黄河源区鄂陵湖真菌多样性及抑菌活性菌株的筛选

祁鹤兴*，辛承伟，杨闰艳，郑开福

（青海大学 农牧学院，青海 西宁 810016）

摘 要 为解析鄂陵湖真菌多样性并筛选抑菌活性菌株，探究高寒极端湖泊湿地真菌多样性，从黄河源区鄂陵湖岸边采集底泥样本 10 份，使用 7 种选择性培养基并采用稀释涂板法分离和纯化真菌，基于 ITS 基因序列构建系统发育树并结合形态学特征鉴定真菌，使用对峙培养法筛选抑菌活性菌株，共分离得到 144 株真菌，分别隶属于子囊菌门（Ascomycota）、毛霉门（Mucoromycota）和接合菌门（Zygomycota）的 22 个属。并从中筛选得到 7 株对玉米、青稞和小麦来源的 8 种病原真菌具有广谱抑菌活性的菌株，分别隶属于暗球腔菌属（*Phaeosphaeria*）和翅孢壳属（*Emericellopsis*）。结果表明，鄂陵湖底泥真菌资源丰富，具有一定的生物防治利用价值。

关键词 黄河源区；鄂陵湖；湿地真菌；形态学；多样性；抑菌活性菌株

中图分类号 Q938 **文献标识码** A **文章编号** 1005-7021(2026)01-0024-09

doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2026.01.003

Fungi Diversity of Eling Lake in the Source Region of the Yellow River and Screening of Antimicrobial Activity Strains

QI He-xing*, XIN Cheng-wei, YANG Run-yan, ZHENG Kai-fu

(*College of Agriculture and Animal Husbandry*, *Qinghai University*, *Xining* 810016)

Abstract In this study, fungal diversity was analyzed and antimicrobial activity isolates were screened from Eling Lake to enrich the fungi diversity in the extreme environment and to provide basic materials for subsequent development of biocontrol agents. Ten sediment samples were collected from shoreside of Eling Lake, and fungi were isolated by dilution separation method using seven selective mediums. The isolated fungi were identified by morphological characteristics and rDNA-ITS sequence phylogenetic analysis, and antimicrobial activity isolates were screened by confront culture method. One hundred and forty-four fungi isolates were obtained, belonging to totally 22 genera of Ascomycota, Mucoromycota and Zygomycota. Seven high antimicrobial activity isolates were screened from one hundred and forty-four fungi isolates, they had a broad spectrum of antimicrobial activity on eight fungi pathogens from maize, highland barley and wheat. Moreover, they were *Phaeosphaeria* and *Emericellopsis*, respectively. These results showed that sediment fungi resource in Eling Lake was abundant and have certain biocontrol and utilization value.

Keywords the Source Region of the Yellow River; Eling Lake; wetland fungi; morphology; fungi diversity; antimicrobial activity strains

湿地是全球三大生态系统之一，被称为“地球之肾”。湿地在保护生物多样性、调节径流、改善水质、调节小气候及提供食物、工业原料和旅游资源等多方面作用显著[1-5]。黄河源区位于中国青海省南部、青藏高原东北部，系唐乃亥水文站以上黄河干流区域。黄河源区海拔 2 675~6 253 m，为黄河流域重要的产流区、水源地及生态涵养地，贡献了超过全流域 37%的产流量，素有“黄河水塔”

基金项目：青海省自然科学基金项目（2022-ZJ-977Q）

作者简介：祁鹤兴 女，副教授，博士，硕士生导师。主要研究方向为植物病原真菌及病害生物防治。E-mail：qhx390495559@126.com

* 通讯作者。

收稿日期：2025-05-09

之称[3]。鄂陵湖是黄河源区第一大淡水湖和过水湖,位于巴颜喀拉山北麓,果洛藏族自治州玛多县境内,是黄河源头众水汇合之地,与扎陵湖并称为“姊妹湖”[6]。青海省耕地面积为 56.42 万 hm^2,每年用于病害防治的农药使用量很高,导致农药残留、有害生物、生物抗药性和环境问题日益凸显。鉴于黄河源区重要的生态保护价值,以及在倡导“药肥双减”形势下,当务之急是寻找适用于青海高寒地区低残留、对环境友好且高效的生物农药用来替代化学农药,生物农药的使用不仅能保护生态环境又能使土地持续耕作。生物防治机理基于微生态学原理,包括营养竞争、诱导抗性、寄生等综合作用,原料天然、绿色环保,不会引发农产品安全问题;此外,微生物增殖生长快,易于规模化生产,在植物病害防治领域具有广阔的应用前景[7-8]。在湿地生态系统中,微生物是形成食物链及营养循环的基础,在湿地生物地球化学过程中发挥着关键作用,并能快速响应环境的干扰,因此微生物种群的状况能反映出生态系统的健康水平[9-11]。湿地微生物现已成为研究热点,科研人员对芦苇根际[12]、滨海湿地[13]、云南纳帕海高原湿地[14-15]、运城盐湖湿地[16]、红树林湿地[17]和南极半岛不同湖泊湿地[18]真菌多样性进行研究,发现真菌种类丰富。从未被开发和利用的自然极端环境微生物群体中筛选拮抗菌株很有可能发现新的生防菌株,为进一步开发新型生物农药提供基础和可能[19-21]。目前,对黄河源区生物多样性的研究主要集中在对植物和动物的研究方面[22-25],但对真菌多样性及其功能尚不清楚。因此,本研究以鄂陵湖底泥真菌为研究对象,分析可培养真菌多样性,并从中筛选对青海省主要农作物玉米、小麦和青稞病原真菌具有抑菌活性的菌株,以期为后续开发适合青海省高寒地区使用的生防制剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *材料来源* 2022 年 8 月从黄河源区鄂陵湖距岸边 1 m 处采集底泥样本 10 份(表 1)。使用小型铁锹采集 1~10 cm 深度的底泥置于 500 mL 无菌塑料罐中,放入车载冰箱及时带回实验室进行真菌分离。使用 GPS 仪记录采集地海拔和经纬度,并记录采集点至岸边 50 m 范围内的植物种类。

