二甲基二硫的生物活性评价及对土壤养分的影响

张大琪[1]， 颜冬冬[1,2]， 李青杰[1]， 叶子园[1]， 李 园[1,2]，
欧阳灿彬[1,2]， 王秋霞[1,2]， 曹坳程[1,2*]

(1. 中国农业科学院植物保护研究所，北京 100193；2. 现代农业产业技术体系北京市创新团队，北京 100193)

摘要 采用室内生物活性测定方法，评价二甲基二硫(dimethyl disulfide，DMDS)对土壤病原线虫和土传病原菌的毒力，比较不同浓度药剂处理对土壤理化性质和土壤呼吸的影响，为探究 DMDS 作为新型土壤熏蒸剂提供切实可行性的依据。结果表明：DMDS 熏蒸对土传病原线虫和镰刀菌属的 LD_{50} 分别为 4.743 mg/kg 和 1.513 mg/kg，可见 DMDS 对病原线虫和镰刀菌有良好的生物活性。对土壤理化性质进行数据分析发现：DMDS 能显著增加土壤铵态氮含量，抑制硝化作用过程，减少 NO_3^-—N 的产生，提高植物可吸收态氮素水平。DMDS 处理的土壤有机质含量和电导率均显著高于对照土壤，而土壤 pH 和速效钾含量较对照均有降低。此外，熏蒸土壤中有效磷含量较对照减少，但两者无显著差异。对 DMDS 熏蒸后土壤进行底物诱导呼吸试验，表明 DMDS 能够在试验初期抑制土壤微生物生物量。本试验结果可为指导 DMDS 的科学使用提供理论依据及对土壤微生物活性的影响作出科学评价。

关键词 二甲基二硫； 生物活性； 线虫； 土传病原菌； 土壤养分

中图分类号： S 482.6 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2018514

Biological activity of dimethyl disulfide and its effects on soil nutrients

ZHANG Daqi[1]， YAN Dongdong[1,2]， LI Qingjie[1]， YE Ziyuan[1]， LI Yuan[1,2]，
OUYANG Canbin[1,2]， WANG Qiuxia[1,2]， CAO Aocheng[1,2*]

(1. *Institute of Plant Protection*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*;
2. *Beijing Innovation Consortium of Agriculture Research System*, *Beijing* 100193, *China*)

Abstract The toxicity of dimethyl disulfide (DMDS) to soil nematodes and soil-borne pathogens were evaluated by laboratory bioassay, and the effects of different concentrations of DMDS on soil physical and chemical properties and soil respiration were compared in order to explore the feasibility of DMDS as a new soil fumigation agent. The results showed that the LD_{50} of DMDS against soil-borne nematodes and *Fusarium* spp. were 4.743 mg/kg and 1.513 mg/kg, respectively, showing that DMDS had a good biological activity to nematodes and *Fusarium* spp. Soil physical and chemical property data indicated that DMDS could significantly increase soil ammonia nitrogen content, inhibit nitrification process, reduce the production of nitrate nitrogen, and improve the level of plant absorbable nitrogen. The contents of organic matter and electrical conductivity in the soil treated with DMDS were significantly higher than those in the control soil. The pH and available potassium content of the soil treated with fumigant were lower than those of the control. In addition, the available phosphorus content in fumigated soil was lower than that in the control, but there was no significant difference between DMDS treatments and the control. The substrate-induced respiration test of DMDS fumigation indicated that DMDS could inhibit soil microbial biomass in the early stage of the experiment. These results can provide a theoretical basis for guiding the scientific application of DMDS and making a scientific evaluation of the effect on soil microbial activity.

