

沼液处理对土壤辣椒疫霉菌抑制效果及土壤性状的影响

曹云¹, 常志州^{1*}, 马艳¹, 李彩凤², 黄飞²

(1.江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏省农业废弃物资源化工程技术研究中心, 南京 210014; 2.南京师范大学生命科学学院, 南京 210023)

摘要:设施辣椒栽培土传病害严重,已成为制约辣椒生产可持续发展的瓶颈问题。采用室内模拟的方法,以江苏铜山、南京、宜兴3地不同pH土壤为研究对象,研究原始沼液及铵强化沼液对辣椒疫霉菌的抑制效果,以期探索新的克服土传病害方法提供理论依据。结果表明,淹水或沼液处理均导致土壤铵态氮含量增加,硝态氮含量降低。沼液处理后,土壤水溶性有机碳、水溶性有机氮显著增加。淹水降低了土壤细菌、真菌的数量及土壤脲酶、脱氢酶活性,而对放线菌数量影响不明显。淹水期间,土壤细菌、放线菌数量呈先上升后下降趋势,而真菌数量持续下降。铵强化沼液处理的土壤细菌数量最多,真菌、放线菌数量处理间差异不明显。各处理脱氢酶、脲酶活性于第2~4 d内达最大值,此后缓慢下降。试验结束时,铜山、南京、宜兴3种土壤脱氢酶活性较试验初始值分别降低15.2%~59.6%、7.9%~38.4%、2.8%~37.9%,脲酶活性分别下降了16.7%、17.3%、17.1%;疫霉菌的数量分别下降2~3、1~2、1个数量级。铵强化沼液处理的疫霉菌数量最低,较淹水对照分别降低54.7%、62.8%、51.9%,说明提高沼液氨浓度,可以增强对土壤疫霉菌的抑制效果。

关键词:沼液;土壤处理;铵态氮;疫霉菌

中图分类号:X703 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)03-0539-08 doi:10.11654/jaes.2014.03.021

Effects of Anaerobically Digested Slurry on *Phytophthora capsici* and Soil Physic-chemical and Microbial Properties

CAO Yun¹, CHANG Zhi-zhou^{1*}, MA Yan¹, LI Cai-feng², HUANG Fei²

(1.Jiangsu Agricultural Waste Treatment and Recycle Engineering Research Center, Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2.College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Soilborne diseases caused by various phytopathogens have been a bottleneck in intensive production of chilli peppers. We investigated the effects of anaerobically digested slurry (ADS, 472 mg·L⁻¹ NH₄⁺-N) and NH₄⁺-intensified ADS (1000 mg·L⁻¹ NH₄⁺-N) on the growth of *Phytophthora capsici*, the culprit of Phytophthora blight of chilli pepper, and physic-chemical and microbial properties in three different soils using water as control (CK). Compared to the original soils, water flooding or ADS application resulted in higher ammonium levels but lower nitrate levels in the soils. Applying ADS also significantly increased concentrations of water soluble carbon and water soluble nitrogen in the soils in comparison with water control. Flooding with water or ADS decreased soil bacterial and fungal populations, but had no significant impact on actinomycetic population. Of three treatments, the NH₄⁺-intensified ADS treatment had the highest number of soil bacterial community, while no significant differences were found in fungal and actinomycetic communities. Activities of soil dehydrogenase and urease reached peak on day 2 to 4 and decreased thereafter. Flooding treatments decreased the population of *P. capsici* in the soils by 10 to 1000 folds. The least number of *P. capsici* was observed in soil treated by NH₄⁺-intensified ADS. The pathogen population decreased greater in alkali soil than in other soils. The results show that ADS with ammonium could enhance soil's capability and stability to suppress *P. capsici*.

Keywords: anaerobically digested slurry; soil disinfection; ammonium; *Phytophthora capsici*

收稿日期:2013-09-27

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(13)3035);农业部公益性行业专项项目(201203050-1)

作者简介:曹云(1981—),女,博士,助理研究员,研究方向为农业废弃物资源化。E-mail:youngtsao66@126.com

*通信作者:常志州 E-mail:czhizhou@hotmail.com

随着农村产业结构的调整,我国设施蔬菜栽培面积呈持续增长趋势^[1]。但由于长期的大肥大水、土壤缺少淋洗以及种植作物种类单一等原因,造成一些地区连作障碍问题日益严重,成为制约当地蔬菜生产可持续发展的瓶颈问题^[1-2]。土传病虫害是引起连作障碍最主要的因子,连作为根系病原物提供了寄主和繁殖场所,使得土壤中的病原菌数量不断增加。土传病害发生面积占栽培面积的20%~30%^[3]。江苏省农科院对江苏淮安地区30处设施大棚蔬菜病原微生物进行的调查与分离结果表明,大棚土壤中枯萎病菌、疫病菌、青枯病菌的检出率分别达60%、47%、24%,此外,多处大棚土壤中还存在腐霉病菌、炭疽病菌、菌核病菌等。

