

研究报告

龙羊峡水库土壤真菌多样性及生防菌株筛选

杨闰艳, 马有海, 辛承伟, 张秩伟, 祁鹤兴*

青海大学 农牧学院, 青海 西宁 810016

杨闰艳, 马有海, 辛承伟, 张秩伟, 祁鹤兴. 龙羊峡水库土壤真菌多样性及生防菌株筛选[J]. 微生物学通报, 2024, 51(9): 3468-3483.

YANG Runyan, MA Youhai, XIN Chengwei, ZHANG Zhiwei, QI Hexing. Fungal diversity of soil in Longyangxia valley and screening of biocontrol isolates[J]. Microbiology China, 2024, 51(9): 3468-3483.

摘要:【背景】龙羊峡水库是黄河源区重要的湖泊湿地之一, 具有巨大的水量调节功能。【目的】探究龙羊峡水库土壤真菌多样性并筛选生防菌株, 丰富高寒湖泊湿地真菌资源, 为后续开发生防制剂提供基础材料。【方法】从龙羊峡水库岸边采集土壤样本 10 份, 采用稀释涂板分离法进行真菌的分离, 采用形态学和分子生物学方法鉴定真菌, 并使用对峙培养法筛选生防菌株。【结果】共分离得到 104 株真菌, 经鉴定发现分别属于光黑壳属(*Preussia*)、木霉属(*Trichoderma*)、链格孢属(*Alternaria*)、枝孢霉属(*Cladosporium*)、平脐蠕孢属(*Bipolaris*)、假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)和青霉属(*Penicillium*)等 23 属真菌, 其中光黑壳属和木霉属菌株个数最多, 分别是 21 株和 19 株, 分离频率是 20.19%和 18.27%; 枝葡萄孢属(*Botryotrichum*)、韦斯特壳属(*Westerdykella*)、小球腔菌属(*Leptosphaeria*)、节菱孢属(*Arthrini*)、齿梗孢属(*Scolecobasidium*)、孢子丝菌属(*Sporothrix*)、四枝孢属(*Tetracladium*)和隐囊菌属(*Aphanoascus*)菌株个数最少, 均为 1 株, 分离频率为 0.96%。从 104 株土壤真菌中筛选得到 19 株木霉属真菌对青海省主要农作物 8 种病原真菌具有较强的抑菌效果, 抑菌率在 51.6%–73.5%之间; 10 株光黑壳属、4 株假裸囊菌属、3 株枝孢霉属、2 株平脐蠕孢属、各 1 株节菱孢属、小球腔菌属、韦斯特壳属、青霉属和翅孢壳属(*Emericellopsis*)真菌通过拮抗作用发挥抑菌效果, 对 8 种病原真菌的抑菌带最大宽度均 ≥ 10 mm, 抑菌效果较好。【结论】龙羊峡水库土壤真菌资源丰富, 具有较好的开发和利用价值。

关键词: 龙羊峡水库; 湿地; 真菌多样性; 生防菌株

资助项目: 青海省自然科学基金(2022-ZJ-977Q)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Qinghai Province (2022-ZJ-977Q).

*Corresponding author. E-mail: qhx390495559@126.com

Received: 2023-11-27; Accepted: 2024-03-19; Published online: 2024-04-22

Fungal diversity of soil in Longyangxia valley and screening of biocontrol isolates

YANG Runyan, MA Youhai, XIN Chengwei, ZHANG Zhiwei, QI Hexing*

College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

Abstract: [Background] Longyangxia valley is one of the most important lake wetlands in the source region of the Yellow River, demonstrating great potential in water regulation. [Objective] To explore the soil fungal diversity and screen biocontrol isolates from Longyangxia valley, enrich the fungal resources of lake wetlands in alpine regions, and provide basic materials for subsequent development of biocontrol agents. [Methods] Ten soil samples were collected from the shoreside of Longyangxia reservoir in Longyangxia valley, and fungi were isolated by the dilution coating method. The isolates were identified by morphological observation and methods of molecular biology, and the biocontrol isolates were screened by the plate confrontation method. [Results] One hundred and four fungal strains belonging to 23 genera were isolated, including *Preussia*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Bipolaris*, *Pseudogymnoascus*, and *Penicillium*. The isolates belonging to *Preussia* and *Trichoderma* were the most, with the number of 21 and 19 and the isolation frequency of 20.19% and 18.27%, respectively. The isolates of *Botryotrichum*, *Westerdykella*, *Leptosphaeria*, *Arthrinium*, *Scolecobasidium*, *Sporothrix*, *Tetracladium*, and *Aphanoascus* were the fewest, and all these genera had only one isolate, with the isolation frequency of 0.96%. Nineteen isolates of *Trichoderma* were screened out from the 104 fungal isolates, and these isolates had great biocontrol effects on eight fungal pathogens isolated from the main crops of Qinghai Province, with the inhibition rates between 51.6%–73.5%. Ten *Preussia* isolates, 4 *Pseudogymnoascus* isolates, 3 *Cladosporium* isolates, 2 *Bipolaris* isolates, and 1 isolate each of *Arthrinium*, *Leptosphaeria*, *Westerdykella*, *Penicillium*, and *Emericellopsis* also exerted strong inhibitory effects on the eight pathogens, with the largest inhibition zone ≥ 10 mm. [Conclusion] The soil of Longyangxia valley harbors abundant fungal resources and demonstrates high potential of exploitation and utilization.

Keywords: Longyangxia valley; wetland; fungal diversity; biocontrol isolate

地球上可培养的微生物比例极低, 已经被开发利用的微生物数量也有限, 因此自然界中有大量的微生物及其功能尚待发掘^[1]。在自然环境中, 微生物对于提高土壤肥力、促进作物生长、提高作物产量、抗病原菌侵入、减轻农药和化肥污染等方面发挥巨大作用^[2-4]。

土壤是微生物生长和繁殖的天然培养基,

因为土壤中含有多种有机和无机营养物^[5]。真菌主要存在于土壤上表面 10 cm 处, 在 30 cm 以下很难找到真菌。一般用作生防菌的木霉菌(*Trichoderma* spp.)、毛壳菌(*Chaetomium* spp.)和盾壳霉(*Coniothyrium* spp.)等真菌在土壤微生物种群组成中占优势地位^[6-8], 特别是有机质丰富的土壤中。不同土壤环境中的真菌一直是国

内外研究者们关注的热点。冯饴童等^[9]报道从西藏自治区林芝市农田土壤中分离得到的球毛壳菌(*Chaetomium globosum*)对尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)具有较好的抑制作用。Zhou 等^[10]报道从 11 份森林土壤样本中筛选出 9 种共计 122 株木霉菌, 从中筛选出 1 株对尖孢镰孢有显著抑制作用的 *T. pseudoharzianum* 菌株, 并且该菌株对山杨和银白杨有明显的促生长作用。

湿地有土壤, 所以不是真正的水生生境, 但湿地又存在水环境, 所以也不是真正的陆生生境。但是湿地的作用和价值很大, 湿地中微生物是营养循环和形成食物链的基础, 在湿地生物地球化学过程中发挥着关键作用, 湿地微生物现已成为人们研究的热点^[11]。龙羊峡水库位于黄河上游青海省共和县和贵南县交界的龙羊峡谷, 距离黄河源头 1 684 km, 是一座具有多年调节性能的大型综合利用枢纽工程, 具有巨大的水量调节功能, 全长 1 227 m, 总库容量为 240 亿 m³, 水面面积 383 km², 水质良好^[12]。龙羊峡水库是黄河流经青海草原后, 进入黄河峡谷的第一峡口, 也是黄河源区重要的湖泊湿地之一。因此, 研究龙羊峡水库土壤真菌多样性对于丰富极端湿地环境微生物多样性具有重要的意义。鉴于青海省的生态保护价值和意义, 在这种情势下寻找适用于青海高寒地区低残留、对环境友好、高效的微生物制剂替代化学农药是一条很好的出路, 既能保护生态环境又能使农民持续耕作。国内外采用生防真菌制备微生物制剂, 真菌增殖生长快, 易于规模化生产, 在农业绿色发展生产领域具有广阔的应用前景。如哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)、寡雄腐霉(*Pythium oligandrum*)和淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)等已经用于商业化菌剂生产。

目前龙羊峡水库土壤真菌种类及其应用价

值尚未可知。因此, 本文以龙羊峡水库土壤真菌为研究对象, 分析高海拔湖泊湿地土壤真菌种类, 并从中筛选生防菌株, 以期后续开发适合青海省高寒地区使用的生防制剂提供基础材料。

1 材料与方法

1.1 样品

2022 年 7 月从龙羊峡水库距岸边 1 m 处采集土壤样本 10 份。采集 1–10 cm 深度的土壤放入 500 mL 无菌塑料罐, 放入车载冰箱及时带回实验室进行真菌的分离。使用 GPS 仪记录采集地海拔和经纬度。龙羊峡水库属于高原大陆性气候, 岸边植被稀疏, 采集点至岸边 50 m 范围内都为退潮淤泥和沙石。样区年平均温度 4.5 °C, 海拔 2 580–2 771 m, 经纬度 100°41′–100°54′E、36°07′–36°12′N, 流域面积 13.14 万 km², 年平均降水量 240–440 mm, 蒸发量 1 327–1 379 mm, 属典型的高原干旱-半干旱大陆性气候^[13–14]。

