案例十　木霉菌对杀菌剂的抗药性研究

贺字典 王秀平 余金咏 高玉峰 路鸣

一、案例材料

木霉菌（*Trichoderma* spp.）属于半知菌类的丝孢纲，丛梗孢目，丛梗孢科，广泛存在于土壤、根围、叶围、种子和球茎等生态环境中。木霉菌因其具有广泛的适应性、寄主广谱性，对多种植物病原真菌有拮抗作用，可防治 18 个属 29 种病原菌。在国内外研究中，利用木霉防治植物病害的报道特别多，如利用木霉菌防治作物枯萎病、猝倒病、立枯病、纹枯病、根腐病等都取得了良好效果，特别对作物枯萎病防治。赵国其[1]发现绿色木霉(*Trichoderma viride*)能有效抑制西瓜枯萎病菌的生长，长效地保护西瓜苗，防效比多菌灵好。庄敬华等[2]用绿色木霉菌株添加少量营养元素为增效剂，对温室盆栽和田间大棚甜瓜枯萎病防效达 76%左右，并对苗期甜瓜生长有明显的促进作用。林纬等将从作物根际中分离到的哈茨木霉(*Trichoderma harzianum)*、粘帚霉(*Gliocladium* spp.)和芽孢杆菌*(Bacillus* spp.)三种菌混合并且采取一些措施对西瓜枯萎病的防效达 90%以上。庄敬华等[8]通过生物测定的方法初步研究了绿色木霉菌 T23 分生孢子和厚垣孢子对黄瓜枯萎病防治效果及黄瓜幼苗几种防御酶活性的影响。同时，人们发现木霉不仅对植物病原真菌具有拮抗效应，还能促进植物营养吸收、提高作物生长和产。在生物防治中加入少量的化学杀菌剂，可以使病原菌菌丝失活，生长速度缓慢，致病性降低，使靶标病原菌对生物菌剂的侵害更加敏感，从而提高了生物菌剂的防治效果，也减少化学农药使用剂量及残留量。因此，选育具有高耐性且对多种化学农药具有多重抗性的突变型菌株，实现生物农药与化学农药综合协同作用，是当前植物病害防治的一条新途径。

多菌灵等杀菌剂是目前被大量使用的真菌杀菌剂，可有效控制多种植物病害，但病原菌对其易产生抗药性，因此有必要将木霉菌剂和多菌灵复合使用，以提高木霉菌剂的生防效果，大幅度降低化学杀菌剂用量和残留量。但木霉菌对多菌灵非常敏感，限制了木霉菌的田间应用。蔬菜保护地高水高肥高农药的环境条件为木霉菌的遗传进化提供了可能，从保护地土壤中分离到的木霉菌对土壤环境条件的适应性较强，容易筛选到对化学农药抗（耐）性相对较强的菌株。因此本文的目的在于对从保护地土壤中分离到的木霉菌中来筛选对化学农药抗（耐）性相对较强的菌株，以期为木霉生防制剂的研发和实现土传病害的可持续控制提供理论依据。由于温室蔬菜枯萎病、灰霉病、叶霉病和晚疫病比较重，常用苯并咪唑类、二甲酰亚胺类、羧酸氨基化合物类和氨基甲酸酯类杀菌剂，从中选择具有代表性的杀菌剂，测定了木霉菌对其抗药性高低。

二、案例分析

（一）木霉菌株

粘绿木霉（*Trichoderma virens*）、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)、哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)

（二）杀菌剂

50%多菌灵可湿性粉剂（美国普利通化学公司）
10%多抗霉素可湿性粉剂（北京大北农集团）
65%得灵可湿性粉剂（西安美邦公司）
72%克露可湿性粉剂（美国杜邦公司）
20%乙霉威可湿性粉剂（西安美邦公司）
80%烯酰玛啉可湿性粉剂（西安美邦公司）
50%异菌脲可湿性粉剂（山东植保站）

（三）木霉菌对杀菌剂的抗药性

采用生长速率法测定木霉菌对杀菌剂的抗性。方法如下：用直径 5 mm 的打孔器从培养 3 d 的新鲜木霉菌的菌落边缘打取菌丝块，菌丝面向下接种于含不同浓度农药的平板上，25 ℃黑暗培养 3 d 后，量取菌落直径，计算有效中浓度（EC_{50} 值）。以不含药剂的纯培养为对照，3 次重复。

