2021 年 第 21 卷 第 31 期
2021, 21(31): 13292-07

科 学 技 术 与 工 程
Science Technology and Engineering

ISSN 1671—1815
CN 11—4688/T

引用格式:扈进冬, 隋丽娜, 吴远征, 等. 木霉菌拌种对小麦生长和根际真菌群落的影响[J]. 科学技术与工程, 2021, 21(31): 13292-13298.
Hu Jindong, Sui Lina, Wu Yuanzheng, et al. Effects of seed dressing with *trichoderma* spp. on wheat grown and rhizosphere fungal community[J]. Science Technology and Engineering, 2021, 21(31): 13292-13298.

农业科学

木霉菌拌种对小麦生长和根际真菌群落的影响

扈进冬[1], 隋丽娜[2], 吴远征[1], 魏艳丽[1], 李纪顺[1*]
(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省科学院生态研究所, 山东省应用微生物重点实验室, 济南 250103;
2. 齐鲁工业大学(山东省科学院)生物工程学院, 济南 250353)

摘 要 通过田间小区试验,研究了木霉菌拌种对冬小麦生长和根际土壤真菌群落的影响。选取小麦种植后 180 d 的根际土壤,通过高通量测序技术研究分析了 4 株木霉菌拌种对小麦根际土壤中的真菌群落组成的影响,通过荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)检测了根际土壤中真菌的绝对含量。结果表明:木霉菌拌种处理后降低了小麦根际土壤中真菌群落丰度,同时发现小麦产量与小麦根际土壤真菌群落均匀度(香农指数)和丰富度(OTUs 数)呈反比,而与群落的优势度(辛普森指数)呈正比。通过田间病害调查和测产,结果显示,与未拌种处理相比木霉菌拌种降低了小麦纹枯病和茎基腐病引起的白穗率,其中哈茨木霉 LTR-2 和 QT21990 防效可达 60% 以上,增产 7.42% 和 6.94% ($P<0.05$)。

关键词 冬小麦; 深绿木霉; 哈茨木霉; 拌种; 根际真菌群落
中图法分类号 S473; **文献标志码** A

Effects of Seed Dressing with *Trichoderma* spp. on Wheat Grown and Rhizosphere Fungal Community

HU Jin-dong[1], SUI Li-na[2], WU Yuan-zheng[1], WEI Yan-li[1], LI Ji-shun[1*]
(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Applied Microbiology, Ecology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China; 2. Institute of Biological Engineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China)

[**Abstract**] A field experiment was conducted to investigate effects of seed dressing with *Trichoderma* spp. on wheat growth and rhizosphere fungal community. The wheat rhizosphere soil was collected after sowing 180 d, and the effects of four different strains of *Trichoderma* on fungal community in wheat rhizosphere soil were studied by high-throughput sequencing technology, the absolute content of fungi was detected by quantitative polymerase chain reaction (PCR). The results show that the abundance of fungal community in wheat rhizosphere soil is decreased by *Trichoderma* spp. treatment. The wheat yield is inversely proportional to the uniformity (Shannon index) and richness (OTUs number) of fungal community in rhizosphere soil, but positively proportional to the dominance (Simpson index). The white head rate, caused by wheat sharp eyespot and crown rot, is decreased compared with non-dressing treatment. The control effects of *Trichoderma harzianum* LTR-2 and QT21990 are more than 60%, and the yield increased by 7.42% and 6.94% ($P<0.05$), respectively.

[**Keywords**] wheat; *Trichoderma atroviride*; *Trichoderma harzianum.*; seed dressing; rhizosphere fungal community

小麦是世界主要的主粮作物之一,据联合国粮食及农业组织统计 2018 年全球小麦产量 8.65 亿 t (www.fao.org/faostat 2020 年 11 月 16 日数据),产量占世界谷物产量的 1/3,在中国 2018 年收割面积 2 451 万 hm^2,仅次于印度,但产量约 1.3 亿 t,占全球产量的 15.18%,位居世界第一位。山东省是中国小麦的主产区,约占全国小麦产量的 18.8%(国家农业农村部数据)。然而随着近年秸秆还田等耕作措施技术推广应用,病原真菌菌源在土壤中连续积累,小麦纹枯病、根腐和茎基腐病等土传病害危

