土壤施加氧化钙对西瓜枯萎病的影响及其机理初探

邱 婷[1,2], 张 屹[2], 肖姬玲[2], 李基光[2], 朱菲莹[2], 魏 林[3], 梁志怀[1,2*]

(1. 湖南大学研究生院隆平分院, 长沙 410125; 2. 湖南省农业生物技术研究中心, 长沙 410125;
3. 湖南省植物保护研究所, 长沙 410125)

摘要 为探明土壤撒施石灰对西瓜枯萎病发生的影响,本试验设计 5 个浓度剂量的氧化钙对连作西瓜 5 年的土壤进行消毒处理,通过栽培感病品种并调查植株生长情况、枯萎病发病率等指标,结合土壤中尖孢镰刀菌西瓜专化型 1 号小种病原菌孢子量和土壤 pH 的变化动态,以此评估土壤施加石灰防治西瓜枯萎病的效果,并利用不同浓度的钙对尖孢镰刀菌西瓜专化型菌丝生长和产孢量的影响进行防治机理的初步研究。试验结果表明,当土壤施加氧化钙后,西瓜发病率显著降低,各处理的相对防效分别为 14%、57.8%、96.3%、94.7%、94.7%。在定植 10 d 后,各处理均有促进植株生长发育的作用,其中 1.34 g/kg 最显著。而随着氧化钙施加量的增加,土壤 pH 值也不断提高,30 d趋于稳定。对土壤病原菌孢子数量检测表明:各处理土壤中病原菌数量均呈现显著降低的趋势。PDA 平板生测结果表明,当钙离子浓度高于 80 mmol/L 时,病原菌的生长及产孢量开始受到抑制,随着浓度的增加,抑制作用加强。土壤施加氧化钙不仅能改善土壤的酸化,还能有效防控西瓜枯萎病,其机理可能是土壤 pH 值的提高改变了土壤微环境,不利于病原菌侵染;施加的钙离子抑制了病原菌菌丝的生长及孢子的萌发。研究结果对揭示氧化钙防控西瓜枯萎病机制,具有一定的参考价值。

关键词 西瓜; 氧化钙; 枯萎病; 尖孢镰刀菌西瓜专化型

中图分类号: S 436.5 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3969/j.issn.0529 - 1542.2017.06.003

Effects of soil application with calcium oxide on control of Fusarium wilt of watermelon and its preliminary mechanism research

Qiu Ting[1,2], Zhang Yi[2], Xiao Jiling[2], Li Jiguang[2], Zhu Feiying[2], Wei Lin[3], Liang Zhihuai[1,2]

(1. *Longping Branch of Graduate School, Hunan University, Changsha* 410125, *China*;
2. *Hunan Agricultural Biotechnology Research Center, Changsha* 410125, *China*;
3. *Hunan Institute of Plant Protection, Changsha* 410125, *China*)

Abstract In this study, five concentrations of soil calcium disinfection were used to evaluate the effects of calcium oxide on watermelon Fusarium wilt by the dynamic change of soil pH, the amount of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in soil, the incidence of Fusarium wilt and plant growth. The results showed that, when the soil was applied with calcium oxide, the incidence of plant disease was significantly decreased, and the relative control rates of each treatment were 14%, 57.8%, 96.3%, 94.7%, and 94.7%, respectively. All treatments had the effect of promoting plant growth and development after 10 days of colonization, among which 1.34 g/kg treatment was the most significant. With the increase of calcium oxide application rate, the soil pH also increased and tended to be stable in 30 days. The research of *F. oxysporum* f.sp. *niveum* number showed that the number of pathogens in treated soils showed a significant decrease. PDA flat test results showed that, when calcium ion concentration was higher than 80 mmol/L, the growth of the pathogen and quantity of spore production began to be suppressed, and with the increase of concentration, the inhibition strengthened. Therefore, the application of calcium oxide in the soil could not only improve the soil acidification, but also effectively control watermelon wilt disease; the mechanism might be that the increase in soil pH changed the soil microenvironment, and the increase in free calcium concentration inhibited the growth of pathogens and spore germination, leading to its apoptosis. The results of the

收稿日期: 2017 - 04 - 11 **修订日期**: 2017 - 05 - 04
基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201503110 - 03);国家重点研发计划(2017YFP0200606);湖南省现代农业蔬菜产业技术体系
* 通信作者 E-mail:liangzhihuainky@163.com

study have a reference value for revealing the mechanism of prevention and control of the fusarium wilt of watermelon by calcium oxide.