Key words dimethyl disulfide; biological activity; nematode; soil-borne pathogen; soil nutrient

近 10 年来，由于国际贸易往来日益频繁以及农业生产能力的不断提高，保护地作物成为了许多地方的支柱性产业，其面积也在不断扩大，增加了农民的收入。但高附加值作物反季节连年栽种 3～5 年

收稿日期： 2018-12-16 **修订日期：** 2019-04-29
基金项目： 国家自然科学基金(41601267)；国家重点研发计划(2017YFD0201600)
* 通信作者 E-mail：caoac@vip.sina.com

后土壤中土传线虫、害虫、病原菌、杂草等的数量不断累积[1]，在环境条件适宜时迅速发展蔓延危害作物，使作物减产 20%以上，严重的可导致绝收[2]。目前，土壤熏蒸被认为是防治保护地土传病虫害的一种直接、快速、有效的措施。公认的广谱、高效熏蒸剂溴甲烷(MB)对土传病、虫、草等均有较高的致死作用，可显著提高农作物产量，改善农作物品质。但溴甲烷对臭氧层有显著的破坏作用，可造成“臭氧空洞”[3]，已于 2015 年全面禁止使用[4-5]。因此，寻找与溴甲烷一样具有优良生物活性的熏蒸剂是世界农业研究领域的热点问题。二甲基二硫(dimethyl disulfide，DMDS)作为自然界存在的物质，低剂量下可以作为食品添加剂，且对臭氧层无破坏作用，现已被联合国溴甲烷技术选择委员会提为最有潜力的新型溴甲烷替代品[6]。DMDS 饱和蒸气压高(3.4 kPa)，微溶于水(2.7 g/L，20℃)[7-8]，主要以气体扩散的方式对土壤中的有害生物产生致死作用。

生姜癞皮病由南方根结线虫侵染所致，危害姜的根茎，该病害暴发时可导致生姜绝产[9]，使用溴甲烷熏蒸姜田可有效防治癞皮病[10]，但由于溴甲烷退出农业领域，所以寻找能够防治生姜癞皮病的有效药剂也成了姜农的迫切需求。而二甲基二硫(DMDS)作为国际上公认的有效溴甲烷化学替代品也逐渐进入农业科学家与农民的视野中。

另外，在研究熏蒸剂对土壤病虫害防治效果的同时，我们也应该关注熏蒸剂对土壤环境的影响。熏蒸剂直接施入土壤中可能会对土壤理化性质如 N、P、K、有机质含量以及 pH 等造成影响，从而使土壤肥力发生改变，间接影响作物的生长及产量。土壤熏蒸剂在消灭有害病原菌的同时，也可能影响土壤中微生物活性而使之发生相应变化，同时与之紧密联系的土壤养分(N、P、K、有机质等)的转化和循环也会受到影响。土壤呼吸强度是衡量土壤微生物总活性或作为土壤肥力评价的重要指标之一。在实验室无植株的土壤呼吸可视为微生物呼吸，即土壤中 CO_2 产生速率的变化反映着土壤中微生物的代谢活动强弱。相同条件下，土壤中 CO_2 呼吸速率越高则说明生活在土壤里的微生物的代谢活动越强烈[11-12]。

所以，本次试验通过测定不同浓度二甲基二硫对相关致病线虫、病原菌的活性大小以及对土壤理化性质和呼吸作用产生的影响，为二甲基二硫作为溴甲烷替代药剂的可行性提供科学依据，并对防治土传病原菌及保证高附加值作物的健康、可持续发展有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤：山东省安丘市生姜癞皮病严重发生的地块，土壤质地为黏土，土壤湿度为 9.83%。供试药剂：99%二甲基二硫(DMDS)，成都百斯特试剂有限公司；对照药剂：10%噻唑膦颗粒剂，河北中农佳瑞贸易有限公司。

1.2 试验方法

在 600 mL 的宽颈广口瓶内装 300 g 山东省安丘市采集的含有线虫和病原菌的姜田土样。DMDS 药剂质量浓度按照由高至低的顺序设定为 20、10、5、2.5、1.25、0.625 mg/kg，对照药剂 10%噻唑膦颗粒剂用量为 100 mg/kg，并设空白对照处理。每个处理重复 4 次。加药后，立即用涂有凡士林的瓶塞密封，并将广口瓶置于 25℃的培养箱培养 7 d，熏蒸结束后敞气 1 d 使残留的 DMDS 气体挥发干净。