沼液对许多植物病原真菌有明显的生长抑制作用,对多种植物病害有较好的防治效果,具有“药肥”合一的功效^[4-6]。用沼液替代化肥和农药,可减少20%以上的化肥和农药施用量,并显著降低某些病害的发生率,可以发展成一种替代化学农药防治某些植物病害的有效手段^[4]。但在广泛应用后,发现沼液对病害防治效果稳定性、重复性差。铵可能是沼液的主要抑菌成分之一^[7-8]。调查显示,猪粪沼液和牛粪沼液中 NH_4^+-N 浓度均值达 $705\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,且变异较大^[9],提高沼液铵浓度,可能增强其对植物病原菌的杀灭效果,提高沼液抑菌效果的稳定性。目前有关强化铵的沼液处理保护地土壤、克服作物土传病害的研究,国内外未见报道。因此,立足于我国辣椒种植的生产实践要求,本试验主要研究了沼液处理对3种不同类型土壤理化及微生物学性状的影响,旨在为增强沼液防控辣椒疫病等土传病害提供技术支撑,同时还提供了一种合理处置沼液的新方法,对全国沼气工程的进一步扩大推进、实现农业废弃物的循环利用以及保护和改善农村生态环境具有重大意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用3种不同pH的土壤,分别取自江苏铜山、南京、宜兴的水稻田。采样时,先去除表层杂物,五点法采集表层5~20 cm土样,混匀,风干,磨碎并过2 mm筛,保存备用。供试土壤的基本理化性状见表1。供试

表1 供试土壤基本理化性状

Table 1 Physico-chemical characteristics of tested soils

取样地点	有机质/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总磷/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	pH
江苏铜山	27.75	1.69	0.51	143	8.06
江苏南京	11.55	0.95	0.26	194	7.62
江苏宜兴	17.76	1.34	0.25	186	6.58

沼液取自本实验室正常产气3个月以上的厌氧发酵罐,发酵原料为猪粪,基本理化性状见表2。在原始沼液中添加硫酸铵,使得沼液 NH_4^+-N 浓度达 $1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铵强化沼液,并用 $4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH调节至沼液初始pH。每种土壤均设3个处理,即去离子水对照(CK)、原始沼液(A0)、 $1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铵强化沼液(A1)。每个处理设3个重复。供试病原菌为辣椒疫霉病菌(*Phytophthora capsici*),由本实验室分离所得。

1.2 试验方法

试验前1 d,称取2 kg过2 mm筛的风干土样装入直径20 cm、高40 cm的PVC桶中,每桶加入数量为1000个孢子 $\cdot\text{g}^{-1}$ 土的疫霉菌游动孢子后,在PVC桶中装入去离子水或原始沼液或铵强化沼液,并保持1 cm左右的水层,根据重量法每天补充水,土壤处理温度为 $30\text{ }^{\circ}\text{C}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (12 h间隔交替),连续进行20 d。于试验开始后的0、1、2、4、7、14、20 d分别取样。采集好的土壤样品,装入事先准备好的塑料袋内,一部分土壤样品置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存,用于土壤水溶性有机碳、水溶性有机氮、铵态氮、硝态氮含量的测定以及可培养微生物数量的测定;另一部分土壤置于室内风干,用于土壤DNA的提取及疫霉菌的定量PCR计数和土壤酶活性测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 土壤理化指标

土壤pH采用土水比=1:5浸提,pH计(PHS-2F,上海精科-上海雷磁)测定;土壤Eh值采用氧化还原电位仪(GF+Signet 2720, America)测定;铵态氮含量采用KCl浸提,流动分析仪(FIAstar™ 5000 Systems, FOSS, America)测定;土壤水溶性有机碳(DOC)、水溶性全氮(WSN)采用土水比=1:5浸提,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后,TOC仪(Multi N/C 3100, Analytik jena, Germany)测定。

表2 供试沼液基本理化特性

Table 2 Physico-chemical characteristics of anaerobically digested pig slurry

总固体含量 TS/ %	pH	总氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总磷/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总钾/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	水溶性有机碳 DOC/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	电导率 EC/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	铵态氮 $\text{NH}_4^+-\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	硝态氮 $\text{NO}_3^--\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
0.62	8.21	1105	51	209	1089	575	472	115

1.3.2 土壤微生物学指标

细菌、真菌、放线菌数量测定采用梯度稀释涂平板法。采用的培养基分别是牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏培养基和高氏 1 号培养基^[10]。

脲酶活性采用靛酚比色法测定,以 37 ℃下 1 g 土壤 24 h 后催化底物产生的 NH_4^+-N 的毫克数表示;用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定脱氢酶的活性,以 37 ℃下 1 g 土壤在 24 h 后生成的三苯基甲腈(TPF)的质量表示脱氢酶活性^[11]。

土壤 DNA 提取所用试剂盒为 MP 公司生产的 FastDNA SPIN Kit for Soil, 按照使用说明提取土壤 DNA。辣椒疫霉菌计数采用定量 PCR 法,具体方法参照曹云等^[9]。

1.4 数据与分析

变量的差异采用单因素方差分析(Analysis of variance, ANOVA),均值比较采用最小显著差法(Least significant difference, LSD),显著性水平 $P=0.05$ 。土壤理化性状 NH_4^+-N 、WSN、DOC、C/N 与微生物性状之间的皮尔逊相关性采用软件 SPSS 16.0v 分析。

2 结果与分析

2.1 沼液处理对土壤理化性状的影响

表 3 为 3 种土壤处理前、后理化性状。从表 3 可以看出,淹水(CK)或原始沼液(A0)处理对土壤 pH 值均有影响。CK 处理 20 d 后,中性和碱性的 2 种土壤(南京、铜山)的 pH 较初始值均下降,而弱酸性土

壤(宜兴)的 pH 则比试验开始增加 0.45 个单位。A0 处理土壤 pH 均显著高于 CK 处理。铵强化沼液(A1)处理的土壤 pH 较原始沼液处理(A0)低,说明沼液及其中的 NH_4^+-N 浓度对土壤 pH 的影响较大。试验结束时所有处理土壤 Eh 值均降低为负值,土壤处于还原状态。除南京土壤 A1 处理 Eh 值显著低于 CK 和 A0 处理外,其余 2 种土壤各处理间氧化还原电位均无显著差异。

