

刘畅,张欣玥,蔡汶妤,等.绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗促生作用机理的研究[J].江苏农业科学,2020,48(16):156-160.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.16.029

绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗促生作用机理的研究

刘畅,张欣玥,蔡汶妤,徐洪伟,周晓馥

(吉林师范大学/吉林省植物资源科学与绿色生产重点实验室,吉林四平 136000)

摘要:为探究绿色木霉和哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响,设置 4 种处理:以绿色木霉和哈茨木霉混合菌液灌根处理的黄瓜幼苗、绿色木霉灌根处理的黄瓜幼苗、哈茨木霉灌根处理的黄瓜幼苗、PD 培养基灌根处理的黄瓜幼苗,对株高、茎粗、叶宽、叶绿素含量和荧光特性、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性等进行测定。结果表明,与对照相比,施加混合木霉的黄瓜幼苗株高、叶宽、茎粗、叶绿素含量显著增加,最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 潜在活性(F_v/F_o)、光化学淬灭系数(q_p)、光合电子传递速率(ETR)、PS II 实际光量子产量[$Y(II)$]以及 POD 活性显著增加,同时非光化学淬灭系数(NPQ)及 MDA 含量显著降低,表明绿色木霉和哈茨木霉混合菌液能够显著促进黄瓜幼苗生长,效果优于施加单种菌液。

关键词:哈茨木霉;绿色木霉;黄瓜幼苗;促生效应

中图分类号: S642.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)16-0156-04

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是葫芦科一年生蔓生或攀援草本植物。黄瓜是我国最主要的食用蔬菜种类之一,其种植面积逐年增长,所以促进黄瓜生长在蔬菜生产中具有重要意义。

木霉菌(*Trichoderma* spp.)是生防真菌,在自然界中广泛存在,通常分布于植物残体、植物根以及土壤等环境中。目前,绿色木霉(*Trichoderma aviride*)和哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)是木霉菌中常用的 2 种木霉^[1]。Gajera 等以黑曲霉侵染的花生为试验材料,研究表明,木霉菌处理可以提高花生超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性^[2]。Metwally 等以洋葱为试验材料,研究表明,绿色木霉和丛枝菌根真菌不仅能提高洋葱的鲜干质量、根长、茎长和叶面积等生长参数,而且能提高洋葱叶片的叶绿素、类胡萝卜素和总色素含量^[3]。李艳娟等研究表明,木霉可以促进杉木种子萌发与幼苗生长,且可以提高其抗逆性^[4]。Poveda 等研究发现,哈茨木霉在十字花科植物根部定植和诱

导系统防御中起着关键作用^[5]。Elkelish 等以番茄幼苗为试验材料,研究表明,哈茨木霉可通过调节生理生化及分子机制,减轻水涝后番茄幼苗的生长变化^[6]。Panitch 等研究发现,生防剂、哈茨木霉和枯草芽孢杆菌共同处理可以提高木瓜愈伤组织中呋唑类生物碱的积累量^[7]。

绿色木霉和哈茨木霉能有效地促进植物生长,同时有着成本低廉、使用安全、持续效果好、增产稳定等多种优点。前人的研究多以单一木霉菌种处理的植物为试验材料,本研究采用绿色木霉和哈茨木霉菌液灌根处理的黄瓜幼苗为试验材料,观察绿色木霉和哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响,比较分析施加混合木霉与施加单种木霉的作用效果,以期 2 种菌株在农业生产上的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试黄瓜品种:津研四号。

供试培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)固体培养基;马铃薯葡萄糖(PD)液体培养基。

供试菌株:绿色木霉和哈茨木霉菌种由笔者所在实验室保存。

供试土壤:黑土,在高压灭菌锅中高温灭菌 2 h,放凉备用。

1.2 试验设计

盆栽试验于 2019 年 10—12 月在吉林省植物资

收稿日期:2020-03-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31070224);吉林省科技发展计划(编号:20190301059NY)。

