

DOI: 10.11766/trxb201602220137

## 配施木霉微生物肥对连作黄瓜的影响\*

顾小龙<sup>1, 2</sup> 陈巍<sup>1, 3†</sup> 蔡枫<sup>1, 3</sup> 庞冠<sup>1, 3</sup> 李瑞霞<sup>2</sup>

(1 国家有机肥料工程研究中心, 南京农业大学, 南京 210095)

(2 江苏固体有机废弃物资源化高技术研究中心, 南京农业大学, 南京 210095)

(3 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京农业大学, 南京 210095)

**摘要** 研究减量化肥与哈茨木霉SQR-T037微生物肥配施对盆栽黄瓜产量、品质及土壤有效养分和可培养微生物数量的影响。试验以当地农民惯用化肥施用量的100%作为对照处理(CF), 75%的农民惯用化肥量配施普通有机肥(OF)或木霉SQR-T037微生物肥(BF)作处理进行连续盆栽试验。结果表明, 75%的农民惯用化肥量配施木霉微生物肥BF与100%的化肥处理CF产量相等且后期有所增产, 相对配施普通有机肥处理OF则产量显著提高, 同时黄瓜果实中硝酸盐含量降低45%以上, 维生素C含量明显增加。此外, BF处理能有效改善土壤养分供应状况, 有效磷和速效钾含量明显高于对照CF和OF处理, 并显著提高黄瓜根际土壤细菌、有益菌种木霉的数量, 维持放线菌数量稳定, 且在施用第三季后显著减少真菌数量。因此, 减少25%的化肥并配施一定量的木霉微生物肥(50g株<sup>-1</sup>), 不仅能保证黄瓜稳产, 还能显著改善黄瓜果实品质, 促进土壤中养分的高效利用, 节约施肥成本, 促进农业可持续发展。

**关键词** 木霉微生物肥; 减量化肥; 黄瓜; 产量; 品质

**中图分类号** S35 **文献标识码** A

化肥的施用对作物增产具有重要意义, 但长期大量使用化肥不仅不能促进作物增产, 反而会导致土壤质量下降, 肥力减退。据统计<sup>[1]</sup>, 近10年来, 我国化肥施用量增加了90.7%, 而粮食总产量仅增加了9.1%, 大量的化肥未发挥出应有的效果。同时, 化肥本身大部分来源于不可再生矿质资源, 也正在随着人类的不断开采而日益紧缺。微生物肥料是一种以农业固体废弃物为有机载体, 通过接种功能型有益微生物, 经二次发酵而制成的能提供植物营养、调节植物生长的特定制品<sup>[2]</sup>。配施微生物肥料可改善土壤生态环境及肥力, 将之应用于农业生产中能够获得特定的肥料效应, 可作为化学肥料的有益补充。近几年, 有大量研究正致力于

验证一个假说<sup>[2-4]</sup>, 即植物根际促生菌(PGPR)有可能在减少化肥施用量的前提下使作物获得稳定的产量。不少研究结果显示, 减少15%~30%的N、P、K施入量, 同时辅以PGPR作用, 农作物产量可达到相当于N、P、K正常施用量(无PGPR)时的水平。木霉(*Trichoderma* spp.)作为植物根际促生菌<sup>[5]</sup>的一种, 是自然界普遍存在的土壤习居真菌。自1932年Weindling<sup>[6]</sup>发现木素木霉对植物病原真菌具有拮抗作用以来, 木霉已成为植病生防学家研究的重点对象<sup>[7]</sup>。同时有研究发现, 木霉不仅对植物病原真菌具有拮抗效应, 还能促进植物的生长<sup>[8]</sup>。Chang和Baler<sup>[9]</sup>通过试验证实当用泥土或糠为基质的哈茨木霉培养物或其分生孢子悬

\* 国家科技支撑项目(2013BAD20B05)和国家863计划课题(2013AA102802)资助 Supported by the National Key Technology R&D Program of China (No. 2013BAD20B05) and the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2013AA102802)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: chenwei@njau.edu.cn

作者简介: 顾小龙(1989—), 男, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要从事功能微生物肥料研究。E-mail: 522846542@qq.com

收稿日期: 2016-02-22; 收到修改稿日期: 2016-05-08; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-05-19

浮液处理土壤后, 辣椒、长春花和菊花等植物均出现高发芽率, 开花早而多, 株高及鲜重显著增加。杨春林等<sup>[10]</sup>研究发现, 木霉对黄瓜、番茄、芹菜、白菜、菠菜和辣椒等多种蔬菜的生长有较强的促进作用。然而, 木霉的促生机制<sup>[11]</sup>多而复杂, 常因木霉的种类、菌株、寄主植物的不同而变化, 目前还没有一个公认的方式解释木霉的促生作用, 但可以肯定的是木霉对植物的促生作用是多种机制协同作用的结果。减少化肥施用量, 同时辅以植物根际促生菌的研究不少, 但以促生效应验证性研究居多, 少见较为深入的研究报道。本课题组先前的研究表明<sup>[12]</sup>, 在大棚种植条件下, 木霉SQR-T037微生物肥对黄瓜产量、品质及土壤养分利用效率有显著影响, 特别是对氮肥的利用效率明显高于常规化肥处理。因此, 本研究拟通过连续盆栽试验模拟田间连作, 分析配施哈茨木霉SQR-T037这一典型PGPR菌株制成的微生物肥对黄瓜产量、品质、土壤养分有效性及土壤微生物数量等的影响, 以探讨加入微生物肥而减少部分化肥施用的可行性, 为农业可持续发展提供理论依据和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试品种为天津神农种业有限责任公司生产的“新津研四号”黄瓜。供试土壤为江苏宜兴地区水稻土, pH7.3, 有机质 $19.1 \text{ g kg}^{-1}$ , 铵态氮 $27.5 \text{ mg kg}^{-1}$ , 硝态氮 $1.1 \text{ mg kg}^{-1}$ , 有效磷 $99.5 \text{ mg kg}^{-1}$ , 速效钾 $142.8 \text{ mg kg}^{-1}$ 。供试菌种为哈茨木霉SQR-T037 (*Trichoderma harzianum*, CGMCC accession No. 3308)。供试化肥为雅苒苗乐复合肥(15-15-15)和硝酸钙肥, 由挪威雅苒公司生产。试验用有机肥料由氨基酸有机肥和猪粪堆肥按1:1 (w/w)的比例混合而成, 即为普通有机肥。供试微生物肥是将木霉SQR-T037孢子悬液( $10^8 \text{ cfu ml}^{-1}$ )按10% (v/w)接种量接种于普通有机肥, 再经过为期7天的二次发酵获得。使用前检测有效活菌数达 $10^6 \text{ cfu g}^{-1}$ 以上。氨基酸有机肥和猪粪堆肥分别由江苏新天地肥料有限公司和江苏田娘农业科技有限公司生产, 各肥料的理化性状见表1。

