

中国南方可培养嗜角蛋白真菌群落组成和多样性及影响因素

李旭¹, 张芝元¹, 董醇波¹, 张延威², 韩燕峰^{1*}

1 贵州大学生命科学学院真菌资源研究所/山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025

2 贵州师范学院贵州省高等学校林火生态与管理重点实验室, 贵州 贵阳 550018

摘要: 以鸡羽毛为钓饵, 对采自中国南方 13 个地区的 39 所医院土壤中的嗜角蛋白真菌富集培养。通过稀释平板法对土壤中可培养真菌进行分离, 探究不同地区嗜角蛋白真菌群落组成及多样性特征, 并揭示土壤理化因子与嗜角蛋白真菌之间的相关性。结果表明, 从不同地区医院土壤中共分离到嗜角蛋白真菌 11 916 株, 隶属于 4 门, 10 纲, 23 目, 42 科, 76 属, 各地区优势属不同, 其中奈尼兹皮菌属 *Nannizzia*、青霉属 *Penicillium* 和被孢霉属 *Mortierella* 为 13 个地区的共有属。在属水平上, 重庆地区嗜角蛋白真菌多样性和均匀度最高, 福建地区多样性及均匀度最低。Chao 1 和 ACE 丰富度指数表明, 广东和江苏两地区的丰富度均较高。相关性分析表明, 土壤中有有机碳(OC)、pH、速效氮(AN)、全磷(TP)、有机质(SOM)、碳氮比(C/N)显著影响嗜角蛋白真菌的群落组成和多样性, 其中 AN 与嗜角蛋白真菌多样性指数相关性最强, 是影响可培养嗜角蛋白真菌群落组成和多样性的主要因子。本研究结果揭示了 13 个地区的嗜角蛋白真菌群落组成、相对多度及优势类群皆存在差异且受到土壤理化因子的影响。该研究为了解嗜角蛋白真菌的种类和分布提供科学基础资料, 同时扩大了微生物角蛋白酶的菌种资源。

关键词: 土壤真菌; 丝状真菌; 真菌多样性; 土壤理化因子; 医院土壤

[引用本文]

李旭, 张芝元, 董醇波, 张延威, 韩燕峰, 2023. 中国南方可培养嗜角蛋白真菌群落组成和多样性及影响因素. 菌物学报, 42(12): 2356-2373

Li X, Zhang ZY, Dong CB, Zhang YW, Han YF, 2023. Community composition, diversity and influencing factors of culturable keratinophilic fungi in southern China. Mycosystema, 42(12): 2356-2373

资助项目: 国家自然科学基金(32060011, 32160007, 32260003); 贵州省百层次创新型人才培养项目(黔科合[2020]6005); 贵州省教育厅特色领域项目(黔教教 KY 字[2021]073)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32060011, 32160007, 32260003), the "Hundred" Talent Projects of Guizhou Province (QianKeHe [2020]6005), and the Guizhou Provincial Department of Education Characteristic Field Project (QianJiaohe KY character [2021]073).

*Corresponding author. E-mail: swallow1128@126.com

ORCID: LI Xu (0000-0002-0009-1147)

Received: 2023-06-25; Accepted: 2023-08-10

Community composition, diversity and influencing factors of culturable keratinophilic fungi in southern China

LI Xu¹, ZHANG Zhiyuan¹, DONG Chunbo¹, ZHANG Yanwei², HAN Yanfeng^{1*}

¹ Institute of Fungus Resources/Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

² Key Laboratory of Ecology and Management on Forest Fire in Higher Education Institutions of Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang 550018, Guizhou, China

Abstract: Random samples of keratinophilic fungi collected from green belts of 39 hospitals in 13 regions of southern China were enriched and cultured using chicken feathers as bait. Culturable fungi in soil were isolated by dilution plate method, and the community composition and diversity characteristics of keratinophilic fungi in different regions were investigated, and the correlation between soil physicochemical factors and keratinophilic fungi was revealed. A total of 11 916 isolates of keratinophilic fungi was obtained, belonging to 4 phyla, 10 classes, 23 orders, 42 families and 76 genera. The dominant genera are different in different regions, and *Nannizzia*, *Penicillium* and *Mortierella* were common in 13 regions. At the genus level, the diversity and evenness of keratinophilic fungi were the highest in Chongqing, and those were the lowest in Fujian. Chao 1 and ACE richness index showed comparatively high in Guangdong and Jiangsu. Correlation analysis showed that soil organic carbon (OC), pH, available nitrogen (AN), total phosphorus (TP), organic matter (SOM) and carbon/nitrogen ratio (C/N) significantly affected the community composition and diversity of keratinophilic fungi, and the correlation between AN and diversity index of keratinophilic fungi was utmost. AN is the main factor affecting the community composition and diversity of culturable keratinophilic fungi. In conclusion, the community composition, relative abundance and dominant groups of keratinophilic fungi in 13 regions were different and were affected by soil physicochemical factors.

Keywords: soil fungi; filamentous fungi; fungal diversity; soil physicochemical factors; hospital soil

角蛋白是人体毛发、指甲及动物爪、角和羽毛的重要组成部分,因富含二硫键、氢键等结构,导致其具有较高机械强度,难以被分解回收利用(Wang *et al.* 2016)。而嗜角蛋白真菌(keratinophilic fungi)能分泌角蛋白酶来降解利用各种角蛋白基质,具有较好的开发应用潜力(李欣等 2022)。据报道,一些嗜角蛋白真菌具致病性,可侵入人类或动物富含角蛋白的附属器官和皮肤组织等而引起浅部感染,它们被称为皮肤癣菌(Gräser *et al.* 2018)。根据最新的分类,皮肤癣菌(典型嗜

角蛋白真菌)主要指裸囊菌科及其近缘属中部分成员,如毛癣菌属 *Trichophyton* Malmsten、小孢子菌属 *Microsporum* Gruby、奈尼兹皮菌属 *Nannizzia* Stockdale、节皮菌属 *Arthroderma* Curr.、表皮癣菌属 *Epidermophyton* Sabour.、帕拉癣菌属 *Paraphyton* Y. Gräser, Dukik & de Hoog、冠癣菌属 *Lophophyton* Matr. & Dassonv.、栉霉属 *Ctenomyces* Eidam 和 *Guarromyces* Y. Gräser & Hoog (Gräser *et al.* 2018)。虽然部分嗜角蛋白真菌具有致病性,但这类资源还可产生丰富的酶和

有用的次生代谢产物,对人类社会产生巨大积极影响,如星状曲霉 *Aspergillus stelliformis*、黄褐隐囊菌 *Aphanoascus fulvescens* 及节状金孢 *Chrysosporium articulatum* 产生高活性的角蛋白酶可用于降解顽固的角蛋白废物,其降解产物可作为有机肥料、生长促进剂及工业材料等(Alwakeel *et al.* 2021)。因此,对环境中的此类真菌的种类和分布进行调查,在公共卫生安全和工农业生产等方面具有非常重要的意义。

由于目前培养技术的限制,自然环境中大量的微生物未被分离培养,以致自然环境中尚存大量的“暗物质”(Marcy *et al.* 2007)。尽管高通量测序技术推动和加深了对环境中未培养微生物的认识,但大量微生物并不能在人工条件下被分离培养。因此微生物的分离培养一直是微生物学领域的基本任务,也是开发利用微生物的首要基础。自 Vanbreuseghem (1952)采用毛发钓饵技术从土壤中分离获得嗜角蛋白真菌以来,该方法已然成为从土壤中分离获取嗜角蛋白真菌的经典方法(Zhang *et al.* 2020)。迄今,对这类资源的分离主要以人或动物源的材料为钓饵,如禽类的羽毛、马鬃、羊毛、人类的头发和指甲等富角质材料(Muhsin & Hadi 2002; Mandeel *et al.* 2011; Javoreková *et al.* 2012; Malek *et al.* 2013; Singh & Kushwaha 2015)。传统上,研究者在分离嗜角蛋白真菌时,仅从钓饵富集处理后的富角质材料上直接挑取纯化嗜角蛋白真菌(Anane *et al.* 2015; Deshmukh *et al.* 2021; Taghipour *et al.* 2021),但这种方法往往会错失其他丰度稍低的类群。而对钓饵富集处理后的土壤进行真菌分离,不但能获得样本中常见的嗜角蛋白真菌类群,同时还能获得大量以往被忽略的嗜角蛋白真菌(Zhang *et al.* 2019, 2020)。目前的研究报道主要是针对单一或少数地区的可培养嗜角蛋白真菌的分离鉴定,以及土壤理化因子对其多样性的影响,缺少对较大区域尺度的可培养嗜角蛋白真菌多样性的全面

解析,影响了对跨区域可培养嗜角蛋白真菌种类的深入认识。

土壤中蕴含着丰富的嗜角蛋白真菌资源,尤其是富含角蛋白底物的环境土壤中仍然藏匿着许多未知的嗜角蛋白类群(Singh *et al.* 2009; Soleymani *et al.* 2015; 张芝元等 2017; Wang *et al.* 2023)。医院土壤是人员密集流动的城市生境之一,也是毛发和皮肤碎屑汇聚的重要场所。这些土壤中经过鸡羽毛的富集会有哪些嗜角蛋白真菌种类?不同地区的真菌群落是否有差异?这些差异是否与土壤理化因子有关联?为了解决这些问题,本研究通过鸡羽毛对采自中国南方 13 个市 39 所医院的土样进行钓饵富集,基于传统分离培养技术对嗜角蛋白真菌的多样性进行了调查,并分析了嗜角蛋白真菌与土壤理化因子的相关性。

