

## 西红花球茎腐烂病拮抗真菌的筛选、鉴定及抑菌机制

陆洁淼<sup>1</sup>, 张家豪<sup>1</sup>, 明乾良<sup>2</sup>, 王洁<sup>1</sup>, 周桂芬<sup>1</sup>, 朱波<sup>1\*</sup>, 秦路平<sup>1\*</sup>

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系, 重庆 400038

**摘要:**目的 筛选西红花 *Crocus sativus* 球茎腐烂病拮抗真菌, 探讨其抑菌机制。方法 以前期分离得到的 24 株西红花内生真菌为材料, 采用平板对峙法筛选球茎腐烂病拮抗真菌; 应用 ITS 分子技术进行菌种鉴定, 用扫描电镜观察拮抗后病原菌尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 菌丝形态; 检测拮抗菌株 CS05 菌丝产生  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶与几丁质酶的含量及病原菌产碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP) 的含量。结果 筛选得到对尖孢镰刀菌有显著拮抗作用的内生真菌 8 株, 其中 CS05 抑制效果最好, 相对抑制率为  $(76.53 \pm 3.82)\%$ ; 将 CS05 鉴定为担子菌门多孔菌目栓菌属真菌变色栓菌 *Trametes versicolor*; CS05 能产生  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶与几丁质酶, 促使尖孢镰刀菌胞外 AKP 含量增加, 菌丝出现稀疏紊乱、缠绕皱缩等现象。结论 西红花内生真菌 CS05 能较好地拮抗球茎腐烂病菌尖孢镰刀菌, 为西红花球茎腐烂病的生物防治提供了参考依据。

**关键词:** 西红花; 球茎腐烂病; 内生真菌; 拮抗活性; 抑菌;  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)10-3165-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.027

## Screening, identification, and antifungal activity of endophytic fungi from *Crocus sativus* and their antagonistic mechanism

LU Jie-miao<sup>1</sup>, ZHANG Jia-hao<sup>1</sup>, MING Qian-liang<sup>2</sup>, WANG Jie<sup>1</sup>, ZHOU Gui-fen<sup>1</sup>, ZHU Bo<sup>1</sup>, QIN Lu-ping<sup>1</sup>

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. Department of Pharmacognosy, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing 400038, China

**Abstract: Objective** To screen antagonistic fungi against corm rot pathogenic fungus of *Crocus sativus* (*Fusarium oxysporum*) and explore its antifungal mechanism. **Methods** Twenty-four endophytic fungi isolated from *C. sativus* were used to screen antagonistic fungi against corm rot pathogenic fungus via plate confrontation method. Molecular biological methods were used to identify the antagonistic strain. The antifungal mechanism was studied by scanning electron microscope, detecting the  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase and alkaline phosphatase activity. **Results** Eight endophytic fungi strains were screened since they possessed a significant antagonistic effect against *F. oxysporum*. Among them, CS05 had the best inhibitory effect whose relative inhibitory rate was  $(76.53 \pm 3.82)\%$ . Moreover, CS05 was identified as *Trametes versicolor*. Enzyme activity assay showed that CS05 could produce  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase, and increase extracellular alkaline phosphatase content of *F. oxysporum* significantly, causing sparse and disordered growth, twining and shrinking of *F. oxysporum* mycelia. **Conclusion** The endophytic fungus CS05 could effectively antagonize *F. oxysporum*, which provided a reference for the biological control of corm rot of *C. sativus*.

**Key words:** *Crocus sativus* L.; corm rot disease; endophytic fungi; antifungal activity; antagonistic mechanism;  $\beta$ -1,3-glucanase

西红花 *Crocus sativus* L. 是鸢尾科番红花属多年生植物, 是世界名贵珍稀中药材, 全株仅雌蕊的三分叉红色丝状柱头入药, 产量低而价值高, 具有活血化瘀、凉血解毒、解郁安神的功效, 主治经闭癥

痕、产后瘀阻、温毒发斑、忧郁痞闷、惊悸发狂<sup>[1]</sup>。西红花病害主要有球茎腐烂病与病毒病 2 类, 由尖孢镰刀菌引起的球茎腐烂病是目前已知的最具破坏性的西红花病害<sup>[2]</sup>。以浙江省为例, 每年有 30%~

