

生物有机肥 GSJ - 1 对马铃薯土壤疮痂病病原菌分布影响及生防效果研究

靳海波¹, 王文丽^{1,2}, 邱慧珍¹, 李娟², 赵旭²

(1. 甘肃农业大学资源与环境学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为了确定生物有机肥 GSJ - 1 对连作马铃薯土壤疮痂病病原菌分布影响及对马铃薯疮痂病的防治效果, 本试验进行了土壤疮痂病病原菌含量测定、马铃薯疮痂病情田间调查。结果表明, 连作土壤疮痂病病原菌在盛花期之前向根际富集, 盛花期之后向匍匐茎和薯块富集。施用生物有机肥 GSJ - 1 显著降低了土壤疮痂病病原菌含量, 比对照下降了 19.6% ~ 74.9%, 且改变了土壤中疮痂病病原菌原有的分布规律: 从连作处理的根际多于非根际改变为生物有机肥 GSJ - 1 处理的根际少于非根际, 且对疮痂病的防效达到 47.2%。

关键词: 马铃薯; 疮痂病病原菌; 生物有机肥; 根际土壤

中图分类号: S435.32 **文献标志码:** A

Effects of bio-organic fertilizer GSJ - 1 on distribution of soil potato scab pathogens and bio-control of potato scab

JIN Hai-bo¹, Wang Wen-li^{1,2}, QIU Hui-zhen¹, LI Juan², ZHAO Xu²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Gansu Agriculture University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Science Soil Fertilizer and Water Saving Agricultural Research Institute, Gansu Academy of Agriculture, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: To evaluate effects of bio-organic fertilizer GSJ - 1 on distribution of soil potato scab pathogens, and also on the potato scab bio-control, the content of soil scab pathogens was determined, and the disease observation in field was carried out. The results showed that the potato scab pathogens of continuous cropping soil (CK) were concentrated to rhizosphere before flowering period, and then moved to stolon and tuber consequently. The bio-organic fertilizer GSJ - 1 significantly reduced the content of soil scab pathogens by 19.6% ~ 74.9% compared with the continuous cropping soil, and also changed the orders of the distribution of potato scab pathogens in soil. The order in continuous cropping soil had been as the following: rhizosphere > non rhizosphere, which was turned into rhizosphere < non rhizosphere with GSJ - 1 treatment. In addition, the prevention effect of GSJ - 1 application on potato scab-control reached 47.2%.

Keywords: potato; scab pathogens; bio-organic fertilizer; rhizosphere soil

马铃薯作为世界第四大作物, 是一种粮菜兼用和工业原料作物^[1]。近年来随着马铃薯产业的迅速发展和巨大经济利益的驱动, 专业化、集约化和设施化生产面积不断扩大, 而我国耕地面积有限, 生产上无法轮作, 导致连作现象更为普遍, 土传病害日趋严重^[2]。迄今为止, 对于马铃薯连作引起的土传病害的研究主要是镰刀菌 (*Fusarium spp.*) 引起的干腐病^[3], 立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 引起的黑痣病^[4]。目前, 对马铃薯连作引起的疮痂病的研究尚少, 关于疮痂病的研究, 国内主要集中在该病原菌

的分离鉴定^[5-6]及选育抗病品种^[6]方面, 且对该病的防治注重于化学防治^[7], 忽视了生物有机肥的生物防治。微生物有机肥是近年来推广的一种新型肥料, 它集有机肥和化肥的优点为一体, 并含有多种有益拮抗微生物, 有缓解作物连作障碍的功效^[8], 增施微生物有机肥能显著提高土壤供肥能力, 丰富因常年连作引起的单一的土壤微生物结构, 能有效防治病害的发生。此外, 生产上通过测定作物整个生育期中土壤病原菌的含量和分布规律, 掌握病原菌发生最严重的时期和土壤区域, 集中施肥对防治病害

收稿日期: 2014-03-07

基金项目: 甘肃省农业科学院创新专项“功能性马铃薯微生物菌肥研制”(2012GAAS07-4)