收稿日期: 2021-03-03; **修订日期**: 2021-08-11
基金项目: 山东省重大科技创新工程项目(2020CXGC010803, 2019JZZY010718); 山东省科学院国际科技合作项目(2019GHZD11); 山东省重点研发计划(2019GSF107066)
第一作者: 扈进冬(1977—),男,汉族,山东临朐人,硕士,高级工程师。研究方向:环境微生物。E-mail:hujd@sdas.org。
* **通信作者**: 李纪顺(1971—),男,汉族,山东沂水人,研究员。研究方向:农业微生物。E-mail:yewu2@sdas.org。

害不断加重[1-3],尤其在小麦-玉米连作区常年发病较重,这些病害在小麦灌浆期导致枯白穗,严重影响了作物的产量[4-6]对中国小麦的安全生产构成重大威胁[7-10]。在这些土传病害中,镰孢菌病原体对穗头的感染可能导致谷物的霉菌毒素污染,已有研究发现,在人工条件下小麦茎干上镰孢菌病原体的感染可以导致麦头中霉菌毒素的积累[11],直接影响食品安全。

当前小麦土传病害主要以化学农药防治为主,其中种子处理被认为是最有效的防治措施,但化学农药的功效主要发挥在小麦生长的早期,而无法在持续生长阶段保持其有效性[12-13]。木霉菌是一种重要的生物杀菌剂,已广泛用于植物病原真菌的生物防治[14],并在对小麦土传病害的防治中展现了优越的前景[15-17],已研究发现木霉菌可影响土壤真菌群落结构和组成,减低小麦根际土壤中病原真菌的相对含量,推测这种作用可能是木霉防治土传病害的重要机制[18]。在先前研究中,研究组从 2 000 余株木霉菌株中筛选获得了 4 株生防木霉菌(KZ23367、KZ23617、LTR-2 和 QT21990),对引起小麦纹枯病、根腐病和茎基腐病的几种病原菌具有一定的抑制作用,同时表现出较好的促进植物生长作用。在盆栽试验中通过小麦包衣处理,对小麦的生长和产量显示了积极的影响。本研究中,通过检测这些木霉菌包衣麦种后促进小麦生长和调节小麦根际真菌群落的作用,用以评估这些木霉菌在当前耕作模式下防治土传病害、提高小麦产量的潜力。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试品种:济麦 44,山东鲁研种业有限公司提供。

木霉菌:深绿木霉(*Trichoderma atroviride*)KZ23367、KZ23617、哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)LTR-2 和 QT21990 由本实验室分离保存。

1.2　实验设计

试验田块位于山东省德州市陵城区神头镇西辛庄村山东鲁研农业良种有限公司实验站,田块地势平坦,土壤类型为棕壤,肥力中上等,pH = 7.5,土壤碱解氮含量 31.15 mg/kg,有效磷含量 38.41 mg/kg,速效钾含量 168.5 mg/kg,有机质含量在 1.57% 左右,土壤含水量适中,小麦种植前茬作物为玉米,收获后全部粉碎并还田处理。播种前施用硫酸钾复合肥(N、P_2O_5、K_2O 质量比为 17∶17∶17,金正大生态工程集团股份有限公司)600 kg/ha 作为基肥,返青拔节期追施尿素 225 kg/ha(鲁西化工集团股份有限公司),播种量 112.5 kg/ha,机械播种。实验时间 2019 年 10 月 8 日—2020 年 6 月 16 日。

试验采用的小麦品种为济麦 44,是一种高产优质小麦品种,对小麦茎基腐病易感。四株木霉菌均制备成每克含 2 亿活孢子的拌种剂(含 1% 羟甲基纤维素钠和 1.5% 海藻酸钠,载体为 200 目麦饭石粉)。试验设 5 处理 3 重复,处理 1:木霉 LTR-2 拌种;处理 2:木霉 KZ23367 拌种;处理 3:木霉 KZ23617 拌种;处理 4:木霉 QT21990 拌种;处理 5 空白对照不拌种(为含 1% 羟甲基纤维素钠和 1.5% 海藻酸钠的麦饭石粉)。拌种用量为 100 g 制剂拌 10 kg 种子;小区长 8 m,宽 1.5 m,面积 12 m^2,每处理 3 重复。

1.3　植物生长和产量分析

在拔节阶段(出苗后 150 d,3 月 7 日),从每个样地中随机选择 5 点,每样点随机选取 5 株麦苗,挖出根系,测量株高、根长、鲜重、分蘖等。株高是指从地面到叶最高点的自然距离。成熟期采用小区收割机对小区所有植株进行收割记录实际产量。

