研 究 报 告
Research Reports

四硫代碳酸钠对蔬菜根病的防治效果及对土壤生物学性状的影响

杨 春[1]， 钟增明[2]， 孙云水[3]， 李世东[1*]， 吕平香[1]， 缪作清[1*]

(1. 中国农业科学院植物保护研究所，北京 100193；2. 北京启高生物科技有限公司，北京 100081；
3. 山东省寿光市云水农资有限公司，潍坊 262700)

摘要 为明确四硫代碳酸钠(sodium tetrathiocarbonate,STTC)在蔬菜根病防治上的应用价值及制定应用技术，本研究通过室内瓶土熏蒸法，进行了STTC对病菌的室内毒力测定；用温室盆栽法，进行植前熏蒸处理，测定土壤中病菌数量的变化和对病害的防效，同时进行植后熏蒸处理，测定药剂处理点和根际处病菌数量的变化；通过土壤施药后随即移栽幼苗的方法，评价药剂对蔬菜幼苗的安全性；通过室内模拟田间熏蒸条件，测定药剂不同浓度和熏蒸时间对土壤中主要微生物类群数量和主要土壤酶活性的影响。结果显示STTC对辣椒疫霉病菌 *Phytophthora capsici*、黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*、茄子黄萎病菌 *Verticillium dahliae*、番茄立枯病菌 *Rhizoctonia solani* 和蔬菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 均有较好的杀灭活性，LD_{50} 分别为 3.956、4.241、5.222、5.457和6.197 mg/kg；80 g/m^2 STTC移植前处理对辣椒疫霉病和黄瓜枯萎病的防效可分别达到91.01%和82.51%；浓度低于900 μg/mL的STTC对当日熏蒸后移栽的3叶期辣椒、黄瓜、番茄、白菜和油菜幼苗均表现安全；在辣椒和黄瓜生长期穴施1 200 μg/mL STTC能有效减少土壤中辣椒疫霉病菌和黄瓜枯萎病菌的数量；土壤中微生物类群数量监测结果表明，在0.1～50.0 μg/g浓度范围内，STTC对土壤真菌有强烈抑制作用，对土壤细菌和放线菌为先抑制后促进。对土壤酶活性测定结果表明，当STTC用量为0.1、1.0、5.0、10.0和50.0 μg/g时，对土壤脲酶和蔗糖酶的活性表现为先抑制后促进，对蛋白酶的活性表现为在STTC低浓度时活性增加，高浓度时为先抑制后增加。综合结果表明，STTC用于经济作物生产中的土壤熏蒸具有安全、有效和施用简便的特点，或可广泛使用。

关键词 四硫代碳酸钠； 土壤熏蒸； 真菌病害； 土壤酶

中图分类号： S 432.4 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2017395

Effects of sodium tetrathiocarbonate on vegetable root diseases and soil biological properties

YANG Chun[1]， ZHONG Zengming[2]， SUN Yunshui[3]， LI Shidong[1]， LÜ Pingxiang[1]， MIAO Zuoqing[1]

(1. *Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100193, *China*;
2. *Beijing Qigao Biological Technology Co., Ltd., Beijing* 100081, *China*; 3. *Shouguang Yunshui Agricultural Materials Co., Ltd., Weifang, Shandong* 262700, *China*)

Abstract Sodium tetrathiocarbonate (STTC) is a potential effective soil fumigant in the management of crop soilborne diseases. To evaluate its possible application in the control of greenhouse vegetable root diseases, its effects on greenhouse vegetable soilborne diseases frequently occurring in China and on soil biological properties were tested under laboratory conditions. Tests on survival rates in glass containers showed that their LD_{50}s on *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* were 3.956, 4.241, 5.222, 5.457 and 6.197 mg/kg of soil, respectively. Crop injury tests demonstrated that 3-leaf stage seedlings of tomato, pepper, cucumber, cabbage and rapeseed were not injured when they were transplanted immediately after the soil was treated with 80 mL at less than 900 μg/mL of STTC in the pots. Greenhouse trials indicated that disease indices of pepper phytophthora blight and cucumber fusarium wilt were reduced by 91.01% and 82.51%, respectively, when soil was fumigated before planting with STTC at 80 g/m^2. Populations of *P. capsici* and *F. oxysporum* in pepper and cucumber rhizospheres were reduced when treated with STTC at 1 200 μg/

收稿日期： 2017－10－17 **修订日期：** 2018－01－14
基金项目： 北京市科技计划课题(Z161100001316007)；国家公益性行业(农业)科研专项(201503112)；潍坊市引进高层次创新人才项目
* 通信作者 E-mail：sdli@ippcaas.cn；zqmiao@ippcaas.cn

mL after planting. Monitoring of soil microbial populations indicated that STTC at the concentrations from 0.1 to 50.0 μg/g greatly suppressed the populations of soil fungi, but the populations of soil bacteria and actinomyces turned to be increased after a short decline period at the beginning. Tests on enzyme activities in the soil treated with STTC at 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 μg/g indicated that the activities of soil urease and invertase were reduced at the first 20 days after treatment, and then recovered and increased from 30 to 100 days after treatment. The activity of proteinase was increased at the whole monitoring stage in the soil treated with STTC at 0.1 and 1 μg/g soil, but the activity was reduced at the first 20 days in the soil treated with STTC at 5.0, 10.0 and 50.0 μg/g soil, then increased from 21 to 100 days after treatment. This study suggested that STTC might be used extensively as an effective, safe and convenient soil fumigant in the production of highly valuable crops.