作者简介: 靳海波(1987—), 男, 甘肃庄浪人, 硕士研究生, 研究方向为生物有机肥的生物防治。E-mail: jhbb2011@163.com。

通信作者: 王文丽, 女, 甘肃民勤人, 副研究员。E-mail: wang_wenli@sina.com。

具有十分重要的意义,而目前对马铃薯疮痂病原菌的定量测定,疮痂病原菌在连作土壤中的分布和在整个生育期的动态变化规律的研究未见报道。鉴于此,本研究是将 Menzies^[9]的方法进行优化,利用优化条件对土壤疮痂病原菌进行定量测定,以探求施用生物有机肥 GSJ-1 后,对连作土壤中疮痂病原菌的分布及其随生育期动态变化趋势的影响,确定该肥的防治效果,以期对生物有机肥 GSJ-1 有效防治马铃薯疮痂病和提高马铃薯品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试种薯品种为脱毒小种薯 LK99,市售。

1.2 试验区概况

本试验设在甘肃省定西渭源县会川镇杨庄乡半阴坡村斜坡社农户农田中。当地海拔 2 450 m,年平均气温 5℃,最冷月(1 月)平均气温 -12℃,最热月(7 月)平均气温 15℃,年平均降水量 566.4 mm,无霜期 131 d。供试土壤理化性状:有机质 3.7 g·kg⁻¹,全氮 0.3 g·kg⁻¹,全磷 0.1 g·kg⁻¹,全钾 2.6 g·kg⁻¹,碱解氮 166.2 mg·kg⁻¹,速效磷 38.9 mg·kg⁻¹,速效钾 89.9 mg·kg⁻¹,pH 值(水土比 5:1)为 7.12。

1.3 试验设计

试验为随机区组设计,设置 2 个处理,马铃薯连作 4 年(CK)、马铃薯连作 4 年并施生物有机肥 GSJ-1,重复三次。小区面积 18 m²,行距 50 cm,株距 30 cm,种植密度为 3 704 株·hm⁻¹。生物有机肥 GSJ-1 是由甘肃省农科院土肥所微生物实验室研制,第一次施菌肥是于播种期在薯块底部集中施用,第二次追肥和起垄同步进行,两次用量均为 10 g·株⁻¹。两处理化肥使用量一致,化肥施用量为:基肥, N 75 kg·hm⁻² + P₂O₅ 105 kg·hm⁻²;追肥, N 75 kg·hm⁻²。

1.4 试验方法

1.4.1 土壤采集 土样采集时期为播种期(2013-04-16),苗期(2013-06-01),盛花期(2013-07-07),薯块膨大期(2013-08-04),成熟期(2013-09-01),5 个时段。以马铃薯主根为中心向外依次取 T1、T2、T3 三个区域土壤。T1(根际土壤):采用 Riley 和 Barber 的剥落分离法^[10],连根以及根部土壤一起取出,然后轻轻抖落、剥去距离根系表面 1 cm 以外的土壤,用灭菌刷子刷下粘附在根表 0~1 cm 的土壤于灭菌布上,装于无菌袋中。T2(匍匐茎和薯块在此区域):取完根际土壤后,依次取距离主根横向 2~15 cm、距离地表 25 cm 深的区域土壤于灭菌布

上,四分法多次后每小区取 100 g,装于无菌袋中。T3(根、匍匐茎和薯块以外土壤):该区域取距离主根横向 16 cm 处、距离地表 25 cm 深的土壤于灭菌布上,四分法多次后每小区取 100 g,装于无菌袋中。将采集的三类土壤编号,立即带回实验室在超净工作台过 3 mm 灭菌筛,装于无菌袋中,4℃ 冰箱保存(不超过 3 天)。

1.4.2 疮痂病原菌的定量测定 疮痂病原菌专性选择培养基:琼脂 15 g,硝酸钠 10 g,络蛋白钠 25 g, L-络氨酸 1 g,蒸馏水 1 000 ml。注:配置方法,25 g 络蛋白钠以微热溶于 500 ml 水中,再加其余成分,补足 1 000 ml 水。

将 Menzies 的方法进行优化,采用双因素正交实验,X 因素设置 9 种不同浓度的苯酚溶液分别是:A:1/40, B:1/65, C:1/80, D:1/100, E:1/110, F:1/120, G:1/150, H:1/180, I:0; Y 因素设置 5 种不同浓度的土壤悬液分别是:a:1/600, b:1/1000, c:1/1200, d:1/1400, e:1/10000。将每组正交条件下的苯酚溶液和土壤悬液混匀,吸取 100 μL 涂于选择培养基上,6 天后观察计数(如图 1 所示)。然后再通过菌落计数原则对正交结果进行筛选,最后筛选出最优正交条件作为土壤疮痂病原菌定量测定的条件。

$$\text{每克土壤带菌量} = \frac{\text{菌落平均数} \times \text{稀释倍数}}{\text{接菌毫升数} \times (1 - \text{土壤含水率})}$$

