

深绿木霉 P3.9 生防菌株固体发酵条件优化筛选

鲁海菊, 王 波, 潘柳君, 孟有波, 张晓永

(红河学院 生命科学与技术学院, 云南 蒙自 661199)

摘 要:以分离自枇杷主干韧皮部的深绿木霉(*Trichoderma atroviride*)P3.9 菌株为试材,以产孢量为指标,通过单因素试验和正交实验,研究固体发酵培养基底物基质、碳源、氮源、磷酸盐及其浓度、含水量、接种量、温度和时间等培养条件组合,筛选 P3.9 菌株固体发酵最佳组合条件。结果表明:最佳底物基质为米糠,碳源为葡萄糖或 D-果糖,氮源为磷酸二氢铵或硝酸钠,磷酸盐为磷酸氢二钠,温度为 28℃,含水量为 40%,接种量为 9%;正交实验表明,其孢子生产的最佳培养基为以米糠为底物基质,在其中添加 0.5%葡萄糖、0.5%D-果糖、0.5%磷酸二氢铵、0.05%磷酸氢二钠,其最佳培养条件为 40%含水量、5%接种量、光暗交替 28℃静止培养 9 d;按优化后的培养条件培养,最高产孢量可达 7.5×10^9 孢子/g 培养物质;此结论为其生防菌剂的固体发酵提供理论依据。

关键词:深绿木霉;生物防治;固体发酵;产孢

中图分类号:S 476 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0119-05

木霉(*Trichoderma*)是防治作物土传病害的重要拮抗真菌,最近研究发现植物体内存在内生木霉真菌,在可可^[1]、茶树^[2]、芦竹^[3]、紫杉^[4]等植物中成功分离到内生木霉真菌。其中,芦竹和紫杉中分离的内生木霉分别对烟草赤星病和水稻纹枯病有很好的防治效果。研究还发现从其它地方分离的木霉菌株能在可可茎上定殖,与其形成共生关系,最终成为宿主的内生真菌^[5]。说明不管是土著的内生木霉还是从外界引入的木霉,都能与宿主形成共生关系,最终成为宿主的内生真菌,对宿主有促生、抗病等作用^[6]。课题组从枇杷主干韧皮部中分离到 1 株内生木霉(P3.9),经显微形态观察,初步鉴定为深绿木霉(*T. atroviride*),研究发现其对石榴干腐病菌^[7]、万寿菊叶斑病菌(未发表)等均有强烈抑制作用。其田间推广应用之前,需要大量发酵其制剂产品。因此,该试验参照绿色木霉^[8-9]、哈茨木霉^[10]、深绿木霉^[11]固体发酵条件,以产孢量为指标,采用单因素试验和正交实验方法,筛选 P3.9 菌株固体发酵最佳组合条件,以期为其生防菌剂的工业发酵生产提供理论依据。

第一作者简介:鲁海菊(1978-),女,云南大理人,博士研究生,副教授,现主要从事亚热带植物真菌分类和真菌病害等研究工作。E-mail:luhaiju2011@126.com

基金项目:云南省高校“农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室”建设经费资助项目;“红河学院硕士点植物保护一级学科建设项目”经费资助项目。

收稿日期:2014-03-13

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试 P3.9 木霉菌株(*T. atroviride*)由红河学院生命科学与技术学院课题组分离自枇杷主干韧皮部。

固体发酵培养基:米糠、玉米粉、蛋白。

供试试剂:碳源(麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、D-果糖、 α -乳糖)、氮源(磷酸二氢铵、硝酸钠、硫酸铵、硝酸铵、尿素、氯化铵)、磷酸盐(磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠)。上述材料均购自农贸市场及试剂公司,试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 不同固体发酵培养基对 P3.9 菌株产孢的影响