Key words watermelon; calcium oxide; Fusarium wilt; *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*

石灰(CaO)消毒是一种全球性常见的农业改良措施。近年来,有关施用石灰改善酸性土壤,及对土壤微生物群落影响的研究日益增多,研究结果表明,合理施用石灰,可以提高土壤中的 N、P、Ca、Mg 有效性,降低 Al、Mn 的毒害,提高酸性土壤的生产力,减轻酸性土壤对作物生长不利的影响[1-3]。还可有效改善土壤微生物环境,提高土壤微生物 C、N 量、呼吸速率和代谢熵(qCO_2)[4-5]。同时,也有研究表明,土壤中施用石灰,对黄瓜枯萎病[6]、根腐病[7]及水稻立枯病[8]等病害的发生还具有明显的防控效果。但是有关石灰施用对西瓜枯萎病防控效果及其防控机理的研究,却未见系统明确的报道。

西瓜枯萎病是由尖孢镰刀菌西瓜专化型引起的一种毁灭性病害,已成为限制西瓜产业可持续发展的主要因素之一。目前生产上还没有彻底根治西瓜枯萎病的有效方法,只能及时发现病株尽快将其移除以防止病情的扩散,但生产中很难做到,往往导致极大的损失甚至毁种绝收。作者前期大量试验结果表明,在悉生条件下,当中性土壤中尖孢镰刀菌西瓜专化型 1 号小种孢子数量达到 10^2 个/g 时,感病品种西瓜植株开始显症发病,当病原菌数量为 10^3 个/g 时,感病品种发病率可达 50%左右,而当孢子数量达到 10^5 个/g 时,西瓜发病率为 90%~100%。但在非悉生条件下,或者土壤理化性质发生变化,同样的病原菌数量和寄主互作,西瓜的发病率却往往不同于上述规律,有时甚至不发病。由此可见,在西瓜与病原菌互作中,环境因子往往起着较大的作用。本试验选取连作 5 年的西瓜土壤,种植感病西瓜品种,人为创造一种利于病害稳定发生的条件,构建一种寄主、病原菌以及土壤环境的互作体系。拟通过施加氧化钙,改变土壤 pH、钙离子浓度等环境因子,来探索氧化钙的施用对西瓜枯萎病发生的影响作用及其初步机理,为西瓜枯萎病的防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验主要材料

供试西瓜品种为'早佳 8424'。尖孢镰刀菌西瓜专化型 1 号生理小种由北京市农林科学院蔬菜研究中心提供。化学纯氧化钙购于西陇化工股份有限公司。供试土壤取自连作 5 年的大棚西瓜种植地,土壤性质为强酸性砂壤土。试验土样采用 5 点取样法取 0~15 cm 耕层,充分混匀后,取部分土样送至湖南省土壤检测中心检测。其理化性质检测结果如下:pH 5.3,有机质 25.3 g/kg,全氮 1.78 mg/kg,碱解氮 123.7 mg/kg,有效磷 126.9 mg/kg,速效钾 144.0 mg/kg。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

将供试大棚酸性土壤充分混匀,分装于 40 cm×30 cm×30 cm 试验盆中,每盆 15 kg,试验共设计 5 个氧化钙浓度,分别为 0.67(S1)、1.00(S2)、1.34(S3)、1.67(S4)、2.01(S5)g/kg,以不添加氧化钙为对照(CK),每处理 5 次重复,施加方式为,将氧化钙粉末溶于一定量水中,待热量全部释放,恢复常温后浇于试验盆中,维持田间最大持水量的 60%,后期常规管理。放置 7 d 后,采取常规方法浸种催芽,播种,每盆播种 30 粒。

1.2.2 测定方法

1.2.2.1 枯萎病发病率

记录定植 40 d 时西瓜枯萎病发病株数,以发病率指标反映枯萎病发生情况。发病率(%)=病株数/总株数×100。

1.2.2.2 植株生长指标的测定

按常规方法测定西瓜定植后第 20、30 和 40 天的蔓长(茎基部到植株生长点最顶端,米尺测定)以及地上部分的鲜重。

1.2.2.3 土样采集及土壤性质检测

采用 5 点取样法收集 0~15 cm 土层样品,每个点取 3 个样,充分混匀,过 20 目筛,用于土壤环境因子以及尖孢镰刀菌西瓜专化型孢子数量检测。其中,土壤 pH 按水土比 2.5∶1采用 pH 计测量,每次测量 3 次重复。土壤中尖孢镰刀菌孢子数量采用 Komad[10]稀释平板法计数,每次检测 3 次重复。

1.2.2.4 菌落培养性状的测量

采用菌丝生长速率法[11]配制含钙离子浓度为 20、40、80、140、200、300 mmol/L 的 PDA 培养基,充分混匀倒平板,每平板 20 mL,待平板凝固后在平板

中央接种尖孢镰刀菌西瓜专化型菌饼(直径 4 mm,以不加钙的培养基为对照)。28℃黑暗培养,定期用十字交叉法计算菌落平均直径,按公式:菌丝生长抑制率(%)=[1-(处理菌落直径-菌饼直径)/(对照菌落直径-菌饼直径)]×100 求得菌丝生长抑制率,每处理 3 次重复。

