

DOI:10.13718/j.cnki.zwys.2021.03.004

3 种土壤改良剂对榨菜根肿病的防治 效果和根际微生物的影响^①

刘烈花, 丁伟

西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘 要: 土壤改良剂已被广泛应用于改善土壤酸化环境进而防治植物根部病害. 本文通过在榨菜(茎瘤芥)起垄期分别施用牡蛎壳粉、生物炭和草木灰, 探索 3 种土壤改良剂对土壤酸化的改良效果, 同时调查其对榨菜根肿病的田间防控效果、土壤微生物群落多样性变化和土壤 FDA 酶活性的影响. 结果表明, 3 种改良剂均可以显著增加土壤 pH 值, 尤其是施用牡蛎壳粉后效果最为显著, 土壤 pH 值提高了 0.45. 施用牡蛎壳粉和生物炭后榨菜根肿病发病率分别降低了 26% 和 16.67%, 但草木灰处理与对照之间并没有显著性差异. 施用土壤改良剂后其 AWCD 值、Simpson 指数、McIntosh 指数均有所增加. 其中, 牡蛎壳粉提高了根际土壤微生物群落的碳代谢能力, 并提高了土壤 FDA 水解酶活性. 同时, 施用牡蛎壳粉后茎瘤芥产量最大, 每 667 m² 达 2 113.96 kg, 每 667 m² 产值增加了 480.99 元, 其增产率达到了 39.75%. 因此, 牡蛎壳粉可以作为最有效的土壤改良剂用于田间防治榨菜根肿病.

关键词: 土壤改良剂; 根肿病; 牡蛎壳粉; 土壤微生物

中图分类号: S436.344

文献标志码: A

文章编号: 1007-1067(2021)03-0019-07

十字花科植物根肿病是由鞭毛菌亚门真菌芸薹根肿病菌(*Plasmodiophora brassicae*)引起一种重要的世界性植物根部真菌病害, 俗称“根癌病”, 几乎所有十字花科作物都可以被侵染, 给全世界的十字花科作物造成严重的经济损失. 研究表明, 十字花科根肿病的发生和流行与土壤环境密切相关, 尤其是土壤 pH 值^[1]. 同时, 土壤微生态平衡也在抑制病原物入侵和维护植物健康上发挥着重要作用^[2]. 因此, 土壤酸化和土壤微生物种群与作物根肿病之间存在密切关系.

榨菜是重庆市涪陵区特有的经济作物, 是由茎瘤芥(*Brassica juncea*)为原料腌制而成. 茎瘤芥又称青菜头, 俗称榨菜, 其显著特点是茎部发生变态, 上面着生若干瘤状突起, 形成肥大的瘤状茎(俗称瘤茎), 瘤茎经过专门腌制加工便成榨菜. 近年来, 由于长期连作、过度使用化学农药使土壤质量严重下降, 造成土壤严重酸化、病原物积累、生物多样性减退等^[3], 使得榨菜(茎瘤芥)根肿病愈发严重. 土壤改良剂对土壤健康和植物生长方面具有良好的调理作用. 目前, 土壤改良剂已被广泛使用, 主要目的是改善土壤酸化环境. 最近一项研究表明, 使用土壤改良剂后能提高土壤 pH 值, 增加榨菜产量, 且明显降低榨菜根肿病的发病率和严重程度^[4]. 本文使用生物炭、牡蛎壳粉、草木灰作为土壤改良材料, 而未使用土壤改良剂的处理作为对照, 探究不同土壤改良剂对土壤 pH 值和土壤微生物群落结构多样性的影响; 同时探究其对榨菜(茎瘤芥)生长的影响和榨菜根肿病的防治效果, 进一步筛选出对榨菜根肿病防治效果最佳的土壤改良剂, 从而减少榨菜根肿病的发生.

① 收稿日期: 2021-04-20

基金项目: 重庆市科委技术创新与应用示范项目(cstc2018jscx-mszdX0047).

作者简介: 刘烈花, 硕士研究生, 主要从事天然产物农药研究. E-mail: llh199510@email.swu.edu.cn

1 材料与amp;方法

1.1 试验方法

1.1.1 试验药剂

牡蛎壳粉, 纯度 99.6%, 重庆西农植物保护科技开发有限公司; 生物炭, 西农植物保护科技开发有限公司; 草木灰, 农家自产.