Key words　sodium tetrathiocarbonate;　soil fumigation;　fungal disease;　soil enzyme

设施栽培因可延长生产时间和实现反季节生产,目前已成为我国蔬菜生产的重要方式;但设施栽培中大面积的单一种植、连作、密植和高水肥条件等措施在利于蔬菜生产的同时,也为土传病原物的侵入、扩散和繁衍创造了条件,致使土传病害严重发生。土壤消毒是土传病害防治的最重要手段之一。溴甲烷作为一种世界上公认的高效土壤熏蒸剂,在过去数十年被广泛使用[1];由于该化合物严重影响地球生态环境,根据联合国环境规划署 1992 年发布的《蒙特利尔议定书哥本哈根修正案》,发达国家已于 2005 年、发展中国家已于 2015 年全面淘汰溴甲烷[2]。目前,寻求安全高效的溴甲烷替代品和替代技术已成为国际社会的研究热点[3-4]。

四硫代碳酸钠(sodium tetrathiocarbonate, STTC),为红色透明状液体,分子式 Na_2CS_4,25℃下蒸汽压为 3.33 kPa,水溶性好,可迅速水解为对生物体有毒害作用的二硫化碳和硫化氢。该药最先由美国 Unocal 公司开发,商品名为 Enzone[5],在美国加州主要用于葡萄、柑橘、李子、梨、樱桃、梅和玫瑰等的植前、植后土壤处理。Matheron 和 Matejka[6] 的研究证明,穴施浓度为 4 900 μg/mL 的 STTC 溶液 200 mL 能有效杀死土壤中辣椒病残组织中的辣椒疫霉病菌 *Phytophthora capsici* 菌丝体,并能有效控制辣椒幼苗根腐病和颈腐病的发生。Giannakou 等[7] 的研究表明,植前棉隆熏蒸处理后每间隔 20 d 再用 2.26 mL/m² STTC 浇灌处理能有效控制根结线虫 *Meloidogyne* spp. 的发生。Adaskaveg 等[5] 的研究表明,在植前和植后分别用浓度为 3 850 mg/3m² 和 500 mg/3m² STTC 溶液 189 L 处理桃树根围土,均能显著抑制 0.3～1.2 m 深根段处的蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm. 增殖。该熏蒸剂在美国已有注册[8],但在我国目前还没有正式登记,而且只有少量相关的应用和研究报道[9-10]。

黄瓜、辣椒和番茄等是我国保护地的主栽蔬菜,长期连作加重了枯萎病、疫病等蔬菜根部病害,影响了蔬菜的集约化生产,因此寻求有效的防治药剂和措施成为了学者的关注重点。从 20 世纪 50 年代以来,人们就开始关注农药与微生物关系,而农药对土壤微生物及酶活性的影响,已成为评价农药生态安全性的一个重要指标,也为农药的合理施用提供了参考。本研究通过室内活性测定、温室药效试验及对土壤生物学性状的影响评价,明确 STTC 对主要蔬菜根病的控制效果及对土壤的环境效应,为该药剂在我国的推广和合理使用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料

供试土壤:试验用自然土壤采自中国农业科学院东门外白菜地(东经 116°20′31″,北纬 39°58′12″),土壤 pH 为 8.40,有机质含量 41.25 g/kg,全氮 1.96 g/kg,速效钾 170.33 mg/kg,速效磷 125.19 mg/kg。辣椒疫霉病土和黄瓜枯萎病土由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。

供试菌株和种子:番茄立枯病菌 *Rhizoctonia solan* Kühn、茄子黄萎病菌 *Verticillium dahliae* Kleb.、蔬菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)de Bary、辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* L. 和黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumerinum* (Owen)均由本实验室分离保存。'中农 16 号'黄瓜、'中椒 8 号'辣椒、'中杂 9 号'番茄、中蔬牌白菜和绿金蓝牌油菜种子均购自中国农业科学院蔬菜花卉所蔬菜种子门市部。

供试培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar,PDA):马铃薯 200 g、琼脂粉 18 g、葡萄糖 20 g、蒸馏水 1 000 mL。马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose,PD):马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、

蒸馏水 1 000 mL。尖孢镰刀菌培养基:A:磷酸氢二钾 2 g、硫酸镁 1 g、*L*-天门冬酰胺 4 g、葡萄糖 40 g、琼脂 30 g;B:乙二胺四乙酸铁钠盐 0.02 g、十水合硼酸钠 2 g、牛胆盐 1 g、硫酸链霉素 1 g、五氯硝基苯(pentachloronitrobenzene, PCNB)1.5 g。成分 A 加入 1 900 mL 蒸馏水中灭菌后备用,成分 B 加入 100 mL 无菌水中备用。疫霉菌培养基:A:葡萄糖 40 g、琼脂 35 g;B:五氯硝基苯 0.15 g、利福平 0.02 g、氯霉素 0.03 g。成分 A 加入 1 900 mL 蒸馏水中灭菌后备用,成分 B 加入 100 mL 无菌水中备用。病菌扩大培养用固体培养基(稻壳:麦麸:玉米粉=3:1:0.5 混合后,调节含水量达 35%,装入棉纱缸湿热灭菌 30 min)。

试剂和仪器:31.5%的 STTC 液剂和 98%的棉隆(dazomet)粉剂,均由上海金山实验化工厂生产。GA110 万分之一电子天平,德国赛多利斯公司;SPX 型智能生化培养箱,宁波江南仪器厂;101A-2 电热鼓风干燥箱,上海市实验仪器总厂;DHZ-DA 全温振荡培养箱,太仓市豪诚实验仪器制造有限公司。

