

木霉对黄瓜幼苗生理特性及枯萎病防治效果的影响

张春秋¹, 马光恕^{1*}, 廉华^{1*}, 李梅²,
蒋细良², 宿晓琳¹, 刘明鑫¹, 曲虹云³

(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 黄瓜枯萎病是一种土传真菌病害,在设施黄瓜栽培中最为常见且危害严重,应用生物防治技术防治该病害对黄瓜安全生产具有重要意义。本研究通过平板对峙试验筛选出3株对黄瓜枯萎病菌抑制率在74%以上的拮抗木霉,分别为棘孢木霉 *Trichoderma asperellum* 525、哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886,研究了3种木霉对黄瓜生理特性和幼苗生长作用效应及对黄瓜枯萎病的防治效果。结果表明:3种霉与黄瓜枯萎病菌同时接种的田间防治效果均达到78%以上,其中棘孢木霉 *T. asperellum* 525 的田间防效达到81.5%。与只接种枯萎病原菌的对照相比,3种木霉与黄瓜枯萎病原菌同时接种或单一接种均可以显著提高黄瓜叶绿素含量、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系活力、根系总吸收面积以及黄瓜株高和茎粗,其中以拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886 促进效果最强,叶绿素含量、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系活力、根系总吸收面积、根系活跃吸收面积和根系比表面积增加幅度分别达到38.7%~49.5%、32.1%~33.6%、29.5%~66.3%、10.8%~21.5%、19.6%~23.5%、17.9%~25.0%、4.9%~13.1%,株高、茎粗和全株鲜重增加幅度分别达到20.7%~28.8%、29.7%~35.1%、10.0%~10.70%。

关键词 木霉; 黄瓜枯萎病; 生理特性; 防治效果

中图分类号: S 476 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018064

Effect of *Trichoderma* on physiological characteristics of cucumber seedlings and control effect against *Fusarium* wilt

ZHANG Chunqiu¹, MA Guangshu¹, LIAN Hua¹, LI Mei²,
JIANG Xiliang², SU Xiaolin¹, LIU Mingxin¹, QU Hongyun³

(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 Fusarium wilt of cucumber, a kind of soil-borne fungal disease and most common disease, has caused serious harm to cucumber under protected cultivation. The application of biological control technology on cucumber wilt is of great significance to the safe production of cucumber. In this study, three strains of antagonistic *Trichoderma*, with the inhibition rate of more than 74% on cucumber Fusarium wilt disease, namely *T. asperellum* 525, *T. harzianum* 610 and *T. pseudokoningii* 886, were selected by the method of plate confrontation. The effect of *Trichoderma* on the physiological characteristics, seedlings growth of cucumber and the control efficacy on cucumber Fusarium wilt were investigated. The results showed that the field control efficacy of simultaneous inoculation of single *Trichoderma* and pathogen of cucumber Fusarium wilt was above 78%, in which the efficacy of *T. asperellum* 525 was the highest, up to 81.5%. Compared with the control, in which the pathogen of cucumber Fusarium wilt was inoculated alone, all of treatments, including the inoculation with three *Trichoderma* plus pathogen of cucumber Fusarium wilt or the inoculation of single *Trichoderma*, significantly improved cucumber chlorophyll content, nitrate nitrogen content, nitrate reductase activity, root activity, root total absorbing area and ac-

收稿日期: 2018-02-01 修订日期: 2018-04-03

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(QC2016035);黑龙江省农垦总局科技项目(HNK125B-02-12);黑龙江省学位与研究生教育教学改革研究项目(JGXM_HLJ_2015117)

* 通信作者 E-mail: mgs_lh@163.com; yy6819184@126.com

tively absorbing area of root and increased plant height and stem diameter. *T. pseudokoningii* 886 had the strongest effect among them and increased levels of seven physiological indicators mentioned above, with the increase rate from 38.7% to 49.5%, from 32.1% to 33.6%, from 29.5% to 66.3%, from 10.8% to 21.5%, from 19.6% to 23.5%, from 17.9% to 25.0% and from 4.9% to 13.1%, respectively. Simultaneously, the rang of increase on plant height, stem diameter or fresh weight of whole plant was from 20.7% to 28.8%, from 29.7% to 35.1% and from 10.0% to 10.70%, respectively.

Key words *Trichoderma*; cucumber Fusarium wilt; physiological characteristics; control efficacy

黄瓜 *Cucumis sativus* L., 别名胡瓜, 属于一年生攀缘性草本植物。近年来, 设施黄瓜生产呈现较强劲的发展态势, 已成为我国设施栽培中面积较大、种植范围较广的蔬菜作物之一, 在 2006 年就已达到设施栽培总面积的 60%^[1]。由于黄瓜重茬面积越来越大, 土传病害特别是枯萎病逐年加重, 导致黄瓜的产量下降、果实品质变劣, 制约了设施黄瓜生产的可持续发展^[2]。

黄瓜枯萎病是一种由半知菌亚门镰孢属尖孢镰刀菌黄瓜专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen 侵染引起的土传真菌病害^[3], 生产上主要以化学防治为主。应用化学农药可起到一定的防治效果, 但存在药剂持效期短、浪费多、易残留、对人畜伤害大、大面积土壤处理困难等问题。相比之下, 生物防治技术有着安全、无毒、环保等特点, 在防治蔬菜病害方面优势凸显^[4]。