表1 供试肥料理化性状

Table 1 The physico-chemical properties of fertilizers used in this study

肥料 Fertilizers	pH	有机质 Organic matter ( $\text{g kg}^{-1}$ )	全氮 Total N ( $\text{g kg}^{-1}$ )	全磷 Total P ( $\text{g kg}^{-1}$ )	全钾 Total K ( $\text{g kg}^{-1}$ )
猪粪堆肥 <sup>①</sup>	7.0	186.0	13.2	5.9	10.3
氨基酸有机肥 <sup>②</sup>	5.4	713.2	65.8	26.6	11.3
普通有机肥 <sup>③</sup>	6.3	425.6	35.1	9.3	9.9
木霉微生物肥 <sup>④</sup>	6.1	399.9	32.6	12.4	10.4

①Pig manure, ②Amino acid fertilizer, ③Organic fertilizer, ④Biofertilizer

### 1.2 试验设计

试验分4季分别于2012年3—6月、2012年8—11月、2013年3—6月、2013年8—11月在江苏宜兴中宜生物肥料工程中心温室内进行。试验采用盆栽土培法, 盆钵为直径35 cm、高25 cm的陶盆, 每盆装土10 kg, 移植黄瓜苗2株。试验设3个处理: (1) CF: 100%化肥处理(8 g 盆<sup>-1</sup>雅苒苗乐复合肥, 追施4 g 盆<sup>-1</sup>雅苒硝酸钙); (2) OF: 75%化肥+50 g 株<sup>-1</sup>普通有机肥; (3) BF: 75%化肥+50 g 株<sup>-1</sup>木霉SQR-T037微生物肥。每季均施肥,

每个处理设6个重复, 常规管理。

### 1.3 产量统计与样品采集

从黄瓜始果期开始每日采摘各处理黄瓜鲜果, 待75天生育期满, 采摘其余所有黄瓜鲜果, 统计各处理产量, 即为本季黄瓜的总产量。黄瓜果实置于冰盒内带回, 作品质分析。将植株整株从土中小心取出, 去除大部分土壤, 将附于黄瓜根系的土抖落于自封袋, 各个处理随机取3份, 即为当季黄瓜根际土样, 编号带回。将各个土壤样品按照四分法均分为2份, 一份置于4℃冰箱内待稀释涂布分析, 另

一份风干并按照所测项目要求过筛待用。

#### 1.4 测定方法

黄瓜品质测定：黄瓜果实维生素C (Vitamin C, Vc) [13]、硝酸盐含量 (用NO<sub>3</sub><sup>-</sup>表示) [14]的测定采用高效液相色谱HPLC (Agilent 1200)法, 色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C18 半制备型反相柱 (9.4 mm × 150 mm, 5 μm)。高效液相色谱测Vc含量方法如下：取黄瓜鲜果打成匀浆, 用5 g L<sup>-1</sup>草酸浸提Vc。流动相为0.05 mol L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 甲醇=95 : 5 (v/v), 流速1 ml min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长265 nm, 柱温25℃, 进样量10 μl。高效液相色谱测硝酸盐含量方法如下：取鲜果打成匀浆, 用70~80℃的超纯水超声提取待用。流动相为0.03 mol L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>缓冲液 (pH=3.3), 流速1 ml min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长210 nm, 室温下进样20 μl。Vc和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>标准曲线分别采用抗坏血酸 (Vc) 标准品和KNO<sub>3</sub>标准品配置测得。各个样品的Vc含量和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量均以峰面积计算。

土壤养分含量测定：土壤或肥料中的有机质采用元素分析仪 (德国BRAN+LUEBBE, AutoAnalyzer3) 测定；土壤铵态氮和硝态氮的测定参照Raigon的方法 [15]；土壤有效磷采用0.05 mol L<sup>-1</sup> HCl-0.025 mol L<sup>-1</sup> 1/2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>浸提—钼蓝比色法测定 [16]；土壤速效钾采用醋酸铵浸提—火焰光度计 (上海悦丰, FP640) 法测定 [16]。

土壤可培养微生物数量的测定：微生物数量采用系列稀释平板法计数, 将土样稀释成10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>等不同稀释度的土壤溶液。分别吸取不同稀释度的土壤溶液0.1 ml放入准备好的培养基平板, 涂布均匀, 于培养箱培养。土壤总细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基, 真菌采用马丁氏培养基, 放线菌采用高氏1号培养基, 木霉菌用THSM木霉选择性培养基 [17-18]。

