

温度对土壤强还原改良辣椒病土的影响

张 艺

辽宁师范大学 辽宁大连 116000

摘 要: 土壤强还原处理 (Reductive soil disinfection, RSD) 法是在作物种植之前对土壤进行消毒的方法。尽管 RSD 可以有效的杀灭土传病原微生物和改善土壤理化性质, 但是对于其最佳处理温度还尚未探索。本实验以辣椒病土为研究对象, 通过设计 3 个不同温度的 RSD 处理 (原位土壤 CK、最大淹水量加作物秸秆分别进行 18℃、25℃和 32℃培养), 分析土壤 pH、电导率、细菌、真菌以及尖孢镰刀菌数量等数据的变化, 判断其最佳处理温度。结果表明: 三种不同温度 RSD 处理的土壤 pH 较 CK 均显著升高, 其中 18℃处理的 pH 升高了 0.63, 25℃处理的土壤 pH 升高了 0.7, 32℃处理的土壤 pH 升高了 0.5; EC 在处理过程中逐步下降, 最低的是 25℃处理 (249.67)。土培期间, RSD 处理的土壤细菌数量较 CK 有所增加, 但差异不显著。RSD 处理的真菌数量较 CK 处理数量变化不显著; 处理第 21 天, 温度为 32℃的真菌含量最少 (8.0×10^3 CFU/g), 18℃处理的真菌含量最多 (1.2×10^5 CFU/g)。另外, 18℃、25℃、32℃的 RSD 处理分别令尖孢镰刀菌数量显著减少了 50.2%、70.3%及 59.0%。已有结论表明, 温度越高, RSD 处理效果越好。由实验数据可知, 18℃处理在调节土壤 pH 值、电导率和抑制土传病原菌等方面效果都不明显。而实际作业时, 32℃的高温对于部分栽种辣椒的北方地区而言难以达到, 25℃符合大部分辣椒栽培地区。因此 25℃以上可能为达成 RSD 处理改良辣椒病土最佳效果时的温度条件。

关键词: 土壤强还原处理; 辣椒病土; 温度; 土传病害; 连作障碍

前言

辣椒 (Capsicum) 是重要的蔬菜作物和调味品, 同时具有温中散寒、杀菌、助消化等多种功效^[1]。它口味多样, 营养丰富, 且含有多种维生素, 广受消费者喜爱, 产业价值极高。辣椒原产于中拉丁美洲热带地区^[2], 在中国主要分布于四川、湖南、贵州、河北省鸡泽县、河南省浙川县等^[3]。近年来我国辣椒年播种面积达 150 万~200 万 hm^2 , 占全国蔬菜总播种面积 8%~10%, 位居蔬菜首位^[4]。随着科技和经济的飞速发展, 设施栽培是提高辣椒产量和质量的重要手段^[5]。然而, 高度集约化种植及农药化肥的大量使用, 易导致大棚土壤生产力退化, 如土壤酸化、次生盐碱化及土传病害^[6]等连作障碍问题, 从而降低作物产量和收益, 严重制约了可持续农业的有效发展。

为了防控土传病害、防治连作障碍, 目前的措施主要包括物理措施 (如高温闷棚^[7]、轮作^[8])、化学措施 (如化学药剂熏蒸^[9]、施用石灰等碱性物质^[10]) 和生物措

施 (如增施有机肥^[11])。虽然这些方法在防治土传病害问题上有些效果, 但也存在一定的局限性。例如传统的高温闷棚技术太单一, 不足以解决当前不断增长的复杂土传病害问题; 使用甲基溴化学熏蒸剂可更有效地抑制土传病原菌, 但由于其对环境的不利影响而被严禁生产^[12]; 施用石灰虽然可以调节土壤的 pH, 但对土壤中的土传病原菌不一定起到减少效果^[13]; 增施有机肥, 通常情况下, 仅在连作障碍方面起缓解作用。因此, 为了更好的防治土传病害, 改善连作障碍问题, 我们需要更加绿色、可持续的方法。