在众多的生防菌中, 木霉 *Trichoderma* spp. 以其高效性和广谱性应用最为广泛, 对病原真菌如镰刀菌 *Fusarium* spp.、腐霉 *Pythium* spp.、疫霉 *Phytophthora* spp.、立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 均有抑制作用^[5]。国内外的许多关于木霉的报道指出, 木霉能够拮抗多种病原真菌, 尤其对土传病原真菌的拮抗作用更加显著, 如程莹等^[6]报道绿色木霉 *Trichoderma viride* T23、哈茨木霉 Ta22 对黄瓜枯萎病的相对防效达到 66.04%; 庄敬华等^[7]报道黄瓜幼苗经绿色木霉 T23 分生孢子和厚垣孢子处理后, 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。

生理生化活动是生命体的基本过程, 通过测定生理指标可以研究植物的生命活动规律, 揭示植物生长发育的规律与机理, 探索调节与控制植物体内环境条件对其生命活动的影响^[8]。有关木霉改善植物生理代谢、促进生长的研究较多, 如王涛等^[9]报道黄瓜幼苗根系接种菌根后, 叶片中的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均有所增加, 净光合速率也维持在一个较

高的水平; 陈伯清等^[10]报道稀释 50 倍的木霉 HT-03 孢子悬浮液滴涂于番茄幼苗叶片能明显提高幼苗叶片的叶绿素含量, 从而促进番茄幼苗的生长发育; 张敏等^[11]研究发现, 木霉 L24 菌株浸种与喷施两种方式处理对小麦叶面积和苗高均有促进作用, 可有效提高小麦叶绿素含量和根系活力。

以上研究多从单方面研究了木霉对黄瓜枯萎病的防治效果或是对黄瓜植株某一生理特性的影响, 关于木霉施用后黄瓜植株内部生理变化以及对黄瓜枯萎病的防治效果缺乏系统研究。本研究拟采用平板对峙试验筛选出几株对黄瓜枯萎病有显著防治效果的木霉, 制备木霉发酵剂和病原菌孢子悬浮液, 并设计不同试验处理, 研究不同木霉对黄瓜生理特性和幼苗生长的作用效应及对黄瓜枯萎病的防治效果, 为后期木霉菌剂系统开发应用提供理论依据, 为黄瓜设施安全、高产、优质栽培提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

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。

供试培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 10 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 自然, 供菌落生长。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 1 000 mL, pH 自然, 供菌丝培养。

供试菌株: 供试木霉由中国农业科学院植物保护研究所木霉研究组提供。菌株编号、名称和拉丁名见表 1。

黄瓜枯萎病菌: 枯萎病病原菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* 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。

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

表 1 供试木霉

Table 1 *Trichoderma* spp. used in the test

菌株编号 Strain number	中文名称 Chinese name	拉丁名 Latin name
525	棘孢木霉	<i>T. asperellum</i>
600	黑绿木霉	<i>T. atroviride</i>
610	哈茨木霉	<i>T. harzianum</i>
679	哈茨木霉	<i>T. harzianum</i>
740	长枝木霉	<i>T. longibranchiatum</i>
758	长枝木霉	<i>T. longibranchiatum</i>
884	哈茨木霉	<i>T. harzianum</i>
886	拟康氏木霉	<i>T. pseudokoningii</i>
939	钩状木霉	<i>T. hamatum</i>

1.2 防治枯萎病木霉菌株筛选

将木霉菌株接种于 PDA 平板,28℃培养 3 d;将黄瓜枯萎病菌接种于 PDA 平板,28℃培养 5 d。分别用 5 mm 打孔器打取培养好的木霉和黄瓜枯萎病菌菌落边缘菌块接种于 PDA 平板,距平板边缘1 cm 处相对放置,28℃培养。设仅接种黄瓜枯萎病菌为对照,3 次重复。培养 7 d 后测量病原菌生长半径以及木霉对枯萎病菌的覆盖情况,参照陈书华等^[12]的方法,计算抑制率,确定覆盖指数,以覆盖率级别表示。

抑制率=(对照枯萎病菌菌落半径-对峙培养枯萎病菌菌落半径)/对照枯萎病菌菌落半径×100%;

覆盖率分级标准(3 级):Ⅰ级,木霉菌落与病原菌菌落不接触,菌丝不能覆盖病原菌菌落;Ⅱ级,木霉菌丝覆盖病原菌菌落 1/2 以下,病原菌菌落健康,颜色无变化;Ⅲ级,木霉菌丝全部覆盖病原菌菌落,并在病原菌菌落上大量产孢,病原菌菌落萎缩,颜色变暗。

1.3 木霉发酵液和病原菌孢子悬浮液的制备

木霉发酵液的制备:将平板对峙培养筛选出的木霉分别在 PDA 培养基上 28℃黑暗条件培养 3 d,从菌落边缘取直径 5 mm 的菌饼 5 块,接种在含有 100 mL 马铃薯葡萄糖液体培养基(PD)的 250 mL 三角瓶中,在摇床(250 r/min)28℃黑暗条件下振荡培养7 d,制成木霉发酵液。用血球计数板测定孢子数,并将木霉发酵液的孢子数调整到 1.5×10⁸ 个/mL 备用。

病原菌孢子悬浮液的制备:将黄瓜枯萎病菌在 PDA 培养基上 28℃黑暗培养 3 d,从菌落边缘取直

径 5 mm 的菌饼 5 块,接种在含有 100 mL 马铃薯葡萄糖液体培养基(PD)的 250 mL 三角瓶中,在 28℃黑暗条件下摇床(250 r/min)振荡培养7 d,得到病原菌孢子悬浮液。用血细胞计数板测定孢子悬浮液的孢子数,并将孢子数稀释至 1×10⁵ 个/mL。

1.4 盆栽试验

1.4.1 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 120 粒,出苗后均匀保留 50 株。播种后每 2 d 浇施 1 000 mL 无菌水,保持黄瓜正常生长状态。

