不同氮素对根结线虫及土壤微生物的影响

左 强， 武凤霞， 张淑彬， 邢礼军， 李吉进， 肖 强*， 刘建斌*

（北京市农林科学院植物营养与资源环境研究所，北京 100097）

摘要 为筛选根结线虫控制技术，采用传统平板法和 Biolog ECO 生态板评价了液氨、氨水和碳酸氢铵 3 种氮素对根结线虫及土壤微生物的影响。结果表明，等氮条件下液氨处理杀线虫效果最好且黄瓜产量最高，氨水次之。液氨用量在 375.0 kg/hm^2 的条件下，对黄瓜根结线虫的防效达到 71%，和 10%噻唑膦颗粒剂(GF)45.0 kg/hm^2 处理相比效果没有显著差异(79.9%)。种植前，细菌数量、AWCD 值、Shannon 指数、McIntosh 指数和 Simpson 指数均随着液氨用量的增加而减少，随着氨水和碳酸氢铵用量的增加而增加；但所有处理均显著降低了土壤真菌的数量。黄瓜收获后，土壤细菌数量、真菌数量、AWCD 值、Shannon 指数、McIntosh 指数和 Simpson 指数均随着氮素用量的增加而提高，且高于空白处理和 10%噻唑膦 GF 45.0 kg/hm^2 处理。以上结果说明，液氨、氨水和碳酸氢铵不但可以作为土壤肥料，也可以作为一种高效、低价和生态化的根结线虫防治剂进行推广应用。

关键词 液氨； 氨水； 碳酸氢铵； 土壤消毒

中图分类号： S482.51 **文献标识码：** B **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2021150

Effect of different nitrogen on root-knot nematodes and its soil microorganisms

ZUO Qiang， WU Fengxia， ZHANG Shubin， XING Lijun， LI Jijin， XIAO Qiang*， LIU Jianbin*

（*Institute of Plant Nutrition*，*Resources and Environment*，*Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences*，*Beijing* 100097，*China*）

Abstract In order to screen control techniques for root-knot nematodes, three kinds of nitrogen (liquid ammonia, ammonia water and ammonium bicarbonate) were used to evaluate the effects on soil root-knot nematodes and soil microorganisms by plate culture and Biolog ECO. The results showed that liquid ammonia displayed the best nematicidal activity and the highest cucumber yield effect, followed by ammonia water under the equal nitrogen condition. Liquid ammonia at 375.0 kg/hm^2 showed the highest root-knot nematode control efficacy of 71%, which had no significant difference to 10% fosthiazate granular formulation (GF) at 45.0 kg/hm^2. After disinfection before planting, the bacteria population, AWCD value, Shannon index, McIntosh index and Simpson index decreased with the amount of liquid ammonia, but increased with the amount of ammonia water and ammonium bicarbonate. However, all the treatments significantly reduced the soil fungi population. After cucumber harvest, soil bacteria population, fungi population, AWCD value, Shannon index, McIntosh index and Simpson index increased with nitrogen sources, which were higher than those of control and fosthiazate 10% GF at 45.0 kg/hm^2. The above results illustrated that the three kinds of nitrogen could not only be used as soil fertilizer, but also as an efficient, low-cost and ecological root-knot nematode control agent.

Key words liquid ammonia; ammonia; ammonium bicarbonate; soil disinfection

根结线虫 *Meloidogyne* spp. 是一种较为严重的土传病害，寄主范围很广，可以危害瓜类、茄果类、胡萝卜、白菜等几十种蔬菜，常常会造成作物的大面积减产，给农业生产造成巨大损失[1]。据统计，全世界由根结线虫造成的农作物损失高达 10 亿美元[2-3]。目前，我国蔬菜根结线虫病呈逐年加重趋势，已成为蔬菜生产上的重要病害，我国很多地方都有根结线虫病严重发生和危害的报道[4]。

收稿日期： 2021-03-11 **修订日期：** 2021-08-31

基金项目： 国家重点研发计划(2017YFD0200603)；北京市农林科学院青年科研基金(QNJJ201908)；北京市农林科学院植物营养与资源环境研究所自主立项(YZS201906)

* 通信作者 E-mail：肖强 xqiang1978@163.com；刘建斌 liujianbin1981@126.com

土壤化学熏蒸消毒是防治根结线虫病等土传病虫害最有效、最直接的手段之一，在国内外广泛应用。目前，在我国登记的熏蒸剂有 5 种，氯化苦(chloropicrin)、棉隆(dazomet)、威百亩(metham-sodium)、硫酰氟(sulfuryl fluoride)和辣根素(isothiocyanates)，其中氯化苦、棉隆和威百亩是应用最广泛的 3 种药剂[5]。但目前应用这些消毒剂的价格偏高且生态破坏性大，限制了其大面积应用和推广。

氨是作物的重要无机养分，也是效力很强的杀菌剂，相对于化学熏蒸剂价格更加便宜。液氨，作为含氮量最高的氮肥，不但是很好的化学肥料，也有很好的杀菌效果，可以有效防治棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* 和黄萎病菌 *Verticillium dahliae*，小麦全蚀病菌 *Gaeumnnomyces graminis* 以及土壤中大量的杂草种子[6-8]。氨水可以有效杀灭小麦冠腐病病原菌粉红镰刀菌 *F. roseum*，抑制土壤中腐皮镰刀菌 *F. solani* 孢子的萌发，减少土壤中香蕉枯萎病菌 *F. oxysporum* 的数量等[9-11]。碳酸氢铵能够有效抑制瓜类枯萎病菌 *F. oxysporum*[12-13]，马铃薯银屑病、白菜根肿病等[14-15]。也有研究报道，碳酸氢铵可以防治南方根结线虫 *Meloidogyne incognita*，氨水可以防治茶苗根结线虫 *M. incognita*[16-17]。但目前对这 3 种氮源物质(液氨、氨水和碳酸氢铵)对土壤中根结线虫的防治效果以及土壤微生物生态变化的研究偏少。

本研究在温室条件下，评价 3 种氮素(液氨、氨水和碳酸氢铵)对根结线虫病害的防治效果，以及对土壤功能微生物数量和群落变化的影响，为根结线虫病害的防治寻找一种低成本、生态化的有效控制技术。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地点位于北京市大兴区庞各庄镇惠友农庄温室基地，试验温室根结线虫病害较为严重。土壤理化性质如下：全氮 1.27 g/kg，有效磷 193 mg/kg，速效钾 614 mg/kg，铵态氮 8.73 mg/kg，硝态氮 30.9 mg/kg，有机质 34.5 g/kg，EC 值 18.3 m/S，pH 8.0。黄瓜品种为‘京研夏美 2 号’。

