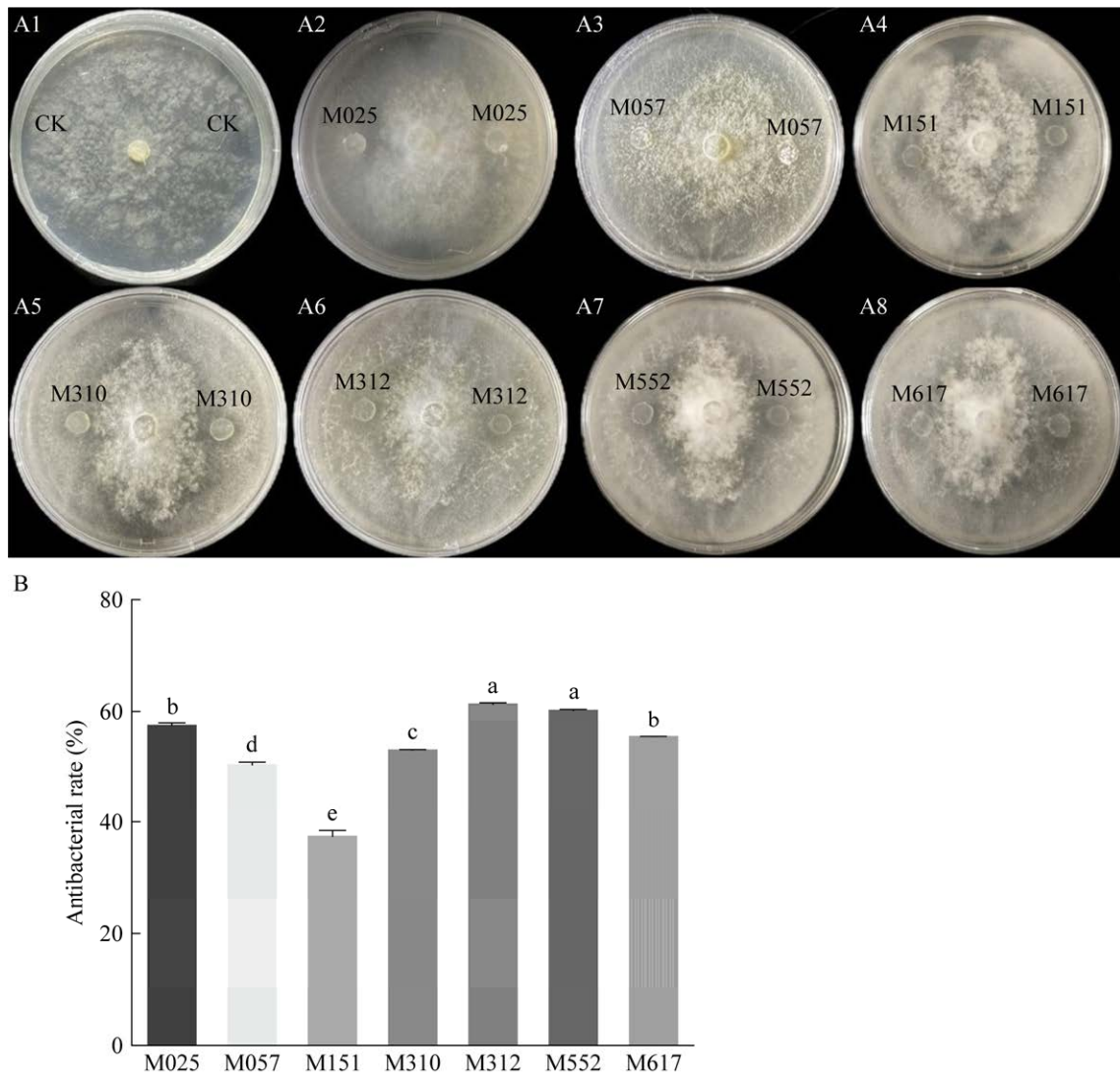


图2 供试木霉菌株对烟草疫霉的平板拮抗效果(A)和抑菌率(B) A1: 阴性对照; A2–A8: 不同木霉对烟草疫霉的拮抗效果。B: 不同木霉对烟草疫霉的抑菌率。不同小写字母表示各组间差异显著。

Figure 2 The plate antagonistic effect (A) and antibacterial rate (B) of *Trichoderma* strains against *Phytophthora parasitica*. A1: Negative control; A2–A8: Antagonistic effects of different *Trichoderma* strains against *Phytophthora parasitica*. B: Antibacterial rate of *Trichoderma* strains against *Phytophthora parasitica*. Different lowercase letters indicate significant differences between different groups.

