

石灰碳铵熏蒸与施用生物有机肥对连作黄瓜和西瓜枯萎病及生物量的影响

沈宗专¹ 孙莉¹ 王东升^{1,2} 吕娜娜¹ 薛超¹ 李荣^{1*} 沈其荣¹

(¹南京农业大学资源与环境科学学院/江苏省固体有机废弃物资源化高技术研究重点实验室/江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心/国家有机类肥料工程技术研究中心, 南京 210095; ²南京市蔬菜科学研究所, 南京 210042)

摘要 采用稀释涂布平板计数法,研究了石灰碳铵及碳铵熏蒸对黄瓜和西瓜连作土壤尖孢镰刀菌数量的影响,以及熏蒸后施用生物有机肥对黄瓜和西瓜枯萎病的防控效果及植株生长的影响.结果表明:与对照相比,石灰碳铵及碳铵熏蒸后,连作土壤中黄瓜尖孢镰刀菌的数量分别下降95.4%及71.4%,西瓜尖孢镰刀菌的数量分别下降87.2%及64.2%;多因素方差分析表明,熏蒸、施用有机肥及作物种类均对土壤中尖孢菌数量、枯萎病发病率、防控率及生物量有显著影响;与未熏蒸施用普通有机肥对照相比,石灰碳铵熏蒸后施用生物有机肥能显著减少后茬黄瓜或西瓜土壤中尖孢镰刀菌的数量并显著降低枯萎病发病率,防控率高达91.9%及92.5%,同时显著增加了植株的株高、茎粗、SPAD值及干质量.表明石灰碳铵熏蒸及施用生物有机肥能够降低土壤中尖孢镰刀菌数量,有效防控黄瓜和西瓜枯萎病的发生并促进其植株生长.

关键词 连作土壤; 土壤熏蒸; 生物有机肥; 尖孢镰刀菌; 枯萎病防控

Effects of lime-ammonium bicarbonate fumigation and biofertilizer application on *Fusarium* wilt and biomass of continuous cropping cucumber and watermelon. SHEN Zong-zhuan¹, SUN Li¹, WANG Dong-sheng^{1,2}, LYU Na-na¹, XUE Chao¹, LI Rong^{1*}, SHEN Qi-rong¹ (¹College of Resources and Environmental Sciences/Jiangsu Province Key Laboratory for Organic Solid Waste Utilization/Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization/National Engineering Research Center for Organic-based Fertilizers, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Nanjing Institute of Vegetable Science, Nanjing 210042, China).

Abstract: In this study, the population size of soil microbes was determined using plate counting method after the application of lime-ammonium bicarbonate and ammonium bicarbonate fumigation. In addition, biofertilizer was applied after soil fumigation and population of *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* wilt disease control efficiency and plant biomass were determined in the cucumber and watermelon continuous cropping soil. The results showed that the population of *F. oxysporum* in cucumber mono-cropped soil fumigated with lime-ammonium bicarbonate or ammonium bicarbonate was decreased by 95.4% and 71.4%, while that in watermelon mono-cropped soil was decreased by 87.3% and 61.2%, respectively compared with non-fumigated control (CK). Furthermore, the greenhouse experiment showed that biofertilizer application, soil fumigation and crop type showed significant effects on the number of soil *F. oxysporum*, *Fusarium* wilt disease incidence, disease control efficiency and plant biomass based on multivariate analysis of variance. In the lime-ammonium bicarbonate fumigated soil amended with biofertilizer (LFB), significant reductions in the numbers of

本文由国家重点基础研究发展计划项目(2015CB150500)、中央高校基本科研业务费专项(KJQN201746)、农业部公益性行业科研专项(201503110)、国家重点研发计划项目(2016YFD0800605, 2016YFE0101100)、国家自然科学基金项目(31601836)、广东省科技计划项目(2016B020202006)及中国博士后科学基金项目(2016M590469)资助 This work was supported by the National Key Basic Research Program of China (2015CB150500), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (KJQN201746), the Special Fund for Argo-scientific Research in the Public Interest of Ministry of Agriculture, China (201503110), the National Key Research and Development Program (2016YFD0800605, 2016YFE0101100), the National Natural Science Foundation of China (31601836), the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2016B020202006), and the Postdoctoral Science Foundation of China (2016M590469).

2017-04-11 Received, 2017-07-14 Accepted.

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lirong@njau.edu.cn

F. oxysporum and *Fusarium* wilt disease incidence were observed in both cucumber and watermelon cropped soil compared to non-fumigated control soil applied with organic fertilizer. The disease control rate was 91.9% and 92.5% for cucumber and watermelon, respectively. Moreover, LFB also significantly increased the plant height, stem diameter, leaf SPAD, and dry biomass for cucumber and watermelon. It was indicated that biofertilizer application after lime-ammonium bicarbonate fumigation could effectively reduce the abundance of *F. oxysporum* in soil, control *Fusarium* wilt disease and improve plant biomass in cucumber and watermelon mono-cropping systems.

Key words: continuous cropped soil; soil fumigation; biofertilizer; *Fusarium oxysporum*; *Fusarium* wilt disease control.

由尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)侵染引起的枯萎病是一类具有毁灭性的土传真菌病害,我国各地均有发生^[1-2].该类病原菌从植株根部侵染,引起维管束病变,进而导致维管束枯萎、叶片枯黄、球茎及根腐烂,最终造成植株枯死^[3-4].土传枯萎病在植物的各个生育期均可发生,可造成普遍减产,甚至绝产^[5].

黄瓜(*Cucumis sativus*)和西瓜(*Citrullus lanatus*)均是重要的瓜果类蔬菜作物,我国是世界上最大的黄瓜和西瓜生产国,2014年总产量分别达到约5700万t和7500万t^[6].土传枯萎病的病原菌存在种水平以下分化,具有多种寄主专化型,可侵染多种植物寄主,其中尖孢镰刀菌黄瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerin*, FOC)^[7]和西瓜专化型[*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON]^[4]可分别侵染黄瓜和西瓜根部,引发黄瓜和西瓜土传枯萎病,严重危害黄瓜^[8]和西瓜^[9]产业的发展.