1.2 试验设计和处理方法

试验共 11 个处理(表 1)，将根结线虫病害严重的设施土壤翻耕至 25 cm 深，土壤含水量 30%以下时，进行不同消毒处理试验。不同剂量的液氨(150.0、262.5 kg/hm^2 和 375.0 kg/hm^2)消毒处理：本试验所使用的液氨为高纯液氨(纯度大于 82.3%；储存钢瓶：高度 95 cm，半径 13 cm)，由济南德源气体有限公司生产。采用分布带覆盖的方法施用液氨。在设施土壤中挖若干个坑，每个坑中埋上一端打一个死结的具有小孔的分布带，每两个分布带的间距为 150 cm，分布带上面覆盖塑料薄膜，薄膜四周用土埋实；通过分布带将液氨施于设施土壤中，液氨消毒 7 d 后，揭开塑料薄膜晾干 7 d，然后进行常规田间管理。不同剂量的氨水(678.0、1 186.5 kg/hm^2 和 1 695.0 kg/hm^2)消毒处理：本试验所使用的氨水由济南顺阳化工科技有限公司生产(氨含量 18.2%)。采用浅埋滴灌的方法施用，将滴灌管埋于翻耕后的土壤下面 5 cm 深处，滴灌管的间距为 40 cm，滴灌管埋好后，在土壤上面覆盖塑料薄膜，塑料薄膜四周用土埋实，在塑料薄膜四周浇水防止漏药；将氨水储存在储水池中，密闭防止氨气逸出；连接储水池和滴灌管道，通过水泵将氨水从储水池输送到滴灌管中；氨水输送完成后，储水池加入清水，清洗滴灌管道；关闭阀门，全部密闭，进行氨水消毒。氨水消毒 7 d 后，即可揭开塑料薄膜；揭膜后，将浅埋的滴灌管抽出，土壤自然晾干 7 d，进行常规田间管理。不同剂量的碳酸氢铵(726.0、1 270.5 kg/hm^2 和 1 815.0 kg/hm^2)消毒处理：本试验所使用的碳酸氢铵由天津渤化永利化工股份有限公司生产(氨含量 17.0%)，将不同剂量的碳酸氢铵均匀撒在土壤表面，然后均匀翻入土壤中，覆膜消毒 7 d，揭开塑料薄膜晾干 7 d，然后进行常规田间管理。以杀线虫剂 10%噻唑膦 GF(日本石原产业株式会社研发)处理(2 g/株，45.0 kg/hm^2)为化学药剂对照，移栽时将药剂施于黄瓜苗根部以下。另设空白对照处理。化学对照处理和空白对照处理在土壤翻耕后进行覆膜处理，覆膜 7 d 后，揭开塑料薄膜晾干 7 d，然后进行常规田间管理。每个处理小区 12 m^2，重复 3 次，共 33 个小区，随机排列。土壤处理时间为 2018 年 8 月 15 日，黄瓜定植时间是 2018 年 9 月 1 日。

1.3　根结线虫病情调查

在黄瓜定植前未进行氮肥消毒时(2018 年 9 月 1 日)和黄瓜收获后(2018 年 12 月 10 日)，采用随机五点取样法，分别从各个小区取土样 1 kg 左右，采用贝曼漏斗法(托盘法)分离土壤中的线虫并进行镜检，测定土壤中根结线虫的数量变化[18]。试验结束后，每个小区采取 5 株黄瓜根，调查根结数量，计算根结指数和防治效果。黄瓜收获期，连续统计每个处理的黄瓜产量。

根结线虫危害程度分级标准：0 级，无根结，根系健康；1 级，仅有少量根结，占全根系的 11% 以下；3 级，根结明显，占全根系的 11%～25%；5 级，根结特别明显，占全根系的 26%～50%；7 级，根结数量很多，占全根系的 51%～75%；9 级，根结数量特多，占全根系的 75%以上[19]。

1.4　土壤可培养微生物分析

对黄瓜定植前和收获后采集的土壤样品进行可培养微生物分析。采用稀释平板法测定不同处理土壤中细菌、放线菌和真菌的数量。真菌采用 PDA 培养基，细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基，放线菌采用改良高氏 1 号培养基[20]。

1.5　土壤微生物群落水平生理特征的测定(community level physiological profiling, CLPP)

对黄瓜定植前和收获后采集的土壤样品通过 Biolog ECO 生态板(Biolog Inc., Hayward CA, USA)进行微生物对碳源利用情况的测定。Biolog™ ECO 生态板共包括 31 种不同碳源，每个碳源有 3 个重复。将采集的土壤样品 10 g 加入到 90 mL 灭菌的氯化钠溶液中(8.5 g/L NaCl)摇动 30 min，然后进行梯度稀释到 10^{-3}。将 150 μL 稀释液慢慢加入到 Biolog ECO 生态板的 96 孔中。生态板在 25℃黑暗条件下培养 240 h。前 72 h 的培养时间段每 12 h 检测吸光度，72 h 后每 24 h 检测吸光度。吸光度用酶标仪在 590 nm 波长下进行测定(Bio-Rad Model 680)[21]。

1.6　产量测定

收获期间摘取小区中所有的黄瓜进行产量测定(2018 年 10 月 10 日开始测产，至 2018 年 12 月 10 日拉秧)，计算总重量，评价不同处理的产量变化。

1.7　统计分析

数据分析采用 SPSS 16.0 软件的 One-way ANOVA，Tukey's 多重分析。

根结指数＝Σ(各级病株数×对应病级数量)/(调查总株数×最高病级数值)×100；防治效果＝(对照区根结指数－处理区根结指数)/对照区根结指数×100%；线虫减退率＝(消毒前线虫数量－消毒后线虫数量)/消毒前线虫数量×100%[22]。

Biolog ECO 生态板数据经校对后进行分析。孔平均颜色变化率(average well color development, AWCD)评价土壤细菌微生物利用单一碳源的能力。AWCD 的计算公式如下：

$$\mathrm{AWCD}=\sum_{i=1}^{n}(C_i-R)/n。$$

式中，C_i 为第 i 个反应孔在 590 nm 下的光密度值；R 为 Biolog ECO 生态板对照孔 A_1 的光密度值；C_i-R 小于零的孔，计算中记为零，即 $C_i-R\geqslant 0$；n 为底物的数量(本研究中 $n=31$)。