者殷明亮^[33]从湛江附近海域红树林中分离得到 78 株真菌, 经过 ITS 序列分析, 鉴定出 45 株, 分为 18 属 38 种, 其中优势属为青霉属 (*Penicillium*, 7 株) 和木霉属 (5 株)。闫璧滢等^[34]从海南东寨港的红树林植物和沉积物中共分离得到 164 株真菌, 鉴定出 106 株, 分为 43 属,

其中优势属为镰孢属 (*Fusarium*, 13 株)、青霉属 (13 株) 和曲霉属 (*Aspergillus*, 10 株), 木霉属仅 4 株。本次调查从厦门五缘湾红树林沉积物中共鉴定出 75 株真菌, 其中优势属为木霉属 (7 株) 和曲霉属 (5 株)。大量的研究显示, 红树林沉积物中存在大量的结构新颖且具有抗菌活性的活

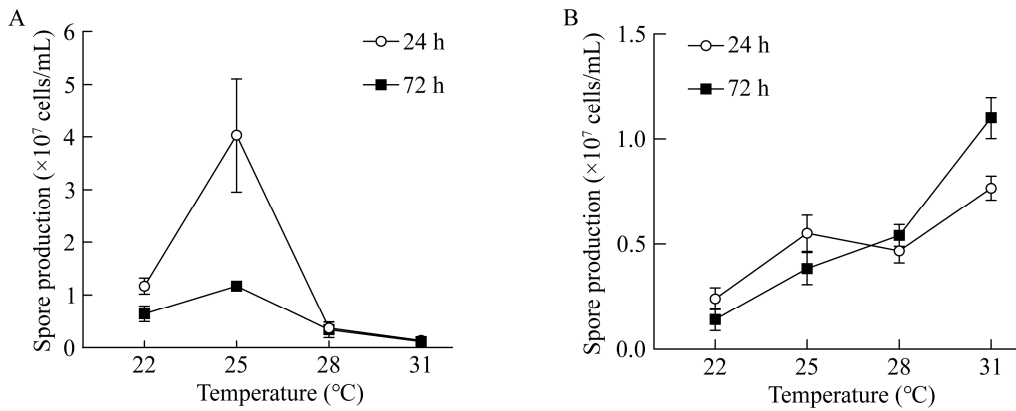


图3 温度对供试木霉菌株产孢量的影响 A: 不同温度下 M312 菌株的产孢量。B: 不同温度下 M552 菌株的产孢量。

Figure 3 The effect of different fermentation temperatures on the spore production of *Trichoderma* strains. A: The spore production of *Trichoderma* strain M312 under different fermentation temperatures. B: The spore production of *Trichoderma* strain M552 under different fermentation temperatures.

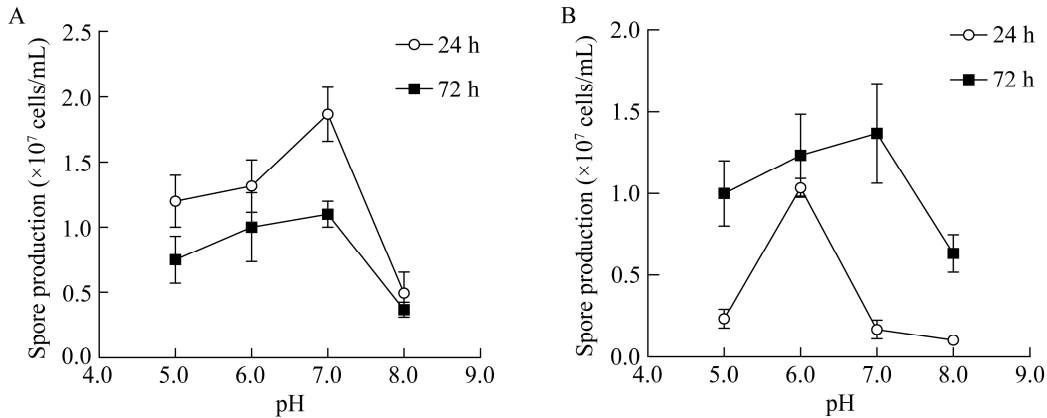


图4 pH 对供试木霉菌株产孢量的影响 A: 不同 pH 值下 M312 菌株的产孢量。B: 不同 pH 值下 M552 菌株的产孢量。

Figure 4 The effect of different pH on the spore production of *Trichoderma* strains. A: The spore production of *Trichoderma* strain M312 under different pH values. B: The spore production of *Trichoderma* strain M552 under different pH values.

