

DOI:10.12171/j.1000-1522.20230346

加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗促生抗病功能分析

黄颖^{1,2} 苗嘉琪^{1,3} 遇文婧² 刁桂萍¹

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林保护研究所, 黑龙江 哈尔滨 150040;
3. 西安立讯科技技师学院, 陕西 西安 710000)

摘要:【目的】探索并分析加纳木霉 ACCC30153 的促生抗病功能, 为该菌株的田间应用提供理论依据和技术支持。【方法】利用加纳木霉 ACCC30153 分生孢子悬浮液灌施山新杨幼苗, 对山新杨幼苗的生长指标、生理指标和光合作用进行了研究; 通过加纳木霉 ACCC30153 与病原菌对峙试验及分析相关抗病基因表达差异, 明确加纳木霉 ACCC30153 抗病功能。【结果】(1) 灌施不同孢子浓度加纳木霉 ACCC30153 分生孢子悬浮液能够促进山新杨幼苗的生长。与对照相比, 灌施 1.5×10^7 cfu/mL 孢子浓度 60 d 后幼苗平均株高增加了 63.99%。生理指标测定显示, 灌施处理显著提高叶绿素含量、净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度, 且显著高于对照组 ($P < 0.05$)。 (2) 加纳木霉 ACCC30153 处理显著提高了山新杨叶片内防御酶的活性, 包括苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD), 表明加纳木霉通过提高防御酶活性增强了山新杨的抗病能力。 (3) 对峙试验结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 对多种病原真菌具有显著的拮抗作用。实时荧光定量 RT-qPCR 结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 分泌的溶解酶和蛋白水解酶在其拮抗病原真菌过程中发挥了重要作用。【结论】本研究明确了加纳木霉 ACCC30153 能够通过提高山新杨叶片内叶绿素含量、增强其光合速率促进山新杨幼苗的生长, 并显著提高山新杨幼苗防御酶活性; 同时能够分泌溶解酶及蛋白水解酶参与其对病原菌的拮抗作用。

关键词: 加纳木霉; 杨树; 生防作用; 促生作用

中图分类号: S792.13 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2024)12-0103-11

引文格式: 黄颖, 苗嘉琪, 遇文婧, 等. 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗促生抗病功能分析 [J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(12): 103-113. Huang Ying, Miao Jiaqi, Yu Wenjing, et al. Growth promotion and disease resistance function of *Trichoderma ghanaiana* ACCC30153 on *Populus davidiana* × *P. bolleana* seedlings [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(12): 103-113.

Growth promotion and disease resistance function of *Trichoderma ghanaiana* ACCC30153 on *Populus davidiana* × *P. bolleana* seedlings

Huang Ying^{1,2} Miao Jiaqi^{1,3} Yu Wenjing² Diao Guiping¹

(1. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China;
2. Heilongjiang Forest Protection Institute, Harbin 150040, Heilongjiang, China;
3. Xi'an Lixun Technology Technician College, Xi'an 710000, Shaanxi, China)

Abstract: [Objective] To provide a theoretical basis and technical support for the field application of *Trichoderma ghanense* ACCC30153, its growth-promoting and disease-resistance functions were analyzed. [Method] The study investigated the effects of irrigating poplar seedlings with a conidial suspension of *T. ghanense* ACCC30153 on growth indicators, physiological indicators, and photosynthesis. The disease

收稿日期: 2023-11-29 修回日期: 2024-05-30

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项 (2572022DS07), 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目 (LKSB2024-2、CZKYF2022-1-C048), 黑龙江省博士后出站基金项目 (2023)。

第一作者: 黄颖, 博士。主要研究方向: 森林保护。Email: 729218328@qq.com 地址: 150040 黑龙江省哈尔滨市和兴路 26 号东北林业大学林学院。

责任作者: 刁桂萍, 博士, 副教授。主要研究方向: 森林保护。Email: dgp2003@126.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

resistance function of *T. ghanense* ACCC30153 was determined through pathogen confrontation tests and by analyzing the expression patterns of disease resistance genes. [Result] (1) Irrigating with different concentrations of *T. ghanense* ACCC30153 conidial suspension promoted the growth of poplar seedlings. Compared with the control, the average height of poplar seedlings increased by 63.99% after 60 days of irrigation with a conidial suspension of *T. ghanense* ACCC30153 at a concentration of 1.5×10^7 cfu/mL. Additionally, physiological measurements demonstrated a significant increase in chlorophyll, net photosynthetic rate, transpiration rate, stomatal conductance and intercellular CO₂ concentration in leaves compared to the control group ($P < 0.05$). (2) Comparison of disease resistance in poplar leaves irrigated with or without *T. ghanense* ACCC30153 conidial suspension revealed a significant improvement in disease resistance after treatment. Enzymatic activity of defense-related enzymes, including phenylalanine ammonia-lyase (PAL), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POD), indicated that *T. ghanense* ACCC30153 enhanced disease resistance by increasing the activity of these defense enzymes in the leaves ($P < 0.05$). (3) The confrontation experiment showed that *T. ghanense* ACCC30153 exhibited significant antagonistic effects on against various pathogenic fungi. Furthermore, real-time fluorescence quantitative RT-qPCR analysis revealed that lysozymes and proteolytic enzymes secreted by *T. ghanense* ACCC30153 played critical roles in its antagonistic effects against pathogenic fungi. [Conclusion] This study demonstrated that *T. ghanense* ACCC30153 can promote the growth of poplar seedlings by increasing chlorophyll content, enhancing photosynthetic rates, and it significantly increased the activity of defense enzymes. Moreover, the *T. ghanense* ACCC30153 can secrete lytic enzymes and proteolytic enzymes to participate in its antagonism against pathogenic organisms.

Key words: *Trichoderma ghanense*; poplar; biocontrol effect; growth promoting effect

植物病害会对植物的正常生长和发育造成不良影响,甚至可能导致植物死亡,造成巨大的生态和经济损失。木霉菌(*Trichoderma* spp.)是一种广泛分布于土壤、植物、植物残体及动物粪便等基质上的丝状真菌,是世界上公认的极具应用价值的生防真菌。目前,由木霉菌制成的生防菌剂已被证实能够有效防治可可黑茎病^[1]、葡萄孢疫病^[2]及黄瓜枯萎病^[3]等多种病害。同时,木霉菌剂也在防治采摘后的蔬菜水果^[4]及园林花木的储存期病害^[5]方面表现出良好效果。此外,木霉菌剂还能刺激种子萌发、促进根茎伸长和植物的生长和繁殖^[6]。综上所述,木霉菌制剂兼具杀真菌生物农药、促生长生物肥料以及土壤改良剂等多重功能^[7]。

作为一种被广泛应用的生防菌剂,木霉菌的生防机理已被深入研究。目前,木霉菌的生防机制主要有以下4个方面:对病原菌的竞争作用、与病原菌的重寄生作用、通过分泌抗生物质对病原菌产生杀伤性的抗生作用、通过诱导寄主植物产生抗性作用等^[8]。其中,重寄生作用指木霉菌通过分泌胞外酶降解寄主细胞壁,穿透寄主菌丝,侵入并穿透管腔等一系列行为杀死寄主。不同类型的胞外酶,包括几丁质酶和 β -葡聚糖酶,被认为是参与真菌-寄主相互作用的关键酶^[9-12];而蛋白酶则通过降解结构细胞蛋