另外，选取 72 h 的平均颜色变化率(AWCD)进行了其他 3 个功能多样性参数的计算，Shannon index (H')，Simpson index ($1/D$) 和 McIntosh index (U)。各参数计算公式如下：

$$H'=-\sum P_i\cdot(\ln P_i)；$$

$$D=\sum n_i(n_i-1)/N(N-1)；U=\sqrt{\sum n_i^2}。$$

式中，P_i 代表第 i 个孔相对吸光度值与所有整个微生态板的相对吸光度值总和的比值。n_i 表示第 i 孔的相对吸光度值；N 表示相对吸光值总和。

2　结果与分析

2.1　黄瓜定植前不同氮素处理对土壤根结线虫数量的影响

经过处理后土壤中线虫数的计数结果如表 1 所示，不同处理的线虫数量均有所降低。在等氮条件下，液氨的 3 个处理的杀线虫能力强于氨水和碳酸氢铵。同种氮素条件下，杀线效果和氮素用量成正比。从根结线虫数量上分析，在纯氮量为123.5 kg/hm² 和 216.0 kg/hm² 的条件下，虽然液氨消毒效果最好，但和氨水及碳酸氢铵的处理差异不显著。在纯氮量为 308.7 kg/ hm² 的条件下，液氨处理(375.0 kg/hm²)的线虫减退率为 88.5%，线虫数量显著低于氨水(1 695.0 kg/hm²)和碳酸氢铵处理(1 815.0 kg/hm²)。

表 1 不同氮素处理对黄瓜定植前土壤中根结线虫 2 龄幼虫(J_2)数量的影响[1)]

Table 1 Effect of different nitrogen treatments on the quantity of the second stage juvenile (J_2) of root-knot nematodes in soil before cucumber transplanting

处理 Treatment	折合纯氮量/ kg·(hm²)⁻¹ Converted amount of pure nitrogen	线虫基数/ 条·(100 g)⁻¹ Nematode population base	消毒后 J_2 数量/ 条·(100 g)⁻¹ Population of J_2 after disinfection	J_2 减退率/% Reduction rate of J_2
液氨 150.0 kg/hm² Liquid ammonia 150.0 kg/hm²	123.5	357.2±78.4	(127.2±14.3)bc	(64.4±3.7)c
液氨 262.5 kg/hm² Liquid ammonia 262.5 kg/hm²	216.0	366.5±87.2	(97.1±6.9)c	(73.5±4.5)b
液氨 375.0 kg/hm² Liquid ammonia 375.0 kg/hm²	308.7	393.8±66.4	(45.5±7.2)d	(88.5±4.6)a
氨水 678.0 kg/hm² Ammonia water 678.0 kg/hm²	123.5	316.2±54.8	(144.8±20.8)bc	(54.2±2.9)d
氨水 1 186.5 kg/hm² Ammonia water 1 186.5 kg/hm²	216.0	355.0±39.7	(139.7±17.2)bc	(60.6±3.1)c
氨水 1 695.0 kg/hm² Ammonia water 1 695.0 kg/hm²	308.7	383.2±85.8	(108.2±17.9)c	(71.8±1.5)b
碳酸氢铵 726.0 kg/hm² Ammonium bicarbonate 726.0 kg/hm²	123.5	392.1±79.5	(185.9±21.9)b	(52.6±2.9)d
碳酸氢铵 1 270.5 kg/hm² Ammonium bicarbonate 1 270.5 kg/hm²	216.0	337.9±51.9	(110.0±11.8)c	(67.5±3.6)bc
碳酸氢铵 1 815.0 kg/hm² Ammonium bicarbonate 1 815.0 kg/hm²	308.7	287.9±44.2	(103.3±15.7)c	(64.2±2.1)c
10%噻唑膦 GF45.0 kg/hm² fosthiazate 10% GF 45.0 kg/hm²	—	397.8±68.4	(355.3±54.3)a	(10.7±0.8)e
空白对照 Control(CK)	—	351.0±37.3	(312.8±41.0)a	(10.9±0.9)e

1) 同列数据后不同的小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。下同。
Data followed by different letters in the same column are significantly different at 0.05 level. The same applies below.

2.2 黄瓜收获后不同氮素处理对黄瓜根结线虫的防治效果

试验结果表明,10%噻唑膦 GF 45.0 kg/hm² 处理土壤根结线虫数量最少(186.2 条/100 g),根结指数最低(12.7)(表 2),其次是液氨375.0 kg/hm² 处理,土壤根结线虫为 240.5 条/100 g,根结指数为 18.3,两者线虫数量没有显著差异。在等氮条件下,线虫数量依次为液氨处理<氨水处理<碳酸氢铵处理。同样,根结指数从小到大依次为液氨处理<氨水处理<碳酸氢铵处理。在同种氮素条件下,土壤线虫数量以及根结指数随氮素用量增大而减小。

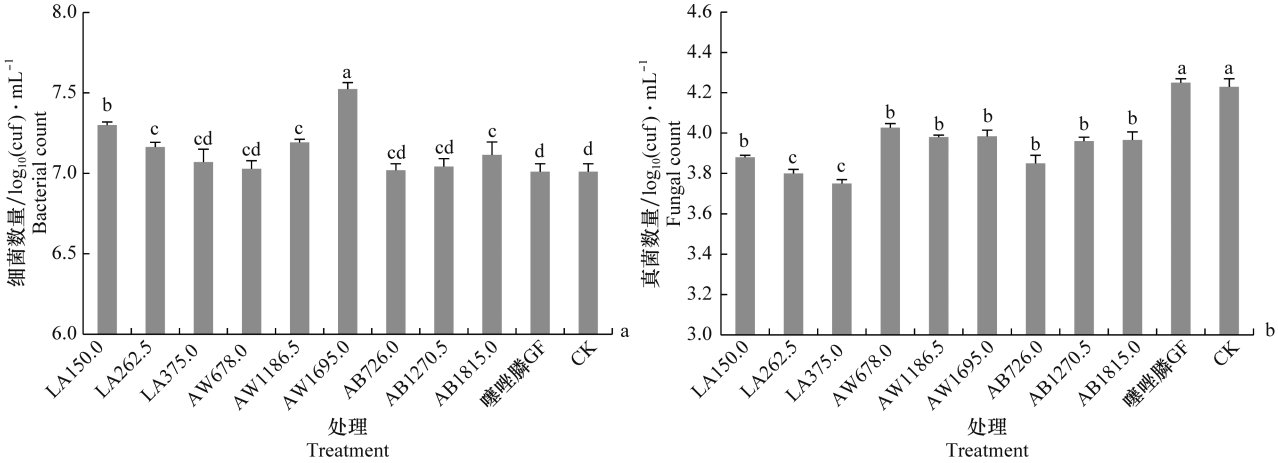
表 2 黄瓜收获期不同氮素处理对黄瓜根结线虫的防治效果

Table 2 Control effect of different nitrogen treatments on the root-knot nematodes at harvest time in greenhouse cucumber

