

深绿木霉发酵液对黑麦草促生作用及 生理生化特性的影响

张树武^{1,2,3,4}, 徐秉良^{1,2,3,4}, 程玲娟¹

(1. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730070;
3. 甘肃省草业工程实验室, 甘肃 兰州 730070; 4. 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 通过种子萌发和幼苗盆栽试验研究了不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草促生作用及生理生化特性的影响。室内试验结果表明, 不同稀释倍数深绿木霉发酵液能够显著提高黑麦草种子的发芽率、发芽指数和活力指数, 尤其是 100 倍稀释液对黑麦草种子发芽率、发芽指数和活力指数的影响较为明显, 分别为 96.55%、37.41 和 7.83。盆栽试验结果表明, 不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗的生长具有明显的促生作用, 以及能够显著地提高幼苗叶绿素、可溶性蛋白含量和与抗性相关酶的活性, 尤其是 100 倍稀释液处理的黑麦草幼苗根系长度、株高、鲜重、干重和根冠比的相对增长率分别为 16.95%、13.33%、40.57%、73.68% 和 36.36%; 叶绿素和可溶性蛋白含量的相对增长率分别为 84.09% 和 75.50%; 多酚氧化酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶活性均显著高于对照, 且多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶活性在处理后第四天达到最大值, 过氧化物酶活性在处理第三天达到最大值。因此, 深绿木霉发酵液对黑麦草的生长具有显著的促生作用, 且能够显著提高与抗性相关酶的活性。

关键词: 深绿木霉; 促生作用; 黑麦草; 生理生化特性

中图分类号: S482.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2014)02-0157-06

Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on growth and physiological characteristics of ryegrass

ZHANG Shu-wu^{1,2,3,4}, XU Bing-liang^{1,2,3,4}, CHENG Ling-juan¹

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;
2. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou, Gansu 730070, China;
3. Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China;
4. Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: Effects of different dilutions of the fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on growth and physiological characteristics of ryegrass were studied by seed germination and seedling pot experiment in vitro and pot experiments. Results showed that different dilutions of the fermentation medium of *T. aureoviride* can significantly increase the rates of seed germination, germination index and vigor index, especially for the dilutions of 100 times by which seed germination rates, germination index and vigor index were increased by 96.55%, 37.41 and 7.83, respectively. Pot experiment results showed that different dilutions of the fermentation medium of *T. aureoviride* had obvious effects on the growth of ryegrass seedlings, and can significantly increase the content of chlorophyll, protein, and defensive enzymes. Especially the dilutions of 100 times can increase ryegrass root length, plant height, fresh weight and dry weight by 16.95%, 13.33%, 40.57%, 73.68%, and 36.36%, respectively. The content of chlorophyll and soluble protein were increased by 84.09% and 75.50%. Polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine enzyme activity were significantly higher than control after treatment with the dilutions of 100 times of *T. aureoviride*. Maximum activities of POD, PPO and PAL were observed on 3 and 4 days after inoculation. Therefore, the results suggested that the fermentation medium

收稿日期: 2013-07-05

基金项目: 草业生态系统教育部部共建重点实验室项目(CY-GG-2006-013); 甘肃省农牧厅生物技术专项(GNSW-2009-04); 甘肃省教育厅项目(042-03)

作者简介: 张树武(1986—), 男, 硕士, 研究方向为植物病原学及植物病害。E-mail: zhangsw704@126.com。

通信作者: 徐秉良, E-mail: xubl@gsau.edu.cn。

of *T. aureoviride* has substantial effects on growth and physiological characteristics of ryegrass.