黄瓜和西瓜土传枯萎病的防治方法目前主要有抗病品种选育、化学防治、农业防治和生物防治.然而抗病品种选育周期长、成本高、遗传规律复杂,且病原菌本身不断分化,出现新的生理小种,使抗病育种变得更加困难且短期内难以见效^[10-11];传统化学防治因存在化学药剂易残留、污染环境、危害人畜健康、病原菌产生抗药性等问题而导致防效逐渐降低^[12];农业防治操作复杂、防效慢、效果相对滞后^[13],生物防治在田间条件下效果不稳定且持续性差,难以修复重病田块^[14].因此,不断开发出防控土传枯萎病的有效新措施和综合措施,是关系到我国黄瓜和西瓜产业可持续发展的重大技术问题.

大量研究表明,溴甲烷、二氯丙烯结合三氯硝基甲烷、威百亩等土壤熏蒸剂的使用能够有效防控植物病害的发生^[15],但由于该类熏蒸剂对环境及人畜有害,均先后被禁止使用,因而寻找绿色土壤熏蒸剂迫在眉睫^[16].碳铵属铵态氮肥,具有较强的挥发性,对病虫害具有一定的刺激、腐蚀和熏蒸作用,广泛应

用于农业及食品产业中.如 Gabler 等^[17]报道,碳铵可用于杀灭收获后葡萄的灰霉菌菌;McSorley 等^[18]报道,碳铵熏蒸能显著降低土壤中的线虫数量.碳铵作为杀真菌剂对人体无害且对环境友好,可作为一种安全杀菌剂使用,而且还因用后无残留且可为植物提供氮素而广受欢迎,其施于病土能使防病与施肥结合起来,具有成本低、工效高、省工、省时、一举两得等优势^[19].解淀粉芽孢杆菌 SQR9 (*Bacillus amyloliquefaciens* SQR9)为本实验室筛选出的1株高效拮抗黄瓜枯萎病的细菌,利用其研制的生物有机肥不仅能够防控黄瓜枯萎病的发生,还对多种瓜类枯萎病具有一定的防效^[20-21].本实验室前期研究表明,碳铵能够有效杀灭黄瓜、西瓜及甜瓜的尖孢镰刀菌^[22],但其对土壤中尖孢镰刀菌的熏蒸效果仍待评价.此外,连作土壤在熏蒸后施用具有一定生防、促生功能的生物有机肥,对黄瓜和西瓜枯萎病的防控效果及生物量的影响还未有报道.

土壤中病原微生物的数量是决定土壤健康和植物病害发生与否的重要因子之一^[23].碳铵的大量使用会导致土壤酸化、板结等潜在问题,而石灰可调节酸化土壤 pH,与碳铵联用还可加快氨的挥发,推测其与碳铵联用熏蒸可增强熏蒸效果并能维持土壤生产力.因此,本研究拟通过室内盆栽试验及平板涂布计数法研究碳铵熏蒸或石灰碳铵熏蒸对土壤尖孢镰刀菌数量的影响,并研究熏蒸后联合施用生物有机肥对连作土壤上后茬黄瓜和西瓜的枯萎病防控效果及植株生物量的影响,探究石灰碳铵熏蒸联合施用生物有机肥能否强化对土传枯萎病的防控效果,为防控黄瓜和西瓜土传枯萎病的综合修复技术提供理论依据和支撑.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试黄瓜和西瓜种子 西瓜品种为“8424”,黄瓜品种为“宁丰春秋”,供试种子均由南京市蔬菜

科学研究所提供。

1.1.2 供试菌株 尖孢镰刀菌黄瓜专化型由国家有机类肥料工程技术研究中心提供,尖孢镰刀菌西瓜专化型由江苏省农业科学院提供,解淀粉芽胞杆菌 SQR9 (*Bacillus amyloliquefaciens* SQR9),为本实验室分离保存的具有防控土传病害的根际促生菌。

1.1.3 供试熏蒸剂 碳铵纯度为农业级,含氮量 $\geq 17.2\%$,由济南鸥鹤商贸有限公司生产;石灰纯度为工业级, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 含量 $\geq 95\%$,由广州市高山化工有限公司生产。

1.1.4 供试土壤 供试土壤取自南京市蔬菜科学研究所连续种植黄瓜或西瓜的田块 (31.72°N , 118.77°E),土壤类型均为黄棕壤,气候条件为亚热带季风气候。参照鲍士旦^[24]的测定方法,供试土壤的基本养分性质如下:黄瓜连作土壤 pH 7.15,有机质 $26.69\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮 $1.57\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $109.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $211.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每 g 干土尖孢镰刀菌菌落数为 2×10^4 ;西瓜连作土壤 pH 7.20,有机质 $29.42\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮 $1.55\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $126.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $243.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每 g 干土尖孢镰刀菌菌落数为 1×10^4 。熏蒸试验前补加黄瓜或西瓜尖孢镰刀菌孢子液,使每 g 干土尖孢菌菌落数达 5×10^5 ,以模拟尖孢镰刀菌侵染土壤。

1.1.5 供试肥料 供试肥料为本实验室自行研制的普通有机肥和生物有机肥。普通有机肥由生鲜牛粪堆制而成,生物有机肥为菜饼与牛粪堆肥按质量比 6:4 混合后加入功能芽孢杆菌菌 SQR9 经二次固体发酵而成。普通牛粪有机肥含 N 1.24%、 P_2O_5 2.24%、 K_2O 1.55%;生物有机肥含 N 2.87%、 P_2O_5 2.61%、 K_2O 1.35%,每 g 干质量肥料含 10^9 个以上 SQR9 菌落数。

1.1.6 培养基配方 尖孢镰刀菌选择性培养基 (1 L):D-半乳糖 20.0 g、L-天门冬酰胺 2.0 g、琼脂 20.0 g、 K_2HPO_4 1.0 g、KCl 0.5 g、 MgSO_4 0.5 g、Fe-Na-EDTA 0.01 g,121 °C 高压灭菌 20 min。倒平板前每升培养基加入五氯硝基苯 1.0 g、牛胆汁 0.5 g、硫酸链霉素 0.3 g、 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g,最后用 10%(V/V) 磷酸将 pH 调至 3.8~4.0。

