

丹参潜在性致病内生真菌的筛选及其致病相关酶学特性分析

林亚丽, 黄倩倩, 严铸云*, 陈新, 王海, 何冬梅, 韩桂琪

(成都中医药大学 中药材标准化省部共建教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室, 成都 611137)

[摘要] **目的:**从18株丹参内生真菌中筛选具有潜在性致病作用的内生真菌,并对其致病机制进行探究。**方法:**采用内生真菌与组培苗共培养方式,根据组培苗的发病情况筛选出潜在性致病作用的内生真菌,测定活体外和活体根内的纤维素酶[羧甲基纤维素酶(Cx), β -葡萄糖苷酶(β -G)],果胶酶[多聚半乳糖醛酸酶(PG),聚甲基半乳糖醛酸酶(PMG)]和半纤维素酶(木聚糖酶)等细胞壁降解酶(CWDE)活性的变化。**结果:**在活体外,PG,PMG,木聚糖酶活性先增加后降低到后期基本不变,Cx, β -G酶活性随着培养时间的增加而持续升高。在活体内,9株潜在性致病内生真菌均能在组培苗根部组织产生细胞壁降解酶,但不同菌种差异较大。其中7株菌接种的组培苗根部Cx, β -G活性显著高于未接菌的根部($P < 0.05$),6株菌接种的组培苗根部PG活性显著高于未接菌的根部($P < 0.05$),9株菌接种的组培苗根部PMG以及木聚糖酶活性显著高于未接菌的根部($P < 0.05$)。**结论:**Cx, β -G和PG,PMG以及木聚糖酶在潜在性致病内生菌的致病过程中起到了重要作用,是重要的致病因子,但各潜在性致病内生真菌的作用环节存在差异。

[关键词] 丹参; 潜在性致病内生真菌; 细胞壁降解酶

[中图分类号] R282; Q939.5; R931.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0038-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2018040038

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171125.1434.004.html>

[网络出版时间] 2017-11-25 14:34

Screening of Potentially Pathogenic Endophytic Fungi of *Salvia miltiorrhiza* and Analysis of Their Relevant Enzymatic Characteristics

LIN Ya-li, HUANG Qian-qian, YAN Zhu-yun*, CHEN Xin, WANG Hai, HE Dong-mei, HAN Gui-qi
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Key Laboratory of Standardization of Traditional Chinese Medicinal Herbs Co-sponsored by Province and Ministry of Education, Key State Key Laboratory and Breeding Base of systematic research, Development and Utilization of TCM Resource Co-sponsored by Province and Ministry of Education, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To screen out the potentially pathogenic endophytic fungi from 18 strains of endophytic fungi isolated from roots of *Salvia miltiorrhiza*, in order to explore the pathogenic mechanism of these fungi. **Method:** The plant-endophyte symbiotic experiment was conducted to choose the potential pathogens. To determine pathogenic fungi, the changes in the activities of cell wall degrading enzymes, including cellulose [carboxymethyl cellulose enzyme (Cx), β -glucosidase (β -G)], pectinase [polygalacturonase (PG), polymethylgalacturonase (PMG)] and xylanase enzymes were measured *in vitro* and *in vivo*. **Result:** *In vitro*, all of the 9 strains could secrete cell wall degrading enzymes (CWDE), including cellulose, pectinase and xylanase.

[收稿日期] 20170818(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573537)

[第一作者] 林亚丽,在读硕士,从事中药微生态研究,E-mail:lililylin@126.com

[通信作者] *严铸云,博士,教授,从事中药微生态研究,E-mail:edtcmyan@126.com

Cx and β -G activities increased over time, while PG, PMG and xylanase activities first increased and then decreased. *In vivo*, all of the 9 strains could secrete cell wall degrading enzymes in the roots of *Salvia miltiorrhiza*, but with differences among them. Roots of inoculations of 7 strains showed increase in Cx and β -G activities, roots of inoculations of 6 strains showed increase in PG activity, while roots of inoculations of 9 strains showed higher PMG and xylanase activities. **Conclusion:** Cellulase and pectinase and xylanase play important roles as pathogenic factors, but with differences in actions of potentially pathogenic endophytic fungi.