性物质, 其中绝大部分来源于真菌^[35-38], 本研究从红树林沉积物中分离获得的真菌为抗菌药物的开发提供了候选资源。

已报道的生防木霉产生的次级代谢产物如聚酮类、吡喃酮类化合物等具有抗真菌、细菌和提高植物宿主抗性等功能, 已被证明对多种

植物病原真菌具有抑制作用^[39-42]。如: 陶玲芸等^[43]在不同农作物土壤中分离的棘孢木霉 (*Trichoderma asperellum*) ZJSX5003 和 GDFS1009, 其挥发性次级代谢产物 2,3-丁二醇和 6-正戊基-2H-吡喃-2-酮拮抗尖孢镰孢 (*Fusarium oxysporum*) 效果显著, 同时对灰葡萄孢 (*Botrytis*

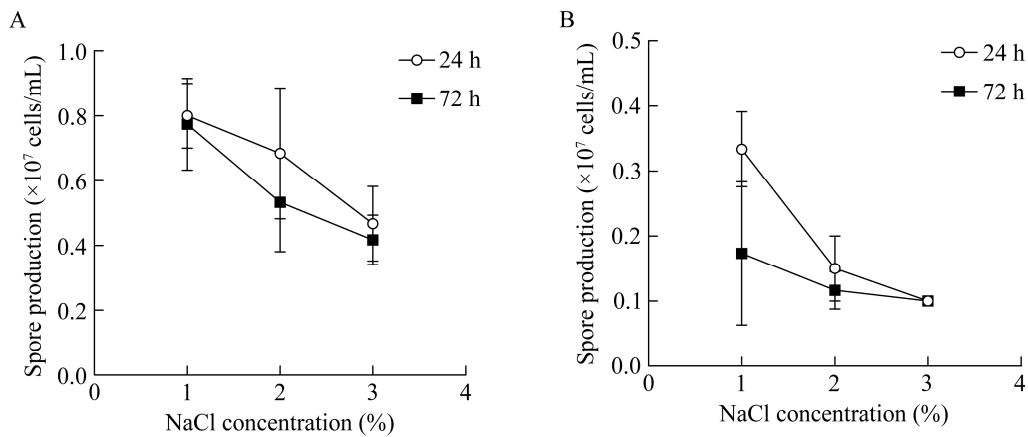


图5 盐度对供试木霉菌株产孢量的影响 A: 不同盐度下 M312 菌株的产孢量。B: 不同盐度下 M552 菌株的产孢量。

Figure 5 The effect of different NaCl concentrations on the spore production of *Trichoderma* strains. A: The spore production of *Trichoderma* strain M312 under different salinities. B: The spore production of *Trichoderma* strain M552 under different salinities.

cinerea)和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)具有抑菌活性。张量等^[44]从渐绿木霉(*Trichoderma viridescens*) TS0404 非挥发性代谢产物中分离的 6-戊基-2H-吡喃酮对辣椒疫霉(*Phytophthora capsic*)、黄瓜疫霉(*Phytophthora melonis*)、立枯丝核菌、尖孢镰孢菌丝的生长均有显著抑制作用。此前,尚无海洋源生防木霉报道。本研究首次从红树林沉积物中获得了能够拮抗烟草疫霉的活性木霉,其中哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 对烟草疫霉菌抑制率较高(60%以上)。抑菌率的差异可能与木霉菌株产生的吡喃酮类、蒽醌和萜类化合物等代谢产物的种类与含量不同有关。相较于先期报道^[19-20]的从烟草根围土壤中分离获得的木霉菌株,本研究从红树林沉积物中筛选出的 2 株木霉(哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552)对烟草疫霉菌的抑制效果与其相近或更优,可作为防治烟草黑胫病的候选生防真菌,但其抑菌活性物质及作用机制有待进一步研究。

生防菌株的生长繁殖和抗菌物质产量不仅

与菌株自身特性相关,还与发酵培养条件密不可分^[45]。本研究分析了温度、pH、盐度 3 个因素对木霉菌株产孢量的影响。温度是影响木霉产孢量的重要因素之一。已有研究显示,木霉生长的最适温度是 20–28 °C^[46-47]。谢小林等^[48]和田忠玲^[49]研究发现,哈茨木霉 BWT1.221 和绿木霉 HZ-L9 产孢最适温度分别为 25 °C 和 30 °C。本研究中哈茨木霉 M312 与绿木霉 M552 的最适产孢的温度分别为 25 °C 和 31 °C,与上述报道的研究结果相近。酸性或中性条件有利于木霉孢子的产生,当 pH 值降低至 5.0–7.0 时可以提高木霉产孢量^[50-51]。粟静等^[52]发现哈茨木霉 ACCC 30371 最适产孢 pH 值是 5.79;孟文文^[53]分离得到的绿木霉 M21 的最适产孢 pH 值为 5.0–7.0。本研究中观察到相似的结果,哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 产孢量最适 pH 值均为 7.0。此外,盐度也是影响木霉产孢量的重要因素。赵忠娟等^[54]从黄河三角洲湿地中分离出的 6 株木霉在添加 0 或 100 mmol/L NaCl 的 PDA 培养基上可产生大量孢子,而在 2 500 mmol/L

NaCl 的培养基上产孢量显著降低。尽管菌株来源不同,本研究同样发现,低盐环境适于哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552 大量产孢。