表 1 鄂陵湖采样点地理信息

Table 1 Geographic information of sampling point in Eling Lake

样本名称	海拔/m	经纬度	植物种类
E1	4 283.3	34°52′01.53″N, 97°30′21.67″ E	西伯利亚蓼(*Polygonum sibiricum*)、臭蒿(*Artemisia hedinii*)、羽叶垫地梅(*Phyllophyllum officinalis*)、肉果草(*Lancea tibetica*)、委陵菜(*Potentilla* sp.)、紫菀(*Radix asteris*)、细叶亚菊(*Ajania tenuifolia*)、狗娃花(*Heteropappus hispidus*)、兔耳草(*Lagotis* sp.)、针茅(*Stipa* sp.)、苔草(*Carex lasiocarpa*)、火绒草(*Leontopodium* sp.)、早熟禾(*Poa* sp.)、马蔺(*Iris lactea*)、膜果麻黄(*Ephedra przewalskii*)、麻花秦艽(*Gentiana straminea*)、高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)
E2	4 294.2	34°52′02.85″N, 97°30′23.39″ E	二裂委陵菜(*Potentilla bifurca*)、狗娃花、披针叶黄华(*Thermopsis lanceolata*)、火绒草、针茅、多裂委陵菜(*P. multifida*)、早熟禾、蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)、盐地风毛菊(*Taraxacum mongolicum*)、兔耳草、西藏微孔草(*Microula tibetica*)
E3	4 285.5	34°57′48.54″N, 97°36′11.63″E	羽叶垫地梅、异叶青兰(*Dracocephalum heterophyllum*)、细叶亚菊、露蕊乌头(*Aconitum gymnandrum*)、西伯利亚蓼、鹅绒委陵菜(*P. anserine*)、冷蒿(*Artemisia frigida*)
E4	4 283.3	35°01′00.82″N, 97°37′34.22″ E	针茅、火绒草、委陵菜、披针叶黄华、冷蒿、盐地风毛菊、早熟禾、马蔺、马先蒿(*Pedicularis* sp.)、狗娃花
E5	4 279.8	35°02′15.54″N, 97°39′57.47″E	棘豆(*Oxytropis* sp.)、针茅、珠芽蓼(*Polygonum viviparum*)、嵩草(*Kobresia* sp.)、委陵菜
E6	4 280.4	35°04′19.70″N, 97°42′53.52″E	马先蒿、臭蒿、羽叶垫地梅、苔草、兔耳草、紫菀、委陵菜
E7	4 280.5	35°04′45.72″N, 97°44′01.32″E	早熟禾、苔草、狗娃花、兔耳草、冷蒿、火绒草、细叶亚菊
E8	4 279.0	35°05′06.20″N, 97°45′41.24″E	垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、早熟禾、异叶青兰、西伯利亚蓼、细叶亚菊、棘豆
E9	4 280.0	35°06′13.00″N, 97°46′40.12″E	早熟禾、苔草、针茅、二裂委陵菜、多裂委陵菜、西藏微孔草、细叶亚菊、火绒草、盐地风毛菊、狗娃花
E10	4 282.5	35°06′27.70″N, 97°48′21.67″E	嵩草、盐地风毛菊、苔草、垂穗披碱草、针茅、狗娃花、赖草(*Leymus* sp.)、冷蒿、火绒草、棘豆、细叶亚菊

1.1.2 培养基(g) ①马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯 200,葡萄糖 20,琼脂 18,蒸馏水 1 000 mL;②察氏培养基:蔗糖 20,K_2HPO_4 1,$MgSO_4$ 0.5,$FeSO_4$ 0.01,$NaNO_3$ 3,KCl 0.5,琼脂 18,蒸馏水 1 000 mL[26];③麦芽汁培养基:麦芽浸膏 50,葡萄糖 5,琼脂 18,蒸馏水 1 000 mL[27];④马丁氏培养基:KH_2PO_4 1,葡萄糖 10,$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5,蛋白胨 5,1/3 000 孟加拉红 100 mL,琼脂 18,蒸馏水 1 000 mL[28];⑤沙氏培养基:葡萄糖 40,琼脂 18,蛋白胨 10,蒸馏水 1 000 mL[28];⑥湖水 PDA 培养基:使用龙羊峡水库湖水替换 PDA 培养基中的蒸馏水;⑦土壤浸提液培养基:取 500 g 底泥加入能浸提出 1 000 mL 浸出液的水中,121 ℃灭菌 15 min,冷却后,滤纸过滤,得土壤浸提液。将土壤浸提液替换 PDA 培养基中的蒸馏水,配制土壤浸提液培养基。上述培养基均 121 ℃高压灭菌 20 min 后保存备用。

1.1.3 主要试剂与仪器设备 PCR Mix(TSE005,北京擎科);琼脂糖(BYR0100,西班牙 Biowest)。人工气候箱(RDN-450E-4,宁波江南仪器);立式高压蒸汽灭菌器(LDZF-75L,上海申安);高速冷冻离心机(5415R,德国 Eppendorf);电泳图像分析系统(WD-9413B,北京六一);梯度 PCR 仪(A600,杭州朗基);琼脂糖水平电泳槽(DYCP-31DN,北京六一);超净工作台(SJ-CJ-2FD,苏州苏净);显微镜(Ni90,日本 Nikon)。