1.2 试验设计

1.2.1 黄瓜和西瓜育苗 以 60 °C 温水浸泡黄瓜和西瓜种子,搅拌至室温后,取沉淀种子以 5% 次氯酸钠消毒处理 3 min,再以无菌水清洗 3~4 次,并于 30 °C 培养箱中遮光催芽至露白后分别埋入育苗基质中,每个瓜种育 150 颗幼苗备用。

1.2.2 盆栽试验 盆栽试验于 2014 年 4—6 月在南京市蔬菜科学研究所温室进行,试验设置黄瓜和西瓜 2 种作物,每种作物 6 个处理:未熏蒸施用普通有机肥、未熏蒸施用生物有机肥、碳铵熏蒸施用普通有机肥、碳铵熏蒸施用生物有机肥、石灰碳铵熏蒸施用普通有机肥及石灰碳铵熏蒸施用生物有机肥。每处理 3 个重复,每重复 20 盆,每盆用塑料花盆(规格:外口长 23 cm×底长 12 cm×高 14.5 cm)分装黄瓜或西瓜连作风干土 2 kg。黄瓜或西瓜定植幼苗前,120 盆用 4 g 碳铵熏蒸,120 盆用 8 g 石灰及 4 g 碳铵熏蒸,以 120 盆不熏蒸作为对照。挖取 10 cm 深土洞并埋入熏蒸剂,覆土、浇水浸透后立即用地膜密封盆口,对照同样用地膜密封盆口置于温室内。10 d 后揭膜并采集土壤样品,晾晒 3 d 后,碳铵、石灰碳铵熏蒸及未熏蒸对照土壤分别施用 1.5% 的生物有机肥或普通有机肥。差额养分用化肥补齐,施肥 7 d 后定植黄瓜或西瓜幼苗,定期监测黄瓜和西瓜长势及枯萎病发病率。

1.2.3 土壤样品采集 试验共采集 2 次土壤样品,第 1 次于熏蒸后揭膜时进行:分为黄瓜和西瓜对照 (CK)、碳铵熏蒸 (AF) 及石灰碳铵熏蒸 (LF) 土壤样品;第 2 次于盆栽结束时进行:分为黄瓜和西瓜对照施用普通有机肥 (CKO)、对照施用生物有机肥 (CKB)、碳铵熏蒸后施用普通有机肥 (AFO)、碳铵熏蒸后施用生物有机肥 (AFB)、石灰碳铵熏蒸后施用普通有机肥 (LFO) 及碳铵熏蒸后施用普通有机肥 (LFB) 土壤样品。每盆用土钻采集 0~10 cm 的表土 100 g,混合后留取 1 kg 土壤样品,4 °C 下保存备用。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤尖孢镰刀菌数量的测定 土壤尖孢镰刀菌的种群数量通过平板稀释涂布法测定。称取 10 g 新鲜土壤样品至 90 mL 无菌水中,30 °C、170 r·min⁻¹ 震荡 30 min,将震荡后土壤悬液稀释至合适的梯度。吸取 100 μL 稀释液于不同培养基平板,均匀涂布。尖孢镰刀菌采用尖孢镰刀菌选择性培养基,28 °C 培养 72 h。培养后计数平板上形成的菌落数,并转换成每 g 干土形成的菌落数 (colony forming unit, CFU),取 lg 值表示。

1.3.2 枯萎病发病率及防控率的测定 自出现枯萎病发病症状开始,每隔 7 d 调查 1 次,计算发病率和防治效果,直至发病率相对稳定。

黄瓜和西瓜枯萎病的发病率和防控率按下式计算:

$$\text{发病率} = \text{发病植株数} / \text{调查植株总数} \times 100\%$$

防控率 = (未熏蒸施用普通有机肥处理的发病率 - 熏蒸施用生物有机肥或普通有机肥处理的发病率) / 未熏蒸施用普通有机肥处理的发病率 × 100%

1.3.3 生物量的测定 黄瓜移栽 25 d、西瓜移栽 20 d 后各处理均未出现枯萎病症状, 测量黄瓜或西瓜植株的株高、茎粗、叶片叶绿素的 SPAD 值, 采集各处理完整植株, 105 °C 杀青 30 min, 70 °C 烘干至恒量, 称取植株干质量。

1.4 数据处理

采用 Excel 2007 和 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析。采用多因素分析进行方差分析和多重比较 ($\alpha=0.05$), 用 Pearson 法对尖孢镰刀菌数量和生物量指标进行相关分析。利用 Excel 2007 软件作图。

2 结果与分析

2.1 熏蒸对土壤中尖孢镰刀菌数量的影响

如图 1 及表 1 所示, 无论是黄瓜还是西瓜, 碳铵

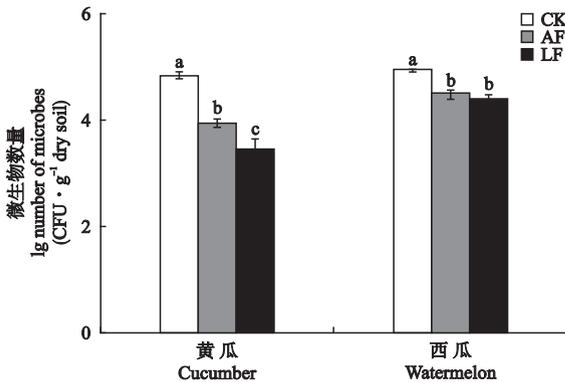


图 1 熏蒸对黄瓜和西瓜连作土壤中尖孢镰刀菌数量的影响

Fig.1 Effects of soil fumigation on the numbers of *Fusarium oxysporum* in cucumber and watermelon mono-cropped soil.