[**Key words**] *Salvia miltiorrhiza*; potentially pathogenic endophytic fungi; cell wall degrading enzyme

内生真菌是指生活史的部分或全部生存在宿主植物体内且不引起宿主明显病害的一类微生物^[1], 内生真菌常具有促进宿主植物生长发育, 增强宿主抗逆性, 增加宿主合成一些次生代谢产物等多种作用^[2-4], 在农业、医药、环境工程和基因工程等领域展现了广阔的应用前景。但当条件有利于某些内生真菌过度繁殖时, 就会影响宿主植物的生长发育, 这类内生真菌称潜在性致病内生菌^[5-6]。因此, 应用内生菌时, 首先应确定其是否属于潜在性致病内生菌^[7-9]。

丹参内生真菌丰富, 并与其次生代谢产物积累和药材品质形成具有密切的关系^[10-13]。但迄今为止, 丹参内生真菌与宿主的关系仍缺乏系统分析。为了明确丹参内生真菌中的潜在致病菌及其致病因子, 本实验采用丹参组培苗与内生真菌共培养方式, 评价课题组前期^[14]保存的从四川、河南、山东等地丹参根部分离的 18 株丹参内生真菌的潜在致病性, 测定活体外和活体内的羧甲基纤维素酶(Cx), β -葡萄糖苷酶(β -G), 多聚半乳糖醛酸酶(PG), 聚甲基半乳糖醛酸酶(PMG)和木聚糖酶等细胞壁降解酶活性的变化, 以明确丹参潜在致病内生真菌的种类和探究其致病机制, 为丹参内生真菌的利用提供了试验依据。

1 材料

组培苗: 采用文献[15]方法, 以丹参 *Salvia miltiorrhiza* (四川中江大叶型) 幼嫩叶片作外植体, 通过愈伤组织、丛生芽和生根诱导获得的丹参组培苗。

供试菌株: 前期保存丹参内生真菌, 分离自四川、河南、山东等地的丹参根部, 包括曲霉属 *Aspergillus* 的 DS1, 镰刀属 *Fusarium* 的 DS4, DS10, DS11, DS12, DS15, DS16, DS17 菌株; 丛赤壳属 *Nectria* 的 DS2 菌株; 根串珠霉属 *Thielaviopsis* 的 DS3 菌株; 链格孢属 *Alternaria* 的 DS5 菌株; 青霉属 *Eupenicillium* 的 DS6, DS8, DS9, DS18; 枝顶孢霉属 *Acremonium* 的 DS7 菌株; 芽枝霉属 *Cladosporium* 的

DS13 菌株; 螺旋聚孢霉属 *Clonostachys* 的 DS14 菌株。

MS 培养基及相关激素(美国 Phyto Tech 公司), 水杨苷等底物(上海金穗生物科技有限公司, 批号 138-52-3)。DU730 型紫外分光光度仪(贝克曼)。

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)组成为马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL; 共生培养基组成为 1/2 MS 液体培养基, 每 1 000 mL 中含 MS 2.22 g; Czaper 液体培养基: KNO₃ 2.0 g, KCl 0.5 g, FeSO₄ 0.01 g, K₂HPO₄ 1.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, 水 1 000 mL。

2 方法

2.1 内生真菌-组培苗共培养体系 用打孔器取一小块培养 5 d 的内生真菌菌饼, 分别转入组培苗已生根的共生培养基中, 每组 3 瓶, 设对照组。将上述内生真菌-组培苗共培养体系置温度 25 °C, 光照强度 3 000 Lx, 光照时间 12 h 条件下培养。每天观察并记录与内生真菌共培养的丹参组培苗根部变化和生长状况, 包括内生真菌在共生培养液中的生长速度, 组培苗根、茎、叶是否正常生长等。

2.2 潜在性致病内生真菌的筛选 内生真菌组培苗共培养体系中, 在培养 7 d 内, 组培苗的根部发黑、腐烂或茎叶腐烂发黑者, 判定为条件性致病内生真菌; 组培苗正常生长, 或组培苗根部先腐烂, 后又长出新根的内生真菌判定为非致病性内生真菌。

2.3 致病内生真菌细胞壁降解酶液的制备

2.3.1 体外细胞壁降解酶液的制备 参考文献[16]方法, 用打孔器取在 PDA 培养基内培养 5 d 的内生真菌菌饼, 置于 Czaper 液体培养基中, 根据细胞壁降解酶的种类, 分别向培养基中添加不同碳源。于摇床内 140 r · min⁻¹, 28 °C 培养, 每天取培养液 1 mL, 过滤除去菌丝和孢子, 于 1 万 r · min⁻¹, 4 °C 离心 15 min, 上清液即为酶粗提取液, 用于酶活性测定。