处理 Treatment	折合纯氮量/ kg·(hm²)⁻¹ Converted amount of pure nitrogen	收获后 J_2 数量/ 条·(100 g)⁻¹ Population of J_2 after harvest	防效/% Control efficacy	根结指数 Gall index	防效/% Control efficacy
液氨 150.0 kg/hm² Liquid ammonia 150.0 kg/hm²	123.5	(540.6±87.2)c	(23.9±0.7)d	(42.9±1.1)c	(32.1±1.2)c
液氨 262.5 kg/hm² Liquid ammonia 262.5 kg/hm²	216.0	(420.9±76.3)d	(40.7±0.3)c	(32.5±0.8)d	(48.0±1.1)b
液氨 375.0 kg/hm² Liquid ammonia 375.0 kg/hm²	308.7	(240.5±39.8)de	(66.1±0.6)b	(18.3±0.2)e	(71.0±1.2)a
氨水 678.0 kg/hm² Ammonia water 678.0 kg/hm²	123.5	(645.7±82.9)ab	(9.1±1.1)e	(56.1±0.9)ab	(11.2±0.8)d
氨水 1 186.5 kg/hm² Ammonia water 1 186.5 kg/hm²	216.0	(565.1±77.4)c	(20.4±0.2)d	(50.1±1.0)b	(20.7±0.7)cd
氨水 1 695.0 kg/hm² Ammonia water 1 695.0 kg/hm²	308.7	(390.4±35.7)d	(45.0±1.0)c	(35.3±0.4)d	(44.2±1.0)b
碳酸氢铵 726.0 kg/hm² Ammonium bicarbonate 726.0 kg/hm²	123.5	(730.4±89.3)a	(−2.9±0.5)f	(61.5±1.2)ab	(2.7±1.1)e
碳酸氢铵 1 270.5 kg/hm² Ammonium bicarbonate1 270.5 kg/hm²	216.0	(660.8±77.1)ab	(6.9±0.3)f	(57.6±0.8)ab	(8.9±0.7)d
碳酸氢铵 1 815.0 kg/hm² Ammonium bicarbonate 1 815.0 kg/hm²	308.7	(620.6±69.8)b	(12.6±0.3)e	(48.9±0.8)b	(22.6±0.7)cd
10%噻唑膦 GF45.0 kg/hm² fosthiazate 10% GF 45.0 kg/hm²	—	(186.2±25.7)e	(73.8±0.8)a	(12.7±0.1)f	(79.9±0.4)a
空白对照 Control(CK)	—	(710.0±90.1)a	—	(63.2±0.9)a	—

2.3　黄瓜定植前不同氮素处理对土壤微生物的影响

通过传统的平板检测法和 Biolog ECO 生态板法对消毒后移栽前的土壤进行了土壤微生物分析。平板检测结果(图 1)表明,土壤中可培养细菌数量随着液氨用量的增加而减少,随着氨水和碳酸氢铵用量的增加而增加;同时,所有处理土壤中可培养细菌的数量均高于未处理对照的数量(图 1)。土壤中可培养真菌的数量变化和细菌略有不同,所有处理土壤中可培养真菌的数量均显著低于未处理空白对照的数量;可培养真菌数量随着液氨用量的增加而减少,随着氨水用量的增加而略有减少,随着碳酸氢铵用量的增加略有增加。



LA150.0, LA262.5, LA375. 0: 分别为123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^{2}纯氮条件下的液氨消毒; AW1678.0, AW1186.5, AW1695.0: 分别为123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^{2}纯氮条件下的氨水消毒; AB726.0, AB1270.5, AB1815.0: 分别为123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^{2}纯氮条件下的碳酸氢铵消毒; 噻唑膦GF: 10%噻唑膦GF 45.0 kg/hm^2; CK: 空白处理。下同

LA150.0, LA262.5, LA375.0: Disinfection treatments by liquid ammonia at 123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^2 pure nitrogen amount, respectively; AW678.0, AW1186.5, AW1695.0: Disinfection treatments by ammonia water at 123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^2 pure nitrogen amount, respectively; AB726.0, AB1270.5, AB1815.0: Disinfection treatments by ammonium bicarbonate at 123.5, 216.0, 308.7 kg/hm^2 pure nitrogen amount, respectively; fosthiazate GF: Disinfection treatments by fosthiazate 10% GF, 45.0 kg/hm^2; CK: Control treatment. The same below

图 1　平板检测法检测黄瓜定植前不同氮素处理土壤中可培养细菌(a)和真菌(b)

