



谢金燕,吴思,欧慧敏,等.平菇下脚料对番茄植株内可培养内生菌的影响[J].黑龙江农业科学,2020(2):49-52.

# 平菇下脚料对番茄植株内可培养内生菌的影响

谢金燕,吴 思,欧慧敏,范婷婷,卢 静,李玉中

(衡阳师范学院 生命科学与环境学院,湖南 衡阳 421001)

**摘要:**为了解平菇下脚料的施用对番茄内微生物的影响,在室内盆栽条件下,以纯灭菌土为对照,在灭菌土中施入灭菌和未灭菌平菇下脚料为处理,分别移栽灭菌土培育的番茄苗,移栽 30 d 后,用常规分离方法分离番茄植株茎和根部的内生真菌和内生细菌,计数不同处理中可培养内生菌的数量和种类。结果表明:对照、未灭菌下脚料加土壤和灭菌下脚料加土壤的 3 个处理栽培的番茄中分别分离内生细菌 6 种、9 种和 7 种,而分离内生真菌分别为 3 种、6 种和 4 种;分离细菌总个数分别为 91、86 和 109 个,分离真菌总个数分别为 5、21 和 30 个。表明未灭活的平菇下脚料处理土壤可明显提高可培养番茄内生菌的种类,而灭活平菇下脚料处理土壤可使可培养番茄内生菌个别种类的数量明显增加。

**关键词:**番茄;平菇下脚料;可培养微生物;内生细菌;内生真菌

番茄是世界栽培最为普遍的果蔬之一<sup>[1]</sup>,因其色泽艳丽,味道酸甜适口,不仅可为人体提供多种维生素、矿物元素等人体必需营养成分,而且还具有清热解渴,养阴凉血的药用价值,对强身健体、防病治病亦有一定的作用<sup>[2]</sup>,因此,在我国各地均有大面积的种植。但在番茄种植过程中,容易受到植物病害的侵染,尤其是根结线虫病<sup>[3-4]</sup>和番茄青枯病<sup>[5]</sup>的危害,病害严重时会造成番茄严重减产<sup>[6-7]</sup>。

有报道,平菇下脚料对植物根结线虫<sup>[8-9]</sup>和番茄青枯病<sup>[5]</sup>有较好的防治效果,且对植物有一定的促生作用<sup>[8-9]</sup>。另有研究表明,有些番茄内生菌可促进番茄生长<sup>[10]</sup>,有些种类可以加强其对植物病原菌的抑制作用<sup>[11-12]</sup>。但是,平菇下脚料对番茄的抗病促生作用是否与番茄内生菌的变化有关,有待进行相关的试验探究。

鉴于此,本试验在室内盆栽条件下,测定了灭菌土壤,灭菌土壤+灭菌平菇下脚料及灭菌土壤+未灭菌平菇下脚料 3 个处理中番茄植株内生菌的种类和数量,分析平菇下脚料对番茄内生菌的种类和数量有无影响。为进一步探讨平菇下脚料

的施用对番茄植株的抗病促生作用与番茄植株内生菌的变化有无相关性的研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

番茄种子:“伟兴美丰一号”(生厂商:广州市伟兴种子店);土壤:由衡阳师范学院西校区实验用地的土壤与砂土以质量比为 5:1 进行混合;平菇下脚料:衡阳蔬菜研究出菇两茬的平菇下脚料(品种:黑优 6 号);培养基:PDA 培养基,牛肉膏蛋白胨培养基,配制参考徐德强等的方法<sup>[13]</sup>;植物表面消毒试剂:次氯酸钠溶液( $\text{Cl}^{-}$  10%),75% 的乙醇溶液,无菌蒸馏水;抗生素溶液:10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素,10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 平菇下脚料处理土壤中番茄植株种植