白,破坏宿主细胞的完整性,从而促进木霉菌丝的渗透和定植^[13-15]。此外,丝氨酸蛋白酶已被证实能有效分解真菌和线虫的细胞壁,在提高木霉生物防治能力方面具有巨大的应用潜力。木霉菌还通过产生并分泌生物活性物质,对多种植物病原微生物进行拮抗作用。例如,木霉菌产生的营养不兼容蛋白(vegetative incompatibility protein HET-E-1)不仅有助于其识别异己,维持遗传稳定性,还能使遗传上明显不同的菌丝体在交接区域发生拮抗反应^[16]。因此,这类蛋白的大量表达可视为木霉菌排异、竞争营养和空间的表现。同时,加纳木霉中的小分子疏水蛋白也有较高的表达量,这类蛋白的产生与表达有助于木霉菌丝体表面形成亲水-疏水结构,减少水-气界面间的分子张力,促进木霉菌丝与其他菌种菌丝体的黏附和缠绕,实现对营养和空间的竞争及重寄生作用^[17]。

近年来的研究表明,木霉菌也是一种能够被广泛应用的新型植物促生长剂。木霉菌分泌的植物生长调节剂不仅能改善植物根际的微生态,增强植物对病虫害的防御能力,还能通过增加植物对养分的利用效率来促进其生长发育,并兼具提高产量的效果^[18]。刘畅等^[19]利用绿色木霉(*T. aviride*)和哈茨木霉(*T. harzianum*)的混合菌液灌根处理黄瓜(*Cucumis*

sativus) 幼苗, 发现混合菌液能显著促进黄瓜幼苗的生长, 且促生的效果优于施加单种菌液。邓俊杰等^[20]将哈茨木霉 T6 施于月季 (*Rosa chinensis*) 盆栽土壤后, 测定了栽培的月季的生长量及抗病相关生理指标, 结果表明哈茨木霉 T6 能够促进月季生长发育并增强其抗病性。

本研究以加纳木霉 (*T. ghanense*) ACCC30153 为研究对象, 以山新杨 (*Populus davidiana* × *P. bolleana*) 组培移栽苗为试验材料, 初步探究加纳木霉对山新杨幼苗的促生及抗病作用。研究结果将为加纳木霉生防功能基因的挖掘与利用提供基础数据, 并为高效生物有机肥的开发应用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试菌株: 加纳木霉 ACCC30153, 菌株购自中国农业微生物菌种保藏管理中心; 病原真菌: 细链格孢菌 (*Alternaria alternate*)、金黄壳囊孢菌 (*Cytospora chrysosperma*) 均来源于东北林业大学森林保护学科实验室。

供试植株: 山新杨组培移栽苗。采用王娜等^[21]的方法, 对生根培养 2 周后生长状况良好的山新杨组培苗进行炼苗及移栽处理。

供试培养基: 1/2 Murashige and Skoog (MS) 液体生根培养基、1/2MS 固体生根培养基、木本植物继代培养基 (WPM)、马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)、1/2 马铃薯葡萄糖液体培养基 (PD)、1/4 PD 液体培养基、微量无机盐基础培养基、碳饥饿培养基、氮饥饿培养基、1% 病原菌细胞壁培养基 (包括叶枯病原菌、立枯丝核菌、烂皮病原菌、尖孢镰刀菌)^[22-23]。

1.2 加纳木霉分生孢子悬浮液的制备

在无菌条件下, 将活化的加纳木霉菌株接种到 PDA 平板培养基中, 封口并标记后, 在 28 °C、黑暗条件下倒置培养 7 ~ 10 d。无菌水清洗培养基, 获得孢子悬浮液, 分别配制成 1.5×10^3 、 1.5×10^5 、 1.5×10^7 cfu/mL 的加纳木霉分生孢子悬浮液, 于 4 °C 中保存备用。

1.3 加纳木霉对山新杨移栽苗的诱导处理

选择长势一致的山新杨幼苗, 每 12 株为一组, 设 3 个重复。对照组 (CK) 仅浇灌自来水, 处理组 1 (T1) 根施 20 mL 1.5×10^3 cfu/mL 加纳木霉孢子悬浮液, 处理组 2 (T2) 根施 20 mL 1.5×10^5 cfu/mL 加纳木霉孢子悬浮液, 处理组 3 (T3) 为根施 20 mL 1.5×10^7 cfu/mL 加纳木霉孢子悬浮液, 各组培养条件相同。分别于处理后 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、1 d、5 d、10 d、15 d 时, 选择无损伤、无病害、生长状况相近的

叶片, 每个时间节点从 CK 和每个处理组中采集 3 片叶片, 采集的叶片装入 10 mL 离心管中, 经液氮速冻后存放于 -80 °C 超低温冰箱备用。

1.4 山新杨叶片生长量、叶绿素含量和生理酶活性的测定

对上述处理的山新杨移栽苗, 分别在诱导 0、15、30 和 60 d 时, 测定山新杨的株高、地茎、根长、叶片数、鲜质量和干质量等指标。并在 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、1 d、5 d、10 d 和 15 d 测定山新杨叶片中的叶绿素含量及 4 种生理酶, 包括苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性。

1.5 山新杨净光合作用强度日变化的测定

8 月中上旬选择微风且光照充足的天气, 利用便携式光合作用测定仪 (美国, 北京商德通科技有限公司, CI-340), 选取 CK 组和 T1、T2 和 T3 3 个处理组各 5 株生长状况相似的山新杨幼苗, 每株选取长势及叶龄相对一致的 5 片叶片, 每个重复 3 次, 在自然光照条件下测定山新杨幼苗净光合速率 (net photosynthetic rate, P_n) 的日变化。测定时间从 08:00 开始, 每小时测定一次, 直至 16:00 停止, 每个时间点按照相同的顺序对相同叶片进行测定, 记录并计算平均值。在 8 月中旬选择 3 d 微风且光照充足的天气, 选择日变化峰值的时间进行叶片的 P_n 、蒸腾速率 (transpiration rate, E)、气孔导度 (stomatal conductance, G_s) 和胞间 CO_2 浓度 (intercellular CO_2 concentration, C_i) 等光合指标的测定。

1.6 加纳木霉与病原菌对峙试验

为研究加纳木霉 ACCC30153 菌株对病原真菌的拮抗作用, 选取了 2 种杨树病原真菌 (细链格孢菌、金黄壳囊孢菌) 分别与其进行对峙培养^[22]。

1.7 加纳木霉溶解酶基因和信号转导基因的表达分析

依据转录组数据中的基因注释查找可能参与木霉菌生防功能的溶解酶基因^[9-12] (*TghECh*、*TghChi*、*TghAsp*、*TghAse*、*TghXyn*、*TghNac*、*TghSep*、*TghGlu*、*TghEgl*、*TghGTP*) 及内参基因 (*actin*、 α -*tubulin*、 β -*tubulin*), 获取相应序列后于 NCBI 网站进行序列对比, 确认序列全长。选择基因中靠近 3' 端的基因序列, 利用引物设计软件 Primer 6.0 设计引物 (表 1), 送至上海生工生物技术有限公司合成。