黄瓜播种后 5 d,即真叶初展时,挑选长势较一致的黄瓜,利用木霉发酵液和病原菌孢子悬浮液进行灌根接种。每棵黄瓜苗的根茎部加入 3 mL 相应的接种液即每盘加入 150 mL 的接种量。试验设置 9 个处理,每个处理 3 盘,随机区组设计,设置 5 次重复。

处理如下:① 棘孢木霉 *T. asperellum* 525 和枯萎病菌同时接种(T1B);② 哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和枯萎病菌同时接种(T2B);③ 拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886 和枯萎病菌同时接种(T3B);④ 只接种枯萎病菌(B);⑤ 50%多菌灵可湿性粉剂 800 倍液与枯萎病菌同时接入(化学对照,CB);⑥ 只接种棘孢木霉 *T. asperellum* 525(T1);⑦ 只接种哈茨木霉 *T. harzianum* 610(T2);⑧ 只接种拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886(T3);⑨ 只接种 PD 液体培养基(空白对照,P)。

1.4.2 试验测定指标与方法

播种后 12 d 取样,对黄瓜幼苗生理指标、生长指标和抗病性指标进行测定。

叶绿素含量测定采用丙酮乙醇法;叶片硝态氮含量采用酚二磺酸法;根系活力采用 α-萘胺氧化法测定;叶片硝酸还原酶活性采用活体分光光度法;根系总吸收面积、活跃吸收面积、比表面积的测定采用甲烯蓝法。

茎粗:子叶节下 1 cm 处粗度,用游标卡尺测定;株高:茎基部到生长点之间的距离,用直尺测定。植株鲜重:植株利用清水反复冲洗,再用吸水纸吸干,用 1/1000 电子天平测定。

抗病性指标测定:包括植株成活率、发病率、病情指数、防治效果。

黄瓜苗期枯萎病参照张素平的分级标准^[13],病情指数计算参照宗兆锋和康振生^[14]的方法。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。

植株成活率和发病率分别为播种后 12 d 各处理成活株数和发病株数占调查总株数的百分比。

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%。

表 2 平板对峙试验筛选获得的对黄瓜枯萎病菌拮抗效果较好的木霉菌株

Table 2 Antagonistic *Trichoderma* spp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* selected by confrontation in vitro

木霉 <i>Trichoderma</i> spp.	抑制率/% Inhibiting rate	覆盖指数 Covering index
棘孢木霉 <i>T. asperellum</i> 525	80.24	Ⅲ
黑绿木霉 <i>T. atroviride</i> 600	70.56	Ⅱ
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 610	76.86	Ⅲ
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 679	68.99	Ⅱ
长枝木霉 <i>T. longibranchiatum</i> 740	72.36	Ⅱ
长枝木霉 <i>T. longibranchiatum</i> 758	62.52	Ⅱ
哈茨木霉 <i>T. harzianum</i> 884	70.31	Ⅱ
拟康氏木霉 <i>T. pseudokoningii</i> 886	74.17	Ⅲ
钩状木霉 <i>T. hamatum</i> 939	67.81	Ⅱ

2.2 木霉对黄瓜幼苗生理特性的影响

2.2.1 木霉对黄瓜幼苗硝酸还原酶活性和叶绿素含量的影响

由图 1 可见,木霉和病原菌混合接种处理(T1B、T2B、T3B)的叶片硝酸还原酶活性均显著高于只接种枯萎病菌(B)的处理,表明木霉和病原菌混合处理具有减轻枯萎病菌对植株叶片硝酸还原酶活性的抑制作用。拟康氏木霉 886 和枯萎病菌同时接种(T3B)的黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性显著高于棘孢木霉 525 和哈茨木霉 610 分别与枯萎病菌同时接种(T1B、T2B)以及 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB);棘孢木霉 525 和枯萎病菌同时接种(T1B)处理显著高于哈茨木霉 610 和枯萎病菌同时接种(T2B);T2B 和 CB 处理差异不显著。

只接种木霉(T1、T2、T3)的黄瓜幼苗叶片硝酸还原酶活性均显著高于木霉和病原菌混合接种处理(T1B、T2B、T3B),说明三种木霉菌单独处理对激活

1.5 数据统计与分析

利用 Microsoft Excel 2007 软件进行图表制作,试验数据取 3 次重复的平均值和标准差,利用 DPS 7.05 (data processing system)进行差异显著性分析。

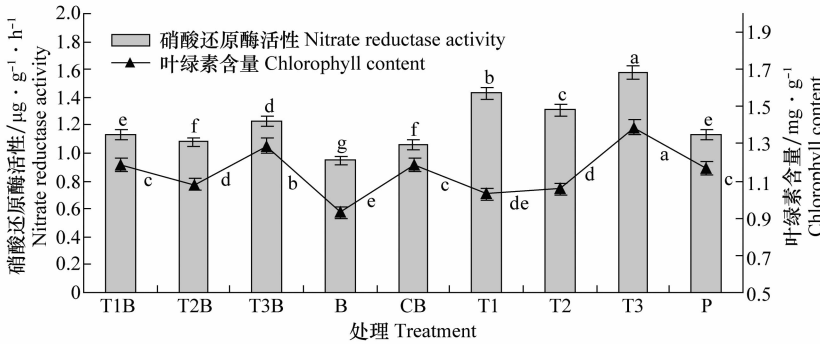
2 结果与分析

2.1 黄瓜枯萎病生防木霉菌株筛选

平板对峙试验筛选获得 3 株对黄瓜枯萎病菌抑制率在 74%以上的木霉菌株,其中棘孢木霉 *T. asperellum* 525 的抑制率最高,为 80.24%,覆盖指数为Ⅲ级;其次是哈茨木霉 *T. harzianum* 610 的抑制率为 76.86%,覆盖指数为Ⅲ级;再次是拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886 的抑制率为 74.17%,覆盖指数为Ⅲ级(表 2)。