4 结论

本研究从五缘湾红树林沉积物中分离鉴定出对烟草疫霉具有较好的拮抗效果的哈茨木霉 M312 和绿木霉 M552,并优化了其发酵培养的条件,为绿木霉和哈茨木霉在烟草黑胫病生物防治中的应用提供了理论依据,对利用海洋源微生物研制开发高效、环保的新型微生物农药具有重要参考价值。然而,目前 M312 和 M552 菌株发酵液的产孢量仍然不高,后续可通过提高接种量和种子液浓度等手段提高孢子产量,并在烟草感病植株上进行室内盆栽防治试验,为后续的产业化应用奠定基础。

REFERENCES

- [1] 杨桃. 内生枯草芽孢杆菌 Itb57 对烟草疫霉菌的抑制机理[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2015.
YANG T. Inhibitory mechanism of endophytic *Bacillus subtilis* Itb57 on *Phytophthora nicotianae*[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2015 (in Chinese).
- [2] 胡丽榕, 王亚明, 王倩, 宋惠, 黄子豪, 黄林, 钟敏, 彭帅英. TasA 抑菌蛋白对烟草黑胫病的防治效果研究[J]. 生物灾害科学, 2023, 46(4): 425-431.
HU LR, WANG YM, WANG Q, SONG H, HUANG ZH, HUANG L, ZHONG M, PENG SY. Biocontrol effects of antifungal protein TasA on tobacco black shank[J]. Biological Disaster Science, 2023, 46(4): 425-431 (in Chinese).
- [3] 李梅云, 李永平, 刘勇, 卢秀萍, 陈学军, 肖炳光. 抗黑胫病烟草种质资源的田间筛选[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2011, 26(5): 725-729.
LI MY, LI YP, LIU Y, LU XP, CHEN XJ, XIAO BG. Screening of resistant tobacco germplasm to black shank disease in field[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2011, 26(5): 725-729 (in Chinese).
- [4] 孟祥佳, 刘洋, 黎妍妍, 许汝冰, 李传仁, 周隼, 孙正祥, 李锡宏. 烟草: 荞麦轮作对烟草黑胫病防治及土壤微生态的调控作用[J]. 南方农业学报, 2022, 53(6): 1525-1535.
MENG XJ, LIU Y, LI YY, XU RB, LI CR, ZHOU Y, SUN ZX, LI XH. Effects of tobacco-buckwheat rotation on regulation of tobacco black shank prevention and control and soil microenvironment[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(6): 1525-1535 (in Chinese).
- [5] 马国胜, 高智谋. 烟草黑胫病菌对农田草本植物的寄主范围[J]. 植物保护学报, 2011, 38(5): 477-478.
MA GS, GAO ZM. The host range of *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* in field herbs[J]. Journal of Plant Protection, 2011, 38(5): 477-478 (in Chinese).
- [6] 程敏, 顾钢, 肖顺, 周挺, 刘国坤. 芽孢杆菌(*Bacillus*) FJSC01 对烟草土传病原菌的拮抗作用及其鉴定[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2021, 50(2): 164-169.
CHENG M, GU G, XIAO S, ZHOU T, LIU GK. Antagonistic effects of *Bacillus* FJSC01 on soilborne pathogens of tobacco and its identification[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2021, 50(2): 164-169 (in Chinese).
- [7] 任建雯. 土壤生防菌株 B56 的分离、鉴定及对烟草赤星病的生物防治研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2021.
REN JW. Isolation and identification of soil biocontrol strain B56 and biological control of tobacco brown spot[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2021 (in Chinese).
- [8] 宋玉娟, 韩雪莲, 张安盛, 王玉军, 高克祥, 梁元存, 棘抱木霉 T-6 对烟草促生及对黑胫病和根黑腐病的抗病作用[J]. 中国烟草科学, 2020, 41(1): 50-55.
SONG YJ, HAN XL, ZHANG AS, WANG YJ, GAO KX, LIANG YC. Effects of *Trichoderma asperellum* T-6 on growth promotion, control of black shank and black root rot in tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41(1): 50-55 (in Chinese).
- [9] 易龙, 肖崇刚, 马冠华, 吴琼, 窦彦霞. 拮抗放线菌 TA21 对烟草根黑腐病菌的抑制及其控病作用[J]. 中国生物防治, 2010, 26(2): 186-192.
YI L, XIAO CG, MA GH, WU Q, DOU YX. Biocontrol effect and inhibition activity of antagonistic actinomycetes strain TA21 against *Thielaviopsis basicola*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2010, 26(2): 186-192 (in Chinese).
- [10] 赵吉桃, 何静, 丁德东, 李彦湘, 候彩霞, 赵倩. 花椒流胶病拮抗菌的分离鉴定及其生防机制[J]. 浙江农业学报, 2024, 36(2): 373-382.
ZHAO JT, HE J, DING DD, LI YX, HOU CX, ZHAO Q. Isolation, identification and biocontrol mechanism of antagonistic fungus against Chinese pepper gummosis[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2024, 36(2): 373-382 (in Chinese).
- [11] 史冰柯, 王卓妮, 覃艮红, 黄天祥, 王丽, 涂洪涛, 袁洪波, 侯琿. 苹果轮纹病拮抗真菌 Pa2 的分离与鉴定[J]. 园艺学报, 2024, 51(5): 1113-1125.
SHI BK, WANG ZN, QIN GH, HUANG TX, WANG L, TU HT, YUAN HB, HOU H. Isolation and identification of endophytic fungus Pa2 antagonistic against apple ring rot caused by *Botryosphaeria dothidea*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(5): 1113-1125 (in Chinese).
- [12] 阮彦楠, 番华彩, 王禹童, 付利波, 郑泗军, 毛俊, 李舒, 王志远. 光叶苕子内生真菌分离鉴定及其对香蕉枯萎病的生防和促生潜力[J]. 南方农业学报, 2024, 55(4): 996-1009.
RUAN YN, FAN HC, WANG YT, FU LB, ZHENG SJ, MAO J, LI S, WANG ZY. Isolation and identification of endophytic fungi of *Vicia villosa* var. and their biocontrol against banana wilt and growth promotion

