

张紫瑶,谈 韫,樊 航,等. 绿色木霉和枯草芽孢杆菌对番茄苗期根系形态及土壤速效养分的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(9):111-115.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.09.018

绿色木霉和枯草芽孢杆菌对番茄苗期根系形态及土壤速效养分的影响

张紫瑶¹,谈 韫¹,樊 航¹,李玉平²,潘 宇³,徐洪伟¹,周晓馥¹

(1. 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;

2. 吉林省四平市铁东区石岭镇农技推广站,吉林四平 136000; 3. 吉林省土壤肥料总站,吉林四平 136000)

摘要:为筛选绿色木霉和枯草芽孢杆菌不同菌种对苗期番茄生长的最佳处理,以番茄幼苗为材料设置 LB 培养基、枯草芽孢杆菌、PD 培养基、绿色木霉、PD 和 LB 混合培养基、绿色木霉和枯草芽孢杆菌混合菌,共计 6 组处理。分析绿色木霉和枯草芽孢杆菌对番茄苗期根系形态和土壤肥力的影响,结果表明,施加绿色木霉和枯草芽孢杆菌混合菌,显著增加总根长、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积($P < 0.05$),显著提高土壤速效养分含量;单独施加枯草芽孢杆菌,显著增加分枝数、根尖数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积、总根体积,显著提高土壤中铵态氮和速效钾的含量;单独施加绿色木霉,显著增加总根长、根尖数、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积、总根体积,增幅分别为 119.56%、225.00%、98.30%、80.60%、58.21%、77.74%、312.28%,显著提升土壤中铵态氮、有效磷的含量,增幅为 63.13%、104.00%,综合表现最优。

关键词:枯草芽孢杆菌;绿色木霉;根系形态;土壤速效养分

中图分类号: S641.206 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)09-0111-05

番茄(*Lycopersicon esculentum*),茄科双子叶被子植物,我国北方主要栽培的设施作物,对水分以及土壤肥力要求较高。以传统方式灌水施肥不仅易造成水肥浪费、土壤板结,还会导致作物减产、环境污染等诸多不良影响^[1],因此在农业生产、发展中生物菌肥的应用具有重大意义。

土壤中养分的吸收取决于植株的根系结构与形态。根系的形态分布与植物养分的利用率直接相关^[2],同时根系形态、生理特征与根系功能的发挥息息相关^[3]。

伴随着人们对设施蔬菜的安全意识以及环境保护意识的日益增加,挖掘有益菌株在土壤中活化难溶养分的研究引发热切关注。木霉菌(*Trichoderma* spp.)是生防微生物的一种,分布广泛,常定殖于土质肥沃的植株根、叶以及植物残体周围^[4-5]。绿色木霉(*Trichoderma aviride*)是常用木

霉之一。研究表明,木霉可以通过拮抗作用抑制植物病害的发生,同时可提高种子活力,使种子萌发率明显上升,促进幼苗生长^[6-9]。刘畅等通过盆栽试验结果表明,单一接种与混合接种绿色木霉和哈茨木霉菌液处理黄瓜幼苗农艺性状(株高、茎粗、叶宽)以及光合参数(最大光化学效率、光化学淬灭系数、光合电子传递速率)显著上升,促进黄瓜幼苗生长^[10]。杨春平等分别以浸种和叶面喷施 2 种方式施加绿色木霉 L24 菌株分生孢子可湿性粉剂处理玉米,结果表明,绿色木霉 L24 菌株分生孢子可湿性粉剂对玉米生长具有促进作用^[11]。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)通常存在于土壤、腐败物中,可分泌蛋白酶、纤维素酶等多种酶类以及维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 等多种维生素,增加土壤中养分含量,促进植物生长。随着枯草芽孢杆菌在农业生产上应用的不断深入,相关研究成果日渐增多^[12-13]。刘丽英等通过平板对峙法,将枯草芽孢杆菌 SNB-86 进行固态发酵并制备成微生物菌肥,用于培养甜茶幼苗,结果表明,甜茶幼苗鲜质量、干质量、株高、地径分别显著提高 171.5%、142.3%、97.9%、57.6%^[14]。姜海燕研究指出,接种枯草芽孢杆菌后,西瓜的生长发育,植株的干、鲜质量以及叶片数量均有不同程度增加^[15]。绿色木霉和枯草

