

木霉不同施用方式对黄瓜膜脂过氧化作用、保护性酶活性及枯萎病防效的影响

宿 畅¹, 廉 华^{1*}, 马光恕^{1*}, 李 梅², 高玉刚¹

(1. 黑龙江八一农垦大学园艺园林学院, 大庆 163319; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要 采用3株对黄瓜枯萎病菌有较好拮抗作用的木霉, 棘孢木霉 *Trichoderma asperellum* 525、哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和拟康氏木霉 *T. pseudokoningii* 886, 研究木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片膜脂过氧化作用、保护性酶活性及防治枯萎病效果的影响。结果显示, 所有木霉处理均能够提高黄瓜幼苗的株高和茎粗, 增加幼苗地上部和地下部鲜重, 对黄瓜枯萎病的防效均达到64%以上。播种后8~14 d, 各处理的黄瓜幼苗叶片质膜透性和丙二醛(MDA)含量不同程度下降, 保护性酶活性不同程度的提高, 其中以先接种拟康氏木霉886, 2 d后接种病原菌的T886-F处理的提高程度最显著。播种后14 d, 该处理的叶片质膜透性和MDA含量比只接种病原菌的F处理分别下降了37.02%和14.80%, 同时, 叶片的SOD、POD、CAT、PPO活性分别比F增加了46.82%、34.93%、18.75%和11.63%。以上结果说明, 本研究的3株木霉均能通过改善黄瓜幼苗叶片膜脂过氧化能力, 增加保护酶活性, 促进幼苗生长, 防治黄瓜枯萎病。在实际应用中, 提前施入木霉菌剂, 有利于促进黄瓜的生长、提高幼苗抗病性、提高病害防治效果。本研究结果为木霉菌剂的高效使用、保障黄瓜安全生产提供指导。

关键词 木霉; 黄瓜; 枯萎病; 保护性酶; 丙二醛; 质膜透性

中图分类号: S 476 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2019671

Effect of *Trichoderma* application modes on membrane lipid peroxidation, protective enzyme activity of cucumber seedlings leaf and control effect against *Fusarium* wilt

SU Chang¹, LIAN Hua^{1*}, MA Guangshu^{1*}, LI Mei², GAO Yugang¹

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract The effect of application modes of *Trichoderma* on lipid peroxidation, protective enzyme activity of cucumber seedlings leaf and control effect against *Fusarium* wilt were studied with three antagonistic *Trichoderma* against *Fusarium* wilt, *T. asperellum* 525, *T. harzianum* 610 and *T. pseudokoningii* 886. The results showed that all *Trichoderma* treatments could increase the plant heights and stem diameters of cucumber seedlings, increase the fresh weights of the above ground and underground parts of seedlings, and the control effects of all treatments against cucumber *Fusarium* wilt exceeded 64%. Membrane permeability and malondialdehyde (MDA) contents of cucumber seedlings decreased at different levels, and protective enzymes in cucumber seedlings continuously increased under all *Trichoderma* treatments at 8–14 days after sowing, and those of the T886-F treatment (inoculation with *Trichoderma* 886 first, and then with pathogen 2 days later) changed the most significantly among all the *Trichoderma* treatments. Compared with F (inoculation with pathogen), the membrane permeability and MDA content of cucumber seedlings decreased 37.02% and 14.80% respectively, and the activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase and polyphenol oxidase of cucumber seedlings increased 46.82%, 34.93%, 18.75% and 11.63% respectively under the T886-F treatment at 14 days after sowing. The

收稿日期: 2019-12-04 修订日期: 2020-01-14

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0201202)

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

results showed that all the three *Trichoderma* strains in this study could improve the abilities of membrane lipid peroxidation, increase protective enzyme activities, promote the growth of seedlings and suppress the cucumber *Fusarium* wilt. In the practical application, the application of *Trichoderma* agent in advance can promote the growth of cucumber, improve the disease resistance of seedlings and improve the effect of disease control. The results of this study will provide guidance for the efficient use of *Trichoderma* agents and the safety of cucumber production.

Key words *Trichoderma*; cucumber; *Fusarium* wilt; protective enzymes; malondialdehyde; membrane permeability

黄瓜是我国主要的蔬菜种类之一^[1]。近年来,黄瓜土传病害特别是黄瓜枯萎病在全国各种植区几乎都有发生,严重威胁黄瓜产业的健康发展^[2]。该病的病原为尖孢镰刀菌黄瓜专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen (Foc)^[3]。长期以来,黄瓜枯萎病的防治以化学农药为主,随着环境安全、食品安全问题的日益严峻,运用生物手段预防和控制植物病害的发生、发展受到广泛关注^[4]。

木霉 *Trichoderma* spp. 能够拮抗多种植物病原真菌^[5]。利用木霉防治黄瓜土传病害已有较多的研究报道。如哈茨木霉 *T. harzianum* T2-16 对西瓜枯萎病的田间防效达到 53.11%^[6];棘孢木霉 *T. asperellum* 437 对黄瓜立枯病的防治效果达到 76.6%,病情指数从对照的 41.5 下降到 9.7^[7];毕卉比较了不同木霉对黄瓜枯萎病的防治效果,其中长枝木霉 *T. longibrachiatum* TL 对黄瓜枯萎病的防效最高,达到 75.74%,其次为绿色木霉 *T. viride* TV,防效达到 70.76%^[8]。此外,木霉还对植物表现出良好的促生作用^[8-10]。

植物对病害都具有一定程度的抵抗能力,称为广义的抗病性。诱导植物抗病性是木霉防治植物病害的主要机制之一。在正常情况下,植物细胞内自由基的产生和消除处于平衡状态,当植物处于病原菌侵染或其他逆境胁迫时,细胞内的自由基平衡就会遭到破坏出现自由基积累,产生丙二醛(malondialdehyde,MDA)等产物,从而对植物细胞产生氧化胁迫并导致膜系统损伤,胞内电解质外渗导致细胞的相对电导率增大^[11-12],因此,MDA 含量和相对电导率的高低直接反映了细胞脂质过氧化的程度,常用作判断植物胁迫损伤程度的指标,在植物的抗病应答中发挥重要作用^[13]。植物的保护性酶系主要包括过氧化氢酶(catalase,CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、苯丙氨酸解氨酶