1.2.2.5　菌丝生长及产孢量的测定

①配制含 20、40、80、140、200、300 mmol/L 钙离子浓度的 PD 培养液。在培养的尖孢镰刀菌西瓜专化型菌落边缘打取直径 4 mm 的菌饼,每瓶接种 3 个菌饼,每个处理 3 次重复,以不加钙离子的培养液为对照。25℃ 120 r/min 振荡培养 5 d 后,真空抽滤滤出菌丝,用灭菌水冲洗 3 次,除去菌饼,与事先烘干至恒重的滤纸一同置于烘箱中烘干至恒重,称量菌丝重量。收集过滤孢子悬浮液,用血球计数板记录各处理的孢子浓度。

②将 25℃ 120 r/min 振荡培养 5 d 的尖孢镰刀菌西瓜专化型菌悬液过滤,收集孢子悬浮液,用血球计数板计数孢子浓度。再将孢子悬浮液分装于 100 mL 锥形瓶中,添加含钙离子溶液,配制成含 80、140、200 mmol/L 钙离子带菌悬浮液,每处理 3 次重复,继续摇瓶培养,每隔 2 d,用血球计数板计数各处理的孢子浓度。

1.3　数据与分析

采用 Excel 2013 软件处理数据和作图,用 SPSS 软件进行统计分析,采用 LSD 法检验处理间差异显著性,显著性水平设定为 $P=0.05$。

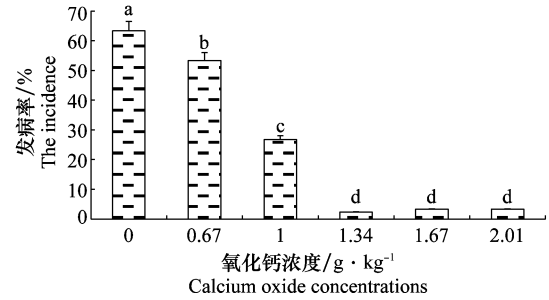
2　结果与分析

2.1　不同浓度氧化钙处理对西瓜植株枯萎病发病率的影响

定植后 30 d,CK 始见西瓜枯萎病,此后 CK、S1 及 S2 处理发病逐步加重,在定植后 35 d 开花幼果期前后发病最为严重,之后发病情况逐步减少。由图 1 所知,在定植 40 d 时,施加氧化钙 0.67、1.00、1.34、1.67 g/kg 及 2.01 g/kg 处理植株发病率分别为 53.3%、26.7%、2.3%、3.3%、3.3%,显著低于($P<0.05$)对照 CK 发病率 63.3%。通过防效对比来看,各浓度处理对西瓜枯萎病相对防效分别达到 14%、57.8%、96.3%、94.7%、94.7%。

2.2　不同浓度氧化钙处理对西瓜植株生长的影响

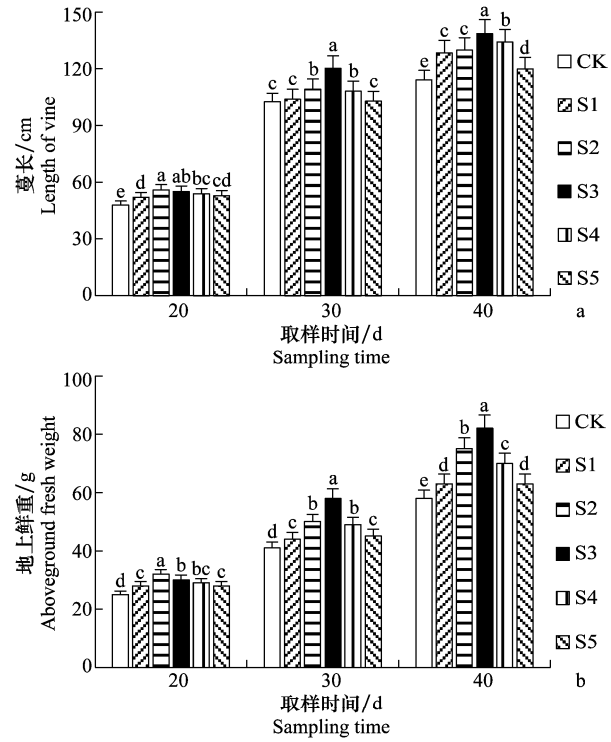
由图 2 可知,在定植后整个生长过程中,各处理均对植株蔓长(图 2a)以及地上鲜重部分(图 2b)有一定的促进作用,其中 S3 处理的促进作用最明显。当石灰用量小于 1.34 g/kg 时,随着用量的增加,促进作用增强,而当石灰用量大于 1.34 g/kg 时,随着用量的增加,植株的蔓长及鲜重呈下降趋势。



不同处理平均值字母不同表示处理间有显著差异($P<0.05$),下同 Different letters indicate significant differences ($P<0.05$) between treatments. The same below