土壤强还原处理法是在作物种植之前对土壤进行消毒的方法, 即在连作障碍严重的土壤中添加大量易分解有机物质、灌溉以及覆膜或淹水阻止与大气之间的气体交换, 快速创建土壤强还原环境, 从而在短时间内杀死土传病原微生物^[14]。该方法起源于 21 世纪, 最初是由荷兰和日本科学家先后发现的^[15, 16]。RSD 处理可以有效杀灭大部分类型的土传病原菌, 如青枯菌 (*Ralstonia solanacearum*)^[17]、黄萎病菌 (*Verticillium dahlia*)^[18] 和尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum*)^[19] 等。其灭菌机理主要包括: (1) 大多数土传病原菌必须靠氧气才能生存, RSD 处理产生的强厌氧环境会妨碍土传病原菌的生长; (2)

作者简介: 张艺 (1999), 性别: 女, 民族: 汉族, 籍贯: 江苏省连云港市, 学校: 辽宁师范大学, 在读硕士, 研究方向: 区域经济与产业规划。

RSD处理中会产生有毒有害的物质如有机酸、氨气等,对土传病原微生物具有致死作用^[14]; (3) RSD处理还能够改善土壤整体微生物区系,刺激大部分有益微生物增殖。除此之外,蔡祖聪^[14]等人研究发现RSD还可以修复土壤理化性质,如消除土壤次生盐碱化^[20]和改善土壤酸化环境^[21],其机理主要包括:(1)硝酸盐通过反硝化作用转化为氮(N₂),从而降低硝酸盐含量;(2)强烈的还原反应会消耗大量H⁺并提高土壤pH;(3)在厌氧环境下,硫酸盐还原为硫化氢(H₂S),从而大大降低了硫酸盐含量^[22, 23]。

RSD处理改良退化土壤的效果主要受温度、淹水量、处理时间、添加物料浓度、物料碳氮比以及物料类型等影响。目前诸多研究表明,RSD处理温度与改良土壤的效果成正比^[24],但是对于其最佳效果时的温度需求还有待进一步研究。另外,RSD处理在香蕉枯萎病^[25]、设施番茄连作障碍^[26]、芥兰增产^[27]等问题的解决中颇有成效,但是对改良辣椒病土的研究报道较少。

因此,本文以辣椒病土为试验对象,旨在研究不同温度对土壤强还原改良辣椒病土效果的影响,通过分析土壤电导率、pH值、细菌、真菌和尖孢镰刀菌数量等动态变化,揭示RSD处理达到最佳效果时对温度的响应情况。

一、材料与方法

(一) 材料

供试土壤和有机物料:供试辣椒连作病土采自浙江省金华市(119°14'E-120°46'30"E, 28°32'N-29°41'N),地处亚热带季风气候,平均年降水量800mm左右。供试物料:作物秸秆(甘蔗渣)。供试温度:18、25、32℃;供试水分:最大持水量;处理时间:1周、2周、3周。供试细菌、真菌和尖孢镰刀菌培养基分别为牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、孟加拉红培养基和K2培养基。

(二) 准备工作

1. 土样培养

将辣椒病土充分湿润,每日观察土壤,保持土壤中水分充足,使土壤中的微生物活跃。培养四天左右,将辣椒病土磨碎,分装为27份,每份称取辣椒病土80g装入密封袋备用。

2. 测定土壤自然含水率

1) 将小型铝盒烘干,放置20min冷却至室温后称重(精确至0.01g);

2) 在铝盒中称取土样5g(精确至0.01g);

3) 将装有土样的铝盒放入105℃左右的烘干机中约6个小时,烘干后冷却至室温,称量烘干后的铝盒加干土重(精确至0.01g);

4) 计算土壤自然含水率,公式为:(原土样重-干土重)/原土样重×100%=土壤自然含水率。

3. 测定土壤饱和含水量(田间最大持水量)

1) 在漏斗中装入滤纸,放入少量原土样,用脱脂棉花塞住管口;

2) 漏斗中倒入没过土样的水,用玻璃棒轻轻搅拌并于土壤吸水,少量多次加水,直至土壤中水分饱和;

3) 将小型铝盒烘干,放置室温20min后称重(精确至0.01g);

4) 在铝盒中放入水分饱和的土样(湿土),称取铝盒加湿土重(精确至0.01g);

5) 将装有土样的铝盒放入105℃左右的烘干机中约28个小时,烘干后冷却至室温,称量烘干后的铝盒加干土重(精确至0.01g);

