

木霉菌合成银纳米粒子条件的优化及其对甜瓜尖孢镰刀菌抑制作用

姚薇, 曲明星, 崔晓慧, 夏润玺, 刘限

沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866

姚薇, 曲明星, 崔晓慧, 等. 木霉菌合成银纳米粒子条件的优化及其对甜瓜尖孢镰刀菌抑制作用. 生物工程学报, 2020, 36(9): 1859–1868.

Yao W, Qu MX, Cui XH, et al. Optimization of synthesizing silver nanoparticles from *Trichoderma* strains for inhibition of *Fusarium oxysporum*. Chin J Biotech, 2020, 36(9): 1859–1868.

摘 要: 随着绿色环保观念的普及,生物合成金属纳米粒子的方法备受青睐。纳米银 (Silver nanoparticles, AgNPs) 由于其抗菌活性强且不易产生抗药性等特点在农业病害防治中越来越受到关注。文中利用橘绿木霉 *Trichoderma citrinoviride* 和毛簇木霉 *Trichoderma velutinous* 研究了 AgNPs 的最适合成条件和 AgNPs 对尖孢镰刀菌抑菌活性。结果表明,所有合成的 AgNPs 均在 400–500 nm 处有吸收峰,两种木霉生物合成 AgNPs 的最适合成条件为 CL 法 (菌丝滤液) 静置光照培养,底物 AgNO_3 浓度为 2.0 mmol/L, pH 值为 7, 反应温度为 45 °C。橘绿木霉和毛簇木霉合成的 AgNPs 均对尖孢镰刀菌有抑制作用,抑菌效果随浓度的增加而增大,AgNPs 在浓度为 200 mg/L 时,抑菌率分别达到 33.745% 和 36.083%。

关键词: 木霉菌, 纳米银, 生物合成, 尖孢镰刀菌

Optimization of synthesizing silver nanoparticles from *Trichoderma* strains for inhibition of *Fusarium oxysporum*

Wei Yao, Mingxing Qu, Xiaohui Cui, Runxi Xia, and Xian Liu

College of Bioscience and Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China

Abstract: With the popularity of green concepts, the use of biological method to synthesize metal nanoparticles is a favored method. Silver nanoparticles (AgNPs) have attracted more and more attention in the control of agricultural diseases, because of their strong antifungal activity and not easy inducing resistance for pathogens. In this study, *Trichoderma citrinoviride* and *Trichoderma velutinous* were used to study the most suitable synthesis conditions for AgNPs, and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. The silver nanoparticles had an absorbance peak at

Received: January 13, 2020; **Accepted:** March 20, 2020

Supported by: Ministry of Agriculture, Agricultural Public Welfare Industry Research (No. 201503110), Provincial Natural Science Foundation of Liaoning Province, China (No. 2015020759).

Corresponding author: Xian Liu. Tel: +86-24-88487163; E-mail: benz117309@sina.com.cn

农业部公益性行业科研专项 (No. 201503110), 辽宁省自然科学基金 (No. 2015020759) 资助。

网络出版时间: 2020-04-23

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200423.1111.001.html>

400-500 nm, the most suitable synthesis conditions were at standing and light with CL method (mycelium filtrate), AgNO_3 concentration of 2.0 mmol/L, pH of 7, and reaction temperature of 45 °C. AgNPs synthesized by *T. citrinoviride* and *T. velutinous* inhibited *F. oxysporum*, the inhibition effect was better with the increase of silver nanoparticle concentration. When the concentration of AgNPs was 200 mg/L, the antifungal rate from *T. citrinoviride* and *T. velutinous* was 33.75% and 36.08%, respectively.

Keywords: *Trichoderma* spp., silver nanoparticles, biosynthesis, *Fusarium oxysporum*

引起甜瓜枯萎病的尖孢镰刀菌是既可侵染植物又可在土壤内生存的兼性寄生真菌^[1],一般从植物根部入侵,在不同时期均可使甜瓜枯萎致死,从而造成甜瓜产量和品质下降^[2]。目前农业上通常采用化学农药防治枯萎病,但长期过量施用化学农药将严重污染土壤,造成土壤生态环境失衡和病原菌产生抗药性^[3]。因此,生产上急需环境友好型且不易使病原菌产生抗药性的生物杀菌剂。纳米粒子由于其在大小、分散程度和形状等方面的特性表现出新的优点,在医学、农业和食品等领域引起广大学者的关注^[4]。许多金属纳米粒子对病毒、细菌和真菌等微生物都具有较强的杀菌活性^[5],其中 AgNPs 是被广泛研究利用的金属纳米粒子,可以作为抗微生物剂、抗癌剂、光催化剂、抗氧化剂和杀虫剂^[6]。AgNPs 的合成因物理和化学法的生产成本高和高毒性物质的副作用而转向生物合成。以细菌、真菌等微生物代谢物和植物提取物为还原剂和稳定剂生物合成 AgNPs,具有绿色环保和高安全性的特点^[7-10],其中对金属具有高抗性和高聚合能力的真菌^[11]能够分泌细胞外酶而广泛用于 AgNPs 的合成。目前已有多种木霉菌用于合成 AgNPs,主要有棘孢木霉 *Trichoderma asperellum*^[12]、绿色木霉 *T. viride*^[13]、哈茨木霉 *T. harzianum*^[14]、盖木斯木霉 *T. gamsii* IPT853^[15]和长枝木霉 *T. longibrachiatum*^[16],但不同木霉菌合成 AgNPs 的条件不同^[17-18]。

本研究以橘绿木霉 *T. citrinoviride* 和毛簇木霉 *T. velutinous* 发酵液为还原剂和稳定剂合成 AgNPs,以 UV-vis 光谱表征特征探究不同合成条件对不同木霉菌合成 AgNPs 影响,以期明确木霉菌合成 AgNPs 的最适条件。同时研究不同木霉菌合

