

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2024.02.006

沙棘生防内生真菌的筛选、鉴定 及产纤维素酶活性分析

孔天赐, 张海艳, 白发莹, 马学青, 祁鹤兴

青海大学 农牧学院, 西宁, 810016

摘要: 为从沙棘中筛选生防内生真菌, 从健康沙棘叶片和果实中采用组织匀浆法分离内生真菌, 从中筛选具有拮抗活性的菌株, 对其进行形态学和分子生物学鉴定, 并对活性菌株进行产纤维素酶活性分析. 从97株内生真菌中筛选得到16株对8种植物病原真菌具有较好抑菌作用的菌株, 其中菌株SJ-83和SJ-116对8种病菌的抑制作用最佳. 对16株活性内生真菌进行鉴定, 发现菌株SJ-93产生具有横纵隔膜、呈褐色的分生孢子, 为链格孢属真菌; 菌株SJ-83菌丝棉絮状, 浅绿褐色, 产生褐色具横隔的分生孢子, 为平脐蠕孢属真菌. 采用透明圈法在刚果红培养基上进行产纤维素酶活性测定发现, 菌株SJ-116产纤维素酶的活性最高, 透明圈半径达1.6 cm. 研究结果为后续开发沙棘生防内生真菌制剂提供基础材料.

关键词: 沙棘; 生防内生真菌; 产酶活性;

纤维素酶

中图分类号: S435.671

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2024)02-0049-09

Screening and Identification of Biocontrol Endophytic Fungi from *Hippophae rhamnoides* L. and Analysis of Their Cellulase Activity

KONG Tianci, ZHANG Haiyan, BAI Faying,
MA Xueqing, QI Hexing

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

Abstract: In order to screen biocontrol endophytic fungi from *Hippophae rhamnoides* L., endo-

收稿日期: 2024-02-21

基金项目: 青海省自然科学基金项目(2022-ZJ-977Q).

作者简介: 孔天赐, 硕士研究生, 研究方向为植物病原真菌.

通信作者: 祁鹤兴, 博士, 副教授.

phytic fungi were isolated from healthy *H. rhamnoides* L. leaves and fruits by tissue homogenization method. The strains with antagonistic activity were screened, identified by morphology and molecular biology, and the cellulase activity of the active strains was analyzed. A total of 16 strains with good inhibitory effects on 8 plant pathogenic fungi was screened from 97 endophytic fungi, among which strains SJ-83 and SJ-116 had the best inhibitory effects on 8 pathogens. The morphological characteristics of 16 strains of endophytic fungi were observed. It was found that strain SJ-93 produced brown conidia with transverse and longitudinal membrane, which was identified as *Alternaria*. The strain SJ-83 had flocculent, light green-brown mycelium, and produced brown transversely septate conidia, which was a fungus of the genus *Bipolaris*. The cellulase activity was determined on Congo red medium by transparent circle method. The results showed that the cellulase activity of strain SJ-116 was the highest, and the radius of transparent circle was 1.6 cm. The results of this study provided basic materials for the subsequent development of biocontrol endophytic fungi for *H. rhamnoides* L.

Key words: *Hippophae rhamnoides* L.; biocontrol endophytic fungi; enzyme producing activity; cellulase

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.), 是胡颓子科落叶灌木, 其特性是耐旱、抗风沙, 适应盐碱化土地生长, 因此, 被广泛用于水土保持^[1]. 中国西北部大量种植沙棘, 用于沙漠绿化. 沙棘具有独特的保健功能和药用价值, 被誉为“绿色黄金”. 沙棘属于青海省境内分布较广的多个类型树种之一. 沙棘资源丰富, 分布广泛, 总面积约 15.73 万 hm^2 , 占全国沙棘总面积(逾 200 万 hm^2) 的 7.7%. 沙棘品种较多, 包括中国沙棘、肋果沙棘、西藏沙棘及大果沙棘等^[2].

