

低剂量棉隆熏蒸联合生物菌肥防治黄瓜根结线虫病的应用效果

张 洁¹ 夏明聪¹ 刘红彦¹ 张 猛² 米国权³ 杨丽荣^{1*}

(1. 河南省农业科学院植物保护研究所, 河南省农作物病虫害防治重点实验室, 农业部华北南部农作物有害生物综合治理重点实验室, 河南省作物保护国际联合实验室, 郑州 450002; 2. 河南农业大学, 郑州 450002; 3. 河南省农业科学院园艺研究所, 郑州 450002)

摘要: 为明确土壤熏蒸联合生物菌肥对根结线虫及土壤微生态的影响, 采用低剂量棉隆熏蒸处理后沟施 YB-04 菌肥的方法在日光大棚进行黄瓜根结线虫病的防治试验。结果显示, 棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理土壤中的根结线虫数和黄瓜植株根系的根结指数均比单独使用棉隆或 YB-04 菌肥的处理及对照显著降低, 黄瓜移栽后 90 d 时线虫减退率为 89.1%, 根结指数为 0.5, 防治效果达 87.8%。棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理也具有显著的促生作用, 黄瓜的产量、株高、鲜重以及有效叶数均比对照显著提高了 46.4%、18.8%、63.0% 和 17.7%。另外, 棉隆单独熏蒸处理土壤中的细菌和真菌数量、细菌/真菌比值及土壤酶活性均较对照显著降低, 而棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理土壤中的细菌数量、细菌/真菌比值及土壤酶活性均较棉隆单独熏蒸处理显著增加, 其中, 细菌数量及细菌/真菌比值分别达 28.4×10^6 CFU/g 和 201.2, 蔗糖酶活性达 $86.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 。表明低剂量棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施可以安全高效地防治黄瓜根结线虫病。

关键词: 棉隆熏蒸; 生物菌肥; 根结线虫; 生物防治

Efficacy of dazomet fumigation and bioorganic fertilizer in integrated control of cucumber root-knot nematode

Zhang Jie¹ Xia Mingcong¹ Liu Hongyan¹ Zhang Meng² Mi Guoquan³ Yang Lirong^{1*}

(1. Henan Key Laboratory for Control of Crop Diseases and Insect Pests, IPM Key Laboratory in Southern Part of North China for Ministry of Agriculture, International Joint Research Laboratory for Crop Protection in Henan, Research Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan Province, China; 2. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan Province, China; 3. Institute of Horticulture Research, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan Province, China)

Abstract: In order to study the integrated effects of fumigant and bioorganic fertilizer on root-knot nematode and soil microbial ecology, dazomet and YB-04 bioorganic fertilizer were applied successively in a sunlight greenhouse. The results showed that the number of nematodes in soil and root-knot on cucumber after transplanted 90 d were significantly reduced by the combined use of dazomet fumigation with YB-04 compared to that of the single biocontrol treatment and control, with a nematode decrease rate of 89.1%, a root-knot index of 0.5, and a control efficiency of 87.8%. In the meantime, the combined use of dazomet fumigation with YB-04 significantly improved cucumber growth, with the yield,

基金项目: 河南省科技攻关专项(182102110272), 国家重点研发计划(2017YFD0200907), 河南省农业科学院科研发展专项资金(2019CY02)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: luck_ylr@126.com

收稿日期: 2018-07-09

plant height, fresh weight and available leaves increased by 46.4%, 18.8%, 63.0% and 17.7%, respectively. In addition, the amount of soil bacteria and fungi, the ratio of bacteria/fungi and the activities of three soil enzymes were significantly reduced by dazomet fumigation. Compared to single dazomet treatment, the combined use of dazomet fumigation with YB-04 improved the amount of bacteria up to 28.4×10^6 CFU/g, the ratio of bacteria/fungi up to 201.2, and enhanced the enzyme with invertase activity to $86.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$. The results indicated that the combination of dazomet fumigation and bioorganic fertilizers could control root-knot nematode efficiently and safely, thus indicating an important utilization value in agriculture.

Key words: dazomet fumigation; bioorganic fertilizer; root-knot nematode; biological control

根结线虫 *Meloidogyne incognita* 是一种世界性分布的植物寄生线虫, 寄主范围广泛, 主要侵染植物根系形成根结或结瘤, 破坏根组织的分化和生理活动, 导致植株发育不良, 出现早衰症状 (Sasser, 1980), 同时根结线虫侵入时造成的伤口还有利于根腐病、枯萎病等土传真菌病害和部分细菌病害的发生 (Wesemael et al., 2011)。根结线虫病一般导致蔬菜减产 20%~30%, 严重时减产达到 90%, 已成为设施蔬菜可持续发展的重大障碍 (Escobar et al., 2015)。随着我国保护地蔬菜种植面积的扩大和连茬种植等因素的影响, 根结线虫病已成为蔬菜生产上的重要病害 (李秀花等, 2016)。

