

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.23373

## 稀释接种法和二次发酵法制备的绿色木霉 生物有机肥肥料效应比较研究

邓杰<sup>1,2</sup>, 王宇蕴<sup>1</sup>, 唐伟<sup>1</sup>, 魏雨泉<sup>2,3</sup>, 李季<sup>2,3</sup>, 徐智<sup>1,2\*</sup>

[1. 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201; 2. 中国农业大学有机循环研究院(苏州), 江苏 苏州 215100; 3. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193]

**摘要:** 生物有机肥中的功能性微生物是生物有机肥肥效的核心, 生物有机肥的制造工艺决定了功能性微生物的数量和应用效果, 绿色木霉兼具的促生和生防功能现已广泛应用于生物有机肥的制备中。分别采用稀释接种法和二次发酵法在不同腐熟度(种子发芽指数 GI 值为 50%、80%、100%)的堆肥物料接种绿色木霉制备生物有机肥, 采用盆栽试验, 研究两种工艺类型的生物有机肥在辣椒根系定殖能力及其对辣椒疫病的防控作用。结果发现, 施用生物有机肥 24 d 后, 经过二次发酵法生产的生物有机肥(分别在堆肥物料 GI 值为 50%、80% 和 100% 时接种绿色木霉进行二次发酵生产的生物有机肥)的绿色木霉在辣椒植株根系定殖量分别为  $1.5 \times 10^5$ 、 $2.3 \times 10^5$  和  $1.02 \times 10^5$  CFU/g, 按照稀释接种法生产的生物有机肥(分别在堆肥物料 GI 值为 50%、80% 和 100% 时, 按照稀释倍数接种绿色木霉生产的生物有机肥)的绿色木霉定殖量分别为  $0.29 \times 10^5$ 、 $0.72 \times 10^5$  和  $0.24 \times 10^5$  CFU/g; 在 GI 值为 80% 的堆肥物料条件接种绿色木霉, 经过二次发酵生产的生物有机肥, 绿色木霉在辣椒根际定殖能力最强; 经过二次发酵的生物有机肥处理的辣椒疫病防治效果显著高于按照稀释倍数接种绿色木霉制成的生物有机肥处理, 且以 GI 值为 80% 的堆肥物料条件生产的生物有机肥的辣椒疫病防治效果最好。研究结果发现, 以 GI 值为 80% 的堆肥物料接种绿色木霉后, 采用二次发酵方式生产的生物有机肥, 7 d 后的绿色木霉菌增殖量为 3.91 倍, 表现出功能性微生物最好的增殖和定殖效果。综上所述, 在制备绿色木霉生物有机肥时的最佳方法是在腐熟度为 80% 的堆肥物料中接种绿色木霉进行二次发酵, 可以提高绿色木霉的定殖效果, 也可以提升绿色木霉生物有机肥的抗病效果。

**关键词:** 不同腐熟度堆肥物料; 接种工艺; 绿色木霉; 定殖能力; 防治效果

生物有机肥是添加具有特定功能微生物, 并经过发酵腐熟形成的一类兼具微生物肥和有机肥效应的肥料<sup>[1]</sup>。在生物有机肥中, 作为有益微生物的功能菌至关重要, 其数量和活性直接关系到生物有机肥的品质及应用效果<sup>[2]</sup>, 由于有功能性微生物作用的有机肥相较于普通有机肥, 不仅更能增进土壤肥力、协助农作物吸收营养、活化土壤中难溶的化合物供作物吸收利用, 促进作物生长, 还可以防治或减少作物病虫害的发生, 从而改善农产品

品质<sup>[3-5]</sup>。大量研究表明, 功能性微生物是微生物肥料的“核心”。随着生物有机肥施入的功能性微生物可以优先占据生态位而防止病原菌侵占, 抑制病原菌侵染, 从而降低植物发病率或促进作物生长<sup>[6-9]</sup>。与此同时, 功能性微生物占据根际生态位后在根系分泌的营养物质竞争上也占据优势地位, 抑制了其他微生物的活性, 这是生物有机肥比普通有机肥更能提高作物产量和品质的根本原因, 同时也说明外源引进根际定殖能力较强的功能性微生物十分必要<sup>[10-12]</sup>。生物有机肥的功能菌或有效活菌数取决于其生产工艺, 不同生产工艺制备的生物有机肥会直接影响功能性微生物在有机物料中的定殖数量, 可能会影响生物有机肥的肥料效应。