(phenylalanine ammonialyase, PAL)、多酚氧化酶(polyphenoloxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等,这些酶的活性往往与植物抗病性呈正相关^[14-15]。李欣欣等利用堆肥提取液处理草莓,使草莓 POD 和 PPO 活性分别提高了 45.45% 和 39.47%,MDA 含量降低了 14.83%,对草莓黄萎病的防治效果达到 42.23%^[16]。张晓梦等利用绿色木霉 M1 和棘孢木霉 M2 发酵液的 50~100 倍稀释液喷施辣椒,显著提高了辣椒叶片中 POD、PPO 和 PAL 的活性^[17]。目前,利用木霉防治黄瓜土传病害已有较多的研究报道,但木霉施用方式对黄瓜的生长、防御体系以及对病害防效的影响缺乏系统研究。课题组前期筛选了 3 株对黄瓜枯萎病菌有较强拮抗作用的木霉,分别为棘孢木霉 *T. asperellum* 525、哈茨木霉 *T. harzianum* 610 和拟康氏木霉 *T. pseudokononingii* 886,采用不同施用方式处理黄瓜幼苗,测定其对黄瓜幼苗生长、膜脂过氧化作用、保护性酶活性变化及枯萎病的防治效果,为提高木霉菌剂的防病效果、保障黄瓜安全生产提供指导。

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’购自山东泰安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 1 000 mL, pH7.0~7.2。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, pH7.0~7.2。

1.1.3 供试菌株

棘孢木霉 *T. asperellum* 525(T525)、哈茨木霉

T. harzianum 610 (T610)、拟康氏木霉 *T. pseud-
okoningii* 886 (T886), 由中国农业科学院植物保护
研究所木霉菌研究组提供。黄瓜枯萎病病原菌 *Fu-
sarium oxysporum* f. sp. *cucumebrium* Owen (Foc),
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

草炭土, 过 1 mm 筛后 160℃ 高温灭菌 2 h, 自然
冷却后再在 160℃ 下灭菌 2 h, 放凉备用^[18]。

1.2 菌液的制备

1.2.1 木霉孢子悬浮液的制备

在 PDA 平板上活化木霉 T525、T610、T886 菌
株, 28℃ 培养 3 d, 取菌落边缘 5 mm 菌饼, 转接到
PDA 培养基上, 培养 7 d, 待菌丝和孢子长满平板, 用
无菌水洗下孢子, 孢子浓度调整为 1.5×10^8 个/mL
备用^[19]。

1.2.2 病原菌孢子悬浮液的制备

在 PDA 平板上活化培养病原菌 Foc, 28℃ 培养
3 d, 菌落边缘取 5 mm 的菌饼 5 块, 接种到 100 mL
PD 培养基中, 28℃、120 r/min 振荡培养 7 d, 4 层纱
布过滤, 滤液 5 000 r/min 离心, 收集孢子, 用无菌水
调整孢子浓度为 1×10^5 个/mL^[19]。

1.3 盆栽试验方法

1.3.1 试验设计

试验地点位于黑龙江八一农垦大学农学院教学
基地日光温室。育苗盘 (34.5 cm × 24 cm × 11 cm)
装入灭菌土, 黄瓜种子催芽后, 每盘播入 80 粒种子。
出苗后, 根据苗势保留大小一致的小苗 50 株。播种
后浇无菌水, 每次每盘 1 000 mL 左右, 保证黄瓜正
常出苗和生长。

在黄瓜第一片真叶展开时 (播种后 5 d), 进行真
菌孢子悬液灌根处理, 每个育苗盘用量为 150 mL,
即保证黄瓜单株接种量为 3 mL。试验共设 5 个处
理: 1) 木霉和病原菌孢子悬浮液同时接种 (TF);
2) 木霉先接种, 2 d 后接种病原菌 (T-F); 3) 病原菌先
接种, 2 d 后接种木霉 (F-T); 4) 只接种病原菌 (F);
5) 只接种无菌水 (CK)。随机区组设计, 每个处理
3 盘, 5 次重复。播种后 8~14 d 取黄瓜叶片, 每个处
理选取 15 株, 其中 5 株用于测定黄瓜幼苗生长指标,
10 株用于测定膜脂过氧化和保护性酶活性。

1.3.2 试验测定指标与方法

1) 生长指标测定: 株高, 用直尺测定黄瓜苗茎基
部到生长点的距离; 茎粗, 用游标卡尺测定子叶节下
1 cm 处直径。地上部、地下部鲜重用千分之一电子天
平测定, 植株样品用清水反复冲洗并用吸水纸吸干。

2) 膜脂过氧化指标测定: 叶片质膜透性采用电
导率法, 使用 DDS-11A 型电导率仪; 丙二醛 (MDA)
含量采用硫代巴比妥酸法; 超氧化物歧化酶 (SOD)、
过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、多酚氧化
酶 (PPO) 活性分别采用氮蓝四唑法、愈创木酚比色
法、高锰酸钾滴定法和滴定法测定。

3) 黄瓜苗期枯萎病标准^[20]: 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 = $[\sum (\text{病级株数} \times \text{代表级值}) / (\text{植株
总数} \times \text{最高代表级值})] \times 100$ ^[21];

防治效果 = $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) /$
 $\text{对照病情指数} \times 100\%$ ^[21]。