成的 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑菌活性,为农用新型药剂的开发和甜瓜枯萎病的防控奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

橘绿木霉 *T. citrinoviride* 和毛簇木霉 *T. velutinous*,分离于柞树根系,保存于沈阳农业大学生物科学技术学院实验室。

尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 分离于甜瓜枯萎病根系,保存于植物保护学院实验室。

1.2 供试培养基

PDA 固体培养基:将马铃薯去皮洗净,称量 200 g 并切块,加入蒸馏水煮沸 20-30 min,用纱布过滤后,将其滤液倒入锅中加热,加入琼脂条 20 g,不断搅拌,待琼脂条完全溶解后加入葡萄糖 20 g,搅拌均匀,稍冷却后再添加蒸馏水至 1 000 mL,分装于锥形瓶中,灭菌后备用。

PDB 培养基:制备方法同上,培养基中不加入琼脂。

1.3 试剂

硝酸银(分析纯 AR),西陇科学股份有限公司;氢氧化钠(分析纯 AR),西陇科学股份有限公司;盐酸(分析纯 AR),西陇科学股份有限公司。

1.4 银纳米粒子的合成

木霉菌在 PDA 培养基上活化后转移到 PDB 培养基中,在 28 °C、150 r/min 下振荡培养 3 d。然后用无菌 Whatman 滤纸 1 号过滤菌丝,收集滤液(使用此滤液合成 AgNPs 方法命名为 CL 法)和木霉菌丝。木霉菌丝(10 g)用无菌去离子水洗涤 2 次以除去培养基,然后加入 100 mL 无菌去

离子水中,振荡培养 3 d,使用无菌 Whatman 滤纸 1 号过滤收集滤液(使用此滤液合成 AgNPs 方法命名为 CW 法)。将 200 μL AgNO_3 (1 mol/L) 加入 100 mL 滤液 (CL 法或 CW 法) 中并在光照或黑暗条件下反应 5 d。离心 (12 991 $\times g$, 30 min) 收集合成的 AgNPs, 用无菌水洗涤 2 次, 再用 75% 乙醇洗涤 1 次。合成的 AgNPs 自然干燥后称重, 备用。

1.5 银纳米粒子合成条件的优化

1.5.1 不同反应条件对合成银纳米粒子的影响

分别设置静置暗反应、静置光照、振荡暗反应、振荡光照 4 个反应条件, 每 12 h 进行紫外可见分光光度计全波长 (300–800 nm) 扫描, 综合分析利于 AgNPs 合成的条件。

1.5.2 底物 AgNO_3 浓度对合成银纳米粒子的影响

根据前面试验结果, 设置 100 mL 反应液中 AgNO_3 (1 mol/L) 的终浓度分别为 1.0 mmol/L、2.0 mmol/L、3.0 mmol/L, 于静置光照条件下反应 24 h, 分析反应液中 AgNO_3 浓度对 AgNPs 合成的影响。

1.5.3 不同 pH 对合成银纳米粒子的影响

根据前面试验结果, 反应液的 pH 分别调整为 3、5、7、9, AgNO_3 浓度为 2.0 mmol/L, 于静置光照条件下反应 24 h, 分析 pH 对 AgNPs 合成的影响。

1.5.4 不同温度对合成银纳米粒子的影响

根据前面试验结果, 将反应液 (pH: 7; AgNO_3 浓度为 2.0 mmol/L) 分别于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、35 $^{\circ}\text{C}$ 、45 $^{\circ}\text{C}$ 、55 $^{\circ}\text{C}$, 静置光照条件下反应 24 h, 分析温度对 AgNPs 合成的影响。

1.6 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制作用

AgNPs 沉淀于灭菌水中用超声波细胞破碎仪将其充分破碎分散后, 制成 AgNPs 水溶液, 然后加入 PDA 培养基中, 使 AgNPs 最终浓度分别为 0 mg/L、25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 和 200 mg/L。然后倒入培养皿中, 晾干后接镰刀菌菌饼, 28 $^{\circ}\text{C}$ 下倒置暗培养 7 d, 测量镰刀菌菌落

直径, 计算 AgNPs 对镰刀菌生长的抑制作用。每个处理重复 3 次。

1.7 数据处理

试验数据使用软件 Excel (Office 2010) 整理和方差分析。

2 结果与分析

2.1 四种反应条件下橘绿木霉 *T. citrinoviride* CW 法合成 AgNPs 的比较

橘绿木霉在静置暗反应、静置光照、振荡暗反应、振荡光照 4 个反应条件下, 采用 CW 法合成 AgNPs, 合成过程中每 12 h 进行紫外可见分光光度计全波长扫描。扫描结果表明, 在静置暗培养条件下从 0–72 h、在 400–500 nm 范围内无宽吸收峰且波长位置几乎重合, 且反应液颜色一直呈淡黄色 (图 1A)。在静置光照条件下培养 12 h 后, 438 nm 处出现吸收峰, 72 h 达到最大值, 且吸收峰位置基本保持不变, 该特征吸收峰与文献中报道的纳米银的 UV-vis 光谱吸收峰是一致的; 反应液颜色 0 h 时呈淡黄色, 12 h 变成棕色, 72 h 时颜色变深至黑褐色 (图 1B)。振荡暗反应和振荡光照在 0–48 h 全波长扫描结果波形位置基本一致, 60–72 h 在 400–500 nm 之间吸收峰位置变高, 反应液在 0–48 h 颜色几乎无变化, 60–72 h 变为深黄色 (图 1C 和 1D)。因此, *T. citrinoviride* CW 法合成 AgNPs 过程中静置光照的反应条件是最佳的, 吸光度达到 2.6。