收稿日期:2021-08-17

基金项目:吉林省科技发展规划(编号:20190301059NY);中央指导地方科技发展资金吉林省基础研究专项(编号:202002016JC)。

作者简介:张紫瑶(1996—),女,吉林白城人,硕士研究生,主要从事植物遗传学研究。E-mail:1804403391@qq.com。

通信作者:周晓馥,博士,教授,博士生导师,主要从事植物分子生物学研究。E-mail:zhouxiaofu@jlnu.edu.cn。

芽孢杆菌能有效促进植物生长,同时具有价格低廉、安全性高、持续效果好、稳定增产等多种优点。前人的研究多集中于绿色木霉或枯草芽孢杆菌单一菌种处理植物材料后植株的响应,关于其促生及生防效果研究较多,而对比分析施加单一菌种与混合菌种间差异,综合探究不同处理对植物根系生长和土壤速效养分活化的研究鲜有报道。

本研究以苗期番茄为研究对象,运用 2 种不同类型的菌种绿色木霉和枯草芽孢杆菌,研究施用不同类型菌种对番茄苗期根系生长状况及土壤肥力的影响,对比分析施加混合菌液与单一菌液的作用效果,确定适宜番茄苗期生长的菌液施加方式,为番茄的高效栽培以及土壤保育奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试番茄品种:新中蔬四号。

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

供试菌株:绿色木霉和枯草芽孢杆菌菌种均由笔者所在实验室保存。

供试土壤:梨树黑土,置于高压灭菌锅中 121 ℃、30 min 高温灭菌,放凉备用。具体理化性质为粒径小于 6 mm,铵态氮含量 189.4 mg/kg,有效磷含量 60.74 mg/kg,速效钾含量 618.4 mg/kg。

1.2 试验设计

1.2.1 盆栽试验 取灭菌土壤放于花盆中(规格 28 cm × 25 cm),每盆等分为 4 格,每格 5 粒种子。待 2 叶 1 心时,挑取生长状态相似的健康番茄幼苗,进行灌根处理,分别施用浓度为 1.5 亿、1.6 亿 CFU/mL 的绿色木霉、枯草芽孢杆菌,灌药量为每株 10 mL,每 2 d 灌溉 1 次,35 d 后进行指标测定。试验设置 6 个处理:(1) LB 液体培养基灌根处理,施加 10 mL LB 液体培养基;(2) PD 培养基灌根处理,施加 10 mL PD 培养基;(3) PD 和 LB 混合培养基灌根处理,施加 10 mL 混合液体培养基,比例为 1:1;(4) 枯草芽孢杆菌灌根处理,接种 10 mL 枯草芽孢杆菌;(5) 绿色木霉灌根处理,接种 10 mL 绿色木霉;(6) 绿色木霉和枯草芽孢杆菌混合菌灌根处理,接种 10 mL 混合菌,比例为 1:1。

1.2.2 菌液制备

1.2.2.1 绿色木霉菌液的制备 将绿色木霉接种

于 PDA 培养基,28 ℃ 恒温培养,5 d 时用无菌水冲洗平板,获得分生孢子液,置于 100 倍显微镜下观察绿色分生孢子,并利用血球计数板和细胞计数器将所得孢子计数,调整孢子浓度为 1.5 亿 CFU/mL,备用。

1.2.2.2 枯草芽孢杆菌菌液的制备 将枯草芽孢杆菌接种于 LB 固体培养基,37 ℃ 恒温培养,12 h 后挑取单个菌落至 LB 液体培养基,摇床 37 ℃、166 r/min 恒温培养 24 h。调整菌液浓度为 1.6 亿 CFU/mL,备用。

1.3 试验方法

1.3.1 根系形态的测定 将番茄幼苗(2 叶 1 心)培育至 35 d 时进行破坏性取样,每个处理选取生长程度接近平均水平的健康个体作为样株,各处理分别取样 3 株用于测试分析。取样后,迅速将幼苗根系分离并用低温去离子水小心清洗干净,随后将完整的根系置于装有去离子水的树脂托盘内,用镊子不断调整,避免根系重叠。随后进行成像扫描(分辨率 600 dpi),用 Win RHIZO 2012b 专业版图像分析软件对根系形态数据进行搜集,包括总根长、平均根系直径、总投影面积、总根表面积、总根体积、根尖数、分枝数。

1.3.2 土壤速效养分检测 取灭菌后土壤测定速效养分初始值,施加菌液后,采集不同处理番茄幼苗根际周围 1~2 cm 深土壤,测定铵态氮含量、有效磷含量、速效钾含量,之后小心挖出根系。

