



高效促进番茄生长的生防木霉菌的筛选

郑明子¹, 范志航^{1,2,3}, 尹梦梦^{1,2,3}, 郭坚华^{1,2,3}, 蒋春号^{1,2,3}

(1. 南京农业大学 植物保护学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省生物源农药工程中心, 江苏 南京 210095; 3. 农业部作物病虫害监测与防控重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

摘要:木霉既能够防治植物病害, 还能促进植物生长, 具有较高田间应用价值。为促进促生性木霉菌株的开发利用, 以不同地区采集到的土壤和树皮样品中分离到的 137 株木霉菌株为参试菌株, 利用平板对峙法初步筛选出对枯萎病菌、灰霉病菌拮抗效果较好的 40 株, 根据菌株产滤纸酶活性、羧甲基纤维素酶活性、几丁质酶活性测定结果进一步复筛出 20 株木霉菌, 用于温室试验效果评估。结果表明: 在番茄上接种各木霉菌株的孢子悬浮液, 接种后 45 d 测量、比较各菌株对番茄促生效果, 最终筛选出的 7 株木霉菌可明显提高番茄株高, 增加茎粗和叶片叶绿素含量, 具有高效促进番茄生长作用, 鉴定结果显示其中 4 株为哈茨木霉, 2 株为深绿木霉, 1 株为未知木霉属菌株。

关键词:木霉菌; 番茄; 促生; 生物防治; 酶活性

木霉真菌(*Trichoderma* spp.) 在传统的分类系统属于半知菌亚门丝孢纲丝孢目(*Hyphomycetales*)。自 1902 年从土壤中成功分离木霉菌, 其后的一百多年时间里, 研究人员对木霉分类及生理生化特性的研究取得了重大进展, 其在防治植物病害、促进农作物生长方面的能力也逐渐被发现。

木霉防治植物病害机制, 目前被广泛认同的有 4 种: 竞争作用、重寄生作用、抗生性代谢产物及诱导抗病性。一方面, 木霉生长速度快, 环境适应性强, 可占领病原真菌生存空间和营养物质, 以此抑制病原真菌生长。李琳等^[1]从长白山土壤中分离得棘孢木霉(*T. asperellum*) T31, 该菌株对玉米大斑病菌(*Exserohilum turcicum*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、腐霉菌(*Pythium* sp.) 及镰刀菌(*Fusarium* sp.) 均有较强生长竞争优势。赵国其等^[2]在土壤中同时加入木霉和病原真菌, 最终发现木霉在与病原菌的竞争生长中取得胜利, 数量显著增加。另一方面, 在与木霉相互作用的过程中, 病原菌会分泌出一些物质, 木霉识别这些物质并在趋化型的作用下向

其生长, 久而久之寄生于病原菌上, 依靠从寄主菌丝中汲取营养来生长。郎剑锋等^[3]显微观察发现木霉对小麦纹枯病菌具有重寄生现象。张树武等^[4]发现, 长枝木霉(*T. longibrachiatum*) 分生孢子能附着于小麦禾谷胞囊线虫胞囊体表并产生大量菌丝, 最终导致孢囊胚胎发育停滞与内容物凝集, 甚至出现畸形。此外, 木霉能分泌对植物病原真菌细胞壁具有降解活性的水解酶类或影响菌丝正常生长的代谢产物。王莉衡等^[5]发现, 药用植物库拉索芦荟内生真菌内生哈茨木霉 LH-7 的代谢产物中具有能够抑制病原菌菌丝生长及孢子萌发的活性物质, 其作用可导致病原菌菌丝体生长的畸形、细胞壁破裂、产孢结构发育不健全、孢子形成及萌发率降低, 从而有效抑制病原菌的生长和繁殖。张量等^[6]从渐绿木霉(*T. viridescens*) TS0404 中分离获得了 6-戊基-2H-吡喃酮, 可以强烈抑制卵菌中的辣椒疫霉和黄瓜疫霉子实体的活性, 对尖镰孢和立枯丝核菌菌核也有显著的抑制作用。而最近 20 年, 研究人员发现, 木霉能够引起植物体内免疫相关酶类表达上调或激活免疫相关信号通路, 如水杨酸信号通路或茉莉酸信号通路, 提高寄主植物对病原物的抗性。王淑霞等^[7]经生理生化法检测确认, 哈茨木霉(*T. harzianum*) Tr-92 诱导处理后, 黄瓜叶部组织中防卫反应相关的过氧化物酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、 β -1,3-葡聚糖酶以及几丁质酶的活性均显著提高。Martínez-Medina 等^[8]发现, 哈茨木霉 T78 在番茄体内先后诱导水杨酸信号通路与茉莉