图 1　不同浓度氧化钙处理对西瓜枯萎病发病率的影响

Fig. 1　Effects of different concentrations of calcium oxide on the incidence of Fusarium wilt



CK: 0 g/kg; S1: 0.67 g/kg; S2: 1.00 g/kg; S3: 1.34 g/kg; S4: 1.67 g/kg; S5: 2.01 g/kg。下同 The same below

图 2　不同处理对西瓜植株蔓长(a)及地上部鲜重(b)的影响

Fig. 2　Effects of different concentrations of calcium oxide on vine length (a) and aboveground fresh weight (b)

2.3　不同浓度氧化钙处理对土壤 pH 动态变化的影响

盆栽试验土为 5 年西瓜连作土壤,处理前土壤

pH 保持在 5.0～5.5 之间，呈现强酸性。如图 3 所示，CK 处理各时期一直平稳地维持在 5.3 左右，而其他处理土壤 pH 均有不同程度提高。根据土壤 pH 分类标准，S1 处理将土壤 pH 由强酸段提高到酸性段(pH 5.5～6.0 之间)，S2 处理土壤 pH 由强酸段提高到弱酸段(pH 6.0～6.5 之间)，S3 处理土壤 pH 由强酸段提高到中性段(pH 6.5～7.0之间)，S4 及 S5 处理则提高到弱碱段(pH 7.0～7.5 之间)，且各处理均在定植 30 d 后趋于稳定。

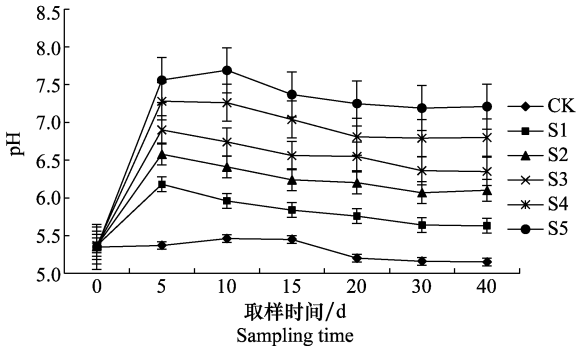


图 3 不同浓度氧化钙处理下土壤 pH 的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of soil pH values under different concentrations of calcium oxide

2.4 不同浓度氧化钙处理对土壤中尖孢镰刀菌西瓜专化型孢子数量的影响

如图 4 所示，比较 5 种浓度氧化钙处理下土壤中尖孢镰刀菌孢子数量变化发现，各处理的土壤中尖孢镰刀菌孢子数量呈现降低的趋势，均与对照达到显著差异水平。其中各处理在 0～10 d 内尖孢镰刀菌孢子量下降最明显，分别下降 13.2%、32.1%、60.7%、82.8%、89.2%。而对照组 CK 土壤病原菌量在 0～10 d 却有所上升。而在整个西瓜生长过程中，病原菌数量一直表现为 CK＞S1＞S2＞S3＞S4＞S5。

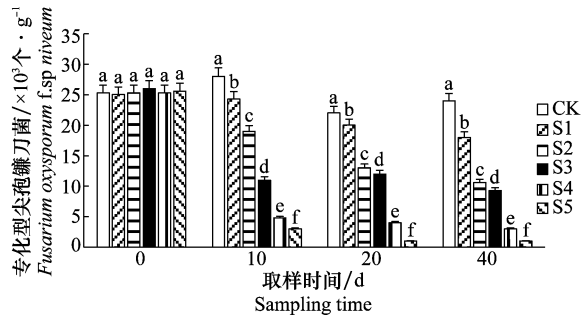


图 4 不同浓度氧化钙处理下土壤尖孢镰刀菌西瓜专化型数量变化

Fig. 4 Changes in the number of *Fusarium oxysporum* f. sp *niveum* in the soil under different concentrations of calcium oxide

2.5 不同浓度钙离子对尖孢镰刀菌西瓜专化型菌落生长的影响

在含有不同浓度钙离子的 PDA 培养基上进行抑菌试验，表 1 结果表明：除低浓度钙离子处理以外，抑菌效果随浓度的增加而增强，但随着处理天数的延长，抑菌效果逐渐减弱。20 mmol/L 浓度钙离子在培养过程中均表现出对病原菌生长的促进作用，比对照处理生长速度快。培养 2 d 调查发现，钙离子浓度 40～300 mmol/L 的抑菌效果逐渐增强，抑菌率为 2.09%～60.25%；培养5 d时，40～80 mmol/L 表现出促进病原菌生长，且均与对照呈显著差异，140～300 mmol/L 抑菌作用减弱，抑菌率降至 20.91%～26.65%。培养 7 d 时，140～300 mmol/L 抑菌率降至 8.69%～18.53%。

表 1 钙离子浓度对尖孢镰刀菌西瓜专化型菌落生长的影响

Table 1 Effects of Ca^{2+} concentration on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