同样, 收集加纳木霉菌丝体, 并将其移接至 5 个诱导培养基 (微量无机盐基础培养基、2 种病原菌发酵液和病原菌细胞壁培养基) 中进行诱导培养。每个诱导处理 3 瓶。收集菌丝体提取总 RNA, 并进行反转录^[24], 获得 cDNA 后, 用上述引物进行 RT-qPCR, 并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法对数据进行分析处理, 以此检测

表1 引物设计
Tab. 1 Primer design

基因编号 Gene No.	引物序列(5'—3') Primer sequence (5'—3')	
<i>TghECh</i>	F: GCGACCTGCTCCAGAGATTGAG	R: GCCCGTGTGTTGTCACCTCCA
<i>TghChi</i>	F: GGCACCTTGGTACGAGCCATTCA	R: CCGCTTGTAGTCCTCGCCATT
<i>TghAsp</i>	F: AGGCGTCCAGGTCATCGTAGA	R: CGGATCGAGCAGCGAGTTGTT
<i>TghAse</i>	F: TGGACTCTGGATGTGCGTCAAC	R: GCCGATCCATGTGCCTTCTTCT
<i>TghXyn</i>	F: TTGTCACCTTCTCCGGCGTGC	R: CCGTGTCTTGGCCGTAACGA
<i>TghNac</i>	F: CTTTGTGCGGCGCAAGGGAT	R: CGATGATGGACGGCTGGTTGA
<i>TghSep</i>	F: CCGTCGTCTACTGCCTCAACAA	R: GCTCTACGATGCTGCGGTGAA
<i>TghGlu</i>	F: CGGCATCCACAAGCGACACA	R: TCATCGTCTTCGTCCTCGTCTT
<i>TghEgl</i>	F: GAGTTCAACGCCCGCAACCA	R: CGCTCCGGCATTGACCTTCTT
<i>TghGTP</i>	F: CTTTGTGCGGCGCAAGGGAT	R: CGATGATGGACGGCTGGTTGA
<i>actin</i>	F: AAGGAGTCCGTCGTCGAGGTT	R: AGTTGAGGGCGGAGCGGATA
α - <i>tublin</i>	F: CTGGTCACGGCTGGACTACAAG	R: GCATCAAGTCGTCGTCGTCGT
β - <i>tublin</i>	F: GTTACCTGACGTGCTCCACCAT	R: CGGAACATGGCGGTGAACCTGT

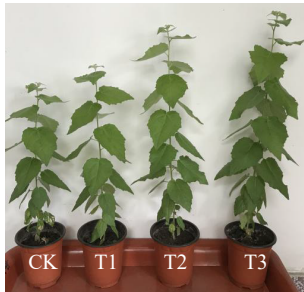
基因在5种不同诱导条件下的差异表达情况。

2 结果与分析

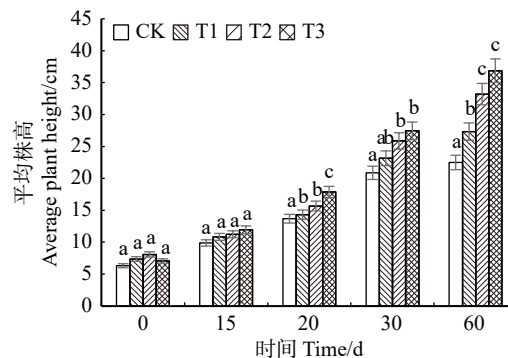
2.1 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗生长的影响

与对照组相比,根施木霉60 d后,T1、T2和

T3处理的山新杨的茎粗、根长、叶片数、鲜质量和干质量均有较高提升(图1和表2)。T1、T2和T3处理的山新杨移栽苗的平均株高在处理30 d时分别增长了12.67%、26.68%和29.36%,处理60 d时分别增长了18.81%、52.16%和63.99%(图1b),均显著高于对照($P < 0.05$)。加纳木霉 ACCC30153 菌株具有



a 根施木霉孢子60 d杨树幼苗生长状况
Growth of poplar seedlings after 60 d
of root application of trichoderma spores



b 根施木霉孢子后杨树幼苗的平均株高
Average plant height of poplar seedlings after
root application of trichoderma spores

CK:对照; T1:孢子浓度 1.5×10^3 cfu/mL; T2:孢子浓度 1.5×10^5 cfu/mL; T3:孢子浓度 1.5×10^7 cfu/mL。不同小写字母表示同一时间不同处理之间差异显著($P < 0.05$)。CK, control; T1, spore concentration of 1.5×10^3 cfu/mL; T2, spore concentration of 1.5×10^5 cfu/mL; T3, spore concentration of 1.5×10^7 cfu/mL. Different lowercase letters indicate significant differences in same time under varied treatments ($P < 0.05$).

图1 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗促生作用

Fig. 1 Promotion function of *Trichoderma ghanense* ACCC30153 on growth of *P. davidiana* × *P. bolleana* seedlings

表2 不同处理60 d后山新杨移栽苗的生长状况

Tab. 2 Growth of *P. davidiana* × *P. bolleana* seedlings under different treatments after 60 days

生长指标 Growth indicators	CK	T1	T2	T3
茎粗 Stem diameter/cm	0.21 ± 0.004 ^a	0.26 ± 0.011 ^a	0.38 ± 0.005 ^b	0.55 ± 0.010 ^b
根长 Root length/cm	2.26 ± 0.261 ^a	2.29 ± 0.142 ^a	5.26 ± 0.166 ^b	6.11 ± 0.211 ^b
叶片数 Leaf number	13.6 ± 0.050 ^a	15.2 ± 0.115 ^a	22.6 ± 0.168 ^b	23.8 ± 0.008 ^b
鲜质量 Fresh mass/g	6.05 ± 0.035 ^a	6.79 ± 0.122 ^a	9.28 ± 0.135 ^b	11.55 ± 0.256 ^b
干质量 Dry mass/g	1.03 ± 0.056 ^a	2.34 ± 0.045 ^a	4.54 ± 0.246 ^b	5.08 ± 0.002 ^b

注:同行不同小写字母表示不同处理下同一生长指标的差异显著($P < 0.05$)。Note: different lowercase letters in the same line indicate significant differences in same growth index under varied treatments ($P < 0.05$).