收稿日期: 2021-11-06

基金项目: 浙江省一流学科(中药学)开放基金项目(ZYAOX2018011); 浙江省公益技术研究计划项目(LGN21H280001); 浙江中医药大学人才专项(2021ZR09); 浙江省医药卫生青年创新人才支持计划(2022492838)

作者简介: 陆洁淼(1997—), 女, 浙江杭州人, 硕士研究生, 研究方向为中药品质评价。E-mail: 201911114011486@zcmu.edu.cn

\*通信作者: 朱波, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为植物内生菌。E-mail: zhubo@zcmu.edu.cn

秦路平, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药资源及品质评价。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

50%的西红花种植面积遭受病害<sup>[3]</sup>。目前对于该病害的防治在实际生产中依然多用化学药液(主要为多菌灵等)喷灌或溴甲烷熏蒸土壤<sup>[4]</sup>,以减轻病情的发展。然而长期使用化学农药会对环境及生态系统产生不良影响<sup>[5]</sup>,并影响与植物相关的有益微生物区系,同时存在病原菌耐药性的问题<sup>[6]</sup>。生物防治是植物病害防治的重要措施,植物内生菌能提高宿主抗病性已被多次报道<sup>[7-9]</sup>。目前对内生真菌防治尖孢镰刀菌的研究主要集中在农作物上,如防治黄瓜黄萎病、番茄枯萎病和西瓜枯萎病等<sup>[10-13]</sup>,关于药用植物内生真菌提高宿主抗病性的研究鲜有报道。

研究表明,真菌主要通过分泌病程相关蛋白(如几丁质酶、葡聚糖酶等)、与病原菌竞争生态位和营养物质等方式,抑制病原菌生长<sup>[14-15]</sup>。赵沛等<sup>[16]</sup>发现棉花内生真菌腐皮镰刀菌 CEF-373 可以上调棉花几丁质酶基因 *CHI* 表达,从而破坏病原真菌大丽轮枝菌 *Verticillium dahliae* 的细胞壁,抑制病原菌生长。本研究在前期建立的西红花内生真菌资源库的基础上,筛选能拮抗球茎腐烂病病原菌尖孢镰刀菌的内生真菌,并探讨其抑菌机制,为西红花内生真菌资源开发及球茎腐烂病生物防治提供实验依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 供试菌株

24 株西红花内生真菌及病原菌尖孢镰刀菌由本实验室前期分离保存。高山被孢霉 *Mortierella alpina* (CGMCC, 编号 3.12824) 和哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* (CGMCC, 编号 3.15684) 购买自中国普通微生物菌种保藏管理中心。

### 1.2 试剂与仪器

2×Taq Mix (<sup>+</sup>Dye), 莫纳生物科技有限公司; DL 1000 DNA Marker, 宝日医生物技术(北京)有限公司; 几丁质酶活性检测试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; β-1,3-葡聚糖酶(β-1,3-GA)活性检测试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; AKP 试剂盒, 南京建成生物工程研究所; SU8010 型场发射扫描电子显微镜(日本日立公司); UV-3600 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); SW-CJ-2FD 型超净工作台(上海博讯实业有限公司); YXQ-LS-75S11 型立式压力蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司); LMI-100 型霉菌培养箱(上海龙跃仪器设备有限公司); MC-100B 型立式恒温摇床(上海牟测仪器科技有限公司); GenoSens 1850 型凝胶成像分析系统(上海勤翔科学仪器有限公司);

Applied Biosystems Veriti 96 Well PCR Thermal Cycler 型(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Centrifuge 5427R 型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。Thermo Fisher Multiskan FC 1510 型全自动酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

## 2 方法

### 2.1 内生真菌抑菌活性筛选

用平板对峙法测定供试菌株对病原菌的抑菌活性,共设 24 个内生真菌处理组,2 个阳性对照组(高山被孢霉处理组、哈茨木霉处理组),病原菌空白对照组,计算相对抑制率,实验平行 3 次。