木霉菌是一种重要的多功能丝状真菌, 广泛存在于自然界中, 通常分布于植物残体、植物根以及土壤等环境中, 是一类普遍存在的真菌<sup>[13]</sup>, 因

收稿日期: 2023-06-24; 录用日期: 2023-09-28

基金项目: 云南省重大科技专项计划(202202AE0900250); 国家自然科学基金项目(32160744); 云南省高层次人才支持计划青年拔尖人才专项(YNWR-QNBJ-2019-249)。

作者简介: 邓杰(1996-), 硕士研究生, 主要研究方向为有机固体废物资源化利用。E-mail: 1843713213@qq.com。

通讯作者: 徐智, E-mail: xuzhi9910@126.com。

其产生的次级代谢产物种类丰富,生物活性多样,在工农业生产领域及环境保护领域都有广泛的应用<sup>[14]</sup>。绿色木霉(*Trichoderma viride*)是兼具促生和生防功能的有益真菌,是土壤环境中有毒物质的降解菌株,也是生物有机肥中重要的微生物菌种之一。研究发现,绿色木霉可以显著促进植物种子萌发、幼苗生长和产量增加<sup>[15]</sup>。在生物防治方面,绿色木霉主要通过竞争、重寄生和分泌次生代谢产物等方式来抑制病原菌的生长<sup>[16]</sup>。此外,绿色木霉含有漆酶、水解酶、纤维素酶等,可用于环境污染物的生物降解<sup>[17]</sup>。以绿色木霉为功能微生物制成生物有机肥,具有促生、增产、防病等多重作用<sup>[18-19]</sup>。目前,关于绿色木霉生物有机肥制备过程中如何增强微生物定殖效果的研究有限,因此,本研究对比按照稀释倍数和采用二次发酵工艺生产的绿色木霉生物有机肥,重点研究功能性微生物(绿色木霉)在辣椒根系定殖的能力和防治辣椒疫病的效果,为规范绿色木霉生物有机肥的生产、提高其肥料效应提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试生物有机肥料的制备

将鸽子粪与腐殖土(枯枝落叶)作为堆肥原料进行堆肥发酵,原料基本性质见表1。并在堆肥发酵过程中选取种子发芽指数(GI)值分别为50%、80%、100%的堆肥产品作为后续生物肥料生产的供试有机物料。堆肥GI值的测定方法为:准确称取4.00 g的堆肥鲜样放入准备好的50 mL离心管中,按照样品与蒸馏水比例为1:10加入40 mL的蒸馏水,在振荡器以200 r/min振荡60 min后静置过滤,取上清液,采用国际通用的水芹(*Lepidium sativum* L.)种子来测定。

$$\text{种子发芽指数 (GI)} = \frac{\text{浸提液中的种子发芽率} \times \text{种子根长}}{\text{蒸馏水中的种子发芽率} \times \text{种子根长}} \times 100\%$$

表1 堆肥物料的基本性质

原料	含水率 (%)	全碳 (g/kg)	全氮 (g/kg)	碳氮比
鸽子粪	55.51	40.70	3.260	12.48
腐殖土	26.37	31.22	0.728	42.88

试验选取的功能菌为绿色木霉。试验所用的生物有机肥是在上述不同腐熟程度的有机物料(GI值分别为50%、80%和100%的堆肥)的基础上接种绿色木霉,采用稀释倍数和二次发酵的工艺生产绿色木霉生物有机肥。稀释倍数法生产的绿色木霉生物有机肥,按照菌剂功能微生物的数量和有机物料重量的关系,参照生物有机肥量的标准(NY 884—2012),每克有机物料含绿色木霉 $0.2 \times 10^8$  CFU;二次发酵的工艺生产绿色木霉生物有机肥,按照每克有机物料接种绿色木霉 $0.2 \times 10^8$  CFU后,进行二次发酵(二次发酵过程中控制温度不超过50℃),经过7 d发酵后的产物。