叶片硝酸还原酶活性作用更显著;拟康氏木霉 886 处理(T3)显著高于棘孢木霉 525 处理(T1)和哈茨木霉 610 处理(T2)。T1、T2、T3 处理的硝酸还原酶活性均显著高于 CB、B 和 P 处理。

拟康氏木霉 886 单独处理(T3)的黄瓜幼苗叶片叶绿素含量最高,显著高于其他两种木霉单独处理及木霉与枯萎病菌混合处理。拟康氏木霉 886 和枯萎病菌同时接种(T3B)的黄瓜幼苗叶片叶绿素含量略低于拟康氏木霉 886 单独处理,但显著高于棘孢木霉 525 和哈茨木霉 610 分别与枯萎病菌同时接种(T1B、T2B)、50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)、只接种枯萎病菌(B)的处理和 PD 液体培养基(P)处理;T1B 与 CB 之间差异不显著但二者均显著高于 T2B 和 B;T2B 处理显著高于 B;P 处理显著高于 T1、T2 处理,后二者之间差异不显著。以上结果说明不同木霉对叶绿素含量或减轻枯萎病菌对植株叶绿素含量的影响存在差异。



图中正负误差线表示标准差大小; 不同字母代表处理间差异显著($P < 0.05$)。T1B为棘孢木霉525和枯萎病菌同时接种; T2B为哈茨木霉610和枯萎病菌同时接种; T3B为拟康氏木霉886和枯萎病菌同时接种; B为只接种枯萎病菌; CB为同时接入50%多菌灵WP 800倍液与病原菌的化学对照, T1为只接种棘孢木霉525; T2为只接种哈茨木霉610; T3为只接种拟康氏木霉886; P为只接种PD液体培养基对照。下同
Values in the chart are mean±SD. Different letters indicate significant difference among different treatments at $P < 0.05$ level. T1B is simultaneous inoculation of the pathogens of Fusarium wilt and *T. asperellum* 525; T2B is simultaneous inoculation of the pathogens of Fusarium wilt and *T. harzianum* 610; T3B is simultaneous inoculation of the pathogens of Fusarium wilt and *T. pseudokoningii* 886; B is only inoculated with the pathogen of Fusarium wilt; CB is used as a chemical contrast for the simultaneous use of carbendazim 50% WP dilution 800 times and pathogen; T1 is only inoculation of *T. asperellum* 525; T2 is only inoculation of *T. harzianum* 610; T3 is only inoculation of *T. pseudokoningii* 886; P is used as a control of PD liquid medium. The same below

图1 木霉对黄瓜幼苗硝酸还原酶活性和叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of *Trichoderma* on nitrate reductase activity and chlorophyll content of cucumber seedlings

2.2.2 木霉对黄瓜幼苗叶片硝态氮含量和根系活力的影响

由图2可见,棘孢木霉525、哈茨木霉610和拟康氏木霉886分别与枯萎病菌同时接种(T1B、T2B、T3B),与50%多菌灵WP 800倍液和病原菌同时处理(CB)的黄瓜幼苗叶片硝态氮含量相当,均显著高于只接种枯萎病菌(B)的处理;拟康氏木霉886与枯萎病菌同时接种(T3B)显著高于哈茨木霉610和病原菌同时处理(T2B);表明木霉或50%多菌灵WP 800倍液和病原菌混合处理具有减轻枯萎病原菌对植株叶片硝态氮含量的抑制作用。

只接种拟康氏木霉886(T3)、哈茨木霉610(T2)和棘孢木霉525(T1)的处理与50%多菌灵WP 800倍液和病原菌同时处理(CB)的黄瓜幼苗叶片硝态氮含量相当,但均显著高于只接种枯萎病菌处理

(B)和PD液体培养基处理(P);拟康氏木霉和病原菌同时处理(T3B)与其单独处理(T3)的叶片硝态氮含量差异不显著。以上结果说明木霉菌对叶片硝态氮含量的影响在不同木霉之间存在差异,这与其对叶绿素含量影响规律相类似。

不同处理对黄瓜幼苗根系活力的影响测定结果表明,单独接种木霉菌的处理(T1、T2、T3),其幼苗根系的活力均显著高于与枯萎病菌混合接种的处理(T1B、T2B、T3B),其中拟康氏木霉886显著改善黄瓜幼苗根系的活力,经其处理(T3)的黄瓜幼苗处理的根系活力显著高于其他处理。三种木霉与枯萎病菌混合处理的黄瓜幼苗根系的活力均显著高于只接种枯萎病菌(B)的处理,说明木霉和病原菌混合处理均具有减轻枯萎病原菌对根系活力的抑制作用,这与叶片硝酸还原酶活性变化规律相类似。

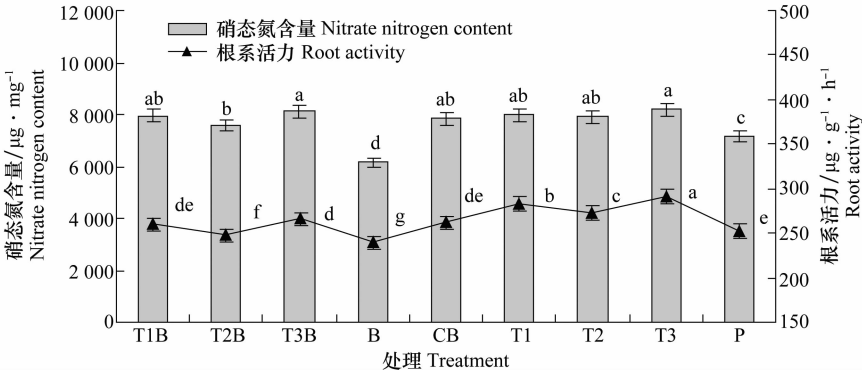


图2 木霉对黄瓜幼苗硝态氮含量和根系活力的影响

Fig. 2 Effect of *Trichoderma* on nitrate nitrogen content and root activity of cucumber seedlings