植物内生菌是指健康植物组织内部生活且不引发植物发生明显病症的微生物, 但当植物受到外界刺激或是衰老的时候, 会导致植物自身免疫力下降, 也可能出现某些病症^[3]. 植物内生菌在植物内部比暴露于恶劣环境的腐生菌和附生菌具有更稳定的生存环境, 更易于发挥作用, 因为植物组织内部有可以满足内生菌生长所需的碳源和氮源, 而且内生菌可以得到植物组织的良好保护^[4-5]. 同一株植物可以分离到数种或数十种内生真菌, 有的甚至可以分离到数百种^[6]. 植物内生真菌是生物酶制剂的主要生产者, 其产生的某些酶具有独特的功能和活性, 如几丁质酶、纤维素酶等, 它们能够对植物病原真菌的细胞壁进行分解, 让细胞失去对其的支撑, 让细胞内含物外溢, 最终造成植物病原真菌的死亡, 起到生物防治病害的作用^[7]. 探索植物和内生真菌之间的相互作用是推动农业可持续发展的有效策略, 因为内生真菌不仅可以作为生物肥料的重要来源, 还影响植物中代谢产物的形成, 且具备受环境影响较小、对宿主防卫反应耐受程度高等优点^[8-9]. 当前, 对植物内生真菌的研究已经变成植物学、植物保护、农药、生物药学和中药资源等学科的一个研究热点, 它在农业、林业及医药等领域的研究中有着十分重要的价值^[10-11]. 目前, 药用植物的特殊经济价值对其内生真菌的研究成为植物内生真菌研究的重点, 从药用植物中分离产生具有活性成分的内生真菌的报道也越来越多. 这方面的研究主要集中在两个方面: 一方面是从各种药用植物中分离内生真菌, 并研究其代谢产物以期找到具药用活性成分的内生真菌, 从而达到选育高产活性菌株的目的; 另一方面则进行对内生真菌与寄主关系的研究, 进而对其产生活活性物质的机理的探索研究.

兰琪^[12]以新鲜的苦皮藤植株为初始实验材料, 然后从植株各部分分离内生真菌, 对所分离的内生真菌进行液体发酵, 提取发酵产物并进行生物活性测定, 再对具生物活性的提取物进行分离, 鉴定其分子结构. 研究结果发现, 在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下采用抑制菌丝生长速率法对株内生真菌发酵产物进行了杀菌活性筛选, 发现和菌株的发酵产物丙酮粗提物均对供试病原菌有不同程度的杀菌活性. 盆栽试验结果表明, 在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下菌株的丙酮粗提物对小麦白

粉病的治疗和保护作用均在60%以上.宋艳雨等^[13]从长白山野生沙棘的根部分离出1株内生真菌,利用该真菌菌丝提取物对玉米、水稻和大豆处理后进行作物试验,结果表明菌株SJ1提取物对玉米、大豆和水稻都有一定的促进作用,能够促进作物根系发育,增加产量.赵晓璐等^[14]利用次氯酸钠和乙醇消毒法对荷叶内生真菌进行分离,并采用羧甲基纤维素钠培养基筛选产纤维素酶的菌株,得到2株产纤维素酶的荷叶内生真菌,分别命名为HY3和HY4.通过形态学和分子生物学鉴定分析,鉴定出HY3为*Rhodospiridiobolus*属, HY4为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*),不仅丰富了产纤维素酶的微生物资源,还为纤维素酶的工业生产提供新的材料.靳泽星等^[15]运用AntiSMASH对菌株SK007进行抗生素基因分析,发现该菌株具有脂肽类和聚酮类抗生素基因簇.除了直接作用于植物病原菌外,表面活性素可协同泛革素激发植物产生诱导系统抗病性(Induced systemic resistance),这种抗病性可有效降低植物地上部分病害的发生,将过表达泛革素和表面活性素的枯草芽孢杆菌接种于菜豆和番茄,显著降低了菜豆和番茄叶子部位灰霉病的发作.

生防菌是植物病害生物防治的重要研发领域,报道的生防菌较多,但在实际生产中能够推广应用的却较少^[16-17].当前有关青海省沙棘内生真菌的研究报道还较少,沙棘内生真菌资源未得到开发和利用.因此,从沙棘中筛选对多种农作物病原菌具有生防作用和产纤维素酶的内生真菌,旨在丰富沙棘内生生物防治资源,为后续开发沙棘生防内生真菌制剂提供基础材料.

1 材料与方法

1.1 健康沙棘组织的采集

2021年5—8月从青海省西宁市大通县和湟中县采集健康沙棘组织样本,置于车载冰箱,带回实验室及时分离内生真菌.

1.2 培养基配制

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)^[18-19]:200 g马铃薯,20 g葡萄糖,18 g琼脂,用蒸馏水定容至1 L,并在121℃的高压蒸气灭菌20 min,待用.

刚果红培养基^[20]:CMC-Na 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 2 g/L, NaCl 0.5 g/L, K₂HPO₄ 1 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L, 刚果红 0.4 g/L, 琼脂 18 g/L; 蒸馏水定容至1 L, 121℃高压蒸气灭菌20 min, 备用.