### 1.2 试验设计

供试作物为辣椒,品种为新育22号尖椒,购于山东魁寿农业科技有限公司。供试土壤为山原红壤,采自于云南农业大学后山试验农场,其基本理化性质为pH为5.5,有机质含量为2.62 g/kg,碱解氮含量为101.5 mg/kg,有效磷含量为10.3 mg/kg,速效钾含量为60.07 mg/kg。供试病原菌菌株为辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*)。

试验采用盆栽方式进行,盆栽的施肥水平统一按照N 3 g/kg、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2 g/kg和K<sub>2</sub>O 3 g/kg设置。按照等养分的原则,设置7个处理,分别为无机肥(CK)、无机肥+GI值分别为50%、80%和100%的堆肥基础上,采用二次发酵的工艺生产绿色木霉生物有机肥(3个处理,代码为L1~L3),以及无机肥+GI值分别为50%、80%和100%的堆肥基础上,采用稀释倍数工艺生产绿色木霉生物有机肥(3个处理,代码为L4~L6),每个处理重复3次。试验设计及代码如表2所示。

各处理将所需肥料和土壤混合均匀后,置于恒温培养架上,模拟太阳光照环境设置自动照明设备,按照田间持水量的70%进行水分管理。辣椒定植过后的第1 d,每盆辣椒按 $1 \times 10^5$  CFU/g,距根部1~1.5 cm处注入辣椒疫霉菌悬浮液。辣椒栽培时间设置为24 d,分别在第8、12、16、20、24 d进行破坏性取样,取得辣椒根,测定辣椒根系功能性微生物(绿色木霉)的定殖情况;破坏性采样前进行辣椒疫病发病率、病情指数及防病效果统计。

### 1.3 功能性微生物在辣椒根部的定殖检测

将辣椒根部组织洗净后剪成1 cm大小,室温下放置干燥过夜,称重后置于超净工作台表面进行

表2 试验处理设计及代码

处理代码	处理设计
CK	无机肥
L1	无机肥+GI值为50%的有机物料+绿色木霉经过二次发酵的生物有机肥
L2	无机肥+GI值为80%的有机物料+绿色木霉经过二次发酵的生物有机肥
L3	无机肥+GI值为100%的有机物料+绿色木霉经过二次发酵的生物有机肥
L4	无机肥+GI值为50%的有机物料+按照稀释倍数接种的绿色木霉
L5	无机肥+GI值为80%的有机物料+按照稀释倍数接种的绿色木霉
L6	无机肥+GI值为100%的有机物料+按照稀释倍数接种的绿色木霉

消毒, 75% 乙醇浸泡 1 min, 无菌水清洗 3 遍, 5% 次氯酸钠溶液浸泡 3 min, 无菌水清洗 4 遍, 取最后一次清洗液 100  $\mu\text{L}$  涂布于普通 PDA 平板上, 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 3 ~ 5 d, 无微生物长出说明消毒彻底; 将消毒后的辣椒根系组织置于研钵中研成匀浆, 并用无菌水稀释 10 ~ 100 倍, 分别取 100  $\mu\text{L}$  匀浆液和稀释液涂布于含相对应抗生素的平板上, 在 28  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中培养 3 ~ 5 d 后统计目标菌数<sup>[20]</sup>。

#### 1.4 辣椒疫病发病率、病情指数及防病效果统计

按照辣椒苗期疫病病情分级标准<sup>[21]</sup>进行病情分级, 并计算辣椒的发病率、病情指数和防治效果。

发病率 (%) = 发病株数 / 调查总株数  $\times$  100;

病情指数 =  $\sum$  (病情级数  $\times$  该级株数) / (调查株数  $\times$  最高级数);

防治效果 (%) = (对照病情指数 - 处理病情指数) / 对照病情指数  $\times$  100。

#### 1.5 功能性微生物在堆肥物料中的定殖和存活率测定

在二次发酵工艺生产生物有机肥的过程中, 每天定时取发酵物样品, 采用选择性培养基上平板计数的方法, 测定绿色木霉在木霉中的数量<sup>[22]</sup>。

#### 1.6 数据处理与分析

采用 Excel 2016、Origin 9.0 和 SPSS 20.0 对数据进行统计分析、处理和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同方法制备的生物有机肥中绿色木霉在辣椒根系的定殖效果