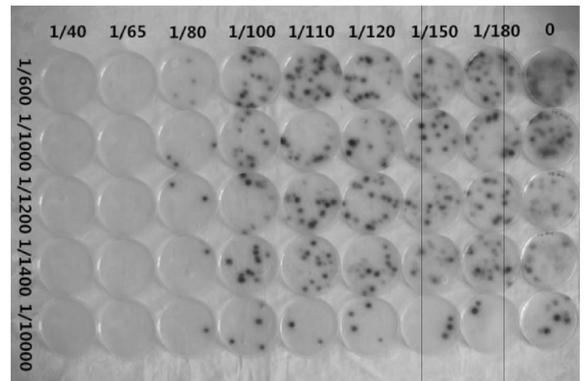


图 1 疮痂病原菌定量测定条件正交结果示意图

Fig.1 Quantitative determination of scab pathogens

1.4.3 马铃薯块茎疮痂病病情调查 马铃薯成熟收获后调查薯块发病情况,每小区 5 株,每株调查 6 个薯块,通过病情指数反映病害程度。马铃薯疮痂病设 6 个等级:0 级:无病,薯块无病痂;1 级:1%~2%的病痂覆盖率;2 级:2.1%~5.0%的病痂覆盖率;3 级:5.1%~10.0%的病痂覆盖率;4 级:10.1%~25%的病痂覆盖率;5 级:大于 25%的病痂覆盖率。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病薯数} \times \text{相应级数})}{\text{调查总薯数} \times \text{最高分级级数}} \times 100$$

1.5 数据处理

采用 Excel2003 软件进行基础数据处理和制图,应用 SPSS17.0 软件进行显著性分析

2 结果与分析

2.1 土壤疮痂病原菌定量测定条件优化

如图 1 所示,正交条件从左到右苯酚浓度逐渐下降,从上到下土壤悬液浓度逐渐下降。正交处理后菌落计数如表 1 所示、图 2 所示,黑色菌落为疮痂

病原菌的菌落形态,舍弃不符合菌落计数的正交结果 A、B,对正交条件进一步筛选,从可计数的正交结果显示,苯酚的浓度从高到底,对病原菌和杂菌的抑制作用减弱,说明当苯酚浓度为 1/120 时,苯酚对病原菌和杂菌的抑制作用最小,病原菌数更接近于土壤带菌量,所以将苯酚浓度为 1/120,土壤悬液浓度设置为 1/1000、1/1200、1/1400 三个梯度作为土壤疮痂病原菌定量测定的最优条件。

表 1 不同浓度苯酚对疮痂病原菌与杂菌数量的影响
Table 1 Effects of phenol on quantity of pathogen and bacteria

土壤悬液浓度 Concentration of soil suspension	苯酚浓度 Phenol concentration								
	1/40	1/65	1/80	1/100	1/110	1/120	1/150	1/180	0
1/600	0+1	0+4	4+13	A	A	A	B	B	B
1/1000	0+2	0+3	3+6	14+40	17+67	23+78	A	B	B
1/1200	0+2	0+4	2+7	12+36	15+56	19+73	A	B	B
1/1400	0+2	0+2	1+5	10+34	12+46	15+63	A	A	B
1/10000	0+0	0+0	1+2	1+3	1+5	1+8	3+20	5+34	6+73

注:A,疮痂病原菌产生色素与杂菌接触;B,疮痂病原菌过多产生色素将整皿染黑;‘+’之前的数值为病原菌数,‘+’之后的数值为杂菌数。

Note: A, scab pathogens produced pigment which was in contact with bacteria; B, too many scab pathogens produce pigment which blackened the whole dish. The number in front of ‘+’ was the quantity of pathogen, the number after ‘+’ was the quantity of bacteria.