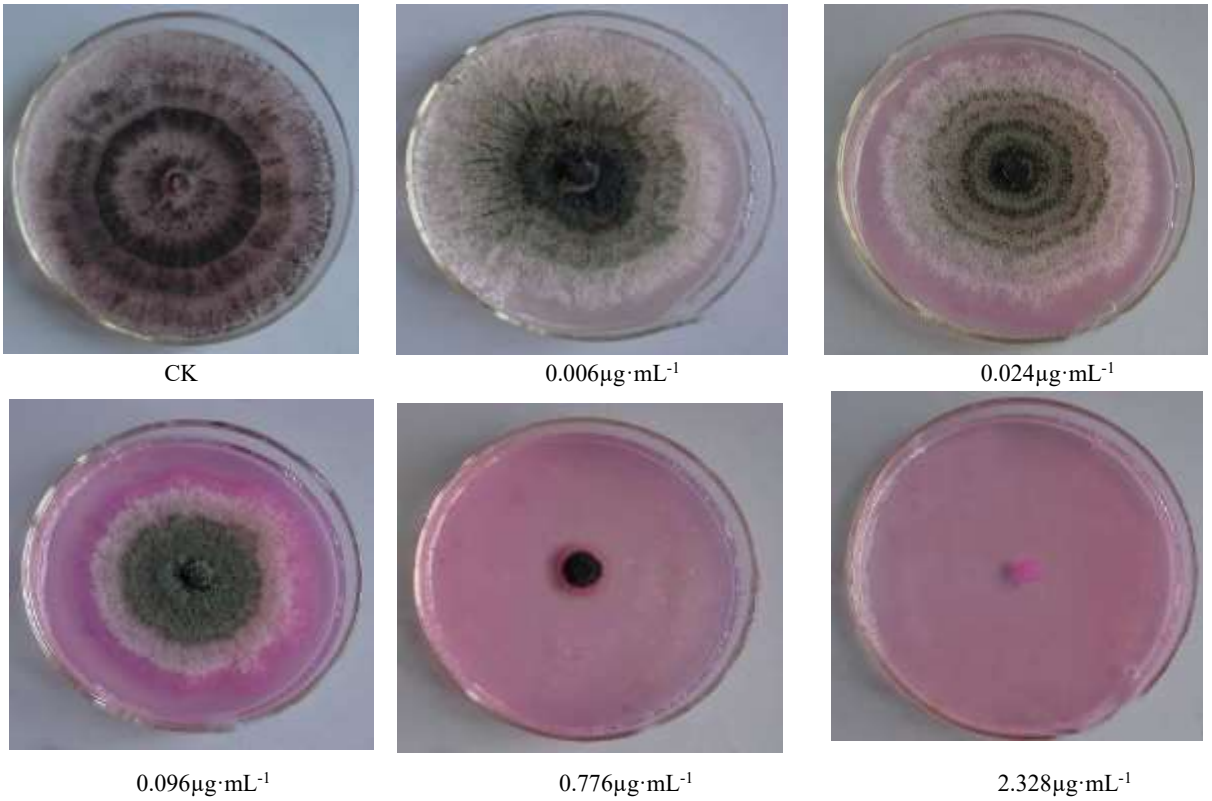
（四）结果与分析

1、粘绿木霉（*Trichoderma virens*）抗药性

从表 1 可以看出：粘绿木霉对不同类型的杀菌剂的抗性不同，可以得出其对杀菌剂的抗药性高低依次为：异菌脲>多抗霉素>烯酰吗啉>克露>多菌灵，克得灵>乙霉威。对异菌脲抗性最强，EC_{50} 为 1.811μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 3.307μg·mL^{-1}。异菌脲是取代脲类内吸性杀菌剂，主要防治灰葡萄孢引起的灰霉病，因此，今后可将木霉菌与该类药剂进行复配或同时使用，达到同时防治多种病害的目的。其次是多抗霉素，其 EC_{50} 为 1.257μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 1.402μg·mL^{-1}；再次为烯酰吗啉，EC_{50} 为 1.114μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 1.566μg·mL^{-1}；粘绿木霉对乙霉威、克得灵和多菌灵则比较敏感。EC_{50} 值分别为 1.028μg·mL^{-1}、1.109μg·mL^{-1} 和 1.042μg·mL^{-1}，而对多菌灵的敏感性高于克得灵。

表 1 粘绿木霉（*Trichoderma virens*）对杀菌剂的抗药性

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	EC_{50}(μg·mL^{-1})	EC_{90}(μg·mL^{-1})
多抗霉素	y = 0.8474x + 3.4224	0.9892	1.257	1.402
多菌灵	y = 3.3631x - 0.9491	0.9746	1.042	1.071
克得灵	y = 1.4824x + 2.3509	0.9504	1.042	1.109
克露	y = -1.3721x + 10.003	0.9995	1.088	1.016
乙霉威	y = 1.0868x + 3.6865	0.9859	1.028	1.119
异菌脲	y=0.1529x + 1.0582	0.9853	1.811	3.307
烯酰吗啉	y = 0.2701x + 3.7382	0.9921	1.114	1.566