作者简介:刘畅(1995—),女,吉林长春人,硕士研究生,研究方向为遗传学。E-mail:gsjlyj123456@163.com。

通信作者:周晓馥,博士,教授,博士生导师,研究方向为分子生物学。E-mail:zhouxiaofu@jlnu.edu.cn。

源科学与绿色生产重点实验室内进行。盆栽使用的花盆直径为 28 cm、高为 25 cm,每盆播种 4 穴,每穴 5~6 粒种子。在黄瓜播种后 5 d 即真叶初展时,挑取长势较一致的黄瓜幼苗,利用木霉发酵液进行灌根接种,每 2 d 浇 1 次处理后,35 d 进行指标测定。试验设 4 个处理:①绿色木霉和哈茨木霉灌根处理,施 10 mL 混合木霉发酵液;②绿色木霉灌根处理,施 10 mL 绿色木霉发酵液;③哈茨木霉灌根处理,施 10 mL 哈茨木霉发酵液;④PD 培养基灌根处理(对照),施 10 mL PD 培养基。

菌液制备:将 2 种木霉接种于 PDA 固体培养基上进行活化,5 d 后产生大量绿色分生孢子,用无菌水冲洗分生孢子,收集分生孢子液,用血球计数板计数,将孢子浓度调整为 1.5×10^8 CFU/mL。将分生孢子液以体积分数为 5% 的接种量接种到装有 100 mL PD 液体培养基的 250 mL 三角瓶中,在 28 ℃、180 r/min 摇床中培养 3 d,制成木霉发酵液,备用。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 植株株高、叶宽、茎粗的测定 利用直尺测定植株株高与叶宽,利用游标卡尺测定植株茎粗。

1.3.2 叶绿素含量的测定 分别在相同位置的叶片上选取 6 个测量点,采用叶绿素测定仪 TYS-A 测定叶片的 SPAD 值,最后计算记录数据的平均值。

1.3.3 叶绿素荧光参数的测定 利用 IMAGING-PAM 调制叶绿素荧光成像系统(Heinz Walz,德国)测定叶绿素荧光参数,叶片暗适应 30 min 后,测量光下诱导产生的初始荧光(F_0)以及用饱和脉冲光激发产生的最大荧光(F_m)。荧光从最大值降至 F_0 时,利用光化光 [$1\ 600\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] 诱导测定荧光动力学,每隔 20 s 打开饱和脉冲测定,当 PS II 反应中心处于关闭状态时的最大荧光产量(F_m')和任何时间的实际荧光强度(F)。最后测出的参数包括光系统 II (PS II) 最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学荧光淬灭系数(q_p)、非光化学荧光淬灭系数(NPQ)、PS II 潜在活性(F_v/F_0)等。

1.3.4 过氧化物酶活性及丙二醛含量的测定 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定。丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[8]。

1.4 数据处理与分析

本研究采用 SPSS 22.0 和 SigmaPlot 12.5 分别对数据进行差异性分析及绘制作图。

2 结果与分析

2.1 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响

如表 1 所示,通过数据分析表明,施加混合木霉处理的黄瓜幼苗株高、茎粗以及叶宽都显著高于对照。单独施加绿色木霉和哈茨木霉处理的黄瓜幼苗的株高、茎粗、叶宽同样比对照显著增加。施加混合木霉处理与单独施加木霉处理相比,株高和茎粗增加,但叶宽比单独施加绿色木霉处理降低 8%,比单独施加哈茨木霉处理增加 10%。结果表明,绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗的生长有明显的促进作用,使黄瓜幼苗长势更好、植株粗壮。

表 1 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响

处理	生长指标		
	株高(cm)	茎粗(cm)	叶宽(cm)
对照	22.20 ± 2.04a	0.31 ± 0.01a	5.73 ± 0.42a
哈茨木霉	36.53 ± 2.91b	0.38 ± 0.03b	6.67 ± 0.38b
绿色木霉	38.13 ± 4.66b	0.39 ± 0.02b	8.00 ± 0.15c
绿色木霉与哈茨木霉	39.33 ± 5.36b	0.46 ± 0.05b	7.33 ± 0.14bc

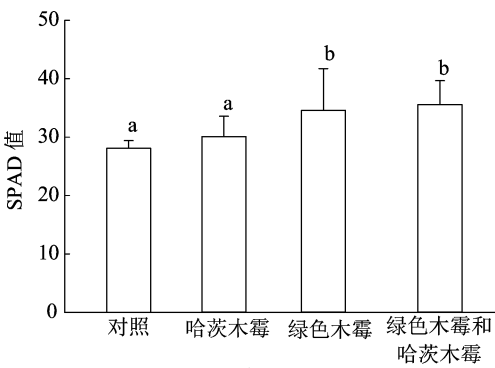
注:表中数据为 3 个样本的平均值;同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

