

木霉与椰子水复配中量元素水溶肥促进黄瓜种子萌发和幼苗生长

徐 宁, 徐秋实, 王剑宁, 施雨桐, 刘 震, 刘 铜*

海南大学植物保护学院/海南省绿色农用生物制剂创制工程中心, 海南海口 570228

摘 要: 木霉菌在绿色农业病害防控中是一种重要的生防功能微生物, 普遍开发为木霉菌剂用于生物防治、生物肥料及土壤改良剂。传统木霉菌剂的开发局限于木霉菌株的筛选及发酵条件的优化等, 因此探索木霉菌新型应用方式具有重要的意义。椰子水在椰子工业生产中因其不耐储存、运输及开发成本高常作为废弃物直接排放丢弃。本研究以木霉孢子粉和热带废弃椰子水为材料, 将废弃椰子水与木霉孢子粉复配成中量元素水溶肥, 探究该水溶肥对黄瓜种子萌发与黄瓜幼苗生理指标的影响。结果表明: 椰子水中添加中量元素并调整 pH 7 对木霉产孢效果最好, 产孢量达到 2.32×10^7 CFU/mL; 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥 (A 处理) 和椰子水与木霉复配水溶肥 (B 处理) 黄瓜种子萌发率分别为 94.44%、87.50%, 相对于无菌水 (CK) 提高了 28.30%、18.87%, 显著促进黄瓜种子的萌发。盆栽试验表明 A 处理株高与根长分别为 24.01、27.76 cm, 较 CK 分别提高 48.03%、47.27%, 显著促进黄瓜幼苗的生长; 同时该处理组黄瓜幼苗茎鲜重与茎干重以及根鲜重与根干重也显著高于 CK。进一步测定黄瓜幼苗的总叶绿素、还原糖与可溶性蛋白含量以及过氧化氢酶 (POD) 与过氧化氢酶 (CAT) 活性, 相较于 CK 分别提高 97.46%、66.32%、58.85%、32.67%、40.31%; 并且能显著降低丙二醛 (MDA) 含量, 较 CK 降低 79.96%。综上, 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥处理组可以显著促进黄瓜种子萌发和幼苗生长, 提高了幼苗的总叶绿素、还原糖、可溶性蛋白含量以及 POD 和 CAT 活性, 降低 MDA 含量, 增强黄瓜抵抗逆境胁迫的能力。

关键词: 木霉; 椰子水; 水溶肥; 黄瓜

中图分类号: S147.5 文献标识码: A

Water-soluble Fertilizer Compounded with Medium Element in *Trichoderma* spp. and Coconut Water Promoted Cucumber Seed Germination and Seedling Growth

XU Ning, XU Qiushi, WANG Jianning, SHI Yutong, LIU Zhen, LIU Tong*

School of Plant Protection, Hainan University / Engineering Center of Agricultural Microbial Preparation Research and Development of Hainan, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: *Trichoderma* spp. is an important biocontrol microorganism in the fungal disease prevention and control of green agriculture. Which is widely developed as *Trichoderma* agent for biological control, biofertilizer and soil amendment. The development of traditional *Trichoderma* fungicide is limited to the screening of *Trichoderma* strains and the optimization of fermentation conditions. Therefore, it is necessary to explore a new application mode of *Trichoderma*. Due to intolerance to storage and high costs of transportation and development, coconut water is often directly discarded as waste in the production of coconut industry. In this study, coconut water was compounded with *Trichoderma* spores and medium elements as water-soluble fertilizers to explore the effects on seed germination and seedling physiological indexes of cucumber. The results showed that adding medium element to coconut water and ad-

收稿日期 2022-06-21; 修回日期 2022-09-06

基金项目 国家级大学生创新创业训练项目 (No. 2021110589047)。

作者简介 徐 宁 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 植物病理学。*通信作者 (Corresponding author): 刘 铜 (LIU Tong), E-mail: liutongamy@sina.com。

justing pH to 7 had the best effect on the production of *Trichoderma* spore, and the sporulation reached 2.32×10^7 CFU/mL. The treatment group A of water-soluble fertilizer compounded with medium element in *Trichoderma* spp. and coconut water and treatment group B of water-soluble fertilizer compounded with *Trichoderma* spp. and coconut water significantly promoted the germination of cucumber seeds, and the germination rates of cucumber seeds was 94.44% and 87.50%, respectively, compared with sterile water (CK), which increased by 28.30% and 18.87%, respectively. Pot experiment showed that the plant height and root length of treatment group A was 24.01 cm and 27.76 cm, respectively, which was 48.03% and 47.27% higher than those of CK, which significantly promoted the growth of cucumber seedlings. At the same time, the fresh weight and dry weight of stem and root of cucumber seedlings in treatment group A were also significantly higher than those of CK. Further, we determined the content of total chlorophyll, reducing sugar and soluble protein, the activity of peroxidase (POD) and catalase (CAT) of cucumber seedlings in treatment group A, compared with CK, which increased by 97.46%, 66.32%, 58.85%, 32.67%, and 40.31%, respectively; and the content of malondialdehyde (MDA) was significantly decreased, which was 79.96% lower than that of CK. In summary, the treatment group of water-soluble fertilizer compounded with medium element in *Trichoderma* spp. and coconut water could significantly promote cucumber seed germination and seedling growth, improve the contents of total chlorophyll, reducing sugar, soluble protein, POD and CAT activity, decrease MDA content of seedlings, and enhance the ability of cucumber to resist stress.