1.2 方法

1.2.1 鄂陵湖底泥真菌的分离、纯化及保藏 底泥样本在室内晾干,于灭菌研钵中将大颗粒底泥研磨后过 100 目筛得到土样。准确称取 1 g 土样放入盛有 100 mL 无菌水的三角瓶中,25 ℃,150 r/min 振荡 30 min,制备成底泥悬液,在超净工作台中取底泥悬液 400 μL 均匀涂布于含0.1%氨苄青霉素的 1.1.2 中的 7 种选择性培养基平板上,每种培养基 3 个重复。涂布后的平板置于霉菌培养箱 25 ℃恒温培养 5 d 后,使用灭菌接种针挑取约 0.2 mm 的单个菌落至 PDA 平板中央继续培养。并采用菌丝尖端纯化法纯化,直至长出单菌落。纯化后的菌株采用滤纸片保存法于-20 ℃保藏[29]。

1.2.2 鄂陵湖底泥真菌菌丝形态学特征观察 纯化的菌株使用直径 0.5 cm 打孔器取得菌饼,将其接种至培养基厚度一致的 PDA 平板,25 ℃培养 7 d,观察菌落形态。每株菌株 3 个重复。使用插片法观察菌丝显微形态:将经过 121 ℃灭菌 20 min 后的盖玻片以 45°斜插入 PDA 培养基中,在盖玻片与培养基接触位置边缘放置菌饼,25 ℃恒温培养 7 d,取出盖玻片,显微镜下观察菌丝的形态结构[30]。菌株形态学鉴定参照《中国真菌总汇》[31]。

1.2.3 基于 ITS 基因序列的系统发育分析 采用 CATB 法提取基因组 DNA[29,32],DNA 用 25 μL TE/RNase 溶解沉淀,-20 ℃保存备用。扩增引物为 ITS1(5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′)和 ITS4(5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)[33]。PCR 反应体系和程序参照祁鹤兴等[29]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 V7.487 对正反向序列进行拼接,拼接序列用 MEGA V.6.0.6 软件进行校正。使用 PAUP* v.4.0 alpha 软件中的邻接法(Neighbor-joining)构建系统发育树,并以致病疫霉(*Phytophthora infestans* SKM^T)作为外群,重复运算 1 000 次。

1.2.4 鄂陵湖底泥生防真菌的筛选 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。8 种病原菌(靶标菌)分别为分离自玉米的大斑突脐蠕孢(*Exserohilum turcicum*)、交链格孢(*Alternaria alternata*)、麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris sorokiniana*)、玉米生平脐蠕孢(*Bipolaris zeicola*),分离自青稞的禾内脐蠕孢(*Drechslera graminea*),分离自小麦的麦根腐平脐蠕孢(*B. sorokiniana*)、链格孢(*Alternaria* sp.)和禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)。上述 8 种病原菌于 2020 年至 2022 年由青海大学植物保护实验室分离、鉴定和保藏[29,34-37]。将本研究分离得到的底泥真菌和 8 种供试靶标菌在 PDA 培养基上培养 6 d,用直径为 0.5 cm 打孔器取得菌饼,将靶标菌和底泥真菌菌饼分别反贴至 9 cm 培养皿两侧距边沿 1 cm 处,每株菌 3 个重复。黑暗条件下 25 ℃培养 7 d 后测定抑菌带宽度。

2 结果与分析

2.1 鄂陵湖底泥真菌多样性

从黄河源区鄂陵湖岸边采集底泥样本 10 份,

从中分离得到真菌 144 株,144 株菌株 GenBank 登录号为 PP347868～PP348011。其中,沙氏培养基分离得到 47 株,马丁氏培养基分离得到 42 株,湖水 PDA 培养基分离得到 21 株,PDA 培养基分离得到 20 株,察氏培养基和麦芽汁培养基各分离得到 9 株和 5 株,土壤浸提液培养基未分离到菌株。

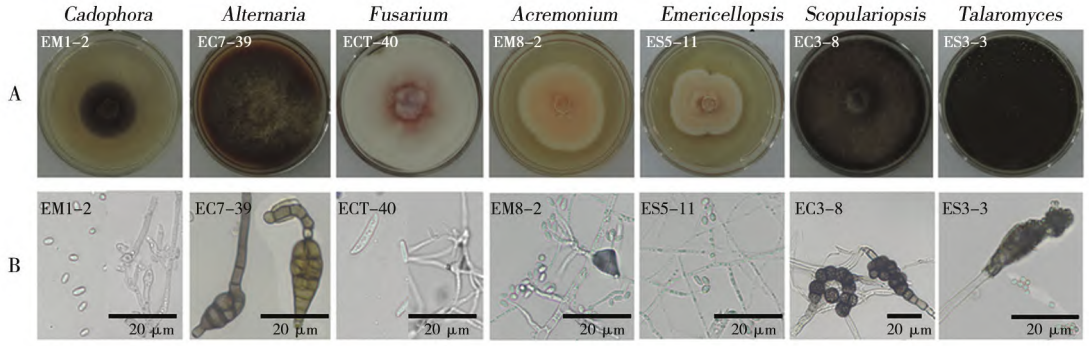
结合形态学特征和分子生物学鉴定结果,144 株真菌分别隶属于 3 个门 22 个属(表 2)。其中 20 个属隶属于子囊菌门(Ascomycota),各有 1 属隶属于毛霉门(Mucoromycota)和接合菌门(Zygomycota)。翅孢壳属(*Emericellopsis*)菌株数最多,为 25 株,其次为篮状菌属(*Talaromyces*)23 株,链格孢属(*Alternaria*)21 株;枝顶孢属(*Acremonium*)、帚霉属(*Scopulariopsis*)和淡领瓶霉属(*Cadophora*)分别为 15、13 和 12 株;镰刀菌属(*Fusarium*)9 株,青霉属(*Penicillium*)4 株,近茎点霉属(*Juxtiphoma*)、假散囊菌属(*Pseudeurotium*)和假裸囊壳属(*Pseudogymnoascus*)均为 3 株;茎点霉属(*Phoma*)和光黑壳属(*Preussia*)均为 2 株;寡囊盘菌属(*Thelebolus*)、枝孢霉属(*Cladosporium*)、小球腔霉属(*Leptosphaeria*)、暗球腔菌属(*Phaeosphaeria*)、曲霉属(*Aspergillus*)、链蠕孢属(*Dendryphion*)、四枝孢属(*Tetracladium*)、林尼曼属(*Linnemannia*)和毛霉属(*Actinomucor*)各 1 株。