蔬菜根结线虫病的防治通常采用化学农药防治、生物防治、物理防治和抗病品种利用等方法, 化学农药防治凭借其高效、迅速的特点成为防治根结线虫病的主要手段 (Trudgill et al., 1992)。然而, 传统的化学杀线剂多数为有机硫类和卤代烃类熏蒸剂, 这些药剂因为高毒、高残留且危害环境已被严格限制使用或者禁用 (陈立杰等, 2009), 因此生产中急需一种安全、高效的根结线虫病综合防治技术。棉隆是一种广谱性土壤消毒剂, 施入土壤后水解形成异硫氰酸甲酯, 这种气体可以有效防治根结线虫和多种土传病害, 具有高效、低毒、无残留的优点, 被认为是溴甲烷土壤熏蒸的最佳替代品之一, 已经被广泛应用于植物土传病害的防治 (di Primo et al., 2003; 张卓等, 2011)。杨晓楠等 (2011) 和张鑫等 (2013) 研究发现, 棉隆对南方根结线虫 *M. incognita* 的毒力显著高于常用土壤熏蒸剂氯化苦; Eo & Park (2014) 使用棉隆熏蒸处理后能够迅速降低土壤中的线虫数量, 处理 12 周后线虫数量才开始缓慢恢复。但是熏蒸剂的大量使用, 在直接灭杀线虫的同时, 还会破坏土壤微生物多样性, 改变土壤微生物群落结构, 抑制多种土壤酶活性 (Scopa & Dumontet, 2007; 曹云等, 2018), 熏蒸后的土壤也可能被病原物二次

侵染, 导致病害持续发展, 防治效果差 (Ślusarski & Pietr, 2009)。微生物菌肥无污染、无公害, 既能达到一定的防治效果, 又能改善连作土壤环境, 促进作物生长发育 (马玉琴等, 2016)。很多学者试图从生物防治角度出发, 利用含有线虫拮抗菌和其它有益菌的生物菌肥控制线虫病害的发生并调节土壤微生物区系, 但田间效果不稳定且见效慢, 这主要与生物菌肥的种类和质量、土壤生态环境以及线虫的种类有关 (Bonanomi et al., 2010; 刘星等, 2015)。为寻求安全高效防控蔬菜根结线虫病的方法, 本研究拟应用低剂量棉隆熏蒸联合生物菌肥防治黄瓜根结线虫病的防控策略, 即在移栽前通过土壤熏蒸来杀灭线虫, 在黄瓜移栽时将含有特定拮抗菌的生物菌肥沟施入黄瓜根部, 直接向黄瓜根际土壤补充有益微生物。

目前, 土壤熏蒸联合微生物菌肥已经应用于番茄、西瓜、马铃薯、香蕉、苹果等多种作物土传病害的防治并取得显著成效 (刘星等, 2015; 刘超等, 2016; 曹云等, 2018), 但是利用棉隆和生物菌肥联合防控黄瓜根结线虫病却鲜有报道。本研究所用的 YB-04 菌肥是利用本实验室分离到的根结线虫生防菌甲基营养型芽胞杆菌 *Bacillus methylotrophicus* 与有机肥进行合理的配比制备的具有生物防治作用的菌肥。本试验拟在日光大棚条件下探讨低剂量棉隆熏蒸联合生物菌肥对黄瓜根结线虫病的防治效果, 对黄瓜植株生长和产量以及土壤微生态的影响, 以期对黄瓜根结线虫病的综合防治提供科学依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试肥料及药剂: YB-04 生物菌肥由河南省农业科学院植物保护研究所研发, 由甲基营养型芽胞杆菌 (5 亿 CFU/g)、氨基寡糖素、腐殖酸和草炭粉按照一定比例混合而成 (专利申请号: 201810096832.6);

98%棉隆(dazomet)颗粒剂,江苏南通施壮化工有限公司。

供试植物及大棚:供试黄瓜品种为中农26号,由中国农业科学院蔬菜花卉研究所生产。日光大棚位于河南省原阳县现代农业科技示范园区,大小为长70 m×宽9 m×高3 m,常年种植黄瓜且根结线虫病发生严重,土壤为砂壤,肥力中等,试验期间未使用任何其它化学农药,试验前即黄瓜移栽前30 d利用Z字形五点取样法采集0~25 cm的土壤样品500 g,利用贝曼漏斗法(Townshend, 1963)分离根结线虫,测定土壤中2龄根结线虫的平均初始种群密度为 10.0 ± 3.1 条/g土,线虫种群经鉴定为南方根结线虫。

培养基:营养琼脂(nutrient agar, NA)培养基:牛肉膏3 g、蛋白胨5 g、琼脂15 g、蒸馏水1 L, pH 7.0;马丁氏(Martin, MA)培养基:葡萄糖10 g、蛋白胨5 g、磷酸氢二钾1 g、硫酸镁0.5 g、琼脂粉15 g、蒸馏水1 L, 自然pH, 此培养液1 L中添加1%孟加拉红水溶液3 mL, 临用时每1 L培养基中添加1%链霉素液3 mL。

试剂及仪器:SUE-1-Y土壤脲酶测定试剂盒、SSC-1-Y土壤蔗糖酶测定试剂盒和SCAT-1-Y土壤过氧化氢酶测定试剂盒,苏州科铭生物技术有限公司;其它试剂均为国产分析纯。GZ-280BE-LED光照培养箱,南京金恒实验仪器厂;A360紫外/可见分光光度计,上海翱艺仪器有限公司;ZEISS A2显微镜,德国卡尔·蔡司公司。