CK: 未熏蒸对照 Non-fumigated control; AF: 碳铵熏蒸处理 Ammonium bicarbonate fumigated treatment; LF: 石灰碳铵熏蒸处理 Lime together with ammonium bicarbonate fumigated treatment. 不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$) Different letters indicated significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

表 1 熏蒸和作物类型对黄瓜和西瓜连作土壤中尖孢镰刀菌数量影响的多因素方差分析

Table 1 Multivariate variance analysis of soil fumigation and crop type on the numbers of *Fusarium oxysporum* in cucumber and watermelon mono-cropped soil

项目 Item	df	F	P
校正模型 Correcting module	3	32.33	<0.001
截距 Intercept	1	8072.60	<0.001
作物 Crop	1	29.00	<0.001
熏蒸 Fumigation	2	33.99	<0.001
误差 Error	14		
总计 Total	18		
校正的总计 Corrected total	17		
调整后 R ² Adjusted R ²		0.85	

及石灰碳铵熏蒸后连作土壤中尖孢镰刀菌的数量均显著降低。与对照相比, 石灰碳铵熏蒸后黄瓜连作土壤中尖孢镰刀菌的数量降低了约 1 个数量级, 达 95.4%, 而碳铵下降了约 0.5 个数量级, 达 87.2%; 石灰碳铵及碳铵熏蒸后西瓜连作土壤中尖孢菌的数量均降低了 0.5 个数量级, 分别为 71.4% 和 64.2%。

多因素方差分析表明, 作物种类 (黄瓜或西瓜) 及不同熏蒸模式均能显著影响土壤中尖孢镰刀菌的数量, 其中碳铵熏蒸与石灰碳铵熏蒸比不熏蒸尖孢菌数量分别低 79.3% 与 89.0%, 黄瓜比西瓜尖孢菌数量低 70.1%。多重比较分析表明, 与不熏蒸对照相比, 碳铵熏蒸及石灰碳铵熏蒸处理的尖孢菌数量均显著降低, 且石灰碳铵熏蒸的尖孢菌数量显著低于碳铵熏蒸, 表明石灰碳铵熏蒸对于黄瓜和西瓜连作土壤中尖孢镰刀菌均具有很强的杀灭效果, 尤对尖孢镰刀菌黄瓜专化型杀灭效果更好。

2.2 熏蒸及施用不同有机肥对土壤中尖孢镰刀菌数量的影响

如图 2 及表 2 所示, 作物、不同熏蒸模式及有机肥类别均对土壤中尖孢镰刀菌的数量有显著影响, 而熏蒸与肥料之间无显著交互作用, 其中碳铵熏蒸与石灰碳铵熏蒸比不熏蒸对照尖孢菌数量分别低 72.7% 与 89.0%, 施用生物有机肥比施用普通有机肥尖孢菌数量低 32.3%, 黄瓜比西瓜尖孢菌数量低 66.4%。

多重比较分析表明: 黄瓜连作土壤中尖孢菌的数量显著低于西瓜连作土壤中尖孢菌数量; 施用生物有机肥处理尖孢菌的数量显著低于施用普通有机肥处理; 与不熏蒸对照相比, 碳铵熏蒸及石灰碳铵熏蒸处理的尖孢菌数量均显著降低, 且石灰碳铵熏蒸

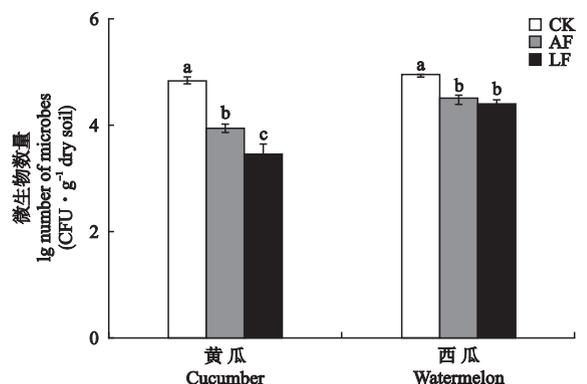


图 2 熏蒸后施用不同有机肥对后茬黄瓜和西瓜土壤中尖孢菌数量的影响

Fig.2 Effects of different organic fertilizer applications after soil fumigation on the numbers of *Fusarium oxysporum* in cucumber and watermelon ensuing cropped soil.

表 2 熏蒸及施用不同有机肥对后茬黄瓜和西瓜土壤中尖孢菌数量影响的多因素方差分析

Table 2 Multivariate variance analysis of soil fumigation and fertilizer type on the numbers of *Fusarium oxysporum* in cucumber and watermelon ensuing cropped soil

项目 Item	df	F	P
校正模型 Correcting module	6	35.83	<0.001
截距 Intercept	1	18181.18	<0.001
肥料 Fertilizer	1	6.90	0.014
熏蒸 Fumigation	2	75.03	<0.001
作物 Crop	1	54.53	<0.001
熏蒸×施肥 Fumigation × fertilizer	2	1.75	0.192
误差 Error	29		
总计 Total	36		
校正的总计 Corrected total	35		
调整后 R ² Adjusted R ²		0.86	

的尖孢菌数量显著低于碳铵熏蒸.以上结果表明,黄瓜和西瓜连作土壤经石灰碳铵熏蒸后施用生物有机肥能够在较长时间上控制尖孢镰刀菌的数量,使其在再次连作的情况下仍能保持较低的数量.

2.3 熏蒸及施用不同有机肥对黄瓜和西瓜枯萎病的防控效果

如图 3 及表 3 所示,作物、不同熏蒸模式及有机肥类别均对后茬连作黄瓜或西瓜的土传枯萎病发病率及防控率有显著影响,但熏蒸与肥料之间无显著

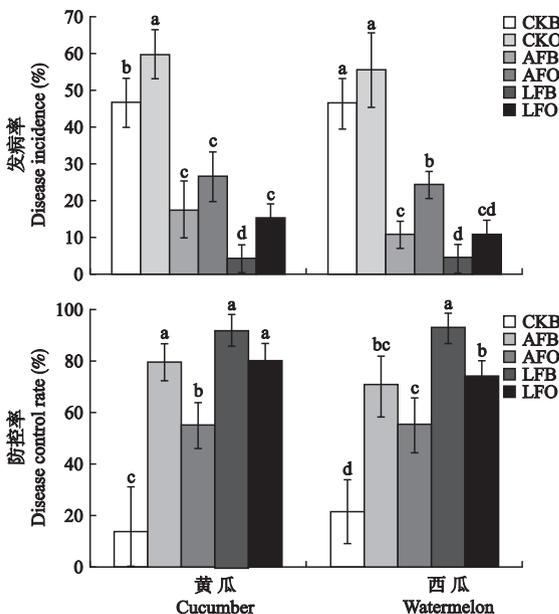


图 3 熏蒸后施用不同有机肥对黄瓜和西瓜土传枯萎病发病率及防控率的影响

Fig.3 Effects of different organic fertilizer applications after soil fumigation on soil-borne *Fusarium* wilt disease incidence and control rate of watermelon and cucumber.