1.1.2 供试品种

榨菜(茎瘤芥)品种为扳倒砍(永安小叶)

1.1.3 试验地点

试验地在重庆市涪陵区百胜镇齐曲村榨菜种植基地, 海拔 235 m, 北纬 29°48'25"、东经 107°27'16"; 地块较为平整, 榨菜种植密度为行距 120 cm、株距 55~60 cm, 平均每 667 m² 种植 4 600 株左右; 试验地块选取连作榨菜 10 年以上且根肿病高发地块, 土壤肥力中等, 土壤基本状况如表 1 所示.

栽培条件: 试验所用榨菜(茎瘤芥)采用漂浮育苗, 2019 年 11 月 2 日移栽, 2020 年 2 月 21 日采收完成.

表 1 试验地块土壤理化性质

有机质/g · kg ⁻¹	全氮/g · kg ⁻¹	全磷/mg · kg ⁻¹	全钾/mg · kg ⁻¹	水解氮/mg · kg ⁻¹	有效磷/mg · kg ⁻¹	速效钾/mg · kg ⁻¹
0.94±0.1	1.15±0.08	2.06±0.17	20.58±0.26	22.00±2.93	31.61±2.74	169.88±5.93

1.2 试验设计

试验共设置 4 个处理, 重复 3 次, 共计 12 个小区, 每个小区面积约 22 m², 试验地面积约为 267 m², 设置保护行. 育苗时采用基质拌菌, 移栽期枯草芽孢杆菌 XF-1 100 g/667 m², 平时常规施肥.

表 2 试验处理药剂的施用方法和使用剂量

处理	试验药剂	施用方法	施用时间	667 m ² 使用剂量/kg
1	牡蛎壳粉	条施	起垄期	100
2	生物炭	条施	起垄期	30
3	草木灰	条施	起垄期	15
4	对照(常规施肥)	—	—	—

1.3 调查方法

1.3.1 土壤 pH 值测定

将水、土以 2.5 : 1(m : V)混合后用 pH 计测定土壤 pH 值.

1.3.2 Biolog-Eco 分析

将所有发病土壤和健康土壤分别混合均匀后, 并分别称取新鲜土样 5 g, 加入到盛有 45 mL 0.85% NaCl 无菌溶液的三角瓶中, 封口膜固定后在摇床 170 r · min⁻¹上震荡 30 min, 使土样与 0.85% NaCl 无菌溶液充分混匀, 再常温静置 30 min, 然后加样于 Biolog-Eco 微孔板中, 每孔加入 150 μL. 随后恒温 28 °C 黑暗培养 7 d, 每隔 24 h 进行 Biolog-Eco 微生物分析系统读取 590 nm 波长的光密度值, 连续测定 168 h. 采用培养 96 h 的数据进行土壤微生物碳源利用分析和主成分分析.

1.3.3 微生物群落功能多样性的计算

土壤微生物群落利用碳源的整体能力用平均吸光值(AWCD)表示, 其计算公式为:

$$AWCD = \frac{\sum(C_i - R)}{n}$$

式中 C_i 为所测定的 31 个碳源孔的吸光值, R 为对照孔的吸光值, n 为培养基碳源总数(本研究中为 31).

1.3.4 土壤荧光素二乙酸酯酶(FDA)酶活测定

FDA水解酶活性采用荧光素比色法测定:土样过2 mm土壤筛后,分别称取发病土壤和健康根际土壤土样5 g置于50 mL三角瓶中,加入磷酸缓冲溶液(pH值7.6)15 mL和FDA储备液0.2 mL,置于30 ℃恒温振荡培养箱中,200 r·min⁻¹转速下培养20 min,随后立即加入氯仿/甲醇混合溶液15 mL终止反应,并充分振荡.最后在2 000 r·min⁻¹转速下离心3 min,过滤后吸取1~10 mL用分光光度计在490 nm处测定荧光素吸光度值,FDA水解酶活性大小采用荧光素吸光度值($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 20\text{ min}^{-1}$)表示,每个试验重复3次,取平均值.