将平菇下脚料碾碎,取部分用 121  $^{\circ}\text{C}$  湿热灭菌 1 h,冷却之后待用。取土壤用 121  $^{\circ}\text{C}$  湿热灭菌 2 h,冷却之后,分别与灭菌和未灭菌碾碎的平菇下脚料混合。设 3 个处理,A 处理为每盆灭菌土 2.1 kg,作为对照;B 处理为每盆 2.0 kg 灭菌土加 100 g 未灭菌平菇下脚料;C 处理为每盆 2.0 kg 灭菌土加 100 g 灭菌平菇下脚料。将土壤与平菇下脚料混匀装盆,选取灭菌土育苗 45 d 株高较一致且根系发达的番茄苗移栽入盆,每盆栽种 3 株(以品字形排布),每个处理栽种 5 盆。室温保持在 20~30  $^{\circ}\text{C}$ ,每天光照和黑暗各 12 h,保持正常浇水和管理。

1.2.2 番茄植株内可培养内生细菌的分离与计数 番茄移栽培养 30 d,从 3 个处理中分别取具

收稿日期:2019-10-27

基金项目:地方高校国家级大学生创新创业训练计划项目(教高司函[2017]40 号:8448);湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(湘教通[2017]205 号:527);衡阳师范学院大学生研究性学习和创新性实验计划项目(C1715);湖南省自然科学基金项目(2015JJ2019)。

第一作者:谢金燕(1996-),女,在读学士,从事植物内生菌研究。E-mail:1477952680@qq.com。

通信作者:李玉中(1978-),男,博士,副教授,从事微生物及植物病害生物防治等研究。E-mail:yzl\_2002@163.com。

有代表性的植株 5 株,用清水洗净植株表面的泥沙,然后用纸巾擦干表面的水分。然后每株植物剪取茎和根分别 1.0 g,在无菌超净工作台上,将其在 75%的乙醇中浸泡 1 min,次氯酸钠(有效 Cl<sup>-1</sup>2.5%)处理 5 min,最后用无菌水冲洗 3~5 次,将其置于灭菌的预冷研钵中,加适量无菌水研磨,使其浓度为 0.1 g·mL<sup>-1</sup>,并稀释终浓度至 0.01 g·mL<sup>-1</sup>。取各处理番茄组织研磨稀释液 0.1 mL 分别涂布于牛肉膏蛋白胨培养基平板上,每处理 3 皿,37 ℃ 培养 48 h,根据菌落形态区分种类,并用“LeEB”加阿拉伯数字对不同形态的菌落进行编号,分别计数不同菌落的细菌数量,并计算各处理中分离到的总数量。数据分析及作图采用 Excel 2013 软件处理。

1.2.3 番茄植株内可培养内生真菌的分离与计数 按照 1.2.2 方法进行取样和表面消毒,消毒后分别剪成 4 mm 左右大小的小段。每处理的根、茎小段分别置于加有双抗(含终浓度为 100 μg·mL<sup>-1</sup>青霉素和链霉素)PDA 培养基平板上,每皿 5 段,成五点取样式摆放,每处理的根和茎各 3 皿。28 ℃ 培养 3~5 d,根据菌落形态区分种类,并用“LeFB”加阿拉伯数字对不同形态的菌

落进行编号,分别记录各处理组中每种真菌的菌落数,并统计各处理中真菌总菌落数和真菌的种类。数据分析及作图同 1.2.2。

2 结果与分析

2.1 不同处理中可培养番茄内生细菌数量和种类

番茄植株内生细菌分离结果显示,不同处理不同部位分离到的可培养内生细菌的数量和种类不同。茎中的内生细菌种类较少,只分离到 3 种细菌。其中菌株 LeBE 7 存在于 3 个处理组中,而菌株 LeBE 3 只在灭菌土+未灭菌平菇下脚料处理中分离到且较多,而 LeBE 5 仅在灭菌土+灭菌平菇下脚料处理组分离到。由此可知,平菇下脚料的施入增加了番茄茎内可培养内生细菌的种类(表1)。在 3 个处理的番茄根中共分离 9 种细菌,其中 LeBE3、LeBE4、LeBE5、LeBE8 和 LeBE10 这 5 种内生细菌在 3 个处理中均存在;在加有未灭菌平菇下脚料的处理中,还分离到 LeBE1、LeBE2 和 LeBE6 三种特有菌;而在加有灭菌平菇下脚料的处理中,分离到 LeBE9 一种特有菌。由此可知,灭菌和不灭菌的平菇下脚料均有利于番茄根中可培养内生细菌种类的增加。