CK　0.006μg·mL^{-1}　0.024μg·mL^{-1}

0.096μg·mL^{-1}　0.776μg·mL^{-1}　2.328μg·mL^{-1}

图 1 粘绿木霉（*Trichoderma virens*）对乙霉威的抗药性

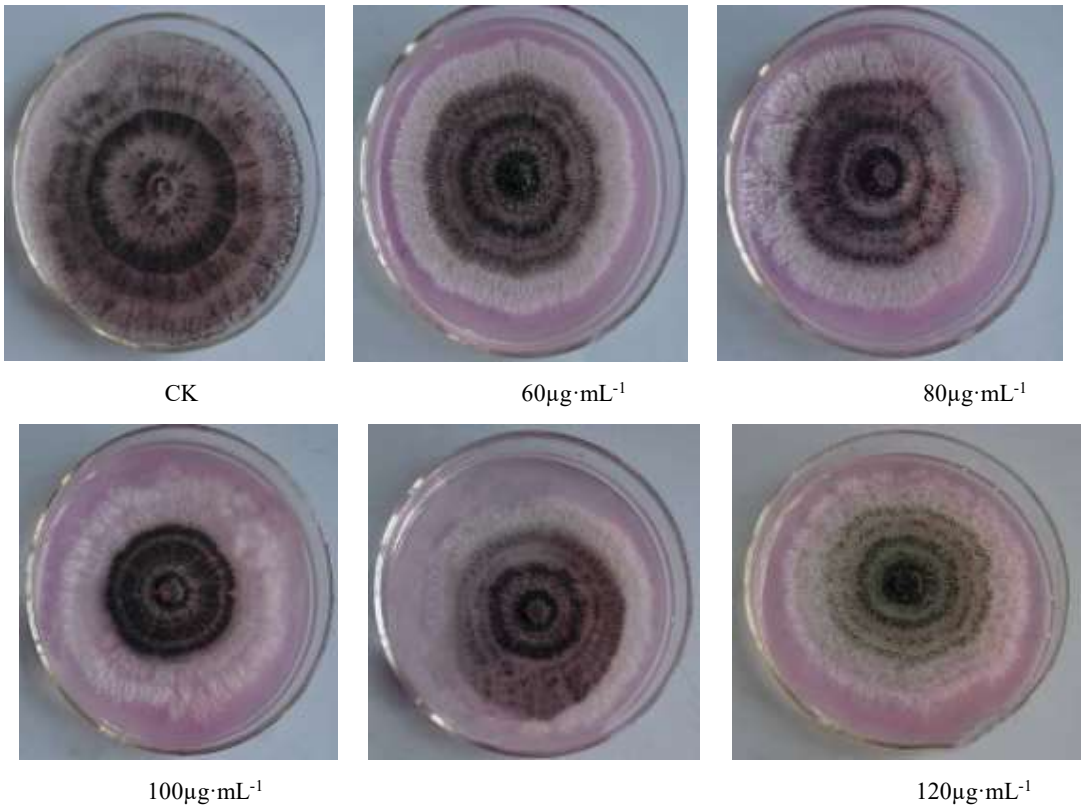


图 2 粘绿木霉（*Trichoderma virens*）对烯酰吗啉的抗药性

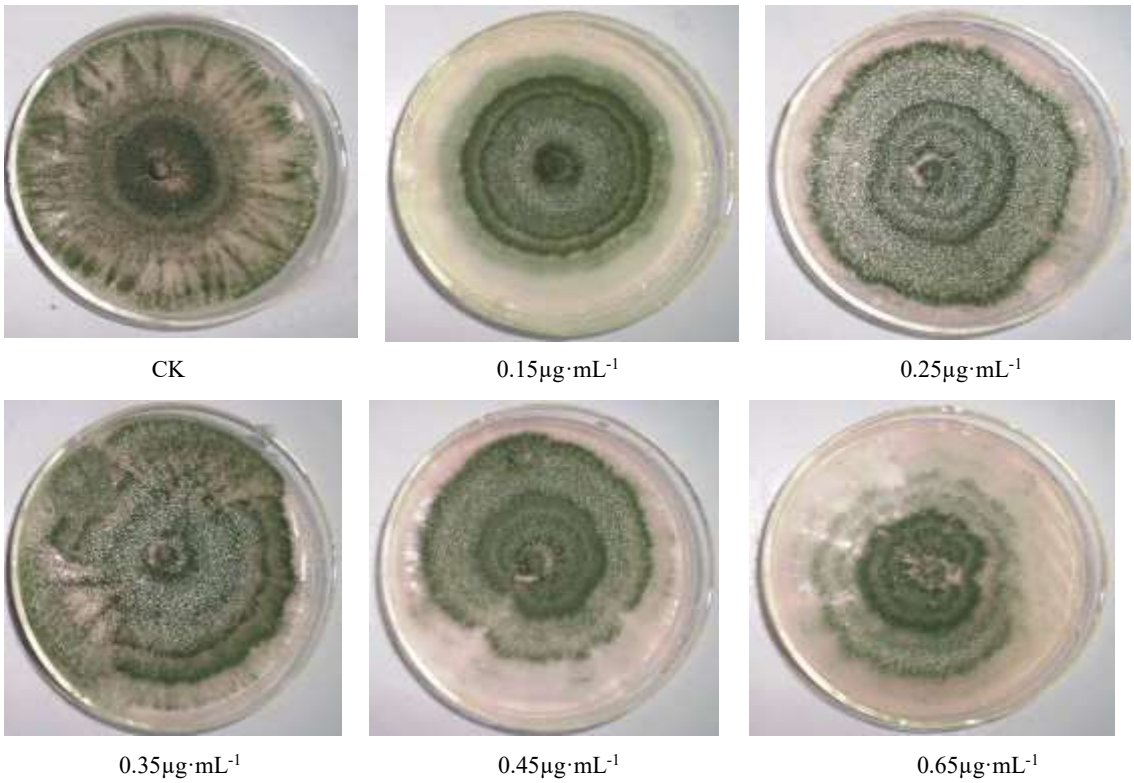


图 3 粘绿木霉（*Trichoderma virens*）对异菌脲的抗药性

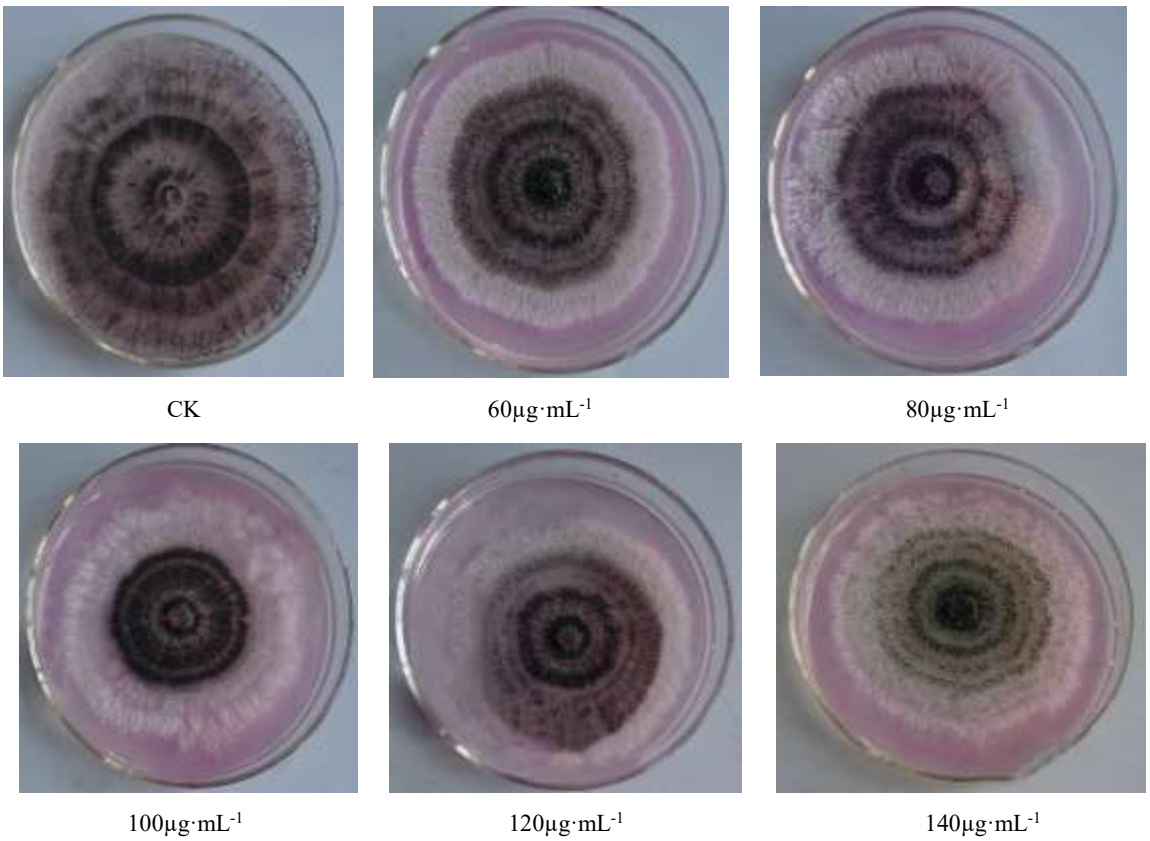


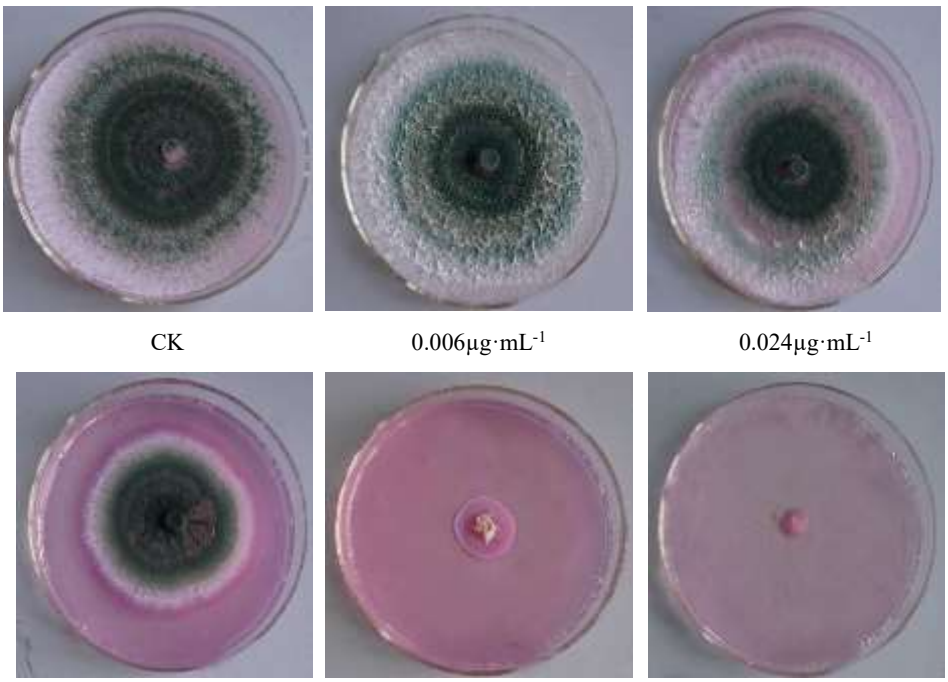
图 4 粘绿木霉（*Trichoderma virens*）对克露的抗药性

2、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)的抗药性

表 2 棘孢木霉(*Trichoderma asperellum*)对杀菌剂的抗药性

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	EC_{50}(μg·mL^{-1})	EC_{90}(μg·mL^{-1})
多抗霉素	y = 2.1306x + 0.7393	0.9551	1.047	1.093
多菌灵	Y=2.3077x + 1.2297	0.9962	1.041	1.080