2.2 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素能够影响植物的光合能力和光合活性。通过测定植株叶片的 SPAD 值,研究叶片叶绿素含量的变化。如图 1 所示,4 种处理的黄瓜幼苗叶绿素含量(SPAD 值)分别为 35.58、34.59、30.09 和 28.10,混合木霉和绿色木霉灌根处理的黄瓜幼苗比哈茨木霉灌根处理和对照显著增加,但施加混合木霉的黄瓜幼苗与施加绿色木霉的黄瓜幼苗之间差异不显著。表明绿色木霉和哈茨木霉可使黄瓜幼苗叶片中叶绿素含量增加,其中哈茨木霉作用更加明显,利于植株进行光合作用。

2.3 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗叶绿素荧光特性的影响

叶绿素荧光参数可以指示光合机构的性能。图 2 为不同处理下黄瓜幼苗 PS II 模式中的初始荧光(F_0)与最大荧光(F_m)图像。通过 F_v/F_m 能够较好地判断植物光合性能,由表 2 可知,施加混合木霉的黄瓜幼苗的最大光化学效率值最大,与施加哈茨木霉和对照间差异显著,但施加混合木霉与施加绿色木霉间差异不显著;施加混合木霉的黄瓜幼苗与



柱上不同小写字母表示处理间差异显著。下图同
图1 黄瓜叶片叶绿素含量的变化

施加哈茨木霉和对照组间相比,有效光化学效率(F_v'/F_m')增加,说明绿色木霉和哈茨木霉混合可使最大光化学效率和有效光化学效率增加。施加混合木霉的黄瓜幼苗叶片 F_v/F_o 与施加绿色木霉、哈

茨木霉和对照间差异显著,施加绿色木霉与施加哈茨木霉和对照间同样差异显著,所以施加混合木霉可促进光化学电子进入碳还原过程。与对照相比,施加木霉的黄瓜幼苗叶片 q_p 增加,其中施加混合木霉与施加绿色木霉相比显著增加,施加混合木霉、绿色木霉与施加哈茨木霉相比显著增加,施加哈茨木霉与对照相比增加,但差异不显著。说明混合木霉中绿色木霉作用明显,是使黄瓜幼苗 PS II 光化学电子传递活性增高的主要原因。 NPQ 反映植物耗散过剩光能为热的能力,经过混合木霉灌根后的黄瓜幼苗的 NPQ 比另外 3 组显著减少。表明黄瓜幼苗经过绿色木霉和哈茨木霉灌根后未能利用的光能减少。施加混合木霉处理与另外 3 个处理的光合电子传递效率(ETR)差异显著。叶绿色荧光数据总体表明,混合木霉中绿色木霉促进植株生长的作用明显。