Keywords: *Trichoderma aureoviride*; growth promoting; ryegrass; physiological characteristics

黑麦草(*Lolium perenne* L.)又名意大利黑麦草、多花黑麦草和多次刈割黑麦草,是禾本科一年生草本植物,由于其具有耐酸、耐湿、耐迟播、产量高和质量好等优点,目前已成为我国栽培面积最大^[1]和经济价值较高的优质禾本科牧草和冬春季羊、兔和鹅等理想青饲料之一^[2]。同时据相关报道,黑麦草对重金属具有很强的抗性和富集作用^[3-4],因此,黑麦草已被广泛用于生态修复。但是,近年来在我国北方干旱和半干旱地区面临着土壤盐碱化和干旱加剧等全球性生态问题,致使大多数牧草种子存在萌发困难、出苗不整齐、幼苗耐旱性和耐盐性弱等特点^[5-7],以及其代谢过程受阻,导致活性氧积累、离子失衡和植株生长受抑,严重时可能造成细胞死亡^[8],进而导致牧草生长势减弱和大面积枯死,甚至可导致牧草种质严重的退化,给牧草产业的发展带来了巨大的经济损失^[9-10]。因此,提高牧草种子的出苗率、促进幼苗健壮生长、提高其产量和质量是当前面临的重要问题。

目前,对于牧草出苗率低和生长缓慢等问题主要采用农业防治措施、水利工程和化学改土等传统措施,但是这些措施均存在投入大、周期长和见效慢等缺点^[11]。同时,对于在牧草生产中病害的防治,通常采用喷施化学农药,但是长期大量使用化学农药,将导致病原菌产生抗药性、农产品中药剂残留和环境污染等一系列问题,严重制约了农牧业的可持续发展^[12]。因此,鉴于传统防治措施的局限性和牧草产业发展的需求,寻求高效而安全的生物制剂间接地促进牧草生长和诱导牧草体内产生各种与抗性相关的物质和酶,以便抵抗外界不良环境和病害的发生是目前研究的热点和重点之一。

木霉(*Trichoderma* spp.)是一类重要的植物病害生防真菌,隶属于半知菌类(Deuteromycotina),丝孢纲(Hyphomycetes),丝孢目(Hyphomycetales),丝孢科(Hyphomycetaceae),广泛存在于土壤、腐烂的木材和其它基物中^[13]。近年来人们发现生防木霉菌不仅对植物病原菌具有拮抗效应,还能促进植物生长。已有相关报道表明,木霉对辣椒、茼蒿、黄瓜、白菜、豌豆、花生、长春花和菊花等多种作物具有明显的促生效应,尤其是哈茨木霉和康宁木霉能够显著提高马铃薯、烟草和红萝卜的发芽率、出苗率及干重^[14],但目前关于生防木霉菌促生作用的研究主要集中在

农作物上,有关深绿木霉对牧草的促生作用目前尚未见报道。因此,本试验通过深绿木霉发酵液对黑麦草促生作用和生理生化特性的测定,分析和讨论深绿木霉对黑麦草的促生作用及机理,对提高牧草产量和质量、推动牧草产业向无公害、有机化方向发展具有一定的创新性和实践意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 深绿木霉(*Trichoderma aureoviride*)由甘肃农业大学植物病理实验室筛选保存。

1.1.2 供试黑麦草品种 供试黑麦草(*Lolium perenne* L.)品种为‘夜影’,购买于甘肃省农科院种子有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 深绿木霉发酵液一级培养 将4℃低温保存的深绿木霉菌活化后接种于PDA培养基,置于25℃培养箱中光暗交替培养6天。

1.2.2 深绿木霉发酵液二级培养 在一级培养6天的深绿木霉菌培养基中加入1滴Tween-80和5 mL无菌水充分震荡使深绿木霉分生孢子脱落在无菌水中,即得到深绿木霉分生孢子悬浮液的原液,并用血球计数板计数原液的浓度(1×10^8 个·mL⁻¹)。然后将PDB液体培养基分装在150 mL的三角瓶中,每个三角瓶分装60 mL培养基,并向每个三角瓶中分别加入1 mL深绿木霉分生孢子悬浮液,以加入1 mL无菌水和1滴Tween-80作为对照,每个处理和对照3个重复。置于25℃、转速为150 r·min⁻¹和16 h光照的控温振荡器中连续培养8天。然后将其通过双层滤纸过滤即得到深绿木霉发酵液的原液,并依次稀释成50、100、200倍液备用。