1.4 数据统计与分析

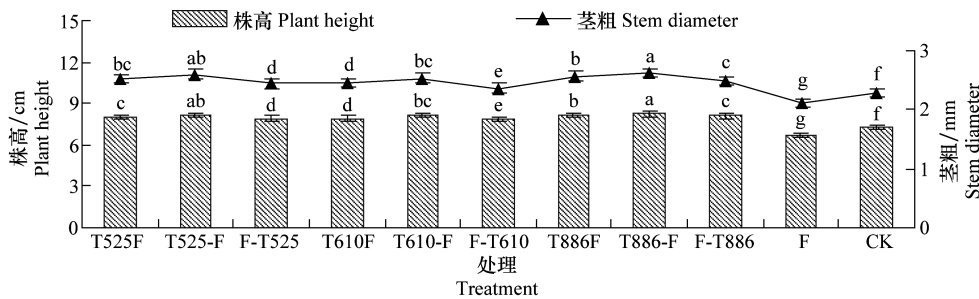
显著性分析采用 DPS 7.05 软件完成, 图表制作
采用 Microsoft Excel 2007 完成。

2 结果与分析

2.1 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗生长的影响

2.1.1 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗株高和茎粗 的影响

黄瓜播种后 14 d, 分别测定木霉不同施用方式
处理的黄瓜幼苗株高和茎粗, 结果如图 1。只接种
病原菌 (F) 的黄瓜幼苗株高和茎粗最低, 分别为
6.66 cm 和 2.11 mm, 显著低于其他处理, 木霉处理
的黄瓜幼苗株高和茎粗均显著高于 F 和只接种无菌
水的对照 CK, 表明枯萎病菌对黄瓜幼苗株高和茎粗
有明显的抑制作用, 施用木霉则能够促进黄瓜幼苗
生长。此外, 3 株木霉的不同施用方式对黄瓜幼苗
生长的促进作用存在差异。其中以先接种木霉, 2 d
后接种病原菌的 T-F 处理的促进作用较大, 表明先
接种木霉有利于植株的生长, 并以拟康氏木霉 T886
的 T886-F 处理的黄瓜幼苗株高和茎粗最高, 分别为
8.23 cm 和 2.62 mm。



TF: 同时接种木霉和病原菌孢子悬浮液; T-F: 先接种木霉, 2 d后接种病原菌; F-T: 先接种病原菌, 2 d后接种木霉; F: 只接种病原菌; CK: 只接种无菌水。下同
TF: Simultaneous inoculation with *Trichoderma* and pathogen; T-F: Inoculation with *Trichoderma* first, and then pathogen 2 days later; F-T: Inoculation with pathogen first, and then *Trichoderma* 2 days later; F: Inoculation with pathogen; CK: Inoculation with sterile water. The same below

图 1 木霉施用方式对黄瓜幼苗株高和茎粗的影响

Fig. 1 Effects of *Trichoderma* application modes on the plant heights and stem diameters of cucumber seedlings

2.1.2 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗地上部和地下部鲜重的影响

播种后 14 d,测定木霉不同施用方式处理的黄瓜幼苗地上部和地下部鲜重,结果如图 2。F 处理的黄瓜幼苗地上部鲜重和地下部鲜重最低,显著低于 CK,分别为 1.13 g 和 0.17 g,表明枯萎病菌显著降低了黄瓜幼苗的鲜重。木霉处理的黄瓜幼苗地上部

鲜重和地下部鲜重均显著高于 F 和 CK,表明木霉能够促进黄瓜幼苗的物质积累。3 种不同施用方式中,T-F 处理对黄瓜幼苗鲜重的促进作用均高于 TF 和 F-T 处理,并以 T886 菌株的 T886-F 处理的幼苗地上部和地下部鲜重最高,分别为 1.59 g 和 0.48 g,表明这 3 株木霉中,以提前施用 T886 菌株对黄瓜幼苗的物质积累的促进作用最强。

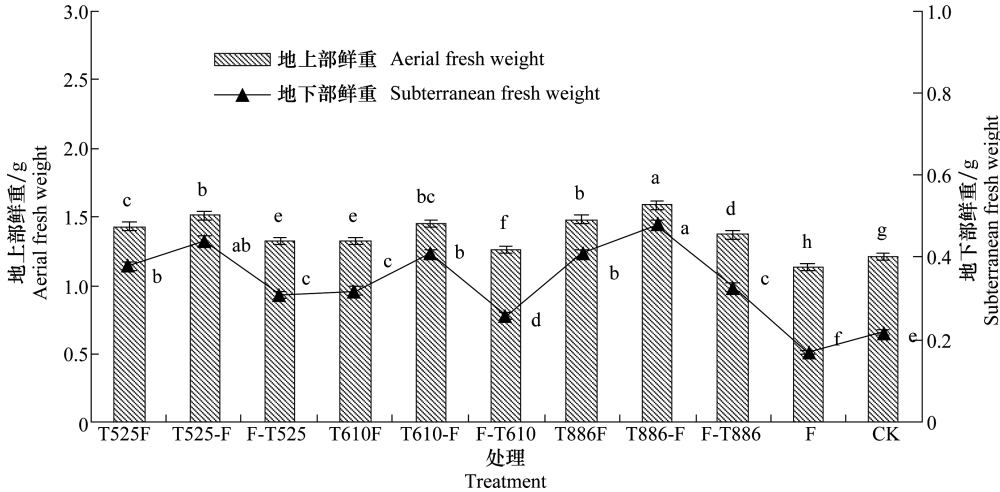


图 2 木霉施用方式对黄瓜幼苗地上部和地下部鲜重的影响

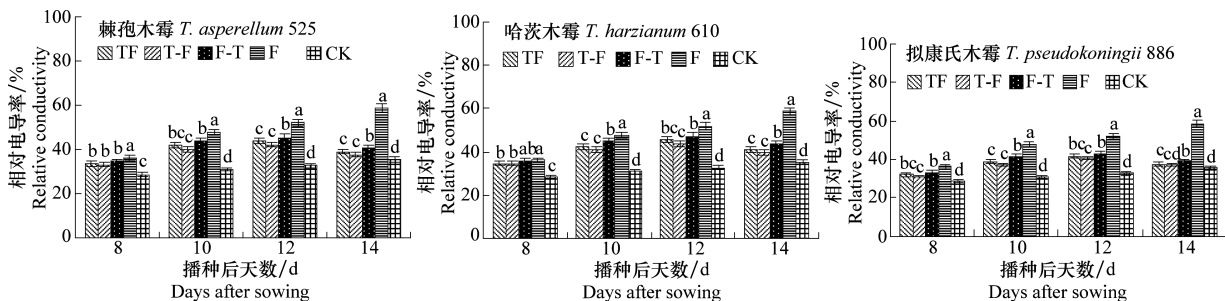
Fig. 2 Effects of *Trichoderma* application modes on aerial and subterranean fresh weights of cucumber seedlings