1.2 方法

1.2.1 STTC 对病菌的室内毒力测定

将活化后的番茄立枯病菌在 PDA 平板上 26℃培养 5~6 d 后,连同培养基一起接入 161℃干热灭菌 5 h 的试验用自然土壤中,每皿接 400 g 土,混匀。将活化后的茄子黄萎病菌和蔬菜菌核病菌分别在 PD 液体培养基中 26℃、180 r/min 振荡培养 4~5 d,然后接入灭菌试验用自然土壤中,每瓶接 400 g 土,混匀。上述 3 种人工配制的带菌土以及辣椒疫霉病土和黄瓜枯萎病土各取 200 g,分别装入 450 mL 棉纱缸内,然后将 STTC 按有效成分以重量比加入到 5 种带菌土壤中,共设 20.00、10.00、5.00、2.50、1.25 mg/kg 5 个处理,5 种带菌土壤分别设不加药剂为对照,每处理 3 次重复。将处理好的棉纱缸置于 25℃生化培养箱内熏蒸 3 d 后敞气 2 d,然后测定各病菌的群体数量。黄瓜枯萎病菌用尖孢镰刀菌培养基,参照 Komada[11]的方法测定;辣椒疫霉病菌用疫霉菌培养基,参照 Masago 等[12]的方法测定;其他病菌用 PDA 培养基,通过稀释平板法测定。以药剂质量分数(mg/kg)值为自变量 x,以校正死亡率概率值为因变量 y,分别建立毒力回归方程,计算药剂的抑制中量 LD_{50} 和 95%置信限。

1.2.2 STTC 对黄瓜枯萎病和辣椒疫霉病的防效评价

带菌土的准备:将在病菌扩大培养用固体培养基上 25~30℃培养 10 d 的黄瓜枯萎病菌和辣椒疫霉病菌按 3%(*W*/*W*)的接种量分别均匀混入到试验用自然土壤中。将育好的黄瓜苗和辣椒苗分别移栽于上述病土后置于中国农业科学院廊坊试验基地的日光温室中。待完全发病后拔掉病苗留病土备用。

植前熏蒸处理和结果调查:将上述带菌土装入长 90 cm、宽 40 cm 的大塑料盒,为模拟田间耕作层厚度,土层厚度为 25 cm;土壤设置 5 个处理,即施用 STTC 40、50 和 80 g/m^2、棉隆 30 g/m^2 和无药处理(对照);将各处理的药剂均匀施入土壤后,覆盖薄膜熏蒸 15 d,然后揭膜和松土;敞气 7 d 后,将处理过的土壤分装至直径 18 cm、高度 15 cm 的花盆中,然后分别移栽生长一致的 3 叶期辣椒和黄瓜幼苗;每处理 8 盆,每盆 2 株,重复 3 次。辣椒于植前熏蒸处理后第 10 天、黄瓜于植前熏蒸处理后第 30 天调查发病情况,黄瓜枯萎病病情分级标准参考段广荣等[13]的分级标准,辣椒疫霉病病情分级标准参考刘乐涛等[14]的分级标准。病情指数=∑(各级病株数×相对级数的代表值)/(总株数×4)×100;防治效果=(对照平均病情指数-处理平均病情指数)/对照平均病情指数×100%。同时分别采集各处理土壤测定病菌数量,计算病菌减退率。病菌减退率=(对照菌落数-处理菌落数)/对照菌落数×100%。

植后熏蒸处理和结果调查:将上述带菌土装入长 90 cm、宽 40 cm 的大塑料盒,分别移栽长势一致的 3 叶期黄瓜和辣椒幼苗,行间距 20 cm,共 2 行,每行 7 株;移栽 5 d 后,在距植株主根 10 cm 处开直径 7 cm、深度 8 cm 穴,注入 1 200 μg/mL STTC 液剂 200 mL,对照为注入 200 mL 自来水;每处理 14 株,重复 3 次。处理前、处理后 5 d 和 10 d 分别取处理点和根际处土样,分别测定处理点和根际处病菌数量,并分别计算处理点和根际处在处理后的病菌减退率。

1.2.3 STTC 对蔬菜幼苗的安全性评价

将试验用自然土壤装入直径 13 cm、高 11 cm 花盆中;将 31.5%的 STTC 液剂分别配制成浓度为 100、300、500、700、900、1 200 和 1 500 μg/mL 的稀释液,并分别浇灌花盆土,每盆 80 mL。约 3~4 h 后,待药液完全被土壤吸收,随即带基质移栽番茄、黄瓜、辣椒、白菜、油菜的 3 叶期幼苗。先用少量丙酮溶解 98%的棉隆,再配制成 100、300 和 500 μg/mL 的稀释液,以棉隆稀释液处理为药剂对照;以自来水处理为空白对照。每处理 15 株,重复 3 次。移栽 1 周后调查 5 种蔬菜幼苗的受药害情况。

1.2.4 STTC 对土壤微生物和土壤酶活性的影响试验

将每份重 200 g 的风干试验用自然土壤分别装入 6 个广口瓶中,加入 31.5%的 STTC 使其在土壤

中的浓度分别为 0、0.1、1.0、5.0、10.0 和 50.0 μg/g,调节土壤含水量至田间最大持水量的 60%后,密封置于 25℃生化培养箱中培养。定期调节土壤含水量,使之保持恒定。培养 10 d 开启广口瓶敞气,以模拟田间熏蒸条件。在培养的第 1、4、7、15、21、30 和 100 天取样检测真菌、细菌和放线菌的数量,以及土壤脲酶、蔗糖酶和蛋白酶活性。真菌、细菌和放线菌的数量分别采用马丁氏、牛肉膏蛋白胨和高氏一号培养基稀释平板法测定[15]。土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定,蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定,蛋白酶活性采用茚三酮显色比色法[16]测定。试验重复 3 次,每样品重复测定 4 次。

1.3　数据分析

用 Excel 2003 进行统计,数据的差异显著性检验采用 SPSS 17.0 软件的 Duncan 氏新复极差法在 0.05 水平进行分析;毒力回归分析采用 SPSS 17.0 软件中的 Probit 过程。

2　结果与分析

2.1　STTC 对病菌的室内毒力测定结果

STTC 对辣椒疫霉病菌、黄瓜枯萎病菌、茄子黄萎病菌、番茄立枯病菌和蔬菜菌核病菌的 LD_{50} 分别为 3.956、4.241、5.222、5.457、6.197 mg/kg,表明 STTC 对这 5 种土传病原真菌均有较好的杀灭活性(表 1)。

表 1　STTC 对 5 种土传病原真菌的毒力[1)]