1.2.3 深绿木霉发酵液对黑麦草种子活性的影响

挑选饱满且大小一致的黑麦草种子,将其用5% NaClO消毒5 min,并用无菌水冲洗5次。然后将消毒的种子均匀摆放在铺有一层纱布和两层滤纸的培养皿(直径为9 cm)内,每个培养皿100粒,3次重复。然后向每个培养皿中分别加入15 mL不同稀释倍数的深绿木霉发酵液,以加入15 mL PDB过滤液作为对照,并置于25℃和16 h光照的恒温箱中培养。发芽过程中如果缺水应及时补充无菌水和深绿木霉发酵液,以胚根超过种子长度的一半时作为标

准开始计数,发芽期间逐日统计发芽粒数,连续统计发芽种子数无增长时即停止计数,并计算种子的发芽率、发芽指数和活力指数^[15]。

发芽率(%)=(全部发芽种子数/参试种子总数)×100

发芽指数= $\sum G_t/D_t$ (G_t 为 t 时间内的发芽数, D_t 为相应的发芽天数)

活力指数=发芽指数×单株平均干重

1.2.4 盆栽试验 挑选健康的黑麦草种子,并用 5% NaClO 消毒 5 min,无菌水冲洗 5 次。在直径为 10 cm 的塑料钵装入灭菌的砂及土($V_{\text{砂}}:V_{\text{土}}=1:3$) 200 g·钵⁻¹,并将消毒后的种子分别种植于塑料钵中,200 粒·钵⁻¹,待幼苗长到两叶一心期时,将不同稀释倍数深绿木霉发酵液施入其根系周围的土壤中,以 PDB 过滤液作为对照,每个处理和对照 6 个重复。试验在 25℃和 16 h 光照的温室中进行。

1.2.5 幼苗生长指标测定 处理后第 20 天分别随机从各处理中抽取 30 株幼苗,洗净吸干水分后测定幼苗株高、根系长度、根冠比和整株鲜重。然后将其置于 105℃杀青 30 min,70℃烘至恒重,并称其干重^[16]。

1.2.6 叶绿素和可溶性蛋白含量测定 处理后第 20 天分别随机从各处理中抽取 30 株幼苗,洗净吸干水分后采用“分光光度法”测定其叶绿素含量^[17];可溶性蛋白含量采用“考马斯亮蓝 G-250 法”测定^[18-19]。

1.2.7 抗性相关酶活性测定 处理后第 20 天分别随机从各处理中抽取 30 株幼苗,洗净吸干水分后测定幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的活性^[20-21],且每天测定一次。

1.2.8 数据处理 采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 16.0 软件进行数据处理、绘图和统计分析,并采用 Duncan 新复极差法对各处理进行多重比较($P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 深绿木霉发酵液对黑麦草种子活性的影响

不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草种子的活性均具有较明显的影响,并且不同稀释倍数深绿木霉发酵液处理的幼苗与对照相比均存在显著的差异,尤其是 100 和 50 倍稀释液能够显著的提高种子萌发率、发芽整齐度和缩短种子的发芽时间(表 1)。

表 1 深绿木霉发酵液对黑麦草种子活性的影响
Table 1 Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on seed vigor of ryegrass

浓度 Concentrations	发芽率/% Germination rates	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
200×	92.18±0.29c	35.42±0.57c	6.49±0.10c
100×	96.55±0.65a	37.41±0.60a	7.83±0.06a
50×	94.10±0.20b	36.44±0.43b	7.02±0.08b
原液 Stock solution	93.48±0.27b	36.14±0.50bc	6.54±0.06c
对照 Control	91.63±1.02d	33.02±0.46d	5.57±0.09d

注:表 1 中的数据为第 8 天时的发芽率、发芽指数和活力指数。同列数据后不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Note: The germination rates, germination index and vigor index were measured at the 8 th day in table 1. Different small letters in the column showed 0.05 level significant difference respectively among the treatments by Duncan's new multiple range test.