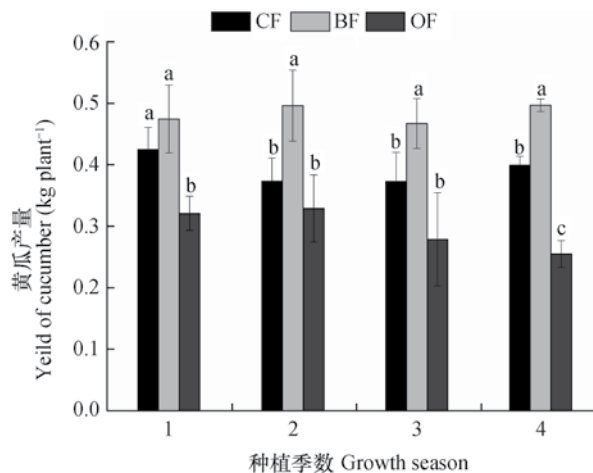
#### 1.5 数据处理与分析

数据统计分析使用SPSS 13.0统计软件完成, 不同处理间差异显著性检验采用邓肯氏新复极差法 [19], 利用SigmaPlot 11.0作图。

## 2 结果

### 2.1 不同施肥处理对黄瓜产量和品质的影响

产量是肥料效应的直接反映。由图1可以看出, 不同施肥处理对黄瓜产量的影响显著。第1季



注：处理间不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。CF: 100% 化肥处理 (8 g 盆<sup>-1</sup>雅苳苗乐复合肥, 追施4 g 盆<sup>-1</sup>雅苳硝酸钙); BF: 75% 化肥+50 g 株<sup>-1</sup>木霉SQR-T037微生物肥; OF: 75% 化肥+50 g 株<sup>-1</sup>普通有机肥。下同 Note: Values with the different letters represent significance in difference between treatments ( $p < 0.05$ ). CF: 100% chemical fertilizer [containing 8 g pot<sup>-1</sup> YaraMila compound fertilizer and 4 g pot<sup>-1</sup> YaraLiva Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> fertilizer]; BF: 75% chemical fertilizer + *Trichoderma*-enriched biofertilizer; OF: 75% chemical fertilizer + organic fertilizer. The same below

图1 不同施肥处理对黄瓜产量的影响

Fig. 1 Yield of cucumber fruit in different treatments

中配施微生物肥BF处理相对100%的农民惯用化肥处理CF产量相当, 不存在显著差异, 但第2、3、4季中BF相对CF处理增产均达24%以上, 且差异显著。75%的农民惯用化肥配施普通有机肥OF处理相对于100%的农户惯用化肥CF处理黄瓜减产显著, 第2季减产21.5%, 其余3季减产均达30%以上。纵观4季盆栽结果, 处理BF达到了化肥减量而不减产甚至增产的效果; 但同一处理不同种植季间产量变化不大。

维生素C (Vc) 含量是反映黄瓜营养品质的重要指标。由图2可知, 木霉微生物肥BF处理黄瓜果实中Vc含量均最高, 达266.6 mg kg<sup>-1</sup>, 且相对其他2个处理 (除第3季外) 差异显著。第1、2和4季中, CF处理果实中Vc含量最低。蔬菜硝酸盐含量的高低直接影响着其食用安全性。4季盆栽中, 100%化肥CF处理黄瓜果实的硝酸盐含量均显著高于其他2个处理, 达154.1 mg kg<sup>-1</sup>以上, 表明减少一定量化肥的施用能有效地降低黄瓜果实中硝酸盐含量的积累; 但减施化肥的2个处理的硝酸盐含量在4季黄瓜种植中结果不均一, 未表现出规律性。

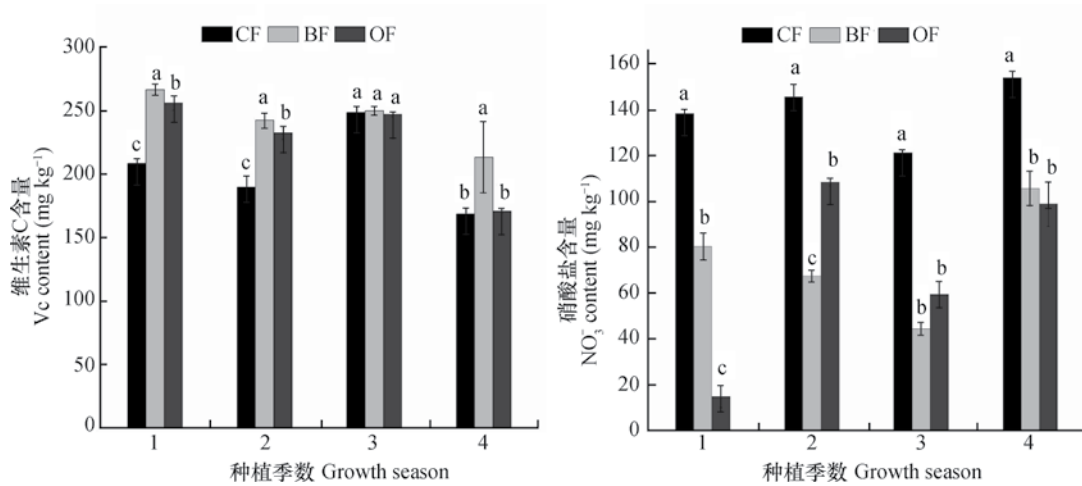


图2 不同施肥处理对黄瓜品质（维生素C和硝酸盐含量）的影响

Fig. 2 Fruit quality (Vc and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> content) of cucumber in different treatments

### 2.2 不同施肥处理对根际土壤可培养微生物数量的影响

土壤微生物是连作障碍的主要因子之一，其群落结构组成及变化在一定程度上反映了土壤的质

量及其健全性。由图3可知，微生物肥BF处理和普通有机肥OF处理根际土壤中总细菌数量呈逐渐上升趋势，而化肥CF处理根际土壤总细菌数量呈先上升后下降的趋势。从第3季开始BF处理的细菌总