22 个属的真菌菌落和显微形态特征差异较大(图 1)。淡领瓶霉属、枝顶孢属和翅孢壳属菌株产生卵形、近球形、单孢无色分生孢子,枝顶孢属和翅孢壳属菌落略呈橘红色。链格孢属菌落呈褐色,产生典型的具横、纵隔膜的分生孢子;镰刀菌属菌落呈白色略带红色,产生典型的镰刀型、多隔膜大型分生孢子和卵形、单孢小型分生孢子;帚霉属和毛霉属菌落呈褐色至深褐色,帚霉属产生球形分生孢子,毛霉属菌株产生黑色球形孢子囊。篮状菌属和青霉属菌落呈深青色或青绿色,产生球形略呈青色的分生孢子;枝孢霉属菌落呈深青色至褐色,产生浅黄褐色卵形、棍棒形,1～3 个隔膜的分生孢子。茎点霉属菌落颜色浅黄褐色,产生无色、无隔膜、卵形或短杆形分生孢子。假裸囊壳属菌落革状致密,产生卵形至球形无隔膜分生孢子。曲霉属菌落呈浅蓝色,形成典型的分生孢子头,并产生球形分生孢子。链蠕孢属菌落呈蓝褐色,产生褐色、长梭形、长柄具多个隔膜的分生孢子。其余属真菌未观察到孢子形态。

表 2 黄河源区鄂陵湖分离真菌的分布情况

Table 2 Distribution of fungi isolated from Eling Lake in the Source Region of the Yellow River

菌门	菌属	菌株数/株
子囊菌门(Ascomycota)	翅孢壳属(*Emericellopsis*)	25
	篮状菌属(*Talaromyces*)	23
	链格孢属(*Alternaria*)	21
	枝顶孢属(*Acremonium*)	15
	帚霉属(*Scopulariopsis*)	13
	淡领瓶霉属(*Cadophora*)	12
	镰刀菌属(*Fusarium*)	9
	青霉属(*Penicillium*)	4
	近茎点霉属(*Juxtiphoma*)	3
	假散囊菌属(*Pseudeurotium*)	3
	假裸囊壳属(*Pseudogymnoascus*)	3
	茎点霉属(*Phoma*)	2
	光黑壳属(*Preussia*)	2
	寡囊盘菌属(*Thelebolus*)	1
	枝孢霉属(*Cladosporium*)	1
	小球腔霉属(*Leptosphaeria*)	1
	暗球腔菌属(*Phaeosphaeria*)	1
	曲霉属(*Aspergillus*)	1
	链蠕孢属(*Dendryphion*)	1
	四枝孢属(*Tetracladium*)	1
毛霉门(Mucoromycota)	林尼曼属(*Linnemannia*)	1
接合菌门(Zygomycota)	毛霉属(*Actinomucor*)	1



