

# 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗质量特性及枯萎病防效的影响

王依纯<sup>1</sup>, 廉华<sup>1\*</sup>, 马光恕<sup>1\*</sup>, 李梅<sup>2</sup>, 高长敏<sup>1</sup>, 台莲梅<sup>1</sup>, 曲虹云<sup>3</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学农学院, 大庆 163319; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100081; 3. 黑龙江省农业科学院园艺分院, 哈尔滨 150069)

**摘要:** 黄瓜枯萎病是设施黄瓜栽培中最为常见且为害严重的土传真菌病害, 应用生防菌防治黄瓜枯萎病, 对黄瓜安全生产有重要意义。试验采用前期筛选的对黄瓜枯萎病菌有较好拮抗效果的3株木霉菌, 即棘孢木霉 *Trichoderma asperellum* 525、哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886, 利用盆栽试验, 测定了木霉菌不同施用方式对黄瓜幼苗质量及枯萎病防效的影响。3种施用方式分别为 T1 (木霉与病原菌同时接种)、T2 (先接种木霉菌, 2 d 后接种病原菌) 和 T3 (先接种病原菌, 2 d 后接种木霉)。结果显示, 3株木霉菌对黄瓜枯萎病的防效均在 64.78% 以上, 且以拟康氏木霉 886 的 T2 施用方式的防效最高, 达到 81.54%。在播种后 8~14 d, 所有木霉菌处理的黄瓜幼苗壮苗指数、叶绿素含量、根系活力、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系总吸收面积均比 CK1 (只接种病原菌孢子悬液) 显著上升, 3种施用方式中以 T2 处理对上述 6 项指标的促进效果最显著, 并以拟康氏木霉 886 在播种后 14 d 的 6 项指标增加幅度最大, 该处理的黄瓜壮苗指数、叶绿素含量、根系活力、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系总吸收面积的增加幅度分别达到 210.06%、74.39%、37.23%、54.45%、88.00% 和 51.11%。本研究的 3 株木霉菌通过提高黄瓜幼苗生理代谢活性, 增强了幼苗质量, 提高了对黄瓜枯萎病的抗性, 在应用中, 提前施入木霉菌, 有利于提高黄瓜幼苗对病害的防治效果, 为后期提高黄瓜产量和品质奠定基础条件。

**关键词:** 木霉菌; 黄瓜; 枯萎病; 生理特性; 壮苗指标

中图分类号: S476 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2019)03-0416-10

## Effects of Application Modes of *Trichoderma* on Seedling Quality Characteristics of Cucumber and Control Effect against *Fusarium* Wilt

WANG Yichun<sup>1</sup>, LIAN Hua<sup>1\*</sup>, MA Guangshu<sup>1\*</sup>, LI Mei<sup>2</sup>, GAO Changmin<sup>1</sup>, TAI Lianmei<sup>1</sup>, QU Hongyun<sup>3</sup>

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Horticulture Branch, Harbin 150069, China)

**Abstract:** Cucumber *Fusarium* wilt is one of common and serious soil-borne fungal disease in protected cucumber cultivation, and biological control of Cucumber *Fusarium* wilt is of great significance to the safe production of cucumber. In this study, the effect of application modes of three *Trichoderma* strains on the seedling quality characteristics and control effects against fusarium wilt of cucumber through pot culture were evaluated. The three *Trichoderma* strains were *Trichoderma asperellum* 525, *Trichoderma harzianum* 610, and *Trichoderma pseudokoningii* 886 with anti-*Fusarium oxysporum* activity. The three application modes of the 3 strains were T1 (simultaneous inoculation of *Trichoderma* and pathogen), T2 (inoculation of *Trichoderma* first, and then pathogen 2 days later) and T3 (inoculation with pathogen first, and then *Trichoderma* 2 days later). The results showed that the control efficacies of *Trichoderma* against Cucumber *Fusarium* Wilt were all above 64.78%, and the application

收稿日期: 2018-11-28

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (QC2016035)

作者简介: 王依纯, 硕士研究生, E-mail: 2692521789@qq.com; \*通信作者, 廉华, 教授, E-mail: yy6819184@126.com; 马光恕, 教授, E-mail: mgs\_lh@163.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2019.03.008

mode T2 of *T. pseudokoningii* 886 was the most effective, with control efficacy of 81.54%. Compared with CK1 (inoculation with pathogen alone), vigorous seedling index, chlorophyll content, root activity, nitrate nitrogen content, nitrate reductase activity, root total absorbing area of cucumber seedlings significantly improved. Among the three application modes, T2 had the most promoting effect on the above 6 indicators of the cucumber seedlings at 8-14 d after sowing. *T. pseudokoningii* 886 had significant increased vigorous seedling index, chlorophyll content, root activity, nitrate nitrogen content, nitrate reductase activity, root total absorbing area of cucumber seedlings at 14 days after sowing, by 210.06%, 74.39%, 37.23%, 54.45%, 88.00% and 51.11%, respectively. The results showed that the three *Trichoderma* strains can improve the physiological metabolic activity and enhance the seedling quality, therefore restrain the incidence of Cucumber Fusarium wilt. Application of *Trichoderma* preparations in advance will be beneficial to the disease control of cucumber seedlings and lay the foundation for the improvement of the yield and quality of Cucumber in the later period.