- potentials[J]. Journal of Southern Agriculture, 2024, 55(4): 996-1009 (in Chinese).
- [13] 李梦玮, 陈晓霞, 补欢欢, 廖礼彬, 李婧怡, 张楠楠, 石福孙. 花椒根腐病拮抗真菌的分离鉴定及其生防潜力探究[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(1): 176-183.
LI MW, CHEN XX, BU HH, LIAO LB, LI JY, ZHANG NN, SHI FS. Isolation, identification and biocontrol potential of antagonistic fungi against *Zanthoxylum bungeanum* root rot[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2023, 39(1): 176-183 (in Chinese).
- [14] 韩忠明, 孙卓, 王妍, 张福军, 马峰敏, 罗秋菊, 杨利民. 防风根腐病拮抗真菌的筛选鉴定及生防作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(5): 1288-1295.
HAN ZM, SUN Z, WANG Y, ZHANG FJ, MA FM, LUO QJ, YANG LM. Screening, identification and biological control of antagonistic fungus against root rot of *Saposhnikovia divaricata*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(5): 1288-1295 (in Chinese).
- [15] 李小杰, 李成军, 姚晨虢, 宋瑞芳, 刘畅, 邱睿, 陈玉国, 白静科, 李淑君. 拮抗烟草疫霉菌的木霉菌株筛选鉴定及防病促生作用研究[J]. 中国烟草科学, 2020, 41(3): 65-70.
LI XJ, LI CJ, YAO CX, SONG RF, LIU C, QIU R, CHEN YG, BAI JK, LI SJ. Screening, identification of antagonistic *Trichoderma* spp. against tobacco black shank and its growth promotion effect on tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41(3): 65-70 (in Chinese).
- [16] 张德锋, 高艳侠, 王亚军, 刘春, 石存斌. 贝莱斯芽孢杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3634-3649.
ZHANG DF, GAO YX, WANG YJ, LIU C, SHI CB. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis*[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3634-3649 (in Chinese).
- [17] YAMUNARANI K, SANGEETHA S, CHITRA K, DHANALAKSHMI K, DHANUSHKODI V. Identification of a novel *Streptomyces* species for management of plant disease[J]. International Journal of Plant & Soil Science, 2023, 35(24): 326-331.
- [18] 常栋, 顾建国, 贾方方, 马文辉, 许跃奇, 闫海涛. 烟草黑胫病不同植物源生防菌的筛选及防效测定[J]. 中国烟草学报, 2020, 26(3): 84-90.
CHANG D, GU JG, JIA FF, MA WH, XU YQ, YAN HT. Screening and control efficacy of different plant-derived biocontrol bacteria against tobacco black shank disease[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2020, 26(3): 84-90 (in Chinese).
- [19] 李梅云, 谭丽华, 方敦煌, 李天飞, 王革, 刘开启. 哈茨木霉的培养及其对烟草疫霉菌生长的抑制研究[J]. 微生物学通报, 2006, 33(6): 79-83.
LI MY, TAN LH, FANG DH, LI TF, WANG G, LIU KQ. Cultural characteristics of *Trichoderma harzianum* and its inhibition to *Phytophthora nicotianae*[J]. Microbiology China, 2006, 33(6): 79-83 (in Chinese).
- [20] LI Y, YI XX, DING WL. Stem blight control of *Schizonepeta tenuifolia* caused by *Phytophthora nicotianae* using *Trichoderma* spp.[J]. Chinese Herbal Medicines, 2010, 2(4): 312-316.
- [21] 彭海莹. 烟草黑胫病和根黑腐病的生物防治技术研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2020.