提高杨树幼苗生物量、促进生长的能力, 而且随着孢子浓度增加, 促生效果越好。

2.2 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗叶绿素含量的影响

3 个木霉处理组与对照组的叶绿素含量变化趋势一致, 均呈上升趋势, 而且与对照组相比, 叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素(a+b)含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$) (表 3、4 和 5)。此外, T1、T2 和 T3 处理的叶片叶绿素 a 含量在 15 d 时达到最大, 分别比对照提高了 0.86、1.29 和 0.99 倍; 叶绿素 b 含量在 10 d 时达到最大, 分别比对照提高了 1.64、2.22 和 1.97 倍; 叶绿素(a+b)含量在 15 d 时达到最大, 分别比对照提高了 0.73、1.07 和 0.92 倍。结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 能显著提高山新杨移栽苗叶片的叶绿素含量。

2.3 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗光合作用的影响

不同处理的山新杨移栽苗叶片净光合速率(P_n)的日变化整体趋势相近, 08:00—16:00 呈先升高后

下降的单峰曲线(图 2)。对照组和 T1 处理组在 09:00 稍下降后上升, 而 T2 和 T3 处理组一直呈上升趋势。CK、T1~T3 均在 12:00 达到峰值, 分别为 3.39、4.91、6.09 和 8.74 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 之后基本呈下降趋势。结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 可有效提高山新杨移栽苗的日光合速率。

以山新杨移栽苗叶片净光合速率(P_n)的日变化规律为依据, 分别选 10:00 和 12:00 两个典型时间点, 对山新杨移栽苗光合作用相关指标进行测定, 分析不同处理下, 山新杨移栽苗叶片光合作用的差异。与对照相比, 3 组木霉处理组在两个时间点均可有效提高山新杨的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(E)、气孔导度(G_s)和胞间 CO_2 浓度(C_i) (图 3)。T2 和 T3 处理的山新杨叶片 P_n 值在两个时间点均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且中午 12:00 时高于上午 10:00。 G_s 值在处理组后显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且上午 10:00 高于中午 12:00。此外, 3 组处理均不同程度提高了山新杨叶片的 E 值和 C_i 值。其中, T1 和 T2 处理后, E 值在上午 10:00 显著高于对照组 ($P <$

表 3 不同处理下山新杨叶片叶绿素 a 含量

Tab. 3 Contents of chlorophyll a in leaves of *P. davidiana* × *P. bolleana* under different treatments

处理 Treatment	0 h	1 h	3 h	6 h	12 h	1 d	5 d	10 d	15 d
CK	0.84 ^a	1.07 ^b	2.72 ^b	2.11 ^b	3.53 ^b	3.61 ^b	3.65 ^b	3.68 ^b	3.39 ^b
T1	0.94 ^a	2.81 ^b	2.55 ^b	3.82 ^{ab}	3.42 ^b	4.16 ^{ab}	4.35 ^b	5.46 ^a	6.31 ^a
T2	0.97 ^a	2.85 ^b	3.78 ^{ab}	5.83 ^a	5.29 ^a	7.11 ^a	7.67 ^a	6.02 ^a	7.72 ^a
T3	0.94 ^a	5.98 ^a	4.71 ^a	4.16 ^{ab}	4.53 ^{ab}	5.95 ^{ab}	5.68 ^{ab}	5.80 ^a	6.74 ^a

注: 同列不同小写字母表示不同处理之间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Notes: different lowercase letters in the same column indicate significant differences under varied treatments ($P < 0.05$). The same below.

表 4 不同处理下山新杨叶片叶绿素 b 含量

Tab. 4 Contents of chlorophyll b in leaves of *P. davidiana* × *P. bolleana* under different treatments

处理 Treatment	0 h	1 h	3 h	6 h	12 h	1 d	5 d	10 d	15 d
CK	0.81 ^a	0.24 ^b	1.85	1.88 ^b	2.08 ^b	2.08 ^b	3.68 ^b	2.07 ^b	3.33 ^b
T1	0.77 ^a	4.93 ^a	4.63 ^a	4.95 ^a	4.93 ^a	4.90 ^a	4.94 ^{ab}	5.46 ^{ab}	5.32 ^a
T2	0.91 ^a	3.73 ^a	2.65 ^b	4.23 ^a	4.48 ^a	5.04 ^a	5.71 ^a	6.66 ^a	6.16 ^a
T3	1.21 ^a	3.67 ^a	3.92 ^{ab}	4.40 ^a	4.99 ^a	4.82 ^a	5.36 ^a	6.21 ^a	6.15 ^a

表 5 不同处理下山新杨叶片叶绿素总含量

Tab. 5 Total contents of chlorophyll in leaves of *P. davidiana* × *P. bolleana* under different treatments

处理 Treatment	0 h	1 h	3 h	6 h	12 h	1 d	5 d	10 d	15 d
CK	1.64 ^a	1.30 ^c	4.57 ^b	3.99 ^b	5.62 ^b	5.69 ^b	7.33 ^b	5.75 ^b	6.72 ^b
T1	1.71 ^a	7.74 ^b	7.18 ^a	8.77 ^{ab}	8.35 ^{ab}	9.06 ^{ab}	9.28 ^{ab}	10.93 ^{ab}	11.63 ^{ab}
T2	1.87 ^a	6.57 ^b	6.43 ^{ab}	10.07 ^a	9.78 ^a	12.15 ^a	13.38 ^a	12.68 ^a	13.88 ^a
T3	2.14 ^a	9.65 ^a	8.64 ^a	8.56 ^{ab}	9.51 ^a	10.76 ^{ab}	11.04 ^{ab}	12.01 ^a	12.90 ^a

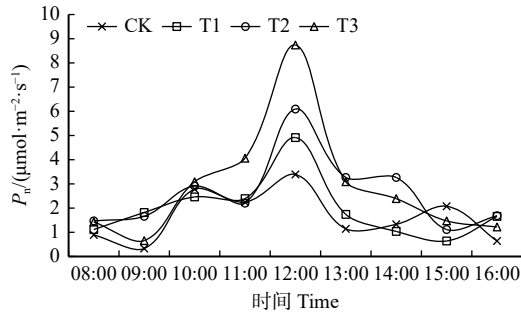


图2 不同处理下山新杨移栽苗净光合速率(P_n)日变化特性

Fig. 2 Diurnal variation characteristics of net photosynthetic rates (P_n) in *P. davidiana* × *P. bolleana* under different treatments

0.05); T2 和 T3 处理后, E 、 C_i 值在 12:00 显著高于对照 ($P < 0.05$)。结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 能够有效提高山新杨移栽苗的光合作用, 且根施 20 mL 1.5×10^5 cfu/mL 加纳木霉孢子悬浮液处理效果更好。