**Key words:** *Trichoderma*; cucumber; Fusarium wilt; physiological characteristics; vigorous seedling index

黄瓜是设施栽培的主要蔬菜之一, 种植面积已达到设施蔬菜栽培面积的 5%<sup>[1]</sup>。黄瓜枯萎病是由尖孢镰刀菌黄瓜专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (FOC) 引起的一种土传真菌病害<sup>[2]</sup>, 在我国各地均有发生。一般可造成黄瓜产量下降 10%~30%, 严重时可达 80%~90%<sup>[3]</sup>, 是为害黄瓜设施生产的主要病害之一, 严重影响了黄瓜设施生产的可持续发展。

木霉 *Trichoderma viride* 是重要的土壤习居菌<sup>[4]</sup>。一些木霉菌具有对病原菌拮抗、重寄生等作用, 具有安全、持久、有效等特点, 成为国内外研究和利用最多的生防微生物之一。利用木霉菌防治由镰刀菌引起的蔬菜土传病害, 已有较多的研究报道。如庄敬华等<sup>[5]</sup>报道了黄瓜幼苗经绿色木霉菌 T23 分生孢子和厚垣孢子处理后, 黄瓜枯萎病的病情指数由 33.69 分别降至 13.12 和 10.28, 防御酶活性明显增加; Segarra 等<sup>[6]</sup>研究也发现, 利用棘孢木霉 *T. asperellum* T34 处理对番茄枯萎病具有很好的防治效果。木霉菌不仅在生物防治方面有很重要的作用, 在促进植物生长方面也有很大的作用。如施用深绿木霉可提高番茄根、茎和叶的干重, 明显提高番茄产量<sup>[7]</sup>; Ainhua 等<sup>[8]</sup>研究发现, 利用木霉可通过调控激素水平促进甜瓜幼苗期的生长; 陈臻等<sup>[9]</sup>利用长枝木霉 *T. longibrachiatum* T6 菌株分生孢子悬浮液处理 3 种禾本科和 3 种豆科牧草的种子及幼苗, 发现不同浓度的孢子悬浮液均能促进幼苗根长、芽长及干重增加, 增加幼苗叶绿素含量、根系活力, 说明长枝木霉对牧草有明显的促生作用。

以上研究多从木霉菌的防病效果、施用后对植物的生物学特性、理化特性、产量等影响开展研究, 对木霉菌施用方式的研究较少。本研究拟采用前期筛选出的对黄瓜枯萎病菌有较好拮抗作用的 3 株木霉菌, 棘孢木霉 525、哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886, 研究木霉菌不同施用方式对黄瓜幼苗质量、生理特性及对黄瓜枯萎病的防治效果, 为有效利用木霉菌、提高防治效果, 为黄瓜安全、高产、优质栽培提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试黄瓜品种 长春密刺, 购买于山东新泰市裕园种业有限公司。

1.1.2 供试培养基 马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基 (PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 10 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 自然。马铃薯葡萄糖液体培养基 (PD): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 自然。

1.1.3 供试菌株 棘孢木霉 525 (A)、哈茨木霉 610 (B)、拟康氏木霉 886 (C), 均由中国农业科学院植物保护研究所木霉菌研究组提供。黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium* Owen, 由中国农业科学院植物保护研究所土传病害生物防治研究组提供。

1.1.4 供试土壤 供试土壤为草炭土, 土壤过 1 mm 筛后于烘箱中 160 °C 高温灭菌 2 h, 自然冷却后继续 160 °C 烘 2 h 后放凉备用。

## 1.2 木霉菌孢子悬液和病原菌孢子悬浮液的制备

1.2.1 木霉孢子悬液的制备 将3种木霉菌分别在马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基(PDA)上, 28℃活化培养3d, 从菌落边缘取直径5mm的菌饼, 转接到PDA培养基上, 28℃培养7d, 用无菌水洗下孢子, 制成木霉孢子悬液。用血球计数板测定孢子数, 并将孢子数调整 $1.5 \times 10^8$ 孢子/mL备用。

1.2.2 病原菌孢子悬液的制备 将黄瓜枯萎病原菌接种于马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基(PDA)上, 28℃下培养3d, 从菌落边缘取直径5mm的菌饼5块, 接种在含有100mL马铃薯葡萄糖液体培养基(PD)的250mL的三角瓶中, 28℃、120 r/min摇床振荡培养7d, 发酵液5000 r/min离心10 min, 沉淀后的孢子重新悬浮于无菌水中, 得到病原菌孢子悬液。用血细胞计数板测定孢子数, 并将孢子数调整为 $1 \times 10^5$ 孢子/mL。

## 1.3 盆栽试验方法

1.3.1 试验设计 试验在黑龙江八一农垦大学农学院教学基地现代化温室内进行, 取灭菌后试验土, 装入塑料育苗盘(34.5 cm×24 cm×11 cm)中, 每盘播种催芽后的黄瓜种子80粒, 出苗后均匀保留50株。播种后每2d浇施1000 mL无菌水, 保持黄瓜正常生长状态。

黄瓜播种后5d即第一片真叶初展时, 利用木霉孢子悬液和病原菌孢子悬浮液进行灌根接种处理。每棵黄瓜幼苗接种量为3 mL即每盘加入150 mL的接种量。试验设置5个处理, 每个处理3盘, 随机区组设计, 设置5次重复。

试验处理如下: 木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液同时接种, 设为T1; 木霉孢子悬液先接种, 2d后接种病原菌孢子悬液, 设为T2; 病原菌孢子悬浮液先接种, 2d后接种木霉孢子悬液, 设为T3; 只接种病原菌孢子悬液, 设为CK1; 只接种无菌水, 设为CK2。

1.3.2 试验测定指标与方法 试验于播种后8、10、12和14d各取样1次, 共取样4次。每次均对黄瓜幼苗质量指标、生理指标和抗病性指标进行测定。

幼苗质量指标测定方法: 株高, 茎基部到生长点的距离(cm), 用软尺测定; 茎粗, 第一片叶下部节间中部直径(mm), 用游标卡尺测定<sup>[10]</sup>。

地上部、地下部干重测定: 植株利用清水反复冲洗, 再用吸水纸吸干, 然后将鲜样在105℃杀青15 min后, 70℃烘至恒重, 用1/1000电子天平测定干重<sup>[11]</sup>。

壮苗指数参照杨龙元等<sup>[12]</sup>计算方法, 利用公式: 壮苗指数=(茎粗/株高+根干质量/地上部干质量)×全株干质量, 进行计算。

生理指标测定方法: 叶绿素含量, 采用丙酮乙醇法<sup>[13]</sup>; 硝态氮含量, 采用酚二磺酸法<sup>[14]</sup>; 根系活力, 采用 $\alpha$ -萘胺氧化法<sup>[15]</sup>; 硝酸还原酶活性, 采用活体分光光度法<sup>[16]</sup>; 根系总吸收面积, 参照Bramley等<sup>[17]</sup>方法, 采用甲烯蓝法。