克得灵	Y=1.5801x + 1.624	0.9289	1.051	1.113
克露	Y=0.0736x + 3.3954	0.9913	1.652	5.774
乙霉威	Y=0.9645x + 3.8665	0.9922	1.027	1.130
异菌脲	Y=3.2282x - 1.5765	0.8818	1.048	1.078
烯酰吗啉	Y=0.5484x + 2.9531	0.9679	1.089	1.289

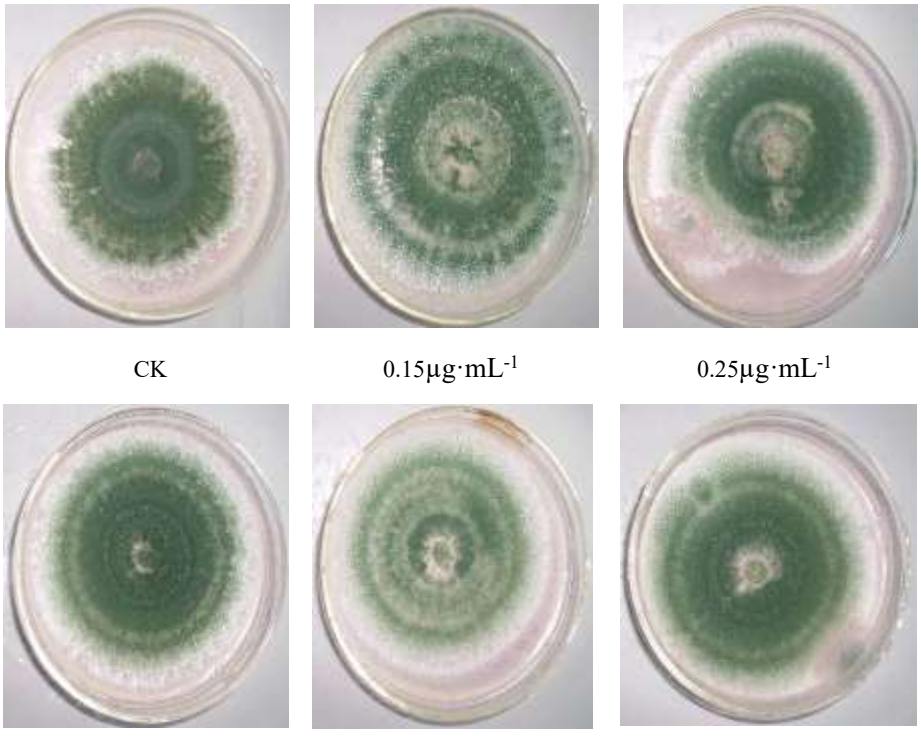
从表 2 可以看出棘孢木霉对七种药剂的抗性程度为：克露>烯酰吗啉>克得灵>异菌脲>多抗霉素>多菌灵>乙霉威。其中，对取代脲类内吸性杀菌剂克露的抗药性最强， EC_{50} 为 1.652 μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 5.774 μg·mL^{-1}；其次为烯酰吗啉，其 EC_{50} 为 1.089 μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 1.289 μg·mL^{-1}；再次为克得灵，EC_{50} 为 1.051 μg·mL^{-1}，EC_{90} 为 1.113 μg·mL^{-1}；对乙霉威和多菌灵敏感，其 EC_{50} 分别为 1.027 μg·mL^{-1} 和 1.041 μg·mL^{-1}，EC_{90} 分别为 1.130 μg·mL^{-1} 和 1.080 μg·mL^{-1}。