将 P3.9 木霉菌株在 PDA 平板培养基中,28℃恒温扩大培养 7 d,用灭菌蒸馏水冲洗孢子,制成孢子液(1×10^6 个/mL)备用^[12],称取 10 g 米糠、10 g 玉米粉、10 g 蛋白、5 g 米糠+5 g 玉米粉、5 g 米糠+5 g 蛋白、5 g 蛋白+5 g 玉米粉分别装入组培瓶(瓶盖中央透气),同时加 10 mL 蒸馏水搅拌均匀,设 3 次重复。在灭菌锅内 121℃灭菌 30 min,冷却后每瓶接种 1 mL 孢子液,在 28℃下恒温光暗交替培养 7 d 后测定其产孢量。产孢量测定用如下方法:称取 1 g 固体培养物,加 99 mL 蒸馏水和 0.1 mL 吐温(0.1% T-80),在磁力搅拌器上搅拌 20 min,用血球计数板在显微镜下统计孢子数^[10]。其孢子数量最多的基质为后续研究的基础培养基,即 CK。

1.2.2 不同碳、氮源和磷酸盐对 P3.9 菌株产孢的影响

称取 10 g 米糠,加 10 mL 蒸馏水装入组培瓶中搅拌均

匀,分别添加 1% 碳源(麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、D-果糖、 α -乳糖)和氮源(磷酸二氢铵、硝酸钠、硫酸铵、硝酸铵、尿素、氯化铵),添加 0.1% 磷酸盐(磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠),设 3 次重复,灭菌、孢子液制备、接种、培养和测量方法同步步骤 1.2.1。

1.2.3 不同温度对 P3.9 菌株产孢的影响 称取 10 g 米糠,加 10 mL 蒸馏水装入组培瓶中搅拌均匀,设 3 次重复,接种 1 mL 孢子液后分别在 24、26、28、30℃ 和 24-26-28℃ 下恒温光暗交替培养 7 d 后测定其产孢量,灭菌、孢子液制备、接种和测量方法同步步骤 1.2.1。

1.2.4 不同含水量对 P3.9 菌株产孢的影响 称取 10 g 米糠,加入蒸馏水,分别将含水量调成 30%、40%、50%、60%、70% 和 80%,设 3 次重复,灭菌、孢子液制备、接种、培养和测量方法同步步骤 1.2.1。

1.2.5 不同接种量对 P3.9 菌株产孢的影响 称取 10 g 米糠,加 10 mL 蒸馏水装入组培瓶中搅拌均匀,分别接种 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 孢子液(1×10^6 个/mL),设 3 次重复,灭菌、孢子液制备、培养和测量方法同步步骤 1.2.1。

1.2.6 正交实验 在单因素试验的基础上,做 7 因素 3 水平($L_{18}(3^7)$)的正交实验(表 1),灭菌、孢子液制备、接种、培养和测量方法同步步骤 1.2.1。

1.2.7 不同培养时间对 P3.9 菌株产孢的影响 第 1 组称取 10 g 米糠、0.084 g 葡萄糖、0.084 g 磷酸二氢铵、0.084 g 尿素、0.008 g 磷酸氢二钠装入组培瓶,第 2 组称

取 8.5 g 米糠、1.5 g 玉米粉、0.084 g 葡萄糖、0.084 g 磷酸二氢铵、0.084 g 尿素、0.008 g 磷酸氢二钠装入组培瓶,同时加 6.7 mL 蒸馏水搅拌均匀,设 3 次重复,灭菌、孢子液制备、接种、培养和测量方法同步步骤 1.2.1,培养第 6、7、8、9、10、11、12 天测量产孢数量。

表 1 正交实验因素水平设计

Table 1 Factor and level of the orthogonal test

因素 Factor	水平 Level		
	1	2	3
A 玉米粉 Corn/%	15	20	25
B 接种量 Inoculation count/%	5	7	9
C 含水量 Water content/%	40	50	60
D D-果糖 D-fructose/%	0.5	1.0	1.5
E 葡萄糖 D-glucose/%	0.5	1.0	1.5
F 磷酸二氢铵 Ammonium phosphate monobasic/%	0.5	1.0	1.5
G 磷酸氢二钠 Disodium hydrogen phosphate/%	0.05	0.10	0.50

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 19.0 统计软件 Duncan's 多重比较法进行统计分析,计算处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同固体发酵培养基对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

由表 2 可知,P3.9 菌株在不同培养基上均能产孢,相比较而言,米糠基质上的产孢量与其它培养基上的差异极显著,产孢量最大,说明米糠基质最适合 P3.9 菌株产孢。

