

研究报告

洞庭湖湿地木霉多样性及生防活性

陈凯[△] 李纪顺[△] 王贻莲 李玲 扈进冬 魏艳丽 赵忠娟 杨合同*

(山东省科学院生态研究所 山东省应用微生物重点实验室 山东 济南 250014)

摘要:【目的】了解湖南省洞庭湖湿地木霉种类及分布,丰富我国的木霉种质资源,为功能菌株筛选应用奠定基础。【方法】利用 ITS 序列比对分析结合形态学特征对分离到的木霉菌株进行种类鉴定,构建系统发育进化树分析其亲缘关系。通过菌丝生长速率法测定菌株的平板抑菌能力,根据水解带大小检测菌株的水解酶活性,利用灰色关联度分析筛选综合生防效果较好的木霉菌株。【结果】从 52 个土样和 18 个水样中分离得到 114 株木霉菌株,经鉴定分属 16 个木霉种类:哈茨木霉、绿木霉、刺孢木霉、土星孢木霉、钩状木霉、拟康宁木霉、短密木霉、深绿木霉、猥木霉、毛细木霉(中国新记录种)、长枝木霉、卵孢木霉、侧耳木霉、加纳木霉、厚木霉及一个疑似新种;哈茨木霉为洞庭湖湿地中的优势种,占总菌株数量的 19.30%;16 种木霉在系统发育树中归于 7 个进化支: Harzianum Clade、Virens Clade、Longibrachiatum Clade、Lutea Clade、Viride Clade、Hamatum Clade、Unknown Clade。灰色关联度分析表明,菌株 TW21990、QT22040 和 QT22094 的灰色关联度较高,分别为 0.849 5、0.798 6 和 0.732 6,综合生防性状较好。【结论】洞庭湖湿地木霉具有种类多样性和分布多样性,发现了一个中国新记录种毛细木霉和一个疑似新种,哈茨木霉 TW21990、长枝木霉 QT22040 和卵孢木霉 QT22094 是潜在的优良生防菌株。

关键词: 木霉,洞庭湖湿地,种类鉴定,系统发育,生防活性

Foundation item: Key Research and Development Project of Shandong Province (No. 2015GNC113003); Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest of China (No. 201303025); The Special Foundation for the Basic Work of Science and Technology of China (No. 2014FY120900); Agricultural Application Technology Innovation of Shandong Province; The 13th Five-Year National Key Research Project of China (No. 2017YFD0201102)

[△]These authors equally contributed to this work

*Corresponding author: Tel: 86-531-82605625; E-mail: yanght@sdas.org

Received: January 09, 2017; **Accepted:** April 20, 2017; **Published online** (www.cnki.net): May 09, 2017

基金项目: 山东省重点研发计划项目(No. 2015GNC113003); 公益性行业(农业)科研专项项目(No. 201303025); 科技基础性工作专项项目(No. 2014FY120900); 山东省农业重大应用技术创新项目; “十三五”国家重点研发项目(No. 2017YFD0201102)

[△]对本文贡献相同

*通讯作者: Tel: 86-531-82605625; E-mail: yanght@sdas.org

收稿日期: 2017-01-09; 接受日期: 2017-04-20; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-05-09

Species diversity and biocontrol activity of *Trichoderma* in Dongting Lake wetland

CHEN Kai[△] LI Ji-Shun[△] WANG Yi-Lian LI Ling HU Jin-Dong WEI Yan-Li
ZHAO Zhong-Juan YANG He-Tong*

(Ecology Institute of Shandong Academy of Sciences, Shandong Provincial Key Laboratory of Applied Microbiology, Jinan, Shandong 250014, China)

Abstract: [Objective] Investigated the distribution and species of *Trichoderma* in Dongting Lake wetland, Hunan province, supplemented *Trichoderma* resources of China, and farther more use of functional strains screening and applied. [Methods] Species were identified by analysis of internal transcribed spacer regions of the rRNA gene cluster (ITS) and morphological characteristics, and analyzed the genetic relationship based on ITS sequences phylogenetic tree. The antifungal activity were determined by mycelial growth rate method, and hydrolase activity were determined by hydrolyzation radius, screening the superior comprehensive biocontrol *Trichoderma* strains by gray correlative degree analysis. [Results] Total 114 *Trichoderma* strains were isolated from 52 soil samples and 18 water samples, 15 known species were identified as followed: *T. harzianum*, *T. virens*, *T. asperellum*, *T. saturnisporum*, *T. hamatum*, *T. koningiopsis*, *T. brevicompactum*, *T. atroviride*, *T. erinaceum*, *T. capillare*, *T. longibrachiatum*, *T. ovalisporum*, *T. pleuroticola*, *T. ghanense*, *T. crassum*, among them *T. capillare* was Chinese new record, besides *Trichoderma* sp. CK-2016 was an uncertain new species. *T. harzianum* was the dominant species with 19.30% quantity among them. All these *Trichoderma* species belonged to 7 Clade as followed: Harzianum Clade, Virens Clade, Longibrachiatum Clade, Lutea Clade, Viride Clade, Hamatum Clade, Unknown Clade. Gray correlative degree analysis showed that the grey relation degree of three strains TW21990, QT22040 and QT22094 were 0.849 5, 0.798 6 and 0.732 6, respectively, and were better comprehensive biocontrol *Trichoderma* strains among primary twenty-one strains. [Conclusion] The *Trichoderma* species in Dongting Lake wetland, Hunan province have diversity with a new China record of *T. capillare* and an uncertain new species among them, *T. harzianum* strain TW21990, *T. longibrachiatum* strain QT22040 and *T. ovalisporum* strain QT22094 are potential biocontrol agents.

Keywords: *Trichoderma*, Dongting Lake wetland, Species identification, Phylogeny, Biocontrol activity

木霉 *Trichoderma* Pers. 是世界性分布真菌，主要存在于土壤、腐烂的木材及杂草中，因其在工业酶制剂、抗生素及生物防治等方面的应用价值而得到广泛关注和研究^[1-2]。目前该属真菌已知 250 余种 (<http://www.indexfungorum.org>、<http://www.isth.info/tools/molkey/index.php>)^[3]，国内近几年也展开了木霉属资源和系统分类研究，已知木霉属真菌的数量迅速增长，截止 2016 年共有中国新记录种 117 种^[4-7]，充分展示了我国该类群丰富的物种多样性。

洞庭湖位于中国湖南省北部，北纬 27°–29°东经

111°–113°之间，是中国第二大淡水湖，周边的湿地是一个处于动态变化中的海陆过渡带，具有极其丰富的生物资源，是珍贵的自然资源，也是重要的生态系统，具有不可替代的综合功能。但目前对洞庭湖微生物资源的研究较少，特别是木霉的研究更为欠缺。因此，系统开展其生境中木霉的遗传及生物多样性研究，可进一步丰富木霉的菌种资源，扩展木霉的应用空间，更有效地服务于工农业生产。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试植物病原真菌：立枯丝核菌 *Rhizoctonia*

solani、终极腐霉 *Pythium ultimum*、尖孢镰孢 *Fusarium oxysporum*、灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* , 均为本实验室保藏。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