2.2 四种反应条件下毛簇木霉 *T. velutinosa* CW 法合成 AgNPs 的比较

毛簇木霉在 4 种反应条件下 CW 法合成 AgNPs 情况与橘绿木霉基本一致, 也是在静置光照条件下合成效果最好。研究发现, 静置光照条件下培养 12 h 后, 438 nm 处出现吸收峰, 72 h 达到最大值, 且吸收峰位置基本保持不变 (图 2B)。因此, *T. velutinosa* CW 法合成 AgNPs 中静置光照反应条件下合成 AgNPs 效果最佳, 吸光度达到 2.7。

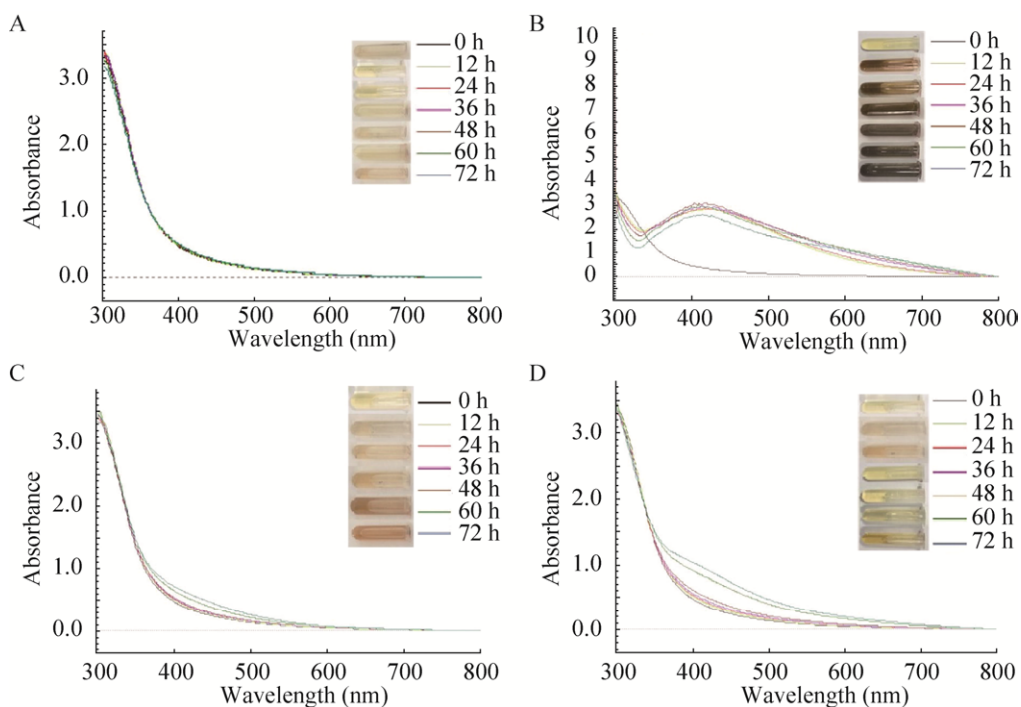


图1 4种反应条件对橘绿木霉CW法合成AgNPs的比较

Fig. 1 Effect of 4 reaction parameters on synthesis of AgNPs by *T. citrinoviride* with CW method. (A) Standing and dark. (B) Standing and light. (C) Shaking and dark. (D) Shaking and light.

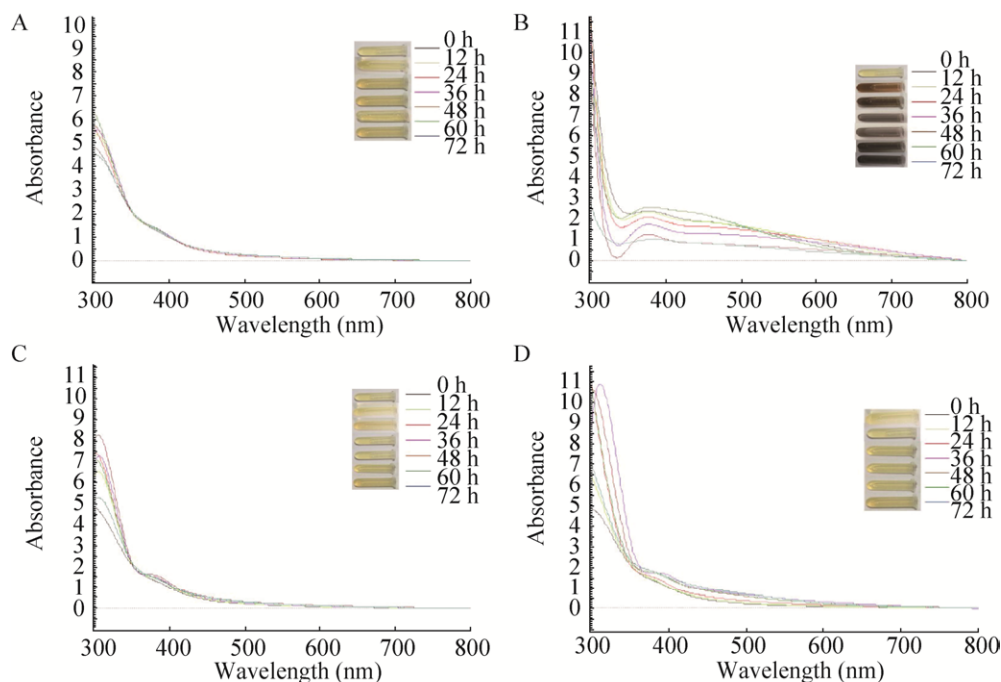


图2 4种反应条件对毛簇木霉CW法合成AgNPs的比较 (A: 静置暗反应; B: 静置光照; C: 振荡暗反应; D: 振荡光照)

Fig. 2 Effect of 4 reaction parameters on synthesis of AgNPs by *T. velutinous* with CW method. (A) Standing and dark. (B) Standing and light. (C) Shaking and dark. (D) Shaking and light.