6) 计算土壤饱和含水量,公式为:(湿土重-干土重)/原土样重×100%=土壤饱和含水量(精确至0.01g)。

4. RSD处理

每份土样中加入1g作物秸秆,混合均匀。根据之前测定的田间最大施水量计算得出80g土样的田间最大持水量为20ml,每份土壤秸秆混合物中加入20ml水使土壤充分吸水,袋中没有干土。排出空气并密封,将土壤按照不同温度和观察时间分类。处理温度为18、25、32℃的土样各9份,分别放入温度为18、25、32℃的培养箱进行培养。以18℃处理这组为例,9个土样的编号为18-1至18-9。其中土样18-1、18-2、18-3的培养周期为一周;18-4、18-5、18-6的培养周期为两周;18-7、18-8、18-9的培养周期为三周。25、32℃处理的土样编号规律同上。每次培养时间结束后,将三种温度处理的土样取出,拍照对比。将土样晾晒2-3天,放入冰箱冷藏保存。

(三) 土壤含水率、pH值和电导率(EC)测定

1. 土壤含水率

参照上述方法测定处理后的土壤含水率,将数据记录备用。

2. pH值测定

1) 根据土壤含水率计算出10g干土所需要的土壤重,公式为:10/(1-含水率)=所需土重(精确到0.01g);

2) 称取相应量的土壤放入锥形瓶中,每份加入纯水25ml混合均匀;

3) 将锥形瓶放入200 r/min的摇床中振荡30 min;

4) pH计校准后, 摇匀溶液, 将电极插入溶液中, 待数字稳定后读数。为减小误差, 每份溶液测定两次pH值, 选取均值记录。

3. 电导率 (EC) 测定

1) 每份菌悬液中再加入25ml纯水混合均匀;

2) 锥形瓶放入200 r/min的摇床中振荡20min后取出;

3) 将电极插入溶液中, 从电导率仪上读取电导率数值。每份溶液测量两次电导率。

(四) 土壤中可培养微生物分析

1. 培养基制作

1) 牛肉膏蛋白胨琼脂培养基: 称取牛肉膏蛋白胨琼脂35g, 放入800ml纯水中, 加热沸腾溶解, 定容至2L。每个培养皿中倒入10g左右牛肉膏蛋白胨琼脂培养基, 待凝固后放入冰箱冷藏备用。

2) 孟加拉红培养基: 向1000ml纯水中加入孟加拉红36.7g, 溶解后定容到2L。培养皿中倒入孟加拉红培养基约10g, 凝固后加入盐霉素0.4ml涂匀备用。

3) K2培养基: 称取31.0g K2培养基, 倒入1000ml纯水中, 加热煮沸至完全溶解, 定容至2L。冷却至50℃后加入五氯硝基苯1ml和链霉素800ul, 摇匀。培养皿中倒入K2培养基约10g, 待凝固后放入冰箱冷藏备用。

2. 制备土壤菌悬液、梯度稀释、平板涂布

1) 量取15ml土壤和135ml纯水至锥形瓶中, 放入摇箱中振荡20min, 得到稀释10倍的土壤稀释液。

2) 梯度稀释: 将菌悬液摇匀, 用移液枪吸取0.4ml土壤菌悬液移入含3.6ml纯水的离心管中, 吹吸均匀, 逐级稀释后得到 10^{-2} 倍和 10^{-4} 倍的土壤稀释液。

3) 平板涂布: 在超净台中分别用移液枪吸取 10^{-4} 、 10^{-2} 以及 10^{-1} 稀释梯度的菌悬液(0.1ml)至牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、孟加拉红培养基和K2培养基中, 并用涂布棒将稀释液涂匀, 目的在于测定土壤中细菌、真菌以及尖孢镰刀菌的数量。细菌37℃恒温培养, 48小时后计数; 真菌、尖孢镰刀菌28℃恒温培养, 三天后计数。

(五) 数据处理

试验数据使用Excel 2016和SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 软件进行处理, 处理间的显著性差异采用Duncan氏新复极差法进行检验 ($P < 0.05$)。

二、结果与分析

(一) 土壤pH和EC的变化

土培试验处理第7天, 在所有RSD的处理中(18、25、32), 较CK相比, 土壤pH都有显著的提高。其中, 25℃和32℃处理土壤pH差异不显著, 18℃培养的土壤

pH显著高于25℃和32℃处理; 随着处理时间的增加, 18、25、32℃的土壤pH呈逐步上升趋势, CK的土壤pH无变化。处理第14天, RSD处理(18、25、32)的土壤pH无显著性差异; 处理第21天, 18℃处理的土壤pH显著低于25℃和32℃的土壤pH, 25℃处理的土壤pH最高, 为6.32(如图1)。