1 材料与方法

1.1 样本采集和处理

2020 年 8 月于中国南方的 12 个省的省会城市和重庆市共 13 个市,每个市选取 3 所医院,于医院绿化带采集距地表 3–10 cm 的土壤(Zhang *et al.* 2019; 张芝元 2021),每所医院随机采取 15 份土样。样本采集后用无菌塑封袋密封后,室温保存并立即带回实验室。将采自同一所医院的 15 份土样,随机均分为 3 组,每组 5 份。即在无菌条件下,从每份样本中分别称取 200 g,共 1 000 g 充分混匀,即每个医院 3 份。然后,从每个混合样品中称取 500 g,参照 Vanbreuseghem (1952)的方法进行毛发钓饵富集处理,即在无菌条件下向每个样品中添加无菌羽毛 2 g。处理完成后置于恒温恒湿培养箱中培养 30 d,培养条件为温度 25 °C,湿度 70%,暗培养。待培养结束后,将采自同一所医院,每组经富集处理后的 3 份土样各自充分混匀(用于可培养真菌的分离及理化指标的测定)。本研究共对 39 份土样进行

可培养真菌的分离和研究。

1.2 可培养真菌的分离鉴定

1.2.1 可培养真菌的分离

菌株分离采用经典的稀释平板法(Zhang *et al.* 2019, 2020; Li *et al.* 2022), 即称 2 g 样品于加有玻璃珠和 20 mL 无菌水的锥形瓶中, 涡旋振荡混匀 10 min, 在超净工作台中取 1 mL 土壤悬液于 9 mL 无菌水试管中混匀, 得到 10^{-1} 稀释样品, 最终稀释至 10^{-3} 。采用混菌法接种于沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA)上, 即取 1 mL 10^{-3} 稀释土壤悬液于无菌培养皿中, 然后加入 SDA 培养基并轻微摇晃使悬液和培养基充分混匀(每个样本 3 个重复)。待凝固后置于恒温培养箱中, 25 °C 恒温培养 2–3 d, 待长出单菌落后计数, 并作初步鉴定, 随后转接至马铃薯蔗糖培养基(PDA)平板上进行纯化。纯化的菌株孢子悬液移入 30% 的甘油, 置于 -80 °C 超低温冰箱, 保存于贵州大学真菌资源研究所(GZAC)。

1.2.2 可培养真菌的分子鉴定

按照真菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司)操作流程进行 DNA 的提取。采用通用引物 ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'和 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' [生工生物工程(上海)股份有限公司] 进行扩增(White *et al.* 1990)。扩增采用 25 μ L 体系: ddH₂O 8.5 μ L, 模板 2 μ L, 引物 ITS1 和 ITS4 均为 1 μ L, Master mix 12.5 μ L。PCR 反应条件: DNA 预变性 94 °C 5 min; 94 °C DNA 变性 1 min, 50 °C 引物退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。将检测合格的 PCR 产物交由昆泰锐(武汉)生物技术有限责任公司进行纯化并测序。原始序列处理、BLASTn 及系统发育分析: 运用 Chromas 查看样品原始峰图, 校勘是否有杂峰、套峰等现象; 然后将准确无误的 ITS 序列于 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 进行 BLASTn 在线比对; 下载相关序列后, 运用 PhyloSuite 1.16 (Zhang *et al.* 2020) 进行

序列对比、剪齐、模型选择及系统发育分析。

1.2.3 可培养真菌的形态鉴定

将纯化后的菌株点种于 PDA 平板上, 25 °C 恒温培养 7 d, 测量菌落直径, 记录菌落特征。再用透明胶带于近菌落边沿部分粘贴制片, 于显微镜下观察产孢结构, 并测量记录分生孢子形状、大小及分生孢子梗等重要显微特征。根据分子鉴定结果, 查阅文献并进行形态特征综合鉴定。

1.3 可培养嗜角蛋白真菌多样性分析

本研究以分离频率(isolation frequency, IF) 来判断中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌群落的优势类群, 依据庞雄飞和尤民生(1996)对优势属、常见属和稀有属的定义: 某菌群占整体菌群的百分比 $\geq 10\%$, 即为优势属; 1%–10% 时为常见属; $\leq 1\%$ 为稀有属。以 Shannon Wiener 多样性指数(Shannon)、Chao 1 和 ACE 丰富度指数、Pielou 均匀度指数对中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌进行多样性分析(Jost 2006, 2007; 葛伟等 2021; 张青青等 2021)。

1.4 土壤理化因子分析

将富集后土样平铺于通风良好无污染环境中风干, 待土样风干后用研钵研细, 过筛以用于土壤 pH、速效氮(AN)、全氮(TN)、全磷(TP)及有机质(SOM) 5 个指标的测定。参照《土壤农化分析》(鲍士旦 2000)进行各指标的测定。其中, 土壤 pH (水土比 2.5:1) 采用电位法测定; 土壤速效氮(AN)采用碱解扩散法测定; 土壤全氮(TN)采用半微量开氏法测定; 土壤全磷(TP)采用钼锑抗比色法(HClO₄-H₂SO₄ 消煮)测定; 土壤有机质(SOM)采用油浴锅加热重铬酸钾外加热法测定。OC 和 C/N 为衍生指标, 有机碳(OC)通过 SOM 换算得出, C/N 为 OC 与 TN 的比值。

1.5 数据处理及作图

用 Excel 2016 对数据进行统计整理, 多样性指数的计算均在 R 中进行。用 SPSS 22 进行理化指标和多样性指数数据单因素方差分析、

差异显著性用 Duncan 法比较, 图形制作使用软件 Origin 2021、联川生物平台(<https://www.omicstudio.cn/index>)、ImageGP 平台(<http://www.ehbio.com/ImageGP/index.php/Home/Login/login.html>)。土壤理化因子与微生物的相关性利用 R 进行 Pearson 相关系数分析; 土壤理化因子与微生物多样性指数也在 R 中进行 RDA 分析。

2 结果与分析

2.1 可培养嗜角蛋白真菌群落组成

从中国南方 39 份医院土壤中共分离到 11 916 株嗜角蛋白真菌, 鉴定为 4 门, 10 纲, 23 目, 42 科, 76 属(表 1)。在门水平上, 主要隶属于子囊菌门、担子菌门、毛霉门、卵菌门。其中以子囊菌门为优势门, 占总菌株数的 97.44%。在纲水平上, 优势纲为散囊菌纲和粪壳菌纲, 分别占总菌株数的 83.65%和 12.51%。在目水平上, 优势目为爪甲团囊菌目(74.71%)、肉座菌目(11.58%)和散囊菌目(8.95%)。在科水平上, 以裸囊菌科(38.74%)、爪甲团囊菌科(35.97%)和曲霉科(8.95%)为优势科。在属水平上, 奈尼兹皮菌属(31.48%)和金孢属(31.35%)为优势属。

2.2 中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌群落组成差异

2.2.1 不同地区可培养嗜角蛋白真菌的优势类群、常见类群和稀有类群

在安徽地区鉴定出 14 个属, 共 1 527 株, 其中金孢属(56.19%)、栉霉属(18.14%)和奈尼兹皮菌属(15.13%)为优势属, 枝穗霉属(4.78%)、青霉属(2.49%)和单梗霉属(1.57%)为常见属, 其余 8 个属为稀有属; 重庆地区鉴定出 19 个属, 共 353 株, 其中奈尼兹皮菌属(52.12%)和曲霉属(18.41%)为优势属, 腐质霉属(0.85%)、裂褶菌属(0.85%)、非致病性真菌属(0.28%)、枝孢属(0.28%)和地霉属(0.28%)为稀有属, 其余 12 个属为常见属; 在福建地区鉴定出 15 个属, 其中金孢属(51.64%)和青霉属(33.20%)为优势属, 奈尼

兹皮菌属(9.69%)、枝穗霉属(2.14%)和栉霉属(1.34%)为常见属, 其余 10 个属为稀有属; 在广东地区鉴定出 16 个属, 共 1 016 株, 其中奈尼兹皮菌属(85.63%)为优势属, 曲霉属(3.84%)、单梗霉属(3.74%)、青霉属(2.66%)和绿僵菌属(1.18%)为常见属, 其余 11 个属为稀有属; 在广西地区鉴定出 17 个属, 共 765 株, 其中奈尼兹皮菌属(58.30%)为优势属, 青霉属(0.92%)、腐质霉属(0.52%)、*Brunneochlamyosporium* (0.39%)、*Fusicolla* (0.39%)、小克银汉霉属(0.26%)、紫孢霉属(0.13%)和瓶霉属(0.13%)为稀有属, 其余 9 个属为常见属; 在贵州地区鉴定出 19 个属, 共 1 297 株, 其中奈尼兹皮菌属(47.03%)、非致病性真菌属(25.52%)和栉霉属(20.97%)为优势属, *Gamsia* (1.46%)和青霉属(1.31%)为常见属, 其余 14 个属为稀有属; 在海南地区鉴定出 12 个属, 共 1 001 株, 其中奈尼兹皮菌属(51.45%)和金孢属(39.06%)为优势属, 栉霉属(3.00%)、*Fusicolla* (3.00%)和枝穗霉属(1.20%)为常见属, 其余 7 个属为稀有属; 在湖南地区鉴定出 19 个属, 共 457 株, 其中 *Gongronella* (30.63%)、奈尼兹皮菌属(28.88%)、紫孢霉属(11.82%)和金孢属(10.28%)为优势属, 青霉属(3.50%)、*Gliocladiopsis* (3.50%)、栉霉属(2.63%)、木霉属(2.41%)和被孢霉属(1.09%)为常见属, 其余 10 个属为稀有属; 在江苏地区鉴定出 24 个属, 共 386 株, 其中金孢属(45.08%)、栉霉属(25.13%)和枝穗霉属(10.10%)为优势属, 常见属有 8 个, 其余 13 个属为稀有属; 在江西地区鉴定出 16 个属, 共 1 082 株, 其中金孢属(59.24%)、奈尼兹皮菌属(20.89%)和枝穗霉属(10.26%)为优势属, 栉霉属(5.45%)和紫孢霉属(1.20%)为常见属, 其余 11 个属为稀有属; 在四川地区鉴定出 16 个属, 共 865 株, 其中金孢属(38.03%)、紫孢霉属(37.57%)和奈尼兹皮菌属(15.72%)为优势属, 常见属有 4 个, 其余 9 个属为稀有属; 在云南地区鉴定出 18 个属, 共 951 株, 其中 *Aphanoascus* (22.92%)