相对抑制率=(对照病原菌菌落直径-对峙病原菌菌落直径)/对照病原菌菌落直径<sup>[16]</sup>

### 2.2 内生真菌 ITS 分子鉴定

无菌条件下挑取少许 CS05 菌丝置于 PDA 培养基中活化。28 °C 避光培养 7 d, 根据徐丽莉<sup>[17]</sup>研究的方法提取基因组 DNA。供试真菌的 ITS 和 5.8S 基因采用通用引物 ITS4 (5'-TCCTCCG-CTTATTGATATGC-3') 及 ITS5 (5'-GGAAGTAA-AAGTCGTAACAAGG-3') 进行扩增。50 μL PCR 反应体系: DNA 模板 1 μL, 稀释 10 倍后的引物各 1 μL, 2×Taq Master Mix (Takara Bio) 25 μL, ddH<sub>2</sub>O 2 μL, 扩增程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 40 s, 55 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 次循环; 最终 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖电泳检测合格后, 送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。扩增产物测序结果通过 NCBI 进行 BLAST 比对, 然后用 MEGA 7.0 软件进行序列相似性分析, 邻接树(neighbor-joining)方法建立系统发育树。

### 2.3 扫描电镜观察

参考侯媛媛<sup>[18]</sup>的方法进行扫描电镜样品处理, 经过固定、脱水、干燥和喷金后在扫描电镜下观察对照组病原菌与处理组病原菌的菌丝形态。

### 2.4 活性酶含量测定

无菌条件下挑取少许 CS05 菌丝置于 PDA 培养基中活化。28 °C 避光培养 7 d。培养结束后, 分别按照 β-1,3-GA 活性测定试剂盒与几丁质酶活性测定试剂盒中提供的方法, 采用分光光度计测定酶活性, 实验设 3 次重复。β-1,3-GA 以每毫克组织每小时分解几丁质产生 1 μmol *N*-乙酰氨基葡萄糖的酶量为 1 个酶活性单位, 几丁质酶以每毫克组织每小

时产生 1 mg 还原糖定义为 1 个酶活单位。

对 CS05 进行发酵, 28 °C, 180 r/min 振荡培养 7 d 后, 离心 (10 000 r/min, 4 °C, 30 min), 收集上清液, 用 0.22 μm 孔径的无菌滤器滤过除菌制成无菌发酵液, 4 °C 保存待用<sup>[19-21]</sup>。

采用微量法测病原菌胞外 AKP 含量, 设 CS05 无菌发酵液处理组, 以哈茨木霉为阳性对照, 无菌 PDB 为对照组。对尖孢镰刀菌进行发酵, 发酵液经真空抽滤, 取得新鲜菌丝用无菌水反复冲洗后, 每称取菌丝鲜质量 2 g 分装在一个离心管内。向离心管中分别加入 30 mL 真菌无菌发酵液和无菌 PDB, 混匀后置于 28 °C, 180 r/min 条件下继续培养, 分别在 0、2、4、6、9、12 h 定时取混合液 5 mL, 离心 (10 000 r/min, 4 °C, 30 min), 收集上清液, 按照 AKP 试剂盒中提供的方法, 采用酶标仪对 AKP 含量进行测定, 以 100 mL 液体在 37 °C 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位 (1 金氏单位 = 7.14 U/L), 实验设 3 次重复<sup>[22]</sup>。

### 2.5 数据分析

通过 SPSS 25.0 软件对于实验数据进行方差分析, 采用 Duncan 多重极差检验 (DMRT) 进行统计学分析,  $P < 0.05$  被认为存在显著性差异。