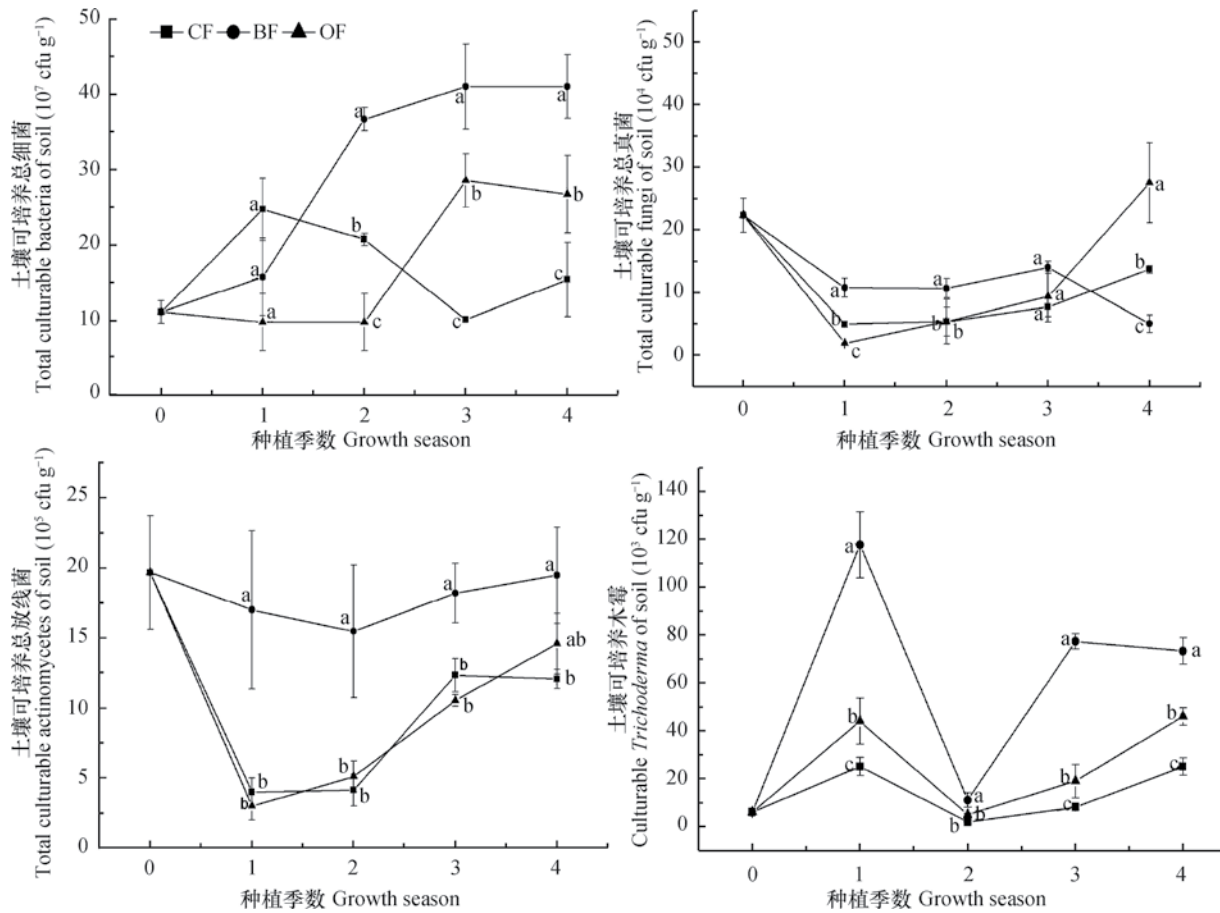


图3 不同施肥处理对土壤可培养细菌、真菌、放线菌数量的变化

Fig. 3 Population of soil culturable bacteria, fungi and actinomycetes in different treatments