1.2 培养基

察氏培养基(g/L): 蔗糖 20.0, K₂HPO₄ 1.0, MgSO₄ 0.5, FeSO₄ 0.01, NaNO₃ 3.0, KCl 0.5, 琼脂 18.0^[15]。马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基(g/L): 马铃薯 200.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂 18.0。麦芽汁培养基(g/L): 麦芽浸膏 50.0, 葡萄糖 5.0, 琼脂 18.0^[16]。湖水马铃薯葡萄糖琼脂培养基: 使用龙羊峡水库湖水替换 PDA 培养基中的蒸馏水。沙氏培养基(g/L): 葡萄糖 40.0, 琼脂 18.0, 蛋白胨 10.0^[17]。马丁氏培养基(g/L): KH₂PO₄ 1.0, 葡萄糖 10.0, MgSO₄·7H₂O 0.5, 蛋白胨 5.0, 1/3 000 孟加拉红 100.0 mL, 琼脂 18.0^[17]。土壤浸提液培养基(g/L): 使用土壤浸提液替换 PDA 培养基中的水。取 500 g 土壤加入能浸提出 1 000 mL 浸出液的水中, 121 °C 灭菌 15 min, 冷却后用滤纸过滤, 即

得土壤浸提液。以上 7 种培养基经 121 °C 灭菌 20 min 后保存备用。

1.3 主要试剂和仪器

PCR 引物、2×PCR Mix、DL2000 DNA Marker 和 DNA 凝胶回收试剂盒, 北京擎科新业生物技术公司。离心机和 PCR 仪, 赛默飞世尔科技公司; 电泳仪、电泳槽和凝胶成像仪, 北京六一生物科技有限公司; 水浴锅, 历辰科技有限公司。

1.4 龙羊峡水库土壤真菌的分离、纯化及保藏

土壤样本在室内晾干后, 将土壤大颗粒于灭菌研钵内研磨后使用 100 目筛子过滤得到土样。准确称取 1 g 土样放入盛有 100 mL 无菌水的三角瓶中, 25 °C、150 r/min 振荡 30 min。将 400 μL 土壤悬液均匀涂板至 9 cm、含 0.1% 氨苄青霉素的 7 种选择性培养基上, 每种培养基 3 个重复。霉菌培养箱 25 °C 恒温培养 5 d 后挑取单菌落至 PDA 培养基继续培养。若菌落不纯采用菌丝尖端纯化法纯化, 直至长出单菌落。采用滤纸片保存法-20 °C 保藏土壤真菌^[18]。

1.5 龙羊峡水库土壤真菌的鉴定

1.5.1 形态学鉴定

将纯化保藏的菌株活化至 PDA 培养基, 25 °C 培养 6 d。使用 0.5 cm 打孔器取得菌饼后接种至 PDA 培养基, 25 °C 培养 7 d, 观察菌落和分生孢子形态。每株菌 3 个重复, 并且培养基厚度一致。菌株形态学的鉴定参考文献[19]。

1.5.2 分子生物学鉴定

采用 CATB 法提取土壤真菌基因组 DNA^[20], DNA 用 25 μL TE/RNase 溶解沉淀, -20 °C 保存备用。rDNA-ITS 序列扩增引物为 ITS1 (5'-TCC GTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCT CCGCTTATTGATATGC-3')^[21]。PCR 反应体系和条件参照祁鹤兴等^[20]的方法。PCR 扩增产物送

至北京擎科新业生物技术公司进行双向测序。使用软件 MAFFT 对正反向序列进行拼接, 拼接序列用 MEGA v6.0.6 软件进行校正。在 GenBank 数据库进行序列相似性比对。使用 PAUP* v4.0 alpha 软件构建系统发育树, 采用启发式算法进行运算。以致病疫霉 (*Phytophthora infestans*) SKM (GenBank 登录号为 ON087543) 作为外群, 运算重复 1 000 次。104 株菌的 GenBank 登录号为 OR782705-OR782808。29 株参照菌株序列下载自 NCBI 数据库。

1.6 龙羊峡水库土壤生防真菌的筛选

采用皿内对峙培养法筛选对 8 种青海省主要农作物病原真菌具有抗菌活性的菌株。八种病原菌分别为分离自玉米的大斑突脐蠕孢 (*Exserohilum turcicum*)、交链格孢 (*Alternaria alternata*)、玉米麦根腐平脐蠕孢 (*Bipolaris sorokiniana*)、玉米生平脐蠕孢 (*B. zeicola*)、分离自青稞的禾内脐蠕孢 (*Drechslera graminea*)、分离自小麦的小麦麦根腐平脐蠕孢 (*B. sorokiniana*)、链格孢 (*Alternaria* sp.) 和禾谷镰孢 (*Fusarium graminearum*)。病原菌于 2020-2022 年由青海大学植物保护实验室分离、鉴定和保藏^[20,22-23]。土壤真菌和 8 种供试靶标病原菌在 PDA 培养基上培养 6 d, 用 0.5 cm 打孔器取得菌饼, 将靶标菌和土壤真菌分别反贴至 9 cm 培养皿两侧距边沿 1 cm 处, 每株菌 3 个重复。

为评价木霉菌的抑菌效果, 以分离自哈茨木霉菌剂 (山东绿陇生物科技有限公司) 的菌株作为阳性对照, 以接种靶标菌的培养皿为阴性对照, 待阴性对照长满培养皿时测量木霉菌和病原菌的生长半径, 计算木霉菌的抑菌率。

抑菌率(%)=

$$\frac{\text{对照组病原菌菌落半径}-\text{实验组病原菌菌落半径}}{\text{对照组病原菌菌落半径}} \times 100。$$

拮抗菌类的抑菌效果用抑菌带宽度来表

示,以接种靶标菌的培养皿为阴性对照,待阴性对照长满培养皿时测量抑菌带的宽度。

1.7 龙羊峡水库土壤生防真菌对作物安全性的测定

将筛选得到的生防真菌接种至 PDA 培养基,25℃培养 7 d。使用无菌接种环将菌丝打断,加入 0.025% Tween-20 溶液,制备 20 mL 菌丝悬浮液。在盛有灭菌营养土的塑料花盆(直径 12 cm)中种植玉米、小麦和青稞,生长周期 2 周。采用涂抹接种法测定土壤生防真菌对玉米、小麦和青稞的安全性。使用无菌棉签将菌丝悬浮液涂抹至玉米、小麦和青稞叶片上,接种量为 2 mL/盆。25℃黑暗环境下保湿培养 24 h,之后 25℃光照培养,7 d 后观察发病情况。相同条件下接种大斑突脐蠕孢至玉米、接种禾内脐蠕孢至

青稞,接种分离自小麦的麦根腐平脐蠕孢至小麦作为阳性对照,以接种无菌水作为阴性对照。每株菌重复接种 3 盆植株,接种试验重复 3 次。

1.8 数据处理方法

采用 Microsoft Excel 工作表进行数据统计,利用 IBM Statistics SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 龙羊峡水库土壤真菌多样性

从龙羊峡水库 10 份土壤样本中分离得到 104 株真菌。经形态学和分子生物学鉴定发现 104 株菌分别属于 23 个属(图 1),其中光黑壳属(*Preussia*)和木霉属(*Trichoderma*)菌株数目最

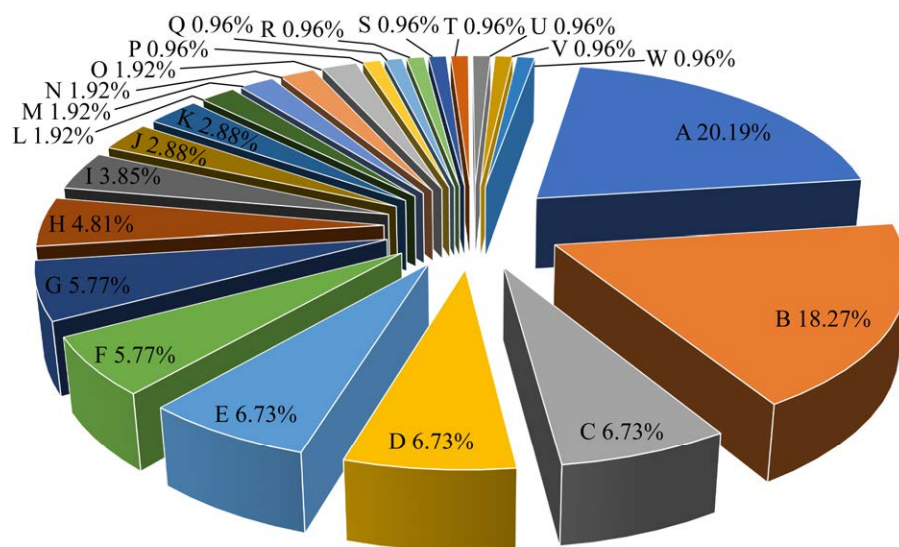


图 1 龙羊峡水库土壤真菌种类及其分离率 A: 光黑壳属. B: 木霉属. C: 链格孢属. D: 枝孢霉属. E: 平脐蠕孢属. F: 假裸囊菌属. G: 青霉属. H: 翅孢壳属. I: 篮状菌属. J: 拟棘壳孢属. K: 葡萄穗霉属. L: 镰刀菌属. M: 亚隔孢壳属. N: 附球菌属. O: 曲霉属. P: 枝葡萄孢属. Q: 韦斯特壳属. R: 小球腔菌属. S: 节菱孢属. T: 齿梗孢属. U: 孢子丝菌属. V: 四枝孢属. W: 隐囊菌属

Figure 1 Species and separation rate of the fungi isolated from soil in Longyangxia valley. A: *Preussia*. B: *Trichoderma*. C: *Alternaria*. D: *Cladosporium*. E: *Bipolaris*. F: *Pseudogymnoascus*. G: *Penicillium*. H: *Emericellopsis*. I: *Talaromyces*. J: *Pyrenochaetopsis*. K: *Stachybotrys*. L: *Fusarium*. M: *Didymella*. N: *Epicoccum*. O: *Aspergillus*. P: *Botryotrichum*. Q: *Westerdykella*. R: *Leptosphaeria*. S: *Arthrrium*. T: *Scolecobasidium*. U: *Sporothrix*. V: *Tetracladium*. W: *Aphanoascus*.