CK　　0.006μg·mL^{-1}　　0.024μg·mL^{-1}

0.096μg·mL^{-1}　　0.776μg·mL^{-1}　　2.328μg·mL^{-1}

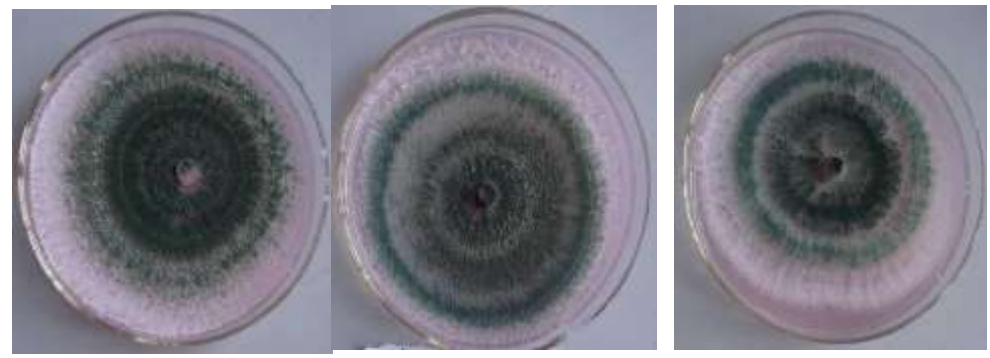
图 5 棘孢木霉*(Trichoderma asperellum)*对乙霉威的抗药性



CK　　0.15μg·mL^{-1}　　0.25μg·mL^{-1}

0.35μg·mL^{-1}　　0.45μg·mL^{-1}　　0.55μg·mL^{-1}

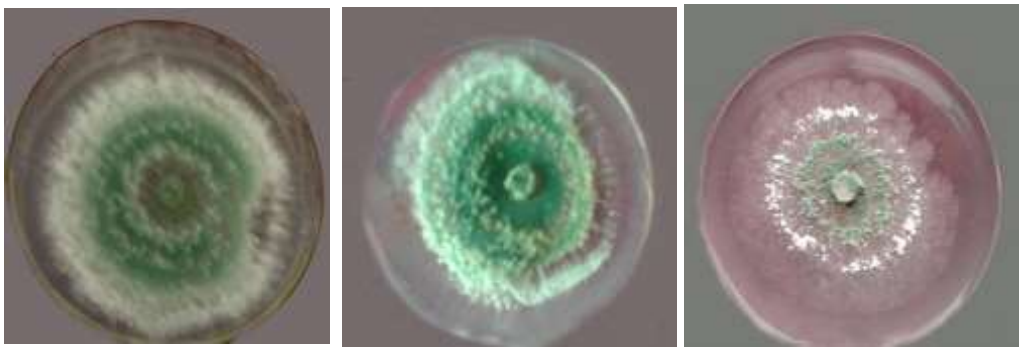
图 6　棘孢木霉*(Trichoderma asperellum)*对异菌脲的抗药性



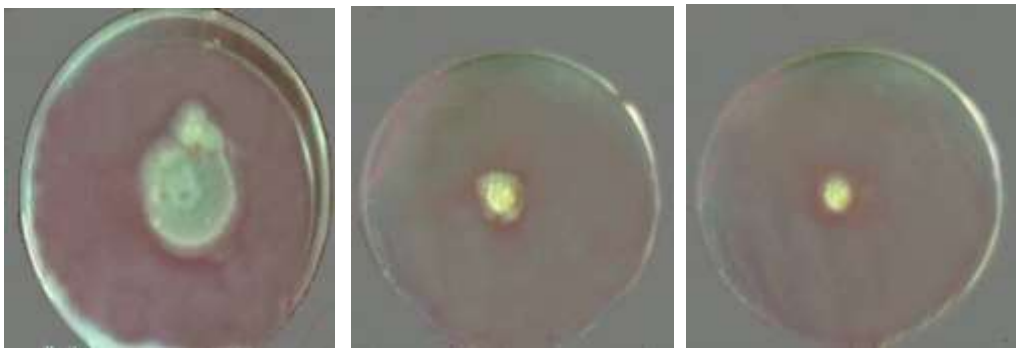
CK　　0.5μg·mL^{-1}　　1μg·mL^{-1}

2μg·mL^{-1}　　8μg·mL^{-1}　　16μg·mL^{-1}

图 7 棘孢木霉*(Trichoderma asperellum)*对烯酰吗啉的抗药性



CK　　0.2μg·mL^{-1}　　0.5μg·mL^{-1}



0.8μg·mL^{-1}　　1.1μg·mL^{-1}　　1.4μg·mL^{-1}

图 8 棘孢木霉*(Trichoderma asperellum)*对多菌灵的抗药性

2.3 哈茨木霉*(Trichoderma harzianum)*的抗药性

表 3 哈茨木霉*(Trichoderma harzianum)*对杀菌剂的抗药性

杀菌剂	回归方程	相关系数 R^2	EC_{50}(μg·mL^{-1})	EC_{90}(μg·mL^{-1})
多抗霉素	y = 0.675x + 4.0779	0.9731	1.032	1.183
多菌灵	y = 2.5167x + 0.1796	0.9884	1.045	1.084
克得灵	y = 2.0967x + 0.4304	0.9322	1.051	1.098
克露	y = 0.1695x + 3.3954	0.9913	1.244	2.141
乙霉威	y = 1.2421x + 3.0756	0.9706	1.036	1.116
异菌脲	y = 1.6511x + 0.4421	0.9921	1.158	1.127
烯酰吗啉	y = 0.7149x + 1.8706	0.9231	1.106	1.258

CK　　0.006μg·mL^{-1}

0.096μg·mL^{-1}　　0.192μg·mL^{-1}　　0.776μg·mL^{-1}

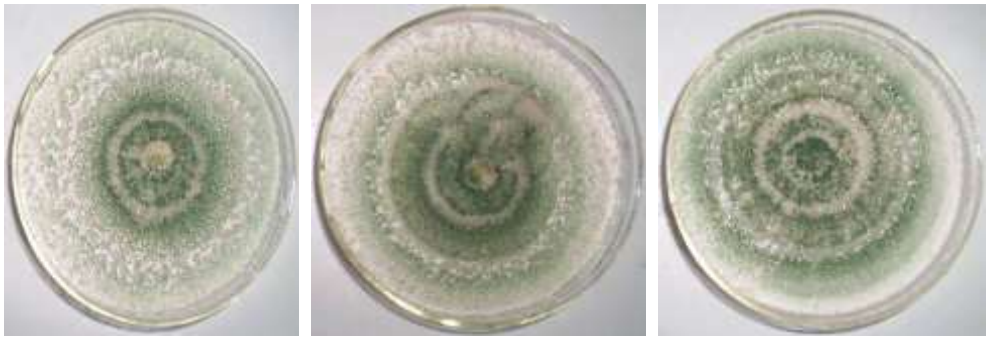
图 9 哈茨木霉*(Trichoderma harzianum)*对乙霉威的抗药性