Ca^{2+}浓度/mmol·L^{-1} Dosage of Ca^{2+}	2 d		5 d		7 d	
	菌落直径/cm Colony diameter	抑菌率/% Inhibition rate	菌落直径/cm Colony diameter	抑菌率/% Inhibition rate	菌落直径/cm Colony diameter	抑菌率/% Inhibition rate
0	2.39 b	0	3.54 d	0	4.42 d	0
20	2.74 a	−14.64	4.37 a	−23.78	5.05 c	−14.41
40	2.34 b	2.09	4.21 c	−19.19	5.24 b	−18.76
80	2.24 c	6.27	4.29 b	−20.34	5.46 a	−23.79
140	1.90 d	20.50	2.81 e	20.91	4.04 e	8.69
200	1.27 e	47.86	2.75 f	22.63	3.84 f	13.27
300	0.98 f	60.25	2.61 g	26.65	3.61 g	18.53

2.6 不同浓度钙离子对尖孢镰刀菌西瓜专化型菌丝生长及产孢量的影响

图 5、图 6 结果显示，钙离子低于 40 mmol/L 对尖孢镰刀菌西瓜专化型菌丝生长无抑制作用，菌丝生长量与对照差异不显著，但对其产孢促进作用显著。随着钙离子浓度增加至 80～120 mmol/L 时，病原菌产孢开始受到抑制，且随着钙离子浓度的增加，抑制作用也增强，产孢量分别降低了 15.4%和

32.7%,而对菌丝生长量仍无明显影响。当浓度达到 200～300 mmol/L,菌丝生长以及产孢均受到明显抑制,其中 300 mmol/L 抑制效果最好,孢子浓度降低2 个数量级。

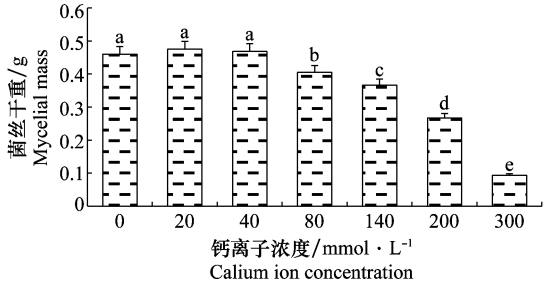


图 5　不同钙离子浓度对尖孢镰刀菌菌丝生长量的影响

Fig. 5　Effects of different Ca^{2+} concentrations on mycelial mass of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

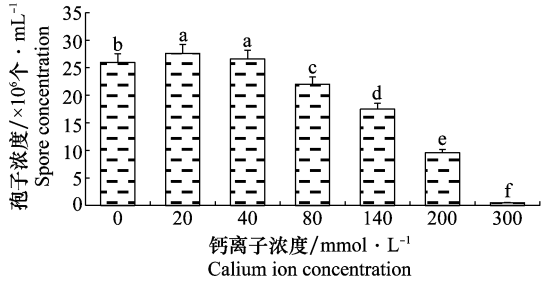


图 6　不同钙离子浓度对尖孢镰刀菌产孢量的影响

Fig. 6　Effects of different Ca^{2+} concentrations on sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

试验初始孢子浓度为 1.63×10^7 个/mL。由图 7 可以看出,在培养期间,钙离子能显著减少尖孢镰刀菌西瓜专化型的孢子数量,抑制孢子的萌发。而且随着钙离子浓度的增加,病原菌孢子数量减少的愈明显。在处理后的第 4 天,当对照组病原菌孢子数量达到最大值时,此时钙离子浓度为 80、140 和 200 mmol/L 的处理孢子数量相对于对照均降低 2 个数量级,且 3 种浓度间均达到显著性差异。

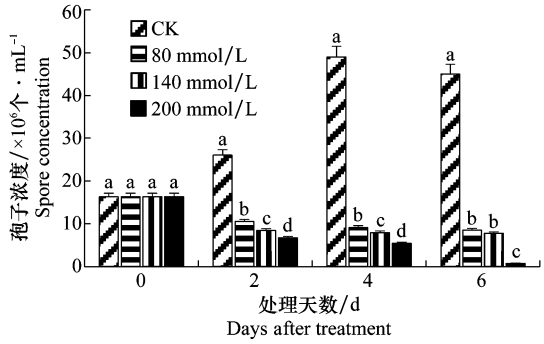


图 7　不同钙离子浓度对尖孢镰刀菌孢子成活的影响

Fig. 7　Effects of different Ca^{2+} concentrations on the survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