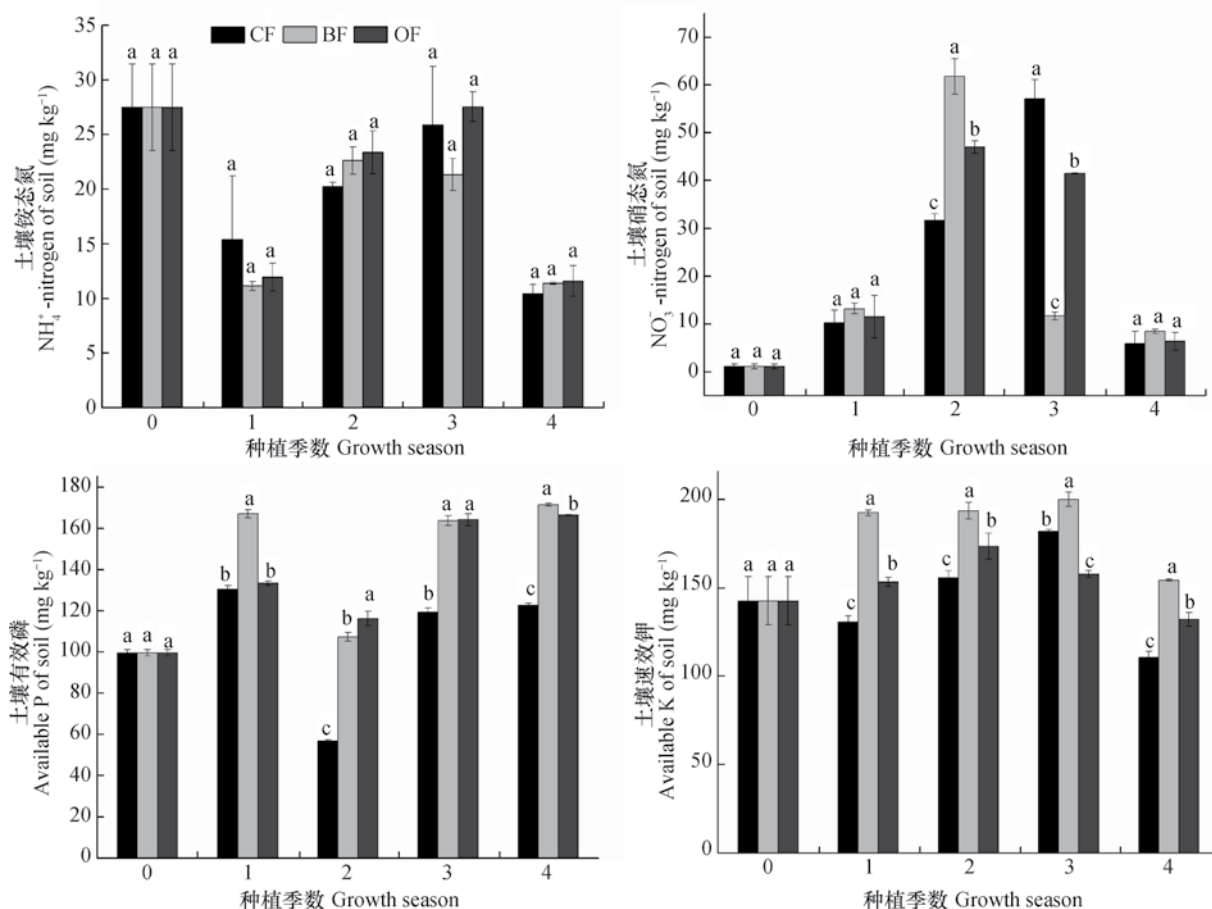


图4 不同施肥处理对土壤速效养分含量的影响

Fig. 4 Variation of soil available nutrients in different treatments

数最高, 其次为OF处理, 最后是CF处理。图3中, OF和CF处理的真菌数量先降低后逐渐增加, 且随着种植季数的增加, 增幅加大; BF处理的真菌数量呈先稳定后迅速减少的趋势, 至第4季, 其真菌数量显著低于其他2个处理。就土壤可培养放线菌数而言, CF和OF处理的土壤可培养总放线菌数随着种植季数的增加呈先下降后回升的趋势; 微生物肥BF处理的放线菌数则基本处于一个相对稳定的数量, 不随种植季数的增加而剧烈变化, 且显著高于其他2个处理。同时, 微生物肥BF处理的土壤木霉数量显著高于其他两个处理, 其次为OF处理, CF处理的最低, 且三者均呈现先增加后减少再增加的趋势。

### 2.3 不同施肥处理对根际土壤速效养分含量的影响

不同施肥处理对根际土壤速效养分含量影响显著。由图4可知, 随着黄瓜的连续种植, 土壤中铵态氮含量处于波动状态, 至第4季时3个处理的铵态氮含量无显著差异。除第3季外, 其余3季BF处

理的确态氮含量均高于其他2个处理, 但在第1、4季中差异不显著; 且3个处理土壤中硝态氮含量均随着种植季数的增加呈先增加后降低的趋势。由图5可知, BF处理的有效磷含量一直维持在一个较高水平, 相对CF处理增加28%~89%, 从第2季开始, 普通有机肥OF处理的有效磷含量也显著高于CF处理, 表明配施一定量的有机肥(微生物肥)能使土壤中有效磷含量维持在一个较高水平。图4中, BF处理的速效钾含量一直维持在一个较高水平, 且较其他2个处理差异显著。

## 3 讨论

我国在提高粮食产量方面过分依赖于化肥, 化肥平均用量达460 kg hm<sup>-2</sup>, 远远超过了发达国家或地区的安全使用上限225 kg hm<sup>-2</sup>[20]。菜农为了追求高产, 盲目施用化肥, 蔬菜的化肥用量更远远超过粮食作物, 而目前化肥的利用率仅为35%左右,

从而导致大量的化肥施用后未被作物吸收利用，造成土壤总体养分过剩而有效成分含量低、土壤板结、土壤微生物活性差等不良结果。同时，随着设施园艺在中国的迅速发展，单一作物连作成为我国设施农业生产中常见的蔬菜栽培制度。但连续种植某种（类）蔬菜如黄瓜<sup>[21]</sup>会造成土壤单一养分累积或亏缺，土壤生态环境恶化，蔬菜产量下降，连作障碍严重，这严重影响了设施农业的可持续发展和食品安全。植物促生菌（PGPR）及其相关产品的应用近年来被认为是能有效活化土壤中未被利用的养分，节省化肥施入，促进作物增产，同时能防治土壤连作障碍的有效手段之一。不少研究报道，生物有机肥能够显著提高产量<sup>[22-24]</sup>，而且凌宁等<sup>[25]</sup>对西瓜的研究也表明施用生物有机肥不仅能促进西瓜植株生长，增加其产量，还能显著降低西瓜枯萎病发病率。本试验结果也表明哈茨木霉SQR-T037微生物肥与75%的化肥配施，相对于100%的化肥处理不仅不会导致黄瓜减产，连续处理2次（季）以上反而有一定增产作用（图1）。因此，在原有惯用化肥施用量的前提下，减施25%的化肥，并配施一定量木霉微生物肥，不仅能保证黄瓜稳产，还能节约施肥成本，保护土壤环境；这与本课题组先前在大田环境下获得的实验结果相吻合，并补充支撑了微生物肥提高土壤养分利用率这一假说<sup>[12]</sup>。

作物品质主要受根系营养组分的影响。蔬菜中硝酸盐积累的原因很多，施肥是最重要的影响因素之一<sup>[26]</sup>。为了控制蔬菜对硝态氮的过量吸收，国外学者进行了大量的研究，并取得了一定的效果<sup>[27-28]</sup>。但施用有机肥料能否有效减少蔬菜硝酸盐含量，目前研究结论还不统一。研究表明，微生物肥料具有改善作物品质的作用，被认为是微生物肥料的重要功效之一。本实验中，减施化肥的OF处理和BF处理的黄瓜硝酸盐含量显著低于100%化肥处理CF，其中木霉微生物肥BF处理相比CF处理降低45%以上，有效地控制了黄瓜果实中硝酸盐的积累，改善了果实的安全品质（图2）。同时，我们发现，连续4季的结果中，BF处理的黄瓜果实Vc含量均高于CF处理；而至第3、4季，OF处理黄瓜的Vc含量与CF处理相比无明显差异，表明减少25%的化肥并不影响黄瓜中Vc的含量，而在此基础上施用木霉微生物肥才能有效提高黄瓜果实中Vc的含量。因此，减施25%化肥配以促生菌SQR-

T037制成的微生物有机肥，能有效提高黄瓜的产量，增加Vc含量，降低硝酸盐积累，果实品质得到改善。

有研究表明<sup>[29]</sup>，微生物种群结构失衡是导致作物减产、土壤质量下降的主要原因之一。本试验中，BF处理的可培养总细菌、放线菌、木霉数量高于CF处理，并随着种植季数的增加，其数量也逐渐增加，而真菌数量相应减少，但其余2个处理的真菌数量均有不同程度的增长（图3）。根据马云华<sup>[17]</sup>的研究结果，连作黄瓜土壤真菌数量随连作年限的增加呈线形增长。在本试验中，BF处理的土壤真菌数量不仅没有随黄瓜连作季数的增加而增加，反而在第3季之后显著减少，并显著低于CF和OF处理的真菌数量，这表明，常规化肥处理CF不利于提高土壤微生物种群数量；在化肥减量情况下，配施普通有机肥虽然可以一定程度上增加土壤细菌和放线菌的数量，但其真菌数量也在第3季之后大幅增加，这与已知报道的健康土壤区系相冲突<sup>[30-32]</sup>；3个施肥处理中，配施微生物肥BF，不仅有利于提高土壤中主要微生物种群数量，而且真菌数量得到抑制，有利于降低土壤真菌病害的发生率（总真菌数量被报道与土传真菌病害发生率呈正比<sup>[30-32]</sup>）。根际微生物与植物的相互作用，可以因为接种大量优势有益菌于农作物根际而起到调节生态平衡的作用<sup>[31-34]</sup>，在植物根际形成一个生物屏障，阻止有害菌的定殖和入侵，促进有益菌群对作物生长的复合有益功能（包括促生、防病、固氮、解磷等作用）的发挥；本试验中，BF处理有效地验证了这一解释。