菌株培养与分离培养基为 PDA 和 PDAm ,4 种水解酶活性测定培养基为葡聚糖酶培养基、蛋白酶培养基、纤维素酶培养基及几丁质酶培养基^[8] , 上述培养基于 0.1 MPa 灭菌 20 min 后备用。

Fungal DNA Mini Kit 试剂盒, OMEGA 公司; TaKaRa *Taq*TM 聚合酶, 宝生物工程(大连)有限公司。CX31 显微镜, Olympus 公司; MyCycler PCR 仪, Bio-Rad 公司; GenoSens 1880 凝胶成像分析系统, 上海勤翔科学仪器有限公司。

1.3 样品采集

于 2015 年 4 月沿洞庭湖湿地采集土样和水样, 水样直接用干净的塑料瓶盛取约 50 mL, 封口保存; 土样采用五点采样法, 首先在采集地块的对角线选 5 等分点, 然后去掉表层土 1-2 cm, 用深度 25 cm 的采土器在每点采取深度 20 cm 左右的土样, 再将 5 份土混合均匀, 取 500 g 装入干净自封袋中封好。选择 52 个采样点, 采集土样 52 份, 水样 18 份。

1.4 菌种分离

称取 10 g 土样, 倒入 100 mL 灭菌生理盐水中, 25 °C 摇床振荡 1 h, 进行梯度稀释, 每稀释度取 1 mL 放入平板中, 加入 45 °C 左右的 PDAm 混匀, 25 °C 培养 7-14 d。对于水样, 直接取 1 mL 混入培养基中。待木霉长出后, 挑取不同形态的木霉菌落转接 PDA 平板, 25 °C 培养, 并经单孢纯化后保存备用。

1.5 种类鉴定

主要利用 ITS 序列比对分析结合形态特征进行种类鉴定^[9]。利用 Fungal DNA Mini Kit 试剂盒提取木霉基因组 DNA, 采用引物 ITS1-F/ITS4 进行扩增^[10], PCR 产物交生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 结果提交 NCBI ([https://blast.ncbi.nlm.](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

<http://www.isth.info/tools/molkey/index.php>)网站进行比对分析。在 PDA 平板上 25 °C 培养单孢纯化的各木霉菌株, 定期观察菌株的平板形态和分生孢子梗分枝等特征, 通过综合分析确定菌株的种类。

1.6 系统发育进化分析

选取部分代表菌株的 ITS 序列(单倍型), 利用 MEGA 6.0 构建系统发育进化树, 采用邻接法 Neighbor-Joining, 分析模型 Kimura 2-parameter model 和 Gamma Distributed, 自展数据集 Bootstrap replications 为 1 000 次。

1.7 生物学功能评价

1.7.1 平板抑菌实验: PDA 平板直径两端距中心 35 mm 处分别接种直径 5 mm 的木霉菌株和病原真菌, 以只接种病原真菌为对照, 25 °C 培养 3-5 d, 记录病原真菌对峙方向生长半径, 计算抑制率(%)。

抑制率(%)=100%×(对照病菌生长半径-处理病菌生长半径)/对照病菌生长半径。

1.7.2 水解酶活性检测: 选取 1.7.1 中抑制率效果较好的木霉菌株进行酶活检测。主要检测蛋白酶、纤维素酶、 β -1,3-葡聚糖酶及几丁质酶的活性大小。配制各水解酶活性检测培养基平板, 平板中央接种直径 5 mm 的木霉菌株培养物, 25 °C 培养 6 d, 记录水解带宽度。

1.7.3 灰色关联度分析: 利用灰色关联度分析法对初筛得到的木霉菌株进行综合评价^[11-12]。视所有供试菌株为一个灰色系统, 每一菌株都是系统中的一个元素。以“参考菌株”各项性状指标构成的数列作为参考数列 x_0 , 以供试菌株各项性状指标构成的数列作为比较数列 x_i ($i=1, 2, 3, \dots$), 将参考数列 x_0 与比较数列 x_i 进行量化后比较, 由二者的相似程度来判断二者的关联度(r_i), 关联度越大, 综合效果越好。具体的分析步骤如下:

确定参考菌株: 根据生防木霉菌株的测定性状确定生防木霉菌株的理想值组成参考菌株。

数据的无量化处理: 由于各性状量纲不一致,

因此需要在分析之前将原始数据进行无量纲化处理,常用的方法有初值化和均值化等,本研究采用初值化方式进行处理。

计算关联系数 $\xi_i(k)$: 公式为 $\xi_i(k) = (\Delta_{\min} + \Delta_{\max k}) / [\Delta t_{ij}(t_k) + \Delta_{\max k}]$, 其中 $\Delta_{\min} = \min_i \min_j |x_i(t_k) - x_j(t_k)|$, $\Delta_{\max} = \max_i \max_j |x_i(t_k) - x_j(t_k)|$ 。

计算关联度 r_i : 公式为 $r_i = \sum \xi_i(k) \times \omega_j$, 其中 r_i 为比较数列 x_i 与参考数列 x_0 的关联度, ω_j 是 j 个性状的加权系数。

2 结果与分析

2.1 木霉菌株分离结果

从洞庭湖湿地采集的 52 个土样和 18 个水样中,共分离到 114 株木霉,菌株鉴定种类及登录信息等见表 1。供试的 52 个土样中,有 50 个土样中分离到了木霉菌株,检出率为 96.2%; 18 个水样中,有 9 个水样中分离到了木霉菌株,检出率为 50.0%。将各个种中 ITS 区域完全相同的菌株命名为 1 个单倍型,共得到 52 个单倍型。