1.3.5 榨菜根肿病调查

在榨菜(茎瘤芥)收获期,采用5点随机取样法,调查各小区根肿病的发生情况,每点调查10株,根据NY/T 1464.53—2014《农药田间药效试验准则第52部分:杀菌剂防治十字花科蔬菜根肿病》的标准进行分级,记录每个小区的发病株数及发病级数,并分别利用公式(1)和(2)计算发病率和病情指数,按照公式(3)计算防治效果.病害分级标准如下.

0级:根系生长,无肿瘤;

1级:仅须根末梢有少量肿瘤;

3级:侧根上有较小肿瘤;

5级:侧根肿瘤膨大,且主根末梢有小肿瘤,植株无明显畸形;

7级:主根全部肿大,根肿表面龟裂植株叶片萎焉发黄;

9级:主根肿瘤发生部分开始龟裂腐烂,植株萎焉死亡.

$$\text{病株率}(\%) = \frac{\text{发病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{发病株数} \times \text{该病级代表值})}{\text{调查总株数} \times \text{最高级代表值}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数})}{\text{对照病情指数}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.6 榨菜农艺性状和产量测定

按照《根用和茎用芥菜种质资源描述规范》标准,在榨菜(茎瘤芥)收获期,各小区随机选择3点取样,每点选择有代表性的榨菜植株50株,测定农艺性状,主要包括菜形指数(肉茎纵横茎)、肉(瘤)茎重.同时,测定所选择的菜头鲜质量,调查并记录各小区不同榨菜的瘤茎产量.

1.4 数据处理

采用Excel 2016软件进行数据收集统计,并用SPSS 19.0和Origin 20进行相关试验数据处理、统计分析以及数据成图.

2 结果与分析

2.1 对土壤pH值的影响

3种土壤改良剂均改善了土壤pH值(图1),其中牡蛎壳粉施用后土壤pH值最高,与对照相比,土壤pH值显著性增加了0.45.

2.2 对榨菜根肿病的防治效果

如图2所示,通过施用3种土壤改良剂能显著性缓解榨菜根肿病的发生.与对照相比,牡蛎壳粉和生物炭材料的发病率分别显著性降低了26%和16.67%,但草木灰处理与对照之间并没有显著性差异.与对照相比,3种土壤改良剂处理后病情指数均显著性降低,牡蛎壳粉、生物炭和草木灰材料病情指数分别为24.89、29.63和27.93,三者的防效分别为35.08%、23.67%和28.66%.结果表明,牡蛎壳粉对榨菜根肿病的

防治效果最好。

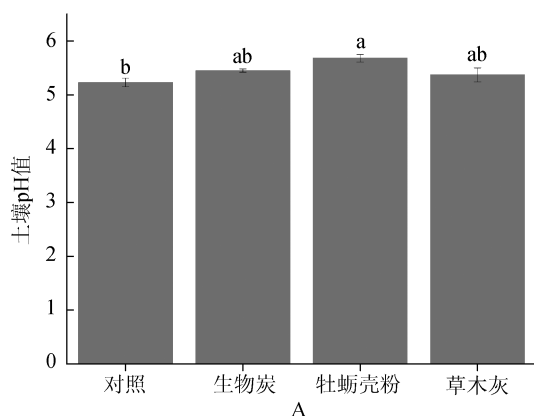


图 1 不同土壤改良剂对榨菜根肿病发病率的影响

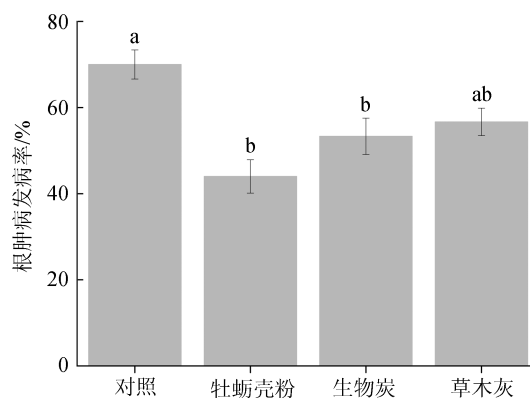


图 2 不同土壤改良剂对土壤 pH 值的影响

表 3 不同土壤改良剂对榨菜根肿病病情指数和防效的影响

处理	病情指数	防效/%
牡蛎壳粉	24.89±1.85b	35.08
生物炭	29.63±2.35b	23.67
草木灰	27.93±2.47b	28.66
对照	39.48±3.38a	—

注:不同小写字母表示差异有统计学意义($p < 0.05$). 表 4 和表 5 同.