2.2 木霉不同施用方式对黄瓜膜脂过氧化作用和保护性酶的影响

2.2.1 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片质膜透性的影响

播种后 8、10、12、14 d,分别测定木霉不同处理的黄瓜幼苗叶片的叶片质膜透性,结果如图 3。病原菌处理 F 和 CK 的叶片相对电导率均表现出逐渐上升的趋势,并且 F 显著高于同期的 CK,表明枯萎病菌增加了黄瓜幼苗叶片质膜透性,对细胞膜具有破坏作用。

木霉 3 种施用方式处理的黄瓜叶片相对电导率均低于 F,并且呈现出先升高后降低的变化规律,峰值出现在播种后 12 d,表明施用木霉能够缓解枯萎病菌对黄瓜细胞膜的破坏作用,降低质膜透性,其中以先接种木霉后接种病原菌处理(T-F)的下降幅度最大,且以 T886-F 处理的叶片质膜透性最低。在播种后 14 d,T525-F、T610-F、T886-F 处理的黄瓜幼苗叶片相对电导率分别为 37.67%、39.78%和 36.95%,分别比 F 下降了 35.79%、32.20%和 37.02%。



图中的数据为平均值±标准差,不同的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
Values in the chart are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level among different treatments for the same *Trichoderma* strain in the same period. The same below

图3 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片质膜透性的影响

Fig. 3 Effects of *Trichoderma* application modes on membrane permeability of cucumber seedling leaf

2.2.2 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片丙二醛含量的影响

播种后 8、10、12、14 d,分别测定不同处理的黄瓜幼苗叶片中的 MDA 含量,结果如图 4。F 处理叶片的 MDA 含量显著高于 CK,并逐渐升高,表明枯萎病菌能够造成黄瓜叶片细胞膜的膜脂过氧

化作用,提高了叶片 MDA 含量。木霉不同施用方式处理的黄瓜叶片 MDA 含量均低于 F,呈现出先升高后下降的变化规律,且峰值均出现在播种后 12 d,与叶片质膜透性变化规律一致。表明施用木霉能够缓解枯萎病菌对黄瓜幼苗叶片细胞膜的破坏作用。

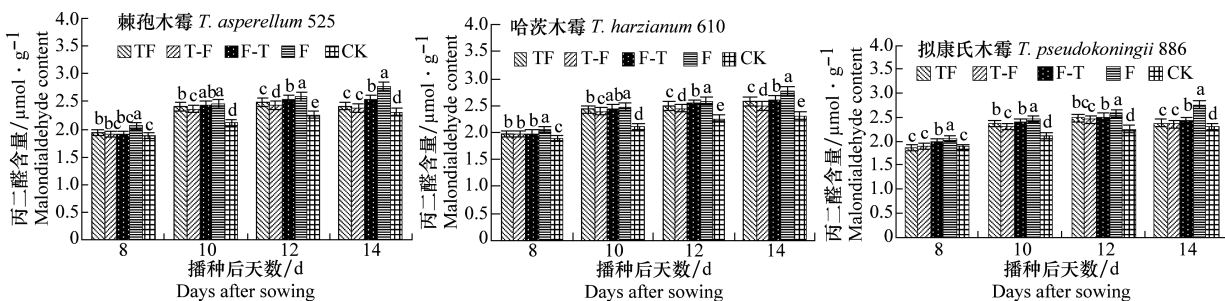


图4 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 4 Effects of *Trichoderma* application modes on malondialdehyde content of cucumber seedling leaf

3 株木霉的 3 种施用方式中,以 T-F 处理的降幅最大,且以 T886 的 T886-F 处理叶片的 MDA 含量最低。在播种后 14 d,3 株木霉处理的黄瓜幼苗 MDA 含量均表现为 $F>F-T>TF>T-F>CK$, T610-F、T525-F 和 T886-F 处理的黄瓜幼苗叶片 MDA 含量分别为 2.38、2.49 和 2.36 $\mu\text{mol/g}$,分别比 F 下降了 14.08%、10.11%和 14.80%。

2.2.3 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗叶片保护性酶活性的影响

播种后 8、10、12、14 d,测定木霉不同处理黄瓜幼苗叶片中的保护性酶活性(图 5~8)。F 处理叶片中 SOD、POD、CAT、PPO 活性均呈现先升高后下降的变化规律,最高值出现在播种后 12 d。CK 叶片中上述酶活性随播种时间的延长,表现出缓慢上升的趋势,在播种后 14 d,SOD 最高值为 387.56 U/g(图 5),POD 最高值为 3.94 U/(g·min)(图 6),CAT 最高值为 2.15 mg/(g·min)(图 7),PPO 最高