1.2 方法

1.2.1 不同处理土壤中根结线虫数量的测定

棉隆熏蒸联合生物菌肥对黄瓜根结线虫病的田间防效试验于2017年7—10月进行,共设置4个处理:(1) 98%棉隆以 225 kg/hm^2 施用量进行熏蒸;(2) YB-04生物菌肥以 150 kg/hm^2 施用量进行沟施;(3) 98%棉隆以 225 kg/hm^2 施用量熏蒸+YB-04生物菌肥以 150 kg/hm^2 施用量沟施;(4) 空白对照。将各处理中的土壤旋耕25~30 cm,然后将处理(1)、(3)撒施98%棉隆,用旋耕机与土混匀,并浇水至土壤饱和持水量的70%,并用0.05 cm厚度的塑料膜密闭覆盖保持15 d,充分畅气后旋耕并移栽黄瓜苗。黄瓜苗移栽时处理(2)和(3)开沟施入YB-04生物菌肥。黄瓜采取高垄双行种植,株距30 cm,行距60 cm,每小区大小为宽3 m×长8 m,每处理3次重复,棚内各处理随机排列。其它栽培管理措施按当地生产习惯统一操作,确保黄瓜植株生长环境一致。

分别在黄瓜移栽前30 d即棉隆熏蒸处理前以及

移栽黄瓜后0、30、60、90 d测定土壤中的根结线虫数量。利用Z字形五点取样法取0~25 cm的土壤样品500 g,利用贝曼漏斗法分离土壤中的根结线虫(Townshend, 1963),调查并统计土壤中的2龄根结线虫数量,计算线虫减退率。线虫减退率=(对照线虫数-处理线虫数)/对照线虫数×100%。

1.2.2 不同处理对黄瓜根结线虫病的防治效果

黄瓜移栽90 d后每小区随机取15株黄瓜植株,根据Garabedian & van Gundy(1983)病情分级标准对黄瓜根结线虫病进行调查,记录病情级别,并计算根结指数和防治效果。分级标准为:0级:根系健康,无根结;1级:根结极少, $0<\text{根结率}\leq 20\%$;2级:根结较少, $20\%<\text{根结率}\leq 40\%$;3级:根结数量中等, $40\%<\text{根结率}\leq 60\%$;4级:根结数量很多, $60\%<\text{根结率}\leq 80\%$;5级:根结相互连接成根结团块,根结率 $>80\%$ 。根结指数= $\Sigma(\text{各级病株数}\times\text{级别})/\text{调查总株数}$,防治效果=(对照根结指数-处理根结指数)/对照根结指数×100%。

1.2.3 不同处理对黄瓜生长及产量的影响

在黄瓜移栽60 d后每小区随机调查15株黄瓜植株的地上部株高、鲜重、有效叶数、最大叶长和最大叶宽,分析不同处理对黄瓜植株生长的影响。其中,有效叶数为每株黄瓜所有展开叶片数减去干枯叶片的数量;最大叶长为叶面积最大叶片的茎叶连接处至叶尖的直线长度;最大叶宽为叶面积最大叶片的叶面最宽处与主脉的垂直长度。同时在黄瓜生长期间按批次收获黄瓜,并逐批称重,记录并计算每个小区的总产量,分析不同处理对黄瓜产量的影响。

1.2.4 不同处理对土壤微生物数量和酶活性的影响

利用稀释平板培养计数法测定黄瓜移栽30 d后土壤中细菌和真菌的种群数量。每个处理取10 g新鲜过60目筛土壤进行10倍梯度稀释,然后取 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 和 1×10^{-5} 稀释梯度的菌悬液分别涂布于NA平板和MA平板,置于28℃培养箱中培养,2 d后调查NA平板上的细菌菌落数,5 d后调查MA平板上的真菌菌落数,计算每克土壤中的细菌菌落数、真菌菌落数以及细菌与真菌菌落数的比值。

利用靛酚蓝比色法测定土壤脲酶活性,其活性以培养24 h后每克风干土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的微克数来表示;利用3,5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性,其活性以培养24 h后每克风干土壤中还原糖的毫克数来表示;利用紫外分光光度法测定土壤过氧化氢酶活性,其活性以培养24 h后每克风干土壤催化降解过氧化氢的微摩尔数表示。具体操作步

骤参照3种酶测定试剂盒说明书进行。

1.3 数据分析

利用SPSS 17.0软件对试验数据进行单因素方差分析,采用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同处理对土壤中根结线虫数量的影响

棉隆熏蒸处理前,供试大棚土壤中2龄根结线虫初始数量为10.0±3.1条/g土,经过棉隆熏蒸后土壤中的2龄根结线虫数量快速降低,黄瓜移栽后0 d,

土壤中的2龄根结线虫数量均低于1.0条/g土,此后土壤中的2龄根结线虫数量缓慢增加(图1)。其中,棉隆熏蒸联合YB-04菌肥沟施处理土壤中的2龄根结线虫种群数量始终保持在最低水平,黄瓜移栽后30、60、90 d土壤中的2龄根结线虫数量分别为2.5、3.8、3.5条/g土,线虫减退率分别为81.1%、81.7%和89.1%;棉隆熏蒸处理下黄瓜移栽后30、60、90 d土壤中线虫减退率分别为76.5%、73.3%和71.8%;YB-04菌肥沟施处理下土壤中2龄根结线虫数量具有先增加后降低的趋势,移栽后90 d土壤中2龄根结线虫数量为9.9条/g土,线虫减退率为69.3%。