2.3 对土壤微生物功能多样性的影响

平均吸光度值(AWCD)表示土壤微生物群落对 31 种碳源的利用能力和代谢活性的变化. 这 31 种碳源按化学基团的性质可分为 6 类, 即碳水化合物、羧酸类、氨基酸类、多聚物类、酚酸类和胺类, 体现了土壤微生物群落生理功能多样性. 从图 3 可以看出, 3 种土壤改良剂处理下其 AWCD 值均随着时间的增加而不断增加, AWCD 值的快速增加表明土壤碳源被土壤微生物大量利用, 土壤微生物进入指数生长期. 在整个处理时间内, AWCD 值由大到小的顺序依次为牡蛎壳粉、草木灰、生物炭、对照. 选取培养时间为 96 h 的数据分析不同处理下群落土壤微生物对这 6 类碳源的利用情况, 如图 4 所示, 牡蛎壳粉处理后的土壤微生物群落对胺类化合物(腐胺、苯乙基胺)、碳水化合物类(a-D-乳糖、葡萄糖-1-磷酸盐、D-葡萄糖胺、D, L-a-甘油、a-D-乳糖、N-乙酰基-D-葡萄糖胺、D-纤维二糖、D-木糖)、多聚物类化合物(吐温 80、a-环式糊精、吐温 40)的相对利用率最高. 生物炭处理后的土壤微生物群落对氨基酸类化合物(L-苯基丙氨酸、甘氨酸-L-谷氨酸)、羧酸类(a-丁酮酸)、碳水化合物(β -甲基 D-葡萄糖苷)的相对利用率较高. 草木灰处理后的土壤微生物群落对氨基酸类化合物(L-丝氨酸、L-精氨酸)、酚酸类化合物(4-羟基苯甲酸)、多聚类化合物(肝糖)的相对利用率较高.

根据不同处理的碳源利用情况, 综合考虑变化趋势, 选取光密度逐渐趋于平稳, 即 96 h 时的 AWCD 值进行土壤微生物群落多样性指数分析. 由表 4 可看出, 牡蛎壳粉、生物炭处理下的 Simpson 指数显著高于对照, 较对照均提高了 40.74%. Shannon 指数显示各处理间不存在显著差异. 而牡蛎壳粉处理下的 McIntosh 多样性指数显著高于其他处理, 而生物炭处理下 McIntosh 多样性指数显著低于其他处理, 且草木灰和对照之间无显著性差异.

综合来看, 不同土壤改良剂能够提高土壤微生物群落多样性, 同时增加根际土壤微生物物种的优势度和物种均一性.