B: 施用生物有机肥 Applied biofertilizer; O: 施用普通有机肥 Applied common compost. 下同 The same below.

交互作用.其中碳铵熏蒸与石灰碳铵熏蒸比不熏蒸对照发病率分别低 61.7% 及 83.0%, 防控率分别高 263.4% 及 371.3%, 施用生物有机肥比施用普通有机肥发病率及防控率分别高 32.2% 及 6.7%.

多重比较分析表明: 黄瓜和西瓜的枯萎病发病率及防控率之间无显著差异; 与施用普通有机肥处理相比, 施用生物有机肥能显著降低黄瓜及西瓜枯萎病的发病率, 增加其对黄瓜及西瓜枯萎病的防控率; 与未熏蒸对照相比, 碳铵熏蒸及石灰碳铵熏蒸均能显著降低黄瓜及西瓜的枯萎病发病率并提高其对黄瓜及西瓜枯萎病的防控率, 且石灰碳铵熏蒸处理的发病率显著低于碳铵熏蒸处理, 且防控率显著高于碳铵熏蒸处理. 与未熏蒸施用普通有机肥对照相比, 石灰碳铵熏蒸后施用生物有机肥处理的黄瓜和西瓜枯萎病防控率均高达 91.9% 及 92.5%. 表明熏蒸且施用生物有机肥对黄瓜和西瓜土传枯萎病具有较好的防控效果.

2.4 熏蒸及施用不同有机肥对黄瓜和西瓜植株生物量的影响

黄瓜移栽 25 d、西瓜移栽 20 d 后, 处于营养生长期的各处理间生物量, 如植株株高、茎粗、叶片 SPAD 值及干质量有显著差异 (图 4 及表 4). 多因素方差分析表明, 熏蒸与肥料之间无显著交互作用, 施用有机肥或普通有机肥对后茬连作黄瓜或西瓜的株高、茎粗、叶片 SPAD 值及干质量有显著影响, 而不同熏蒸模式对株高、叶片 SPAD 值及干质量有显著影响, 但对茎粗无显著影响. 其中, 碳铵熏蒸与石灰碳铵熏蒸比不熏蒸对照株高分别高 4.7% 及 14.5%, 茎粗分别高 1.9% 及 2.9%, SPAD 值分别高 13.2% 及 17.1%, 植株干质量分别高 4.9% 及 5.3%; 施用生物有机肥比施用普通有机肥株高、茎粗、SPAD 值及植株干质量高 34.2%、5.6%、9.6% 及 12.6%; 黄瓜比西瓜茎粗和 SPAD 值分别高 3.2% 及 7.5%, 而株高和植株干质量分别低 34.2% 及 1.4%.

多重比较分析表明: 与施用普通有机肥处理相比, 施用生物有机肥能显著增加黄瓜及西瓜植株的干质量; 与未熏蒸对照相比, 碳铵熏蒸及石灰碳铵熏蒸均能显著增加黄瓜及西瓜的植株干质量, 但石灰碳铵熏蒸处理与碳铵熏蒸处理之间植株干质量无显著差异.

根据 *t* 检验结果, 无论是黄瓜还是西瓜植株, 施用生物有机肥处理的生物量指标, 除西瓜 SPAD 值外, 均显著高于施用普通有机肥处理, 表明施用生物有机肥对黄瓜和西瓜具有一定的促生作用. 综合来

表3 熏蒸及施用不同有机肥对后茬黄瓜和西瓜枯萎病发病率及防控率的多因素方差分析

Table 3 Multivariate variance analysis of soil fumigation and organic fertilizer type on soil-borne *Fusarium* wilt disease incidence and control rate of ensuing cropped watermelon and cucumber

项目 Item	发病率 Disease incidence			防控率 Disease control rate		
	df	F	P	df	F	P
校正模型 Correcting module	6	69.91	<0.001	5	115.64	<0.001
截距 Intercept	1	835.36	<0.001	1	2878.70	<0.001
肥料 Fertilizer	1	30.72	<0.001	1	53.63	<0.001
熏蒸 Fumigation	2	192.97	<0.001	2	286.36	<0.001
作物 Crop	1	2.51	0.124	1	0.32	0.575
熏蒸×施肥 Fumigation × fertilizer	2	0.16	0.856	1	0.99	0.323
误差 Error	29			84		
总计 Total	36			90		
校正的总计 Corrected total	35			89		
调整后 R^2 Adjusted R^2	0.92			0.87		