抗病性指标测定方法: 抗病性指标包括植株成活率、发病率、病情指数、防治效果。

植株成活率和发病率分别为播种后14d各处理成活株数和发病株数占调查总株数的百分比。

黄瓜苗期枯萎病参照张素平<sup>[18]</sup>的分级标准, 0级: 无症状; 1级: 真叶、子叶黄化或萎蔫面积不超过总面积的50%; 2级: 真叶、子叶黄化或萎蔫面积超过总面积的50%; 3级: 叶片萎蔫或枯死, 仅生长点存活; 4级: 全株严重萎蔫, 以致枯死。病情指数参照宗兆锋和康振生<sup>[19]</sup>的计算方法, 病情指数= $\sum$ (病级株数×代表级数)/(植株总数×最高代表级值)×100; 防治效果(%)=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数×100。

## 1.4 数据统计与分析

利用Microsoft Excel 2007 软件进行图表制作, 利用DPS7.05 进行差异显著性分析。

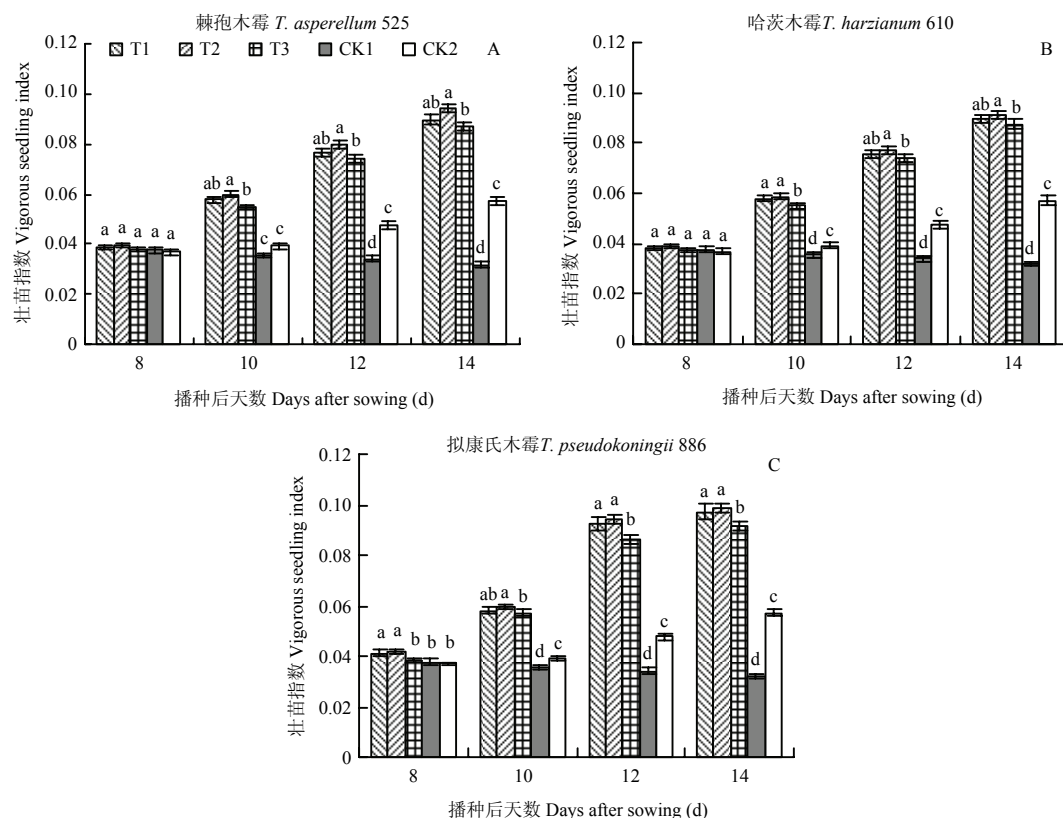
# 2 结果与分析

## 2.1 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗壮苗指数的影响

只接种病原菌孢子悬液(CK1)处理下黄瓜幼苗壮苗指数缓慢下降, 只接种无菌水(CK2)处理下黄瓜幼苗壮苗指数则缓慢上升。木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液同时接种(T1)、接种木霉孢子悬液2d后再接种病原菌孢子悬液(T2)和接种病原菌孢子悬浮液2d后再接种木霉孢子悬液(T3)3个处理的黄瓜

幼苗壮苗指数均显著上升。

与 CK1 相比,播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗壮苗指数均显著上升,其中 T2 上升最为显著,且均高于同时期 CK2 水平。在播种后同一时期,黄瓜幼苗壮苗指数均以拟康氏木霉 886 最高、哈茨木霉 610 最低、棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d,3 种木霉处理的黄瓜幼苗壮苗指数均表现为 T2>T1>T3>CK2>CK1,3 种木霉在 T2 处理下的黄瓜幼苗壮苗指数分别比 CK1 增高了 196.23%、186.79%和 210.06% (图 1)。



注: 图中正负误差线表示标准差大小, 不同小写字母表示同一种木霉在同一时期各处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: Values in the chart were mean ± SE. Different small letters indicated significant difference at 0.05 level among different treatments for the same *Trichoderma* in the same period. The same as following.

图1 木霉施用方式对黄瓜幼苗壮苗指数的影响

Fig. 1 Effects of application modes of *Trichoderma* on vigorous seedling index of cucumber

## 2.2 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

CK1 处理下黄瓜幼苗叶绿素含量呈现先升高再下降的单峰曲线, 且在播种后 12 d 达到最高值。CK2 处理下黄瓜幼苗叶绿素含量则缓慢上升。经木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液处理的 3 个处理中, T1、T2、T3 黄瓜幼苗叶绿素含量均呈缓慢上升变化规律。与 CK1 相比, 播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗叶绿素含量均缓慢上升, 其中 T2 上升相对显著且高于同时期 CK2 水平。在播种后同一时期, 黄瓜幼苗叶绿素含量均以拟康氏木霉 886 最高, 哈茨木霉 610 最低, 棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d, 3 种木霉的黄瓜幼苗叶绿素含量均表现为 T2>T1>T3>CK2>CK1, 3 种木霉在 T2 处理下的黄瓜幼苗叶绿素含量分别比 CK1 增高了 63.41%、59.76%和 74.39% (图 2)。