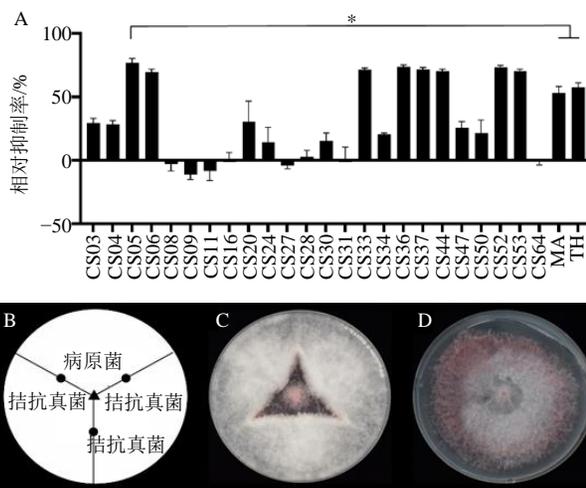
## 3 结果与分析

### 3.1 内生真菌对尖孢镰刀菌的拮抗作用

平板对峙结果显示, 从 24 株供试菌株中筛选出对尖孢镰刀菌有显著拮抗作用的内生真菌 8 株, 占比 33.33%; 其中 CS05 对病原菌尖孢镰刀菌的抑菌效果最好, 相对抑制率为 (76.53 ± 3.82) %, 显著高于阳性对照高山被孢霉 (53.06 ± 5.20) % 和哈茨木霉 (57.75 ± 3.45) % ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

### 3.2 CS05 菌种鉴定

CS05 的 ITS 序列经过 PCR 扩增后, 电泳图见图 2-A。以 CS05 的 ITS 和 5.8S 基因为靶序列, 用 Blast 程序在 GenBank 中进行 DNA 序列相似性搜索。结果表明, CS05 与变色栓菌 *T. versicolor* 有较高序列相似性。下载比对网页中相似性最高的 3 个参考菌株序列, 用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树, 用于系统发育分析, 以 Agaricales (Basidiomycota) 的 *Schizophyllum commune* (MN557371) 作为外群。系统发育树显示 CS05 与 *Trametes versicolor* (MW742535)、*Trametes versicolor* (MW742533)、*Trametes versicolor* (KY950437) 聚在一起, 其序列相似性均为 99.33%, 形成支持强度为 100% 的末端分支。



A-相对抑菌率 MA-高山被孢霉 TH-哈茨木霉 \* $P < 0.05$ ; B-对峙示意图 C-CS05 处理组 D-对照组  
A-relative inhibition rate MA-*Mortierella alpine* TH-*Trichoderma harzianum*, \* $P < 0.05$ . B-schematic diagram of experiment. C-CS05 treatment D-control

图 1 西红花内生真菌平板拮抗实验

Fig. 1 Antagonistic activity of endophytic fungus

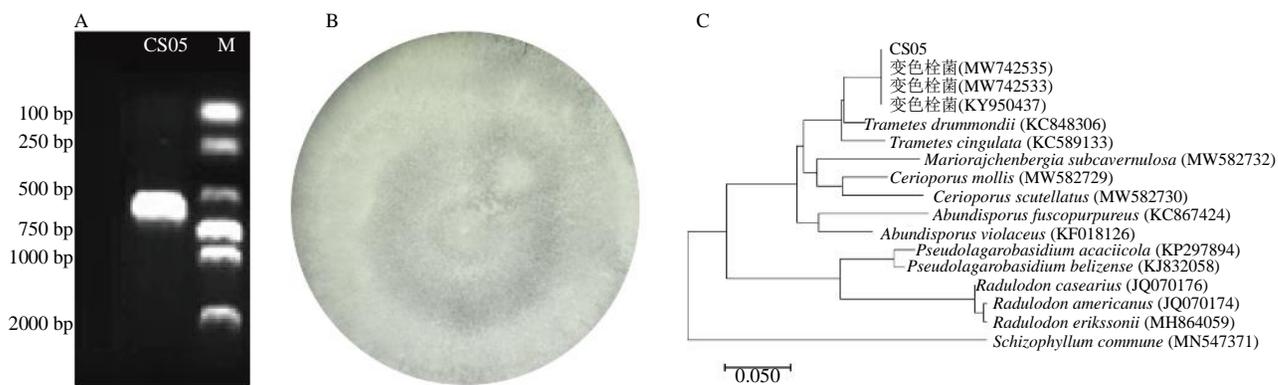
CS05 菌落在 PDA 平板上呈白色, 圆形, 凸起, 干燥, 可见细长菌丝, 中间紧密, 边缘稀薄, 隐约可见同心环带 (图 2-B), 结合变色栓菌形态特征<sup>[23]</sup>, 将 CS05 鉴定为担子菌门栓菌属变色栓菌 *T. versicolor*。