1.4　土壤样品收集

采样方法:小区随机 5 点取样,每样点随机选取 5 株麦苗,挖出根系,用抖根法采集附着在根际表面的土壤,混匀后为该样点的根际土壤样品,将土壤样品过 20 目细筛,取 0.3 g 根际土壤,按 DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, USA) 土壤微生物 DNA 提取试剂盒的试验步骤,提取土壤微生物总 DNA,-20 ℃保存。

1.5　定量 PCR 分析

用引物 ITS1F5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' 和 ITS2R 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3' 定量真菌丰度[19],确定小麦根际土壤中总真菌群落丰度,以含有酿酒酵母的 18SrRNA 基因的质粒的 10 倍稀释液产生标准曲线(基因拷贝数范围为 3 000 ~ 3.0×10^7)。采用三步方案进行 qPCR 反应:在 95 ℃ 10 min;95 ℃ 30 s,50 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共 40 个循环反应;循环结束后,样品加热到 95 ℃,立刻降至 60 ℃ 保持 5 s,然后每 5 s 提高 0.5 ℃递增到 95 ℃,建立熔解曲线。qPCR 反应体系(20 μL):包括 10 μL 2×SG Fast qPCR Master Mix 预混液(生工生物工程(上海)股份有限公司),20 μM正向和反向引物各 1 μL,DNF Buffer 2 μL,5 μL分子级水和 1 μL 土壤样品 DNA。所有荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)反应均进行三次重复。通过熔解曲线分析检查 PCR 产物的特异性,扩增效率为 91.25% (R^2 = 0.995)。

1.6 小麦纹枯病和茎基腐病调查

小麦纹枯病调查:参照 GB/T 17980.108—2004 农药田间药效试验准则中“杀菌剂防治小麦纹枯病”部分[20]。小麦茎基腐病调查方法参照文献[21]病害分级标准。在播种后 180 d 根据小麦第一个节间处褐变程度进行分级,0 级无褐变,1 级节间褐变占比为 0~25%,2 级节间褐变占比为25%~50%,3 级节间褐变占比为 50%~75% 和 4 级节间褐变占比为 75%~100%。然后将 25 个茎的单个等级数值相加,作为小区的病情严重程度评分(disease severity scores,DSS),并以此分级标准计算病情指数。播种后 220 d 调查各小区白穗数,并根据白穗率计数木霉拌种和化学药剂拌种的防治效果。防治效果计算方法为

$$\text{防治效果}=\frac{\text{空白对照区白穗率}-\text{处理区白穗率}}{\text{空白对照区白穗率}}\times 100\%$$

1.7 Illumina MiSeq 测序和序列预处理

选择 15 个 DNA 样本(5 个处理×3 个重复样本)用于真菌群落分析。PCR 扩增选取真菌转录间隔区 ITS 基因的 ITS2 区,使用带 Barcode 序列的引物对 ITS3 AATTCCAGCATCGATGAAGAACGCAGC 和 ITS4 TNTCCTCCGCTTATTGATATGC[22]进行两轮 PCR 扩增。扩增完成后对其产物进行纯化,纯化产物 Qubit2.0 定量,根据测定 DNA 浓度将样品等比例混合均一化形成测序文库,在上海生工生物工程股份有限公司 Illumina MiSeq 测序仪进行测序。

将原始的真菌群落 ITS 基因测序读段使用 QIIME(V1.8.0)处理[23],并根据序列之间的相似性将序列分成不同的操作分类单元(operational taxonomic units,OTU),使用 uparse 软件(v7.1),将剩余高质量序列以 97% 的相似度聚类到 OTU 中[24],最后,选用 Unite 数据库[25]进行 blastn 比对获得带物种分类信息的 OTU 表。使用 mothur(v1.39.5)[26]计算真菌群落的 α 多样性。删除了测序结果中属于植物类群的序列,从而得到了 15 个样品的 723 265 个读数(每个样品平均 48 217 个读数)。为了获得等效的测序深度以用于以后的分析,将 OTU 表所有样品稀疏为 39 077 个序列。

1.8 数据分析

采用 R 软件 agricolae 包进行统计分析,通过邓肯氏复极差检验确定($P<0.05$)木霉菌拌种后对小麦幼苗生长的影响、对病害的防治效果和产量的影响。使用 R 软件中的 ggplot2 和 ggpubr 软件包的箱型图展示木霉处理后对真菌群落的影响,并估算了小麦根际土壤中真菌群落的香农指数、辛普森指数以及 OTU 数量与小麦产量之间的线性相关性[27]。