3　讨论

西瓜连作障碍是由多种病原真菌引起的植物毁灭性病害,其病原菌主要是引起植物病害的真菌和部分细菌[12]。本试验供试土壤连作障碍较显著,属于枯萎病高发区域。目前土壤消毒仍然是克服连作障碍,减缓病害发生的有效方法。研究表明对连作土壤进行灭菌处理能较大程度改善草莓[13-15]、葡萄[16]、平邑甜茶[17]和辣椒[18]等作物的连作障碍,减轻土传病害,促进作物生长。石灰作为一种高效无残留的土壤消毒剂,能够有效地降低土壤中病原菌、线虫等各种有害生物的种群数量,对半知菌亚门的镰刀菌有较好的防治效果。本试验通过对添加氧化钙土壤中尖孢镰刀菌西瓜专化型孢子数量的监测,发现在定植 10 d 以后,1.34、1.67、2.01 g/kg 氧化钙处理病原菌孢子数量由基数 2.53×10^4 个/g 分别降低至 1.1×10^4、4.8×10^3、3.0×10^3 个/g。在定植 20 d 到 40 d 间土壤中尖孢镰刀菌孢子量呈持续降低趋势,其中 1.67 和 2.01 g/kg 氧化钙处理的病原菌数量与对照差异达到 10 倍的数量级,说明氧化钙的施加能杀死部分连作西瓜土壤中的西瓜专化型尖孢镰刀菌,在一定程度上减轻了西瓜枯萎病的发生,这也与方组柽[19]利用石灰处理水稻,减少稻纹枯菌的数量,减轻稻纹枯病的发生这一结论相符合。另外,我们发现,在西瓜生长过程中对照也同其他处理一样,土壤中病原菌总体呈现降低的趋势,其降低的主要原因还需要进一步研究。

土壤酸碱度直接影响着土壤中微生物生态变化动向和强度。有资料显示[20],在作物连作情况下,由于植物根系在生长过程中会分泌一些酸性物质,随着连作时间的延长,土壤酸度越来越高。而土壤中存在着大量只适合生长在 pH 为 6.5～7.5 的中性环境条件下的有益微生物,随着土壤 pH 降低,这些微生物的种类和活性都随之降低,土壤趋于真菌化[9],病害的发生加重。刘炳君等[21]利用石灰调节茶园 pH,酸性土壤 pH 经调节提高 1～2,引起土壤细菌数量增加 10 倍以上,而真菌数量随 pH 的增加而减少。本试验土壤为 5 年西瓜连作土,土壤酸化严重,pH 保持在 5.0～5.5 之间,前期研究发现利用石灰氮[22]、生物炭[23]等物质均能有效提高土壤 pH,达到减轻枯萎病发生的效果,还能促进植物的生长

发育。班洁静等[24]通过设置不同 pH 梯度，研究土壤 pH 对芸薹根瘤菌侵染及病害发生的影响，研究发现，pH 为 5.0 的处理病情指数与发病率最高，根部肿大，pH 为 6.0 的处理病情指数与发病率明显降低，且根系生长健康，根部肿大不明显。姚燕来等[25]通过实验室模拟试验，发现尖孢镰刀菌黄瓜专化型在酸性土壤中增殖速率显著提高，而中性或碱性土壤中增殖速率较低。在本研究中，氧化钙处理对土壤的 pH 改变有一定效果，并且土壤病原菌数量结果显示，在定植 40 d 时，1.34、1.67 及 2.01 g/kg 浓度氧化钙处理土壤病原菌孢子数量均降低至 10^3 数量级，发病较轻。前期试验表明，当土壤病原菌达到 10^3 个/g 土时，植株发病较为严重。由此可以认为土壤 pH 是影响西瓜枯萎病发生的重要环境因子之一，在中性及弱碱性条件下，不利于病原菌的侵染，但其是因为改变土壤微生物种群结构来影响病原菌的侵染，还是通过提高植株对土壤营养元素的吸收，提高抗性来降低枯萎病的发生仍需进一步研究。

土壤施加氧化钙不但提高了土壤 pH，还大大增加了土壤中钙离子含量。有研究表明，细胞质钙离子浓度的改变可调节多种细胞活动，细胞对游离钙水平升高的反应，取决于钙信号持续的时间及强度，高浓度长时间的游离钙水平升高会抑制细胞活动，促使细胞凋亡[26]。魏光等[8]在土壤施钙对水稻秧苗根系微生物影响的研究中发现，1.0%钙处理浓度对秧苗根际土壤真菌的繁殖和生长表现出明显的抑制作用。而本试验抑菌试验结果也表明，当钙离子浓度高于 80 mmol/L 时，尖孢镰刀菌西瓜专化型的生长及孢子萌发均开始受到抑制，浓度越高，抑制作用越显著。并且当钙离子浓度达到 200 mmol/L 时，尖孢镰刀菌的数量下降 2 个数量级。这也是添加氧化钙高浓度时能够降低病原菌数量，缓解西瓜枯萎病的重要原因。另外钙离子作为植物细胞内第二信使，当植物受到病原物侵染后，会诱导一系列防卫反应。在西瓜植株与病原菌互作中，是如何通过协调 Ca^{2+} 介导的反应实现最有效的免疫仍需进一步研究。