表 1 木霉菌株分离信息
Table 1 List of *Trichoderma* strains included in this study

样品号 Sample No.	菌株号 Strains	登录号 GenBank accession No.	种类 Species	来源 Source	经纬度 Longitude/Latitude	单倍型 Allelic group
1	QT21984	KY209917	<i>T. asperellum</i>	禾本科苘草/土	E113°8'34"/N29°26'15"	AP2*
1	QT22040	KY209918	<i>T. longibrachiatum</i>	禾本科苘草/土	E113°8'34"/N29°26'15"	LB1*
1	QT21969	KY209915	<i>T. harzianum</i>	禾本科苘草/水	E113°8'34"/N29°26'15"	HZ1
1	QT21970	KY209916	<i>T. atroviride</i>	禾本科苘草/水	E113°8'34"/N29°26'15"	AV1*
2	QT21987	KY209920	<i>T. crassum</i>	菊科马兰头/水	E113°6'9"/N29°24'3"	CR1*
2	QT21988	KY209921	<i>T. virens</i>	菊科马兰头/土	E113°6'9"/N29°24'3"	VE4*
2	QT22069	KY209919	<i>T. atroviride</i>	菊科马兰头/水	E113°6'9"/N29°24'3"	AV1
3	TW21990	KY209922	<i>T. harzianum</i>	禾本科双穗雀稗/土	E113°6'9"/N29°24'3"	HZ1*
3	TW21990-1	KY189312	<i>Trichoderma</i> sp.	禾本科双穗雀稗/土	E113°6'9"/N29°24'3"	SP1*
3	QT21993	KY209923	<i>T. capillare</i>	禾本科双穗雀稗/土	E113°6'9"/N29°24'3"	CP1*
4	QT21995	KY209924	<i>T. saturnisporum</i>	豆科南苜蓿/土	E113°6'9"/N29°24'3"	ST1
4	QT21996	KY225594	<i>T. virens</i>	豆科南苜蓿/土	E113°6'9"/N29°24'3"	VE4
5	QT21998	KY225596	<i>T. asperellum</i>	豆科大巢菜/土	E113°3'23"/N29°26'35"	AP1
5	QT22000	KY225597	<i>T. harzianum</i>	豆科大巢菜/土	E113°3'23"/N29°26'35"	HZ1
5	QT22001	KY225598	<i>T. saturnisporum</i>	豆科大巢菜/土	E113°3'23"/N29°26'35"	ST2*
5	QT21973	KY225595	<i>T. harzianum</i>	豆科大巢菜/水	E113°3'23"/N29°26'35"	HZ3
6	QT22002	KY225599	<i>T. asperellum</i>	豆科大巢菜、禾本科双穗雀 穗/土	E113°3'23"/N29°26'35"	AP1
6	QT22003	KY225600	<i>T. harzianum</i>	豆科大巢菜、禾本科双穗雀 穗/土	E113°3'23"/N29°26'35"	HZ3
6	QT22004	KY225601	<i>T. saturnisporum</i>	豆科大巢菜、禾本科双穗雀 穗/土	E113°3'23"/N29°26'35"	ST1

(待续)

(续表)

7	QT22006	KY225602	<i>T. virens</i>	蓼科羊蹄/土	E113°5'58"/N29°26'12"	VE1
7	QT22007	KY225603	<i>T. koningiopsis</i>	蓼科羊蹄/土	E113°5'58"/N29°26'12"	KN2
8	QT22008	KY225604	<i>T. brevicompactum</i>	禾本科马唐/土	E113°5'58"/N29°26'12"	BV1
8	QT22010	KY225605	<i>T. atroviride</i>	禾本科马唐/土	E113°5'58"/N29°26'12"	AV1
8	QT22013	KY225606	<i>T. saturnisporum</i>	禾本科马唐/土	E113°5'58"/N29°26'12"	ST1*
9	QT22045	KY225607	<i>T. virens</i>	玄参科通泉草、莎草科莎草/土	E113°2'51"/N29°24'20"	VE1
9	QT22046	KY225608	<i>T. asperellum</i>	玄参科通泉草、莎草科莎草/土	E113°2'51"/N29°24'20"	AP5*
10	KY22016	KY225609	<i>T. virens</i>	杨柳科柳树/土	E113°0'32"/N29°21'34"	VE4
11	QT22047	KY225610	<i>T. hamatum</i>	伞形科天胡荽/土	E113°0'32"/N29°21'34"	HM4*
12	HB22049	KY225611	<i>T. asperellum</i>	禾本科竹/土	E113°0'32"/N29°21'34"	AP3*
12	HB22052	KY225612	<i>T. koningiopsis</i>	禾本科竹/土	E113°0'32"/N29°21'34"	KN4*
13	QT22017	KY225613	<i>T. saturnisporum</i>	玄参科通泉草/土	E113°0'32"/N29°21'34"	ST3*
13	QT22019	KY225614	<i>T. koningiopsis</i>	玄参科通泉草/土	E113°0'32"/N29°21'34"	KN3*
14	QT22021	KY225615	<i>T. koningiopsis</i>	禾本科双穗雀稗、豆科大巢菜/土	E113°0'32"/N29°21'34"	KN4
14	QT22053	KY225616	<i>T. harzianum</i>	禾本科双穗雀稗、豆科大巢菜/土	E113°0'32"/N29°21'34"	HZ5*
15	HB22055	KY225618	<i>T. hamatum</i>	-/土	E113°0'28"/N29°23'3"	HM1
15	HB22075	KY225619	<i>T. hamatum</i>	-/土	E113°0'28"/N29°23'3"	HM1*
15	HB22070	KY225617	<i>T. harzianum</i>	-/土	E113°0'28"/N29°23'3"	HZ3*
16	KY22056	KY225620	<i>T. erinaceum</i>	杨柳科杨树/土	E112°49'10"/N29°30'53"	EN2*
16	KY22057	KY225621	<i>T. brevicompactum</i>	杨柳科杨树/土	E112°49'10"/N29°30'53"	BV1
17	QT22022	KY225622	<i>T. virens</i>	-/土	E112°49'10"/N29°30'53"	VE1*
18	QT22024	KY225626	<i>T. virens</i>	莎草科莎草/土	E112°49'10"/N29°30'53"	VE3
18	QT22025	KY225627	<i>T. asperellum</i>	莎草科莎草/土	E112°49'10"/N29°30'53"	AP3
18	QT21977	KY225623	<i>T. pleurotica</i>	莎草科莎草/水	E112°49'10"/N29°30'53"	PU1*
18	QT21978	KY225624	<i>T. atroviride</i>	莎草科莎草/水	E112°49'10"/N29°30'53"	AV2*
18	QT21979	KY225625	<i>T. harzianum</i>	莎草科莎草/水	E112°49'10"/N29°30'53"	HZ1
19	SC22026	KY225630	<i>T. erinaceum</i>	十字花科油菜/土	E112°46'8"/N29°27'44"	EN1*
19	SC22027	KY225631	<i>T. brevicompactum</i>	十字花科油菜/土	E112°46'8"/N29°27'44"	BV1
19	SC21982	KY225628	<i>T. harzianum</i>	十字花科油菜/水	E112°46'8"/N29°27'44"	HZ6
19	SC21983	KY225629	<i>T. hamatum</i>	十字花科油菜/水	E112°46'8"/N29°27'44"	HM2*
20	QT22028	KY225632	<i>T. virens</i>	豆科南苜蓿、伞形科蛇床/土	E112°46'8"/N29°27'44"	VE5*
20	QT22060	KY225633	<i>T. harzianum</i>	豆科南苜蓿、伞形科蛇床/土	E112°46'8"/N29°27'44"	HZ6

(待续)

(续表)