1.3 样品采集与测定指标

将熏蒸结束的土样在瓶中混合均匀后进行土样采集，以评价 DMDS 熏蒸效果。土壤线虫 *Meloidogyne* spp. 采用刘维志[13]的方法分离测定，镰刀菌 *Fusarium* spp. 和疫霉菌 *Phytophthora* spp. 分别通过 Komada[14]和 Masago 等[15]的方法分离测定，土壤理化性质分析参照《土壤农化分析》[16]进行测定，其中 pH 测定时水土比为 1∶2.5。

1.4 DMDS 底物诱导呼吸测定

称取 10.0 g 熏蒸后新鲜土样加入 100 mL 三角瓶中，每个样品加入 60 mg 葡萄糖粉末后用带有抽气装置的橡皮塞密封，置于 28℃培养箱中培养，24 h 后用注射器抽取 10 mL 气体样品注射到顶空瓶中用电子封盖器封盖。同时抽取空气和 CO_2 标准品注射至顶空瓶中封盖，每个样品重复 4 次。采用气质联用仪(Agilent GC 6890/MS 5973)测定样品中 CO_2 含量。计算单位时间、单位质量土壤中的 CO_2 释放量，即为诱导呼吸量，以单位土壤(g)、单位时间(h)释放的 CO_2 量(μL)来表示。

CO_2 检测条件为：色谱条件，进样色谱柱为 DB-5MS(30 m×0.32 mm×20 μm)，进样口温度 200℃，采用分流进样，分流比为 1∶50，柱流量为 1.0 mL/min，载气为高纯氦气(99.999%)，柱温为 50℃，保持 5 min。质谱条件，EI 为 70 eV，传输线以及离子源

温度分别为 180℃和 230℃,采用选择性离子检测(SIM),定性离子为 44 m/z 和 28 m/z,定量离子为 44 m/z,溶剂延迟时间为 1 min。

1.5　计算方法

线虫死亡率:

$X=\frac{P_1}{P_1+P_2}\times 100\%$,$X$ 代表线虫死亡率(%),P_1 代表死亡线虫数,P_2 代表存活线虫数。

线虫校正死亡率:

$Y=\frac{X_1-X_2}{1-X_2}\times 100\%$,$Y$ 代表校正死亡率(%),X_1 代表药剂处理死亡率(%),X_2 代表空白对照死亡率(%)。

病原菌抑制率:

$X=\frac{N_1-N_2}{N_1}\times 100\%$,$X$ 代表病原菌抑制率(%),N_1 代表空白对照的菌落数,N_2 代表药剂处理病原菌数[17]。

硝化抑制率$=\frac{A-B}{A}\times 100\%$,$A$ 代表对照处理的土壤中 NO_3^-—N 含量 (mg/kg),B 代表加熏蒸剂处理的土壤中 NO_3^-—N 含量(mg/kg)[18]。

1.6　数据处理

采用 SPSS 19.0 软件对室内试验所得数据进行统计分析,单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验($P=0.05$),运用 Microsoft Excel 2003 绘制表格。