值为 3.72 mg/(g·min)(图 8),为播种后 8 d 的叶片中相应酶活性的 1.10~1.97 倍。经木霉处理的黄瓜叶片的上述 4 种酶活性均高于 F 和 CK,并呈现逐渐升高的变化规律,表明施用木霉能够诱导叶片保护性酶活性的提高,提高了黄瓜对枯萎病的抗性。3 种施用方式中,以 T-F 处理的黄瓜叶片中保护性酶活性相对最高,并且 T886 的诱导能力高于 T525 和 T610。播种后 14 d,T525-F、T610-F、T886-F 处理的黄瓜幼苗叶片 SOD 活性分别为 503.27、496.86 U/g 和 506.73 U/g,比 F 分别提高了 45.82%、43.96%和 46.82%;POD 活性分别为 4.97、4.82 U/(g·min)和 5.06 U/(g·min),比 F 提高了 32.53%、28.53%和 34.93%;CAT 活性分别为 2.54、2.43 和 2.66 mg/(g·min),比 F 提高了 13.39%、8.48%、18.75%;PPO 活性分别为 4.19、4.08 mg/(g·min)和 4.32 mg/(g·min),比 F 提高了 8.27%、5.43%和 11.63%。

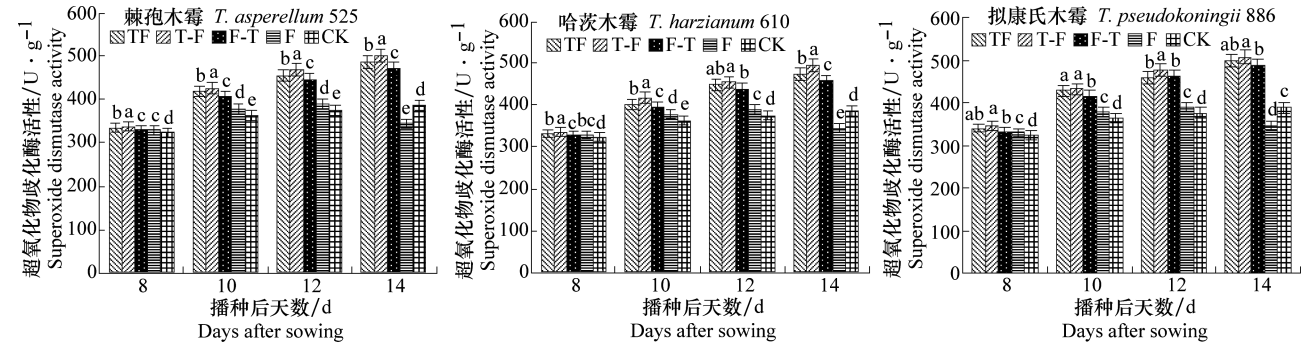


图 5 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

Fig. 5 Effects of *Trichoderma* application modes on superoxide dismutase activity of cucumber seedling leaf

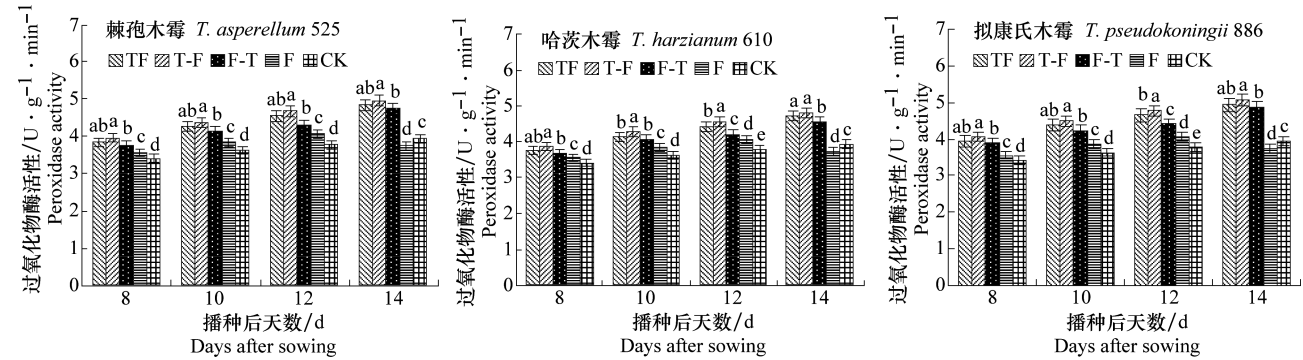


图 6 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片过氧化物酶(POD)活性的影响

Fig. 6 Effects of *Trichoderma* application modes on peroxidase activity of cucumber seedling leaf

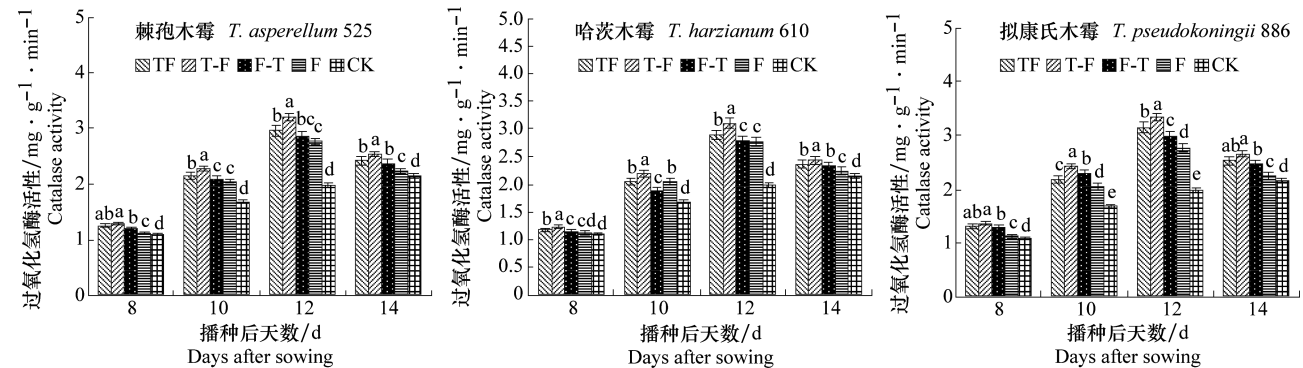


图 7 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片过氧化氢酶(CAT)活性的影响

Fig. 7 Effects of *Trichoderma* application modes on catalase activity of cucumber seedling leaf