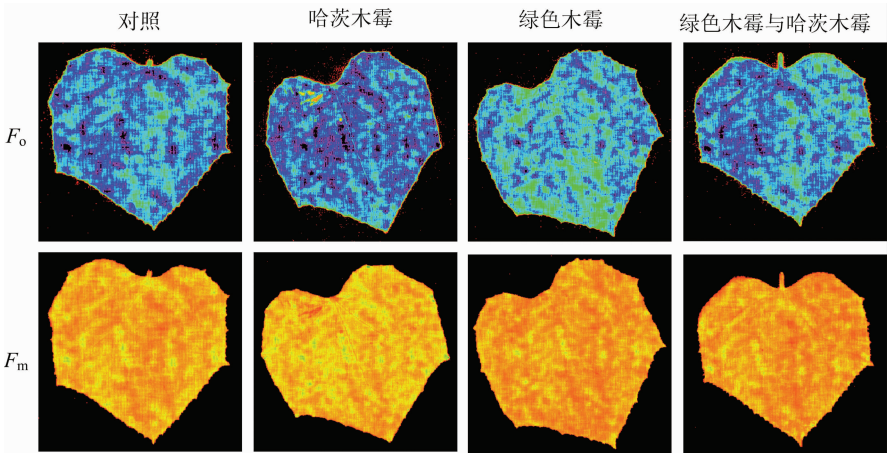


图2 4 种处理下黄瓜幼苗 PS II 模式中的 F_0 与 F_m 图像

表 2 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光特性的影响

处理	荧光指标						
	F_v/F_m	F_v'/F_m'	F_v/F_o	q_p	NPQ	ETR	PS II 实际光量子产量 $Y(II)$
对照	0.66 ± 0.013a	0.65 ± 0.010ab	2.33 ± 0.054a	0.31 ± 0.014a	0.18 ± 0.022c	5.01 ± 0.354a	0.28 ± 0.009a
哈茨木霉	0.68 ± 0.010a	0.67 ± 0.010ab	2.34 ± 0.050a	0.32 ± 0.100a	0.15 ± 0.020b	4.72 ± 0.350a	0.20 ± 0.010a
绿色木霉	0.77 ± 0.009b	0.62 ± 0.009a	3.23 ± 0.170c	0.48 ± 0.010b	0.19 ± 0.005c	9.26 ± 0.130b	0.37 ± 0.004a
绿色木霉与哈茨木霉	0.80 ± 0.019b	0.71 ± 0.009b	2.54 ± 0.046b	0.55 ± 0.015a	0.12 ± 0.002a	10.27 ± 0.349c	0.34 ± 0.011a

2.4 绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗 POD 活性与 MDA 含量的影响

由图 3 可知,施加混合木霉、绿色木霉和哈茨木霉后,黄瓜幼苗中 POD 活性升高,与对照组相比分别显著增加 30%、29%、28%,施加混合木霉对比施加绿色木霉与哈茨木霉增加,说明绿色木霉与哈茨

木霉混合后对黄瓜幼苗 POD 活性的提高有明显的促进作用。经木霉处理后,3 种黄瓜幼苗中 MDA 含量有所降低,施加混合木霉的黄瓜幼苗 MDA 含量明显低于对照组,且与施加绿色木霉和哈茨木霉都差异显著,说明绿色木霉与哈茨木霉都对黄瓜幼苗的生长起到了促进作用。

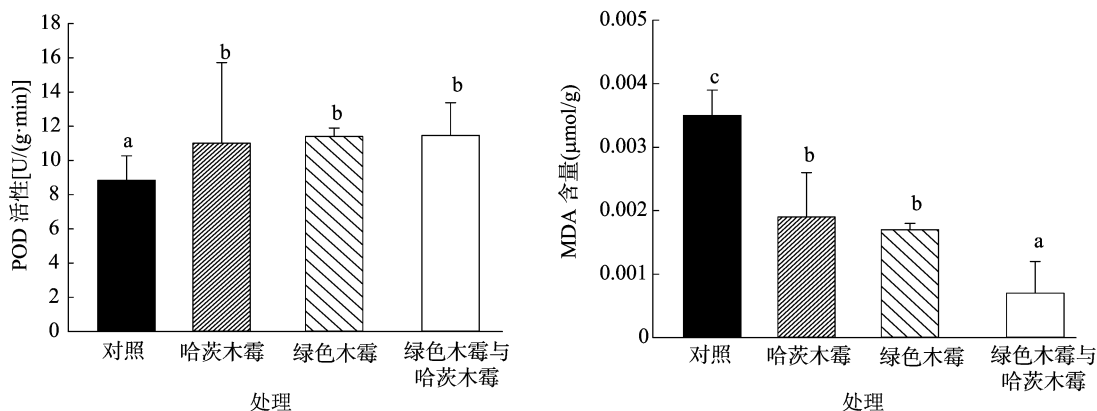


图3 绿色木霉和哈茨木霉对黄瓜幼苗 POD 活性和 MDA 含量的影响

3 讨论与结论

目前,对木霉的研究主要集中于生物防治方面,本研究以黄瓜幼苗为试验材料,研究了绿色木霉与哈茨木霉对黄瓜幼苗生长的影响,结果表明,绿色木霉与哈茨木霉能显著提高黄瓜幼苗的株高、茎粗、叶宽等生长因素,这与陆宁海等以番茄幼苗为试验材料的研究结果^[9]一致。株高是衡量作物生长量的基本标志之一,在栽培与耕作实践中,通常以株高动态来衡量各种技术措施的效果,尤其在相对值比较中更具有重要的参考价值^[10]。茎是植株主要支撑系统,其高度、粗度和节间长度影响植株的株型,从而影响植株生长^[11]。施加绿色木霉与哈茨木霉的混合木霉可增加黄瓜幼苗的株高、茎粗、叶宽等,且效果优于对黄瓜幼苗施加单一菌种。