### 3.3 CS05 对病原菌菌丝形态影响

扫描电镜显示, 空白对照组尖孢镰刀菌菌丝粗壮稠密, 光滑均匀, 整体平整饱满, 且排列有序 (图 3-A、B、C); 经 CS05 拮抗后, 尖孢镰刀菌菌丝较为稀疏, 排列紊乱 (图 3-D), 菌丝出现缠绕 (图 3-E 箭头处)、皱缩等现象 (图 3-F 箭头处)。说明 CS05 对尖孢镰刀菌的菌丝生长有较大的影响。

### 3.4 活性酶含量测定

结果表明, CS05 能产生几丁质酶和  $\beta$ -1, 3-GA 产量分别为 (1.880 0 ± 0.004 4) U/mg 与 (0.600 0 ± 0.002 7) U/mg。CS05 无菌发酵液与尖孢镰刀菌菌丝体共培养 4 h 后, AKP 活性显著增强, 4~6 h 略有下降, 6~12 h 又出现上升趋势 (图 4)。真菌胞外 AKP 活性增强可作为细胞壁被破坏的重要指标之一<sup>[22]</sup>, 方差分析显示, 共培养 12 h 后, CS05 处理组 AKP (10.06 ± 0.88) U/L 显著大于对照组 (4.72 ± 1.31) U/L 和阳性对照组 (5.27 ± 0.71) U/L ( $P < 0.05$ ), 表明 CS05 无菌发酵液对病原菌尖孢镰刀菌细胞壁的破坏可能是抗菌作用的重要机制之一。

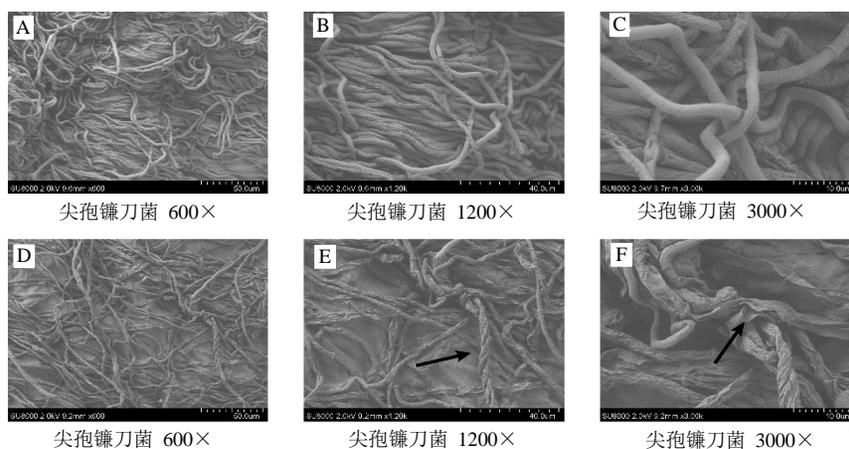


A-CS05 PCR 扩增产物凝胶电泳分析 B-CS05 在 PDA 平板上的形态 C-CS05 系统进化树

A-gel electrophoresis of CS05 ITS and 5.8 S rDNA genes B-CS05 on PDA media C-phylogenetic tree of CS05 based on ITS and 5.8S rDNA sequences

图 2 内生真菌 CS05 的菌种鉴定

Fig. 2 Identification of endophytic fungus CS05

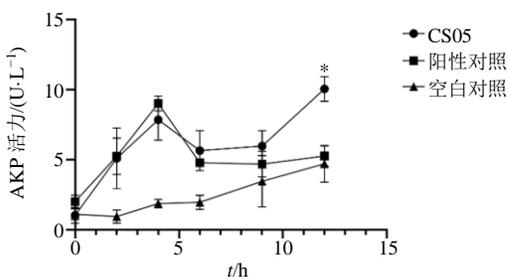


A、B、C-对照组 D、E、F-CS05 处理组

A, B, C-control D, E, F-CS05 treatment

图 3 CS05 对病原菌尖孢镰刀菌菌丝的影响

Fig. 3 Effects of CS05 on the mycelium of *F. oxysporum* under scanning electron microscope