表 1 中国南方可培养嗜角蛋白真菌群落组成
Table 1 Community composition of culturable keratinophilic fungi in southern China

门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	菌株数 Number of isolates	分离 频率 IF (%)
子囊菌门 Ascomycota	座囊菌纲 Dothideomycetes	煤炱目 Capnodiales	Cladosporiaceae	枝孢属 <i>Cladosporium</i>	32	0.27
			Acrocalymmaeae	<i>Acrocalymma</i>	5	0.04
			Coniothyriaceae	盾壳霉属 <i>Coniothyrium</i>	13	0.11
			Cucurbitariaceae	棘壳孢属 <i>Pyrenochaeta</i>	65	0.55
		假球壳目 Pleosporales	亚隔孢壳科 Didymellaceae	<i>Neodidymella</i>	2	0.02
				茎点霉属 <i>Phoma</i>	19	0.16
				<i>Stagonosporopsis</i>	2	0.02
			Phaeosphaeriaceae	<i>Setophaeosphaeria</i>	4	0.03
			格孢菌科	弯孢属	1	0.01
			Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>		
			曲霉科	曲霉属	243	2.04
	散囊菌纲 Eurotiomycetes	散囊菌目 Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus</i>		
				青霉属 <i>Penicillium</i>	805	6.76
				篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	18	0.15
				柁霉属 <i>Ctenomyces</i>	865	7.26
		爪甲团囊菌目 Onygenales	裸囊菌科 Arthrodermataceae	奈尼兹皮菌属 <i>Nannizzia</i>	3 751	31.48
			爪甲团囊菌科 Onygenaceae	<i>Aphanoascus</i>	218	1.83
				金孢属 <i>Chrysosporium</i>	3 736	31.35
				非致病性真菌属 <i>Uncinocarpus</i>	332	2.79
	锤舌菌纲 Leotiomycetes	柔膜菌目 Helotiales	蜡盘菌科	<i>Lambertella</i>	1	0.01
			Rutstroemiaceae			
			柔膜菌科 Helotiaceae	<i>Scytalidium</i>	6	0.05
	酵母纲 Saccharomycetes	酵母目 Saccharomycetales	双足囊菌科	<i>Galactomyces</i>	1	0.01
			Dipodascaceae			
				地霉属 <i>Geotrichum</i>	1	0.01
	粪壳菌纲 Sordariomycetes	Amphisphaeriales	拟盘多毛孢科	<i>Neopestalotiopsis</i>	1	0.01
			Pestalotiopsidaceae	拟盘多毛孢菌属 <i>Pestalotiopsis</i>	1	0.01

(待续)

(续表 1)

门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	菌株数 Number of isolates	分离 频率 IF (%)
		锥毛壳目 Coniochaetales	锥毛壳科 Coniochaetaceae	锥毛壳属 <i>Coniochaeta</i>	4	0.03
		小丛壳目 Glomerellales	不整小球囊菌科 Plectosphaerellaceae	<i>Brunneochlamydosporium</i>	3	0.03
				<i>Chordomyces</i>	1	0.01
				癣囊腔菌属 <i>Plectosphaerella</i>	5	0.04
		肉座菌目 Hypocreales	生赤壳科 Bionectriaceae	枝顶孢霉属 <i>Acremonium</i>	166	1.39
				枝穗霉属 <i>Clonostachys</i>	387	3.25
			麦角菌科 Clavicipitaceae	绿僵菌属 <i>Metarhizium</i>	12	0.10
			虫草科 Cordycipitaceae	白僵菌属 <i>Beauveria</i>	1	0.01
				<i>Gamszarea</i>	3	0.03
				单梗霉属 <i>Simplicillium</i>	62	0.52
			肉座菌科 Hypocreaceae	木霉属 <i>Trichoderma</i>	54	0.45
			丛赤壳科 Nectriaceae	赤壳属 <i>Cosmospora</i>	1	0.01
				柱孢霉属 <i>Cylindrocarpon</i>	11	0.09
				<i>Dactylonectria</i>	1	0.01
				镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	117	0.98
				<i>Fusicolla</i>	3	0.03
				<i>Gliocladiopsis</i>	16	0.13
				<i>Ilyonectria</i>	1	0.01
				<i>Pseudocosmospora</i>	80	0.67
				<i>Thelonectria</i>	1	0.01
				<i>Volutella</i>	9	0.08
			Niessliaceae	<i>Monocillium</i>	17	0.14
			线虫草科 Ophiocordycipitaceae	紫孢霉属 <i>Purpureocillium</i>	403	3.38
				弯颈霉属 <i>Tolypocladium</i>	4	0.03
			葡萄穗霉科 Stachybotryaceae	<i>Albifimbria</i>	2	0.02
				<i>Dimorphiseta</i>	9	0.08
				漆斑菌属 <i>Myrothecium</i>	3	0.03
				露湿拟漆斑菌 <i>Paramyrothecium</i>	8	0.07

(待续)

(续表 1)

门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	菌株数 Number of isolates	分离 频率 IF (%)
担子菌门 Basidiomycota	伞菌纲 Agaricomycetes	小囊菌目 Microascales	海球壳菌科 Halosphaeriaceae	<i>Parvothecium</i>	9	0.08
				<i>Halosarpheia</i>	18	0.15
				<i>Gamsia</i>	19	0.16
				<i>Wardomyces</i>	3	0.03
		粪壳菌目 Sordariales	毛壳科 Chaetomiaceae	毛葡萄属	4	0.03
				<i>Botryotrichum</i>	8	0.07
				<i>Chaetomium</i>	39	0.33
				<i>Humicola</i>	2	0.02
				<i>Cladorrhinum</i>	2	0.02
				<i>Zopfiella</i>	1	0.01
				<i>Phialemoniopsis</i>	1	0.01
		Sordariomycetes_ o_unclassified	Sordariomycetes_ f_unclassified	花顶孢属	1	0.01
				<i>Idriella</i>	6	0.05
	银耳纲 Tremellomycetes	伞菌目 Agaricales	裂褶菌科 Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum</i>	1	0.01
				丝核菌属	5	0.04
				<i>Rhizoctonia</i>	5	0.04
				耙齿菌属	6	0.05
		多孔菌目 Polyporales	耙齿菌科 Irpicaceae	<i>Irpex</i>	7	0.06
				<i>Tausonia</i>	7	0.06
				<i>Saitozyma</i>	13	0.11
				<i>Apiotrichum</i>	5	0.04
				<i>Trichosporon</i>	106	0.89
				被孢霉属	1	0.01
毛霉门 Mucoromycota	被孢霉纲 Mortierellomycetes	被孢霉目 Mortierellales	被孢霉科 Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	1	0.01
				吉尔霉属	3	0.03
				<i>Gilbertella</i>	143	1.20
				小克银汉霉属	7	0.06
				<i>Cunninghamella</i>	1	0.01
	毛霉纲 Mucoromycetes	毛霉菌目 Mucorales	小克银汉霉科 Cunninghamellaceae	<i>Gongronella</i>	143	1.20
				毛霉属	7	0.06
				<i>Mucor</i>	1	0.01
				瓶霉属	1	0.01
				<i>Saksenaaea</i>	1	0.01
卵菌门 Oomycota	Oomycota_c_ unclassified	霜霉目 Peronosporales	腐霉科 Pythiaceae	<i>Globisporangium</i>	1	0.01

奈尼兹皮菌属(22.19%)、枝顶孢霉属(17.46%)和枝穗霉属(10.30%)为优势属, 常见属有 7 个, 其余 7 个属为稀有属; 在浙江地区鉴定出 14 个属, 共 719 株, 其中金孢属(61.34%)和青霉属(20.86%)为优势属, 镰刀菌属(0.83%)、枝孢属(0.83%)、腐质霉属(0.70%)、*Volutella*、枝穗霉属(0.14%)和毛壳属 *Chaetomium* (0.14%)为稀有属, 其余 6 个属为稀有属。这些结果表明, 中国南方不同

地区可培养嗜角蛋白真菌群落组成和数量具有一定差异(图 1)。

2.2.2 不同地区可培养嗜角蛋白真菌的多样性

对 13 个中国南方地区可培养嗜角蛋白真菌的多样性进行比较分析(图 2), Shannon 指数从整体上来比较, 福建、广东与重庆之间差异性显著($P<0.05$), 其余地区差异不显著; Shannon 指数由高到低排列为重庆>江苏>湖南>云南>广