- PENG HY. Study on biological control technology of tobacco black shank and root black rot[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [22] LIU YL, HE PB, HE PF, MUNIR S, AHMED A, WU YX, YANG YL, LU JP, WANG JS, YANG JZ, PAN XL, TIAN YY, HE YQ. Potential biocontrol efficiency of *Trichoderma* species against oomycete pathogens[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 974024.
- [23] 危潇, 黎妍妍, 姚经武, 曹春霞, 黄大野. 哈茨木霉 WF2 菌株鉴定及对烟草黑胫病的防效[J]. 中南农业科技, 2023(11): 12-15.
WEI X, LI YY, YAO JW, CAO CX, HUANG DY. Identification of *Trichoderma harzianum* WF2 strain and its control effect on tobacco black shank disease[J]. South-Central Agricultural Science and Technology, 2023(11): 12-15 (in Chinese).
- [24] 郭梦捷, 赵箫杨, 韩佳卉, 魏尚竹, 徐秀丽. 厦门杏林湾红树林根际真菌分离及活性分析[J]. 微生物学通报, 2021, 48(5): 1496-1503.
GUO MJ, ZHAO XY, HAN JH, WEI SZ, XU XL. Isolation and activity analysis of fungi from the rhizosphere of mangroves in Xinglin Bay, Xiamen[J]. Microbiology China, 2021, 48(5): 1496-1503 (in Chinese).
- [25] 许莉, 袁仕杰, 陈丹, 张岗, 秦飞, 祝珊珊, 黄冠闽, 郑永标, 罗联忠. 漳江口红树林沉积物可培养真菌多样性[J]. 生物资源, 2023, 45(4): 365-374.
XU L, YUAN SJ, CHEN D, ZHANG G, QIN F, ZHU SS, HUANG GM, ZHENG YB, LUO LZ. Diversity of culturable fungi from mangrove sediments in Zhangjiang river estuary[J]. Biotic Resources, 2023, 45(4): 365-374 (in Chinese).
- [26] 徐友林, 刘敏, 黄惠琴, 朱军, 鲍时翔. 八门湾红树林土壤可培养真菌的多样性分析[J]. 热带作物学报, 2013, 34(1): 181-187.
XU YL, LIU M, HUANG HQ, ZHU J, BAO SX. Diversity of soil culturable fungi in bamen bay mangrove forests[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(1): 181-187 (in Chinese).
- [27] JI S, TIAN Y, LI J, XU G, ZHANG Y, CHEN S, CHEN Y, TANG X. Complete genome sequence of *Bacillus cereus* Z4, a biocontrol agent against tobacco black shank, isolated from the Western Pacific Ocean[J]. Marine Genomics, 2023, 72: 101071.
- [28] 赵晓彤, 王桂清. 不同培养条件对长枝木霉 SMF2 和哈茨木霉 T39 生长与产孢的影响[J]. 山东农业科学, 2023, 55(8): 56-64.
ZHAO XT, WANG GQ. Effects of different culture conditions on growth and sporulation of *Trichoderma longibrachiatum* SMF2 and *Trichoderma harzianum* T39[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2023, 55(8): 56-64 (in Chinese).
- [29] 于丽波, 祝耀华, 李升康, 汤熙翔. 漳江口红树林沉积物真菌多样性分析及抗茶叶致病真菌生物活性筛选[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(1): 41-48.
YU LB, ZHU YH, LI SK, TANG XX. Diversity of marine fungi isolated from the mangrove sediments of Zhangjiang River Estuary and the bioactivity against tea leaf pathogenic fungi[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2016, 38(1): 41-48 (in Chinese).
- [30] 龙梦, 樊慧敏, 夏洪丽, 汪志文, 喻大鹏, 夏立群, 鲁义善. 深圳红树林沉积物可培养细菌多样性及其