2　结果与分析

2.1　DMDS 对根结线虫及土传病菌的活性测定

从表 1 可知,DMDS 对镰刀菌属的 LD_{50} 为 1.513 mg/kg,对根结线虫的 LD_{50} 为 4.743 mg/kg,95%置信区间分别为 1.049～2.011 和 3.804～6.013 mg/kg,表明 DMDS 对根结线虫和镰刀菌属均有较好的防治效果。表 2 显示,不同浓度的 DMDS 对根结线虫、镰刀菌属和疫霉菌属均有不同的防治效果,防治效果均随着 DMDS 浓度的升高而升高。当处理浓度为 20 mg/kg 时,对根结线虫致死作用达 77.93%,对镰刀菌属的抑制率达 88.2%,而对疫霉菌属的抑制率则为 21.7%。由此可见,在相同施药剂量下,DMDS 对疫霉菌属防效较差。而 100 mg/kg 的对照药剂噻唑膦对线虫、镰刀菌属、疫霉菌属的抑制率分别为 70.94%、68.2%和 26.0%,且 20 mg/kg DMDS 对线虫和镰刀菌属的防治效果均高于 100 mg/kg 噻唑膦,而 100 mg/kg 噻唑膦与不同浓度 DMDS 对疫霉菌属的防治效果均未达到显著差异。结果表明 DMDS 可有效控制土传根结线虫和镰刀菌属真菌病害,而且其作用相对于广泛使用的农药噻唑膦效果要好。而 20 mg/kg 的 DMDS 和 100 mg/kg 的 10%噻唑膦颗粒剂对疫霉属真菌防治效果均不理想,可见疫霉对 DMDS 和噻唑膦的敏感性要低于根结线虫和镰刀菌。

表 1　DMDS 对土壤中镰刀菌和线虫的剂量反应回归方程

Table 1　Dose response regression equation of DMDS to *Fusarium* spp. and *Meloidogyne* spp. in soil

生物种类 Species	b±标准误 b±SE	LD_{50}/ mg·kg^{-1}	95%置信区间/mg·kg^{-1} 95% confidence interval	F	P
镰刀菌属 *Fusarium* spp.	0.935±0.089	1.513	1.049～2.011	110.163	0.000 5
根结线虫 *Meloidogyne* spp.	1.609±0.171	4.743	3.804～6.013	88.741	0.000 7

表 2　DMDS 对土壤中线虫、镰刀菌属和疫霉菌属真菌的抑制效果[1)]

Table 2　Inhibition effects of DMDS on *Meloidogyne* spp., *Fusarium* spp. and *Phytophthora* spp. in soil

DMDS/ mg·kg^{-1}	根结线虫属 *Meloidogyne* spp.		镰刀菌属 *Fusarium* spp.		疫霉属 *Phytophthora* spp.	
	死虫数/头 No. of dead nematodes	校正死亡率/% Corrected mortality	菌落数/cfu·g^{-1} No. of colonies	抑制率/% Inhibition rate	菌落数/cfu·g^{-1} No. of colonies	抑制率/% Inhibition rate
CK	(67±32)c	—	(18±4)a	—	(23±6)a	—
0.625	(88±10)c	3.62	(12±12)b	36.4	(21±6)a	8.2
1.25	(113±50)b	12.82	(9±5)bc	49.1	(21±10)a	8.2
2.5	(120±50)b	15.40	(8±2)bc	56.4	(20±4)a	8.7
5	(147±95)b	25.32	(6±6)c	68.2	(20±2)a	13.0
10	(227±25)ab	54.76	(5±2)c	72.7	(19±5)a	17.4
20	(290±20)a	77.93	(2±1)d	88.2	(18±5)a	21.7
噻唑膦 fosthiazate	(276±21)a	70.94	(6±4)c	68.2	(17±4)a	26.0

1) 表中数据为平均值±标准误,$N=3$。同列不同字母表示处理间采用 Duncan 氏新复极差法检验差异显著($P<0.05$)。下同。
Data in the table are mean±SE, $N=3$. Different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's multiple range test. The same below.

2.2 DMDS 对土壤理化性质的影响

2.2.1 DMDS 熏蒸对土壤氮素的影响

从表 3 中可以看出，与对照相比，不同浓度 DMDS 熏蒸处理后土壤中 NH_4^+－N 含量均有不同程度增加，NO_3^-－N 含量均有所减少，硝化抑制率随着 DMDS 浓度的增加整体呈现降低趋势，表明 DMDS 能抑制土壤中硝化过程，增加 NH_4^+－N 含量。土壤中矿质氮含量为 NH_4^+－N 和 NO_3^-－N 含量之和，不同浓度 DMDS 熏蒸土壤中矿质氮含量与对照无显著差异。