表 2 不同固体发酵培养基对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 2 Effect of different solid fermentation medium on conidial production of biocontrol strain P3.9

培养基 Medium	米糠 Rice bran	玉米粉 Corn meal	蛋白 Protein	米糠+玉米粉 Rice bran+corn meal	玉米粉+蛋白 Corn meal+protein	米糠+蛋白 Rice bran+protein
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	1.40×10 ⁹ aA	1.20×10 ⁹ bB	2.00×10 ⁷ eE	1.26×10 ⁹ bB	3.70×10 ⁸ cC	1.95×10 ⁸ dD

注:经 Duncan's 多重比较,不同小写字母代表在 $P < 0.05$ 水平差异显著;不同大写字母代表在 $P < 0.01$ 水平差异极显著,CK 为对照病原菌直径,下同。

Note: Datas with different capital and lowercase letters are significantly different at 0.01 and 0.05 levels, respectively by Duncan's multiple range test. The same below.

2.2 不同碳源对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

由表 3 可知,P3.9 菌株在不同碳源培养基上均能产孢,相比较而言,葡萄糖、D-果糖中产孢量与其余碳源差异极显著,产孢量最大,说明葡萄糖和 D-果糖最适合产孢。

表 3 不同碳源对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 3 Effect of different carbon sources on conidial production of biocontrol strain P3.9

碳源 Carbon sources	葡萄糖 D-glucose	D-果糖 D-fructose	麦芽糖 Maltose	α -乳糖 α -lactose	蔗糖 Sucrose
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	3.00×10 ⁹ aA	2.60×10 ⁹ aA	1.97×10 ⁹ bB	1.59×10 ⁹ bB	9.30×10 ⁸ cC

表 4 不同氮源对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 4 Effect of different nitrogen sources on conidial concentration production of biocontrol strain P3.9

氮源 Nitrogen sources	磷酸二氢铵 Ammonium phosphate monobasic	硝酸钠 Sodium nitrate	硫酸铵 Ammonium sulfate	硝酸铵 Ammonium nitrate	尿素 Urea	氯化铵 Ammonium chloride
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	2.20×10 ⁹ aA	2.17×10 ⁹ aA	1.75×10 ⁹ bB	7.50×10 ⁸ cC	5.05×10 ⁸ dD	4.30×10 ⁸ eE

2.4 不同磷酸盐对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

由表 5 可知,P3.9 菌株在不同磷酸盐中均能产孢,

磷酸氢二钠中产孢量与其余磷酸盐差异极显著,产孢量最大,说明磷酸氢二钠最适合 P3.9 菌株产孢。

表 5 不同磷酸盐对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 5 Effect of different phosphates on conidial production of biocontrol strain P3.9

磷酸盐 Phosphate	磷酸氢二钠 Disodium hydrogen phosphate	磷酸二氢钾 Potassium dihydrogen phosphate	磷酸氢二钾 Dipotassium hydrogen phosphate
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	2.10×10 ⁹ aA	1.48×10 ⁹ bB	1.26×10 ⁹ bB

2.5 不同温度对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响 孢,28℃产孢量与其它温度处理差异极显著,产孢量最大,说明 28℃最适合 P3.9 菌株产孢。
由表 6 可知,P3.9 菌株在 24~30℃范围内均能产

表 6 不同温度对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 6 Effect of different temperature on conidial production of biocontrol strain P3.9

培养温度 Culture temperature/℃	24	26	28	30	24-26-28
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	5.25×10 ⁸ cC	7.05×10 ⁸ bB	1.80×10 ⁹ aA	1.70×10 ⁸ dD	6.74×10 ⁸ bB

2.6 不同含水量对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响 差异极显著,产孢量最大,说明基质含水量 40%最适合 P3.9 菌株产孢。
由表 7 可知,P3.9 菌株在基质不同含水量中均能产
孢,含水量 40%中产孢量与其它含水量处理中的产孢量

表 7 不同含水量对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 7 Effect of different water content on conidial production of biocontrol strain P3.9

含水量 Water content/%	30	40	50	60	70	80
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	5.00×10 ⁷ fF	2.52×10 ⁹ aA	1.40×10 ⁹ bB	1.05×10 ⁹ cC	5.70×10 ⁸ dD	6.50×10 ⁷ eE