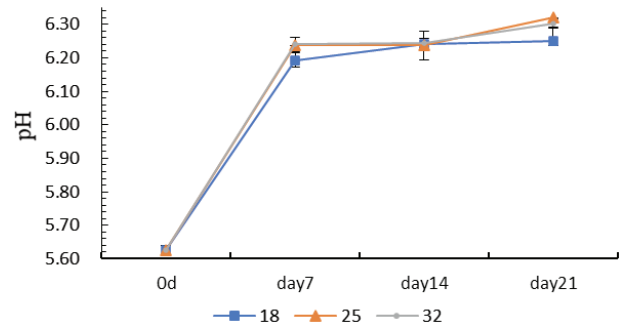


图1 不同处理土壤中pH的变化

土培试验处理第7天, 较CK相比, 所有RSD处理中(18、25、32)的土壤电导率(EC)均显著降低。其中, 18℃、25℃和32℃处理的土壤EC无显著性差异。随着培养时间的推移, RSD处理的EC整体呈降低趋势。处理第14天, 18、25和32℃处理的土壤EC之间存在明显差异, EC最低的是32℃处理, 为245.00。第21天, EC最低的是25℃处理, 为249.67, 最高的是18℃处理, 为350.33(如图2)。

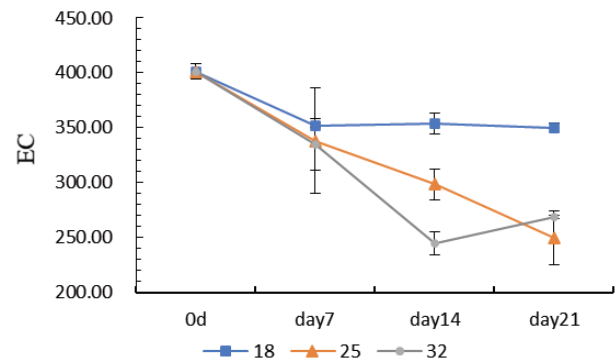


图2 不同处理土壤中EC的变化

(二) 土壤可培养细菌、真菌和尖孢镰刀菌数量

在不同的处理时期, 所有RSD处理的土壤中可培养细菌的数量无显著的变化趋势: 处理第7天, 18℃、25℃和32℃处理的细菌数量较CK有所增加, 但差异不显著; 土培试验处理第14天, 细菌数量较7天前相比小幅增加; 第21天, 三种RSD处理的细菌数量较7天前相比小幅减少, 其中18℃处理的细菌数量为 7.1×10^7 CFU/g, 25℃处理的细菌数为 1.5×10^7 CFU/g, 32℃处理的细菌数为 1.1×10^7 CFU/g(如图3)。

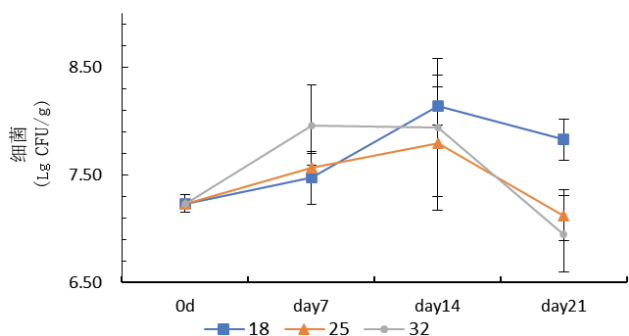


图3 不同处理土壤中细菌的数量

土培处理期间,土壤真菌数量逐步增加,但差异不显著。其中CK的真菌数量为 1.21×10^4 CFU/g,第21天,18℃处理的真菌含量为 1.2×10^5 CFU/g,25℃处理的真菌含量 8.0×10^3 CFU/g,32℃处理的真菌含量为 6.7×10^4 CFU/g(如图4)。