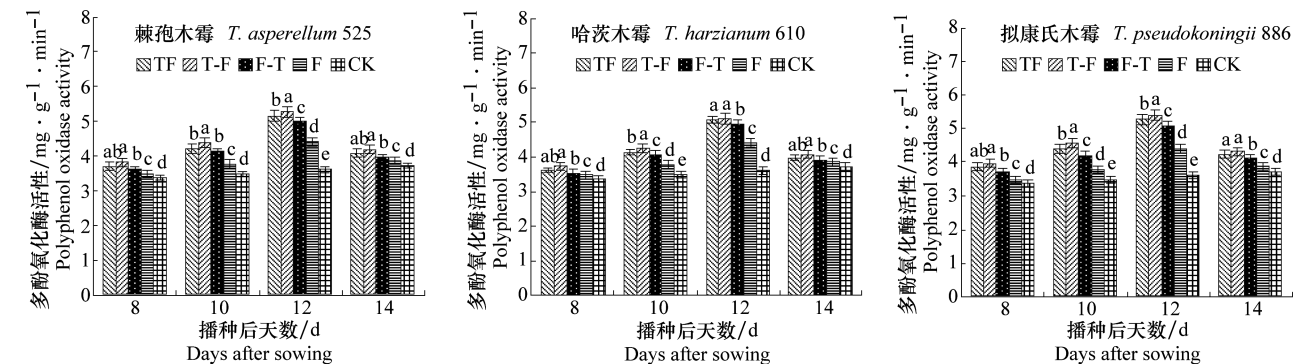


图 8 木霉施用方式对黄瓜幼苗叶片多酚氧化酶(PPO)活性的影响

Fig. 8 Effects of *Trichoderma* application modes on polyphenol oxidase activity of cucumber seedling leaf

2.3 木霉不同施用方式对黄瓜幼苗枯萎病防治效果的影响

黄瓜播种后 14 d, 3 株木霉 3 种施用方式对黄瓜幼苗枯萎病的防治效果如图 9。F 处理黄瓜幼苗病情指数最高, 为 49.39, 显著高于其他处理。3 种

施用方式中, 以 T-F 处理的病情指数最低, 说明提前施用木霉, 有助于对枯萎病的防治。3 株木霉对枯萎病的防治效果均达到 64.78% 以上, 其中 T886 对枯萎病的防效高于 T525 和 T610, T886-F 处理对黄瓜枯萎病的盆栽防治效果最高, 达到 81.54%。

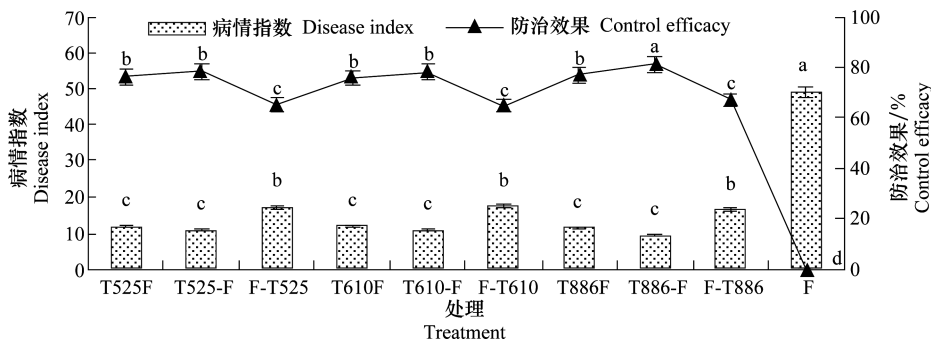


图 9 木霉施用方式对黄瓜枯萎病防效的影响

Fig. 9 Effect of *Trichoderma* application modes on control efficiency against cucumber *Fusarium* wilt

3 讨论

木霉对至少 18 个属 20 余种植物病原菌有拮抗作用^[22]。利用生防木霉防治镰刀菌引起的植物土传病害已有较多的研究报道^[23]。如利用哈茨木霉 TH 防治黄瓜枯萎病, 防治效果达到 64.34%, 绿色木霉 TV 菌株对黄瓜枯萎病的防效为 47.49%^[24]。本研究的 3 株木霉, 均对黄瓜枯萎病具有良好的防治效果, 其中拟康氏木霉 886 的防效好于棘孢木霉 525 和哈茨木霉 610, 在应用时, 先接种 T886, 对黄瓜枯萎病的盆栽防效最高, 达到 81.5%, 有重要的田间应用前景。

木霉不仅能够防治植物病害, 还对植物具有良好的促生作用, 如利用绿色木霉 TV 处理黄瓜, 其地上部分和地下部分鲜重分别比对照增加了 42.81% 和 86.92%^[24]; 木霉 GYXM-1p1 处理甘蓝, 处理后甘蓝植株的总鲜重和总干重分别较清水对照增加了 417.60% 和 762.69%^[25]。本研究的 3 株木霉处理的黄瓜幼苗, 其地上部鲜重和地下部鲜重都显著高于接无菌水对照, 表现出良好的促生作用, 与文献报道的结果一致。

当植物受病原菌侵染后, 木霉等生防微生物能够诱导植物保护性酶活性提高, 增强植物体的抗病防御功能^[26-28]。如利用生防菌 TB2 处理甘蔗, 可提高叶片中 PPO、POD、SOD、PAL、CAT 等酶的活性,