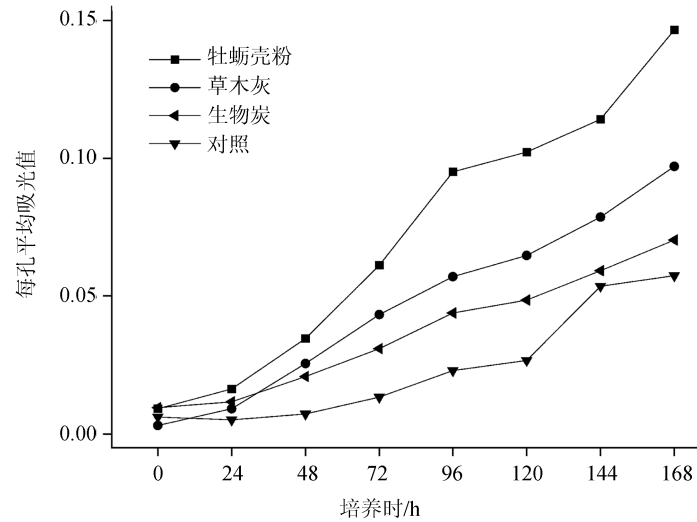


图 3 土壤微生物 AWCD 随培养时间的变化

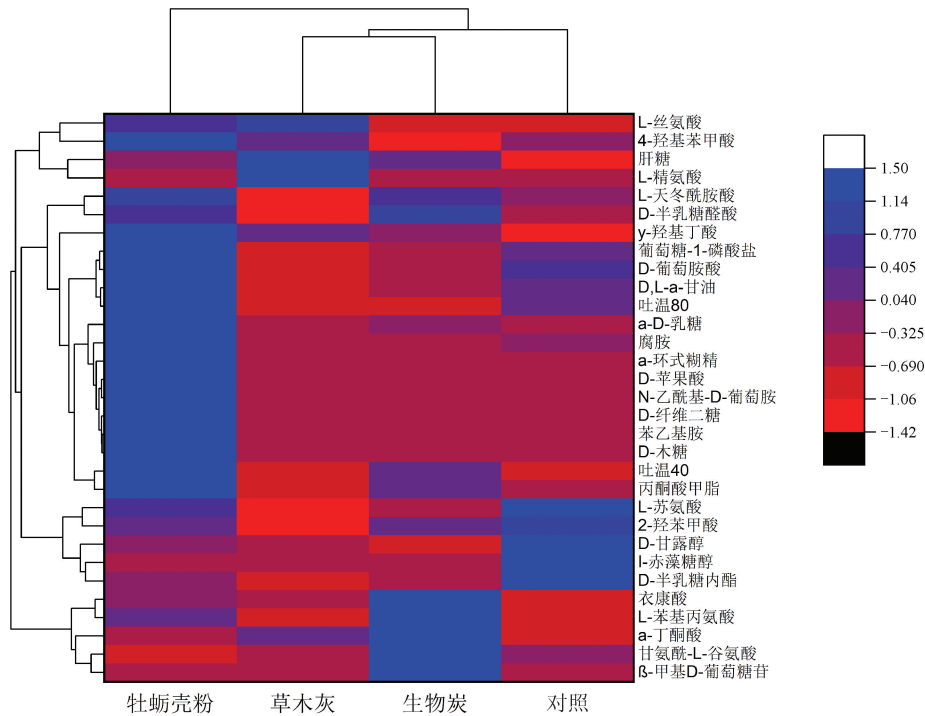


图 4 土壤微生物对不同碳源的相对利用情况(96 h)

表 4 土壤微生物群落多样性指数(96 h)

处理	Simpson 指数	Shannon 指数	McIntosh 指数
牡蛎壳粉	0.76 ± 0.05a	1.74 ± 0.32a	1.34 ± 0.11a
草木灰	0.66 ± 0.04ab	1.57 ± 0.04a	0.98 ± 0.24ab
生物炭	0.76 ± 0.03a	1.75 ± 0.08a	0.52 ± 0.08b
对照	0.54 ± 0.03b	1.18 ± 0.08a	0.92 ± 0.05ab

注:表中所示数值为 3 次重复的平均值.

2.4 对土壤 FDA 酶活的影响

土壤 FDA 酶活能有效的反映土壤微生物活性的变化,是土壤生物学的指标.由图 5 可知,与对照相比,加入不同土壤调理剂后土壤 FDA 水解酶活性显著增强,增幅为 9.68~19.06%.其中生物炭处理后土壤 FDA 水解酶活性最为灵敏,其水解酶活性为 $15.55 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$.说明生物炭处理后其微生物群落能