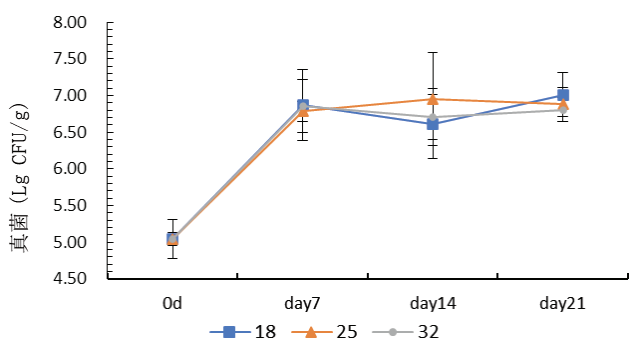


图4 不同处理土壤中真菌的数量

21天内,RSD处理的土壤中尖孢镰刀菌(FOC)数量较CK相比有所下降。土培第7天时,18℃处理的FOC数与CK无显著性差异,25℃和32℃处理的FOC数量较CK处理显著下降了31.1%和41.7%。土培第14天时,18、25和32℃处理的FOC数与CK相比分别显著下降了56.2%、42.9%和39.0%。土培第21天时,三种处理较CK相比均显著降低,其中25℃处理的FOC数量最少,下降了70.3%,18℃和32℃分别减少了50.2%和59.0%。(如图5)。

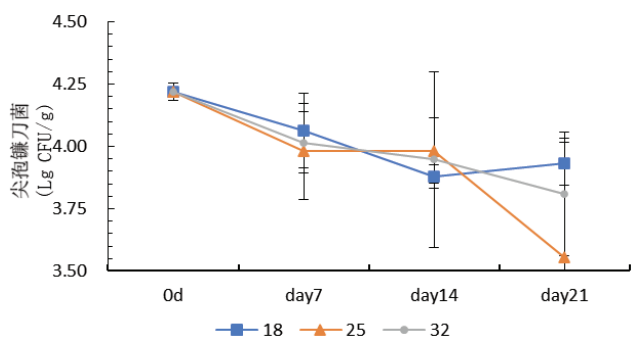


图5 不同处理土壤中尖孢镰刀菌的数量

三、讨论与展望

与CK处理相比,RSD处理能够使土壤pH显著提升。三组RSD处理中,pH值最高的是周期为25℃处理,较CK的土壤pH上升了0.7。EC值通常用于间接指示土壤中水溶性离子的相对含量。EC值高表示土壤中的水溶性离子含量高,反之则含量低^[28]。长期的设施栽培会造成土壤EC值增高,Cl⁻、SO₄²⁻、NO₃⁻等离子在土壤中残留,从而带来土壤酸化及盐渍化问题^[29],使得辣椒品质下降、产量减少。经RSD处理的辣椒病土可以通过改变土壤中水溶性离子的存在和含量来调节土壤EC值。三组RSD处理中,EC值最高的是18℃处理(350.33),最低的是25℃处理(249.67)。

导致设施栽培连作障碍的重要生物因素就是土壤微生物群的变化^[30],真菌和尖孢镰刀菌的数量是衡量RSD处理改良连作辣椒病土效果的标准之一。实验数据表明,随着培养时间的推移,RSD处理中的细菌和真菌数量变化皆不显著,尖孢镰刀菌数量显著减少,25℃处理抑制尖孢镰刀菌的效果最好。

已有试验证明,温度较高的条件下进行RSD处理,处理结束后土壤pH的增加量更显著,土壤EC的下降量更显著。在一定程度上,RSD处理温度越高,其杀菌效果越好^[14]。这可能是由于处理温度越高,土壤中微生物活性就越高,有机物的厌氧分解也越彻底。从而产生的杀菌物质的总量和浓度越高^[24]。本实验中,18℃的土壤培养在各因素综合考虑下对病土的改良效果不明显,25℃和32℃改良效果更好。考虑到现实因素,北方某些地区气温偏低,处理温度达不到32℃的高温,而25℃可以满足种植辣椒的绝大部分地区。因此25℃以上可能是达成RSD处理改良辣椒病土的最佳效果的温度条件,该观点还需更多的试验佐证,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 马小红. 温室辣椒高产栽培技术[J]. 农业科技与信息, 2020(14): 48-49, 2016, (7).
- [2] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(09): 1715-1726.
- [3] 李晓燕, 蔡强. 基于物种多样性分析辣椒产品的经济效益[J]. 中国调味品, 2020, 45(11): 181-184.
- [4] 崔聪聪, 王秀芝, 张晓梅等. 赤峰市露地辣椒生产情况及经济效益调查分析[J]. 现代农业科技, 2018(24): 92-93-95.
- [5] 吕培娟, 王春燕. 大棚温室辣椒栽培新技术及病

虫害防治[J].农业开发与装备, 2021(01): 227-228.