多, 分别为 21 株和 19 株, 分离频率为 20.19% 和 18.27%。其次为链格孢属(*Alternaria*)、枝孢霉属(*Cladosporium*)和平脐蠕孢属(*Bipolaris*), 均为 7 株, 分离频率为 6.73%。假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)和青霉属(*Penicillium*)都为 6 株, 分离频率为 5.77%。翅孢壳属(*Emericellopsis*)和篮状菌属(*Talaromyces*)分别为 5 株和 4 株, 拟棘壳孢属(*Pyrenochaetopsis*)和葡萄穗霉属(*Stachybotrys*)均为 3 株。镰孢属(*Fusarium*)、亚隔孢壳属(*Didymella*)、附球菌属(*Epicoccum*)和曲霉属(*Aspergillus*)均为 2 株, 分离频率为 1.92%。其余 8 属真菌枝葡萄孢属(*Botryotrichum*)、韦斯特壳属(*Westerdykella*)、小球腔菌属(*Leptosphaeria*)、节菱孢属(*Arthrinium*)、齿梗孢属(*Scolecobasidium*)、孢子丝菌属(*Sporothrix*)、四枝孢属(*Tetracladium*)和隐囊菌属(*Aphanoascus*)均为 1 株, 分离频率为

0.96%。104 株真菌 rDNA-ITS 序列相似性均 $\geq 99\%$ 。不同属菌株菌落形态和分生孢子形态差异较大(图 2)。链格孢属、平脐蠕孢属和四枝孢属真菌菌丝致密、菌落颜色较深、分生孢子多隔、色深。木霉属真菌菌丝稀疏, 呈深绿色, 产生圆形分生孢子。假裸囊壳属菌落致密, 白色, 产生卵形至球形无隔膜分生孢子。曲霉属真菌菌落呈黄绿色, 形成典型的分生孢子头, 并产生球形分生孢子。翅孢壳属和隐囊菌属真菌菌丝稀薄、白色。青霉属和篮状菌属菌落呈青色至青褐色、干燥、粉末状, 具有类似结构的分生孢子梗和圆形、淡青色的分生孢子。节菱孢属菌丝略呈红色、绒毛状。镰孢属真菌具镰刀形大型分生孢子。枝孢霉属真菌具单胞和 1-3 个隔膜、浅黄褐色分生孢子。隐囊菌属、葡萄穗霉属、节菱孢属和枝葡萄孢属真菌具圆形或卵圆

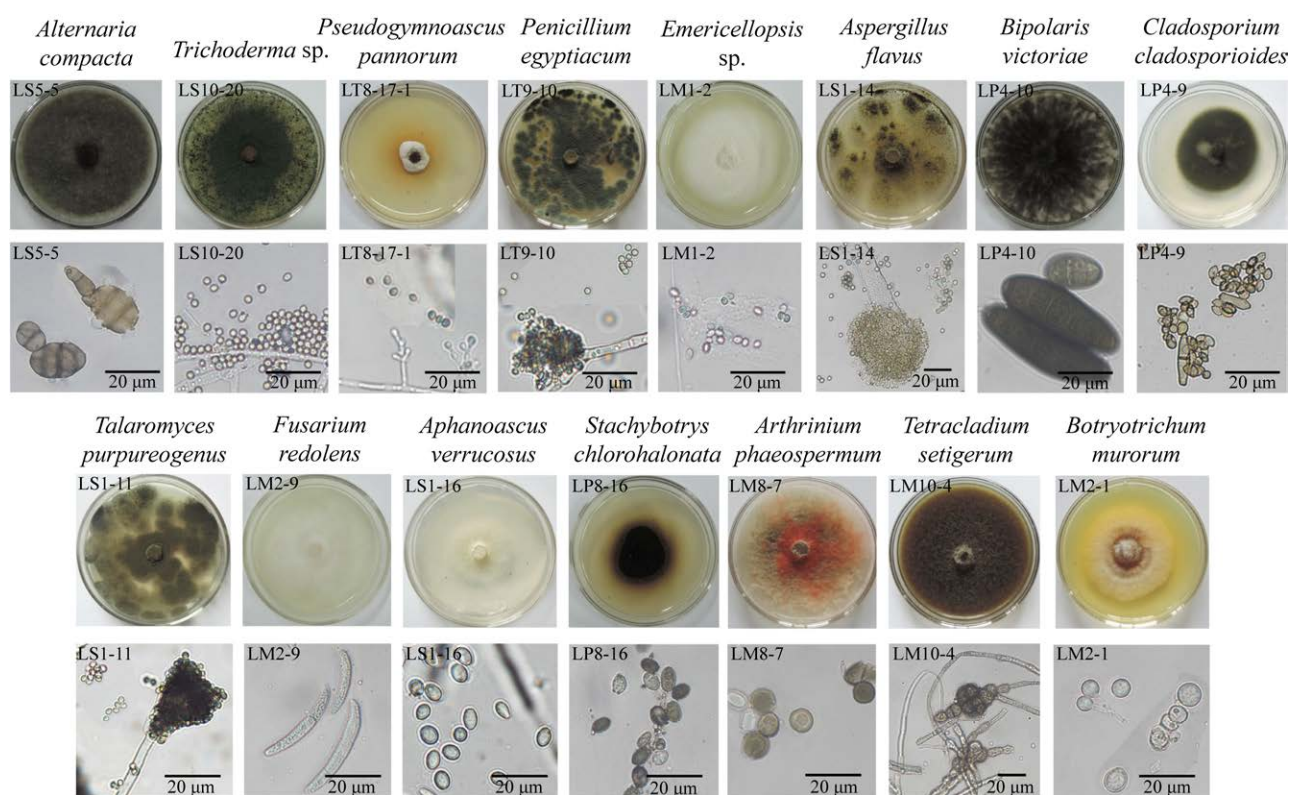


图 2 龙羊峡水库土壤真菌菌落和显微形态特征

Figure 2 Colony and micromorphology of fungi isolated from soil in Longyangxia valley.

形分生孢子。其余 8 属真菌光黑壳属、拟棘壳孢属、亚隔孢壳属、附球菌属(*Epicoccum*)、韦斯特壳属、小球腔菌属、齿梗孢属和孢子丝菌属未观察到分生孢子。

2.2 龙羊峡水库土壤真菌系统发育分析

根据龙羊峡水库土壤真菌形态学特征和 rDNA-ITS 序列分析结果,合并形态和序列相同的菌株,选取 30 株代表菌株,以已在 NCBI 公布 rDNA-ITS 序列的 29 株菌作为参照菌株,构建系统发育树,确定土壤真菌的分类地位(图 3)。30 株代表菌株和 29 株参照菌株以大于 79% 的支持率被分为 23 个小分支。菌株 LM1-2 和 LP4-11 分别与 *Emericellopsis* sp. 和 *E. glabra* 为同一分支,亲缘关系最近。菌株 LS5-5 和 LS4-5 分别与致密链格孢(*A. compacta*)和厚垣链格孢(*A. chlamydospora*)为同一个分支。菌株 LT8-17 与 *P. pannorum* 在同一系统发育分支上。菌株 LS6-3、LT7-3 与 *P. flanaganii*, 菌株 LM2-4 与 *P. decipiens*, 菌株 LT9-7 与黑附球菌(*E. nigrum*), 以及菌株 LT1-18 与枝状枝孢霉(*C. cladosporioides*)聚为同一大分支。菌株 LS1-11 和 LS2-13 分别与 *T. purpureogenus* 和 *T. veerkampii* 聚在同一发育分支上。菌株 LP3-12 与埃及青霉(*P. egyptiacum*)亲缘关系最近。菌株 LT2-15、LS10-14 和 LS10-21 都为木霉属真菌。菌株 LT10-13 与腐皮镰孢(*F. solani*)聚为一个分支,菌株 LM2-9 与芬芳镰孢(*F. redolens*)聚为一支。菌株 LP8-16、LS9-2、LT6-21、LT7-6、LM2-1、LM4-1、LS2-10、LM8-7、LM2-6-1、LM2-7、LM10-4 和 LS1-16 分别与 *S. chlorohalonata*、维多利亚平脐蠕孢(*B. victoriae*)、*D. glomerata*、黄曲霉(*A. flavus*)、毛枝葡萄孢(*B. murorum*)、*W. nigra*、*L. sclerotoides*、暗孢节菱孢菌(*A. phaeospermum*)、*Scolecobasidium* sp.、*S. stenoceras*、刚毛四枝孢(*T. setigerum*)和 *A. verrucosus* 聚为同一分支,亲