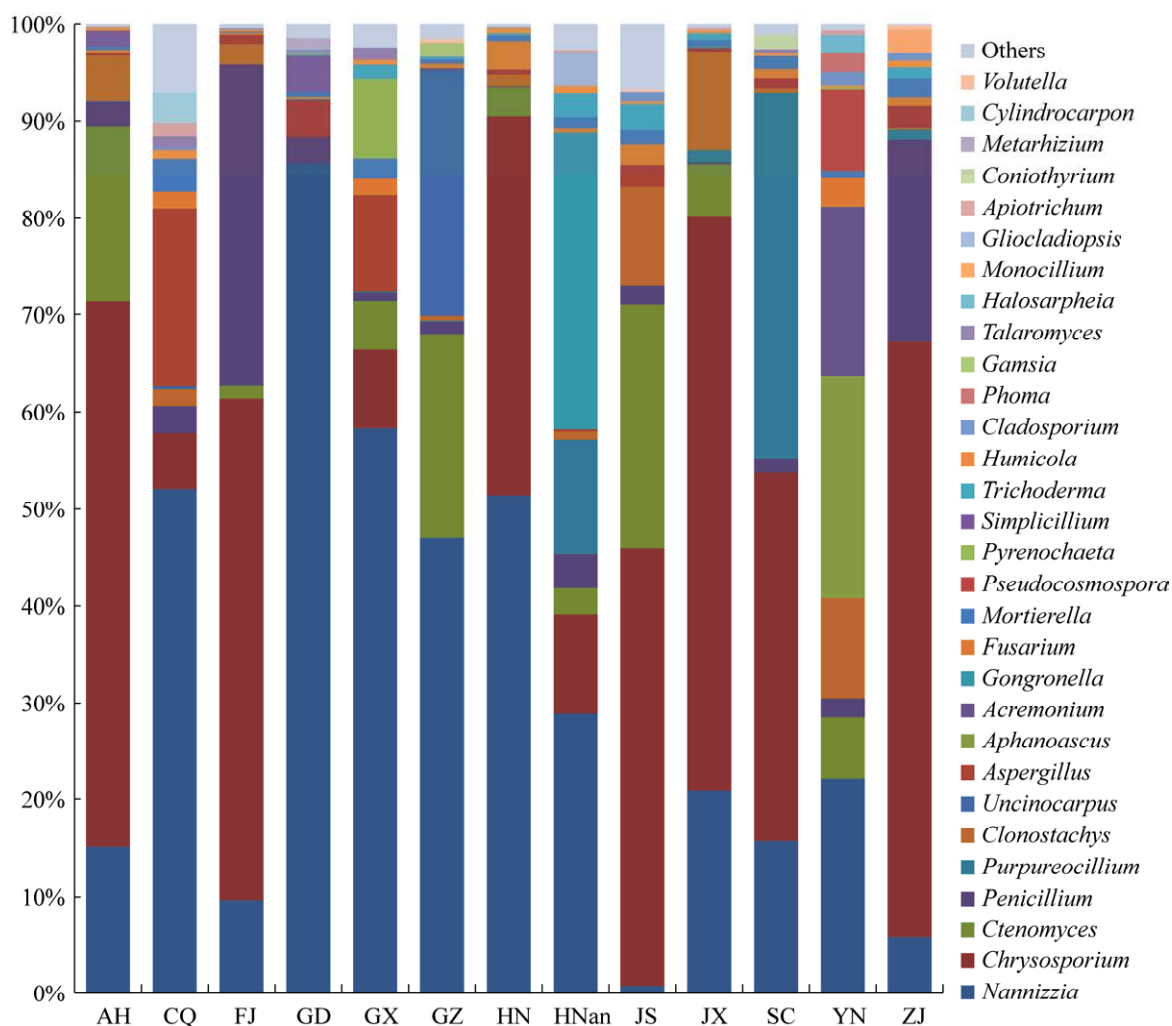


图 1 属水平上中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌群落组成和相对多度(top30) AH: 安徽; CQ: 重庆; FJ: 福建; GD: 广东; GX: 广西; GZ: 贵州; HN: 海南; HNan: 湖南; JS: 江苏; JX: 江西; SC: 四川; YN: 云南; ZJ: 浙江. 下同

Fig. 1 Community composition and relative abundance of culturable keratinophilic fungi in different regions of southern China at genus level (top30). AH: Anhui Province; CQ: Chongqing; FJ: Fujian Province; GD: Guangdong Province; GX: Guangxi Zhuang Autonomous Region; GZ: Guizhou Province; HN: Hainan Province; HNan: Hunan Province; JS: Jiangsu Province; JX: Jiangxi Province; SC: Sichuan Province; YN: Yunnan Province; ZJ: Zhejiang Province. The same below.

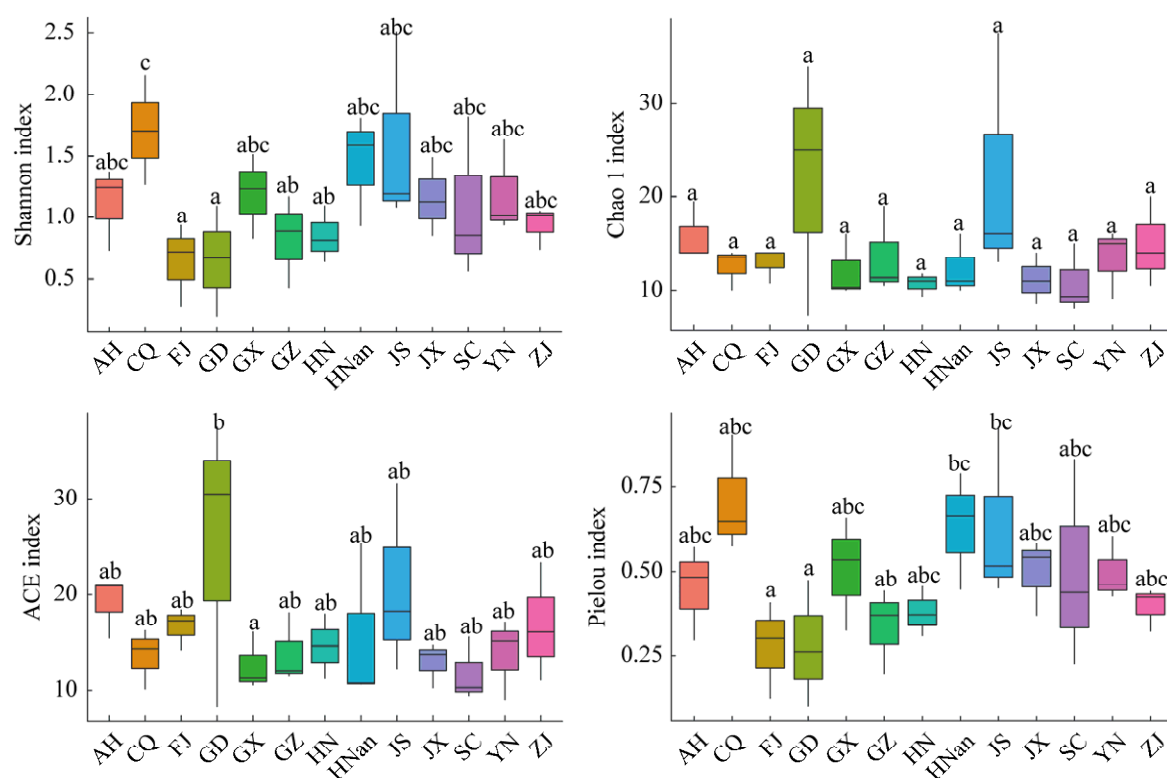


图 2 中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌 α 多样性指数分析

Fig. 2 Analysis of alpha diversity indexes of culturable keratinophilic fungi among different regions of southern China.

西>江西>安徽>四川>浙江>海南>贵州>广东>福建, 重庆样本中真菌群落多样性最大且值为 1.710, 福建样本中真菌群落多样性最小且值为 0.643; Chao 1 指数在不地区之间均没有显著性差异($P>0.05$), Chao 1 指数由高到低排列为江苏>广东>安徽>浙江>贵州>云南>福建>重庆>湖南>广西>江西>四川>海南; 江苏样本群落丰富度最大且值为 22.167, 海南样本群落丰富度最小且值为 10.694; ACE 指数从整体上来比较, 各地区之间均没有显著性差异, 但四川、广西与广东之间差异性显著($P<0.05$), 广东样本的 ACE 指数为 25.395 且最大, 四川样本的 ACE 指数最小且值为 11.755, ACE 指数由高到低排列为广东>江苏>安徽>浙江>福建>湖南>海南>贵州>云南>重庆>江西>广西>四川; Pielou 指数从整体上来比较, 各地区之间均没有显著性差异, 但福建、广东与重庆之间显著差异性($P<0.05$), Pielou

指数由高到低排列为重庆>湖南>江苏>广西>四川>云南>江西>安徽>浙江>海南>贵州>广东>福建, Pielou 指数的范围在 0.277–0.708, 重庆样本群落的均匀度最大, 福建的均匀度最小。

2.2.3 不同地区可培养嗜角蛋白真菌的共有属和特有属

韦恩图(图 3)显示, 13 个地区共有真菌属 3 个, 分别是奈尼兹皮菌属、青霉属和被孢霉属。不同地区间由其他相同的真菌组成, 贵州和江苏两地区的共有属有 *Tausonia* 和 *Plectosphaerella*; 安徽和福建两地的共有属为 *Acrocalymma*; 单梗霉属为安徽和广东的共有属; 福建和广东的共有属为 *Cladorrhinum*; *Albifimbria* 为福建和江西的共有属; 广西和云南的共有属为棘壳孢属; 裂褶菌属为广东和重庆的共有属; 非致病性真菌属为重庆和贵州所共有; 耙齿菌属为四川和湖南所共有; 湖南与广西的共有为小克银汉霉属; 毛葡萄