表 1 不同处理中番茄植株内可培养内生细菌的数量及种类

Table 1 Number and species of culturable endophytic bacteria in tomato plants under different treatments

组别	各种菌的菌落数 Colony number of various bacteria										菌株种类	
Groups	LeBE1	LeBE2	LeBE3	LeBE4	LeBE5	LeBE6	LeBE7	LeBE8	LeBE9	LeBE10	总计 Total	Species
A 茎							—				0	1
B 茎			11				—				11	2
C 茎					5		—				5	2
A 根			13	10	35			11		22	91	5
B 根	1	2	12	13	33	2		8		4	75	8
C 根			17	13	55			9	1	9	104	6

注:“—”表示菌落为片状无法计数。  
Note:“—” means the colony is flaky and cannot be counted.

2.2 不同处理中可培养番茄内生真菌数量和种类

番茄植株内生真菌的分离结果显示,不同处理的不同组织中的内生真菌数量和种类不同。灭菌土处理 A 中生长的番茄茎内仅分离到 LeFE 1 一种菌,而加有未灭菌平菇下脚料的土壤处理 B 中分离出 LeFE 1、LeFE 2、LeFE 3、LeFE 5 和 LeFE 7 共 5 种真菌,加灭菌平菇下脚料的土壤处理 C 中分离到 LeFE 1 和 LeFE 3 两种菌,但

LeFE 1 分离出的数量特别多。  
番茄根内生真菌分离的结果显示,灭菌土处理 A 中生长的番茄根内分离出 LeFE 1、LeFE 6 和 LeFE7 共 3 种菌,但数量较少;加有未灭菌平菇下脚料的处理 B 番茄根中分离出了 LeFE 2、LeFE 3、LeFE 4 和 LeFE 5 共 4 种菌,其中 LeFE 2 数量较多;加有灭菌平菇下脚料的处理 C 番茄根中分离出 LeFE 1、LeFE 4 和 LeFE5 共 3 种菌,其中 LeFE 1 的数量特别多。

由此可见,灭菌土处理 A 中分离的真菌种类和数量都是最少的;加有未灭菌平菇下脚料处理 B 的真菌种类远高于其他处理组,但数量处于中等水平;而加有灭菌平菇下脚料的处理 C 分离出的真菌的数量最多,主要是内生菌 LeFE 1。说明

表 2 各处理组分离的内生真菌的菌落数量及种类

Table 2 Number and species of endophytic fungi isolated from each treatment group									
组别	内生真菌的菌落数量 Colony number of endophytic fungi								菌株种类
Groups	LeFE 1	LeFE 2	LeFE 3	LeFE 4	LeFE 5	LeFE 6	LeFE 7	总计 Total	Species
A 茎	2							2	1
B 茎	1	5	1		1		1	9	5
C 茎	12		1					13	2
A 根	1					1	1	3	3
B 根		8	2	1	1			12	4
C 根	14			1	2			17	3

2.3 不同处理对番茄植株内可培养内生菌的影响

综合番茄内生菌的分离情况可知,灭菌平菇下脚料处理 C 土壤栽培的番茄中分离内生细菌 7 种,内生真菌 4 种,共计 11 种;而未灭菌平菇下脚料处理 B 土壤栽培的番茄中分离内生细菌 9 种,内生真菌 6 种,共计 15 种;而灭菌土处理 A 栽培的番茄中分离内生细菌 6 种,内生真菌 3 种,共计 9 种。说明未灭菌平菇下脚料对番茄植株内生菌的种类增加明显;灭菌平菇下脚料对番茄植株内生菌的种类有所增加但不如未灭菌平菇下脚料明显(图 1a)。

菌丝灭活和菌丝未灭活平菇下脚料都有利于茎内生真菌的生长,但施加菌丝未灭活平菇下脚料明显增加了番茄内生真菌的种类和数量,而施加菌丝灭活平菇下脚料明显增加了茎内生真菌 LeFE 1 的数量(表 2)。