提高了甘蔗对赤腐病的抗性^[29]。本研究中, 提前施用木霉, 有助于提高黄瓜幼苗保护性酶的活性, 提高病害的防治效果。同时, SOD、POD 和 CAT 等保护性酶活性下降与 MDA 积累密切相关, 可能互为因果, 即一方面由于 SOD、POD 和 CAT 活性下降, 使有害自由基积累乃至超过伤害阈值, 可能直接或者间接地启动膜脂过氧化作用, 使 MDA 含量增加, 膜系受损; 另一方面, MDA 的积累反过来抑制 SOD、POD 和 CAT 的活性, 从而丧失了保护酶系统的功能, 进一步促使膜系损伤加重^[30]。深绿木霉 T2 具有降低百合 MDA 含量、诱导百合抗灰霉病的作用^[31]; 袁扬等人用木霉处理鸭茅 *Dactylis glomerata* L., 能有效降低鸭茅中 MDA 含量, 提高植株的抗病性^[32]; 赵忠娟等报道, 哈茨木霉 LTR-2 能降低盐胁迫下蔬菜幼苗相对电导率和 MDA 含量, 进而提高黄瓜、萝卜和番茄对盐胁迫的耐受性^[33]。本研究的 3 株木霉均能诱导黄瓜幼苗叶片质膜透性和 MDA 含量显著下降, 提高黄瓜对枯萎病的抗病能力, 具有与其他生防菌相似的防病机制。

生防菌的施用方式对病害的防治效果有显著的影响, 如李纪顺等采用木霉融合子与瓜果腐霉处理番茄, 结果显示, 二者结合处理或木霉融合子单独处理均可以显著提高番茄叶片中 SOD、POD 及 CAT 的活性, 并以结合处理的酶活性最大^[34]。长枝木霉 T115D 发酵液可诱导大豆叶片 PAL、POD、PPO、

SOD 和 CAT 的活性增强,用发酵液和疫霉同时灌根处理对大豆疫病的防效最好,达到 51.8%^[35]。本研究中木霉的 3 种施用方式中,以先接种木霉后接种病原菌的处理对黄瓜幼苗保护性酶的诱导作用最强,病害的防治效果最好,与莫贱友等^[36]、余小兰等^[37]等的报道结果类似。推测先接种木霉可使之优先在植物根际定殖,占领营养和空间,提高了对病原菌的拮抗能力,同时木霉提前诱导植物抗性酶使其活性增强,提高了植物的抗病性。因此,在实际应用中,提前施入木霉有利于提高黄瓜幼苗质量,提高防病能力和病害防治效果。本研究为开发高效生防木霉菌剂、指导产品应用、提高防病效果提供了依据。

参考文献

- [1] 姜林杰,耿岳,王璐,等. 设施番茄和黄瓜田土壤中农药残留及其对蚯蚓的急性风险[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(10): 2278–2286.
- [2] 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.
- [3] AHN I P, CHUNG H S, LEE Y H. Vegetative compatibility groups and pathogenicity among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* [J]. Plant Disease, 1998, 82(2): 244–246.
- [4] 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(6): 9–14.
- [5] 杨合同. 木霉分类与鉴定[M]. 北京:中国大地出版社, 2009.
- [6] 肖密. 哈茨木霉 T2-16 对西瓜枯萎病防治效果及机理初探[D]. 长沙:湖南农业大学, 2015.
- [7] 刘明鑫. 木霉菌对黄瓜促生作用与立枯病防效的研究[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学, 2018.
- [8] 毕卉. 不同木霉菌株对黄瓜枯萎病防治作用的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2016.
- [9] 滕安娜. 木霉菌对植物的促生效果及其机理的研究[D]. 济南:山东师范大学, 2010.
- [10] 张树武,徐秉良,程玲娟. 深绿木霉发酵液对黑麦草促生作用及生理生化特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2014, 32(2): 157–162.
- [11] 蒋文博. 外源 NO 在盐胁迫下对紫花苜蓿生长及膜脂过氧化的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2019.
- [12] 孙军利,赵宝龙,郁松林. 外源水杨酸对高温胁迫下葡萄幼苗膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2015, 33(3): 275–280.
- [13] SZCZECHE M, NAWROCKA J, FELCZYŃSKI K, et al. *Trichoderma atroviride* TRS25 isolate reduces downy mildew and

induces systemic defence responses in cucumber in field conditions [J]. Scientia Horticulturae, 2017, 224: 17–26.

- [14] 孙润红,徐俊蕾,杨丽荣,等. 枯草芽胞杆菌 YB-05 对小麦抗病性相关防御酶系的诱导作用[J]. 植物保护, 2018, 44(4): 99–104.
- [15] SINGH U B, MALVIYA D, WASIULLAH, et al. Bio-protective microbial agents from rhizosphere eco-systems trigger plant defense responses provide protection against sheath blight disease in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Microbiological Research, 2016, 192: 300–312.
- [16] 李欣欣,王秀红,史向远,等. 堆肥提取液诱导草莓对黄萎病抗性 & 抑菌机理研究[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(2): 294–302.
- [17] 张晓梦,田永强,潘晓梅,等. 2 株木霉抑菌效果及其促植物生长机制[J]. 南方农业学报, 2020, 51(11): 2713–2721.
- [18] 王依纯,廉华,马光恕,等. 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[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(3): 416–425.
- [19] 高长敏,马光恕,廉华,等. 木霉菌对黄瓜幼苗生长和膜脂过氧化指标及枯萎病防治效果的影响[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 762–770.
- [20] 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: 21.
- [21] 宗兆锋,康振生. 植物病理学原理[M]. 北京:中国农业出版社, 2002.
- [22] 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.
- [23] HARMAN G E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. [J]. Phytopathology, 2006, 9(2): 190–194.
- [24] 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.
- [25] 赵玳琳,卯婷婷,王廿,等. 微生物菌剂和生防木霉菌对甘蓝黑腐病的田间防效及其对甘蓝的促生作用[J]. 南方农业学报, 2019, 50(4): 761–767.
- [26] 常伟东,惠亮亮,徐敏,等. 植物叶绿体蛋白酶研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 36(3): 728–739.
- [27] 赵秀娟,唐鑫,程蛟文,等. 酶活性、丙二醛含量变化与苦瓜抗枯萎病的关系[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(3): 372–377.
- [28] MAŁOLEPSZA U, NAWROCKA J, SZCZECHE M. *Trichoderma virens* 106 inoculation stimulates defence enzyme activities and enhances phenolic levels in tomato plants leading to lowered *Rhizoctonia solani* infection [J]. Biocontrol Science and Technology, 2017, 27(2): 180–199.
- [29] 梁艳琼,唐文,吴怀伟,等. 生防菌 TB2 对甘蔗叶片抗病相关酶活的诱导作用[J]. 福建农业学报, 2016, 31(6): 620–625.