表 3 DMDS 熏蒸对土壤矿质氮含量的影响

Table 3 Effects of DMDS fumigation on the content of mineral nitrogen in soil

DMDS/mg·kg^{-1}	NH_4^+－N/mg·kg^{-1}	NO_3^-－N/mg·kg^{-1}	矿质氮/mg·kg^{-1} Mineral nitrogen	硝化抑制率/% Inhibition rate of nitrification
CK	(6.00±0.83)c	(49.49±0.64)a	(55.49±0.76)ab	—
0.625	(6.46±0.65)bc	(46.12±1.71)b	(52.58±0.85)b	6.80
1.25	(7.93±0.77)a	(47.85±1.31)ab	(55.78±0.91)a	3.31
2.5	(7.11±0.54)ab	(48.03±0.87)ab	(55.14±1.26)ab	2.95
5	(6.18±0.53)bc	(48.81±0.56)a	(54.99±1.02)ab	1.37
10	(7.77±0.42)a	(47.55±0.71)ab	(55.32±0.46)ab	3.92
20	(7.74±0.61)a	(49.18±0.36)a	(56.92±0.52)a	0.62

2.2.2 DMDS 熏蒸对土壤有效磷、速效钾、有机质含量和 pH 的影响

从表 4 可以看出，不同浓度 DMDS 熏蒸对土壤有效磷含量均有不同程度的影响，20 mg/kg DMDS 熏蒸后有效磷含量达 54.33 mg/kg，比对照增加 5.43%，但不同浓度间均未达到显著差异。不同浓度 DMDS 处理后土壤中速效钾的含量均显著低于对照组土壤。土壤有机质在土壤肥力中作用是至关重要的，与对照相比，DMDS 处理土壤中有机质的含量均显著高于对照土壤(0.625 mg/kg DMDS 除外)，并随着处理浓度的增加而增加。1.25～20 mg/kg DMDS 处理后土壤 pH 为 6.74～6.85，显著低于对照组 pH。DMDS 处理后土壤电导率显著高于对照组(0.625 mg/kg DMDS 除外)，并随着处理浓度的增加而增加。

表 4 DMDS 熏蒸对土壤有效磷、速效钾、有机质和 pH 的影响

Table 4 Effects of DMDS fumigation on available P, available K, organic matter and pH in soil

DMDS/mg·kg^{-1}	有效磷/mg·kg^{-1} Available P	速效钾/mg·kg^{-1} Available K	有机质/mg·kg^{-1} Organic matter	pH	电导率/μs·cm^{-1} Electrical conductivity
CK	(51.53±7.36)a	(199.38±29.47)a	(8.53±0.83)d	(6.97±0.13)a	(203.00±8.29)c
0.625	(46.60±6.01)a	(165.63±6.88)b	(9.70±1.45)d	(6.92±0.03)ab	(201.50±1.29)c
1.25	(41.50±9.31)a	(164.38±12.14)b	(10.70±2.33)bc	(6.85±0.02)bc	(214.25±0.96)b
2.5	(43.98±16.60)a	(161.88±10.28)b	(10.83±1.40)bc	(6.79±0.01)cd	(217.25±1.50)b
5	(50.55±2.00)a	(155.63±6.25)b	(10.05±0.97)bc	(6.76±0.03)d	(220.00±1.63)b
10	(46.13±1.25)a	(162.50±7.36)b	(13.53±3.05)a	(6.74±0.03)d	(223.25±0.96)b
20	(54.33±7.13)a	(141.88±9.13)b	(12.70±1.19)ab	(6.86±0.04)bc	(471.50±8.54)a

2.3 DMDS 对土壤呼吸作用的影响

由图 1 可以看出，土壤呼吸作用与 DMDS 处理浓度间存在线性关系，R^2 为 0.9081。随着处理浓度的增加，土壤 CO_2 产生速率降低，说明 DMDS 对土壤呼吸有抑制作用。CO_2 产生速率能够反映土壤微生物的生物量高低，说明 DMDS 处理后对土壤中微生物有抑制作用，并且浓度越高对土壤微生物的抑制作用越强。