2 结果

2.1 不同木霉菌拌种处理对小麦幼苗生长的影响

从表 1 可以看出不同的木霉拌种后对小麦的出苗影响不同,其中哈茨木霉 LTR-2 出苗率最高为 93.67%,与出苗率最差的菌株哈茨木霉 QT21990 相比具有显著差异($P<0.05$),但与其余几个处理之间差异不显著;鲜重方面深绿木霉 KZ23367 和哈茨木霉 LTR-2 的鲜重最高分别为 5.27g/株和 5.33g/株,与空白和其余两株木霉间具有显著性差异($P<0.05$);对于分蘖数来说,除深绿木霉 KZ23617 分蘖数有所降低外,其余的处理之间无显著差异,但深绿木霉 KZ23367 和哈茨木霉 LTR-2 相较空白对照略有增加;对于株高木霉与对照之间无显著性差异。综合上述几个指标来看,哈茨木霉 LTR-2 拌种以后对小麦幼苗生长具有良好的促进作用。

表 1 木霉拌种对小麦出苗率、幼苗的鲜重、分蘖和株高的影响

Table 1 Effect of *Trichoderma* spp. seed dressing on emergence rate, fresh weight, tiller and plant height

处理	出苗率/%	鲜重/g	分蘖数	株高/cm
KZ23367	90.33 ± 1.15^{ab}	5.27 ± 0.44^{a}	8.35 ± 0.34^{a}	19.32 ± 0.70^{a}
KZ23617	89.33 ± 2.08^{ab}	4.09 ± 0.24^{b}	6.53 ± 0.52^{b}	18.32 ± 0.64^{a}
LTR-2	93.67 ± 2.52^{a}	5.33 ± 0.39^{a}	8.18 ± 0.57^{a}	18.39 ± 0.67^{a}
QT21990	87 ± 3.46^{b}	4.52 ± 0.46^{b}	7.66 ± 0.60^{a}	18.35 ± 0.61^{a}
CK	89.67 ± 2.52^{ab}	4.16 ± 0.25^{b}	7.97 ± 0.78^{a}	18.57 ± 1.59^{a}

注:同列数值后不同小写字母代表显著性差异($P<0.05$)。

2.2 不同木霉拌种处理对小麦纹枯病和茎基腐病的防治效果及产量的影响

播种后 180 d 对小麦纹枯病和茎基腐病的调查结果(表 2)表明通过拌种处理,4 种木霉菌,都显著降低了小麦的白穗率($P<0.05$),从对小麦的纹枯病和茎基腐病的调查情况来看,引起小麦茎基腐病病害发生明显高于纹枯病,此外,在病害调查过程中枯白穗的茎基部多呈现褐色病斑,拔出时极易从基部折断,也印证了这一点,说明小区试验过程中的白穗主要是茎基腐病引起;从降低白穗率角度看,哈茨木霉 LTR-2 和 QT21990 效果最好,防效分别达到 66.72% 和 66.92%,最终产量也最高分别为 6 105.56 kg/ha 和 6 077.78 kg/ha,与对照相比具有显著性差异($P<0.05$),其余 2 株木霉菌也可以降低小麦白穗率提高产量,但与空白对照相比不具有显著性差异($P<0.05$)。以上结果说明,木霉菌通过拌种可以降低了小麦的白穗率,提高小麦产量。