1.3 沙棘内生真菌的分离、纯化和保藏

用自来水清洗沙棘叶片和果实上黏附的泥土颗粒、微生物或其他可溶性杂物,分别将其浸入3.5%次氯酸钠溶液中消毒3 min,期间用酒精消毒过的镊子不停搅拌,后用无菌水冲洗3次,完成表面消毒.采用组织研磨法分离内生真菌^[17].将消毒后的沙棘组织放入灭菌后的研钵内,充分研磨后,使用移液枪吸取汁液200 μL均匀涂到PDA平板,在无菌操作台内充分吹干后放于25℃恒温培养箱中培养72~96 h.待长出单个菌落后挑至PDA平板上,菌落若不纯则继续纯化,直至长出单菌落得到纯化菌株.采用滤纸片保存法保藏内生真菌^[21].

1.4 活性菌株的筛选

采用皿内对峙培养法筛选拮抗菌株.将分离得到的沙棘内生真菌与8株病原真菌接种至PDA平板上,25℃培养5 d,用0.5 cm打孔器打孔;将病原菌和内生真菌菌饼分别接种到9 cm培养皿的两侧,距边沿1 cm处,每个菌株重复3次,接种后置于25℃培养箱培养;待对照病原菌长满平皿后测定抑菌带大小并拍照记录.

用于拮抗试验的病原真菌:TJZ-120(玉米链格孢叶斑病菌)^[22]、PA-6(玉米镰刀菌叶枯病菌)^[23];QK-1(青稞条纹病菌)、DTR-3(玉米麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌)^[24]、XMDT-12(小麦枝

孢霉叶斑病菌)、XMDT-7(小麦链格孢叶斑病菌)、XMDT-2(小麦赤霉病菌)和 XMDTR-11(小麦麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌)病原菌均由青海大学植物保护实验室分离、保藏和鉴定。

1.5 活性菌株鉴定

1.5.1 活性菌株形态学鉴定

将菌株接种在 PDA 平板上,放置于 25 ℃ 培养箱中培养 7 d,挑取孢子制成临时玻片,在 40× 光学显微镜下观察孢子形态.菌株在 PDA 平板上生长 5 d 后,用打孔器取得直径 0.5 cm 的菌饼,接于 PDA 平板上,每个菌株重复 3 次,且每皿培养基的厚度要保持一致,放置于 25 ℃ 培养箱中培养 7 d 后观察其菌落形态.

1.5.2 活性菌株分子生物学鉴定

1)DNA 的提取.采用 CTBA 法提取目标菌株 DNA^[25].步骤如下:

①刮取在 PDA 平板上培养了 5 d 的菌落气生菌丝,用液氮研磨后置于 DNA 提取离心管中.

②在离心管中加入 2×CTAB 抽提液 600 μL,混合均匀,65 ℃ 孵育 30 min,每隔 10 min 颠倒混匀 1 次.

③孵育完成后,取出离心管,待其冷却至室温后,加入等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)的 DNA 提取液,充分混匀后,12 000 rpm,4 ℃,离心 15 min.

④吸取 500 μL 上清液于 1.5 mL 灭菌离心管中,加入等体积的酚:氯仿:异戊醇(25:24:1),充分混匀后 12 000 rpm,4 ℃,离心 15 min.之后再吸取 400 μL 上清重复抽提 1 次.

⑤取上清 300 μL,加入 0.6 倍体积的异丙醇,-20 ℃ 沉淀 30 min.

⑥12 000 rpm,4 ℃,离心 15 min.

⑦弃上清,用 70% 的乙醇洗沉淀 2 次,烘干,用 25 μL 的 TE/RNase 溶解,-20 ℃ 保存.

2)PCR 扩增及其测序

活性菌株 rDNA-ITS 序列扩增引物为:ITS1(5'-TCCGTAAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3').

PCR 反应体系(25 μL):Taq Mix(12.5 μL)、引物 ITS1(10 μmol/L)1 μL、引物 ITS4(10 μmol/L)1 μL、DNA 模板 1 μL 和 dd H₂O 9.5 μL.

PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min(30 个循环),72 ℃ 10 min.

测序:PCR 产物在 0.8% 琼脂糖凝胶电泳 1×TAE 缓冲液体系中电泳,上样量为 3 μL,电泳结束后在 EB 溶液中染胶 10 min,并在凝胶电泳成像仪上观察并照相.

将 PCR 产物送至北京擎科生物技术有限公司进行测序,测序采用正反向引物双向测序.参照李婕等^[26]的方法构建系统发育树.16 株菌株 GENBANK 登录号为 OR770057-OR770072.