显著增强土壤 FDA 水解酶活性的强度。

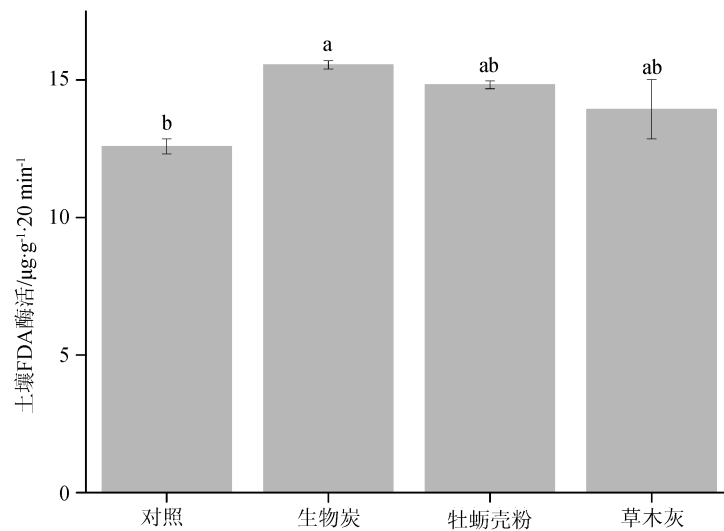


图 5 不同土壤改良剂处理对土壤 FDA 水解酶的影响

2.5 对榨菜产量的影响

从表 5 可知,施用 3 种土壤改良剂均可以增加榨菜的产量,尤其是条施牡蛎壳粉后,榨菜的产量最高,达到了 $2\ 113.96\ \text{kg}/667\ \text{m}^2$,比对照增加了 $601.24\ \text{kg}/667\ \text{m}^2$,产值增加了 $480.99\ \text{元}/667\ \text{m}^2$,其增产率达到了 39.75%。其次是草木灰处理,其增产率达到了 23.92%,产值与对照相比增加了 $289.53\ \text{元}/667\ \text{m}^2$ 。

表 5 不同土壤改良剂对榨菜(茎瘤芥)收获期产量的影响

处理	茎瘤芥横径/cm	茎瘤芥纵径/cm	茎瘤芥单果质量/g	折合 667 m ² 产量/kg	每 667 m ² 产值/元	增产率/%
牡蛎壳粉	12.79±0.54a	10.14±0.28a	458.72±10.5a	2 113.96	1 691.167	39.75
草木灰	11.06±0.61ab	9.46±0.52ab	406.79±8.8b	1 874.63	1 499.70	23.92
生物炭	11.69±0.45b	9.28±0.56ab	385.14±11.03b	1 774.89	1 419.91	17.33
对照	9.68±0.37b	8.1±0.31b	328.26±16.88c	1 512.72	1 210.18	—

3 讨论与结论

本文研究结果发现,在榨菜起垄期施用 3 种不同土壤改良剂对榨菜根肿病、土壤 FDA 酶活、根际土壤微生物群落多样性的影响均存在显著性影响,不但可以有效防控榨菜根肿病,而且增强榨菜根际微生物群落多样性、增加榨菜产量,最终增加榨菜种植的经济价值。其中,在起垄期土壤施用牡蛎壳粉能较好地改善土壤 pH 值,缓解土壤酸化,田间防治榨菜根肿病的效果最好。

前人研究表明,pH 值较低的土壤环境容易造成茄科青枯病的入侵^[5],而十字花科根肿病的发生也与土壤 pH 值密切相关,土壤 pH 值是影响根肿病发生的重要因子^[6-7]。甘蓝根肿病在酸性条件(pH 值 5.4~6.5)中发病严重,在碱性土壤(pH 值 7.2 以上)发病较轻^[8]。当土壤 pH 值偏低时,酸化的土壤可抑制初级游动孢子的产生,严重制约着根肿病的根毛侵染时期。有研究表明,当 pH 值>7.2 时,根肿病的根毛侵染受到抑制,根肿形成受阻^[9]。土壤改良剂牡蛎壳粉能有效改善土壤 pH 值环境,降低榨菜根肿病的发生。另有研究表明,土壤微生物群落多样性的增强能抵御病原微生物群落的入侵^[10]。本研究运用 Biolog-Eco 方法分析发现,土壤改良剂处理后土壤微生物群落的 AWCD 值、Simpson 指数、McIntosh 指数较对照相比均存在显著性差异,表明不同土壤改良剂能够促进榨菜根际土壤微生物群落对碳源的利用,提高土壤微生物

群落的多样性. 尤其是施用牡蛎壳粉后, 土壤微生物群落对碳水化合物类的利用较为强烈. 碳水化合物是大多数异养微生物重要的营养源, 在微生物代谢中扮演重要角色^[11], 表明牡蛎壳粉可以增强榨菜根际土壤微生物群落的活跃性. 同时, 牡蛎壳粉含糖胺聚糖和天冬氨酸蛋白酶, 可以刺激土壤中微生物群落的生长^[12]. 综合研究结果, 施用土壤改良剂后增加了土壤微生物群落的丰富度和多样性, 更有助于榨菜抵御根肿病的入侵.