所有土壤淹水后铵态氮浓度上升,至试验结束,铜山、南京、宜兴 CK 处理土壤铵态氮浓度较试验初始值分别增加了 31.2%、20.0%、26.3%(表 3)。A1 处理的土壤 NH_4^+-N 含量最高,其次为 A0 处理。铜山、南京、宜兴土壤 A0 处理 NH_4^+-N 含量分别为 CK 的 3.86、7 倍和 3.96 倍,但显著低于 A1 处理土壤 NH_4^+-N 浓度,这与 A1 较高的外源铵输入有关。试验结束时,3 种土壤各处理硝态氮含量均低于初始值(表 3)。铜山、南京、宜兴土壤淹水或沼液处理后,硝态氮含量比试验初始值分别降低了 81.7%~92.0%、28.9%~68.9%、74.3%~78.9%。A0、A1 两个处理土壤硝态氮含量下降幅度大于 CK,说明添加易降解有机物可以提高短期淹水对土壤硝态氮的去除效果^[13]。除南京土壤外,CK 处理土壤可溶性有机碳(DOC)含量较初始值均有所增加,A0 处理土壤 DOC 增加幅度高于 CK,但 A0、A1 处理间 DOC 含量差异不显著,说明淹水增加了土壤 DOC 的溶出,提高了土壤有机碳的矿化量,而沼液中大量 N 的输入,促进了土壤有机碳的矿化。CK

表 3 不同处理对土壤理化性状的影响

Table 3 Soil chemical characteristics before and after flooding treatments

土壤	处理	pH	氧化还原电位 Eh/ mV	铵态氮 $\text{NH}_4^+-\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	硝态氮 $\text{NO}_3^--\text{N}/$ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	水溶性有机碳 DOC/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	水溶性总氮 WSN/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	水溶性 C/N
		(8.06)*	(68)	(16)	(31.2)	(73)	(45)	(1.60)
铜山土	CK	8.00b	-46a	21c	5.7a	100b	40c	2.48b
	A0	8.16a	-45a	81b	2.5b	203a	68b	2.96a
	A1	8.06b	-45a	123a	2.6b	208a	85a	2.44b
		(7.62)	(33)	(10)	(4.5)	(77)	(13)	(5.69)
南京土	CK	7.55b	-76b	12c	3.2a	44b	14c	3.21b
	A0	7.84a	-76b	84b	1.6b	109a	27b	4.08a
	A1	7.67b	-59a	154a	1.4b	124a	54a	2.29c
		(6.58)	(26)	(19)	(10.9)	(53)	(17)	(3.11)
宜兴土	CK	7.03b	-79a	24c	2.8a	74b	16b	4.49b
	A0	7.13a	-79a	95b	2.3b	145a	22a	6.67a
	A1	6.81a	-68a	151a	2.6a	138a	39a	3.48c

注:* 括号内为试验开始前土壤的各项指标数据。表内同一土壤相同指标数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。CK、A0、A1 分别为淹水处理(对照)、原始沼液处理、铵强化沼液处理。下同。

处理对土壤水溶性氮(WSN)含量影响较小,但 A0 处理能显著提高土壤 WSN 含量,这与沼液 N 的参与有关,也可能是沼液中的有机质减少了土壤晶格对 NH_4^+ 的固定,进而增加土壤的 WSN^[14]。3 种土壤均以 A0 处理的水溶性 C/N 最高,A1 水溶性 C/N 最低。

2.2 沼液处理对土壤微生物数量的影响

图 1 为淹水或沼液处理过程土壤可培养微生物

数量的变化。从图 1 看出,土壤处理期间,可培养细菌、真菌、放线菌数量变化趋势不尽相同。铜山、南京、宜兴土壤处理前 7 d,细菌数量迅速降低,之后缓慢上升直至处理 14 d 后,细菌数量再次下降。土壤处理 20 d 后铜山、南京、宜兴 3 种土壤真菌数量分别降低了 88%~94%、60%~83%、59%~95%;放线菌数量呈现先上升后下降趋势。不同方法处理土壤后,铜山土壤