4 结论

本研究通过对酸性连作土壤进行不同浓度氧化钙处理，发现施加氧化钙能够有效防治西瓜枯萎病，降低病原菌的数量，促进西瓜植株的生长，其最佳施用量为 1.34 g/kg，最大防效为 96.3%。初步可认为防治机理为添加氧化钙提高了土壤的 pH 值，在中性及弱碱性条件下，不利于病原菌的侵染，是影响西瓜枯萎病发生的重要环境因子。此外，氧化钙的施入提高了土壤中游离钙离子浓度，高浓度的游离钙离子浓度能够抑制病原菌细胞的活动，促使细胞凋亡。

参考文献

[1] Caires E F, Garbuio F J, Churka S, et al. Effects of soil acidity amelioration by surface liming on no-till corn, soybean, and wheat root growth and yield [J]. European Journal of Agronomy, 2008, 28(1): 57-64.

[2] Lollato R P, Edwards J T, Zhang Hailin. Effect of alternative soil acidity amelioration strategies on soil pH distribution and wheat agronomic response [J]. Soil Science Society of America Journal, 2013, 77(5): 1831-1841.

[3] Raboin L M, Rabary B, Dusserre J, et al. Improving the fertility of tropical acid soils: Liming versus biochar application? A long term comparison in the highlands of Madagascar[J]. Field Crops Research, 2016, 199: 99-108.

[4] 敖俊华，黄振瑞，江永，等. 石灰施用对酸性土壤养分状况和甘蔗生长的影响[J]. 中国农学通报，2010，26(15)：266-269.

[5] 蔡东，肖文芳，李国怀. 施用石灰改良酸性土壤的研究进展[J]. 中国农学通报，2010，26(9)：206-213.

[6] 王礼. 石灰氮对土壤微生物种群及黄瓜枯萎病病原菌影响的研究[D]. 杭州：浙江大学，2006.

[7] 贲海燕. 氰氨化钙防治黄瓜根腐病及对土壤微生物种群效应的研究[D]. 沈阳：沈阳农业大学，2014.

[8] 魏光. 土壤施用氧化钙防治水稻旱育秧立枯病作用及对育秧质量的影响[D]. 泰安：山东农业大学，2007.

[9] 郭晓钰，纪莉景，王亚娇，等. 主要环境及营养因素对西瓜枯萎病菌生长的影响[J]. 植物保护，2016，42(3)：151-156.

[10] Komada H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil [J]. Review of Plant Protection Research, 1975,13(4): 114-124.

[11] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京：农业出版社，1994.

[12] 王娟，刘东平，丁方丽，等. 促植物生长根际细菌 HG28-5 对黄瓜苗期生长及根际土壤微生态的影响[J]. 中国蔬菜，2016(8)：50-55.

[13] Pinkerton J N, Ivors K L, Reeser P W, et al. The use of soil solarization for the management of soilborne plant pathogens in strawberry and red raspberry production[J]. Plant Disease, 2002, 86(6): 645-651.

(下转 67 页)

and characterisation of an HD1 - like *Bacillus thuringiensis* isolate with a high insecticidal activity against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Pest Management Science, 2014, 70(8): 1192 - 1201.

[12] Bi Yang, Zhang Yanrui, Shu Changlong, et al. Genomic sequencing identifies novel *Bacillus thuringiensis* Vip1/Vip2 binary and Cry8 toxins that have high toxicity to *Scarabaeoidea* larvae [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(2): 753 - 760.

[13] Yu Yajun, Yuan Yihui, Gao Meiying. Construction of an environmental safe *Bacillus thuringiensis* engineered strain against Coleoptera [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(9): 4027 - 4034.

[14] Takahashi H, Nakaho K, Ishihara T, et al. Transcriptional profile of tomato roots exhibiting *Bacillus thuringiensis*-induced resistance to *Ralstonia solanacearum* [J]. Plant Cell Reports, 2014, 33(1): 99 - 110.

[15] Hyakumachi M, Nishimura M, Arakawa T, et al. *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato [J]. Microbes and Environments, 2013, 28(1): 128 - 134.

[16] 祁红兵, 刘铭, 李红敬. 产几丁质酶苏云金芽胞杆菌的筛选及其对甜菜夜蛾高毒菌株的增效活性[J]. 江苏农业科学, 2003, 23(6): 61 - 63.

[17] 卢伟, 赵秋敏, 陈艳玲, 等. 几丁质酶在苏云金芽胞杆菌中的分布及抑小麦赤霉菌菌株的筛选[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2007, 40(3): 97 - 101.

[18] 喻子牛. 苏云金杆菌[M]. 北京: 科学出版社, 1990.

[19] 胡荣康, 肖正, 林满红, 等. 微生物热稳定几丁质酶的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(22): 359 - 364.

