

邢芳芳,高明夫,胡兆平,等.木霉菌 M2 的鉴定及其对小白菜促生效果研究[J].农业资源与环境学报,2017,34(1):80-85.
XING Fang-fang, GAO Ming-fu, HU Zhao-ping, et al. Identification of Trichoderma Strain M2 and Related Growth Promoting Effects on Brassica chinensis L. [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2017, 34(1): 80-85.

木霉菌 M2 的鉴定及其对小白菜促生效果研究

邢芳芳,高明夫,胡兆平,范玲超*

(金正大生态工程集团股份有限公司/养分资源高效开发与综合利用国家重点实验室,山东 临沂 276700)

摘要:以一株分离自健康、高产辣椒根际土壤的木霉菌(*Trichoderma* spp.) M2 为供试菌株,研究其对小白菜生长发育的影响并在形态学分类的基础上结合 rDNA-ITS 序列分析的手段,对木霉菌 M2 进行分类鉴定,以期为微生物肥料的开发提供优良菌种。将木霉菌 M2 进行固体发酵制得孢子粉,研究其在温室条件下是否对小白菜的生长具有促生能力。结果表明:菌株 M2 属于哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*);在温室盆栽试验中,土壤接种 M2 孢子粉对小白菜具有不同程度的增产作用,且能够提高叶绿素含量、可食用叶片数,其中接种 5.0×10^9 cfu 的 M2 孢子粉处理的鲜重、干重最高,比对照组分别增加 30.26%、20.08%;接种 5.0×10^8 cfu 的 M2 孢子粉处理鲜重、干重较对照组分别增加 18.33%、12.46%。这说明哈茨木霉 M2 菌株对小白菜的增产效果明显,具有潜在的农业应用价值。

关键词:哈茨木霉菌;分类鉴定;小白菜;促生

中图分类号:S144 文献标志码:A 文章编号:2095-6819(2016)07-0080-06 doi: 10.13254/j.jare.2016.0197

Identification of Trichoderma Strain M2 and Related Growth Promoting Effects on Brassica chinensis L.

XING Fang-fang, GAO Ming-fu, HU Zhao-ping, FAN Ling-chao*

(Kingenta Ecological Engineering Group Co., Ltd., State Key Laboratory of Nutrition Resources Integrated Utilization, Linyi 276700, China)

Abstract: The research took Trichoderma strain as tested strains which isolated from the rhizosphere of healthy and high yield pepper, M2 was classified and identified by combining morphological classification with molecular identification means (rDNA-ITS sequence analysis), whose effect on growth of Brassica chinensis L. was explored, in order to provide superior strains for bio-fertilizer development. After solid fermentation of Trichoderma M2, under the condition of the greenhouse, took some research on the growth promoting effect on Brassica chinensis L. of Trichoderma M2. The results showed that the strain M2 was identified as Trichoderma harzianum strain. M2 had obvious effects on promoting growth, the SPAD and edible leaf number of Brassica chinensis L. Adding of 5.0×10^9 cfu M2 had the best effect on increasing the biological yield. Compared with CK, fresh weight and dry weight was increased by 30.26% and 20.08% respectively. Followed by inoculation of 5.0×10^8 cfu M2, fresh weight and dry weight was increased by 18.33% and 12.46% respectively. Therefore, M2 showed evident promoting effect on Brassica chinensis L., and had potential application value.

Keywords: Trichoderma harzianum; classification and identification; Brassica chinensis L.; growth promoting effect

木霉菌作为一种资源丰富的微生物类群,分布广泛、环境适应性强,在促进植物生长及病害防治方面

具有十分重要的作用,报道较多的为哈茨木霉、绿色木霉、康氏木霉、长枝木霉等几个种^[1-3]。有研究表明,木霉菌拌种或土施可促进植物生长,对辣椒、玉米、马铃薯、花生、黄瓜等多种作物有促生效应^[3-4]。近年来,木霉菌在促生、抗病方面的研究取得了大量成果,Chacbin 等^[4]发现,木霉菌对土传病害的生防作用与植物的根系密切相关,菌株通过定殖于根系外表皮,调