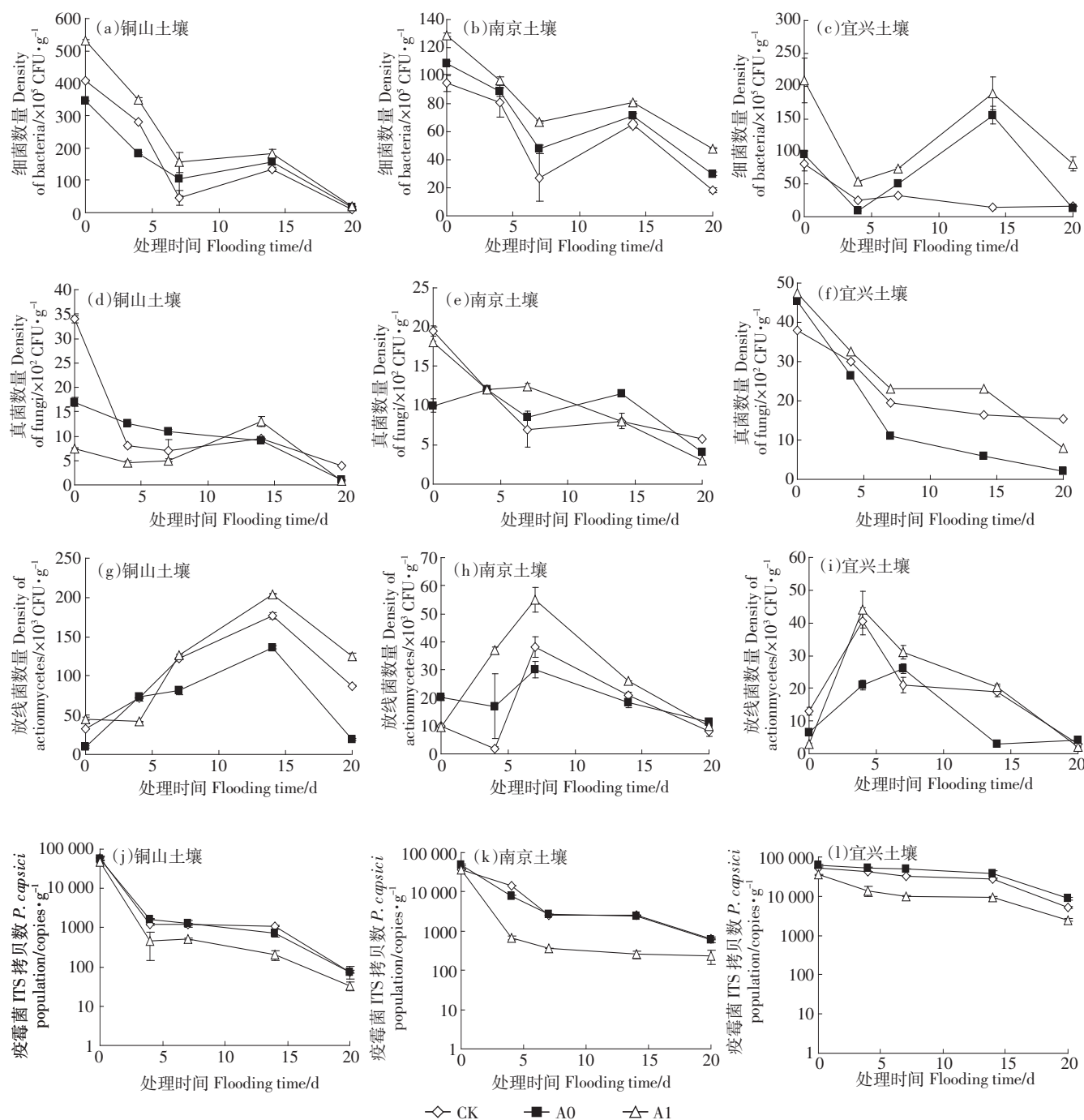


图 1 不同处理对土壤可培养细菌(a~c)、真菌(d~f)、放线菌(g~i)及疫霉菌(j~l)数量的影响

Figure 1 Population dynamics of soil bacteria(a~c), fungi(d~f), actinomycetes(g~i), and phytophthora capsici(j~l) after different treatments

放线菌数量增加了95%~179%,而南京、宜兴土壤放线菌数量则分别降低了6%~42.5%、33%~77%。3种处理方法相比,A1处理的土壤细菌数量最多,真菌、放线菌数量处理间差异不明显。

如图1j至图1l,处理期间3种土壤疫霉菌的数量均呈下降趋势。处理4d后,土壤中疫霉菌数量就迅速降低1~2个数量级。试验结束时,铜山、南京、宜兴土壤中疫霉菌的数量较初始分别下降2~3、1~2、1个数量级。试验期间,铜山、南京、宜兴3种土壤均以A1处理的疫霉菌数量最低。试验20d后,铜山、南京、宜兴3种土壤A1处理的疫霉菌数量较CK分别降低54.7%、62.8%、51.9%。与CK相比,A0处理对疫霉菌的杀灭效果与土壤类型有关,铜山、南京土壤A0处理疫霉菌的数量与对照相当,宜兴土壤A0处理疫霉菌数量则高于对照,说明利用沼液处理偏碱性的土壤时,对疫霉菌的杀灭效果较好。

2.3 沼液处理对土壤脱氢酶、脲酶活性的影响

如图2所示,淹水或沼液处理对土壤脱氢酶的活性影响较大,3种土壤所有处理脱氢酶活性呈先上升后下降的趋势。铜山土壤CK处理第4d脱氢酶活性最大,A0、A1处理第7d脱氢酶活性达到最高值,随后各处理脱氢酶活性又缓慢下降直到试验结束。南

京、宜兴土壤各处理脱氢酶活性最高值出现在第2~4d。土壤处理早期,一方面由于土壤处于微好氧状态,另一方面沼液中的易分解有机质短期刺激了微生物的繁殖,表现为脱氢酶活性增高,后期由于营养物质的逐渐消耗,土壤处于还原状态,微生物群落结构或者代谢活性出现更替,脱氢酶活性变弱。试验结束时,铜山、南京、宜兴3种土壤各处理脱氢酶活性较试验初始分别降低15.2%~59.6%、7.9%~38.4%、2.8%~37.9%。试验期间,3种土壤脱氢酶活性均以A1处理最高,铜山、南京、宜兴土壤A1处理脱氢酶活性比其他处理分别高出7.4%~46.1%、10.0%~21.1%、20.0%~66.1%。

试验前期3种土壤A0、A1处理脲酶活性增幅较大,这在南京和宜兴两种土壤上表现较为明显,脲酶活性第2~4d内达最大值,此后缓慢下降。这与沼液 NH_4^+-N 输入有关,处理前期A0、A1处理土壤溶液中尿素水解产物 NH_4^+-N 浓度升高,对脲酶活性具有明显的刺激作用,同时氮素营养的改善促进了土壤微生物的繁殖,从而使其向土壤中分泌更多的脲酶^[15]。试验结束时,铜山、南京、宜兴3种土壤各处理脲酶活性较试验初始值平均分别下降了16.7%、17.3%、17.1%。试验期间脲酶活性以A1处理最高,其次为A0处理,