收稿日期: 2018-08-17

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(31701829); 国家重点研发计划“新型高效生物杀菌剂研发”资助项目(2017YFD0201100); 黄淮海暖温带设施蔬菜化肥农药减施技术模式建立与示范资助项目(2016YFD0201007)。

第一作者简介:郑明子(1997-), 女, 在读学士, 从事植物保护研究。E-mail: 12115125@njau.edu.cn。

通讯作者:蒋春号(1989-), 男, 博士, 助理研究员, 从事植物病虫害生物防治研究。E-mail: chjiang@njau.edu.cn。

酸信号通路,分别抑制根结线虫的侵染、取食位点的形成以及产卵过程,最终减轻根结线虫对番茄的致病性。

对于木霉促进植物生长的作用,目前已有多个研究予以证明。李松鹏等^[9]用哈茨木霉(*T. harzianum*)3S1-13 和 4S2-46 发酵液处理水稻种子后发现,种子的发芽率和幼苗的根系鲜重均显著高于对照,显示出有利于促进种子发芽与生长的作用。宿晓琳等^[10]在黄瓜上接种拟康氏木霉(*T. pseudokoningii*)T886,证实其能显著提高黄瓜幼苗株高、茎粗、根体积、叶面积、地上部鲜重和地下部鲜重。刘云龙等^[11]在辣椒田施用哈茨木霉制剂,结果发现哈茨木霉不仅对辣椒根腐病有生物防治效果,还可使辣椒开花、挂果期提前,产量显著提高了约 15%,高效促进辣椒的生长。当前对于木霉促生的机理研究集中在两方面:根际定殖和与根基微生物互作。木霉的促生作用很大一部分需要依赖其在作物根系的定殖能力。Avni 等^[12]和焦琮等^[13]把绿色木霉和康宁木霉菌株进行诱变后得到了耐药性菌株,发现耐药性木霉菌株相比诱变前,能随着植物根系的生长而选择性拓展生长,能更有效地利用纤维素、木质素,从而转化为碳源。Biörkman 等^[14]的研究也发现,哈茨木霉菌株可以明显促进玉米种子和幼苗生长,其根际拓展能力较强。木霉定殖在作物根系的同时,还与根围微生物存在一定的相互作用与影响。Calvet 等^[15]发现深绿木霉与丛枝菌根真菌(*Glomus mosseae*)混合作用,可在促进万寿菊生长的同时对终极腐霉有拮抗作用,单独处理则无效果。木霉不止影响某种微生物,还可能影响植物根系微生物环境。古丽君等^[16]发现在草坪土壤中施入深绿木霉 17 d 后,土壤中真菌数量明显减少,细菌数量则显著上升。李志国等^[17]在土壤中加入短密木霉(*T. brevicompactum*)后,土壤中其它真菌受到抑制,土壤中真菌数量、种类差异显著。

木霉作为生防潜力不可小觑的因子之一,研究目光多聚焦于木霉与病原真菌的互作,木霉与其寄主植物间互作则研究较少,加大这方面研究可提高木霉的生防应用效果。本试验将分离到的木霉菌结合一系列平板拮抗、产酶活性、温室接种促生试验综合筛选出了对番茄具有高效促生作用的生防木霉菌株,以期为促进生性木霉菌株的开发

利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

67 份树皮和土壤样品分别来自于美国阿拉斯加州、南京市紫金山、斯洛文尼亚共和国境内、南京农业大学校园。供试病原菌为南京农业大学植物保护学院生物农药与绿色植保实验室现存的灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)。供试番茄品种为合作 903。供试微生物剂宁盾(Nanjing shield,简称“NS”)为南京农业大学生物农药及绿色植保实验室研制,登记证号为微生物肥(2013)准字(1096)号。木霉菌株鉴定所用引物由通用生物系统(安徽)有限公司提供,ITS1 序列为 TCCGTAGGTGAACCTGCGG, ITS4 序列为 TCCTCCGCTTATTGATATGC。