1.6 产酶菌株的筛选

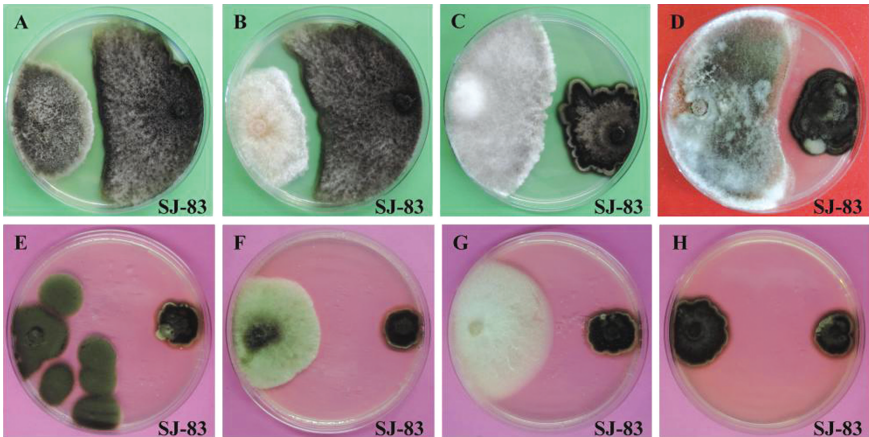
将 18 株活性菌株在 PDA 培养基上接种培养,放置 25 ℃ 恒温培养箱中培养 5 d.将培养菌株打孔后,把菌块(d=0.5 cm)分别接种于刚果红培养基平板,每个菌株做 3 个重复,最后在 25 ℃ 的恒温培养箱中培养 7 d,观察并记录菌株产生消解圈的情况,并用直尺测量菌落的透明圈半径^[27].使用 EXCEL 数据处理软件求得菌株半径平均值.

2 结果与分析

2.1 沙棘生防内生真菌的筛选

在沙棘叶片和果实中共分离得到 97 株内生真菌,从中筛选出 16 株高抑菌活性菌株(图 1 和图 2),其余菌株没有抑菌活性.菌株 SJ-52, SJ-67, J-76, SJ-83 和 SJ-116 对 8 种病原真菌均

具有抑菌活性,其中菌株 SJ-83 和 SJ-116 拮抗作用最好,抑菌带宽度为 3.5~28.5 mm. 16 株菌株对玉米链格孢叶斑病菌 TJZ-120、玉米镰刀菌叶枯病菌 PA-6、玉米麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌 DTR-3 和小麦麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌 XMDTR-11 均具有拮抗活性,对小麦枝孢霉叶斑病菌 XMDT-12 的抑菌效果较差,只有 6 株内生菌对其具拮抗活性. SJ-93 对 TJZ-120 和 PA-6 的抑菌带最大,为 11.5 mm 和 38.5mm; SJ-116 对 DTR-3 的抑菌带最大,为 23.5 mm; SJ-83 对 XM-DTR-11 的抑菌带最大,为 28.5 mm.



A~H 分别为内生真菌 SJ-83 对玉米链格孢叶斑病菌、玉米镰刀菌叶枯病菌、青稞条纹病菌、玉米麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌、小麦枝孢霉叶斑病菌、小麦链格孢叶斑病菌、小麦赤霉病菌和小麦麦根腐平脐蠕孢叶斑病菌的抑菌效果.