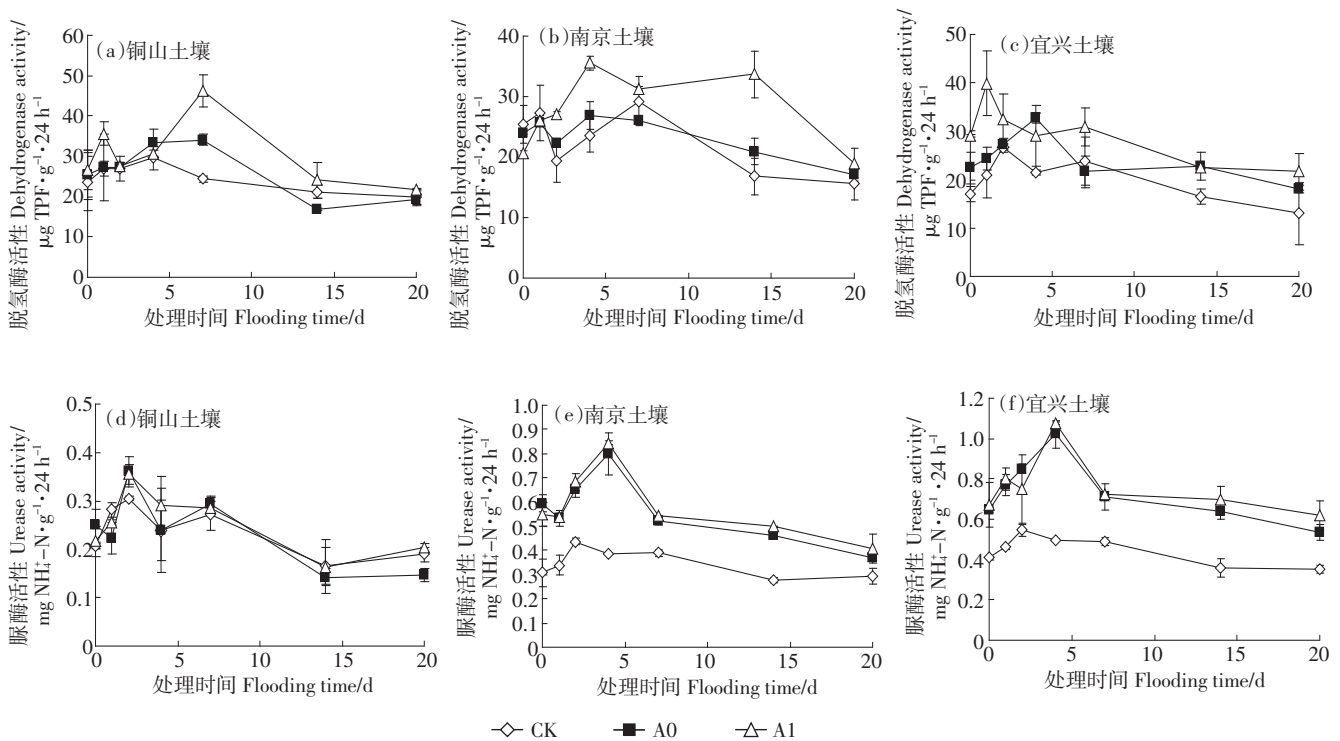


图2 沼液处理对土壤脱氢酶(a~c)、脲酶(d~f)活性的影响

Figure 2 Effects of anaerobically digested slurry on activities of dehydrogenase(a~c) and urease(d~f) in soils

CK 处理脲酶活性最低,且在试验期间只有小幅度变动,如淹水前期呈缓慢持续增强趋势,而后期则出现减弱的现象,这主要是由土壤中可溶性有机物对脲酶活性的激发和调节作用所致^[15]。

2.4 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DOC、WSN、C/N 与微生物性状的相关性

表 4 列出了试验结束时,土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、WSN、DOC 含量及 C/N 与土壤细菌、真菌、放线菌、疫霉菌及土壤脱氢酶、脲酶活性的相关性。土壤中细菌、真菌、放线菌数量、脱氢酶活性与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DOC、WSN 浓度呈正相关,而与 C/N 呈负相关。细菌数量与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量、WSN 与放线菌数量、DOC 与脱氢酶活性正相关性均达显著水平。土壤疫霉菌数量与 DOC、WSN、C/N 正相关,而与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量负相关。土壤脲酶活性与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度呈正相关,与 DOC、WSN 含量负相关。

表 4 试验结束时土壤理化性状 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DOC、WSN、C/N 与土壤微生物指标细菌、真菌、放线菌、疫霉菌数量及脱氢酶、脲酶活性相关性

Table 4 Pearson correlations of soil bacteria, fungi, actinomycetes, *P. capsici*, soil dehydrogenase and urease with soil $\text{NH}_4^+\text{-N}$, WSN, DOC and C/N

微生物指标	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	DOC	WSN	C/N
细菌	0.681*	0.643	0.574	-0.121
真菌	0.268	0.020	0.017	-0.098
放线菌	0.028	0.425	0.662*	-0.491
疫霉菌	-0.111	0.528	0.399	0.127
脱氢酶	0.517	0.715*	0.614	-0.045
脲酶	0.453	-0.184	-0.449	0.551

注: * 在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

Note: * indicates significant difference at $P < 0.05$.