2.3.2 体内细胞壁降解酶液的制备 参照文献

[17]方法,采用 NaCl 提取液提取回接内生真菌后丹参组培苗根部细胞壁降解酶。因潜在性致病内生真菌回接后,较短时间内能使组培苗根部病变,故本实验选择回接内生真菌后第7天的组培苗,取根约 0.5 g,加 NaCl 提取液($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl pH 7.4),液氮研磨, $1 \text{ 万} \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 15 min,上清液即为酶粗提取液,用于酶活性测定。

2.4 细胞壁降解酶活性测定 参照文献[17-20]的方法进行。纤维素酶活力测定①即羧甲基纤维素酶(Cx)活力测定:取酶粗提取液 0.5 mL,加入 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 4.5)配制的 0.5% 的羧甲基纤维素溶液 1 mL,于 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 反应 30 min,加入 3,5-二硝基水杨酸(DNS) 3 mL 终止反应;沸水中保温 10 min,冷却后用蒸馏水定容至 20 mL,测定 540 nm 处吸光度。② β -葡萄糖苷酶(β -G)活力测定:取酶液 0.5 mL,加 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 4.5)配制的含 0.5% 水杨苷溶液 1 mL,其余步骤同 Cx。反应体系中还原糖含量采用 DNS 方法测定。

果胶酶活力测定①多聚半乳糖醛酸酶(PG)活力测定:取酶液 0.5 mL,加 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 4.5)配制的 0.25% 的果胶溶液 1 mL 和蒸馏水 1 mL, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 保温 1 h,540 nm 处测定活性。②聚甲基半乳糖醛酸酶(PMG):取酶液 0.5 mL,加含 0.25% 聚甲基半乳糖醛酸的 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 4.5) 1 mL 和蒸馏水 1 mL,其余步骤同 PG。

半纤维素酶(木聚糖酶)活力测定:取酶液 0.5 mL,加 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 4.5)配制的 0.5% 的木聚糖溶液 0.5 mL,迅速放入 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 的水浴锅中保温 60 min,加入 DNS 溶液 1.5 mL,立即沸水浴显色 10 min,用蒸馏水定容至 10 mL,冷却后测定 540 nm 处吸光度。

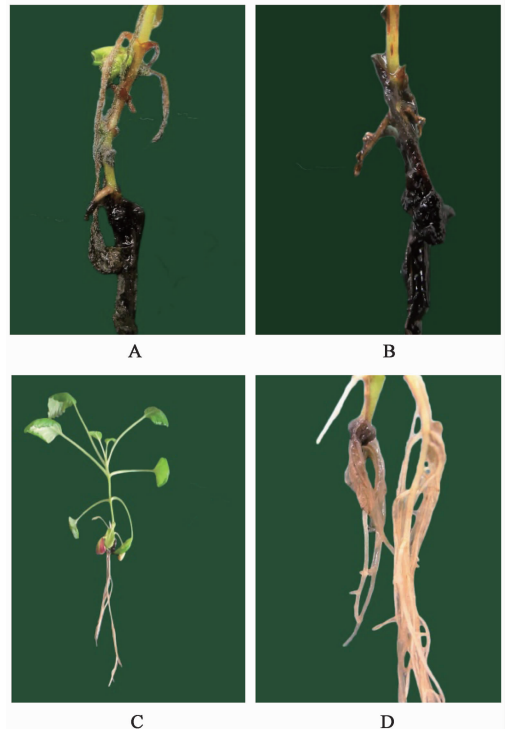
酶活单位为上述反应体系, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 下,1 mL 酶液每分钟催化底物产生 $1 \text{ } \mu\text{g}$ 还原糖为 1 个酶活力单位,结果以 $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 表示。

2.5 数据处理 采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理,采用 *T-test* 进行差异性分析;采用 Excel 2010 进行图表绘制。每组包括 3 个重复数据。表格数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 潜在性致病内生真菌的种类 内生真菌回接后,一类内生真菌在培养基以及组培苗上迅速繁殖,导致组培苗呈现出病状,引起组培苗根部发黑腐