- 生物活性筛选[J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42(6): 88-96.
- LONG M, FAN HM, XIA HL, WANG ZW, YU DP, XIA LQ, LU YS. Diversity and bioactivity screening of culturable bacteria in Shenzhen mangrove sediments[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2022, 42(6): 88-96 (in Chinese).
- [31] 刘敏, 黄惠琴, 徐友林, 孙前光, 朱军, 邹潇潇, 鲍时翔. 红树林生态系统中不同生境不同深度土壤的可培养真菌的多样性[J]. 微生物学通报, 2014, 41(10): 1969-1975.
- LIU M, HUANG HQ, XU YL, SUN QG, ZHU J, ZOU XX, BAO SX. Diversity of culturable soil fungi in different habitats and depths in mangrove ecosystem[J]. Microbiology China, 2014, 41(10): 1969-1975 (in Chinese).
- [32] SHREELALITHA SJ, SRIDHAR KR. Endophytic fungi of wild legume *Sesbania bispinosa* in coastal sand dunes and mangroves of the Southwest coast of India[J]. Journal of Forestry Research, 2015, 26(4): 1003-1011.
- [33] 殷明亮. 湛江红树林滩涂真菌群落的分离鉴定和资源调查研究[D]. 湛江: 广东海洋大学硕士学位论文, 2010.
- YIN ML. Isolation, identification and resource investigation of fungal community in Zhanjiang mangrove beach[D]. Zhanjiang: Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2010 (in Chinese).
- [34] 闫璧滢, 陈渝川, 雷丽娟, 王潇, 解云英, 赵午莉, 张晶, 司书毅, 陈明华. 海南东寨港红树林植物和沉积物真菌多样性及其药用活性[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(2): 158-171.
- YAN BY, CHEN YC, LEI LJ, WANG X, XIE YY, ZHAO WL, ZHANG J, SI SY, CHEN MH. Fungal diversity and medicinal activity of mangrove plants and sediments in Dongzhaigang, Hainan[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2023, 48(2): 158-171 (in Chinese).
- [35] 李中辉, 郝宝聪, 郑瑶瑶, 毛君秋, 朱夏濠, 陈敏, 王长云. 1株海洋真菌 *Talaromyces* sp. HK1-18 次级代谢产物及其抗菌活性研究[J]. 中国海洋药物, 2023, 42(6): 67-72.
- LI ZH, HAO BC, ZHENG YY, MAO JQ, ZHU XH, CHEN M, WANG CY. Secondary metabolites and antibacterial activity of the marine-derived fungus, *Talaromyces* sp. HK1-18[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2023, 42(6): 67-72 (in Chinese).
- [36] 于洪佳, 薛雅馨, 洪葵, 贾佳, 毕洪凯, 徐利剑, 刘玲. 一株红树林曲霉菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的次级代谢产物研究[J]. 微生物学报, 2022, 62(7): 2658-2670.
- YU HJ, XUE YX, HONG K, JIA J, BI HK, XU LJ, LIU L. Secondary metabolites from a mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. WHUF0343[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(7): 2658-2670 (in Chinese).
- [37] 王璐, 叶伟霞, 赵梦冉, 张庆波, 张丽萍, 张长生, 张文军. 湛江红树林可培养内生真菌多样性及 *Stemphyliums* sp. SCSIO 40436 次级代谢产物分离与鉴定[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 2995-3007.
- WANG L, YE WX, ZHAO MR, ZHANG QB, ZHANG LP, ZHANG CS, ZHANG WJ. Diversity of culturable endophytic fungi from Zhanjiang mangroves and secondary metabolites of the isolate *Stemphyliums* sp. SCSIO 40436[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 2995-3007 (in Chinese).
- [38] 吴金涛. 两株南海红树林根际土壤真菌的聚酮类次级代谢产物研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2021.
- WU JT. Study on polyketone secondary metabolites of two mangrove rhizosphere soil fungi in the South China Sea[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2021 (in Chinese).
- [39] JELEN H, BŁASZCZYK L, CHEŁKOWSKI J, ROGOWICZ K, STRAKOWSKA J. Formation of 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species[J]. Mycological Progress, 2014, 13(3): 589-600.
- [40] 黄泽雕, 王文静, 廖梁秀, 鲜鹏杰, 杨小龙. 红豆杉内生真菌 *Trichoderma* sp. 次级代谢产物及其抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(10): 1126-1134.
- HUANG ZD, WANG WJ, LIAO LX, XIAN PJ, YANG XL. Secondary metabolites and their antimicrobial activities from endophytic fungus *Trichoderma* sp. isolated from *Taxus wallichiana* var. *chinensis* (Pilg.) Florin[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2023, 48(10): 1126-1134 (in Chinese).
- [41] 张轶敏, 王东, 王煜, 郝建秀, 周洪友. 棘孢木霉 PT-29 代谢产物抑制镰刀菌毒素的产生[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(21): 126-132.
- ZHANG YM, WANG D, WANG Y, HAO JX, ZHOU HY. *Trichoderma asperellum* PT-29 metabolites inhibit *Fusarium* toxin production[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(21): 126-132 (in Chinese).
- [42] 王海燕. 内生木霉菌株 6S-2 的分离、鉴定及其防控苹果连作障碍机理研究[D]. 泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2023.
- WANG HY. Isolation and identification of endophytic *Trichoderma* strain 6S-2 and its mechanism of preventing and controlling apple continuous cropping obstacles[D]. Tai'an: Doctoral Dissertation of Shandong Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [43] 陶玲芸, 张怡雯, 李雅乾, 罗来鹏, 张曾鲁, 陈捷. 棘孢木霉挥发性次级代谢产物检测及抑菌活性分析[J]. 生物工程学报, 2020, 36(6): 1181-1189.
- TAO LY, ZHANG YW, LI YQ, LUO LP, ZHANG ZL, CHEN J. Antagonistic activity of volatile metabolites from *Trichoderma asperellum*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(6): 1181-1189 (in Chinese).
- [44] 张量, 张敬泽. 渐绿木霉抑菌物质的分离纯化及其对植物病原菌的抑制作用[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 882-888.
- ZHANG L, ZHANG JZ. Isolation and purification of active compound from *Trichoderma viridescens* and its inhibitory activities against phytopathogens[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(5): 882-888 (in Chinese).
- [45] 何明川, 王志江, 谢永辉, 詹筱国, 柯昌磊, 李微杰, 张忠, 吴国星. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2): 428-439.
- HE MC, WANG ZJ, XIE YH, ZHAN YG, KE CL, LI WJ, ZHANG Z, WU GX. Screening, identification and fermentation conditions optimization of antagonistic bacterium against tobacco black shank[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(2): 428-439 (in Chinese).
- [46] 庞丽, 宋昊跃, 王春迪, 赵薛红, 安慧敏, 库园冉,