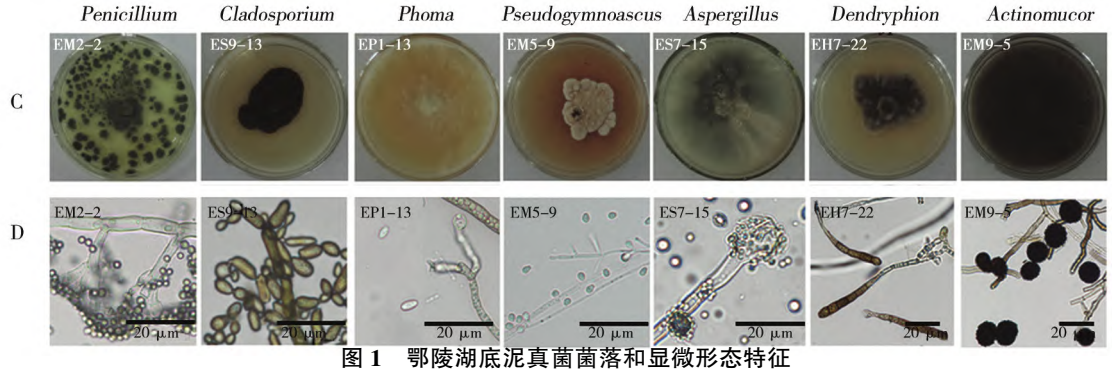


图 1 鄂陵湖底泥真菌菌落和显微形态特征

Fig.1 Colony and micromorphology of fungi isolated from Eling Lake

A、C:菌落形态;B、D:显微形态特征

A, C: Colony morphology; B, D: Micromorphology characteristics

2.2 鄂陵湖真菌系统发育分析

经 BLAST 比对发现,各菌株 ITS 基因序列相似性均≥99%。根据鄂陵湖底泥真菌形态学特征和 ITS 基因序列分析结果,合并形态相同的菌株,并按 ITS 基因序列相似性大于 97%的菌株归于同一个种的规则[38],选取 30 株代表菌株,以已在 NCBI公布的 35 株菌株的 ITS 基因序列为参照,构建系统发育树(图 2)。30 株代表菌株和 35 株参照菌株以大于 68%的支持率被分为 5 个大分支,23 个小分支。菌株 EM1-4 和 ES10-2 与 *Cadophora malorum* 聚为 1 个分支,亲缘关系最近;菌株 ES1-11 和 EM4-9 与链格孢属(*Alternaria*)的菌株聚为 1 个分支,亲缘关系最近;菌株 EH9-19 与 *Juxtiphoma eupyrena*、菌株 EM2-1 与 *Leptosphaeria sclerotioides*、菌株 EH2-12 与禾谷镰刀菌(*Fusarium avenaceum*)、菌株 ES9-13 与枝孢霉属(*Cladosporium*)的菌株分别聚为 1 个分支,亲缘关系最近。菌株 EM4-7 与镰刀菌属(*Fusarium*)的菌株聚为 1 个分支,亲缘关系最近;菌株 EM9-6 和 EY10-11 与枝顶孢属(*Acremonium*)的菌株,菌株 ES3-1 和 EY1-14 与翅孢壳属(*Emericellopsis*)的菌株聚为 1 个分支。菌株 EP6-9、EM9-7 和篮状菌属(*Talaromyces*)的菌株聚为 1 个大分支;菌株 EM5-1 和 EC3-8 与短柄帚霉(*Scopulariopsis brevicaulis*)、菌株 EM1-5 与 *Thelebolus microsporus*、菌株 EM8-4 与假散囊菌属(*Pseudeurotium*)的菌株各聚为 1 个分支;菌株 ES5-23 和 EM2-2 分别与奥氏青霉(*Penicillium olsonii*)和产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)聚为 1 个分支。菌株 EP1-13 与茎点霉属(*Phoma*)的菌株、EH7-32 与短柄链蠕孢(*Dendryphion nanum*)聚为 1 个大分支;菌株 ES4-11 与绳光黑壳(*Preussia funiculata*)、EM5-9 与假裸囊壳属(*Pseudogymnoascus*)的菌株聚在 1 个分支,亲缘关系最近。菌株 EM9-5 与雅致放射毛霉(*Actinomucor elegans*)聚为 1 个分支,菌株 ES5-15 与暗球腔菌属(*Phaeosphaeria*)的菌株、菌株 ES7-15 与平冢曲霉(*Aspergillus hiratsukae*)亲缘关系最近;菌株 EP7-28 与 *Linnemannia elongata*、EH7-38 与刚毛四枝孢(*Tetracladium setigerum*)聚为 1 个分支,亲缘关系最近。

2.3 鄂陵湖底泥抑菌活性菌株的筛选

通过测定 144 株鄂陵湖底泥真菌对来自青海省主要农作物青稞、小麦和玉米的 8 种病原真菌的抑菌效果,共筛选得到 71 株菌株具有抑菌活性(表 3)。其中对玉米生平脐蠕孢具有抑菌活性的菌株最多,为 63 株,其次是对小麦麦根腐平脐蠕孢具有抑菌活性的菌株,共有 60 株。对玉米麦根腐平脐蠕孢具有抑菌活性的菌株共有 48 株,对大斑突脐蠕孢和玉米交链格孢具有抑菌活性的菌株均为 34 株。对青稞病原菌禾内脐蠕孢、小麦病原菌禾谷镰刀菌和小麦链格孢具有抑菌活性的菌株较少,分别为 26、21 和 29 株。上述菌株中抑菌带宽度在 5~15 mm 的菌株依次减少,有 26 株真菌对玉米麦根腐平脐蠕孢的抑菌带宽度≥15 mm,各有 16 株菌株对玉米生平脐蠕孢和小麦麦根腐平脐蠕孢的抑菌带宽度≥15 mm。对玉米交链格孢、禾内脐蠕孢和小麦链格孢抑菌带宽度≥15 mm 的菌株分别为 6、7 和 1 株。对大斑突脐蠕孢和禾谷镰刀菌具有抑菌活性的菌株较少,没有真菌抑菌带宽度≥15 mm。