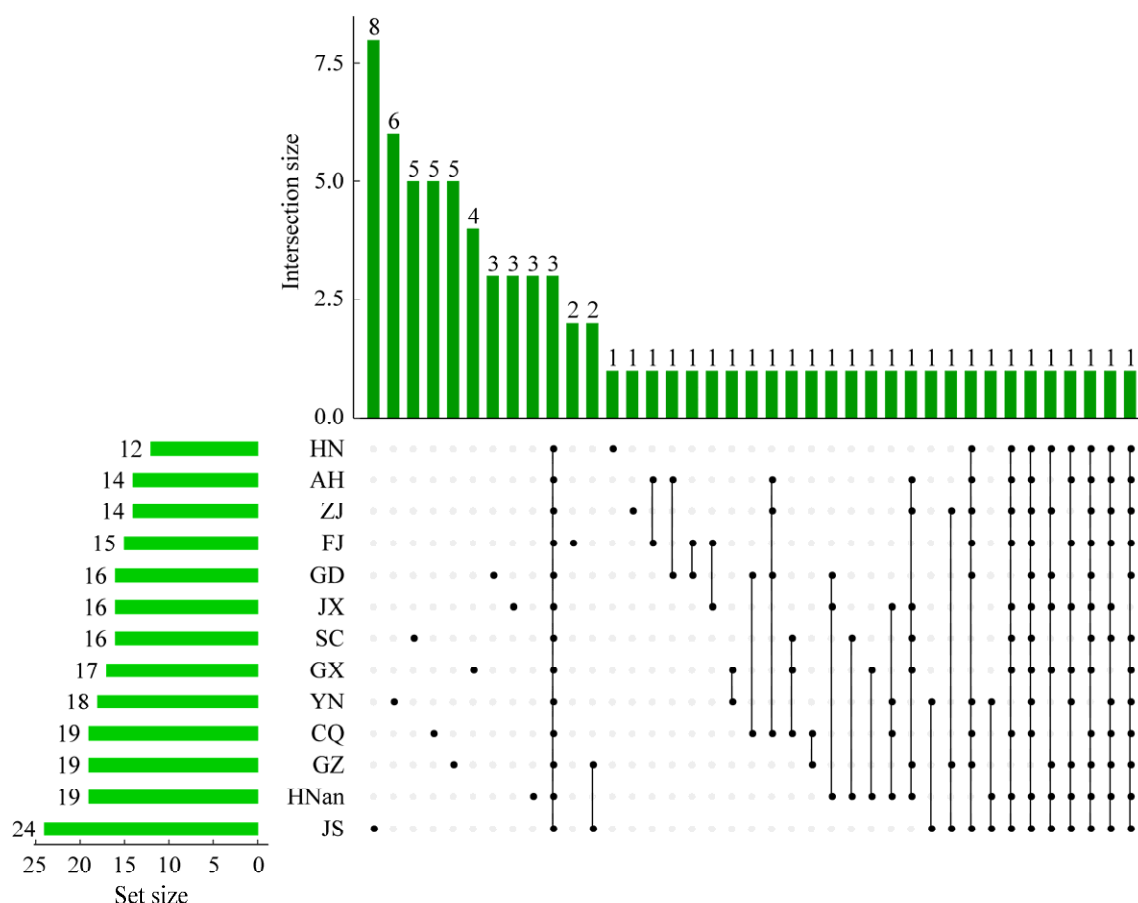


图3 在属水平各地区真菌群落韦恩图

Fig. 3 Venn map of fungal communities in various regions at the genus level.

属为江苏和云南所共有；篮状菌属为重庆、广西和四川 3 个地区的共有属；广东、湖南和江西共有属为 *Gongronella*；贵州、江苏和浙江的共有属为周刺座霉属 *Volutella*；毛霉属为湖南、江苏和云南所特有；安徽、重庆、广东和浙江 4 个地区所特有的属为毛壳属；安徽、广西、贵州、湖南、江西、四川和浙江地区共有属为紫孢霉属；广东、广西、贵州、海南、湖南、江苏、江西和浙江共有属为木霉属；栉霉属为安徽、福建、广西、贵州、海南、湖南、江苏、江西和云南所共有；枝孢属为安徽、重庆、福建、广东、贵州、海南、江苏、云南和浙江的共有属；金孢属分布于安徽、重庆、福建、广西、海南、湖南、江苏、江西、四川和浙江；除广东和广西外，枝穗霉属广泛分布于其他 11 个地区；安徽、重庆、福建、

广东、广西、海南、湖南、江苏、四川和浙江共有真菌属 3 个，它们分别是曲霉属、腐质霉属和镰刀菌属。同时一些真菌呈现出一定特异性和专一性，在不同样地都有各自特有类群。其中江苏的特有属最多，多达 8 个，分别是 *Dimorphiseta*、锥毛壳属、漆斑菌属、*Globisporangium*、花顶孢属、*Ilyonectria*、*Phialemoniopsis* 和 *Zopfiella*。云南具有 6 个特有属，分别是 *Aphanoascus*、枝顶孢霉属、*Pseudocosmospora*、茎点霉属、*Halosarpheia* 和赤壳属。四川、贵州和重庆分别具有 5 个特有属，四川特有属依次是盾壳霉属、*Stagonosporopsis*、*Neodidymella*、*Chordomyces* 和 *Dactylonectria*；贵州特有属为 *Gamsia*、*Scytalidium*、*Wardomyces*、拟盘多毛孢菌属和 *Thelonectria*；重庆特有属为柱孢霉属、

Saitozyma、毛孢子菌属、弯颈霉属和地霉属。广西有 *Parvothecium*、*Brunneochlamydosporium*、*Fusicolla* 和 *Saksenaea*，共 4 个特有属。江西、湖南和广东分别具有 3 个特有属，江西特有属是白僵菌属、弯孢属和丝核菌属；湖南特有属为 *Gliocladiopsis*、*Setophaeosphaeria* 和 *Neopestalotiopsis*；广东特有属为绿僵菌属、露湿拟漆斑菌和吉尔霉属。福建有 *Galactomyces* 和 *Lambertella*，共 2 个特有属。浙江和海南特有属为 1 个，分别是 *Monocillium* 和 *Gamszarea*。综上所述，中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌群落组成与分布存在较明显差异。

2.3 不同地区土壤理化因子分析

数据分析表明，中国南方不同地区土壤理化因子存在差异(表 2)。不同地区土壤 pH 值接近中性，其范围在 7.17–7.73，云南地区的 pH 值最大；土壤 AN 除了江西和四川、重庆和广西无显著差异外，其余地区之间均具有显著差异($P<0.05$)，云南地区的土壤速效氮最高，其含量为 624.92 mg/kg；土壤 TP 含量范围在 4.61–15.20 g/kg；土壤 SOM 除了江西和江苏、湖南和云南无显著差异外，其余地区之间均具有显著差异($P<0.05$)，

且广西地区的含量为 43.40 g/kg，为最高含量；土壤 OC 除部分地区外，其余地区均具有显著差异($P<0.05$)，有机碳的含量范围在 7.67–25.18 g/kg；土壤 TN 值相对较小，其范围在 0.65–1.56 g/kg；土壤 C/N 在福建地区最低，其值为 11.81，贵州地区最高，其值为 69.72。

2.4 不同地区可培养嗜角蛋白真菌群落组成和土壤理化因子相关性

中国南方不同地区土壤理化因子与可培养嗜角蛋白真菌群落组成，相对多度前 30 的 Pearson 相关分析结果(图 4)表明，土壤 AN 与 *Aphanoascus* 和 *Gliocladiopsis* 显著正相关，而与金孢属具有极显著负相关性($P<0.01$)；土壤 C/N 与 *Gliocladiopsis* 具有极显著正相关($P<0.01$)；土壤 OC 与曲霉属和奈尼兹皮菌属具有显著的正相关，与金孢属具有显著负相关；土壤 pH 与 *Gliocladiopsis* 具有显著负相关；土壤 SOM 与曲霉属具显著正相关，与 *Gliocladiopsis* 具极显著正相关($P<0.01$)，与金孢属具显著负相关性；土壤 TP 与镰刀菌属具有显著正相关，与枝顶孢霉属和 *Pseudocosmospora* 具有极显著正相关性($P<0.01$)。

表 2 中国南方不同地区土壤理化因子

Table 2 Soil physicochemical factors in different regions of southern China

样本 Sample	pH	AN (mg/kg)	TP (g/kg)	SOM (g/kg)	OC (g/kg)	TN (g/kg)	C/N
AH	7.55±0.01g	122.74±2.97c	7.99±0.45bc	26.48±1.03e	15.36±0.60e	1.37±0.03i	14.18±0.72c
CQ	7.30±0.01b	416.28±4.07i	7.60±0.66b	32.92±0.62g	19.10±0.36g	1.18±0.03g	16.23±0.75d
FJ	7.40±0.02cd	242.89±2.32g	4.61±0.30a	13.22±0.80a	7.67±0.47a	0.65±0.02a	11.81±0.47a
GD	7.31±0.02b	355.85±4.08h	11.85±0.78f	35.27±0.68h	20.46±0.39h	1.26±0.01h	16.04±0.13d
GX	7.50±0.08fg	416.49±5.41i	13.27±0.12g	43.40±0.79k	25.18±0.46k	1.56±0.06j	16.13±0.35d
GZ	7.64±0.09h	211.53±2.23e	14.28±0.14h	37.80±0.18i	21.93±0.11i	1.18±0.03g	69.72±0.42g
HN	7.34±0.05bc	17.00±0.10a	4.84±0.32a	18.67±1.20c	10.83±0.69c	0.82±0.03b	13.28±1.32bc
HNan	7.17±0.01a	579.04±0.70j	8.86±0.18d	40.67±0.37j	23.59±0.21j	1.11±0.04f	21.66±0.91f
JS	7.43±0.03de	229.53±3.62f	10.26±0.48e	21.98±1.10d	12.75±0.64d	0.98±0.01d	12.91±1.00abc
JX	7.33±0.02bc	190.32±5.52d	8.71±0.34cd	21.36±1.14d	12.39±0.66d	0.92±0.01c	13.52±0.82bc
SC	7.22±0.01a	191.98±0.53d	8.42±0.16cd	17.08±0.03b	9.91±0.02b	0.78±0b	12.64±0.06ab
YN	7.73±0.03i	624.92±0.84k	15.20±0.43i	41.55±0.48j	24.10±0.28j	1.35±0.02i	17.72±0.32e
ZJ	7.48±0.01ef	74.15±1.68b	12.92±0.55g	30.38±1.17f	17.62±0.68f	1.03±0.01e	17.11±0.77de

不同小写字母表示不同地区间差异显著($P<0.05$)
Different lowercase letters represent significant difference among different regions ($P<0.05$).