1.2 方法

1.2.1 木霉菌株的分离 树皮用 70%酒精表面消毒 8 s,4%的次氯酸钠消毒 2 min,灭菌水冲洗 2 次后,剪成小块置于 2 mL 离心管中充分震荡摇匀,土壤样品直接装入 2 mL 离心管中,两种样品分别稀释 100、1 000、10 000 倍涂板于含有链霉素的马丁氏培养基(成分)。每个稀释倍数设 3 个涂板重复,将培养皿翻转放置 25 ℃培养箱。超净工作台中进行单菌丝分离接到 PDA 培养基(成分)上,纯化操作 2 次。注明编号、日期,培养皿翻转放置 25 ℃培养箱培养,斜面保存于 4 ℃。

1.2.2 生防木霉菌的平板拮抗初筛 生防木霉菌的平板拮抗试验采用平板对峙法:将在 25 ℃培养箱中培养的灰霉菌、枯萎病菌两种病原菌,以移液枪头挑取菌碟,接种在 PDA 平板的一侧,同样在等距离的另一侧接种供试木霉菌。每株木霉菌设 3 个重复,病原菌对照设 3 个,25 ℃培养。每天观察生长情况,培养 7 d 后,视生长情况评定拮抗系数来分级评价每株木霉对灰霉病菌、枯萎病菌的抑菌能力。

木霉菌拮抗系数分级标准:测定木霉菌、两种病原菌的菌落半径,记录每株木霉菌对两种病原菌分别的平均拮抗系数。综合后,取两者平均值来表示该菌株的综合拮抗效果。木霉菌拮抗系数分级(按照木霉菌丝生长面积占全培养皿面积的多少评定):100%为 1 级;2/3 为 2 级;1/3 到 2/3 为 3 级;少于 1/3 为 4 级;0 为 5 级^[18]。

1.2.3 生防木霉菌株的酶活性测定 粗酶液制备:将筛选的各木霉菌株扩繁,25℃培养箱中培养7 d后,向平板中加蒸馏水5 mL,用移液枪头刮干净孢子菌丝,使其溶于水中,25℃摇床1 h。过滤后,5 000 r·min⁻¹离心10 min后得到的上清液,即粗酶液。以已灭活的粗酶液作为对照。

纤维素酶活性测定:采用滤纸酶活(FPA)测定法^[19]。

羧甲基纤维素(CMC)酶活性测定:采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法^[20]。

几丁质酶活性测定:采用还原糖法测定几丁质酶活性^[21]。

1.2.4 生防木霉菌株的温室促生试验筛选 木霉菌孢子悬浮液制备:将4℃低温保存的木霉菌活化后接种于PDA培养基,放在25℃恒温培养箱中培养6 d。6 d后于平板的菌落里加入1滴吐温80,加入5 mL的无菌水即得到分生孢子悬浮液,用血球计数板在显微镜下观察、计数并计算浓度,调整使孢子悬浮液的最终浓度为1×10⁸个·mL⁻¹。

温室促生试验方法:合作903种子催芽后,播于穴盘中,14 d后等长至3~4叶期时移栽入有孔塑料杯中。移栽当天,采取3种处理。宁盾组:将宁盾稀释成200倍菌液,移栽苗时进行灌根,每棵20 mL;木霉组:移苗后,把制备完成的木霉菌孢子悬液浇灌在番茄幼苗的根部,每棵浇20 mL。再在上面覆一层薄土;清水对照组:番茄苗移栽完后浇清水20 mL。每个处理24株重复番茄苗,12 h光照/12 h黑暗,28℃室温培养。在生防菌接种后每天观察,15、30和45 d测量番茄的各个促生指标。记录叶片数,卷尺测量株高,茎粗采用

游标卡尺测植株地上部2 cm处的直径,叶绿素含量采用便携式叶绿素仪测定(单位SPAD)。

1.2.5 木霉菌株的鉴定 将菌株接种到培养基上进行活化,28℃培养3~4 d,挑取菌丝块,按照荣华等的方法结合实验室条件进行DNA提取^[22]。木霉菌株ITS序列采用ITS1与ITS4引物扩增得到,扩增产物交由南京金斯瑞生物科技有限公司进行测序。测序的序列在NCBI进行BLAST比对。