2.3 四种反应条件下橘绿木霉 *T. citrinoviride* CL 法合成 AgNPs 的比较

在 4 种反应条件下,橘绿木霉 *T. citrinoviride* 合成 AgNPs CL 法明显好于 CW 法,4 种反应条件下颜色变化明显,都有 AgNPs 的生成。其中静置光照条件下反应颜色均在 12 h 开始变化,72 h 时达到黑褐色,合成量明显增加(图 3)。结果显示,静置光照条件下培养 12 h 后,437 nm 处出现吸收峰,72 h 达到最大值,为 10.2。根据反应颜色变化及紫外扫描得出结论 *T. citrinoviride* CL 法在静置光照条件下合成 AgNPs 合成效果好。

2.4 四种反应条件下毛簇木霉 *T. velutinous* CL 法合成 AgNPs 的比较

毛簇木霉 CL 法合成 AgNPs 与 *T. citrinoviride* CL 法合成 AgNPs 基本一致,但最佳合成条件下吸收峰在 24 h 达到最高,为 3.2,随着时间的延长吸收峰降低,推测可能是木霉菌发酵液中的部分还原性成分被破坏,发酵液的还原能力降低,AgNPs 合成量降低。反应颜色均在 12 h 开始变化(图 4),且光照培养颜色变化均明显好于暗培养条件。根据反应颜色变化及紫外扫描得出结论:*T. velutinous* CL 法合成 AgNPs 在采用静置光照条件合成 AgNPs 时合成效果最好。

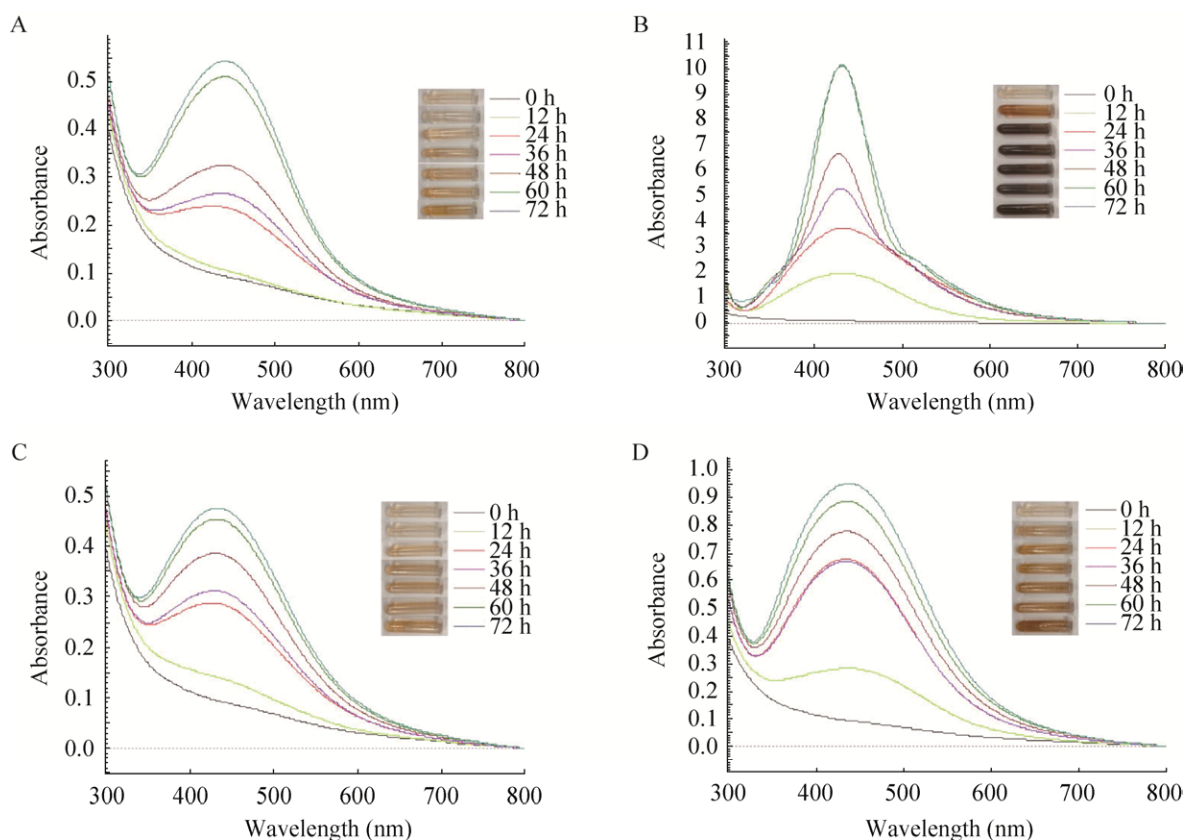


图 3 4 种反应条件对橘绿木霉 CL 法合成 AgNPs 的比较 (A: 静置暗反应; B: 静置光照; C: 振荡暗反应; D: 振荡光照)

Fig. 3 Effect of 4 reaction parameters on synthesis of AgNPs by *T. citrinoviride* with CL method. (A) Standing and dark. (B) Standing and light. (C) Shaking and dark. (D) Shaking and light.