烂,茎叶也随之腐烂、坏死(图 1 A,B)的致病菌有 9 株,分属曲霉属 *Aspergillus* (DS1),镰刀属 *Fusarium* (DS4,DS11,DS15) 菌株、丛赤壳属 *Nectria* (DS2),根串珠霉属 *Thielaviopsis* (DS3),青霉属 *Eupenicillium* (DS6,DS9),螺旋聚孢霉属 *Clonostachys* (DS14),其中 DS1,DS6 生长迅速,一周内已在液体培养基表面以及组培苗植株上布满,且快速使丹参组培苗根部、叶片以及茎均腐烂;DS2,DS9 生长速度较快,10 d 基本布满液体培养基表面,使丹参组培苗根腐烂;DS3,DS4,DS11,DS14,DS15 长速较慢,20 d 左右布满液体培养基表面,使组培苗根腐烂,叶上具斑点。另一类内生真菌回接后长速正常,且并未对丹参组培苗造成伤害(图 1 C,D)。



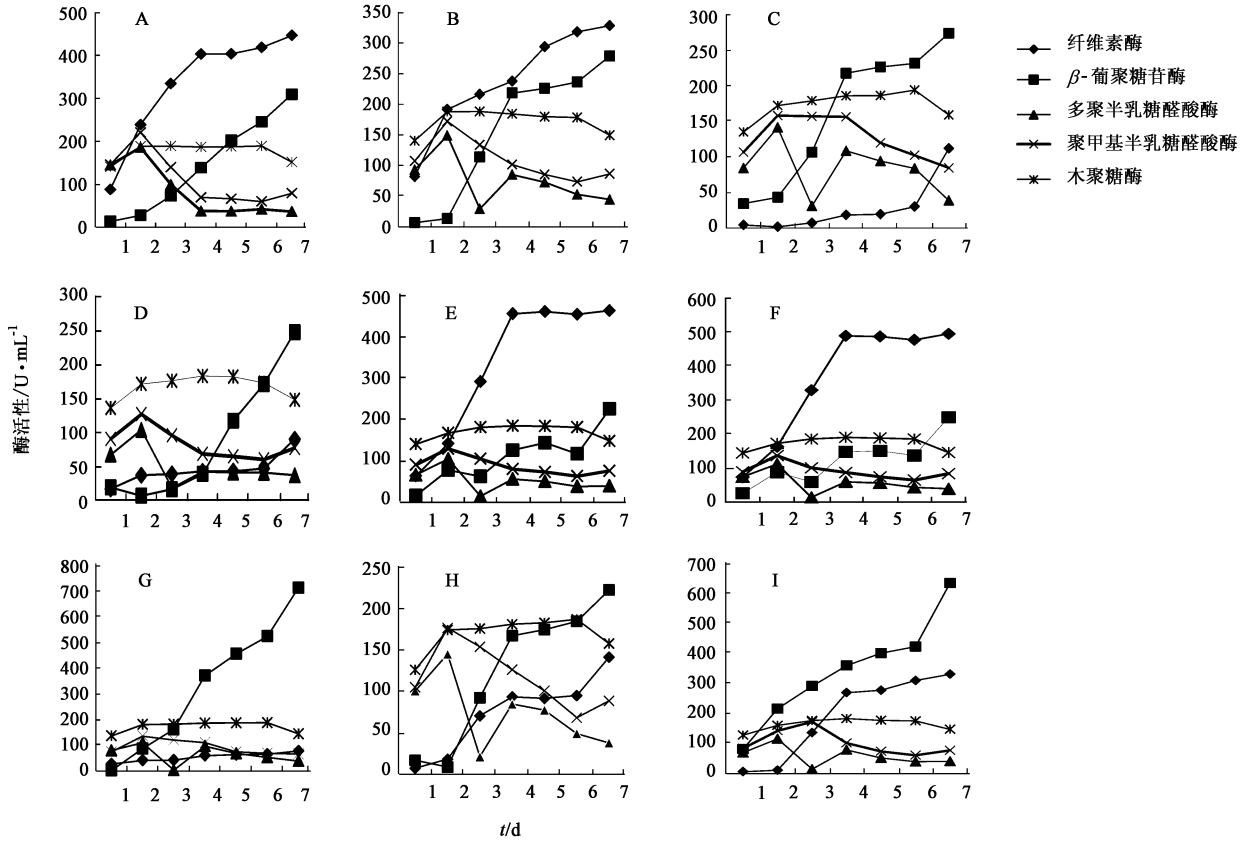
A. 致病组培苗;B. 致病根部;C. 正常生长组培苗;D. 正常生长根部
图 1 丹参正常生长组培苗及内生真菌和丹参组培苗共培养体系中组培苗生长情况