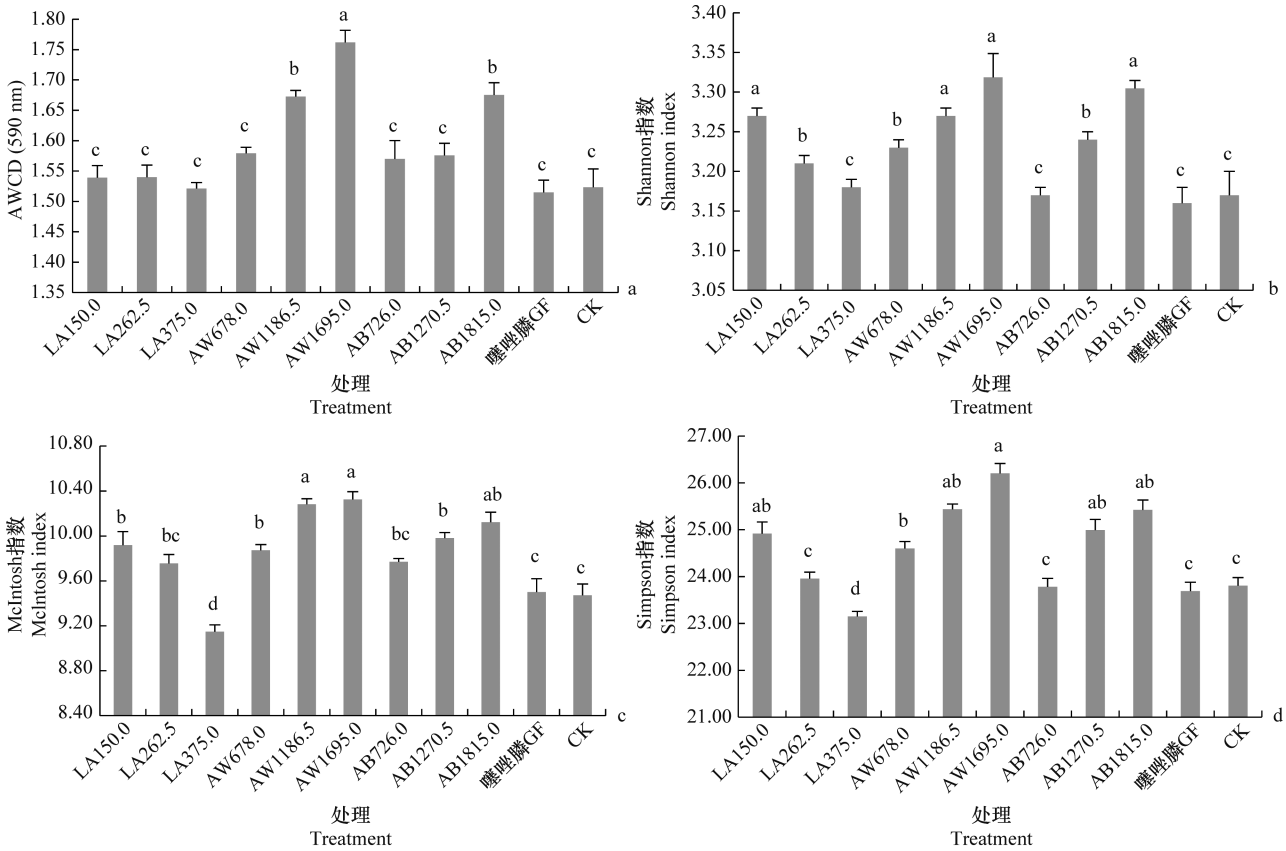
Fig. 1　Culturable bacteria (a) and fungi (b) count by plate culture at different nitrogen treatments soils before cucumber transplanting

Biolog ECO 生态板的检测结果与可培养细菌的结果类似(图 2)。AWCD(590 nm)、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均随着液氨用量(LA150.0,LA262.5 和 LA375.0)的增加而减少,随着氨水(AW678.0,AW1186.5 和 AW1695.0)和碳酸氢铵用量(AB726.0,AB1270.5 和 AB1815.0)的增加而增加。除了液氨 375.0 kg/hm^2(LA375.0),其他处理的 AWCD(590 nm)、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均高于 CK(对照处理),特别是氨水 1 186.5 kg/hm^2(AW1186.5),氨水 1 695.0 kg/hm^2(AW1695.0)和碳酸氢铵 1 815.0 kg/hm^2(AB1815.0)处理,不同指数均显著高于对照处理。平板检测法和 Biolog ECO 生态板法的结果综合表明,3 种氮素的土壤消毒处理,对土壤细菌具有一定促生作用,对土壤真菌具有更好的抑制作用。

2.4　不同氮素处理对黄瓜收获后土壤微生物的影响

对黄瓜收获后的土壤进行了平板检测和 Biolog ECO 生态板法检测,结果表明,不同氮素消毒处理的可培养细菌和真菌数量都要显著高于噻唑膦处理(噻唑膦 GF)和空白对照(CK)(图 3)。等氮条件下,液氨处理具有比氨水和碳酸氢铵处理更高的细菌和真菌数量。同种氮源条件下,氮素剂量越高,可培养细菌和真菌数量越高。

Biolog ECO 生态板的检测结果和可培养微生物的检测结果类似(图 4)。AWCD(590 nm)、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均随着氮素用量的增加而增加。所有处理的 AWCD(590 nm)、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均高于 CK(对照处理),且 LA262.5 处理(液氨 262.5 kg/hm^2),LA375.0 处理(液氨 375.0 kg/hm^2)、AW1186.5 处理(氨水 1 186.5 kg/hm^2)、AW1695.0(氨水 1 695.0 kg/hm^2)和 AB1815.0(碳酸氢铵 1 815.0 kg/hm^2)处理的所有指数均显著高于对照处理。平板检测法和 Biolog ECO 生态板法的结果综合表明,3 种氮素也可以作为土壤氮源的一种,对土壤微生物(细菌和真菌)具有一定的促生作用。



a, b, c, d:分别为AWCD (590 nm), Shannon指数, McIntosh指数, Simpson指数
a, b, c, d: AWCD (590 nm), Shannon index, McIntosh index, Simpson index, respectively

图 2 Biolog ECO 板对黄瓜定植前不同氮素处理土壤微生物的分析

Fig. 2 Effect of different nitrogen treatments on the soil microorganism by Biolog ECO before cucumber transplanting

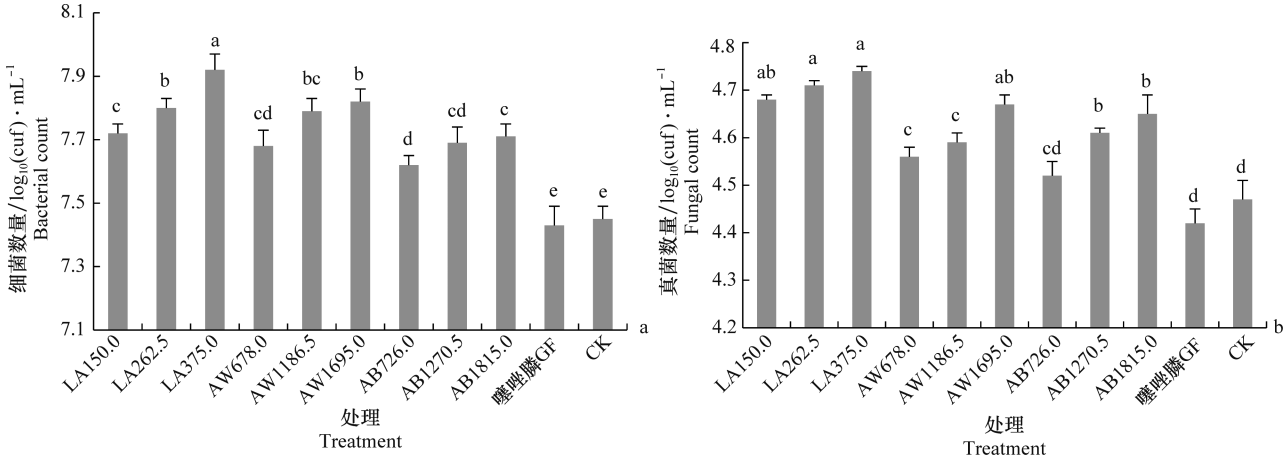


图 3 平板检测法检测黄瓜收获期不同氮素处理土壤中可培养细菌(a)和真菌(b)