21	SC22030	KY225634	<i>T. virens</i>	十字花科油菜/土	E112°44'17"/N29°24'50"	VE1
24	QT22066	KY225636	<i>T. capillare</i>	豆科大巢菜、禾本科双穗雀稗、莎草科莎草/土	E112°42'55"/N29°11'13"	CP2*
24	QT22071	KY225635	<i>T. harzianum</i>	豆科大巢菜、禾本科双穗雀稗、莎草科莎草/水	E112°42'55"/N29°11'13"	HZ6
25	QT22032	KY225637	<i>T. brevicompactum</i>	禾本科稗草、莎草科莎草/土	E112°42'55"/N29°11'13"	BV1
25	QT22033	KY225638	<i>T. harzianum</i>	禾本科稗草、莎草科莎草/土	E112°42'55"/N29°11'13"	HZ4*
26	TW22035	KT792972	<i>T. ghanense</i>	禾本科水稻/土	E112°42'8"/N29°7'34"	GA1*
26	QT22036	KY225639	<i>T. harzianum</i>	禾本科水稻/土	E112°42'8"/N29°7'34"	HZ4
27	SC22038	KY225640	<i>T. saturnisporum</i>	豆科蚕豆/土	E112°41'56"/N29°6'36"	ST1
27	SC22068	KY225641	<i>T. koningiopsis</i>	豆科蚕豆/土	E112°41'56"/N29°6'36"	KN1
28	QT22076	KY225642	<i>T. harzianum</i>	禾本科双穗雀稗/土	E112°41'56"/N29°6'36"	HZ6
29	QT22077	KY225643	<i>T. erinaceum</i>	-/土	E112°42'59"/N29°3'45"	EN1
30	QT22079	KY225644	<i>T. erinaceum</i>	菊科牛蒡/土	E112°42'59"/N29°3'45"	EN3*
31	QT22087	KY225645	<i>T. erinaceum</i>	唇形科益母草/土	E112°42'59"/N29°3'45"	EN4*
32	SD22088	KY225647	<i>T. koningiopsis</i>	禾本科水稻/土	E112°47'37"/N29°0'5"	KN2*
32	SD22090	KY225648	<i>T. pleurotica</i>	禾本科水稻/土	E112°47'37"/N29°0'5"	PU2*
32	SD22073	KY225646	<i>T. atroviride</i>	禾本科水稻/水	E112°47'37"/N29°0'5"	AV4*
33	QT22092	KY225649	<i>T. harzianum</i>	牻牛儿苗科牻牛儿苗、豆科大巢菜、禾本科稗草/土	E113°5'40"/N29°23'2"	HZ1
33	QT22093	KY225650	<i>T. hamatum</i>	牻牛儿苗科牻牛儿苗、豆科大巢菜、禾本科稗草/土	E113°5'40"/N29°23'2"	HM5
34	QT22094	KY225651	<i>T. ovalisporum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'40"/N29°23'2"	OL1*
34	QT22095	KY225652	<i>T. harzianum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'40"/N29°23'2"	HZ3
34	QT22096	KY225653	<i>T. saturnisporum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'40"/N29°23'2"	ST1
35	QT22098	KY225654	<i>T. harzianum</i>	-/土	E113°5'40"/N29°23'2"	HZ3
35	QT22099	KY225655	<i>T. capillare</i>	-/土	E113°5'40"/N29°23'2"	CP1
36	QT22104	KY225656	<i>T. asperellum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°5'7"/N29°21'1"	AP6*
37	QT22107	KY225657	<i>T. virens</i>	-/土	E113°5'7"/N29°21'1"	VE2*
38	QT22110	KY225658	<i>T. asperellum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'7"/N29°21'1"	AP4*
38	QT22111	KY225659	<i>T. longibrachiatum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'7"/N29°21'1"	LB1
39	QT22112	KY225660	<i>T. asperellum</i>	豆科南苜蓿/土	E113°5'7"/N29°21'1"	AP1
39	QT22115	KY225661	<i>T. virens</i>	豆科南苜蓿/土	E113°5'7"/N29°21'1"	VE3
40	SC22119	KY225662	<i>T. atroviride</i>	十字花科萝卜/土	E113°5'7"/N29°21'1"	AV5*
41	QT22121	KY225663	<i>T. hamatum</i>	禾本科稗草/土	E113°5'8"/N29°18'10"	HM3*
41	QT22122	KY225664	<i>T. virens</i>	禾本科稗草/土	E113°5'8"/N29°18'10"	VE4

(待续)

(续表)

41	QT22124	KY225665	<i>T. harzianum</i>	禾本科稗草/土	E113°5'8"/N29°18'10"	HZ3
42	QT22125	KY225666	<i>T. hamatum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'8"/N29°18'10"	HM6*
42	QT22126	KY225667	<i>T. asperellum</i>	莎草科莎草/土	E113°5'8"/N29°18'10"	AP4
43	QT22128	KY225668	<i>T. saturnisporum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°5'8"/N29°18'10"	ST2
43	QT22130	KY225669	<i>T. hamatum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°5'8"/N29°18'10"	HM5
43	QT22131	KY225670	<i>T. asperellum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°5'8"/N29°18'10"	AP1
44	QT22132	KY225672	<i>T. saturnisporum</i>	毛茛科小毛茛/土	E113°4'48"/N29°14'39"	ST4*
44	QT22133	KY225673	<i>T. koningiopsis</i>	毛茛科小毛茛/土	E113°4'48"/N29°14'39"	KN2
44	QT22039	KY225671	<i>T. harzianum</i>	毛茛科小毛茛/水	E113°4'48"/N29°14'39"	HZ3
45	QT22135	KY225674	<i>T. virens</i>	唇形科荔枝草/土	E113°4'48"/N29°14'39"	VE3
45	QT22136	KY225675	<i>T. harzianum</i>	唇形科荔枝草/土	E113°4'48"/N29°14'39"	HZ4
46	QT22137	KY225676	<i>T. brevicompactum</i>	大戟科泽漆/土	E113°4'48"/N29°14'39"	BV1
47	TW22141	KU847972	<i>T. brevicompactum</i>	菊科鼠麴草、十字花科播娘蒿/土	E113°6'24"/N29°10'59"	BV1*
47	QT22143	KY225677	<i>T. saturnisporum</i>	菊科鼠麴草、十字花科播娘蒿/土	E113°6'24"/N29°10'59"	ST1
47	QT22144	KY225678	<i>T. harzianum</i>	菊科鼠麴草、十字花科播娘蒿/土	E113°6'24"/N29°10'59"	HZ2*
47	QT22145	KY225679	<i>T. virens</i>	菊科鼠麴草、十字花科播娘蒿/土	E113°6'24"/N29°10'59"	VE4
47	QT22146	KY225680	<i>T. asperellum</i>	菊科鼠麴草、十字花科播娘蒿/土	E113°6'24"/N29°10'59"	AP1
48	QT22148	KY225681	<i>T. harzianum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°6'24"/N29°10'59"	HZ6*
48	QT22149	KY225682	<i>T. atroviride</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°6'24"/N29°10'59"	AV3*
48	QT22150	KY225683	<i>T. saturnisporum</i>	蓼科酸模叶蓼/土	E113°6'24"/N29°10'59"	ST1
49	QT22152	KY225584	<i>T. hamatum</i>	禾本科茵草/土	E113°6'24"/N29°10'59"	HM5*
49	QT22153	KY225585	<i>T. brevicompactum</i>	禾本科茵草/土	E113°6'24"/N29°10'59"	BV1
49	QT22155	KY225586	<i>T. saturnisporum</i>	禾本科茵草/土	E113°6'24"/N29°10'59"	ST2
49	QT22156	KY225587	<i>T. asperellum</i>	禾本科茵草/土	E113°6'24"/N29°10'59"	AP1*
50	QT22160	KY225588	<i>T. virens</i>	牻牛儿苗科牻牛儿苗、豆科大巢菜、禾本科稗草/土	E113°6'24"/N29°10'59"	VE3*
51	QT22161	KY225589	<i>T. koningiopsis</i>	菊科马兰头/土	E113°0'27"/N29°9'19"	KN1*
51	QT22162	KY225590	<i>T. saturnisporum</i>	菊科马兰头/土	E113°0'27"/N29°9'19"	ST1
51	QT22164	KY225591	<i>T. longibrachiatum</i>	菊科马兰头/土	E113°0'27"/N29°9'19"	LB2*
52	QT22043	KY225592	<i>T. asperellum</i>	禾本科看麦娘/土	E113°0'27"/N29°9'19"	AP5
52	QT22165	KY225593	<i>T. ovalisporum</i>	禾本科看麦娘/土	E113°0'27"/N29°9'19"	OL1
52	TW22166	KT862523	<i>T. capillare</i>	禾本科看麦娘/土	E113°0'27"/N29°9'19"	CP3*