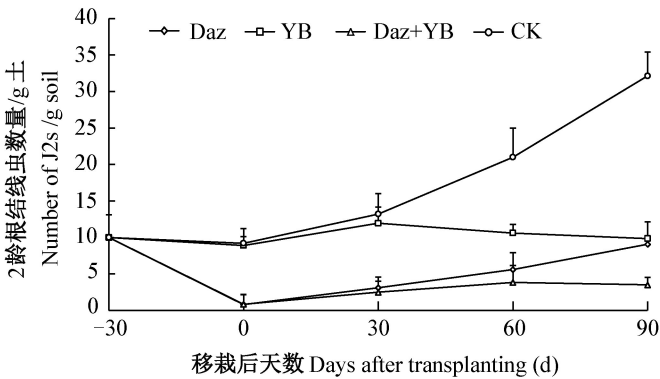


图1 不同处理土壤中2龄根结线虫数量的变化

Fig. 1 Population of second-stage juveniles (J2) of root-knot nematode in soil under different treatments
图中数据为平均数+标准误。Daz: 棉隆熏蒸处理; YB: YB-04菌肥沟施处理; Daz+YB: 棉隆熏蒸联合YB-04菌肥沟施处理; CK: 空白对照。Data are mean+SE. Daz: Dazomet fumigation; YB: YB-04 fertilizer; Daz+YB: combination of dazomet fumigation and YB-04 fertilizer; CK: control.

2.2 不同处理对黄瓜根结线虫病的防治效果

不同处理的黄瓜根结指数均比空白对照显著降低。其中,棉隆熏蒸联合YB-04菌肥沟施处理的黄瓜根结指数比单独使用棉隆熏蒸或YB-04菌肥沟施处理均显著降低,根结指数为0.5,防治效果达

87.8%;而棉隆熏蒸处理的黄瓜根结指数为1.3,防治效果为68.3%;YB-04菌肥沟施处理的黄瓜根结指数为1.5,防治效果为63.4%(表1)。表明棉隆熏蒸后再沟施YB-04菌肥能够显著提高对黄瓜根结线虫病的防治效果。

表1 棉隆熏蒸联合YB-04菌肥沟施对根结线虫以及黄瓜生长的影响

Table 1 Influences of dazomet fumigation and YB-04 fertilizer on the occurrence of cucumber root-knot nematode and the growth of cucumber								
处理 Treatment	根结指数 Root-knot index	防治效果 Control efficiency (%)	产量 Yield (t/hm ²)	株高 Plant height (cm)	鲜重 Fresh weight (g)	有效叶数 Available leaves	最大叶长 Length of maximum leaf (cm)	最大叶宽 Width of maximum leaf (cm)
棉隆 Dazomet	1.3±0.2 b	68.3±5.5 b	7.0±0.2 b	101.7±1.7 bc	380.2±19.7 b	14.7±0.9 b	12.0±0.3 a	16.3±0.8 a
YB-04 菌肥 YB-04 fertilizer	1.5±0.1 b	63.4±3.6 b	7.2±0.1 b	105.7±7.9 b	433.8±43.0 a	16.7±1.7 a	13.6±0.8 a	17.0±0.8 a
棉隆+YB-04 菌肥 Dazomet+YB-04 fertilizer	0.5±0.1 c	87.8±1.5 a	8.2±0.4 a	113.7±2.2 a	476.1±23.5 a	17.3±1.9 a	13.7±0.6 a	16.8±2.1 a
空白对照 CK	4.1±0.3 a	—	5.6±0.2 c	95.7±2.2 c	292.4±24.3 b	14.7±0.3 b	12.2±0.3 a	16.0±0.3 a

表中数据为平均数±标准误。同列不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant difference at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test.

2.3 不同处理对黄瓜植株生长及产量的影响

棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理和 YB-04 菌肥沟施处理的黄瓜株高、鲜重和有效叶数均比空白对照显著增加,最大叶长和最大叶宽没有显著变化;其中,棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理黄瓜的株高为 113.7 cm,鲜重为 476.1 g,有效叶数为 17.3,分别比空白对照显著增加 18.8%、63.0% 和 17.7%;YB-04 菌肥沟施处理黄瓜的株高为 105.7 cm,鲜重为 433.8 g,有效叶数为 16.7,分别比空白对照显著增加 10.0%、48.6% 和 13.6%;而棉隆熏蒸处理黄瓜的株高、鲜重、有效叶数、最大叶长和最大叶宽与空白对照相比均无显著差异(表 1)。

不同处理对黄瓜均有显著的增产作用,其中,棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理的黄瓜产量均比单独使用棉隆熏蒸或 YB-04 菌肥沟施处理显著增加,达 8.2 t/hm²,比空白对照显著增产 46.4%;棉隆熏蒸处理的黄瓜产量为 7.0 t/hm²,比空白对照显著增产