1.2.6 数据分析 所有数据采用Excel 2010和DPS 7.05软件进行统计及方差分析。

2 结果与分析

2.1 木霉菌株的分离

由美国阿拉斯加州、南京市紫金山、斯洛文尼亚、南京农业大学校园采集的67份树皮和土壤样品中共分离出木霉菌株137株。

2.2 生防木霉菌株的平板拮抗筛选

根据木霉菌株对灰霉菌菌和枯萎病菌的平板拮抗结果综合评价,筛选出40株效果较好的木霉菌株,这40株菌株信息如表1。

2.3 生防木霉菌株的酶活性测定

2.3.1 滤纸酶活(FPA)测定结果 根据滤纸酶活(FPA)测定法^[19],把OD₅₄₀值作横坐标X,葡萄糖含量(mg·mL⁻¹)作纵坐标Y绘制了葡萄糖标准曲线,拟合标准曲线方程为:Y=3 906X+0.118 8(R²=0.998 2)。由公式计算出的40株木霉菌的滤纸酶活性如图1。按照酶活性大小排名对各菌株赋值。其中S-18滤纸酶活性最高,S-23、Z28-1、A11-11、NA5依序次之。

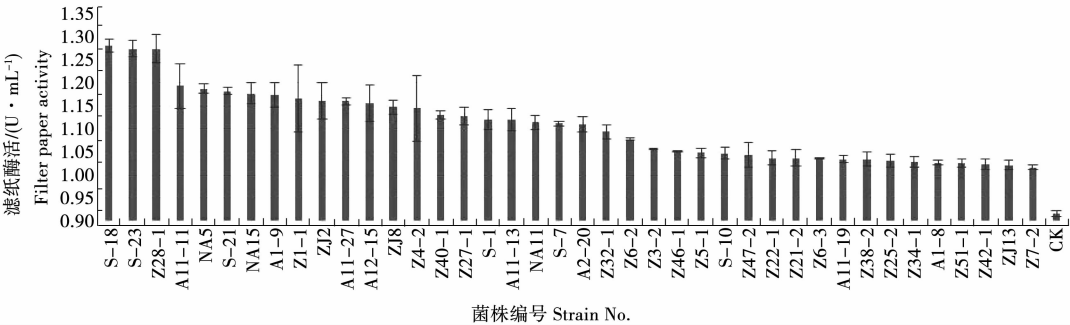


图1 40株木霉菌滤纸酶活性测定结果

Fig. 1 FPA enzyme activity detecting of 40 *Trichoderma* strains

表 1 拮抗实验筛选出的 40 株木霉菌信息

Table 1 Information of 40 *Trichoderma* strains screened by antagonism experiments

序号 No.	采集地点 Place	菌株编号 Strain No.	平均拮抗系数 Average antagonism scale	序号 No.	采集地点 Place	菌株编号 Strain No.	平均拮抗系数 Average antagonism scale
1	紫金山	ZJ2	2.0	24	美国阿拉斯加州	A1-8	2.0
2		ZJ8	2.0	25		A1-9	2.0
3		ZJ13	2.0	26		A2-20	2.0
4		Z1-1	2.5	27		A11-11	2.0
5		Z3-2	2.5	28		A11-13	2.0
6		Z4-2	2.0	29		A11-19	2.0
7		Z5-1	2.0	30		A11-27	2.0
8		Z6-2	2.0	31		A12-15	2.0
9		Z6-3	2.0	32	斯洛文尼亚共和国境内	S-1	2.0
10		Z7-2	2.0	33		S-7	2.0
11		Z21-2	2.0	34		S-10	2.0
12		Z22-1	2.0	35		S-18	2.0
13		Z25-2	2.0	36		S-21	2.
14		Z27-1	2.0	37		S-23	1.5
15		Z28-1	1.5	38	南京农业大学校园	NA5	2.0
16		Z32-1	2.0	39		NA11	2.5
17		Z34-1	2.0	40		NA15	2.0
18		Z38-2	2.0				
19		Z40-1	2.0				
20		Z42-1	2.0				
21		Z46-1	2.5				
22		Z47-2	2.0				
23		Z51-1	2.0				

2.3.2 羧甲基纤维素(CMC)酶活性测定结果

根据 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法^[20],以葡萄糖浓度为 Y 轴,吸光度 OD₅₄₀ 值为 X 轴,绘制标准曲线,拟合标准曲线方程为:Y=0.789 5X+