Fig. 1 Growth of tissue culture seeding and seedlings in co-culture system

3.2 体外潜在性致病内生真菌产生的细胞壁降解酶活性 丹参根中 9 种潜在性致病内生真菌在培养液中,均具有 Cx, β -G,PG,PMG 和木聚糖酶的活性,但不同菌种和不同培养时间酶活性差异较大(图 2)。在以纤维素为碳源诱导产生细胞壁降解酶时,Cx, β -G 酶活性随着培养时间的增加而持续升高;以果胶作为碳源诱导产生细胞壁降解酶时,随着培养时间的增加,果胶酶活性先增高后降低,其中 PMG

酶活性高于 PG 酶活性;PMG 活性在第 2 天时达到最高,后期活性降低,PG 酶活性在第 2 至 4 天先降至最低再增高,4 d 以后活性降低;可能是随着果胶不断被分解消耗或 pH 下降等原因而导致酶活性下

降。培养过程中,木聚糖酶活性较稳定。综上可见,在潜在性致病内生真菌培养过程中,均可持续产生细胞壁降解酶,前期主要是 PMG,PG,木聚糖酶起作用,后期主要是 Cx, β -G 起作用。



A ~ D. DS1 ~ DS4; E. DS6; F. DS9; G. DS11; H. DS14; I. DS15

图 2 各致病菌株细胞壁降解酶活性变化

Fig. 2 Cell wall degrading enzyme (CWDE) activity of pathogenic strains

3.3 潜在性致病内生真菌活体内细胞壁降解酶活性比较 内生真菌分别与丹参组培苗共培养的 7 d 后,9 株潜在性致病均能在组培苗根部组织产生细胞壁降解酶活性,但不同菌种差异较大(表 1)。由表可

见,除菌株 DS3,DS14 的纤维素酶活性和 DS4,DS14,DS15 的多聚半乳糖醛酸酶活性低于对照组,其他均高于未接菌的对照组。可见,各潜在性致病菌主要是影响细胞壁的完整性为主,影响胞间层为辅。

表 1 内生真菌与组培苗共培养后根部细胞壁降解酶活性比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Comparison of activities of CWDE in co-culture system *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

U·mL⁻¹

菌株	纤维素酶	β -葡聚糖苷酶	多聚半乳糖醛酸酶	聚甲基半乳糖醛酸酶	木聚糖酶
DS1	380.51 \pm 0.52 ¹⁾	288.28 \pm 0.90 ¹⁾	383.81 \pm 1.04 ¹⁾	385.90 \pm 1.37 ¹⁾	73.67 \pm 11.01 ¹⁾
DS2	474.81 \pm 1.37 ¹⁾	705.72 \pm 2.26 ¹⁾	720.39 \pm 0.90 ¹⁾	617.98 \pm 0.00 ¹⁾	91.61 \pm 0.85 ¹⁾
DS3	267.62 \pm 0.90	242.76 \pm 1.04 ¹⁾	325.71 \pm 1.37 ¹⁾	318.22 \pm 1.37 ¹⁾	69.49 \pm 0.43
DS4	335.89 \pm 1.56 ¹⁾	289.78 \pm 1.04 ¹⁾	237.08 \pm 0.00 ¹⁾	445.79 \pm 1.37 ¹⁾	99.73 \pm 1.13 ¹⁾
DS6	384.11 \pm 1.04 ¹⁾	737.76 \pm 1.04 ¹⁾	655.11 \pm 1.04 ¹⁾	636.24 \pm 0.52 ¹⁾	107.10 \pm 0.43 ¹⁾
DS9	355.96 \pm 1.87 ¹⁾	424.83 \pm 0.00 ¹⁾	450.58 \pm 1.04 ¹⁾	436.51 \pm 1.56 ¹⁾	92.11 \pm 0.74 ¹⁾
DS11	312.84 \pm 1.37 ¹⁾	337.09 \pm 3.15 ¹⁾	495.80 \pm 1.56 ¹⁾	468.25 \pm 1.04 ¹⁾	80.31 \pm 1.13 ¹⁾
DS14	238.87 \pm 2.38 ¹⁾	279.00 \pm 0.52 ¹⁾	297.56 \pm 1.37 ¹⁾	308.34 \pm 1.37 ¹⁾	73.92 \pm 0.43 ¹⁾
DS15	439.50 \pm 2.07 ¹⁾	467.65 \pm 1.37 ¹⁾	226.00 \pm 0.52 ¹⁾	238.87 \pm 0.90	69.99 \pm 0.74
CK	267.92 \pm 2.26	284.39 \pm 1.04	299.96 \pm 0.90	234.08 \pm 1.37	66.54 \pm 0.86