SPAD 值是反映叶绿素含量的指标^[12]。施加绿色木霉与哈茨木霉的混合木霉可以显著增加黄瓜幼苗叶片的叶绿素含量,使最大光化学效率、有效光化学效率、PS II 潜在活性、光化学淬灭系数、光合电子传递速率、PS II 实际光量子产量等叶绿素荧光参数显著增加,其中,施加混合木霉的黄瓜幼苗 PS II 潜在活性、光化学淬灭系数、光合电子传递速率与单独施加绿色木霉和哈茨木霉的差异显著,施加混合木霉的黄瓜幼苗最大光化学效率与单独施加哈茨木霉差异显著,施加混合木霉的黄瓜幼苗有效光化学效率与施加绿色木霉差异显著。与杨雄等以湿地松为试验材料结果一致^[13]。NPQ 反映的是耗散掉的光能部分,表示 PS II 的一种自我保护能力^[14]。在本试验中,采用绿色木霉与哈茨木霉的混合木霉灌根的幼苗 NPQ 值显著降低,说明绿色木霉与哈茨木霉的混合木霉可提高黄瓜幼苗的光合能力,促进植株生长,效果优于单一菌种。

过氧化物酶是果蔬中存在的一种重要的氧化还原酶,它与果蔬的许多生理过程和生化代谢过程都有密切关系^[15]。本试验研究绿色木霉和哈茨木霉对黄瓜幼苗的影响,结果表明,2 种木霉的施加可使黄瓜幼苗的 POD 活性显著增加,使黄瓜幼苗抗病性增强,且施加混合木霉的效果优于施加单种木霉。遇文婧等研究表明,经木霉处理的山新杨的 SOD、POD、过氧化氢酶 (CAT)、L-苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 和多酚氧化酶 (PPO) 活性明显升高^[16]。丙二醛的积累会对细胞质膜等造成伤害,所以试验中通常利用丙二醛的含量作为膜脂过氧化指标^[17]。本试验表明,绿色木霉和哈茨木霉处理的黄瓜幼苗丙二醛含量显著降低,说明绿色木霉和哈茨木霉处理后黄瓜幼苗细胞膜脂过氧化程度降低,因此可促进黄瓜幼苗生长。

参考文献:

- [1] Prisana W, Shin - Ichi I, Anurag S. Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defense response and promote plant growth in lettuce (*Lactuca sativa*) [J]. *Fungal Ecology*, 2020, 43: 100867.
- [2] Gajera H P, Katakpara Z A, Patel S V, et al. Antioxidant defense response induced by *Trichoderma viride* against *Aspergillus niger* van Tieghem causing collar rot in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 91: 26 - 34.
- [3] Metwally R A, Al - amri S M. Individual and interactive role of *Trichoderma viride* and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and pigment content of onion plants [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2020, 70(2): 79 - 86.
- [4] 李艳娟, 刘 博, 庄 正, 等. 哈茨木霉与绿色木霉对杉木种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *应用生态学报*, 2017, 28(9): 2961 - 2966.
- [5] Poveda J, Hermosa R, Monte E, et al. The *Trichoderma harzianum* kelch protein ThKEL1 plays a key role in root colonization and the induction of systemic defense in brassicaceae plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 3389.

葛志刚,秦中华. 枇杷品种火炬设施栽培关键技术[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):160-163.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.16.030

枇杷品种火炬设施栽培关键技术

葛志刚¹, 秦中华²

(1. 上海由由农业科技有限公司, 上海 202162; 2. 上海湖宇农产品专业合作社, 上海 202151)

摘要:通过设施栽培可以有效解决火炬枇杷头批果冻害问题,提高枇杷产量、果实品质、提高果品商品率和提早上市。结合笔者实践,着重介绍了火炬枇杷设施栽培表现,从基础建园、土肥水管理、整修修剪、病虫害防治、各阶段温湿度管理、花果管理和采收等方面,系统总结了火炬枇杷品种设施栽培关键技术,以期上海市枇杷优质高效栽培提供技术参考。