Keywords: *Trichoderma*; coconut water; water-soluble fertilizer; cucumber

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.07.013

椰子水是椰子果实腔内的液体胚乳^[1], 其主要成分有糖、维生素、生长促进因子、蛋白质和氨基酸等, 具有较高的营养和保健价值^[2-3]。然而在椰子产品的加工过程中因为椰子水不耐储存、运输及开发成本高等问题常作为废弃物直接倾倒、遗弃, 无法有效将废弃椰子水大规模利用。据统计, 我国年加工椰子约 25 亿个, 每年废弃椰子水约 $6.25 \times 10^5 \sim 6.25 \times 10^6$ t^[4]。因椰子水中含有促生长因子, 可将其加工制作成发酵基质以促进微生物的生长^[5]。废弃椰子水中含有脂质、悬浮固体和挥发性脂肪酸, 直接排放易造成环境微生物群落失衡、pH 变化, 对环境安全有着极大的威胁。因此合理开发利用椰子水, 减少过度废弃对环境造成的污染是海南椰子产业发展亟待解决的问题。

木霉 (*Trichoderma* spp.) 是自然界广泛存在的生防功能微生物, 具有促进植物生长、诱导并增强植物抗逆性等功能^[6]。研究表明, 使用木霉等有益微生物可能会促进作物的初级或次级代谢, 提高作物产量^[7-8], 改善作物品质^[9]。研究报告木霉能与废弃物复配促进作物生长并提高产量。ARAJO 等^[10]发现污水污泥生物炭和哈茨木霉联合使用对大豆的产量具有增效作用。在木霉与水稻秸秆提取物中添加一定量的污泥水解物能够促进黄瓜和小白菜生长^[11]。

氨基酸水溶肥具有能被植物快速吸收, 增加作物产量和改善果实品质等优势, 能有效减少农业生产中大量施用无机化肥和农药造成的环境污

染^[12]和农药残留等问题。随着人们生态环保意识的不断深化, 氨基酸水溶肥的研究和应用越来越受到人们的重视^[13]。目前木霉与椰子水复配成水溶肥的研究尚未见报道, 单一施用木霉菌剂的效果并不理想, 为了合理利用废弃椰子水, 减少环境污染, 同时挖掘木霉与氨基酸水溶肥复配的潜力, 本研究将木霉与椰子水复配成中量元素水溶肥, 探究木霉和废弃椰子水复配在农业生产中的应用, 为推动绿色、高效的木霉水溶肥开发以及废弃椰子水的利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试作物为成都好特园艺有限公司川绿十一号黄瓜种子。供试菌株: *Trichoderma asperellum* FJ069 (由海南省绿色农用生物制剂工程研究中心提供), 已保存在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 (CGMCC), 保藏编号为 CGMCC No.17976。供试椰子水: 海南工业废弃椰子由椰树集团提供。供试土壤: PINDSTRUP 草炭土。

供试 PDA 培养基^[14]: 200 g 马铃薯煮熟后滤液, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, ddH₂O 定容至 1 L。

1.2 方法

1.2.1 木霉孢子悬浮液制备 将供试菌株 *T. asperellum* FJ069 接种在 PDA 培养基上, 28 °C 光照培养 5 d 后, 刮取平板上的木霉孢子, 用无菌水调整孢悬液浓度为 1.0×10^9 CFU/mL。

1.2.2 椰子水和中量元素对木霉产孢量的影响 为探究椰子水和中量元素对木霉菌产孢能力的影响, 试验共设置 6 个处理组: (1) Y-Z(pH 7): 椰子水与中量元素复配并调整 pH 7, 氯化钙 58.275 g, 硝酸镁 55.5 g, 椰子水定容至 1 L; (2) Y-Z: 椰子水与中量元素复配不调整 pH, 氯化钙 58.275 g, 硝酸镁 55.5 g, 椰子水定容至 1 L; (3) Y(pH 7): 椰子水并调整 pH 7; (4) Y: 椰子水不调整 pH; (5) Z: 中量元素, 氯化钙 58.275 g, 硝酸镁 55.5 g, ddH₂O 定容至 1 L; (6) CK: 无菌水。将上述处理组与 1.0×10^9 CFU/mL 木霉孢子悬浮液混合, 摇匀后室温放置 12 h, 在无菌工作台均匀地涂布于 PDA 固体培养基平板, 每个处理组设置 3 个重复, 于 28 °C 黑暗培养 5 d 后, 用 1 mL 无菌水冲洗刮取不同处理组的 PDA 平板, 在光学显微镜下利用血球计数板计算木霉孢子数量。

1.2.3 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜发芽率的影响 设置如下 5 个供试各处理水溶肥配方。(1) 处理 A (木霉与椰子水复配中量元素): *T. asperellum* FJ069 孢子含量 1.0×10^9 CFU/mL, 氯化钙 58.275 g, 硝酸镁 55.5 g, 椰子水 (pH 7) 定容至 1 L; (2) 处理 B (椰子水与木霉复配): *T. asperellum* FJ069 孢子含量 1×10^9 CFU/mL, 椰子水 (pH 7) 定容至 1 L; (3) 处理 C (单施椰子水): 椰子水 (pH 7) 1 L; (4) 处理 D (单施木霉): *T. asperellum* FJ069 孢子含量 1×10^9 CFU/mL; (5) 处理 E (单施中量元素): 氯化钙 58.275 g, 硝酸镁 55.5 g, ddH₂O (pH 7) 定容至 1 L。

按照上述水溶肥配方设置 A、B、C、D、E 处理, 以无菌水为 CK, 共 6 个处理组, 探究各处理水溶肥对黄瓜发芽率的影响。预先用 3% 次氯酸钠将黄瓜种子消毒 10 min, 每个处理 24 颗黄瓜种子, 试验重复 3 次。将黄瓜种子置于 28 °C 条件下黑暗培养 7 d 后调查黄瓜种子发芽率。

1.2.4 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗生长生理指标测定 将育苗基质草炭土于烘箱中 181 °C 高温灭菌 2 h, 自然冷却后备用。将黄瓜种子用 3% 次氯酸钠消毒 10 min, 并催芽, 催芽 3 d 后将幼芽置于育苗盘中培养 2 周, 待黄瓜长出 3 片真叶后选取长势一致的黄瓜幼苗移栽至育苗盆中培养 7 d, 再分别用 A、B、C、D、E 五个处理, 以无菌水为 CK 灌根处理黄瓜幼苗, 处理 14 d 后调查黄瓜幼苗的茎长、根长、鲜重、干重以及黄瓜幼苗中总叶绿素含量、还原糖含量、