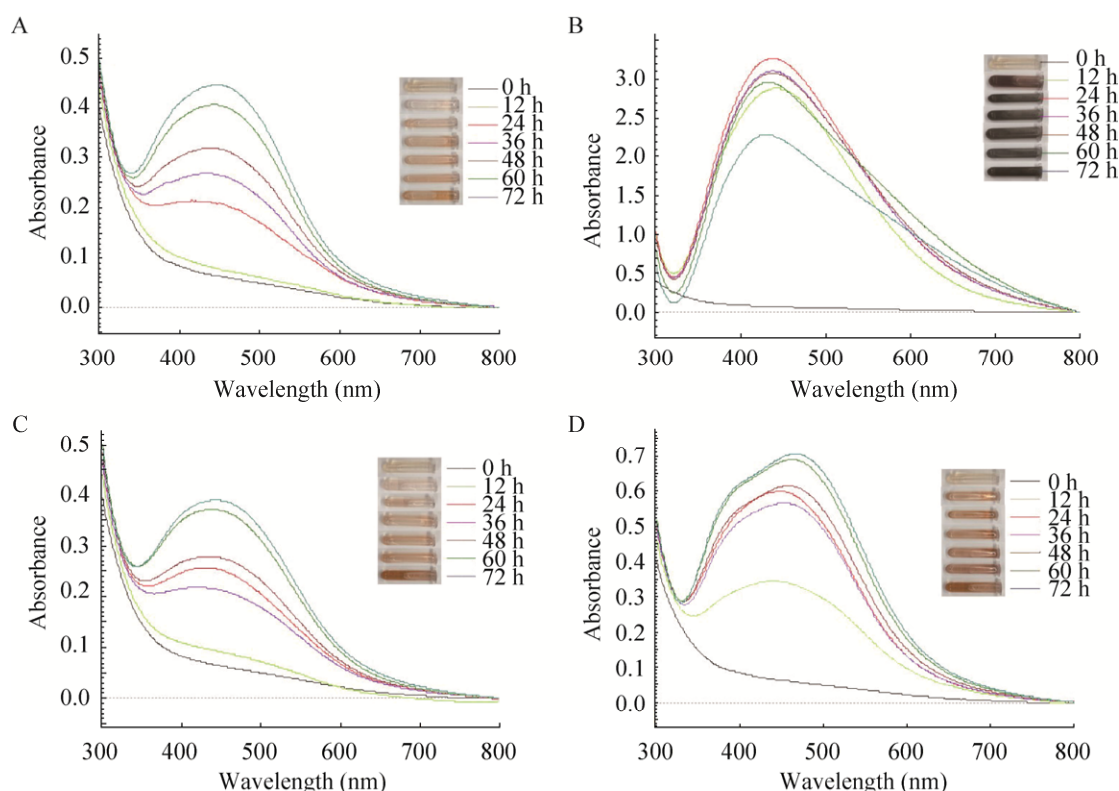


图4 4种反应条件对毛簇木霉CL法合成AgNPs的比较

Fig. 4 Effect of 4 reaction parameters on synthesis of AgNPs by *T. velutinous* with CL method. (A) Standing and dark. (B) Standing and light. (C) Shaking and dark. (D) Shaking and light.

综合两种木霉菌在两种合成方法和4种反应条件下合成AgNPs的情况,木霉菌合成AgNPs以静置光照下合成效果最佳,橘绿木霉的合成量高于毛簇木霉的。

2.5 硝酸银浓度对木霉菌发酵液合成AgNPs的影响

反应液中AgNO₃浓度对两种木霉菌发酵液合成AgNPs的影响见图5。反应液中AgNO₃浓度为1.0 mmol/L时,两种木霉菌都几乎无吸收峰出现,而其他两种浓度均在440 nm处出现吸收峰,说明合成了AgNPs。反应液中AgNO₃的浓度为2.0 mmol/L时,合成AgNPs的特征吸收峰的峰值最高。橘绿木霉合成AgNPs的量高于毛簇木霉。

2.6 pH对木霉菌发酵液合成AgNPs的影响

不同pH对两种木霉菌发酵液合成AgNPs的

影响见图6。当pH为3时,合成AgNPs吸收峰峰值较低,说明此条件下合成能力较弱;pH为7时,合成AgNPs的特征吸收峰的峰值最高,说明合成能力最好。在酸性条件下,合成的纳米银的特征吸收峰发生红移(图6)。当pH为5~9时,两种木霉菌发酵液合成AgNPs的量基本没有影响。

2.7 温度对木霉菌发酵液合成AgNPs的影响

不同温度对两种木霉菌合成AgNPs的影响见图7。45℃和55℃的特征吸收峰的峰值较高,55℃形成的是宽峰,说明AgNPs的粒径较大;45℃形成的是窄峰,说明纳米银的粒径较小。与45℃的特征吸收峰相比,其他条件下吸收峰发生红移。因此,木霉菌合成AgNPs的最适反应温度为45℃。温度对两种木霉菌发酵液合成AgNPs的量基本没有影响。

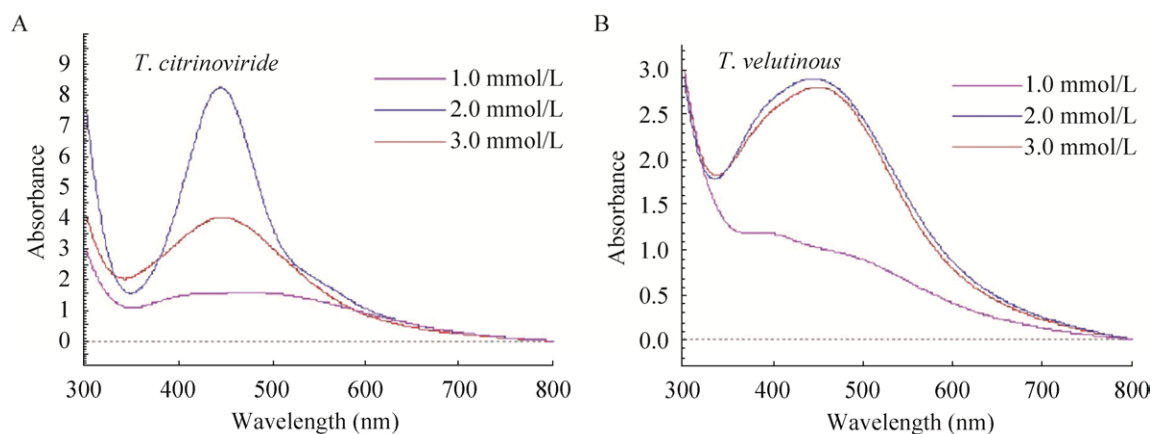


图 5 反应液中 AgNO_3 浓度对木霉菌合成 AgNPs 的影响

Fig. 5 Effect of AgNO_3 concentration in the reaction solution on the synthesis of AgNPs by *Trichoderma* strains.