## 2.3 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗根系活力的影响

CK1 处理下黄瓜幼苗根系活力与叶绿素变化规律一致, 且在播种后 12 d 达到最高值。CK2 处理下黄瓜幼苗根系活力则缓慢上升。经木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液处理的 3 个处理中, T1、T2、T3 黄瓜幼苗根系活力均呈缓慢上升变化规律。与 CK1 相比, 播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗根系活

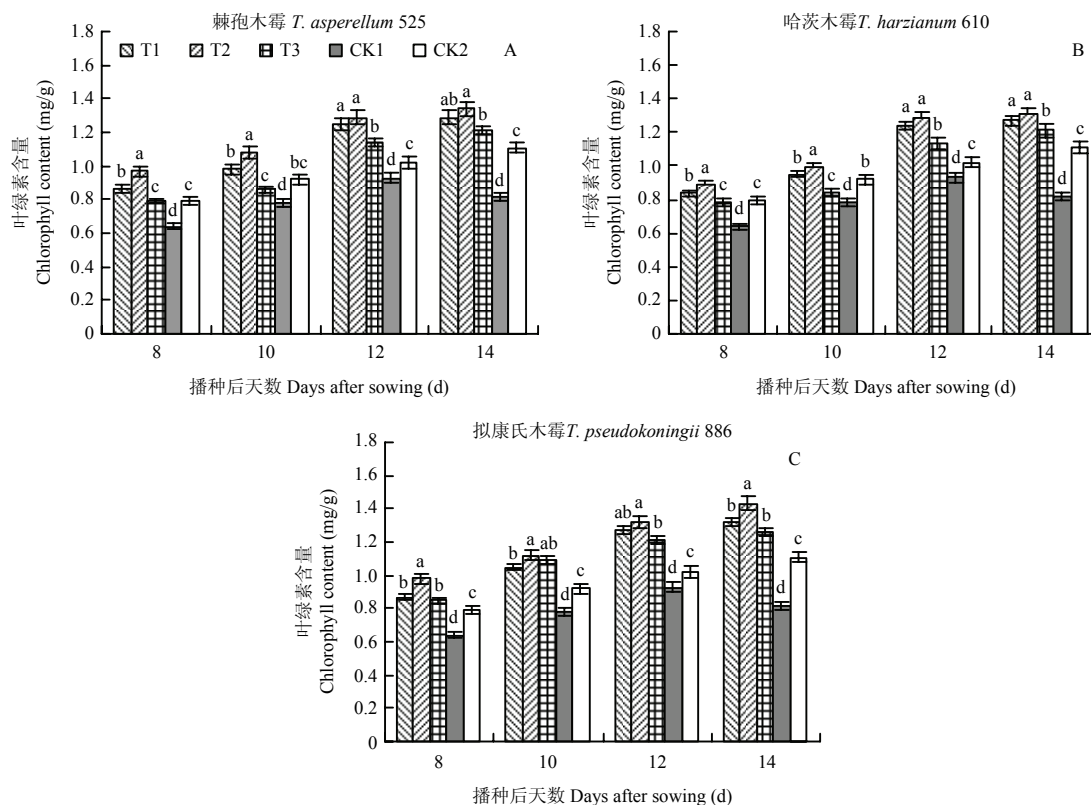


图 2 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of application modes of *Trichoderma* on chlorophyll content of cucumber seedlings

力均缓慢上升, 其中 T2 上升相对显著且高于同时期 CK2 水平。在播种后同一时期, 黄瓜幼苗根系活力均以拟康氏木霉 886 最高, 哈茨木霉 610 最低, 棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d, 3 种木霉的黄瓜幼苗根系活力均表现为  $T2 > T1 > T3 > CK2 > CK1$ , 3 种木霉在 T2 处理下的黄瓜幼苗根系活力分别比 CK1 增高了 32.98%、27.36% 和 37.23% (图 3)。

#### 2.4 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片硝态氮含量的影响

CK1 处理下黄瓜幼苗叶片硝态氮含量变化规律与叶绿素变化规律一致, 且在播种后 12 d 达到最高值。CK2 处理下黄瓜幼苗叶片硝态氮含量则缓慢上升。经木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液处理的 3 个处理中, T1、T2、T3 黄瓜幼苗叶片硝态氮含量均呈显著上升变化规律。与 CK1 相比, 播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗叶片硝态氮含量均显著上升, 其中 T2 上升最为显著且高于同时期 CK2 水平。在播种后同一时期, 黄瓜幼苗叶片硝态氮含量均以拟康氏木霉 886 最高, 哈茨木霉 610 最低, 棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d, 3 种木霉的黄瓜幼苗叶片硝态氮含量均表现为  $T2 > T1 > T3 > CK2 > CK1$ , 3 种木霉在 T2 处理下的黄瓜幼苗叶片硝态氮含量分别比 CK1 增高了 49.15%、45.55% 和 54.45% (图 4)。

#### 2.5 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性的影响

CK1 处理下黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性与硝态氮变化规律一致, 且在播种后 12 d 达到最高值。CK2 处理下黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性则缓慢上升。经木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液处理的 3 个处理中, T1、T2、T3 黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性均呈显著上升变化规律 (表 1)。

与 CK1 相比, 播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性均显著上升, 其中 T2 上升最为显著且高于其同时期 CK2 水平。在播种后同一时期同一施用方式下, 黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性均以拟康氏木霉 886 最高, 哈茨木霉 610 最低, 棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d, 3 种木霉的黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性均表现为  $T2 > T1 > T3 > CK2 > CK1$ , 3 种木霉在 T2 处理下处理下的黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性分别比 CK1 增高了 85.33%、76.00% 和 88.00%。