2.2.3 木霉对黄瓜幼苗根系总吸收面积、活跃吸收面积和比表面积的影响

由图 3 可见,黄瓜幼苗根系总吸收面积最大的为拟康氏木霉 886 单独处理(T3),其次为与枯萎病菌同时接种的处理(T3B),二者差异不显著,其中 T3 处理显著高于 T1、T2、T1B 和 T2B。不论是三种木霉和枯萎病菌同时接种的处理,还是单独接种木霉的处理,黄瓜幼苗根系总吸收面积均显著高于只接种枯萎病菌的处理(B)和只接种 PD 液体培养基(P)处理。除哈茨木霉 610 与枯萎病菌同时接种的处理(T2B)根系总吸收面积与 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)相当外,其余接种了木霉的处理(T1、T2、T3、T1B 和 T3B)黄瓜幼苗根系总吸收面积均显著高于 CB。表明木霉或 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌混合处理具有减轻枯萎病菌对植株根系总吸收面积的抑制作用,不同木霉对黄瓜幼苗根系总吸收面积的影响存在差异。

黄瓜幼苗根系活跃吸收面积变化特点与根系总吸收面积类似。单独接种木霉的处理(T1、T2、T3)和木霉与枯萎病菌同时接种的处理(T1B、T2B 和 T3B)黄瓜幼苗根系活跃吸收面积均显著高于只接种

枯萎病菌处理(B)和接种 PD 液体培养基处理(P)。除单独接种拟康氏木霉 886 的处理(T3)外,其余接种木霉的处理(单独接种及与病原菌混合接种处理)的黄瓜幼苗根系活跃吸收面积与 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)差异均不显著。表明木霉或 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌混合处理具有减轻枯萎病原菌对植株根系活跃吸收面积的抑制作用。不同木霉对黄瓜幼苗根系活跃吸收面积的影响存在差异。

黄瓜幼苗根系比表面积变化特点总体上与根系总吸收面积类似。除哈茨木霉和枯萎病菌同时接种的处理(T2B)、棘孢木霉与枯萎病菌同时接种处理(T1B)和哈茨木霉单独接种处理(T2)与只接种枯萎病菌的处理(B)没有显著差异外,其余接种木霉的处理(单独接种及与病原菌混合接种处理)黄瓜幼苗根系比表面积均显著高于 B 处理;除单独接种拟康氏木霉 886 的处理(T3)外,其他接种木霉的处理(T1、T2、T1B、T2B、T3B)与 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)之间差异不显著。表明木霉或 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌混合处理具有减轻枯萎病原菌对植株根系比表面积的抑制作用。不同木霉对根系比表面积的影响存在差异。

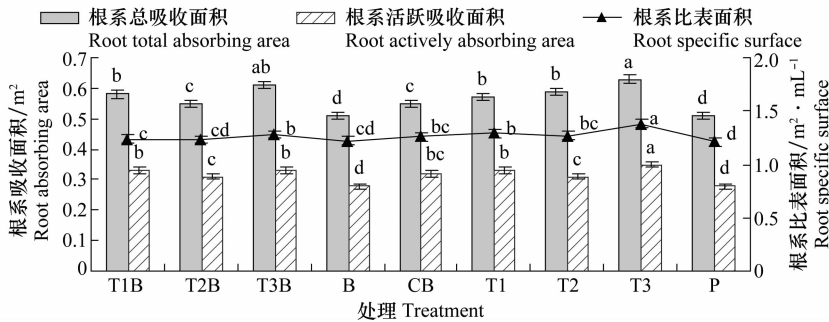


图 3 木霉对黄瓜幼苗根系总吸收面积、活跃吸收面积和比表面积的影响

Fig. 3 Effect of *Trichoderma* on the root total absorbing area, active absorbing area and specific surface of cucumber seedlings

2.3 木霉对黄瓜幼苗生长的影响

由图 4 可见,相较于只接种 PD 液体培养基处理(P),接种木霉能显著促进黄瓜幼苗的株高和茎粗,其中单独接种棘孢木霉 525(T1)和拟康氏木霉 886(T3)的黄瓜幼苗的株高显著高于其他接种木霉的处理(T2、T1B、T2B、T3B);只接种拟康氏木霉 886(T3)的黄瓜幼苗的茎粗显著高于其他接种木霉的处理(T1、T2、T1B、T2B、T3B)。枯萎病菌对黄瓜幼苗的株高有明显的抑制作用,单独接种枯萎病菌的处理(B)的株高显著低于只接种 PD 液体培养基处理(P);

多菌灵在一定程度上能够缓解枯萎病菌对黄瓜幼苗株高的抑制作用,但对茎粗的影响不明显,50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)的黄瓜幼苗的株高显著高于只接种 PD 液体培养基(P)处理。

不同木霉及木霉与枯萎病菌组合处理对黄瓜幼苗鲜重的影响不同,棘孢木霉 525 和拟康氏木霉 886 单独接种(T1、T3)及其与枯萎病菌同时接种(T1B、T3B)的黄瓜幼苗鲜重显著高于只接种 PD 液体培养基(P)处理,显示出对鲜重的促进作用;其中,拟康氏木霉 886 和枯萎病菌同时接种(T3B)对全株