2.2 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗生长的影响

与对照相比,不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗的生长具有明显的促生作用,且不同稀释倍数深绿木霉发酵液之间存在显著的差异,其中 50 和 100 倍稀释液表现出较强的促生作用,尤其是 100 倍稀释液处理的幼苗根系长度、株高、鲜重、干重和根冠比的相对增长率分别为 16.95%、13.33%、40.57%、73.68%和 36.36%(表 2)。

表 2 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗生长的影响
Table 2 Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on the vigor of ryegrass seedlings

浓度 Concentrations	根长/mm Root length	株高/mm Plant height	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight	根冠比 Root/shoot ratio
200×	57.48±0.73 c	35.48±0.29 d	6.49±0.20 c	0.26±0.01 c	1.56±0.06 b
100×	61.55±0.70 a	37.42±0.41 a	7.83±0.13 a	0.33±0.01 a	1.65±0.03 a
50×	59.10±0.59 b	36.72±0.74 b	7.02±0.04 b	0.28±0.01 b	1.62±0.03 ab
原液 Stock solution	58.18±0.28 bc	36.44±0.59 c	6.54±0.11 c	0.26±0.01 c	1.59±0.01 ab
对照 Control	52.63±1.09 d	33.02±0.68 e	5.57±0.12 d	0.19±0.01 d	1.21±0.04 c

注:同列数据后不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。
Note: Different small letters in the same column showed 0.05 level significant differences respectively among the treatments by Duncan's new multiple range test.

2.3 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量的影响

不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗的叶绿素和可溶性蛋白含量均具有较明显的影响。与对照相比,不同稀释倍数深绿木霉发酵液处理后幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量均有较大程度的提高,其中 100 倍稀释液能够显著的提高幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量,且幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量的相对增长率分别为 84.09%和 75.50%(表 3)。

2.4 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗多酚氧化酶(PPO)活性的影响

与对照相比,不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗多酚氧化酶(PPO)活性的影响均存在显著的差异,其中 100 和 50 倍稀释液对其酶活性的影

响较为明显,并且在处理后第 4 天酶的活性达到峰值,而在第 5 天酶的活性呈逐渐下降的趋势(图 1)。

表 3 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量的影响

Table 3 Effects of fermentation medium of <i>Trichoderma aureoviride</i> on content of chlorophyll and soluble protein of ryegrass seedlings		
浓度 Concentrations	叶绿素含量 Chlorophyll content /(mg·g ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content /(μg·g ⁻¹)
200 ×	2.86 ± 0.07 c	1097.90 ± 6.67 d
100 ×	3.24 ± 0.07 a	1616.40 ± 12.50 a
50 ×	3.09 ± 0.03 b	1385.09 ± 4.42 b
原液 Stock solution	2.98 ± 0.10 bc	1255.71 ± 7.11 c
对照 Control	1.76 ± 0.06 d	921.04 ± 28.78 e

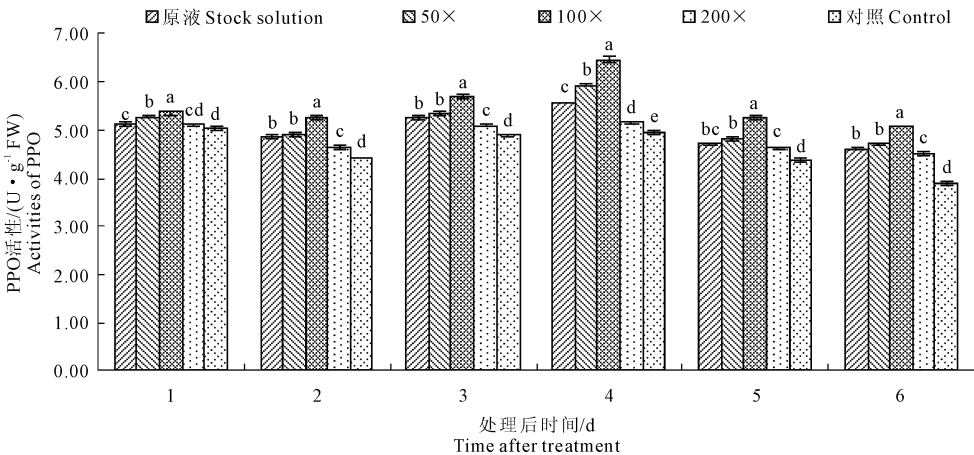


图 1 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗多酚氧化酶活性的影响

Fig.1 Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on activity of polyphenol oxidase (PPO) of ryegrass seedlings
注:图中数据均为平均数 ± 标准误,不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著(下同)。
Note: The data in the figure are mean ± standard error. Different small letters showed 0.05 level significant differences respectively among the treatments by Duncan's new multiple range test. The same below.