3 结论与讨论

3.1 DMDS 对根结线虫及土传病原菌的活性测定

DMDS 熏蒸对土传病原线虫和镰刀属真菌的 LD_{50} 分别为 4.743 mg/kg 和 1.513 mg/kg，说明 DMDS 在低浓度下就能有效防治南方根结线虫和镰刀菌属真菌。但是在本试验浓度范围内对疫霉菌属的防治效果不佳，或许可通过与其他药剂联用来增强对疫霉菌属的防治效果。有研究显示，20 mg/kg DMDS 与 50 mg/kg DZ 联用对疫霉菌属真菌的抑制率可达到 88%[19]。

3.2 DMDS 熏蒸对土壤氮素的影响

DMDS 熏蒸处理后，土壤中 NH4$^+$－N 含量与对照相比均有增加，而硝化作用过程受到抑制。硝化过程是指 NH_4^+－N 在亚硝化细菌、硝化细菌作用下氧化成 NO_3^-－N 的过程，这些细菌对土壤氮转化

极为重要,有着联系矿化－生物固持等作用。室内和室外试验结果表明,熏蒸处理对硝化作用有着明显的抑制作用,这样会使土壤中可提取的 NH_4^+－N 库较长时间保持在较高水平,就必然会相应地促进作物对铵态氮的吸收和微生物固持氮素的能力,提高了土壤氮素的利用效率。此外熏蒸处理对硝化作用的抑制使土壤 NO_3^-－N 的累积减少,从而可以使 NO_3^-－N 的淋溶损失和反硝化损失降低,可促进作物对铵态氮的吸收,提高土壤氮素的利用率,这对于指导生产中氮肥的有效施用措施和提高土壤供氮性能具有重要意义[20]。

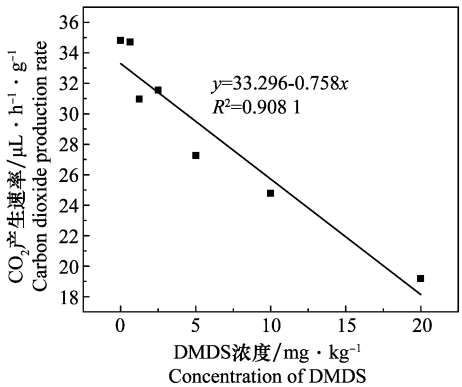


图 1　不同 DMDS 浓度下 CO_2 的产生速率

Fig. 1　The production rate of CO_2 at different DMDS concentrations

3.3　DMDS 熏蒸对土壤有效磷、速效钾、有机质含量和 pH 的影响

DMDS 熏蒸处理后有效磷的含量虽然较对照有所降低,但并未表现出显著差异性,表明 DMDS 对土壤有效磷形态的改变影响较小。不同浓度 DMDS 处理后速效钾含量下降,但浓度间无显著差异,根据《土壤农化分析》[16],速效钾在含量大于 116 mg/kg 时对作物增产不明显,而 20 mg/kg DMDS 处理后土壤速效钾含量最低值为 141.875 mg/kg,故在试验浓度范围内钾含量降低不会造成作物明显减产,但作物产量是否增加还需综合衡量其他因素的影响。DMDS 熏蒸后有机质含量升高,其影响机理尚不清楚,可能为 DMDS 处理使土壤微生物的生存环境遭到破坏,微生物死亡被分解后其体内的物质及有机质释放到土壤中提高了土壤有机质的含量[21]。土壤 pH 在试验范围内较对照有所降低,据《中国土壤》[22]中对我国土壤酸碱度的分级可知 pH 6.5～7.5 为中性土壤,对照组和处理组 pH 范围为 6.74～6.97,故熏蒸后土壤 pH 仍为中性,仍然适于大多数作物生长。土壤电导率与土壤中水溶性盐的含量有关,电导率增加可能与 DMDS 熏蒸处理后抑制了土壤微生物的活动,从而抑制了土壤盐分的转移有关。且 DMDS 浓度越大,抑制作用越强。