PGPR类微生物可直接或间接地对根际微生态环境中营养元素的循环产生影响，微生物的活动可释放或活化某些营养元素，直接地增加根际营养物质的有效性、加快循环过程，同时也可通过影响根系的生长发育，间接影响养分的循环过程及其有效性<sup>[34-37]</sup>。本实验中采用的功能菌株哈茨木霉SQR-T037，正是一株高效的植物促生菌，其被报道可产生类植物激素Harzianolide显著增加植物根长和根尖数<sup>[35]</sup>，同时其可活化一系列土壤难溶养分，包括P、Fe、Cu和Zn<sup>[36]</sup>。作物收获时土壤速效养分的高低，反映了土壤养分的供给能力。本试验中BF处理土壤有效磷、速效钾的含量均最高，而速效氮（铵态氮和硝态氮）结果不一，表明施用木霉SQR-T037微生物肥能有效活化土壤磷素和钾素，



而对氮素影响不大。有不少研究证实<sup>[32-33]</sup>, 生物有机肥能将土壤中难以被作物吸收的无效养分分解转化为易吸收的形态, 提高养分供应速率。同时, 由于木霉微生物肥的施用而造成的土壤总细菌、木霉等的大量增加也有利于养分的活化与快速转运, 这与我们先前的田间试验结果及番茄种植上的研究结果相一致<sup>[12, 37]</sup>。BF处理所施用的微生物肥含有大量的木霉, 能在适宜的土壤环境中迅速繁殖, 不仅起到激活有益微生物的作用, 还增加了外源微生物数量, 活化了土壤中的养分, 加速土壤养分的分解转化和释放, 使得土壤中的营养元素更好地向植株中转移积累, 为黄瓜的生长提供了养分保障<sup>[38]</sup>。因此, 施用化肥虽可以短暂地维持土壤速效养分的供给, 而微生物肥则可以长期地作用于土壤, 维持并提高土壤速效养分的供给水平。

## 4 结论

在原有惯用化肥施用量的前提下, 减施25%的化肥, 并配施一定量木霉SQR-T037微生物肥或普通有机肥, 不仅能保证黄瓜稳产, 还能显著改善黄瓜果品质, 促进土壤中养分的高效吸收和利用, 节约施肥成本, 保护土壤环境。但由于普通有机肥处理与75%的化肥配施会造成黄瓜产量显著下降, 因此, 减施部分化肥而配以植物促生菌(PGPR)制成的微生物肥才是减施肥条件下黄瓜保产增收的有效途径。

## 参考文献

- [1] 吕殿青, 同延安, 孙本华, 等. 氮肥施用对环境污染影响的研究. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(1): 8—15  
Lv D Q, Tong Y A, Sun B H, et al. Study on effect of nitrogen fertilizer use on environment pollution (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 1998, 4(1): 8—15
- [2] 郝晶, 刘冰, 谢英荷, 等. 不同氮素水平下生物菌肥施用效果研究. 山西农业科学, 2006, 34(1): 50—52  
Hao J, Liu B, Xie Y H, et al. Application effect of biological fertilizer in different-level nitrogen (In Chinese). Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2006, 34(1): 50—52
- [3] Adesemoye A O, Torbert H A, Klopper J W. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. Canadian Journal of Microbiology, 2008, 54(10): 876—886
- [4] Shaharouna B, Naveed M, Arshad M, et al. Fertilizer-dependent efficiency of *Pseudomonads* for improving growth, yield and nutrient use efficiency of wheat. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 79(1): 147—155
- [5] Harman G E, Howell C R, Viterbo A, et al. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(1): 43—56
- [6] Weindling R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology, 1932, 22: 837—845
- [7] 郭润芳, 刘小光, 高克祥, 等. 拮抗木霉菌在生物防治中的应用与研究进展. 中国生物防治, 2002, 18(4): 180—184  
Guo R F, Liu X G, Gao K X, et al. Progress in biocontrol research with *Trichoderma* (In Chinese). Chinese Journal of Biological Control, 2002, 18(4): 180—184
- [8] 朱双杰, 高智谋. 木霉对植物的促生作用及其机制. 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 (In Chinese). Journal of Fungal Research, 2006, 4(3): 107—111
- [9] Chang Y C, Baler R. Increased growth of plant in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease, 1986, 70(2): 145—148
- [10] 杨春林, 席亚东, 刘波微, 等. 哈茨木霉T-h-30对几种蔬菜的促生作用及病害防治初探. 西南农业学报, 2008, 21(6): 1603—1607  
Yang C L, Xi Y D, Liu B W, et al. Primary study on growth-promoting and biological control effects of *Trichoderma harzianum* T-h-30 on vegetables (In Chinese). Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2008, 21(6): 1603—1607
- [11] 黄有凯. 哈茨木霉促进植物生长的相关研究. 合肥: 安徽农业大学, 2003: 5  
Huang Y K. The study of *Trichoderma harzianum* promoting plant growth (In Chinese). Hefei: Anhui Agricultural University, 2003: 5
- [12] 任轶, 李瑞霞, 艾昊, 等. 减施肥条件下木霉SQR-T037微生物肥对黄瓜产量、品质及养分利用效率的影响. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 143—146  
Ren Y, Li R X, Ai H, et al. Effect of *Trichoderma* SQR-T037 biofertilizer on yield and quality of cucumber and nutrient use efficiency under condition of reduced application of chemical fertilizer (In Chinese). Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(2): 143—146