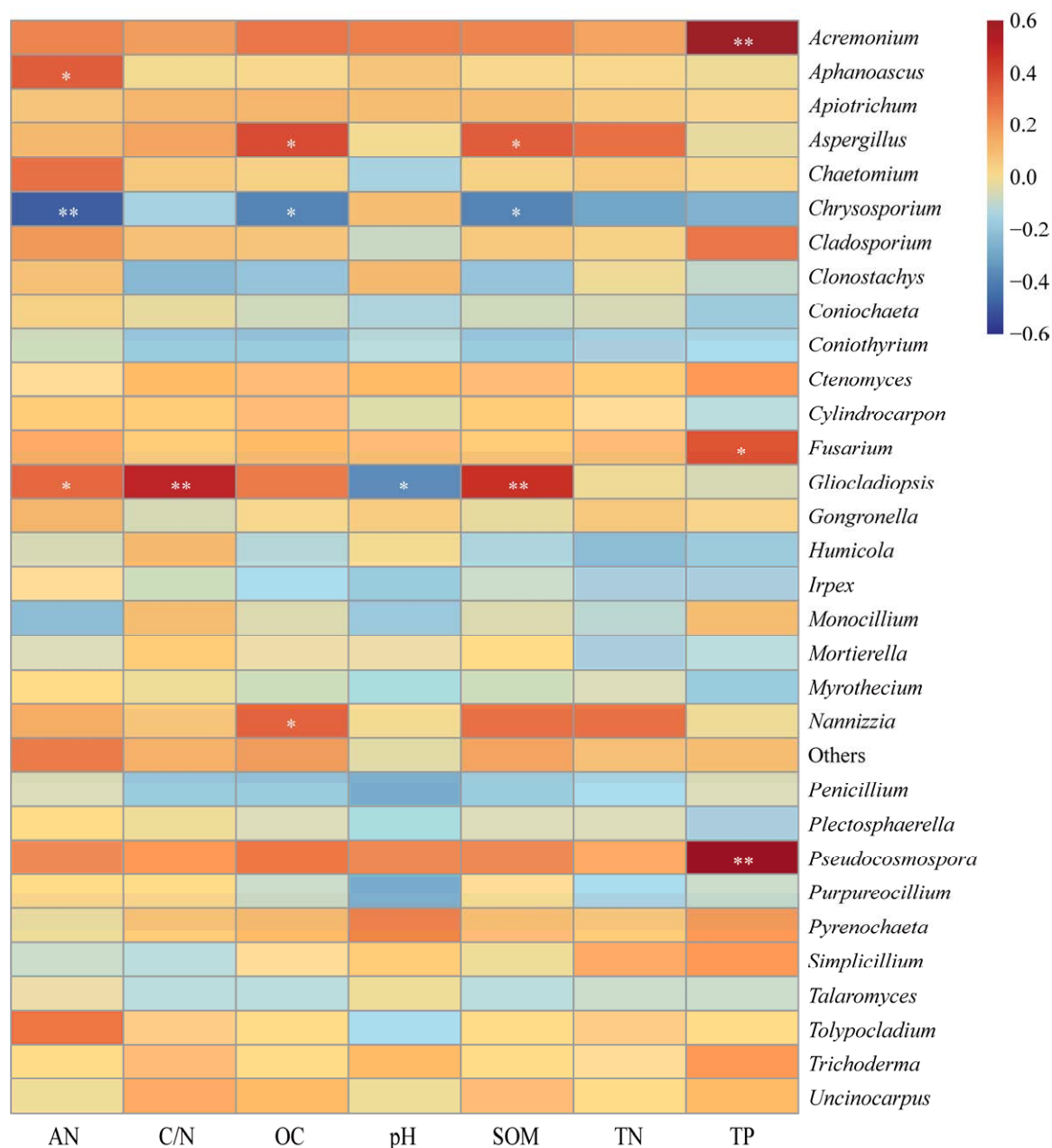


图 4 中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌属水平与土壤理化因子相关性分析(top30) *表示具显著相关性($P<0.05$); **表示具极显著相关性($P<0.01$)

Fig. 4 Correlation analysis between culturable keratinophilic fungi and soil physicochemical factors in different regions of southern China (top30). * Indicates a significant correlation ($P<0.05$); ** Indicates a extremely significant correlation ($P<0.01$).

RDA 分析进一步发现,土壤理化因子和嗜角蛋白真菌多样性具有明显的相关性。其中,Shannon 多样性指数和 Pielou 均匀度与 pH 值呈负相关关系,而 Chao 1 和 ACE 丰富度指数与 pH 值几乎没有相关性;AN、C/N、TP、SOM、

OC、TN 均与 Shannon 多样性指数和 Pielou 均匀度呈正相关关系,但 Chao 1 和 ACE 丰富度指数均与除 OC 外的土壤理化因子呈负相关关系,土壤理化因子中 AN 对 α 多样性的相关性最强且影响最大(图 5)。

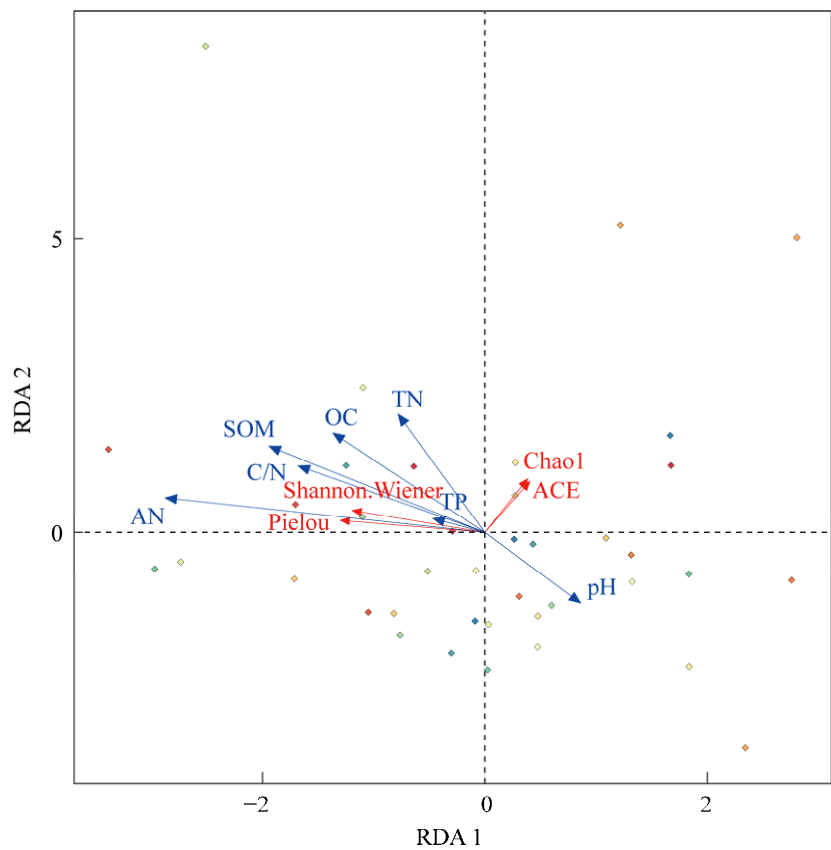


图 5 中国南方不同地区可培养嗜角蛋白真菌多样性指数与土壤理化因子冗余分析
Fig. 5 Diversity index and soil physicochemical factor redundancy analysis of culturable keratinophilic fungi in different regions of southern China.

3 讨论

3.1 医院土壤中含有丰富的可培养嗜角蛋白真菌

本研究从 13 个地区的 39 个医院土壤中共分离到 11 916 株真菌，经形态学和分子生物学鉴定为 76 个属。研究发现不同地区鸡羽毛富集的医院土壤中嗜角蛋白真菌类群不同，其中江苏省地区分离到嗜角蛋白类群可达 24 属，最少为海南地区，仅有 12 属；不同地区的优势类群也不同，主要的优势属为金孢属和奈尼兹皮菌属，它们是嗜角蛋白真菌中的常见属，这与之前的结果一致(张芝元 2018, 2021；任玉连等 2021)，且奈尼兹皮菌属为本研究所有地区的共有属，该属在相关的研究中在贵州、四川、重庆等南方地区均有发现(马晓平等 2017；张芝元 2018；俞向

前等 2019)；金孢属则在贵州、海南和云南等南方地区已有报道(张延威等 2013；Li *et al.* 2017；韩燕峰等 2019)。不同地区可培养嗜角蛋白真菌的共有属和特有属分析表明，可培养嗜角蛋白在不同地区分布具有一定的统一性和特异性。

3.2 可培养嗜角蛋白真菌和土壤理化因子的关系

中国南方不同地区医院土壤中可培养嗜角蛋白真菌 α 多样性指数整体分析结果表明没有显著差异，但是本研究中，重庆地区的 α 多样性 Shannon 多样性指数和 Pielou 均匀度均显著高于福建地区。这表明在重庆地区的可培养嗜角蛋白真菌多样性高且比较均匀，反之，福建则多样性低且不均匀；丰富度指数 Chao 1 和 ACE 在广东和江苏两地位居前列，表明两地可培养嗜角蛋白真菌物种丰富。说明虽然多样性指数整体上没