Table 1　Toxicity of sodium tetrathiocarbonate against five soilborne fungi

病菌 Pathogen	毒力回归方程 Toxicity regression equation	抑制中量/mg·kg^{-1} LD_{50}	95%置信限/mg·kg^{-1} 95% Fiducial limit
辣椒疫霉病菌 *Phytophthora capsici*	$y=4.651\ 9+0.928\ 9x$	3.956	3.492～4.458
黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	$y=4.068\ 0+1.485\ 3x$	4.241	3.509～5.082
茄子黄萎病菌 *Verticillium dahliae*	$y=4.012\ 0+1.409\ 7x$	5.222	3.470～7.917
番茄立枯病菌 *Rhizoctonia solani*	$y=3.487\ 6+2.018\ 6x$	5.457	4.896～6.084
蔬菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*	$y=4.301\ 4+1.642\ 9x$	6.197	5.516～6.670

1) x 为药剂 STTC 质量分数(mg/kg);y 为病菌校正死亡率概率值。
x is the mass fraction of STTC (mg/kg). y is the probability value of pathogen corrected mortality.

2.2　STTC 对黄瓜枯萎病和辣椒疫霉病的防治效果

2.2.1　STTC 植前熏蒸处理的防治效果

STTC 用量为 80、50 和 40 g/m^2 的 3 个处理对辣椒疫霉病菌有很好的杀灭效果,且杀灭效果随着用量的增加而提高,在用量为 80 g/m^2 时辣椒疫霉病菌的减退率可达到 95.89%,对辣椒疫霉病的防效达 91.01%,高于对照药剂棉隆的防效。STTC 的 3 个用量处理对黄瓜枯萎病菌种群数量和黄瓜枯萎病的发生均有一定的抑制作用,当用量为 80 g/m^2 时黄瓜枯萎病菌的减退率达 88.64%,对枯萎病的防治效果达 80%以上,与对照药剂棉隆的防效无显著差异(表 2)。

表 2　STTC 植前熏蒸处理后土壤中病菌的数量变化及防效[1)]

Table 2　Populations of *Phytophthora capsici* and *Fusarium oxysporum* and control efficiency after STTC pre-planting fumigation

病害 Disease	处理 Treatment	用量/g·m^{-2} Dosage	菌落数/cfu·g^{-1} Colony forming unit	病菌减退率/% Reduction rate	病情指数 Disease index	防治效果/% Control efficacy
辣椒疫霉病 Pepper Phytophthora blight	STTC	80	(101±7)d	(95.89±0.28)a	(2.61±0.91)d	(91.01±2.70)a
		50	(398±15)c	(83.79±1.23)c	(5.73±0.91)c	(80.09±2.01)b
		40	(800±24)b	(67.42±2.40)d	(11.98±0.90)b	(58.02±4.80)c
	Dazomet	30	(330±4)c	(86.58±0.48)b	(4.69±1.56)cd	(83.63±5.07)b
	CK	0	(2 461±111)a	—	(28.65±1.92)a	—
黄瓜枯萎病 Cucumber Fusarium wilt	STTC	80	(153±1)d	(88.64±0.04)a	(4.16±0.89)d	(82.51±0.04)a
		50	(390±17)c	(70.96±0.24)b	(8.33±2.39)c	(64.48±0.13)b
		40	(607±12)b	(54.63±0.57)c	(14.06±1.57)b	(40.39±0.12)c
	Dazomet	30	(97±10)d	(92.76±0.10)a	(2.61±0.91)d	(88.73±0.05)a
	CK	0	(1 350±143)a	—	(23.96±2.95)a	—

1) 表中数据为平均数±标准差。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± SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2.2 STTC 植后熏蒸处理对病菌的杀灭效果

施药 5 d 后，主根根际和处理点土壤中辣椒疫霉病菌数量分别降低 27.06%和 53.08%，施药 10 d 后，主根根际和处理点土壤中辣椒疫霉病菌的减退率分别为 57.76%和 62.81%，两者数值逐渐接近；施药 5 d 后，主根根际和处理点土壤中黄瓜枯萎病菌的减退率分别为 21.15%和 44.96%，施药 10 d 后，减退率分别为 50.98%和 55.81%，两者数值同样逐渐接近。而对照土壤中辣椒疫霉病菌和黄瓜枯萎病菌的数量都在不断增加，说明植后施用 STTC 可以明显降低土壤中辣椒疫霉病菌和黄瓜枯萎病菌的种群数量(表 3)。

表 3 STTC 植后熏蒸处理对土壤中不同位点辣椒疫霉病菌和黄瓜枯萎病菌数量的影响

Table 3 Populations of *Phytophthora capsici* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* after STTC treatment of post-planting soil

病菌类型 Pathogen	处理 Treatment	处理前 Before treatment		处理 5 d 后 5 d after treatment				处理 10 d 后 10 d after treatment			
		根际处 Rhizosphere	处理点 Treatment site	根际处 Rhizosphere		处理点 Treatment site		根际处 Rhizosphere		处理点 Treatment site	
		菌落数 cfu	菌落数 cfu	菌落数 cfu	病菌减退率/% Reduction	菌落数 cfu	病菌减退率/% Reduction	菌落数 cfu	病菌减退率/% Reduction	菌落数 cfu	病菌减退率/% Reduction
辣椒疫霉病菌 *P. capsici*	STTC	1 925	1 780	1 404	27.06	835	53.08	813	57.76	676	62.81
	CK	2 158	1 845	2 462	—	2 400	—	2 980	—	3 067	—
黄瓜枯萎病菌 *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	STTC	1 324	1 290	1 044	21.15	710	44.96	649	50.98	570	55.81
	CK	1 040	1 060	1 310	—	1 285	—	1 740	—	1 692	—