可溶性蛋白含量、MDA 含量以及 POD 和 CAT 活性, 其中可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法^[15], 总叶绿素含量、还原糖含量、MDA 含量以及 POD 和 CAT 活性均采用 Solarbio 试剂盒测定。

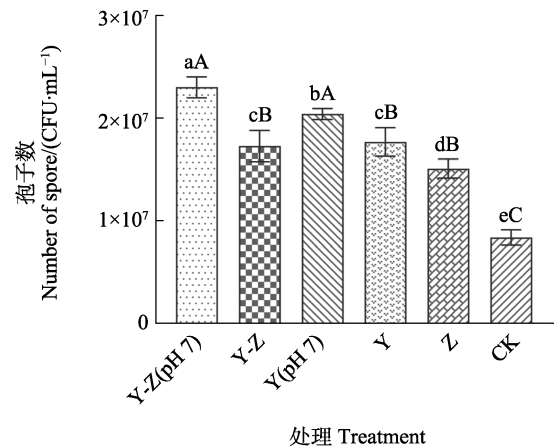
1.3 数据处理

采用 Excel 2016 和 IBM SPSS Statistics 25 软件进行数据统计分析, 使用最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 检验进行多重比较; 使用 GraphPad Prism 9.3.1 软件作图。

2 结果与分析

2.1 椰子水与中量元素对木霉菌产孢量的影响

如图 1 所示, Y-Z(pH 7) 和 Y(pH 7) 对木霉菌产孢效果较好, 第 5 天产孢量分别为 2.32×10^7 、 2.06×10^7 CFU/mL, 和其他处理组相比存在显著差异。其中 Y(pH 7) 处理与 Y 处理存在极显著差异 (图 1)。上述结果表明木霉菌在 pH 达到中性条件下的椰子水中的产孢效果最好。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P < 0.01$)。

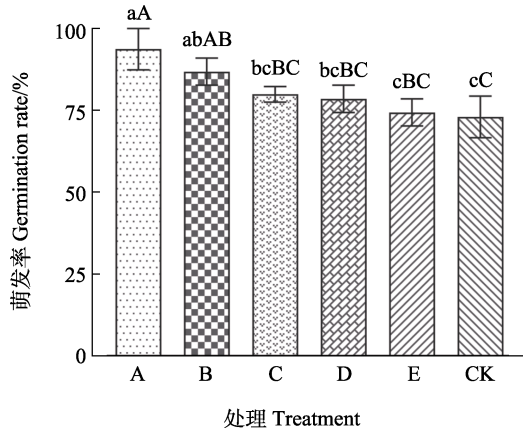
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P < 0.01$).

图 1 不同处理下 *T. asperellum* FJ069 产孢量
Fig. 1 Sporulation of *T. asperellum* FJ069 under different treatments

2.2 木霉与椰子水复配中量元素对黄瓜萌发率的影响

如图 2 所示, 试验结果表明 A、B 处理萌发率分别为 94.44%、87.50%, 相较 CK 分别提高 28.30%、18.87%, 显著促进黄瓜种子的萌发; A 处理与 C、D、E 处理组相比, 存在极显著差异, 萌发率显著提高, 同时 C、D、E 处理与 CK 差异不显著, 说明单施椰子水、木霉和中量元素对黄

瓜种子的萌发效果并不理想；其中 A、B 两处理差异不显著，说明在木霉与椰子水复配中量元素水溶肥中促进黄瓜种子萌发的主要因素在于木霉与椰子水的协同增效作用，可以显著提高黄瓜种子的萌发率，促进黄瓜种子萌发。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)，不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 2 不同处理下黄瓜种子萌发率

Fig. 2 Germination rate of cucumber seeds under different treatments

2.3 木霉与椰子水复配中量元素对黄瓜幼苗生理水平的影响

2.3.1 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗生长的影响 通过对黄瓜幼苗的株高调查发现 (图 3, 表 1), 各处理组相较于 CK 差异极显著, A、B、E 处理分别提高 48.03%、40.51%、39.09%, A、B 两处理差异不显著; A 处理根长与其它处理组存在极显著差异, 相较于 B 处理提高 21.97%, 同时 A、B、C、D 处理与 CK 同样存在极显著差异, 分别提高 47.27%、20.74%、14.80%、12.20%, E 处理与 CK 差异不显著。以上结果说明椰子水、木霉和中量元素单施或者复配均可以显著提高黄瓜幼苗株高, 复配效果最好; 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗根系生长具有显著促进作用, 中量元素对于黄瓜幼苗的作用效果主要集中于茎叶, 对于根系无明显促进作用。

2.3.2 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗鲜重与干重的影响 如表 1 所示, 各处理组相对于 CK 茎鲜重存在极显著差异, A、B、C、D、E 处理分别提高 52.61%、12.85%、17.67%、

18.47%、19.00%, 其中 A 处理显著高于其它处理组, B、C、D、E 处理之间差异不显著; 对黄瓜幼苗的根鲜重 (表 1) 调查发现, 各处理组较 CK 存在极显著差异, A、B 两处理分别较 CK 提高 35.87%、28.80%, D 处理与 C、E 两处理差异不显著; 由表 1 茎干重结果可知, 除 C 处理外其余处理组相对于 CK 存在极显著差异, 其中 A、B 两处理之间无显著差异, 分别较 CK 分别提高 32.39%、28.17%; 据表 1 根干重结果所示, A 处理较其它处理组差异极显著, 高于 B 处理 10.00%, 相对 CK 提高 120.00%, C 处理与 D、E 两处理差异不显著。以上结果表明, 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥能显著提高黄瓜幼苗茎、根鲜重与茎、根干重, 椰子水、木霉和中量元素三者复配要显著好于单施效果, 三者的协同增效作用可以显著促进黄瓜幼苗根茎生长, 提高根茎生物量的积累。