收稿日期:2016-08-24

基金项目:山东省科技重大专项(新兴产业)(2015ZDXX0502B02)

作者简介:邢芳芳(1982—),女,山东临沂人,研究生,工程师,主要从事新型肥料研发及其施肥研究。

E-mail: xingfangfang@kingenta.com

* 通信作者:范玲超 E-mail: fanlingchao@kingenta.com

节植物新陈代谢,从而促进根系发育、提高作物产量以及植株抗性,部分木霉菌的作用机制与丛枝菌根真菌类似^[6]。Jeerapong 等^[6]研究表明,木霉菌 M031 能够分泌一种新的萜烷衍生物,能够在低浓度下抑制炭疽病菌的生长、减少病害的发生。木霉菌菌株在土壤中还能提高土壤肥力和酶活,陆利民等^[7]发现施用木霉菌剂能够增加土壤中微生物总量,同时提高了土壤的脲酶、中性磷酸酶、蔗糖酶、纤维素酶、过氧化氢酶活性,从而促进青菜根系生长和产量的提高。木霉菌中的哈茨木霉菌具有较强的定殖能力,能够在植物根际快速生长繁殖,优先占领植物体表面位点,阻止病原真菌侵入,还能通过分泌促生物质促进作物生根,提高作物抗逆性,对幼苗成活率提高和植株健壮都具有显著效果^[8]。赵忠娟等^[9]研究发现,哈茨木霉 LTR-2 能够促进盐胁迫下蔬菜种子的萌发以及幼苗的生长和光合作用,增强幼苗对盐胁迫的耐受性。有研究表明,哈茨木霉的代谢产物对种子的萌发及植株的生长有不同程度的促进作用,穆红梅等^[9]利用不同浓度的哈茨木霉提取液处理大豆、黄瓜、生菜种子,结果表明在 40~80 mg·L⁻¹ 的提取液浓度下,3 种作物种子的发芽指数、根长及活力指数都有显著提高。

随着微生物肥料行业的发展壮大,大量的优良菌种资源应用到微生物肥料产品中,木霉菌作为一类植物促生、生防菌种,可有效地促进作物生长、减轻作物病害,同时具备使用安全、环境友好等特点,在国内外已被开发成制剂应用于生物肥料、生物农药领域,如美国的 Topshield(哈茨木霉 T22)和以色列的 Trichodex(哈茨木霉 T39)^[2],但国内多未应用于实际生产,而且存在发酵产孢低、稳定性差、货架期短的问题。为此,本研究以本实验室保藏的一株筛分自健康土壤的木霉菌 M2 为供试菌株,研究了 M2 孢子拌土对盆栽小白菜产量的影响,并对菌株进行了分析鉴定,以期微生物肥料的研发提供优良菌种与实践依据。

1 材料与方法

1.1 菌种培养及鉴定

1.1.1 供试菌株

木霉菌 M2 保藏于养分资源高效开发与综合利用国家重点实验室菌种保藏室,于 2015 年 5 月采用稀释涂布平板法筛分自山东省寿光市健康、高产大棚辣椒根际土壤。

1.1.2 培养基

PDA 培养基:马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 18g,

蒸馏水 1 000 mL,自然 pH;种子培养基:麸皮 20.0 g,葡萄糖 10 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然,121 °C 灭菌 20 min。固体发酵培养基:秸秆粉 30%、玉米粉 30%、麸皮 40%,按液固比 1.5:1 加入含 0.5% KH₂PO₄、0.25% MgSO₄ 的盐溶液,搅拌均匀,121 °C 灭菌 20 min。