注：*：菌株单倍型用于构建图 1 的系统进化树；-：无植被类型。

Note: The group of strains possessing identical alleles in the locus of ITS, and analyzed in the present study with symbol * in Figure 1; -: No vegetation form.

2.2 木霉种类鉴定

通过 ITS 序列比对和形态特征分析,共鉴定出 16 个木霉种类(表 2)。其中 15 个为已知木霉种类,1 个为未知木霉种类。15 个已知木霉种类包括:哈茨木霉 *T. harzianum* Rifai、绿木霉 *T. virens* (Miller, Giddens & Foster) Arx、刺孢木霉 *T. asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg、土星孢木霉 *T. saturnisporum* Hammill、钩状木霉 *T. hamatum* (Bonord) Bainier、拟康宁木霉 *T. koningiopsis* Samuels, Suárez & Evans、短密木霉 *T. brevicompactum* Kraus, Kubicek & Gams、深绿木霉 *T. atroviride* Karsten、猥木霉 *T. erinaceum* Bissett, Kubicek & Szakacs、毛细木霉 *T. capillare* Bissett & Kubicek、长枝木霉 *T. longibrachiatum* Rifai、卵孢木霉 *T. ovalisporum* Samuels & Schroers、侧耳木霉 *T. pleuroticola* Yu & Park、加纳木霉 *T. ghanense* Doi, Abe & Sugiyama、厚木霉 *T. crassum* Bissett。*T. capillare* 为中国新记录种^[8],未知菌株 *Trichoderma* sp. CK-2016 的 ITS 序列与 NCBI 中其他木霉的相

似性最高为 94.0%,在 ISTH 中未鉴定到种(The query sequence belongs to an unidentified species of *Hypocrea/Trichoderma*),可能为疑似新种(另文发表)。*T. harzianum* 为洞庭湖湿地中的优势种,占总菌株数量的 19.30%;其次为 *T. virens* 和 *T. asperellum*,分别占总菌株数量的 13.16%和 12.28%。

2.3 木霉多样性分析

洞庭湖湿地木霉种类具有多样性,从表 1 可以看出,土样中共分离到 15 个木霉种类:*T. harzianum*、*T. virens*、*T. asperellum*、*T. saturnisporum*、*T. hamatum*、*T. koningiopsis*、*T. brevicompactum*、*T. atroviride*、*T. erinaceum*、*T. capillare*、*T. longibrachiatum*、*T. ovalisporum*、*T. pleuroticola*、*T. ghanense* 和 *Trichoderma* sp.,水样中只分离到 5 个木霉种类:*T. harzianum*、*T. hamatum*、*T. atroviride*、*T. pleuroticola* 和 *T. crassum*,土样中木霉种类多样性远高于水样。

不同样品中分离到的木霉种类不同,单个样品中分离到的木霉种类为 0-5 种,一般为 2-3 种,未分离到木霉菌株的样品有 2 个(22[#]和 23[#],表 1 中未列出),分离到木霉种类最多的样品为 47[#]土样,有 5 种木霉:*T. brevicompactum*、*T. saturnisporum*、*T. harzianum*、*T. virens* 和 *T. asperellum*。

样品的植被类型对木霉的种类和数量影响较大,洞庭湖湿地样品植被共 13 个科,从木霉种类上来看,禾本科和莎草科根际中分离到的种类较多,分别为 14 种和 11 种,大戟科中分离到的木霉种类最少,只有 1 种。从木霉菌株数量上来看,禾本科和豆科根际分离到的木霉菌株数量较多,分别为 40 株和 22 株,占全部木霉总数的 35.09%和 19.30%,大戟科中分离到的木霉数量最少,只有 1 株,占全部木霉总数的 0.88%,禾本科根际中分离到的木霉种类和数量均最多,结果见表 3。

2.4 系统发育进化分析

以粉红粘帚霉 *Gliocladium roseum* (AJ309334) 为外族群,以表 1 中*标注单倍型菌株的 ITS 序列构建系统发育进化树,结果见图 1。16 个种类的木

表 2 洞庭湖湿地分离木霉种类及数量分布
Table 2 Species and amount of *Trichoderma* in Dongting Lake

木霉种类 Species	菌株数量 Quantity	百分比 Percent (%)
<i>T. harzianum</i>	22	19.30
<i>T. virens</i>	15	13.16
<i>T. asperellum</i>	14	12.28
<i>T. saturnisporum</i>	13	11.40
<i>T. hamatum</i>	9	7.89
<i>T. koningiopsis</i>	8	7.02
<i>T. brevicompactum</i>	7	6.14
<i>T. atroviride</i>	7	6.14
<i>T. erinaceum</i>	5	4.39
<i>T. capillare</i>	4	3.51
<i>T. longibrachiatum</i>	3	2.63
<i>T. ovalisporum</i>	2	1.75
<i>T. pleuroticola</i>	2	1.75
<i>T. ghanense</i>	1	0.88
<i>T. crassum</i>	1	0.88
<i>Trichoderma</i> sp.	1	0.88

表 3 *Trichoderma* 在不同种类植物根际的数量分布
Table 3 *Trichoderma* distribution in different plant rhizosphere

木霉种类 Species	禾本科 Grami- neae	菊科 Aster- aceae	豆科 Legumin- osae	蓼科 Polygon- aceae	杨柳科 Salic- aceae	莎草科 Cyper- aceae	唇形科 Labi- atae	玄参科 Scrophul- ariaceae	大戟科 Euphor- biaceae	伞形科 Umbelli- ferae	毛茛科 Ranuncu- laceae	十字花科 Brassi- caceae	牻牛儿苗科 Gerani- aceae
<i>T. asperellum</i>	5	1	3	2	0	4	0	1	0	0	0	1	0
<i>T. atroviride</i>	3	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>T. brevicompactum</i>	3	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	2	0
<i>T. capillare</i>	3	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. crassum</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. erinaceum</i>	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>T. ghanense</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. hamatum</i>	3	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1
<i>T. harzianum</i>	10	1	7	1	0	4	1	0	0	1	1	2	1
<i>T. koningiopsis</i>	3	1	2	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>T. longibrachiatum</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. ovalisporum</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. pleuroitcola</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. saturnisporum</i>	3	2	4	2	0	1	0	1	0	0	1	1	0
<i>T. virens</i>	2	2	4	1	1	2	1	1	0	1	0	2	1
<i>Trichoderma</i> sp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	40	12	22	9	3	18	3	4	1	3	3	11	3