2.7 不同接种量对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响 极显著,接种量为 2.0 mL(9%)产孢量最大,说明接种量为 2.0 mL(9%)最适合 P3.9 菌株产孢。
由表 8 可知,P3.9 菌株在不同接种量中产孢量差异

表 8 不同接种量对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 8 Effect of different inoculation count on conidial production of biocontrol strain P3.9

接种量 Inoculation count/mL	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
孢子量 Conidial concentration/个·g ⁻¹	8.10×10 ⁸ eE	3.45×10 ⁹ dD	7.20×10 ⁹ cC	9.45×10 ⁹ aA	8.95×10 ⁹ bB

2.8 正交实验结果 说明处理 1 最适合 P3.9 菌株产孢,即最佳组合为 A1B1C1D1E1F1G1。与极差分析结果亦相同。
由表 9 可知,P3.9 菌株在 18 种处理中均能产孢,其
中处理 1 产孢量与其它处理差异极显著,产孢量最大,

表 9 L₁₈(3⁷)正交实验方案及其结果

Table 9 Scheme and result of orthogonal experiment L₁₈(3⁷)

编号 No.	A 玉米粉 Corn meal	B 接种量 Inoculation count	C 含水量 Water content	D D-果糖 D-fructose	E 葡萄糖 D-glucose	F 磷酸二氢铵 Ammonium phosphate monobasic	G 磷酸氢二钠 Disodium hydrogen phosphate	孢子量 Conidial concentration/×10 ⁹ 个·g ⁻¹
1	1	1	1	1	1	1	1	1.500aA
2	1	2	2	2	2	2	2	0.135cC
3	1	3	3	3	3	3	3	0.035eE
4	2	1	1	2	2	3	3	0.185cC
5	2	2	2	3	3	1	1	0.010eE
6	2	3	3	1	1	2	2	0.270cC
7	3	1	2	1	3	2	3	0.350cC
8	3	2	3	2	1	3	1	0.070dD
9	3	3	1	3	2	1	2	0.065dD
10	1	1	3	3	2	2	1	0.005fF
11	1	2	1	1	3	3	2	0.220cC
12	1	3	2	2	1	1	3	0.315cC
13	2	1	2	3	1	3	2	0.020eE
14	2	2	3	1	2	1	3	0.895bB
15	2	3	1	2	3	2	1	0.710bB
16	3	1	3	2	3	1	2	0.145cC
17	3	2	1	3	1	2	3	0.050dD
18	3	3	2	1	2	3	1	0.265cC
T1	2.210	2.205	2.730	3.500	2.225	2.930	2.560	
T2	2.090	1.380	1.095	1.560	1.550	1.520	0.855	
T3	0.945	1.660	1.420	0.185	1.470	0.795	1.830	
极差 R	0.21	0.14	0.27	0.55	0.13	0.36	0.28	

2.9 培养时间对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

由表 10 可知, P3.9 菌株在培养 6 d 后产孢, 在 6~12 d 之间产孢量差异极显著, 其中, 培养 9 d 产孢量

表 10

培养时间对 P3.9 生防木霉菌株产孢的影响

Table 10

Effect of the culture time on conidial production of biocontrol strain P3.9

培养时间 Culture time/d	6	7	8	9	10	11	12
米糠孢子量 Rice bran conidial concentration/个·g ⁻¹	3.3×10 ⁹ dD	6.2×10 ⁹ bB	7.1×10 ⁹ aA	7.5×10 ⁹ aA	3.4×10 ⁹ dD	4.25×10 ⁹ cC	6.5×10 ⁹ bB
米糠+玉米粉孢子量 Rice bran+corn meal conidial concentration/个·g ⁻¹	3.0×10 ⁹ dD	5.4×10 ⁹ bB	5.9×10 ⁹ aA	5.6×10 ⁹ aA	5.1×10 ⁹ bB	4.5×10 ⁹ cC	4.83×10 ⁹ cC