1.1.3 木霉菌 M2 形态观察

挑取一环斜面上的木霉菌 M2 孢子接入到 PDA 培养基平板上,置于 31 °C 恒温培养箱培养 5 d,观察菌落和孢子的形态特征。

1.1.4 木霉菌 M2 分子生物学鉴定

将斜面上的 M2 孢子接入种子培养基中,种子培养基装瓶量为 60 mL·250 mL⁻¹,置于 31 °C 恒温震荡培养箱中,200 r·min⁻¹ 条件下连续培养 24 h 后,离心收集菌丝,并用灭菌滤纸吸干多余水分,然后转移至预冷的研钵中,加入液氮并迅速研磨,利用真菌基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工),参考文献[10]的方法提取木霉菌 M2 基因组并进行 ITS 序列扩增。1%琼脂糖凝胶电泳检测,PCR 产物回收及测序由上海生工生物工程股份有限公司完成。

将测得的 M2 菌株的 ITS 序列交 GenBank,使用 BLAST 程序将测定序列与 NCBI 数据库中相关菌株的 ITS 序列进行比对,然后使用 MEGA4.0 软件构建系统发育树。

1.1.5 木霉菌 M2 固态发酵及孢子粉制备

挑取 M2 孢子接入种子培养基中,种子培养基装瓶量为 60 mL·250 mL⁻¹,置于 31 °C 恒温震荡培养箱中,200 r·min⁻¹ 条件下震荡培养 20~24 h 后,按 10%接种量将 M2 种子液接入装有固态发酵培养基的三角瓶中,固态发酵培养基装瓶量为 10 g·250 mL⁻¹,32 °C 静置培养 4 d^[11]。将扩繁后的 M2 固体发酵物于 50 °C 烘干至水分 10%左右,粉碎后即得木霉 M2 孢子粉。

1.2 盆栽实验

1.2.1 试验时间、地点

试验于 2016 年 2 月 7 日—3 月 19 日在金正大生态工程集团股份有限公司的智能玻璃温室中进行。

1.2.2 试验材料

供试小白菜(*Brassica chinensis* L.),品种为热抗 605,本地种子站购得,为本地常用品种;供试底肥为金正大生态工程集团股份有限公司生产的沃夫特硝基复合肥(15-6-20),木霉菌剂为 M2 菌株固体发酵后干燥、粉碎制得,孢子含量为 5.0×10⁹ cfu·g⁻¹;供试土壤为棕壤,基本农化性状见表 1。

表 1 盆栽用土壤基本理化性状
Table 1 The basic property of experimental soil

项目	全氮/g·kg ⁻¹	有机质/g·kg ⁻¹	碱解氮/mg·kg ⁻¹	速效磷/mg·kg ⁻¹	速效钾/mg·kg ⁻¹	pH 值
含量	1.01	12.3	78.00	64.2	98.00	6.5

1.2.3 试验设计

实验采用盆栽方式进行,土壤过筛后,每盆装土 2 kg,加入称量好的底肥、菌剂,混匀后装入直径为 23 cm、高 13 cm 的塑料盆中待用。试验设 4 个处理(表 2),以沃夫特硝基复合肥(15-6-20)作为基肥,空白组为不施用菌剂对照(CK),处理组为添加不同菌量的菌剂,基肥与菌剂均按照盆栽为大田的两倍进行,每个处理设 4 个重复。各处理复合肥、菌剂全部作为基肥一次性施入土壤,其中处理 1 添加木霉孢子 5.0×10⁷ cfu(T1,0.005 g·kg⁻¹ 土壤),处理 2 添加木霉孢子 5.0×10⁸ cfu(T2,0.05 g·kg⁻¹ 土壤),处理 3 添加木霉孢子 5.0×10⁹ cfu(T3,0.5 g·kg⁻¹ 土壤)。每盆播种 10 株以上的小白菜种子,期间根据土壤缺水情况适时定量浇水,管理措施一致。2016 年 2 月 20 日小白菜长出 2 片针叶进行间苗定植,每盆 2 株,于 3 月 19 日收获时测定鲜重、叶绿素和叶片数,烘干后称干重。