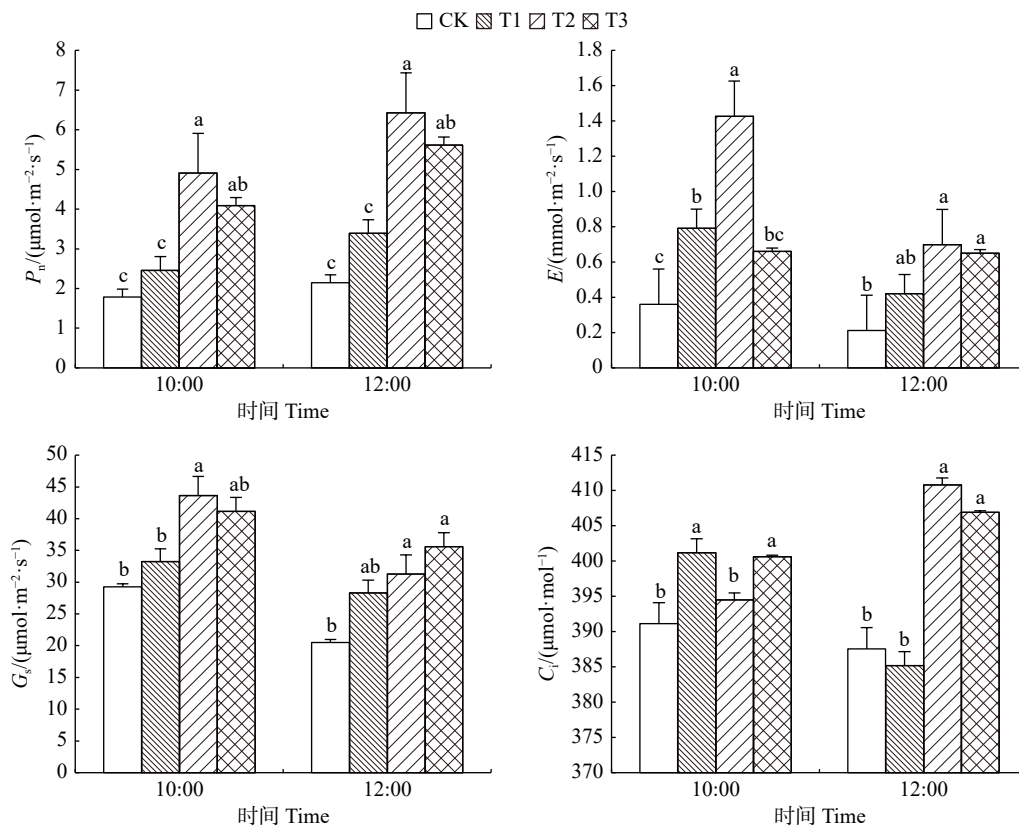
2.4 加纳木霉 ACCC30153 对山新杨幼苗生理酶活性的影响

根施加纳木霉 15 d 后, 不同分生孢子浓度的木霉处理对山新杨叶片生理酶活性产生了不同程度影响(图 4)。PAL 活性在木霉处理后明显升高, T1、

T2 和 T3 处理的 PAL 活性分别在 12 h、12 h 和 1 d 达到峰值(16.67、22.94 和 12.06 U/g), 分别为对照的 18.61、25.99 和 8.21 倍, 其中 T2 处理后 PAL 活性变化相较于对照组(CK)差异明显。POD 活性在木霉处理后先抑制后升高, T2 处理在 10 d 达到峰值(58.70 U/g), 为 CK 的 3.23 倍。CAT 活性在木霉处理后明显升高, 3 个处理均在 1 h 达到峰值(27.97、74.99 和 20.28 U/mL), 分别为对照的 5.79、17.20 和 3.92 倍, 其中 T2 处理后 CAT 活性变化相较于 CK 差异明显。SOD 活性木霉处理后明显升高, 3 个处理的 SOD 活性分别在 1 h、5 d 和 5 d 达到峰值(8 287.46、10 215.42 和 7 859.9 U/g), 分别为 CK 的 7.88、4.05 和 2.88 倍, 其中 T2 处理后 SOD 活性变化相较于 CK 差异明显。因此, 加纳木霉 ACCC30135 能够明显提高山新杨叶片的生理酶活性, 且 T2 处理下的 4 种生理酶(PAL、POD、SOD 和 CAT)活性差异明显。

2.5 加纳木霉 ACCC30153 抗病能力分析

将加纳木霉 ACCC30153 菌株分别与叶枯病原菌链格孢菌、烂皮病原菌金壳囊孢菌对峙培养, 2 种病原菌的生长受到抑制, 且抑制效果不同



不同小写字母表示同一时间不同处理间的显著性差异 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant differences between varied processes at the same time ($P < 0.05$)。)

图3 不同处理下山新杨移栽苗的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(E)、气孔导度(G_s)和胞间 CO_2 浓度(C_i)

Fig. 3 Net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (E), stomatal conductance (G_s) and intercellular CO_2 concentration (C_i) of transplanted *P. davidiana* × *P. bolleana* seedlings under different treatments

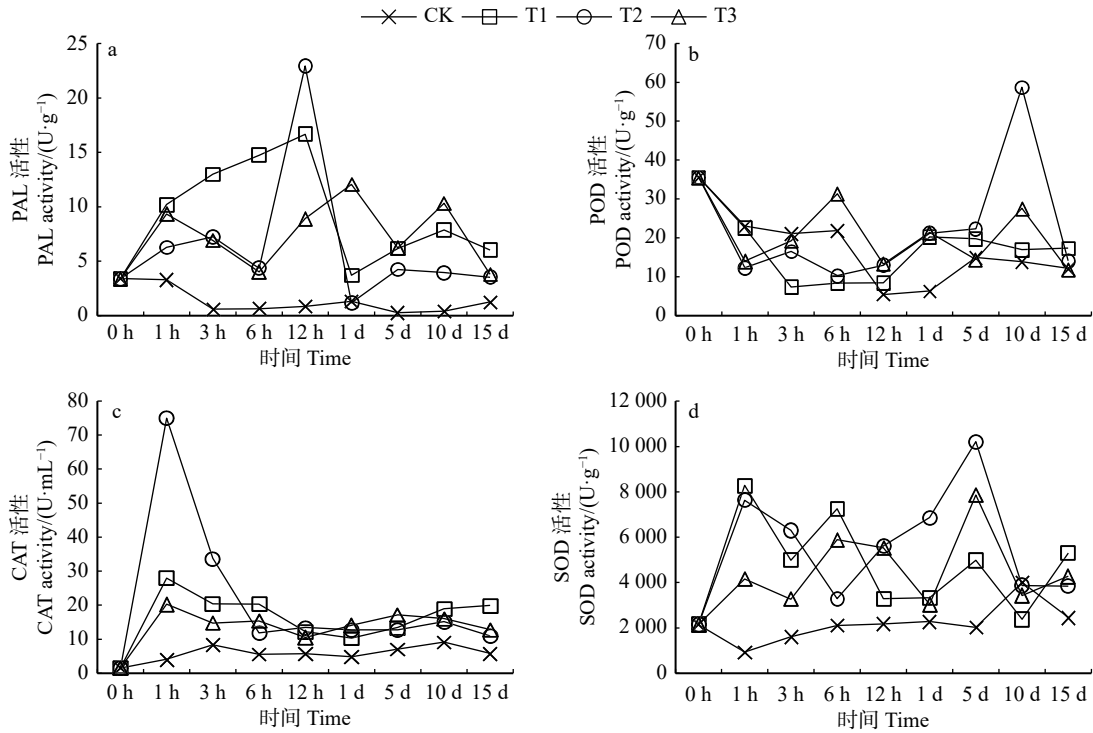
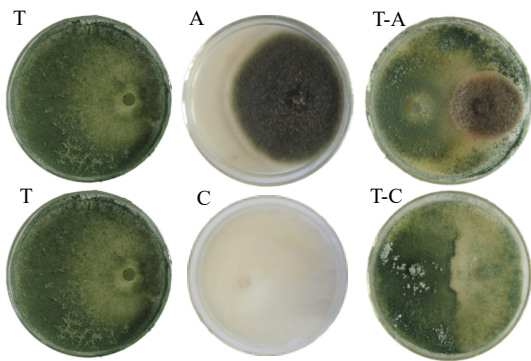


图 4 山新杨幼苗叶片生理酶活性

Fig. 4 Leaf physiological enzyme activity of *P. davidiana* × *P. bolleana* seedlings



T.加纳木霉 ACCC30153; A.叶枯病病原菌; T-A.加纳木霉 ACCC30153 与叶枯病病原菌对峙; C.烂皮病病原菌; T-C.加纳木霉 ACCC30153 与烂皮病病原菌对峙. T, *T. ghanense* ACCC30153; A, *A. alternata*; T-A, confrontation test of *T. ghanense* ACCC30153 and *A. alternata*; C, *C. chrysosperma*; T-C, confrontation test of *T. ghanense* ACCC30153 and *C. chrysosperma*.