- [ 13 ] 宁德生, 梁小燕, 方宏. 高效液相色谱法对罗汉果中 Vc 含量的检测. 食品科学, 2010, 31 ( 20 ): 311—313  
Ning D S, Liang X Y, Fang H. Determination of the content of Vitamin C in *Siraitia grosvenorii* fruits by HPLC ( In Chinese ). Food Science, 2010, 31 ( 20 ): 311—313
- [ 14 ] 余海兰, 方京京. 高效液相色谱法同步测定蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量. 湖南农业科学, 2010 ( 7 ): 97—99  
Yu H L, Fang J J. Simultaneous determination of nitrate and nitrite in vegetable by HPLC ( In Chinese ). Hunan Agricultural Sciences, 2010 ( 7 ): 97—99
- [ 15 ] Raigon M D, Garcia M P, Maquieira A, et al. Determination of available nitrogen ( nitric and ammoniacal ) in soils by flow-injection analysis. Analysis, 1992, 20 ( 8 ): 483—487
- [ 16 ] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.  
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis ( In Chinese ). Beijing: China Agriculture Press, 2000
- [ 17 ] 马云华. 日光温室黄瓜连作土壤微生物区系与酶活性的变化研究. 山东泰安: 山东农业大学, 2004: 6  
Ma Y H. Changes of soil microflora and activities of enzymes in continuous cropping cucumber in solar greenhouse ( In Chinese ). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University, 2004: 6
- [ 18 ] Kang P Z, Zhang L R, Shen R Q. Ecological effect of *Trichoderma harzianum* preparations on rhizosphere soil microbes in facilities continuous cropping tomato and their disease prevention. Agrochemicals, 2013, 52 ( 2 ): 128—131
- [ 19 ] 盖钧益. 试验统计方法. 北京: 中国农业出版社, 2000  
Gai J Y. Methods of experimental statistics ( In Chinese ). Beijing: China Agriculture Press, 2000
- [ 20 ] 黄立华. 施肥对大白菜产量和品质的影响及硝酸盐累积的研究. 长春: 吉林农业大学, 2004  
Huang L H. Effect of fertilization on the yield and qualities of Chinese cabbage and study of nitrate accumulation ( In Chinese ). Changchun: Jilin Agricultural University, 2004
- [ 21 ] Chen L, Yang X, Raza W, et al. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89: 1653—1663
- [ 22 ] 赵兰凤, 李华兴, 猴武龙, 等. 生物复混肥施用量对土壤养分及作物生长的影响. 土壤, 2009, 41 ( 2 ): 248—252  
Zhao L F, Li H X, Gou W L, et al. Effects of doses of compound biofertilizer nutrients and crop growth ( In Chinese ). Soils, 2009, 41 ( 2 ): 248—252
- [ 23 ] 宋勇生, 范晓辉. 有机-无机肥料配施对红壤性水稻土氮素转化的影响. 井冈山师范学院学报, 2004, 25 ( 6 ): 53—55  
Song Y S, Fan X H. Effect of combined application of organic and inorganic fertilizers on migration of nitrogen in rice soil of red earth ( In Chinese ). Journal of Jinggangshan Normal College, 2004, 25 ( 6 ): 53—55
- [ 24 ] 蒋小芳, 罗佳, 黄启为, 等. 不同原料堆肥的有机无机复混肥对辣椒产量和土壤生物性状的影响. 植物营养与肥料学报, 2008, 14 ( 4 ): 766—773  
Jiang X F, Luo J, Huang Q W, et al. Effect of different organic-inorganic mixed fertilizer application on pepper yield and soil microbial properties ( In Chinese ). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14 ( 4 ): 766—773
- [ 25 ] 凌宁, 王秋君, 杨兴明, 等. 根际施用微生物有机肥防治连作西瓜枯萎病研究. 植物营养与肥料学报, 2009, 15 ( 5 ): 1136—1141  
Ling N, Wang Q J, Yang X M, et al. Control of *Fusarium* wilt of watermelon by nursery application of bio-organic fertilizer ( In Chinese ). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2009, 15 ( 5 ): 1136—1141
- [ 26 ] 郭丽娜, 刘秀珍, 赵兴杰. 施肥及环境因素对蔬菜硝酸盐积累影响的研究进展. 山西农业大学学报, 2005, 25 ( 4 ): 416—419  
Guo L N, Liu X Z, Zhao X J. Effects of fertilization and environmental factors on nitrate accumulation in vegetable ( In Chinese ). Journal of Shanxi Agricultural University, 2005, 25 ( 4 ): 416—419
- [ 27 ] Umar A S, Iqbal M. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications. Agronomy for Sustainable Development, 2007, 27 ( 1 ): 45—57
- [ 28 ] 许小伟, 樊剑波, 陈晏, 等. 有机无机肥配施对红壤旱地花生生理特性、产量及品质的影响. 土壤学报, 2015, 52 ( 1 ): 174—182  
Xu X W, Fan J B, Chen Y, et al. Effect of manure combined with chemical fertilizer application on yield, kernel quality and physiological characteristics of peanut to red soil in subtropical China ( In Chinese ). Acta Pedologica Sinica, 2015, 52 ( 1 ): 174—182
- [ 29 ] 严昶升. 土壤肥力研究方法. 北京: 农业出版社, 1988  
Yan C S. Research methods of soil fertility ( In Chinese ). Beijing: Agriculture Press, 1988
- [ 30 ] Wang B, Li R, Ruan Y, et al. Pineapple-banana rotation reduced the amount of *Fusarium oxysporum* more than maize-banana rotation mainly through modulating fungal communities. Soil Biology & Biochemistry, 2015, 86: 77—86