参考文献:

- [1] 陈小均, 何海永, 王莉爽, 等. 土壤环境因子对十字花科根肿病发生的影响 [J]. 贵州农业科学, 2020, 48(3): 60-63.
- [2] BERENDSEN RL, PIETERSE M, BAKKER P A. The Rhizosphere Microbiome and Plant Health [J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [3] 丁伟, 刘晓姣. 植物医学的新概念——生物屏障 [J]. 植物医生, 2019, 32(1): 1-6.
- [4] 李燕, 刘吉振, 廖敦秀, 等. 不同土壤改良剂在榨菜上的应用效果研究 [J]. 现代农业科技, 2020(17): 37, 39.
- [5] SHEN G H, ZHANG S T, LIU X J, et al. Soil Acidification Amendments Change the Rhizosphere Bacterial Community of Tobacco in a Bacterial Wilt Affected Field [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(22): 9781-9791.
- [6] 李晓梅, 高立均, 陶伟林. 武隆区高山蔬菜根肿病发生特点及影响因素研究 [J]. 安徽农业科学, 2019, 47(12): 156-160, 165.
- [7] 黄蓉, 黄瑞荣, 胡建坤, 等. 土壤 pH 值与十字花科作物根肿病相互关系研究 [J]. 江西农业大学学报, 2015, 37(1): 67-72.
- [8] 何永梅. 酸性土甘蓝易得根肿病 [J]. 农药市场信息, 2017(23): 63-63.
- [9] 班洁静. 土壤含水量、pH、Ca²⁺浓度对芸薹根肿菌感染及发病影响研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [10] YU K, PIETERSE C M J, BAKKER P A H M, et al. Beneficial Microbes Going Underground of Root Immunity [J]. Plant, Cell & Environment, 2019, 42(10): 2860-2870.
- [11] 孔滨, 杨秀娟. Biolog 生态板的应用原理及碳源构成 [J]. 绿色科技, 2011(7): 231-234.
- [12] LI Y, YU Z X, SUN Y. Effects of Oyster Shell Soil Amendment on Fruit Auality and Soil Chemical Properties in Greenhouse Tomato Acidic Soils [J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(9): 2096-2098.

Effects of Three Soil Modifiers on the Control Efficacy of Mustard Club Root and on Rhizosphere Microorganisms

LIU Lie-hua, DING Wei

School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Soil ameliorators have been widely used to improve soil acidification environment and control plant root diseases. In this study, the effects of oyster shell powder, biochar and plant ash on soil acidification were investigated by soil addition method in the ridging stage of tumorous stem mustard. Meanwhile, the effects of the three soil ameliorators on the field control efficacy of mustard clubroot, changes in soil microbial community diversity and soil FDA enzyme activity were investigated. The results showed that the three ameliorators could significantly increase the soil pH value, especially the application of oyster shell powder, which increased the soil pH value by 0.45. Application of oyster shell powder and biochar reduced the incidence of club root in pickle by 26% and 16.67%, respectively, but there was no significant difference between plant ash treatment and the control group. The AWCD value, Simpson index and McIntosh index increased after soil conditioner application. Among them, oyster shell powder increased the carbon metabolism capacity of rhizosphere soil microbial community and increased the activity of soil FDA hydrolase. At the same time, soil amendment with oyster shell powder induced the highest yield of mustard, which was up to 2113.96 kg/mu (15 mu = 1 ha), and the output value increased by 480.99 yuan/mu. The yield increase rate reached 39.75%. Therefore, oyster shell powder is recommended as the most effective soil ameliorant to control the root disease of mustard in the field.

Key words: soil ameliorator; club root; oyster shell powder; soil microbial community