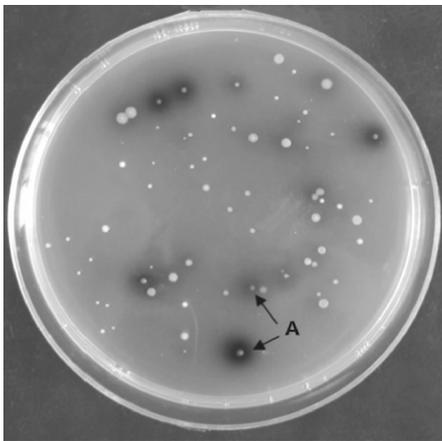


图 2 疮痂病原菌菌落形态

Fig.2 Colonies of scab pathogens on plant from orthogonal tests

注:疮痂病原菌 A(产生色素)

Note: Scab pathogens A (producing pigment)

2.2 生物有机肥 GSJ-1 对连作马铃薯土壤疮痂病原菌含量的影响

马铃薯连作根际土壤(T1)疮痂病原菌随着马铃薯生育期的进行呈现先增长后下降的趋势(图 3),盛花期之前显著增加盛花期之后显著下降(P < 0.05),且盛花期病原菌数显著高于其它时期达到最大的 42.5 × 10⁴ cfu·g⁻¹,较之于播种前期土壤增长了 130%,说明连作促进了根际疮痂病原菌的生长

和繁殖,且从苗期到盛花期显著向根际富。距离主根 2~15 cm 区域(T2)土壤病原菌随着马铃薯生育期的进行呈增长趋势,且于盛花期之后增长的更快,较之于播前土壤从苗期到成熟期病原菌增长了 2.8%~93.1%,可见连作也促进了距离主根 2~15 cm 区域(T2)土壤疮痂病原菌的繁殖,初步说明疮痂病原菌从盛花期到成熟期急剧向根外匍匐茎和薯块富集。距离主根大于 15 cm 区域(T3)土壤病原菌含量在马铃薯整个生育期无显著差异(P > 0.05),说明与马铃薯根、匍匐茎和薯块未接触的土壤病原菌基本保持不变。

如图 4 所示,施用生物有机肥 GSJ-1 后根际(T1)土壤病原菌随着马铃薯生育期的进行呈“W”型变化趋势,较之于播前土壤疮痂病原菌下降了 2.3%~39.5%,说明在马铃薯的生育期中生物有机肥抑制了根际病原菌的繁殖,而病原菌锯齿状变化趋势可能与微生物有机肥肥效和功能菌的定植能力有关;距离主根 2~15cm 区域(T2)土壤病原菌随着马铃薯生育期的进行增长趋势不显著(P > 0.05),说明微生物有机肥在抑制根际病原菌的同时可能阻断了根际病原菌向根外匍匐茎和薯块的富集;距离主根大于 15cm 区域(T3)土壤病原菌变化情况与连作土壤相同,都不显著。

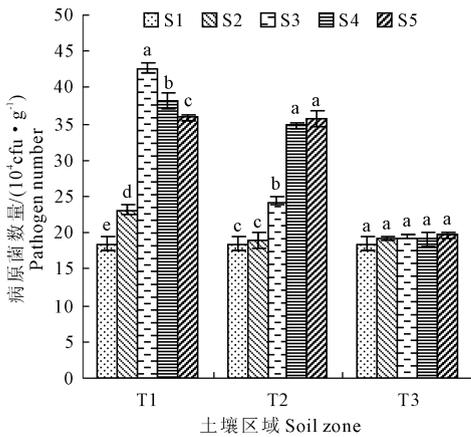


图 3 连作土壤病原菌随生育期的变化趋势

Fig. 3 Dynamic changes of pathogen at different growth stages in the continuous cropping soil

较之于连作土壤处理(CK),施用生物有机肥GSJ-1后马铃薯土壤疮痂病原菌数从苗期到成熟期显著下降,根际(T1)下降了21.3%~74.9%;距离主根2~15 cm区域(T2)下降了19.6%~55%;距离主根大于15 cm区域(T3)下降了19.1%~23.1%,说明GSJ-1能有效抑制连作马铃薯土壤疮痂病原菌的繁殖。

表 2 施用GSJ-1对连作马铃薯病情指数的影响

Table 2 Effects of bio-organic fertilizer GSJ-1 application on potato scab disease indexes

处理 Treatment	0级 Leaver 0	1级 Leaver 1	2级 Leaver 2	3级 Leaver 3	4级 Leaver 4	5级 Leaver 5	病情指数 (DI)
连作 Continuous cropping	8	31	32	13	5	1	35.3
连作+GSJ-1 GSJ-1 treatment	35	36	12	6	1	0	19.3