1.3.3 数据处理与分析 番茄幼苗根系形态的综合评定,利用隶属函数值对不同菌种处理苗期番茄根系指标的生长状况进行评定。隶属函数值公式为

$$R(x_i) = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}}。$$

式中: x_i 为不同处理后某一指标的测定值; x_{\max} 为不同处理后该指标的最大值; x_{\min} 为不同处理后该指标的最小值。

将全部隶属函数值相加并求平均值,得到各菌种处理后的综合隶属函数值,据此再对不同菌种处理的番茄幼苗根系生长状况进行综合评价,综合隶属函数值越大,效果越好。

数据输入 Excel 处理并绘制表格,使用 SPSS 分析, SigmaPlot 绘制作图。

2 结果与分析

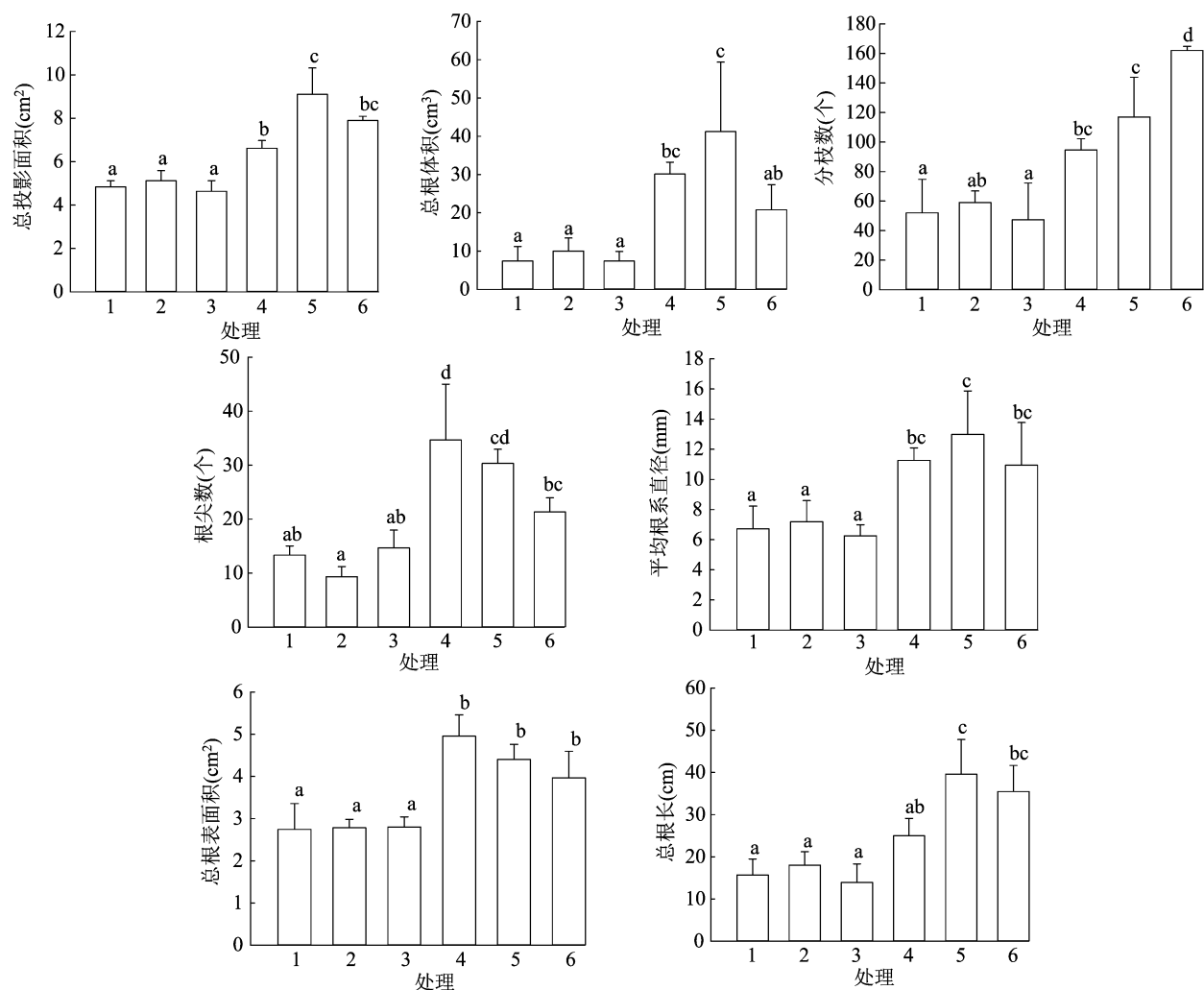
2.1 不同处理对苗期番茄根系形态的影响

植物的根系是吸收土壤水分、养分的重要器

官。总根表面积、总投影面积、总根体积、根尖数、分枝数、总根长、平均根系直径分别反映了作物根系对水分和养分的吸收能力与范围以及根系健壮程度。由图 1 可知,接种枯草芽孢杆菌处理与施加 LB 培养基处理相比,根尖数、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总投影面积、总根体积分别增加 160.00%、82.50%、67.80%、80.47%、36.84%、307.68%,均差异显著($P < 0.05$),只有总根长差异不显著;接种绿色木霉处理与施加 PD 培养基处理相比,根尖数、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总投影面积、总根体积、总根长分别上升 225.00%、98.30%、80.60%、58.21%、77.74%、312.28%、

119.56%,均差异显著;接种混合菌液处理与施加混合培养基处理相比,分枝数、平均根系直径、总根表面积、总投影面积、总根长分别提高 242.25%、74.94%、41.59%、70.42%、155.07%,均差异显著,根尖数和总根体积差异不显著。