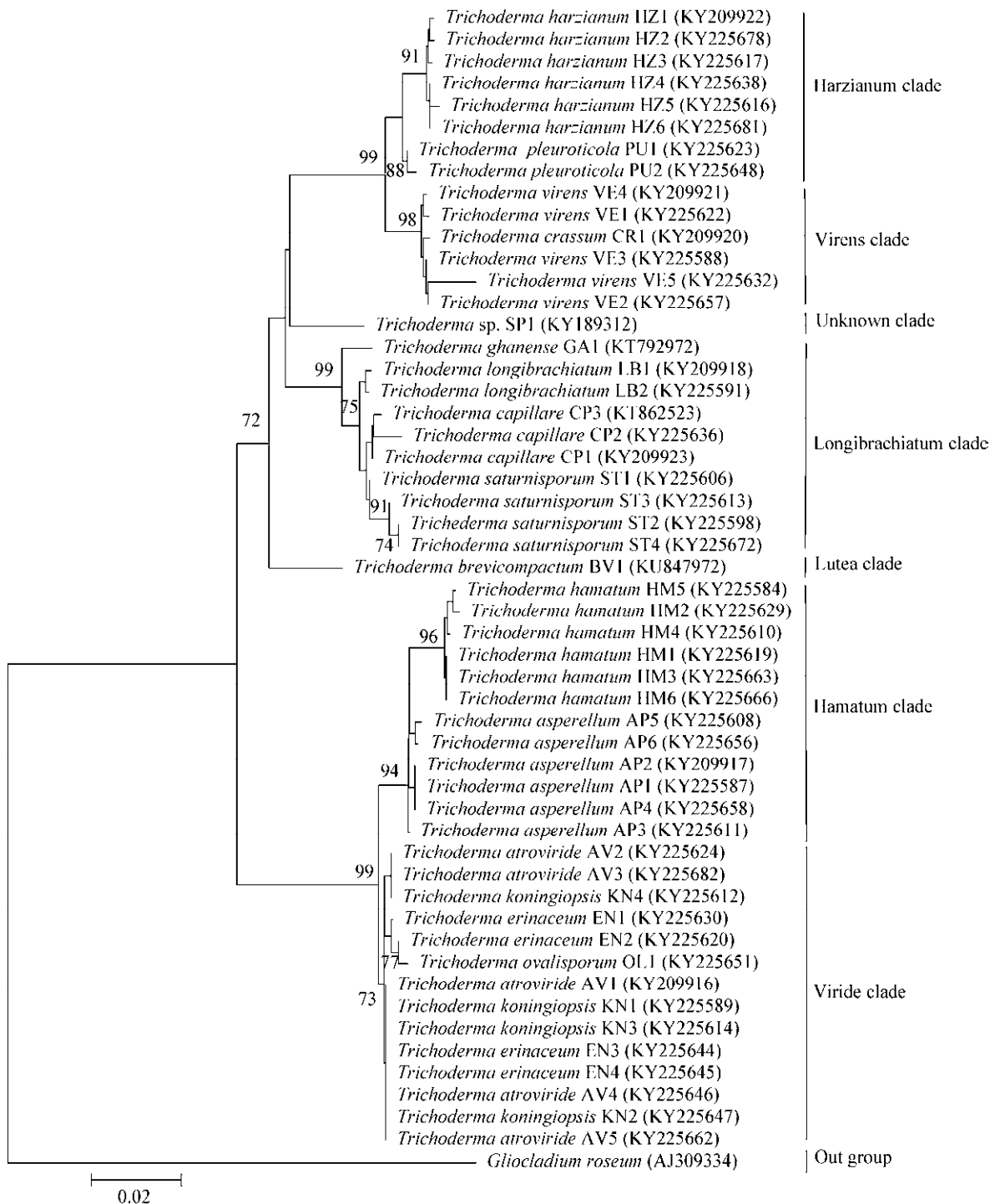


图 1 基于 ITS 序列构建的木霉系统发育进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of *Trichoderma* strains inferred by analysis of ITS sequences

注：括号内为 GenBank 登录号，符号(HZ、PU、AV 等)代表同一种类木霉的单倍型，具体见表 1；*Gliocladium roseum* (AJ309334)为外族群；节点左边的数值是基于邻接法 1 000 次重复取样数据集的 Bootstrap 支持率(>70%)；比例尺表示 100 个核苷酸中有 2 个被替换。

Note: The GenBank accession numbers are shown in parentheses, the symbols such as HZ, PU, AV, etc indicate the allelic groups of *Trichoderma* species, and see in table 1; *Gliocladium roseum* (AJ309334) is the out group; Bootstrap values (>70%) are given at the left of nodes based on neighbour-joining analyses of 1 000 replications; The scale bar represents 0.02 substitutions per nucleotide positions.

霉在发育树中归于 7 个进化支: Harzianum clade 包括 *T. harzianum* 和 *T. pleurotica*; Virens clade 包括 *T. virens* 和 *T. crassum*; Lutea clade 包括 *T. brevicompactum*; Unknown clade 包括 *Trichoderma* sp.; Longibrachiatum clade 包括 *T. ghanense*、*T. longibrachiatum*、*T. saturnisporum* 和 *T. capillare*; Hamatum clade 包括 *T. asperellum* 和 *T. hamatum*; Viride clade 包括 *T. atroviride*、*T. koningiopsis*、*T. erinaceum* 和 *T. ovalisporum*。不同分支中包含的木霉种类不等,有的分支只包含 1 种木霉,有的分支则包含 4 种木霉。

2.5 木霉生物学功能评价

2.5.1 平板抑菌能力及水解酶活性测定: 供试 114 株

木霉菌株在 PDA 平板上对 4 种供试植物病原真菌均有一定的抑制作用,不同木霉菌株对不同病原真菌的抑制能力不同,通过初筛得到 21 株抑菌效果较好的木霉菌株(对 2 种及以上病原真菌抑制率不低于 70%),并对该 21 株木霉进行了 4 种水解酶活性检测,根据测定结果,确定了木霉菌株的理想值组成参考菌株 Reference strain (表 4)。

2.5.2 灰色关联度分析: 将表 4 中的结果进行灰色关联度分析,得到了每个菌株的灰色关联度和排序(表 5),可以看出,菌株 TW21990、QT22040 和 QT22094 的灰色关联度较高,分别为 0.849 5、0.798 6 和 0.732 6,因此这 3 个菌株的综合生防性状较好。

表 4 初筛 21 株木霉菌株的生防性状测定结果
Table 4 The biocontrol characters of *Trichoderma* strains