25.0%;YB-04 菌肥沟施处理的黄瓜产量为 7.2 t/hm²,比空白对照显著增产 28.6%(表 1)。

2.4 不同处理对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响

不同处理条件下土壤中的微生物在数量和组成上均存在显著差异。棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理的土壤中细菌数量及细菌/真菌比值分别为 28.4×10^6 CFU/g 和 201.2,均较单独使用棉隆熏蒸处理显著增加,此外,棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理的土壤中真菌数量为 14.1×10^4 CFU/g,较空白对照和 YB-04 菌肥沟施处理均显著降低。棉隆熏蒸处理的土壤中细菌、真菌数量及细菌/真菌比值分别为 2.1×10^6 CFU/g、 1.5×10^4 CFU/g 和 138.7,均比空白对照显著降低,而 YB-04 菌肥沟施处理的土壤中细菌数量和细菌/真菌比值均较空白对照显著增加,分别为 61.5×10^6 CFU/g 和 220.0(表 2)。表明棉隆熏蒸后施用 YB-04 菌肥能够减轻棉隆熏蒸对土壤微生物造成的影响,显著改善土壤的微生物组成和数量。

表 2 棉隆熏蒸联合 YB-04 沟施菌肥对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响

Table 2 Influences of dazomet fumigation and YB-04 fertilizer on soil microbial quantity and activities of urease, invertase and hydrogen peroxidase in soils

处理 Treatment	微生物数量 Soil microbial quantity			土壤酶活性 Soil enzyme activity		
	细菌 Bacteria ($\times 10^6$ CFU/g)	真菌 Fungi ($\times 10^4$ CFU/g)	细菌/真菌 Bacteria/fungi	脲酶 Urease ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)	蔗糖酶 Invertase ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)	过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)
棉隆 Dazomet	2.1 $\pm$ 0.5 c	1.5 $\pm$ 0.1 c	138.7 $\pm$ 9.3 c	121.3 $\pm$ 9.2 c	41.5 $\pm$ 1.7 c	2.9 $\pm$ 0.1 b
YB-04 菌肥 YB-04 fertilizer	61.5 $\pm$ 4.7 a	28.1 $\pm$ 0.7 a	220.0 $\pm$ 25.2 a	410.2 $\pm$ 10.0 a	95.2 $\pm$ 5.7 a	4.7 $\pm$ 0.1 a
棉隆+YB-04 菌肥 Dazomet+YB-04 fertilizer	28.4 $\pm$ 1.4 b	14.1 $\pm$ 0.2 b	201.2 $\pm$ 20.5 a	329.0 $\pm$ 14.8 b	86.0 $\pm$ 1.2 a	4.4 $\pm$ 0.2 a
空白对照 CK	39.5 $\pm$ 3.0 b	25.9 $\pm$ 1.7 a	152.6 $\pm$ 11.6 b	347.1 $\pm$ 8.7 b	70.4 $\pm$ 3.4 b	4.6 $\pm$ 0.1 a

表中数据为平均值 $\pm$ 标准误。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean $\pm$ SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

棉隆熏蒸处理对土壤酶活性的影响最大,黄瓜移栽后 30 d,土壤中脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性分别为 $121.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 、 $41.5 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 和 $2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$,均较空白对照显著降低 65.1%、41.1% 和 37.0%。棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理土壤中脲酶和过氧化氢酶的活性分别为 $329.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 和 $4.4 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$,与空白对照无显著差异,蔗糖酶活性为 $86.0 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$,较空白对照显著增加 22.2%。但是与单独使用棉隆熏蒸处理相比,棉隆熏蒸联合 YB-04 菌肥沟施处理土壤中脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性均显著增强。YB-04 菌肥沟施处理土壤中脲酶和蔗糖酶的活

性分别为 $410.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 和 $95.2 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$,较空白对照显著增加 18.2% 和 35.2%(表 2)。表明棉隆熏蒸后沟施 YB-04 菌肥能够减轻棉隆熏蒸对土壤酶活性的抑制作用,显著恢复土壤酶活性。

3 讨论

土壤熏蒸和生物防治是保护地农业生产中防治根结线虫病等植物土传病害的重要手段,并且在实际生产中取得了较好的效果(聂海珍等,2016)。Huang et al.(2018)报道棉隆和阿维菌素联合使用能够促进阿维菌素向根结线虫表皮的渗透,显著提高防治效果和黄瓜产量;吴青松等(2016)研究了棉隆

熏蒸结合不同耕作方式对西瓜根结线虫的防治效果,结果发现棉隆熏蒸结合深耕处理的防治效果和增产效果最好;朱震等(2011)利用拮抗菌联合有机肥防治番茄根结线虫,发现番茄植株上的根结数和虫卵数显著减少,并有较好的促生作用;杨婷等(2017)报道复合微生物菌肥对生菜根结线虫的防治效果为34.9%,并且具有一定的增产作用;聂海珍等(2016)利用棉隆和淡紫拟青霉 *Paecilomyces lilacinus* 联合防控番茄根结线虫并取得较好的效果。本研究利用低剂量棉隆熏蒸联合微生物菌肥沟施防治黄瓜根结线虫病,棉隆熏蒸能够杀灭土壤中的根结线虫,有效减少初侵染来源,然后将含有特定拮抗菌的生物菌肥沟施入黄瓜根部,直接向黄瓜根际土壤补充有益微生物,与单独使用棉隆或者菌肥相比显著降低了根结线虫数量,提高了防治效果,并能促进黄瓜植株生长、提高产量,为增加设施蔬菜产业的经济效益提供了一种综合防治措施。王会芳等(2014)报道番茄移栽后60 d,98%棉隆以450 kg/hm²施用量熏蒸处理的土壤中根结线虫减退率为82.8%;刘春艳等(2011)报道98%棉隆以450 kg/hm²施用量熏蒸90 d后土壤中番茄根结线虫的减退率为88.6%;本研究中98%棉隆以225 kg/hm²施用量熏蒸后再沟施YB-04菌肥150 kg/hm²处理土壤中的根结线虫减退率在黄瓜移栽60 d后为81.7%,移栽90 d后为89.1%,接近或超过上述报道的98%棉隆以450 kg/hm²施用量熏蒸处理的防治效果。表明本研究利用低剂量棉隆结合YB-04菌肥沟施防治黄瓜根结线虫病仍能取得较好的防治效果,达到减量、增效的目的。