对测定的所有根系生长状况数据进行隶属函数计算(表 1),结果表明,仅接种绿色木霉且施用浓度为 1.5 亿 CFU/mL 处理排名第一,施用混合菌处理排名第二,仅接种枯草芽孢杆菌施用浓度为 1.6 亿 CFU/mL 处理排名第三,未接种枯草芽孢杆菌和绿色木霉施加混合培养基处理排名第四。



1—LB 培养基处理; 2—PD 培养基处理; 3—PD 和 LB 混合培养基处理; 4—枯草芽孢杆菌处理; 5—绿色木霉菌处理; 6—绿色木霉和枯草芽孢杆菌混合菌处理; 相同参数不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$); 图中数据为平均值±标准差。图 2 同

图 1 不同处理对苗期番茄根系形态的影响

2.2 不同处理对苗期番茄土壤中速效养分含量的影响

土壤中的氮、磷、钾可以为植株生长提供能量,

速效养分含量直接反映土壤供肥能力,供肥能力的强弱可以影响植株的品质。由图 2 可知,接种绿色木霉处理与施加 PD 培养基处理相比,铵态氮与有效

表 1 不同处理苗期番茄根系形态隶属函数值及综合排名

处理	隶属函数值								排序
	总根长	平均根系直径	总根表面积	总根体积	总投影面积	根尖数	分枝数	平均	
Aa	0.092 7	0.129 0	0.162 9	0.062 9	0.086 0	0.162 6	0.211 7	0.129 7	4
Ab	0.364 4	0.534 1	0.810 0	0.422 8	0.385 4	0.650 4	0.531 5	0.528 4	3
Ba	0.723 3	0.672 9	0.643 8	0.598 2	0.760 4	0.544 7	0.682 4	0.660 8	1
Bb	0.622 1	0.507 6	0.513 2	0.275 0	0.578 9	0.325 2	0.986 5	0.544 1	2

注:A 表示不施加绿色木霉;B 表示施用浓度为 1.5 亿 CFU/mL L 绿色木霉;a 表示不施加枯草芽孢杆菌;b 表示施用浓度为 1.6 亿 CFU/mL 枯草芽孢杆菌。