2.3 STTC 的安全性评价

STTC 对植物的毒性相对较低，在浓度 900 μg/mL 以下，处理当日移栽，1 周后对供试的 5 种蔬菜 3 叶期幼苗均是安全的。其中，辣椒幼苗的耐受浓度达 1 200 μg/mL，番茄和黄瓜的耐受浓度达 900 μg/mL，白菜和油菜的耐受浓度为 700 μg/mL。而在对照药剂棉隆 100 μg/mL 处理即出现了明显的药害症状(表 4)。

表 4 药剂处理土壤后当日移栽对蔬菜幼苗的药害情况1)

Table 4 Injuries of vegetable seedlings planted immediately after treatment with STTC and dazomet

药剂 Fumigant	用量/μg·mL^{-1} Dosage	番茄 Tomato	黄瓜 Cucumber	辣椒 Pepper	白菜 Cabbage	油菜 Rapeseed
STTC	100	−	−	−	−	−
	300	−	−	−	−	−
	500	−	−	−	−	−
	700	−	−	−	−	−
	900	−	−	−	+−	+−
	1 200	+−	+−	−	+	+
	1 500	+−	+	+−	+	+
棉隆 dazomet	100	+−	+	+−	+−	+−
	300	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	+	+

1) 表中“+”、“−”和“+−”分别表示叶片有明显焦黄枯萎、无明显焦黄枯萎和部分叶片有焦黄枯萎等药害症状。
“+”,“−” and “+−” indicate that all seedlings, no seedlings and a part of seedlings with leaf yellowing and wilting, respectively.

2.4 STTC 对土壤微生物和土壤酶活性的影响

2.4.1 STTC 对土壤微生物数量的影响

在处理后早期(第 1～4 天)随着 STTC 在土壤中浓度的增加，细菌的数量显著下降，其中 50.0 μg/g 处理 4 d 后与对照相比下降幅度达 82.08%。但随着时间的推移，各处理土壤中细菌的数量逐步恢复，0.1、1.0 和 5.0 μg/g 的 3 个浓度处理在第 7 天开始增加，10.0 和 50.0 μg/g 的 2 个浓度处理在第 15 天开始增加，21 d 后大部分显著高于对照($P<0.05$)，其中 0.1、1.0 和 5.0 μg/g 的 3 个浓度处理的土壤中细菌数量较对照分别提高 21.61%、42.58%和 54.84%。处理 100 d 后，各浓度 STTC 处理土壤中

细菌的数量均显著高于对照($P<0.05$,表 5)。

除 0.1 μg/g 浓度处理在第 1 天的土壤真菌数量与对照无显著差异外,其他浓度处理在各时段的土壤真菌数量均显著低于对照($P<0.05$),且随着 STTC 浓度的增加土壤真菌的减少幅度逐步增大。当浓度为 50.0 μg/g 时,处理后前 7 d 内土壤真菌的检出数非常低,群体数量下降几近 100%。处理后 100 d,各处理土壤中真菌种群虽有所恢复,但仍显著低于对照($P<0.05$,表 5)。

表 5　STTC 处理后对不同土壤微生物类群数量的影响[1)]

Table 5　Effects of STTC on the populations of different groups of soil microbes

微生物类群 Type of microbe	浓度/μg·g^{-1} Concentration	处理后菌落数/cfu·g^{-1} cfu after treatment						
		1 d	4 d	7 d	15 d	21 d	30 d	100 d
细菌/×10^6 cfu·g^{-1} Bacterium	0.0	(190±15)a	(173±12)a	(283±13)a	(321±11)bc	(310±18)e	(330±14)d	(210±12)c
	0.1	(158±15)b	(117±13)b	(234±12)b	(295±19)cd	(377±12)c	(380±12)bc	(251±18)b
	1.0	(130±16)bc	(100±8)bc	(191±9)c	(394±16)a	(442±15)b	(400±23)ab	(312±12)a
	5.0	(102±16)cd	(77±16)cd	(104±8)d	(359±19)ab	(480±19)a	(433±14)a	(290±13)a
	10.0	(111±10)c	(60±9)d	(51±11)e	(338±16)b	(350±15)cd	(368±21)bcd	(261±12)b
	50.0	(75±13)d	(31±7)e	(86±12)d	(267±27)d	(330±12)de	(357±17)cd	(240±10)b
真菌/×10^3 cfu·g^{-1} Fungus	0.0	(83±6)a	(95±9)a	(90±7)a	(86±10)a	(94±7)a	(86±11)a	(80±8)a
	0.1	(72±6)ab	(68±7)b	(56±6)b	(50±11)b	(55±3)b	(58±9)b	(63±9)b
	1.0	(63±6)b	(52±8)c	(36±5)c	(30±4)c	(40±5)c	(48±11)bc	(56±9)bc
	5.0	(40±7)c	(34±3)d	(29±9)c	(22±5)c	(28±6)c	(37±6)cd	(50±4)bcd
	10.0	(20±2)d	(13±2)e	(5±2)d	(7±3)d	(11±5)d	(26±9)de	(44±5)cd
	50.0	(1±0)e	(0±0)f	(0±0)d	(2±2)d	(8±3)d	(15±5)e	(35±9)d
放线菌/×10^4 cfu·g^{-1} Actinomyces	0.0	(253±17)a	(241±13)a	(267±9)a	(283±14)a	(264±16)bc	(290±20)b	(240±29)b
	0.1	(231±13)a	(212±18)b	(225±2)b	(254±14)ab	(287±16)ab	(308±24)ab	(283±9)a
	1.0	(219±13)a	(206±14)b	(200±12)b	(232±23)bc	(317±9)a	(342±11)a	(291±19)a
	5.0	(171±19)b	(129±11)c	(141±17)c	(205±22)c	(238±16)cd	(320±9)ab	(299±2)a
	10.0	(100±13)c	(75±4)d	(42±11)d	(147±14)d	(210±13)de	(309±17)ab	(272±18)ab
	50.0	(61±15)d	(22±7)d	(15±4)e	(90±9)e	(182±14)e	(295±11)b	(265±15)ab

1) 表中数据为平均数±标准差。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±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