3 讨论

试验结果表明, P3.9 木霉菌株固体发酵最佳产孢培养基是以米糠为底物基质、外加葡萄糖、D-果糖、磷酸氢二铵、磷酸氢二钠, 最佳产孢培养条件为 40% 含水量、5% 接种量、28℃、光暗交替培养 9 d, 最高产孢量可达 7.5×10⁹ 孢子/g 培养物质。在绿色木霉 HT-01 生物学特性研究^[13] 中发现葡萄糖和蔗糖促进产孢, 在纯糠培养基上产孢量最大, 与该研究结果的差别在于蔗糖不利于 P3.9 木霉菌株产孢。乳糖和果糖有利于木霉菌株 T88^[14] 产孢, 与该研究结果的差别在于乳糖对 P3.9 木霉菌株产孢的促进作用小于葡萄糖。果糖最有利于长枝木霉 TICC^[15] 产孢, 与该研究结果一致, 因此该研究正交设计中加入果糖。王英姿等^[8] 研究木霉固体发酵产孢量情况为绿色木霉菌孢子量最高为 9.90×10¹⁰ 孢子/g 培养物质, 绿色木霉菌株 Tv04-2 最高产孢量为 4×10⁹ 孢子/g 培养物质^[9], 哈茨木霉 H-13 最高产孢量为 1.0×10¹⁰ 孢子/g 培养物质^[10], 深绿木霉 (*T. atroviride*) SS003 菌株最高产孢量为 7.614×10⁹ 孢子/g 培养物质^[11], 由此推断当前木霉菌株固体发酵产孢量范围在 4.00×10⁹~9.90×10¹⁰ 孢子/g 培养物质之间。该研究结果 P3.9 木霉 (*T. atroviride*) 菌株最高产孢量可达 7.5×10⁹ 孢子/g 培养物质, 与上述深绿木霉^[11] 的研究结果基本一致, 产孢量处于中间水平, 还具有一定上升空间, 今后可以尝试通过人工诱变来提高其产孢能力。

参考文献

- [1] Gary J S, Carmen S, Karina S, et al. *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*; two new species isolated from cacao in South America[J]. Mycological Research, 2006, 110(4): 381-392.

最大, 说明接种后培养 9 d 是 P3.9 菌株最适收获期, 另外, 米糠作为底物基质产孢量高于米糠加玉米粉为底物, 米糠是 P3.9 菌株固体发酵最佳底物基质。

- [2] 武汉琴, 苏经迁, 谢明英, 等. 茶树内生木霉菌种的鉴定及其在植物体内的定殖[J]. 菌物学报, 2009, 28(3): 342-348.
- [3] 纪丽莲. 芦竹内生真菌 F0238 对烟草赤星病的防治作用[J]. 江苏农业科学, 2005(2): 54-56.
- [4] 王国平, 鲁书玲, 郑必强, 等. 内生真菌紫杉木霉 ZJUF0986 菌株及其活性代谢产物防治水稻纹枯病的效果[J]. 中国生物防治, 2009, 25(1): 30-34.
- [5] Bryan A B, Mary D S, Delilah W. *Trichoderma* species form endophytic associations within *Theobroma cacao* trichomes[J]. Mycological Research, 2009, 113(12): 1365-1376.
- [6] Nagaraju A, Sudisha J, Mahadeva Murthy S, et al. Seed priming with *Trichoderma harzianum* isolates enhances plant growth and induces resistance against *Plasmopara halstedii*, an incitant of sunflower downy mildew disease[J]. Australasian Plant Pathology, 2012, 41: 609-620.
- [7] 鲁海菊, 全舒舟, 李香香, 等. 枇杷内生真菌中拮抗石榴干腐病菌菌株的筛选[J]. 热带农业科学, 2013, 33(7): 58-62.
- [8] 王英姿, 祁之秋, 魏松红, 等. 绿色木霉菌固体发酵培养基优化组合正交筛选[J]. 植物保护, 2007, 33(2): 61-63.
- [9] 刘时轮, 李勇, 傅俊范, 等. 绿色木霉菌株 Tv04-2 固体发酵条件研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(增刊): 244-247.
- [10] 王永东, 蒋立科, 岳永德, 等. 生防菌株哈茨木霉 H-13 固体发酵条件的研究[J]. 浙江大学学报, 2006, 32(6): 645-650.
- [11] 敖新宇, 程立君, 陈玉惠. 生防木霉 SS003 菌株 (*Trichoderma atroviride*) 的固体发酵工艺研究[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(6): 1256-1261.
- [12] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [13] 刘连妹, 屈海泳, 牛潇, 等. 绿色木霉 HT-01 的生物学特性和抑菌特性[J]. 西北农业学报, 2008, 17(6): 179-183.
- [14] 高克祥, 项存梯, 骆会欣, 等. 木霉菌株 T88 生物学特性的研究[J]. 东北林业大学学报, 1995, 23(2): 33-39.
- [15] 王斌, Ali Khatib Bakar, 刘金亮, 等. 长枝木霉 TICC 鉴定及其生物学特性研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(5): 338-345.