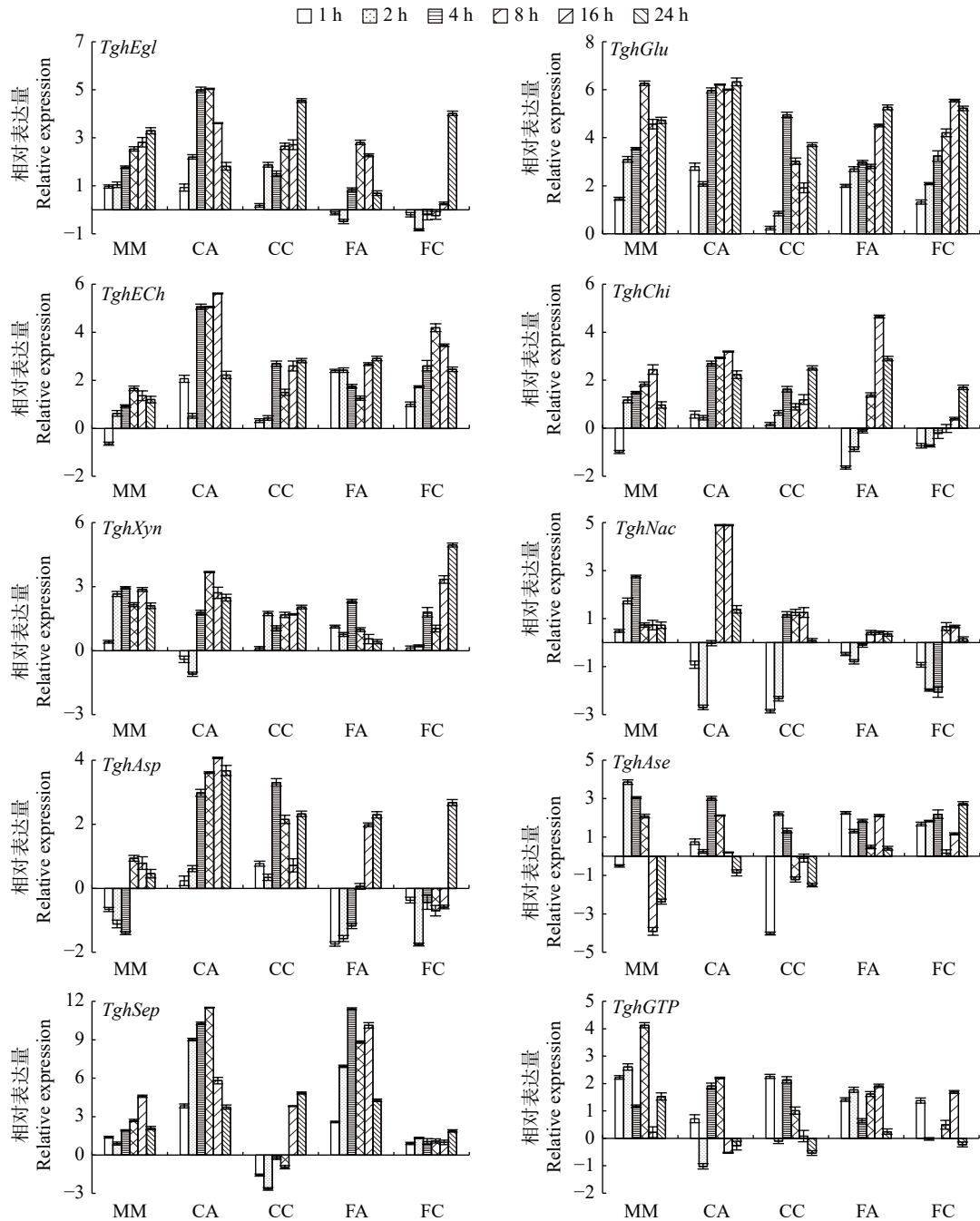
图 5 对峙试验

Fig. 5 Confrontation test

(图 5)。细链格孢菌与木霉的接触面形成明显对峙带, 而金黄壳囊孢菌已被木霉蚕食。结果表明, 与正常生长的病原菌相比, 加纳木霉 ACCC30153 在生长空间和营养物质的竞争上占优势。

生物防治菌株木霉产生和分泌的蛋白水解酶被认为在其拮抗能力中起重要作用。本研究选择了丝氨酸蛋白酶基因 *TghSep*、天冬氨酸蛋白酶基因 *TghAsp* 和天冬氨酸内肽酶基因 *TghAse* 3 种蛋白水解酶基因进行表达模式分析(图 6)。*TghSep* 是一种

丝氨酸蛋白酶基因, 在与病原菌细胞壁相互作用时, *TghAsp* 与 *TghSep* 一样都能被细链格孢菌细胞壁诱导。然而, 在金黄壳囊孢菌细胞壁诱导条件下, *TghAsp* 与 *TghSep* 的表达模式不同, 前者的表达在被诱导后出现先下调后上调的趋势, 而后者的表达则被快速诱导。在经 2 种病原菌发酵液诱导后, *TghSep* 呈现上调表达的模式; 而 *TghAsp* 则呈现先下调后上调的表达模式。此外, 天冬氨酸内肽酶基因 *TghAse* 在病原菌细胞壁诱导条件下上调表达。结果表明, 加纳木霉 ACCC30153 的氨酸蛋白酶基因 *TghSep*、天冬氨酸蛋白酶基因 *TghAsp* 和天冬氨酸内肽酶基因 *TghAse* 3 种蛋白水解酶在与病原菌对抗过程中起到关键作用。同时, 糖苷水解酶基因(*GH*)也被证实参与木霉菌对病原微生物的拮抗作用。本研究分析了不同病原菌细胞壁及发酵液诱导下 6 种糖苷水解酶基因的表达模式。结果表明, 病原真菌细胞壁作为碳源不仅能够诱导几丁质酶基因(*TghECh* 和 *TghChi*)和 β -葡聚糖酶基因(*TghEgl* 和 *TghGlu*)的表达, 还能促进 N-乙酰葡萄糖苷酶基因 *TghNac* 及木聚糖酶基因 *TghXyn* 的上调表达。而不同病原菌发酵液对不同 *GH* 基因表达的影响则不尽相同, 其中 *TghEgl*、*TghChi*、*TghNac* 被金黄壳囊孢菌发酵液诱导后成先下降后上升的趋势, 而其他基因则被两种病原菌发酵液诱导后均上调表达(图 6)。以上结果表明, *GH* 基因在加纳木霉重寄生其他真菌的过



MM. 微量无机盐基础培养基 Mineral inorganic salt medium; CA. 细链格孢菌细胞壁 Cell walls of *A. alternata*; CC. 金黄壳囊孢菌细胞壁 Cell walls of *C. chrysosperma*; FA. 细链格孢菌发酵液 Fermentation supernatant of *A. alternata*; FC. 金黄壳孢菌发酵液 Fermentation supernatant of *C. chrysosperma*

图6 加纳木霉 ACCC30153 不同诱导下溶解酶基因表达量

Fig. 6 Expression levels of lytic enzyme gene of *T. ghanense* ACCC30153 under different treatments