2.3　不同木霉拌种处理对小麦根际土壤真菌群落丰富度和多样性的影响

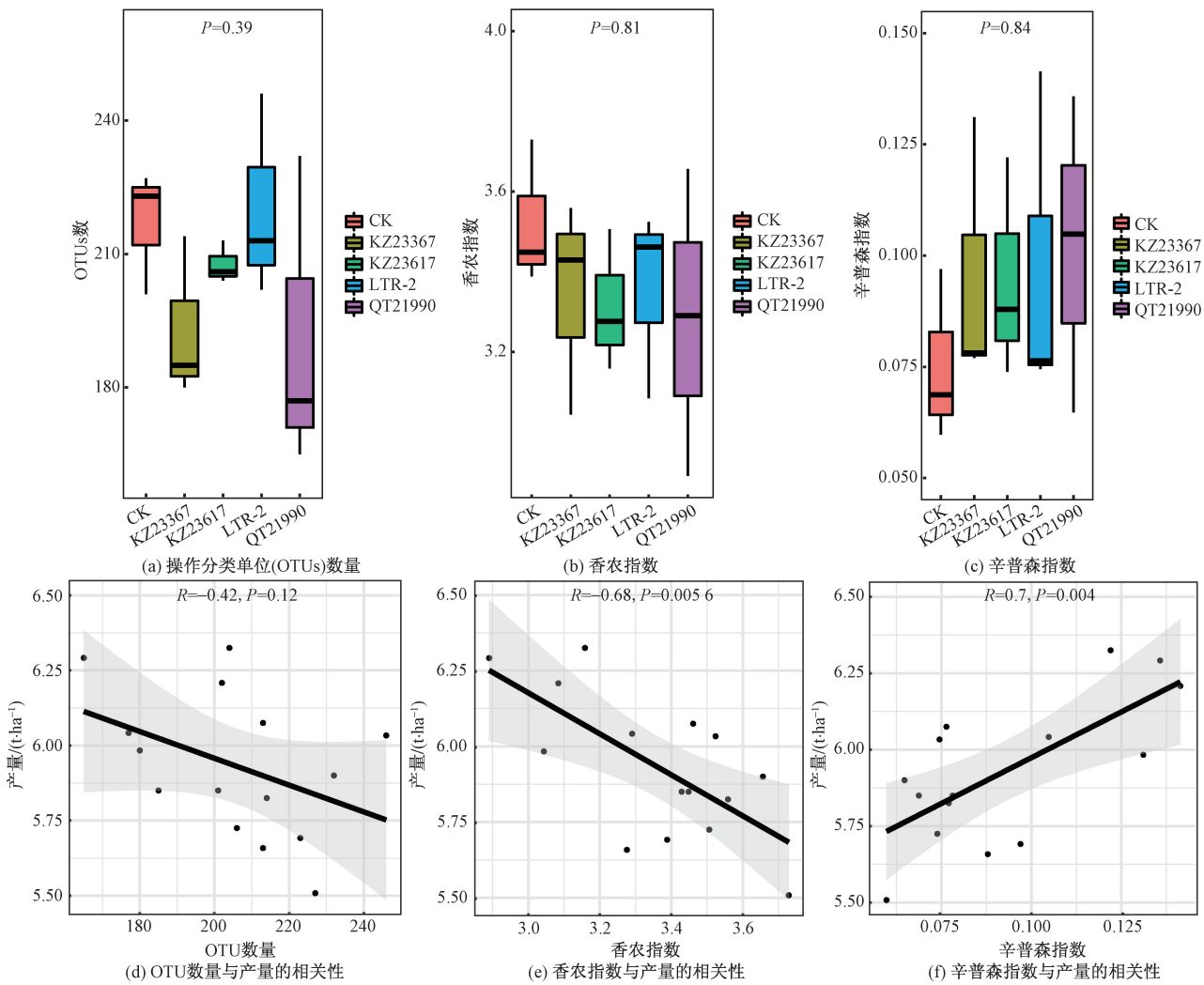
通过高通量测序发现木霉拌种影响了小麦土壤根际土壤真菌的群落的多样性(图1),OTUs可以反映群落的丰富程度,木霉拌种后群落的丰富度较空白对照降低了[图1(a)],同时,OTU数量与小麦产量之间的呈负相关[图1(d)];香农指数和辛普森指数分别反映了群落的均匀度和优势度,是表征群落多样性的重要指标,木霉拌种后香农指数较空白对照略有降低[图1(b)],香农指数与小麦产量之间的呈负相关[图1(e)];辛普森指数与空白对照相比则有所升高[图1(c)],辛普森指数与小麦产量之间的呈正相关[图1(f)];猜测木霉拌种通过抑制病原真菌而降低了小麦根际土壤真菌群落的多

表2　木霉拌种对小麦纹枯病和茎基腐病的防治效果及产量的影响

Table 2　Control effect of *Trichoderma* spp. seed dressing on wheat sharp eyespot and crown-rot and yield

处理方式	纹枯病	茎基腐病	白穗率(220 d)	防治效果/%	产量/[kg·(hm²)⁻¹]
	病情指数(180 d)	病情指数(180 d)			
KZ23367	6.33±1.53^{ab}	11.33±3.51^{bc}	4.26±1.36^{b}	48.01	5 886.11±85.12^{ab}
KZ23617	3.67±2.08^{bc}	15.33±2.52^{ab}	4.94±0.99^{bc}	39.78	5 902.78±367.17^{ab}
LTR-2	2.67±2.08^{c}	8.33±3.21^{c}	2.72±0.58^{c}	66.77	6 105.56±91.41^{a}
QT21990	3.33±1.15^{bc}	9.00±3.61^{c}	2.71±0.43^{c}	66.92	6 077.78±198.31^{a}
CK	7.67±2.08^{a}	18.67±1.53^{a}	8.20±1.81%^{a}	—	5 683.33±170.99^{b}