注: ¹⁾ 表示内生真菌与空白组具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

4 结论与讨论

植物具有丰富的内生菌资源,而部分内生菌为潜在性致病内生菌。其存在于健康植物体内,当条件适宜时便会表现出致病性作用^[21-22]。研究表明,致病菌通过分泌细胞壁降解酶,从而破坏宿主植物的细胞壁^[23-25],是一些植物病原菌的重要致病因子。本研究通过体内外实验证实,丹参的内生真菌中存在潜在性致病内生真菌,分属曲霉属 *Aspergillus* (1 种),镰刀属 *Fusarium* (3 种) 菌株,丛赤壳属 *Nectria* (1 种),根串珠霉属 *Thielaviopsis* (1 种),青霉属 *Eupenicillium* (1 种),螺旋聚孢霉属 *Clonostachys* (1 种),已有研究证明这些属的真菌具有致病性,为植物的病原真菌^[26-29]。这些致病菌均能产生细胞壁降解酶,是其重要的致病因子之一,在前期以产生破坏胞间层的 PMG, PG, 木聚糖酶为主,以便于菌丝浸染进植物体内;后期以产生破坏细胞壁完整性的 Cx, β -G 酶为主,辅以 PMG, PG, 木聚糖酶的作用。这与李宝聚等^[30]认为果胶酶在病原菌最初入侵以及扩展时最早起作用的观点比较一致。

活体内未回接内生真菌菌株的丹参组培苗上,细胞壁降解酶也具有活性,但并不发生病变。可能是由于潜在性致病内生真菌的回接改变了植物体的内环境,从而适于各细胞壁降解酶协调作用,使丹参组培苗表现出病症^[31]。

丹参野生资源匮乏,随栽培面积和代数增加,其病害和连作障碍等越来越严重,给丹参药材生产和临床用药安全带来严重威胁。目前主要采用轮作和药物防治等外部环境调控^[32-33]。本实验确定的 9 株潜在性致病菌均由道地产区的健康丹参植物组织中分离获得,包括来自 6 属的内生真菌,而且镰刀属 *Fusarium* 和链格孢属 *Alternaria* 的真菌并未全部表现出致病性;从这些潜在性致病菌在体内外产生的细胞壁降解酶的种类和酶活性可见不同菌株的致病强弱与环节存在差异,提示药用植物微生态系统中,植物和微生物之间的关系较复杂,它们长期形成的共栖共存关系对药材品质形成和植物抗性形成的影响值得进一步研究。也为通过干预或重构药用植物微生态系统的组成和功能,从而保证中药安全有效、有资源可用,实现优质中药材的高效生产等工作,提供了一条有益的研究思路。

[参考文献]

[1] Clay K. Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium perenne* and *Festuca*

arundinacea Oecologia (Berlin) [J]. Oecologia, 1987, 73(3):358-362.

[2] 杜素娟,郭晓恒.植物内生真菌对植物次生代谢产物的影响[J].现代农业科学,2009(5):17-18.

[3] Petrini O. Fungal endophytes of tree leaves[J]. Microb Ecol Leaves, 1991, doi:10.1007/978-1-4612-3168-4-9.

[4] 郭良栋.内生真菌研究进展[J].菌物系统,2001,20(1):48-152.

[5] Cottyn B, Regalado E, Lanoot B, et al. Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment [J]. Phytopathology, 2001, 91(3):282-292.

[6] 杨忆.灰枣果实内生真菌多样性研究及枣缩果病生防菌的筛选[D].郑州:河南农业大学,2014.