0.058(R²=0.997 3)。DNS 比色法测定的 40 株木霉菌的纤维素酶活性结果如图 2。其中 Z28-1 的羧甲基纤维素酶活性最高,NA5、S-23、S-18、Z4-2 依序次之。

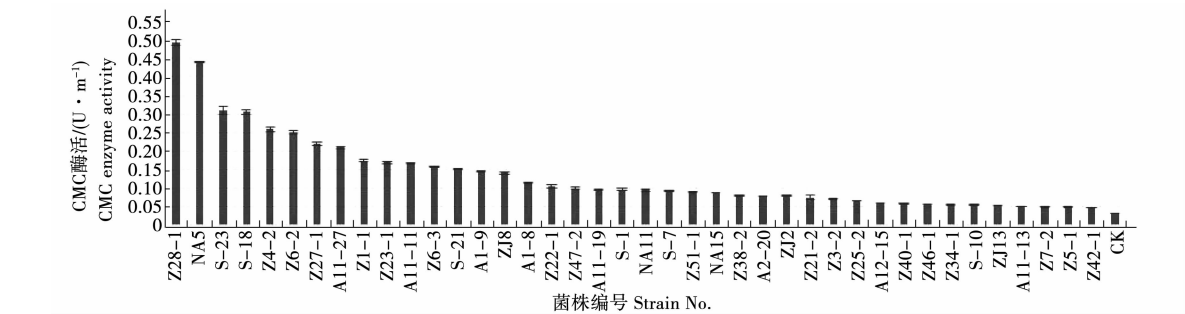


图 2 40 株木霉菌羧甲基纤维素(CMC)酶活性测定结果

Fig. 2 CMC enzyme activity detecting of 40 *Trichoderma* strains

2.3.3 几丁质酶活性测定结果 以 N-乙酰氨基葡萄糖量(μmol)为纵坐标 Y 轴,以不同浓度 N-乙酰氨基葡萄糖溶液的 OD₅₄₀ 值为横坐标 X 轴标准曲线。拟合标准曲线方程为: $Y=2.822\ 7X+$

0.001\ 4(R^2=0.999\ 4)。测定的 40 株木霉菌的几丁质酶活性结果如图 3。同样按照酶活性大小排名对各菌株赋值。其中 Z6-3 几丁质酶活性最高,A2-20、S-21、Z4-2、A1-9 依序次之。

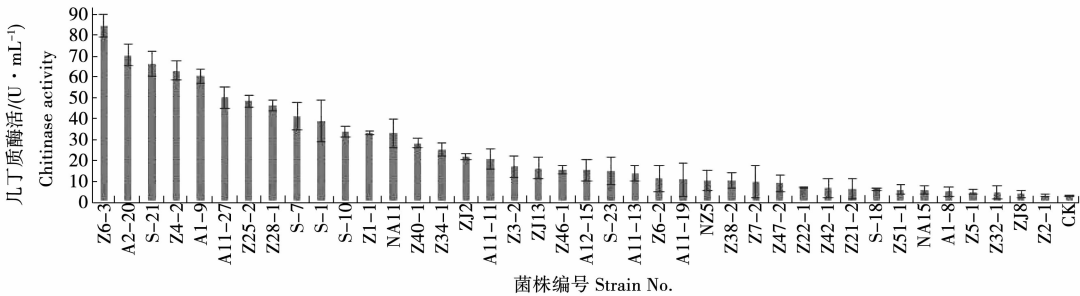


图 3 40 株木霉菌几丁质酶活性测定结果

Fig. 3 Chitinase activity detecting of 40 *Trichoderma* strains

2.3.4 生防木霉菌株的温室促生筛选 将酶活性实验筛选出的 40 株木霉接种于番茄根部,45 d 时测量各菌株处理的植株的株高和茎粗,测定叶片叶绿素含量,数叶片数,进一步诗选出了促生效果明显的 7 株木霉菌,促生指标测量结果如图 4,生长情况如图 5。和对照组比较,这 7 株木霉菌中的 A11-11 处理后的番茄叶片数和株高的增加

更明显;A11-11 处理使番茄的叶片数、叶片叶绿素含量以及茎粗均显著增加;Z4-2 处理有提高番茄株高的作用。综上,微生物菌剂“宁盾”对番茄各生长指标促进作用最显著,7 株木霉菌中的 A11-11、A11-27、Z4-2 处理番茄,其株高、茎粗、叶片数、叶片叶绿素含量明显得到增加。