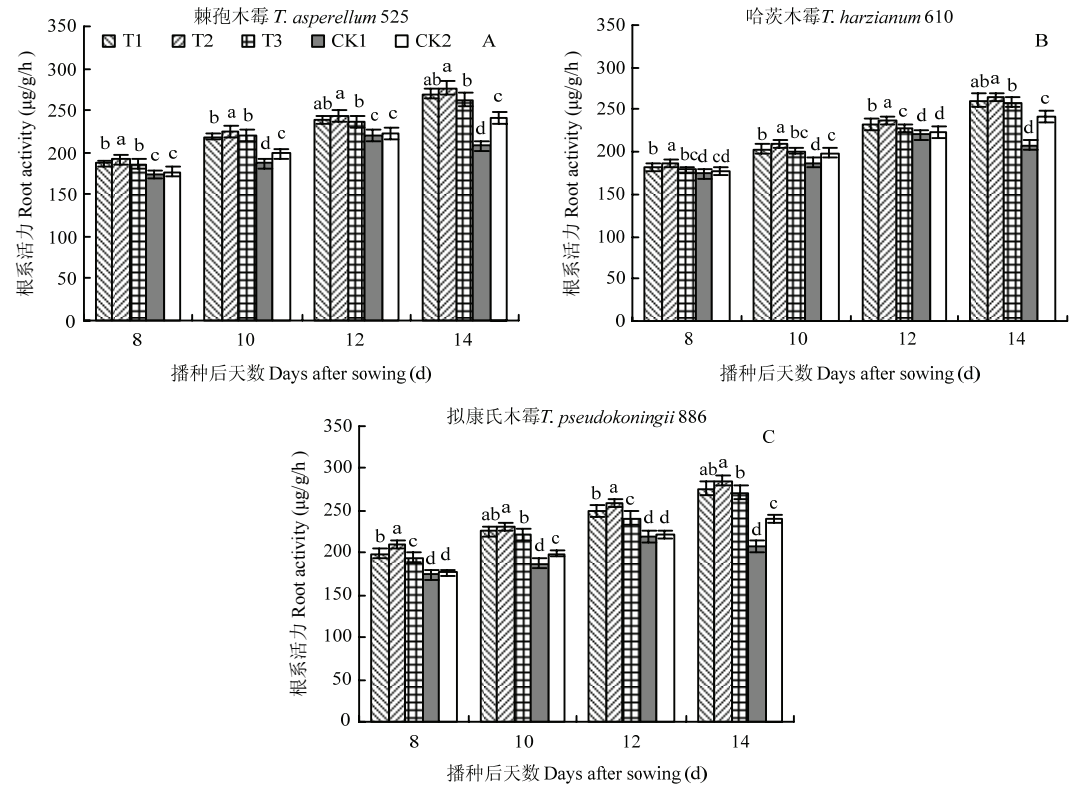


图 3 木霉施用方式对黄瓜幼苗根系活力的影响

Fig. 3 Effects of application modes of *Trichoderma* on root activity of cucumber seedlings

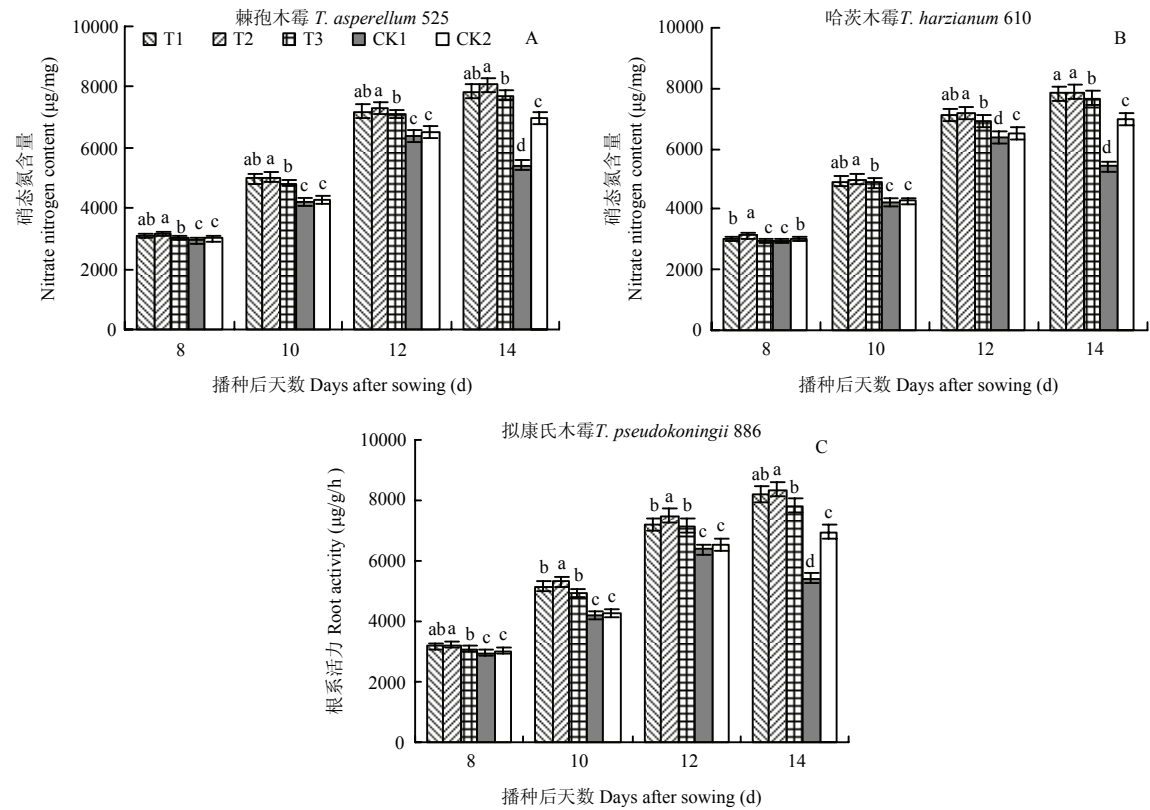


图 4 木霉施用方式对黄瓜幼苗硝态氮含量的影响

Fig. 4 Effects of application modes of *Trichoderma* on nitrate nitrogen content of cucumber seedling

表 1 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性的影响 (μg/g/h)

Table 1 Effects of application modes of *Trichoderma* on leaf nitrate reductase activity of cucumber seedlings (μg/g/h)