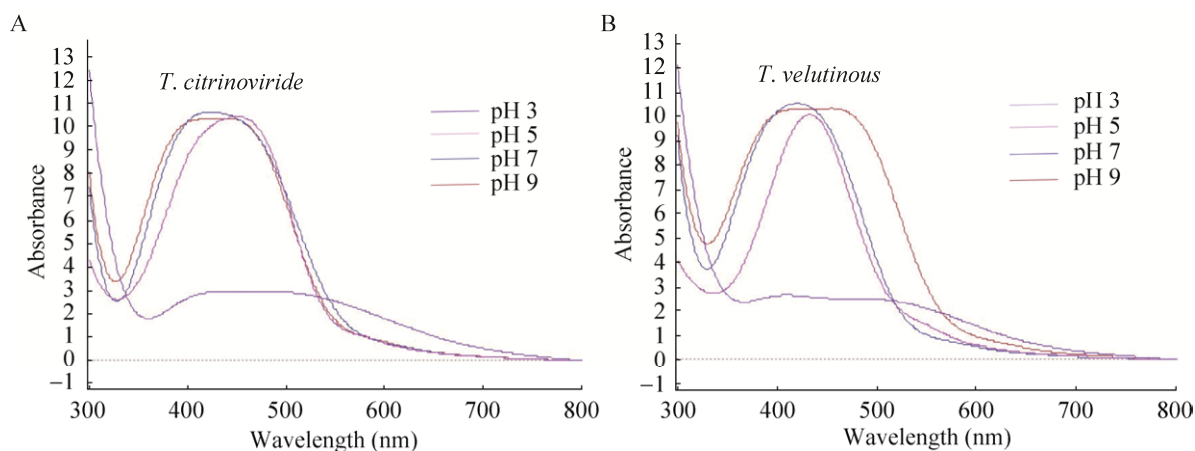


图 6 pH 对木霉菌合成 AgNPs 的影响

Fig. 6 Effect of pH on the synthesis of AgNPs by *Trichoderma* strains.

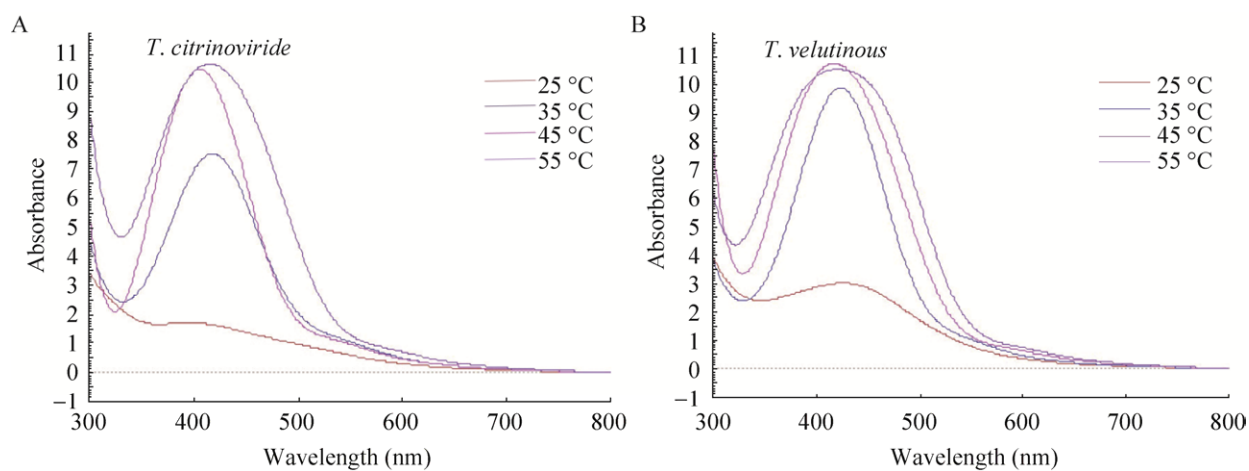


图 7 温度对木霉菌发酵液合成 AgNPs 的影响

Fig. 7 Effect of temperature on the synthesis of AgNPs by *Trichoderma* strains.

2.8 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制作用

两种木霉菌均采用 CL 法合成 AgNPs 溶液, 设置了 0、25、50、100、200 mg/L 五种不同的浓度, 观察对尖孢镰刀菌的抑制效果。木霉菌合成的 AgNPs 对镰刀菌都有抑制作用, 在相同浓度下, 两种木霉菌合成的 AgNPs 对尖孢镰刀菌没有显著性差异。不同浓度的 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制情况也有所不同。随着浓度的增加, 抑制效果越好。两种木霉菌合成 AgNPs 都是在 200 mg/L 时抑制效果最好 (表 1)。

3 讨论

近年来, 随着绿色环保概念的普及, 与传统的化学、物理合成法相比, 生物合成银纳米粒子的备受关注。许多生物已经被用于合成金属纳米颗粒^[19], 而微生物尤其是真菌可产生大量生物活性成分, 这些成分在生物合成 AgNPs 过程中常被用作辅助剂、封端剂和稳定剂, 从而更有利于金属纳米粒子的合成^[20]。本试验使用 *T. citrinoviride* 和 *T. velutinosa* 合成 AgNPs, 通过改变反应合成条件, 发现 *T. citrinoviride* 和 *T. velutinosa* 发酵液均可用于合成 AgNPs, 合成最适条件为 CL 法静置光照培养, 反应液中 AgNO₃ 浓度为 2.0 mmol/L, pH 为 7, 反应温度为 45 °C。AgNPs 的尺寸、形状、形态、组成和介电环境决定了 AgNPs 的颜色, 因此可借助 UV-vis 识别 AgNPs 的形成^[21]。木霉菌发酵液和无色的 AgNO₃ 溶液于静置光照下发生颜色变化, 证实了 AgNPs 的合成^[22]。随着反应时间的增加, 反应颜色加深, 表明 AgNPs 的浓度增加, 说明 AgNPs 的形成与反应时间成正比^[23]。所有合成的 AgNPs 都在 400–500 nm 的波长处被