土壤微生物群落结构和土壤酶活性的变化是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产力的一个重要指标(郑景瑶等,2013)。在一定条件下,土壤中细菌/真菌比值越高,越有利于作物生长(刘超等,2016)。棉隆是一种广谱性的土壤熏蒸剂,对土壤微生物和土壤酶活性有着重要影响(刘恩太等,2014; Wang et al., 2014; Nicola et al., 2017)。从生态学角度来看,土壤熏蒸能够消除土壤中大部分微生物,造成土壤暂时性的“真空”状态,这时一旦外源微生物通过各种途径侵入土壤,或者熏蒸后土壤中有残存的病原物,便会在一定时期内以指数形式迅速繁殖,而其繁殖数量也会在短期内超过土壤自然承受极限(Marschner & Rumberger, 2004; 刘星等, 2015)。此时向土壤中补充含益生菌芽胞杆菌的生物菌肥,可以促进芽胞杆菌在植物根际和土壤中快速增殖,持

续地将线虫数量维持在一个较低的水平,并且能够改善微生物区系。本研究中,棉隆熏蒸与YB-04菌肥联合使用比单独使用棉隆熏蒸处理显著增加了细菌数量及细菌/真菌比值,表明棉隆熏蒸联合YB-04菌肥沟施能够减轻棉隆熏蒸对土壤微生物的影响,改善土壤中的微生物组成和数量,优化作物生长的土壤微生态环境,有效抑制根结线虫病的发生。

土壤酶主要来源于土壤微生物和植物根系,是一类具有催化能力的生物活性物质(陶磊等,2014)。其中,土壤脲酶是决定土壤中氮转化的关键酶,是评价土壤肥力的重要指标;土壤蔗糖酶能够将蔗糖水解成相应的单糖而被机体吸收,其活性大小与土壤微生物数量、土壤有机质含量及土壤呼吸强度密切相关;过氧化氢酶是土壤微生物代谢的重要酶类,可以防止过氧化氢对生物体的毒害作用。因此,这3种土壤酶对于维持土壤正常的生理生化功能具有重要意义。本研究结果表明,棉隆熏蒸后土壤中的脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性显著降低,而棉隆熏蒸后沟施YB-04菌肥能够显著恢复土壤酶的活性,与孙秀山等(2001)关于土壤细菌能够显著增强蔗糖酶和脲酶活性的结论相符。曹云等(2018)报道棉隆熏蒸后土壤脲酶、蔗糖酶、荧光素二乙酸酯水解酶活性显著降低,而棉隆熏蒸与微生物有机肥联用25 d后,土壤中多种酶活性恢复到或高于对照水平,与本研究结果一致。

本研究利用低剂量棉隆熏蒸结合YB系列生物菌肥,既能克服生防菌环境适应性不足的缺点,又能弥补土壤熏蒸对土壤微生物群落结构和土壤酶活性的影响,改善土壤微生态,更好地抑制根结线虫的发生,并促进植物的生长,减少农药化肥的使用量并减轻对环境的污染。因此,利用低剂量棉隆熏蒸与生物菌肥联合防治根结线虫病是实现农业可持续发展的重要策略。

参 考 文 献 (References)

- Bonanomi G, Antignani V, Capodilupo M, Scala F. 2010. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soil-borne plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(2): 136–144
- Cao Y, Song XC, Guo DJ, Wang QJ, Ma Y, Shen QR. 2018. Prevention and control of watermelon *Fusarium* wilt by dazomet fumigation combined with bio-organic fertilizer. *Soils*, 50(1): 93–100 (in Chinese) [曹云, 宋修超, 郭德杰, 王秋君, 马艳, 沈其荣. 2018. 棉隆熏蒸与微生物有机肥联用对西瓜枯萎病的防控研究. 土