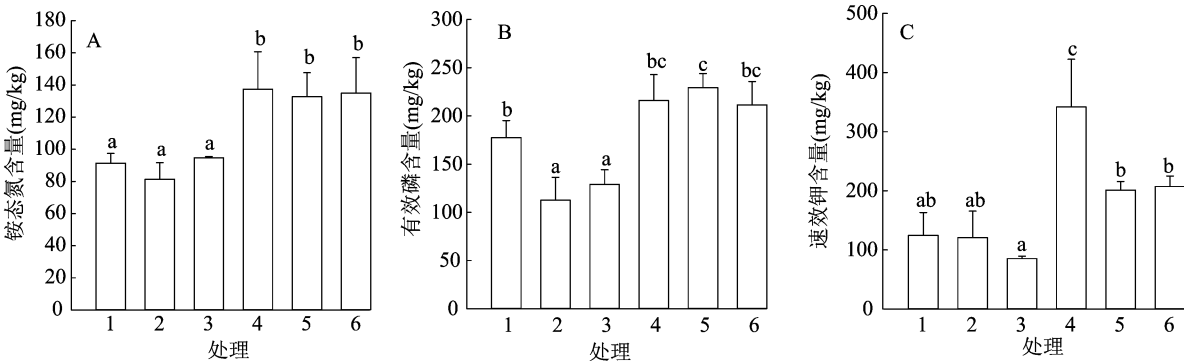


图 2 不同处理对苗期番茄土壤中速效养分的影响

磷含量分别显著增加 63.13% 和 104.00%, 速效钾含量虽有增加但差异不显著。接种枯草芽孢杆菌处理与施加 LB 培养基处理相比, 铵态氮与速效钾含量分别显著增加 50.31% 与 174.00%, 但有效磷含量差异不显著。接种绿色木霉处理与接种枯草芽孢杆菌处理相比, 土壤铵态氮含量与有效磷含量变化不显著, 速效钾含量显著降低。接种混合菌液处理与施加混合培养基处理相比, 铵态氮、有效磷与速效钾含量分别显著增加了 42.51%、63.88% 与 143.00%。接种不同类型菌种后, 除接种枯草芽孢杆菌处理与施加 LB 培养基处理相比有效磷含量差异不显著以及接种绿色木霉与施加 PD 培养基相比速效钾含量差异不显著外, 其余各菌种处理与各自对照相比铵态氮、有效磷、速效钾的含量均差异显著, 不同菌种处理结果表明, 单独接种枯草芽孢杆菌处理与单独接种绿色木霉处理、接种混合菌处理比较发现, 速效钾含量显著增加。由此可以得出, 枯草芽孢杆菌对土壤中氮元素以及钾元素活化效果最好; 绿色木霉对土壤中磷元素活化效果最好, 而混合菌种兼具绿色木霉和枯草芽孢杆菌两者特性, 对土壤中的氮、磷、钾各元素均有较好的活化效果。

2.3 速效养分含量与根系形态相关性分析

将不同处理的土壤速效养分含量与苗期番茄根系形态指标应用 SPSS 软件进行相关性分析, 结

果见表 2。铵态氮、有效磷、速效钾各速效养分含量极显著正相关。铵态氮含量与总根长、分枝数、总根表面积、总根体积、总投影面积显著正相关, 与根尖数和平均根系直径显著正相关; 有效磷含量与总根长、分枝数、总根表面积、总投影面积显著正相关, 与根尖数、平均根系直径、总根体积显著正相关; 速效钾含量与根尖数和总根表面积极显著正相关, 与平均根系直径、总根体积、总投影面积显著正相关。

3 讨论

在单独施用 1.6 亿 CFU/mL 枯草芽孢杆菌情况下, 表现总体优于施加 LB 培养基处理, 能够显著增加根尖数、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积、总根体积, 提升土壤铵态氮和速效钾含量, 综合排名第三。在单独施用 1.5 亿 CFU/mL 绿色木霉情况下, 总体表现与施加 PD 培养基处理相比能够显著增加总根长、根尖数、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积、总根体积, 增加土壤铵态氮和有效磷含量, 综合排名第一。在绿色木霉和枯草芽孢杆菌以 1:1 混合接种情况下, 总体表现优于施加混合培养基, 能够显著增加总根长、分枝数、平均根系直径、总根表面积、总根投影面积, 提升土壤铵态氮、有效磷、速效钾的含量, 综合排名第二。

表 2 速效养分含量与根系形态相关性分析

测定指标	相关系数									
	铵态氮含量	有效磷含量	速效钾含量	总根长	根尖数	分枝数	平均根系直径	总根表面积	总根体积	总投影面积
铵态氮含量	1.000									
有效磷含量	0.809 **	1.000								
速效钾含量	0.749 **	0.609 **	1.000							
总根长	0.641 **	0.701 **	0.386	1.000						
根尖数	0.547 *	0.584 *	0.627 **	0.489 *	1.000					
分枝数	0.669 **	0.609 **	0.408	0.789 **	0.438	1.000				
平均根系直径	0.587 *	0.565 *	0.514 *	0.805 **	0.656 **	0.661 **	1			
总根表面积	0.763 **	0.736 **	0.618 **	0.623 **	0.781 **	0.580 *	0.728 **	1.000		
总根体积	0.606 **	0.570 *	0.503 *	0.747 **	0.753 **	0.603 **	0.916 **	0.734 **	1.000	
总投影面积	0.695 **	0.673 **	0.478 *	0.819 **	0.616 **	0.750 **	0.735 **	0.649 **	0.726 **	1.000