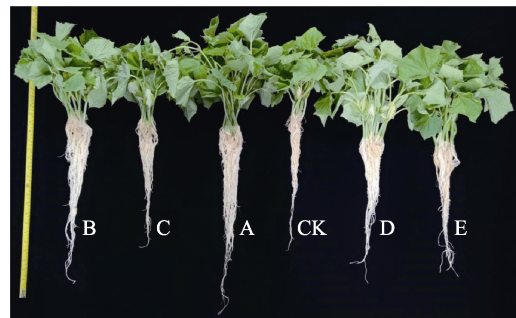


图 3 不同处理下黄瓜幼苗生长

Fig. 3 Growth of cucumber seedlings under different treatments

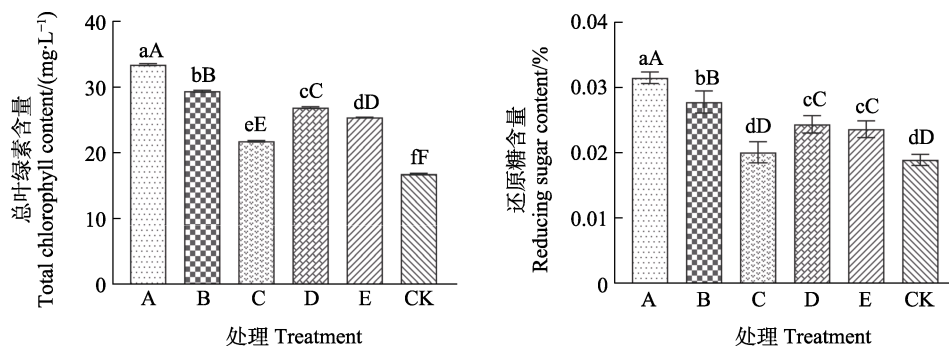
2.3.3 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗总叶绿素和还原糖含量的影响 如图 4 所示, 5 个处理组总叶绿素含量与 CK 相比均有显著性提升, 其中 A 处理的效果最佳, 达到 33.43 mg/L, 相较 CK 提高 97.46%, 与其它处理组均存在极显著差异。B 处理显著高于 C、D 处理组, 分别增加 34.66%、9.17%; 由图 4 可知, A、B、D、E 处理组黄瓜幼苗还原糖含量与 CK 相比均有显著提升, 分别提高 66.32%、46.84%、28.95%、24.74%, 其中 D、E 两处理差异不显著, 同时 C 处理与 CK 无显著差异。上述结果表明各处理对于总叶绿素和还原糖含量的影响趋势基本一致, 其中以 A 处理效果最好, 说明木霉与椰子水复配中量元素水溶肥能显著促进黄瓜幼苗总叶绿素和还原糖的产生, 另外 C 处理总叶绿素含量在各处

表 1 不同处理下黄瓜幼苗株高、根长、茎鲜重、根鲜重、茎干重和根干重
Tab. 1 Plant height, root length, stem fresh weight, root fresh weight, stem dry weight and root dry weight of cucumber seedlings under different treatments

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	根长 Root length/cm	茎鲜重 Fresh weight of stem/g	根鲜重 Fresh weight of root/g	茎干重 Dry weight of stem/g	根干重 Dry weight of root/g
A	24.01±2.81 ^{aA}	27.76±3.64 ^{aA}	11.40±1.65 ^{aA}	2.50±0.23 ^{aA}	0.94±0.03 ^{aA}	0.11±0.01 ^{aA}
B	22.79±0.38 ^{abA}	22.76±1.10 ^{bb}	8.43±0.65 ^{bb}	2.37±0.09 ^{ba}	0.91±0.06 ^{abB}	0.10±0.00 ^{bb}
C	19.26±3.77 ^{cB}	21.64±3.61 ^{bcBC}	8.79±0.45 ^{bb}	2.08±0.09 ^{dB}	0.77±0.08 ^{cDE}	0.07±0.01 ^{cdC}
D	19.74±2.41 ^{cB}	21.15±0.87 ^{bcBC}	8.85±0.61 ^{bb}	2.11±0.37 ^{cdB}	0.85±0.08 ^{bbC}	0.07±0.01 ^{dC}
E	22.56±0.82 ^{ba}	20.37±1.71 ^{cdCD}	8.89±0.43 ^{bb}	2.20±0.06 ^{cB}	0.83±0.06 ^{bcD}	0.08±0.01 ^{cC}
CK	16.22±0.51 ^{dC}	18.85±2.70 ^{dD}	7.47±0.24 ^{cC}	1.84±0.05 ^{cC}	0.71±0.15 ^{dE}	0.05±0.01 ^{dD}

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)，不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)，不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 4 不同处理下黄瓜幼苗总叶绿素和还原糖含量

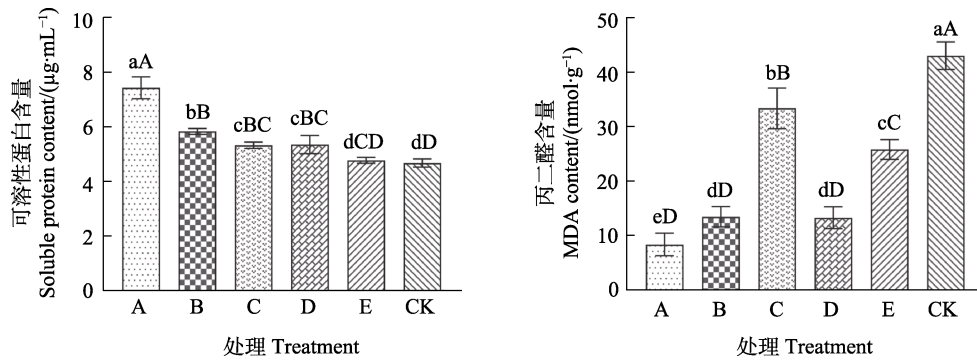
Fig. 4 Contents of total chlorophyll and reducing sugar in cucumber seedlings under different treatments