- 壤, 50(1): 93–100]
- Chen LJ, Wei F, Duan YX, Bai CM, Huo JX, Zhu XF. 2009. Effects of temperature and moisture on egg hatching and the second instars of *Meloidogyne incognita*. Plant Protection, 35(2): 48–52 (in Chinese) [陈立杰, 魏峰, 段玉玺, 白春明, 霍璟珣, 朱晓峰. 2009. 温湿度对南方根结线虫卵孵化和二龄幼虫的影响. 植物保护, 35(2): 48–52]
- di Primo P, Gamliel A, Austerweil M, Steiner B, Beniches M, Peretz-Alon I, Katan J. 2003. Accelerated degradation of metam-sodium and dazomet in soil: characterization and consequences for pathogen control. Crop Protection, 22(4): 635–646
- Eo J, Park KC. 2014. Effects of dazomet on soil organisms and recolonisation of fumigated soil. Pedobiologia, 57(3): 147–154
- Escobar C, Barcala M, Cabrera J, Fenoll C. 2015. Overview of root-knot nematodes and giant cells.//Escobar C, Fenoll C. Advances in botanical research Vol. 73. Plant nematode interactions: a view on compatible interrelationships. Oxford: Elsevier Academic Press, pp. 1–32
- Garabedian S, van Gundy SD. 1983. Use of avermectins for the control of *Meloidogyne incognita* on tomatoes. Journal of Nematology, 15(4): 503–510
- Huang B, Li J, Wang Q, Guo M, Yan D, Fang W, Ren Z, Wang Q, Ouyang C, Li Y, et al. 2018. Effect of soil fumigants on degradation of abamectin and their combination synergistic effect to root-knot nematode. PLoS ONE, 13(6): e0188245
- Li XH, Geng YL, Ma J, Gao B, Wang RY, Chen SL. 2016. An accurate method for estimating the number of root-knot nematodes in soil. Journal of Plant Protection, 43(5): 768–773 (in Chinese) [李秀花, 耿亚玲, 马娟, 高波, 王容燕, 陈书龙. 2016. 一种准确测定土壤根结线虫种群数量的方法. 植物保护学报, 43(5): 768–773]
- Liu C, Xiang L, Wang S, Chen XS, Shen X, Yin CM, Mao ZQ. 2016. Effects of dazomet fumigation and seaweed biologic fertilizer on the *Malus hupehensis* seedlings and soil microbial quantity under replant conditions. Acta Horticulturae Sinica, 43(10): 1995–2002 (in Chinese) [刘超, 相立, 王森, 陈学森, 沈向, 尹承苗, 毛志泉. 2016. 土壤熏蒸剂棉隆加海藻菌肥对苹果连作土微生物及平邑甜茶生长的影响. 园艺学报, 43(10): 1995–2002]
- Liu CY, Wang WL, Huo JF, Hao YJ, Wang Y. 2011. Field efficacy of dazomet 98% MG on cucumber root-knot nematode. Northern Horticulture, (23): 128–130 (in Chinese) [刘春艳, 王万立, 霍建飞, 郝永娟, 王勇. 2011. 98% 棉隆微粒剂防治黄瓜根结线虫田间药效试验. 北方园艺, (23): 128–130]
- Liu ET, Li YY, Hu YL, Sun CX, Mao ZQ. 2014. Effects of dazomet on edaphon and growth of *Malus hupehensis* Rehd. under continuous apple cropping. Acta Ecologica Sinica, 34(4): 847–852 (in Chinese) [刘恩太, 李园园, 胡艳丽, 孙传香, 毛志泉. 2014. 棉隆对苹果连作土壤微生物及平邑甜茶幼苗生长的影响. 生态学报, 34(4): 847–852]
- Liu X, Zhang SL, Liu GF, Qiu HZ, Wang D, Zhang JL, Shen QR. 2015. Soil fumigation and bio-organic fertilizer application promotes potato growth and affects soil bio-chemical properties in a continuous cropping system. Acta Prataculturae Sinica, 24(3): 122–133 (in Chinese) [刘星, 张书乐, 刘国锋, 邱慧珍, 王蒂, 张俊莲, 沈其荣. 2015. 土壤熏蒸-微生物有机肥联用对连作马铃薯生长和土壤生化性质的影响. 草业学报, 24(3): 122–133]
- Ma YQ, Wei C, Mao ZC, Yang YH, Feng DX, Xie BY. 2016. Effects of bioorganic fertilizers with compound microbes on cucumber and root-knot nematode. Scientia Agricultura Sinica, 49(15): 2945–2954 (in Chinese) [马玉琴, 魏偶, 茆振川, 杨宇红, 冯东昕, 谢丙炎. 2016. 生防型菌肥对黄瓜生长及根结线虫病的影响. 中国农业科学, 49(15): 2945–2954]
- Marschner P, Rumberger A. 2004. Rapid changes in the rhizosphere bacterial community structure during re-colonization of sterilized soil. Biology and Fertility of Soils, 40(1): 1–6
- Nicola L, Turco E, Albanese D, Donati C, Thalheimer M, Pindo M, Insam H, Cavalieri D, Pertot I. 2017. Fumigation with dazomet modifies soil microbiota in apple orchards affected by replant disease. Applied Soil Ecology, 113: 71–79
- Nie HZ, Sun MH, Li SD, Zhong ZM. 2016. Integrated control of root-knot nematode disease of tomato by dazomet and *Paecilomyces lilacinus*. Journal of Plant Protection, 43(4): 689–696 (in Chinese) [聂海珍, 孙漫红, 李世东, 钟增明. 2016. 棉隆与淡紫拟青霉联合防治番茄根结线虫病的效果评价. 植物保护学报, 43(4): 689–696]
- Sasser JN. 1980. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. Plant Disease, 64(1): 36–41
- Scopa A, Dumontet S. 2007. Soil solarization: effects on soil microbiological parameters. Journal of Plant Nutrition, 30(4): 537–547
- Ślusarski C, Pietr SJ. 2009. Combined application of dazomet and *Trichoderma asperellum* as an efficient alternative to methyl bromide in controlling the soil-borne disease complex of bell pepper. Crop Protection, 28(8): 668–674
- Sun XS, Feng HS, Wan SB, Zuo XQ. 2001. Changes of main microbial strains and enzymes activities in peanut continuous cropping soil and their interactions. Acta Agronomica Sinica, 27(5): 617–621 (in Chinese) [孙秀山, 封海胜, 万书波, 左学青. 2001. 连作花生田主要微生物类群与土壤酶活性变化及其交互作用. 作物学报, 27(5): 617–621]
- Tao L, Chu GX, Liu T, Tang C, Li JH, Liang YC. 2014. Impacts of organic manure partial substitution for chemical fertilizer on cotton yield, soil microbial community and enzyme activities in mono-cropping system in drip irrigation condition. Acta Ecologica Sinica, 34(21): 6137–6146 (in Chinese) [陶磊, 褚贵新, 刘涛, 唐诚, 李俊华, 梁永超. 2014. 有机肥替代部分化肥对长期连作棉田产量、土壤微生物数量及酶活性的影响. 生态学报, 34(21): 6137–6146]
- Townshend JL. 1963. A modification and evaluation of the apparatus for the oostenbrink direct cottonwool filter extraction method. Nematologica, 9(1): 106–110
- Trudgill DL, Kerry BR, Phillips MS. 1992. Seminar: integrated control of nematodes (with particular reference to cyst and root-knot