关键词:枇杷;火炬;设施栽培;土肥水管理

中图分类号: S667.304 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)16-0160-04

枇杷秋冬季开花,春夏结实,5—6月上市,正值上海市本地鲜果上市淡季,枇杷果实酸甜可口,能清热止咳,深受消费者喜爱。上海市地处枇杷栽培的北缘,枇杷露地栽培的花器官和幼果极易受到冬季低温冻害的威胁。枇杷花蕾能耐-6℃低温,但幼果在-3℃时就因胚珠受冻导致果实不能继续发育而黄化脱落^[1]。枇杷大幼果期,遇急骤降温,且持续时间较长的0℃以下低温,空气湿度大时,水汽在幼果表面发生凝霜现象,引起表面数层细胞坏死而造成栓皮现象,形成栓皮果,严重影响枇杷的外

观商品性。冬季低温冻害轻的造成枇杷减产、商品果率低,有些年份极端低温天气会造成枇杷绝收,如2016年冬季低温冻害造成江浙沪地区露地枇杷近乎绝收。枇杷露地栽培成熟期遇到降水,会引起裂果、果实品质下降等问题。解决枇杷生产中遇到的低温冻害、裂果、日灼、产量低、优质果率低和品质不稳定等问题已成为上海市枇杷产业持续健康发展的关键。枇杷的头批花结果比第2、第3批花结果大,品质好,但头批花在秋季开放,到冬季结果时最容易受冻,如何预防头批果冻害尤为关键^[2]。与露地栽培相比,枇杷设施栽培可以有效避免冬季低温冻害的影响,可以显著提高枇杷产量、品质,枇杷提早成熟^[3-5]。上海市农业科学院选育的黄肉型枇杷新品种火炬^[6],晚花抗寒、果个大、品质好,近

收稿日期:2020-06-10

作者简介:葛志刚(1982—),男,内蒙古多伦人,硕士,中级农艺师,主要从事现代果树栽培管理技术研究。E-mail: gezhigang2009@163.com。

[6] Elkelish A A, Alhaithloul H A S, Qari S H, et al. Pretreatment with *Trichoderma harzianum* alleviates waterlogging - induced growth alterations in tomato seedlings by modulating physiological, biochemical, and molecular mechanisms [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 171: 103946.

[7] Panitch B, Supawadee D, Tharita K, et al. Increased carbazole alkaloid accumulation in clausena harmandiana callus culture by treatments of biocontrol agent, *Trichoderma harzianum* and bacillus subtilis [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2019, 189 (3): 871-883.

[8] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007.

[9] 陆宁海,吴利民,徐瑞富. 哈茨木霉 RT-12 对番茄幼苗生长的影响[J]. 湖南农业科学, 2006(6): 53-54.

[10] 何坤辉,常立国,崔婷婷,等. 多环境下玉米株高和穗位高的 QTL 定位[J]. 中国农业科学, 2016, 49(8): 1443-1452.

[11] 吴洋洋,徐婷婷,迟天华,等. 切花菊茎秆性状的生长动态与遗传分析[J]. 核农学报, 2020, 34(1): 55-61.

[12] 侯红乾,林洪鑫,刘秀梅,等. 长期施肥处理对双季晚稻叶绿素荧光特征及籽粒产量的影响[J]. 作物学报, 2020, 46(2): 280-289.

[13] 杨雄,刘乐平,李兴山,等. 哈茨木霉对湿地松幼苗光合作用和生物量累积的影响[J]. 湖北林业科技, 2018, 47(6): 27-30.

[14] Wittenberghe S V, Alonso L, Malenovsky Z, et al. *In vivo* photoprotection mechanisms observed from leaf spectral absorbance changes showing VIS-NIR slow-induced conformational pigment bed changes[J]. *Photosynthesis Research*, 2019, 142(3): 283-305.

[15] 刘建新,欧晓彬,王金成,等. 镉胁迫下裸燕麦幼苗对外源 H₂O₂ 的生理响应[J]. 草业学报, 2020, 29(1): 125-134.

[16] 遇文婧,杨帅,刁桂萍. 深绿木霉对山新杨生长及抗叶枯病能力的影响[J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(1): 71-75.

[17] 张庆,魏树和,代惠萍,等. 硒对茶树镉毒害的缓解作用研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(1): 200-204.