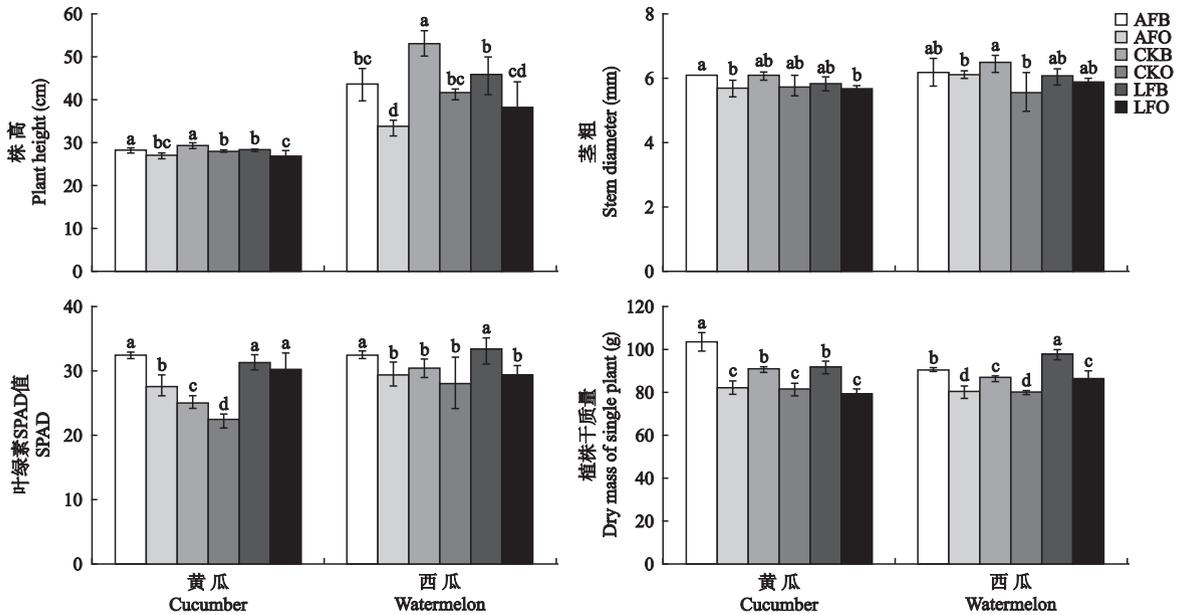


图4 熏蒸后施用不同有机肥对黄瓜和西瓜植株生物量的影响

Fig.4 Effects of different organic fertilizer applications after soil fumigation on the biomass of watermelon and cucumber.

表4 熏蒸及施用不同有机肥对黄瓜和西瓜植株单质量影响的多因素方差分析

Table 4 Multivariate variance analysis of soil fumigation and organic fertilizer type on the plant biomass of ensuing cropped watermelon and cucumber

项目 Item	df	干质量 Dry mass		株高 Plant height		茎粗 Stem diameter		SPAD	
		F	P	F	P	F	P	F	P
校正模型 Correcting module	6	13.15	<0.001	27.58	<0.001	4.00	0.005	10.16	<0.001
截距 Intercept	1	14368.72	<0.001	3174.57	<0.001	16260.44	<0.001	6792.46	<0.001
肥料 Fertilizer	1	64.66	<0.001	19.60	<0.001	13.50	<0.001	17.13	<0.001
熏蒸 Fumigation	2	4.06	0.028	5.08	0.013	1.12	0.340	16.21	<0.001
作物 Crop	1	0.69	0.413	135.17	<0.001	4.31	0.047	10.45	0.003
熏蒸×施肥 Fumigation × fertilizer	2	2.70	0.084	0.28	0.755	1.97	0.158	0.47	0.629
误差 Error	29								
总计 Total	36								
校正的总计 Corrected total	35								
调整后 R^2 Adjusted R^2		0.68		0.82		0.34		0.61	

表 5 施用生物有机肥处理与施用普通有机肥处理间生物量均值的 t 检验 P 值

Table 5 P values from t -test for comparing the mean value of biomass between biofertilizer application treatments and organic fertilizer treatments

作物 Crop	株高 Plant height	茎粗 Stem diameter	SPAD	干质量 Dry mass
黄瓜 Cucumber	0.002	0.042	0.007	0.001
西瓜 Watermelon	0.001	0.005	0.126	<0.001

看,石灰碳铵熏蒸后施用生物有机肥能显著增加黄

瓜和西瓜的生物量。

2.5 尖孢镰刀菌与黄瓜和西瓜枯萎病及生物量的关系

如表 5 和图 5 所示,种植 1 季后,无论是黄瓜还是西瓜,盆栽收获期土壤中尖孢镰刀菌的数量均与其枯萎病发病率之间呈显著正相关,表明尖孢镰刀菌数量与枯萎病的爆发密切相关。尖孢镰刀菌还与黄瓜盆栽苗期植株的干质量呈显著负相关,而与西瓜的植株干质量之间无显著相关性。

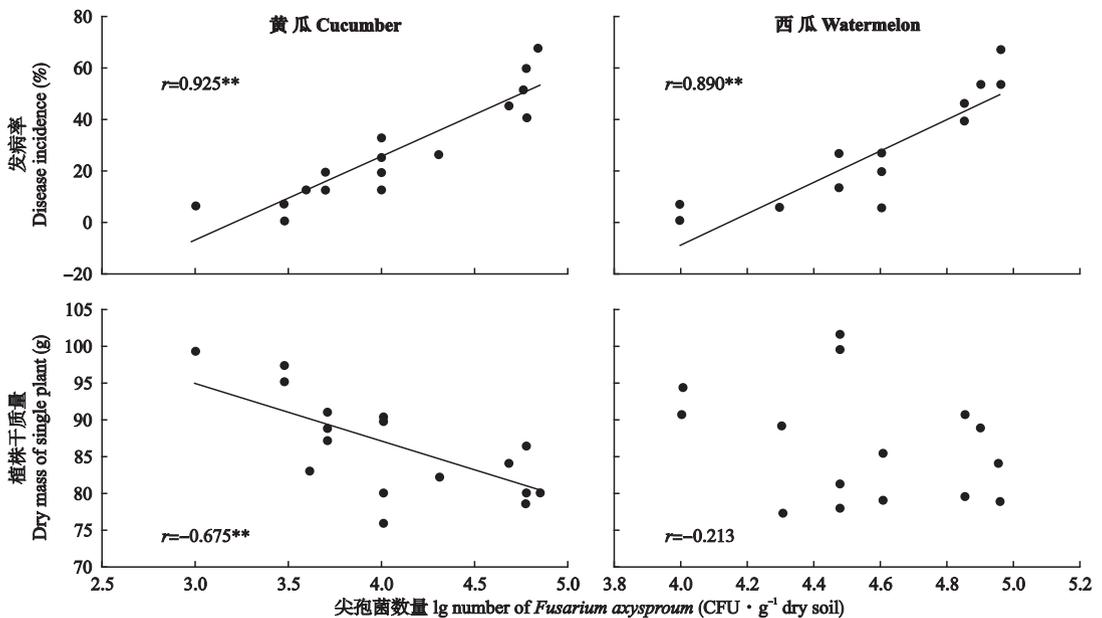


图 5 尖孢镰刀菌与黄瓜和西瓜土传枯萎病发病率及植株干质量的相关性

Fig.5 Correlation of *Fusarium oxysporum* with soil-borne *Fusarium* wilt disease incidence and plant dry mass for cucumber and watermelon.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