3.4　DMDS 熏蒸对土壤呼吸作用的影响

土壤微生物在土壤养分和能量的释放与保持中起着重要的作用。要评估土壤系统的营养状况和能量流动,必须考虑土壤微生物活动的作用。而土壤呼吸间接地表明了土壤微生物的活性,并且对土壤呼吸的测定提供了微生物活性水平指标[23]。0.625 mg/kg DMDS 处理后土壤呼吸速率与对照无显著差异,随着 DMDS 浓度的增加,土壤呼吸速率逐渐降低,表明 DMDS 在熏蒸后初期降低了土壤微生物的活性。

对试验结果分析发现,DMDS 熏蒸处理能够有效地防治土传病原线虫和病原菌,同时能够促进土壤中 NH_4^+－N 的积累,抑制 NO_3^-－N 的产生,提高植物对氮素的利用率,并且对土壤各理化指标并没有产生太大的扰动,熏蒸后土壤依然有利于作物生长。并且,DMDS 对土壤中微生物的抑制作用也随着施用浓度的增加而增强。有研究报道 DMDS 在无菌和有菌环境下的降解半衰期分别为 1.05～6.66 d 和 12.63～22.67 d[11],表明 DMDS 对土壤中微生物的抑制时间是短暂的,所以 DMDS 的施入不会引起土壤环境的剧烈变化。因此 DMDS 作为溴甲烷的有效化学替代品可使生姜在稳定的土壤环境中健康生长。

参考文献

[1]　GHONAME A A, RIAD G S, El-BASIOUNY A M, et al. Finding natural alternatives to methyl bromide in greenhouse cantaloupe for yield, quality and disease control [J]. International Journal of ChemTech Research, 2015, 8(9): 84－92.

[2]　曹坳程, 刘晓漫, 郭美霞, 等. 作物土传病害的危害及防治技术[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 6－16.

[3]　RISTAINO J B, THOMAS W. Agriculture, methyl bromide, and the ozone hole: can we fill the gaps [J]. Plant Disease, 1997, 81(9): 964－977.

[4]　曹坳程. 溴甲烷及其替代产品[J]. 农药, 2003, 42(6): 1－5.

[5]　曹坳程, 郭美霞, 段霞瑜, 等. 溴甲烷在草莓田的替代及减少其散发的技术[J]. 植物保护学报, 2006, 33(3): 291－297.

[6]　王秋霞, 颜冬冬, 王献礼, 等. 土壤熏蒸剂研究进展[J]. 植物保护学报, 2017, 44(4): 529－543.

[7]　王方艳, 王秋霞, 颜冬冬, 等. 二甲基二硫熏蒸对保护地连作土壤微生物群落的影响[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(4): 890－896.

[8] 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.

[9] 郭衍银,王秀峰,朱艳红,等. 生姜癞皮病的发生危害及病原初步鉴定[J]. 植物保护,2004,30(1):61-62.

[10] 胡启山. 生姜癞皮病的发生与防治[J]. 蔬菜,2010(5):23.

[11] HAN Dawei, YAN Dongdong, CAO Aocheng, et al. Degradation of dimethyl disulphide in soil with or without biochar amendment [J]. Pest Management Science, 2017, 73(9): 1830-1836.

[12] 杨桂生,宋长春,万忠梅,等. 三江平原小叶章湿地土壤微生物活性特征研究[J]. 环境科学学报,2010,30(8): 1715-1721.

[13] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社, 2000: 373.

[14] KOMADA H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil [J]. Review of Plant Protection Research, 1975, 8: 114-125.

[15] MASAGO H, YOSHIKAWA M, FUKADA M, et al. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants [J]. Phytopathology, 1977, 67: 425-428.

[16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京:中国农业出版社, 2000.

[17] REN Zongjie, LI Yuan, FANG Wensheng, et al. Evaluation of allyl isothiocyanate as a soil fumigant against soil-borne diseases in commercial tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) production in China [J]. Pest Management Science, 2018, 74(9): 2146-2155.