图 1 内生真菌 SJ-83 对 8 株病原真菌的拮抗效果

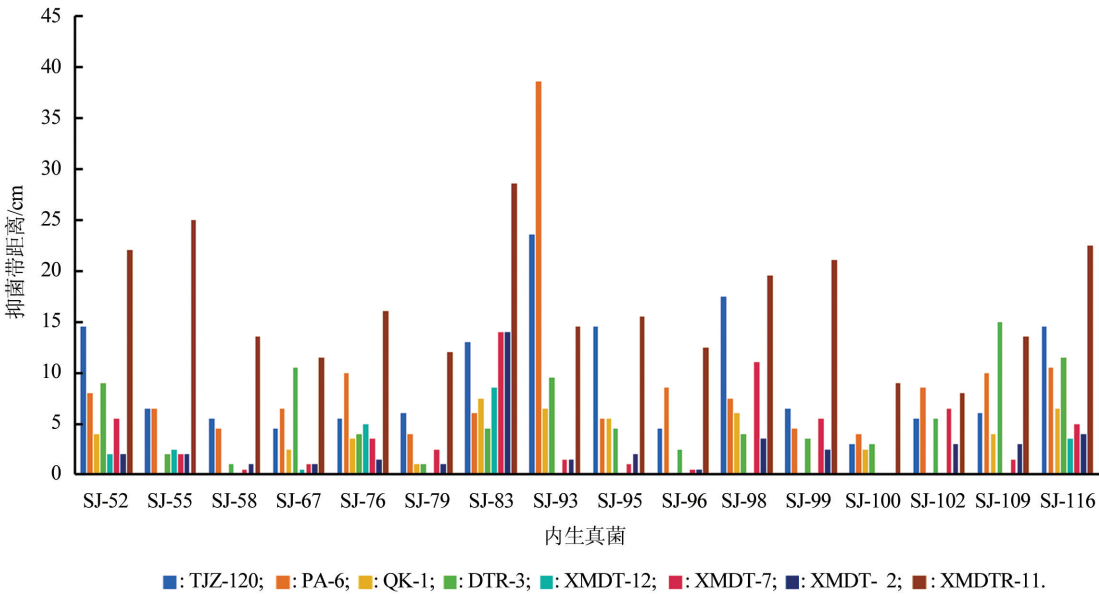
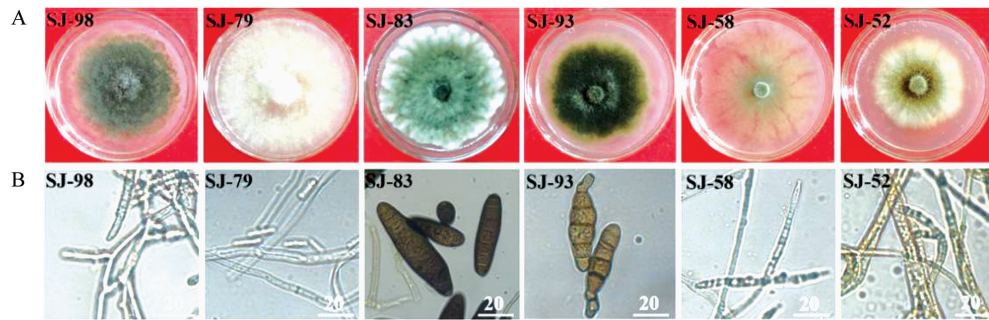


图 2 16 株沙棘内生真菌对 8 株病原真菌拮抗效果测定

2.2 沙棘内生生防真菌的鉴定

对 16 株内生真菌的形态特征进行观察,发现内生真菌可以分为 6 类(图 3). 菌株 SJ-98 和 SJ-93 菌落颜色较深, SJ-98 不产生分生孢子, 菌株 SJ-93 产生具有横纵隔膜、呈褐色的分生孢子, 初步判断为链格孢属真菌. 菌株 SJ-79、SJ-58 和 SJ-52 菌落颜色较浅, SJ-79 能产生无色、棍棒状细长的分生孢子, 菌株 SJ-58 和 SJ-52 无分生孢子产生. 菌株 SJ-83 菌丝棉絮状, 中间颜

色较深,边缘颜色较浅,能产生褐色具横隔的分生孢子,初步判断为平脐蠕孢属真菌.



A: 内生真菌菌落形态; B: 内生真菌显微形态.

图3 沙棘活性内生真菌形态特征

经 BLAST 比对, 基于 16 株沙棘内生真菌的 rDNA-ITS 序列构建系统发育树(图 4). 结果显示, SJ-52、SJ-55、SJ-99 与 *Didymella glomerata* RC-4-2-2-2W 位于同一发育分支, 支持率为 99%; SJ-98 与 *Phyllosticta* sp. X43 位于同一分支, 支持率为 99%; SJ-83 与 *Bipolaris sorokiniana* W2 位于同一分支, 支持率为 100%; SJ-93、SJ-96、SJ-116 与 *Alternaria alternata* Y123-LY-SY 位于同一分支, 其支持率为 100%; SJ-79 与 *Coprinellus xanthothrix* LL-Y-1 位于同一分支, 支持率为 100%; SJ-76、SJ-100、SJ-58、SJ-102、SJ-67、SJ-95 和 SJ-109 与 *Valsa nivea* WS23 位于同一分支, 支持率为 100%.