3 讨论

土传枯萎病是一种严重危害黄瓜和西瓜产业的真菌性病害,多发生在连作地块中,其是否爆发很大程度上取决于土壤中微生物区系的结构和病原菌的数量^[25-26]。邹莉等^[27]研究表明,连作条件下土壤中致病类真菌大量繁殖是土传枯萎病爆发的主要原因之一。与之类似,本研究中尖孢镰刀菌数量与黄瓜和西瓜土传枯萎病之间也有显著相关性,证实了土壤中尖孢镰刀菌数量的爆发可导致枯萎病的严重发生。因此,降低连作土壤中尖孢镰刀菌的数量是防控土传枯萎病发生的重中之重。土传枯萎病又是典型的单循环病害,可通过熏蒸灭菌的方法降低土壤中尖孢镰刀菌的初始数量。因而,对于黄瓜和西瓜连作土壤,种植前进行熏蒸是防控枯萎病的必要措施。

本研究中,碳铵、石灰碳铵熏蒸均不仅能有效杀灭大部分外源侵染的尖孢镰刀菌,甚至还能杀灭黄瓜连作土壤中原先存在的尖孢菌。刘星等^[28]也曾报道,石灰碳铵熏蒸能显著降低马铃薯连作土壤中的尖孢镰刀菌数量。因此,碳铵及石灰碳铵可作为环境友好型熏蒸剂用于土传病害的防控。Deng 等^[29]报道,氨熏后土壤微生物和生物活性均有所降低。土壤熏蒸不仅能杀灭病原菌,还能杀灭有益菌群,降低土壤微生物活性。低活力的土壤微生物生态系统是一个不稳定的系统,易受病原菌入侵^[23]。因此,在土壤熏蒸后,必须及时补施生物菌剂或生物菌肥,增加土壤中有益微生物的数量及比例,增加土壤微生物多样性,才能够更好地防控土传枯萎病的发生。

Rovira^[30]此前报道过,碳铵熏蒸后能够促进后茬作物根系生长,增加其对养分的吸收,从而增加了

蔬菜和谷物产量.与之相似,本研究中熏蒸也对黄瓜和西瓜的植株干质量有显著促进作用.众多研究表明,施用芽孢杆菌类生物有机肥可以有效抑制土壤中尖孢镰刀菌数量的增长,增加有益微生物数量,从而防控黄瓜和西瓜土传枯萎病的发生并促进植株生长^[31-33].本研究中,未熏蒸对照施用生物有机肥也在一定程度上降低了枯萎病的发病率、促进了黄瓜和西瓜植株生物量的增加,但防控效果仍旧有限.石灰碳铵熏蒸之后再联合生物有机肥施用能最大程度地降低土壤中尖孢镰刀菌数量、防控土传枯萎病的发生并增加植株生物量.王丽丽等^[34]报道,石灰碳铵熏蒸联合微生物有机肥施用能有效防控烟草青枯病的发生.本研究中,石灰碳铵熏蒸与生物有机肥联用效果优于碳铵熏蒸与生物有机肥联用,可能是因为加入的石灰能够维持土壤 pH 成弱碱性,有利于碳铵中氮的快速挥发,杀菌效果更为迅速彻底,保证了其对尖孢镰刀菌的抑制效果.石灰碳铵熏蒸联合生物有机肥施用发挥了石灰调节土壤 pH、碳铵熏蒸及功能菌促生的多重效果,是一个良好的防控黄瓜和西瓜土传枯萎病发生的综合措施.

综上所述,在温室条件下,对黄瓜和西瓜连作土壤进行石灰碳铵熏蒸并联合生物有机肥施用能够显著降低土壤中尖孢镰刀菌数量、改善可培养土壤微生物区系,有利于连作土壤朝稳定健康的方向发展,从而抑制土壤中病原真菌的繁殖,达到防控黄瓜和西瓜枯萎病和增产的目的.但本研究仅是在温室内进行,需要在田间进一步评估其对黄瓜和西瓜土传枯萎病及生物量的影响,从而摸索出切实保障黄瓜和西瓜可持续发展的综合防控措施.

参考文献

- [1] Han J-X (韩金星), Hong R-X (洪日新), Zhou L (周林), et al. Progresses in *Fusarium* wilt study of watermelon, cucumber and melon. *China Cucurbits and Vegetables* (中国瓜菜), 2009(2): 32-35 (in Chinese)
- [2] Qiao Y-C (乔燕春), Lin J-Y (林锦英), Xie W-P (谢伟平), et al. A review of research progress on *Fusarium* wilt in Cucurbitaceae. *Subtropical Plant Science* (亚热带植物科学), 2013, 42(3): 272-278 (in Chinese)
- [3] Ahn P, Chung HS, Lee YH. Vegetative compatibility groups and pathogenicity among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Plant Disease*, 1998, 82: 244-246
- [4] Thrane U. *Fusarium* species and their specific profiles of secondary metabolites. *Fusarium*, 1989, 2: 199-225
- [5] Hao X-J (郝晓娟), Liu B (刘波), Xie G-L (谢关