理相较于 CK 中差异最小，在还原糖含量中无差异，表明在木霉、椰子水和中量元素三者中促进黄瓜幼苗总叶绿素和还原糖产生的主要因素在于木霉和中量元素的共同作用。

2.3.4 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗可溶性蛋白和丙二醛含量的影响 由图 5 可知，A、B、C、D 处理与 CK 可溶性蛋白含量相比存在极显著差异，分别增加 58.85%、24.73%、14.07%、14.50%，其中 A 处理相较于其它处理对于提升可溶性蛋白含量的效果最为显著，B、C、D 处理之间差异不显著，说明木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对于黄瓜幼苗产生可溶性蛋白的效果要好于三者单施以及椰子水与木霉复配；如图 5 所示，各处理组相较 CK 均能显著降低黄瓜幼苗丙二醛的产生，A、B、C、D、E 处理分别降低 79.96%、68.22%、22.34%、68.63%、39.75%，C 处理降幅最小，说明椰子水相较木霉和中量元素对于减少黄瓜幼苗 MDA 含量的影响效果最小，

MDA 含量水平的高低可以作为考察黄瓜幼苗受到胁迫严重程度的指标之一，直接反映黄瓜叶片膜脂过氧化程度。在 CK 中以无菌水处理的黄瓜幼苗正常生长的生理水平下，木霉、椰子水和中量元素不论单施还是复配均能减少 MDA 的产生，减弱膜脂过氧化程度，减少脂质过氧化对黄瓜幼苗的伤害。

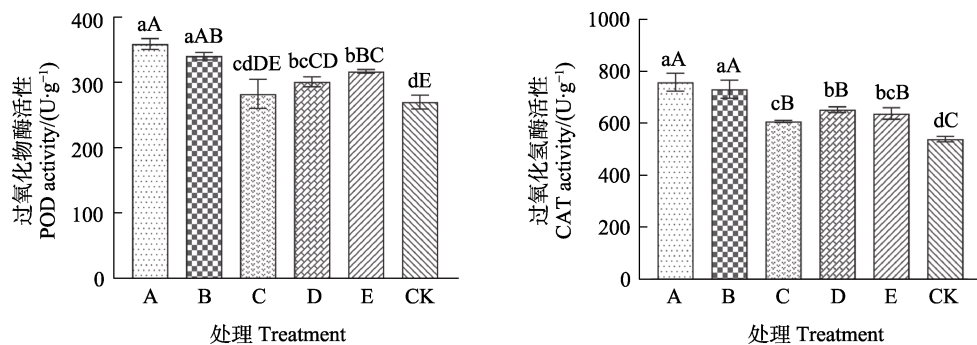
2.3.5 木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜幼苗过氧化物酶与过氧化氢酶活性的影响 如图 6 所示，A、B、D、E 处理的过氧化物酶 (POD) 活性与 CK 相比均显著提高，分别提高 32.67%、25.85%、11.45%、17.25%，其中以 A、B 处理的 POD 活性最高，显著高于 C、D、E 处理组。由图 6 可知，各处理过氧化氢酶 (CAT) 活性相对 CK 均存在极显著差异，分别增加 40.31%、35.34%、12.52%、20.85%、18.16%，A 处理 CAT 活性为 756.97 U/g，B 处理 CAT 活性为 730.13 U/g，均显著高于 C、D、E 处理，但 A、B



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 5 不同处理下黄瓜幼苗可溶性蛋白和丙二醛含量

Fig. 5 Contents of soluble protein and MDA in cucumber seedlings under different treatments



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$)。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), different capital letters indicate extremely significant difference among treatments ($P<0.01$).

图 6 不同处理下黄瓜幼苗过氧化物酶和过氧化氢酶活性

Fig. 6 Activities of POD and CAT in cucumber seedlings under different treatments

处理之间差异并不显著。上述结果中各处理分别对黄瓜幼苗 POD 和 CAT 活性的影响接近一致, 椰子水、木霉和中量元素三者复配相较于单施对于黄瓜幼苗抗氧化酶活性的提高均有显著影响, 表明木霉与椰子水复配中量元素水溶肥有利于提高黄瓜幼苗 POD 和 CAT 活性, 增强 ROS 的清除能力。

3 讨论

木霉是目前应用最为广泛的生防真菌之一, 能有效促进作物生长^[16]。研究发现, 木霉对玉米苗期的根系、株高、鲜重和干重等生长指标都有显著的提高作用^[17]; 还可以促进黄瓜种子萌发、幼苗生长和生物量积累^[18]。椰子水中含有促生长因子等营养物质, 可将其加工制作成发酵基质以促进微生物的生长^[5]。有研究表明, 利用废弃椰子水处理后可以显著提高木霉的孢子含量^[19]; 同时椰子水可以等效替代马铃薯葡萄糖培养基促进木霉菌丝生长^[20]; VIJI 等^[21]发现椰子水基质可以

增加 *T. asperellum* 的菌落数量。中量元素是植物生长过程中所必须的元素, 在水溶肥中添加中量元素能够为作物补充钙、镁等营养元素, 改善作物的品质, 提高作物的产量。孟素梅等^[22]发现中量元素水溶肥对水稻增产效果显著; 何峰等^[23]研究表明中量元素水溶肥能促进黄瓜果实膨大及增长, 提高果实品质, 增加产量。本研究结果表明, 椰子水和中量元素复配并调整 pH=7 时相较于 CK 对 *T. asperellum* FJ069 的产孢效果提升显著, 第 5 天产孢量达到 2.32×10^7 CFU/mL, 另外 Y-Z(pH 7)、Y(pH 7)处理的产孢量均高于未调整 pH 的 Y-Z、Y 处理; 与研究报道的结果一致, 说明椰子水和中量元素复配能促进木霉产孢, 并且在中性环境下效果更为显著。椰子水中含有丰富的氨基酸^[3], 中量元素和中性环境的存在为木霉提供了产孢所需的充足条件, 使木霉与椰子水复配中量元素成为可能。目前尚未有研究报道木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对作物生长的影响, 因此本研究