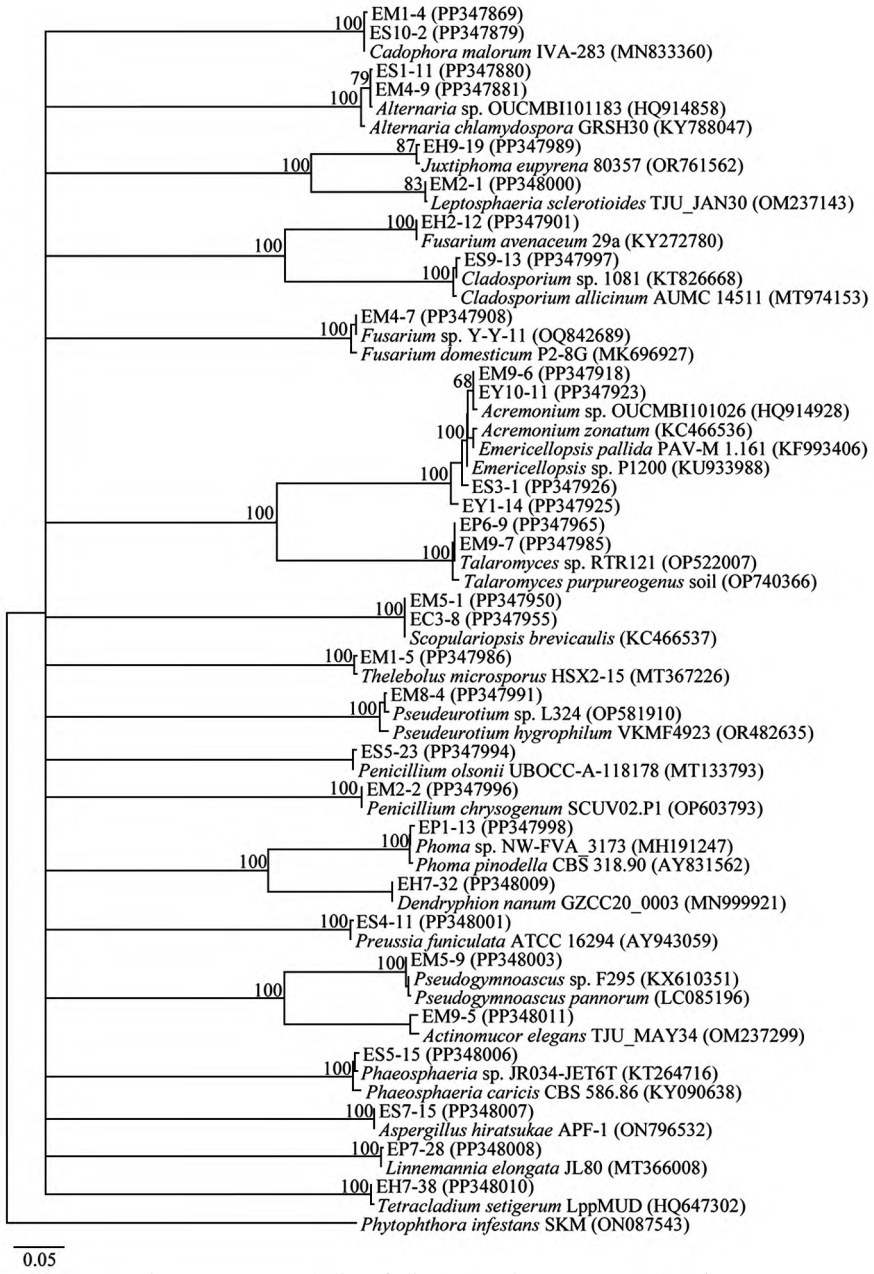


图 2　基于鄂陵湖底泥真菌代表菌株 ITS 基因序列构建的系统发育树

Fig.2　The plylogenetic tree of represent fungi isolated from Eling Lake based on ITS gene sequences

表 3　鄂陵湖底泥真菌抑菌活性分析

Table 3　Antimicrobial activity analysis of fungi from Eling Lake

病原菌	抑菌菌株数/株	抑菌带宽度≥5 mm 菌株数/株	抑菌带宽度≥10 mm 菌株数/株	抑菌带宽度≥15 mm 菌株数/株
大斑突脐蠕孢(*Exserohilum turcicum*)	34	16	4	0
玉米麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris sorokiniana*)	48	40	35	26
玉米交链格孢(*Alternaria alternata*)	34	25	13	6
玉米生平脐蠕孢(*Bipolaris zeicola*)	63	53	32	16
禾内脐蠕孢(*Drechslera graminea*)	26	17	14	7
禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)	21	8	1	0
小麦链格孢(*Alternaria* sp.)	29	18	8	1
小麦麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris sorokiniana*)	60	44	22	16

144 株菌株中有 7 株菌株对 8 种靶标菌具有广谱抗菌活性(表 4 和图 3),其中 ES5-15 为暗球腔菌属,其余 6 株均为翅孢壳属真菌。菌株 ES3-1 对 7 种病原菌的抑菌带宽度均≥10 mm,对玉米生平脐蠕孢的抑菌带宽度为 5 mm,抑菌效果最好。菌株 ES5-15、EM7-2 和 ES4-10 对 6 种病原菌的抑菌带宽度均≥10 mm,抑菌效果较好。菌株EP10-5 对 4 种病原菌的抑菌带宽度≥10 mm,菌株EY1-14 对 3 种病原菌的抑菌带宽度≥10 mm,菌株 EY8-8 只对禾谷镰刀菌的抑菌带宽度≥10 mm。7 株广谱抑菌活性菌株对玉米交链格孢和禾谷镰刀菌的抑制效果最好,各有 6 株菌抑菌带宽度≥10 mm;对玉米生平脐蠕孢的抑制效果最差,抑菌带宽度在 2~6 mm。

表 4 7 株广谱抗菌活性真菌抑菌带测定

Table 4 Determination of the broad-spectrum antibiotic activity of 7 fungal strain

真菌		病原菌抑菌带宽度/mm							
菌属	菌株	大斑突脐蠕孢	玉米麦根腐平脐蠕孢	玉米交链格孢	玉米生平脐蠕孢	禾内脐蠕孢	禾谷镰刀菌	小麦链格孢	小麦麦根腐平脐蠕孢
暗球腔菌属(*Phaeosphaeria*)	ES5-15	7	13	16	6	12	4	12	12
翅孢壳属(*Emericellopsis*)	EM7-2	2	13	11	4	6	25	22	16
	EY1-14	5	7	14	3	6	14	4	16
	EP10-5	2	8	25	2	6	23	15	8
	ES4-10	20	11	15	2	6	26	17	15
	ES3-1	17	14	16	5	10	26	26	13
	EY8-8	2	6	3	2	5	24	6	8

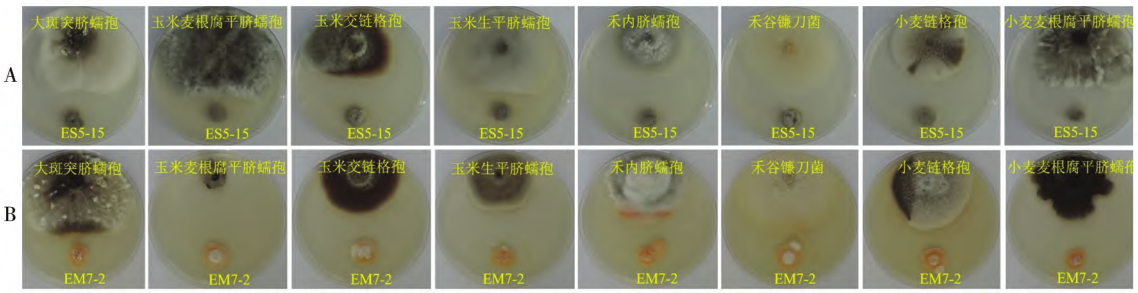


图 3 鄂陵湖底泥真菌抑菌效果测定

Fig.3 Antibacterial effect determination of fungal strains isolated from Eling Lake