分别在盆栽试验的第 8、12、16、20 和 24 d, 监测生物有机肥的功能性微生物在辣椒根系的定殖能力, 结果如图 1 所示。在接种 24 d 时, 采用稀释接种法制备生物有机肥的处理中绿色木霉在辣椒根系定殖量 1 g 的转换值分别为  $0.29 \times 10^5$ 、 $0.72 \times 10^5$ 、 $0.24 \times 10^5$  CFU/g, 说明 GI 值为 80% 的堆肥物料采用稀释接种法制备的生物有机肥中绿色木霉在辣椒根系的定殖效果最好。在接种 24 d 时, 采用二次发酵法制备生物有机肥的处理中绿色木霉在辣椒根系定殖量 1 g 的转换值分别为  $1.5 \times 10^5$ 、 $2.3 \times 10^5$ 、 $1.02 \times 10^5$  CFU/g, 说明 GI 值为 80% 的堆肥物料采用二次发酵法制备的生物有机肥中绿色木霉在辣椒根系的定殖效果最好。因此, 在制备生物有机肥的过程中, 最好的接种微生物的堆肥物料是 GI 值为 80% 的堆肥物料。同时, 二次发酵工艺制成的生物有机肥处理中绿色木霉在盆栽处理的定殖量均高于按绿色木霉的稀释倍数接种的工艺, 说明采用二次发酵制成的生物有机肥更有利于功能性微生物在植物中的定殖。GI 值为 80% 的堆肥物料接种绿色木霉二次发酵制成的生物有机肥在辣椒根系的定殖效果最好。

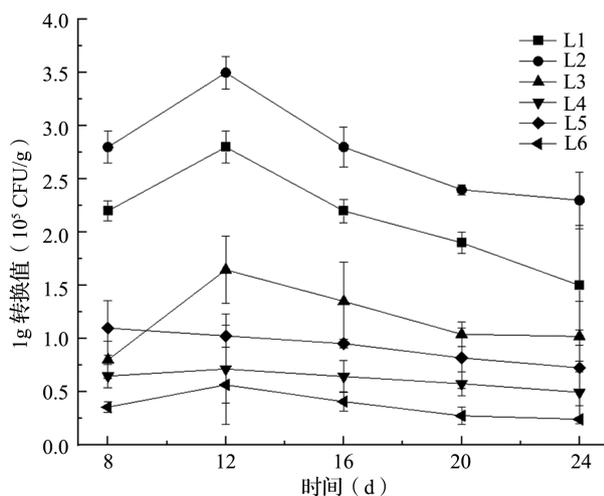


图1 不同生物有机肥绿色木霉在辣椒根系定殖的动态变化

### 2.2 不同方法制备的生物有机肥对辣椒疫病的防治效果

在盆栽试验中, 对施用不同生物有机肥的辣

椒, 分别在第 8、12、16、20 和 24 d 采用灌根法接种辣椒疫霉菌, 通过观察记录辣椒疫病发病数量, 计算发病率及防治效果, 结果如表 3 所示。在第 24 d 时, 采用稀释接种法制备的生物有机肥对辣椒疫病的防效分别为 0%、33.33%、33.33%, 其中 GI 值为 80% 和 100% 的堆肥物料采用稀释接种法制备的生物有机肥的辣椒疫病防治效果较好。在第 24 d 时, 采用二次发酵法制备的生物有机肥对辣椒疫病

的防治效果分别为 66.67%、83.33%、66.67%, 其中, GI 值为 80% 的堆肥物料采用二次发酵法制备的生物有机肥的辣椒疫病防治效果最好。从防治效果可以看出, 采用接种绿色木霉二次发酵制成的生物有机肥对辣椒疫病的防治效果明显优于采用稀释接种法制成的生物有机肥。其中, GI 值为 80% 的堆肥物料采用二次发酵法制备的生物有机肥对辣椒疫霉菌的防治效果最好。