表 2 盆栽试验处理
Table 2 The pot treatments

处理	添加肥料
CK	复合肥 1.33 g·盆 ⁻¹ +0 cfu 孢子
T1	复合肥 1.33 g·盆 ⁻¹ +M2 孢子粉 0.01 g·盆 ⁻¹ (5.0×10 ⁷ cfu 孢子)
T2	复合肥 1.33 g·盆 ⁻¹ + M2 孢子粉 0.1 g·盆 ⁻¹ (5.0×10 ⁸ cfu 孢子)
T3	复合肥 1.33 g·盆 ⁻¹ + M2 孢子粉 1 g·盆 ⁻¹ (5.0×10 ⁹ cfu 孢子)

1.2.4 土壤与植株分析

土壤的有机质含量、NPK 含量、pH 值等基本理化性质按常规方法分析^[11]。其中土壤有机质含量用重铬酸钾容量法-外加加热法;pH 值采用 5.0:1.0 水土比,电极测定法;全氮含量用半微量开氏法;碱解氮采用扩散法吸收测定;速效磷含量用碳酸氢钠浸提;速效钾含量采用火焰光度计法。

叶片数、鲜重、干重只选择绿色可食用部分;SPAD 值测定采用 SPAD-502 Plus 型叶绿素仪进行;干重、鲜重测定按常规方法进行^[12]。

1.2.5 数据分析

试验数据采用 EXCEL 进行处理,利用 SPSS 16.0 软件进行数据统计及差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 M2 菌株的形态观察

M2 菌落在 PDA 培养基上生长良好,菌落致密,浅绿色,不透明;通过光学显微镜观察菌丝和孢子形态,菌丝细长,无分隔,菌丝出现分支,孢子多为圆形或椭圆形(图 1)。

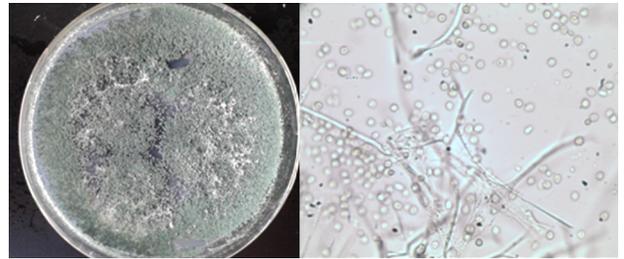
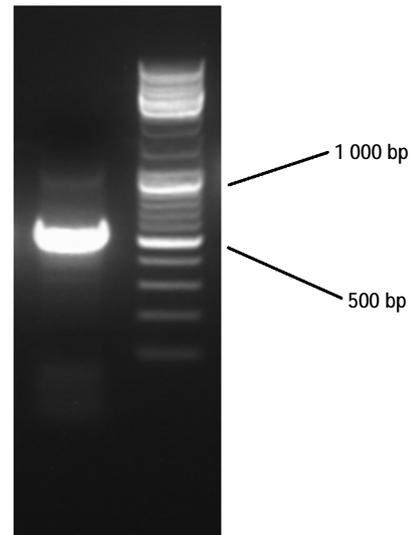


图 1 菌株 M2 在 PDA 培养基上的菌落(左)及孢子(右)形态
Figure1 The characteristics of strain M2 in PDA medium(left) and spores(right)

2.2 菌株 M2 的系统发育分析

木霉 M2 的 ITS 基因序列扩增后片段长度为 565 bp,PCR 扩增片段电泳结果如图 2 所示。将扩增序列在核糖体数据库 <http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>



右为 Marker,左为 M2 ITS 扩增片段
The right lane is Marker, the left lane is ITS amplified fragment of M2

图 2 菌株 M2 ITS 序列 PCR 扩增结果

Figure 2 The ITS sequence of PCR amplification results of M2

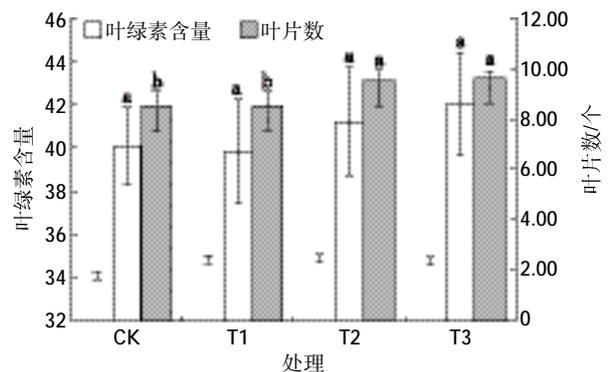
上进行比对,由比对结果可以看出木霉菌 M2 与哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* strain I20、*Trichoderma harzianum* strain CEN779、*Trichoderma harzianum* strain CEN261 的序列相似度均能达到 99%,结合菌株形态及显微镜观察,确定 M2 为哈茨木霉,其系统发育树见图 3。