从分离数量来看,灭菌平菇下脚料处理 C 土壤栽培的番茄中分离细菌 109 个,真菌 30 个,共计 139 个;未灭菌平菇下脚料处理 B 土壤栽培的番茄中分离细菌 86 个,真菌 21 个,共计 107 个;灭菌土处理 A 栽培的番茄中分离细菌 91 个,真菌 5 个,共计 96 个(图 1b)。说明灭菌和未灭菌的平菇下脚料的施用均可明显促进番茄植株内生真菌的数目增加,未灭菌平菇下脚料对番茄植株内生细菌数量影响不如灭菌平菇下脚料明显;而灭菌平菇下脚料对番茄植株内生菌数目的增加主要集中在个别种类上。

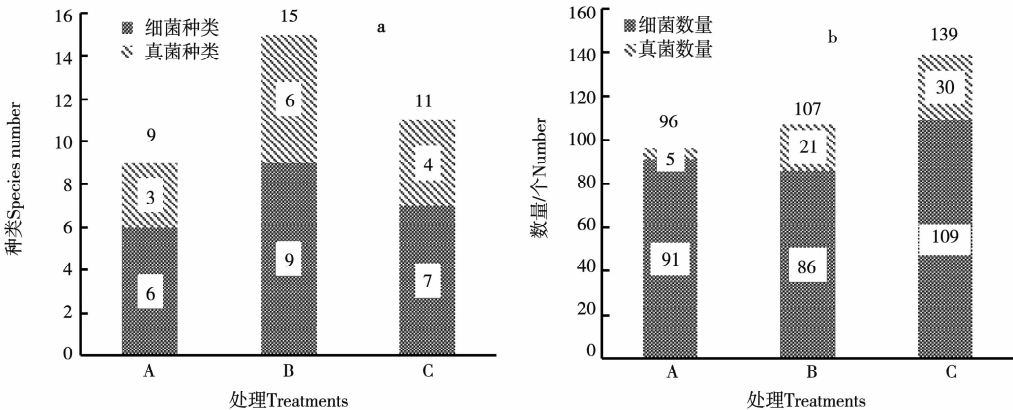


图 1 不同处理中番茄内生菌种类(a)和数量(b)  
Fig. 1 Species(a) and number(b) of endophytes in tomato under different treatments

3 结论与讨论

本试验结果显示,灭活平菇下脚料与未灭活平菇下脚料的施加都会影响番茄植株内生菌的种

类和数量,未灭活平菇下脚料主要增加番茄植株内生菌的种类,菌丝灭活平菇下脚料主要增加番茄植株个别种类内生菌的数目。张立新等<sup>[14]</sup>的

研究表明,不同地域生长的番茄植株分离出来的内生真菌种类和数量有较大的差异,说明用不同的土壤种植番茄会影响其内生菌的种类和数目,本研究也证实这一理论。本研究中,施加未灭菌平菇下脚料的土壤栽培的番茄中可分离内生菌较多,可能因为在未灭活的平菇下脚料施入土壤的同时,还将其他微生物一起带入了土壤<sup>[15]</sup>,导致土壤中微生物的种类相对较为丰富,根据内生菌外生学理论<sup>[16]</sup>,进而导致番茄植株内分离的可培养微生物种类相对较多。

本试验研究发现施加平菇下脚料的土壤种植出的番茄分离出的内生菌的种类和数量都比未施加平菇下脚料的多,以充分证明平菇下脚料的施用会对番茄内生菌产生明显影响。但番茄内生菌的变化是否与番茄的生长有直接的联系,亟待进一步试验验证。此外,本试验仅将平菇下脚料施用于灭菌土中进行了试验,如果将平菇下脚料加入到自然土中,其对番茄内生菌的影响也是一个值得探讨的课题。因此,今后有必要对相关的试验进行进一步的研究,为平菇下脚料对番茄生长影响机理的研究奠定基础,进而为平菇下脚料在番茄种植中的合理利用提供理论指导。

#### 参考文献:

- [1] 贺广生,杨盼盼,杨芳,等. 高效光合细菌菌剂对番茄和土壤肥力的影响[J]. 广东农业科学, 2015, 42(10): 56-60.
- [2] 金同铭. 番茄的营养价值与保健作用[J]. 蔬菜, 1998(3): 31.
- [3] 刘维志. 病原植物线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [4] Adam M, Heuer H, Hallmann J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by in-

duced systemic resistance of tomato plants[J]. PLoS ONE, 2014, 9(2): art. no. e90402.