- 王彩芳, 张建夫, 葛红莲, 张福丽. 哈茨木霉 T-aloec 防治小麦赤霉病潜能及发酵条件优化[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(23): 132-140.
- [47] 尤佳琪, 杜然, 顾卫红, 李超汉, 李国庆, 宋荣浩. 拟康宁木霉 T-51 菌株生物学特性及其生物防治潜力[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 946-955.
YOU JQ, DU R, GU WH, LI CH, LI GQ, SONG RH. Biological characteristics and biological control potential of endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis* strain T-51[J]. Journal of Plant Protection, 2022, 49(3): 946-955 (in Chinese).
- [48] 谢小林, 王勇, 陈猛, 周莲, 李成江, 刘玉敏, 朱红惠. 哈茨木霉 BWT1.221 的固态发酵工艺条件优化研究[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(5): 1224-1234.
XIE XL, WANG Y, CHEN M, ZHOU L, LI CJ, LIU YM, ZHU HH. Optimization of solid state fermentation conditions for *Trichoderma harzianum* BWT1.221[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2023, 39(5): 1224-1234 (in Chinese).
- [49] 田忠玲. 大豆孢囊线虫生防真菌的筛选、鉴定及应用基础研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2016.
TIAN ZL. Screening, identification and application of biocontrol fungi against soybean cyst nematode[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2016 (in Chinese).
- [50] 景芳, 张树武, 刘佳, 徐秉良. 长枝木霉 T6 生防菌剂发酵条件优化及其对辣椒立枯病的防治效果[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(1): 113-124.
JING F, ZHANG SW, LIU J, XU BL. Optimization of the fermentation conditions of biocontrol agent *Trichoderma longibrachiatum* T6 and its efficiency against pepper blight[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2020, 36(1): 113-124 (in Chinese).
- [51] 田淼, 彭玉飞, 吕红, 秦楠, 任璐, 殷辉, 赵晓军. 非洲哈茨木霉 LMNS-M9 的鉴定、生物学特性及其对藜麦的促生作用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 3848-3865.
TIAN M, PENG YF, LÜ H, QIN N, REN L, YIN H, ZHAO XJ. *Trichoderma afroharzianum* LMNS-M9: identification, biological characteristics, and growth-promoting effect on quinoa[J]. Microbiology China, 2023, 50(9): 3848-3865 (in Chinese).
- [52] 粟静, 罗志威, 吕黎, 王蕾, 丰来. 哈茨木霉液体发酵产厚垣孢子条件的优化[J]. 山西农业科学, 2014, 42(2): 169-173.
SU J, LUO ZW, LÜ L, WANG L, FENG L. Optimization of the liquid fermentation conditions of *Trichoderma harzianum* chlamydo spores[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2014, 42(2): 169-173 (in Chinese).
- [53] 孟文文. 南宁市郊平菇主要病害病原鉴定及生物防治[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2015.
MENG WW. Identification and biological control of main diseases of *Pleurotus ostreatus* in Nanning suburb[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2015 (in Chinese).
- [54] 赵忠娟, 陈凯, 扈进冬, 魏艳丽, 卢德鹏, 杨合同, 李纪顺. 黄河三角洲湿地木霉分离与耐盐活性鉴定[J]. 科学技术与工程, 2018, 18(31): 119-125.
ZHAO ZJ, CHEN K, HU JD, WEI YL, LU DP, YANG HT, LI JS. Isolation and salt tolerance study of *Trichoderma* from the Yellow River Delta wetland[J]. Science Technology and Engineering, 2018, 18(31): 119-125 (in Chinese).