菌种 Species	处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)			
		8	10	12	14
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i> 525	T1	0.34±0.02 cC	0.53±0.03 cB	1.06±0.08 bcB	1.28±0.08 bcA
	T2	0.41±0.03 bB	0.57±0.04 bB	1.09±0.07 bB	1.39±0.06 aA
	T3	0.31±0.02 dC	0.51±0.02 cdB	1.02±0.06 cB	1.31±0.07 bA
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 610	T1	0.29±0.01 deC	0.49±0.03 dB	0.94±0.04 dB	1.25±0.08 cA
	T2	0.39±0.01 bB	0.54±0.04 cB	0.98±0.05 cdB	1.32±0.07 bA
	T3	0.25±0.01 eC	0.42±0.03 aA	0.89±0.03 eB	1.22±0.05 cA
拟康氏木霉 <i>T. pseudokoningii</i> 886	T1	0.38±0.02 bB	0.59±0.02 bB	1.09±0.08 bB	1.34±0.09 bA
	T2	0.49±0.02 aA	0.68±0.03 aA	1.17±0.09 aA	1.41±0.09 aA
	T3	0.29±0.01 deC	0.51±0.03 cdB	1.05±0.07 bcB	1.25±0.08 cA
	CK1	0.27±0.01 eC	0.39±0.01 fD	0.87±0.06 eB	0.75±0.04 eC
	CK2	0.34±0.02 cC	0.45±0.02 eC	0.91±0.06 dB	1.08±0.08 dB

注：表中的数值分别代表平均值±标准差，同一列中的小写字母和大写字母分别代表差异达 0.05 和 0.01 水平的显著性。下同。  
Note: Values in the table were mean±SE. Different small and capital letters in the same column indicated significant difference at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same as following.

2.6 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗根系总吸收面积的影响

CK1 处理下黄瓜幼苗根系总吸收面积变化规律与根系活力变化规律一致，且在播种后 12 d 达到最高值。CK2 处理下黄瓜幼苗根系总吸收面积则缓慢上升，在播种后 14 d 是其播种后 8 d 的 1.28 倍。经木霉孢子悬液与病原菌孢子悬液处理的 3 个处理中，T1、T2、T3 黄瓜幼苗根系总吸收面积均呈显著上升变化规律。

与 CK1 相比，播种后各时期 T1、T2、T3 处理下的黄瓜幼苗根系总吸收面积均显著上升，其中 T2 上升最为显著且高于同时期 CK2 水平。在播种后同一时期，黄瓜幼苗根系总吸收面积均以拟康氏木霉 886 最高，哈茨木霉 610 最低，棘孢木霉 525 居中。在播种后 14 d，3 种木霉的黄瓜幼苗根系总吸收面积均表现为 T2>T1>T3>CK2>CK1，3 种木霉 T2 处理的黄瓜幼苗根系总吸收面积分别比 CK1 增高了 40.00%、28.89%和 51.11%（表 2）。

2.7 木霉不同施用方式对黄瓜枯萎病盆栽试验防治效果的影响

3 种木霉 T1、T2、T3 处理与 CK1 间成活率、发病率均呈现出显著差异，CK1 成活率显著低于 3 种木

表 2 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗根系总吸收面积的影响 (m²)

Table 2 Effects of application modes of *Trichoderma* on root total absorbing area of cucumber seedling (m²)

菌种 Species	处理 Treatment	播种后天数 Days after sowing (d)			
		8	10	12	14
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i> 525	T1	0.46±0.02 abA	0.51±0.03 bA	0.55±0.03 bcA	0.59±0.03 cA
	T2	0.47±0.01 aA	0.52±0.02 abA	0.56±0.03 bA	0.63±0.04 bA
	A3	0.46±0.02 abA	0.51±0.02 bA	0.54±0.03 cA	0.56±0.02 dA
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 610	T1	0.44±0.01 bA	0.49±0.02 bcA	0.54±0.03 cA	0.56±0.02 dA
	T2	0.45±0.02 abA	0.49±0.03 bcA	0.52±0.03 cdA	0.58±0.03 cA
	T3	0.44±0.01 bA	0.48±0.03 cA	0.52±0.02 cdA	0.55±0.03 dA
拟康氏木霉 <i>T. pseudokoningii</i> 886	T1	0.48±0.02 aA	0.52±0.04 abA	0.57±0.02 abA	0.65±0.04 abA
	T2	0.49±0.01 aA	0.54±0.04 aA	0.59±0.02 aA	0.68±0.05 aA
	T3	0.47±0.02 aA	0.51±0.03 bA	0.55±0.02 bcA	0.61±0.04 bcA
	CK1	0.41±0.02 cA	0.46±0.02 cA	0.49±0.01 eA	0.45±0.02 eA
	CK2	0.43±0.01 bcA	0.47±0.02 cA	0.51±0.02 deA	0.55±0.03 dA

霉 T1、T2、T3 处理，而 CK1 发病率则显著高于 3 种木霉 T1、T2、T3 处理。CK1 的病情指数显著高于 3 种木霉 T1、T2、T3 处理，而 3 种木霉中 T3 处理病情指数间差异不显著但均显著高于 T1、T2 处理，T1、T2 处理的病情指数间无显著差异。

而对于盆栽防治效果而言，拟康氏木霉 886 的 T2 处理则显著高于其他处理，达到 81.54%；棘孢木霉 525 的 T1 和 T2 处理、哈茨木霉 610 的 T1 和 T2 处理以及拟康氏木霉 886 的 T1 处理间防治效果差异均不显著；3 个木霉菌 T3 处理对黄瓜枯萎病的防治效果差异均不显著，但均显著低于其他处理（表 3）。