Fig. 3 Culturable bacteria (a) and fungi (b) count by plate culture at different nitrogen treatments soil at cucumber harvest time

2.5 不同氮素处理对黄瓜产量的影响

采用不同土壤消毒方法后,均能够增加黄瓜的产量。10%噻唑膦 GF 处理具有最高的产量 91.4 kg(12 m^2)和最高的增产率 45.1%,其次是液氨 375.0 kg/hm^2,产量和增产率分别为 89.9 kg 和 42.7%,但二者差异不显著(表 3)。等氮条件下,液氨处理具有更高产量和增产率,其次是氨水,然后是碳酸氢铵。同种氮源条件下,氮素量越高,产量和增产率越高。

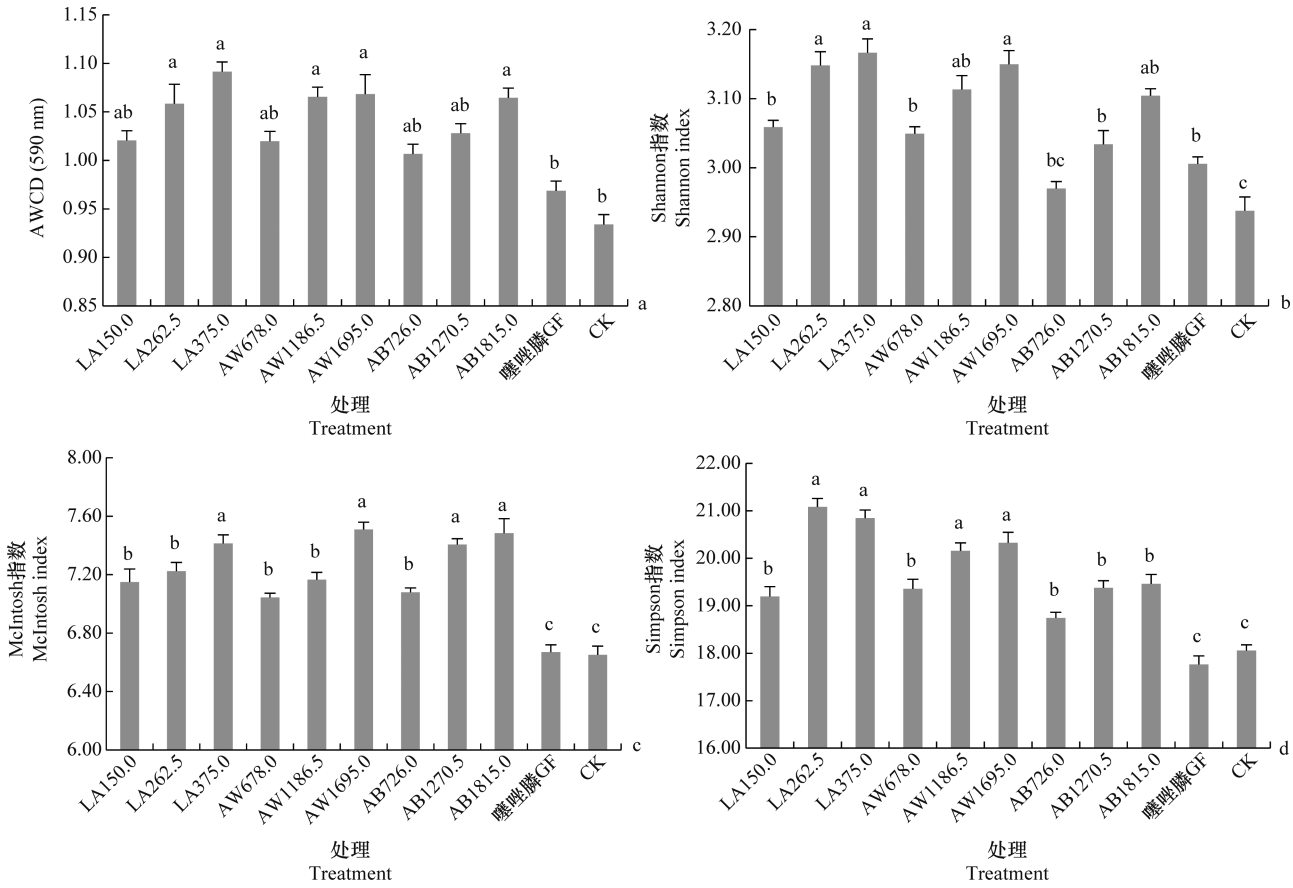


图 4　Biolog ECO 板对黄瓜收获期不同氮素处理土壤微生物的分析

Fig. 4　Effect of different nitrogen treatments on the soil microorganism at cucumber harvest time by Biolog ECO

表 3　不同氮素处理对黄瓜产量的影响

Table 3　Effect of different nitrogen treatments on cucumber yield

处理 Treatment	折合纯氮量/ kg·(hm²)⁻¹ Converted amount of pure nitrogen	小区产量/kg Plot yield	增产率/% Increasing rate
液氨 150.0 kg/hm²　Liquid ammonia 150.0 kg/hm²	123.5	(74.9±4.3)bc	18.9
液氨 262.5 kg/hm²　Liquid ammonia 262.5 kg/hm²	216.0	(78.1±5.6)b	24.0
液氨 375.0 kg/hm²　Liquid ammonia 375.0 kg/hm²	308.7	(89.9±4.1)a	42.7
氨水 678.0 kg/hm²　Ammonia water 678.0 kg/hm²	123.5	(69.6±3.1)c	10.5
氨水 1 186.5 kg/hm²　Ammonia water 1 186.5 kg/hm²	216.0	(72.9±3.3)bc	15.7
氨水 1 695.0 kg/hm²　Ammonia water 1 695.0 kg/hm²	308.7	(85.2±6.4)ab	35.2
碳酸氢铵 726.0 kg/hm²　Ammonium bicarbonate 726.0 kg/hm²	123.5	(67.2±1.9)cd	6.67
碳酸氢铵 1 270.5 kg/hm²　Ammonium bicarbonate 1 270.5 kg/hm²	216.0	(69.9±2.5)c	11.0
碳酸氢铵 1 815.0 kg/hm²　Ammonium bicarbonate 1 815.0 kg/hm²	308.7	(73.4±2.8)bc	16.5
10%噻唑膦 GF 45.0 kg/hm²　fosthiazate 10% GF 45.0 kg/hm²	—	(91.4±4.2)a	45.1
空白对照　Control(CK)	—	(63.0±1.8)d	—