2.5 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗过氧化物酶(POD)活性的影响

不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗过氧化物酶(POD)活性的影响与对照相比均存在显著的差异,其中 100 倍稀释液对幼苗过氧化物酶活性的影响较为明显,并且在处理后第 3 天酶的活性达到最大值,第 4 天后酶的活性呈逐渐下降的趋势(图 2)。

2.6 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响与对照相比均存在显著的差异,其中 100 倍稀释液对其酶活性的影响较为明显。在处理第 1 天酶的活性呈逐渐上升的趋势,第 4 天达到最大值,而在第 5 天之后酶的活性

呈逐渐下降的趋势(图 3)。

3 讨论

随着近年来对木霉菌生防机制的进一步研究,众多学者发现一些木霉菌株能够通过促进植物的生长发育而提高植物的抗病能力,主要表现为其代谢产物的促生作用与与根际微生物的互作作用,以及分解土壤中矿物质易于植物吸收等方面^[22]。

本试验通过不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草种子和幼苗的促生作用、叶绿素、可溶性蛋白含量和与抗性相关酶活性的测定,结果表明深绿木霉发酵液对黑麦草生长具有显著的促生作用,同时能够显著的提高与其生长和抗性相关的物质含量和酶活性。通过统计和测定种子的发芽率、发芽指数和

活力指数,初步探明了深绿木霉发酵液能够显著的提高种子发芽率、发芽整齐度和缩短种子发芽时间。同时也筛选出了最适的促生浓度,尤其是浓度为 100 倍的深绿木霉发酵液表现出较好的促生效果,其次为 50、原液、200 倍稀释液。魏林等^[22]应用哈茨木霉 T2-16 菌株发酵产物对杂交水稻种子进行

了发芽试验,结果表明该发酵产物能够提高水稻种子萌发率和种子活力指数。吴利民等^[23]利用不同浓度的木霉发酵液处理番茄种子,100 倍稀释液处理后番茄种子的发芽率提高了 12.81%,且均高于对照和其它稀释浓度。因此,本试验研究结果与前期的研究结果基本一致。

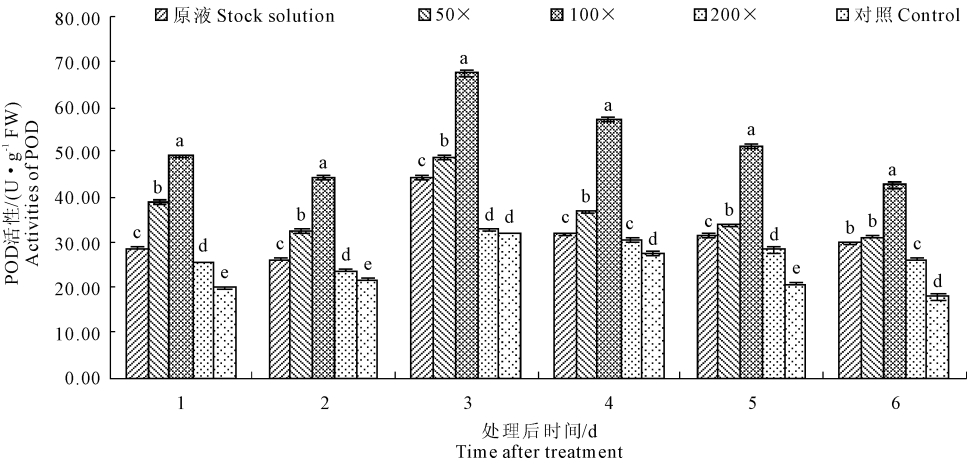


图 2 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗过氧化物酶活性的影响

Fig.2 Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on activity of peroxidase (POD) of ryegrass seedlings