表 3 不同生物有机肥对辣椒疫霉菌的防治效果 (%)

处理	接种辣椒疫霉菌后时间									
	8 d		12 d		16 d		20 d		24 d	
	发病率	防治效果	发病率	防治效果	发病率	防治效果	发病率	防治效果	发病率	防治效果
L1	6.67	87.50b	16.67	71.43b	22.22	66.67b	33.00	60a	33.33	66.67b
L2	—	100.00a	8.33	85.71a	11.11	83.33a	33.00	60a	—	83.33a
L3	13.33	75.00c	16.67	71.43b	22.22	66.67b	33.00	60a	33.33	66.67b
L4	20.00	62.50d	25.00	57.14c	44.44	33.33c	50.00	40b	100.00	0.00d
L5	20.00	62.50d	25.00	57.14c	44.44	33.33c	67.00	20c	66.67	33.33c
L6	20.00	62.50d	33.33	42.86d	44.44	33.33c	67.00	20c	66.67	33.33c
CK	26.67	—	58.30	—	66.67	—	83.33	—	100.00	—

注: 同一列不同小写字母表示防治效果存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 二次发酵时不同物料腐熟度下绿色木霉的定殖效果

不同腐熟度 (GI 值为 50%、80%、100%) 的堆肥物料在第 0 d 接种功能性微生物绿色木霉, 经过 7 d 的二次发酵后, 不同腐熟程度堆肥物料中的绿色木霉菌数变化如图 2 所示, 绿色木霉在 GI 值为 80% 的堆肥物料中进行二次发酵后定殖效率最好, 定殖结束后绿色木霉菌数为  $0.86 \times 10^8$  CFU/g, 是初始含量的 3.91 倍, 其次 GI 值为 50% 的堆肥物料绿色木霉菌数为  $0.6 \times 10^8$  CFU/g, 是初始含量的 3 倍, 绿色木霉在 GI 值为 100% 的堆肥物料中的定殖效率最差, 绿色木霉菌数为  $0.27 \times 10^8$  CFU/g, 是初始含量的 1.35 倍。因此, 在二次发酵过程中, 绿色木霉在 GI 值为 80% 的有机肥中的定殖效果最好。

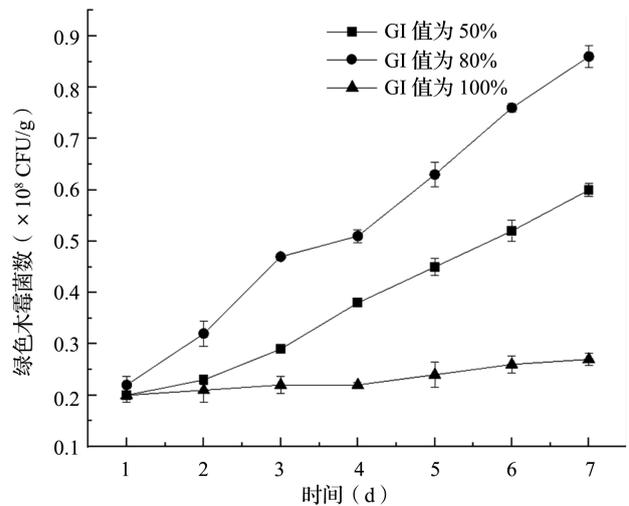


图 2 不同堆肥物料腐熟程度对绿色木霉定殖效果的影响

### 3 讨论

#### 3.1 制备工艺对绿色木霉定殖的影响

本研究分别采用稀释接种法和二次发酵法在不同腐熟度(GI值为50%、80%、100%)的堆肥物料接种绿色木霉制备生物有机肥,在辣椒盆栽施用有机肥过程中,通过对辣椒根系微生物定殖数量分析,发现GI值为80%的堆肥物料采用稀释接种法和二次发酵法制备的生物有机肥中绿色木霉在辣椒根系的定殖效果均最好,二次发酵法制成的生物有机肥中,绿色木霉在辣椒根系的定殖量均高于稀释接种法制备的生物有机肥,何兆桓等<sup>[23]</sup>研究发现,按照稀释倍数在发酵好的有机物料上接种功能性微生物可以提高有机肥的肥效,但是这种工艺不利于提高微生物的定殖能力。