表 3 木霉不同施用方式对黄瓜枯萎病盆栽防效的影响

Table 3 Effect of application modes of <i>Trichoderma</i> on the control efficiency of potted plant against cucumber <i>Fusarium</i> wilt				
处理 Treatment	成活率 Survival rate (%)	发病率 Incidence rate (%)	病情指数 Disease index	防治效果 Control efficiency (%)
A-T1	92.76±4.56 aA	13.45±0.89 bcB	11.71±0.78 cC	76.43±4.11 bB
A-T2	93.12±5.12 aA	8.13±0.98 dC	10.64±0.25 cC	78.63±2.87 bB
A-T3	91.87±6.29 aA	16.46±0.76 bB	17.19±0.47 bB	65.31±3.74 cC
B-T1	92.65±5.95 aA	15.38±0.54 bB	11.84±0.82 cC	76.04±5.27 bB
B-T2	93.34±2.78 aA	10.29±0.56 cB	10.69±0.34 cC	78.43±2.11 bB
B-T3	91.87±7.56 aA	18.45±0.86 bB	17.41±0.65 bB	64.78±3.19 cC
C-T1	94.22±8.66 aA	10.52±0.37 cB	11.36±0.37 cC	77.03±5.28 bB
C-T2	95.56±3.19 aA	7.47±1.11 dC	9.15±0.45 cC	81.54±1.78 aA
C-T3	93.78±8.29 aA	15.76±0.87 bB	16.26±0.38 bB	67.23±4.38 cC
CK1	48.23±2.19 bB	94.56±6.22 aA	49.39±1.26 aA	—

3 讨论

木霉菌作为防治植物土传病害的重要生防菌，在农业生产上得到广泛应用，至少对 18 个属 20 余种病原真菌和多种病原细菌有拮抗作用<sup>[20]</sup>。木霉菌不仅能防治各类植物的土传病害，以及部分叶部和穗部病害，还具有促进植物生长、增强植物抗逆性等功能<sup>[21]</sup>。

利用木霉菌防治土传病害已有较多的研究，如贺字典等<sup>[22]</sup>施用 500×木霉菌肥、100×枯草芽胞杆菌 7 d 后对黄瓜根腐病的防效分别达到 100%和 92.5%；李晶等<sup>[23]</sup>利用枯草芽胞杆菌 B29 发酵液浸种和灌根防治黄瓜枯萎病效果显著，防效达 84.9%；Segarra 等<sup>[24]</sup>研究也发现，利用棘孢木霉 T34 对番茄枯萎病具有很好的防治效果。而本研究中的 3 株木霉菌对黄瓜枯萎病的防效均高于 64.78%，病情指数由对照的 49.4 降低到 9.2，显示这 3 株木霉菌对黄瓜枯萎病的防效均高于文献报道，有重要的田间应用前景。

木霉不仅能直接拮抗植物病原微生物，还可以诱导植物产生系统抗性<sup>[25]</sup>，从而达到对植物的防病促生作用。植物的根系活力、根系总吸收面积是反映根系活性强弱的重要指标<sup>[26]</sup>，而壮苗指数则是幼苗质量的综合数量化指标，是评价幼苗质量优劣的主要参考<sup>[27]</sup>。植物各种生理指标的变化能够反映植株质量的强弱，如叶绿素含量反映了植物光合作用的强弱<sup>[28]</sup>，叶中硝态氮含量是氮素同化和利用的主要指标，硝酸还原酶的活性高低直接影响植物体对氮素营养的利用效果，这些指标均会对作物品质和产量产生一定的影响<sup>[29]</sup>。因此，本研究检测了壮苗指数、叶绿素含量、根系活力、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系总吸收面积等 6 个指标，研究木霉菌处理对黄瓜幼苗的生长及生理活性的影响，探索木霉菌防病、促生作用的机制。

关于木霉促进植物生长、提高植物生理活性已经有了很多报道，如王永阳<sup>[30]</sup>利用绿木霉、棘孢木霉处理苦瓜苗，可以有效地提高植物的根系活力，同时提高了株高、茎粗、干重、鲜重等生长指标；张敏等<sup>[31]</sup>采用木霉 L24 分生孢子可湿性粉剂浸种和叶面喷施方式处理小麦，发现其均对小麦的根长、叶面积和苗高均有促进作用，且能有效提高小麦叶绿素含量和根系活力，对植物生长有促进作用；朱双杰<sup>[32]</sup>研究发现，哈茨木霉 TH-1 的代谢液明显提高了白菜、菠菜和辣椒地上部分的鲜重，并显著增加了白菜、菠菜和辣椒叶绿素的含量和硝酸还原酶的活性，表明哈茨木霉 TH-1 的代谢液具有促进植物生长的能力；翟子鹤等<sup>[33]</sup>



研究发现,绿色木霉菌剂、枯草芽胞杆菌菌剂和西瓜专用菌剂对西瓜的促生效果均较为显著,株高、茎粗、地上部鲜质量、根冠比、壮苗指数等指标高于不加菌剂的对照。本研究中的3种木霉菌T1、T2、T3处理下黄瓜幼苗壮苗指数、叶绿素含量、根系活力、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系总吸收面积均比对照显著上升,提前施用木霉菌的处理(T2)对上述6个指标促进效果最显著,3种木霉中以拟康氏木霉最高886在播种后14 d对6个指标增加幅度最大。