定性不足,具体原因还有待进一步探索。

综上所述,动物性氮源对玫烟色棒束孢的产孢有促进作用,所以经蚕蛹培养基复壮获得的菌株产孢量有了明显的提高,但对小菜蛾幼虫的毒力并没有显著的恢复,说明产孢量大的菌株毒力不一定强。甲壳素培养基对玫烟色棒束孢菌株的生长和毒力均有明显的促进作用,但在产孢量方面恢复效果一般,其恢复比例较稳定。因此,在生产中应用玫烟色棒束孢菌株,应根据具体需要综合考虑多种指标的影响选择复壮添加的营养物质。

参考文献

[1] 马元伟,王荣,高强,等. 外源氨基酸的添加对恢复或预防丝状真菌退化的研究[J]. 生物学杂志,2017,34(2):108-111.

[2] 樊美珍,李增智,唐晓庆. 白僵菌菌种退化及其控制[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):239-245.

[3] 李琳. 丝状真菌退化机制的研究[D]. 北京:中国科学院,2012:70-74.

[4] 邹东霞,徐庆玲,廖旺姣,等. 2 种方法复壮马尾松毛虫球孢白僵菌的研究[J]. 广西林业科学,2016, 45(4): 365-368.

[5] BUTT T M, WANG C, SHAH F A, et al. Degeneration of entomogenous fungi [M]//EILENBERGH J, HOKKANEN H M T. An ecological and societal approach to biological control. American:Springer, 2006:213-226.

[6] 李亚洁,王鹤,孟楠,等. 蛹虫草菌种复壮技术的研究[J]. 食用菌,2006,28(2):23-26.

[7] 孟豪,田晶,付淑慧,等. 玫烟色棒束孢与球孢白僵菌对桃蚜致病力对比[J]. 植物保护学报,2014,41(6): 717-722.

[8] 黄建华,罗任华,秦文婧,等. 玫烟色棒束孢对小菜蛾的致病力[J]. 江西农业学报,2012,24(10):62-64.

[9] 王宏民,张亚丽,张仙红. 玫烟色拟青霉孢子萌发和附着胞形成的影响因子研究[J]. 山西农业科学,2009, 37(4):66-69.

[10] 田晶,梁丽,李新风,等. 玫烟色棒束孢 IF-1106 菌株对烟粉虱的致病力[J]. 山西农业科学,2013,41(7):728-731.

[11] ZHOU Fucui, ALI S, HUANG Zhen. Influence of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* on *Axinoscymnus cardilobus* (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory conditions [J]. Biocontrol Science and Technology, 2010, 20(7): 709-722.

[12] 陈巍巍,冯明光. 玫烟色拟青霉的研究与应用现状[J]. 昆虫天敌,1999,21(3):140-144.

[13] 李农昌,樊美珍,李春如,等. 白僵菌有关培养条件及其与毒力关系的研究[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):254-259.

[14] 张仙红,张兔,张未仲. 玫烟色拟青霉最适液体培养条件的研究[J]. 微生物学杂志,2006,26(6):16-18.

[15] 浦静,彭鑫,朱丽梅,等. 玫烟色棒束孢培养条件的研究[J]. 金陵科技学院学报,2016,32(4):76-79.

[16] 张璐璐. 防治西花蓟马的球孢白僵菌液固双相发酵条件优化[D]. 北京:中国农业科学院,2016.

[17] 蔡国贵,林庆源,徐耀昌,等. 白僵菌菌株退化与培养条件关系及其控制技术[J]. 福建林学院学报,2001, 21(1):76-79.

[18] 李会平,黄大庄,王志刚,等. 不同基质传代白僵菌菌株胞外蛋白酶和几丁质酶产生水平与菌株对桑天牛幼虫毒力的关系[J]. 蚕业科学,2008,34(3):521-524.

[19] LOHMANN U, SIKORA R A, HÖFER M. Influence of phospholipids on growth, sporulation and virulence of the endoparasitic fungi *Drechmeria coniospora*, *Verticillium balanoides*, and *Harposporium anguillulae*, in liquid culture [J]. Journal of Phytopathology, 1989, 125(2): 139-147.

[20] 邓彩萍,马荣,闫喜中. 不同培养液和温度诱导球孢白僵菌 BF 菌株产酶特性的研究[J]. 新疆农业大学学报,2011,34(3):239-243.

(责任编辑:田 喆)

(上接 149 页)

[30] 葛体达,隋方功,白莉萍,等. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响[J]. 中国农业科学,2005,38(5):922-928.

[31] 梁巧兰,张娜,魏列新,等. 深绿木霉蛋白 TrpT2A 诱导兰州百合抗灰霉病的作用[J]. 中国生物防治学报,2017, 33(4): 545-551.

[32] 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.

[33] 赵忠娟,扈进冬,吴晓青,等. 哈茨木霉 LTR-2 对蔬菜种子和幼苗耐盐性的影响及其作用机制[J]. 山东科学,2015, 28(5): 27-34.

[34] 李纪顺,陈凯,李玲,等. 木霉融合子 Tpf-2 的定殖及其对番茄防御酶系的影响[J]. 植物保护,2018, 44(4): 65-69.

[35] 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.

[36] 莫贱友,郭堂勋,胡风云,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.

[37] 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.

(责任编辑:田 喆)