3　结论与讨论

土壤化学消毒是最直接和有效的土壤病害处理方法,可以起到较好的控制土壤有害生物和增产作用[23],但土壤消毒剂一般成本较高,对产品的推广应用造成了一定的影响[19,24]。液氨、氨水和碳酸氢铵 3 种氮源既是氮肥又是土壤消毒剂,对土壤中的病虫害都具有一定的防治效果,同时价格比较便宜。本研究对这 3 种氮源进行土壤根结线虫的防治研究发现,这 3 种氮源都具有一定的根结线虫防治效果,特别是液氨在 375.0 kg/hm² 消毒用量条件下,可以起到和 10%噻唑膦 GF(2 g/株,45.0 kg/hm²)用量

下类似的杀线效果和增产效果。在等氮条件下，液氨处理的杀线和增产效果最好。相同氮源条件下，杀线效果和增产效果与氮源用量成正比，液氨在375.0 kg/hm^2 用量条件下，杀线和增产效果最好。因此，液氨、氨水和碳酸氢铵这3种氮源都具有杀线增产的应用前景。

常用的土壤化学消毒均为一类灭生性的方法，对土壤生物靶标无选择性，对土壤中的微生物是毁灭性的触杀，所以对土壤生态破坏严重[25]。有研究表明，使用氯化苦会降低土壤中细菌和真菌群落的多样性，使用威百亩对土壤微生物也有显著影响，同时减弱碳、氮矿化等重要的土壤转化过程[26-27]。本研究采用传统的平板法和Biolog ECO生态板法对3种氮源对土壤微生物数量和微生物群落水平生理特征(CLPP)进行了测定。平板结果发现，消毒后细菌数量随着液氨用量的增加而下降，随着氨水和碳酸氢铵用量的增加而增加，但所有氮源处理细菌数量都要高于对照(图1)。平板对真菌的检测发现，3种氮源对土壤真菌都具有显著的灭除作用，这可能也是3种氮源可以用来防控多种真菌病害的原因[6, 14-15]。黄瓜收获后，平板分析结果表明，所有氮源处理土壤中的细菌和真菌数量都显著高于对照处理和10%噻唑膦GF处理，而且细菌和真菌的数量都随氮源用量升高而升高，这说明不同氮源处理最终对土壤微生物的数量有促进作用。

Biolog ECO技术主要是通过平均颜色变化率(average well color development，AWCD)和多样性指数等多个指标来分析微生物对多种碳源的利用情况，从而反映微生物群落代谢功能的多样性特征[28-29]，可以有效弥补传统平板法只能检测可培养微生物数量的缺陷[30]。本研究中，Biolog ECO生态板的检测结果同平板检测细菌结果类似，消毒后AWCD值，Shannon多样性指数，McIntosh多样性指数和Simpson优势度指数随着液氨用量的增加而降低，随着氨水和碳酸氢铵用量的增加而增加(图2)。黄瓜收获后，所有氮素处理的AWCD值、Shannon多样性指数、McIntosh多样性指数和Simpson优势度指数均高于空白对照和10%噻唑膦GF处理，同时不同指数均和氮素的用量成正相关(图4)。这同平板检测结果相似，都说明所有氮源处理最终对土壤微生物生态群落没有破坏作用，反而有增强的作用。

综上可知，氮素消毒(液氨、氨水和碳酸氢铵)可以有效控制土壤中根结线虫引起的危害，可以有效保护土壤微生物菌落及土壤生态环境，且成本远低于噻唑膦等化学杀线虫剂，适于在生产上推广应用，为未来的土壤病害防治和生态保护提供了支持。

参考文献

[1] PERRY R N，MOENS M. 植物线虫学[M]. 简恒，译. 北京：中国农业大学出版社，2011：53－64.

[2] ESCOBAR C，BARCALA M，CABRERA J，et al. Overview of root-knot nematodes and giant cells [J]. Advances in Botanical Research，2015，73：1－24.

[3] WESEMAEL W，VIAENE N，MOENS M. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe [J]. Nematology，2011，13(1)：3－16.

[4] 席先梅，白全江，张庆萍，等. 5种生物制剂对设施蔬菜根结线虫防治技术研究[J]. 植物保护，2015，41(4)：203－207.

[5] 范继巧，张殿斌，张治家，等. 3种熏蒸剂土壤消毒对黄瓜根结线虫病的防治效果[J]. 山西农业科学，2020，48(9)：1514－1516.

[6] 吴晓明，徐文仙，张树生. 液氨熏蒸土壤防控灵芝连作障碍的效果[J]. 食药用菌，2018，26(5)：322－324.

[7] 徐玉兰，刘庆城，王建梁，等. 液氨对土壤微生物的影响及防治作物土传病害的效果[J]. 土壤肥料，1987(3)：37－39.

[8] 赵建军，艾尼江，万英，等. 多种杀菌剂及液氨对棉花黄萎病防治效果[J]. 中国棉花，2003(5)：30－31.

[9] SMILEY R W，COOK R J，PAPENDIE R I. Anhydrous ammonia as a soil fungicide against *Fusarium* and fungicidal activity in the ammonia retention zone [J]. Phytopathology，1970，60(8)：1227－1232.

[10] SEHIPPEM B，PALM L C. Ammonia，a fungistatic volatile in chitin-amended soil [J]. European Journal of Plant Pathology，1973，79(6)：279－281.

[11] 沈宗专，钟书堂，赵建树，等. 氨水熏蒸对高发枯萎病蕉园土壤微生物区系及发病率的影响[J]. 生态学报，2015，35(9)：2945－2953.

[12] LI Hao，YUAN Genlan，ZHU Changwei，et al. Soil fumigation with ammonium bicarbonate or metam sodium under high temperature alleviates continuous cropping-induced Fusarium wilt in watermelon [J]. Scientia Horticulturae，2019，246：979－986.

[13] SUN Li，SONG Song，FU Li，et al. Exploring a soil fumigation strategy based on ammonium bicarbonate to control Fusarium wilts of cucurbits [J]. Crop Protection，2015，70：53－60.