以废弃椰子水再利用为出发点,探究椰子水与中量元素复配对木霉产孢的影响以及木霉与椰子水复配中量元素水溶肥对黄瓜种子萌发和幼苗生长的影响。

有研究表明,木霉与椰子水分别处理植物种子均能显著促进萌发,提高发芽率。谢琳森等^[24]研究发现哈茨木霉提取液对紫羊茅和草地早熟禾种子的发芽势、发芽率、发芽指数等都有显著提升。丁长春等^[25]发现添加 10%的椰子水会增加黄兜兰种子的萌发率。在培养基中添加椰子水可以提高凤兰种子的发芽速率^[26]。本研究结果也发现木霉与椰子水复配中量元素水溶肥(A处理)、椰子水与木霉复配水溶肥(B处理)相较于CK均显著提高黄瓜种子萌发率,分别提高 28.30%、18.87%,其中 A、B 两处理差异不显著,说明在木霉与椰子水复配中量元素水溶肥中促进黄瓜种子萌发的主要因素在于木霉与椰子水的协同增效作用。

生物水溶肥将传统水溶肥与微生物菌剂结合在一起,是目前以绿色农业发展为背景下的大势所趋,生物水溶肥相对于传统肥料的优点在于能节约水肥资源、减少环境污染、促生抗病等^[27]。研究报道,生物水溶肥能显著促进作物生长、提高作物产量并提升果实品质。刘纯安^[28]研究表明冲施含木霉氨基酸生物水溶肥可以显著促进茄子植株生长,提高茄子产量并改善果实品质。LIU等^[29]基于 *T. guizhouense* NJAU4742 添加氨基酸水溶肥能显著促进辣椒生长;张常书等^[30]用木霉生物腐植酸水溶性肥代替化肥用于瓜果蔬菜根施或冲施追肥,黄瓜产量较化肥提高 23.5%~38.4%,草莓、西葫芦、西兰花产量提高 10%~15%;严程明等^[31]发现氨基酸水溶肥可以显著提高苗期玉米根系干物重、地上部干物重、株高和茎粗。卢云峰等^[32]发现复合微生物液体肥料能显著提高玉米和白菜的产量。本研究结果符合以上研究报道,木霉与椰子水复配中量元素水溶肥(A处理)相较于CK显著促进黄瓜幼苗的生长,株高、根长提高 48.03%、47.27%;E处理(单施中量元素)株高相对于CK促进效果显著,而对于根长无显著差异,表明中量元素对于黄瓜幼苗的作用效果主要集中于茎叶,对于根系无明显促进作用。A处理中茎鲜重、根鲜重、茎干重和根干重相较CK存在极显著差异,分别增加 52.61%、35.87%、32.39%、120.00%,并且A处理始终显著高于C、D、E处理,结果表明木霉与椰子水复配中量元素

水溶肥能显著提高黄瓜幼苗茎、根鲜重与茎、根干重,椰子水、木霉和中量元素三者复配要显著好于单施效果,三者的协同增效作用可以显著促进黄瓜幼苗根茎生长,提高根茎生物量的积累。

总叶绿素、还原糖、可溶性蛋白等都是反映植物生理状况的重要指标;丙二醛(MDA)是膜脂过氧化物的重要产物,其含量的变化可以反映植物细胞膜脂过氧化的水平及细胞损伤的程度^[33]。过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)是植物体内重要的抗氧化酶,具有清除活性氧自由基、抵御和修复逆境损伤的作用,是植物体内一类重要的生理活性物质^[34]。有研究报道表明,氨基酸生物水溶肥的冲施显著提高了茄子的还原糖、可溶性蛋白含量,改善了茄子的品质^[28];施用水溶肥能提高黑塌菜叶绿素、还原糖含量^[35];氨基多糖水溶肥明显提高小麦可溶性蛋白含量,提高POD的活性,降低MDA含量^[34];王玮等^[33]发现适宜浓度的氨基多糖水溶肥可以增强萝卜叶片的抗氧化酶(POD、CAT)活性,降低MDA含量,提高萝卜肉质根中可溶性总糖、可溶性蛋白含量;曹焱^[36]报道氨基酸水溶肥能降低草莓叶片MDA含量,提高过氧化物酶和过氧化氢酶活性;李艳娟等^[37]发现2种不同浓度哈茨木霉与绿色木霉溶液不但可以促进杉木种子萌发及生长,还可以提升其抗氧化酶活性,降低MDA含量。以上研究表明,木霉和水溶肥都可以促进植物生长,优化生理指标,降低MDA含量,提高抗氧化酶活性,这使得木霉与椰子水复配中量元素水溶肥成为了可能。本文研究结果与上述报道相一致,结果表明木霉与椰子水复配中量元素水溶肥相较CK可以显著提高黄瓜幼苗总叶绿素、还原糖、可溶性蛋白含量以及POD和CAT活性并降低MDA含量。

综上所述,木霉与椰子水复配中量元素水溶肥能显著提高黄瓜种子萌发,促进幼苗生长并提高黄瓜叶片总叶绿素、还原糖、可溶性蛋白含量以及POD和CAT活性,降低MDA含量,增强黄瓜抵抗逆境胁迫的能力。

参考文献

- [1] YONG J W, GE L, NG Y F, TAN S N. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water[J]. *Molecules*, 2009, 14(12): 5144-5164.
- [2] ERHSS E. Medicinal uses of coconut (*Cocos nucifera* L.)[J].