2.3 哈茨木霉 M2 对小白菜叶片数、叶绿素含量的影响

与 CK 相比,T1 小白菜叶片叶绿素含量降低 0.65%,T2 叶绿素含量提高 2.75%,T3 叶绿素含量提高 4.76%(图 4),T2 与 T3 处理均提高了小白菜叶片中叶绿素含量,差异均不显著,T1 与 CK 相比叶绿素无明显差异。叶片数与 CK 对比,T1 与 CK 相同,T2 与 T3 处理均提高了小白菜叶片数,其中 T2 较 CK 叶片数增加 11.76%,T3 较 CK 叶片数增加 13.29%,差异达到显著水平,说明在施加复合肥为底肥的情况下施用哈茨木霉 M2 孢子粉对叶绿素、叶片数都具有提高作用,能够显著增加可食用叶片数。

2.4 哈茨木霉 M2 对小白菜鲜重、干重的影响

由表 3 可知,与空白处理(CK)相比,T1、T2、T3 处理均提高了单株小白菜的鲜重和干重,添加 M2 菌剂的每个处理单株鲜重增加 0.46~11.53 g,单株干重增加 0.01~0.61 g,其中 T1 较对照(CK)单株鲜重提高 1.22%,单株干重提高 0.16%,T2 较 CK 单株鲜重提高 18.33%,单株干重提高 12.46%,其中 T3 增产最高,较 CK 单株鲜重提高 30.26%,单株干重提高 20.08%。说明在施加底肥的基础上施用哈茨木霉 M2 孢子拌



不同小写字母表示同一指标数据 P<0.05 水平差异显著
Different small letters in the same index mean significant difference at 0.05 level

图 4 哈茨木霉 M2 对小白菜叶片数、叶绿素含量的影响

Figure 4 The effect of *Trichoderma* M2 on chlorophyll content and leaf number of *Brassica chinensis*

表 3 不同处理对小白菜单株鲜重、干重的影响

Table 3 Effect of different treatments on fresh weight and dry weight of *Brassica chinensis* L.

处理	鲜重/g	比 CK 增加/%	干重/g	比 CK 增加/%
CK	38.12±2.01Cc	0.00	3.05±0.11Cc	0.00
T1	38.58±0.51Cc	1.22	3.06±0.05Cc	0.16
T2	45.1±0.72Bb	18.33	3.43±0.12Bb	12.46
T3	49.65±0.43Aa	30.26	3.66±0.1Aa	20.08

注:同列不同小写字母表示在 P<0.05 水平差异显著;不同大写字母表示在 P<0.01 水平差异极显著。

Notes: The same column marked with different lowercase letters mean significant difference at P<0.05 level and different capital letters mean significant difference at P<0.01 level.