[7] 朱凤,陈夕军,童蕴慧,等.水稻内生细菌的分离及其拮抗性与其潜在致病性测定[J].中国生物防治学报,2007,23(1):68-72.

[8] 李梅婷,张绍升.香蕉内生炭疽菌鉴定及致病性测定[J].亚热带农业研究,2008,4(2):128-131.

[9] 吉力尔鬼,乃古沙黑,杜家明,等.小叶杨叶片内生菌 *Botryosphaeria dothidea* 对杨树枝干致病性研究[J].陕西林业科技,2017(2):12-14.

[10] 戴国君.丹参内生真菌群落结构研究[D].成都:成都中医药大学,2011.

[11] 丁小丽,孙建军,梁健,等.丹参叶片内生真菌群落结构及其与有效成分相关性分析[J].中国中药杂志,2015,40(14):2800-2806.

[12] 唐坤,李标,郭顺星.一株促进丹参生长和提高丹酚酸含量的活性内生真菌[J].菌物学报,2014,33(3):594-600.

[13] 王萌,戴国君,马云桐,等.丹参内生真菌与其有效成分的相关性分析[J].中国实验方剂学杂志,2013,20(23):66-73.

[14] 王萌.道地产区丹参内生真菌组成及其功能的初步研究[D].成都:成都中医药大学,2013.

[15] 兰英,柳敏,严铸云,等.不同地理种源丹参组培快繁及再生苗性状差异比较[J].江苏农业科学,2016,44(10):103-107.

[16] 曹建康 姜微波.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007.

[17] 周婷.受条锈菌侵染后小麦叶片中细胞壁降解酶活性变化的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2007.

[18] 王麒然,吴菊香,张茹琴,等.花生叶腐病菌分泌的细胞壁降解酶活性测定及致病性分析[J].植物生理学报,2016(3):269-276.

[19] 罗海莉,李洁,严守雷,等.莲藕贮藏期主要致病真菌分离鉴定及其致病相关酶学特性研究[J].长江蔬菜,2011(16):68-72.

- [20] 张洪祥. 龙眼拟茎点霉细胞壁降解酶及其致病机理的研究[D]. 福州:福建农林大学,2010.
- [21] 李源. 小麦内生真菌系统发育及生态功能研究[D]. 郑州:郑州大学,2013.
- [22] 邹凤莲,汪志平,卢钢. 番红花链格孢菌的分离及其生物学特性研究[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2006, 32(2):162-167.
- [23] 谢占玲. 植物细胞壁降解真菌及酶的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2011.
- [24] Gomathi V, Gnanamanickam S S. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant defence[J]. Curr Sci,2004, 87(9):1211-1217.
- [25] Lorenzo G D, Ferrari S. Polygalacturonase-inhibiting proteins in defense against phytopathogenic fungi[J]. Curr Opin Plant Biol,2002,5(4):295-299.
- [26] 王月,高国平,张瑶琪,等. 沈阳地区油松枝枯病原菌的鉴定[J]. 西北林学院学报,2015, 30(3): 139-144.
- [27] 向明,廖薇,侯若彤,等. 两种真菌对紫茎泽兰的致病性研究[J]. 天然产物研究与开发,2004, 16(5): 399-402.
- [28] 边传红,丁玥琪,赵世民,等. 河南省烟草根黑腐病菌的分子鉴定及致病性分析[J]. 烟草科技,2017, 50(3):8-14.
- [29] 杜小琴. 植物精油对甜樱桃采后病原真菌的抑制作用及其贮藏效果研究[D]. 成都:四川农业大学,2016.
- [30] 李宝聚,周长力,赵奎华,等. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究Ⅱ细胞壁降解酶及其在致病中的作用[J]. 植物病理学报,2000,29(1):13-18.
- [31] 冯晶,高增贵,薛春生,等. 玉米弯孢霉叶斑病菌产生的细胞壁降解酶的致病作用研究[J]. 园艺与种苗, 2002, 22(3):164-166.
- [32] 曾华兰,叶鹏盛,李琼芳,等. 利用木霉防治丹参根腐病的研究[J]. 四川农业大学学报,2003, 21(2): 142-144.
- [33] 刘树林. 药用植物丹参病害及防治方法[J]. 吉林农业,2013(5):36.

[责任编辑 顾雪竹]