A:暗球腔菌属菌株 ES5-15 对 8 种病原菌的抑制作用;B:翅孢壳属菌株 EM7-2 对 8 种病原菌的抑制作用

A: Antimicrobial activity of *Phaeosphaeria* isolate ES5-15 on eight pathogens; B:*Emericellopsis* isolate EM7-2 on eight pathogens

3 讨 论

湿地底泥作为湿地生态系统重要的组成部分,在物质循环方面发挥着关键作用,且湿地底泥微生物多样性比水体丰富[39-40],因此,本研究以黄河源区鄂陵湖湿地底泥真菌为研究对象,对其多样性及抑菌效果进行分析。

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种类和数量也有限,因此自然界中还有大量的微生物及其功能尚待发掘[41]。对可培养微生物进行多样性研究,培养基的选择是关键。许莉等[42]采用 8 种选择性培养基从漳江口红树林沉积物中分离得到 274 株真菌,发现 PDA、察氏培养基和沙氏培养基的分离效果较好。姜喜铃等[27]使用 6 种选择性培养基从兰科药用植物手参原球茎中分离共生真菌,发现 PDA 培养基的分离效果较好。本研究采用 7 种选择性培养基进行鄂陵湖底泥真菌的分离,发现从沙氏培养基和马丁氏培养基上分离得到的菌株最多,从土壤浸提液培养基上未分离到菌株。本研究结果与文献报道既有相似之处,也存在差异,可能与研究的样本类型及采集地有关,结合文献报道及本研究结果,后续可采用沙氏培养基作为湿地底泥真菌分离的最适培养基。

徐婧等[17]对广东和海南红树林湿地真菌多样性进行研究,发现了 3 个中国新记录种。Ogaki

等[18]从南极半岛不同湖泊湿地土壤中分离得到的 195 株真菌分别属于子囊菌门、担子菌门和被孢霉门,其中有 60 株菌株对靶标生物具有抑制活性,1 株枝孢霉属(*Cladosporium* sp.)菌株和 1 株多孢木霉(*Trichoderma polysporum*)具有抗真菌活性。这表明极端环境土壤中真菌种类丰富。本研究从鄂陵湖底泥中分离得到的 144 株真菌,分别属于 3 个门 22 个属,表明鄂陵湖真菌种类比较丰富,这与前期的研究结果一致。从鄂陵湖底泥中筛选得到 144 株菌株中,有 71 株菌株具有一定抑菌活性,其中 7 株真菌对 3 种小麦病原真菌、4 种玉米病原真菌和 1 种青稞病原真菌具有抑菌效果。这 7 株广谱抑菌菌株分别隶属于暗球腔菌属和翅孢壳属。暗球腔菌属真菌可引起多种植物病害,如小麦颖枯病[43]及羊草(*Leymus chinensis*)叶斑病[44]等。也有研究表明暗球腔菌属真菌可产生多种天然活性物质,如聚酮类、二萜类和吡咯烷酮类化合物等,这些化合物具有广泛的生物活性[45]。翅孢壳属真菌广泛分布于陆地和水体环境中,可以产生一系列已知的生物活性代谢物,对植物和人类病原菌具有抗菌活性,并具有抗癌活性[46]。本研究结果结合已有研究报道表明,极端环境土壤真菌种类丰富,并具有较好的生物活性。本研究初步明确了黄河源区鄂陵湖近岸底泥中真菌的多样性,筛选得到 7 株对青海省主要农作物 8 种病原真菌具有广谱抑菌活性的菌株,研究结果丰富了极端环境底泥真菌多样性,并为后续开发微生物制剂用以防治高寒地区农作物病害提供参考。

参考文献:

[1] Batzer DP, Wu H. Ecology of terrestrial arthropods in freshwater wetlands[J]. Annual Review of Entomology, 2020, 65: 101-119.

[2] Yan D, Wünnemann B, Hu Y, et al. Wetland evolution in the Qinghai Lake area, China, in response to hydrodynamic and eolian processes during the past 1100 years[J]. Quaternary Science Review, 2017, 162:42-59.

[3] 杜行行, 龙奎, 苏兰, 等. 杭州湾湿地植被演替过程中鞘翅目昆虫群落动态研究[J]. 浙江林业科技, 2023, 43(5):1-10.

[4] 王新钰, 秦书生. 人与河流和谐共生关系探析[J]. 人民长江, 2024, 55(10):31-37.

[5] 杨昭明, 白文蓉, 时兴合, 等. 黄河源区气温变化特征及预估分析[J]. 冰川冻土, 2019, 41(4):818-827.

[6] 蔚东英, 张强, 张景元, 等. 三江源国家公园 世界的三江源[J]. 森林与人类, 2021(11):24-47,6-7.

[7] Ganuza M, Pastor N, Boccolini M, et al. Evaluating the impact of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 on indigenous microbial communities from field soils[J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 126(2):608-623.

[8] Zheng YK, Miao CP, Chen HH, et al. Endophytic fungi harbored in *Panax notoginseng*: Diversity and potential as biological control agents against host plant pathogens of root-rot disease[J]. Journal of Ginseng Research, 2017, 41(3):353-360.

[9] 次里央追, 孙那归布, 陈俊丽. 环境因素对青藏高原高寒湿地土壤微生物群落影响研究进展[J]. 河南科技, 2022, 41(10):120-123.