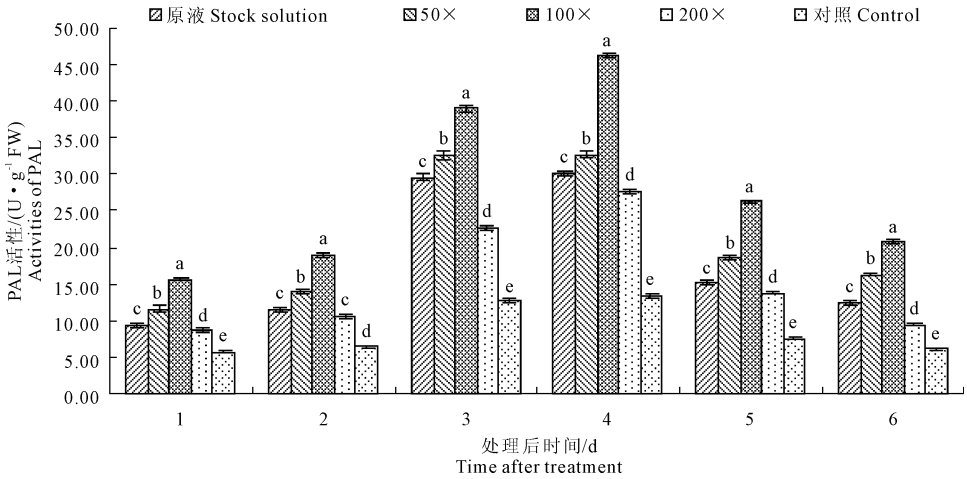


图 3 深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗苯丙氨酸解氨酶活性的影响

Fig.3 Effects of fermentation medium of *Trichoderma aureoviride* on activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) of ryegrass seedlings

另外,不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草幼苗的生长具有显著的促生作用,尤其是 100 倍的深绿木霉发酵液对幼苗的株高、根系长度、整株鲜重和根冠比具有较强的促生作用。目前国内外大量的研究表明,木霉菌对多种植物具有促生效应,如小麦、黄瓜、番茄、水稻、豇豆、菊花、莴苣、花生和马铃薯等。本试验结果与陆宁海等^[24]研究的结果基本一致,施入哈茨木霉制剂后黄瓜幼苗的株高和根长均比对照有所增加。与 Altoma^[25]等发现哈茨木霉 T22 菌株能够提高植物的生长量这一结果也基本一致。

通过研究不同稀释倍数深绿木霉发酵液对黑麦草叶绿素和可溶性蛋白含量,以及苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)这三种重要的植物防御酶的活性变化,结果表明不同稀释倍数深绿木霉发酵液对幼苗叶绿素、可溶性蛋白含量和与抗性相关酶的活性具有显著的影响,且不同浓度之间存在显著的差异,尤其是浓度为 100 倍的发酵液对黑麦草幼苗叶绿素、可溶性蛋白含量和与抗性相关酶的活性影响较为明显。相关研究表明,绿色木霉 T23 发酵液对番茄防御酶活性具有明

显激活作用。Yedidia^[26]等将哈茨木霉 T203 接种到黄瓜的根部,观察到在哈茨木霉菌 T203 穿过黄瓜根部的表皮层时,植株的过氧化物酶活性升高,这表明 T203 诱导植物产生了抗性。黄有凯等^[27]研究发现,水稻喷施木霉发酵液后生长加快,植株体内多酚氧化酶和过氧化物酶活性提高,同工酶电泳时出现新的谱带,表明木霉促进水稻生长与诱导水稻植株产生抗病性有关。本试验研究结果与前期的研究结果基本一致。

因此,深绿木霉发酵液对黑麦草的生长具有较强的促生作用,并能够显著的提高黑麦草叶绿素含量、可溶性蛋白含量和与抗性相关酶的活性,但目前对于深绿木霉的研究还只处于初级阶段,诸如对其它种类牧草的促生作用及机理等还有待进一步深入的研究。

参 考 文 献:

[1] 刘建新,王鑫,王瑞娟,等. NaHCO₃ 胁迫下硝酸镧对黑麦草幼苗光合机构的保护作用[J]. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2836-2842.