缘关系最近。

2.3 龙羊峡水库土壤生防真菌的筛选结果

从 104 株土壤真菌中筛选对来源于青海省主要农作物小麦、青稞和玉米的 8 种病原真菌具有抑菌作用的菌株。发现 19 株木霉属真菌对 8 种病原真菌具有较强的抑菌活性,推测通过竞争和溶菌作用发挥抑菌效果(表 1 和图 4)。阳性对照菌哈茨木霉对 8 种病原菌的抑菌率在 51.8%–72.5%之间,19 株木霉属真菌对 8 种病原菌的抑菌率在 51.6%–73.5%之间。19 株木霉属真菌对青稞病原菌禾内脐蠕孢的抑制效果最好,有 17 株菌的抑菌率都大于 70%;对玉米麦根腐平脐蠕孢、玉米交链格孢、禾谷镰孢和小麦麦根腐平脐蠕孢的抑制效果较差,分别仅有 3 株菌的抑菌率大于 70%。菌株 LT2-15 和 LS10-21 的抑菌作用最为显著,抑菌率分别在 61.3%–72.3% 和 65.3%–73.5%之间。菌株 LT10-25 对 8 种病原菌的抑制率在 54.2%–69.1%之间,抑菌效果较差。

除木霉属真菌外,推测 9 属 24 株土壤真菌对 8 种病原真菌通过抗生作用发挥抑菌效果(表 2 和图 5)。24 株菌中 10 株属于光黑壳属,4 株为假裸囊菌属,3 株为枝孢霉属,2 株为平脐蠕孢属,其余 5 株分别属于节菱孢属、小球腔菌属、韦斯特壳属、青霉属和翅孢壳属真菌。假裸囊菌属菌株 LM1-5 和翅孢壳属菌株 LP4-11-1 的抑制作用最为明显,对 8 种病原真菌的抑菌带 ≥ 10 mm。拮抗菌株对玉米麦根腐平脐蠕孢的抑制作用最明显,有 23 株菌对该病原菌具有拮抗活性,并且菌株 LS1-10 对该病原菌的抑菌带宽度最大,达 31.0 mm;其次对玉米交链格孢、玉米生平脐蠕孢、禾内脐蠕孢和小麦麦根腐平脐蠕孢的抑制作用也较好,有 20 株菌对这 4 种病原真菌具有拮抗活性。对禾谷镰孢的抑菌效果最差,只有 9 株菌具有拮抗活性。其余 61 株土壤真菌对 8 种病原真菌无抑菌作用。

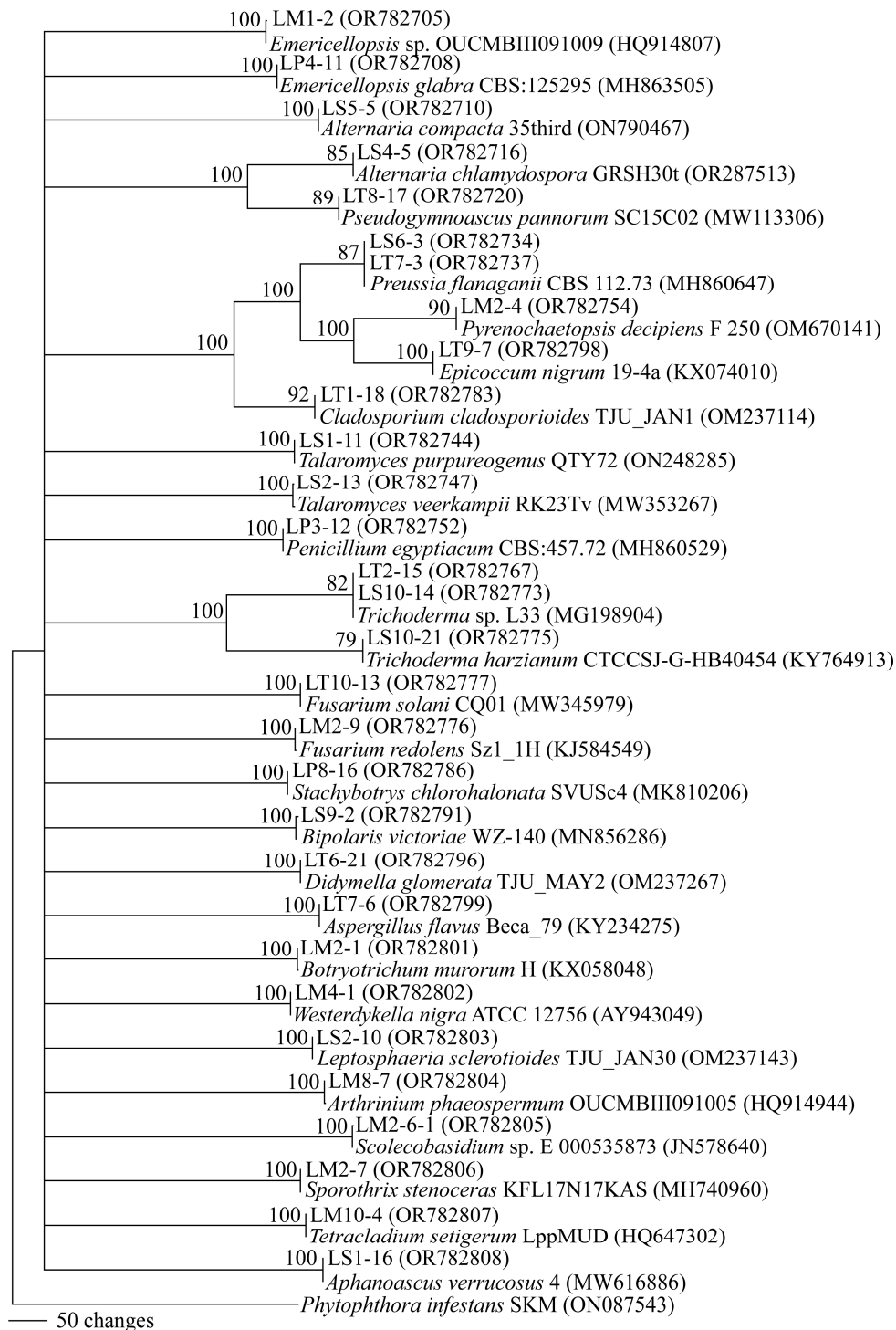


图 3 龙羊峡水库土壤真菌代表菌株基于 rDNA-ITS 序列构建的系统发育树 括号内序号为 GenBank 登录号；节点处的数值是支持率；比例尺表示替换数

Figure 3 Phylogenetic tree constructed based on rDNA-ITS sequence of representative fungal strains in soil of Longyangxia valley. The serial number in parentheses is the GenBank accession number; The value at the node is the support rate; Scale represents the number of replacements.

表 1 龙羊峡水库土壤木霉属真菌对 8 种病原真菌的抑制率

Table 1 The inhibitory rate of *Trichoderma* isolated from soil of Longyangxia valley against eight pathogenic fungi

木霉属真菌	病原菌 Pathogens							
<i>Trichoderma</i> sp.	大斑突脐 蠕孢 <i>Exserohilum turcicum</i>	玉米麦根腐 平脐蠕孢 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	玉米交链 格孢 <i>Alternaria alternata</i>	玉米生平 脐蠕孢 <i>Bipolaris zeicola</i>	禾内脐蠕孢 <i>Drechslera graminea</i>	禾谷镰孢 <i>Fusarium graminearum</i>	小麦链格孢 <i>Alternaria</i> sp.	小麦麦根腐平 脐蠕孢 <i>Bipolaris sorokiniana</i>
哈茨木霉 <i>Trichoderma harzianum</i>	68.5cde	60.0c	62.2ef	71.3a	72.5ab	51.8g	62.4c	66.3b
LS10-17	59.1g	52.0fg	57.2hi	58.7c	73.5a	57.6f	57.3e	57.4e
LS10-20	65.4ef	72.13a	67.1bc	72.9a	72.3ab	52.9g	60.2d	52.9f
LT10-26	53.2hi	51.7g	71.8a	63.2b	72.1ab	71.4b	71.3a	62.7c
LT10-37	72.0ab	55.6d	65.1de	65.2b	71.5ab	66.4cde	71.2a	67.2b
LS10-15	54.6i	53.2efg	68.2e	70.8a	70.6b	64.4c	65.5c	59.4de
LS10-19	56.2gh	54.3de	53.2j	61.3c	73.2ab	72.7a	72.5a	65.0b
LM10-8	72.4a	53.4d	58.3ghi	58.4c	72.5ab	72.6a	72.1a	59.2de
LM10-9	56.7gh	52.6def	57.2hi	57.3d	70.5ab	57.6f	55.3f	60.1cd
LM10-11	57.1gh	53.7def	65.2cde	64.5b	70.3ab	67.3cd	68.2b	72.3a
LT10-29	65.1f	51.9fg	58.8gh	57.7cd	72.4ab	58.6f	57.9e	57.8de
LT2-15	71.5bcd	61.3b	72.3a	72.1a	62.4d	64.3c	66.1bc	66.3b
LM10-10	60.4g	51.6fg	56.9fg	59.2c	73.2ab	65.5de	72.6a	65.2b
LT10-28	67.1def	54.8de	67.2bcd	70.9a	72.3ab	67.3cde	66.1bc	66.3b
LT10-25	57.4gh	55.3d	54.2j	69.1a	67.2c	66.7cd	58.4e	67.8b
LP10-23	59.7g	52.3fg	60.5fg	69.2a	73.5a	68.3c	67.4b	66.5b
LS10-16	71.1abc	59.6bc	66.8b	65.6b	73.2ab	58.2f	67.8b	68.2b
LS10-14	70.1bcde	60.3bc	57.2ij	69.8a	73.1ab	55.9f	70.3a	58.1de
LS10-12	66.5def	57.4c	65.3cde	67.8a	73.4a	65.7cd	71.5a	58.2de
LS10-21	66.0ef	72.3a	65.3cde	71.4a	73.5a	65.6cd	68.2b	70.4b