- [31] 张鹏, 韦中, 朱震, 等. 生物有机肥对连作番茄和辣椒根际土壤微生物区系及茄科雷尔氏菌的影响. 南京农业大学学报, 2013, 36 (4): 77—82  
Zhang P, Wei Z, Zhu Z, et al. Effect of a bio-organic fertilizer on microbial flora and *Ralstonia solanacearum* population in rhizosphere soils of continuous cropping tomato and pepper (In Chinese). Journal of Nanjing Agricultural University, 2013, 36 (4): 77—82
- [32] 付琳, 阮云泽, 沈宗专, 等. 生物有机肥对连作香蕉根际土壤可培养细菌区系的影响. 南京农业大学学报, 2012, 35 (6): 82—88  
Fu L, Ruan Y Z, Shen Z Z, et al. Effects of bio-organic fertilizer on the community structure of culturable bacteria in the rhizosphere soil of a continuous-cropping banana field (In Chinese). Journal of Nanjing Agricultural University, 2012, 35 (6): 82—88
- [33] 韩晓玲, 张乃文, 贾敬芬. 生物有机无机复混肥对番茄产量、品质及土壤的影响. 中国土壤与肥料, 2005, 3 (3): 51—53  
Han X L, Zhang N W, Jia J F. Effects of biological organic-inorganic compound fertilizer on yield, quality of tomato and soil (In Chinese). Soil and Fertilizer Sciences in China, 2005, 3 (3): 51—53
- [34] 李成亮, 黄波, 孙强生, 等. 控释肥用量对棉花生长特性和土壤肥力的影响. 土壤学报, 2014, 51 (2): 295—305  
Li C L, Huang B, Sun Q S, et al. Effects of application rates of controlled release fertilizers on cotton growth and soil fertility (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 (2): 295—305
- [35] Cai F, Yu G, Wang P, et al. Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 73: 106—113
- [36] Li R X, Cai F, Pang G, et al. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. PLoS ONE, 2015, 10 (6): e0130081
- [37] Cai F, Chen W, Wei Z, et al. Colonization of *Trichoderma harzianum* strain SQR-T037 on tomato roots and its relationship to plant growth, nutrient availability and soil microflora. Plant and Soil, 2015, 388: 337—350
- [38] 王涛, 王虎, 余剑, 等. 不同施肥量对迷你黄瓜产量、品质、硝酸盐含量的影响. 陕西农业科学, 2012 (1): 13—15  
Wang T, Wang H, Yu J, et al. Effects of different fertilizers on yield, quality and nitrate accumulation of mini-cucumber (In Chinese). Shaanxi Agricultural Sciences, 2012 (1): 13—15

## Effect of *Trichoderma* Biofertilizer on Continuous Cropping Cucumber Cultivation with Reduced Rates of Chemical Fertilizer Application

GU Xiaolong<sup>1, 2</sup> CHEN Wei<sup>1, 3†</sup> CAI Feng<sup>1, 3</sup> PANG Guan<sup>1, 3</sup> LI Ruixia<sup>2</sup>

(1 National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 Jiangsu Key Lab and Engineering Center for Solid Organic Waste Utilization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(3 Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** 【Objective】The aims of this work were to determine 1) whether reduced rates of chemical fertilizer coupled with PGPM inoculants (*Trichoderma* biofertilizer) would produce cucumber yield and quality equivalent to those obtained using full rates of chemical fertilizer and 2) how this type of fertilization affects the soil fertility of a continuous cropping system. 【Method】Pot trials were conducted 4 times with a reduced application of chemical fertilizer (75% of the recommended application) plus *Trichoderma*-enriched biofertilizer (BF) or organic fertilizer (OF), with 100% of the recommended chemical fertilizer (CF) as the control. 【Result】The results showed that supplementing 75% of the idiomatic fertilizer with *Trichoderma* SQR-T037 biofertilizer (BF) produced yield that was statistically equivalent to or higher than

the 100% chemical fertilizer (CF) and increased by >21% of yield compared to the OF treatment. This result was consistent across in our previous field experiments, which also indicates that only biofertilizer could be a viable supplementary strategy of fertilizer for maintaining or increasing cucumber yield. Reduced chemical fertilization, both of the BF and OF treatments, resulted in a higher Vitamin C (2% ~ 23% and 35% ~ 54%, respectively) contents in the BF and OF treatments but a lower (32% ~ 46%) accumulation of  $\text{NO}_3^-$  in the cucumber fruits compared than those of the control (CF), suggesting that replacing 25% of the chemical fertilizer rates with (bio) organic fertilizer could significantly increase cucumber fruit quality. The application of SQR-T037 biofertilizer (BF) significantly ( $p < 0.05$ ) increased cucumber rhizospheric nutrient availability. Specifically, the highest contents of available P were more frequently observed in the BF treatment. Moreover, the BF treatment maintained at a higher level of available K compared with that of the CF and OF treatments. Also, the BF treatment significantly increased the population of soil microflora, including bacteria and *Trichoderma*, maintaining the population of actinomycetes, but with the reduced abundance of fungi, compared with the CF treatment. Based on the explanations known in other researches, the relationship between soil nutrients and microflora in this study may be explained as follows: plant growth might initially be improved by enhanced root growth, which occurs in response to a powerful plant-growth-promoting fungus, *T. harzianum* SQR-T037, as reported in our previous study. Then, better root growth influences soil microbes via the supply of additional root exudates or rhizodeposition, and soil microbes, in turn, alter plant performance through higher microbial abundance and more frequent interactions resulting in more available nutrients. This process continues in a cycle. More bio-available nutrients promote better root growth, which facilitates more microbial colonization in the rhizosphere, and ultimately results in greater nutrient uptake by the inoculated plants. **【Conclusion】** The results of this study imply that the excessive use of expensive chemical fertilizer can be significantly avoided without compromising yield (at least in cucumbers) through the application of a *Trichoderma*-enriched biofertilizer. Additionally, the use of *Trichoderma*-enriched biofertilizer with lower fertilizer application resulted in enhanced fruit quality and an improvement in soil fertility and the microbial environment. Therefore, biofertilizer such as this could be used in combination with the appropriate rates of chemical fertilizer and should be applied over a long-term period as a component of integrated nutrient management strategies to obtain maximum benefits in terms of the yield, sustainable use of soil and fertilizer savings.

**Key words** *Trichoderma* biofertilizer; Reduction of fertilization; Cucumber; Yield; Fruit quality

(责任编辑：陈德明)