有差异但在个别地区之间差异明显。中国南方不同地区绝大部分可培养嗜角蛋白真菌与土壤理化因子呈正相关关系,少部分为负相关关系,说明土壤理化因子影响着嗜角蛋白真菌的组成。大量研究表明,非生物因子对土壤微生物群落组成和多样性变化的驱动作用已有报道(沈鑫等 2018)。土壤理化因子包括 pH 值、有效氮、磷和土壤有机物含量等是控制微生物群落组成和多样性的主要决定因素(Williams *et al.* 2017; Li *et al.* 2018)。这一观点也支持本研究土壤理化因子影响嗜角蛋白真菌组成和多样性的结果。

羽毛富集后,中国南方不同地区医院土壤理化因子除个别地区外,5 个理化指标及 2 个衍生指标均有显著性差异,其中 pH、TP、TN 在不同地区间变化幅度较小,但 AN 变化是最大的,如云南地区的 AN 甚至是海南地区的 36 倍以上;其次是 SOM,2 个衍生指标与 SOM 密切相关,因此 OC 和 C/N 的变幅也相对较大。导致该结果的重要原因可能是本研究中添加鸡羽毛这一富含角蛋白的基质富集诱导后,在嗜角蛋白真菌类群的作用下,角蛋白可被降解为多肽、寡肽、氨基酸以及其他无机物的混合物,引起了土壤理化因子的明显改变;AN 变化明显的原因可能为羽毛的降解过程中产生了氨类化合物。

此外,本研究还发现医院土壤中嗜角蛋白真菌组成及多样性是多个土壤环境因子共同作用的结果。其中 pH、SOM、TN、AN 和 TP 含量等对嗜角蛋白真菌组成和多样性起着重要作用。其中湖南特有属且为该地的优势属 *Gliocladiopsis* 与 AN、C/N、SOM 具有显著或极显著的正相关,但与 pH 具有显著的负相关,土壤理化因子也支持这一结果,湖南地区的 AN、C/N、SOM 均排在前列,pH 值在所有研究样本中最低,说明它对医院土壤环境有特殊的要求。有趣的是作者发现,优势类群金孢属却与 AN、OC、SOM 具有显著或极显著的负相关,可能是金孢属为环境中

常见属,对环境的要求不苛刻。湖南地区优势属曲霉属与 SOM 和 OC 呈正相关,这与任玉连等(2019, 2022)研究结果一致;奈尼兹皮菌属与 OC 呈正相关,这也为奈尼兹皮菌属分布广泛提供了一个证据,因为该属真菌常感染皮肤、头发和指甲(Gnat *et al.* 2020),而本试验土壤采集于医院,医院是毛发和皮肤碎屑聚集的重要场所且毛发中又含有 OC,这可能也是该属真菌与 OC 密切相关的重要原因之一。许多研究也揭示 AN、SOC、TN 和 pH 等土壤理化因子对土壤微生物组成和多样性影响较大(谢姆西努尔·图尔贡等 2023),而本研究通过 RDA 分析结果证实 AN 是影响中国南方不同地区医院土壤嗜角蛋白真菌 α 多样性的关键土壤理化因子。

3.3 可培养嗜角蛋白真菌的应用潜力

现今对含角蛋白类废物的处理方法普遍为物理(焚烧和填埋)和化学(酸碱法)方式,这不仅会给环境带来污染也会造成资源的浪费(李欣等 2022)。本研究分离出的真菌可以分解角蛋白废弃物,利用此类微生物对其进行降解会改善环境问题,避免资源浪费。许多研究表明,嗜角蛋白真菌处理角蛋白废弃物可增加土壤中的速效氮,从而提高植物对氮的有效利用(Passari *et al.* 2016; Tamreihao *et al.* 2017),不仅可作为缓释氮肥促进重要农作物的生长(Bhange *et al.* 2016; Kshetri *et al.* 2018),还会产生色氨酸,其对植物的生长发育具有重要作用(Kshetri *et al.* 2018)。此外,据报道,金孢属真菌是一类嗜角蛋白真菌,且可产生角蛋白酶、纤维素酶、脂肪酶、菊粉酶和 α -半乳糖苷酶等多种酶类物质及一些次生代谢产物,在工业和农业上具有独特的潜在应用价值(梁建东等 2007; 韩燕峰等 2017; 李欣等 2022)。由于复杂环境群落的多样性和生物相互作用的影响,在环境问题和工业生产中使用单一物种的情形逐渐暴露其不足,如稳定性和效率等;因而研究正转向功能稳定和效率高的微生物

生理功能群(Kang *et al.* 2020)。本研究分离获得大量隶属于嗜角蛋白生理功能群的成员,为自下而上构建精简的角蛋白降解真菌生理功能群储备了大量菌株。

[REFERENCES]

- Alwakeel SS, Ameen F, Gwaiz HA, Sonbol H, Alghamdi S, Moharram AM, Al-Bedak OA, 2021. Keratinases produced by *Aspergillus stelliformis*, *Aspergillus sydowii*, and *Fusarium brachygibbosum* isolated from human hair: yield and activity. *Journal of Fungi*, 7(6): 471-484
- Anane S, Al-Yasiri MHY, Normand AC, Ranque S, 2015. Distribution of keratinophilic fungi in soil across Tunisia: a descriptive study and review of the literature. *Mycopathologia*, 180: 61-68
- Bao SD, 2000. Soil agronomic analysis. China Agriculture Press, Beijing. 1-495 (in Chinese)
- Bhange K, Chaturvedi V, Bhatt R, 2016. Ameliorating effects of chicken feathers in plant growth promotion activity by a keratinolytic strain of *Bacillus subtilis* PF1. *Bioresources and Bioprocessing*, 3(1): 13
- Deshmukh SK, Dwivedi N, Verekar SA, 2021. Keratinophilic fungi from the feathers of emu (*Dromaius novaehollandiae*) in Maharastra India. *Journal of Medical Mycology*, 31(2): 101133-101137
- Gnat S, Łagowski D, Nowakiewicz A, Dylag M, 2020. Unusual dermatomycoses caused by *Nannizzia nana*: the geophilic origin of human infections. *Infection*, 48: 429-434
- Gräser Y, Monod M, Bouchara JP, Dukik K, Nenoff P, Kargl A, Kupsch C, Zhan P, Packeu A, Chaturvedi V, Hoog SD, 2018. New insights in dermatophyte research. *Medical Mycology*, 56(1): 2-9
- Han YF, Shao QY, Yang J, Zhang YW, Chen WH, Liang JD, Liang ZQ, 2019. Four new soil-inhabiting *Chrysosporium* records. *Microbiology China*, 46(9): 2207-2213 (in Chinese)
- Han YF, Shen X, Liang JD, Liang ZQ, 2017. Taxonomic advance and characteristics of the genus *Chrysosporium*. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 36(5): 1-6 (in Chinese)
- Javoreková S, Labuda R, Makova J, Novak J, Medo J, Majercikova K, 2012. Keratinophilic fungi isolated from soils of long-term fold-grazed, degraded pastures in national parks of Slovakia. *Mycopathologia*, 174(3): 239-245
- Jost L, 2006. Entropy and diversity. *Oikos*, 113(2): 363-375
- Jost L, 2007. Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology*, 88(10): 2427-2439
- Kang DR, Jacquiod S, Herschend J, Wei S, Nesme J, Sørensen SJ, 2020. Construction of simplified microbial consortia to degrade recalcitrant materials based on enrichment and dilution-to-extinction cultures. *Frontiers in Microbiology*, 10: 3010-3020
- Kshetri P, Roy SS, Sharma SK, Singh TS, 2018. Feather degrading, phytostimulating, and biocontrol potential of native actinobacteria from north eastern Indian Himalayan region. *Journal of Basic Microbiology*, 58(9): 730-738
- Li P, Li YC, Zheng XQ, Ding LN, Ming F, Pan AH, Lv WG, Tang XM, 2018. Rice straw decomposition affects diversity and dynamics of soil fungal community, but not bacteria. *Journal of Soils and Sediments*, 18: 248-258
- Li X, Han SM, Zhang ZY, Han YF, Liang ZQ, 2022. Delimitation, research methods and application of keratinophilic fungi. *Microbiology China*, 49(1): 292-305 (in Chinese)
- Li X, Zhang ZY, Ren YL, Liang ZQ, Han YF, 2022. Diversity and functional analysis of soil culturable microorganisms using a keratin baiting technique. *Microbiology*, 91(5): 542-552
- Li Z, Zeng GP, Ren J, Zou X, Han YF, 2017. *Chrysosporium leigongshanense* sp. nov. from Guizhou Province, China. *Mycosphere*, 8(8): 1210-1216
- Liang JD, Han YF, Liang ZQ, 2007. A Study and application progress in a group of keratinophilic fungi—the genus *Chrysosporium*. *Journal of Fungal Research*, 5(2): 113-118 (in Chinese)
- Ma XP, Ye J, Wang CD, Gu Y, 2017. Culture conditions screening for *Microsporum gypseum* isolated from giant panda. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 43(2): 180-186 (in Chinese)
- Malek E, Moosazadeh M, Hanafi P, Nejat ZA, Amini A, Mohammadi R, Kohsar F, Niknejad F, 2013. Isolation of keratinophilic fungi and aerobic actinomycetes from park soils in Gorgan, north of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(10): e11250
- Mandeel Q, Nardoni S, Mancianti F, 2011. Keratinophilic fungi on feathers of common clinically healthy birds in Bahrain. *Mycoses*, 54(1): 71-77
- Marcy Y, Ouverney C, Bik EM, Lösekann T, Ivanova N, Martin HG, Szeto E, Platt D, Hugenholtz P, Relman DA, Quake SR, 2007. Dissecting biological “dark matter”