3 讨论

3.1 沼液处理对土壤理化性状的影响

淹水有促使酸性和碱性两种土壤都向中性发展的趋势,而且淹水土壤的 pH 范围比排水土壤的要小^[6]。这与本试验结果相符:淹水后,铜山、南京土壤 pH 均下降,而宜兴土壤 pH 上升。酸性土壤 pH 上升一方面是由于淹水导致的土壤 Eh 降低,使土壤中的铁、锰的高价化合物被大量还原,从而消耗大量的 H^+ 。添加不同类型的有机物料对不同类型的土壤 pH 会产生不同影响,可使 pH 升高、也可能降低或者影响不大^[17]。一般认为,施用沼液使土壤的 pH 值增高^[18],这可能与沼液自身的弱碱性有关。沼液中增加了硫酸铵后,大量的强酸根离子 SO_4^{2-} 进入土壤,导致 pH 上升幅度变小。

长期淹水土壤铵态氮含量很高,这是由于淹水条件下,有机氮经厌氧氨化微生物的作用,矿化产物铵态氮在土壤中发生大量累积^[19],并被其中的粘土矿物固定,表现为固定态铵的含量显著增加。沼液处理较淹水更能增加土壤中铵态氮含量(表 3),除了受沼液自身的高浓度铵态氮影响外,还与沼液中有有机氮的矿化和土壤矿质氮微生物固持有关。研究表明,当有机物料 C/N 值小于 20,有机氮的矿化速率大于矿质氮的生物固持作用,表现为矿质氮的净矿化^[20-21]。猪粪沼液的 C/N 值一般小于 20^[22],因此,沼液处理后短期内土壤铵态氮浓度上升。淹水后土壤硝态氮含量下降,这是因为土壤经常处于厌氧状态,土壤反硝化作用强烈,大量硝态氮被还原^[23]。此外,沼液处理后土壤 DOC 含量较淹水对照显著提高,这与沼液中大量的 DOC 输入有关。

3.2 沼液处理对土壤微生物性状的影响

研究表明,淹水培养过程中微生物的生长演替可以 R 策略和 K 策略加以解释:在淹水培养的早期,因脂肪酸碳源充足, R 策略型微生物占优势,但淹水后期随着营养物质的逐渐消耗,能高效利用各种碳源的 K 策略型微生物具备更大的竞争力,逐渐取代了 R 策略型微生物^[24]。试验中土壤淹水或沼液处理后细菌、真菌、放线菌的数量均呈较大的波动趋势(图 1),说明淹水或沼液培养过程中土壤微生物群落存在演替性变化,且与其生存环境以及其对环境变化的适应性相关^[24]。有文献报道土壤含水量高有利于疫霉菌孢子扩散,短时间的淹水处理并不能降低土壤中疫霉菌等低等真菌的数量,在一定条件下,反而会刺激其生长与繁殖,加重土传病害的发生^[25]。但随着淹水时间的延长,疫霉菌数量显著降低。朱宗源等^[26]研究表明,淹水 2 周后,土壤中辣椒疫霉菌游动孢子和孢子囊的数量分别降低了 93% 和 43%。王光飞等^[27]研究也表明,淹水处理前 8 d 内,辣椒疫霉菌孢子数量都从 1000 个·g⁻¹ 干土下降到 40 个·g⁻¹ 干土。本试验结果显示淹水 20 d,辣椒疫霉菌的数量降低了 1~3 个数量级,土壤 pH 越高,疫霉菌数量下降幅度越大,这是因为辣椒疫霉菌生长和产孢最适宜 pH 为 6.0~7.0, pH 大于 8 能明显抑制其生长繁殖。添加易分解有机物对病原菌数量的影响与土壤类型、有机物料理化性状、病原菌类型有关^[28]。研究表明,淹水土壤中添加糖蜜,土壤的尖孢镰刀菌显著低于不添加糖蜜处理,而淹水土壤中添加糖蜜或鸡粪处理对辣椒疫霉菌数量影响不大^[29]。本试验中, A0 处理后,铜山、南京土壤的疫霉菌数量与

CK处理无显著差异,但宜兴土壤A0处理的疫霉菌数量却显著高于CK,可见土壤性质很大程度上影响了沼液处理下疫霉菌的存活。

淹水导致土壤处于还原状态,在此条件下,氨是高N含量有机物料杀灭土壤病原菌的机制之一^[30]。本研究中,土壤中铵态氮含量与疫霉菌数量呈负相关(表4),3种土壤铵强化沼液处理的疫霉菌数量均较普通沼液处理低。氨的浓度除受土壤铵态氮含量影响外,还与pH有关,pH越高,氨浓度也越高。本试验中,铜山土壤pH最高,铵强化沼液对其辣椒疫霉菌的抑制效果也最好。