Screening on Conditions of Solid Fermentation for Biocontrol Strain P3.9 of *Trichoderma atroviride*

LU Hai-ju, WANG Bo, PAN Liu-jun, MENG You-bo, ZHANG Xiao-yong

(Department of Life Science and Technology, Honghe College, Mengzi, Yunnan 661199)

Abstract: Taking *Trichoderma atroviride* isolate P3.9 isolated from trunk phloem of loquat as material, optimal substrates and its concentrations of medium, carbon source, nitrogen source, phosphate, water, inoculation, temperature and culture time were studied according to the mass conidial production by simple factor and orthogonal experiments, in order to screen out the best solid fermentation for biocontrol strain P3.9 of *Trichoderma atroviride*. The results showed that the proper medium was rice bran, carbon source was glucose or D-fructose, nitrogen source was ammonium phosphate

设施蔬菜茎基腐病的发生与防治

王 爱 丽

(潍坊科技学院 贾思懿农学院, 山东 寿光 262700)

中图分类号:S 435.67 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2014)14-0123-02

近年来随着设施蔬菜栽培面积的迅速扩大,大量农药化肥的施用及设施栽培过程中严重的连作重茬,使设施蔬菜茎基腐病的发生日趋严重,并已成为制约设施蔬菜栽培的重要病害之一。根据对寿光设施蔬菜栽培的田间调查发现,设施果菜类蔬菜的发病率一般在10%~20%,严重的可达50%以上,有20%~30%的蔬菜棚室由于该病造成了大幅度减产,甚至绝收。

1 病害症状

设施果菜类蔬菜发生的茎基腐病是一种真菌性病害,主要是由半知菌亚门的真菌——立枯丝核菌引起的。该病是一种典型的土传病害,病菌一般可在土壤中生存2~3 a,腐生性强。该病在地温相对较高、湿度较大时易发生,主要危害果菜类蔬菜的大苗或结果初期的植株。该病菌主要危害蔬菜植株茎基部,茎基部皮层初呈现暗褐色水渍状不规则斑,扩大后绕茎基部扩展一周,使茎基部皮层变褐腐烂(图1),地上部叶片萎蔫,变黄,后期整株死亡(图2)。

2 发病日趋严重的原因

2.1 土壤次生盐渍化、连作重茬

造成土壤中病原菌的大量积累,土壤环境恶化,发生连作障碍。



图1 茄子茎基腐病



图2 辣椒茎基腐病

作者简介:王爱丽(1983-),女,硕士,讲师,研究方向为生物学。

E-mail:176655938@qq.com.

收稿日期:2014-03-13

monobasic or sodium nitrate, phosphate was disodium hydrogen phosphate, water content was 40%, inoculation count was 9% and culture time was 28°C. The orthogonal experiment indicated that optimal medium of the highest yields of conidia consisted 10 g rice bran, 0.5% glucose, 0.5% D-fructose, 0.5% ammonium phosphate monobasic, 0.05% disodium hydrogen phosphate. In addition, water content was 40%, inoculation count was 5%, culture temperature and time was respective 28°C and 9 d (12 h light and 12 h dark). By the optimal medium and culture conditions, the maximum conidial yield was 7.5×10^9 conidia/g dry material. This conclusion provided theoretical parameter for the industrial fermentation.

Key words: *Trichoderma atroviride*; biocontrol; solid fermentation; conidial production