#### 3.2 不同方法制备的生物有机肥对辣椒疫病防治效果的影响

大量研究表明,功能性微生物是微生物肥料的“核心”。随着生物有机肥施入的功能性微生物可以优先占据生态位而防止病原菌侵占,抑制病原菌侵染,从而降低植物发病率或促进作物生长<sup>[5]</sup>。黄炎<sup>[24]</sup>经过7 d二次发酵后获得一种新型生物有机肥,枯草芽孢杆菌SQR9菌株数量增加23.27倍,优化后的生物有机肥处理的茄子株高较化肥处理、普通有机肥处理分别提高了33.4%、15.5%(两季平均值),茎粗分别提高8.4%、5.2%(两季平均值);孙立广等<sup>[25]</sup>的研究结果表明,生物有机肥中添加的拮抗菌经过二次发酵后有好的定殖率,同时防治青枯病的效果良好;根据辣椒抗疫病实验的防治效果可以看出,使用GI值为80%的堆肥物料采用稀释接种法与二次发酵法制备的生物有机肥的辣椒疫病防治效果最好。同时采用二次发酵法制成的生物有机肥对辣椒疫霉菌的防治效果要优于稀释接种法制成的生物有机肥。因此,GI值为80%的堆肥物料二次发酵制成的生物有机肥对辣椒疫霉菌的防治效果最好,也进一步验证了GI值为80%的堆肥物料采用二次发酵法制备的生物有机肥中绿色木霉的定殖效果最好。

#### 3.3 二次发酵时物料腐熟度对绿色木霉定殖的影响

为进一步验证绿色木霉在二次发酵过程中的定殖效果,本试验将绿色木霉分别接种至GI值为50%、80%、100%的有机肥中进行7 d二次发酵

后发现,绿色木霉在GI值为80%的生物有机肥中的定殖效果最好,堆肥7 d后的绿色木霉菌数达到了 $0.86 \times 10^8$  CFU/g,是初始含量的3.91倍。白林等<sup>[26]</sup>的研究表明,有机肥中生物炭是堆肥后期微生物繁殖的限制因子,适时添加可以加速物料的腐熟。在发酵过程中,培养基的可溶性碳类化合物被微生物吸收,用于其生长及繁殖,产生新的细胞菌体<sup>[27]</sup>;刘丽<sup>[28]</sup>的研究表明,经过7 d的二次发酵后,添加碳源处理的数量有所增加,说明二次发酵可使总细菌数增加,而碳源的添加可以提高功能微生物的定殖能力。本试验中GI值为80%的有机肥中含水率及剩余营养物质可以更好地供绿色木霉进行代谢利用,绿色木霉在GI值为80%的有机肥中定殖效果最好。因此,施用GI值为80%的堆肥物料接种绿色木霉二次发酵制成的生物有机肥的绿色木霉在辣椒根系的定殖效果最好。

### 4 结论

采用稀释接种法和二次发酵法制备绿色木霉生物有机肥时,选用腐熟度为80%的堆肥物料制备的生物有机肥在辣椒根系定殖效果最好,抗疫病效果最好。二次发酵法准备的生物有机肥肥效优于稀释接种法。因此,在制备绿色木霉生物有机肥时的最佳方法为:在腐熟度为80%的堆肥物料中接种绿色木霉进行二次发酵,可以提高绿色木霉的定殖效果,提升绿色木霉生物有机肥的抗病效果。

#### 参考文献:

- [1] 蔡射霞, 徐永忠. 生物有机肥肥效机理及其应用发展探究[J]. 农业开发与装备, 2018(8): 150, 158.
- [2] Luo J, Ran W, Hu J, et al. Application of bio-organic fertilizer significantly affected fungal diversity of soils [J]. Soil Science Society of America Journal, 2010, 74(6): 2039-2048.
- [3] Huang Y, Li R, Liu H, et al. Novel resource utilization of reloaded algal sludge to improve the quality of organic fertilizer [J]. Environmental Technology, 2014, 35(13-14): 1658-1667.
- [4] Partanen P, Hultman J, Paulin L, et al. Bacterial diversity at different stages of the composting process [J]. BMC Microbiology, 2010, 10(1): 94.
- [5] Qiu M, Li S, Zhou X, et al. De-coupling of root-microbiome associations followed by antagonist inoculation improves rhizosphere soil suppressiveness [J]. Biology & Fertility of