不同小写字母代表不同处理之间差异显著($P<0.05$)Different lowercase letters indicated significant differences between treatments ($P<0.05$).

2.4 龙羊峡水库土壤生防真菌对作物安全性的测定结果

为测定筛选得到的生防真菌对作物是否致病,将 10 属 43 株生防菌株接种至小麦、玉米和青稞(图 6)。发现平脐蠕孢属菌株 LM7-1 和 LY4-17 对小麦、玉米和青稞致病,接种 5 d 后叶片有病斑出现,并逐渐出现萎蔫等症状。小球腔菌属菌株 LS2-10 对小麦和青稞致病,表现为叶斑和黄萎症状,但该菌株对玉米不致病。

其余 8 属 40 株菌对小麦、玉米和青稞均不致病,可以作为后续生防制剂开发候选菌株。

3 讨论与结论

湿地土壤作为湿地生态系统重要的组成部分,在物质循环方面发挥关键作用,并且湿地土壤微生物含量比水体丰富^[24-25],因此,本研究以湿地土壤真菌为研究对象,对其多样性及抑菌效果进行分析。为响应“双减增效”,

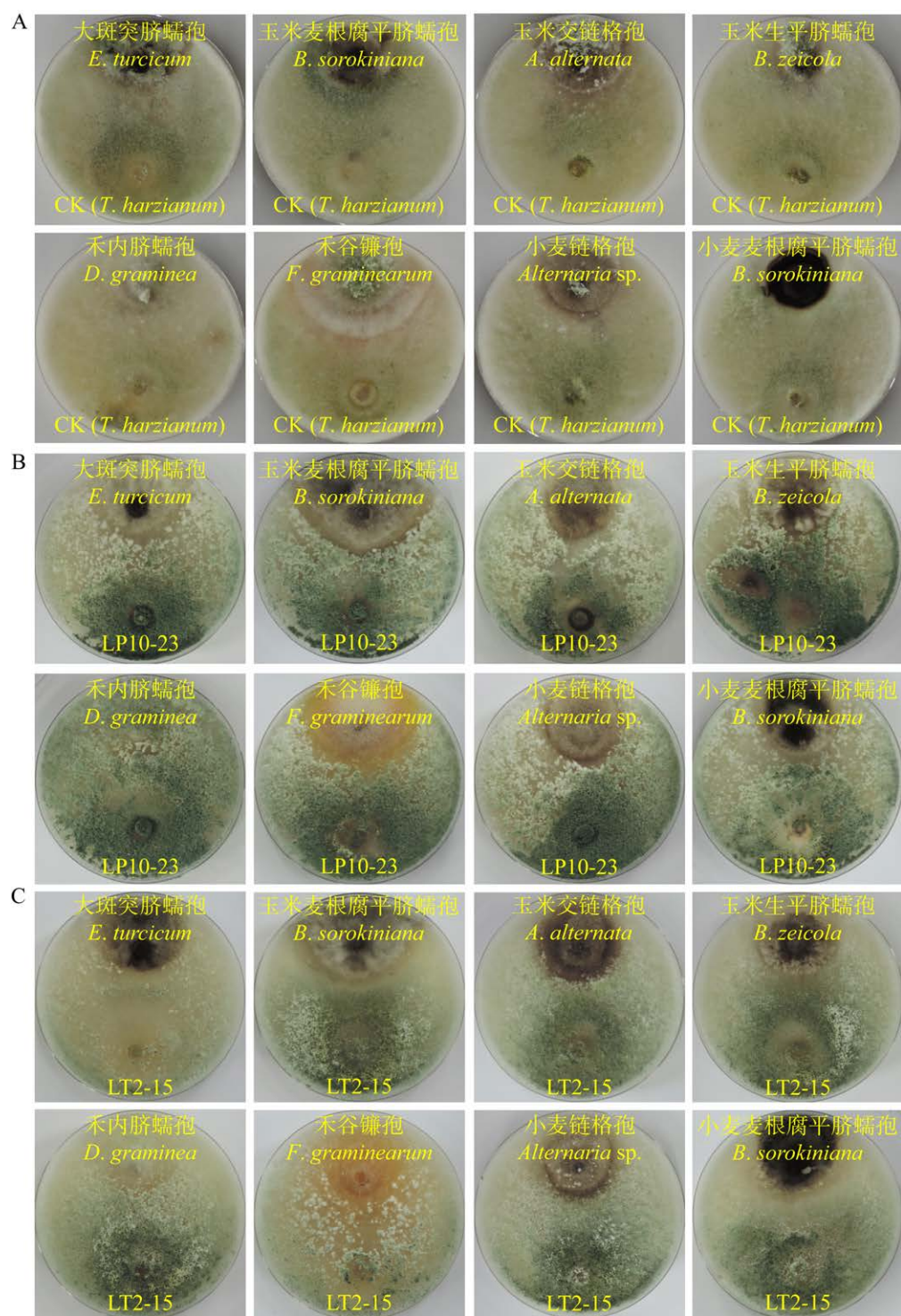


图 4 龙羊峡水库土壤木霉属真菌对 8 种病原真菌的抑制作用 A: 哈茨木霉阳性对照. B: 木霉属菌株 LP10-23 对病原菌的抑制作用. C: 菌株 LT2-15 对病原菌的抑制作用

Figure 4 Inhibiting effect of *Trichoderma* sp. isolated from soil of Longyangxia valley against eight pathogenic fungi. A: Positive control of *T. harzianum*. B: The inhibitory effect of *Trichoderma* strain LP10-23 on pathogenic bacteria. C: The inhibitory effect of strain LT2-15 on pathogenic bacteria.

表 2 龙羊峡水库土壤拮抗菌株抑菌带(mm)测定

Table 2 Determination of inhibitory zone (mm) of antagonistic soil fungi from Longyangxia valley										
属	名称	大斑突脐蠕孢	玉米麦根腐平脐	玉米交链	玉米生平脐	禾内脐蠕孢	禾谷镰孢	小麦链格孢	小麦麦根腐平	
Genus	Names	<i>Exserohilum</i>	<i>turcicum</i>	格孢	<i>Alternaria</i>	蠕孢	<i>Bipolaris</i>	<i>graminea</i>	<i>Fusarium</i>	<i>graminearum</i>
光黑壳属										
<i>Preussia</i>	LT8-19	0.0	7.0	0.0	10.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	LM1-6	0.0	28.5	6.0	20.0	8.5	0.0	0.0	14.5	14.5
	LS1-10	0.0	31.0	4.5	13.5	4.5	0.0	0.0	4.5	4.5
	LS4-6	2.0	27.5	19.0	13.0	13.0	0.0	9.0	14.5	14.5
	LS5-3	0.0	26.0	20.0	27.5	4.5	0.0	10.0	5.0	5.0
	LT6-7	0.0	17.5	12.5	27.5	5.0	0.0	12.0	0.0	0.0
	LM5-2	0.0	15.0	20.0	15.0	15.0	0.0	3.5	15.5	15.5
	LT4-13	2.5	10.5	15.0	25.0	9.0	11.0	13.0	8.0	8.0
	LM4-2	15.0	1.5	2.0	16.0	13.0	5.5	9.0	4.5	4.5
	LT8-20	11.0	10.5	10.0	14.0	9.5	10.5	7.5	28.0	28.0
	LT8-17	2.5	9.6	20.5	27.0	10.5	7.5	10.0	10.5	10.5
假裸囊菌属										
<i>Pseudogymnoascus</i>	LM2-2	0.0	20.0	25.5	14.5	20.0	0.0	9.0	21.5	21.5
	LM8-2	2.0	20.0	13.0	27.0	0.0	25.5	23.5	10.5	10.5
	LM1-5	12.0	10.0	11.0	15.0	10.5	11.0	17.5	25.0	25.0
	LS6-4	0.0	28.0	5.0	15.0	10.0	0.0	5.0	8.5	8.5
枝孢霉属										
<i>Cladosporium</i>	LT1-18	31.0	23.0	0.0	18.0	20.5	0.0	0.0	27.0	27.0
	LS9-3	22.0	23.0	15.5	0.0	25.0	0.0	0.0	4.0	4.0
	LM7-1	4.0	21.0	8.0	0.0	10.5	0.0	9.0	19.5	19.5
平脐蠕孢属										
<i>Bipolaris</i>	LY4-17	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0	0.0	0.0
节菱孢属										
<i>Arthrinium</i>	LM8-7	0.0	12.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
小球腔菌属										
<i>Leptosphaeria</i>	LS2-10	0.0	20.0	9.5	10.0	8.5	0.0	0.0	12.5	12.5
韦斯特壳属										
<i>Westerdykella</i>	LM4-1	2.0	25.0	14.0	12.0	18.0	28.0	6.0	19.5	19.5
青霉菌属										
<i>Penicillium</i>	LS7-5	8.0	14.0	7.0	12.0	19.0	5.5	6.5	4.0	4.0
翅孢壳属										
<i>Emericellopsis</i>	LP4-11-1	18.0	18.5	16.0	23.0	20.0	17.0	22.0	26.5	26.5