- with single-cell genetic analysis of rare and uncultivated TM7 microbes from the human mouth. *Proceedings of The National Academy Sciences*, 104(29): 11889-11894
- Muhsin TM, Hadi RB, 2002. Degradation of keratin substrates by fungi isolated from sewage sludge. *Mycopathologia*, 154(4): 185-189
- Pang XF, You MS, 1996. Insect community ecology. China Agriculture Press, Beijing. 1-147 (in Chinese)
- Passari AK, Chandra P, Zothanpuia, Mishra VK, Leo VV, Gupta VK, Kumar B, Singh BP, 2016. Detection of biosynthetic gene and phytohormone production by endophytic actinobacteria associated with *Solanum lycopersicum* and their plant-growth-promoting effect. *Research in Microbiology*, 167(8): 692-705
- Ren YL, Dong CB, Shao QY, Zhang ZY, Liang ZQ, Han YF, 2022. Application of redundancy analysis in microbial ecology. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 41(1): 41-48 (in Chinese)
- Ren YL, Lu M, Fan FX, Peng SX, 2019. The relationship between soil fungi and physico-chemical properties in swamp meadow of plateau wetlands swamp meadow of plateau wetlands. *Ecological Science*, 38(1): 42-49 (in Chinese)
- Ren YL, Zhang ZY, Dong CB, Shao QY, Han YF, Liang ZQ, 2021. Research advances in drug resistance of keratinophilic fungi. *Mycosystema*, 40(10): 2579-2598 (in Chinese)
- Shen X, Zhang ZY, Zheng H, Zou X, Han YF, Liang ZQ, 2018. Influences of keratin-rich organic materials on fungal community composition in a hospital grassplot soil. *Mycosystema*, 37(8): 999-1005 (in Chinese)
- Singh I, Kushwaha RKS, 2015. Keratinases and microbial degradation of keratin. *Advances in Applied Science Research*, 6(2): 74-82
- Singh I, Mishra A, Kushwaha R, 2009. Dermatophytes, related keratinophilic and opportunistic fungi in indoor dust of houses and hospitals. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3): 242-246
- Soleymani A, Hoseini M, Sharifi H, 2015. Species diversity of keratinophilic fungi in various soil type of Babol Medical University's Hospitals' yard. *International Journal of Applied Science and Technology*, 5(3): 55-59
- Taghipour S, Abastabar M, Piri F, Aboualigalehdari E, Jabbari MR, Zarrinfar H, Nouripour-Sisakht S, Mohammadi R, Ahmadi B, Ansari S, Katirae F, Niknejad F, Didehdar M, Nazeri M, Makimura K, Rezaei-Matehkolaei A, 2021. Diversity of geophilic dermatophytes species in the soils of Iran; the significant preponderance of *Nannizzia fulva*. *Journal of Fungi*, 7(5): 345-355
- Tamreihao K, Devi LJ, Khunjamayum R, Mukherjee S, 2017. Biofertilizing potential of feather hydrolyzate produced by indigenous keratinolytic *Amycolatopsis* sp. MBRL 40 for rice cultivation under field conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10: 317-320
- Tuergong XMXN, Zhang JB, Dong ZW, Ma XD, Liu SYH, 2023. The soil microbial community structure under retrogressive succession of an alpine wetland in the arid area. *Acta Microbiologica Sinica*, 63(4): 1603-1617
- Vanbreuseghem R, 1952. Biological technique for isolating dermatophytes from soil. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*, 32(2): 173-178
- Wang B, Yang W, Mckittrick J, Meyers MA, 2016. Keratin: structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in Materials Science*, 76: 229-318
- Wang HY, Zhang ZY, Ren YL, Shao QY, Chen WH, Liang JD, Liang ZQ, Han YF, 2023. *Multiverruca sinensis* gen. nov., sp. nov., a thermotolerant fungus isolated from soil in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 73(2): 005734
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JA, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*, 18(1): 315-322
- Williams A, Manoharan L, Rosenstock NP, Olsson PA, Hedlund K, 2017. Long-term agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange. *New Phytologist*, 213(2): 874-885
- Yu XQ, Wen DL, Pan SY, Qi XY, Wang TT, Chen Q, Xu L, Guo ZB, Xu WF, Ye CR, 2019. Diagnosis of canine psoriasis caused by *Microsporum gypseum*. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 51(6): 104-107 (in Chinese)
- Zhang QQ, Dong CB, Liang ZQ, Han YF, 2021. Community composition and diversity of culturable endophytic fungi in bark of *Eucommia ulmoides* from different regions of China. *Mycosystema*, 40(10): 2685-2699 (in Chinese)
- Zhang YW, Han YF, Liang JD, Liang ZQ, 2013. A new species of the genus *Chrysosporium* from the rhizosphere soil of palm. *Mycosystema*, 32(4): 612-616 (in Chinese)
- Zhang ZY, 2018. Species diversity of keratin-degrading fungi in the special eco-environment. Master Thesis, Guizhou University, Guiyang. 1-68 (in Chinese)
- Zhang ZY, 2021. Diversity and phylogeography of keratinophilic fungi in southern China. PhD Dissertation, Guizhou University, Guiyang. 1-192 (in Chinese)
- Zhang ZY, Chen WH, Zou X, Han YH, Huang JZ, Liang ZQ, Deshmukh SK, 2019. Phylogeny and taxonomy of two

new *Plectosphaerella* (Plectosphaerellaceae, Glomerellales) species from China. MycoKeys, 57: 47-60

Zhang ZY, Dong CB, Chen WH, Mou QR, Lu XX, Han YF, Huang JZ, Liang ZQ, 2020. The enigmatic Thelebolaceae (Thelebolales, Leotiomyces): one new genus *Solomyces* and five new species. Frontiers in Microbiology, 11: 572-596

Zhang ZY, Zheng H, Han YF, Chen WH, Liang ZQ, 2017. Diversity of keratin-degrading fungi in soil samples from several hospitals in Guizhou, Sichuan and Chongqing, Southwest China. Mycosystema, 36(11): 1504-1513 (in Chinese)

[附中文参考文献]

鲍士旦, 2000. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社. 1-495

葛伟, 张芝元, 董醇波, 邵秋雨, 刘宇星, 韩燕峰, 梁宗琦, 2021. 野生鸡油菌子实体可培养微生物多样性及其功能分析. 菌物学报, 40(5): 1054-1073

韩燕峰, 邵秋雨, 杨娟, 张延威, 陈万浩, 梁建东, 梁宗琦, 2019. 来自土壤的金孢属四个新记录种. 微生物学通报, 46(9): 2207-2213

韩燕峰, 沈鑫, 梁建东, 梁宗琦, 2017. 金孢属的分类研究进展及其分类特征. 山地农业生物学报, 36(5): 1-6

李欣, 韩淑梅, 张芝元, 韩燕峰, 梁宗琦, 2022. 嗜角蛋白真菌的界定、研究方法及其应用价值. 微生物学通报, 49(1): 292-305

梁建东, 韩燕峰, 梁宗琦, 2007. 一类嗜角蛋白真菌——金孢属的应用价值评介. 菌物研究, 5(2): 113-118

马晓平, 叶娇, 王承东, 古玉, 2017. 大熊猫源石膏样小孢子菌培养条件的筛选. 湖南农业大学学报(自然科学版), 43(2): 180-186

庞雄飞, 尤民生, 1996. 昆虫群落生态学. 北京: 中国农

业出版社. 1-147

任玉连, 董醇波, 邵秋雨, 张芝元, 梁宗琦, 韩燕峰, 2022. 冗余分析在微生物生态学研究中的应用. 山地农业生物学报, 41(1): 41-48

任玉连, 陆梅, 范方喜, 彭淑娴, 2019. 高原湿地沼泽化草甸土壤真菌与理化性质的关系. 生态科学, 38(1): 42-49

任玉连, 张芝元, 董醇波, 邵秋雨, 韩燕峰, 梁宗琦, 2021. 嗜角蛋白真菌耐药性研究进展. 菌物学报, 40(10): 2579-2598

沈鑫, 张芝元, 郑欢, 邹晓, 韩燕峰, 梁宗琦, 2018. 富角蛋白有机物对医院绿地真菌群落组成的影响. 菌物学报, 37(8): 999-1005

谢姆西努尔·图尔贡, 张经博, 董正武, 马晓东, 刘隋赞昊, 2023. 干旱区高寒湿地逆行演替下土壤微生物群落结构的研究. 微生物学报, 63(4): 1603-1617

俞向前, 文德亮, 潘世友, 齐新永, 王婷婷, 陈琦, 徐蕾, 郭志波, 徐伟峰, 叶承荣, 2019. 1例犬石膏样小孢子菌性皮癣的综合诊断. 畜牧与兽医, 51(6): 104-107

张青青, 董醇波, 梁宗琦, 韩燕峰, 2021. 不同产地杜仲树皮可培养内生真菌群落组成和多样性. 菌物学报, 40(10): 2685-2699

张延威, 韩燕峰, 梁建东, 梁宗琦, 2013. 分离自棕榈树根际土样的金孢属一新种. 菌物学报, 32(4): 612-616

张芝元, 2018. 特定生境中角蛋白降解真菌物种多样性. 贵州大学硕士学位论文, 贵阳. 1-68

张芝元, 2021. 中国南方嗜角蛋白真菌多样性及谱系地理学研究. 贵州大学博士论文, 贵阳. 1-192

张芝元, 郑欢, 韩燕峰, 陈万浩, 梁宗琦, 2017. 川、黔、渝几所医院土生角蛋白降解真菌多样性分析. 菌物学报, 36(11): 1504-1513