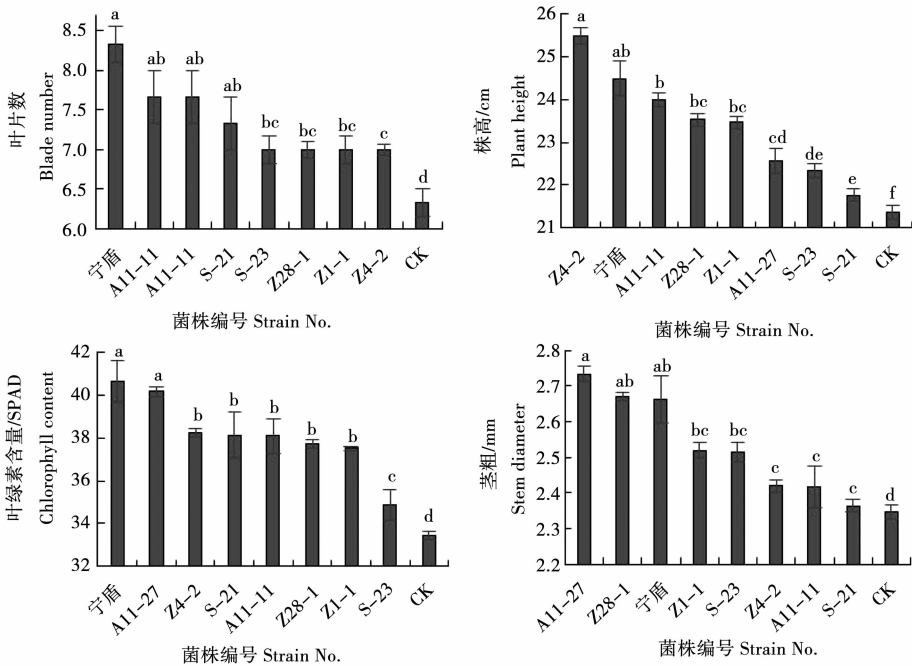


图 4 七株木霉菌对番茄各促生指标

Fig. 4 Tomato growth-promotion of 7 screened *Trichoderma* strains

2.3.5 木霉菌株鉴定 通过 NCBI 的 BLAST 软件对比测得的各菌株 ITS 序列,结果如表 2。

鉴定结果显示其中 4 株为哈茨木霉,2 株为深绿木霉,1 株为木霉属菌株。

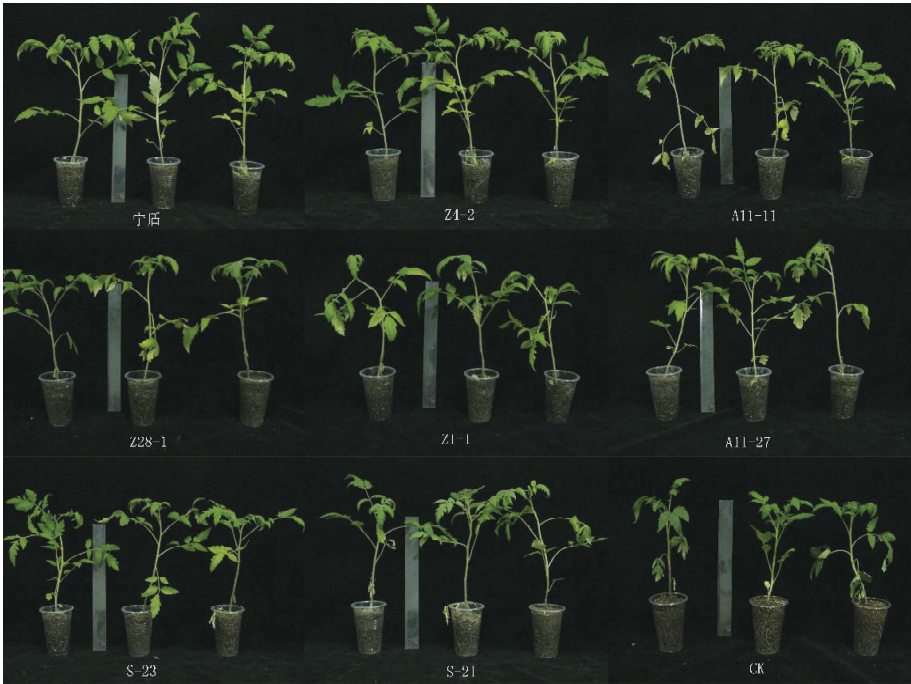


图 5 七株木霉菌处理 45 d 后的番茄苗生长情况

Fig. 5 Growth situation of tomato in 45 days post 7 *Trichoderma* strains inoculation