台莲梅等<sup>[34]</sup>长枝木霉菌 T115D 发酵液和大豆疫霉菌同时灌根的处理防效高于先灌根发酵液后灌疫霉菌处理的盆栽防效,同时接有孢子的木霉发酵液和疫霉菌的处理防治效果达到51.8%。与刘明鑫等<sup>[35]</sup>利用棘孢木霉菌437防治黄瓜立枯病,发现木霉菌和病原菌同时接种有利于提高防效的研究结果相一致。而本研究中的木霉菌3种施用方式中,先接种木霉菌,2 d后接种病原菌,对病害的防治效果最好,同时对黄瓜幼苗的生长、生理活性的促进作用最强,与谢梓语等<sup>[36]</sup>利用枯草芽胞杆菌株B1409防治番茄早疫病和辣椒疫霉病,莫贱友等<sup>[37]</sup>利用17种木霉菌株拮抗香蕉枯萎病原菌,余小兰等<sup>[38]</sup>利用82种菌株防治甜瓜枯萎病原菌的研究结果相类似。其原因可能是本研究的木霉菌株具有较好的促进植物生长的作用,同时先接种木霉菌可先定殖形成群体,提高了对病原菌的拮抗能力,诱导植物抗病性的作用也相对增强。因此,在实际应用中,提前施入木霉菌有利于提高黄瓜幼苗质量、提高防病能力和防治效果,为后期提高黄瓜产量和品质奠定基础。本研究检测了木霉菌不同施用方式对黄瓜枯萎病防治效果的盆栽试验,与大田试验存在一定的差异,因此,木霉菌对黄瓜枯萎病的田间防治效果需要进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] 沈辰,熊露,韩书庆,等.我国果菜类蔬菜生产与流通形势分析[J].中国蔬菜,2017(9):7-11
- [2] Shen W, Lin X, Zhang H, *et al.* Land use intensification affects soil microbial populations, functional diversity and related suppressiveness of cucumber *Fusarium* wilt in China's Yangtze River Delta[J]. Plant and Soil, 2008, 306(2): 117-127.
- [3] 蒲子婧,张艳菊,刘东,等.黄瓜枯萎病生物防治策略研究进展[J].中国蔬菜,2011,1(6):9-14.
- [4] 杨合同.木霉分类与鉴定[M].北京:中国大地出版社,2009
- [5] 庄敬华,高增贵,杨长城,等.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的影响[J].植物病理学报,2005,35(2):179-183
- [6] Segarra G, Casanova E, Avilés M, *et al.* *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron[J]. Microbial Ecology, 2010, 59(159): 141-149.
- [7] Gravel V, Antoun H, Tweddell R J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid(IAA)[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(8): 1968-1977.
- [8] Ainhua M M, Alguacil M D M, Pascual J A, *et al.* Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth - promoting activity on melon plants[J]. Journal of Chemical Ecology, 2014, 40(7): 804-815.
- [9] 陈臻,古丽君,徐秉良,等.长枝木霉对6种牧草种子发芽与生理效应的影响[J].草地学报,2013,21(3):564-570.
- [10] 于威,颜建明,滕汉玮,等.外源谷胱甘肽对自毒作用下嫁接黄瓜及砧穗幼苗叶片抗氧化系统的影响[J].核农学报,2018,32(1):196-207
- [11] 刘爽,王宇欣,刘志丹.生物氢烷工程沼渣用于油菜及菠菜育苗的效果[J].农业工程学报,2014,30(11):225-232.
- [12] 杨龙元,袁巧霞,刘志刚,等.牛粪堆肥成型基质块蔬菜育苗灌溉方式[J].农业工程学报,2018,34(5):98-106.
- [13] 郝建军,康宗利,于洋.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2007,107-109.
- [14] 马光恕,刘明鑫,王萌,等.磷对薄皮甜瓜生理代谢和产量形成影响的研究[J].核农学报,2017,31(5):1014-1021.
- [15] 张志良.植物生理学试验指导(2版)[M].北京:高等教育出版社,2002,59-62.
- [16] 叶尚红.植物生理生化实验教程(第2版)[M].昆明:云南科技出版社,2007,60-62.
- [17] Bramley H, Turner N C, Turner D W, *et al.* Roles of morphology, anatomy, and aquaporins in determining contrasting hydraulic behavior of roots[J]. Plant Physiology, 2009, 150(1): 348-364.
- [18] 张素平.毛壳菌菌肥对黄瓜的生长、品质、产量及防病效果的影响[D].泰安:山东农业大学,2016.
- [19] 宗兆锋,康振生.植物病理学原理[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [20] Harman G E, Howell C R, Viterbo A, *et al.* *Trichoderma* species-opportunistic avirulent plant symbionts[J]. Nature reviews microbiology, 2004, 2(1): 43-56.

- [21] Harman G E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp.[J]. Phytopathology, 2006, 96(2): 190-194.
- [22] 贺字典, 吴素霞, 宋晓飞, 等. 生防菌与茄病镰刀菌在黄瓜根际动态变化[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(3): 357-364.
- [23] 李晶, 杨谦, 张淑梅, 等. 枯草芽孢杆菌 B29 菌株防治黄瓜枯萎病的田间效果及安全性评价初报[J]. 中国蔬菜, 2009, 2(2): 30-33.
- [24] Segarra G, Casanova E, Avilés M, *et al.* *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron[J]. Microbial Ecology, 2010, 59(159): 141-149.
- [25] Hermosa R, Viterbo A, Chet I, *et al.* Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes[J]. Microbiology, 2012, 158: 17-25.
- [26] Angela H, Graziella B, Claude D, *et al.* Plant root growth, architecture and function[J]. Plant and Soil, 2009, 321(1/2): 153-187.
- [27] 黄红荣, 李建明, 胡晓辉, 等. 提高营养液镁浓度可缓解黄瓜幼苗亚低温胁迫[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(3): 740-747.
- [28] 刘文海, 高东升, 束怀瑞. 不同光强处理对设施桃树光合及荧光特性的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(10): 2069-2075.
- [29] 马光恕, 刘涛, 廉华, 等. 氮钾配施对麦瓶草(面条菜) 品质性状及相关酶活性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2013(4): 77-82.
- [30] 王永阳. 防治苦瓜枯萎病的木霉菌株分离鉴定、定殖检测及其防病促生理理[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.
- [31] 张敏, 胡丽, 杨春平, 等. 木霉 L24 菌株对小麦幼苗生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(4): 1765-1766, 1785.
- [32] 朱双杰. 哈兹木霉对植物的促生作用及其机制研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2007.
- [33] 翟子鹤, 李伟强, 傅士杰, 等. 7 种生物菌剂对西瓜枯萎病的防治作用[J]. 中国蔬菜, 2018(5): 57-62.
- [34] 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.
- [35] 刘明鑫, 马光恕, 廉华, 等. 棘孢木霉 T437 对黄瓜幼苗根系生理特性及立枯病防效的研究[J]. 现代化农业, 2018(6): 29-31.
- [36] 谢梓语, 郭恩辉, 孙宇波, 等. 枯草芽孢杆菌 B1409 对番茄和辣椒的防病促生作用[J]. 植物保护学报, 2018, 45(3): 520-527.
- [37] 莫贱友, 郭堂勋, 胡凤云, 等. 木霉菌株对香蕉枯萎病病原菌抑菌效果测定[J]. 南方农业学报, 2012, 43(5): 601-604.
- [38] 余小兰, 邹立飞, 邹雨坤, 等. 甜瓜枯萎病拮抗菌的筛选及鉴定[J]. 南方农业学报, 2018, 49(6): 1118-1124.