[6]刘晓艳.连作障碍的危害及治理措施[J].现代农村科技, 2020(12): 36.

[7]何浩雯, 刘慧芹, 王丹等.高温闷棚综合技术在设施农业中的应用设施农业[J].天津农林科技, 2021(01): 18-20-23.

[8]王于璇, 王蕴辉, 王丹.设施蔬菜土传病害的防治措施[J].天津农林科技, 2020(06): 24-25-28.

[9]A. Miguel et al. The grafting of triploid watermelon is an advantageous alternative to soil fumigation by methyl bromide for control of Fusarium wilt[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 103(1): 9-17.

[10]Tianzhu Meng, Tongbin Zhu, Jinbo Zhang, Zucong Cai. Effect of liming on sulfate transformation and sulfur gas emissions in degraded vegetable soil treated by reductive soil disinfection[J]. Journal of Environmental Sciences, 2015, 36(10): 112-120.

[11]郭肖, 孔德章, 黄本婷等.农作物连作障碍产生机理与调控技术研究[J].作物研究, 2016, 30(02): 215-220.

[12]Blok W J, Lamers J G, Termorshuizen A J, et al. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping[J]. Phytopathol, 2000, 90: 253-259.

[13]朱文娟, 王小国.强还原土壤灭菌研究进展[J].土壤, 2020, 52(02): 223-233.

[14]蔡祖聪, 张金波, 黄新琦, 等.强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究[J].土壤学报, 2015, 52(003): 469-476.

[15]Shinmura A. Causal agent and control of root rot of welsh onion. PSJ Soil-borne Disease Workshop Report, 2000, 20: 133-143.

[16]WJ B, JG L, AJ T, et al. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping[J]. Phytopathology, 2000, (3): 253-259.

[17]Messiha NAS, Van Diepeningen AD, Wenneker M, et al. Biological Soil

[18]Disinfection (BSD), a new control method for potato brown rot, caused by Ralstonia solanacearum race

3 biovar 2[J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 117(4): 403-415.

[19]Shinmura A. Principle and effect of soil sterilization method by reducing redoxpotential of soil. PSJ Soilborne Disease Workshop Report, 2004, 22: 2-12.

[20]Zhu T, Dang Q, Zhang J, et al. Reductive soil disinfection (RSD) alters gross N transformation rates and reduces NO and N₂O emissions in degraded vegetable soils[J]. Plant and Soil, 2014, 382(1-2): 269-280.

[21]Zhu T, Zhang J, Yang W, et al. Effects of organic material amendment and water content on NO, N₂O, and N₂ emissions in a nitrate-rich vegetable soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 49(2): 153-163

[22]Meng T, Zhu T, Zhang J, et al. Effect of liming on sulfate transformation and sulfur gas emissions in degraded vegetable soil treated by reductive soil disinfection [J]. J Environ Sci (China), 2015, 36: 112-120.

[23]Meng T, Zhu T, Zhang J, et al. Liming accelerates the NO₃⁻ removal and reduces N₂O emission in degraded vegetable soil treated by reductive soil disinfection(RSD) [J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(9): 1968-1976.

[24]常亚锋.强还原土壤处理效果影响因素分析[D].南京师范大学, 2020.

[25]黄新琦, 温腾, 孟磊等.土壤快速强烈还原对于尖孢镰刀菌的抑制作用[J].生态学报, 2014, 34(16): 4526-4534.

[26]郭晨曦.土壤处理对大棚秋番茄生长及土传病害防控效果的影响[D].河南科技学院, 2020.

[27]王宝英, 李金泽, 黄新琦等.土壤强还原处理对连作芥蓝产量、微生物数量及活性的影响[J].土壤, 2019, 51(02): 316-323.

[28]周开胜.强还原处理改良西瓜连作土壤[J].浙江农业学报, 2017, 29(06): 982-987.

[29]徐彬, 徐健, 祁建杭等.江苏省设施蔬菜连作障碍土壤理化及生物特征[J].江苏农业学报, 2019, 35(05): 1124-1129.

[30]孙艳艳, 蒋桂英, 刘建国等.加工番茄连作对农田土壤酶活性及微生物区系的影响[J].生态学报, 2009, 30(13): 3599-3607.