注:防效是根据播种后220 d调查获得白穗率计算获得(包含纹枯病和茎基腐病引起的白穗);同列数值后不同小写字母代表有显著性差异($P<0.05$)。



灰色阴影表示95%置信区间

图1　木霉拌种小麦根际土壤真菌群落丰富度和多样性及其与小麦产量的相关性

Fig. 1　Rhizosphere fungal abundance and diversity of *Trichoderma* spp. seed dressing and their correlations with wheat yield

样性,同时促进了小麦产量的提高。

2.4 不同拌种处理对小麦根际土壤真菌不同类群结构的影响

依据 OUT 表在门水平下的物种注释结果进行分类求和并计算平均值,得到各处理在门水平下的物种组成相对丰度,如图 2(a)所示;将各物种相对丰度乘以 qPCR 获得的真菌总的 ITS 拷贝数即为该物种的绝对丰度值,如图 2(b)所示。通过图 2 可以看出,不同木霉拌种处理与空白对照相比没有明显差异,但使用绝对丰度计算,木霉拌种后真菌群落的总体丰度较空白对照发生了明显的下降,其中哈茨木霉 LTR-2 拌种与未拌种小麦相比根际土壤真菌群落丰度明显降低,平均丰度仅为未拌种小麦根际真菌丰度的 27.68%。在物种组成上,木霉拌种的根际真菌群落中,子囊菌门(Ascomycota)、芽枝霉门(Blastocladiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、毛霉门(Mucoromycota)真菌的绝对量都发生了明显的降低,这也显示了采用绝对丰度计算的群落组成和结构比相对丰度的计算更为科学。

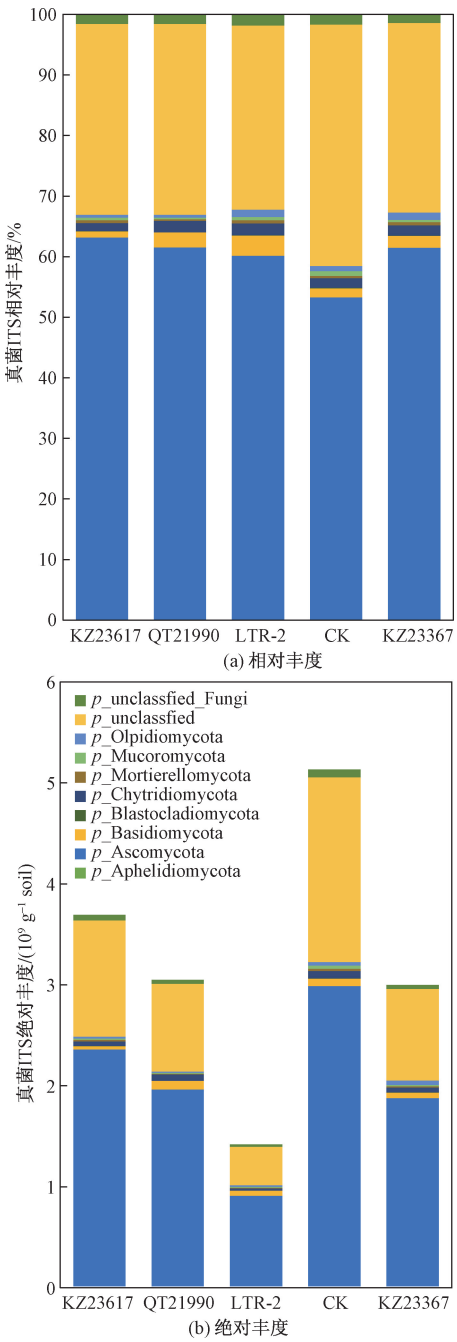


图 2 不同木霉拌种条件下小麦根际土壤中真菌群落结构(门水平)

Fig. 2 Fungal community structure at phylum level under different *Trichoderma* spp. seed dressing