- Soils, 2014, 50 (2): 217-224.
- [6] Ning L, Chao X, Huang Q, et al. Development of a mode of application of bioorganic fertilizer for improving the biocontrol efficacy to Fusarium wilt [J]. *Biocontrol*, 2010, 55 (5): 673-683.
- [7] Shen Z Z, Zhong S T, Wang Y G, et al. Induced soil microbial suppression of banana fusarium wilt disease using compost and biofertilizers to improve yield and quality [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 57 (4): 1-8.
- [8] Trillas M I, Casanova E, Cotxarrera L, et al. Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings [J]. *Biological Control*, 2006, 39 (1): 32-38.
- [9] Wang B, Yuan J, Zhang J, et al. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of Fusarium wilt of banana [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49 (4): 435-446.
- [10] Xi B, Dang Q, Wei Z, et al. Effects of microbial inoculants on actinomycetes communities diversity during municipal solid waste composting [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2011, 27 (13): 227-232.
- [11] Liu Y, Shi J, Feng Y, et al. Tobacco bacterial wilt can be biologically controlled by the application of antagonistic strains in combination with organic fertilizer [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49 (4): 447-464.
- [12] Wu H S, Yang X N, Fan J Q, et al. Suppression of Fusarium wilt of watermelon by a bio-organic fertilizer containing combinations of antagonistic microorganisms [J]. *BioControl: Journal of the International Organization for Biological Control*, 2009 (2): 54.
- [13] Qiu M, Zhang R F, Xue C, et al. Application of bio-organic fertilizer can control Fusarium wilt of cucumber plants by regulating microbial community of rhizosphere soil [J]. *Biology and Fertility of soils*, 2012, 48 (7): 807-816.
- [14] Yabe S, Yoshida N, Shindo H, et al. Analysis of microflora at early stage of high-temperature composting process [J]. *Soil Microorganisms*, 2006, 60 (2): 109-115.
- [15] Mahato S, Bhuju S, Shrestha J. Effect of *Trichoderma Viride* as biofertilizer on growth and yield of wheat [J]. *Malaysian Journal of Sustainable Agriculture*, 2018, 2 (2): 1-5.
- [16] Insam H, Bertoldi M D. Chapter 3 Microbiology of the composting process [J]. *Waste Management*, 2007, 8 (7): 25-48.
- [17] Irshad M, Anwar Z, Ramzan M, et al. Characterization of purified  $\beta$ -glucosidase produced from *Trichoderma viride* through bio-processing of orange peel waste [J]. *Advances in Bioscience & Biotechnology*, 2013, 4 (10): 941-944.
- [18] Khalil M. Use of anti-fungus *Trichoderma viride* and salicylic acid to Induce chemical control to fight tomato fusarium wilt disease [J]. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 2021, 99 (1): 26-36.
- [19] Xue Q Y, Chen Y, Li S M, et al. Evaluation of the strains of *Acinetobacter* and *Enterobacter* as potential biocontrol agents against *Ralstonia* wilt of tomato [J]. *Biological Control*, 2009, 48 (3): 252-258.
- [20] 王培培, 郭庆港, 李社增, 等. 枯草芽孢杆菌 NCD-2 菌株的高效电击转化 [J]. *中国生物防治学报*, 2011 (3): 368-372.
- [21] Kim J S, Kim W I, Jee H J, et al. Evaluation of resistance in hot pepper germplasm to phytophthora blight on biological assay [J]. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, 2010, 28 (5): 802-809.
- [22] 胡展, 雷平, 郭照辉, 等. 生防放线菌 Ahn75 的荧光标记及其在水稻中的定殖 [J]. *微生物学通报*, 2019, 46 (10): 2612-2619.
- [23] 何兆桓, 杨苞梅, 姚丽贤, 等. 不同生产工艺有机肥施用效应比较 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39 (5): 65-66, 76.
- [24] 黄炎. 鸡粪生物有机肥的研制及其促生防病效果与机制研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [25] 孙立广, 张洪春, 赵秀云, 等. 烟草青枯病拮抗菌在有机肥中的定殖效率及田间防治效果 [J]. *中国烟草科学*, 2016 (4): 48-53.
- [26] 白林, 岳铁军, 文斌, 等. 兔粪高温堆肥的控制参数及发酵机制研究 [J]. *安徽农业科学*, 2010, 38 (7): 3616-3619.
- [27] 刘灿. 双孢菇培养基非热灭菌二次发酵中微生物动态及典型菌株特性功能研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [28] 刘丽. 生物有机肥制备加工贮存过程中功能菌的追踪及其影响机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.