[18] 颜冬冬, 王秋霞, 郭美霞, 等. 4种熏蒸剂对土壤氮素转化的影响[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(5): 934-938.

[19] MAO Liangang, YAN Dongdong, WANG Qiuxia, et al. Evaluation of the combination of dimethyl disulfide and dazomet as an efficient methyl bromide alternative for cucumber production in China [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(21): 4864-4869.

[20] 颜冬冬,王秋霞,郭美霞,等. 氯化苦熏蒸处理对土壤氮矿化和硝化作用的影响[J]. 湖北农业科学,2010,49(2):323-326.

[21] 赵恒策,魏霞,贺燕,等. 冻融对河北省深州市盐碱地土壤理化性质的影响[J]. 水土保持学报,2018,32(5):78-83.

[22] 熊毅,李庆逵. 中国土壤[M]. 第2版. 北京:科学出版社,1987.

[23] REES H W, CHOW T L, ZEBARTH B J, et al. Effects of supplemental poultry manure applications on soil erosion and runoff water quality from a loam soil under potato production in northwestern New Brunswick [J]. Canadian Journal of Soil Science, 2015, 91(91): 49-65.

(责任编辑:田 喆)

(上接150页)

[29] CHI Chao, SHEN Yongqiang, YIN Lihua, et al. Selection and validation of reference genes for gene expression analysis in *Vigna angularis* using quantitative real-time RT-PCR [J/OL]. PLoS ONE, 2016, 11 (12): e0168479.

[30] SARROPOULOU V, DIMASSI-THERIOU K, THERIOS I, et al. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 61:162-168.

[31] AFREEN F, ZOBAYED SMA, KOZAI T. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation [J]. Journal of Pineal Research, 2006, 41:108-115.

[32] ZHANG Na, SUN Qianqian, ZHANG Haijun, et al. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66:647-656.

[33] ARNAO M B, HERNANDEZ-RUIZ J. Functions of melatonin in plants: a review [J]. Journal of Pineal Research, 2015, 59: 133-150.

[34] LEE H Y, BYEON Y, TAN D X, et al. *Arabidopsis* serotonin N-acetyltransferase knockout mutant plants exhibit decreased melatonin and salicylic acid levels resulting in susceptibility to an avirulent pathogen [J]. Journal of Pineal Research, 2015, 58: 291-299.

[35] QIAN Yongqiang, TAN Dunxian, REITER R J, et al. Comparative metabolomic analysis highlights the involvement of sugars and glycerol in melatonin mediated innate immunity against bacterial pathogen in *Arabidopsis* [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 15815.

[36] SHI Haitao, CHEN Yinhua, TAN Dunxian, et al. Melatonin induces nitric oxide and the potential mechanisms relate to innate immunity against bacterial pathogen infection in *Arabidopsis* [J]. Journal of Pineal Research, 2015, 59: 102.

[37] SHI Haitao, WEI Yunxie, HE Chaozu, et al. Melatonin-induced CBF/DREB1s are essential for diurnal change of disease resistance and CCA1 expression in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 100:150-155.

[38] ZHAO Hongbo, XU Lingfei, SU Tao, et al. Melatonin regulates carbohydrate metabolism and defenses against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 infection in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Pineal Research, 2015, 59: 109-119.

[39] LEE H, BACK K. Mitogen-activated protein kinase pathways are required for melatonin-mediated defense responses in plants [J]. Journal of Pineal Research, 2016, 60: 327-335.

[40] WEI Yunxie, HU Wei, WANG Qiannan, et al. Identification, transcriptional and functional analysis of heat-shock protein 90s in banana (*Musa acuminata* L.) highlight their novel role in melatonin-mediated plant response to Fusarium wilt [J]. Journal of Pineal Research, 2017, 62:e12347.

[41] 韩冬. 抗锈病红小豆品种筛选及抗病机理研究[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学农学院, 2017.

(责任编辑:田 喆)