土壤酶是土壤组分中最活跃的有机成分之一,可作为土壤肥力和土壤自净能力评价的重要指标。土壤酶活与植物病害也有相关性,土壤脲酶促进尿素分解为氨,可以表示土壤N素的供应状况,是决定土壤铵态氮含量的重要指标。孙传伯等^[31]研究表明,正常植株根际土壤中的脲酶活性显著高于发病植株,脲酶活性可以作为设施栽培土壤病害预测预报的一个重要指征。本试验中,A0和A1处理土壤的脲酶活性和铵态氮都较高,对应的病原菌数量也较少。土壤脱氢酶活性与土壤微生物数量、微生物活性和土壤呼吸强度呈正相关。试验前期土壤细菌、放线菌有较大幅度上升,这是因为在淹水前期,土壤中还存在一部分氧气,土壤微生物代谢活性还比较强,表现为初期土壤脱氢酶活性增高。试验后期土壤脱氢酶活性下降,是因为厌氧条件不利于微生物生长,微生物活性下降,这与吴伟祥等^[32]的报道结果一致。淹水后土壤微生物区系发生改变,长期淹水土壤中好氧微生物、革兰氏阳性菌及丝状真菌比例减少,而革兰氏阴性菌比例增加^[23]。本试验中,土壤细菌数量与脱氢酶活性与土壤DOC、WSN含量有较高的正相关性,铵强化沼液处理土壤细菌数量及脱氢酶活性均最高,这可能是该处理土壤疫霉菌数量降低最多的另一原因,因为细菌数量和种类众多,繁殖速度快,能在营养和生态位竞争上处于优势,从而抑制病原菌的繁殖。

4 结论

经20d沼液处理,土壤铵态氮含量增加、硝态氮含量降低,DOC、WSN含量增加。淹水或沼液处理期间,土壤细菌、放线菌数量及脱氢酶、脲酶活性呈先上升后下降趋势;真菌呈持续下降趋势。淹水处理或沼液处理能减少土壤中1~3个数量级辣椒疫霉菌数量,且碱性土壤中疫霉菌数量下降幅度更大。铵强化沼液

处理对辣椒疫霉菌的抑制效果最好,这与土壤中较高的 NH_4^+-N 浓度、细菌数量和微生物活性有关。提高沼液中氨含量,可增加沼液抑制土壤中疫霉菌生长的效果与稳定性。就土壤类型而言,沼液比较适合处理中性偏碱的土壤。

参考文献:

- [1] 喻景权,杜尧舜. 蔬菜设施栽培可持续发展中的连作障碍问题[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(1): 124-126.
YU Jing-quan, DU Yao-shun. Soil-sickness problem in the sustainable development for the protected production of vegetables[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2000, 31(1): 124-126.
- [2] 段峰,王秀云,高志红. 园艺作物连作障碍发生原因及防治措施[J]. 江西农业学报, 2011, 23(3): 38-43.
DUAN Feng, WANG Xiu-yun, GAO Zhi-hong. Causes and control measures of continuous cropping obstacle in horticultural crops[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2011, 23(3): 38-43.
- [3] 顾玉成,吴金平. 设施栽培连作障碍克服技术的研究与应用[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(1): 1-3.
GU Yu-cheng, WU Jin-ping. Research and application of technology to overcome the obstacles of continuous cropping in facility cultivation[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 50(1): 1-3.
- [4] 马艳,李海,常志州,等. 沼液对植物病害的防治效果及机理研究 I: 对植物病原真菌的抑制效果及抑菌机理初探[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(2): 366-374.
MA Yan, LI Hai, CHANG Zhi-zhou, et al. Biocontrol effect and mechanism of biogas slurry on plant disease I: Primary study of growth inhibition. Effects and mechanism on phytopathogen fungi[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 30(2): 366-374.
- [5] 尚斌,陈永杏,陶秀萍,等. 猪场沼液对蔬菜病原菌的抑制作用[J]. 生态学报, 2011, 31(9): 2509-2515.
SHANG Bin, CHEN Yong-xing, TAO Xiu-ping, et al. Inhibitory effect of biogas slurry from swine farm on some vegetable pathogen[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(9): 2509-2515.
- [6] 尚斌,陶秀萍,陈永杏,等. 牛场沼液对几种蔬菜病原菌抑制作用的研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(4): 753-760.
SHANG Bin, TAO Xiu-ping, CHEN Yong-xing, et al. Inhibitory effect of biogas slurry of cattle manure on vegetable pathogens[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(4): 753-760.
- [7] CAO Yun, CHANG Zhi-zhou, WANG Ji-dong, et al. The fate of antagonistic microorganisms and antimicrobial substances during anaerobic digestion of pig and dairy manure[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 136: 664-671.
- [8] 曹云,常志州,马艳,等. 猪粪沼液防治辣椒疫病机理研究: 沼液中铵与腐殖酸的作用[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(9): 1119-1126.
CAO Yun, CHANG Zhi-zhou, MA Yan, et al. Control mechanism of Phytophthora blight of chilli pepper by anaerobically digested pig slurry: The roles of ammonium and humic acid in biogas slurry[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(9): 1119-1126.
- [9] 靳红梅,常志州,叶小梅,等. 江苏省大型沼气工程沼液理化特性分析[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 291-296.
JIN Hong-mei, CHANG Zhi-zhou, YE Xiao-mei, et al. Physical and chemical characteristics of anaerobically digested slurry from large-