[20] 孙启利, 陈夕军, 童蕴慧, 等. 地衣芽孢杆菌 W10 抗菌蛋白对油菜菌核病菌的抑制作用及防病效果[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2007, 28(3): 82 - 86.

[21] 江木兰, 赵瑞, 王国平. 油菜内生枯草芽孢杆菌 BY-2 抗油菜菌核病菌有效成分的鉴定和分离提纯[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(4): 453 - 456.

[22] 束长龙, 张风娇, 黄颖, 等. Bt 杀虫基因研究现状与趋势[J]. 中国科学:生命科学, 2016, 46(5): 548 - 555.

[23] 萨姆布鲁克, 鲁塞尔. 分子克隆实验指南[M]. 第 3 版. 黄培堂, 译. 北京: 化学工业出版社, 2008.

[24] Raddadi N, Belaouis A, Tamagnini I, et al. Characterization of polyvalent and safe *Bacillus thuringiensis* strains with potential use for biocontrol [J]. Journal of Basic Microbiology, 2009, 49(3): 293 - 303.

[25] 李力, 黄胜元, 关雄. 产几丁质酶的苏云金杆菌菌株筛选及酶合成条件研究[J]. 中国病毒学, 2000, 15(S1): 97 - 100.

[26] 韩苗苗, 肖亮, 蔡峻, 等. 一株抑真菌、对甜菜夜蛾高效的苏云金芽胞杆菌菌株[J]. 微生物学通报, 2008, 35(11): 1750 - 1754.

[27] 周国旺, 李玉红, 张圆, 等. 苏云金芽胞杆菌 LTS290 菌株抑制镰孢菌的作用[J]. 生物技术通报, 2015, 31(8): 153 - 158.

[28] Jouzani G S, Valijanian E, Sharafi R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101: 2691 - 2711.

[29] 陶树兴, 张娟妮, 郭贤, 等. 枯草芽孢杆菌 2 - 3 - 2 的抗线虫作用和产酶条件与酶特性[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2013, 41(3): 45 - 49.

[30] 黄小红, 陈清西, 王君, 等. 苏云金芽胞杆菌(*Bacillus thuringiensis*)几丁质酶的分离纯化及酶学性质[J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10(6): 771 - 773.

(责任编辑: 田　喆)

(上接 16 页)

[14] Koike S T, Gordon T R, Daugovish O, et al. Recent developments on strawberry plant collapse problems in California caused by *Fusarium* and *Macrophomina* [J]. International Journal of Fruit Science, 2013, 13(1 - 2): 76 - 83.

[15] 王素素, 杜国栋, 吕德国. 土壤高温处理对连作草莓根系呼吸代谢及植株发育的影响[J]. 果树学报, 2011, 28(2): 234 - 239.

[16] 郭修武, 李坤, 谢洪刚, 等. 连作土灭菌对葡萄生长及根系分泌特性的影响[J]. 果树学报, 2010, 27(1): 29 - 33.

[17] 肖宏, 毛志泉, 于明革, 等. 连作土与灭菌土对平邑甜茶幼苗生长发育的影响[J]. 果树学报, 2004, 21(4): 370 - 372.

[18] 侯永侠, 周宝利, 吴晓玲, 等. 土壤灭菌对辣椒抗连作障碍效果[J]. 生态学杂志, 2006, 25(3): 340 - 342.

[19] 方祖烃. 石灰抑制稻纹枯菌的效应及应用研究[J]. 安徽农业科学, 2004, 32(3): 454 - 455.

[20] 孙桂芝, 王成云. 棚室蔬菜连作障碍的成因及防治对策[J]. 现代化农业, 2016(11): 25 - 26.

[21] 刘炳君, 杨扬, 李强, 等. 调节茶园土壤 pH 对土壤养分、酶活性及微生物数量的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(32): 19822 - 19824.

[22] 张丽荣, 康萍芝, 沈瑞清. 石灰氮对设施番茄根际土壤微生物数量及产量和枯萎病的影响[J]. 西北农业学报, 2014, 23(3): 201 - 204.

[23] Oleszczuk P, Jośko I, Futa B, et al. Effect of pesticides on microorganisms, enzymatic activity and plant in biochar-amended soil [J]. Geoderma, 2014, 214 - 215(2): 10 - 18.

[24] 班洁静, 侯明生, 蔡丽. 土壤 pH 对芸薹根肿菌侵染及病害发生的影响[J]. 植物保护, 2015, 41(6): 55 - 59.

[25] 姚燕来, 黄飞龙, 薛智勇, 等. 土壤环境因子对土壤中黄瓜枯萎病致病菌增殖的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2015(1): 106 - 110.

[26] 张超, 赵芊, 张哲, 等. 植物免疫应答过程中 Ca^{2+} 及 CaM/CML 的功能[J]. 生物学杂志, 2014, 31(2): 69 - 72.

(责任编辑: 田　喆)