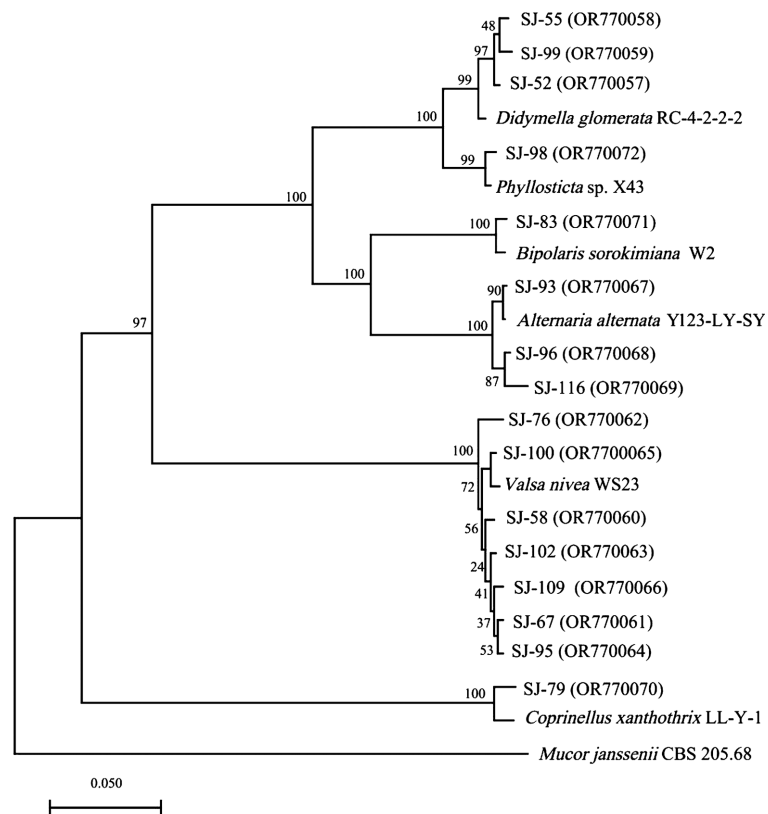


图4 16株沙棘内生真菌基于 rDNA-ITS 序列构建的系统发育树

2.3 沙棘产纤维素酶活性菌株筛选

对 16 株沙棘高活性内生防真菌进行产纤维素酶活性筛选. 从中筛选出 13 株产纤维素酶活性较高的菌株, 分别是菌株 SJ-99、SJ-93、SJ-96、SJ-102、SJ-98、SJ-116、SJ-52、SJ-58、SJ-95、SJ-55、SJ-100、SJ-76 和 SJ-67. 这 13 株菌株的消解圈明显, 半径较大, 平均半径为 0.8 cm; 其中 SJ-116 透明圈最大, 半径为 1.6 cm (图 5 和图 6). 其余 3 株生防真菌无消解圈产生.