吸收, 所形成的 AgNPs 电镜观察大多为球形或扭曲的球形 (另有论文发表), 这与 Dauthal 和 Mukhopadhyay 的推测结果基本一致^[24]。微生物发酵液合成 AgNPs 的条件, 不同文献报道不甚相同, Elgorban 等^[13]利用绿色木霉 *T. viride* 在静置暗培养条件下合成 AgNPs; 张杰等^[25]利用钩状木霉 *T. hamatun* 在 150 r/min 暗反应合成 AgNPs; Omran 等^[17]利用长枝木霉 *T. longibrachiatum* 合成 AgNPs 时发现, 在振荡的条件下搅拌速度的增加会引起反应混合液发生湍流, 这可能会造成 AgNPs 产率的降低; 而 Gade 等^[26]利用侧耳属 *Pleurotus* spp. 合成 AgNPs 时发现, 在有阳光的情况下, Ag⁺的还原迅速发生, 而在黑暗时需 24 h 才能完全还原。本试验中, 在设置的 4 个反应条件中 (静置暗反应、静置光照、振荡暗反应、振荡光照), 静置光照合成效果较好, 由此看出 AgNPs 合成条件与不同的微生物有关; 采取两种合成方法 (CL 法、CW 法), 发现 CL 法合成 AgNPs 的效果更好, 可能是由于 CL 法的发酵液滤液中含有更多的木霉菌合成的各种有机物质, 从而有利于纳米银的合成。据文献报道, 金属硝酸盐可以通过暴露于阳光下产生的热量而分解, 而真菌发酵液中的芳香族化合物通过光活化, 芳香族化合物和蛋白质作为封端剂启动金属纳米粒子的合成, 真菌发酵液的光敏芳香族化合物向 Ag⁺提供电子还原以形成具有封端剂的金属纳米粒子^[27]。此外, 随着底物浓度从 1.0 mmol/L 增加到 3.0 mmol/L, AgNPs 的 SPR 峰略红移, 这可能是在更高的底物浓度 (3.0 mmol/L) 下形成了较大尺寸 AgNPs。其中, 使用 2.0 mmol/L 合成的 AgNPs 表现出更好的稳定性。在反应体系中, 酸性 pH 条件下 AgNPs 的 SPR 峰发生红移,

表 1 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制率

Table 1 Inhibitory rate of silver nanoparticles against *F. oxysporum*

AgNPs	Inhibition rates (%)			
	25 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
AgNPs- <i>T. citrinoviride</i>	1.267±0.000a	15.078±0.037b	21.794±0.042c	33.745±0.006d
AgNPs- <i>T. velutinosa</i>	4.167±0.012a	16.582±0.020b	21.913±0.052b	36.083±0.034c

Different letter(s) in the same line differ significantly ($P<0.05$) according to Duncan's test.

这表明 AgNPs 的粒径变大。在酸性 pH 条件下,生物代谢物主要以阳离子形式存在,如 $\text{NH}_3^+\text{-R-COOH}$ 。质子化的胺基之间存在静电排斥,但是 NH_3^+ 基团倾向于吸附到银纳米颗粒的表面,从而降低了 NH_3^+ 基团之间的静电斥力,因此,它决定了 -COOH 基团之间氢键的优势,并导致纳米粒子的聚集,因此 AgNPs 发生聚集导致粒径变大。而在中性 pH 和碱性 pH 条件下,生物代谢物组分带负电,从而将电子转移到 Ag^+ 最终还原 Ag^+ 导致形成了小尺寸的 AgNPs^[28]。随温度升高 AgNPs 浓度显著升高,而在高温 (45 °C、55 °C) 下,SPR 峰略红移。随着样品温度的升高,纳米颗粒的体积由于热膨胀而增加,温度的升高会导致纳米粒子中自由电子的浓度降低,并导致 SPR 峰的红移^[29]。

木霉菌发酵液合成的 AgNPs 能够抑制尖孢镰刀菌的生长,两种木霉菌合成的 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制没有显著性差异;不同浓度的 AgNPs 对尖孢镰刀菌的抑制性存在显著性差异,且随着浓度的不断增大,抑制效果越好。纳米银对金黄色葡萄球菌^[30]、大肠杆菌^[30]、植物病原真菌^[31] (灰霉病菌、尖孢镰刀菌、白皮腐霉) 等都有抑制作用,说明 AgNPs 具有广谱抑菌作用。后续研究还需明确 AgNPs 对甜瓜枯萎病的防治效果和是否对甜瓜生长有影响。

4 结论

两种木霉菌发酵液均可合成 AgNPs,合成 AgNPs 的最适条件:CL 法静置光照培养,底物 AgNO_3 浓度为 2.0 mmol/L, pH 为 7,反应温度为 45 °C。UV-Vis 显示 AgNPs 表面等离子体共振发生在 437 nm 处,出现最大吸收峰。两种木霉菌生物合成 AgNPs 对尖孢镰刀菌都具有抑制效果,浓度越高,抑制效果越好。