表 2 筛选出的 7 株促生菌 ITS 序列鉴定结果

Table 2 Seven tomato growth-promoting strains ITS region identification

编号 No.	鉴定结果 Identification result	鉴定菌株编号 Strains number	序列相似性/% Identification
Z1-1	<i>Trichoderma</i> spp. (木霉菌)	XJL19	100
Z4-2	<i>Trichoderma harzianum</i> (哈茨木霉)	XZ N201-2	100
A11-11	<i>Trichoderma atroviride</i> (深绿木霉)	POS8	100
A11-27	<i>Trichoderma harzianum</i> (哈茨木霉)	XZ N201-2	100
Z28-1	<i>Trichoderma harzianum</i> (哈茨木霉)	CTCCSJ-F-KZ40809	99
S-21	<i>Trichoderma harzianum</i> (哈茨木霉)	dmAV	100
S-23	<i>Trichoderma atroviride</i> (深绿木霉)	DB-T7	99

3 结论与讨论

本试验从土壤和树皮生境中分离到的 137 株木霉菌,经平板拮抗实验筛选了 40 株对灰霉病菌和枯萎病菌的拮抗系数强于 2 级的木霉菌,通过产纤维素酶、几丁质酶活性大小测定复筛出 20 株,接种于番茄根部发现其中 7 株菌具有明显的增加番茄植株高、增粗苗茎叶片更多、叶绿素含量增加的高效促生作用,经鉴定为哈茨木霉、深绿木霉(*T. atroviride*)。这与部分表明哈茨木霉、深绿木霉促进黄瓜、花生和番茄等作物生长的研究相印证,如陆宁海等人发现哈茨木霉菌处理后的番茄幼苗对各营养元素的吸收量更多,该处理

的番茄株高、根部生长量和地上部生物量都有显著的增加^[23];张树武等^[24]也研究发现深绿木霉可以促进白三叶草、黑麦草以及一些牧草种子的生长或发芽。这些表明前人对哈茨木霉、深绿木霉促生效果的研究发现与本试验的结果相印证,都证明了哈茨木霉、深绿木霉在植物促生方面开发应用的理论可行性。

与之前的研究相比,本试验首先将分离到的木霉菌株进行平板对峙培养的拮抗试验和代表着木霉菌抗菌活性大小的产酶活性测定试验,保证了复筛选出的菌株在对番茄促生的同时具有一定的抗病能力。

参考文献:

- [1] 李琳,张雅梅,张祥辉,等.生防棘孢木霉菌株的分离筛选及其生物学特性[J].植物保护学报,2014,41(1): 54-60.
- [2] 赵国其,林福呈,陈卫良.绿色木霉对西瓜枯萎病苗期的控制作用[J].浙江农业学报,1998,10(4): 206-209.
- [3] 郎剑锋,孔凡彬,石明旺.哈茨木霉对7种植物病原菌的生防机制研究[J].河南科技学院学报,2013,41(5): 32-35.
- [4] 张树武,刘佳,徐秉良,等.长枝木霉对禾谷胞囊线虫寄生和致死作用的显微观察及测定[J].应用生态学报,2013,24(10): 2955-2960.
- [5] 王莉衡,柯杨,强毅,等.芦荟内生菌内生哈茨木霉 LH-7 对植物病原菌的抗性[J].应用生态学报,2014,25(4): 1130-1136.
- [6] 张量,张敬泽.渐绿木霉抑菌物质的分离纯化及其对植物病原菌的抑制作用[J].中国农业科学,2015,48(5): 882-888.
- [7] 王淑霞,张丽萍,黄亚丽,等.哈茨木霉 Tr-92 诱导黄瓜对灰霉病系统抗性的研究[J].中国生物防治学报,2013,29(2): 242-247.
- [8] Martinez M A, Fernandez I, Lok G B, et al. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. New Phytologist, 2017, 213(3): 1363-1377.
- [9] 李松鹏,崔琳琳,程家森,等.两株哈茨木霉菌株防治水稻纹枯病及促进水稻生长的潜力研究[J].植物病理学报,2018,48(1): 98-107.
- [10] 宿晓琳,马光恕,廉华,等.拟康氏木霉 T886 对黄瓜幼苗生长及枯萎病防效的研究[J].现代化农业,2018(5): 38-40.
- [11] 刘云龙,何永宏,张旭东.哈茨木霉对辣椒生长的影响[J].云南农业大学学报,2002,17(4): 345-346.
- [12] Avni A, Bailey B A, Mattoo A K, et al. Induction of ethylene biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* xylanase is correlated to the accumulation of 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid (ACC) synthesis and ACC oxidase transcripts [J]. Plant Physiology, 1994, 6: 1049-1055.
- [13] 焦琮,路丙声.康氏木霉制剂对棉花和菜豆幼苗几个生理指标的影响[J].中国生物防治,1995,11(1): 30-32.
- [14] Biörkman T, Blanchard L M, Harman G E. Growth enhancement of shrunken-22(sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22; Effect of environmental stress [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1998, 123: 35-40.
- [15] Calvet C, Pera J M. Growth response of marigold to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite mixyure [J]. Plant Soil, 1993, 148: 1-6.
- [16] 古丽君,徐秉良,梁巧兰,等.生防木霉对草坪土壤微生物区系的影响及定殖能力研究[J].草业学报,2013,22(3): 321-326.
- [17] 李志国,霍路阳,刘宇彤,等.短密木霉、咪唑乙烟酸和种植大豆对土壤真菌多样性及农药残留的影响[J].东北林业大学学报,2018,46(3): 87-90.
- [18] Bell D K, Wells H D, Markham C R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against fungal pathogens [J]. Phytopathology, 1982, 72: 379-382.
- [19] 肖媛,李俊,谢伟国,等.不同条件对木霉生长和纤维素酶酶活的影响[J].湖南农业科学,2013(3): 19-21, 25.
- [20] 李伟格,李美同,苏晓鸥,等.饲料添加剂分析: 美国全国饲料协会(NFIA)分析方法概要[M].北京:中国农业科技出版社,1998.
- [21] 陶刚,刘杏忠,王革,等.产几丁质酶木霉生防菌株的生化测定[J].西南农业学报,2005,18(4): 452-455.
- [22] 荣华,夏岩石,刘顺枝,等.改进的 CTAB 提取植物 DNA 方法[J].实验室研究与探索,2009(9): 14-16.
- [23] 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(6): 192-194.
- [24] 张树武,徐秉良,程玲娟,等.深绿木霉对白三叶草促生作用及生理生化特性的影响[J].草业学报,2015,24(2): 161-167.

Screening of *Trichoderma* Strains with High-efficient Growth-promoting Activity on Tomato

ZHENG Ming-zi¹, FAN Zhi-hang^{1,2,3}, YIN Meng-meng^{1,2,3}, GUO Jian-hua^{1,2,3}, JIANG Chun-hao^{1,2,3}

(1. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Engineering Center of Bioresource Pesticide in Jiangsu Province, Nanjing 210095, China; 3. Key Laboratory of Monitoring and Management of Crop Diseases and Pest Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

Abstract: The activities of *Trichoderma* spp. to control plant diseases and promote plant growth, which are with high application values in field. In order to promote the development and utilization of growth-promoting *Trichoderma* strains, 137 *Trichoderma* strains were isolated from soil and bark samples from different areas, and 40 strains antagonistic against *Fusarium Oxysporum* and *Botrytis cinerea* were screened out from them. According to the abilities to secrete cellulase, carboxymethyl cellulase enzyme and chitinase, 20 strains were selected for green house experiment, in which tomatoes were inoculated with spore suspension of these 20 strains and efficiency of growth promoting were measured 45 days after treatments. The results showed that only 7 strains increased shoot length, stem width and chlorophyll concentration of tomatoes treated significantly, which were identified as 4 *Trichoderma harzianum*, 2 *Trichoderma atroviride*, and 1 unknown *Trichoderma* strain.

Keywords: *Trichoderma* spp.; tomato; growth-promotion; biological control; enzyme activity