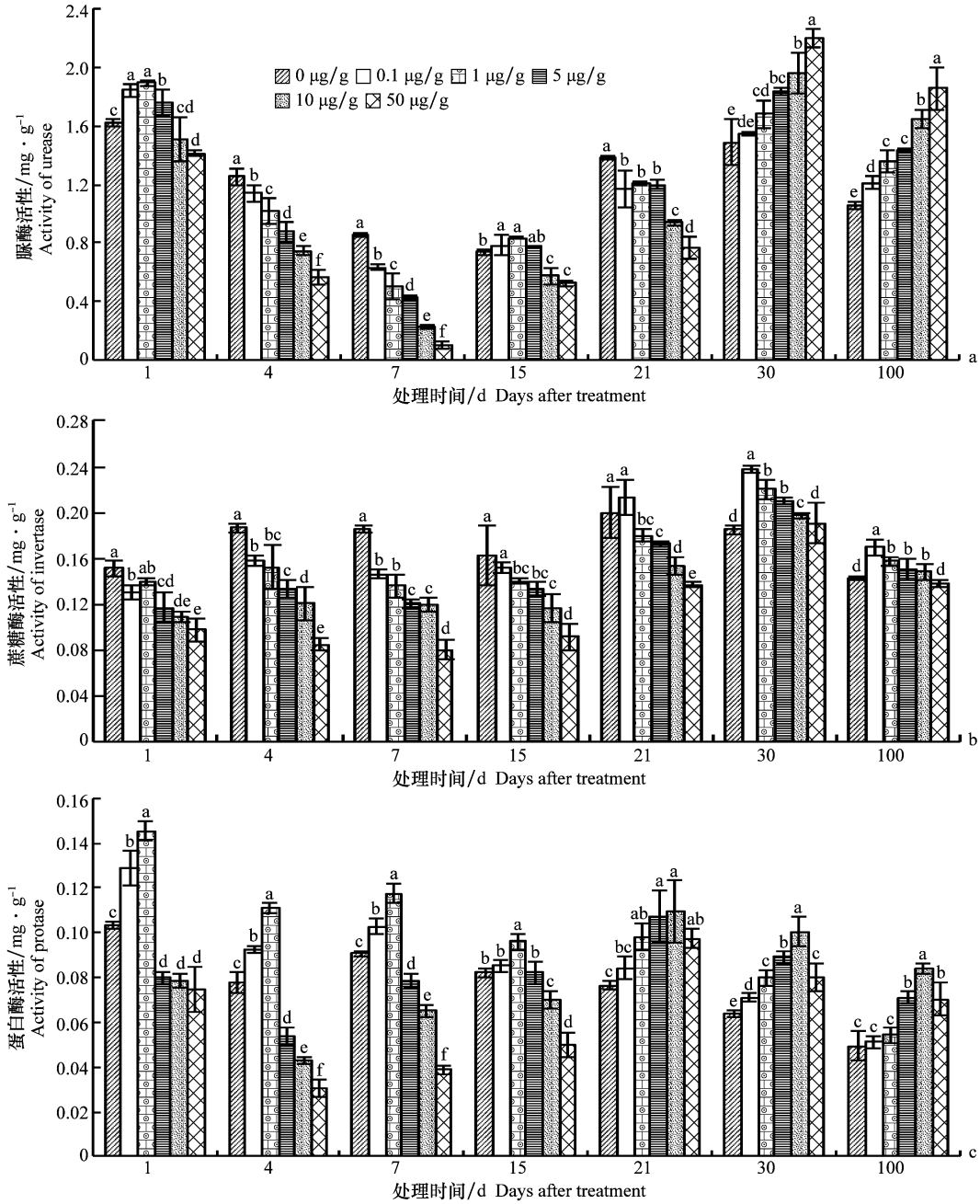
处理后各时段土壤放线菌数量变化与细菌数量变化有相似之处。在处理后早期(第 1～4 天),各处理土壤中放线菌数量均有所下降,且随着 STTC 处理浓度的增加下降幅度增大,其中,浓度为 10.0 和 50.0 μg/g 的处理后第 7 天土壤中放线菌的数量与对照相比分别下降 84.27%和 94.38%。但随时间的延长,各处理中放线菌的数量均逐步恢复,甚至高出对照。处理 100 d 后,浓度为 0.1、1.0、5.0、10.0 和 50.0 μg/g 的处理土壤中,放线菌的数量分别比对照增加 17.92%、21.25%、24.58%、13.33%和 10.42%(表 5)。

2.4.2　STTC 处理对土壤酶活性的影响

与对照相比,0.1、1.0 和 5.0 μg/g 处理的脲酶活性除在第 1 天略有升高外,其余各处理后的前 7 d 均显著降低($P<0.05$),而且随着用药浓度的增加,尿酶活性的降低程度越高,在第 7 天时 50.0 μg/g 处理的土壤中脲酶活性最小,与对照相比活性降低 88.27%。但随着时间的推移,各处理中脲酶活性均不断上升,处理后 30 d 时达最大,且均高于对照,其增加的幅度与处理浓度呈正相关。处理后 100 d,各处理的脲酶活性仍显著高于对照($P<0.05$)(图 1a)。

在处理后的前 15 d,各浓度处理对蔗糖酶活性均表现抑制作用,且随着药剂浓度的增加蔗糖酶活性降低,其中第 15 天时 50.0 μg/g 处理与对照相比活性降低 43.70%。但从处理后 21 d 开始,各处理的蔗糖酶活性开始逐步升高,最终超过对照或与对照持平(图 1b)。

0.1 和 1.0 μg/g 浓度在处理 1～7 d 可显著增加蛋白酶活性,其中,处理后 4 d 蛋白酶活性分别比对照增加 18.77%、42.42%($P<0.05$)。5.0、10.0 和 50.0 μg/g 处理,土壤蛋白酶活性在处理后 4 d 内呈先降低趋势,但处理后 7 d 开始,3 个处理的蛋白酶活性逐步升高,并在处理后 21 d 开始显著高于对照($P<0.05$,图 1c)。