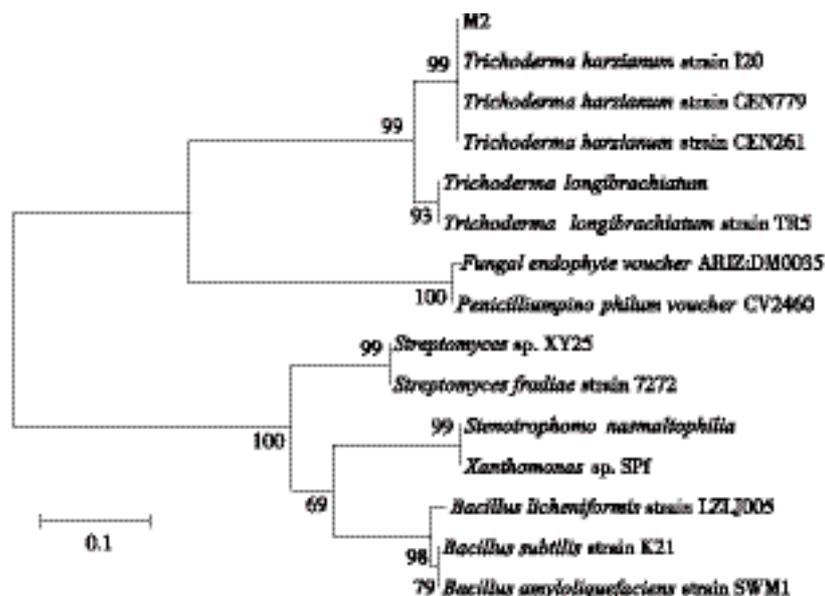


图 3 木霉菌 M2 进化树

Figure 3 The evolutionary tree of *Trichoderma* M2

土,能够显著提高小白菜的鲜重和干重,在每盆 5.0×10^7 ~ 5.0×10^9 cfu 的范围内用菌量越多促生效果越好。

3 讨论

大量的研究证实了木霉菌对植物种子、幼苗及根系的生长发育均有促进作用。一般认为,木霉菌促进作物生长的作用机理主要有:(1)在生长繁殖过程中产生植物生长调节类物质,例如绿木霉(*Trichoderma viridans*)、哈茨木霉(*T. harzianum*)等菌株能够代谢产生吲哚乙酸(IAA)、类植物生长素,对作物生长具有促进作用^[13-14];(2)木霉菌及其分泌的代谢产物能够减轻根际有害物质的侵害,有研究表明,有的木霉菌可以产生氰化物降解酶^[13],有的木霉菌还能减轻土壤重金属对植物生长的抑制作用^[15];(3)木霉菌可以提高植物对某些微量元素的摄取率^[16-17]。王恢^[18]使用不同浓度哈茨木霉菌的泥浆作为葡萄硬枝扦插的蘸根剂,实验结果表明,哈茨木霉菌作为蘸根剂可显著提高葡萄苗的成活率,增加扦插苗的生根数量。杨春林等^[19]研究发现,木霉菌对黄瓜、番茄、芹菜、白菜、菠菜和辣椒等蔬菜的生长有较强的促生作用。胡琼^[20]对哈茨木霉 TC 在辣椒上的促生效果进行研究,使用 TC 菌株拌土或拌种能够增强辣椒种子的活力,提高发芽率,降低倒伏率,促进后期株高和叶片面积的提升,使植株开花、挂果提前。

不同木霉菌株对作物的促生、抗病效果有不同的表现,一方面与菌种自身特性有关,另一方面受实验作物及土壤、环境影响较大。本研究中,通过设置木霉菌 M2 不同的孢子添加量拌土用以对比不同用量对小白菜的促生作用,盆栽试验结果表明,不同添加量的哈茨木霉 M2 孢子粉拌土对小白菜的生物量的增加均起到了促进作用,提高了小白菜根系对水分的吸收、干物质的积累以及叶片叶绿素含量,而且添加孢子量越高增产效果越明显,呈正相关,这说明哈茨木霉 M2 在此培养条件下菌种对小白菜的生长起到明显的促进作用。杨兴堂等^[21]研究表明,棘孢木霉能够通过提高黄花蒿叶的光合作用、促进土壤养分溶解等途径促进植株生长健壮,从而提高黄花蒿产量及植株抗病能力。结合本研究结果,M2 对小白菜产量及叶绿素含量的提高可能与哈茨木霉促进了小白菜根系的生长及光合作用有关。兼顾哈茨木霉 M2 的施用成本为 $5\ 000$ 元·t⁻¹,孢子粉的用量每盆在 5.0×10^8 cfu 左右性价比最高,折合每公顷用量 56.25 kg。同时,在叶绿素、叶片数上施加 M2 孢子粉处理较 CK 也有明显