鲜重的影响与拟康氏木霉 886 单独接种的影响一致,二者没有显著差异。哈茨木霉 610 单独接种(T2)与只接种 PD 液体培养基处理(P)没有差异,表明其对鲜重没有影响,而哈茨木霉 610 与枯萎病菌

同时接种(T2B)、只接种枯萎病菌(B)和 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB)的黄瓜幼苗的鲜重显著低于只接种 PD 液体培养基(P)处理,显示出对鲜重的抑制作用。

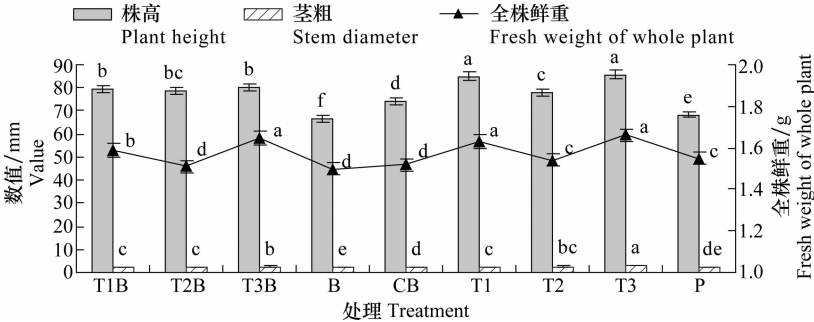


图 4 木霉对黄瓜幼苗生长的影响

Fig. 4 Effect of *Trichoderma* on the growth of cucumber seedlings

2.4 木霉对黄瓜枯萎病的防治效果

与单独接种枯萎病菌(B)相比,棘孢木霉 525、哈茨木霉 610、拟康氏木霉 886、50%多菌灵 WP 800 倍液分别与病原菌同时处理均能显著提高黄瓜幼苗的成活率,降低黄瓜枯萎病菌的发病率(表 3)。三种木霉分别与枯萎病菌同时接种(T1B、

T2B、T3B)对黄瓜幼苗成活率的提高、黄瓜枯萎病的发病率和病情指数的降低没有显著差异,但均显著优于 50%多菌灵 WP 800 倍液和病原菌同时处理(CB),可能是在黄瓜长期生产中,化学药剂的反复使用使病菌产生抗药性,这有待于进一步研究。

表 3 木霉对黄瓜枯萎病的防治效果¹⁾

处理 Treatment	幼苗成活率/% Survival rate of seedling	发病率/% Incidence ratio	病情指数 Disease index	防治效果/% Control efficacy	相对于 CB 的防治效果/% Control efficacy compared with CB
T1B	(91.12±5.12)aA	(17.34±0.98)cC	(9.12±0.25)cC	(81.53±2.87)aA	(61.90±2.78)aA
T2B	(93.34±2.78)aA	(19.29±0.56)cC	(10.69±0.34)cC	(78.36±2.11)aA	(55.35±4.27)aA
T3B	(95.56±3.19)aA	(16.87±1.11)cC	(10.55±0.45)cC	(78.64±1.78)aA	(55.93±3.45)aA
B	(48.23±2.19)cC	(94.56±6.22)aA	(49.39±1.26)aA	—	(-106.31±8.29)bB
CB	(84.26±2.98)bB	(32.87±1.22)bB	(23.94±0.98)bB	(51.52±1.78)bB	—

1) 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表示差异达 0.05 和 0.01 水平。
Data in the table are mean values±SD, different lowercase and capital letters within the same column mean significant difference at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

3 结论与讨论

Abo-Elyours 等^[15]有关木霉与黄瓜枯萎病的平板对峙和温室盆栽研究表明,木霉菌株对该病菌的拮抗作用并不与盆栽防效呈正相关。同时,朱萍萍等^[16]的研究也发现了类似结果,平板拮抗试验中对黄瓜枯萎病菌抑菌效果达 75% 以上的菌株,其田间盆栽防效却平均在 40% 以下,远低于离体拮抗效果。这可能是因为木霉不同菌株在平板试验和盆栽试验中的生长速度具有差异:木霉生长速度快,在平板上生长时具有明显的竞争优势,而在盆栽试验中,木霉的生长优势不一定能体现出来。而本研究从中

国农业科学院植物保护研究所木霉研究组提供的 9 种菌株中,利用平板对峙法获得 3 株对黄瓜枯萎病菌抑制率在 74% 以上、覆盖指数为Ⅲ级的菌株,分别为棘孢木霉 525、哈茨木霉 610 和拟康氏木霉 886,其中棘孢木霉 525 对黄瓜枯萎病菌的抑制率达到 80.24%。在苗期盆栽试验中,以只接种病原菌为对照(B),3 种木霉分别与黄瓜枯萎病菌同时接种田间防治效果均达到 78% 以上,其中棘孢木霉 525 与病菌同时接种田间防治效果最高,达到 81.53%,与平板对峙试验中其对黄瓜枯萎病菌的生长抑制率有较好的一致性。谢红辉等^[17]从桑树根际土壤中分离出 8 个对桑树根腐病有抑制作用的菌株,其中

以 YZ14-3 在平板对峙试验中的抑菌效果最好,其大田防治试验的生防效果也高达 67.94%,与本研究结果较接近。因此,平板对峙试验可以作为黄瓜枯萎病拮抗木霉筛选的依据之一。