\*表示 0.05 水平上有显著差异,  $P < 0.05$

\* denotes significance at 0.05 level,  $P < 0.05$

图 4 尖孢镰刀菌经 CS05 处理后胞外 AKP 活性

Fig. 4 Extracellular AKP activity of *F. oxysporum* solution after treatment with CS05

#### 4 讨论

本实验从 24 株内生真菌中筛选得到一株能显著抑制尖孢镰刀菌菌丝生长的菌株 CS05, 鉴定为担子菌门多孔菌目栓菌属变色栓菌 *T. versicolor*, 该菌种序列已上传至 NCBI, Genbank 号为: MZ030718, 同时专利保藏于中国菌种保藏中心, 保藏号为 CGMCC No. 21948。 *T. versicolor* 为栓菌属真菌, 能够分泌胞外氧化酶如木聚糖酶、锰过氧化物酶、漆酶等从而降解木质素<sup>[24]</sup>, 通常被用作商业化生产漆酶, 作为有机污染物降解剂、农药污染降解剂、工业废水降解剂等<sup>[25-26]</sup>。在植物病害的防治方面, Lorito 等<sup>[27]</sup>曾利用从 *T. versicolor* 培养滤液中提纯

的蛋白质组防治谷类作物病原菌 *Fusarium langsethiae*, 结果表明 *T. versicolor* 的胞外蛋白质组对 *F. langsethiae* 的生长有显著的抑制作用。本实验筛选得到的西红花内生真菌 CS05 对西红花病原菌尖孢镰刀菌具有较强的抗性, 为西红花球茎腐烂病的生物防治提供了菌种资源。