数据为平均值±标准差。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±SD. Different letters in the same group indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test

图 1 STTC 处理对土壤脲酶(a)、蔗糖酶(b)、蛋白酶活性(c)的影响

Fig. 1 Effects of sodium tetrathiocarbonate treatment of soil on the activities of urease (a), invertase (b) and proteinase (c)

3 讨论

通过 STTC 对重要病菌的室内毒力测试，证明了 STTC 对不同土传病原真菌均有很好的灭生活性，从所测得的 LD_{50} 可以看出，本研究中 STTC 毒杀病菌的浓度均比较低，与 Matheron 和 Matejka[6] 的研究结果，有效杀死土壤中辣椒病残组织中的辣椒疫霉病菌的 STTC 浓度为 4 900 μg/mL 相比，相差较大，可能与需要较高浓度药剂来扩散到植物组织有关。

植前熏蒸处理结果表明，不同的 STTC 用量对土壤中辣椒疫霉病菌和黄瓜枯萎病菌的数量有显著

影响,用量越大病菌数减退越显著,对辣椒疫霉病和黄瓜枯萎病的防效越明显。植后熏蒸处理后,随着时间延长,对土壤病菌的作用逐渐减弱,表现为植株主根际和处理点的病菌减退率逐渐接近,这与棉隆在土壤中的作用效果基本一致[17]。

一直以来,STTC 被作为土壤熏蒸剂来研究的另外一个突出优点就是其对作物有很好的安全性[5, 9-10],本研究进一步证明了这一点,当日移苗后在用量为 700 μg/mL 以下时,对全部供试作物均表现出很好的安全性,而目前常用的土壤处理药剂 dazomet 在相同条件下的安全用量还不到 100 μg/mL。STTC 处理后随即移栽蔬菜幼苗,说明 STTC 在某些蔬菜生长期中进行根围处理也是可行的,不仅能有效降低根际土中的病菌数量,而且不会影响作物正常生长,此结果与马承铸等[10]的研究结果基本一致。

范昆等[18]的研究表明,氯化苦熏蒸土壤 1 周后,细菌数量有所下降,随后又明显上升,且大大超过未处理土壤中细菌的数量。本研究结果也有类似趋势,在处理后的早期细菌数量显著降低,但 15 d 后其数量显著增加,并逐步超过对照。放线菌的受抑程度尽管大于细菌,但其种群数量的变化规律与细菌的基本相似,总体呈现先抑制后促进的趋势。其原因可能在于在施药后的初期 STTC 对于细菌和放线菌虽有一定的抑制作用,但随着药物的降解、散失或细菌(放线菌)对 STTC 耐性的增加,STTC 最终成为细菌(放线菌)的部分营养物质或者生长促进物质。Martin 等[19]的研究表明,D-D 混剂熏蒸处理土壤后大部分真菌都被杀死,2 年后某些真菌类群仍未恢复到处理前的水平;本研究中,在 STTC 处理土壤 100 d 后真菌的种群数量仍远低于对照,与前人研究结果趋势一致。细菌与真菌数量的比值(B/F)是表征土壤肥力的一个潜在指标[20],土壤中细菌数量增加真菌数量减少,以示土壤由“真菌型”病土向“细菌型”健康土转变[21],本研究结果表明 STTC 处理土壤将有利于土壤健康。

土壤脲酶、蛋白酶和蔗糖酶分别催化土壤中尿素、蔗糖和蛋白质的水解,参与土壤中氮和碳素营养的转化[22]。已有研究表明一些农药可影响土壤酶的活性,并可作为土壤农药污染状况的指标之一[23-25]。本研究中 STTC 处理土壤对所测定的 3 种酶的活性均有显著影响。主要表现在处理后的早期 3 种酶的活性随 STTC 浓度的增加而受抑程度增加,但随着时间的推移该 3 种酶的活性普遍高出对照。这一趋势与 STTC 对土壤细菌和放线菌数量的影响趋势一致,间接说明土壤中该 3 种酶的活性可能与细菌和放线菌数量相关。

虽然本研究涉及了 STTC 对土壤中真菌、细菌和放线菌群体数量的影响,但是对于 STTC 对土壤中有益微生物或者生防微生物以及有害微生物的群体变化情况没有涉及,需要在后续研究中进一步开展相关工作,对有效控制土壤中的病原菌、保护土壤微生态具有重要意义。

参考文献

[1] 宋兆欣, 王秋霞, 郭美霞, 等. 二甲基二硫作为土壤熏蒸剂的效果评价[J]. 农药, 2008, 47(6): 454-456.

[2] UNEP MBTOC. Report of the methyl bromide technical options committee [M]. Nairobi: UNEP, 2002, 3: 43-60.

[3] BECKER J O, OHR H D, GRECH N M, et al. Evaluation of methyl iodide as a soil fumigant in container and small field plot studies [J]. Pesticide Science, 1998, 52(1): 58-62.

[4] MINUTO A, GULLINO M L, LAMBERTI F, et al. Application of an emulsifiable mixture of 1,3-dichlororopene and chloropicrin against root knot nematodes and soilborne fungi for greenhouse tomatoes in Italy[J]. Crop Protection, 2006, 25(12): 1244-1252.

[5] ADASKAVEG J E, FÖRSTER H, WADE L, et al. Efficacy of sodium tetrathiocarbonate and propiconazole in managing *Armillaria* root rot of almond on peach rootstock [J]. Plant Disease, 1999, 83(3): 240-246.

[6] MATHERON M E, MATEJKA J C. Comparative activities of sodium tetrathiocarbonate and metalaxyl on *Phytophthora capsici* and root and crown rot on chile pepper [J]. Plant Disease, 1995, 79(1): 56-59.