[10] 王鑫壹, 付保荣, 祝惠, 等. 外源微生物强化人工湿地污染物去除研究进展[J]. 中国给水排水, 2023, 39(8):33-40.

[11] 洪杉杉, 张广帅, 蔡悦荫, 等. 河口盐沼湿地植被碳汇能力对水文连通性的响应研究进展[J]. 生态学杂志, 2025,44(2):609-618.

[12] 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.

[13] 王欢欢, 王银华, 庞金玲, 等. 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.

[14] 况利沙, 王海雁, 雷洪涛, 等. 云南纳帕海高原湿地水体酵母菌多样性及其与理化因子的相关性[J]. 微生物学报, 2024,64(6):1779-1799.

[15] 吕晶花, 李聪, 杨志东, 等. 纳帕海高原湿地土壤微生物群落对土地利用方式改变的响应[J]. 土壤通报, 2023, 54(3):682-694.

[16] 李元, 杨海鑫, 喻其林, 等. 运城盐湖湿地土壤微生物多样性及其对重金属的响应[J]. 环境科学, 2025,46(5):3296-3304.

[17] 徐婧, 彭红艳, 高剑, 等. 我国红树林湿地真菌的三个新记录[J]. 菌物研究, 2016, 14(1):25-27,32.

[18] Ogaki MB, Teixeira DR, Vieira R, et al. Diversity and bioprospecting of cultivable fungal assemblages in sediments of lakes in the Antarctic Peninsula[J]. Fungal Biology, 2020, 124(6):601-611.

[19] Sibanda T, Selvarajan R, Tekere M. Synthetic extreme environments: Overlooked sources of potential biotechnologically relevant microorganisms[J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(3):570-585.

[20] Beblo-Vranesevic K, Bohmeier M, Perras AK, et al. Lack of correlation of desiccation and radiation tolerance in microorganisms from diverse extreme environments tested under anoxic conditions[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(6): 1-9.

[21] 窦新玉, 潘雯, 董志铭, 等. 天山大峡谷原始森林黏细菌的分离鉴定及其抗菌活性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 3952-3969.
[22] 苟照君, 刘峰贵. 鄂陵湖[J]. 全球变化数据学报, 2019, 3(1):91-92,200-201.
[23] 李磊娟, 姚红义. 三江源区生态系统服务功能非使用价值评估[J]. 北方经贸, 2015, 6:85-86.
[24] 魏彦强, 胡华伟, 王文颖, 等. 青藏高原自然保护区建设现状及未来规划建议[J/OL]. 自然保护地, https://link.cnki.net/urlid/33.1417.s.20240808.1523.074
[25] 范琳, 刘楠, 赵力, 等. 青海省自然保护地空间分布及体系重构探讨[J]. 自然保护地, 2024, 4(3):41-53.
[26] 努尔斯曼姑丽·艾海提, 阿依加玛丽·阿卜杜扎伊尔, 孙永民, 等. 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.
[27] 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.
[28] 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, 2016.
[29] 祁鹤兴, 芦光新, 李宗仁, 等. 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.
[30] 宋东博, 苏飞鸿, 郭旺珍, 等. 棉花黄萎病拮抗菌 KF-43-1 的鉴定与 3 种处理田间防治效果对比[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7):2463-2474.
[31] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京:科学出版社, 1979: 818-1102.
[32] 侯成玲, 邹海涛, 窦启福, 等. 燕麦叶斑病菌的鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2023, 53(6): 1-7,23.
[33] 马桂花, 段晓明, 徐文华, 等. 蒙古黄芪根腐病病原鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 草地学报, 2022, 30(5):1122-1130.
[34] 祁鹤兴, 李红芳, 邹海涛, 等. 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,https://link.cnki. net/urlid/46.1068.S.20231016.1120.012
[35] 祁鹤兴, 王海春, 芦光新, 等. 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.
[36] 马伟丽, 马桂花, 常建萍, 等. 青贮玉米链格孢叶斑病菌生物学特性及其室内防治药剂筛选[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2023, 53(2):6-11.
[37] 常建萍, 李博, 祁鹤兴. 青贮玉米蠕形菌生物学特性及杀菌剂筛选[J]. 青海农林科技, 2023(3):1-7.
[38] Stackebrandt E,Goebel BM. Taxonomic note a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J]. International Journal of Systematic Bacteriology,1994,44(4):846-849.
[39] Zinger L, Amaral-Zettler LA, Fuhrman JA, et al. Global patterns of bacterial beta-diversity in seafloor and seawater ecosystems[J]. PLoS One, 2011, 6(9):e24570.
[40] Huang W, Lu Y, Li JH, et al. Effect of ionic strength on phosphorus sorption in different sediments from a eutrophic plateau lake[J]. RSC Advances, 2015, 5:79607-79615.
[41] 宋伟凤, 李明聪, 高峥. 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.
[42] 许莉, 袁仕杰, 陈丹, 等. 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.
[43] 倪怡清子, 李玉, 刘淑艳. 中国作物常见菌物病害及其病原名录:主要粮食和油料作物[J]. 菌物研究, 2023, 21(4):247-274,244.
[44] Zhang YW, Nan ZB. First report of leaf blotch caused by *Parastagonospora nodorum* on *Leymus chinensis* (Chinese rye grass) in China[J]. Plant Disease, 2018, 102(12):2661.
[45] El-Demerdash A. Chemical diversity and biological activities of *Phaeosphaeria* fungi genus:A systematic review[J]. Journal of Fungi, 2018, 4(4):130.
[46] Kuvarina AE, Gavryushina IA, Sykonnikov MA, et al. Exploring peptaibol′s profile, antifungal, and antitumor activity of emericellipsin A of *Emericellopsis* species from soda and saline soils[J]. Molecules, 2022, 27(5):1736.