- 林). Research progress in biological control of *Fusarium* wilt disease. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2005, 21(7): 319-322 (in Chinese)
- [6] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Data of crop production [EB/OL]. (2016-12-08) [2017-04-02]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- [7] Vakalounakis DJ. Allelism of the *Fcu-1* and *Foc* genes conferring resistance to *Fusarium* wilt in cucumber. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102: 855-858
- [8] Ye SF, Yu JQ, Peng YH, et al. Incidence of *Fusarium* wilt in *Cucumis sativus* L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates. *Plant and Soil*, 2004, 263: 143-150
- [9] An M, Zhou X, Wu F, et al. Rhizosphere soil microorganism populations and community structures of different watermelon cultivars with differing resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 2011, 57: 355-365
- [10] Xu W-H (徐伟慧), Zhou Y (周岩), Wu F-Z (吴凤芝). Research progress on *Fusarium* wilt of watermelon. *China Vegetables* (中国蔬菜), 2013(8): 4-11 (in Chinese)
- [11] Mao A-J (毛爱军), Zhang F (张峰), Zhang L-R (张丽蓉), et al. Identification of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* on cucumber. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* (华北农学报), 2008, 23(2): 214-216 (in Chinese)
- [12] Zhao S (赵帅), Du C-M (杜春梅), Tian C-Y (田长彦). Current advances in integrated management of cucumber *Fusarium* wilt. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2014, 30(7): 254-259 (in Chinese)
- [13] Wu X-H (吴学宏), Lu Z-J (卢志军), Wang P-P (王晶晶), et al. Current advances in integrated management of watermelon *Fusarium* wilt. *Plant Protection* (植物保护), 2011, 37(4): 27-32 (in Chinese)
- [14] Yan S (闫霜), Wu H-S (吴洪生), Zhou X-D (周晓冬), et al. Progress of biological control cucumber *Fusarium* wilt. *Shandong Agricultural Sciences* (山东农业科学), 2011(1): 86-92 (in Chinese)
- [15] Wang KH, McSorley R, Kokalis-Burelle N. Effects of cover cropping, solarization, and soil fumigation on nematode communities. *Plant and Soil*, 2006, 286: 229-243
- [16] Stirling GR, Eden LM. The impact of organic amendments, mulching and tillage on plant nutrition, *Pythium* root rot, root-knot nematode and other pests and diseases of capsicum in a subtropical environment, and implications for the development of more sustainable vegetable farming systems. *Australasian Plant Pathology*, 2008, 37: 123-131
- [17] Gabler FM, Smilanick JL. Postharvest control of table grape gray mold on detached berries with carbonate and bicarbonate salts and disinfectants. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2001, 52: 12-20

- [18] McSorley R, McGovern RJ. Effects of solarization and ammonium amendments on plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*, 2000, **32**: 537–541
- [19] Liu Q-C (刘庆城), Xu Y-L (许玉兰). A study on the theory and application of anhydrous ammonia for controlling soil-borne disease of crops. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1986, **19**(1): 29–32 (in Chinese)
- [20] Yuan Y-J (袁玉娟), Hu J (胡江), Ling N (凌宁), *et al.* Effects and mechanisms of application with different bio-organic fertilizers in controlling *Fusarium* wilt of cucumber. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer* (植物营养与肥料学报), 2014, **20**(2): 372–379 (in Chinese)
- [21] Zhang M (张苗), Shi J-J (施娟娟), Cao L-L (曹亮亮), *et al.* Adding three protein resources as solid-state fermentation medium for producing bio-organic fertilizer. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer* (植物营养与肥料学报), 2014, **20**(5): 1194–1202 (in Chinese)
- [22] Sun L (孙莉), Song S (宋松), Deng X-H (邓旭辉), *et al.* Inhibition mechanism of ammonium bicarbonate on *Fusarium oxysporum*. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 2015, **38**(2): 295–303 (in Chinese)
- [23] Garbeva P, van Veen JA, van Elsas JD. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 2004, **42**: 243–270
- [24] Bao S-D (鲍士旦). *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [25] Lyu H (吕恒), Niu Y-C (牛永春), Deng H (邓晖), *et al.* Suppression of three soil-borne diseases of cucumber by a rhizosphere fungal strain. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2015, **26**(12): 3759–3765 (in Chinese)
- [26] Ling N (凌宁), Huang Q-W (黄启为), Yang X-M (杨兴明), *et al.* Control of *Fusarium* wilt of watermelon by nursery application of bio-organic fertilizer. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), 2009, **15**(5): 1136–1141 (in Chinese)
- [27] Zou L (邹莉), Yuan X-Y (袁晓颖), Li L (李玲), *et al.* Effects continuous cropping on soil microbes on soybean roots. *Journal of Microbiology* (微生物学杂志), 2005, **25**(2): 27–30 (in Chinese)
- [28] Liu X (刘星), Zhang S-L (张书乐), Liu G-F (刘国锋), *et al.* Soil fumigation and bio-organic fertilizer application promotes potato growth and affects soil biochemical properties in a continuous cropping system. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2015, **24**(3): 122–133 (in Chinese)
- [29] Deng SP, Parham JA, Hattey JA, *et al.* Animal manure and anhydrous ammonia amendment alter microbial carbon use efficiency, microbial biomass, and activities of dehydrogenase and amidohydrolases in semiarid agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 2006, **33**: 258–268
- [30] Rovira AD. Studies on soil fumigation. I. Effects on ammonium, nitrate and phosphate in soil and on the growth, nutrition and yield of wheat. *Soil Biology and Biochemistry*, 1976, **8**: 241–247
- [31] Zhang S, Raza W, Yang X, *et al.* Control of *Fusarium* wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, **44**: 1073–1080
- [32] Ling N, Xue C, Huang Q, *et al.* Development of a mode of application of bioorganic fertilizer for improving the biocontrol efficacy to *Fusarium* wilt. *BioControl*, 2010, **55**: 673–683
- [33] Cao D (曹丹), Zong L-G (宗良纲), Xiao J (肖峻), *et al.* Effects of bio-fertilizer on organically cultured cucumber growth and soil biological characteristics. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2010, **21**(10): 2587–2592 (in Chinese)
- [34] Wang L-L (王丽丽), Shi J-X (石俊雄), Yuan S-F (袁赛飞), *et al.* Control of tobacco bacterial wilt with biomanure plus soil amendments. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2013, **50**(1): 150–156 (in Chinese)

作者简介 沈宗专, 男, 1987年生, 博士. 主要从事土壤微生物与生物肥料研究. E-mail: victorshenz@163.com

责任编辑 肖红