CK　　0.5μg·mL^{-1}　　1.0μg·mL^{-1}

2μg·mL^{-1}　　8μg·mL^{-1}　　16μg·mL^{-1}

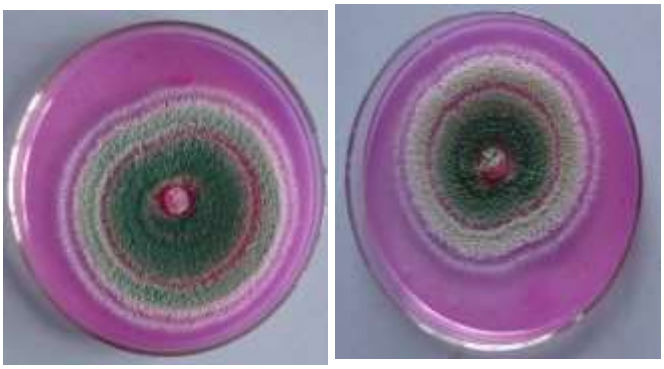
图 10 哈茨木霉*(Trichoderma harzianum)*对烯酰吗啉抗药性

CK　　0.15μg·mL^{-1}　　0.25μg·mL^{-1}



0.35μg·mL^{-1}　　0.45μg·mL^{-1}　　0.55μg·mL^{-1}

图 11 哈茨木霉*(Trichoderma harzianum)*对异菌脲抗药性



CK　　0.2μg·mL^{-1}

0.5μg·mL^{-1}　　0.8μg·mL^{-1}　　1.1μg·mL^{-1}

图 12 哈茨木霉（*Trichoderma harzianum*）对多菌灵的抗药性

（五）结论

试验结果表明三种木霉菌均对克露、异菌脲、烯酰吗啉抗性较强，所以今后可以将木霉与这几种杀菌剂混用，一方面可以扩大木霉菌的防治范围，另一方面可以延缓病原菌抗药性的产生。

虽然自 1932 年 Weindring 发现木霉菌对病原菌具有拮抗作用以来，木霉制剂逐渐向商品化转化如美国的 *Topshield*、以色列的 *Trichodex*，浙江大学的木霉菌酯素、山东省科学院的特立克等具有良好的发展前景，但多数木霉菌菌株存在着定殖能力差，抗逆能力不强，防效不稳定等弊端使木霉菌生物农药的田间应用受到了很大限制，因此利用基因工程进行木霉菌菌株的改造或将木霉菌与内生细菌、化学农药、微量元素、植物激素等因子进行复配制是加强木霉菌田间应用的研究。

多菌灵属于苯并咪唑类杀菌剂，主要用于多种真菌引起的病害如枯萎病、褐斑病、叶斑病、叶枯病、白粉病、灰霉病、黑斑病、白锈病等。三种木霉菌对多菌灵非常敏感，这一结果与陈方新研究的哈茨木霉对多菌灵十分敏感的报道一致。

克露是由霜脲氰和代森锰锌复配而成的取代脲类内吸性杀菌剂，主要对疫霉属、霜霉属和单轴霉属有效；本实验中三种木霉对克露的抗药性程度有一定的差异，其中棘胞木霉对克露的抗药性最强，其 EC_{50} 值为 1.652μg·mL^{-1}；其次是哈茨木霉，其 EC_{50} 值为 1.244 μg·mL^{-1}；粘绿木霉较其它两种木霉而言，对克露的抗药性较差。其 EC_{50} 值为 1.088 μg·mL^{-1}；因此在进行植物病害控制时，可以将克露与木霉菌制剂相结合进行综合防治，从而提高木霉菌的生物防治效果。

烯酰吗啉属于肉桂酸类内吸性杀菌剂，主要防治疫霉属、霜霉属等病原菌，由实验得出:三种木霉菌对其的抗药性一致，抗药性都比较强。因此在进行植物病害控制时，可以将烯酰吗啉与木霉菌制剂相结合进行综合防治，达到生物防治的最佳防治效果。

乙霉威是氨基甲酸酯类内吸性杀菌剂，主要防治灰霉病，叶霉病等病害。实验得出木霉对乙霉威比较敏感，但是在浓度为 0.006 μg·mL^{-1} 到 0.192 μg·mL^{-1} 之间木霉对其抗性较强，当浓度上升到 0.776 μg·mL^{-1} 时，木霉明显受到抑制，故可得出：当浓度在 0.192 μg·mL^{-1} 以下时，木霉菌对乙霉威抗性较强，在实践应用中乙霉威在这一浓度梯度范围内和木霉菌混合使用会有较好的防效。

多抗霉素是一种抗生素类内吸性杀菌剂，主要防治细菌性病害及叶斑病等真菌性病害。不同种类的木霉对多抗霉素的抗药性程度有一定差异，以粘绿木霉对多抗霉素的抗性最强，粘绿木霉的 EC_{50} 值为 1.257 μg·mL^{-1}，哈茨木霉对其的 EC_{50} 值为 1.032 μg·mL^{-1}，棘孢木霉的 EC_{50} 值为 1.047 μg·mL^{-1}。

异菌脲是一种非内吸性的杀菌剂，粘绿木霉对其抗性较其他两种木霉强，粘绿木霉对异菌脲的 EC_{50} 值为 1.811 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 3.307 μg·mL^{-1}；而棘孢木霉对异菌脲的 EC_{50} 值为 1.048 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 1.078 μg·mL^{-1}；哈茨木霉对异菌脲的 EC_{50} 值为 1.158 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 1.027 μg·mL^{-1}。

克得灵是苯并咪唑类的甲基硫菌灵和氨基甲酸酯类的乙霉威复配的一种杀菌剂，主要防治蔬菜灰霉病、叶斑病，叶霉病等病害。粘绿木霉对克得灵的抗药性的 EC_{50} 值为 1.042 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 1.109 μg·mL^{-1}；棘孢木霉对克得灵的 EC_{50} 值为 1.051 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 1.113 μg·mL^{-1}；哈茨木霉对克得灵的 EC_{50} 值为 1.051 μg·mL^{-1}，EC_{90} 值为 1.098 μg·mL^{-1}；