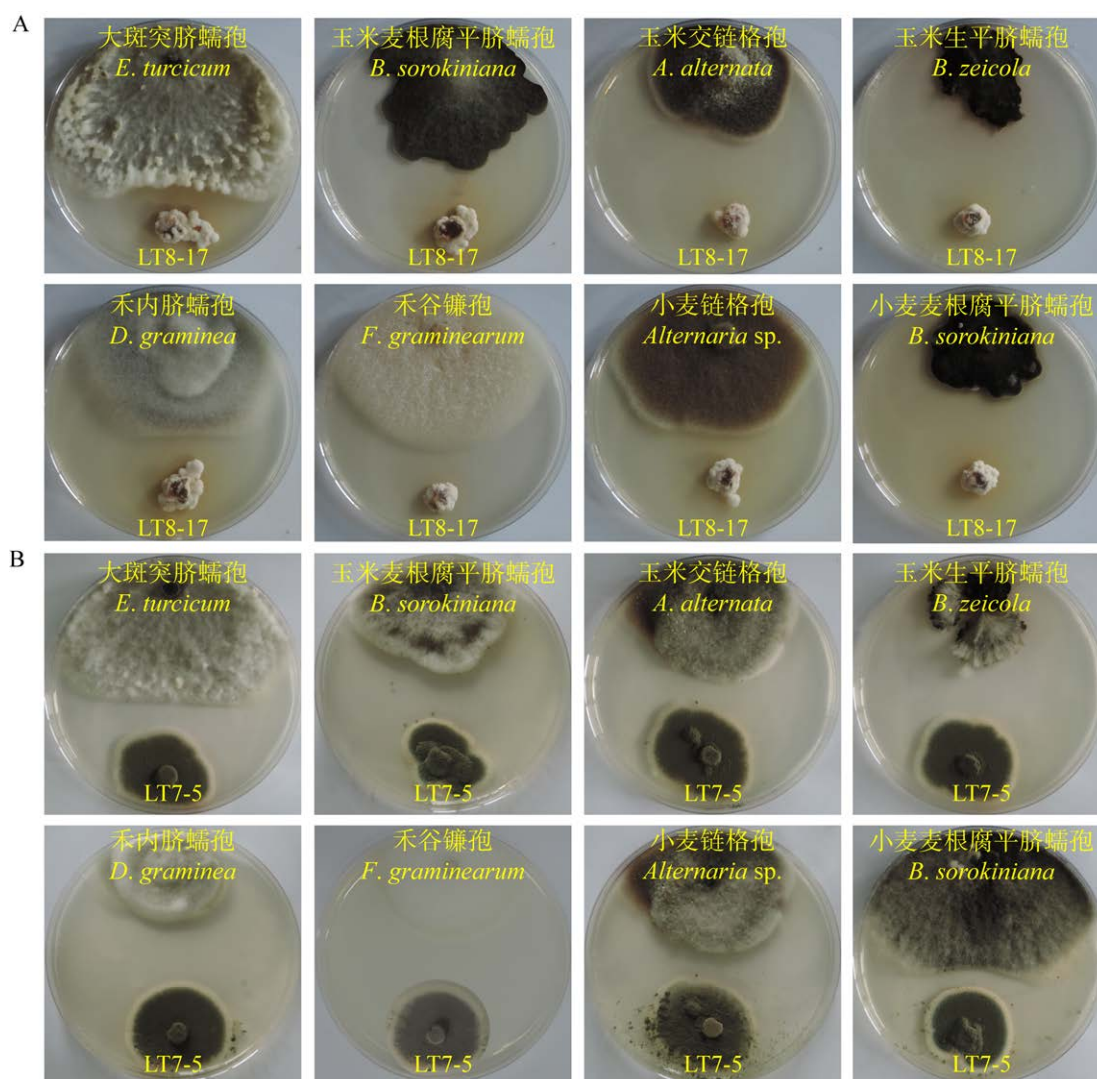


图 5 龙羊峡水库土壤拮抗真菌的抑菌效果 A 和 B 分别为假裸囊菌属菌株 LT8-17 和青霉属菌株 LT7-5 对病原菌的拮抗作用

Figure 5 Inhibitory effect of soil fungi from Longyangxia valley. A and B were inhibitory effect of *Pseudogymnoascus* isolate LT8-17 and *Penicillium* isolate LT7-5 on pathogens, respectively.

微生物制剂被越来越多地用于农作物病害防控，是减少和替代化学农药的重要资源，新型高效微生物制剂的应用将成为农作物绿色生产的重要手段。微生物制剂主要是有益微生物，有益微生物适用范围较狭窄，地理适应性也较低，因此筛选适用于青海本地的有益微生物对于本地农作物病害防治很重要。

研究者们对芦苇根围土壤^[26]、滨海湿地土

壤^[27]、红树林湿地土壤^[28]和南极半岛不同湖泊湿地土壤^[29]真菌多样性进行研究，发现不同湿地土壤真菌种类丰富。从龙羊峡水库分离得到的 104 株真菌分别属于 23 属真菌，表明龙羊峡水库土壤真菌种类也很丰富。分离个数最多的光黑壳属和木霉属真菌广泛分布于土壤和植物体内，并能产生多种抗植物病原菌的活性代谢产物^[30]。假裸囊菌属和四枝孢属属于嗜低温真

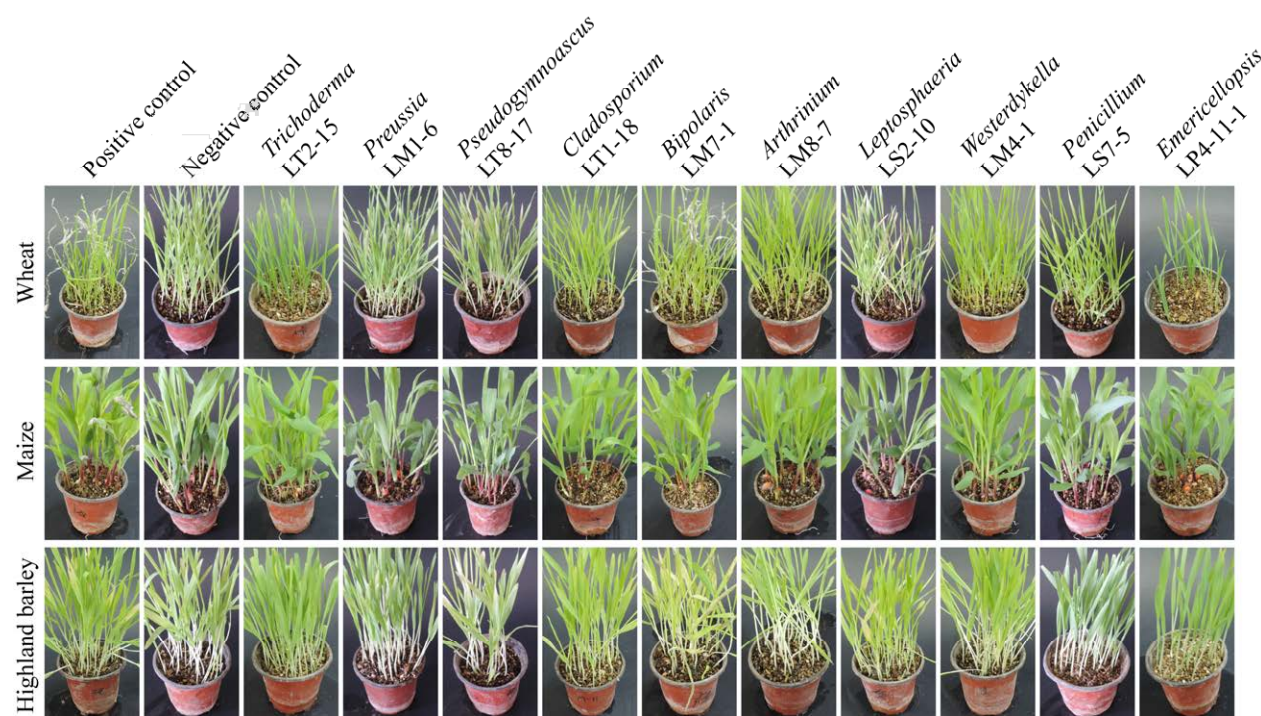


图 6 生防菌株对 3 种农作物安全性测定

Figure 6 Safety determination of biocontrol isolates on three crops.