菌株编号 Strains	抑制率 Inhibition rate (%)				水解带宽度 Hydrolysis radius (mm)			
	终极腐霉 <i>P. ultimum</i>	尖孢镰孢 <i>F. oxysporum</i>	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	灰葡萄孢 <i>B. cinerea</i>	几丁质酶 Chitinase	蛋白酶 Protease	纤维素酶 Cellulase	葡聚糖酶 Glucanase
	TW21990	92.6	100.0	78.3	95.7	5.0	9.5	3.5
QT21969	69.4	100.0	74.7	70.9	0.0	5.0	3.0	4.0
QT21973	72.2	100.0	74.7	72.8	0.0	8.5	2.5	3.5
QT21978	88.9	41.2	61.3	84.5	3.5	12.0	7.0	3.5
QT21979	69.4	100.0	74.7	63.1	0.0	7.0	3.0	1.5
SC21982	44.4	100.0	70.7	55.3	0.0	7.0	5.0	3.5
QT22000	72.2	100.0	78.7	78.6	0.0	7.0	4.0	4.5
QT22033	70.8	100.0	70.7	80.6	0.0	6.0	2.0	4.5
TW22035	80.6	81.2	54.7	51.5	4.0	11.0	8.0	3.0
QT22040	78.3	100.0	52.0	74.8	5.0	18.0	5.5	4.5
QT22066	70.8	100.0	49.3	43.7	5.0	13.5	7.0	1.5
HB22070	72.2	78.8	72.0	95.1	0.0	4.5	6.0	4.0
QT22087	75.0	41.2	70.7	72.8	3.0	8.0	9.0	2.5
QT22094	79.2	100.0	69.3	80.6	4.0	10.0	6.5	4.0
QT22098	76.4	100.0	78.7	94.2	0.0	5.5	4.0	4.0
QT22124	52.8	100.0	57.3	92.2	0.0	10.0	3.0	0.0
QT22133	88.9	55.3	58.7	100.0	0.0	0.0	5.0	0.0
QT22135	66.7	100.0	56.0	82.5	0.0	10.0	1.5	1.5
QT22144	80.6	45.9	77.3	61.2	4.0	10.0	7.0	3.5
QT22161	80.6	57.6	62.7	100.0	0.0	8.0	7.5	3.5
QT22165	77.8	52.9	60.0	88.3	2.5	0.0	7.5	2.0
Reference strain	95.0	100.0	80.0	100.0	5.0	18.0	9.0	5.0

表 5 21 株初筛木霉菌株的灰色关联度及排序
Table 5 The grey related degree and relative important order of *Trichoderma* strains

排序 Order	菌株 Strains	灰色关联度 Grey relation degree
1	TW21990	0.849 5
2	QT22040	0.798 6
3	QT22094	0.732 6
4	QT22098	0.690 4
5	QT22066	0.684 3
6	QT22000	0.679 4
7	QT21978	0.666 6
8	QT22144	0.663 6
9	TW22035	0.658 1
10	QT22161	0.648 6
11	QT22033	0.647 6
12	HB22070	0.646 2
13	QT22087	0.643 9
14	QT21973	0.632 5
15	QT21969	0.631 3
16	QT22165	0.595 5
17	SC21982	0.595 2
18	QT21979	0.592 1
19	QT22124	0.582 2
20	QT22135	0.580 9
21	QT22133	0.574 5

3 讨论

我国已被列为世界上 12 个高度生物多样性的国家和地区之一,但作为生物重要组成部分的真菌多样性的研究远落后于许多国家,目前很难准确地阐明我国或任何一个地区的真菌物种种类的分布和生态环境^[13]。木霉是重要的真菌资源,在工业、农业及环境保护等领域有着广泛的应用价值,对木霉资源的系统调查及深入研究显得尤为重要。

近年来国内外相继开展了对木霉资源的收集和整理工作,木霉已知种和新种的报道呈急速增长趋势。如 Blaszczyk 等从波兰分离的 170 株木霉中鉴定了 14 个种类^[14]; Jaklitsch 等从南欧及马卡罗尼西亚等地区中分离的 650 株木霉中鉴定出 90 个种类,其中 17 个为新种^[15]; Kamala 等从印度分离的 193 株木霉中鉴定了 22 个种类^[16]; Sun 等从中国各地分离的 1 910 株木霉中鉴定了 23 个种类,其中 3 个为中国新记录种^[17]; Saravanakumar 等从中国南方滩涂湿地分离的 254 株木霉中鉴定了 13 个种类,其中 2 个为未知种类^[18]。可见木霉是世界性分布真菌,种类繁多,发现新种的可能性也较大。相比以上研究,本研究只对中国湖南省洞庭湖湿地中的木霉资源进行了调查,从采集的 52 个样品中分离得到 114 株木霉,鉴定了 16 个种类,其中一个为中国新记录种(*T. capillare*),一个为疑似新种。虽然采集样品数量相比其他大型调查较少,但其中包含的木霉种类却较多,说明该地区木霉资源较为丰富。

土壤真菌多样性受到很多因素的影响,其中最主要的影响因素是植被和土壤类型^[19]。植物可以给真菌提供特殊的碳源和能量来源,土壤类型会影响真菌在土壤中的定殖,进而影响真菌的生态位。洞庭湖位于中国湖南省北部,是中国第二大淡水湖,相比于农田及森林等其他生态系统,土壤中水分含量较高,植被受人为因素影响较小,具有更为天然的湿地生态环境。洞庭湖土样中木霉检出率为 96.2%,水样中木霉检出率为 50.0%,说明木霉在洞庭湖湿地的分布较为普遍,土壤湿地环境更适合木霉的生长。

植被类型对木霉的影响也较大,洞庭湖样品植被共分为 13 个科,从禾本科和豆科根际分离到的木霉数量较多,占全部木霉总数的 35.09%和 19.30%,从大戟科中分离到的木霉数量最少,只占 0.88%,说明禾本科和豆科根际更适合木霉的定殖,该研究同前人的结果基本一致^[20-22],原因可能

是该类作物一般种植周期长,农事操作少,农药和化肥用量也较少,其根际环境更有利于木霉的生长和定殖。

研究发现,*T. harzianum*为洞庭湖湿地中的优势种,占总菌株数量的19.30%,*T. harzianum*在欧洲、美洲、非洲和亚洲等都有分布,且大都属于较为优势的种,具有世界性分布的特点^[14-16,20-22],这可能与*T. harzianum*生长温度范围宽,在低温和高温条件下均能较好生长有关,也可能与*T. harzianum*是一个复合种有关^[14,23-24]。