提高,但叶绿素含量差异不明显。SPAD 值也称作绿色度,是反映植物相对叶绿素含量的指标。叶绿素是植物光合作用的重要场所,也是反映植物抗逆生理特性的指标之一。陆宁海等^[22]研究表明,在使用哈茨木霉制剂后番茄苗叶绿素含量明显提高,这与本试验结果存在一定差异。可能与不同的供试作物和菌种有关,不同促生菌在作物的促生作用效果方面存在一定差别。

4 结论

通过分子生物学鉴定结合形态观察的方法确定 M2 菌株为哈茨木霉。在小白菜盆栽试验中,每盆分别添加 M2 孢子 5.0×10^7 cfu(T1)、 5.0×10^8 cfu(T2)、 5.0×10^9 cfu(T3)进行实验,结果表明,T1、T2、T3 对小白菜的生长均起到了促进作用,其中 T2 较 CK 鲜重提高 18.33%,干重提高 12.46%;T3 较 CK 鲜重提高 30.26%,干重提高 20.08%,差异极显著,这说明哈茨木霉 M2 对小白菜的生长起到明显的促进作用。在本实验中,T2、T3 对叶绿素、叶片数的提高也有一定作用,但叶绿素增加差异不明显。

目前,微生物菌剂作用的稳定性常常受到外界环境的影响,所以后续实验中,需在不同土壤环境和气候条件下进行多种作物的田间应用实验,对哈茨木霉 M2 促生效果、生防效果进行研究和验证,为其开发成功能、效果稳定的农用微生物菌剂产品奠定基础。

参考文献:

- [1] 台莲梅,郭永霞,张亚玲,等.木霉菌防菌对大豆幼苗的促生作用及对根腐病的防治效果[J].安徽农业科学,2013,41(11):4820-4821.
TAI Lian-mei, GUO Yong-xia, ZHANG Ya-ling, et al. The promoting effects and control of root rot on soybean by *Trichoderma* biocontrol strains[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2013, 41(11):4820-4821. (in Chinese)
- [2] Ahmed S A, Perez S C, Emilia C M. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*capsicum annum*) to phytophthora capsici using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation[J]. European Journal of Plant Pathology, 2000,106:817-824.
- [3] Contreras-Cornejo H A, Macias-Rodriguez L, Cortes-Penagos C, et al. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2009,149(3): 1579-1592.
- [4] Chacbin M R, Rodriguez-Galan O, Benitez T, et al. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*[J]. International Microbiology, 2007,10(1): 19-27.
- [5] 陈媛,王立,马放,等.丛植菌根真菌对鸢尾的促进作用研究