菌, 本研究分别筛选得到 6 株假裸囊菌属和 1 株四枝孢属真菌。嗜低温真菌主要分布于高山、南北极及深海区域, 具有提高作物产量和土壤肥力的能力^[31-32]。因此后续研究将继续关注嗜低温真菌多样性及其功能。

有益真菌的抑菌作用机制主要有抗生、竞争、重寄生和溶菌等, 生防真菌可产生蛋白酶、几丁质酶、纤维素酶和葡聚糖酶等多种胞外水解酶类^[33]。这些酶类对植物病原真菌有明显的拮抗效果, 可引起病原菌丝的崩解, 最后导致病原菌腐烂、解体、发生自溶和外溶^[34]。另外, 生防真菌还能产生一些抗生素类, 这些物质在防治植物病害过程中也具有一定的作用^[35]。目前研究最多的土壤生防真菌是木霉菌, 木霉菌通过重寄生、营养竞争和挥发物抗生作用等对植物病原菌发挥生防作用^[36]。哈茨木霉对水稻、玉米和棉花等的多种植物病原真菌都具有明显

的拮抗作用^[37]。本研究中, 分离得到的 19 株木霉属真菌对青海省主要农作物 8 种病原真菌大斑突脐蠕孢、玉米交链格孢、玉米麦根腐平脐蠕孢、玉米生平脐蠕孢、禾内脐蠕孢、小麦麦根腐平脐蠕孢、小麦链格孢和禾谷镰孢具有很好的抑菌作用。此外, 发现光黑壳属、假裸囊菌属、枝孢霉属、小球腔菌属、韦斯特壳属、青霉属和翅孢壳属真菌也具有较好的生防作用, 与先前的研究报道类似, 这些属真菌的菌体或次生代谢产物具有较好的拮抗作用^[38-41]。本研究对筛选得到的生防菌株进行作物安全性测定, 结果表明 2 株平脐蠕孢属菌株可侵染小麦、玉米和青稞, 1 株小球腔菌属菌株可侵染小麦和青稞, 造成叶部病害; 其余 40 株生防菌株对这 3 种作物无致病性, 可以作为后续开发生防制剂的基础材料。

综上所述, 本研究初步厘清龙羊峡水库土

壤真菌种类, 筛选得到多株生防菌珠, 生防菌株筛选率为 30.7%, 并明确生防菌珠对作物的安全性。研究结果丰富了高寒湖泊湿地土壤真菌多样性及微生物制剂开发菌种。后续将继续研究生防菌株的作用机理, 并扩大靶标谱, 研制微生物制剂。

REFERENCES

- [1] 宋伟凤, 李明聪, 高峰. 环境中微生物原位检测方法研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(10): 26-32.
SONG WF, LI MC, GAO Z. Research progress on *in situ* detection methods of microorganisms[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(10): 26-32 (in Chinese).
- [2] KUMAR AHIRWAR N, SINGH R, CHAURASIA S, CHANDRA R, PRAJAPATI S, RAMANA S. Effective role of beneficial microbes in achieving the sustainable agriculture and eco-friendly environment development goals: a review[J]. Frontiers in Environmental Microbiology, 2019, 5(6): 111.
- [3] SAEED Q, WANG XK, HAIDER FU, KUČERIK J, MUMTAZ MZ, HOLATKO J, NASEEM M, KINTL A, EJAZ M, NAVEED M, BRTNICKY M, MUSTAFA A. Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and bioremediation of contaminated sites: a comprehensive review of effects and mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10529.
- [4] 侯俊青, 赵吉, 李佳, 赵子闻, 赵曼平, 武琳慧. 自然生境中厌氧氨氧化功能微生物生态学研究进展[J]. 环境科学研究, 2019, 32(12): 1984-1992.
HOU JQ, ZHAO J, LI J, ZHAO ZW, ZHAO MP, WU LH. Current insight on microbial ecology of anaerobic ammonium oxidation in natural environment[J]. Research of Environmental Sciences, 2019, 32(12): 1984-1992 (in Chinese).
- [5] 刘兴, 王世杰, 刘秀明, 黄天志, 李勇. 贵州喀斯特地区土壤细菌群落结构特征及变化[J]. 地球与环境, 2015, 43(5): 490-497.
LIU X, WANG SJ, LIU XM, HUANG TZ, LI Y. Compositional characteristics and variations of soil microbial community in Karst area of Puding County, Guizhou Province, China[J]. Earth and Environment, 2015, 43(5): 490-497 (in Chinese).
- [6] ALFIKY A, WEISSKOPF L. Deciphering *Trichoderma* plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(1): 61.
- [7] ELKHATEEB WA. Highlights on *Chaetomium* morphology, secondary metabolites and biological activates[J]. Pharmaceutics and Pharmacology Research, 2021, 4(1): 1-5.
- [8] ZHAO HZ, ZHOU T, XIE JT, CHENG JS, CHEN T, JIANG DH, FU YP. Mycoparasitism illuminated by genome and transcriptome sequencing of *Coniothyrium minitans*, an important biocontrol fungus of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Microbial Genomics, 2020, 6(3): e000345.
- [9] 冯镭童, 谢伟, 罗依帆, 王庆, 岳海梅. 两株毛壳菌对马铃薯干腐病原菌的抑制作用[J]. 中国植保导刊, 2021, 41(12): 5-8, 50.
FENG LT, XIE W, LUO YF, WANG Q, YUE HM. Inhibitory effects of two *Chaetomium* strains on the pathogen of potato dry rot[J]. China Plant Protection, 2021, 41(12): 5-8, 50 (in Chinese).
- [10] ZHOU C, GUO RT, JI SD, FAN HJ, WANG JJ, WANG YC, LIU ZH. Isolation of *Trichoderma* from forestry model base and the antifungal properties of isolate TpsT17 toward *Fusarium oxysporum*[J]. Microbiological Research, 2020, 231: 126371.
- [11] 郑春雨, 王光华. 湿地生态系统中主要功能微生物研究进展[J]. 湿地科学, 2012, 10(2): 243-249.
ZHENG CY, WANG GH. Research progress on main functional microorganisms in wetland ecosystems[J]. Wetland Science, 2012, 10(2): 243-249 (in Chinese).
- [12] 卓玉, 李钧乐, 李英钦, 李柯懋, 简生龙, 隋晓云, 贾银涛, 陈毅峰. 龙羊峡水库鱼类多维多样性空间分布格局[J]. 水生生物学报, 2024, 48(3): 504-512.
ZHUO Y, LI JL, LI YQ, LI KM, JIAN SL, SUI XY, JIA YT, CHEN YF. Spatial distribution pattern of fish multifaceted biodiversity in the Longyangxia Reservoir[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(3): 504-512 (in Chinese).
- [13] ZHAO SF, ZENG RQ, ZHANG HX, MENG XM, ZHANG ZL, MENG XP, WANG H, ZHANG Y, LIU J. Impact of water level fluctuations on landslide deformation at Longyangxia Reservoir, Qinghai Province, China[J]. Remote Sensing, 2022, 14(1): 212.
- [14] 祁善胜. 龙羊峡水库建库前后水文设计成果对比[J]. 红水河, 2022, 41(1): 44-49.
QI SS. Comparison of hydrological design results before and after Longyangxia Reservoir construction[J]. Hongshui River, 2022, 41(1): 44-49 (in Chinese).