- scale biogas project in Jiangsu Province[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2011, 27(1):291-296.
- [10] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- LI Fu-di, YU Zi-niu, HE Shao-jiang. *Agricultural Microbiology experiment technology*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996.
- [11] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京出版社, 1986.
- [12] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- HUANG Chang-yong. *Soil science*[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000.
- [13] 朱同彬, 张金波, 蔡祖聪. 淹水条件下添加有机物料对蔬菜地土壤硝态氮及氮素气体排放的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(1):109-114.
- ZHU Tong-bin, ZHANG Jin-bo, CAI Zu-cong. Effects of organic material amendment on vegetable soil nitrate content and nitrogenous gases emission under flooding condition[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(1):109-114.
- [14] Kowalenko C G, Yu S. Solution, exchangeable and clay-fixed ammonium in south coast British Columbia soils[J]. *Can J Soil Sci*, 1996, 76:473-483.
- [15] 李 华, 陈英旭, 梁新强, 等. 土壤脲酶活性对稻田田面水氮素转化的影响[J]. *水土保持学报*, 2006, 20(1):54-58.
- LI Hua, CHEN Ying-xu, LIANG Xin-qiang, et al. Influence of soil urease activities on nitrogen conversion in floodwater in paddy field[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2006, 20(1):54-58.
- [16] 唐罗忠, 生原喜久雄, 户田浩人, 等. 湿地林土壤的 Fe^{2+} , Eh 及 pH 值的变化[J]. *生态学报*, 2005, 25(1):103-107.
- TANG Luo-zhong, Haibara K, Toda H, et al. Dynamics of ferrous iron, redox potential and pH of forested wetland soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(1):103-107.
- [17] 栾书荣, 汪晓丽, 洪 岚, 等. 土壤中掺入不同植物材料对其 pH 的影响[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2005, 26(3):62-65.
- LUANG Shu-rong, WANG Xiao-li, HONG Lan, et al. Effects of incorporation of plant materials on soil pH during short-term incubation[J]. *Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition*, 2005, 26(3):62-65.
- [18] 覃 舟. 施用沼液对紫甘蓝产量、营养品质及土壤质量的影响[J]. *江西农业学报*, 2009, 21(7):83-86.
- QIN Zhou. Effect of biogas slurry application on yield, nutrition quality of purple cabbage and soil quality[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(7):83-86.
- [19] 金相灿, 崔 哲, 王圣瑞. 连续淹水培养条件下沉积物和土壤的氮素矿化过程[J]. *土壤通报*, 2006, 37(5):909-915.
- JIN Xiang-can, CUI Zhe, WANG Sheng-rui. Nitrogen mineralization processes of sediments and soil under continuously waterlogged incubation conditions[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(5):909-915.
- [20] 鲁彩艳, 陈 欣. 有机碳源添加对不同 C/N 比有机物料氮矿化进程的影响[J]. *中国科学院研究生院学报*, 2004, 21(1):108-122.
- LU Cai-yan, CHEN Xin. Effect of organic carbon on the mineralization process of organic nitrogen in organic material with different C/N ratio[J]. *Journal of the Graduated School of the Chinese Academy of Sciences*, 2004, 21(1):108-122.
- [21] 李世清, 李生秀. 有机物料在维持土壤微生物体氮库中的作用[J]. *生态学报*, 2001, 21(1):136-142.
- LI Shi-qing, LI Sheng-xiu. Effects of organic materials on maintaining soil microbial biomass nitrogen[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(1):136-142.
- [22] 吕锦萍, 李俊杰, 巴哈提古丽, 等. 博州地区沼气池沼液沼渣有机质及养分含量分析[J]. *中国沼气*, 2009, 26(5):28-29.
- [23] Unger I M, Muzika R, Motavalli P P. The effect of flooding and residue incorporation on soil chemistry, germination and seedling growth[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 69:113-120.
- [24] 王保莉, 黄 森, 刘 浩, 等. 淹水培养过程中水稻土芽孢杆菌群落结构变化特征[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(5):1021-1027.
- WANG Bao-li, HUANG Sen, LIU Hao, et al. Characteristics of *Bacillus* communities in flooded paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(5):1021-1027.
- [25] Hord M J, Ristaino J B. Effect of the matric component of soil water potential on an infection of pepper seedlings in soil infested with oospores of *Phytophthora capsici*[J]. *Phytopathology*, 1992, 82:792-798.
- [26] 朱宗源, 吴玲忠, 陆仕华, 等. 辣椒疫霉在土壤中的季节性变化和存活[J]. *上海农业学报*, 1998, 14(4):45-50.
- ZHU Zong-yuan, WU Ling-zhong, LU Shi-hua, et al. Studies on seasonal fluctuation and survival of *Phytophthora capsici* in soil[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1998, 14(4):45-50.
- [27] 王光飞, 马 艳, 常志州, 等. 淹水改良土壤性状及对辣椒疫病的防效研究[J]. *水土保持学报*, 2013, 27(2):209-214.
- WANG Guang-fei, MA Yan, CHANG Zhi-zhou, et al. Effect of flooding on soil character and disease control of *Phytophthora* blight of chilli pepper[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2013, 27(2):209-214.
- [28] Bonanomi G, Antignani V, Capodilupo M, et al. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soil borne plant diseases[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 2:136-144.
- [29] Butler D M, Kokalis-Burelle N, Muramoto J, et al. Impact of anaerobic soil disinfestation combined with soil solarization on plant parasitic nematodes and introduced inoculum of soilborne plant pathogens in raised-bed vegetable production[J]. *Crop Protection*, 2012, 39:33-40.
- [30] Tenuta M, Lazarovits G. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*[J]. *Phytopathology*, 2002, 92:255-264.
- [31] 孙传伯, 廖梓良, 余茂耘, 等. 现代设施农业中香石竹根区土壤生物酶因子时空变化研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(23):14045-14048.
- SUN Chuan-bo, LIAO Zi-liang, YU Mao-yun, et al. Temporal and spatial changes of soil enzyme factors in carnation rhizosphere under cultivation[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2011, 39(23):14045-14048.
- [32] 吴伟祥, 叶庆富, 闵 航. 不同生长期转 Bt 基因水稻秸秆还土对淹水土壤酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2003, 23(11):2353-2357.
- WU Wei-xiang, YE Qing-fu, MIN Hang. Enzyme activities variation in flooded soils amended with Bt transgenic rice straws at different stages of plant development[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(11):2353-2357.