生产上利用木霉防治黄瓜枯萎病已有较多的研究,如陈芳等^[18]报道枯草芽孢杆菌 B579 对黄瓜枯萎病的抑制作用达 73.6%;李书强等^[19]利用棘孢木霉 *Trichoderma asperellum* 防治黄瓜枯萎病的效果达 70.24%;谷祖敏等^[20]研究发现,不同木霉菌株对黄瓜枯萎病菌的防效具有明显差异,其中哈茨木霉 TH 菌株对黄瓜枯萎病的作用最强,防效为 64.34%;而绿色木霉 *Trichoderma viride* TV 菌株对黄瓜枯萎病防效为 47.49%;长枝木霉 *Trichoderma longibrachiatum* TL 菌株对黄瓜枯萎病防效最低,仅为 6.34%。在本研究中的 3 株木霉对黄瓜枯萎病的田间防效均高于 78%,病情指数均由对照的 49.93 降低到 9.12~10.55,显示这 3 株木霉对黄瓜枯萎病的防效高于文献报道,有良好的田间应用前景。

木霉不仅能通过诱导植物产生系统抗性及局部抗性等发挥生防作用^[21],还能显著促进各类植物的生长^[22-23]。景芳等^[24]研究发现,施入长枝木霉 T6 水分散剂对黄瓜生长具有明显的促进作用,能够显著提高黄瓜幼苗株高、茎粗、根系长度等生长指标,提高了和抗性相关的叶绿素、可溶性糖以及蛋白质含量,增强了过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性。袁扬等^[25]从鸭茅 *Dactylis glomerata* L. 根际分离筛选获得 5 株优良木霉促生菌株,研究发现:这些木霉菌株处理的鸭茅植株叶片及根部丙二醛(MDA)含量均低于对照,叶片叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白含量得到大幅提升,能够提高鸭茅植株的抗性,从而促进鸭茅生长。根系活力、根系总吸收面积、活跃吸收面积、根系表面积是反映根系对养分吸收能力的重要指标^[26]。张良等^[27]利用长柄木霉 *Trichoderma longibrachiatum* 和泾阳链霉菌 *Streptomyces jingyangensis* 复配,显著提高了烟苗的根系体积和根系总表面积,提高了烟苗防御性酶活性,对烟草黑胫病的相对防治效果达到了 69.3%。在本试验条件下,接种棘孢木霉 525、哈茨木霉 610、拟康氏木霉 886 均能明显提高黄瓜幼苗叶绿素含量、硝态氮含量、硝酸还原酶活性、根系活力、根系总吸收面积、根系活跃吸收面积和根系比表面积,与其研究结论相类似。而谷祖敏等^[20]的研究则发现,不同木霉菌株对黄瓜幼苗生长的促进作用和对枯萎病防治效果并不一致:防病效果较差的

绿色木霉 TV 菌株(对枯萎病防效为 47.49%)对黄瓜生长促进作用最强,地上部和地下部鲜重分别增加 42.81%和 86.92%;而防病效果最好的哈茨木霉 TH 菌株(对枯萎病防效为 64.34%)对黄瓜生长促进作用最差,地上部和地下部鲜重分别增加 16.46%和 24.62%,这是生防菌不同作用效果的体现,研究不同木霉菌的生防机制仍是以后的工作重点之一。

本研究探索了三种不同生防木霉在拮抗黄瓜枯萎病菌上的潜力,由于时间有限,仅进行了盆栽试验,今后将在平板对峙试验和盆栽试验基础上,进一步开展大规模的棚室田间试验,筛选出对黄瓜枯萎病有显著防治效果且对黄瓜产量、品质具有促进作用的木霉菌株。利用筛选出的木霉,制备木霉分生孢子制剂和厚垣孢子制剂,研究在棚室条件下,土壤中木霉和病原菌的种群数量变化规律,建立生防菌种群数量—病原菌种群数量—黄瓜枯萎病的相关性模型,为实现黄瓜枯萎病的监测预警,科学合理地利用生防菌防治病害,减少化学农药的使用,减轻病害发生,保障农业安全生产提供依据。

参考文献

- [1] 吴凤芝. 黄瓜连作障碍调控的研究进展[M]. 北京:科学出版社,2013.
- [2] 赵瑛,罗俊杰,王方,等. 微生物菌肥在保护地黄瓜栽培上的应用研究进展[J]. 甘肃农业科技,2015(6):62-65.
- [3] 高晓敏,王璐钢,马立国,等. 尖孢镰刀菌致病机理和化感作用研究进展[J]. 微生物学通报,2014,41(10):2143-2148.
- [4] 王秉丽. 木霉粉剂的创制及在蔬菜病害生物防治中的应用[D]. 上海:上海交通大学,2011.
- [5] 杨合同. 木霉分类与鉴定[M]. 北京:中国大地出版社,2009.
- [6] 程莹,白寿发,庄敬华,等. 木霉菌多功能生防菌剂对瓜类枯萎病的防效研究[J]. 现代农业科技,2010(23):157-158.
- [7] 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.
- [8] 廉华,王萌,马光恕,等. 磷素对甜瓜幼苗期生理指标的影响[J]. 北方园艺,2015(23):14-17.
- [9] 王涛,辛世杰,乔卫花,等. 几种微生物菌肥对连作黄瓜生长及土壤理化性状的影响[J]. 中国蔬菜,2011(18):52-57.
- [10] 陈伯清,屈海泳,刘连妹,等. 木霉 HT-03 对番茄幼苗生长发育的影响[J]. 中国蔬菜,2007(4):19-21.
- [11] 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.
- [12] 陈书华,李梅,蒋细良,等. 防治人参锈腐病木霉菌的筛选及防治效果[J]. 中国生物防治学报,2016,32(2):265-269.
- [13] 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.
- [14] 宗兆锋,康振生. 植物病理学原理[M]. 北京:中国农业出版

社,2002.