- [5] 王丽丽, 李洋, 林乐志. 抑制番茄青枯病拮抗菌株的田间生防效果[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(2): 291-292.
- [6] 刘晓宇, 陈立杰, 姚美玲, 等. 新型农药氟吡菌酰胺对番茄根结线虫的田间防效[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(8): 75-77.
- [7] 赵惠, 范海燕, 赵丹, 等. 芽孢杆菌 *Sneb709* 控制番茄根结线虫病及其促生效果研究[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(7): 13-19.
- [8] Okorie C C, Ononuju C C, Okwujiak I A. Management of *Meloidogyne incognita* with *Pleurotus ostreatus* and *P. tuberregium* in soybean[J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2011, 13(3): 401.
- [9] 吴婷婷, 李玉中, 滕涛, 等. 出菇前后平菇菌料对番茄根结线虫的防效及对番茄生长的影响[J]. 山西农业科学, 2016, 44(11): 1689-1691.
- [10] 叶小梅, 常志州, 季国军, 等. 番茄内生菌 102 菌株的促生作用研究[J]. 土壤肥料, 2005(5): 41-42, 45.
- [11] 王美琴, 马林, 韩巨才, 等. 番茄内生菌 St24 的鉴定及其对灰霉病的生防作用[J]. 应用生态学报, 2012, 23(9): 2529-2535.
- [12] 李艳琴, 申泉, 刘彬彬, 等. 番茄内生菌分离及其 ERIC-PCR 指纹图谱分析[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 89-93.
- [13] 徐德强, 王英明, 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2019: 66-69, 286.
- [14] 张立新, 刘慧平, 韩巨才, 等. 番茄内生真菌的分离和拮抗生防菌的筛选[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2005, 9(1): 30-33.
- [15] 李玉中, 王彤, 滕涛, 等. 平菇栽培基质中污染菌的分离及其对平菇菌丝生长的影响[J]. 北方园艺, 2013(23): 155-158.
- [16] 张祺玲, 杨宇红, 谭周进, 等. 植物内生菌的功能研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(7): 28-34.

## Effects of *Pleurotus ostreatus* Scraps on Culturable Endophytes of *Lycopersicon esculentum* Plants

XIE Jin-yan, WU Si, OU Hui-min, FAN Ting-ting, LU Jing, LI Yu-zhong

(College of Life Sciences and Environment, Hengyang Normal University, Hengyang 421001, China)

**Abstract:** In order to understand the impact of microorganism on tomato endophytes, tomato seedlings cultured in the sterilized soil were respectively planted in pure sterilized soil, sterilized soil added mushroom residues and sterilized soil added sterilized mushroom residues under the condition of indoor potted. After 30 d, endophytic fungi and endophytic bacteria of tomato plant stems and roots were separated in different treatments with conventional separation methods, and the number and species of culturable endophytes were counted. The results showed that 6 kinds, 9 kinds and 7 kinds of endophytic bacteria and 3 kinds, 6 kinds and 4 kinds of endophytic fungi were isolated from the control, the treatment of sterilized soil added unsterilized waste materials and the treatment of sterilized soil added sterilized waste materials respectively, and the total number of bacteria was 91, 86 and 109, and the total number of fungi was 5, 21 and 30 respectively. The experiment showed that the soil treated with inactivated mushroom waste could significantly improve the types of culturable endophytes in tomato plant, while the soil treated with inactivated mushroom waste could significantly increase the number of some culturable endophytes in tomato plant.

**Keywords:** *Lycopersicon esculentum*; *Pleurotus ostreatus* scraps; culturable microbes; endophytic bacteria; endophytic fungi