[7] GIANNAKOU I O, KARPOUZAS D G, PROPHETOU-ATHANASIADOU D. A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes [J]. Applied Soil Ecology, 2004, 26(1): 69-79.

[8] WEBER E, GRANETT J, DE BENEDICTIS J, et al. Enzone does little to improve health of phylloxera-infested vineyards [J]. California Agriculture, 1996, 50(4): 19-23.

[9] 马承铸,李世东,缪作清,等.有机硫熏蒸剂在设施蔬菜土壤生物污染治理中应用效果评估[J].上海农业学报,2009, 25(4): 41-46.

[10] 马承铸, 李世东, 缪作清, 等. 在蔬菜作物生长期中二硫氰基甲烷和四硫代碳酸钠处理根围土壤的安全性和效果研究[J]. 上海农业学报, 2011, 27(1): 28-32.

[11] KOMADA H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil [J]. Review of Plant Protection Research, 1975, 8: 114-124.

(下转 59 页)

problems of urban greenery and relative trends in defence [J]. Informatore Fitopatologico, 1997, 47: 23 - 27.

[13] MILEVOJ L. The occurrence of some pests and diseases on horse chestnut, plane tree and Indian bean tree in urban areas of Slovenia [J]. Acta Agriculture Slovenica, 2004,83:297 - 300.

[14] CRAVEDI P. Organisms harmful to plants in the city [J]. Informatore Fitopatologico, 2000, 50: 7 - 8.

[15] BRUCE T J A, WADHAMS L J, WOODCOCK C M. Insect host location: A volatile situation [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(6): 269 - 274.

[16] SONG H G, KWON J Y, HAN H S, et al. First contact to odors: Our current knowledge about odorant receptors [J]. Sensors, 2008, 8(10): 6303 - 6320.

[17] CLYNE P J, WARR C G, Freeman M R, et al. A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in *Drosophila* [J]. Neuron, 1999, 22(2): 27 - 338.

[18] MOMBAERTS P. Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors [J]. Science, 1999, 286(5440): 707 - 711.

[19] STORTKUHL K F, KETTLER R. Functional analysis of an olfactory receptor in *Drosophila melanogaster* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(16): 9381 - 9385.

[20] BENTON R, SACHSE S, MICHNICK S W, et al. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo* [J]. PLoS Biology, 2006, 4: e20.

[21] NAKAGAWA T, PELLEGRINO M, SATO K, et al. Amino acid residues contributing to function of the heteromeric insect olfactory receptor complex [J]. PLoS ONE, 2012, 7: e32372.

[22] NEUHAUS E M, GISSELMANN G, ZHANG W, et al. Odorant receptor heterodimerization in the olfactory system of *Drosophila melanogaster* [J]. Nature Neuroscience, 2005, 8: 15 - 17.

[23] LARSSON M C, DOMINGOS A I, JONES W D, et al. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction [J]. Neuron, 2004, 43: 703 - 714.

[24] ZHAO Y Y, LIU F, YANG G, et al. PsOr1, a potential target for RNA interference-based pest management [J]. Insect Molecular Biology, 2011, 20: 97 - 104.

[25] DOBRITSA A A, NATERS WVDGV, WARR C G, et al. Integrating the molecular and cellular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna [J]. Neuron, 2003, 37: 827 - 841.

[26] JONES P L, PASK G M, RINKER D C, et al. Functional agonism of insect odorant receptor ion channels [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(21): 8821 - 8825.

[27] JONES P L, PASK G M, ROMAINE I M, et al. Allosteric antagonism of insect odorant receptor ion channels [J]. PLoS ONE, 2012, 7 (1): e30304.

[28] SISI C, LUETJE C W. Identification of new agonists and antagonists of the insect odorant receptor co-receptor subunit [J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e36784 - e36784.

(责任编辑: 田　喆)

(上接 27 页)

[12] MASAGO H, YOSHIKAWA M, FUHADA M, et al. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soil and plants [J]. Phytopathology, 1977, 77(3): 425 - 428.

[13] 段广荣, 石延霞, 谢学文, 等. 黄瓜枯萎病防治药剂的离体和活体筛选[J]. 中国蔬菜, 2010(12):60 - 65.

[14] 刘乐涛, 曹远银, 肖淑芹. 辣椒疫病拮抗菌的筛选及其防治效果研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2008,39(3): 313 - 317.

[15] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 44 - 58.

[16] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[17] 张超, 卜东欣, 张鑫, 等. 棉隆对辣椒疫霉病的防效及对土壤微生物群落的影响[J]. 植物保护学报, 2015, 42(5): 834 - 840.

[18] 范昆, 王开运, 王东, 等. 1, 3-二氯丙烯药剂对土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(2): 695 - 701.

[19] MARTIN J P, BAINES R C, ERVIN J O. Influence of soil fumigation for citrus replants on the fungus population of the soil [J]. Proceedings of the Soil Science Society of America, 1957, 21: 163 - 166.

[20] 胡江春, 薛德林, 王书锦, 等. 大豆连作障碍研究 Ⅲ. 海洋放线菌 MB-97 促进连作大豆增产机理[J]. 应用生态学报, 2002, 13(9): 1095 - 1098.

[21] 张婷, 李世东, 缪作清. "秸秆降解生防菌强化技术"对黄瓜连作土壤微生物区系的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(11): 1416 - 1425.

[22] 边雪廉, 赵文磊, 岳中辉, 等. 土壤酶在农业生态系统碳、氮循环中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(4): 171 - 178.

[23] PERUCCI P, VISCHETTI C, BATTISTONI F. Rimsulfuron in a silty clay loam soil: effects upon microbiological and biochemical properties under varying microcosm conditions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 195 - 204.

[24] 曹慧, 孙辉, 杨浩, 等. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1): 105 - 109.

[25] MORENO J L, GARCÍA C, HERNÁNDEZ T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sew age sludge [J]. European Journal of Soil Biology, 2003, 54: 377 - 386.

(责任编辑: 田　喆)