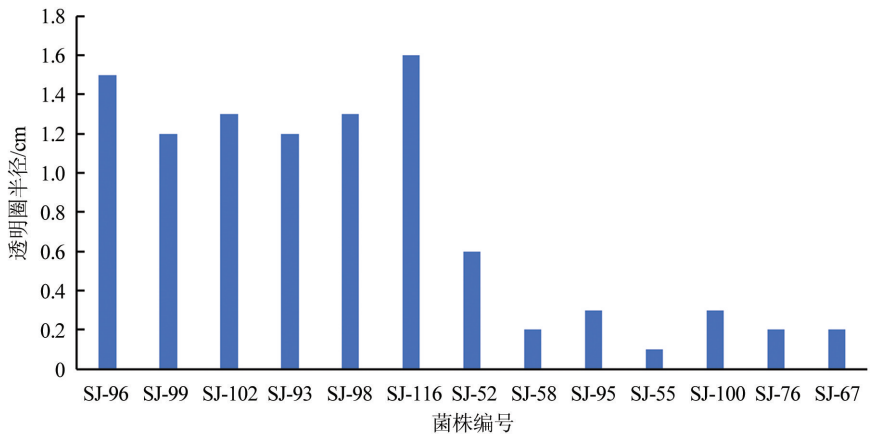


图 5 产纤维素酶活性菌株透明圈半径

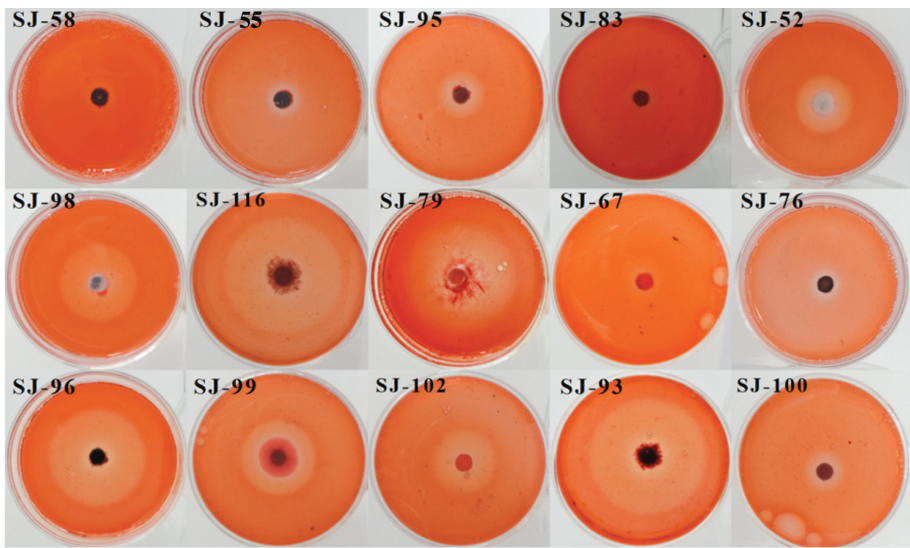


图 6 沙棘内生活性菌株产纤维素酶筛选

3 结论与讨论

内生真菌是构成植物微生态系统中的一个重要组成部分, 也是一种非常重要的微生物资源, 能够产生多种活性物质, 并且还有很多没有发掘的新物质, 其中某些活性物质在抗菌、促进植物生长、产酶、除草等方面具有较高活性, 各种生物活性物质与人类的生产和生活等方面紧密相关^[28]. 植物内生真菌产生的各种酶类, 除了具有很强的专一性之外, 还具有耐高温、耐酸碱、耐辐射、高效和易纯化等优点^[29].

筛选抑菌效果好且作用稳定的内生真菌时, 只选取 1 种或少数几株病原菌不足以说明内生

真菌的生物防治价值. 因此, 在筛选生防内生菌时应选取多种病原菌作为靶标菌株, 对内防真菌进行综合评价, 以提高筛选效率. 本研究共分离得到 97 株内生真菌, 从中筛选出 16 株、8 种农作物病原真菌具有抑菌活性的菌株, 获得活性菌株的比例为 16.5%; 其中产纤维素酶活性较高菌株有 13 株, 占总菌株的 13.4%. 对 16 株活性内生真菌进行形态学和分子生物学鉴定, 发现 SJ-52、SJ-55 和 SJ-99 属于亚隔孢壳属, SJ-58、SJ-67、SJ-76、SJ-95、SJ-100、SJ-102 和 SJ-109 属于黑腐皮壳属, SJ-93、SJ-96、SJ-116 属于链格孢属, SJ-83 属于平脐蠕孢属, SJ-98 属于叶点霉属. 蒋莉莹等^[30]对从贮藏期间患黑斑病的甜瓜中分离出的 3 株真菌 A2015、A2018、A2019 进行形态学鉴定, 结果表明, 这 3 株菌株均属链格孢属, 其中 A2015 菌株的产纤维素酶活性最高.

纤维素酶可以直接作用于植物细胞壁, 破坏细胞结构, 使植物腐败, 用于杂草腐败和病原菌抑制^[31]. 王欣宇^[32]利用纤维素刚果红平板透明圈试验法以及纤维素酶活性测定法筛选出 6 株具有一定降解纤维素的能力的菌株, 最终确定 1 株能够高效降解纤维素的菌株 R4, 表明 R4 具有特异性降解纤维素酶的能力, 为农林废弃物的有效利用提供了新思路; 苏杭等^[33]研究分离到 5 株细菌对半夏立枯病病原菌具有拮抗活性半夏内生细菌, 其中 B2-7 对半夏立枯病病原菌具有较好的抑制作用, 是防治半夏立枯病的潜力菌株, 具有良好的应用前景. 宋艳雨等^[34]从腐烂的树木样品中分离到一株高效纤维素降解菌 CBSX2, 经形态学及遗传分析鉴定 CBSX2 菌株为链格孢属. 本研究采用透明圈法在刚果红培养基上进行产纤维素酶活性测定筛选发现, 菌株 SJ-116 产纤维素酶的活性最高, 通过形态学和分子生物学分析, 鉴定 SJ-116 属于链格孢属.

本研究初步明确青海省西宁市野生沙棘内生防菌株的种类并筛选得到纤维素酶活性菌株, 为后续研究青海野生沙棘内生真菌多样性及其生物防治应用研究提供了理论依据.

参考文献:

- [1] 陈奕璇, 郭佳琦, 关文强, 等. 沙棘综合开发利用研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2023, 44(19): 201-207.
- [2] 何青宝. 青海沙棘产业发展现状及对策探析 [J]. 中国林业经济, 2018(6): 46-47.
- [3] 黄伟, 王宁, 张丽娟, 等. 植物内生真菌挥发性物质及其在生物防治中的应用研究进展 [J]. 农药, 2023, 62(3): 157-162.
- [4] 何美仙. 植物内生真菌作为生防因子的研究进展 [J]. 植物保护, 2005, 31(1): 10-14.
- [5] 王聪艳, 周志国, 武汉琴. 植物内生真菌研究进展 [J]. 生物学教学, 2015, 40(3): 2-4.
- [6] 王占斌, 周暄, 马鑫博, 等. 药用植物内生真菌的分离及拮抗菌的筛选与鉴定 [J]. 中国农学通报, 2022, 38(1): 75-81.
- [7] 刘建利. 宁夏枸杞内生真菌的分离及抗氧化活性的测定 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 857-860.
- [8] COSOVEANU A, CABRERA R. Endophytic Fungi in Species of *Artemisia* [J]. Journal of Fungi, 2018, 4(2): 53.
- [9] IKRAM M, ALI N, JAN G, et al. Endophytic Fungal Diversity and Their Interaction with Plants for Agriculture Sustainability under Stressful Condition [J]. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 2020, 11(2): 115-123.
- [10] 易晓华. 植物内生真菌次生代谢产物研究进展 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(21): 255-260.
- [11] 史小凤. 9 株东北红豆杉内生真菌的分类研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2004.
- [12] 兰琪. 苦皮藤内生真菌中杀虫杀菌活性物质的初步研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2002.
- [13] 宋艳雨, 杨镇, 马晓颖, 等. 一株具有植物促生作用的沙棘内生真菌的分离鉴定 [J]. 辽宁农业科学, 2016(2): 19-22.
- [14] 赵晓璐, 周宁, 谢庆武, 等. 产纤维素酶荷叶内生真菌的筛选与鉴定 [J]. 中国食品添加剂, 2017(1): 71-76.