[14] OLIVIER C，MACNEIL C R，LORIA R. Application of organic and inorganic salts to field-grown potato tubers can suppress silver scurf during potato storage [J]. Plant Disease，1999，83(9)：814－818.

[15] 张停林，王桂英，杨军峰，等. 碳酸氢铵熏蒸防治十字花科蔬菜根肿病效果[J]. 长江蔬菜，2019(22)：76－80.

(下转376页)

除遍地黄金草坪中的大多数杂草；当草坪中有大量的禾本科杂草时用 108 g/L 高效氟吡甲禾灵 EC 来控草；当草坪中有大量的莎草科杂草发生时用 75%氯吡嘧磺隆 WG 来防控；若禾本科杂草和其他阔叶杂草均发生严重，可以采用 108 g/L 高效氟吡甲禾灵 EC＋56% 2 甲 4 氯钠盐 SP 混剂来防控杂草；当莎草科杂草和阔叶杂草发生严重时，可以用 75%氯吡嘧磺隆 WG＋56% 2 甲 4 氯钠盐 SP 来达到控草的目的，总之，草坪杂草种类繁多，不同的草相选用不同的除草剂来防控，不仅可以节约劳动力成本，减少农药的浪费，更重要的是可以减轻农药对生态环境的污染。

参考文献

[1] COOK B G, WILLIAMS R J, WILSON G P M. Register of Australian herbage plant cultivars [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1990, 30: 445－446.

[2] 黄毅斌，郑仲登，黄秀声，等. 平托花生在红壤果园的水土保持作用与综合利用研究[J]. 水土保持学报，2004，18(6)：30－33.

[3] 吴厚习，陈天志. 山地茶园套种平托花生的技术与应用效果[J]. 茶叶科学技术，2012(2)：19－21.

[4] 黄毅斌，应朝阳，郑仲登，等. 生态牧草筛选及其在生态果园应用的研究[J]. 中国生态农业学报，2001，9 (3)：48－51.

[5] 李尚志，赖桂芳，李发友，等. 实用草坪与造景[M]. 广州：广州出版社，2002.

[6] 胡中华，刘师汉. 草坪与地被植物[M]. 北京：中国林业出版社，1994.

[7] 郭维贤，陈恩，黄毅斌. 绿肥和绿化新品种—满地黄金[J]. 福建农业，2002(9)：12.

[8] 赵善欢. 植物化学保护[M]. 3 版. 北京：中国农业出版社，2000：7－18.

[9] 唐启义. GPS 数据处理系统——第三卷 专业统计及其他[M]. 3 版. 北京：科学出版社，2013：97－986.

[10] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 除草剂 第 3 部分：活性测定试验 土壤喷雾法：NY/T 1155.3—2006[S]. 北京：中国农业出版社，2006.

[11] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 除草剂 第 6 部分：对作物的安全性试验 土壤喷雾法：NY/T 1155.6—2006[S]. 北京：中国农业出版社，2006.

[12] 刘芳，江家泉，黄标，等. 套种平托花生对剑麻园不同层次土壤水分和氮磷钾的影响[J]. 中国麻业科学，2020，42(1)：24－30.

[13] 罗旭辉，詹杰，王义祥，等. 侵蚀果园长期植草的生态效益分析[J]. 草地学报，2011，19 (5)：729－734.

（责任编辑：田　喆）

（上接 336 页）

[16] 邢诒宥，陈美兰. 氨水消毒土壤防治茶苗根结线虫病的研究[J]. 中国茶叶，1984(3)：38－39.

[17] 白春明，段玉玺，陈立杰，等. 铵类化合物对南方根结线虫 2 龄幼虫存活的影响 [J]. 植物保护，2009，35(1)：74－78.

[18] 刘霆，段维军，刘伟成，等. 大扫灭粉剂防治番茄根结线虫研究[J]. 安徽农业科学，2009，37(23)：11054－11055.

[19] 吴青松，郭连兴，李学斌，等. 土壤熏蒸结合机械化深耕处理防治连作土壤西瓜根结线虫效果评价[J]. 植物保护，2016，42(3)：244－249.

[20] 周德庆，徐德强，胡宝龙，等. 微生物学实验教程[M]. 北京：高等教育出版社，2013：350－353.

[21] ZHANG Lei, SHAO Shiguang, LIU Cheng, et al. Forms of nutrients in rivers flowing into Lake Chaohu: a comparison between urban and rural rivers [J]. Water, 2015, 16 (3): 4523－4536.

[22] LIU Jianbin, LIU Xingzhong, XIANG Meichun et al. Integrated management of root-knot nematodes on tomato in glasshouse production using nematicides and a biocontrol agent, and their effect on soil microbial communities [J]. Nematology, 2014, 16: 463－473.

[23] 曹世勤，王万军，贾秋珍，等. 98%棉隆颗粒剂土壤处理对甘肃陇南低海拔川道区小麦田有害生物发生及产量的影响[J]. 植物保护，2021，47(1)：248－252.

[24] 王会芳，王三勇，付美英，等. 棉隆对番茄根结线虫病的防治效果[J]. 热带生物学报，2014，5(3)：249－252.

[25] 胡洪涛，朱志刚，杨靖钟，等. 不同处理对高山凤头姜瘟病的防效及土壤细菌群落结构和功能的影响[J]. 微生物学通报，2020，47(6)：1763－1775.

[26] COLLINS H P, ALVA A, BOYDSTON R A, et al. Soil microbial, fungal, and nematode responses to soil fumigation and cover crops under potato production [J]. Biology and Fertility of Soils, 2006, 42(3): 247－257.

[27] ZHANG Daqi, YAN Dongdong, FANG Wensheng, et al. Chloropicrin alternated with biofumigation increases crop yield and modifies soil bacterial and fungal communities in strawberry production [J]. Science of Total Environment, 2019, 675: 615－622.

[28] LIU Longyong, MI Jiandui, WANG Yan, et al. Different methods of incorporating ciprofloxacin in soil affect microbiome and degradation of cipronoxacin residue [J]. Science of the Total Environment, 2018, 619: 1673－1681.

[29] 江鑫钰，王江峰，朱光辉，等. Biolog-ECO 法检测尸体微生物群落的代谢功能变化[J]. 法医学杂志，2016，32(3)：171－175.

[30] 尚碧娇，左志晗，李文悦，等. Biolog-ECO 方法探究饲喂益生菌对凡纳滨对虾肠道微生物代谢及有效作用时间的影响[J]. 水产学报，2019，43(4)：1162－1170.

（责任编辑：田　喆）