3 讨论及结论

木霉作为一种生防制剂已被越来越多地用于防治植物真菌病害,防治的常见病原菌包括灰霉病菌 *Botrytis cinerea*,尖孢镰孢 *Fusarium oxysporum*,立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 等多种植物病原菌[28-29]。目前,已知木霉菌发挥生物防治功能的“经典机制”包括与病原菌营养竞争、抗生作用和分泌胞壁降解酶等[30-32]。这些强大的拮抗功能是木霉菌株广泛作为生物杀真菌剂的生物防治应用基础。除此之外,最近的一些报道表明木霉还可以增强植物生长过程中对非生物胁迫的耐受性[33],部分原因是使植物根系生长改善,持水能力提高;对于生物胁迫能够通过调节植物根内活性氧(reactive nitrogen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)代谢、氧化还原平衡和能量流提高植物对病原菌的防御能力[34]。这些研究均显示了木霉作为生防菌应用的强大潜力,近年来,对植物微生物组的调控作为一种病原菌的生物防治策略成为研究热点。木霉作为一种重要的生防菌其改变植物微生物组结构和与植物相互作用已成为生防菌研究的热点。

在本研究中,通过真菌 ITS 扩增子测序分析了 4 株生防木霉拌种小麦后对小麦根际土壤真菌群落影响,发现木霉拌种后对小麦根际土壤的真菌群落产生了明显的影响,首先是降低了真菌群落的丰富度和多样性,结合 qPCR 真菌定量检测发现,木霉拌种处理后小麦根际土壤中真菌总的含量明显降低,尤其是哈茨木霉 LTR-2 降低幅度最大,同时发现对于小麦产量来说,与小麦真菌群落均匀度(香农指数)和丰富度(OTUs 数)呈反比,而与群落的优势度(辛普森指数)呈正比,这些结果之间可以相互印证。因此,木霉菌具有降低根际土壤真菌总体丰度的功能,此外,通过木霉拌种改变了根际土壤真菌的结构和组成,这些改变可能为小麦生长营造更为

适合的微生态环境,从而促进小麦增产,也为木霉菌作为拌种剂使用促进小麦的增产提供了理论支撑。

参 考 文 献

[1] Li H L, He X L, Ding S L, et al. First report of *Fusarium culmorum* causing crown cot of wheat in China[J]. Plant Disease, 2016, 100: 2532.

[2] Li H L, Yuan H X, Fu B,et al. First report of *Fusarium pseudograminearum* causing crown rot of wheat in Henan, China[J]. Plant Disease, 2012, 96: 1065.

[3] Xu F, Song Y L, Zhou Y L, et al. Occurrence dynamics and characteristics of *Fusarium* root and crown rot of wheat in Henan Province during 2013—2016 [J]. Plant Protection, 2016, 42: 126-132.

[4] 徐　飞, 杨共强, 何文兰, 等. 河南省小麦全蚀病菌群体组成及致病力分化[J]. 植物保护学报, 2014, 41(2): 255-256.
Xu Fei, Yang Gongqiang, He Wenlan, et al. Composition and virulence diversity in *Gaeumannomyces graminis* var. tritici populations infecting wheat in Henan Province[J]. Journal of Plant Protection, 2014, 41(2): 255-256.

[5] Ji L J, Li Q S, Wang L S, et al. Occurrence and pathogen composition of wheat crown rot in Hebei Province[J]. Plant Protection, 2016, 42: 154-157.

[6] Xu F, Yang G, Wang J, et al. Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the North China Plain and its relationship with climate variables[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1054.

[7] 侯生英, 张　贵. 小麦根腐病产量损失及经济阈值研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(1): 76-78.
Hou Shengying, Zhang Gui. Study on the losses of wheat yield and the ELT to wheat root rot[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2002, 30(1): 76-78.

[8] 张会云, 陈荣振, 冯国华, 等. 中国小麦纹枯病的研究现状与展望[J]. 麦类作物学报, 2007, 27(6): 1150-1153.
Zhang Huiyun, Chen Rongzhen, Feng Guohua, et al. Research advances and prospect on wheat sharp eyespot in China[J]. Journal of Triticeae Crops, 2007, 27(6): 1150-1153.

[9] 陈浩梁. 小麦纹枯病的发生与危害探析[J]. 农业灾害研究, 2011(2): 7-12.
Chen Haoliang. Analysis onoccurrence and damage of wheat sheath blight[J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 2011(2): 7-12.

[10] 周海峰, 杨　云, 牛亚娟, 等. 小麦茎基腐病的发生动态与防治技术[J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 114-117.
Zhou Haifeng, Yang Yun, Niu Yajuan, et al. Occurrence and control methods of crown rot of wheat[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(5): 114-117.