- Cocoinfo International, 2003, 10(1): 11-21.
- [3] AALBERSBERG W G, SINGH R, RAVI P. Nutrient analysis of coconut toddy[J]. Tropical Science, 1997, 37(3): 160-163.
- [4] 耿蕾, 邓福明, 赵松林, 王挥, 唐敏敏. 不同贮藏条件下成熟椰子水品质变化规律研究[J]. 热带农业科学, 2017, 37(4): 70-75.
GENG L, DENG F M, ZHAO S L, WANG H, TANG M M. Quality changes of mature coconut water under different storage conditions[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2017, 37(4): 70-75. (in Chinese)
- [5] OSAZUWA O E, AHONKHAI I. Coconut water as growth medium for micro-organisms, Niger[J]. Journal of Palms Oil Seeds, 1989(10/11): 91-95.
- [6] HERMOSA R, RUBIO M B, CARDOZA R E, NICOLÁS C, MONTE E, GUTIÉRREZ S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense[J]. International Microbiology, 2013, 16(2): 69-80.
- [7] ROUPHAEL Y, CARDARELLI M, BONINI P, COLLA G. Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 131.
- [8] 周艳孔. 不同叶面肥喷施对大棚草莓生长和品质的影响[J]. 上海农业科技, 2019(1): 99-100.
ZHOU Y K. Effects of different foliar fertilizers on the growth and quality of strawberry in greenhouse[J]. Shanghai Agricultural Science and Technology, 2019(1): 99-100. (in Chinese)
- [9] 董小卫. 利用木霉和RNAi 技术提高烟草抗性和品质的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2010.
DONG X W. Research on using of *Trichoderma* and RNAi technology to prevent tobacco virus disease[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2010. (in Chinese)
- [10] ARAUJO A S D, BLUM L E B, FIGUEIREDO C C D. The synergistic effect of sewage sludge biochar and *Trichoderma harzianum* on soybean yield[J]. Australian Journal of Crop Science, 2019, 13(7): 1183-1187.
- [11] 傅威. 污泥水解液-木霉发酵物复合叶面肥料的研制及其对黄瓜和小白菜的促生效果[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
FU W. Preparation of sludge hydrolyzate-*Trichoderma* fermentation compound foliar fertilizer and its promoting effect on cucumber and Chinese cabbage[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [12] MOLLA A H, MANJURUL HAQUE M, AMDADUL HAQUE M, ILIAS G N M. *Trichoderma*-enriched biofertilizer enhances production and nutritional quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and minimizes NPK fertilizer use[J]. Agricultural Research, 2012, 1(3): 265-272.
- [13] 袁凤英, 朱孔杰, 李秀芹, 李广涛, 徐淑班. 浅谈含氨基酸水溶肥的应用[J]. 山东化工, 2015, 44(14): 111-112.
- YUAN F Y, ZHU K J, LI X Q, LI G T, XU S B. Discuss the water-soluble fertilizers containing amino-acids application briefly[J]. Shandong Chemical Industry, 2015, 44(14): 111-112. (in Chinese)
- [14] 陈迪, 侯巨梅, 邢梦玉, 彦哲, 刘铜. 7 株木霉菌对火龙果 3 种病原菌的拮抗作用[J]. 热带作物学报, 2020, 41(12): 2501-2506.
CHEN D, HOU J M, XING M Y, YAN Z, LIU T. Antagonistic effects of seven *Trichoderma* strains on three pathogens of pitaya[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(12): 2501-2506. (in Chinese)
- [15] 罗群. 考马斯亮蓝法快速测定菜籽粕中可溶性蛋白质的含量[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2014, 33(2): 125-126.
LUO Q. Rapid determination of soluble protein content in rapeseed meal by coomassie brilliant blue method[J]. Journal of Chengdu University (Natural Science Edition), 2014, 33(2): 125-126. (in Chinese)
- [16] 朱双杰, 高智谋. 木霉对植物的促生作用及其机制[J]. 菌物研究, 2006, 4(3): 107-111.
ZHU S J, GAO Z M. Advancement on the *Trichoderma* promotion to plant growth and its mechanism[J]. Journal of Fungal Research, 2006, 4(3): 107-111. (in Chinese)
- [17] 刘峰, 阮盈盈. 哈茨木霉菌剂对玉米苗期生长和土壤肥力的影响[J]. 浙江农业科学, 2021, 62(8): 1507-1510.
LIU F, RUAN Y Y. Effect of *Trichoderma harzianum* application on maize growth characteristics and soil fertility at seedling stage[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2021, 62(8): 1507-1510. (in Chinese)
- [18] 霍雪雪, 王庆玲, 张豪, 李哲, 郑泽慧, 李荣, 黄艳华, 郭凯. 绿色木霉 Tv-1511 对黄瓜的促生增产作用及防病效果[J]. 南京农业大学学报, 2022, 45(3): 553-561.
HUO X X, WANG Q L, ZHANG H, LI Z, ZHENG Z H, LI R, HUANG Y H, GUO K. Effect of *Trichoderma viride* Tv-1511 on growth promotion and yield increase of cucumber and disease control[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2022, 45(3): 553-561. (in Chinese)
- [19] EMERSON F L, MIKUNTHAN G. Small scale production of *Trichoderma viride* on locally available liquid waste and other substrates[J]. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 2015, 15(8): 1666-1671.
- [20] VIDHYA, RAJI K, SUMIYA P, JOHNKUTTY. Coconut water - a medium for commercial production of *Trichoderma viride*[J]. International Journal of Agriculture Innovations and Research, 2015, 4(3): 1473-2319.
- [21] VIJI V S, VEENA S S, KARTHIKEYAN S, JEEVA M L. Cassava based substrates-conducive media for mass multiplication of *Trichoderma asperellum*[J]. Journal of Root Crops, 2018, 44(1): 41-46.
- [22] 孟素梅, 张宝光. “中量元素水溶肥”在水稻上的肥效试验[J]. 河南农业, 2020(28): 29.
MENG S M, ZHANG B G. Experiment on fertilizer effi-