#### Evaluation on fertilizer effects of *Trichoderma viridis* bio-organic fertilizer in different production processes

DENG Jie<sup>1, 2</sup>, WANG Yu-yun<sup>1</sup>, TANG Wei<sup>1</sup>, WEI Yu-quan<sup>2, 3</sup>, LI Ji<sup>2, 3</sup>, XU Zhi<sup>1, 2\*</sup> [1. College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming Yunnan 650201; 2. Organic Recycling Research Institute (Suzhou), China Agricultural University, Suzhou Jiangsu 215100; 3. College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193]

**Abstract:** Functional microorganisms in bio-organic fertilizer are the core of bio-organic fertilizer efficiency. The manufacturing process of bio-organic fertilizer determines the number and application effect of functional microorganisms. *Trichoderma viride* has both growth promoting and biological control functions and has been widely used in the preparation of bio-organic fertilizer. *Trichoderma viridis* was inoculated into compost materials with different maturity (GI value of 50%, 80% and 100%) by dilution inoculation method and secondary fermentation method respectively to prepare bio-organic

fertilizer. Pot experiment was conducted to study the colonization ability of the two types of bio-organic fertilizer in the roots of pepper and its control effect on pepper blight. The results showed that 24 days after application of bioorganic fertilizer, when the bioorganic fertilizer was produced by secondary fermentation (the bioorganic fertilizer produced by secondary fermentation after inoculation with *Trichoderma viridis* when the GI value of compost material was 50%, 80% and 100%, respectively) in the root colonization amount of *Trichoderma viridis* in pepper plants was  $1.5 \times 10^5$ ,  $2.3 \times 10^5$  and  $1.02 \times 10^5$  CFU/g, respectively. When the bioorganic fertilizer was produced according to dilution inoculation method (bioorganic fertilizer produced by *Trichoderma viridis* inoculated according to dilution ratio when the GI value of compost material was 50%, 80% and 100%, respectively), the colonization amount of *Trichoderma viridis* was  $0.29 \times 10^5$ ,  $0.72 \times 10^5$  and  $0.24 \times 10^5$  CFU/g, respectively. When the GI value was 80%, the bioorganic fertilizer inoculated with *Trichoderma viridis* and produced by secondary fermentation showed the strongest colonization ability in the rhizosphere of capsicum. The control effect of bioorganic fertilizer treated with secondary fermentation was significantly higher than that of the bioorganic fertilizer treated with *Trichoderma viridis* inoculated with dilution ratio, and the bioorganic fertilizer produced with GI value of 80% was the best. The bioorganic fertilizer produced by secondary fermentation after inoculation with *Trichoderma viridis* was inoculated with 80% GI. The results showed that the proliferation of *Trichoderma viridis* after 7 days was 3.91 times, showing the best proliferation and colonization effect of functional microorganisms. In conclusion, the best way to prepare *Trichoderma viridis* bioorganic fertilizer is to inoculum *Trichoderma viridis* in compost with 80% rot degree for secondary fermentation, which can not only improve the colonization effect of *Trichoderma viridis* bioorganic fertilizer, but also improve the disease resistance effect.

**Key words:** composting materials with different degrees of maturation; inoculation process; *Trichoderma viride*; colonization ability; control effect