真菌细胞壁降解酶的产生被认为是抑制病原菌生长的重要特性之一<sup>[28-29]</sup>。植物病原真菌的细胞壁主要组成成分为几丁质和  $\beta$ -1,3-葡聚糖等<sup>[30]</sup>, 几丁质酶可以催化几丁质水解, 在裂解真菌细胞壁、抑制真菌生长的过程中起重要作用<sup>[31]</sup>,  $\beta$ -1,3-GA 是一类能特异作用于  $\beta$ -葡聚糖中  $\beta$ -1,3-糖苷键的水解酶, 因此该酶的水解活性能够抑制真菌的生长与增殖<sup>[32]</sup>。本研究发现, CS05 能产生几丁质酶和  $\beta$ -1,3-GA, 促进了病原菌胞外 AKP 含量积累, 这可能是加速病原菌细胞壁裂解, 导致菌丝排列稀疏, 出现皱缩、缠绕与萎蔫情况, 最终导致病原菌死亡的原因。今后将对 CS05 在西红花体内定殖情况、与西红花共生及对宿主生长的影响、田间生防效果等进行进一步的研究, 为西红花球茎腐烂病防治提供科学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 134-135.
- [2] Wani Z A, Kumar A, Sultan P, et al. *Mortierella alpina* CS10E4, an oleaginous fungal endophyte of *Crocus sativus* L. enhances apocarotenoid biosynthesis and stress tolerance in the host plant [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 8598.
- [3] 吴李芳. 西红花球茎腐烂病的致病菌鉴定及其生防菌解淀粉芽孢杆菌 C612 的筛选和应用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [4] Waller F, Achatz B, Baltruschat H, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield [J]. *PNAS*, 2005, 102(38): 13386-13391.
- [5] Hernández A F, Parrón T, Tsatsakis A M, et al. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health [J]. *Toxicology*, 2013, 307: 136-145.
- [6] Hobbelen P H F, Paveley N D, van den Bosch F. The emergence of resistance to fungicides [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91910.
- [7] 黄宝康, 秦路平. 药用植物内生菌的生物多样性及活性成分 [J]. *药学实践杂志*, 2006, 24(4): 193-196.
- [8] 宋金秋, 田璨熙. 植物内生菌在植物病害中的生物防治 [J]. *湖北农机化*, 2020(4): 69-70.
- [9] Pandey S S, Singh S, Babu C S V, et al. Fungal endophytes of *Catharanthus roseus* enhance vindoline content by modulating structural and regulatory genes related to terpenoid indole alkaloid biosynthesis [J]. *Sci Reports*, 2016, 6: 26583.
- [10] 张晓蓉, 李涛, 王超君, 等. 深色有隔内生真菌甘瓶霉对番茄抗枯萎病的作用 [J]. *中国生物防治学报*, 2017, 33(3): 394-400.
- [11] 陆楚月, 马艳, 王巧, 等. 绿色木霉 TV41 对尖孢镰刀菌 FW0 在西瓜植株空间分布和枯萎病防控效果的影响 [J]. *微生物学通报*, 2015, 42(11): 2159-2167.
- [12] 陈孝利. 苜蓿内生菌的分离及生防菌株的筛选与鉴定 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [13] 王艳红, 吴晓民, 朱艳萍, 等. 温郁金内生真菌 *Chaetomium globosum* L18 对植物病原菌的抑菌谱及拮抗机理 [J]. *生态学报*, 2012, 32(7): 2040-2046.
- [14] 杨玉锋, 李保利. 植物内生真菌在植物病害生物防治中的作用 [J]. *河南农业科学*, 2011, 40(3): 25-28.
- [15] 赵沛, 冯自力, 师勇强, 等. 棉花内生真菌 CEF-373 菌株对棉花黄萎病的防效及其作用机理 [J]. *植物保护学报*, 2019, 46(6): 1203-1213.
- [16] 隋韵静. “核桃黑”病原研究及拮抗菌筛选 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [17] 徐丽莉. 人参内生真菌及其次生代谢产物研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [18] 侯媛媛. 大黄和黄芩抑菌活性物质追踪及其抑菌机理研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
- [19] 李亚男. 高海拔土壤中稻瘟病拮抗细菌的筛选及其抗菌机理研究 [D]. 绵阳: 西南科技大学, 2017.
- [20] 郝苑汝. 核桃内生真菌 SYS-5-2 的抑菌活性和作用机理研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [21] 王璐. 萎缩芽孢杆菌 CP 297 和解淀粉芽孢杆菌 CP 2014 对毛桃致腐霉菌的抑菌机理及保鲜应用 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2019.
- [22] 何艳喜. *Trametes versicolor* HN0511 的鉴定及其产木聚糖酶的分离纯化、性质分析和基因的克隆 [D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [23] Archibald F S, Bourbonnais R, Jurasek L, et al. Kraft pulp bleaching and delignification by *Trametes versicolor* [J]. *J Biotechnol*, 1997, 53(2/3): 215-236.
- [24] Premjet S, Duangporn P, Premjetsiripong. Selection of *Ligninolytic Basidiomycetes* Fungi from a dry dipterocarp forest in Thailand [J]. *Australian J Basic Appl Sci*, 2015, 9(20): 210-219.
- [25] 曾盛泉. *Trametes versicolor* 产漆酶及其在有机污染物降解中的应用基础研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [26] Parroni A, Bellabarba A, Beccaccioli M, et al. Use of the

- secreted proteome of *Trametes versicolor* for controlling the cereal pathogen *Fusarium langsethiae* [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17): 4167.
- [27] Lorito M, Farkas V, Rebuffat S, *et al.* Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum* [J]. *J Bacteriol*, 1996, 178(21): 6382-6385.
- [28] Inglis G D, Kawchuk L M. Comparative degradation of oomycete, ascomycete, and basidiomycete cell walls by mycoparasitic and biocontrol fungi [J]. *Can J Microbiol*, 2002, 48(1): 60-70.
- [29] 祝贺, 杨蓉娅, 王文岭, 等. 真菌组成成分及代谢产物检测在真菌病诊断中的应用进展 [J]. 中国真菌学杂志, 2007, 2(2): 119-121.
- [30] 程笑笑, 冯自力, 冯鸿杰, 等. 真菌源几丁质酶在植物抗真菌病害中的应用 [J]. 植物保护, 2017, 43(3): 29-35.
- [31] 杨合同, 郭勇, 李纪顺, 等. 木霉菌产生的葡聚糖酶和植物病害防治 [J]. 山东科学, 2003, 16(4): 1-7.
- [32] Marcello C M, Steindorff A S, da Silva S P, *et al.* Expression analysis of the exo-beta-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum* [J]. *Microb Res*, 2010, 165(1): 75-81.

[责任编辑 时圣明]