3 结论与讨论

3.1 马铃薯连作下土壤疮痂病原菌的分布及变化规律

土壤微生物是土壤生态系统中重要的组成部分,其群落结构组成及其变化在一定程度上反映了土壤的质量及其健全性^[11]。根际是植物、土壤、微生物相互作用的活跃界面,是土壤中活性最强的小生境,特定环境和生态条件下植物根系土壤表现出特定的根际效应,其中营养选择和富集是根际效应对微生物最重要的影响^[12]。连作导致根际某些特定的微生物类群得到富集,特别是植物病原菌^[13]。本研究表明,马铃薯连作后距离根系表面不同距离的横向土壤区域中疮痂病原菌存在一定的分布规律,即根际最多,距离根系表面2~15 cm区域次之,

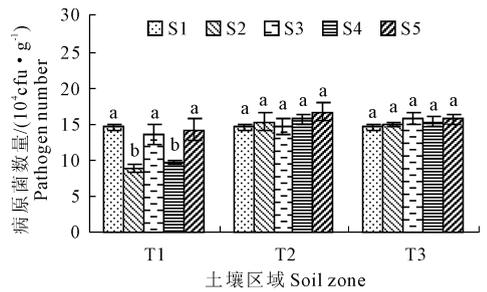


图 4 GSJ-1 处理下土壤病原菌随生育期的变化趋势

Fig. 4 Dynamic changes of pathogen with GSJ-1 treatment at different growth stages

注:S1,播种前;S2,苗期;S3,盛花期;S4,块茎膨大期;S5,成熟期。同一区域土壤不同小写字母表示在0.05水平差异显著,下同。

Note: S1, Prior to planting; S2, Seedling period; S3, Flowering period; S4, Tuber expansion period; S5, Mature period. Different letters on the same zone soils means significant difference at $P < 0.05$, and hereinafter.

2.3 生物有机肥料GSJ-1对马铃薯疮痂病的防治效果

根据试验统计结果,连作马铃薯疮痂病病情指数达到35.3%(表2),施用GSJ-1后疮痂病病情指数下降到19.3%,且对该病的防效达到45.3%,说明微生物有机肥GSJ-1能有效防治马铃薯连作引起的疮痂病的发生。

距离根系表面大于15 cm区域基本保持不变。这与王涛^[11]等人研究显示根际土壤病原菌均显著高于非根际土壤研究结果基本一致。本研究还表明随着马铃薯生育期的推进,连作土壤疮痂病原菌从播种前期到盛花期是向根际富集,盛花期之后向薯块和匍匐茎富集。这种富集规律初步表明根际、匍匐茎和薯块可能在不同生育期分泌了某些物质诱导了疮痂病原菌的大量繁殖,或者跟病原菌浸染作物的部位有关,究其原因还待进一步研究。

3.2 生物有机肥料GSJ-1对马铃薯连作土壤疮痂病原菌的分布和疮痂病的发生程度的影响

本研究显示,较之于连作处理,施用微生物有机肥GSJ-1后马铃薯根际(T1)、匍匐茎及薯块所在区域(T2)以及距离主根大于15 cm区域(T3)土壤疮痂病原菌从苗期到成熟期显著下降,且改变了土壤中

疮痂病原菌数量原有的分布规律:从连作处理的根际多于非根际改变为微生物有机肥 GSJ-1 处理的根际少于非根际;结果还显示该微生物有机肥对疮痂病的防治效果达到 45.3%。董艳等^[14-15]研究得出类似结论,施用微生物有机肥能一定程度上减轻作物的发病率和病情指数。这可能是因为微生物有机肥中的功能菌引入连作土壤后,在作物根系附近快速繁殖,形成优势菌群,与病原微生物形成竞争性拮抗作用,从而减弱了病原微生物对作物的侵害几率,有效提高了马铃薯的抗病能力。

参 考 文 献:

- [1] 杨艳丽,肖浪涛,胡先奇,等.马铃薯晚疫病毒素与寄主品种抗性关系研究[J].中国农业科学,2009,42(6):2202-2210.
- [2] 刘宝玉,胡俊,蒙美莲,等.马铃薯黑痣病原菌分子鉴定及其生物学特性[J].植物保护学报,2011,38(4):379-380.
- [3] 李金花,王蒂,柴兆祥,等.甘肃马铃薯镰刀菌干腐病优势病原的分离鉴定[J].植物病理学报,2011,41(5):456-463.
- [4] 李瑞琴,刘星,邱慧珍,等.发生马铃薯立枯病土壤中立枯丝核菌镰刀菌的荧光定量 PCR 快速检测[J].草业学报,2013,22(5):136-144.
- [5] Lambert D H, Loria R. *Streptomyces acidiscabies* sp. Nov, nom. rev [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1989,39:393-396.
- [6] Lambert D H, Loria R. *Streptomyces scabies* sp. nov. nom[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1989,39:387-392.
- [7] 王秀英,杜珍,郭尚,等.0.1% HgCl₂ 对脱毒马铃薯微薯型薯疮痂病的防治效果[J].中国马铃薯,2002,16(4):248-249.
- [8] 刘星,邱慧珍,张文明,等.微生物有机肥对陇东烤烟中性物质含量含量的影响及其机理初探[J].草业学报,2011,20(5):79-86.
- [9] Menzies J D, Dade C E. Selective indicator medium for isolating *Streptomyces Scabies* from potato tubers or soil[J]. Phytopathology, 1959,49:457-458.
- [10] Riley D, Barber S A. Salt accumulation at the soybean root-soil interface[J]. Soil Sci Soc Am Proc,1970,34:154-155.
- [11] 王涛,辛世杰,乔卫花,等.几种微生物菌肥对连作黄瓜生长及土壤理化性状的影响[J].中国蔬菜,2011,18(3):578-583.
- [12] 柯文辉.烟草连作障碍的根际微生态研究[D].兰州:甘肃农业大学,2009.
- [13] 孟品品.连作条件下马铃薯根际微生态环境的变化及生物效应研究[D].兰州:甘肃农业大学,2012.
- [14] 董艳,董坤,林克慧,等.微生物肥料对几种烤烟病害及烟叶含钾量的影响[J].江苏农业科学,2007,21(1):187-191.
- [15] 王文庆,史清亮,白建军,等.微生物有机肥对山药土壤生态特性及病情指数的影响[J].山西农业科学,2010,38(12):37-39.
- [20] Oaks A, Aslam M, Boesel Z. Ammonium and amino acid as regulators of nitrate reductase in corn roots[J]. Plant Physiology, 1977,59:391-394.
- [21] Sanchez E, Rivero R M, Ruiz J M, et al. Changes in biomass, enzymatic activity and protein concentration in roots and leaves of green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) under high NH₄NO₃ application rates[J]. Scientific Horticulture, 2004,99:237-248.
- [22] 朱建芬,张永江,孙传范,等.氮钾营养对棉花主茎功能叶衰老的生理效应研究[J].棉花学报,2010,22(4):354-359.
- [23] 沈会权,蔡剑,陈和,等.氮肥基追比对啤酒大麦花后叶片光合特性、干物质分配及产量的影响[J].南京农业大学学报,2009,32(4):7-12.
- [24] 张旺锋,王振林,余松烈,等.氮肥对新疆高产棉花群体光合性能和产量形成的影响[J].作物学报,2002,28(6):789-796.
- [25] 段云佳,谭玲,张巨松,等.枣棉间作下氮素对棉花不同部位叶片生理特性的影响[J].干旱地区农业研究,2013,31(2):89-95.
- [26] 马宗斌,房卫平,谢德意,等.氮肥和 DPC 用量对棉花叶片叶绿素含量和 SPAD 值的影响[J].棉花学报,2009,21(3):224-229.
- [27] 勾玲,闰洁,韩春丽,等.氮肥对新疆棉花产量形成期叶片光合特性的调节效应[J].植物营养与肥料学报,2004,10(5):488-493.
- [28] 刘连涛,李存东,孙红春,等.氮素营养水平对棉花衰老的影响及其生理机制[J].中国农业科学,2009,42(5):1575-1581.
- [29] 冯金凤,赵广才,张保军,等.氮肥追施比例对冬小麦产量和蛋白质组分及生理指标的影响[J].植物营养与肥料学报,2013,19(4):824-831.
- [30] 马宗斌,严根土,刘桂珍,等.施氮量对黄河滩区棉花叶片生理特性、干物质积累及产量的影响[J].植物营养与肥料学报,2013,19(4):849-857.
- [31] 胡明芳,田长彦,王林霞.氮肥用量与施用时期对棉花生长发育及土壤矿质氮含量的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2011,11(39):103-109.

(上接第 164 页)