[2] 陈志刚,张红蕊,周晓红,等. 铝胁迫对黑麦草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 水土保持研究, 2011, 18(4): 207-210.

[3] 廖敏,黄昌勇. 黑麦草生长过程中有机酸对镉毒性的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(1): 109-112.

[4] 徐卫红,熊治庭,王宏信,等. 锌胁迫对重金属富集植物黑麦草养分吸收和锌积累的影响[J]. 水土保持学报, 2005, 19(4): 32-35.

[5] 刘志民,李雪华,李荣平,等. 科尔沁沙地 15 种禾本科牧草植物种子萌发特性比较[J]. 应用生态学报, 2003, 14(9): 1416-1420.

[6] 张国萍,倪日群,赵新亮,等. 水引发对干旱胁迫下水稻种子发芽与幼苗生长的影响[J]. 种子, 2002, 2: 20-22.

[7] 余如刚,杜雪玲,陈楚,等. PEG 胁迫对三种豆科牧草种子萌发及幼苗生理影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(5): 99-103.

[8] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.

[9] 李卫军,郭星海,高辉远. 牧草种子萌发耐盐筛选[J]. 八一农学院学报, 1993, 16(2): 68-71.

[10] 张利,康晓慧,周俗,等. 四川地区禾本科牧草真菌病害调查及综合防治研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(29): 17899-

17901.

[11] 童有为,陈淡飞. 温室土壤次生盐渍化的形成和治理途径研究[J]. 园艺学报, 1991, 18(2): 159-162.

[12] 鲁鸿佩,孙爱华,马绍慧. 临夏州人工草地牧草病害调查及苜蓿霜霉病防治[J]. 草业科学, 1999, 16(6): 43-49.

[13] Weinding R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizictonia solani* and other soil fungi[J]. Phytopathology, 1932, 22: 837-845.

[14] 杨春林,席亚东,刘波微,等. 哈茨木霉 T2h230 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): 1603-1605.

[15] 韩建国. 牧草种子学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008: 35-38.

[16] 刘建新,王瑞娟,王鑫,等. La(NO₃)₃ 对盐胁迫下黑麦草幼苗生长及抗逆生理特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(2): 353-357.

[17] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 197-199.

[18] 杨玉芳. 蛋白质含量测定方法[J]. 明胶科学与技术, 2007, 27(2): 98-100.

[19] 邱葵,司天润. 用考马斯亮蓝法测定动物药材中可溶性蛋白含量方法初探[J]. 中国中医药杂志, 2007, 14(4): 49-50.

[20] 王志勇,江淑平. 内生真菌对高羊茅叶内防御酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 361-365.

[21] 杨顺强,任广鑫,杨改河,等. 8 种美国引进禾本科牧草保护酶活性与抗旱性研究[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(6): 144-148.

[22] 魏林,梁志怀,罗赫荣. 哈茨木霉 T2-16 发酵产物对水稻种子活力的影响[J]. 种子, 2005, 24(11): 4-7.

[23] 吴利民,郭立季,陆宁海,等. 木霉对番茄种子活力及幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5482-5492.

[24] 陆宁海,吴利民,田雪亮,等. 哈茨木霉 RT212 对黄瓜幼苗促生作用的机理[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(3): 254-255.

[25] Altoma R E, Norvellw A, Bjok K A. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments[J]. Applied and Enviromental Microbiology, 1999, 65(7): 2926-2933.

[26] Yedidia I, Benhamou N, Chet I I. Induction of defense responses in encumber plants (*Cocrmis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianun* [J]. Applied and Enviromental Microbiology, 1999, 65: 1061-1070.

[27] 黄有凯,罗曼,蒋立科,等. 哈茨木霉对水稻过氧化物酶及多酚氧化酶活性的影响[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 1-5.