程中起着重要作用。

3 结论与讨论

叶绿素是植物进行光合作用过程中必不可少的一类色素。因此,分析植物叶片中叶绿素含量能够在一定程度上反映植物的光合作用强度及其生长发育状况^[25]。本试验发现,3个木霉处理组与对照组的叶绿素含量变化趋势一致,均呈上升趋势,且叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素(a+b)的含量均显著高于

对照组($P < 0.05$)。同时,加纳木霉分生孢子诱导后的杨树苗叶片的光合速率均高于对照组(图2)。由此可见,加纳木霉可提高山新杨幼苗叶片中叶绿素含量,进而促进光合作用。进一步研究发现,在10:00和12:00两个典型时间点,3个木霉处理组均能有效提高山新杨的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(E)、气孔导度(G_s)和胞间 CO_2 浓度(C_i),且12:00时 P_n 值较10:00时更高。在这两个时间点,T2和T3处理的山新杨叶片 P_n 显著高于对照组($P <$

0.05)。此外,本研究中加纳木霉诱导后杨树苗的地茎、根长、叶片数、鲜质量、干质量、平均株高均显著增加。这些结果表明,加纳木霉通过提高山新杨幼苗的叶绿素含量和光合作用强度,进而促进植物生长。且随着木霉浓度的增加,促生效果越好。其中,使用不同孢子悬浮液浓度处理 30 d 时,与对照相比,T1~T3 处理的山新杨幼苗平均株高分别增加了 12.67%、26.68% 和 29.36%(图 1b)。而棘孢木霉 Ta650 在 5×10^3 cfu/cm³ 分生孢子诱导 60 d 后,杨树苗较 CK 仅增加 9.76%^[26],可见,加纳木霉对杨树苗的促生能力较强。

植物的抗病性是植物与其病原生物在长期共同进化过程中相互适应和选择的结果。在此过程当中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)等生理酶起着重要的调控作用^[26]。其中,POD、SOD 和 CAT 是植物抗氧化系统中的主要酶,其活性水平能反映植物受外界逆境影响的程度。SOD 能催化超氧阴离子转化为 H₂O₂ 和 O₂, 对抗并阻断氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞;CAT 和 POD 是清除 H₂O₂ 的酶,使细胞免于遭受毒害,是生物防御体系的关键酶,三者通过协同作用维持植物体内的自由基含量保持稳态水平,防止由于自由基引起的植物生理生化上的改变。高长敏等^[27]发现棘孢木霉(*T. asperellum* 525)、哈茨木霉(*T. harzianum* 610)和拟康氏木霉(*T. pseudokoningii* 886)能够提高黄瓜(*Cucumis sativus*)叶片中 SOD、POD、CAT、PPO 的活性,而且对黄瓜枯萎病的抗病性也增加。孙悦燕等^[28]研究表明,华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)幼苗根际接种木霉后,受干旱胁迫的华北落叶松幼苗针叶中 SOD 和 POD 的活性显著提高,其抗氧化系统和渗透物质调节能力增强,从而提高了华北落叶松幼苗对于干旱胁迫的耐受性。本研究中加纳木霉 ACCC30153 处理的山新杨幼苗的 POD、SOD 和 CAT 活性在不同时间点虽然存在差异,但都能在一段时间内维持较高水平,推测不同酶活性对木霉诱导的敏感性不同。此外,苯丙氨酸解氨酶(PAL)是植物木质素生物合成途径中的关键酶,能够参与木质素、类黄酮和花青素等次生代谢产物的形成,从而提高植物抗性^[29]。朱国栋^[26]研究发现,4 种棘孢木霉都能够提高 PAL 等防御酶活性。台莲梅等^[30]发现长枝木霉菌(*T. longibrachiatum*) T115D 发酵液可诱导大豆叶片中 PAL 活性增强,比单独接种大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)处理的酶活性的持续时间更长并且峰值更高。同样,本研究在根施加纳木霉 ACCC30153 后不同处理下的山新

杨叶片中 PAL 活性明显高于对照组,可见加纳木霉可能通过提高杨树体内 PAL 的活性进而影响其相关生理生化过程。

此外,木霉菌通过分泌蛋白酶类及水解酶类对其他真菌菌丝进行重寄生^[31]。其中,几丁质酶和 β -葡聚糖酶被认为是参与真菌-寄生虫相互作用的主要酶^[9-12];而蛋白酶则可以参与结构细胞蛋白的降解并破坏宿主细胞的完整性,从而促进木霉菌丝的渗透和定植^[13-15]。因此,本试验通过 RT-qPCR 分析了不同病原菌细胞壁诱导条件下 6 种糖苷水解酶基因、3 种蛋白水解酶基因的表达模式。结果显示,以病原真菌细胞壁为 C 源不仅能够诱导几丁质酶基因(*TghECh* 和 *TghChi*)和 β -葡聚糖酶基因(*TghEgl* 和 *TghGlu*)基因的表达,还能够诱导 N-乙酰葡萄糖苷酶基因 *TghNac* 的上调表达。表明这类 GH 基因在加纳木霉重寄生其他真菌的过程中起着重要作用。木霉中的蛋白水解酶被证实能够参与结构蛋白的降解,进而破坏宿主细胞的完整性,促进其菌丝渗透和定植于其他病原真菌细胞内。其中,丝氨酸蛋白酶被证实能够有效分解真菌和线虫的细胞壁,在提高木霉生物防治能力方面具有巨大的应用潜力。本研究发现,丝氨酸蛋白酶基因 *TghSep* 能够被病原菌细胞壁诱导,表明它可能参与了加纳木霉的重寄生过程。而在两种不同病原菌细胞壁的诱导下,天冬氨酸蛋白酶基因 *TghAsp* 的表达模式不同,该结果表明天冬氨酸蛋白酶在木霉拮抗对不同病原体的过程中发挥作用,但这种作用方式可能取决于宿主细胞壁的成分。

总之,本研究表明加纳木霉 ACCC30153 可通过提高山新杨叶片内叶绿素含量,增强其净光合速率来促进山新杨幼苗的生长,并显著提高防御酶活性,因此加纳木霉 ACCC30153 可能通过促进植物生长从而提高植物抗病能力。而且,对峙试验显示加纳木霉对多种病原真菌具有明显拮抗作用,且实时荧光定量 RT-qPCR 结果显示,木霉菌分泌的溶解酶及蛋白水解酶参与了木霉对病原真菌的拮抗作用。因此,本研究表明加纳木霉 ACCC30153 对山新杨具有明显的促生抗病能力,可为该菌株的田间应用提供理论依据和技术支持。

参 考 文 献

- [1] Hanada R E, Pomella A W V, Soberanis W, et al. Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao[J]. Biological Control, 2009, 50(2): 143-149.
- [2] Olson H A, Benson D M. Induced systemic resistance and the role of binucleate *Rhizoctonia* and *Trichoderma hamatum* 382 in biocontrol of *Botrytis* blight in geranium[J]. Biological Control,