- [15] ABO-ELYOUSR K A M, ABDEL-HAFEZ S I I, ABDEL-RAHIM I R. Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri* [J]. Journal of Phytopathology, 2014, 162(9):567-574.
- [16] 朱萍萍,凌健,席亚东,等. 蔬菜土传病害生防木霉菌株资源的筛选及其防治效果评价[J]. 中国蔬菜,2015(8):28-33.
- [17] 谢红辉,韦继光,周颖,等. 1株桑根腐病拮抗细菌的分离鉴定及田间防治效果[J]. 华南农业大学学报,2016,37(2):59-64.
- [18] 陈芳,郑宇,张艳春,等. 生防芽孢杆菌 B579 的定殖及其对土壤微生态的影响[M]//何晨阳,王琦,郭坚华. 植物细菌病害与植物病害生物防治研究进展. 北京:中国农业科学技术出版社,2010.
- [19] 李书强,李林会,沈江洁,等. 生防菌对黄瓜枯萎病防效及其对黄瓜诱导抗性测定[J]. 河北科技师范学院学报,2017,31(1):53-58.
- [20] 谷祖敏,毕卉,张兵,等. 不同木霉菌株对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用[J]. 西北农业学报,2018,27(3):426-431.
- [21] HERMOSA R, VITERBO A, CHET I, et al. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes [J]. Microbiology,

2012,158:17-25.

- [22] YEDIDIA I, SRIVASTVA A K, KAPULNIK Y C. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants [J]. Plant and Soil, 2001, 23(5):235-242.
- [23] VINALE F, SIVASITHAMPARAM K, GHISALBERTI E L, et al. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(1):1-10.
- [24] 景芳. 生防菌长枝木霉 T6 发酵条件优化、剂型研制及促生防病作用研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2016.
- [25] 袁扬,王胤晨,曾兵,等. 5株木霉菌株对鸭茅生理生化指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2017(10):4-7.
- [26] 刘小刚,张富仓,杨启良,等. 玉米叶绿素、脯氨酸、根系活力对调亏灌溉和氮肥处理的响应[J]. 华北农学报,2009,24(4):106-111.
- [27] 张良,刘好宝,顾金刚,等. 长柄木霉和泾阳链霉菌复配对烟苗生长及其抗病性的影响[J]. 应用生态学报,2013,24(10):2961-2969.

(责任编辑:杨明丽)

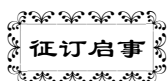
(上接 237 页)

- [20] 王运浩,季颖,龚勇,等. 农药登记残留田间试验标准操作规程 [M]. 北京:中国标准出版社,2007:93-97,275-279.
- [21] 单炜力,简秋,叶纪明,等. 农药最大残留限量和膳食摄入风险评估 [M]. 北京:中国农业出版社,2012:190-193.
- [22] 单炜力,简秋,叶纪明,等. 联合国粮食及农业组织用于推荐视频和饲料中最大残留限量的农药残留数据提交和评估手册 [M]. 北京:中国农业出版社,2012:98-101.
- [23] 中华人民共和国农业部第 2308 号公告. 食品中农药残留风险评估指南 [EB/OL]. 2015-10-08.
- [24] 孙明娜,段劲生,高同春,等. 呋虫胺在水稻中的残留消解及膳食风险评估[J]. 农药学学报,2016,18(1):86-92.
- [25] 段劲生,王梅,孙明娜,等. 氯虫苯甲酰胺在水稻及稻田环境中

的残留动态[J]. 植物保护,2016,42(1):93-98.

- [26] 路彩虹,张盈,段婷婷,等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测水稻和土壤中氟唑菌酰胺的残留及消解动态[J]. 植物保护,2016,42(4):132-136.
- [27] 田发军,吴艳兵,郑永权,等. 甲草胺在水稻上的残留及消解动态[J]. 植物保护,2016,42(6):105-109.
- [28] 兰丰,刘传德,周先学,等. 二氰蒽醌和吡唑醚菌酯在枣中的残留行为及膳食摄入风险评估[J]. 农药学学报,2015,17(6):706-714.
- [29] 吴永宁,李筱薇. 第四次中国总膳食研究 [M]. 北京:化学工业出版社,2015:63.

(责任编辑:杨明丽)



欢迎订阅 2019 年 *Journal of Integrative Agriculture* (JIA)

《农业科学学报》(*Journal of Integrative Agriculture*, JIA)由农业部主管、中国农业科学院与中国农学会共同主办,是综合性英文学术期刊,月刊。JIA 前身为 2002 年创刊的《中国农业科学》英文版(*Agricultural Sciences in China*, ASC),2012 年更名为 JIA。JIA 2006 年起与 Elsevier 合作,全文数据在 ScienceDirect 平台面向世界发行;2009 年被 SCI 收录,最新影响因子为 1.042,位于 JCR 农业综合类 Q2 区前列位次。JIA 是中国科技核心期刊;连续 5 年获得“中国最具国际影响力学术期刊”称号;2016 年入选中国科协“中国科技期刊国际影响力提升计划”及“中国科技期刊登峰行动计划”项目,是我国农业领域领学术期刊,并具有较高国际影响力。

JIA 大 16 开,每月 20 日出版,国内外公开发行人。每期 180 页,国内订价 80.00 元,全年 960.00 元。国内统一连续出版物号:CN 10-1039/S,国际标准连续出版物号:ISSN 2095-3119,邮发代号:2-851,国外代号:1591M。

全国各地邮局均可订阅,也可直接向编辑部订购。

邮 编:100081

地 址:北京中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部

电 话:010-82109808

传 真:010-82106247

网 址:www.ChinaAgriSci.com

E-mail:zgnykx@caas.cn

联 系 人:林鉴非