一般来说，野生木霉菌株对杀菌剂比较敏感，目前提高木霉菌的抗药性的手段主要有紫外诱变和药物诱导。据报道经过诱变后的哈茨木霉菌株比未经诱变的哈茨木霉菌株耐药性提高了 2 个梯度。当多菌灵浓度为 300 μg·mL^{-1} 时，对突变菌株 T24-4 和 T24-6 的抑制率分别为 9.4%和 3.0%，同时两菌株对速克灵和甲基托布津也有交互抗性[5]。用亚硝基胍和紫外诱变后 4 个菌株能在 4 μg·mL^{-1} 的含药培养基上生长的 Tj-5-4 木霉菌株能在 6 μg.L^{-1} 上生长。

【问题】

1、木霉菌有哪些作用？可以制成什么样的产品对农业生产起作用？

2、抗药性产生的原因是什么？什么措施可以延缓病原菌或害虫抗药性的发展？

三、补充材料

（一）木霉菌的种类与生物学特征

木霉属于半知菌门，丝孢目，木霉属，常见的木霉有绿色木霉、康宁木霉、棘孢木霉、深绿木霉、哈茨木霉、长枝木霉等。文成敬（1993）对中国西南地区木霉属进行了分类研究，鉴定出9个木霉集合种。王家和（1998）、章初龙（2005）、孙军（2006）等分别对我国河北、浙江、云南、西藏、辽宁等林区保护地和牧区的木霉菌进行了形态学鉴定，报道了5个中国新记录种，并描述了中国新记录种：棘孢木霉、淡黄木霉、茸状木霉、螺旋木霉（*T. spirale*）和长孢木霉的具体特征。贾东晨（2009）报道了1个中国新记录种：短致木霉（*T. brevicompactum*）。YU（2007）报道了2个新种：*T. yunnanense*和*T. compactum*。目前正式发表的中国木霉菌主要有拟康木霉、长枝木霉、粘绿木霉、卷曲木霉、顶孢木霉、粗壮木霉、长孢木霉、钩状木霉、绿色木霉、康氏木霉、深绿木霉、黄绿木霉、中国木霉、棘孢木霉、淡黄木霉、茸状木霉、螺旋木霉、哈茨木霉、桔绿木霉、短致木霉（*Trichoderma brevicompactum*）、*T. yunnanense*和*T. compactum*22个种。因此，以下33个木霉种及其相对应的9个肉座菌主要是利用形态学特征鉴定出来的，分别是*T.virens*、*T.viridescens*、*T. tomentosum*、*T. spirale*、*T. strictipile*、*T. strigosum*、*T. stromaticum*、*T. pubescens*、*T. polysporum*、*T. ovalisporum*、*T. oblongisporum*、*T. minutisporum*、*T. pseudokoningii*、*T. saturnisporum*、*T. longibrachiatum*、*T. citrinoviride*、*T. reesei*、*T. koningiopsis*、*T. koningii*、*T. fertile*、*T. gamsii*、*T. ghanense*、*T. hamatum*、*T. harzianum*、*T. fasciculatum*、*T. erinaceum*、*T. crassum*、*T. brevicompactum*、*H. surrotunda*、*T. aggressivum*、*T. arundinaceum*、*T. asperellum*、*T. atroviride*、*H. stilbohypoxyli*、*H. semiorbis*、*H. patella*、*H. nigrovirens*、*H. neorufa*、*H. andinensis*、*H. ceramica*、*H. cremea*、*H. cuneispora*和*H. estonica*。

木霉菌落开始时为白色，致密，圆形，向四周扩展，后从菌落中央产生绿色孢子，中央变成绿色。菌落周围有白色菌丝的生长带。最后整个菌落全部变成绿色。绿色木霉菌丝白色，纤细，宽度为 1.5~2.4 微米。产生分生孢子。分生孢子梗垂直对称分歧，分生孢子单生或簇生，圆形，绿色。绿色木霉菌落外观深绿或蓝绿色;康氏木霉菌落外观浅绿、黄绿或绿色。

绿色木霉分生孢子梗有隔膜，垂直对生分枝；产孢瓶体端部尖削，微弯，尖端生分生孢子团，含孢子 4~12 个；分生孢子无色，球形至卵形，2.5~4.5×2~4 μm。

绿色木霉适应性很强，孢子在 PDA 培养基平板上 24 ℃时萌发，菌落迅速扩展。培养 2 天，菌落直径为 3.5~5.0 厘米;培养 3 天，菌落直径为 7.3~8.0 厘米;培养 4 天，菌落直径为 8.1~9.0 厘米。

通常菌落扩展很快，特别在高温高湿条件下几天内木霉菌落可遍布整个料面。菌丝生长温度 4~42 ℃，25~30 ℃生长最快，孢子萌发温度 10~35 ℃，15~30 ℃萌发率最高，25~27 ℃菌落由白变绿只需 4~5 天，高温对菌丝生长和萌发有利。孢子萌发要求相对湿度 95%以上，但在干燥环境也能生长，菌丝生长 pH 值为 3.5~5.8，在 pH 值 4~5 条件下生长最快。

（二）木霉的作用

1、生物农药和生物菌肥的研究

自 1932 年 Weindring 发现木霉菌对病原菌具有拮抗作用以来，哈茨木霉（*T. harizanum*）、康宁木霉（*T. koningii*）、钩状木霉（*T. hamatum*）、绿色木霉（*T. viride*）、长枝木霉（*T. longbrangchiatum*）、粘绿木霉（*T. virens*）就被广泛进行了拮抗作用、机制和防治效果的研究，木霉菌在植病生防中的应用潜力正日益受到重视，当前报道较多的是用于防治蔬菜枯萎病、纹枯病、菌核病、疫病和白绢病等土传病害和番茄叶霉病、灰霉病、白粉病、霜霉病等叶病病害，取得了良好的防治效果。同时，研究认为竞争作用（营养竞争和空间竞争）、溶菌作用、重寄生作用、促生作用、诱导抗性作用、抗生作用和产生 β-1.3 葡聚糖酶和几丁质酶等降解酶是其对病原真菌表现抑制作用的主要机制，因此在理论研究的推动下，许多木霉菌制剂开始商品化，如美国的 Topshield（哈茨木霉菌 T-22 菌株）、以色列的 Trichodex（哈茨木霉菌 T39 菌株），浙江大学从紫杉木霉菌菌株中分离到的“木霉菌酯素”经室内生物测定、温室田间药效试验和急性毒性试验，表明其为对立枯丝核菌、灰霉菌具有较强抑制作用的新结构化合物。山东省科学院制成的木霉菌素（特立克）绿色木霉菌的孢子制剂可有效防治 20 多种真菌病害如蔬菜灰霉病、霜霉病、白粉病、黑星病、小麦的全蚀病、纹枯病及多种作物的苗期病害，具有良好的发展前景。