- 2007, 42(2): 233–241.
- [3] Chen L, Yang X, Raza W, et al. Solid-state fermentation of agro-industrial wastes to produce bioorganic fertilizer for the biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber in continuously cropped soil[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(4): 3900–3910.
- [4] Wijesinghe C J, Wijeratnam R S W, Samarasekara J K R R, et al. Biological control of *Thielaviopsis paradoxa* on pineapple by an isolate of *Trichoderma asperellum*[J]. *Biological Control*, 2010, 53(3): 285–290.
- [5] Sant D, Casanova E, Segarra G, et al. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on *Fusarium* wilt and water usage in carnation grown on compost-based growth medium[J]. *Biological Control*, 2010, 53(3): 291–296.
- [6] Viterbo A, Landau U, Kim S, et al. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 305(1): 42–48.
- [7] Robischon M, Du J, Miura E, et al. The *Populus* class III HD ZIP, popREVOLUTA, influences cambium initiation and patterning of woody stems[J]. *Plant Physiology*, 2010, 155(3): 1214–1225.
- [8] 赛牙热木·哈力甫, 邓勋, 宋小双, 等. 木霉菌生物防治及促进植物生长机制研究进展 [J]. *吉林农业大学学报*, 2020, 42(3): 237–247.
- Halifu S, Deng X, Song X S, et al. Research progress in the mechanism of biocontrol and plant growth promotion of *Trichoderma*[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2020, 42(3): 237–247.
- [9] Flores A, Chet I, Herrera-Estrella A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*[J]. *Current Genetics*, 1997, 31(1): 3–7.
- [10] Fan H J, Liu Z H, Zhang R S, et al. Functional analysis of a subtilisin-like serine protease gene from biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52: 129–138.
- [11] Yang X, Cong H, Song J, et al. Heterologous expression of an aspartic protease gene from biocontrol fungus *Trichoderma asperellum* in *Pichia pastoris*[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29: 2087–2094.
- [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) synthase and ACC oxidase transcripts[J]. *Plant Physiology*, 1994, 106: 1049–1055.
- [13] Zeilinger S, Reithner B, Scala V, et al. Signal transduction by Tga3, a novel G protein alpha subunit of *Trichoderma atroviride*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(3): 1591–1597.
- [14] Susanne Z, Markus O. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism[J]. *Gene Regulation and Systems Biology*, 2007, 1: 227–234.
- [15] de Paula R G P, Antoniêto A C C A, Carraro C B, et al. The duality of the MAPK signaling pathway in the control of metabolic processes and cellulase production in *Trichoderma reesei*[J/OL]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 14931[2023–06–19]. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-33383-1>.
- [16] Susanne Z, Markus O. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism[J]. *Gene Regulation and Systems Biology*, 2007, 1: 1227–1234.
- [17] Yu W, Mijiti G, Huang Y, et al. Functional analysis of eliciting plant response protein *EplI-Tas* from *Trichoderma asperellum* ACCC30536[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 7974.
- [18] 胡琼, 刘茂泉. 木霉菌促生与拮抗作用研究进展 [J]. *农药*, 2019, 58(7): 478–482.
- Hu Q, Liu M Q. Research progress of plant growth promotion and antagonistic action of *Trichoderma*[J]. *Pesticide*, 2019, 58(7): 478–482.
- [19] 刘畅, 张昕玥, 蔡汶好, 等. 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗促生作用机理的研究 [J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(16): 156–160.
- Liu C, Zhang X Y, Cai W Y, et al. Study on growth-promoting mechanism of *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* to cucumber seedlings[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2020, 48(16): 156–160.
- [20] 邓俊杰, Abdul M B, 侯雪月, 等. 木霉对月季幼苗生长的影响 [J]. *植物研究*, 2020, 40(5): 666–672.
- Deng J J, Abdul M B, Hou X Y, et al. Effect of *Trichoderma harzianum* T6 on *Rosa chinensis* ‘Shi-Jie-Mei’ growth[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2020, 40(5): 666–672.
- [21] 王娜, 窦恺, 王志英, 等. 山新杨组培苗生根移栽方法 [J]. *植物研究*, 2014, 34(3): 380–385.
- Wang N, Dou K, Wang Z Y, et al. Rooting and transplanting method of *Populus davidiana* × *P. bolleana* tissue culture seedlings[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2014, 34(3): 380–385.
- [22] 遇文婧. 深绿木霉刺激植物响应蛋白 TatEplI 诱导杨树系统抗病性机制 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020.
- Yu W J. Mechanism of disease resistance of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* under eliciting plant response protein TatEplI of *Trichoderma atroviride* inducing[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2020.
- [23] 古丽吉米拉·米吉提. 棘孢木霉刺激植物响应蛋白基因 *EplI* 功能研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014.
- Gulijimila Mijiti. Functional study of eliciting plant response protein gene *EplI* from *Trichoderma asperellum*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2014.
- [24] 黄颖. 农杆菌介导棘孢木霉转化系统优化及突变体分析 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020.
- Huang Y. The optimization of agrobacterium tumefaciens mediated *Trichoderma asperellum* transformation system and

- analysis of T-DNA insertional mutants[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2020.
- [25] 于威, 郝天龙. 几种防御性酶在植物抗病方面的研究进展 [J]. 北京农业, 2014(36): 133-134.
- Yu W, Hao T L. Research progress of several defensive enzymes in plant disease resistance[J]. Beijing Agriculture, 2014(36): 133-134.
- [26] 朱国栋. 棘孢木霉诱导下山新杨的生长及生理生化响应 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
- Zhu G D. Study on the growth, physiological and biochemical responses of *Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis* seedlings inducing by *Trichoderma asperellum*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2015.
- [27] 高长敏, 马光恕, 廉华, 等. 木霉菌对黄瓜幼苗生长和膜脂过氧化指标的影响及对枯萎病的防治效果 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 762-770.
- Gao C M, Ma G S, Lian H, et al. Effect of trichoderma on the growth of cucumber seedlings, membrane lipid indexes and control effect against fusarium wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(5): 762-770.
- [28] 孙悦燕, 王秀丽, 高润梅, 等. 干旱胁迫下华北落叶松幼苗接种木霉的生理变化 [J]. 应用生态学报, 2021, 32(3): 853-859.
- Sun Y Y, Wang X L, Gao R M, et al. Physiological changes of *Larix principis-rupprechtii* seedlings inoculated with *Trichoderma* spp. under drought stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2021, 32(3): 853-859.
- [29] 陈卫卫, 唐然, 吴昱煜, 等. 象草 PAL 基因克隆及其蛋白质结构与功能预测 [J]. 草地学报, 2016, 24(1): 137-145.
- Chen W W, Tang R, Wu Y Y, et al. Cloning of a PAL gene of *Pennisetum purpureum* and prediction of its protein structure and function[J]. Journal of Grassland Science, 2016, 24(1): 137-145.
- [30] 台莲梅, 高俊峰, 左豫虎, 等. 长枝木霉菌 T115D 诱导大豆叶片防御酶活性及疫病盆栽防治效果 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(6): 897-905.
- Tai L M, Gao J F, Zuo Y H, et al. Induction of defense enzymes activities in soybean and control effect of phytophthora root rot in flowerpot by *Trichoderma longibrachiaum* T115D[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(6): 897-905.
- [31] Limón M C, Chacón M R, Mejías R, et al. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding-domain[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64: 675-685.

(责任编辑 范娟
责任编辑委 张星耀)