- [J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(3):265-272.
CHEN Yuan, WANG Li, MA Fang, et al. Role of Arbuscular Mycorrhizal fungi on IRIS[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2014, 31(3): 265-272. (in Chinese)
- [6] Jeerapong C, Phupong W, Bangrak P, et al. Trichoharzianol, a new anti-fungal from *Trichoderma harzianum* F031[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015,63(14): 3704-3708.
- [7] 陆利民, 赵晶, 杨业凤, 等. 土壤改良剂施用对设施土壤微生物数量与酶活性及青菜生长的影响[J]. 上海农业学报, 2016, 32(1): 90-94.
LU Li-min, ZHAO Jing, YANG Ye-feng, et al. Effects of soil conditioners on the soil microbial biomass and enzyme activities and the growth of green vegetables in greenhouse[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2016, 32(1):90-94. (in Chinese)
- [8] 赵忠娟, 扈进东, 吴晓青, 等. 哈茨木霉 LTR-2 对蔬菜种子和幼苗耐盐性的影响及其作用机制[J]. 山东科学, 2015,28(5):17-34.
ZHAO Zhong-juan, HU Jin-dong, WU Xiao-qing, et al. Impact and mechanism of *Trichoderma harzianum* strain LTR-2 on salt tolerance of vegetable seeds and seedlings[J]. Shandong Science, 2015, 28(5):17-34. (in Chinese)
- [9] 穆红梅, 杨重军, 何宝玉. 哈茨木霉对三种作物种子萌发及生长的影响[J]. 吉林农业科学, 2014, 39(5):5-7.
MU Hong-mei, YANG Zhong-jun, HE Bao-yu. Impact of *Trichoderma* solution on seed germination and growth of three crops[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2014, 39(5):5-7. (in Chinese)
- [10] 曹永军, 程萍, 喻国辉, 等. 利用 ITS1 和 ITS4 通用引物扩增香蕉枯萎病菌核酸片段鉴定其生理小种[J]. 热带作物学报, 2010, 31(7):1098-1102.
CAO Yong-jun, CHEN Ping, YU Guo-hui, et al. Utility of universal primers, ITS1 and ITS4, to amplify sequences for race identification of *Fusarium oxysporum* sp. *cubense*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2010, 31(7):1098-1102. (in Chinese)
- [11] 孙斐, 陈靠山, 张鹏英. 固态发酵麸皮和玉米芯生产拟康氏木霉孢子的研究[J]. 中国农学通报, 2010,26(6):236-239.
SUN Fei, CHEN Kao-shan, ZHANG Peng-ying. The study of solid state fermentation of *Trichoderma pseudokoningii* spores with wheat bran and corncob[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(6):236-239. (in Chinese)
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 432-445.
BAO Shi-dan. Analysis of soil and agrochemicals[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:432-445. (in Chinese)
- [13] Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti E L, et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2008, 72: 80-86.
- [14] Valerie G, Hani A, Russell J, et al. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA)[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39:1968-1977.
- [15] Ezzi M I, Lynch J M. Cyanide catabolizing enzymes in *Trichoderma* spp.[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31: 1042-1047.
- [16] Adams P, De-Leij F A A M, Lynch J M. *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22 mediates growth promotion of crack willow (*Salix fragilis*) samplings in both clean and metal contaminated soil[J]. Microbial Ecology, 2007, 54: 306-313.
- [17] Altomare C, Norvell W A, Bjorkman T, et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22[J]. Applied Environmental Microbiology, 1999, 65(7): 2926-2933.
- [18] 王恢. 哈茨木霉菌提高葡萄硬枝扦插生根成活率试验[J]. 陕西果树, 2015(5): 11-12.
WANG Hui. The experiment research on improving grape hardwood cuttings rooting of *Trichoderma*[J]. Shanxi Fruits, 2015(5):11-12. (in Chinese)
- [19] 杨春林, 席亚东, 刘波微, 等. 哈茨木霉 T-h-30 对几种蔬菜的促生作用及病害防治初探[J]. 西南农业学报, 2008, 21(6):1603-1607.
YANG Chun-lin, XI Ya-dong, LIU Bo-wei, et al. Primary study on growth-promoting and biological control effects of *Trichoderma harzianum* T-h-32 on vegetables[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2008, 21(6):1603-1607. (in Chinese)
- [20] 胡琼. 哈茨木霉 TC 对辣椒促生效果的研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(21): 8941-8943.
HU Qiong. Study on promotion effects of *Trichoderma* TC on pepper (*Capsicum annuum* Linn.) growth[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2013, 41(21):8941-8943. (in Chinese)
- [21] 杨兴堂, 吕曼曼, 刘志华, 等. 棘孢木霉对黄花蒿叶的光合特性和产量影响[J]. 贵州农业科学, 2016,44(1):132-136.
YANG Xing-tang, LÜ Man-man, LIU Zhi-hua, et al. Effects of *Trichoderma asperellum* on leaf photosynthetic characteristics and yield of *Artemisia annua*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2016, 44(1):132-136. (in Chinese)
- [22] 陆宁海, 吴利民, 田雪亮, 等. 哈茨木霉对番茄幼苗促生作用机理的初步研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(6): 192-194.
LU Ning-hai, WU Li-min, TIAN Xue-liang, et al. The effect of *Trichoderma harzianum* on tomato seedling growth[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007,16(6):192-194. (in Chinese)