注：*、** 分别表示在 0.05、0.01 水平上存在显著、极显著相关关系。

研究表明,接种枯草芽孢杆菌可以显著提高土壤中铵态氮和速效钾的含量;接种绿色木霉可以显著增加土壤中铵态氮和有效磷含量;2 种菌混合接种苗期番茄,显著提升土壤中铵态氮、有效磷、速效钾的含量,更加全面地增加土壤中可直接利用养分。2 种菌混合接种处理位于接种不同菌种处理苗期番茄隶属函数综合排名第 2 位,介于单独接种绿色木霉处理和单独接种枯草芽孢杆菌处理之间,这可能与接种混合菌的比例有关。

相关性分析发现,铵态氮、有效磷、速效钾各速效养分含量间呈极显著正相关。这表明一种速效养分含量的升高,可能在一定程度上影响其他速效养分的积累。

综上所述,生产中可以综合考虑合理接种混合菌,提高作物产量。虽然接种混合菌后可以显著增加多种土壤速效养分含量,有利于作物在田间生长,但也应根据作物的生长状况进行适当的追肥。今后还将进一步探究不同菌种混合、不同接种比例以及与传统肥料搭配使用对根系形态以及土壤速效养分含量的影响,探明活化土壤难溶养分的最佳菌种组合以及配比,为生产上利用微生物菌肥活化土壤难溶养分、减肥增效提供理论依据。

参考文献:

[1]高 兵,任 涛,李俊良,等. 灌溉策略及氮肥施用对设施番茄产量及氮素利用的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2008,14(6): 1104 - 1109.

[2]李秧秧,刘文兆. 土壤水分与氮肥对玉米根系生长的影响[J]. 中国生态农业学报,2001,9(1):13 - 15.

[3]唐文帮,邓化冰,肖应辉,等. 两系杂交水稻 C 两优系列组合的

高产根系特征[J]. 中国农业科学,2010,43(14):2859 - 2868.

[4]尹 婷,徐秉良,梁巧兰,等. 耐药性木霉 T2 菌株的筛选、紫外诱变与药剂驯化[J]. 草业学报,2013,22(2):117 - 122.

[5]Monte E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology[J]. International Microbiology:the Official Journal of the Spanish Society for Microbiology,2001,4(1):1 - 4.

[6]郭润芳,刘曙光,高克祥,等. 拮抗木霉菌在生物防治中的应用与研究进展[J]. 中国生物防治,2002,18(4):180 - 184.

[7]Shores M, Harman G E, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. Annual Review of Phytopathology,2010,48:21 - 43.

[8]Harman G E. *Trichoderma*—not just for biocontrol anymore[J]. Phytoparasitica,2011,39(2):103 - 108.

[9]Akladios S A, Abbas S M. Application of *Trichoderma harzianum* t22 as a biofertilizer potential in maize growth[J]. Journal of Plant Nutrition,2014,37(1):30 - 49.

[10]刘 畅,张欣玥,蔡汶好,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.

[11]杨春平,刘 露,杜 鹏,等. 绿色木霉 I24 对玉米幼苗生长的影响[J]. 四川农业大学学报,2009,27(4):419 - 422.

[12]Zhao Q Y, Ran W, Wang H, et al. Biocontrol of *Fusarium* wilt disease in muskmelon with *Bacillus subtilis* Y - IVI [J]. BioControl,2013,58(2):283 - 292.

[13]Cao G Q, Zhang X H, Zhong L, et al. A modified electro - transformation method for *Bacillus subtilis* and its application in the production of antimicrobial lipopeptides[J]. Biotechnology Letters, 2011,33(5):1047 - 1051.

[14]刘丽英,刘珂欣,迟晓丽,等. 枯草芽孢杆菌 SNB - 86 菌肥对连作平邑甜茶幼苗生长及土壤环境的影响[J]. 园艺学报,2018, 45(10):2008 - 2018.

[15]姜海燕. AM 真菌和枯草芽孢杆菌对西瓜枯萎病的防效[J]. 北方园艺,2016(24):124 - 127.