[11] Mudge A M, Dill-Macky R, Dong Y, et al. A rolefor the mycotoxin deoxynivalenol in stem colonisation during crown rot disease of wheat caused by *Fusarium graminearum* and *Fusarium pseudograminearum* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2006, 69: 73-85.

[12] Balmas V, Delogu G, Sposito S, et al. Use of a complexation of tebuconazole with b-cyclodextrin for controlling foot and crown rot of durum wheat incited by *Fusarium culmorum*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 480-484.

[13] Moya-Elizondo E A, Jacobsen B J. Integrated management of Fusarium crown rot of wheat using fungicide seed treatment, cultivar resistance, and induction of systemic acquired resistance (SAR) [J]. Biological Control, 2016, 92(1): 153-163.

[14] Sood M, Kapoor D, Kumar V, et al. Trichoderma: the "secrets" of a multitalented biocontrol agent[J]. Plants, 2020, 9(6): 762.

[15] Stummer B E, Zhang Q, Zhang X, et al. Quantification of *Trichoderma afroharzianum*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma gamsii* inoculants in soil, the wheat rhizosphere and in planta suppression of the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2020, 129(4): 971-990.

[16] Singh U B, Malviya D, Singh S,et al. *Trichoderma harzianum* and methyl jasmonate induced resistance to *Bipolaris sorokiniana* through enhanced phenylpropanoid activities in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1697.

[17] Vinale F, Marra R, Scala F, et al. Major secondary metabolites produced by two commercial Trichoderma strains active against different phytopathogens[J]. Letters in Applied Microbiology, 2006, 43(2): 143-148.

[18] 扈进冬, 吴远征, 魏艳丽, 等. 木霉拌种剂对小麦根际土壤真菌群落多样性的影响[J]. 山东科学, 2019, 32(1): 49-54.
Hu Jindong, Wu Yuanzheng, Wei Yanli, et al. Effects of trichoderma seed dressing agent on the diversity of fungal community in wheat rhizosphere soil[J]. Shandong Science, 2019, 32(1): 49-54.

[19] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]. New York: Academic Press, 1990: 315-322.

[20] 国家质量监督检疫检验总局. 农药田间药效试验准则(二) 第108部分:杀菌剂防治小麦纹枯病: GB/T 17980.108—2004[S]. 北京: 国家标准出版社, 2004.
State General Administration of the People's Republic of China for Quality Supervision and Inspection and Quarantine. Pesticide-guidelines for the field efficacy trials(Ⅱ)-part 108: fungicides against sharp eyespot of wheat: GB/T 17980.108—2004[S]. Beijing: Chinese Standard Publishing House, 2004.

[21] Moya-Elizondo E A, Jacobsen B J, Hogg A C, et al. Population dynamics between *Fusarium pseudograminearum* and *Bipolaris sorokiniana* in wheat stems using real-time qPCR [J]. Plant Disease, 2011, 95: 1089-1098.

[22] Okubo A, Sugiyama S I. Comparison of molecular fingerprinting methods for analysis of soil microbial community structure[J]. Ecological Research, 2009, 24(6): 1399-1405.

[23] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows Analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7: 335-336.

[24] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OUT sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10: 996-998.

[25] Nilsson R H, K Larsson K H, Taylor A, et al. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): 259-264.

[26] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75: 7537-7541.

[27] Wickham H. Ggplot2: elegant graphics for data analysis[M]. New York: Springer-Verlag, 2009.

[28] Brunner K, Zeilinger S, Ciliento R, et al. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3959-3965.

[29] Rojo F G, Reynoso M M, Ferez M, et al. Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions[J]. Crop Protection, 2007, 26(4): 549-555.

[30] Harman G E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp.[J]. Phytopathology, 2006, 96(2): 190-194.

[31] Lorito M, Harman G E, Hayes C K, et al. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma-harzianum* antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase[J]. Phytopathology, 1993, 83(3): 302-307.

[32] Schirmbock M, Lorito M, Wang Y L, et al. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi[J]. Applied And Environmental Microbiology, 1994, 60(12): 4364-4370.

[33] Mastouri F, Björkman T, Harman G E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings[J]. Phytopathology, 2010, 100: 1213-1221.

[34] Chen S, Ren J, Zhao H, et al. *Trichoderma harzianum* improves defense against *Fusarium oxysporum* by regulating ROS and RNS metabolism, redox balance, and energy glow in cucumber roots.[J]. Phytopathology, 2019, 109(6): 972-982.