- [15] 靳泽星, 秦娅, 王洁丽, 等. 芽孢杆菌 SK007 的分类鉴定及其拮抗植物病原菌的功能分析 [J]. 微生物学通报, 2019, 46(10): 2591-2600.
- [16] 黄丽丹, 陈玉惠. 生防菌及相关生物技术在植物病害防治中的应用 [J]. 西南林学院学报, 2006, 26(1): 85-89.
- [17] 刘彩云, 许瑞瑞, 季洪亮, 等. 一株生防内生真菌的分离筛选、鉴定及抑菌特性 [J]. 植物保护学报, 2015, 42(5): 806-812.
- [18] 祁鹤兴, 贾倩, 高媛, 等. 宁夏枸杞果内生真菌多样性及其分布 [J]. 北方园艺, 2015(13): 153-157.
- [19] 徐全智. 宁夏枸杞内生真菌多样性及其生防作用评价 [D]. 银川: 宁夏大学, 2017.
- [20] 张运晖, 赵瑛, 张艳萍, 等. 一株玉米秸秆纤维素降解放线菌的筛选、鉴定及酶学特性研究 [J]. 微生物学杂志, 2023, 43(3): 52-59.
- [21] 方珍娟, 张晓霞, 马立安. 植物内生菌研究进展 [J]. 长江大学学报(自科版), 2018, 15(10): 41-45.
- [22] 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.
- [23] 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, (2023-10-17)[2023-11-03]. https://wenku.baidu.com/view/f3ac34020202740be1e9b97?fr=xueshu_top&_wktts_=1712307262197.
- [24] 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.
- [25] 常建萍, 马伟丽, 马桂花, 等. 水稻和狗尾草来源稻梨孢的鉴定及其交互侵染作用分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(16): 5347-5354.
- [26] 李婕, 李敏, 汪玲玲, 等. 高产纤维素酶真菌的筛选鉴定与紫外诱变选育研究 [J]. 饲料研究, 2023, 46(17): 76-81.
- [27] 金秋珠, 颜桢灵, 黄植清, 等. 产壳聚糖酶内生真菌的筛选、鉴定及酶活力初步研究 [J]. 广西植物, 2020, 40(9): 1332-1340.
- [28] 张爱梅, 殷一然, 孔维宝, 等. 西藏沙棘 5 种不同组织内生细菌多样性 [J]. 生物多样性, 2021, 29(9): 1236-1244.
- [29] 胡美娟, 周星辰, 王丽, 等. 苦豆子内生放线菌产酶特性分析及活性菌株鉴定 [J]. 北方园艺, 2013(16): 98-102.
- [30] 蒋莉莹, 曾禹睿慷, 白羽嘉, 等. 甜瓜链格孢菌的鉴定及其 CAZymes 活性研究 [J]. 保鲜与加工, 2022, 22(5): 86-90, 95.
- [31] 丁泽力, 周挺, 顾钢, 等. 一株具有纤维素酶活性细菌菌株的鉴定及其生物学活性 [J]. 亚热带农业研究, 2023, 19(3): 202-208.
- [32] 王欣宇. 特异性产纤维素酶东北红豆杉内生真菌的筛选及初步应用 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020.
- [33] 苏杭, 成胜, 孟祥佳, 等. 半夏立枯病菌拮抗内生细菌的分离鉴定及功能分析 [J]. 南方农业学报, 2023, 54(11): 3277-3291.
- [34] 宋艳雨, 杨镇, 马晓颖. 高效纤维素降解真菌的分离鉴定 [J]. 中小企业管理与科技(下旬刊), 2015(5): 253-254.

责任编辑 王新娟