- [15] 努尔斯曼姑丽·艾海提, 阿依加玛丽·阿卜杜扎伊尔, 孙永民, 韩文杰, 郭庆元, 王丽丽. 新疆万寿菊枯萎病病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 园艺学报, 2023, 50(12): 2723-2734.
Nursimangul·Aihaiti, Aigamarie·Abdulzair, SUN YM, HAN WJ, GUO QY, WANG LL. Identification and biological characteristics of the pathogens causing marigold wilt in Xinjiang[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(12): 2723-2734 (in Chinese).
- [16] 姜喜铃, 丁万隆, 邢晓科. 不同培养基对兰科药用植物手参原球茎共生真菌的分离效果[J]. 菌物学报, 2022, 41(6): 952-961.
JIANG XL, DING WL, XING XK. Effects of different media on the isolation of symbiotic fungi from protocorm of medicinal orchid *Gymnadenia conopsea*[J]. Mycosystema, 2022, 41(6): 952-961 (in Chinese).
- [17] 黄依蓝. 宽阔水自然保护区土壤真菌多样性调查[D]. 贵阳: 贵州大学硕士学位论文, 2016.
HUANG YL. Investigation on diversity of soil fungi in Kuankuoshui Nature Reserve[D]. Guiyang: Master's Thesis of Guizhou University, 2016 (in Chinese).
- [18] 魏琳, 段晓明, 芦光新, 常建萍, 周孝娟, 马海霞, 祁鹤兴. 藏红花球茎腐烂病原菌鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 植物保护, 2021, 47(5): 139-145.
WEI L, DUAN XM, LU GX, CHANG JP, ZHOU XJ, MA HX, QI HX. Identification of saffron corm rot disease pathogen and laboratory screening of chemical agents[J]. Plant Protection, 2021, 47(5): 139-145 (in Chinese).
- [19] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
DAI FL. China Fungi Concours[M]. Beijing: Science Press, 1979 (in Chinese).
- [20] 祁鹤兴, 芦光新, 李宗仁, 徐成体, 德科加, 周孝娟, 王英成, 马桂花. 青海省青贮玉米链格孢叶枯病病原菌鉴定及其致病力分析[J]. 草业学报, 2021, 30(6): 94-105.
QI HX, LU GX, LI ZR, XU CT, DE KJ, ZHOU XJ, WANG YC, MA GH. Identification and pathogenicity of *Alternaria* leaf blight strains in silage maize in Qinghai Province[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(6): 94-105 (in Chinese).
- [21] 马桂花, 段晓明, 徐文华, 周渊涛, 马海霞, 马伟丽, 祁鹤兴. 蒙古黄芪根腐病原菌鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 草地学报, 2022, 30(5): 1122-1130.
MA GH, DUAN XM, XU WH, ZHOU YT, MA HX, MA WL, QI HX. Identification and laboratory screening of chemical agents of root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* var. *mongolicus*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(5): 1122-1130 (in Chinese).
- [22] 祁鹤兴, 李红芳, 邹海涛, 唐海鹏, 李金福, 李博, 侯成玲, 芦光新. 青贮玉米来源镰刀菌的分离鉴定及其致病性分析[J/OL]. 分子植物育种, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231016.1120.012>.
QI HX, LI HF, ZOU HT, TANG HP, LI JF, LI B, HOU CL, LU GX. Identification and pathogenicity analysis of *Fusarium* pathogens from silage maize[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2023. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20231016.1120.012> (in Chinese).
- [23] 祁鹤兴, 王海春, 芦光新, 李宗仁, 田丰, 贺晨邦, 徐成体, 邹海涛, 雷生妍, 李红芳, 唐海鹏. 青贮玉米蠕形菌的分离鉴定及其致病性分析[J]. 草地学报, 2023, 31(1): 40-49.
QI HX, WANG HC, LU GX, LI ZR, TIAN F, HE CB, XU CT, ZOU HT, LEI SY, LI HF, TANG HP. Isolation, identification and pathogenicity analysis of helminthosporioid fungi from silage maize[J]. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(1): 40-49 (in Chinese).
- [24] ZINGER L, AMARAL-ZETTLER LA, FUHRMAN JA, HORNER-DEVINE MC, HUSE SM, MARK WELCH DB, MARTINY JBH, SOGIN M, BOETIUS A, RAMESTE A. Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24570.
- [25] HUANG W, LU Y, LI JH, ZHENG Z, ZHANG JB, JIANG X. Effect of ionic strength on phosphorus sorption in different sediments from a eutrophic plateau lake[J]. RSC Advances, 2015, 5(97): 79607-79615.
- [26] 姜华, 李燕超, 姜一. 芦苇根际土壤可培养真菌多样性的季节变化[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 2017, 40(1): 89-94.
JIANG H, LI YC, JIANG Y. Seasonal variation of soil fungal diversity in the rhizosphere of *Phragmites australis*[J]. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science Edition), 2017, 40(1): 89-94 (in Chinese).
- [27] 王欢欢, 王银华, 庞金玲, 张慧敏, 王佳宁, 佟雨徽, 郭宏宇. 互花米草入侵背景下增氮对滨海湿地土壤可培养细菌和真菌群落组成及多样性的影响[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2022, 55(5): 96-105.
WANG HH, WANG YH, PANG JL, ZHANG HM, WANG JN, TONG YH, GUO HY. Effects of nitrogen input increase on composition and diversity of culturable soil bacterial and fungal communities under *Spartina alterniflora* invasion in coastal wetland[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2022, 55(5): 96-105 (in Chinese).

- [28] 徐婧, 彭红艳, 高剑, 于莉. 我国红树林湿地真菌的三个新记录种[J]. 菌物研究, 2016, 14(1): 25-27, 32.
XU J, PENG HY, GAO J, YU L. Three new records of mangrove fungi in China[J]. Journal of Fungal Research, 2016, 14(1): 25-27, 32 (in Chinese).
- [29] OGAKI MB, TEIXEIRA DR, VIEIRA R, LÍRIO JM, FELIZARDO JPS, ABUCHACRA RC, CARDOSO RP, ZANI CL, ALVES TMA, JUNIOR PAS, MURTA SMF, BARBOSA EC, OLIVEIRA JG, CERAVOLO IP, PEREIRA PO, ROSA CA, ROSA LH. Diversity and bioprospecting of cultivable fungal assemblages in sediments of lakes in the Antarctic Peninsula[J]. Fungal Biology, 2020, 124(6): 601-611.
- [30] 刘会芝, 潘小霞, 杨明攀. 三七内生菌的研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(2): 630-639.
LIU HZ, PAN XX, YANG MZ. Research progress on endophytes of *Notoginseng Radix et Rhizoma*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(2): 630-639 (in Chinese).
- [31] 郭永智, 魏茜, 高洁, 刘冰语, 张涛, 华会明, 胡友财. 嗜低温真菌 *Pseudogymnoascus pannorum* 次级代谢产物研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 446-449, 505.
GUO YZ, WEI Q, GAO J, LIU BY, ZHANG T, HUA HM, HU YC. Metabolites of the psychrophilic fungus *Pseudogymnoascus pannorum*[J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(3): 446-449, 505 (in Chinese).
- [32] WANG M, JIANG X, WU W, HAO Y, SU Y, CAI L, XIANG M, LIU X. Psychrophilic fungi from the world's roof[J]. Persoonia, 2015, 34: 100-112.
- [33] 慕英, 魏固宁, 李培贵, 杨桂琴, 崔勇, 陈彩芳, 杨飞, 张战胜, 田恩平. 生防菌对马铃薯防病及促生作用研究进展[J]. 中国植保导刊, 2023, 43(6): 19-25, 41.
MU Y, WEI GN, LI PG, YANG GQ, CUI Y, CHEN CF, YANG F, ZHANG ZS, TIAN EP. Progress in research on the role of biocontrol bacteria in potato disease prevention and growth promotion[J]. China Plant Protection, 2023, 43(6): 19-25, 41 (in Chinese).
- [34] 曹明慧, 冉炜, 杨兴明, 沈其荣, 沈标. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选及其生物效应[J]. 土壤学报, 2011, 48(1): 151-159.
CAO MH, RAN W, YANG XM, SHEN QR, SHEN B. Screening of antagonist against tobacco black shank and biological effect of the strain[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(1): 151-159 (in Chinese).
- [35] 赵会长. 盾壳霉基因组学及其重寄生机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2020.
ZHAO HC. Genomics and mycoparasitic mechanism analysis of the mycoparasite *Coinithyrium minitans*[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [36] FERREIRA FV, MUSUMECI MA. *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2021, 37(5): 90.
- [37] 陈学新, 杜永均, 黄健华, 李姝, 姜道宏, 莫明和, 庞虹, 孙修炼, 王琦, 王甦, 夏玉先, 徐学农, 臧连生, 张杰, 张礼生, 张文庆, 尹恒. 我国作物病虫害生物防治研究与应用最新进展[J]. 植物保护, 2023, 49(5): 340-370.
CHEN XX, DU YJ, HUANG JH, LI S, JIANG DH, MO MH, PANG H, SUN XL, WANG Q, WANG S, XIA YX, XU XN, ZANG LS, ZHANG J, ZHANG LS, ZHANG WQ, YIN H. Recent progresses in biological control of crop pathogens and insect pests in China[J]. Plant Protection, 2023, 49(5): 340-370 (in Chinese).
- [38] MAPPERSON RR, KOTIW M, DAVIS RA, DEARNALEY JDW. The diversity and antimicrobial activity of *Preussia* sp. endophytes isolated from Australian dry rainforests[J]. Current Microbiology, 2014, 68(1): 30-37.
- [39] 姚玉荣, 霍建飞, 郝永娟, 刘春艳, 王万立. 番茄内生枝孢霉 Wx103 对根结线虫毒性的研究[J]. 山东农业科学, 2020, 52(2): 101-105.
YAO YR, HUO JF, HAO YJ, LIU CY, WANG WL. Toxicity of endophytic fungus Wx103 isolated from tomato against root knot nematode[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2020, 52(2): 101-105 (in Chinese).
- [40] CHEN HY, LIU TK, SHI Q, YANG XL. Sesquiterpenoids and diterpenes with antimicrobial activity from *Leptosphaeria* sp. XL026, an endophytic fungus in *Panax notoginseng*[J]. Fitoterapia, 2019, 137: 104243.
- [41] EBEAD GA, OVERY DP, BERRUÉ F, KERR RG. *Westerdykella reniformis* sp. nov., producing the antibiotic metabolites melinacidin IV and chetracin B[J]. IMA Fungus, 2012, 3(2): 189-201.