- nematodes). *Nematologica*, 38(4): 482–487
- Wang HF, Wang SY, Fu MY, Rui K, Chen MC. 2014. Effect of chemical dazomet on controlling of tomato root-knot nematodes. *Journal of Tropical Biology*, 5(3): 249–252 (in Chinese) [王会芳, 王三勇, 符美英, 芮凯, 陈绵才. 2014. 棉隆对番茄根结线虫病的防治效果. *热带生物学报*, 5(3): 249–252]
- Wang QJ, Ma Y, Yang H, Chang ZZ. 2014. Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2): 507–518
- Wesemael WML, Viaene N, Moens M. 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13(1): 3–16
- Wu QS, Guo LX, Li XB, Wang SS, Peng DL, Zhang GJ, Zhao C, Huang WK. 2016. Effect of soil fumigation in combination with deep tillage on controlling root-knot nematodes in continuous cropping watermelon system. *Plant Protection*, 42(3): 244–249 (in Chinese) [吴青松, 郭连兴, 李学斌, 王山松, 彭德良, 张桂娟, 张超, 黄文坤. 2016. 土壤熏蒸结合机械化深耕处理防治连作土壤西瓜根结线虫效果评价. *植物保护*, 42(3): 244–249]
- Yang T, Hu JY, Lin B, Xiang MC. 2017. Field experiment of multi-microbial agents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on lettuce. *Chinese Journal of Biological Control*, 33(6): 826–832 (in Chinese) [杨婷, 呼健洋, 林斌, 向梅春. 2017. 复合微生物菌剂对生菜根结线虫田间防治效果. *中国生物防治学报*, 33(6): 826–832]
- Yang XN, Gao DL, Han J, Liu F. 2011. Toxicity of dazomet and chloropicrin to soil-borne pathogens of ginger. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 13(3): 331–334 (in Chinese) [杨晓楠, 高德良, 韩君, 刘峰. 2011. 棉隆及氯化苦对几种生姜土传病原物的毒力. *农药学报*, 13(3): 331–334]
- Zhang X, Bu DX, Zhang C, Bi YL, Wang MY, Wang JX. 2013. The toxicity of four soil fumigants against *Phytophthora capsici* and *Meloidogyne incognita*. *Journal of Plant Protection*, 40(5): 463–467 (in Chinese) [张鑫, 卜东欣, 张超, 毕亚玲, 王茂云, 王金信. 2013. 四种熏蒸剂对辣椒疫霉和南方根结线虫的毒力. *植物保护学报*, 40(5): 463–467]
- Zhang Z, Peng DL, Huang WK, Wang GF, Zhang C, Lin X, Zhang GJ, Sun JH. 2011. Effect of nematicide treatment in combination with solarization on management of the root-knot nematodes on tomato. *Plant Protection*, 37(3): 161–164 (in Chinese) [张卓, 彭德良, 黄文坤, 王高峰, 张超, 林雪, 张桂娟, 孙建华. 2011. 土壤药剂处理结合阳光消毒防治番茄根结线虫技术评价. *植物保护*, 37(3): 161–164]
- Zheng JY, Wang BH, Yue ZH, Guo LB, Tian Y, Liu BL. 2013. Effects of fomesafen on microorganism quantity and enzyme activities in black soil. *Journal of Plant Protection*, 40(5): 468–472 (in Chinese) [郑景瑶, 王百慧, 岳中辉, 郭立波, 田宇, 刘宝林. 2013. 氟磺胺草醚对黑土微生物数量及酶活性的影响. *植物保护学报*, 40(5): 468–472]
- Zhu Z, Chen F, Xiao TJ, Wang XH, Ran W, Yang XM, Shen QR. 2011. Controlling effect of antagonist bioorganic fertilizer on tomato root-knot nematode. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 22(4): 1033–1038 (in Chinese) [朱震, 陈芳, 肖同建, 王小慧, 冉炜, 杨兴明, 沈其荣. 2011. 拮抗菌生物有机肥对番茄根结线虫的防治作用. *应用生态学报*, 22(4): 1033–1038]

(责任编辑:李美娟)