- ciency of "medium element water-soluble fertilizer" in rice[J]. Agriculture of Henan, 2020(28): 29. (in Chinese)
- [23] 何峰, 姚永成, 李俊. 中量元素水溶肥在黄瓜上的肥料效应田间试验初探[J]. 基层农技推广, 2017, 5(4): 41-42.
HE F, YAO Y C, LI J. Fertilizer effect of medium element water-soluble fertilizer on cucumber in field experiment[J]. Primary Agricultural Technology Extension, 2017, 5(4): 41-42. (in Chinese)
- [24] 谢琳森, 常春丽, 姚志红, 王洪瑞, 赵冬雪, 张荣沐, 敖红. 哈茨木霉对紫羊茅和草地早熟禾的促生及抗性诱导作用[J]. 草业科学, 2018, 35(9): 2079-2086.
XIE L M, CHANG C L, YAO Z H, WANG H R, ZHAO D X, ZHANG R S, AO H. Growth promotion and resistance induction effect of *Trichoderma harzianum* on *Festuca rubra* and *Poa pratensis*[J]. Pratacultural Science, 2018, 35(9): 2079-2086. (in Chinese)
- [25] 丁长春, 虞泓, 刘方媛. 影响杏黄兜兰种子萌发的因素[J]. 云南植物研究, 2004, 26(6): 673-677.
DING C C, YU H, LIU F Y. Factors affecting the germination of *Paphiopedilum armeniacum*[J]. Acta Botanica Yunnanica, 2004, 26(6): 673-677. (in Chinese)
- [26] 吕依伦, 李晖. 凤兰之无菌发芽[J]. 中国园艺, 1990, 36(3): 198-209.
LYU Y L, LI N. Aseptic germination of phoenix orchid[J]. Chinese Horticulture, 1990, 36(3): 198-209. (in Chinese)
- [27] 于广武, 宋清晖, 王志刚, 李晓冰, 何长兴. 多肽“五加”生物水溶肥的研究与开发[J]. 化肥工业, 2019, 46(5): 26-27.
YU G W, SONG Q H, WANG Z G, LI X B, HE C X. Research and development of polypeptide "Five Dragon" biological water soluble fertilizer[J]. Fertilizer Industry, 2019, 46(5): 26-27. (in Chinese)
- [28] 刘纯安. 木霉生物有机肥和含氨基酸生物水溶肥促生效果研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
LIU C A. Study of promoting effect of *Trichoderma* based bio-organic fertilizer and water soluble biological liquid fertilizer containing amino acids on the plant growth[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [29] LIU Q, MENG X, LI T, RAZA W, LIU D, SHEN Q. The growth promotion of peppers (*Capsicum annuum* L.) by *Trichoderma guizhouense* NJAU4742-based biological organic fertilizer: possible role of increasing nutrient availabilities[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1296.
- [30] 张常书, 江川. 木霉生物腐植酸的应用研究[J]. 磷肥与复肥, 2018, 33(5): 28-30.
ZHANG C S, JIANG C. Application research of *Trichoderma* biological humic acid[J]. Phosphate and Compound Fertilizer, 2018, 33(5): 28-30. (in Chinese)
- [31] 严程明, 涂攀峰, 李中华. 液体复合肥对盐碱土养分含量和玉米苗期生长发育的影响[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(25): 119-121, 131.
YAN C M, TU P F, LI Z H. Effects of applying liquid fertilizer on nutrition content in saline-alkali soil and seedling growth of maize[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(25): 119-121, 131. (in Chinese)
- [32] 卢云峰, 乔策策, 许航, 高凯悦, 李荣, 沈其荣. 含 *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 “全元”复合微生物液体肥料研制及其促生效果研究[J]. 土壤通报, 2018, 49(5): 1150-1156.
LU Y F, QIAO C C, XU H, GAO K Y, LI R, SHEN Q R. Development of compound microbial liquid fertilizer containing *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 and its plant growth promotion effect[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2018, 49(5): 1150-1156. (in Chinese)
- [33] 王玮, 程瑞, 吴传万, 汪国莲, 王林闯, 梁双林, 赵建锋. 氨基多糖水溶肥对青萝卜生长、品质性状及抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 95-100.
WANG W, CHENG R, WU C W, WANG G L, WANG L C, LIANG S L, ZHAO J F. Effects of amino polysaccharide water soluble fertilizer on growth, quality and antioxidant enzyme activities of radish[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(9): 95-100. (in Chinese)
- [34] 杜小凤, 顾大路, 仲秀娟, 梁双林, 彭杰, 杨文飞, 吴传万. 氨基多糖水溶肥对小麦生理特性、产量及籽粒品质的影响[J]. 中国农学通报, 2021, 37(6): 16-23.
DU X F, GU D L, ZHONG X J, LIANG S L, PENG J, YANG W F, WU C W. Aminopolysaccharide water-soluble fertilizer: effects on physiological characteristics, yield and grain quality of wheat[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(6): 16-23. (in Chinese)
- [35] 张竣豪, 张琪, 孙一迪, 王强, 周明耀. 水肥一体化条件下肥料管理对黑塌菜产量品质的影响[J]. 中国农学通报, 2022, 38(14): 82-88.
ZHANG J H, ZHANG Q, SUN Y D, WANG Q, ZHOU M Y. Effect of fertilizer management on yield and quality of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *rosularis* under the condition of water and fertilizer integration[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(14): 82-88. (in Chinese)
- [36] 曹焱. 氨基酸水溶肥对草莓生理特性的影响[J]. 农业科技与信息, 2021(16): 42-44.
CAO Y. Effects of amino acid water-soluble fertilizer on physiological characteristics of strawberry[J]. Agricultural Science-Technology and Information, 2021(16): 42-44. (in Chinese)
- [37] 李艳娟, 刘博, 庄正, 尚天赦, 刘青青, 朱晨曦, 王正宁. 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.
LI Y J, LIU B, ZHUANG Z, SHANG T S, LIU Q Q, ZHU C X, WANG Z N. Effects of *Trichoderma harzianum* and *T. viride* on seed germination and seedling growth of Chinese fir[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(9): 2961-2966. (in Chinese)