2、产酶特性

木霉具有较强分解纤维素能力，绿色木霉通常能够产生高度活性的纤维素酶，对纤维素的分解能力很强。在木质素、纤维素丰富的基质上生长快，传播蔓延迅速。棉籽壳。木屑、段木都是其良好的营养物。一般情况下，从热带地区分离到的菌株具有更强的产生纤维素酶的能力。具有了高产量的菌株后，继而对木霉菌生长所需的碳源、氮源、C/N 比、氧气和二氧化碳、矿质元素和维生素及温度、湿度、PH 等营养和外部因素进行了室内平板和摇瓶发酵深入研究，为了得到大量的木霉菌产量和产物，人们转而寻求廉价而高产的木霉菌发酵培养基和进行木霉菌工程改造，Papavizas 和 Dunn（1985）等应用糖蜜-酵母粉培养基模拟工业化生产条件研究木霉菌在 20 L 发酵罐中的生长情况，发现采用这种培养基可以获得比较理想的结果，孢子含量可达 10^9 个·g^{-1} 干重。Jackson 和 Whipps（1979）等研究发现在葡萄糖-丙氨酸基础培养基上产生的菌丝干重比在糖蜜-酵母培养基上产生的高。Lewis 和 Papavizas（1990）等研究发现糖蜜-玉米浆培养基在支持木霉菌的生长与产孢方面优于蔗糖-硝酸培养基和葡萄糖-酒石酸培养基。汪天虹（2005）综述了国内外对瑞氏木霉菌进行纤维素酶基因的克隆、表达和调控。国内近年也在不断地进行研究木霉菌发酵条件，陈卫辉等（1998）应用虫草头孢废液组合培养液浅层培养哈茨木霉菌，其产孢量比 PD 培养液、查氏培养液和理查德培养液都高。邓毛程（2004）等则采用深层发酵分段控制 pH 值、温度和溶解氧来提高绿色木霉菌产生纤维酶和几丁质酶发酵条件，酶活性 72 h 时分别能达到 67 U · mL^{-1} 和 375 U · mL^{-1}、惠有为（2004）等认为麸皮、苹果渣及无机盐固料发酵是生产低温木霉菌的快速、高效和实用的方法。此外，张德强（2001）、崔锦绵（1995）、瞿明仁（1999）、陈侠甫（1994）、姜秋会（2004）和于晓丹（2005）等分别对不同种类木霉菌的产酶条件进行了不同程度的研究。

3、解磷解钾作用

1999 年 Altomare 等用哈茨木霉 T22 来溶解可溶性和微溶性磷矿物质的研究，发现 T22 能在液体蔗糖酵母培养基中溶解磷酸盐和 MnO_2。其主要机理是通过鳌合或降解作用来溶解金属氧化物，促进植物对矿物质的吸收，提高植物的生长量。Rudresh 等（2005）用 9 株木霉菌进行了难溶性磷酸三钙的溶解作用的研究，表明 9 株木霉菌都可以在一定程度上溶解难溶性磷酸三钙，其中绿色木霉菌的溶磷量达到 9.03 μg.mL^{-1}。同时盆栽实验发现接种木霉菌的比 CK 生物量增加明显。菅丽萍（2007）测定了木霉菌 REMI 转化子对磷酯氢钙、磷酸铝和磷酸铁的溶解能力，表明 TK-46 对磷酸氢钙的溶磷能力最强，达到 363.79 μg mL^{-1}。于雪云（2008）通过固体培养法检测了木霉菌解磷、解钾、固氮能力发现，244 株木霉菌中有 74 株具有明显解磷圈，且发现拮抗效果较好的 19 株解磷圈较大。

4、对土壤和环境的修复作用

木霉菌对有机磷农药也能降解，DDT、艾氏剂、狄氏剂、马拉硫磷、敌敌畏、草乃敌、西马津、茅草枯、五氯硝基苯、对硫磷、毒死蜱、甲胺磷等农药。木霉菌对农药的降解主要有三种方式：一是以化学农药为生物基质，在农药分解代谢过程中获得其生长代谢所必需的能量和营养物质；二是共代谢，即微生物在有可利用的碳源存在时，对不能利用的物质也可分解代谢；三是种间协同代谢，即同一环境中的几种微生物联合代谢某种农药的现象，刘新等（2002）在研究木霉菌 Y 对毒死蜱和甲胺磷的降解作用中发现木霉菌 Y 以共代谢的方式降解毒死蜱和甲胺磷。

四、参考文献

[1] 赵国其,林福呈,陈卫良,等.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.

[2] 庄敬华,刘王付.木霉菌多功能生防菌剂对瓜类枯萎病的防治效果[J].北方园艺,2005,(5):90-91.

[3] 王进忠、郝立东、尚巧霞,等.6 种常用杀菌剂对木霉菌生长发育的影响[J].植物保护科学报,2005 (6):3-4.

[4] 陈方新,齐永霞,戴庆怀,等.哈茨木霉对几种植物病原菌的拮抗作用及其抗药性测定[J].中国农学通报, 2005,21(11): 314-317.

[5] 田连生,李贵香,高玉爽.紫外光诱导木霉产生对速克灵抗药性菌株的研究[J].中国植保导刊, 2006,26(6):18-20.

[6] 周红姿,赵济红,郭勇,等.耐多菌灵木霉菌株的可溶性蛋白电泳研究[J].山东学报,2007, 20(1):45- 47.

[7] 林纬,黎起秦,彭好文,等.拮抗菌防治西瓜枯萎病的试验[C].新世纪全国绿色环保农药技术论坛暨产品展示会论文集,

2002.
[8] 庄敬华,高增贵.绿色木霉菌 T23 对黄瓜枯萎病防治效果及其几种防御酶活性影响[J].植物病理学报,2005,35(2): 179-183.
[9] 朱双杰,高智谋.木霉对植物的促生作用及其机制[J].菌物研究,2006,4(3):107-111.
[10] 郭润芳,史宝胜,高宝嘉,等.木霉菌在植病生物防治中的应用[J].河北林果研究,2001,16(3): 294-298.
[11] Weiding R.Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma harzianum* on *Rhizoclonia solani* and other soil fungi[J].Phytopathology,1932,22:837-845.