木霉是重要的植物病害生物防治菌株,具有重寄生、产生抗生素代谢产物及降解病原真菌细胞壁等作用。本研究将灰色关联度理论应用到优良菌株的筛选中,使筛选拮抗性菌株的准确性和效率大幅提高。通过对初筛21株木霉的8个生防性状的评价,得到综合效果较好的3株木霉:*T. harzianum* TW21990、*T. longibrachiatum* QT22040和*T. ovalisporum* QT22094,为保护和合理利用木霉资源提供了依据。其中*T. harzianum*既是洞庭湖湿地的优势种,又是优良菌株,一般来说优势种是具有高度的生态适应性、个体数量多和有竞争优势的一类种群,可能有更高的拮抗活性、重寄生能力和抗生素代谢产物产生能力,具有更好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Kubice CP, Harman GE. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics[M]. London: Taylor and Francis Ltd., 1998: 3-8
- [2] Ghisalberti EL. Anti-infective agents produced by the hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*[J]. Current Medicinal Chemistry, 2002, 1(4): 343-374
- [3] Qin WT, Chen K, Zhuang WY. Five *Trichoderma* species new to China and notes on two other widespread species[J]. Mycosystema, 2016, 35(8): 994-1007 (in Chinese)
秦文韬, 陈凯, 庄文颖. 木霉属5个中国新记录种及2种木霉在中国的新分布[J]. 菌物学报, 2016, 35(8): 994-1007
- [4] Zhu ZX, Zhuang WY. Current understanding of the genus *Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycota)[J]. Mycosystema, 2014, 33(6): 1136-1153 (in Chinese)
朱兆香, 庄文颖. 木霉属研究概况[J]. 菌物学报, 2014, 33(6): 1136-1153
- [5] Zhu ZX, Li Y. Three new Chinese records of *Trichoderma* (Hypocreaceae)[J]. Mycosystema, 2016, 35(11): 1406-1415 (in Chinese)
朱兆香, 李玉. 木霉属3个中国新记录种[J]. 菌物学报, 2016, 35(11): 1406-1415
- [6] Zhang GZ, Zhang XJ, Li CY, et al. Seven Chinese new records of the genus *Trichoderma*[J]. Mycosystema, 2016, 35(8): 984-993
- [7] Qin WT, Zhuang WY. Four new species of *Trichoderma* with hyaline ascospores in the Brevicompectum and Longibrachiatum clades[J]. Mycosystema, 2016, 35(11): 1317-1336
- [8] Chen K, Li JS, Zhang GZ, et al. Chinese new record *Trichoderma capillare* and its functional assessment[J]. Shandong Science, 2016, 29(1): 93-97,109 (in Chinese)
陈凯, 李纪顺, 张广志, 等. 中国新记录种毛细木霉 *Trichoderma capillare* 及功能评价[J]. 山东科学, 2016, 29(1): 93-97,109
- [9] Yang HT. *Trichoderma* Classification and Identification[M]. Beijing: China Land Press, 2009: 19-59 (in Chinese)
杨合同. 木霉分类与鉴定[M]. 北京: 中国大地出版社, 2009: 19-59
- [10] Zhu XT, Zhao Y, Wang K, et al. Cloning of a novel chitinase gene *TiChi46* from *Trichoderma longibrachiatum* parasitizing on *Meloidogyne incognita* eggs[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2016, 46(1): 72-83 (in Chinese)
朱先婷, 赵洋, 王凯, 等. 寄生于南方根结线虫卵的长梗木霉几丁质酶基因 *TiChi46* 的克隆[J]. 植物病理学报, 2016, 46(1): 72-83
- [11] Xu WF, Mao ZQ, Sun HT, et al. The application of the gray related degree analysis in screening *Trichoderma* spp.[J]. Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science, 2012, 43(2): 189-192,196 (in Chinese)
徐文凤, 毛志泉, 孙海涛, 等. 灰色关联度分析法在拮抗丝核菌木霉菌株筛选中的应用[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2012, 43(2): 189-192,196
- [12] He ZD, Ji ZX, Gao YF, et al. Study on screening fermentation condition of biocontrol *Trichoderma* by grey relational analysis[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2015, 24(3): 163-169 (in Chinese)
贺字典, 吉志新, 高玉峰, 等. 灰色关联分析筛选抗逆生防木霉发酵条件的研究[J]. 西北农业学报, 2015, 24(3): 163-169
- [13] Xia CH. Biodiversity research of the genus *Trichoderma* from Yunnan province: data from morphology and ITS sequence[D]. Kunming: Master's Thesis of Southwest Forestry University, 2009: 1-2 (in Chinese)
夏长虹. 云南省部分地区木霉属真菌多样性及 ITS 序列分析[D]. 昆明: 西南林学院硕士学位论文, 2009: 1-2
- [14] Błaszczyk L, Popiel D, Chelkowski J, et al. Species diversity of *Trichoderma* in Poland[J]. Journal of Applied Genetics, 2011, 52(2): 233-243
- [15] Jaklitsch WM, Voglmayr H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in southern Europe and Macaronesia[J]. Studies in Mycology, 2015, 80: 1-87
- [16] Kamala T, Devi SI, Sharma KC, et al. Phylogeny and

- taxonomical investigation of *Trichoderma* spp. from Indian region of indo-Burma biodiversity hot spot region with special reference to Manipur[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 285261, DOI: 10.1155/2015/285261
- [17] Sun RY, Liu ZC, Fu KH, et al. *Trichoderma* biodiversity in China[J]. Journal of Applied Genetics, 2012, 53(3): 343-354
- [18] Saravanakumar K, Yu CJ, Dou K, et al. Biodiversity of *Trichoderma* community in the tidal flats and wetland of southeastern China[J]. PLoS One, 2016: 11(12): e0168020
- [19] Hagn A, Pritsch K, Schloter M, et al. Fungal diversity in agricultural soil under different farming management systems, with special reference to biocontrol strains of *Trichoderma* spp.[J]. Biology and Fertility of Soils, 2003, 38(4): 236-244
- [20] Jiang Y. Biodiversity and agricultural functional assessment of *Trichoderma* from agricultural ecosystem in Zhejiang, Anhui, Jiangsu, Shandong and Shanxi province[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2016: 35-48 (in Chinese)
姜远. 浙皖苏鲁晋五省农田生态系统木霉菌多样性及其农业功能评价[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2016: 35-48
- [21] Li GJ. Study of diversity of *Trichoderma* isolated from east China[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Jiao Tong University, 2011: 29-33 (in Chinese)
李广记. 华东地区木霉菌多样性研究[D]. 上海: 上海交通大学硕士学位论文, 2011: 29-33
- [22] Lin RZ. Northeast farmland *Trichoderma* collect identification, evaluation and cellulose activity optimization of fermentation conditions[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2016: 32-40 (in Chinese)
林润泽. 东北农田木霉菌的鉴定、酶活评价及其纤维素酶发酵工艺[D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2016: 32-40
- [23] Druzhinina IS, Kubicek CP, Komoń-Zelazowska M, et al. The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent agamospecies and numerous relict lineages[J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10(1): 94
- [24] Chaverri P, Castlebury LA, Samuels GJ, et al. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum*/*Hypocrea lixii* complex[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 27(2): 302-313

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于1974年,月刊,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、微生物蛋白质组、微生物功能基因组、微生物工程与药物等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究改革等。

本刊为中文核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

据中国科学技术信息研究所信息统计,本刊2012、2013、2014、2015年以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一名而连续4年获得“百种中国杰出学术期刊奖”,并入选300种“中国精品科技期刊”,成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。2014年获得中国科学院科技期刊三等出版基金资助;2015年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助。

欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2018年每册定价80元,全年960元,我们免邮费寄刊。

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413