REFERENCES

- [1] Qiao F, Chen HQ, Li H, et al. Advances in research on disease suppressive soils related to *Fusarium oxysporum* wilt. Chin J Trop Crop, 2019, 40(8): 1665–1670 (in Chinese).
- [2] Wang ZD. Research on Economic Development of Chinese Melon Industry. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014: 9–12 (in Chinese).
- [3] Liu X, Li ZW, Liu L. Analysis of the incidence of melon blight and control measures. Vegetables, 2010(12): 30–31 (in Chinese).
- [4] Mirzaei H, Darroudi M. Zinc oxide nanoparticles: biological synthesis and biomedical applications. Ceram Int, 2016, 43(1): 907–914.
- [5] Rónavári A, Igaz N, Krishna GM, et al. Biosynthesized silver and gold nanoparticles are potent antimicrobials against opportunistic pathogenic yeasts and dermatophytes. Int J Nanomed, 2018, 13: 695–703.
- [6] Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, et al. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. J Adv Res, 2016, 7(1): 17–28.
- [7] Hulkoti NI, Taranath TC. Biosynthesis of nanoparticles using microbes-a review. Colloid Surf B, 2014, 121: 474–483.
- [8] Srikar SK, Giri DD, Pal DB, et al. Green synthesis of silver nanoparticles: a review. Green Sustain Chem, 2016, 6(1): 34–56.
- [9] Baker S, Kumar KM, Santosh P, et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by novel *Pseudomonas veronii* AS41G inhabiting *Annona squamosa* L. and their bactericidal activity. Spectrochim Acta A, 2015, 136: 1434–1440.
- [10] Miri A, Sarani M, Bazaz MR, et al. Plant-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Prosopis farcta* extract and its antibacterial properties. Spectrochim Acta A, 2015, 141: 287–291.
- [11] Ramalingam P, Muthukrishnan S, Thangaraj P. Biosynthesis of silver nanoparticles using an endophytic Fungus, *curvularialunata* and its

- antimicrobial potential. *World J Nanosci Nano Sci Eng*, 2015, 1(4): 241–247.
- [12] Mukherjee P, Roy M, Mandal BP, et al. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. *Nanotechnology*, 2008, 19(7): 075103.
- [13] Elgorban AM, Al-Rahmah AN, Sayed SR, et al. Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. *Biotechnol Biotec Eq*, 2016, 30(2): 299–304.
- [14] Ahluwalia V, Kumar J, Sisodia R, et al. Green synthesis of silver nanoparticles by *Trichoderma harzianum* and their bio-efficacy evaluation against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumonia*. *Ind Crop Prod*, 2014, 55: 202–206.
- [15] Ottoni CrA, Simões MF, Fernandes S, et al. Screening of filamentous fungi for antimicrobial silver nanoparticles synthesis. *AMB Express*, 2017, 7(1): 31.
- [16] Sreenivasaprasad S, Manibhushanrao K. Antagonistic potential of *Gliocladium virens* and *Trichoderma longibrachiatum* to phytopathogenic fungi. *Mycopathologia*, 1990, 109(1): 19–26.
- [17] Omran BA, Nassar HN, Younis SA, et al. Physiochemical properties of *Trichoderma longibrachiatum* DSMZ 16517-synthesized silver nanoparticles for the mitigation of halotolerant sulphate-reducing bacteria. *J Appl Microbiol*, 2019, 126(1): 138–154.
- [18] El-Moslami SH, Elkady MF, Rezk AH, et al. Applying Taguchi design and large-scale strategy for mycosynthesis of nano-silver from endophytic *Trichoderma harzianum* SYA. F4 and its application against phytopathogens. *Sci Rep*, 2017, 7: 45297.
- [19] Singh P, Kim YJ, Zhang DB, et al. Biological Synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends Biotechnol*, 2016, 34(7): 588–599.
- [20] Ingle A, Rai M, Gade A, et al. *Fusarium solani*: a novel biological agent for the extracellular synthesis of silver nanoparticles. *J Nanopart Res*, 2009, 11(8): 2079–2085.
- [21] Shameli K, Bin Ahmad M, Al-Mulla EAJ, et al. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Callicarpa maingayi* stem bark extraction. *Molecules*, 2012, 17(7): 8506–8517.
- [22] Edison TNJI, Atchudan R, Lee YR. Optical Sensor for dissolved ammonia through the green synthesis of silver nanoparticles by fruit extract of *Terminalia chebula*. *J Clust Sci*, 2016, 27(2): 683–690.
- [23] Edison TNJI, Atchudan R, Sethuraman MG, et al. Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using *Anacardium occidentale* testa derived silver nanoparticles. *J Photochem Photobiol B*, 2016, 162: 604–610.
- [24] Dauthal P, Mukhopadhyay M. Noble metal nanoparticles: plant-mediated synthesis, mechanistic aspects of synthesis, and applications. *Ind Eng Chem Res*, 2016, 55(36): 9557–9577.
- [25] Zhang J, Zhang Y, Guo R, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Trichoderma hamatum* and antibacterial activity. *Acta Microbiol China Sin*, 2016, 43(2): 386–393 (in Chinese).
张杰, 张映, 郭瑞, 等. 钩状木霉生物合成纳米银及其杀菌性能. *微生物学报*, 2016, 43(2): 386–393.
- [26] Gade A, Rai M, Karwa A, et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by *Pleurotus species*. *Inter J Med Mushrooms Res*, 2007, 9(3-4): 298–299.
- [27] Gade A, Gaikwad S, Duran N, et al. Green synthesis of silver nanoparticles by *Phoma glomerata*. *Micron*, 2014, 59: 52–59.
- [28] Sun LL, Wang L, Song YH, et al. Aggregation-based growth of silver nanowires at room temperature. *Appl Surf Sci*, 2008, 254(9): 2581–2587.
- [29] Yeshchenko OA, Dmitruk IM, Alexeenko AA, et al. Size and temperature effects on the surface plasmon resonance in silver nanoparticles. *Plasmonics*, 2012, 7(4): 685–694.
- [30] Vahabi K, Mansoori GA, Karimi S. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). *Insciencas*, 2011, 1: 65–79.
- [31] Rahisuddin, AL-Thabaiti SA, Khan Z, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial and antifungal activities towards Gram-positive, Gram-negative bacterial strains and different species of *Candida fungus*. *Bioproc Biosyst Eng*, 2015, 38(9): 1773–1781.

(本文责编 陈宏宇)